

## FACS コアラボラトリー (URL: <http://facscorelab.com/>)

室 長: 中内 啓光  
管理者: 大津 真  
担当者: 石井 有実子  
藤田 梓  
山根さやか

当コアラボラトリーは、2004 年 4 月に文部科学省『再生医療の実現化プロジェクト・研究用幹細胞バンク整備領域』の一環として、幹細胞の解析・分離支援を目的として開設されました。開設当初より医科研内・外の研究者に開放された、フローサイトメトリー(FCM)による細胞分取・解析支援のコアファシリティです。幹細胞をはじめとした細胞生物学、医科学研究の発展のため、利用者本位の支援を行っています。

### 【連絡先】

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1  
東京大学医科学研究所 FACS コアラボラトリー(1号館西側1階)  
Phone: 03-5449-5288 (内線 75288)  
Fax: 03-5449-5764  
E-mail: [facs@ims.u-tokyo.ac.jp](mailto:facs@ims.u-tokyo.ac.jp)

### 現在稼働中の FCM

#### *Cell Sorter*

- FACSAria 1,2 号機 4-Laser( 375 or 405,488,633nm ) 11-color + 2 parameter  
375nm と 405nm レーザーは切り替え仕様となり、同時発振は出来ません。
- FACSAria 3 号機 3-Laser(405,488,633nm ) 11-color + 2 parameter  
3 号機は東京大学関係者が優先予約、使用できる機器になります。  
2-way, 4-way, Plate sorting(6 – 384 well)が可能です。
- SONY SH800 1-Laser (488nm) 5 color + 2 parameter  
2-way sorting のみ可能です。  
原則としてオペレーターのサポートはありません。

## Cell Analyzer

FACSVerse      3-laser 8color + 2 parameter    Universal Loader 付き  
(リーディング大学院実習機器のため、東京大学関係者のみ利用できます。)  
FACSCalibur    2-Laser 4-color + 2 parameter

## サービス内容

### 1. FCM を使用した細胞分離・解析支援

FCM を使用して、幹細胞や免疫担当細胞などの分離・解析支援を行います。ご利用は、医科研内・外の研究者で（企業の研究者も含まれます）、当ラボにご自身でサンプルを調製、持参可能な方に限ります。クリーンベンチ、遠心器等の設備もありますので、こちらで細胞調製、sorting 後の細胞回収等の操作をする事も可能です。

### 2. FCM に関するコンサルテーション

頻度の極めて低い細胞のソーティングやマルチカラー解析などを行う際には、磁気ビーズ法による pre-depletion や抗体と蛍光色素のパネル選択など、事前に検討することが重要です。このような FACS に関する相談に、スタッフが対応いたします。

申込方法： ホームページのお問合せフォームか e-mail でご連絡下さい。

## 利用方法

### Step 1. 利用者登録

コアラボのホームページ（ <http://facscorelab.com/> ）の[サービス→細胞分離・解析支援]の項目から利用申請書をダウンロードし、必要事項を記入の上、郵送または所内便にて提出してください。

### Step 2. 予約

ホームページの予約の項目をご参照下さい。装置により予約方法は異なります。キャンセルの場合は、かならず事前にご連絡をお願いいたします。

### Step 3. 実験当日

サンプルおよび回収用の容器, メディウム等をご持参ください。専任の担当者が対応いたします。回収用の容器は 1.5ml tube, 5ml tube, 15ml tube, plate(6-384well)等が使用できます。細胞数や用途に応じて選択して下さい。

#### サンプルの調製などソーティングに関わる Tips

##### ☆細胞濃度

通常の細胞は  $1\sim 3\times 10^7$  cells/ml 程度に調製して下さい。

サイズの大きい細胞(癌細胞等のセルライン, 付着系細胞, iPS 細胞等)は  $5\times 10^6$  cells/ml 程度に調製して下さい。

場合により希釈する場合がありますので、medium 等を余分にお持ち下さい。

##### ☆Filtration

ノズルの詰まりを避けるため、全てのサンプルはソーティング、解析の前に、40-50um ナイロンメッシュフィルターを必ず通して下さい。付着性の高い細胞の場合は、sorting 中に再度フィルターをかける事があります。

##### ☆回収用容器の準備

ソートする細胞を回収する容器をご準備下さい。得られる細胞数、あるいはソート後の細胞で何を行うかによりませんが、1.5ml の E.tube、5ml FALCON Tube、15ml の コニカルチューブ、6~384well plate などを使用します。チューブはポリプロピレン 素材の方が、回収細胞の壁への付着が低く、回収率が向上します。また、FCS(FBS) のような血清によるコーティングも付着を抑えます。回収容器には予めメディウム等を 容器の 1/2~1/3 程度加えて下さい。

##### ☆細胞回収にかかる時間

細胞種によって異なるため一概には言えませんが、上記の細胞濃度でサンプルを調製した場合、1 秒間に 5,000~25,000 cells を処理する事が可能です。従って、1 時間

で  $1.8 \times 10^7 \sim 5.4 \times 10^7$  cells を処理する事ができます。純度はどの速度でもほとんど変わりませんが( 98%以上 )、回収率は高速になるにしたがい低下します。  
持ち込まれた細胞数、目的細胞の回収希望数などで処理速度を決める事になります。

## 利用可能時間

利用可能時間		
曜日	一般登録利用者	技術認定利用者*
月～金	11:00～20:00	終日
土、日	不可	終日

(20 時以降のご利用は、担当者まで随時ご相談下さい。)

### \*技術認定利用者について

- 1) 医科学研究所内の研究者(共同研究者も含みます。)
- 2) FCM の原理を理解し、Aria ベーシックオペレーションコースを受講した方<sup>\*1</sup>もしくは、使用を熟知した方。
- 3) 担当者のサポートなしで、解析、ソーティングが出来る方。  
(スタートアップ、シャットダウン、ノズルつまり、精度管理等の基本的な対処法を含む。)
- 4) オペレーターのサポートによる解析、ソーティングを行った場合の利用料は一般利用者と同一です。

技術認定を受けたい方は、事前にコアラボスタッフまで連絡をして下さい。技術認定テストの日程等の調整をいたします。テストでは、機械のスタートアップから、サンプル測定(ソーティング利用の場合、ソーティングも含む)、シャットダウンを行って頂き、1人で出来るかどうかの判定をします。

\* <sup>1</sup>フローサイトメトリーの基礎、BD FACS の機器動作原理、機器精度管理、スタートアップ、基本ソフトウェア演習、ソーティング、機器メンテナンスおよびトラブルシューティングについての3日間の有償トレーニングになります。

\* 開催日、日程等の問い合わせ先

BD アプリケーションホットライン TEL 0120-4890-77

- 5) FACSCalibur に関しては自身で使用できる方が対象となります。テスト等はありません。

## 利用料金

2004年10月1日より利用料金を設定し、運営費を徴収しています。料金は機種ごとに下記のように設定し、予定開始時刻から実際の利用終了時刻までを利用時間として分単位で算出します。請求は、医科研内の研究室にはコアラボから、医科研外の研究機関と企業には経理課から、翌月の10日までにご連絡いたします。

	研究機関		企業		技術認定
利用時間	平日		平日		平日 / 休日
	11:00   18:00	18:00   20:00	11:00   18:00	18:00   20:00	終日
	Aria	6,000 円	9,000 円	18,000 円	
Calibur	1,800 円	2,700 円	3,000 円	4,500 円	無料
Verse	無料				
SH800	基本料金 3,000 円 + 時間料金 1,500 円 (60 分以降から時間料金を課金)				
解析 PC	無料				
キャンセル	1,000 円 (オペレーターがつく予約を前日 18:00 以降にキャンセルした場合のみ)				

Verse,SH800 にオペレーターはつきません。

なお、料金をお支払いいただいて共通機器として利用された場合、論文発表の際に Acknowledgement に記載をお願いいたします (共同研究者とする必要はありません)。

## データ解析支援

解析結果は、USB メモリ、CD-R などに出力可能です。原則として、こちらで解析データの保存は行いませんので、各自メディアをご持参の上、記録してお持ち帰りください。長期間 PC 内に残っているデータは、事前の予告無く削除する場合があります。当ラボ内の解析用 PC で、FlowJo を用いてデータ解析

を行うことも可能です。

#### 1) 解析用ソフトウェア FlowJo について

FACS の解析データは、機種によらず共通の FCS フォーマットで出力されます。FlowJo は、Adam Treister 氏と Mario Roederer 博士により開発された、FCS フォーマットファイル解析専用ソフトウェアです。

FlowJo の開発元、Tree Star 社の Web site <http://www.flowjo.com>

FlowJo の日本代理店 Tomy Digital Biology

<http://www.digital-biology.co.jp/allianded/products/flowjo/>

#### 2) FlowJo サイトライセンスの有償配布(医科研内のみ)

医科学研究所内で使用できるサイトライセンス契約をしており、個人で購入するよりも低価格で FlowJo を使用する事が可能です。ims.u-tokyo.ac.jp または hgc.jp のドメインのアドレスをお持ちの方のみ、サイトライセンスの登録をすることができます。登録したライセンス毎に年間使用料金がかかります。使用料金は1ライセンス(PC)あたり年4万円です。

### Step 1. FlowJo をダウンロード

Tree Star 社の Web site (<http://www.flowjo.com/flowjo.html>) から FlowJo ダウンロードして下さい。

### Step 2. 利用者登録

サイトライセンス登録 HP で、必要事項を登録し、送られて来たシリアルナンバーを入力する事で、FlowJo が使用可能となります。

登録後コアラボより利用登録関係書類をメールにてお送りいたしますので、必要事項を記入の上、ご返信下さい。ライセンス数に限りがある為、PC 交換、卒業、異動等で使用されなくなったライセンスがありましたら、コアラボまで御連絡下さい。停止処理をいたします。停止処理をされないと、使用料が課金されますのでご注意下さい。ライセンスは年度ごとの更新となります。年度ごと

に利用継続申請書を各部局宛にお送りしますので、とりまとめの上返信をお願いいたします。

サイトライセンス登録 HP アドレス

<http://www.flowjo.com/FLS/registration/jtokyo.html> (Japanese)

<http://www.flowjo.com/FLS/registration/tokyo.html> (English)