Seahorse Bioscience 社製
細胞外フラックスアナライザー XFp
XFp センサーカートリッジ水和手順
【ベーシック手順】

Seahorse Bioscience
A part of Agilent Technologies

センサーカートリッジが正しく機能するためには、センサーを完全に水和することが重要です。センサーカートリッジの水和において、キャリブラントを一晩保温する間に気泡ができ、センサースポットに付着する場合があります。付着した気泡はセンサーのキャリブレーションに影響を及ぼし、OCR がマイナス等の異常値になる場合があります。本書は従来の水和方法から気泡を除去する手順を記載しています。

器材

XFp フラックスパックに含まれるもの：

- アッセイキット
  - カートリッジの蓋
  - センサーカートリッジ
  - ユーティリティプレート
- セルカルチャープレート
- キャリブラント(100mL)

その他に必要なもの：

- 200uL 分注できるマイクロピペット及びチップ
- CO2 制御が無いインキュベータ

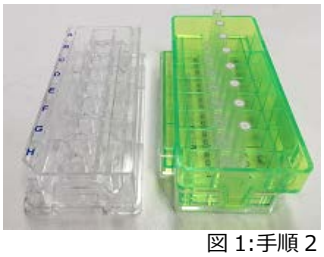

図 1:手順 2

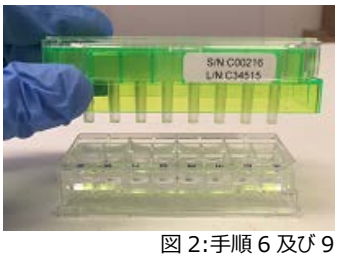

図 2:手順 6 及び 9

手順

アッセイ前日

1. XFp アッセイキットを必要数開封し、内容物を取り出します。
   ＊3 連のキットを点線に沿って折り曲げてから引き離してから、開封します。
2. センサーカートリッジをユーティリティプレートの横に上下逆さにして置きます(図 1)。
3. ユーティリティプレートの全ウェルにキャリブラントを 200uL ずつ分注します。
4. ウェル周辺の外堀にキャリブラントを 400uL ずつ分注します。
5. センサーカートリッジをユーティリティプレートに乗せ、センサーをキャリブラントに浸けます。
   ＊センサーを傷つけないよう、ゆっくり乗せてください。
6. キャリブラントが十分センサーを浸しているか目視で確認します。また、底面からセンサースポットを目視で確認し、気泡が付着していないことを確認します。＊気泡が付着している場合は、一旦センサーカートリッジを持ち上げてキャリブラントから離し(図 2)、再度ユーティリティプレートに戻して、気泡が無くなることを確認します。
7. 蓋を乗せ、センサーカートリッジを CO2 制御の無い 37℃のインキュベータに入れて保温します。キャリブラントの揮発を防ぐため、インキュベータ庫内の湿度を保ってください。必要に応じ、ラップまたはパラフィルムで封をしてください。＊センサーの水和時間は、最短 12 時間、最長 72 時間です。

アッセイ当日

8. 一晩水和した後、インキュベータからセンサーカートリッジ及びユーティリティプレートを取り出します。
9. 一度センサーカートリッジを手で持ち上げ、キャリブラントから離します(図 2)。
10. すぐにセンサーカートリッジをユーティリティプレートに戻し、キャリブラントに浸けます。＊この操作により、一晩の水和の間にできた気泡を除くことができます。

【注】正確なキャリブレーションのために
新しいステップが追加されました

薬液をポートに充填し、通常通りアッセイを行います。

【補足】キャリアトレイを使うとカートリッジ・プレートの取扱いが容易になります。キャリアトレイには 3 つのプレート、または 2 つのセンサーカートリッジ/ユーティリティプレートセットを乗せることができます(図 3)。

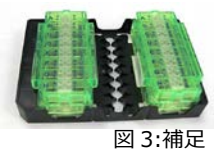

図 3:補足

XFp センサーカートリッジ水和手順
【オプション手順】

ベーシック手順において気泡が完全に除去できない場合があります。ベーシック手順で水和を行い OCR がマイナス等の異常値になる場合には、以下のオプションの水和手順が推奨されます。
＊保温したキャリブラントをアッセイ当日に分注することで、気泡がより確実に除去されます。
＊キャリブラントが不足するため、キャリブラントの代わりに滅菌水で水和を行います。

器材

XFp フラックスパックに含まれるもの：
- アッセイキット
  - カートリッジの蓋
  - センサーカートリッジ
  - ユーティリティプレート
- セルカルチャープレート
- キャリブラント(100mL)

その他に必要なもの：
- 200uL 分注できるマイクロピペット及びチップ
- CO2 制御が無いインキュベータ
- 15mL コニカルチューブ
- 細胞培養グレードの滅菌水

手順

アッセイ前日

1. 最低でも 5mL のキャリブラントを 15mL コニカルチューブに小分けします。
2. 小分けしたキャリブラントを CO2 制御が無い 37℃のインキュベータに入れます。
3. XFp アッセイキットを必要数開封し、内容物を取り出します。
4. センサーカートリッジをユーティリティプレートの横に上下逆さにして置きます。
5. ユーティリティプレートの全ウェルに滅菌水を 200uL ずつ分注します。
6. ウェル周辺の外堀に滅菌水を 400uL ずつ分注します。
7. センサーカートリッジをユーティリティプレートに乗せ、センサーを滅菌水に浸けます。
8. 滅菌水が十分センサーを浸しているか目視で確認します。また、底面からセンサースポットを目視で確認し、気泡が付着していないことを確認します。＊付着している場合は気泡を除きます。
9. 蓋を乗せ、センサーカートリッジを CO2 制御の無い 37℃のインキュベータに入れて保温します。

アッセイ当日 (ポートを薬液に充填する約 1 時間前)

1. インキュベータから、小分けしたキャリブラント、センサーカートリッジ及びユーティリティプレートを取り出します。
2. センサーカートリッジをユーティリティプレートの横に上下逆さにして置きます。
3. ユーティリティプレートから滅菌水を取り除き、廃棄します。
4. ユーティリティプレートの全ウェルに、小分けして保温したキャリブラントを 200uL ずつ分注します。
5. ウェル周辺の外堀に小分けして保温したキャリブラントを 400uL ずつ分注します。
6. センサーカートリッジをユーティリティプレートに戻しキャリブラントに浸けます。
7. センサーカートリッジのポートに薬液を充填する前に、45 分～60 分間 CO2 制御の無い 37℃のインキュベータに入れます。

薬液をポートに充填し、通常通りアッセイを行います。

日本総代理店：
プライムテック株式会社 www.primetech.co.jp
東京都文京区小石川1-3-25 小石川大国ビル 2F
Phone：【本社】03-3816-0851（代表） 【大阪】06-6310-8077