ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ

- Γιώργος Λαλλάς, Βιολόγος – PhD
- Επιστημονικός Διευθυντής Π. Ζαφειρόπουλος Α. Ε.

ΒΑΣΙΚΑ ΒΗΜΑΤΑ

- Σχεδιασμός πειράματος
- Προετοιμασία δείγματος

Δείγμα

- Επιλογή μηχανήματος
- Προετοιμασία Μηχανήματος

Κυτταρόμετρο

- Ανάλυση δεδομένων
- Παρουσίαση γραφημάτων

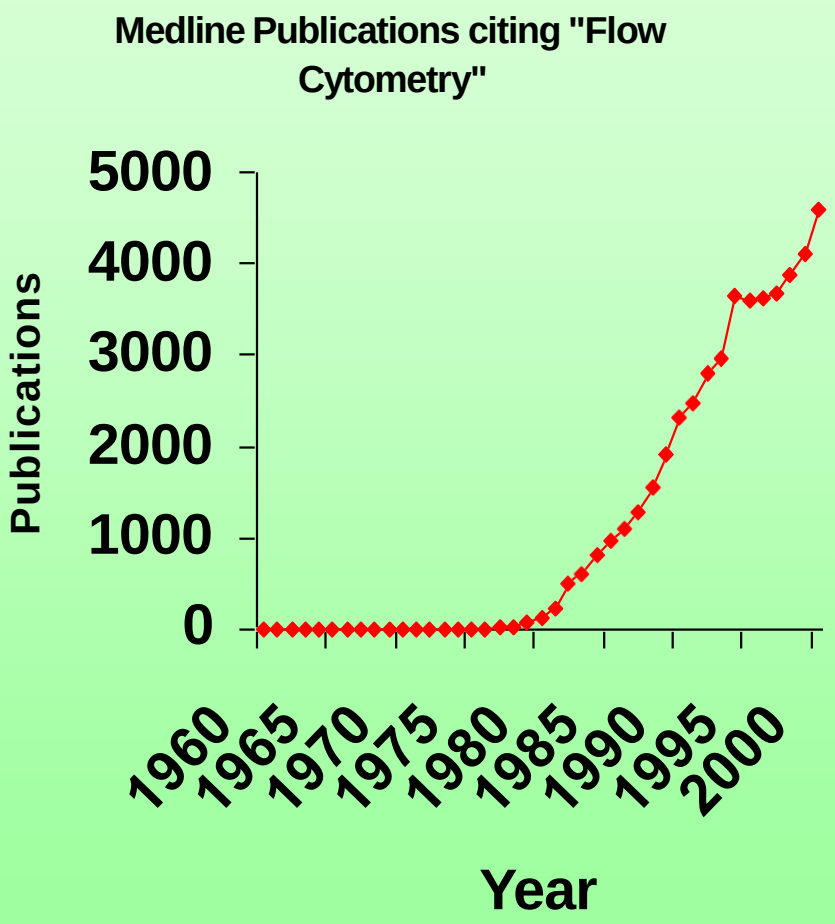
Λογισμικό Ανάλυσης

Εξέλιξη κυτταρομετρίας ροής

- Ταχέως εξελισσόμενη τεχνολογία
- Διαρκώς αυξανόμενη χρήση από το 1980 .
- Δυνατότητα ανάλυσης πολλαπλών παραμέτρων σε κυτταρικό επίπεδο

Εφαρμογές Κυτταρομετρίας ροής

- It can be used for…
  - Immunophenotyping
  - DNA cell cycle/tumor ploidy
  - Membrane potential
  - Ion flux
  - Cell viability
  - Intracellular protein staining
  - pH changes
  - Cell tracking and proliferation
  - Sorting
  - Redox state
  - Chromatin structure
  - Total protein
  - Lipids
  - Surface charge
  - Membrane fusion/runover
  - Enzyme activity
  - Oxidative metabolism
  - Sulfhydryl groups/glutathione
  - DNA synthesis
  - DNA degradation
  - Gene expression



Σωστή Επιλογή Κυτταρομετρητή Ροής

- 4 Βασικά Σημεία Αξιολόγησης

Βασικά Τμήματα Κυτταρομετρητή Ροής

- Ροή Κυττάρων
- Χρήση πηγών Laser, ακτινοβόληση και μετάδοση σήματος φθορισμού
- Μετατροπή σήματος φθορισμού σε ηλεκτρονικό σήμα
- Ανάλυση ηλεκτρονικού σήματος με χρήση ειδικών λογισμικών

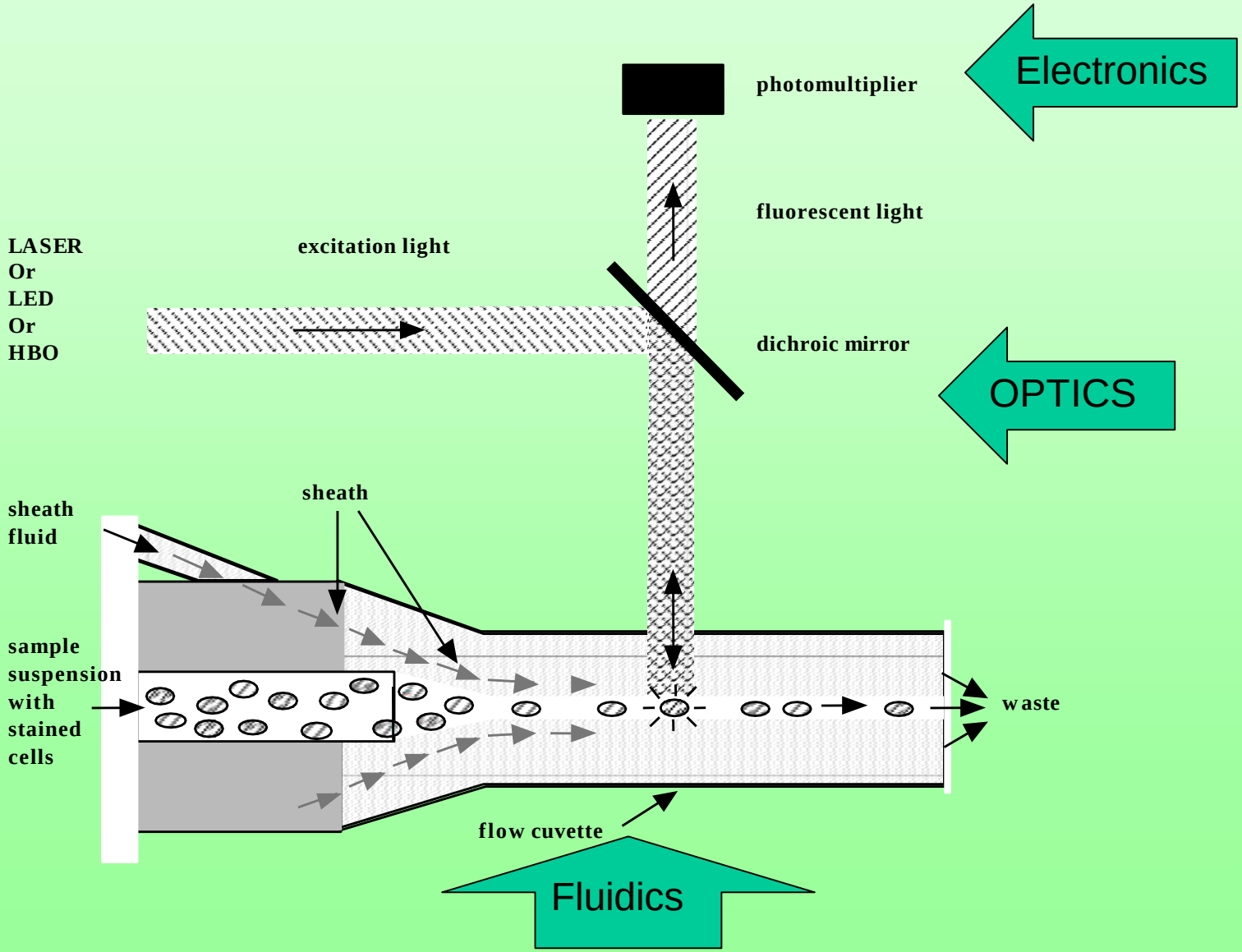
Fluidics

Optics

Electronics

Interpretation

Ροή Κυττάρων και Συλλογή σήματος



FLUIDICS

ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΡΟΗΣ

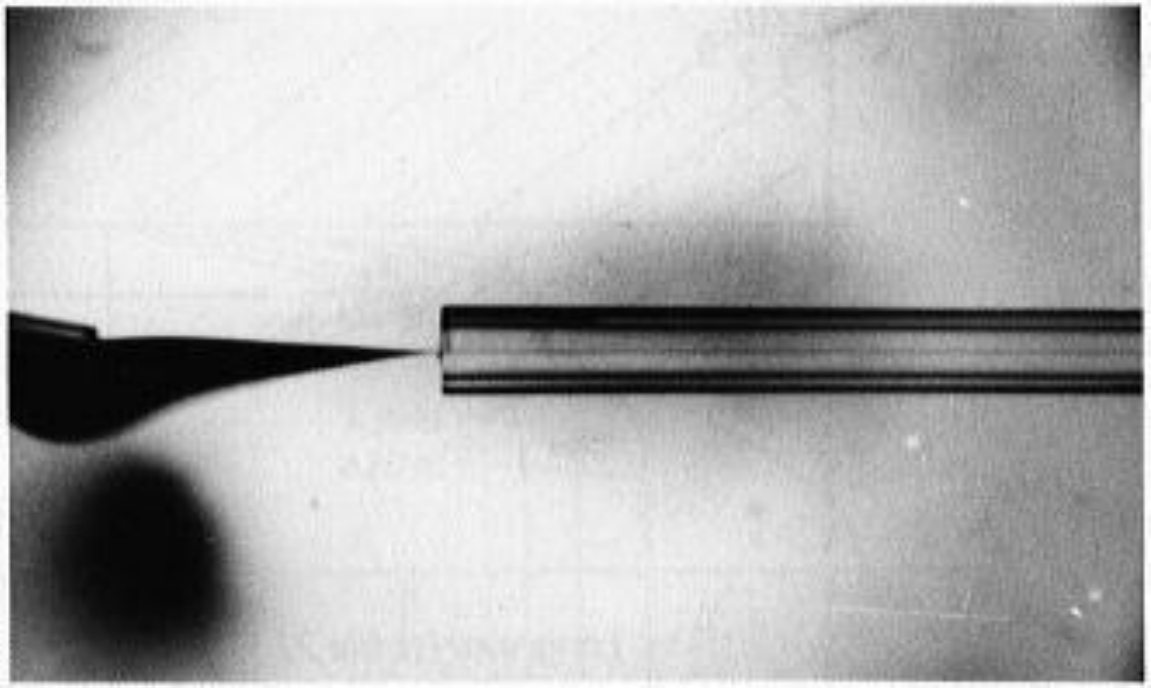
- Ροή κυττάρων κατά μονάς.
- Η ροή των κυττάρων πρέπει να είναι ομοιόμορφη.
- Η ροή των κυττάρων πρέπει να είναι εστιασμένη στο κέντρο της διαδρομής.
- Το σύστημα ροής δεν πρέπει να αλλοιώνει τα φυσικά χαρακτηριστικά των κυττάρων (σχήμα και ακεραιότητα)

ΕΣΤΙΑΣΜΕΝΗ ΡΟΗ

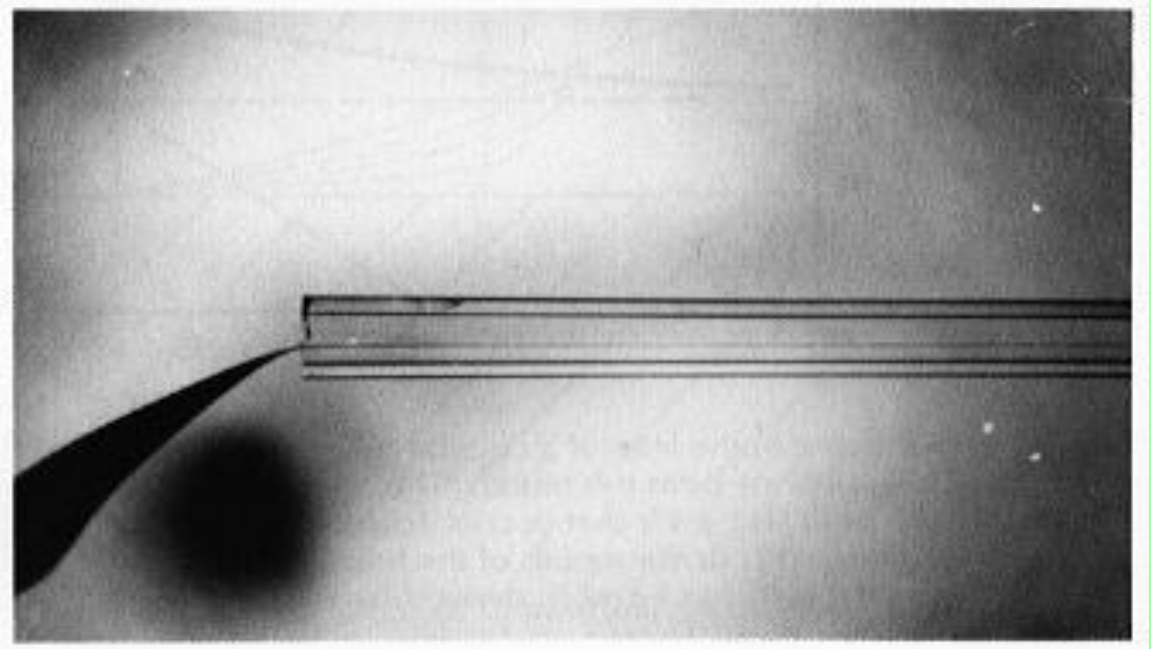
- Στους περισσότερους κυτταρομετρητές ροής έχουμε εισαγωγή του δείγματος στο υγρό περιροής καθώς αυτό διέρχεται από ένα μικρό (50-300 μm) στόμιο.
- Η είσοδος ενός μεγάλου όγκου σε ένα μικρό όγκο υγρού με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτυγχάνεται εστίαση κατά μήκος του άξονα ονομάζεται υδροδυναμική εστίαση.

Fluidics

Εστίαση

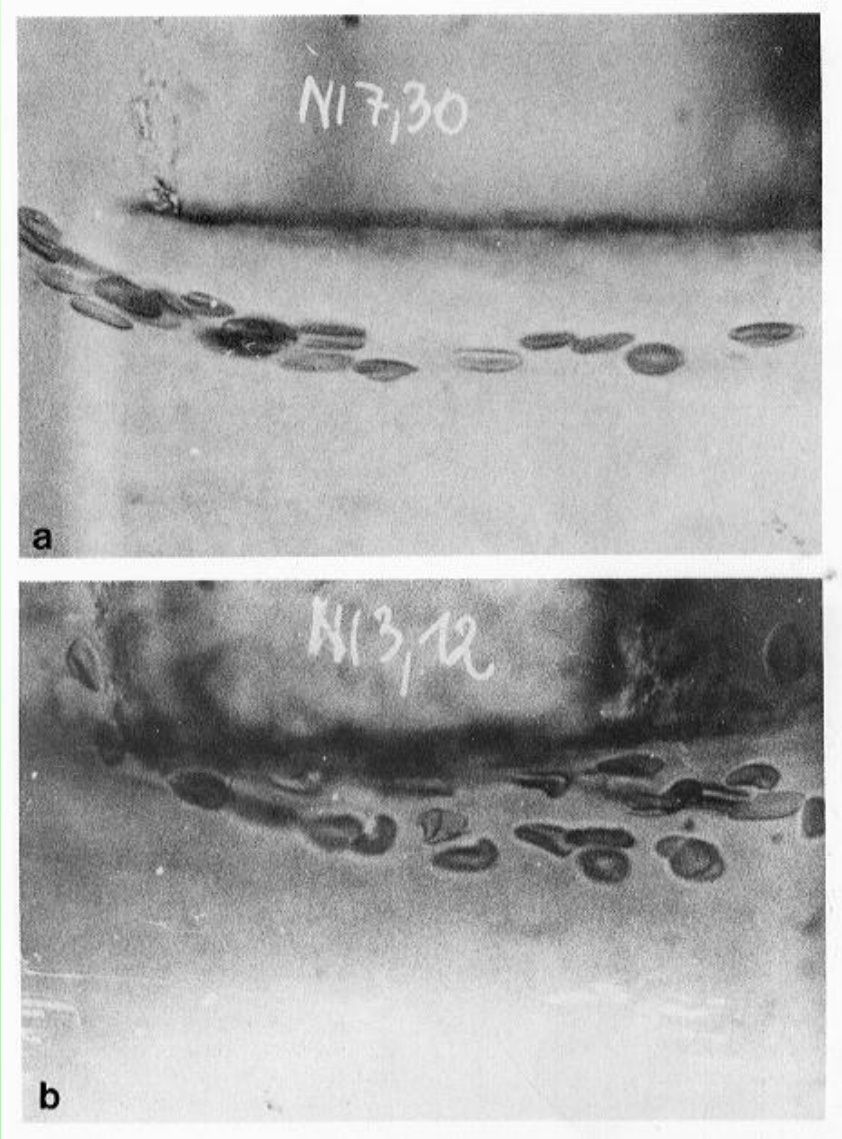


Εξαρτώμενη από το σημείο εισόδου



V. Kachel, H. Fellner-Feldegg & E. Menke - MLM Chapt. 3

ΥΔΡΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΕΣΤΙΑΣΗ



Α: ΕΣΤΙΑΣΜΕΝΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ

Β: ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΣΤΡΟΒΙΛΙΣΜΟΥ ΣΕ ΥΨΗΛΗ ΤΑΧΥΤΗΤΑ $v>3$ m/s.

V. Kachel, et al. - MLM Chapt. 3

ΥΓΡΟ ΠΕΡΙΡΟΗΣ

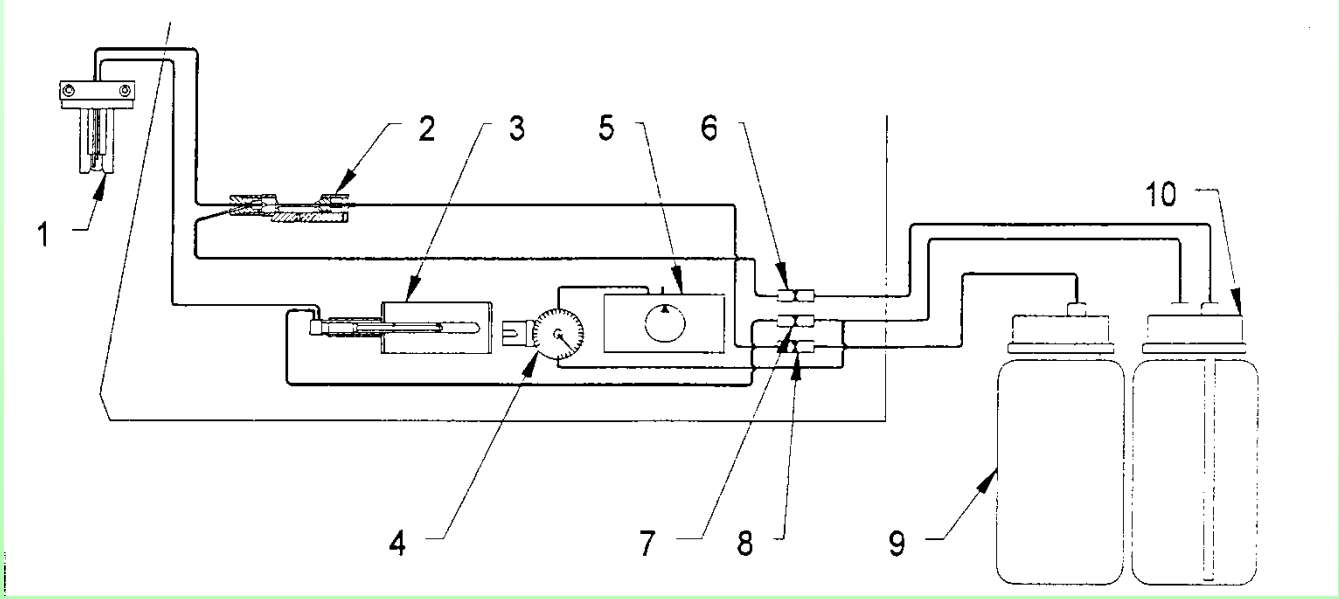
- Υδατικό διάλυμα
- Βασικό συστατικό για την ορθή εστίαση
- Ισότονο διάλυμα το οποίο εξασφαλίζει την διατήρηση του σχήματος των κυττάρων
- Ανάλυση χωρίς υγρό περιροής σημαίνει ότι για να περιορίσουμε κύτταρα διαμέτρου 10μm σε ρεύμα 20μm χρειαζόμαστε μονοπάτι ροής 20μm
- Το ΥΓΡΟ ΠΕΡΙΡΟΗΣ μας εξασφαλίζει τον εναρμονισμό με τον 1^{ο} κανόνα του SHAPIRO

1ος ΚΑΝΟΝΑΣ Shapiro

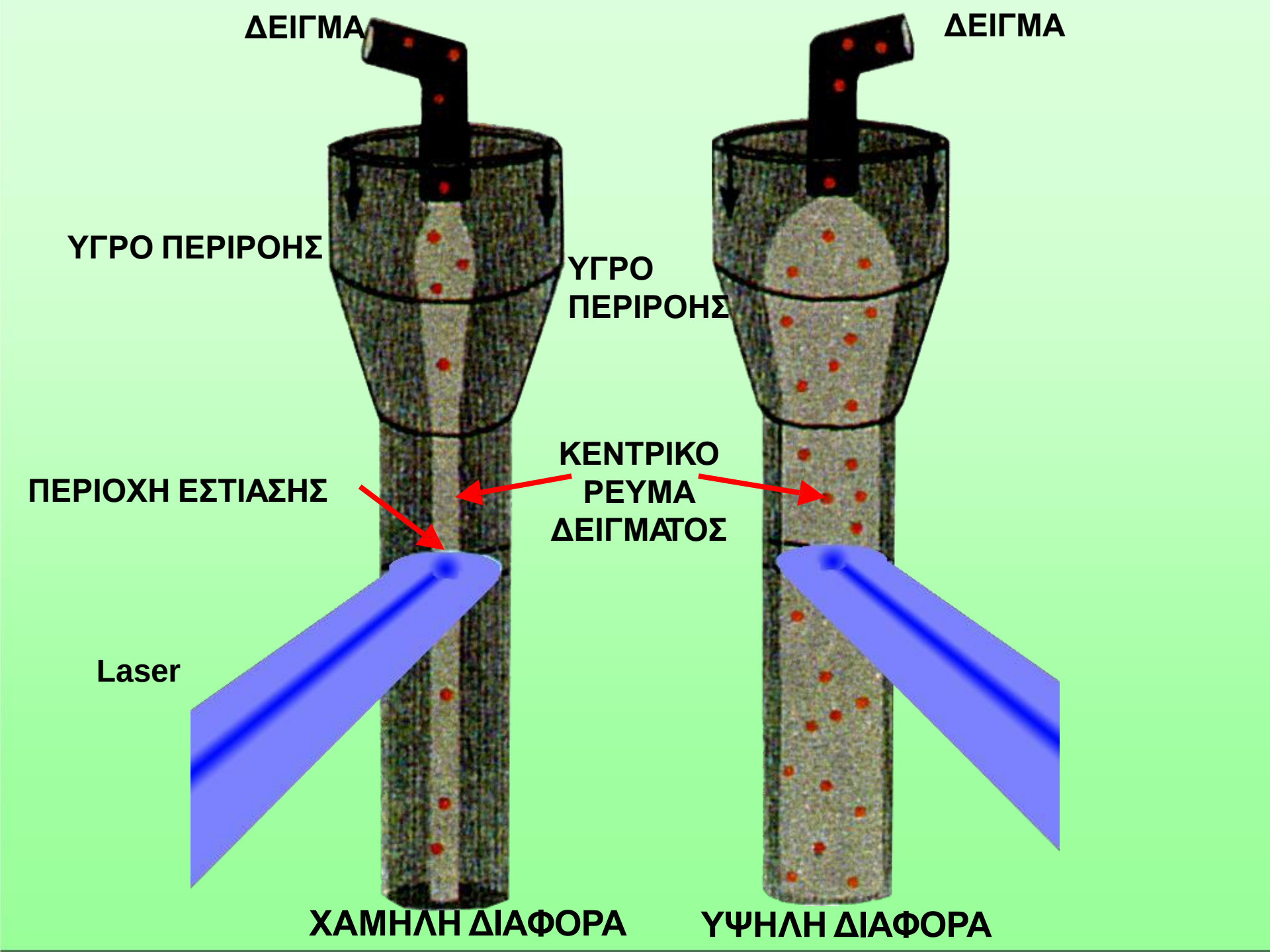
ΣΩΜΑΤΙΔΙΟ 51μm
ΜΠΛΟΚΑΡΕΙ ΣΤΟΜΙΟ 51μm!

ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΕΡΙΡΟΗΣ

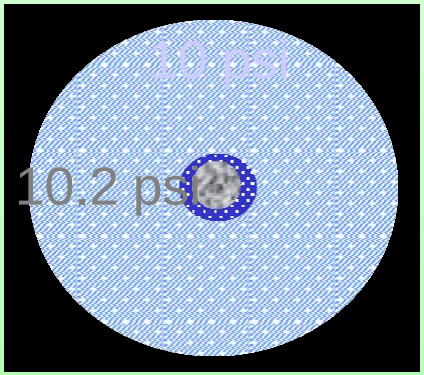
1 test tube holder
2 flow Cell
3. syringe pump
4. pressure gauge and pressure regulator
5. membrane pump
6.sheath fluid valve
7 waste fluid valve
8. air valve
9 waste container
10 sheath fluid container

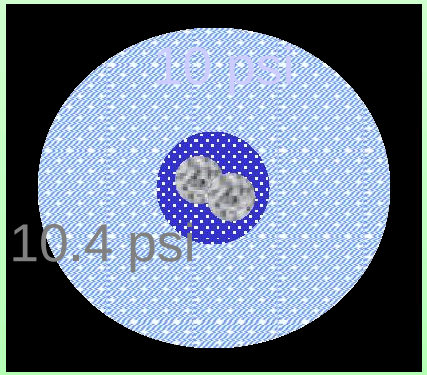


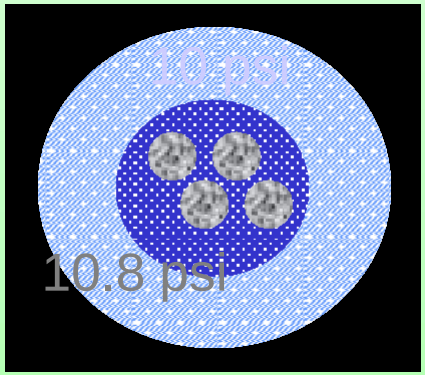
Η ΥΔΡΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΕΣΤΙΑΣΗ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΙΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΓΡΟΥ ΠΕΡΙΡΟΗΣ


ΔΕΙΓΜΑ
ΔΕΙΓΜΑ
ΥΓΡΟ ΠΕΡΙΡΟΗΣ
ΥΓΡΟ ΠΕΡΙΡΟΗΣ
ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΡΕΥΜΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΣΤΙΑΣΗΣ
Laser
ΧΑΜΗΛΗ ΔΙΑΦΟΡΑ
ΥΨΗΛΗ ΔΙΑΦΟΡΑ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΙΕΣΗΣ







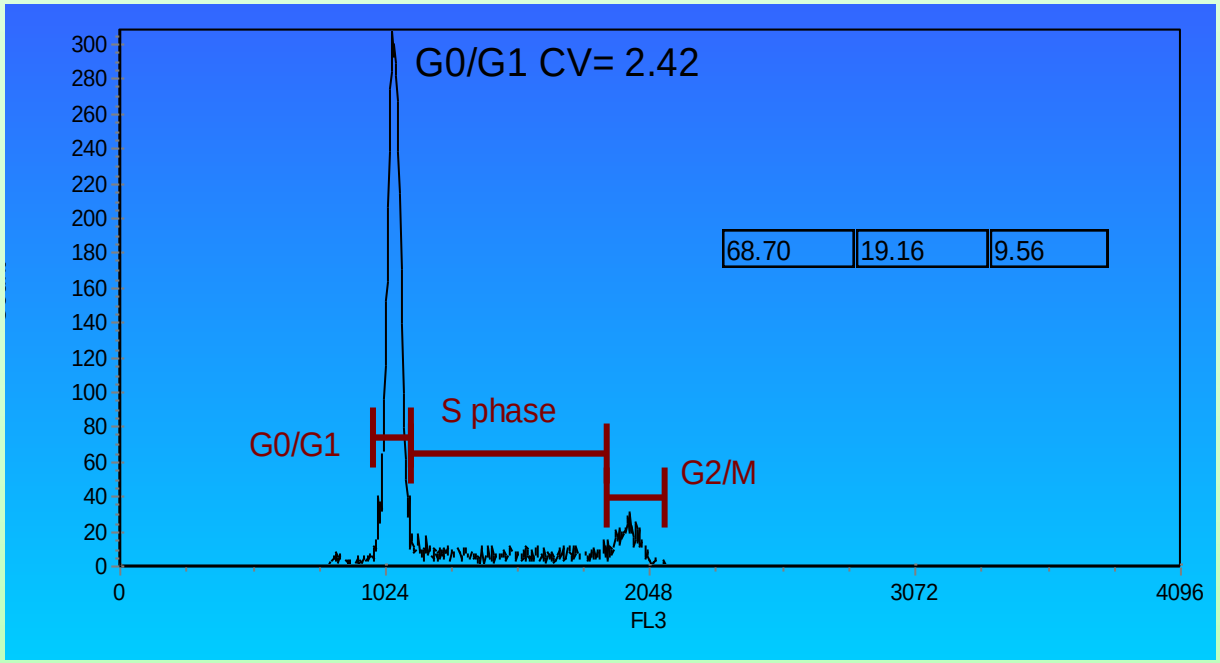
Η διαφορά πίεσης μεταξύ δείγματος και υγρού περιροής ρυθμίζει τον ρυθμό ροής

Μεγάλη διαφορά μεγαλύτερη η διάμετρος του ρεύματος ροής

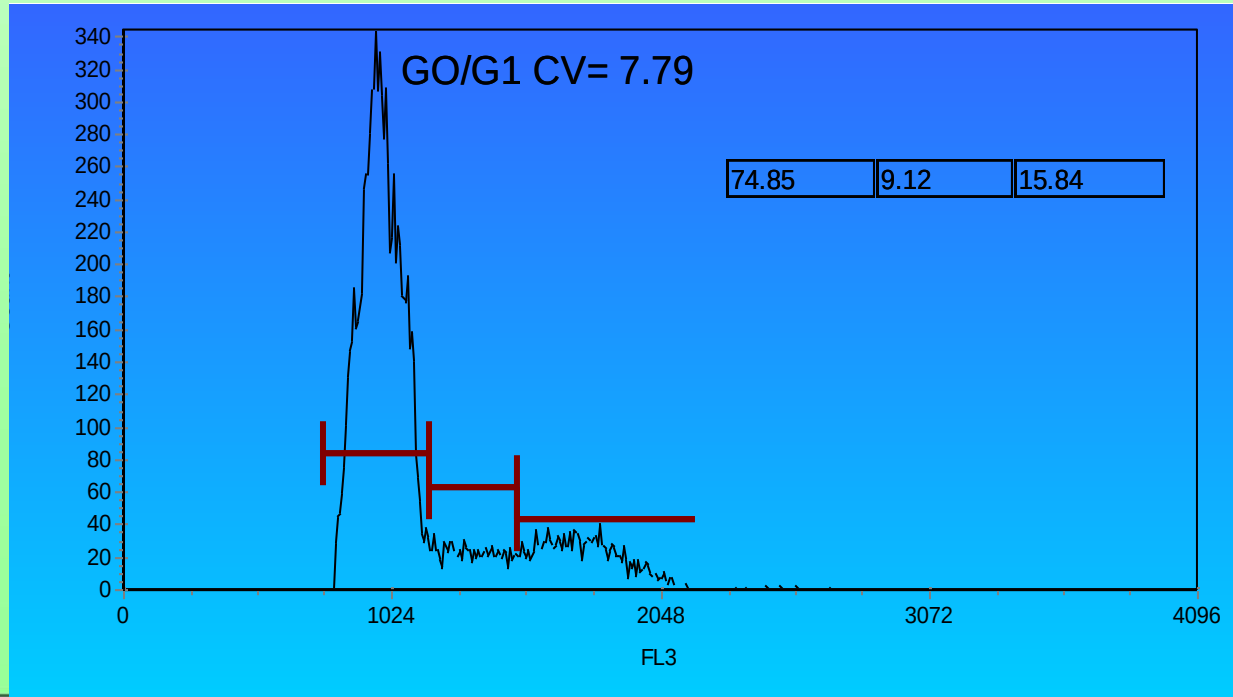
Εάν η διαφορά είναι μεγάλη δεν έχουμε ανάλυση μονών κυττάρων

Αύξηση CV's

Χαμηλή πίεση



Υψηλή πίεση



Ρύθμιση Ρυθμού Ροής

ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΔΥΟ ΤΡΟΠΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΡΟΗΣ

- **ΡΥΘΜΙΣΗ ΠΙΕΣΗΣ ΜΕ ΑΝΤΛΙΑ ΟΓΚΟΥ**
- **ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΣΥΡΙΓΓΑΣ**

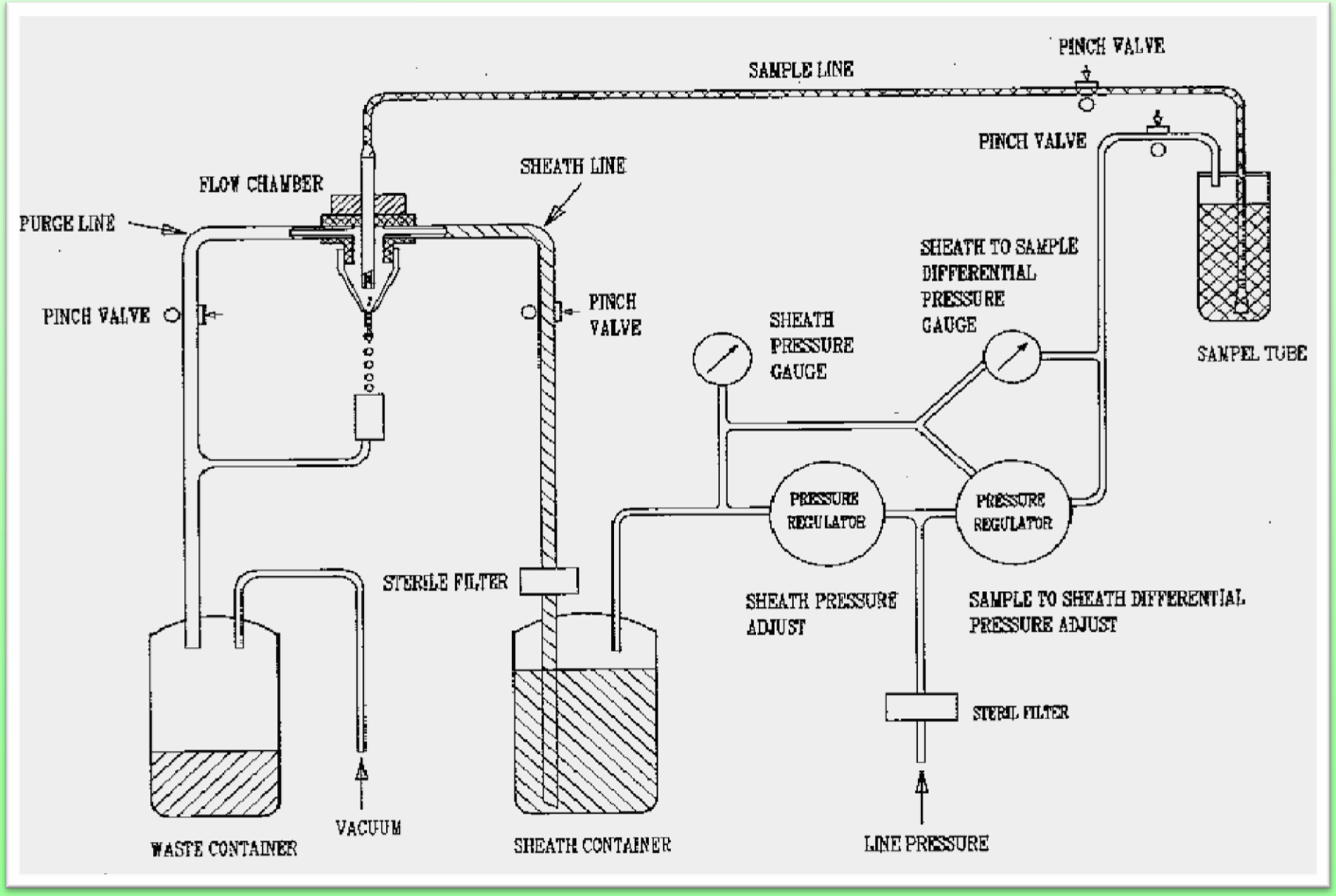
ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΙΕΣΕΩΝ

- Χρήση αέρα ή αζώτου για δημιουργία πίεσης στο δείγμα και στο υγρό περιροής
- Χρήση ρυθμιστών πίεσης για έλεγχο των συνθηκών

ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΙΕΣΕΩΝ

- Η πίεση του υγρού περιροής ρυθμίζει τον ρυθμό ροής του.
- Η διαφορά πίεσης μεταξύ υγρού περιροής και δείγματος ρυθμίζει τον ρυθμό ροής του δείγματος
- Ο έλεγχος δεν είναι απόλυτος - αλλαγές στις δυνάμεις τριβής προκαλούν αλλαγές στην ροή.

Fluidics - Differential Pressure System



C. Göttlinger, B. Mechtold, and A. Radbruch

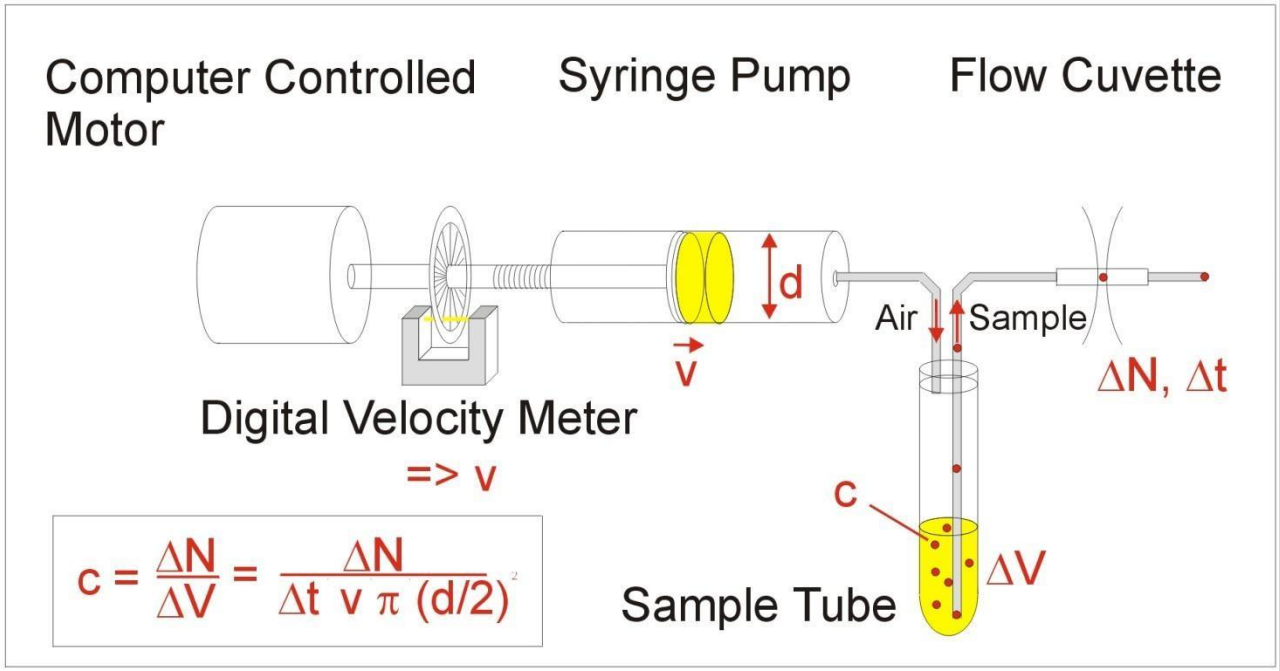
Ογκομετρική Ρύθμιση Ροής

- Χρήση αέρα (ή αζώτου) για ρύθμιση του ρυθμού ροής του υγρού περιροής
- Χρήση σύριγγας (syringe pump) για την ροή του δείγματος
- **Ο ρυθμός ροής του δείγματος ελέγχεται από την ταχύτητα της σύριγγας.**
- Ο έλεγχος είναι απόλυτος (Speed = μl / sec).
- Υπολογισμός κυτταρικής συγκέντρωσης άμεσα χωρίς επιπλέον διαδικασία

Volumetric Counting

- <u>Syringe Principle</u>

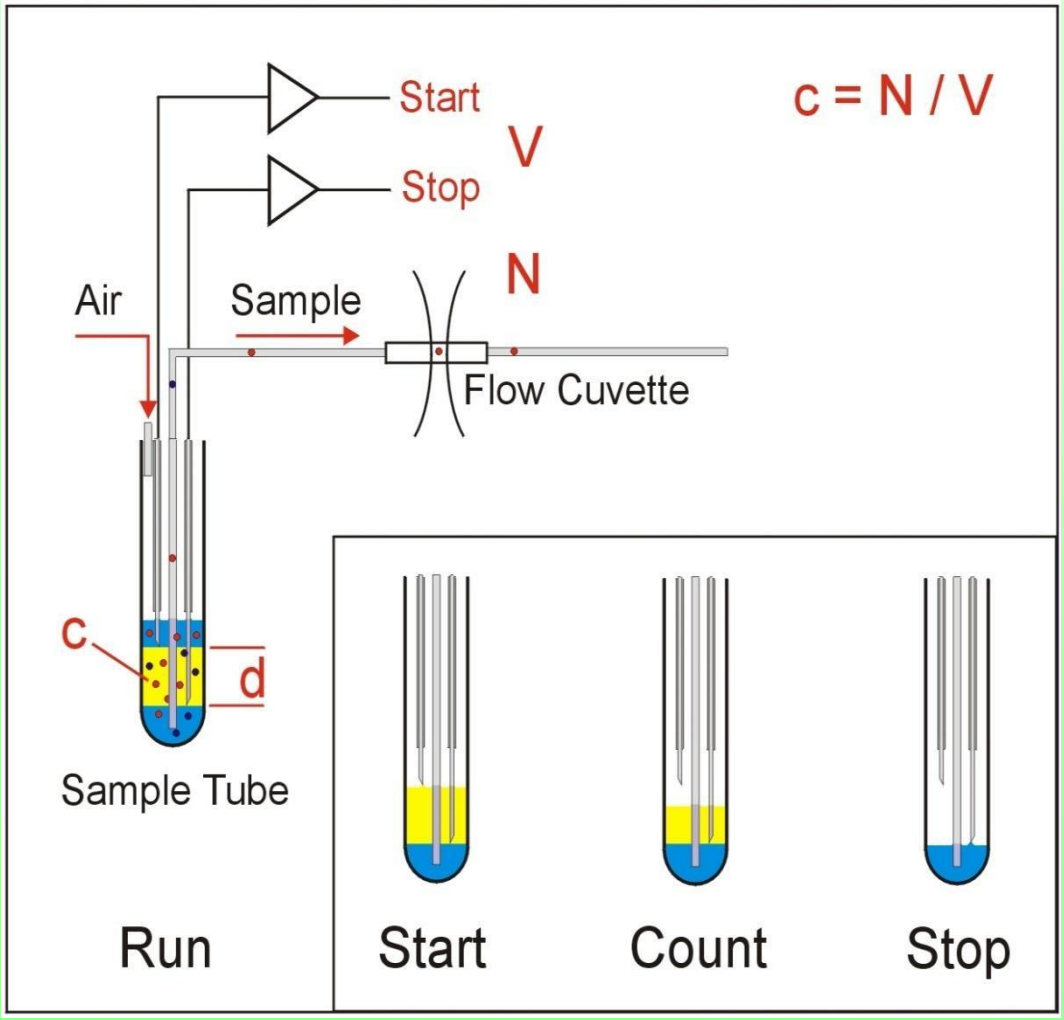
$$c = N / (s \times t) = N / V$$



$$c = \frac{\Delta N}{\Delta V} = \frac{\Delta N}{\Delta t \; v \, \pi \, (d/2)^2}$$

Volumetric Counting

PARTEC PATEND: Μηχανική Μέτρηση Όγκου



Flow Chambers

- Ρόλος
  - Ρύθμιση άξονα και διαστάσεων ροής υγρού περιροής και δείγματος
  - Ρύθμιση σημείου υδροδυναμικής εστίασης
  - Ρύθμιση σημείου εστίασης

Fluidics - Flow Chambers

- Υπάρχουν 4 βασικά είδη Flow Chambers
  - **Jet-in-air**
    - sorting
  - **Flow-through cuvette**
    - Ιδανικές οπτικές ιδιότητες, sorting
  - **Closed cross flow**
    - Καλύτερες οπτικές ιδιότητες, όχι για sorting
  - **Open flow across surface**
    - Καλύτερες οπτικές ιδιότητες, όχι για sorting

Jet In Air

ΧΑΡΑΚΤΗΡΗΣΤΙΚΑ

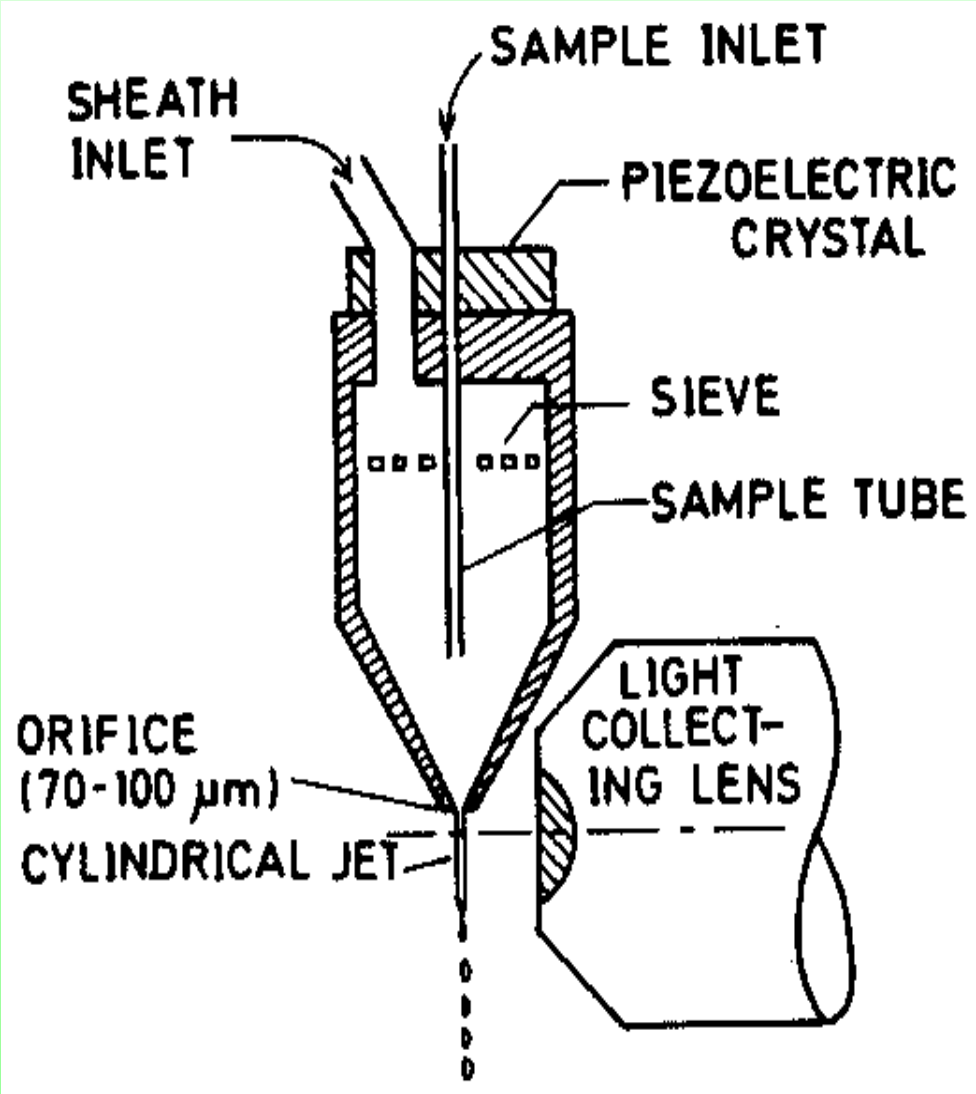
•Παρατήρηση δείγματος στον αέρα μετά την έξοδο από το στόμιο του δείγματος (orifice)

•Τόσο το Κανάλι Ροής (flow chamber) όσο και το στόμιο του δείγματος (orifice) αναφέρονται ως στόμιο (nozzle).

• Quartz, Ceramic or Capilaries.

•Μικρή απόσταση από το σημείου εισόδου στο σημείο εξόδου του δείγματος.

•Μικρή απόσταση ροής δείγματος μείωση επιμόλυνσης δειγμάτων συνεπώς ενδείκνυται για high throughput εφαρμογές.

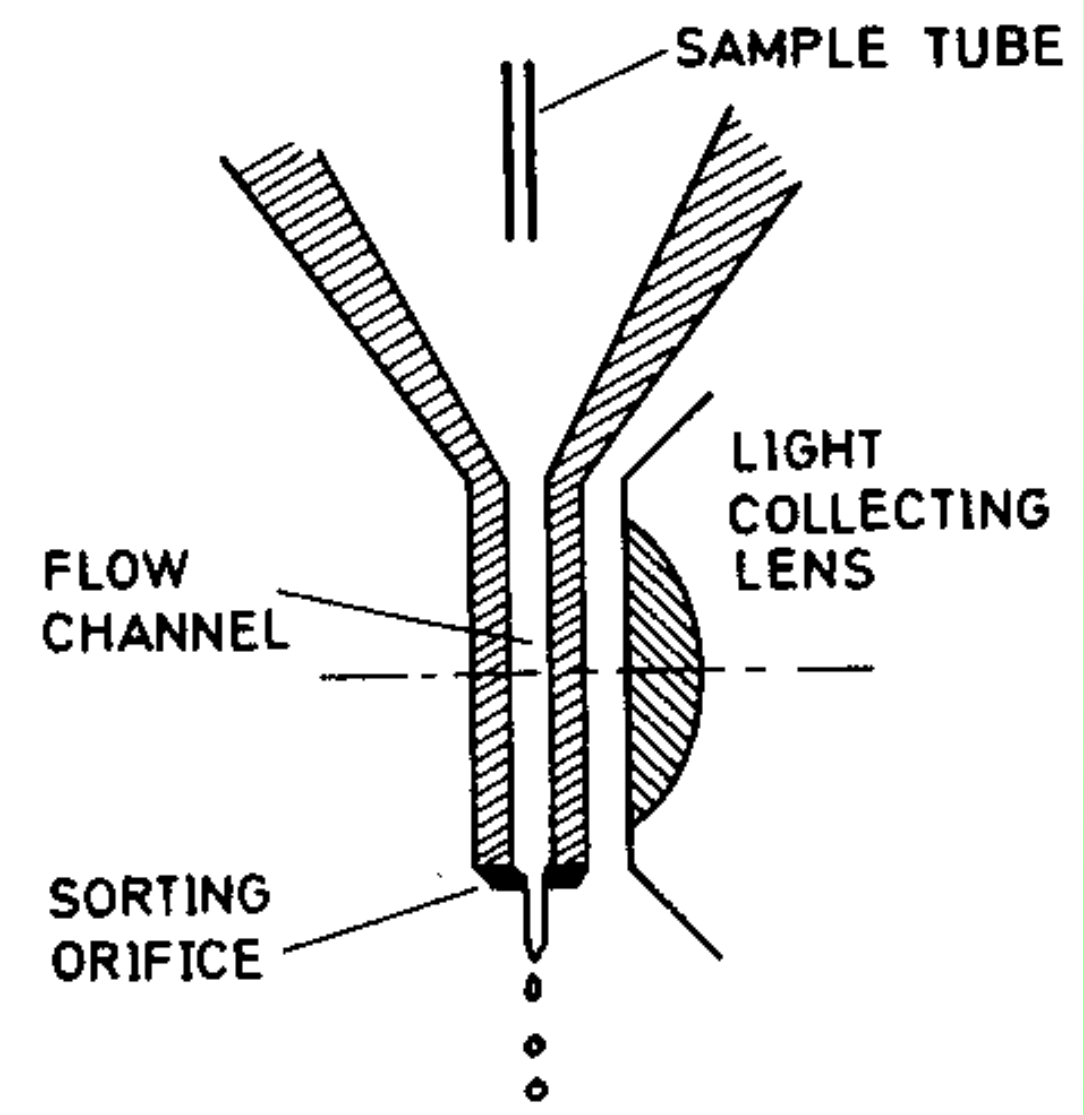


H.B. Steen - MLM Chapt. 2

Κυψελίδες Ροής (Flow Cuvetes)

ΧΑΡΑΚΤΗΡΗΣΤΙΚΑ

- Σύστημα κλειστό χωρίς αέρα
- Capillaries , Quartz
- Τετράγωνες ή Ορθογώνιες
- Υψηλή ευαισθησία ανάλυσης διότι σχεδιάστηκαν για ανάλυση



H.B. Steen - MLM Chapt. 2

Jet In Air vs Flow Cuvvete

JET In Air

•Παρατήρηση δείγματος στον αέρα μετά την έξοδο από το στόμιο του δείγματος (orifice)

•Παρατήρηση απευθείας χωρίς επιπλέον σημεία που απαιτούν προσοχή (σκόνη, γρατζουνιές)

• Υψηλή ταχύτητα ροής

Flow Cuvettes

•Κλειστό σύστημα ροής

•Δυνατότητα άσκησης υψηλής πίεσης στο δείγμα καλύτερος έλεγχος ροής

•Υψηλή δυνατότητα συλλογής φωτός – Υψηλότερη ευαισθησία.

Closed Cross Flow Chambers

Axial Flow System:

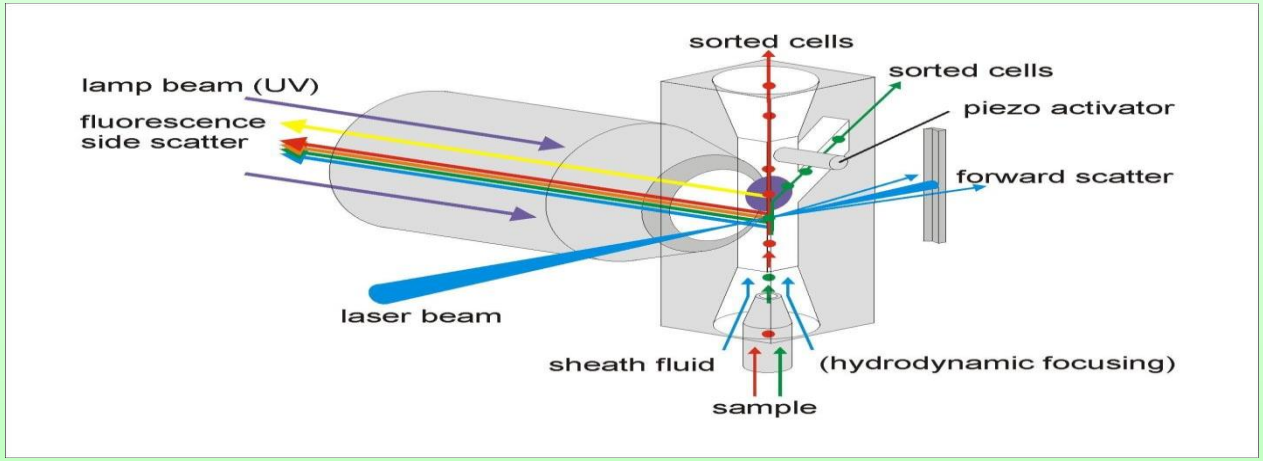
•Παρατήρηση Δείγματος με χρήση αντικειμενικού Φακού Μικροσκοπίου Φθορισμού

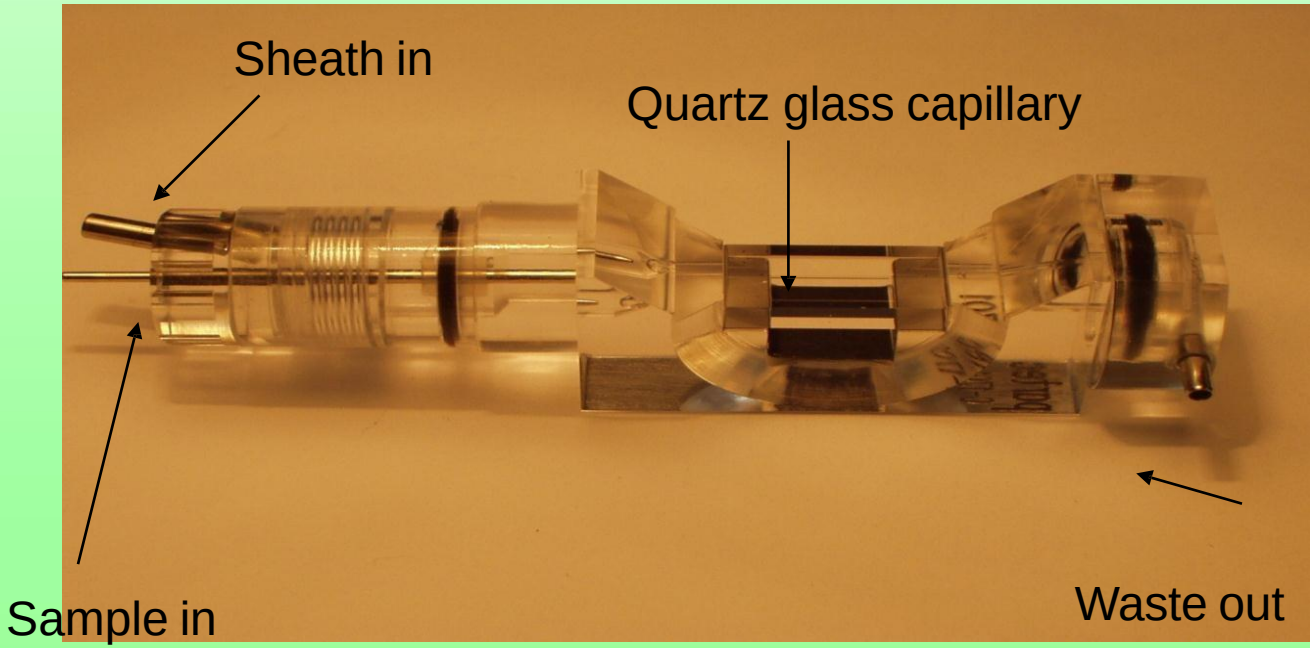
•Υψηλή ακρίβεια και ευαισθησία λόγο χρήσης αντικειμενικών φακών για τη συλλογή και την ανάλυση του σήματος

•Πρώτη εφαρμογή στο ICP από τον Wolfgang Gödhe.

•Δυνατότητα χρήσης διαφορετικών αντικειμενικών φακών (gel-coupled, oil-immersion, different N. A. etc.).

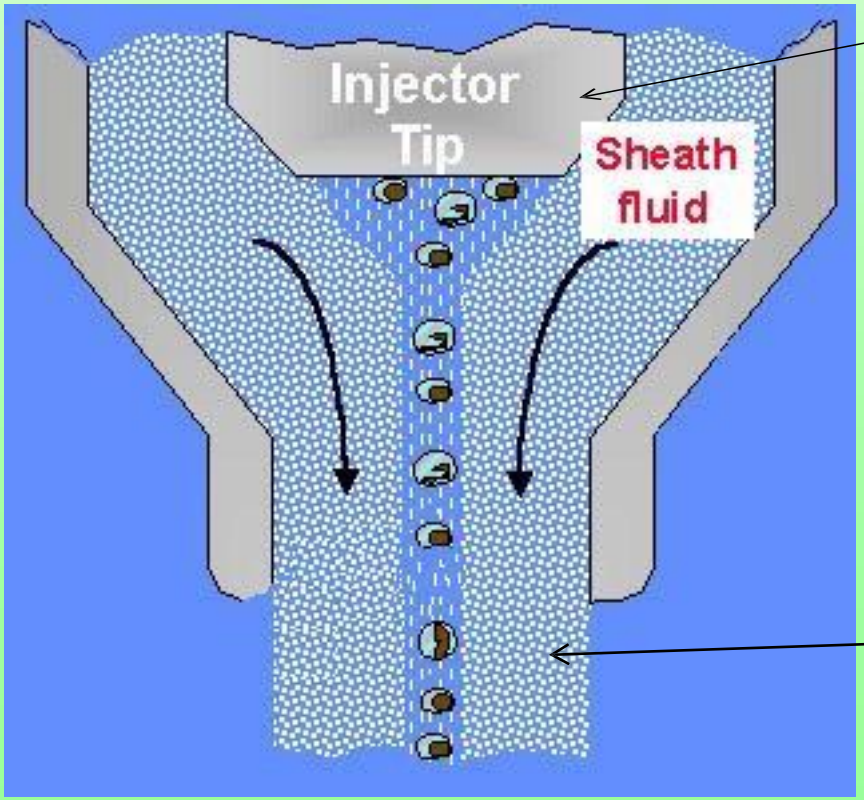
• Δυνατότητα εστίασης σε διαφορετικά σημεία





ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΥΓΡΩΝ

- **Νηματική Ροή:** Όταν ένα ομοιογενές ρεύμα υγρού εισέρχεται σε κέντρο ενός άλλου ρεύματος υγρού τα δύο ρεύματα διατηρούν την θέση τους χωρίς να αναμειγνύονται



ΥΓΡΟ 1 (CORE STREAM): Διάλυμα Δείγματος

ΥΓΡΟ 2 (SHEATH FLUID): Υγρό περιροής

Purdue University Cytometry Laboratories

REYNOLDS NUMBER

$$R_e = d\rho\bar{v}/\eta$$

d = Διάμετρος

ρ = Πυκνότητα Υγρού

v = Μέση Ταχύτητα Υγρού

η = Ιξώδες Υγρού

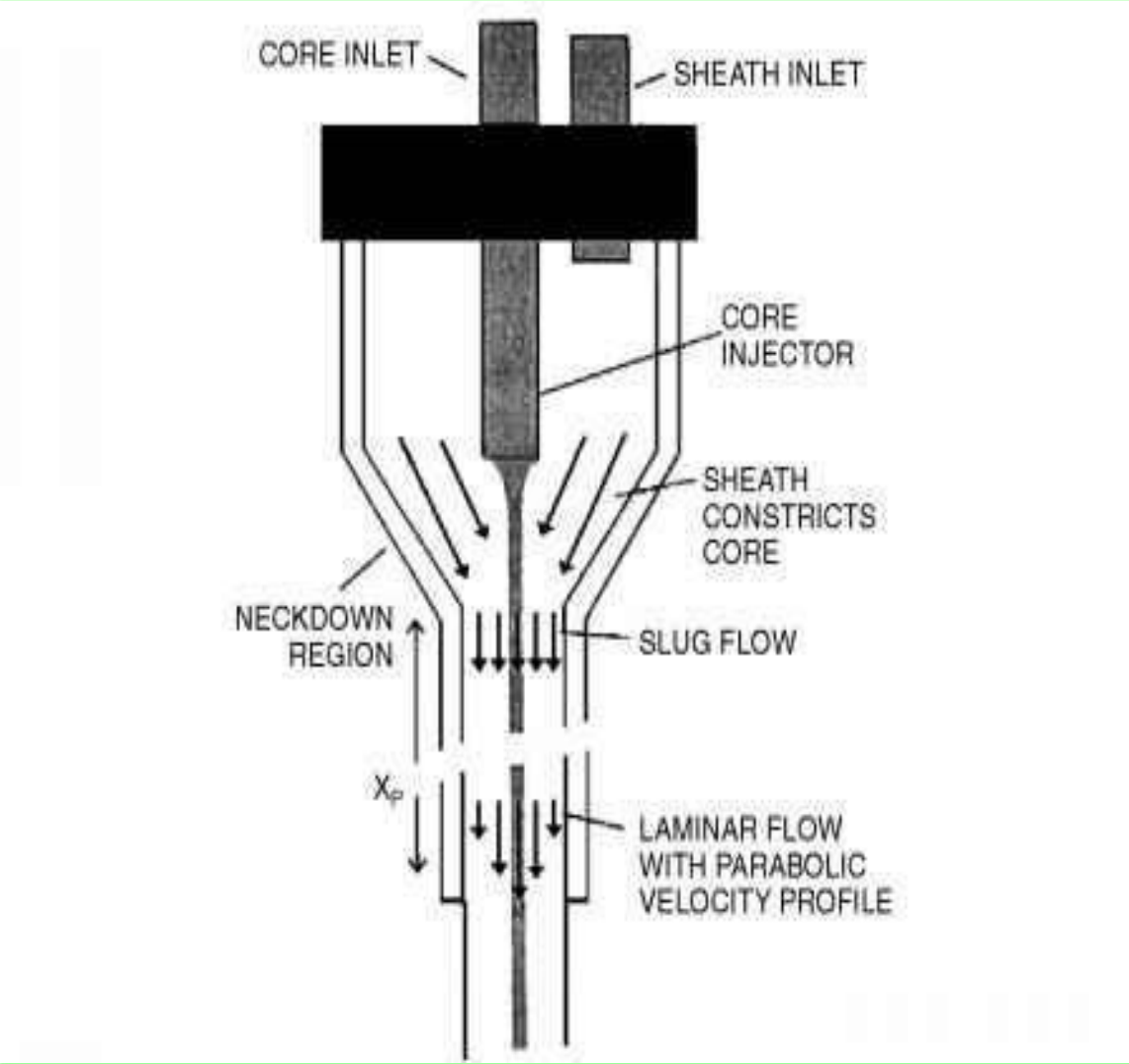
Τόσο το υγρό περιροής όσο και το δείγμα πρέπει να έχουν νηματική ροή – ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΡΟΛΟ ΕΧΕΙ Η ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

- When $R_e < 2300$, flow is always laminar
- When $R_e > 2300$, flow can be turbulent

ΡΟΗ ΣΕ ΚΑΝΑΛΙ

- Το νερό αποτελεί την βάση τόσο του υγρού περιροής όσο και του δείγματος
- Έχει ιξώδες το οποίο σημαίνει ότι απαιτείται πίεση για την προσαρμογή του σχήματος στο κανάλι
- Δεν είναι το ιδανικό υγρό για συστήματα ροής ωστόσο αποτελεί τη βάση που μας εξασφαλίζει την ακεραιότητα των κυττάρων
- Η ροή στον κυτταρομετρητή πρέπει να είναι σταθερής ταχύτητας με το πέρας του χρόνου

ΡΟΗ ΣΕ ΚΑΝΑΛΙ 3 ΒΑΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ



NECKDOWN REGION: Περιοχή εισόδου υγρού – Αύξηση ταχύτητας

SLUG FLOW: Περιοχή ομοιόμορφης ροής

Parabolic Profile: Περιοχή όπου παρατηρείται διαφορετική ταχύτητα από την περιφέρεια προς το κέντρο με βάση τον τύπο **$V = (R - r)^2$** όπου R η διάμετρος και r η απόσταση από το κέντρο.

ΖΗΤΟΥΜΕΝΟ ΑΝΑ ΣΗΜΕΙΟ

NECKDOWN REGION: Περιοχή εισόδου υγρού – Αύξηση ταχύτητας – **ΑΠΟΦΥΓΗ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΣΤΡΟΒΙΛΙΣΜΟΥ**

SLUG FLOW: Περιοχή ομοιόμορφης ροής – **ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΣΤΙΑΣΗΣ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΜΕ ΚΥΒΕΤΑ ΡΟΗΣ**

Parabolic Profile: Περιοχή όπου παρατηρείται διαφορετική ταχύτητα από την περιφέρεια προς το κέντρο με βάση τον τύπο $\mathbf{V = (R - r)^2}$ όπου R η διάμετρος και r η απόσταση από το κέντρο - **ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΠΟΦΥΓΗΣ ΕΣΤΙΑΣΗΣ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΜΕ ΚΥΒΕΤΑ ΡΟΗΣ**

$X_p = 6 \times 10^{-5} d^2 v$ - ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΕΙΣΟΔΟΥ ΕΩΣ ΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΒΟΛΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ

ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΣΤΡΟΒΙΛΙΣΜΟΥ

•Εμφανίζεται στο σημείο εισόδου του υγρού περιροής διότι αυτό οδηγείται από μικρό σωλήνα σε μεγαλύτερο κανάλι.

•Το φαινόμενο στροβιλισμού συνεπάγεται μη σταθερή ροή και ακολουθεί την θεωρία του χάους: Γίνεται αντιληπτό από το χάος των αποτελεσμάτων

•Σημαντικό ρόλο παίζει η γωνία εισόδου του υγρού περιροής στο κανάλι ροής

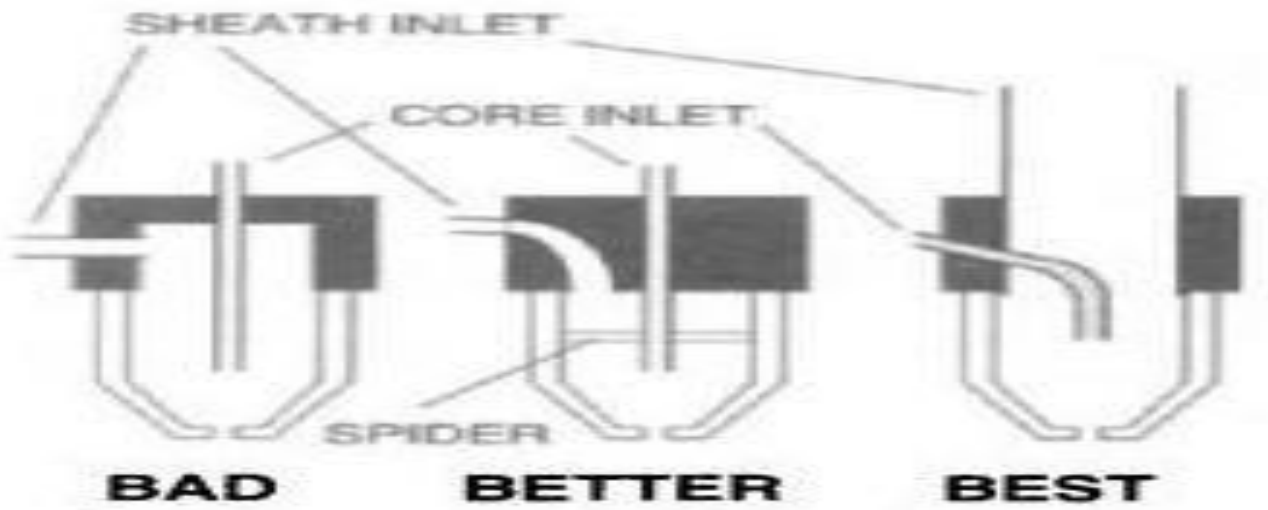
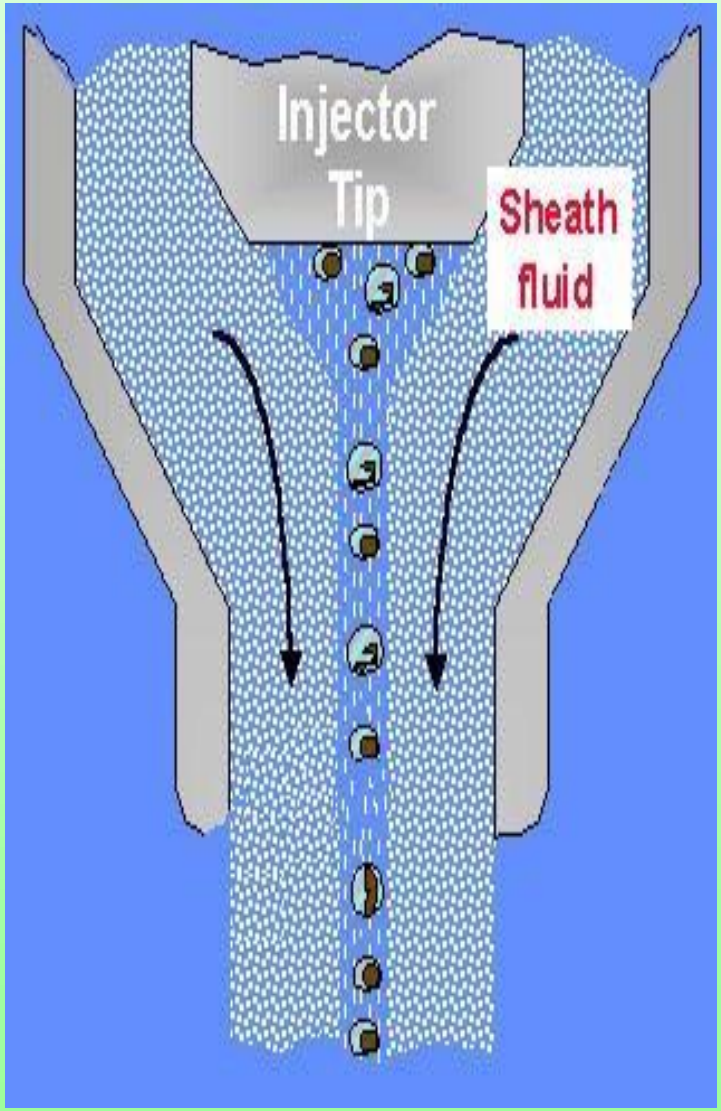


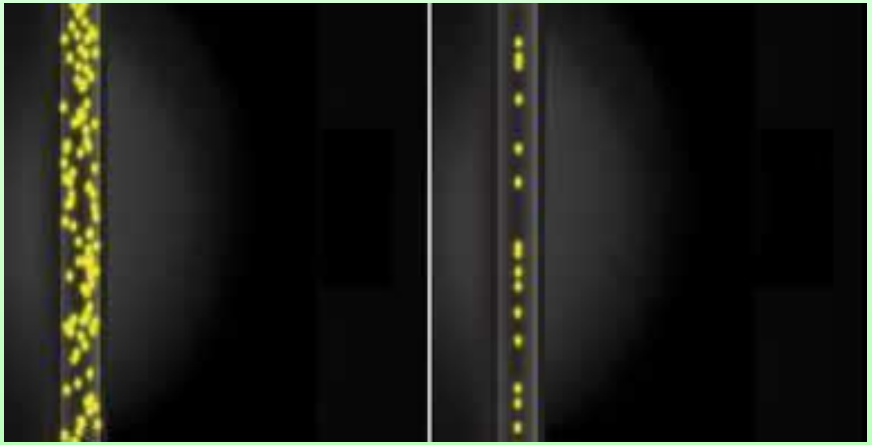
Figure 4-42. Minimizing turbulence generated at the sheath inlet to flow chambers.

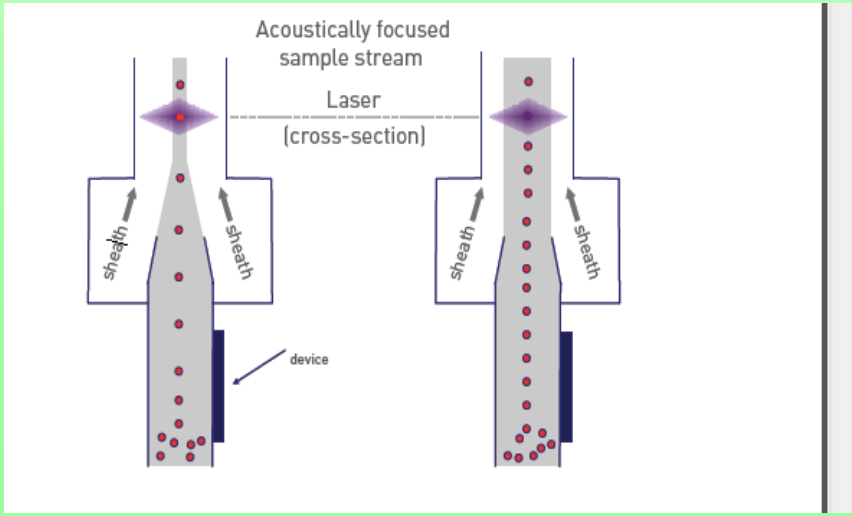
Stream Width



•Κατά την νηματική ροή ακολουθείται η αρχή διατήρησης των μαζών, που σημαίνει ότι ο ίδιος όγκος μάζας περνάει από όλα τα σημεία της ροής.
•Η μείωση της ταχύτητας σημαίνει αύξηση του πλάτους και το αντίθετο
•Τελικά επιτυγχάνεται η δημιουργία ενός κεντρικού ρεύματος ροής του δείγματος.
•Ουσιαστικά αυτό το οποίο ρυθμίζεται είναι η ταχύτητα ροής του δείγματος ή και του υγρού περιροής με αποτέλεσμα να αυξάνεται το πλάτος του κεντρικού ρεύματος ή να μειώνεται ανάλογα με την ανάλυση.
•Αύξηση πλάτους σημαίνει αύξηση αριθμού κυττάρων τα οποία διέρχονται από το σημείο εστίασης.

Acoustic Focusing





Χρήση υπερήχων για εστίαση

Υψηλή ταχύτητα ανάλυσης χωρίς αύξηση του πλάτους ροής του δείγματος

Κυτταροδιαχωριστές

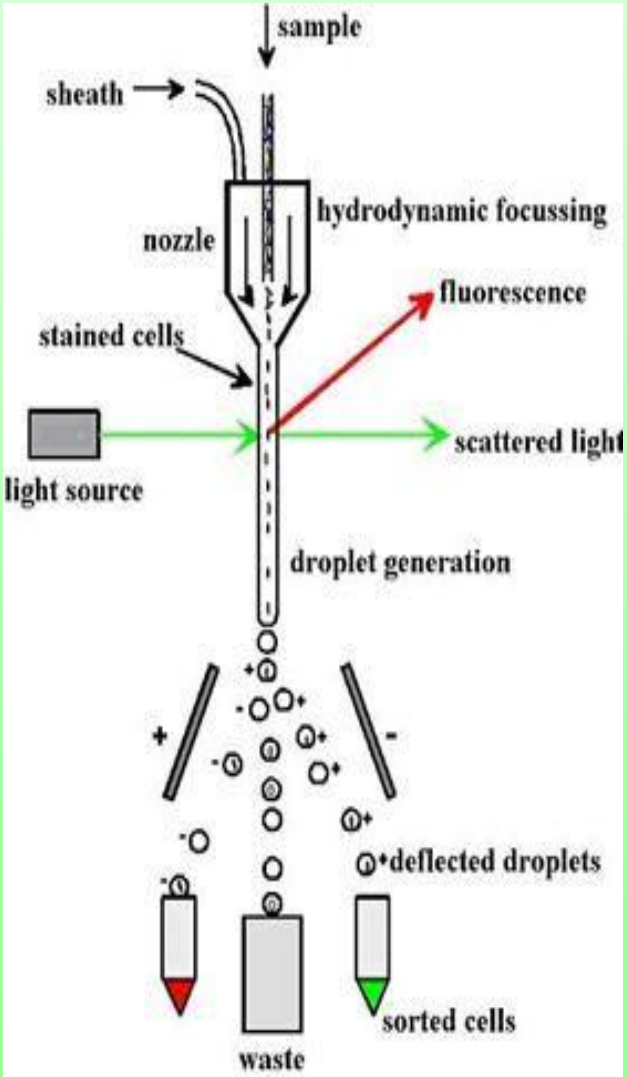
Closed Fluidics

- Μηχανικός κυτταροδιαχωριστής
- Χρήση πιεζοηλεκτρικού εμβόλου
- Ταχύτητα διαχωρισμού 500 cells/sec
- Διαχωρισμός ενός πληθυσμού

Open Fluidics

- Droplets
- Χρήση ηλεκτροστατικού διαχωρισμού
- Ταχύτητα 100.000 cells/sec.
- Διαχωρισμός έως και 4 πληθυσμών

Open fluidics



ΒΑΣΙΚΑ ΒΗΜΑΤΑ

- Droplet Formation.
- Drop Charging - Delay.
- Drop Deflection.

Droplet Formation

- Το ρεύμα ροής (Stream) σπάει σε σταγονίδια (Droplets).
- Το σπάσιμο γίνεται σε συγκεκριμένο σημείο από το σημείο παρατήρησης που ονομάζεται Droplet breakoff point.
- Τα σταγονίδια εμπεριέχουν τα κύτταρα
- Απαιτείται η σταθεροποίηση των σταγονιδίων και αυτό επιτυγχάνεται με χρήση δονήσεων στο στόμιο ροής (nozzle).
- Αυτό επιτυγχάνεται με χρήση πιεζοηλεκτρικών στοιχείων

Droplet Formation

- Τα σταγονίδια έχουν συγκεκριμένη διάσταση λ η οποία εξαρτάται από την συχνότητα δόνησης f και την ταχύτητα ροής v ($v=f\lambda$)
- Δημιουργούνται σταγονίδια όταν $\lambda>\pi D$ (D = διάμετρος ρεύματος ροής)
- Το πρότυπο δημιουργίας σταγονιδίων (Droplets) παραμένει σταθερό ακολουθώντας τον εξής κανόνα: $4D<\lambda<8D$

Droplet Charging

- Όταν ένα κύτταρο το οποίο θέλουμε να διαχωρίσουμε διέρχεται από το σημείο παρατήρησης δίνεται εντολή εφαρμογής ηλεκτρικού πεδίου.
- Το σταγονίδιο που εμπεριέχει το κύτταρο φορτίζεται.
- Συνεπώς το ρεύμα των σταγονιδίων φέρει φορτισμένα και αφόρτιστα σταγονίδια.
- Δυνατότητα θετικής και αρνητικής φόρτισης
- Τρία είδη (θετικά, αρνητικά και αφόρτιστα σταγονίδια)

Droplet Charging

- Η φόρτιση ενός σταγονιδίου θετικά δημιουργεί ένα ελαφρώς αρνητικό φορτίο στο επόμενο σταγονίδιο και το ίδιο παρατηρείται κατά την αρνητική φόρτιση.
- Συνεπώς έχουμε 4 διαφορετικά σταγονίδια θετικά, ελαφρώς αρνητικά, αρνητικά και ελαφρώς θετικά.
- Υπάρχει η δυνατότητα ρύθμισης του δυναμικού ώστε να δημιουργούνται διαφορετικά ρεύματα διαχωρισμού (100V φορτίζει πιο ισχυρά σε σχέση με τα 50V)

Droplet Charging

- Αυτό αποτελει την βάση των four-way-shorters.
- Σημαντική παράμετρος κατά την φόρτιση των σταγονιδίων είναι ο υπολογισμός του **DROP DELAY δηλαδή του χρόνου που απαιτείται για να φτάσει ένα κύτταρο από το σημείο παρατήρησης στο σημεία δημιουργίας σταγονιδίων.**
- Όσο πιο μεγάλη είναι η απόσταση τόσο μειώνεται η ακρίβεια
- Φόρτιση 3 σταγονιδίων εξασφαλίζει το κύτταρο που θα διαχωρίσουμε.
- Το DROP DELAY ορίζεται είτε με χρήση monitor είτε με σφαιρίδια φθορίζοντα και ανάλυση σε μικροσκόπιο φθορισμού

Droplet Deflection

- Τα σταγονίδια με τα κύτταρα ενδιαφέροντος διαχωρίζονται από το κύριο ρεύμα.
- Εισέρχονται σε παράλληλες πλάκες θετικά ή αρνητικά φορτισμένες.
- Συλλέγονται ανάλογα με το φορτίο τους (θετικά, αρνητικά).
- Υπάρχει η δυνατότητα ορισμού του κυτταρικού διαχωρισμού από μονήρη κύτταρο έως απλό εμπλουτισμό.

ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

- Εξαρτάται από την πίεση και την ταχύτητα ροής

Table 1
The Number of Drops That Can Be Produced Per Second for a Variety of Nozzle Sizes at Low and High Sheath Fluid Pressure

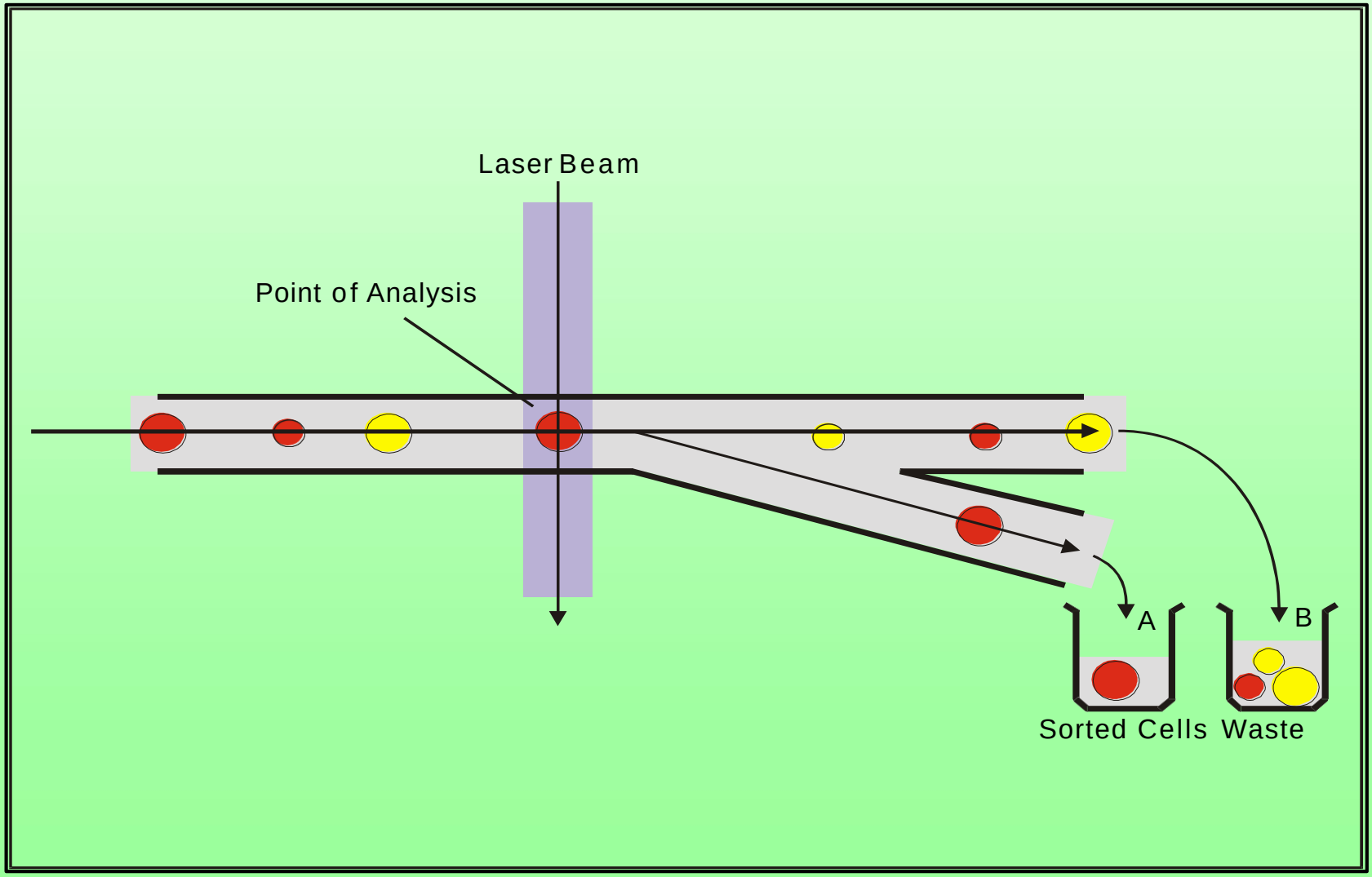
Nozzle size (μm)	Pressure (psi)	Frequency (drops/s)	Pressure (psi)	Frequency (drops/s)
50	15	37,000	80	160,000
70	12	26,000	60	100,000
100	10	15,000	40	50,000

Cell Sorting by Flow Cytometry

Derek Davies

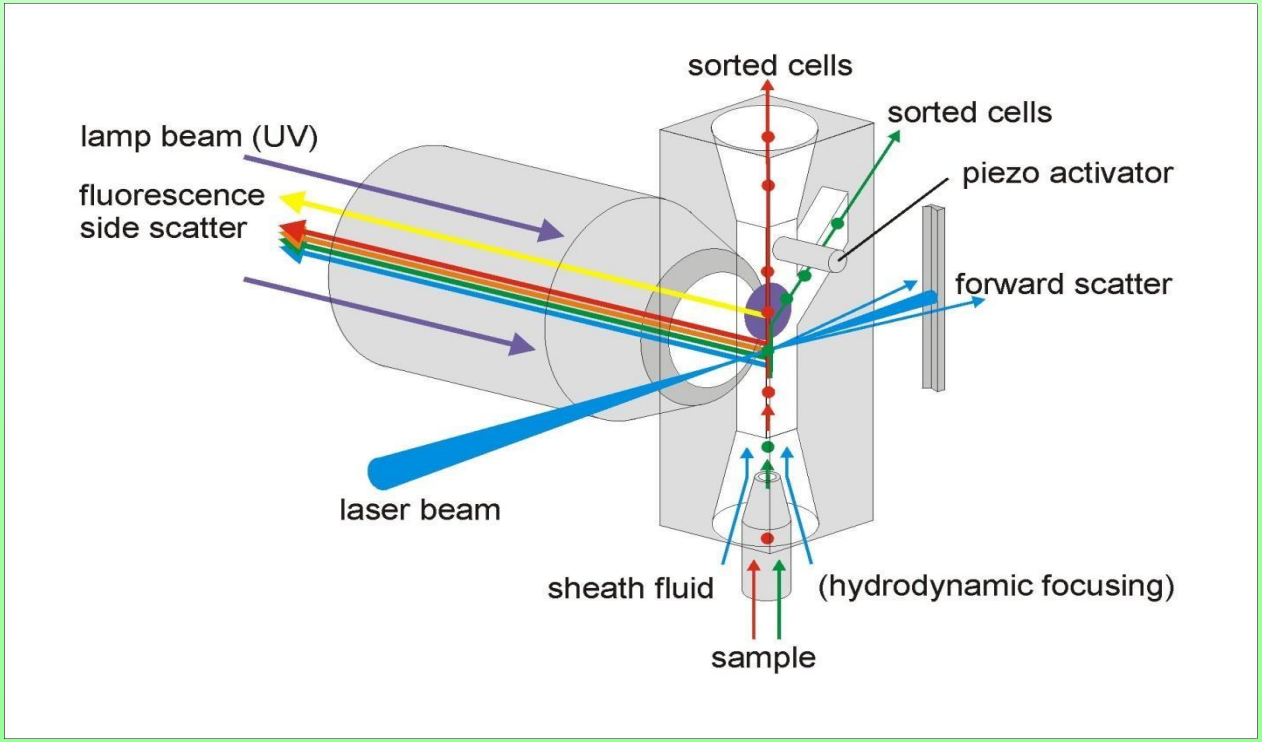
From: *Flow Cytometry: Principles and Applications*
Edited by: M. G. Macey © Humana Press Inc., Totowa, NJ

MHXANIKO SHORTER



ΜΗΧΑΝΙΚΟ SHORTER

- ΧΡΗΣΗ ΠΙΕΖΟΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΕΜΒΟΛΟΥ
- ΚΛΕΙΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ
- ΜΕΙΩΣΗ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΕΩΝ
- 300 – 500 Cells/sec
- Ρυθμός ανάλυσης 15.000 cells/sec



FLUIDICS TROUBLESHOOTINGS

- **CLOGS:** 1ος ΚΑΝΟΝΑΣ SHAPHIRO (Σωματίδιο 51μm βουλώνει στόμιο 51μm)

↓

- **ΑΥΞΗΣΗ ΔΙΑΜΕΤΡΟΥ ΣΤΟΜΙΟΥ**
- **ΧΡΗΣΗ ΦΙΛΤΡΩΝ ΤΟΣΟ ΓΙΑ ΤΟ ΥΓΡΟ ΠΕΡΙΡΟΗΣ ΟΣΟ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ**
- **ΠΡΟΤΕΙΝΕΤΑΙ ΤΟ ΦΙΛΤΡΑΡΙΣΜΑ ΤΟΥ ΥΓΡΟΥ ΠΕΡΙΡΟΗΣ ΟΤΑΝ ΔΟΥΛΕΥΟΥΜΕ ΜΕ ΜΙΚΡΑ ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ (Π.Χ. MICROPARTICLES)**

- **ΦΥΣΑΛΙΔΕΣ:** Φαινόμενα στροβιλισμού

↓

- **ΧΡΗΣΗ ΕΞΟΔΟΥ ΑΕΡΑ**
- **ΕΙΣΟΔΟΣ ΥΓΡΟΥ ΠΕΡΙΡΟΗΣ ΑΠΟ ΤΗ ΒΑΣΗ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΚΟΡΥΦΗ**

•**ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ:** Δημιουργία λάθος αποτελεσμάτων

↓

•**ΜΕΙΩΣΗ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΙΣΟΔΟΥ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΗΜΕΙΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ**

•**ΤΡΕΞΙΜΟ ΝΕΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΕ ΥΨΗΛΗ ΤΑΧΥΤΗΤΑ (PRERUN or BOOST) ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΣΥΡΙΓΓΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΩΘΗΣΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ**

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Flow Cytometry and Sorting, 2nd ed. (M.R. Melamed, T. Lindmo, M.L. Mendelsohn, eds.), Wiley-Liss, New York, 1990
- Flow Cytometry: Instrumentation and Data Analysis (M.A. Van Dilla, P.N. Dean, O.D. Laerum, M.R. Melamed, eds.), Academic Press, London, 1985
- Practical Flow Cytometry (4th edition). Howard M. Shaphiro.
- Partec CYFLOW SPACE manual
- Beckman Coulter MoFlo Manual
- Beckton Dickinson FACSAria Manual