

BD FACSAria™ II Cell Sorter 申込書

1. 使用希望日時	2011年	月	日	火曜日・木曜日	午前・午後
2. 氏名	米山 徹				
3. 所属	泌尿器科学講座				
4. 連絡先	TEL 0172 - 39 - 5091 (内線) 4214				
	Email tohruyon@cc.hirosaki-u.ac.jp				

5. ソートする細胞の種類(具体的に記載)	
a. 細胞名(培養細胞、プライマリー)	ヒト腎系球体毛細血管内皮細胞 HUGMEC
b. 動物種(マウス、ヒト etc)	ヒト
c. 組織、起源(ヒト腎臓由来 etc)	腎臓系球体
d. 細胞の種類(付着系、浮遊系 etc)	付着細胞

6. トランスフェクションしている場合に記載	
a. いつトランスフェクションしたか?	3日前
b. ベクターの種類(pcDNA3.1、レンチウイルス etc)?	pcDNA3.1
c. ウイルスベクターを使用している場合、複製可能なウイルスか?	<input type="checkbox"/> はい <input checked="" type="checkbox"/> いいえ
d. ヒトに感染するウイルスか?	<input type="checkbox"/> はい <input checked="" type="checkbox"/> いいえ
d. ソーティング前に細胞からウイルスを除去したか?	<input type="checkbox"/> はい <input checked="" type="checkbox"/> いいえ

7. 使用する蛍光を記載する(UV laser: 355nm, Blue laser:488 nm, Red laser: 639 nm,)
Fluor 1: Alexa 488
Fluor 2: PE
Fluor 3: 7-AAD

8. サンプルリスト(番号をつけて記載)
a. 1 サンプルあたりの細胞数: 1×10^7
b. ソートしたい細胞集団: A 型糖鎖抗原を発現している HUGMEC
c. ソートするサンプル数: 1
d. ソーティングで回収したい細胞数: 少なくとも 1×10^4 cell
ネガティブコントロール 1: non-staining
ポジティブコントロール 1: 7-AAD
ポジティブコントロール 2: anti-CD31 Ab + PE-anti-mIgG + 7-AAD
ポジティブコントロール 3: anti-A Ab + A488-anti-mIgM + 7-AAD
サンプル 1: anti A Ab + A488-anti-mIgM, anti-CD31 Ab + PE-anti-mIgG, 7-AAD
サンプル 2: anti B Ab + A488-anti-mIgM, anti-CD31 Ab + PE-anti-mIgG, 7-AAD
サンプル 1: anti H Ab + A488-anti-mIgM, anti-CD31 Ab + PE-anti-mIgG, 7-AAD

9. ソーティング後の細胞の用途(培養、RNA 抽出 etc)
培養

10. ソーティング後の細胞集団の回収方法(チューブ、96 or 384 ウェルプレート etc)
FACS チューブ

11. ソーティング中の温度条件
<input type="checkbox"/> 4°C <input checked="" type="checkbox"/> 20°C (室温) <input type="checkbox"/> 37°C <input type="checkbox"/> 42°C

12. 特記事項・コメント

* 上記の情報をもとにオペレーターがコンペンセーション、細胞集団のゲーティング、ソーティングパラメーターの設定を行います。他に特別なソーティング条件で行いたい、あるいは、上記質問事項以外の特記事項があれば[12.特記事項]欄に記載してください。

* 上記質問事項で不明な点がある場合は、

泌尿器科学講座 研究員 米山 徹(0172-39-5091 院内 PHS 4214)までご連絡ください。

サンプル測定の際に依頼者自身に準備していただくもの。

- ・ 初回の測定は、ソーティング条件を決めるための解析を行います。すでに FACScant 等で結果が分かっている場合でも、感度等が異なってくるので、プロットの出方が異なる場合があります。そのため、初回測定時にオペレーターとともに解析条件を検討することが必要です。もし、サンプル量が限られている場合は、要相談。
- ・ もし、サンプルをソーティング用に別に用意できる場合、初回の測定結果をもとに、回収したい細胞数等のソーティングパラメーターを十分に検討した上で行います。
- ・ 測定前に必ずセルストレイナーにて細胞塊を除去してください。
- ・ マルチカラー測定する際は、ネガティブコントロールのほかにポジティブコントロールとしてシングルカラーコントロール、マルチカラーコントロールをそれぞれ準備してください。
- ・ Live cell/dead cell の染色時には、7-Amino-actinomycin D (7-AAD)が望ましい。(PI でも良いが 7AAD より PI のほうが、流路が汚れやすいため)
- ・ ソーティングにて回収する際の培地を滅菌済みのチューブあるいは、プレートに準備すること。できれば抗生物質を入れた状態が望ましい。
- ・ ソーティング用のシース液を自分で用意したい場合、例えば PBS で行いたい場合は、各自、滅菌済みの溶液を 5 L 程度用意してください。
- ・ 解析後のデータは、メールに添付して送信。FACSAria 本体のデータは、1ヶ月に 1 回クリーンアップしますが、バックアップとして、外付けハードディスクに保存しておく。クリーンアップ前にメールにて通知する。
- ・ 申し込み用紙は、泌尿器科 HP からダウンロードして、質問事項に記入後、urology@cc.hirosaki-u.ac.jp 宛てに電子メールで送信するかあるいは、泌尿器科学講座医局に直接、提出する。