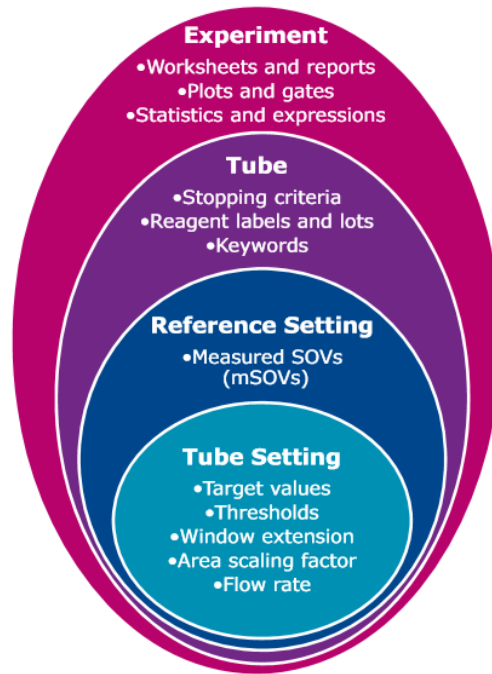


# BD FACSLyric™



- Tube Setting
  - Target Values
  - Thresholds
  - Window extension
  - Area scaling factor
  - Flow rate
  
- Reference Setting
  - Measured SOVs
  
- Tube
  - Stopping criteria
  - Reagent labels and lots
  - Keywords
  
- Experiment
  - Worksheets and reports
  - Plots and gates
  - Statistics and expressions



## 設定新的實驗條件 (Tube Setting)

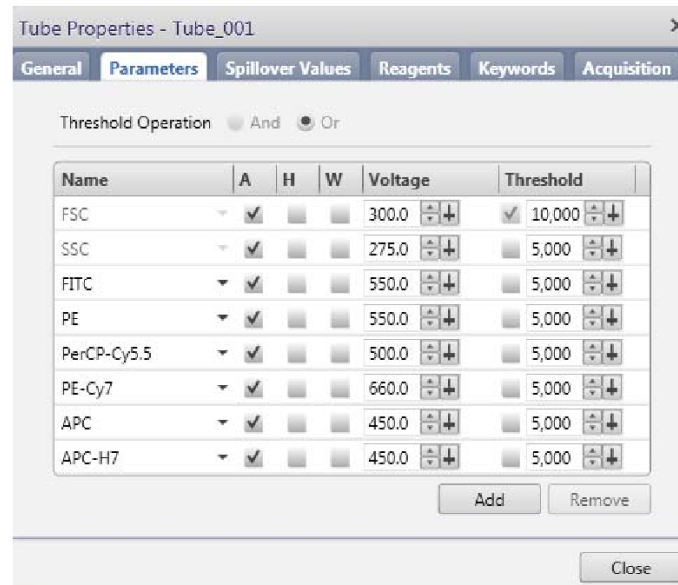
### 開啟新的實驗

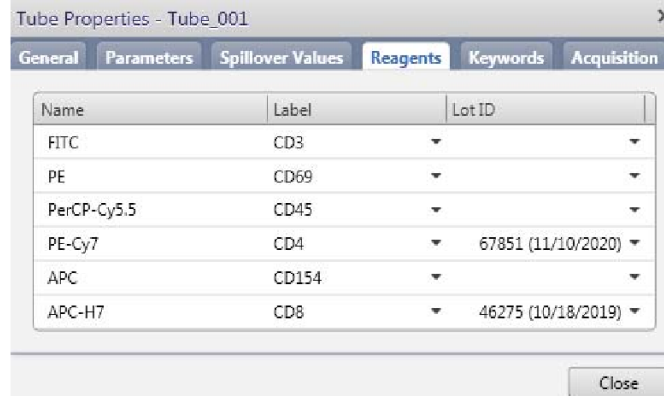
1. 於 Experiment Browser 內，點選 New，開啟新的實驗本
2. 選擇 File→Rename 更改實驗本名稱
3. 點選 ok



### 調整 Tube Properties

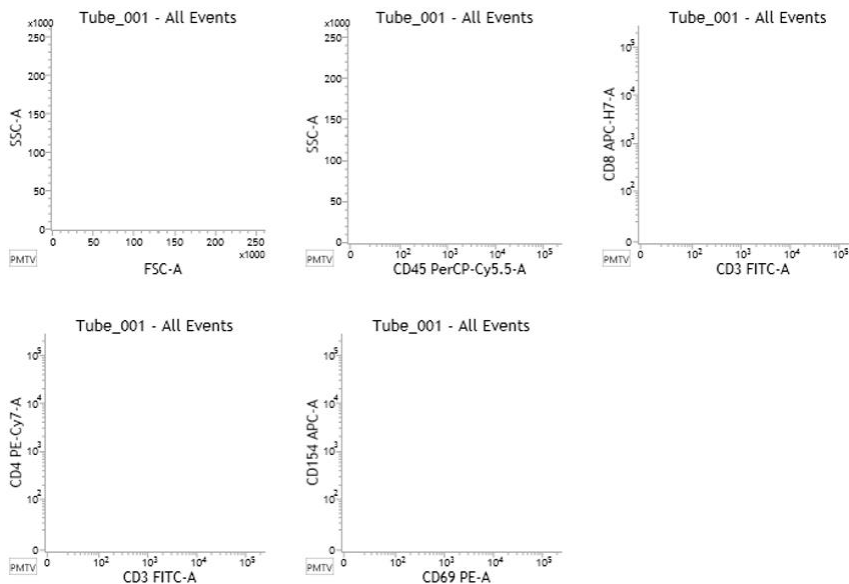
1. 點兩下 Tube-001，開啟 Tube Properties
2. 在 Parameter 視窗中，確認欲使用之參數
3. 在 Reagents 視窗中，輸入抗體名稱，或是 Lot ID





### 開啟 Plots 以便觀看數據獲取

1. 新的實驗本中，已開啟內建 FSC vs SSC 的散點圖(dot plot)
2. 於 Worksheet 上方工具列，點擊 Create dot plot，右鍵選擇 x 軸參數及 y 軸參數。



### 優化設定

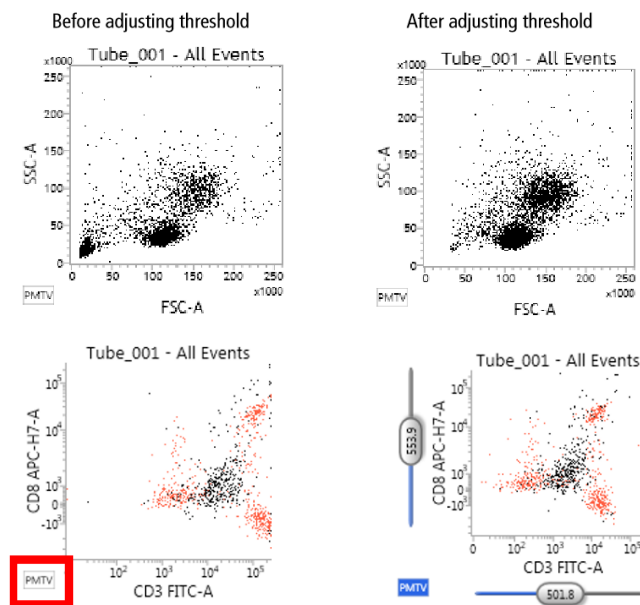
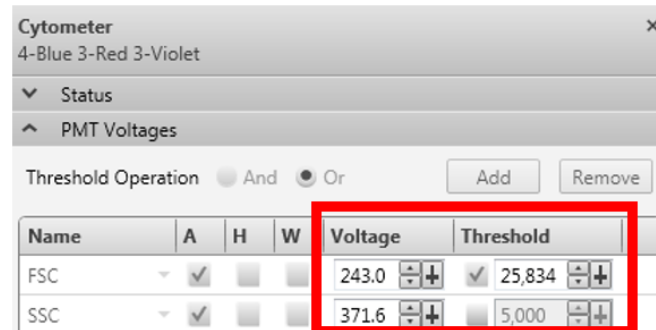
#### 預覽數據

1. 將未染色樣品放置上樣區
2. 於 Data Sources 內，確認 Run Pointer 位於 Tube.001
3. 點選 Preview，預覽樣品



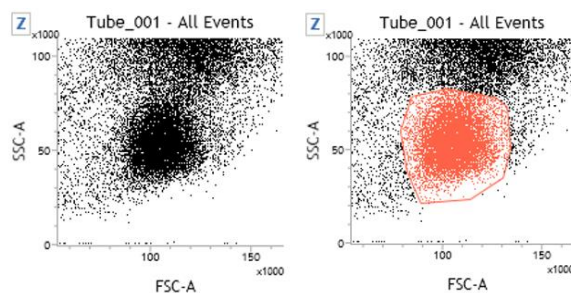
## 優化 FSC, SSC PMT 電壓及 Threshold

1. 於 Cytometer 視窗中，調整 FSC 及 SSC 的電壓，或點選 Plot 左下角的 PMTV，利用滑軸調整 FSC, SSC 的電壓，可在點擊 PMTV 以隱藏滑軸。
2. 若需要，可調整 FSC Threshold 以排除細胞碎片。



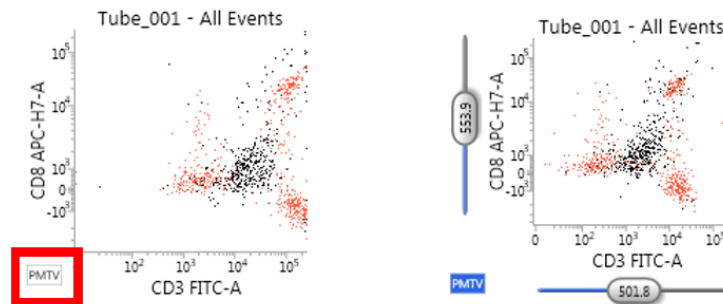
## 圈選目標細胞群

1. 於 Worksheet 工具列中，點選 Polygon Gate
2. 於 FSC-A vs SSC-A 依目標細胞群的分布點選，建立多邊形的圈選
3. 連點兩下以完成圈選



## 優化螢光參數之 PMT 電壓

1. 調整每個您有使用的螢光參數 PMT 電壓, 或點選 Plot 左下角的 PMTV, 利用滑軸調整 FSC, SSC 的電壓, 可在點擊 PMTV 以隱藏滑軸.



2. 於 Data Sources 中, 點選 Stop 以停止進樣.

## 建立 Tube Setting

1. 確認流速為 Medium.  
(由於流速為 Tube Setting 儲存參數之一, 故確認您的流速是非常重要的)
2. 於 Data Sources 中, 右鍵點選 Tube\_001, 選擇 Create Tube Setting.
3. 確認選擇正確的 CS&T lot ID.
4. 將 CS&T Beads 管放置於上樣區, 並點擊 Acquire.
5. 當數據收取完成, 請於 Tube Setting Name 為您的實驗設定命名.
6. 點選 Finish.
7. 移除 CS&T Beads 管, 並放上 DI water.

The screenshot shows the 'Create Tube Settings' dialog box. It contains the following text: 'Enter the name of the Tube Settings. Optionally you may provide a short description. Click Finish when done.' Below this, there is a text input field for 'Tube Settings Name' containing '6 color Stimulation GH' and a larger text area for 'Description'. At the bottom, there are 'Finish' and 'Cancel' buttons.

## 建立 Reference Setting(螢光補償)

1. 右鍵點擊 Tube\_001，並選擇 Create Reference Setting.
2. 於 Create Reference Setting 視窗中:
  - a. 確認 CS&T Bead Lot ID.
  - b. 選擇您要使用的螢光參數.
  - c. 於 Control Type 選擇 FC (fluorescence controls).
  - d. 於 Unstained 選擇 Unstained(系統會單獨多一管 unstained tube，用於多個螢光的 unstained control)或空白(unstained control 會比照同管螢光單染內的 negative)
  - e. 點選 Next.
3. 將 CS&T Beads 管放置上樣區.
4. 當 CS&T 數據獲取完成後，會出現綠色的符號，並要求放置下一管樣品.
5. 當您將每個單染樣品完成數據獲取時，點選 Next.
6. 為您的 Reference Setting 命名.
7. 點選 Finish.

Create Reference Settings □ ×

Select the controls and lot IDs that will be used to create Reference Settings.  
Click Add or Delete to modify which tubes to run.  
Acquisition will start when Next button is clicked.

---

CS&T Beads

CS&T Bead Lot ID: 17884 (Expires: 2/28/2020) ▾

Control Tubes

Fluorochrome	Control Type	Label	Lot ID	Unstained		
FITC	▼ CompBeads	▼ Generic	▼	▼		▼
PE	▼ CompBeads	▼ Generic	▼	▼		▼
PerCP-Cy5.5	▼ CompBeads	▼ Generic	▼	▼		▼
PE-Cy7	▼ CompBeads	▼ CD45RA	▼ 546873 (5/11/2018)	▼		▼
APC	▼ CompBeads	▼ Generic	▼	▼		▼
APC-H7	▼ CompBeads	▼ CD8	▼ 46275 (10/18/2019)	▼		▼
BV421	▼ CompBeads	▼ Generic	▼	▼		▼
BV510	▼ CompBeads	▼ Generic	▼	▼		▼

---

Create Reference Settings

Print Save As PDF

Event Rate: 0 evts/sec Total Events: 58168 evts Elapsed Time: 00:00:44

- CS&T Beads
- FITC (CompBeads)
- PE (CompBeads)
- PerCP-Cy5.5 (CompBeads)
- PE-Cy7 CD45RA 546873 (CompBeads)
- APC (CompBeads)
- APC-H7 CD8 46275 (CompBeads)
- BV421 (CompBeads)
- BV510 (CompBeads)

SSC-A x1000

Count

250 x1000

100

50

0 10<sup>1</sup>

Next Tube

Please unload CS&T Beads tube (lot # 17884) from the cytometer. Please load the FITC (CompBeads) tube on the cytometer.

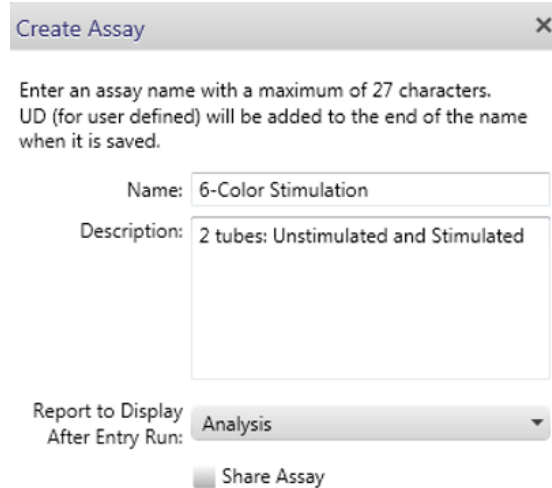
Cancel

Acquire Previous Next Cancel



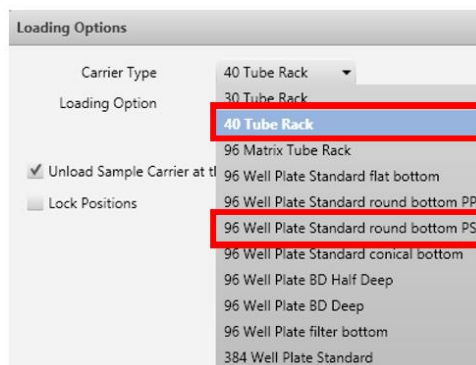
## 於實驗本中建立 Assay

1. 將實驗本中需要之樣品管的數量及名稱設定好。  
(如 6 色實驗中, 共有 8 管樣品要記錄數據: 有 unstained 1 管, single staining 6 管, all stain 1 管)
2. 於實驗本中, 點選 File · 選擇 Create Assay.
3. 輸入 Assay 名稱及相關敘述 · 點選 ok.



## 建立 Worklist

1. 於瀏覽列中, 點選 Worklists.
2. 於 Manage Worklists 工具列中, 點選 New 新建一個新的 Worklist.
3. 於 Loading Options 中, Loading options 選擇 Universal Loader ; Carrier Type 選擇 40 Tube Rank.
4. 將資訊輸入於 Worklist Entries 中.
  - a. 在 Task 選單中, 選擇您要執行的 Assay.
  - b. 在 Sample ID 欄位中, 將樣品的名字輸入.
  - c. 若有其餘樣品, 可於下一個欄位中, 選擇您要執行的 Assay 及樣品名字.
5. 重新命名 Worklist.
  - a. 選擇 File · 選擇 Rename 即可命名.
  - b. 點選 ok.



Worklist Entries				
	Sample ID	Task	Status	Location
▶ 1	Customer 1	6-color Stimul.	Ready	-
▶ 2	Customer 2	6-color Stimul.	Ready	-
▶ 3		Perform Daily	Ready	-

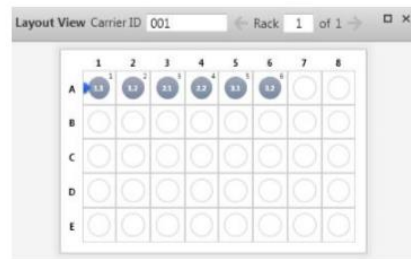
利用 Worklist 獲取數據

1. 放上 Carrier.

您的樣品應該如 Layout View 所示的位置擺放。

- 點選 Load.
- 將您的 Carrier 放置在 Loader.
- 點選 Continue.

40-Tube Rack



- 確認 DI Water 放置在手動上樣區的位置.
- 點選 Run All.