

BD バイオサイエンス 蛍光色素表

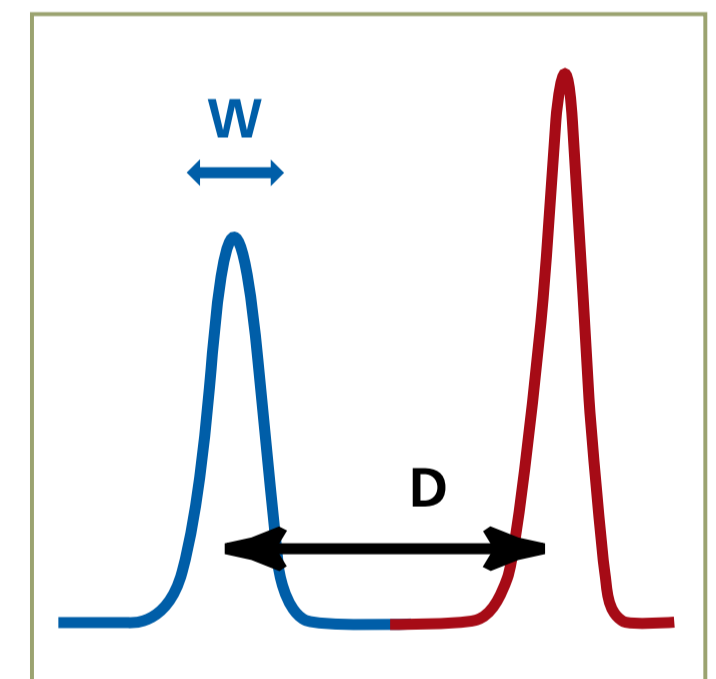
BD バイオサイエンスの最新の蛍光色素とフローサイトメーターの詳細については、www.bdbiosciences.com/colors を参考にしてください。蛍光色素波長の詳細については、スペクトラルビューアー（www.bdbiosciences.com/research/multicolor/spectrum_viewer）をご利用ください。

Instrument	Excitation Laser Line (nm)	Fluorescence Channel	Fluorochromes provided by BD Biosciences	
Accuri® C6	488	FL1 Green	FITC Alexa Fluor® 488	
		FL2 Yellow	PE PI	
		FL3 Red	7-AAD PerCP PerCP-Cy™5.5 PE-Cy™7	
	640	FL4 Red	APC Alexa Fluor® 647	
	BD FACSCalibur™	488	FL1 Green	FITC Alexa Fluor® 488
			FL2 Yellow	PE PI
FL3 Red			7-AAD PE-Cy™5a PerCP PerCP-Cy5.5 PE-Cy7	
635		FL4 Red	APC Alexa Fluor® 647	
BD FACSVerser™*		488	Green	FITC Alexa Fluor® 488
			Yellow	PE PI
	Orange		PE-Texas Red®b	
	Red		7-AAD PE-Cy5a PerCP PerCP-Cy5.5	
	Infrared		PE-Cy7	
	640b	Red	APC Alexa Fluor® 647	
		Far Red	Alexa Fluor® 700b	
	405b	Infrared	BD APC-H7 APC-Cy7	
		Green	BD Horizon™ V500 AmCyan	
		Blue	BD Horizon™ V450 VPD450 Pacific Blue™	
	BD FACSCanto™ II	488	Green	FITC Alexa Fluor® 488
			Yellow	PE PI
			Orange	PE-Texas Red®b
Red			7-AAD PE-Cy5a PerCP PerCP-Cy5.5	
Infrared			PE-Cy7	
633		Red	APC Alexa Fluor® 647	
		Far Red	Alexa Fluor® 700b	
405b		Infrared	BD APC-H7 APC-Cy7	
		Green	BD Horizon V500 AmCyan	
		Blue	BD Horizon V450 VPD450 Pacific Blue™	
BD LSRFortessa™ and Special Order BD LSRFortessa (typical setup) c		488	Green	FITC Alexa Fluor® 488
			Yellow	PE PI
			Orange	PE-Texas Red®
	Red		7-AAD PE-Cy5a PerCP PerCP-Cy5.5	
	Infrared		PE-Cy7	
	532c or 561c	Yellow	PE PI	
		Orange	PE-Texas Red®	
	640	Red	APC Alexa Fluor® 647	
		Far Red	Alexa Fluor® 700	
	405	Infrared	BD APC-H7 APC-Cy7	
		Green	BD Horizon V500 AmCyan	
		Blue	BD Horizon V450 VPD450 Pacific Blue™	
	355	Blue	Hoechst 33342	
BD FACSAria™ III and Special Order BD FACSAria (typical setup) c	488	Green	FITC Alexa Fluor® 488	
		Yellow	PE PI	
		Orange	PE-Texas Red®	
		Red	7-AAD PE-Cy5a PerCP PerCP-Cy5.5	
		Infrared	PE-Cy7	
	561	Yellow	PE PI	
		Orange	PE-Texas Red®	
	640	Red	APC Alexa Fluor® 647	
		Far Red	Alexa Fluor® 700	
	405	Infrared	BD APC-H7 APC-Cy7	
		Green	BD Horizon V500 AmCyan	
		Blue	BD Horizon V450 VPD450 Pacific Blue™	
	375c	Blue	Hoechst 33342	
BD Influx™	488	Green	FITC Alexa Fluor® 488	
		Yellow	PE PI	
		Orange	PE-Texas Red®	
		Red	7-AAD PE-Cy5 PerCP PerCP-Cy5.5	
		Infrared	PE-Cy7	
	532 or 561	Yellow	PE PI	
		Orange	PE-Texas Red®	
	640	Red	APC Alexa Fluor® 647	
		Far Red	Alexa Fluor®700	
	405	Infrared	BD APC-H7 APC-Cy7	
		Green	BD Horizon V500 AmCyan	
		Blue	BD Horizon V450 VPD450 Pacific Blue™	
	375	Blue	Hoechst 33342	

蛍光色素の分解能 - Stain Index -

Reagent	Clone	Filter	Stain Index
PE	RPA-T4	575/26	305
APC	RPA-T4	660/20	263
PE-Cy5	RPA-T4	695/40	198
Alexa Fluor® 647	RPA-T4	660/20	184
PE-Cy7	RPA-T4	780/60	122
PerCP-Cy5.5	RPA-T4	695/40	99
Alexa Fluor® 488	RPA-T4	530/30	68
BD Horizon V450	RPA-T4	450/50	65
Alexa Fluor® 700	RPA-T4	720/40	64
Pacific Blue™	RPA-T4	450/50	63
FITC	RPA-T4	530/30	43
AmCyan	RPA-T4	525/50	37
APC-Cy7	RPA-T4	780/60	36
PerCP	RPA-T4	695/40	30
BD Horizon V500	RPA-T4	525/50	27
BD APC-H7	RPA-T4	780/60	25

分離したリンパ球を各蛍光色素で標識された抗ヒトCD4抗体にて染色し、BD LSR™ IIフローサイトメーターにて測定を行った。この表は、各色素の蛍光分解能比較の一例である。蛍光分解能は測定するフローサイトメーターの仕様および試薬によって異なる場合がある。



$$\text{Stain Index} = D/W$$

分解能（バックグラウンドから弱いシグナルを分離して検出することができる能力）は、ポジティブとバックグラウンドピークの距離（D）とバックグラウンドピークの幅（W）によって決まる。Stain Indexは、両方の要素を反映した分解能の指標である。

* Capable of detecting 8 colors simultaneously (4 blue laser, 2 red laser, 2 violet laser)

For Research Use Only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.

APC-Cy7: US patent 5,714,386

Accuri® is a registered trademark of Accuri Cytometers, Inc.

Cy™ is a trademark of Amersham Biosciences Corp. Cy dyes are subject to proprietary rights of Amersham Biosciences Corp and Carnegie Mellon University and are made and sold under license from Amersham Biosciences Corp only for research and in vitro diagnostic use. Any other use requires a commercial sublicense from Amersham Biosciences Corp, 800 Centennial Avenue, Piscataway, NJ 08855-1327, USA.

Pacific Blue™ is a trademark, and Alexa Fluor® and Texas Red® are registered trademarks of Molecular Probes, Inc.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

- a) APCとPE-Cy5はレーザー間コンベンションが可能な機器で同時に測定することができます。
- b) Alexa Fluor 700はレーザーおよび検出器オプションにより測定可能になります。
- c) Special Research Order Products (SORP)プログラムでは、より多くのレーザーと検出器を搭載することが可能です。

蛍光色素の最適な組み合わせ方法 - マルチカラーフローサイトメーター解析用試薬選択ガイドライン

1 基礎：フローサイトメーターの仕様を知る

試薬選択は使用するフローサイトメーターの仕様を確認することから始めます。搭載されているレーザーと検出器によって、励起・検出することができる蛍光色素が異なります。また、選択された蛍光色素の組み合わせを検出するのに十分な検出器数が搭載されていることが必要です。

2 蛍光色素：明るさを考慮する

使用するフローサイトメーターで検出できる蛍光色素を、蛍光の明るい順に選択します。

3 蛍光のオーバーラップが少ない組み合わせにする

マルチカラー解析を行う場合（細胞を複数の試薬で染色する場合）、蛍光のオーバーラップが問題となります。コンベンション機能を用いることにより、すべての蛍光色素間の漏れ込みを補正することができます。しかし、ひとつの細胞を染色する蛍光色素が多いほど、蛍光オーバーラップが解析に影響します。例えば、FITCのみで染色された細胞集団は通常PEの蛍光を持ちませんが、無染色の細胞と比較するとコンベンション設定後に、PEチャンネルにおいて広い分布を示すことがあります。

4 蛍光色素と抗体：最適な組み合わせを作る

使用する蛍光色素が決まったら、各抗体の蛍光標識の選択を始めます。一般的には、明るい蛍光色素は発現量の少ない抗原を認識する抗体に用います。その反対に、発現量の多い抗原に対する抗体の蛍光が、高感度検出が必要（発現量が比較的少ない抗原）な検出器へオーバーラップしないようにします。

5 タンデム色素

タンデム色素であるAPC-Cy7やPE-Cy7は、自然光、固定剤の存在下や温度の上昇による劣化により、APCやPEへの蛍光オーバーラップが強くなります。検体を自然光、4°Cを上回る温度、パラフォルムを含む固定剤から避けることによって、この問題は大幅に軽減することができます。現在BDではより安定した蛍光色素であるAPC-H7を提供しています。

6 確認

選択したマルチカラー染色用試薬を評価するために、Fluorescence-minus-one (FMO)などのコントロールを用いることができます。FMOコントロールを使用することで、バックグラウンドへの蛍光オーバーラップの影響を確認することができ、各蛍光の正確な感度を評価することができます。



さらに詳しいガイドラインであるApplication Note "Selecting Reagents for Multicolor Flow Cytometry."は、www.bdbiosciences.com/colors からダウンロードすることができます。