# BD FACSymphony A1 简易操作手册



## 一、仪器板面介绍



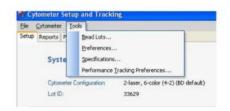
- LOW/MED/HIGH 分别代表低、中、高速上样
- RUN 即开始上样,实验过程可一直保持 RUN 的状态
- STANDBY 待机,停止上样,可放置装有 1ml ddH2O 的流式管于上样针处
- PRIME 对进行针排气泡,做此操作时上样针处放置空流式管或者 1ml ddH2O
- SAMPLE ADJ 于对应的 LOW/MED/HIGH 中连续调节上样速度
- 液晶板中显示废液桶的液体含量,鞘液压力,FINE ADJUST 显示当前 SAMPLE ADJ 处于的档位
- SETPOINT1/2/3 可设置三个常用 SAMPLE ADJ 档位用于快速切换
- SYSTEM STATUS 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

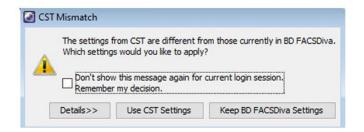


3) 500ul PBS+3d 混匀的 CST 微球, Characterize 选择 Define Baseline, 仪器面板处

#### 选择 LOW RUN, 软件点击 Run, 开始运行

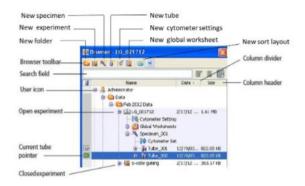


- 4) 中间会有两步需要点击 Continue
- 5) 第二次点击 Continue 后自动结束运行,点击 View Report 查看报告。
- 3. 日常质控在 Characterize 处选择 Performance Tracking, 500ul PBS+1d 混匀的 CST 微球,Lot ID 处选择匹配的批号,仪器面板选择 RUN, LOW, 软件点击 Run, 开始运行,自动结束运行后点击 View Report 查看报告。
- 4. 关闭 CST 窗口,回到 DIVA 界面,出现 CST mismatch 窗口,点击 Use CST Settings



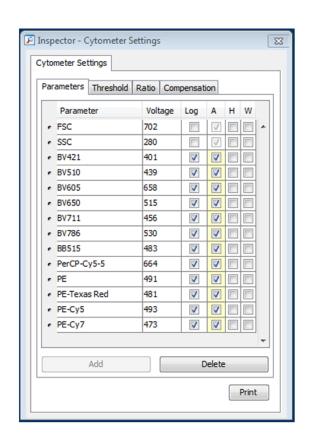
## 四、采集数据

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。



## 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。



- 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
- 1) 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。

- 3)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 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

- 1. 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。