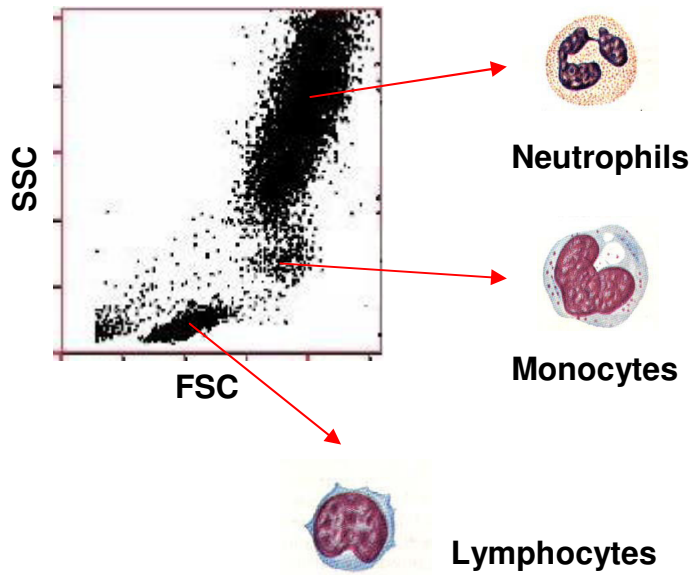
流式細胞核心設施

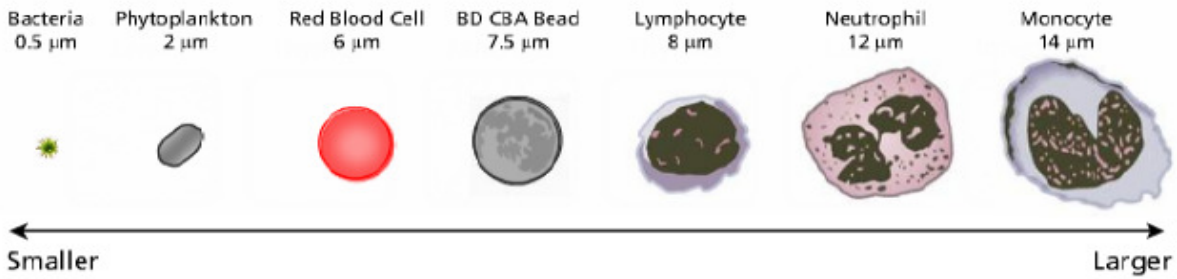
<u>流式細胞儀</u>

地點：醫學院基礎醫學大樓R1434

<u>流式細胞分選儀</u>

地點：醫學院基礎醫學大樓R1436





第一部分: FACSAria IIIu 流式細胞分選儀

公告與注意事項:

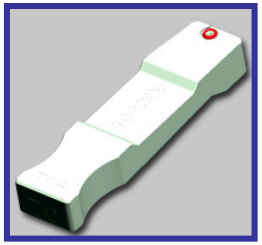
1. 自民國 101 年 4 月份起，流式細胞分選儀的收費價格已調整如下 (每次以 2小時為一個單位)：

   兩支雷射（其中一支必含488nm）：750元/次

   三支雷射（其中一支必含488nm）：1,000元/次

   四支雷射　　：1,250元/次

2. 目前本核心的流式細胞分選儀配有 70, 85 與 100 µm 三種不同孔徑的 nozzle。請大家在提出細胞分選申請時務必在分選服務申請表中勾選欲分選細胞的大小，以方便操作員完成上機前的準備工作，讓細胞分選的過程更為精確與流暢。



3. 本設施以服務台大院區研究同仁為宗旨，在其研究成果發表時，並不要求將技術員列為共同作者，但請在文章中致謝本核心。

建議致謝詞 (Acknowledgements) 如下：

We would like to acknowledge the service provided by the Cell Sorting Core Facility of the First Core Laboratory, National Taiwan University College of Medicine.

若是在Materials and Methods中提到，則建議如下：

Cells were sorted on FACSAria (BD Bioscience, San Jose, CA) through the service provided by the Cell Sorting Core Facility (the First Core Laboratory, National Taiwan University College of Medicine)。

若您的論文已發表，煩請將PDF檔e-mail 給本核心實驗室 (sorter01@ntu.edu.tw) 以便於收集與統計。無限感激。

4. FACSAria IIIu 流式細胞分選儀的配備已完成升級：

除了原本配備的三支雷射 (488nm、561mm 與633nm Laser) 與八支偵測器外，目前已加裝 405nm Laser 及五支與其配對的偵測器，使可偵測的螢光訊號增加至十三種。需注意的是，進行多重染色時，PE-Cy5 與 APC 不能同時使用。

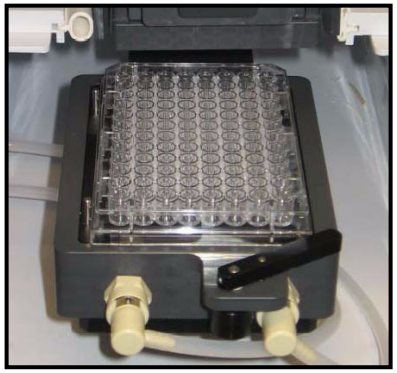
Laser Detector	Dichroic	Mirror	Bandpass Filter	Fluorochrome
488 nm	A	655 LP	695/40	PerCP-Cy5.5
	B	502 LP	530/30	FITC, GFP
	C	–	488/10	SSC
561 nm	A	735 LP	780/60	PE-Cy7
	B	630 LP	670/14	PE-Cy™5
	C	600 LP	610/20	mCherry, PE-Texas Red, PI
	D	–	582/15	PE, DsRed
633 nm	A	735 LP	780/60	APC-H7, APC-Cy7
	B	–	660/20	APC
405 nm	A	630 LP	660/20	Qdot 655, Brilliant Violet655
	B	600 LP	610/20	Qdot 605, Brilliant Violet605
	C	556 LP	585/42	Qdot585, Brilliant Violet570
	D	502 LP	510/50	AmCyan
	E	–	450/40	PacificBlue™, DAPI

5. FACSAria IIIu 流式細胞分選儀新增一組多孔盤細胞收集裝置：

本核心 FACSAria IIIu 流式細胞分選儀的細胞收集管除了原有的15 ml 離心管(單或雙向分選時使用)與 5 ml Falcon tube with snap cap (四向分選使用)外，現在增加了多孔盤細胞收集裝置，可以 96-, 48-, 24- 或 12- 孔盤來收集細胞。但以多孔盤收集細胞時僅可進行單向分選，亦即只能夠收集單一螢光狀態的細胞。

單或雙向分選

四向分選



多孔盤

第二部分: FACSCalibur 流式細胞儀

常見問題及疑難排除：

1. 流式細胞儀功能表中的儀器狀態 (Status) 可顯示流式細胞儀當時的運行模式與狀態。其顯示為 “Not ready” 時可能的原因如下:

   (1) 開機時，機體中的雷射大約需要5分鐘的時間來進行預熱暖機，此時的狀態將顯示為 “Not ready”。暖機完成後即跳至 “Standby”。

   (2) 若暖機時間已久仍處於 “Not ready” 的狀態則可能為下述的問題:

   (a) 鞘液筒中的檢測器發現 Sheath buffer 已不足，請補充之；

   (b) 廢液筒中的廢液已滿，請清除之；

   (c) 鞘液筒的液面檢測器連接是否鬆動、或未連接；

若經確認還無法改善狀況時，
請聯絡管理者。

2. 只有當功能顯示表顯示為 “Ready” 的狀態，系統才能夠正常運行與完成上樣分析的動作。當整個系統在未能正常加壓的情況下，功能顯示表皆會處於 “Standby” 的儀器狀態下。可能的原因包括鞘液筒蓋漏氣、壓力閥未加壓，樣本管不能被加壓等等。此時，樣本無法良好地進入流動室進行檢測。請檢查是否有下列情況:

(1) 壓力閥未扳至 “加壓” 的狀態。

(2) 鞘液筒的黑色鐵蓋是否有放置定位並卡緊。

(3) 上樣用的Falcon tube可能有裂縫造成漏氣，請更換新的管子 。

(4) 鞘液濾膜內可能有空氣，請排除空氣。

(5) 檢查鞘液筒、鞘液濾膜和廢液筒間的接頭是否連接好。

若經確認還無法改善狀況時，請聯絡管理者。

3. 若碰到流速不穩的狀態，可能有下列情況發生:

(1) 鞘液濾膜內可能有空氣，請將空氣排除。

(2) 樣本未均勻懸浮或有團塊存在，請打散團塊並均勻混和樣本。

(3) 若發現樣本中有過大團塊存在且無法打散時，請過濾樣本或將團塊去除再上機，否則很容易進一步造成塞機而無法進行分析。

(4) 上樣用的Falcon tube可能有裂縫造成漏氣，請更換新的管子

4. 若碰到儀器訊號雜訊過高的狀態，可能有下列情況發生:

(1) 鞘液濾膜內可能有空氣存在，請將空氣排除。

(2) Flowcell 內有氣泡存在，請 PRIME 數次清除氣泡。

(3) 分析時的流速過快 (DNA 分析請用 “LOW” 的流速）

(4) 流體管路不乾淨，請依照清洗步驟清洗機器。

(5) 如果鞘液筒內的鞘液被吸乾了，應該重新裝滿鞘液，PRIME 數次，換上3ml dH2O 進行 “HI RUN” 30分鐘，待鞘液流中的氣泡排除之後，再進行樣本的分析。

5. 若碰到電腦與機器無法連線的情形，請關掉儀器及電腦，靜待一分鐘後，先開儀器電源，再開電腦重新連線。

6. 在使用過程中，若電腦忽然當機或無法連線，有可能是電腦開機時間太長或同時使用電腦其他周邊設備 (例如隨身碟) 或存取數據，造成系統不堪負荷而當機，此時建議停止使用且拔出隨身碟，並重新將電腦開機。

若經確認仍無法改善狀況時，請聯絡管理者。

如有其它問題，請來電 (分機88356) 或 e-mail (sorter01@ntu.edu.tw) 洽詢王靜嫻副技師。