

使用手册

MoFlo Astrios^{EQ}

高速细胞分选仪



PN B22986B
2013 年 8 月



Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821



MoFlo Astrios^{EQ}

使用手册

PN B22986B (2013 年 8 月)

Beckman Coulter 个性化标志、MoFlo Astrios^{EQ} 和 CyClone 均是贝克曼库尔特公司的商标，且已在 USPTO 注册。

所有其他商标、服务标记、产品或服务均为相应所有者的商标或注册商标。

网址：

www.beckmancoulter.com

美国制造

修订记录

首次发行，03/13

ECO C06523

PN B22986A

软件版本：Summit 6.2

修订版 B，08/13

ECO C06670

PN B22986B

软件版本：Summit 6.2 完整修订版

本文档适用于所列最新软件以及以上版本。若未来软件版本影响本文档中的信息，则 Beckman Coulter 网站将发布新版本。如需更新，请登录 www.beckmancoulter.com 并下载适用于您仪器的最新版手册或系统帮助。

安全注意事项

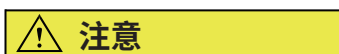
在尝试运行仪器之前，务必阅读所有产品手册，并咨询贝克曼库尔特经过培训的专业人员。未仔细阅读所有使用说明之前，请勿进行任何操作。始终遵循产品标签内容和生产商的建议。如果在操作过程中产生疑问，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

贝克曼库尔特公司要求所有客户遵守所有国家卫生和安全标准，例如，选用保障设备。上述保障设备包括但不限于运行或维护本仪器或任何其他自动实验室仪器时应当穿戴的护目镜、手套以及适合的实验服。

警告和注意提示



WARNING（警告）表示存在潜在危险，如不可避免，会导致死亡或重伤。该标志可用于表示错误数据可能会导致误诊。



CAUTION（注意）表示存在潜在危险，如不可避免，会导致中度、轻度受伤。该标志可用于防范不安全做法。该标志可用于表示错误数据可能会导致误诊。



警告

如果发生以下情况，则操作人员存在受伤危险：

- 在操作仪器之前或仪器运行期间，未能关闭所有的门和盖板，或门和盖板未固定到位。
- 安全联锁装置和传感器的正常运行受到影响。
- 仪器报警和出错信息未确认并采取相应措施。
- 触碰运转部件。
- 调低工作台时，将手指放在喷嘴工作台底部和仪器机架之间。
- 开始上样后，门开始关闭时，将手伸入 SmartSampler 样品舱中。
- 错误处置破损部件。
- 未能小心、谨慎地打开、关闭、移除和 / 或更换门和盖板。
- 使用不当工具进行故障排除。

为避免受伤，应采取如下措施：

- 仪器运行时，保持门和盖板处于关闭状态，且固定到位。
- 充分利用仪器的安全功能。请勿忽略安全联锁装置和传感器。
- 一旦仪器发出报警信息和出错信息，将立即知晓，并采取相应措施。
- 远离运转部件。
- 通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止被夹伤。
- 开始上样，门开始关闭后，请勿将手伸入 SmartSampler 样品舱中。
- 如有部件破损，请告知您的贝克曼库尔特工程师。
- 打开 / 移除和关闭 / 更换门和盖板时，应小心、谨慎。
- 务必使用适当工具进行故障排除。



注意

如果发生以下情况，则会影响系统正常运行，发生故障：

- 未按照规定的方式使用仪器。按照产品手册的指示运行仪器。
- 未经贝克曼库尔特公司授权，擅自将软件装入电脑。仅可使用贝克曼库尔特公司授权的软件，方可运行系统。
- 安装的软件并非原装、受版权保护的版本。仅可使用原装、受版权保护的软件，防止出现病毒。

⚠ 注意

未按照本手册规定进行控制、调节或运行仪器，会导致发生有害辐射。

⚠ 注意

如果您所购产品并非从贝克曼库尔特公司或经过该公司授权的经销商处购得，且未签订贝克曼库尔特服务维护协议，贝克曼库尔特将无法保证产品满足上述安全标准，亦无法为您提供有关该产品的最新发布信息。如果您从第三方处购得本产品，并希望获得有关该产品的进一步信息，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

仪器安全保护措施

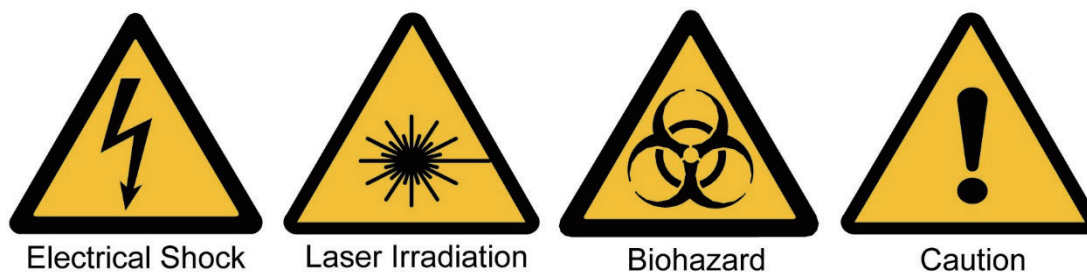
MoFlo Astrios^{EQ} 高速细胞分选仪设计时，已将安全作为其主要特征之一。操作人员、现场服务人员、围观人员以及珍贵样品的安全性对于承诺高性能设计和生产的贝克曼库尔特公司来说，是极为重要的。

本章节解释了部分常规安全说明和危险符号，以及操作人员在 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器运行过程中必须遵循的保护措施规范。严格的生产控制保证了操作者避免在错误使用仪器或未能遵守指示说明下发生意外受伤。请遵循所有规定的安全和危险说明。

标志

下列标志是本手册用到的标志及其相应含义，仪器和本手册均有这些标志。

安全标志



电击 (Electrical Shock)——小心触电

激光辐射 (Laser Irradiation)——避免直视激光，它会导致眼部永久损伤

生物危害 (Biohazard)——生物性危害 / 危险

注意 (Caution)——重要；注意；参见随机文档

常规安全说明

为保护 MoFlo Astrios^{EQ} 使用现场及其使用者处于卫生、安全的环境下，必须由所有操作人员对下列信息予以审核：

- MoFlo Astrios^{EQ} 仪器仅限专业人员使用。在仪器使用前，必须针对仪器的正确用法和限制条件，对所有操作人员进行培训。
- 请注意 MoFloAstrios^{EQ} 仪器上的分选舱、观察舱和柜门可能存在夹伤的位置，门重量较轻且无锐利边缘，开门和关门时应小心、谨慎。
- 生物安全柜门在向上向下移动时有存在夹伤的位置，因此，在移动柜门时将手放在合适的位置。
- 小心生物安全柜的边缘和仪器底座。
- 应熟悉样品工作台。SmartSampler 是电控运转的部件。采样开始后，请勿将手放入样品舱内。
- SmartSampler 上的进样针可能造成刺伤危险。在进样针进行工作时，请遵守注意事项。
- 系统的进气压力不得超过 125 psi。SmartSampler 样品舱的过压会导致 O 圈爆裂，会发出很响的、短暂的砰声响。
- 佩戴大小合适的手套，活动自如，减少发生皮肤挤压或擦伤的可能性。
- 请注意使用束线带将液流和电子线路固定住，以免用力连接引起皮肤擦伤。
- 清洁喷嘴内部时，注射管将暴露于外。如果用力过猛，会导致皮肤擦伤。
- 为了避免鞘液桶或废液桶过重与金属支架发生挤压，因此更换液流抽屉上的鞘液桶或废液桶时要小心谨慎，并快速连接液流和气路接头。
- 每天加满鞘液，清空废液，并检查是否存在漏气。桶上有压力检测器。如果桶盖发生漏气，请将盖子重新盖到合适位置。
- 在搬运 UPS、仪器罩子和装满的鞘液和废液桶时，请选择适当的方法搬运。为避免腰部受伤，每天至少清空废液桶一次。
- 冷冻水浴产生的水汽或渗漏物会滴到地板上，引起打滑危险。水浴辅助车能够按照 EN61010 的规定容纳一定容量的液体。
- 无论化学品是否温和，在处理任意化学品时，都应保护好皮肤和眼睛。
- Summit 工作台带有键盘界面。评估键盘位置对于用户的人体工程学适配度，避免受伤。
- 线束和电缆位于装置周围的地板上。抽屉和检测器组件由用户确定摆放位置。请注意上述装备会致人绊倒。

- 与现场安全员核实，废品是否妥善处置，是否符合安全清除规定。
- MoFlo Astrios^{EQ} 仪器能够承受高达 100 psi (689 kPa) 的压力。更换喷嘴尺寸时，检查样品和鞘液的压力。
- 用户应适当休息，以免因反复操作、使用不便或久坐而产生精神压力。

电气安全

MoFlo Astrios^{EQ} 产品系列满足多项国际条例，包括用户使用高压设备 (IEC 61010-1) 和激光辐射的条例规定：IEC 60825-1:2007 激光产品的安全性 - 第 1 部分：设备分类和要求；21 CFR 1040 FDA/CDRH 激光产品性能标准。请了解清楚 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的主要特征及其相应的潜在危险方面的知识。

安全联锁装置

在正常操作条件下，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器能够保护用户避免暴露于高压以及 I 类激光产品的激光辐射环境中。MoFlo Astrios^{EQ} 仪器配备三项安全联锁装置，上述联锁装置设计用于保护操作人员避免受到高压和激光辐射的意外伤害。

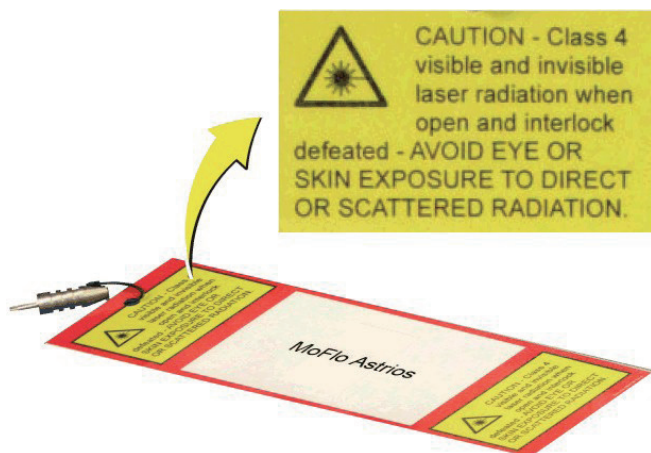
- 当分选舱门打开时，安全联锁装置会禁用电极板，SortRescue 移动到位，样品流终止，CyClone（克隆分选）板运动系统停止移动。
- 激光和液流正交激发室的门打开时，安全联锁装置将关闭激光挡板。
可以在门前侧看到电压状态的 LED 灯。红色 LED 用于显示因电压板加电引发的高压警告。红色 LED 点亮时，表示激光和液流正交激发室存在高压。蓝色表示不存在高压。
- 喷嘴工作台的门锁未紧固且喷嘴工作台提升时，安全联锁装置将关闭激光挡板，终止样品流，停止向喷嘴供电。

切勿尝试绕开上述联锁装置，除非本文档特别要求。在绕开安全联锁装置进行操作前，必须确保已经接受适当的激光安全培训。

安全联锁配件

使用安全联锁配件绕过安全联锁装置时，可能会导致 IV 类激光产品如波长 400-700nm，功率为 200mw 的激光和 355nm，100mw 的激光的暴露。除非您已经接受过适当的激光安全培训，否则不得使用该键绕开安全联锁装置。查询您所在单位有关适当预防措施和个人防护设备的规定。查询 ANSI 出版物 Z136.1，“激光安全使用标准”。

安全联锁配件



液流充电

如进行鞘流充电，且构成单个液滴，液滴将维持液流中的充电量。

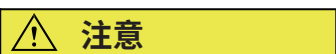
- 请勿绕开安全联锁装置以及将任意物体插入带电液流中。
- 连接样品管路与喷嘴的钢螺母上带有保护帽。液流带电时，切勿拆下保护帽或触摸外露的螺母。

液滴震荡电压

上述电压范围在 0-140 Vac 之间，用于震荡安装在喷嘴中的压电晶体。震荡频率可通过 IntelliSort 或由操作员设置。

电极板

上述电极板的电压范围在 0-7000 Vdc 之间。仅在打开电极板电压且关闭联锁装置时，会出现上述高压。高压仅在安全联锁装置失效或将物体放在电极板之间才能测得。一旦操作员启用高压，那么它将保持恒定状态，直至操作员改变该高压。



接通电流时，切勿触摸电极板。

电极板电弧

若电极板上发生鞘液累积，则会产生电弧作用。如果发生电弧作用，应按照以下程序将仪器恢复到正常的工作状态。

1. 关闭电极板电压。
2. 打开分选舱门。安全联锁装置将开启。
3. 拆下分选板，并使用吸收性材料将分选板完全擦干。如有必要，用水进行冲洗。可以用乙醇冲洗最后一遍，以清除电极板上的水。
4. 擦干分选舱的潮湿部分。

5. 将电极板充分擦干。
6. 重新将电极板连接到仪器上，关闭舱门。
7. 打开电极板的电压。
8. 如果需要调节，应启用试验模式。如有必要，调节 Charge Phase 设置，防止液流变散，从而弄湿电极板。

激光电源

激光电源拥有大量的有害能源，会对操作员造成危险。如果激光电源设备需要检修，请联系贝克曼库尔特工程师。

电气仪表设备的处置



客户了解和遵守电气仪表设备正确处置和安全性方面的所有法律，这一点非常重要。

应根据欧盟废电器电子设备有关指令（WEEE）在产品上标注打叉带轮垃圾桶的符号。产品上标注上述符号具备以下含义：

- 该设备于 2005 年 8 月 13 日后进入欧洲市场，并且
- 该设备并非由欧盟任意成员国的城市垃圾采集系统予以处置。

针对 WEEE 指令要求下的产品，请联系您的经销商或当地贝克曼库尔特办事处，获取适当的防污信息和召回计划，以便对设备进行适当收集、处理、回收、再利用以及出售。

序列号铭牌

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的序列号铭牌如下所示。

MoFlo Astrios^{EQ} 序列号铭牌



光学 / 激光安全性

激光产品的危险分类

激光产品的危险分类旨在清楚区分激光或激光产品的属性，以及对用户的危害，以便采取适当的防护措施。

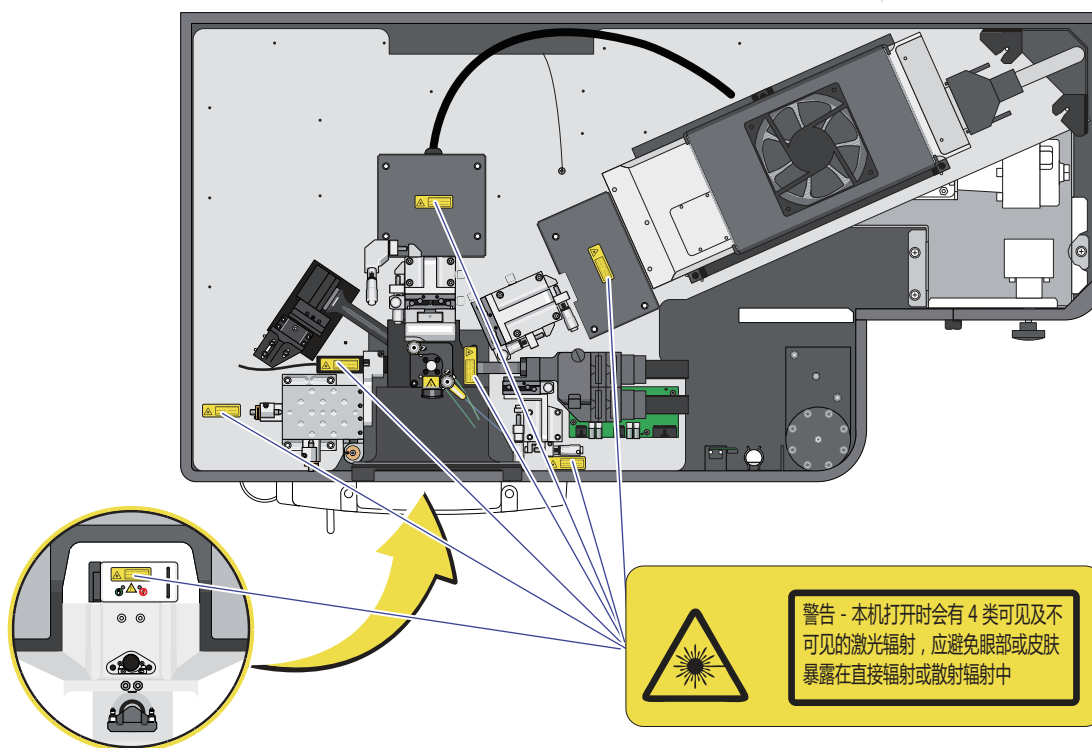
根据 21 CFR 1040 和 EN60825 规定，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器属于 I 类激光产品；表示在正常的操作过程中，不会对操作员产生有害的激光辐射。在检修和 / 或维修期间，应采取 3B 和 / 或 4 类激光产品的激光安全控制措施。

操作开放光束时，应摘除身上的所有饰物，请勿将发光或具有反射性的物体置于光束通路中，防止激光向未配备防护措施的方向反射。使用所有本手册规定的防护罩、安全联锁装置和挡板。

I 类激光产品标签



I 类激光产品标签



激光辐射的生物效应

眼部损伤

眼睛暴露于直接激光束中会导致永久性眼部损伤，甚至导致失明。波长在 400-1400 nm 范围内的激光对视网膜伤害最大。UV-A 激光 (315- 390 nm) 会对眼晶状体造成损伤，导致白内障。如果可能会暴露于直接激光束或漫反射 UV 激光中，则必须始终佩戴护目镜。

- 切勿让眼睛接触激光束（直接或漫反射）的水平面。
- 激光防护眼镜应始终对相应波长和使用中的激光功率有效。
- 在激光器维修、校准或安装期间，以及可能直接暴露激光束的任何情况下，必须佩戴激光防护眼镜。

皮肤损伤

皮肤接触直接和漫反射激光会致人受伤。UV-A 范围 (315- 390 nm) 内的激光会导致皮肤产生红斑（晒斑）。UV-B 范围 (280-315 nm) 内的激光会导致最严重的后果，例如，晒斑、皮肤癌，以及加速皮肤老化。

- 因激光导致的皮肤晒斑会快速蔓延，且严重程度较高。如果可能接触直接和漫反射 UV 激光束，则必须穿戴防护服。
- 使用 UV 激光或可能接触直接激光束时，必须穿戴防护服（长袖实验服）。

生物安全

重要事项 如果仪器中使用任何有害微生物、材料或试剂，现场操作员或主要研究员应负责在接受检修或维修前，以书面形式向贝克曼库尔特公司告知各种危害，包括一系列致病性细胞株、危险试剂、放射性物质或 BSL II 级或以上的试剂。上述信息将予以保密，并在贝克曼库尔特工程师拜访任意 MoFlo Astrios^{EQ} 现场时，告知其所有危险。未能报告上述信息可能会导致仪器检修的延迟。用户以及贝克曼库尔特工作人员的安全是最重要的。针对所有适用的返修品，必须遵守适当的清洗程序。

- 无论处置任何样品，包括将样品管放入工作台以及从工作台上取下样品管，均应佩戴手套、实验服和护目镜。
- 如果系统失去负压或废液管被堵塞，废液会涌入分选舱。应立即关闭鞘液和样品流，穿戴适当的个人防护设备，解决废液涌入现象。
- 废液可能含有存在化学和生物污染风险的物质。无论何时接触废液，均应佩戴手套、实验服和护目镜。参见附录 A，废液桶用消毒剂。
- 为确保废液桶中的生物有机体失活，应在最初使用时，在桶内放入适当品种和数量的、经过 EPA 注册的消毒剂，每次使用后，均应将废液桶清空并重新安装。

- 气溶胶防护罩，亦称作分选舱门，是气溶胶防护组件的一部分，它将气溶胶与仪器剩余部分、操作员和实验室进行分离。关闭时，门会限制空气进入和流出分选舱。可以选择采购气溶胶清除系统，从而提供保护避免气溶胶的危害。参见第 2 章 气溶胶清除系统。
- BSL-2、A2 级生物安全柜可作为可选系统配件予以采购。
参见附录 F。

有关实验室生物安全的其他信息，请查阅美国卫生和公共服务部、疾病控制中心出版物《微生物学及生物医学实验室生物安全准则》。联系现场的安全员，并商讨适当的废物处置预防措施和惯例。有关生物安全柜和气溶胶清除系统的更多信息，请查阅原始设备制造商 (OEM) 手册。

若操作时需要接触致病性物质，则必须采用全面性预防措施。必须采用相应措施对仪器进行清洗，并对危险废弃物予以处置。

电磁信息



本设备已经过检测，并符合 CISPR 11 A 类规定的 A 类数码设备要求。在生活环境中，它会导致无线电干扰，在这种情况下，则需要采取适当措施减轻干扰。本设备会产生、使用并发出射频能量。

若未能按照仪器手册安装和使用，则设备会对无线电通信造成有害干扰。如果本设备引起有害干扰，用户应纠正上述干扰。

RoHS 通知

这些标签和材料声明列表（有害物质及浓度表）符合中华人民共和国电子行业标准 SJ/T11364-2006 “电子信息产品污染控制标识要求”的要求。

中国 RoHS 警示标签

该标签表示电子信息产品含有某种有毒或有害物质。中心号码系环保使用期限（EFUP）日期，表示产品能够投入运行的年数。EFUP 到期后，应立即回收产品。循环箭头表示产品系可回收。标签或产品上的日期代码表示生产日期。



中国 RoHS 环保标签

该标签表示电子信息产品不含任何有毒或有害物质。中间的‘e’字母表示产品对环境是安全的，且无环保使用期限。因此，可以安全、无期限使用本品。循环箭头表示产品系可回收。标签或产品上的日期代码表示生产日期。



目录

修订记录, iii

安全注意事项, v

警告和注意提示, v

仪器安全保护措施, vii

标志, vii

常规安全说明, viii

电气安全, ix

安全联锁装置, ix

安全联锁配件, ix

液流充电, x

液滴震荡电压, x

电极板, x

电极板电弧, x

激光电源, xi

电气仪表设备的处置, xi

序列号铭牌, xii

光学 / 激光安全性, xii

激光产品的危险分类, xii

激光辐射的生物效应, xiv

生物安全, xiv

电磁信息, xv

RoHS 通知, xvi

中国 RoHS 警示标签, xvi

中国 RoHS 环保标签, xvi

简介, xxxv

如何使用本手册, xxxv

手册概述, xxxv

适用惯例, xxxv

关于本手册, xxxvi

第 1 章: 安装, 1-1

常规实验室信息, 1-1

仪器技术规范, 1-1

系统连接, 1-5

安装 Summit 软件, 1-8

第 2 章： 系统概述, 2-1

仪器概况, 2-1

常规操作原理, 2-2

系统布局, 2-4

千分尺定位控制, 2-7

光学系统, 2-8

光纤耦合激光器, 2-8

紫外激光器, 2-9

观察舱, 2-10

前向散射光收集, 2-11

侧向散射光收集, 2-12

检测, 2-13

针孔相机和七个针孔孔径, 2-13

精密光学检测器 (POD), 2-14

准直透镜, 2-14

二向色性滤光片和光学滤光片, 2-15

光电倍增管 (PMT), 2-15

前置放大器, 2-15

细胞分选, 2-16

分选舱和气溶胶防护罩, 2-16

CyClone 板, 2-16

样品温控, 2-17

电极板, 2-17

SortRescue, 2-18

IntelliSort, 2-19

液流相机和液流界面, 2-19

气溶胶清除系统, 2-19

液流, 2-20

管道, 2-20

鞘液桶, 2-21

废液桶, 2-22

喷嘴, 2-23

压力控制台, 2-25

SmartSampler, 2-26

仪器电子系统, 2-26

第 3 章： 触摸屏控制面板概述, 3-1

触摸屏控制面板, 3-1

常规屏幕元素, 3-1

粗调 (Pinhole) 界面, 3-4

Laser Control 选项, 3-5

激光和液流截距配置显示屏, 3-6

- 微调界面, 3-8
 - 放大微调数据显示, 3-10
 - 参数选择工具, 3-11
- 质量控制显示屏, 3-12
- 分选显示屏, 3-15
 - 定义、偏转和 CyClone 选项, 3-18
 - Definition (定义) 选项, 3-18
 - Deflection (偏转) 选项, 3-20
 - CyClone 选项, 3-23
 - 手动液滴设置显示屏, 3-25
- 分选统计显示屏, 3-26
- POD 配置显示屏, 3-28
- SmartSampler 控件, 3-30

第 4 章: Summit 软件, 4-1

- Summit 软件概述, 4-1
 - Summit 软件数据库, 4-1
 - Summit 软件主界面概述, 4-2
 - Summit 软件控制面板, 4-2
 - 用户工具栏按钮, 4-3
 - Instrument (仪器) 选项, 4-5
 - Instrument (仪器) 选项, 4-5
 - Acquisition (采集) 选项, 4-8
 - 采集样品面板, 4-9
 - 启用参数, 4-10
 - 加载现有方案, 4-13
 - 创建方案, 4-14
 - 转换方案, 4-15
 - 在 Summit 软件中采集数据, 4-15
 - 保存已采集数据, 4-16
 - 生成运行报告, 4-17
 - 循环模式, 4-20
 - Sort (分选) 选项, 4-21
 - 清除分选统计, 4-22
 - 设定分选决策, 4-22
 - 查看直方图中每条液流的分选和丢弃数据, 4-24
 - Index Sorting (索引分选), 4-26
 - Sample (样品) 选项, 4-28
 - 通过样品进行自动加载, 4-28
 - 自动补偿向导, 4-28
 - 应用 VisiComp, 4-34
 - FCS 关键词, 4-36
 - 直方图选项, 4-38
 - 创建直方图和散点图, 4-39
 - 将点图和直方图最大化, 4-40
 - 更改坐标轴参数, 4-40
 - 更改直方图上的计算尺, 4-41
 - 显示比例, 4-42
 - 在直方图中创建区域, 4-42

- 重新命名区域, 4-42
- 复制和粘贴区域, 4-42
- 自定义统计数据显示, 4-43
- 手动缩放数据, 4-43
- 轮廓数据, 4-43
- 将直方图导出到 Word 中, 4-43
- 多文件显示, 4-43
- 创建叠加图, 4-43
- Gate Logic (门逻辑) 选项, 4-44
 - 通过单区域进行设门操作, 4-45
 - 设置连续门, 4-47
 - Gate Logic Builder (门逻辑生成器), 4-48
 - 门控颜色, 4-51
- Layout (布局) 选项, 4-53
 - Workspace Page Setup (工作区页面设置), 4-54
 - Workspace Page Navigator (工作区页面导航器), 4-54
- 快捷键, 4-55

第 5 章： 开机和关机程序, 5-1

- 试剂, 5-1
- 手动开机, 5-1
- 自动开机, 5-4
- 关机, 5-5
- 换桶, 5-9
 - 状态指示器, 5-9
 - 填充鞘液桶和清空废液桶, 5-9

第 6 章： 仪器校准, 6-1

- 每日仪器校准, 6-1
 - 液流校准, 6-1
- 激光光斑测定, 6-7
- 激光延迟, 6-12
- 激光校准, 6-15
- 激光微调, 6-15
- 独立激发空间的 UV 激光器微调, 6-21
- 定期校准, 6-22
- 前向散射, 6-22
 - 前向散射校准, 6-22
 - 分配前向散射光和滤光片, 6-23
 - 根据激光波长调节前向散射光, 6-24
 - 前向散射微调, 6-27
- 优化仪器进行小颗粒分析, 6-33
 - 设置仪器, 6-33

- 选择适当的光学、ND 滤光片和 FSC Mask , 6-34
 - 选择 FSC 激光偏转路径, 6-34
 - 选择 ND 滤光片, 6-34
 - 选择 FSC Mask , 6-35
- 可能存在的亚微细粒污染物, 6-39
- PMT 和滤光片校准, 6-39
 - 通用滤光片校准, 6-40
 - 创建和删除自定义滤光片配置, 6-41
 - 创建自定义滤光片配置, 6-41
 - 利用现有 Astrios 仪器和自定义滤光片编辑滤光片配置, 6-44
 - 将 FCS 文件中的滤光片配置加载并应用于仪器中, 6-49
 - 滤光片校准图, 6-51
- UV BSO 校准, 6-55
 - UV BSO 校准 - 衍射环, 6-55
 - UV BSO 激光共线校准微球闪烁程序, 6-56

第 7 章： 质量控制, 7-1

- 质量控制和性能验证, 7-1
- 自定义 QC 标准, 7-5
 - QC 标准描述, 7-7
 - 编辑 QC 标准, 7-8
 - 创建自定义滤光片 QC 标准, 7-11
 - 用默认 QC 标准代替自定义 QC 标准, 7-13
 - 用自定义 QC 标准代替默认 QC 标准, 7-14

第 8 章： 分选和 IntelliSort, 8-1

- 分选概述, 8-1
- 分选期间, 8-2
- 使用带自动液滴延迟计算的 IntelliSort 进行分选设置, 8-2
 - 选择和编辑 Sort Output Type (分选输出类型) , 8-3
 - 定义 Sort Output Type (分选输出类型) 规范, 8-4
 - 为分选输出类型设定液流偏转, 8-5
 - 设定 CyClone 板位置, 8-7
 - 启动 IntelliSort, 8-12
 - 扣除背景, 8-14
 - 设定分选决策, 8-16
 - 分选逻辑, 8-16
 - 分选模式, 8-16
 - 开始试管分选, 8-24
 - Summit 软件中的孔板或玻片配置, 8-24
- 其他分选信息, 8-29
 - 更改操作压力, 8-30
 - 改变激光延迟值, 8-30

- 降低压力, 8-30
- 增加压力, 8-30
- 处理速率限制, 8-30
- 硬件丢弃, 8-32
- 分选决策和粘连体, 8-32
 - 粘连体, 8-32
 - 参数信号类型, 8-33
 - 阈值, 8-33
 - 脉冲宽度, 8-34
 - 粘连体高度与面积信号, 8-34
 - 粘连体辨别, 8-35
- 手动测定液滴延迟, 8-36

第 9 章： 清洁和维护, 9-1

- 简介, 9-1
- 清洁, 9-1
 - 日常清洗, 9-1
 - 电极板组件和电极板清洁程序, 9-4
 - 光学清洁, 9-6
 - 材料, 9-6
 - 光学表面位置, 9-8
 - 仪器准备工作, 9-9
 - 清洁 MLSO 输出窗口、FSC 和 SSC 光学部件, 9-10
 - 光学表面准备工作, 9-15
 - 清洁光学器件, 9-15
 - 冲洗光学器件, 9-15
 - 对 MLSO 输出窗口、FSC 和 SSC 光学器件的最终检测, 9-15
 - 安装 FSC 和 SSC 阻挡条, 9-16
 - 清洁滤光片和镜片, 9-22
 - 光学表面准备工作, 9-23
 - 清洁光学器件, 9-23
 - 冲洗光学器件, 9-23
 - 对滤光片的最终检测, 9-23
 - 重新安装滤光片, 9-24
- 维护, 9-26
 - 年度维护, 9-26
 - 鞘液过滤器, 9-26
 - 生物安全柜, 9-26
 - 年度液流系统清洗, 9-26

第 10 章： 故障排除和更换程序, 10-1

- 故障排除, 10-1
- 问题 / 解决方案表, 10-2
- 检测气泡, 10-6

液滴稳定性试验, 10-6

清除喷嘴堵塞, 10-7

更换程序, 10-13

 更换喷嘴头, 10-13

 更换内置鞘液过滤器, 10-16

 更换 SmartSampler 进样针, 10-18

 更换 SmartSampler 导管, 10-22

附录 A： 可用的清洁剂和消毒剂, A-1

概述, A-1

 清洁剂, A-1

 用于采样线的消毒剂, A-2

 用于鞘液线的消毒剂, A-2

 废液桶用消毒剂, A-2

 桶, A-3

 电极板组件和电极板清洁材料, A-3

 光学清洁材料, A-3

附录 B： 耗材, B-1

耗材, B-1

附录 C： 补偿背景信息, C-1

补偿, C-1

附录 D： CytoCalc 表, D-1

CytoCalc 表, D-1

附录 E： 符号, E-1

符号定义, E-1

附录 F： 生物安全柜配件, F-1

生物安全柜, F-1

 生物安全柜安装, F-3

 生物安全柜和仪器上部模块的液流清洗, F-4

 功能, F-6

 生物安全柜维护和检修, F-7

 运行生物安全柜和仪器, F-7

 生物安全柜技术规范, F-9

缩略词

Beckman Coulter, Inc.

客户最终用户许可方案
相关文件

图解

- 1.1 AC 输入面板接口, 1-5
- 1.2 电子机箱接口图示, 1-6
- 1.3 Summit 工作台接口, 1-8
- 2.1 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器, 2-1
- 2.2 运行原理示意图, 2-3
- 2.3 仪器注释, 2-5
- 2.4 上部箱体注释, 2-6
- 2.5 定位千分尺（仪器盖罩已拆下）, 2-7
- 2.6 光纤耦合激光器, 2-8
- 2.7 激光光纤进入上部箱体, 独立 UV 激光器, 2-9
- 2.8 观察舱注释, 2-10
- 2.9 前向散射模块, 2-11
- 2.10 分光镜块开启时的前向散射模块, 2-12
- 2.11 针孔显示屏, 2-13
- 2.12 POD、PMT 和前置放大器, 2-14
- 2.13 气溶胶防护罩 / 分选舱, 2-16
- 2.14 电极板组件, 2-18
- 2.15 SortRescue 已扩展, 2-18
- 2.16 气溶胶清除系统, 2-19
- 2.17 气溶胶清除出口, 2-20
- 2.18 导管颜色, 2-21
- 2.19 鞘液桶 - 鞘液, 2-21
- 2.20 废液桶 - 废液, 2-22
- 2.21 带样品和鞘流的喷嘴组件, 2-23
- 2.22 仪器喷嘴, 2-24
- 2.23 压力控制台, 2-25
- 2.24 SmartSampler, 2-26
- 3.1 触摸屏控制面板常规元素, 3-2
- 3.2 粗调界面, 3-4
- 3.3 激光和液流截距配置显示屏, 3-6
- 3.4 微调显示屏, 3-8
- 3.5 数据显示最大化, 3-10
- 3.6 参数选择工具, 3-11

- 3.7 质量控制显示屏, 3-13
- 3.8 分选显示屏, 3-15
- 3.9 分选输出类型, 3-16
- 3.10 Definition (定义) 选项, 3-18
- 3.11 Deflection (偏转) 选项, 3-20
- 3.12 CyClone 选项, 3-23
- 3.13 手动液滴设置显示屏, 3-25
- 3.14 分选统计显示屏, 3-26
- 3.15 POD 配置显示屏, 3-28
- 3.16 SmartSampler 缩略菜单, 3-30
- 3.17 SmartSampler 完整菜单, 3-31
- 4.1 Select Database (选择数据库) 对话框, 4-1
- 4.2 Summit 软件主界面概述, 4-2
- 4.3 Summit 软件控制面板 (参见图 4.2 的项目 (2)), 4-3
- 4.4 用户工具栏图标, 4-3
- 4.5 用户工具栏, 4-4
- 4.6 用户工具栏设置, 4-4
- 4.7 Instrument (仪器) 选项, 4-5
- 4.8 Acquisition (采集) 选项, 4-8
- 4.9 采集样品面板, 4-9
- 4.10 启用适用于所有数据的特定参数, 4-10
- 4.11 启用单个参数, 4-11
- 4.12 采集参数面板, 4-12
- 4.13 加载现有方案 - 先前保存的方案, 4-13
- 4.14 加载现有方案 - PLO 文件, 4-13
- 4.15 加载现有方案 - 典型校准方案, 4-14
- 4.16 创建新方案, 4-14
- 4.17 转换方案, 4-15
- 4.18 Acquisition Menu (采集菜单), 4-15
- 4.19 保存已采集数据, 4-16
- 4.20 运行报告选项, 4-17
- 4.21 生成的运行报告, 4-18
- 4.22 针对样品的运行报告, 4-19
- 4.23 打开 FCS 文件, 4-19
- 4.24 针对循环模式设置循环量, 4-20
- 4.25 启用 Cycle Mode (循环刷新模式), 4-21
- 4.26 Sort (分选) 选项, 4-21
- 4.27 设定分选决策, 4-22

- 4.28 选择液流, 4-23
- 4.29 区域设定分选决策, 4-23
- 4.30 创建分选和丢弃直方图, 4-24
- 4.31 查看直方图中每条液流的分选和丢弃操作, 4-25
- 4.32 Sorts and Aborts (分选和丢弃) 直方图, 4-25
- 4.33 调整轴标尺, 4-26
- 4.34 创建索引直方图, 4-26
- 4.35 利用门控颜色进行索引分选显示, 4-27
- 4.36 Sample (样品) 选项, 4-28
- 4.37 通过样品进行自动加载, 4-28
- 4.38 查看样品, 4-30
- 4.39 添加新文件夹, 4-30
- 4.40 添加样品, 4-30
- 4.41 选择 Auto Compensate (自动补偿), 4-31
- 4.42 Auto Comp Sample 空白对话框, 4-31
- 4.43 已填充的 Auto Comp Sample 对话框, 4-32
- 4.44 Auto Compensate Wizard (自动补偿向导), 4-32
- 4.45 单阳性样品点图, 4-33
- 4.46 Auto Comp 调整区域, 4-33
- 4.47 补偿矩阵, 4-34
- 4.48 应用 VisiComp, 4-34
- 4.49 应用 VisiComp 前后所显示的数据, 4-35
- 4.50 调整 VisiComp, 4-35
- 4.51 添加 / 删除关键词, 4-36
- 4.52 选中 Add/Remove Keywords, 4-37
- 4.53 直方图选项, 4-38
- 4.54 创建直方图和散点图, 4-39
- 4.55 更改坐标轴参数, 4-40
- 4.56 Logarithmic Decades 菜单, 4-41
- 4.57 Logarithmic Decades, 4-41
- 4.58 显示数据比例, 4-42
- 4.59 Gate Logic (门逻辑) 选项, 4-44
- 4.60 设门 - 一个直方图或散点图, 4-45
- 4.61 设门 - 应用门, 4-46
- 4.62 设门结果, 4-46
- 4.63 设定连续门 1, 4-47
- 4.64 Combine Region and Gate (组合区域和门), 4-47
- 4.65 设定连续门结果, 4-48

- 4.66 Gate Logic Builder (门逻辑生成器), 4-48
- 4.67 Edit Gate Expression 选项, 4-49
- 4.68 选择门表达式, 4-49
- 4.69 Gate Logic Builder 和 Gate Scheme 面板, 4-50
- 4.70 门控颜色图, 4-51
- 4.71 门颜色选择, 4-51
- 4.72 门控颜色的单细胞群和粘连体细胞群, 4-52
- 4.73 切换门控颜色, 4-52
- 4.74 编辑门控颜色, 4-53
- 4.75 Layout (布局) 选项, 4-53
- 4.76 Workspace Page Navigator (工作区页面导航器), 4-54
- 5.1 Laser Control 选项, 5-2
- 5.2 对鞘液过滤器进行排气泡处理, 5-4
- 5.3 自动开机显示屏, 5-7
- 5.4 液流抽屉, 5-10
- 5.5 鞘液桶 - 填充, 5-11
- 5.6 废液桶, 5-13
- 6.1 液流定位调整工作台, 6-2
- 6.2 照明舱灯, 6-3
- 6.3 对液流进行调焦, 6-4
- 6.4 过度校正位置, 6-5
- 6.5 激光光斑测定显示屏, 6-7
- 6.6 激光光斑定义, 6-8
- 6.7 已找到激光光斑, 6-9
- 6.8 激光光斑测定确认, 6-10
- 6.9 激光截距和喷嘴校准与标定, 6-11
- 6.10 优化触发通道延迟, 6-13
- 6.11 激光延迟优化完成, 6-14
- 6.12 进入 Fine Alignment (微调) 显示屏, 6-15
- 6.13 校准方案, 6-17
- 6.14 Acquisition 选项和扩展菜单, 6-18
- 6.15 采集参数 - 加载设置, 6-19
- 6.16 Summit 软件和触摸屏控制面板微调, 6-20
- 6.17 UV 激光器微调, 6-21
- 6.18 配备校准千分尺的前向散射模块, 6-22
- 6.19 选择激光, 6-23
- 6.20 触发侧向散射, 6-25

- 6.21 可视化微球峰值, 6-26
- 6.22 调整 FSC 电压, 6-27
- 6.23 使用微调为 FSC 1 和 FSC2 设置参数 Alignment, 6-28
- 6.24 校准过程, 6-29
- 6.25 FSC 校准, 6-30
- 6.26 噪点群示例 1, 6-31
- 6.27 噪点群示例 2, 6-31
- 6.28 FSC 校准未完成, 两个噪点群, 6-32
- 6.29 FSC 校准完成, 一个噪点群, 6-32
- 6.30 使用 ND 滤光片, 6-34
- 6.31 配备 FSC 模块的 FSC Mask , 6-35
- 6.32 使用 Mask S1 和 S2 识别细胞群, 6-35
- 6.33 使用 Mask M1 和 M2 区分微粒和全血细胞, 6-36
- 6.34 带血液的 P Mask , 6-37
- 6.35 使用两种不同类型的 Mask 对两个群体进行区分, 6-37
- 6.36 同时使用不同的 Mask 和 ND 滤光片进行大范围颗粒检测, 6-38
- 6.37 新增滤光片, 6-42
- 6.38 自定义滤光片, 6-43
- 6.39 删除滤光片, 6-44
- 6.40 POD 选项, 6-45
- 6.41 二向色性滤光片, 6-45
- 6.42 带通滤光片, 6-46
- 6.43 FSC POD 布局, 6-47
- 6.44 POD 的 QC 标准, 6-48
- 6.45 数据采集设置, 6-49
- 6.46 加载滤光片配置, 6-49
- 6.47 从 FCS 文件中进行加载, 6-50
- 6.48 恢复仪器默认值, 6-50
- 6.49 355 nm 激光, 滤光片示意图, 6-51
- 6.50 405 nm 激光, 滤光片示意图, 6-52
- 6.51 488 nm 激光, 滤光片示意图, 6-52
- 6.52 532 nm 激光, 滤光片示意图, 6-53
- 6.53 561 nm 激光, 滤光片示意图, 6-53
- 6.54 592 nm 激光, 滤光片示意图, 6-54
- 6.55 640 nm 激光, 滤光片示意图, 6-54

- 7.1 程序运行前的 QC 显示屏, 7-2
- 7.2 QC 程序完成, 7-4
- 7.3 Help (帮助) 按钮, 7-4
- 7.4 QC 标准, 7-5
- 7.5 QC 设置工具, 7-6
- 7.6 QC 标准基本部件, 7-7
- 7.7 编辑 QC 标准, 7-8
- 7.8 添加新标准, 7-9
- 7.9 405-nm 配置示例, 7-10
- 7.10 488-nm 配置示例, 7-10
- 7.11 QC Help (QC 帮助), 7-12
- 8.1 分选示意图概述, 8-1
- 8.2 选择分选输出类型, 8-3
- 8.3 分选示意图概述, 8-4
- 8.4 设置偏转, 8-5
- 8.5 设定 CyClone 板位置, 8-7
- 8.6 分选输出架, 8-8
- 8.7 干净的玻片, 8-9
- 8.8 带液滴的分选输出, 8-10
- 8.9 CyClone 支臂上的分选输出架, 8-11
- 8.10 调整两个极限值之间的充电相位, 8-13
- 8.11 液流关闭警告, 8-14
- 8.12 喷嘴工作台上的旋钮, 8-15
- 8.13 应用于相同分选液流的分选模式, 8-17
- 8.14 液滴模式, 8-18
- 8.15 分选方案, 8-22
- 8.16 采集数据, 8-23
- 8.17 分选逻辑和统计数据, 8-23
- 8.18 选择 CyClone, 8-25
- 8.19 Media New, 8-25
- 8.20 选择玻片或孔板类型, 8-26
- 8.21 布局, 8-26
- 8.22 定义布局, 8-27
- 8.23 定义布局分选决策, 8-27
- 8.24 定义布局颜色 - 细胞数量, 8-28
- 8.25 定义布局颜色 - 选定颜色, 8-28
- 8.26 定义布局颜色 - 分选决策配置, 8-29
- 8.27 启动分选, 8-29

- 8.28 良好的分选纯度和分选容积，低丢弃量，8-31
- 8.29 低分选纯度和分选容积，硬件耦合丢弃率，8-31
- 8.30 粘连体，8-32
- 8.31 Summit 和 Fine Alignment（微调）显示屏上的参数信号类型设置，8-33
- 8.32 单体和粘连体峰值的脉冲宽度，8-34
- 8.33 粘连体的高度和线性面积，8-34
- 8.34 FSC 与 SSC 点图，8-35
- 8.35 面积与高度点图，已在 FSC 与 SSC 点图 R1 上设门 t，8-36
- 8.36 液滴延迟示意图，8-37
- 8.37 液滴延迟 FSC vs. SSC 散点图，8-39
- 8.38 FSC vs. SSC 群体，8-39
- 8.39 Drop Delay Wizard（液滴延迟向导），8-40
- 8.40 Drop Delay Wizard - 测试参数，8-40
- 8.41 液流分选逻辑，8-41
- 8.42 Drop Delay Wizard - 沉积液滴，8-41
- 8.43 Drop Delay Wizard - 液滴已形成，8-42
- 8.44 Drop Delay Wizard - 计算结果，8-42
- 8.45 Drop Delay Wizard - 目标液滴低于 3%，8-43
- 9.1 移除分选接收管，9-2
- 9.2 断开 SortRescue 托盘和导管，9-3
- 9.3 移除电极板组件，9-4
- 9.4 更换电极板组件，9-5
- 9.5 光学部件的位置，9-8
- 9.6 定位 FSC 阻挡条，9-10
- 9.7 定位 FSC/SSC 移除工具的 FSC 端部，9-11
- 9.8 连接 FSC 和 SSC 移除工具与 FSC 阻挡条，9-11
- 9.9 移除 FSC 阻挡条，9-11
- 9.10 抬升喷嘴，9-12
- 9.11 放入 SSC 阻挡条，9-12
- 9.12 放入 Z 轴千分尺，9-13
- 9.13 移动 FSC 光学器件，9-13
- 9.14 对齐 FSC/SSC 移除工具的 SSC 端部，9-13
- 9.15 连接 SSC 阻挡条与 FSC 和 SSC 移除工具，9-14
- 9.16 移除 SSC 阻挡条，9-14
- 9.17 观察舱，9-16

- 9.18 对齐 FSC 阻挡条, 9-16
- 9.19 FSC 阻挡条, 9-17
- 9.20 将 FSC 和 SSC 条移除工具与 FSC 光学器件对齐, 9-17
- 9.21 将 FSC 阻挡条安装在光学器件上, 9-17
- 9.22 移除 FSC 阻挡条, 9-18
- 9.23 放入阻挡条, 9-18
- 9.24 观察舱, 9-19
- 9.25 对齐 SSC 阻挡条, 9-19
- 9.26 SSC 阻挡条, 9-20
- 9.27 对齐光学器件上的 SSC 条, 9-20
- 9.28 将 SSC 阻挡条安装到光学器件上, 9-21
- 9.29 缩回 SSC 光学器件上的手柄, 9-21
- 9.30 FSC 光学器件, 9-22
- 9.31 滤光片正确定位, 9-24
- 9.32 二向色 (1) 和带通滤光片 (2), 9-25
- 10.1 提升喷嘴, 10-7
- 10.2 分离连接器, 10-8
- 10.3 喷嘴体, 10-8
- 10.4 旋松喷嘴头扣环, 10-9
- 10.5 10 mL 注射器, 10-9
- 10.6 黑色 O 型圈, 10-10
- 10.7 O 型圈和喷嘴头, 10-10
- 10.8 连接小扣环, 10-11
- 10.9 重新安装喷嘴体, 10-12
- 10.10 鞘液过滤器示意图, 10-16
- 10.11 SmartSampler 门, 10-19
- 10.12 进样针定位, 10-19
- 10.13 带软管倒钩的进样针顶板, 10-19
- 10.14 旋松进样针螺母, 10-20
- 10.15 从进样针顶板上取出进样针, 10-20
- 10.16 更换进样针, 10-21
- 10.17 拧紧进样针紧固螺母, 10-21
- 10.18 锁紧盖罩, 10-22
- 10.19 打开盖罩, 10-23
- 10.20 软管倒钩, 导管移除, 10-23
- 10.21 SmartSampler 夹管阀, 10-23
- 10.22 SmartSampler 气泡检测器, 10-24

- 10.23 喷嘴工作台旋钮, 10-24
- 10.24 套圈总成, 10-25
- 10.25 用两个扳手旋松顶部端口螺母, 10-25
- 10.26 黑色手柄, 10-26
- 10.27 切割工具, 10-27
- 10.28 PEEK 导管上的黄色外壳, 10-27
- 10.29 添加套圈, 10-28
- 10.30 安装 PEEK 导管, 10-28
- 10.31 用两个扳手拧紧顶部端口螺母, 10-29
- 10.32 盖住套圈总成, 10-29
- 10.33 穿过气泡检测器的螺纹导管, 10-30
- 10.34 进样针上的导管, 10-30
- 10.35 夹管阀中的导管, 10-31
- C.1 FITC 和 PE 光谱示意图, C-1
- F.1 配备生物安全柜的仪器, F-2

表格

1.1	常规系统技术规范和环境要求, 1-1
1.2	区域电气要求, 1-2
1.3	激光技术规范, 1-4
1.4	系统噪声, 1-4
1.5	AC 输入面板接口和定义, 1-5
1.6	电子机箱接口已标注, 1-7
2.1	适用于分选输出的 CyClone 板配件, 2-17
3.1	状态指示器 - 显示屏元素和功能, 3-2
3.2	粗调 - 显示屏元素和功能, 3-5
3.3	激光和液流截距配置显示屏, 3-7
3.4	微调 - 显示屏元素和功能, 3-9
3.5	参数选择工具 - 元素和功能, 3-12
3.6	QC 显示屏 - 元素和功能, 3-13
3.7	分选显示屏 - 元素和功能, 3-16
3.8	定义显示屏 - 元素和功能, 3-19
3.9	Deflection 选项 - 显示屏元素和功能, 3-21
3.10	CyClone 板配置显示屏 - 元素和功能, 3-24
3.11	手动液滴设置显示屏 - 元素和功能, 3-26
3.12	分选统计 - 显示屏元素和功能, 3-27
3.13	PMT 和滤光片校准显示屏 - 元素和功能, 3-29
3.14	SmartSampler - 显示屏元素和功能, 3-32
4.1	仪器选项 - 显示屏元素和功能, 4-6
10.1	一般故障排除, 10-2
10.2	SmartSampler 故障排除, 10-5
B.1	微球, B-1
B.2	鞘液, B-1
B.3	维护, B-2
D.1	CytoCalc 表, D-1
E.1	符号定义, E-1
F.1	生物安全柜技术规范, F-10

简介

如何使用本手册

手册概述

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器手册包括使用和操作 MoFlo Astrios^{EQ} 高速分选仪的基本信息，本手册的前提是您已经接受过有关仪器操作的基本培训。请联系您的贝克曼库尔特工程师，获取本手册中未描述的信息。本手册未提供有关硬件安装或升级的指示说明，因为上述操作必须由贝克曼库尔特工程师予以提供。

本仪器仅供研究使用。

利用本使用手册对您的仪器和工作站进行日常管理工作。操作仪器前，浏览有关开机、质量控制 (QC)、抽取样、分析数据、打印报告以及关机的详细分步流程。本手册包含安全和故障排除信息，以及清洁仪器和更换部件的流程。

适用惯例

本文档采用以下惯例：

- 黑体字表示 Summit Workstation 屏幕上显示的按钮或选项。
- 术语选项用于表示以下一种或两种动作：
 - 用手指轻击或触摸。
 - 用鼠标点击。

注意 动词 “press”（按下）专门用于机械按钮，例如键盘上的按键。

- 特定功能或屏幕的软件路径显示符号比屏幕选项之间的符号要大。
 - 文档附加内容的链接为蓝色字体，且已添加下划线。要获取链接的信息，请选择蓝色、带下划线的文本。
- 重要事项** IMPORTANT（重要事项）用于表示对即将进行的步骤或程序非常有用的内容。遵循重要事

项的建议，有助于仪器或流程的运行。

注意 NOTE（注意）用于表示在仪器使用和维护期间，应当引起注意的事项。

关于本手册

本使用手册的内容划分如下：

第 1 章 安装

描述了系统的技术规范、实验环境要求以及仪器安装建议。

第 2 章 系统概述

提供了 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器功能、系统结构和子系统的概况。

第 3 章 触摸屏控制面板

提供了仪器控制面板屏幕元素的定义。

第 4 章 Summit 软件概述

提供了有关 Summit 软件功能的基本信息。

第 5 章 开机和关机程序

提供了 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器开启和关闭的指示说明。

第 6 章 仪器校准

提供了有关液流和激光校准以及光斑测定的信息。本章节还描述了粗略校准激光、前向散射光调节、扣除背景、PMT 校准以及滤光片调节等相关信息。

第 7 章 质量控制

提供了如何根据自动质量控制程序进行操作的指示说明。

第 8 章 分选和 IntelliSort

描述了如何定义 Sort Output Type、设置偏转、校正 cyclone 板的位置、执行自动液滴延迟计算、启用 IntelliSort 监测、获取数据设置区域和设门、设定分选决策以及向玻片、板或试管配置分选等程序。

第 9 章 清洁和维护

描述了日常清洗程序、电极板组件，以及电极板清洗流程、光学清洁程序、以及年度液流清洗程序。还包括有关更换鞘液过滤器以及由您的贝克曼库尔特工程师进行的年度防护检修的信息。

第 10 章 故障排除和更换程序

描述了基本故障排除方案和程序，以便更换用户可更换部件。

附录 A 可用的清洁剂和消毒剂

包括一个可应用于 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上的清洁剂和消毒剂的清单。

附录 B 耗材

包括 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器将使用的耗材清单。

附录 C 补偿背景信息

它描述了多色样本中如何去除每一个抗体的实际强度。

附录 D CytoCalc Table

当您调节设置值时，CytoCalc Table 提供了工作压力、频率、振幅和液滴延迟的建议初始值。

附录 E 符号标记

它提供了 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器标签上所用的符号标记。

附录 F 生物安全罩配件

它提供了有关可选生物安全柜的警示和警告信息。

第 1 章

安装

常规实验室信息

重要事项 您的贝克曼库尔特工程师负责完成 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的拆包、安装和初始设置操作。重新安装 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器前，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

仪器技术规范

重要事项 不建议将 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器安装在加热和空调通风口或风扇的正下方，因为这样会导致温度波动、振动并产生灰尘。

常规系统技术规范和环境要求如下表所示。可选生物安全柜的技术规范参见附录 F 生物安全柜配件。

表 1.1 常规系统技术规范和环境要求

技术规范	要求
检修通道	左侧 46 cm (18 in.)，右侧 72 cm (36 in.)，无需接触仪器后侧。
安装类别	II
污染等级	2
激光产品类别	I 类激光产品 (IEC/EN60825 -1:Ed.2:2007)
仪器尺寸 (不含辅助部件)	高 - 129.3 cm (51 in.) 宽 - 174.5 cm (69 in.) 深 - 92.7 cm (36.5 in.) 重 - 567 kg (1250 lbs)
电子机箱	高 - 49.5 cm (19.5 in.) 宽 - 35.9 cm (14.1 in.) 深 - 23 cm (9 in.) 重 - 18 kg (40 lbs)

表 1.1 常规系统技术规范和环境要求（续）

技术规范	要求
Summit 软件工作台尺寸	高 - 42.9 cm (16.9 in.) 宽 - 19.1 cm (7.5 in.) 深 - 45.7 cm (18.0 in.) 重 - 10.5 kg (23 lbs)
仪器存储和运行的湿度和温度范围	15-26°C (59-79°F), 不可被阳光直射 相对湿度20-80%（非冷凝湿度） 温度达 26°C时, 相对湿度最大 80%
最大海拔高度	请勿在海拔超过 2000 m (6561 ft) 以上的地方操作本仪器。
AC 输入面板	高 - 43 cm (17 in.) 宽 - 4.4 cm (1.75 in.) 深 - 17 cm (6.75 in.) 重 - 0.9 kg (2 lbs) 输入 J1 - 100-230 Vac, 8-3.5 A, 50-60 Hz 输入 J2 - 100-230 Vac, 15-8 A, 50-60 Hz 总电源不得超过标称输入电压的 $\pm 10\%$ 。 输出 J5 - (UV 激光) 100-230 Vac, 8-3.5 A, 50-60 Hz 输出 J6 - (激光光源) 100-230 Vac, 8-3.5 A, 50-60 Hz 输出 J7 - (电子机箱) 100-230 Vac, 8-3.5 A, 50-60 Hz

气压泵、水浴和气溶胶清除装置，每个装置都需要配备一个接地的专用插座。Summit Workstation 计算机需要配备一个单独的插座，但无需配备专用线路。

区域电气要求如下表所示。

表 1.2 区域电气要求

国家	接地专用线路	非专用线路
USA	两条专用线路，15 A 时，115 Vac，50/60 Hz 主机箱 ON/OFF 电源连接和 J1 UPS 提供的主供电 AC 输入 激光电源插头直接插入壁式插座中，J2	三个非专用线路，15A 时，115 Vac，50/60 Hz — 一个用于 Summit 计算机，第二个用于监视器，第三个用于打印机。
国家	接地专用线路	非专用线路

表 1.2 区域电气要求

欧洲	两条专用线路，10 A 时，220 Vac，50/60 Hz 主机箱 ON/OFF 电源连接和 J1 UPS 提供的主供电 AC 输入 激光电源插头直接插入壁式插座中，J2	三个非专用线路，10 A 时，220 Vac，50/60 Hz — 一个用于 Summit 计算机，第二个用于监视器，第三个用于打印机。
日本	两条专用线路，15 A 时，100 Vac，50/60 Hz 主机箱 ON/OFF 电源连接和 J1 UPS 提供的主供电 AC 输入 激光电源插头直接插入壁式插座中，J2	三个非专用线路，15 A 时，100 Vac，50/60 Hz — 一个用于 Summit 计算机，第二个用于监视器，第三个用于打印机。

激光技术规范如下表所示。

表 1.3 激光技术规范

典型 a 激光波长	标称 a 激光功率	液流光斑尺寸	激光分离
355 nm	100 mW	水平面：50 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度 垂直面：25 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127（由操作员进行适当校准）。
405 nm	55 mW	水平面：平顶半高宽强度大约为 35-55 μm 垂直面：5-15 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127 $\pm$ 3 μm
488 nm	200 mW	水平面：平顶半高宽强度大约为 35-55 μm 垂直面：5-15 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127 $\pm$ 3 μm
532 nm	150 mW	水平面：平顶半高宽强度大约为 35-55 μm 垂直面：5-15 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127 $\pm$ 3 μm
560 nmb	200 mW	水平面：平顶半高宽强度大约为 35-55 μm 垂直面：5-15 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127 $\pm$ 3 μm
592 nm	200 mW	水平面：平顶半高宽强度大约为 35-55 μm 垂直面：5-15 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127 $\pm$ 3 μm
645 nmc	105 mW	水平面：平顶半高宽强度大约为 35-55 μm 垂直面：5-15 μm 高斯光束，全宽 1/e ² 强度	127 $\pm$ 3 μm

- a. 少量部件的激光波长和功率存在差异，可能激光制造商和激光模型之间存在差异。
- b. 根据以往记录，561 nm 绿色激光已经应用于流系统之中，因此，软件仍将使用 561 来识别绿色激光。
- c. 根据以往记录，640 nm 红色激光已经应用于流系统之中，因此，软件仍将使用 640 来识别红色激光。

注意 波长为标称值，可能会有多种不同。

系统噪声规范如下表所示。

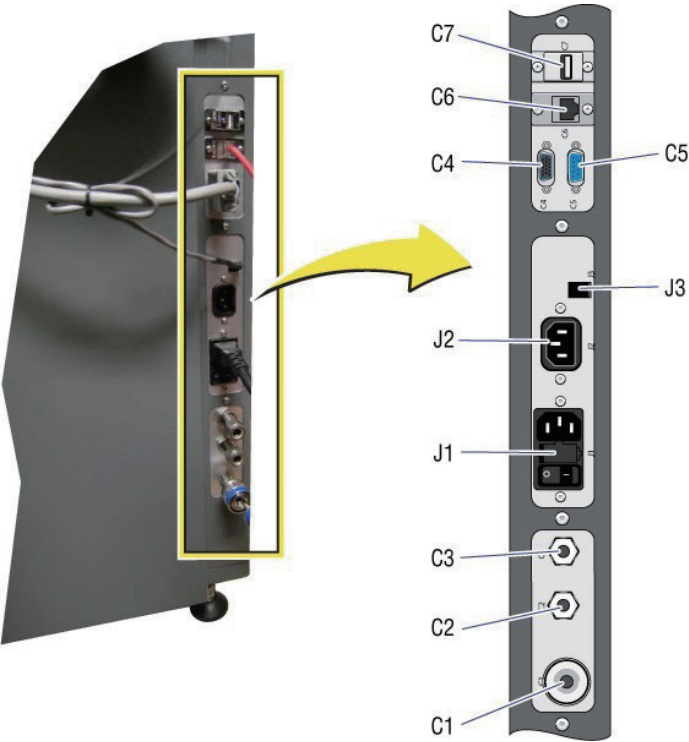
表 1.4 系统噪声

部件	噪声等级
MoFlo Astrios ^{EQ} 系统配备或不配备可选生物安全柜	<70 dB
气溶胶清除系统	风扇运转最大功率为 62 $\pm$ 2 dB

系统连接

AC 输入面板接口如图 1.1 所示。

图 1.1 AC 输入面板接口



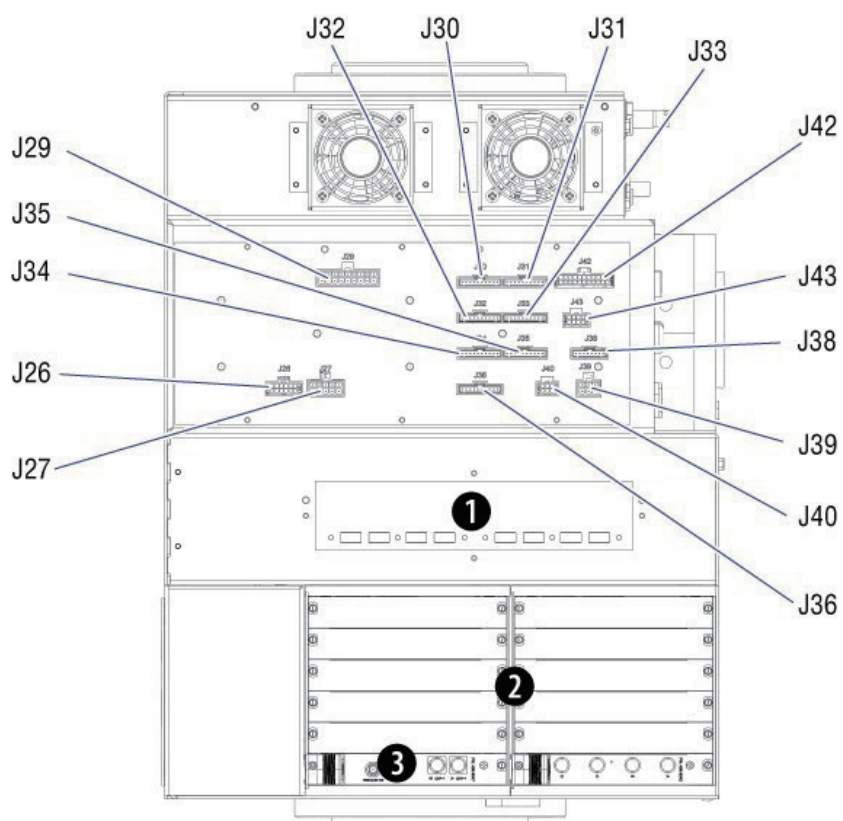
AC 输入面板接口和定义如下表所示。

表 1.5 AC 输入面板接口和定义

C1	主风进口（Jun 空气或室内空气）请勿将气压设定在 125 psi 以上。
C2	冷却水 OUT
C3	冷却水 IN
C4	触摸屏监视器接口
C5	未使用
C6	连接 Summit 工作站计算机的网络交叉电缆
C7	USB 触摸屏接口
J1	主机箱 ON/OFF 电源接口和 UPS 主供电 AC 入口
J2	激光电源接口插头直接插入壁式插座
J3	触摸屏电源接口

Astrios^{EQ} 电子机箱接口如图 1.2 所示。

图 1.2 电子机箱接口图示



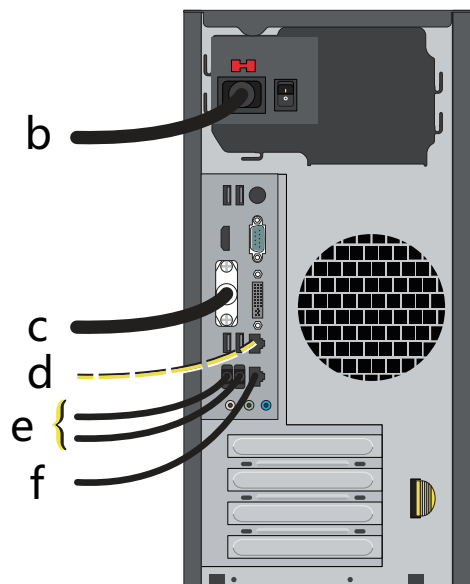
Astrios^{EQ} 电子机箱接口如图 1.2 所示。

表 1.6 电子机箱接口已标注

J26	液流测压元件（废液和鞘液）接头
J27	气压接头（打开真空泵阀门）
J29	上配电板电源接头
J30	POD 1 前置放大器控件接头
J31	POD 2 前置放大器控件接头
J32	POD 3 前置放大器控件接头
J33	POD 4 前置放大器控件接头
J34	POD 5 前置放大器控件接头
J35	POD 6 前置放大器控件接头
J36	POD 7 前置放大器控件接头
J38	激光光源控件接头
J39	AC 输入和触摸面板控件接头
J40	系统电源开关和 LED 照明接头
J42	电源组件控件接头
J43	生物罩接头（2 x 4 MicroFit，与 J40 类似，但多两个）
1	USB 接口：上部套件、激光光源、AC 输入和触摸面板
2	ADC
3	分选卡

Summit 工作台接口如图 1.3 所示。

图 1.3 Summit 工作台接口



1. AC 电源线连接至 UPS。
2. 监控器线缆连接至监控器。
3. 可选网络线缆连接至实验室网络。
4. USB 线缆连接鼠标和键盘。
5. 网络交叉线缆连接仪器台右后部的隔板。

安装 Summit 软件

仪器安装完毕后，将由贝克曼库尔特工作人员来安装 Summit 软件。如需将 Summit 软件安装在其他电脑上，则应将 CD 插入 CD/DVD 驱动器，然后按照屏幕上的提示进行操作。

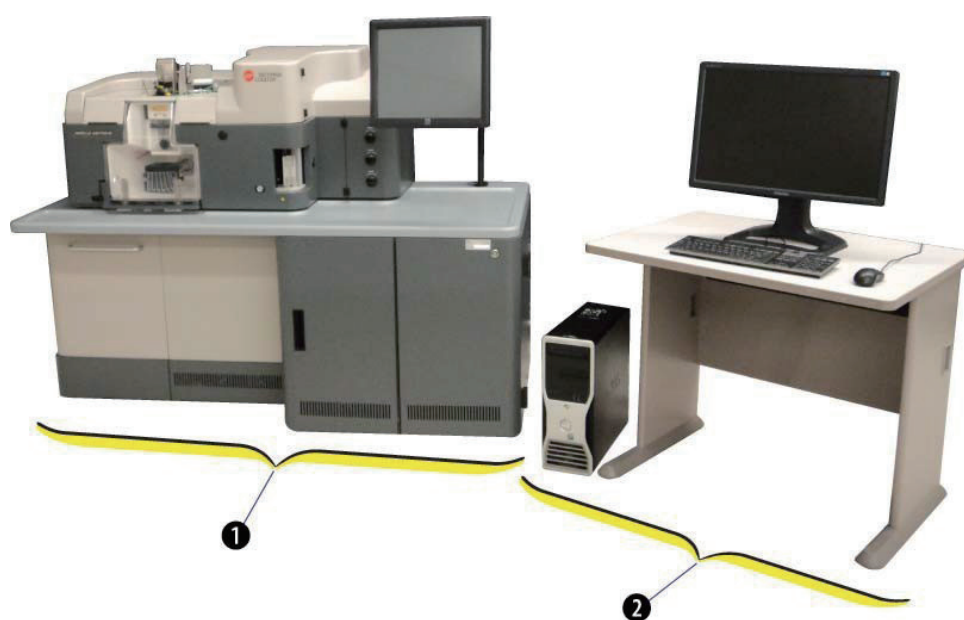
系统概述

仪器概况

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器是一款研究仪器，专门用于分析和分选细胞悬液和其他类似大小的颗粒悬液。

本仪器包括两个主要单元：高速细胞分选仪和 Summit 工作台。参见图 2.1。

图 2.1 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器



1. 高速细胞分选仪
2. Summit 工作台

仪器的采样率能够达到每秒 10 万个颗粒物，分选速率可达每秒 7 万次分选决策。高性能电子系统和 32 位数字化软件能够获取高达十亿个 events 并将上述信息存储在单一数据文件中。

系统可配备多达六根光纤耦合激光和一根独立的 UV 激光，每根激光均有独立的空间独立收集路径。

平顶多激光束成型器 (MLSO) 简化了光纤耦合激光束校准程序，并将经过调焦的高功率激光传输到样品流中。每个激光可配备多达六个检测器和两个前向散射参数。样品运行时，多激光可同时启用并且最多能够分析 32 个荧光参数以及两个前向散射参数。采集的数据能够进行 20 x 20 补偿矩阵的参数计算。

操作员可以运用自动质量控制 (QC) 功能监控所有可用参数的日常系统性能，查看屏幕显示的结果，创建 QC 报告，随时追踪仪器性能状况。

Summit 软件用于获取、分选和分析流式细胞检测数据。

IntelliSort 提供了全自动的分选设置，包括液滴优化、免微球液滴延迟计算和维持，以及液滴生成监测。

样品可以分选入一个甚至同时分选到六个可温控的管中。或者，样品也可分选到五个标准尺寸的温控微孔板中或标准显微镜载玻片上。还可能通过 CyClone 板进行自定义的分选输出。

SortRescue 是一种定制托盘，用于在分选之前、之中和之后保护样品，并收集处于故障状态的喷雾。

用户可以通过索引分选功能，查看数据文件，观察分选后的颗粒在孔板中所处的位置，其会以图形方式显示在屏幕上。

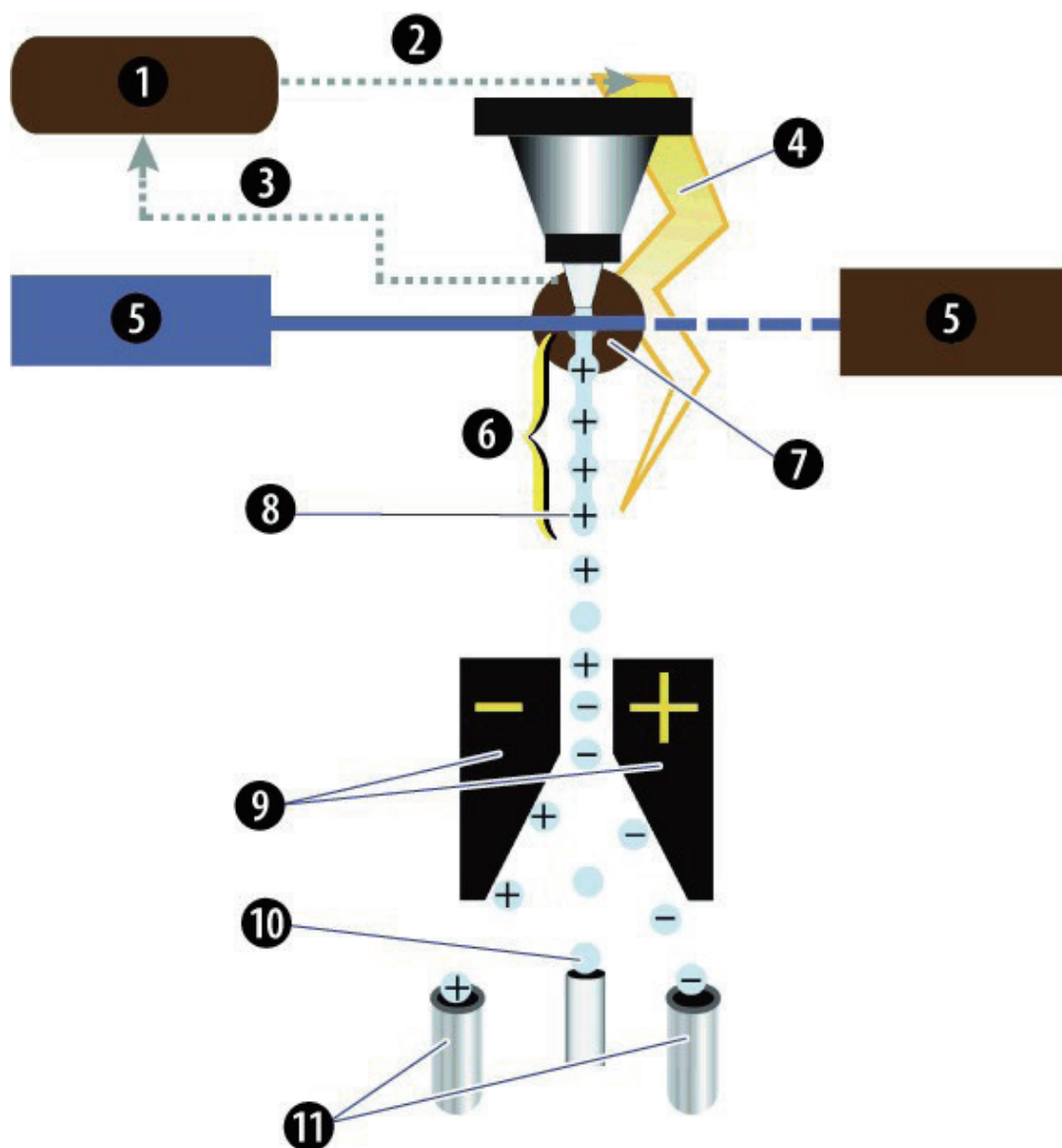
常规操作原理

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器能够对单个颗粒悬液进行检测，缓冲盐溶液中的颗粒被推动穿过一到七个不同波长、空间独立的激光束。如果颗粒或加入颗粒的荧光染料可被激光波长所激发，颗粒将发射宽波段荧光和散射光。发射出的光将经过收集、聚焦、折射和滤光，以便光电倍增管 (PMT) 能够对离散光波长进行检测。PMT 能够将光信号转化成电子信号，发送至仪器计算机系统进行统计分析。Summit 软件随即根据操作员设定的参数获取数据。

注意 波长为标称值，可能会有多种不同。

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器按照操作员の設定来获取数据，以及决定分选决策。依据分选目标及分选决策，喷嘴对鞘流进行快速地正负充电。在此期间，喷嘴中的压电晶体将持续振动，将带电的液流分解成液滴。液滴流两侧的电极板将会吸引或排斥带电的液滴进入适当接收管中。参见图 2.2。

图 2.2 操作原理示意图



1. Astrios^{EQ} 内部系统软件
2. 分选决策应用
3. 分析的数据
4. 适用于系统的电荷
5. 主激光和前向散射光电二极管
6. 适用于液流的电荷

7. 液滴延迟间隔
8. 断点液滴
9. 带电的电极板
10. 废液管
11. 分选管

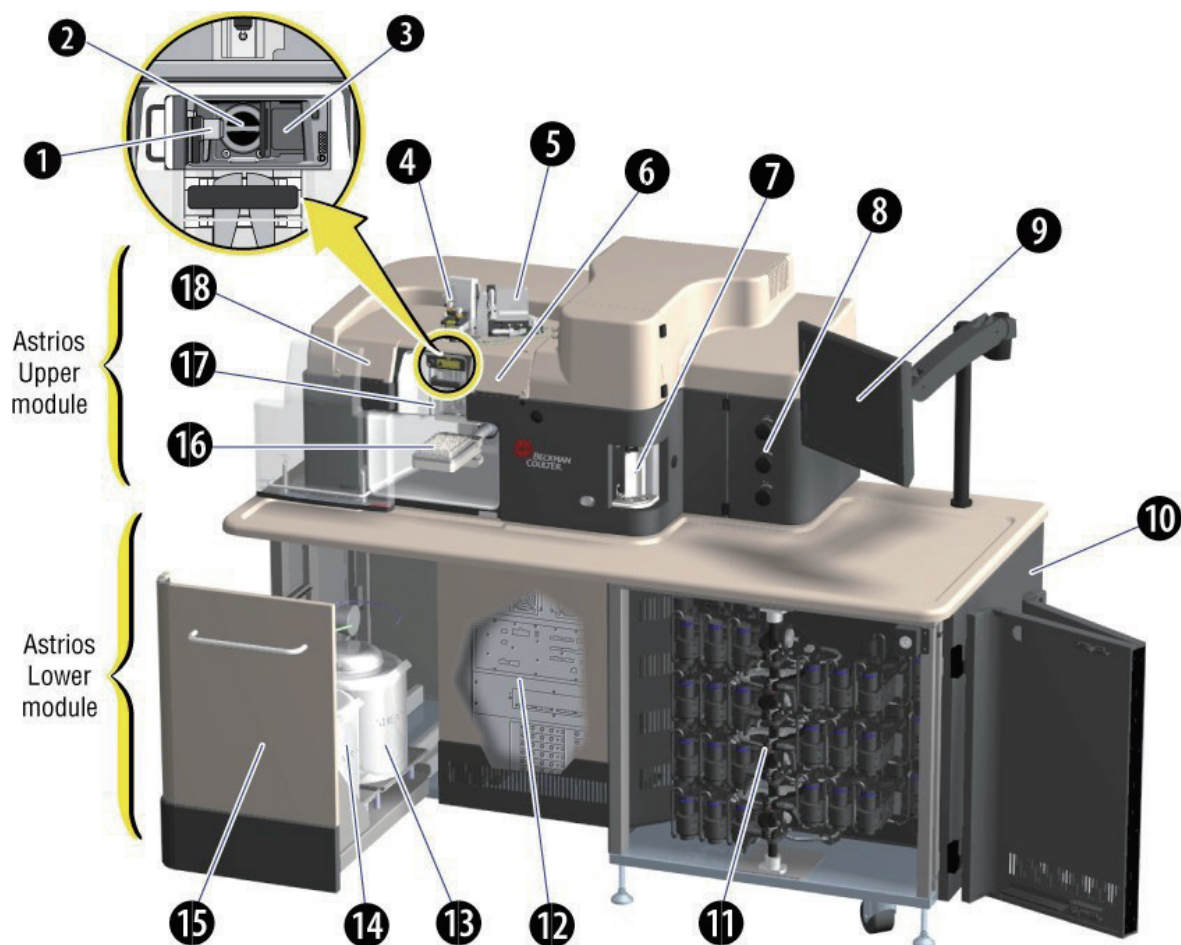
系统布局

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器在设计时，充分考虑到 workflow、操作员的安全性、样品隔离以及人体工程学等方面。需要操作员进行操作的所有部件均可从仪器的前侧获取。

仪器上部分包括连接光纤光学器件的平顶多激光光束成型器 (MLSO)，它包括激光光源、前向散射传感器、UV 激光器和 MLSO 光束成型器、喷嘴、样品入口、压力控制台、校准千分尺、高压电极板、分选舱、CyClone 板和触摸屏控制面板。

鞘液和废液桶存储在下部箱体左侧的液流抽屉中。每个桶下面都有一个测压元件，仪器通过该测压元件监控鞘液和废液量。右下箱体包括精密光学检测器 (POD)，其配备光电倍增管 (PMT) 以及适用于激光器的滤光片组。当必须接触检测器时，必须将 POD 向前旋转，并转出箱体之外。参见图 2.3。

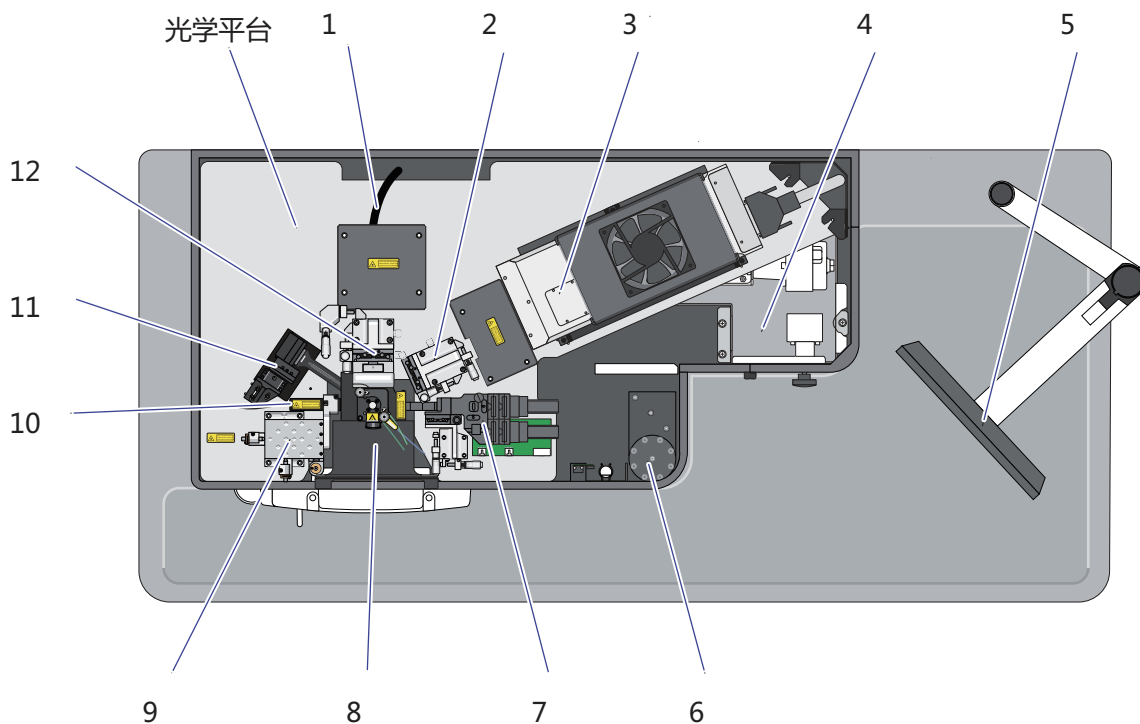
图 2.3 仪器注释



- | | |
|--------------------|--------------------------------|
| 1. MLSO 光学窗口 | 11. 检测 POD 和 PMT |
| 2. SSC 收集物镜 | 12. 电子系统 (面板后面) |
| 3. 前向散射模块 | 13. 鞘液桶 |
| 4. 喷嘴定位千分尺和平衡架 | 14. 废液桶 |
| 5. UV BSO 定位千分尺 | 15. 液流抽屉 |
| 6. 前向散射传感器定位千分尺 | 16. CyClone 板运动组件 (配备微孔板) |
| 7. SmartSampler | 17. 电极板组件 |
| 8. 压力控制台 | 18. 多激光光束成型器 MLSO 定位千分尺 (面板后面) |
| 9. 触摸屏控制面板 | |
| 10. 光纤耦合激光器 (面板后面) | |

光纤耦合激光器发出的光通过 MLSO 聚焦并传输至液流中。MLSO 调整千分尺和前向散射检测器的千分尺封闭在前门之后。UV 激光器的 MLSO 和喷嘴配备专门的外置校准台，可供操作员使用。参见图 2.4。

图 2.4 上部箱体注释



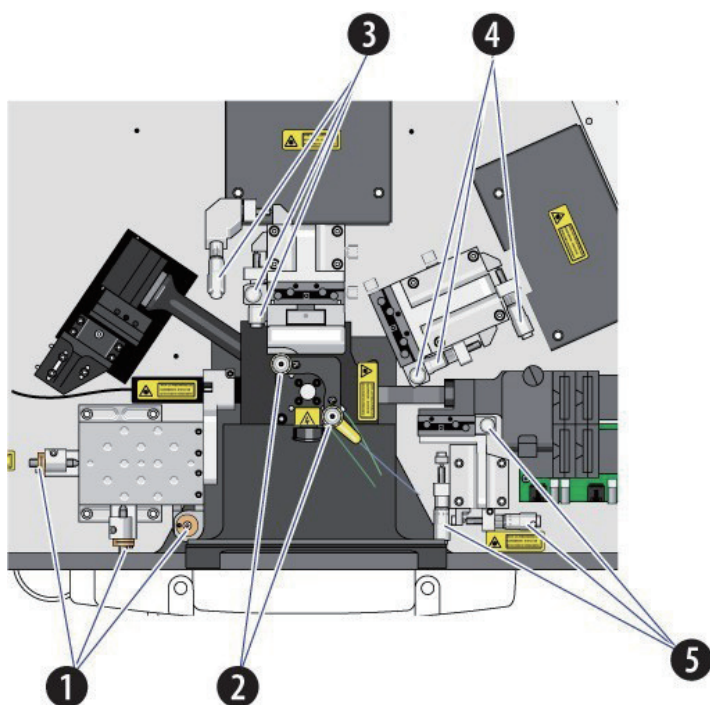
- | | |
|--------------------------|---------------------|
| 1. 将发射光及侧向散射光传输至 POD 的光纤 | 7. 前向散射光小型 POD |
| 2. UV 激光器 MLSO 定位千分尺 | 8. 分选舱 |
| 3. UV 激光器 | 9. MLSO 定位千分尺 |
| 4. 压力控制台 | 10. 配备光纤光学器件的 MLSO |
| 5. 触摸屏控制面板 | 11. Intellisort 摄像头 |
| 6. 智能上样器 | 12. 喷嘴定位千分尺 |

电子系统和光纤耦合的激光器位于箱体下部，无需操作员进行操作。

千分尺定位控制

定位控制能够给多激光光束成型器 (MLSO)、喷嘴、独立的 UV 激光器的 BSO 和前向散射收集传感器提供精细的位移控制。参见图 2.5。

图 2.5 定位千分尺 (仪器盖罩已拆下)



1. 适用于多激光光束成型器 (MLSO) 的定位千分尺。这些千分尺几乎不需要调整。
2. 适用于喷嘴的定位平衡架从左到右、从前向后摇动液流。
3. 适用于喷嘴的定位工作台。
4. 适用于独立 UV 激光器 MLSO 的定位工作台。
5. 适用于前向散射收集传感器的定位工作台。

光学系统

由于鞘流和样品中的细胞贯穿激光光斑，与光发生反应。细胞能够向前方和侧方散射激光。如果细胞有自发射荧光或进行荧光染料染色处理，它们还会发射不同波长的荧光。

光纤耦合激光器

光纤耦合激光器在下部箱体中的一个或两个激光光源中，如图 2.6 所示。光纤光学器件将激光从激光光源传输至 MLSO，其将激光束聚焦到样品和鞘流上。

激光分离

当激光与鞘液和样品流相交时，激光之间的分离距离为 $127 \pm 3 \mu\text{m}$ 。

激光光斑尺寸

水平面：平顶光束半宽约为 $35\text{-}55 \mu\text{m}$ 。

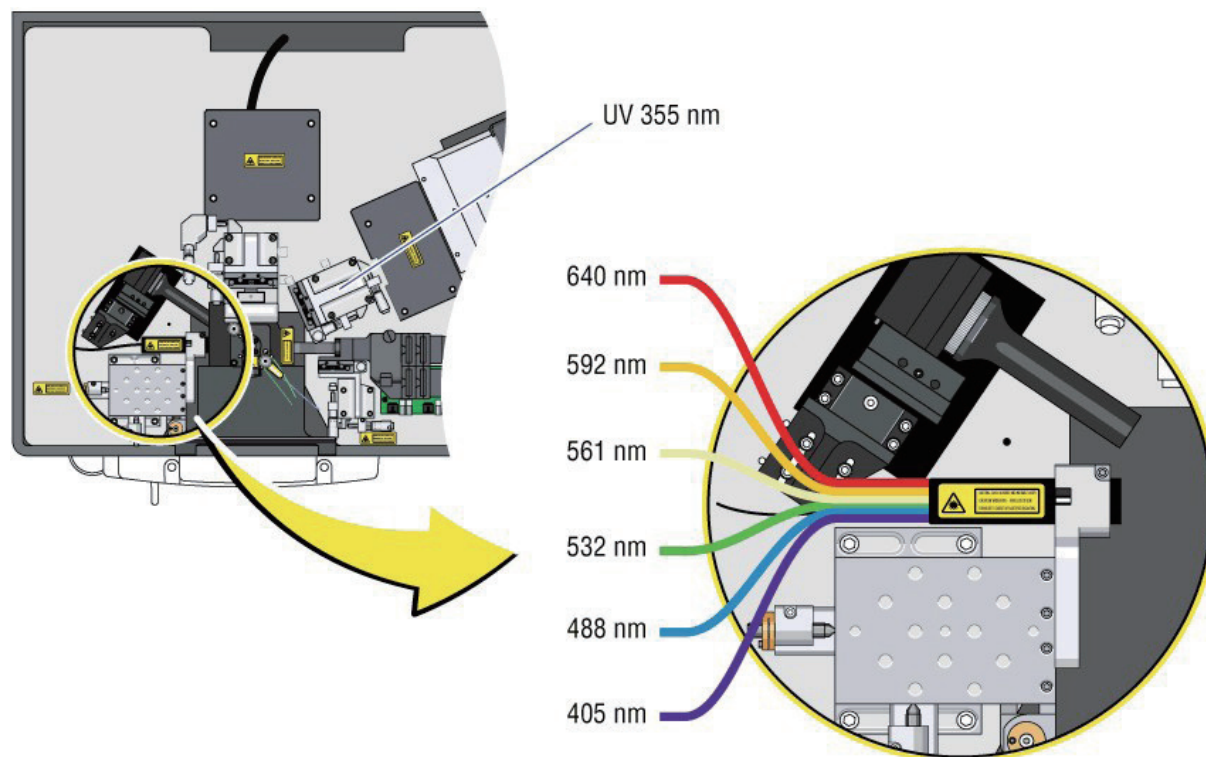
垂直面：高斯光束 $5\text{-}15 \mu\text{m}$ ， $1/e^2$ 。

图 2.6 光纤耦合激光器



图 2.7 展示了独立 UV 激光器通过光纤进入上部箱体。

图 2.7 独立 UV 激光器通过光纤进入上部箱体。



紫外激光器

软件控制的紫外 (UV) 355 nm 固态激光的运行功率是 100mW。它位于上部箱体的右侧。参见图 2.4。UV 激光是唯一一个需要操作员进行日常校准的激光，因此，UV MLSO 定位千分尺暴露在外方便调节。仪器可以通过 UV 激光收集对应的荧光参数，但不提供侧向散射参数。

激光分离

经过操作员适当校准后，UV 激光与最近的光纤耦合激光之间的距离为 $127 \pm 3 \mu\text{m}$ ，位于鞘液和样品流的交汇处。

激光光斑尺寸

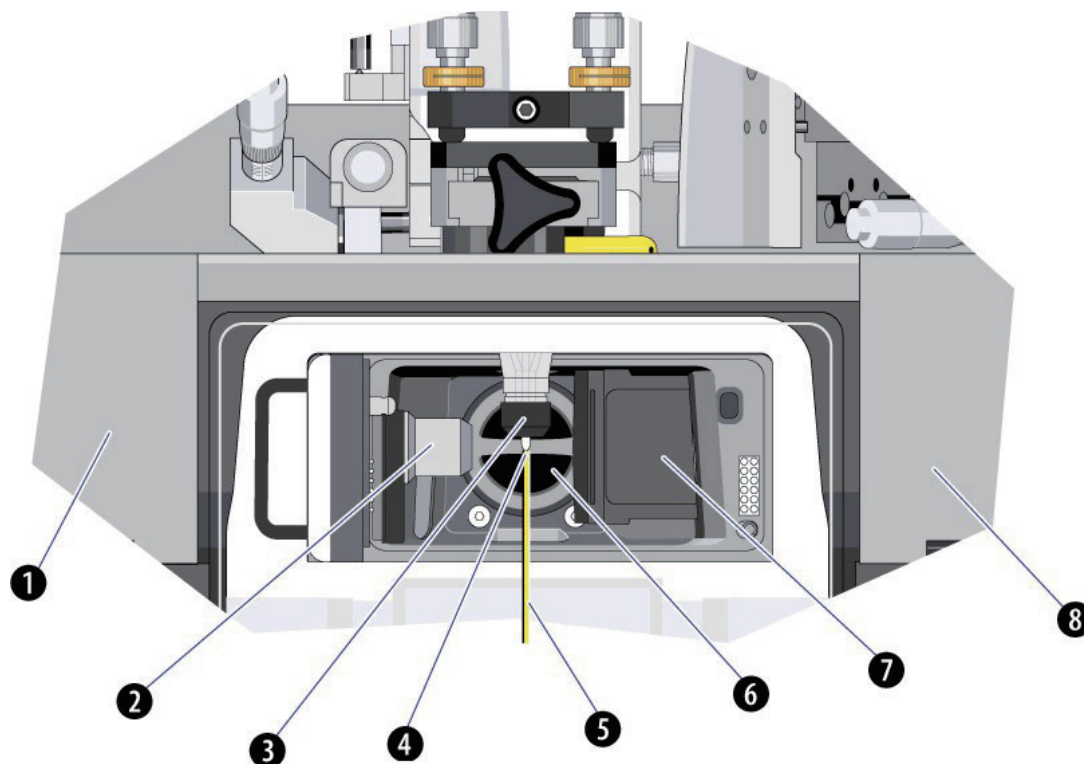
水平面：高斯光束 $50 \mu\text{m}$ ， $1/e^2$

垂直面：高斯光束 $25 \mu\text{m}$ ， $1/e^2$

观察舱

观察舱是样品和鞘液与激光在仪器中相交的区域。激光与液流的交汇点即为观察点。前向散射和侧向散射的散射光由传感器收集。参见 图 2.8。

图 2.8 观察舱注释



1. 盖住 MLSO 千分尺的门
2. 连接至光纤耦合激光器的多激光光束成型器 (MLSO)
3. 喷嘴 - 传输鞘液和样品流，为液流充电，振动，产生液滴。
4. 观察点 - 液流和激光的相交点。
5. 鞘液和样品流
6. 侧向散射收集物镜 - 收集在 90° 角度上散射的光源以及发射的荧光。
7. 前向散射模块 - 收集激光束轴狭角上的散射信号。
8. 盖住前向散射收集物镜千分尺和滤光片的门。

前向散射光收集

前向散射模块收集在入射激光束传输方向 45° 范围内散射的激光。FSC 模块的主机体位于观察舱右侧。FSC 模块的聚光孔径穿过观察舱的槽孔，位于直接穿过 MLSO 观察点的位置。由透镜收集从观察点散射出来的光信号，并分成两条光路，这两条光路均将光信号导向单独的 PMT 检测器。产生前向散射光信号是由于受到激光照射的颗粒的物理特性不同，包括尺寸、材料和形状。

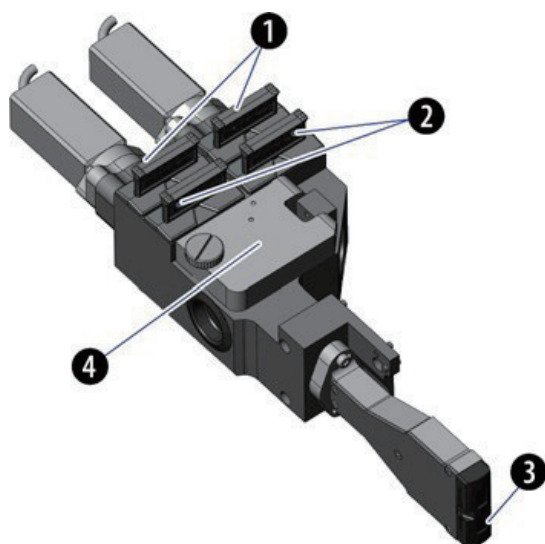


警告

开口部位配备玻璃窗，避免收集透镜出现水雾和污染。为避免污染，若盖帽未安装到位，切勿运行液流。

前向散射模块的收集光学器件由活动盖帽盖住，其连接至最靠近液流的 FSC 模块部位。参见图 2.9。盖帽上的两个孔径将确定通过观察点的散射光收集角度，并阻挡来自激光器的直接光信号。

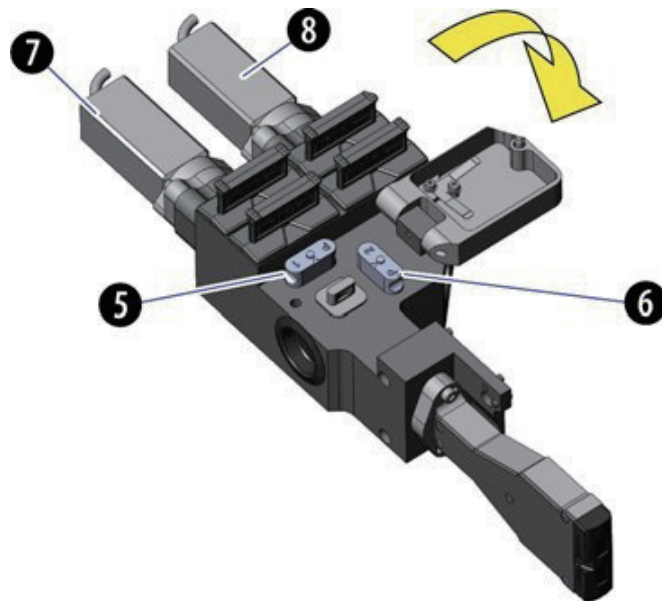
图 2.9 前向散射模块



1. 位于 FSC PMT 前方的中性滤光片
2. 激光带通滤光片
3. 活动 FSC 盖帽
4. 分光镜

前向散射模块中的分光镜能够使光分成两路。一条直接穿过分光镜，另一条则被反射。FSC 模块的每条光路均配有一个角度可选的遮光罩的槽孔和两个滤光片槽孔。参见图 2.10。遮光罩将选择性穿过或阻挡特定角度的散射激光。滤光片槽孔专门用于特定波长的滤光片和中性滤光片。可用任何光纤耦合激光器及其相应的波长滤光片获取前向散射光信号。每条光路均包括不同的遮光罩、波长滤光片、中性滤光片，或根据应用领域，对上述选项进行任意搭配。

图 2.10 分光镜开启时的前向散射模块



- 5. 针对 FSC 1 参数的 FSC 遮光罩
- 6. 针对 FSC 2 参数的 FSC 遮光罩
- 7. FSC 1 PMT
- 8. FSC 2 PMT

侧向散射光收集

侧向散射收集物镜位于光纤耦合激光束和液流相交处的右侧。参见图 2.8。侧向散射光和荧光由侧向散射收集物镜收集。侧向散射光的信号强度与经过激光照射的细胞粒度成正比。除侧向散射光外，细胞还通过激光束轴的所有角度发射荧光。仪器通过检测细胞发射的荧光对细胞的特性进行测量，例如，细胞表面抗原。侧向散射物镜配备可互换散射条盖帽，该盖帽为蝴蝶结形状，最窄处尺寸为 3.0mm 至 7.5 mm。

注意 一般情况下，仪器在 70 μm 喷嘴 60 psi 下运行时，可安装 4.5 mm SSC 条和 7.0 mm FSC 条。根据应用领域的不同而改变搭配效果可能更理想。

检测

针孔照相机和七个针孔孔径

通过针孔照相机能够查看触摸屏控制面板的粗调界面中的七个针孔孔径。参见图 2.11。安装时，贝克曼库尔特工程师将调整光纤耦合激光通过 MLSO 的激光光斑至对应的空间独立的针孔上。操作员无需对光纤光学器件做进一步的调整。UV 激光被调整通过第 7 个针孔。操作员需要定期对 UV 激光进行重新调整。

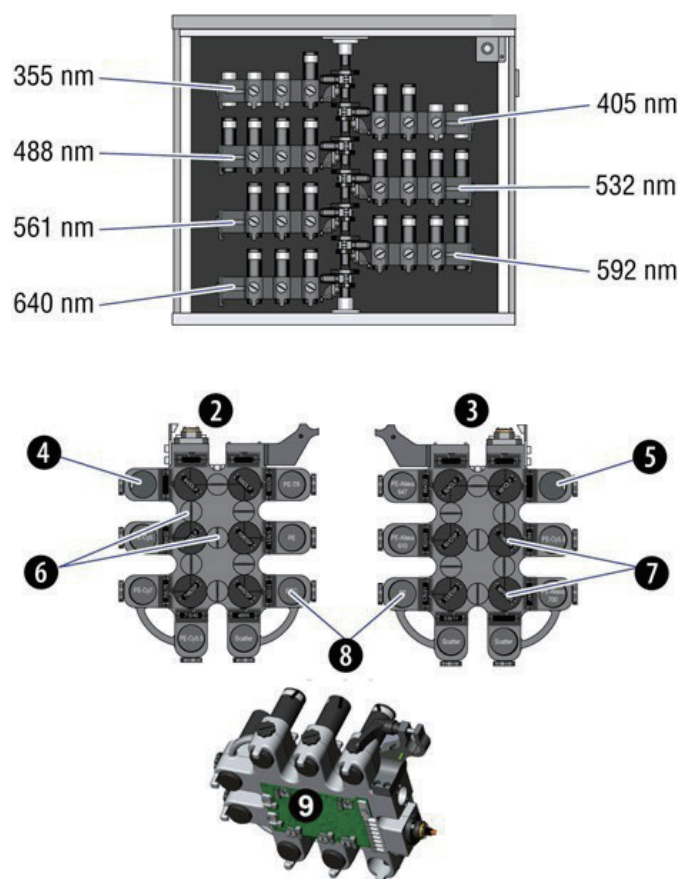
图 2.11 针孔屏幕



精密光学检测器模块 (POD)

MoFlo Astrios^{EQ} 系统可以安装七个精密光学检测器模块 (POD)。标准 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器配置将不同激光波长所激发的荧光传递至相应 POD 上。参见图 2.12。每个 POD 底座上连接一个前置放大器。一个 POD 能够囊括七个 PMT 和所需的二向色性滤光片。

图 2.12 POD、PMT 和前置放大器



1. POD 以及传递至 POD 的激光波长
2. 左侧 POD
3. 右侧 POD
4. 左侧空 PMT 支架 (未使用)
5. 右侧空 PMT 支架 (未使用)
6. 封光门
7. 二向色性滤光片
8. PMT
9. 前置放大器板

准直透镜

进入 POD 前，发射的光随即穿过准直透镜，从而保证沿着检测路径达到 POD 上每个 PMT 的信号强度大致相当。

二向色性滤光片和光学滤光片

二向色性滤光片和光学滤光片设计用于阻挡、穿透或反射特定带宽的光，二向色性滤光片使不同光波的光同时反射并穿透。滤光片的材质分两种：染色玻璃，会吸收特定波长的光；金属镀膜，即在玻璃基板上进行气相沉积。镀膜滤光片的作用是在金属沉积层之间产生干扰和内部反射。下表介绍了在流式细胞术中常用的滤光片功能。

重要事项 Astrios^{EQ} 滤光片组设计用于优化发射的光信号，检查每条激光光路的光补偿。我们建议，对标准滤光片配置进行任何更改或新增自定义滤光片后，在将这些滤光片投入使用前，必须经过操作员的评估。

Astrios^{EQ} 滤光片组和仪器专为标准激光波长而设计。未来如需增加波长，则需要更换滤光片，以优化性能。

- 带通滤光片能够传输特定光谱带内的光信号，光谱带范围从低于 1 至若干纳米。
- 长通滤光片和短通滤光片能够透过在特定起始或截止波长之上或之下的宽谱光波。
- 在非正交角处（通常为 45°）使用二向色分光镜。长通和短通滤光片设计用于实现光谱特定区域的最佳反射性以及其它区域的高透过性。
- 中性滤光片会在较宽的光谱范围内均匀减弱光强。
- 带阻滤光片设计用于阻挡窄光谱带，例如，来自激光的单色光，同时还能有效传输其他波长激光。

标准 25 mm 直径短通和长通二向色性滤光片以及带通光学滤光片将安装在每个 POD 的不同位置。这些滤光片可被选择用于传递 PMT 所要接收的发射光谱。参见第 6 章 仪器校准中的滤光片校准图。

光电倍增管 (PMT)

光电倍增管能够接收发射的光信号，集中和倍增信号，并将光信号转化为电流，随即传送到位于每个 POD 下方的前置放大器。PMT 的光谱范围为 185 nm 至 900 nm。

操作员可通过触摸屏控制面板或 Summit 软件中的 Acquisition 选项来调整 PMT 电压和增益值。

前置放大器

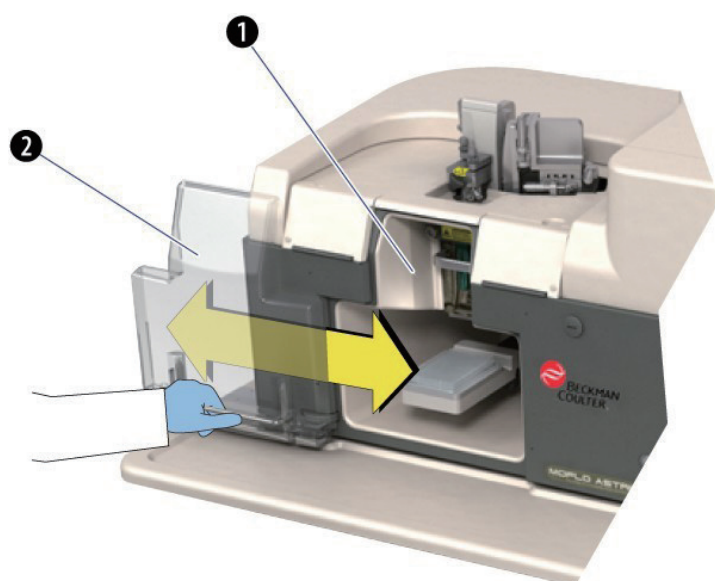
每个 POD 下方均配备一个专门的前置放大器。参见图 2.12。前置放大器能够控制 PMT 来调整检测器增益值，将电流输出转化成电压，以便经由模数转换卡 (ADC) 进行分析。每个前置放大器均可控制七个 PMT 并与之结合。

细胞分选

分选舱和气溶胶防护罩

分选舱位于上部箱体中。光线条件良好，方便接触和清洁。气溶胶防护罩如图 2.13 所示，亦称为“分选舱门”，属于被动气溶胶防护组件的一部分，它能够将分选的目标物与仪器其他部分、操作员和实验室隔离开来。关闭后，门可以阻断分选舱与外界的空气流动。门打开后，安全联锁装置会禁用电极板的电源，停止运行 CyClone 板。

图 2.13 气溶胶防护罩 / 分选舱



1. 分选舱
2. 气溶胶防护罩

CyClone 板

CyClone 板位于分选舱中。参见图 2.13。CyClone 板包括四个组件，适用于显微镜玻片以及各种一次性试管和微孔板。预配置的分选输出定义确定了孔板电压和 Defanning，以便将分选液流自动导入适当接收管中。

表 2.1 适用于分选输出的 CyClone 板配件

孔板和载玻片支架	6 孔平底微孔板 24 孔平底微孔板 96 孔平底微孔板 384 孔平底微孔板 1536 孔平底微孔板 注意 利用 Corning Costar 平底微孔板可以校准所有微孔板。操作员应凭借自身的经验，确认使用其他厂家微孔板的兼容性。
5 mL 管架	盛放多达 6 个试管
15 mL 管架	盛放多达 2 个试管
50 mL 管架	盛放多达 2 个试管
50 mL & 5 mL 管架	盛放一个 50 ml 试管，和多达 4 个 5 ml 试管。

样品温控

CyClone 板和配件设计配备内置样品温控功能，可与选配 Haake Water Bath 水浴控制台配合使用。Water Bath 水浴控制台为独立装置，安放在仪器旁边。温控的水从控制台流出，穿过 CyClone 板支臂，然后穿过管体或孔板支架。操作员可以选择恒定调控温度，维持样品性状。

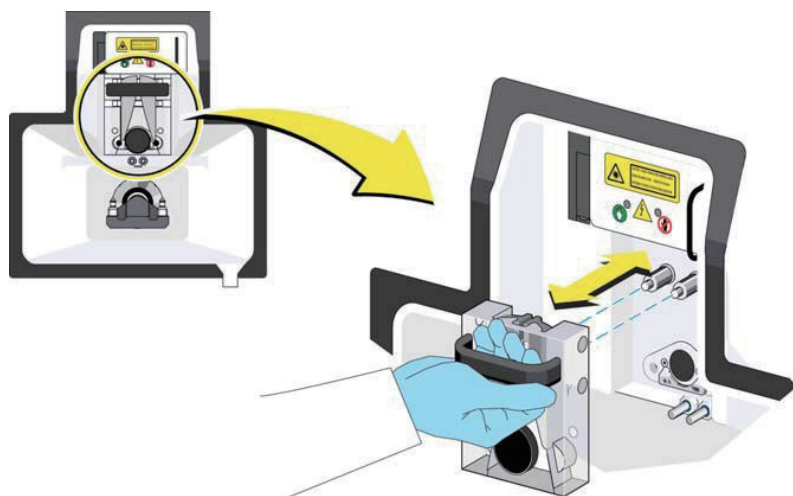
电极板

安装在分选舱中的电极板提供了一个电场，能够将单个的带电液滴转入适当的接收管中。这些电极板能够偏振达到 ± 7000 Vdc。孔板电压启用时，应予以注意。分选舱和安全联锁装置能够防止在孔板通电的情况下接触孔板。

电极板的设计便于移除和清洁。操作员可以使用电极板组件上的把手，将其从分选舱中拉出。可以单独拉出电极板进行清洁，参见第 9 章 清洁和维护中的电极板组件和电极板清洁程序。

电极板组件如图 2.14 所示。

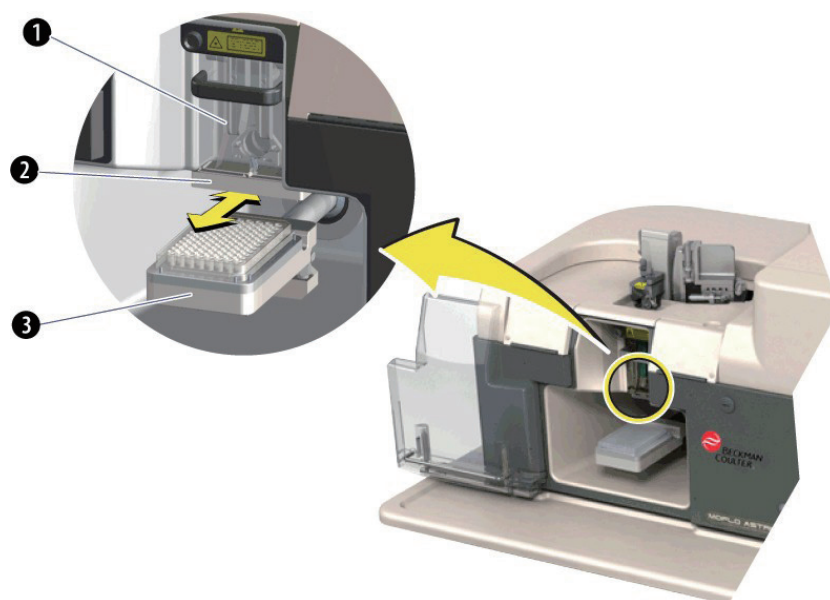
图 2.14 电极板组件



SortRescue

SortRescue 托盘位于电极板和分选接收管之间。在正常操作期间，可以收缩 SortRescue 托盘，以便分选后的样品能够存储在适当的试管或孔板格中。如果 IntelliSort 检测到液滴成形失败，SortRescue 会伸出，保护已经分选的样品。参见图 2.15。SortRescue 可以拆下来清洗。

图 2.15 SortRescue 已伸出



1. 电极板
2. SortRescue 托盘（已伸出）
3. 分选接收管

IntelliSort

在分选设置期间，IntelliSort 通过 IntelliSort 照相机和软件自动优化液滴，并在未使用校准微球的情况下，检测液滴延迟时间。

分选过程中，IntelliSort 能够监测液滴流是否存在不稳定性。若干因素会改变液滴流的稳定性，包括室温、流体温度和压力变化。如果 IntelliSort 检测到液滴不稳定，它会修改对照参数以确保分选过程的连贯性，无需操作员干预。

如果 IntelliSort 检测出明显的液滴成形失败，会停止样品流，SortRescue 缩回至原位，以保护已经分选样品。参见图 2.15。

液流照相机和液流界面

通过触摸屏控制面板上的液流照相机和屏幕，可以查看分选液流，将分选液流引入目标分选接收管，随后将废液传送至废液管中。参见第 3 章 触摸屏控制面板概述中的偏转选项。

气溶胶清除系统

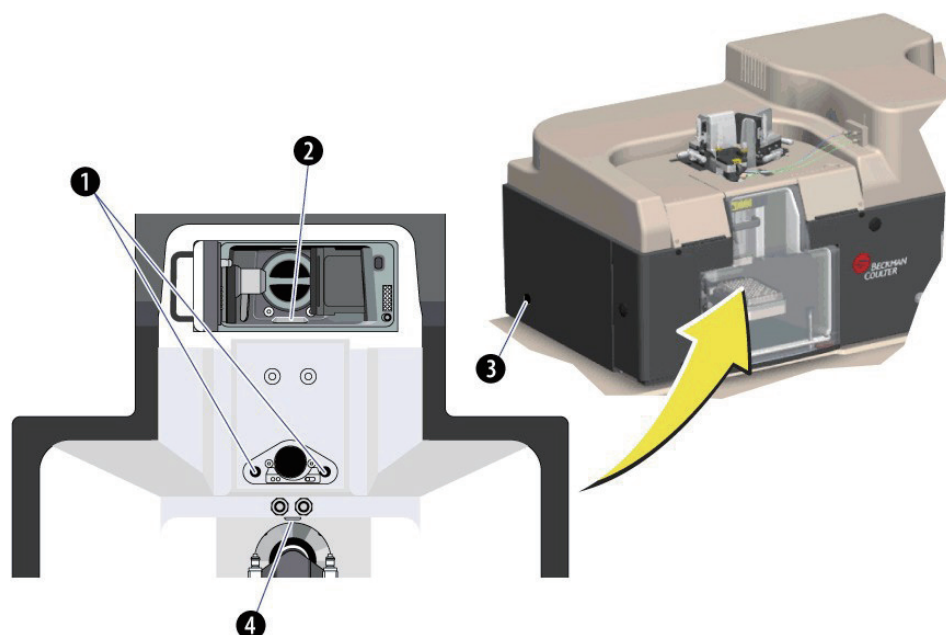
可选气溶胶清除系统可以清除正常操作期间或喷嘴堵塞时分选舱产生的气溶胶和液滴。系统使用高吸力、高流速的离心泵将粒径超过 $0.12\ \mu\text{m}$ 的颗粒清除，并将这些颗粒控制在超高效空气过滤器 (ULPA) 中。用户可以自由调节气溶胶清除系统的流速，以每分钟彻底换气 5 到 15 次的速率清洁分选舱。过滤器完全封闭，以避免操作员在更换过滤器时遭受污染。参见图 2.16。

图 2.16 气溶胶清除系统



气溶胶清除系统对观察舱和分选舱端口的气溶胶施加负压，然后将其排出仪器左侧，将其控制在装置前部的过滤器中。参见图 2.17。

图 2.17 气溶胶清除出口



1. 两个出口位于电极板后面的分选舱中。
2. 一个出口位于观察舱底部。
3. 真空软管将气溶胶由仪器排到气溶胶清除装置的过滤器中。
4. 一个出口位于距离分选舱较远处。

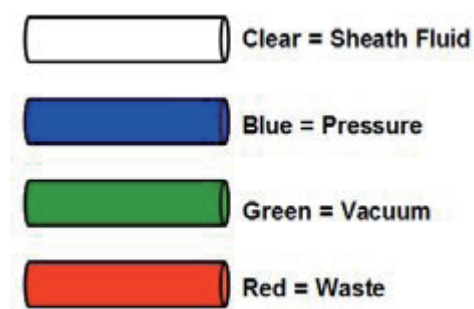
液流

管道

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器配备四种颜色的管道。管的颜色决定了管道的功能。这对于追踪特定管道或管的溯源非常有用。

图 2.18 显示了 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器管道的颜色。透明管道传输已过滤和未过滤的鞘液。它还用于 SmartSampler 的漂洗剂。蓝管表示压力管道。绿管负责压力控制台与废液桶之间的真空度。红管将分选舱废液管和 SmartSampler 中的所有废液传输至废液桶。

图 2.18 管道颜色



注意 上述颜色编码惯例不适用于 SmartSampler 聚醚醚酮管道。SmartSampler 鞘液管为绿色，而样品管为蓝色。

鞘液桶

鞘液桶位于下部箱体的左侧，是可高温高压消毒的电镀不锈钢桶，可装两加仑鞘液。鞘液压力计 (4) 和减压阀 (3)，以及鞘液供应管道 (1) 和鞘液压力管道 (2) 的管件，均安装在图 2.19 所示的鞘液桶上。所有管件均配备带颜色编码的快速接口，确保快速、可靠地连接。鞘液通过透明鞘液管传输至 SmartSampler。内置鞘液过滤器安装在桶和 SmartSampler 之间，用于过滤粒径超过 0.2 μm 的颗粒。触摸屏控制面板能够控制鞘流速度，鞘液桶的容量状态也在此处显示。

图 2.19 鞘液桶 - 鞘液



1. 鞘液至过滤器和 SmartSampler
2. 进压口
3. 放压口
4. 压力计

废液桶

废液桶位于下部箱体正面的左侧，是可高温高压消毒的电镀不锈钢桶，容量为 8L。它配备一个真空计 (3)、两个废液管的快速连接件 (2) 以及一个真空快速连接件 (1)，如图 2.20 所示。废液由废液管收集，排气泡时，废液经由 SmartSampler 以及内置鞘液过滤器上的净化阀进行收集。系统上的所有废液管均为红色。任何一个橙色快速连接件可与废液桶上的橙色管件相连。绿色快速连接件和管道用于真空压力。

图 2.20 废液桶 - 废液

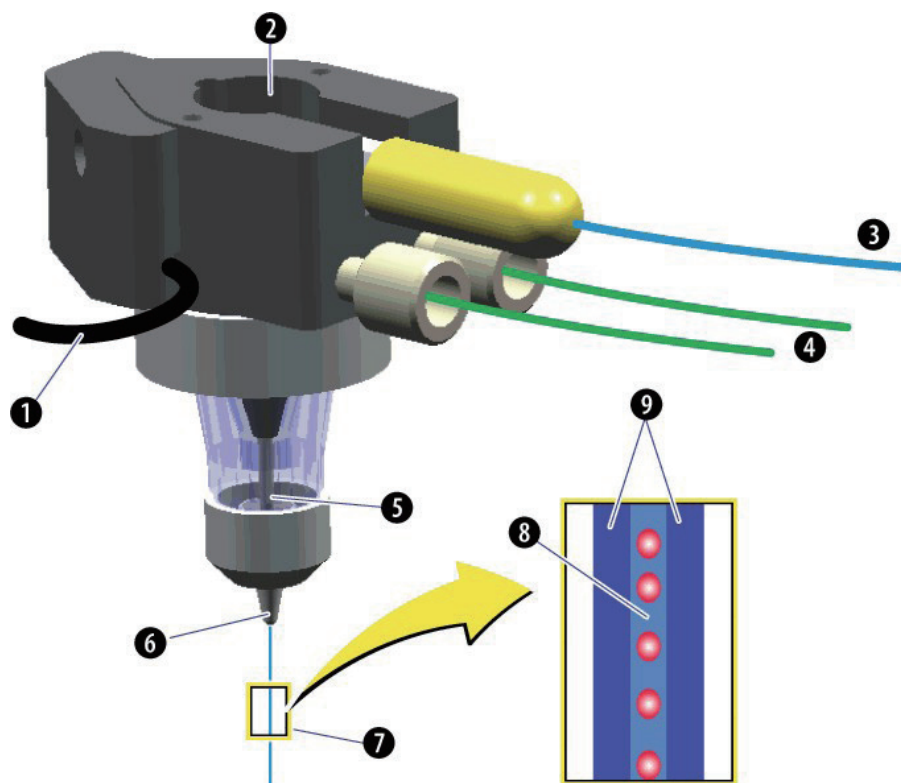


1. 真空管接口
2. 废液管接口
3. 真空计

喷嘴

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器喷嘴将鞘液和样品传输至激光观察点处。参见图 2.22。流体动力学聚焦用于迫使样品颗粒进入鞘流内的液流中心。

图 2.21 带样品和鞘流的喷嘴汇总



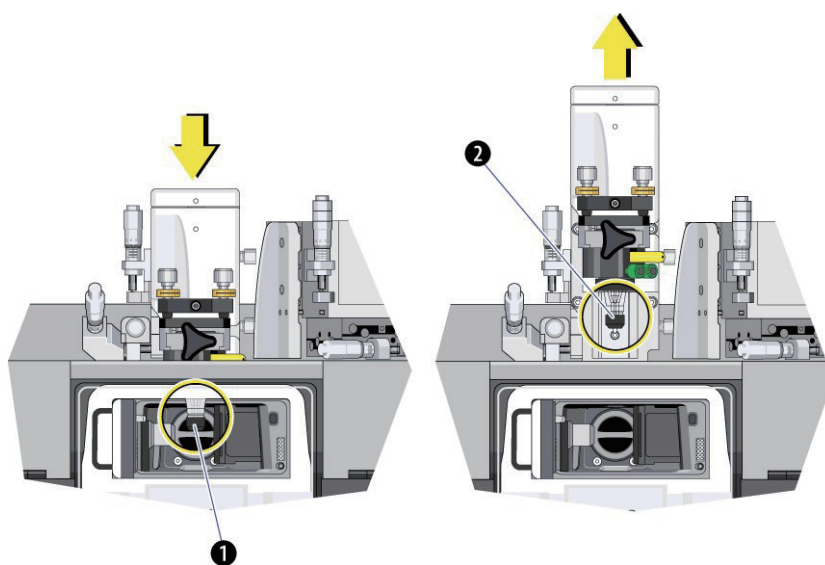
1. 连接电源
2. 压电晶体
3. 样品输入
4. 鞘液输入 / 输出
5. 样品运输
6. 喷嘴头
7. 样品和鞘流
8. 样品
9. 鞘流

随后，颗粒与激光束交叉，每次与一根激光束交叉。用户自定义分选决策和分析的信息，用于指示喷嘴主体对鞘液和样品流进行正 / 负电荷充电。液滴震荡功能启用后，喷嘴主体将持续振动，直至将鞘流 / 样品流分解成微小的液滴，以便分选。喷嘴主体可以配备 70 或 100 μm 的喷嘴头。

注意 Astrios^{EQ} 喷嘴头专门用于 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器，且不可与 MoFlo Legacy 或 MoFlo XDP 喷嘴头互相交换。

喷嘴定位工作台可以提升起来，便于喷嘴清洁或更换期间接触上述部件。参见图 2.22。

图 2.22 仪器喷嘴



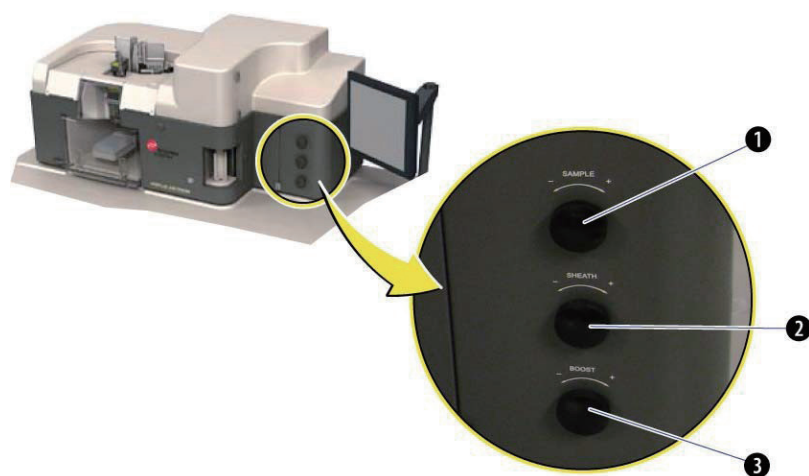
1. 处于工作位置的喷嘴。
2. 抬升喷嘴，进行清洁或更换。

压力控制台

通过压力控制台，操作员能够利用上部箱体前侧的旋钮，粗略控制鞘液和样品压力。参见图 2.23。在触摸屏控制面板上对样品压力进行微调。压力控制台具备通过触摸屏控制面板瞬时提升样品压力的功能。压力控制台还能够感应和报告鞘液压力、样品压力、供气压力和多余真空。

压力控制台往样品施加稍大于鞘液所受压力的压力，将样品输送到仪器。样品压力通常应比鞘液压力大 0.1-0.3 psi，70 μm 喷嘴头的鞘液标称压力为 60 psi。这种适度的压力差可确保层流，同时最大程度减小样品抽吸速率。

图 2.23 压力控制台

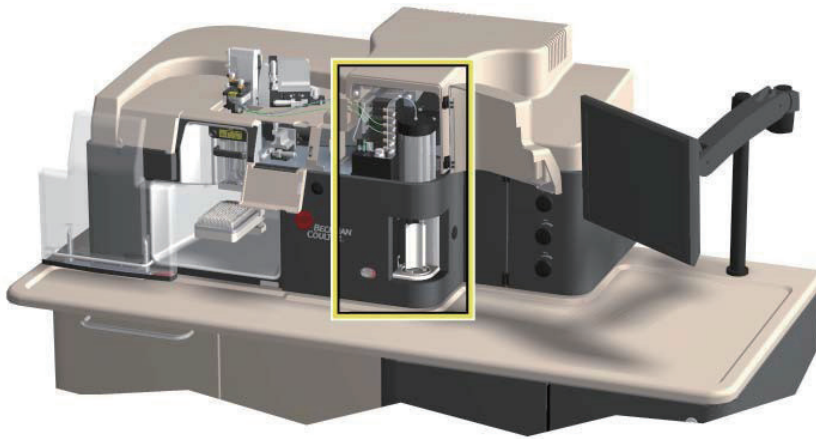


1. 样品压力粗调
2. 鞘液压力调整
3. Sample Boost（样品升压）调整。（与触摸屏控制面板上的 Boost 按钮配合使用，调整所施加的压力。）

SmartSampler

使用触摸屏控制面板操作 SmartSampler，SmartSampler 能够为操作员在温度控制情况下进行长时间分选作业提供支持。参见图 2.24。它位于 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的上部箱体中。试管的尺寸范围兼容 0.5 至 50 mL，如果选择水浴选项，则可以对样品进行温度控制。可以设置 SmartSampler，对样品进行搅拌，用户可以更换进样针和导管。参见第 3 章 触摸屏控制面板概述中的 SmartSampler 控件。

图 2.24 SmartSampler



仪器电子系统

仪器的采样率能够达到每秒 10 万个颗粒物，分选速率可达每秒 7 万次分选决策。高性能电子系统和 32 位数字化软件能够获取高达十亿个 events 并将上述信息存储在单一数据文件中。用户无法接触到 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器电子系统。

触摸屏控制面板概述

触摸屏控制面板

触摸屏控制面板系用户界面，操作员可以通过该用户界面实现与仪器的互动。该控制面板用于对仪器进行校准和微调、配置 IntelliSort、执行质量控制方案、优化光电倍增管 (PMT) 性能，以及设置和维持分选作业。在分选期间，触摸屏控制面板还会显示分选统计。

常规屏幕元素

重要事项 SmartSampler 按钮将显示该按钮按下时的仪器状态。

触摸屏控制面板周围的按钮和状态图标是主屏共有的，主屏启用时，可以看到这些按钮和状态图标。参见图 3.1。屏幕左侧的元素包括 Coarse Alignment（粗调）、Laser Intercept Configuration（激光截获配置）、Fine Alignment（微调）、Quality Control（质量控制）、Sort Setup（分选设置）、Sort Statistics（分选统计）和 POD Configuration（POD 配置）选项标签。触摸屏控制面板底部的按钮，包括 Stream Illumination（液流照明）按钮、Laser Shutter（激光挡板）控件以及 7-pinhole 光圈带标志。触摸屏控制面板右侧包括 SmartSampler 按钮和仪器状态指示器。

注意 按钮显示图像系仪器当前运行状态。例如，显示亮灯的按钮表示灯光开启。按下该按钮，光将熄灭，按钮呈灭灯状。

图 3.1 触摸屏控制面板常规元素



- | | |
|-------------------------------|--|
| 1. 该区域呈灰色，因为该区域内的元素与其他显示屏不共用。 | 9. 显示屏元素名称 |
| 2. 粗调选项（Pinhole 视图） | 10. 液流照明 |
| 3. 激光截获配置显示屏 | 11. 激光挡板 |
| 4. 微调显示屏（点状图） | 12. 主挡板开启 / 关闭（一个 Pinhole 点亮表示相应的光已穿过该 Pinhole。） |
| 5. 质量控制显示屏 | 13. 关机按钮 |
| 6. 分选设置显示屏 | 14. 仪器状态指示器（有关定义，请参见表 3.1） |
| 7. 分选统计显示屏 | 15. SmartSampler 控件 |
| 8. POD 配置显示屏 | |

表 3.1 状态指示器 - 显示屏元素和功能

显示屏元素	功能
	该符号表示仪器已准备就绪。 - 安全联锁装置已关闭。 - 鞘液桶装有可接受范围内的液体，废液桶完全清空。 - 硬件、软件和硬软件之间的通讯均未发现任何错误。 - 气泡检测器启用，样品管路未检测发现气泡。
	该按钮表示受控关机对话框，每天结束操作时，应使用该按钮。它也是关闭电子系统的一种受控方式。

表 3.1 状态指示器 - 显示屏元素和功能（续）

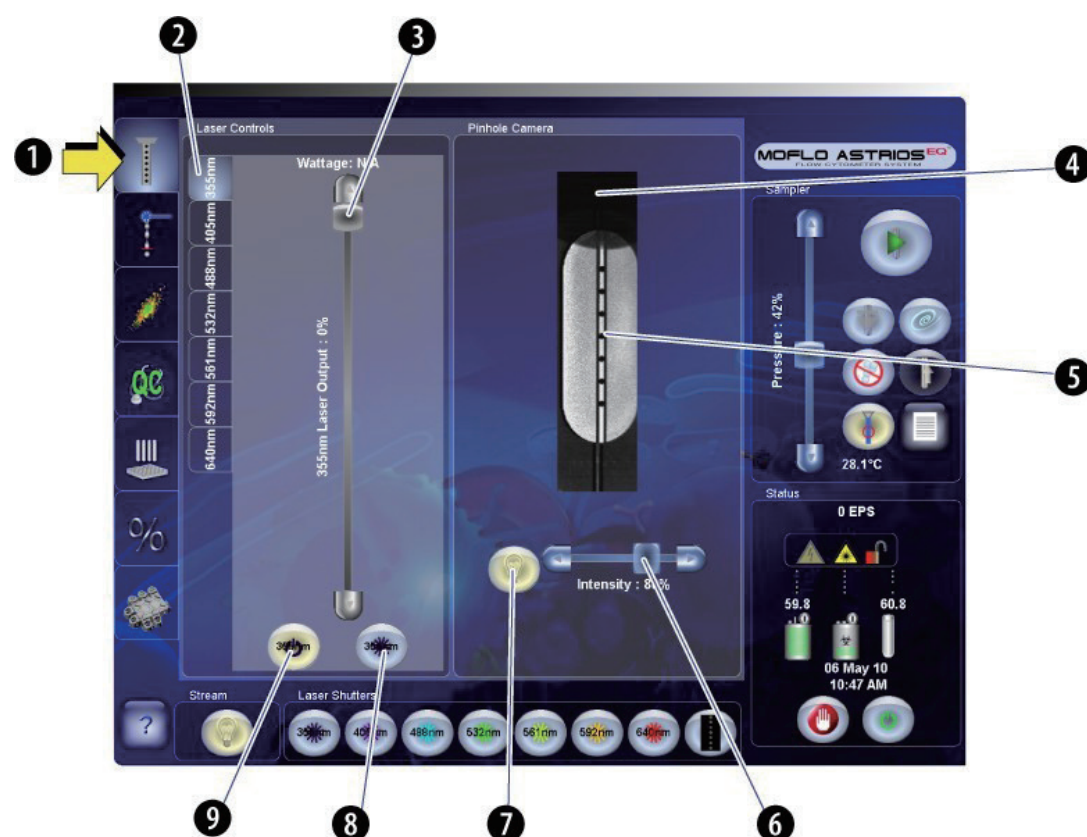
显示屏元素	功能
	该符号表示发现错误。（按下此按钮，在显示屏上查看列出的错误。）错误解决后，按下按钮，此时按钮将变成绿色“竖起大拇指”图标。
	该符号表示至少一项安全联锁装置开启。
	该符号表示安全联锁装置关闭。
	当该符号亮起时，表明液滴流和 / 或电极板有高压。 当该符号变暗时，高压消失。
	当该符号变亮时，激光器将供电，相应挡板开启。当该符号变暗时，观察舱无激光光源。
	该符号表示鞘液桶的状态。 绿色 = 鞘液充足 黄色 = 鞘液不足（鞘液桶图标第一次显示黄色时，鞘液桶内只剩 10% 液体） 红色 = 鞘液将尽，立即添加鞘液（当鞘液桶图标达到该状态时，系统将关闭液流。） 该符号上的数值表示鞘液压力。 注意 一般情况下，在开机或关机过程中，填充鞘液桶。在值班期间，如果发现鞘液桶需要填充，请遵照详细指示，参见第 5 章 开启和关闭程序中的换桶程序。
	该符号表示废液桶的状态。 绿色 = 废液很少 黄色 = 废液较多（废液桶图标第一次显示红色时，废液桶内已有 90% 液体） 红色 = 废液桶将满，立即清空废液（废液桶显示该图标，系统将关闭液流） 注意 一般情况下，在开启或关闭过程中，清空废液桶。在值班期间，如果发现废液桶需要清空，有关详细指示，请参见第 5 章 开机和关机程序中的换桶程序。
	图标上的数值表示样品压力。
Temp	SmartSampler 内的样品温度
EPS	每秒检测到的触发事件数量

粗调 (Pinhole) 显示屏

粗调界面用于仪器的初始调节，并接入激光器控件。按下 Coarse Alignment 选项，然后按下 Pinhole Illumination 按钮，从而在调整鞘液流的同时，查看 Pinhole 光圈的图像。参见图 3.2。

安装时，贝克曼库尔特工程师将调整光纤耦合激光通过 MLSO 的激光光斑至对应的空间独立的针孔上。操作员无需对光纤光学器件做进一步的调整。UV 激光被调整通过第 7 个针孔。操作员需要定期对 UV 激光进行重新调整。

图 3.2 Coarse Alignment 显示屏



1. Coarse Alignment 选项
2. Laser Control 选项
3. 激光强度调节（不适用于 UV 激光器，波长为 405 或 640 nm 的激光）
4. 喷嘴头
5. Pinhole 和液流
6. 光照强度
7. Pinhole 照明开启 / 关闭
8. 激光挡板打开 / 关闭（与下述挡板按钮功能相同。）
9. 激光器电源开启 / 关闭

Laser Control 选项

触摸屏控制面板显示系统上每个激光器的 Laser Control 选项。参见图 3.2 中的 (2)。操作员可以使用各个 Laser Control 选项开 / 关激光，以及开 / 关激光挡板。大多数光纤耦合激光器的激光功率强度都是可以调节的。如果有滑杆，还可通过触摸屏控制面板调节功率。必须手动调节 UV 激光功率强度。

表 3.2 Coarse Alignment - 显示屏元素和功能

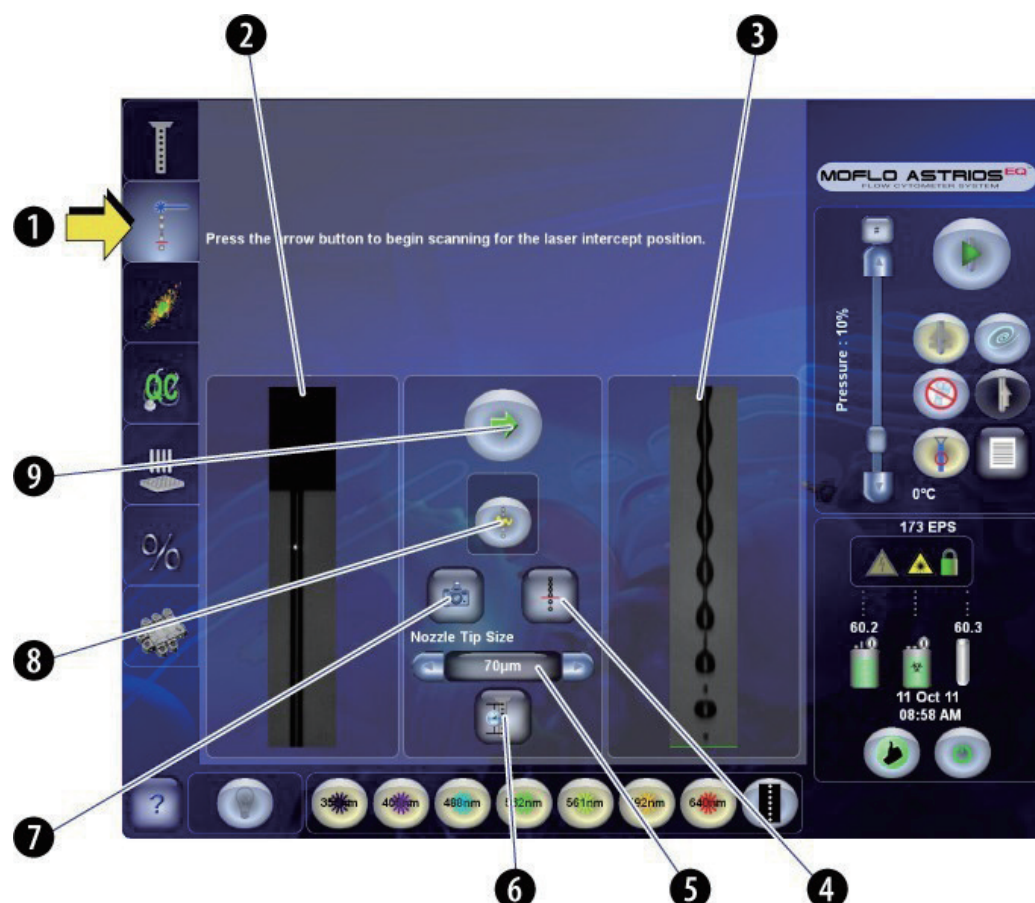
显示屏元素	功能
Coarse Alignment 选项 	显示 Coarse Alignment 显示屏。
Pinhole Illumination 	开启和关闭照亮 Pinhole 光圈的灯。
Intensity Control (滑块控制)	令 Pinhole 照明变暗 / 变亮。
激光器电源开启 / 关闭 	开启 / 关闭激光器的电源。
激光挡板打开 / 关闭 	打开和关闭激光挡板。

激光和液流截距配置显示屏

按照图 3.3 显示的激光和液流截距配置显示屏，设置系统，以便 IntelliSort 能够正常运行。

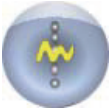
显示屏提供激光器和液流截距点的基准图和实时图像。用户可以通过显示屏在必要时执行背景扣除程序。有关更多信息，请参见第 8 章 分选和 IntelliSort 中的扣除背景。

图 3.3 激光和液流截距配置显示屏 (Laser and Stream Intercept Configuration Screen)



- | | |
|--------------|--------------------|
| 1. 激光和液流截距选项 | 6. 激光延迟计算 |
| 2. 基准图 | 7. 背景扣除 |
| 3. 实时图像 | 8. 初始化 IntelliSort |
| 4. 手动液滴设置 | 9. 下一个箭头 |
| 5. 喷嘴尺寸选择器 | |

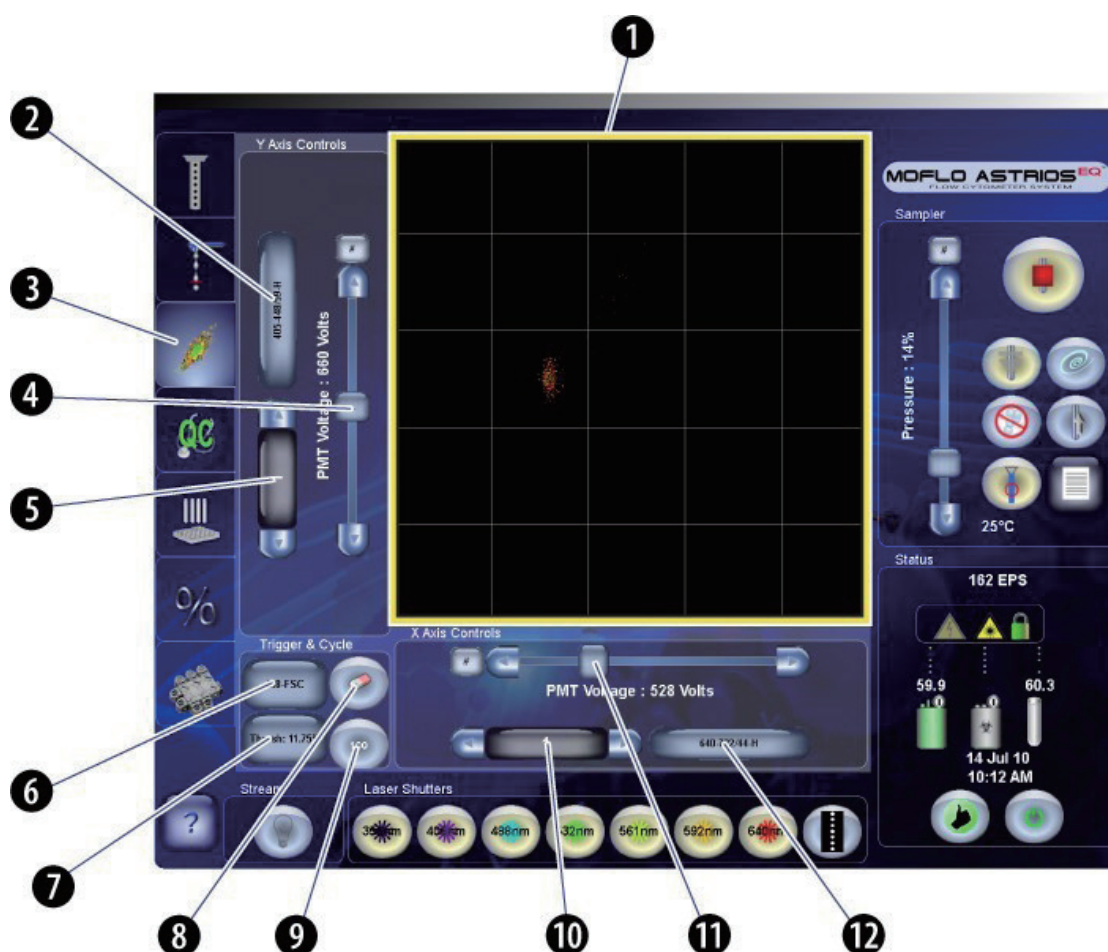
表 3.3 激光和液流截距显示屏

显示屏元素	功能
Laser and Stream Intercept (激光和液流截距) 选项 	显示激光和液流截距显示屏。
基准图	显示在激光截距程序开始前，通过液滴照相机获取的图像。
实时图像	显示通过液滴照相机获取的实时图像。
下一个箭头 	使 Find Laser (查找激光) 程序转到下一步。
初始化 IntelliSort 	设定频率和振幅。在质量控制程序前，完成该步骤。
扣除背景 	取一张液滴流周围区域的图像，扣除该图像，这样液滴延迟计算就能够正确工作了。此项工作无需每天都做。
手动液滴设置 	显示手动液滴设置的控件。
激光延迟图标 	设定激光延迟与质量控制 (QC) 相互独立。

Fine Alignment (微调) 界面

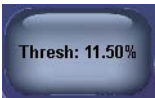
图 3.4 所示的微调界面用于仪器的精细调整，以及参数、数据类型、触发信号、阈值和数据循环率的设置。用适当千分尺进行微调以及调节 PMT 的电压和增益时，按下微调选项，查看散点图格式的数据。

图 3.4 微调界面



- | | |
|-----------------|------------------|
| 1. 数据显示区域 | 7. 阈值设置 |
| 2. Y 轴参数 | 8. 清除显示事件 |
| 3. 微调选项 | 9. 数据循环率 |
| 4. Y 轴 PMT 电压控制 | 10. X 轴 PMT 增益值 |
| 5. Y 轴 PMT 增益值 | 11. X 轴 PMT 电压控制 |
| 6. 触发参数 | 12. X 轴参数 |

表 3.4 微调 - 显示屏元素和功能

显示屏元素	功能
微调选项 	显示微调界面。
调节 PMT 电压（滑块控制）	调节与所选参数相关的 PMT 电压。
选择参数 	启动适用于相应轴的参数选择工具。参见图 3.6。
调节增益值 	调节 PMT 增益值，调节范围为 1 - 100，增量为 1。
选择触发信号 	选择触发参数，任何可以设定为触发信号的参数。
设定阈值 	阈值的用途是降低电子系统对于因极小颗粒引起的低噪音的灵敏度，或来自数据的自发荧光。通过对阈值水平设置，用户可以确定信号处理开始时的最低电压。该范围可以选择在 0.001% 至 100% 之间，全尺度选择相当于 10V。
循环速率 	设置循环模式为 0、100、1000 (1K) 或 5000 (5K) 个事件。
数据清除 	清除数据，更新触摸屏控制面板。

放大微调数据显示

通过触摸数据显示区的网格，可实现微调界面数据的最大化和最小化。参见图 3.5。

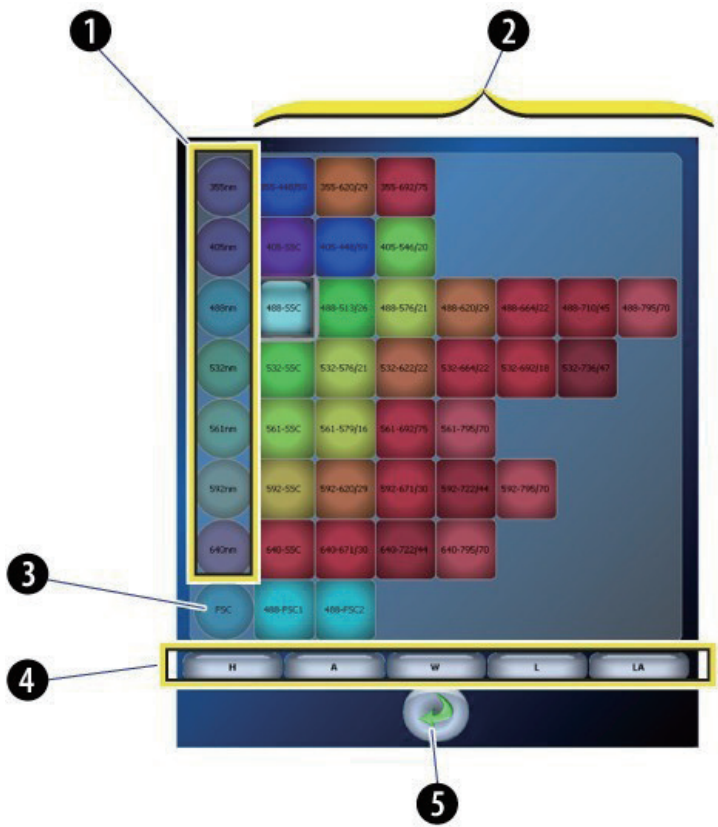
图 3.5 数据显示最大化



参数选择工具

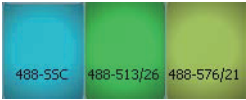
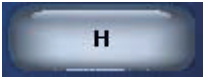
通过图 3.6 中显示的参数选择工具，用户可以选择参数和参数的数据类型。

图 3.6 参数选择工具



1. 激光波长
2. 每个 POD 上的滤光片
3. FSC 检测器
4. 数据类型选项
 - H = 高度
 - A = 面积
 - W = 脉冲宽度
 - L = 对数
 - LA = 对数面积
5. 返回微调界面

表 3.5 参数选择工具 - 元素和功能

显示屏元素	功能
POD 	该圆圈表示系统中所含的 POD。
PMT 	这些方块表示 PMT 和每个 POD 的相应滤光片。
FSC 检测器 	选择需要显示的 FSC 检测器。
数据类型 	触摸屏控制面板上显示的数据类型不反映 Summit 软件获取数据的数据类型。触摸屏控制面板能够任何时候显示任意参数的数据。Summit 软件仅显示和收集 Acquisition（采集）面板上的启用参数。参见第 4 章 Summit 软件中的启用参数。 H = 线性高度 A = 线性面积 L = 对数高度 LA = 对数面积 W = 脉冲宽度
Return（返回） 	返回微调界面。

质量控制显示屏

质量控制显示屏将显示仪器上的激光和检测器。参见图 3.7。圆圈代表 POD。方块代表 PMT 位置。按下按钮，开启 QC 向导，在向导指示下完成 QC 程序。

QC 程序运行后，进度对话框将会提示操作员当前的状态：

- 满足技术参数的检测器将显示绿色对号标记。
- 不满足技术参数的检测器将显示红色 X 标记。
- 系统无法分析的参数或无 QC 标准将显示问号。如果参数上出现问号，用户可以更新 QC 标准。

图 3.7 质量控制显示屏



1. QC 选项

2. POD

3. PMT 和滤光片
4. QC 程序状态

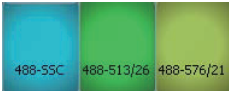
5. QC 有效

6. 开启 QC 程序

表 3.6 QC 显示屏 - 元素和功能

显示屏元素	功能
QC 选项 	显示 QC 显示屏。

表 3.6 QC 显示屏 - 元素和功能 (续)

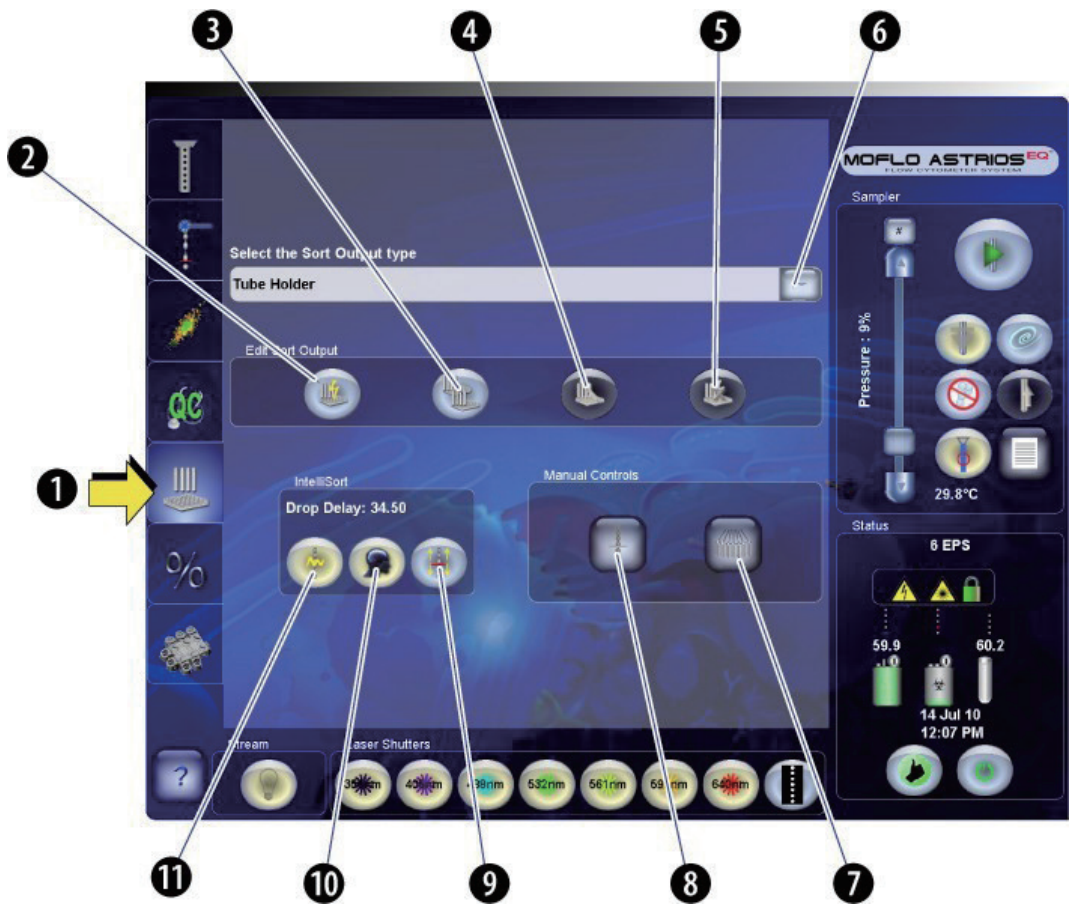
显示屏元素	功能
POD 	圆圈表示针对特定激光器或检测类型的 POD (例如, FSC)。
PMT 	方框代表每个 POD 的 PMT。
开启 QC 按钮 	1. IntelliSort 初始化完成后, 开启 Drop Drive。 2. 只需初始化增益值, 无需触发参数。 3. 自动开启获取功能, 将流速调节至 250 EPS (大约 30 秒)。 4. 使用当前触发参数; 但是, 如果阈值低于 1%, 为确保持续进行 QC, 其将暂时提升到 1%。 5. 确认流速至少能够达到 100 EPS, 且噪点率低于 30 EPS。 6. 设定所有开启激光器的激光延迟。 7. 调节触发激光器的 SSC 电压。从触发参数设门到所有参数的激光 SSC 信号。 8. 同时调节所有剩余参数上的电压, 将细胞群调中至每个直方图 QC 标准规定的中位数。 9. 将 EPS 设定为 100-120。 10. 收集 5000 个事件。 11. 监测每个检测器是否符合质量控制标准。 12. 利用绿色选中标记 (通过) 或红色 X 标记 (失败) 报告 CV、中位荧光强度和 PMT 电压的情况。 13. 导出 CSV 文档, 利用 Excel 等电子制表程序可以查看和编辑上述文档。(通过 Summit 软件从 Tools > Copy QC Reports 路径, 可以存取这些文档。)
取消 QC 按钮 	取消 QC 程序。
有效 QC 按钮 	将 QC 报告标记为有效报告。 注意 在微调前, 可能会产生若干个失败的 QC 报告, 因此, 仅在可接受的 QC 运行后, 方可选择使用该按钮。

分选显示屏

分选显示屏如图 3.8 所示，用于设置 IntelliSort 和选择标准分选输出类型 (Sort Output Type)，以便开始分选作业。MoFlo Astrios^{EQ} 仪器包括预配置分选输出定义。选择标准分选输出定义后，仪器会自动将 CyClone 板支臂的位置置于电极板之下。

注意 IntelliSort 处于维持模式时，此显示屏上的部分控件将禁用。

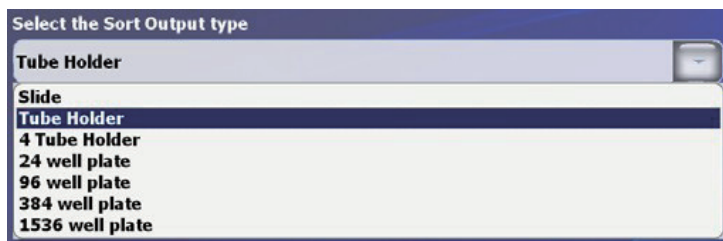
图 3.8 分选显示屏



- | | |
|------------------|--------------------------|
| 1. 分选 (Sort) 选项 | 7. 液流照相机和偏转控件 |
| 2. 创建一个新的分选输出类型 | 8. 手动液滴设置 |
| 3. 复制一个现有的分选输出类型 | 9. IntelliSort 维持模式 |
| 4. 编辑一个自定义分选输出类型 | 10. IntelliSort 自动液滴延迟计算 |
| 5. 删除一个自定义分选输出类型 | 11. IntelliSort 初始化 |
| 6. 选择分选输出类型 | |

可以创建和编辑自定义分选输出类型 (Custom Sort Output Types)，但标准分选输出类型无法更改。参见 图 3.9。通过该显示屏可以控制 IntelliSort、手动液滴设置和手动液流设置。

图 3.9 分选输出类型 (Sort Output Type)



注意 利用 Corning Costar 平底微孔板可以对上述所有微孔板进行校准。操作员应凭借自身的经验，确认使用其他厂家微孔板的兼容性。

表 3.7 分选显示屏 - 元素和功能

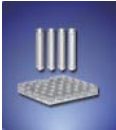
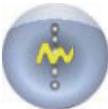
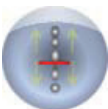
显示屏元素	功能
分选 (Sort) 选项 	按下进入 Sort 显示屏
分选输出类型	利用下拉菜单选择一个分选输出类型。 标准分选输出类型： 6 孔、24 孔、96 孔、384 孔和 1536 孔微孔板 5 mL、15 mL、50 mL，50 mL（带 5 mL 管架玻片） 列表还显示自定义分选输出类型。
新建 	访问定义显示屏，并创建一个新的分选输出类型。
复制 	访问定义显示屏，并创建一个可以编辑的标准分选输出类型拷贝本。
编辑 	访问定义显示屏，并编辑先前保存的自定义分选输出类型。

表 3.7 分选显示屏 - 元素和功能 (续)

显示屏元素	功能
删除 	删除自定义分选输出类型。
IntelliSort 初始化 	设置液滴震荡频率，并设置振幅。必须在 QC 程序运行前，完成上述设置步骤。
IntelliSort 液滴延迟计算 	执行自动液滴延迟计算，将 70 μm 喷嘴的液滴延迟设定在 32 至 45 之间，鞘液压力设定为 60 psi。（按下此按钮前，查看液流图像，如有必要，调整充电相位和 Defanning。）
IntelliSort 维持 	开启 IntelliSort 维持模式，监控分选，鞘液压力变化为 ± 3 psi，温度变化为 $\pm 3^\circ\text{C}$ 时，将液滴延迟维持在 10% 内。
手动液滴设置 	按下此按钮，访问手动液滴设置显示屏。 注意 仅当您打算手动设置分选时，才有必要使用该显示屏。如果 IntelliSort 处于维持液滴延迟阶段时，此显示屏上的部分控制功能被禁用。
液流设置 	按下此按钮，访问液流设置显示屏，并且： • 设置充电相位。 • 手动设置分选。 • 调节分选输出偏转。 • 调节孔板电压。

定义、偏转和 CyClone 选项

通过 Sort 显示屏可以访问定义 (Definition)、偏转 (Deflection) 和 CyClone 选项。一般情况下，仅当您打算创建或编辑一个自定义分选输出类型时，才需要这些选项。

定义选项

使用 Definition 选项创建或编辑自定义分选输出类型。参见图 3.10。

图 3.10 Definition 选项



1. 分选输出类型
2. 键盘
3. 保存 Definition
4. 取消
5. 返回分选输出显示屏

表 3.8 Definition 显示屏 - 元素和功能

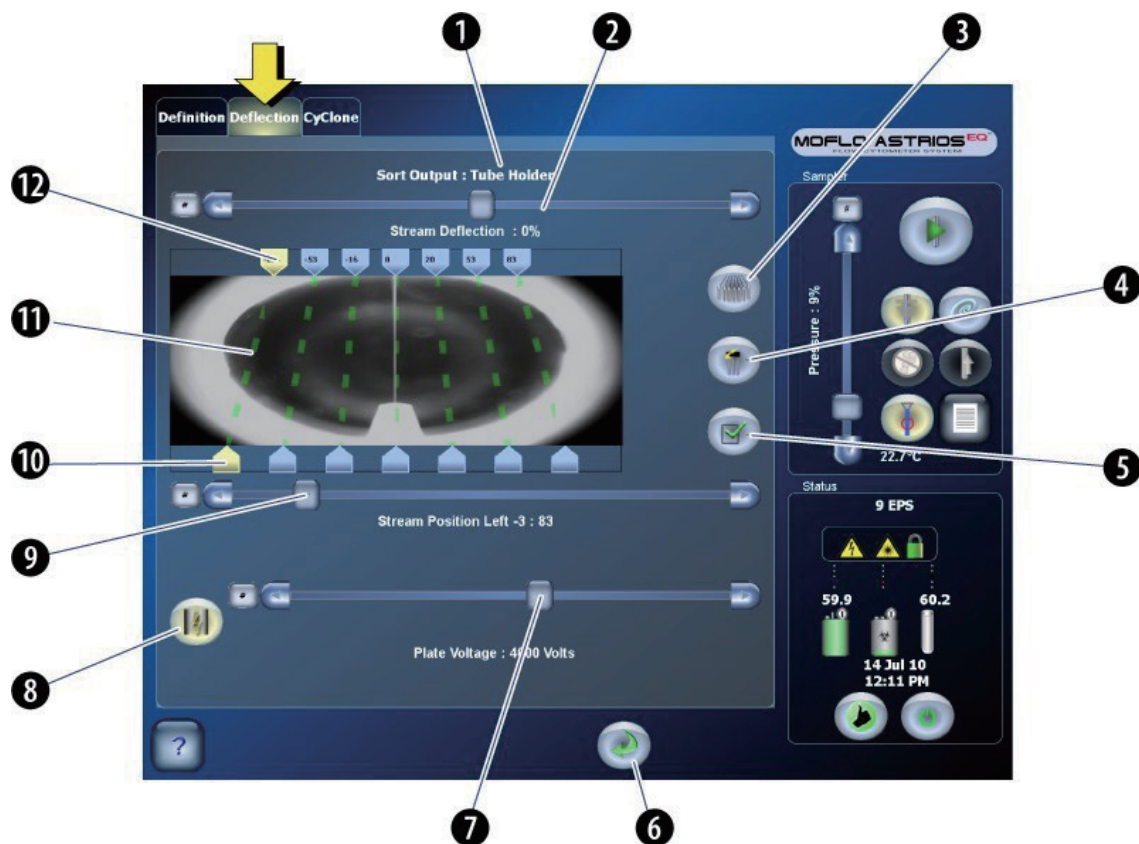
显示屏元素	功能
类型	分选输出类型： 6 孔、24 孔、96 孔、384 孔和 1536 孔微孔板 5 mL、15 mL、50 mL，50 mL（带 5 mL 管架（或自定义）玻片）
名称	用于对分选输出类型进行命名的文本框。
行	自定义分选输出定义的行数。（试管输出类型不适用。）
列	自定义分选输出定义的列数。
键盘	触摸屏键盘
设定 	保存对分选输出定义所作的更改。
取消 	取消在 Definition 显示屏上所作的更改，返回 Sort 显示屏。
Return（返回） 	返回 Sort 显示屏。若未保存更改，则上述更改将弃用。

Deflection 选项

通过设置一个新的分选输出类型并选择 Deflection 选项，可以访问 Deflection 选项。
参见图 3.11。

可以单独选择此显示屏，并在开始分选前，调整分选液流。还可以使用此显示屏编辑分选输出类型的 Deflection 设置。通过此显示屏，可以开启和关闭电极板，调节电极板电压、液流靶向和液流位置。

图 3.11 Deflection 选项



- | | |
|------------------|---------------|
| 1. 分选输出类型名称 | 7. 孔板电压调节 |
| 2. 液流偏转百分比 | 8. 电极板 On/Off |
| 3. 试验模式 On/Off | 9. 液流位置调节 |
| 4. 缩进 SortRescue | 10. 液流靶向调节 |
| 5. 保存液流位置设置 | 11. 液流指示器 |
| 6. Return (返回) | 12. 液流选项 |

表 3.9 Deflection 选项 - 显示屏元素和功能

显示屏元素	功能
分选输出类型	标签，例如： 6 孔、24 孔、96 孔、384 孔和 1536 孔微孔板（或自定义） 5 mL、15 mL、50 mL，50 mL（带 5 mL 管架（或自定义）滑块）
液流偏转 (滑块控制)	调节所选液流偏转百分比
液流选项 	选择需要调整偏转的液流，显示偏转百分比。 左 3 = 废液桶左侧最远的液流 左 2 = 废液管左边第二条液流 左 1 = 废液桶左侧最靠近的液流 中间 = 直接进入并用于废液流的液流 右 1 = 废液桶右侧最靠近的液流 右 2 = 废液管右侧第二条液流 右 3 = 废液桶右侧最远的液流
液流指示器	提供一条虚线作为调节液流位置的参照标准。 按下，开启 / 关闭测试液流。分选液流开启后，虚线显示绿色。
液流位置目标值 	按下选择液流位置目标值，其代表分选接收管的位置。
液流位置 (滑块控制)	选择后，调节液流位置目标值的位置。
电极板 ON/OFF 	开启 / 关闭电极板的电压。
试验模式 ON/OFF 	开启 / 关闭用于测试液流的充电电荷。启用先前在液流指示器上选择的液流。
孔板电压 (滑块控制)	选择施加于电极板的电压。
SortRescue 缩回 	按下将 SortRescue 从液流中移除。只要按钮始终按下，SortRescue 将一直保持收缩状态。

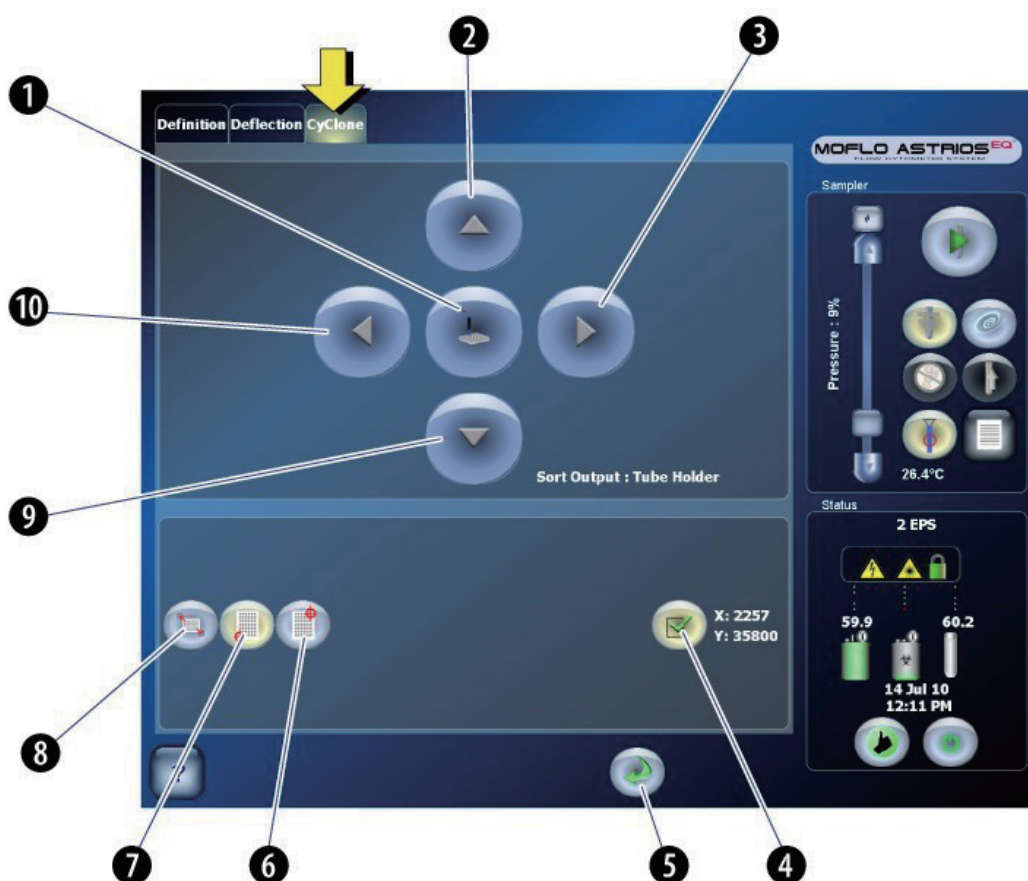
表 3.9 Deflection 选项 - 显示屏元素和功能（续）

显示屏元素	功能
Set（设定） 	保存对液流位置所作的更改。
Return（返回） 	返回 Sort 显示屏。

CyClone 选项

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器自带预配置分选输出定义。但是，如果操作员选择设置自定义分选输出接收管后，CyClone 板配置显示屏可用。CyClone 板配置显示屏用于确定自定义孔板、玻片或试管的尺寸和位置。按动 Find Limits 按钮后，CyClone 板将确定分选输出接收管的限值，随后其他按钮全部启用。您可以通过此显示屏设定、更改和测试位置。一般情况下，仅可使用此显示屏设置自定义试管或孔板。标准分选输出定义使用预配置 CyClone 板位置。参见图 3.12。

图 3.12 CyClone 选项



- | | |
|-------------------|-----------------------|
| 1. 喷液流 | 6. End (结束) |
| 2. 向后移动 CyClone 板 | 7. Home (主页) |
| 3. 向右移动 CyClone 板 | 8. Find limits (查找限值) |
| 4. Set (设定) | 9. 向前移动 CyClone 板 |
| 5. Return (返回) | 10. 向左移动 CyClone 板 |

表 3.10 CyClone 板配置显示屏 - 元素和功能

显示屏元素	功能
Squirt (喷射) 	测试 CyClone 板位置的准确性时，按下喷射流体。SortRescue 能够立刻收缩，以便液体收集起来并返回原来位置。
Directional (方向) 	将 CyClone 板移动到特定坐标轴。CyClone 板在特定方向上达到其机械极限时，按钮将处于未激活状态而变为灰色。
Find Limits (查找限值) 	如果校准失败，则 CyClone 板重新初始化。按下按钮，初始化 CyClone 板，并激活其他屏幕元素。按下此按钮前，将试管从试管架中取下。
Home (主页) 	将 CyClone 板移动至存储的 Home 位置。 如果打算设置新的 Home 位置，按下方向箭头，直至 CyClone 板移动至所需位置，然后按下 Set (设定) 按钮。
End (结束) 	将 CyClone 板移动至存储的 End 位置。 如果打算设置新的 End 位置，按下方向箭头，直至 CyClone 板移动至所需位置，然后按下 Set (设定) 按钮。
Set (设定) 	按下按钮，存储新的坐标轴。此按钮无法激活，直至按下方向按钮，CyClone 板移动至一个新的 XY 坐标轴。
X 和 Y 轴	显示 CyClone 板当前位置的 X 和 Y 数值坐标轴。
Return (返回) 	返回 Sort 显示屏。

手动液滴设置显示屏

手动液滴设置显示屏用于手动设置液滴，如图 3.13 所示。如果 IntelliSort 处于运行状态，则此显示屏上的有些元素将被禁用。

注意 IntelliSort Initialize 初始化按钮将自动测定鞘液压力的最佳频率和喷嘴组合，并设置能够调整的默认振幅值。如有必要，用户还可以调整 Last Attached Drop Marker（断点液滴标记）和 Charge Phase（充电相位）。

图 3.13 手动液滴设置显示屏

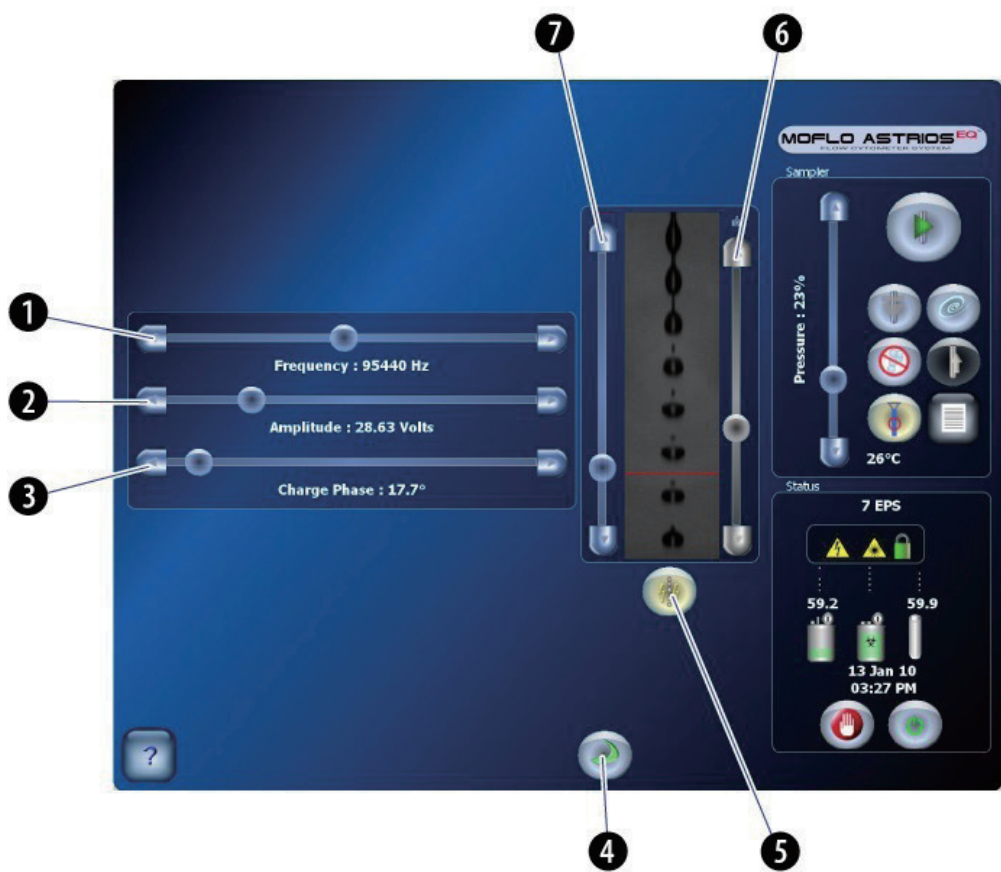


表 3.11 手动液滴设置显示屏 - 元素和功能

显示屏元素	功能
频率（滑动条）	控制液滴震荡频率。（晶振振动的速率。）
振幅（滑动条）	调节液滴震荡振幅。（晶振振动的强度。）
充电相位（滑动条）	调节数值让每路液流最集中。调节充电相位前，应启用试验模式。
液滴震荡开启 / 关闭 	开启 / 关闭振荡形成液滴的喷嘴压电晶体。
照相机控件	移动液滴照相机。
断点液滴标记	可以选择将红色标记移动至断点液滴，创建查看液流稳定性的参照标准。

分选统计显示屏

通过 Sort Statistics（分选统计）显示屏，您可以查看各液流的分选统计大小视图，选中液滴图像后，还可以观察相应图像。参见图 3.14。

图 3.14 分选统计显示屏



- 1. 分选统计选项
- 2. 扩展统计数据显示

表 3.12 分选统计 - 显示屏元素和功能

显示屏元素	功能
左 3	废液管左侧最远液流的统计数据
左 2	废液管左侧第二条液流的统计数据
左 1	废液管左侧最靠近的液流的统计数据
右 1	废液管右侧最靠近的液流的统计数据
右 2	废液管右侧第二条液流的统计数据
右 3	废液管右侧最远液流的统计数据
分选模式	显示 Summit 软件中选定的液流分选模式。 Enrich Mode - 分选所有阳性事件（Hard Aborts 除外）。 Purify Mode - 丢弃所有阴性事件。 Single Mode - 丢弃所有阴性事件，液滴必须包含仅有一个阳性事件。
分选数量 #a	已分选的液流阳性事件总数。
分选速率 a	每秒分选的液流事件总数。
丢弃数量 #a	已丢弃的液流阳性事件总数。
丢弃速率 a	每秒丢弃的液流事件总数。
% 总计 a	已分选的阳性事件与采集细胞总数的百分比。
效率 a	已分选的阳性事件数量除以本来可以分选的液流事件总数。分选数量 / (分选数量 + 丢弃数量)
Σ 分选数量 #	分选的事件总数
Σ 丢弃数量 #	丢弃的事件总数
扩展显示 	扩展统计数据显示。在大尺寸模式中，液滴图像不显示。再次按下按钮，切换回小尺寸模式。

- a. 使用 Summit 软件的 Sort 选项，清除该统计数据。除 Σ Sort # 和 Σ Abort # 之外，所有分选统计数据均将在两次分选之间自动清除。

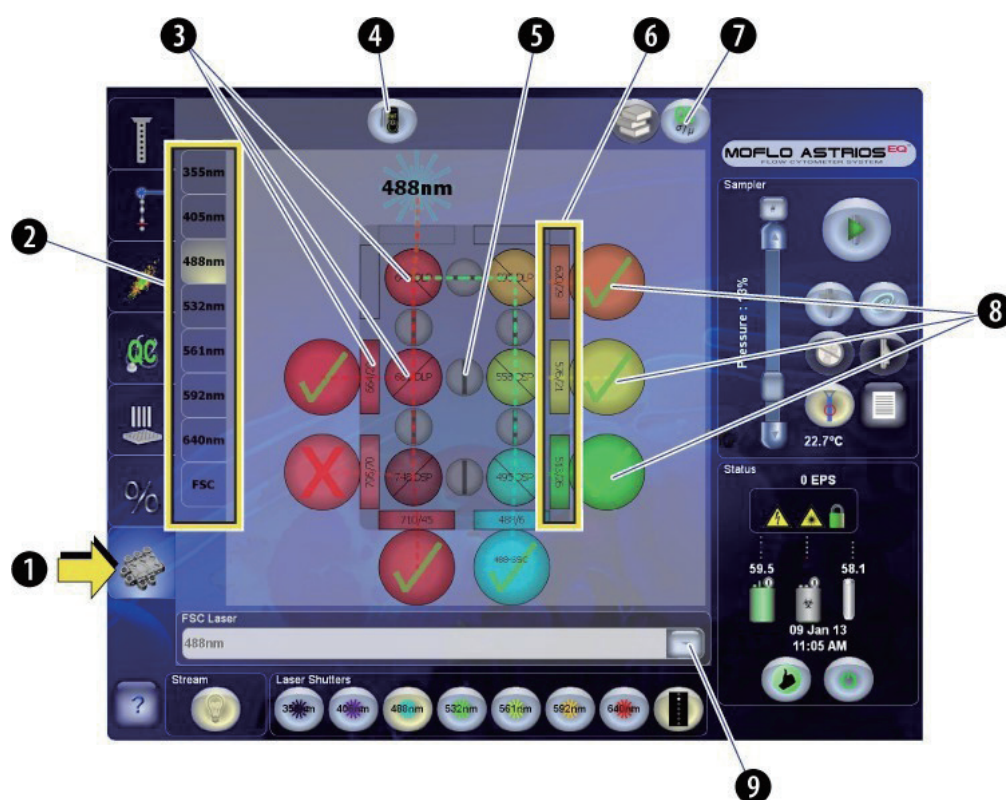
注意 要清除表 3.12 中的分选统计，请参见第 4 章 Summit 软件、清除分选统计数据。

POD 配置显示屏

通过 POD 配置显示屏，您可以更新滤光片、PMT 以及前向散射激光信息，然后对其进行存储，以便系统能够识别这些新配置。

重要事项 未按下 PMT 电源 ON/OFF 按钮首先禁用 PMT 电源时，切勿在硬件上更改 POD 的 PMT 配置。（参见图 3.15 中的 (5)。）PMT 电源禁用后，可以在硬件上移动 PMT，并编辑显示屏上的滤光片。保持更新触摸屏显示面板，以便反应 POD 的物理状况，然后将 PMT 电源打开。有关更新详情，请参见第 6 章 仪器校准中的利用现有 Astrios 仪器和自定义滤光片编辑滤光片配置和分配前向散射激光和滤光片。

图 3.15 POD 配置显示屏



- | | |
|-------------------|----------------|
| 1. PMT 和滤光片校准选项 | 6. 带通、短通、长通滤光片 |
| 2. Laser 选项 | 7. QC 标准 |
| 3. 镜子和 / 或二向色性滤光片 | 8. PMT |
| 4. PMT 电源开启 / 关闭 | 9. 前向散射激光选择 |
| 5. 封光门 | |

表 3.13 PMT 和滤光片校准显示屏 - 元素和功能

显示屏元素	功能
PMT 和滤光片校准选项 	按下进入 POD 配置显示屏。
Laser 选项	显示选定激光的 POD 设置。
PMT	此功能将不可用。
滤光片和 / 或镜子	按下此按钮，更改滤光片信息。
封光门	手动调节封光门的位置，阻挡或允许光源穿过 POD。编辑它在显示屏上的位置，以便展示物理配置。
PMT 电源开启 / 关闭 	开启 / 关闭所有 PMT 和 POD 的电源。移动 PMT 和编辑滤光片信息前，必须关闭电源。 开启扫描设备电源，检测新的 PMT 位置，将滤光片信息加载到内存中。这样能够确保系统识别新的 PMT 和滤光片配置。
FSC 激光器	选择该激光器，与 FSC 检测器关联。
滤光片编辑	按下此按钮，管理滤光片定义（添加 / 删除）。
QC 标准	按下此按钮，切换 PMT 上的 QC 标准显示。
BP、LP、SP 滤光片	按下此按钮，选择适当的滤光片。

SmartSampler 控件

重要事项 SmartSampler 按钮将显示该按钮按下时的仪器状态。

图 3.16 显示 SmartSampler 缩略菜单。

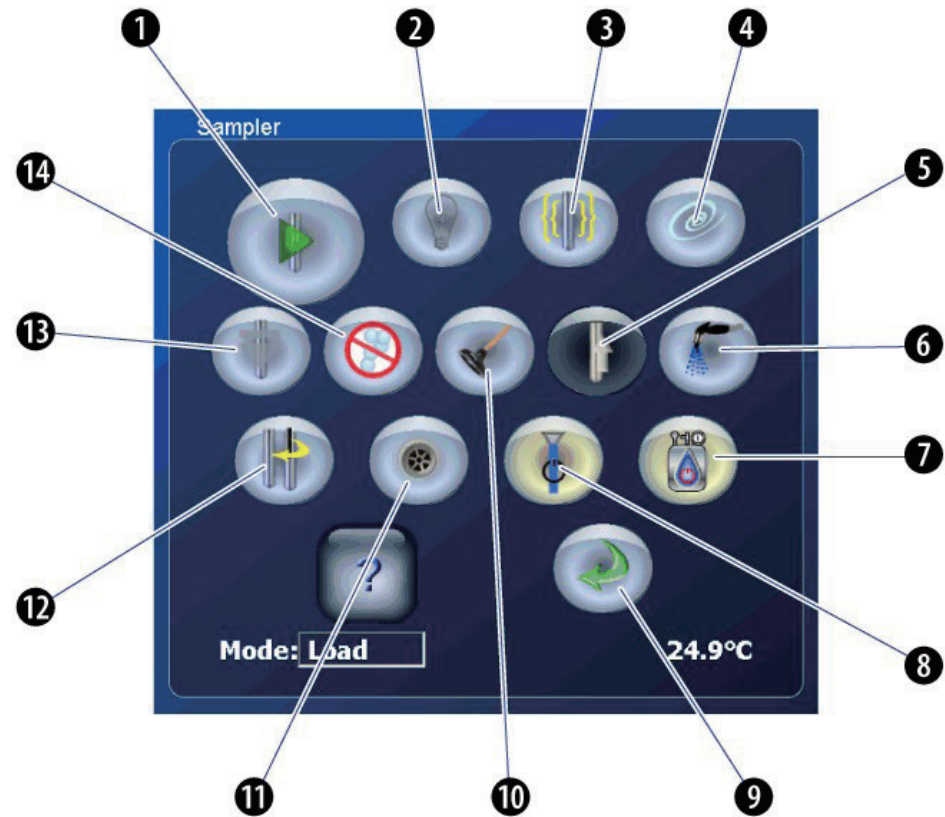
图 3.16 SmartSampler 缩略菜单



- | | |
|-----------------|----------------------|
| 1. 压力差（样品和鞘液之间） | 5. 排气泡按钮 |
| 2. 开始上样按钮 | 6. 快速上样按钮 |
| 3. 关闭样品舱按钮 | 7. SmartSampler 菜单按钮 |
| 4. 反冲洗按钮 | 8. 开始 / 停止鞘液流按钮 |

图 3.17 显示 SmartSampler 完整菜单。

图 3.17 SmartSampler 完整菜单



- | | |
|-----------------------|-------------------|
| 1. 开始上样（停止上样） | 8. 打开鞘液流（停止鞘液流） |
| 2. 样品照明 | 9. Return（返回） |
| 3. 搅拌样品 | 10. 清理堵塞物 |
| 4. 反冲洗 | 11. 样品舱排水 |
| 5. 快速上样 | 12. 更换进样针 |
| 6. 冲洗进样针 | 13. 关闭样品舱室（打开样品舱） |
| 7. 换桶（打开 / 关闭桶的正压或负压） | 14. 排气泡 |

表 3.14 SmartSampler - 显示屏元素和功能

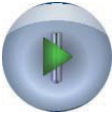
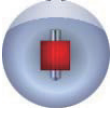
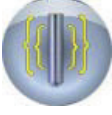
显示屏元素	功能
	SmartSampler 菜单按钮 显示包含以下按钮的对话框： • 开始 / 停止上样 • 样品照明开启 / 关闭 • 搅拌混匀样品 • 反冲洗 • 样品舱上升 / 下降 • 排气泡 • 清理堵塞物 • 快速上样 • 冲洗 • 更换进样针 • 样品舱排水 • 开始 / 停止鞘液流 • 换桶（开启 / 关闭对桶的压力操作） • 返回上一显示屏
模式	SmartSampler 状态取决于固件，可能的模式包括：关闭、待机、分析、加载、反冲洗、排气泡、清理堵塞物、冲洗、更换进样针、样品舱排水、快速上样。
温度	SmartSampler 样品架的温度
开始上样 	按下此按钮，以便： • 关闭舱室（在舱室打开的情况下）。 • 打开夹管阀，快速上样（如果在 Summit 软件中选择 Auto-boost（自动推进））。 • 在 Summit 软件中开始上样或分选（如果 Summit 软件设定用于响应 SmartSampler，则开始采集数据或进行分选）。 注意 按下此按钮时，Stop 图标将更换之。
停止上样 	按下此按钮，以便： • 关闭夹管阀。 • 依据 Summit 软件中的用户定义设置，暂停或终止数据采集。
样品照明 	按下此按钮，开启 / 关闭样品照明。
搅拌样品 	必须关闭样品舱，以便搅拌样品。 按下此按钮，搅拌样品。再次按下此按钮时，搅拌停止。样品舱打开时，搅拌自动停止，但此按钮不会重置，直至再次按下此按钮。

表 3.14 SmartSampler - 显示屏元素和功能（续）

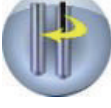
显示屏元素	功能
反冲洗 	样品舱关闭且反冲洗按钮按下时，停止上样。样品舱打开。反冲洗功能将液体通过样品管道予以回流，并清除至废液桶中。
打开样品舱 	按下此按钮，以便： • 关闭夹管阀。 • 对样品进行减压。 • 打开样品舱。
关闭样品舱 	按下此按钮，以便： • 关闭样品舱。 • 对样品进行加压。 • 夹管阀仍处于关闭状态，液流已经准备用于样品运行。
排气泡 	按下此按钮，以便： • 打开样品舱（如果样品舱处于关闭状态）。 • 关闭夹管阀（如果夹管阀处于打开状态）。 • 去排气泡，直至再次按下此按钮。 • 附属在喷嘴上的两条鞘液管路之间交替切换真空和鞘流状态。
清理堵塞物 	按下此按钮，以便： • 打开样品舱（如果样品舱处于关闭状态）。 • 关闭夹管阀（如果夹管阀处于打开状态）。 • 同时对两条鞘液线施加负压。 注意 必须将有些流体控制在喷嘴之下，否则，空气将被吸入喷嘴中，并且可能需要进行排气泡处理。
快速上样 	按下此按钮，能够瞬间提升样品压力。只要按下此按钮，即可升压。 注意 要更改样品压力差，在使用标记为 Boost 的旋钮进行调节时，按住 Sample Boost 按钮即可。参见图 2.23。
冲洗进样针 	按下此按钮，用鞘液冲洗取样针。
更换进样针 	按下此按钮，关闭样品舱，并准备更换取样针。样品舱不会增压。

表 3.14 SmartSampler - 显示屏元素和功能 (续)

显示屏元素	功能
样品舱排水 	按住此按钮，将样品舱中的液体排入废液桶中。
开始 / 停止鞘液流 	按下此按钮，以便： • 打开鞘液流 • 反冲洗 注意 如果按下此按钮时，鞘液流系统未增压，则系统将开启鞘液桶的正压和废液桶的负压，随后开启鞘液流。 再次按下此按钮，即可停止鞘液流。 注意 如果 Start Sheath Flow（打开鞘液流）功能处于失效状态，且您无法关闭鞘液流，则按下 Change Tanks（换桶）按钮。
换桶 	系统已经上电且运行的当日，如果需要更换鞘液桶，则可使用此按钮。（按下此按钮前，将一管去离子水放入样品工作台中。）此按钮将使激光器电源开启。按下此按钮，以便： • 关闭样品舱（确保鞘液当前处于流动状态）。 • 确保水流通过样品管路（确保鞘液当前处于流动状态）。 • 重新打开样品舱（确保鞘液当前处于流动状态）。 • 关闭正压和负压操作。（换桶）并再次将电源打开。 注意 如果鞘液流停止，则此按钮将移除正压和负压选项。
Return（返回） 	按下此按钮，返回上一显示屏。

Summit 软件

Summit 软件概述

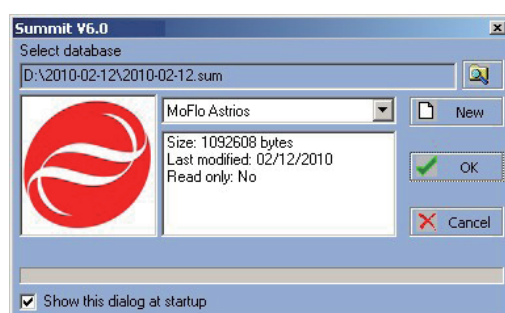
注意 本章所描述的 Summit 6.2 软件适用于 MoFlo Astrios 和 Astrios^{EQ} 仪器平台。

通过 Summit 软件，您可以进行获取、分选操作，也可以分析流式检测数据，并将上述数据以 FCS 格式予以保存。另外，您可以监测和控制仪器、建立方案、确立补偿设置和工作界面、确定批处理方案组合、试剂、试管、自动补偿数据，并查看带有索引的分选操作。

如何打开 Summit 软件

- 1 双击计算机桌面上的快捷方式图标，随即显示 Select Database（选择数据库）对话框。参见图 4.1。

图 4.1 Select Database 对话框



- 2 从下拉菜单中选择 MoFlo。通过上述操作，您可以实现对仪器的实时操控，也可以新建一个新的数据库。

Summit 软件数据库

Summit 软件数据库是方案和样本的集合，同时在特定会话期间可以连接到已经收集或者查看过的数据。当打开一个新的数据库后，您可以在工作区创建直方图和散点图。当然，您也可以打开带有直方图和散点图的已有方案文件。

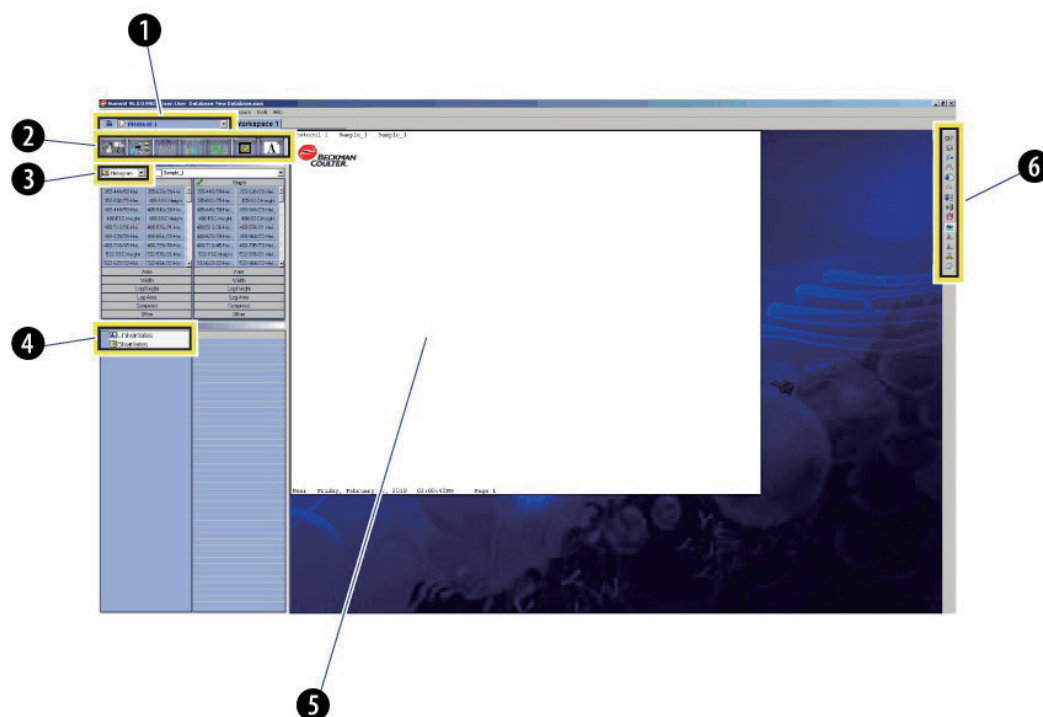
如何创建新的数据库

- 1 打开 Summit 软件并选择 New。
- 2 指定您想要保存数据库的文件夹和文件名，选择 Save。Summit 软件的主界面将随之出现，如图 4.2 所示。

Summit 软件主界面概述

Summit 软件主界面概述如图 4.2 所述。

图 4.2 Summit 软件主界面概述



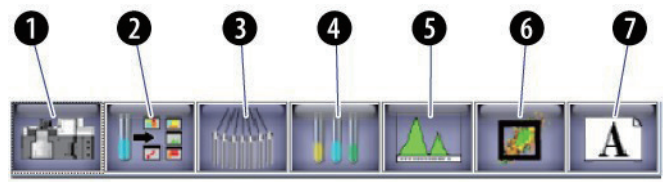
1. Summit 软件主菜单
2. Summit 软件控制面板
3. 扩展菜单（依据按钮选项）
4. 扩展菜单（依据按钮选项）
5. 工作区
6. 工具栏图标

Summit 软件控制面板

通过 Summit 软件控制面板可以实现在 Summit 软件中的大多数操作。参见图 4.3。上述面板位于主界面左侧，在顶部具有一系列按钮。您可以从这些按钮中选择任一按钮，获取特定操作相关的信息。每个选项均包含子菜单，而子菜单含有针对此菜单的若干选项。

选择 Summit 软件控制面板附加菜单图标（参见图 4.2 中的第 (3) 项），然后选择 Detach Floating，可以实现这些子菜单与主菜单的分离。

图 4.3 Summit 软件控制面板（参见图 4.2 中的第 (2) 项）



- | | |
|---------|----------|
| 1. 仪器选项 | 5. 直方图选项 |
| 2. 获取选项 | 6. 门逻辑选项 |
| 3. 分选选项 | 7. 工作区布局 |
| 4. 上样选项 | |

用户工具栏按钮

工具栏按钮可以自定义显示在软件对话框的左边或右边，或者分离出来保持浮动工具栏。您可以利用这些按钮快速访问 Summit 中最常使用的功能，例如，循环刷新模式 (Toggle cycle mode)、切换门控颜色 (Toggle color gating) 和测样回放 (Replay sample)。参见图 4.4。

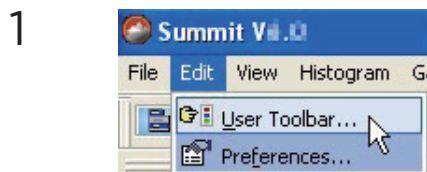
图 4.4 用户工具栏图标



自定义用户工具栏

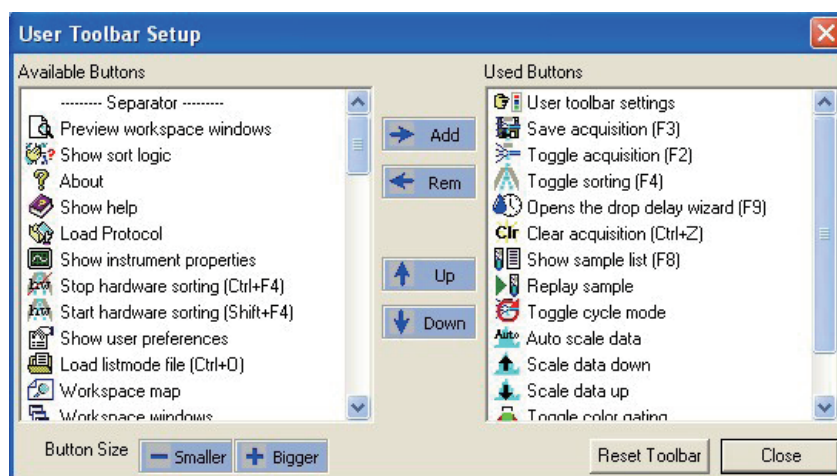
在 Summit 软件中选择 Edit 菜单，并选择 User Toolbar。参见图 4.5。

图 4.5 用户工具栏



2 接着，将显示用户工具栏设置对话框，如图 4.6 所示。从 Available Buttons 列表选定，然后选择 Add。该图标将加入工具栏中。

图 4.6 用户工具栏设置



3 要从工具栏中清除图标，则可以从 Used Buttons 列表中进行选定，然后选择 Rem。

4 选择 Smaller 或 Bigger，改变工具栏按钮的大小。选择 Up 或 Down，改变工具栏上的按钮位置。Reset Toolbar 按钮可以将用户工具栏恢复为默认设置。

仪器选项

仪器选项

如图 4.7 所示的仪器选项仅在 Summit 软件与仪器相连后处于激活状态；您可以通过它指定 SmartSampler 设置。有关设置定义，请参见表 4.1。

图 4.7 仪器选项

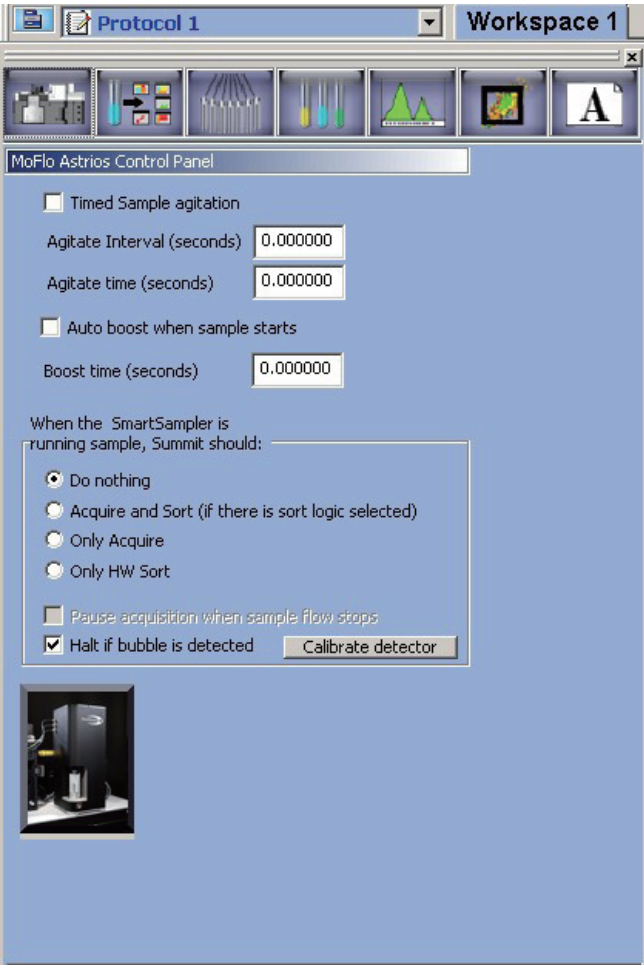


表 4.1 仪器选项 - 显示屏元素和功能

显示屏元素	功能
定时样品搅拌 搅拌间隔 搅拌时间	如需规定搅拌时间和两次搅拌之间的间隔，可以选择复选框。 注意 未选定复选框时，必须通过触摸屏控制面板手动开启和关闭 SmartSampler Agitate 按钮。
SmartSampler 上样时，Summit 软件应该： 	
1. 不进行任何操作（参见图 3.16）	SmartSampler 控制面板上的 Start Sample 按钮按下后，Summit 软件将自动不进行任何操作。可以手动开始和停止获取 (F2) 和分选 (F4) 操作。
2. 获取和分选（参见图 3.16）	按下 Start Sample 按钮后，样品上样，分选操作开始，并能够在 Summit 软件中采集数据。 注意 必须在 Summit 软件中设置分选逻辑，以便分选功能正常运行。如果未设置分选逻辑，Summit 软件仍将采集数据。
3. 仅获取数据（参见图 3.16）	按下 Start Sample 按钮后，样品上样，并能够在 Summit 软件中采集数据。
4. 仅 HW 分选（参见图 3.16）	按下 Start Sample 按钮后，样品上样，分选操作开始，但无法在 Summit 软件中自动采集数据。在这种模式下，可能需要手动在 Summit 软件中采集数据。 1. 按下 Start Sample 按钮，自动开始 HW 分选操作。 2. 设定周期模式，并开始数据采集 (F2)。 3. 暂停数据采集，但继续进行分选 (F2)。 4. 所有采集的数据间隔均将在分选结束时，保存至同一个 FCS 文件。
样品上样停止时，暂停采集数据	选择复选框，设定 Start Sample 按钮，开始上样并采集数据。再次按下此按钮后，它将暂停数据采集。

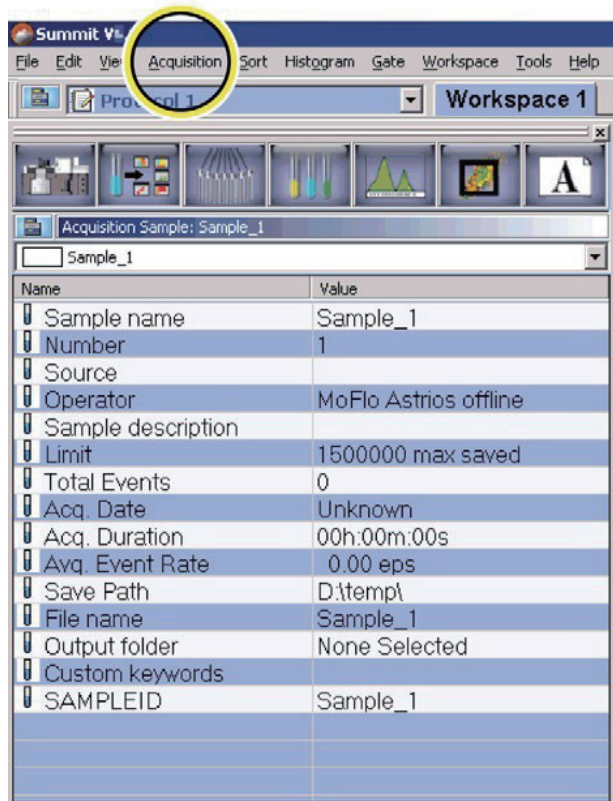
表 4.1 仪器选项 - 显示屏元素和功能（续）

显示屏元素	功能
若检测出气泡，操作将停止	重要事项 仅在按照需要对空气探测器进行校准后，该功能方可正确运行。如果不打算校准空气探测器，请勿选中复选框。 选定复选框，如果 SmartSampler 空气探测器检测到气泡将自动停止上样。
校准探测器	按下此按钮，对样品管路进行反冲洗，并校准 SmartSampler 空气探测器。 注意 必须提前开启液流。
SmartSampler 按钮（参见图 3.16） 	按下 SmartSampler 按钮，Summit 软件将显示 SmartSampler 控制面板和仪器状态指示器。

数据采集选项

Acquisition 选项允许用户指定将在 Summit 软件中采集的数据类型。参见图 4.8。用户也可以通过 Acquisition 选项设置特定的样品运行信息，并查看样品运行统计数据。

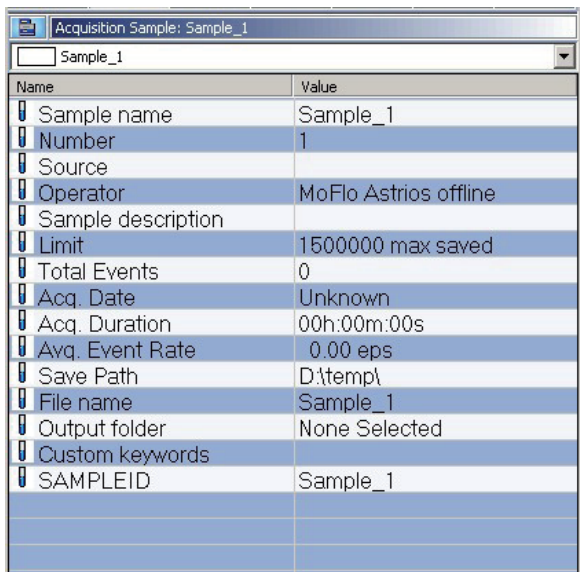
图 4.8 Acquisition 选项



采样面板

可以自定义 Acquisition Sample Panel 的显示信息，随后保存样品运行的特定信息。参见图 4.9。

图 4.9 Acquisition Sample Panel（采集样品面板）



如何编辑针对样品运行的信息

- 1 双击 Value 区域进行编辑。
- 2 更改 Value 区域中的信息。
注意 要单独更改某一区域，可以双击该区域，输入更改内容，随后单击即可。
- 3 要添加新的名称和 Value，可以选择 Extended Menu > Add Keyword。随后将显示 Edit Keyword（编辑关键词）对话框。
- 4 输入新信息，并选择 OK。

启用参数

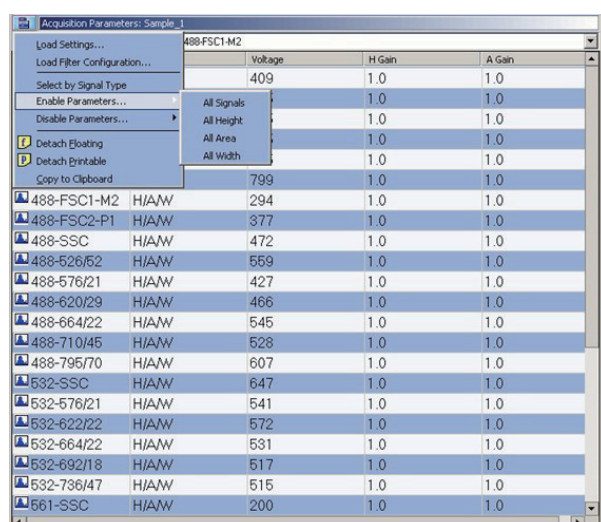
在建立直方图或散点图之前，您必须激活启用打算用于实验的参数。某一参数激活启用后，仪器将收集线性高度、面积和宽度信息。对数值等所有其他参数都可以运用这些线性数据进行运算。

与旧版 Summit 中这项功能不同的是，Summit 中的参数可以全部启用或全部禁用。（有关指导信息，请参见如何启用适用于所有数据的特定参数。）您还可以单独启用高度、面积和宽度。（有关指导信息，请参见如何启用单个参数。）

如何启用适用于所有数据的特定参数

- 1 选择 Acquisition 选项，找到 Acquisition Parameters 面板。
- 2 选择 Menu 图标，然后选择 Enable Parameters... 访问如图 4.10 所示的子菜单。

图 4.10 启用适用于所有数据的特定参数



- H/A/W = 启用高度 / 面积 / 宽度

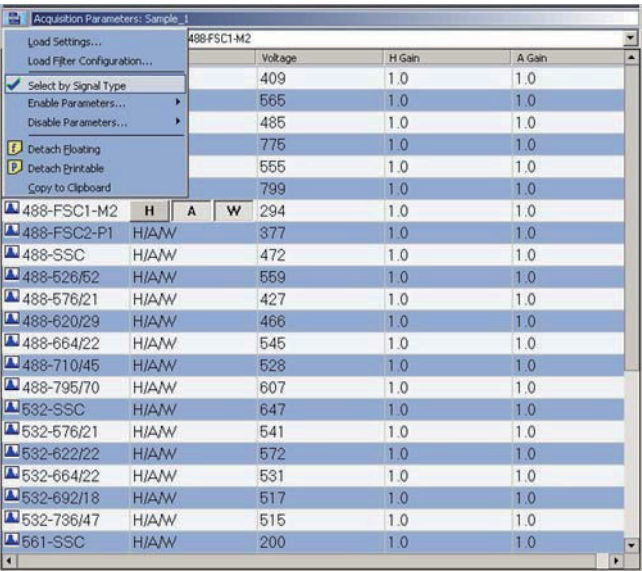
注意 通过 Enable Parameters... 选项下面的 Disable Parameters... 选项，您可以禁用适用于所有数据的高度、面积或宽度。

3 要启用参数，应选择适当的选项。

如何启用单个参数

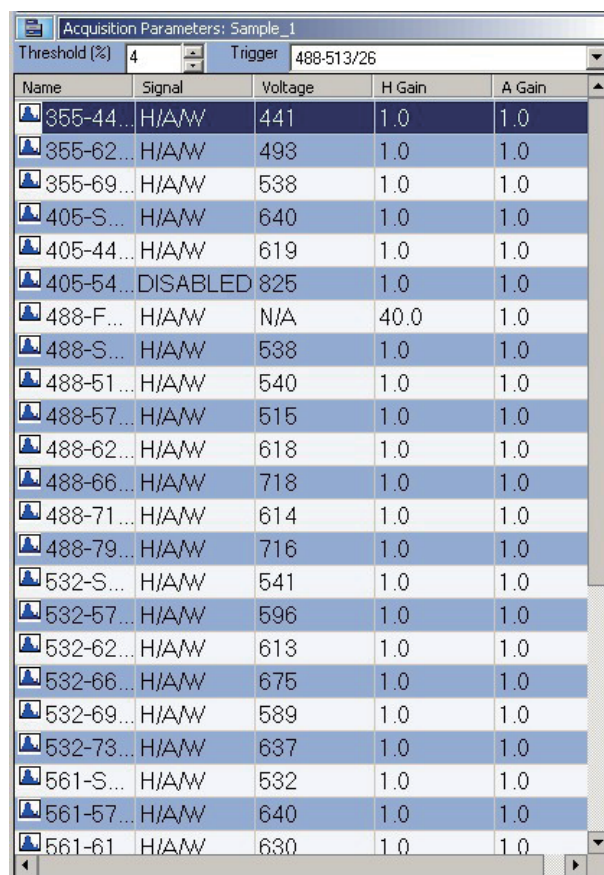
- 1 选择 Acquisition 选项，找到 Acquisition Parameters 面板。
- 2 选择 Menu 图标 > Select by Signal Type，如图 4.11 所示。双击待启用参数的信号所在列。

图 4.11 启用单个参数



- 3 要启用参数，在网格中选择您需要启用参数的那一行。双击 Disabled，随后从网格中选择其他参数行，查看该参数下面的 H/A/W，其意味着适用于此探测器的所有参数均启用。参见图 4.12。

图 4.12 采集参数面板



Name	Signal	Voltage	H Gain	A Gain
355-44...	H/A/W	441	1.0	1.0
355-62...	H/A/W	493	1.0	1.0
355-69...	H/A/W	538	1.0	1.0
405-S...	H/A/W	640	1.0	1.0
405-44...	H/A/W	619	1.0	1.0
405-54...	DISABLED	825	1.0	1.0
488-F...	H/A/W	N/A	40.0	1.0
488-S...	H/A/W	538	1.0	1.0
488-51...	H/A/W	540	1.0	1.0
488-57...	H/A/W	515	1.0	1.0
488-62...	H/A/W	618	1.0	1.0
488-66...	H/A/W	718	1.0	1.0
488-71...	H/A/W	614	1.0	1.0
488-79...	H/A/W	716	1.0	1.0
532-S...	H/A/W	541	1.0	1.0
532-57...	H/A/W	596	1.0	1.0
532-62...	H/A/W	613	1.0	1.0
532-66...	H/A/W	675	1.0	1.0
532-69...	H/A/W	589	1.0	1.0
532-73...	H/A/W	637	1.0	1.0
561-S...	H/A/W	532	1.0	1.0
561-57...	H/A/W	640	1.0	1.0
561-61	H/A/W	630	1.0	1.0

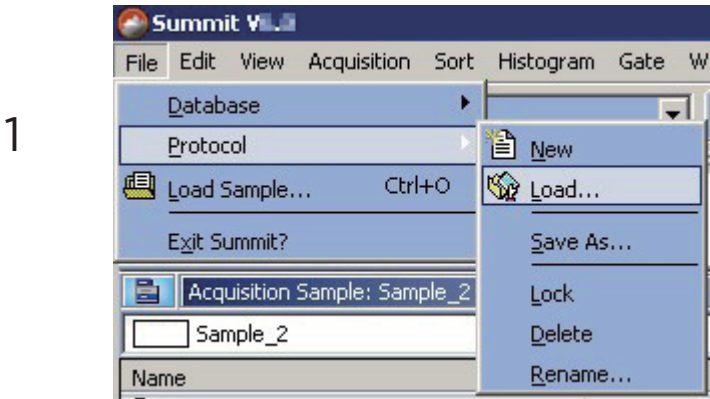
- H/A/W = 启用高度 / 面积 / 宽度
- DISABLED = 该参数禁用所有数据类型。

加载现有方案

如何加载现有方案

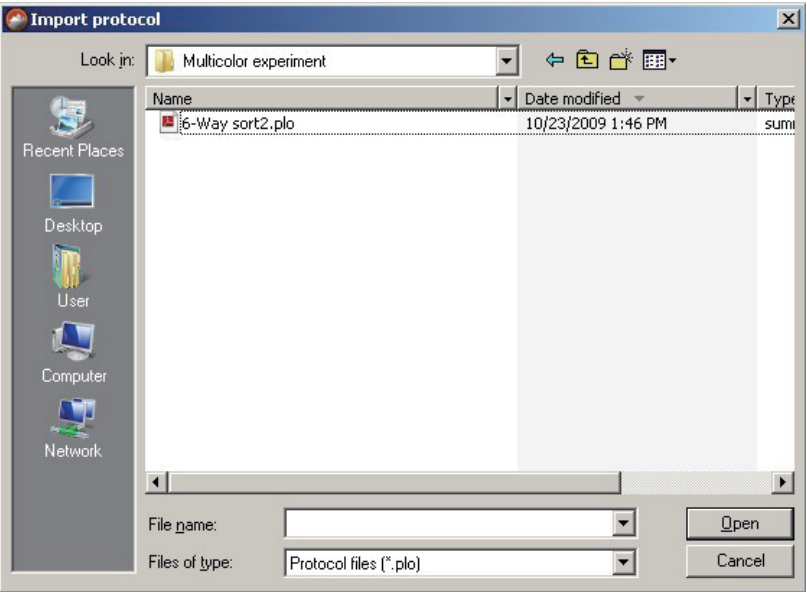
要加载先前保存的方案，应选择 File > Protocol > Load。参见图 4.13。

图 4.13 加载现有方案 - 先前保存的方案



2 将显示先前保存的 PLO 文件列表。选择所需文件，选择 Open。参见图 4.14。

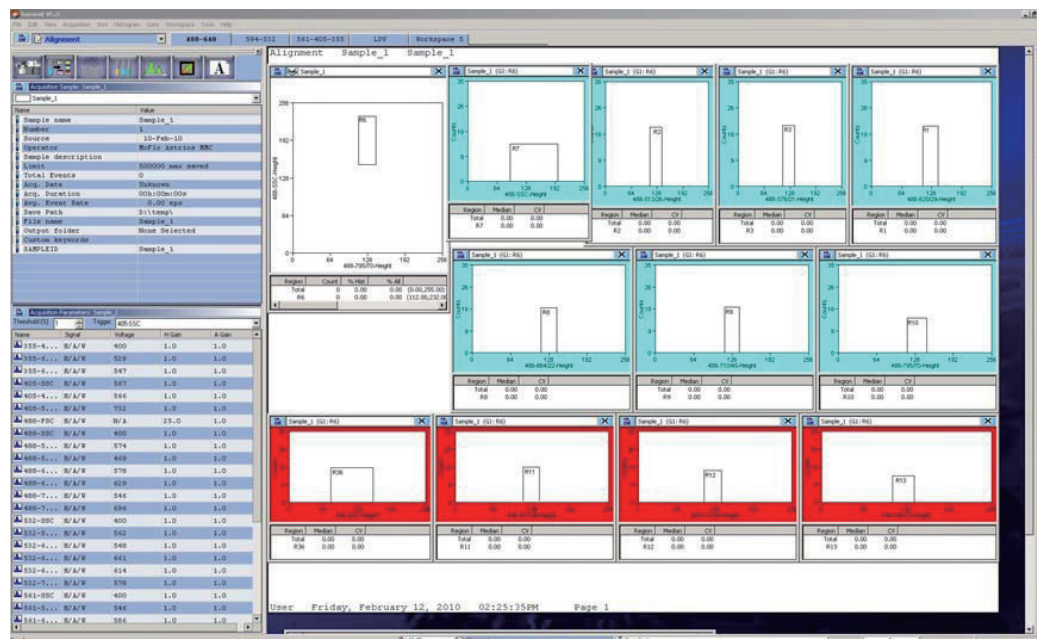
图 4.14 加载现有方案 - PLO 文件



注意 将“Files of type”选项改为“FCS files (*.fcs)”，以便加载保存在 FCS 文件中的方案。或者，您可以使用 File > Load Sample... 对话，选择 FCS 文件，并选定该对话中的 Load Protocol 按钮。上述对话框示例如图 4.23 所示。

图 4.15 是典型校准方案的一个示例，该方案包含空直方图，这些直方图中能够采集数据或显示和分析先前采集的数据。该示例方案可以通过 “C:\ProgramData\Beckman Coulter\Summit\6.xx\Protocols\BCI_Alignment.plo” 进行查找。

图 4.15 加载现有方案 - 典型校准方案



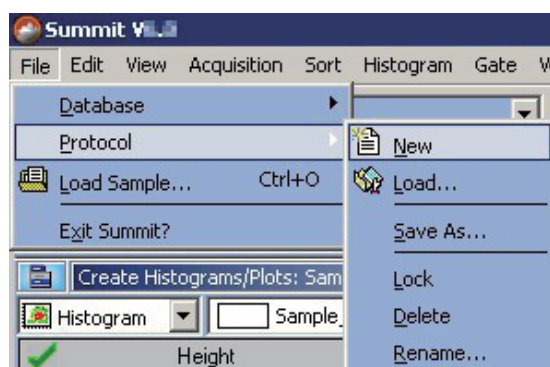
创建方案

当您打开一个新的数据库时，将会出现一个可以在其中创建直方图和散点图的工作区。您所创建的直方图和散点图将成为方案 1。可以在此数据库内创建额外的新方案，或加载先前已经存在的方案。

如何创建新方案

- 按照图 4.16 所示创建新方案。进入主菜单，选择 File > Protocol > New。随后将显示一个新的工作区，您可以在该工作区中创建新方案的散点图和直方图。

图 4.16 创建新方案



- 2

确保您已经启用所需参数。参见如何启用适用于所有数据的特定参数。
- 3

创建散点图和直方图。参见如何创建直方图或散点图。

切换方案

要更改 Summit 软件中的方案，进入方案工具栏，从下拉框中选择先前创建和 / 或加载的方案，如图 4.17 所示。

注意 仅加载到当前数据库中或最近创建的方案才会出现在该列表中。

图 4.17 切换方案



在 Summit 软件中采集数据

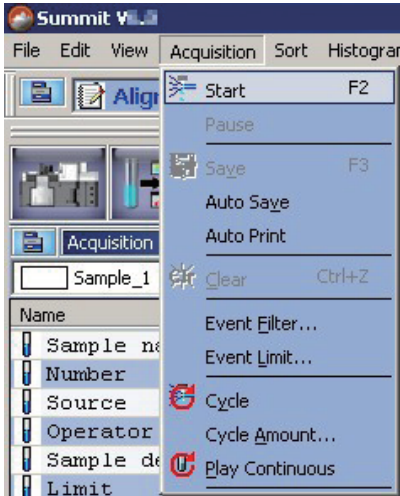
必须先加载或者新建方案并开始上样后才能在 Summit 软件中采集数据。参见图 4.16。

如何开始或停止数据采集

- 1

选择 Acquisition 菜单，并选定 Start（或按下 (F2)），如图 4.18 所示。

图 4.18 Acquisition 菜单



-
- 2 要停止数据采集，应选择 Stop（或按下 (F2)）。

注意 可以在 Summit Software Instrument 选项中更改 SmartSampler 设置，从而在使用 SmartSampler 开始 / 停止样品流时，规定自动开始 / 停止采集。

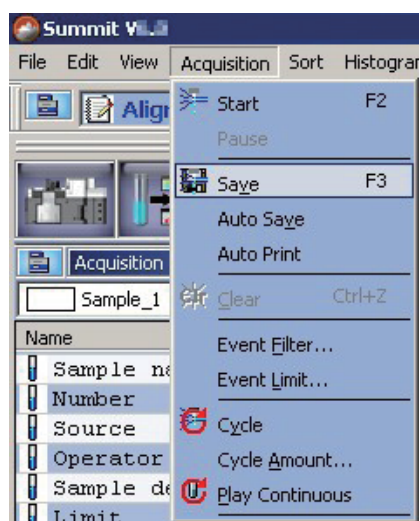
保存已采集数据

在 Summit 软件中采集数据后，将信息以 FCS 格式进行保存。默认情况下，也可以通过 Edit > Preferences 进行更改。Summit 软件存储的 FCS 格式文件包含用于采集数据的方案，包括该方案的设门策略。

如何保存已采集数据

- 1 选择 Acquisition 下拉框，并选定 Save（或按下 (F3)）。参见图 4.19。

图 4.19 正在保存已采集数据



-
- 2 选择一个文件夹保存数据，并输入文件名，选择一个 FCS 文件类型。
 - 3 选择 Save。
-

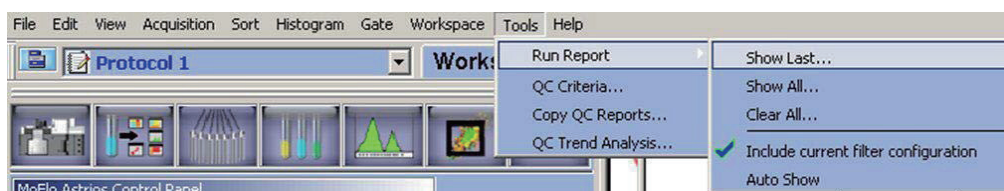
生成运行报告

运行报告能够显示所有样品、最后一个样品或通过 FCS 文件加载的样品的分选统计，滤光片配置、采集数据以及分选设置。运行报告的生成方法有很多种。

通过 Summit 工具栏生成运行报告

- 1 在 Summit 中，选择 Tools > Run Report。参见图 4.20。

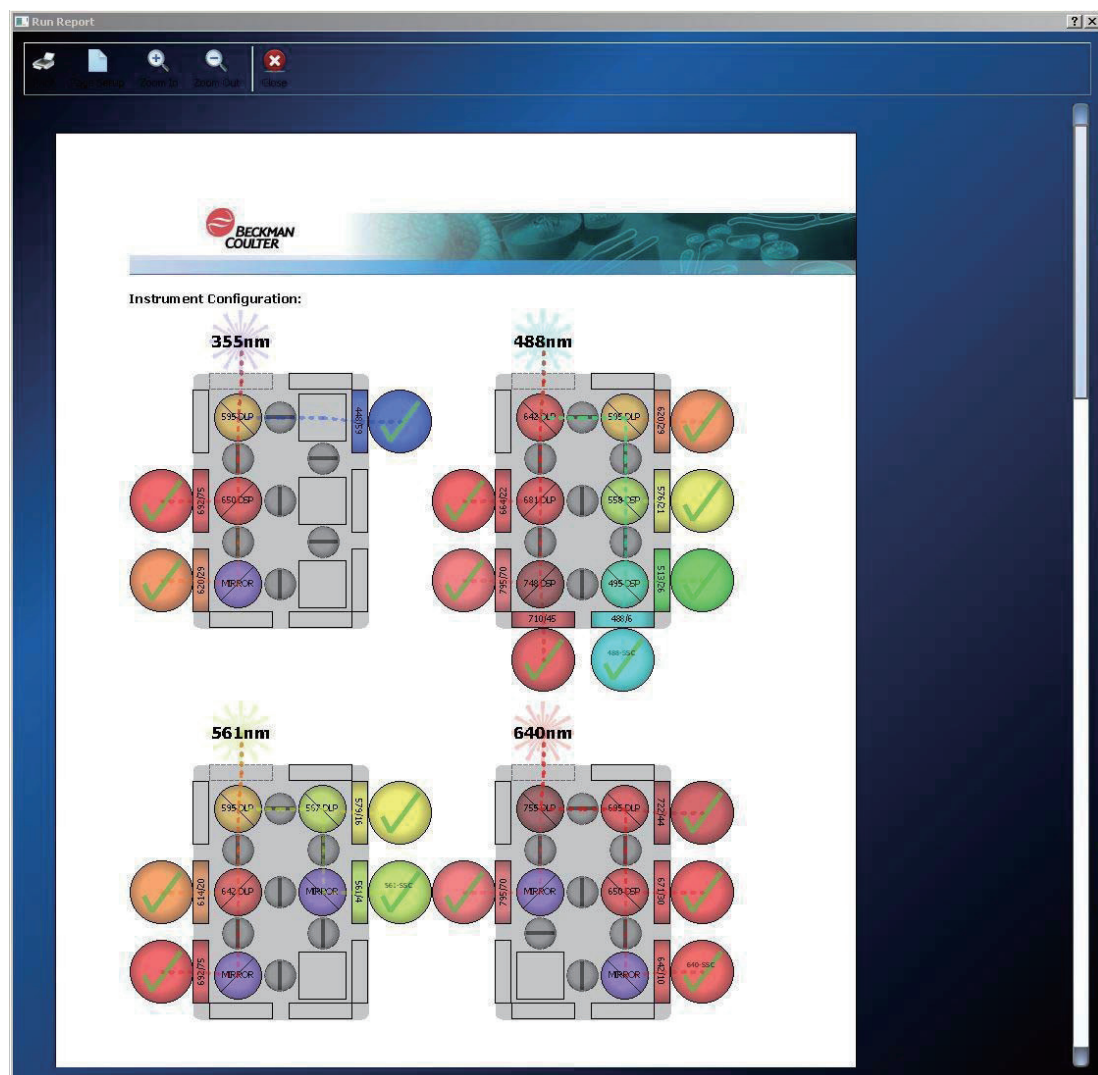
图 4.20 运行报告选项



- 2 从以下选项种选择其一，以生成运行报告的一项功能：
 - 选择 Show Last 显示采集到最后一个样品的运行报告。
 - 选择 Show All 显示通过当前数据库采集到所有样品的运行报告。
 - 选择 Clear All 清除通过当前数据库采集到所有样品的运行报告。
 - 选择 Include current filter configuration 将当前滤光片配置（如触摸屏控制面板所示）纳入运行报告中。
 - 选择 Auto Show 在采集或分选停止时自动显示运行报告（不论滤光片配置是否显示都不会受到影响）。

3 运行报告的生成如图 4.21 所示。

图 4.21 生成的运行报告



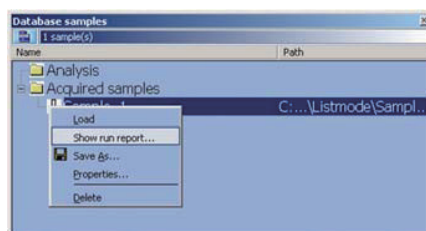
4 从以下选项种选择其一，以处理运行报告的数据：

- 选择 Print 图标打印运行报告。
- 选择 Page 图标选择页面设置。
- 选择 Zoom 按钮进行放大或缩小。
- 选择 Close 按钮关闭运行报告。

通过样品生成运行报告

- 1 在 Summit 中，选择 Database Samples 窗口。
- 2 右击您需要生成运行报告的样品。参见图 4.22。

图 4.22 一个样品的运行报告

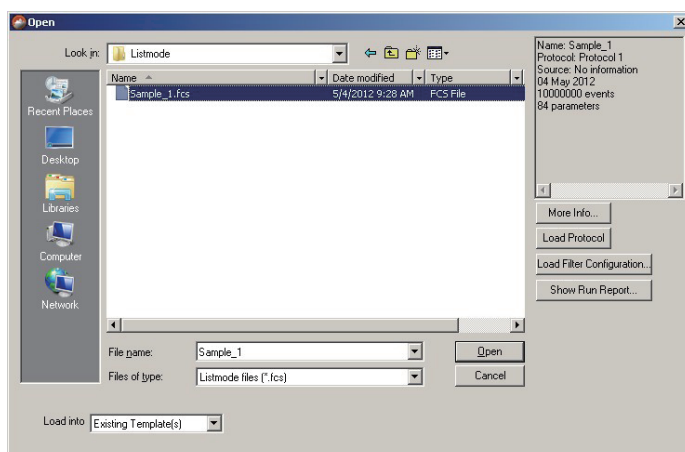


注意 生成的运行报告将包括所选样品的分选统计、分选设置、滤光片配置、采集统计数据。采集特定样品时所用的滤光片配置并非必须与触摸屏控制面板所示一致。

通过 FCS 文件生成运行报告

- 1 在 Summit 中，选择 File > Load Sample，以加载 FCS 文件。参见图 4.23。

图 4.23 打开 FCS 文件



-
- 2 在所显示的窗口中，选择 Show Run Report 生成特定 FCS 文件的运行报告。参见图 4.22。

注意 生成的运行报告将包括 FCS 文件的分选统计、分选设置、滤光片配置和采集统计数据。此运行报告中的滤光片配置将与您正在加载的特定 FCS 文件一致，此滤光片配置并非必须与触摸屏控制面板所示一致。

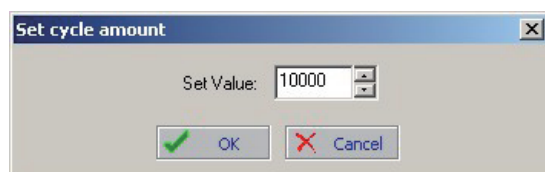
Cycle Mode（循环刷新模式）

Summit 软件中的 Cycle Mode 将循环刷新散点图和直方图中显示的数据，从而只显示校准活动期间有用的最近数据事件。Cycle Mode 循环刷新单一周期内的事件数目都是可以调节的。

如何显示校准活动期间的最近数据

- 1 确保您当前尚未处于采集数据的状态。
- 2 在 Acquisition 菜单上进行选择。
- 3 选择 Cycle Amount 并设置在数据循环刷新周期前应达到的事件数目。参见图 4.24。

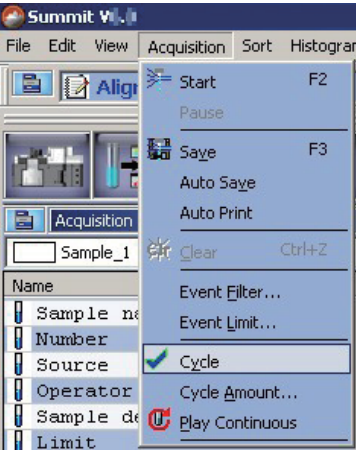
图 4.24 针对 Cycle Mode 设置循环刷新数据数目



-
- 4 选择 OK。
-

5 从 Acquisition 菜单中, 选择 Cycle 或在显示屏右侧选择 Cycle Mode 图标。参见 图 4.25。

图 4.25 启用 Cycle Mode (循环刷新模式)

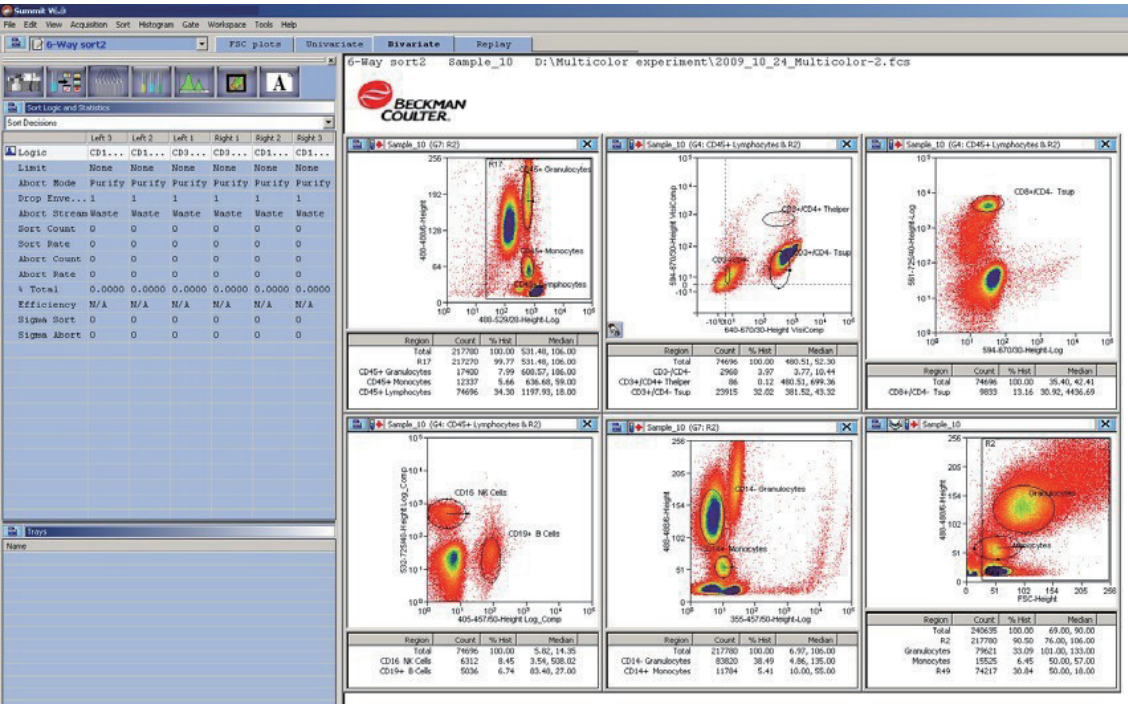


6 设定 Cycle Mode 后, 选择 Acquisition > Start, 使 Cycle Mode 生效。

分选 (Sort) 选项

Sort 选项允许用户根据先前设定的区域和门指定分选逻辑。分选时, 可以查看分选统计。参见图 4.26。

图 4.26 Sort 选项



清除分选统计

存在两种类型的分选统计；一种是单个分选，一种是累积分选，它们可以手动清除或通过系统重启清除。

在分选统计显示屏上，

- 系统进行分选时，将立即清除分选数量 #、分选率、丢弃数量 #、丢弃率、% 总计和效率（更新为零）。若系统尚未进行分选，在下次分选开始时，这些数值将自动重置为零。要在分选期间进行清除操作，选择 Sort > Clear Counters。
- Σ 分选数量 # 和 Σ 丢弃数量 # 在两次分选期间不会自动清除（更新为零）。这些计数将继续累积，直至手动清零。通过这项功能，您可以在分选试管已满且需要停止分选，用空管代替已经充满的试管后继续计数。在分选期间对这些数值归零将立即显示。一次分选完成后，对这些数值进行归零操作，在下次分选开始时，将会显示已经归零的数值。要清除这些累计分选统计数据，从 Menu 图标中选择 Sort Logic and Statistics Panel，并选择 Clear Accumulated Sort Stats。

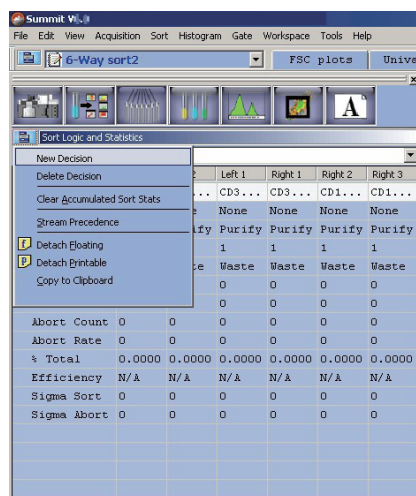
设定分选决策

在设置分选决策前，您必须先进行样本的数据采集。您还必须设定一个或以上的区域，以便定义即将分选的细胞群。

如何创建或编辑分选决策

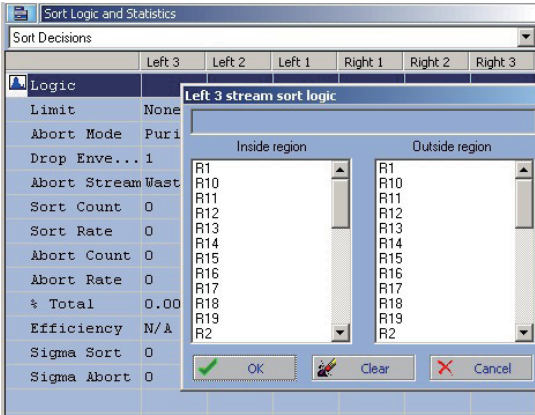
- 1 在 Sort Logic and Statistics Panel 中创建和编辑分选决策。选择 Menu 图标，并选定 New Decision，如图 4.27 所示，以启动分选逻辑编辑器。

图 4.27 设定分选决策



2 双击您计划设置的分选液流所对应的空白 Logic 区域（列标题下面）。参见图 4.28。

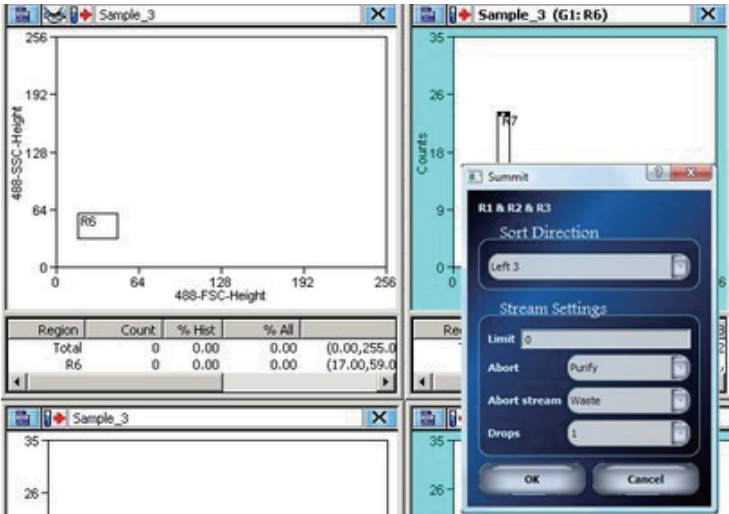
图 4.28 选择液流



3 从区域内或区域外列表选择一个或以上区域。选定的所有区域均用于创建分选逻辑。窗口顶部的静态文本框中将显示结果表达式。

注意 确定分选决策的另一个方法就是右击一个区域，然后从子菜单中选择分选液流。右击并选定 Sort Directions，随即显示子菜单，该子菜单上会列出所有可用的液流。参见图 4.29。在编辑器中选定的区域不会反映相应液流的当前分选逻辑，但会反映右击区域以及应用于直方图逻辑门中的任意区域。

图 4.29 区域分选决策设定



查看直方图中每条液流的分选和丢弃数据

有四种方式可以查看每条液流的分选和丢弃数据。

- 触摸屏控制面板，请参见第 3 章 触摸屏控制面板概述中的分选统计显示屏。
- Sort 选项，位于 Summit 软件。
- 直方图，进行分选或从保存的 FCS 文件或在 Run Report 中选择直方图时
- Histogram 选项，双击 Sorts And Aborts per stream，如图 4.30 所示，创建如图 4.31 所示的直方图。

图 4.30 创建 Sorts and Aborts 直方图

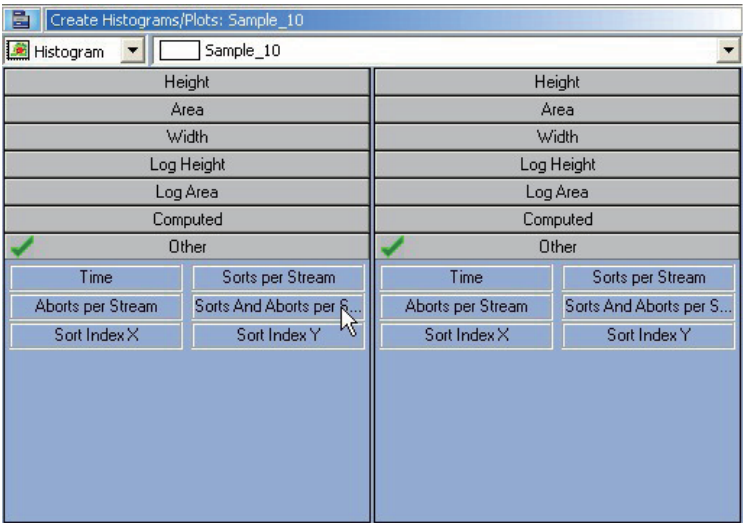
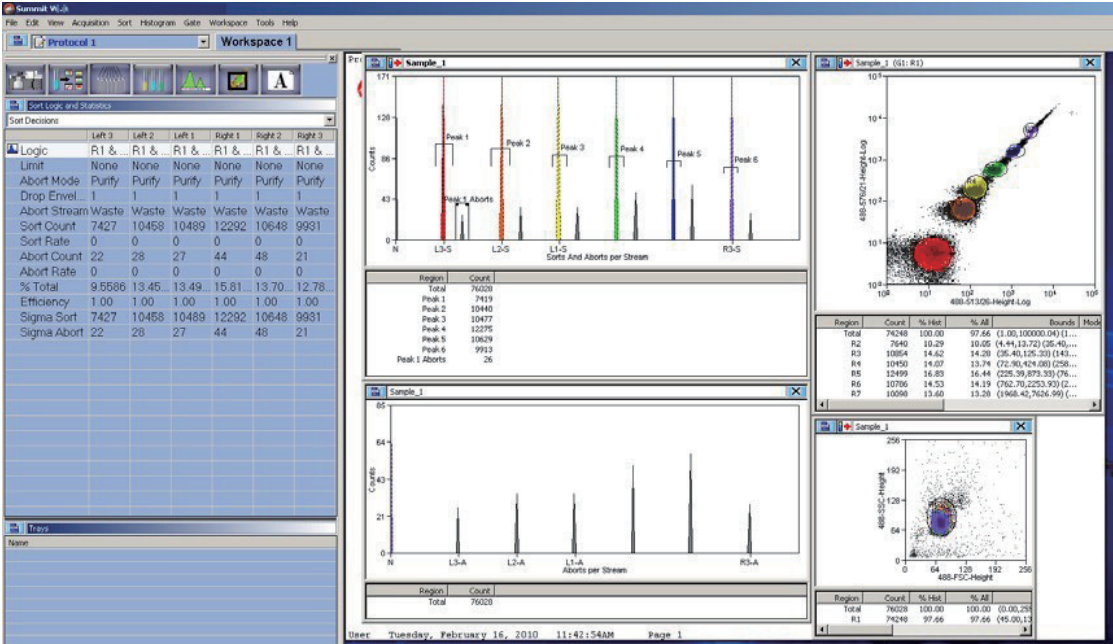


图 4.31 查看 Sorts and Aborts Per Stream



注意 要在 Sorts and Aborts per Stream 直方图上显示更多(或更少)液流标签,请参见图 4.32, 选择菜单按钮, 并选定 Properties (属性)。在结果对话框, 调整 X 轴的轴标尺, 参见图 4.33。

图 4.32 Sorts and Aborts 直方图

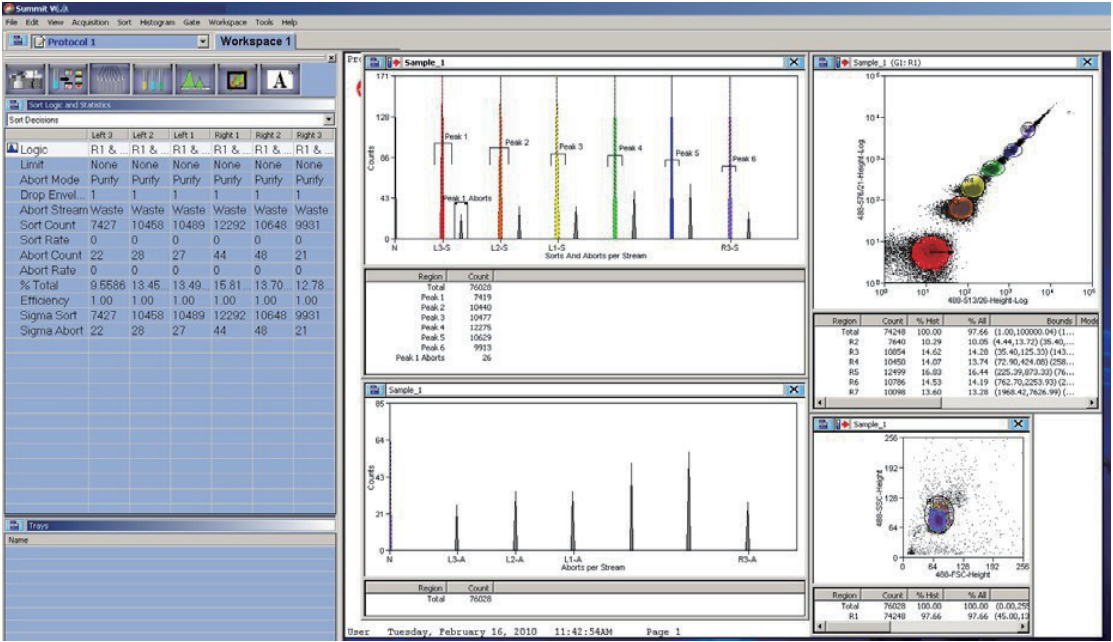
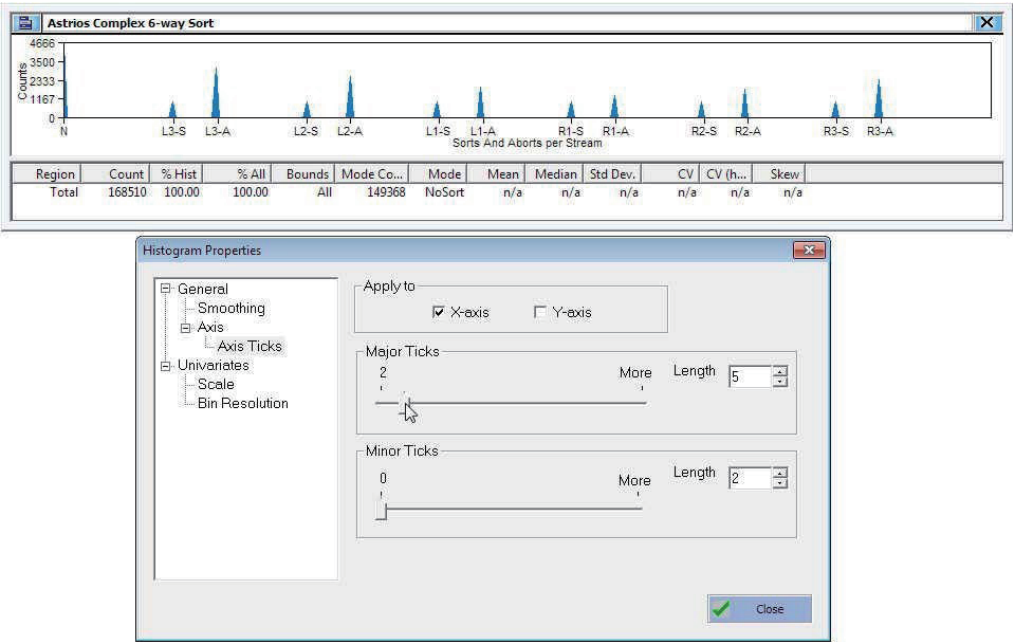


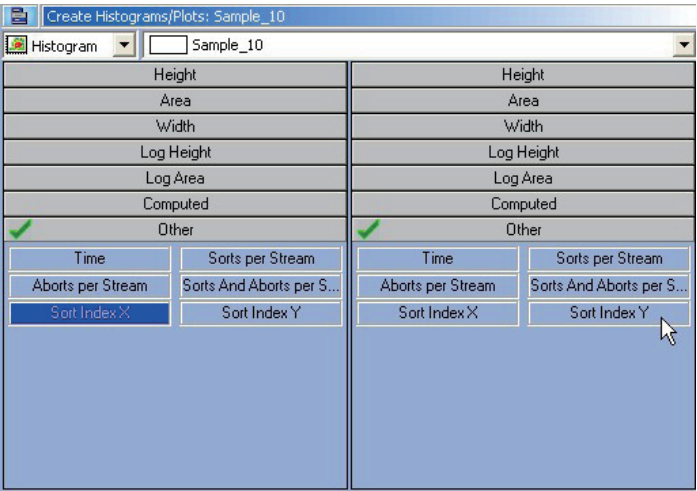
图 4.33 调整轴标尺



Index Sorting (索引分选)

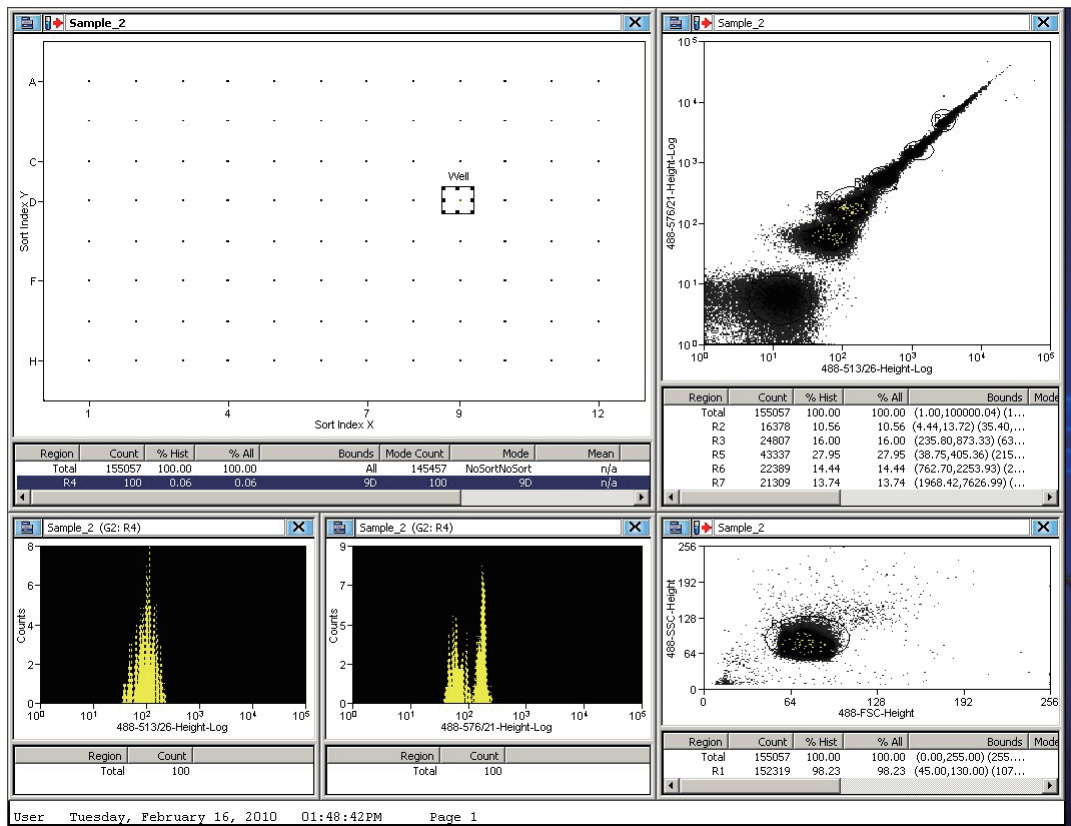
Index Sorting 提供了一个微孔板的屏幕显示，有助于在分选后对每个孔分选得到的对象进行确定。参见图 4.34。

图 4.34 创建索引直方图



门控颜色可用于查看与孔相关的被分选对象在散点图上的定位。参见图 4.35。

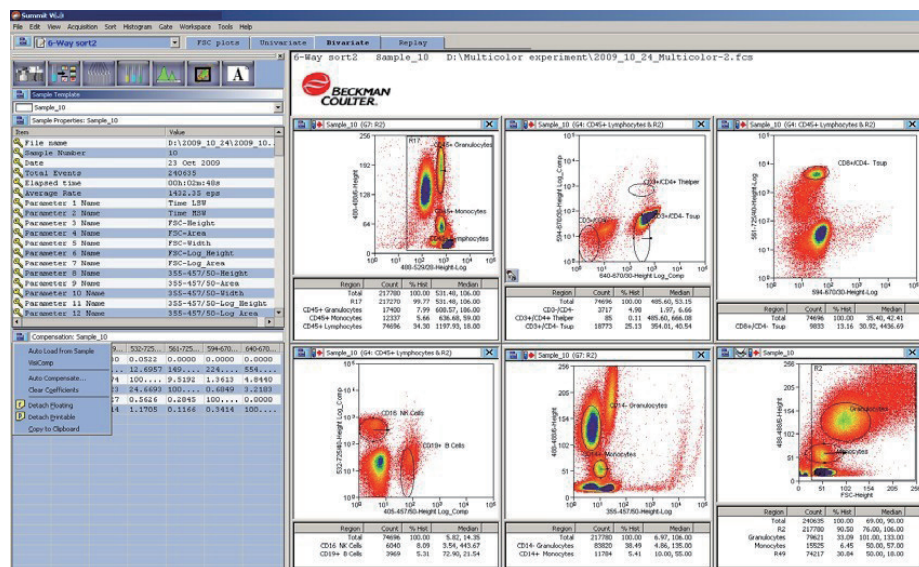
图 4.35 利用门控颜色进行索引分选显示



Sample 选项

Sample 选项显示所选样品文件的参数，您可以通过该选项更改屏幕上显示的参数列表。通过 Sample 选项，您还可以对数据进行补偿操作。参见图 4.36。

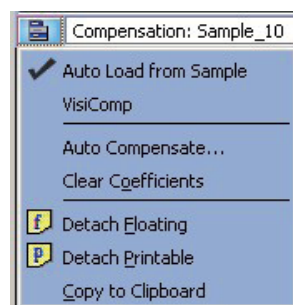
图 4.36 Sample 选项



通过样品进行自动加载

当数据进行补偿时，补偿矩阵自动建立并保存在 FCS 文件中。选择 Sample tab > Auto Load from Sample，能够在您加载数据文件用于分析时，产生新建的和 / 或更新的补偿矩阵。参见图 4.37。

图 4.37 通过样品进行自动加载



自动补偿向导

Summit 软件提供自动补偿方法，以获取适用于多色分析的完全补偿矩阵。通过自动补偿功能，利用单独染色对照样本，软件就可自动计算补偿矩阵。

对于自动补偿存在一个问题就是，在固定滤光片配置的 Astrios^{EQ} 仪器上对于给定的荧光素可以同时被多个通道检测。以下表格显示了部分荧光素被多个通道同时检测的示例（并非详尽）：

荧光染料	信号的探测器通道		
PE	488-576/21	532-576/21	561-579/16
PE-Texas Red	488-620/29	532-622/22	561-614/20
PE-Cy5	488-664/22	532-664/22	592-671/30
PE-Cy5.5	488-710/45	532-692/18	
APC	592-671/30	640-671/30	
APC-Alexa 750	592-795/70	640-795/70	

本质上来说，待补偿的每种荧光染料仅可在溢出矩阵中补偿一次。因为溢出值是通过探测器通道的数据来计算确定的，且单一荧光染料能被一个以上通道检测，那么，就存在荧光染料在矩阵中多次出现的风险。这会导致以下问题：

- 对于在多个通道中被有效检测的信号进行溢出值校正时的参数，其已经减去若干倍溢出值。这会导致显著的过度补偿。
- 针对拥有相同信号的参数进行自动补偿后，重叠参数中的阳性信号明显减少甚至被消除。这种影响类似于某种荧光素的自我补偿。

为防止出现上述问题，应使用重叠通道组中的最佳通道，并仅允许该通道进行补偿。

如何使用自动补偿向导进行单一荧光素染色对照

- 1

采集实验所需的未染色对照样品。未染色对照样品应包含未染色或同型对照样品，并以此样本为依据进行 PMT 电压设置。对包含结果的散点图在需要时设门。必须在应用自动补偿前设门。

注意 在自动补偿操作期间，仅允许对区域的尺寸和位置进行调整。
- 2

依次运行单一阳性对照样品，并保存数据文件。

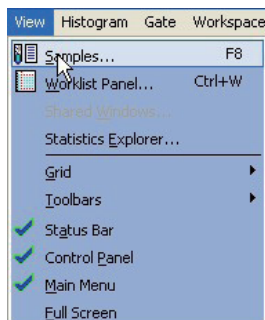
注意 在文件名中可以包含细胞类型、表位和共轭荧光染料等，以供未来参考。例如：CHO_CD45_FITC.fcs

3

将所有对照样品文件加载在实验文件夹中。

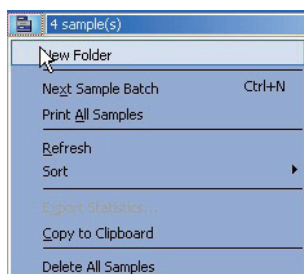
- a. 选择 Database sample menu:> View > Samples。参见图 4.38。

图 4.38 查看样品



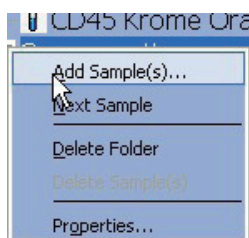
- b. 在 Database samples menu 中创建一个新的实验文件夹；选择它的图标，并选定 New Folder。参见图 4.39。

图 4.39 添加新文件夹



- c. 将上述所有样品加入新文件夹；右击生成的新文件夹，选定 Add Samples。如果所有所需样品处于同一位置，那么，您可以通过一个步骤添加这些样品：用打开文件对话框中的多项选择：(CTRL) + 单击。参见图 4.40。

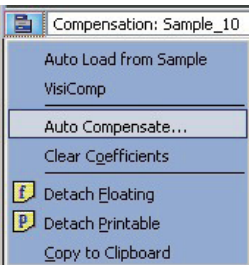
图 4.40 添加样品



4 选择 Sample 选项。

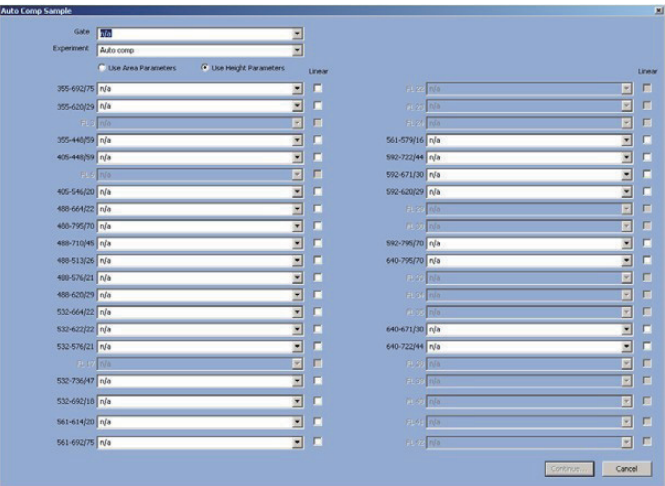
5 在 Sample Compensation 面板中，选择附加菜单图标  并从列表中选择 Auto Compensate。参见图 4.41。

图 4.41 选择 Auto Compensate



6 Auto Comp Sample 对话框如图 4.42 所示。

图 4.42 Auto Comp Sample 空白对话框

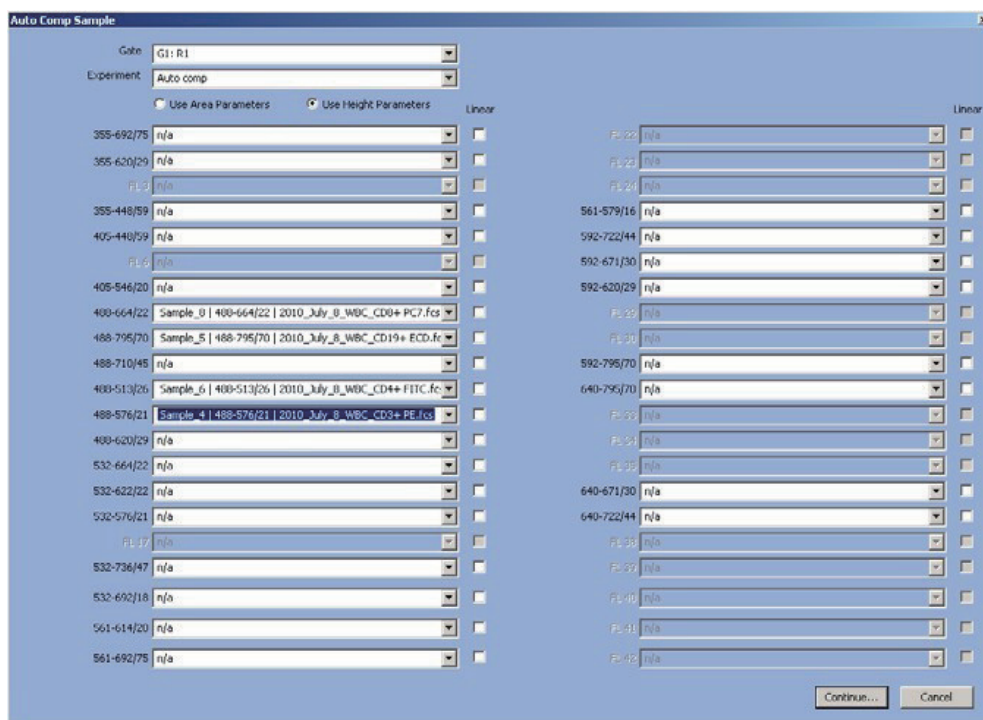


7 如适用，则从 Gate 菜单中选择门。

8 从 Experiment 菜单中，选择带有对照样品的实验文件夹。

- 9 对于每个单阳性样品，选择最佳参数。一个样品仅可出现在一个参数当中，而不考虑检测这个信号的参数数量。图 4.43 显示了已经完成的 Auto Comp Sample 对话框。

图 4.43 已完成的 Auto Comp Sample 对话框



- 10 选择 Continue。

重要事项 如果您在自动补偿过程中的任一时间点选择 Cancel，会导致清除补偿矩阵和 AutoComp Workspace。

- 11 此时将创建标记为 AutoComp 的新工作区，并显示第一组散点图。每个散点图将对照参数置于 X 轴上，并将进行补偿的参数置于 Y 轴上。默认显示自动补偿的阴性 (Dim) 和阳性 (Bright) 区域，如果门已经选定，则将其适用于每个散点图；Auto Compensate 向导如图 4.44 所示。

图 4.44 Auto Compensate 向导

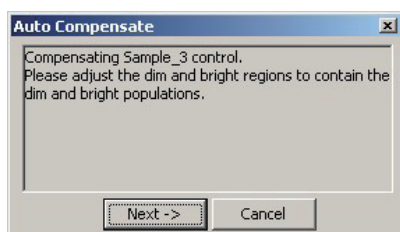
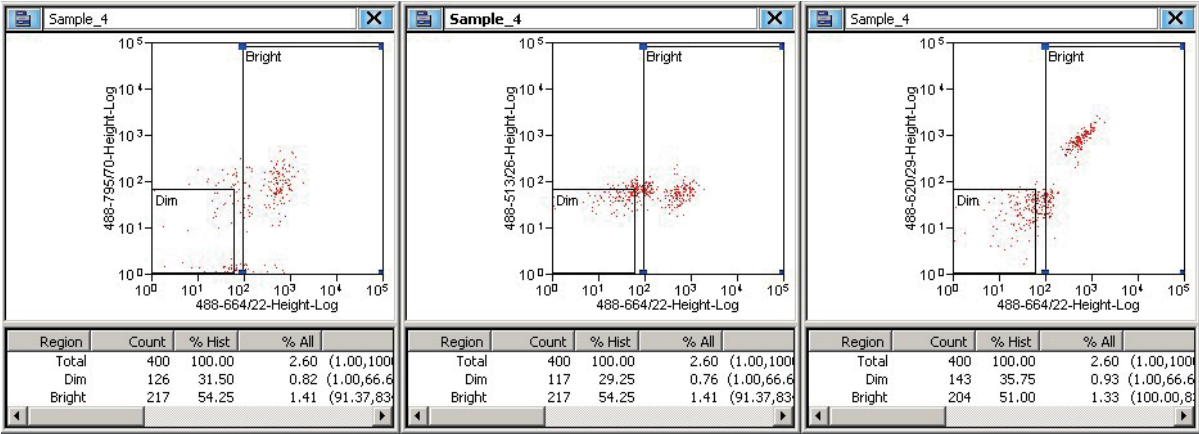


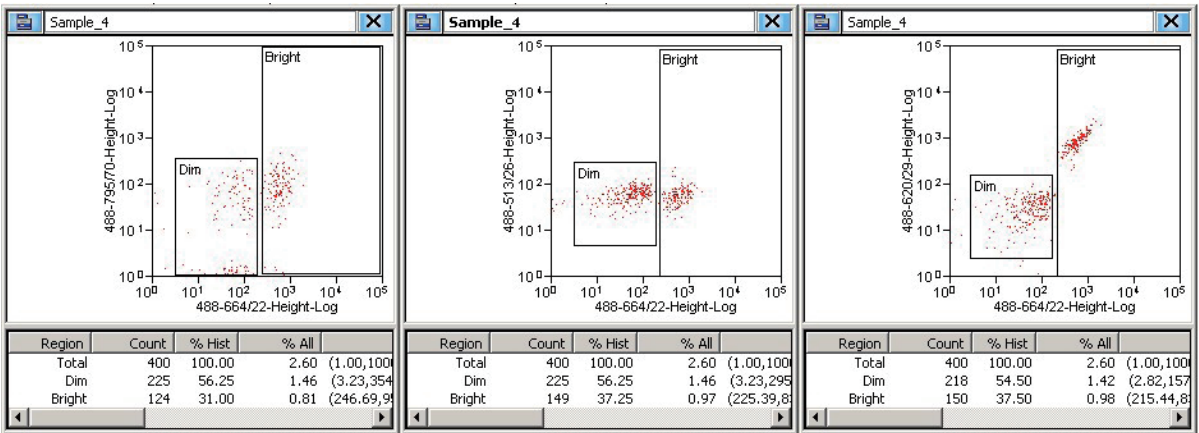
图 4.45 显示单阳性样品散点图。

图 4.45 单阳性样品散点图



12 检测每个直方图的 % 直方图统计（即比例）。若 Dim 或 Bright 区域含散点图数据低于 5%，拖动该区域，直至 Dim 或 Bright 区域显示数据超过 5%。参见图 4.46。

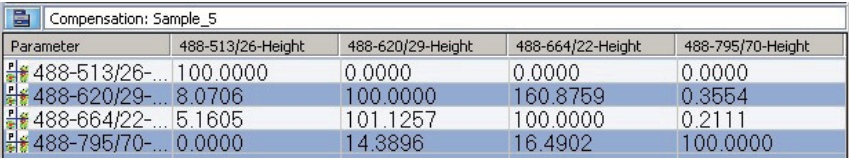
图 4.46 Auto Comp 调整区域



13 当所有散点图中的所有区域含有数据都超过 5%，在 Auto Compensate 对话框中选择 Next。随即将显示下一组散点图。

- 14 重复步骤 12 直至所有单阳性样品均已实现补偿。当自动补偿完成时，补偿矩阵随即包含合适的补偿数值，同时 AutoComp 工作区被移除，如图 4.47。

图 4.47 补偿矩阵



Parameter	488-513/26-Height	488-620/29-Height	488-664/22-Height	488-795/70-Height
488-513/26-...	100.0000	0.0000	0.0000	0.0000
488-620/29-...	8.0706	100.0000	160.8759	0.3554
488-664/22-...	5.1605	101.1257	100.0000	0.2111
488-795/70-...	0.0000	14.3896	16.4902	100.0000

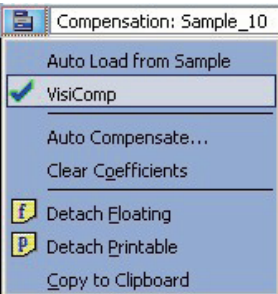
应用 VisiComp

为了帮助更好地查看补偿结果，Summit 软件包括一个名称为 VisiComp 的计算尺算法，其显示 0 和负值。VisiComp 为您提供一个良好的方法去验证 Summit 软件的 Auto Compensation 功能的结果，通过该方法，您还能进行微调，并对补偿进行调整。

如何使用 VisiComp 令补偿结果可视化

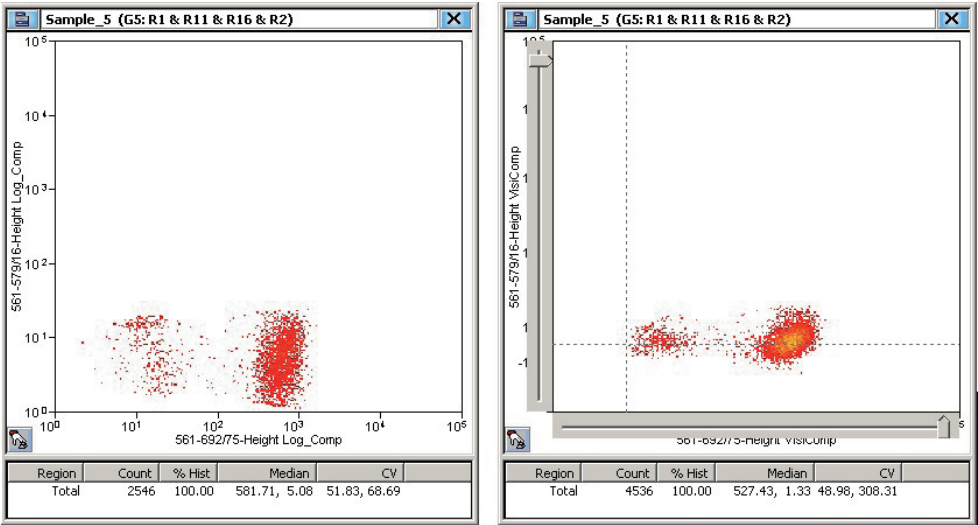
- 1 预加载进行补偿所需的所有必要样品（Listmode FCS 文件）。
- 2 创建所有的图形、区域和门。
- 3 在 Sample 选项上，选择 Compensation 面板图标，并选定 VisiComp。参见图 4.48。

图 4.48 应用 VisiComp



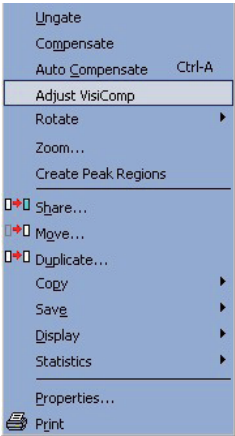
4 手动设置您计划用于补偿分析的所有图形。图 4.49 展示应用 VisiComp 前后所显示的数据。

图 4.49 应用 VisiComp 前后所显示的数据



5 要调整用于显示负值的 VisiComp 标尺宽度，请选择窗口左上部的 Sample 图标，然后如图 4.50 所示选择 Adjust VisiComp。使用滑块工具，或输入特定数值，以完成调整。

图 4.50 Adjust VisiComp



注意 经过调整的 VisiComp 线性区域宽度，适用于所有图形和直方图，其将在任一样品模板中显示补偿后的参数。正因如此，在调整宽度前，显示所有数据是非常重要的。一个参数配对的理想状态对另一个并非理想。因此，调整宽度来显示所有图形的最佳折中点。

重要事项 如果关闭 VisiComp，则扩展到 VisiComp 标尺负值区的任意区域将移动至能够在对数标尺上显示的相应位置。

6 创建区域和设门，完成分析。

注意 如果在应用 VisiComp 前创建区域和门，则应校准区域的位置。

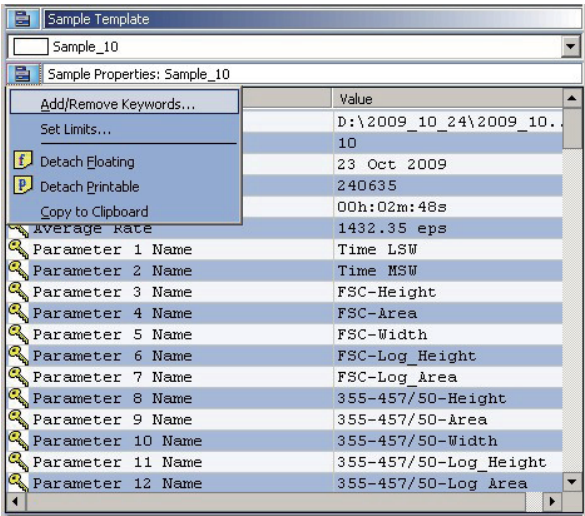
FCS 关键词

要自定义样品数据的显示，可以添加和删除关键词。

如何添加或删除关键词

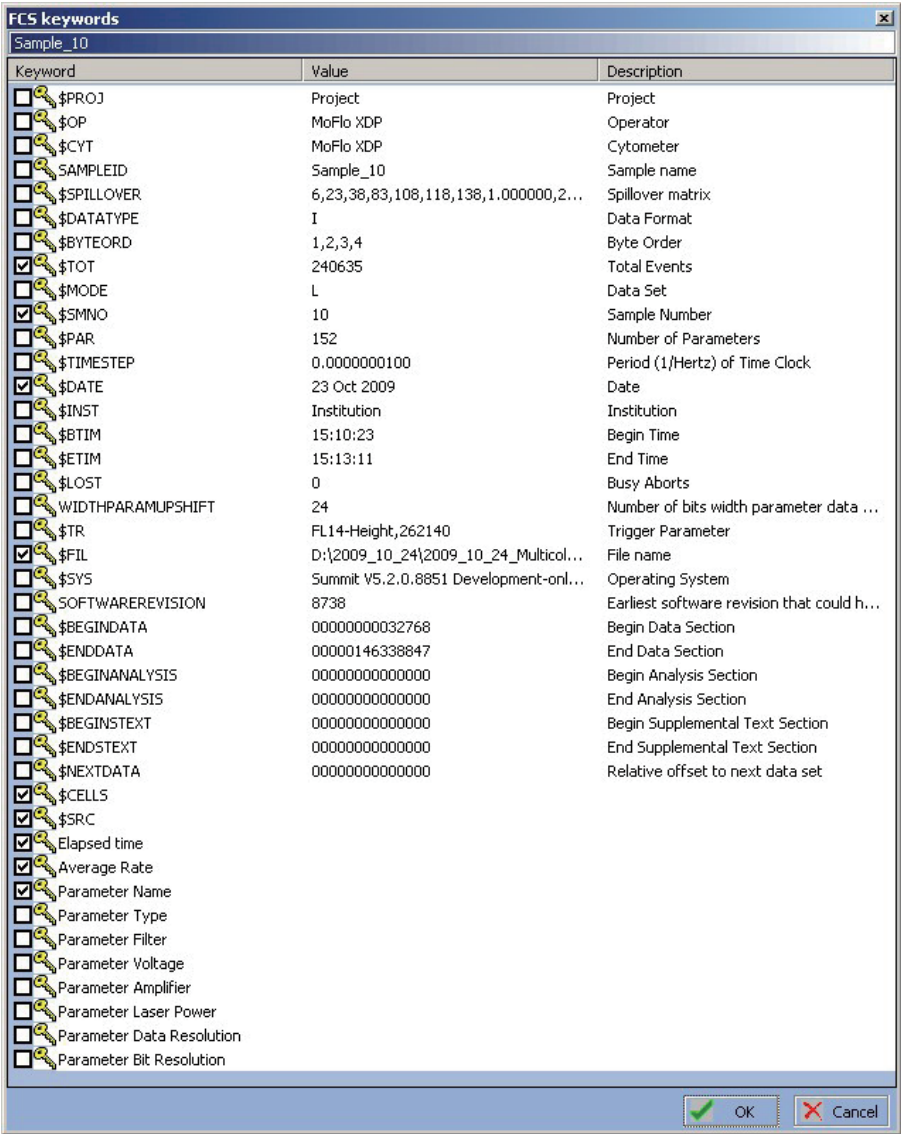
- 1 选择蓝色菜单图标，选定 Add/Remove Keywords。参见图 4.51。

图 4.51 添加 / 删除关键词



2 选择您打算显示的关键词旁边的复选框，然后选择 OK。参见图 4.52。

图 4.52 选中 Add/Remove Keywords

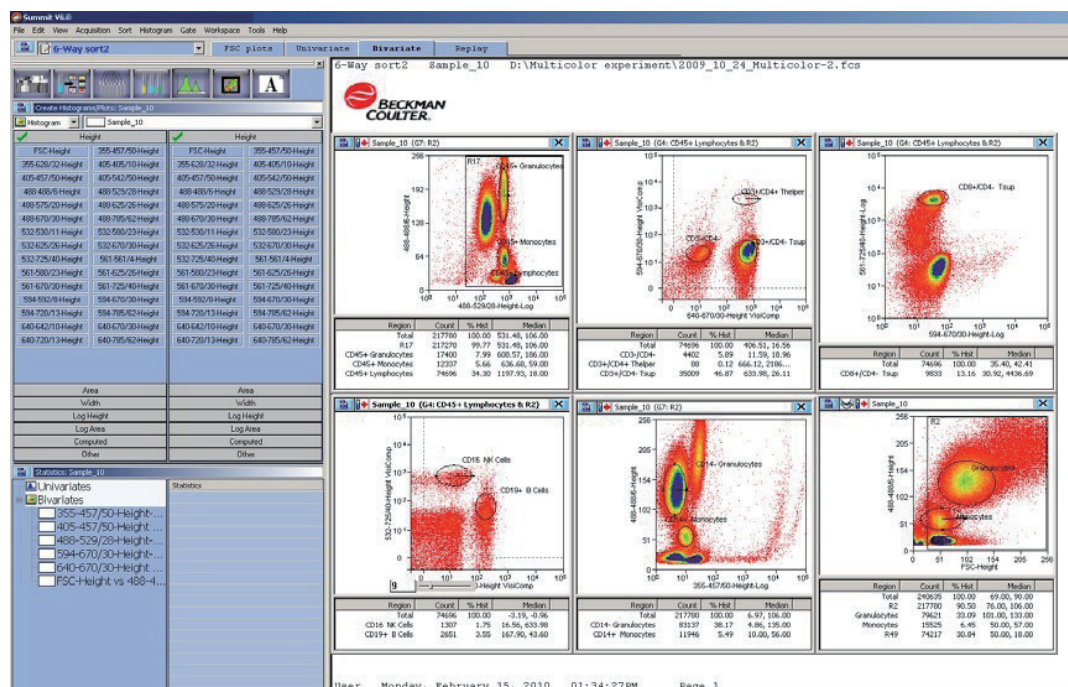


Histogram 选项

在 Histogram 选项中创建直方图和散点图（双变量直方图）。参见图 4.53。Create Histograms 面板将显示在 Acquisition 选项中启用的所有参数，来源包括：

- Acquisition 选项中启用的参数
- 保存在当前加载 FCS 文件中的参数

图 4.53 Histogram 选项



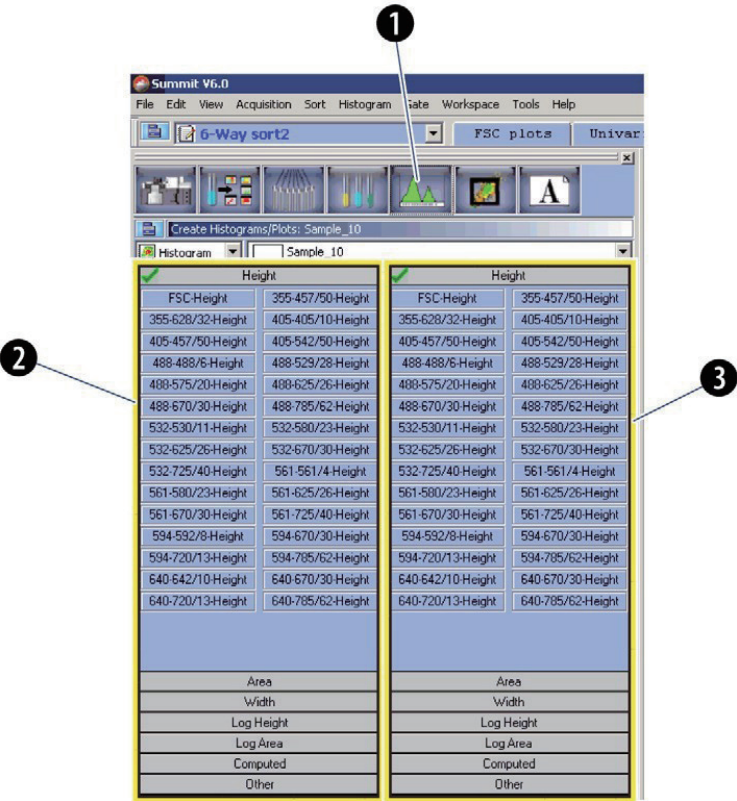
创建直方图和散点图

要显示您采集的数据，则必须创建直方图和散点图。在创建散点图和直方图之前，必须启用您想要收集的参数。

如何创建直方图或散点图

- 1
- 在 Summit 软件控制面板中选择 Histogram 选项，创建散点图和直方图（参见图 4.54 中的第 (1) 项）。通过右击 Workspace 工作区并选定 New Histogram 或 New Plot，您可以创建直方图和散点图，同时通过右击坐标轴线，可以选定所需的参数。

图 4.54 创建直方图或散点图



1. Histogram 选项
2. X 轴参数
3. Y 轴参数

2 从以下选项中任选其一：

- 要创建单参数直方图，双击您想要创建直方图的 X 轴参数。直方图将出现在显示屏右侧的 Workspace 工作区。
- 要创建双参数点图，选择一次 X 轴参数，选择两次 Y 轴参数（即鼠标双击）。新创建的散点图将出现在 Workspace 工作区。

将散点图和直方图最大化

要将散点图和直方图最大化，应双击其标题栏。该选项有助于更好地查看数据、创建区域或设门。再次双击标题栏，恢复图像。

更改坐标轴参数

更改散点图或直方图中显示的参数，右击坐标轴，从菜单中选择新参数即可更改。选择参数后，选定显示数据类型，该直方图将反映您的选择。参见图 4.55。

- H = 线性高度
- A = 线性区域
- W = 脉冲宽度
- L = 对数高度
- LA = 对数面积

图 4.55 更改坐标轴参数

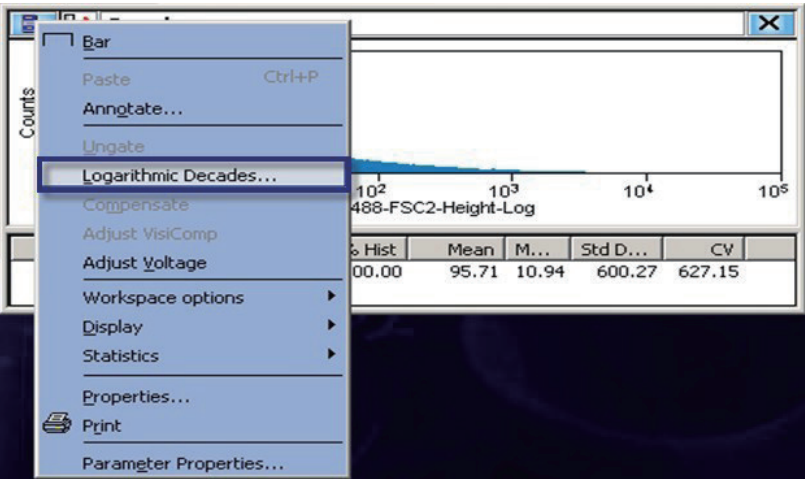


更改直方图上的对数域范围

如果您需要更改直方图上的对数域范围，应：

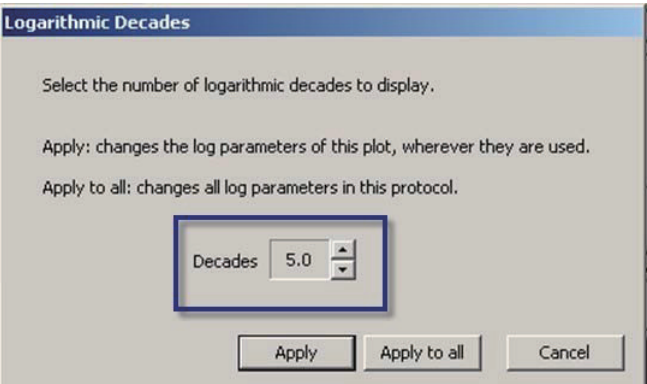
- 1 在直方图或其他图形上，右击扩展后的菜单，并选择 Logarithmic Decades。参见图 4.56。

图 4.56 Logarithmic Decades 菜单



- 2 选择要显示的对数域数目，如图 4.57 所示。对数域数目最低值为 4，最高值为 9。

图 4.57 Logarithmic Decades

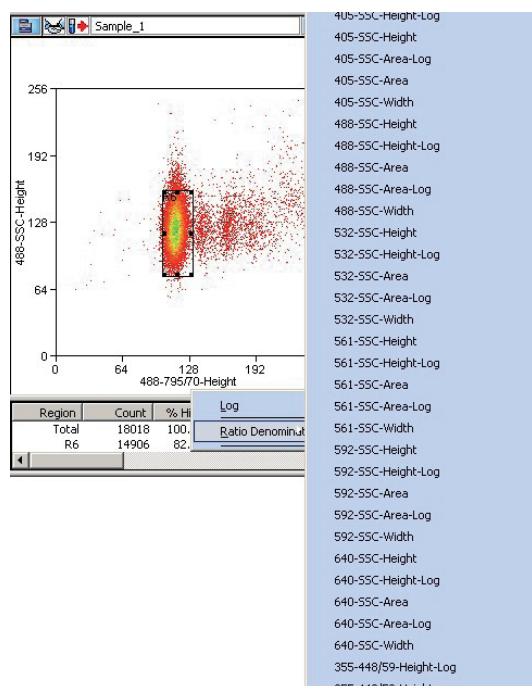


- 3 选择 Apply 将上述更改应用到此图形的对数参数中，或选择 Apply to all 将上述更改应用到该方案的所有对数参数中。

显示比率

如果您需要将一个数据显示为比率，应右击直方图的轴，显示 Parameter Selector，选定 More Options 按钮。参见图 4.58。

图 4.58 将数据显示为比率



在直方图中创建区域

在单参数直方图中创建线性区域，您只需要在直方图中右击，从菜单中选择 Bar。在双参数散点图中，您右击可以创建矩形、椭圆形、多边形或十字象限等不同类型的区域创建后，选择并拖动，以便调整区域大小并重新定位区域。创建区域后，这些区域的统计数据将出现在直方图下面的状态窗口中。移动上述区域时，统计数据将会实时更新。要删除区域，右击并选定 Delete。

重新命名区域

您可以对区域进行重新命名，以反映区域内的细胞群。要重新命名区域，在该区域右击，并选定 Properties。随即出现一个对话框，在左上部文本区域内输入一个新的名称，并选定 OK 即可。

复制并粘贴区域

从直方图和散点图中复制区域，并将之粘贴在另一个直方图或散点图中。在区域内右击，并选定 Copy，进入下一直方图或散点图，右击并选择 Paste。

自定义统计数据显示

直方图和散点图中的统计数据显示进行自定义。选择需要自定义的图，将其激活。在散点图内右击，并选择 Statistics > Edit Display。

手动缩放数据

手动重新缩放散点图或直方图中的数据，在用户工具栏上选择放大或缩小按钮。如果工具栏上没有上述按钮，请参见自定义用户工具栏。

轮廓数据

如果您需要启用 Contouring，应在散点图中选择扩展的菜单图标 ，选定 Display > Contour。选择 Enable Contours 组合框。复选框正下方列出了可供使用的轮廓算法。

将直方图导出到 Word 中

如果您需要将散点图或直方图导出到 Word 中，应在散点图中选择扩展后的菜单图标 ，并选择 Copy > Window as Bitmap。打开 Word，将直方图图像粘贴到文档中。Graphics as Bitmap 选项不适用于直方图框架或统计数据。

多文件显示

- 可以显示一个以上数据文件或样品。在 Summit 软件控制面板中选择 Sample 选项。选择菜单图标，并选定 Duplicate。这样可以复制方案中的现有散点图和直方图。

注意 所有复制的图形将标记不同的颜色。

- 手动排列散点图和直方图，或右击白色表格，选择 Arrange Windows，并选定所需选项。
- 要加载其他样品，进入 Summit 软件主菜单，选择 View > Samples。选择样品名称，并进行拖拽操作，以将其他样品加载到模板中。

创建叠加图

叠加图属于特殊的直方图，即在同一个直方图中针对某一参数加载一个以上的样本数据。

如何叠加多个直方图

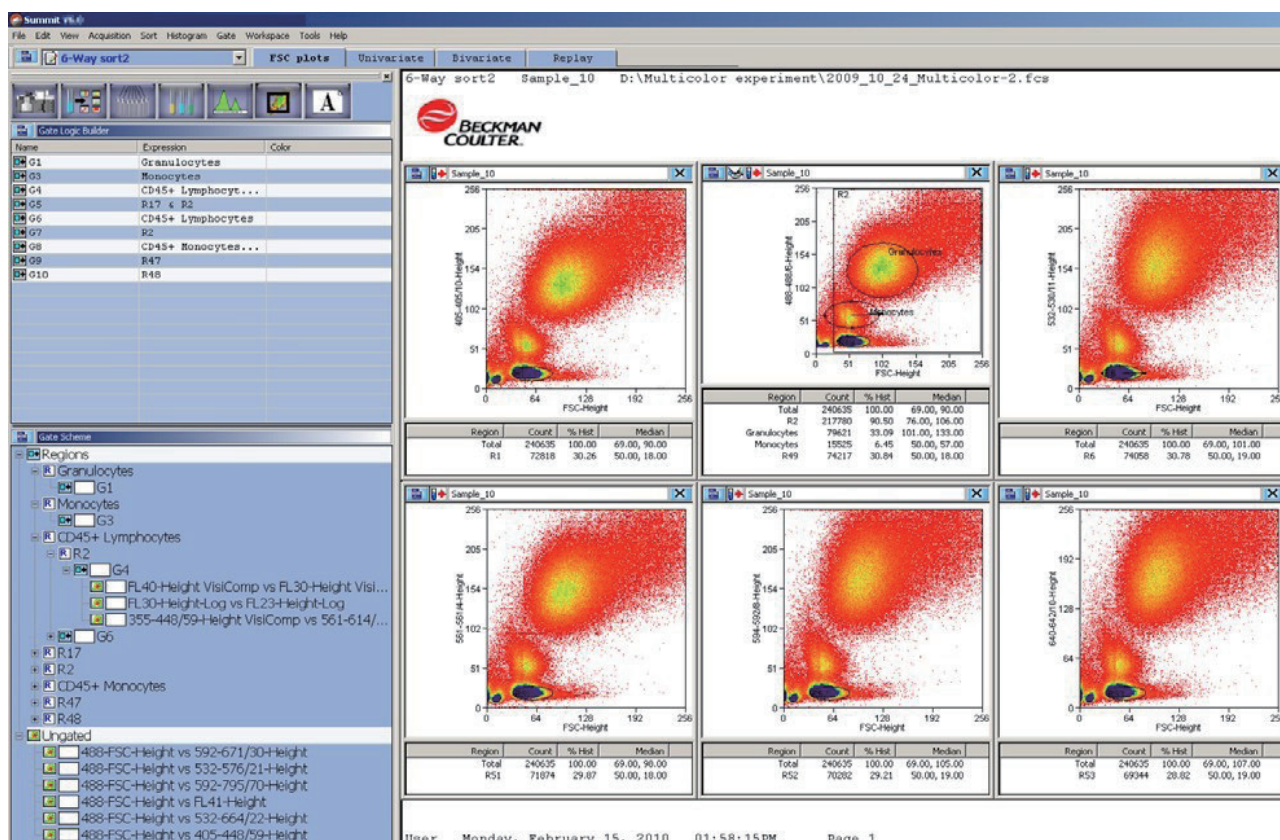
- 1 要创建叠加图，从 Summit 软件控制面板中选择 Histogram 选项。
- 2 选择左侧的下拉框，并选定 Overlay。双击您打算在叠加图上使用的参数。

- 3 要添加数据，进入 Main Overlay Menu（主要叠加图菜单），并选择 Add Data（添加数据）。光标将发生变化。
- 4 选择您打算添加到叠加图中的直方图数据。
- 5 要添加其他样品数据，进入 Summit 软件主菜单，并选择 View > Samples。
- 6 选择您感兴趣的样品，然后将其拖拽到叠加图上。

Gate Logic 选项

通过 Gate Logic 选项，您可以查看和调整门逻辑，并可以将颜色应用到如图 4.59 所示的直方图中。

图 4.59 Gate Logic 选项



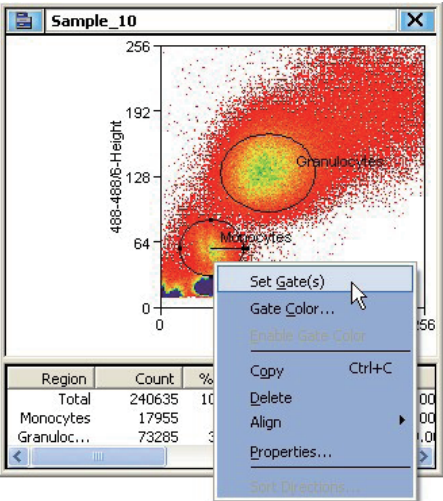
通过单一区域进行设门操作

基于 FSC 和 SSC 直方图中的主要细胞群设门，将清除其他直方图中的数据和 %CV 数值。这样能够避免微球、细胞碎片或粘连体的数值在荧光参数中出现。可以在已经创建区域的散点图和直方图中直接进行设门。

如何对一个或以上的直方图或散点图进行设门

- 1
- 要 对 一 个 直 方 图 或 散 点 图 进 行 设 门 ， 右 击 您 打 算 设 门 的 区 域 ， 从 菜 单 中 选 择 Set Gates。参 见 图 4.60。光 标 将 发 生 变 化。

图 4.60 设门 - 一个直方图或散点图



- 2 使用刚变化过来的光标在方案中的直方图或散点图中双击。一旦应用门后，在该图的标题栏中会有注释，指示门已经应用。参见图 4.61 和图 4.62。

图 4.61 设门 - 应用门

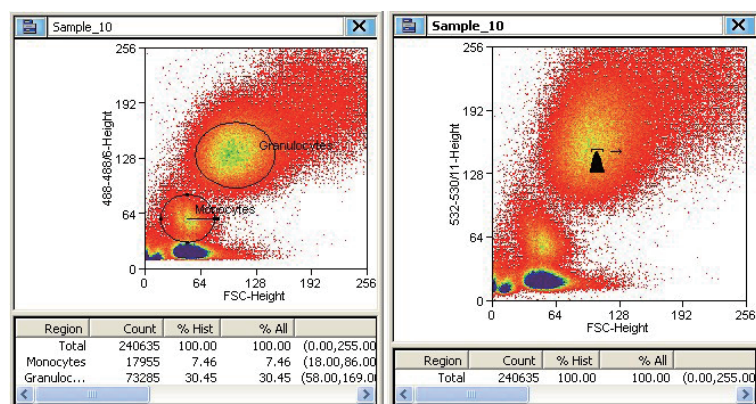
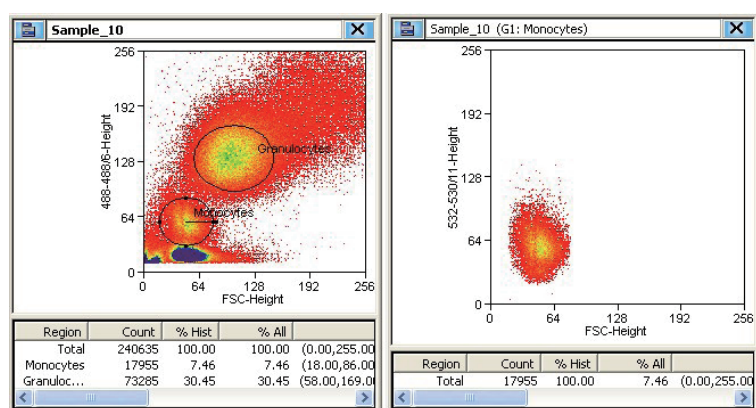


图 4.62 设门结果



- 3 要对一个以上直方图或散点图进行设门，右击您打算设门的区域，然后从菜单中选择 Set Gates。光标将发生变化。
- 4 使用刚变化过来的光标，选定（单击）您打算设门的所有直方图或散点图。在最后一个直方图或散点图中，双击即可应用门。
- 5 如果您需要移除门，选择直方图或散点图主菜单图标，并选择 Ungate，或右击已设门区域的外侧，并选择 Ungate。

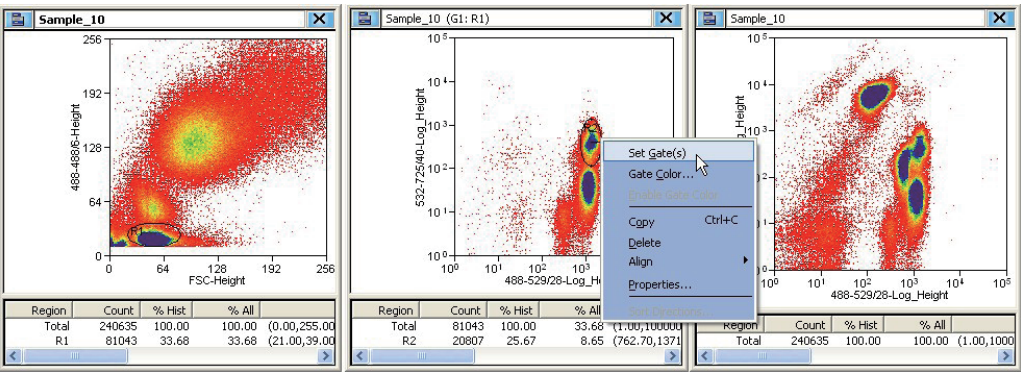
设置连续门

当散点图或直方图中的区域用于设门时，该图任何已有门控区域将自动附加到新的门上，连续门选项发挥作用。例如，某一散点图本身基于两个区域进行设门 (R1 & R2) 时，如果在该散点图中创建 R4 区域，并将其用作另一个直方图或散点图的一个门时，连续门选项将把新应用的门定义为 (R1, R2, R4)。不选择连续门时，仅选定的区域 (R4) 门将被用于目标直方图或散点图上。

如何在直方图或散点图中实现连续门

- 1
- 打开一个方案，在第一个散点图中创建一个区域 (R1)。右击，并将门从 R1 设定到第二个散点图中。参见图 4.63。

图 4.63 设定连续门 1



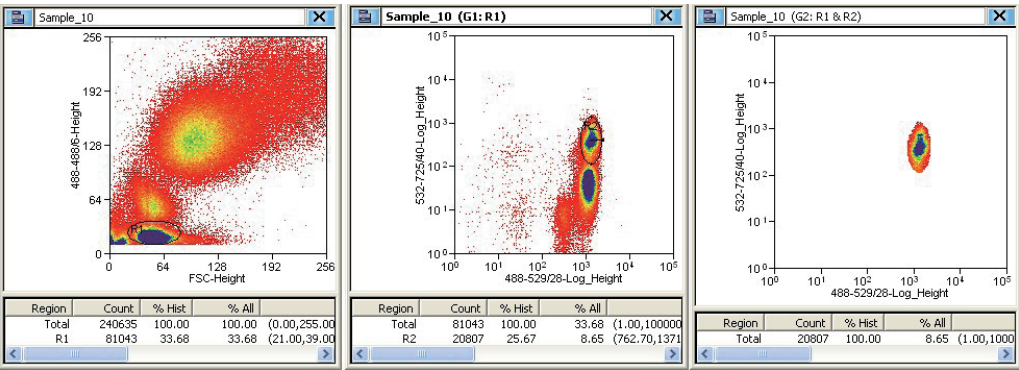
- 2
- 在第二个散点图中创建区域 (R2)。
- 3
- 在区域 (R2) 中右击，然后选择 Set Gates。Combine region and gate? 对话框将显示。
- 4
- 选中 Make my choice the default and don't ask me again 复选框，禁用此对话框。选择 Yes 激活连续设门。选择 No, use just this region。参见图 4.64。

图 4.64 Combine Region and Gate（合并区域和门）



5 在最后一个散点图中双击，以应用门。参见图 4.65。

图 4.65 设定连续门结果



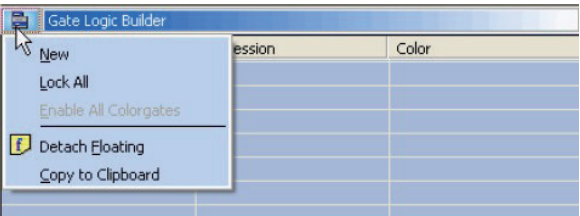
Gate Logic Builder（门逻辑生成器）

通过位于 Gating 选项左上位置的 Gate Logic Builder，您可以定义门逻辑，并以图表形式查看门逻辑。

如何定义（编辑）门逻辑

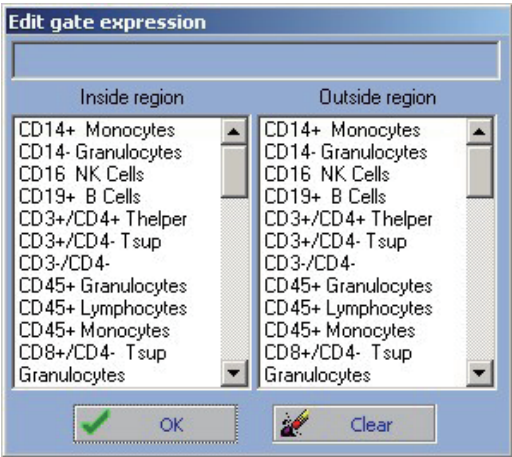
- 1 在 Summit 软件控制面板中选择 Gating 选项。
- 2 选择 Gate Logic Builder 面板中的左上图表，然后选择 New 创建新门，如图 4.66 所示。

图 4.66 Gate Logic Builder



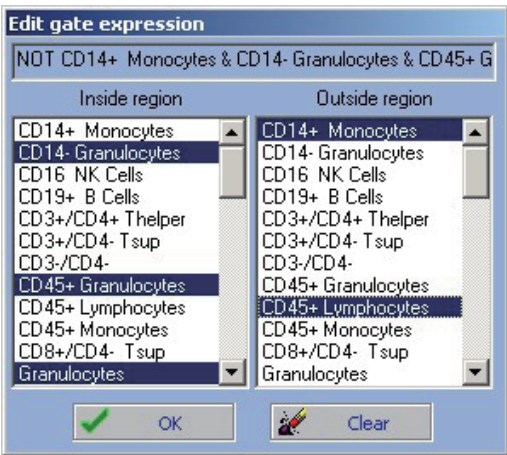
3 双击 Expression 列中的文本区域。Edit Gate Expression 对话框如图 4.67 所示。

图 4.67 Edit Gate Expression 选项



4 选择即将纳入门中的一个或以上区域，并选定 OK。要清除所有选定区域，请选择图 4.68 所示的 Clear。

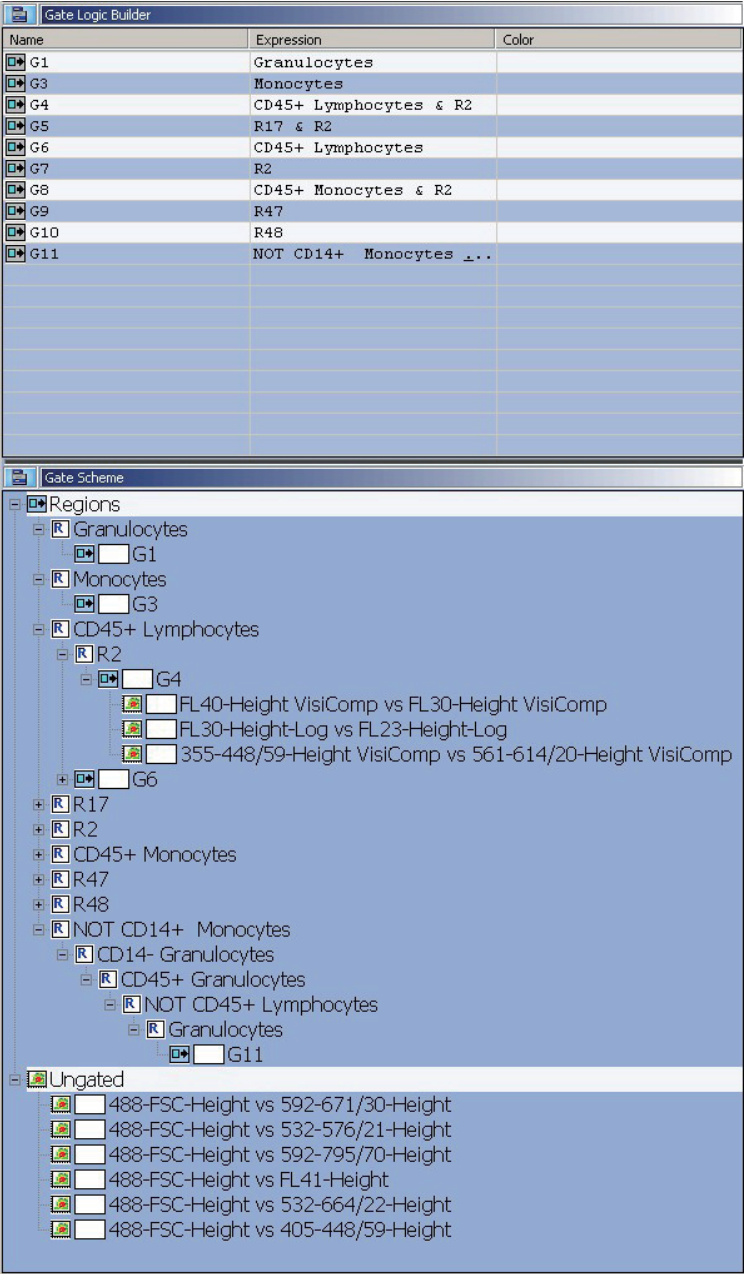
图 4.68 选择门表达式



注意 可以对门进行定义，以将落入特定区域内或者区域外的这些事件纳入其中。可用的区域数目与当前方案中创建的区域数目相关。

新定义的门表达式将出现在 Gate Logic Builder 的 Expression 列中，当前的设门方案将出现在 Gate Scheme 面板中，如图 4.69 所示。

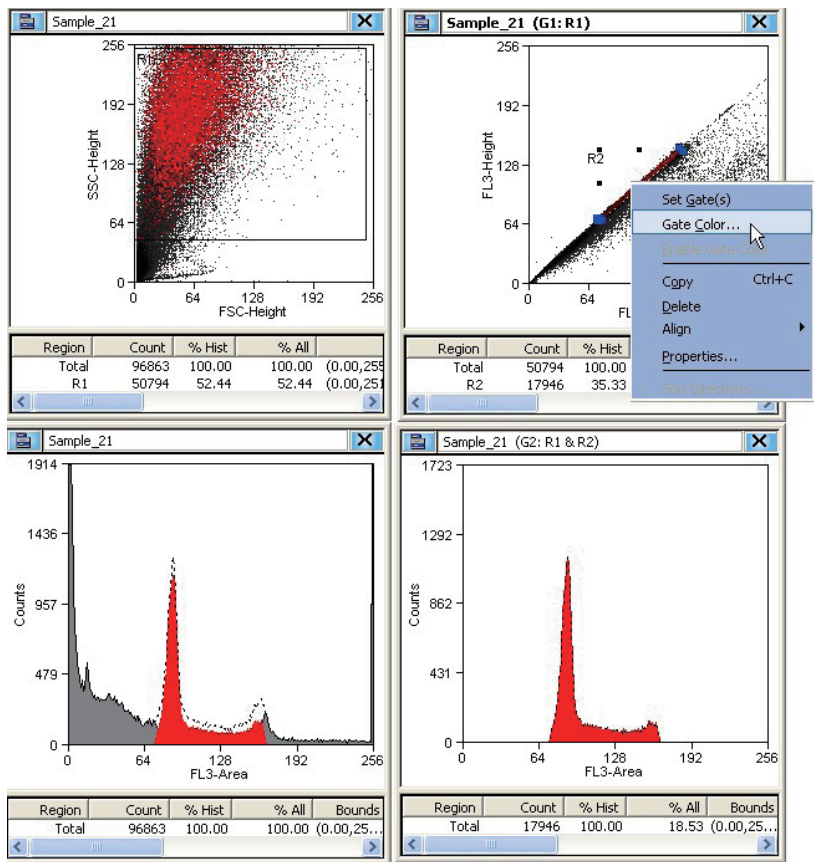
图 4.69 Gate Logic Builder 和 Gate Scheme 面板



门控颜色

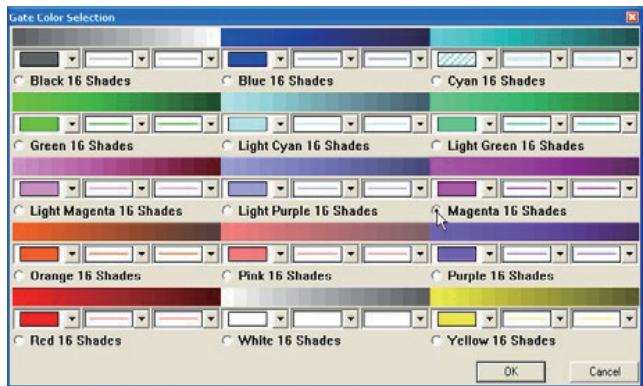
- 1
- 如果您需要用门控颜色查看单细胞和粘连细胞群体，右击包含单细胞群体的区域，并选择 Gate Color。参见图 4.70。有关粘连体辨别，请参见第 8 章 分选和 IntelliSort 中的分选决策和粘连体。

图 4.70 门控颜色图



- 2
- 从颜色选择面板中选择一个颜色，并选定 OK。参见图 4.71。

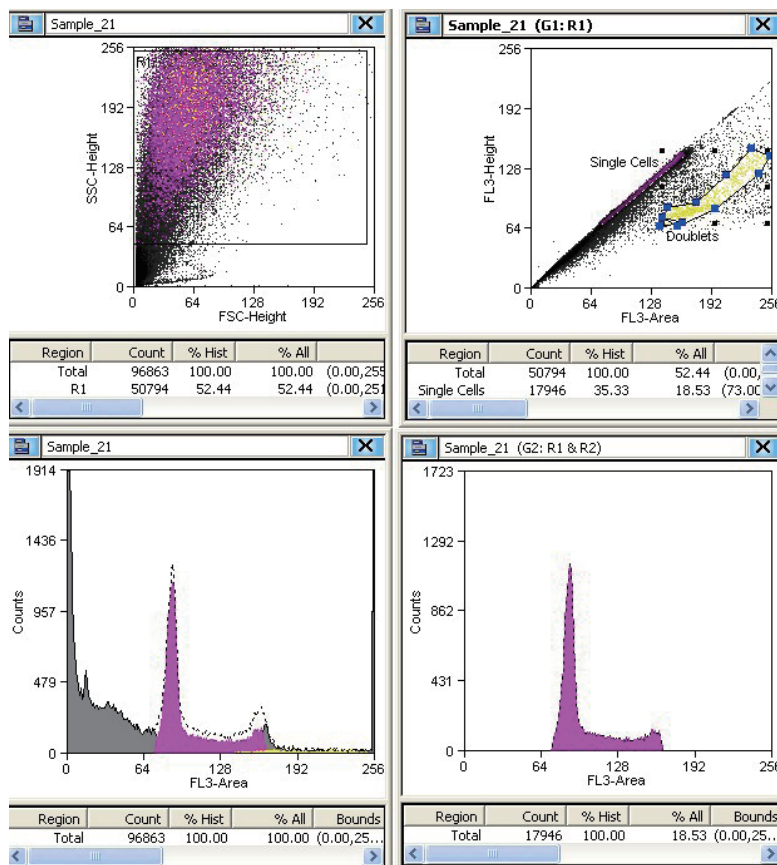
图 4.71 门颜色选择



3

图 4.70 所示的单细胞群将出现在图 4.72 中，呈品红色。粘连体细胞群体呈黄色。

图 4.72 具有门控颜色的单细胞群体和粘连体细胞群体



注意 通过选择图 4.73 所示界面的右上角图标，实现门控颜色的来回切换。

图 4.73 切换门控颜色



4 如果有必要识别粘连体，则需要创建新的区域。拖动散点图中的该区域，直至对粘连体细胞群体进行准确定位。

将颜色应用到门的另一个方法，就是双击特定门的 Color 列，并选择一个颜色。参见图 4.74。

图 4.74 编辑门控颜色

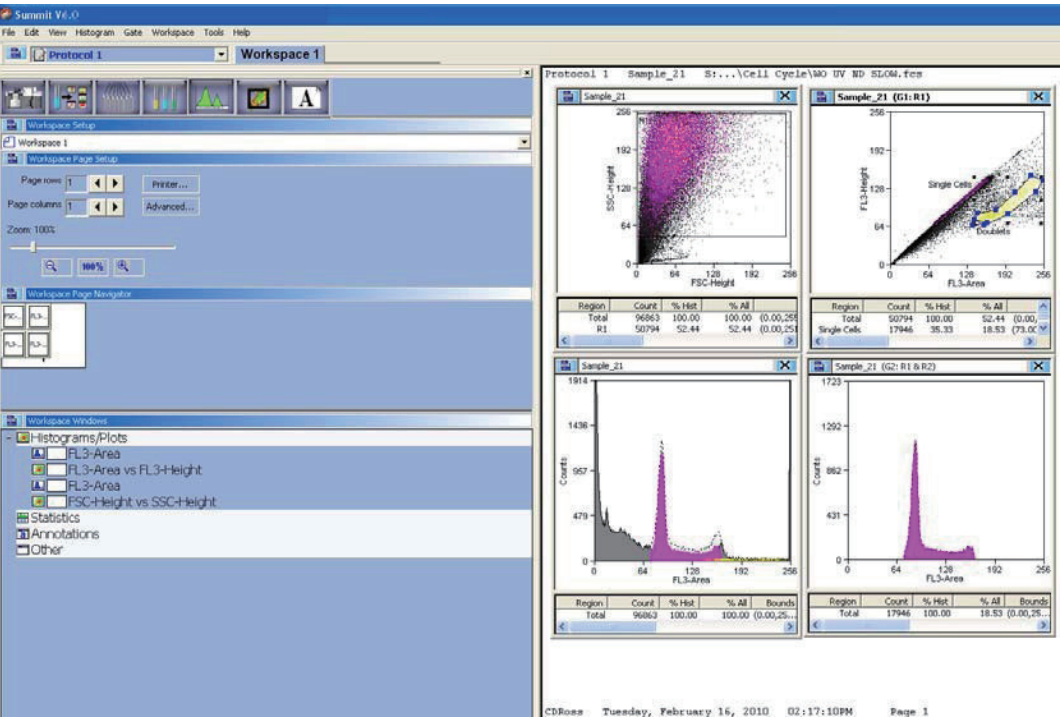
Gate Logic Builder		
Name	Expression	Color
G1	R1	
G2	R1 & Single Cells	
G3	Single Cells	Magenta 16 Shades
G4	Doublets	Yellow 16 Shades

注意 应用到散点图和直方图的颜色顺序与 Gate Logic Builder 所列的门顺序相关。例如，如果应用到稀有细胞群的门控颜色被覆盖，那么，您可以重新排列门控顺序（使包含稀有细胞群体的门控在优先位置），从而突出显示该颜色，以便更容易识别这些稀有事件。

Layout（布局）选项

Layout 选项有助于改变 Workspace 的外观，并复制和分享所有直方图，打印 Workspace 的全部或部分内容。参见图 4.75。

图 4.75 Layout 选项



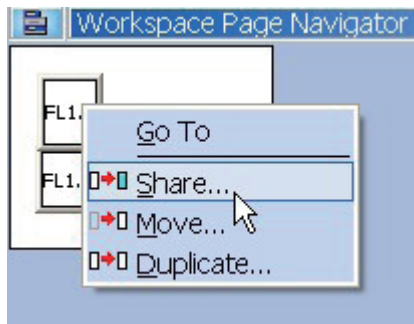
Workspace Page Setup（工作区页面设置）

通过 Workspace Page Setup 面板，您可以从 Workspace 中添加和删减页面，缩减或放大页面布局，并打印工作区页面。

Workspace Page Navigator（工作区页面导航器）

通过 Workspace Page Navigator，您可以选择和拖动所有图的缩略图，在版面中对其进行重新定位。通过 Workspace Page Navigator，您还可以对 Workspaces 之间的所有图进行 Share（共享）、Move（移动）和 Duplicate（复制）等操作。参见图 4.76。

图 4.76 Workspace Page Navigator（工作区页面导航器）



Go To（转到）

Go To 选项能够激活选定的直方图。

Share（共享）

Share 选项能够在选定的工作区创建直方图的共享拷贝本。共享直方图或散点图后，对其区域或属性的任何更改（除位置和尺寸）将会反映到共享拷贝本中。

Move（移动）

通过 Move 选项，您可以将直方图从一个工作区移动到另一个工作区。

Duplicate（复制）

通过 Duplicate 选项可以在选定的工作区创建直方图的未共享拷贝本。对任何拷贝本所作的更改将不会反映到其他拷贝本中。

快捷键

以下列表描述了 Summit 软件中的键盘快捷键。

快捷键	功能
F1	打开 Summit 软件的在线帮助系统。
F2	开始 / 停止采集数据。
F3	将采集数据保存到驱动盘（C 或 D 盘等）、网络、磁盘或 CD 中。
F4	开始 / 停止分选。
F5	暂停
F6	打开 CyClone 菜单。
F7	打开当前工作区的 Create New Histograms（创建新直方图）对话框。
F8	打开显示当前数据库中所有已加载样本文件的窗口。
F9	打开 Drop Delay Wizard（液滴延迟向导）。
SHIFT + 箭头	用于在选择后扩展箭头所示方向上的区域（左、右、上、下）。
CTRL + 箭头	用于在选择后收缩箭头所示方向上的区域（左、右、上、下）。
CTRL + O	开启用于打开一个或以上 FCS 数据文件（LMD）的对话框。
CTRL + S	将所有更改保存到当前加载的数据库中。请注意，上述操作将在每隔 1 分钟自动完成（默认），也将在 Summit 关闭时自动完成。自动保存的时间间隔可以通过 Edit > Preferences 进行更改。
CTRL + P	打印 Summit 软件桌面的当前视图。
CTRL + C	复制选定区域，可将其粘贴在直方图中。
CTRL + V	将已经复制的区域粘贴到直方图中。
CTRL + D	打开 Sort Logic and Statistics 菜单。
CTRL + G	打开 Gate Logic（门逻辑）菜单。
CTRL + Z	清除所有采集事件的事件缓冲数据，刷新数据。
CTRL + W	打开 Worklist Panel（工作列表面板）。
SHIFT + F4	开启 Hardware Sort（硬件分选）。
ALT + F4	退出 Summit 软件。
+	在窗口查看文件夹列表时，展开一个节点（用数字小键盘上的 + 符号）。
-	在窗口查看文件夹列表时，折叠一个节点（用数字小键盘上的 - 符号）。
*	展开窗口中包含的整个树形文件夹（用数字小键盘上的 * 符号）。

开机和关机程序

试剂

参见附录 A 可用的清洁剂和消毒剂。

手动开机

开机程序 - 主系统电源和 Summit 计算机 OFF

- 1 一般情况下，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器、生物安全柜（如果是系统的一部分）、触摸屏控制面板以及 Summit 工作台的主电源应保持开启状态。但是，如果系统电源完全关闭，则应遵照以下步骤进行操作。
 - 2 开启生物安全柜（选购）电源（如果是系统的一部分）。
 - 3 开启 Jun-Air 空压机或室内空气压力机。
 - 4 确保下部箱体右后侧的主机箱电源开关处于开启状态，并等待 10 秒。参见图 1.1。
 - 5 按下下部箱体右前侧的 Startup 开机按钮将 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的电源打开。
 - 6 将 Summit Workstation 工作台计算机的电源打开。参见开启 Summit 软件。
-

开机程序 - 主系统电源已经开启

- 1 使用侧挡板上的电源按钮将触摸屏控制面板的电源打开。
-

- 2 如图 5.1 所示，在 Laser Control Panel（激光控制面板）上选择 Laser 选项，并按下 Laser Power 按钮，将激光电源打开。

图 5.1 Laser Control（激光控制）选项



- 3 对于输出功率大于或等于 150 mW 的激光，使用 Laser Output 滑块将激光光强设定为期待值。激光强度的降低不是通过调节激光的输出功率，而是通过调节激光器中的 ND 滤片来完成的。

注意 波长为 355 nm、405 nm 和 640 nm 的激光，功率不可调节。

注意 可以手动调节 UV 激光功率，无需通过触摸屏控制面板进行调节。

- 4 重复第 2 和 3 步，直至您打算使用的所有激光器电源均处于开启状态。

注意 激光器应进行预热和稳定化，至少需要 30 分钟时间。在这个时间可以开启液流。除非 UV 激光器已经开启 30 分钟以上，否则其激光挡板无法打开。

开启 Summit 软件

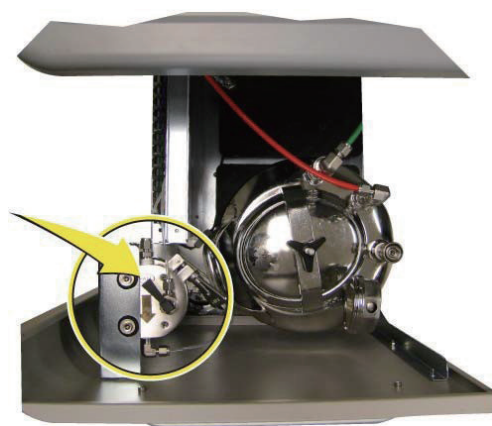
- 1 登录进入 Windows 操作系统。Summit Workstation 工作台的电源一般处于打开状态。
 - 2 双击 Summit 图标  打开 Summit 软件。
 - 3 选择适当的数据库或创建一个新的数据库。参见第 4 章 Summit 软件中的 Summit 软件数据库。
 - 4 如有必要，可以加载校准方案，或针对各项参数在系统上创建直方图。校准方案查找路径如下：
"C:\ProgramData\Beckman Coulter\Summit\6.xx\Protocols\BCI_Alignment.plo"。
- 注意** 创建新方案时，必须启用您打算使用的参数。参见第 4 章 Summit 软件中的启用参数部分。

手动开启液流

- 1 确保废液桶是空的 ，且鞘液桶是满的 。
- 2 按下 SmartSampler 扩展菜单  按钮。
- 3 按下 Change Tanks（换桶）  按钮，对液流进行加压。

-
- 4 待正压和负压稳定后，拉出仪器左侧的液流抽屉，抬起鞘液过滤器的阀排气泡三秒钟，直到连接废液桶上的透明管内不再有气泡为止，然后关闭阀门并归位液流抽屉。参见图 5.2。

图 5.2 对鞘液过滤器进行排气泡处理



注意 要获得最佳结果，首先对液流进行预热，达到稳定状态至少 30 分钟。

-
- 5 按下开启鞘流按钮，打开鞘液流。
-

自动开机

在关机程序期间，您可以将仪器设定为在未来日期和时间自动开机，以便您在准备工作前，预热仪器，并令仪器达到稳定状态。

向导会指导您选择即将打开电源的激光器，并选择在系统开机时，是否对液流进行加压操作。选择自动开机选项后，计时器将倒计时开机时间。可以随时取消自动开机选项。参见关机程序后自动开机。

注意 对于使用可选生物安全柜的用户，必须在仪器准备运行前，提前开启（手动）生物安全柜或将其保持待机模式。否则，必须为系统留出至少 30 分钟的时间，以达到稳定状态。

关机

⚠ 注意

请勿使用仪器右前侧的绿色电源按钮进行关机。因为这样操作会跳过非常重要的清理步骤，还可能损坏内嵌式控制器文件系统。

关机程序后手动开机

重要事项 一旦要执行关机，则必须确保操作者在离开前完成了所有的关机程序。



- 1 按下触摸屏控制面板右下侧的电源按钮 ，初始化关机程序。
 - 电极板将被禁用。
 - Drop Drive 将禁用。
 - 激光器将被关闭。
 - 样品舱将打开。
 - 此时，系统将提示您将一管清洁剂置于样品舱中。
- 2 将一管清洁剂放入 SmartSampler 中。按下**绿色箭头**按钮，继续操作。
 - 清洁剂从进样针流过需要 30 秒左右的时间。
 - 此时，系统将提示您将一管去离子水置于样品舱中。
- 3 将一管去离子水放入 SmartSampler 中。按下**绿色箭头**按钮，继续操作。
 - 去离子水从进样针流过需要 60 秒左右的时间。
 - 此时，系统会出现一条信息，询问您是否想要将仪器设定为自动开启。
- 4 选择 **No**。系统会出现一条信息，询问您是否想要关闭电子系统。通常情况下，电子系统的电源应始终处于开启状态。

注意 当仪器连续若干天不使用时，您可能希望关闭电子系统。
- 5 利用监测器挡板右侧的物理电源按钮，**关闭**触摸屏控制面板的电源。
- 6 关闭 Summit。参见退出 Summit Workstation 工作台。

7 关闭生物安全柜（选配）。

关机程序后自动开机

重要事项 一旦要执行关机，则必须确保操作者在离开前完成了所有的关机程序。

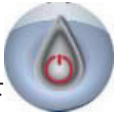
- 1 按下触摸屏控制面板右下侧的电源按钮 ，初始化关机程序。
 - 电极板将被禁用。
 - Drop Drive 将禁用。
 - 激光器将被关闭。
 - 样品舱将打开。
 - 此时，系统将提示您将一管清洁剂置于样品舱中。
 - 2 将一管清洁剂放入 SmartSampler 中。按下绿色箭头按钮，继续操作。
 - 清洁剂从进样针流过需要 60 秒左右的时间。
 - 此时，系统将提示您将一管去离子水置于样品舱中。
 - 3 将一管去离子水放入 Smart Sampler 中。按下绿色箭头按钮，继续操作。
 - 去离子水从进样针流过需要 60 秒左右的时间。
 - 此时，系统会出现一条信息，询问您是否想要将仪器设定为自动开启。
-

4 选择 Yes。此时将显示自动开机显示屏。参见图 5.3。

图 5.3 自动开机显示屏



5 您可以在自动开机程序设置中选择想要开启的激光。

6 如果您想要自动启动对鞘液桶的正压以及对废液桶的负压操作，请按下  开启液流按钮。

7 如果您选择自动开启流控，请确保鞘液桶是满的，且废液桶是空的。打开仪器左下侧的液流抽屉。拔起金属环直至配件松开，以便断开废液桶和鞘液桶上带颜色编码的快速接头配件。

注意 移除带颜色标记的快速接头前，上述桶体必须达到环境压力水平。

8 打开废液桶。



警告

小心因漂白剂引发的化学损伤。要避免接触漂白剂，请使用防护装备，包括护目镜、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

重要事项 不得将漂白剂滞留在废液桶中过夜。如果您打算自动开启液流，请使用经过认可的替代消毒剂。

- 9 旋松桶盖上的螺纹旋钮。当旋钮充分旋松后，可以移除桶盖。清空废液桶，冲洗废液桶，并将适当的消毒剂加入桶中。有关更多信息，请参见第 9 章 清洁和维护中的关机期间的日常清洗程序。

注意 有关经过认可的清洁剂清单，请参见附录 A 可用的清洁剂和消毒剂。

- 10 拔起手柄，移除桶盖，将鞘液桶打开。有关更多信息，请参见第 9 章 清洁和维护中的关机期间的日常清洗程序。

- 11 在鞘液桶中填充鞘液至上部熔接线，并确保排气阀处于关闭状态。

- 12 重连鞘液桶与系统。

注意 按下红色的 X 按钮，即可随时取消自动开机。通过自动开机程序开启仪器后，如果四个小时内无操作，则仪器将自动关机。

- 13 碰触触摸屏控制面板上的 Date and Time area（日期和时间）区域，使用箭头按钮选择开始自动开机的时间和日期。

- 14 按下绿色的“翘起拇指”按钮，确认自动开机设置，并令仪器开始开机倒计时。

- 15 利用监测器挡板右侧的物理电源按钮，关闭触摸屏控制面板的电源。

- 16 关闭生物安全柜（选配）。

退出 Summit Workstation 工作台

- 1 根据需要进行数据备份，关闭 Summit 软件。
- 2 注销 Windows 操作系统。
- 3 建议 Summit Workstation 工作台的电源始终保持打开状态。

换桶

如果在您工作期间，需要填充鞘液桶或将废液桶清空，请执行下述操作（并非开机或关机程序的一部分）。

状态指示器

触摸屏控制面板将显示鞘液桶和废液桶状态指示器：



该符号表示鞘液桶的状态。

绿色 = 鞘液充足

黄色 = 鞘液不足（鞘液桶图标第一次显示黄色时，鞘液桶内只剩 10% 液体）

红色 = 鞘液将尽，立即添加鞘液（当鞘液桶图标达到该状态时，系统将关闭液流。）



该符号上的数值表示鞘液压力。

该符号表示废液桶的状态。

绿色 = 废液很少

黄色 = 废液较多（废液桶图标第一次显示红色时，废液桶内已有 90% 液体）

红色 = 废液桶将满，立即清空废液（废液桶显示该图标，系统将关闭液流）

填充鞘液桶和清空废液桶

注意 如果鞘液桶状态指示器呈红色，表明系统已经关闭液流。转到第 3 步，继续操作。

如何在仪器运行期间加满鞘液桶

- 1 按下 SmartSampler 扩展菜单按钮 。

2

按下 Change Tanks (换桶)



按钮，对桶进行降压并关闭液流。

3

拉出仪器左侧的液流抽屉，并找到鞘液桶。
参见图 5.4。

图 5.4 液流抽屉



- 4 当压力计归零时，断开所有鞘液 (1) 和压力管 (2)。
参见图 5.5。

图 5.5 鞘液桶 - 填充



1. 鞘液至过滤器和 SmartSampler
2. 进压口和释放口

注意 如果压力计尚未归零，请拧动泄压阀直至听到压力冒出的滋滋声。请勿从鞘液槽中移除泄压阀。一旦压力逃逸，请重新拧紧泄压阀。

- 5 将鞘液桶上的桶盖移除（逆时针转动）。要避免污染，请勿触摸桶盖的内部，并将桶盖放在纸巾等干净的表面上。

- 6 填充鞘液桶至上部熔接线。使用 IsoFlow 鞘液或类似液体。

- 7 重新将桶盖放在鞘液桶上，并拧紧（顺时针转动）。



警告

小心人身伤害。满载的鞘液桶非常重。将鞘液桶重新放回液流抽屉时，请使用适当的举升手段或寻求帮助，从而减少背部受伤的可能性。将鞘液桶放在液流抽屉内侧时，应避免将手指置于鞘液桶和金属支架之间而被夹伤。

- 8 小心、谨慎地将鞘液桶放回液流抽屉内侧。避免因将手指置于鞘液桶和金属支架之间而被夹伤。

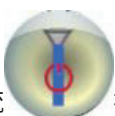
-
- 9 重新连接所有鞘流和压力管（鞘流至过滤器和 SmartSampler，以及进压口）。每个接口的尺寸均不同，以便正确重连。如有需要，请参见图 5.5。
-

- 10 按下 Change Tanks  按钮，开启液流，并对桶体进行加压操作。
-

- 11 按下绿色箭头按钮，退出展开的液流菜单。
-

- 12 待系统正压和负压稳定后，通过提升排气阀三秒再关闭排气阀，从而实现对鞘液过滤器进行排气泡处理。
-

- 13 关闭液流抽屉。为获取最佳结果，应对液流进行预热并稳定至少 30 分钟。
-

- 14 按下开启鞘流  按钮，开启鞘流。
-

注意 如果废液桶状态指示器呈红色，表示系统已经关闭液流。转到第 3 步，继续操作。

如何在工作期间清空废液桶

- 1 按下 SmartSampler 扩展菜单  按钮。
-

- 2 按下 Change Tanks  按钮，对液流进行降压并关闭液流。
-

- 3 拉出仪器左侧的液流抽屉，找到废液桶。
参见图 5.6。



1. 真空
2. 废液



警告

如果接触生物危险废液，会导致生物危害污染。避免皮肤接触。

- 4 当真空计归零后，断开真空管 (1) 和两个废液管 (2)。参见图 5.6。



警告

小心人身伤害。满载的废液桶非常重。从液流抽屉取出废液桶时，请使用适当的举升手段或寻求帮助，从而减少背部受伤的可能性。

- 5 小心、谨慎地将废液桶提升到液流抽屉之外。

- 6 从废液桶上取下桶盖（逆时针转动）。



警告

如果接触生物危险废液，会导致生物危害污染。应避免皮肤接触。按照当地条例和公认的实验室规范处理生物危险废物。

7 按照当地条例和公认的实验室规范处理废物。

8 向废液桶中加入 20 mL 左右经认可的消毒剂，减少污染的风险。有关经认可的消毒剂清单，请参见附录 A 可用的清洁剂和消毒剂。

9 将桶盖放回到废液桶上，并拧紧（顺时针转动）。

10 将废液桶放回到抽屉内侧。



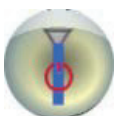
警告

如果接触生物危险废液，会导致生物危害污染。避免皮肤接触。按照当地条例和公认的实验室规范处理生物危险废物。

11 重新连接真空管和废液管。两根废液管可以互换。

12 关闭液流抽屉。

13 按下 Change Tanks  按钮，开启液流，并对桶体进行加压操作。

14 待正压和负压稳定后，按下开启鞘流按钮  打开鞘液流并继续操作。

15 按下绿色返回箭头按钮，退出展开的液流菜单。

仪器校准

每日仪器校准

若上次校准仪器后，喷嘴未移除且压力设置未予更改，则 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器每天都保持在较稳定的状态。本章随后将介绍有关激光粗校准、PMT 和滤光片优化以及前向散射模块校准的详细信息。

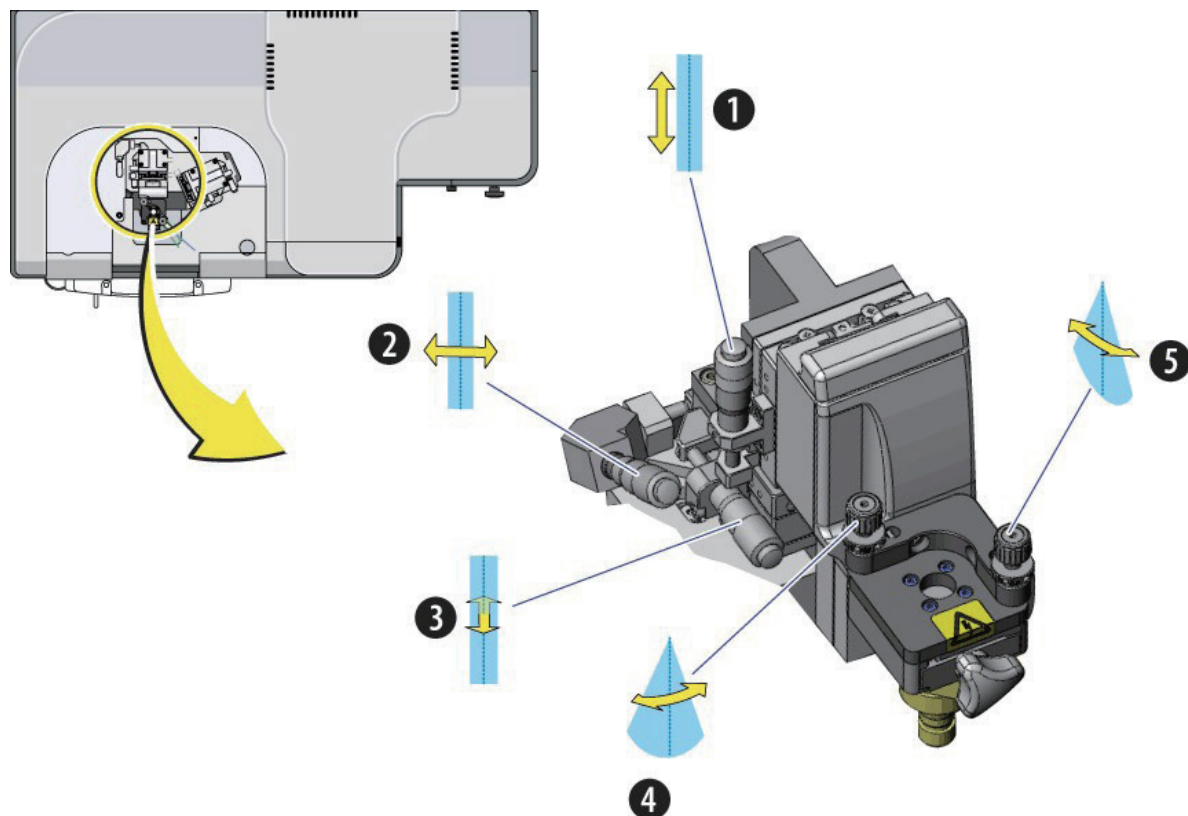
液流校准

液流定位台带五轴位移，包括三个千分尺，如图 6.1 所示的 (1)、(2) 和 (3) 项，以及两个平衡台，如图所示的 (4) 和 (5)。液流定位台位于仪器顶部中间位置，能够控制喷嘴的位置，从而控制液流。

通过对液流的调整，您可以实现液流在收集物镜焦点以及废液收集管中心位置的精确定位。使用调整上下位置的千分尺时，调整千分尺的磁滞现象是非常重要的。提升或放低喷嘴体需要千分尺在相反方向转动 1/4 圈。

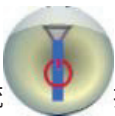
液流定位调整工作台如图 6.1 所示。

图 6.1 液流定位调整工作台



- | | |
|------------------|--------------|
| 1. 千分尺上下移动液流 | 4. 平衡台左右摇动液流 |
| 2. 千分尺前后移动液流（聚焦） | 5. 平衡台前后摇动液流 |
| 3. 千分尺左右移动液流 | |

液流校准程序

- 1 按下鞘液流  按钮，开启鞘液流。

- 2 校准以下信息。
- 鞘液桶压力表显示适用于当前喷嘴头尺寸的正确压力。
参见附录 D CytoCalc 表格获取更多信息。
 - 废液桶压力表显示 10-15 in. Hg.。
 - 鞘液过滤器已经过排气泡处理。
 - SmartSampler 已经过排气泡处理，液滴断开处于稳定状态。

3 在触摸屏控制面板上，选择 Coarse Alignment（粗调）界面。

4 打开照明舱灯，通过针孔来观察液流，如图 6.2 所示。

图 6.2 照明舱灯



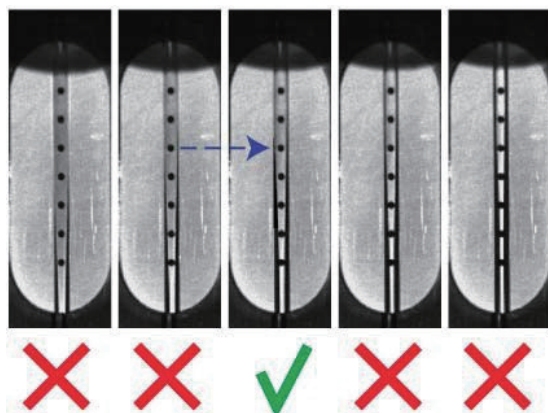
5 检查液流的垂直校准。

- a. 喷嘴将在两个位置之间移动。
 - 位置 1：喷嘴处于操作位置（针孔相机视图中可以看到喷嘴头）
 - 位置 2：喷嘴位置升高（喷嘴几乎移动到垂直行程限值的顶部，但略微向下的位置）
- b. 喷嘴从位置 1 开始：转动垂直千分尺 (1) 将喷嘴置于位置 1。参见图 6.1。
- c. 调整水平千分尺 (2) 将液流置于针孔中间。参见图 6.1。

- d. 调整前后千分尺 (3)，聚焦液流。参见图 6.1。在不同液流位置获取的图像顺序如下所示。将液流与如下图像进行匹配。请注意，在已聚焦的图像中，液流的深色边缘将呈锥形向上移动，并从顶部消失在第三个针孔左右的位置。图 6.3 显示了对液流进行调焦的情况。

注意 由于照射光源位置和针孔排列不同，Astrios^{EQ} 仪器的液流校准针孔照相机图像可能会因仪器而存在差异。

图 6.3 聚焦液流



- e. 顺时针转动垂直千分尺 (1)，将喷嘴提升至位置 2。参见图 6.1。将喷嘴置于顶部位置后，稍微逆时针转动千分尺，并开始向下移动。这样能够清除工作台行程中可能存在的任何磁滞现象。
- f. 如果液流图像仍处于针孔中间位置，且焦点未变，即可实现适当的垂直校准。如果液流在这个步骤未居中或聚焦，请继续第 6 步。
- g. 逆时针转动垂直千分尺 (3)，将喷嘴降至位置 1。参见图 6.1。确保液流仍处于针孔中间位置，且焦点未变。继续进行激光光斑测定。

6

如果液流未能进行适当的垂直校准，那么必须利用图 6.1 中所示的平衡台和千分尺进行调整。

- a. 如果液流图像相对针孔左右移动，则液流将无法校准，此时，必须调整左右平衡台 (4)。参见图 6.1。
- b. 确保喷嘴处于位置 2。

- c. 转动平衡台上的旋钮，此时会提示您正在过度校正位置，您现在的校正量为所需校正量的三倍左右。参见图 6.4。

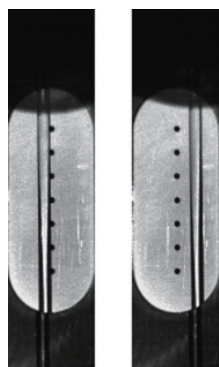
注意 利用平衡台过度校正可以统一实现校准，这种方法比在各迭代中的针孔校准速度更快。

- d. 将喷嘴返回位置 1。
- e. 再次调整左右千分尺 (1)，将液流处于针孔中间位置。参见图 6.1。
- f. 调整前后千分尺 (2)，聚焦液流。参见图 6.1。
- g. 顺时针转动垂直千分尺 (3)，将喷嘴提升至位置 2。参见图 6.1。
- h. 再次调整左右千分尺 (1)，将液流处于针孔中间位置。参见图 6.1。
- i. 调低或升高喷嘴，查看液流是否左右移动。如果左右移动，则重复步骤 a，直至左右平衡台 (4) 定位准确。参见图 6.1。

注意 在液流垂直校准期间的过度校正示例如图 6.4 所示。

当喷嘴处于位置 2 时，校正液流的左右倾斜量（左侧），过度校正左右平衡台，令液流在针孔相反侧的移动距离达到所需的三倍左右（右侧）。

图 6.4 过度校正位置



- j. 如果液流图像脱离焦点，液流未对齐，则必须调整前后平衡台 (5)。参见图 6.1。

注意 利用侧流式垂直更难观测。

- k. 确保喷嘴位于位置 2。
- l. 转动平衡台上的旋钮，以便能够实现对位置进行明显地过度校正，校正量约为所需校正量的三倍。
- m. 调整前后千分尺 (2)，对液流进行调焦，令其与图 6.1 所示的已调焦图像相似。

- n. 调低或升高喷嘴，查看液流的焦点是否发生改变。液流阴影部分将会随着喷嘴上下移动而发生改变。如果发生改变，则重复步骤 j，直至前后平衡台 (5) 定位准确。参见图 6.1。

7 微调左右、前后千分尺 (2) 和 (3)，如图 6.1 所示，令液流处于针孔中间位置，聚焦液流。

8 液流对齐后，将喷嘴头移动到位置 1，直至其处于图 6.4 所示的照相机视图范围内，并继续激光光斑测定程序。

激光光斑测定

液流校准完成后，且激光粗校准后，电子系统必须能够识别激光和液流截距点。要校准和调整激光粗校准，请参见“激光校准”、MLSO 和 UV MLSO。

重要事项 请阅读并熟悉第 8 章 分选和 IntelliSort 中的扣除背景相关内容。

测定激光光斑程序

- 1 按下 Laser and Stream Intercept（激光和液流截距）按钮，随后按下绿色箭头按钮。显示屏提示已经找到激光光斑或激光光斑过大。参见图 6.5。

图 6.5 激光光斑测定界面



- 2 如果显示屏提示激光光斑过大或未能清晰界定，查看与鞘液流相交的尺寸较小且已聚焦的激光光斑的参照图像。调整鞘液聚焦（参见图 6.1 中的千分尺 (3)），直至活动图像与参照图像相似。请勿调整垂直千分尺 (1) 或平衡台。参见图 6.6。

图 6.6 激光光斑定义



- 3 按下绿色箭头  按钮。显示屏提示已经找到激光光斑。参照图像发生改变，如图 6.7 所示。

图 6.7 已找到激光光斑



- 4 调整液流聚焦千分尺 (3)，确保活动图像与新改变的参照图像相似。参见图 6.7。

5

再次按下绿色箭头按钮，确认如图 6.8 所示进行激光光斑测定。屏幕将显示绿色基准线。调整喷嘴垂直 (1) 千分尺，确保喷嘴与绿线齐平，参见图 6.1。



图 6.8 激光光斑测定确认



- 6 再次按下绿色箭头按钮，完成激光截距和喷嘴校准与标定过程。参见图 6.9。绿线将移动到拍摄图像的底部。

图 6.9 激光截距和喷嘴校准与标定



- 7 按下 IntelliSort 初始化按钮。这样能够设置液滴震荡的频率和默认振幅值，使液流形成液滴。如果 Intellisort 初始化失败，请检查显示屏上的喷嘴头尺寸是否正确，并执行扣除背景程序。请参见第 8 章 分选和 IntelliSort 中的扣除背景。现在一切就绪，可以开始对仪器进行微调，随后运行 QC 了。

激光延迟

如果需要,可以在进行质控 (QC) 选项之前,对激光延迟进行测定。更改鞘液压力时,应在微调前,执行“激光延迟计算”程序。在激光延迟前,执行激光光斑测定程序。

正在查找激光延迟

- 1 准备一管荧光微球 (Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles) (用去离子水按照 1:10 的比例进行稀释,达到最终浓度为 1×10^6 个微球 /mL)。参见附录 B 耗材。
-

- 2 将试管置于 Smart Sampler 中。
-

- 3 按下 Laser and Stream Intercept 选项,并选择 Laser Delay 菜单按钮 。
-

- 4 按下绿色箭头按钮 , 启动 Laser Delay。
-

- 5 在菜单界面顶部，Laser Delay Instructions（激光延迟说明）描述了初始化激光延迟计算必须执行的步骤。参见图 6.10。

图 6.10 优化触发通道延迟



- 6 可以随时按下红色的 X 按钮  取消 Laser Delay（激光延迟）。

- 7 完成激光延迟计算后，结果将显示在 Laser Delay Instructions 下面的 Automatic Laser Delay Results（自动激光延迟结果）中，如图 6.11 所示。窗口左侧将显示每根激光的延迟值。窗口底部会显示每次激光延迟计算后的状态、日期、喷嘴头大小、鞘液压力和触发参数信息。

图 6.11 激光延迟优化完成



- 8 要返回主界面，选择绿色返回按钮。

激光校准

仪器安装时，贝克曼库尔特工程师会将光纤耦合激光作为一个单元进行校准。激光耦合校准应每天保持稳定状态。UV 激光是独立激光，需要校准的频率更高。

要验证和调整激光粗校准，请参见 UV BSO 校准。

激光微调

液流校准且激光经过粗校准后，能够找到激光光斑，IntelliSort 已完成初始化，激光延迟已完成设定，通过查看 Fine Alignment（微调）界面的微球群数据以及 Summit 软件中的直方图和散点图完成其他校准。

微调程序（光纤耦合激光）

- 1 进入 Fine Alignment（微调）界面。参见图 6.12。

图 6.12 进入 Fine Alignment（微调）界面



-
- 2 在 Fine Alignment (微调) 界面上, 按下 X-axis Parameter Selector (X 轴参数选择) 并选择 640-722/44 (H), 或者, 系统不配备 640 nm 激光器时, 也可以选择其他参数。

注意 您所选的参数取决于系统的激光器配置。要获取最佳结果, 请选择在针孔上具有最佳光学区分的激光器 (不含 355 nm 激光器)。

以下是针对七个激光系统的针孔顺序。当系统配备的激光器数少于七个, 则针孔位置仍保持不变。

- 640 nm
- 488 nm
- 592 nm
- 561 nm
- 532 nm
- 405 nm
- 355 nm (UV 激光器系独立式, 并直接穿过第七个针孔。)

-
- 3 按下 Y-axis Parameter Selector (Y 轴参数选择) 以及选择 405-448/59 (H), 或者, 系统不配备 405 nm 激光时, 也可以选择其他参数。

-
- 4 按下 Trigger Parameter Selector (触发参数选择) 并选择与 FSC 为相同激光触发的 SSC 作为校准触发参数, 如图 3.4 所示。

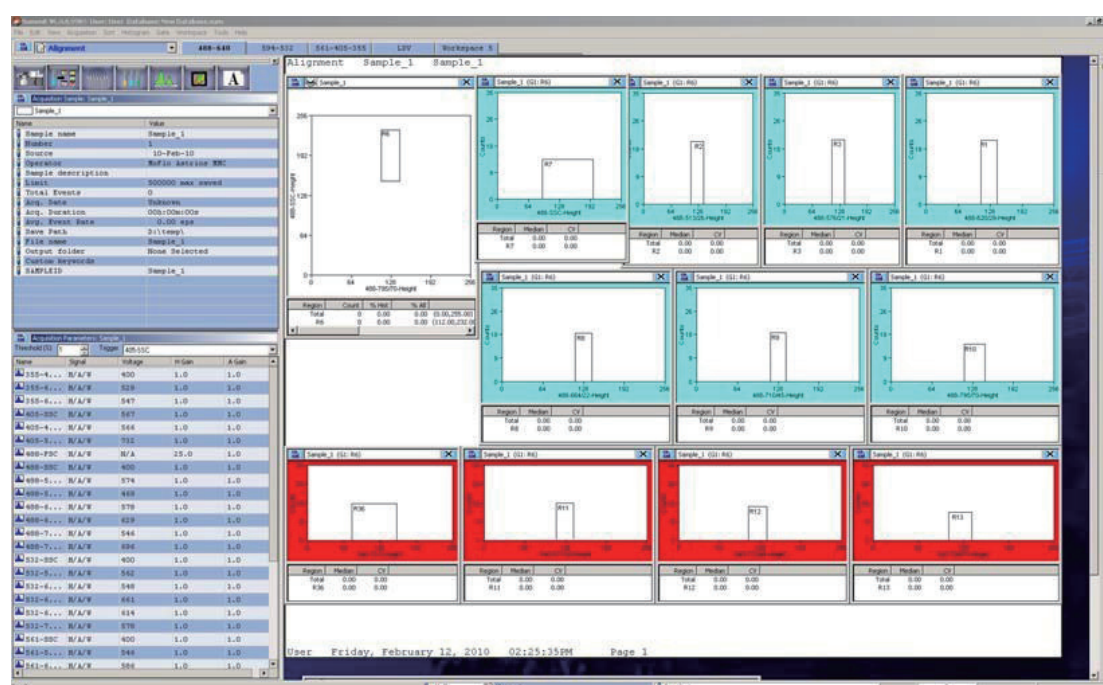
-
- 5 打开所有激光器挡板。
-

6 在 Summit 软件,请选择 File > Protocol > Load Protocol 以打开 Alignment Protocol(校准方案)。

参见图 6.13。该程序在如下路径能够找到: "C:\ProgramData\Beckman Coulter\Summit\6.xx\Protocols\BCI_Alignment.plo"。

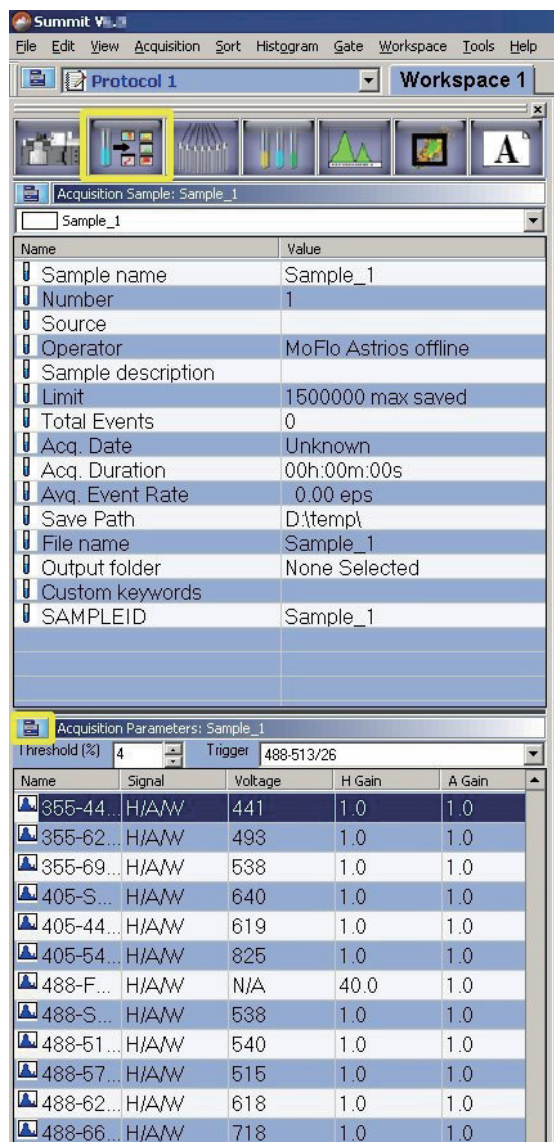
注意 使用该方案时,仅直方图所使用的激光器和 PMT 包含数据; 剩余都是灰色。按照配置需要,用户可以清除直方图,减少杂乱。

图 6.13 校准方案



7 转到 Summit 软件中的 Acquisition 选项，并选择扩展菜单图标 。参见图 6.14。

图 6.14 Acquisition 选项和扩展菜单



- 8 选择 Load Settings，并从最近的过程文件中选择 FCS 设置文件，如图 6.15 所示。这样能够提供可用作微调起始点的初始参数电压。

图 6.15 采集参数 - 上样设置



注意 如果没有仪器设置文件，请跳过该步骤。您可以手动调整每项参数的电压。

- 9 加载一管荧光微球样本 (Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles, 3.0 μm -3.4 μm 微球, 1 x 10⁷ mL)。(用去离子水进行稀释, 稀释比例为 1:10, 达到最终浓度为 1 x 10⁶ 个微球 /mL)，在 Summit 中按 (F2) 采集数据。参见附录 B 耗材。

注意 进行微调时，将 Summit 设定为循环刷新模式是非常有用的。在采集工具栏上选择循环刷新模式  按钮，打开和关闭循环刷新模式。

有关详情，请参见第 4 章 Summit 软件中的循环刷新模式部分。

- 10 确保样品压力超过鞘液压力 0.3 psi，按下 Start Sample（开始上样）按钮。



- 11 按下 Boost（升压） 按钮，直至数据呈现在显示屏上。

注意 如果 Smart Sampler 处于忙碌（正在关闭或正在打开）状态，请勿按下 Boost。

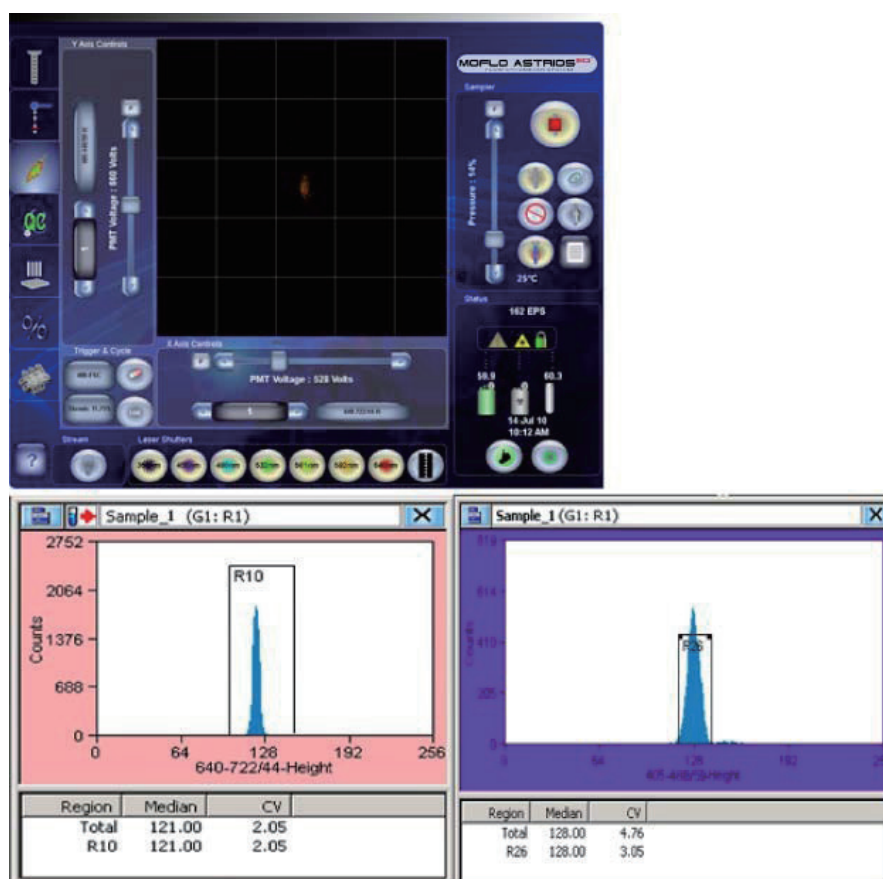
- 12 调整样品压力差，使流速达到 900 - 1000 EPS。

- 13 必要时，调整 PMT 电压，使微球群显示在合适的位置。

重要事项 当您校准仪器并尝试将荧光信号强度最大化时，正确布局和校准二向色性滤光片是非常重要的。如果系统上的滤光片需要校准，请参见 PMT 和滤光片校准，查看适当的图。

- 14 使用 Fine Alignment 显示屏和 Summit 软件，针对每项参数进行荧光强度优化。进行上述操作的目的是，获得相对最优信号，其中一个参数强度没有很高，但两个参数会相互实现强度最优化。参见图 6.16。要进行此项操作，请按照图 6.1 所示调整垂直千分尺 (1)。

图 6.16 Summit 软件和触摸屏控制面板微调



注意 在 Summit 软件中，要查看直方图中的 %CV 统计数据，必须首先创建覆盖细胞群的区域。

- 15 如果系统中配有独立空间的 UV 激光器，那么执行 FSC 校准是非常必需的。仪器校准后，执行第 7 章 质量控制里质量控制程序中的质控程序。

独立激发空间的 UV 激光器微调

独立空间 UV 激光器的 MLSO 的粗调频率高于光纤耦合激光器的 MLSO。有关如何执行粗调的更多信息，请参见 UV BSO 校准和 UV BSO 激光共线校准微球闪烁程序。

UV 激光微调

- 1 打开触发激光器和 UV 激光器的挡板。
- 2 使用触摸屏控制面板或 Summit 绘制 355-692/75 (H) vs. 355-448/59 (H) 点图。参见图 6.17。

图 6.17 UV 激光器微调



重要事项 请勿调整喷嘴的位置。

- 3 上样校准颗粒。优化荧光强度，然后通过调整 UV MLSO 千分尺优化荧光 %CV。

定期校准

有必要根据特定应用或仪器性能，对光学部件进行重新校准。

当信号低于最优值时，因滤光片重新配置或 POD 位移，导致 POD 中的 PMT 和滤光片可能需要重新校准。每月校准一次，更改滤光片配置时，亦须执行上述程序。

最后，如果仪器完全失准，且没有针对激光器的触发信号或数据，用户需要校准 MLSO，以便恢复使用仪器。由维护工程师按照预防性维护计划进行上述校准工作，当信号对用户不可见的情况下，亦须进行上述校准。

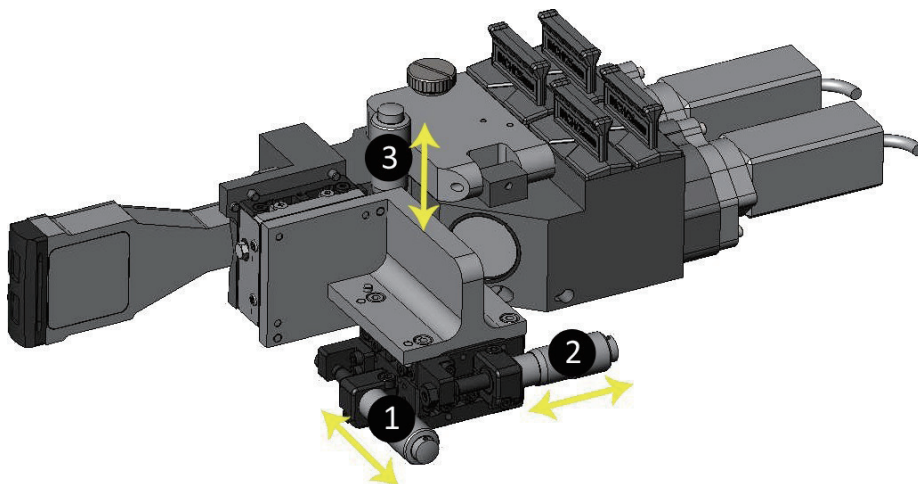
前向散射

前向散射校准

在初始化安装期间，需要对前向散射光学系统进行校准。该程序描述了 FSC 校准，因喷嘴调整、FSC 清洗须定期进行上述操作。

FSC 模块校准需要在 X、Y 和 Z 方向上对三个千分尺进行调整，如图 6.18 所示。第 2 章 系统概述的前向散射光收集部分对 FSC 模块进行了详细描述。

图 6.18 配备校准千分尺的前向散射模块



1. 在 X 方向上移动 FSC 模块（左 / 右）。
2. 在 Z 方向上移动 FSC 模块（内 / 外）。
3. 在 Y 方向上移动 FSC 模块（上 / 下）。

分配前向散射光和滤光片

用户可以通过 POD 配置界面更改用于检测前向散射的激光器,然后存储信息,以便系统能够识别新配置。

重要事项 没有按下 PMT 的电源按钮禁用 PMT 电源时,无法进入 Edit Mode (编辑模式)。(参见图 3.15 中的 (5)。)

1 在触摸屏控制面板 POD 配置显示屏上,按下 PMT 电源 ON/OFF 按钮,禁用所有 POD 中的所有 PMT 电源,进入 Edit Mode (编辑模式)。

2 按下 FSX 激光列表框中的箭头,进入激光选项。

3 选择图 6.19 所示的激光。

图 6.19 选择激光



6 打开覆盖前向散射模块的门,如图 2.8 所示。

5 针对第 3 步中选定的激光器更换每个 FSC PMT 相应的前向散射光滤光片。参见图 2.9。

-
- 6 再次按下电源开关 ON/OFF。系统将进行扫描操作，检测新信息，并将其加载到内存中，并将上述更改通知系统其他部分。
-

根据激光波长调节前向散射光

可以在波长为 405-640 nm 的激光上使用 FSC。按照以下步骤将 FSC 切换至另一个 POD。

-
- 1 在触摸屏控制面板上选择 POD 配置显示屏。
-

- 2 按下 PMT 电源  开 / 关按钮，打开 / 关闭 POD 的电源。
-

- 3 选择所需的 FSC 波长。
-

- 4 将 FSC1 和 FSC2 PMT 前面的带通滤光片调节至适当波长。
例如，如果用户想要用 561-FSC，则 561/4 带通应置于两个 FSC PMT 前面。确保滤光片配置中有适当滤光片，参见利用现有 Astrios 仪器和自定义滤光片编辑滤光片配置。
-

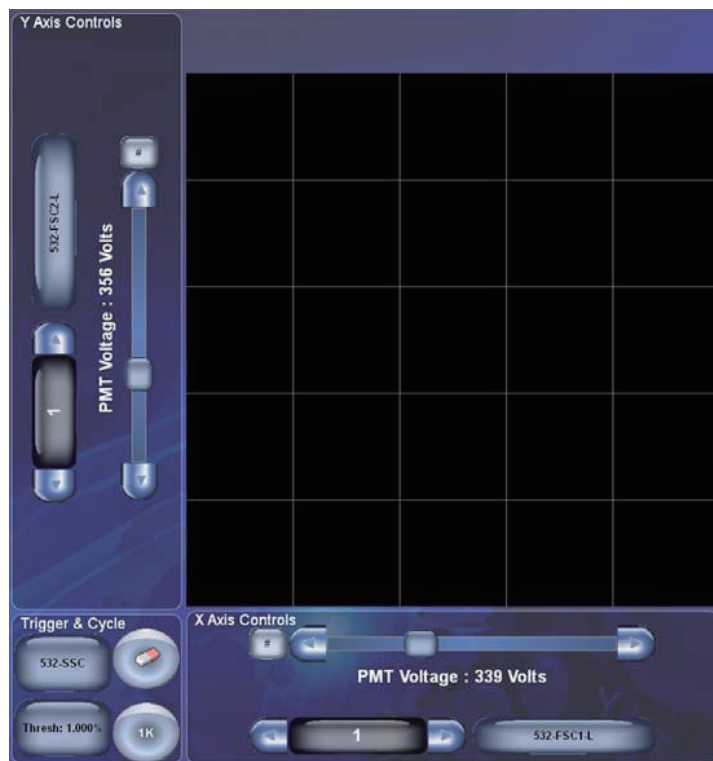
- 5 按下 PMT 电源  开关按钮，打开 / 关闭 POD 的电源。
-

- 6 选择触摸屏控制面板上的 Fine Alignment  选项。
-

- 7 选择适用于 X 参数的 FSC1-Log Height，以及适用于 Y 参数的 FSC2-Log Height。
-

- 8 使用与 FSC 相同的波长触发侧向散射光（本例中，我们使用的是 532-SSC）。参见图 6.20。

图 6.20 触发侧向散射光



- 9 将阈值设定为 1%。
- 10 将做好的荧光微球样本进行上样检测（Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles）。（用去离子水进行稀释，稀释比例为 1:10，达到最终浓度为 1×10^6 个微球 /mL）。参见附录 B 耗材。
- 11 开始上样，上样速度为 200 EPS。

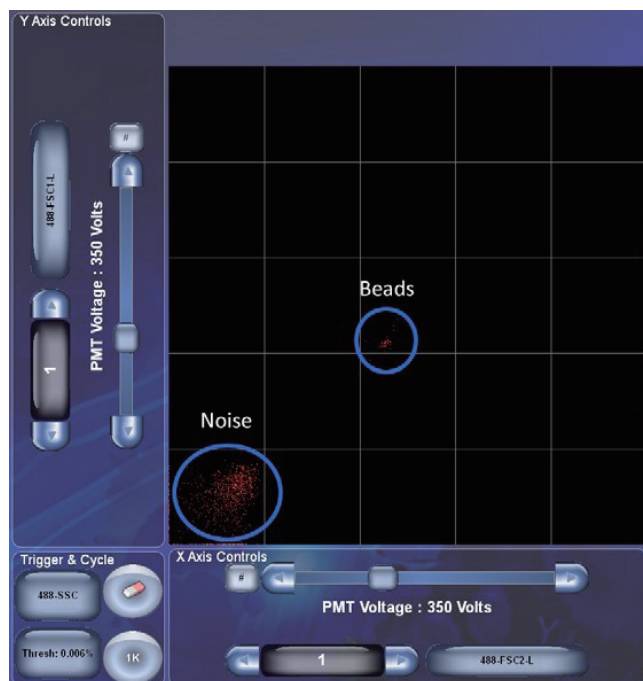


- 12 在触摸屏控制面板上将循环刷新数据设定为 1K。

- 13 停止上样，设定阈值，确保 1000 EPS 时能看到噪点。

- 14 开始上样，随后取下 PMT 前面的 ND 滤光片，观察噪点上方的微球峰值。电压约为 350 v 左右。参见图 6.21。（本例中，我们用的是 FSC 488 激光，并触发关闭 488-SSC。）

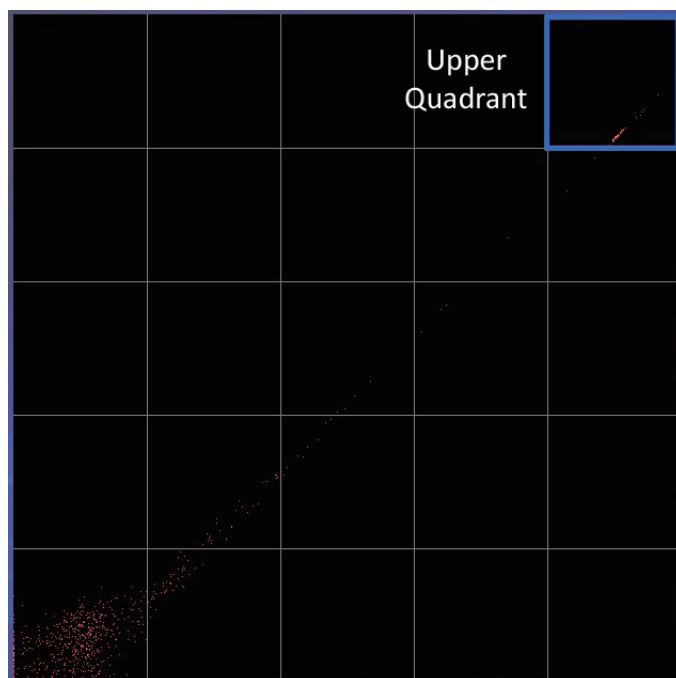
图 6.21 可视化微球峰值



- 15 根据不同的激光光斑移动 FSC 部件。调整 FSC 光学系统上的 Y（上 / 下）千分尺 (3)，直至 FSC1 和 FSC2 微球群达到最大 median 值。根据当前和所需激光光斑选项，将千分尺从 1/5 圈调整到 1 整圈。

- 16 如果微球脱离合适位置，则更换 ND 滤光片，并调整 FSC 电压，直至可视化微球群，微球群位于上部十字象限中。参见图 6.22。

图 6.22 调整 FSC 电压



- 17 在触摸屏控制面板上选择 FSC1-Height vs. FSC2-Height。

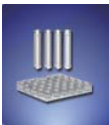
- 18 按照顺序调整 X、Y 和 Z 轴，将微球 median 值最大化。

- 19 遵照下一节前向散射微调中的内容进行操作。

前向散射微调

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器已通过荧光或侧向散射参数触发器经过荧光粗 / 微调步骤实现校准。在 FSC 需要优化时或之后，按照本部分内容进行操作。

- 1 从 Mask 舱中取出所有 Mask，将中性密度 1.0 吸收滤光片安装在 PMT 前面。为靶向 FSC 激光器安装激光 / 带通滤光片。检查滤光片清洁度，如有必要，应予以清洁。

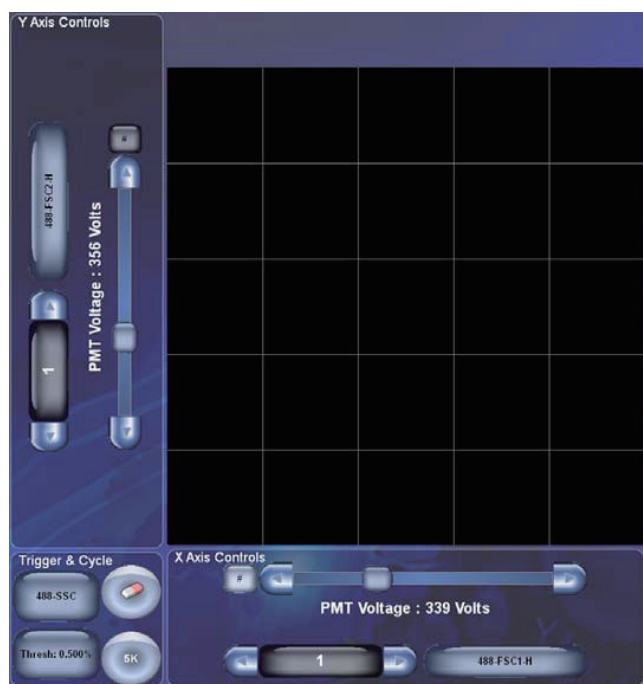
- 2 在触摸屏控制面板上选择 Sort  选项，选择 Manual Droplet Setup（手动液滴设置）



按钮，并禁用 Drop Drive。

- 3 选择 Fine Alignment 选项，并为 X- 参数选择 488-FSC1-Height，为 Y- 参数选择 488-FSC2-Height。参见图 6.23。

图 6.23 使用微调为 FSC 1 和 FSC2 设置参数



- 4 将触发器设定为非 FSX 参数



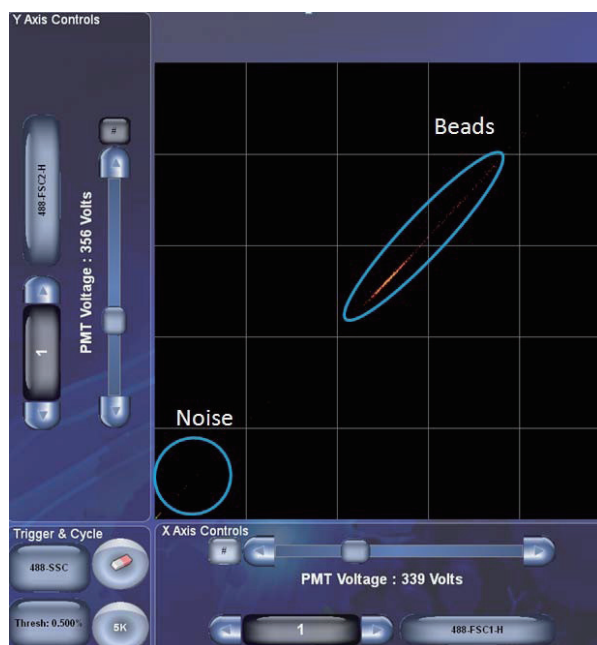
- 5 调节阈值，选择 Thres:1.000%  按钮，确保在无上样时，触摸屏控制面板上的事件数目低于 10。

6

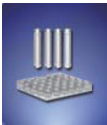
校准过程：

- 加载一管荧光微球样本（Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles）（用去离子水进行稀释，稀释比例为 1:10，获得最终浓度为 1×10^6 个微球 / mL）。参见附录 B 耗材。
- 开始上样，进行升压操作，直至触摸屏控制面板上能看到事件，上样速度为 100 EPS 左右。
- 调整 FSC 千分尺 Y 轴（上 / 下）的千分尺 (3)，通过 FSC1 和 FSC2 参数获取微球群的最高 median 值。参见图 6.18。
- 调整 FSC 千分尺 X 轴（左 / 右）上的千分尺 (1)，使用 FSC1 和 FSC2 参数获取微球群的最高 median 值。参见图 6.18。
- 调整 FSC 千分尺 Z 轴（内 / 外）上的千分尺 (2)，使用 FSC1 和 FSC2 参数获取最高 median 值。参见图 6.18。
- 重复第 c、d 和 e，直至无法再提高 median 值。
- 调节两项 FSC 参数的电压，以便微球群位于中间位置。参见图 6.24。

图 6.24 校准程序



7

在触摸屏控制面板上选择 Sort  选项，选择 Drop Drive  按钮开启液滴震荡。

8 将触发器更改为其中一个 FSC 参数  .

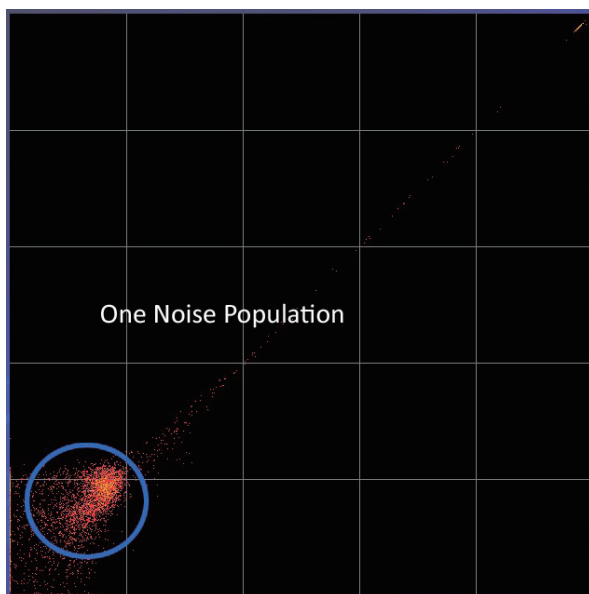
9 将点图参数更改为 488-FSC1-L 和 488-FSC2-L (Log Height) 。

10 降低阈值，以便在上样速度为 25,000 - 50,000 EPS 时的噪点，并重新开始上样。

11 检测触摸屏控制面板以及数据显示。

- a. 将数据循环量更改为 0。
- b. 如果仅能看到一个细胞群体，如图 6.25 所示，则表示用户已经完成 FSC 校准。

图 6.25 FSC 校准



- c. 如果看到两个噪点群体，则用户需按照下节内容“附加 FSC 校准（如果需要）”进行操作。噪点群体因每个 MoFlo Astrios^{EQ} 系统液滴震荡频率、振幅和喷嘴的不同而异。参见图 6.26 以及图 6.27 所示。

图 6.26 噪点群体示例 1

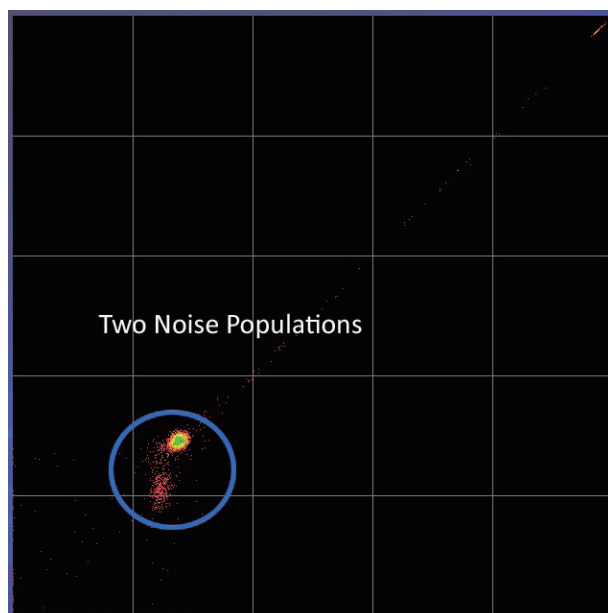
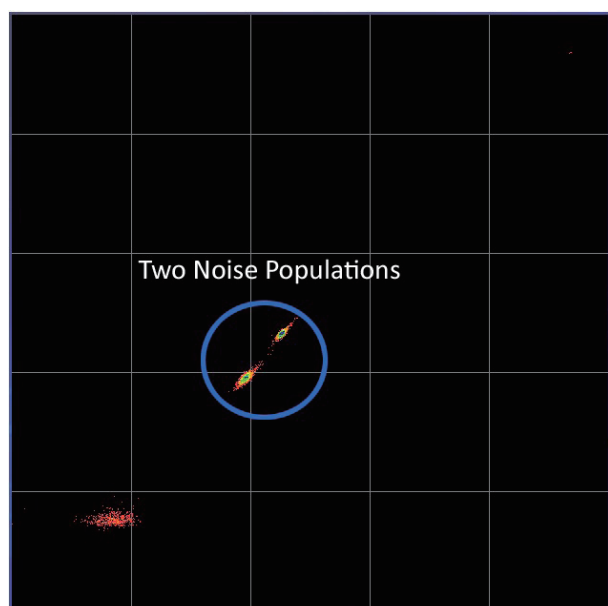


图 6.27 噪点群体示例 2



12 附加 FSC 校准（如果需要）：

- a. 如果需要，继续上一节的校准操作，前向散射微调。
- b. 调整千分尺 (3)，仅 FSC 千分尺 Y 轴（参见图 6.18），直至两个噪点群体合并成一个群体。
参见图 6.28 和图 6.29。

图 6.28 FSC 校准未完成，两个噪点群体

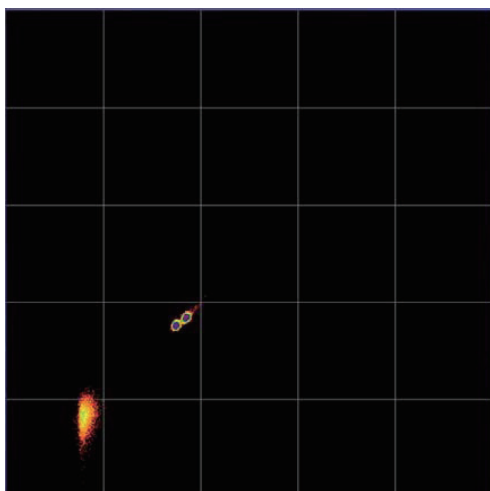
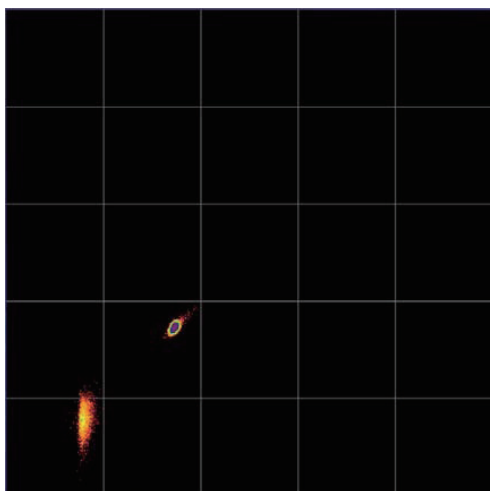


图 6.29 FSC 校准完成，一个噪点群体



- c. 当两个群合并后，FSC 模块即已校准。

13 返回触发器，并将阈值恢复至初始值，使噪点低于 10 EPS。

优化仪器进行小颗粒分析

本节描述了使用 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器前向散射光进行小颗粒检测的一系列最佳方法。

设置仪器

必须利用带双向 PMT、相关 Mask 和滤光片的 Astrios^{EQ} FSC 模块来设置 MoFlo Astrios^{EQ}。建议用户进行第 9 章 清洁和维护中年度液流系统清洗程序，根据需要，清除小颗粒污染。

为进行小颗粒检测，FSC 模块需要使用系统空气供应中的空气过滤器，以及安装在系统中的 0.04 μm 鞘液过滤器。

- 空气过滤器为三段式过滤系统，能够逐步消除尺寸为 0.1 μm 的颗粒物（第一阶段 93%、第二阶段 99.99%、第三阶段 99.9999%）。空气过滤器减少可能产生的气溶胶污染，并向系统输送过滤后的空气。
- 0.04 μm 内置鞘液过滤器能够有效清除亚微颗粒，否则，其将在低 FSC 量程可见。这是适用于当前 0.2 μm 内置鞘液过滤器的插入式替代件。

鞘液的选择对小颗粒检测至关重要。前向散射模块采用了贝克曼库尔特的 IsoFlow 鞘液。IsoFlow 鞘液是非荧光、无叠氮化物的平衡电解质溶液，以 0.2 μm 标准过滤，浓度为 1x。

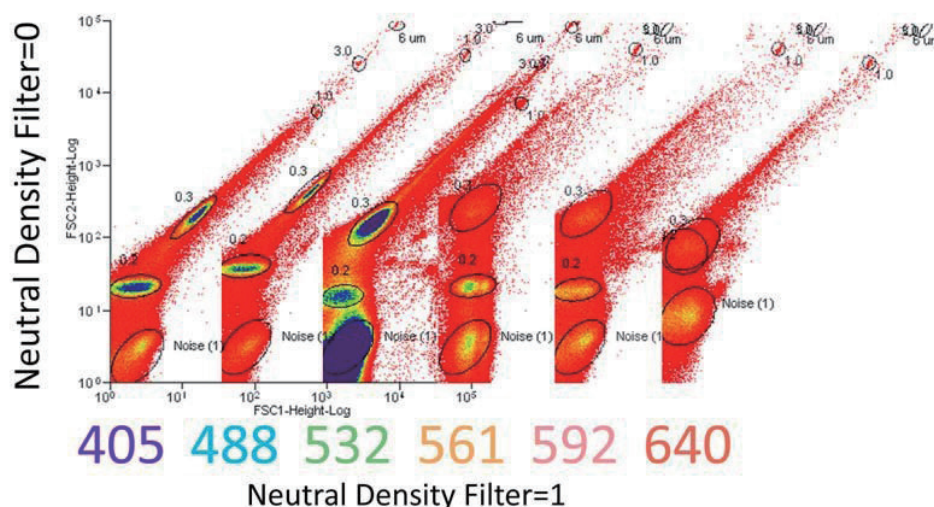
选择适当的光学、ND 滤光片和 FSC Mask

FSC 模块可以使用嵌入式滤光片和 Mask 进行自定义 FSC 检测以达到大量程的散射光收集。分别配置两条 FSC 光路，以便通过两种不同的方式分析相同的样品颗粒。通过独立使用 Mask 和 ND 滤光片，您可以在双变量直方图中绘制相对参数。

选择 FSC 激光激发光路

用户可以用适当的激光带通滤光片对 405-640 nm 光路上的 FSC 进行检测。激光波长增加时，细胞和颗粒的散射模式更加分散。选择 405 nm 或 488 nm 这种非常紧凑的散射模式，进行小颗粒分析，或使用更长波长 (640 nm) 甚至更长的 FSC 模式。参见图 6.30。有关更改 FSC 激光器的详细步骤，请参见设置前向散射激光和滤光片。

图 6.30 使用 ND 滤光片



选择 ND 滤光片

每个 FSC PMT 前面配有 ND 滤光片的空间。安装的 ND 滤光片能够吸收光源，而非反射光源，从而能够在减少光源的时候，降低 FSC 噪点。多种 ND 滤光片可用于不同的应用程序，但一般情况下，1.0 的 ND 滤片即可满足大颗粒物的要求。要同时观察大、小颗粒物，用户可以在一个 FSC 位置上安装一个 ND 滤光片，另一个 FSC 配备一个空的滤光片架。

如图 6.30 所示，使用不同的前向散射 POD 和不同 ND 滤光片，对尺寸在 0.2 至 6 μm 范围内的小颗粒进行检测。直方图显示 FSC-1 (ND 滤光片 +1) vs. FSC-2 (ND 滤光片 - 0) Log Height 在不同的位置配置不同的 ND 滤片。在不使用 ND 滤片且选择低波长激光时，更容易对小颗粒进行分离。

选择 FSC Mask

用户可以根据需要，通过 FSC 模块，在一个或两个 FSC PMT 前面安装 Mask。Mask 设计具有不同的特性，能够灵活适用于众多应用领域。针对大小角度的 FSC，为用户提供三种不同的 Mask。若未安装 Mask，FSC 在起始位置配备一个通用阻挡条。

图 6.31 显示了 FSC 模块配备三种 FSC Mask。S1 和 S2 Mask 使用小角度检测，对大颗粒物检测更有效。M1 和 M2 Mask 可以识别小颗粒，这些 Mask 对于较大动态范围内颗粒尺寸的检测效果更佳。P1、P2 和 P3 Mask 使用不同尺寸的阻挡条，能够有效适用于广泛的应用领域。

图 6.31 FSC 模块配备 FSC Mask

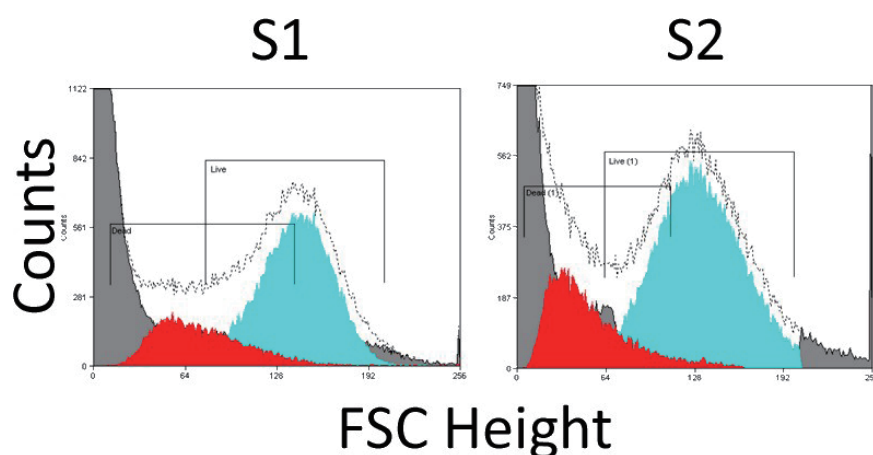


S Mask

Mask S1 和 S2 使用小角度的 FSC。上述 Mask 配备较大的阻挡条及较小的光收集角度。这些 Mask 对于测量相似颗粒之间的微小差异非常有用，比如检测活细胞和死细胞，或者通过 P1、P2 和 P3 添加血液样本。

图 6.32 显示了使用 S1 和 S2 Mask 的小鼠脾细胞群 FSC 高度信号。活细胞和死细胞之间的区分因所选 Mask 而存在差异。

图 6.32 使用 Mask S1 和 S2 识别细胞群

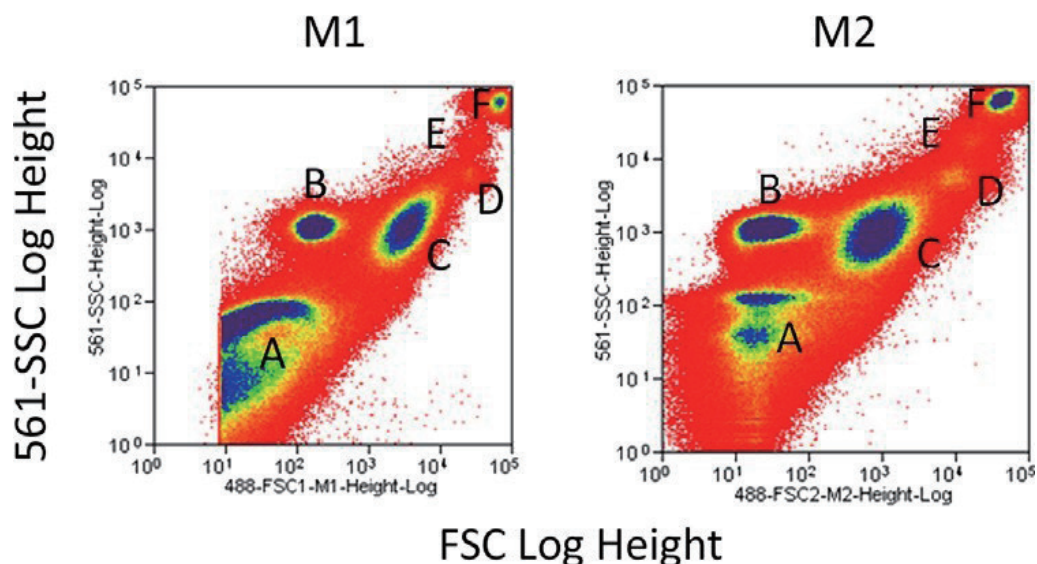


M Mask

FSC 参数也可以使用大角度 FSC Mask（M1 和 M2）来收集光源。较大阻挡条能够减少 FSC 噪点，对微粒等小颗粒物进行分析。还能够实现在较大范围与颗粒尺寸的更佳对应关系。在同时分析全血元素时，例如，微粒、红细胞、血小板、淋巴细胞、单核细胞和粒细胞，上述功能非常有用。

图 6.33 显示了使用配备 M Mask 的 FSC-Height Log 对于微粒和全血的分析性能。M1 Mask 能更好地区分红细胞和血小板。

图 6.33 使用 Mask M1 和 M2 区分微粒和全血细胞



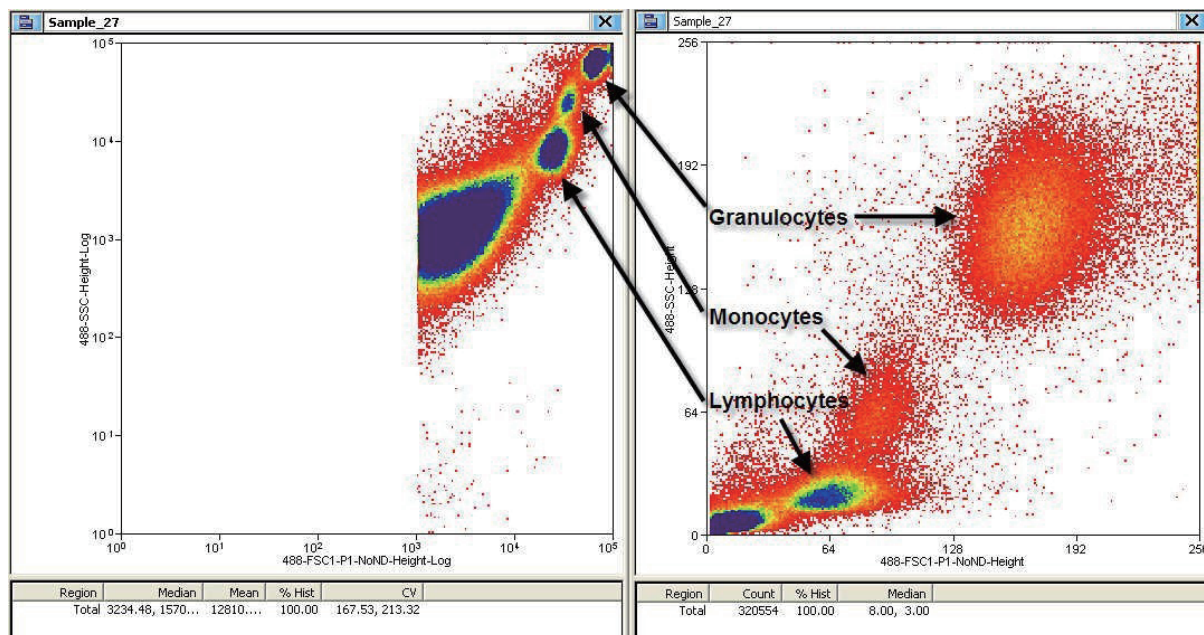
图例：A = 微粒，B = 红细胞，C = 血小板，D = 淋巴细胞，E = 单核细胞，F = 粒细胞

P Mask

P1、P2 和 P3 Mask 为通用阻挡条，适用于大多数应用领域。S 和 M Mask 已高度优化，并基于实际细胞尺寸生成散射模型。另一方面，P Mask 代表更普遍的 Mask，能够模仿在其他仪器看到的前向散射历史模式。P1 Mask 是 S Mask 的广义版本，P3 Mask 是更普遍的 M Mask。P1 Mask（不用 ND 滤光片）可用于观察淋巴细胞、单核细胞和粒细胞，FSC vs SSC 模型与传统流式细胞仪相似。参见图 6.34。

以下数据是人全血和实际样品的代表样品，可能会因血液裂解试剂和血液样品而存在差异。

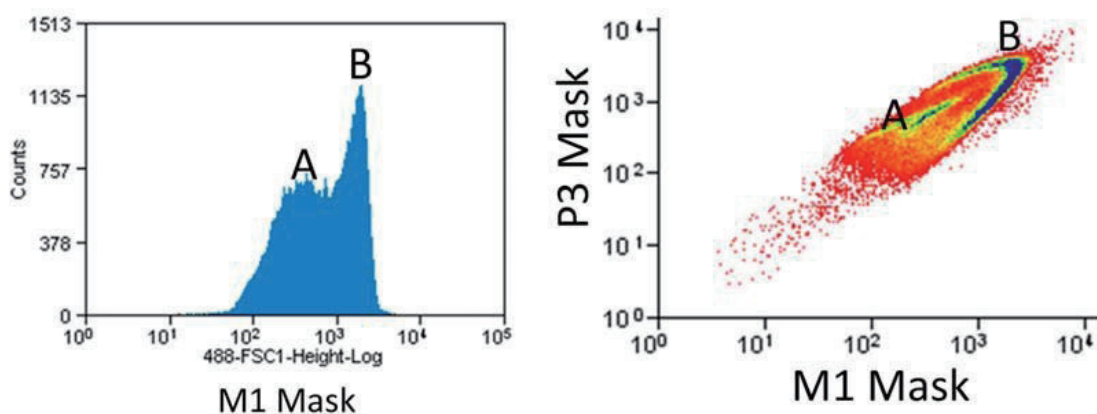
图 6.34 应用 P Mask 分析的血液样本



前向散射配有双 Mask

用户还可以同时使用两种不同的 Mask，针对特殊应用分析双 FSC 双变量。例如，用户可以分析样品，同时采用 M-Mask 和 P-Mask。在单变量 FSC 图中，两个细胞群无法区分；但是，在双变量图形中，两个细胞群表现出不同的 FSC 特性。请注意，在两个细胞群体的 FSC-Log Height 直方图中，如图 6.35 左侧所示，群体 A 和 B 属于不明显群体；但是，在配有两个不同 Mask（P3 和 M1）的双变量中，群体 B 是可以区分的。

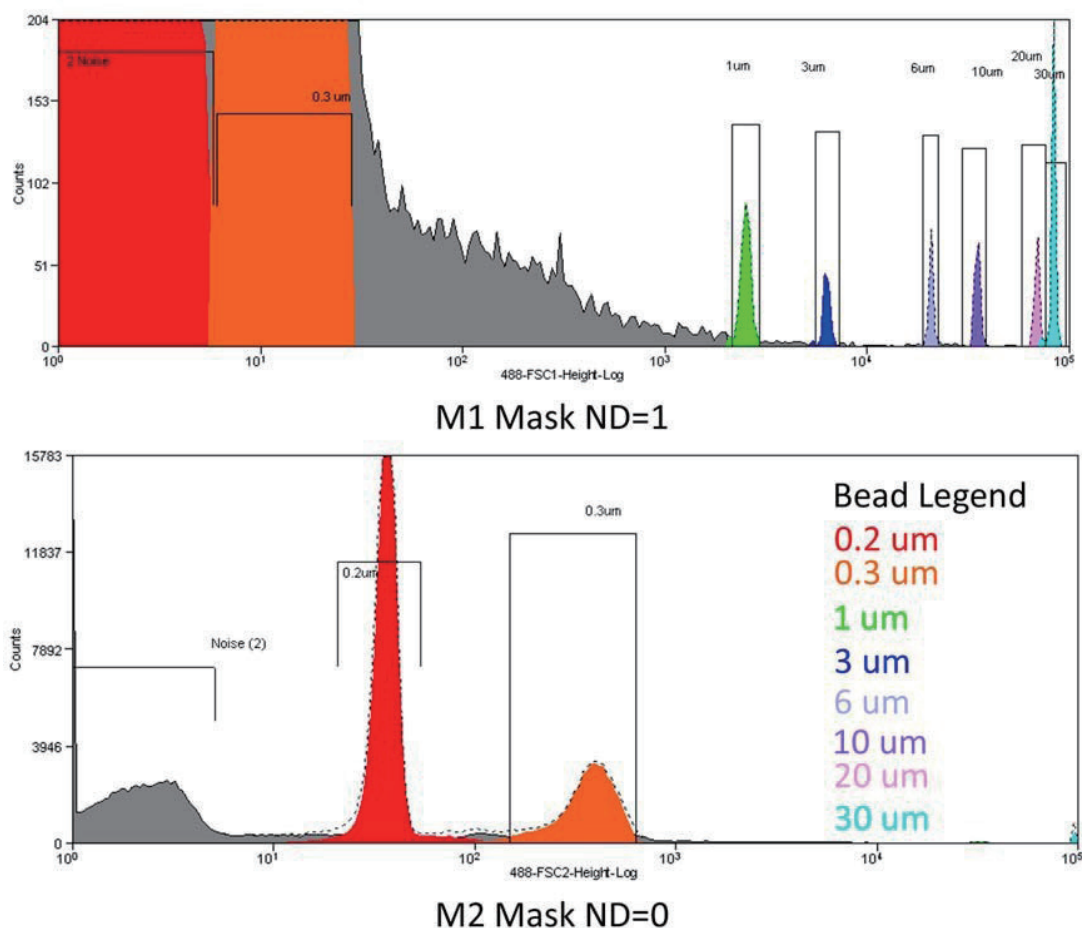
图 6.35 使用两种不同类型的 Mask 区分两个群体



检测全血中粒细胞微粒时，由于 Mask 差异而出现不同的群体。由于 FSC 模块灵活采用两种不同的 Mask 来区分细胞群体，从而提供比一个 FSC 参数更多的信息。

将 ND 滤光片置于一个 FSC 参数前面而非其他参数前面，这项操作对于查看较大动态范围的颗粒物是非常有用的。例如，图 6.36 显示了使用一个 M1 Mask 和 1.0 ND 滤光片（最大光强度）的 FSC-1 参数和使用了 M2 Mask 和未使用 ND 滤光片的 FSC-2 参数，以便观察 0.1 μm 至 30 μm 以及 0.2 μm 至 0.3 μm 范围内的颗粒物。

图 6.36 同时使用不同的 Mask 和 ND 滤光片进行大范围颗粒检测



因上述配置，可以利用散射模型对大小颗粒物进行检测。

- 图 6.36 上面的直方图显示了利用 M1 Mask 和 ND 滤光片对 0.1 至 30 μm 范围内的颗粒物进行检测。
- 图 6.36 下面的直方图显示了 0.2 μm 微球与噪点的区分，以及带 M2 Mask 和不带 ND 滤光片对 0.3 μm 微球的明确区分，但更大的颗粒则不可见。

Mask 和 ND 滤光片的组合，使整个 FSC 动态范围用于同时观察大小颗粒物。

可能存在的亚微细粒污染物

小颗粒制备和运行时所使用的实验室用品，可能会对 FSC 参数产生可见污染。聚苯乙烯和聚丙烯样品管的塑料脱落会导致呈现截然不同的细胞群，用户可使用玻璃样品管以减少背景。一次性玻璃移液管或 0.2 μm 以下塑料滤膜装置也可能产生污染。与任何应用领域一样，在上样前，建议用户运行鞘液对照（无样品）和样品介质对照（无颗粒），在区分亚微粒颗粒和噪点之前，令背景测量值保持在低水平上。

PMT 和滤光片校准

PMT、滤光片和镜片均位于 POD 中，而 POD 位于柜体右下侧。有关更多信息，请参见第 2 章 系统概述中的精密光学检测器 (POD)。必须定期优化每个 PMT 发出的信号。在移动滤光片或添加 PMT 时，必须对滤光片组进行校准和优化。

注意 无需每天进行上述操作，按照需要即可。



注意

操作触摸屏控制面板的同时，如需够到较低位置的 POD，必须弯腰操作。操作时，要注意身体姿势，以免疲劳，站起来时，要注意避免碰到操作台上沿。

PMT 校准程序

- 1 辨别激光线的正确 POD，并将 POD 向前转出柜体。参见图 2.12。
- 2 俯瞰 POD，确定需要调整的 PMT 和滤光片。
- 3 在 Fine Alignment 界面上，绘制待调整的参数和在相同 POD 上的另一个参数的双参数图。
- 4 将做好的荧光微球样本进行上样检测（Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles）。（用去离子水进行稀释，稀释比例为 1:10，达到最终浓度为 1×10^6 个微球 / mL）。参见附录 B 耗材。
- 5 按下 Start Sample（开始上样）按钮。
- 6 轻轻旋松 PMT 架上的旋钮，直至 PMT 能在架子内转动。

-
- 7 观察散点图上的微球群体时，缓慢转动并改变 PMT 的高度，实现信号强度最大化。
-
- 8 拧紧旋钮，将 PMT 固定到位。
-
- 9 如果需要，重新运行 Automatic QC（自动质量控制）。
-

通用滤光片校准

校准和优化 POD 内的滤光片组时，参照以下指导信息。

重要事项 如果仪器中的滤光片、镜片或 PMT 的位置发生改变，它不会记录更改的信息，除非在触摸屏控制面板 POD 配置显示屏进行更改。参见第 3 章 触摸屏控制面板概述中的 POD 配置显示屏部分内容。

- 移除所有镜片和二向色性滤光片，处于校准中的二向色性滤光片、镜片和带通滤光片除外。其他镜片和二向色性滤光片可以根据需要进行添加或调整。
- 依据双参数图中透射光与反射光之间的关系，对镜片和二向色性滤光片进行优化。
- 依据 f 参数（或任何经过优化的参数）和光反射的参数，对镜片进行优化。

通用滤光片校准程序

-
- 1 从 POD 中取下所有镜片和二向色性滤光片。或者，如果您正在排除导致 QC 失败的参数，请只移除相关滤光片。
-
- 2 确保将 PMT 置于 POD 之中，收集正在优化的参数。
-
- 3 查看适用的滤光片校准图，将第一个镜片或二向色性滤光片置于最接近激光束入口的直通光路附近。
-
- 4 在触摸屏控制面板上（或在 Summit 中）创建散点图，查看正在校准的参数。
-

- 5 当镜片或二向色性滤光片正处于调整状态时，查看散点图。当散点图中的细胞群体强度达到最大化，且 %CV 尽可能降低时，滤光片实现优化。

注意事项 完成滤光片校准后，有必要进行完善。这项操作因配置而异。

- 6 查看滤光片布局时，将另一个滤光片放在 POD 中，确保两个 PMT 可用于收集信号、创建散点图，以及优化信号。继续操作，直至所有镜片和二向色性滤光片均得以优化。

注意事项 可以根据 FSC 参数或另一个已经优化的参数来优化镜片。

根据直接影响（通常不止一个）的两个参数来优化二向色性滤光片。例如：调整 642 DLP 滤光片时，在图 6.51 所示的 488 POD 上，查看 488-620/29 vs. 488-710/45 参数。

创建和删除自定义滤光片配置

创建自定义滤光片配置

POD 和滤光片校准界面可以用于修改 POD 布局，并将自定义滤光片添加到 POD 布局中。

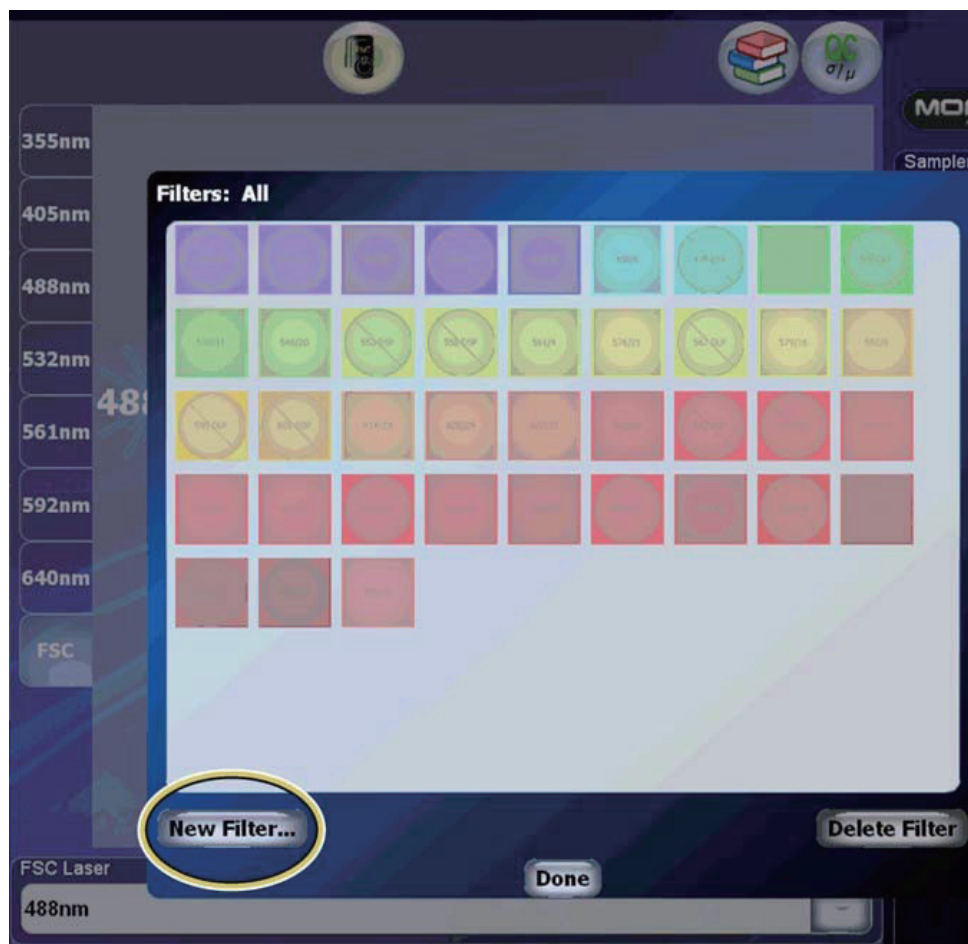
将自定义滤光片添加到滤光片库中

- 1 从触摸屏控制面板上按下 PMT 电源按钮 ，关闭 POD 电源，启用编辑模式。

- 2 选择 Filter Library（滤光片库）  按钮，查看滤光片库。

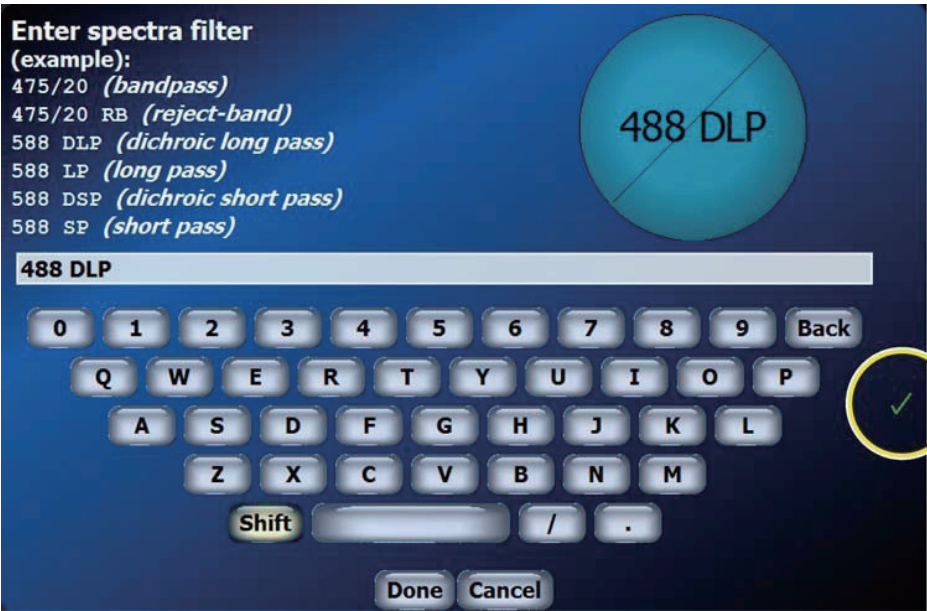
- 3 如图 6.37 所示，选择 New Filter（新增滤光片）按钮。呈灰色的滤光片为正在使用且无法移除的滤光片。

图 6.37 新增滤光片



- 输入自定义滤光片名称。参见图 6.38。如果按照如下所示正确命名，则将显示绿色对号标记。如果未根据经过认可的命名方式对滤光片进行命名（参见对话框提供的示例），则会显示红色 X 号。

图 6.38 添加自定义滤光片



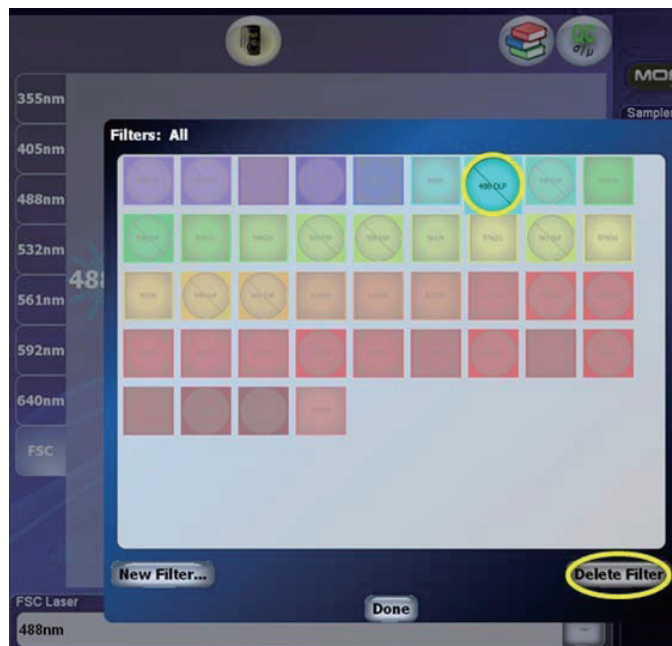
- 选择 Done（完成），将此自定义滤光片添加到可供使用的滤光片库列表中。
- 按下 PMT 电源按钮，恢复 POD 供电，并将上述更改信息发布到系统其他部分。

从滤光片库中删除自定义滤光片

- 在触摸屏控制面板上按下 PMT 电源按钮 ，关闭 POD 电源，启用编辑模式。
- 选择 Filter Library（滤光片库）  按钮，查看滤光片库。

-
- 3 选择想要删除的滤光片，按下 Delete Filter（删除滤光片）按钮。参见图 6.39。

图 6.39 删除滤光片



-
- 4 将滤光片从滤光片库中删除。
-
- 5 按下 PMT 电源按钮，恢复 POD 供电，并将上述更改信息发布到系统其他部分。
-

编辑 Astrios 仪器滤光片配置以及添加自定义滤光片

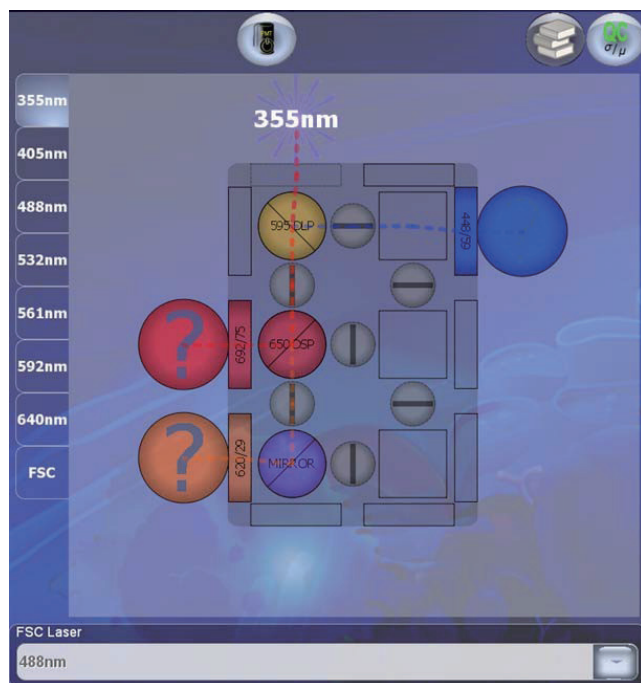
本节描述了通过 POD 配置显示屏创建新滤光片配置的内容。

重要事项 未按下 PMT 电源开关按钮禁用 PMT 电源前，切勿对 POD 的 PMT 配置进行实际改变。（参见图 3.15 中的 (5)。）

-
- 1 在 POD 配置显示屏的触摸屏控制面板上，按下 PMT 电源开关 ON/OFF 按钮，禁用 POD 中所有 PMT 电源，并启用编辑模式。
-
- 2 禁用电源后，根据需要对 PMT 进行实际移动，以及更改滤光片。
-

3 选择已经过调整的 POD。参见图 6.40。

图 6.40 POD 选择



4 更改 Fluorescent Parameter Configurations（荧光参数配置）：

- 选择已经过修改的滤光片位置。此时将显示对话框。
- 将实际滤光片与对话框中所列滤光片进行匹配，如图 6.41 和图 6.42 所示。

可在二向色性滤光片位置选择以下滤光片：二向色镜、滤光片和分光镜。参见图 6.41。

图 6.41 二向色性滤光片



可为滤光片选择带通滤光片位置：带通、ND 和带阻滤光片。参见图 6.42。

图 6.42 带通滤光片

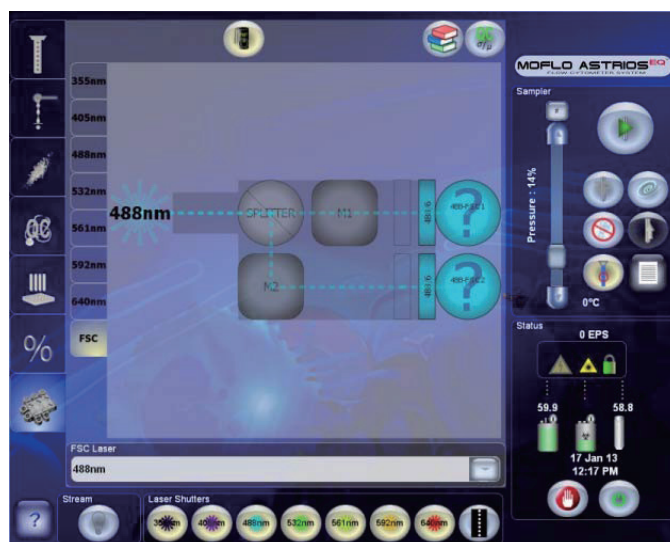


-
- 5 按下 No Filter（无滤光片）按钮，从滤光片位置移除滤光片。
-

6 更改 FSC POD Mask 配置。

- 移除或更改 FSC POD 上的 Mask 。
- 在 FSC POD 触摸屏控制面板上选择 Mask 位置，如图 6.43 所示。
- 选择在各个位置上安装 Mask 。
- 选择 Done（完成）。

图 6.43 FSC POD 布局



7 选择 Done 结束 Mask 选择。

8 选择带通和 ND 滤光片，参见第 4 步。有关更多信息，请参见分配前向散射激光和滤光片。

9 再次按下 PMT 电源开关 ON/FF 按钮。系统将扫描检测新的 PMT 位置，并将滤光片信息加载入内存中。这样能够确保系统识别新的 PMT 和滤光片配置。

- 10 按下 QC 按钮 ，查看 POD 的 QC 标准。参见图 6.44。

图 6.44 POD 的 QC 标准



注意 在根据第 7 章 质量控制中的自定义 QC 标准指导对自定义滤光片进行手动修改前，不会对已经加入 POD 的任何自定义滤光片设定 QC 标准。

- 11 根据通用滤光片和 PMT 校准程序对 PMT 和滤光片配置进行优化。
- 12 编辑 QC 标准，添加 / 更改滤光片标准。参见第 7 章 质量控制中的自定义 QC 标准部分内容。
- 13 将做好的荧光微球样本进行上样检测 (Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles)。(用去离子水进行稀释，稀释比例为 1:10，达到最终浓度为 1×10^6 个微球/mL)。参见附录 B 耗材。

- a. 按下 Start Sample (开始上样)  按钮。

- b. 选择 QC  选项，并开始  QC 程序。

- 14 在 Summit 中，当 QC 开始测量 CV 值任务时，系统开始采集数据。QC 完成时，在 Summit 中停止采集数据，并保存 FCS 文件，此文件包含滤光片配置。该配置可以重新适用于 FCS 文件的仪器中，请参见将 FCS 文件中的滤光片配置加载并应用于仪器中。

将 FCS 文件中的滤光片配置加载并应用于仪器中

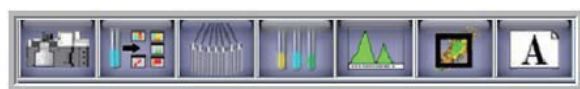
根据以下程序，用户可以将默认 Astrios^{EQ} 仪器配置或用户创建配置应用于仪器中。保存在 FCS 文件中的滤光片配置将加载到仪器上。如果加载的配置与仪器上的配置相同，则在应用滤光片配置时，系统会自动提醒用户。

正在加载滤光片配置

- 1 检查 PMT 电源是否打开。
 - a. 使用触摸屏控制面板，选择 PMT 和 Filter Alignment（滤光片校准）选项。
 - b. 使用 PMT 电源开关 ON/OFF 按钮，确保 PMT 已打开。

- 2 在 Summit 中，选择图 6.45 所示的 Data Acquisition（数据采集）设置选项。

图 6.45 数据采集设置



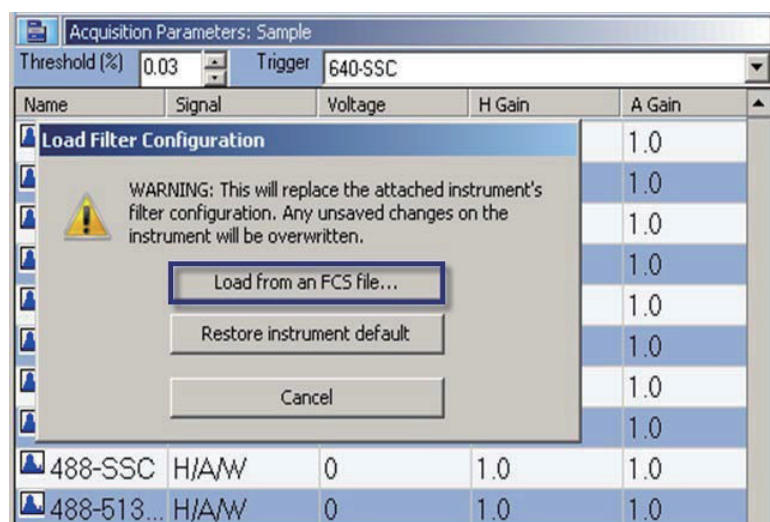
- 3 在 Acquisition Parameters（采集参数）窗口，选择 Load Filter Configuration（加载滤光片配置），如图 6.46 所示。

图 6.46 加载滤光片配置



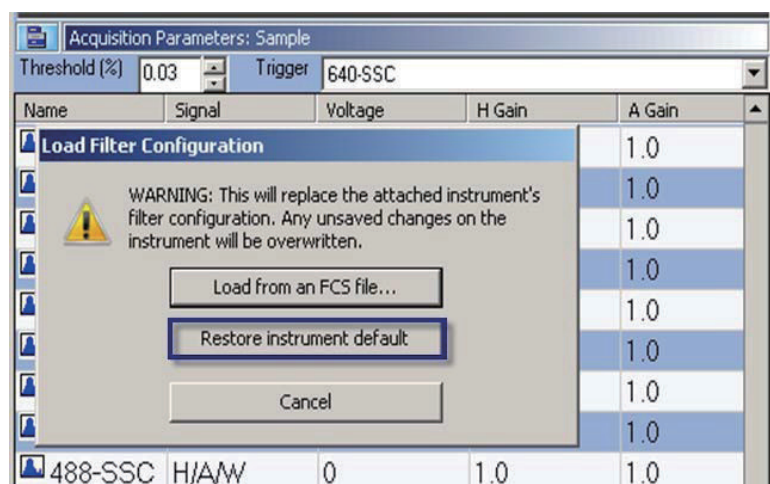
- 4 要加载 FCS 文件中的滤光片配置，请选择图 6.47 所示的 Load from an FCS file...，并浏览选择具备所需滤光片配置的 FCS 文件。

图 6.47 从 FCS 文件中加载



- 5 要将滤光片设定为默认设置，请如图 6.48 所示选择 Restore instrument default（恢复仪器默认值）。

图 6.48 恢复仪器默认值



滤光片校准图

系统上每个激光器均配备标准滤光片组。下图展示了如何将滤光片组装到 POD 中。有关何种 POD 与何种激光组合的详细描述，请参见第 2 章 系统概述中的精密光学检测器 (POD)。参见图 6.49 至图 6.55。

图 6.49 355 nm 激光，滤光片示意图

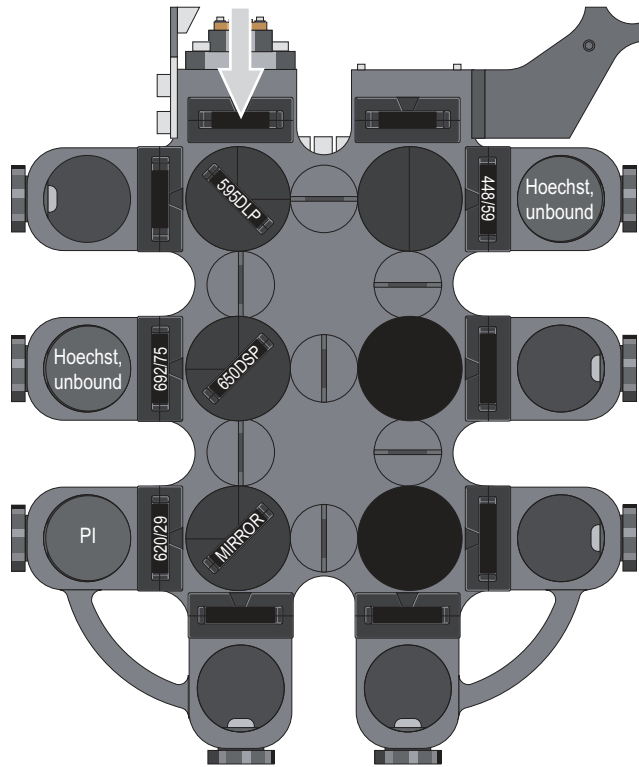


图 6.50 405 nm 激光，滤光片示意图

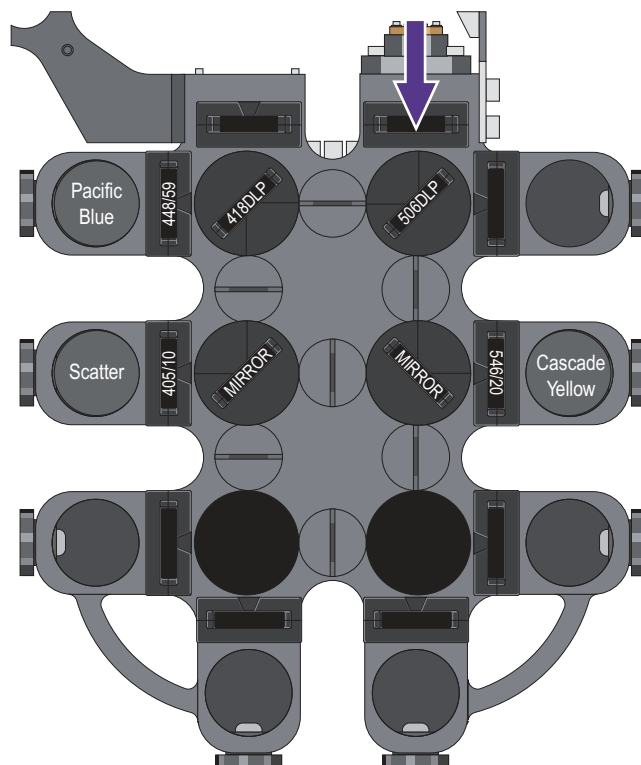


图 6.51 488 nm 激光，滤光片示意图

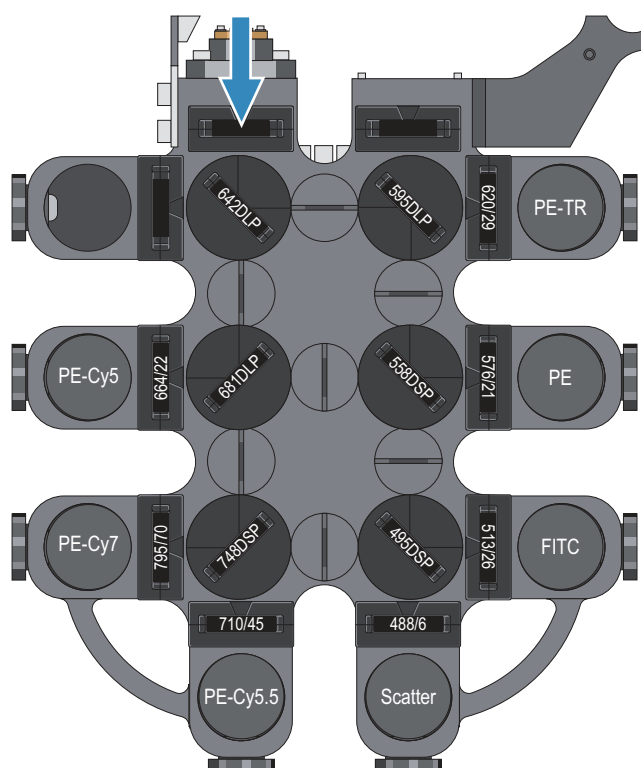


图 6.52 532 nm 激光，滤光片示意图

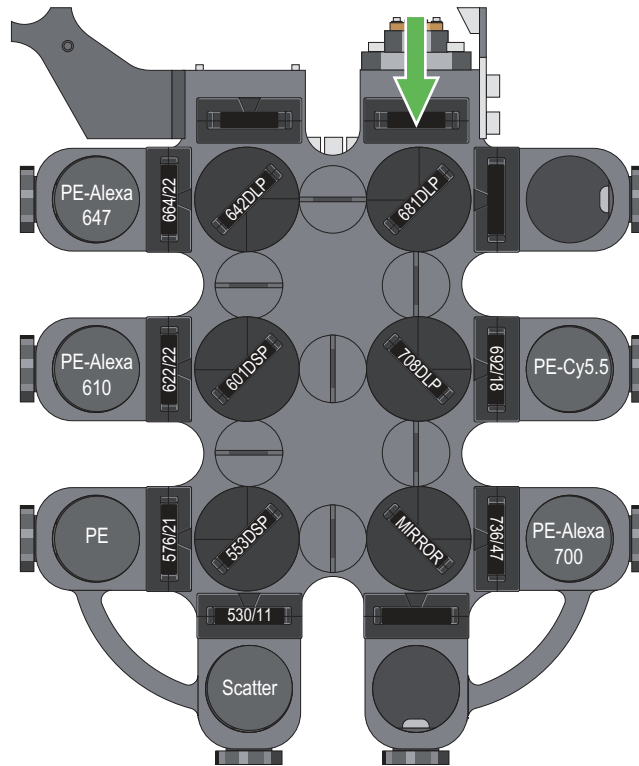


图 6.53 561 nm 激光，滤光片示意图

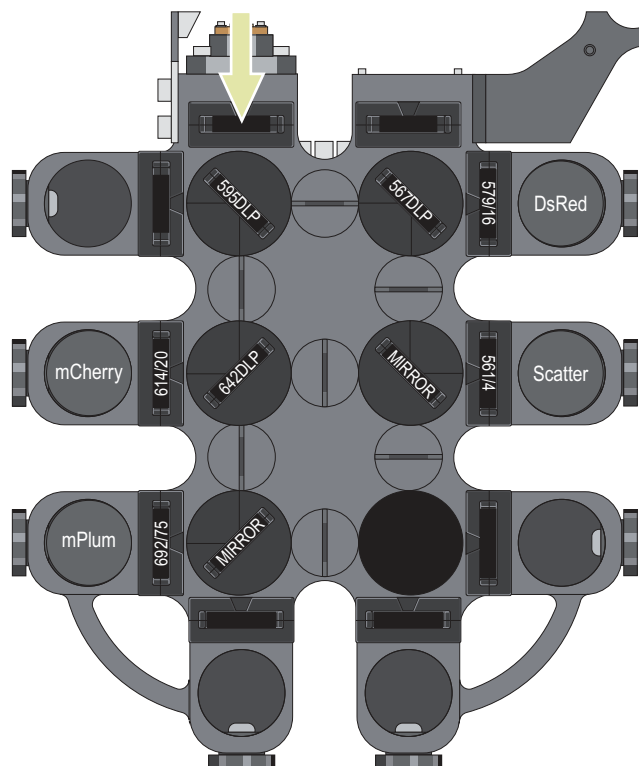


图 6.54 592 nm 激光，滤光片示意图

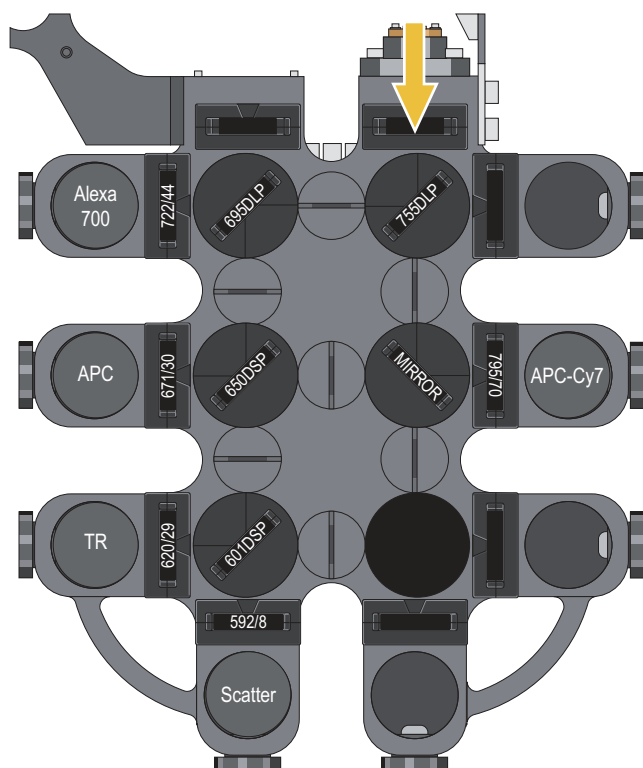
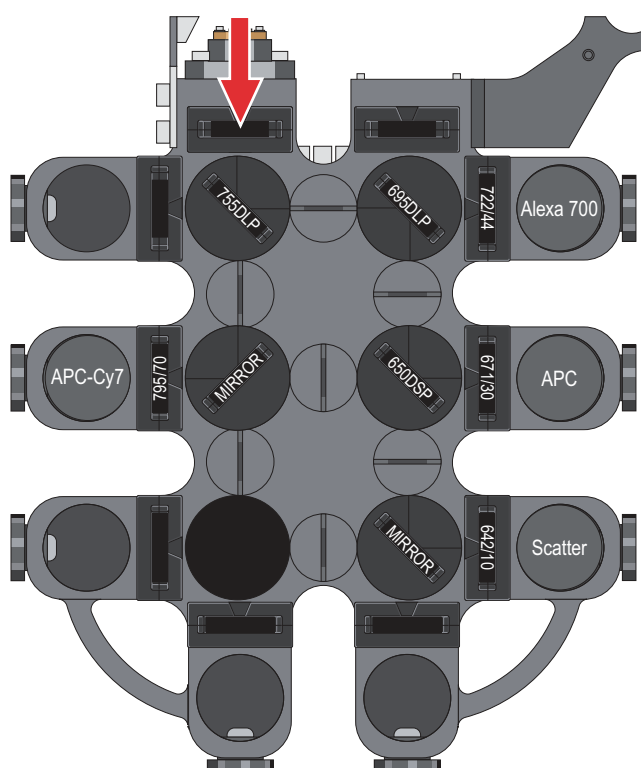


图 6.55 640 nm 激光，滤光片示意图



UV BSO 校准

UV BSO 校准 - 衍射环

如果仪器完全失准，且未显示激光器的触发信号或数据，则用户必须依赖视觉感官而非数据进行校准操作。

UV 激光衍射环程序

- 1 仅调节与 UV 激光器相关 UV BSO 的相关激光聚焦光学系统。
请勿移动喷嘴千分尺。

注意 校准 UV 激光器时，如果液流位置发生意外改变，请在继续操作前，重新将液流与 UV BSO 对齐。

- 2 鞘液流运行时，使用安全联锁配件，覆写观察舱外的安全联锁，滑开观察舱门。

- 3 打开 UV 激光器的挡板。遮蔽所有其他激光。



警告

眼睛暴露于直接激光束下会导致永久性眼部损伤，甚至导致失明。如果可能会暴露于直接激光束或漫反射 UV 激光下，必须始终佩戴护目镜。



- 4 调整激光束，刚好位于喷嘴下面的液流相交。

- 5 自上而下观察位于液流正后方的侧向散射阻挡条。
调整千分尺，以便 SSC 条上的激光强度都是均匀的。

- 6 移除联锁防护键，关闭舱门。

7 继续 UV BSO 共线校准程序，引导 UV 激光射入第七个针孔中。

UV BSO 激光共线校准微球闪烁程序

1 确保 UV 激光器的挡板处于打开状态。

注意 上述挡板不得打开，除非激光器已经接通电源达 30 分钟。

2 在 Fine Alignment 界面上，将触发激光设定为 UV 参数。

3 鞘液流运行时，加载一管荧光微球样本（Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles）。（用去离子水进行稀释，稀释比例为 1:10，达到最终浓度为 1×10^6 个微球/mL）。参见附录 B 耗材。

4 按下 SmartSampler 开始上样  按钮。

5 降低观察舱的照明强度，以便在 Coarse Adjustment（粗调）界面上能看到针孔的轮廓。

6 按住触摸屏控制面板上的 Boost（升压）按钮，观察微球在针孔中闪烁。

7 调整 UV BSO 上的垂直千分尺，直至微球在第七个针孔的中间位置闪烁。

注意 下面是七个激光系统的针孔顺序。当系统少于七个激光器时，针孔顺序保持相同；空激光光斑的针孔不显示微球闪烁。

- 640 nm
 - 488 nm
 - 592 nm
 - 561 nm
 - 532 nm
 - 405 nm
 - 355 nm（UV 激光器系独立式，并直接透过第七个针孔。）
-

8 继续进行 UV 激光微调操作。

性能验证

质量控制和性能验证

日常性能验证能够确保 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器每天都提供质量数据。良好质量控制步骤中的性能文档可以保证数据完整性，提供完善的性能追踪记录，当仪器需要维修时，还能为操作提供相关信息。完成开机和校准程序后，对仪器的性能进行验证。

质量控制显示屏将显示仪器上的激光器和检测器。圆圈代表 POD，方框代表 PMT 位置。QC 程序完成后，符合标准的检测器将显示绿色对号标记。不符合标准的检测器将显示红色 X。带未定义 QC 值的检测器将显示问号。问号表示此参数的 QC 标准未知，用户需要更新 QC 标准。参见图 7.1。

重要事项 如果仪器已更改或激光器未开启，例如，更改喷嘴、液流压力、二向色性滤光片、激光功率等，则需要重复性能验证。自动 QC 程序仅验证已开激光的上述参数。

质量控制程序

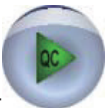
- 1 执行仪器开机程序。参见第 5 章 开机和关机程序。
- 2 执行包含激光光斑测定在内的仪器校准程序。参见第 6 章 仪器校准中的每日仪器校准部分内容。
- 3 在前向散射模块中，确保已经取下所有 Mask，并将 ND 1.0 滤光片安装在两个 FSC PMT 的带通滤光片前面。
- 4 开始操作前，确保未上样，且未在 Summit 中采集数据。如果您已经执行了仪器校准，则将在 Summit 中打开校准方案。该方案模板的查找路径如下：C:\ProgramData\BeckmanCoulter\Summit\6.xx\Protocols\BCI_Alignment.plo。

- 5 确保准备一管荧光微球 (Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles) (用去离子水稀释, 稀释比例为 1:10, 达到最终浓度为 1×10^6 个微球/mL)。请勿开始采集数据, 否则, QC 程序会失败。按下 Start QC (启动 QC) 按钮后, 在 Summit 中启动采集前, 请等待几秒钟时间。参见附录 B 耗材。

- 6 进入触摸屏控制面板上的 QC 显示屏 。参见图 7.1。

图 7.1 程序运行前的 QC 显示屏



- 7 按下 Start QC (启动 QC) 按钮 。自动 QC 程序将执行以下操作:

- a. IntelliSort 初始化完成后, 开启液滴震荡。
- b. 初始化增益值, 触发参数除外。
- c. 自动开启采集功能, 将上样速度调节至 250 EPS (大约 30 秒)。
- d. 使用当前触发参数; 如果阈值低于 1% 时, 为确保 QC 的持续进行, 会短暂性地将阈值提升到 1%。
- e. 验证上样速度至少能够达到 100 EPS, 且噪点率低于 30 EPS。
- f. 设定所有已开激光器的激光延迟。

- g. 调节触发激光器的 SSC 电压。根据触发参数以及所有其他参数的激光 SSC 进行设门。
- h. 同时调节所有参数的电压，使每个直方图上细胞群的 median 值符合 QC 标准规定。
- i. 将 EPS 设定为 100-120。
- j. 收集 5000 个事件。
- k. 检查每个检测器是否符合质控标准。
- l. 报告 CV、median 和 PMT 电压，绿色对号标记为 passing，红色 X 标记为 failing。
- m. 导出 CSV 文件，采用 Excel 等电子制表程序可以查看和编辑上述文档。（从 Summit 软件的 Tools > Copy QC Reports 路径，可以存取这些文档。）

8 一旦完成 QC 程序，则会发生下列情况：

- a. 生成 QC 报告，并能通过 Summit 的 Tools > Copy QC Reports 存取该报告。
- b. 触摸屏控制面板上符合标准或激光未打开的检测器将显示绿色对号标记。不符合标准的检测器将显示红色 X。带未定义 QC 值或者激光器未打开的检测器将显示问号。参见图 7.2。

图 7.2 QC 程序完成



每个检测器的 QC 报告

488-513/26	激光和滤光片波长
CV	半峰变异系数
V	经过优化的 PMT 电压
median	中位数

重要事项 与上样速度控制相关的罕见错误可以通过再次运行自动 QC 进行纠正。

9 由红色 X 标记的失效参数通常是可以纠正的。对参数进行故障排除，并重新运行 QC。在 QC 面板上， 按钮右侧的  按钮会提供更详细的故障排除提示列表。参见图 7.3。

图 7.3 Help（帮助）按钮



- 确保仪器和激光器至少预热 30 分钟。UV 激光器电源开启 30 分钟后，方可打开 UV 激光器的挡板。
- 如果一个 POD 中的单个参数失败，请检查校准二向色性滤光片和该位置上的 PMT。参见第 6 章 仪器校准中的 PMT 校准程序部分内容。
- 如果一个 POD 中的所有参数均失败，请检查激光器的电源是否打开，在开启 QC 操作前，是否将激光器预热 30 分钟。如果存在激光控制滑块，请确保将激光器功率设定为 100%。

- 如果光纤耦合激光器的所有参数均失败，请检查 MLSO 校准。如果 355 nm POD 中的参数失败，请检查 355 nm 激光器的 MLSO 校准情况。
- 检查进入 QC 设置工具，将设定值与 QC 结果进行对比。

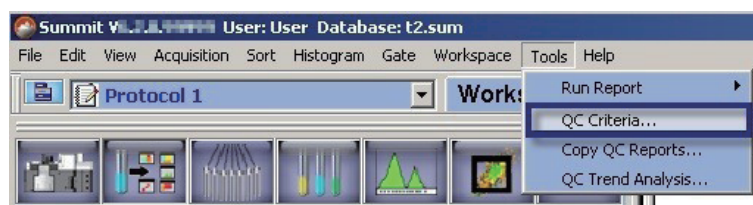
自定义 QC 标准

系统的默认配置包含针对多个批次 Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles 荧光微球的默认 QC 标准，参见附录 B 耗材。系统安装新激光器或滤光片，或者微球批次发生改变时，请对 QC 标准文件进行编辑。

进入 QC 设置工具

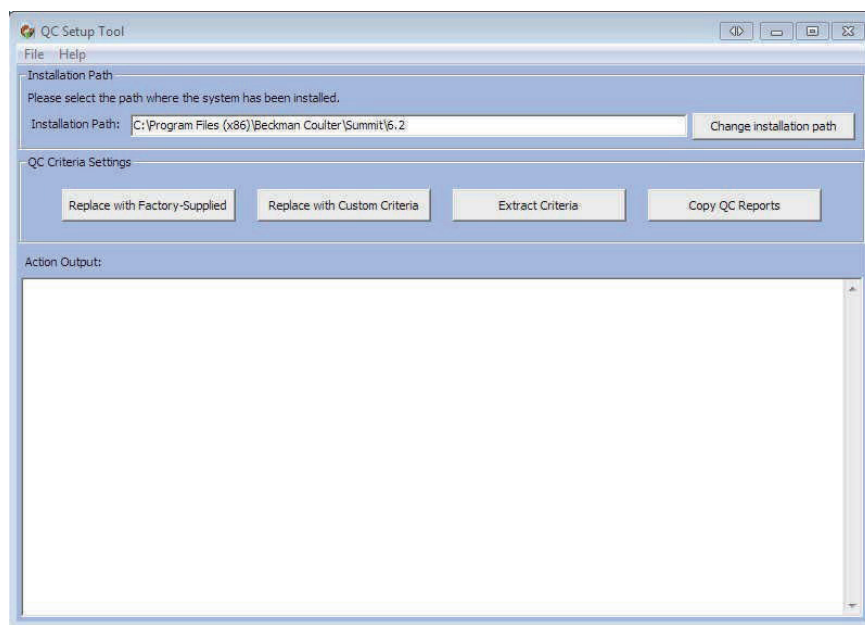
- 1 在 Summit 软件中，如图 7.4 所示，选择 Tools > QC Criteria。

图 7.4 QC 标准



-
- 2 如图 7.5 所示，选择 Extract QC 按钮。此时，系统会提示用户将信息保存为 CSV 文件。

图 7.5 QC 设置工具



1. Replace with Factory-Supplied - 在仪器上恢复工厂提供的多个批次微球的 QC 标准。
2. Replace with Custom Criteria - 将所作的更改以及保存在 CSV 格式的电子数据表中的更改应用于仪器中。
3. Extract Criteria - 将仪器中的当前 QC 标准调取出来，并将其保存在 CSV 格式的电子数据表文件中。
4. Copy QC Report - 将仪器中的所有 QC 报告文件复制到指定的目录中。

-
- 3 CSV 文件保存后，用户可以通过 Microsoft Excel 或其他电子数据表程序打开和编辑文件。
-

QC 标准描述

QC 标准文件具有几个组成部分，以便正确定义 QC 标准。

图 7.6 QC 标准组成部分

1	BeadType	Spherotech 3 um SpectraAlign Ultra-Rainbow				
2	BeadLot					
3	TrigGain	1				
4	TrigThresh	1.00%	7	8	9	10
5	Laser	Filter 6	MinMedian	MaxMedian	MaxCV	MaxVolts
	355	448/59	49.00%	51.00%	2.26%	850
	355	620/29	49.00%	51.00%	2.26%	850
	355	692/75	49.00%	51.00%	2.06%	850
	405	448/59	49.00%	51.00%	2.51%	850
	405	546/20	49.00%	51.00%	3.56%	850
	488	513/26	49.00%	51.00%	2.11%	850
	488	576/21	49.00%	51.00%	2.26%	850
	488	620/29	49.00%	51.00%	2.21%	850
	488	664/22	49.00%	51.00%	2.76%	850
	488	710/45	49.00%	51.00%	2.31%	850
	488	795/70	49.00%	51.00%	3.31%	850
	532	576/21	49.00%	51.00%	1.91%	850
	532	622/22	49.00%	51.00%	2.01%	850
	532	664/22	49.00%	51.00%	2.46%	850
	532	692/18	49.00%	51.00%	2.26%	850
	532	736/47	49.00%	51.00%	2.11%	850
	561	579/16	49.00%	51.00%	2.46%	850
	561	614/20	49.00%	51.00%	2.41%	850
	561	692/75	49.00%	51.00%	2.16%	850
	592	620/29	49.00%	51.00%	4.51%	850

1. Bead Type（微球类型） - 用于质控的微球类型描述
2. Bead Lot（微球批次） - 用于质控的微球批次
3. TrigGain - 触发增益值
4. TrigThresh - 触发阈值
5. Laser - 正在进行 QC 测试的激光器
6. Filter - 带通滤光片或分散在正在 QC 测试的检测器前方的滤光片。
7. MinMedian - 测量中位数的下限（范围 %，一般为 256）。
8. MaxMedian - 测量中位数的上限（范围 %，一般为 256）。目标中位数为（MinMedian + MaxMedian）x 256/2。
9. MaxCV - 荧光和散射参数的最大允许 CV，用 % 表示。
10. MaxVolts - 实现所需目标中位数的最大允许电压。

注意 上述文件为典型 QC 文件，不同研究员在 Astrios^{EQ} 系统上获取的文件可能存在差异。

编辑 QC 标准

编辑 QC 标准，当滤光片配置发生改变时，确保不同品牌或类型的微球能够适应添加 / 更改的标准。本节描述了编辑 QC 标准文件的要求。

重要事项 只要格式保持不变，用户可以改变蓝色阴影区域的标准。每个单元格都应符合当前命名原则或数值。对电子数据表其他区域进行的任何改变可能会损坏 QC 标准文件。

图 7.7 编辑 QC 标准

	A	B	C	D	E	F	G
1	BeadType	SpheroTech SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles 3.2 um					
2	BeadLot	BADxx					
3	TrigGain	1					
4	TrigThresh	1.00%					
5	Laser	Filter	MinMedia	MaxMedia	MaxCV	MaxVolts	
6	355	448/59	49.00%	51.00%	2.30%	505	
7	355	620/29	49.00%	51.00%	2.50%	718	
8	355	692/75	49.00%	51.00%	2.60%	668	
9	405	FSC1	12.68%	14.68%	0.00%	850	
10	405	FSC2	38.85%	40.85%	0.00%	850	
11	405	SSC	24.00%	26.00%	14.40%	895	
12	405	448/59	49.00%	51.00%	3.20%	750	
13	405	546/20	49.00%	51.00%	4.78%	846	
14	488	FSC1	12.68%	14.68%	0.00%	850	
15	488	FSC2	38.85%	40.85%	0.00%	850	
16	488	SSC	24.00%	26.00%	13.40%	484	
17	488	513/26	49.00%	51.00%	2.60%	723	
18	488	576/21	49.00%	51.00%	2.70%	684	
19	488	620/29	49.00%	51.00%	2.70%	684	
20	488	664/22	49.00%	51.00%	3.10%	773	
21	488	710/45	49.00%	51.00%	2.70%	716	
22	488	795/70	49.00%	51.00%	3.70%	803	
23	532	FSC1	12.68%	14.68%	0.00%	850	
24	532	FSC2	38.85%	40.85%	0.00%	850	
25	532	SSC	24.00%	26.00%	9.30%	464	
26	532	576/21	49.00%	51.00%	2.50%	864	
27	532	622/22	49.00%	51.00%	2.60%	633	
28	532	664/22	49.00%	51.00%	3.20%	729	
29	532	692/18	49.00%	51.00%	3.20%	680	
30	532	736/47	49.00%	51.00%	3.20%	849	
31	561	FSC1	12.68%	14.68%	0.00%	850	

注意 贝克曼库尔特仅支持原厂 QC 标准。

在 CSV 文件内编辑 QC 标准

- 1
- 打开 QC 标准 CSV 文件，手动输入自定义滤光片或激光位置的新标准，可以插入行或加在 CSV 文件底部，如图 7.8 所示。不管在哪里添加新 QC 标准，将这些新标准应用于仪器并重新调取后，这些标准会根据激光和滤光片的数值重新排列。

图 7.8 添加新标准

44	405 FSC2	25.57%	27.57%	3.00%	850
45	488 FSC2	24.00%	26.00%	3.00%	850
46	532 FSC2	25.57%	27.57%	3.00%	850
47	561 FSC2	25.57%	27.57%	3.00%	850
48	592 FSC2	25.57%	27.57%	3.00%	850
49	640 FSC2	25.57%	27.57%	3.00%	850
50	405 526/52	49.00%	51.00%	2.51%	850
51	488 526/52	49.00%	51.00%	2.11%	850
52	561 620/29	49.00%	51.00%	2.21%	850
53	561 576/21	49.00%	51.00%	4.69%	850
54	561 561/4	24.00%	26.00%	20.00%	850
55	561 795/70	49.00%	51.00%	3.31%	850
56	561 692/75	49.00%	51.00%	2.16%	850
57	488 488/6	24.00%	26.00%	20.00%	850
58					

注意 除最后一行和最后一列外，指定可编辑区域没有空白单元格。

图 7.9 和图 7.10 是自定义滤光片设置和编辑后的 QC 标准文件模板，文件结尾处含自定义数据。

图 7.9 405-nm 配置示例

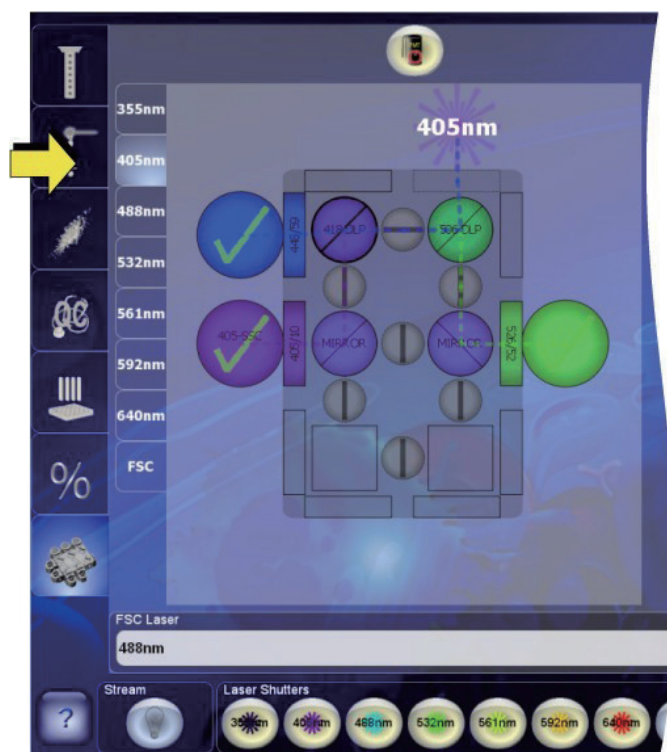
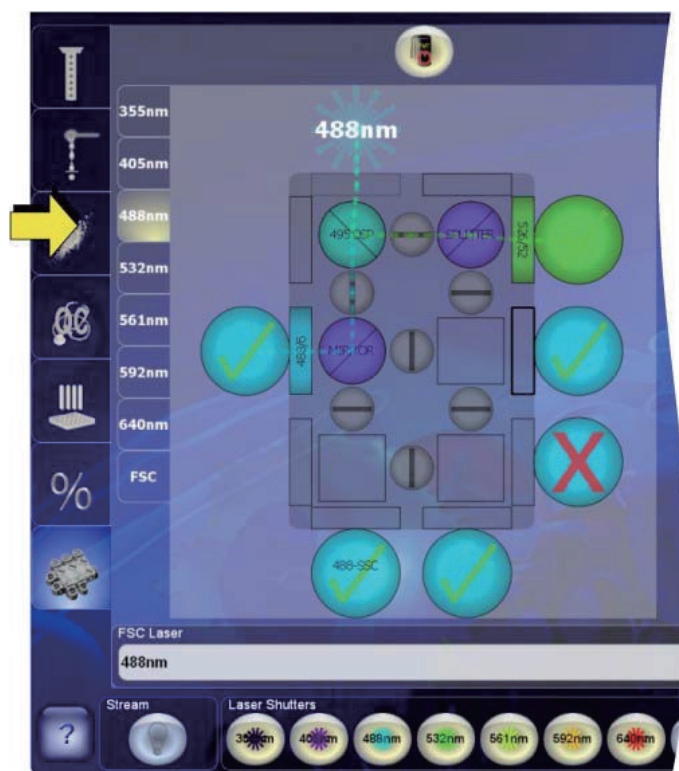


图 7.10 488-nm 配置示例



2 将新性能规范添加到 QC 标准 CSV 文件上:

- a. 指定激光波长, 单位为 nm (示例: 对于 561 nm 激光, 在 Laser 列输入 “561”。) 参见图 7.7, A 列。
- b. 对于荧光参数, 指定激发波长 / 带通滤片 (示例: 对于 561-795/70, 在 Filter 列输入 “795/70”。) 对于散射光参数, 输入 FSC1、FSC2 或 SSC 的其中一个。
- c. 将目标中位数通道 % 数值输入 MinMedian 和 MaxMedian 列, 例如:
 - 1) FSC = 在 256bins 中典型的目标中位数通道为 68 ± 2 : $\text{MinMedian}\% = 66/256 \times 100 = 25.78\%$; $\text{MaxMedian}\% = 70/256 \times 100 = 27.34\%$
 - 2) SSC = 在 256bins 中典型的目标中位数通道为 64 ± 4 : $\text{MinMedian}\% = 66/256 \times 100 = 23.44\%$; $\text{MaxMedian}\% = 70/256 \times 100 = 26.56\%$
 - 3) 荧光 = 在 256bins 中典型的目标中位数通道为 128 ± 2 : $\text{MinMedian}\% = 66/256 \times 100 = 49.61\%$; $\text{MaxMedian}\% = 70/256 \times 100 = 50.40\%$
- d. 将 %CV 输入 MaxCV 位置上, 荧光和前向散射光通道的默认 CV 值建议为 3.0% CV (侧向散射光为 20%), 直至测定基准线。
- e. 以整数输入最大 PMT 电压, 由于 PMT 最大值为 900, 因此, 850 可以作为建议值, 但在电压为 850 v 时, 线性将开始受到影响。

注意 所有单元格均需要填入一行自定义 QC 标准的内容, 从而与 QC 应用程序一起发挥作用。

创建自定义滤光片 QC 标准

需要针对滤光片或滤光片配置规定自定义 QC 标准, 不支持默认滤光片配置。目前, 贝克曼库尔特会根据默认配置的 QC 标准对仪器性能进行测定。

根据自定义滤光片或自定义滤光片配置规定新 QC 标准

1 遵照前面程序进行操作: 进入 QC 设置工具和 CSV 文件内编辑 QC 标准。

2 添加自定义激光器和滤光片组合, 并添加 MinMedian、MaxMedian、CV 和 MaxVolts 的默认建议值。

- 3 优化滤光片和液流校准后，每天至少进行 20 次质控程序，为期 5 天。每次有效质控后，检查质控对号标记按钮，注意它是不是针对可能进行的任何内审的有效 QC 程序。参见图 7.11。

图 7.11 QC Help (QC 帮助)



- 4 打开 Summit 软件下载 QC 报告，选择 Tools > QC Reports。
- 5 遵照前面程序进行操作：进入 QC 设置工具和在 CSV 文件内编辑 QC 标准，以便按照第 6 和 7 步所述，添加新的 MaxCV 和 MaxVolt 数值。
- 6 确定自定义滤光片的 MaxCV：
 - a. 针对第 3 步采集的 CV 测得值对 20 次 QC Reports 进行分析。
 - b. 计算 CV 数据的平均值、标准偏差和 $\pm 2SD$ 。
 - c. 计算 MODE（模式）的平均值 $\pm 5\%$ 。
 - d. 通过以下公式计算 MaxCV 数值：

$$\text{Max CV} = (\text{CV Average}) + (2SD \text{ CV}) + (0.05 \times \text{CV Mode})$$
 - e. 将 MaxCV 值输入 QC 标准中。
- 7 确定自定义滤光片的 MaxVolt：
 - a. 针对第 3 步采集的电压测得值对 20 次 QC Reports 进行分析。
 - b. 计算电压数据的平均值、标准偏差和 $\pm 2SD$ 。
 - c. 计算 MODE（模式）的平均值 $\pm 5\%$ 。
 - d. 通过以下公式计算 MaxVolt 数值：Max CV = （电压平均值） + (2SD V) + (0.05 x 电压模式)

- e. 将 MaxVolt 数值输入 QC 标准中。

8

保存自定义 QC 标准：

- a. 对 QC 标准文件进行所有更改后，将其保存为 CSV 文件，文件名应描述滤光片配置。将所有 QC 标准存储到一个中心位置。

用默认 QC 标准代替自定义 QC 标准。

如何更换自定义 QC 标准

1

进入 QC 设置工具，按照进入 QC 设置工具内容进行操作。

2

选择 Replace with Factory-Supplied。此时，系统将提示您可以从已知微球批次中进行选择。配备原厂配置的默认 QC 标准将发送到仪器上。

用自定义 QC 标准代替默认 QC 标准。

如何更换默认 QC 标准

- 1 进入 QC 设置工具，按照进入 QC 设置工具。

 - 2 选择 Replace with Custom Criteria。

 - 3 从对话框中，为所需自定义 QC 标准选择编辑后的 QC 标准 CSV 文件。

 - 4 选择 OK，将自定义 QC 标准应用于仪器上。

 - 5 在 QC Setup Tool（QC 设置工具）的 Action Output（活动输出）窗口，会出现文本提示标准应用成功。

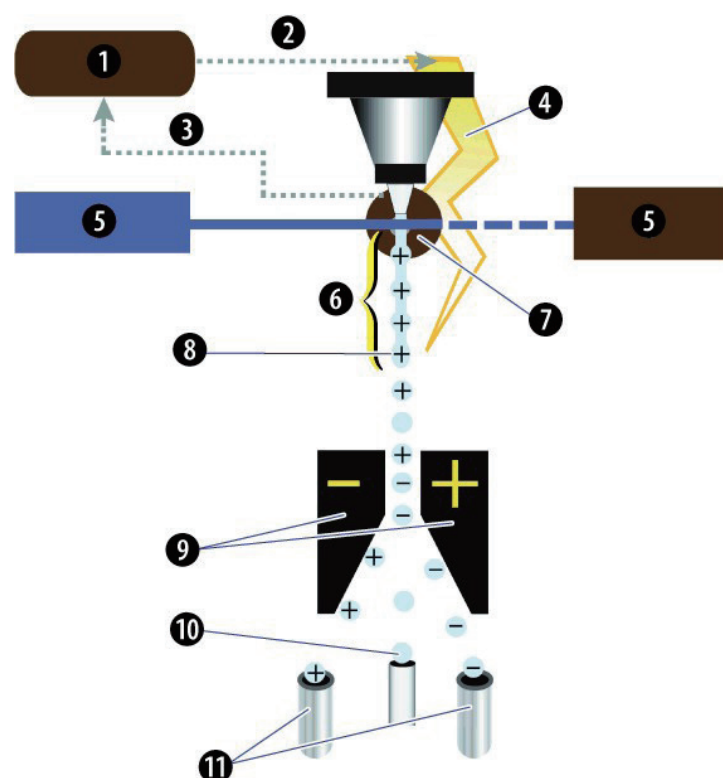
 - 6 如果 QC 未能成功更换，请检查以下内容：
 - a. 按照编辑 QC 标准章节的内容，检查 CSV 文件的格式要求。
 - b. 确保已将 QC 标准保存为 CSV 文件。
 - c. 确保除最后一行和最后一列之外，QC 标准文件内没有空白单元格。
-

分选和 IntelliSort

分选概述

对观察舱 (1) 中的颗粒物分析后，进行分选操作。激光和光学器件 (2) 检测出感兴趣细胞，当感兴趣细胞到达断点 (4) 时，电荷脉冲 (3) 将穿过液流。根据所需分选方向的不同，液滴将随即中断并带上相应的正电荷或负电荷 (5)，液滴随后落入并穿过电极板 (6) 产生的电场，并发生相应地偏转。最终将细胞收集在样品管或电极板 (7) 中。参见图 8.1。

图 8.1 分选示意图概述



1. Astrios^{EQ} 嵌入式系统软件
2. 应用分选决策
3. 数据分析
4. 应用于系统的电荷
5. 主激光和前向散射模块
6. 应用于液流的电荷

7. 液滴延迟间隔
8. 断点液滴
9. 带电电极板
10. 废液管
11. 分选容器

分选功能涉及仪器的很多方面，包括精确定时和校准。液流和液滴形成的稳定性至关重要。MoFlo Astrios^{EQ} 经过精心设计，确保液滴断点以及目标液滴加电的高度稳定性，这两个方面直接关系到分选纯度。

液滴延迟计算的精准度对高分选纯度和高回收率也至关重要。液滴延迟是指颗粒从激光观察点到断点的持续时间。通过稳定的液流和精确的液滴延迟，细胞分选的纯度能够达到 99% 以上。

要确保加电液滴的精确偏转，请按时清洗电极板。参见第 9 章 清洁和维护中的电极板组件和电极板清洁程序。

在分选期间

在分选期间，将会发生以下情况：

1. 观察点将检测到事件。
2. 对事件作出决策，确定颗粒或细胞是否满足分选和 / 或丢弃逻辑。
3. 如果确定细胞待分选，则系统将等待直至细胞达到断点液滴。
4. 电子系统会发送电荷，穿过鞘液和样品流。根据待分选液滴方向，电荷可以为正、为负或中性振幅。
5. 断点液滴会中断应用于液流的电荷。

使用带自动液滴延迟计算的 IntelliSort 进行分选设置

以下是需要使用 IntelliSort 设置分选运行的步骤概述。第 3 - 10 步的详细说明参见本节后面部分。



注意

请勿尝试用喷嘴或液流系统中的空气进行分选操作。喷嘴或鞘液过滤器中的气泡会导致液滴延迟不稳定，以致分选纯度变低。有关如何检查滞留空气，请参见第 10 章 故障排除和更换程序中的滞留空气检测部分内容。

重要事项 分选开始前，确保分选板处于打开状态。电极板完全加电需要几秒钟时间。

1. 测定激光截距配置上的激光光斑位置和喷嘴高度。参见第 6 章 仪器校准中的激光光斑测定。

2. 执行质控程序。参见第 7 章 质量控制中的质量控制程序部分内容。
3. 定义分选输出类型（试管、玻片或孔板）。
4. 设置偏转。
5. 校准 CyClone 板位置。
6. 校准充电相位。
7. 执行自动液滴延迟计算，启用 IntelliSort Monitoring 功能。
8. 在 Summit 软件中采集分选数据，并设定区域和门。
9. 在 Summit 软件中设定分选决策。
10. 在 Summit 软件中配置玻片或孔板（如有必要）。

选择和编辑 Sort Output Type（分选输出类型）

通过 Sort Output Type 可以选择分选后的样品收集在哪种容器中。可以在 Sort Setup 选项中选择，如图 8.2 所示。

图 8.2 选择分选输出类型





按下 Copy 按钮,创建选定标准 Sort Output Type 的可编辑拷贝本。此时界面显示三个选项。通过上述选项,可以创建自定义分选输出类型,包含用于命名、偏转和 CyClone 板位置的特殊设定。

定义 Sort Output Type（分选输出类型）规范

通过 Definition 选项,您可以自定义分选输出类型,为其选一个独特的名称,如图 8.3 所示。

图 8.3 定义分选输出类型



定义分选输出类型

- 1 触摸,并在文本区域输入分选输出信息。
- 2 输入适用于您的分选输出介质的行和列数目。行是沿着短轴的,列是沿着长轴的。请注意,孔板和玻片的长轴垂直定位,但对于试管来说,则是水平的。



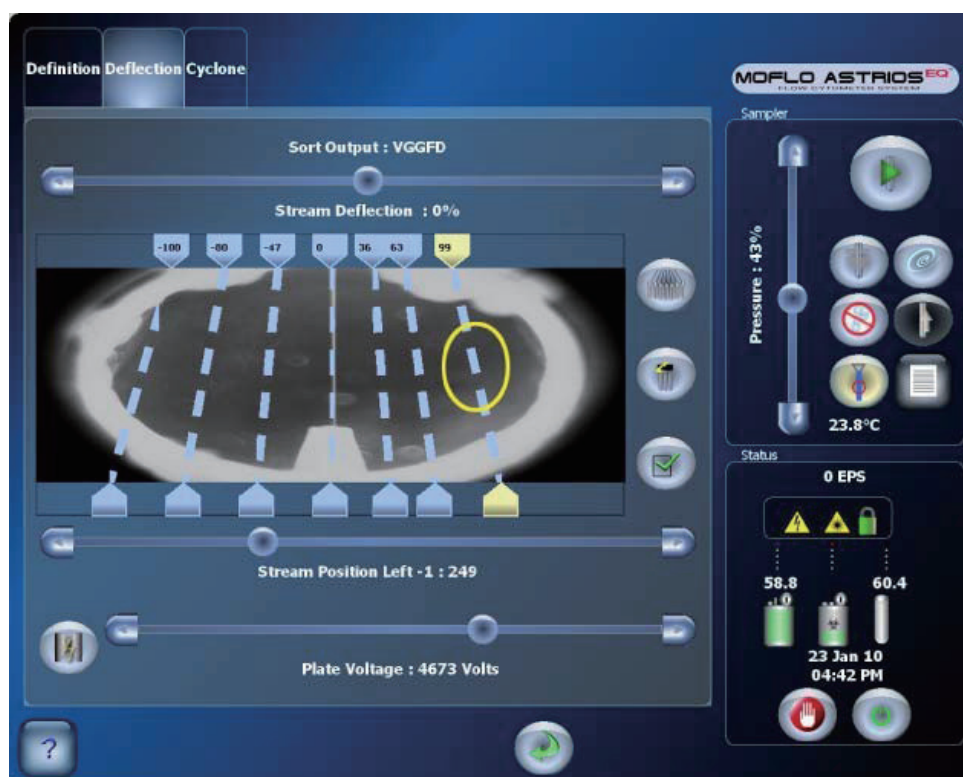
3 设定试管时，行数通常为 (1)，列数则因试管架的试管数目而异。

4 选择对号标记  按钮，转到 Deflection（偏转）选项。

根据分选输出类型设定液流偏转

在开始分选前使用 Deflection 选项，选择并调整分选液流。它还可用于根据分选输出类型编辑偏转设置；打开和关闭电极板，调整电极板电压、液流靶向和液流位置。参见图 8.4。

图 8.4 设置偏转



调整液流偏转

1

通过选择电极板开关 ON/OFF 按钮



，开启 Plate Voltage（电极板电压）。将电极板电压设定为 4000V 左右。

2

选择 Stream Setup（液流设置）



按钮，打开试验模式。

3

触摸界面上标记虚线的液流，启用试验模式。参见图 8.4。

a. 向微孔板进行分选时，选择 L1，液流直接导入废液流左侧。

b. 向 1536- 孔板分选时，移除废液管，引导分选液流直接向下，并将废液流导至右侧。

注意 如果任何液流存在 fanning 的情况，则必须在继续前对充电相位和 / 或 defanning 进行调整。按照启动 IntelliSort 章节，执行充电相位和 defanning 步骤。

4

如有必要，调整液流偏转滑动条，确保液流图像对准靶向，且不会撞到废液管管壁上。调整液流偏转至分选输出介质，参见设定 CyClone 板位置，使用液流位置滑块调整液流的靶向。

5

对偏转设置满意后，选择对号标记



按钮，关闭试验模式，转到 CyClone 选项。

设定 CyClone 板位置

重要事项 设定 CyClone 板时，检查从 SortRescue 伸出来的红色废液管。如果导管伸到能够与微孔板产生摩擦的低位置，请向上转动导管，并将其移开。

每个分选类型都设定有默认位置，为获取最佳结果，使用 CyClone 选项检查位置，并在必要时，对其进行调整。参见图 8.5。

图 8.5 设定 CyClone 板位置

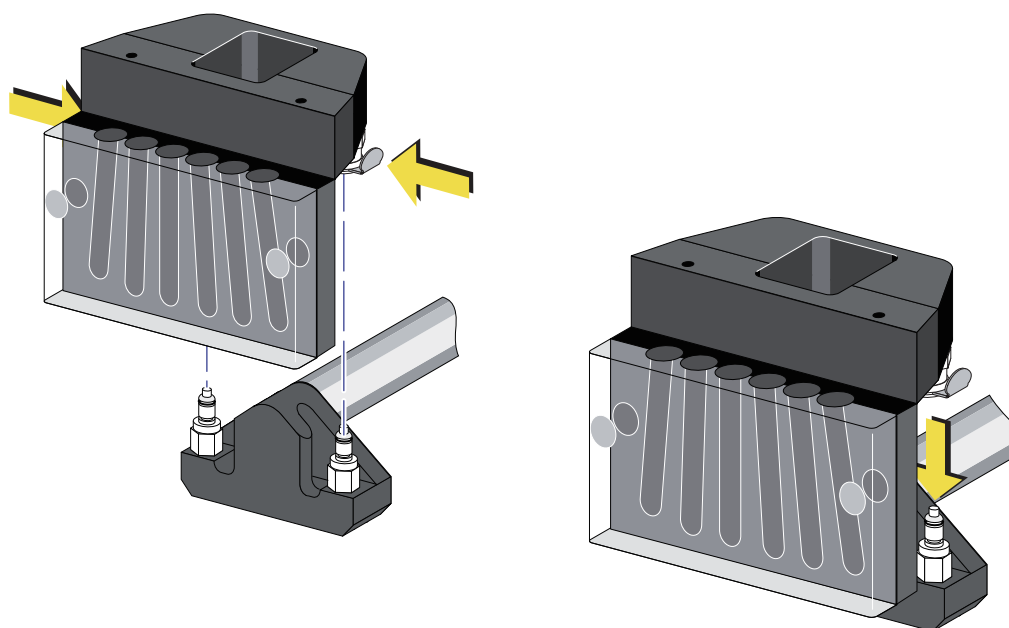


注意 确保显示屏上显示正确的 Sort Output（分选输出）。如果没有，请在继续操作前，进入 Deflection（偏转）选项，并选择适当的分选输出类型。

针对试管设置 CyClone 板位置

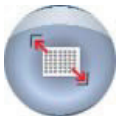
- 1 将适当的分选输出架置于 CyClone 板支臂上。参见图 8.6。

图 8.6 分选输出架



注意 要移除分选输出架，在拔起该输出架的同时，将手伸到架子后面，按下两个快速连接配件。

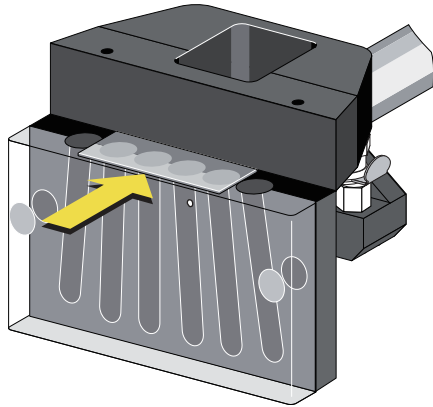
重要事项 如下所示，按下 Find Extents 按钮前，请确保试管架上没有试管。

- 2 按下 Find Extents 按钮 。

- 3 按下 Home  按钮，CyClone 板移动至存储的 Home 位置。如有必要，使用箭头按钮，将分选输出架置于电极板下侧。

-
- 4 将一个干净的玻片置于试管槽顶部。参见图 8.7。

图 8.7 干净的玻片



-
- 5 关闭分选舱门。

-
- 6 确保液流试验模式已打开，转到 Deflection 选项，按下 SortRescue  按钮。

-
- 7 查看打在玻片上的液滴。如果液滴位于试管中心附近，则转到 Deflection 选项，调整 Stream Deflection（液流偏转）直至液滴正确定位。参见调整液流偏转。

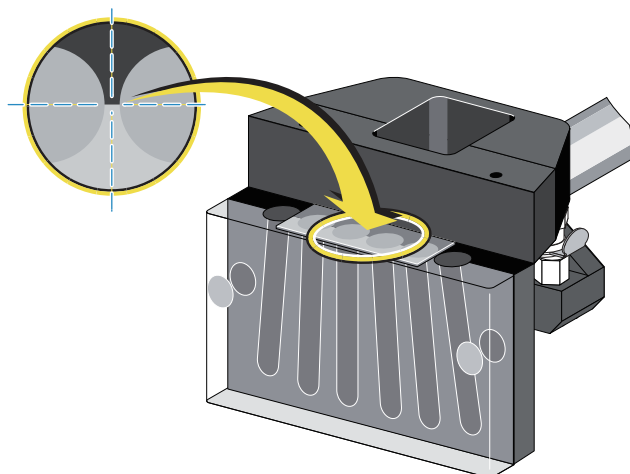
-
- 8 如果液滴沉积明显没有对准，则继续以下步骤。

-
- 9 擦拭玻片，并关闭分选舱门。

-
- 10 确保液流试验模式处于关闭状态。转到 Deflection 选项，按住 Squirt  按钮，在玻片上形成一个液滴。
-

-
- 11 使用箭头按钮移动 CyClone 板，可以在分选输出架上透明与暗色物质之间的位置形成液滴，如图 8.8 所示。

图 8.8 带液滴的分选输出



-
- 12 将液滴正确置于 Home 位置上，选择对号标记按钮 ，设定新的 Home 位置。

-
- 13 选择 End  按钮，并确保能从该位置移除试管。如果不能，请使用箭头按钮，以便移除试管，并选择对号标记，设定新的 End 位置。

-
- 14 确保液流试验模式已打开，选择 Deflection 选项，然后选择  SortRescue 按钮。

-
- 15 查看打在玻片上的液滴。如果液滴位于试管中心附近，则转到 Deflection 选项，调整 Stream Deflection（液流偏转）直至液滴正确定位。参见调整液流偏转。
-

- 16 在液流偏转正确的情况下，使用 Deflection 选项上的 Stream Position（液流位置）滑块调整下部液流定位目标，以便对准液流图像，选择 Deflection 选项上的对号标记按钮。

针对电极板设置 CyClone 板运动位置的步骤如下所示：

针对孔板设置 CyClone 板运动位置

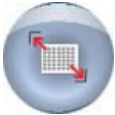
- 1 将 CyClone 板支臂置于孔板输出架上，如图 8.9 所示。将微孔板（盖子朝上）置于分选输出架上。

图 8.9 CyClone 支臂上的分选输出架



注意 要移除分选输出架，在拔起该输出架的同时，将手伸到架子后面，按下两个快速连接配件。

- 2 关闭分选舱门。

- 3 按下 Find Extents  按钮。

- 4 按下 Home  按钮。将 CyClone 板移动至存储的 Home 位置。

- 5 按住 Squirt  按钮，在孔板盖上打出一个液滴。

-
- 6 如果液滴处于 Home 中间位置（黄点）， Home 位置是正确的。如果液滴不在 Home 中间位置，请擦拭微孔板盖，使用箭头按钮，移动 CyClone 板支臂，并打出另一个液滴。
-

- 7 将液滴正确置于 Home 位置上，选择对号标记  按钮，设定新的 Home 位置。
-

- 8 选择 End  按钮。将 CyClone 板移动至存储的 End 位置。
-

- 9 按住 Squirt  按钮，在板盖上打出一个液滴。
-

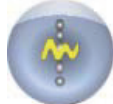
- 10 如果液滴处于 End 中间位置 （黄点），End 位置是正确的。如果液滴不在 End 中间位置，请擦拭微孔板盖，使用箭头按钮，移动 CyClone 板支臂，并打出另一个液滴。
-

- 11 将液滴正确置于 End 位置上，选择对号  标记按钮，设定新的 End 位置。
-

启动 IntelliSort

首先，必须启动 IntelliSort，其将针对喷嘴尺寸和鞘液压力设定频率和默认振幅来初始化 IntelliSort。一般情况下，在校准和 QC 运行前，运行该步骤。

校准充电相位，测定液滴延迟，启用 IntelliSort Maintain Mode（IntelliSort 维持模式）。

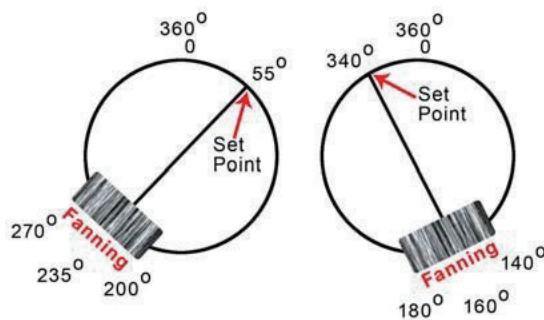
- 1 如果尚未按照第 6 章 仪器校准中激光光斑测定内容对 IntelliSort 进行初始化，请从 Sort Setup（分选设置）选项中选择 IntelliSort Initialize 按钮 。如果 Intellisort 初始化失败，请检查显示屏上的喷嘴尺寸是否正确，并执行扣除背景程序，请参见扣除背景。

- 2 选择 Sort Setup 选项 > Stream Setup 按钮 。

- 3 打开电极板启用分选液流，将电压值设定在 4000V 左右，启用将在分选使用的液流，打开 Stream Setup 显示屏上的试验模式。

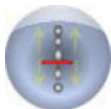
- 4 测定最佳充电相位。调整充电相位滑块，确定最能够引起液流 fanning 的区域中心位置，将充电相位设定为距离该数值 180° 的位置。参见图 8.10。

图 8.10 调整充电相位的值在两个极限值之间



- 5 调整 Defanning 滑块，将存留在废液流中的任何 fanning 现象移除。
- 6 关闭试验模式，按下绿色返回箭头，退出 Stream Setup（液流设置）界面。

- 7 选择 Sort Setup 选项 > Drop Delay  按钮，开启使用带自动液滴延迟计算的 IntelliSort 进行分选设置程序。

-
- 8  按下 Maintain (维持) 按钮, 监控分选作业, 并将液滴延迟控制在 10% 内, 温度变化范围为 $\pm 3^{\circ}\text{C}$, 鞘液压力变化范围为 $\pm 3\text{ psi}$ 。

注意 当 IntelliSort 处于 Maintain (维持) 模式时, 无法调整液滴延迟。

扣除背景

在激光光斑测定和 IntelliSort 设置前, 必须首先执行扣除背景程序。通过该程序, 您可以利用 IntelliSort 识别相关液流图像信息, 并清除照相机检测到的背景光学假影。

贝克曼库尔特工程师将在仪器安装期间执行扣除背景程序。

注意 无需在每次使用 IntelliSort 时执行上述程序, 但可能根据系统性能定期重复上述程序。

注意 下述两项错误信息表示 IntelliSort 无法完成初始化, 必须执行扣除背景程序。

- 错误 - Could not calibrate microns per pixel. (无法实现微米 / 像素标定。)
- 错误 - Width data is too wide. (宽度数据过宽。)

扣除背景程序

- 1 启动 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器。
-
- 2 根据所安装的喷嘴将喷嘴尺寸设定为 70 μm 或 100 μm 。
-

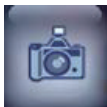
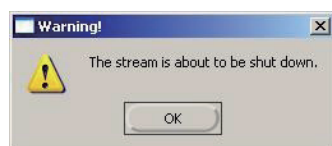
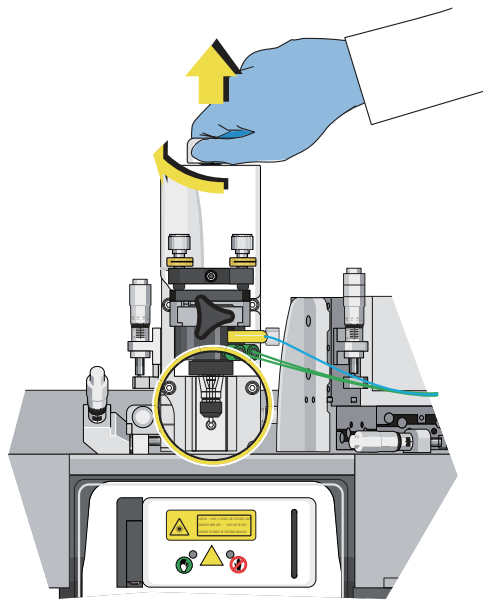
- 3  按下 Camera 按钮。暂停三十秒后, 系统会提示一项消息, 显示液流即将关闭, 如图 8.11 所示。

图 8.11 液流关闭警告



- 4 按下 OK 关闭液流。
- 5 等待液流完全停止。
- 6 扭动喷嘴工作台上的旋钮，将喷嘴的位置抬高，如图 8.12 所示。

图 8.12 喷嘴工作台上的旋钮



警告 - 本机打开时会有 4 类可见及不可见的激光辐射，应避免眼部或皮肤暴露在直接辐射或散射辐射中

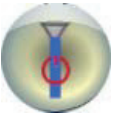
- 7 当液流和喷嘴处于视线之外后，按下对话框上的按钮，开始扣除背景程序。



警告

小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，如果将手指放在工作台底部和仪器机架之间，会挤压手指。通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

- 8 将喷嘴工作台放回视野内，并将其锁定到位。

- 9 选择 Start/Stop Sheath Stream (启动 / 停止鞘液流)  按钮，重新打开鞘液流。

10 继续执行第 6 章 激光光斑测定操作。

设定分选决策

分选决策具备四个主要组成部分：分选逻辑、分选模式、液滴模式以及分选 / 丢弃液流。

分选逻辑

这是区域和门的组合布尔逻辑，用于确定事件是否为阳性（分选所需）。超出分选逻辑的事件将被确定为阴性事件。根据分选模式，阴性事件被认为属于污染物，会导致阳性事件被弃。依据一个参数（直方图）或两个参数（散点图）对区域进行定义。门属于区域的布尔组合。

分选模式

根据所需输出不同，可以选择三种不同的模式对靶向群体进行分选。每个模式均由液滴内的颗粒位置以及第一液滴（符合分选逻辑的感兴趣中心液滴）或相邻液滴（第一液滴任意侧的单独液滴）中的污染物位置进行定义。以下是 Summit 提供的三种分选模式类型的阐述（在 Summit 中标记为 Abort Mode）：

Enrich — 若回收率对分选最为重要时，可以使用富集模式（Enrich Mode）。通过 Enrich，所有阳性事件被分选（属于分选逻辑范围内的事件）。

- 回收率比纯度更为重要。
- 对所有阳性事件进行分选，不考虑正在分选的液滴之中或附近的任何阴性事件（超出分选逻辑之外的事件）。
- 因阴性事件或硬件偶合事件导致无法丢弃。
- 确保最高效率和回收率，但纯度最低。流速增加，纯度降低。

Purify — 若分选纯度最重要，使用 Purify Mode（纯化模式）。

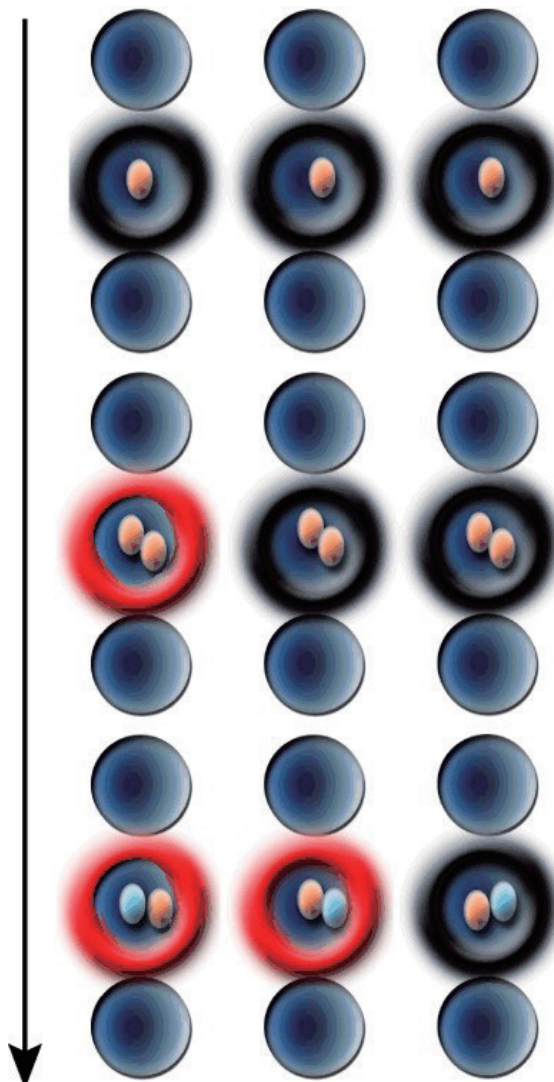
- 纯度比回收率更重要。
- 正在分选的液滴将仅包含阳性事件。
- 如果液滴包含阴性事件，则其将被丢弃。
- 如果相邻液滴的最近边缘（15%）包含任何阴性事件，则第一液滴将被丢弃。当流速增加时，丢弃率也会增加，因为第一液滴或相邻液滴的边缘可能含有阴性事件。

Single — 每个液滴仅含一个事件，对于分选最为重要时，可以选用 Single Mode。

- 细胞模式最重要的一个方面就是每个液滴中仅含有一个阳性事件，回收率相对不那么重要。
- 经过分选的液滴中仅包含单一阳性事件，没有阴性事件。
- 如果相邻液滴的近边缘 (15%) 含有任何阳性或阴性事件，那么，第一液滴将被丢弃。随着流速增加，丢弃率也将增加，因为第一液滴或相邻液滴的近边缘可能含有阳性或阴性事件。
- 为实现克隆目的将单细胞沉积到孔板 / 玻片中时，这种模式最常用。

分选模式如图 8.13 所示。液流由下图中的深蓝色点表示，靶向群（粉色）或污染群（蓝色）位于液滴中。根据选定的分选模式，液滴将被分选（黑色突出显示）或被丢弃（红色突出显示）。分选模式从左到右为：Single、Purify 和 Enrich 三种模式。

图 8.13 不同分选模式应用于相同的分选液流



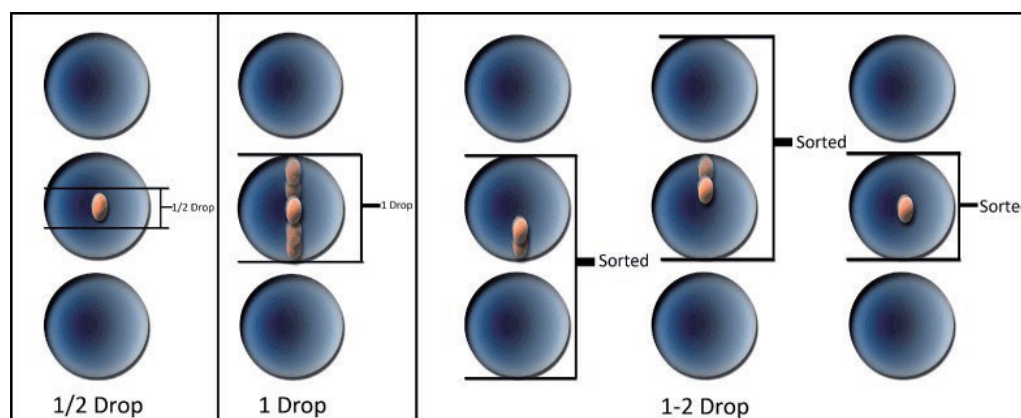
分选液流优先级

在分选期间，经过分析的细胞可能满足一个以上液流的分选逻辑。分选逻辑具备两个优先设置：分选模式和液流优先。当多个群体同时分选时（尤其在高速情况下），用户应选择适当的分选模式和分选液流位置。无效的优先决策会影响目标群体的回收率。分选模式优先级为：Single > Purify > Enrich。液流优先是液流的顺序由外向内（L3>R3>L2>R2>L1>R1）。设置分选时，将最珍贵和 / 或罕见的事件置于外部液流中可以获取最大回收率。

分选液滴包裹

分选液滴包裹，根据液滴中的阳性事件位置，确定即将被分选的液滴数量。参见图 8.14。根据所需分选应用，研究人员可能希望更严苛（1-2 Drop）或更具包容性（1/2 Drop）的事件位置。如果错误设定液滴模式，分选群体回收率会受到影响。

图 8.14 液滴模式



0.5 Drop — 如果所有阳性事件位于液滴中心部分，则分选一滴。常规而言，这种包裹的产量最低（大部分被丢弃）。这一般应用于分选精确的细胞数例如单细胞分选（Single Mode）。切勿在富集分选模式中使用，因为阳性事件将被丢弃。

1 Drop — 如果阳性事件存在于液滴的任何位置，则分选一滴。测定液滴延迟时，使用该包裹。否则，仅可在分选容积 / 稀释率需最小化时使用该模式。使用该包裹且液滴延迟未完善时，液滴延迟中每 1% 错误率会使回收率降低 1%。

1-2 Drop — 如果所有阳性事件位于液滴中心，则分选一滴。如果阳性事件不在中心内，则包含该事件的边缘相邻液滴也被分选。如果液滴两侧边缘都有阳性事件，则相邻液滴被分选。这种包裹有助于确保阳性事件始终得到分选。分选容积比 1-drop 包裹大 30% 左右。

2 Drop — 始终至少分选两滴。包含带阳性事件的液滴和最近的相邻液滴被分选。如果目标液滴两半都有阳性事件，则两个相邻液滴也被分选。只有在液滴延迟稳定性无法维持在 15% 液滴范围内时，才使用这种包裹。

3 Drop — 始终分选三滴。包含阳性事件的液滴和两个相邻液滴被分选。只有在液滴延迟稳定性无法维持在 15% 液滴范围内时，才使用这种包裹。

注意 在所有多种液滴模式中（1-2、2、3），如果因液滴或相邻液滴近边存在污染物而导致“多余”液滴无法被分选，第一液滴仍被分选。因此，分选效率不会受到影响，但是回收率会因液滴延迟不精确或细胞迁移穿过预测液滴边界而受到影响。

效率

效率公式定义为： $\text{（分选的液滴）} / \text{（分选的液滴} + \text{丢弃的液滴）}$ 。分选期间报告的分选效率是最近三秒时间的平均值。分选停止时，它将是整个分选期间的平均值。触摸屏控制面板 Sort Statistics 选项和 Summit 的 Sort Settings（分选设置）面板上可以找到“% Efficiency”。

正如效率公式所示，它是分选液滴与丢弃液滴之间的函数。下面列举的情况会导致液滴被丢弃。在任何情况下，当流速增加时，丢弃率也会增加，从而造成分选效率降低。

- 单一分选模式下，第一液滴包含一个以上阳性事件或相邻液滴近边包含任意类型的事件。选用多液滴包裹时，“多余”液滴或其相邻液滴近边的事件会阻止“多余”液滴被分选，但不会将其作为丢弃事件进行计数，除非其包含多个阳性事件或同时包含阳性或阴性事件。
- 任何分选模式下选择 1/2 Drop Envelope（1/2 液滴包裹）时，阳性事件只要超出液滴中心点都不被分选。
- Purify 和 Single 分选模式下，第一液滴或相邻液滴近边包含任何阴性事件都将被丢弃。选用多种液滴模式时，“多余”液滴或其相邻液滴近边的阴性事件会阻止“多余”液滴被分选，但不会将其作为丢弃事件进行计数，除非其也包含阳性事件。
- Purify 和 Single 分选模式下，电子系统测定两个或以上事件的叠加。这就称为偶合或硬件丢弃。由于 Astrios^{EQ} 仪器电子采样速度非常快，这种情况很少发生。电子系统无法检测到粘连体紧密相连的现象，包括两个或以上颗粒显著叠加或粘连在一起的情况，因而只能通过分选逻辑解决。参见本章节中的分选决策和粘连体部分内容。
- 任何分选模式下，第一液滴（或相邻液滴近边）包含足够的阳性事件，令液流分选的总事件数超过其分选限值。选用多种液滴模式时，能够阻止“多余”液滴被分选，但不会将其作为丢弃事件进行计数。

- 当分选多液流包括两侧最外层试管时，无论哪种分选模式下，两个紧邻的连续液滴具备较大相反极性可导致液滴融合。它将包括以下组合的其中一个，L3 R3、L3 R2 或 L2 R3。根据分选模式和液流优先级，丢弃液滴的优先级较低。选用多种液滴模式时，能够阻止“多余”液滴被分选，但不会将其作为丢弃事件进行计数。
- 在高流速（超过 100,000 EPS）下，分选软件将作出分选决策，但随后会确定没有足够的时间实际执行该项分选操作，液滴会被丢弃。请注意，当聚团事件引起事件速率瞬间飙升时，平均事件速率较低时，会发生上述情况。触摸屏控制面板上显示的事件速率是最近三秒的平均值。

注意 因上述任何原因丢弃液滴时，分选算法随即尝试查找可与该液滴匹配的低优先级分选决策。如果查找到一个分选决策，随即根据该决策进行分选，且不会将其作为丢弃事件进行计数。例如，如果 L3 分选决策为 G1 门，L2 的分选决策和 Single mode 也是 G1 门，但在 Purify mode 下，如果液滴中含有多个 G1 阳性事件，则将其视为 L3 的丢弃事件，但是会作为 L2 的分选事件。

样品质量和制备是降低丢弃率、提高效率的关键要素。如果样品中的细胞呈块状，这种情况可能导致丢弃率升高。如因样品制备需要维持低丢弃率，应使用适当缓冲液过滤并处理样品，从而减轻聚团状况。处理块状样品时，应启用 Doublet Discrimination（粘连体辨别）程序。参见本章节后面的分选决策和粘连体部分内容。

选用分选模式时，需考虑其对分选效率的影响。例如，用户想要在分选速率为 45K EPS 下，分选人细胞 CD34+ 和若干淋巴细胞系标志。如果研究人员想要将细胞分选到孔板中，每个孔放入一个 CD34+ 细胞，则可以选择 Single (1/2 drop) 分选模式。速率为 45K EPS 时，效率将接近 50%，纯度达到 100%。分选逻辑仅保留提供单一脉冲的细胞，不保留任何其他脉冲，因此，会丢弃存在污染物的任何液滴。如果研究人员针对 CD34+ 更改为 Purify Mode (Drop 1-2)，并将细胞分选入试管中，则效率接近 70%，纯度达到 100%。上述分选逻辑会分选所有含阳性事件但不含阴性事件的液滴。最后，针对罕见事件分选，研究人员拥有两个选择：将分选模式设定为 Enrich (1-2 Drop)。完成上述设置后，可以分选含任何阳性事件的所有液滴，因此效率将达到 100%（无丢弃），但纯度可能仅为 60-70%。罕见事件的分选还可以使用 Purify (1-2 Drop)，并将其丢弃液流设定到不同的试管上。通过这种方式，第一管的纯度为 100%，而第二管、丢弃管的纯度会降低。

纯度

分选输出的纯度由不同因素来定义，包括：分选模式、样品质量、每秒事件数以及目标群。有必要针对所需的应用领域和分选输出选择适当的分选模式。

分选输出纯度计算公式为： $(\text{目标群数量}) / (\text{目标群} + \text{污染物群})$ 。样品纯度会因样品制备、分选模式、液流稳定性或液滴延迟设置而受到影响。

分选目标群体时，荧光信噪比较高的细胞很容易从污染物中区分出来，并且纯度较高。要获得最高纯度，研究人员可以优化抗体浓度，并使用正确的激光 - 荧光染料。

此外，在触发参数上适当设置阈值会影响分选纯度。如果污染物低于信号阈值，则污染物不会检出，并可能和阳性事件一起被分选。例如，研究人员在事件速率为 60 EPS 时，将 CD19 淋巴细胞从未裂解全血从分选出来。阈值百分比设置过高，因此，在分选期间，样品中会出现红血球，但未检出（因此无法丢弃）。由于未检出红血球，因此，样品纯度低于预期值（85%）。通过降低阈值和添加其他特定抗体（CD41 和 CD235），分选纯度将提高到 99%。

分选模式也会影响分选纯度。正如“效率”小节所述，样品纯度会受到选定分选模式的直接影响。如果选择 Enrich Mode，则分选逻辑将分选所有包含阳性事件的液滴，即使其也包含阴性事件。因此，使用该分选模式时，样品纯度很可能会降低。Single 和 Purify Drop Modes 将维持高纯度。

液滴流稳定性（包括频率、振幅和充电相位）是分选有效性和纯度的基本组成部分。根据本章节使用带有自动液滴延迟计算的 IntelliSort 进行分选设置 程序所述内容，适当设置分选组成部分。如果系统因液流不稳定性而未能维持液滴延迟，则分选的样品纯度可能会降低。

最后，使用 Intellisort II 自动计算或手动计算液滴延迟，当液滴延迟计算值与实际液滴延迟差异大于 15% 时可能会影响样品纯度。如果液滴延迟差异小于 $\pm 15\%$ ，则系统将维持原纯度。

分选设置：分选模式、液流优先级以及液滴包裹概述

- 1 根据分选需要选择分选液流数量。
 - a. 孔板 / 玻片分选：L1，1 条液流。
 - b. 试管分选：仅根据需要选择液流数量。
- 2 多路分选时，选择液流位置。
 - a. 将罕见事件置于外侧液流中。
 - 1) 针对 6 路分选，将罕见事件置于 L3 和 R3 中。
 - 2) 针对 4 路分选，选择 L2 和 R2。
 - b. 将 Enrich 或 Abort 液流置于最内侧试管中 (L1，R1)。
- 3 选择分选模式。
 - a. 孔板 / 玻片分选（每孔一个细胞）：Single。
 - b. 试管分选：
 - 1) Purify（纯度较高）。
 - 2) Enrich（回收率较高）。

4 为每条液流选择正确的液滴模式。

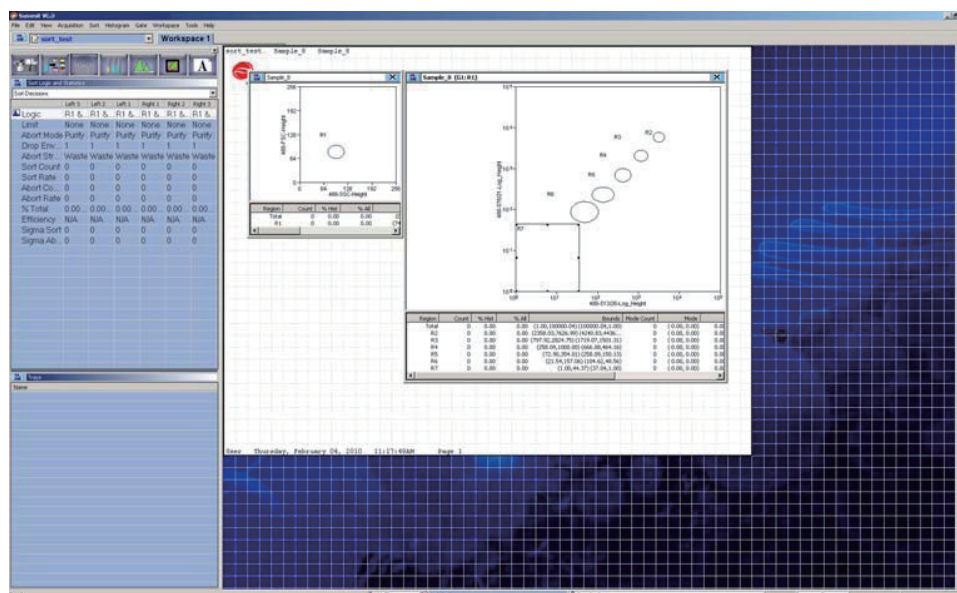
- 1/2 Drop - Single Mode 孔板分选。
- 1 Drop - Purify Mode (纯度较高、分选容积 / 稀释率较低, 回收率较低)
- 1-2 Drop - Purify 或 Enrich 模式 (回收率较高)。
- 2 或 3 Drop - 仅当液滴延迟误差率超过 15% 时可以使用该模式。

分选决策

设定分选决策时, 需采集样品数据, 并根据样品数据指定分选标准。

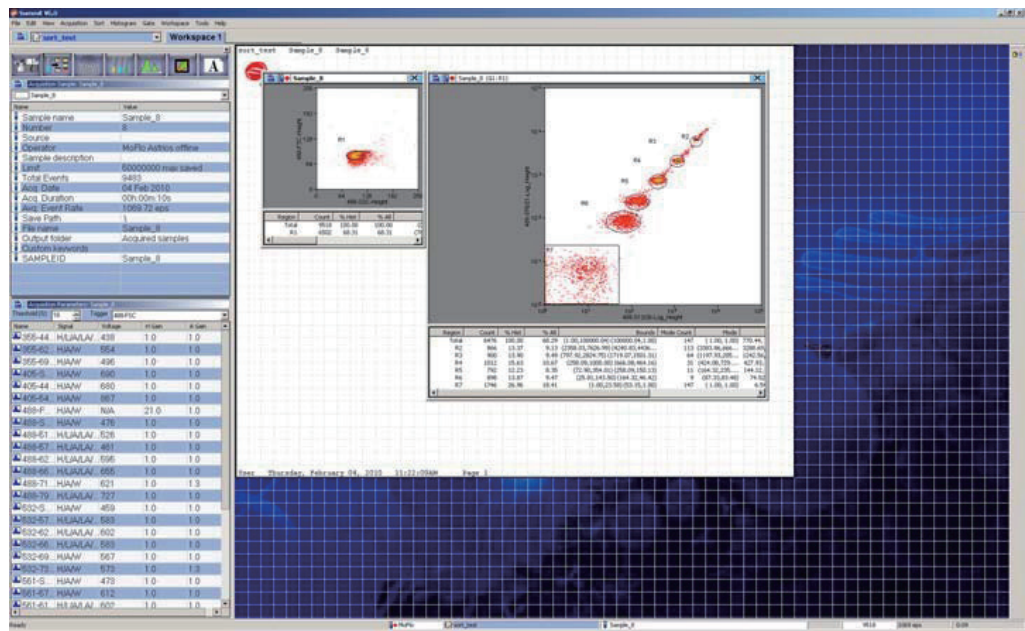
1 在 Summit 软件中创建分选方案, 设定区域和门。参见图 8.15。

图 8.15 分选方案



2 将样品置于 SmartSampler 上，在触摸屏控制面板上选择 Start Sample（开始上样）按钮，按下 Summit 中的 (F2) 按钮，从显示屏上采集数据。根据需要，调整区域设定。参见图 8.16。

图 8.16 采集数据



3 在 Summit 中选择 Sort 选项，并设定分选决策。参见图 8.17。双击字段进行编辑，然后创建一个新的选项。或者，也可以右击直方图中的一个区域，设定分选决策。参见图 4.29。

图 8.17 分选逻辑和统计数据

Sort Logic and Statistics						
Sort Decisions						
	Left 3	Left 2	Left 1	Right 1	Right 2	Right 3
Logic			R1 & ...			
Limit	None	None	None	None	None	None
Abort Mode	Purify	Purify	Single	Purify	Purify	Purify
Drop Envel...	1	1	0.5	1	1	1
Abort Strea...	Waste	Waste	Waste	Waste	Waste	Waste
Sort Count	0	0	0	0	0	0
Sort Rate	0	0	0	0	0	0
Abort Count	0	0	0	0	0	0
Abort Rate	0	0	0	0	0	0
% Total	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Efficiency	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Sigma Sort	0	0	0	0	0	0
Sigma Abort	0	0	0	0	0	0

注意 使用 IntelliSort 进行孔板或玻片分选时，将 Abort Mode 设定为 Single，Drop Envelope 设定为 0.5，是很重要的。孔板或玻片分选必须始终使用液流 Left 1。

- 如需进行 1536- 孔板分选，请移除废液管，并将分选液流直接向下引导。
- 试管分选时，最佳 Drop Envelope 为 “1-2”，可以使用任何 Abort Mode。

-
- 4 在 Sort Calculations（分选计算）中选择 Abort Mode。
-

开始试管分选

-
- 1 确保已按下 CyClone Find Extents 按钮，且相应的液流偏转已设置完毕。
-
- 2 将试管置于 CyClone 板上。
-
- 3 根据自己的参数需求对 Summit 软件仪器选项上的 SmartSampler 进行设置。参见仪器选项。
-
- 4 按下触摸屏控制面板上的 Start Sample（开始上样）按钮。
-

重要事项 在分选开始前，确保分选偏转板处于打开状态。偏转板达到满负荷状态需要几秒钟时间，在此期间，发生的任何分选将会错误偏转，产生污染。

- 5 在 Summit 中，按下 Sort Menu > Start 或按下 (F4)。

注意 再次按下 (F4)，停止分选。

Summit 软件中的孔板或玻片配置

重要事项 如果您正在进行试管分选，请勿进行此项程序。

要进行玻片或孔板分选，请采集样品数据，设定区域和门，设定分选决策，在 Summit 软件中配置玻片或孔板，并配置 CyClone 板。通过触摸屏控制面板，创建自定义分选输出类型，其将保存 CyClone 板配置，便于再次使用。

设置分选程序

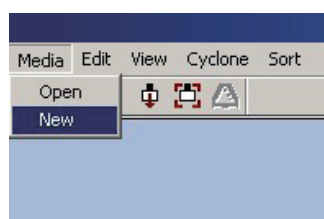
- 1 在 Summit 软件中选择 Sort 菜单，并如图 8.18 所示选择 CyClone。

图 8.18 选择 CyClone



- 2 选择 Media > New，如图 8.19 所示。

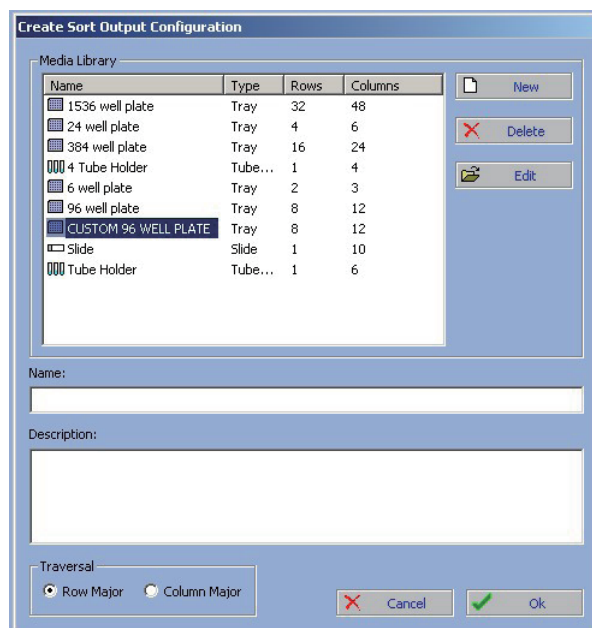
图 8.19 Media New



重要事项 图 8.20 所示的分选输出类型为默认设置（以及一个自定义）。建议设置包含 CyClone 板 Home 和 End 位置的自定义分选输出类型。一旦创建自定义分选输出类型后，可以跳过触摸屏控制面板定义、偏转和 CyClone 板选项设置。

- 3 此时，显示屏上会出现一个对话框，如图 8.20 所示。此列表包含触摸屏控制面板上 Definition 选项中的默认分选输出类型和自定义分选输出类型。

图 8.20 选择玻片或孔板类型

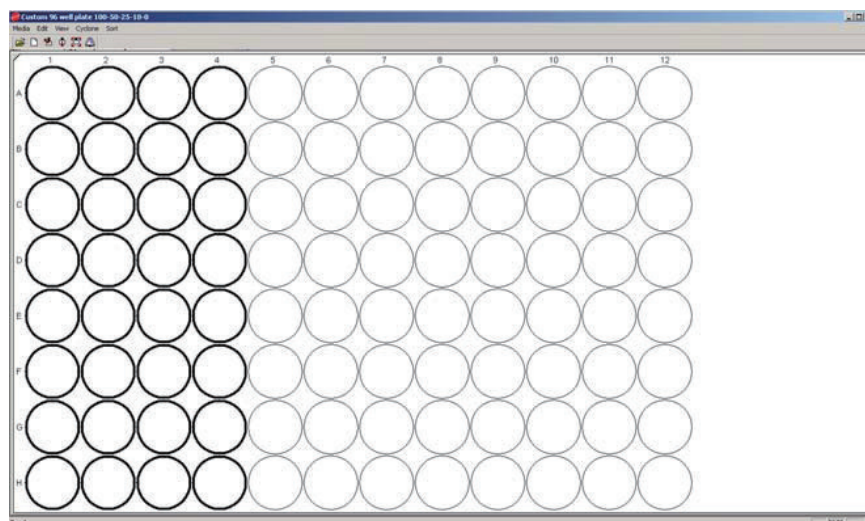


4 在 Name 字段输入分选输出配置名称，并选择 OK。

5 此时，将显示所选媒介的布局。选中将接收某一分选决策的所有圆圈。参见图 8.21。

注意 要选择单独圆圈，请在选择此圆圈时，按下 (CTRL)。要选择一组圆圈，请选择一个圆圈，并在选择另一个圆圈时，按下 (SHIFT)。要清除选定的圆圈，请在再次选择选定圆圈时，按下 (CTRL)。

图 8.21 布局



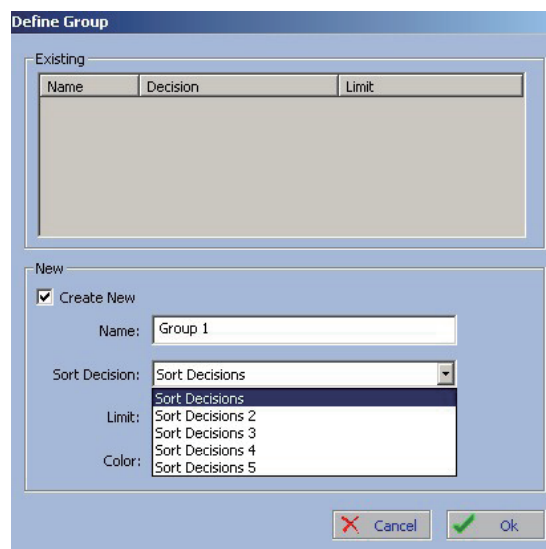
- 6 在选定圆圈中右击，并选择 Define，如图 8.22 所示。

图 8.22 定义布局



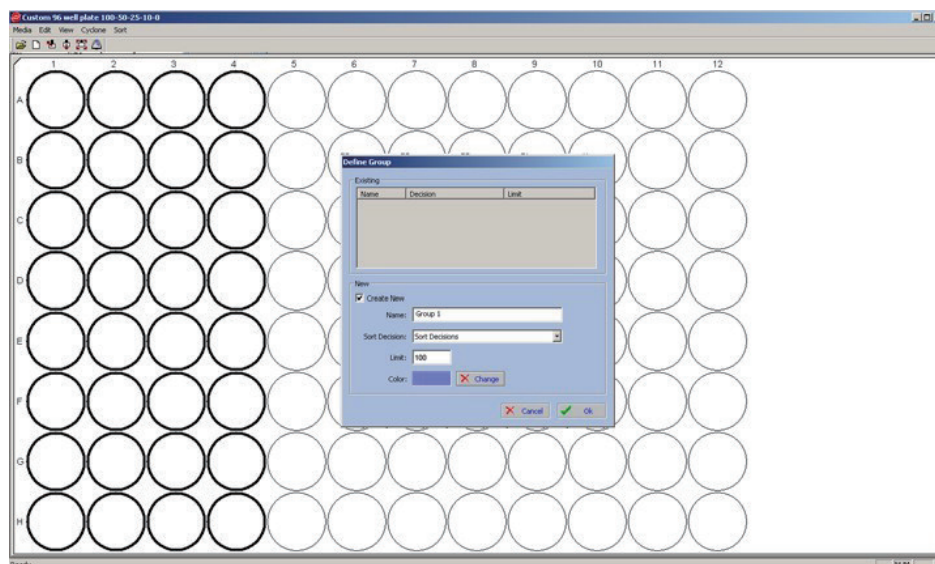
- 7 若尚未设置，则分配分选决策。仅为 Left 1 (L1) 液流设定决策。参见图 8.23。

图 8.23 定义布局的分选决策



8 设定每个位置分选的最大细胞数。参见图 8.24。

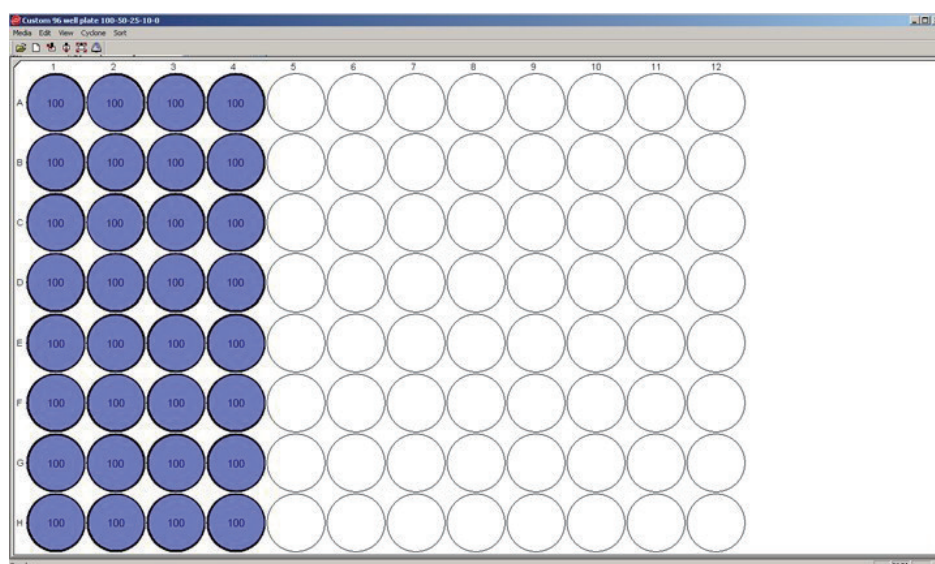
图 8.24 定义布局颜色 - 细胞数量



9 选择一种颜色。

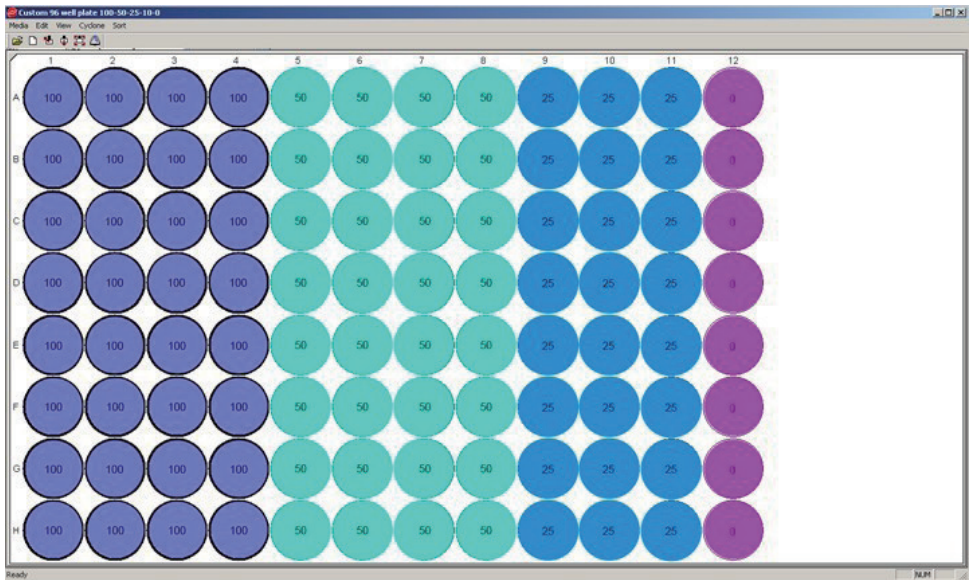
10 选择 OK。参见图 8.25。

图 8.25 定义布局颜色 - 选定颜色



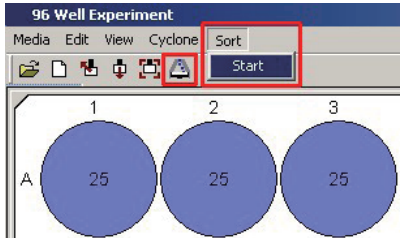
11 如果打算分选一组以上分选决策，请重复第 1-10 步。图 8.26 展示了具有四个分选决策的配置。

图 8.26 定义布局颜色 - 分选决策配置



12 选择分选图标或选择 Start 开始分选，如图 8.27 所示。

图 8.27 启动分选



其他分选信息

在样品运行期间，样品压力比鞘液压力大 0.1-0.5 psi。这被称为压力差。对于尺寸为 70 μm 的喷嘴，鞘液标称显示的操作压力通常为 60 psi（鞘液桶中压力约为 61.5 psi）。

压力控制能够调节鞘液压力和样品压力，通过触摸屏控制面板对照样品压力差。在处理特殊样品时，操作人员可以根据所需每秒流速 (EPS) 对压力差进行调整。

注意 只有鞘液压力和喷嘴尺寸是影响流速的两个变量，因此，这两个变量能够引起激光延迟值的变化，所以需要重新运行 QC。激光延迟是颗粒从第一个激光 pinhole 达到第二个激光 pinhole 所需的时间，以此类推，一直到穿过第七个 pinhole 所需的时间。如果改变喷嘴大小或鞘液压力，则必须重新运行激光延迟计算和 QC 程序。

更改操作压力

70 μm 喷嘴的标称操作压力通常为 60 psi。但是，可以使用压力控制台前面的粗调旋钮将压力调整到 100 psi。在进行以下任何有关压力变化操作前，通常要从仪器中移除样品，并确保 SmartSampler 舱门已打开。

改变激光延迟值

激光延迟是颗粒从第一个激光 pinhole 达到第二个激光 pinhole 所需的时间，以此类推，一直到穿过所有七个 pinhole 所需的时间。压力变化大于 1 PSI 时，有必要重新运行激光延迟计算和 QC 程序，其将自动重置激光延迟值。

有关激光延迟详细信息，请参见第 6 章 仪器校准中的激光延迟部分内容。按下 Laser Delay optimization（激光延迟优化）按钮，为不同的压力设置设定激光延迟。根据界面指示操作。有关 QC 程序的信息，请参见第 7 章 质量控制。

降低压力

重要事项 对压力控制台进行压力调整后，检查鞘液桶的压力。请勿上样直至鞘液桶压力表显示正确。

降低显示的工作压力时，使用压力控制台上的鞘液调节器旋钮将鞘液压力调至所需水平。参见图 2.23。随后，释放鞘液桶的压力。接下来，将样品压力降至超过鞘液压力 0.2 psi。

增加压力

增加显示的工作压力时，使用压力控制台上的鞘液调整旋钮将鞘液压力提升到所需水平。参见图 2.23。接下来，使用压力控制台上的样品调节旋钮，将样品压力提升到超过鞘液压力 0.2 psi。

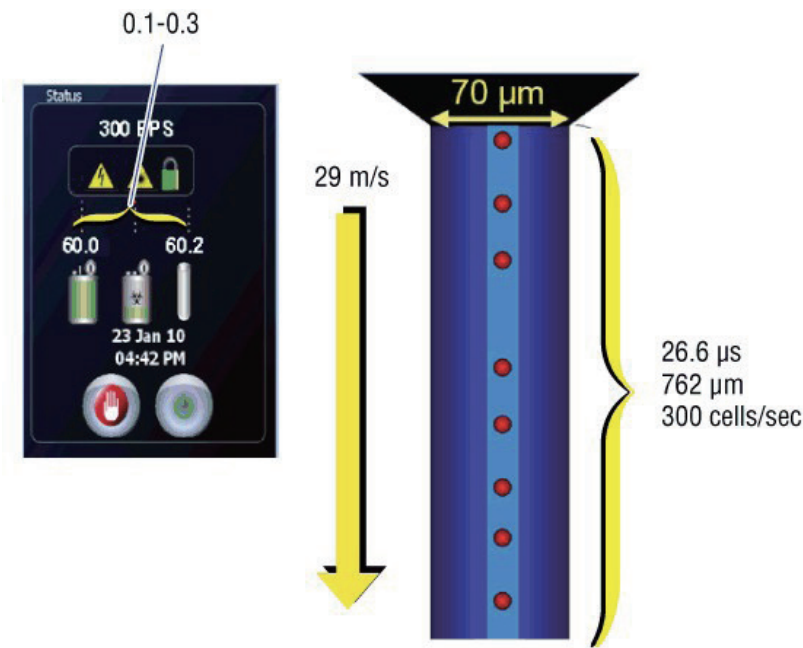
处理速率限制

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器用于高速分选。实际上，当分选速率达到每秒事件量 >70,000 时，能够获得良好的纯度和回收率。但是，必须保证细胞浓度能。

够保证，在可接受压力差水平上，获得高流速。参见图 8.28。

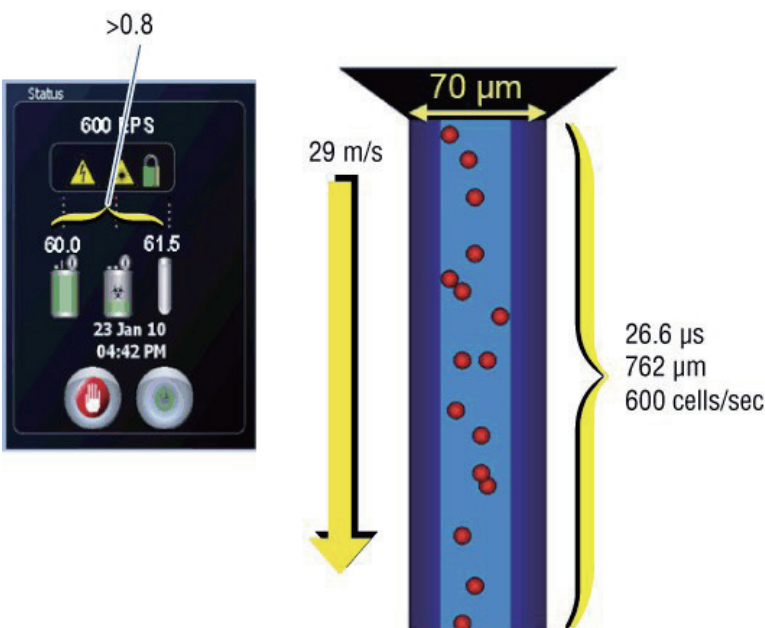
MoFlo Astrios^{EQ} 仪器电子系统能够最高效地处理单个文件里观察点上获取的细胞。

图 8.28 良好的分选纯度和分选容积，低丢弃率量



如果将压力差提升至 0.8 psi（70 µm 喷嘴头，60 psi）以上，会导致细胞同时到达观察点，从而增加偶合率和分选逻辑丢弃率。参见图 8.29。

图 8.29 低分选纯度和分选容积，硬件耦合丢弃率



因此，如果想要以高流速处理细胞，请确保有足够的样品浓度。

细胞浓度基本规则 - 如果希望每秒事件量达到 1,000，则每毫升细胞量应为一百万个。例如，如果希望每秒事件量达到 40,000，则每毫升细胞量至少应为 4,000 万。这样能够确保在可接受压力差水平上获得高事件速率。

硬件丢弃

当仪器无法及时处理分选决策来执行实际分选时，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上会出现硬件丢弃的情况。由于 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器电子系统的处理速度非常快，硬件丢弃的情况极少出现。例如，在复杂程度为中等的分选中，只要事件速率不超过 200,000 EPS，MoFlo Astrios^{EQ} 通常不会产生硬件丢弃。流速和丢弃率因样品特性而异。

分选决策和粘连体

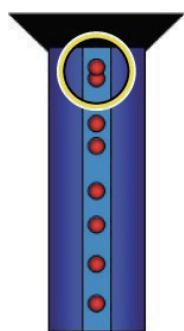
重要事项 对于众多分选应用来说，单细胞的分析和分选是非常重要的。

当样本流的流速或浓度较高时，可能发生两个颗粒物叠加，并呈现出一个较大颗粒的假象。这就称为粘连体。

粘连体

当两个颗粒同时穿过观察点或达到其附近时，会发生粘连体的状况。参见图 8.30。在以下情况下出现粘连体的概率会增加，包括：分析易于粘在一起的细胞，或样本在高流速、高压力差或高浓度下流动。合适的样品制备以及对样品进行预过滤，能够最大程度地减少粘连体或细胞结群的情况，吹打混匀细胞能够最大程度减少粘连体。

图 8.30 粘连体



粘连体的对数区域和线性区域信号的强度值大于单体。但是，线性高度和对数高度信号不会提供分辨单体与粘连体的任何信息。要确定粘连体，必须收集面积和脉宽数据。

参数信号类型

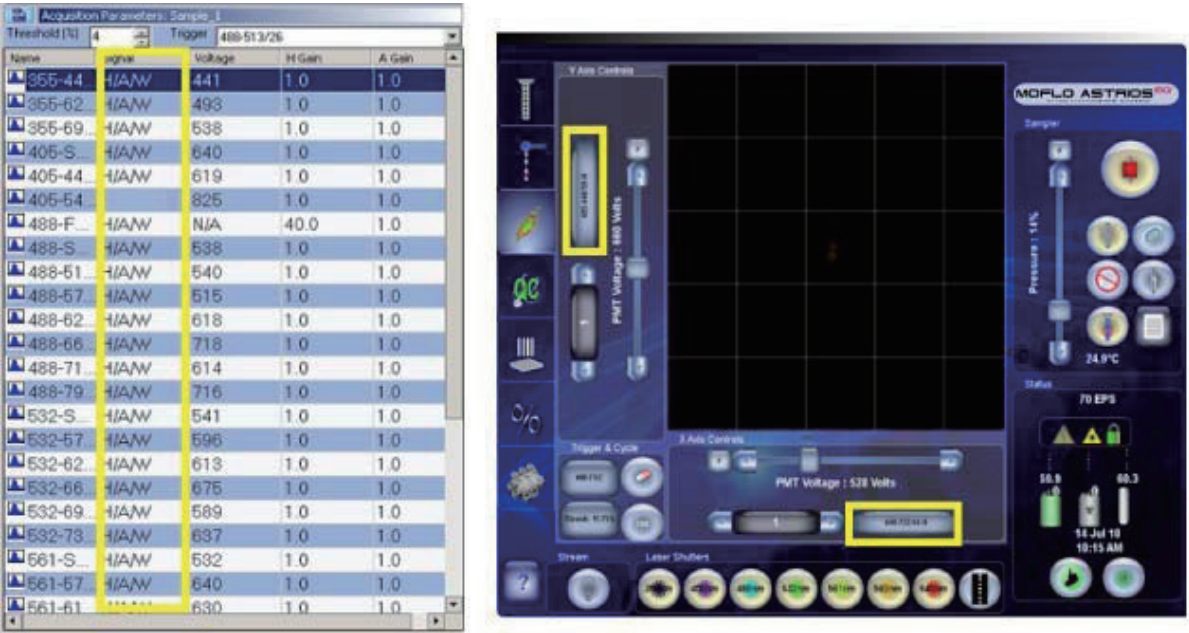
Summit 和触摸屏控制面板 Fine Alignment (微调) 界面上每项参数的信号类型可供使用, 且定义如下:

- H = 线性高度
- A = 线性面积
- W = 脉冲宽度
- L = 对数高度
- LA = 对数面积

在 Summit 中设置直方图或散点图之前, 必须启用打算用于实验的所需参数信号类型。在默认情况下, 启用参数时, 仪器将收集线性高度、面积和宽度信息。对数值等所有其他参数都可以运用这些线性数据
进行运算。与旧版 Summit 中这项功能不同的是, Summit 中的参数无需单独启用或禁用, 除非选择
上述操作。图 8.31 展示了 Summit 和 Fine Alignment (微调) 界面上的参数信号类型设置。

注意 Summit 中的参数启用 / 禁用功能不会影响触摸屏控制面板上提供的参数。

图 8.31 Summit 和 Fine Alignment (微调) 界面上的参数信号类型设置



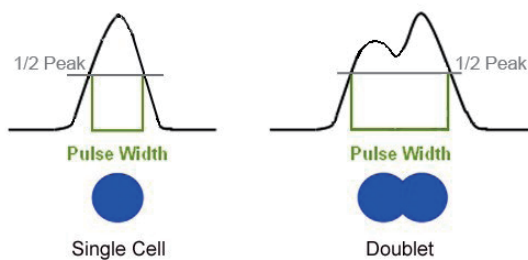
阈值

阈值设定的目的是降低电子系统对噪点的灵敏度, 包括极小颗粒或自动荧光引起的低阶噪点, 以及光学或电子噪点。阈值临界值的选择, 用户可以根据经验确定信号处理开启时的最低电压。阈值设定范围可以选择在 0.001% 至 100% 之间, 全尺度选择相当于 10 V。

脉冲宽度

从基准线以上 0.01 处开始测量，在信号半峰高处，测定脉冲宽度（W = 脉冲宽度）。粘连体的脉冲宽度更大。参见图 8.32。

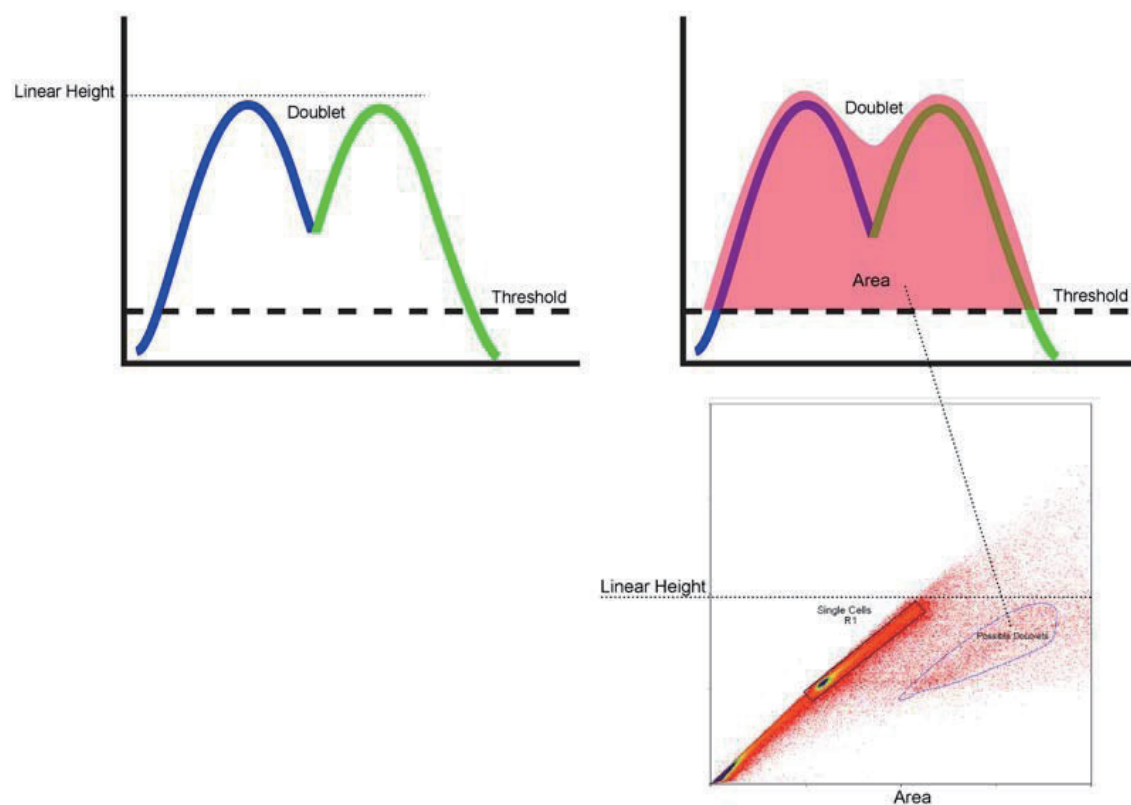
图 8.32 单体和粘连体峰值的脉冲宽度



粘连体高度与面积信号

图 8.33 显示了线性高度（H = 线性高度）和对数高度（L = 对数高度）信号，无法提供有关分辨单体和粘连体的有效信息。面积（A = 线性面积）包括阈值与峰值之间的面积。

图 8.33 粘连体的高度和线性面积信号



粘连体辨别

在设置分选决策前，确定采集数据中的粘连体群体，以便精确分选，这项操作是非常重要的。下面的普通示例描述了使用 DNA 染料进行处理的细胞是如何来去除粘连体的，根据特定实验可以调整相应的粘连体去除方法。

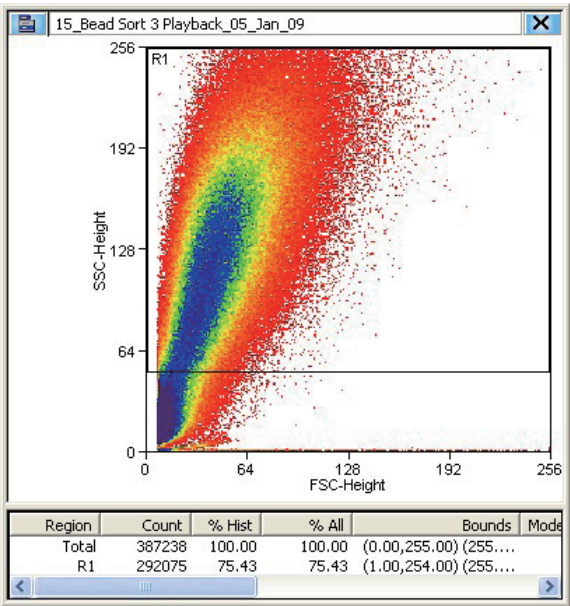
- 1

在 Summit 中，创建 FSC 与 SSC 散点图、面积与高度散点图，以及高度与脉冲宽度散点图，采集数据。
- 2

创建排除疑似碎片的区域。使用区域和门在“面积与高度”和“高度与脉冲宽度”散点图中设门。参见第 4 章 Summit 软件中的通过单一区域设门部分内容。图 8.34 展示了 FSC 与 SSC 散点图。

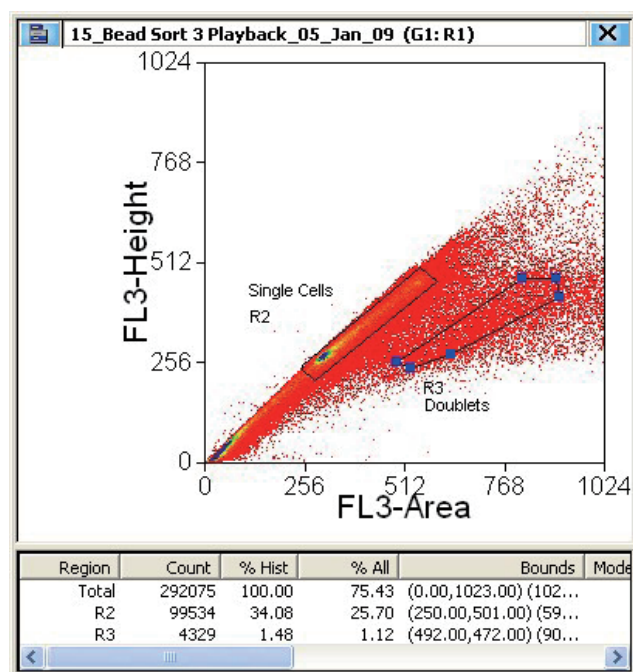
注意 根据样品的特性，脉冲宽度或面积散点图能更清晰地展示单体与粘连体群体。

图 8.34 FSC 与 SSC 散点图



- 3 设定区域，将疑似单细胞群体纳入其中，如图 8.35 所示。还可以在疑似粘连体群附近创建区域。当设定分选决策时，可以将粘连体群体从分选中排除。

图 8.35 面积与高度散点图，已在 FSC 与 SSC 散点图 R1 上设门



注意 门控颜色是在确定粘连体群体后，帮助操作人员在各种直方图中查看粘连体群体的一种方法。参见第 4 章 Summit 软件中的门控颜色部分。

手动测定液滴延迟

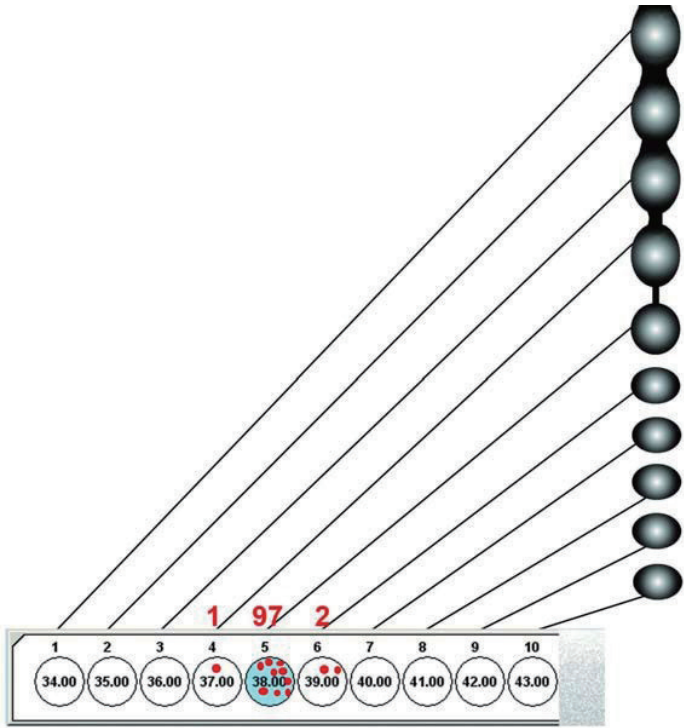
液滴延迟是指颗粒从第一激光器的观察点到达液流断点液滴所需的时间。有效分选高度依赖于适当的液滴延迟计算。仪器正常操作时，在安装 70 μm 和 100 μm 喷嘴的情况下，可以使用 IntelliSort 自动测定液滴延迟。

若喷嘴尺寸不是 70 μm 和 100 μm ，则必须手动测定液滴延迟。按照第 3 章 触摸屏控制面板中的激光和液流截距配置显示屏部分，创建喷嘴选项。

可以按照本节内容手动测定或校准液滴延迟。图 8.36 显示液滴延迟示意图。

注意 IntelliSort Maintain Mode（维持模式）应在手动测定液滴延迟前激活，因为它会监测和维持液滴形成。

图 8.36 液滴延迟示意图



液滴延迟校准是一项按照下述方式进行的重复实验：

- 十个液滴沉积在显微镜玻片上。
- 上述十个液滴采用不同的液滴延迟设置，如上图所示相差一个整数。
- 使用 Single Sort Mode（单分选模式）、1-drop 模式，在上述十项不同的液滴延迟设置下，将 100 个微球精确存入每个液滴中。

注意 在 Summit 中，可以改变液滴延迟的数值。

- 100 个微球至多分布于 3 个液滴中（在液流和液流 fanning 稳定的情况下）。检测微球含量最多的液滴，确定液滴延迟的整数部分。
- 相邻液滴所含微球数目代表了为精确至小液滴 1/100 而需要更改的液滴延迟量。
- 对液滴延迟进行更改以到达上述情况。

在手动测定液滴延迟前，必须首先按照如下步骤，启动和校准仪器。

启动和校准仪器

- 1 执行仪器开机程序。参见第 5 章 开机和关机程序中的自动开机或手动开机部分。
 - 2 执行仪器校准程序，包括激光光斑测定。参见第 6 章 仪器校准中的每日仪器校准。
 - 3 另外，如需执行自动质控程序，参见第 7 章 质量控制中的质量控制与性能验证。
 - 4 执行本章节中的使用带自动液滴延迟计算的 IntelliSort 进行分选设置程序。
仅尺寸为 70 μm 和 100 μm 喷嘴支持 IntelliSort 初始化和自动测定液滴延迟程序，IntelliSort Maintain 仅可在其他尺寸的喷嘴上使用。
-

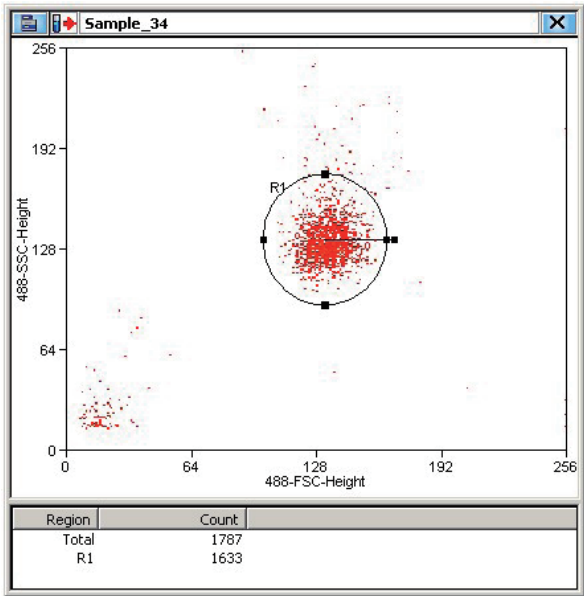
重要事项 由于测量标准不同，自动液滴延迟与手动液滴延迟存在差异。手动测定的液滴延迟是最精确的，而自动测定的液滴延迟则能够精确到 $\pm 12\%$ 。

测定液滴延迟

- 1 流速为 100 EPS 时，运行 Flow-Check FluoroSpheres（约 0.5 mL 未稀释原液）。参见附录 B 耗材。
 - 2 打开已创建的液滴延迟方案，或使用相同激光中的参数创建 FSC 与 SSC 散点图。
 - 3 在 Summit 软件中采集数据 (F2)。
-

4 右击单击选择区域，围绕主要 FSC vs. SSC 群体绘制区域 (R1)。参见图 8.37。

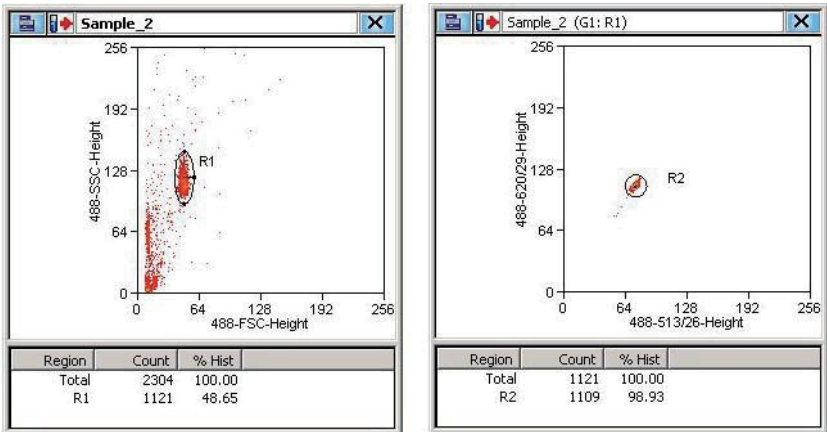
图 8.37 液滴延迟 FSC vs. SSC 散点图



5 选择两个荧光参数创建一个图，并从区域 R1 中对该图进行设门。

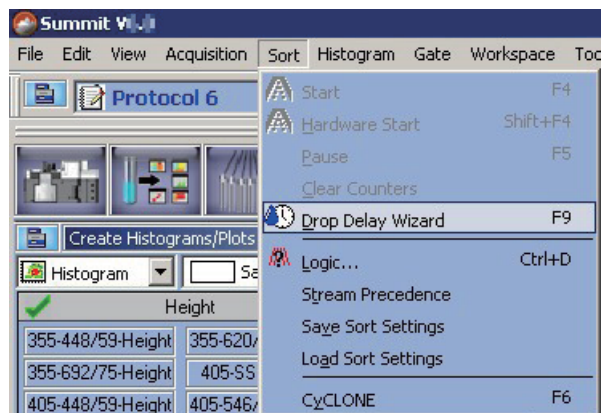
6 右键单击，选择区域，围绕主要群体绘制区域 (R2)。参见图 8.38。

图 8.38 FSC vs. SSC 群体



- 7 转到 Summit 中的主 Sort 菜单，并选择 Drop Delay Wizard，如图 8.39 所示。

图 8.39 Drop Delay Wizard（液滴延迟向导）



- 8 出现 Drop Delay Wizard 界面。移除 CyClone 板路径上的所有物体，并将一块清洁的玻片放在 CyClone 板上。

- 如果使用 IntelliSort 运行自动测定液滴延迟程序，图 8.40 所示的液滴延迟预期值将为 IntelliSort 测定的数值。
- 如果未运行自动测定液滴延迟功能，则图 8.40 中的液滴延迟预期值将与上次使用仪器时的数值相同。有关 IntelliSort 不支持的喷嘴尺寸，请参见附录 D CytoCalc 表，查找适当的近似初始值。

图 8.40 Drop Delay Wizard - 测试参数



9 选择 Edit 按钮。此时，显示 Stream Sort Logic 对话框，如图 8.41 所示。

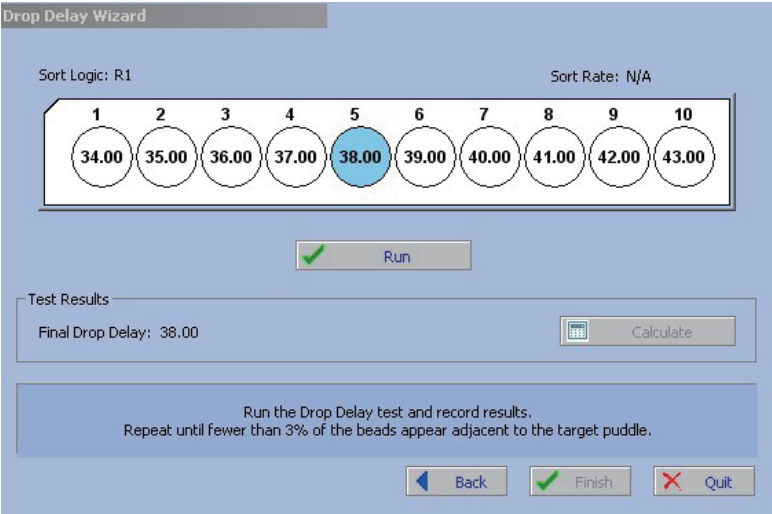
图 8.41 Stream Sort Logic（液流分选逻辑）



10 选择 R1 和 R2，并选定 OK。

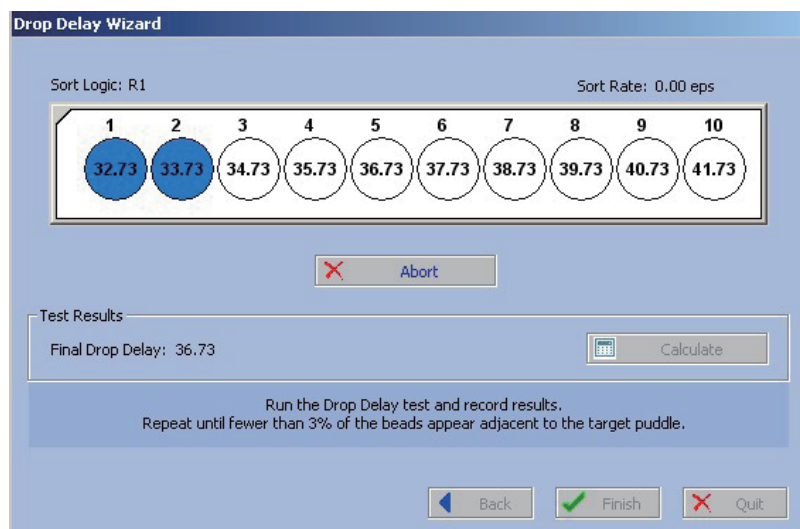
11 选择 Next。圆圈代表即将打在玻片上的液滴。参见图 8.42。

图 8.42 Drop Delay Wizard - 沉积液滴



- 12 选择 Run。液滴形成后，会看到圆圈变成蓝色。参见图 8.43。

图 8.43 Drop Delay Wizard – 液滴已形成



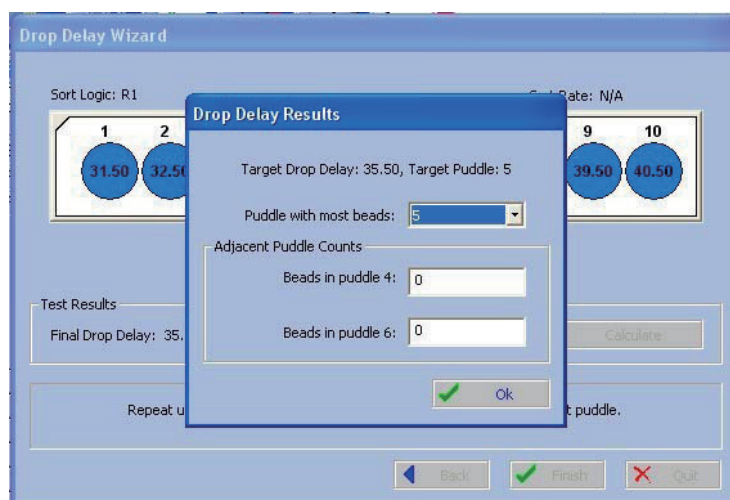
- 13 所有液滴形成后，移除玻片，并在荧光显微镜下检查液滴中微球的情况。

- 14 检测微球含量最多的液滴。一号液滴位于运行测试时，最靠近用户这一侧的玻片边缘。

- 15 统计微球含量最多的液滴相邻液滴中的微球数。

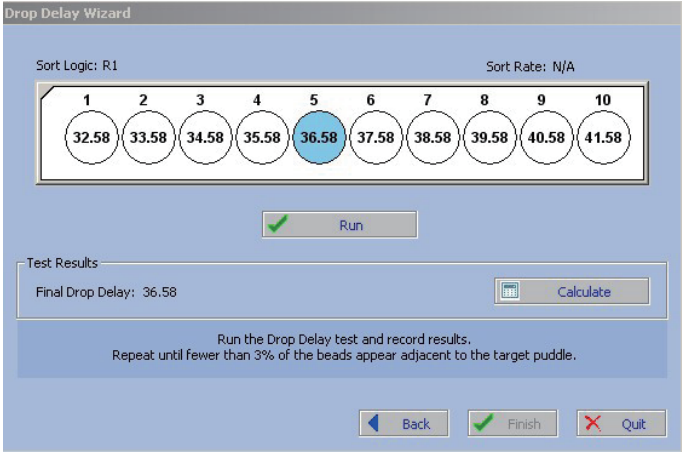
- 16 在 Drop Delay Wizard 中输入数值。参见图 8.44。

图 8.44 Drop Delay Wizard - 计算结果



17 选择 OK。重新运行测试，并记录结果。重复上述过程，直至目标液滴相邻液滴中的微球数量达到 3 个以下。参见图 8.45。

图 8.45 Drop Delay Wizard - 目标液滴低于 3%



18 选择 Finish。

清洗与维护

简介

建议按照本章节所述内容对 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器进行常规维护。通过确保液流的清洁度，有效维护系统发挥正常功能。电极板的常规清洁能够保证实现最优分选。电极板组件的常规清洁能够优化分选液流的照明条件。

执行清洁程序清除累积污染，保证仪器的使用性能。除了预防性维护程序之外，贝克曼库尔特还建议针对常规操作创建和执行其他实验室程序，例如，备份数据和实验方案。

清洗

日常清洗



如果血液等危险物质溅到 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上，请使用 10% 漂白剂或实验室的液流清洗溶液对洒落的液体进行清理。然后，遵照有害物质实验室程序来处理。如果需要清洗 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器，请联系您的贝克曼库尔特工程师。



采用防护设备，包括防护眼罩、手套和适合的实验服。有关使用化学品前的化学暴露详细信息，请参见安全数据表。

清洗程序根据实验室要求而异，但可以将下列说明当作指导原则。

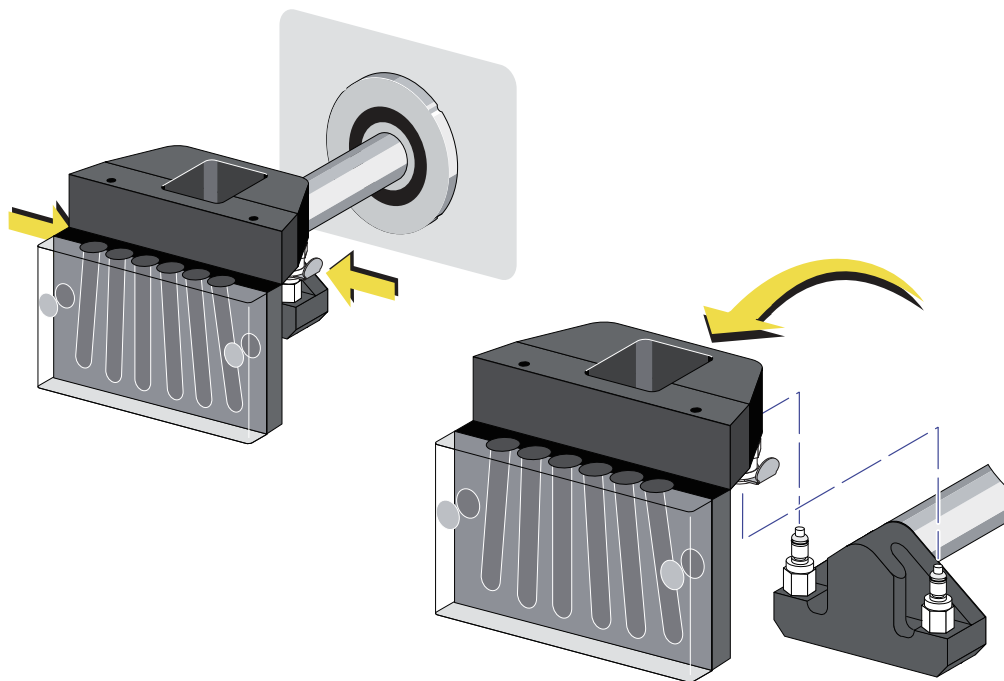
工作日结束时或仪器关机前，使用以下清洁程序。

关机期间的日常清洗程序

重要事项 一旦开始，则必须确保操作者在离开前完成了所有的关机程序。

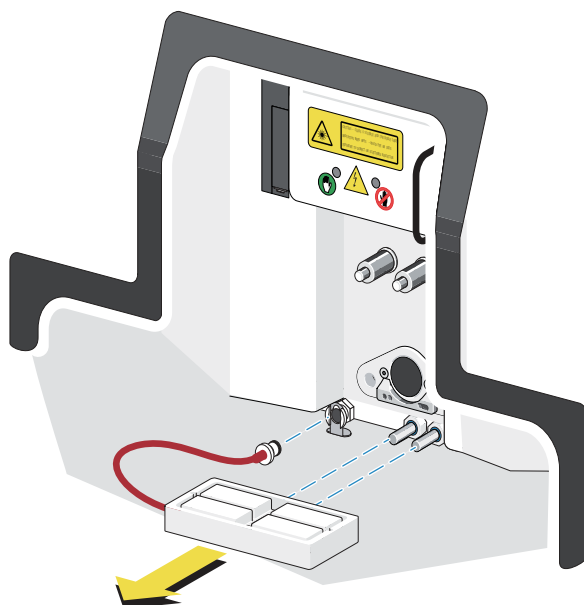
- 1 确保鞘液流已打开。按下触摸屏控制面板上的电源按钮，在关机期间，按照系统提示，运行一管清洁剂和一管去离子水。
- 2 按下分选接收管配件侧面的释放按钮，并取下 CyClone 板支臂上的接收管。参见图 9.1。

图 9.1 移除分选接收管



- 3 向前拉动 SortRescue 托盘，脱离原位，并断开废液清除导管。参见图 9.2。

图 9.2 断开 SortRescue 托盘和导管



-
- 4 用 70% 乙醇喷洒分选舱内的部件表面，然后擦拭干净。
 - 5 打开仪器左下侧的液流抽屉。拉起金属环，断开废液桶和鞘液桶的、带颜色编码的快速接口，直至接口松开。
 - 6 打开废液桶。旋松桶盖上的螺纹旋钮。当旋钮充分旋松后，可以取下桶盖。排空废液桶，并使用经过认可的清洁剂进行清洁。参见附录 A 可用的清洁剂和消毒剂。
 - 7 拉起手柄，取下桶盖，打开鞘液桶。排空鞘液桶，并用经过认可的清洁剂进行清洁。在重新填充鞘液前，用去离子水将桶冲洗干净。
- 注意** 按照实验室管理员的要求，每天或每周清洁鞘液桶。
-
- 8 从系统上移除桶并将其排空后，最好对桶进行高温灭菌处理。在高温灭菌前，并非必须将 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上的压力计或配件取下。

注意 有关更多信息，请参见附录 A 可用的清洁剂和消毒剂。有关实验室清洁安排，还可参见年度液流系统清洗部分内容，因各自需求而异。

-
- 9 如果安装选配生物安全柜，请按照制造商建议，对生物安全柜进行清洁。参见附录 F 配备生物安全柜的仪器。
-

电极板组件和电极板清洁程序

通过清洁丙烯酸电极板组件，优化液流照相机图像。电极板的常规清洁能够保证最优分选效果。



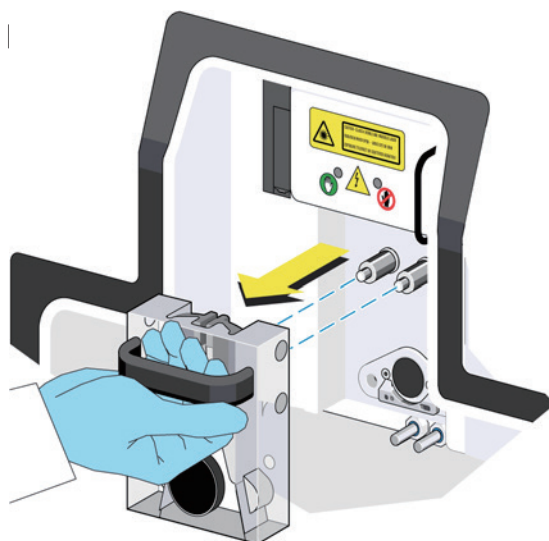
如果血液等危险物质溅到 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上，请用 10% 漂白剂或实验室的液流清洗溶液对洒落的液体进行清理。然后，遵照有害物质实验室程序来处理。如果需要清洗 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器，请联系您的贝克曼库尔特工程师。



警告

采用防护设备，包括防护眼罩、手套和适合的实验服。有关使用化学品前的化学暴露详细信息，请参见安全数据表。

-
- 1 利用电极板组件上的手柄，将电极板组件从分选舱上拉出。参见图 9.3。



2 将电极板从电极板组件上移除。



注意

在去离子水中加入 70% 乙醇或异丙醇，清洁电极板组件。用一块不脱毛的软布轻轻擦拭或吸干表面。用力擦拭会导致电极板组件上的玻璃样丙烯酸材料的表面发生降解，如果表面发生降解，会导致液流成像变形。

3 用去离子水擦拭电极板组件，溶解污染物。必要时，可以重复上述步骤。用软布擦拭或吸干。

4 用去离子水清洗充电板表面，溶解污染物。必要时，可以重复上述步骤。

5 用软布擦拭或吸干充电板表面。

6 将电极板重新装入丙烯酸电极板组件中。

7 紧紧地将电极板组件推入分选舱销钉，以便更换丙烯酸电极板组件。参见图 9.4。

图 9.4 更换电极板组件



光学清洁

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的多个光学表面都可能暴露于灰尘、碎片和鞘液喷雾的环境下。随着时间的推移，污染物堆积会导致仪器的性能降级。遵照此项光学清洁程序，可以清除潜在光学污染物，恢复光学部件的性能。



如果血液等危险物质溅到 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上，请用 10% 漂白剂或实验室的液流清洗溶液对洒落的液体进行清理。然后，遵照有害物质实验室程序来处理。如果需要清洗 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器，请联系您的贝克曼库尔特工程师。



警告

采用防护设备，包括防护眼罩、手套和适合的实验服。有关使用化学品前的化学暴露详细信息，请参见安全数据表。

物质

使用规定物质实现最优清洁效果。

- ☐ 异丙醇。
- ☐ 精密光学系统清洁溶液（不易燃清洁溶液）。



注意

使用灌装空气时，请确保产品可以安全使用光学器件和照相机进行操作。使用灌装空气存在风险，如果使用不当，会在光学部件上留下不易清除的残渣。

- ☐ 灌装空气或气泡鼓风机、工具、鼓风机。



注意

该步骤中不建议使用棉签。棉签会导致产生磨损和污染。无效清洁或使用棉签，会导致更多污染或光学损伤。

- ☐ 微纤维洁净光学药签。
- ☐ 不会脱落粉尘的乳胶手套。
- ☐ 不起毛纸巾，例如 KimWipes 无尘纸。
- ☐ 去离子水。
- ☐ 闪光灯或其他光源。

- ☐ 工具和备件包中的过滤工具。
- ☐ 下表所示的清洁记录。

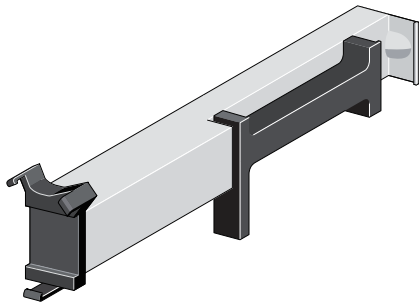
清洁记录			
日期	完成清洁的表面	技术员	备注

注意 有关可用的清洁剂和消毒剂列表，请参见附录 A 可用的清洁剂和消毒剂。

 注意

使用丙酮会对光学表面产生损坏。请勿在 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器光学表面上使用丙酮。

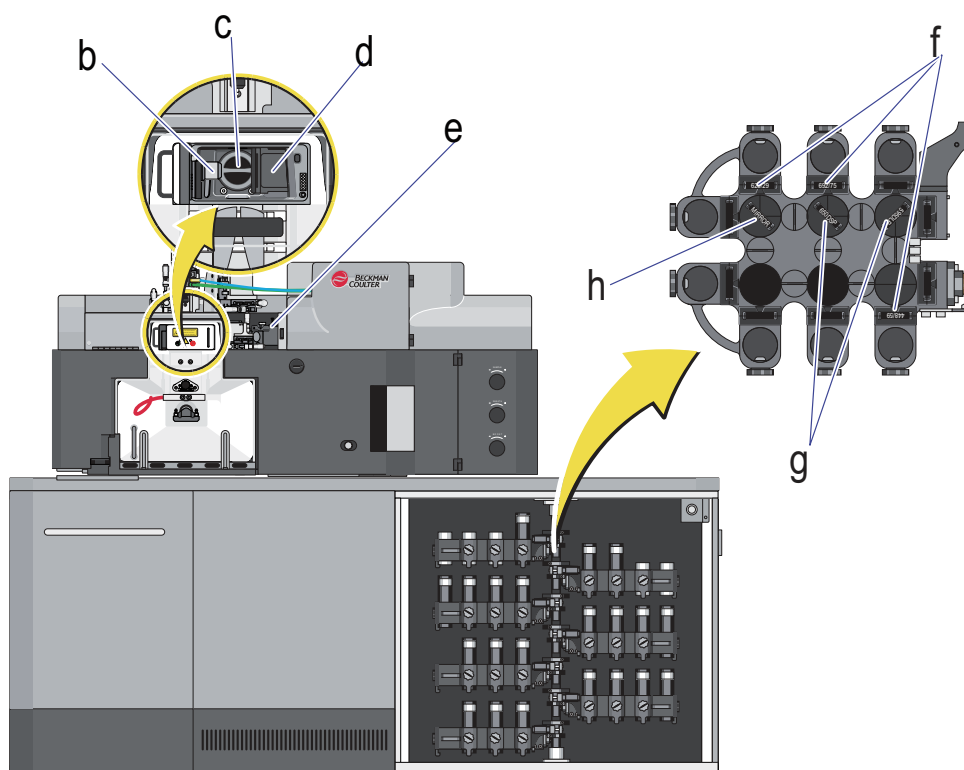
- ☐ FSC 和 SSC 移除工具。



光学表面位置

光学部件的位置如图 9.5 所示。

图 9.5 光学部件的位置



1. 多激光平顶光束成型器 (MLSO) 输出窗口
2. 侧向散射 (SSC) 收集物镜
3. 前向散射 (FSC) 收集物镜
4. 前向散射 (FSC) 滤光片
5. 带通滤光片
6. 二向色性滤光片
7. 镜片

仪器准备工作



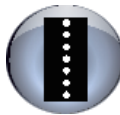
警告

小心人身伤害。在安全联锁开启时,光学部件松开的情况下,会有 3B 类可见及不可见的激光辐射。避免接触激光。



警告

小心人身伤害。本机打开和安全联锁失效的情况下,会有 4 类可见及不可见激光辐射。避免眼睛或皮肤直接接触直射或散射辐射。

-
- 1 按下触摸屏控制面板上的 Shutter All Lasers (遮蔽所有激光) 按钮  以遮蔽激光源。
-

- 2 按下小孔选项上的 Chamber Illumination (舱室照明) 按钮  , 禁用舱室照明。
-

- 3 按下面板右侧的 Sheath Stream (鞘液流) 按钮  , 关闭鞘液流。

注意 当液流关闭时,鞘液流圆圈呈黑色。

-
- 4 转动喷嘴工作台上的旋钮,抬升喷嘴。
-

清洁 MLSO 输出窗口、FSC 和 SSC 光学部件

移除 FSC 和 SSC 散射条

- 1 戴上手套，避免污染表面。



请勿握紧横杆来移除阻挡条。握紧横杆会导致光学器件受损。



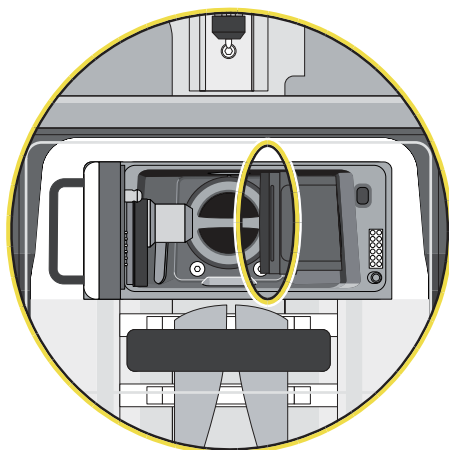
请勿触摸 SSC 左侧的 MLSO 输出窗口。手指上的污渍会导致光学表面受损。



请勿使用工具；否则您会划伤或损坏光学表面。

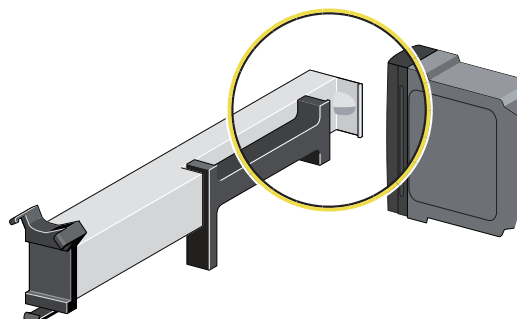
- 2 打开观察舱，放入 FSC 阻挡条。

图 9.6 放入 FSC 阻挡条



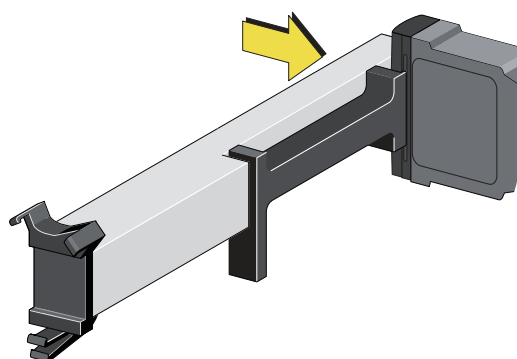
- 3 将 FSC/SSC 移除工具的 FSC 端部与 FSC 阻挡条对齐。

图 9.7 对齐 FSC/SSC 移除工具的 FSC 端部



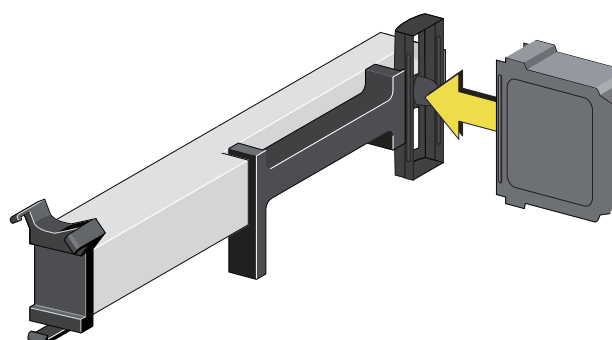
- 4 将 FSC 和 SSC 移除工具压到 FSC 阻挡条上。

图 9.8 连接 FSC 和 SSC 移除工具与 FSC 阻挡条



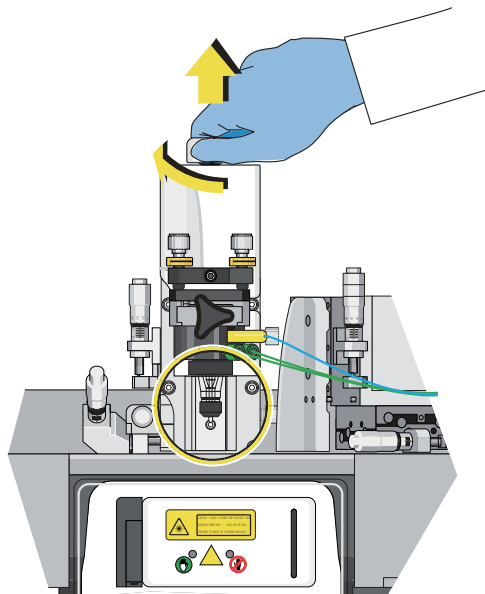
- 5 移除 FSC 阻挡条。

图 9.9 移除 FSC 阻挡条



6 确保喷嘴体被抬升起来。

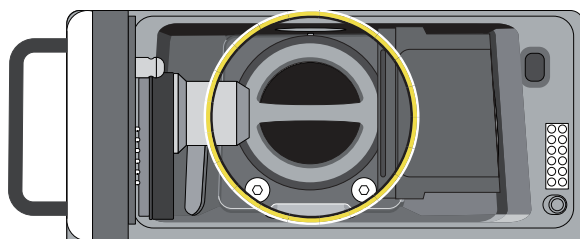
图 9.10 抬升喷嘴



警告 - 本机打开时会有 4 类可见及不可见的激光辐射，应避免眼部或皮肤暴露在直接辐射或散射辐射中

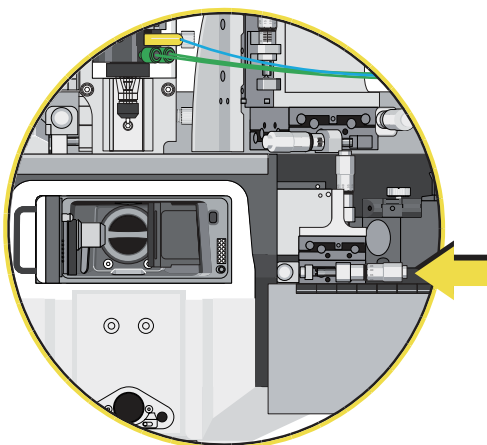
7 装入 SSC 阻挡条。

图 9.11 装入 SSC 阻挡条



- 8 打开盖住前向散射模块的门，放入 Z 轴千分尺。

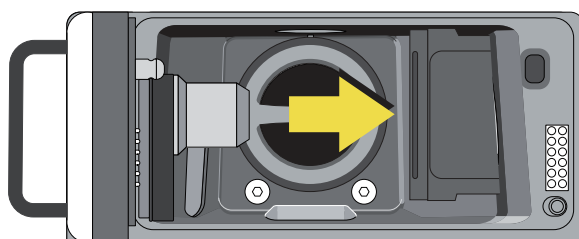
图 9.12 放入 Z 轴千分尺



警告 - 本机打开时会有 4 类可见及不可见的激光辐射，应避免眼部或皮肤暴露在直接辐射或散射辐射中

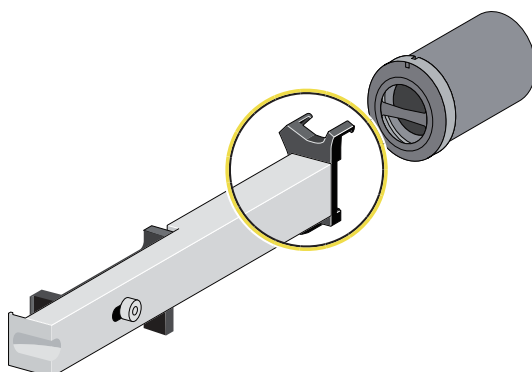
- 9 转动千分尺，以便 FSC 光学器件右移，直至行程极限。

图 9.13 移动 FSC 光学器件



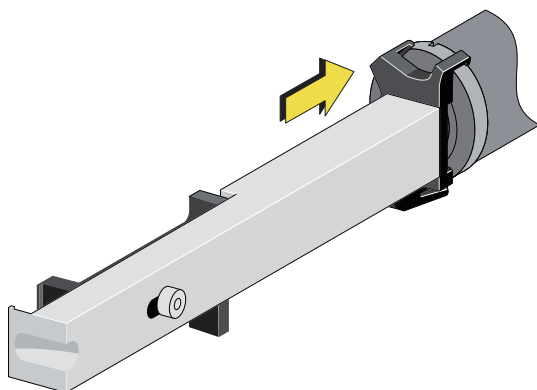
- 10 将 FSC 和 SSC 移除工具的 SSC 侧与 SSC 阻挡条对齐。

图 9.14 对齐 FSC/SSC 移除工具的 SSC 端部



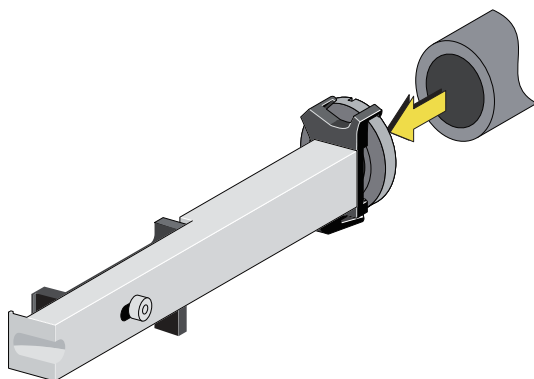
-
- 11 将 FSC/SSC 移除工具压到 SSC 阻挡条上。

图 9.15 连接 SSC 阻挡条与 FSC 和 SSC 移除工具



-
- 12 移除 SSC 阻挡条。

图 9.16 移除 SSC 阻挡条



注意

使用灌装空气时，请确保产品可以安全使用光学器件和照相机进行操作。

- 13 使用加压气流（灌装或气泡鼓风机）移除灰尘和碎片。

-
- 14 检查光学表面的鞘液喷雾。如果光学表面无可见盐结晶，请跳过下一节，光学表面准备工作。

光学表面准备工作

- 1 用去离子水清洗光学表面一分钟时间，用微纤维药签清除污物。
 - 2 用去离子水冲洗表面，并用湿药签清除可见污物。
如有必要，请重复上述步骤。
-

清洁光学部件

- 1 倒少许光学清洁剂或异丙醇在微纤维药签上。
 - 2 用药签沾湿的一侧平稳擦拭光学器件。对于尺寸小于药签的光学表面，可仅擦一次。如果光学表面的尺寸大于药签，请从表面中间位置用打圈方式开始擦拭，一直擦至光学部件的边缘。
-

冲洗光学部件

重要事项 如果冲洗后残留去离子水渍，用干药签进行清除。

- 1 倒少许去离子水在干净的药签上。
 - 2 用药签沾湿的一侧平稳擦拭光学器件。
-

对 MLSO 输出窗口、FSC 和 SSC 光学器件的最终检测

- 1 使用手电筒对光学表面进行检测。光学表面应不含尘、碎片、条痕或其他污染物。
-

重要事项 如果重复清洁光学器件程序完成后，光学器件仍不干净或担心光学表面局部仍残留污染物，请咨询您的现场服务工程师，获取帮助。

- 2 如果存在污染物，请重复上述程序，直至清洁干净为止。

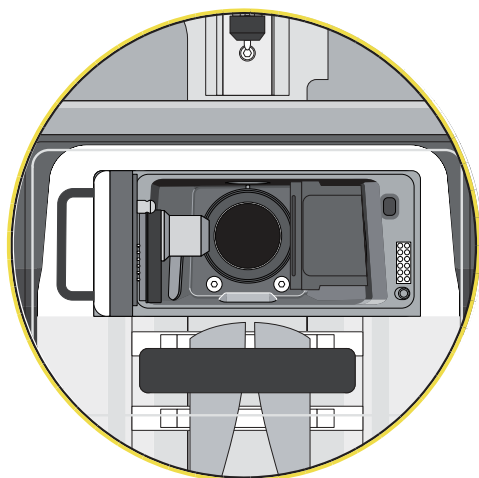
安装 FSC 和 SSC 阻挡条

安装 FSC 阻挡条

重要事项 请小心不要划伤观察舱的任何透镜。

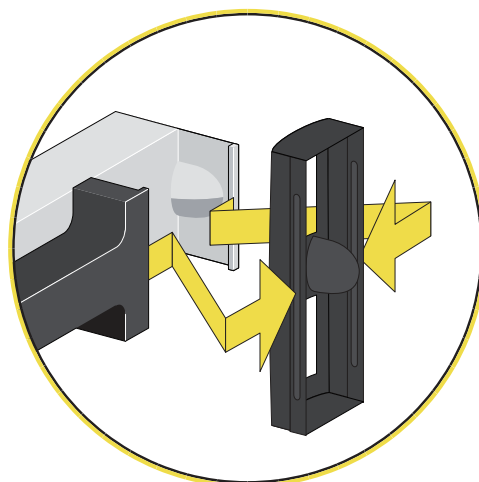
- 1 打开观察舱。

图 9.17 观察舱



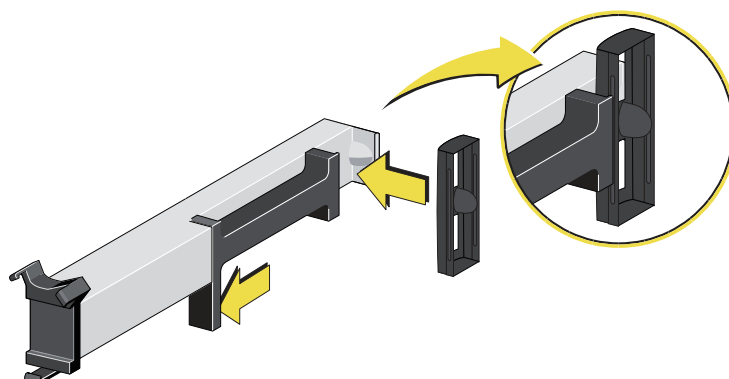
- 2 对准 FSC 阻挡条上的凹槽，将其与 FSC 移除工具上的凹槽对准。

图 9.18 对齐 FSC 阻挡条



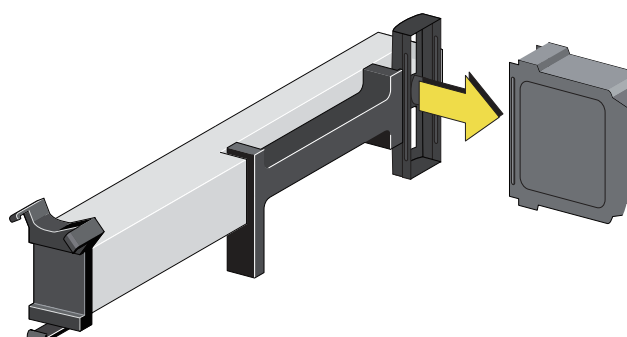
- 3 将 FSC 阻挡条插入 FSC 和 SSC 条移除工具中。

图 9.19 FSC 阻挡条



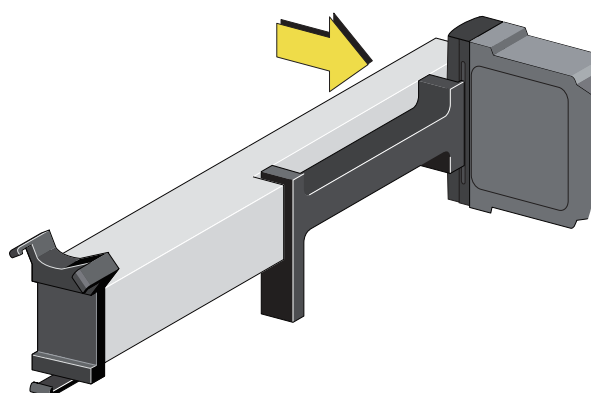
- 4 将 FSC 和 SSC 条移除工具插入观察舱中，并将阻挡条与 FSC 光学器件对齐。

图 9.20 将 FSC 和 SSC 条移除工具与 FSC 光学器件对齐



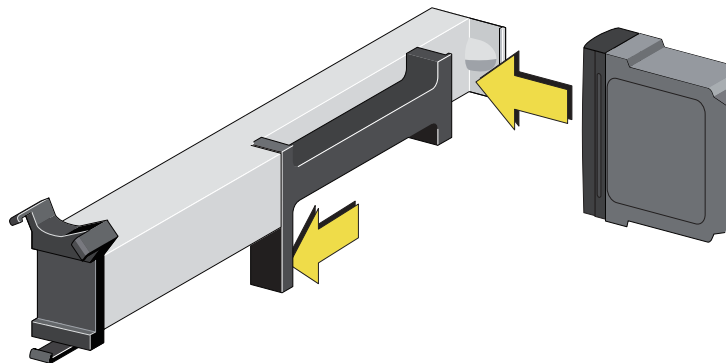
- 5 将 FSC 阻挡条推到 FSC 光学器件上。

图 9.21 将 FSC 阻挡条安装在光学器件上



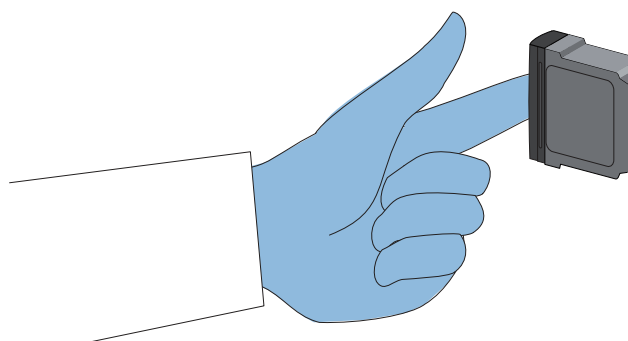
-
- 6 拉动操纵杆，松开 FSC 阻挡条上的手柄。将 FSC/SSC 条移除工具从观察舱移除。

图 9.22 移除 FSC 阻挡条



-
- 7 如有必要，用带手套的手指按在阻挡条中间条上，将其安装到位。

图 9.23 阻挡条安装到位

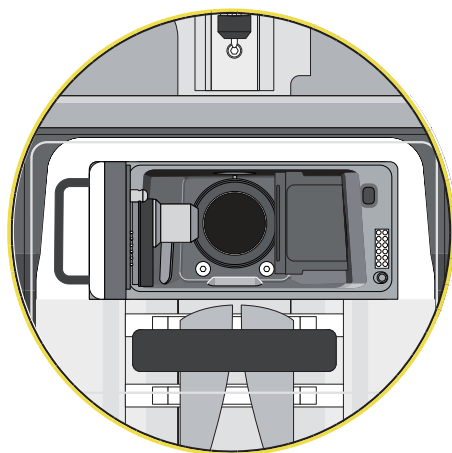


安装 SSC 阻挡条

重要事项 请小心不要划伤观察舱的任何透镜。

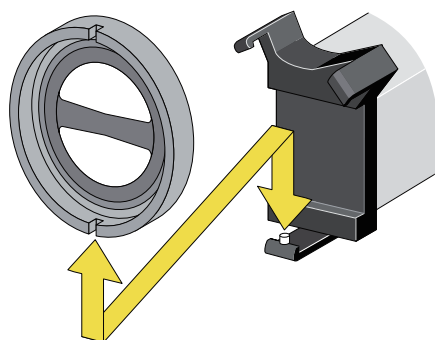
- 1 打开观察舱。

图 9.24 观察舱



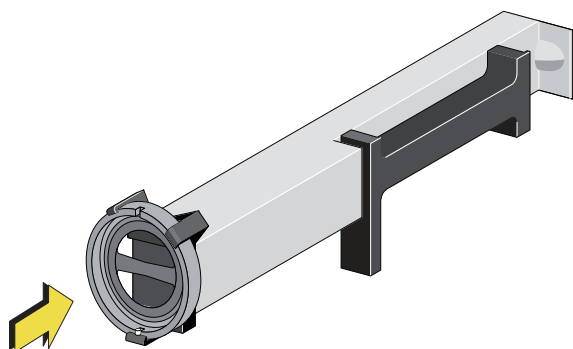
- 2 对准 SSC 阻挡条上的凹槽，以便三个尖齿侧底部的开槽销与 SSC 阻挡条上的其中一个凹槽对齐。

图 9.25 对齐 SSC 阻挡条



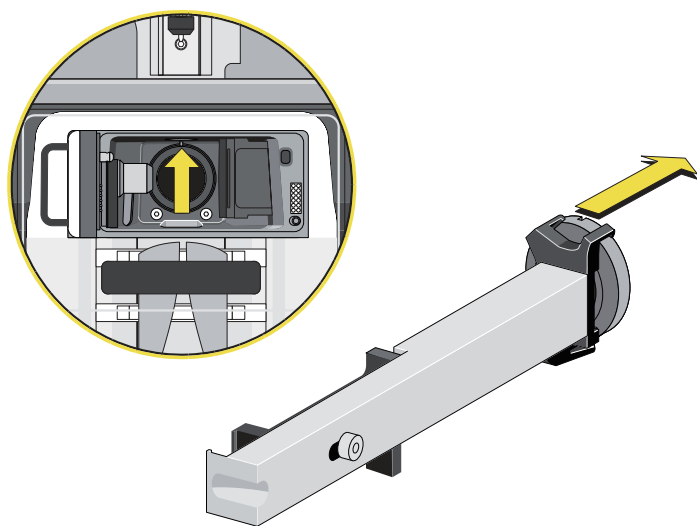
-
- 3 将 SSC 阻挡条插入 FSC 和 SSC 条移除工具。

图 9.26 SSC 阻挡条



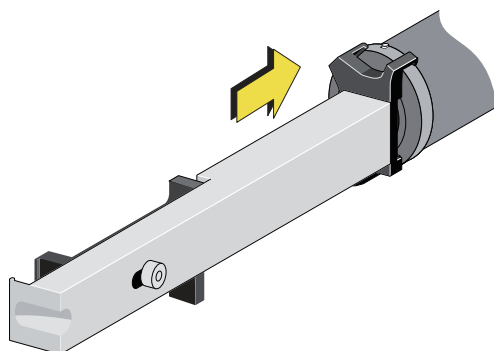
-
- 4 对准 SSC 阻挡条上的凹槽，以便阻挡条顶部的凹槽与 SSC 光学器件的开槽销对齐。

图 9.27 对齐光学器件上的 SSC 条



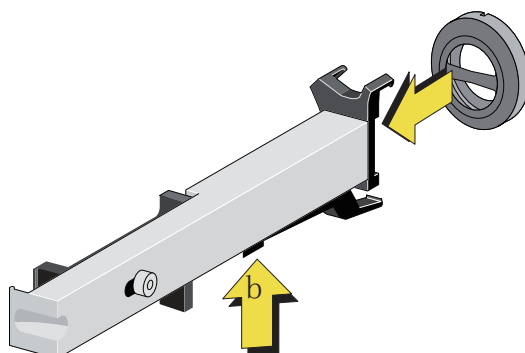
- 5 将 SSC 阻挡条推到 SSC 光学器件上。

图 9.28 将 SSC 阻挡条安装到光学器件上



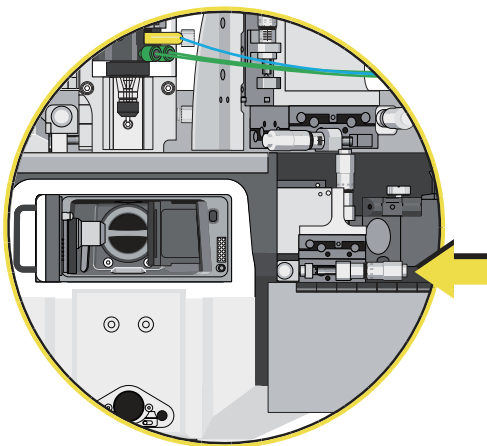
- 6 握紧 (1)，缩回 SSC 光学器件上的手柄。

图 9.29 缩回 SSC 光学器件上的手柄



- 7 通过调整 FSC Z-轴 FSC 千分尺，将 FSC 光学器件移回其原来位置。

图 9.30 FSC 光学器件



警告 - 本机打开时会有 4 类可见及不可见的激光辐射，应避免眼部或皮肤暴露在直接辐射或散射辐射中

清洁滤光片和镜片

FSC 带通和二向色性滤光片以及各类镜片应根据 MLSO、SSC 和 FSC 光学表面相似的清洁程序进行清洁。运用清洁记录对光学清洁的情况进行追踪。

- 1 戴手套操作，以免污染表面。
- 2 将滤光片从仪器中移除。
- 3 使用滤光片工具，移除扣环，并将滤光片放在无尘不起毛的纸巾上。
- 4 检查光学部件上是否有散落的碎片。

警告

采用防护设备，包括防护眼罩、手套和适合的实验服。有关使用化学品前的化学暴露详细信息，请参见安全数据表。

注意

使用灌装空气时，请确保产品可以安全使用光学器件和照相机进行操作。

- 5 使用加压气流（灌装或气泡鼓风机）移除灰尘和碎片。

-
- 6 检查是否存在多余的堆积物。如果滤光片不存在多余的堆积物，则跳过下一节内容
光学表面准备工作。
-

光学表面准备工作

- 1 用去离子水清洗光学表面一分钟时间，用微纤维药签清除污物。
-
- 2 用去离子水冲洗光学表面，清除可见污染物。如有必要，重复上述程序。
-

清洁光学部件

- 1 倒少许光学清洁剂或异丙醇在微纤维药签上。
-
- 2 用药签沾湿的一侧平稳擦拭光学器件。对于尺寸小于药签的光学表面，可仅擦一次。如果光学表面的尺寸大于药签，请从表面中间位置用打圈方式开始擦拭，一直擦至光学部件的边缘。
-

冲洗光学部件

重要事项 如果冲洗后残留去离子水渍，用干药签进行清除。

- 1 倒少许去离子水在干净的药签上。
-
- 2 用药签沾湿的一侧平稳擦拭光学器件。
-

对滤光片的最终检测

重要事项 如果光学器件仍不干净或担心光学表面局部仍残留污染物，请咨询您的现场服务工程师，获取帮助。

- 1 用手电筒检测光学表面。光学表面上不应出现灰尘、碎片、条痕或其他污染物。
-

-
- 2 如果还有污物，重复光学部件清洁程序，直至干净为止。
-

重新安装滤光片

重要事项 滤光片对方向具有灵敏性；将滤光片侧环上的方向箭头指向入射激光。

- 1 将滤光片安装在滤光片架中。参见图 9.31。

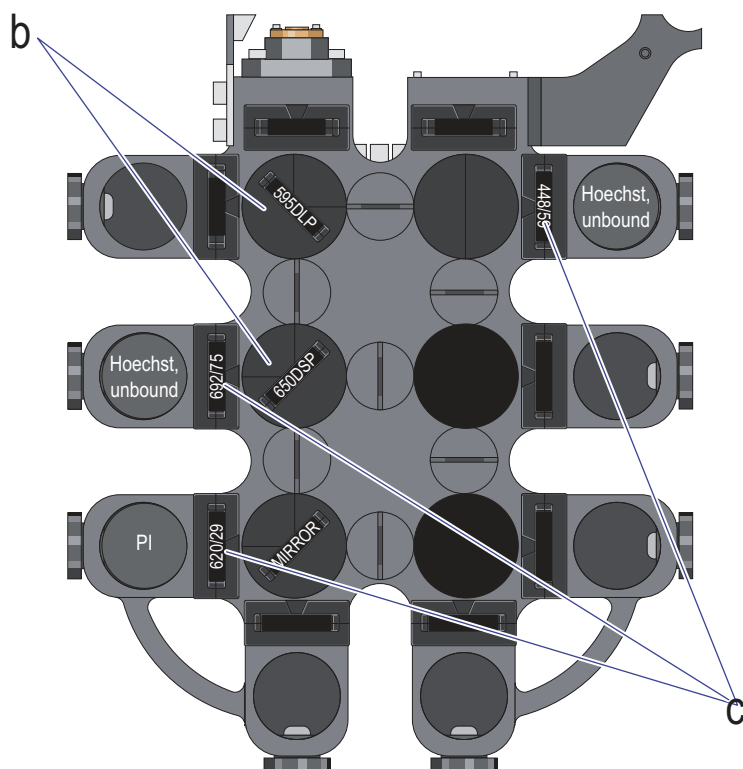
图 9.31 正确安装滤光片



-
- 2 正确安装滤光片后，将扣环置于滤光片上，用滤光片工具将扣环装入。
-

- 3 重新将滤光片放入 POD 正确位置上。有关滤光片的正确安装和校准，请参见第 6 章 仪器校准中的滤光片校准示意图。

图 9.32 二向色 (1) 和带通滤光片 (2)



1. 二向色性滤光片
2. 带通滤光片

维护

重要事项 根据实验室要求，进行每周、每月预防性维护。在大多数情况下，应每年都进行液流清洗程序；但是，各个实验室的需求可能存在差异。

年度维护

贝克曼库尔特现场服务工程师将每年对 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器进行一次预防性维护检测。要安排年度预防性维护服务，请联系贝克曼库尔特工程师。

鞘液过滤器

定期更换内置鞘液过滤器，确保鞘液流能够穿过滤膜，自由流动。贝克曼库尔特建议每隔六个月更换过滤器，至少每年更换一次，具体情况视鞘液的用量和质量而定。

生物安全柜

要获取生物安全柜的维护信息，请参见产品手册或联系制造商，请参见附录 F 配备生物安全柜的仪器。

年度液流系统清洗

重要事项 在大多数情况下，应每年进行一次液流清洗程序；但是，各个实验室的需求可能存在差异。

本程序主要针对 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器液流系统的清洗。清洗的目标是消除任何可能会在鞘液桶、鞘流线、上样管或其他液流部件中繁殖的细菌生长。最佳方法是，对液流系统进行常规维护，保持系统清洁，以及正常运行。仅需要每年进行一次维护，或根据实验室需求进行维护。

液流系统清洗程序

- 1 穿戴所需的个人防护设备，包括实验服、手套和安全护目镜。
-

**警告**

小心因漂白剂引发的化学损伤。要避免接触漂白剂，请使用防护装备，包括护目镜、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

2

获取以下材料：

- 一个新的内置鞘液过滤器。
- 需要含 2000 ppm 有效氯的漂白剂 (115 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水)。仅使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂 (5-6% 次氯酸钠溶液 - 有效氯)。
- 纸巾
- 大桶

注意 在系统压力为 60 psi 的情况下，执行本程序。样品压力稍高于鞘液压力 (大于 0.1-0.3 psi)。

3

按下 Change Tanks (换桶)  按钮，对系统进行降压处理。

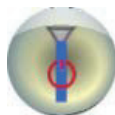
4

移除并弃置内置鞘液过滤器。在未安装鞘液过滤器的情况下，重新连接小罐。

5

将 3 L 液流清洗溶液置于一个空的鞘液桶中，并与仪器相连。
制备一管 5 mL 液流清洗溶液，置于 SmartSampler 上。

6

按下 Start Fluidics (启动液流)  按钮。

7

一旦发现鞘液流从喷嘴中射出，运行去污剂，20 分钟后停止液流。

8

将喷嘴装置连接器从左侧盖板上断开。

9

转动喷嘴工作台上的旋钮，并抬升喷嘴。

10 旋松喷嘴体前侧的旋钮，随后将喷嘴体拉出工作台。



警告

小心人身伤害。移动喷嘴头时，请勿接触外露的喷射管。外露的喷射管可能会刺伤皮肤。

11 颠倒喷嘴，旋松黑色扣环，取下喷嘴。

12 放入一个大桶，将喷嘴的内容物排到桶中。

13 开启液流，并运行 3 L 液流清洗溶液至桶中。



14 鞘液桶排空时，按下 Change Tanks (换桶) 按钮。

重要事项 必须彻底冲洗桶和过滤罐。

15 移除鞘液桶、废液桶，以及鞘液过滤罐。用去离子水冲洗桶和罐。

16 用去离子水填充鞘液桶。

17 重新将桶和罐放回仪器中。

18 开启液流，并将桶的内容物排入桶中。

19 对另一个去离子水桶，重复第 14 - 18 步。

20 运用消毒技术，将无菌鞘液过滤器安装在罐中。

21 在鞘液桶中装入去离子水，运行液流，令鞘液桶中的液体能够排到水桶中。
应经常使用 Sheath Filter Vent Lever（鞘液过滤器排气阀）进行排气泡处理。

注意 重复本步骤两次，以便装有去离子水的两个桶均经过新鞘液过滤器。

22 用鞘液填充鞘液桶。



警告

小心人身伤害。请小心不要触摸外露的喷射管。重新安装喷嘴头时，外露的喷射管可能会刺伤皮肤。

23 重新连接喷嘴头。

24 将喷嘴主体重新装入工作台中。



警告

小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，将手指置于工作台和仪器框架之间会导致夹伤手指。通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

25 将喷嘴工作台放回仪器中，并将其锁定到位。

26 重新连接喷嘴组件连接器。



27 按下 Debubble 按钮，进行一个小时的排气泡处理。

28 检查喷嘴和液流管线是否存在可见气泡，如有必要，请再次进行排气泡处理。

故障排除和更换程序

故障排除

如果仪器出现故障，或需要服务，请立即联系您的贝克曼库尔特工程师。



警告

请勿尝试对 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器激光部件进行任何维护作业。仅可由经过专业培训的合格贝克曼库尔特工程师方可进行激光部件的维护作业。



警告

未接受适当激光安全培训，不得执行激光校准作业。

- 有关激光安全作业，请遵照 ANSI 标准 136.1。
- 切勿直视、平视激光束。
- 穿戴适当的个人防护设备。
- 在激光校准期间，请勿穿戴带反光表面的珠宝首饰。

问题 / 解决方案表

以下表格是对 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器出现的问题进行故障排除的指导原则。如果存在疑问，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

表 10.1 一般故障排除

问题	可能的原因	可能的解决方案
荧光参数CV值欠佳。	样品流速过高。	降低样品压力。
	微球受损。	制备新样品。
	光学镜片或二向色性滤光片脏或出现故障。	清洁、校准或更换镜片或二向色性滤光片。
	PMT 弄脏、未校准或故障。	清洁、校准或更换 PMT。
	上样效果欠佳： • 喷嘴全部或部分堵塞。 • 液流未垂直。 • 喷嘴上的进样针脏或堵塞。	执行清洗程序，疏通喷嘴。更换喷嘴。
	液流校准欠佳。	重新校准液流。
	物镜透镜或 MLSO 脏。	清洁透镜或 MLSO 窗口。
	激光束调焦欠佳。 (MLSO 被弄脏、划伤或出现故障)。	清洁或更改 MLSO 部件。
	激光校准欠佳。	重新校准激光。
	激光光斑欠佳。	重新校准激光或更换激光。
FSC 参数上的CV欠佳。	上样效果欠佳： • 喷嘴上的进样针脏或堵塞。 • 喷嘴全部或部分堵塞。 • 液流未垂直。	执行清洗程序，疏通喷嘴，或更换喷嘴。
	样品流速过高。	降低样品压力。
	FSC 检测器脏或未校准。	清洁并校准 FSC 检测器。
	喷嘴故障。	更换喷嘴。

表 10.1 一般故障排除 (续表)

问题	可能的原因	可能的解决方案
液滴不稳定。	鞘液管路或喷嘴中有气泡。	排除气泡。
	喷嘴部分堵塞。	清洁喷嘴。
	液流泄漏：包括鞘液桶、鞘液过滤器、样品管路以及各连接接口配件。	检查泄漏情况，并拧紧连接接口配件。
	喷嘴出现故障。	更换喷嘴。
	压力控制台内出现空气泄漏。	联系您的贝克曼库尔特工程师。
样品流速不稳定。	压力控制台内出现空气泄漏。	联系您的贝克曼库尔特工程师。
	SmartSampler 内出现空气泄漏。	联系您的贝克曼库尔特工程师。
	SmartSampler 和喷嘴之间的连接接口配件和管路内出现泄漏。	联系您的贝克曼库尔特工程师。
	喷嘴部分堵塞。	清洁喷嘴。
	样品落入试管中。	吹打混匀样品，重新采集。
侧边液流不稳定。	出现液滴不稳定的结果。	参见上述“液滴不稳定”。
	高压电极板有液体。	关闭电极板电压，擦干电极板。参见安全注意事项中的电极板电弧。
特定参数无信号。	PMT 前侧的二向色性滤光片或镜片未校准。	重新校准二向色性滤光片或镜片。
	PMT 未校准。	观察参数直方图时，轻轻调整支架内的 PMT。
	PMT 电源或信号线未接通。	重新连接 PMT 电源或信号线。
	PMT 出现故障。	隔离 PMT (如可能，应将其拆除)。

表 10.1 一般故障排除（续表）

问题	可能的原因	可能的解决方案
直方图显示噪音过多。	阈值设置不恰当。	调整触摸屏控制面板微调界面上的阈值设置。
	微生物污染。	清洗系统。
	液滴震荡振幅设定过高。	降低液滴震荡振幅。
	阻挡条不是最佳尺寸。	更改 FSC 和/或 SSC 收集光学器件上的阻挡条, 使其更好地适用于实验。
流速与液滴震荡频率相同。	FSC 检测器或喷嘴垂直校准欠佳。	放低喷嘴, 并对低位喷嘴、喷嘴工作台和/或 FSC 检测器进行垂直校准。
	喷嘴位置过高。	调整喷嘴工作台的垂直位置。
微球闪烁, 但不计数。(流速 = 0)。	系统电子系统未触发。	调整触摸屏控制面板微调界面上的阈值设置。
	阈值过高。	阈值降至 2-5%。
	光电二极管或 PMT 出现故障。	更改阈值设定参数和/或更换光电二极管或 PMT。
	阈值设定激光参数未开启。	阈值设定不同的参数。
微球闪烁, 触摸屏控制面板上的计数功能正常, 但 Summit 软件直方图不显示事件 (Summit 软件流速 = 0)。	Summit 软件和仪器服务器之间的通信欠佳。	检查网络连接。重启 Summit 软件。
Summit 软件不显示分选选项。	已安装 Summit 软件离线版本。	检测 Summit 软件版本系在线版本。
	Summit 启动时, 选择离线数据库。	关闭 Summit, 打开在线数据库。
废液桶无负压。	关闭真空泵。	检查真空泵已经打开。
	废液桶盖未盖紧。	拧紧废液桶盖。检查 O 圈是否完整, 并用润滑油进行润滑密封。
	压力控制台侧的真空开关关闭。	用压力控制台开关启用对系统的真空处理。

表 10.2 SmartSampler 故障排除

问题	可能的原因	可能的解决方案
处于 Run 模式时，鞘液回流至样品管中。	样品压力低于鞘液压力。	增加压力控制台上的样品压力设置。
鞘液溅出废液桶。	真空压不足。	检查废液桶压力计（必须至少为 440 mbar (13 in. Hg)）。
	盐结晶会在废液桶快速接口内堆积。	断开红色导管线上的废液桶快速接口，颠倒接头部位，并在固体表面轻敲，直至清除盐结晶。
搅拌混匀期间，进样针撞击试管管壁。	进样针弯曲。	更换进样针。
将舱室密封在 SmartSampler 基座上的 O 型圈脱离原位。	系统压力未能高于样品压力至少 20 psi。	将仪器气压增至 517 或 138 KPa (85 或 20 psi) 或过压，选数值较大者。
进样舱仅部分打开。	托盘 O 圈未能适当润滑。	联系您的贝克曼库尔特工程师。
	低压调节器的压力不够。	联系您的贝克曼库尔特工程师。
上样流不连续 - Boost 期间出现上样速度突然波动或观察不到触发率。	样品体积不当。	增加样品体积。
	样品沉降凝结。	搅拌样品。
	喷嘴堵塞。	排除气泡。
		疏通喷嘴。
	样品导管堵塞。	更换样品导管。
进样针不能适当搅拌混匀；停止较长时间或粘连。	电机上的砝码配件未适当连接，或从电机轴上滑落。	联系您的贝克曼库尔特工程师。

检测气泡

在继续进行校准和分选操作前，确保液流系统内没有气泡，这一点非常重要。要检查系统中是否有气泡，请执行液滴稳定性试验。

液滴稳定性试验

通过观察触摸屏控制面板上 Manual Droplet Setup（手动液滴设置）界面上的断点液滴位置，确定液流系统的状态。参见第 3 章 触摸屏控制面板概述中的手动液滴设置显示屏部分内容。可以使用以下程序：

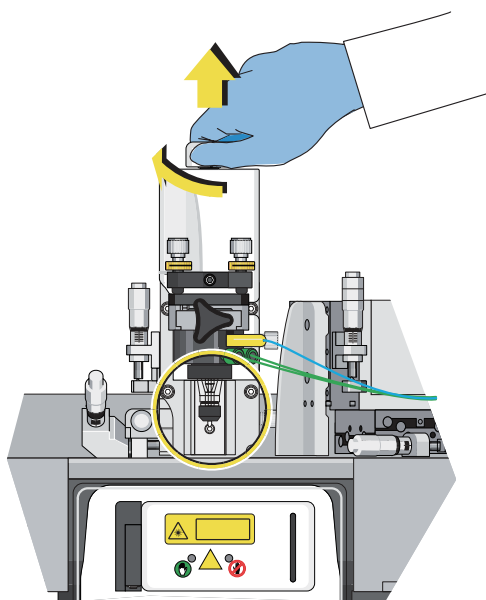
- 1 选择触摸屏控制面板上的 Manual Droplet Setup（手动液滴设置）。确保鞘液流处于流动状态，且样品流处于停止状态。
 - 2 确保 Drop Drive 处于打开状态，以便形成液滴，且显示屏能够显示这些液滴。
 - 3 使用 Manual Droplet Setup（手动液滴设置）显示屏；移动红线，指示液滴的精确位置（如果可见，使用断点液滴）。
 - 4 按下 SmartSampler Debubble 按钮。
 - 如果液流系统内没有空气，则液滴将跳回到液流上标记的相同位置。系统中的空气会引起液滴在显示屏上重新定位，且可能出现波动。
 - 如果喷嘴中有空气，请返回 Debubbling（排气泡）程序，并再次进行空气检测。在继续进行校准前，确保液流系统内没有，这一点非常重要。
-

清除喷嘴堵塞

重要事项 要获取最佳结果，请佩戴实验室丁腈手套。

- 1 打开喷嘴工作台上的旋钮，提升喷嘴，如图 10.1 所示。

图 10.1 提升喷嘴



警告 - 本机打开时会有 4 类可见及不可见的激光辐射，应避免眼部或皮肤暴露在直接辐射或散射辐射中

重要事项 要获取最佳结果，请佩戴实验室用丁腈手套。

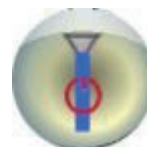


警告

小心因漂白剂引发的化学损伤。要避免接触漂白剂，请使用防护装备，包括护目镜、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

- 2 将一杯 2000 ppm 有效氯漂白剂或 70% 乙醇淹没喷嘴头，并按下触摸屏控制面板上的 Unclog（疏通）按钮。仅可使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（5-6% 次氯酸钠溶液 - 有效氯）。如果喷嘴头未清除干净，请继续下一个步骤。

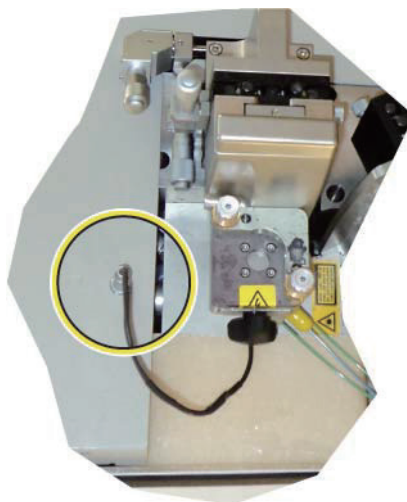
- 3 按下 Start/Stop Sheath Flow（开始 / 停止鞘液流）按钮



，停止鞘液流。

-
- 4 将连接器从喷嘴工作台左侧分离，拔下喷嘴工作台。

图 10.2 分离连接器



-
- 5 旋松喷嘴体前侧的旋钮，然后将喷嘴从工作台中拉出，如图 10.3 所示。

图 10.3 喷嘴体





警告

小心人身伤害。移除喷嘴头时，外露的管路会刺伤皮肤。请勿触摸外露的管路。

- 6 将喷嘴倒置，旋松喷嘴头扣环。将喷嘴头从喷嘴上移除，并用清洁剂直接将其清洁干净。

图 10.4 旋松喷嘴头扣环



- 7 如果喷嘴尚未清除干净，请用去离子水对喷嘴头进行超声波清洗 30 秒时间。

注意 请勿触摸喷嘴头。手上的灰尘会导致喷嘴头堵塞。

- 8 用 10 mL 乙醇清洗喷嘴头，然后再用 10 mL 去离子水灌入注射器，对其进行清洁，如图 10.5 所示。

图 10.5 10 mL 注射器



-
- 9 放大镜下目视观察喷嘴情况，查看是否存在盐结晶或细胞碎片。如果存在任何碎片，请重复上一步骤。
-

- 10 戴上手套，将少许 O 型圈润滑油涂在喷嘴头的黑色 O 型圈上，如图 10.6 所示。

图 10.6 黑色 O 圈



-
- 11 将 O 型圈润滑油涂在喷嘴的塑料螺纹上。
-

- 12 用不起毛的纸巾将多余的 O 型圈润滑油擦拭干净。

- 13 将 O 型圈滑动到喷嘴头上，将 O 型圈置于距喷嘴头 1/3 处。确保 O 型圈位置适当 - 未倾斜或扭曲。参见图 10.7。

图 10.7 O 型圈和喷嘴头



警告

小心人身伤害。重新安装喷嘴头时，外露的管路可能会刺伤皮肤。请勿触摸外露的管路。

- 14 倒置喷嘴。将喷嘴头置于干净的塑料喷嘴体中，连接小的扣环。参见图 10.8。

图 10.7 O 型圈和喷嘴头



15 手指均匀用力，将所有部件拧紧。确保顺利将扣环螺钉拧到喷嘴体上。

16 用纸巾将喷嘴体盖住。

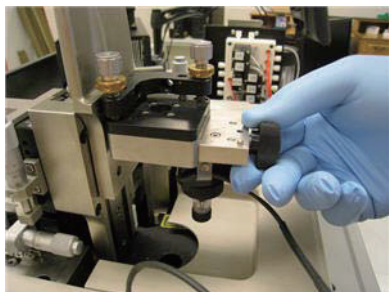
17 按下 Start/Stop Sheath Flow  按钮，启动鞘流。

18 如有必要，轻击干净的塑料喷嘴体侧面，排除气泡。

19 按下 Start/Stop Sheath Flow（开始 / 停止鞘液流）  按钮，停止鞘液流。

20 将喷嘴体重新安装到工作台上，如图 10.9 所示。

图 10.9 重新安装喷嘴体



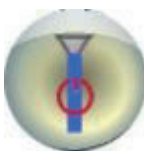
警告

小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，如果将手指放在工作台底部和仪器机架之间，会挤伤手指。通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

21 将喷嘴工作台放回仪器中，并将其锁定到位。

22 重新连接喷嘴体的电源（通过连接器）。

23 按下 Start/Stop Sheath Flow



按钮，启动鞘液流。

24 按下 Debubble



按钮，排除气泡。

- 25 要确定喷嘴是否仍存在部分堵塞的现象，请选择触摸屏控制面板上的 Manual Droplet Setup（手动液滴设置）界面，打开 Drop Drive，查看液滴流。参见第 3 章 触摸屏控制面板概述中的手动液滴设置显示屏部分内容。

注意 当 Droplet Camera（液滴照相机）从断点液滴位置向下拍摄时，如果液滴垂直对称且有规律，则表示堵塞已被完全清除。有时，只清除部分堵塞物。观察断点液滴周围时，如果存在不对称、无规律的液滴，表示存在部分堵塞现象。除上述不对称性外，部分堵塞现象一般还会缩小断点液滴之间的距离。

- 26 重新校准鞘流。参见第 6 章 仪器校准中的液流校准部分内容。

更换程序

更换喷嘴头

更换另一个喷嘴头时，必须满足以下基本条件，即所有部件均干净，表面张力降低，以便快速消除气泡。

重要事项 要获取最佳结果，请佩戴实验室用丁腈手套。

如何更换喷嘴头

- 1 按下 Start/Stop Sheath Flow  按钮，启动鞘液流。

- 2 打开喷嘴工作台上的旋钮，并提升喷嘴，如图 10.1 所示。

- 3 将连接器从喷嘴工作台左侧分离，拔下喷嘴组件。

- 4 旋松喷嘴体上的旋钮，随后将喷嘴体拉出工作台，如图 10.3 所示。



警告

小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，如果将手指放在工作台底部和仪器机架之间，会挤伤手指。
通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

- 5 将喷嘴头从喷嘴体上旋松，然后对其进行存储，以免受损。

-
- 6 取一个新喷嘴头，如果您尚未进行上述操作，请佩戴一副丁腈手套。
-
- 7 用 10 mL 乙醇清洗喷嘴头，然后用 10 mL 去离子水灌入注射器，对其进行清洁，如图 10.5 所示。
-
- 8 用放大镜观察喷嘴情况，查看是否存在盐结晶或细胞碎片。如果存在任何碎片，请重复前述步骤。
-
- 9 从喷嘴头扣环上移除黑色 O 圈。
-
- 10 戴上手套，将少许 O 型圈润滑油涂在喷嘴头的黑色 O 型圈上，如图 10.6 所示。
-
- 11 将 O 型圈润滑油薄薄地涂在喷嘴的塑料螺纹上。
-
- 12 用不起毛的纸巾将多余的 O 型圈润滑油擦拭干净。
-
- 13 将 O 型圈滑动到喷嘴头上，将 O 型圈距置于喷嘴头 1/3 处。确保 O 型圈安装到适当位置 - 未倾斜或扭曲，如图 10.7 所示。
-

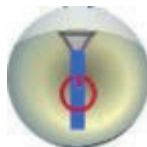


警告

小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，如果将手指放在工作台底部和仪器机架之间，会挤伤手指。
通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

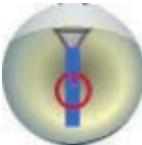
-
- 14 倒置喷嘴。将喷嘴头安装到干净的塑料喷嘴体中，并连接小扣环，如图 10.8 所示。
-
- 15 手指均匀用力，将所有部件拧紧。确保顺利将扣环螺钉拧到喷嘴体上。
-
- 16 用纸巾将喷嘴体盖住。
-

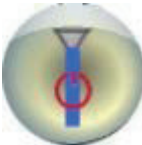
- 17 按下 Start/Stop Sheath Flow



按钮，启动鞘液流。

18 如有必要，轻击干净的塑料喷嘴体侧面，排除气泡。

19 按下 Start/Stop Sheath Flow  按钮，启动鞘液流。



20 将喷嘴体重新安装到工作台上，如图 10.9 所示。

**警告**

小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，如果将手指放在工作台底部和仪器机架之间，会挤伤手指。
通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

21 将喷嘴工作台放回仪器中，并将其锁定到位。

22 重新连接喷嘴体的电源（通过连接器）。

23 按下 Start/Stop Sheath Flow  按钮，启动鞘液流。



24 按下 Debubble  按钮，排除气泡。

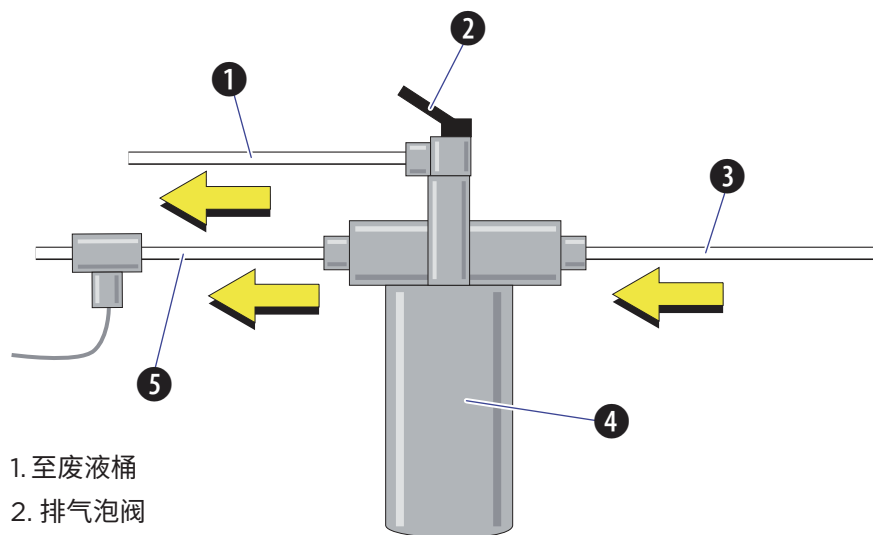


25 完成第 6 章 仪器校准中的液流校准指示。

更换内置鞘液过滤器

移除鞘液过滤器前，必须关闭液流，并对鞘液桶降压。罐和过滤器均含鞘液，因此，在开始前，将一空桶置于罐下侧，这会是一个好方法。参见图 10.10。

图 10.7 O 型圈和喷嘴头



1. 至废液桶
2. 排气泡阀
3. 从鞘液桶流出
4. 内置鞘液过滤器
5. 流至上样台

如何更换内置鞘液过滤器

- 1 按下 Start/Stop Sheath Stream (开始 / 停止鞘液流) 按钮 ，关闭鞘液流。

- 2 按下 Change Tank  (换桶) 按钮，关闭对桶施加的压力。

- 3 转动排气阀一整圈，将鞘液桶中的压力排出。

- 4 压力平衡后，拧紧桶上的排气阀。

- 5 旋松罐上的翼形螺帽，并将螺栓旋出。

-
- 6 将支架拉开，移除过滤罐。
-
- 7 转动并拉出鞘液过滤器。处置过滤器。请留意过滤罐中存留的鞘液量。这对于重连过滤罐来说，是非常有用的。
-
- 8 检测过滤罐边缘的 O 型圈，并在其出现磨损迹象时，更换之。
-
- 9 旋转并将新的鞘液过滤器推至安装位置。
-
- 10 用新鲜的鞘液填充过滤罐，填充至先前观察到的水平。
-
- 11 将新过滤器放入过滤罐中。
-
- 12 更换过滤罐和支架。将翼形螺帽转回到位，并拧紧支架。
-

- 13 按下 Change Tank  (换桶) 按钮，关闭对桶施加的压力。

- 14 打开鞘液罐上的黑色排气泡阀门。参见图 10.10。

- 15 观察废液导管，直至气泡消除，液体填充管线。

- 16 关闭排气泡阀门。

- 17 按下 Debubble 按钮， 在仪器上执行排气泡程序。

更换 SmartSampler 进样针

进样针和样品导管的维护对于 SmartSampler 适当运行至关重要。进样针的材质为不锈钢，且经过高温高压消毒。样品导管是一次性的；它包括连接至蓝色 PEEK 导管的硅橡胶导管、手拉紧配件、不锈钢螺母和套管。

保持 SmartSampler 进样针和样品导管操作的适当顺序，这一点非常重要。如果进样针在搅拌混匀期间撞击样品管的管壁，则进样针可能会弯曲。进样针弯曲会引发很多问题，包括 SmartSampler 单元损坏、样品管和适配器，或者样品损坏。

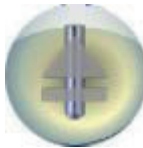
SmartSampler 样品导管在使用期间也会发生损坏。有些细胞会粘在导管上，引起部分堵塞。如果样品导管受损，则无法修复；必须更换之。

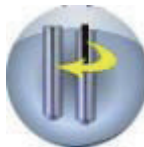
如果进样针发生弯曲或样品导管受损，应立即更换。



运用防护设备，包括防护眼罩、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

如何更换 SmartSampler 进样针

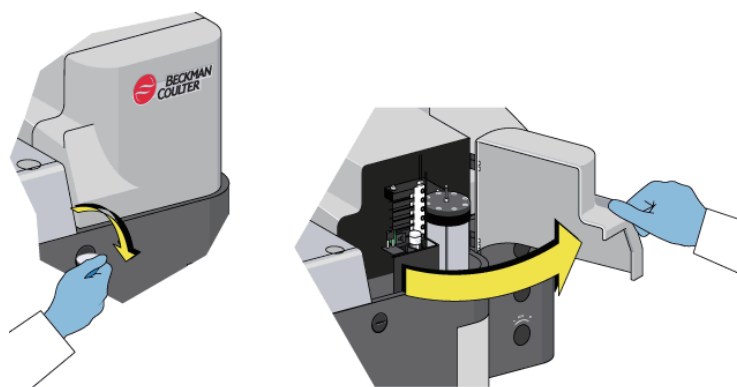
-
- 1 按下触摸屏控制面板上的 Open Chamber（打开舱室） 按钮。
-

- 2 按下触摸屏控制面板上的 Change Probe（更换进样针） 按钮。
-

- 3 将黑色带槽圆盘放在中心位置，略低于盖罩，并顺时针旋转 90°，打开盖罩。参见图 10.11。

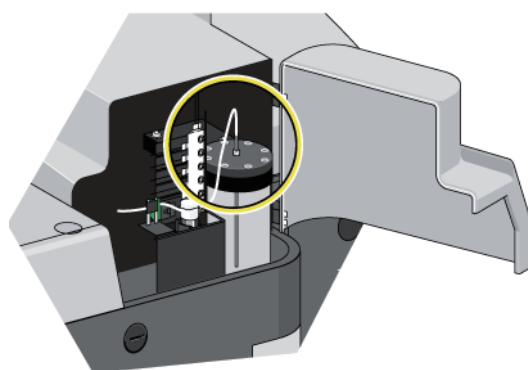
- 4 打开 SmartSampler 门。参见图 10.11。

图 10.11 SmartSampler 门



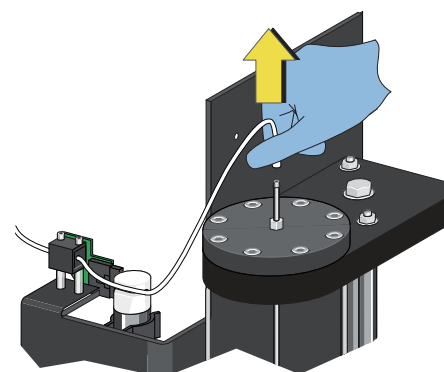
- 5 放入进样针。参见图 10.12。

图 10.12 放入进样针



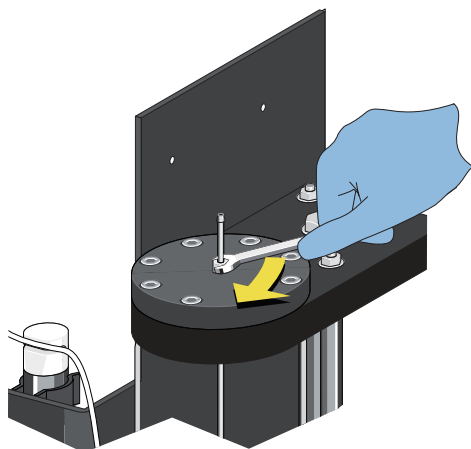
- 6 轻轻地将导管从进样针上取下，如图 10.13 所示。

图 10.13 带软管倒钩的进样针顶板



-
- 7 使用 $\frac{1}{4}$ " 开口扳手，旋松进样针螺母，如图 10.14 所示。

图 10.14 旋松进样针螺母

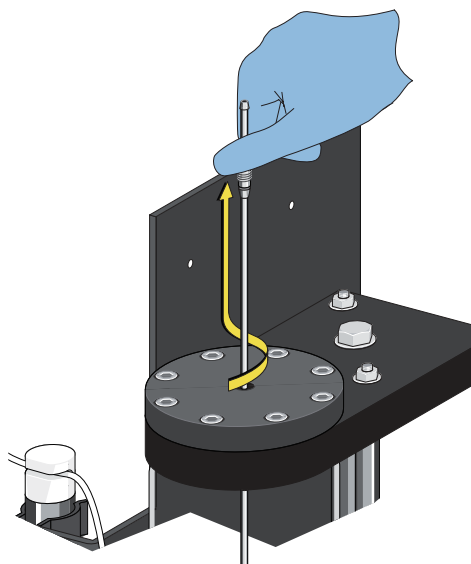


-
- 8 慢慢向上拉动进样针，直至彻底将其从进样针孔板上取下。

参见图 10.15。

注意事项：如果进样针未受损，则对其进行高温高压消毒，并重新安装。如果进样针受损，应按照公司许可的程序对其进行处置。

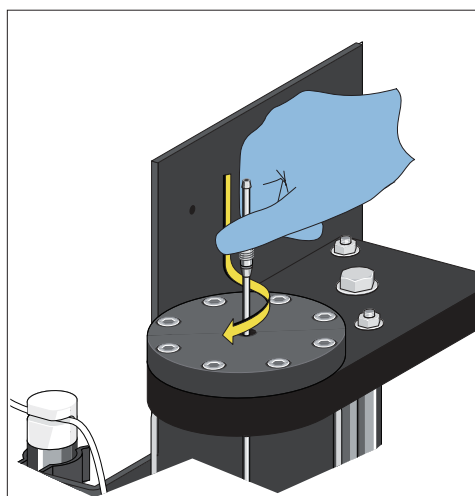
图 10.15 从进样针顶板上取下进样针



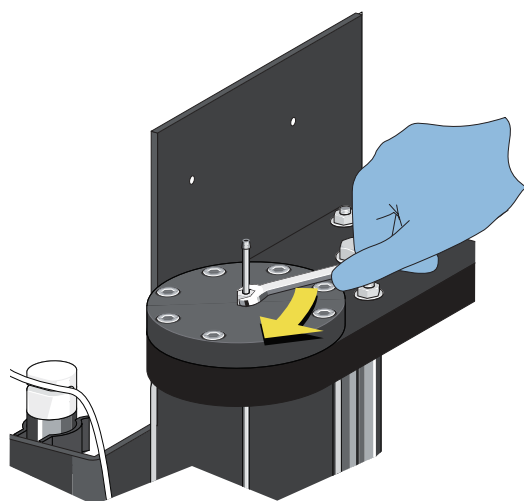
重要事项 移动进样针穿过两个孔时，不要用蛮力，以免导致进样针弯曲。

9 引导进样针替换件穿过进样针顶板和弧刷组件，并用手指拧紧。

图 10.16 更换进样针

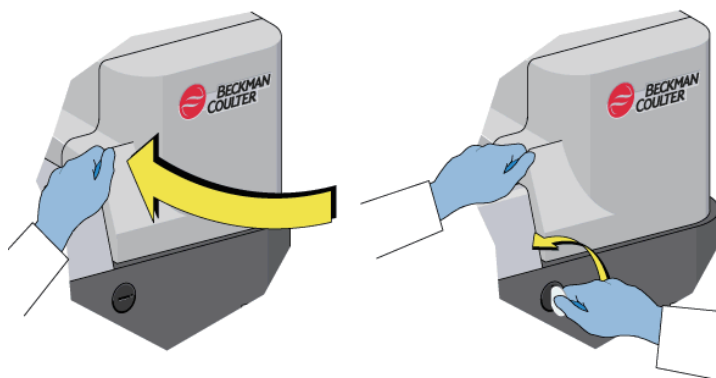


10 使用 $\frac{1}{4}$ " 开口扳手，拧紧（多转动 $\frac{1}{4}$ 圈）连接到进样针上的螺母。
图 10.17 拧紧进样针紧固螺母



11 关闭并锁紧盖罩。

图 10.18 锁紧盖罩



更换 SmartSampler 导管



Electrical Shock

执行本程序前，断开喷嘴的所有电源。



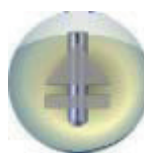
警告

小心人身伤害。如果黄色塑料壳未能盖住套圈组件的整个金属配件，则会发生电击危险。确保配件已完全盖住。

如何更换 SmartSampler 进样针

1

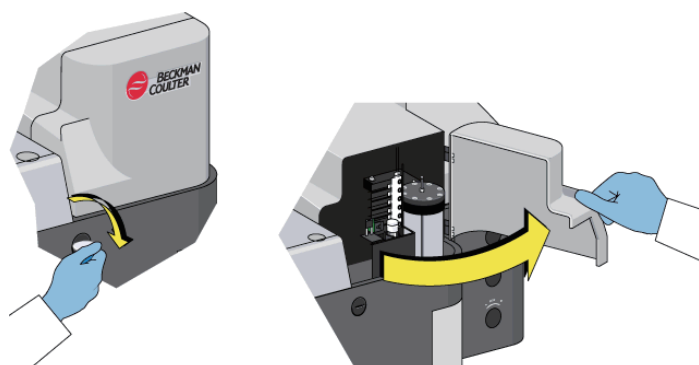
按下触摸屏控制面板上的 Chamber Open 按钮



。

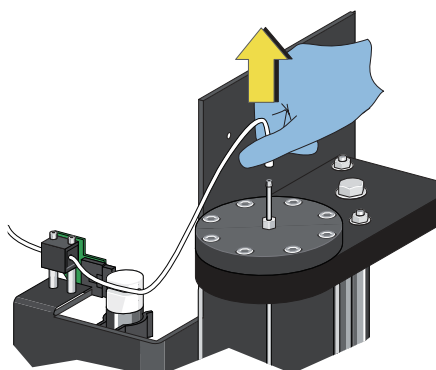
-
- 2 舱室完全打开后，再打开 SmartSampler 门。参见图 10.19。

图 10.19 打开盖罩



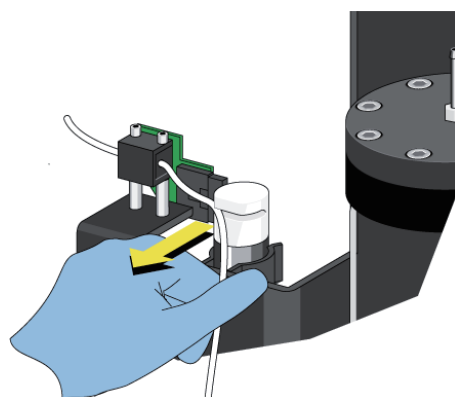
-
- 3 小心地将导管从进样针软管倒钩上取下，如图 10.20 所示。

图 10.20 从软管倒钩上取下导管



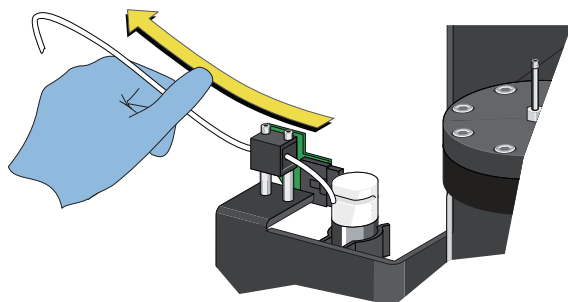
-
- 4 从夹管阀中取下导管。参见图 10.21。

图 10.21 SmartSampler 夹管阀



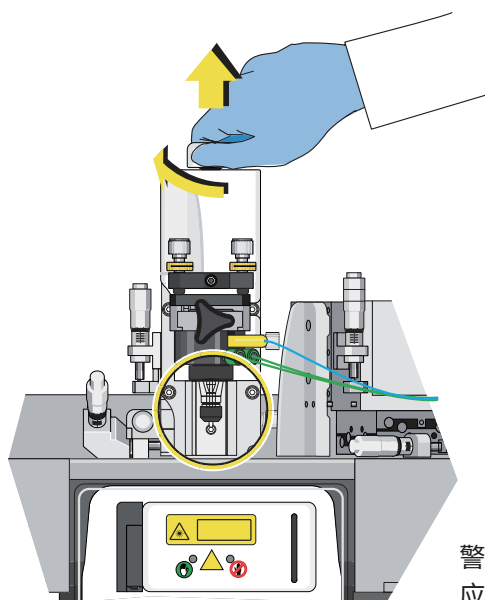
-
- 5 拉动导管穿过气泡检测器，远离样品舱。参见图 10.22。

图 10.22 SmartSampler 气泡检测器



-
- 6 转动喷嘴工作台上的旋钮，如图所示，提升喷嘴。参见图 10.23。

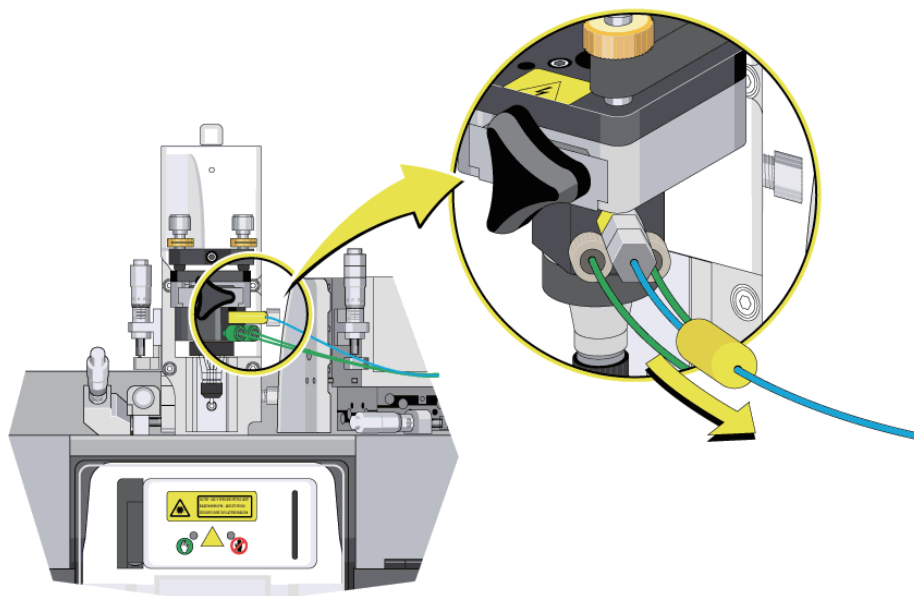
图 10.23 喷嘴工作台旋钮



警告 - 本机打开时会有 4 类可见及不可见的激光辐射，应避免眼部或皮肤暴露在直接辐射或散射辐射中

- 7 将盖住套圈组件的黄色塑料壳取下，如图 10.24 所示。

图 10.24 套圈组件

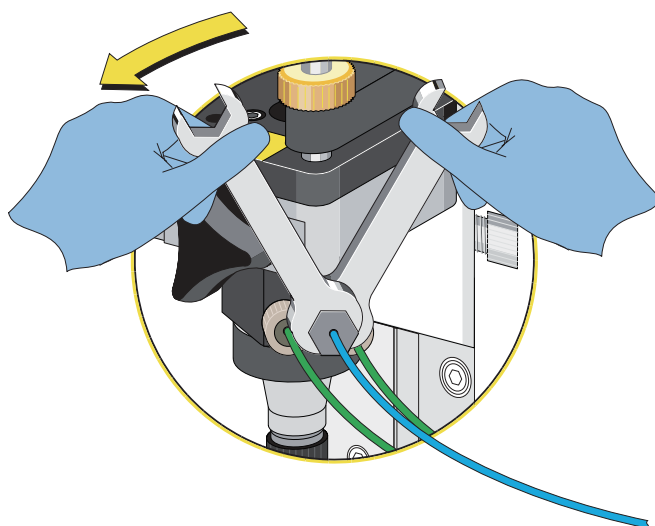


注意

存在破坏环氧树脂封条的危险。使用两个扳手确保环氧树脂封条保存完好，防止喷嘴组件发生泄漏。

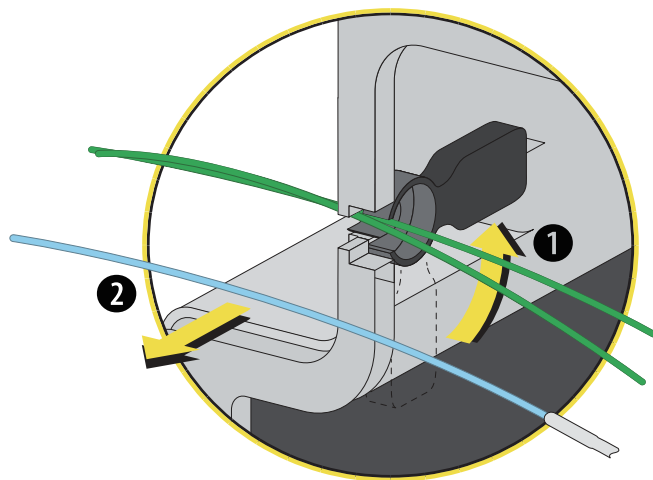
- 8 使用两个 $\frac{1}{4}$ " 开口扳手，旋松喷嘴侧顶部端口上的螺母。
参见图 10.25。

图 10.25 用两个扳手旋松顶部端口螺母



-
- 9 逆时针旋转连接到管夹上的黑色手柄 90° (1)，将蓝色 PEEK 导管从管夹上分离 (2)。参见图 10.26。

图 10.26 黑色手柄



-
- 10 将样品导管组件从 SmartSampler 单元中取出。

- 11 根据实验室许可的程序，对黄色外壳以外的整个样品导管总成进行处理。

**注意**

存在堵塞上样管的风险。使用备件和工具包中的切割工具，切割上样管。请勿使用剪刀。

重要事项 切削刀片是弹簧式的，施加适量压力。用户无需对刀片施压。因为这样操作会导致导管卷曲，发生样品堵塞。

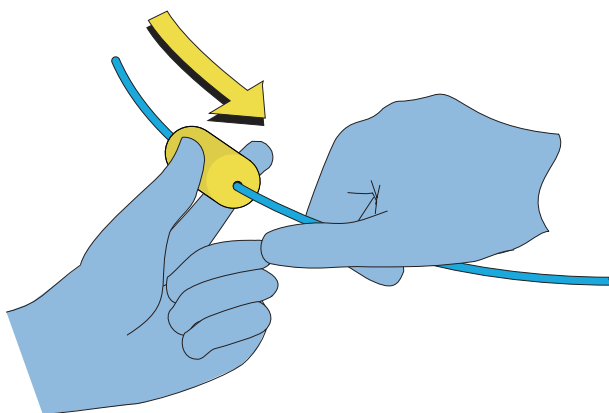
- 12 插入待切割导管，切割上样管，旋转导管周围的切割工具，无需对切削刀片施压。参见图 10.27。

图 10.27 切割工具



- 13 将一个黄色外壳套在蓝色 PEEK 导管上，外壳开口部位朝向蓝色 PEEK 导管的端部。

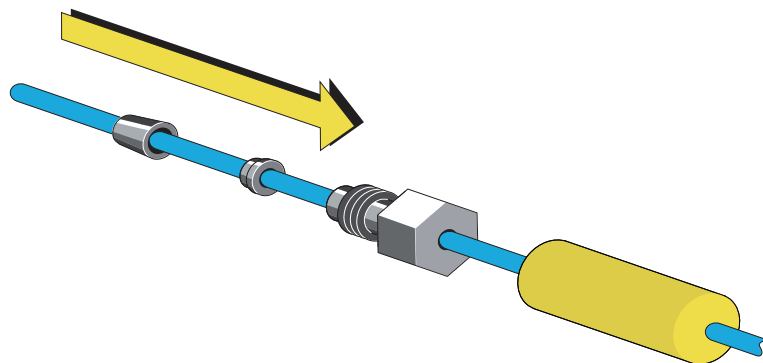
图 10.28 PEEK 导管上的黄色外壳



注意 确保外壳的开口侧面向蓝色 PEEK 导管的端部。

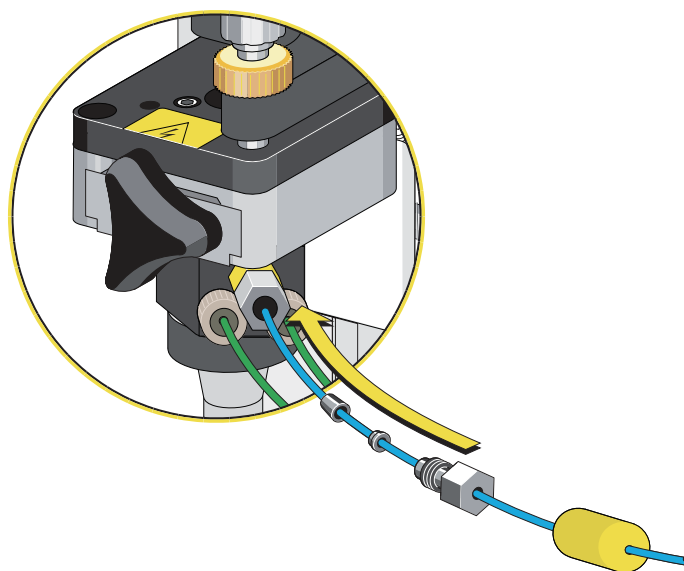
- 14 将不锈钢螺母滑到蓝色 PEEK 导管上，接下来是套圈（尺寸小于先前的套圈）。将小一号的套圈平压到螺母螺纹上，这三个零件都面向蓝色 PEEK 导管端部。参见图 10.29。

图 10.29 添加套



- 15 使用导管端部的套圈和不锈钢螺母，将蓝色 PEEK 导管安装在喷嘴侧的顶部端口处。

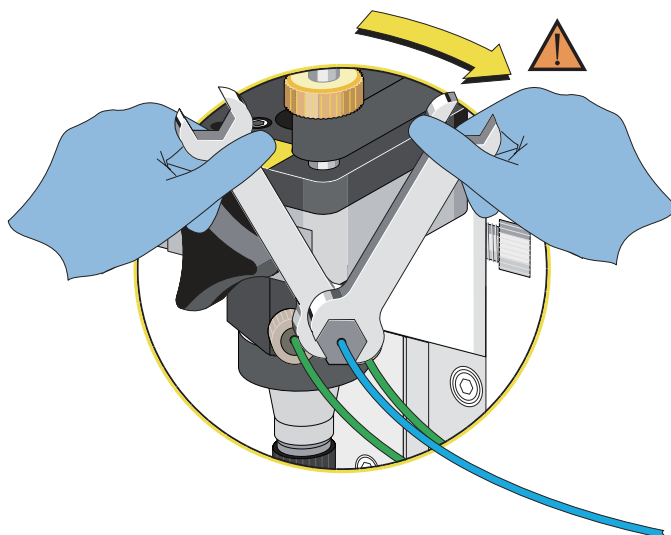
图 10.30 安装 PEEK 导



重要事项 存在阻塞试管的风险。螺母拧超过 $\frac{1}{4}$ 圈，会对试管的内径造成限制，引起 SmartSampler 导管阻塞。

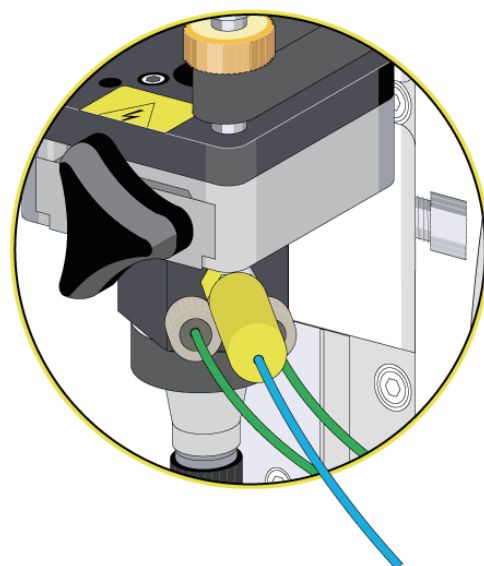
- 16 用手指拧紧样品导管上的螺母，然后用两个 (2) $\frac{1}{4}$ " 开口扳手，将螺母拧 $\frac{1}{4}$ 圈。

图 10.31 用两个扳手拧紧顶部端口螺母



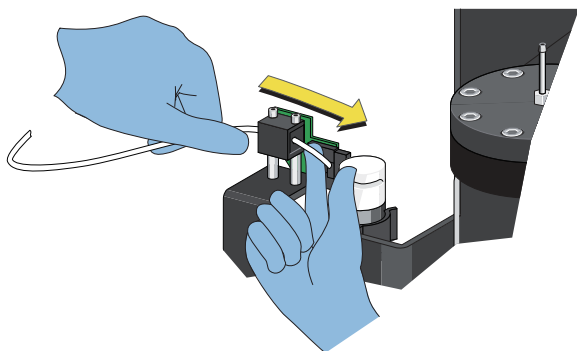
- 17 用黄色塑料壳将套圈组件罩住。

图 10.32 罩住套圈组件



- 18 引导导管穿过气泡检测器。参见图 10.33。

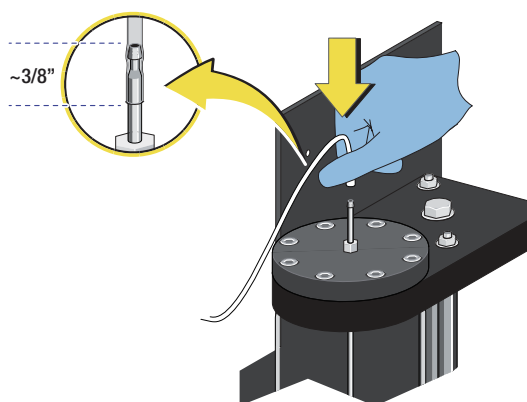
图 10.33 穿过气泡检测器的螺纹导管



注意 拉动足够长的导管穿过进样针上的空气检测器，防止导管出现锐角弯头。

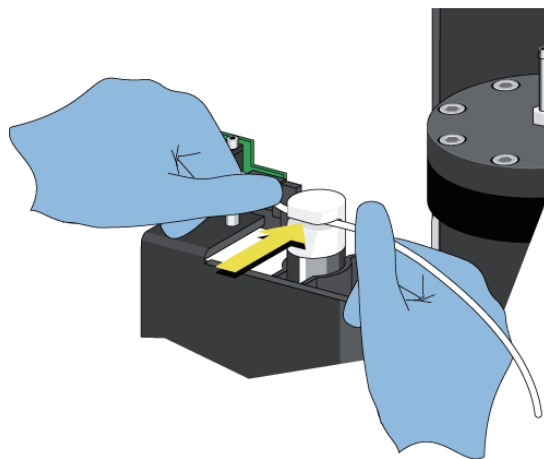
-
- 19 将导管插到进样针的软管倒钩端部。导管应覆盖进样针大约 $3/8$ "。参见图 10.34。

图 10.34 进样针上的导管



20 将导管推入夹管阀中。参见图 10.35。

图 10.35 夹管阀中的导管



21 确保导管能够完全安装在槽底部，以便夹管阀能够正常运行。

22 检测智能上样器关闭时，导管长度能否在无张力的情况下，够到夹管阀。



警告

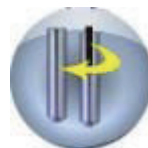
小心人身伤害。放低喷嘴工作台时，如果将手指放在工作台底部和仪器机架之间，会挤伤手指。
通过工作台上部调低喷嘴工作台，防止出现挤压现象。

23 将喷嘴工作台放回仪器中，并将其锁定到位。

重要事项 存在夹到试管的风险。确保上样管和两根鞘液管固定在管夹中。

24 顺时针旋转黑色手柄 90°，锁紧管夹，并将 PEEK 导管固定到位。

25 检测导管中是否存在锐角弯头，如有，请消除之。



- 26 按下触摸屏控制面板上的 Change Probe 按钮。关闭舱室时，请检测确认气泡检测器和进样针之间的导管未受压。导管应保持略微松弛的状态。

注意 当 SmartSampler 在此状态时，它是闭合的，但未加压，因而样品不会流动。



- 27 按下触摸屏控制面板上的 Close Chamber（关闭舱室）按钮。

- 28 关闭并锁紧舱门。

可用的清洁剂和消毒剂

概述

以下是可应用于 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上的清洁剂和消毒剂的清单。如果未使用此处指定产品，可能会对系统产生损坏，此类损坏不在保修范围之内。有关 MoFlo Astrios^{EQ} 相关的化学品使用的任何问题和疑虑，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

本手册也允许或建议使用其他清洁剂，用于对生物安全柜（选配件）进行清洁。生物安全柜手册中禁止使用的任何清洁剂或此处未规定的任何其他配件，请勿用于 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上，如未遵循，会导致损坏。

清洁剂

- 贝克曼库尔特 LH 系列无甲醛 Clenz
- 0.1% Triton-X100
- 70% 乙醇
- 异丙醇
- 有效氯浓度不大于 200 ppm 的漂白剂
- 精密光学清洁剂（非燃性清洁剂）
- 去离子水



请勿在 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器光学表面使用丙酮。使用丙酮会导致光学表面受损。

上样管用消毒剂

- 70% 乙醇（任何用于进样针上的消毒剂均必须使用等量的去离子水进行冲洗。）



小心因漂白剂引发的化学损伤。要避免接触漂白剂，请使用防护装备，包括护目镜、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

- 漂白剂，最大浓度 200 ppm 有效氯（11.5 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例：1:250）。仅可使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（有效氯为 5-6% 次氯酸钠溶液）。十分钟的接触时间足够用于消毒。

上样管用消毒剂

- 70% 乙醇（任何用于进样针上的消毒剂均必须使用等量的去离子水进行冲洗。）



小心因漂白剂引发的化学损伤。要避免接触漂白剂，请使用防护装备，包括护目镜、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

- 漂白剂，最大浓度 200 ppm 有效氯（11.5 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例：1:250）。仅可使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（5-6% 次氯酸钠溶液 - 有效氯）。十分钟的接触时间足够用于消毒。
- 执行年度清洗程序时，可以使用含有 2000 ppm 有效氯的漂白剂（115 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例：1:25）。仅可使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（有效氯为 5-6% 次氯酸钠溶液）。
- 鞘液管中使用任何消毒剂后，均必须用去离子水冲洗至少 90 分钟。

废液桶用消毒剂

以下类型的消毒剂可用于废液桶。废液桶满后，所应使用的消毒剂的类型与用量是相关的，必须确保能灭活所使用的生物材料。使用前，请检查混合品的兼容性。



警告

小心因漂白剂引发的化学损伤。要避免接触漂白剂，请使用防护装备，包括护目镜、手套和适合的实验服。在使用化学品前请参考关于化学品暴露的安全数据表。

- 10% 次氯酸钠或漂白剂。仅使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（有效氯为 5-6% 次氯酸钠溶液）。
- 季铵盐
- 百里香酚
- 酚类

鞘液桶和废液桶

注意长期使用漂白剂可能会导致材料腐蚀。如果使用漂白剂清洗鞘液桶和废液桶，请将漂白剂清除，并冲洗鞘液桶和废液桶。

电极板组件和电极板清洁材料



注意

用 70% 乙醇或异丙醇清洗电极板组件。用不脱毛的软布轻轻擦拭或吸干丙烯酸表面。加压用力擦洗会损伤电极板组件的玻璃样丙烯酸表面。如果表面发生损伤，可能会导致液流成像变形

- 漂白剂，最大浓度 200 ppm 有效氯（11.5 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例：1:250）。仅可使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（5-6% 次氯酸钠溶液 - 有效氯）。十分钟的接触时间足够用于消毒。
- 执行年度清洗程序时，可以使用含有 2000 ppm 有效氯的漂白剂（115 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例 1:25）。仅可使用高品质、无香料、无凝胶的漂白剂（有效氯为 5-6% 次氯酸钠溶液）。
- 鞘液管中使用任何消毒剂后，均必须用去离子水冲洗至少 90 分钟。

光学部件清洁材料

以下材料可用于光学部件的清洁。

- 密封保存的异丙醇。储存容器不密封，会导致异丙醇与空气接触，污染物侵入并悬浮在溶液中，并在清洗过程中，发生再次沉积现象。
- 精密光学部件清洁剂（非燃性清洁剂）
- 去离子水，用于清除多余盐分堆积。

耗材

耗材

表 B.1 微球

产品
Spherotech, Inc. SPHERO Ultra Rainbow Fluorescent Particles - 3.0 μm - 3.4 μm, 1 x 10 ⁷ /mL, 2 mL/vial (仅供安装; RUO)
注意 客户应从 Spherotech 处采购超级彩虹颗粒, 上述产品成批向 Astrios ^{EQ} 贝克曼库尔特客户供应。单一群体的微球, 激发波长从 355 nm 到 647 nm。
FluoroSpheres – 6 项峰值, 3.2 μm, 1 x 10 ⁷ /mL, 40 项测试,
FluoroSpheres – 8 项峰值, 3 μm, 1 x 10 ⁷ /mL, 100 项测试
贝克曼库尔特流量检验微球

注意 表 B.1 所列的前三个产品必须直接从 Spherotech 处采购。

表 B.2 鞘液

产品
IsoFlow Epics 鞘液 10 L
ISOTON II, 20 L
Puraflow 8X Sheath Fluid, 24 L (6 L x 4 bags)

注意 检查 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器所用任何鞘液的产品标签信息, 用缓冲液评估其防腐性或不相容性。

表 B.3 维护

产品
COULTER LH 系列清洁剂
漂白剂，有效氯含量 200 ppm (11.5 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例：1:250)。
漂白剂，有效氯含量 2000 ppm (115 mL 家用漂白剂 + 2875 mL 水，稀释比例：1:25)。
0.2 μm 鞘液过滤器。
微纤维洁净光学药签
精密光学部件清洁剂（非燃性清洁剂）
细导管，1/16 OD X .010 ID，PEEK 材质，蓝色，夹管阀，硅胶

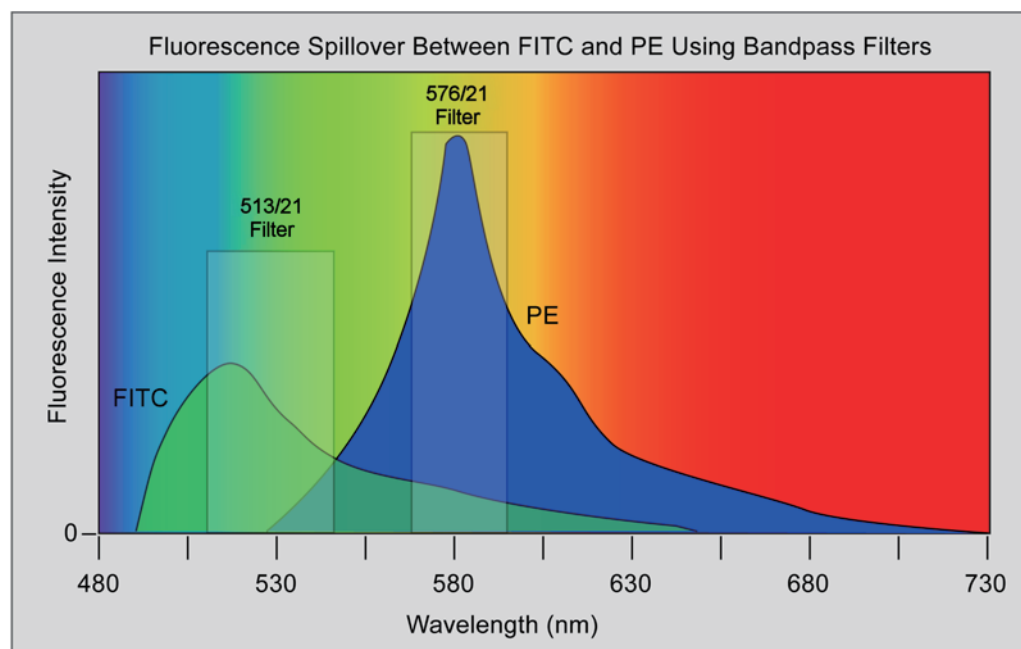
补偿背景知识

补偿

补偿是在多色样品检测中解决各荧光抗体的实际强度的过程。使用单染样本或单色微球作为补偿对照，能够确定漏到其他检测器的荧光量的相关系数。例如，补偿值能够用来确定最终有多少 FITC 的荧光漏到了 PE（488-576/21 检测器）检测器，相应地，也能够确定 FITC 检测器（488-513/26 检测器）最终接收了多少 PE 的荧光。参见图 C.1。该百分数用于确定 FITC 在 PE 检测器中的外溢系数，以及 PE 在 FITC 检测器中外溢系数。通过实验对所有颜色和检测通道的该外溢系数进行测定，从而在多色实验中通过线性代数计算补偿值。这是一种从数学上在仪器、Summit 软件和其他离线流式分析软件中执行补偿的方法。

注意 有关如何使用自动补偿向导的方法介绍，请参见第 4 章 Summit 软件中的自动补偿向导部分内容。

图 C.1 FITC 和 PE 光谱示意图



各项荧光参数（488-513/26、488-576/21）中检测的光量即各光谱曲线下的面积。如果两种荧光染料结合在同一个细胞上，则每种荧光染料发出的光量总和可以被检测出来。已知两个方向上的外溢值，从而使以数学方式计算每种荧光染料的光量成为可能。

对二色染色的计算，将使用以下数学公式：

$$488-513/26(\text{FITC}) = 488-513/26 (\text{总荧光值}) - a_{12} \ 488-576/21(\text{总补偿值})$$
$$488-576/21(\text{PE}) = 488-576/21(\text{总荧光值}) - a_{21} \ 488-513/26(\text{总补偿值})$$

其中， a_{12} 为 FITC 在 488-576/21 中的外溢值， a_{21} 为 PE 在 488-513/26 中的外溢值。总荧光值为各个通道中测得双染色细胞的信号值。在多色试验中，每项总信号值包括多种颜色的外溢值。因此，要防止相减过多导致“过度补偿”，即应减去总补偿值，而非总荧光值。

参见第 4 章 Summit 软件中的自动补偿向导。

CytoCalc 表

CytoCalc 表

当调节设置值时，CytoCalc 表提供了各项建议初始值。这些数值都是近似值。您可以根据自身经验，寻找最佳值。

表 D.1 CytoCalc 表

喷嘴尺寸 (μm)	建议压力值 (psi)	大致频率 (Hz)	大致 DD 振幅 (V)	大致液滴延迟
50	80-100	120000	25	25
70	60	100000	15	40
80	60	80000	30	45
90	40	60000	40	40
100	25	40000	30-50	40
120	20	30000	50	35
150	15	20000	50	30
200	5	7000	50	15

符号定义

表 E.1 符号定义

符号	定义
	仪器序列号
	贝克曼库尔特产品型号
	生产日期
	交流电输入
	小心！ 查阅随机文件

表 E.1 符号定义

符号	定义
	制造商信息
	本产品的正确处置方法 （根据报废电子电气设备[WEEE]指令 2002/96/EC，该指令适用于欧盟国家以及具备独立收集体系的其他欧洲国家。） 在设备使用寿命到期时，联系您的贝克曼库尔特工程师对设备进行处理。本产品不可与其他商业垃圾混合处理。

生物安全柜配件

生物安全柜

BSL-2、Type A2 的生物安全柜可用作 MoFlo Astrios^{EQ} 系统的附加配件。

该系统满足本类型生物安全柜的 NSF-49 标准。实验室安全员有责任判断是否需要在已安装完毕的 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上执行相关细胞分析和分选时安装本配件。如果生物安全柜系已安装系统的一部分，则执行任何作业前，所有操作员必须：

- 由实验室安全员对生物安全柜的使用进行认证。
- 已经阅读并完全了解本章节有关如何实现生物安全柜与 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器互动的内容。

可从制造商处直接获取此生物安全柜手册与技术规范。如果需要生物安全柜手册的复印件，请联系您的贝克曼库尔特工程师或生物安全柜制造商，由其安排发送。本文内容的前提是操作员已经熟悉用于描述生物安全柜的语言，且已提前阅读制造商提供的文档。

使用 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器（配备或未配备生物安全柜）时，操作员、现场服务人员、旁观者以及珍贵样品的安全对贝克曼库尔特来说是最重要的。必须经过适当的培训、操作员反应敏捷且遵照方案内容，才能正确操作生物安全柜。

除培训和遵守制造商手册中提出的所有安全和维护操作外，所有操作员还应对以下信息进行审核：

图 F.1 设置激光延迟



**注意****将气流干扰降到最低，从而保持 NSF-49 防范标准：**

- 在操作期间，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器的所有盖罩均处于完全闭合位置。
- 触摸屏控制面板（安装在生物安全柜右侧的带关节的臂上）必须远离气帘。气帘在安全柜前窗开口后面从工作区顶部一直流至进风格栅。
- 缓慢打开分选室门或其他操作面板，使生物安全柜捕捉到任何可能存在的气溶胶。
- 请勿在生物安全柜中使用辅助装置，例如，搅拌器、电热板、HEPA 过滤装置、冷却装置等。这些物体的电子系统、风扇，以及形状和尺寸可能会破坏生物安全柜内的气流情况。
- 请勿将物体放在标有“非工作区”的位置。包括所有工具、扳手、试管、试管架、手套、盒子、文书、笔记本或任何其他物品。
- 切勿阻塞生物安全柜顶部的排气口。切勿阻塞生物安全柜的感应区（前开口和下部窗格）。
- 生物安全柜边缘的箭头将指示滑动前窗的工作高度。滑动前窗的底部必须与适当气流箭头对齐。

安装生物安全柜

贝克曼库尔特工程师将帮助安排生物安全柜的采购、安装和认证工作。生物安全柜可应用于现有 MoFlo Astrios^{EQ} 系统上，或者，在初次采购时，与 MoFlo Astrios^{EQ} 系统一同订购。

由贝克曼库尔特工程师现场将生物安全柜组装到 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上。组装后，由当地认证的技术员对生物安全柜进行测试，并为安装生物安全柜的实验室提供性能文档。

安装生物安全柜时，应考虑很多环境因素。需审核的事项包括仪器从最初到最终安装完毕的一系列事项，包括如何仪器从装载码头运至目标实验室，以及电力需求、海拔高度和相对湿度。为保证 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器正常运行，按照规范，仪器的稳定性和环境温度变化应保持每小时 2°，这一点非常重要。系统运行的房间尺寸也很重要，因为房间过小会导致升温过快，仪器会产生热量，且很难冷却。有关更多信息，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

Type A2 生物安全柜设计用于排气至所安装的房间。可从制造商处获取连接至其他排气设施的可选方法。

生物安全柜设计配备支架，该支架可用作抗震点，现场需要该用途的支架。



警告

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器 / 生物安全柜系统较重，且重心偏高。装置翻倒会致人重伤或死亡。在可能发生翻倒的情况下，例如，系统转移时，需采取特殊防护措施。



警告

抬升生物安全柜存在致人受伤的风险。生物安全柜重达 360 Kg (794 lbs)，需要六人合力，才能安全抬升和移动。

生物安全柜和仪器上部模块除菌

贝克曼库尔特认为需要不定期对生物安全柜和 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上部模块进行除菌处理。

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器是一台配备敏感的电子、光学和机械部件的高性能仪器。贝克曼库尔特确定唯一认可的 MoFlo Astrios^{EQ} 生物安全柜除菌法是使用 VHP（汽化过氧化氢）。VHP 除菌法受到国立卫生研究院 (National Institutes of Health) 的支持，比其他方法更友好，不会留下致癌性残渣，且被全球很多国家认可。



注意

贝克曼库尔特不支持使用 VHP 以外的任何其他除菌方法（甲醛等），因为这些方法会对 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器造成严重损坏。因上述原因造成的损坏不在仪器的保修范围之内。生物安全柜与甲醛相容，但 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器与甲醛不相容。



警告

正确、成功地运用 VHP 除菌循环是实验室安全员和执行除菌执行人员的责任。仅经过培训和认证的人员方可执行除菌操作。

**注意**

从本质上来说，除菌法在杀死病菌方面带有侵略性。对仪器进行除菌操作时，遵守以下事项是非常重要的：

- 请勿将 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器下部模块暴露于除菌程序中。尽管用塑料布遮住或密封地板这一做法比较方便，但这样做会不必要地让仪器的下面部分暴露于除菌程序中。生物安全柜下部边缘是系统最下部，其应与除菌浓缩物料接触。因误用除菌方法导致的损坏，不在产品的保修范围内。仪器下部包含废液路径，会因其他方法而导致污染。
- VHP 除菌法会对部件产生轻微和渐进的外观伤害，例如，导致电镀铝、油漆和其他涂层的阳极化。
除菌会降低液流图像质量。建议在除菌前，移除电极板组件（图 2.14）。
- 标签（包括警示标签）可能会松动，须在一个或以上除菌循环后，予以更换。除菌后，对生物安全柜进行检测，确定是否需要张贴新的标签。额外的警示标签包已随生物安全柜一同交付到您的手中。如果需要更多的标签，请联系您的贝克曼库尔特工程师。
- 除菌程序后，生物安全柜上的序列号和部件号标签可能会变得不清晰。应在实验室设备历史记录文件和 / 或其他相关记录中标注上述数值。如果需要，应联系制造商更换序列号和部件号标签。
- 除菌方法对于本区域内的这些部件是非常危险的；请遵守除菌服务供应商提供的所有安全规定。
- 使用 VHP 法不会留下致癌性残留。但其他未获支持的除菌方法则会留下。
- 请勿简化 VHP 除菌循环。因简化导致的设备受损不在保修范围之内。除菌服务供应商会开展一个完整的除菌过程，对仪器进行有效除菌。经过高度整合的除菌循环节省了时间，但也会使冷凝的风险加剧。最好的方法是，低浓度运行，获取较长的除菌循环时间。
- 针对悬浮在液体中的病菌，除菌方法可能会失效。因泄漏或溢出可能导致液体存在，在执行除菌循环前，必须对仪器系统进行检测，以确保不存在任何液体。
- 客户的安全员负责选择、应用和有效运行任何除菌方案。贝克曼库尔特的任何操作说明书或信息仅供参考。

- 生物安全柜后部的两个端口便于应用 VHP 除菌法。可以选择使用上述端口；可通过其他方法引入 VHP 气体。不使用时，将端口保持闭合状态，确保生物安全柜能够作为一个受控的气流系统，发挥正常作用。这些端口属于行业标准的凸轮锁式阳螺纹插头，标称尺寸为 150（1.5 英寸）。
- MoFlo Astrios^{EQ} 仪器设计用于接受 VHP 除菌程序；但是，过多的除菌程序会导致损坏。

在贝克曼库尔特执行作业前，如果存在以下情况，则必须对 MoFlo Astrios^{EQ} 生物安全柜进行除菌。任何工作开始前，必须确保向贝克曼库尔特提供本次除菌程序的证明。例如，在何种情况下，必须首先对生物安全柜进行除菌：

- 任何时候在生物安全柜和 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器将被拆卸的情况下（移动至另一位置、停用等）
- 任何时候在检修人员确定故障排除或部件拆卸 / 更换作业中，身体必须进入生物安全柜进行检测之后。

贝克曼库尔特不提供生物安全柜的相关服务。有关生物安全柜保养前的除菌要求，请联系您的当地保养服务提供商或生物安全柜制造商。

有关 VHP 除菌的更多信息，请联系您的贝克曼库尔特工程师。

功能

为保证安全工作，当生物安全柜未能在其适当的气流范围内运行时，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器将停止鞘液流与样品流。由于一些原因，生物安全柜可以在其正常操作极限之外运行。如果系统未能正常运行，请考虑以下原因：

- 生物安全柜未开启或未全速运转。
- 生物安全柜发生故障，且无法维持正常的气流。
- 生物安全柜 HEPA 过滤器已经满载，阻碍适当气流。
- 生物安全柜前窗位置不当。
- 系统电源故障。MoFlo Astrios^{EQ} 仪器配备不间断电源 (UPS)，以便在出现意外时，能够及时存储数据。因此，在生物安全柜停机后，MoFlo Astrios^{EQ} 仪器还能够运行一段时间。

如果在触摸屏上或电脑工作站上显示因生物安全柜导致样品流和鞘液流已经停止，请重启生物安全柜，并确认信息。此时，鞘液流和样品流可能被重启，并进行记录和保存。如果上述现象持续，请联系您的贝克曼库尔特代表。

生物安全柜维护和保养

除了需要用户进行日常清洁工作外，生物安全柜的设计已经尽可能将定期维护和保养的必要性最小化。生物安全柜不太可能出现部件故障的情况，即使出现故障，所有部件均可进行现场检修。

在病菌暴露区域外提供工作照明的灯泡，可由用户进行更换。有关更多信息，请参见制造商提供的手册。

在一般实验室环境下，HEPA 过滤器的使用寿命至少为三年。HEPA 过滤器更换时，必须提供生物安全柜已经过除菌处理的证明记录。上述工作仅可由经过认证的人员完成。有关其他信息，请联系您的贝克曼库尔特代表。

可以从生物安全柜制造商处获取更换部件所用的扶手。

执行大多数保养前，必须对生物安全柜进行除菌处理。参见生物安全柜和仪器上部模块除菌部分内容。

操作生物安全柜和仪器



警告

生物安全柜和 MoFlo Astrios^{EQ} 系统并非设计用于与放射性同位素或溶剂配合使用。系统无法过滤上述材料，而这些材料会对工作区的人员产生有害影响。这些材料还会导致仪器受损，并导致所有保修条款无效。

生物安全柜必须保持开启状态，以保证同时给病原体控制及 MoFlo Astrios^{EQ} 冷却提供适当的气流。



注意

尽管在生物安全柜未能正常运行的情况下，鞘液和样品无法流动，但仪器仍可保持上电状态。此时，操作员可以打开生物安全柜，再依次打开鞘液和样品。这会导致 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器无法达到最佳和稳定的操作温度。在此次调整期间采集的数据质量可能会很差。因此，最合适方法就是，在运行样品前，保证系统进入热平衡状态至少 30 分钟。



注意

仪器运行时（不管鞘液和 / 或样品是否运行），请勿关闭生物安全柜鼓风机及前窗。温度可能导致仪器损坏，并产生错误的结果。

生物安全柜能够连续运行。这种方法能够最大程度地减少系统温度波动。

MoFlo Astrios^{EQ} 仪器对生物安全柜的运行状态进行监测。如果 MoFlo Astrios^{EQ} 鞘液或样品流不能正常运行，请参见本附录获取更多信息。

生物安全柜具有“软启动”功能，以便当生物安全柜的电源按钮按下时，系统能够全速运行并保持良好密封度达 30 秒左右。



警告

请注意，使用第 2 章中规定的外部气溶胶清除系统 (AES) 是多余的，此外，当 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器耦合至生物安全柜时，还可能对 NSF-49 病原体防范产生破坏。请勿在生物安全柜内使用外部气溶胶清除系统。要缓解上述影响，生物安全柜应在柜体的左后侧配备气溶胶清除系统连接件。上述连接件应连接至 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器上部模块的端口处。

如果生物安全柜运行时间延长，且 MoFlo Astrios^{EQ} 仪器没有使用，则喷嘴中会出现盐结晶，从而引起液流偏转或阻塞。最好的方法就是，确保喷嘴干净，并在长时间停用后，对其进行清洁处理。

**警告**

当工作人员现场验证生物安全柜的功能时，会为压力监测器编入适当的气压设定点。请勿修改或干预压力监测器，这会导致生物安全柜的运行状况无法满足 NSF-49 防范标准。

定期记录生物安全柜读数显示的压力水平，确保其连续运行。由于 HEPA 过滤器填充微粒物质，导致压力水平发生改变，最终需要更换。了解起始和当前压力水平以及变化速率，有助于在 HEPA 过滤器使用寿命结束之前，提出 HEPA 过滤器更换的维修请求。请注意，一旦压力水平降至安全值以下（生物安全柜认证机构能够提供该项数值），MoFlo Astrios^{EQ} 系统会突然关闭样品和鞘液流。

**警告**

用于控制生物安全柜气流平衡的阻尼器，应由合格的安装人员安装在正确的位置。一旦完成位置设定，请勿篡改位置，以确保生物安全柜符合 NSF-49 防范标准。

**警告**

使用适当的实验室技术，请勿因为疏忽，触摸屏控制面板、键盘等方式，导致污染物进入生物安全柜。

生物安全柜技术规范

有关其他技术规范和详情，请参见制造商产品手册

表 F.1 生物安全柜技术规范

技术规范 (仅适用于生物安全柜)	要求
检修通道	顶部最少 10 cm (3.9 英寸)，无需每天接触仪器背面和侧面。要执行除菌程序，必须在生物安全柜周围留出能够容纳一个人的空间。为此，MoFlo Astrios ^{EQ} 和生物安全柜可以撤离墙壁。
仪器的尺寸和质量	高度 - 156 cm (61.5 英寸)
	宽度 - 178 cm (70 英寸) [含显示器支架]
	深度 - 87.4 cm (34.3 英寸) [不含 VHP 或真空泵配件，需要穿过狭窄通道时，可以移除或更换上述配件]
	质量 - 360 Kg (794 lb)
仪器储存和运行的温湿度范围	生物安全柜的温湿度范围支持 MoFlo Astrios ^{EQ} 仪器的正常运行。
最大海拔高度	最大海拔高度为 2000 m (6561 ft)
电源要求	选项 1 - 美国 - 115 Vac, 20A 时, 60 Hz, 专用
	选项 2 - 欧洲 - 220 Vac, 15A 时, 50 Hz, 专用
	选项 3 - 日本 - 100 Vac, 20A 时, 50/60 Hz 专用
类别	BSL-2, Type A2
噪声	最大 70 dBA
室内净高	最低 243.5 cm (96 英寸) (考虑 MoFlo Astrios ^{EQ} 仪器的高度)

缩略词

以下列表列出了本手册所用或与本手册内容相关的符号、缩略词、首字母缩略词和参考标志。当相同缩略词（或引用标记）用于多个词（或部件类型）时，与本手册相关的所有含义均包括在内，并由分号隔开。

>— 大于	CDRH — 国家设备仪器与放射学健康中心
<— 小于	cm — 厘米
≥— 大于等于	CV — 止回阀；变异系数
≤— 小于等于	CV% — 变异系数
%— 百分数	dBA — 分贝
+— 加	dc — 直流电
— 减	DI — 去离子
±— 加或减	EPS — 每秒事件数
°C — 摄氏度	F— 华氏温度；保险丝
°F — 华氏温度	FC — 流通池
μ— 微米	FF — 配件
μL — 微升	FSC — 前向散射
μs — 微秒	ft — 脚；英尺
A — 安培	g— 克
ac - 交流电	gal. — 加仑
ADC — 模数转换器	Hz — 赫兹
Amp — 放大器	HEPA — 高效粒子空气（过滤器）
ANSI — 美国国家标准协会	in. — 英寸
baud（波特）— 每秒位数	IVD — 体外诊断
BCI — 贝克曼库尔特公司	K— 恒量 kg — 千克
BIOS — 基本输入 / 输出系统	kPA — 千帕
C— 摄氏度	L— 升；长
CD-ROM — 光盘 - 只读存储器	

lb — 磅	S — 开关；传感器
LED — 发光二极管	SD — 标准偏差
M — 巨大；电机	sec — 秒
m — 米 mbar — 毫巴	SSC — 侧向散射
max — 最大值	SW — 软件；开关
MB — 兆字节	UL — 美国保险商实验室 ULPA — 超高效空气
MLSO — 多激光整形光学部件	USB — 通用串行总线
MHz — 兆赫 min — 最小值 mL — 毫升 mm — 毫米 ms — 毫秒	UPS — 不间断电源
mV — 毫伏	UV — 紫外光
N/A — 不适用	V — 伏特
NA — 数值孔径	Vac — 交流电压
nm — 毫微米	vac — 真空
P — 插塞式连接器	Vdc — 直流电压
PC — 个人计算机	VHP — 汽化过氧化氢
PEEK — 聚醚醚酮	
PMT — 光电倍增管	
POD — 精密光学检测	
ppm — 兆比率	
psi — 每平方英寸磅数	
QA — 质量保证	
QC — 质量控制	
R — 电位计；电阻器 RH — 相对湿度	
RUO — 仅供研究使用	

索引

A

- 采集数据, 4-15
- 气溶胶清除, 2-19
- 校准
 - 前向散射, 6-24
 - 液流, 6-1
 - UV BSO, 6-55

B

- 扣除背景, 8-14
- 微球, B-1
- 生物安全柜配件, F-1
 - 功能, F-6
 - 运行安全柜和 MoFlo Astrios 系统, F-7
 - 安全柜维护和检修, F-7
 - 安全柜技术规范, F-9
- BSO
 - 光纤耦合激光器, 2-8
 - UV BSO 校准, 6-55

C

- 中国 RoHS 警示标签, xvi
- 清洁, 9-1
 - 可用的材料, A-1
 - 电极板组件和带电电极板清洁, A-3
 - 光学部件清洁, 9-6
 - 光学部件清洁材料, A-3
- 门控颜色, 8-35
- 补偿
 - 自动补偿向导, 4-28
 - 通过样品进行自动加载, 4-28
 - 概述, C-1
 - VisiComp, 4-34
- 循环刷新模式 4-17, 4-20

- CyClone, 2-16
 - 设置 8-7
- CytoCalc 表, D-1

D

- 安全柜除菌, F-4
 - 除菌, F-4 除菌程序, F-5 安全员, F-5
 - VHP 除菌循环, F-5
 - VHP 除菌方法, F-5
- 电极板, 2-17
- 电极板组件和带电电极板清洁, 9-4, A-3
- 二向色性滤光片, 2-15
 - 示意图, 6-51
- 粘连体, 8-32
- 液滴延迟, 8-36
- 液滴延迟计算, 8-2
- 液滴稳定性测试, 10-6

E

- 电子系统, 2-26
- 启动 Summit 软件参数, 4-10

F

- 液流
 - 鞘液桶, 2-21
 - 导管, 2-20
 - 废液桶, 2-22
- 前向散射校准, 6-24
- 前向散射激光, 6-23

G

设门, 4-44
 门控颜色, 4-51

H

硬件丢弃, 8-32
直方图
 创建区域, 4-42
 创建点图, 4-39
 将直方图导出到 Word 中, 4-43
 叠加图, 4-43
 重新命名区域, 4-42

I

照明舱, 2-10
仪器
 排气, 10-6
IntelliSort
 扣除背景, 8-14
 概述, 2-19
 启动 IntelliSort, 8-12
联锁装置, ix

K

关键词, 4-36

L

激光校准
 微调, 6-15
激光控制
 激光控制选项, 3-5
激光安全, xii
激光光斑
 扣除背景, 8-14
 激光光斑测定, 6-7
 概述, 3-6
激光
 光纤耦合, 2-8
 UV, 2-9

M

维护, 9-26
手册
 更新, -1
千分尺

所有, 2-7
前向散射, 6-24

MLSO

 光纤耦合激光器, 2-8

N

喷嘴
 清洁阻塞, 10-7
 更换喷嘴头, 10-13
 概述, 2-23

O

光学
 清洁, 9-6

P

参数选择工具, 3-11
参数信号类型, 8-33
参数, 8-33
针孔显示屏, 2-13
孔板, 2-17
PMT, 2-15
PMT 和滤光片校准, 6-39
 示意图, 6-51
PMT 和滤光片编辑, 6-44
POD, 2-14
前置放大器, 2-15
压力控制台概述, 2-25
问题 / 解决方案列表, 10-2
方案
 创建, 4-14
 开关, 4-15

Q

质量控制, 3-12
 性能验证程序, 7-1

R

更换程序, 10-13

S

安全, v
 生物危险, xiv
 液滴震荡电压, x

- 电气, ix
 - 电磁, xv
 - 一般, viii
 - 仪器安全, vii
 - 联锁装置, ix
 - 激光, xii
 - 激光, xii
 - 分选电极板电弧, x
 - 分选电极板, x
 - 液流电荷 x
 - 符号, vii
 - 安全柜
 - VHP 清洗, F-4
 - 安全柜配件 BSL-2, F-1
 - NSF-49, F-1
 - Type A2, F-1
 - 安全柜安装, F-3
 - 耐震, F-3
 - Type A2 安全柜, F-3
 - 样品选项, 4-28
 - 保存采集数据, 4-16
 - 鞘液, B-1
 - 鞘液过滤器, 10-16
 - Summit 快捷键, 4-55
 - 侧向散射收集物镜, 2-12
 - SmartSampler
 - 概述, 2-26
 - 更换导管, 10-22
 - SmartSampler 控件
 - 完整菜单, 3-31
 - 分选舱, 2-16
 - 分选决策, 4-22
 - 分选输出类型, 3-18
 - 分选选项, Summit, 4-21
 - 分选
 - 丢弃模式, 8-24
 - 自动液滴延迟计算, 8-2
 - 更改压力, 8-30
 - CytoCalc, D-1
 - 粘连体, 8-32
 - 液滴延迟, 8-36
 - 分选期间, 8-2
 - 硬件丢弃, 8-32
 - IntelliSort, 8-12
 - 激光间延迟, 8-30
 - 概述, 8-1
 - 孔板或玻片配置, 8-24
 - 设定 CyClone, 8-7
 - 设定分选决策, 8-16
 - 设置偏转, 8-5
 - 分选输出类型, 8-3 分选设置, 8-2
 - 速度限制, 8-30
 - 阈值, 8-33
 - SortRescue, 2-18
 - 开机和关机, 5-1
 - 自动开机, 5-4
 - 手动开机, 5-1
 - 关机, 5-5
 - 液流校准, 6-1
 - Summit 软件采集数据, 4-15
 - 采集选项, 4-8
 - 启用参数, 4-10
 - 样品运行信息, 4-9
 - 更换轴参数, 4-40
 - 创建方案, 4-14
 - 创建区域, 4-42
 - 循环模式, 4-17, 4-20
 - 数据库, 4-1
 - 将直方图导出到 Word 中, 4-43
 - 门逻辑, 4-44
 - 直方图选项, 4-38
 - 仪器选项, 4-5
 - 关键词, 4-36
 - 布局选项, 4-53
 - 加载现有方案, 4-13
 - 打开, 4-1
 - 叠加图, 4-43
 - 概述, 4-2
 - 重新命名区域, 4-42
 - 样品选项, 4-28
 - 保存采集数据, 4-16
 - 快捷键, 4-55
 - SmartSampler, 4-5
 - 分选选项, 4-21
 - 分选选项, 设定分选决策, 4-22
 - 统计数据显示, 4-43
 - 转换方案, 4-15
 - 符号, E-1
- ## T
- 触摸屏控制面板共同要素, 3-1
 - CyClone 选项, 3-23
 - Definition (定义) 选项, 3-18
 - Deflection (偏转) 选项, 3-20

- 微调界面, 3-8
- 激光和液流截距配置界面, 3-6
- 激光控制, 3-5
- 手动液滴设置显示屏, 3-25
- 概述, 3-1
- 参数选择工具, 3-11
- 针孔显示屏, 3-4
- POD 配置显示屏, 3-28
- QC 显示屏, 3-12
- 质量控制, 3-12
- SmartSampler 控件, 3-30
- 分选显示屏, 3-15
- 分选统计显示屏, 3-26

V

- VisiComp, 4-34

W

- 工作区

- 页面导航器, 4-54
 - 页面设置, 4-54

贝克曼库尔特公司

客户最终用户许可协议

本产品所含软件系贝克曼库尔特公司或其供应商所有，并受美国和国际版权法以及国际贸易条款之保护。您必须按照对待任何其他受版权保护产品一样，对待本产品所含之软件。如果您违反本协议任何内容，则本许可和您对本产品的使用权力将自动终止。

本协议系许可协议，并非销售协议。在以下条款和条件下，贝克曼库尔特授予您使用本软件的许可：

您有权：

1. 在贝克曼库尔特向您提供的计算机中使用本软件；
2. 因备份需要，保留一份本软件的拷贝件（备份件由贝克曼库尔特提供）；
3. 以书面形式通知贝克曼库尔特后，将整个产品转让给其他人或机构，前提是确保您不保存产品软件的拷贝件，且受让人同意本许可方案的条款。

您无权：

1. 使用、复制或转让本软件，本许可协议另有规定者除外；
2. 以任何方式调整、更改、合并、修改或逆向设计本软件，包括反汇编或反编译；
3. 出借、出租、租借或转让本软件或任何拷贝件。

有限质量保证

贝克曼库尔特保证，本软件基本符合搭载产品的已颁布规范，前提是在专门为其设计的计算机硬件和操作系统环境中。如果交付时，您的软件媒介证明存在缺陷，则贝克曼库尔特会在产品交付 90 天内免费更换上述媒介。这是对您违反本软件保修条款的唯一补救措施。

除上文特别提及外，贝克曼库尔特不对本软件或其相关文件作任何明示或暗示的保证或陈述，包括质量、性能、适销性或针对特定用途的适应性。

针对间接损坏不付任何责任

在任何情况下，对于因使用或无法使用贝克曼库尔特产品软件而造成的任何损坏（包括但不限于，利润损失、运营中断、信息损失或其他财产损失），贝克曼库尔特或其供应商均不付任何责任。有些州不允许这些排除或限制上述间接损害，则这些限制可能不适用于这些州。

通则

本协议构成了您和贝克曼库尔特之间的整体协议，取代与本产品软件相关的任何事前协议。

未经本协议授权贝克曼库尔特公司代表签署生效之日后的书面同意，不可更改之。贝克曼库尔特不受任何采购订单、收据、验收、确认，以及其他信函条款的约束，否则，除非经过贝克曼库尔特的特别书面同意。本方案受加利福尼亚州法律的管辖。

软件版权所有 © 2010 Beckman Coulter, Inc. 保留一切权利。

本软件使用 Loki Library (<http://loki-lib.sourceforge.net>) 的部分内容，条款如下：

- Andrei Alexandrescu 版权所有 © 2001
- 免费授权允许使用、复制、修改、分发和出售本软件用于任何用途，前提是所有拷贝件上均显示上述版权公告，且配套文件中显示版权公告和本许可声明。

本软件部分基于 Qwt 项目的工作 (<http://qwt.sf.net>)。

本软件还使用包括以下版权的 Python 编程语言 (<http://www.python.org>)：

- Copyright © 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009 Python 97 软件基础；保留一切权利。

本软件使用部分 win32 Python Extensions (<http://sourceforge.net/projects/pywin32>)，条款如下：

- 除非特定源文件规定，否则本项工作版权归 Mark Hammond 所有 © 1994-2008。保留一切权利。源程序形式和二元形式的重新分配和使用，经过或未经任何修改，均予以满足，前提是满足以下条件：
- 重新分配源代码时，必须保留上述版权公告、本条款清单和以下免责声明。
- 二元形式重新分配必须复制文档和 / 或分销商提供的其他材料中的上述版权公告、本条款清单和以下免责声明。
- 未经特定事前书面许可，不得使用 Mark Hammond 或贡献者的名称来推销本软件衍生出的其他产品。
- 本软件由版权所有者和贡献者提供，且不予改变，任何明示或默示保证，包括但不限于，适销性默示保证和针对特定用途的适应性排除在外。在任何情况下，对于因本软件使用而造成的任何直接、间接、偶然、示范性或结果性损害不负任何责任（包括但不限于，采购替代品或服务；使用、数据或利润损失；或营运终端）所引起的实际和理论责任，不管合同是否规定，严格赔偿责任或侵权行为（包括疏忽及其他），管理层或贡献者均不付任何责任。

本协议亦使用部分 Paramiko Python 模块 (<http://www.lag.net/paramiko>), 在 LGPL 下发布许可, 拷贝件与本软件一同提供, 可从 <http://www.gnu.org/licenses/lgpl.html> 上获取

- 版权所有 © 2003-2008 Robey Pointer <robeypointer@gmail.com>

本软件亦使用了部分 wxPython Python 模块 (<http://wxpython.org/>), 在 wxWidgets 库基础上创建 (<http://wxwidgets.org>), 其均在 LGPL 下发布许可, 二进制分配系特殊例外情况。本软件将与其许可证, 以及 LGPL 和 GPL 拷贝件一同提供, 亦可分别通过 <http://www.gnu.org/licenses/lgpl.html> 和 <http://www.gnu.org/licenses/gpl.html> 获取。

- Total Control Software 版权所有 © 1998
- 版权所有 © 1992-2006 Julian Smart、Robert Roebling、Vadim Zeitlin 以及其他部分 wxWidgets 团队成员 Portions © 1996 Artificial Intelligence Applications Institute

本软件包含以下版权下的部分：

- 版权所有 © 2009 National Instruments Corporation. 保留一切权利。

相关文档

可从 www.beckmancoulter.com 网站上获取文档资料。

使用手册

PN B22986

- 安装
- 系统概述
- 触摸屏控制面板概述
- Summit 软件
- 软件菜单
- 开启和关闭程序
- 仪器校准
- 质量控制
- 分选和 IntelliSort
- 清洁和维护
- 故障排除和更换程序
- 可用的清洁剂和消毒剂
- 耗材
- 补偿背景信息
- CytoCalc 表
- 符号
- 生物安全柜配件

* 本产品仅用于科研，不用于临床诊断。