



StagePresser™

ユーザー用マニュアル



06-30-09
Rev 1.2

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

StagePresser™ の使用	1
StagePresser™ アセンブリーと使用	1
装置のメンテナンス	2
StagePresser™ とFX-5000™ Compression システムとの連結	2
補遺	4
補遺 1: StagePresser™ 圧縮単位変換表	5



STAGEPRESSER™ の使用

StagePresser™ は単一の組織試料あるいはゲル内の細胞に圧縮力をかけ、ユーザーが細胞圧縮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。StagePresser™ ではシリコンラバーメンブレンに付着したピストンを用い、培養系の試料に力を適用します。シリコンメンブレンに陽圧をかけるにより、このピストンが上下運動させられます。装置はFlexcell® FX-5000™ のCompression Systemと併用し、圧縮周波数(頻度)、振幅(強度)、波形、周期数(または持続時間)を制御します。

STAGEPRESSER™ アセンブリーと使用

StagePresser™ の主要アセンブリーは以下の部分から成っています:

1. StageFlexer™ 体部
2. 黒ゴム製円盤(封鎖用)
3. StageFlexer™ シリコンメンブレン、ピストン、試料ホルダーのアセンブリー
4. O-リング
5. 固定性の蓋
6. 高さを調節できる上蓋 (O-リング、ガラス窓、締め付け用リング付き)

StagePresser™ の装置が届き次第この主要部を組み立てる必要があります。このアセンブリーは使用中一体となっていなければなりません。正常使用時には、ただ装置の調節性上蓋とチャンパー内の試料ホルダーを外して調整するだけです。

組織あるいは培養試料は、StagePresser™ 内のシリコンメンブレン/ピストン/試料ホルダーアセンブリー中央部にある小さなスポンジ製試料ホルダーの中にセットします。圧縮作用を確保するため、ゲルあるいは組織試料試料の厚みは最小1000 μm以上必要です。3 mm(0.118")以下であることを確認してください。これは圧縮状態におけるスポンジの厚みが350 μmで、従ってそれより薄い試料は圧縮できないためです。

試料の直径は、チャンパー内にあるスポンジ製試料ホルダーの内径5 mm(0.200")と等しいかそれ以下

である必要があります。もし大きめの試料を用いたい場合は、試料ホルダーを外し通常はホルダーの収まっている外輪内に試料をセットすることが可能です。この場合、許容できる試料の範囲は直径13 mm(0.525")までです。

試料がチャンパー内にセットされたら、調節性上蓋をStagePresser™ 体部へネジでまず止め、これを時計回りにガラス底が試料の上部に丁度接触し始めるまで回します。ネジを何度回す必要があるかを正確に決めたい場合は、上蓋を回転させてその面がStageFlexer™ 体部と正確に同一平面上にくるように調整します。それから、以下の指示に従い等式を用いて計算してください:

ご注意: 試料の高さが3.81 mm(0.150")を超えると、上蓋を回転させると同時にその表面がStagePresser™ 体部と同一平面上にきて、既に試料を圧縮することになります。この場合は、円周部にある4個のネジを外して解体し、StagePresser™ 体部を基底からはずした後に、以下の等式から得られた結果にしたがって上面カバーを調節してください。上蓋が調節できたら、試料が試料ホルダー内にセットされたまま基底と体部を再び組み立てます。組み立てる際の注意として、メンブレン/ピストンのアセンブリーがStagePresser™ 基底に対し正確に中心位にきており、O-リングが基底部円周部にあるO-リング溝の中心にくるよう確認してください。

以下の等式における‘x’値を用いて、試料の上部に接触する位置にもってくるためには、どちらの方向へ何回転する必要があるかを定めてください。

試料高さをミリメートルで表わして計算すると:

$$x = (3.81 - h_s) / 0.39$$

ここに、x は調節ネジが試料の上部に丁度接触する位置にもってくるために必要な、ネジを回す(正数(+)=時計まわり方向に180度; 負数(-)=反時計まわり方向)回数、 h_s は試料の高さをミリメートルで示します。

試料高さをインチで表わして計算すると:



$$x = (0.150 - h_s) / 0.015$$

ここに、 x は調節ネジが試料の上部に丁度接触する位置にもってくるために必要な、ネジを回す(正数(+)=時計まわり方向に180度; 負数(-)=反時計まわり方向)回数、 h_s は試料の高さをインチで示します。

調節性上蓋の回転数あるいは部分的回転数のモニターとして、円周囲に八つある培養メデューム追加孔およびStagePresser™ 体部円周にある四つのネジ穴を利用してください。

次に、必要に応じて、細胞あるいは組織試料に培養メデュームを3-5 mL加えます。メデューム液の追加あるいは除去は調節性上蓋の円周囲にある孔を介して行います。

組み立てた装置の基底部は顕微鏡台上に適合し、観察が適切に行えるはずで、さらに、大きめの基板が付属に含まれており、顕微鏡ステージへネジで固定することもできます。単純に、基底部から4個のネジを外して、その位置へ大きい方の板がくるように再び組み立てます。

装置内の組織試料あるいはゲルの顕微鏡観察には、上方からの光源が必要です。光源を試料に向け、顕微鏡を必要に応じて調節し、試料を照らし出して観察します。3D試料の観察には正立型(スタンダード型)顕微鏡が必要とされます。

装置のメンテナンス

実験が終了したら、培養メデュームを除去し、装置を脱イオン水で洗浄します。各実験毎に装置を洗わないと、最終的にはアルミニウムが酸化して美観を損なうことになります。

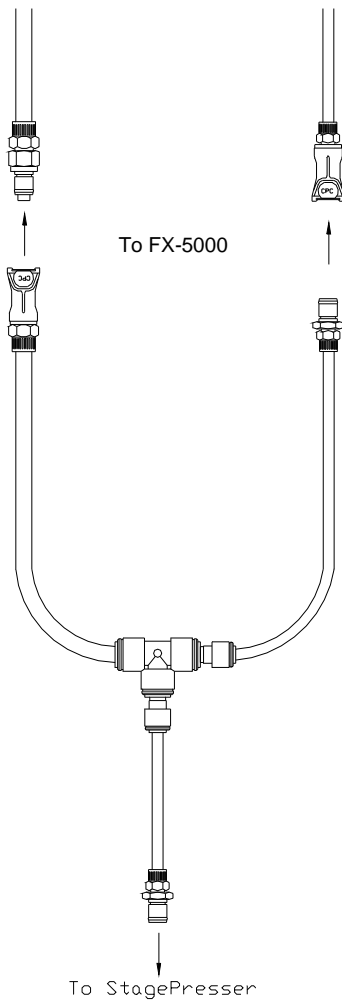
調節性上蓋の側面にある溝には、テフロン(Teflon®)テープの薄い層があります。この層は、溝間に生ずる不要な隙間のために、上蓋が圧縮中に垂直運動することを防止する役目をします。もしこのテープがすり切れて取れてしまい、高さを調節している上蓋がStagePresser™ 内で垂直方向の安定性を失った

ような場合は、アクセサリーのキットに含まれているテフロンテープで溝に薄層をもう一つ足してください

STAGEPRESSER® とFX-5000™ COMPRESSION システムとの連結

図 1に示すように、StagePresser™ 側の脱着コネクタをFX-5000™ 側チューブ端の脱着コネクタに接続してください。

さらに、白色PVC材の容積体(ボリュウム、システムに含まれています)をチューブ回路にインラインで使用する必要があります。FX-5000™ 側で接続するチューブをその中間点でカットし、PCVボリュウムの各端のコネクタに連結します。StagePresser™ にレジメンを指定するには、レジメンダウンロードの際、単純に、**StagePresser** をプラットフォームとして選択してください。これで、指定された力値を調節するコンピューターに適切な変換データの規定がなされます。プラットフォーム選択のドロップダウンメニューの中に**StagePresser** が含まれていないような場合は、Flexcell社までご連絡ください。



ご注意: FX-5000™ FlexSoft® プログラムを用いた StagePresser™ 作動レジメンプログラミングでは、負荷量の単位として力(重量ポンド)が%伸長度の代わりに用いられています。従って、レジメンをプログラムする際、特定の負荷力の最大値および最小値を%伸長度でなくポンドで指定するのをご留意ください。

図 1. StagePresser™ と FX-5000™ Compression 装置連結用チューブとアダプター



補遺

補遺 1: StagePresser™ 圧縮単位変換表



補遺 1: STAGEPRESSER™ 壓縮單位變換表

<u>Press (kPa)</u>	<u>Force (lb)</u>	<u>Press (kPa)</u>	<u>Force (lb)</u>	<u>Press (kPa)</u>	<u>Force (lb)</u>	<u>Press (kPa)</u>	<u>Force (lb)</u>
0.00	0.0	27.41	5.4	54.81	10.8	82.22	16.2
0.51	0.1	27.91	5.5	55.32	10.9	82.72	16.3
1.02	0.2	28.42	5.6	55.83	11.0	83.23	16.4
1.52	0.3	28.93	5.7	56.33	11.1	83.74	16.5
2.03	0.4	29.44	5.8	56.84	11.2	84.25	16.6
2.54	0.5	29.94	5.9	57.35	11.3	84.75	16.7
3.05	0.6	30.45	6.0	57.86	11.4	85.26	16.8
3.55	0.7	30.96	6.1	58.36	11.5	85.77	16.9
4.06	0.8	31.47	6.2	58.87	11.6	86.28	17.0
4.57	0.9	31.97	6.3	59.38	11.7	86.78	17.1
5.08	1.0	32.48	6.4	59.89	11.8	87.29	17.2
5.58	1.1	32.99	6.5	60.39	11.9	87.80	17.3
6.09	1.2	33.50	6.6	60.90	12.0	88.31	17.4
6.60	1.3	34.00	6.7	61.41	12.1	88.81	17.5
7.11	1.4	34.51	6.8	61.92	12.2	89.32	17.6
7.61	1.5	35.02	6.9	62.42	12.3	89.83	17.7
8.12	1.6	35.53	7.0	62.93	12.4	90.34	17.8
8.63	1.7	36.03	7.1	63.44	12.5	90.84	17.9
9.14	1.8	36.54	7.2	63.95	12.6		
9.64	1.9	37.05	7.3	64.45	12.7		
10.15	2.0	37.56	7.4	64.96	12.8		
10.66	2.1	38.06	7.5	65.47	12.9		
11.17	2.2	38.57	7.6	65.98	13.0		
11.67	2.3	39.08	7.7	66.48	13.1		
12.18	2.4	39.59	7.8	66.99	13.2		
12.69	2.5	40.09	7.9	67.50	13.3		
13.20	2.6	40.60	8.0	68.01	13.4		
13.70	2.7	41.11	8.1	68.51	13.5		
14.21	2.8	41.62	8.2	69.02	13.6		
14.72	2.9	42.12	8.3	69.53	13.7		
15.23	3.0	42.63	8.4	70.04	13.8		
15.73	3.1	43.14	8.5	70.54	13.9		
16.24	3.2	43.65	8.6	71.05	14.0		
16.75	3.3	44.15	8.7	71.56	14.1		
17.26	3.4	44.66	8.8	72.07	14.2		
17.76	3.5	45.17	8.9	72.57	14.3		
18.27	3.6	45.68	9.0	73.08	14.4		
18.78	3.7	46.18	9.1	73.59	14.5		
19.29	3.8	46.69	9.2	74.10	14.6		
19.79	3.9	47.20	9.3	74.60	14.7		
20.30	4.0	47.71	9.4	75.11	14.8		
20.81	4.1	48.21	9.5	75.62	14.9		
21.32	4.2	48.72	9.6	76.13	15.0		
21.82	4.3	49.23	9.7	76.63	15.1		
22.33	4.4	49.74	9.8	77.14	15.2		
22.84	4.5	50.24	9.9	77.65	15.3		
23.35	4.6	50.75	10.0	78.16	15.4		
23.85	4.7	51.26	10.1	78.66	15.5		
24.36	4.8	51.77	10.2	79.17	15.6		
24.87	4.9	52.27	10.3	79.68	15.7		
25.38	5.0	52.78	10.4	80.19	15.8		
25.88	5.1	53.29	10.5	80.69	15.9		
26.39	5.2	53.80	10.6	81.20	16.0		
26.90	5.3	54.30	10.7	81.71	16.1		

