



Aria分选原理及应用

Aria II流式细胞仪的主要结构

- 液流系统
- 光学系统
- 电子系统

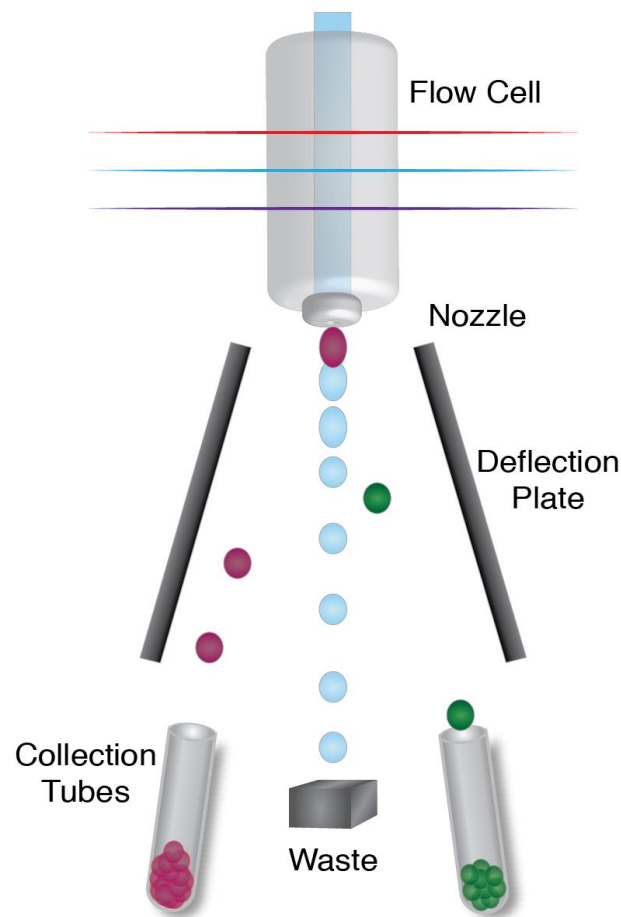
分选系统

1检测

2充电

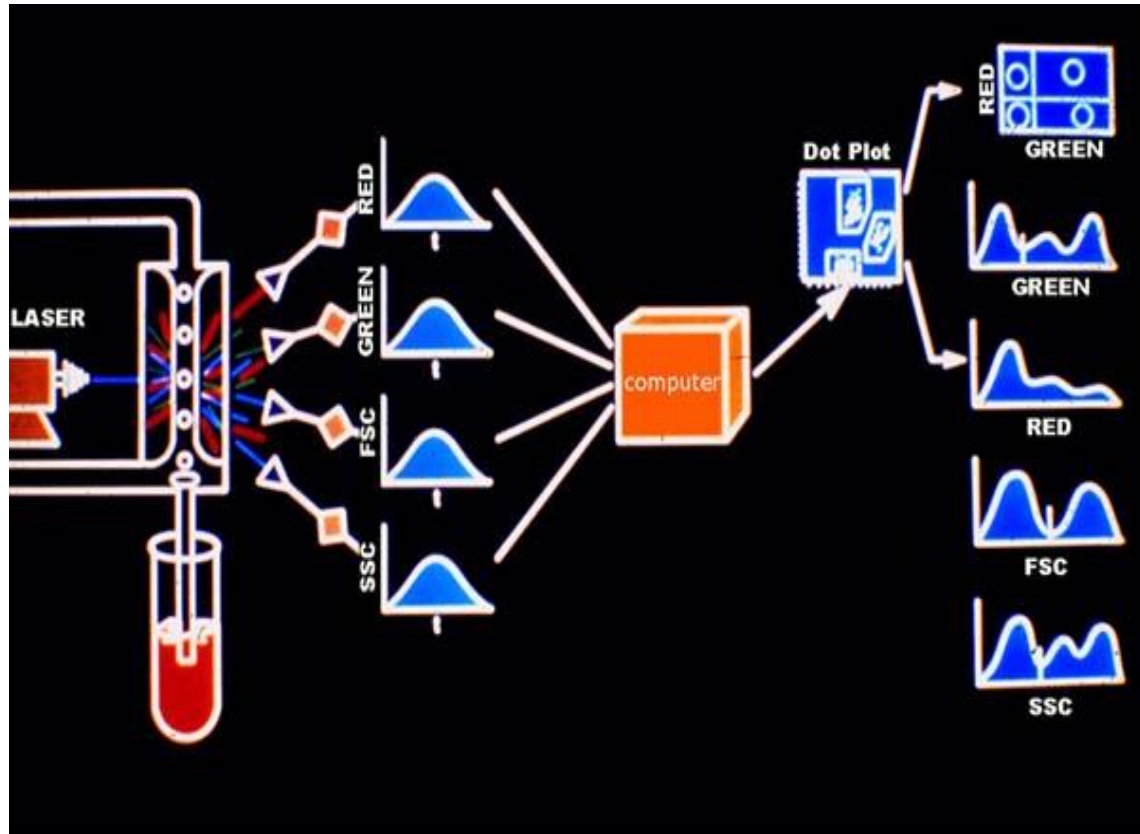
3偏转

4收集



如何实现流式分选？

- 一 准确地分析
 - 液流系统
 - 光学系统
 - 电子系统
- 二 精确地分选
 - 分选系统



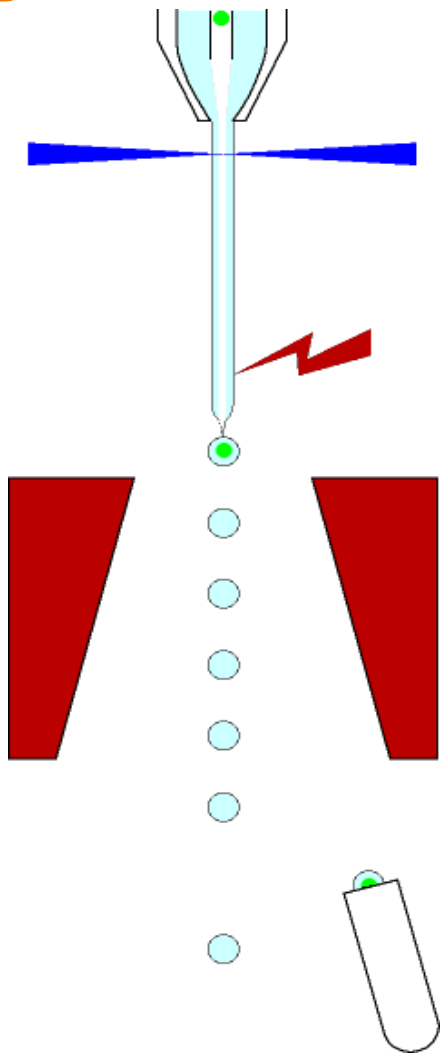
电子偏转分选原理

1 检测

2 充电

3 偏转

4 收集



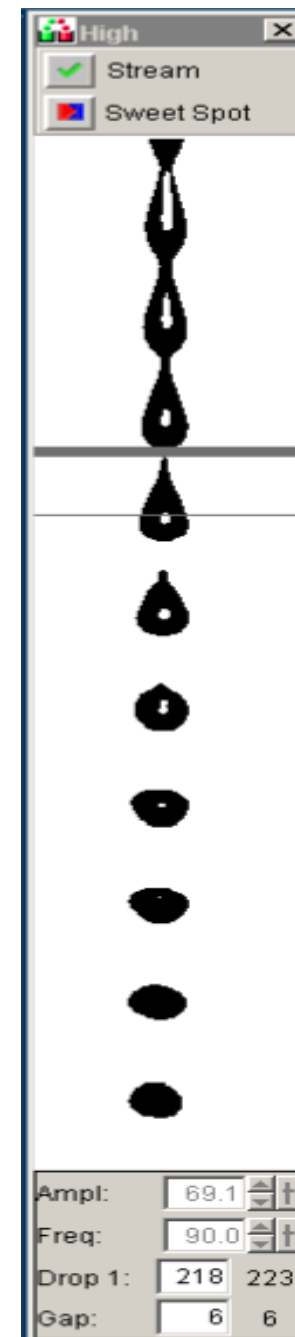
分选的对象是液滴

分选第一步

前提条件：液流稳定

当液流从喷嘴中喷出后，在电磁传感器产生的高频振荡下，形成稳定的液滴。

即液流的断点始终维持在一个固定的位置



液滴
断点

Sweet Spot自动监控功能

- 液滴断点监测窗口
- 振幅自动调节，维持断点稳定
- 阻塞报警，分选仓关闭，保护分选样本不受污染，实现无人看管分选



AriaII 推荐的分选条件

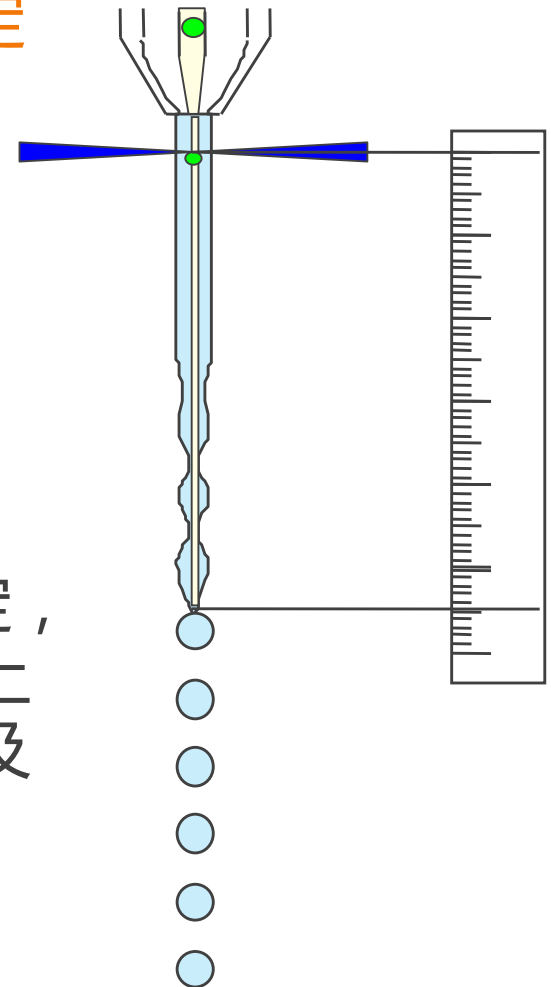
Table 3-2 Default Sort Setup values

Setting	70 micron	85 micron	100 micron	130 micron
Sheath Pressure	70	45	20	10
Amplitude	60	32	12	24
Frequency	87	47	30	12
Drop 1	150	150	150	150
Gap (upper limit)	6 (14)	7 (17)	10 (21)	12 (21)
Attenuation	Off	Off	Off	Off
Drop Delay	47.00	30.00	27.00	16.00

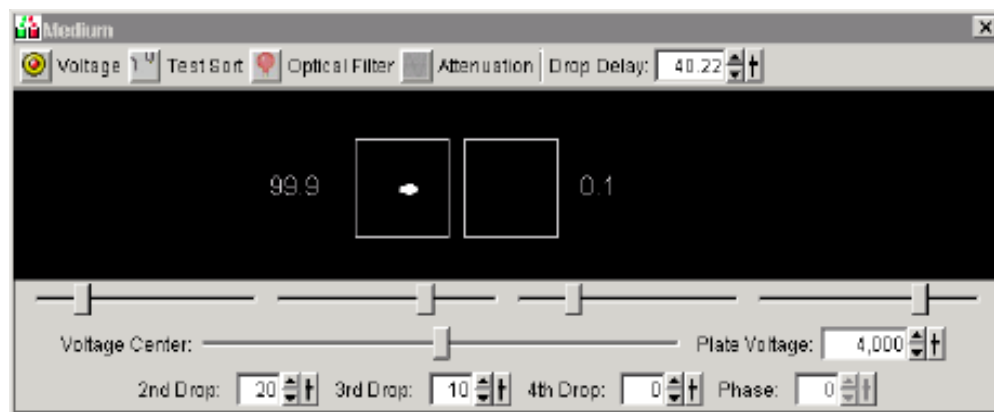
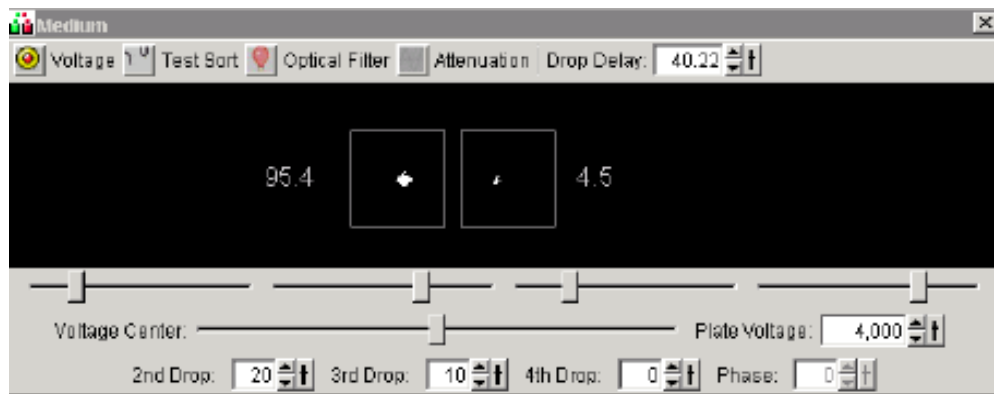
分选第二步

必要条件：准确加电----Drop delay的确定

- **定义**：Drop delay即液滴延迟时间，指细胞通过检测区到液滴分离的间隔时间
- **意义**：Drop delay如果能够被精确确定，就可以保证包裹细胞的液滴表面不会充上相反的电荷，从而实现最高的分选纯度及细胞得率。



BD专利Accudrop技术

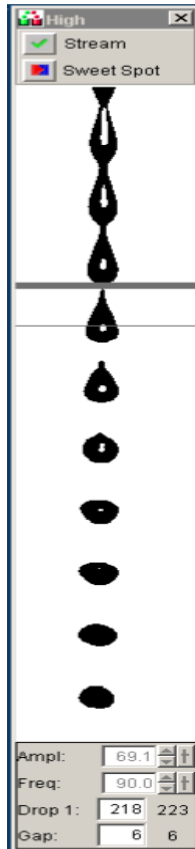


- 预先分选Accudrop荧光微球
- 自动准确设置最佳液滴延迟时间
- 无需手动调节，减少人为误差
- 保证实验的分选纯度和得率

如何保证高质量的流式分选？

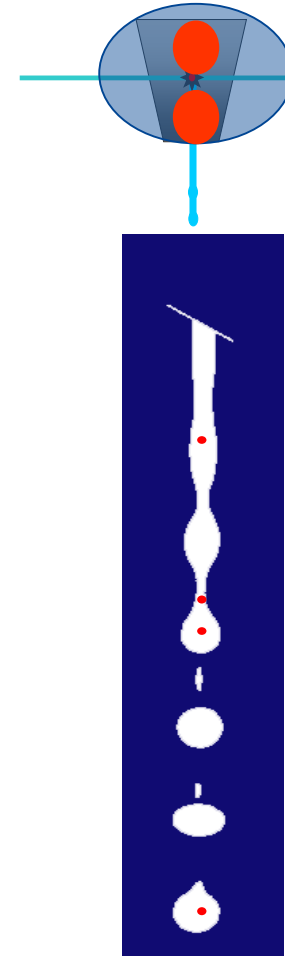
- Good Purity
- Good Viability and Functionality
- Good Recovery
- High Speed

Good Purity



前提条件1：液流稳定

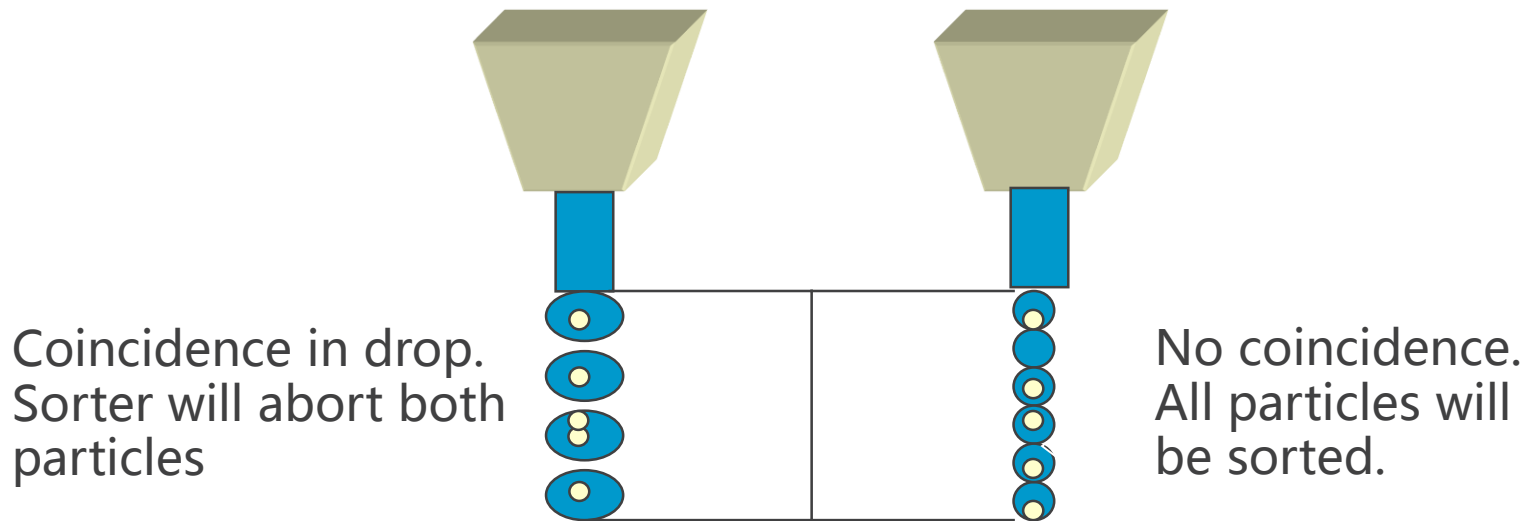
必备条件2：准确加电



偶发事件

Good Recovery

降低偶发事件的几率可以相应提高回收率



Coincidence can be minimized by increasing the number of drops/second generated (drop drive frequency)

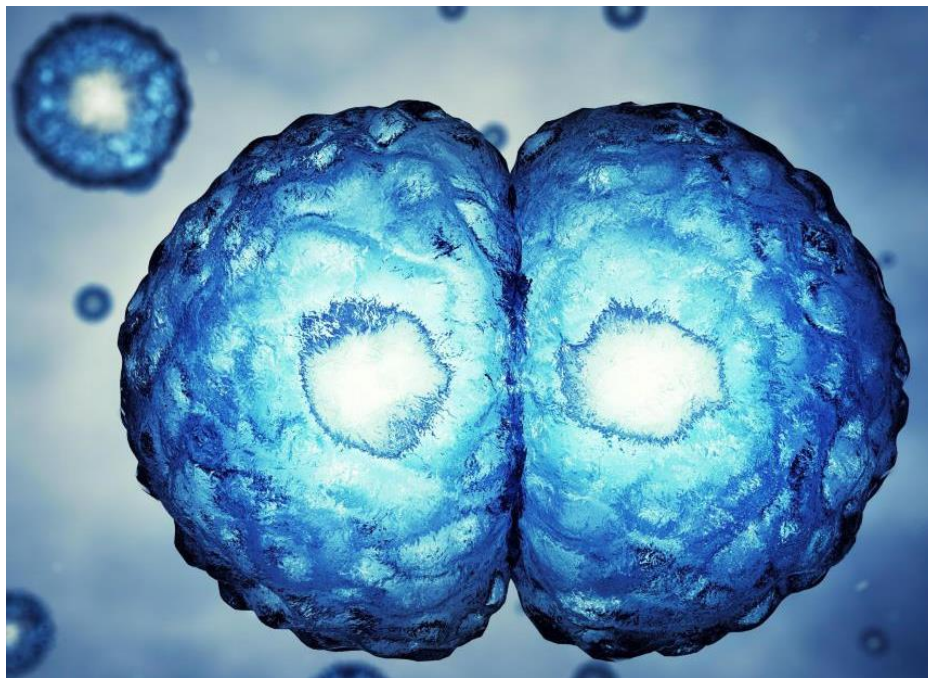
Good Viability

1、细胞本身

2、分选系统

- 喷嘴大小
- 鞘液压力
- 振荡频率
- 上样速度

3、管路洁净度



Sort Fast /High Speed

从90年代开始，**高速分选**这个词就成为一个常常被提起的词汇。科研人员总是希望分选速度能够快一点，这样更有利于分选稀有的细胞。但是，绝大多数的研究人员对流式技术来说都没有足够的知识和经验，并不了解或忽略了一个**基本的事实**：- **速度越快，得率越低。**



这个基本事实适用于所有的通过液滴分选的流式细胞分选仪，因为他们都是用相同的物理学原理

高速分选的影响因素：

- 振荡频率 (Drop Frequency) Hz
- 鞘液压力 (Pressure) PSI
- 喷嘴大小 (Nozzle) μm
- 上样速度(Sample Flow Rate) events/sec

1 振荡频率

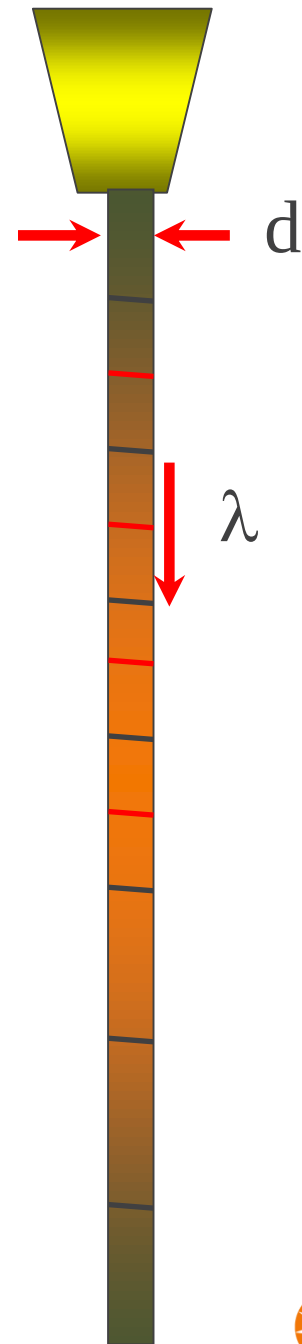
- 形成稳定液滴的条件：

$$\lambda = 4.5 d$$

- 最佳的液滴振荡频率：

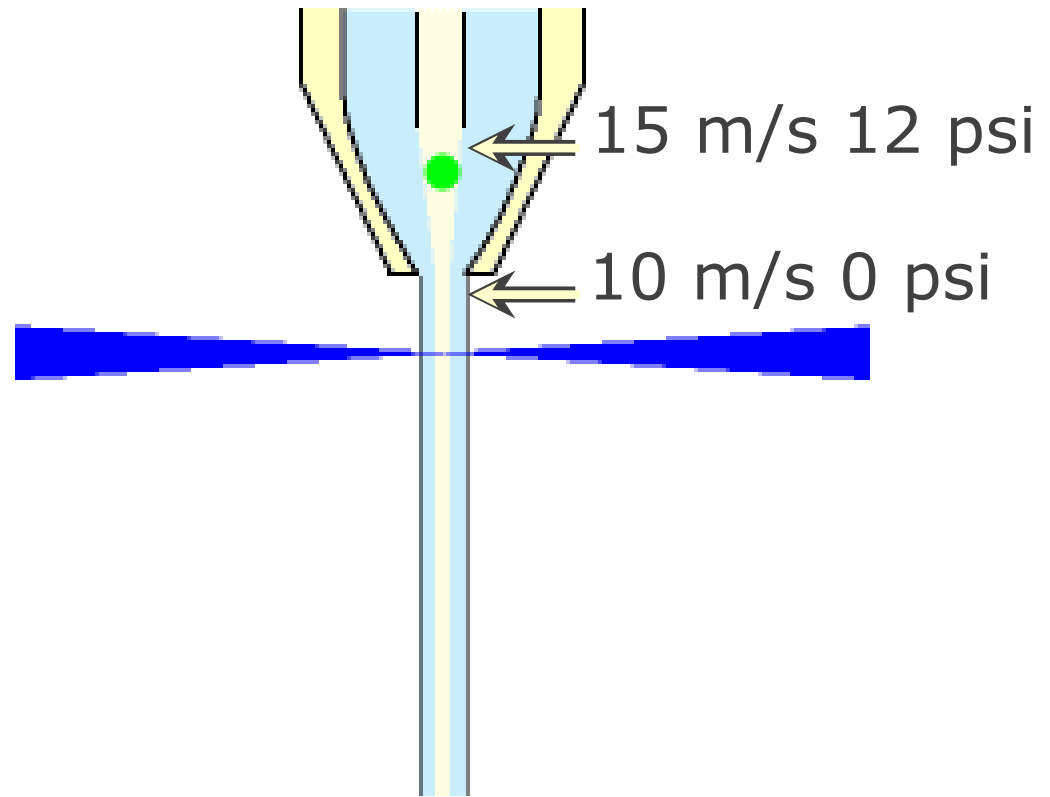
$$f = v / (4.5 d)$$

- 频率越快，分选速度越快
- PSI和 nozzle一定时, 频率相对固定
- 最佳振荡频率——形成稳定液滴

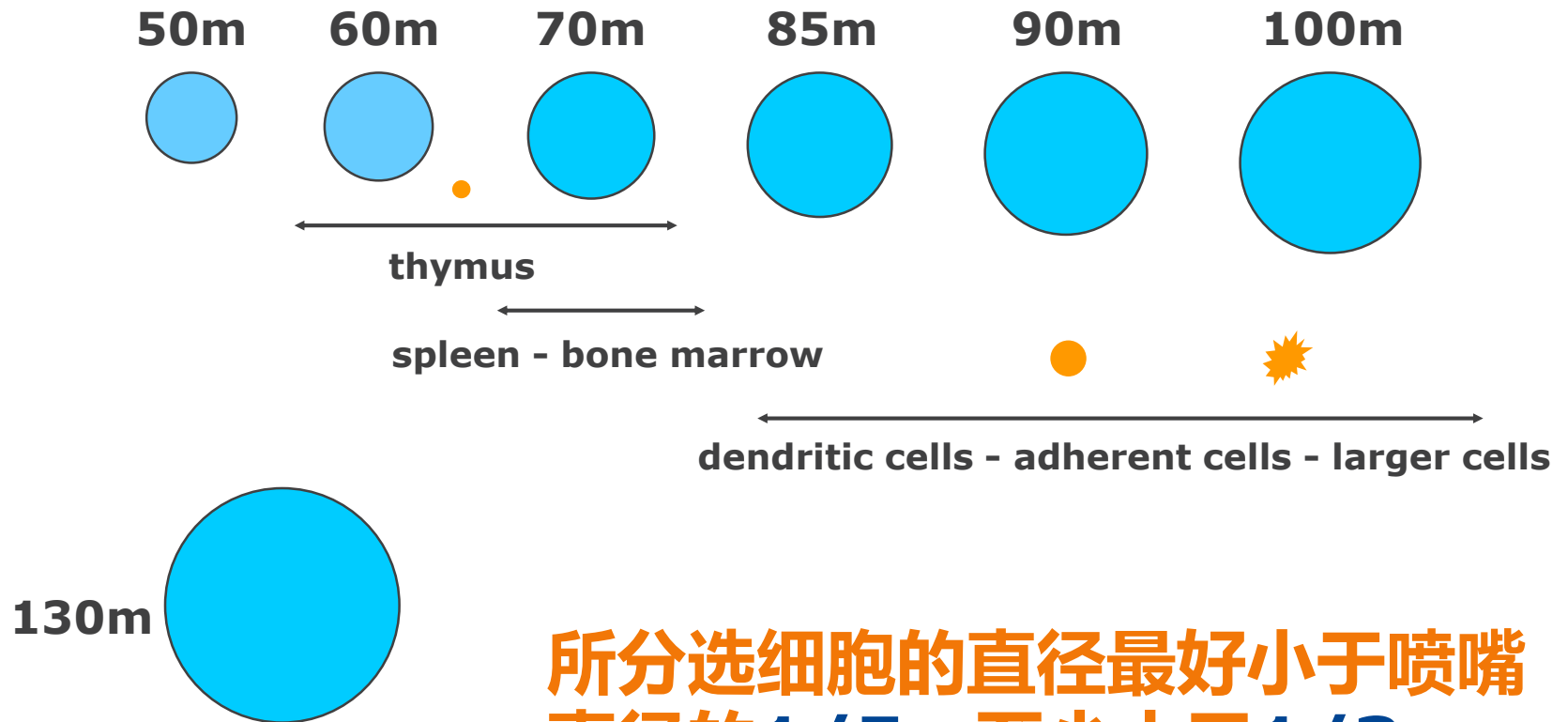


2 鞘液压力

鞘液压力越大，分选速度越快；但对细胞活性的影响也越大。



3 喷嘴大小



所分选细胞的直径最好小于喷嘴直径的**1/5**，至少小于**1/3**。

4 样本流速

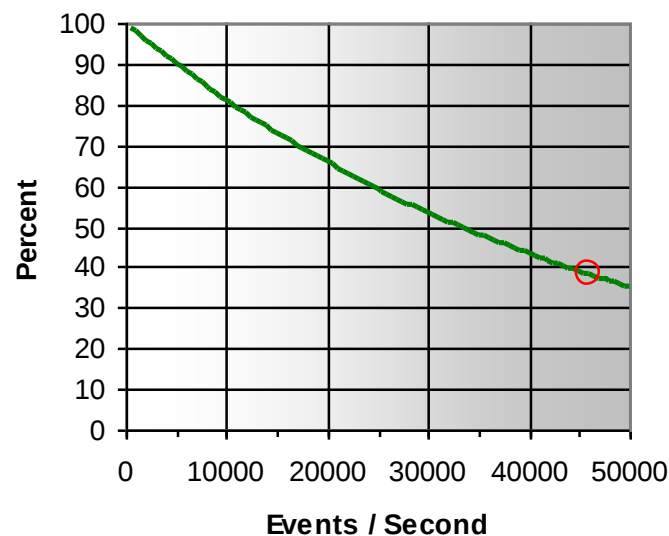
样本流速与细胞回收率之间的关系一定符合Poisson分布的原则。

这个物理学原则不可能被任何分选仪所突破。

70000 e/s 的分选速度对客户有多少实际意义呢？

物理学原理所得到的基本事实：- 速度越快，得率越低。

Yield: Sorting 1 %- Mask: 32



实际实验过程中：有经验的操作人员，在满足我们实验分选要求（高纯度、高活性、高回收率）的前提下，才会适当追求高的分选速度

Thank you!

