

【FACS 立ち上げ簡易説明書】

2021年9月7日 新井佑 (MF20005)

メーカーの動画マニュアル：

[「http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html」](http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html)

1、パソコンを起動する。

User name : BDAdmin

Pass : BDIS#1\$\$

※Pass の数値を打つ時には、テンキーを使用しないでください。何故か、処理されません

2、本体電源（FACS 左側の緑のボタン）を点けて、**3分間**待つ。

3、Diva software を起動する。

※Log in 画面が出ますが、何も入力せずに「OK」を押す。

4、Cytometer window の右下が、「Cytometer Connected」に切り替わるのを待つ。

※3分経過しても切り替わらなければ、パソコンと FACS を点けなおしてください。

5、CST Mismatch window の「Use CST Setting」を押す。

6、Cytometer window より、Fluidics Cart の液量が満タンであることを確認する。

※左から、Sheath tank、Waste tank、DI tank、Bleach tank、70 % Ethanol tank であり、Waste tank は空であることを確認する。緑色のゲージが液量を示す。

7、Menu bar の「Cytometer」、「Cleaning Modes」、「Prime After Tank Refill」の順番に押し

て、表示されたチェックボックスすべてをチェックする。次に「OK」を押して、終了のメッセージを待つ。

8、Sheath tank 右上に、金属のリング型取っ手の付属した「ベンドバルブ」がある。これを引き上げて、Sheath tank に圧力がかかっていることを確認する。

9、Sheath tank に接続されている Sheath filter に気泡が入っていないことを確認する。気泡がある場合、Sheath filter 上部の突起に気泡を運んでからキャップを緩めて、気泡を除去する。

- 10、Menu bar の「Cytometer」、「Fluidics Startup」を押して、Fluidics Startup window のチェック項目に従って操作する。
※最後のノズルを挿入するボタンのみ無視して、装置を洗浄操作する。
- 11、Breakoff window の「Stream」を押して、フローセル内を数秒間洗浄する。
- 12、Stream を止めた状態で、Closed nozzle が挿入されていた場所に小児用綿棒をフローセルに挿入する。
- 13、Menu bar の「Cytometer」、「Cleaning Modes」、「Clean Flow Cell」を押して、50 % Contrad 溶液をチューブに入れて、ボルテックした後に Loading Port へ置き、「OK」を押す。
- 14、作業終了のメッセージが表示されたら「OK」を押して、1 分間静置する。
※機械が故障するので、15 分間以上は絶対に静置しないこと。
- 15、綿棒を除去して、Breakoff window の「Stream」を押す。
- 16、Menu bar の「Cytometer」、「Cleaning Mode」、「Sample Line Backflush」を押す。その後、「Start」を押して 30 秒間以上サンプルラインをフラッシングしてから、「Stop」、「Cancel」を押す。
- 17、「Stream」を押して送液を停止する」
- 18、綿棒やキムワイプを用いてノズルバー、ノズル挿入口、ソートブロック内部、ディフレーションプレート接続部、カメラウィンドウを Milli-Q で洗浄する。
- 19、測定する細胞のサイズに合わせて、ノズルを洗浄後フローセルに導入する。
※赤いリングは O ring と呼び、これが外れることで 10 万円ほど費用が掛かります。

【FACS CST 簡易説明書】

2021年9月7日 新井佑 (MF20005)

メーカーの動画マニュアル：

[「http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html」](http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html)

- 1、フローセルアクセスドアを開けて、ND フィルターが 1.0 であることを確認する。
- 2、Menu bar の「Cytometer」、「CST」を押す。
- 3、CST window が、Diva software と別に起動するので、window を切り替える。
- 4、Setup Control window から現在設定されている Configuration が、使用を考えている Sort Setup やノズルに切り替わっているかを確認する。
- 5、Setup Control window の Characterize が「Check Performance」に切り替わっているかを確認する。
- 6、CST Beads の Lot ID が正しく設定されているかを確認する。
- 7、5 mL の測定チューブに 350 μ L の FACSFlow とよく混和した CST Beads 1 滴を加える。
※ボルテックスが、きちんとされていない場合はエラーが出続ける。
- 8、CST Beads の入ったチューブをよく混和して、Loading Port において、フローセルアクセスドアを閉めた後、「Run」を押す。
- 9、赤字が無ければ、正常に CST が設定されている。赤字が出た場合は、機器の汚染や CST Beads が混和されていないこと、フローサイトアクセスドアが閉まっていないことが考えられる。これらを確認する。
- 10、CST 終了後、CST window を終了する。
- 11、Diva software 本体接続後に CST Mismatch window の「Use CST Setting」を押す。
- 12、Stream の Drop 1 値が落ち着くまで 1 分間待つ。

13、Drop 1 の Actual Value (Drop 1 の横にある 2 つのインジケータ右値) が、200 前後になるように Ampl 値を調整する。

14、Drop 1 の Target Value (Drop1 の横にある 2 つのインジケータ左値) に、Drop 1 Actual Value を入力する。

15、Gap の Target Value を確認する。

※初期値 : 70 micron → 6、85 micron → 7、100 micron → 10、130 micron → 12

※Sweet Spot を On にすると、自動的に Gap の Actual Value が調整される。

16、「Sweet Spot」を On にして、液滴形成位置を維持する。

17、細胞のサイズに合わせて、ND フィルターを変更する。

※大きい細胞ほど。ND フィルターの値も大きくする。

【FACS 測定条件の簡易説明書】

2021年9月7日 新井佑 (MF20005)

メーカーの動画マニュアル：

[「http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html」](http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html)

- 1、 Browser window に新しいフォルダおよび Experiment を作成する。
- 2、 Specimen の「+」を押して、下層にある Tube の「Acquisition Pointer (灰色の右向き矢印)」を押す。
- 3、 Cytometer window の Parameters tab を開いて、必要のない Parameter を削除する。
※多くの Parameter を残すと、データ量が多くなるだけでなく、場合によっては software が正常に動かなくなるそうです。
- 4、 Plot は散乱光として、横軸：FSC-A、縦軸：SSC-A、蛍光用 Plot を作成する。
※必要に応じて、Area Scaling Factor の調整用 Plot を作成する。
- 5、 未染色サンプルを流して、FSC および SSC を設定する。
※Cytometer window の Parameters tab、Voltage および Area Scaling を用いて、目的細胞集団が Plot に表示されるように設定する。
- 6、 単染色サンプルを流して、それぞれの蛍光に即した Laser の設定を上記と同様に行う。
- 7、 目的サンプルを測定する。

【FACS シャットダウンの簡易説明書】

2021年9月7日 新井佑 (MF20005)

メーカーの動画マニュアル：

[「http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html」](http://www.bdj.co.jp/biosciences/support/AriaIII-manual/pc/index.html)

- 1、3 mL FACSClean を Loading Port に置いて、Flow Rate 11.0 で Load し、5 分間洗浄する。
- 2、3 mL Milli-Q を Loading Port に置いて同様に洗浄する。
- 3、レーザーを停止して、「Stream」を押して、送液を止める。
- 4、フローセルからノズルを取り出して、FACS 起動時にした洗浄操作を行う。
- 5、センターアスピレータに 10 mL FACSRinse を加える。その後、Milli-Q も同様に加えて、洗浄操作する。
- 6、O-ring が着いていることを確認して、Closed-loop ノズルをフローセルに導入する。
- 7、Menu bar の「Cytometer」、「Cleaning Modes」、「Clean Flow Cell」を選択する。
- 8、3 mL Milli-Q を Loading Port に導入して、「OK」を押す。
- 9、測定したデータをすべて取り出して Diva software を終了する。
- 10、FACS およびパソコンをシャットダウンする。
- 11、Waste tank を空にして、他の tank を補充する。