

3.2 FACS Calibur 開機

FACSCalibur 的設計將儀器的維護工作減至最少，但是，為了保證儀器的正常運轉和測定結果的可靠，儀器開機前後仍需要進行一些必要的常規維護。

3.2.1 開機標準程序：

1. 開啟細胞儀電源。
2. 開啟其他周邊配備電源，如印表機。
3. 開啟電腦。
4. 確認鞘流液筒(4L)有八分滿的 FACS FLOW，確實旋緊。
5. 將廢液倒掉，並在廢液筒(4L)中加入總體積1/10量家用漂白水。
6. 將氣壓閥方向調在加壓（Pressurize）位置。
7. 排除液流過濾器中的氣泡。
8. 執行 PRIME 功能兩次。
9. 以Sheath buffer 或PBS buffer HIGH RUN 兩分鐘，即可開始分析樣品。

3.2.2 檢品上機前之再確認事項：

1. 是否已將檢品濃度調至 1×10^6 cells/ml？一般實驗只需 1 ml 之檢品。
2. 是否已小心地去除檢品中之細胞團塊，以防止管路堵塞？可使用附濾網 FALCON 試管 (Cat. No.352235) 或 30-50 μm 的尼龍篩網。
3. 是否已將檢品放至 FALCON 352052 試管中？試管是否有裂痕？
4. 是否已將專用鞘流液筒充填至八分滿？
5. 是否已將廢液倒掉，並在廢液筒中加入足量漂白水？
6. 是否已將液流過濾器中之氣泡排空？
7. 是否已將所有管線及管路裝置妥善？並將氣壓閥方向調至正確定位？
8. 是否已執行 Prime 兩次以將管路及 Flow Cell 中之氣泡排空？
9. 請填寫使用登記表。

3.3 FACS Calibur 關機

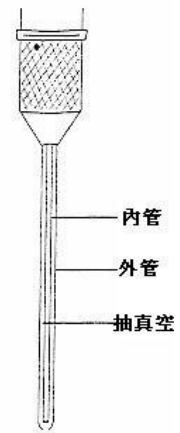
實驗結束後，請於關機前清潔上樣針的外管和內管，防止上樣針堵塞或有染料殘留。

3.3.1 執行「日常除污」與「清洗」時機：

- 如在使用了一些特殊螢光染劑（如PI、AO、TO等）後，需執行「日常除污」與「日常清洗」。
- 全血樣品如進行Lyse/No Wash分析（如 ProCount, VAC34 Stem Count），需執行「日常除污」與「日常清洗」。
- 某些樣本中含有大量蛋白成分，這些蛋白成分在上樣針中會殘留，積聚過多，會影響實驗檢測。需執行「日常除污」與「日常清洗」。
- 一般細胞株、或全血樣品進行Lyse /Wash分析，只需執行「日常清洗」。

3.3.2 「日常除污」程序

1. 執行 PRIME 功能兩次，。
2. 將樣品支持架左移。
3. 取 2 c.c. FACS Rinse 上樣品，讓儀器的真空系統抽取約1 c.c. 的液體。
4. 將樣品支持架回正，按 HI RUN，然後讓FACS Rinse 清洗管路5分鐘。
5. 取 2 c.c. dH2O 上樣品，重覆上述步驟1-3。



3.3.3 「日常清洗」程序 應用時機：關機前必要動作（嚴格要求）。

6. 執行 PRIME 功能兩次。
7. 將樣品支持架左移。
8. 取 2 c.c. FACS Clean 上樣品，讓儀器的真空系統抽取約 1 c.c. 的液體。
9. 將樣品支持架回正，按 HI RUN，然後讓FACS Clean 清洗管路5分鐘。
10. 取 2 c.c. dH2O，重覆上述步驟1-3。
11. 注意最後只留約 1 c.c. dH2O 在試管中。

3.3.4 FACS Calibur 關機

10. 按Standby 以冷卻雷射，Standby五分鐘後關閉細胞儀。（務必等五分鐘後再關 FACS Calibur 電源，以延長雷射光源壽命。）
11. 倒掉廢液。
12. 將氣壓閥放在「漏氣」位置。將鞘流液筒充填至八分滿。
13. 確認退出電腦中所有BD應用軟體，所有數據資料已儲存備份。關程式“File” → “Quit”（選擇“Don't save”）

14. 關閉蘋果電腦。“Special” → “Shutdown”。

3.3.5 清洗液的選擇

- FACS Clean 清洗液：流式細胞儀的常規清洗用液，直接使用，可有效去除儀器管路內的樣本、染料等造成的污染。
- 漂白水—NaClO 溶液：流式細胞儀的常規清洗用液。目前市場上的漂白水有效氯濃度多為 5-10%，製配成 10% 並經 0.45mm 濾膜過濾後備用。
- FACS Rinse 清洗液：流式細胞儀的清洗液，直接使用，可有效去除儀器管路內積聚的蛋白成分。
- 表面活性劑—Triton：使用濃度為 0.1%，0.45mm 濾膜過濾後備用。使用表面活性劑時，注意上樣管中不要加滿，也不要反沖，防止操作不當造成液體進入氣路，或進入壓力控制器。
- 蒸餾水：為了防止管路內殘留有清洗液，形成結晶或造成管路介面的腐蝕，在使用清洗液清洗完畢後，一定要用蒸餾水，再次沖洗管路。0.45mm 濾膜過濾後備用。

BD FACS Rinse 與 FACS Clean～專為細胞儀日常除污與清潔設計。

- 生物檢品常含有核酸蛋白質，細胞碎片等，容易在管路與流動室中堆積，造成低解析度、低敏感度、高CV值降低分選效能等。FACS Rinse 與 FACS Clean可為您解決上述問題。
- FACS Rinse 是除污用清潔劑，可去除核酸蛋白質堆積物，通暢管路。
- FACS Clean 是清潔用，以漂白水為基質，可消毒生物危險性檢品，清淨管路，是日常清洗必用溶液。即時可用配方。

BD FACS Flow 鞘流液～專為流式細胞技術設計之平衡緩衝液。

- 即時可用配方，不須溶解，毋須稀釋。
- 製程中以0.1 um 的濾紙過濾，保證無鹽粒。
- 降低血球細胞的自體螢光。
- 絕不含 Sod Azide 防腐劑。
- 可回收 20 公升包裝。

每月維護

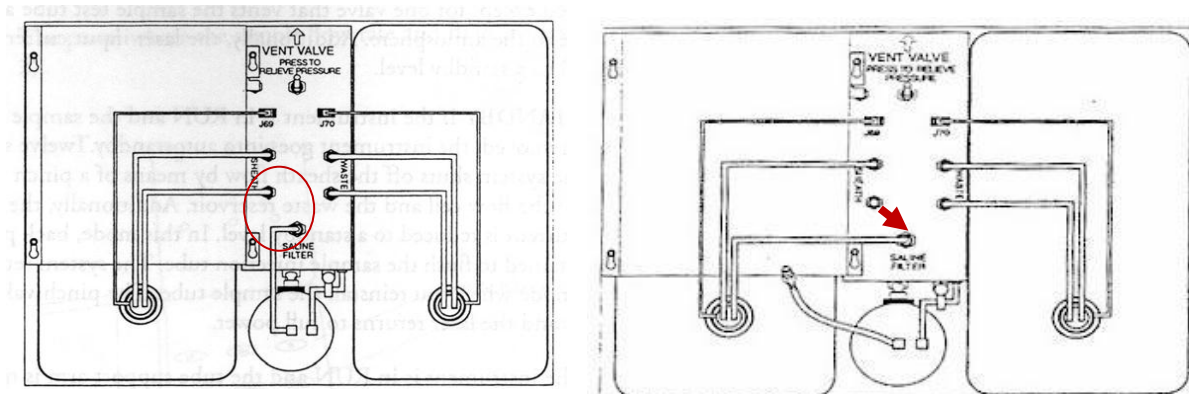
流式細胞儀使用一段時間後，在鞘液管路、廢液管路和流動池中會有殘留的碎片、污染物等，因此，需要定期清洗管路，要求至少每個月做一次，如果處理樣本量很大，或經常使用附着性染料（如PI、AO等），則需要增加管路清洗頻率。清潔管路時使用含有效氯（NaClO）濃度為1-2%的稀釋漂白水。注意用漂白水清洗管路完畢後，必須換蒸餾水，再次沖洗管路，以防止管路有漂白水殘留。

3.4.1 使用時機：

- 此程序應列入貴科／室／所之標準作業程序，並應確實登錄執行日期。
- 執行 FACS Comp 時，發現螢光訊號的敏感度下降時，如 FSC Sensitivity 下降。
- 分析樣品時，發現螢光訊號之背景值升高，懷疑是管道不淨所致時。

3.4.2 月保養程序：

1. 在儀器減壓後，取下鞘液筒，倒空。如有必要，應清洗鞘液筒。
2. 用備用的鞘液筒，裝一公升 FACS Clean，取代原有鞘液筒。
3. 如下圖，釋放來自過濾器的出水接頭，並將原來鞘液筒的出水接頭，接到原來過濾器的出水接頭的入口。如此可將鞘液濾器短路(bypass)，使鞘液不流經濾器，直接沿鞘液管路進入流動室。
※注意此步驟重要，避免Clean流經過濾器造成損害，若過濾器遭損壞則需要更換※
4. 以 2 ml FACS Clean 為樣品，HI RUN 20分鐘。
5. 取下FACS Clean樣品。
6. 取另一備用鞘液筒，內裝兩公升dH2O，安裝妥當。
7. 以 2 ml dH2O為樣品，HI RUN 20分鐘。
8. 裝回原來的鞘液筒（含FACS Flow者）。
9. 將液流過濾器的接頭恢復原狀，確認接卡筍密合。
10. 如無需分析樣品，PRIME 兩次，Standby 5分鐘後，即可關機。



越過液流過濾器

5 定期維護保養

儀器管理人需要定期進行儀器檢查和清潔，這裏主要談一談空氣濾網的清潔：空氣濾網位於鞘液筒上方，可以用吸塵器或水洗的辦法清潔。空氣濾網需要定期檢查，發現濾網髒了，就需要清洗了。

1. 外抽取下空氣濾網。
2. 清潔濾網，如果水洗處理，應等濾網完全乾了以後，再進行安裝。
3. 裝回濾網，將其慢慢推回原位。安裝時注意濾網的方向，氣流由下往上通過。

需定期更換耗材與更換時機：

需定期更換耗材	更換時機	BD目錄號
FACS Flow	上機用平衡緩衝液。體積 20公升。	342003 (騰達行 02-27202215)
FACS Clean	專為細胞儀日常清潔設計。體積 5 公升。	340345 (騰達行 02-27202215)
FACS Rinse	專為細胞儀日常除污設計。體積 5 公升。	340346 (騰達行 02-27202215)
液流過濾器 saline filter	每半年。	343542 (BD 0800211528)
Laser Filter	每年。	343537 (BD 0800211528)
Bal Seal	樣品管會漏氣時。上樣品時覺得鬆鬆的。	343509 (BD 0800211528)
FACS Flow 用水龍頭	As needed.	343532 (BD 0800211528)
鞘液筒 & 廢液筒	會漏氣時。	343665 (BD 0800211528)
新鞘液筒蓋	會漏氣時。	344283 (BD 0800211528)
Falcon 2052 試管	上機專用試管。	Falcon 2052 (騰達行 02-27202215)
印表機紙張	用罄時。	(請自行向電腦周邊器材供應商購買)
印表機墨水	用罄時。	(請自行向電腦周邊器材供應商購買)