



StarterKit

ZELLMECHANIK DRESDEN

Lieber Nutzer,
danke, dass Sie sich für unser **StarterKit** entschieden haben! Diese Box beinhaltet Verbrauchsmaterialien, die Sie zur Durchführung der Real-Time Deformability Cytometry (RT-DC) benötigen. Sie erhalten zunächst einen Überblick über die verschiedenen Bestandteile des Kits und anschließend eine Kurzanleitung zu deren korrekter Anwendung auf der Rückseite.

Bitte beachten Sie auch das Datenblatt.

FlicXX

Bei den **FlicXX** handelt es sich um mikrofluidische Chips mit einer Engstelle (Kanal) in der Dimension der zu untersuchenden Zellen. Die Zellen werden im Kanal durch hydrodynamische Kräfte verformt. **FlicXX**-Chips werden unter Reinraumbedingungen hergestellt und getestet. **FlicXX** sind ausschließlich für eine einmalige Anwendung konzipiert und sollten mit entsprechender Vorsicht behandelt werden, um einen Bruch der Glasabdeckung zu vermeiden.

Sicherheitshinweis: Treffen Sie entsprechende Vorkehrungen zum Schutz vor Verletzungen durch die Glasabdeckung. Tragen Sie Schutzhandschuhe sowie einen Augenschutz.

Spezifikationen: Glas (Borsilikat): 0,19 – 0,22mm, PDMS, Kanaldimension: das „XX“ in **FlicXX** kennzeichnet die Seitenlängen des viereckigen Kanals in Mikrometer \pm 7% (Beispiel: **Flic20** entspricht einem Kanaldurchmesser von $20 \pm 1.5 \mu\text{m}$).

CellCarrier

CellCarrier ist der PBS-basierte Messpuffer, der durch seine spezifische Viskosität und Dichte die notwendigen, zelldeformierenden Scherkräfte hervorruft.

Sicherheitshinweis: Die Komponenten des Messpuffers sind grundsätzlich ungefährlich, können jedoch zu Irritationen der Haut, der Augen oder der Atemwege führen. Im Fall von Haut- oder Augenkontakt spülen Sie die betroffene Stelle ausgiebig mit klarem Wasser.

Spezifikationen: PBS (autoklaviert), < 1% Methylzellulose, Viskosität bei 24°C: für **CellCarrier**: $15 \pm 0.8 \text{ mPa}\cdot\text{s}$; für **CellCarrier B**: $25 \pm 1.0 \text{ mPa}\cdot\text{s}$

Mikrofluidische Komponenten

Zu den mikrofluidischen Komponenten zählen: Schlauch, Muffe, Endring, Luer-Konnektor. Diese Teile verbinden die Pumpe mit dem **FlicXX**.

Sicherheitshinweis: Tragen Sie immer eine Schutzbrille beim Arbeiten mit dem zusammengesetzten System, da dieses unter Druck stehen könnte.

Spezifikationen: Material: Schlauch: FEP, Muffe und Luer-Konnektor: PEEK, Endring: ETFE.

Generelle Hinweise

Alle Bestandteile des **StarterKits** sind ausschließlich für den Forschungsgebrauch vorgesehen und explizit nicht für medizinische oder diagnostische Zwecke zu verwenden.

Die biologische Kompatibilität von **FlicXX**, **CellCarrier** sowie den mikrofluidischen Komponenten wurde für viele, jedoch nicht für alle Zellarten und Typen von Puffern getestet.

Steife Objekte, die größer sind als die gewählte Kanaldimension, können den Kanal irreversibel verstopfen. In diesem Fall muss der **FlicXX** ausgetauscht werden. Um Verstopfungen zu vermeiden, sollten Sie immer die korrekte Kanaldimension wählen, die zu untersuchende Probe filtern sowie präzise den Anweisungen auf der Rückseite folgen.

Bewahren Sie **FlicXX** und die mikrofluidischen Komponenten bei Raumtemperatur, unter trockenen Bedingungen in der mitgelieferten Box. Lagern Sie **CellCarrier** bei 4-8°C.

Bei weiteren Fragen zu RT-DC oder Nachbestellungen kontaktieren Sie uns einfach jederzeit!

Viel Erfolg bei Ihren Experimenten wünscht Ihnen das
ZELLMECHANIK DRESDEN Team.

www.zellmechanik.com | info@zellmechanik.com | +49 351 41884438

Anleitung

0. Um die Messungen durchzuführen, benötigen Sie zusätzliche Spritzen mit Luer-Konnektor. 5 ml für Reinigung mit Wasser (SpW), 5 ml für Isopropanol (Spl), 1 ml für Hüllstrom (SpH), 1 ml für Probe (SpP), zwei Injektionsnadeln, ca. 30 ml Isopropanol, ca. 15 ml gefiltertes, deionisiertes Wasser und natürlich den **AcCellerator**.

1. Schneiden Sie zwei Schläuche -Probenschlauch (PS) und Hüllstromschlauch (HS)- in der benötigten Länge zu (Länge: Distanz zwischen Spritzenpumpe und **FlicXX** Chip auf der **AcCellerator** Stage). Nutzen Sie zum Schneiden ein Skalpell auf einer Schneidunterlage oder eine scharfe Schere, um eine Deformation des Schlauchs zu verhindern.

2. Schauen Sie sich das untere Bild an: Platzieren Sie zunächst die Muffe (beige) auf dem Schlauch (hellgrün) und befestigen Sie diese mit dem Endring (blau). Verschrauben Sie dann Muffe und Adapter (rot). Wiederholen Sie diesen Vorgang auch für den 2. Schlauch.



Schlauch Muffe Endring Adapter Spritze mit Luer-Konnektor

3. Spülen Sie die Schläuche 2 mal mit je 5 ml gefilterten, deionisiertem Wasser mit der Spritze SW. Trocknen Sie beide Schläuche, indem Sie mit der leeren Spritze SI Luft hindurch pusten.

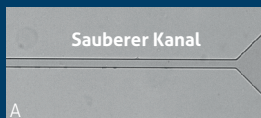
4. Benutzen Sie die Spritze SpH und eine Injektionsnadel, um **CellCarrier** aufzunehmen. Entfernen Sie alle Luftblasen aus der Spritze und füllen Sie den Schlauch PS mit **CellCarrier**. Wechseln Sie mit der Spritze zu HS und füllen auch diesen. HS und SpH bleiben zusammen.

5. Nehmen Sie eine neue Injektionsnadel und die Spritze SP. Ziehen Sie damit Ihre Probe vorsichtig auf (<50 μ l/s). Entfernen Sie die Nadel und Luftblasen und verbinden Sie sie mit dem PS. Hinweis: Ihre Probe wird sich nicht mit dem **CellCarrier** vermischen!

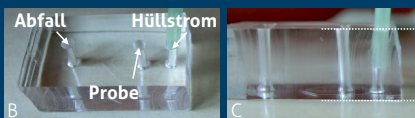
Achtung: Ist das Probenvolumen kleiner als das Schlauchvolumen (~ 250 μ l) wird die Probe mit der Spritzenpumpe aufgesaugt und Sie können 5. ignorieren.

6. Legen Sie einen **FlicXX** mit passendem Kanaldurchmesser auf die Stage des **AcCellerators**. Verwenden Sie **Shapeln** um zu überprüfen, ob der Kanal sauber ist (Bild A). Entfernen Sie anschließend den **FlicXX** Chip wieder von der **AcCellerator** Stage.

7. Entfernen Sie das Versiegelungsklebeband vom **FlicXX** und platzieren Sie diesen auf einer flachen, sauberen Oberfläche der Stage ohne dabei das Glas zu beschädigen oder zu beschmutzen. Orientieren Sie den **FlicXX** wie in Bild B gezeigt. Die Öffnungen sind dann von links nach rechts für die Schläuche: Abfall, PS und HS vorgesehen.



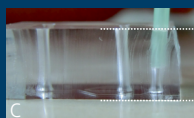
Sauberer Kanal



Abfall

Hüllstrom

Probe



Schlauch mind. bis zur Hälfte einführen

8. Legen Sie die Spritze SpH in die Spritzenpumpe ein und fahren mit 3 μ l/s, bis sich ein Tropfen am Schlauchende bildet. Verlangsamen Sie die Fahrt auf 0.1 μ l/s. Sollten Luftblasen im Schlauch sein, fahren Sie solange bis diese herausgedrückt sind. Wiederholen Sie das ganze mit der Spritze SpP, wobei mindestens der **CellCarrier** aus dem Schlauch verdrängt werden muss bevor die Probe am Schlauchende ankommt.

Achtung: Ist das Probenvolumen kleiner als das Schlauchvolumen, wird zuerst **CellCarrier** mit der Spritze SpP (verbunden mit PS) aufgesaugt, die Spritze in die Spritzenpumpe eingelegt und dann die Probe mit -3 μ l/s direkt über den Schlauch aufgesaugt.

9. Verbinden Sie nun den Schlauch HS mit kontrolliertem Druck mit der rechten Öffnung des **FlicXX**. Der Schlauch muss mind. bis zur Hälfte der **FlicXX**-Stärke eingeführt werden, aber höchstens bis einen Millimeter an die Glasfläche am Boden (Bild C). Verbinden Sie anschließend den Abfallschlauch mit der linken Öffnung.

10. Warten Sie, bis der **FlicXX** vollständig gefüllt ist, d.h. bis Tropfen an der Probenöffnung austreten. Verbinden Sie dann den Probenschlauch.

11. Platzieren Sie den **FlicXX** in der **AcCellerator** Stage und fixieren Sie ihn mit Magnethaltern.

12. Reinigen Sie die Schläuche mit je 5 ml Isopropanol, Wasser und Luft.

Jetzt können Sie mit den Messungen beginnen.

Weitere Hinweise finden Sie im **AcCellerator** Handbuch.