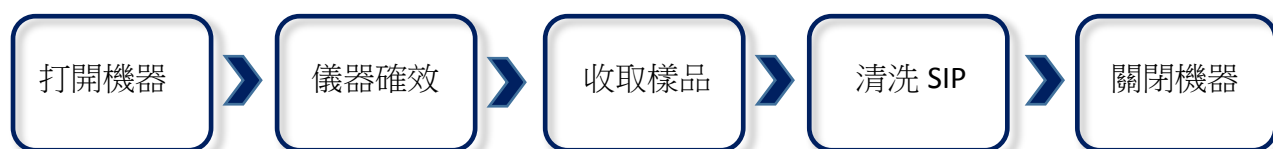


BD Accuri Plus 流式細胞儀 快速使用指南

本指南包含使用 BD Accuri C6 Plus 系統及 BD CSampler™ Plus 自動上樣裝置日常工作流程。

流程概述:

下圖顯示使用 BD Accuri C6 Plus 系統時的工作流程。



啟動系統:

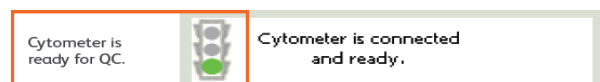
常規的儀器啟動時間大約需要 13 分鐘。

確認液流裝置

- ① 檢查 in-line sheath filter，確認內有液體，沒有乾涸。
- ② 在瓶中裝入對應的液體。添加：
 - 2 L 的含 BD Sheath Additive 的過濾 DI 水至鞘液瓶（藍色）
 - 250 mL 的 BD FACSClean 溶液至 BD FACSClean 瓶（黃色）
 - 250 mL 的 BD Detergent Solution Concentrate 工作液至洗滌液溶液瓶（綠色）
- ③ 檢查廢液瓶以確保容量充足，並添加約 200 mL 的未稀釋漂白劑至瓶中。

手動啟動系統



- ① 在 SIP 上的試管內裝 2 mL 的 DI 水。
- ② 按細胞儀前側的電源按鈕啟動儀器。

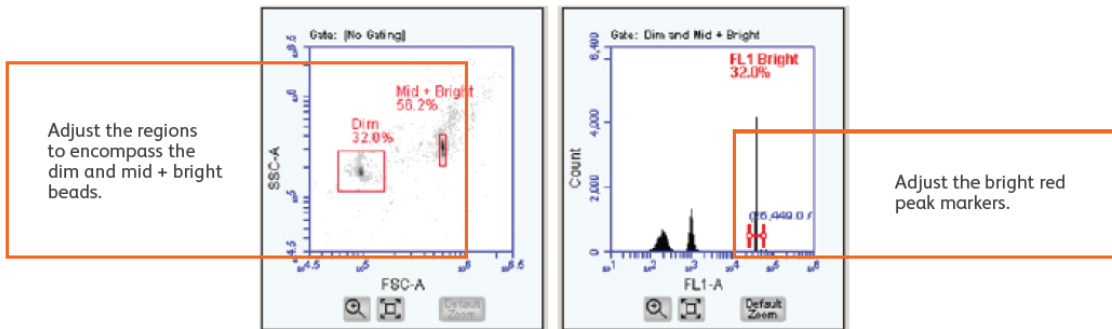


使用 CSampler Plus 時啟動系統

- ① 按細胞儀前側的電源按鈕啟動儀器
- ② 按一下 **Eject Plate** 將下列清潔用試管裝入 CSampler Plus 托盤上的指定位置：
 - 裝有 2 mL BD FACSClean 的試管置於三角形 (△) 位置
 - 裝有 2 mL DI 水的試管置於圓形 (○) 位置
 - 裝有 2 mL DI 水的試管置於方形 (□) 位置

確認儀器效能

- ① 調配 CS&T RUO beads 。
- ② 按一下工作區右上角的  Instrument QC
- ③ 從 [BD CS&T bead lot] 選單中選擇 bead lot 或是匯入新的 bead lot 。
- ④ 將 CS&T RUO beads 的試管裝到儀器上。
- ⑤ 按  RUN



- ⑥ 分析結果。

| Parameter | Bright Bead Median | MFI Range | | % Bright Bead rCV | Instrument Sensitivity | Sensitivity Spec. | Parameter Pass/Fail |
|-----------|--------------------|-----------|--------|-------------------|------------------------|-------------------|---------------------|
| FSC | 588246 | 412275 | 765654 | 1.7% | 198 | 30 | Pass |
| SSC | 312137 | 215590 | 400381 | 11.2% | 73 | 50 | Pass |
| FL1 | 36529 | 24614 | 45711 | 2.2% | 272 | 80 | Pass |
| FL2 | 34382 | 23474 | 43594 | 2.3% | 585 | 200 | Pass |
| FL3 | 71922 | 48908 | 90829 | 3.5% | 72 | 40 | Pass |
| FL4 | 56124 | 42080 | 78149 | 4.9% | 143 | 70 | Pass |

Check whether the parameters have passed, then click Print.

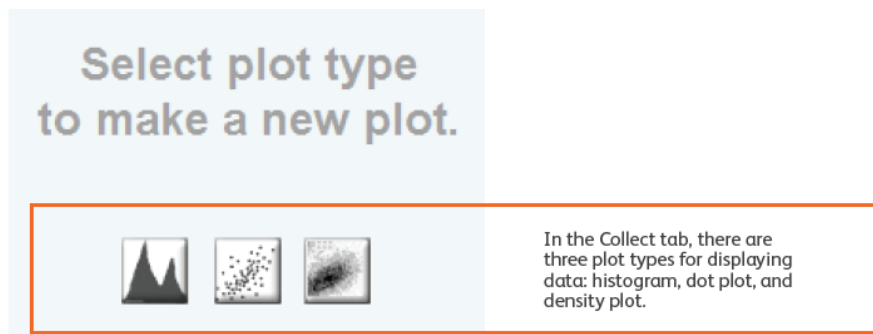
- ⑦ 關閉儀器確效工作頁面。

上樣分析

若想了解更完整的上樣流程，請參照 *BD Accuri C6 Plus System User's Guide*。



設定工作頁面

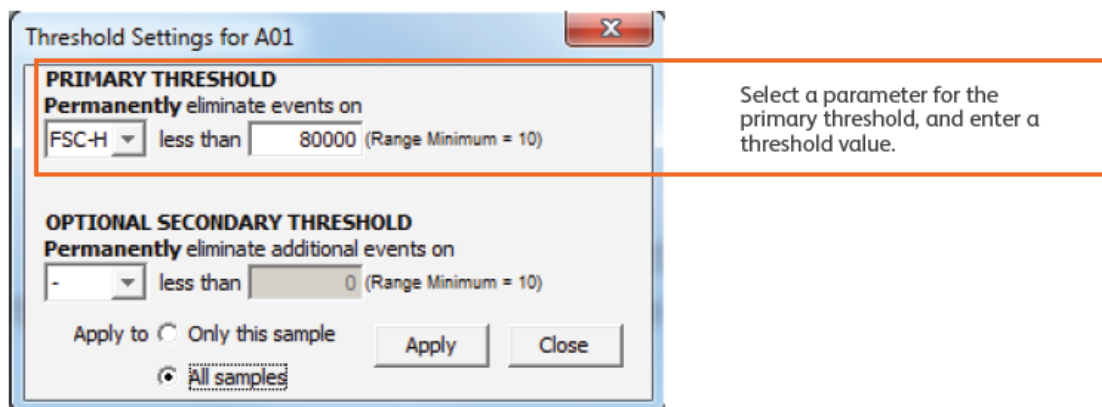
- ① 在 **Collect** 頁面中的樣品名稱欄位打入樣品名稱。
- ② 設定圖表



- ③ 若有需要，更改圖表顯示參數。

設定閾伐值

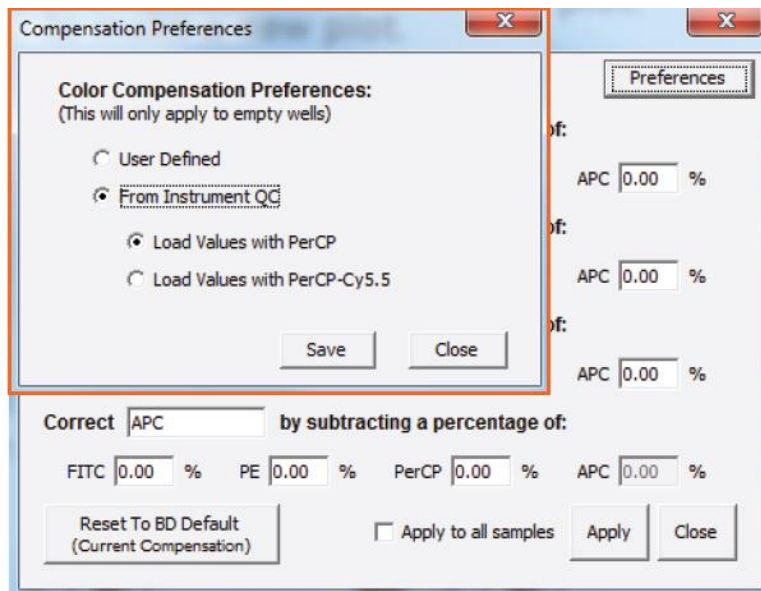
- ① 利用放大  及縮小  功能讓樣品族群在圖上清楚的顯示。
- ② 點選 **Set Threshold**。



- ③ 點選 **Apply**。

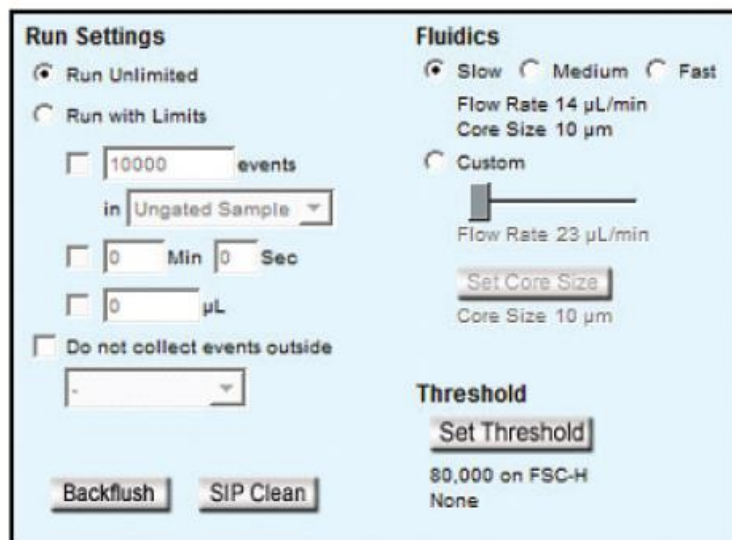
設定螢光補償值

- ① 進行多色染色時，點選 **Set Color Compensation** 用以調整螢光補償值。
- ② 點選 **Reference**，並選擇適當之參考數值，然後點選 **Save**。



設定上樣條件並收取樣品

- ① 在 **Run Setting** 設定下，設定收取樣品的條件，顆數、時間、體積...等等。



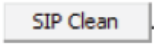
- ② 在 **Fluidic** 設定下，設定上樣流速。

- ③ 放入樣品，點選



手動執行 SIP 清洗

每次工作結束時，都要進行 SIP 清洗。也可在方便時隨時清洗 SIP，避免 SIP 阻塞。

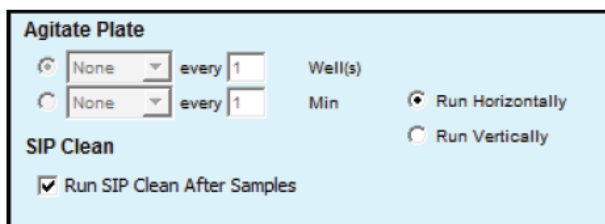
- ① 在 Collect 頁面，點選 。
- ② 會出現對話方塊，提示裝入內含 2 mL BD FACSClean 的試管。
- ③ 裝入含 BD FACSClean 的試管，按下 SIP Clean。
- ④ 步驟 ③ 完成後，會出現對話方塊，提示裝入內含 2 mL 水的試管。
- ⑤ 裝入含水的試管，按一下 SIP Clean。

使用 CSampler Plus 時執行 SIP 清洗

每跑完一個上樣盤，都要進行 SIP 清洗，避免 SIP 阻塞。

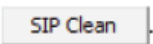
在 Auto Collect 頁面執行 SIP 清洗

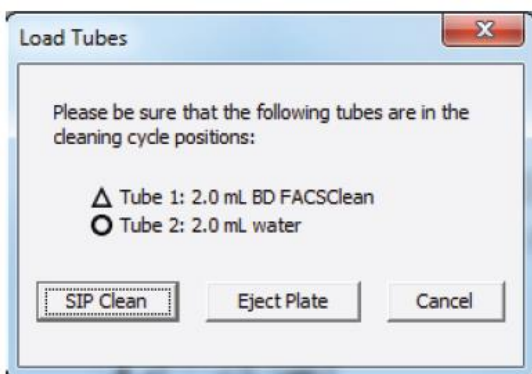
- ① 在收集樣品前，先確認相關清潔試劑管皆位於 CSampler Plus 上的指定位置。
- ② 勾選設定視窗中的 Run SIP Clean After Samples。



- ③ BD CSampler Plus 會在收取完所有的樣品後，自動執行 SIP Clean。

在 Manual Collect 頁面執行 SIP 清洗

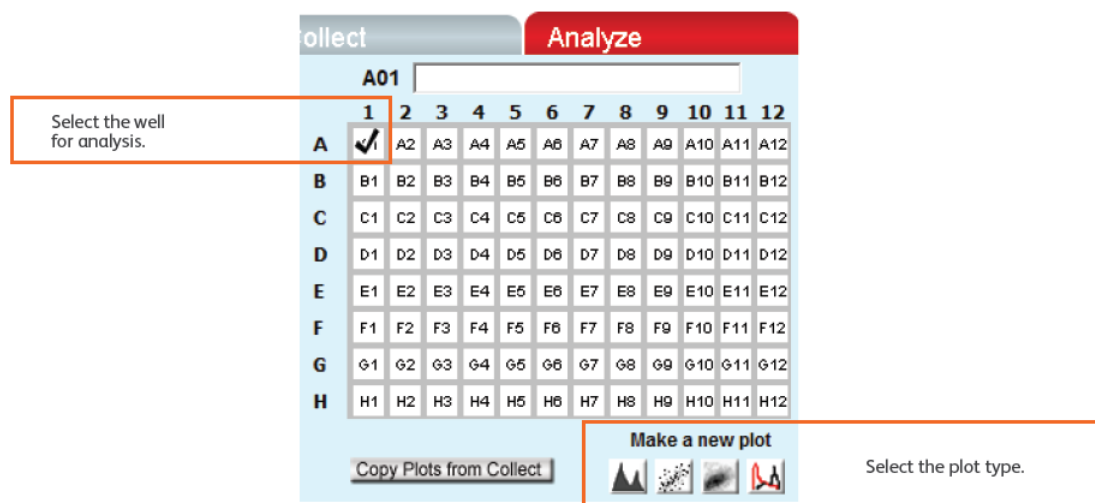
- ① 在 Manual Collect 頁面，點選 。
- ② 確認相關清潔試劑管皆位於 CSampler Plus 上的指定位置。



- ③ 再次確認裝有 2 mL DI 水的試管是否位於方形 (□) 位置上
- ④ 按一下 SIP Clean。

分析結果

① 在 Analyze 頁面，依照需要設定圖表。



② 若要將圖表及其相關表格印出，請參照下列步驟：

- 在每個所想要列印出的圖表左上方的空格中打勾。
- 點選 File > Print Selected Items。

③ 若要將資料做輸出，請參照下列步驟：

- 點選 File > **Export FCS File** 將所選定的資料空格中的檔案匯出並存成 FCS3.1 的檔案。
- 點選 File > **Export ALL Samples as FCS** 將所有資料空格中的檔案匯出並存成 FCS3.1 的檔案。
- 點選 File > **Export Plot Data as CSV** 將數據統計表格個別存成.csv 的檔案格式。

關閉系統

關閉細胞儀電源時，會自動執行清潔流體學系統循環。此循環大約需要 13 分鐘的時間。

手動關閉系統

- 將裝有 2 mL DI 水的試管置於 SIP 上。
- 按細胞儀前側的電源按鈕關閉儀器。將裝水的試管留在 SIP 上。
- 關閉電腦。

在使用 CSampler Plus 時關閉系統

- 確認相關清潔試劑管皆位於 CSampler Plus 上的指定位置，然後按細胞儀前側的電源按鈕。
- 關閉電腦。

BD Accuri CSampler Plus 簡易操作說明

- 1 開機、開電腦、開 BD CSampler Plus Software
- 2 按"Eject Plate"，將清洗區的 Clean 和水換新(每管 2 ml)
- 3 執行 backflush。可作 SIP Clean 或跑水確認潔淨度。
- 4 Run CS&T Beads。
- 5 先在 **Manual Collect** 介面繪製需要的分析圖形，並先在此 run control sample(因為在 Manual 介面才可畫圖和圈選族群，先跑一個 sample 決定 P1 gating 才能在 Auto 介面設定收 P1 裡面 10000 events)
- 6 點 Auto Collect，設收樣條件:
 - *選 Plate type
 - *將欲上樣的 well 都選出來，並在右邊註解欄打入樣品及參數名稱
 - *設定 Run Limits、流速
 - *設定 SIP Rinse Setting(選 **1 cycle**)
 - *按"Apply Setting"
 - *設定 Agitate Plate(1 cycle->15 秒)
 - *設定收樣方向:Horizontally(水平)或 Vertically(垂直)
 - *Run SIP Clean After Samples:勾選後會在收完全部 sample 後自動執行 SIP Clean
 - *按"Open the Run Display"，右邊欄位會變成兩張大圖，可由圖下的下拉選單選擇要預覽的圖(所以要先在 Manual Collect 把圖先畫好)
 - *按"**Autorun**"開始收樣

Note **Interrupt Plate:**會完成當下的數據收集在停止。如果再按 Autorun 會從停止的 well 重新收樣。

Abort Well:會馬上停止數據收集，如果再按 Autorun 會是從下一個 well 開始收樣。如果要重收停止的那個 well 要回到 Manual Collect 手動重新上樣。

BD Accuri™ C6 Plus Fluorochrome/Dye Reference

| Excitation Laser Line (nm) | Fluorescence Channel | Reagents provided by BD Biosciences | | | |
|----------------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| 488 | FL1 Green | BD Horizon™ BB515 | FITC | Alexa Fluor® 488 | BD Horizon™ CFSE |
| | FL2 Yellow | PE | PI | | |
| | FL3 Red | 7-AAD | PerCP | PerCP-Cy™ 5.5 | PE-Cy™ 7 |
| 640 | FL4 Red | APC | Alexa Fluor® 647 | | |

Class 1 Laser Product.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.

Alexa Fluor® is a registered trademark of Life Technologies Corporation.

Cy™ is a trademark of GE Healthcare. Cy™ dyes are subject to proprietary rights of GE Healthcare and Carnegie Mellon University, and are made and sold under license from GE Healthcare only for research and in vitro diagnostic use. Any other use requires a commercial sublicense from GE Healthcare, 800 Centennial Avenue, Piscataway, NJ 08855-1327, USA.

CF™ is a trademark of Biotium, Inc.

Trademarks are the property of their respective owners.

© 2016 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.

23-18442-00

