

流式细胞分选仪 3-314 预约相关说明

品牌：Beckman Coulter 型号：MoFlo Astrios EQs

落位：医学所一期 3-314 室

联系方式：杨彤 18888921321（微信同号）

※预约

1. 初次使用时至少需要提前 2 天与仪器管理人员沟通实验方案，确认该仪器可以满足实验需求
2. 仪器相关信息详见预约网站：

<http://192.168.99.99/> （所内网络）

<https://book.ibmc.ac.cn/> （所外网络）

3. 预约前与管理员确认条件
 - a) 管理员时间安排
 - b) 分选使用的激光
 - c) 分选接收的容器规格、需要接收几路
 - d) 对纯度的要求
4. 预约时长
 - a) 调试清洗等开机准备工作时间约为 1 个小时（30 min~ 2 h）
 - b) 分选样品时间一般 1mL 样品需要 30 min 左右
 - c) 清洗时间 15~30 min
 - d) 适当多约 30 min~1 h，避免堵塞等问题致使分选无法完成

有任何不清楚的地方请及时联系管理员，以免影响实验进度。

※样品准备

1. 细胞样本：未染色的样本、同型对照（可选）、单染对照（首次、需保证有阳性群体），待分选的细胞
2. 细胞浓度： 10^7 cells/mL（分选所需时间与浓度密切相关）
3. 体积：大于 200 μ L
4. 需要准备多少细胞量
 - a) 根据目标细胞在样本中占的比例，计算出所需的细胞总数
 - b) 要准备出比计算的细胞总数多出 2~3 倍的量，才能保证得到回收的细胞数量
5. 细胞悬液的 buffer
 - a) 无菌 PBS 溶液，血清浓度不超过 1%
 - b) 易聚集的细胞：可在缓冲液中加 0.05% EDTA

※所需试剂耗材说明

1. **鞘液**——需静置过夜排除气泡影响，开机后不能补充，请**提前一天补充到鞘液桶中**
 - a) 商品化鞘液：Bekman Coulter ISOTON II 无菌电解质溶液 20 L（可使用多次）、
 - b) 自行配制
NaCl 40 g、KCl 1 g、Na₂HPO₄ 7.2 g、KH₂PO₄ 1.2 g 溶解上述试剂，加蒸馏水定容到 5 L，使用 0.22 μm 滤膜过滤并且灭菌后室温保存。**注：必须过滤并且灭菌，避免污染管道**
 - c) 平台可提供鞘液：50 元/h（含维护时间）
2. **质控微球**——需对激光和液流进行校正，开机时需要，请**提前一天交给管理员**
自备：Bekman Coulter 货号：B28481 2mL（根据设备情况每次使用 1-2 滴）
平台可提供：150 元/次
3. **清洗试剂**——**提前一天交给管理员**
开机完成后需清洗管路，清洗顺序：1% NaClO—ddH₂O—PBS，都用 50mL 离心管装。
 - 1) 过 0.22 μm 滤膜的**无菌水 20 mL**
 - 2) 过 0.22 μm 滤膜的 **1% NaClO 溶液 20 mL**
 - 3) 无菌 **PBS 溶液 10 mL**
4. **无菌细胞筛网**——**上机时带过来**
规格：300 目或 40μm（适用 100μm 喷嘴）
数量：根据样品数准备，适当多备几个
平台可提供：8 元/个
5. **上样管**：1.5 mL EP 管、无菌流式管、15 mL 管、50 mL 管（**都要求无菌**）
6. **接收**
 - 1) **接收管**：各型号孔板（384/96/24/12/6 皆可，最好多准备一个用于校正接收位置）、无菌流式管、15 mL 离心管或 50 mL 离心管
 - 2) 接收管数量根据需要接收的样品量决定。
 - 3) **接收液体**：完全培养基、FBS、适合细胞存活的自制缓冲液、裂解液（可在培养液中加入高浓度 FBS，分选后各组分会被稀释）
 - 4) 接受液体积：流式管 500μL 即可、15mL 管 1-2mL 即可、50mL 管 5mL 以上
7. 移液器及各型号无菌枪头足量，无菌乳胶手套、医用口罩