

Agilent NovoCyte Opteon スペクトルフロー サイトメータによる自家蛍光の除去

著者

Xiaohuan Wang, Ming Lei,
Yan Lu, Peifang Ye,
Garret Guenther, Nancy Li,
Agilent Technologies, Inc.

概要

細胞は内在する蛍光生体分子により自家蛍光を示しますが、これによって蛍光マーカーの検出時に信号分解能が損なわれる可能性があります。スペクトルフローサイトメータは、従来のフローサイトメータとは異なり、蛍光色素の分解能を高めるために蛍光色素の完全な発光スペクトルを捕捉します。その後、自家蛍光をバックグラウンド信号のように扱い、蛍光色素で標識された細胞信号から抽出することができます。今回の研究では、自家蛍光除去を用いた場合と用いない場合のアンミキシング結果をさまざまなサンプル間で比較しました。その結果、自家蛍光の適切な特性解析と除去により信号分解能が向上し、アンミキシング精度が高まることがわかりました。不均一な自家蛍光信号を含むサンプルには、複雑な自家蛍光同定手法が必要です。一方、自家蛍光信号が均一なサンプルは、より単純な手法で十分です。Agilent NovoCyte Opteon スペクトルフローサイトメータと Agilent NovoExpress ソフトウェアを組み合わせれば、効果的な自家蛍光の除去が容易になり、データ品質を高め、解析を強化することができます。

はじめに

細胞は、芳香族アミノ酸、リポフスチン、ビリジンヌクレオチド、フラビン補酵素など、特定波長の紫外線や可視光によって励起すると蛍光発光するさまざまな内在分子の存在により自家蛍光を示します¹。細胞の自家蛍光レベルは細胞の種類、代謝状態、さらに実験条件によって変化する可能性があります²。細胞の自家蛍光は無関係なノイズを発生させ、蛍光色素の検出感度を低下させることから、従来、フローサイトメトリにおける重大な課題と見なされてきました。例えば、高い自家蛍光を持つ細胞集団は、誤って特定の蛍光色素または抗原に対して陽性と判定される可能性があります³。スペクトルフローサイトメトリでは、自家蛍光の信号と蛍光色素の信号を分離できるため、マーカーの定量の忠実度が向上します⁴。具体的には、広範囲の発光波長をカバーする一連の検出器により蛍光色素と自家蛍光のスペクトル特性を捕捉し⁵、各サンプルの自家蛍光特性を同定します。これにより、自家蛍光と蛍光色素の信号を識別できるようになるため、2つの信号が混ざり合うことがありません⁶。また、高い自家蛍光を示すサンプルにおいて、自家蛍光の信号に近くに発光ピークを持つ蛍光色素の信号を識別できるため、蛍光検出の分解能が高まります²。

Agilent NovoCyte Opteon スペクトルフローサイトメータは、最大 5 本のレーザーと 73 個の検出器を搭載し、高分解能のデータ取り込みと自家蛍光スペクトルの特性解析を実現します。また、NovoExpress ソフトウェアでは、未染色サンプルの異なる自家蛍光スペクトルを容易に同定できます。類似した自家蛍光スペクトルの同定に参照スペクトルの類似性指数などのツールを役立てれば、アンミキシングの際に自家蛍光スペクトルの重複を回避し、過剰なスプレディングエラーを防ぎます。

このアプリケーションノートでは、さまざまなサンプルにおける多様な自家蛍光特性を明らかにし、自家蛍光の除去によっていかに結果の分解能と精度が大幅に向上するかを示します。また、NovoExpress ソフトウェアを使用して異なる自家蛍光特性を同定する手法についても概説します。今回の研究では、新鮮な血液と安定化した血液、マウスの脾細胞と肺細胞など、均一または不均一な自家蛍光特性を持つサンプルをテストしました。その結果から、不均一な自家蛍光信号を示すサンプルには複雑な自家蛍光抽出手法が必要である一方、均一な信号のサンプルにはより単純な手法で十分なことがわかりました。NovoCyte Opteon スペクトルフローサイトメータと NovoExpress ソフトウェアを組み合わせれば、効果的な自家蛍光の抽出が容易になり、最適な解析を行います。

実験

機器構成

NovoCyte Opteon UVBYR スペクトルフローサイトメータ：5 本のレーザー (349、405、488、561、637 nm)、前方散乱 (FSC)、青色レーザー励起側方散乱 (BSSC)、紫色レーザー励起側方散乱 (VSSC)、および 70 個の蛍光検出器を搭載

ヒト血液サンプルの前処理

新しく採取してエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) で抗凝固剤処置したヒト末梢血または安定化したヒト末梢血 (CD-Chex Plus) を適量の抗体とともに 15 分間インキュベートしました (表 1 または表 2)。次に、赤血球を 1x Acealyse solution で溶解しました (表 3)。サンプルを 300 x g で 5 分間遠心分離し、上清を取り除いて、細胞をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で一度洗浄しました。その後、ペレットを 1% パラホルムアルデヒド (PFA) を含む PBS で再懸濁しました。

表 1. 新鮮なヒト血液の免疫表現型解析パネルの抗体

特異性	Fluorochrome	クローン	販売元	部品番号
CD45	Brilliant Violet 510	HI30	BioLegend	304036
CD4	Brilliant Violet 421	RPA-T4	BioLegend	300532
CD3	PerCP-Cy5.5	SK7	アジレント	8931015
CD8	APC	SK1	アジレント	8931025
CD19	PE-Cy7	HIB19	アジレント	8930015
CD16	PE	3G8	アジレント	8930005
CD56	PE	HCD56	BioLegend	318306

表 2. 新鮮なヒト血液の免疫表現型解析パネルの抗体

特異性	Fluorochrome	クローン	販売元	部品番号
CD45	Brilliant Violet 510	HI30	BioLegend	304036
CD4	Brilliant Violet 421	RPA-T4	BioLegend	300532
CD8	Pacific Blue	SK1	BioLegend	344718
CD3	PerCP-Cy5.5	SK7	アジレント	8931015
CD20	FITC	2H7	アジレント	8730070
CD16	PE	3G8	アジレント	8930005
CD56	PE	HCD56	BioLegend	318306

表 3. その他の使用試薬

試薬	販売元	部品番号
Acealyse solution	アジレント	894B604
リン酸緩衝液 (PBS)	GENOM BIO	GNM20012-2
パラホルムアルデヒド (PFA)、4%、PBS 溶液	Aladdin	P395744-100mL
CD-Chex Plus	Streck	213323

マウスの脾臓および肺サンプルの前処理

マウスの脾臓および肺組織を小片に切断しました。マウス脾臓組織は軽く押し潰し、肺組織は酵素で分解しました。均質化したサンプルを 70 µm のナイロンメッシュに通し、赤血球 (RBC) を 1x RBC lysis buffer で溶解しました (表 6)。次に、細胞を回収し、表 4 または表 5 に示す抗体混合物により 4 °C で 30 分間染色しました。サンプルを 300 x g で 5 分間遠心分離し、上清を廃棄して、2 % ウシ胎児血清 (FBS) を含む PBS で細胞を一度洗浄しました。その後、ペレットを 1 % PFA を含む PBS で再懸濁しました。死細胞は、ヨウ化プロピジウム (PI) または Live/Dead Blue 試薬により同定しました。

表 4. 脾細胞の免疫表現型解析パネルの抗体

特異性	Fluorochrome	クローン	販売元	部品番号
Live/Dead	PI	NA	Thermo Fisher	V13241
CD4	PE-Fire640	GK1.5	BioLegend	100481
CD11b	PE-Cy7	M1/70	BioLegend	101215
NK1.1 (C57)	APC	PK136	BioLegend	108709
CD19	Alexa Fluor 700	6D5	BioLegend	115527
CD3	BV421	17A2	BioLegend	100228
CD8a	BV570	53-6.7	BioLegend	100740
CD45.2	FITC	104	BioLegend	109805

表 5. 肺細胞の免疫表現型解析パネルの抗体

特異性	Fluorochrome	クローン	販売元	部品番号
Live/Dead	Live/Dead Blue	NA	Thermo Fisher	423105
CD45	PerCP	30-F11	BioLegend	103129
Sca-1	APC-Fire750	D7	BioLegend	108146
EpCAM (CD326)	eFluor450	G8.8	Thermo Fisher	48-5791-82
CD11b	PE-Cy7	M1/70	BioLegend	101215
Ly6G	BV605	1A8	BioLegend	127639
Siglec-F	PE-CF594	E50-2440	BD	562757
F4/80	Kiravia Blue520	BM8	BioLegend	123162
CD11c	BUV805	N418	BD	749038
CD103	PE	2E7	BioLegend	121405
MHC II	BV785	M5/114.15.2	BioLegend	107645
CD64	APC	X54-5/7.1	BioLegend	139306
CD24	BV510	M1/69	BioLegend	101831
Ly6C	BV711	HK1.4	BioLegend	128037

表 6. その他の使用試薬

試薬	販売元	部品番号
ハンクス平衡塩溶液 (HBSS)	Gibco	14025-092
リン酸緩衝液 (PBS)	GENOM BIO	GNM20012-2
パラホルムアルデヒド (PFA)、4 %、PBS 溶液	Aladdin	P395744
ウシ胎児血清 (FBS)	Gibco	10091-148
EDTA、0.5 M、pH 8.0	Invitrogen	AM9260G
TruStain FcX PLUS	BioLegend	156603
Brilliant Stain Buffer Plus	BD Biosciences	66385
コラゲナーゼ D	Roche	11088858001
DNase I	Sigma-Aldrich	D4513-1VL
1x RBC lysis buffer	Invitrogen	00-4333-57

自家蛍光スペクトルの同定と設定

NovoExpress ソフトウェアでは、異なる自家蛍光集団を同定するために、未染色サンプルの蛍光信号パターンを使用します。これらの集団は、右クリック操作または「Reference Control Specimen Setup」ウィンドウから、必要に応じて自家蛍光コントロールとして指定できます。自家蛍光コントロールは、単一のサンプルタイプ、あるいは細胞、ピース、または組織由来の複数のサンプルに対して設定することが可能です。また、蛍光色素設定パネルでは、染色サンプルごとに対応する未染色サンプルを簡単に選択できます。詳細な手順については、NovoExpress ソフトウェアガイドをご覧ください。

結果

さまざまなサンプルの自家蛍光スペクトル

細胞の自家蛍光レベルは、細胞の種類、サイズ、代謝状態、実験条件など複数の要因によって変化する可能性があります。図 1 に、すべての蛍光検出チャンネルにわたるさまざまな未染色サンプルの蛍光強度分布を示します。未染色の安定化したヒト末梢血では、細胞集団ごとに蛍光強度は異なりますが、そのシグネチャは類似しています (図 1A)。これに対し、未染色のマウス肺細胞では、集団によって自家蛍光シグネチャが著しく異なります (図 1B)。また、サンプルタイプが同じでも、安定化したヒト末梢血リンパ球の自家蛍光は、新鮮なヒト末梢血リンパ球よりはるかに高強度になっています (図 1C および D)。

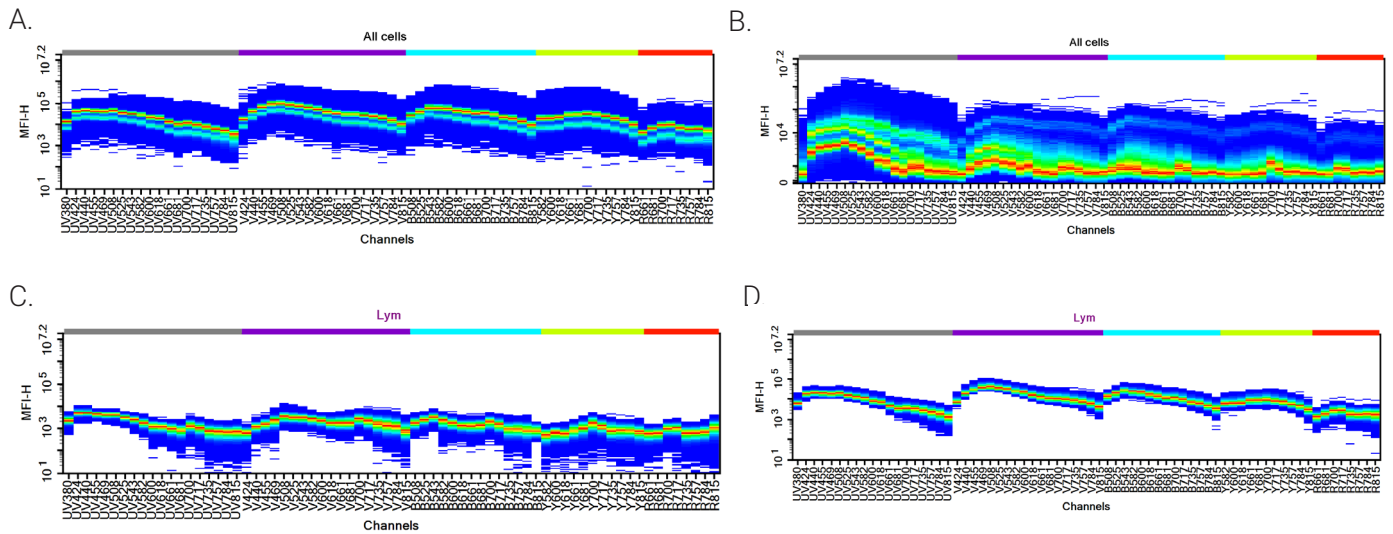


図 1. さまざまなサンプルの未染色集団のスペクトル密度プロット。(A) すべての集団が含まれる未染色の安定化したヒト血液細胞。(B) すべての集団が含まれる未染色のマウス肺細胞。(C) 未染色の新鮮なヒト血液サンプルのリンパ球。(D) 未染色の安定化したヒト血液サンプルのリンパ球

新鮮な/安定化したヒト血液細胞からの自家蛍光の除去

ヒト血液サンプル中のさまざまな集団の自家蛍光シグネチャが非常に類似していることを踏まえると、自家蛍光の抽出のためにアンミキシング処理に自家蛍光スペクトルを 1 つ含めれば十分です。安定化したヒト血液細胞または新鮮なヒト血液細胞については、FSC/BSSC プロットにもとづいてリンパ球をゲーティングし、自家蛍光集団として設定しました (図 2A および B、新鮮な血液サンプルの例)。新鮮な血液サンプルの自家蛍光信号強度は低い (図 1C)、アンミキシング処理に自家蛍光の除去を含めた場合と含めない場合のアンミキシング結果に違いは認められませんでした (図 2C)。つまり、均一で低い自家蛍光信号を示すサンプルについては、アンミキシング処理で自家蛍光スペクトルを含めるかどうかは任意です。

一方、安定化したヒト血液サンプルでは、自家蛍光信号の強度が大幅に高くなっています。完全染色サンプルでは、アンミキシング処理に自家蛍光の除去を組み入れることで、自家蛍光によるバックグラウンドを効果的に排除し、細胞集団の識別を強化できます (図 2D)。つまり、目的とする集団が強い均一な自家蛍光を示す場合は、アンミキシングステップに自家蛍光の除去を含めることで、特定の細胞集団を同定する際の分離と精度を大幅に向上させることができます。

ただし、疾病状態、活性化条件、薬物療法などの事柄が血液サンプルの自家蛍光に影響を与え、自家蛍光の強度と特性の追加調査が必要になる可能性があることに注意してください。

マウス脾細胞からの自家蛍光の除去

図 3A に示す未染色のマウス脾細胞のスペクトル密度プロットから、ほとんどの細胞が一貫した自家蛍光シグネチャを示す一方、少数亜集団が異なる自家蛍光プロファイルを示していることが明らかになりました。自家蛍光がそれぞれ異なるすべての細胞集団を体系的に特性解析するために、まず、FSC/SSC プロットにより目的の細胞集団をゲーティングして、壊死組織片や生育不能細胞を排除しました。その後、スペクトル密度プロット、および自家蛍光信号に差のあるチャンネルの二変量プロット (データ不掲載) を解析することで、自家蛍光シグネチャが異なる 2 つの集団 A1 および B を同定しました (図 3B)。それぞれのスペクトル特異性を確認するために、NovoExpress ソフトウェアのスペクトル類似性指数マトリックスを使用して乖離度を定量化しました (類似性指数が 0.95 以下の場合、異なる集団を意味します)。特に、A1 と B は 0.42 という低い類似性指数を示し、スペクトルの大幅な相違が確認されました (図 3C および 3D)。次に、確認した自家蛍光 (AF) A1 および AF B をスペクトルのアンミキシングワークフローに組み入れました。

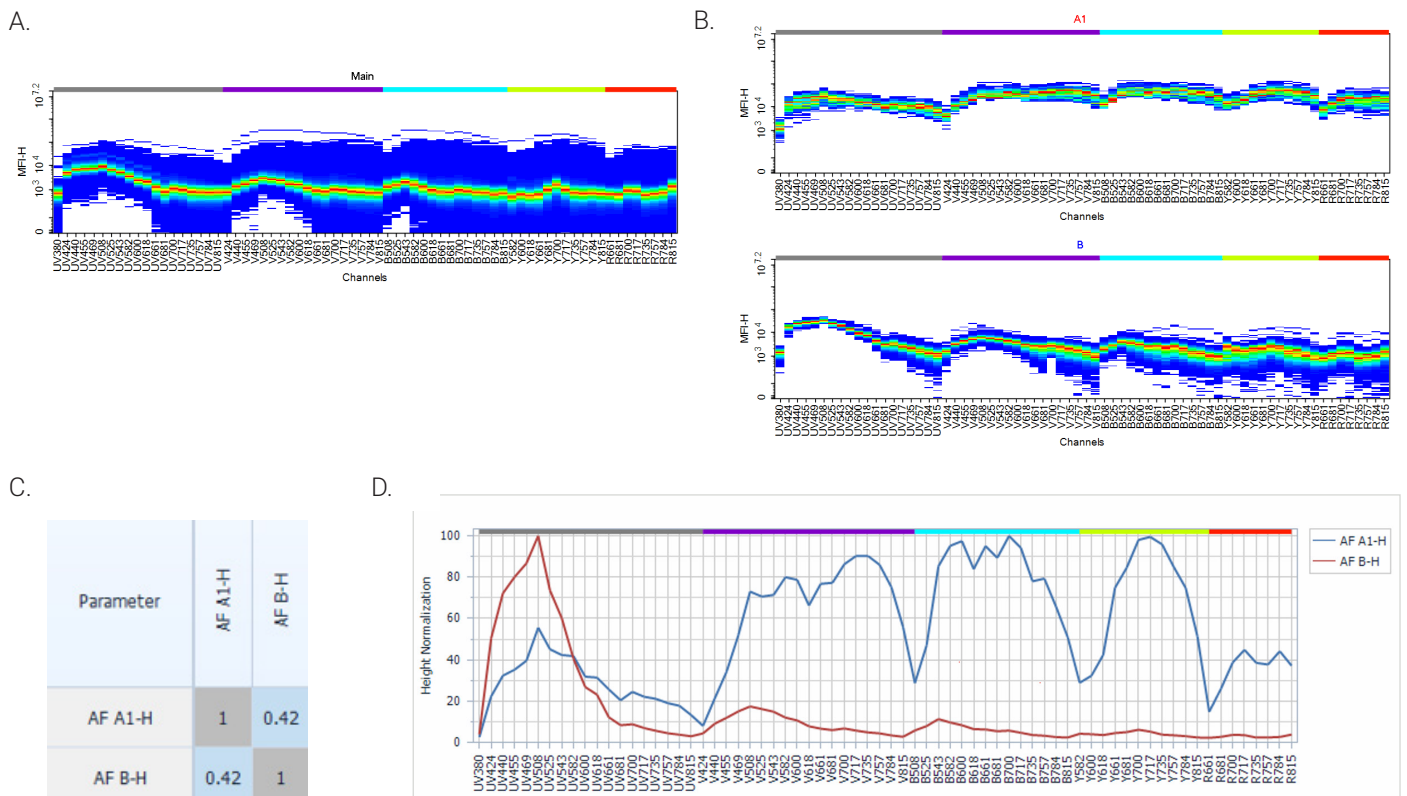


図 3. 未染色のマウス脾細胞サンプルでの異なる自家蛍光シグネチャの同定。(A) Main 集団のスペクトル密度プロット。(B) A1 集団と B 集団のスペクトル密度プロット。(C) 自家蛍光 (AF) A1 および AF B のスペクトル類似性指数マトリックス。(D) AF A1 および AF B のスペクトル

自家蛍光集団の特性解析後、これらの自家蛍光スペクトルを含めた場合と含めなかった場合のアンミキシング結果を比較しました。未染色サンプル (図 4A)、CD8a BV570 単一染色サンプル (図 4B)、および完全染色サンプル (図 4C) では、アンミキシングで自家蛍光スペクトルを含めなかった場合に、煩雑な偽陽性の集団 (赤矢印で示された部分) が作成されました。アンミキシング処理で AF A1 および AF B スペクトルを含めた場合は、これらのアーチファクトが排除され、正確な免疫表現型解析を行えました。最後に、完全染色サンプルの生物学的解析を図 5 に示します。免疫亜集団が正確に同定されています。

マウス肺細胞からの自家蛍光の除去

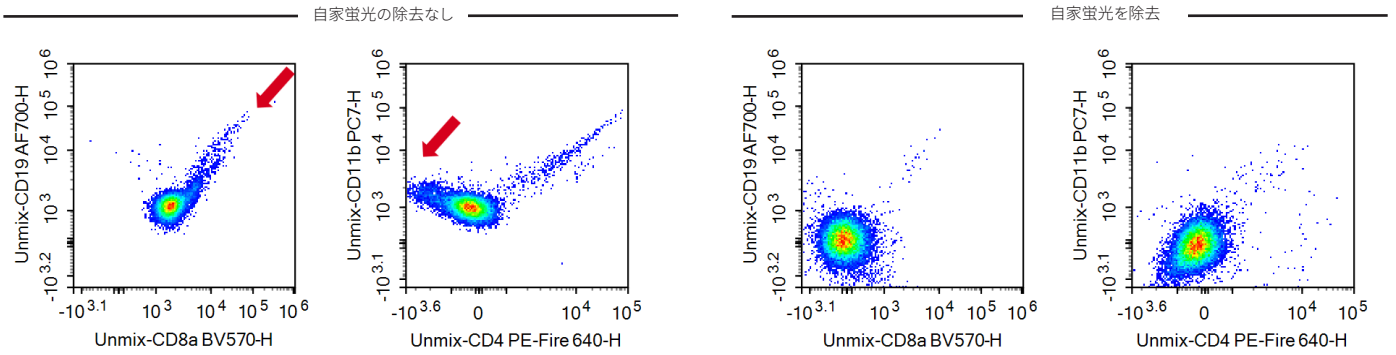
未染色のマウス肺サンプルでは、非常に不均一で強い自家蛍光信号が示され、FSC/BSSC プロットから個々の集団を識別するのは不可能でした。それぞれ自家蛍光シグネチャが異なるすべての集団を同定するために、目的とするすべての細胞を FSC/SSC から Main としてゲーティングしました。Main 集団のスペクトル密度プロットから、UV/V チャンネルにおけるピーク自家蛍光信号が明らかになりました (図 6A)。自家蛍光集団の識別には、強い、または不均一な自家蛍光信号を示しているチャンネルを使用しました。これにより、UV784/UV424 の密度プロットから 4 つの集団 (A ~ D) が同定され、ほかのチャンネルでの階層ゲーティングによりゲ-

トごとに均一な自家蛍光が確保されました (図 6B)。集団をスペクトル類似性指数 (0.95 以下) でフィルタリングし、類似したクラスターのうち強度が最も高い集団のみを残しました (図 6C)。最終的なアンミキシングでは、A2、B1、B3、および C1 の 4 つのユニークな自家蛍光スペクトルを用いました (図 6D)。

4 つの自家蛍光スペクトルの同定後、単一染色サンプルのアンミキシング結果が正確であることを確認しました。その後、スペクトルマトリックスを完全染色サンプルに適用しました。自家蛍光を含めた場合と含めなかった場合のアンミキシングの比較を図 7 に示します。未染色サンプル (図 7A)、CD24 BV421 単一染色サンプル (図 7B)、および完全染色サンプル (図 7C) において、アンミキシングで自家蛍光を含めなかった場合に、煩雑な偽陽性の集団が作成されました (シアンで示されている部分)。アンミキシング処理で 4 つの自家蛍光スペクトルを含めた場合は、これらのアーチファクトが排除され、免疫表現型解析の精度が向上しました。最後に、完全染色サンプルの生物学的解析を図 8 に示します。免疫亜集団が正確に識別されています。

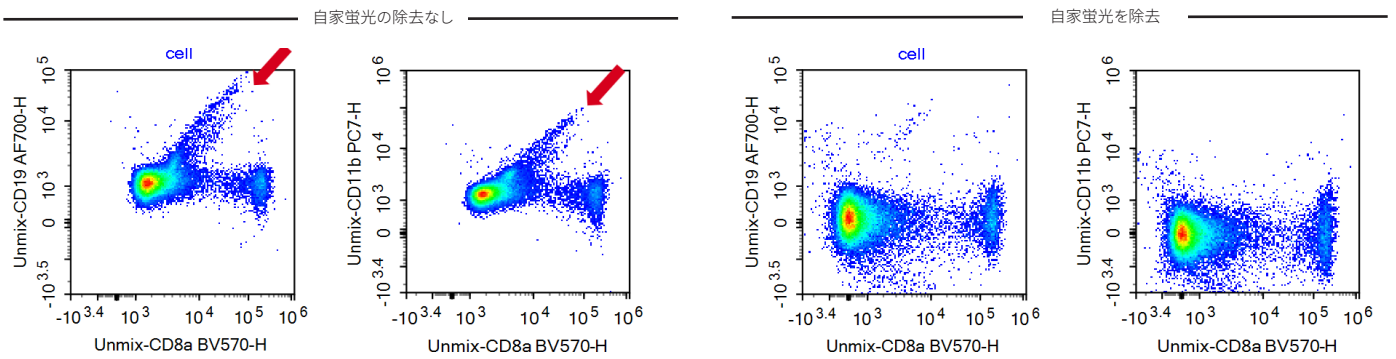
A.

未染色サンプル



B.

CD8a BV570 単一染色サンプル



C.

完全染色サンプル

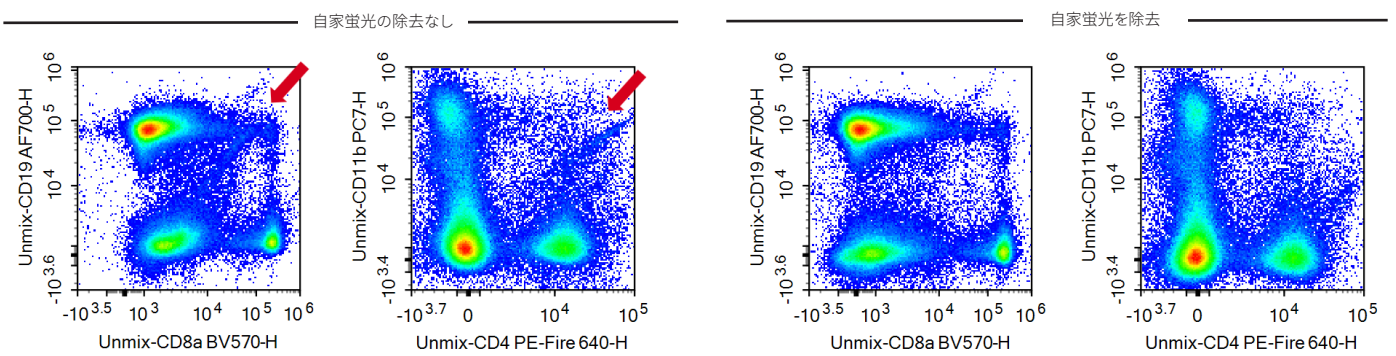


図 4. マウス脾細胞の免疫表現型解析 8 色パネルにおける自家蛍光除去の効果。アンミキシングワークフローで自家蛍光スペクトルを含めた場合と含めなかった場合の未染色サンプル (A)、CD8 BV570 単一染色サンプル (B)、および完全染色サンプル (C) の代表的プロット

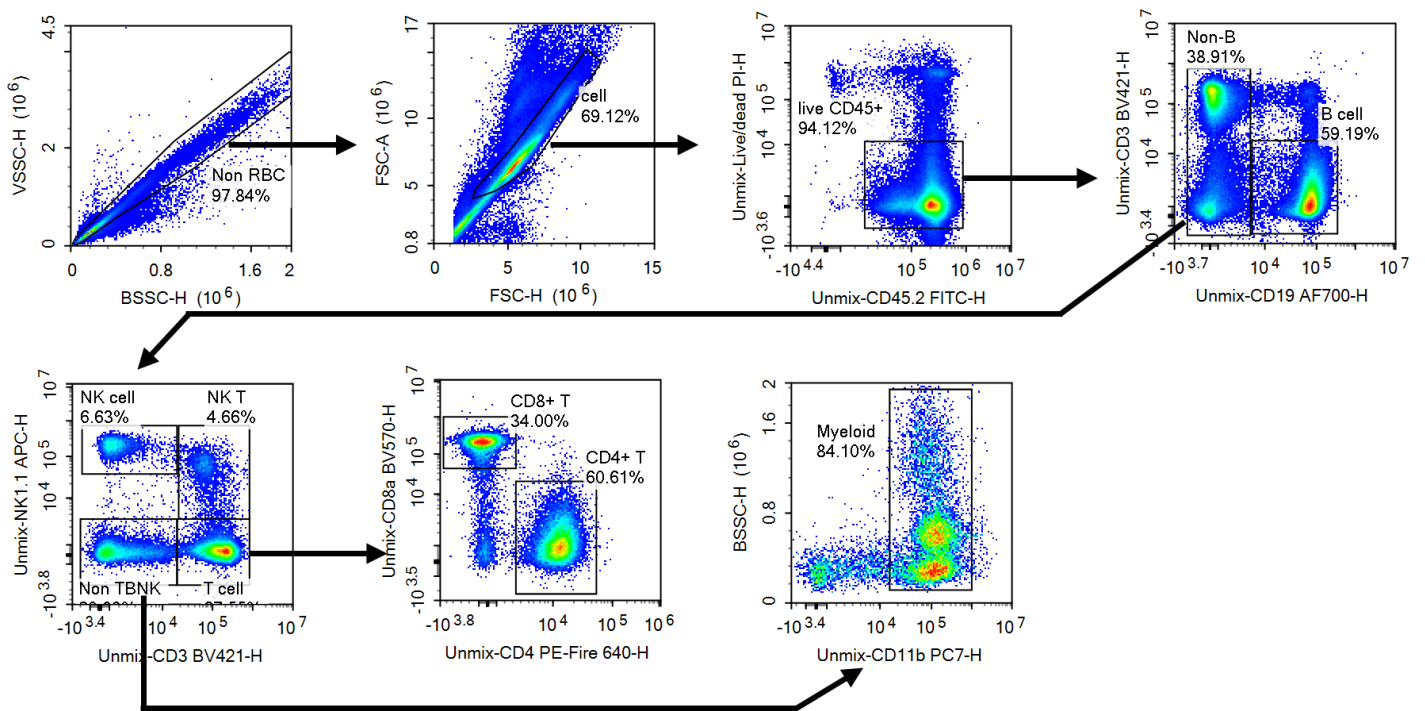


図 5. 自家蛍光が十分に除去されたマウス脾細胞の表現型解析の例。段階的なゲーティングを適用して次の細胞集団を同定：B 細胞、NKT 細胞、NK 細胞、CD8a+ T 細胞、CD4+ T 細胞、骨髓系細胞

単一染色サンプルの陰性集団と陽性集団の異なる自家蛍光特性によるスペクトル計算への悪影響

強い自家蛍光を示す非常に不均一なサンプルでは、単一染色サンプルですべての蛍光色素のスペクトルを正確に計算することが困難な場合があります。例えば、図 9A に示すように、CD24 BV510 単一染色サンプルのアンミキシングは、陽性集団の信号から陰性集団の信号を減算した後も正確ではありませんでした。CD24 BV510 単一染色サンプルの Main 集団のスペクトル密度プロット (図 9B) を使用して BV510 のスペクトルを計算したところ、チャンネル UV424 から UV661 までの信号強度が異なる細胞集団が存在するが、陰性集団にも陽性集団にも相当しないことが示されました。これは、この集団における自家蛍光の不均一性によって生じた結果です。陽性の信号から陰性の信号を減算して計算された参照スペクトルは、実際には陰性集団と陽性集団の自家蛍光信号の差を表します。このケースでは、自家蛍光強度が均一な陰性集団と陽性集団を同定する必要があります。自家蛍光信号が強く、異なっており、特異的な蛍光色素信号がないチャンネルを選択すれば、同一の自家蛍光を持つ集団を同定しやすくなります。

今回は、図 9C に示すように、UV757/UV424 の密度プロットを使用して、自家蛍光強度が均一な E12 集団を同定しました。また、E12 で陰性集団と陽性集団をゲーティングすることにより、均一な自家蛍光強度が確保され、BV510 のスペクトル計算精度が向上します。補正後のスペクトルを使用したアンミキシング結果を図 9D に示します。

さらに複雑なケースでは、陽性集団のみを示し、対応する陰性集団がない単一染色サンプルもあります。このような場合は、より高度なアプローチが必要です。陽性集団に対応し、自家蛍光強度が均一な陰性集団は、未染色サンプルで同定する必要があります。このような複雑なケースには、単一染色サンプルに対してコンペーションビーズを使用することをお勧めします。

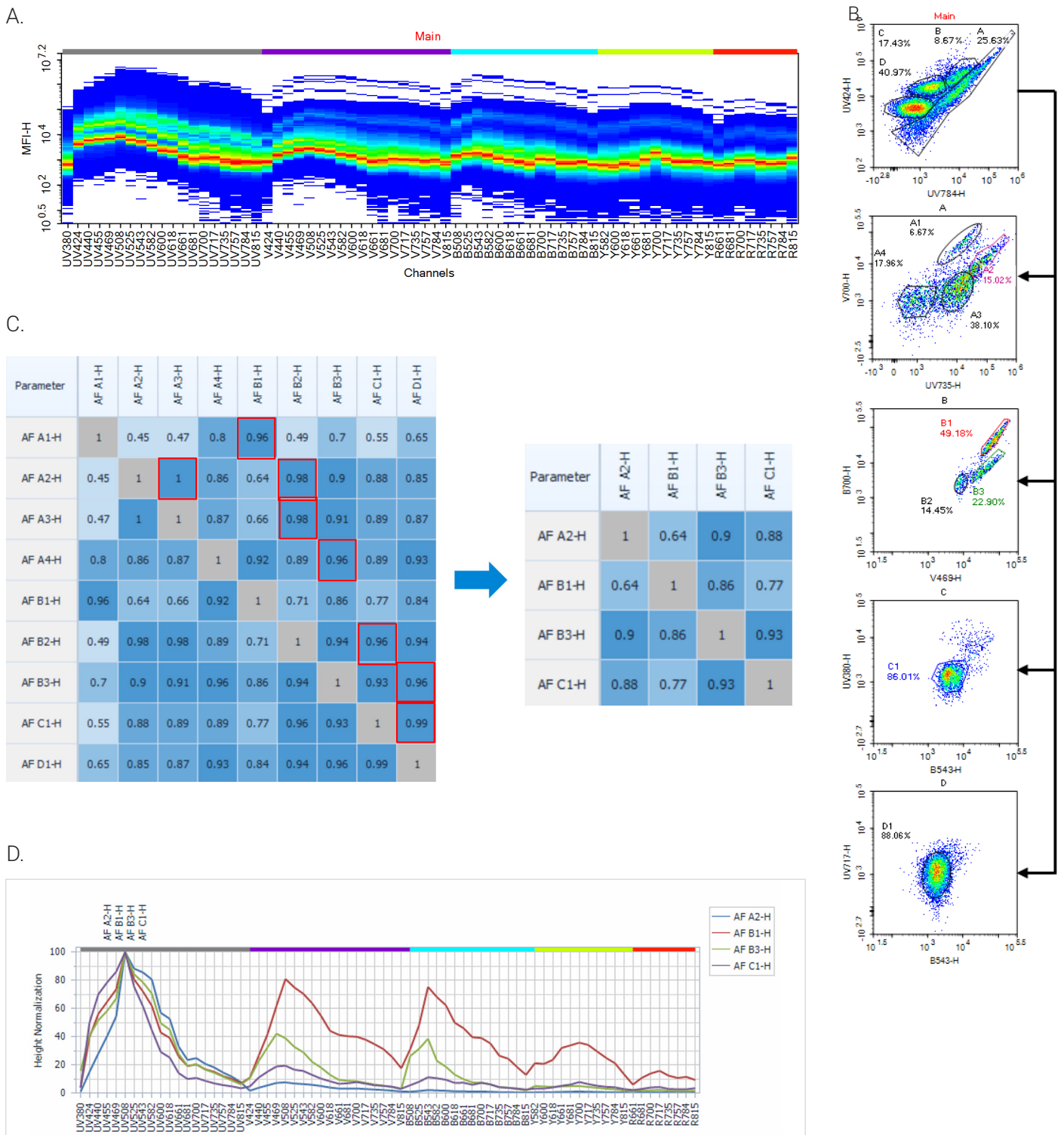
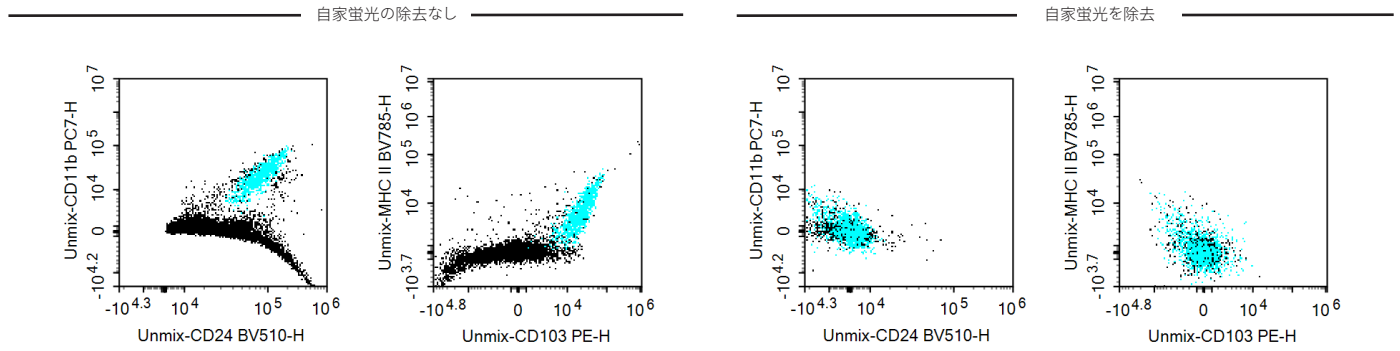


図 6. 未染色のマウス肺サンプルでの異なる自家蛍光シグネチャの同定。(A) Main 集団のスペクトル密度プロット。(B) さまざまなチャンネルを用いた階層ゲートングによる、自家蛍光シグネチャが均一な集団の同定。(C) 類似性指数マトリックスを使用した自家蛍光スペクトルのフィルタリングにより 9 個のスペクトル (左) を 4 つ (右) に絞り込み。(D) 自家蛍光 (AF) A2、AF B1、AF B3、および AF C1 のスペクトルシグネチャ

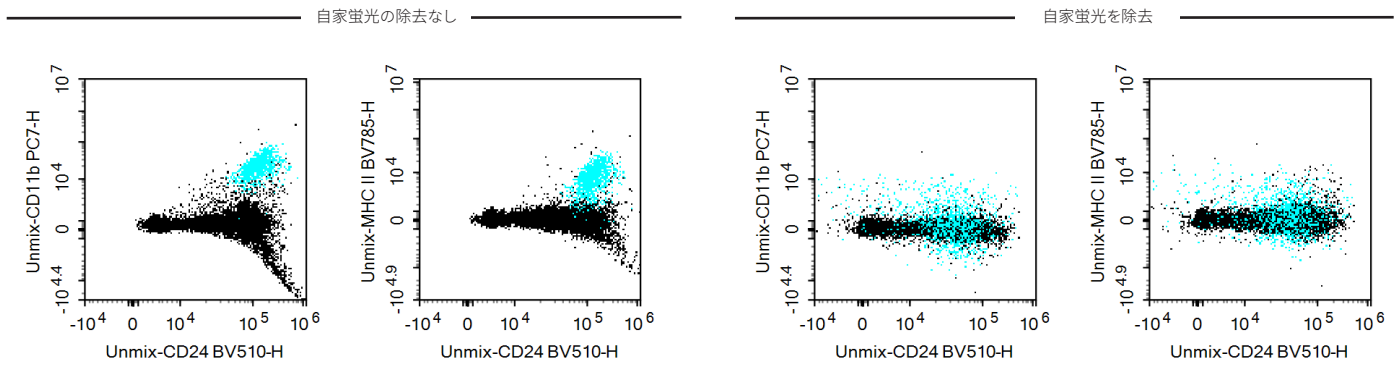
A.

未染色サンプル



B.

CD24 BV421 単一染色サンプル



C.

完全染色サンプル

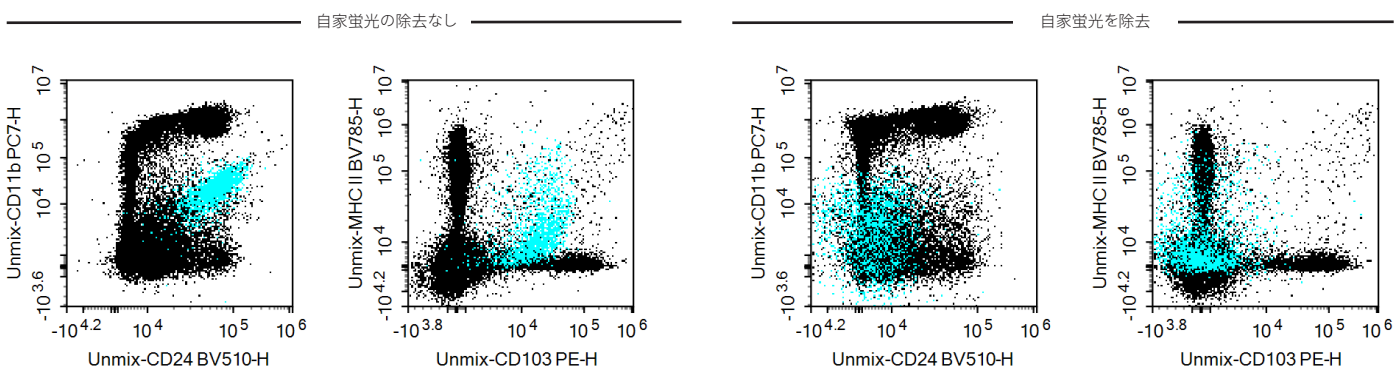


図 7. マウス肺細胞の免疫表現型解析 14 色パネルにおける自家蛍光除去の効果。自家蛍光スペクトルを除去した場合と除去しなかった場合の未染色サンプル (A)、CD24 BV510 単一染色サンプル (B)、および完全染色サンプル (C) の代表的プロット

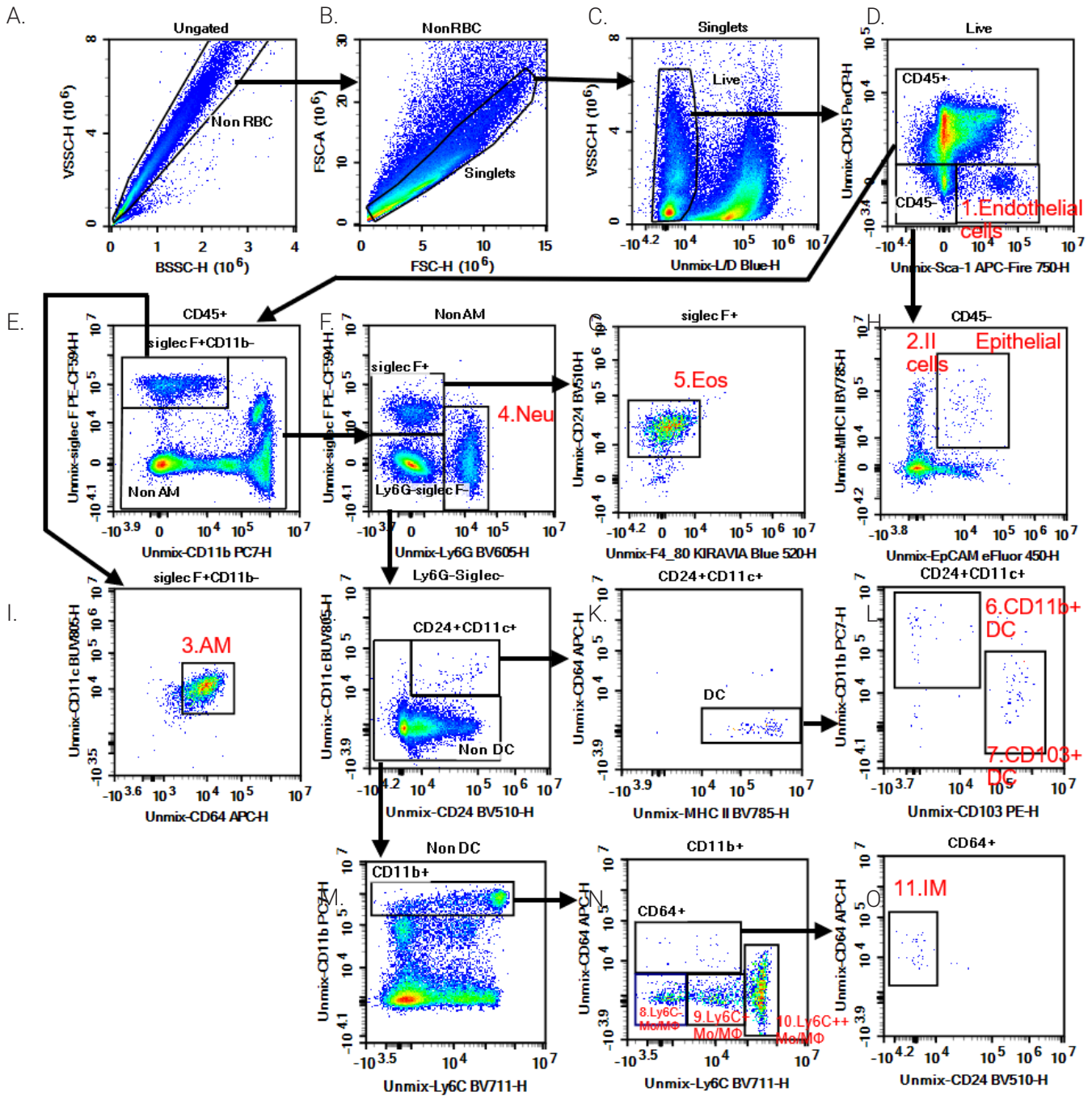
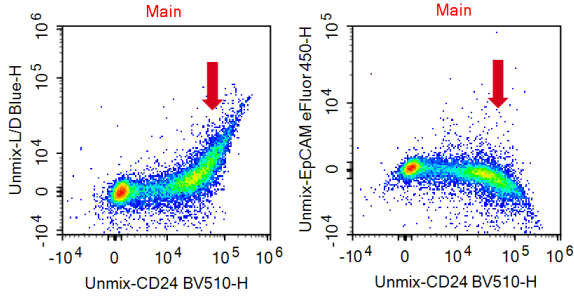


図 8. 自家蛍光が十分に除去されたマウス肺細胞の表現型解析の例。階層ゲーティングを適用して次の細胞集団を同定：(1) 内皮細胞、(2) II 型上皮細胞、(3) 肺マクロファージ、(4) 好中球、(5) 好酸球、(6) CD11b⁺ 樹状細胞、(7) CD103⁺ 樹状細胞、(8) Ly6C⁻ 単球/マクロファージ、(9) Ly6C⁺ 単球/マクロファージ、(10) Ly6C⁺⁺ 単球/マクロファージ、(11) 間質マクロファージ

A. 不正確な BV510 スペクトルを用いた場合



D. 補正後の BV510 スペクトルを用いた場合

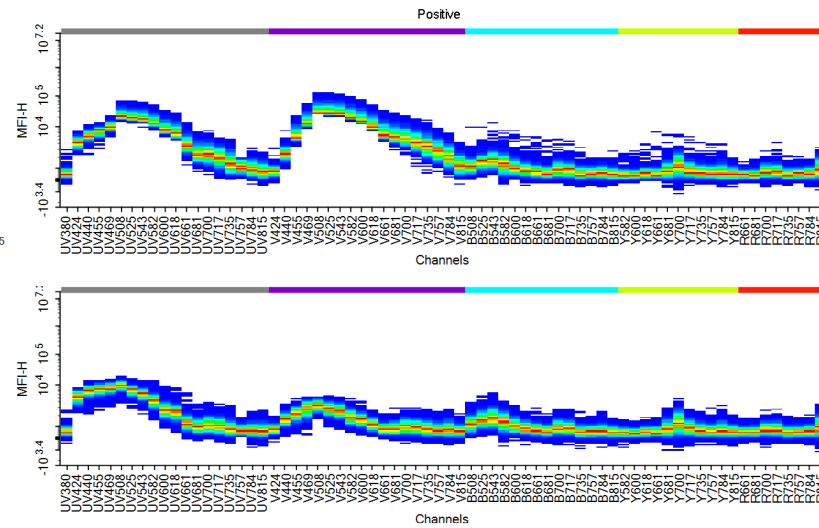
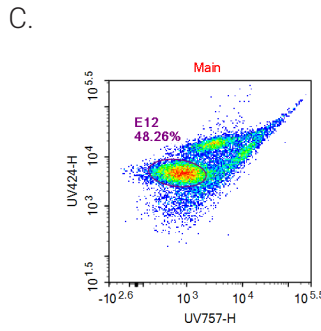
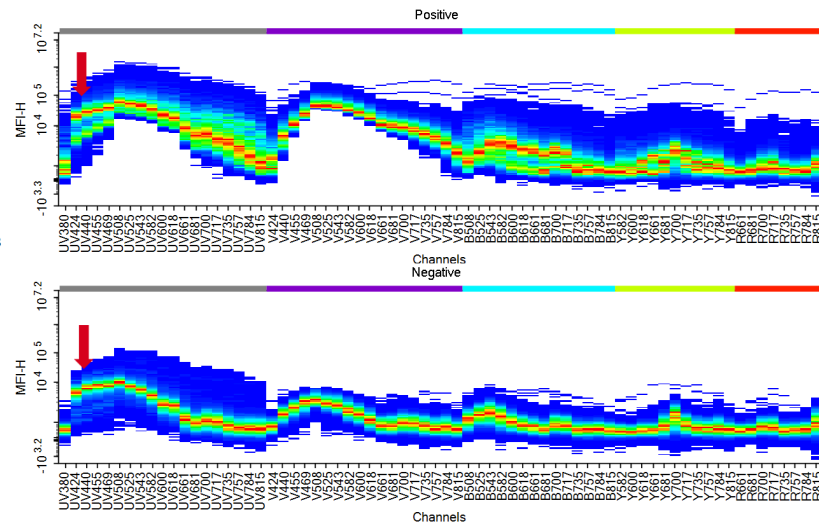
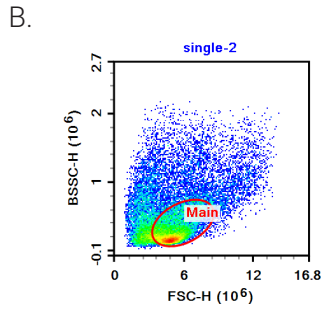
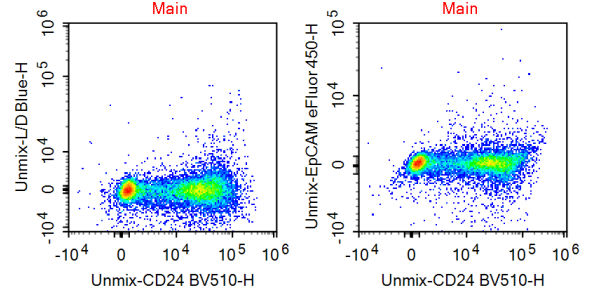


図 9. CD24 BV510 単一染色のマウス肺サンプルの、自家蛍光強度が均一な陰性集団と陽性集団の同定。(A) あまり正確ではないスペクトルを用いた単純計算による CD24 BV510 単一染色サンプルのアンミキシング後のデータ。(B) CD24 BV510 単一染色サンプルの Main 集団に含まれる陽性集団と陰性集団のスペクトル密度プロット。(C) 同一の自家蛍光信号を持つ陽性集団と陰性集団の同定。UV757/UV424 の密度プロットにより Main 集団から E12 をゲーティングし、E12 にもとづいて陽性集団と陰性集団のスペクトル密度プロットを確認。(D) 同一の自家蛍光信号を持つ陽性集団と陰性集団にもとづく補正スペクトル計算による CD24 BV510 単一染色サンプルのアンミキシング結果

まとめ

このアプリケーションノートでは、スペクトルフローサイトメトリによる自家蛍光の同定メソッドを、新鮮なヒト末梢血サンプルと安定化したヒト末梢血サンプル、マウスの脾臓サンプルと肺サンプルを使用して説明しました。また、自家蛍光スペクトルを含めた場合と含めなかった場合のアンミキシングの比較を通して、自家蛍光の影響がサンプルタイプによって変化することを示しました。自家蛍光が解析に影響を与えるかどうか、またその程度は、自家蛍光の均一性と信号強度によって異なります。重要なのは、自家蛍光が特定の強度に達する場合、または不均一性を示す場合には、自家蛍光スペクトルをアンミキシングに組み入れると、信号分解能および解析精度が向上することです。

概して、自家蛍光特性はサンプルによって異なるため、適切な自家蛍光の除去手法を選択することが、スペクトルフローサイトメトリのアンミキシング結果の精度を確保するうえできわめて重要になります。自家蛍光を異なるスペクトル特性として扱い、正確な自家蛍光の除去と高分解能のデータ取り込みを実現する Agilent NovoCyte Opteon スペクトルフローサイトメータ、その高度な機能、および NovoExpress ソフトウェアにより、このことが裏付けられました。

参考文献

1. Monici, M. Cell and tissue autofluorescence research and diagnostic applications. *Biotechnol Annu Rev.* **2005**, *11*, 227-56. DOI: 10.1016/S1387-2656(05)11007-2.
2. Ferrer-Font, L.; Small, S.J.; Lewer, B.; Pilkington, K.R.; Johnston, L.K.; Park, L.M.; Lannigan, J.; Jaimes, M.C.; Price, K.M. Panel optimization for high-dimensional immunophenotyping assay using full-spectrum flow cytometry. *Curr Protoc.* **2021**, *1*(9), e222. DOI: 10.1002/cpz1.222.
3. Mitchell, A.J.; Pradel, L.C.; Chasson, L.; Van Rooijen, N.; Grau, G.E.; Hunt, N.H.; Chimini, G. Technical advance: autofluorescence as a tool for myeloid cell analysis. *J Leukoc Biol.* **2010**, *88*(3), 597-603. DOI: 10.1189/jlb.0310184.
4. Lokwani, R.; Chaudhari, R.; Wolf, M. T.; Sadtler, K. Spectral cytometry on highly autofluorescent samples. *Nat Rev Meth Primers.* **2022**, *2*(71). DOI: 10.1038/s43586-022-00156-0.
5. Roet, J. E. G.; Mikula, A. M.; de Kok, M.; Chadick, C. H.; Garcia Vallejo, J. J.; Roest, H. P.; van der Laan, L. J. W.; de Winde, C. M.; Mebius, R. E. Unbiased method for spectral analysis of cells with great diversity of autofluorescence spectra. *Cytometry A.* **2024**, *105*(8), 595-606. DOI: 10.1002/cyto.a.24856.

このアプリケーションで使用された製品

アジレント製品

[Agilent NovoCyte Opteon スペクトルフローサイトメータ](#) 

[Agilent NovoExpress ソフトウェア](#) 

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

RA260223.635

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2026
Printed in Japan, March 3, 2026
5994-8794JAJP

販売店