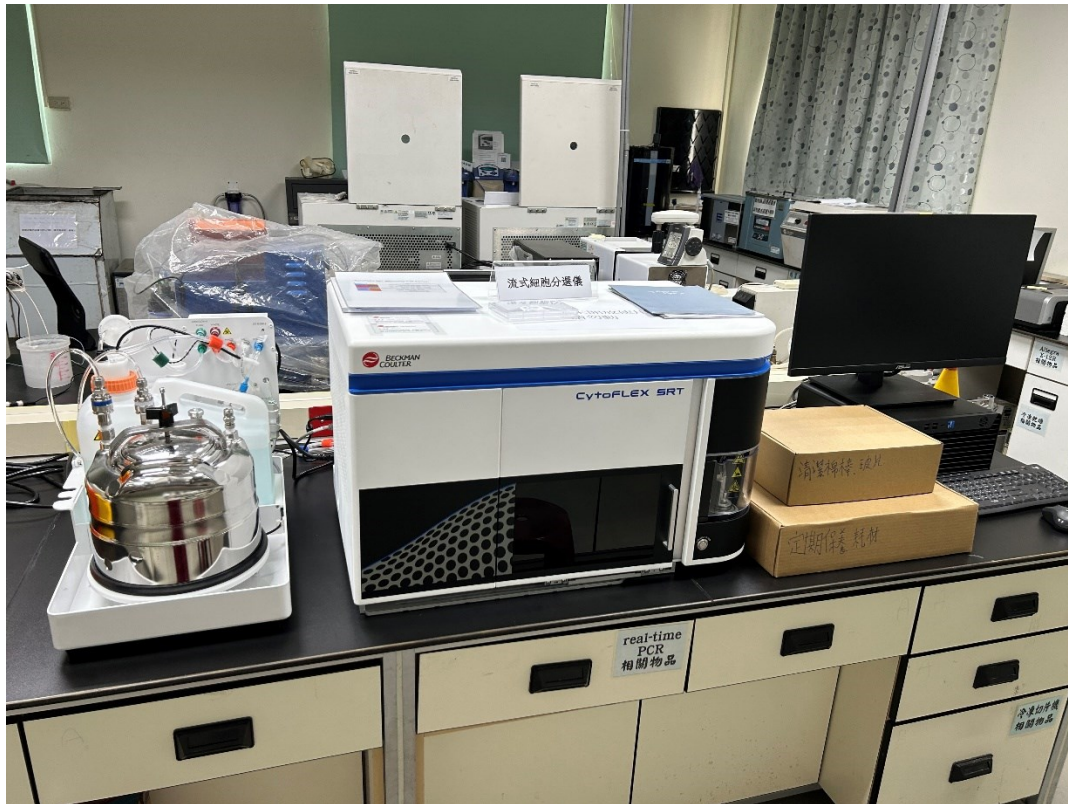


CytoFLEX SRT 流式細胞分選儀



說明規範：

一、光學系統：

1) 2 種雷射激發光源 (3 隻雷射)：

- a. 90 mW 405 nm, Solid-State Laser 固態紫光雷射
- b. 50 mW 488 nm，藍光固態雷射。
- c. 100 mW 638 nm，紅光固態雷射。

2) 可偵測 10 種螢光，未來最高可升級至 4 種雷射及偵測 15 種螢光。

二、液流系統：

- 流動室(Flow Cell)：光學整合型 420 μm $\times$ 180 μm 石英流動室；即使移動儀器也無需做光學校準(alignment)。
- 三種樣品流速：Low (10 $\mu\text{l}/\text{min}$), Medium (30 $\mu\text{l}/\text{min}$)及 High (60 $\mu\text{l}/\text{min}$)；可手動調整樣品流速 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ -240 $\mu\text{l}/\text{min}$ 。

三、訊號處理系統：

- 全數位化 7 個對數級(7 decades)動態訊號處理範圍，24 位元 16,777,216 channel 解析度
- 樣品流速每秒 30,000 events (15 個參數儲存)。
- 最小顆粒解析度：側向散射光解析度 < 300 nm

服務項目：

本試驗項目係對送測檢體利用螢光激活細胞分選或分析達到目標細胞群體純化後純度達 80%以上之目的，提出結果報告，並對試驗結果做必要之解釋。目前實驗分析範圍僅能是細胞檢體，本機台可偵測 10 種螢光。

(1) 分選類型

- Sorting Cells By Surface Markers
- Sorting Cells By Gene Expression
- Rare Cell Sorting
- Stem Cell Sorting

(2) 分選細胞種類

- Primary cells
- Bone marrow cells
- Tissue culture commercial cell lines
- Single-cell suspensions of tumors

(3) 分選收集管：

- A. 4 向分選：5 mL 管或 15 mL 管。
- B. 盤式分選：6-，24-，48-，96-及 384-孔盤，或是
- C. 96 深孔盤及玻片；其他客製收集盤可以自行進行校正

Detector Array(Laser)	Bandpass Filter	Fluorochrome		
488-nm Blue Laser	N/A			
	488/10	SSC		
	530/20 (520~540)	FITC	Alexa 488	GFP
	575/26 (562~588)	PE	Alexa 532	
	610/20 (600~630)	PE-Texas Red	PI	
	660/20 (650~670)	Alexa 547	PE-Cy5	7AAD
	695/40 (675~715)	PerCP	PerCP-Cy5.5	PE-Cy5.5
	780/60 (750~810)	PE-Cy7		
405-nm Violet Laser				
	450/50 (425~475)	Pacific blue	Alexa 405	DAPI
	525/50 (500~550)	Alexa 430	Qdot525	AmCyan
	585/42 (564~606)	Qdot585	Pacific Orange	
635-nm Red Laser				
	660/20 (650~670)	APC	Cy-5	Alexa 647
	730/45 (707~753)	Alexa 700		
	780/60 (810~750)	APC-Cy7	APC-H7	

注意事項：

一、分選時間之估算：依上樣流速及欲分選之細胞純度(%)推估 sorting 時間。

例：以上樣流速 3×10^3 cells/sec 及細胞分選前純度佔 10% 為例，若欲回收細胞數為 1×10^6 之時間估算。

$$\frac{\text{欲回收細胞數 } 1 \times 10^6}{(\text{上樣流速 } 3000 \times \text{細胞分選前純度 } 10\%)} = \text{所需時間} = 3.3 \times 10^3 \text{ (sec)}$$

上樣流速參考表：

細胞類型	使用噴嘴尺寸(μm)	最高上樣速度 (cells/sec)
淋巴球、胸腺細胞、脾臟細胞 (直徑 8-12 μm)	70	9,000
活化的淋巴球、直徑小的細胞株 (直徑 12-20 μm)	85	4,700
大型或貼壁型細胞株 (直徑 20-30 μm)	100	3,000
大型幹細胞 (直徑 30-40 μm)	130	1,200

細胞上機分選的流程包含三個步驟：設定分選區域、分選、分選後的分析。

一般而言，其所花費的時間如下：

(1) 設定分選區域約需 15-20 分鐘。

(2) 分選的時間取決於細胞數目及細胞種類，雖然機器的分選速度最高可達 70,000 cell/sec，但為得到最佳分選結果，我們通常設定分選速度為 3,000 – 10,000 cell/sec。因此，如欲分選 1×10^7 個細胞，其所需分選時間約為 30-100 分鐘。

(3) 分選後約需 10-20 分鐘去分析、列印及存檔結果。因此，分選 1×10^7 顆細胞約需 1-2 小時。

二、如果欲使用**臨床初代人類細胞**做分選實驗 請先提供檢體 HIV-; HCV/HBV-**不含傳染性病毒證明**。本機台**禁用含高度傳染力(含傳染性病毒)臨床檢體**。細胞如果欲分選的細胞佔細胞總數的 1%以下，雖然仍可進行分選，但常導致低純度及低回收率，故建議使用者盡量先 enrich 欲分選的細胞。

三、上樣品前建議使用 5 mL Falcon tube (BD #352003)，收集細胞時可使用 15 ml 離心管(單或雙向分選時使用)或 5 mL Falcon tube (四向分選使用)。細胞染色後上機前務必先用 40/ 70 μm nylon mesh 過濾後再上機以避免塞機。若同時有

很多管樣品要進行分選，請於前一管樣品分選快結束前，再以 nylon mesh 過濾下一管樣品，以避免細胞凝聚成團造成塞機影響分選。

實驗室主持人及聯絡人資訊

	職稱	單位	分機/手機	e-mail
負責人	鄭光宏 教授	生醫所	#7107	khcheng@faculty.nsysu.edu.tw
聯絡人	劉雅妍	生醫所	#7114	sadonnanylau@gmail.com