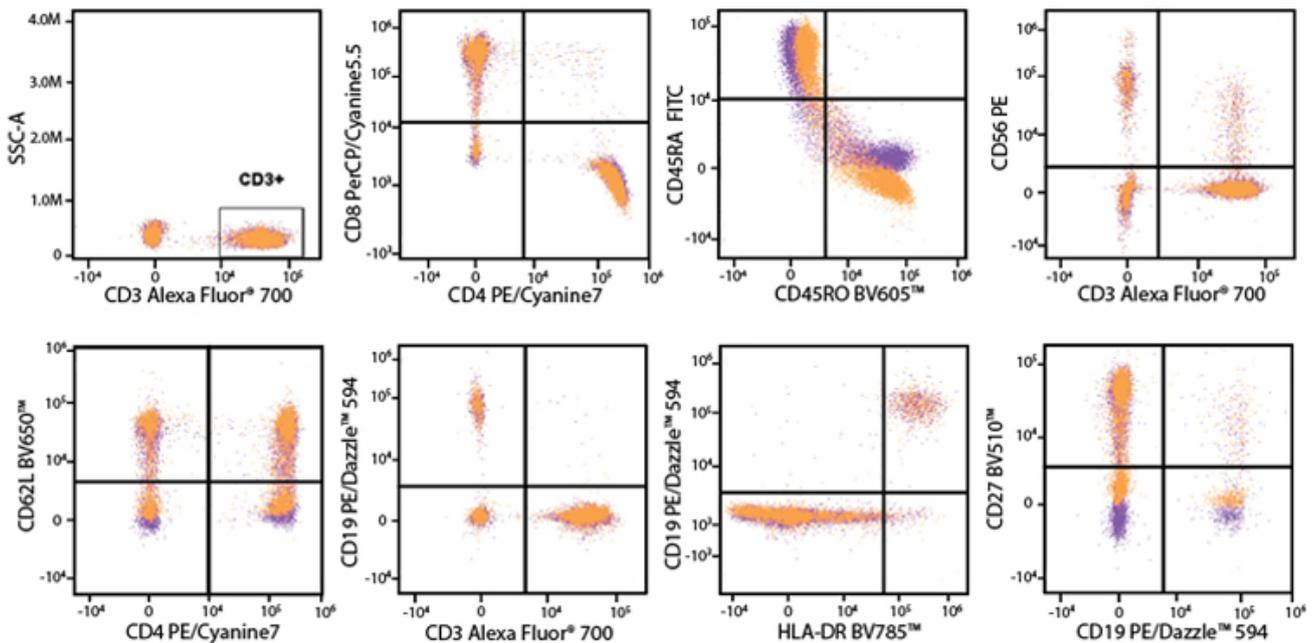


【今更聞けない、、どうやってゲートしたら良いの?? — ゲーティングを行ううえで重要なこと (その1) 】

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、ゲーティングに関して 2 回にわたりお話ししようと思います。

フローサイトメトリー実験でデータ取得後、なんとなくゲーティングしている方も実は多いのではないのでしょうか？改めてゲーティングの流れを考えてみます。



まず大きなゲーティングの流れとしては、

1. コンペーンション（蛍光補正）を行う
2. イニシャルゲートをかける（=デブリやダブルット、死細胞などのデータを除去する）
3. 主要なサブセット→希少なサブセット の順でゲートする
4. ゲートが正しいかを確認する

となります。考えていなかったとしても、いままでもこのような順番でゲーティングしていたのではないのでしょうか。

また、ゲーティングを行ううえで認識しておくべき重要なことは、蛍光強度は相対的な値であるということです。同じサンプルでもボルテージを変えれば、異なる蛍光強度を示すことからわかるように、蛍光強度の値だけでは、それが陽性分画なのか、陰性分画なのかはわかりません。したがって、ゲーティングを行う際には、陽性分画と陰性分画を区別できるように対象サンプル（コントロール）をおくことが必要となります。

各ゲーティング操作に必要なコントロールを次にお示します。

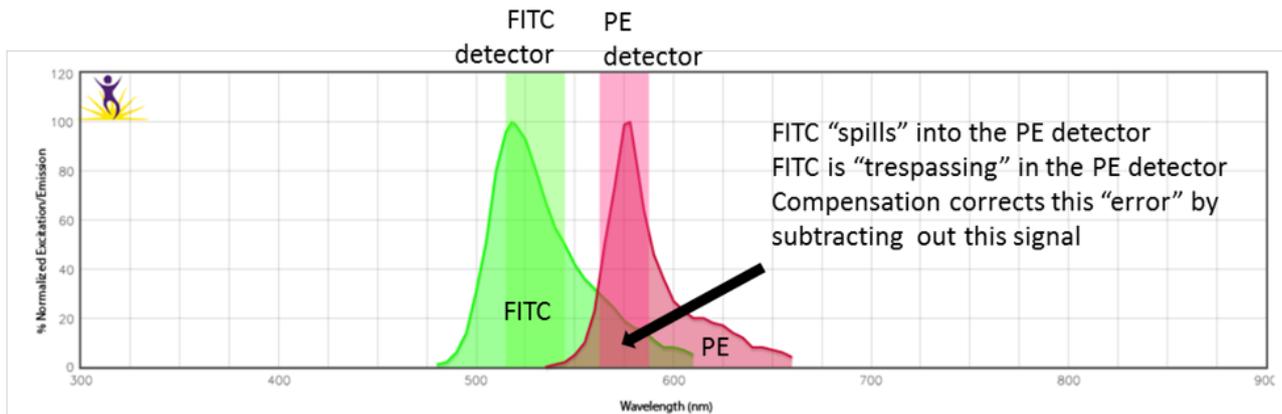
1. コンペーション（蛍光補正）を行う

多重染色の場合は、必ず最初に蛍光補正を行いましょ。

蛍光の漏れ込みにより、実際は陽性でない分画も陽性に見えてしまうことがあります。

蛍光補正の際には、基本的には毎回単色のサンプル、コンペーションコントロールを測定し、そのデータを使って、各蛍光色素が他のチャンネルにどれだけ洩れ込んでいるかを確認する必要があります。

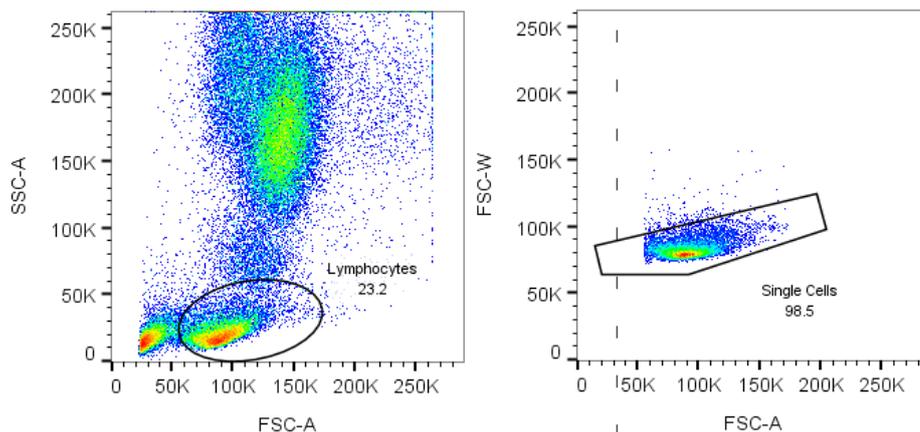
コンペーションについては [31 回](#)や [38 回](#)をご参照ください。



2. イニシャルゲートをかける（＝デブリやダブルット、死細胞などのデータを除去する）

最初は前方散乱光と側方散乱光で展開し、目的の細胞集団をゲートすることになると思います。これは同時に細胞以外のデブリ情報の除去の役割も担っています。そして本格的にゲーティングする前に、いらぬデータを除去しましょ。ダブルットや死細胞は実際の細胞情報を反映していません。特に死細胞は抗体が非特異的に結合してしまうこともありますので、除去することが必要です。

死細胞除去については [29 回](#)をご参照ください。



上記 1. 2. によって不要なデータの削除が終わったので、いよいよ細胞サブセットのゲーティングを行います。

（次回へ続く）

「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページは[こちら](#)