

ルースライドの複数接続プロトコル

1 一般情報

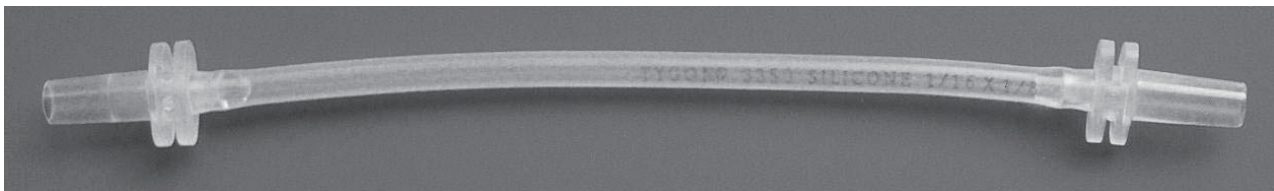
このアプリケーションノートでは、数枚のルースライド (Luer-Slides) を連続して接続するプロトコルをステップ毎に示します。1つのシリンジ固定ユニットで数枚のスライドの観察とインキュベーションが可能であることが利点です。スライド中の流速は、同一配置内ではどれも同じです。接続するスライドのチャンネル内の高さを変えることで (例えば μ -Slide I^{0.2} Luer と μ -Slide I^{0.4} Luer を使用) せん断速度を変えることができます。

ここではスライド2枚を使ったプロトコルを示していますが、3枚以上の接続にも応用することができます。

2 材料

スライド:	マイクロスライド I ルアー (μ -Slide I ^{0.4} Luer) 2枚 (ibiTreat処理)	ibidi
細胞:	内皮細胞 (2.5×10^5 /スライド)	Lonzaなど
培地:	Endothelial Cell Growth Medium (内皮細胞用培地)	Lonzaなど
チューブ:	シリコンチューブ	Tygon 3350, ID 1.6 mmなど
コネクタ:	ルアー・チューブコネクタ	Value Plastics, MTL5210-6など
シリンジ:	簡単なルアーアダプターのついた滅菌シリンジ (10 ml)	シリンジメーカー各社

チューブの両端にプラスチックのコネクタを1つずつ差し込み、スライド間にコネクタを作ります。両側に接続されていないオスのルアーアダプターが計2つあるコネクタチューブができます。エタノールかオートクレーブでコネクタを滅菌します。



この後の作業は全て滅菌条件下で行ってください。

3 細胞播種

重要! 時間の経過による気泡の生成を防ぐためには、培地、チューブ、スライドの平衡が極めて重要です。インキュベータへの設置は細胞播種の1日前に行ってください。

- 細胞懸濁液 (2.5×10^6 cells/ml) を準備します。
- 100 μ l をチャンネルに入れます。チャンネル容量の懸濁液のみが注入されます (図1a)。
- ルアーアダプターにキャップをしてスライドをインキュベータに30分間入れ細胞接着します。
- 細胞接着の後、各リザーバーに新しい培地60 μ l を注入します。

細胞播種方法の詳細は、[アプリケーションノート13](#)をご覧ください。

4 スライドの接続

チャンネル内に細胞を含むスライドの準備ができました。またリザーバーには60 μ lの新しい培地（セクション3参照）が充填されています。

- 接続の直前に、全てのリザーバーにさらに60 μ lの新しい培地を充填してください（図1b）。
- コネクタチューブのルアーアダプターの1つをスライドのメスのルアーアダプターの1つに差し込みます（図1c）。
- 予熱した培地、数ミリリットルをシリンジに注入します。シリンジを押し余分な空気を出します（図1d）。
- 気泡のないシリンジをスライドの空いているルアーアダプターにあてます。多少溢れる可能性があります（図1e）。
- 細心の注意をもってシリンジを押し、スライドを通して培地をコネクタチューブが培地で満たされるまで注入します（図1f）。

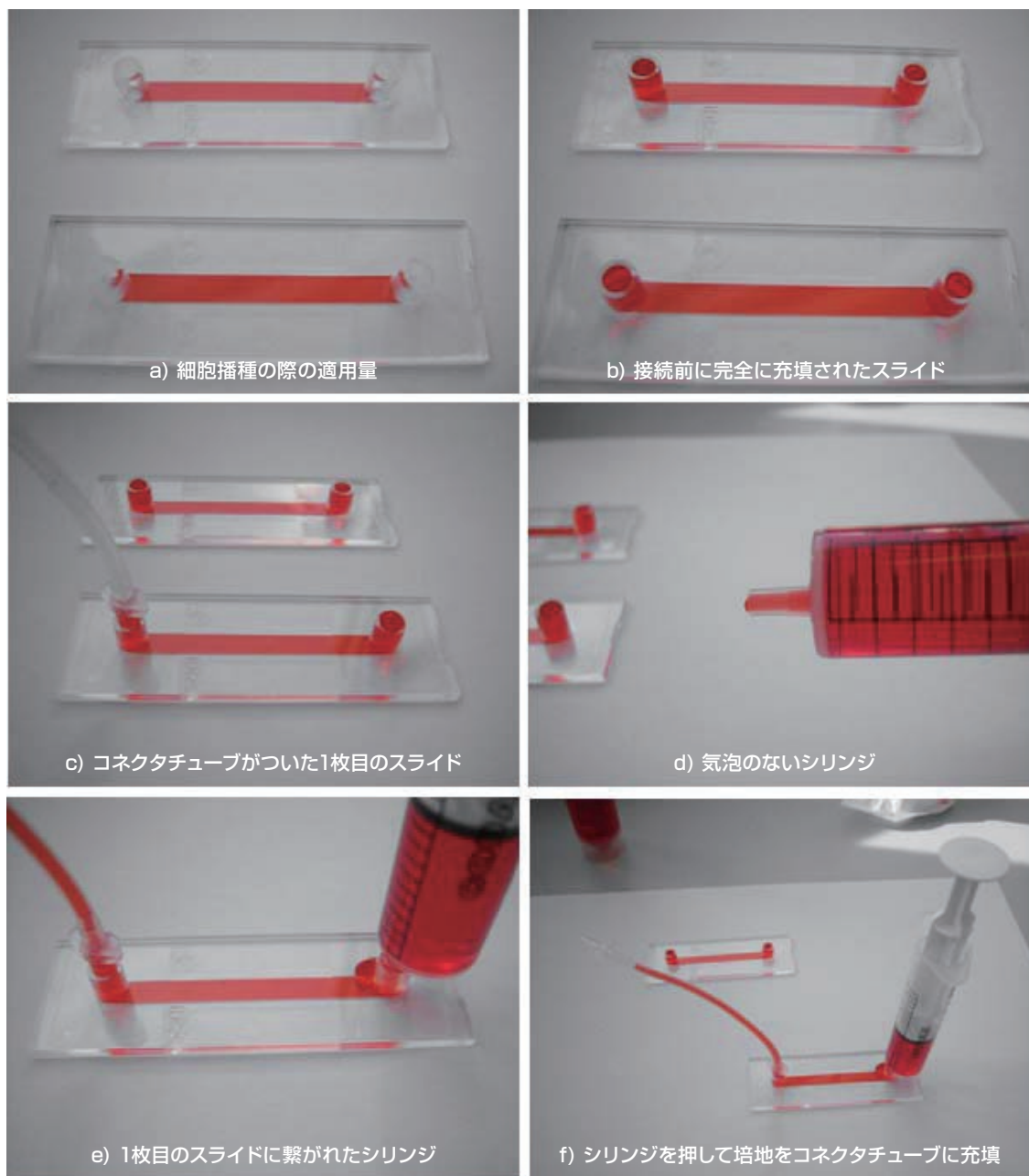


図1

- コネクタチューブが完全に充填されたら (図2a)、2枚目のライドのルアーアダプターの1つに差し込みます (図2b ~ d)。
- 3枚以上ライドを繋ぐ場合は、2枚目のライドの空いているアダプターに2つ目のコネクタチューブを繋ぎ、シリンジを使って培地を注入します。4枚以上のライドを繋ぐときも同様です。
- 全てのライドの接続が終わったら、シリンジをアダプターからゆっくりと外します (図2e)。
- パフュージョンセットにライドを接続するためには、2つの空いているリザーバーも培地で充填する必要があります。余分な培地はペーパータオルで拭き取ります。

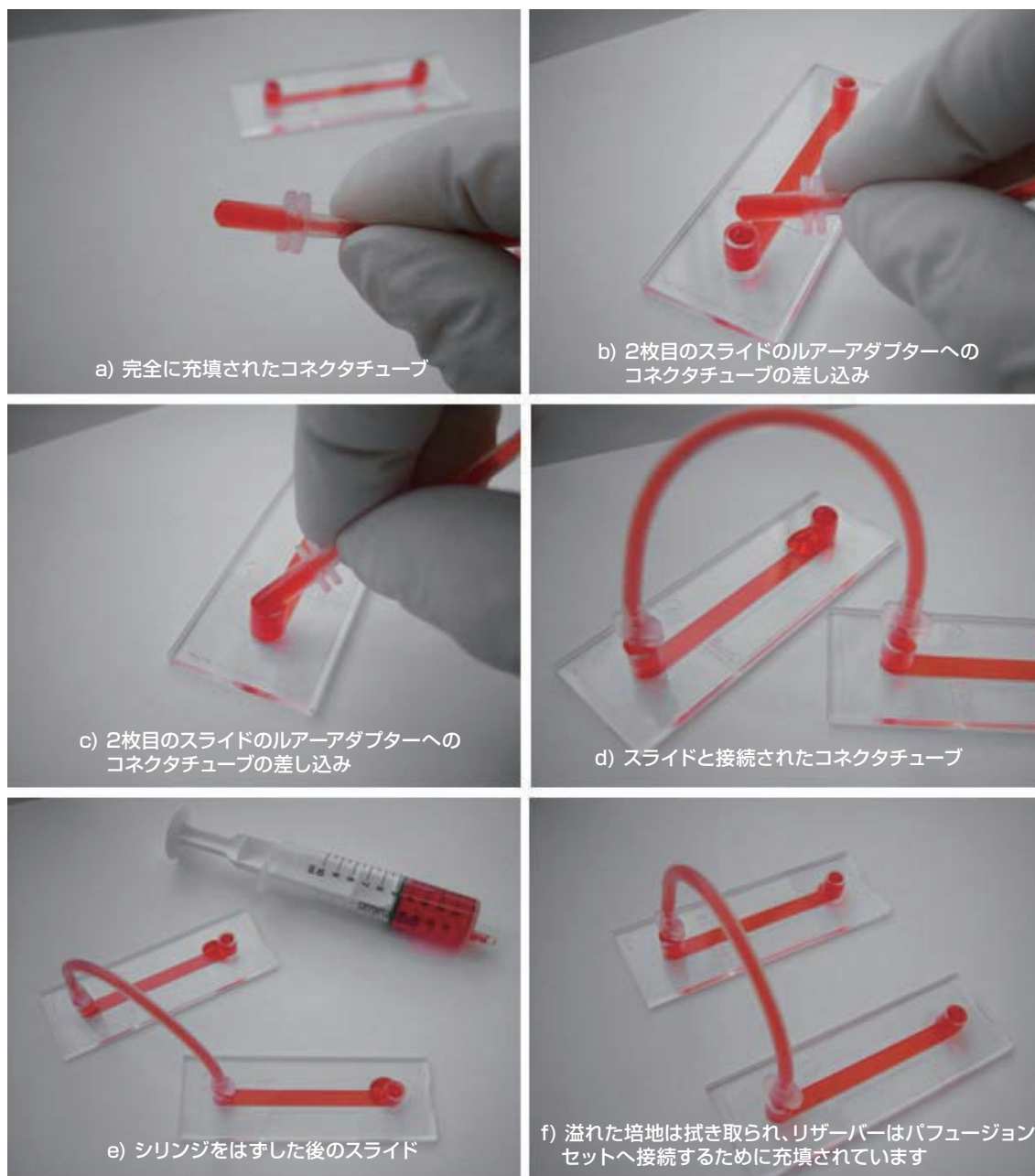
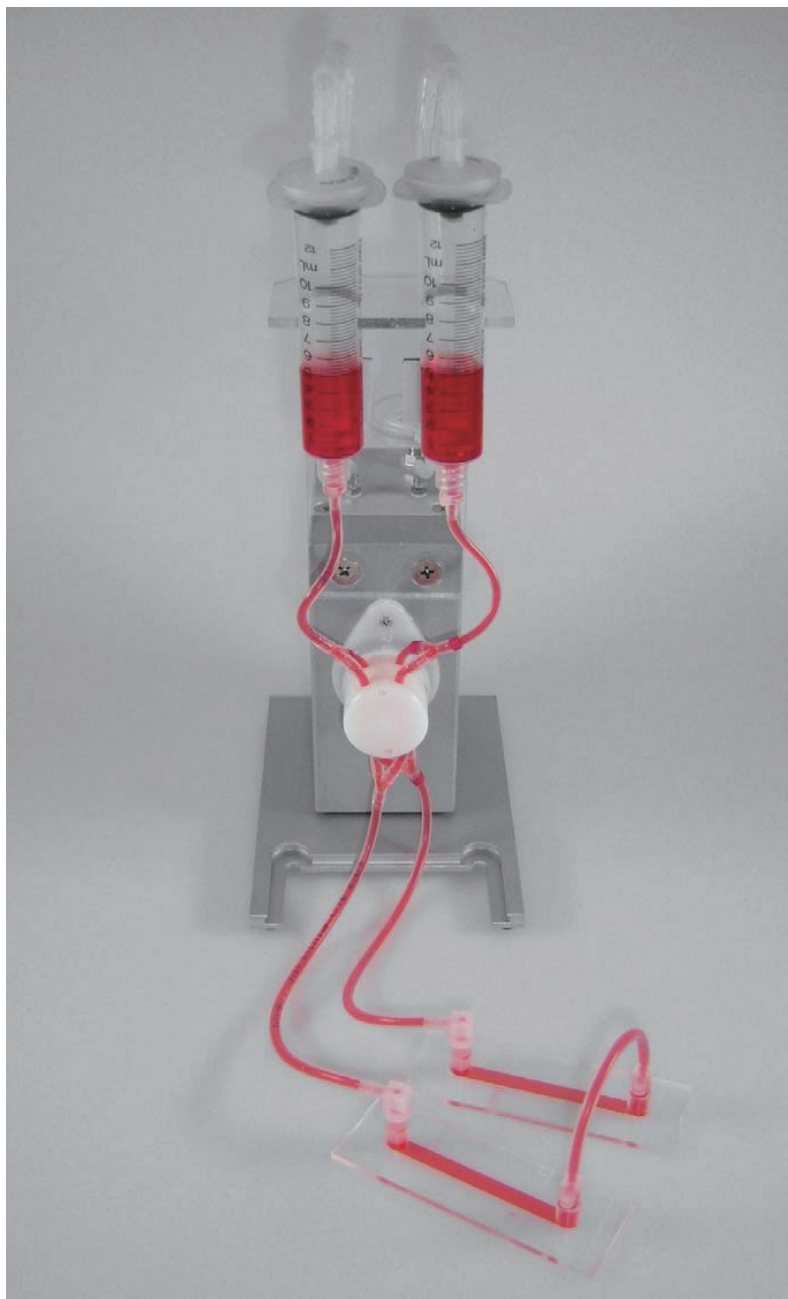


図2

5 パフュージョンセットへの接続

スライドをパフュージョンセットへ繋ぐ方法の詳細は、アプリケーションノート13のセクション6「スライドのパフュージョンセットへの接続」を参照下さい。



複数接続におけるシリンジ固定ユニット1台と2枚のマイクロスライドILルアのセットアップ