



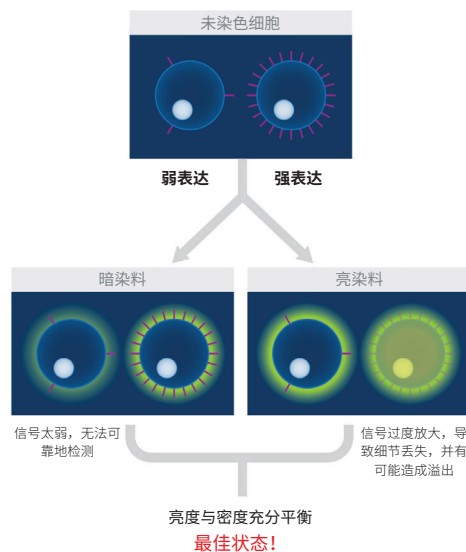
多色流式配色方案七大秘诀

如果结合充分优化的配色方案和优质的试剂，多色流式细胞术将成为同时检测、监控多个样品参数的强大工具。但是，数据质量在很大程度上取决于优化的配色方案设计和适当调整的仪器。以下 7 个秘诀可以帮助你改善流式细胞仪数据质量，避开多色流式细胞实验中的常见问题。

1. 荧光染料的选择

所有染料并非都一样！有些染料极其明亮，而其他染料则非常暗淡，难以察觉。但是，选择最亮的染料并非总是明智之举，而弃用较暗的染料并非总是谨慎做法。总而言之，明智的做法是所选染料的亮度足以检测到目标抗原，同时该染料溢入或逸入其他检测器的程度最低。如果用于检测某一种荧光染料发射光谱的检测器检测到其他荧光染料的发射光，将发生溢出现象，从而在该种荧光染料的通道中产生干扰信号。发射光越亮，意味着发生溢出的可能性越大，数据分散程度越高，导致分辨率降低。为了避免这种情况，应当对弱表达抗原使用较亮的染料，相反地，对强表达抗原使用较暗的染料。遵循上述原则，便可使你的染料搭配更加平衡！

秘诀 1

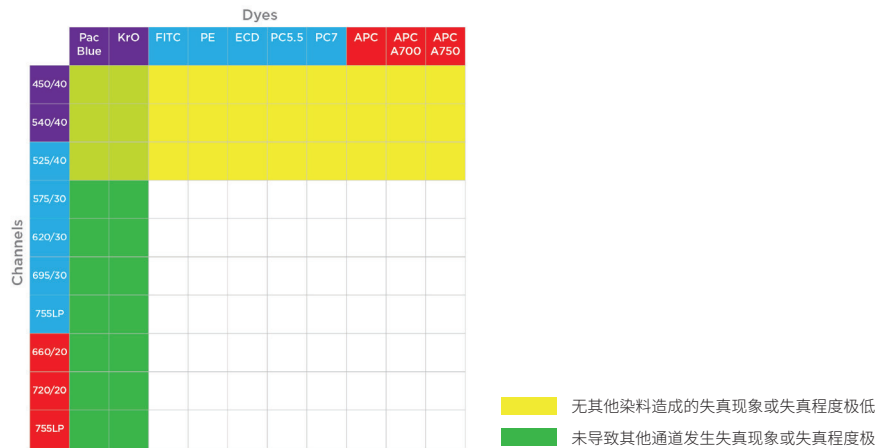


2. 通道的选择

发生溢出现象时，我们要面对现实，不过我们仍然可以通过选择染料优化配色方案——对于强表达抗原，选择对其他通道影响较小的荧光染料（绿色部分），而对于弱表达抗原，所选荧光染料的检测通道只受到其他荧光染料的轻微溢入影响（黄色部分）。一种荧光染料是否属于上述类型取决于仪器配置和荧光染料选择。请务必测试荧光染料和通道组合，这样才能找到最佳配色方案。

设计实验时，如果需要用到所有通道，则很难避免溢出现象，但这些秘诀可以帮助你减小溢出效应对配色方案和实验数据所造成的影响。

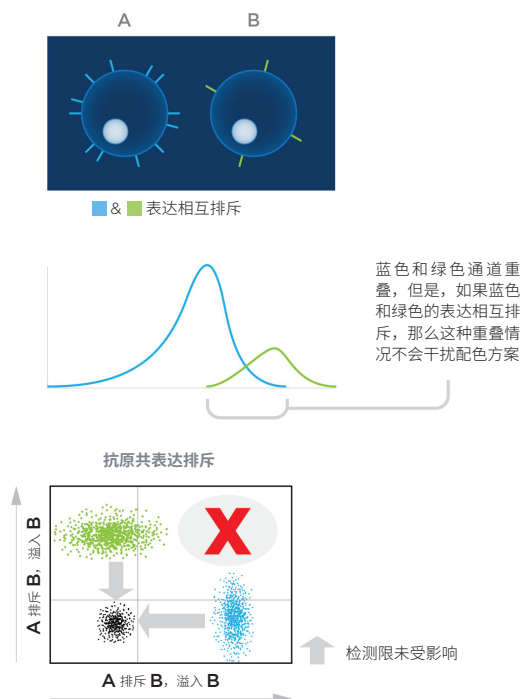
秘诀 2



3. 抗原排斥

如果相互排斥（理论上不会共表达在一个细胞上）的抗原之间发生轻微溢出现象会怎样？如果两种抗原不在目标细胞门中的相同细胞上表达，则其发射光谱之间的溢入效应不会干扰配色方案。

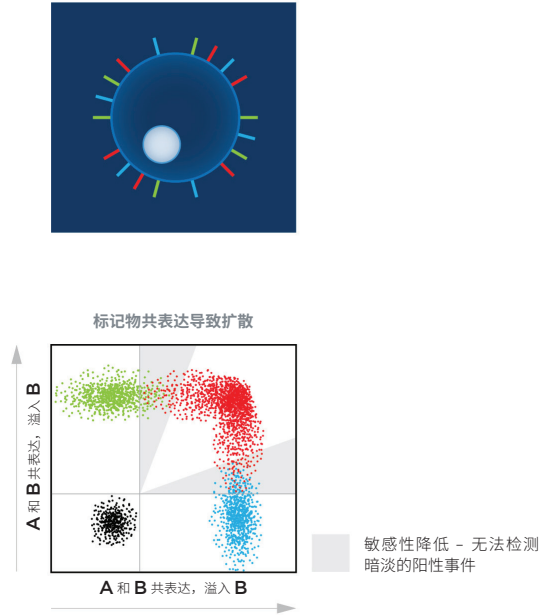
秘诀 3



4. 抗原共表达

如果一种标记物的表达通常或可能受到调控或比较弱，你应当尝试减少共表达抗原的荧光染料标记溢入该标记物的通道，因为溢入效应会挡住数据和屏蔽可能的调控。只有非共表达抗原荧光染料标记的溢入效应是安全的，不会对受调控或弱表达抗原的检测敏感性和分辨率造成影响。

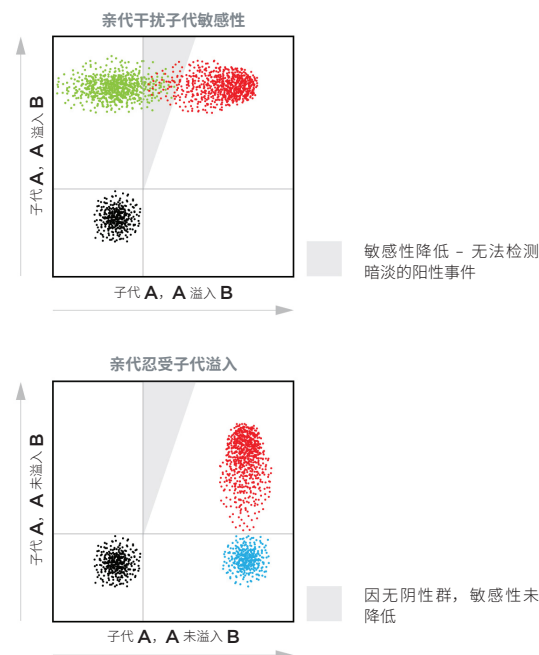
秘诀 4



5. 亲代 - 子代

和父母顶嘴未必是坏事？对于多色流式细胞术配色方案而言，子代与其亲代顶嘴可以保持标记物之间的敏感性。换言之，你可以允许标记物亚群（子代）溢入或串扰设门标记物（亲代）。亲代标记物会忍受这种溢入效应，因为对于亲代标记物来说，子代始终呈阳性。比如，如果淋巴细胞门之内 CD4 大量溢入 CD3 通道，那么背景扩散不会引起 CD3 通道内背景扩散，原因在于 CD4 阳性的 T 细胞 CD3 也是阳性。请注意相反的情况，即亲代标记物串扰子代标记物，因为亲代信号溢入会污染子代信号的背景。

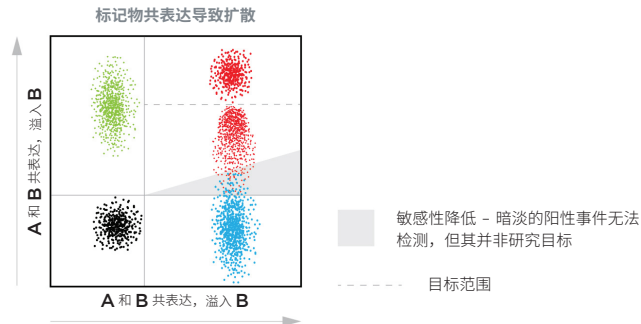
秘诀 5



6. 阳性阈值

如果研究目的仅为鉴定明亮的阳性细胞，或区别明亮和中 - 强 / 暗细胞表达，可以允许溢入共表达抗原。但是，如果研究目的仅为区别暗淡和阴性表达，则无法容忍溢入效应，因为这样会干扰数据和结论，得出假阳性。

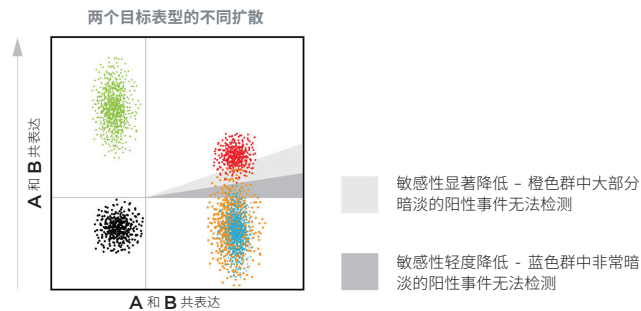
秘诀 6



7. 溢出的复杂性

化繁为简，尽量使溢入模式变得简单和直接，避开表型依赖性检测限。然而，请记住，未在点图中显示的荧光染料也会溢出和扩散，因此“保持简单”可能相当复杂！

秘诀 7



策划下一次多色流式细胞实验时请记住以上七个秘诀，这样你的配色方案将为你带来最佳信号检测效果和简单可靠的实验结果。为了提高多色流式细胞实验的成功概率，请使用经监管部门审核且符合生产标准的优质、可靠的试剂。

试剂越可靠，数据越可靠！