

# Millicell® ERS-2

## 使用说明书

### 目录

<b>系统测试</b> .....	2
一. 仪表功能检测 .....	2
二. 平衡电极（仅测量电压时需要） .....	2
三. 电极功能检测（仅测量电压时需要） .....	2
<b>测量细胞电阻和电压</b> .....	2
一. 物品准备（在超净台中准备如下物品） .....	2
二. 电极灭菌 .....	3
三. 电阻测量（量程：0-9999 Ω，灵敏度：1 Ω） .....	3
四. 空白电阻测量 .....	3
五. 电阻计算 .....	3
六. 电压测量（膜电压量程：±200.0 mV，灵敏度：0.1 mV） .....	3
<b>系统的维护与保存</b> .....	4
一. 仪表 .....	4
二. 电池更换 .....	4
三. 电极保存 .....	4
四. 电极清洗 .....	4
<b>Millicell ERS-2 包含组分</b> .....	4
<b>Millicell ERS-2 可购买附件</b> .....	5
<b>注意事项</b> .....	5
<b>Troubleshooting</b> .....	6

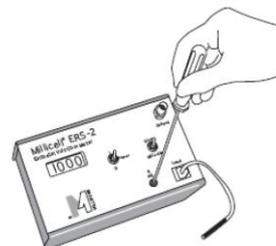


## 系统测试

在进行测量前，需要先进行下列系统功能测试（注意：首次使用电阻仪时要充电至少24小时）。

### 一. 仪表功能检测

1. 将仪表与充电器断开；
2. 将STX04测试电极（具有较短电线的电极）与仪表连接：将电极末端的插头插入仪表上的INPUT接口；
3. 开关打到ON，选择模式Ohms ( $\Omega$ )；
4. 此时仪表读数应显示为1000 $\Omega$ ，如果不是，用3/32”扁平头螺丝刀调节R Adj旋钮，直到读数显示为1000 $\Omega$ 。



### 二. 平衡电极（仅测量电压时需要）

用Millicell ERS-2系统进行电阻测量时，可以直接使用电极而不需要平衡。当进行电压测量时，STX01电极需要进行平衡。

平衡时，准备与测量溶液相似的电极溶液，或者使用PBS缓冲液，0.15M NaCl或0.1M KCl溶液。

1. 将Millicell ERS-2 仪表与充电器断开；
2. 将STX01电极与仪表连接：将电极末端插头插入仪表上的INPUT接口；
3. 开关打到OFF，模式打到Ohms ( $\Omega$ )，将电极浸入电极缓冲液；下表列出了推荐的平衡时间；
4. 进行电极功能检测。

电极状态	浸入溶液时间
从未被测试	24h
干燥储存	24h
在溶液中储存	2h

### 三. 电极功能检测（仅测量电压时需要）

1. 将仪表与充电器断开，模式调到Millivolts；
2. 将电极头部浸入与培养基相似的电极液中（或者0.1-0.15M NaCl/KCl溶液）；
3. 打开开关到ON；
4. 如果仪表显示为0，表示电极可以进行电压测量了。

## 测量细胞电阻和电压

### 一. 物品准备（在超净台中准备如下物品）

1. 完全充好电的Millicell ERS-2系统
2. STX04测试电极
3. STX01或者STX03电极(用于检测Millicell 6, 12和24孔板), STX00电极(用于检测Millicell 96孔板),如果要测量电压则要先进行电极平衡
4. 未培养细胞的Millicell培养皿（对照）
5. 培养了细胞的Millicell培养皿
6. 70%的乙醇
7. 3/32”平头螺丝刀

## 二. 电极灭菌

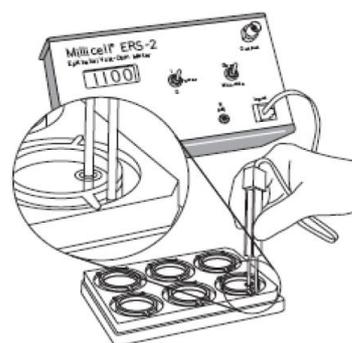
电极是非无菌的，我们建议使用乙醇灭菌，也可以用环氧乙烷、紫外线或者杀菌剂灭菌。不能使用高温或者火焰灭菌，因为电极无法承受高温。乙醇灭菌流程如下：

1. 将电极插入70%乙醇浸泡15min进行灭菌，取出电极风干15秒；注意：不能将电极浸入乙醇中超过30min，这会损坏电极的保护层，缩短其使用寿命。
2. 用与培养基相似的电极液（或者0.1-0.15M NaCl/KCl）冲洗电极；
3. 若是进行电阻测量，此时电极已可以使用；
4. 若是进行电压测量，将电极在与培养基相似的无菌电极缓冲液中平衡15分钟。注意：为了保持无菌，可以将电极放在紫外灯下短时间照射。

## 三. 电阻测量（量程：0-9999Ω，灵敏度：1Ω）

注意：虽然仪表量程能够达到13,000Ω，但是10,000Ω及以下的读数才具准确性。

1. 将细胞置于室温下平衡30分钟；
2. 如前所述，测试Millicell ERS-2系统；
3. 确保仪表与充电器断开；
4. 将模式打到Ohms，开关打到ON；
5. 将电极短端浸入培养板内部，长端浸入外部。短端不要碰到小室膜上生长的细胞，长端需碰到外侧孔的底部。为了实验结果的稳定和可重复性，确保电极平稳，并与培养板成90°；
6. 记录电阻值。



## 四. 空白电阻测量

1. 在培养孔中插入没有培养细胞的小室，加入培养基；
2. 按照电阻测量步骤5中的方法测量空白杯中的电阻值。

## 五. 电阻计算

1. 组织电阻
  - 用含细胞的培养板测出的电阻减去空白电阻，就是真正的组织电阻
2. 单位面积电阻
  - 电阻与组织面积成反比。膜越大，电阻越低。

注意：24mm或更大直径培养板的电阻值不应该换算成单位面积电阻，因为STX电极不能在一个相对大的膜面积内产生均一的电流密度。

- 单位面积电阻与膜面积无关，12mm及以下培养板上获得的数据可以用来比较。
- 单位面积电阻用真实组织电阻乘以有效表面积即可，单位是Ωcm<sup>2</sup>。有效膜面积在下表中列出。
- 单位面积电阻=电阻（Ω）×有效膜面积（cm<sup>2</sup>）
- 单位面积=1cm<sup>2</sup>

**Millicell插入式细胞培养皿与培养板有效膜面积**

产品类型	直径（mm）	膜面积（cm <sup>2</sup> ）
6-well站立式培养皿	30	4.2
24-well站立式培养皿	12	0.6
6-well悬挂式培养皿	24	4.5
12-well悬挂式培养皿	12	1.1
24-well悬挂式培养皿	6.5	0.3
24-well培养板	10	0.7
96-well培养板	4	0.11

## 六. 电压测量（膜电压量程：±200.0 mV，灵敏度：0.1 mV）

1. 将细胞置于室温下平衡30分钟；
2. 如前所述，测试Millicell ERS-2系统，并确保电极经过平衡；
3. 将模式调到Millivolts，开关打到ON；
4. 将电极短端浸入培养皿内部，长端浸入外部。短端不要碰到膜上生长的细胞，长端需碰到外侧的底部。为了实验结果的稳定和可重复性，确保电极平稳，并与培养板成90°；
3. 记录电压值。注意：在几次测量之间，为了避免样品交叉需要冲洗电极，请用培养液冲洗，而不是蒸馏水。

## 系统的维护与保存

### 一. 仪表

不用的时候，仪表应该与充电器保持连接，电池会处于持续充电状态，可以随时使用。仪表大约可使用8小时，当电量很弱时会自动关机以避免对仪器造成损害。

注意：为了避免腐蚀，不要将生理盐水或者培养液溅到或泼到仪表上。

### 二. 电池更换

1. Millicell ERS-2配备了一个6V 220mAh可充电NiMH电池，可重复充电约500次。电池可在任何放电状态充电，可持续充电而不造成损害。

注意：为了避免对电池造成损害，请只使用配备的充电器充电。

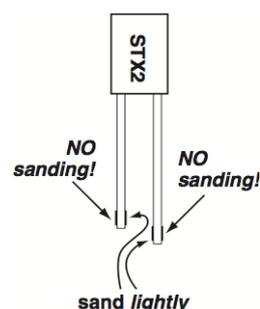
2. 根据使用情况，电池寿命约为1到2年，NiMH电池不使用时也是持续放电的。为了防止电池自放电，至少每两个月给电池充一次电。

### 三. 电极保存

1. 短时间存放（少于两周）：用于电阻测量，干燥存放即可。用于电压测量存放，将电极浸入电极液中。将电极电缆插头与仪表连接，系统内部就短路了，电极的平衡得以维持。
2. 长时间存放（多于两周）：用Milli-Q水冲洗去除盐及蛋白质，并在干燥避光处保存。

### 四. 电极清洗

1. 用浸有70%乙醇的棉签轻轻擦拭电极头部；
2. 如需进一步清洗，将电极头部放在未稀释的家用漂白剂里3分钟。不要让漂白剂接触到头部以上部位。然后立刻用水冲洗；
3. 砂纸打磨（仅当电压测量时）：用提供的深蓝色砂纸轻轻擦拭电压电极（位于电极头部附近表面内部两个银色芯片），不要擦拭头部外侧的银色芯片。



## Millicell ERS-2包含组分

- Millicell ERS2 (MERS00002) 测量仪，包括电源线、可充电电池。
- 固定电极对 (MERSSTX01, 电极间距固定，用于测量)
- 1000Ω校验电极 (MERSSTX04, 用于校验)
- 600级超细砂纸
- A/C电源和充电器
- 使用指南

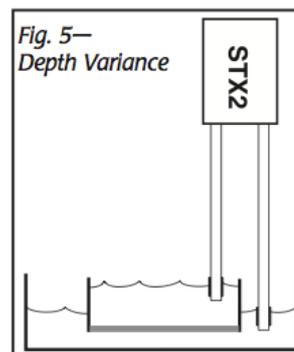
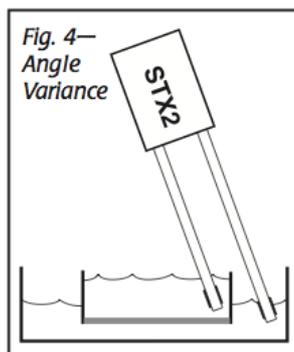
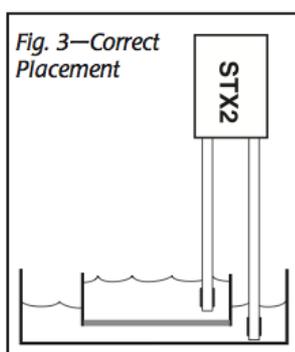
## Millicell ERS-2 可购买附件

如下附件同时与Millicell ERS型号匹配MERS00001

	<p><b>固定电极 (MERSSTX01)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•固定电极对宽4mm，厚1mm</li> <li>•每个探针都包含内外电极</li> <li>内：银芯片</li> <li>外：银/氯芯片</li> <li>•电极长度不等，保证电极放在合适的位置进行测量</li> </ul>	<p><b>校验电极 (MERSSTX04)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•用于常规校验测量仪的模拟检测电极</li> </ul>
	<p><b>可调节电极 (MERSSTX03)</b></p> <p>测量仪可选产品</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•类似于固定电极，不过当滤膜底部和板底部的间距更大时会更精准一些（例如Corning的transwell小室）。</li> </ul>	<p><b>专用高通量电极 (MERSSTX00)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•测量仪可选产品</li> <li>•专门用于测量millicell96孔板细胞培养小室</li> </ul>

## 注意事项

1. 测量细胞电阻和电压时，电极的正确放置方法请见下图：



2. 如果需要经常测量电压或电阻，建议电阻仪在不使用的情况下与电源线连接，因为电池在充电过程中也会不断放电。  
使用时将电阻仪与电源线断开。  
如果长时间不充电，建议在使用前充电24h。  
充电时，需要将开关打到“off”。

## Troubleshooting

如果担心实验出现问题，首先可以按照如下方法排查Meter和电极的状态。

1) Meter坏掉通常是由于仪表上的按钮接触到培养基或者盐离子被腐蚀。如果功能性检测没有问题，说明Meter是正常的。

2) 电极如果坏了，最常见的现象是读数不稳定，或者读数异常高。建议使用如下方法检测电极是否有问题。在孔板中加入PBS等缓冲液（不加入小室），电阻值 $<50\Omega$ ，孔板中加入PBS缓冲液和空白小室，电阻值在 $80\Omega \sim 200\Omega$ （与小室的品牌和大小有关）。如果读数不在这个范围内，建议更换电极。

上述正常则表明硬件没有问题。对于实验设计的问题，老师可以参考相应细胞系的文章。

### 1. 固定电极和可变电极的区别

MERS0002中包含固定电极，但不包含可变电极。固定电极（MERSSTX01）的两个电极的高度差是固定的。对于可变电极，可以通过调节长电极的高度调节两个电极之间的高度差。固定电极适用于除96孔板以外的所有Millicell小室。使用Corning的Transwell，小室底面与孔板底面距离更大，建议购买可变电极，货号为MERSSTX03。

### 2. 测量细胞电压和电阻时，屏幕显示的数值左右摆动，不稳定

确保电阻仪与电源断开；电量不能过低；细胞平衡到室温（半个小时以上，温度会影响电阻值）；检查电极的放置方法是否正确（确保电极浸入液面以下，在测量过程中保证电极位置不动）；如果是测量电压，需要在测量前平衡电极；清洗电极；确保电极与仪表不要靠太近，以免产生电磁场，影响测量。

### 3. 电阻值低于预期值

进行仪表功能检测；检查培养基是否污染；有可能细胞没有形成致密单层，需要继续培养。

### 4. 测量细胞电阻时，电阻值高于正常值

清洗电极，确保电阻仪与电源断开；电量不能过低；细胞平衡到室温（半个小时以上，温度会影响电阻值）；检查电极的放置方法是否正确。

### 5. 如何更换电池

使用螺丝刀取下电阻仪背面四个角的螺丝。打开后盖，电池通过两颗螺丝固定在后盖上。拔下电线上的白色接头即可更换电池。通过螺丝刀将后盖固定在电阻仪上。换好电池后，电阻仪需要充电至少24h。

