|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Dati del richiedente: | | | |
| Nome |  | **Cognome** |  |
| Telefono |  | **mail** |  |
| Dipartimento /Centro | | | |
|  |  |  |  |

**Servizio Richiesto**: Analisi Cell Sorting

**Informazioni sui campioni:**

1. Campione: fresco \_\_\_\_\_ fissato\_\_\_\_\_\_

(specificare il fissativo\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_)

1. Tipo di cellule da analizzare

(es. linfociti, fibroblasti, ecc..)

1. Specie/origine del campione (uomo, topo/cellule primarie, linea stabilizzata, …)

Descrizione breve del campione:

1. È stato effettuato lo screening per patogeni?

si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

Se si, il risultato è: negativo \_\_\_\_\_ positivo \_\_\_\_\_

1. Si tratta di cellule trasdotte con un vettore ?

si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

(gene introdotto: )

(il virus è stato reso non infetto, non in grado di replicare: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

1. Si tratta di cellule infette (batteri, virus, parassiti, prioni, ….)

si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

Se si descrivere l’organismo:

1. Altro:

**LISTA DEI CAMPIONI**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| TUBO | ID campione | Fluorocromi | | | | | | | | | |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**Suggerimenti per la preparazione dei campioni per l’analisi e il cell sorting:**

**PREPARARE GLI ADEGUATI CONTROLLI:**

1. CELLULE NON COLORATE: utile per valutare l’autofluorescenza del campione, quando eccitato dalla lunghezza d’onda utilizzata.
2. CONTROLLO ISOTIPICO: importante per valutare il legame aspecifico.
3. SINGLE COLOR: per ogni anticorpo che verrà utilizzato nell’analisi.
4. CONTROLLO LEGAME ASPECIFICO SECONDARIO: indispensabile nel caso in cui non si utilizzano anticorpi diretti (quindi secondario marcato o anticorpi biotinilati).
5. FLUORESCENCE MINUS ONE (FMO): il campione viene marcato con tutti gli anticorpi tranne uno. Questo controllo risulta utile nel caso in cui l’espressione di un antigene sia bassa o molto variabile e consente di stabilire il corretto limite del negativo.

**CONCENTRAZIONE DELLA SOSPENSIONE CELLULARE:**

1. Analisi: intorno a 106cells/ml

2. Sorting: 10\*106cells/m (se necessario sarà diluita).

**FILTRARE IL CAMPIONE:**

Per rimuovere eventuali clumps and debris, è consigliabile filtrare il campione attraverso un filtro da 70um (eventuali aggregati potrebbero causare problemi con la fluidica e causare il blocco dello strumento).