

Pala Cell Sorter & Single Cell Dispenser

Quick Reference Guide

PALA 488/561 と PALA 405/488

使用可能な蛍光標識分子とチャンネル

フィルター	488 nm	561 nm
527/32	FITC, GFP	
586/42	Nile Red	PE
625/15	488/625	mCherry
692/80	PerCP, PI	PE-Cy5
783/56	488/783	PE-Cy7

フィルター	405 nm	488 nm
447/45	BFP	
527/32	BV510	FITC, GFP
586/42	BV750	PE/DsRed
625/15	BV605	PE-Texas Red
692/80	BV650	PerCP, PI
783/56	BV785	PE-Cy7

シングルセルモード

- 96ウェルプレートまたは384ウェルプレートに対応
- 細胞濃度:
~10,000-20,000 cells/ml
- シース液には細胞培養グレードの水を使用してください
- イベント数は1~2イベント/秒に保ち、正確なシングルセル分注を確保してください
- ターゲット集団の割合によって速度が決まります。ターゲット集団が80%の場合、96ウェルプレートの処理には約2分かかります。












バルクモード

- 5,000~50,000個のターゲット細胞を1.5mLまたは2mLチューブに分注するのに最適。
- 細胞濃度:
~100,000-500,000 cells/ml
- シース液にはPBSまたはFBSを含まない培地を使用してください
- ターゲット細胞の精度を高めるために、イベント数は50イベント/秒以下に保ってください。
- ターゲット細胞が20%を占める混合細胞集団では、5,000個の細胞をソート/濃縮するのに約10分かかります。










始める前に

- ノートパソコンのログインは"Pala"、パスワードは"Pala"です。
- 流路を詰まらせないように、約40 μMのフィルターで細胞をろ過してください。
- Palaの洗浄プロトコルを実行して、滅菌してください。
- プレートにはアウトグロース培地を準備し、インキュベーターに保管しておいてください。
- 正確な細胞数を把握するために、ヘマサイトメーターまたは自動細胞カウンターを使用してください
- 分注前に細胞を適切な濃度に調整してください。
- 最良の結果を得るために、Cell Tracker RedやGreenなどの生存率染色を使用してください。






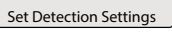

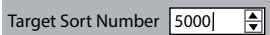




ソフトウェアのアイコン

- | | | | | | |
|---|--------------|---|-------------|---|-----------|
|  | システムの初期化 |  | アクションのキャンセル |  | カートリッジの交換 |
|  | システムのシャットダウン |  | サンプルのバルク解析 |  | 洗浄プロトコル |
|  | シングルセル分注 |  | 細胞ソーティング |  | 設定メニュー |

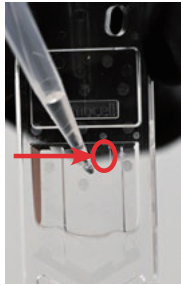
シングルセルをプレートに分注する手順

1. シースボトルに精製済みのフィルター水を入れ、廃棄ボトルを空にしてください。
2. IPalaを初期化し 、画面の指示に従ってください（約5分）。
3. 100~600 μ lの細胞をシングルセルカートリッジ（PN NC0003）にピペットしてください。細胞濃度は10,000~20,000細胞/mlである必要があります。
4. プロンプトが表示されたら、 **Single** カートリッジタイプを選択してください。カートリッジを挿入し、正しく向きが合っていることを確認してください。プロンプトの指示に従った後、カートリッジホルダーは自動的に開閉します。
5. カメラ画像で左側の暗い線が左側の明るい線に隣接するように、銀のポジションナーを調整してください。
警告:  カートリッジの位置合わせが不適切だと、表示されるイベント数が減少したり、細胞を取得できなくなる可能性があります。
6. 画面下部のチャート2~6でキャプチャしたいチャネル（例：FITC x PE）とチャートタイプ（散布図、ヒストグラム、密度プロット）を選択してください。チャート1はデフォルトでFSC vs TSCです。
7.  を選択してサンプルの解析を開始します。チャートのいずれかを右クリックしてゲート（多角形、クアドラント、またはヒストグラム）を作成します。多角形ゲートを移動するには、キーボードの“ctrl”を押しながらマウスでゲートをクリックし、目的の位置に移動させてください。
8. 散布図および蛍光検出器のゲイン調整は、設定メニュー  からアクセスできます。調整後、変更を適用するには **Set Detection Settings** をクリックしてください。
9. 最適なイベントレートは1~2イベント/秒です。イベントレートがこの範囲を超える場合は、サンプルレートを減らしてください。
10.  を選択して解析を停止し、プレートタイプとウェルを選択してください。
11. プレートタイプとウェルを選択し、培地が入ったマイクロタイタープレートをプレートステージに置きます。 を選択して分注を開始します。デフォルトでは1ウェルあたり1細胞ですが、プレートマップで変更できます。
12. 次のサンプルを処理するために、または同じカートリッジに追加のサンプルを加えるために、カートリッジ交換  を行い、セルカートリッジをクリーニングカートリッジに交換してください。
13. システムをシャットダウン  し、ソフトウェアの指示に従ってください。
警告:  シースボトルに水以外の液体を入れたままシステムをシャットダウンすると、流体ラインの故障や詰まりが起る可能性があります。

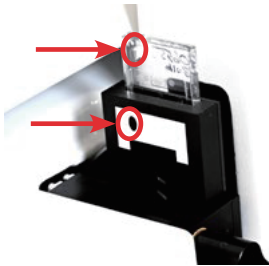
チューブへのバルクソーティング手順

1. シースボトルにPBSまたは培地（FBSなし）を加え、廃棄ボトルを空にしてください。水はシース液として使用できません。細胞がソーティング後に破裂する原因となります。
2. Palaを初期化し 、画面の指示に従ってください（約5分）。
3. 100~600 µlの細胞をバルクセルカートリッジ(PN NC101)にピペットします。細胞濃度は100,000 ~ 500,000である必要があります。
4. プロンプトが表示されたら、  バルクカートリッジタイプを選択してください。カートリッジを挿入し、正しく向きが合っていることを確認してください。プロンプトに従うと、カートリッジホルダーは自動的に開閉します。
5. 銀のポジショナーを調整し、カメラ画像で左側の暗い線が左側の明るい線に隣接するようにしてください。
警告:  カートリッジの位置合わせが不適切だと、表示されるイベント数が減少したり、細胞を取得できなくなる可能性があります。
6. 画面下部のチャート2~6でキャプチャしたいチャンネル(例：FITC x PE)とチャートタイプ (散布図、ヒストグラム、密度プロット)を選択してください。チャート1はデフォルトでFSC vs TSCです。
7.  を選択してサンプルの解析を開始します。チャートのいずれかを右クリックしてゲート(多角形、クアドラント、またはヒストグラム)を作成します。多角形ゲートを移動するには、キーボードの“ctrl”を押しながらマウスでゲートをクリックし、目的の位置に移動させてください。
8. 散布図および蛍光検出器のゲイン調整は、設定メニュー  からアクセスできます。調整後、変更を適用するには  をクリックしてください。
9. 理想的なイベントレートは1秒あたり50イベント以下です。 イベントレートがこれを超える場合は、サンプルレーを減らしてください。
10.  を選択して解析を停止します
11. ソーティングする細胞数を入力してください。 
12.  を選択してバルク分注の手順を開始します。マイクロ遠心チューブインサート（黒い金属リング）がプレートステージにしっかりとセットされていることを確認し、マイクロ遠心チューブをインサートに置いてください。
13. 次のサンプルを処理するために、または同じカートリッジに追加のサンプルを加えるために、カートリッジ交換  を行い、セルカートリッジをクリーニングカートリッジに交換してください。
14. システムをシャットダウン  し、ソフトウェアの指示に従ってください。
警告:  シースボトルに水以外の液体を入れたままシステムをシャットダウンすると、流体ラインに故障や詰まりが起こる可能性があります。

ステップ 3



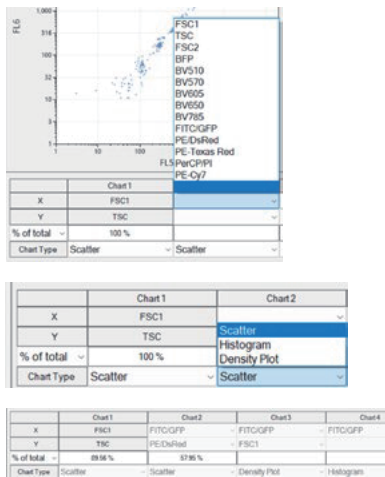
ステップ 4



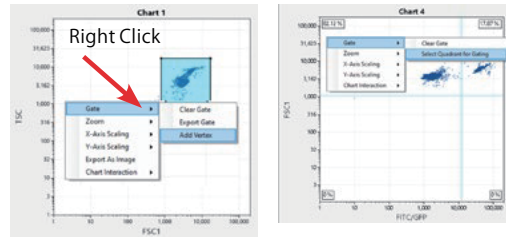
ステップ 5



ステップ 6



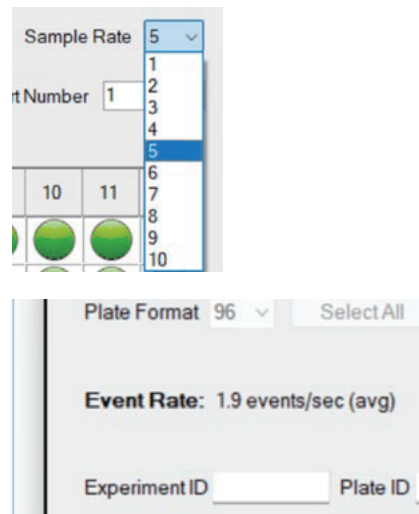
ステップ 7



ステップ 8

Amplifier	Gain	Laser(s)	Emission Filter	Fluorochrome(s)
FSC	900	488/405	100	FSC1
TSC	900	488	488-10	TSC
PM11	250	405	447-45	BFP
PM12	250	488/405	527-52	FITC/BV510
PM13	500	488/405	566-42	PE/BV70
PM14	300	488/405	625-15	PE-Texas Red/BV805
PM15	500	488/405	682-80	PerCP/BV650
PM16	900	488/405	783-58	PE-Cy7/BV785

ステップ 9



研究用途または製造目的にのみ使用してください。商標および登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

8551309322_0325 / NG09-0122 Rev B

biotechne // Global Developer, Manufacturer, and Supplier of High-Quality Reagents, Analytical Instruments, and Precision Diagnostics.

INCLUDES R&D Systems™ Novus Biologicals™ Tocris Bioscience™ ProteinSimple™ ACD™ ExosomeDx™ Asuragen™ Lunaphore™