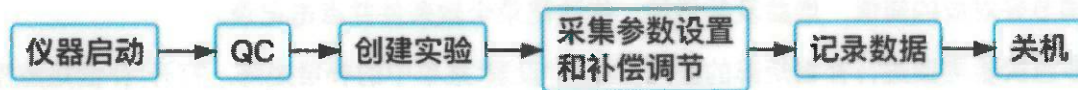


CytoFLEX/DxFLEX 基本操作流程

工作流程：



仪器启动：

1. 检查鞘液和废液容器。验证并确认鞘液容器中有足够的鞘液且废液容器已排空。
2. 打开细胞分析仪背面的电源总开关，等待细胞分析仪完成启动，再打开电脑。
3. 登入 Windows 操作系统并选择 CytExpert 桌面图标 ，以打开软件。
4. 检查屏幕下方的仪器状态栏，无异常提示即可点击采集栏中的初始化按钮，初始化仪器。
5. 在菜单栏中点击**细胞仪**，在下拉菜单中选择**开机流程**，按提示完成开机操作：将装有约 2ml 去离子水放置于上样器中，点击开始。

QC 质控流程

1. 取质控微球，摇匀后滴一滴微球至装有 500 μ l PBS 的样品试管中，混匀，上样。
2. 点击菜单栏中的启动**质控**，进入质控流程。
3. 在批号栏中选择与质控微球对应的靶值文件，点击开始，等待仪器自动完成质控。
4. 质控后的清洗：建立一个名为 cleanse 的方案保存在桌面，方案包含 FSC/SSC 散点图和 FITC 直方图，依次高速跑蓝色 clean 液体 2 分钟，和三蒸水 2 分钟，直到直方图 10 的 5 次方信号强度左右无信号峰为止，若有峰，继续重复清洗过程。

创建实验及参数设置

1. 在“开始”页面，选择新建实验或从模板新建实验以开始新实验，或选择打开实验以继续现有实验。选择实验方案保存路径及保存的方案名称。（或者从文件菜单中选择新建实验）

2. 如果之前已经建有相应的实验方案，在导航窗口中点击**打开实验**，然后打开之前建好的“xit”格式的实验文件，接着在**试管**栏中添加新的实验管，上样即可。
3. 打开新的实验方案后，点击菜单栏中的**设置**菜单，在下拉选项中选择**设置通道**，选择荧光染料对应的通道，点击确定。然后画实验所需的流式图。
4. 上样并调节好对应的阈值，增益及补偿值，修改记录个数条件并点击记录。
5. 如果是多色实验需要进行补偿矩阵的应用，选择“设置”菜单中的补偿矩阵，打开“补偿矩阵”窗口并导入补偿矩阵文件。

自动荧光补偿

1. 制备所有必需的未染色和单色的微球或者细胞。
2. 在文件菜单中选择新建补偿实验，在弹出补偿设置窗口中选择相应的试管，然后选择确定。
CytExpert 自动在“试管”面板新建一系列配套空试管以及所有所需的图表以设门区分阳性和阴性细胞群。
3. 装入相应的无染色或单色样品荧光微球或细胞，并在采集面板内选择“运行”。
4. 在 unstained 管中进行增益和阈值的设定。调节散射光门控以及每个直方图门控的增益。调节后点击记录进行数据的记录。
5. 每个必要补偿样品采集好数据后，选择补偿菜单中的补偿计算以生成补偿矩阵。
6. 将补偿矩阵另存到指定的保存路径用于实验补偿的应用或者保存在补偿库中。

记录数据

1. 选择“运行”以启动采集和显示数据。该数据会被保存，但可通过在运行期间更改仪器设置或重复运行来覆盖数据。

注释：运行期间保存的数据在试管旁边有蓝色标签。该蓝色标签表示数据在运行期间保存，但未记录，可以被覆盖。

2. 选择“记录”以显示并保存数据。使用“记录”避免用户之后修改数据。

注释：已记录的数据在试管旁边有个绿色标签。该绿色标签表示数据在运行期间已记录。

3. 当满足其中一个停止条件时，记录停止。

4. 通过利用“试管”工具  或选择  来向当前实验的试管列表添加新试管。除非另行修改，新试管与当前试管的设置相符。

关机流程

1. 备好一管 2ml 有效氯浓度为 0.5 ~ 1% 的次氯酸洗液（或者蓝色清洗液）及一管 2ml 去离子水。
2. 点击菜单栏中的**细胞仪**，在下拉菜单中点击每日清洗。
3. 根据提示，将 2ml 次氯酸清洗液(蓝色清洗液)的样本试管插入样本托架中，选择运行。选择清洗时间(常规检测洗 3-5min，样本粘性比较大的实验比如周期凋亡等适当延长到 6-8min)，然后将 2ml 的去离子水样本试管插入样品托架中，选择运行。(默认清洁时间为 5 分钟)
4. 关闭 CytExpert 软件并关闭细胞分析仪上的主电源，清空废液容器。

注释：我们建议每次做完实验就进行每日清洗，以免仪器长时间不用导致样本在样本管路中沉淀或者黏附。

CytoFLEX/DxFLEX 仪器维护

一、 仪器维护

1. 每次做完实验后应进行每日清洗操作。

2. 每周一次对于样品台进行清洁。用有效氯浓度为 0.5%左右的漂白水擦拭样品台表面，以及半自动进样器底部。

3. 至少每两周执行一次深度清洗，或者仪器超过两周未使用时也建议进行深度清洗。深度清洗用以清洁仪器流动室。

操作流程：

- 将仪器置于待机模式后，在菜单栏中的细胞仪选项下选择深度清洗，按照提示完成深度清洗即可。允许清洁溶液留在流动室中约 30 分钟。如果您需要延长清洁时间，请勿超过 24 小时。在深度清洁循环期间，该装置的电源可关闭。仪器清洗瓶中所用的 Contrad 70 清洗液使用十次。
- 清洁完成后在“细胞仪”菜单中选择排气泡，出现软件消息是否确定开始排气泡？选择“是”。重复排气泡一次。
- 运行“每日清洗”。

4. 鞘液/废液桶清洗

- 每月一次清洗鞘液桶（清空容器内残留的鞘液，加入 50 至 100ml 鞘液并紧闭鞘液容器盖，用力晃动容器以冲洗鞘液容器所有表面。清空鞘液容器并重新填充鞘液。）
- 每周清洗废液桶：倒掉废液，倒入 1L 含 0.5%有效氯含量的洗液，维持 5-10 分钟，倒掉液体，超纯水涮洗一次。

5. 定期添加深度清洁溶液、更换鞘液过滤器、更换蠕动泵软管

- 深度清洗液的使用次数限制是 10 次，使用时间限制是 180 天，通过在深度清洁溶液瓶中

混合 30ml Contrad70 和 30ml 的 DI 水，并轻轻摇晃溶液从而配置成 60ml 深度清洁溶液。

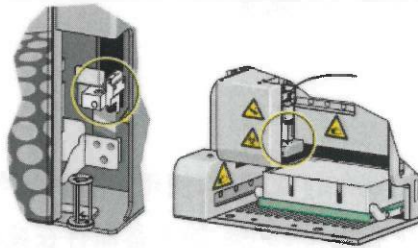
- 建议每六个月更换一次鞘液过滤器，该过滤器的寿命与使用的鞘液质量、仪器使用频率相关，如果发现光线散射模式中存在杂质，请更换鞘液过滤器。
- 建议每六个月更换一次样本蠕动泵软管，因为软管使用时间过长可能会降低样品流稳定性，并增加检测到的 CV。

6. 特定应用下的清洗

周期和凋亡：做完实验，**立刻走清洗流程清洗仪器**；该试验做的多的单位，可增加深度清洗的频率。

7. 仪器擦拭

- 使用 100%异丙醇擦拭样本针清洗模块，并立即擦干，如下图



- 使用 Bleach 擦拭上样台的暴露表面
- 70%乙醇擦拭上样台的暴露表面

8. 仪器使用

- 使用鞘液的机器：每周不做实验的话，需开机走清洗程序一次，尤其是干燥地区
- 长时间不使用仪器：鞘液桶装满超纯水，并上样超纯水高速运行 5-10 分钟
- 开关机：先开流式主机，再开电脑，关机则先关电脑再关流式主机
- 荧光电压的调节：调节电压使阴性群体在 10^3 左右，如果阳性超出靶值，再降低电压让信号群体处在坐标轴范围
- 软件安装：无法安装的话，询问是否有杀毒软件，尤其 360
- EP 管上样：剪管盖

二、 仪器试剂配置

1. 清洗液

蓝色的 CLENZ Cleaning Agent(货号 8546929)

- 或配制：含 5-6%有效氯的次氯酸钠（或者有效氯含量 50g/L）：超纯水=1：9

2. 深度清洗液

Contrad 70 Cleaning Solution（货号 81911）

- 配制方法：Contrad 70 Cleaning Solution：超纯水（非鞘液）=1：1
- 配制体积：每次配制二分之一体积瓶
- 使用频率：一般使用 20 次或者 1 个月后需更换 Contrad 70 洗液；视使用频率每周完成 1-3 次深度清洗；深度清洗后必须在 24h 内排汽泡，清除管路中 Contrad 70 洗液；超过 10 天未使用仪器，需做一次深度清洗

3. 质控微球

- 配制：1 滴质控微球加入 250ul PBS 混匀使用，有剩余可以 4 度避光 5 天内使用。
- 质控后的清洗：建立一个名为 cleanse 的方案保存在桌面，方案包含 FSC/SSC 散点图和 FITC 直方图，依次高速跑蓝色 clean 液体 2 分钟，和三蒸水 2 分钟，直到直方图 10 的 5 次方信号强度左右无信号峰为止，若有峰，继续重复清洗过程。