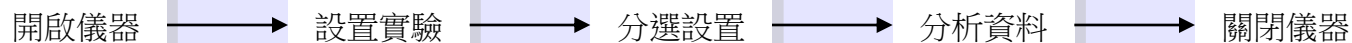



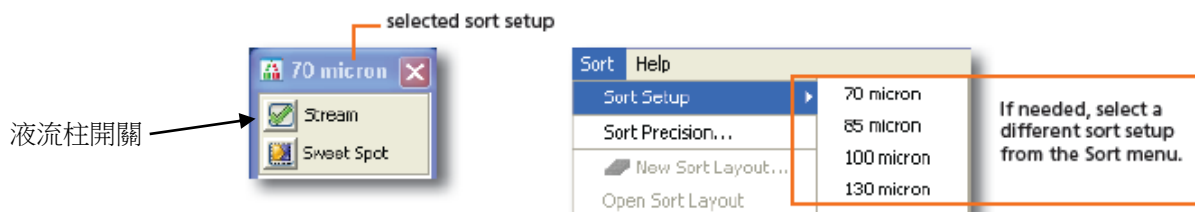
操作流程:





Helping all people
live healthy lives

1. 開啟儀器:

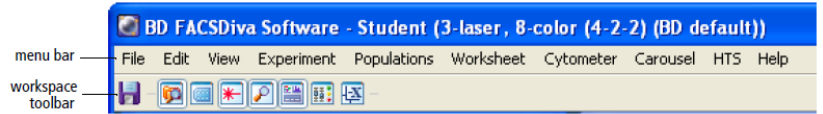
- ① 開啟電腦。輸入密碼 _____ 登入 Windows，並等待電腦開啟完畢。
- ② 開啟儀器主電源與實驗所需雷射。確認桌面右下方網路連線圖示顯示已連線。 
- ③ 開啟 FACSDiva 軟體。選擇使用者名稱並輸入密碼 _____ 登入。
- ④ 檢查液流車上之各液面狀態。如有需要補充鞘液，請參考 ” 補充鞘液桶 ” 說明。
- ⑤ 執行 Cytometer > Fluidic Startup 並依照軟體提示精靈指示完成液流啟動。
- ⑥ 根據放置的 nozzle size 選擇對應之分選設置後，開啟液流柱。



- ⑦ 調整斷點 Breakoff 視窗中之振幅 Ampl.，使液滴斷點形成穩定，並確定液滴間距Gap右側所列之真實數值接近空格中之目標數值。
- ⑧ 啟動Sweet Spot：即點擊  使其變成 。

2. 設置實驗:

- ① 如果需要，點擊面板工具列上之圖示開啟 **Browser**、**Cytometer**、**Inspector**、**Acquisition Dashboard** 及 **Worksheet** 面板。

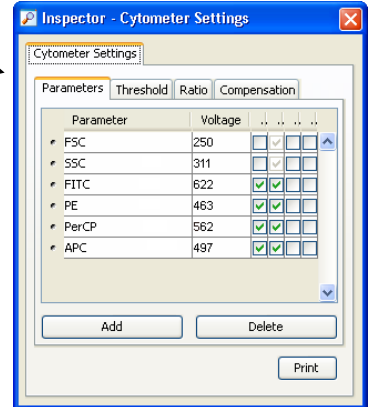
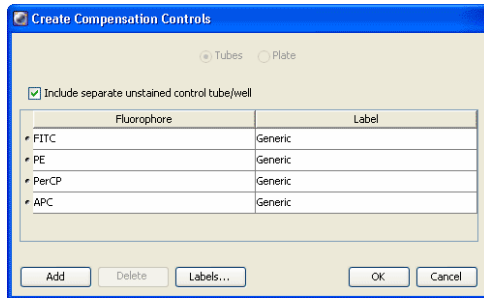



- ② 在 **Browser** 面板中，點擊新增實驗圖示開啟一個新的實驗並命名。



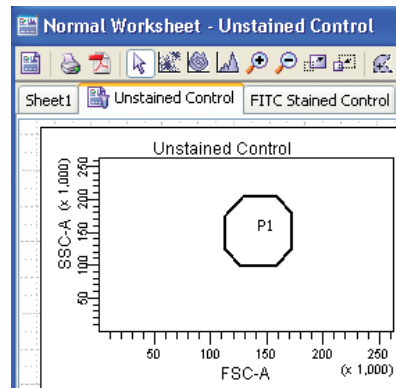
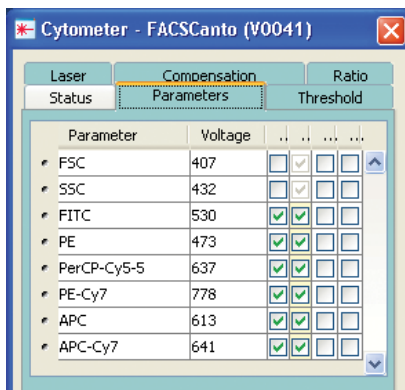
- ③ 點擊實驗名稱下方之 **Cytometer Settings**。在 **Inspector** 面板中，視需要更改參數名稱，將不需要之參數刪除，並將 **FSC-W** 及 **SSC-W** 打勾。

- ④ 點擊 **Experiment > Compensation Setup > Create Compensation Controls**。



- ⑤ 點擊 **unstained control** 管前方之箭頭使其呈現綠色 ，並將 **unstained control** 管放置於 **sample** 上樣處，點擊 **Acquire Data**。

- ⑥ 觀察 **Normal Worksheet** 中細胞群的位置與背景螢光值，適當調整閾值與各參數電壓設定。

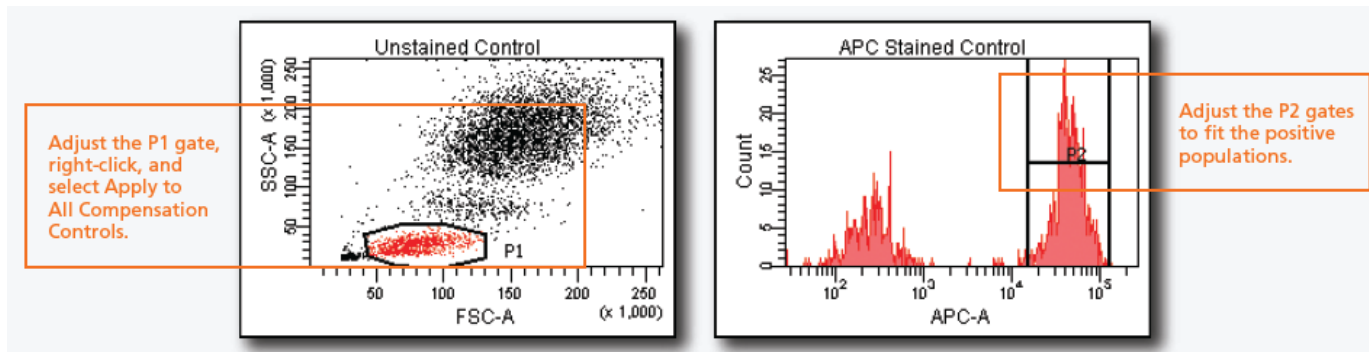


- ⑦ 將 **P1** 移動至細胞群位置並適當改變形狀。按滑鼠右鍵點選 **Apply to all Compensation Controls**。

- ⑧ 點擊 **Record Data** 記錄資料。

- ⑨ 取下 **unstained control** 管，並依序記錄每一管 **compensation controls** 的 **data**。

- ⑩ 確認 **single stained control** 管 **P2** 的位置無誤。如必要，適當移動 **P2** 位置圈選陽性細胞族群。

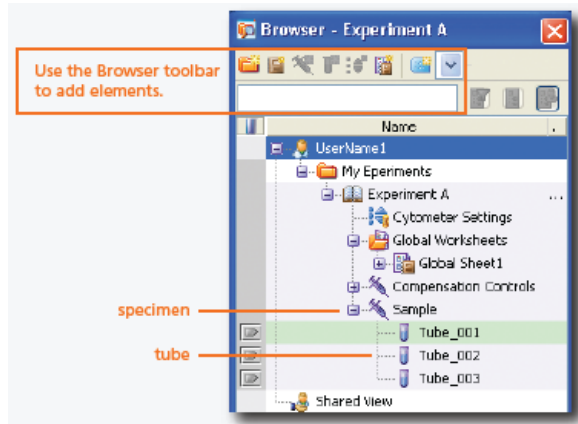


- ① 點擊 **Experiment > Compensation Setup > Calculate Compensation**。

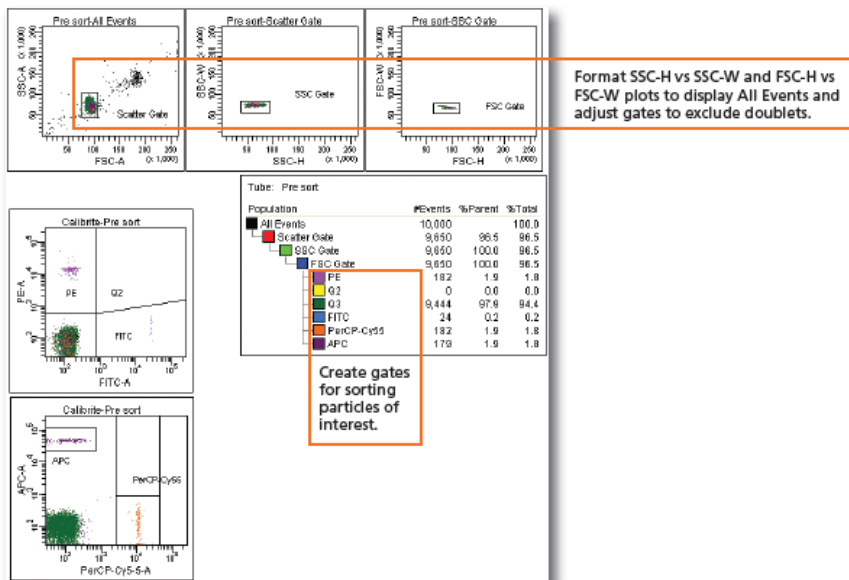
- ② 點選 **Apply Only** 套用 **Compensation** 設定。


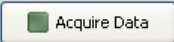

3. 記錄分選前資料:


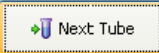
- ① 在實驗(Experiment) 下，建立所需之檢體(Specimen)與樣本管(Tube)。



- ② 點擊Worksheet視窗左上角按鈕切換至Global Worksheet。在Global Worksheet視窗中，建立所需之圖型(Plot)、圈選區域(Gate)與圈選區域關聯表(Population Hierarchy)。



- ③ 放上檢體管，點選對應之 Tube 名稱前方箭頭使其呈現 。點擊 ，等待訊號出現在圖形上並穩定後(約需2-3秒)，點擊  記錄資料。

- ④ 記錄完畢後，取下檢體管並等待SIT 。點擊  切換至下一管，重複步驟④直到所有檢體收集完畢。

4. 分析資料:

- ① 如需要，在Global Worksheet視窗中，增加所需之圖型(Plot)、圈選區域(Gate)與統計表(Statistics)。

The screenshot shows the Global Worksheet interface with a plot titled 'Sample-Tube_001'. The plot displays a scatter of points with a red gate labeled 'Parent' at the bottom left. The statistics table below the plot is as follows:

Tube:	Tube_001
Population	#Events %Parent %Total
All Events	10,000 ### 100.0

Annotations in the image include:

- 'Create new global worksheets.' pointing to the Global Worksheets list in the left pane.
- 'Customize plots using the Plot Inspector.' pointing to the Plot Inspector window at the bottom.
- 'Create custom text and graphics.' pointing to the plot area.

- ② 確認圈選之區域與Population Hierarchy無誤。

The screenshot shows a plot titled 'Sample-Tube_001' with a red gate labeled 'Parent'. The statistics table below the plot is as follows:

Tube:	Tube_001
Population	#Events %Parent %Total
All Events	10,000 ### 100.0
Parent	1,867 18.7 18.7
Child A	128 8.9 1.3
Child B	219 11.7 2.2

Annotations in the image include:

- 'Use the population hierarchy to verify parent/child relationships.' pointing to the statistics table.
- 'Verify that gates are set appropriately for all samples.' pointing to the gate on the plot.

- ③ 選擇下列方式列印或輸出分析資料。
- 點選 **File > Print** 列印分析報告。
 - 點選 **File > Export** 輸出選擇之分析報告、圖形或統計。
 - 在檢體或實驗名稱上按滑鼠右鍵，選擇 **Batch Analysis** 將資料批次輸出。

The screenshot shows the Batch Analysis dialog box with the following settings:

- Output To Printer:
- Save as PDF:
- Add Report to PDF:
- Statistics:
- Freeze Exponential Scales:
- Use Preferred Global Worksheet:

PDF Filename: sheet\Batch_Analysis_05072007133515.pdf
Export Filename: tistics\Batch_Analysis_05072007133515.csv

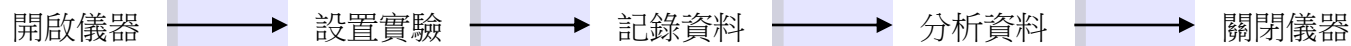
Status: 0%

Buttons: Start, Pause, Continue, Close

Annotations in the image include:

- 'Specify where to save the PDF and exported statistics files.' pointing to the filename fields.
- 'Select to print, save as a PDF, or export the statistics as needed.' pointing to the checkboxes.

操作流程:




BD

Helping all people
live healthy lives

4. 關閉儀器:

[Important Notice]

請於每日關機前徹底執行儀器清洗步驟清洗上樣管，以防止管路堵塞或有染料殘留。如使用較黏稠之染料如 **Propidium Iodide(PI)**，**Acridine Orange(AO)**，或 **Thiazole Orange(TO)**，請於跑完檢體後立即執行儀器清洗步驟。

- 開啟任一實驗並點選任一管前方使其呈現 。
- 取 3 ml FACSRinse (or 1% Triton X-100)，以 “High” 流速，點擊 Acquire 清洗管路 5 分鐘。
- 點擊 Stop Acquiring 並取下樣品管，等待SIT Flush程序完成。
- 取 3ml FACSClean (or 10% Bleach) 上樣品，重覆上述步驟2-3。
- 取 3ml 2dH2O上樣品，重覆上述步驟2-3。
- 點擊 Cytometer > Fluidics Shutdown 執行液流關閉。
- 關閉 FACSDiva 軟體與電腦 File>Quit。
- 關閉細胞儀電源。

清空廢液桶 (Waste Tank):

- ① 將廢液桶之連接線拔起:
 - 按下連接處之金屬彈簧片，將廢液管之接頭拔起。
 - 將液面偵測線之接頭拔起。
- ② 旋開廢液桶之白色塑膠圓蓋，將液面偵測器移開。
- ③ 將廢液倒掉，並在廢液筒中加入 1L 家用漂白水 (廢液筒容量為10L)。
- ④ 放回廢液桶，將白色塑膠圓蓋放回並確實旋緊。將廢液管及廢液偵測線接回原位。

補充鞘液桶:

建議使用鞘液:

1XPBS (請務必使用 0.22µm filter 過濾後，再裝入鞘液桶中。)

- ① 按下連接處之金屬彈簧片，將空氣管之接頭拔起。
- ② 將鞘液桶上方之壓力閥向上拉，確認壓力完全洩除。
- ③ 將上蓋旋開並移開金屬上蓋。
- ④ 補充鞘液至八分滿後，將上蓋放回並確實旋緊。
- ⑤ 將空氣管接回原位。