

NEWSLETTER

Core Facility Zytometrie

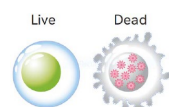
Inhalt dieser Ausgabe:

- Viabilitätsfarbstoffe
- Spillover Spreading Matrix
- Aufruf „Antikörper Spenden“
- Bestellung von Antikörperproben

Warum Viabilitätsfarbstoffe?

Viabilitätsfarbstoffe für den Ausschluss von toten Zellen bringen viele Vorteile in der Durchflusszytometrie:

- **Reduzierung von unspezifischer Färbung und Autofluoreszenz**
- **Bessere Ergebnisse bei funktionellen Assays**
- **Effizientere Sortierung**
- **Leichtere Identifikation von Zellen nach der Fixierung**



Klassen von Viabilitätsfarbstoffen

DNA-interkalierende Farbstoffe: können nur permeable Membranen von toten Zellen passieren. *Bsp.: DAPI, Propidium Iodid, 7-AAD*

- + einfache Anwendung, kostengünstig
- breites Emissionsspektrum, nicht kombinierbar mit Fixierung und intrazellulärer Färbung

Enzym-aktivierte Farbstoffe: nur lebende Zellen verfügen über funktionelle Esterasen und werden gefärbt. *Bsp.: Calcein-AM*

- + spezifisch, nicht cytotoxisch, schärfere Emissionsspektren
- teurer als DNA Farbstoffe, nicht kombinierbar mit Fixierung und intrazellulärer Färbung

Amin-reaktive Farbstoffe: binden an Amino Termini von Proteinen. Tote Zellen haben durchlässige Zellmembranen, daher werden mehr Proteine gefärbt. *Bsp.: Horizon FV Dyes, Zombie Dyes, Ghost Dyes, LIVE/DEAD*

- + spezifisch, fixierbar, nicht cytotoxisch, schärfere Emissionsspektren, ideal für Multicolor
- binden freies Protein Serum (kein BSA beim Färben verwenden!), teurer als DNA Farbstoffe

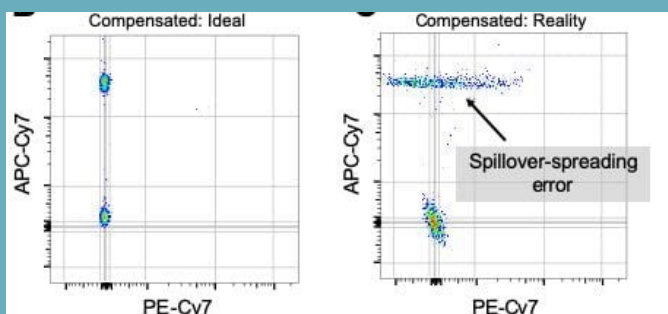
ACHTUNG: DNA-interkalierende Farbstoffe sind sehr „sticky“ und verbleiben lange in der Sample line des Durchflusszytometers! Bitte achtet bei der Verwendung dieser Farbstoffe auf folgendes:

1. Ungefärbte Proben stets zu Beginn messen!
2. Gründliche Spülung des Durchflusszytometers nach der Messung!
3. Mache einen Vermerk auf dem User Log, um böse Überraschungen für nachfolgende Nutzer*innen zu vermeiden!

Die Core Facility stellt auch ungefärbte tote Zellen zur Verfügung, um auf mögliche Rückstände zu testen!

Spillover Spreading Matrix (SSM)

Je mehr Signale von mehreren Fluoreszenzfarbstoffen in einen Detektor einfließen, desto mehr streuen die nominell negativen Verteilungen (=Spillover-Spreading). Der Grad der Streuung nimmt mit der Fluoreszenzintensität als auch dem Ausmaß an spektraler Überlappung zu. Dies führt letztlich zu einer verminderten Sensitivität des Detektors.



© Laura Johnston (University of Chicago)

Eine Spillover-Spreading-Matrix (SSM) dient zur Quantifizierung des Ausmaßes des Spillover-Spreadings zwischen Detektorpaaren und ist ein nützliches Tool für den **Vergleich der Geräte Performance** und für das **Design von Multicolor-Panels** (TIPP: siehe dazu auch unseren Leitfaden [Panel Design](#)).

Damit die Core Facility eine SSM erstellen kann, benötigen wir möglichst viele verschiedene Fluorophore-getaggte Antikörper!

Können Ihr ein paar µl Eures Antikörpers entbehren?

Dann meldet Euch gerne bei uns!

TIPP: Bis 31. Oktober 2024 gibt es eine Antikörper Sample Aktion von Szabo Scandic:



Contact
www.szabo-scandic.com

High-quality antibodies for precise protein detection – Request up to 3 samples now!



[Hier können bis zu 3 Samples bestellt werden :\)](#)

Bei weiteren Fragen, kontaktiert uns einfach unter:
ZMF-CF-Zytometrie@jku.at

Vielen Dank und viel Erfolg bei Euren Experimenten!