

Multidrop Combi 细胞分液指南

翻译：刘晓伟 俞立超



赛默飞世尔科技的 Multidrop Combi 自动分液器，采用蠕动泵分液技术，配合高质量的分液盒，可以对任何板型的微孔板进行快速和温和的分液。分液过程对细胞无任何影响，分液后的板可进行任何以细胞为基础的实验。本文介绍如何使用 Multidrop Combi 进行细胞分液以及分液盒的日常维护方法。

1. 选择分液盒

对于悬浮细胞进行分液，分液盒的选择取决于分液的体积和板型。

1.1 体积

- 细管分液盒：< 50 ul 液体分液（推荐使用塑料吸头分液盒）
- 标准管分液盒：> 50ul 液体分液

1.2 板型

- 细管分液盒：96、384 和 1536 孔板
- 标准管分液盒：6、24、48、96 和 384 孔板

对于不同的细胞系进行分液时，建议使用不同的分液盒，以避免细胞之间的污染。

2. 预洗分液盒

进行细胞分液前，必须用 PBS 缓冲液预洗分液盒的管路和分液头，缓冲液的体积取决于所使用的分液盒类型。

- 细管分液盒：约 2 ml（包括填充管路的死体积）
- 标准管分液盒：约 10 ml（包括填充管路的死体积）

为了使分液到板中的细胞均匀分布，需要用细胞悬液同样对管路和分液头进行润洗，细胞量取决于所使用的分液盒。

- 细管分液盒：死体积 + 500 ul
- 标准管分液盒：死体积 + 1 ml

3. 分液

分液的细胞浓度取决于细胞系的种类，Multidrop Combi 可以将细胞完全均匀的铺在微孔板中。如图 1 所示，两种不同浓度的细胞分液后的分布情况。

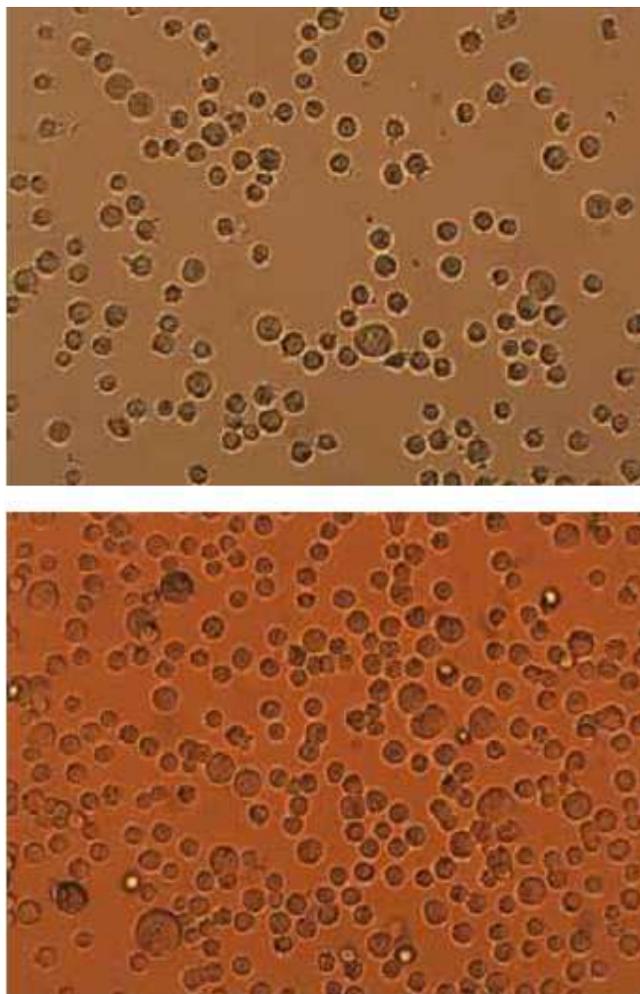


图 1. 将 50 μ l HeLa-S3 细胞通过细管塑料分液盒分到 96 孔板中。a) 细胞浓度为 2.9×10^5 cells/ml, b) 细胞浓度为 6.5×10^5 cells/ml

3.1 分液实用贴士

- 当有多块板需要分液时，可以通过柔和的振荡（磁力搅拌）使细胞保持悬浮。
- 通过磁力搅拌子可以有效的保持细胞处于悬浮状态，但速度应尽可能柔和，只需保持悬浮状态即可，不能产生漩涡或泡沫，否则将会影响细胞的活力。应确保分液盒的吸液在容器的一侧和搅拌子相远离。
- 如果在细胞分液后，还将继续对同一细胞进行分液，可以在分液后和下一次分液前使用 PBS 缓冲液冲洗管路。但 PBS 在管路中的时间不能超过 1 小时，如果两次分液的间隔时间较长，需要使用双蒸水清洗管路，以避免分液头的堵塞。

4. 分液盒的清洗

4.1 分液后应立即对分液盒进行清洗以避免堵塞

在分液后，应用 10-15 ml 的 PBS 缓冲液冲洗管路，去除管路中残留的细胞。为了彻底的清洗管路和分液头，请按下述的方法进行操作。建议不同的细胞系采用不同的分液盒，以免造成细胞间的污染。

为了清洗分液盒，可以使用温和的去垢剂，如 0.5% TWEEN-20、0.5% Triton X-100，也可以使用商品化的清洗液，如 Cole-Parmer 的 1% Micro-90。如果需要灭菌，可以使用 10%

的漂白剂对管路进行冲洗。

- 细管分液盒：5-10 ml
- 标准管分液盒：15-20 ml

清洗完管路后，应再使用双蒸水冲洗两次。这两次的冲洗应使用两管新制的双蒸水，因为在管路表面残留的水滴中可能会混有去垢剂。

- 标准管分液盒：至少 20 ml
- 细管分液盒：至少 10 ml

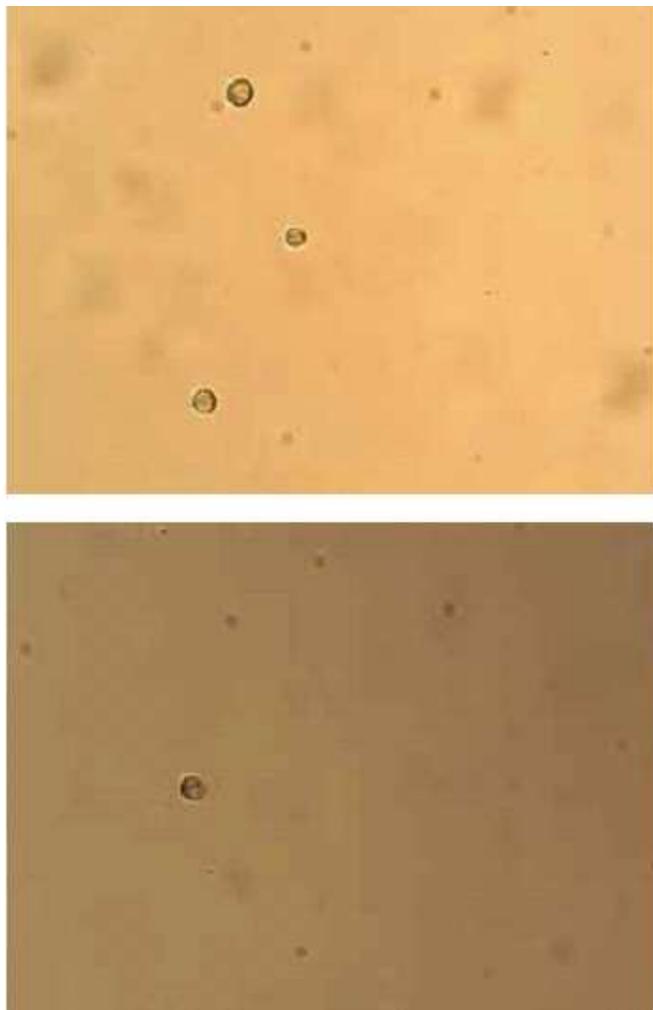


图 2. 用 PBS 清洗管路。a) 5 ml PBS 清洗后；b) 10 ml PBS 清洗后

5. 故障处理

5.1 阻塞

5.1.1 可能的阻塞原因

- 悬液中的细胞成团
- 管路中有细胞培养液残留
- 没有使用 PBS 缓冲液润洗管路
- 分液后直接使用乙醇进行清洗，导致蛋白沉淀

5.1.2 清除阻塞

- 使用温和的去垢剂或洗液，使其在管路中保持 5-10 分钟，将阻塞物溶解。
- 使用温和的去垢剂和双蒸水多次冲洗和排空管路
- 使用注射器对单独的分液头进行反向冲洗通常是有效的。记得操作后用双蒸水冲洗。

5.1.3 预防阻塞

- 采用分散均匀的单细胞悬液
- 分液前后都使用 PBS 冲洗管路
- 分液后立即清洗分液盒

5.2 泡沫

细胞培养液中通常都含有血清，使得在分液时会产生泡沫，这在使用金属吸头分液盒时尤其明显。

5.2.1 减少泡沫产生的贴士

- 在切换不同液体时，使用 Prime 操作代替 Empty
- 采用较低的分液速度，通常推荐中速
- 采用更低的混合速度
- 如果可能，使用尽可能少的血清，或者使用更低浓度的 BSA（0.1% 或 0.05%），如果细胞不需要贴壁

5.3 各孔的细胞数不均匀

5.3.1 细胞悬液的润洗不充分

- 请参照预洗分液盒的操作

5.3.2 分液前的细胞未充分混匀

- 先编辑好分液程序，将预分液的板放在仪器边，混匀细胞后立即进行分液操作

5.3.3 有细胞团

- 检测细胞悬液中是否有细胞团

5.4 分液后有一定量的死细胞

分液前检查细胞的活性

5.4.1 不充分的清洗会影响细胞的活性

- 使用去除垢剂或清洗液后必须充分冲洗管路

5.4.2 水也可能影响细胞活性

- 如果管路经双蒸水洗过，在分液前必须用 PBS 缓冲液冲洗

更多信息请访问我们的网站：

www.thermo.com/multidrop