

		KODE: 16-IK-Fishew Tanggal 08 November 2014 INSTRUKSI KERJA: BD™ FACS Calibur Flowcytometer	NAMA PELAKSANA : LABORATORIUM FISIOLOGI, STRUKTUR, DAN PERKEMBANGAN HEWAN
1.	DESKRIPSI OBJECT	1. Cairan tubuh 2. Suspensi sel dan jaringan	
2.	TUJUAN/KRITERIA MUTU	Mengetahui ekspresi suatu antigen terhadap suatu antibodi	
3.	RUANG LINGKUP	Mendeteksi protein Sel-sel permukaan (surface cell protein) dan protein intraselular (intracellular cytoplasmic dan nuclear protein)	
4.	REFERENSI	Instruction manual	
5.	DEFINISI/TERMINOLOGI	Suatu alat dengan prinsip flow (aliran) yang digunakan untuk mendeteksi karakteristik setiap sel berdasar marker protein permukaan dan atau intraselular pada suatu suspensi secara otomatis melalui suatu celah yang ditembak dengan berkas sinar laser	
6.	URAIAN KEGIATAN	Prosedur :	
		<p>Sebelum menyalakan alat harus dipastikan:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Facsflow Buffer Sheath Tank terisi cukup. 2. Waste Tank kosong dan hanya terisi larutan chloroq. <p>A. Menyalakan Alat:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nyalakan UPS. 2. Nyalakan Stavolt. 3. Nyalakan alat flowcytometer. 4. Nyalakan PC dan monitor. 5. Alat harus dipanasi minimal 15 menit sebelum digunakan. <p>B. Bekerja dengan MODE FACSCOMP</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Siapkan Reagen CaliBRITE Beads (dari BD) yang terdiri atas: <ol style="list-style-type: none"> i. Unlabeled Beads, ii. FITC Beads, iii. PE Beads iv. PerCP/PerCP-Cy5.5 Beads 2. Siapkan 2 kuvet yang masing-masing berisi atas: <ol style="list-style-type: none"> i. Kuvet A : 1 mL Facsflow buffer dan 1 tetes Unlabeled Beads, ii. Kuvet B : 3 mL Facsflow buffer dan masing-masing 1 tetes Unlabeled Beads, FITC Beads, PE Beads dan PerCP Beads 3. Pada PC Pilih software FACSCOMP. 4. Isikan data administrasi users serta Lot ID dari masing-masing Beads sesuai dengan yang tertera di box CaliBRITE Beads. 5. Kuvet A untuk mengatur PMT voltage. 6. Kuvet B untuk mengatur fluorescence compensation dan sensitivitas alat. 7. Alat akan secara otomatis membaca dengan dua macam tipe assay: Lyse Wash dan Lyse No Wash. 8. Data yang dihasilkan berupa Instrument Setting Lyse Wash dan Lyse No Wash. <p>C. Bekerja dengan MODE MULTISET</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Siapkan Reagen untuk bekerja dengan MODE MULTISET antara lain: <ol style="list-style-type: none"> i. TriTEST Antibody atau ii. TriTEST Antibody with TruCOUNT tube iii. 10X FACS Lysing Solution <p>Untuk membuat 1X FACS Lysing Solution, larutkan 1 mL 10X FACS Lysing Solution ke dalam 9 mL Deionize water</p> <ol style="list-style-type: none"> iv. Sampel darah dalam tabung dengan antikoagulan 2. Pipet 20uL TriTEST Antibodi ke dasar tabung TruCOUNT. 3. Kemudian masukkan 50uL sampel darah. 4. Tutup tabung TruCOUNT dan Campur sampai homogen dengan cara divortex. 5. Inkubasi selama 15 menit dalam gelap pada suhu ruang. 6. Kemudian tambahkan 450uL 1X FACS Lysing Solution ke dalam tabung. 7. Tutup rapat dan vortex kembali dan siap dianalisis. 8. Pada PC, Pilih software MULTISET. 9. Isikan data administrasi users, Set up alat serta data sample. 10. Lakukan analisis dengan Mode Multiset. <p>D. Bekerja dengan MODE CellQuest PRO</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Siapkan Reagen untuk bekerja dengan MODE CellQuest PRO antara lain: <ol style="list-style-type: none"> i. Fluorescence Antibodi ii. Cell staining Buffer iii. Fixation Buffer (jika dibutuhkan) iv. Permeabilisation Buffer (jika dibutuhkan) v. Deionize water (DI) 	

	<p>2. Sel yang akan dianalisis ditambahkan dengan cell staining buffer, dan dibagi dalam beberapa tabung sentrifus 1.5mL sesuai dengan banyaknya perlakuan. Sel staining buffer merupakan larutan yang dibuat dari 2% Fetal Bovine Serum (FBS) dalam PBS</p> <p>3. Pelet siap untuk distaining dengan antibodi cell surface marker (yang telah diencerkan dengan cell staining buffer dengan perbandingan tertentu).</p> <p>4. Antibodi yang telah diencerkan kemudian diambil sebanyak 50 µl dan dicampurkan dengan sel dan dihomogenkan.</p> <p>5. Pelet yang telah diberi antibodi diinkubasi selama 20 menit dalam gelap di suhu ruang</p> <p>6. Setelah inkubasi ditambahkan cell staining buffer sesuai dengan kebutuhan, dihomogenkan.</p> <p>7. Pada PC Pilih software CellQuest PRO.</p> <p>8. Isikan data administrasi users, Setting alat meliputi PMT adjustment dan fluorescence compensation serta data sampel beserta data antibodinya.</p> <p>9. Lakukan analisis dengan Mode CellQuest PRO.</p> <p>E. Mencuci Sample Injection Port (SIP) dan kapiler dalam Alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Siapkan 3 kuvet yang masing-masing berisi 2mL: <ul style="list-style-type: none"> i. Facs Clean, ii. Facs Rinse dan iii. Deionize Water (DI) 2. Tekan tombol fluid control pada posisi RUN dan tombol sample flow rate pada posisi HIGH. 3. Untuk membersihkan eksternal SIP dan kapiler, Geser Arm ke samping dan pasang kuvet yang berisi 3 mL Facs Clean. 4. Biarkan alat menyedot hingga tersisa ± 1 mL larutan Facs Clean. 5. Kembalikan Arm ke posisi tengah dan biarkan alat menyedot larutan Facs Clean selama 5 menit. 6. Untuk membilas eksternal SIP dan kapiler, Geser Arm ke samping, cabut kuvet yang berisi Facs Clean dan ganti dengan kuvet yang berisi 3 mL Facs Rinse. 7. Biarkan alat menyedot hingga tersisa ± 1 mL larutan Facs Rinse. 8. Kembalikan Arm ke posisi tengah dan biarkan alat menyedot larutan Facs Rinse selama 5 menit. 9. Untuk mencuci eksternal SIP dan kapiler, Geser Arm ke samping, cabut kuvet yang berisi Facs Rinse dan pasang kuvet yang berisi 3 mL DI. 10. Biarkan alat menyedot hingga tersisa ± 1 mL DI. 11. Kembalikan Arm ke posisi tengah dan biarkan alat menyedot DI selama 5 menit. 12. Setelah itu, posisikan ke mode standby dengan menekan tombol fluid control pada posisi STANDBY, dan biarkan tabung berisi DI pada SIP untuk menghindarkan debu pada SIP. <p>F. Mematikan alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pastikan setelah dilakukan pencucian, alat dalam posisi standby selama 5 menit. 2. Matikan PC dan monitor. 3. Matikan alat flowcytometer. 4. Matikan stavolt. 5. Matikan UPS.
	<p>NAMA PELAKSANA:</p> <p>LABORATORIUM FISIOLOGI, STRUKTUR, DAN PERKEMBANGAN HEWAN</p>