**BD FACSCelesta操作手册**

**一、构造**

1.电源：在仪器的右侧当中

2.仪器的面板：在仪器前方面板的右下方有3个流速控制键（LO/MED/HIGH）及3个功能控制 键（RUN/STANDBY/PRIME）（下图4.1）。

 a:流速控制： LO:样品流速12ul/min

 MED: 样品流速35ul/min

 HIGH: 样品流速60ul/min

 b:功能控制： RUN：绿色时表示样品开始输入，黄色表示仪器不正常

 STANDBY：无样品或者预热时的位置，此时激光管的功率会下降，可延长其寿命

 PRIME：自动冲洗进样针，一个反冲的过程，通常在进样针有堵塞现象的时候启用

 c: 鞘液桶与废液桶：位于仪器正面下方

 3.样品的输入区在仪器的中部 :上样针、样品支架（下图4.2 ）。

 4.数据处理系统：FlowJo 软件

 PC: 操作系统： Windows7

 内存：512MB RAM及以上

 MAC: 操作系统：OSX 10.3 或更高版本

 内存：512MB RAM及以上



**二、模板的建立**：开电脑，打开软件 BD FACS Diva Software等待机器联机，若软件中没有你所需要的模板，则重新建立一个，具体的步骤入下：

1. 在Browser窗口下的Administrator下依次建立

 New Folder ( 改名为某课题组)

 ↓

 New Folder （改为使用者姓名）

↓

 New Experiment（改为实验时间）

↓

 New Specime

↓

 New Tube （样品名称）

2. 若检测的内容与以前的一样，则可以复制以前模板，然后更改日期

3. 在工具栏中选择散点图工具，其横坐标FSC-A，纵坐标为SSC-A

4. 在工具栏中点击所选的图形类型，拉动鼠标成图，根据荧光染料所需要的接收通道，更改坐标轴的名称。

5. 根据你的实验对照样品设定gate，在工具栏中选择gate的不同形状，将在图形中集中得成团细胞选中。如需设定Marker线，点击工具栏中的横线或者正方形椭圆等，在直方图中我们使用横线作标记；散点图中选择十字或者其他正方形椭圆以及不规则图形作为标记。

6. 模板建立好后，可以测定实验样品。

**三、单色标记的样品**

1. 根据对照样品情况调整FSC，SSC的Voltage大小，把细胞调整到适当的位置 ； 调整荧光染料接收通道的Voltage大小，调整阴性细胞群主要集中于10的三次方以内。
2. 然后测定实验样品。
3. 待收集到相应的细胞数，仪器会自动停止记录。如果细胞数不够预设的量，或是需要中途停止收集，点击Stop record >> 点击Save直接记录数据。

**四、双色及多色标记的样品**

1. 阴性对照，单阳性对照（用于调节补偿）
2. 首先测定阴性对照，将它每个通道的图形调节在10的三次方以内
3. 然后检测单阳性对照，在compensation工具栏内，寻找相关通道进行补偿调节
4. 检测多色标记的样品

**五、 导出数据**

 1. 右键选择需导出的实验，选择Export>>FCS File

 2. FlowJo10.0以下的选择FCS2.0

 FlowJo10.0以上的可选择FCS2.0或FCS3.0或FCS3.1>>OK

 3. 选择保存路径E：\课题组>>save