

### 分选未固定（活）的细胞 指南

#### 介绍

荧光激活细胞分选（FACS）是从混合细胞群体中分选细胞的过程。可以对固定和未固定（活）的细胞进行 FACS。由于可能产生含有害生物制剂的气溶胶（液滴 < 5 $\mu$ m），高速活细胞分选被认为是一种高风险程序。本指南阐述了保护操作人员和周围人员免受有害生物制剂气溶胶暴露的要求。

#### 风险评估

在进行 FACS 风险评估之前，用户需要确定适当的规范和程序。该过程包括：

- 1) 鉴定潜在的生物有害制剂并评估危害暴露。
- 2) 确定适当的生物安全等级或风险组别。
- 3) 评估员工的熟练程度。

必须根据**通用预防措施**（<https://ehs.stanford.edu/wp-content/uploads/Universal-Precautions-Flyer.pdf>），应用 2 级生物安全规范和程序处理所有的人类或非人灵长类动物的原代细胞、细胞系、组织或体液。

#### 确定生物安全等级（BSL）

对于初始的生物安全水平评估，请使用斯坦福大学生物安全手册（<https://ehs.stanford.edu/manual/biosafety-manual>）作为参考，或联系斯坦福大学生物安全与生物防护办公室寻求帮助。

应用分类为 **BSL2**（或更高）的生物制剂以及应用**非豁免 rDNA** 实验方案时，必须在项目启动前获得斯坦福大学生物安全管理委员会（APB）的批准。<https://ehs.stanford.edu/services/administrative-panel-biosafety-review>

应用含**朊病毒**和/或**朊病毒样蛋白**的未固定（活）或固定材料进行流式细胞术程序时（<https://ehs.stanford.edu/manual/biosafety-manual/requirements-research-prions-and-prion-proteins>），由于需要特殊程序，必须在启动任何程序之前咨询斯坦福大学生物安全与生物防护办公室（<https://ehs.stanford.edu/about-us/biosafety-&-biosecurity>）。

#### 气溶胶管理系统（AMS）

AMS 旨在保护仪器操作人员和周围人员免受潜在的传染性气溶胶（液滴 < 5 $\mu$ m）的危害。

用于 BSL2/2+ 制剂的细胞分选仪应配备气溶胶管理或排气系统，该系统旨在排出分选室和收集区域的气溶胶。

# Stanford | 环境健康与安全

## 生物安全和生物防护

缺乏 AMS 时要求将仪器隔离在 II 类生物安全柜 (BSC) 内, 或操作人员和周围人员在进行所有产生气溶胶/喷溅的程序 (6 英尺内) 时, 佩戴经过适合度测试的呼吸器 (N95 或同等物) 和眼部保护装备。

- 必须在 BSL2/2+ 样本 (包括根据通用预防措施来处理的细胞) 的分选过程中使用 AMS。
- 在对潜在致病样本进行分选之前, 必须评估任何新仪器的气溶胶密闭度。
- 初步测试后, 如果常规进行 BSL2/2+ 分选, 则建议每月进行再次评估。
- 在气溶胶密闭或管理系统中进行任何的仪器修改或更换高效空气粒子 (HEPA) 过滤器后, 必须重新进行评估。

目前采用一种被广泛接受的非生物方法对 AMS 进行快速高效的检测, 即使用 GloGerm™ 测定气溶胶的产生。

### 个人防护设备 (PPE)

如果未使用 AMS 或细胞分选仪未隔离在生物安全柜 (BSC) 内, 则必须遵守以下 PPE 要求 (包括实验服、手套和封闭式鞋)。

对于 BSL2/2+ 样本, 在进行细胞分选以及应用所有的可能产生喷溅、溢出物或气溶胶的样本处理程序 (去盖、上样、打开腔室、涡旋等) 时, 必须佩戴护目镜和经过适合度测试的呼吸器 (例如 N-95 或等同物)。PPE 要求适用于活细胞分选程序中 6 英尺范围内的所有人员。请联系斯坦福大学职业健康办公室安排预约 N-95 适合度测试。  
<https://ehs.stanford.edu/about-us/occupational-health-center>

如果将细胞分选仪隔离在生物安全柜内或使用气溶胶管理系统并且已密闭所有的分选和收集室, 则不需要佩戴呼吸器。

### 位置

#### BSL2/2+:

在分选过程中限制进入房间。如有可能, 应将细胞分选仪放置在不同同时进行其他常规实验室活动的位置。

#### BSL3:

请咨询斯坦福大学生物安全与生物防护小组

<https://ehs.stanford.edu/biosafety-specialized-information-sessions>

### 消毒

完成工作后, 必须使用适当的消毒剂对分选仪 (喷嘴和管道) 和工作区域进行消毒。欲了解详细的清洁说明, 请参阅根据 FACS 核心研究室或制造商手册制定的标准操作规程 (SOP)。

## 仪器访问

FACS 核心研究室/部门或 PI 拥有的仪器的用户必须遵循仪器所有者的注册程序，声明需要分选的生物材料的性质，并披露任何潜在的生物危害。FACS 核心研究室、部门或 PI 负责培训所有的新用户。

## 参考文献

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. \_  
<https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/>

International Society for the Advancement of Cytometry Cell Sorter Biosafety Standards. *Cytometry A*. 2014 May;85(5):434-53. doi: 10.1002/cyto.a.22454. Epub 2014 Mar 13.

Standard Safety Practices for Sorting of Unfixed Cells. Schmid et. Al., *Current Protocols in Cytometry* (2007) 3.6.1-3.6.20. How to Develop a Standard Operating Procedure for Sorting Unfixed Cells. *Methods* 57(3):392-7 February 2012.