

PROTOCOL FOR OBTAINING CELLS FROM MICROTITER PLATE STOCKS

10/30/02

Basic steps

1. Never let the plates thaw.
2. Fill an ice bucket (with cover) with dry ice (wear gloves). Close lid and wait five minutes for chamber to cool.
3. Go to microtiter plate storage boxes in -80°C freezer. Carefully remove the desired plate, ensuring that the lid stays on.
4. Put the plate on top of the dry ice and close lid (don't keep it open; condensation will form).
5. Gently press a sterile toothpick into the desired well. You may not see anything on the toothpick, but don't worry--- 100's of cells have been picked up, which is enough to streak out. It is NOT necessary, and is harmful to the integrity of the cell collection, to gouge out a piece of ice.
6. Streak out the toothpick on a selection plate.
7. Return the plate to its proper place in the freezer. All plates should be in order, in the correct orientation, and sealed as part of a group with a rubber band. If the band breaks, get a new one!

Determining which well belongs to your clone

1. The BAC library was stored originally in 384-well plates. 14B12 means plate 14, row B, column 14.
2. The EST libraries were originally in 96-well plates, and then condensed into 384-well plates in an overlapping pattern as follows:

This example is for plates 1, 2, 3, and 4; a similar pattern is used for 5, 6, 7, 8; 9, 10, 11, 12; etc. Each plate is labelled with four tags indicating what it contains, NOT the orientation of the wells within each plate.

		column					
R		1A1	2A1	1A2	2A2	9	10
O		3A1	4A1	3A2	4A2	11	12
W		1B1	2B1	1B2	2B2	etc.	
		3B1	4B1	3B2	4B2		

3. A key for finding clones in 384-well plates is shown on the reverse.

Diagram of scheme for condensing 96-well plates into 384-well plates
 (remember to hold the plates in the correct orientation!!!)

96	⇒	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12	
↓	384	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	A	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	B	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
B	C	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	D	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
C	E	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	F	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
D	G	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	h	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
E	I	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	j	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
F	k	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	l	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
G	m	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	n	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>
H	o	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>	<i>i</i>	<i>ii</i>
	p	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>

Diagram of quartet orientations up to plate 64

1 2 3 4	5 6 7 8	9 10 11 12	13 14 15 16	17 18 19 20	21 22 23 24	25 26 27 28	29 30 31 32
33 34 35 36	37 38 39 40	41 42 43 44	45 46 47 48	49 50 51 52	53 54 55 56	57 58 59 60	61 62 63 64