

FACSCaliburソートオプションにおける無菌ソーティング

FACSCaliburシステムは、培養や機能研究に用いる細胞をソートすることができます。これらの用途のニーズを満たすためには、培養する場合にソーティングされたサンプルが汚染されていないように、清潔な環境でソーティングすることが必要です。準備手順のすべてのステップを、無菌的に行います。

エタノールリンスのセットアップ

1. 次の溶液を用意します。
 - ・ 3Lの70%エタノール。(95%エタノールを、滅菌蒸留水で希釈する。)
 - ・ 5Lの滅菌1X PBS。
 2. 清浄なシースタンクに、3Lの70%エタノールを入れます。
 3. フタを閉めてタンクを振り、タンクの内面をすべてエタノールで洗浄します。
 4. タンクを装置に取り付けます。
 5. エタノールを充たした噴射ボトルを使い、コレクションステーションポートを洗浄します。
 6. 3本のコレクションチューブをコレクションステーションに取り付けます。
 7. 70%エタノールの試験管を、サンプルインジェクションポート(SIP)に取り付けます。
-

エタノール洗浄

1. Sort Gateを設定します。
2. [Acquire] メニューから [Sort Setup] を選択します。
3. [Sort Gate] ポップアップメニューで、ステップ1で設定したゲートを選択します。
4. サイトメーターのRUNボタンを押します。
5. [Acquisition Control] ウィンドウで [Acquire] をクリックします。
留意： Setupボックスに必ずチェックを付けます。
6. 3本のコレクションチューブがすべて一杯になるまで、エタノールを流します。
7. [Pause]、[Abort] の順でクリックします。
8. タンクを取り外します。
9. フードの中で、残ったエタノールを空にします。

PBS洗浄

1. 約500mLの滅菌1X PBSをタンクに入れます。振り動かして、残っているエタノールをすべて洗い流します。タンクを空にして洗浄を2~3回繰り返します。
2. タンクに3Lの滅菌1X PBSを入れます。
留意: タンクのフタを閉めてから、フードから取り外します。
3. タンクを装置に取り付けます。
4. 3本の新しいコレクションチューブを、コレクションステーションに取り付けます。
5. 滅菌PBSの試験管を、SIPに取り付けます。
6. [Acquisition Control] ウィンドウで [Acquire] をクリックします。
7. 滅菌PBSを約10分間流し、ラインに残っているエタノールを洗い流します。各コレクションチューブに、約15mLのPBSが流れるようにします。
8. [Pause]、[Abort] の順でクリックします。

無菌ソート

1. 必要数の50mLコニカルチューブを、4%のBSAを含む滅菌PBS緩衝液で無菌的にコートします。
2. 準備したコニカルチューブを、コレクションステーションに取り付けます。
3. サンプルをソートします。くわしい説明は、『FACSCaliburユーザーズガイド』の「サンプルのソーティング」を参照してください。