

20160810

MACSQuant2.5

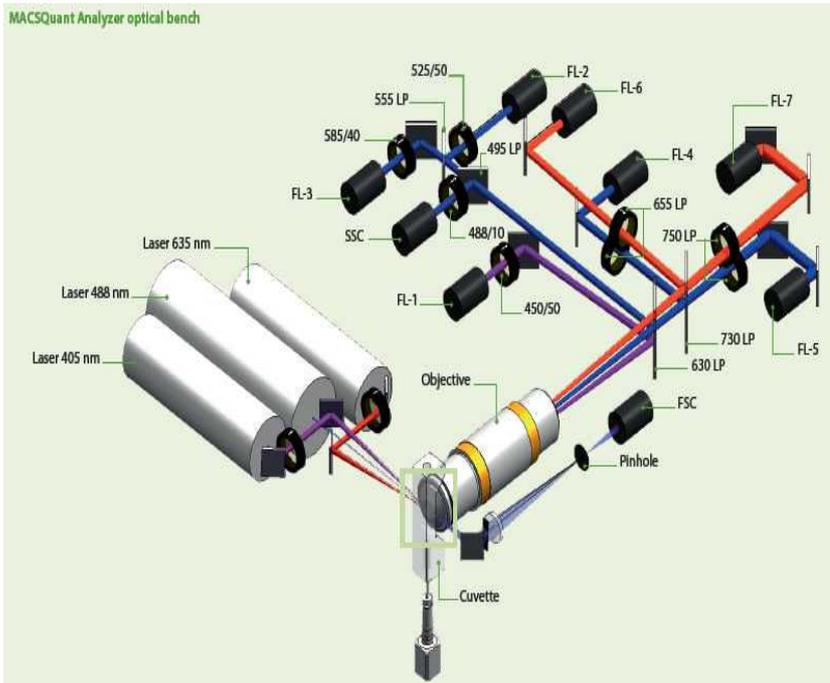
簡単説明書

表面抗原2色用

Cell Cycle/FlexCBAは別途
お問合せください

MACSQuant Analyzer仕様

レーザー488nm・633nm・405nm



V1-450/50

VioBlue (Alexa405)

B1-525/50

FITC/Alexa488

B2-585/40

PE/PI

B3-655-730

PI/PE-Cy5.5

B4-750LP

PE-Cy7

R1-655-730

APC (Alexa633-700)

R2-750LP

APC-Cy7

FSC-Pinhole

SSC-488/10

必要消耗品 (2008年3月現在価格は参考価格です。)

キャップ	サイズ	滅菌	包装単位	単位	カタログNo.	単価
FALCON社 12X74,5mL						
ツープジションキャップ	5mL	滅菌済	1	500	352003	66
ツープジションキャップ	5mL	滅菌済	25	500	352058	58
ツープジションキャップ	5mL	滅菌済	125	1000	352054	43
キャップなし	5mL	滅菌済	125	1000	352052	30
キャップなし	5mL	非滅菌	1000	1000	352008	12
セルストレナーキャップ	5mL	滅菌済	25	500	352235	120
キャップのみ			500		352032	14
Bio-Rad						
キャップなし		非滅菌	1000	1000	223-9391	
キャップなし			96	960	223-9395	
Thermo	1.2mL		96	960	3496	
	キャップ				3426	
エッペンチューブ1.5mLは、特殊な場合を除き、使用可能です。						

96穴プレート・PCRプレート使用可能???)です。注)

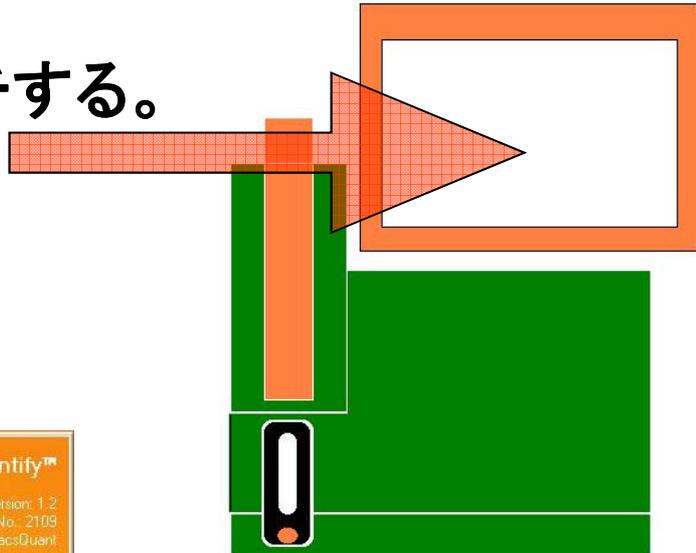
ホールプレート確認中

その他装着可能な製品があります。持込んで、合わせてみます。
Calbrationすれば、ほとんど使用できますが、共同利用のため制限させていただく事があります。

スタート手順

表面抗原2色用

1. スクリーンをタッチする。



2. Log IN

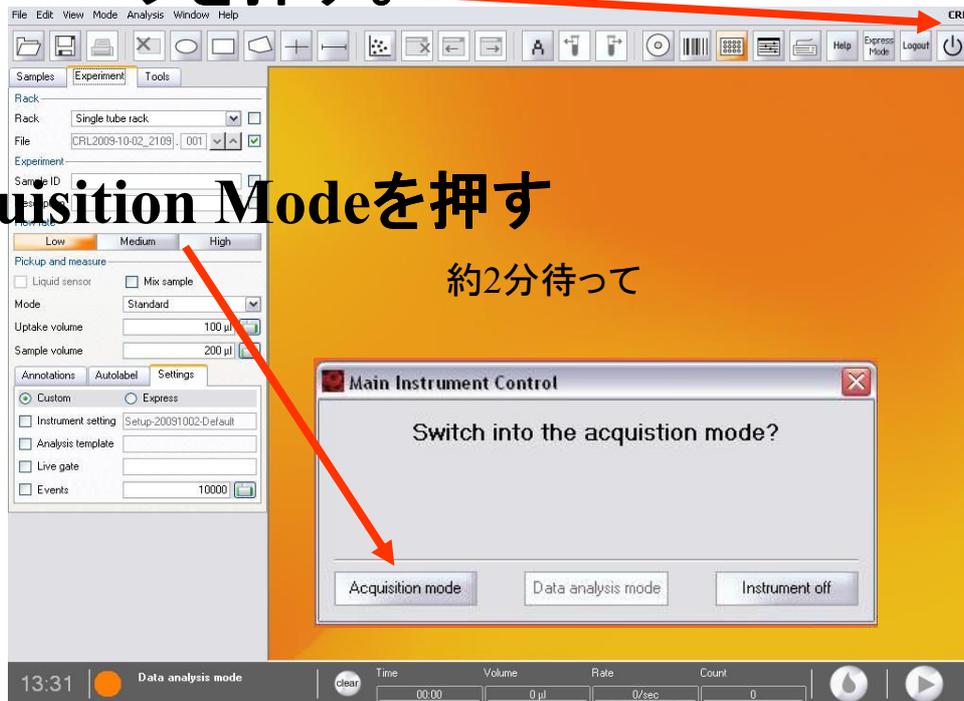


CRLを選択
passなし

Log In後5分待って次に進んで

3.  マークを押す。

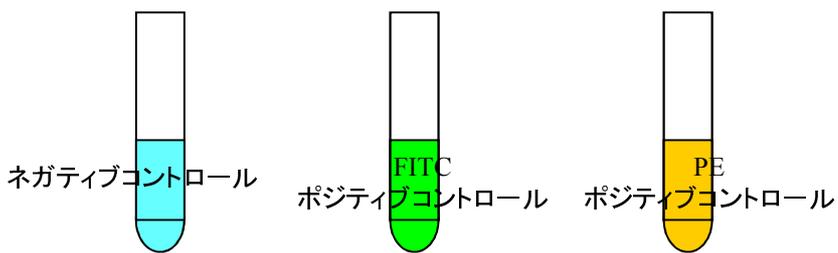
4. Acquisition Modeを押す



本体イルミネーションが緑になると、準備完了です。Go

表面抗原の場合 2カラー測定に関して

用意する物



抗体の非特異反応が多い場合 IsoType コントロール 使用すること。

ポジコンは、タイトレーションを確認した抗体を使用してください

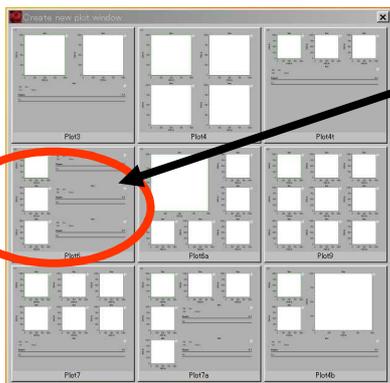
染まりがわからない場合、必ず蛍光顕微鏡で確認すること

蛍光顕微鏡での、観察方法
 染めた浮遊細胞を、15μLスライドグラスに落とし、
 カバーグラスをすれば、すぐ見れます。
 撮影したい場合は、グリセロールなどの粘度の高いものを混ぜると、
 撮影しやすいです。

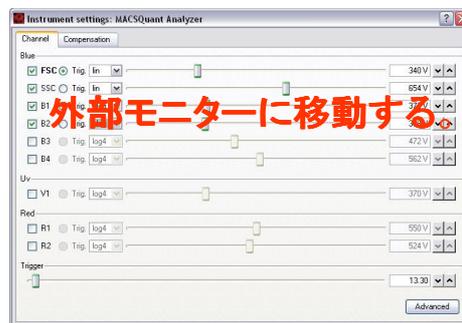


1. を押す 押せない場合は、 をクリック

2. を押す



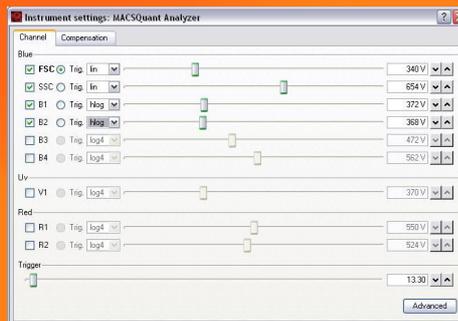
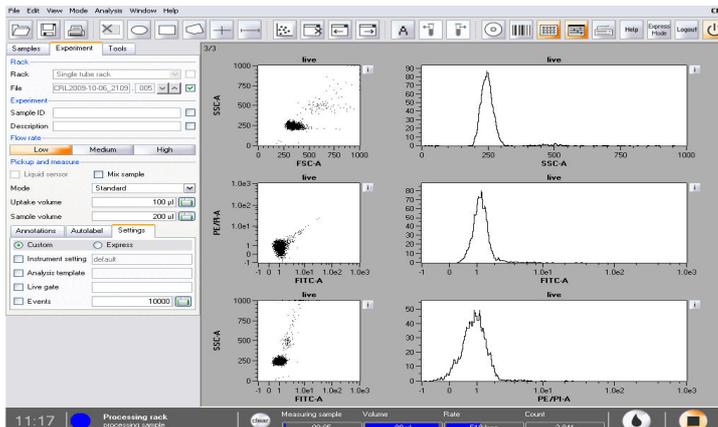
Plotタイプを選ぶ



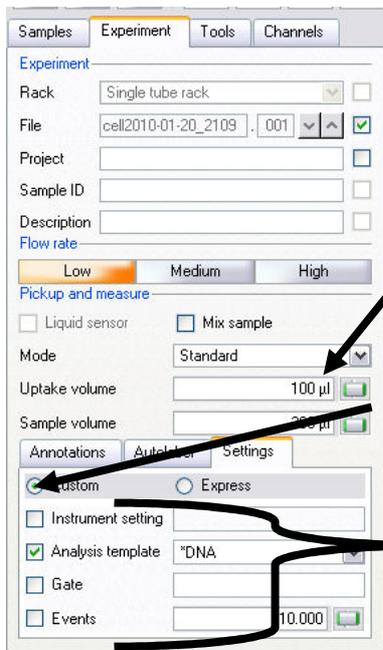
3. 配置の確認

本体モニター

外部モニター



4.コントロールでのSetup準備



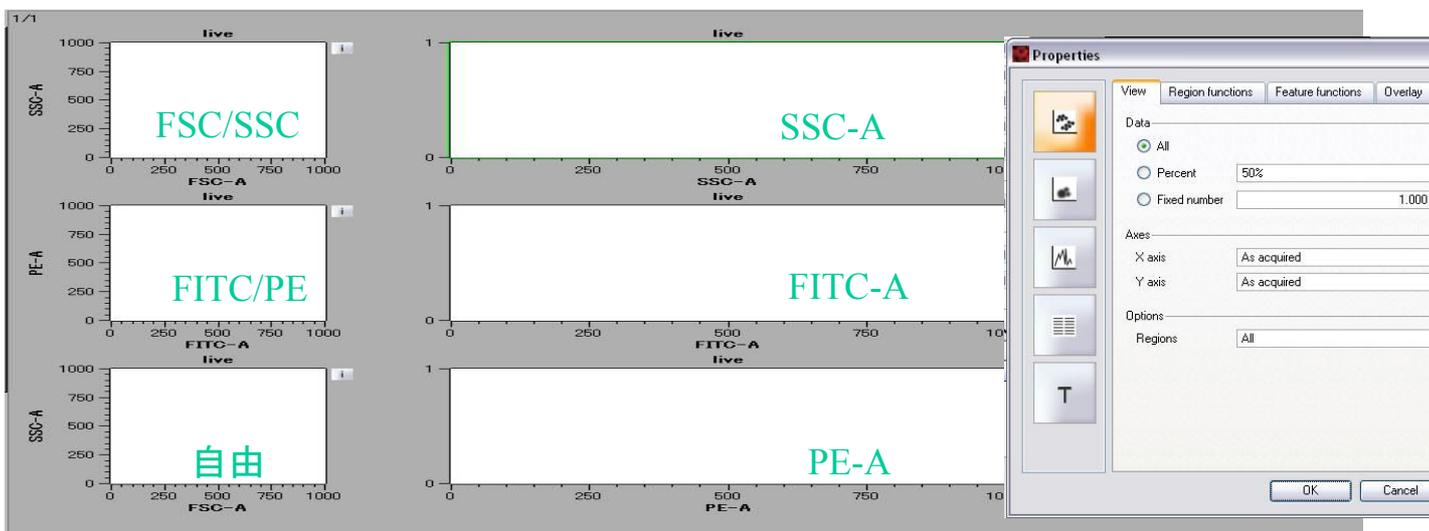
サンプルをピペッティングしたい場合は
Mix sampleにチェックし
Sample Volumeをスライダーで調整

Uptake はとりあえず50ulで、
スライダーで、調整

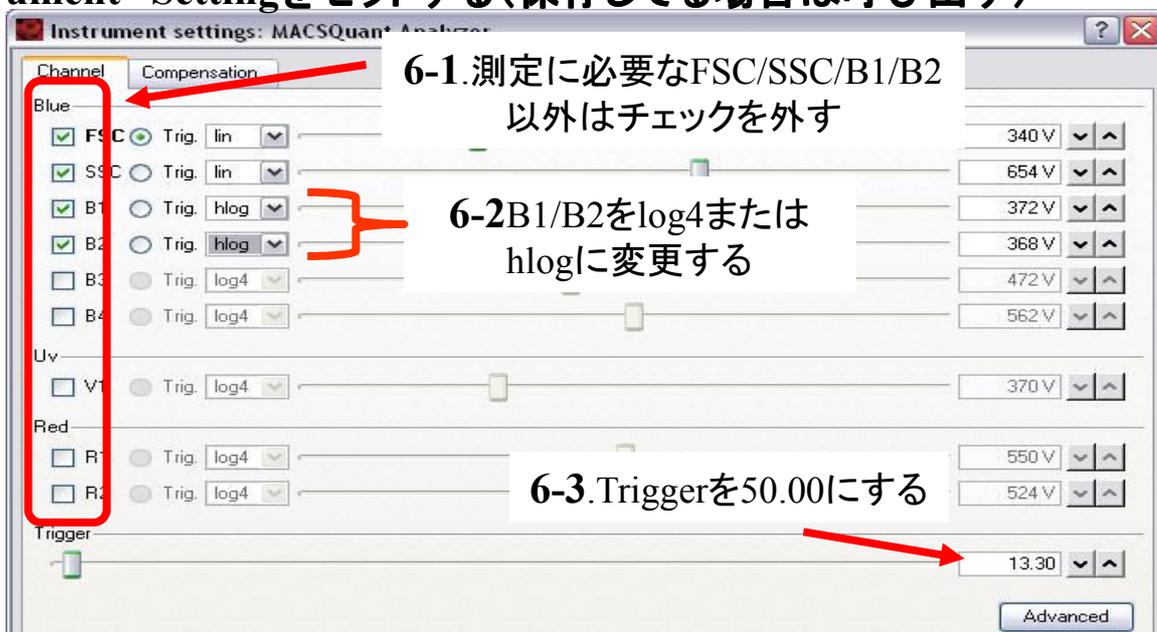
Customを選択する

チェックが入っていないこと

5.X-Yパラメーターの変更、表示をクリックするとプルダウンメニューが出ます



6.Instrument Settingをセットする(保存してる場合は呼び出す)

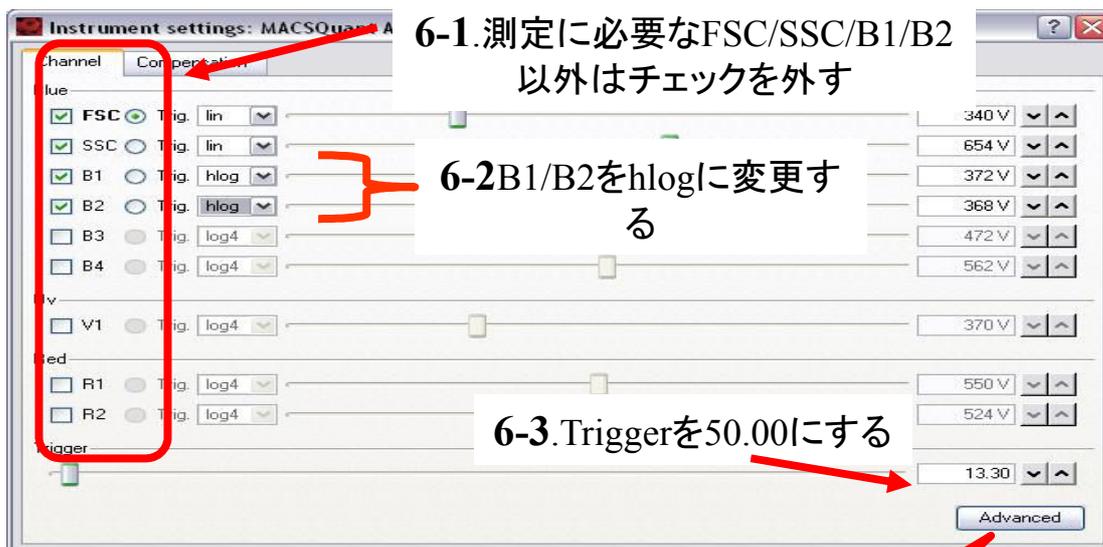


6-1.測定に必要なFSC/SSC/B1/B2
以外はチェックを外す

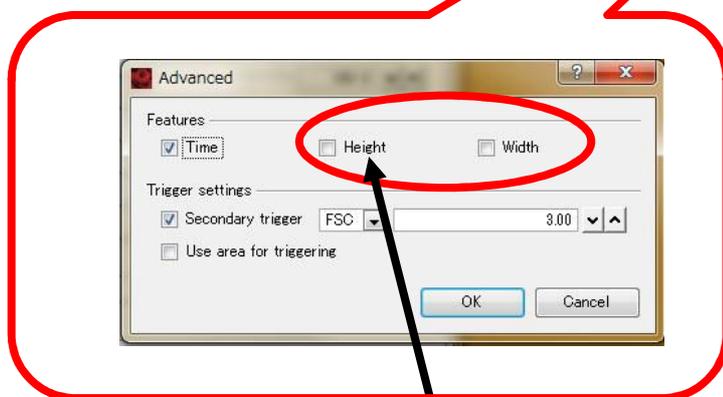
6-2.B1/B2をlog4または
hlogに変更する

6-3.Triggerを50.00にする

6. Instrument Settingをセットする(保存してる場合は呼び出す。)



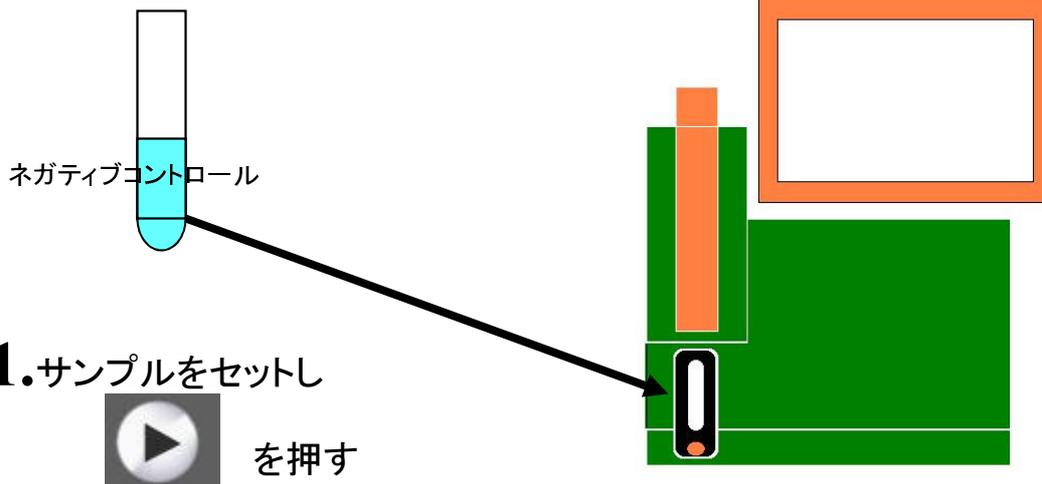
チェックを入れるとdataが大きくなる



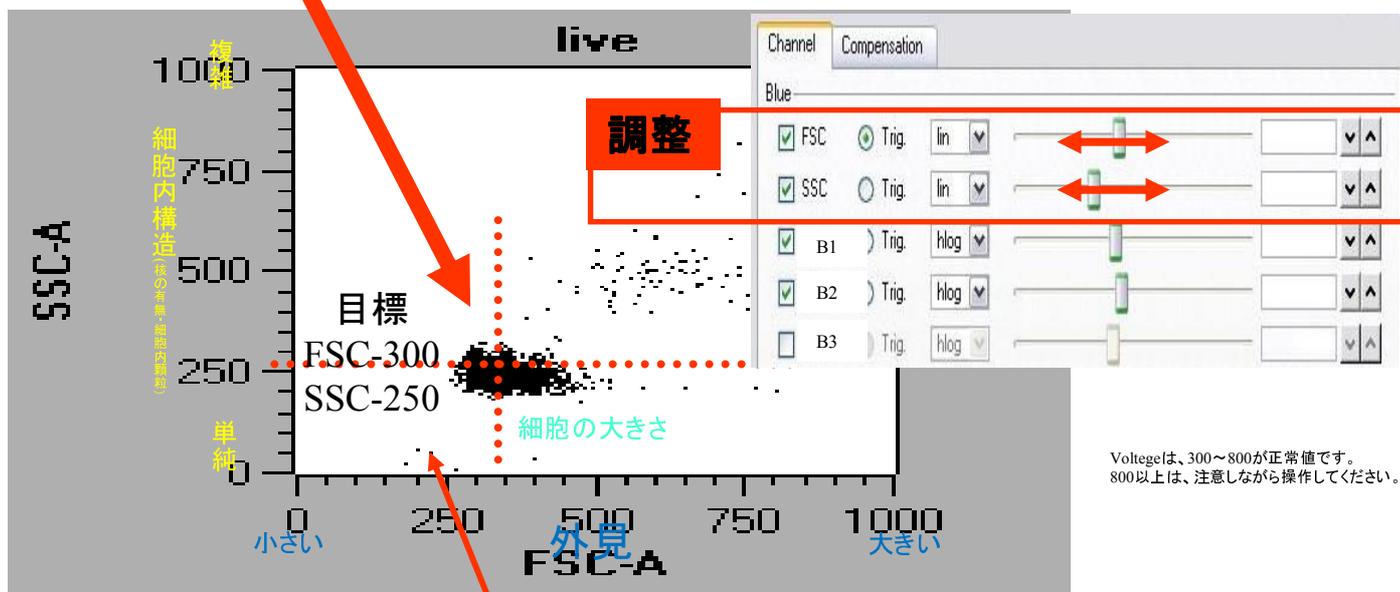
Advancedより、H・Wにチェックが入っていないこと確認

チェックが入っていると、data量が多くて、**あなたが** 困ります

ネガティブコントロールの設定方法



2. FSC/SSCのDotで、目的サンプルが、表示されるように



3. ゴミは、Trigerを上げていくと、除外できます

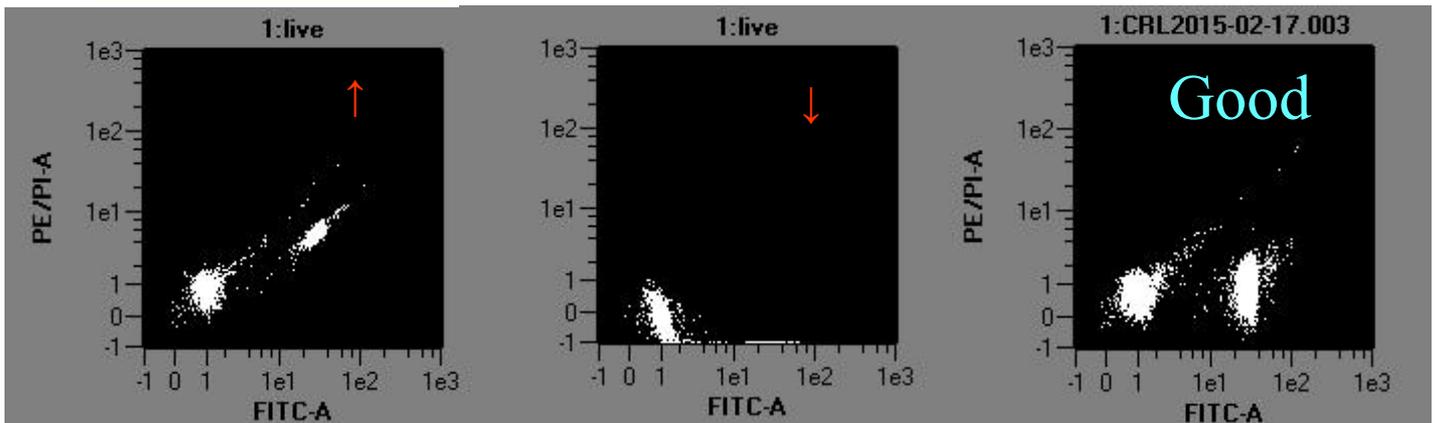
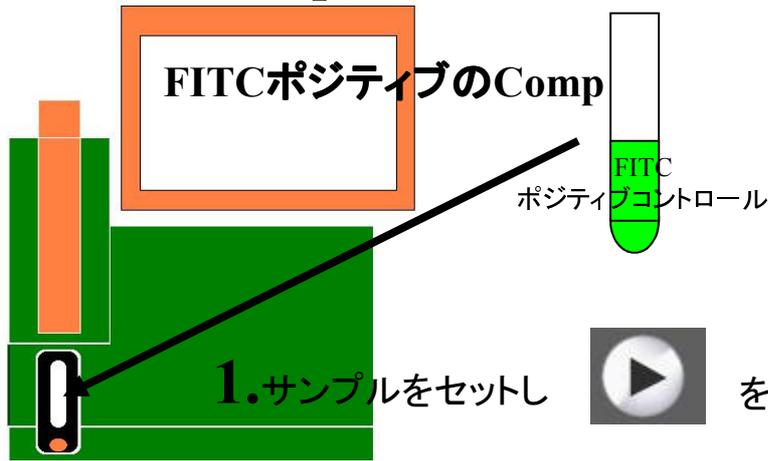


4. Clearを押すと、調整後のDotPlotが表示

B1	500~550nm	FITC/GFP
B2	565~605nm	PE/PI
B3	655nm~730n	PerCP/PC5/PI/

蛍光補正 (Comp) の調整

Recompを使う場合は、調整せず、取り込む後述参照



2. 調整 FITC-B2

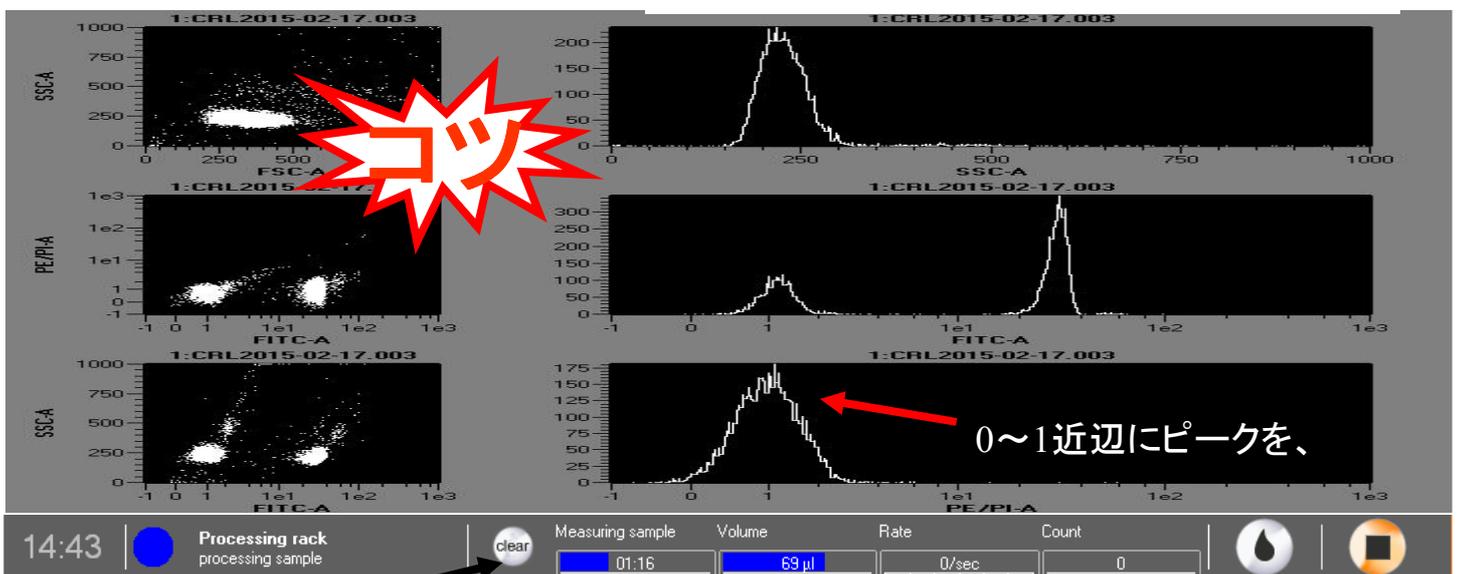
Channel Compensation

Channel	Compensation	VoBlue	FITC	PE	PI/PE-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-Cy7
VIOBLUE	V1	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
FITC	B1	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PE	B2	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PI/PE-Cy5.5	B3	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
PE-Cy7	B4	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000
APC	R1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000
APC-Cy7	R2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000

連打すると暴走します
暴走時にはLogoutして、最初からやり治す

1.000を超える値は、要検討
今一度、蛍光チャンネル調整も検討して

3. 調整方法。



4. Clearを押すと、調整後のDotPlotが表示

5. 設定が出来たら、停止 を押す

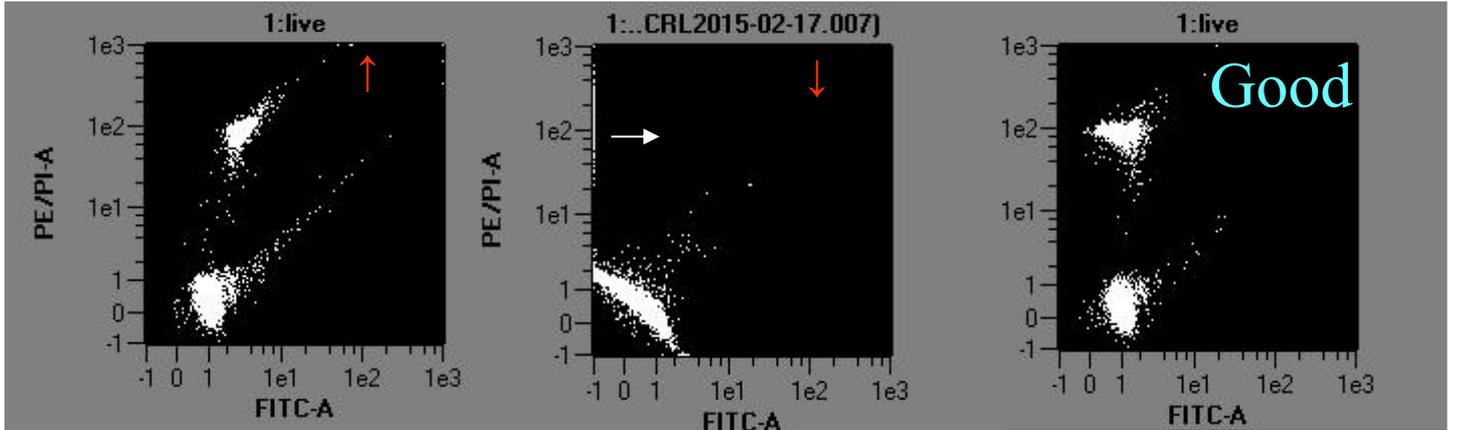
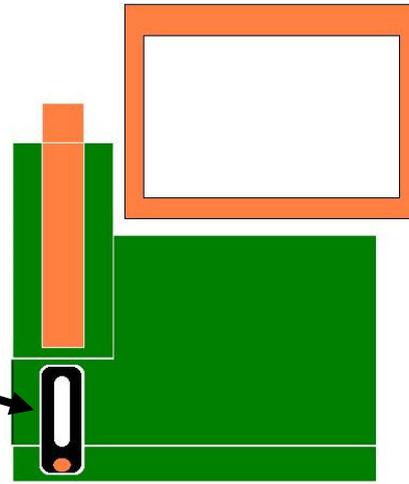
PEポジティブComp

PE
ポジティブコントロール

5. サンプルをセットし

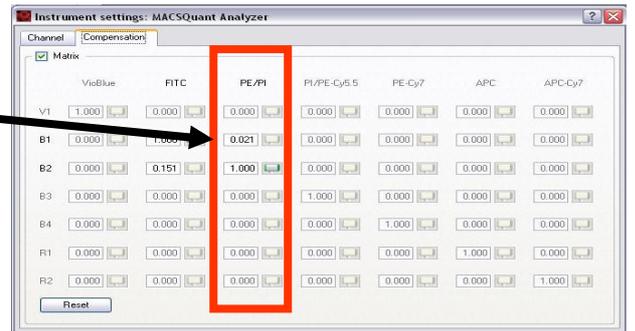


を押す

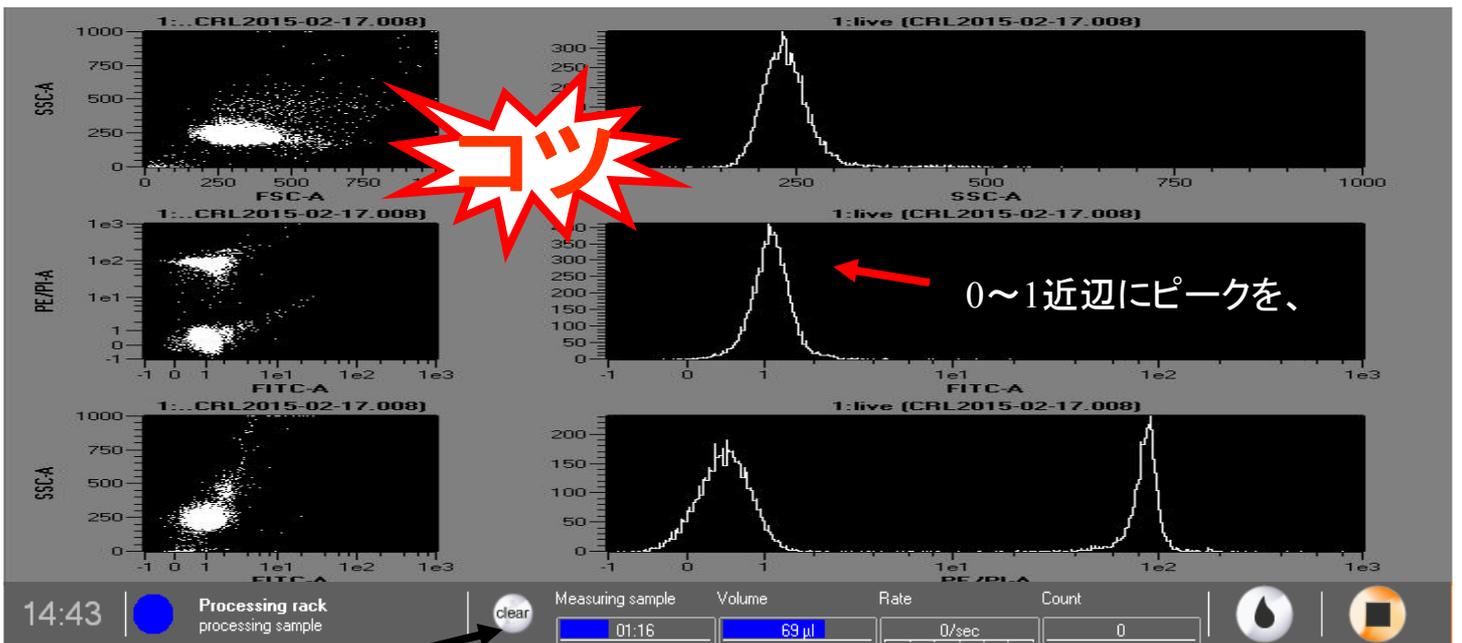


6. 調整PE-B1

連続クリックすると暴走します
暴走時にはLogoutして、最初からやり直す



7. 調整方法



8. Clearを押すと、調整後のDotPlotが表示

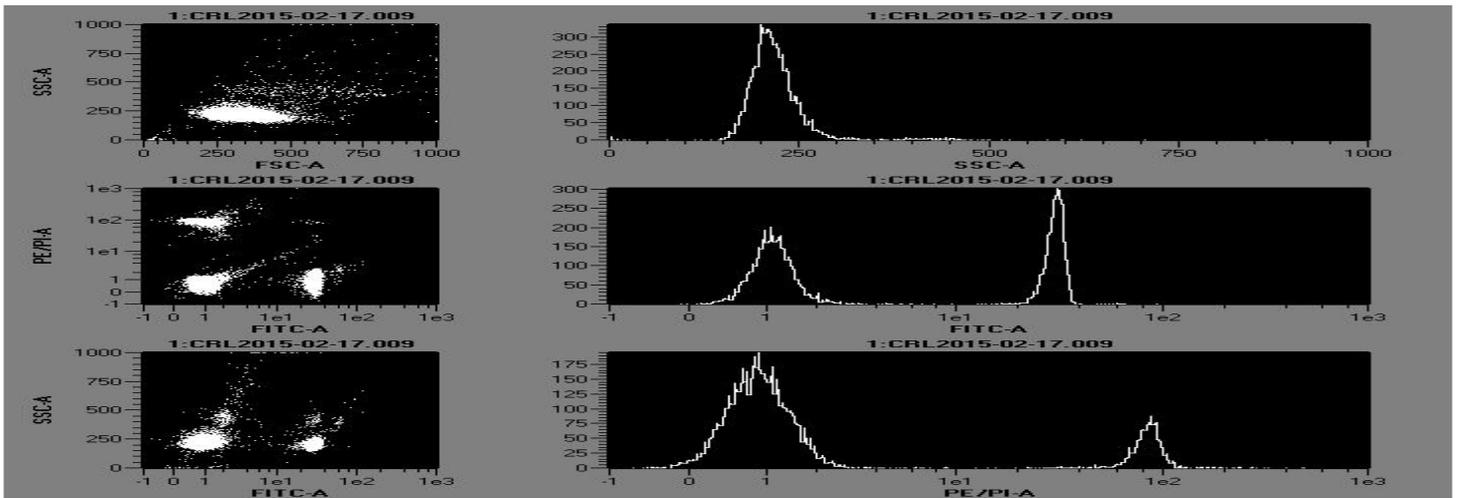
9. 設定が出来たら、停止



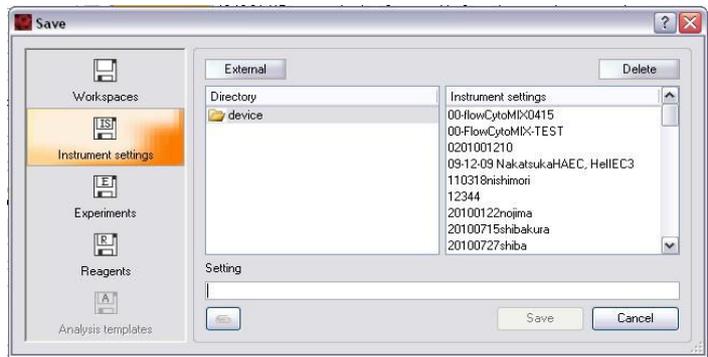
を押す

最終確認

設定の確認のため、2カラーで、染めたサンプルを流し、確認する。

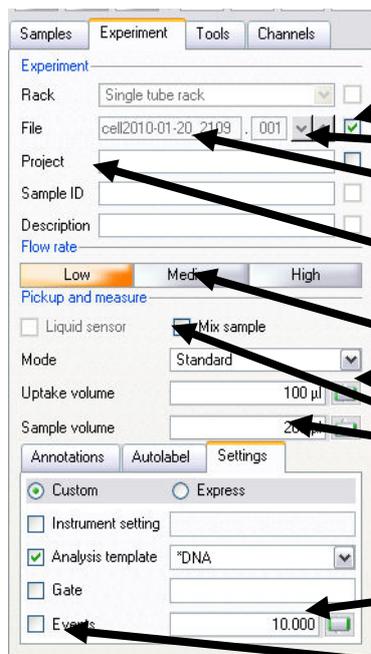


セッティング・その他の保存



問題なければ、細胞取り込みの方法を設定する

基本限界濃度10*8/mL
450uLMax
Hi--100u 4min
Med-50u 8min
Low-20u 16min



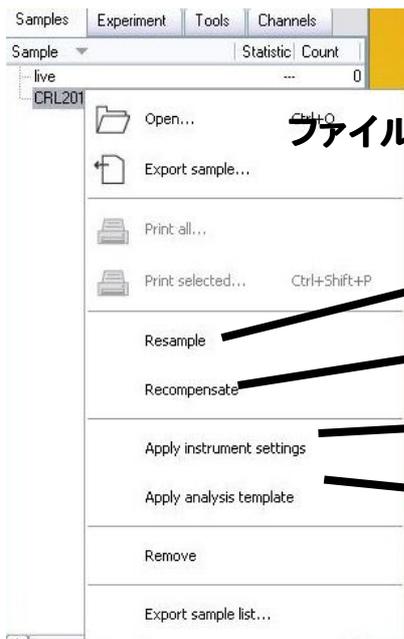
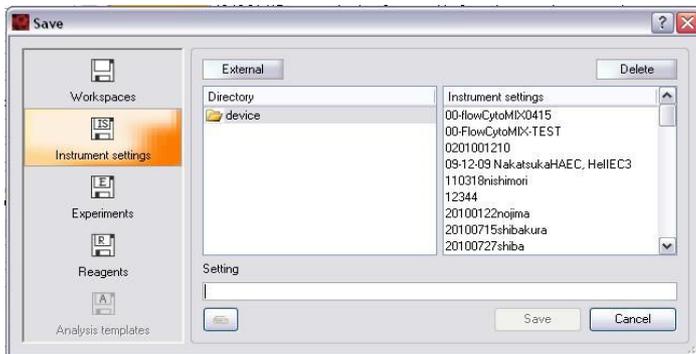
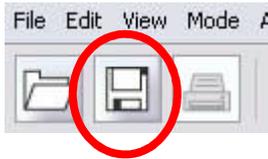
1. チェックを外し
2. 番号を矢印で、001にする
3. ファイルNameを入力する(日付・名前)
4. 個別フォルダーにしたい場合、Projectを記入
5. Sample Speed/Uptake、細胞濃度により変更
6. 必要細胞数を入力
7. チェックを入れる。チェックを入れ忘れるとdataが大きくなる

サンプルをピペッティングしたい場合は
Mix sampleにチェックし
Sample Volumeをスライダーで調整

8. サンプルを、セットし、  を押す。

本体イルミネーションが緑になると、次のSampleを、。Go

セッティング・その他の保存



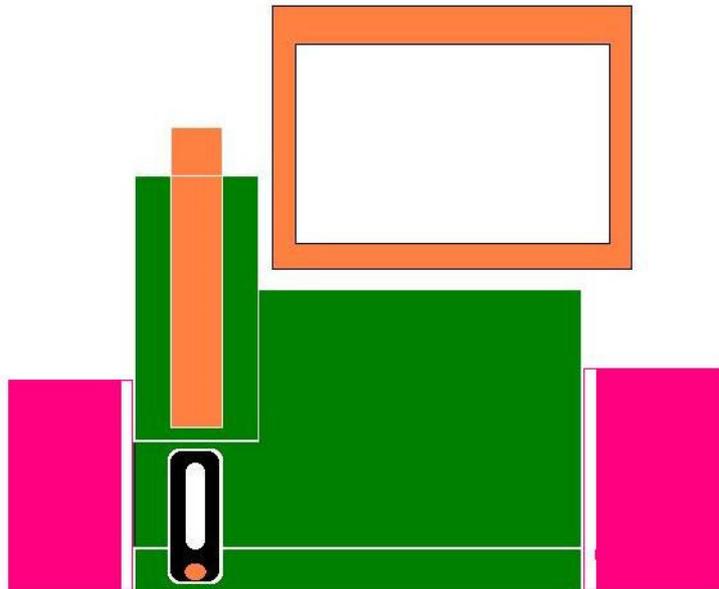
ファイルを選択後、右クリックで、色々出来ます。

サンプルdataの設定変更

Compensateのやり直し

Instrument settingの呼び出し

Analysisの雛形の呼び出し



左右イルミネーションがREDになると、危険です...
 点滅している、Bottleを交換してください(作動中は、気泡が入らないように)



一時停止をお勧めします。

右クリック



サンプルが詰まったとき

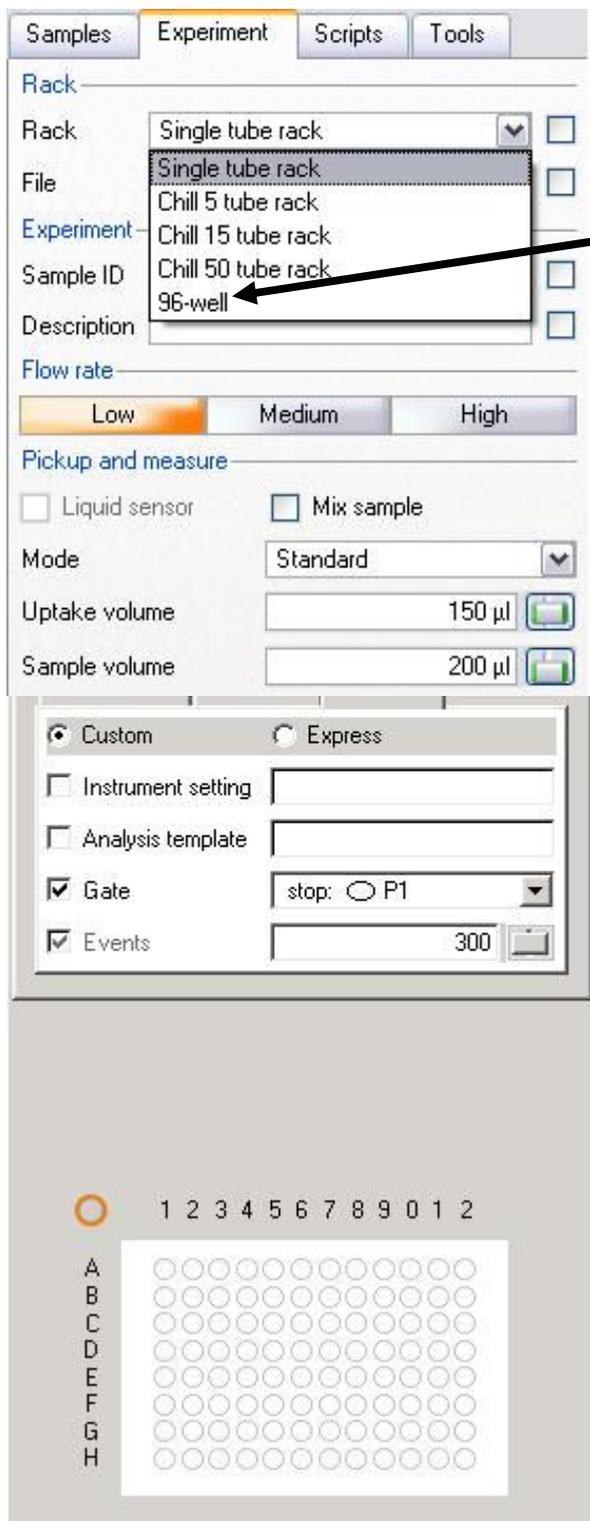
Lineの洗浄



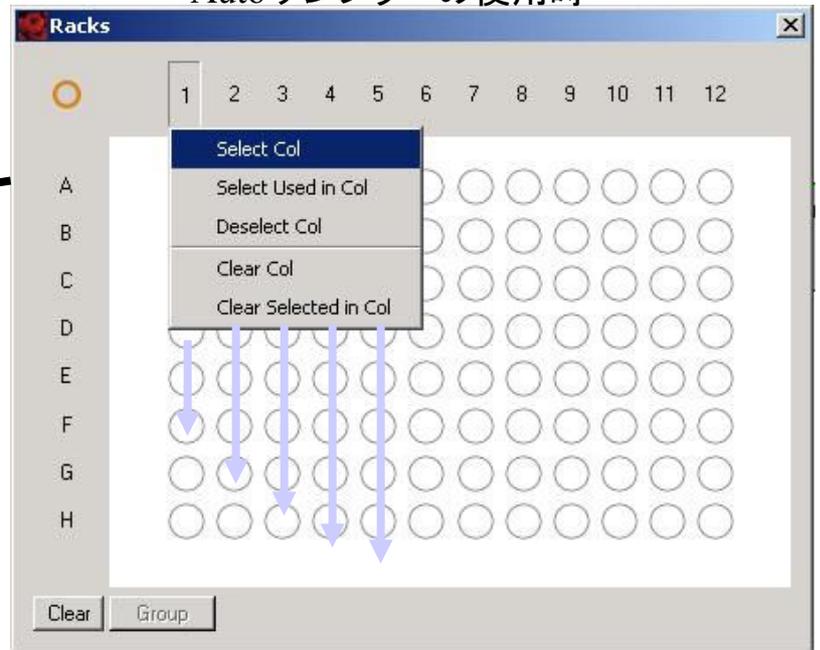
ハイターをセットし、Cleanを押す。

バックフラッシュ。

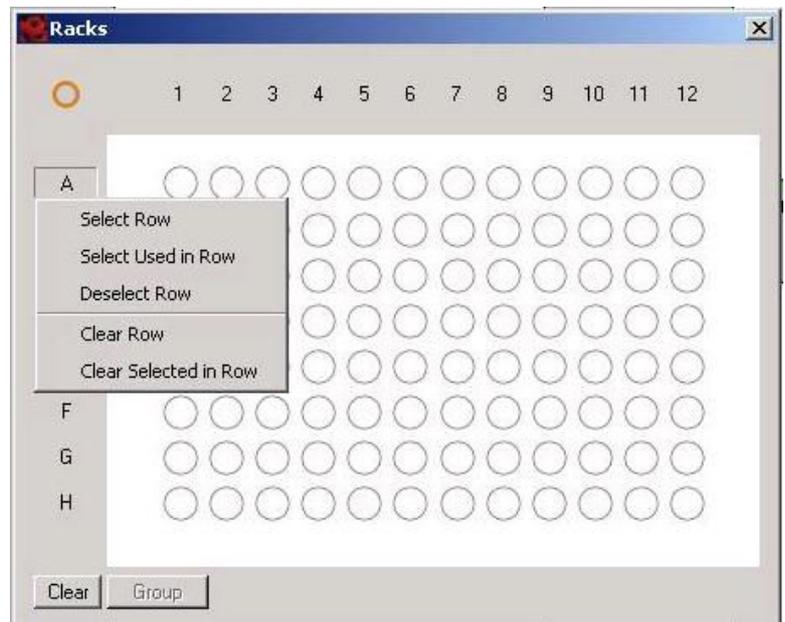
右クリック



Autoサンプラーの使用時



サンプルをピペッティングしたい場合は
Mix sampleにチェックし
Sample Volumeをスライダーで調整



注意

Data は、予告無く削除しますので、必ず、お持ち帰りください。

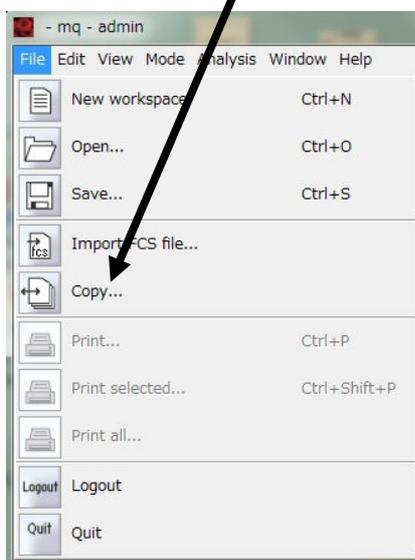
研究用機器にUSBメモリーを、使用される方は、必ず、各人コンピューターにウイルススキャンを導入してください。
高速での処理が必要なため、ウイルススキャンは、導入できません、各人で、感染していないUSBを使用してください。
また、個人dataの実行ファイルは、起動させないでください。

DATAのCopy

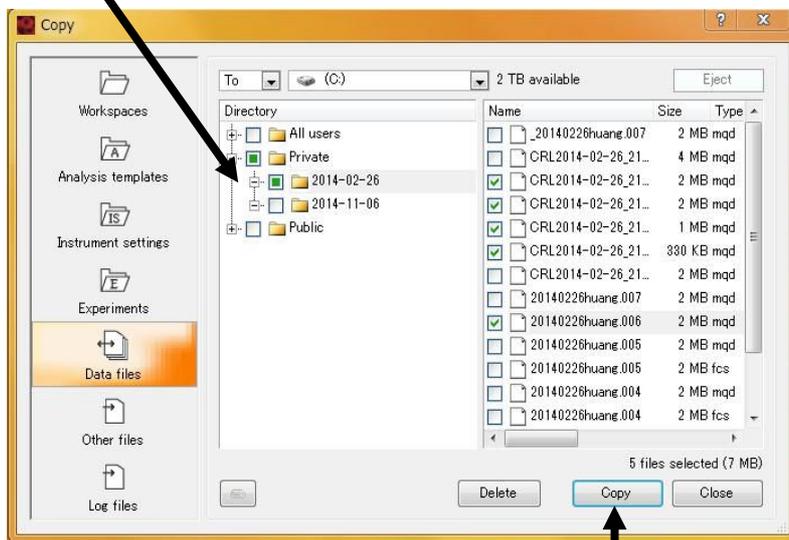
USBを、先に差し込んでください

Mqd形式のファイル:MACS独自のFormatの場合

Copyを選択



Private内の保存したdataを持ち帰る。



Copy実行



Data容量が多いと、時間が掛かります
1Gbyteで、約40分必要です

出来るだけ必要ないdataは、レコードしない・レコード細胞数を減らす



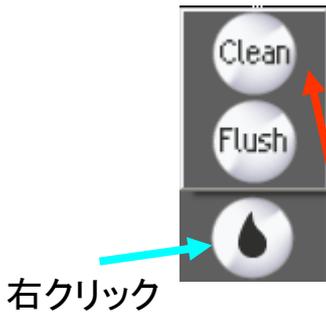
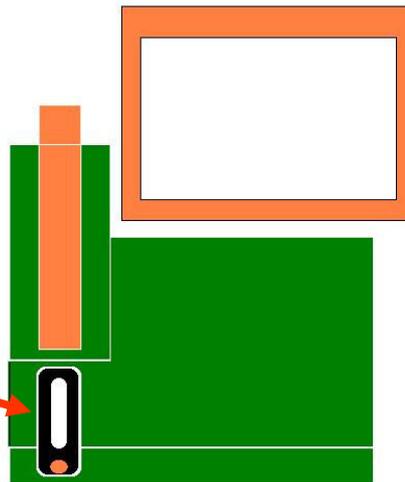
Reportで、移動を確認後、

Eject and closeで、USBを外す。

FlowJoで、dataを開く場合は、ご相談ください

シャット ダウン

1.10%ハイターをセットする

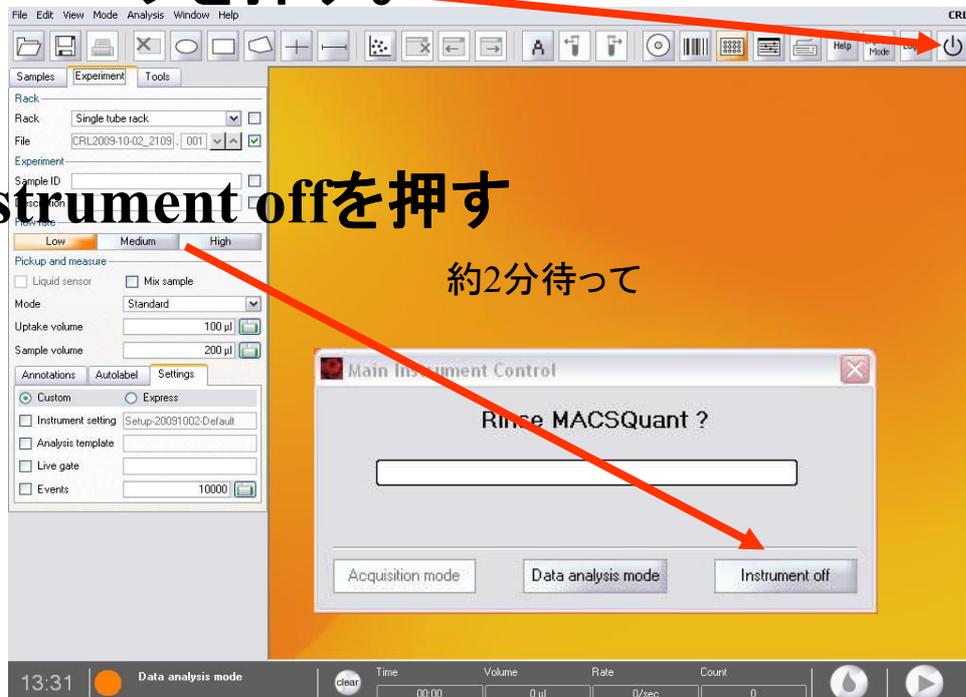


2. Cleanを押す、10分間ラインの洗浄をします。

廃液Bottleを、空の物と交換して、廃液は適切に処理してください。

3.  マークを押す。

4. Instrument offを押す



異常が生じた、Bottleが点滅します。

危険なサンプルを測定した場合は、電源が切れるまで待ち、廃液を処理してください。

使用簿を記入して退室ください。