

【今更聞けない、、、 フローサイトメトリー用蛍光標識抗体って、免疫染色にも使えるの??】

フローサイトメトリー実験に関する、今更聞けない質問にお答えする「今更聞けない、、、」ですが、今回はフローサイトメトリー用蛍光標識抗体って、免疫染色にも使えるの??についてご紹介させていただきたいと思います。

位置情報の重要性が認識されつつある今、フローサイトメトリー実験により、目的の細胞がその臓器内にあることが分かって
もさらに、それがどこに局在しているのか、という情報を求められることがあります。古典的な手法としては、組織片の免疫染色を行い、どこに目的の細胞が存在しているかを確認します。

フローサイトメトリー用に購入した蛍光色素標識抗体は、蛍光免疫染色で使えるでしょうか？

答えは、「その抗体によって異なる」です。

もし、フローサイトメトリー実験と免疫組織化学染色の両方を検討しているのであれば、最初から両方のアプリケーションに対応した抗体を選んでおけば、抗体を無駄にせずに済みます。

その際に、確認すべき点は下記のとおりです。

1. 抗体クローンが免疫染色に対応しているか？

パラフィン固定をした場合には、抗原たんぱく質が変性し抗体との反応性が変化することもありますので、特に注意が必要です。

BioLegend 社のウェブページでは、

パラフィン固定したサンプルで使用可能であることを確認した抗体リストを検索することができます。

Product Type; Primary Antibodies

Applications; IHC-P

https://www.biolegend.com/ja-jp/search-results?PageSize=25&Category=PRIM_AB&Applications=IHC-P

凍結切片で使用可能であることが確認された抗体リストはこちらです。

Product Type; Primary Antibodies

Applications; IHC-F

https://www.biolegend.com/ja-jp/search-results?PageSize=25&Category=PRIM_AB&Applications=IHC-F

Search Results

List View | Detail View

Filter Your Results

Specificity

Clone

Product Type

- Flow Kit (46)
- Isotype Control (780)
- Multiplex (940)
- Neuro Kit (12)
- Primary Antibodies (23676)
- Recombinant Protein

Applications

- ICF (2269)
- IEM (4)
- IHC (369)
- IHC-F (1150)
- IHC-P (1546)
- In-Vivo Cell Tracking (2)
- IP (1150)

2. 蛍光顕微鏡で検出できる蛍光色素か？

➤ 光安定性のある蛍光色素か

レーザー照射時間が極めて短いフローサイトメーターとは異なり、蛍光顕微鏡を使用する場合は長時間レーザーが照射されています。そのため、免疫染色する場合には、光安定性のある蛍光色素のみ使用できます。使用できない色素としては、PE や APC とそのタンデム色素があります。使用可能な蛍光色素として代表的なのは、Alexa Fluor® などの合成系色素です。

使用できる蛍光色素の詳細は下記ウェブページに励起レーザーとともに情報があります。

<https://www.biolegend.com/en-us/microscopy/ihc-icc-applications>

➤ 蛍光強度は十分にあるか

Alexa Fluor® 色素などは光安定性があるため、免疫染色でご使用いただけます。しかし、蛍光強度はそれほど高くないため、検出できないことがあります。その場合には、蛍光標識した 2 次抗体を使用することをご検討いただく必要があります。

蛍光免疫組織化学染色で使用できる蛍光色素例

| Direct Conjugate | Excitation max (nm) | Emission max (nm) | Emission color |
|---------------------------------------|---------------------|-------------------|----------------|
| DyLight™ 405 | 400 | 420 | Blue |
| Brilliant Violet 421™ | 405 | 421 | Blue |
| Brilliant Violet 510™ | 405 | 510 | Green |
| DyLight™ 488 | 493 | 518 | Green |
| Alexa Fluor® 488 | 495 | 519 | Green |
| Alexa Fluor® 555 | 555 | 565 | Orange |
| Spark YG™ 570 | 555 | 570 | Orange |
| Alexa Fluor® 594 | 590 | 617 | Red |
| DyLight™ 594 | 592 | 617 | Red |
| Alexa Fluor® 647 | 650 | 665 | Near-IR* |
| Alexa Fluor® 700 | 702 | 723 | Near-IR* |

** Human vision is not sensitive to light beyond ~650 nm; it is not possible to view near-IR fluorescent dyes.*

企業のウェブページも活用して情報を得て、製品をご検討ください。

BioLegend 製品で事前に知りたいこと、ご不明な点がございましたら、お気軽にトミーデジタルバイオロジー(株) テクニカルサポートまでお問い合わせください。

【お問合せ先】 Email: support@digital-biology.co.jp TEL: 03-6240-0451 または [ウェブサイトより](#)

「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページは[こちら](#)