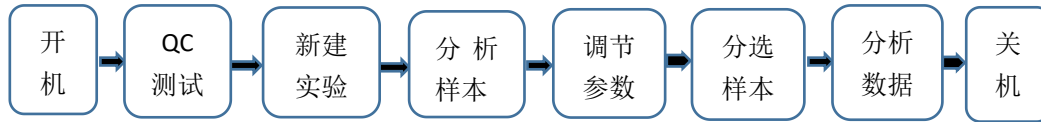


BD Influx 流式细胞分选仪操作规程

一、分选流程



二、开机流程

1. 启动系统

- 打开仪器主压力泵。
- 打开主电源 MAIN POWER 及 FLUIDIC POWER。
- 打开电脑电源，等待约 90 秒至启动完成。
- 打开各个需要使用的激光电源，激光顺序先开 488nm 激光，待激光显示器读数 50%以上，再依次打开其他激光，顺序不分先后，等待至少 30 分钟激光预热时间。
- 双击电脑桌面上的 Software、Sweetspot 和 Sortview 软件图标以启动软件。

2. 管路清洗消毒

- 清空废液桶，鞘液桶中加入清洗液（0.5-1L70%酒精或 10% bleach），短接鞘液过滤器，拧紧鞘液桶上的放压阀，打开仪器 AIR SWITCH 空气压力阀，按 RINSE、BACKFLUSH 清洗直至无液体滴出。按 BACKFLUSH、RINSE 关液流。
- 清空鞘液桶，用蒸馏水清洗鞘液桶，然后加入 1-2L 蒸馏水或去离子水(2 倍以上清洗液体积)，短接鞘液过滤器，拧紧鞘液桶上的放压阀，打开仪器 AIR SWITCH 空气压力阀，按 RINSE、BACKFLUSH，清洗直至无液体滴出。按 BACKFLUSH、RINSE 关液流。

3. 准备液流桶

- 准备鞘液桶：加入 7L 以下的鞘液（不超过桶的上边线），盖上桶盖，连接鞘液过滤器。
- 准备废液桶：断开废液桶管线，清空废液桶，若有生物危害性样本加入 0.7L 消毒液（有效氯 5%），盖好盖子，连接管线，注意确保废液桶和真空泵之间有防水过滤器。

- 加压废液桶：打开废液桶负压真空泵，检查废液压力计，确保压力处于 5-10Hg。
- 设置上样压力：设置压力调节器，调节上样压力，使上样压力至少高于鞘液压力 1Psi。

4. 冲洗液流管路

- 确保喷嘴已经移走，将 flush bucket 放在喷嘴下方。
- 按 RINSE 键，液流打开至少 30 秒，使管路中充满液体，并且 flush bucket 没有水溢出。
- 轻敲过滤器以让气泡跑出，按 RINSE 键关闭液流。
- 按 SAMPLE 键上样 70%乙醇或 10% bleach，运行 30 分钟。
- 按 SAMPLE 键上样除菌过滤的蒸馏水或去离子水，运行 30 分钟。

5. 清洁喷嘴

- 超声喷嘴 5-10 分钟。
- 注射器吸入 0.2 μ m 过滤过的去离子水，反冲喷嘴再正向冲洗。

6. 清洁分选仓

7. 排除样本管路气泡

- 在 debubble reservoir 中加入鞘液或去离子水，放置在 flush bucket 上，确保喷嘴顶端浸没在液面下。
- 按 PURGE 键使液体从喷嘴吸入以排除气泡，确保空气已全部被排除。
- 如果有其他难排除的气泡，按 PULSE 键将其变小，再重复上一步骤。整个过程中需要确保喷嘴顶端浸没在液面下。如果气泡难以排除，可以考虑使用酒精。
- 按 RUN 键启动液流，移开 debubble reservoir，用棉签将喷嘴上的液滴清除。

8. 反冲样本管线

- 按 RUN 启动液流后，移除上样位的样本管，并将上样杠杆至于打开位。
- 按 BACKFLUSH 键，反冲上样管线约 30 秒，再次按 BACKFLUSH 以关闭。

三、操作要点

- 为避免实验间的交叉污染，在单个实验完成后，按 SAMPLE 键上样 70%乙醇或 10% bleach，运行 30 分钟。

- 按 SAMPLE 键上样除菌过滤的蒸馏水或去离子水，运行 30 分钟。

四、关机流程

1. 清洗管路

- 按 SAMPLE 键上样 70%乙醇或 10% bleach，运行 30 分钟。
- 按 SAMPLE 键上样除菌过滤的蒸馏水或去离子水，运行 30 分钟。
- 清空废液桶，鞘液桶中加入 0.5-1L70%酒精或 10% bleach，短接鞘液过滤器，拧紧鞘液桶上的放压阀，打开仪器上 AIR SWITCH 空气压力阀，按 RINSE，按 BACKFLUSH，清洗直至无液体滴出。按 RINSE 关掉液流。
- 清空鞘液桶，用蒸馏水清洗鞘液桶，然后加入 1-2L 蒸馏水或去离子水(2 倍以上清洗液体积)，短接鞘液过滤器，拧紧鞘液桶上的放压阀，打开仪器上 AIR SWITCH 空气压力阀（或接上鞘液桶上的气路），按 RINSE，按 BACKFLUSH，清洗直至无液体滴出。按 RINSE 关掉液流。
- 若近期使用仪器：水封喷嘴；关 AIR SWITCH 空气压力阀。
- 若近期不使用仪器：取下喷嘴；将 flush bucket 放在喷嘴支架下方，打开压力阀降下鞘液桶压力；按 RINSE，然后按 BACKFLUSH，让空气在系统里流动 10-15 分钟以使管路干燥；关 AIR SWITCH 空气压力阀；倒空废液和鞘液桶，并用 DI water 或蒸馏水冲洗干净。

2. 清洁分选仓

- 关偏转板电压，打开后用湿纸巾擦干净偏转板。
- 清洁分选仓、nozzle 附近腔、上样台。

3. 关闭系统

- 关激光器电源。
- 关液流开关和主电源开关等。

五、注意事项

1. 为保持分选环境的稳定，每次进入洁净间的实验人员最好不要超过 2 人，无关人员请不要私自进入实验室。实验结束后有义务通知下一个预约者，以尽量减少仪器开机空置时间。
2. 由于流式分选对环境的无菌要求较高，请实验者在洁净间中的超净台进行细胞过筛。

3. 初次进行流式分选实验的，须至少提前一周预约并提供预实验结果，及时联系管理员商议实验准备问题。不能按期实验的，至少提前 24h 取消，否则需接受处罚。

BD Influx 流式细胞仪基本信息

BD Influx 流式细胞仪配备 5 个激光器（355nm、405nm、488nm、561nm、640nm），最多可进行 19 色分析；可供选择的 4 种孔径大小喷嘴：70 μ m、86 μ m、100 μ m 和 140 μ m；荧光检测灵敏度 PE 或 FITC：<100MESF, CV 值<3%；最大分析速度：200,000 events/s, 最大分选速度：70,000 events/s；可以使用多种规格的收集管进行 2 路、3 路、4 路或 6 路分选，也可在微孔板或载波片上进行定位分选。

BD Influx 流式细胞仪配置参数

Lasers	FL	Channels	Default Fluorochrome Alias
488 Blue Laser	FL1	FSC	-
	FL2	SSC	-
	FL3	530/40	FITC
	FL4	670/30	PerCP
	FL5	710/50	PerCP-Cy5.5
405 Violet Laser	FL6	425/26	BV421
	FL7	520/35	BV510
	FL8	610/20	BV605
	FL9	660/20	BV650
	FL17	710/50	BV711
	FL18	780/60	BV785
640 Red Laser	FL10	670/30	APC
	FL11	720/40	Alexa Fluor700
	FL19	780/60	APC-Cy7
355 Ultraviolet Laser	FL12	460/50	Hoechst Blue
	FL13	670/30	Hoechst Red
561 Yellow Laser	FL14	585/29	PE
	FL15	610/20	PE-TR
	FL16	670/30	PE-Cy5
	FL20	710/50	PE-Cy5.5
	FL21	750LP	PE-Cy7