

SH800 解析サンプル等の準備について

1. 解析サンプルは下記を参考の上、ご準備ください。

濃度: $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cells/ml程度を目安に調製してください。装置の詰まりを防ぐため、また正確なデータを得るため、濃い場合は希釈してください。

容量: 初回測定の際は、0.5 ml 以上あると安心です。ソーティングを実施する場合は、目的細胞等の割合・分取効率・分取数等によって、必要量が変わります。

(例: サンプル濃度 1×10^6 cells/ml、ソーティングする目的細胞が全イベント中 2%、分取効率 70%の場合、サンプル 1 ml から分取される目的細胞数はおよそ 14,000 個)

バッファー類: 細胞を懸濁するバッファーは、孔径 $0.22 \sim 0.8 \mu\text{m}$ のフィルターを通したものをお使いください。測定対象細胞が数 μm の場合は、ゴミとの判別を可能にするため、 $<0.45 \mu\text{m}$ のフィルター処理を推奨します。

蛍光染色:

[単染色の場合] 無染色細胞をご準備ください。感度調整等で使用します。

[多染色の場合] 無染色細胞と単染色細胞をご準備ください。感度調整や蛍光補正等で使用します。

フィルタリング: ソーティング時の凝集を回避し、装置の詰まりを防止するため、サンプルは $35 \sim 40 \mu\text{m}$ 程度のフィルターに通してください。

その他注意点:

・細胞破砕物や不純物などを多く含むサンプルは、それらを除去する処理をお願いします。
(例: 目的細胞が沈む程度の低速遠心を行い、上清を新しいバッファーに交換)

・目的の細胞集団が得られているか、ゴミ等が多数含まれていないか、目的細胞が染色されているか等を顕微鏡で事前に確認すると確実です。307c 室の蛍光顕微鏡(ニコン ECLIPSE Ts2-FL)をご活用ください。SH800 利用に伴うご使用時は無料です(他の利用では、実験室利用登録が必要)。

・サンプルの粘性にご注意ください。粘性が高い場合、サンプルの凝集による詰まり、サンプル流の乱流、データの乱れや分取効率低下等のトラブルが生じやすくなります。適切なバッファーでサンプルを洗浄し、測定可能な状態まで調製をお願いします。

2. 解析・ソーティング当日、以下のものをご持参ください。

サンプルチューブ

※適応チューブ表に記載されているチューブをご準備ください。

孔径 35~40 μ m フィルター

※未滅菌のナイロンメッシュであれば、FCM 室に備えています(無料)。

※測定直前にフィルターに通すことで、サンプルの凝集塊、ゴミ等によって生じるライン詰まりのトラブルが低減します。

ソーティングチップ

製品名	注文コード	細胞の大きさや使用目的
ソーティングチップ(100 μ m)	LE-C3210	15-20 μ m 以下
ソーティングチップ(130 μ m)	LE-C3213	20-25 μ m 以下 ダメージの少ないソーティング

※支援センターで購入したソーティングチップ(3,000 円/枚)を使用する場合は、持参不要です。事前に在庫の有無を機器担当にお問い合わせください。

※旧型式 LE-C3110 も使用可能です。

サンプル懸濁に使用したバッファー

※サンプルが濃い場合に希釈で使用します。また、電気ノイズやゴミ等を判別するため、バッファーの測定が必要になる場合があります。

回収用チューブ/プレート

※適応チューブ表に記載されているものをご準備ください。

※384 プレートソーティングモードは搭載されていません。

コレクション用バッファー

※回収する細胞等に適したバッファーをご準備ください。

廃液を持ち帰るための容器

※流しに廃棄できないサンプルの場合、必要です。

ピペット&チップ

USB メモリなど

2022.12.21 改訂

農学研究院研究教育支援センター

サンプル側 適応チューブ表

0.5ml holder

Manufacturer	Sumitomo Bakelite	As one
Product Name	Proteosave SS	PCR tube
Type	MS-4201X MS-4205M MS-4255M	2-8086-02
Material	Sumiron proteosave	Polypropylene
Compatibility	OK	OK

1.5ml holder

Manufacturer	Sumitomo Bakelite	As one
Product Name	Proteosave SS	Low adsorption tube
Type	MS-4202X MS-4215M MS-4265M	2-3971-02
Material	Sumiron proteosave	Polypropylene
Compatibility	OK	OK

サンプル用チューブ

1. サンプル用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

サンプル側 適応チューブ表

5ml holder

Manufacturer	Falcon	Falcon
Product Name	Falcon tube (PS)	Falcon tube (PP)
Type	352003 352008 352054 352058 352235	352002 352053 352052 352063
Material	Polystyrene	Polypropylene
Compatibility	OK	OK

サンプル用チューブ

1. サンプル用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

サンプル側 適応チューブ表

15ml holder

Manufacturer	Falcon	Sumitomo Bakelite	As one
Product Name	Falcon tube (PP)	Proteosave SS	Centrifuging tube
Type	352096 352097 352196	MS-52150	2-8089-11(ECK-15ML-R)
Material	Polypropylene	Sumiron proteosave	Polypropylene
Compatibility	OK	OK	OK

Manufacturer	NUNC	Kartell
Product Name	Centrifuging tube	Conical tube
Type	366036 339650	84000 84001 84006 84007 84008 84010
Material	Polypropylene	Polypropylene
Compatibility	OK	OK

サンプル用チューブ

1. サンプル用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

洗浄専用 適応チューブ表

30ml holder for Careful Cleaning(NotForSample)

Manufacturer	SARSTEDT
Product Name	Centrifuge tube with Cap 30ml
Type	60.544 60.544S(Sterilized) 60.545(Sterilized)
Material	Polypropylene
Compatibility	OK

Careful洗浄専用チューブ

1. Careful洗浄チューブは上記の対応確認済み専用チューブを使用してください

コレクション側 適応チューブ表

5ml holder

Manufacturer	Falcon	BM Equipment
Product Name	Falcon tube (PS)	Test tubes 12x75mm 4.0ml
Type	352003 352008 352054 352058 352235	BMT-1275-PP
Material	Polystyrene	Polypropylene
Compatibility	OK	OK

コレクション用チューブ

1. コレクション用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

コレクション側 適応チューブ表

15ml holder

Manufacturer	Falcon	Sumitomo Bakelite
Product Name	Falcon tube (PP)	Proteosave SS
Type	352096 352097 352196	MS-52150
Material	Polypropylene	Sumiron proteosave
Compatibility	OK	OK

Manufacturer	NUNC
Product Name	Centrifuging tube
Type	366036
Material	Polypropylene
Compatibility	OK

コレクション用チューブ

1. コレクション用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

コレクション側 適応チューブ表

8 well strip plate holder

Manufacturer	Thermo Scientific	Sumitomo Bakelite	Corning International
Product Name	Piece 8-well strip plates	Separate plate 8 FM	PCR tube strips 8 well
Type	15031	MS-8508M	9102
Material	Polystyrene	Polystyrene	Polystyrene
Compatibility	OK	OK	OK

96 well plate holder

Manufacturer	Falcon	Falcon	Falcon
Product Name	6 well micro plate	12 well micro plate	24 well micro plate
Type	351146	351143	351147
Material	Polystyrene	Polystyrene	Polystyrene
Compatibility	OK	OK	OK

Manufacturer	Falcon	Falcon
Product Name	48 well micro plate	96 well micro plate
Type	351178	351172
Material	Polystyrene	Polystyrene
Compatibility	OK	OK

コレクション用チューブ

1. コレクション用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

コレクション側 適応チューブ表

384 Well plate holder →支援センターにはありません

Manufacturer	Corning
Product Name	384 Well Clear Flat Bottom
Type	#3702
Material	Polystyrene
Compatibility	OK

コレクション用チューブ

1. コレクション用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください

コレクション側 適応チューブ表

96 PCR plate holder

Manufacturer	Roche Diagnostics	Roche Diagnostics
Product Name	LightCycler 8-tube strips	LightCycler multiwell plate 96
Type	6327672	4729692
Material	Polystyrene	Polystyrene
Compatibility	OK	OK ※製造停止 (230925確認)

→メーカー動作確認済み (230925追記)
LightCycler® 8-Tube Strips (white)
(Roche Diagnostics 06612601001)

384 PCR plate holder →支援センターにはありません

Manufacturer	Roche Diagnostics	Roche Diagnostics	Bio-Rad
Product Name	LightCycler multiwell plate 384, White	LightCycler multiwell plate 384, Clear	Hard-Shell 384-Well 480 PCR Plates
Type	4729749001	05102413001	HSR-4801
Material	Polypropylene	Polystyrene	Polystyrene
Compatibility	OK	OK	OK

コレクション用チューブ

1. コレクション用チューブは上記の対応確認済みチューブを使用してください