

# CyFlow<sup>®</sup> Cube

Version 1.0

免疫学  
微生物学  
工业应用  
农业科学/水产养殖  
细胞和颗粒分选



高性能多激光流式细胞分析仪和分选仪

## 目 录

简介.....	3
手册简介.....	4
什么是 Partec CyFlow® Cube? .....	4
CyFlow® Cube 可应用于? .....	4
本手册所包含的主题? .....	4
其它可用的手册? .....	4
操作 CyFlow® Cube 前应该了解的内容? .....	4
流式细胞术基本说明.....	5
名词解释.....	5
直方图和散点图.....	6
免疫实验中的图例.....	7
入门指南-基础知识.....	8
仪器启动程序.....	8
CyView 8 登录界面.....	9
CyView 8 的七项主要设置.....	12
通道设置.....	12
图形设置.....	12
结果设置.....	13
划门设置.....	13
系统设置.....	14
进程设置.....	14
方案设置.....	15
使用 CyFlow Cube 分析样本的步骤.....	16
在数据采集中哪些是重要步骤.....	16
样本测试.....	17
仪器清洗.....	18
仪器控制.....	19
增益、阈值、速度设定.....	19

触发属性.....	19
图形属性.....	21
设门属性.....	22
将门应用于其他图形.....	24
键盘/鼠标组合键.....	25
光学参数配置.....	26
仪器维护.....	27
维护.....	27
维修.....	27
运输和储存.....	28
处置.....	28
激光安全.....	29
技术规格.....	30

# 简介

本手册是针对广泛的用户所设计的。初学或临时用户将获得使用 Cube 及其软件的主要功能和概念。而熟练用户将获得 Cube 内部运作和参数的深入信息，并获得最佳性能。

## 一般信息

CyView 8 是专门为您量身定制的！新版软件和用户将得益于用户需求：新增功能和软件改进。Partec 一直致力于 CyView 的开发以更好地满足用户需求。如果您对本手册或软件有任何问题，或者发现了与 CyView 有关的问题，或者对新版软件有良好的建议，请您向 Partec 发送电子邮件或通知进行告知。

CyView 8 的开发和测试的目的在于使流式细胞术数据分析更加方便。然而，像 CyView 8 这样复杂的软件以及本手册并非完全无误。如对待所有软件一样，用户应仔细检查并验证通过 CyView 8 所获得的结果。Partec 推荐在运行大规模样品系列前对特定应用测试 CyView 8。Partec 提供了本版本的 CyView 8。Partec 不对 CyView 8 适合特定应用负责。Partec 也不对 CyView 8 可能造成的或基于 Cyview 8 所得结果的任何直接或间接损害负责。特别地，对由于使用 CyView 8 的数据或试剂损失概不负责。

本手册包含对 Partec 及其它公司的名称和产品的引用，它们均为商标注册或受版权保护。

Partec GmbH: PAS, PA, CCA, Robby®

Cytecs GmbH: CyFlow®

Microsoft® Corp: Windows, Word, Excel, PowerPoint, Paint

Hewlett Packard®: Deskjet, Laserjet.

# 手册简介

## 什么是 Partec CyFlow® Cube?

Partec CyFlow® Cube 是配备齐全的台式流式细胞仪 (FCM)。CyFlow® Cube 具有模块化光学配置。这允许使用不同光源作为激光并兼容 1 至 8 个光学通道 (参数)。通过滤片和镜片的简单更换, CyFlow® Cube 可以方便地对任何应用进行光学优化。CyFlow® Cube 通过内部 PC 运行。数据采集、仪器控制和数据分析是由 CyFlow® 8 软件控制和执行的。

## 可以使用 CyFlow® Cube 的应用?

对于任何流式细胞术应用, CyFlow® Cube 与软件一起提供了自动化的常规用途和灵活的研究用途。这些应用包括:

- 常规免疫表型血细胞分析/HIV 监测 (例如, CD4 细胞计数)
- 白细胞计数/小概率细胞分析
- 微生物分析 (活体/死体)
- 发酵控制
- 颗粒浓度分析
- 真实体积绝对计数
- 颗粒尺寸和荧光分布分析

## 本手册所包含的主题?

CyFlow® Cube 仪器操作手册包括 CyFlow® Cube 仪器的基本操作和维护。本手册不包含与软件有关的详细信息。

## 其它可用的手册?

**CyView®-采集和仪器控制**包括仪器控制和多参数数据采集。

**应用说明和服务手册**可用于入门学习。它们包含了实现最佳结果的提示。

## 操作 CyFlow® Cube 前应该了解的内容?

本手册假定用户对流式细胞术有所了解。如果周围有经验丰富的用户-那么,请向她/他寻求帮助。可获得有关流式细胞术的基础图书 (例如, Howard M. Shapiro, Practical Flow Cytometry. Wiley 2002), 这也将对您有所帮助。

# 流式细胞术基本说明

## 什么是……？

### 参数？

在流式细胞术中，参数表示颗粒的测量特性。通常，参数与光学通道表示相同含义。例如，具有 6 参数的仪器配备了 6 个光学探测器。6 号参数可以是蓝色荧光参数，它可以被称为 FL4 并且主要用于 DNA 分析。



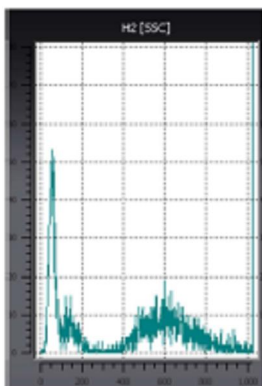
配备最多 8 个光学参数的配置-6 色



配备 CyFlow<sup>®</sup>分选器和 5 个光学参数的配置

### 单参数直方图？

单参数直方图显示了特定性质下细胞的分布，例如，含有给定数量 DNA 或结合给定数目抗体分子的细胞数。



### 直方图通道？

用很多通道（例如，65536）表示细胞含量。在单参数直方图中，用 x 轴表示这些通道。

### 直方图中的计数？

将特定通道中的细胞数称为通道含量或者简单地称为计数。在单参数直方图中，用 y 轴显示该计数。

### 峰？

在所分析的细胞性质（例如，如 DNA 的特定组成的含量）中，具有大致相同特性的全部细胞构成了峰。在典型的 DNA 直方图中，一个峰表示细胞周期的 G1 期，而另一个峰（具有双倍通道值）表示 G2/M 期。对于免疫标记的细胞，通常可以检测到未标记（阴性）细胞的一个峰和标记（阳性）细胞的一个峰。

可以通过用区域标志物鉴别或通过数字拟合来分析峰，从而了解峰中细胞的平均强度或数目。

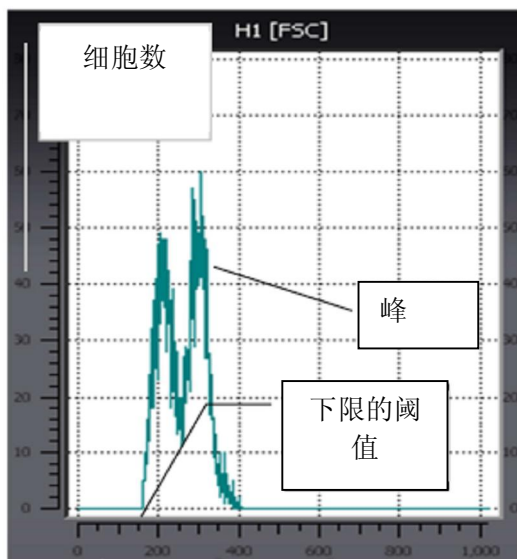
### 直方图中的背景？

有时，直方图会在较低的通道中会显示出并不存在的信号，它们通常被称为“噪声”或“背景”。这些信号可能来自细胞碎片或样品制备时所产生的其它颗粒。在高信号放大的情况下，背景还可能由不够清洁的鞘液或由背景光所造成的。

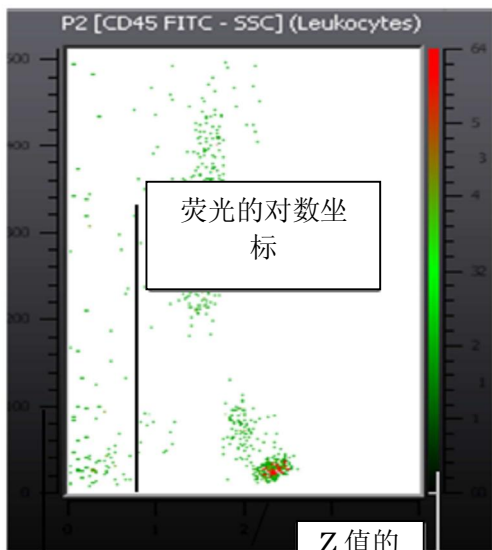
### 下限（L-L）或阈值？

下限（L-L）阈值是用来排除背景信号的。信号采集时将放弃低于下限的信号。为了从已采集的直方图中排除噪声，可以划门。

## 直方图和散点图



线性坐标



通道的线性坐标

### 直方图实例

直方图代表了一维方向上的信号的分布。在Cube上，数据可以通过相对粒径或光学颗粒结构（前向散射（FCS）或侧面散射（SSC））或它们不同颜色的相对荧光强度（FL1到FL6荧光参数）显示出来。

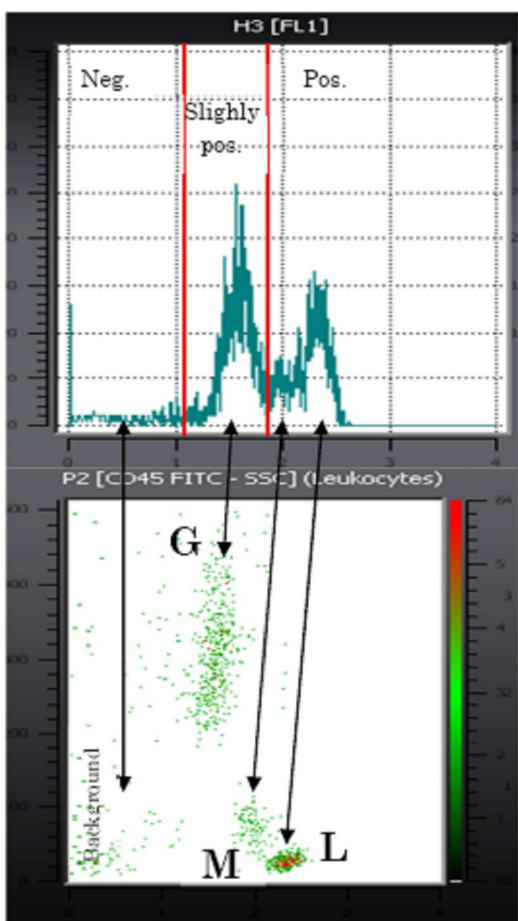
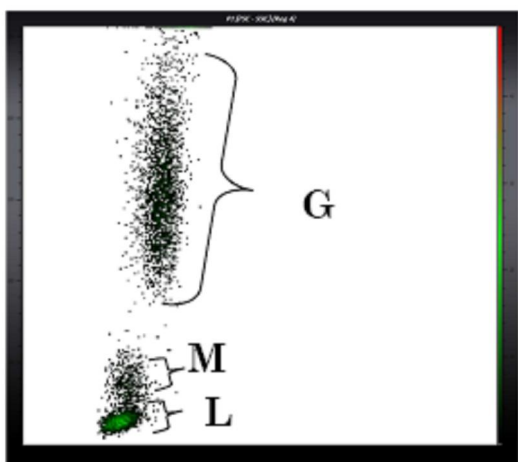
在此例中，显示的是X轴线性尺度表示的细胞相对大小（FSC）和Y轴线性尺度表示的细胞数。有两个峰可见。

### 散点图实例

二维图表示二维空间上的相关数据。在此实例中，白细胞是以它们的相对光散射特性（SSC）为纵坐标，以对数尺度的CD45抗原荧光强度为横坐标而绘制的。

Z值代表具有相同坐标的细胞数量。一个细胞将用一个黑点表示；如果10个细胞有相同的坐标，代表它们的点将是绿色的。如果20个以上的点相互重叠，这个点将是红色的。Z尺度是动态的，并在测量过程中实时刷新。

## 免疫实验中的图例



本实例简化了利用流式细胞仪进行的免疫染色分析。它是针对新用户的，旨在将直方图和散点图表示方式联系起来。为完成分析，需要进行设门和统计。

## 溶胞血散点图

此溶胞血是通过散点图的形式表现出来的，在散点图上X轴为FSC，Y轴为SSC。两个轴都采用线性尺度。

从图上可以看到三个不同的群，它们代表着粒细胞(G)，单核细胞(M)和淋巴细胞(L)。

## 免疫学染色直方图

目前，该直方图显示出以前用结合PhycoErytrin (PE)的抗CD16抗体染色的散点图上所显示的细胞的图谱。X轴显示4-dec对数尺度上的荧光，Y轴显示线性尺度上细胞的数量。

## 免疫学染色散点图

在本散点图上，对数尺度X轴为细胞荧光(CD45 FITC)，对数尺度Y轴为SSC。

同直方图相比，本数据显示更容易解释双参数的数据。从这个例子得出结论，淋巴细胞被抗CD45抗体染色，单核细胞轻度染色，粒细胞群呈阴性。



# 入门指南-基础知识

## 仪器启动程序



图1: CyFlow® Cube的背面, 电源开关、鞘液和废液瓶单元

临时/中等经验使用者:

**Cube**启动后, 不需要繁琐的步骤, 以可以读取设置和测试样本

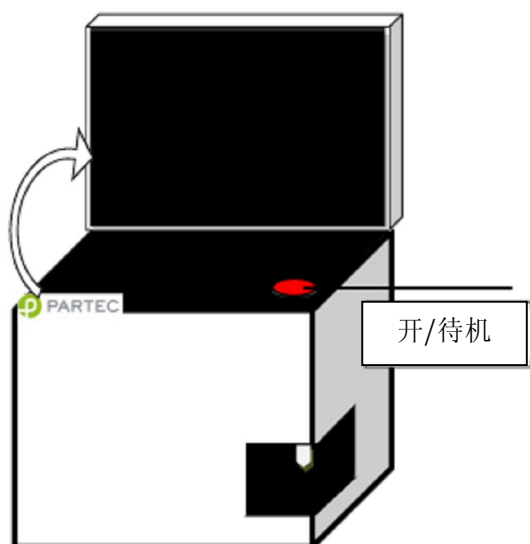


图2: CyFlow® Cube的正面, 备用开关

## 鞘液位控制及灌装

在打开机器之前, 建议检查鞘液和废液瓶的水平。它们在设备后左侧的滑动单元内(图1)。

确保鞘瓶内装满了**800毫升**的经过滤和脱气的清洁鞘液, 并用螺旋盖封闭。为了保证最高的测量质量, 我们强烈建议使用**PARTEC**鞘液(订单号**04-4007**)。

建议每周至少更换一次鞘液或在日常使用之前更换鞘液。当添加鞘液瓶时, 应确保在瓶子中的黄色过滤装置中没有任何气泡!

确保废液瓶是空的, 螺旋盖关紧。

每次使用前后应倒空废液瓶。当使用具有生物危害的样品时, 应在空废液瓶中加入**50毫升0.5%次氯酸盐**(订单号**04-4012**)用于初次灭菌。

## 启动CyFlow® Cube

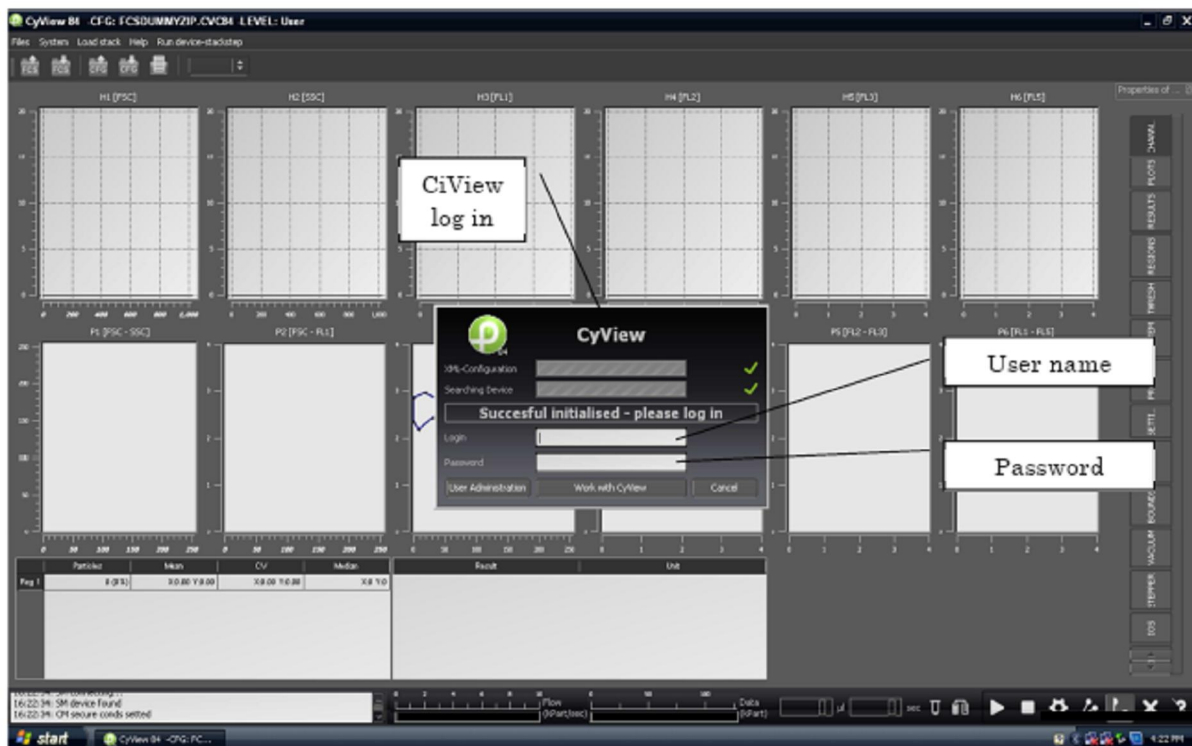
电源开关在Cube后面主电源线(图1)旁边。在默认情况下, Cube设置在待机状态。为激活Cube, 需要轻轻按机器顶部的开/关触控按钮。必须先打开显示屏来进入显示屏界面(图2)。

这将启动嵌入式计算机, 自动启动CyView 8, 并将默认设置参数载入。

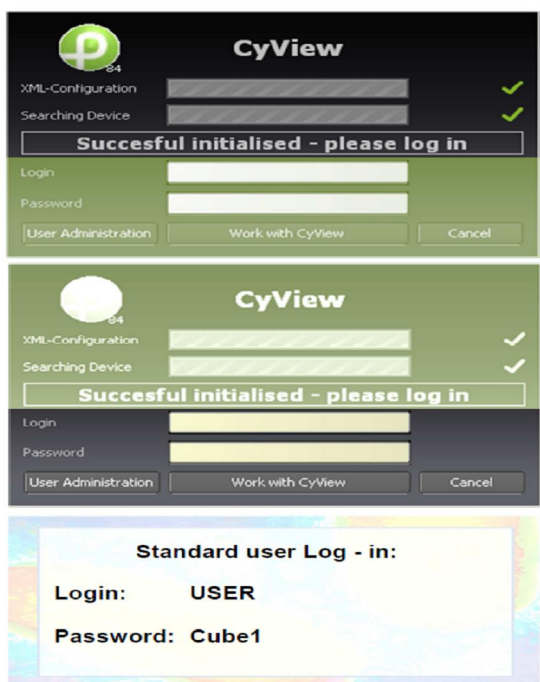
高级经验使用者:

将控制板连接到电脑板, 但同电脑独立。**USB**接口仅用于将参数载入控制板或将数据调入软件。

## CyView 8 登录窗口



登陆window系统允许以用户、管理员或系统管理员的身份启动。



### CyView 启动

XML-配置：显示设置文件被正确加载。

搜索设备：显示计算机和嵌入电子器件之间的连接正常

### 作为标准用户登录

Cube管理员将给你此密码。如果需要，只有管理员有权限设置新的用户/管理员帐户，并重置用户的密码。

此登陆也将使得有经验用户和系统工程师能够进入高级设置。

### 假如丢失了你的登陆账户?

让Cube管理员或使用左边所写的登陆来进入你的数据，进行分析或获取新的数据。

## 使用者权限

三个不同的使用者权限:

<b>服务</b>	限于授权的Partec经过培训的人员以及仅用于服务目的
<b>主要用户</b>	仪器的完整功能，方法开发 主要用户能创建主要用户的新账户
<b>和用户权限</b>	
<b>用户</b>	仅适用于标准化方法

用户不能创建新账户

The screenshot shows a user management form for a 'Main user'. The 'Name' field contains 'Test' and the 'Password' field contains four dots. The 'Main user' checkbox is checked, and the 'Administrator' checkbox is unchecked. Below the fields are four buttons: 'Build new account', 'Delete this account', 'Change my password', and 'Back to Login'. There is an empty text input field at the bottom.

The screenshot shows a user management form for a 'User'. The 'Name' field contains 'Emma' and the 'Password' field contains four dots. The 'Main user' checkbox is unchecked, and the 'Administrator' checkbox is unchecked. Below the fields are four buttons: 'Build new account', 'Delete this account', 'Change my password', and 'Back to Login'. There is an empty text input field at the bottom.

**重要内容:** 在每个新的设备上都已经建立了主要用户登录。

**用户名:** USER(区分大小写)

**密码:** Cube1 (区分大小写)

作为主要用户，为在您的登录名和密码创建新帐户，并选择“用户管理”。

要在名称和密码下创建一个新的主要用户的帐户类型，并激活“建立新帐户”后面的“主用户”。

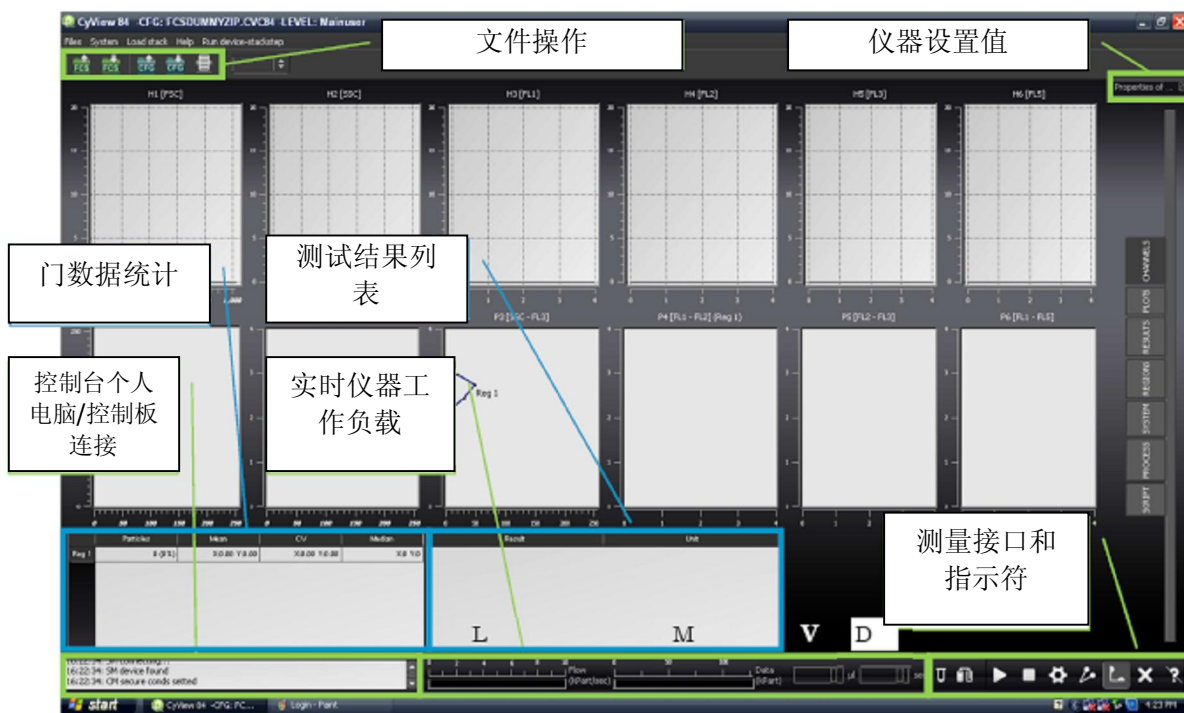
作为用户，可以通过选择名称和在“改变我的密码”后面设置一个新密码来修改自己的密码。

作为主要用户，可以通过选择名称和在“改变我的密码”后面设置一个新的密码来修改自己的密码。作为主要用户，可以通过在“删除此帐户”后面选择名称，删除任何用户帐户。主要用户不需要各自的密码来删除任何用户帐户。

在作为主要用户登录时，可以删除默认用户帐户（名称：USER，密码：Cube1）。请确保在用户列表中至少有一个主要用户以保证该软件的全部功能。

为从用户管理水平进入CyView®软件，选择“回到登录”，通过“使用CyView工作”之后您的个人登录名称来登录。

## 主 CyView 8 窗口介绍



主窗口是您获取、存储、重载和分析数据的界面



允许**载入**和**存储**数据文件的按钮  
(.fcs数据文件)。



用于**存储和恢复仪器设置**的按钮(.xml数据文件或配置说明)。



用于产生所获取数据的**PDF报告**的按钮



显示控制板状态的控制台。

**仪器实时显示**工作负载(L), 芯片存储状态(M), 分析体积(V)和分析时长(D)。

**样品液面水平** (高,计数阶段, 空)和废液状态以及鞘液瓶水平。



开始和停止测量按钮。



补偿按钮和随即偏差按钮。



清除按钮-删除所有数据

# CyView 8 的 7 项主要设置

## CyView8 通道设置



通道设置定义了系统（PMT0-PMT7）中存在的PMT通道（参数）的性质。它命名了参数（FSC, SSC, FL1 ... FLX），并定义了荧光补偿。通过按**接受键**确认所有修改。

## CyView8 图形设置



绘图设置定义了图表的属性。在使用的**配置说明**上按图的数量、类型（直方图、散点图）和位置定义了基本布局。

直方图命名为**H1-Hx**，散点图命名为**P1-Px**。用箭头键选择具体的图。

- 描述图形特征的**注释**如**FSC**
- 在**X**和**Y**轴的线性和对数尺度之间进行转换
- 将要显示的点的**层数**(z轴水平)，如**2**层表明仅显示重叠**3**此的点
- 选择散点图上的**X**轴通道和**Y**轴通道或仅**X**轴通道用于直方图
- **方式** (功能停用)
- 选择直方图解析度作为**Bitrange**，（值从6位到12位）
- 选择**CR-模式**  
通过按**接受键**确认所有修改。

## CyView8 结果设置



结果设置定义了结果列表中所显示的计算结果的属性。

有可能按照指定的公式用每个区域的总数进行计算。

**NumReg1 (+ - x/) NumReg2**

-----x Scale

**DenomReg1 (+ - x/) DenomReg2**

• **NumOperator** 定义了两个分子之间的运算符 „+“, „-“, „x“ or „/“

• **DenomOperator** 定义了两个分母之间的运算符 „+“, „-“, „x“ or „/“

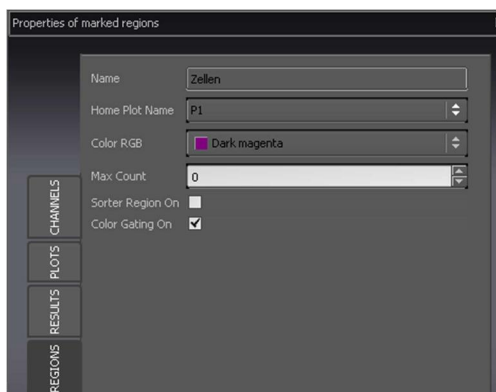
• **单位** 允许将文本加入到结果列表中

• **尺度** 将一个因子引入到公式中

• 计数器结果开是指体积计数的结果

	Particles	Mean	CV	Median		Result	Unit
Zellen	5517 (95%)	X:1250.19 Y:7811.99	X:17.66 Y:18.35	X:1230 Y:7536		total beads	110.34 per ml
Reg 1	5014 (86%)	12845.66	4.20	12926		single beads	100280 beads ml
Reg 2	332 (5%)	24890.92	8.46	24963		doublett beads	6640 doublett ml
						total	116980 ml

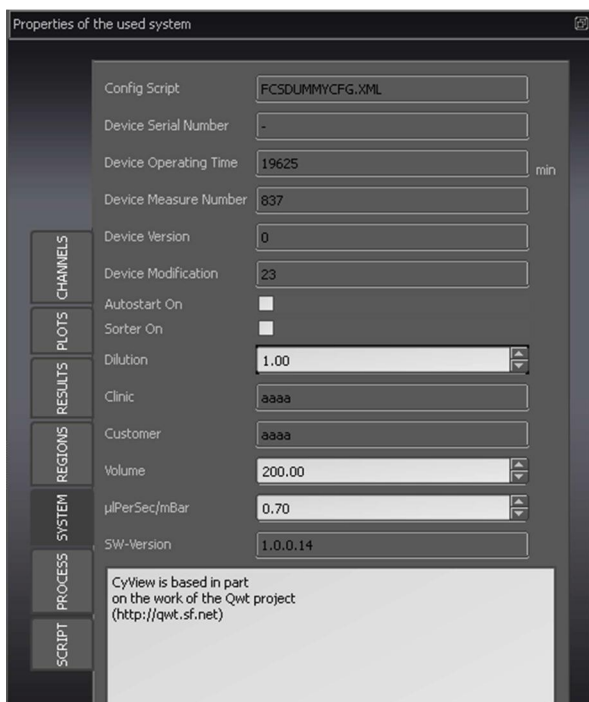
## CyView8 门设置



门设置定义了门的属性

- **主图** 指门所在的图形
- **颜色RGB** 是指门的颜色
- **最大计数** 指门中可以计量的最大细胞数
- **分选门激活** 将此门中的细胞分选
- **彩色设门** 将此门的彩色设置打开
- 使用 **删除** 和 **新建** 来删除和创建新的门，
- 使用鼠标在门之间进行切换

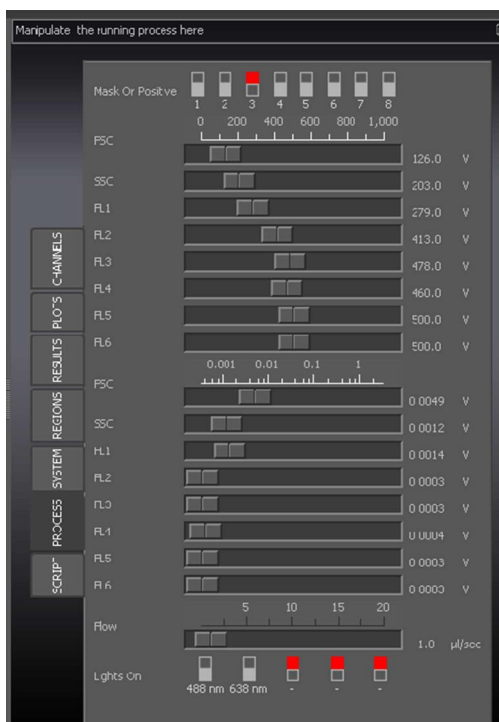
## CyView8 系统设置



系统设置定义了仪器的属性。

- **配置方案**
- 设备**序列号**
- 仪器的**总运行时间**
- 仪器的**版本**
- 仪器的**版本**
- 激活**自动启动**功能
- 激活**分选**功能
- 定义样品稀释的**倍数**
- **临床客户**定义具体使用者信息
- 定义**计数体积,单位µl**
- **µlPerSec/mBar**设置鞘液参数
- **SW-Version**说明当前软件版本

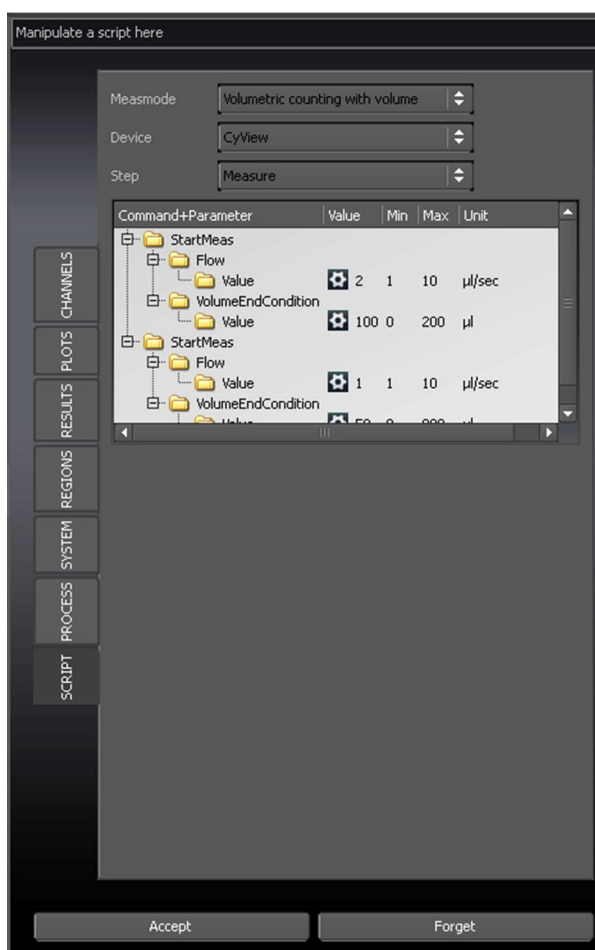
## CyView8 进程设置



过程设置控制了仪器的运行过程。

- **标注** 选择触发参数
- 通道的**电压** (0伏-999伏) 定义PMT信号的放大倍数
- **阈值**定义触发信号的下限(在4dec对数尺度上)
- **流量**用来设置样品注入的速度, 单位µl/s
- **激光开关**用来切换光源的开/关

## CyView8 脚本设置



- **Measmode**能够进行以下操作：
  - 连续分析
  - 用电极进行体积计数
  - 用绝对体积进行体积计数
  - 门中的细胞数
- 可以修改**速度值**和**体积值**，并将其储存到FCS文件和配置说明中。通过按**接受键**确认所有修改。

在SCRIPT文件夹中可以选择测量的模式



# 使用 CyFlow Cube 分析样本的步骤

## 在数据采集中哪些是重要步骤



加载一个演示文件（文件夹（例如，来自 C/ CyView\_84\ DATA\QCxxxxx）中的校准微球）作为配置模板。



将1.2毫升校准微球装入样品管。检查样品管有无缺损或污染物。



将样品管插入进样口并向上推，直到听到清晰的卡嗒声。



按下启动按钮。在控制窗口中会显示测量状态的信息。

1. 初始进样
2. 稳定阶段

3. 预运行阶段，以达到进入流动室的最佳样品流

4. 最终数据采集阶段



控制显示器的控制面板状态

在采集阶段，工作负荷指示栏应在绿色区域，表明信噪比很高；在黄色-橙色-红色区域，表示样本流速太高，会出现测量误差。

在采集阶段，可以进行仪器设置的调节，如通过改变进样速度、PMT电压和阈值水平。使用**清除**按钮




在进行了仪器设置操作后，用来删除数据。

如果是在**连续采集模式**下，通过**停止**按钮停止数据采集，或者继续进行分析，直到系统在样品完全消耗之前自动停止。



使用下面的按钮保存数据文件



(可以通过点击**开始按钮**  来启动清洗，然后才能保存数据)。

使用下面的按钮来保存配置文件



或使用**文件**主菜单。

要打印报告，使用**打印报告**按钮。



在连续采集模式之后，可以根据分析样品的体积或分析的颗粒数停止采集（见 **CyView8, 脚本设置, 功能测量模式**）。基于体积的停止条件可以对颗粒进行绝对计数：

### 测量模式

开始进行分析之前，有四种不同的测量模式可供选择。

对于所有的测量模式，即使尚未达到选定的结束标准，样品结束后（达到停止电极），样品分析也会自动停止。

默认情况下，选择的测量模式为连续测量模式。

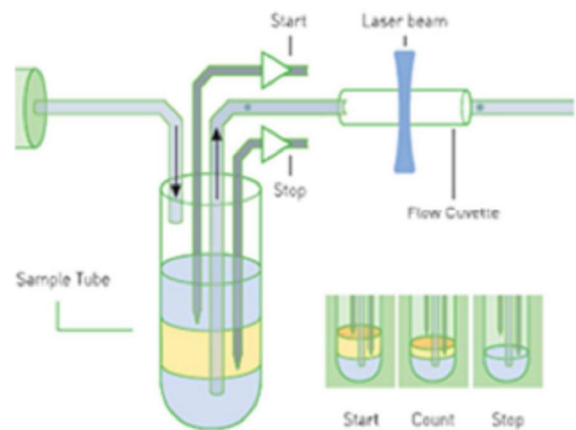
### 测量模式“使用电极进行体积计数”

这种测量模式使用样本口的开始和停止电

极来定义一个固定的样本体积。在标准样本口“计数体积”是200 $\mu$ L。在预计数阶段，样本和在**连续采集模式**一样被正常采集。样本液面达到START电极时开始体积计数。工作负荷指示切换到“红”。达到停止电极后，计数程序将停止，根据提示按下开始按钮

后，开始系统清洗。

图：使用电极进行绝对体积计数的工作原理




## 测量模式“使用绝对体积进行体积计数”

在使用绝对体积进行体积计数的测量模式下，计算体积比较灵活，可以在一定范围内进行用户自定义（设置**体积结束条件**，见**CyView8脚本设置，功能测量模式**）。因此，可以定义用来稳定系统的预设样品体积、样品计数体积和采样速度。

## 测量模式“门内计数”

在**门内计数**测量模式下，可以定义当门内的细胞数达到一定量时停止计数（见门设置中的**最大计数**功能）。

建议：在计数阶段，所有这些测量模式的工作负荷指标都显示为“红”，并且在达到停

止条件后提示按下开始按钮  来启动清洗过程。

只有在执行了清洗命令之后，脚本工作才完成，可以进行数据保存。

## CyFlow Cube的清洗

Cube运行时的清洗过程：

对于Cube的清洗，在两个样品之间可以用蒸馏水，在两个样品集之间时，使用清洁和冲洗溶液（绿色溶液，订单号04-4009）。这个步骤可以使您大大减少交叉污染和降低背景。

样本之间的清洗应设置如下：按下开始按钮开始测量，按一下暂停按钮，将样品从端口移出，插入装满蒸馏水的样品管并按两次开始按钮，插入装满蒸馏水的管，然后点击两次启动按钮。清洗管中的液体会被完全吸走。

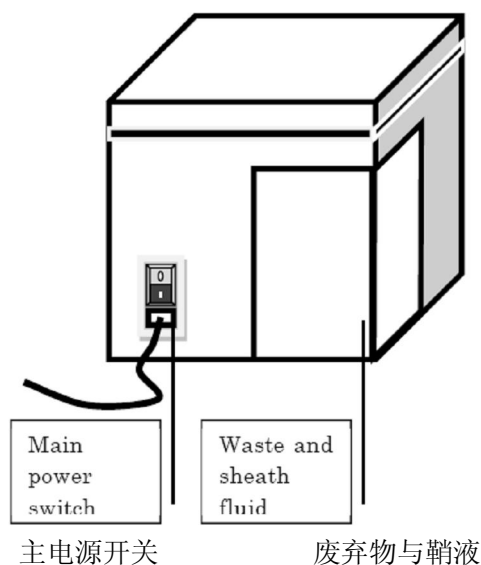
Cube关机清洗程序：



关闭Cube之前，有必要使用清洁功能（菜单->堆栈->清洗）加载去污溶液（紫色溶液，订单号04-4010）。然后，必须用蒸馏水重复相同的操作。通过关闭CyView8（菜单->退出）和关掉WindowsXP（开始->退出->关闭计算机），可以将Cube设为待机状态。要完全关闭Cube，使用后面板上的主电源开关。

废液瓶中的溶液必须根据有关生物危害法来进行废弃处理。

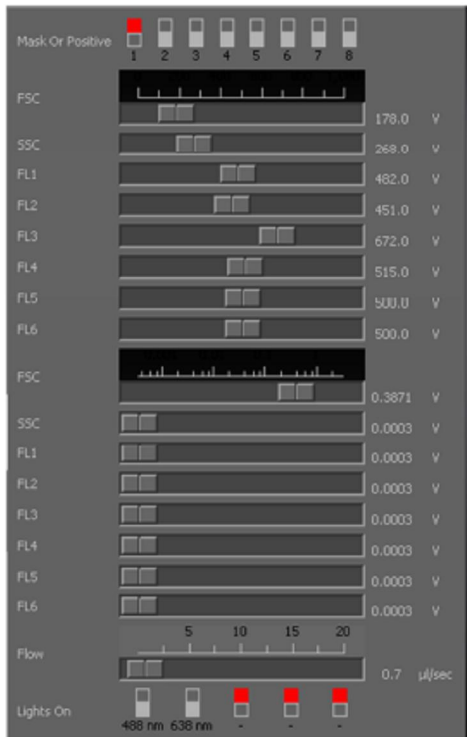
定期彻底清洗的鞘液瓶和更换黄色的过滤器，会使测量背景保持在最下限。



# 如何设置仪器

## 增益、阈值和采样速度设置

为了获得最强的信号与尽可能低的背景，这些设置非常重要。




### 阈值的设置:

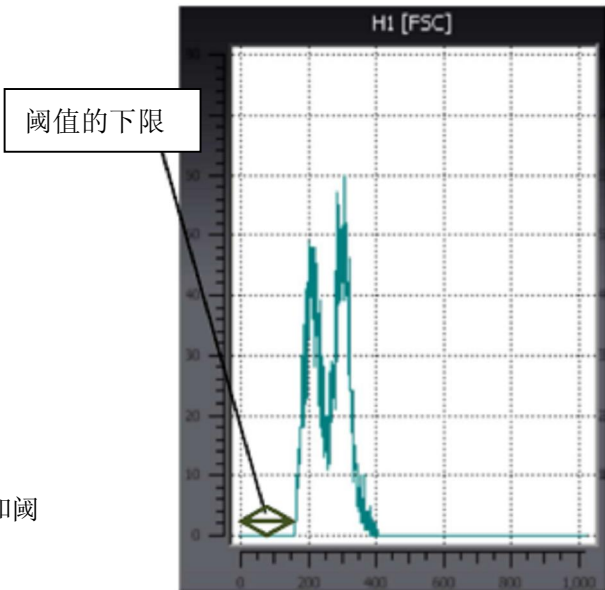
阈值可以通过在触发参数中对采集到的数据设定一个较低的下限，以取出不必要的背景。这一工具能增加采集到得数据的准确度和精密度。

### 流速:

此滑块使您可以改变样品注射进流动贮液槽的速度。低速值会产生更好的精密度和准确度。

### 触发属性:

通过点击Meas按钮 (  ), 可进行增益和阈值设置

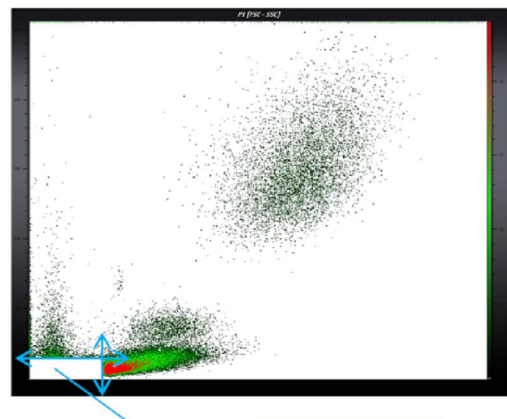


### 增益和触发设置:

必须调节**增益**和**阈值**滑块，以获得最佳增益（最强信号和最低背景）。通常情况下，为了使微粒的大小可以合适地显示出来，前向散射（FSC）将是调整的**第一个增益**。

要移动滑块，在滑块上点击鼠标左键，保持鼠标按钮按下，左-右移动鼠标或使用滚轮，以调整数值。

触发参数可以选择是屏蔽还是激活。在这个例子中，选择了参数1（FSC）作为唯一的触发参数<sup>1</sup>。



## 单触发

触发是界定信号是否会被记录的参数。只有触发参数检测到信号，系统其它参数才会对信号进行记录。也就是说，如果FSC中的触发被设定为只记录比较大的微粒（例如，阈值设为0.3871V，增益值170V），比如只采集完整的哺乳动物细胞。只要FSC信号一直低于触发阈值，细胞碎片和较小的微粒将被排除。



此触发工具可以去除不需要的背景信号并限制数据文件的大小（更快速的分析和数据传输，需要较少的磁盘空间）

## 多触发：

该选项允许使用多个触发参数来进行信号采集。

例如，屏蔽或激活参数1 +2



此触发逻辑将只记录符合以下标准的事件：

- FSC中的最小值

- 以及- SSC中的最小值

## 图形属性



可以在按下 Ctrl 键的同时右键点击图形，查看其属性。



当参数设定好之后，必须**确认**这一改变，用前后箭头在不同图形之间进行选择。

### 图形名称:

脚本定义了默认的图形名(Hx, Px)。参数也有默认的名称。用户可以修改参数名(备注行)，输入一个更能反映实验性质的参数名。

### X Log 开启/Y Log 开启:

这一选项允许用户改变绘图的缩放比例。注意改变缩放比例会要求你调整光电倍增管的增益值！

### 图层水平:

图层水平将在显示的数据上设置一个阈值（并非采集的数据）。一些低频率的点将不会显示，这样就可以更好地视觉呈现更高频率的数据（相对于背景的信号）。

### X/Y 通道:

可以从下拉菜单里选择参数；给用户一个可以激活的参数的清单。

### 状态:

数据的图像模式（线形直方图，填充直方图，重叠图等等）

### 比特范围:

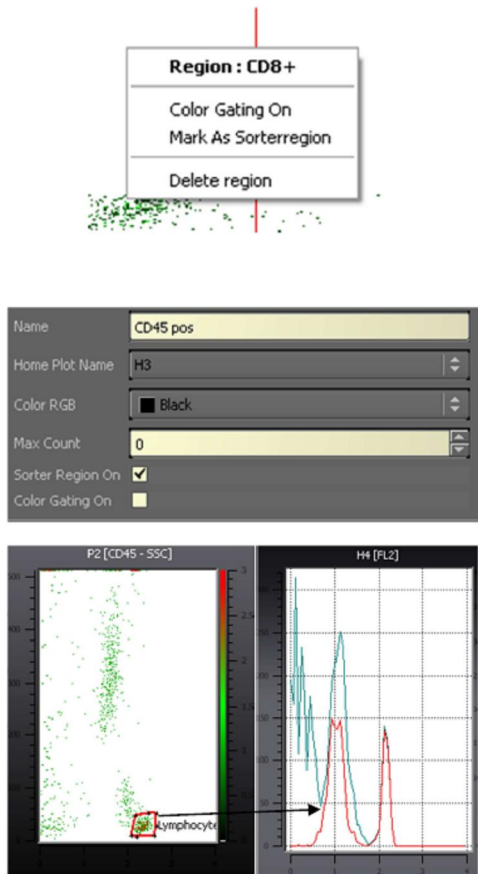
数值的范围从 6 到 12。此参数设置通道的分辨率从 6（64 个通道）一直到 12（4096 个通道）。

### CR-模式:

本选项允许你选择你想显示的那部分数据：

- 所有事件
- 仅显示区域
- 颜色选通

## 设门属性



### 创建一个多边形门:

在要求设门的图形上双击左键，将设置第一个点；再点击一次将设置下一个点，如此反复。用鼠标左键标记无论多少个需要的点。要关闭滑出的门，点击鼠标右键。

### 门属性:

打开门属性的方式是按下 **Ctrl** 键的同时在要编辑的图形上右键点击。在屏幕右方的图形配置表里会显示一系列的设门选项的选择。

### 门的名称:

默认名为: 门  $nx$ ，下一个门: 门  $nx+1$

用户可以定义名称。记住在转到下一个门之前需要点击**接受**以确认。

### 设门图形的名称:

也就是被设门的图形名称。

### 颜色 RGB:

允许选择门的颜色。该颜色会应用于每一个选择了**仅显示彩色门**的图形，在左手边的图像中用已染成红色的淋巴细胞和代表所有细胞的蓝色直方图的重叠方式展示。

### 最大计数:

用这一选项可确定从某一感兴趣的门 (ROI) 中用于分析的最大细胞计数 (见 **CyView 8** 脚本配置)。

### 分选开关:

只需要选择本框将感兴趣的门设定为分选通道 (本选项只有在配备了分选流式样品池的 **Cube** 仪器上才提供)。

### 彩色设门开启:

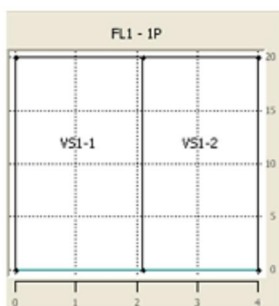
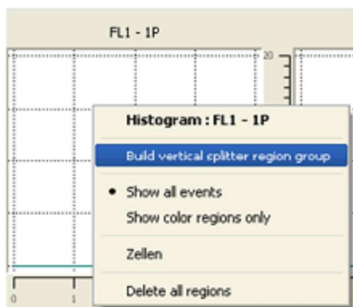
选择本选项之后不同门中的数据会用不同颜色显示。

### 在直方图中移动门

把光标移入门，按下鼠标左键不松开并移动位置。

一个门中单独的点可以通过将光标放到该点上，按下鼠标左键不松开并移动来改变。在一个散点图中的门的大小可以通过用光标选择该门并在移动光标的过程中按下 "Shift" 键来改变。

每个门都可通过选择鼠标右键来删除。

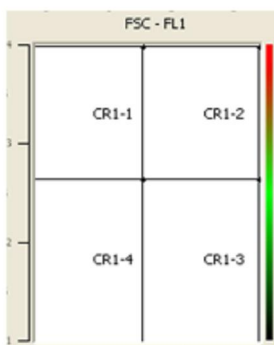
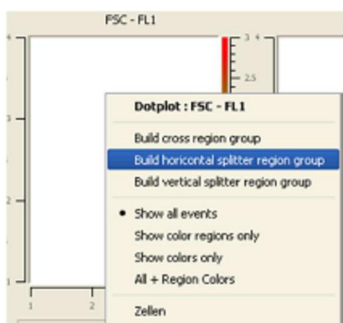


### 创建垂直直方图分隔

要创建一个垂直直方图分隔，请把光标移到直方图里，按下鼠标右键。选择“**建立垂直分隔区域**”将直方图分为两部分（VS1-1 和 VS1-2）。可以通过将光标移到图形上并按下鼠标左键不松开来改动分界处。

### 创建一个垂直的散点图分隔

要创建一个垂直散点图分隔，请把光标移到散点图里，按下鼠标右键。选择“**建立垂直分隔区域**”将散点图分为两部分（VS1-1 和 VS1-2）。可以通过将光标移到散点图上并按下鼠标左键不松开来改动分界处。



### 创建一个水平的散点图分隔

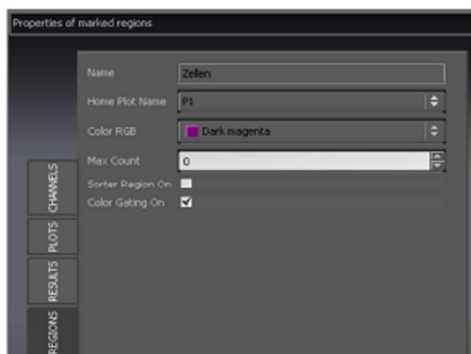
要创建一个垂直散点图分隔，请把光标移到散点图里，按下鼠标右键。选择“**建立水平分隔区域**”将散点图分为两部分（HS1-1 和 HS1-2）。可以通过将光标移到散点图上并按下鼠标左键不松开来改动分界处。

### 创建一个十字门

要在一个散点图中创建一个十字门，先把光标移到散点图里，按下鼠标右键。选择“**建立十字门**”将散点图分为四部分（CR1-1, CR1-2, CR1-3 和 CR1-4）。要改动十字门，将光标移入散点图中，按下鼠标左键不松开。要创建对称的十字门，请用鼠标左键接近单独的点（在散点图的边缘或者十字门的交界点上），按下鼠标左键不松开。

### 用门改变页面布局:

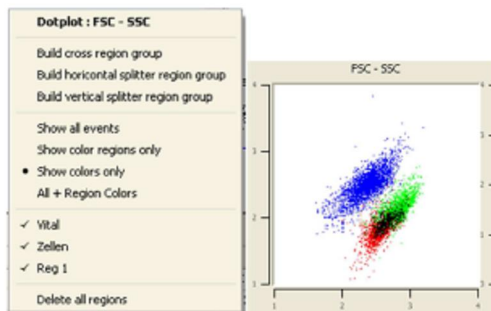
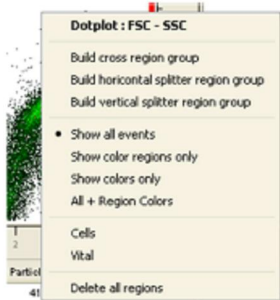
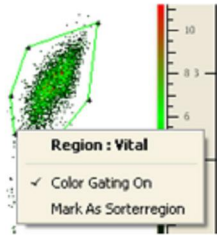
在配置文件中选择“门”。可以用<>箭头选择不同的区域。可以用“本图形名”功能将门转到其他图形中，或者用“颜色 RGB”修改颜色。点击“接受”以激活活动。





将门应用于其他图形-->

## 设门功能



要激活一个已经设定的门，可以用鼠标右键选择相应门并选择“开启彩色设门”。用鼠标右键点击任何直方图（在门外的位置）可以选择任何标记了“开启彩色设门”的已有门。

显示的选项如下：

显示所有细胞-->用 3D 颜色显示所有细胞  
仅显示颜色门-->用 3D 颜色显示选中的门中的细胞

仅显示颜色-->用门颜色显示选中门中的细胞

所有+彩色门-->显示选中门中的细胞以及所有细胞

**多重颜色**显示选项可以通过选择多重门而得到。

## 键盘/鼠标组合键

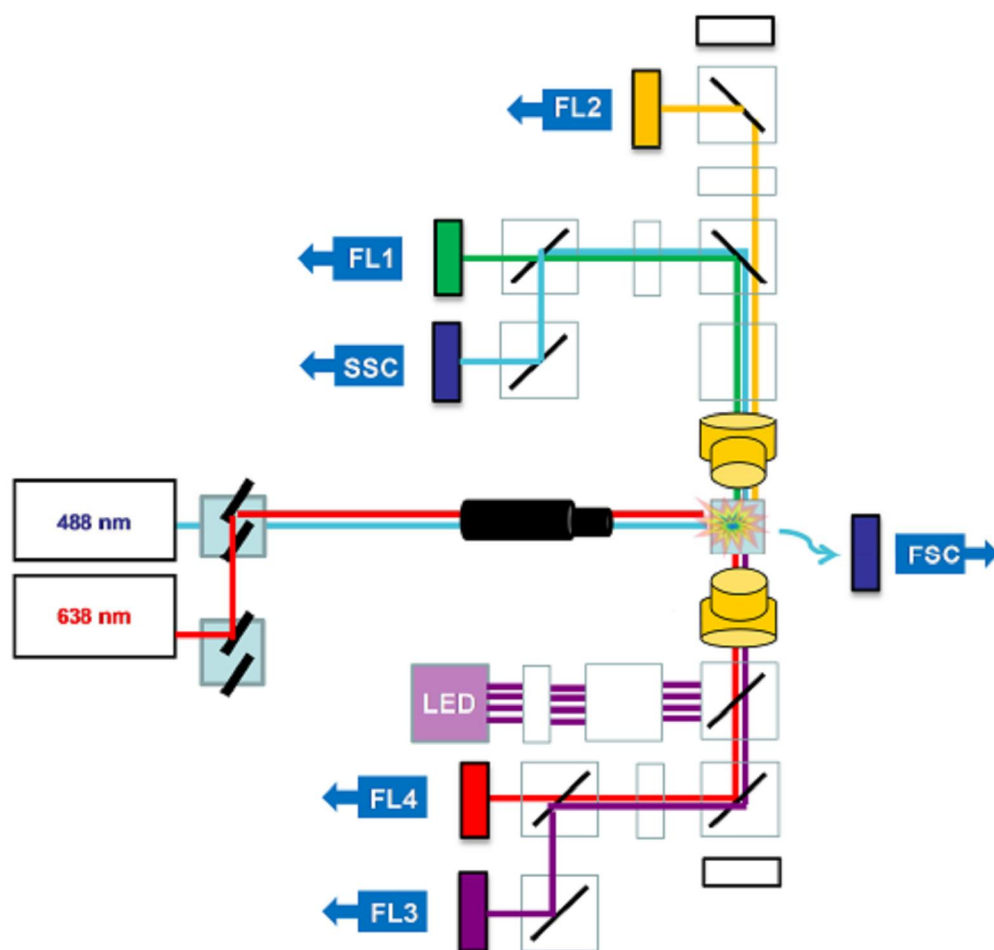
对象	动作	效果
图形	鼠标双击	打开门的编辑功能
创建门	鼠标右键点击	结束创建门
	鼠标左键点击	设定门的点
门	点击后不松开鼠标左键	以标准步骤移动门
	点击后不松开鼠标左键 + Ctrl	以小步骤移动门
	点击后不松开鼠标左键 + Shift	将门移回原位
	点击后不松开鼠标左键 + Shift + Ctrl	通过用小小的步骤向原始位置增加一个间隔来移动门
	点击后不松开鼠标左键 + M	将门名移到五个位置上（北、东、南、西、中）
门	鼠标右键+Alt	打开鼠标菜单
图形坐标	鼠标右键+Alt	打开通道配置
图形	鼠标右键+Alt	打开图形配置
门	鼠标中键	标记门并在可视范围内的图形中移动它

## 光学标准设置—参数

如因特殊的应用需要，可以通过换掉预装的可移动滤光片模块来优化光学标准设置。这一操作只需几秒钟时间而且不需要重新调节设备。

CyFlow<sup>®</sup> Cube 流式细胞仪可以配备不同的光源以及多达 8 个参数。根据光源数和光学参数的不同，可以选择不同的光学平台。

由于其模块化的概念，可以为不同的临床和科研应用提供适用的光学配置。下图所示为标准配置：



图：有 2 个激光器、UV-LED 和 6 个参数的 CyFlow<sup>®</sup> Cube 的光学平台

示例：该仪器配备了一个 488nm 蓝色固态激光器（20mW）、一个 638nm 红色激光二极管（25mW）以及一个 365nmUV-LED。

**FSC:** 前向散射

**SSC:** 侧面散射

**FL1:** 绿色荧光 荧光源：488nm 激光器(GFP)

**FL2:** 橙色荧光 荧光源：488nm 激光器(PE)

**FL3:** 蓝色荧光 荧光源：UV-LED (DAPI)

**FL4:** 红色荧光 荧光源：638nm 激光器(APC)

## 维护与检修

### 维护

用软质抹布定期清洁 CyFlow® Cube 的外壳。不能让水进入 CyFlow® Cube 或其外围设备里，或者接触到电气连接处及开关。清洁屏幕时务必使用特别的屏幕清洁剂和软质抹布。

**不要**使用任何有机溶剂、硝基稀释剂、苯、酒精、高浓度漂白剂等！

清洗流动池时请参照描述的清洗步骤。不要用工具清洗流式样品池。万一流动池堵塞，咨询 Partec 公司以便迅速更换。

定期清空废液瓶并用常温的清洁剂溶液和刷子清洗。

用蒸馏水和清洁的刷子清洗鞘液瓶，用蒸馏水冲洗若干次。请记住鞘液瓶的清洁度对于得到正确的结果也很关键。

如果会有一段时间不用 CyFlow® Cube，请用蒸馏水清洗流式系统。放入一个半满的蒸馏水样品管。清洗废液瓶和鞘液瓶，把容器口擦干。

### 检修

所有检修工作都将由经授权的维修工程师进行。有检修要求时请与您的供货商或 Partec 公司联系。

## 运输及储藏

将系统运往另一地点前，必须断开所有的外部数据和电源连接。如果使用过具有潜在生物危险性的材料，请参照 Partec 标准操作程序（SOP）进行净化处理。搬运过程中系统要正置。在运输或贮藏中要保证系统在以下条件下保存：

温度	5-50°C
湿度	相对湿度 20-85%（未凝结）
房间	清洁环境，无阳光直射

## 废弃处理

如需废弃处理产品，请参照 Partec 标准操作程序（SOP）进行净化。

净化后须按照当地法律和法规处置仪器。

如需更多信息请与当地经销商或 Partec 公司联系。

## 激光安全

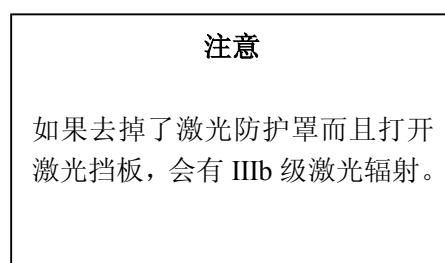
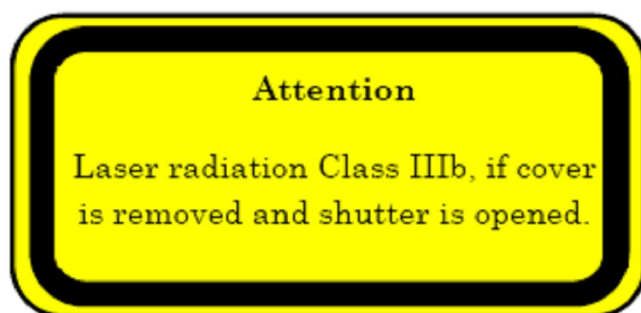
根据 EN60825-1 的规定，CyFlow® Cube 属 I 类激光产品。

### 警告：

如果去除激光防护罩，并且打开激光挡板，激光就会照射出来。因此，该系统配有以下激光安全标志：



警告：激光辐射



附加注释

## CyFlow® Cube——技术规格

注：由于技术的迅速提高，本技术规格可能会有变化，详情请咨询当地供货商。

### 1. CyFlow®计数系统

尺寸	长 500 mm x 深 470 mm x 高 355 mm
重量	约 40kg
最大声强	<70 分贝
安装/过压保护类别	2/ II 级
防护等级	IP20
操作环境	温度：15-30°C 湿度：相对湿度 20-85%（未凝结） 房间：清洁环境，无阳光直射
应用	免疫分型，DNA 分析，倍体分析，细胞凋亡，微生物学，工业应用，3 至 6 色分析。真正的定体积绝对计数=每单位体积中数目
真正定体积绝对计数	基于精确计数和机械流体量测量。不需要参照样品或者参照微球。
仪器检测	Partec 计数检测微球 Partec 校准微球 1 $\mu$ m 和 3 $\mu$ m Partec DNA 阳性对照 PI
准备时间	最多 5 分钟
参数	多达 8 个光学参数：FSC, SSC, FL1, FL2, FL3, FL4, FL5, FL6
细胞大小范围	0.1 – 50 $\mu$ m（标准流动池）
最大采集速度	25,000 细胞/秒
采集停止条件	根据细胞或者采集体积而定
触发器	可在软件中选择由所有的参数、几个参数或者单个参数触发
数据分辨率	65,536 通道（16 比特）
检修	1-3 年检修合同

保修 除滤光片、其他石英或玻璃部件、耗材及流动池之外，所有部件保修期均为 12 个月

## **2. CyFlow® Cube 光学指标**

激光器/输出	红色二极管激光器：25mW，635nm/40mW，640nm 绿色 NdYAG：30 – 100mW，532 nm 蓝色固体激光器：20 – 200mW，488nm 紫色二极管激光器：100mW，405nm 紫外二极管激光器：16mW，375nm 黄色二极管激光器：100mW，561nm 橙色二极管激光器：50mW，594nm
检测器	1-8 个 (FSC, SSC, FL1, FL2, FL3, FL4, FL5, FL6)
滤光片	根据激光器配置，适应所有参数的标准设置和滤光片
光耦合	使用高倍物镜或高倍带光胶物镜（可选，例如用于探测微弱的细胞因子）
激发光学指标	488nm 的椭圆状 15 μm x 100 μm 光束 如有需要可提供其他光束几何形状

## **3. CyFlow® Cube 流体学指标**

流动池	合成型石英流动池 (350 x 200μm)，用于对以鞘液包裹的样品进行荧光、前向和侧面散射光的探测
样品输送	由计算机精确控制的注射泵进行无污染样品输送。 内置真空泵用于废液容器。真空压力可调（由计算机控制）。
进样体积	连续进样量高达 1500μl 200μl 用于基于电极的精确绝对计数，如有需要可提供其他计数体积 500-1000μl 用于基于注射器的精确绝对计数



流速	1)进样流速在 0-10 $\mu$ l/秒范围内连续可调 2)在专家模式下鞘液流速连续可调
液体体积	2 x 1 升的一体化的鞘液瓶和废液瓶
生物安全系统	避免样品飞沫和样品交叉污染（由计算机控制）

注释: