# NovoCyte 快速操作指南 (2014.11)



#### 流程

开机 → QC 测试 → 新建实验 → ⑦ 荧光补偿 → ⑦ 采集样本 → ⑦ 分析数据 → ● ② 关机

#### 开机

轻按仪器前面板电源键 ◎◎ 启动仪器,在配套电脑上打开 NovoExpress™,待仪器初始化完 成,软件状态栏将显示"就绪" 🧶 🛛 👯 ,即可进行下一步操作。

### OC 测试

- በ 制备NovoCyte™ 质控微球悬液 (在 1 mL NovoFlow™ 鞘液或 PBS 中加入1到2滴 NovoCyte™ 质控微球)。
- 2 点击主菜单"仪器"→"QC测试" 👽, 根据软件提示完成QC测试。
- ③ QC测试所有项目结果均为 Pass 时,可进行下一步操作。

#### 新建实验

#### 点击主菜单"文件"→"新建"→"新建实验",建立新的实验文件。

- 2 用以下多种方式新建实验样本或标本:
  - ▶ 在"实验管理"面板,右键点击"实验文件名.ncf",在本实验文件下新建标本。右键点击"标 本",在选中的标本下新建样本。
  - ▶ 如果已有模板文件,点击主菜单"文件"→"新建"→"从模板新建",将新建有相同模板的标 本或样本。
- ③ 点击主菜单"文件"→"保存",保存创建的实验文件。
  - 如果未保存文件,在采集该实验第一个样本时,软件将自动提示保存。

#### 荧光补偿

#### 1.自动荧光补偿

- 准备各个荧光参数的单染样本和未染色对照样本。
- 2 点击菜单"开始"→"自动补偿",弹出"新建自动补偿"对话框,进行自动补偿条件设置。
- ③选择需要使用的样本,并点击"确定"。软件将自动新建"补偿标本"。
- 4 逐管采集单染样本,软件自动计算荧光补偿。
- (5) 将自动计算的荧光补偿复制粘贴到(或按住鼠标左键拖拽到)实验样本。

#### 2.手动荧光补偿

#### 两种方式手动调节荧光补偿:

▶ 需要补偿的参数两两做密度图,点击快速补偿按钮 👬 ,拖动快速补偿滚动条,使某一荧光单 阳性细胞与阴性细胞在另一荧光通道的荧光强度相等。逐个调节直到所有参数之间的补偿完 成。



勘误表:本文包含对AECA、ACEA Biosciences, Inc. 和艾森生物(杭州)有限公司的引用。 ACEA Biosciences, Inc.于2018年11月14日成为安 捷伦科技的一部分。2019年7月,艾森生物(杭州)有 限公司将更名为安捷伦生物(杭州)有限公司。 欲了解更多信息,请访问 www.aceabio.com

🔆 Agilent

▶ 补偿调节的过程也可以通过点击菜单"开始"→"补偿矩阵"调出当前样本的溢出矩阵,不断调 整溢出矩阵中相应单元格的溢出系数来实现。

荧光补偿 - CD3_CD8_CD45_CD4								۰	83
补偿矩阵	溢	出矩阵							•
		CD3 FIT	с	CD8 PE	CD45 PerCP	CD4 APC			
CD3 FITC		100		7.5352	0	0			
CD8 PE		3.1115		100	11.3499	0			
CD45 PerCP		0		0	100	31.6669			
CD4 APC		0		0	0.4516	100			
+ 次 CD3 FITC     ● ● ● 育成   清除   江原   确定   取消									

#### 采集样本

① 在"实验管理"面板,双击样本,使之成为当前样本(红色箭头指示 > b 1 #本1)。

#### 2 设置采集条件:

- ▶ 设置采集样本使用的"参数",包括选择采集通道并定义别名,选择采集参数"面积"和/或"高 度"。
- 设置实验"停止条件"。
- 设置实验"样本流速"。 図时间允许建议使用低速,可提高信号分辨率。
- ▶ 设置"阈值"。FSC-H大于100,000的阈值条件,可满足大部分原代细胞和细胞系的实验需要。 细菌和血小板等特别小的细胞则建议将阈值设为FSC-H大于10,000。结合第二阈值条件可 以更好地消除细胞碎片对实验的影响。

#### 3 将样本管充分混匀,置于样本架。

④ 点击"采集"按钮 本后收回。

#### ▲ 样本采集过程中,请勿将手伸到样本针下方,请勿遮挡样本针位置。

- ④ 采集条件可以通过导入已有同类型实验的"仪器设置"模板的方式实现。



#### 分析数据

### 1.画图

 选择点击 <sup>→</sup>(散点图)、 (密度图)、 (柱状图) 或 (等高线图) 图标做图。图形显示当前 样本的数据。

#### 2 图形的放大和缩小。

- 点击"放大"Q,在图形上拖动鼠标,可将图形放大到鼠标拖动的范围。在坐标上拖动鼠标,可仅在该坐标方向放大图形。
- ▶ 点击"缩小" 
  ▶ 点击"缩小" 
  <,在图形上点击鼠标,可将图形缩小,多次点击,逐步缩小。在坐标上点击,可仅在该坐标方向缩小图形。</p>
- ▶ 点击"自动范围" 🤁,软件根据门限内数据自动计算并设置参数的合适范围。
- ▶ 点击"全范围" 1,将坐标范围设置为参数的最大有效范围。



# 3 右键点击坐标名称(例如:FSC-H),从下拉菜单选择该图需要显示的参数,该下拉菜单显示"仪器设置"中选择的所有参数。



- ④ 荧光通道参数别名可以通过点击"仪器设置"面板中的参数"别名"进行修改。也可以左键点击 图形坐标名称直接修改。
- 6 右键点击坐标轴,从下拉菜单选择坐标显示比例(线性、对数、双指数)和显示范围(自动范围、 全范围)。也可以在"设置"中自定义显示范围。
- 6 点击图形右下角的箭头(◀或 ▼),可以显示或隐藏统计数据。
- ④ 在图形上做的任何修改都只改变数据显示,不会改变数据本身。

③ 所有图形和统计数据均可以复制、粘贴到 Microsoft Office 文档。

#### 2.设门

- ① 点击需要设的门的类型,□矩形门,○椭圆门,○多边形门,十象限门,□逻辑门,□区域门,□
   □,□,□
   双区域门,在图形上点击拖动,设置门的区域,圈出感兴趣的目标细胞群。
- 2 双击门的标签可以对门进行重命名。
- 3 右键点击图形上方的样本名称,从下拉菜单中选择该图需要应用的门。
- ④ 通过逻辑门可以灵活设定已有门的各种组合。

# 3.导出/导入模板

- ▶ 导出/导入模板:在"实验管理"面板右键点击标本或样本名称,选择"导出"→"做为模板导出" 或者"导入"→"导入模板"。
- 模板应用:在标本或样本名称上按住鼠标左键,拖动到另一个标本或样本名称,可直接 实现模板应用。模板应用也可以通过右键菜单的"复制模板"(样本)、"复制"(标本)和 "粘贴"实现。
- ⑧ NovoExpress™中,样本节点下的"仪器设置"、"荧光补偿"、"报告"和"分析",可以捆绑在一起作为模板应用到其他样本,也可以单独作为模板应用。标本模板是属于该标本的所有样本模板的总和。在NovoExpress™中,每个样本都有独立的分析,数据和分析保存在一个实验文件(\*.ncf)中。

# 4.导出/导入FCS文件

- 导出FSC文件:在"实验管理"面板右键点击实验文件名称、标本或样本,选择"导出FCS文件"。
   ③导出FCS文件时选择FCS2.0格式有助于某些第三方软件更好的选择合适范围显示图形。
  - ③在文件名或标本上点击,可快速将整个文件中或某个标本下所有样本的 FCS 文件导出。
- ▶ 导入FSC文件:在"实验管理"面板右键点击实验文件名称、标本或样本,选择"导入FCS文件"。

# 5.自动生成报告

NovoExpress<sup>™</sup>拥有自动生成报告的功能,通过双击"实验管理"面板中标本或样本节点下的" 报告"实现。关于该功能的详细描述,请参考《NovoExpress<sup>™</sup>软件说明书》"7报告"。

# 6.创建统计表格

NovoExpress<sup>™</sup>拥有统计表格功能,方便批量结果的处理和导出。在"实验管理"面板中,右键 点击"统计表格"选择"创建"创建统计表格。关于该功能的详细描述,请参考《NovoExpress<sup>™</sup>软件 说明书》"5.6 统计表格"。

# 关机

轻按 NovoCyte™流式细胞仪前面板上的电源按钮 ◎ ,仪器将自动执行关机清洗流程。关机流程结束后,电源自动切断,指示灯熄灭。

# 系统维护

关于系统维护的详细描述,请参考《NovoCyte™流式细胞仪使用说明书》"4系统维护"。