

Normativa de Uso de FACS Aria III

General

El equipo se encuentra ubicado en el Zócalo del Pabellón E en el MED.UCHILE-FACS LABORATORY. Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM) de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Teléfono de contacto: 29789629

1. El horario de atención al público del equipo es de 09:00 am a 22:00 pm, siendo la última hora a pedir las 15:00. Los horarios vespertinos deben ser conversados con el operador previo a la reserva, en general se recomiendan dos tramos de uso del FACS Aria III, de 9:00 a 13:00 y de 14:00 a 17:00, sin embargo se puede conversar, de acuerdo a los requerimientos específicos de un experimento.
2. Es obligación del usuario del servicio conocer su experimento, característica de fluorescencia de las moléculas a analizar y es su deber informar al Operador previo a la utilización de su reserva el tipo de experimento a realizar.
3. La anulación de horas reservadas debe realizarse con al menos 48 horas de anticipación de lo contrario no es posible utilizar el equipo por otros potenciales usuarios, en ese caso si la anulación no es justificada asertivamente las horas reservadas serán cobradas.
4. La inasistencia a una hora reservada involucra el cobro del total de las horas comprometidas y la anulación de posteriores solicitudes de hora hasta la comunicación con el Operador.
5. Dado el alto costo en poner en servicio el equipo FACS Aria III la reserva mínima en tiempo para purificar es de 2 horas. En general se tiene consideración de la falla de algunos experimentos y si al llegar aquí el experimento no es adquirible, se cancela la reserva sin costo y se espera a una próxima ocasión a mejorar la técnica.

Solicitudes de reservas de horas

6. Para ver la disponibilidad del equipo Ud. puede revisar el calendario de Google, con la dirección: sortingmedicinauchile@gmail.com y una vez decidido el horario que desea utilizar escribir a este mismo correo para solicitar la reserva del horario deseado. Sin embargo, dado que este servicio es 100% dependiente de operador, esta reserva debe contemplar que el operador tenga la disponibilidad de tiempo en los otros equipos que este maneja. Una vez realizada la operación con el administrador del equipo, Ud. recibirá una notificación de confirmación de reserva, esto puede tardar algunas horas.

7. El correo de solicitud de reserva debe incluir los siguientes datos: Nombre de Usuario, teléfono de contacto, tipo de muestra, fluoróforos a determinar, numero de muestras aprox., datos de facturación, requerimientos especiales y hoja de bioseguridad completada del experimento. **No se reservarán horas sin los datos de facturación.** Al momento de reservar o el día previo a la reserva debe enviar la estrategia de gating necesaria, si es que no es solo un fluoroforo.

8. La inasistencia sin aviso a una reserva significa la anulación de cualquier hora futura solicitada y el cobro de todas las horas reservadas.

9. Para anular una reserva debe avisar con al menos 48 horas de anticipación de lo contrario se perjudica a otros posibles Usuarios. De no anular en ese plazo se considerará una inasistencia, generando el cobro total y la anulación de otras horas agendadas, a no ser que se trate de muestras de pacientes.

Las muestras

10. No se permitirá la manipulación de muestras en este recinto, por lo que se solicita encarecidamente que las muestras vengan listas para su análisis, posicionadas en sus tubos o placas, bien numeradas e identificadas de acuerdo a su planilla experimental.

11. Para purificación celular se requiere que las muestras vengan a una concentración de "10-15 millones" de células por ml en PBS-SFB al 10% idealmente, con un volumen

mínimo de 500 ul de ser una cantidad inferior. Las células deben venir en suspensión, sin agregados, de contener cualquier basura visible no se podrán procesar las muestras hasta eliminar cualquier grumo, que impiden que las muestras se adquieran normalmente por el flujo.

Se solicita la utilización de Cell Strainer para eliminar cualquier pequeño grumo que pueda entorpecer la adquisición de la muestra.

12. Para recibir las células se requieren tubos estériles de citometría con tapa (marca Falcon) con 500 ul de SFB filtrado, de ser necesario también se pueden recibir en su medio de cultivo en caso de ser sensibles al SFB. También se puede recibir en tubos falcon de 15 ml (solo se pueden purificar 2 poblaciones simultáneamente con estos tubos). Debe informar al momento de reservar con que tubos pretende realizar el sorting y recolectar las muestras.

13. El servicio no provee tubos por lo que se solicita que cada Usuario disponga del material necesario para realizar su experimento.

14. Para muestras voluminosas de "sorting" se puede traer las células en tubos BD **Falcon** de 15 ml (es importante que sean Falcon BD y no otra marca pues el adaptador esta finamente ajustado para estos tubos) y si la población a purificar es cuantiosa se pueden recoger en tubos BD Falcon de 15 ml con 1 ml de **SFB filtrado**.

15. El Usuario debe disponer de todos los controles necesarios para compensar el equipo (controles de fluorescencia para cada fluoróforo de la tinción).

16. El Usuario del servicio debe traer las muestras controles con 300.000 células en 200 ul de FACSSFlow y en tubos de citometría BD de 5 ml (tubos no estériles, 352008 BD o tubos estériles, 352054 BD).

17. Una vez adquiridas las muestras, los datos serán enviados mediante plataforma Drive y estos estarán disponibles en ella por solo 5 días, se recomienda bajarlos de inmediato en sus computadores para evitar ocupar espacio en la nube. Los dato luego serán borrador del drive.

Facturación

Se ruega asegurar que las muestras a procesar no contengan ningún riesgo biológico para el operador ni para el equipo.

18. Debido al sistema de facturación de la Universidad, no se pueden facturar medias horas por lo que de ser necesario se guardara como saldo a favor medias horas previamente facturadas producto de un balance de facturación.

19. El tiempo de facturación empieza a correr desde el horario reservado a no ser que exista una falla del equipo que produjo el retraso.

20. Debido a la sensibilidad del equipo y sus cuidados, el servicio de citometría se reserva el derecho de anular horas de ser necesario debido a que el equipo presente problemas que requieran la asistencia técnica de la empresa BD, de ser necesario estas horas se recalendarizarán lo más pronto posible. El servicio no se puede hacer responsable de pérdidas de experimentos por este tipo de inconvenientes de fuerza mayor.

21. Debido a diferentes razones propias de los Usuarios (anulaciones o baja solicitud del equipo en un día), el sistema de reservas del equipo puede sufrir algunas pequeñas modificaciones que serán informadas y consultadas con los Usuarios de ser requerido una re-calendarización de la reserva, con el fin de aumentar la vida útil del equipo.

Recomendaciones:

1. Realice las reservas del servicio con al menos una semana de anticipación para que disponga de todo el tiempo necesario para su experimento.
2. Es responsabilidad del usuario reservar las horas con anticipación a su experimento, no habiendo sobrecupo disponible, ni excepciones.
3. Se solicita traer una cantidad suficiente de células "vivas" para realizar la citometría.

4. Se recomienda utilizar alguna sonda de viabilidad que permita discriminar células vivas de muertas para realizar compensaciones y para que sus resultados resalten lo realmente deseado, no se acepta el uso de yoduro de propidio en el FACSAria III.
5. Se ruega puntualidad en los horarios, de ninguna manera se puede pasar de las 16:45, debido a la mantención posterior que requiere cada equipo.
6. Se recomienda previo a un experimento, revisar en el equipo que todo esté en óptimas condiciones para realizar dicho experimento (titulación de anticuerpos y compensación correcta del equipo en sus condiciones).
7. Se solicita que el usuario conozca los canales de fluorescencia de sus fluoróforos, de no ser así, se les ruega avisen que colores van a utilizar en la reserva del equipo para habilitar los detectores correctos en el equipo y software.
8. Para cada experimento, aún habiendo estandarizado previamente los parámetros a evaluar en el equipo, se requieren los controles de compensación. Estos pasarán más rápido y utilizarán menos tiempo para la compensación, pero son igualmente importantes como controles de tinción de requerirse una modificación en los voltajes. **Un experimento sin controles no sirve y se puede perder todo el trabajo realizado previamente.**
9. Se solicita mantenerse en contacto en todo momento con el operador ya sea vía email o por mensajería de texto el día de la purificación

Características del equipo

Láser Azul (488nm)

488/10, 530/30, 585/42, 616/23, 695/40, 780/60

Láser Rojo (633nm)

660/20, 730/45, 780/60