BD FACSymphony A1 简易操作手册



-、仪器板面介绍



- LOW/MED/HIGH 分别代表低、中、高速上样
- RUN 即开始上样,实验过程可一直保持 RUN 的状态
- STANDBY 待机,停止上样,可放置装有 1ml ddH2O 的流式管于上样针处
- PRIME 对进行针排气泡,做此操作时上样针处放置空流式管或者 1ml ddH₂O
- SAMPLE ADJ 于对应的 LOW/MED/HIGH 中连续调节上样速度
- 液晶板中显示废液桶的液体含量,鞘液压力,FINE ADJUST 显示当前 SAMPLE ADJ 处于的档位
- SETPOINT1/2/3 可设置三个常用 SAMPLE ADJ 档位用于快速切换
- SYSTEM STATUS 显示仪器液流系统状态,正常显示绿色,鞘液不足或者废液快满显 示橙色,鞘液空了或者废液已满显示红色
- ACTIVITY 开机后稳定蓝色闪烁,上样时跟随检测到的样本蓝色波动闪烁
- MODE 中可关闭仪器报警声音

二、开机

1. 打开稳压电源, 打开电脑。

2. 开启仪器, 稍等一分钟左右。

3. 双击 Diva 软件。

4. 检测鞘液桶内鞘液的容量,保证鞘液在 1/2 以上,如果不够,请向鞘液桶内添加鞘液,

不要起过鞘液桶的指示线。然后检测鞘液过滤器是否有气泡,如果有需要做排包泡操作。

5. 检测废液桶,确认1)清空废液桶,2)管路畅通,无扭曲。

6. 换一管新的 ddH₂O, HIGH RUN 1min, 然后仪器选择 STANDBY。

7. 准备运行 CST 程序。

三、CS&T 质控

1. Cytometer 下拉菜单中选择 CST

2. 如果选中的 Configuration 是第一次做质控,或者使用的是新的 Lot No.的 CST 微球, 或者该批号使用了 6 个月以上,运行 Define Baseline。

1) Tools > Beads Lots > Import >选择从 BD 官网上下载的解压缩后的文件 (文件名 与微球 Lot ID 一致)



2) Lot ID 处选择该批号

Lot ID:	6834	1	~
Product		CST Setup Beads	
Part #:		683391	
Expiration	Date:	10-10-2007	

3) 500ul PBS+3d 混匀的 CST 微球, Characterize 选择 Define Baseline, 仪器面板处

选择 LOW RUN,软件点击 Run,开始运行



4) 中间会有两步需要点击 Continue

5) 第二次点击 Continue 后自动结束运行,点击 View Report 查看报告。

3. 日常质控在 Characterize 处选择 Performance Tracking, 500ul PBS+1d 混匀的 CST

微球, Lot ID 处选择匹配的批号, 仪器面板选择 RUN, LOW, 软件点击 Run, 开始运行,

自动结束运行后点击 View Report 查看报告。

4. 关闭 CST 窗口,回到 DIVA 界面,出现 CST mismatch 窗口,点击 Use CST Settings

<u>_</u>	The settings Which setting Don't show Remembe	from CST are different fro ps would you like to apply w this message again for r my decision.	om those currently in BD FACSDiva. ? current login session.

四、采集数据

1. 新建一个 New folder (一般在 Administrator 下), 在 New folder 新建 New

Experiment.





2. 再点击 New Specimen, 点开 Specimen 前面的+号, 会出现一个 Tube, 单击 Tube

前面的箭头, 变绿色, 激活该实验。

3. 在 Inspector 或者 Cytometer 窗口里的 Parameters 中选择不需要的接收通道,点击

Delete 去掉。

Parameters Threshol	d Ratio Com	pensat	ion		
Parameter	Voltage	Log	А	н	w
 FSC 	702		\checkmark		
 SSC 	280		\checkmark		
• BV421	401	V			
• BV510	439	V			
• BV605	658	V			
• BV650	515	V			
e BV711	456	V	V		
• BV786	530	V			
• BB515	483	V			
 PerCP-Cy5-5 	664	V	V		
e PE	491	V	V		
 PE-Texas Red 	481	V	V		
 PE-Cy5 	493	V	V		
 PE-Cy7 	473	V	V		
					-
Add		[elete		

4. 手动补偿方式:

1) 在 Global Worksheet 中画散点图: FSC+SSC, 以及各荧光通道两两组合的散点图

2) 上阴性样本,点击 Acquire data,调节 Cytometer 窗口 Parameters 对应的

PSC/SSC 的 Voltage 电压,使用 FSC+SSC 图中的细胞群完整独立地展示出来。

Active Tube/Well	Threshold Rate	Stopping Gate Events 0 evt	Elapsed Time 00:00:00
Basic Controls			

3) Global Worksheet 中用画门工具圈中 FSC+SSC 图中目的细胞,然后在后续荧光通道 散点图上点击鼠标右键, show populations 中选择该门,使其只展示门中的目的细胞, 然后继续调节 cytometer 窗口中 parameters 中对应荧光通道的 Voltage 电压,使得阴性 细胞群大致在坐标轴的 10³ 左右。

4) 所有荧光通道的电压调好后点击 Rrecord 记录数据。

5) 点击 Next Tube,上单阳管样本,点击 Acquire data 后,调节 Cytometer 窗口的 Compensation 中的补偿值,根据上谁减谁的原则调节对应的补偿值,例如单阳管为 FITC 单染,调节 PE 对其的补偿,则调节表格中 PE-FITC 行最后的数值,直至图形阴性群和单 阳群横平或者坚直,调节好后点击 Record 记录数据。

6) 点击 Next Tube,依次上其余单阳管,根据第5步方法调节各补偿值,直至所有的单 阳管调完。

7) 点击 Next Tube, 上实验样本管。

5. 也可设置自动补偿

 点击 Experiment > Compensation Setup > Creat Compensation Controls,会根 据之前选择的通道自动产生 Compensation Controls 和图,按照 Compensations Controls 的顺序,上阴性样本和单阳管,上阴性对照时调节好电压和 P1 门的位置,在 P1 门上右点击 Apply to All Compensations Controls,使 P1 门应用到当前 Experiment 下 所有的 Compensation Controls 中。

2) 上完所有的单阳管后,点击 Experiment > Compensation Setup > Calculate
 Compensation,自动生成补偿。

补偿生成后,弹出一个窗口,出现三个选项: Link & Save, Apply Only, Cancel,选择 Link & Save,把当前补偿数据应用后当前 Experiment 的所有数据中并生成一个文件,后期可以直接调出该文件应用其中的补偿数据,Apply Only 只应用不保存当前补偿文件, cancel 取消,选择 Link & Save 或 Apply Only 使补偿生效。

4) 在当前 Experiment 中新建一个 Specimen,点开下面的 tube,将 Normal
Worksheet 切换回 Global Worksheet,开始上样,点击 Next Tube 直接上后续样本。
6. 画门分析后,任意一张图中点击右键 show population Hierarchy,或展示门的层级逻辑关系以及更改门的颜色和名字,展示门内的细胞数和比例等。

7. 任意一张图中点击右键 Create Statistics View 显示统计表格,表格可再右键编辑表头和增减其它统计选项并导出. Csv 格式和 Excel 表格。

8. Experiment 或 Specimen 或 Tube 上可键可 export 对应 FCS 原始文件,实验原始文件
 件 Experiment,实验模板 Experiment template。

9. Experiment 或 Speciment 上右键点击 batch analysis 可批量导出 PDF 和 Excel 表格。

五、关机

1. 用 2ml BD FACSClean 液作为样品,将样品支撑架置于旁位,液面降一半以后将样品 支撑架置于中位,以 HIGH RUN 运行 3min 左右。

2. 将样品换成 4ml 蒸馏水作样品,将样品支撑架置于旁位,清洗外管约 1min。

3. 将样本支撑架置于中位,以 HIGH RUN 运行 10min 左右。

4. 放置盛有 1ml (不得多于 1ml) 蒸馏水的试管于样品支撑架上。

5. 备份有用的数据到外置存储器上,便于保存。

- 6. 退出所有应用软件,关闭电脑。
- 7. 关掉仪器主机。
- 8. 仔细检查鞘液桶四周和样本架上是否有水残留,如果有,请用干布把水擦干。

六、月维护

取下鞘液过滤器,使用去离子水清洗鞘液桶,将 FACSClean 洗液以 2L 装入鞘液桶,
 倒空废液桶,样本支撑架上入蒸馏水管,做两遍 Prime。

2. 将盛有 FACSClean 洗液 3ml 的流式管置于样品支撑架上, 以 HIGH RUN 运行

30min, 仪器置于 STANDBY 待机, 卸掉鞘液桶压力。

3. 将鞘液桶和流式管换成 FACSRinse 洗液, 重复步骤 2。

4. 将鞘液桶和流式管换成蒸馏水, 重复步骤 2, 运行时间 30min。

- 5. 将鞘液桶装满鞘液,恢复鞘液过滤器,样品支撑架上放蒸馏水管,做2次 Prime。
- 6. 放置盛有 1ml 蒸馏水的试管于样本支撑架上,以 HIGH RUN 运行 5min。