

【今更聞けない、、、Viability Dye（死細胞標識試薬）の意義と、 今だから紹介する新色追加の Zombie 試薬！】

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、、、」シリーズ。今回は以前（2019 年）に紹介したことのある死細胞染色用試薬についての復習と、新色素が追加された BioLegend 社 Zombie シリーズについてご紹介します。

昨今ではフローサイトメーターのスペック向上やスペクトル型アナライザーの台頭に伴い、同時に使用する抗体量が増加する傾向にあります。必然的に少ない分画を見ることが多くなりますが、そうするとデータ解釈の邪魔をするのが死細胞の存在です。

死細胞は抗体を非特異的に吸着させてしまうことがあり、偽陽性が出やすくなりますので、それを防ぐために死細胞をゲートアウトしてから分画を同定する必要があります。

この死細胞をゲートアウトするために使用するのが死細胞染色試薬です。

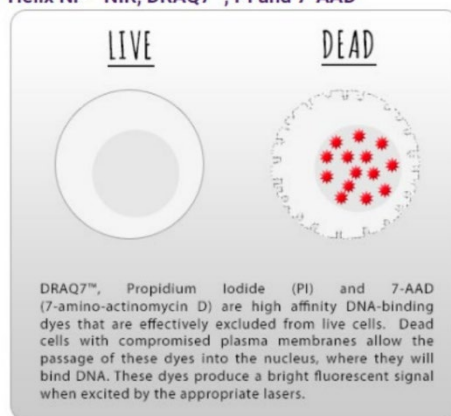
死細胞染色試薬には、「核酸染色系の試薬（PI や 7-AAD）」と「アミン反応系試薬」に大別されますが、どちらも細胞が死ぬと細胞膜構造が崩れることを利用して、死細胞を染色する試薬です。

7-AAD や PI のような従来型の試薬は、実は核酸の塩基に挿入されることにより細胞内にとどまっているため、染色の持続力が非常に弱いという弱点があります。プロトコルを振り返るとわかるように、抗体染色時とは異なり、7-AAD や PI を添加した後は、細胞の洗浄（Wash）のステップを踏みません。これは、洗浄してしまうと、結合が外れてしまうためです。

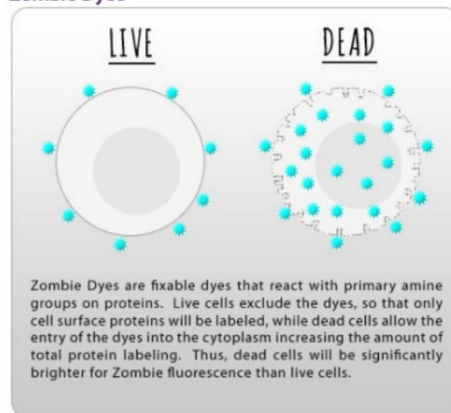
しかしながら、細胞内因子染色を行う場合には、細胞の固定後に固定液を除外するためにどうしても Wash のステップが必要となり、従来型の死細胞染色試薬を使うことができないため、アミン反応系試薬を選択する必要があります。

これらアミン反応系試薬は、細胞膜や細胞内にあるアミンと共有結合しており、結合力が非常に強く安定していることが特徴です。

Helix NP™ NIR, DRAQ7™, PI and 7-AAD



Zombie Dyes



アミン反応系試薬は各社から販売されていて名前も様々ですが、BioLegend 社からは、Zombie Dye という名前で販売されています。

	Zombie Dye 新色素の「B550」「YG581」「R685」「R718」が追加されました！										
	UV	Violet	Aqua	Yellow	Green	B550	Red	YG581	R685	R718	NIR
励起レーザー	UV	UV/Violet	UV/Violet	(UV)/Violet	Blue	Blue	(Blue)/Green	Green	Red	Red	Red
蛍光波長	459 nm	405 nm	516 nm	572 nm	515 nm	540 nm	624 nm	581 nm	685 nm	718 nm	746 nm
類似色素	DAPI	BV421	BV510	BV570	FITC	Spark 550	PE-Texas Red	Spark 581	Spark 685	Spark 718	APC-Cy7

現在は 11 色展開しているため、どのチャンネルで死細胞をゲートアウトするかを選択できる、多重染色のパネルを組む際には、非常に使い勝手が良い試薬です。

※類似色素は一般的なコンベンショナル型機器での検出器において同様に検出できる色素を記載しておりますが、機器によって検出器の検出範囲は異なりますので、実際に使用する機器のスペック情報をご確認の上ご利用ください。

便利な試薬を使用して、正確なデータ採取を心がけていただければと思います。

アミン反応系死細胞染色試薬：<https://www.biolegend.com/ja-jp/live-dead>

PI 試薬：<https://www.biolegend.com/ja-jp/products/propidium-iodide-solution-2651>

7AAD 試薬：<https://www.biolegend.com/ja-jp/products/7-aad-viability-staining-solution-1649>