

## セルアナライザー Sony EC800

## 【概要】

メーカー：ソニー株式会社

型式等：セルアナライザー EC800 C5C

設置場所：ウエスト 5 号館 307a 室

## 【原理・特色】

流体中に懸濁させた粒子（細胞）を毎秒数万個流し、目的粒子のサイズや内部構造の複雑さ、蛍光標識した抗体などを利用した抗原の有無やその割合などを光学的に検出し、客観的に分析することができる。

本装置は、従来のフローサイトメーターの機能に加え、新たなパラメーター：細胞体積定量EV（Electric Volume）の測定ができ、これまで散乱光だけでは分離できなかった新たな細胞集団を得る事が可能です。また、全自動サンプラーにより、試薬の分注～ピペッティング、さらには測定後のシャットダウン洗浄まですべて自動で行うことができ、さらに 24 bit の超ダイナミックレンジで測定されるため、測定終了後に感度調整・蛍光補正も可能です。

その他詳細情報はメーカーHP をご参照下さい。↓

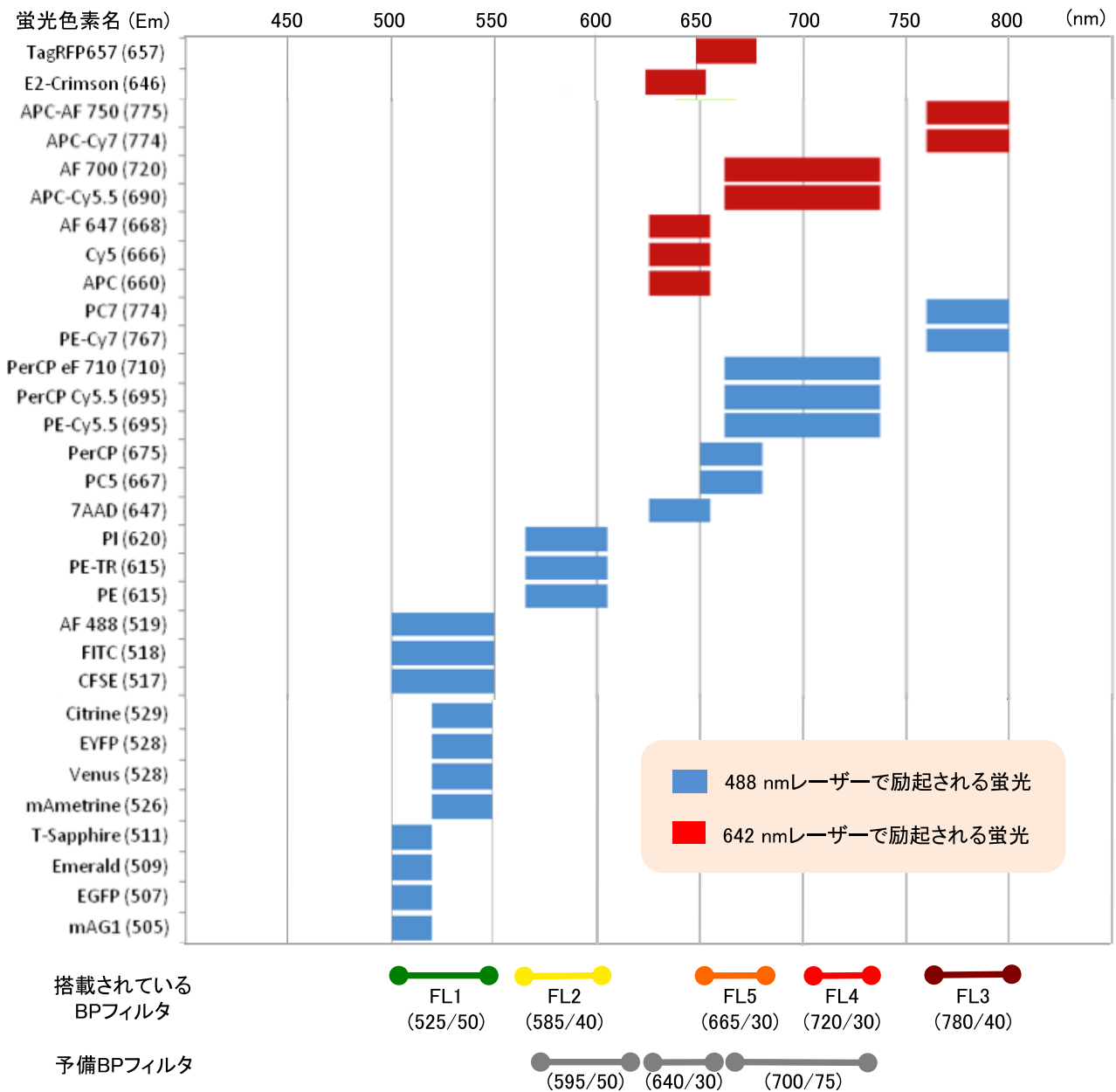
<http://www.sony.co.jp/Products/fcm/products/ec800/index.html>

## 【主な仕様】

励起波長(レーザー)	2レーザー(488 nm, 642 nm)
検出器蛍光フィルター*1	5カラー (FL1: 525/50, FL2: 585/40, FL5: 665/30, FL4: 720/30, FL3: 780/40, 他予備フィルターとして 595/50, 640/30, 700/75 もございます)
パラメーター	FS, SS, EV(体積), FL1-FL5, Time ratio
表示グラフ数	最大 19 グラフ
対数表示範囲	～6 Log
測定可能粒径	0.5 μm ～40 μm (分解能 0.1 μm 以下)
ファイル出力形式	FCS 3.0, 3.1(他社ソフトウェアで読み込み可能)
専用解析ソフトウェア	ライセンスフリー (環境:Windows 7 or 8, 64 bit)

\*1：顕微鏡などで使用されている一般的なサイズ(直径 25 mm)に対応していますので、研究室でお使いのフィルターを持ち込んでの解析も可能です。ご相談ください。

## ● EC800: レーザー, フィルターと色素の関係(当センター)



## 準備していただく物等 (EC800)

### [サンプルについて]

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

**必要量**：新規プロトコル作成時などは、設定条件を決めるために多めのサンプル (>0.5 ml 程) が必要です。プロトコル作成後は >0.1 ml (Run 設定条件等により異なります)。

**buffer 類**：細胞を懸濁する buffer は、ポアサイズ 0.22 ~0.8  $\mu\text{m}$  フィルターを通したものをご使用ください。特に数  $\mu\text{m}$  の小さなターゲットを観る場合は 0.45  $\mu\text{m}$  以下のフィルター処理をしないとゴミとの区別が難しくなります。

**多染色細胞解析の場合**：コントロールとして、無染色とそれぞれの単染色細胞もご用意ください (コンペンセーション調整に必ず必要です)。

### その他注意点：

- 粘性の高いサンプルや水と異なる比重のサンプル懸濁液はご使用できません。この場合、適切な buffer でサンプルを洗浄し、測定可能な状態まで調整をお願いします。また、特に粘性物質が細胞から放出された DNA であり、希釈してもその粘度が残る場合は、DNase などの前処理が必要になる事がございます (教書：実験医学別冊、『直伝フローサイトメトリー』 p.37 参照)。
- 細胞破砕物や不純物などを多く含むサンプルは、それらを取り除くような処理をお願いします。(例：目的細胞を低速の遠心で沈め、上清を綺麗な buffer に交換 (これを2回繰り返す))
- 比重の重いゴミ (鉍物等) が含まれる場合は、それを取り除くようお願いします (対処例：サンプル懸濁後、目的サンプル以外のすぐに沈むものを除く (=上清を採取する))。
- 目的の細胞集団が綺麗に得られているかどうか (ゴミが多くないか)、目的細胞がきちんと染色されているかどうか等を顕微鏡で事前に確認していただくと確実です。EC800 の前室 307c 室には汎用の蛍光顕微鏡 (ニコン TS2-FL) がありますので、必要に応じてご活用ください (注：EC800 ご利用時の使用は無料。その他の利用では、実験室利用登録が必要になります)

装置の詰まりを防ぐため、サンプルは測定直前に必ず 30 - 40  $\mu\text{m}$  の filter に通してください。簡易 filter (ナイロンメッシュ) でよろしければセンターで用意していますのでご自由にお使いください (無料)。

## [持参していただく物]

- サンプルを懸濁している buffer (バックグラウンドの確認や、サンプルの希釈などに必要です)
- 測定時に使用するチューブ類 (1.5 ml のエッペン tube, 5 ml tube, サンプルプレート (96 well, 384 well. 下記対応表をご確認ください))
- 35 µm filter tip (注文コード Sony LE600505) (簡易 filter でよろしければセンターでご用意しています (無料)). 装置の詰まりを防ぐため、サンプルを機械にセットする直前に必ずご使用願います.
- ピペッター&チップ
- ゴミ袋 (使用済みチップやチューブを持ち帰るため)
- 廃液回収タンク (流しに廃棄できないサンプルの場合) (予備の廃液タンクがありますので必要な方はご相談ください)
- ウィルスチェック済 USB メモリ

### ➤ Tube, plate 類の対応表

下記以外の物を使用する場合はご相談ください。センターで使用可能かどうか確認致します。

EC800 Autoloader では、マイクロタイターチューブ、12x75mm チューブ、12x70mm チューブ、1.5mL マイクロフェージチューブ、またはマルチウェルプレートにサンプルが収容されます。EC800 ソフトウェアでは、以下のチューブラックとプレートタイプが標準で選択されています。ウェルのポリウムについてはプレート製造元の仕様を参照してください。ソフトウェアではデフォルトのポリウムが設定されています。

既存のプレートタイプは必要に応じて変更できます。さらに、[User Defined] オプションを使用して定義したカスタムプレートをフィールドサービス担当者がセットアップすることもできます。

**注意：**ワークリストを開始する前に、正しいプレートタイプを選択していることを確認してください。プレートタイプが正しくないと、プローブがプレートに接触して、プローブやモーターが破損する可能性があります。

製品	製造元	パーツ番号
User Defined	N/A	N/A
24 Well Cell Culture Plate	Nunc	144530
24 Tube Cooling rack	Sony Biotechnology Inc	LE600503
40 Tube Holder	Sony Biotechnology Inc	LE600501
96 Well PCR Cooled Skirted Plate	Eppendorf	22510509
96 Well PCR Skirted Plate	Eppendorf	951020401
96 Shallow Well Flat Bottom Filter	Millipore	MSBVN1210
96 Deep Well Round Bottom	Nunc	278606
96 Shallow Well Flat Bottom	Nunc	269787
96 Shallow Well Round Bottom	Nunc	262162
96 Shallow Well V Bottom	Nunc	249662
384 Well Flat Bottom	USA Scientific	1843-8400
384 Well V Bottom	USA Scientific	1823-8400

2019.5.27

## EC800 使用上の注意

機器利用に際しては下記の注意事項の厳守をお願いいたします。

1. ご利用（自主測定）は、あらかじめ機器・実験室利用申込書（年度毎提出）をご提出いただいた上で、担当職員による操作講習会を受講した方に限ります。
2. 予約は原則先着順です。「機器予約システム」にてご予約下さい。
3. 時間外利用時（平日 17 時～翌朝 9 時、土日祝日）は、センター職員によるトラブル対応が出来ません。ご留意ください。また、時間外の入退室時には他の利用者の有無に関わらず 307c 室の施錠をお願い致します。
4. 実験の際は、白衣および保護メガネ等の着用をお願い致します。
5. 至適細胞濃度は、測定対象細胞で  $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$  cells/ml 程度です。装置の詰まりを防ぐため、濃い場合は希釈してください。
6. 装置の詰まりを防ぐため、サンプルは測定前に必ず 30 -40  $\mu$ m の filter に通してください
7. 使用後は、必ず指定された方法で流路内を洗浄してください。
8. 光学フィルターの設定を変更した場合は、終了後必ず元の状態へ戻してください。
9. 廃液は終了後各自で処分をお願いします。ハイターで殺菌できないサンプルや、有害物質を含む等、厳重な管理が必要なサンプルの廃液は持ち帰り、研究室で処分して下さい。
10. データの管理上、protocol 名やファイル名は必ず『研究室 ID\_...』（例：shien\_...）とし、Category 名に研究室 ID をご入力ください。
11. データ（protocol も含む）は必ずバックアップを取り、できるだけデータを残さないようにお願いします。PC トラブルなどによりデータが消失してもセンターは責任を負いかねます。
12. USB メモリを使用される場合は、必ず直前にウイルスチェックを行ったものをご使用下さい。
13. 使用終了後に使用簿をご記入下さい。
14. 機器利用により得られた研究成果を学会や学術論文で公開される際は、当センターを利用した旨を謝辞や実験方法の項に御記載ください。また、論文等のデータファイルをセンターにご提出ください。

2021.4.27 改訂