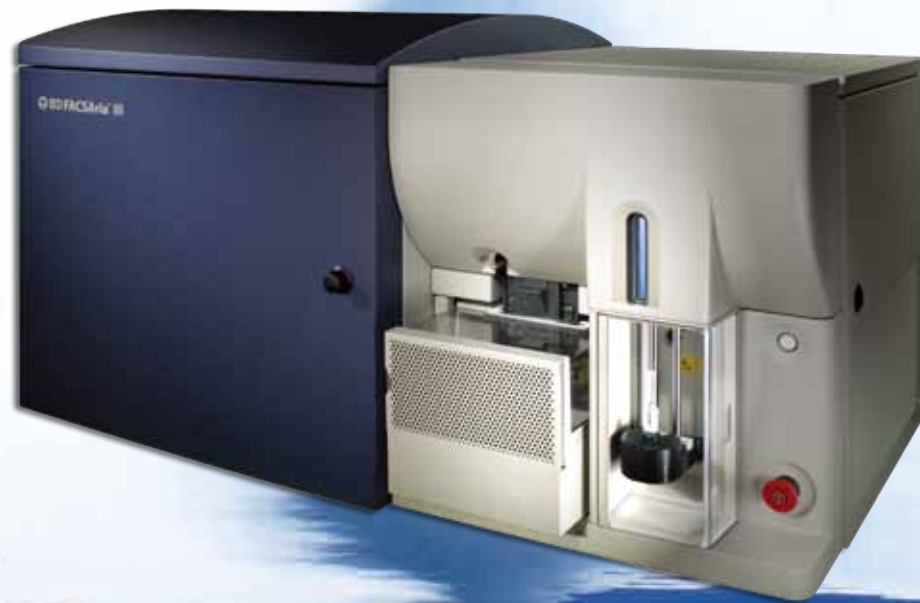


BD FACSAria 操作手册



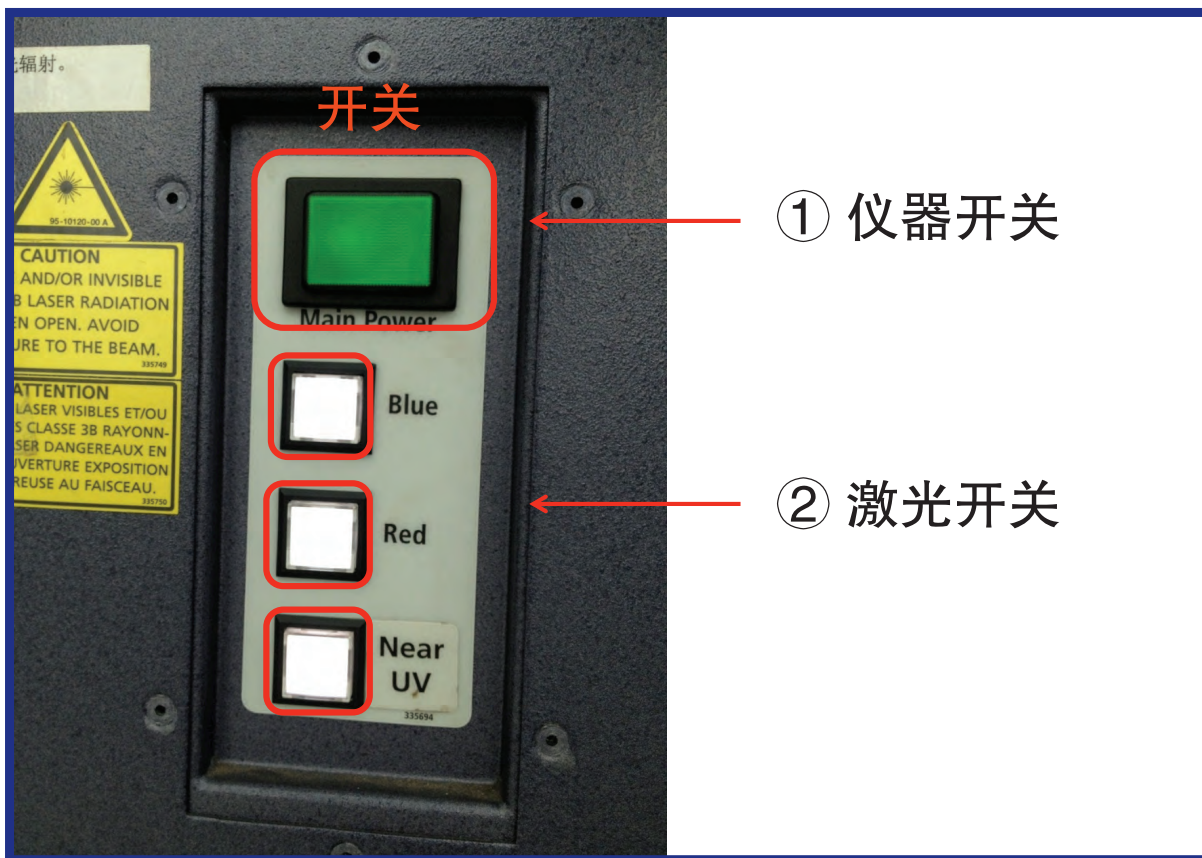
帮助人类健康生活
Helping all people live healthy lives

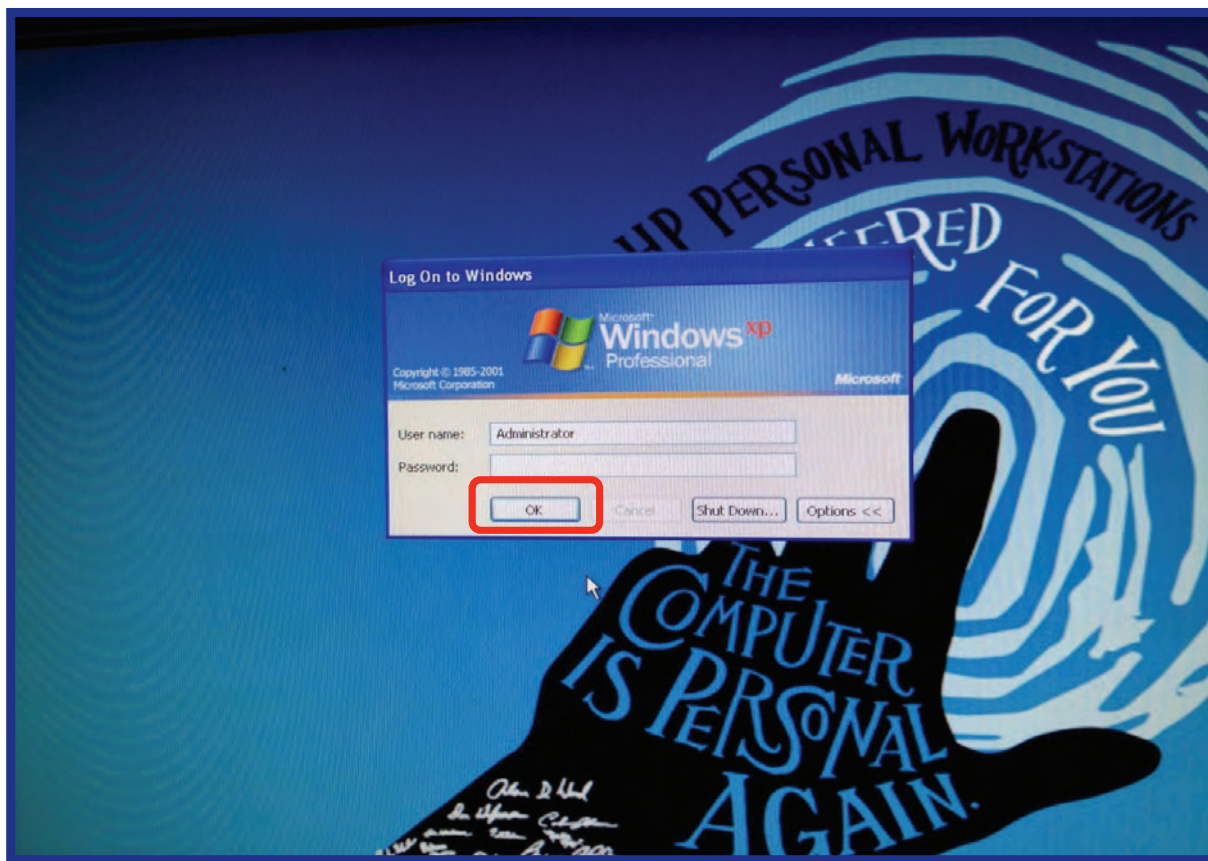
目 录

一、开机	3
二、液流启动	11
三、CS&T 仪器性能状态自动监控	27
四、双色试验样本获取和分析	45
五、自动调节补偿	67
六、流式分选	81
七、液滴延迟	85
八、分选人外周血 CD3 ⁺ CD8 ⁺ 细胞	95
九、关机	103
十、无菌管路制备	117

开机



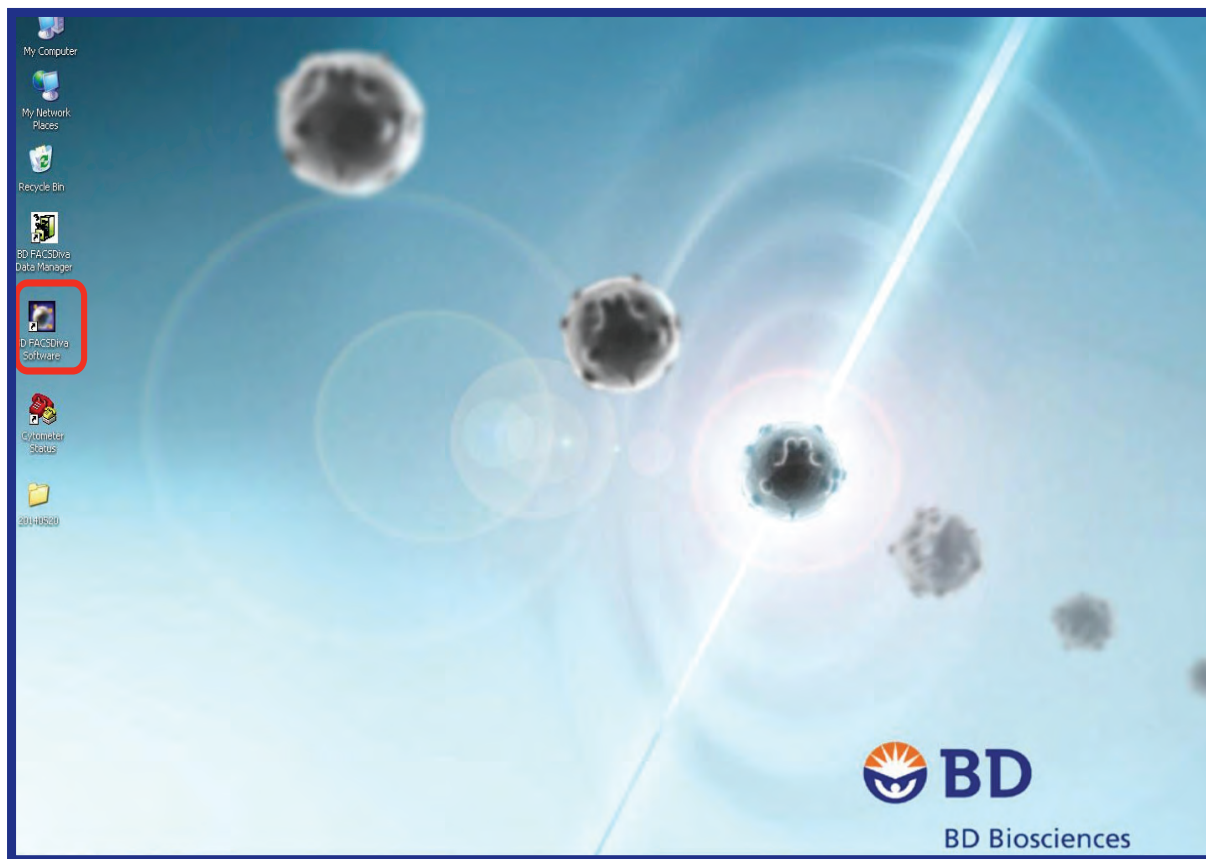




启动计算机

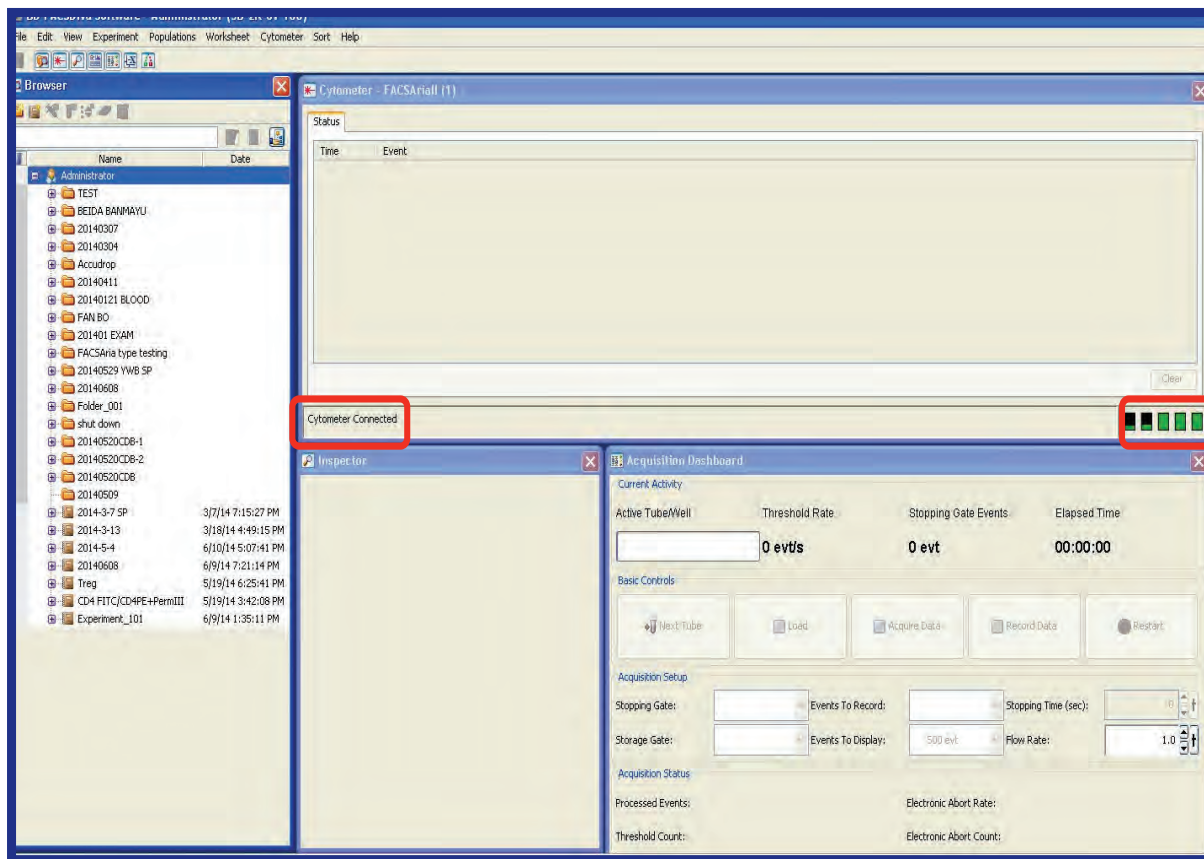
输入密码: BDIS (大写)

点击 OK



双击运行 FACS Diva
软件



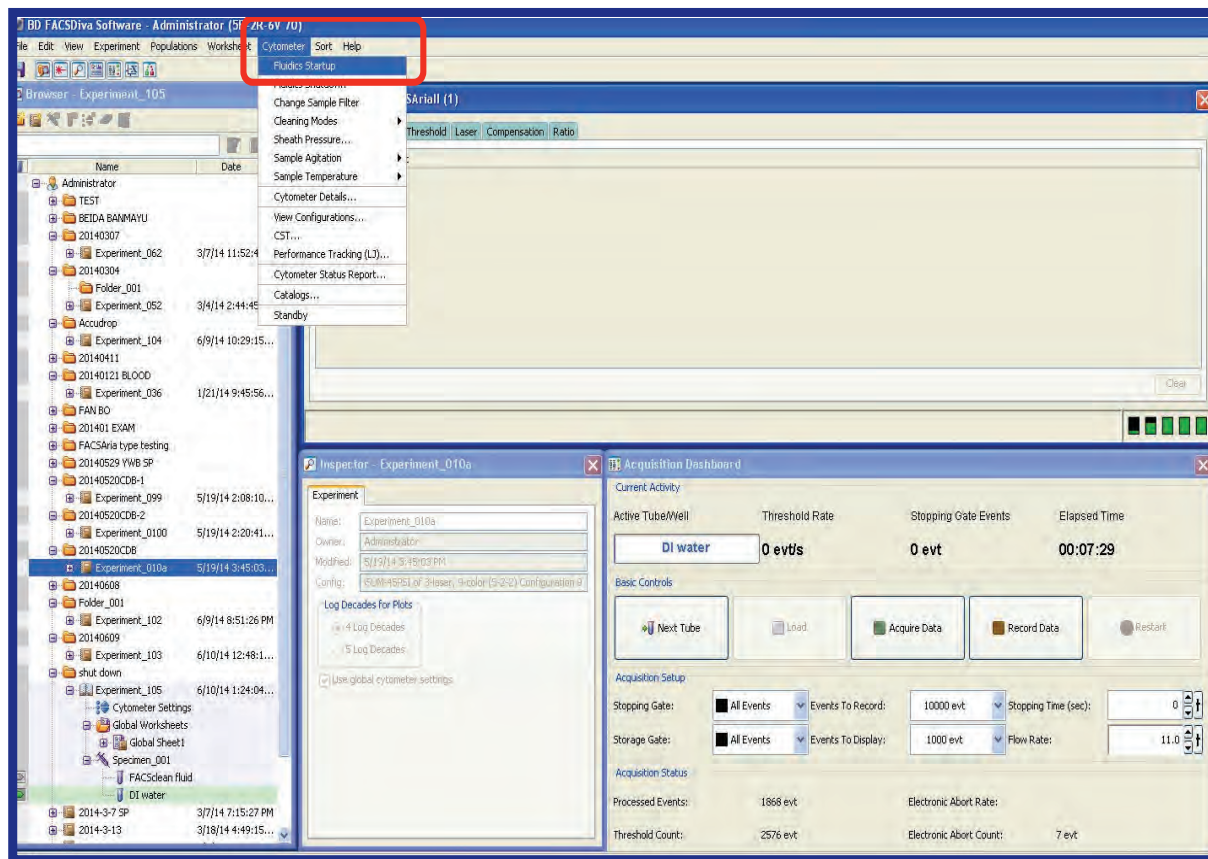


确认软件已经和仪器
相连接即 Cytometer
Connected

从左往右：

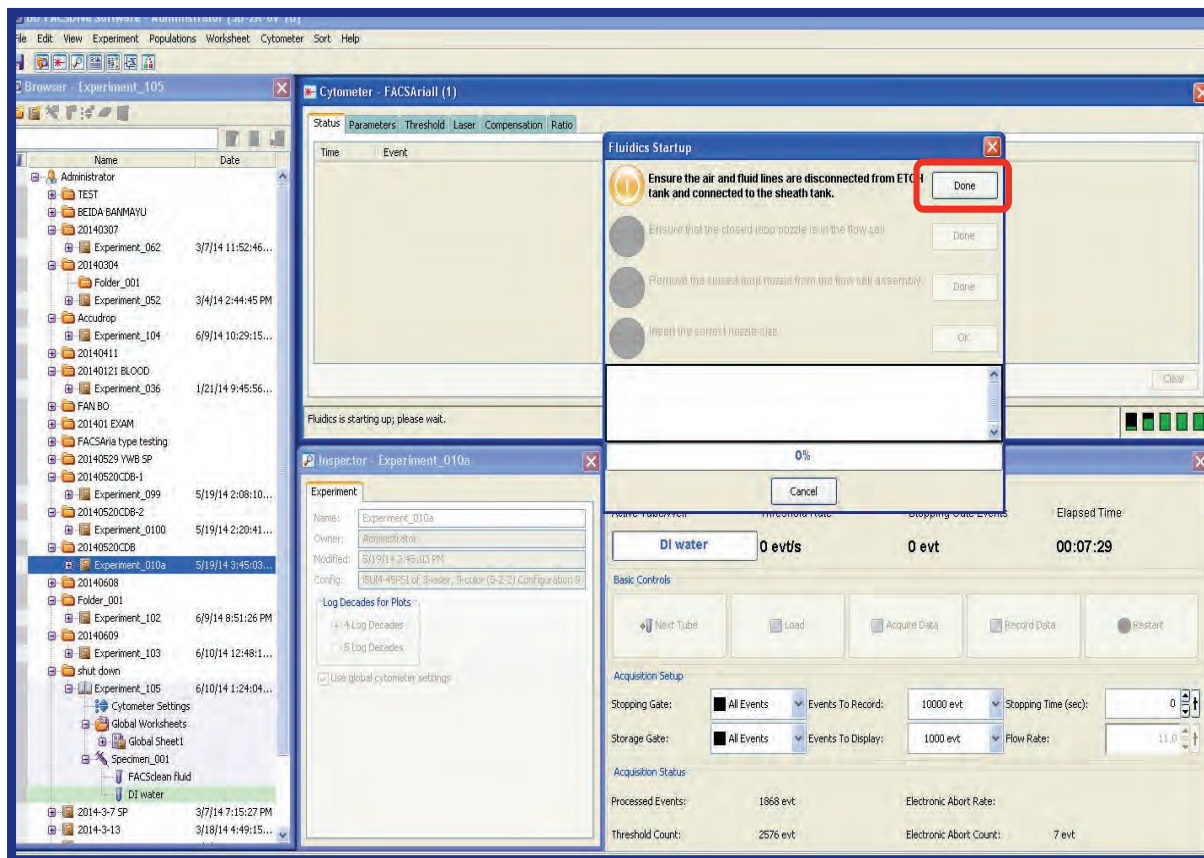
Sheath	鞘液
waste	废液
DI	去离子水
Bleach	清洗液
Ethanol	乙醇

液流启动

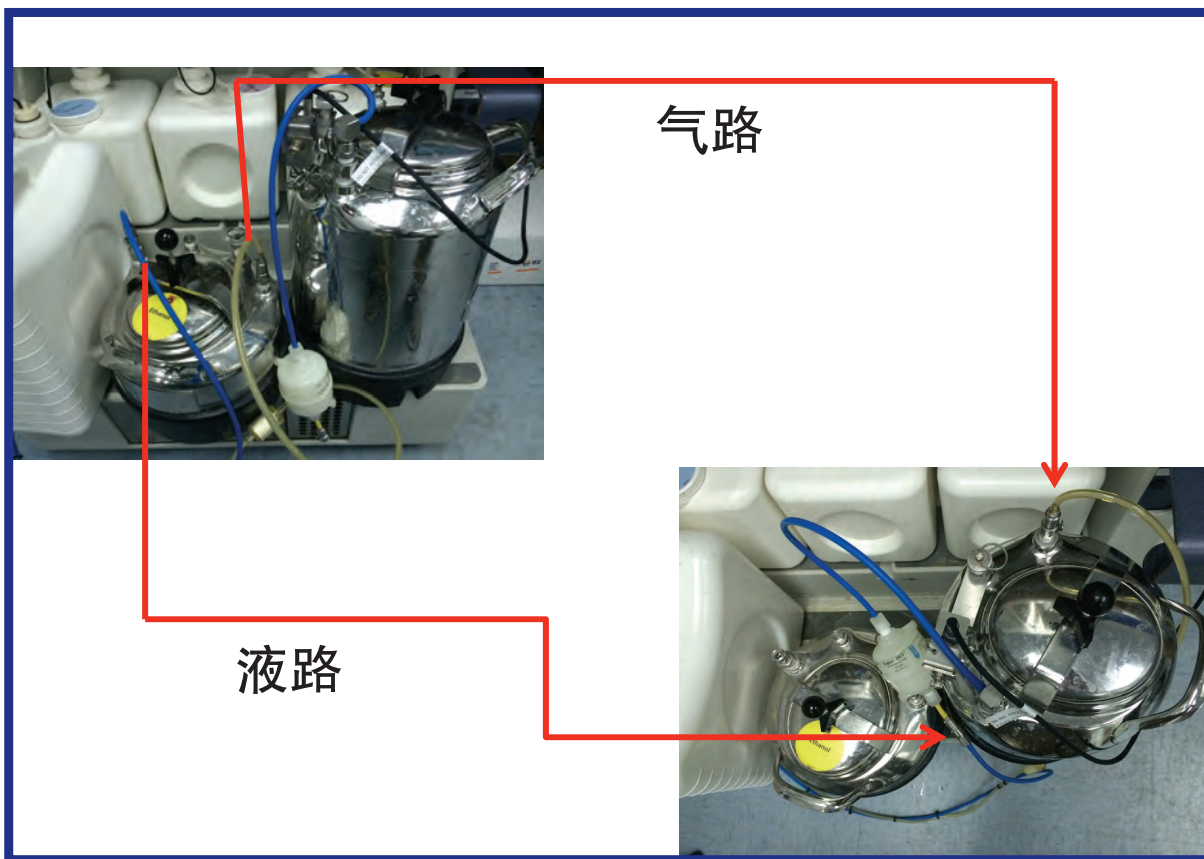


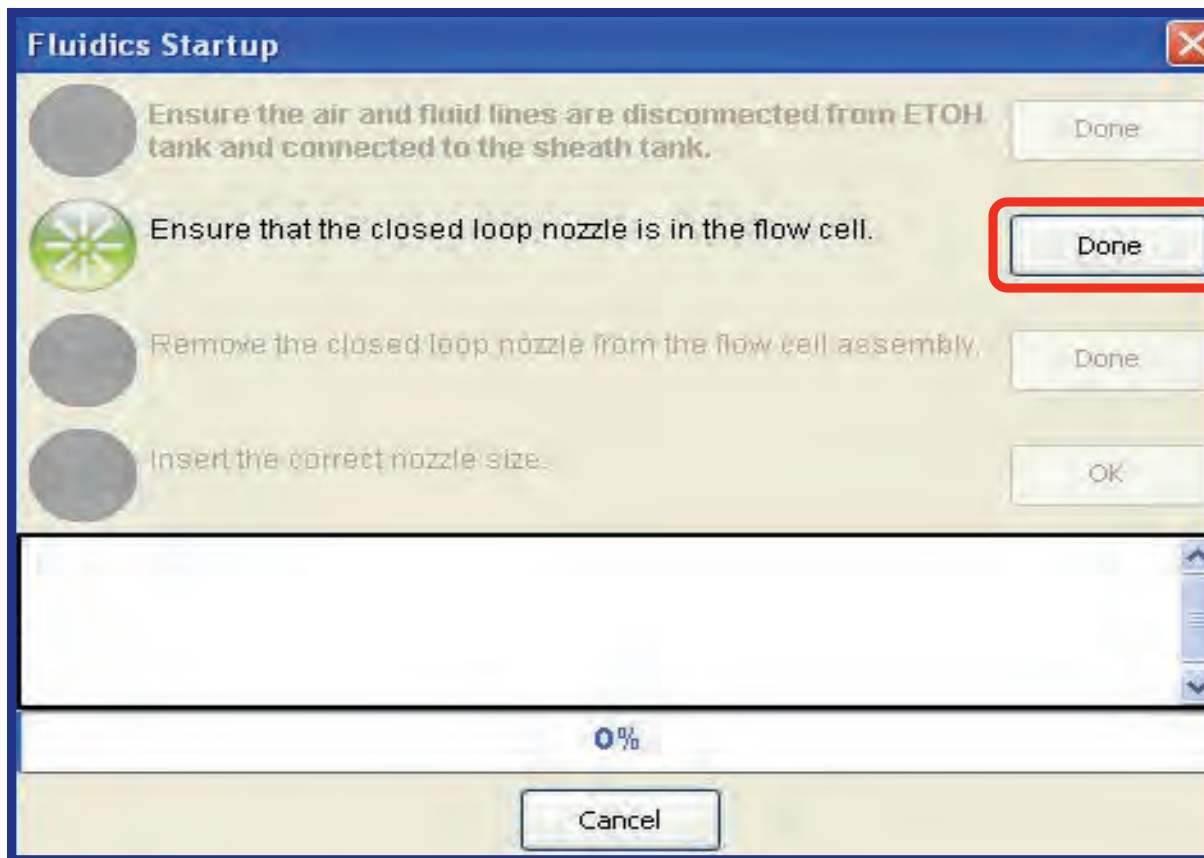
在 FACSDiva 软件的
Cytometer 菜单中，
选择 Fluidics Startup
选项

按窗口提示步骤进行
操作



将气路和液路从乙醇关机液桶断开，连接到鞘液桶对应的接口上（已完成），点击 Done



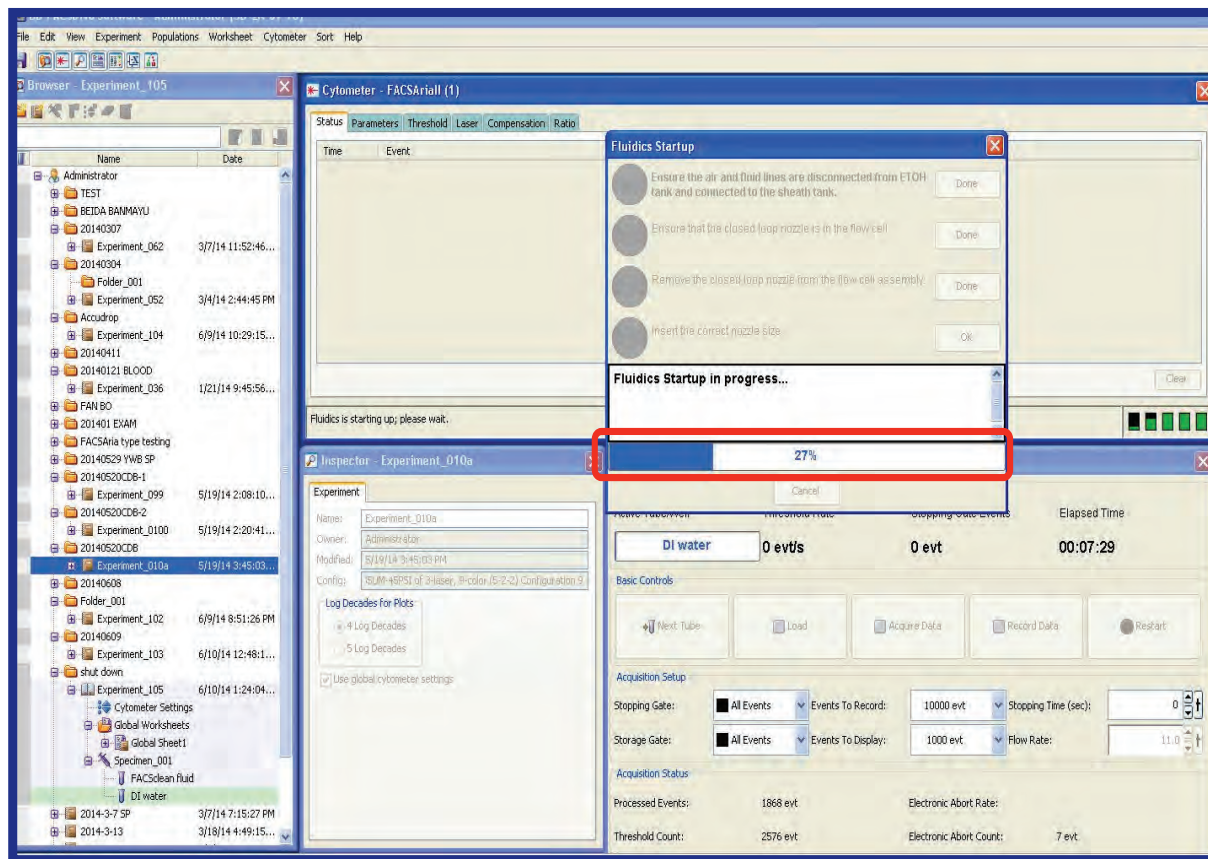


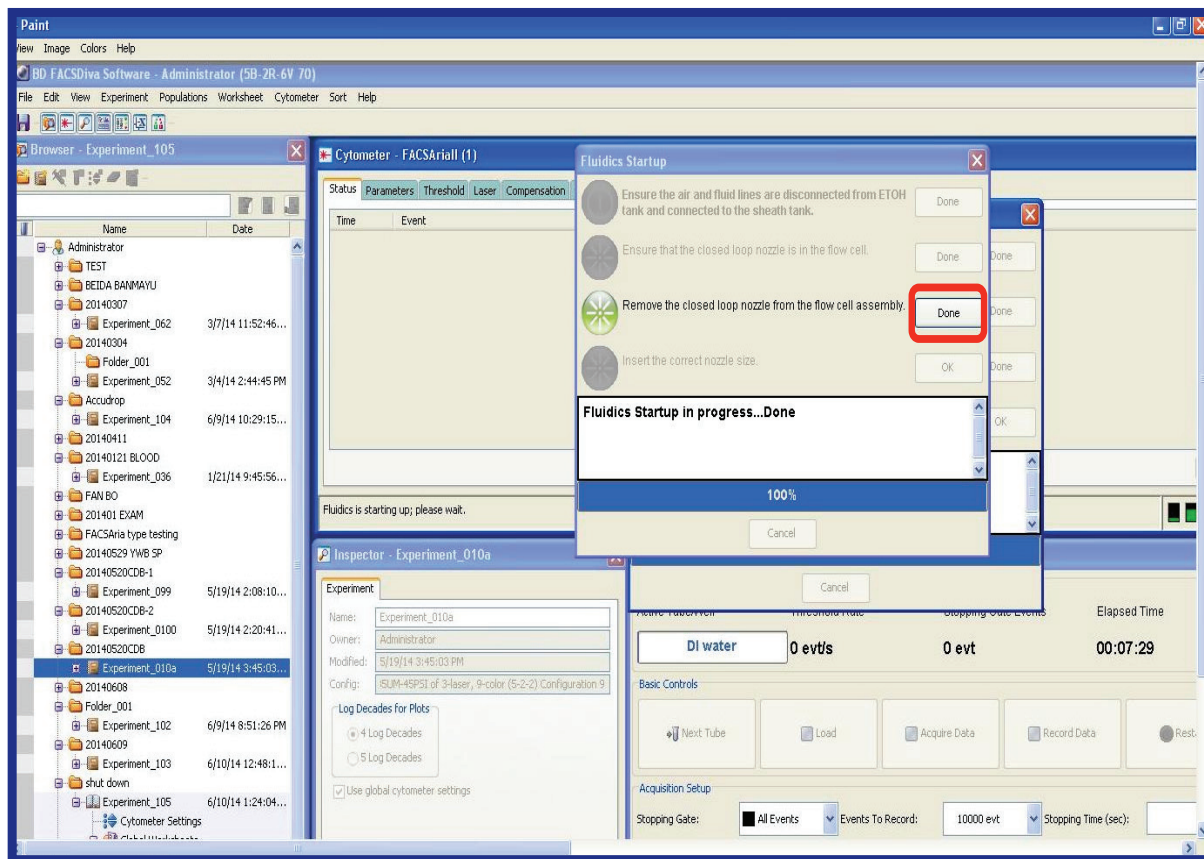
确认装有 O 圈的闭合喷嘴在流动检测池上(已完成), 点击 Done



闭合喷嘴 →

液流启动过程开始，
进程提示显示在对话框
框底部

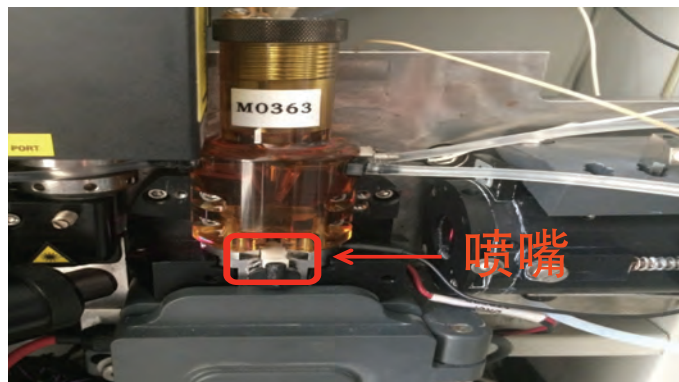




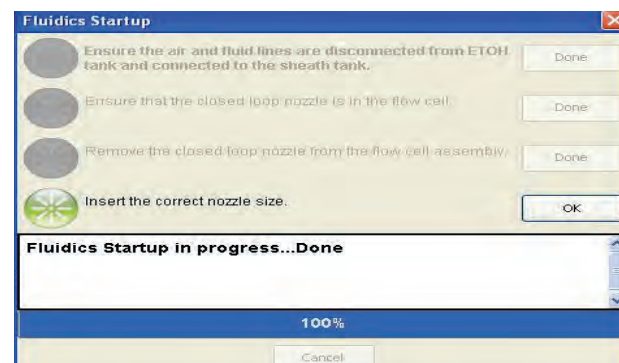
从流动室上取下闭合
喷嘴 (已完成), 点击
Done

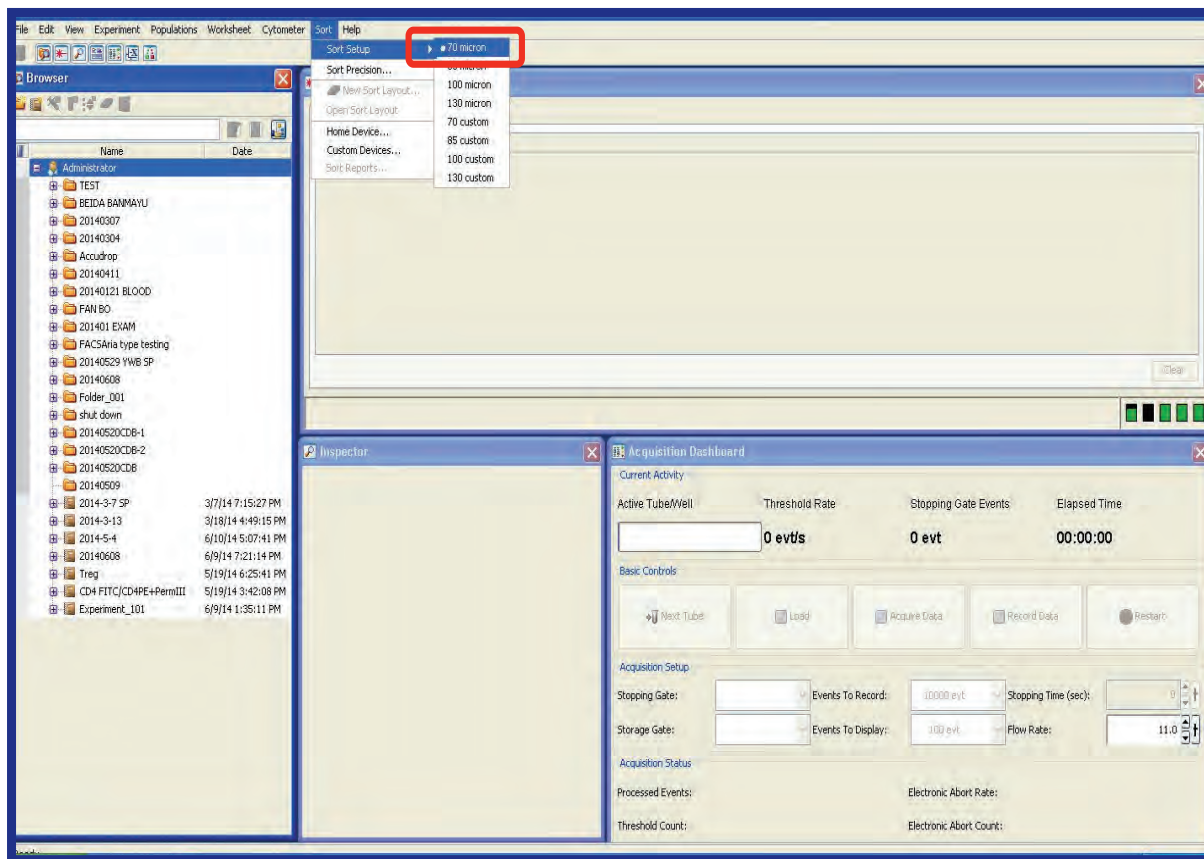


选择合适的喷嘴，装
在盛有双蒸水的流式
管中，在超声仪超声
1min

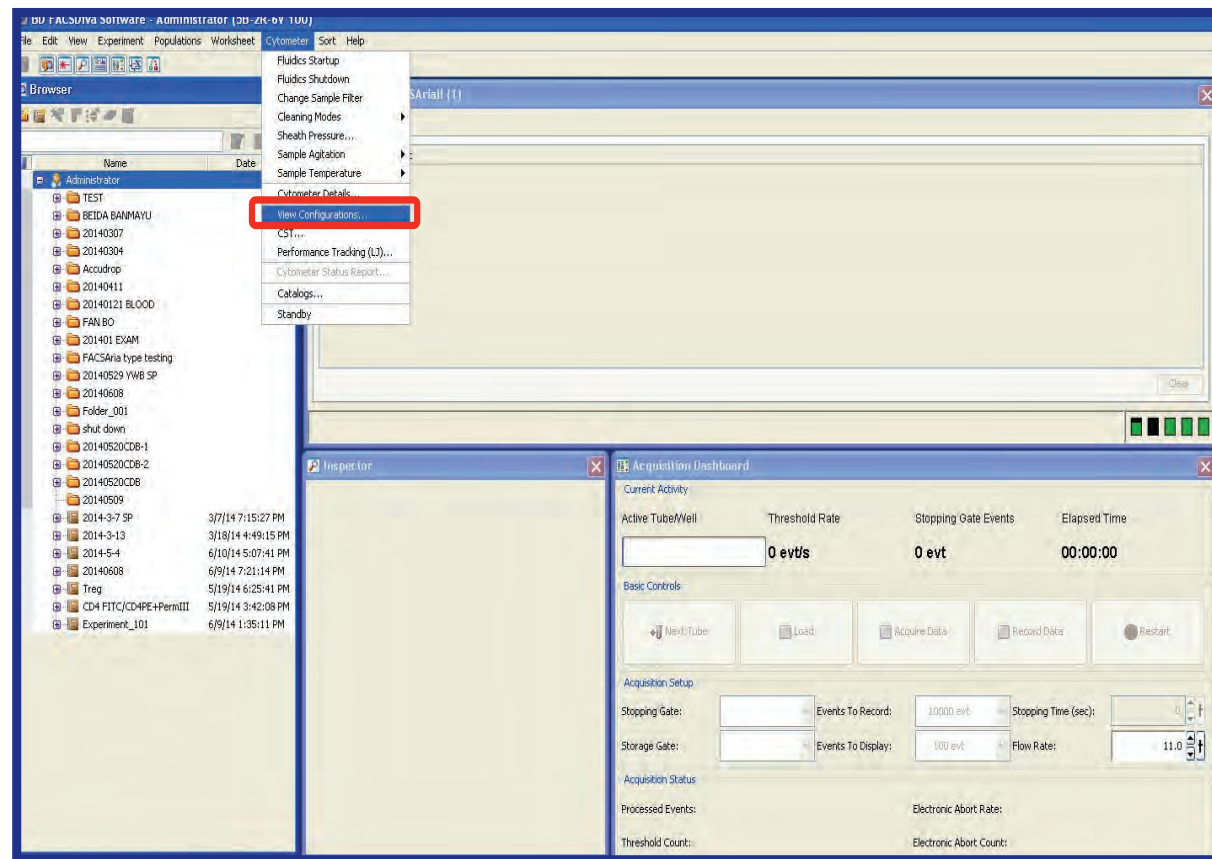


安装超声好的喷嘴 (已完
成)，点击 OK，完成整个
液流启动

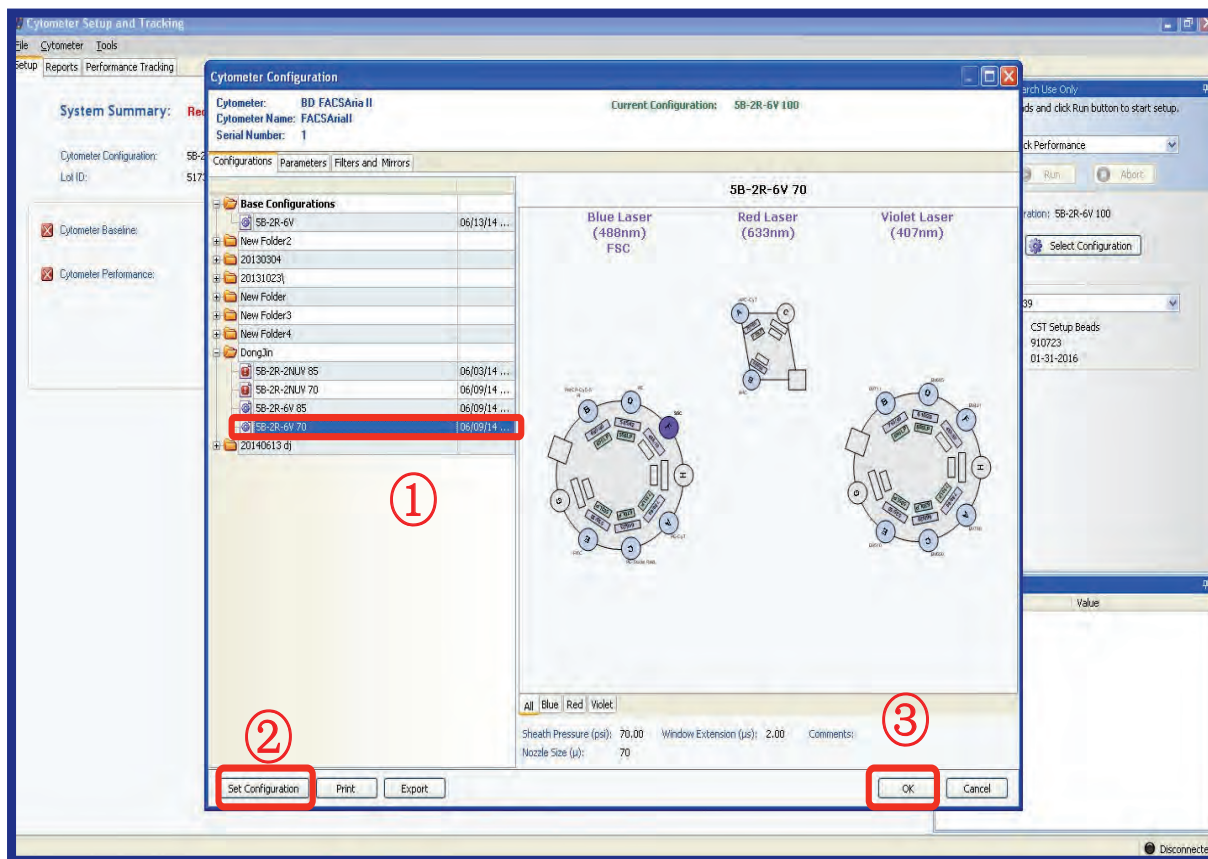




液流启动完成后，在 Sort 菜单中选择 Sort Setup 选项，确认设置模式与喷嘴口径相匹配



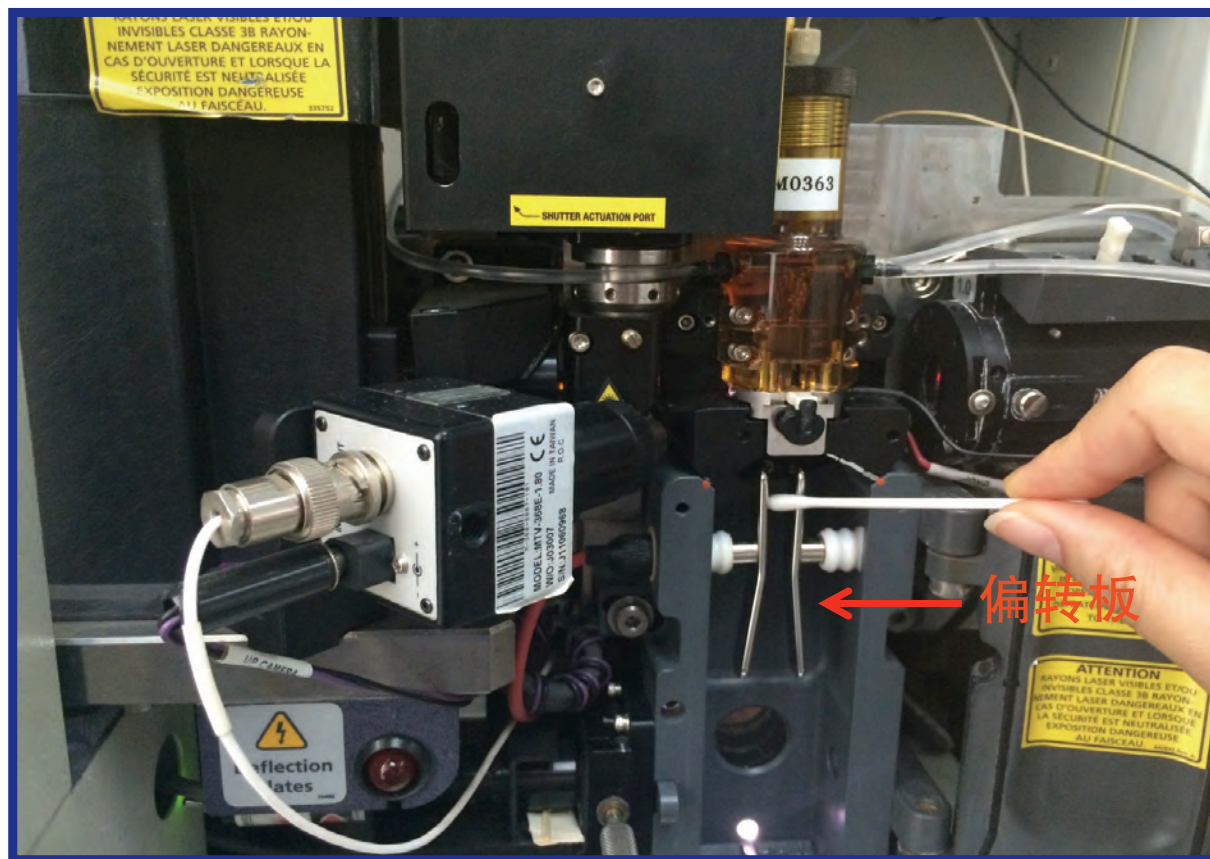
在 Cytometer 菜单中选择 View configurations



① 选择喷嘴所对应 Configuration 文件

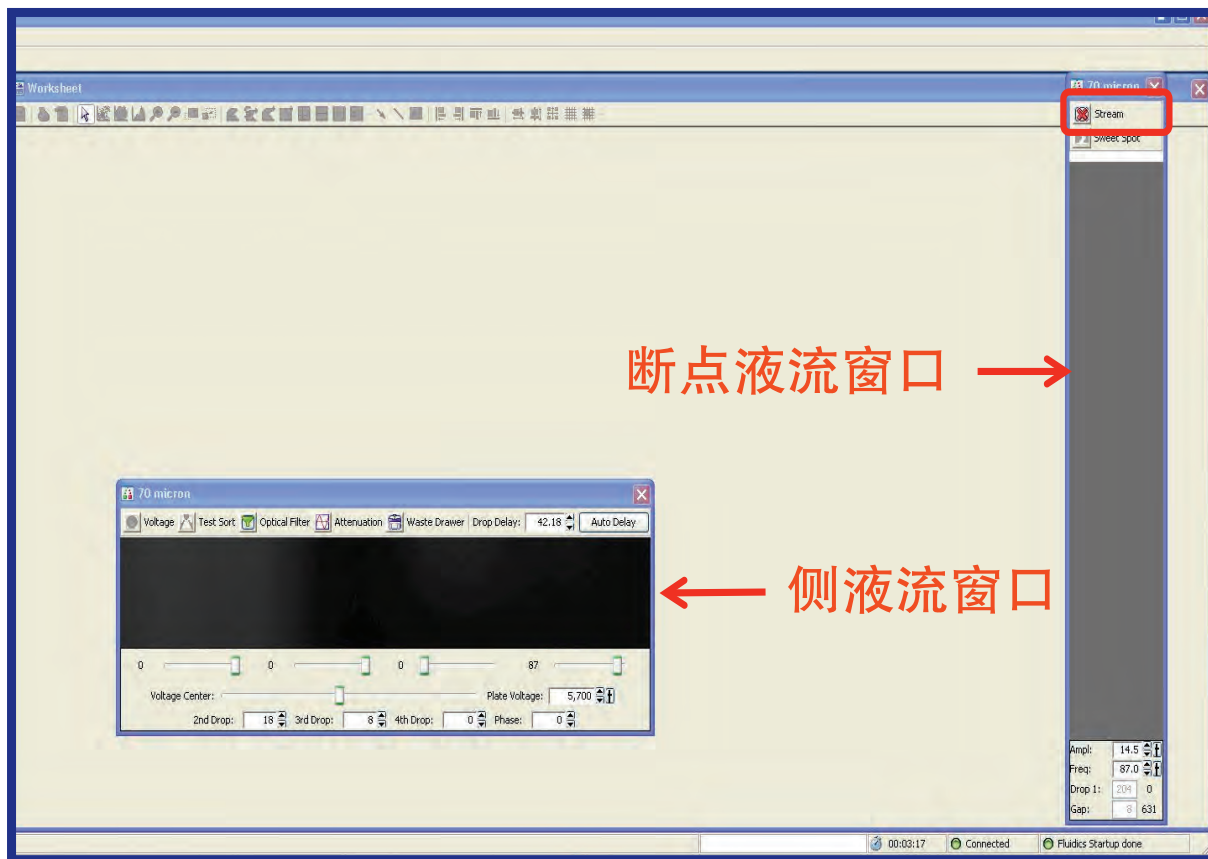
② 点击 Set configuration 按钮

③ 点击 OK



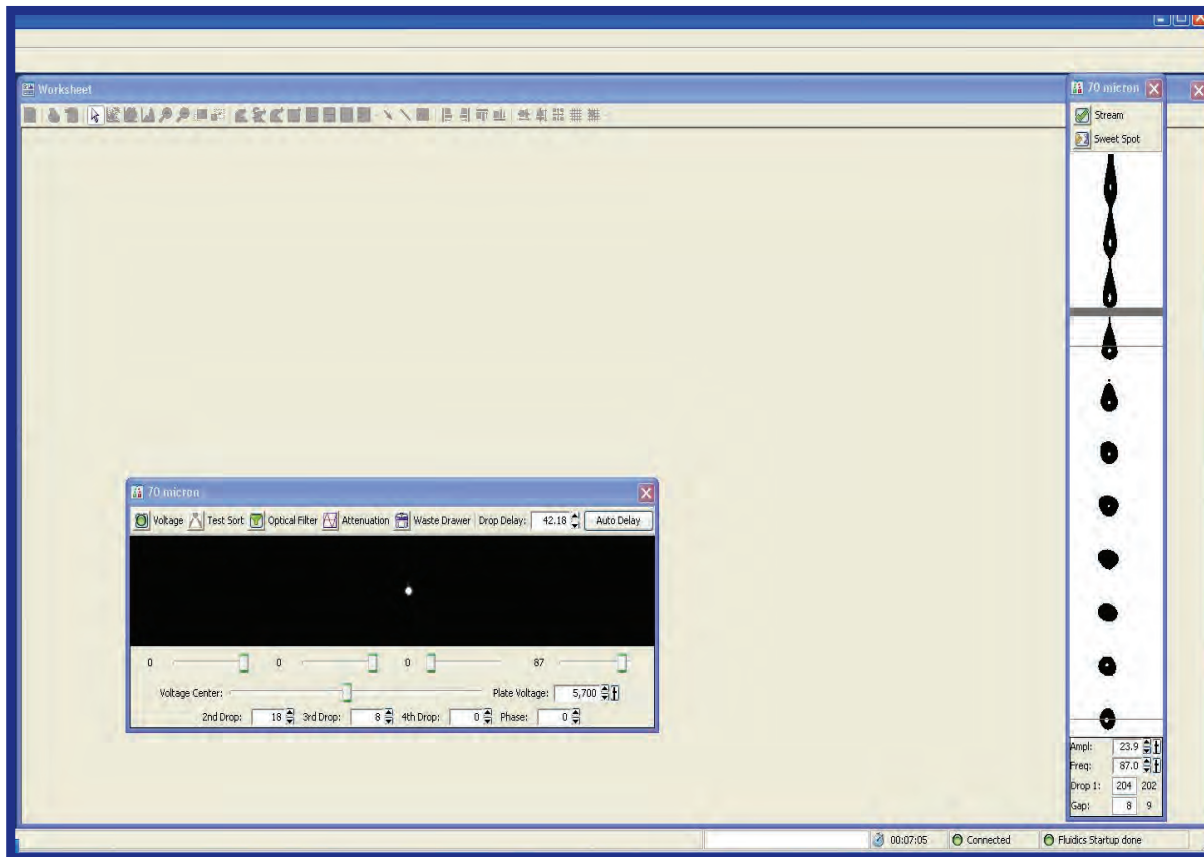
打开流动检测池上盖，打开分选区门

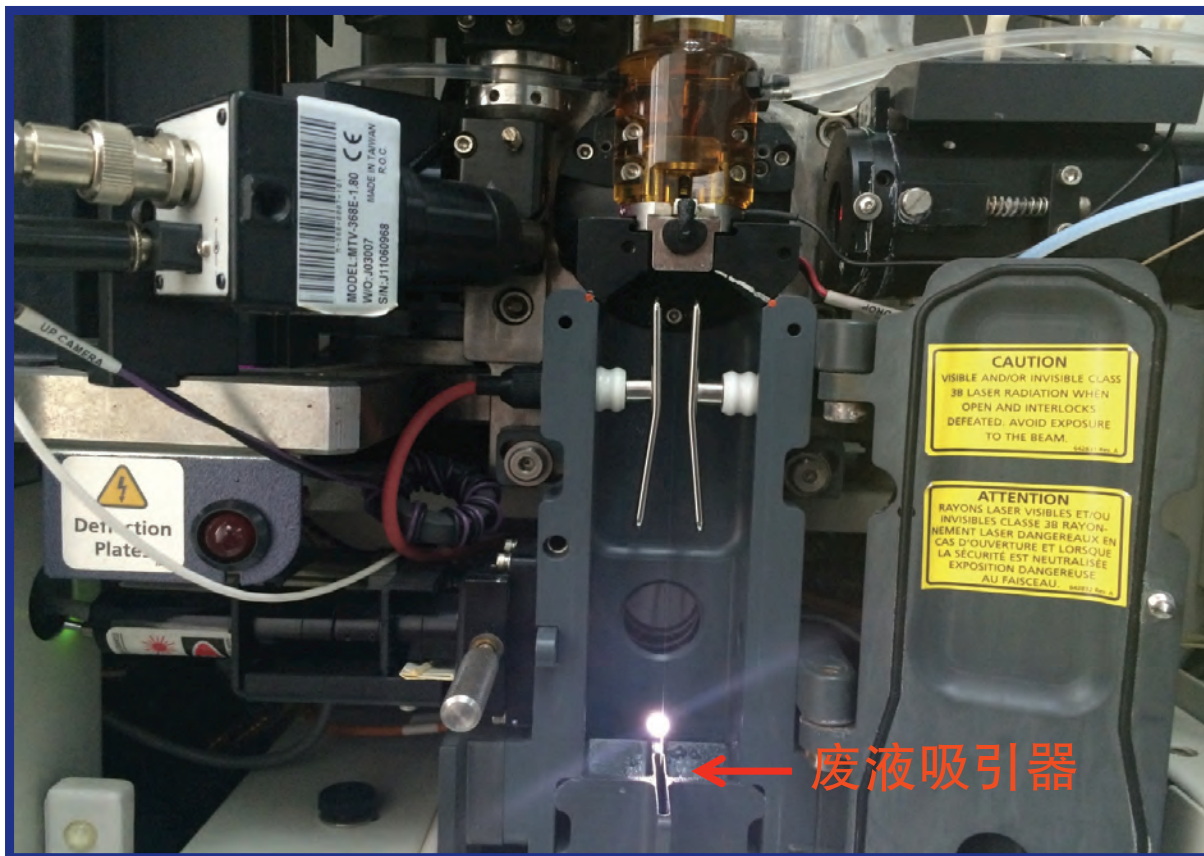
用蘸有蒸馏水的棉签擦拭偏转板，保证偏转板上无盐离子并干燥



点击断点液流窗口中的 Stream 按钮，启动液流

液流启动





确保中心液流位于废液吸引器中间

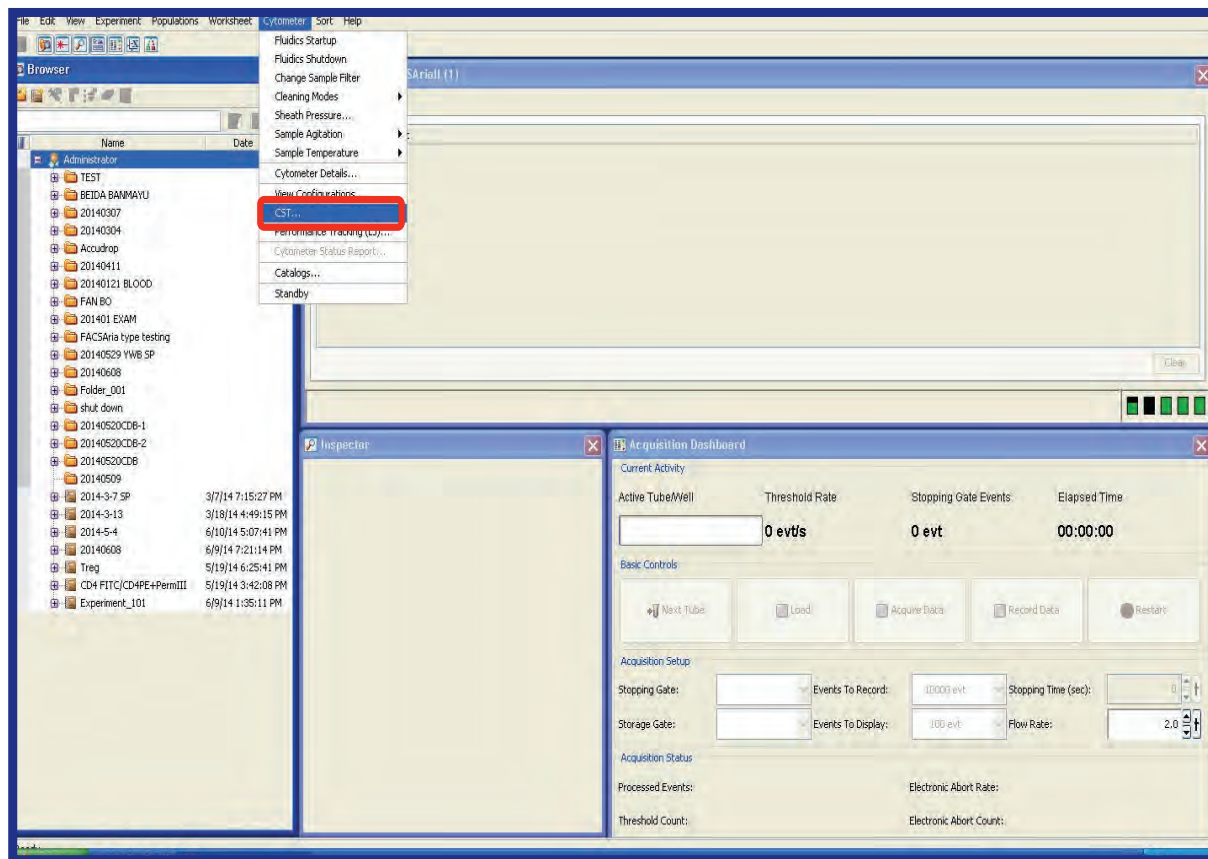
检查断点液流窗口中的液流情况

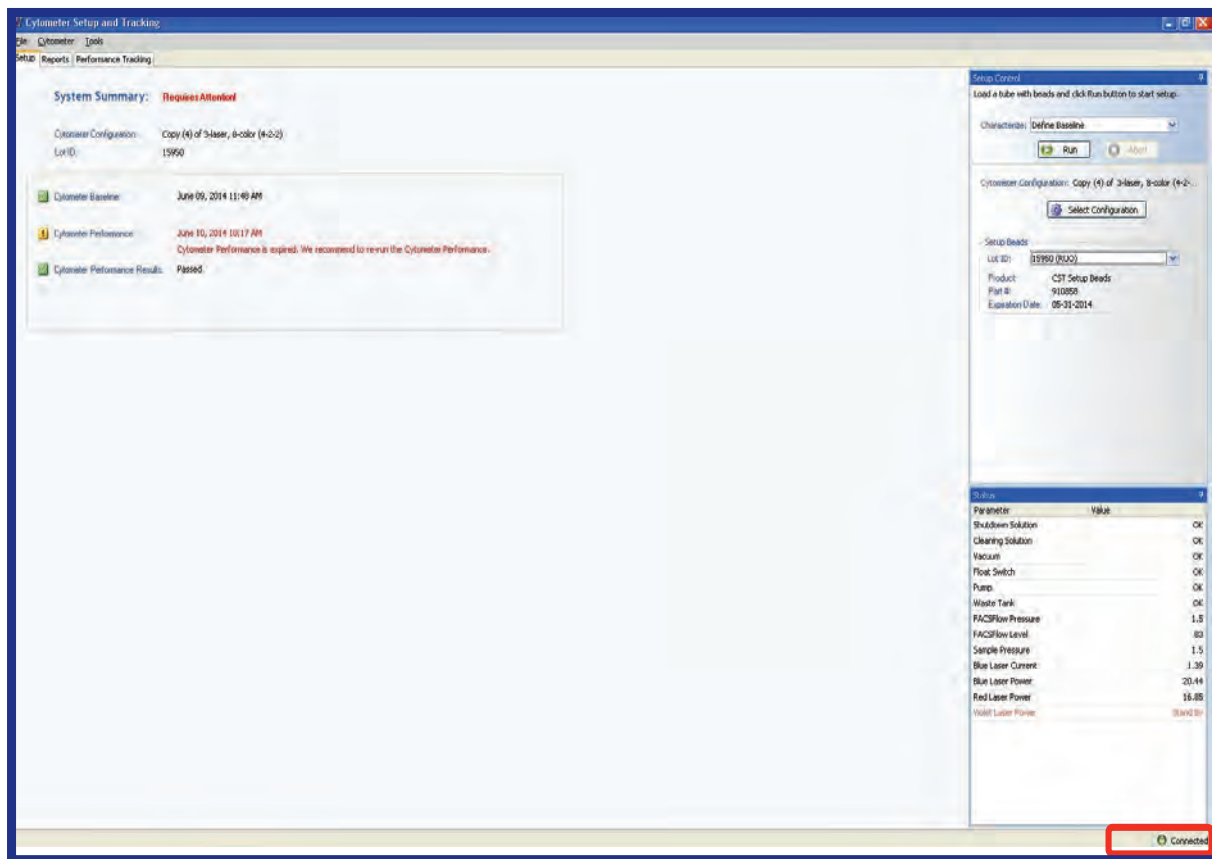
关闭分选区门和流动检测池上盖

CS&T 仪器性能状态自动监控



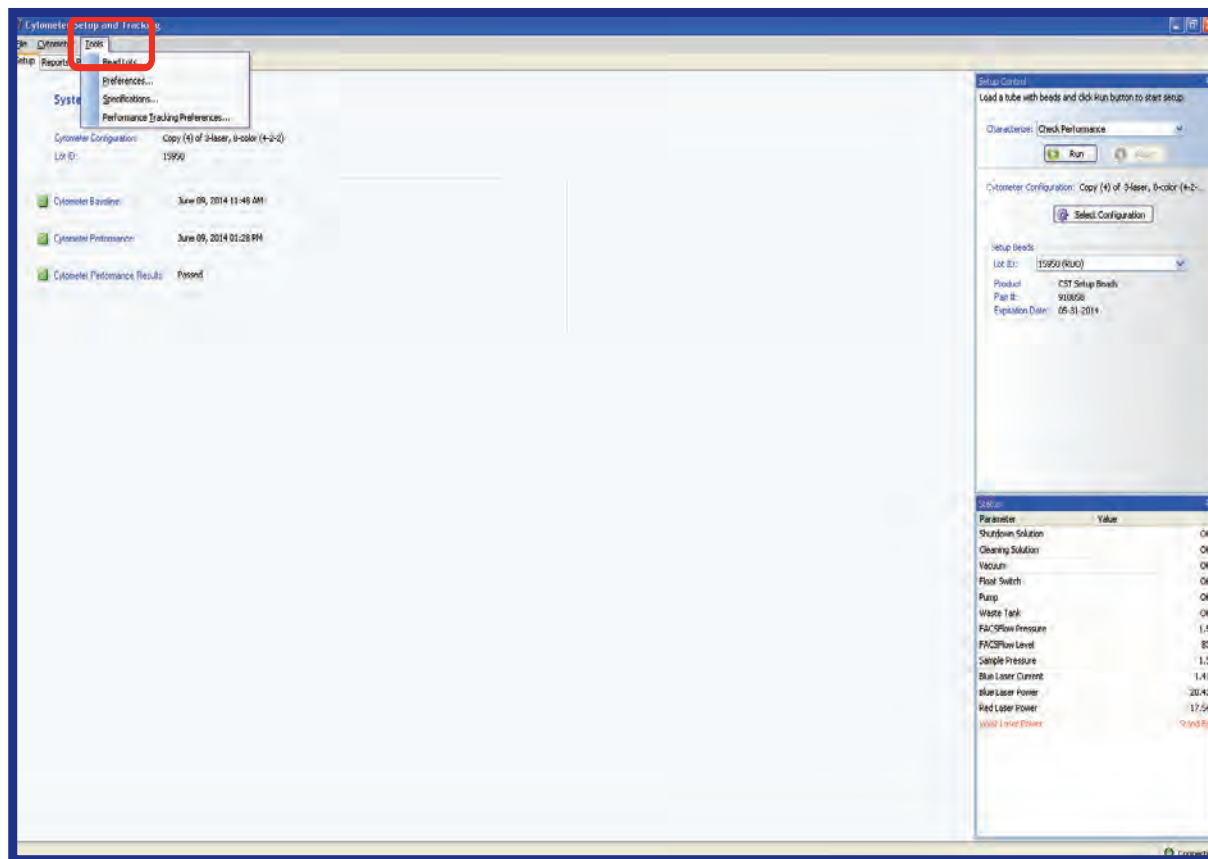
在 Cytometer 菜单中
选择 CS&T



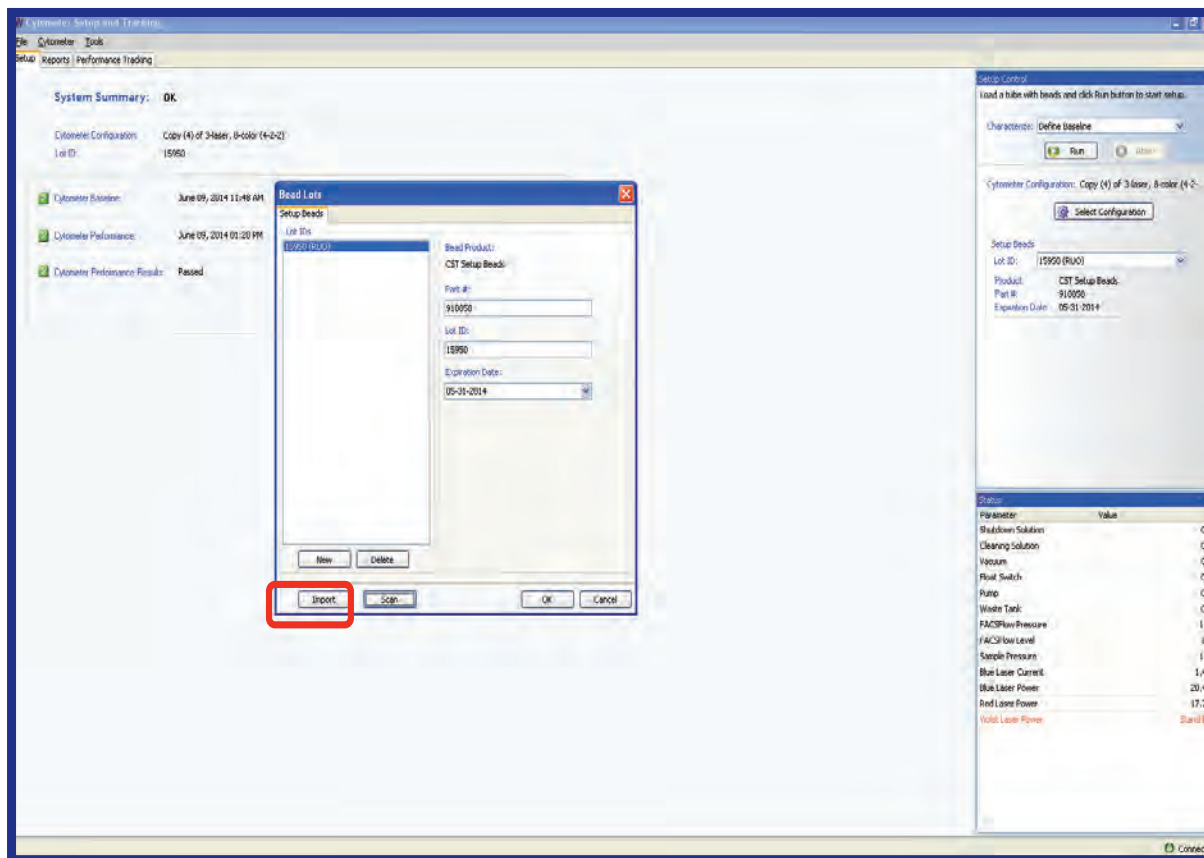


CS&T 界面

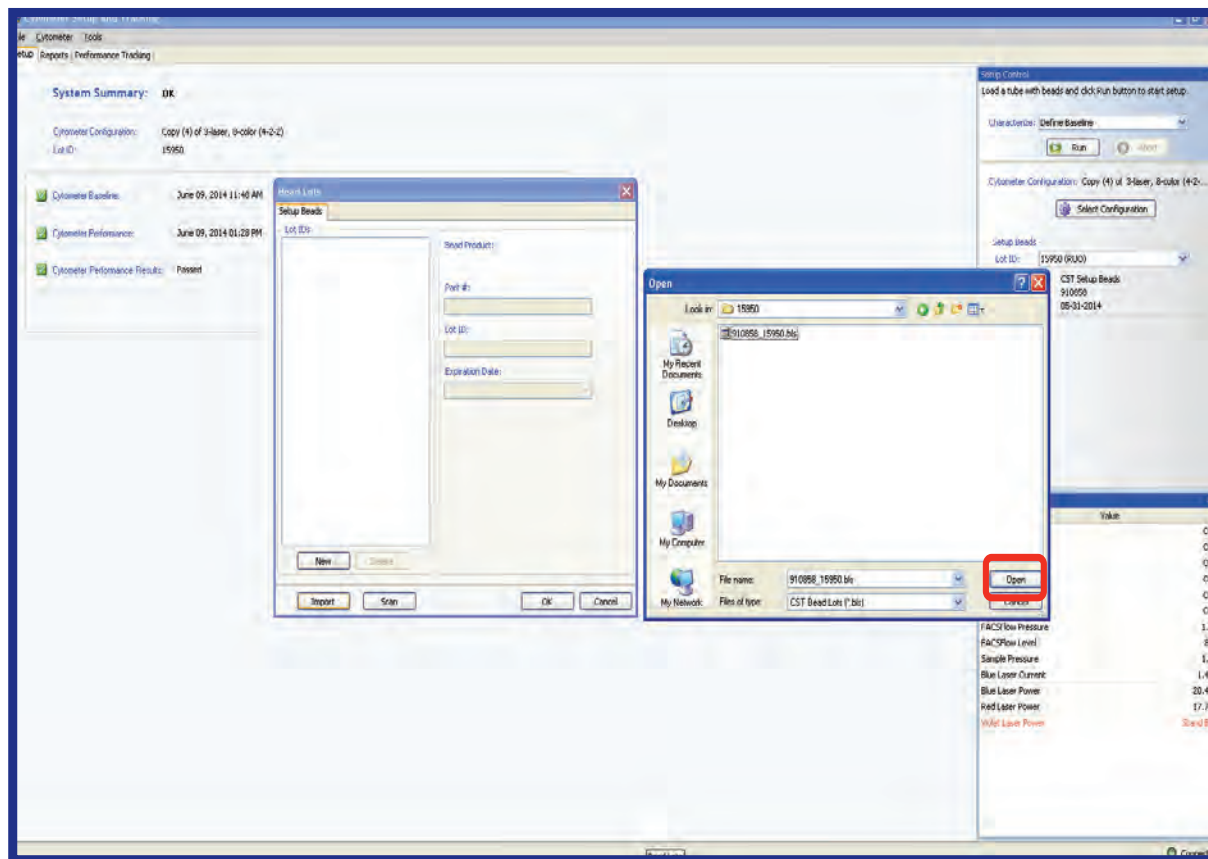
确认 Connected



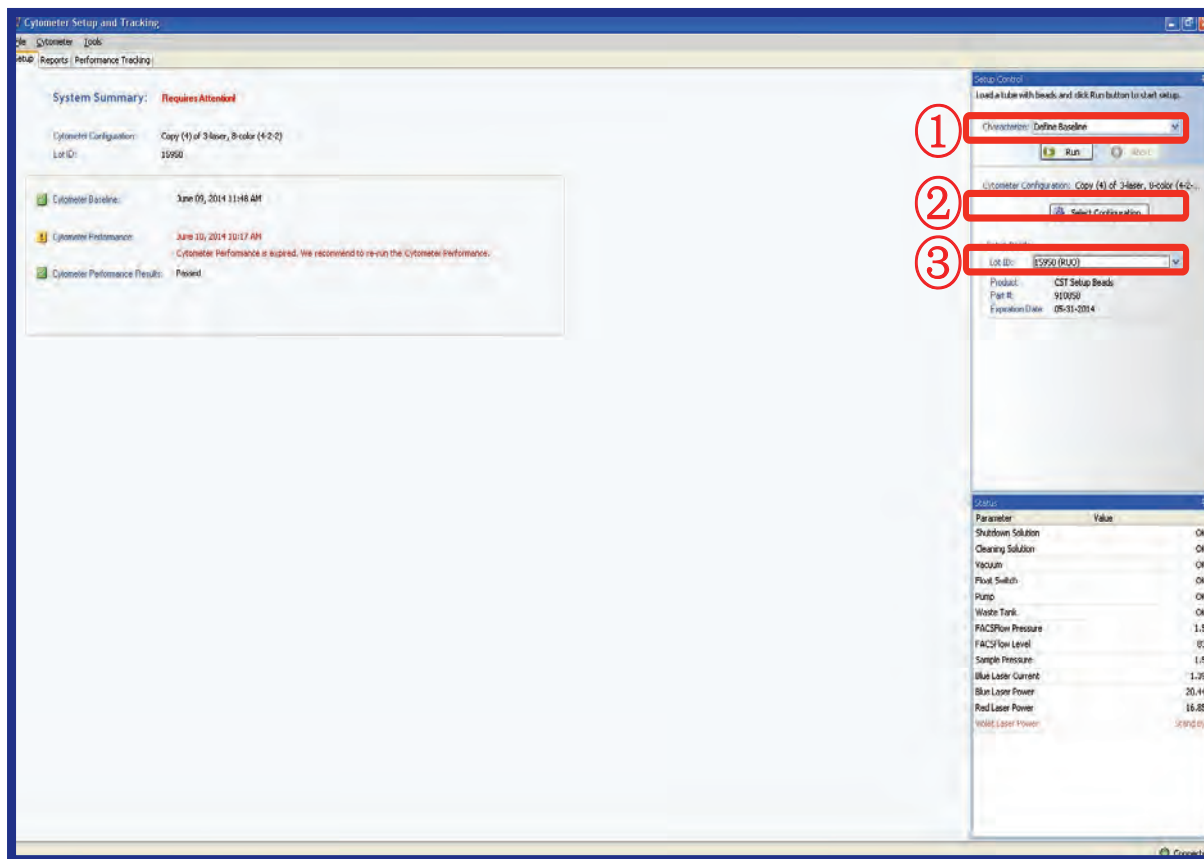
选择 Tools >
Beads Lots



在新窗口中输入 Lot 信息后，选择 Import



在 Open 窗口中选择
从 BD 网站下载的
解压缩后的 CS&T 文
件，点击 Open

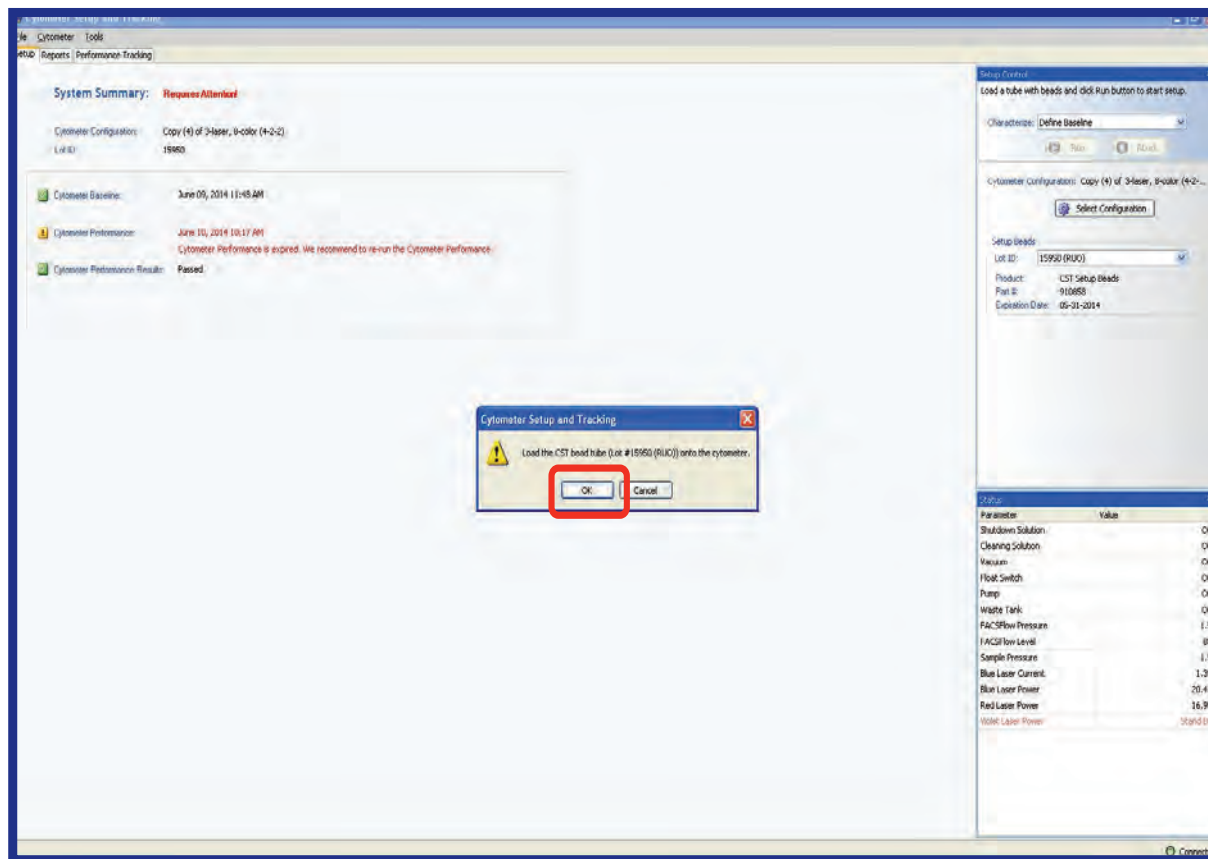


① 在 Characterize 选项中选择 Define Baseline

② 点击 Select Configuration, 打开仪器配置窗口, 确定仪器设置

③ 确定 Setup Beads 的 Lot ID 号

点击 Run



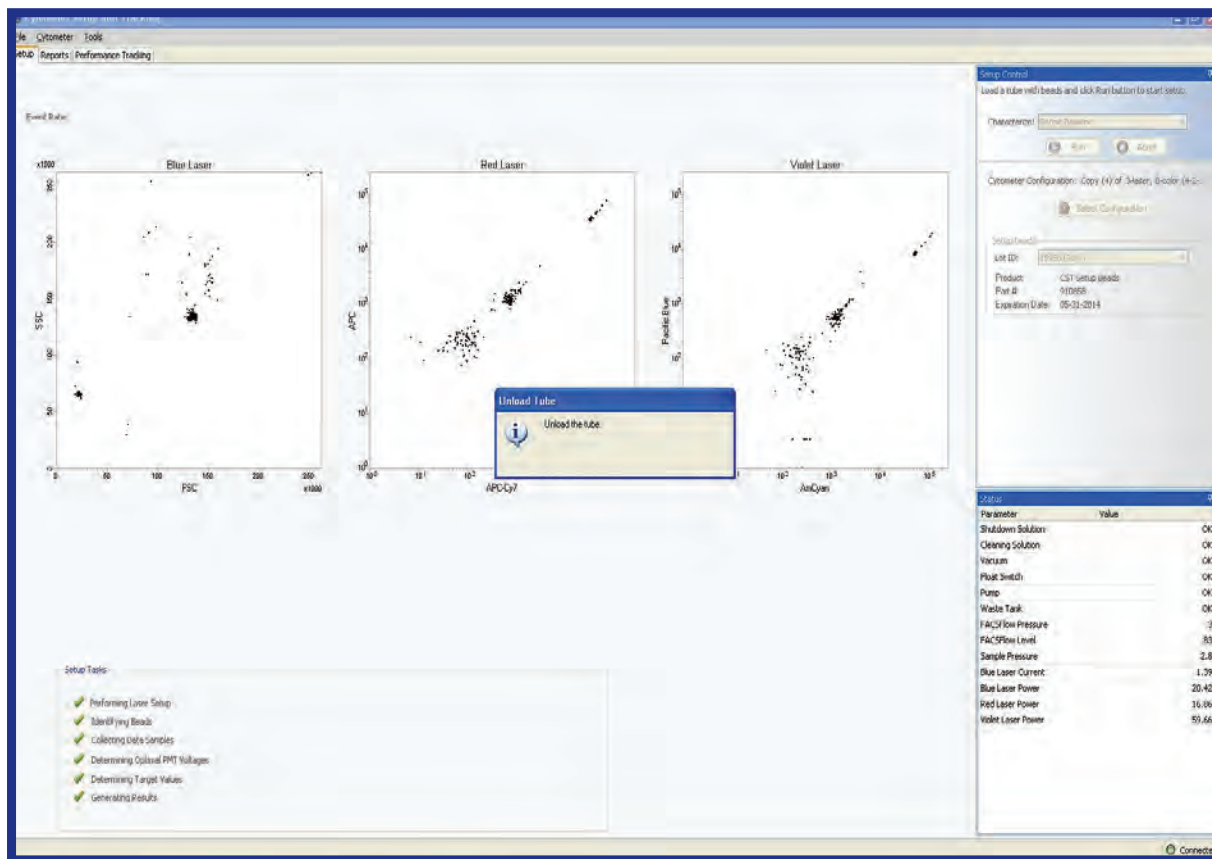
确定相应批号 CS&T
管在上样支撑架上

点击 OK

自动弹出 PMTVs 窗口

点击窗口右下角的
Continue Setup

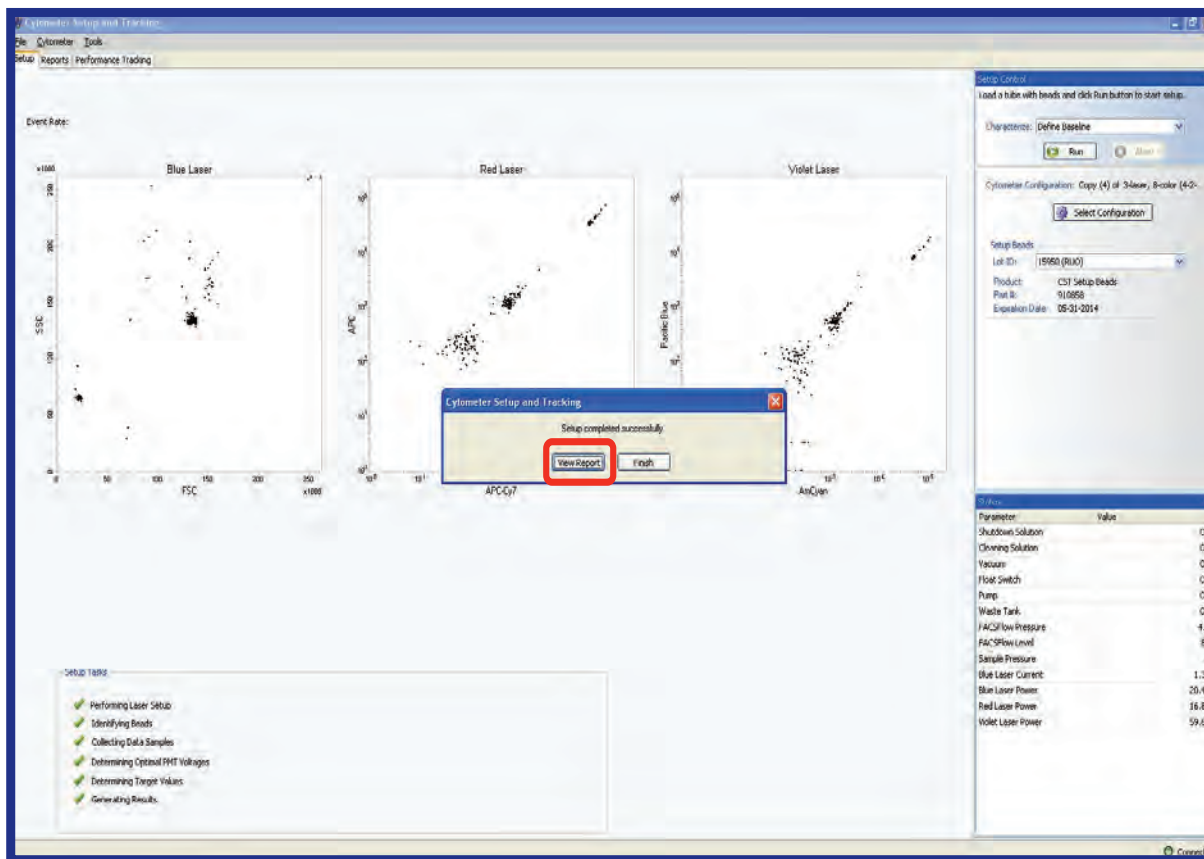




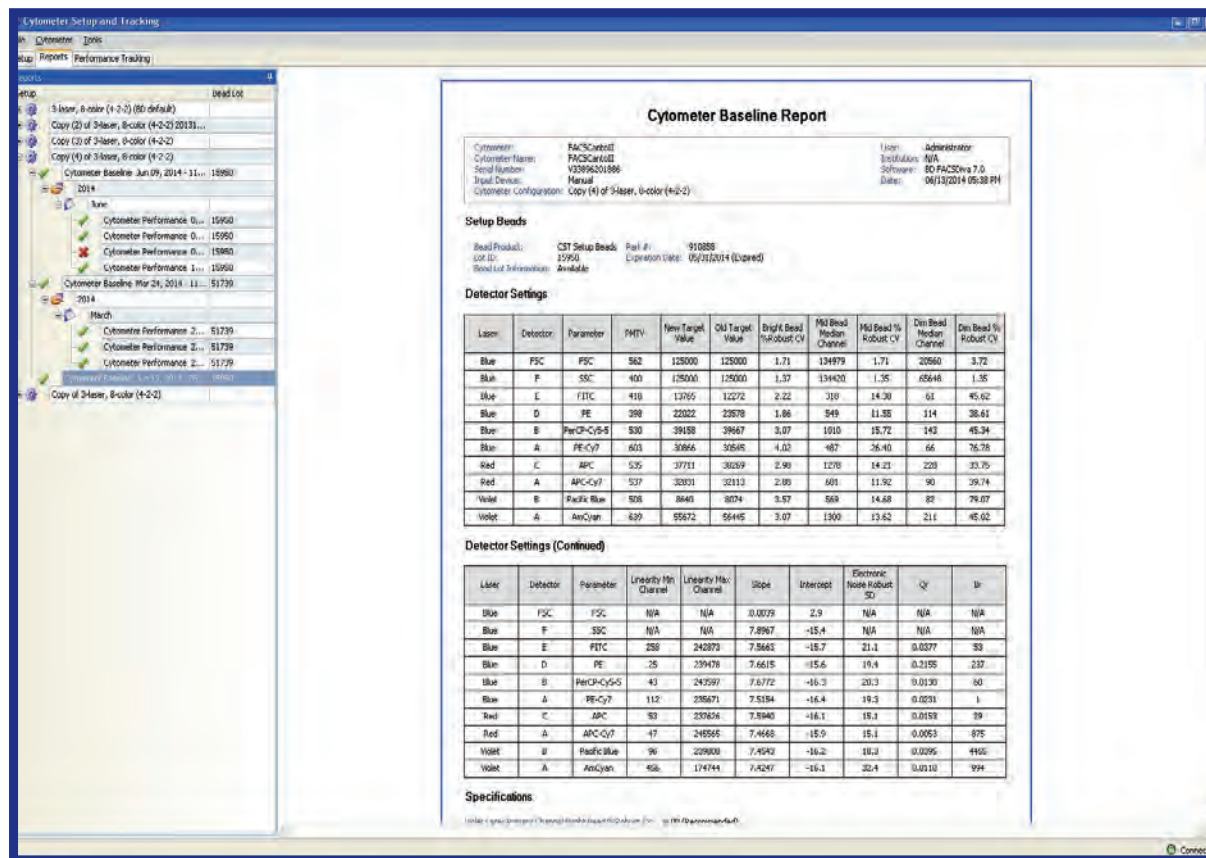
机器自动卸下 CS&T
管

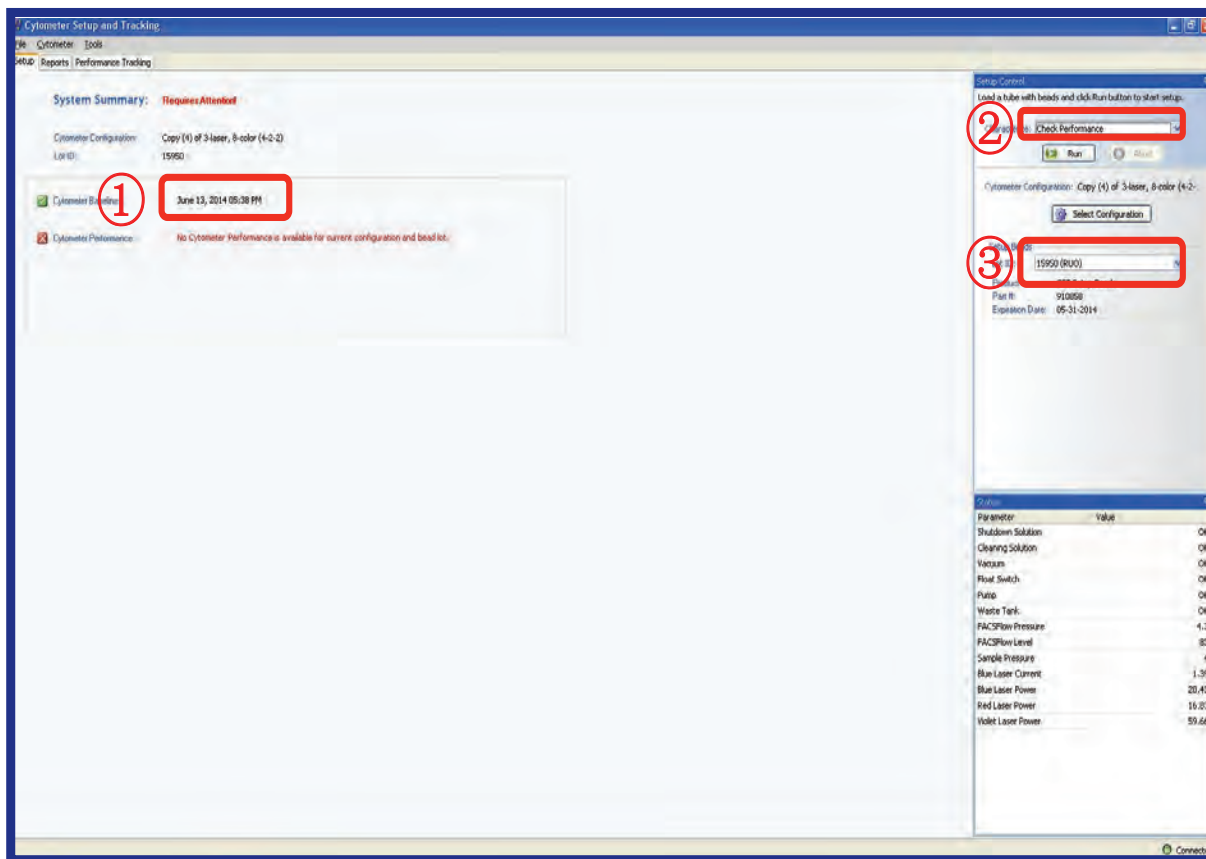
查看基线报告

点击 View Report



显示 Cytometer
Baseline Report



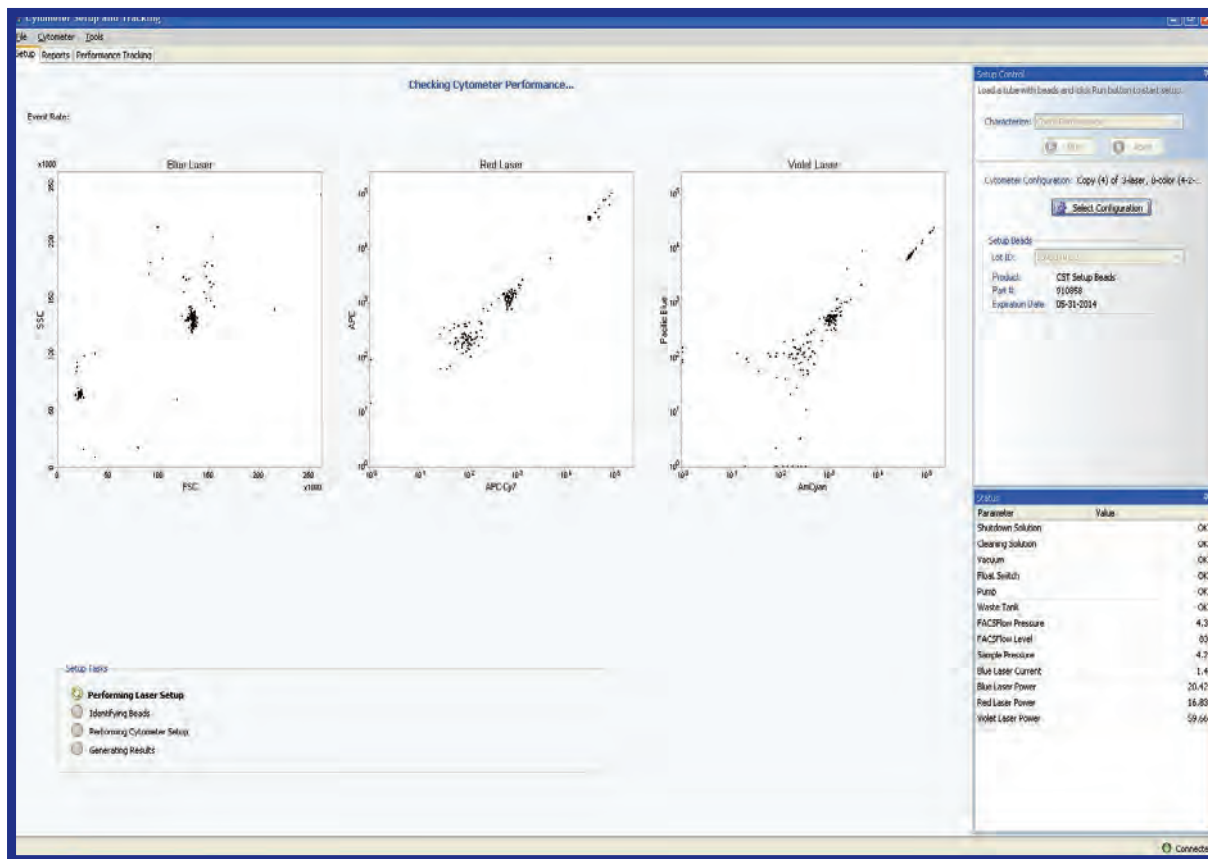


① 确定基线设置完成

② 在 Characterize 选项中选择 check Performance

③ 确定 Setup Beads 的 Lot ID 号

点击 Run



仪器自动完成 Check Performance

查看报告

选择 File > Exit,
退出 CS&T 窗口

The screenshot displays the 'Cytometer Setup and Tracking' software. The left sidebar shows a tree view of setup files, including 'Copy of 3-laser, 8-color (4-2-2) (2013-11-11...)' and 'Cytometer Baseline Jun 07, 2014 + 11...'. The main window shows a 'Cytometer Performance Report' for a 'FACSScan001' setup. The report includes a table of detector settings and a table of specifications.

Cytometer Performance Report

Cytometer: FACSScan001
Cytometer Name: FACSScan001
Serial Number: V5076001866
Input Device: Manual
Cytometer Configuration: Copy (1) of 3-laser, 8-color (4-2-2)

User: Administrator
Institution: N/A
Software: BD FACSDive 7.0
Date: 10/13/2024 05:44 PM
Cytometer Baseline: 10/13/2024 05:38 PM
PP: Pass

Setup Beads

Bead Product: CST Setup Beads
Lot ID: 13950
Expiration Date: 08/21/2024 (Expired)
Bead Lot Information: Available

Detector Settings

Laser	Detector	Transmittance	Target Value	Actual Target Value	% Difference Target Value	Bright Bead % Robust CV	Med Bead % Robust CV	Med Bead % Robust CV
Blue	FSC	FSC	125000	125765	0	2.00	125000	1.94
Blue	F	SSC	125000	124018	-1	1.79	125000	1.37
Blue	E	FTTC	13765	13308	-4	2.39	306	15.00
Blue	D	PE	22002	22012	-1	2.06	550	11.21
Blue	B	PerCP-Cy5-5	29138	28831	-2	3.19	993	15.94
Blue	A	PE-Cy7	30866	30040	-3	4.15	475	26.21
Red	C	APC	37711	36795	-2	3.20	1244	13.91
Red	A	APC-Cy7	32001	31608	-4	3.11	488	12.09
Violet	B	Pacific Blue	8640	8404	-3	3.67	585	15.01
Violet	A	AmCyan	85672	85165	-1	3.14	1299	13.43

Detector Settings (Continued)

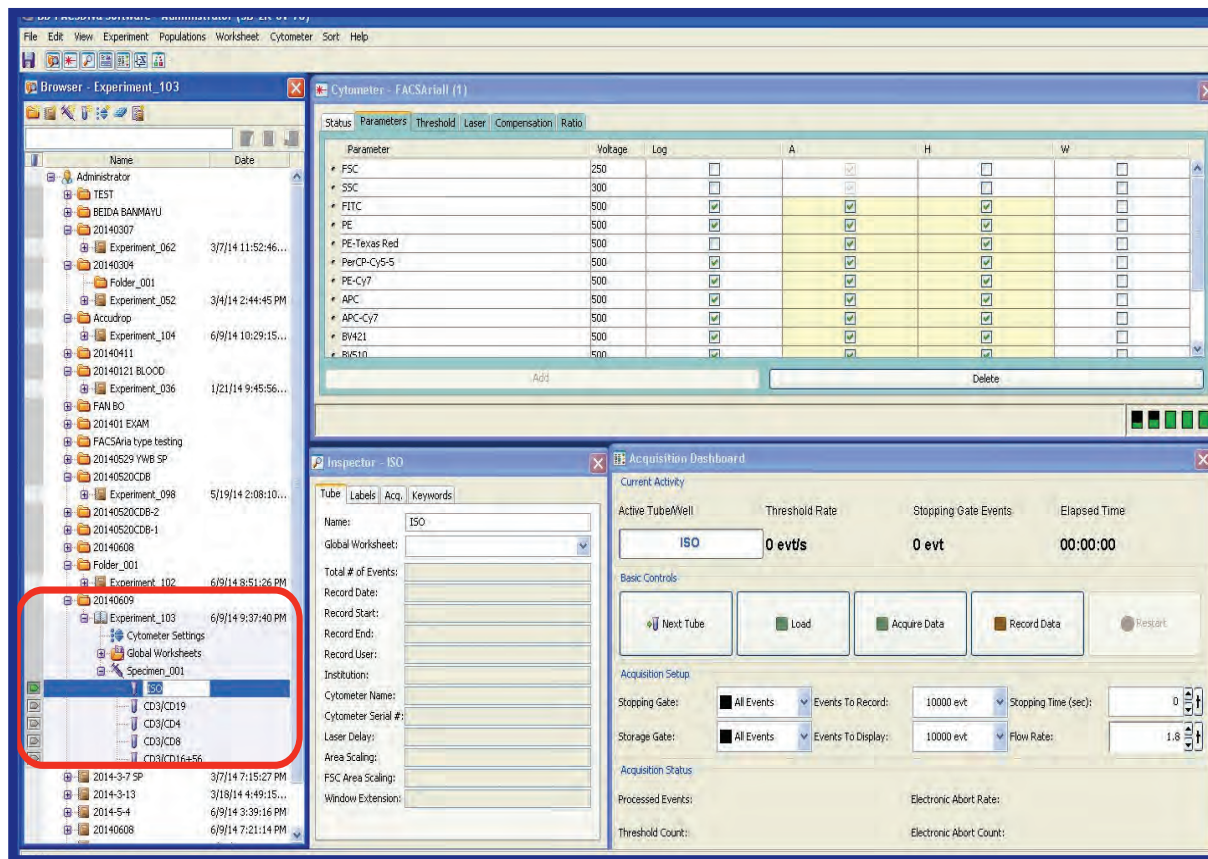
Laser	Detector	Parameter	Min Bead Median Channel	Min Bead % Robust CV	PMTV	Δ PMTV	Qr	Br	P/F
Blue	FSC	FSC	19112	3.70	554	-0	N/A	N/A	Pass
Blue	F	SSC	60905	1.46	396	-4	N/A	N/A	Pass
Blue	E	FTTC	58	46.41	416	-2	0.0346	69	Pass
Blue	D	PE	112	39.43	398	0	0.2437	294	Pass
Blue	B	PerCP-Cy5-5	141	45.23	529	-1	0.0126	39	Pass
Blue	A	PE-Cy7	64	76.88	601	-2	0.0236	2	Pass
Red	C	APC	223	33.78	323	-2	0.0165	78	Pass
Red	A	APC-Cy7	87	39.65	334	3	0.0051	818	Pass
Violet	B	Pacific Blue	100	80.31	505	-3	0.0267	4270	Pass
Violet	A	AmCyan	200	42.04	627	-2	0.0112	903	Pass

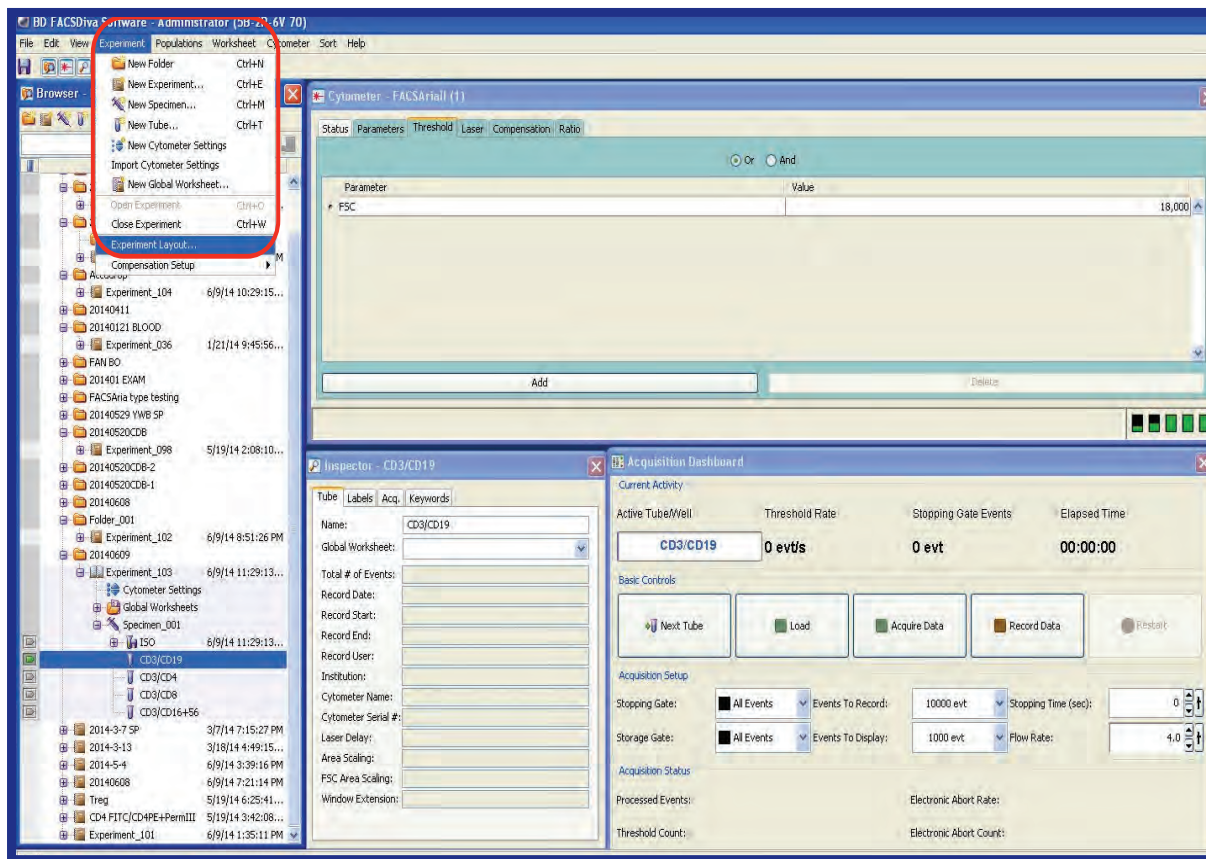
Specifications

Manufacturer: BD Biosciences
Model: FACSScan001

双色试验样本获取和分析

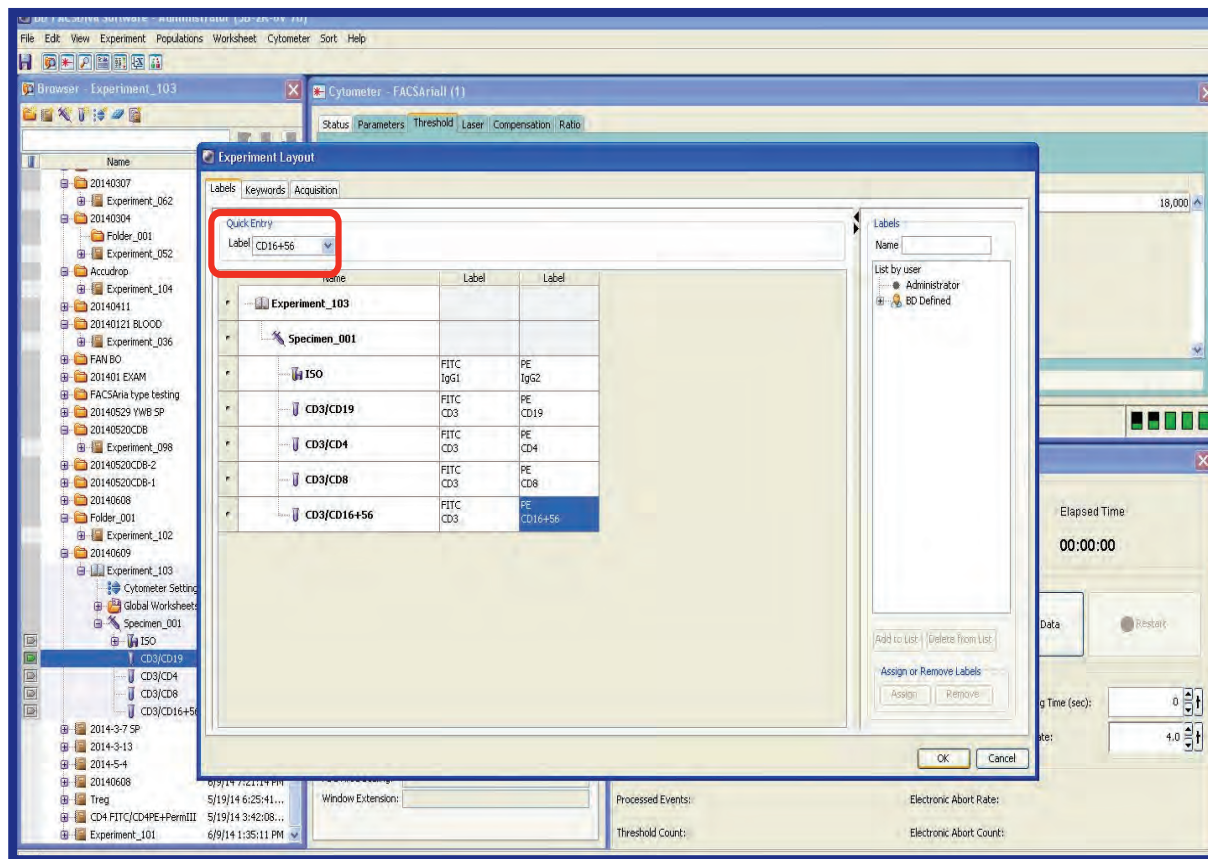
在 Brower 浏览框依次建立：文件夹 > 实验组 > 样本 > 采集管，并重命名

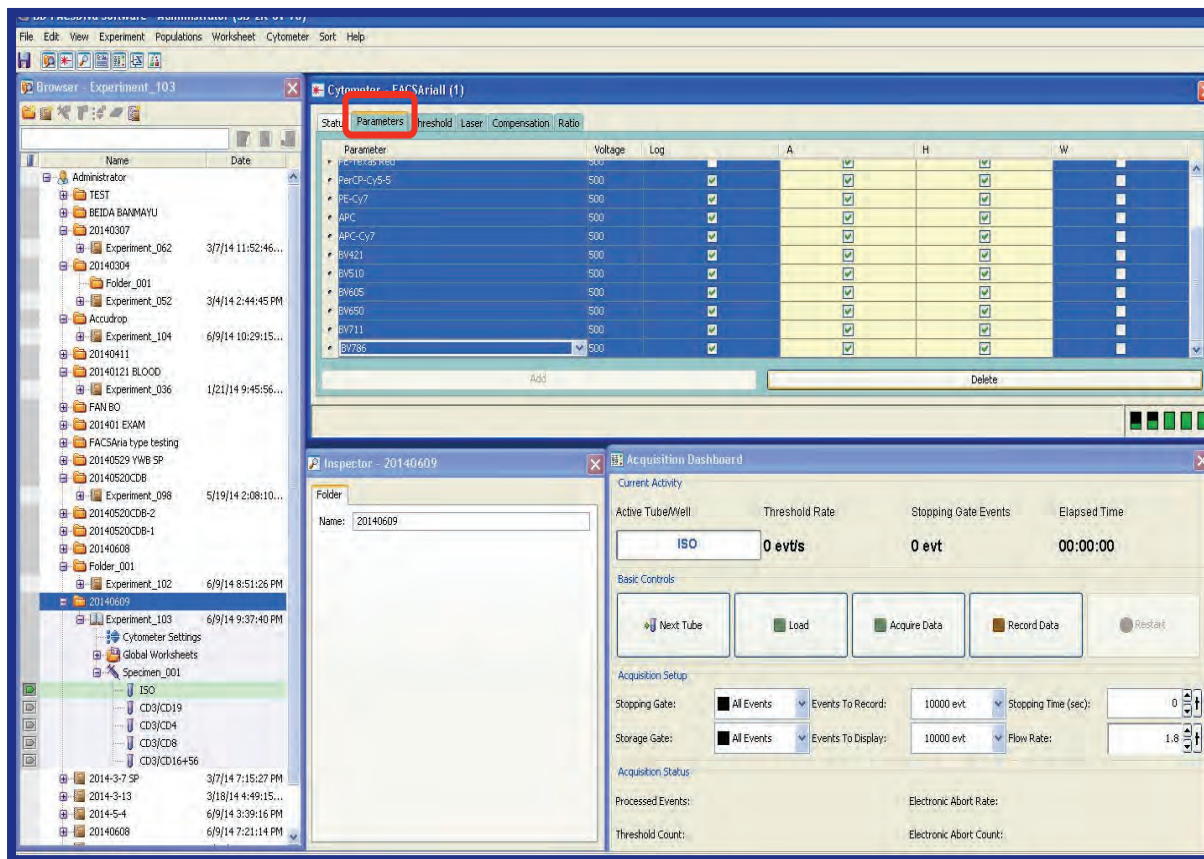




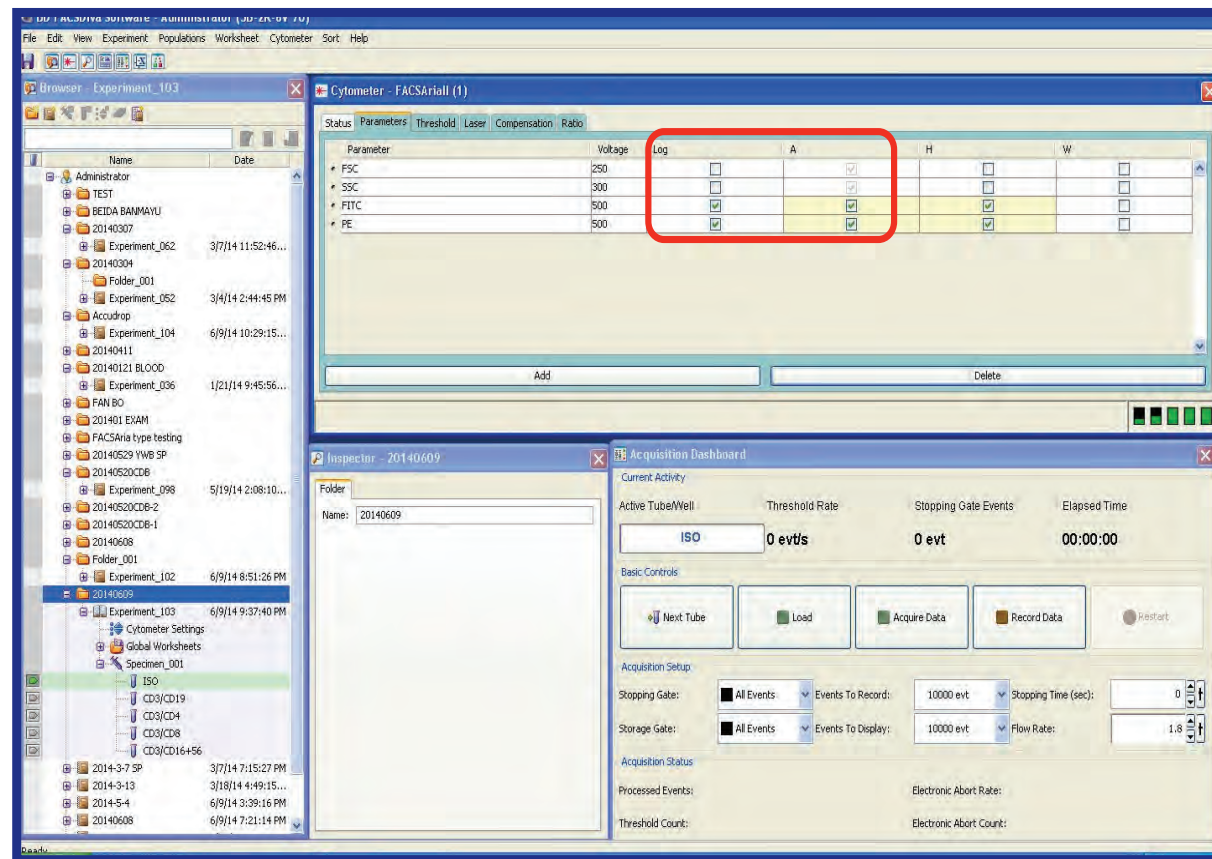
选择菜单栏中
Experiment
> Experiment Layout
路径

在对话框的 Label 一栏中，输入每管的荧光标志

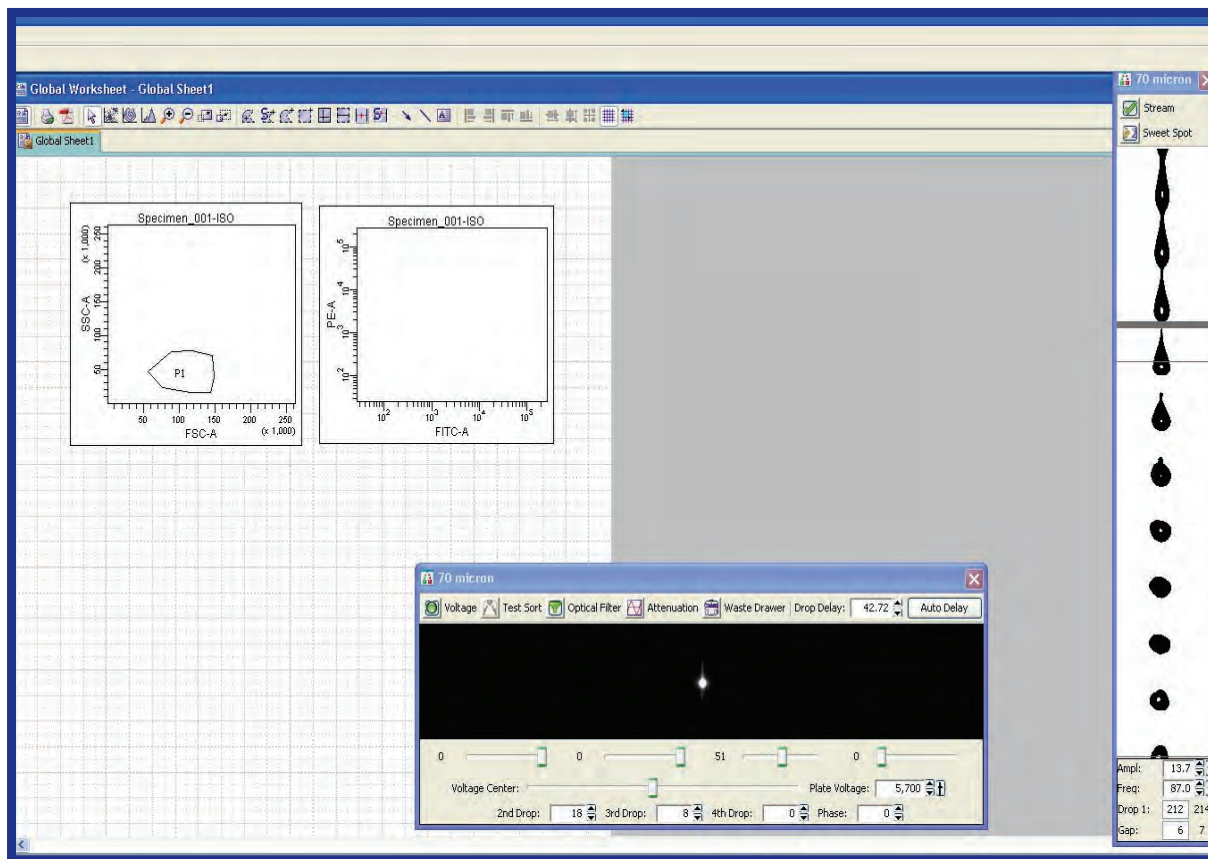




点击 Cytometer 中
Parameter 页面，保
留 FSC、SSC、FITC 和
PE 通道



散射光参数选择线性，
荧光参数均选择 Log
及 A



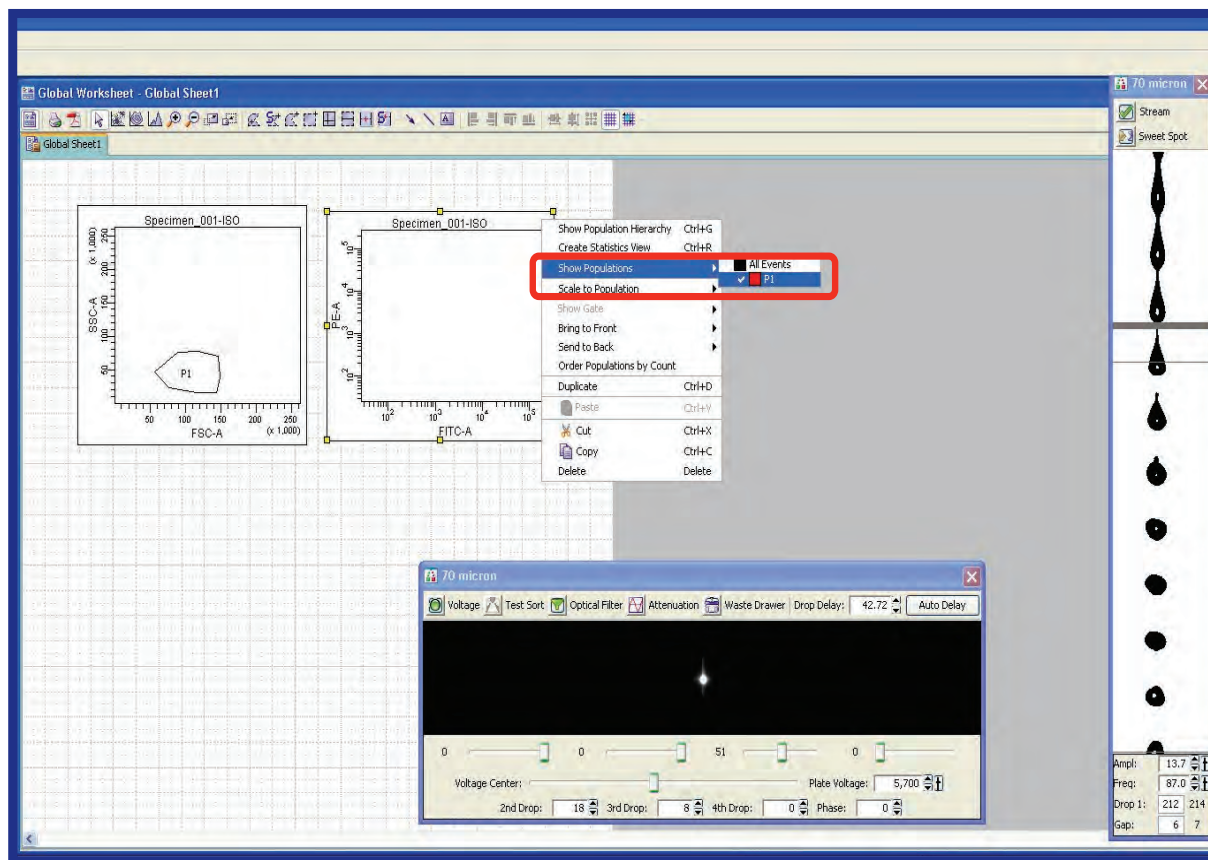
在 Global WorkSheet1
界面上建立获取模板:

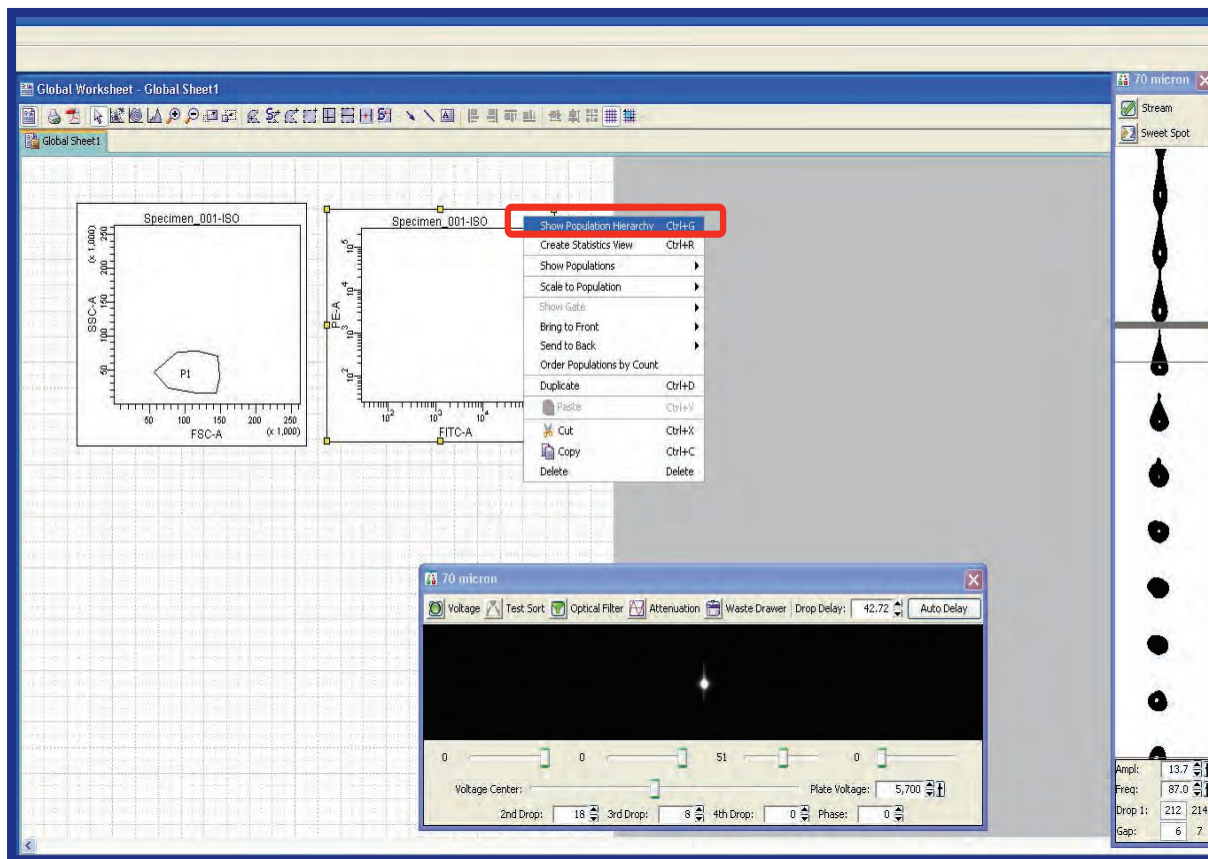
第一个图:
横轴 FSC-A,
纵轴 SSC-A

第二个图:
横轴 FITC-A,
纵轴 PE-A

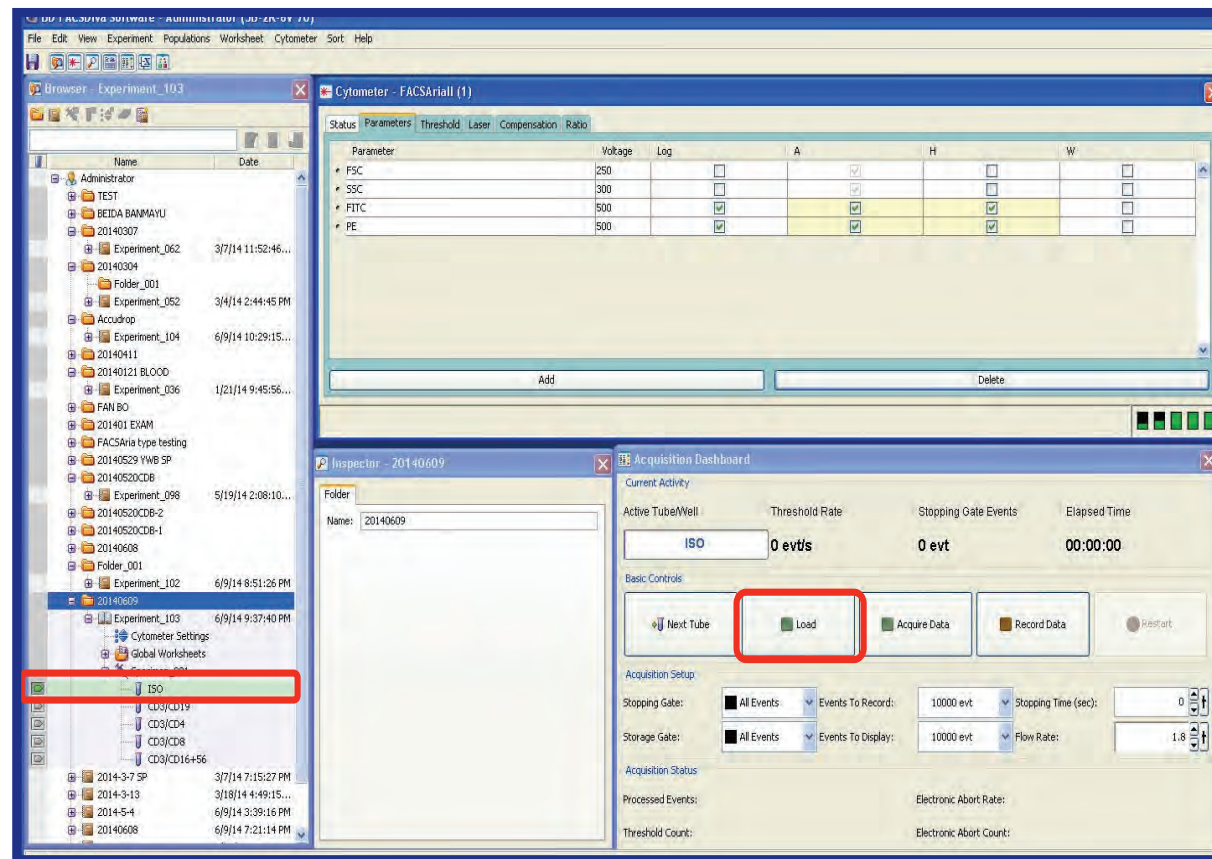
在第一个图中设 P1 门,
用于圈定淋巴细胞

选定第二幅图，单击右键，在 Show Population 下选中 P1，即仅显示 P1 淋巴细胞门内的颗粒

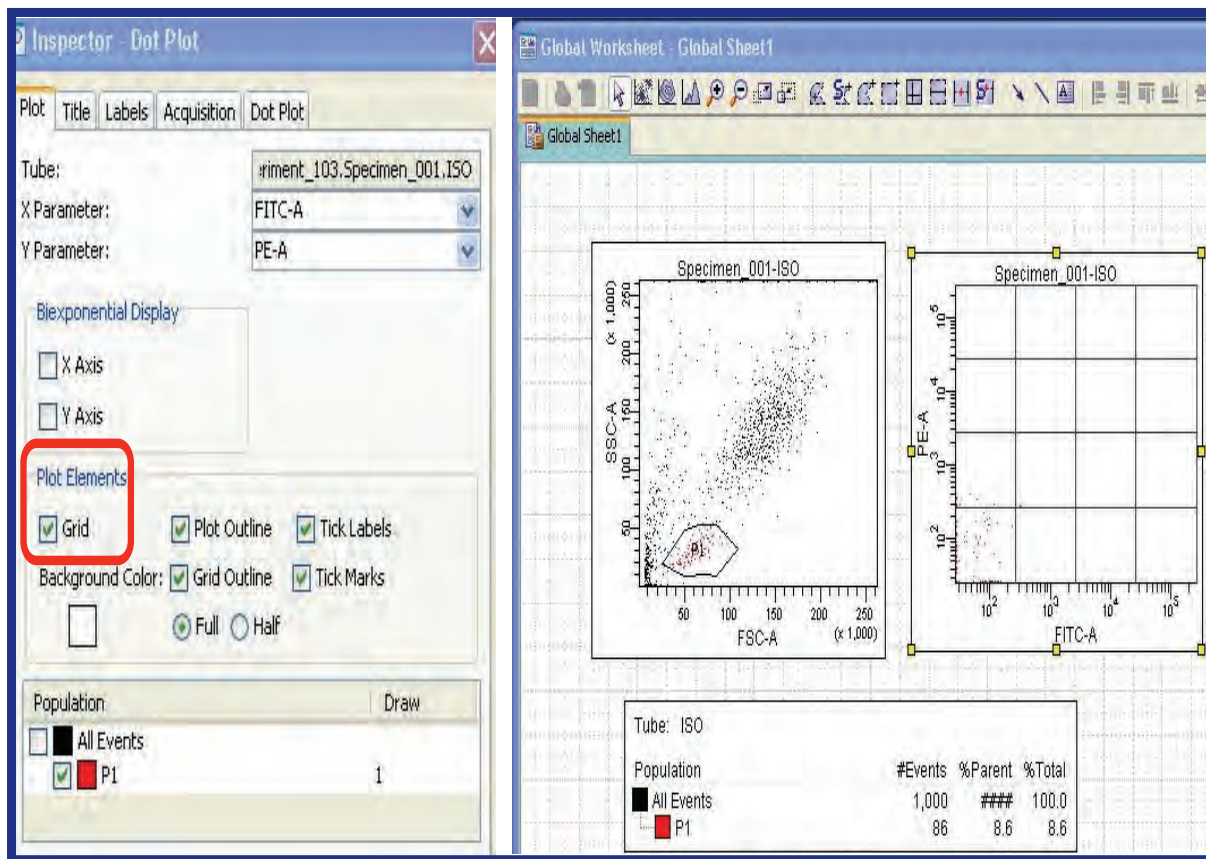




单击右键，选择 Show
Population Hierarchy



将箭头指向 ISO 采集管，点击 Load，上样



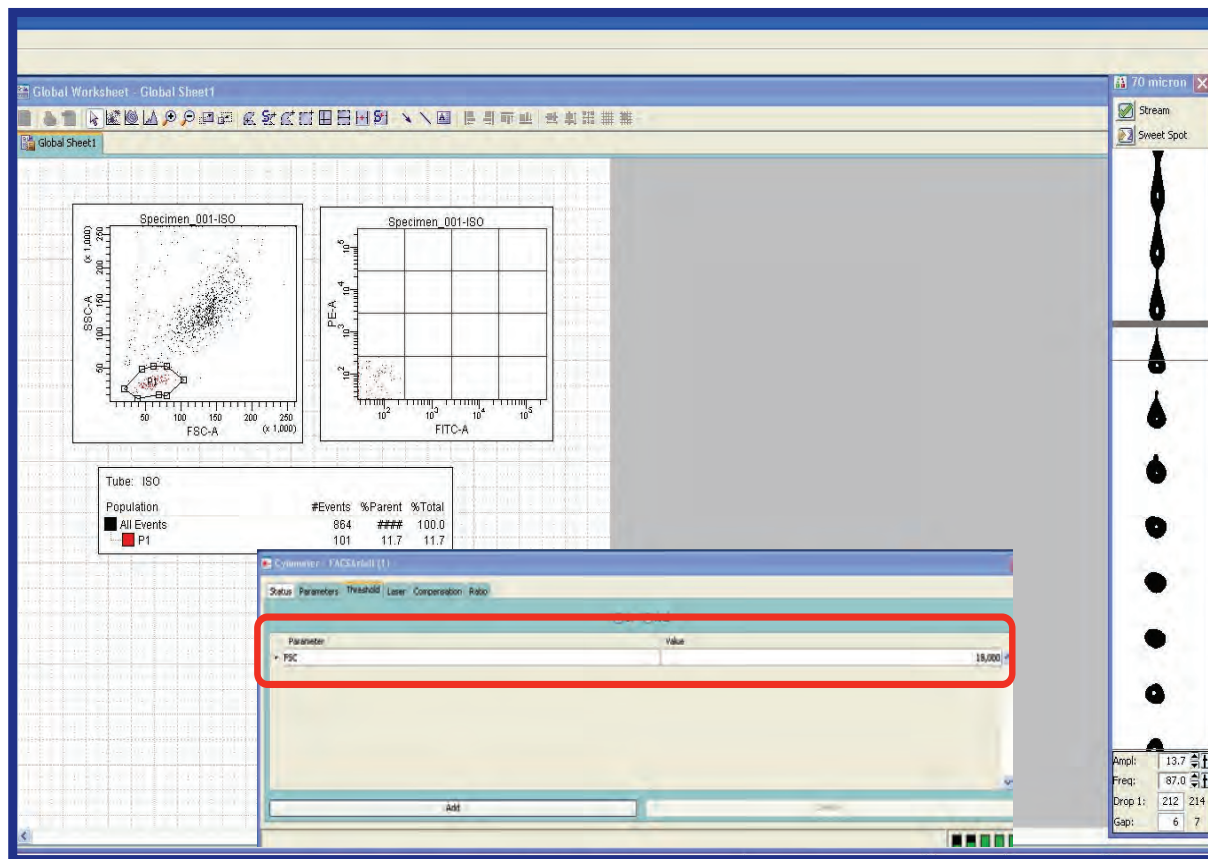
选中第二个图，在 Inspector 窗口 > Plot 选项卡 > Plot Element 中，勾选 Grid 选项

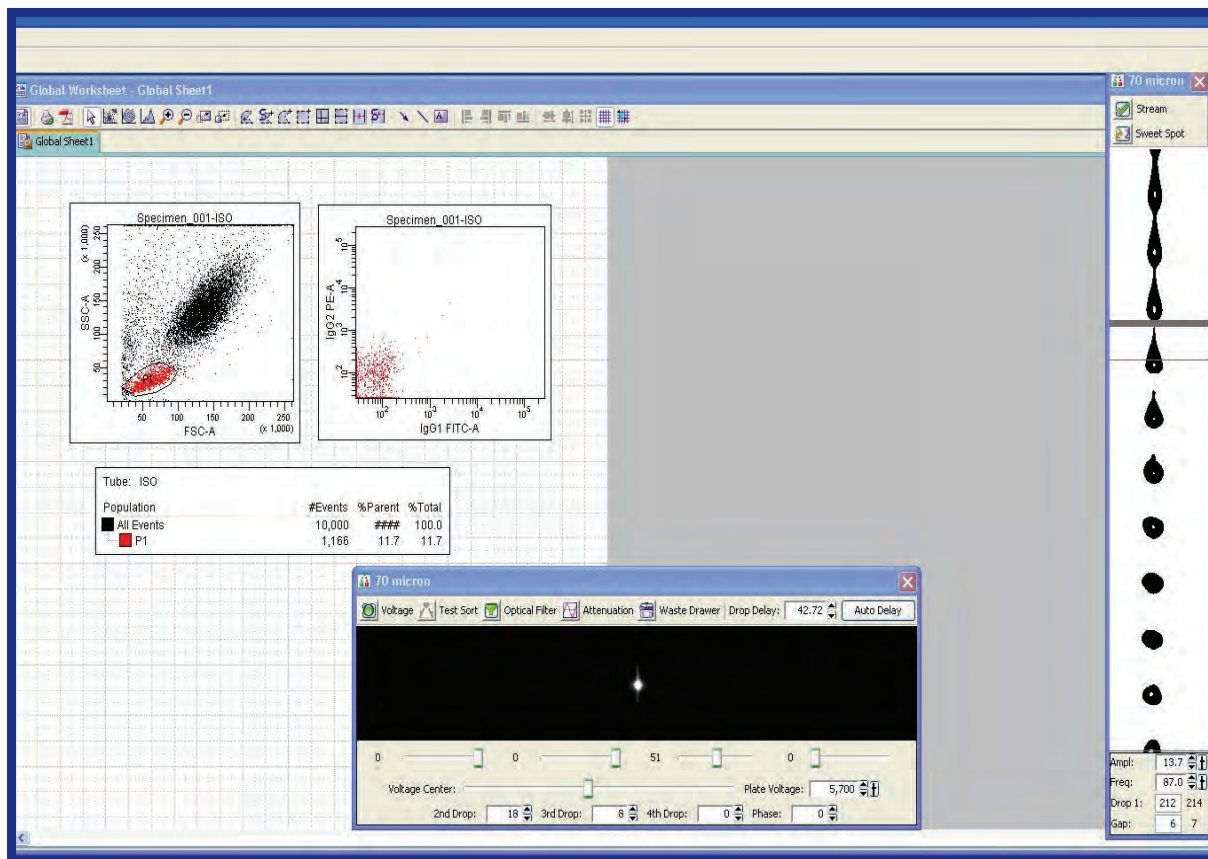
调节 FSC 和 SSC 电压，使样品在散射光点图上分群明显

调整 FITC、PE 电压，尽量使阴性细胞位于网格的最左下角网格范围内

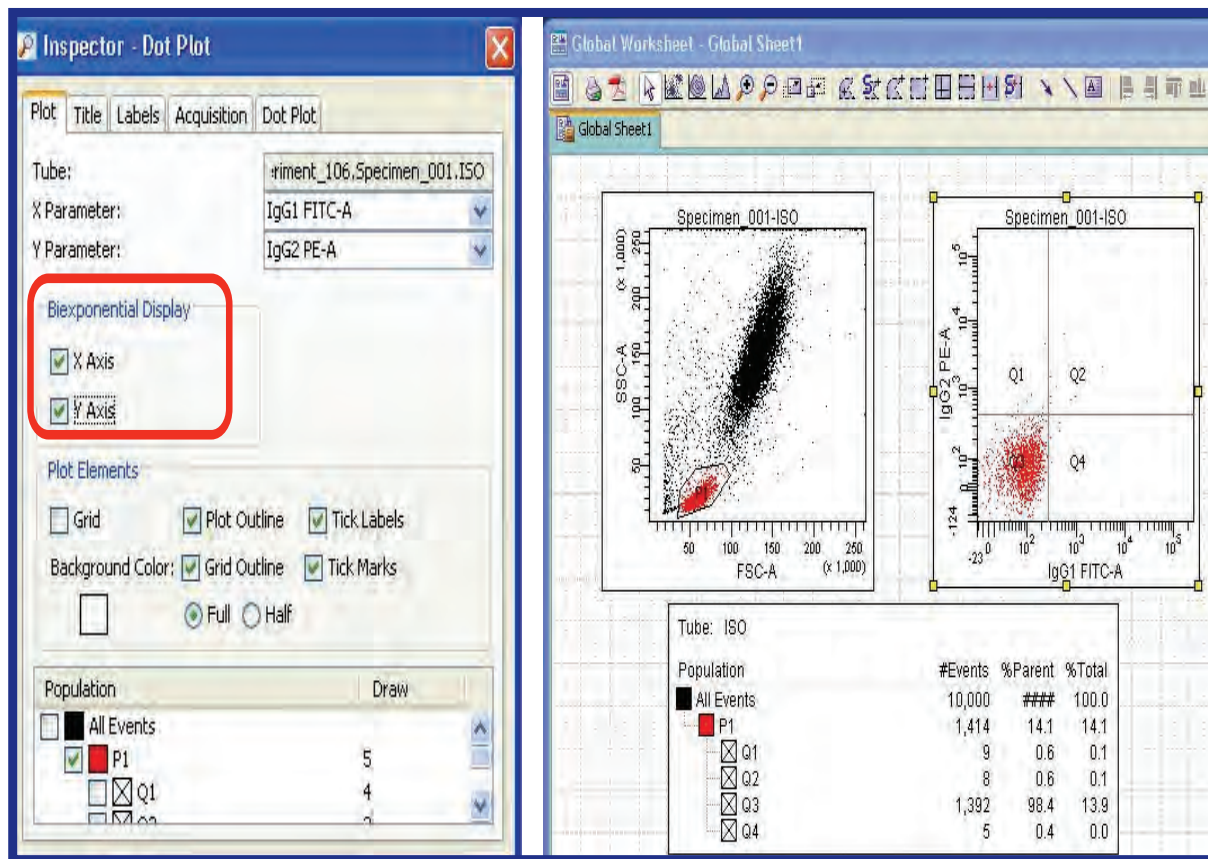
调整 FSC 阈值，去除
碎片

取消 Grid 选项



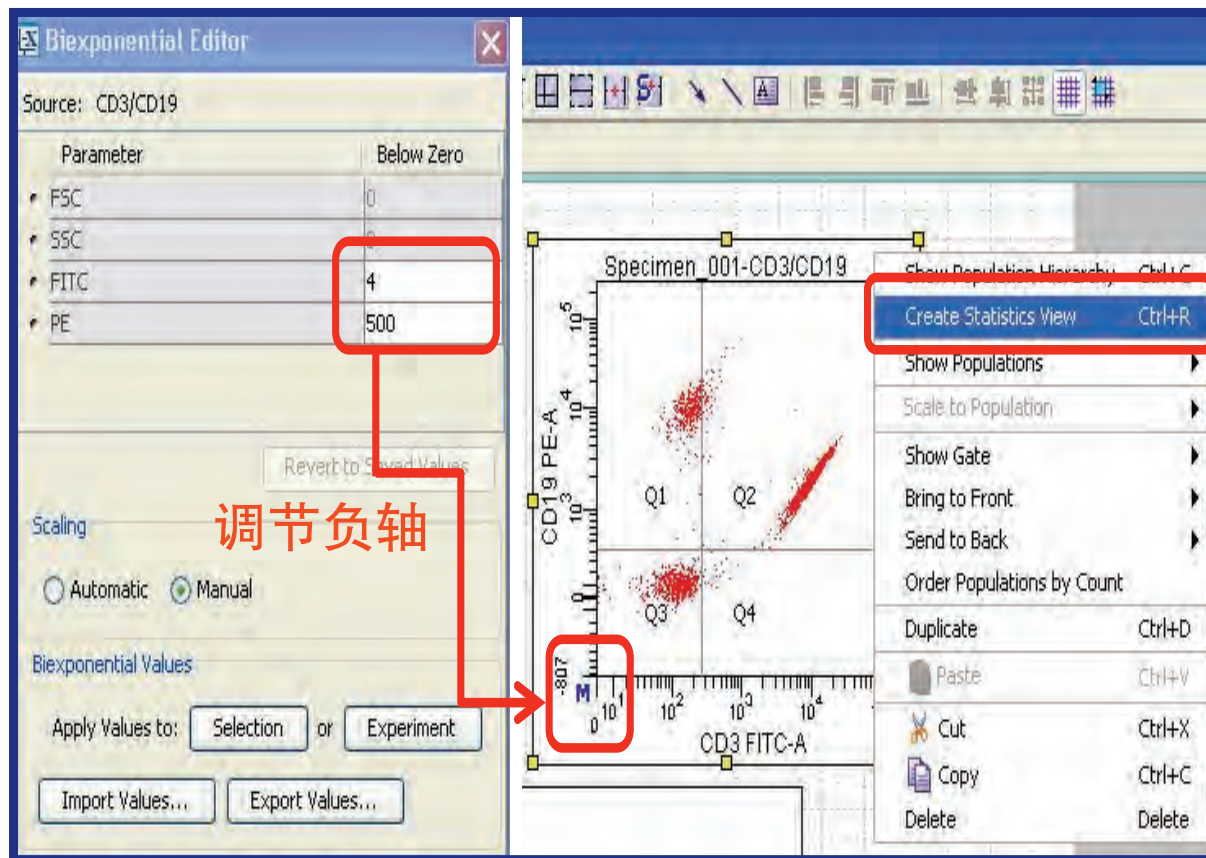


依次记录剩余所有管的数据



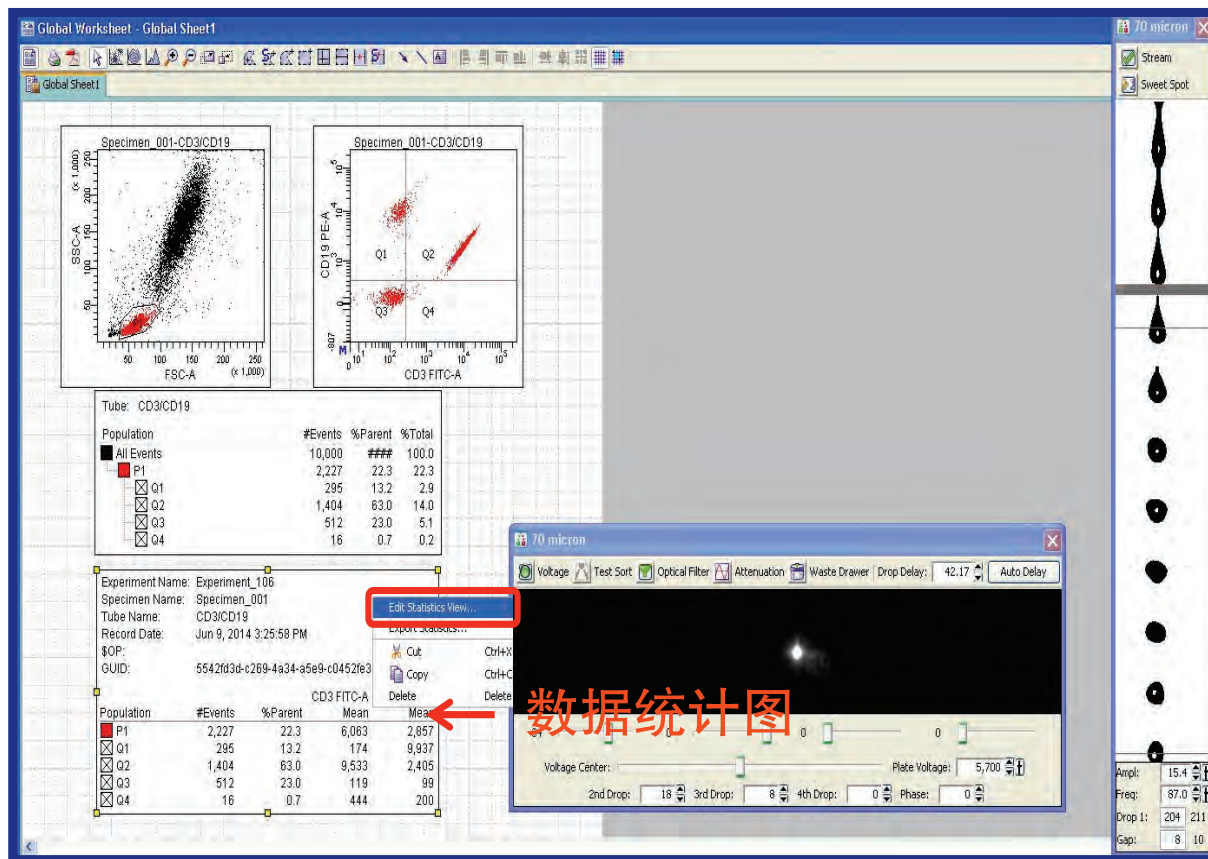
选中第二个图，在阴性细胞群的右上方画象限门 (Quadrant Gate)

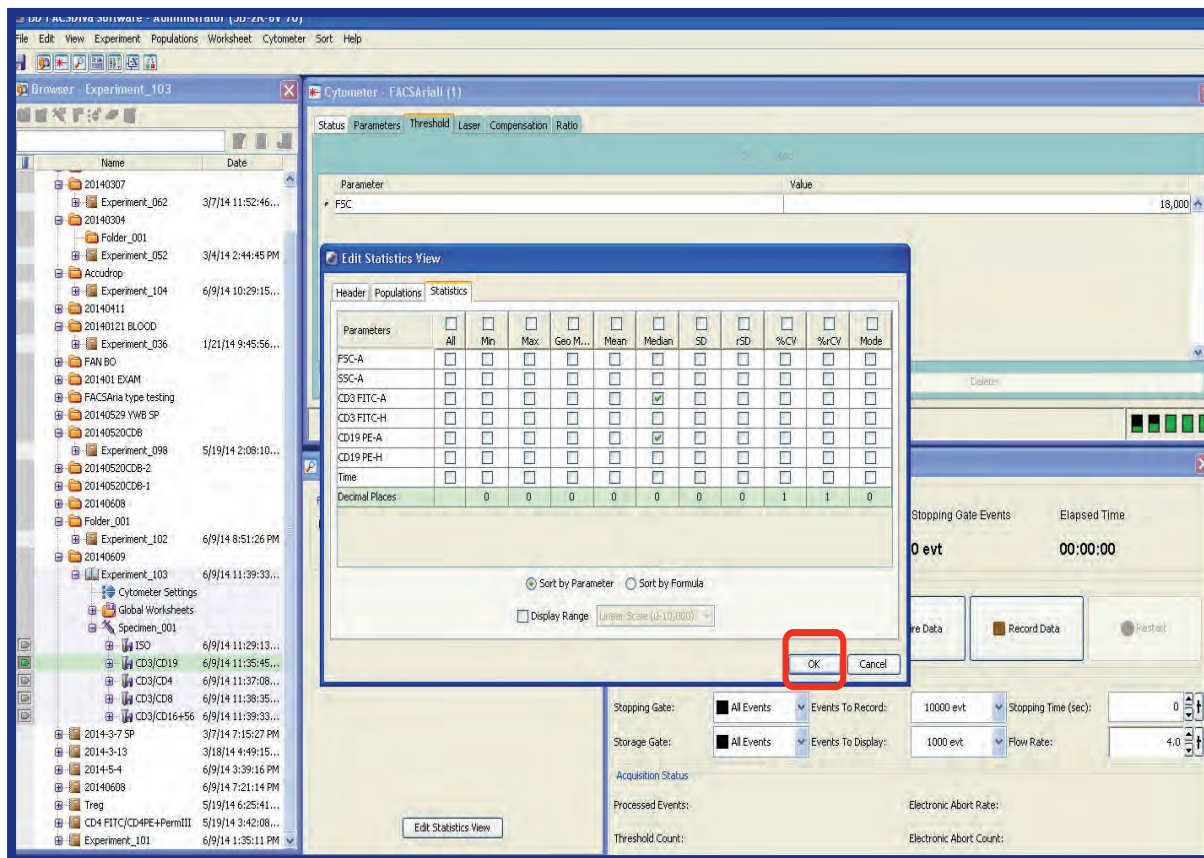
在 Inspector 窗口 > Plot 选项卡 > Biexponential Display 中，勾选 X Axis 和 Y Axis 选项



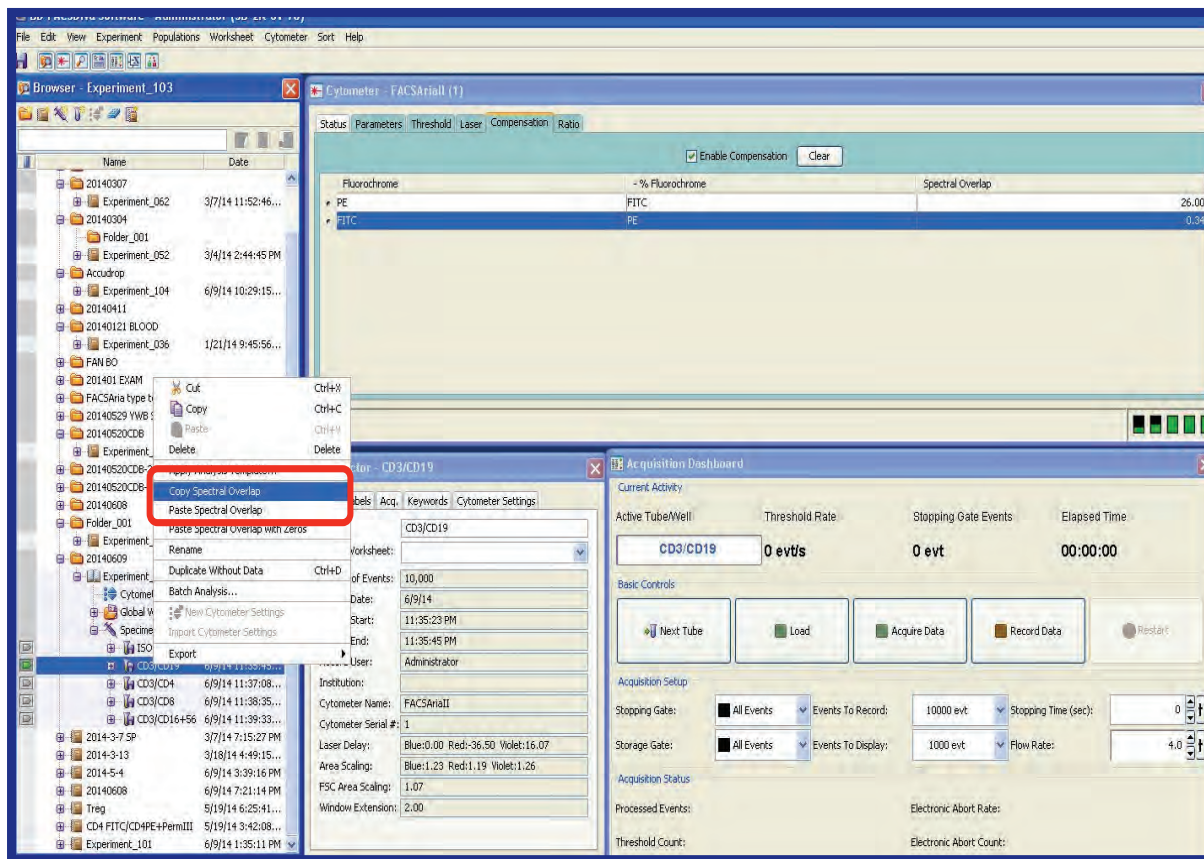
选中第二张图，单击右键，选择 Create Statistics View

单击统计图右键，
选择 Edit Statistics
View



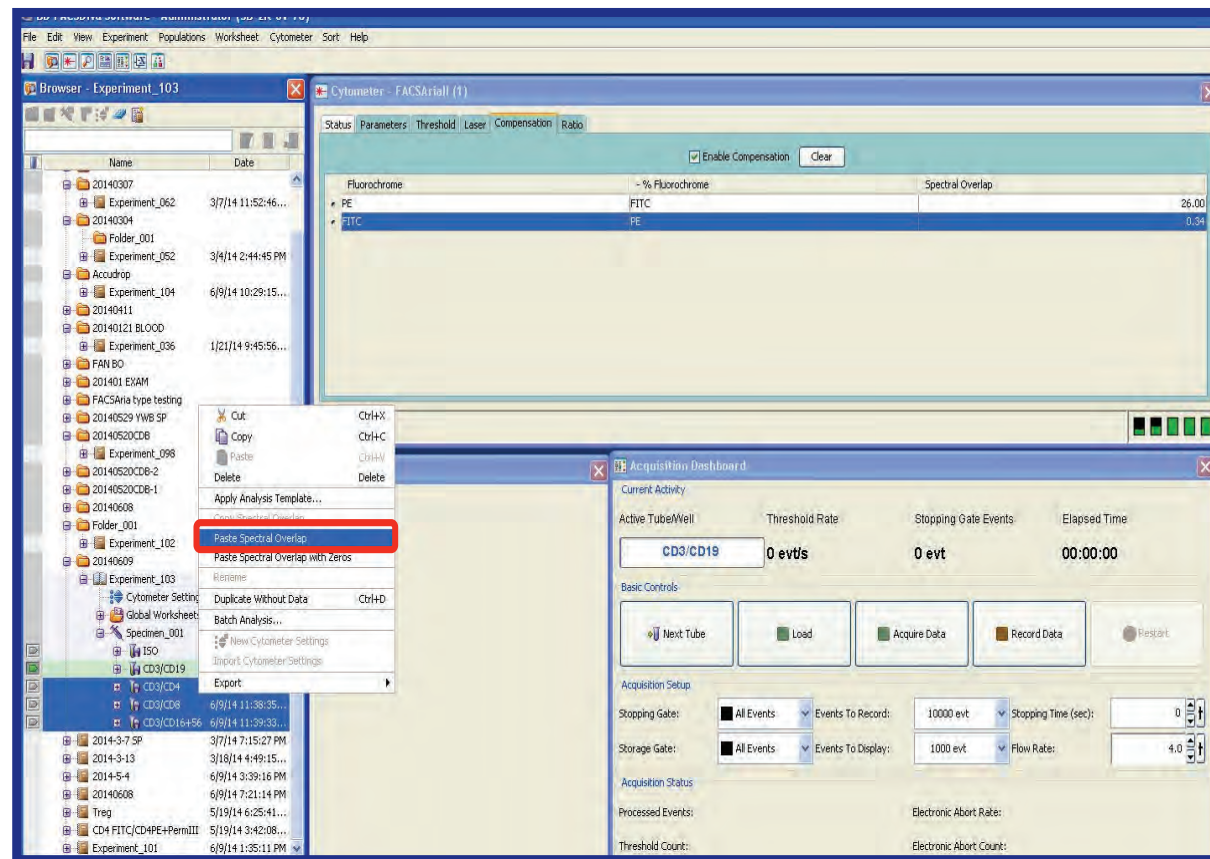


在 Edit Statistics View 窗口中，选择统计选项，点击 OK

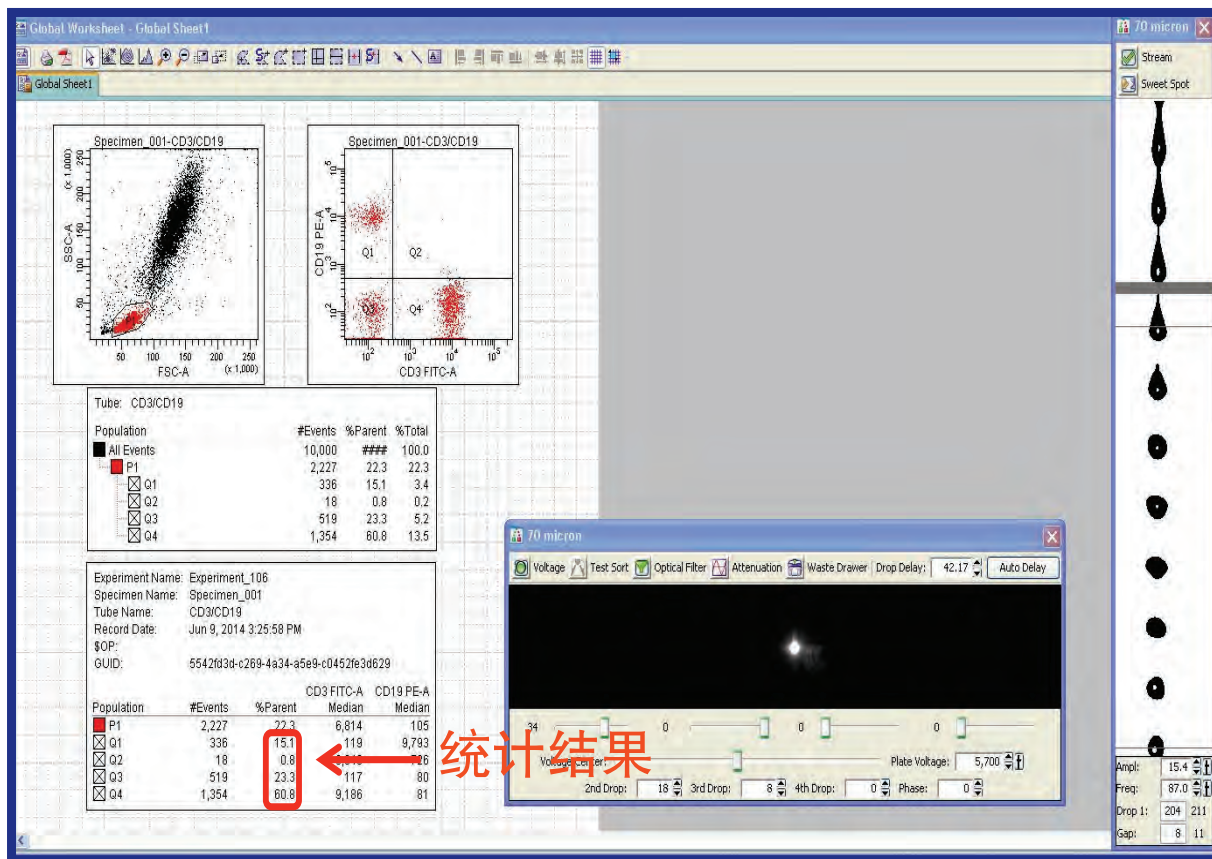


将补偿应用到检测样品上:

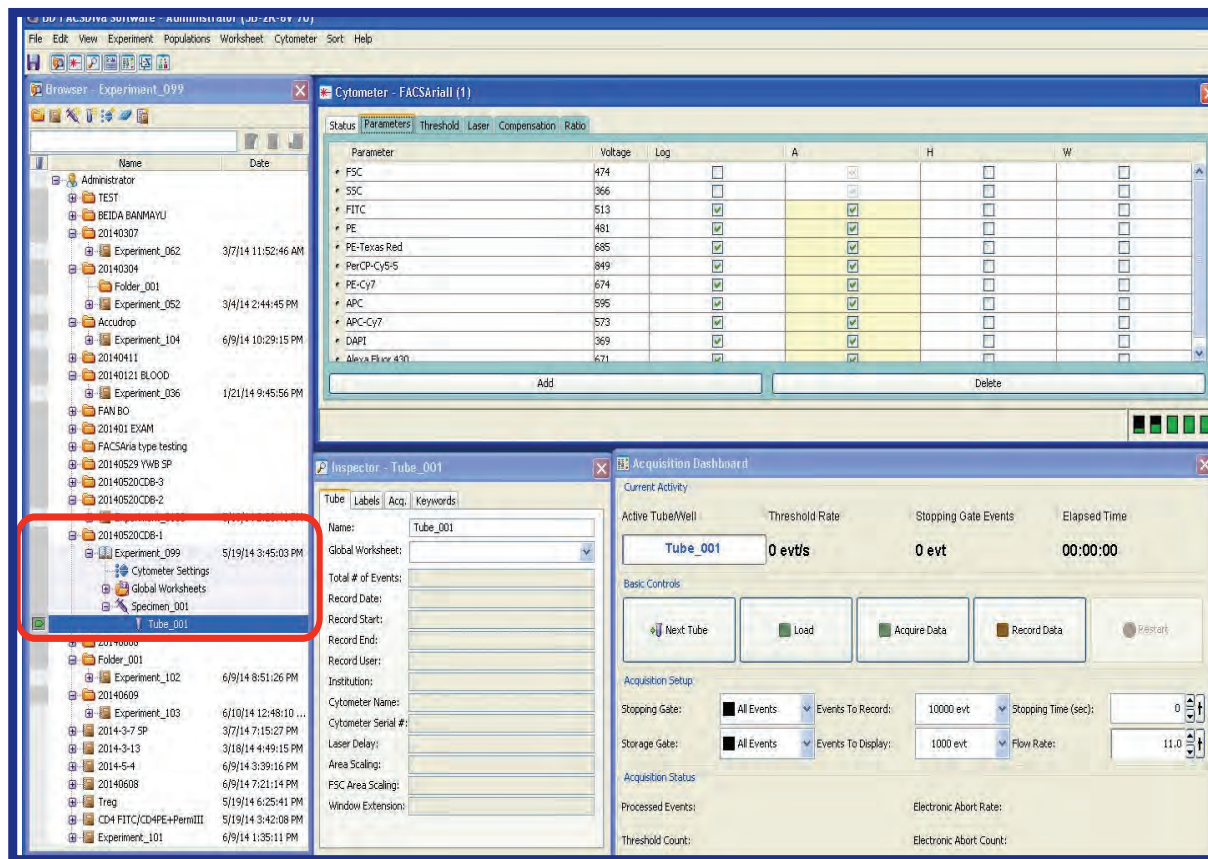
选中补偿管, 单击右键选择 Copy Spectral Overlap 命令



按住 Ctrl，选中其余样本管，单击右键选择 Paste Spectral Overlay 命令



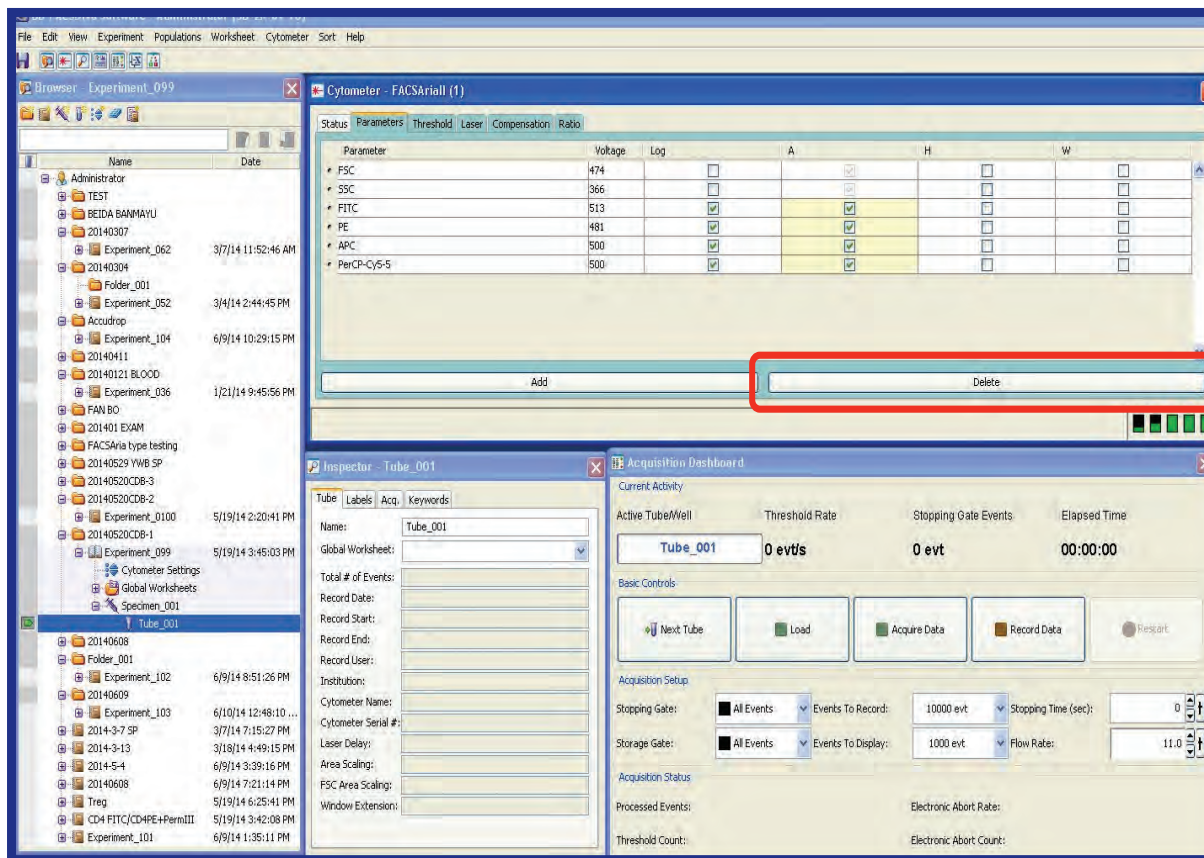
自动调节补偿



New Folder

> Experiment >
Speciman

> Tube



在 Parameters 窗口中
保留:

FITC

PE

PerCP-Cy5.5

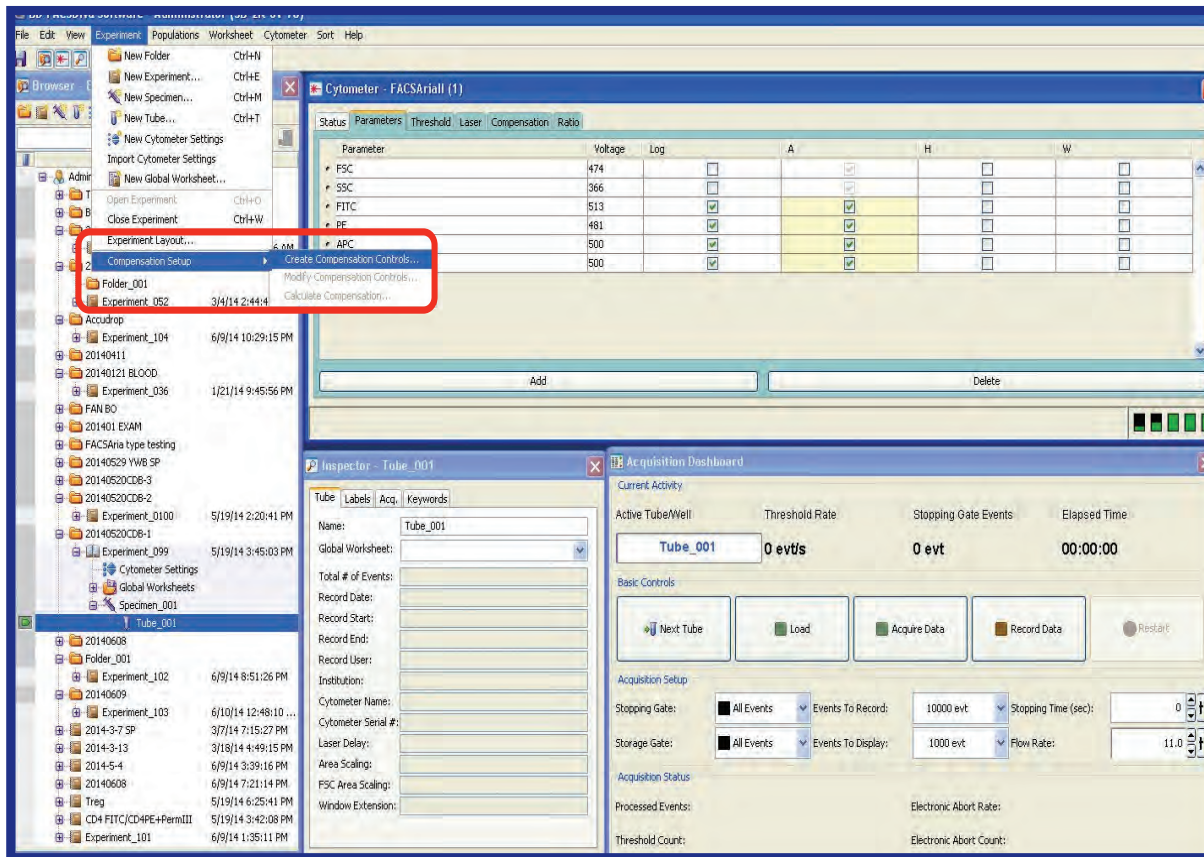
APC

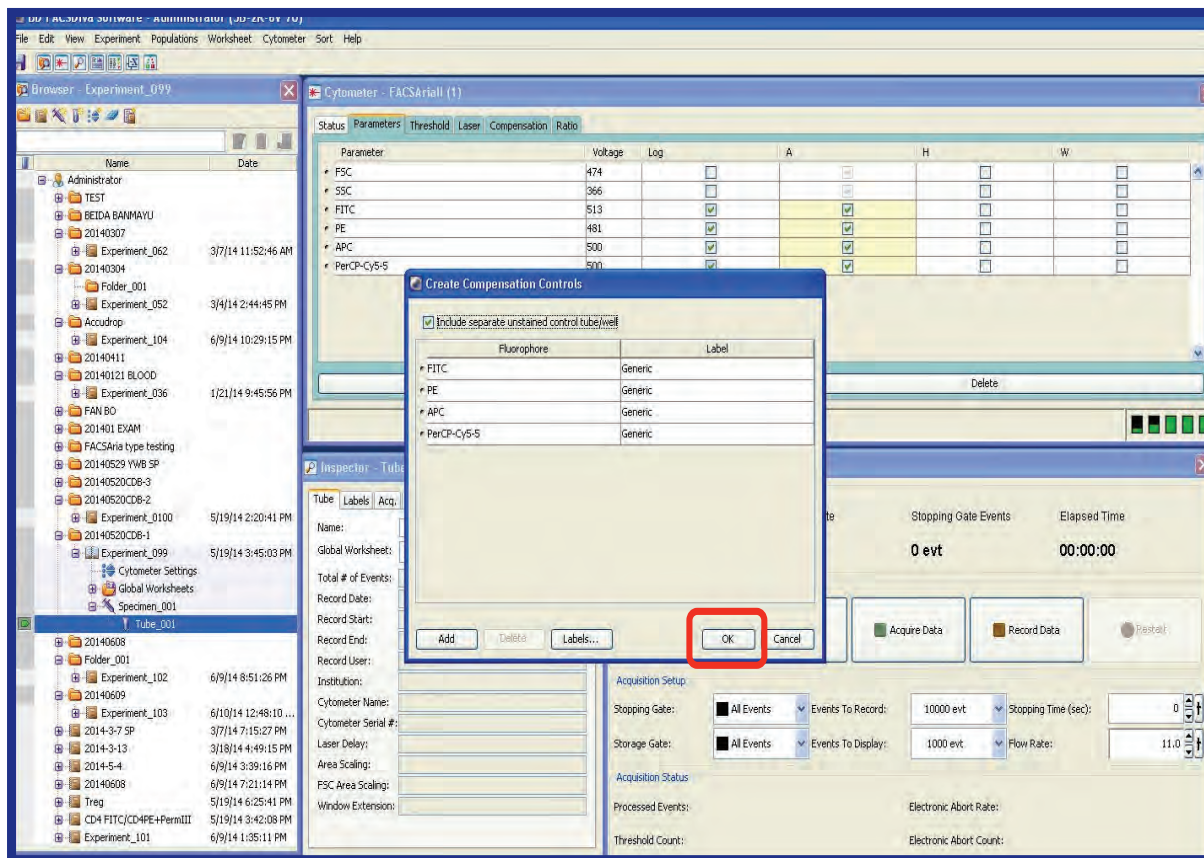
在菜单栏中选择

Experiment

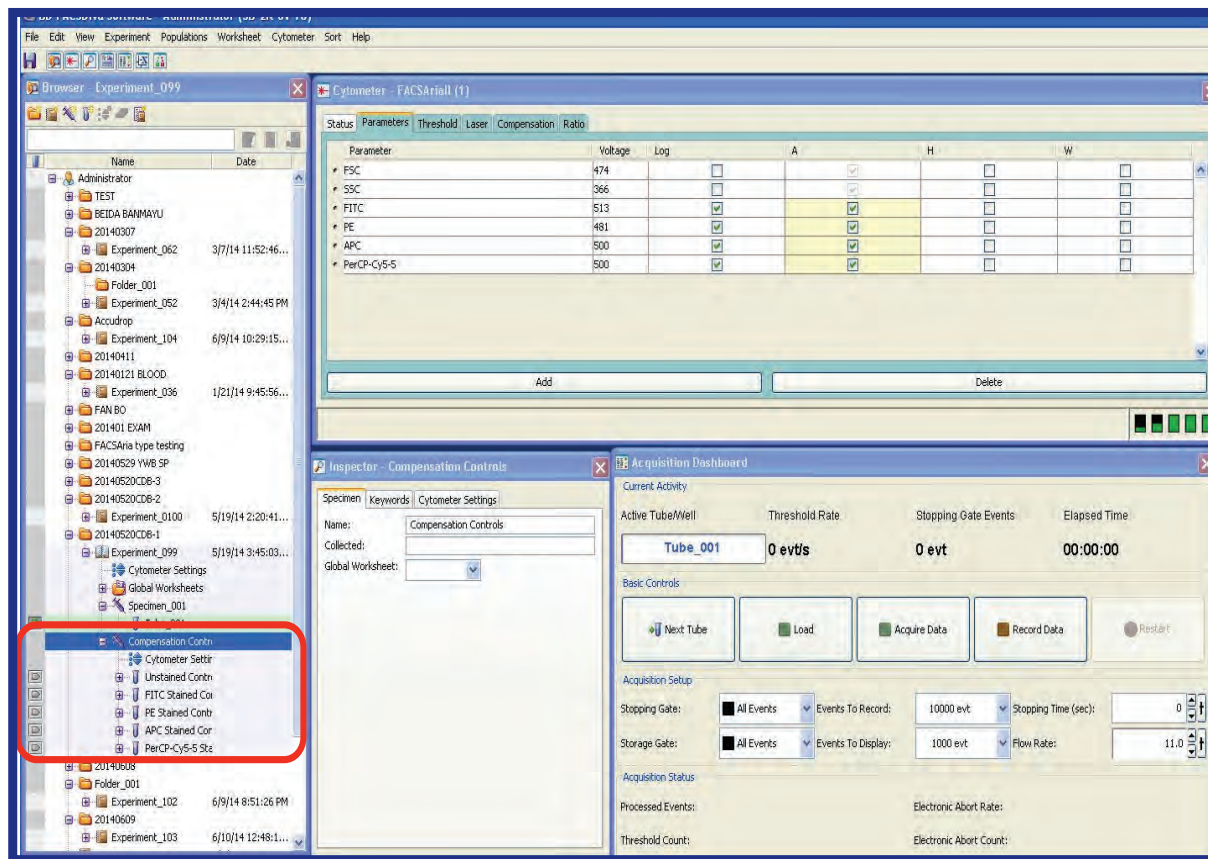
> Compensation
Setup

> Create
Compensation
Controls

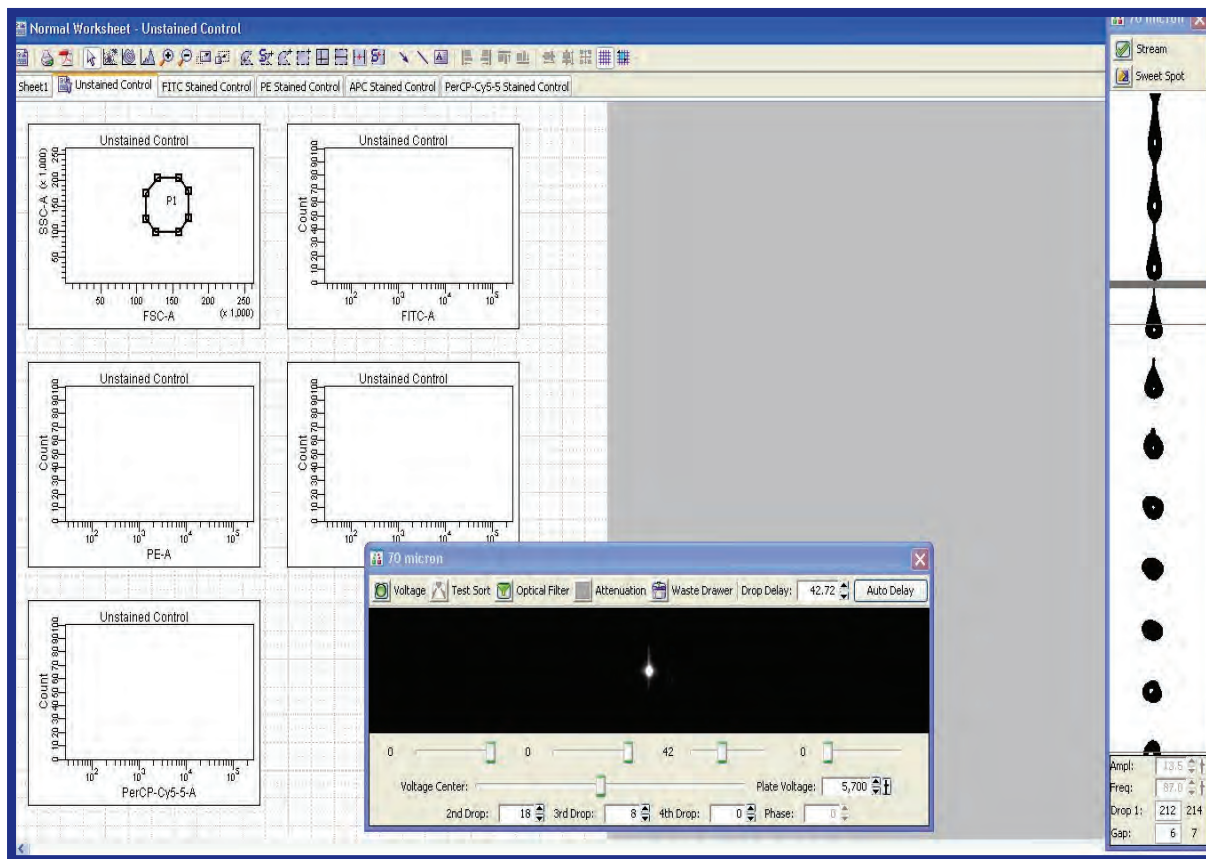




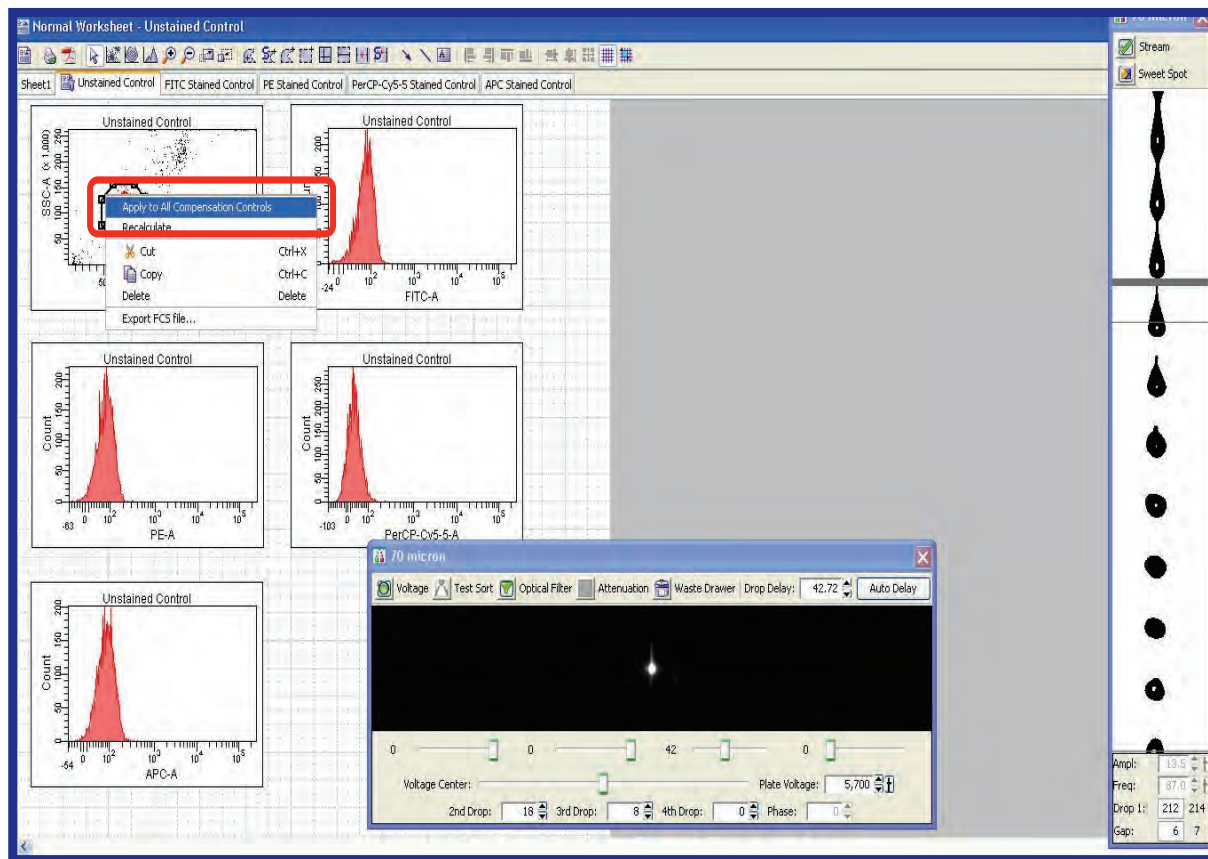
点击 OK



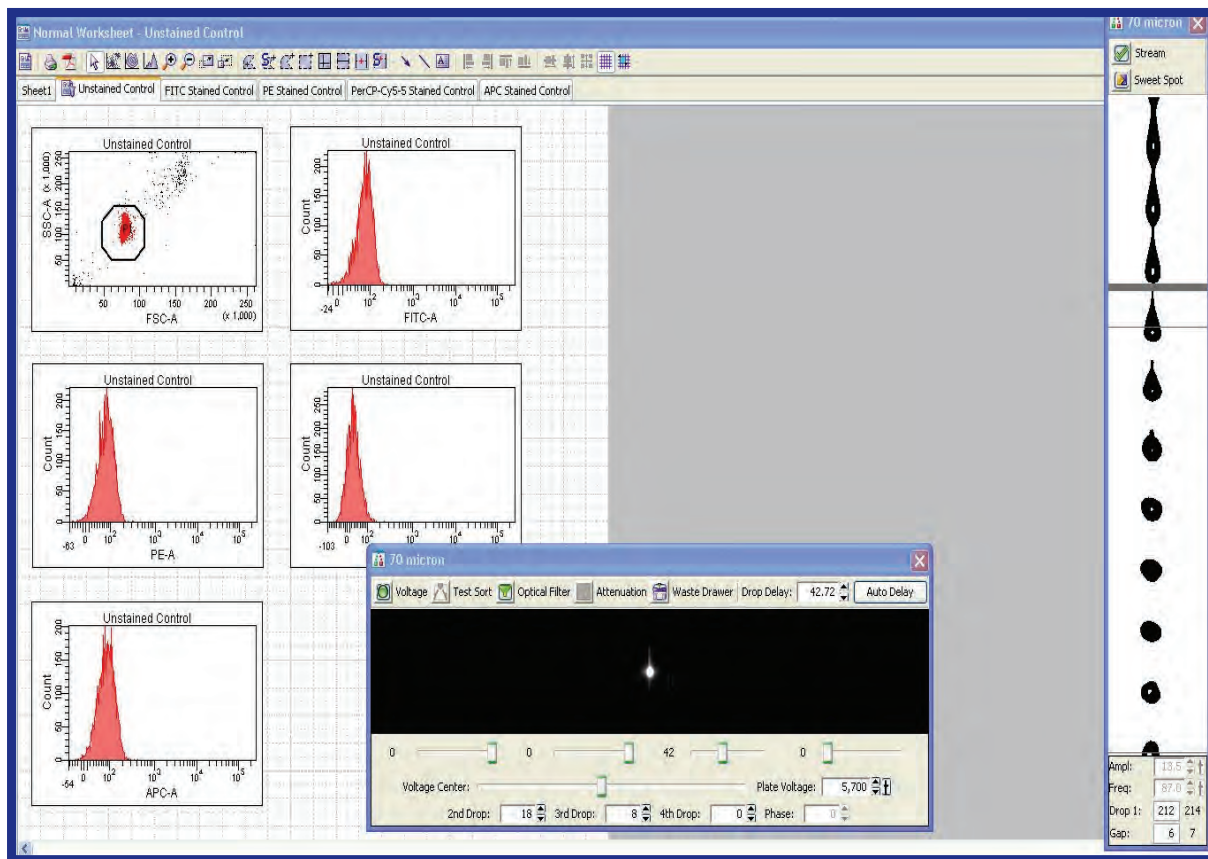
自动生成名称为
Compensation
Control 的
Speciman,
包含阴性对照管及各
单阳补偿管



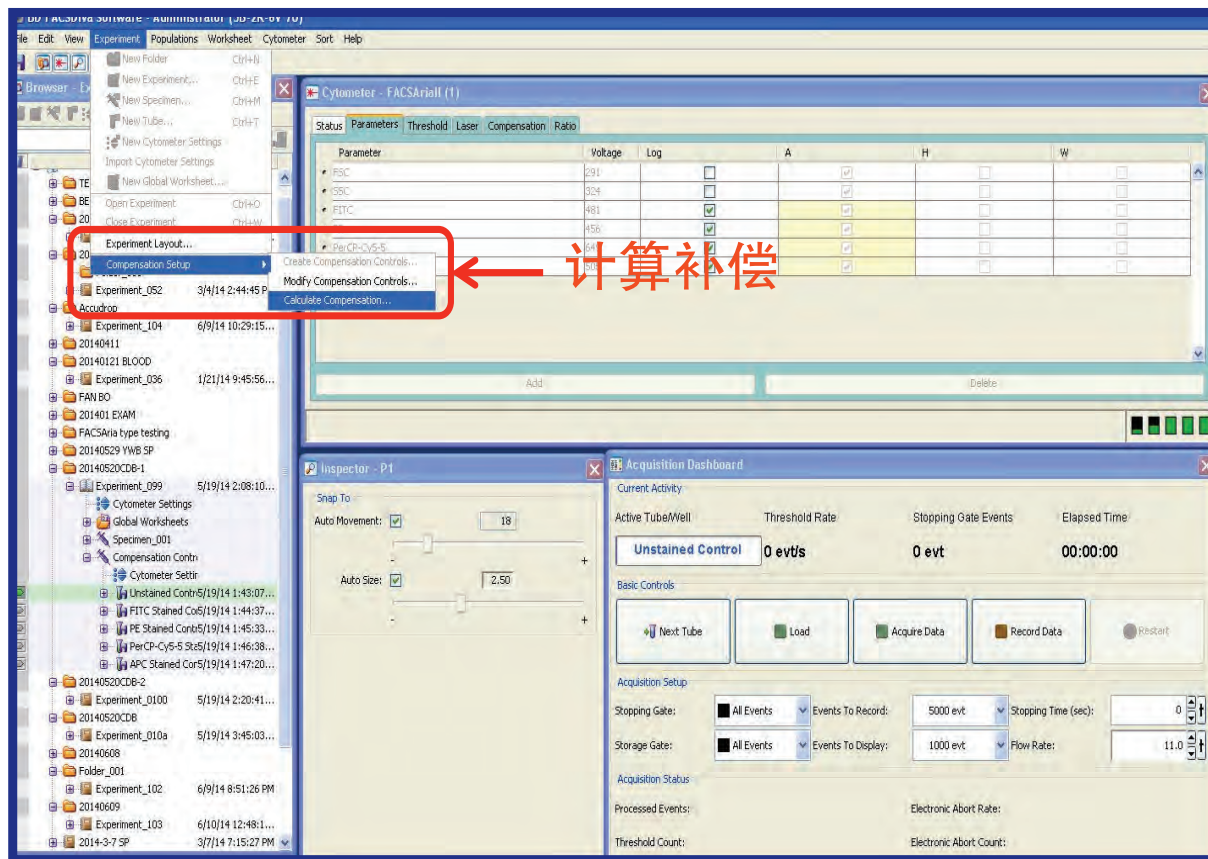
在 Normal Worksheet
中自动生成阴性对照
管及各单阳补偿管的
获取模板

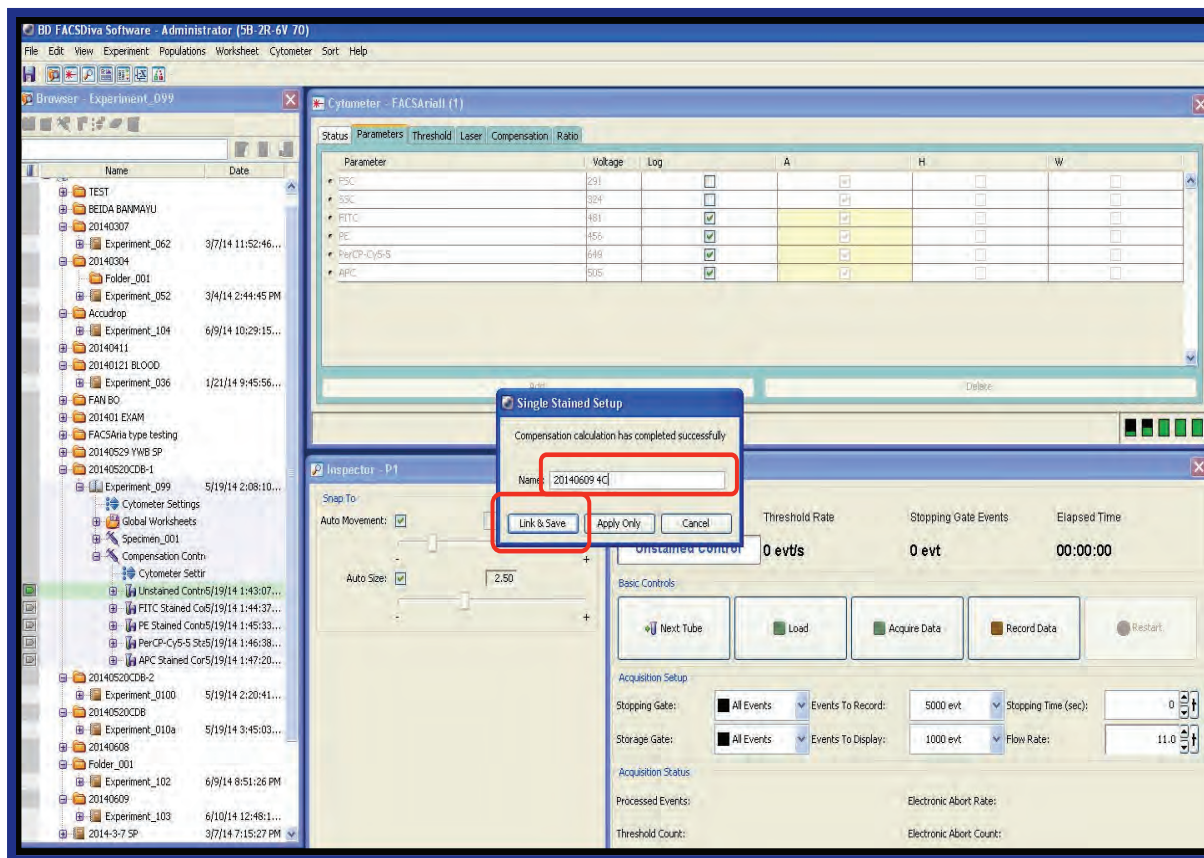


调节 FSC/SSC 电压，
使 P1 门圈中样本群，
单击右键，将 P1 门应
用到所有补偿对照



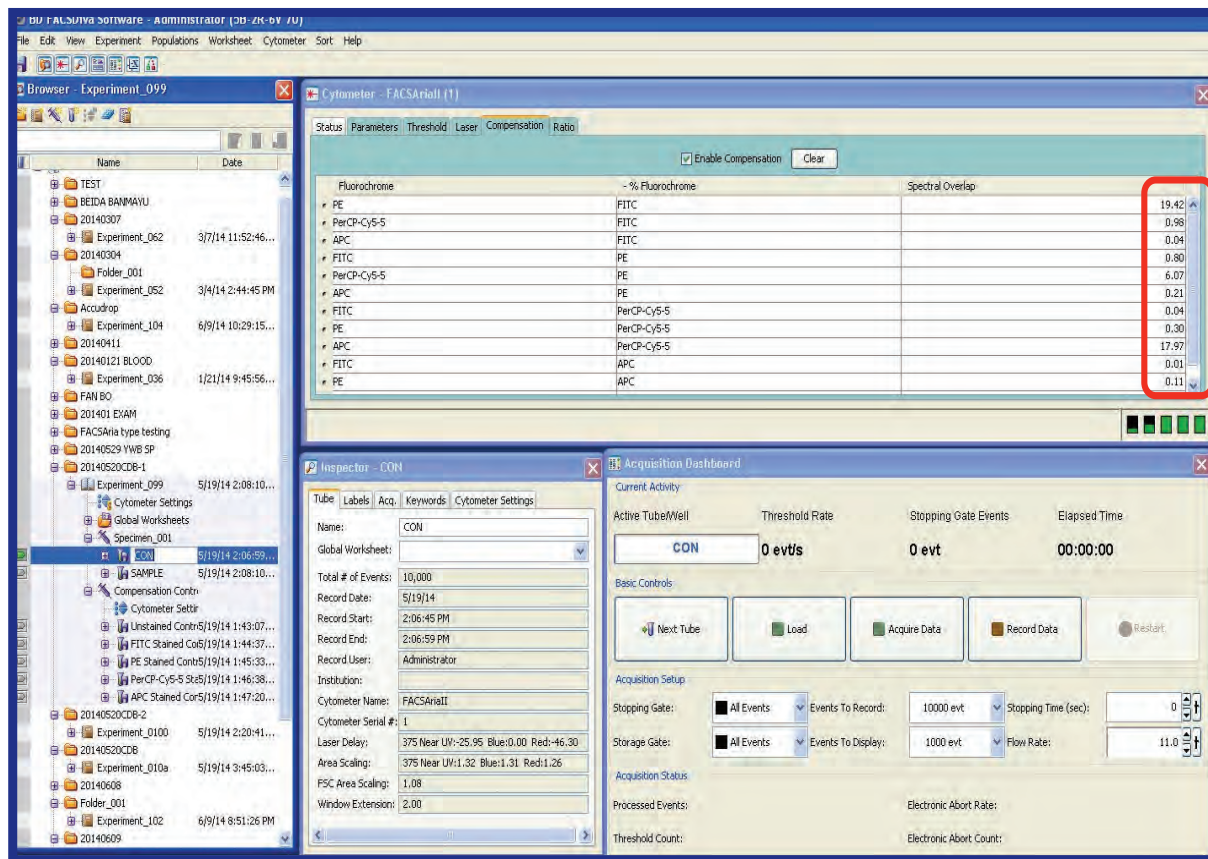
调整各荧光通道电压后，依次记录各管



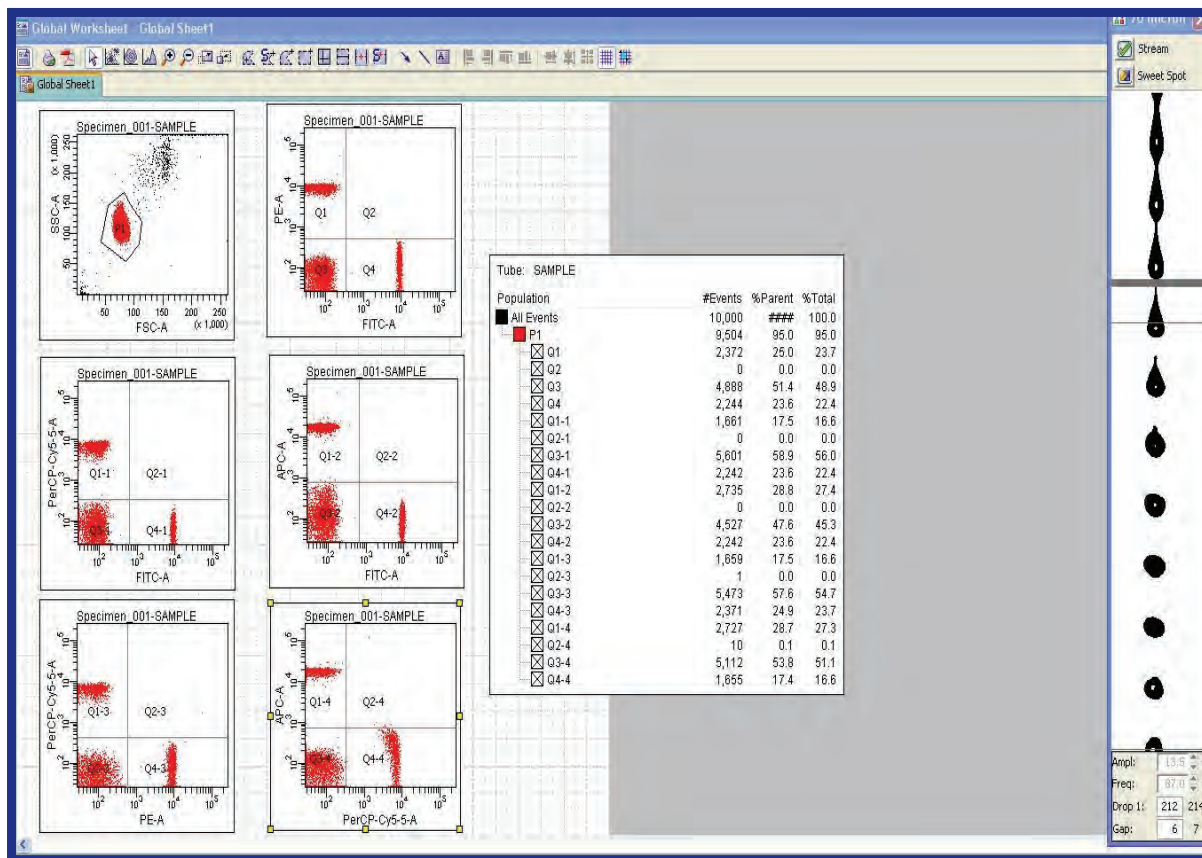


重新命名补偿名称，并链接

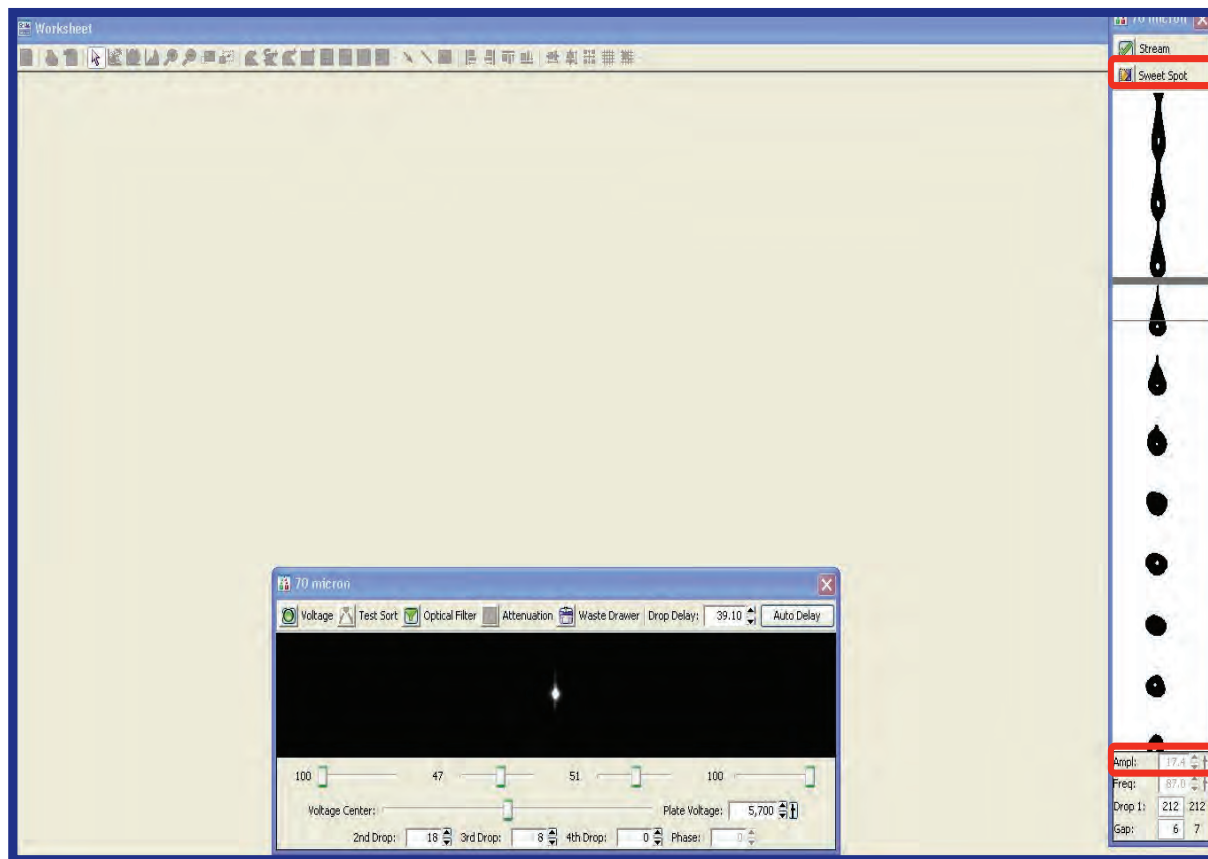
应用补偿，依次记录
各样本管



补偿后的图形

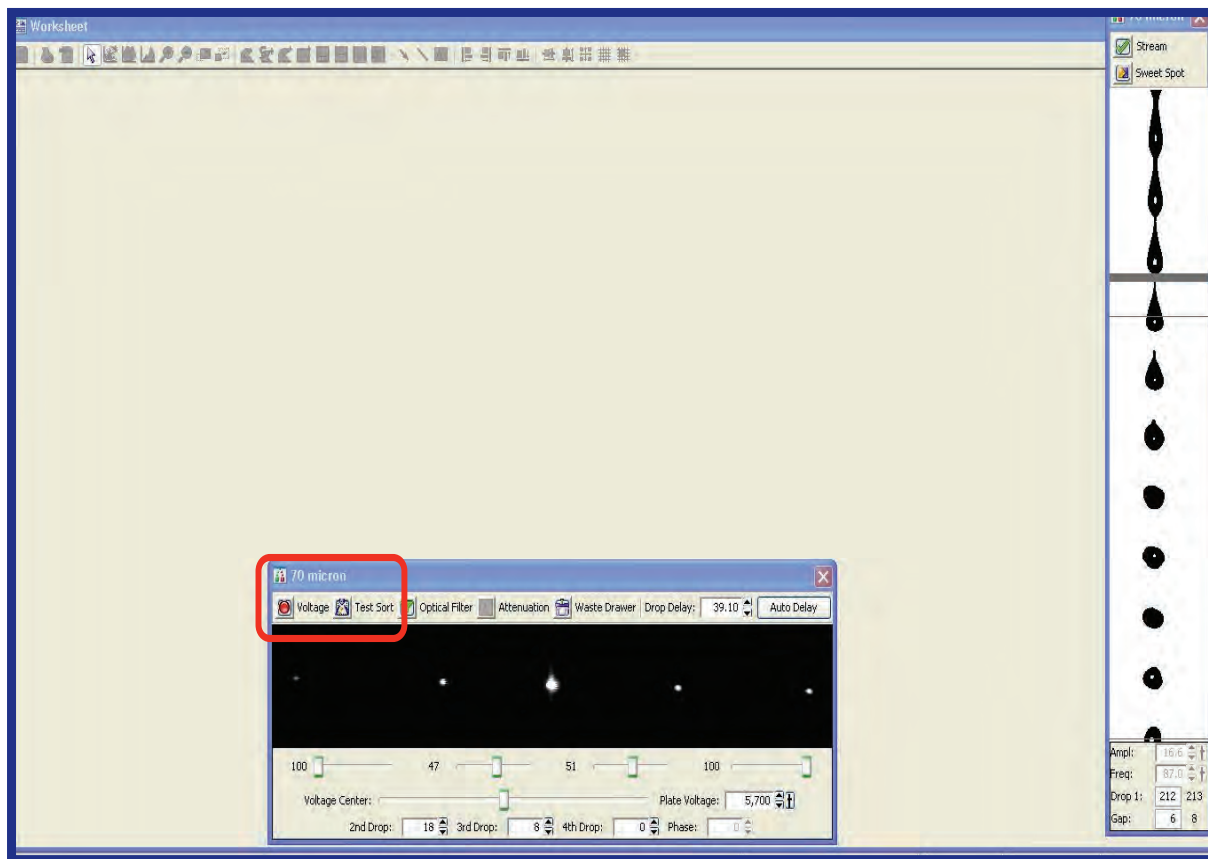


流式分选



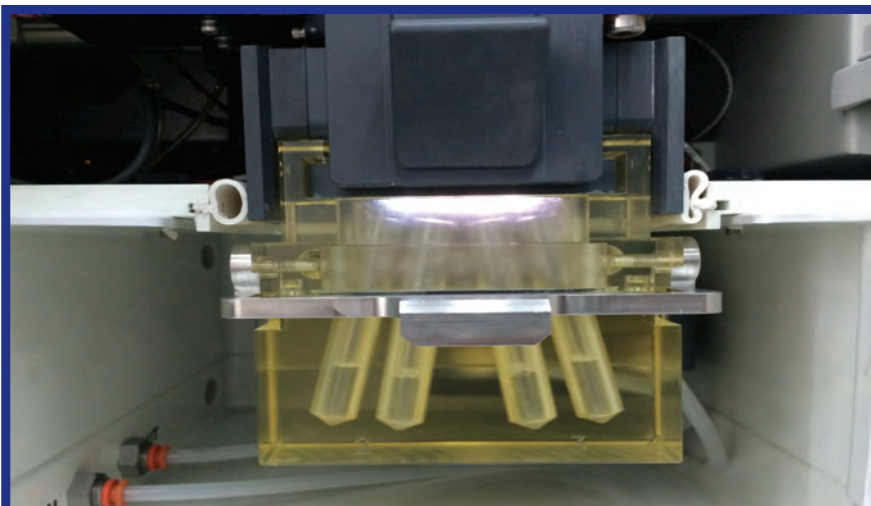
调节振幅，使得液流
稳定，并合上液流断
点窗口中

Sweet Spot



点击 Voltage 加电

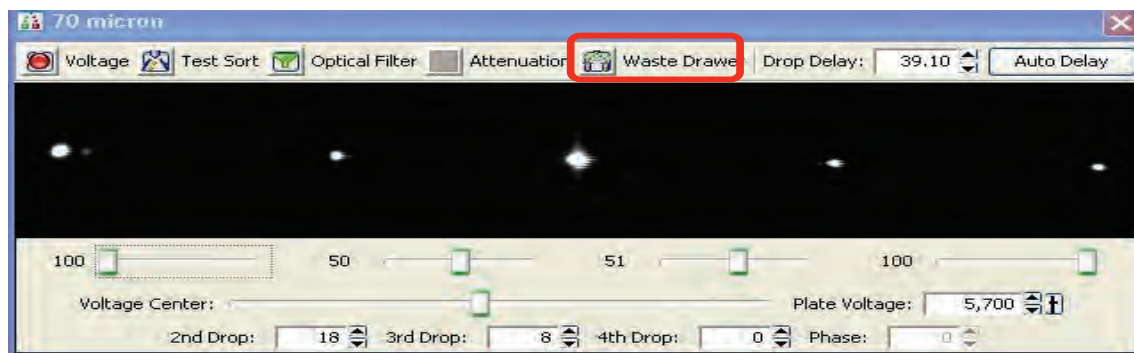
打开 Test sort
确定四束液流
分束明显



安装分选装置：

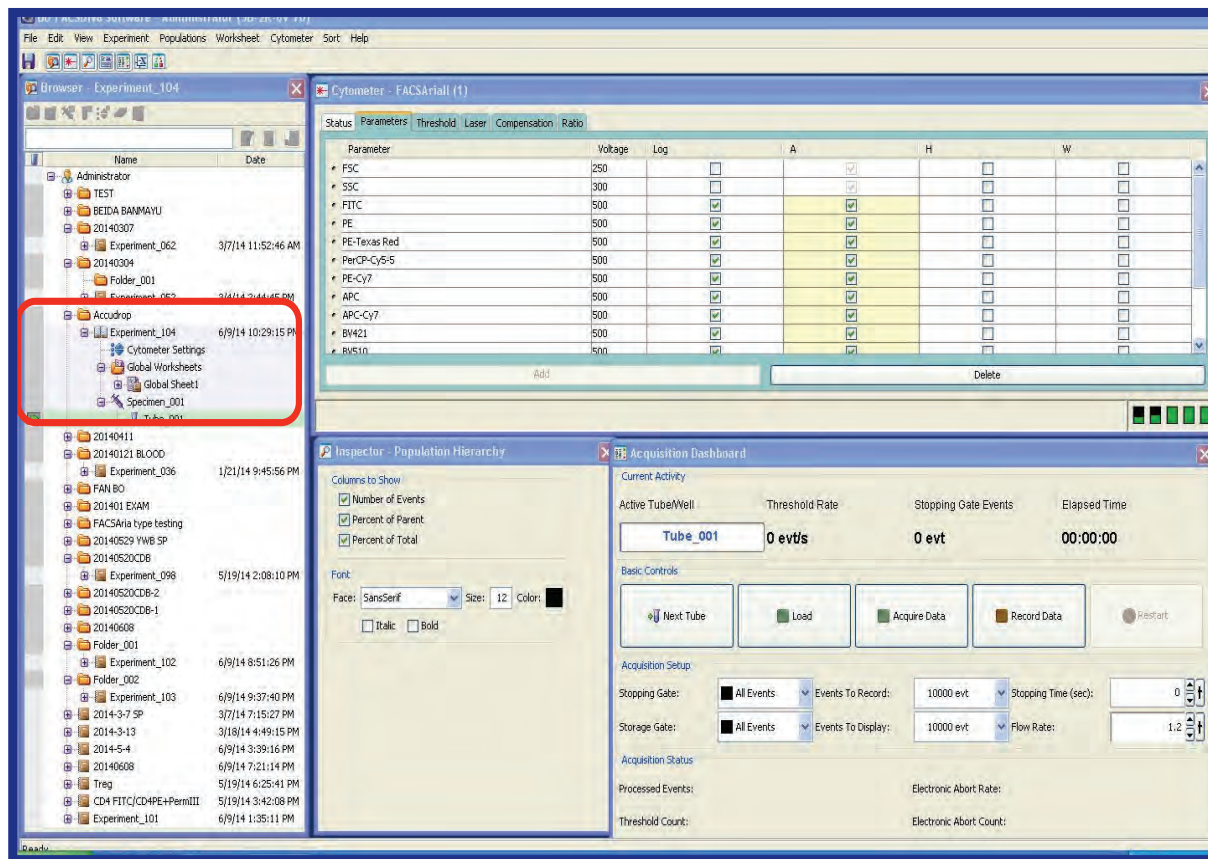
根据分选需要，将收集管放入四路或两路的分选装置中，然后将该装置滑入分选槽中

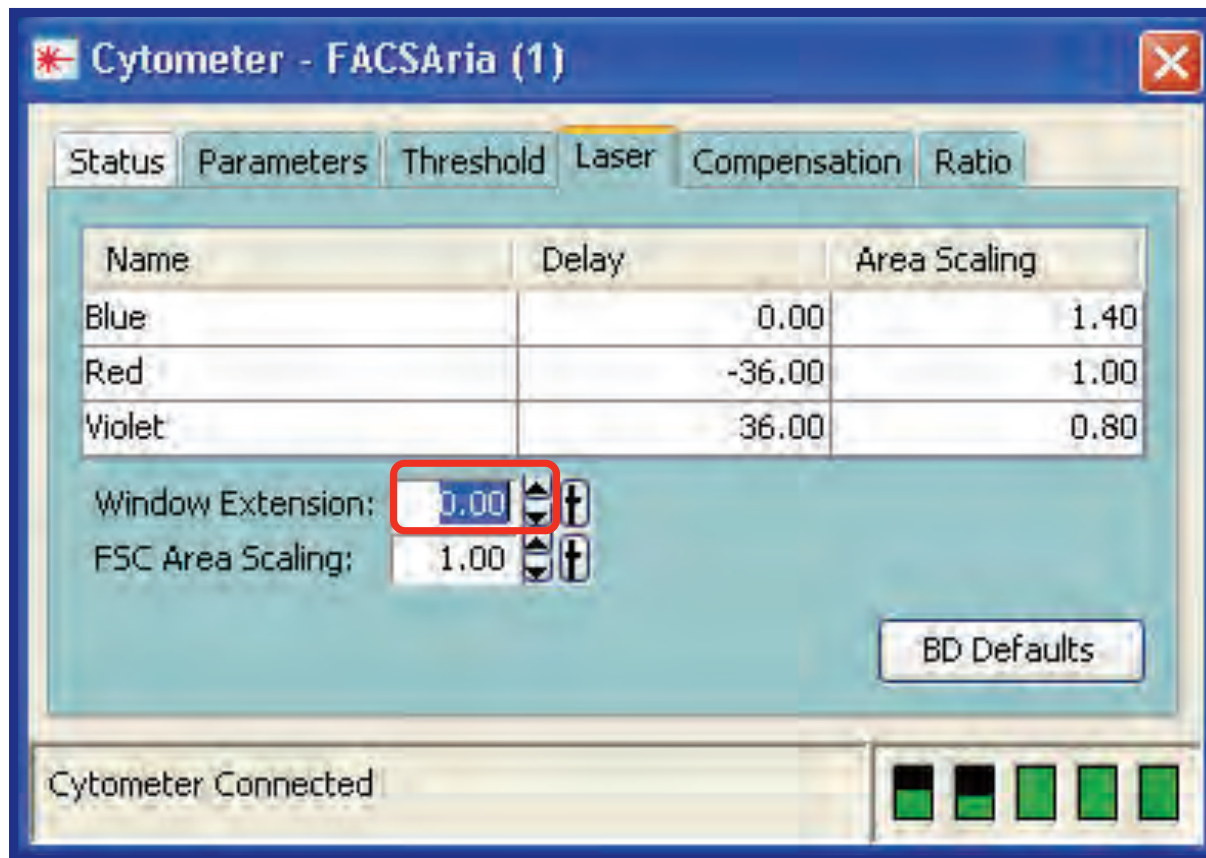
打 开 Side stream 窗 口 中 Waste Drawer，调节电压滚动条，使得分选液流落入相应分选收集管中



液滴延迟

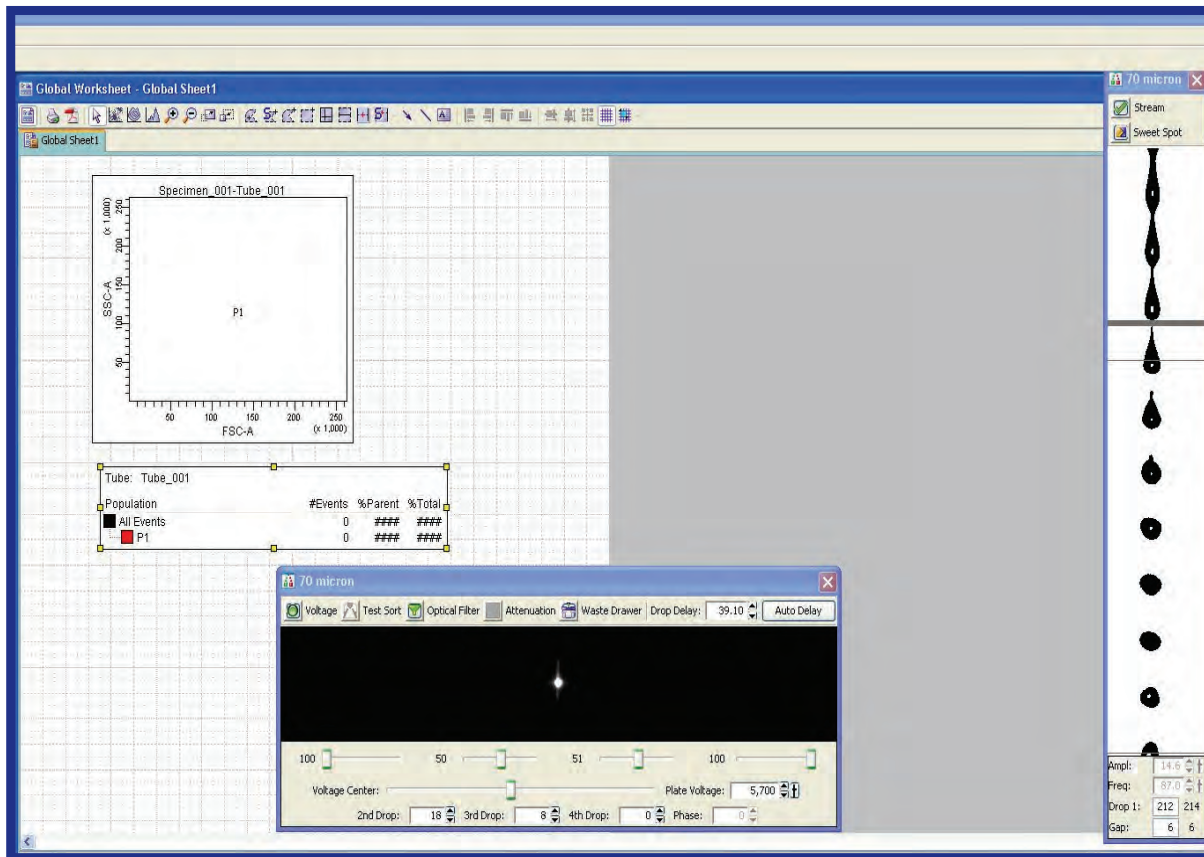
建立 Accudrop 文件夹

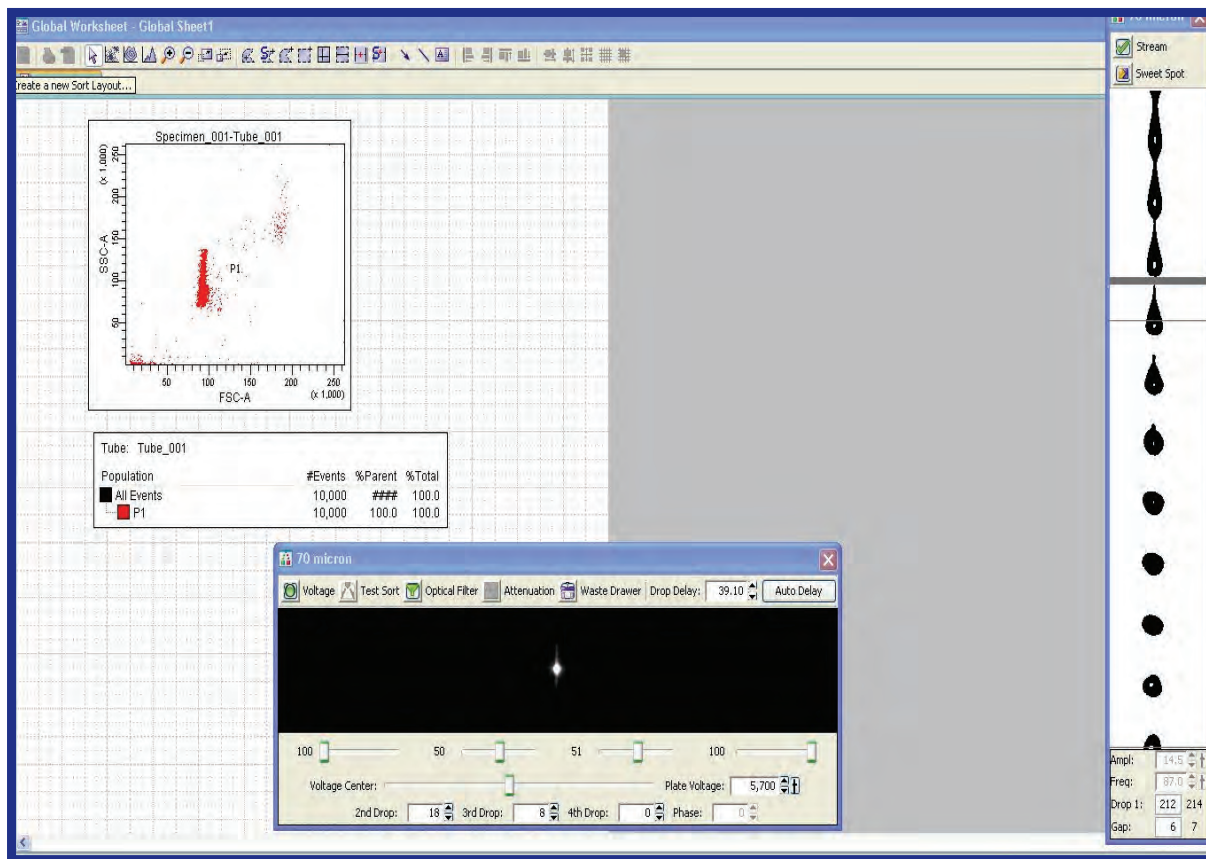




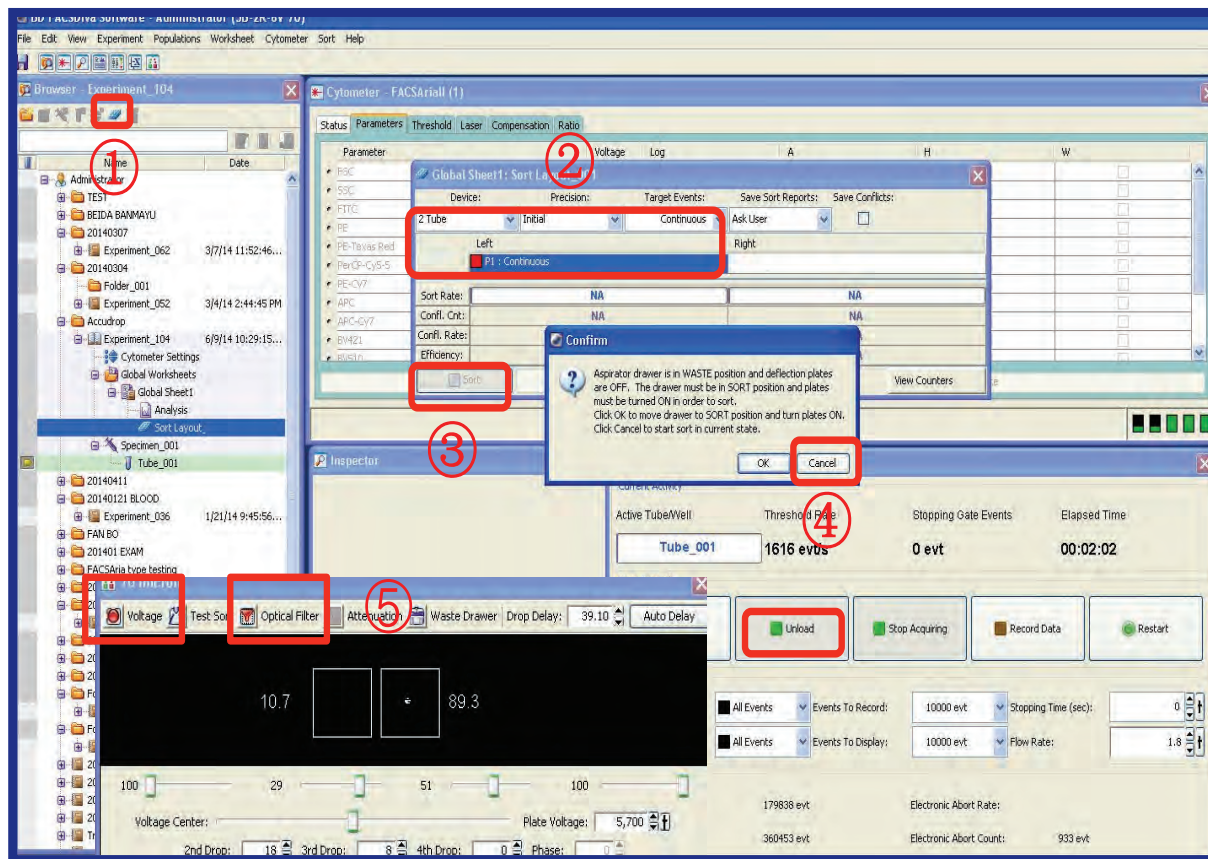
在 Cytometer 窗口中
选择 Laser 页面，将
Window extension
设为 0

在 Global sheet 上建立
获取模板，画 FSC-A 和
SSC-A 双参数散点图，设
P1 门。P1 门要设到最大





调节 FSC 和 SSC 电压，
使得所有微球都显示在
P1 门中



① 创建 New sort layout

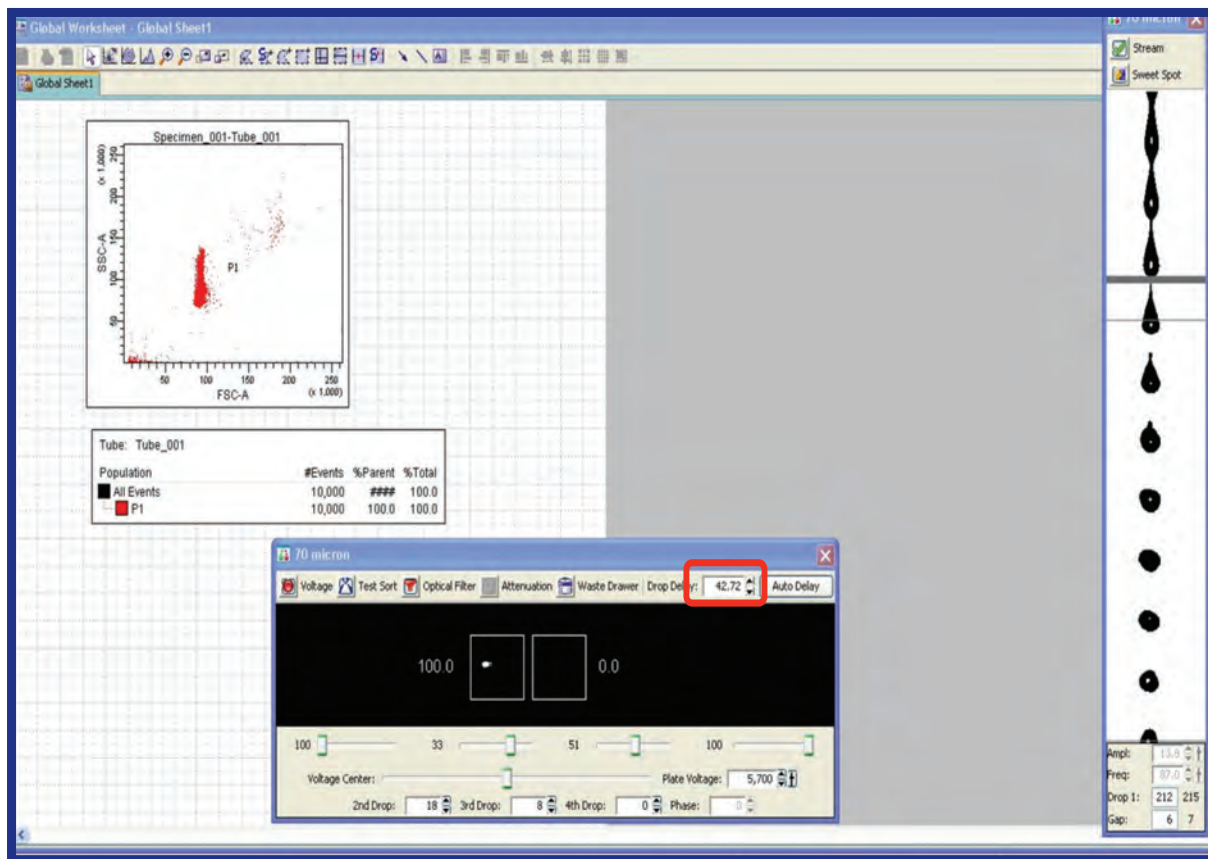
② 在 Sort layout 窗口中
Device 选择 2 Tube
Precision 选择 Initial
Target events 选择
Continuous

将 Left 下的分选群加
为 P1

③ 点击 Load 上样，点
击 Sort 键

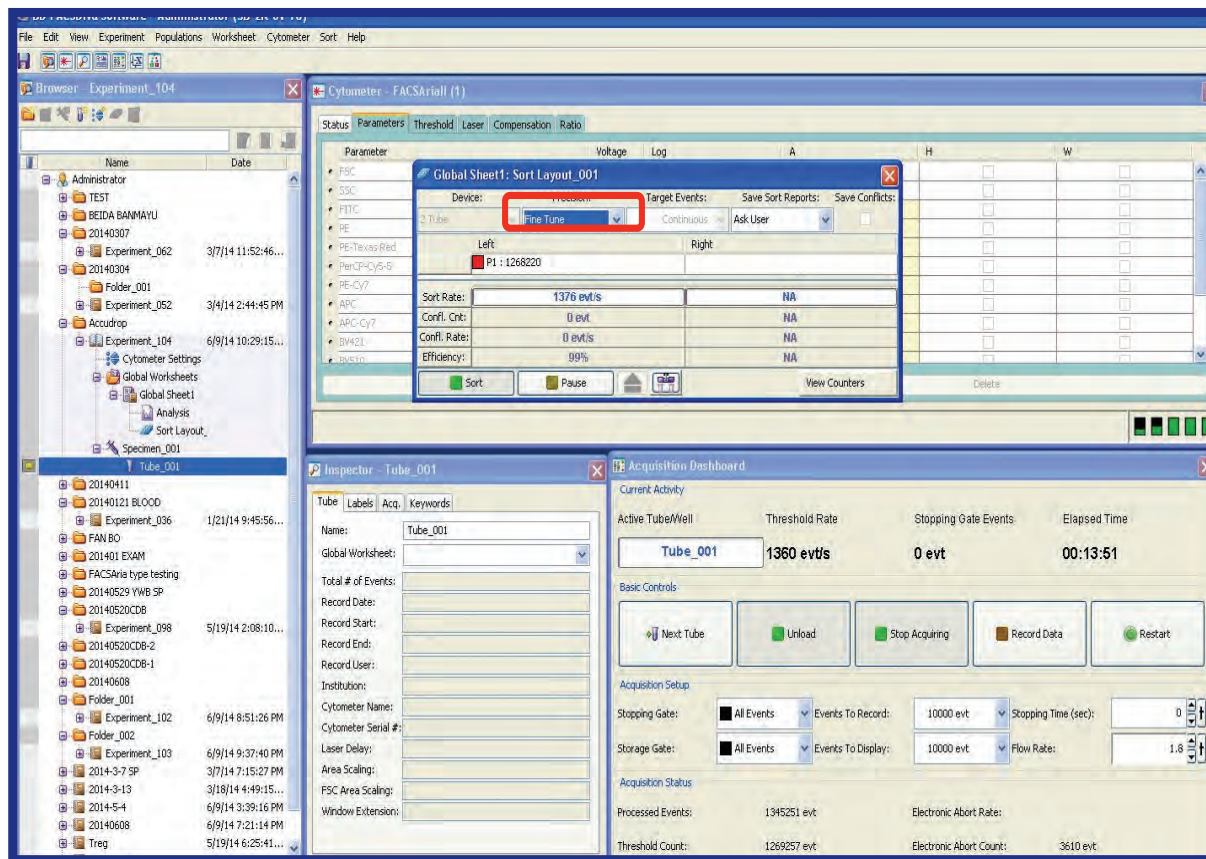
④ 在弹出的对话框中
选择 Cancel

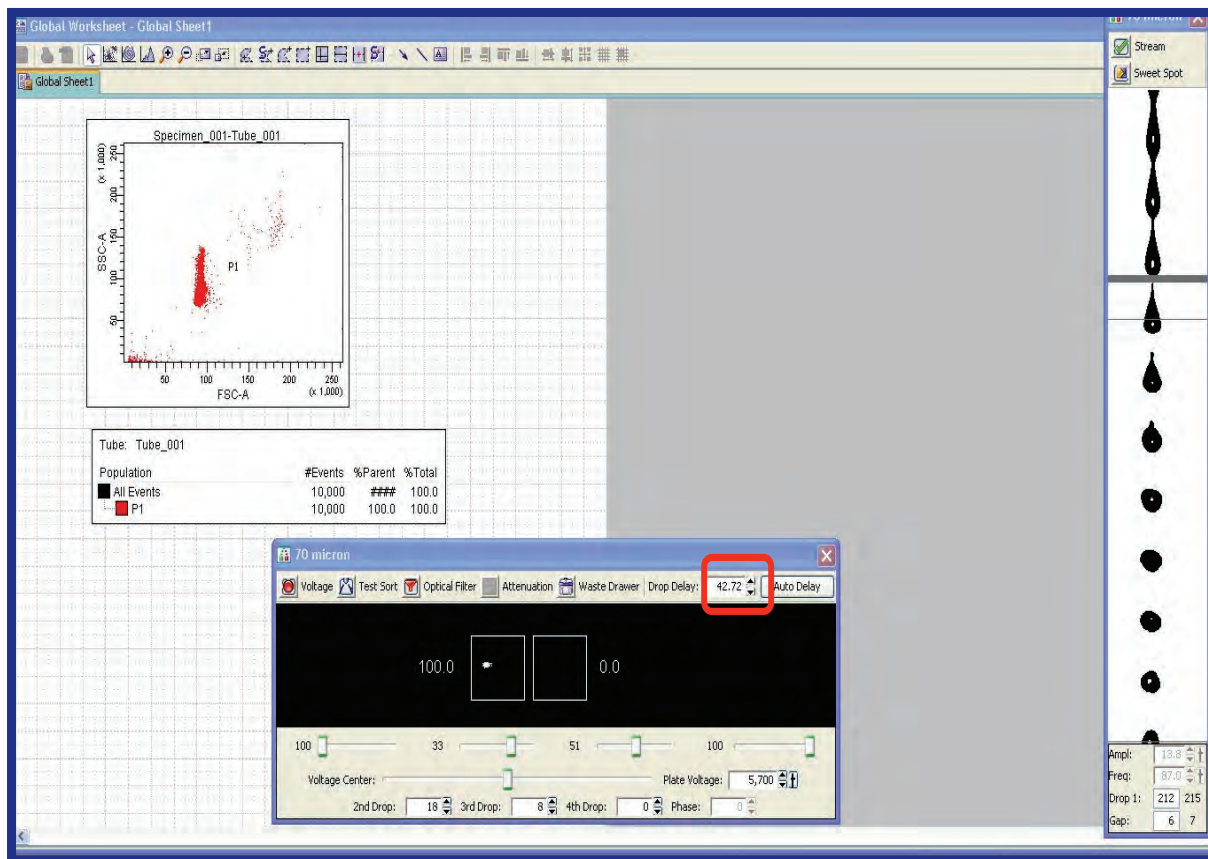
⑤ 点击 Voltage 和
Optical filter



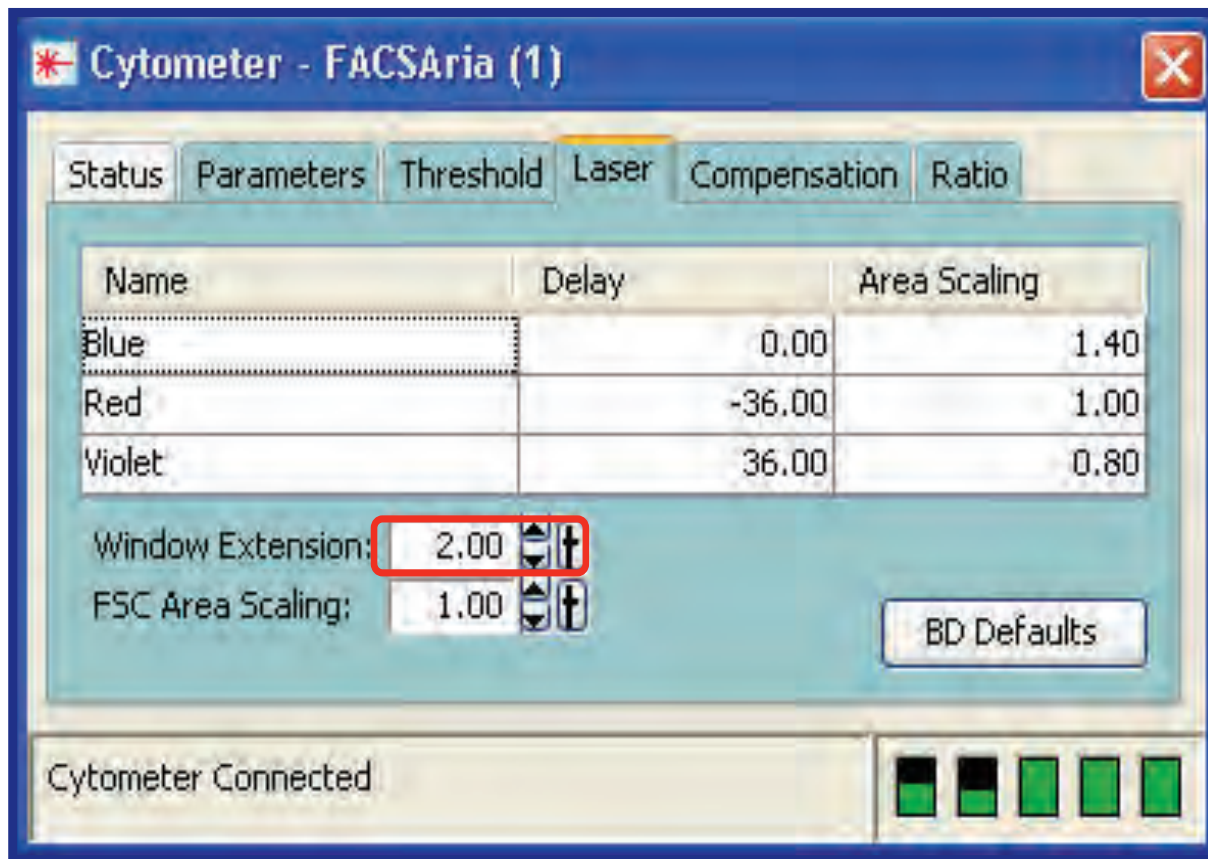
调节 Drop Delay 值，使得左框中亮度接近 100%

在 Sort layout 窗口 将 Precision 改为 Fine tune 模式





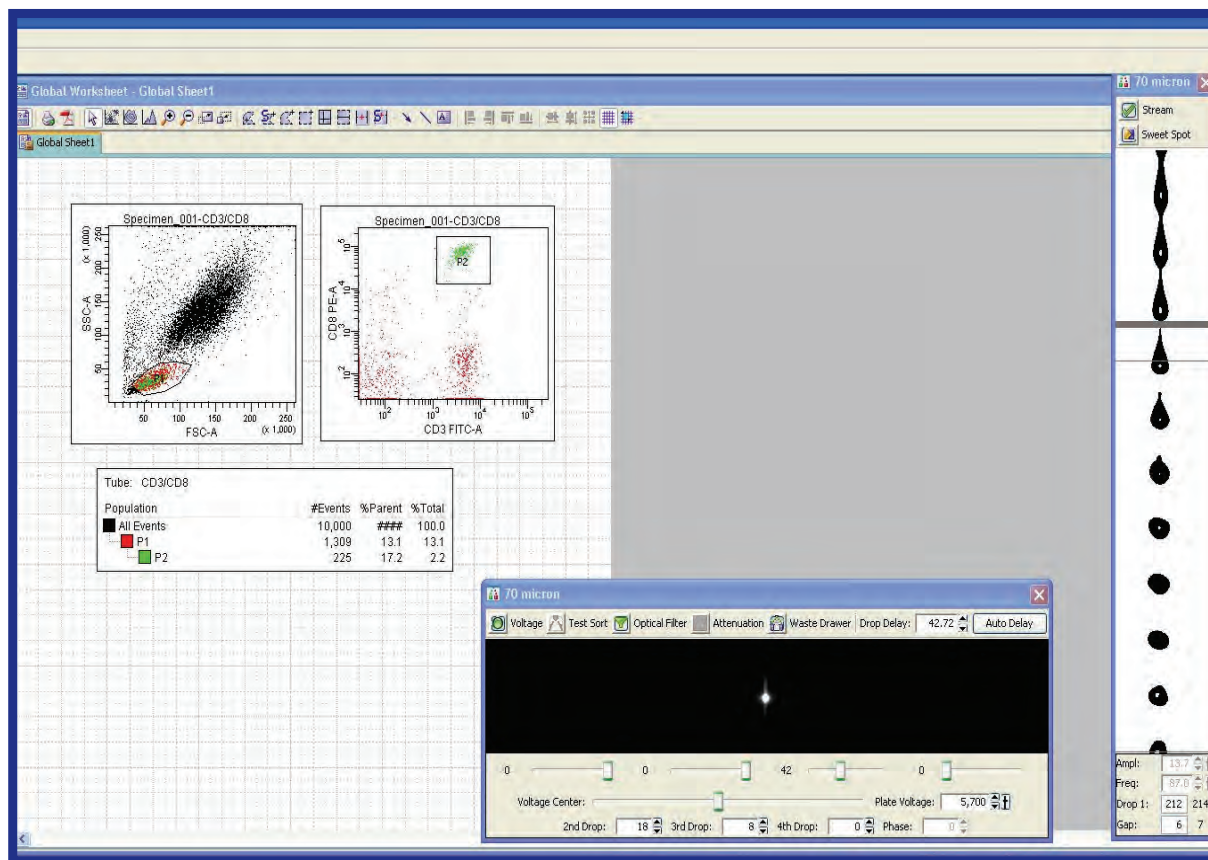
微调节 Drop Delay 的数值，使左框里数值最大

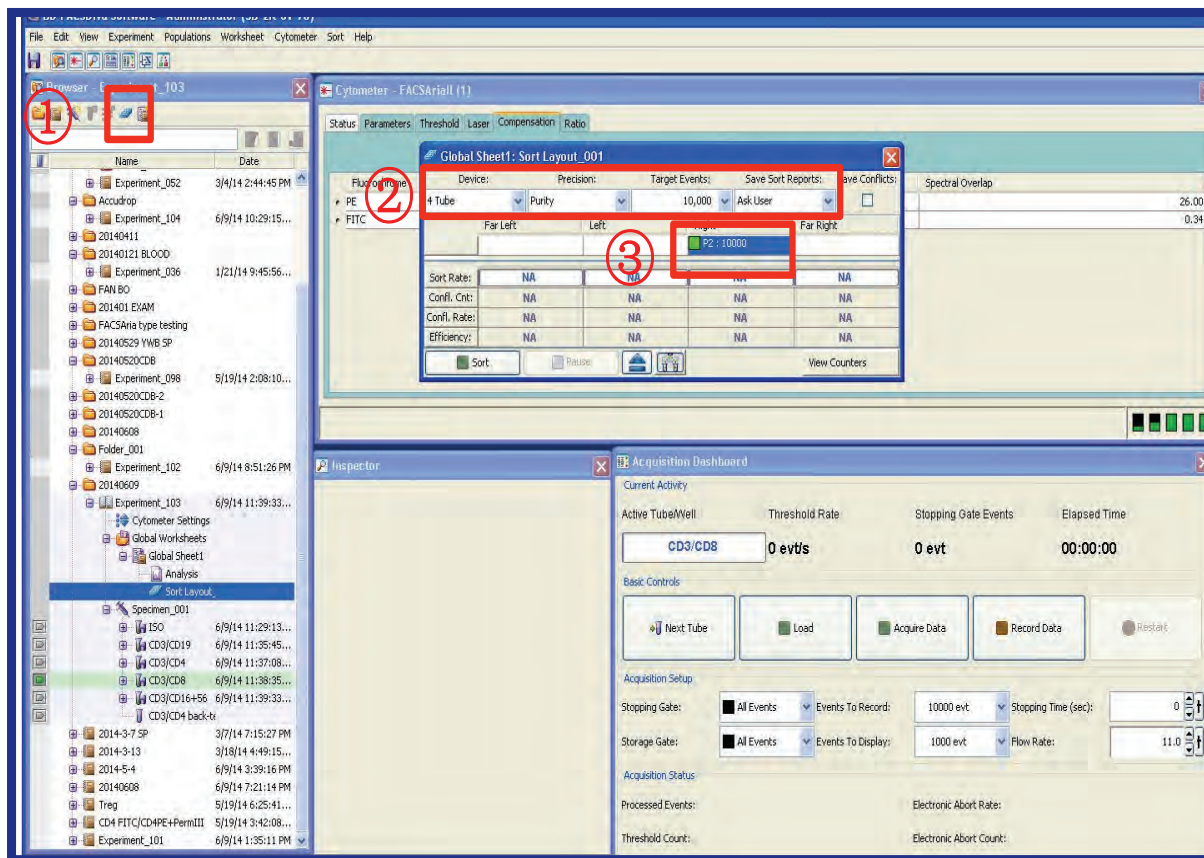


在 Cytometer 窗口中选择 Laser 页面，将 Window extension 设为 2

分选人外周血 $CD3^{+}CD8^{+}$ 细胞

在 CD3 和 CD8 双参数散点图中设 P2 门，圈定 CD3⁺CD8⁺ 群细胞

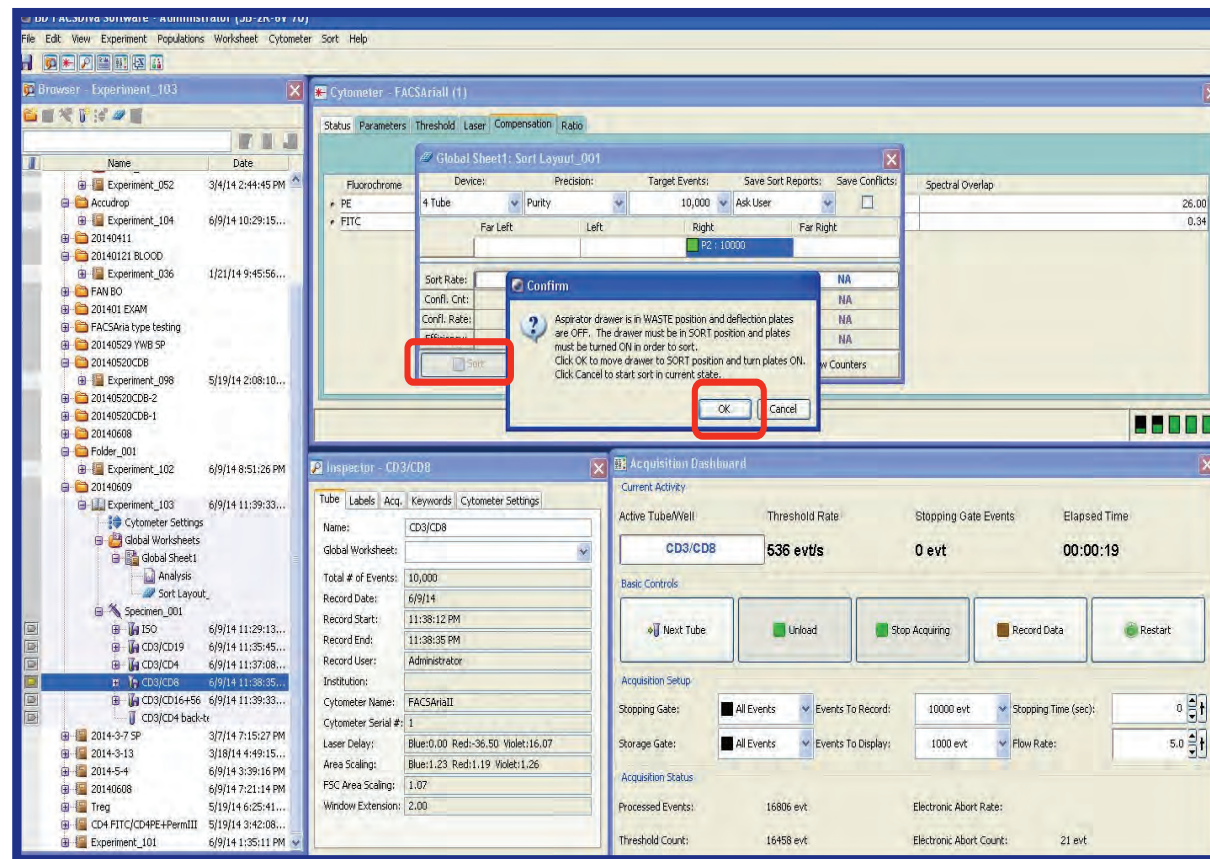




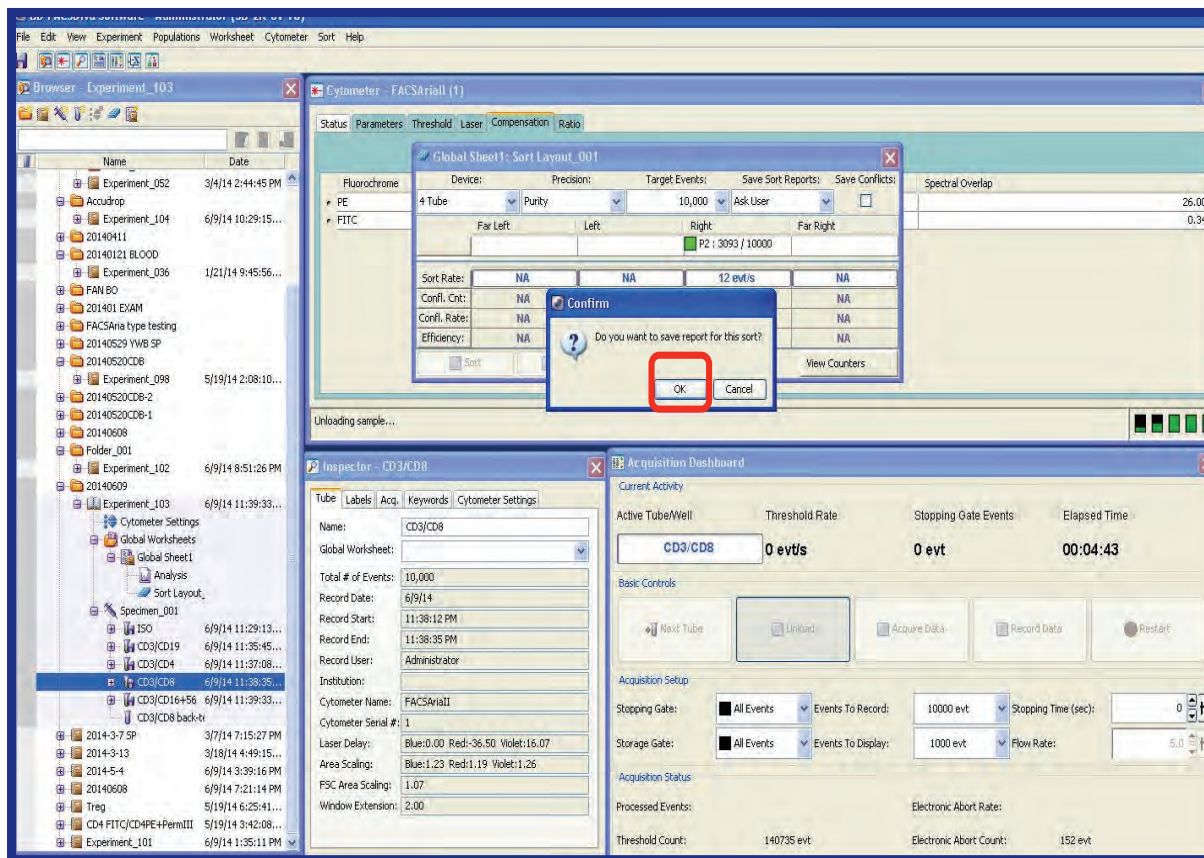
① 创建 New sort layout

② 在 sort layout 窗口中 Device 选择 4 Tube
Precision 选择 purity
Target events 选择 10000

③ 将 Right 下的分选群设为 P2



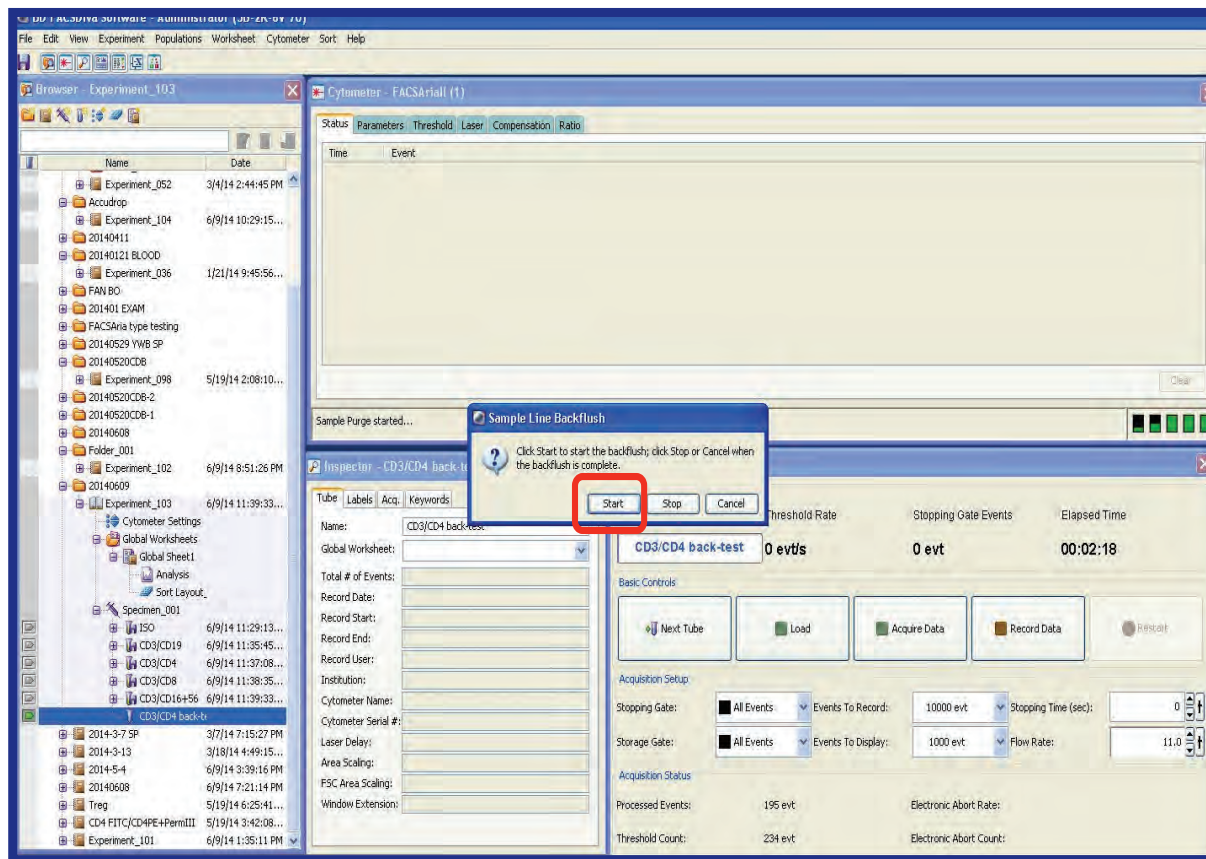
在 Sort Layout 窗口中
先点击 Sort，在弹出的
窗口中点击 OK

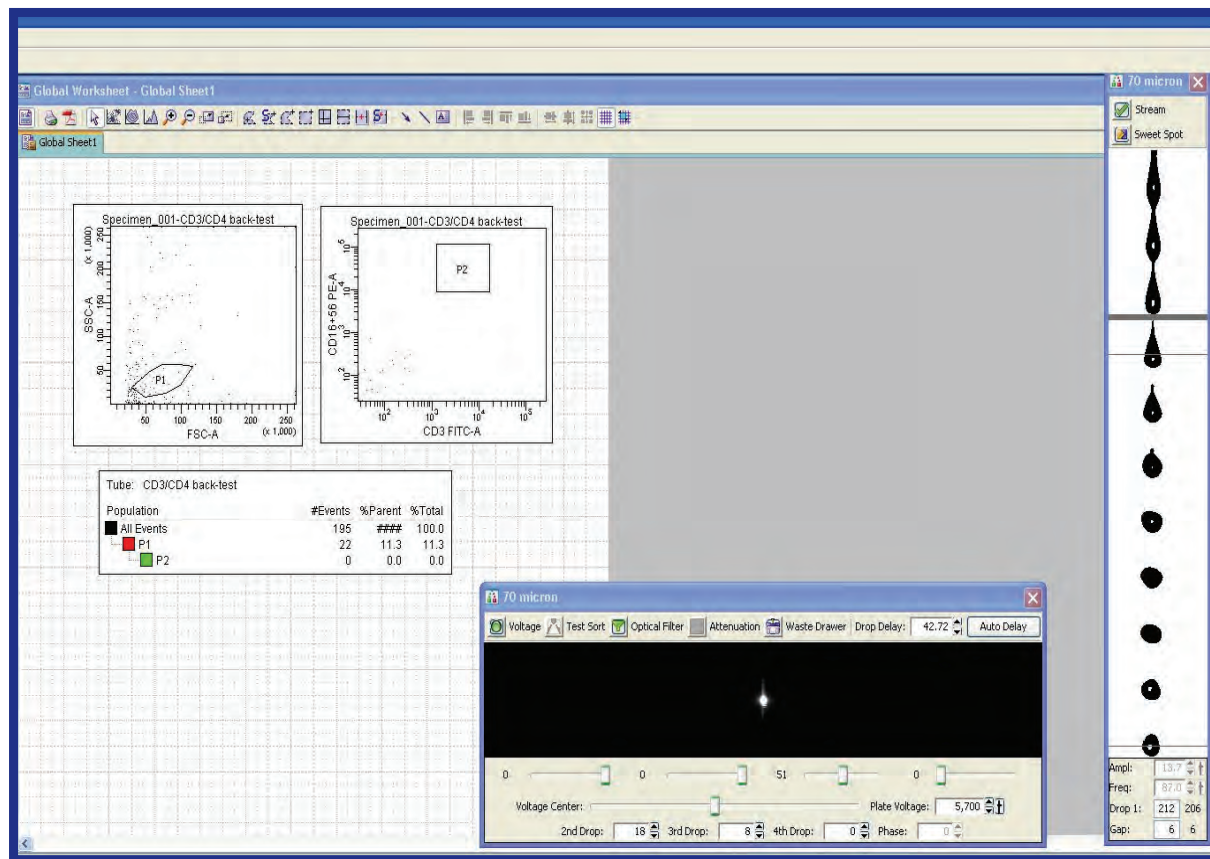


分选结束，保存分选报告，
点击 OK

点击菜单栏 Cytometer >
Cleaning Mode > Sample
Line Backflush

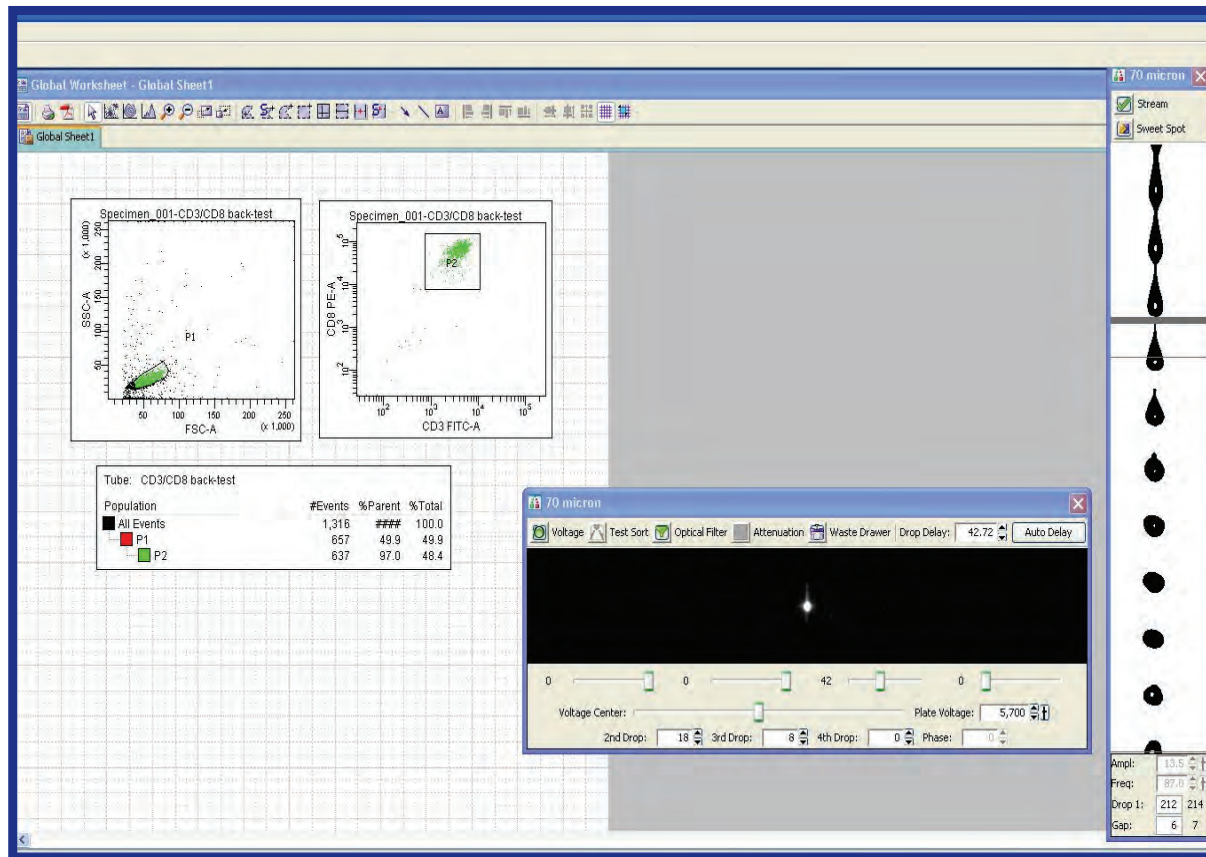
在弹出的窗口中点击 Start



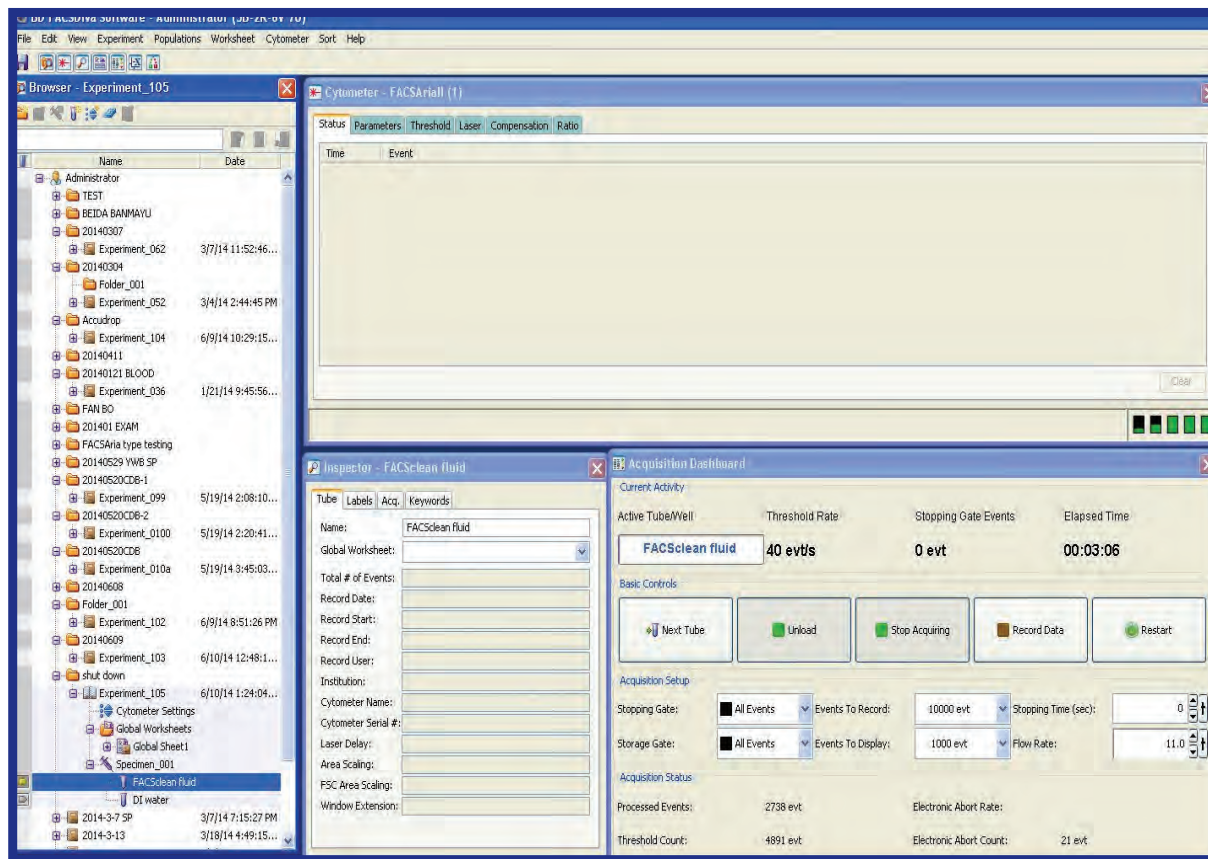


上蒸馏水高速 (Flow rate 11.0) 冲洗管路 5min

回测分选样本

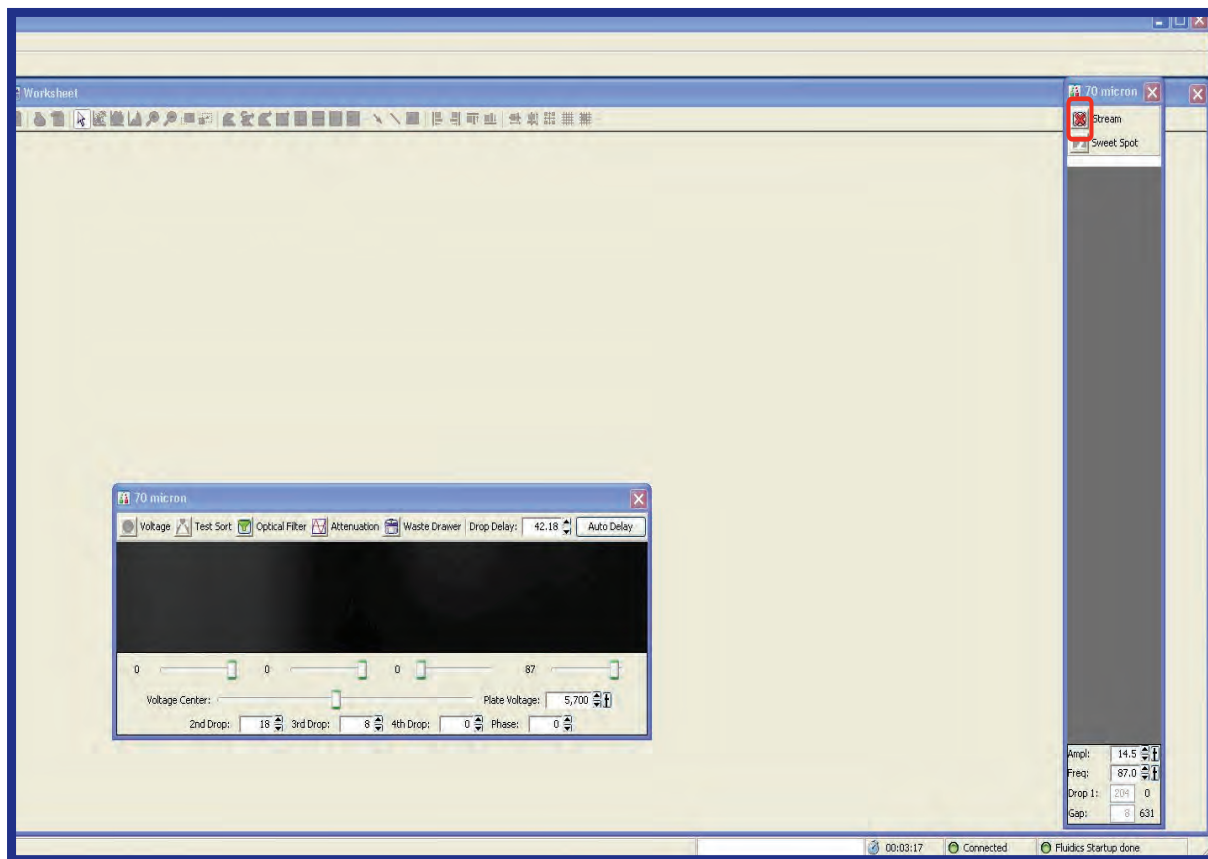


关机



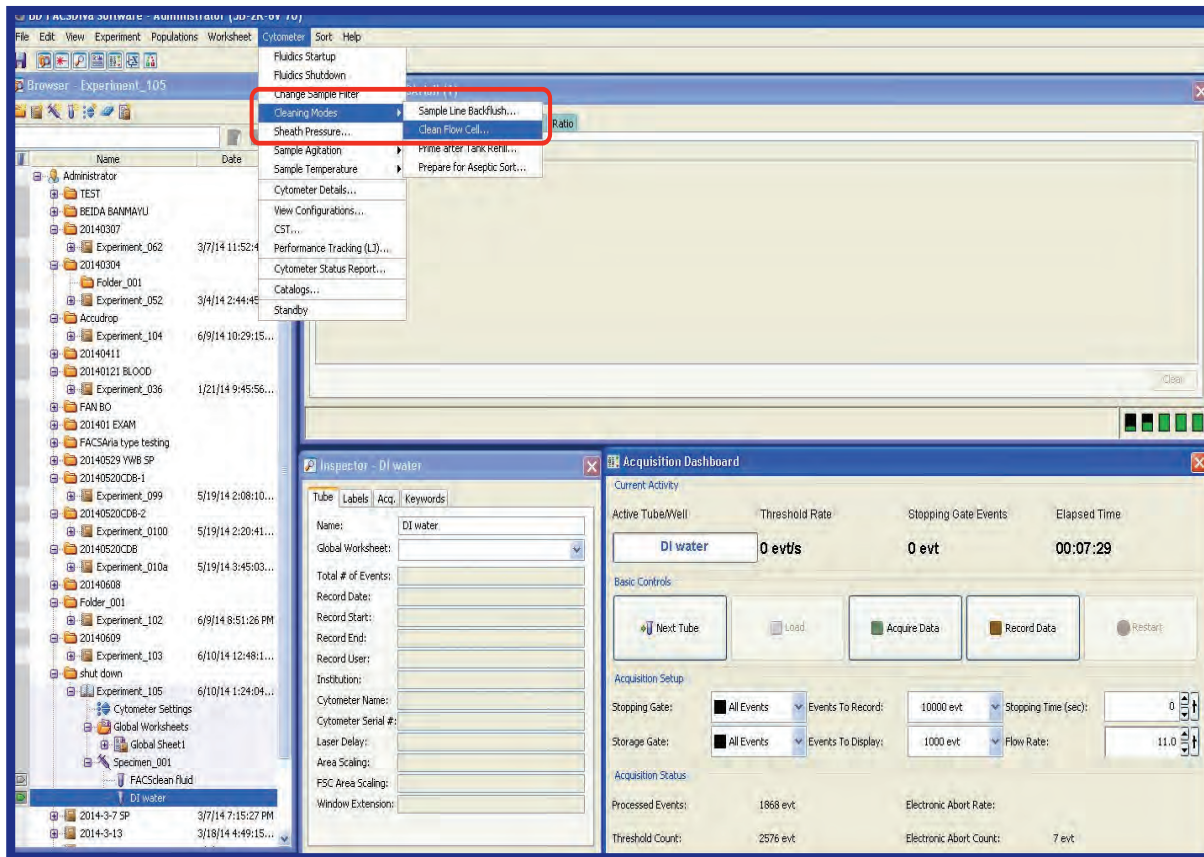
上 2ml FACS Clean 清洗液，高速 (Flow rate 11.0) 上样 5min

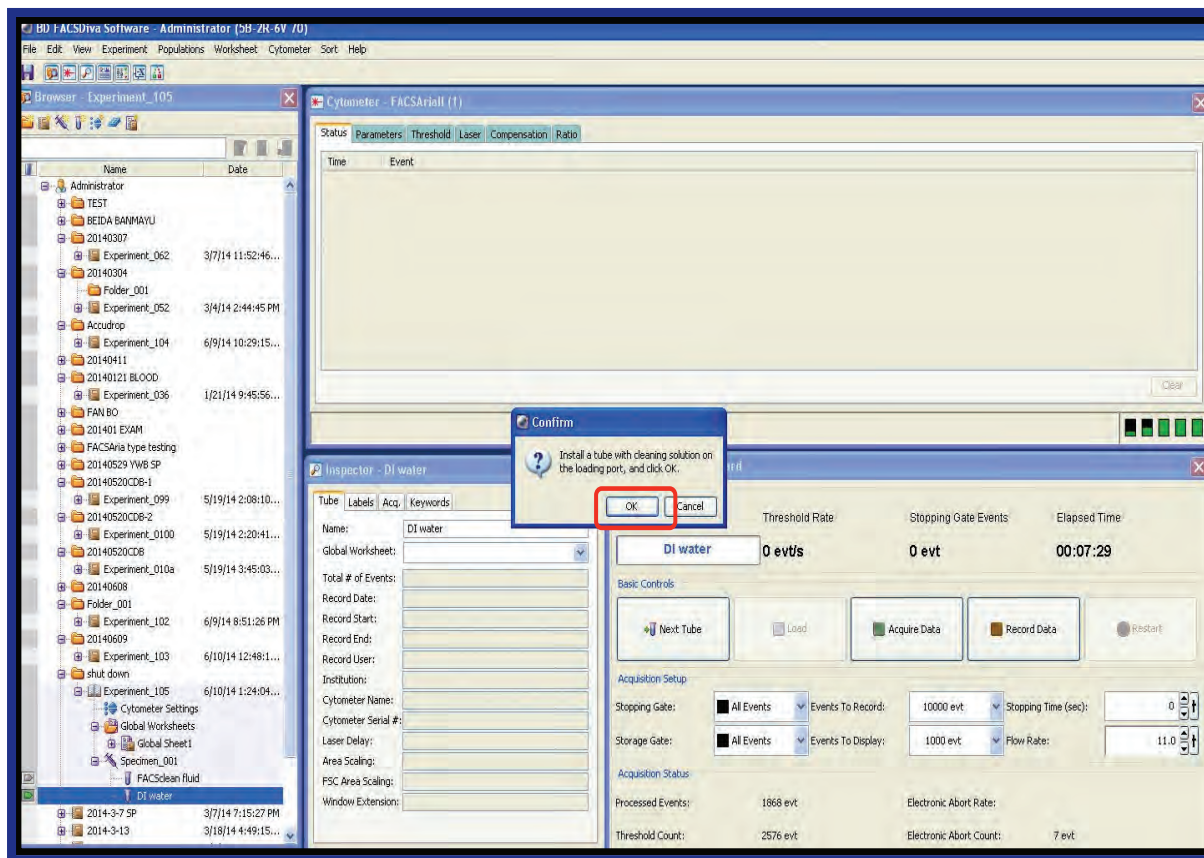
上 2ml DI Water，高速 (Flow rate 11.0) 上样 5min



点击断点液流窗口中的
Stream 按钮，断开液流

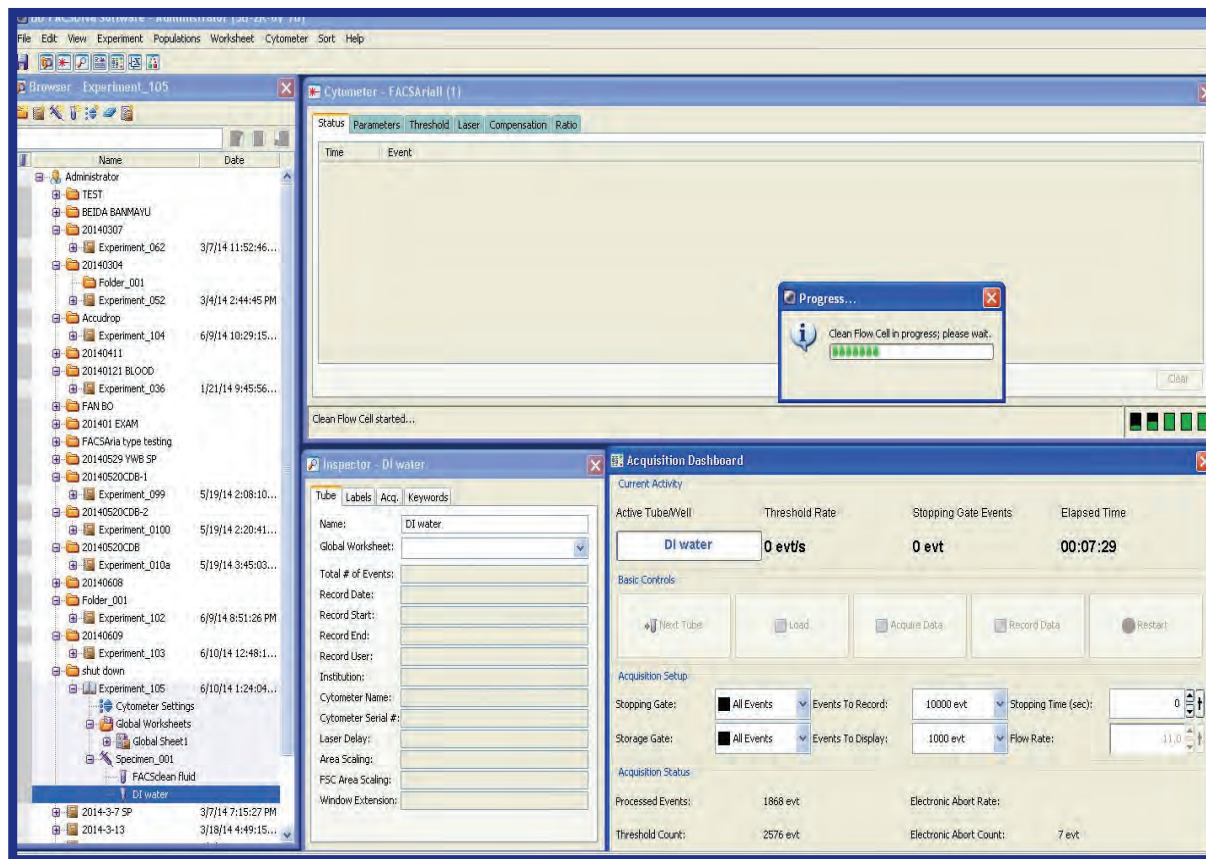
点击菜单栏 Cytometer
> Cleaning Modes >
Clean Flow Cell

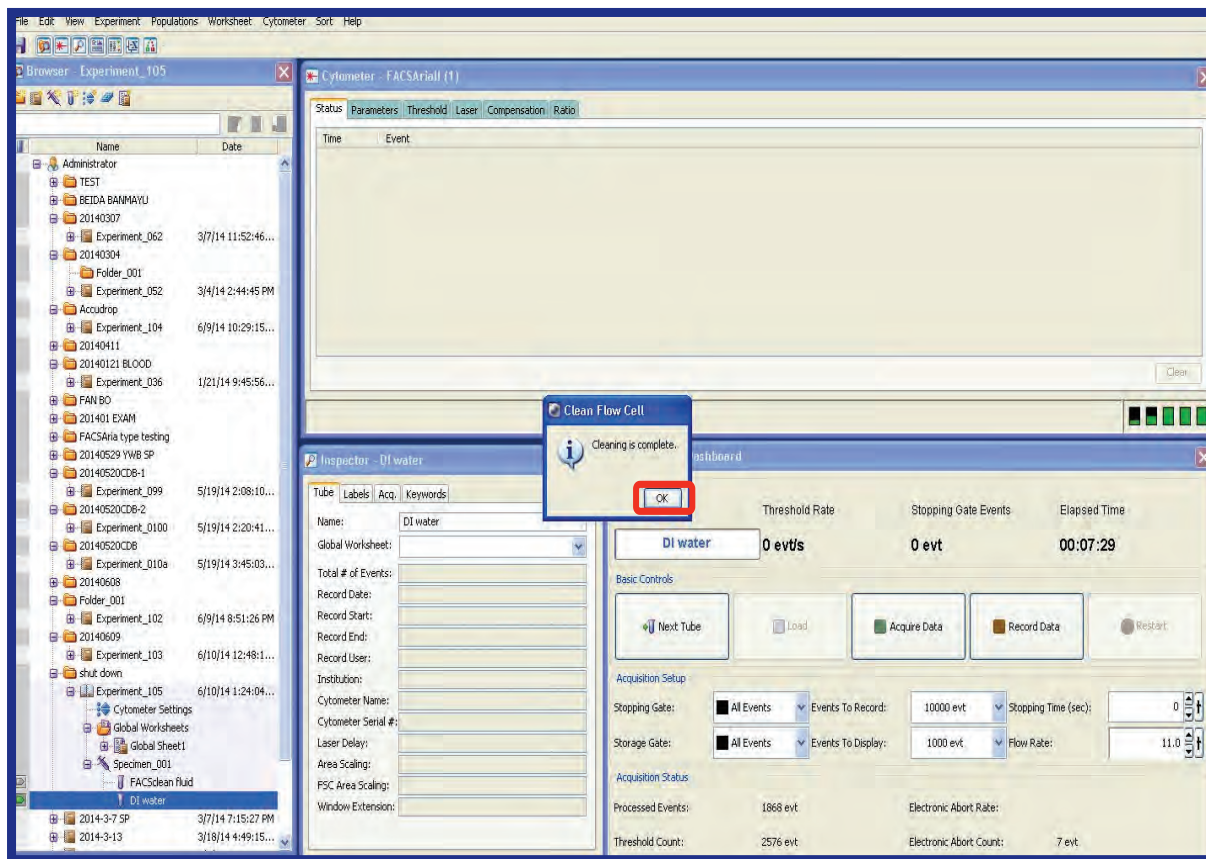




将装有 2ml 的
FACSClean 的流式管放
于载物台上，然后点击
OK

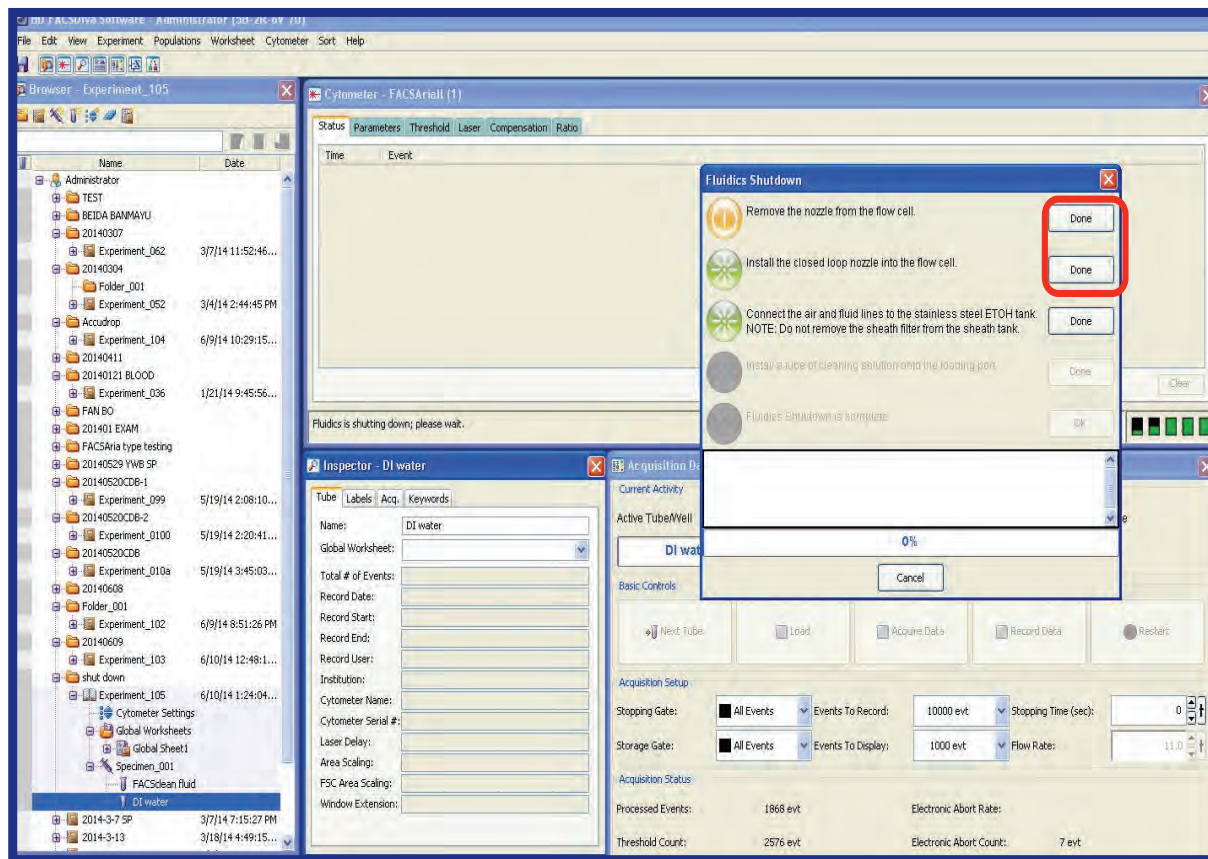
清洗流动室





流动室清洗完成后，点击 OK

在进样管中装入 2ml DI Water，重复上面步骤

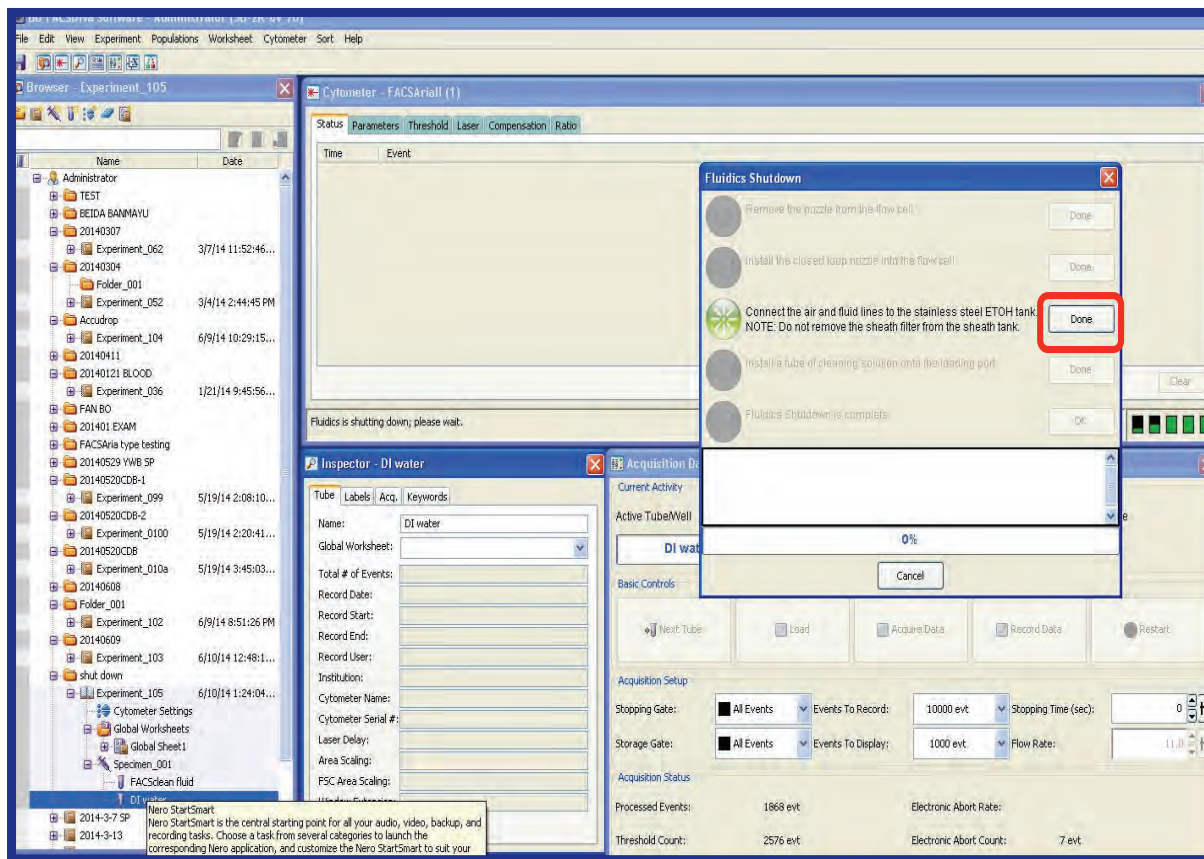


点击菜单栏 Cytometer
> Fluidics Shutdown

从流动室中取下喷嘴 (已
完成),

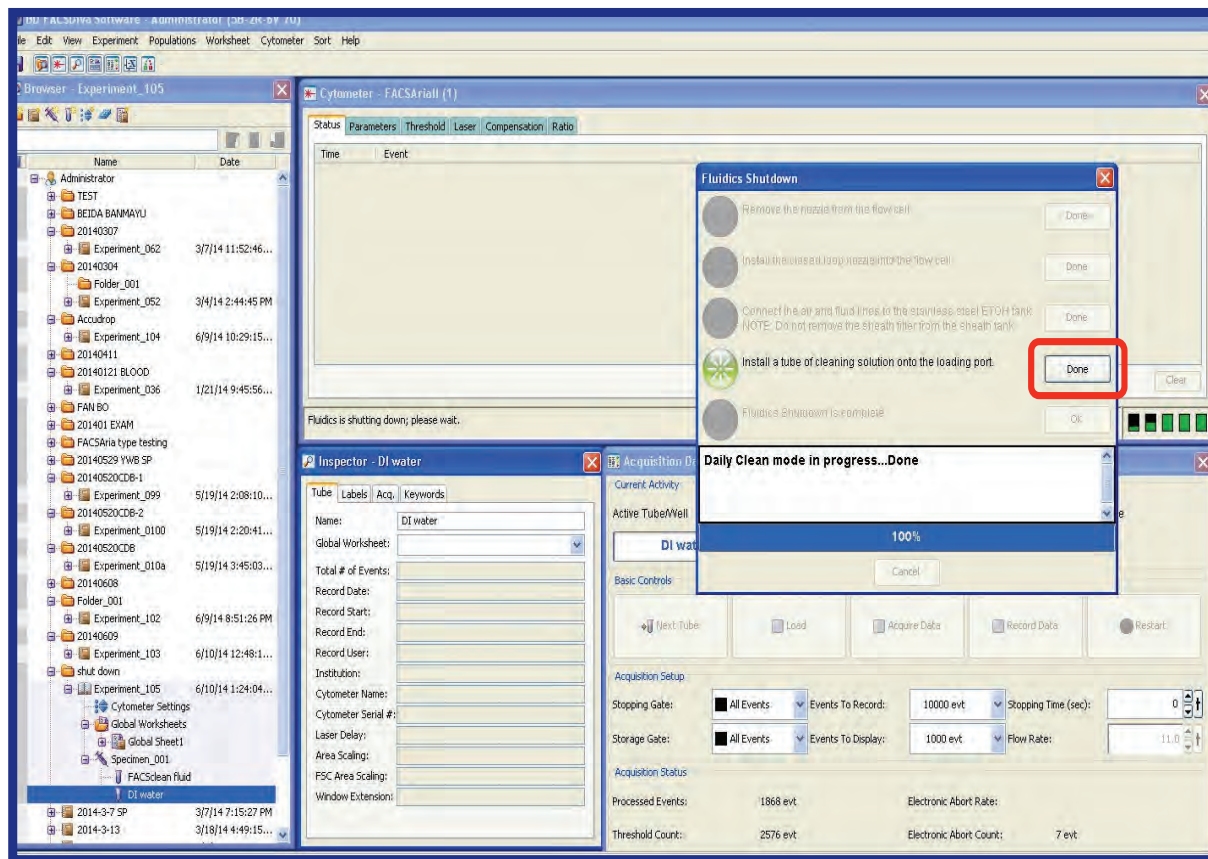
点击 Done

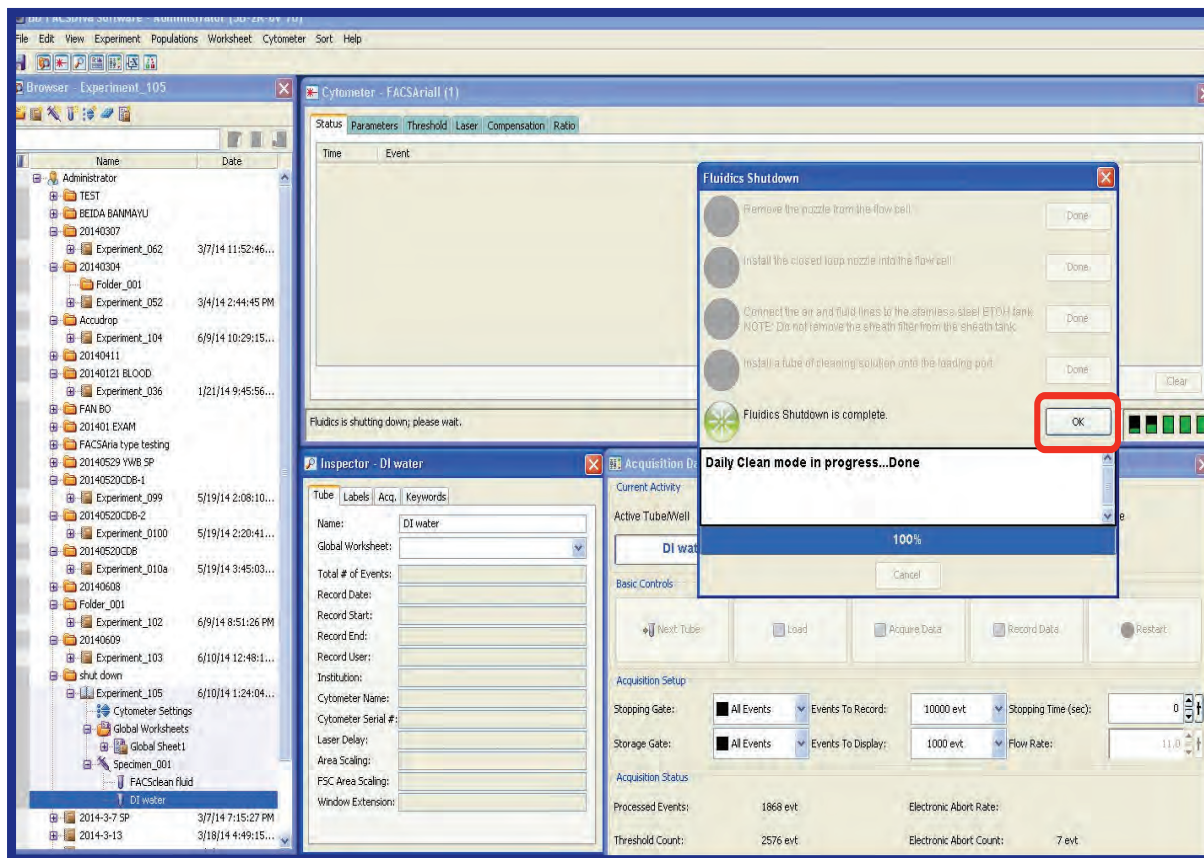
确认装有 O 圈的闭合喷
嘴在流动室上 (已完成),
点击 Done



将鞘液桶的液路和气路
连接到乙醇关机液桶上
(已完成)，点击 Done

在进样管中装入 2ml DI Water (已完成), 点击 Done



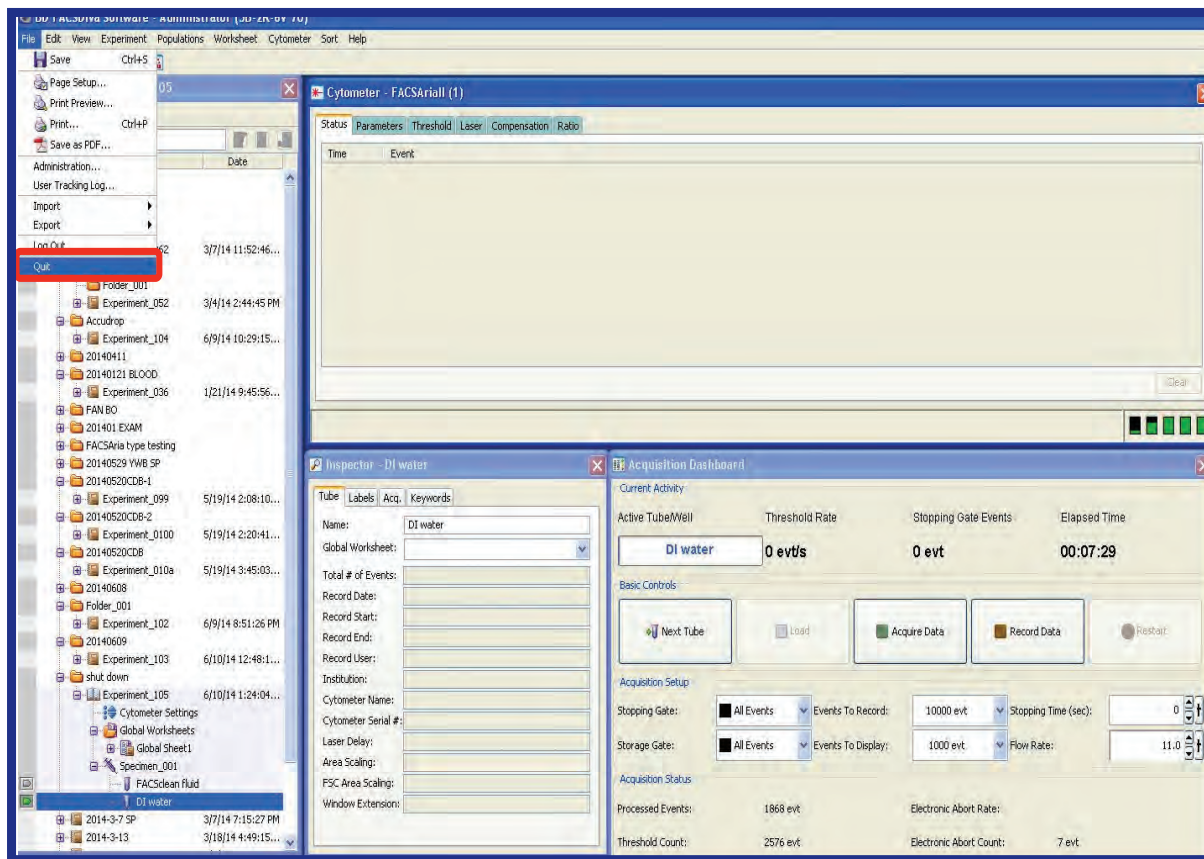


清洗过程完成，点击 OK



关闭激光器电源

关闭仪器主电源

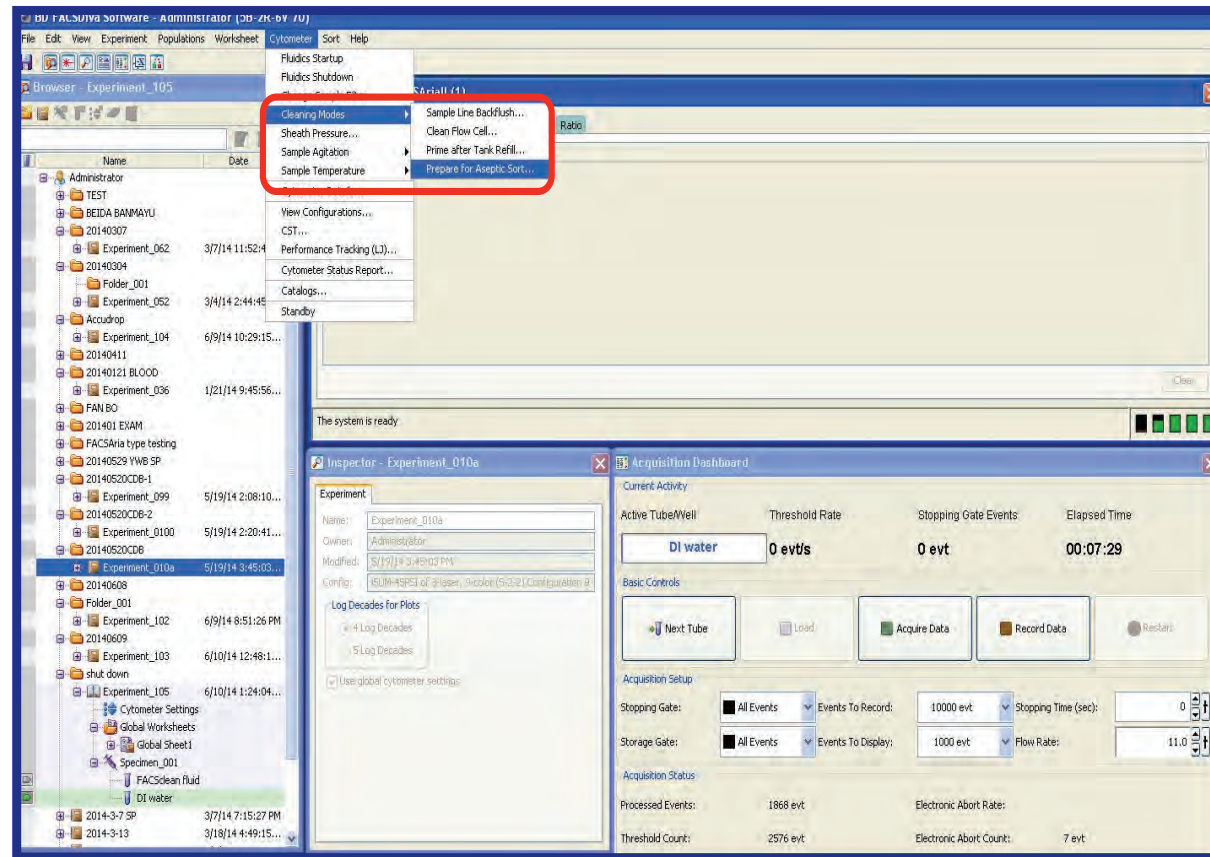


退出 BD FACSDiva 软件，
关闭计算机和稳压电源

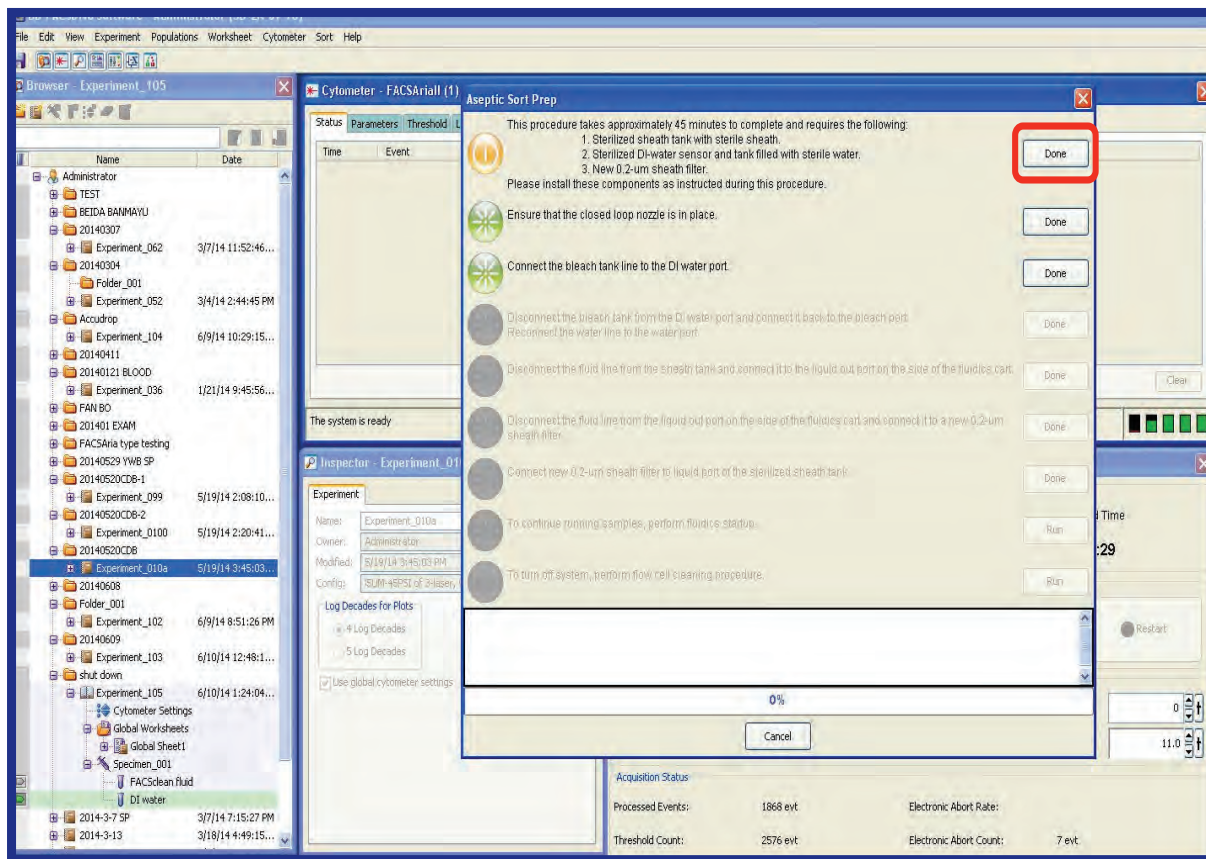


拉开鞘液桶压力阀，完全释放压力

无菌管路制备



点击菜单栏中
Cytometer > Cleaning
Mode > Prepare for
Aseptic Sort

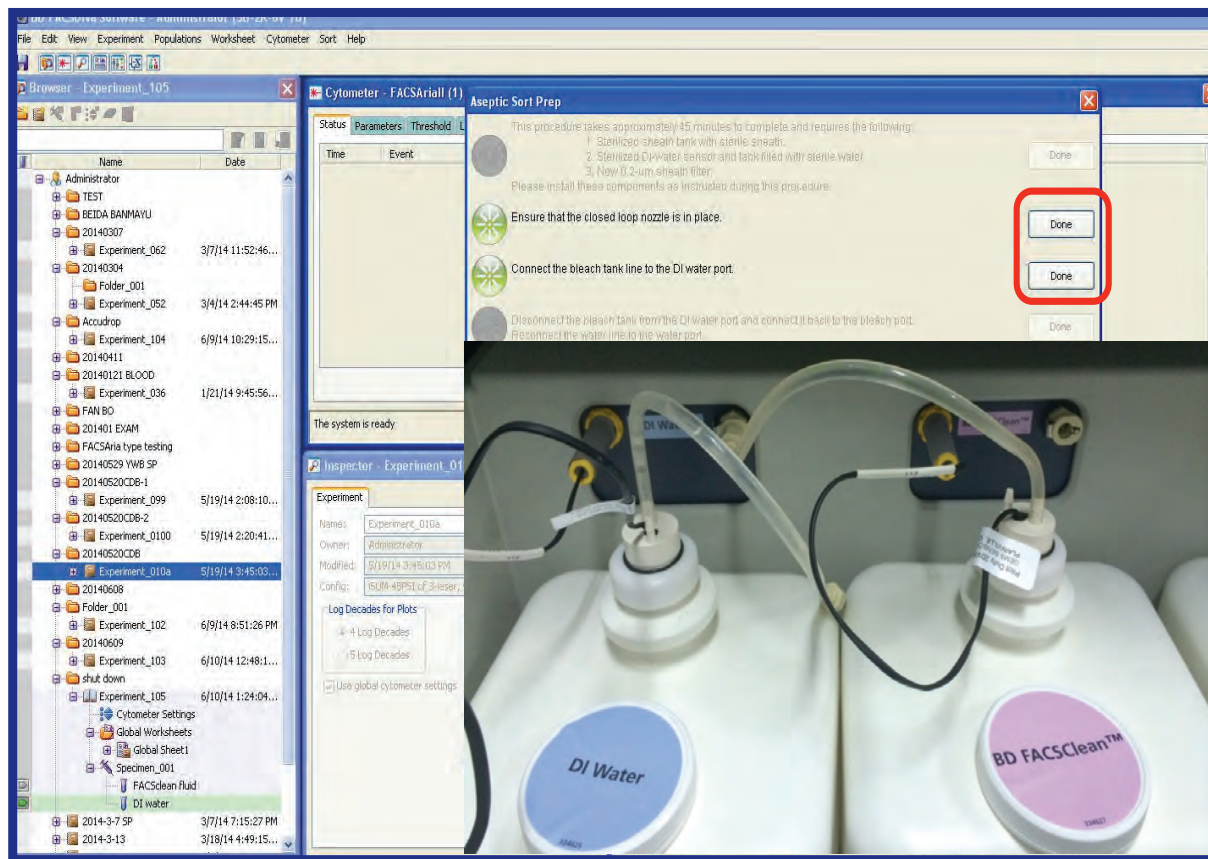


① 在无菌管路制备的前一天，对鞘液桶、蒸馏水桶以及液面感应器做无菌处理

② 准备无菌水和无菌鞘液

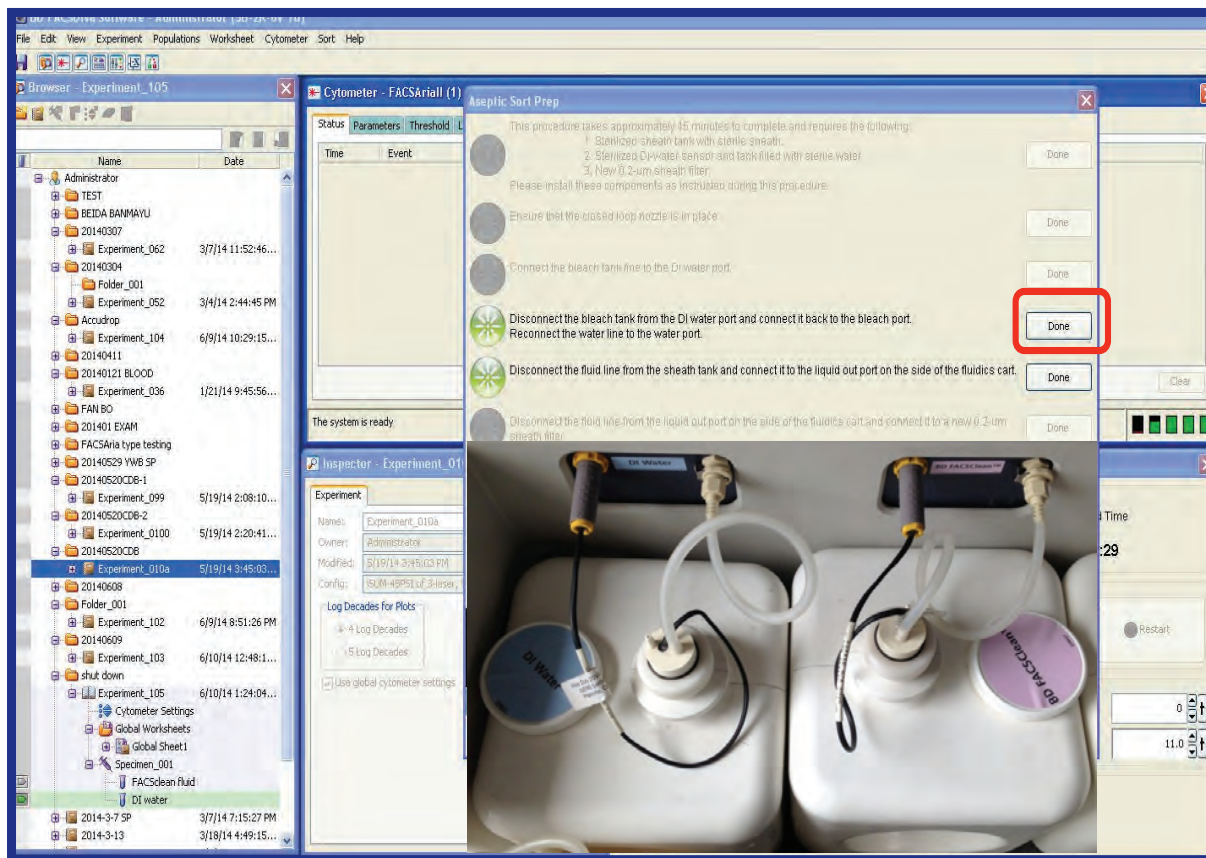
③ 准备新的鞘液过滤器

④ 1-3 步已完成，直接点击 Done

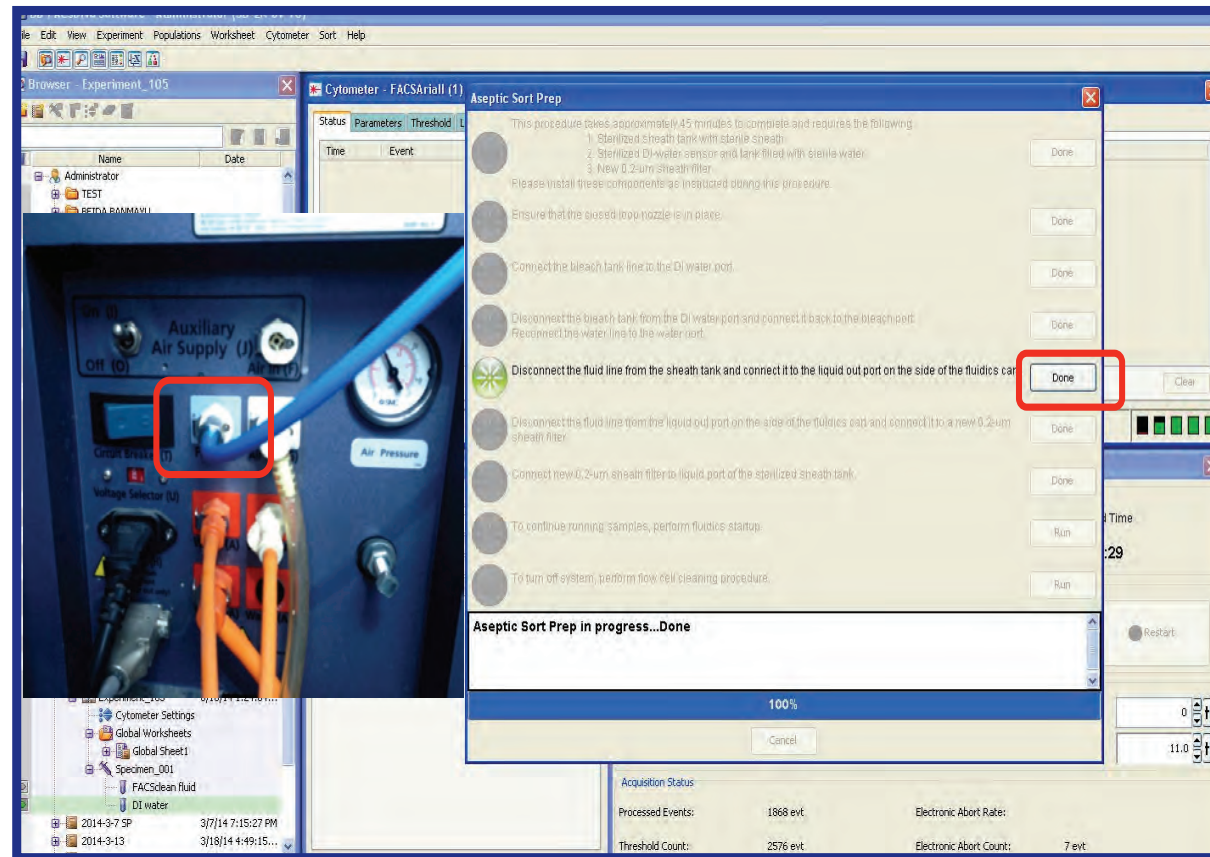


确认装有 O 圈的闭合喷嘴在流动室上 (已完成), 点击 Done

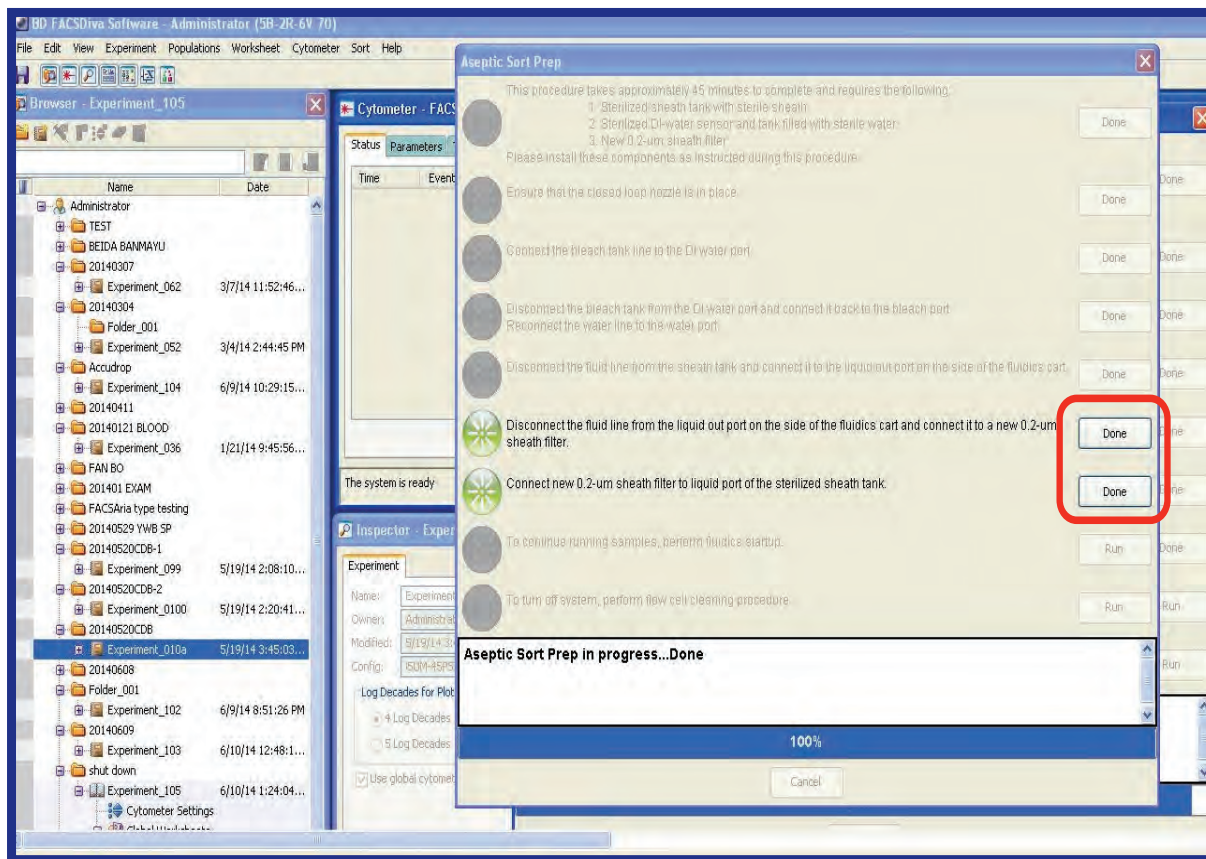
将清洗液桶的液路连接到蒸馏水桶的快速连接口上 (已完成), 点击 Done



将清洗液桶的液路从蒸馏水桶的快速连接口上断开，将清洗液和蒸馏水桶的液路连回各自的快速连接口上（已完成），点击 Done

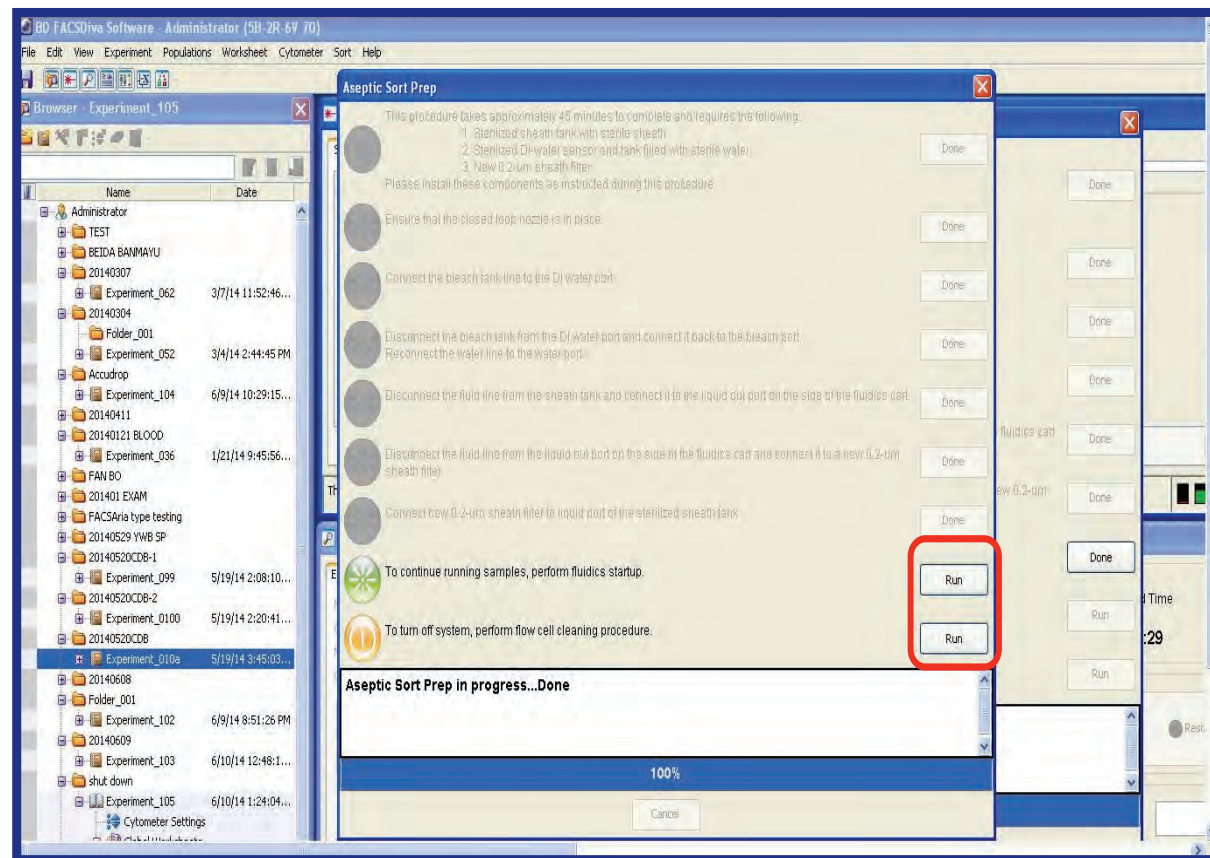


将鞘液的液路从鞘液过滤器远端断开，将其连接到液流车侧面的 Fluid 接口上 (已完成)，点击 Done



将鞘液的液路从液流车侧面面板上取下，连接到一个新的鞘液过滤器上（已完成），点击 Done

将连有新鞘液过滤器的鞘液液路连回鞘液桶（已完成），点击 Done



完成上述过程之后，选择液流启动或关机程序



BD中国

上海总部
中国上海市延安中路1228号
静安嘉里中心三座9楼, 10楼
电话: 021-3210 4610
传真: 021-5292 5191
邮编: 200040

北京办公室
北京市朝阳区建国路77号
华贸中心3号写字楼28层02B, 03, 05
电话: 010-58139000
传真: 010-58139193
邮编: 100025

广州办公室
广州市中山六路218-222号
捷泰广场11楼05-09单元
电话: 020-36699100
传真: 020-83486377
邮编: 510180

本产品仅供研究, 不可用于临床诊断 CNP16-A037

BD和BD标识是Becton, Dickinson and Company的商标。©2015 BD

联系我们: 400-819-9900
www.bdbiosciences.com/cn