



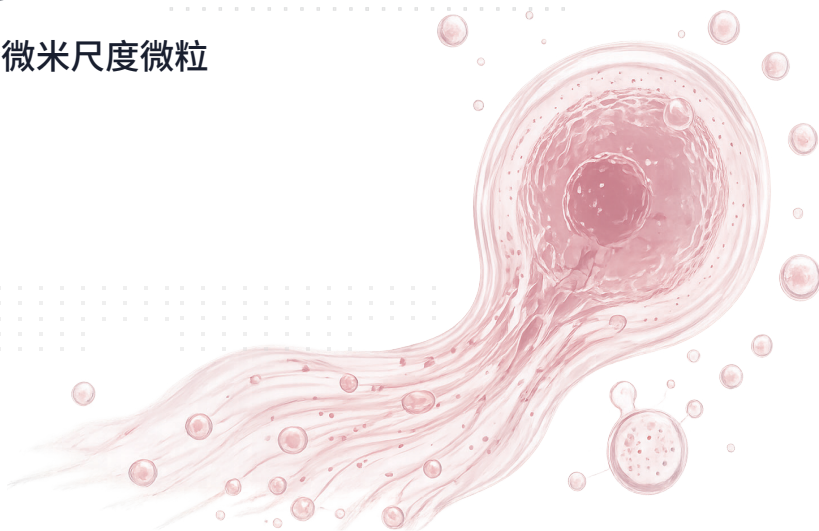
Migrasome Therapeutics

北京迈格松生物科技有限公司

MigraSee[®]

迁移体/跨微米尺度微粒
观测芯片

SE001



使用说明书

MigraSee[®]

迁移体/跨微米尺度微粒观测芯片

货号	规格
SE001	42 tests



重要提示：本试剂盒专为科学研究设计，不适用于临床诊断目的。请参阅下页的详细风险及责任声明，并确保在使用本产品前仔细阅读。

产品简介

本芯片用于对跨微米尺度 (0.3-10 μm) 囊泡/颗粒的高倍显微镜观察和计数，通过生物荧光标记，可以对混合样品中的特定目标物进行形态观测和浓度计数，省去了对目标物的分离、纯化的制样过程。

产品内容

产品组成	SE001
MigraSee®芯片	42 tests
血浆样品稳定剂	100 μL
说明书	一份
MigraSee®产品文件包	一份

用户自备试剂

1. IF染色相关试剂和耗材
2. 共聚焦荧光显微镜
3. ImageJ等分析软件

保存和运输

常温运输，收到MigraSee®芯片后，请于**常温**保存。

工作原理

MigraSee® 芯片可以精准控制共聚焦显微镜层扫的取景体积，通过取景体积内的颗粒个数计算其浓度。在传统激光共聚焦显微镜皿内滴样后，液滴因表面张力呈现一个弧形，导致拍照时无法控制取景区域的体积，所以不能准确、稳定地对微粒计数（如图1）。

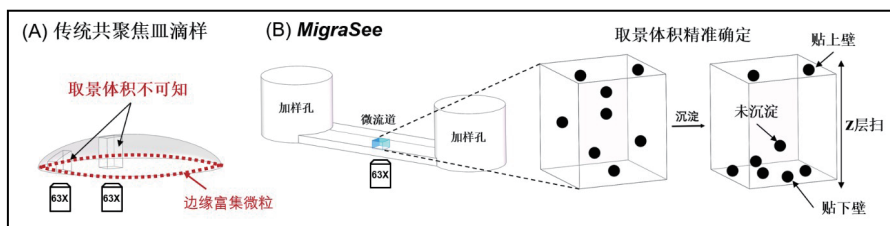
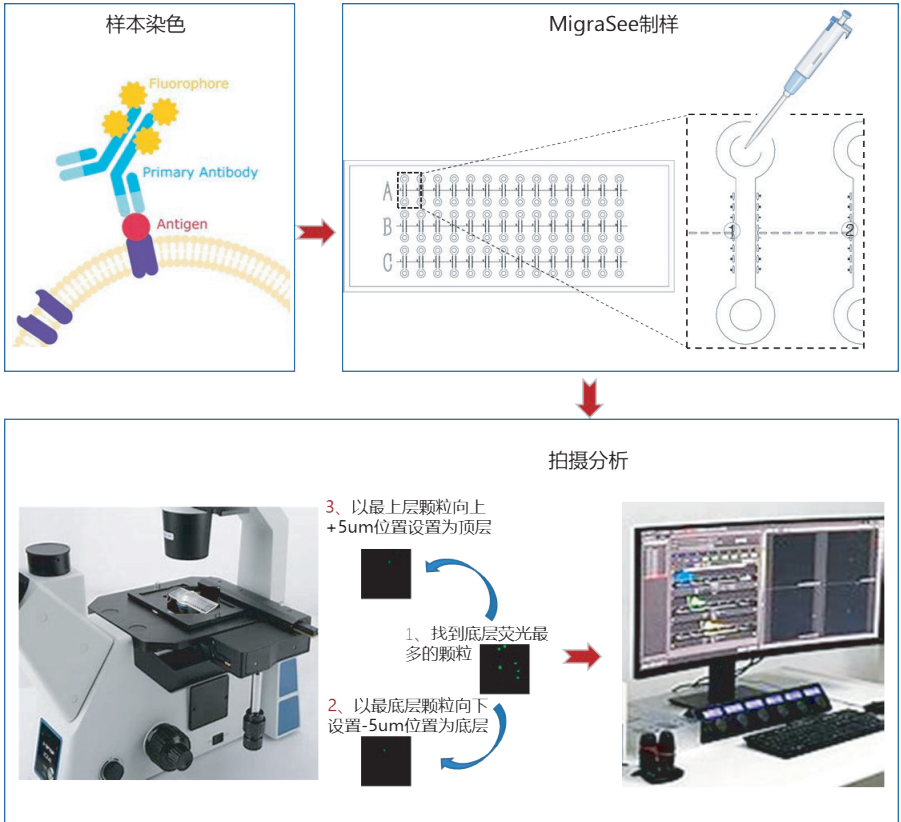


图1. MigraSee® 的工作原理

$$\text{浓度} = \frac{\text{颗粒计数}}{\text{取景体积}} = \frac{\text{悬浮颗粒的计数} + \text{上下贴壁颗粒的计数}}{\text{流道高度} \times \text{视野面积}}$$

操作流程



操作步骤

1 制样

- 1 选择所需荧光抗体对待测样品染色(抗体背景严重影响计数需摸索合适的染色条件)；
- 2 选择深色背景为底板，揭开封口膜，将染色后样品加样于MigraSee®样品流道中(加样体积1.5-2 μL)；
- 3 加样完成后，盖上封口膜，在封口膜上或MigraSee®侧边做好标记；

注：根据样品沉降特性静置至少10 min(对于漂移生物样品推荐和稳定剂一起使用)；

2 拍摄

- 1 制样静置完成后，打开confocal选择60 $\times$ 以上倍镜；
- 2 将芯片正置放置显微镜卡物台上，明场下，调整镜头对准待观测样品流道，调整焦距，目镜下可清晰观测到样品流道边线时，镜头移至流道中央；
- 3 选择对应抗体合适的荧光通道，设置适宜激光强度和对比，设置pinhole、Nyquist、Z-Step等参数，以最佳拍摄条件拍照；

注：荧光强度、背景等因素严重影响后续的颗粒计数和粒径分析；该一系列参数因样品各异，需要用户自行探索；

- 4 选择芯片流道中箭头指示存在的区域，设置层扫位点和高度（流道20 μm 高，一般上下层多设置5 μm 共30 μm ）进行拍摄；

注：建议在流道中心的上下4个流道位置指示标记（罗马数字 I-IV）内拍照，至少选取3个位点拍摄，样品较稀时应多选取位点拍摄，以保证数据可信度；拍摄过程中同时观察视野体积内所有颗粒被层扫包含完全（避免漏拍上下层内颗粒，导致少计数）；

3 分析

注：本产品文件包附带计数操作指南、计数统计excel表、分析程序

- 1 少量图像选用ImageJ分析，批量图像推荐使用Imaris分析，具体分析操作详见操作指南；

注：分析过程中判断图像中颗粒是否真实所需，所见即所得，根据判断定threshold；

- 2 按照分析程序操作流程分析图像，届时，会得出颗粒个数，根据计算excel表，得出颗粒数和浓度；

注：根据需要，可根据附加原始数据，得出颗粒尺寸分布数据（考虑荧光光晕的问题，尺寸分析有20%左右误差）。



常见问题解答

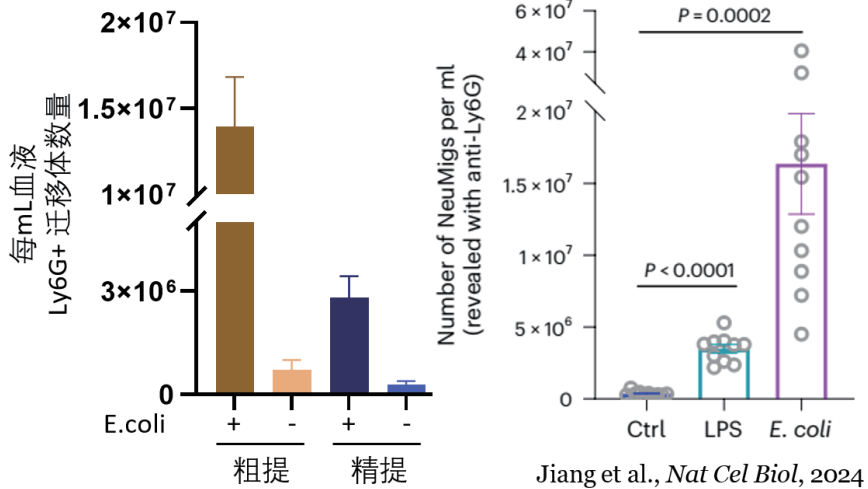
Q1 如何在高倍镜(60×以上油镜)下快速找到流道中的样品并聚焦其最底面?

A1 首先在明场下,放置芯片在流道的正下方;通过观察目镜调节z高度,找到芯片清晰流道边线;通过流道中心指示标志调节x和y方向找到流道的中心;再切换到荧光通道,即可找到流道内的目标样品。

Q2 激光共聚焦z层扫时间太长,如何提高拍照效率?

A2 首先,建议使用尽可能大的z层扫步距,选择合适层扫高度,另外,建议使用配备自动移动平台的显微镜,利用定点拍照z轴层扫的功能,可批量拍照多个流道的多个位置。

结果案例



使用本芯片对打菌小鼠和未打菌小鼠血液中中性粒细胞来源的Ly6G+迁移体数量进行统计的结果(左图),与Jiang等人文章(Jiang *et al.*, *Nat Cel Biol*, 2024)中使用成像流式的计数结果(右图)基本一致。

注意事项

1. 片底部为0.17 mm厚的盖玻片，非常易碎，请小心拿放；
2. 每个加样流道只能使用一次，建议使用后用马克笔在密封胶布上标记清楚加样流道，以免重复加样；
3. 芯片不可被液体浸泡，有破损的风险（不在质保范围内）；
4. 本芯片计数分析方法要求层扫颗粒需静置不动，拍摄前请摸索合适的样品沉降静置时间和浓度梯度，漂移样品尽量使用稳定剂（如：血浆，较浓样品）；
5. 拍摄时倍镜越大、pinhole越小，激光强度对比度越好越有利于分析颗粒数和尺寸，zstep建议根据所需颗粒大小而定（如所需0.5 μm 以上颗粒，则zstep设置0.5 μm 即可）；
6. 样品推荐加样BCA浓度为100–200 $\mu\text{g/mL}$ ，不同样品蛋白浓度存在差异，首次使用时尽量先用样品原液制样观察沉降效果和时间，较浓可做梯度稀释上样，合适浓度颗粒会沉降不动。
7. 稳定剂使用说明：与染色后样品1:1比例混合均匀，使用小量程移液枪，吸1.5 μL –2 μL 制样于MigraSee®中，静置至少10min，显微镜观察沉降效果，若仍有漂移，适当延长沉降时间。

重要风险与责任声明

本试剂盒仅供科研用途，并已按照科研试剂相关标准和法规要求进行设计和生产。客户使用前，请仔细阅读产品说明书，必须保证遵守所有适用的生物安全、法律、伦理和隐私法规等法律与规定，包括但不限于：

- 1. 合规性：**本产品不得用于任何临床诊断、治疗或其他医疗用途。
- 2. 生物安全：**用户应采取适当的生物安全措施，避免感染风险，并严格遵循生物危害物料的处理和存储规程。
- 3. 伦理与隐私：**样本采集须遵守所有相关的伦理审查标准，保护个人隐私，且需获得相应的知情同意。
- 4. 交叉污染：**用户需按照本说明书操作，以避免样本交叉污染，并确保实验结果的准确性。
- 5. 存储与稳定性：**正确存储本试剂盒以保持其稳定性和有效性。未按说明存储的产品可能导致性能下降。
- 6. 废弃物处理：**使用后的试剂及样本需按照当地法规安全处置。
- 7. 产品性能限制：**本说明书中已详细描述了产品性能及使用限制。任何超出说明书指导的使用方式，本公司概不负责。



本公司不对因不当使用本产品或未遵守适用法规造成的任何直接或间接后果承担法律责任。如有任何疑问或需要进一步信息，请联系客户服务部门。



Migrasome Therapeutics



单位名称: 北京迈格松生物科技有限公司
单位地址: 北京市昌平区医疗园路9号院2号楼4层
邮 编: 102200
电 话: 010-53671078
邮 箱: service@migrasome.com
公司网址: www.migrasome.com