

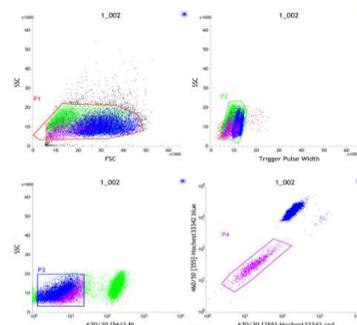
重庆医科大学生命科学研究院

BD Influx 流式细胞分选仪

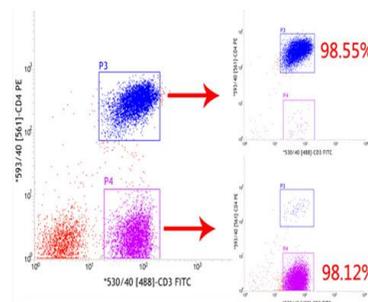


BD Influx™是一个灵活的流式细胞仪平台，拥有模块化的结构，强大的检测能力，可进行 2、4 和 6 路分选，以及 6、24 和 96 孔板分选，能充分适应研究人员的应用需求和各种环境要求。在流式细胞分选仪的性能指标中，速度和准确性仍然是必不可少的条件，独特的液流系统设计充分保证了细胞活性和避免了污染的发生。创新的喷嘴构件设计能够保证在高频的液滴振荡频率下使用相对较小的压力，从而在超高速分选过程中充分保证细胞的活性和功能。生命科学研究院安装的 BD Influx 配置了 4 个激光器（488，561，640，355 nm），可进行 13 参数检测，并具有每秒 20 万颗粒的高速分析能力和每秒 7 万颗粒的高速分选能力。

Laser	Bandpass Filters	Fluorochrome
Blue 488	710/50	PerCP-Cy5.5
	670/30	PerCP
	530/40	FITC,CFSE,GFP,YFP
Green 561	750LP	PE-CY7
	710/50	PE-CY5.5
	670/30	PE-CY5
	610/20	mCherry,PE-Texas Red
	585/29	PE,tdtomato,dsRed
Red 640	750LP	APC-Cy7
	720/40	APC-Alexa 700
	670/30	APC
UV 355	670/30	Hoechst Red
	460/50	Hoechst Blue,DAPI,Indo-1 Violet



边群细胞分选



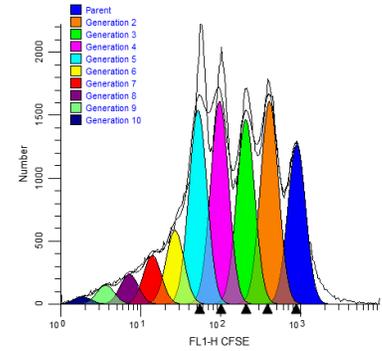
细胞分选纯度鉴定

CytoFLEX 流式细胞仪

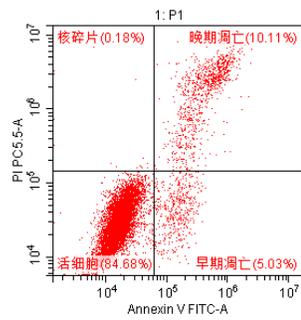
CytoFLEX 流式细胞仪拥有先进的检测技术，独家设计的光学模块，革命性地将光学部件和流动室进行整合，这种创新设计使光在传输中的损失到最低，从而带来最佳的仪器灵敏度。该仪器配备 3 激光 8 色荧光检测通道，激光器为 488nm、405nm 和 638nm。CytoFLEX 紧凑的尺寸，极低的维护成本，超高的灵敏度和分辨率，光路可自动校正，保持仪器稳定性，使您轻松获得准确和可重复性的结果，配套的数据获取和分析软件 CytExpert 直观易学易用，使您轻松掌控实验全过程！另外还配备了 Kaluza Analysis 分析软件，该软件为流式细胞仪类产品提供可视化的工具、超高的分析速度和创新性的简洁体验。其功能专门为简化实验室操作而设计，旨在帮助您更好地解读现代细胞仪所生成的数据。



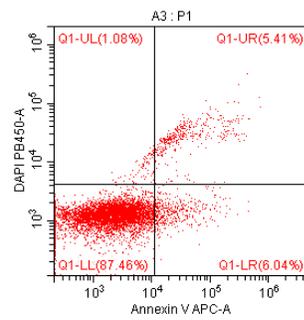
Laser	Bandpass Filters	Fluorochrome
Blue 488	585/42	PE, PI
	690/50	PerCP, PE-Cy5, 7-AAD, PerCP-Cy5.5
	530/40	FITC, CFSE, GFP, DCFH
Green 405	450/45	PB450, BV421
	525/40	KO525
Red 638	660/20	APC, Alexa Fluor® 647
	712/25	mCherryAPC, Alexa Fluor®700
	780/60	APC-Cy™ 7



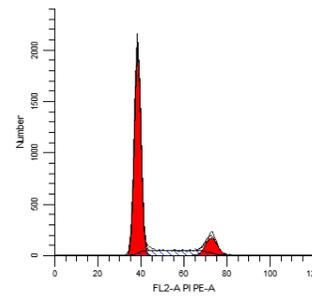
细胞增殖



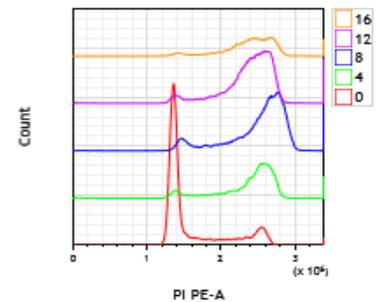
细胞自身无荧光



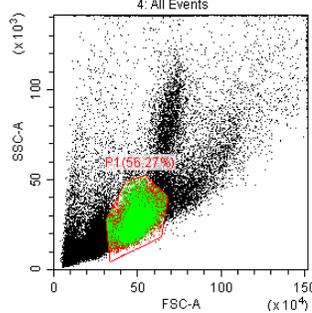
细胞自带绿 (红) 色荧光的凋亡



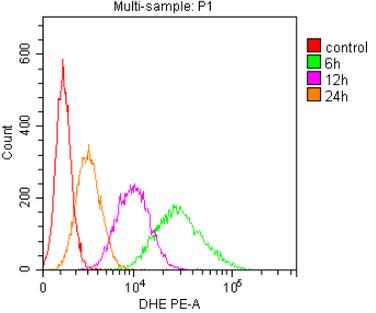
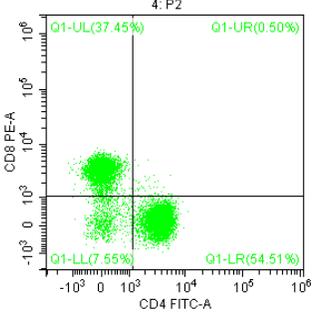
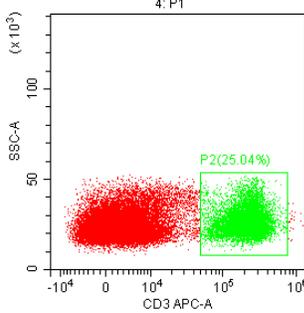
细胞周期



药物处理对细胞周期的影响



T 淋巴细胞比例分析



药物处理对细胞活性氧的影响

预约要求及收费标准

BD Influx 主要用于无菌分选（周三/周四），**CytoFLEX** 主要用于常规流式分析（周一至周五），两种仪器通常为老师上机。为满足有自己上机需求的同学，现 **CytoFLEX** 可对学生开放，但需做好上机前的染色工作，根据预约时间准时上机，按时间计费，200 元/小时，半个小时起预约。本实验室提供周期和凋亡染料，以及临床白血病免疫分型相关常用抗人抗体（详见流式抗体附表），其余检测需自己染色后送检，周期 25 元/标本，凋亡 40 元/标本，学生自己染的周期和凋亡均为 20 元/标本；单色为 10 元/标本，双色为 20 元/标本，三色以上均为 30 元/标本，细胞分选为 400 元/小时。

一、仪器负责人：吴建勇、徐丽红

预约邮箱：liushixibao302@163.com

咨询电话：023-63664791 /13637904697/13996261526

二、预约要求：

- 1、流式使用申请者需提前 **2-5 个工作日** 发邮件预约分选需**提前一周**预约，按发邮件的时间顺序约满为止，以回复邮件形式告知预约成功。
- 2、邮件注明样本情况，包括“**姓名、检测项目、样本数、送样日期、送样时段、所需使用仪器**”。eg: **李娟、周期、6 个、2016/11/28、8:30-9:00、新仪器**。
送样时段分为：**8:30-9:00, 9:00-9:30, 10:00-10:30, 14:00-14:30, 15:00-15:30, 16:00-16:30**。
- 3、请同学们按时送样，迟到拒收。若取消预约请尽快发邮件告知，以免耽误其他同学的检测需求。
- 4、为避免重名和方便发结果，请同学用自己的邮箱预约，并把邮箱昵称备注成自己的**名字+导师+学校**。

三、研究对象：

动植物细胞、微生物、细菌、病毒等生物体及其中的 DNA、蛋白质、塑料微球或微粒，还包括塑料微球或其他悬浮于液体中的微粒。

四、检测范围：

- 1、细胞结构：细胞大小；细胞颗粒度；细胞表面积；核浆比例；DNA 含量与细胞周期；蛋白质含量。
- 2、细胞功能：细胞表面/胞浆/核的特异性抗原；细胞活性；细胞内外的细胞因子；激素结合位点；细胞受体；蛋白磷酸化；钙离子浓度；细胞膜电位/线粒体膜电位

五、样品要求：

- 1、样品首先要制备成单细胞悬液（分选样品要无菌），贴壁的细胞一定要消化完全以防有细胞团现象（**接收人的外周血和骨髓标本，并提供常见的抗人抗体**）。
- 2、有成团现象的样品要经 300 目细胞筛过滤。
- 3、单管细胞总数 10^6 个~ 10^7 个，周期（需用 75%冷酒精固定）和凋亡样品体积为 400-500ul/管，单标和多色标记样品体积为 200-300ul/管，样品装在 1.5ml 的离心管中。
- 4、除细胞周期、凋亡检测外，**单荧光标记的细胞要提供同型对照或者不染色的阴性对照，多荧光标记的样品需制备：同型对照或不染色的阴性对照、荧光单染补偿管、多荧光标记的待测管**，并在登记本上写清楚哪一管标记了哪种抗体 eg:1 为阴性对照，2 为 FITC+PE 同型对照，3 为 CD3 FITC, 4 为 CD4 PE, 5 为 CD3 FITC+CD4 PE 双标。
- 5、样品编号以简单明了为宜 eg: 1, 2, 3……或 a, b, c……等，送样时请在第一个样品管上标注自己的名字，按照编号顺序单独放在一个 EP 管架上，以便与其他人区分。
- 6、**无菌分选时，每个标本需要准备 1ml 带有抗生素的培养液。**

六、收费方式：

- 1、校内转帐：本人手写流式检测申请，说明所需金额——老板签字——生科院 318 室找辛老师开具流式检测单（**请在检测单上备注学校，学院或科室，导师姓名**）——交到 302 吴老师、徐老师处并在**转账记录本上做好登记**
- 2、校外用户：学校财务处缴费（国际医学院（原综合楼）西侧一楼）——凭缴费发票到生科院 318 室找辛老师开具流式检测单（**请在检测单上备注学校，学院或科室，导师姓名**）——交到 302 吴老师、徐老师处并在**转账记录本上做好登记**

常见标本制备

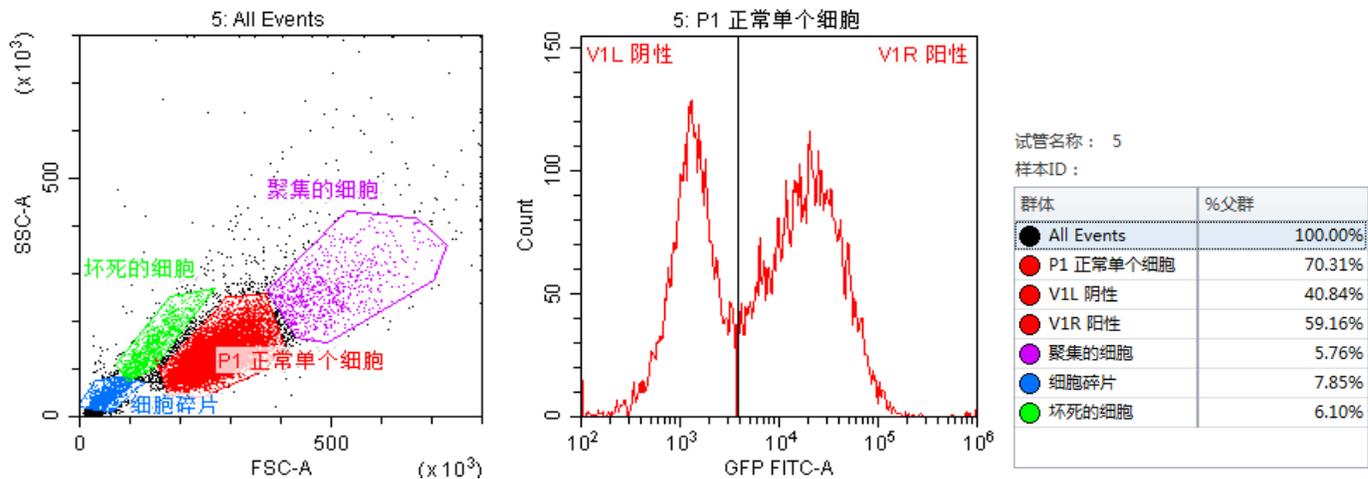
一、血液或骨髓标本的制备

- 1、采集全血标本时用EDTA-K2或EDTA-K3抗凝（终浓度为1.5-2mg/ml），采集后室温保存，6h内处理。
- 2、根据实验目的决定分离或不分离细胞。临床分析时建议使用裂解红细胞的方法，因为密度梯度离心分离淋巴细胞或其他白细胞会在分离过程中会丢失一些有意义的细胞或亚群，影响后续检测和分析。
- 3、建议先染色再裂红，裂红时全血与红细胞裂解液体积比为1:6（不超过1:10），裂解时间为10-20min。
- 4、如果仅仅只检测某种细胞或细胞亚群，不再进行分选等后续试验，每个实验管一般用50-100 μ L的骨髓或全血标本即可。

二、细胞周期及凋亡检测

- 1、用0.25%的胰酶将细胞消化成单个细胞，注意消化时间不宜过长。
- 2、然后用PBS缓冲液1000r/min离心5min，弃上清，反复两次。
- 3、最终将 1×10^6 个细胞重悬于PBS（PH=7.2）500ul缓冲液中，装于1.5ml的EP管中即可用于凋亡检测。
- 4、若需周期检测，则清洗两次之后，弃上清，重悬细胞于0.1ml PBS缓冲液中，缓慢加入500ul预冷75%乙醇，边加边震荡，避免细胞聚集，在4 $^{\circ}$ C条件下可保存2~3周。

常见流式图分析



1. 流式上机检测时首先需要选中要分析的细胞，凋亡、活性氧、Rho123和JC-1分析细胞活性的实验需排除聚集细胞和细胞碎片，选中坏死和正常的单个细胞；做周期、钙离子浓度、转染率等细胞因子分析时需要画门来排除细胞碎片，坏死细胞和聚集的细胞，圈中正常单个细胞。
2. 周期标本接受邮寄，邮寄信息：徐丽红，13996261526，重庆市渝中区医学院路1号，重庆医科大学袁家岗校区生命科学研究院302流式细胞室。邮寄时请说明快递需送到生科院楼下。
- 3.流式细胞交流QQ群：386459794，可在群内留意流式细胞室最新通知，抗体共享咨询等。

重庆医科大学流式细胞新增服务

本实验室对外接收来源于人/大鼠/小鼠外周血和骨髓的全血标本，并提供部分常用的抗人抗体。收费标准如下：

检测费：单色为 10 元/标本，双色为 20 元/标本，三色以上均为 30 元/标本。

人工处理费：胞膜标记 50 元起，10 个标本以上 5 元/标本；胞内核内标记 80 元起，8 管以上 10 元/标本。

试剂费：流式提供附表中抗体 20 元/5 μ l，需流式重新订购抗体要根据荧光素计费。

※ 因首次做实验条件需要摸索，待试验条件成熟后开始计费。

流式抗体附表

1	PE Mouse Anti-Human CD1a	31	FITC Mouse Anti-Human CD55
2	FITC Mouse Anti-Human CD2	32	PE Mouse Anti-Human CD56
3	FITC Mouse Anti-Human CD3	33	PE Mouse Anti-Human CD57
4	FITC Mouse Anti-Human CD4	34	PE Mouse Anti-Human CD59
5	PE Mouse Anti-Human CD4	35	PE Mouse Anti-Human CD61
6	FITC Mouse Anti-Human CD5	36	FITC Mouse Anti-Human CD64
7	FITC Mouse Anti-Human CD7	37	FITC Mouse Anti-Human CD71
8	FITC Mouse Anti-Human CD8	38	FITC Mouse Anti-Human CD94
9	PE Mouse Anti-Human CD10	39	FITC Mouse Anti-Human CD103
10	PE Mouse Anti-Human CD11b	40	PE Mouse Anti-Human CD117
11	PE Mouse Anti-Human CD11c	41	FITC Mouse Anti-Human CD123
12	PE Mouse Anti-Human CD13	42	PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD127
13	PE Mouse Anti-Human CD14	43	PE Mouse Anti-Human CD138
14	FITC Mouse Anti-Human CD15	44	PE Mouse Anti-Human CD161
15	PE Mouse Anti-Human CD16	45	PE-Cy5 Mouse Anti-Human CD161
16	FITC Mouse Anti-Human CD19	46	PE Mouse Anti-Human CD235a
17	PE Mouse Anti-Human CD20	47	Alexa Fluor 647 Mouse Anti-Human CD294
18	FITC Mouse Anti-Human CD22	48	FITC Mouse Anti-Human CD303
19	FITC Mouse Anti-Human CD23	49	FITC Mouse Anti-Human Cyclin D1
20	PE Mouse Anti-Human CD25	50	FITC Mouse Anti-Human Fc ϵ R1
21	FITC Mouse Anti-Human CD30	51	PE Mouse Anti-Human Gly A
22	FITC Mouse Anti-Human CD33	52	PE Mouse Anti-Human HLA-DR
23	FITC Mouse Anti-Human CD34	53	PE Mouse Anti-Human IgM
24	FITC Mouse Anti-Human CD36	54	FITC Mouse Anti-Human Lg κ Light Chain
25	FITC Mouse Anti-Human CD38	55	PE Mouse Anti-Human Light Chain λ
26	FITC Mouse Anti-Human CD41a	56	PE Mouse Anti-Human MPO
27	FITC Mouse Anti-Human CD42a	57	FITC Mouse Anti-Human TCR $\alpha\beta$
28	PE Mouse Anti-Human CD43	58	PE Mouse Anti-Human TCR $\gamma\delta$
29	PE-Cy5 Mouse Anti-Human CD45	59	FITC Mouse Anti-Human Tdt
30	APC Mouse Anti-Human CD45	60	PE Mouse Anti-Human Zap70