

CantoII 流式细胞仪 SOP

1. 目的

规范 CantoII 流式细胞仪标准化操作，以保证 CantoII 流式细胞仪的正确使用。

2. 授权操作人

经培训并通过考核的实验室检验人员。

3. 适用范围

CantoII 流式细胞仪。

4. 原理

流式细胞术(Flow Cytometry, FCM)是七十年代发展起来的高科学技术,它集计算机技术、激光技术、流体力学、细胞化学、细胞免疫学于一体,同时具有分析和分选细胞功能。它不仅可测量细胞大小、内部颗粒的性状,还可检测细胞表面和细胞浆抗原、细胞内 DNA、RNA 含量等,可对群体细胞在单细胞水平上进行分析,在短时间内检测分析大量细胞,并收集、储存和处理数据,进行多参数定量分析。在血液学、免疫学、肿瘤学、药理学、分子生物学等学科广泛应用。

5. 工作环境

环境温度要求: 15℃~30℃; 环境相对湿度要求: 15%~80%。

电源电压要求: 主机: (220V/230V)±10%, 50Hz/60Hz±2Hz;

6. 操作规程

6.1 开机前检查

6.1.1 检查鞘液是否充足。

6.1.2 检查废液桶是否已满(非直排)。

6.1.3 检查液流车上过滤器是否有气泡。

6.2 启动系统

6.2.1 打开稳压器及电源开关。

6.2.2 打开电脑并进入电脑系统。

6.2.3 开启主机电源。(一键式启动流式细胞仪主机,液流车和激光器;启动后触摸液流车,看是否震动)

6.2.4 从电脑桌面双击进入软件。(临床用户-Canto Software; 科研用户-Diva Software)

6.2.5 确定软件和主机顺利联机。(若未联机成功,需要点击Cytometer-Instrument-Connect。

观察各溶液桶液流情况,作必要添加处理(红色字体会提示溶液过满、过少)。

6.2.6 启动液流---若没有自动启动,选择Cytometer-Instrument-Fluidics Startup。(查看上样针处,若有样本管,请取下,以免液流反溢出来)

6.2.7 液流启动完成,点击 OK。检查仪器预热完成。

6.3 标本检测

6.3.1 FACSCanto实验

6.3.1.1 打开FACSCanto软件,等待联机完成。

6.3.1.2 观察各溶液桶液流情况,作必要添加处理。

6.3.1.3 如果没有启动过液流, Cytometer菜单-Fluidics Startup启动液流。

6.3.1.4 在worklist里面输入需要检测样本的Sample ID, 并选择Panel。

6.3.1.5 将按照正确顺序放置样本管的转盘放入。

6.3.1.6 点击工具栏里的Run图标，可根据实验需求选择是否存储worklist，等待数据获取自动完成。

6.3.1.7 待全部获取结束，回到worklist界面，点击相应样本的status，回顾结果报告，需要时调整设门。

6.3.1.8 记录结果

6.3.1.9 需要看到过去的结果，可以在D: /BD/BD FACSCanto Software/LabReportFiles/年/月/日下找到相应报告。

6.4 试剂更换

6.4.1 鞘液用完时仪器报警，并弹出故障对话框。

6.4.2 取一桶鞘液，打开桶/瓶的包装盖，将试剂瓶盖组件插入后拧紧（更换稀释液时需用稀释液桶支撑板卡住桶口）。

6.4.3 试剂更换好后，仪器继续对样本进行分析。

6.3.2 FACSDiva实验

6.3.2.1 登陆FACSDiva软件，等待联机成功。

6.3.2.2 观察各溶液桶液流情况，作必要添加处理。

6.3.2.3 如果没有启动过液流，Cytometer菜单-Fluidics Startup启动液流。

6.3.2.4 在Browser中选择需要进行的实验，双击打开。

6.3.2.5 右键点击上一次完成实验的specimen（针管），选择Duplicate without date。

6.3.2.6 更改新生成的specimen和其中的管子的名称。

6.3.2.7 放上带有样本管的转盘。

6.3.2.8 鼠标点击待上管的左侧的指示箭头，使其变为绿色。

6.3.2.9 在Acquisition Dashboard上Flow Rate中选择合适流速，点击Run Single Tube，选择正确的管子号码，点OK。

6.3.2.10 检查图形正常，设门是否需要调整，没有问题的话，按Record键保存数据。

6.3.2.11 待数据保存结束后，点击Acquisition Dashboard上的unload，等待自动清洗完成。

6.3.2.12 调整设门，记录数据。

6.3.2.13 点击Acquisition Dashboard上的next tube键，变更待上样管，重复6.3.2.8-6.3.2.12步骤。

6.3.2.14 Diva软件数据的导出和导入，建议每个月做一次数据的导出

6.3.2.14.1 打开Diva软件。

6.3.2.14.2、右键点击实验，选择Export Experiment，选择合适路径，导出实验。

6.3.2.14.3 删除不必要的specimen，建议保留一个作为基本模版

6.3.2.14.4 需要查看以前的实验数据时，选择需要导入实验的文件夹打开，点击File菜单下的Import-Experiment，找到相应路径，导入实验。

7. 关机

7.1 完成每日保养。

7.2 关闭 Diva 软件

7.3 关闭仪器电源

7.4 电脑关机

8. 维护保养

8.1 每日保养

8.1.1 点击 DIVA 软件图标，双击打开，使用稀释过的次氯酸钠溶液（有效氯约 0.5-1%）1-2ml，

及去离子水放置在上样位置 1、2 号。

8.1.2 选择 Carousel 菜单下的 clean, 选择 Cleaing 和 Rinse1, 时间设置分别为 5min 和 10min。

8.1.3 点击 OK, 待清洗完成。

8.1.4 点击 Cytometer 菜单下的 Fluidics Shutdown 完成后点 OK。

8.2 每月保养

8.2.1 每月可进行一次长清洗: Cytometry 菜单-Cleaning Modes-Long Clean

8.2.2 每三个月可进行一次流动室清洗: 使用流动室清洗液, Cytometry 菜单-Cleaning Modes-Clean Flow Cell

8.2.3 上样针堵塞: Cytometry 菜单-Cleaning Modes-SIT Flush, 使用稀释的次氯酸钠溶液高速上样半小时, 用去离子水冲洗

8.2.4 排除气泡: Cytometry 菜单-Cleaning Modes-Degas Flow Cell 或是 Purge Bubble Filter and Degas Flow Cell

8.2.5 更换液体后: Cytometry 菜单-Cleaning Modes-Prime after tank

9. 校正

厂方工作人员或授权方工作人员负责对仪器进行相关校准工作。

9.1 校正原则: 正常校准周期为一年一次; 当流式细胞仪更换了关键部件及仪器故障引起的失控时, 需要进行校准。

9.2 校准之后应将原始数据记录填写在 CantoII 流式细胞仪校准记录, 并报实验室负责人审核后才能投入使用。

10. 应急处理

10.1 出现不能自行解决的故障时, 应及时联系经销商或工程师维修处理, 并告知实验室负责人。

10.2 出现不能及时维修的故障时, 应立即停止标本分析。

11. 注意事项

仪器设备周围应尽可能无尘、无机械振动、无污染、和电源干扰; 避免强光直接照射; 避免置于热源及风源前; 选择一个通风良好的位置; 具有良好的接地环境; 不要将主机放置在斜面上; 室内使用。