

フローサイトメトリー受託研究解析の利用について

オープンファシリティセンター

細胞機能解析室

目次

1. 利用手順	3 頁
2. サンプル調製	3 頁
3. 解析装置	4 頁
4. 受託研究内容・料金および支払方法	4 頁
5. 免責事項	4 頁
6. 研究相談	5 頁
7. セルアナリシス受託研究の詳細	5 頁
8. セルソーティング受託研究の詳細	6 頁
9. 機器の予約	7 頁

1. 利用手順

【受託依頼の打ち合わせ】

- ・ 受託の依頼は、実施予定日の一週間前までにメールで連絡願います。
- ・ 折り返し、打ち合わせの日時を連絡いたします。

【受託研究の実施】

- ・ 受託研究によるセルアナリシス(細胞の取り込み・簡易解析)およびセルソーティング(細胞の分取)の対応時間は、11:00 ~ 16:00 とします。
- ・ 機器の操作および設定は依頼者の立ち合いのもと、当室担当者がおこないます。

【測定データおよびソートした細胞】

- ・ 受託研究終了後、細胞(セルソーティングした場合)とデータは、その場でお渡しします。低温(4℃)を維持できる容器(クラッシュドアイスを含めた発泡スチロール)と、ウイルスチェックを済ませた USB を持参願います。

【受託依頼書提出】

- ・ 受託依頼書は受託研究終了後、当室より依頼者宛てにメール送信いたします。必要事項を記入の上、返信願います。

2. サンプル調製

- ・ 細胞の調製および抗体などによる標識は、依頼者本人におこなっていただきます。
- ・ 標識を済ませたサンプルは、ペレットの状態を持参願います。その際、各サンプルの細胞数の提示、細胞を懸濁する緩衝液(PI あるいは 7-AAD を含む)の準備をお願いします。
- ・ サンプルは測定用細胞のほかに、蛍光補正用の未染色の細胞と単染色した細胞の準備(それぞれ $10^5 \sim 10^6$ cells/500 μ L) が必要です。
- ・ GFP などの蛍光物質を発現している細胞の測定については、蛍光物質を発現していない細胞の準備をお願いします。
- ・ 7.セルアナリシス受託研究の詳細(P5)、8.セルソーティング受託研究の詳細(P6)も参照願います。

3. 解析装置

【セルアナライザー】

- ・ CytoFLEX S：ベックマン・コールター社製
- ・ Gallios：ベックマン・コールター社製

【セルソーター】

- ・ MoFlo Astrios：ベックマン・コールター社製
- ・ BD FACSAria III：ベクトン・ディッキンソン社製

4. 受託研究内容・料金および支払方法

受託作業内容	料 金
1 受託依頼の打合せ	0 円
2 抗体および色素の選択	1,000 円/回
3 細胞調製および抗体染色の技術指導	1,000 円/回
4 感度調整・蛍光補正	1,000 円/パラメーター* *パラメーター：チャンネル数 (FSC, FL1 など)
5 セルアナリシス	3,500 円/サンプル
セルソーティング	1 時間まで 10,000 円 その後 30 分毎に 5,000 円ずつ加算
6 データ解析	1,000 円/サンプル

【受託料の支払い方法】

- ・ 月ごとの請求になります。依頼書を提出していただいた翌月のはじめに、研究支援課より報告書が送られますので、調達システムより支払入力をお願いします。

5. 免責事項

- ・ 本受託研究は、結果を保証するものではありません。
- ・ 当室の過失である場合を除き、結果が得られない場合の責任は一切負いかねます。この場合でも受託料は請求いたします。
- ・ 本受託研究で用いる機器は複雑で精緻なため、実施前や実施中に不具合が生じ、作業が完了できないことがあります。この場合においては、受託料は請求いたしません。

6. 研究相談

- ・ フローサイトメトリーに関する相談は、随時受け付けています。メールまたは電話にて連絡願います(P8 参照)。

7. セルアナリシス受託研究の詳細

- ・ 使用する機器は、解析内容に応じて提案いたします。

【サンプルについて】

- ・ 測定は $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ cells/mL 程度の濃度でおこないますので、細胞数に対して必要量の緩衝液を準備願います(少なくとも $500 \mu\text{L} \times$ サンプル数は必要です)。

【その他準備していただくもの】

- ・ 35 μm メッシュ付き 5 mL ファルコンチューブ(FALCON #352235)をサンプル数分。
- ・ 1,000 μL マイクロピペット と ピペットチップ

【データ解析の受託】

- ・ CytoFLEX：専用ソフト CytoExpert を用いた解析。
- ・ Gallios：専用ソフト Kaluza を用いた解析。
- ・ 依頼者が所有するソフトを用いて解析を希望する場合は、個別に対応いたします。

【搭載レーザーとフィルター(代表的な蛍光色素)】

CytoFLEX 最大 13 色

488 nm (青レーザー)	638 nm (赤レーザー)
フィルター [525/40 (FITC) 690/50 (PerCP)	[660/10 (APC) 712/25 (AF700) 780/60 (APC-Cy7)
405 nm (紫レーザー)	561 nm (黄レーザー)
[450/45 (BV421) 525/40 (BV510) 610/20 (BV605) 660/10 (BV650)	[585/42 (PE / TdTomato) 610/20 (mCherry) 690/50 (PI / 7AAD) 780/60 (PE-Cy7)

Gallios 最大 10 色

488 nm (青レーザー)	640 nm (赤レーザー)	405 nm (紫レーザー)
フィルター [525/40 (FITC) 575/30 (PE) 620/30 (PI) 695/30 (7AAD) 755 LP (PE-Cy7)	[660/20 (APC) 725/20 (APC-AF700) 755 LP (APC-Cy7)	[450/40 (AF405) 550/40 (BV510)

8. セルソーティング受託研究の詳細

- ・ 使用する機器は、解析内容に応じて提案いたします。
- ・ 初めての受託研究では、細胞の特性を把握するため、設定(感度調整、蛍光補正)のみにとどめる場合があります。
- ・ 依頼者には、安定したソーティング状態に至るまで立ち合ってください。その後はソーティング終了時まで不在でも差し支えませんが、緊急時に連絡が取れるよう、研究室などで待機願います。

【サンプルについて】

- ・ ソーティングは、 $\sim 10^7$ cells/mL 程度の濃度でおこないます。細胞数に対して必要量の緩衝液を準備願います。

【その他準備していただくもの】

- ・ 35 μ m メッシュ付き 5 mL ファルコンチューブ(FALCON #352235)をサンプル数分。
- ・ 細胞回収用容器および培地(または緩衝液)。

細胞回収用容器に入れる培地量
1 ~ 5 mL / 15 mL チューブ
0.5 ~ 1 mL / 5 mL チューブ
0.1 ~ 0.2 mL / well , 96 ウェルプレート

- ・ 1,000 μ L マイクロピペット と ピペットチップ

【データ解析(セルソーティングの評価)の受託】

- ・ ソーティング結果を含む FCS ファイルを持参願います。

【搭載レーザーとフィルター(代表的な蛍光色素)】

MoFlo Astrios 最大 8 色

488 nm (青レーザー)	640 nm (赤レーザー)
フィルター [513/26 (FITC) 576/21 (PE) 620/29 (PI) 664/22 (PE-Cy5) 795/70 (PE-Cy7)	[671/30 (APC) 722/44 (AF700) 795/70 (APC-Cy7)

BD FACSAria III 最大 12 色

488 nm (青レーザー)	633 nm (赤レーザー)
フィルター [530/30 (FITC) 695/40 (PerCP)	[660/20 (APC) 730/45 (AF700) 780/60 (APC-Cy7)
405 nm (紫レーザー)	561 nm (黄緑レーザー)
[450/40 (BV421) 510/50 (BV510)	[585/15 (PE) 610/20 (PE-TexasRed) 670/14 (PE-Cy5) 710/50 (PE-Cy5.5) 780/60 (PE-Cy7)

9. 機器の予約

- ・ 事前相談に基づき、機器の予約入力は当室担当者がおこないます。

【連絡先】

細胞機能解析室

メール：fcm-ofc@fujita-hu.ac.jp

内線：2570

2021年 9月 6日
2021年 12月 27日 改定
2023年 1月 12日 改定
2024年 1月 29日 改定
2024年 2月 22日 改定