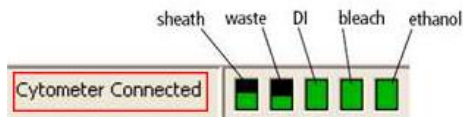


## BD 分选流式基本操作流程

- 一，打开电脑（密码：BDIS#1），打开软件 Tera term；
- 二，打开仪器主机电源，Tera term 窗口会显示联机情况；
- 三，Tera term 中图案字符显示完后，打开仪器软件 FACSDiva，等待联机；
- 四，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）；



- 五，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 **10 秒**；
- 六，擦拭液流断点视野，分选仓以及电极板，将喷嘴插入流动室；
- 七，（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 configurations, 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”；
- 八，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）；
- 九，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，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**；
- 十一， Drop delay 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。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 1 的分液滑块(第二个滑块)拉到 35 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；
- 十二， 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**；
- 十三， 上样品分析样品，用阴性及单染样本调样本电压及补偿；
- 十四， 上样本管圈门，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， sort→OK 开始分选。
- 十五， 分选结束，关闭激光器，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 **10 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。

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


#### 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，清洁分选舱，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。

## 孔板分选设置

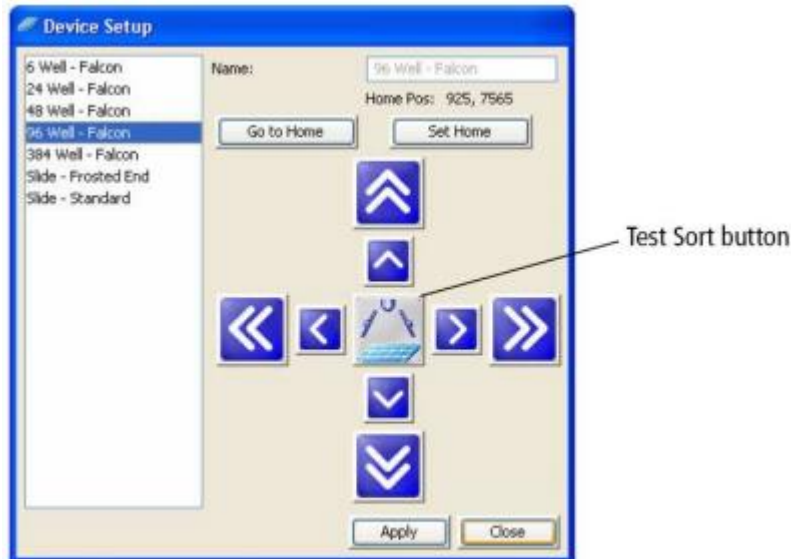


1, 在分选仓下方插入液体溅射防护罩  替代管式分选接收架。

2, 在分选设置窗口, 点击 **Access Stage** 按钮  将 ACUDU 台移动到前方, 在台上安装需要的采集装置, 如下图所示



3, **home 位置校准**: 将左二分液滑块滑到 38 附近。选择 **Sort**→**Home Device**, 在装置设定框中 (下图), 选择对应的装置, 点击 **Go to Home**。打开电压, 双击中间的分选测试按钮。根据需要, 点击相应的箭头调整托盘位置, 然后点击 **Set Home** 保存 home 位置。



**Test sort button**: 分选测试按钮

4, 在分选设置窗口, 选择相应的装置, 分选模式, 然后在对应的孔设定相应的圈门以及目标数量。

5, 换上最后的接收装置, 然后就可以开始分选了。

补充：由于分选测试按钮打出来的液滴有可能太多导致位置有偏差，可以用分选来做 home 位置校准。第 3 步之后，在分选设置窗口，选择相应的装置，分选模式，所有孔设定第一个门如 P1，目标数量选 40，如果上的样品是水，可以加大 FSC 电压（如 580），让信号变多。将 P1 门移到信号位置，然后开始分选。分选结束后观察液滴位置，如果需要调整托盘位置，先点击 Go to Home，让台子回到 home 位置，再点击箭头调整，最后点击 Set Home 保存 home 位置。