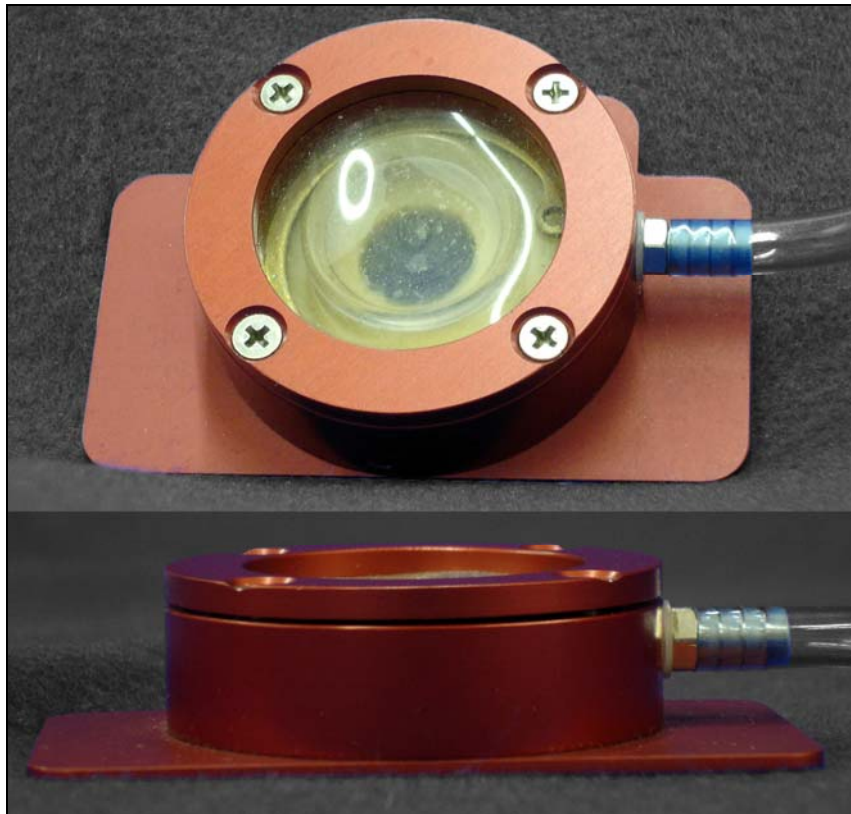




StageFlexer[®]

ユーザー用マニュアル



Rev 2.0: 08-18-09

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® の使用	1
イントロダクション	1
StageFlexer® 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® とFX-5000™ 或いはFlex Jr. のTension システムとの連結	3
Loading Station™ 最小限界値	3
補遺	4
補遺 1: 変換表: StageFlexer® 25 mm Loading Station™	5
補遺 2: 変換表: StageFlexer® 28 mm Loading Station™	6
補遺 3: 変換表: StageFlexer® 31 mm Loading Station™	7



STAGEFLEXER® の使用

イントロダクション

Flexcell® StageFlexer® (図 1)はFX-5000™ あるいはFlex Jr.™ のTension Systemと併用して、ユーザーが細胞ストレッチ活動を顕微鏡下で観察できるようデザインされたものです。直径42 mm のシリコンメンブレン (StageFlexer® Membrane) 表面で細胞を培養し、それを小円筒形の真空チャンバーの上に固定封鎖します。真空をかけると、チャンバー内へメンブレンが吸引されることにより、メンブレン表面上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變形するか、あるいはローディングポスト (loading post) を用いた場合、ローディングポスト上面にわたって變形し、細胞に均一な双軸性伸縮を適用することができます (図 2)。ローディングポストには直径の異なる三種類 (25 mm、28 mm、31 mm) があり、培養面積を変化させます。



図 1. Flexcell® StageFlexer®

StageFlexer® 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® 基底にある孔は、ローディングポストを通して照らし出すためです。

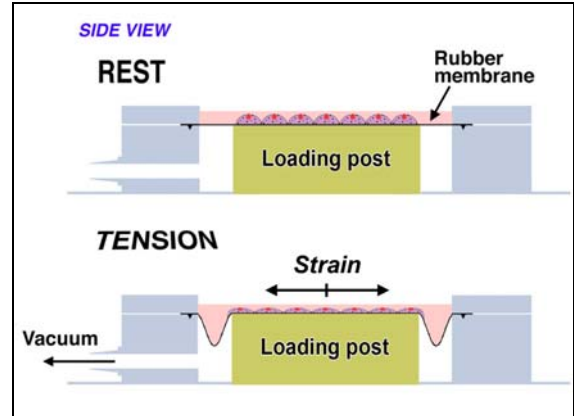


図 2. StageFlexer® 装置内の細胞に対する伸縮適用を説明する模式図

STAGEFLEXER® アセンブリー

StageFlexer® 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® 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

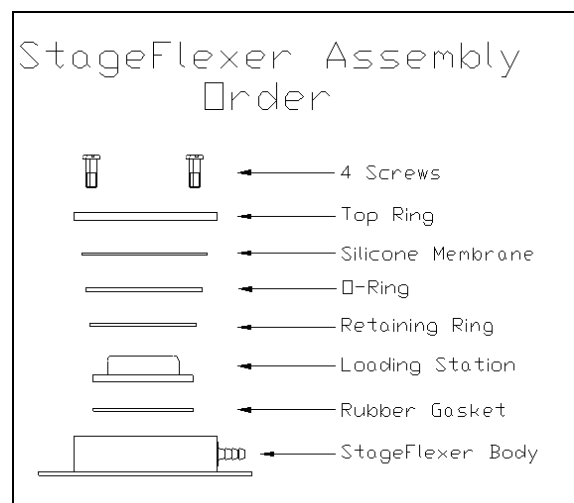


図 3. StageFlexer® の組み立て順序



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® 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® 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® の底部へ挿入します。
2. 径25 mm Loading Station™ を使用する場合は、まずそれをStageFlexer® 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引き締め、StageFlexer® 内へ押し込みます。リングを挟んだまま押し進め、StageFlexer® 底部に成型された位置へはめ込みます。リングを充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があります。
3. 径28 mm、31 mm Loading Station™ を使用する場合は、保持リング専用プライヤーを用いてリングをまず Loading Station™ 基部の周囲で挟んで引き締め、一緒にStageFlexer® 内へ押し込んでリングの所定位置へセットします。前述と同様、普通のドライバーか類似の工具が必要になることがあります。

Loading Station™ を除去するには、径25 mm、28 mm、31 mm それぞれに相当する、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® 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® 辺縁のネジ穴を目安に中心をとります。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SEMBリーヘ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6.35 mm (1/4")の青色チューブを、BioFlex® アダプターと共にStageFlexer® 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す。

さらに、StageFlexer® には大きめのアルミニウム板が付属で含まれており、顕微鏡ステージヘネジで固定することもできます。この板は、StageFlexer® 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® 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® 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® ベース背面を専用の顕微鏡に適合するように取り付けて、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ヘネジで取り付けます。これで、StageFlexer® 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:

$$\text{直径} = (\text{Loading Station™ 直径}) / (1 + (\text{最大\%伸長度} / 100))$$



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。

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

図 4に示すように、StageFlexer® 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 FlexJr.™ 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® 前面のバルブにセットしてください。次に、StageFlexer® 側の脱着コネクタをTension System 側チューブ端の脱着コネクタに下図に示すように接続してください。

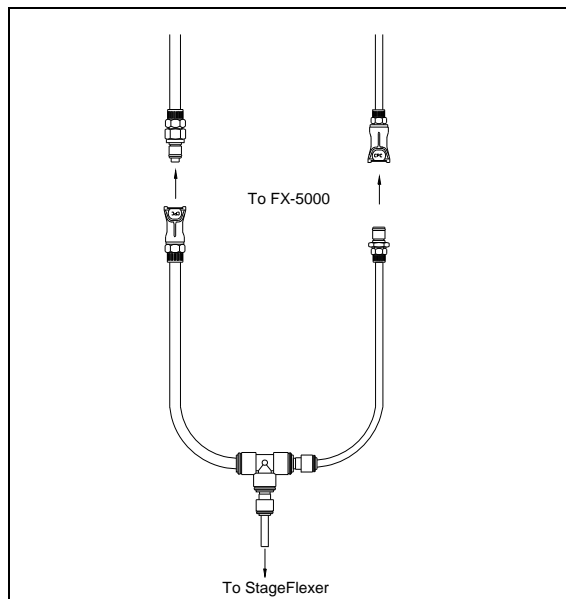


図 4. StageFlexer® とFX-5000™ Tension 装置連結用チューブとアダプター

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® 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ーに連結します。

LOADING STATION™ 最小限界値

ここで重要なご注意は、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事です。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、25 mm Loading Station™ では -6.0 kPa (1.6%伸長度)、28 mm Loading Station™ では -12.0 kPa (1.9%伸長度)、31 mm Loading Station™ では -16.0 kPa (2.1%伸長度)です。細胞ストレッチングに際し、ここに示された Loading Station™ 各直径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: StageFlexer® 25 mm Loading Station™

補遺 2: 変換表: StageFlexer® 28 mm Loading Station™

補遺 3: 変換表: StageFlexer® 31 mm Loading Station™



補遺 1: 変換表: STAGEFLEXER® 25 MM LOADING STATION™

Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain
0.00	0.0	0.000	23.01	5.4	0.054	58.77	10.8	0.108
0.28	0.1	0.001	23.57	5.5	0.055	59.52	10.9	0.109
0.57	0.2	0.002	24.13	5.6	0.056	60.28	11.0	0.110
0.86	0.3	0.003	24.70	5.7	0.057	61.03	11.1	0.111
1.16	0.4	0.004	25.28	5.8	0.058	61.79	11.2	0.112
1.46	0.5	0.005	25.86	5.9	0.059	62.56	11.3	0.113
1.77	0.6	0.006	26.44	6.0	0.060	63.32	11.4	0.114
2.09	0.7	0.007	27.03	6.1	0.061	64.09	11.5	0.115
2.41	0.8	0.008	27.62	6.2	0.062	64.86	11.6	0.116
2.74	0.9	0.009	28.21	6.3	0.063	65.63	11.7	0.117
3.08	1.0	0.010	28.81	6.4	0.064	66.41	11.8	0.118
3.42	1.1	0.011	29.41	6.5	0.065	67.18	11.9	0.119
3.76	1.2	0.012	30.02	6.6	0.066	67.96	12.0	0.120
4.11	1.3	0.013	30.63	6.7	0.067	68.74	12.1	0.121
4.47	1.4	0.014	31.25	6.8	0.068	69.53	12.2	0.122
4.83	1.5	0.015	31.87	6.9	0.069	70.31	12.3	0.123
5.20	1.6	0.016	32.49	7.0	0.070	71.10	12.4	0.124
5.57	1.7	0.017	33.12	7.1	0.071	71.89	12.5	0.125
5.95	1.8	0.018	33.75	7.2	0.072	72.69	12.6	0.126
6.33	1.9	0.019	34.38	7.3	0.073	73.48	12.7	0.127
6.72	2.0	0.020	35.02	7.4	0.074	74.28	12.8	0.128
7.12	2.1	0.021	35.67	7.5	0.075	75.08	12.9	0.129
7.52	2.2	0.022	36.31	7.6	0.076	75.88	13.0	0.130
7.93	2.3	0.023	36.96	7.7	0.077	76.68	13.1	0.131
8.34	2.4	0.024	37.62	7.8	0.078	77.49	13.2	0.132
8.75	2.5	0.025	38.27	7.9	0.079	78.30	13.3	0.133
9.18	2.6	0.026	38.93	8.0	0.080	79.11	13.4	0.134
9.60	2.7	0.027	39.60	8.1	0.081	79.92	13.5	0.135
10.04	2.8	0.028	40.27	8.2	0.082	80.73	13.6	0.136
10.47	2.9	0.029	40.94	8.3	0.083	81.55	13.7	0.137
10.92	3.0	0.030	41.61	8.4	0.084	82.36	13.8	0.138
11.36	3.1	0.031	42.29	8.5	0.085	83.18	13.9	0.139
11.82	3.2	0.032	42.97	8.6	0.086	84.00	14.0	0.140
12.27	3.3	0.033	43.66	8.7	0.087	84.82	14.1	0.141
12.74	3.4	0.034	44.35	8.8	0.088	85.65	14.2	0.142
13.21	3.5	0.035	45.04	8.9	0.089	86.47	14.3	0.143
13.68	3.6	0.036	45.73	9.0	0.090	87.30	14.4	0.144
14.16	3.7	0.037	46.43	9.1	0.091	88.13	14.5	0.145
14.64	3.8	0.038	47.13	9.2	0.092	88.96	14.6	0.146
15.13	3.9	0.039	47.84	9.3	0.093	89.79	14.7	0.147
15.62	4.0	0.040	48.54	9.4	0.094	90.62	14.8	0.148
16.12	4.1	0.041	49.26	9.5	0.095			
16.62	4.2	0.042	49.97	9.6	0.096			
17.13	4.3	0.043	50.69	9.7	0.097			
17.64	4.4	0.044	51.41	9.8	0.098			
18.15	4.5	0.045	52.13	9.9	0.099			
18.67	4.6	0.046	52.86	10.0	0.100			
19.20	4.7	0.047	53.59	10.1	0.101			
19.73	4.8	0.048	54.32	10.2	0.102			
20.26	4.9	0.049	55.05	10.3	0.103			
20.80	5.0	0.050	55.79	10.4	0.104			
21.35	5.1	0.051	56.53	10.5	0.105			
21.90	5.2	0.052	57.28	10.6	0.106			
22.45	5.3	0.053	58.02	10.7	0.107			



補遺 2: 変換表: STAGEFLEXER® 28 MM LOADING STATION™

<u>Press (-kPa)</u>	<u>% Elong</u>	<u>Strain</u>	<u>Press (-kPa)</u>	<u>% Elong</u>	<u>Strain</u>	<u>Press (-kPa)</u>	<u>% Elong</u>	<u>Strain</u>
0.00	0.0	0.000	32.86	5.4	0.054	67.08	10.8	0.108
0.70	0.1	0.001	33.43	5.5	0.055	67.83	10.9	0.109
1.39	0.2	0.002	34.00	5.6	0.056	68.59	11.0	0.110
2.08	0.3	0.003	34.57	5.7	0.057	69.36	11.1	0.111
2.76	0.4	0.004	35.14	5.8	0.058	70.13	11.2	0.112
3.44	0.5	0.005	35.71	5.9	0.059	70.91	11.3	0.113
4.11	0.6	0.006	36.29	6.0	0.060	71.70	11.4	0.114
4.78	0.7	0.007	36.86	6.1	0.061	72.49	11.5	0.115
5.44	0.8	0.008	37.44	6.2	0.062	73.29	11.6	0.116
6.10	0.9	0.009	38.01	6.3	0.063	74.10	11.7	0.117
6.76	1.0	0.010	38.59	6.4	0.064	74.91	11.8	0.118
7.41	1.1	0.011	39.17	6.5	0.065	75.73	11.9	0.119
8.05	1.2	0.012	39.75	6.6	0.066	76.56	12.0	0.120
8.69	1.3	0.013	40.33	6.7	0.067	77.40	12.1	0.121
9.33	1.4	0.014	40.92	6.8	0.068	78.25	12.2	0.122
9.97	1.5	0.015	41.51	6.9	0.069	79.10	12.3	0.123
10.60	1.6	0.016	42.10	7.0	0.070	79.96	12.4	0.124
11.22	1.7	0.017	42.69	7.1	0.071	80.83	12.5	0.125
11.85	1.8	0.018	43.28	7.2	0.072	81.71	12.6	0.126
12.47	1.9	0.019	43.88	7.3	0.073	82.59	12.7	0.127
13.08	2.0	0.020	44.47	7.4	0.074	83.48	12.8	0.128
13.70	2.1	0.021	45.07	7.5	0.075	84.39	12.9	0.129
14.31	2.2	0.022	45.68	7.6	0.076	85.30	13.0	0.130
14.92	2.3	0.023	46.28	7.7	0.077	86.21	13.1	0.131
15.52	2.4	0.024	46.89	7.8	0.078	87.14	13.2	0.132
16.12	2.5	0.025	47.51	7.9	0.079	88.08	13.3	0.133
16.72	2.6	0.026	48.12	8.0	0.080	89.02	13.4	0.134
17.32	2.7	0.027	48.74	8.1	0.081	89.98	13.5	0.135
17.91	2.8	0.028	49.36	8.2	0.082	90.94	13.6	0.136
18.51	2.9	0.029	49.99	8.3	0.083			
19.10	3.0	0.030	50.62	8.4	0.084			
19.68	3.1	0.031	51.25	8.5	0.085			
20.27	3.2	0.032	51.89	8.6	0.086			
20.85	3.3	0.033	52.53	8.7	0.087			
21.43	3.4	0.034	53.17	8.8	0.088			
22.01	3.5	0.035	53.82	8.9	0.089			
22.59	3.6	0.036	54.48	9.0	0.090			
23.17	3.7	0.037	55.13	9.1	0.091			
23.75	3.8	0.038	55.79	9.2	0.092			
24.32	3.9	0.039	56.46	9.3	0.093			
24.89	4.0	0.040	57.13	9.4	0.094			
25.47	4.1	0.041	57.81	9.5	0.095			
26.04	4.2	0.042	58.49	9.6	0.096			
26.61	4.3	0.043	59.17	9.7	0.097			
27.18	4.4	0.044	59.86	9.8	0.098			
27.75	4.5	0.045	60.56	9.9	0.099			
28.32	4.6	0.046	61.26	10.0	0.100			
28.88	4.7	0.047	61.97	10.1	0.101			
29.45	4.8	0.048	62.68	10.2	0.102			
30.02	4.9	0.049	63.40	10.3	0.103			
30.59	5.0	0.050	64.12	10.4	0.104			
31.16	5.1	0.051	64.85	10.5	0.105			
31.72	5.2	0.052	65.59	10.6	0.106			
32.29	5.3	0.053	66.33	10.7	0.107			



補遺 3: 変換表: STAGEFLEXER® 31 MM LOADING STATION™

Press (-kPa)	% Elong	Strain	Press (-kPa)	% Elong	Strain
0.00	0.0	0.000	58.56	5.3	0.053
0.37	0.1	0.001	59.89	5.4	0.054
0.79	0.2	0.002	61.21	5.5	0.055
1.25	0.3	0.003	62.51	5.6	0.056
1.76	0.4	0.004	63.80	5.7	0.057
2.31	0.5	0.005	65.07	5.8	0.058
2.91	0.6	0.006	66.33	5.9	0.059
3.54	0.7	0.007	67.56	6.0	0.060
4.22	0.8	0.008	68.78	6.1	0.061
4.94	0.9	0.009	69.98	6.2	0.062
5.70	1.0	0.010	71.15	6.3	0.063
6.49	1.1	0.011	72.31	6.4	0.064
7.32	1.2	0.012	73.44	6.5	0.065
8.18	1.3	0.013	74.54	6.6	0.066
9.08	1.4	0.014	75.62	6.7	0.067
10.01	1.5	0.015	76.67	6.8	0.068
10.98	1.6	0.016	77.69	6.9	0.069
11.97	1.7	0.017	78.69	7.0	0.070
13.00	1.8	0.018	79.65	7.1	0.071
14.05	1.9	0.019	80.58	7.2	0.072
15.13	2.0	0.020	81.48	7.3	0.073
16.23	2.1	0.021	82.35	7.4	0.074
17.36	2.2	0.022	83.18	7.5	0.075
18.51	2.3	0.023	83.97	7.6	0.076
19.69	2.4	0.024	84.72	7.7	0.077
20.89	2.5	0.025	85.44	7.8	0.078
22.11	2.6	0.026	86.12	7.9	0.079
23.34	2.7	0.027	86.76	8.0	0.080
24.60	2.8	0.028	87.35	8.1	0.081
25.87	2.9	0.029	87.90	8.2	0.082
27.16	3.0	0.030	88.41	8.3	0.083
28.46	3.1	0.031	88.87	8.4	0.084
29.78	3.2	0.032	89.29	8.5	0.085
31.11	3.3	0.033	89.66	8.6	0.086
32.45	3.4	0.034	89.98	8.7	0.087
33.80	3.5	0.035	90.25	8.8	0.088
35.16	3.6	0.036			
36.53	3.7	0.037			
37.90	3.8	0.038			
39.28	3.9	0.039			
40.67	4.0	0.040			
42.05	4.1	0.041			
43.44	4.2	0.042			
44.84	4.3	0.043			
46.23	4.4	0.044			
47.62	4.5	0.045			
49.00	4.6	0.046			
50.39	4.7	0.047			
51.77	4.8	0.048			
53.14	4.9	0.049			
54.51	5.0	0.050			
55.87	5.1	0.051			
57.22	5.2	0.052			