

## 檢體製備注意事項：

1. 請先用一般螢光顯微鏡觀察細胞之活性，確定活性夠佳、且有螢光反應後再進行實驗。
2. 為避免浪費公共資源，請各研究人員先確認所送之樣本符合規定，若因樣本不符規定而導致無法有好的實驗結果，仍依收費標準收費。
3. 本中心上機前後均需花費1-2小時清洗管路及暖機，為避免浪費人力、時間、藥品及雷射壽命，請勿臨時取消實驗。
4. 樣品請用以下 sorting buffer 配方回溶，以 BD 5 mL tube 或 15 ml 離心管 上機，並多準備一管 sorting buffer 供濃度調整備用；若需進行分選，請配製以下墊底液回收細胞：

- Sorting Buffer：

1 × Phosphate Buffer Saline

1 % Serum

1 mM EDTA

25 mM HEPES

- 墊底液(cushion)：

15 ml 離心管中加入 8 ml 的 culture medium with 20% Serum

5 ml Falcon tube 中加入 2 ml 的 culture medium with 20% Serum

5. 實驗所需 **細胞數**  $> 5 \times 10^6$  ， **體積**  $> 1\text{ml}$  。

各種細胞的建議濃度如下表：

Cell type	Concentration
Lymphocytes, thymocytes or splenocytes (直徑 8-12 $\mu\text{m}$ )	$2 \times 10^7$ /ml
Activated lymphocytes, small cell lines (直徑 12-20 $\mu\text{m}$ )	$1-2 \times 10^7$ /ml
Large adherent cell line (直徑 $> 20 \mu\text{m}$ )	$5 \times 10^6$ /ml

➤ 直徑均指懸浮狀態下細胞之直徑。

6. 請自備上樣試管以及收集管，並在上機前於本中心儀器室使用 **40  $\mu\text{m}$  filter** 過濾樣品，避免管線阻塞。
7. 實驗當天請自備**存檔空白光碟**、**手套**、**tip**、**40  $\mu\text{m}$  filter** 等實驗耗材。