

## 流程



## 开机

轻按仪器前面板电源键 启动仪器，在配套电脑上打开 NovoExpress™，待仪器初始化完成，软件状态栏将显示“就绪” ，即可进行下一步操作。

## QC 测试

- 1 制备NovoCyte™ 质控微球悬液：在1毫升稀释缓冲液（0.8毫升 PBS 和 0.2 毫升 NovoRinse™ 冲洗液）中加入1到2滴 NovoCyte™ 质控微球。
- 2 点击主菜单“仪器”→“QC测试” ，根据软件提示完成QC测试。
- 3 QC测试所有项目结果均为 Pass 时，可进行下一步操作。

## 新建实验

- 1 点击主菜单“文件”→“新建”→“新建实验”，建立新的实验文件。
- 2 用以下多种方式新建实验样本或标本：
  - ▶ 在“实验管理”面板，右键点击“实验文件名.ncf”，在本实验文件下新建标本。右键点击“标本”，在选中的标本下新建样本。
  - ▶ 如果已有模板文件，点击主菜单“文件”→“新建”→“从模板新建”，将新建有相同模板的标本或样本。
- 3 点击主菜单“文件”→“保存”，保存创建的实验文件。
  - 🔔 如果未保存文件，在采集该实验第一个样本时，软件将自动提示保存。

## 荧光补偿

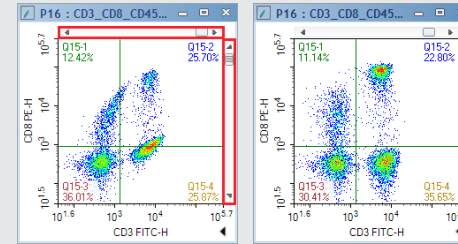
### 1. 自动荧光补偿

- 1 准备各个荧光参数的单染样本和未染色对照样本。
- 2 点击菜单“开始”→“自动补偿”，弹出“新建自动补偿”对话框，进行自动补偿条件设置。
- 3 选择需要使用的样本，并点击“确定”。软件将自动新建“补偿标本”。
- 4 逐管采集单染样本，软件自动计算荧光补偿。
- 5 将自动计算的荧光补偿复制粘贴到（或按住鼠标左键拖拽到）实验样本。

### 2. 手动荧光补偿

两种方式手动调节荧光补偿：

- ▶ 需要补偿的参数两两做密度图，点击快速补偿按钮 ，拖动快速补偿滚动条，使某一荧光单阳性细胞与阴性细胞在另一荧光通道的荧光强度相等。逐个调节直到所有参数之间的补偿完成。



补偿前

补偿后

- ▶ 补偿调节的过程也可以通过点击菜单“开始”→“补偿矩阵”调出当前样本的溢出矩阵，不断调整溢出矩阵中相应单元格的溢出系数来实现。





补偿矩阵	溢出矩阵			
	CD3 FITC	CD8 PE	CD45 PerCP	CD4 APC
CD3 FITC	100	7.5352	0	0
CD8 PE	3.1115	100	11.3499	0
CD45 PerCP	0	0	100	31.6669
CD4 APC	0	0	0.4516	100

## 采集样本





- 1 在“实验管理”面板，双击样本，使之成为当前样本（红色箭头指示 样本1）。
- 2 设置采集条件：
  - ▶ 设置采集样本使用的“参数”，包括选择采集通道并定义别名，选择采集参数“面积”和/或“高度”。
    - 🔔 参数多少会影响最终文件大小。
  - ▶ 设置实验“停止条件”。
  - ▶ 设置实验“样本流速”。
    - 🔔 时间允许建议使用低速，可提高信号分辨率。
  - ▶ 设置“阈值”。FSC-H大于100,000的阈值条件，可满足大部分原代细胞和细胞系的实验需要。细菌和血小板等特别小的细胞则建议将阈值设为FSC-H大于10,000。结合第二阈值条件可以更好地消除细胞碎片对实验的影响。
- 3 将样本管充分混匀，置于样本架。
- 4 点击“采集”按钮 执行样本采集。此时样本针会向下运动至样本管内，吸取一定体积的样本后收回。
  - ⚠ 样本采集过程中，请勿将手伸到样本针下方，请勿遮挡样本针位置。
- 🔔 当前正在采集的样本在“实验管理”面板中以绿色箭头指示（ 样本1）。
- 🔔 采集条件可以通过导入已有同类型实验的“仪器设置”模板的方式实现。

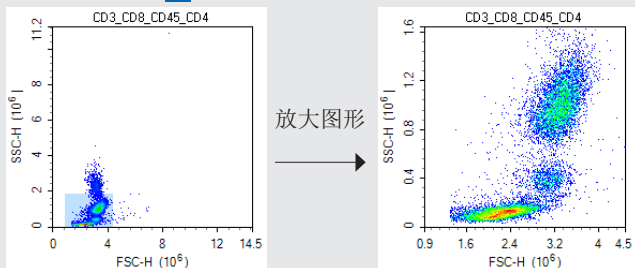
## 分析数据

### 1. 画图

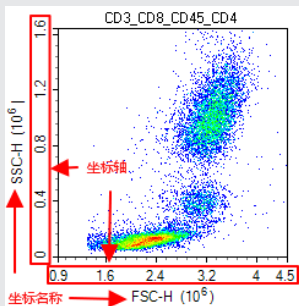
1 选择点击  (散点图)、 (密度图)、 (柱状图) 或  (等高线图) 图标做图。图形显示当前样本的数据。

2 图形的放大和缩小。

- ▶ 点击“放大”，在图形上拖动鼠标，可将图形放大到鼠标拖动的范围。在坐标上拖动鼠标，可仅在该坐标方向放大图形。
- ▶ 点击“缩小”，在图形上点击鼠标，可将图形缩小，多次点击，逐步缩小。在坐标上点击，可仅在该坐标方向缩小图形。
- ▶ 点击“自动范围”，软件根据门限内数据自动计算并设置参数的合适范围。
- ▶ 点击“全范围”，将坐标范围设置为参数的最大有效范围。




3 右键点击坐标名称 (例如: FSC-H)，从下拉菜单选择该图需要显示的参数，该下拉菜单显示“仪器设置”中选择的的所有参数。



4 荧光通道参数别名可以通过点击“仪器设置”面板中的参数“别名”进行修改。也可以左键点击图形坐标名称直接修改。








5 右键点击坐标轴，从下拉菜单选择坐标显示比例 (线性、对数、双指数) 和显示范围 (自动范围、全范围)。也可以在“设置”中自定义显示范围。

6 点击图形右下角的箭头 ( 或 )，可以显示或隐藏统计数据。

 在图形上做的任何修改都只改变数据显示，不会改变数据本身。


 所有图形和统计数据均可以复制、粘贴到 Microsoft Office 文档。

### 2. 设门

1 点击需要设的门类型， 矩形门， 椭圆门， 多边形门， 象限门， 逻辑门， 区域门， 双区域门，在图形上点击拖动，设置门的区域，圈出感兴趣的目标细胞群。

2 双击门的标签可以对门进行重命名。


3 右键点击图形上方的样本名称，从下拉菜单中选择该图需要应用的门。

 通过逻辑门可以灵活设定已有门的各种组合。

### 3. 导出/导入模板

▶ 导出/导入模板：在“实验管理”面板右键点击标本或样本名称，选择“导出”→“做为模板导出”或者“导入”→“导入模板”。

▶ 模板应用：在标本或样本名称上按住鼠标左键，拖动到另一个标本或样本名称，可直接实现模板应用。模板应用也可以通过右键菜单的“复制模板” (样本)、“复制” (标本) 和“粘贴”实现。

 NovoExpress™ 中，样本节点下的“仪器设置”、“荧光补偿”、“报告”和“分析”，可以捆绑在一起作为模板应用到其他样本，也可以单独作为模板应用。标本模板是属于该标本的所有样本模板的总和。在NovoExpress™中，每个样本都有独立的分析，数据和分析保存在一个实验文件 (\*.ncf) 中。

### 4. 导出/导入FCS文件

▶ 导出FCS文件：在“实验管理”面板右键点击实验文件名称、标本或样本，选择“导出FCS文件”。

 导出 FCS 文件时选择 FCS 2.0 格式有助于某些第三方软件更好的选择合适范围显示图形。

 在文件名或标本上点击，可快速将整个文件中或某个标本下所有样本的 FCS 文件导出。

▶ 导入FCS文件：在“实验管理”面板右键点击实验文件名称、标本或样本，选择“导入FCS文件”。


### 5. 自动生成报告

NovoExpress™ 拥有自动生成报告的功能，通过双击“实验管理”面板中标本或样本节点下的“报告”实现。关于该功能的详细描述，请参考《NovoExpress™ 软件说明书》“7 报告”。

### 6. 创建统计表格

NovoExpress™ 拥有统计表格功能，方便批量结果的处理和导出。在“实验管理”面板中，右键点击“统计表格”选择“创建”创建统计表格。关于该功能的详细描述，请参考《NovoExpress™ 软件说明书》“5.6 统计表格”。

### 关机

轻按 NovoCyte™ 流式细胞仪前面板上的电源按钮 ，仪器将自动执行关机清洗流程。关机流程结束后，电源自动切断，指示灯熄灭。

### 系统维护

关于系统维护的详细描述，请参考《NovoCyte™ 流式细胞仪使用说明书》“4 系统维护”。