

FACSVantage SEフローサイトメーターの標準的操作方法と メンテナンス手順に関するヒントおよび推奨事項

次に示す一連のヒントと推奨事項は、FACSVantage SEフローサイトメーターの標準的操作方法とメンテナンスを行うに際して役に立つものです。これらはあくまでもヒントと推奨事項であり、具体的な説明およびガイドラインについては、『FACSVantage SEユーザーズガイド』を参照してください。

FACSVantage SEの毎日の起動手順

1. レーザー冷却水を流します。
 2. レーザーの電源を入れます。
 3. コンプレッサーとアスピレーターのスィッチを入れます。
 4. シースタンクにシース液を満たし、廃液タンクを空にします。
 5. 装置の主スィッチを入れます。
 6. Main Pressureスィッチを入れます。
 7. Fluidics controlつまみをFILLに切り替え、10～20秒間シース液を流します。
 8. サンプルインジェクションポート(SIP)から12×75mm試験管(BDカタログ番号 352058)を取り出します。
 9. Fluidics controlつまみを [RUN] に切り替えます。
 10. FACStationのスィッチを入れます。
-

FACSVantage SEの毎日の停止手順

1. レーザーのスィッチを切ります。
2. FACStationのスィッチを切ります。
3. FACSCleanが3mL入った12×75mm試験管(BDカタログ番号 352058)をセットし10分間RUNします。
4. FACSRinseを入れた12×75mm試験管をセットし10分間RUNします。
この試験管は取り付けたままにしておきます。
5. Fluidics controlつまみをOFFに切り替えます。
6. 次の順序でスィッチを切ります。
 - ・ Main Pressureスィッチ
 - ・ コンプレッサーとアスピレーター
 - ・ 装置の主スィッチ
 - ・ レーザー冷却水

FACSVantage SEの毎日の調整

1. インストゥルメントセッティングと機器調整用のExperimentドキュメントを読み込みます。
2. レーザーヒットポイントからノズルまでの距離を設定し、ストリームを調節します。
 - ・必要に応じて α つまみと θ つまみを調節します。
 - ・カメラを調節し、Viewing Markをレーザーヒットポイントに合わせます。
 - ・Zつまみを調節し、ノズルをReference Markに合わせます。
3. FSC信号を最大にします。
 - ・Y調節つまみを使って、FSC信号を最大にします。
 - ・Excitation beam focus wheelでFSC信号パルス幅を最小に調節して、信号強度を最大にします。
4. FL1信号を最大にします。
 - ・X controlつまみを調節します。
 - ・Fluorescence focus controlつまみを調節します。
 - ・Fluorescence channel height adjustment wheelを調節します。
5. FL1アイリスを閉じます。
 - ・FL1信号が半分になるように、FL1アイリスを絞ります。
 - ・ステップ4の蛍光調節を繰り返し、FL1信号を最大にします。
6. アイリスが完全に閉じるまで、ステップ5を繰り返します。
 - ・アイリスを閉じたときには、FL1信号強度が、開いたときの半分以上になるようにします。
7. Y調節つまみとレーザーフォーカスを最高に調節します。
 - ・Excitation beam focusでFL1信号パルスの幅を最小に調節し、かつ強度を最大にします。
8. FL1アイリスを全開にしてBeam splitterを調節し、SSC、FL3、FL2の信号強度を最大にします。
9. Obscuration barを上下方向に調節します。
 - ・SSC—SSCアンプをLOGににして、SSCパルス表示のノイズを最小に調節します。
 - ・FSC—FSC (サイズ) 解像度を最高に調節し、ノイズを最小にします。
10. シースストリームの流れを点検します。
 - ・シースストリームがStream aspiratorの前方3分の1に入ることを確認します。
 - ・ α つまみや θ つまみによる調節が必要な場合は、ステップ1から9までの調整を繰り返します。
11. 第1レーザーの精度管理の結果を記録します。

FACSVantage SEのソーティング

装置のセットアップ

1. 次の順序でスイッチを入れます。
 - ・ Drop drive
 - ・ Deflection plate
 - ・ 左右のStream controlボタン
2. Drop driveとDeflection plateを最低20分間放置してウォームアップします。
3. ノズル径を確認し、Drop driveの周波数範囲を決定します。
4. 振幅レベルを約3Vに設定します。
5. 肉眼での液滴ブレークオフ距離が最短になるように周波数を調節します。
6. FSCとSSCのObscuration barを調節し、レーザー散乱を最小にします。
7. Test ModeとTest Sortをオンにします。
8. Phaseを調節し、シングルサイドストリームが見えるようにします。
9. Drop Delayを計算し、設定します。
10. 必要なSort Mode (通常はNormal-R) を選択します。
11. Test Modeをオフにします。
12. ソートするサンプルを流します。
13. 必要なソートウィンドウを設定し、読み込ませます。
14. Test Modeをオンにします。
15. Phaseをもう一度点検します。
Phaseの調節が必要であれば、Drop Delayの計算と設定もやり直すことが必要です。
16. Test ModeとTest Sortをオフにします。

ソーティング

1. 必要に応じてカウンターを設定し、ソートをモニターします。
2. Resetを押して、カウンターをゼロにします。
3. 栄養培地を入れた回収チューブを、ホルダーに取り付けます。
ホルダーを完全に押し込むようにしてセットします。
4. Stream ドア (カメラドア) を閉じるにより、装置がソーティングを開始します。必要な数の細胞がソートされるまで、ソーティングを続けます。
5. ソーティングを中止するには、Stream ドア (カメラドア) を開きます。
6. 回収チューブからの細胞を再測定する前に、サンプルデリバリーチューブを十分に洗浄します。