BD 分选流式基本操作流程

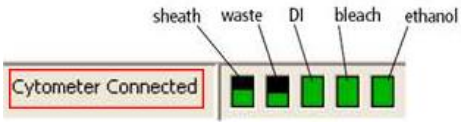
一，打开空压机，打开电脑后面的黑盒子（视频采集盒）；

二，打开电脑（用户名：BDADMIN 密码：BDIS#2$$），打开软件 Tera term，选择 serials；

三，打开仪器主机电源，Tera term 窗口会显示联机情况；

四，Tera term 中图案字符显示完后，打开仪器软件 FACSDiva，等待联机；

五，在 Cytometer 窗口中查看液体水平，若有必要，添加鞘液，清空废液桶，往废液桶中添加 200ml 的 84 消毒液（约半瓶）；



六，在主菜单栏点击 Cytometer/ Fluid startup 启动液流（每天必做的，排气泡稳定液流），同时超声要用的喷嘴 **20 秒**；

七，擦拭液流断点视野，分选仓以及电极板，将喷嘴插入流动室；

八，（换喷嘴）确认仪器设置与所用的喷嘴对应，如果不一致，在主菜单栏点击 cytometer->view comfigurations, 选择喷嘴对应的 configuration， 点击 set configuration， 然后点击 OK。关掉当前窗口，在弹出窗口选择“use CST setting”；

九，点击断点窗口上的 Stream 打开液流，确认电极板没有液滴，否则关闭液流，重新超声喷嘴。打开一个实验模板，打开一个 tube，上 84 稀释液以及水，分别高速冲洗十分钟（flow rate=11）；

十，调节液流：在断点窗口，通常保持 Freq 不动，上下调节 Ampl 值，让实时显示的 drop1 与 gap 值与目标值一致（drop1 值在 150~200 之间）。调好之后，将 drop1 的实际值填入目标值中。

十一， 确认液流调节结果：打开电压，以及 test sort 按钮，确认分选侧液流是否干净（有必要时可以打开 waste drawer，以免溅起来的液滴产生干扰。如果换了喷嘴，扭动分选仓门边的长柄旋钮，让主液流与分液流都达到最亮）。然后关闭电压与 test sort 按钮，**打开 sweet spot 锁定液流**；

十二， Dropdelay 确认（左一路分选荧光微球）：打开激光，打开 shutter（盖上盖子），打开 accudrop 实验模板，打开 tube 下的 sort layout，确认分选模式选用 fine tune。将 flow rate 调成 1，上 accudrop 微球，调节 flow rate 将 eps 调到合适的范围

70 微米 = 1000 到 3000　　85 微米 = 800 到 2000

点击 sort->cancel，手动打开**电压**以及 optic filter，将左一路分液滑块（第二个滑块）拉到 30 附近。确认左边的方框值最大，右边的方框值最小；（如果有出入，可以上下微调 drop delay 值，每一次调节需要时间确认调整效果）确认完 unload 小球管；

十三， 侧液流偏转调节：装上要用的接收管，打开**电压**，打开 test sort 按钮，打开 waste drawer，调各路下面的滑块，改变加电量，观察分液是否准确地进入接收管。必要时可以打开分选仓门直接观察，**注意不要触碰加电的电极板。**确认完关闭 waste drawer，test sort 按钮以及**电压**；

十四， 分析样本，打开 hierarchical 表格，确认门之间的逻辑关系。打开 sort layout，注意分选模式的选择，设置好分选门，按要求安装好接收管， 点击 sort➔OK 开始分选。

十五， 分选结束，关激光器，上 84 以及水高速冲洗管道各十分钟。**清洁消毒实验台面。**

十六， 关闭液流，取下喷嘴，装上闭合喷嘴。超声喷嘴 **20 秒**，放回装喷嘴的盒子。

十七， 关闭软件，关闭电脑，关闭仪器主机电源，关闭空压机以及视频采集盒。

十八， 执行 shut down 程序：在第十六之后，将气路管道（透明的管子）以及与过滤器相连的液路管道（蓝色的管子）连接到酒精桶，在主菜单栏点击 Cytometer/ Fluid shutdown 启动关机程序。在程序最后，上 clean 液的时候，用水代替。

注：sort/OK（收集样品），软件自动打开电压以及抽屉，开始分选

Sort/cancel(不收集样品)，电压需要手动加上：手动调 drop delay

Test sort 用来打开侧液流，常用来调节侧液流偏转角度，以及查看液流分液情况

4-way purity 模式多用于多于两管的分选，保证分选的侧液流集中，由于一次只分选一个液体，因此得到的样品体积是 purity 的一半

仪器常见问题：

1， 液流启动失败：鞘液桶压力不稳定，查看鞘液桶盖子是否改好，气管密封圈是否漏气。

2， 喷嘴不干净：液流开启后观察液滴的形态以及卫星滴，液滴应该呈圆形，卫星滴应该在两三滴之内融合。如果卫星滴太多，或者液滴形状奇怪，或者改变 Ampl，液滴断点位置变化不大，关闭液流，重新超声喷嘴并吸干喷嘴以及放置喷嘴处液体。

3， 进样通道堵塞：断点视窗液流正常，但是 eps 异常高；或者断点视窗正常，但是分液视窗一条线；或者断点视窗液流偏转，液流打到废液槽边缘。首先关闭液流，超声喷嘴，同时清洁分选舱。重新装上喷嘴后，打开液流，反冲进样管道：cytometer➔clean mode➔sampleline back flush.

4， 当 amplitude 太大异常，可能是流动室有气泡，可尝试将液流关闭再打开。

综上所述，大部分的问题可以用“关闭液流，超声喷嘴，清洁分选仓，打开液流，然后反冲进样管道”来解决。喷嘴堵塞的话，超声喷嘴时间可以适当延长，30 秒到 1 分钟。