

MACS バッファアの調製

▲ 調製する前に

- Ca²⁺またはMg²⁺を含むバッファアや培地の使用はお勧めしません。
- EDTA の代わりに、ACD-A(anticoagulant citrate dextrose formula-A)、または CPD(citrate phosphate dextrose)を用いることができます。
- BSA の代わりに、ヒト血清アルブミン、ヒト血清、または FCS(牛胎仔血清)を用いることができます。
- Buffer 調製後、脱気してから冷却してください。脱気方法には次の 3 つの方法があります。
 - 1 蓋付きの瓶に入れた Buffer(瓶の蓋を緩める)を真空ボックスに入れ、約 20 分間真空ポンプで引く。脱気後、瓶の蓋を閉め、冷蔵庫に保管(静置)する。
 - 2 蓋付きの瓶に入れた Buffer(瓶の蓋を緩める)を超音波洗浄器に入れ、約 20 分間超音波をかける。脱気後、瓶の蓋を閉め、冷蔵庫に保管(静置)する。
 - 3 大き目の注射筒に Buffer を入れ、入り口を閉じて 3~4 回シリンジを強く引く。注射筒から保存瓶に移す際に空気を入れない(泡立てない)よう注意する。保存瓶の蓋を閉め、冷蔵庫に保管(静置)する。

▲ 調製方法 1(MACS 試薬を用いて調製する場合)

- ・ autoMACS™ Rinsing Solution ([#130-091-222](#))
- ・ MACS BSA Stock Solution ([#130-091-376](#))

○ 0.5% BSA and 2mM EDTA in PBS (pH7.2)

MACS BSA Stock SolutionをautoMACS™ Rinsing Solutionで 1:20 に希釈し、脱気してから冷蔵庫(4-8°C)で保存する。

▲ 調製方法 2(研究室で自作する場合の例)

- ・ 10 X PBS
- ・ 0.5 M EDTA (pH8.0)
- ・ 10% BSA(フィルター滅菌済み)

○ 0.5% BSA and 2mM EDTA in PBS (pH7.2) : 100 ml

- 超純水 80 ml に 10 ml の 10 X PBS と 0.4 ml の 0.5 M EDTA (pH8.0)を混合する
 - ↓
- pH7.2 に調製する
 - ↓
- 95 ml にメスアップする
 - ↓
- オートクレーブ滅菌またはフィルター濾過滅菌する
 - ↓
- 無菌的に 5 ml の 10% BSA を加えて混合する
 - ↓
- 脱気し冷却保存する

○ 10 X PBS : 500 ml

試薬	最終濃度	使用量
NaCl	1.37 M	40 g
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	81 mM	14.5 g
KCl	26.8 mM	1 g
KH ₂ PO ₄	14.7 mM	1 g
超純水	—	500 ml にメスアップ

- 試薬を全て計りとり、超純水に溶解する
- ↓
- HCl または NaOH で pH7.2 に調製する
- ↓
- 500 ml にメスアップする
- ↓
- オートクレーブ滅菌する

○ 0.5 M EDTA (pH8.0) : 500 ml

試薬	最終濃度	使用量
EDTA 2Na·2H ₂ O	0.5 M	93.06 g
NaOH(固形)	—	約 10 g
5N NaOH	—	適量
超純水	—	500 ml にメスアップ

- 400 ml の水に攪拌しながら EDTA を加える
- ↓
- NaOH を少量ずつ加えて EDTA を溶解する
- ↓
- 5N NaOH を加えて pH8.0 に調製する
- ↓
- 500 ml にメスアップする
- ↓
- オートクレーブ滅菌する