

## 技术与方法

流式细胞仪 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 96 孔板单细胞分选方法的条件优化

张小翠, 符 蓉, 赵犇鹏

上海交通大学 基础医学院基础医学公共技术平台, 上海 200025

**[摘要]** **目的**·优化流式细胞仪 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 96 孔板单细胞分选方法, 为单细胞技术的应用奠定基础。**方法**·通过对仪器精确调节及各项参数优化, 采用不同孔径喷嘴、不同分选方式对 32D、U937、iBMDM 和 293T 共 4 种细胞进行单细胞分选, 观察分选后单细胞孔数以及单细胞所形成克隆孔数。**结果**·在单细胞分选模式下, 70、100  $\mu\text{m}$  喷嘴分选获得单细胞的孔数分别为 83 ~ 91、87 ~ 93 孔。分选后的单细胞经 7 ~ 10 d 培养后, 70  $\mu\text{m}$  喷嘴分选获得的单细胞所形成克隆的孔数为 36 ~ 58 孔; 100  $\mu\text{m}$  喷嘴条件下电荷式分选、“无电”直接分选获得的单细胞所形成克隆的孔数分别为 53 ~ 78、69 ~ 81 孔。**结论**·进行单细胞分选时, 选择 100  $\mu\text{m}$  喷嘴和“无电”直接分选方式可得到较好的细胞活性与较高的细胞克隆率。

**[关键词]** 流式细胞仪; 96 孔板; 单细胞分选; 喷嘴; “无电”直接分选; 单细胞培养

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.07.025 **[中图分类号]** Q2-33 **[文献标志码]** B

Condition optimization of the flow cytometry MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> on single-cell sorting in 96-well plate

ZHANG Xiao-cui, FU Rong, ZHAO Ben-peng

Core Facility of Basic Medical Sciences, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200025, China

**[Abstract]** **Objective**·To optimize the method of the flow cytometry MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> on single-cell sorting in 96-well plate. **Methods**·Using different aperture nozzles and sorting ways, the 32D, U937, iBMDM and 293T cells were used for single-cell sorting after the precise adjustment of the instrument and various parameters. The hole numbers with single cell and single-cell clones were detected after sorting. **Results**·In the single-cell sorting mode, the hole numbers with single cell were 83–91 by 70  $\mu\text{m}$  nozzle and 87–93 by 100  $\mu\text{m}$  nozzle. After 7–10 days of culture, the hole numbers with single-cell clones were 36–58 by 70  $\mu\text{m}$  nozzle. In 100  $\mu\text{m}$  nozzle, the hole numbers with single-cell clones were 53–78 by electrostatic charge sorting and 69–81 by straight-down sorting, respectively. **Conclusion**·In single-cell sorting, a better cell viability and higher cloning rate are observed in 100  $\mu\text{m}$  nozzle and straight-down sorting.

**[Key words]** flow cytometry; 96-well plate; single-cell sorting; nozzle; straight-down sorting; single-cell culture

近年来,随着科技的不断进步,单细胞分析技术在相关研究中的应用越来越广泛<sup>[1-3]</sup>。对单个细胞进行研究,首先要将目的细胞从生长环境中分离出来,并确保其生物完整性。目前,常用的单细胞分离方法有连续稀释法、显微操作法、激光捕获显微切割术、流式细胞分选和微流控技术等<sup>[4]</sup>;其中,流式细胞分选技术是应用最多的单细胞分离方法<sup>[5]</sup>,可对单个细胞进行精确分离。该方法能够快速获取单个细胞,具有精度高、通量大、参数多、成本低等优势<sup>[6]</sup>,不仅可用于获取单细胞克隆株<sup>[7]</sup>,还在单细胞 PCR、单细胞测序、单细胞原位杂交及不同细胞的差异化研究等方面具有很好的应用价值<sup>[8-10]</sup>。

MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 是一款空气激发的高端流式细胞仪,能够快速有效地对单个细胞进行分离,但对操作者的知识

储备和操作经验都有很高的要求。分选前,喷嘴的选择、液流的调试、光路的校准及各项参数的优化等均可直接影响分选的得率和活性。本文应用 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 流式细胞仪,对 4 种细胞分别进行单细胞分选,旨在提供一套完整的流程和一系列技术参考,为分选后单细胞技术的应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、主要仪器与试剂

流式细胞仪 (MoFlo Astrios<sup>EQ</sup>)、荧光微球 (calibration beads) (货号 B27526) 均购自美国 Beckman Coulter 公司, RPMI-1640 培养基、DMEM 培养基、胎牛血清 (FBS) 和

**[作者简介]** 张小翠 (1985—), 女, 实验师, 博士; 电子信箱: zhangcui1986921@163.com。

**[通信作者]** 张小翠, 电子信箱: zhangcui1986921@163.com。

胰酶均购自美国 Gibco 公司, 96 孔板 (货号 3599) 购自美国 Thermo 公司, 40  $\mu\text{m}$  滤网 (货号 B352340) 购自美国 BD-FALCON 公司 (货号 B352340)。小鼠 IL-3 依赖性 32D 细胞、人组织细胞淋巴瘤细胞 U937、小鼠永生化的骨髓巨噬细胞 iBMDM 和人胚肾细胞 293T 共 4 种细胞系源自上海交通大学基础医学院病理与生理学系。

1.2 细胞培养与制备

采用含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基培养 32D、U937, 采用含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养 iBMDM、293T。所有细胞均置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱内培养, 2 ~ 3 d 传代 1 次。选取对数生长期的细胞, 将其浓度调整为  $1 \times 10^6/\text{mL}$  并用 40  $\mu\text{m}$  的滤网过滤, 冰上待测。整个过程均在超净台内操作。

1.3 仪器的调试

1.3.1 液流调节及光路校正 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 以高压灭菌的 Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS) 为鞘液, 安装合适的洁净喷嘴, 按压鞘液过滤器、点击触屏 “Debubble” 按钮排除气泡, 手动调节上下、左右、前后千分尺和平衡台上的 2 个旋钮, 以检查液流的垂直对齐; 打开所用激光器, 按下触屏 “Laser and Stream Intercept” 按钮, 调节前后千分尺使得活动图像与参考图像相似, 调节上下千分尺确保绿线与喷嘴齐平, 完成激光光斑的测定; 按下触屏 “IntelliSort” 初始化按钮, 设置液滴振荡的频率和默认振幅值, 使液流形成液滴; 上样荧光微球, 调节电压使得能看到微球群体, 针对每项参数进行荧光强度优化; 打开质控 (QC) 屏幕, 点击 QC 键, 仪器将自动执行质检。更换喷嘴时, 须重新按照上述步骤调试仪器。

1.3.2 分选偏转液流调节 打开分选操作界面, 选择 4 路分选。将电极板电压设定为 4 000 V, 点击屏幕上液流虚线使该液流加电, 调节 “Charge Phase” 滑块选择最优的分选液流, 调节 “Defaning” 滑块使中央的废液流由散开的多束变成一束。点击 “Drop Delay” 按钮, 执行自动液滴延迟计算, 启用 “IntelliSort Monitoring” 功能。通过 “Definition” 选项, 选择 96 孔板, 液流将会出现中央废液流和 L1 路侧液流。电荷式分选时, 中央废液流流入废液槽, L1 路侧液流包裹目标细胞充上电荷后偏转至孔板中; “无电” 直接分选时, 将废液槽向右移动插入偏左的孔, 中央废液流与分选液流 L1 也相应右移。因此含有目标细胞的 L1 路侧液流未加电荷直接落到 96 孔板中, 而非目标细胞加过电荷后流入右移的废液槽中。

1.3.3 分选前 96 孔板精确定位 将调试用的 96 孔板 (含板盖) 置于分选输出架上, 按下 “Home” 键, CyClone 板会移动到 96 孔板左下角 A1 位置; 按住 “Squirt” 按钮, 如果液滴打在板盖 A1 中央位置, 则 Home 位置正确, 反之则需擦拭板盖, 调节 CyClone 板位置, 直至液滴正确置于 Home 位置上, 选择对号标记按钮。按下 “End” 键, CyClone 板会移动到 96 孔板右上角 H12 位置; 将液滴置于 H12 的中央位置, 选择对号标记按钮。为了分选的精确定位, 还须预分选细胞至孔板盖上, 设置分选细胞数为 100, 观察盖上每个液滴是否在该孔的中心点; 如果有偏移, 还需要对 96 孔板 A1、H12 位置进行微调。

1.3.4 96 孔板单细胞分选 更换接收细胞用的 96 孔板, 移去盖子, 每孔中加入 100  $\mu\text{L}$  培养基。新建 “Protocol”, 建立散点图前向角散射光强度 (forward scatter, FSC) 和侧向角散射光强度 (side scatter, SSC), 圈出主要细胞群 R1, 通过 FSC、SSC 的高度 (H)、宽度 (W)、面积 (A) 去除碎片、死细胞和黏连细胞。选择 L1 路液流, 采用单细胞 (Single)-0.5 液滴 (Droplet) 分选模式, 设置孔板分选细胞数为 1, 选定 “Sort (Start)” 分选。低流速上样, 保证样品与鞘液 0.2 ~ 0.3 psi (1 psi=6.895 kPa) 的压力差。分选完毕后, 加盖取出 96 孔板, 倒置显微镜下观察分选后的单细胞孔数; 而后置于培养箱中培养, 7 ~ 10 d 后观察细胞情况生长。

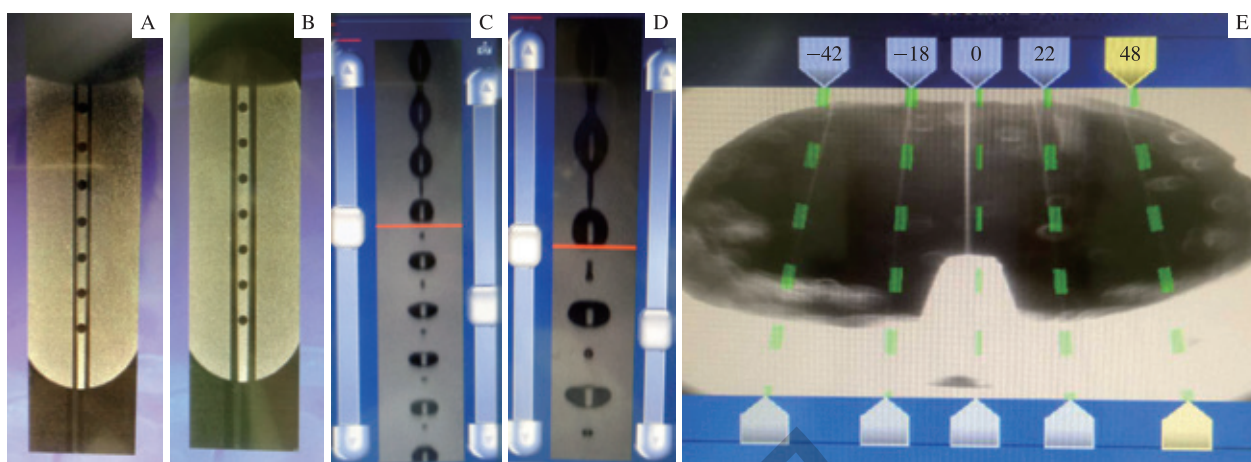
2 结果

2.1 液流调节及分选调节

MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 常用喷嘴孔径为 70  $\mu\text{m}$  和 100  $\mu\text{m}$ , 其主要参数见表 1, 包括鞘液压力、振荡频率与振幅。不同喷嘴下对应调试好的液流如图 1A、1B 所示, 液流处于针孔的中央, 且边缘线深浅适当。按下 “IntelliSort” 初始化按钮后, 不同喷嘴下的液流断裂形成均匀液滴, 调试液流使得断点位于窗口的中间位置, 以便于观察, 可用红色线来监测; 每个主液滴近似圆形, 主液滴与主液滴之间的卫星液滴不超过 6 个 (图 1C、1D)。调试好的 4 路液流与中间废液流分束明显, 聚集清晰 (图 1E)。

表 1 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 不同孔径喷嘴下的主要参数  
Tab 1 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> main parameters at different nozzle sizes

主要参数	70 $\mu\text{m}$ 喷嘴	100 $\mu\text{m}$ 喷嘴
鞘液压力 /psi	60	30
振荡频率 /Hz	10 000	4 000
振幅 /V	15	30 ~ 50



注: A、C 为 70  $\mu\text{m}$  喷嘴下的液流及断点图; B、D 为 100  $\mu\text{m}$  喷嘴下的液流及断点图; E. 4 路分选图。数字显示每路液流的偏转角度; 绿色虚线显示已开启分选液流, 作为调节液流位置的参照标准。

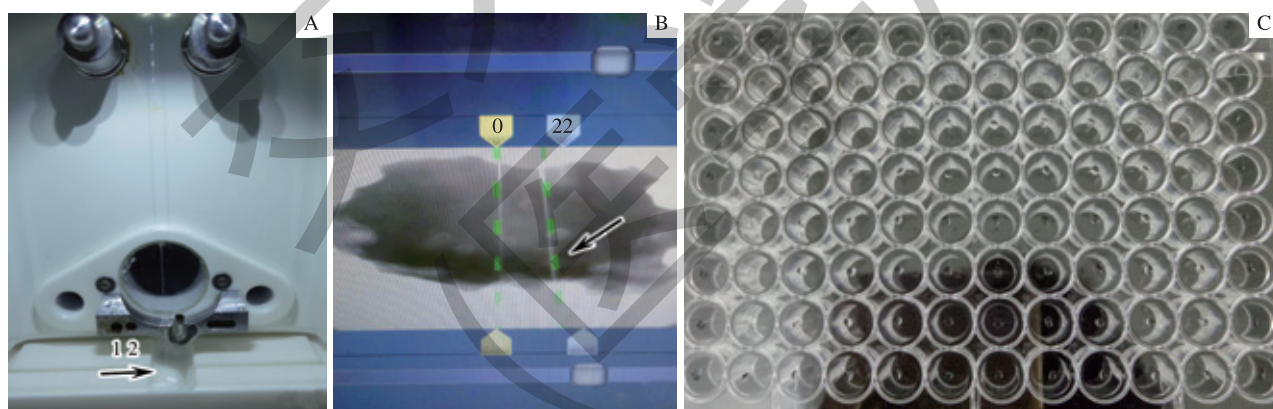
图 1 稳定的液流及 4 路分选

Fig 1 Steady liquid flow and four-way sorting

## 2.2 分选前 96 孔板精确定位

电荷式分选, 废液槽插在孔 2 处 (图 2A), 中央废液流的偏转角度为“0”, L1 路侧液流的偏转角度为“-18” (图 1E); 分选时, 含非目标细胞的液滴流入废液槽中, 含目标细胞的液滴充上电荷后偏转至孔板中。“无电”直接分选, 废液槽右移至孔 1 处 (图 2A), 中央废液流的偏转角度调至“22”, L1 路侧液流的偏转角度调至“0”

(图 2B); 分选时, 含非目标细胞的液滴流入右移的废液槽中, 含目标细胞的液滴不加电荷直接落在 96 孔板中。调试 CyClone 板位置, 确认液滴正确置于 96 孔板板盖的 A1、H12 的中央位置, 并预分选至板盖。结果显示, 分选 100 个细胞组成的液滴至板盖后, 液滴大而清晰, 并可确认每个液滴均在该孔的中央位置 (图 2C)。



注: A. 中央废液流与废液槽, 1 和 2 为废液槽孔, 箭头为废液槽右移; B. 中央废液流偏转角度为“22”, 箭头所指为中央废液流, L1 路液流偏转角度为“0”, 绿色虚线显示已开启该路液流并作为调节液流位置的参照标准; C. 100 个细胞组成的液滴预分选至板盖。

图 2 “无电”直接分选及液滴精确定位

Fig 2 Straight-down sorting and accurate positioning droplet

## 2.3 96 孔板单细胞分选

分选完毕后于倒置显微镜下观察每个 96 孔板, 70  $\mu\text{m}$  喷嘴条件下分选的单细胞孔数为 83 ~ 91 孔, 100  $\mu\text{m}$  喷嘴分选的单细胞孔数为 87 ~ 93 孔 (表 2)。分选后单个细胞培养 2 ~ 3 d 后, 可见数个细胞; 7 ~ 10 d 后, 细胞形成克隆 (图 3)。70  $\mu\text{m}$  喷嘴分选的单细胞所形成克隆孔

数为 36 ~ 58 孔; 100  $\mu\text{m}$  喷嘴电荷分选的单细胞所形成克隆孔数为 53 ~ 78 孔, “无电”直接分选的单细胞所形成克隆孔数为 69 ~ 81 孔 (表 2, 表 3)。观察 96 孔板的底部, 形成细胞克隆的孔的培养基呈黄色, 未形成细胞克隆的孔则呈粉色, 例如 32D 细胞的克隆情况如图 4 所示。

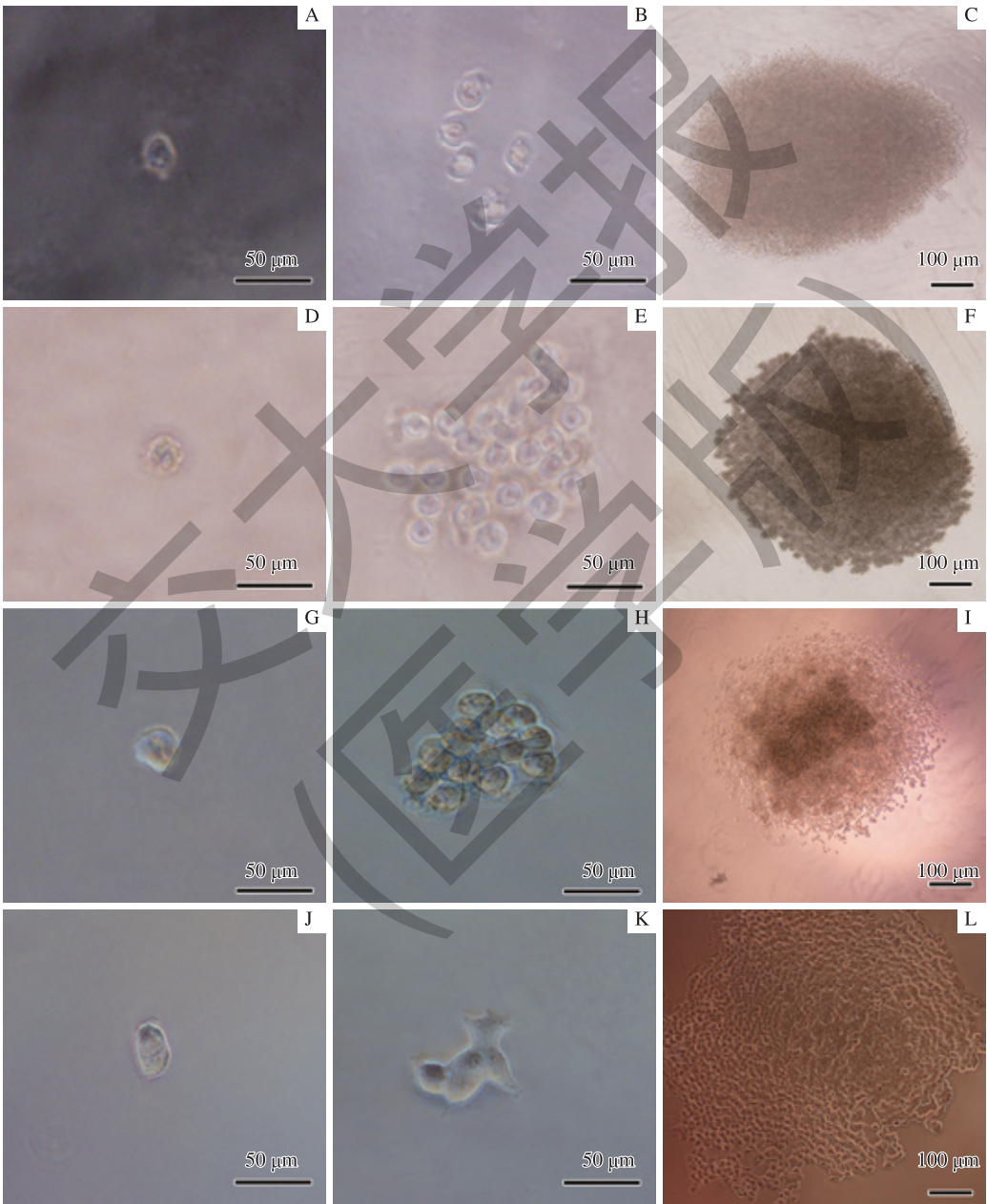


表 2 70  $\mu\text{m}$ 、100  $\mu\text{m}$  喷嘴条件下 96 孔板单细胞孔数与所形成克隆孔数  
Tab 2 Number of holes of single cell and single-cell clones in 96-well plate at 70  $\mu\text{m}$  and 100  $\mu\text{m}$  nozzle

细胞种类	70 $\mu\text{m}$ 喷嘴平均单细胞孔数 / 孔	70 $\mu\text{m}$ 喷嘴平均单细胞所形成克隆孔数 / 孔	100 $\mu\text{m}$ 喷嘴平均单细胞孔数 / 孔	100 $\mu\text{m}$ 喷嘴平均单细胞所形成克隆孔数 / 孔
32D	89	50	92	78
U937	83	36	87	53
iBMDM	91	58	93	71
293T	87	46	88	58

表 3 100  $\mu\text{m}$  喷嘴在不同分选方式下 96 孔板单细胞所形成克隆孔数  
Tab 3 Number of holes of single-cell clones in 96-well plate in different sorting ways at 100  $\mu\text{m}$  nozzle

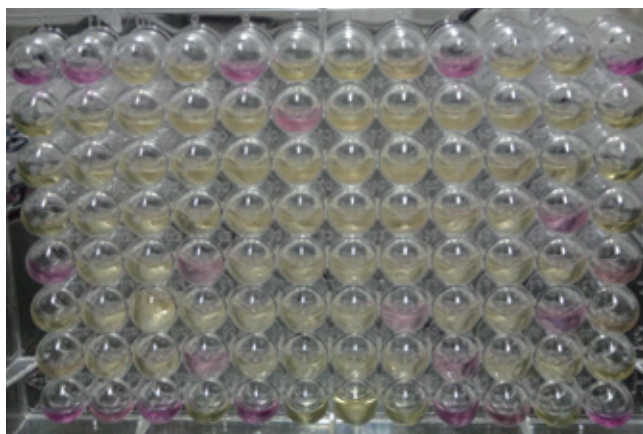
细胞种类	电荷式分选 / 孔	“无电”直接分选 / 孔
32D	78	80
U937	53	69
iBMDM	71	81
293T	58	71



注：A ~ C 为 32D 细胞；D ~ F 为 U937 细胞；G ~ I 为 iBMDM 细胞；J ~ L 为 293T 细胞。A、D、G、J 为分选当天；B、E、H、K 为培养 2 ~ 3 d；C、F、I、L 为培养 7 ~ 10 d。

图 3 96 孔板单细胞培养结果

Fig 3 Results of single-cell culture in 96-well plate



注: 黄色培养基说明细胞形成克隆, 粉色培养基说明细胞未形成克隆。

图 4 32D 细胞的单细胞培养结果

Fig 4 Results of 32D single-cell culture in 96-well plate

### 3 讨论

对于众多分选应用来说, 单细胞的分析和分选非常重要<sup>[11-12]</sup>。96 孔板单细胞分选是基于传统群体分选操作的基础之上实现的一类特殊分选方法。仪器调试前, 喷嘴选择是分选的基础, 不同孔径的喷嘴匹配了不同的鞘液压力, 而喷嘴孔径和鞘液压力对细胞的活性均有较大影响<sup>[13-14]</sup>。本实验选用 70  $\mu\text{m}$ 、100  $\mu\text{m}$  喷嘴对 4 种细胞进行 96 孔板单细胞分选, 结果表明: 4 种细胞经 2 种喷嘴分选所得单细胞的孔数均在 83 ~ 93 孔之间, 无明显差异, 说明 2 种喷嘴都能实现良好的单细胞分选得率; 但经分选的单细胞经 7 ~ 10 d 培养后发现, 70  $\mu\text{m}$  喷嘴分选获得的单细胞所形成克隆的孔数为 36 ~ 58 孔, 而 100  $\mu\text{m}$  喷嘴分选获得的单细胞所形成克隆的孔数为 53 ~ 78 孔, 继而说明喷嘴孔径越大, 分选的细胞活性越好, 单细胞形成的克隆率也越高。因此, 进行单细胞分选时, 对于大部分细胞尤其是活性略差的细胞而言, 为保证单细胞的活性, 应优先选择 100  $\mu\text{m}$  喷嘴。

流式细胞仪大多采用的是电荷式分选。当鞘液流包裹样品流通过喷嘴时, 液流就被高频振荡断裂形成一连串均匀的液滴; 依据分选目标及分选决策, 包裹有目标细胞的液滴会被充上相应的电荷, 带电液滴经过高压偏转板后发生不同方向的偏转, 落入相应收集管或孔板中, 而其他不带电的液滴未发生偏转则落入中间的废液槽, 从而实现目标细胞的分选<sup>[15]</sup>。流式细胞仪 MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 在传统电荷式分选的基础上, 为保证单细胞的活性, 新增加了“无电”直接分选方式, 即细胞不加电荷直接被分选。结果表明, 100  $\mu\text{m}$  喷嘴条件下电荷式分选获得的单细胞所形成克隆的孔数为 53 ~ 78 孔, 而经过“无电”直接分选获得

的单细胞所形成克隆的孔数为 69 ~ 81 孔, 在一定范围内增加了单细胞的克隆率。因此, 对于单细胞分选, 尤其是针对稀有或脆弱细胞, “无电”直接分选比电荷式分选有着较为明显的优势。

进行 96 孔板单细胞分选时, 通过散点图 FSC、SSC 的 H/W/A 去除碎片、死细胞和黏连体, 选择 Single-0.5 模式对细胞进行分选。Single 模式较富集 (enrich) 或纯度 (purity) 模式对液流调试的精度要求更高, 仅分选含有一个目标细胞的液滴; 0.5 液滴模式是指目标细胞在液滴中间才被分选。调节仪器 CyClone 板位置, 使得按下“Home”键与“End”键后, 液滴正确置于 96 孔板板盖 A1、H12 的中央位置; 如果液滴稍有偏移, 细胞则易打在孔壁甚至落在别的孔中, 影响后续分选的准确性。因此, 为了使分选液滴更加精确地落入每孔的中央位置, 除了校正 96 孔板 A1、H12 的位置外, 还要进一步确认分选液滴实际下落的位置。本研究采用 100 个细胞组成的液滴分选至 96 孔板板盖, 预分选完成后显示, 液滴大而清晰且容易观察, 可快速确认每个液滴在该孔的实际位置。

液流和液滴的稳定对单细胞的分选至关重要, 精确测定液滴延迟是决定分选质量的关键。液滴延迟是指细胞的检测点到液滴断点 (分选点) 之间的时间差, 若设置的液滴延迟与实际不一致, 会导致液滴充电时间不准确, 从而引起细胞分选的混乱。与其他系列流式细胞仪相比, MoFlo Astrios<sup>EQ</sup> 采用免微珠液滴延迟检测技术 Intellisort II, 当需要重新计算液滴延迟时, 可减少取出无菌样品的情况。此外, Intellisort II 技术还能监测及维持液滴断点的稳定, 以实现不间断无菌分选。稳定的液流和精确的液滴延迟, 可使细胞分选的纯度达到 99% 以上<sup>[11]</sup>。

除上述仪器因素外, 样品的制备对单细胞分选也起着决定性的作用<sup>[16-17]</sup>。不同类型的细胞, 其分成单个细胞的活性状态不同。如待分选细胞生长状态良好、易于存活, 则分选后单细胞的成活率及克隆率均较高; 如细胞自身易于黏附、不易培养, 或被消化不够或过度, 则会影响最终的分选结果。本实验选用的 4 种细胞系为实验室较常见且应用比较广泛的细胞系, 分选时细胞均处于对数生长期, 平均直径约为 10  $\mu\text{m}$ , 碎片少、活性好, 分选的单个细胞容易培养, 克隆率较高。此外, 单细胞分选时, 样品浓度不易太高, 应调整为  $1 \times 10^6/\text{mL}$ ; 样品流与鞘液流的压力差值也不宜过大, 每秒通过喷嘴的细胞数目 3 000 ~ 5 000 个为宜。细胞浓度越小, 液流的稳定性则越高, 单位时间内检测的细胞数也越少, 细胞分选的纯度和活性均较高。

综上所述, 单细胞分选时, 较大孔径的喷嘴、“无电”直接分选、精确的液滴延迟、准确定位的液滴、合适的

细胞浓度及良好的细胞状态是成功分选的前提。只有对上述因素进行平衡优化,才能保证最佳的分选效果。本

实验为单细胞分选的应用提供了实验流程及一定的经验参考。

### 参·考·文·献

- [1] Xu X, Hou Y, Yin XY, et al. Single-cell exome sequencing reveals single-nucleotide mutation characteristics of a kidney tumor[J]. *Cell*, 2012, 148(5): 886-895.
- [2] Lan F, Demaree B, Ahmed N, et al. Single-cell genome sequencing at ultra-high-throughput with microfluidic droplet barcoding[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(7): 640-646.
- [3] Villani AC, Satija R, Reynolds G, et al. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors[J]. *Science*, 2017, 356(6335): eaah4573.
- [4] Wang Y, Navin NE. Advances and applications of single-cell sequencing technologies[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(4): 598-609.
- [5] Rinke C, Lee J, Nath N, et al. Obtaining genomes from uncultivated environmental microorganisms using FACS-based single-cell genomics[J]. *Nat Protoc*, 2014, 9(5): 1038-1048.
- [6] Osborne GW. Recent advances in flow cytometric cell sorting[J]. *Methods Cell Biol*, 2011, 102: 533-556.
- [7] Fieder J, Schulz P, Gorr I, et al. A single-step FACS sorting strategy in conjunction with fluorescent vital dye imaging efficiently assures clonality of biopharmaceutical production cell lines[J]. *Biotechnol J*, 2017, 12(6). DOI: 10.1002/biot.20170002.
- [8] Maqbanua MJ, Park JW. Isolation of circulating tumor cells by immunomagnetic enrichment and fluorescence-activated cell sorting (IE/FACS) for molecular profiling[J]. *Methods*, 2013, 64(2): 114-118.
- [9] Haroon MF, Skennerton CT, Steen JA, et al. In-solution fluorescence *in situ* hybridization and fluorescence-activated cell sorting for single cell and population genome recovery[J]. *Methods Enzymol*, 2013, 531: 3-19.
- [10] Macaulay IC, Voet T. Single cell genomics: advances and future perspectives[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(1): e1004126.
- [11] Evans K, Albanetti T, Venkat R, et al. Assurance of monoclonality in one round of cloning through cell sorting for single cell deposition coupled with high resolution cell imaging[J]. *Biotechnol Prog*, 2015, 31(5): 1172-1178.
- [12] Rodrigues OR, Monard S. A rapid method to verify single-cell deposition setup for cell sorters[J]. *Cytometry A*, 2016, 89(6): 594-600.
- [13] 张小翠, 谷浩, 赵群鹏, 等. 小鼠骨髓造血干细胞的分离纯化及电镜观察[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(4): 568-572.
- [14] 郭陈智, 史桂英. 流式分选仪 FACSria II 分选 GFP 阳性乳腺癌 MCF-7 细胞株的条件优化研究[J]. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2013, 33(1): 127-130.
- [15] Herzenberg LA, Parks D, Sahaf B, et al. The history and future of the fluorescence activated cell sorter and flow cytometry: a view from Stanford[J]. *Clin Chem*, 2002, 48(10): 1819-1827.
- [16] 刘锡娟, 丁慧荣, 张宏. FACSria 流式细胞仪 96 孔微孔板单个细胞分选方法的优化和应用[J]. *生物学通报*, 2010, 45(3): 51-55.
- [17] 闵智慧, 程韵枫. 第三代流式细胞分选仪及 96 孔板分选单个细胞的方法及参数优化[J]. *中国临床医学*, 2016, 23(6): 846-850.

[收稿日期] 2018-03-09

[本文编辑] 邢宇洋

### 学术快讯

## 上海交通大学附属胸科医院与日喀则市人民医院开展疑难病例远程会诊

2018年7月11日,上海交通大学附属胸科医院与西藏日喀则市人民医院开展了1例胸部疑难病例的远程会诊。胸科医院党委书记郑宁、副院长范小红,胸外科主任方文涛、呼吸内科副主任姜丽岩、放射科副主任医师陈群慧,以及上海援藏干部、胸科医院胸外科亚专科食管外科副主任茅腾,日喀则市人民医院胸外科主任达娃琼达和上海援藏干部、九院放射科吴利忠主任等共同参加会诊。

会诊中,茅腾主任介绍患者病史以及CT等相关检查结果,沪藏两地专家进行了深入细致的讨论并给出诊断结果。考虑到患者所处肺包虫病高发疫区,没有急性感染病史,且结合影像学特征,首诊仍高度怀疑是肺包虫病,但也要考虑支气管(或者肺)囊肿的可能性。在治疗方面,患者符合手术指征,但由于左下肺几乎没有功能,且包虫病诊断尚不确切,因此不推荐囊内切除,建议进行左下肺叶切除。

此次疑难病例远程会诊是附属胸科医院长期致力于祖国边疆医疗援助的延伸,专家们表示要继续将专业优质的医疗资源输送给边远地区,惠及当地患者。