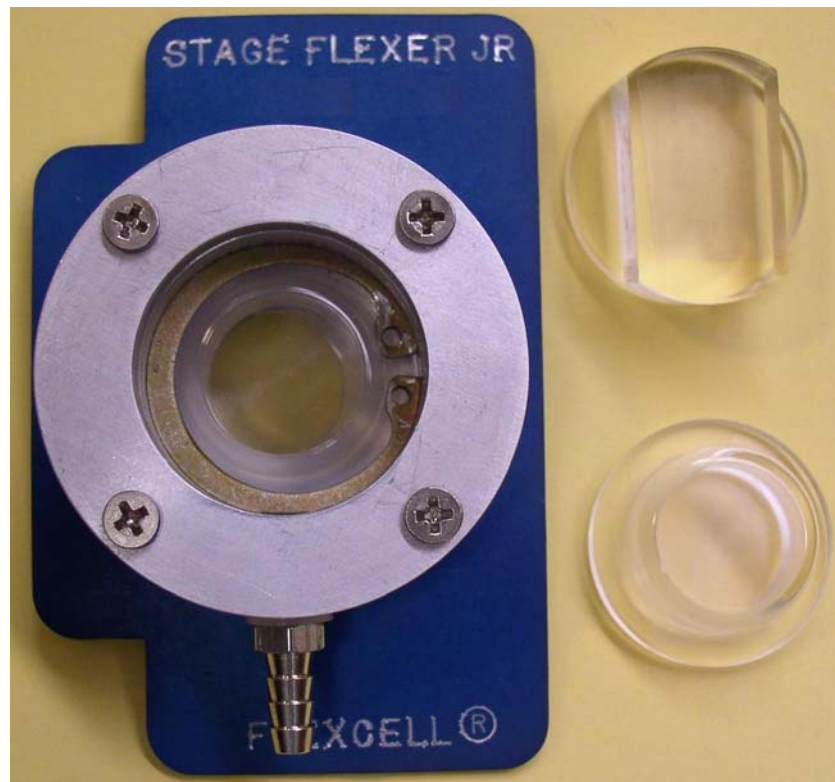




StageFlexer[®] Jr.

ユーザー用マニュアル



08-18-09
Rev 2.0

Culturing Cells in a Mechanically Active Environment[™]
Flexcell International Corporation • 437 Dimmocks Mill Road, Suite 28 • Hillsborough, NC 27278
800-728-3714 • (919) 732-1591 • FAX: (919) 732-5196 • www.flexcellint.com

COPYRIGHT © 2009 FLEXCELL[®] INTERNATIONAL CORPORATION



目次

StageFlexer® Jr. の使用	1
イントロダクション	1
StageFlexer® Jr. アセンブリー	1
Loading Station™ 使用時のプレーティングと細胞観察	2
StageFlexer® Jr. とFX-5000™ 或いはFlex Jr. ™ Tension システムとの連結.....	3
Loading Station™ 最小限界値	4
補遺	5
補遺 1: 変換表: BioFlex® メンブレンと18.5 mm Loading Station™	6
補遺 2: 変換表: TissueTrain® メンブレンとArctangle™ Loading Station™	7
補遺 3: 変換表: UniFlex® メンブレンとArctangle™ Loading Station™	8



STAGEFLEXER® JR. の使用

イントロダクション

Flexcell® StageFlexer® Jr. (図 1)は、ユーザーがBioFlex®、Tissue Train®、UniFlex®などの培養プレートのウェルからメンブレンを外し、その細胞ストレッチング応答活動を、引き続き顕微鏡下でリアルタイム観察できるようデザインされたものです。

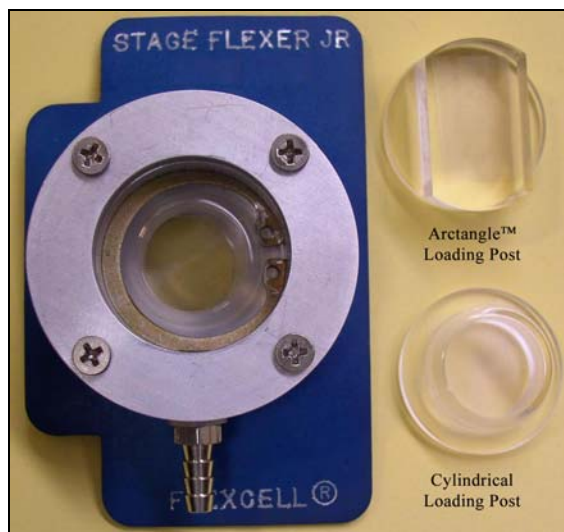


図 1. Flexcell® StageFlexer® Jr. と、Arctangle™ Loading Station™、径18.5 mm 円筒形 Loading Station™

切り取ったメンブレンは、小さな円筒状の真空チャンバーの上に固定、封鎖されます。FX-5000™ あるいはFlex Jr.™ のTension System と併用して真空をかけると、メンブレンが下方チャンバー内へ吸引されることにより、メンブレン表面上(BioFlex® プレート、UniFlex® プレート)あるいは三次元ゲル内(Tissue Train®)の培養細胞に伸縮力を加えます(図 2)。メンブレンは、開放性チャンバー内で自由に変形するか、あるいはLoading Station™ 上面にわたって変形し、細胞に均一な双軸性または単軸性伸縮を適用することができます(図 2)。このLoading Station™ には二種類の形があり、その幾何学性により伸縮ベクトルが定められます: 円筒形(直径18 mm)のものはBioFlex® プレートから外したメンブレンの双軸性伸縮に、Arctangle™ はTissue Train®、UniFlex® プレートから外したメンブレンの単軸性伸縮に用いられます(図 1)。

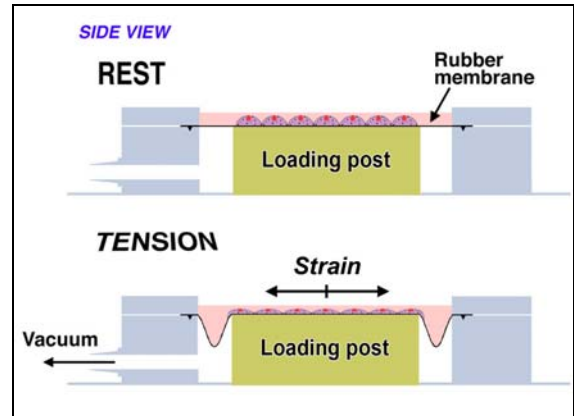


図 2. シリコンメンブレン上の培養細胞に対する伸縮適用を説明する模式図

StageFlexer® Jr. 装置内の細胞は、スタンダード型(正立)顕微鏡で観察できます。StageFlexer® Jr. 基底にある孔は、Loading Station™ を通して照らし出すためです。

STAGEFLEXER® JR. アセンブリー

StageFlexer® Jr. は八種の主要部分から成り、次のような順序で組み立てます(図 3):

1. StageFlexer® Jr. 体部
2. ゴム製ガスケット
3. Loading Station™
4. 保持リング
5. O-リング
6. シリコンメンブレン
7. 上面リング
8. ネジ 4個

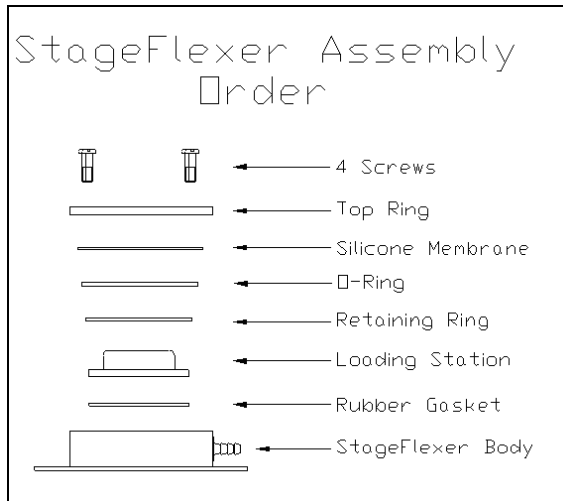


図3. StageFlexer® Jr. の組み立て順序

Loading Station™ (即ちローディングポスト)は中空の小さなアクリル製の部品で、StageFlexer® Jr. の真空チャンバー内に挿入します。これにゴムのガスケットと保持リングを併用して、真空を効果的に装置内に封鎖します。

Loading Station™ をStageFlexer® Jr. 内へ挿入する方法:

1. ゴムのガスケットの両側にシリコングリースを薄膜状に塗布し、StageFlexer® Jr. の底部へ挿入します。
2. まずLoading Station™ をStageFlexer® Jr. 内にセットしてください。保持リング専用プライヤーを用いてリングを挟んで十分引き締め、StageFlexer® Jr. 内へ押し込みます。リングを挟んだまま押し進め、StageFlexer® Jr. 底部に成型された位置へはめ込みます。リングを十分下方へ進めるのに、普通のドライバーか類似の工具で垂直圧を加える必要が生じることもあります。

Loading Station™ を除去するには、以上の手順の逆を行ってください。

セット後、Loading Station™ 上面に、付属の潤滑剤ルブリシル(Lubri-Sil™)をたっぷり、均一な層になるよう塗布してください。その意図は、シリコンメンブレンと Loading Station™ 間に境界層を形成し、摩擦を減少させることです。

次に、StageFlexer® Jr. 本体上部の周縁へOリングをセットします。そしてメンブレンをOリングのかかった真空チャンバーの上へ注意深く載せ、StageFlexer® Jr. 辺縁のネジ穴を目安に中心をとりまします。最後に、メンブレン固定用の上部リングをメンブレンとOリングの上に載せ、ネジを配置し、アセンブリーへメンブレンをしっかり締め付けます。

細胞に必要なだけメデュームを加えます。

径6.4 mm(1/4")の青色チューブを、BioFlex® アダプターと共にStageFlexer® Jr. 体部前面にあるコネクターに連結してください。組み立てた装置の基底部分は顕微鏡台上に適合し、観察が適切に行えるはずでです。

さらに、StageFlexer® Jr. には大きめのアルミニウム板が付属で含まれており、顕微鏡ステージへネジで固定することもできます。この板は、StageFlexer® Jr. 基底部にネジ止めされている小さい板と取り替えて使用するもので、単純にStageFlexer® Jr. 基底の4個のネジを外して、まず小さい板を除きます。その位置へ大きい方の板を、長端がStageFlexer® Jr. 前面のコネクターと反対側へ向くようにネジ止めします。次に、この大きいStageFlexer® Jr. ベース背面を専用の顕微鏡に適合するように取り付け、クリップをステージ背面にネジ2個で止めて固定する必要があります。ベース背面にあける穴は、クリップを所定の位置に固定する両ネジの間隔に正確に合わせます。寸法を測って穴をあけたら、大きいベースを顕微鏡ステージへネジで取り付けます。これで、StageFlexer® Jr. の位置を顕微鏡上で容易に調整し、所定位置に長期間維持することができます。

LOADING STATION™ 使用時の プレーティングと細胞観察

プレーティングと細胞観察に際して、メンブレンが完全にストレッチした位置でポスト上領域にある細胞のみが均一な伸縮力を受けることに留意する必要があります。従って、均一な伸縮負荷領域のみに細胞をプレーティングする、あるいは、均一な伸縮負荷領域にある細胞のみを対象に観察やテストを行うのが最善策です。この領域の確定には、次の式を用いることができます:



直径 = (Loading Station™ 直径) / (1 + (最大%伸長度/100))

この式で、“最大%伸長度”はレジメンで使われる最大%伸長度、計算される“直径”はメンブレン中央にできる同心円の直径を示します。従って、この円の外にある細胞は、均一な伸縮力を受けていないことになります。

Tissue Train® プレートを用いての適切な細胞培養法に関してはテクニカル レポート 100: *Tissue Train® Culture System*、線状3Dマトリックス内細胞培養法および機械的負荷法を、UniFlex® プレートを用いての培養ではテクニカル レポート 102: *UniFlex™ Culture System*、単層細胞培養系への単軸性機械的負荷の適用法の技術資料を参照してください。

STAGEFLEXER® JR. とFX-5000™ あるいはFLEX JR.™ TENSION システムとの連結

図 4に示すように、StageFlexer® Jr. 前面のホースバルブから出るアダプターとチューブで、FX-5000™ あるいは Flex Jr.™ のTension System と連結します。まず、付属の短い青色チューブとアダプターを、StageFlexer® Jr. 前面のバルブにセットしてください。次に、StageFlexer® Jr. 側の脱着コネクタ(9.5 mm (3/8”)、6.4 mm (1/4”)、すでにアダプターに接続している)を、FX-5000™ あるいはFlex Jr.™ のTension System 側の対応する**FLEX IN**と**FLEX OUT** チューブ端脱着コネクタに接続してください。

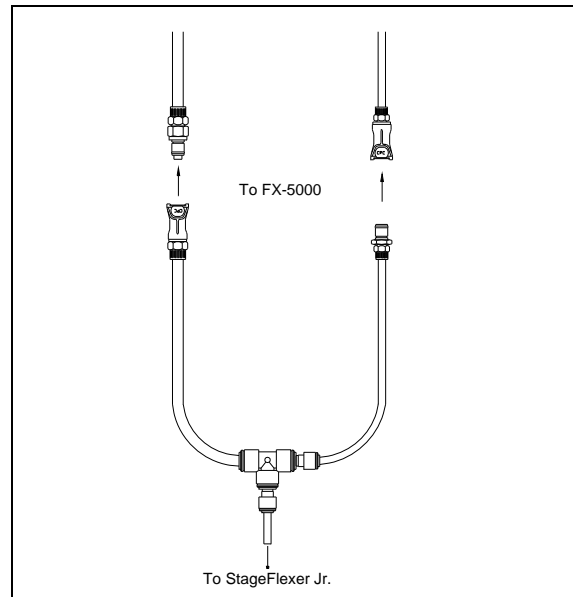


図4. StageFlexer® Jr. とFX-5000™ Tension装置 連結用チューブとアダプター

さらに、システムには白色PVC材の容積体(ポリウム)が含まれており、**FLEX IN**と**FLEX OUT**のチューブ回路にインラインで使用する必要があります。目的は、StageFlexer® Jr. の占める空気容量が小さいので、容量を追加してシステムの安定化を図るためです。このポリウムをセットするには、単純に、FX-5000™ あるいはFlex Jr.™ 側で接続する大きい透明チューブをその中間点でカットし、断端をPCVポリウムの各端のコネクタに連結します。



LOADING STATION™ 最小限界値

ここで重要なお注意は、Loading Station™ 上に静止摩擦が生ずるため、これを克服するのに必要な最小真空レベルが存在するということです。そのレベルに達するまでは、メンブレンはストレッチングを始めません。その限界値は、18.5 mm Loading Station™ では-12.0 kPa (1.8%伸長度)です。Arctangle™

Loading Station™ での限界値は、Tissue Train® メンブレンに用いた場合は-12.0 kPa (2.5%伸長度)、UniFlex® メンブレンに用いた場合は-16.0 kPa (1.5%伸長度)となります。細胞ストレッチングに際し、ここに示された各々のLoading Station™ における最小値以下の%伸長度を試みないでください。



補遺

補遺 1: 変換表: BioFlex® メンブレンと18.5 mm Loading Station™

補遺 2: 変換表: TissueTrain® メンブレンとArctangle™ Loading Station™

補遺 3: 変換表: UniFlex® メンブレンとArctangle™ Loading Station™



補遺 1: 変換表: BioFLEX® メンブレンと18.5 MM LOADING STATION™

Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain
0.00	0.0	0.000	32.39	4.9	0.049	64.25	9.8	0.098
0.67	0.1	0.001	33.04	5.0	0.050	64.90	9.9	0.099
1.33	0.2	0.002	33.70	5.1	0.051	65.54	10.0	0.100
2.00	0.3	0.003	34.35	5.2	0.052	66.19	10.1	0.101
2.66	0.4	0.004	35.01	5.3	0.053	66.83	10.2	0.102
3.33	0.5	0.005	35.66	5.4	0.054	67.47	10.3	0.103
3.99	0.6	0.006	36.32	5.5	0.055	68.12	10.4	0.104
4.66	0.7	0.007	36.97	5.6	0.056	68.76	10.5	0.105
5.32	0.8	0.008	37.63	5.7	0.057	69.40	10.6	0.106
5.98	0.9	0.009	38.28	5.8	0.058	70.05	10.7	0.107
6.65	1.0	0.010	38.93	5.9	0.059	70.69	10.8	0.108
7.31	1.1	0.011	39.59	6.0	0.060	71.33	10.9	0.109
7.98	1.2	0.012	40.24	6.1	0.061	71.97	11.0	0.110
8.64	1.3	0.013	40.89	6.2	0.062	72.61	11.1	0.111
9.30	1.4	0.014	41.55	6.3	0.063	73.26	11.2	0.112
9.97	1.5	0.015	42.20	6.4	0.064	73.90	11.3	0.113
10.63	1.6	0.016	42.85	6.5	0.065	74.54	11.4	0.114
11.29	1.7	0.017	43.50	6.6	0.066	75.18	11.5	0.115
11.95	1.8	0.018	44.15	6.7	0.067	75.82	11.6	0.116
12.62	1.9	0.019	44.81	6.8	0.068	76.46	11.7	0.117
13.28	2.0	0.020	45.46	6.9	0.069	77.10	11.8	0.118
13.94	2.1	0.021	46.11	7.0	0.070	77.74	11.9	0.119
14.60	2.2	0.022	46.76	7.1	0.071	78.38	12.0	0.120
15.26	2.3	0.023	47.41	7.2	0.072	79.02	12.1	0.121
15.92	2.4	0.024	48.06	7.3	0.073	79.66	12.2	0.122
16.58	2.5	0.025	48.71	7.4	0.074	80.29	12.3	0.123
17.25	2.6	0.026	49.36	7.5	0.075	80.93	12.4	0.124
17.91	2.7	0.027	50.01	7.6	0.076	81.57	12.5	0.125
18.57	2.8	0.028	50.66	7.7	0.077	82.21	12.6	0.126
19.23	2.9	0.029	51.31	7.8	0.078	82.85	12.7	0.127
19.89	3.0	0.030	51.96	7.9	0.079	83.48	12.8	0.128
20.55	3.1	0.031	52.61	8.0	0.080	84.12	12.9	0.129
21.21	3.2	0.032	53.26	8.1	0.081	84.76	13.0	0.130
21.87	3.3	0.033	53.91	8.2	0.082	85.40	13.1	0.131
22.52	3.4	0.034	54.56	8.3	0.083	86.03	13.2	0.132
23.18	3.5	0.035	55.20	8.4	0.084	86.67	13.3	0.133
23.84	3.6	0.036	55.85	8.5	0.085	87.30	13.4	0.134
24.50	3.7	0.037	56.50	8.6	0.086	87.94	13.5	0.135
25.16	3.8	0.038	57.15	8.7	0.087	88.58	13.6	0.136
25.82	3.9	0.039	57.79	8.8	0.088	89.21	13.7	0.137
26.47	4.0	0.040	58.44	8.9	0.089	89.85	13.8	0.138
27.13	4.1	0.041	59.09	9.0	0.090	90.48	13.9	0.139
27.79	4.2	0.042	59.73	9.1	0.091			
28.45	4.3	0.043	60.38	9.2	0.092			
29.10	4.4	0.044	61.03	9.3	0.093			
29.76	4.5	0.045	61.67	9.4	0.094			
30.42	4.6	0.046	62.32	9.5	0.095			
31.07	4.7	0.047	62.96	9.6	0.096			
31.73	4.8	0.048	63.61	9.7	0.097			



補遺 2: 変換表: TISSUE TRAIN® メンブレンとARCTANGLE™ LOADING STATION™

Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain
0.00	0.0	0.000	28.78	6.1	0.061	58.49	12.2	0.122
0.49	0.1	0.001	29.25	6.2	0.062	59.01	12.3	0.123
0.98	0.2	0.002	29.71	6.3	0.063	59.53	12.4	0.124
1.47	0.3	0.003	30.18	6.4	0.064	60.06	12.5	0.125
1.95	0.4	0.004	30.65	6.5	0.065	60.58	12.6	0.126
2.44	0.5	0.005	31.12	6.6	0.066	61.11	12.7	0.127
2.92	0.6	0.006	31.58	6.7	0.067	61.64	12.8	0.128
3.41	0.7	0.007	32.05	6.8	0.068	62.17	12.9	0.129
3.89	0.8	0.008	32.52	6.9	0.069	62.70	13.0	0.130
4.37	0.9	0.009	32.99	7.0	0.070	63.24	13.1	0.131
4.85	1.0	0.010	33.46	7.1	0.071	63.77	13.2	0.132
5.33	1.1	0.011	33.93	7.2	0.072	64.31	13.3	0.133
5.81	1.2	0.012	34.40	7.3	0.073	64.85	13.4	0.134
6.29	1.3	0.013	34.87	7.4	0.074	65.39	13.5	0.135
6.77	1.4	0.014	35.34	7.5	0.075	65.94	13.6	0.136
7.25	1.5	0.015	35.82	7.6	0.076	66.48	13.7	0.137
7.73	1.6	0.016	36.29	7.7	0.077	67.03	13.8	0.138
8.20	1.7	0.017	36.76	7.8	0.078	67.58	13.9	0.139
8.68	1.8	0.018	37.24	7.9	0.079	68.13	14.0	0.140
9.15	1.9	0.019	37.71	8.0	0.080	68.68	14.1	0.141
9.63	2.0	0.020	38.19	8.1	0.081	69.23	14.2	0.142
10.10	2.1	0.021	38.66	8.2	0.082	69.79	14.3	0.143
10.57	2.2	0.022	39.14	8.3	0.083	70.35	14.4	0.144
11.05	2.3	0.023	39.62	8.4	0.084	70.91	14.5	0.145
11.52	2.4	0.024	40.09	8.5	0.085	71.47	14.6	0.146
11.99	2.5	0.025	40.57	8.6	0.086	72.03	14.7	0.147
12.46	2.6	0.026	41.05	8.7	0.087	72.60	14.8	0.148
12.93	2.7	0.027	41.53	8.8	0.088	73.17	14.9	0.149
13.40	2.8	0.028	42.01	8.9	0.089	73.74	15.0	0.150
13.87	2.9	0.029	42.50	9.0	0.090	74.31	15.1	0.151
14.34	3.0	0.030	42.98	9.1	0.091	74.89	15.2	0.152
14.81	3.1	0.031	43.46	9.2	0.092	75.46	15.3	0.153
15.27	3.2	0.032	43.95	9.3	0.093	76.04	15.4	0.154
15.74	3.3	0.033	44.43	9.4	0.094	76.62	15.5	0.155
16.21	3.4	0.034	44.92	9.5	0.095	77.21	15.6	0.156
16.68	3.5	0.035	45.41	9.6	0.096	77.79	15.7	0.157
17.14	3.6	0.036	45.90	9.7	0.097	78.38	15.8	0.158
17.61	3.7	0.037	46.39	9.8	0.098	78.97	15.9	0.159
18.08	3.8	0.038	46.88	9.9	0.099	79.56	16.0	0.160
18.54	3.9	0.039	47.37	10.0	0.100	80.16	16.1	0.161
19.01	4.0	0.040	47.86	10.1	0.101	80.76	16.2	0.162
19.47	4.1	0.041	48.35	10.2	0.102	81.36	16.3	0.163
19.94	4.2	0.042	48.85	10.3	0.103	81.96	16.4	0.164
20.41	4.3	0.043	49.34	10.4	0.104	82.56	16.5	0.165
20.87	4.4	0.044	49.84	10.5	0.105	83.17	16.6	0.166
21.34	4.5	0.045	50.34	10.6	0.106	83.78	16.7	0.167
21.80	4.6	0.046	50.84	10.7	0.107	84.39	16.8	0.168
22.27	4.7	0.047	51.34	10.8	0.108	85.00	16.9	0.169
22.73	4.8	0.048	51.84	10.9	0.109	85.62	17.0	0.170
23.20	4.9	0.049	52.35	11.0	0.110	86.24	17.1	0.171
23.66	5.0	0.050	52.85	11.1	0.111	86.86	17.2	0.172
24.13	5.1	0.051	53.36	11.2	0.112	87.49	17.3	0.173
24.59	5.2	0.052	53.86	11.3	0.113	88.11	17.4	0.174
25.06	5.3	0.053	54.37	11.4	0.114	88.74	17.5	0.175
25.52	5.4	0.054	54.88	11.5	0.115	89.38	17.6	0.176
25.99	5.5	0.055	55.39	11.6	0.116	90.01	17.7	0.177
26.45	5.6	0.056	55.90	11.7	0.117			
26.92	5.7	0.057	56.42	11.8	0.118			
27.38	5.8	0.058	56.93	11.9	0.119			
27.85	5.9	0.059	57.45	12.0	0.120			
28.31	6.0	0.060	57.97	12.1	0.121			



補遺 3: 変換表: UNIFLEX® メンブレンとARCTANGLE™ LOADING STATION™

Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain
0.00	0.0	0.000	50.87	4.8	0.048
1.16	0.1	0.001	51.97	4.9	0.049
2.30	0.2	0.002	53.08	5.0	0.050
3.44	0.3	0.003	54.20	5.1	0.051
4.57	0.4	0.004	55.33	5.2	0.052
5.69	0.5	0.005	56.46	5.3	0.053
6.80	0.6	0.006	57.61	5.4	0.054
7.90	0.7	0.007	58.77	5.5	0.055
9.00	0.8	0.008	59.93	5.6	0.056
10.08	0.9	0.009	61.11	5.7	0.057
11.17	1.0	0.010	62.29	5.8	0.058
12.24	1.1	0.011	63.49	5.9	0.059
13.31	1.2	0.012	64.70	6.0	0.060
14.37	1.3	0.013	65.92	6.1	0.061
15.43	1.4	0.014	67.16	6.2	0.062
16.48	1.5	0.015	68.40	6.3	0.063
17.53	1.6	0.016	69.66	6.4	0.064
18.58	1.7	0.017	70.94	6.5	0.065
19.62	1.8	0.018	72.22	6.6	0.066
20.66	1.9	0.019	73.52	6.7	0.067
21.69	2.0	0.020	74.84	6.8	0.068
22.72	2.1	0.021	76.17	6.9	0.069
23.75	2.2	0.022	77.51	7.0	0.070
24.78	2.3	0.023	78.88	7.1	0.071
25.80	2.4	0.024	80.25	7.2	0.072
26.83	2.5	0.025	81.64	7.3	0.073
27.85	2.6	0.026	83.05	7.4	0.074
28.87	2.7	0.027	84.48	7.5	0.075
29.89	2.8	0.028	85.92	7.6	0.076
30.92	2.9	0.029	87.39	7.7	0.077
31.94	3.0	0.030	88.87	7.8	0.078
32.96	3.1	0.031	90.36	7.9	0.079
33.99	3.2	0.032			
35.02	3.3	0.033			
36.05	3.4	0.034			
37.08	3.5	0.035			
38.11	3.6	0.036			
39.15	3.7	0.037			
40.19	3.8	0.038			
41.23	3.9	0.039			
42.28	4.0	0.040			
43.33	4.1	0.041			
44.39	4.2	0.042			
45.46	4.3	0.043			
46.53	4.4	0.044			
47.60	4.5	0.045			
48.68	4.6	0.046			
49.77	4.7	0.047			