

NovoCyte Quanteon 标准操作流程

1. 开机前检查

- 液路系统

- 确认鞘液 (NovoFlow 绿色; 鞘液: 超纯水)、清洗液 (NovoClean 黄色)、冲洗液 (NovoRinse 蓝色) 液面 $\geq 1/3$, 废液桶 $< 2/3$ 。
- 若液位报警, 添加对应桶中液体 (注意擦干瓶身防传感器误报)。

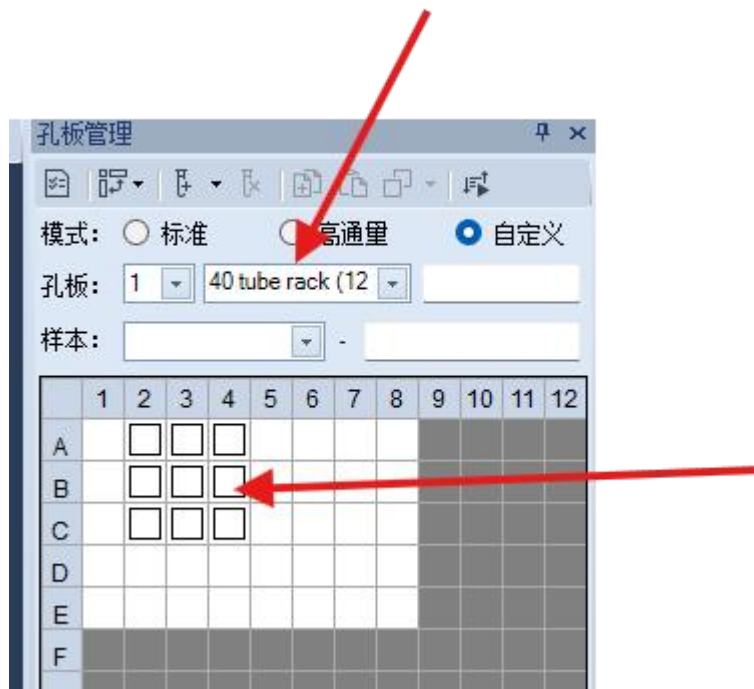
1. 开机顺序

刷卡上机, 按下主机前面板电源按钮 (绿灯闪烁→长亮)。启动电脑, 登录 NovoExpress (默认管理员账号/密码: administrator/administrator)。初始化完成后, 状态栏显示绿色“就绪”图标。

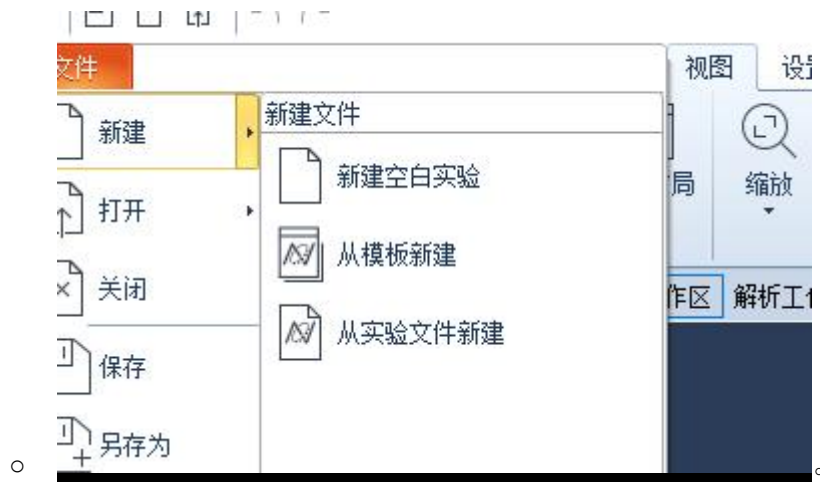
2. 实验设置

- 新建实验

- 首次实验, NovoExpress 启动后默认新建一个实验文件 (未命名实验.ncf), 扩展名“.ncf”表明该文件为安捷伦流式细胞仪实验文件, 点击孔板管理, 选择对应孔板类型, 放置样本后鼠标左键拉拽对应位置, 右键新建样本。



- 若之前已在 quanteon 上做过实验, 点击“新建实验”→从实验文件新建, 提取模板后快速采集。



- **参数配置**

- **通道选择**：在“仪器设置→参数”中勾选所需通道（如 FSC/SSC H +A，荧光通道 FITC/PE/PerCP/APC）。
- **电压调节（可选）**：即增益首次实验建议使用默认电压（大部分实验适用），后续根据阳性群位置调整

仪器设置					
参数:					
参数	别名	增益	A	H	
FSC	FSC	400	☒	☒	
SSC	SSC	400	☒	☒	
B530	CD3 FITC	353	☒	☒	
B572	CD8 PE	389	☒	☒	
B615	PE-Texas Red	368	☐	☐	
B667	CD45 PerCP	396	☒	☒	
B695	PE-Cy5.5	458	☐	☐	
B725	PerCP-eFluor 710	321	☐	☐	
B780	PE-Cy7	145	☐	☐	
R667	CD4 APC	499	☒	☒	
R695	Alexa Fluor 680	523	☐	☐	
R725	Alexa Fluor 700	365	☐	☐	
R780	APC-Cy7	176	☐	☐	
V445	Pacific Blue	354	☐	☐	
V530	AmCyan	362	☐	☐	
V572	Pacific Orange	389	☐	☐	
V615	Qdot 605	409	☐	☐	
V667	Qdot 655	424	☐	☐	
V695	Qdot 705	490	☐	☐	
V725	BV711	286	☐	☐	
V780	Qdot 800	145	☐	☐	

- **阈值设置:** FSC-H > 100,000 (排除碎片), 可结合荧光通道二次阈值 (如 CD45+)。
常规细胞样本阈值为 100000, 可根据样本直径适当调整

阈值:		在图上调整		☒
FSC-H	大于	100,000		
-	大于	10		
存储门	Ungated			

标准微球大小	阈值条件
0.1 μm	SSC-H 700 (增加 SSC 增益可提高分辨率)
0.2 μm	SSC-H 1,000
0.5 μm	FSC-H 500
2 μm	FSC-H 50,000
>10 μm	FSC-H 500,000

- **停止条件：**事件数（如 5000 个淋巴细胞）+体积（必选，如 50 μL ）双重限制。

- **流速：**低速（14 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）用于高分辨率（如 DNA 分析）；中速（35 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）适用于绝大多数普通实验；高速（66 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）用于筛选实验。

• 补偿设置

- **自动补偿：**新建“补偿标本”→导入单染 FCS 文件或采集单染管→软件自动计算矩阵。

在“开始”菜单中点击“自动补偿”，或用鼠标右键点击“实验管理”面板的文件名称，选择“新建自动补偿…”，打开“新建自动补偿”窗口。在该窗口可以选择自动补偿的方法和参数。补偿矩阵的计算可以基于高度或面积参数，以阳性群和阴性群信号的均值或中值计算。**按照准备的未染色样本和单染样本选择通道。（若电压调节时有改变电压值一定记得更改电压值）**

新建自动补偿

×

☐ 从 FCS 文件导入样本

补偿在:

☐ 面积
 ☒ 高度

统计项:

☐ 均值
 ☒ 中值

选择通道:

☒ Unstained
 ☒ All [重置全部探测器增益](#)

☒ FSC FSC 400
 ☐ R725 Alexa Fluor 700 365

☒ SSC SSC 400
 ☐ R780 APC-Cy7 176

☒ B530 FITC 353
 ☐ V445 Pacific Blue 354

☒ B572 PE 389
 ☐ V530 AmCyan 362

☐ B615 PE-Texas Red 368
 ☐ V572 Pacific Orange 389

☒ B667 PerCP 396
 ☐ V615 Qdot 605 409

☐ B695 PE-Cy5.5 458
 ☐ V667 Qdot 655 424

☐ B725 PerCP-eFluor 7 321
 ☐ V695 Qdot 705 490

☐ B780 PE-Cy7 145
 ☐ V725 BV711 286

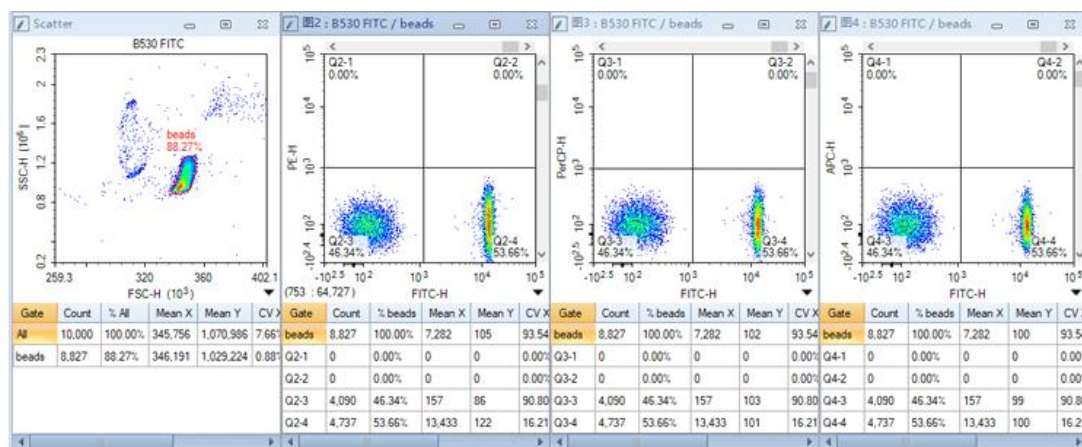
☒ R667 APC 499
 ☐ V780 Qdot 800 145

☐ R695 Alexa Fluor 680 523

确定

取消

- 手动补偿：在双变量图中拖动补偿滑块，使阳性/阴性群中位数对齐（需单染样本）。补偿调节的过程也可以通过点击菜单“开始”→“补偿矩阵”调出当前样本的溢出矩阵，不断调整溢出矩阵中相应单元格的溢出系数来实现



荧光补偿 - CD3_CD8_CD45_CD4

补偿矩阵 溢出矩阵

	CD3 FITC	CD8 PE	CD45 PerCP	CD4 APC
CD3 FITC	100	7.5352	0	0
CD8 PE	3.1115	100	11.3499	0
CD45 PerCP	0	0	100	31.6669
CD4 APC	0	0	0.4516	100

+ % CD3 FITC

预览 清除 还原 确定 取消

3. 样本准备与上样

- 样本处理

- 样本过 300 目滤网，避免团块；上样前轻弹混匀，检查是否有絮状物。
- **死体积**：注射器上样需预留 10 μ L/30ul 死体积（如预抽 100 μ L，样本体积 $\geq$ 110 μ L，勾选绝对计数后死体积增加为 30ul）。

- 上样操

1. 将样本管置于试管架，点击“采集”→仪器自动吸样。
2. **实时监测**：观察事件率（events/s），若突然降为 0 或流速异常，立即停止，执行“清除堵塞”。（若流动室堵塞，仪器会自动停止实验，并执行清楚堵塞的操作）
3. **回收样本**：勾选“回收剩余样本”，采集结束后剩余样本返回原管。

4. 数据采集与监控

- 图形优化

- 使用自动范围寻找分析细胞，修改坐标轴，优化图像



- 使用“放大/缩小”工具聚焦目标细胞群。

- 命名规范

- 样本名称需包含标记抗体（如“CD3_CD8_CD45_CD4”），避免混淆。

5. 数据分析

- 设门分析

NovoExpress 有丰富的数据分析功能，图形类型包含散点图、密度图、柱状图、等高图、细胞周期图、细胞增殖图、双变量图，门的类型包含矩形门、椭圆形门、多边形门、手绘门、象限门、逻辑门、区域门、双区域门。通过点击工具栏上相应图标，可以创建相应的图形或门。

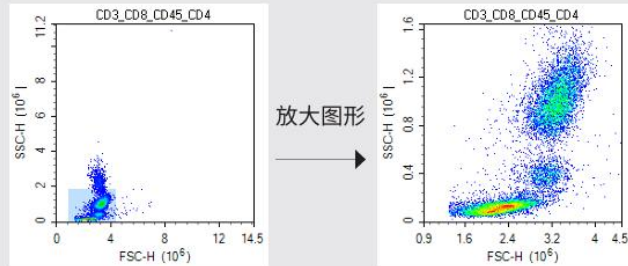


- 分析数据

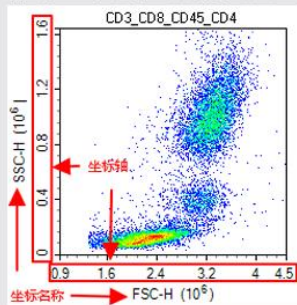
分析数据

1. 画图

- 1 选择点击  (散点图)、 (密度图)、 (柱状图) 或  (等高线图) 图标做图。图形显示当前样本的数据。
- 2 图形的放大和缩小。
 - ▶ 点击“放大”, 在图形上拖动鼠标, 可将图形放大到鼠标拖动的范围。在坐标上拖动鼠标, 可仅在该坐标方向放大图形。
 - ▶ 点击“缩小”, 在图形上点击鼠标, 可将图形缩小, 多次点击, 逐步缩小。在坐标上点击, 可仅在该坐标方向缩小图形。
 - ▶ 点击“自动范围”, 软件根据门限内数据自动计算并设置参数的合适范围。
 - ▶ 点击“全范围”, 将坐标范围设置为参数的最大有效范围。



- 3 右键点击坐标名称 (例如: FSC-H), 从下拉菜单选择该图需要显示的参数, 该下拉菜单显示“仪器设置”中选择的所有参数。



- 4 荧光通道参数别名可以通过点击“仪器设置”面板中的参数“别名”进行修改。也可以左键点击图形坐标名称直接修改。
- 5 右键点击坐标轴, 从下拉菜单选择坐标显示比例 (线性、对数、双指数) 和显示范围 (自动范围、全范围)。也可以在“设置”中自定义显示范围。
- 6 点击图形右下角的箭头 ( 或 ) , 可以显示或隐藏统计数据。
- 7 在图形上做的任何修改都只改变数据显示, 不会改变数据本身。

所有图形和统计数据均可以复制、粘贴到 Microsoft Office 文档。

2. 设门

- 1 点击需要设的门类型,  矩形门,  椭圆门,  多边形门,  十象限门,  逻辑门,  区域门,  双区域门, 在图形上点击拖动, 设置门的区域, 圈出感兴趣的目标细胞群。
 - 2 双击门的标签可以对门进行重命名。
 - 3 右键点击图形上方的样本名称, 从下拉菜单中选择该图需要应用的门。
- 通过逻辑门可以灵活设定已有门的各种组合。

3. 导出/导入模板

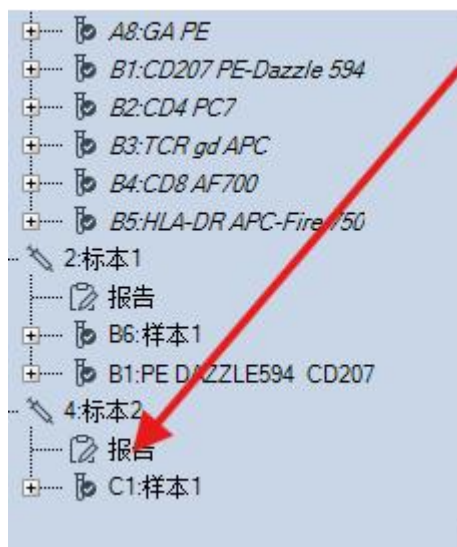
- ▶ 导出/导入模板: 在“实验管理”面板右键点击标本或样本名称, 选择“导出”→“做为模板导出”或者“导入”→“导入模板”。
 - ▶ 模板应用: 在标本或样本名称上按住鼠标左键, 拖动到另一个标本或样本名称, 可直接实现模板应用。模板应用也可以通过右键菜单的“复制模板”(样本)、“复制”(标本)和“粘贴”实现。
- NovoExpress™ 中, 样本节点下的“仪器设置”、“荧光补偿”、“报告”和“分析”, 可以捆绑在一起作为模板应用到其他样本, 也可以单独作为模板应用。标本模板是属于该标本的所有样本模板的总和。在 NovoExpress™ 中, 每个样本都有独立的分析, 数据和分析保存在一个实验文件 (*.ncf) 中。

4. 导出/导入 FCS 文件

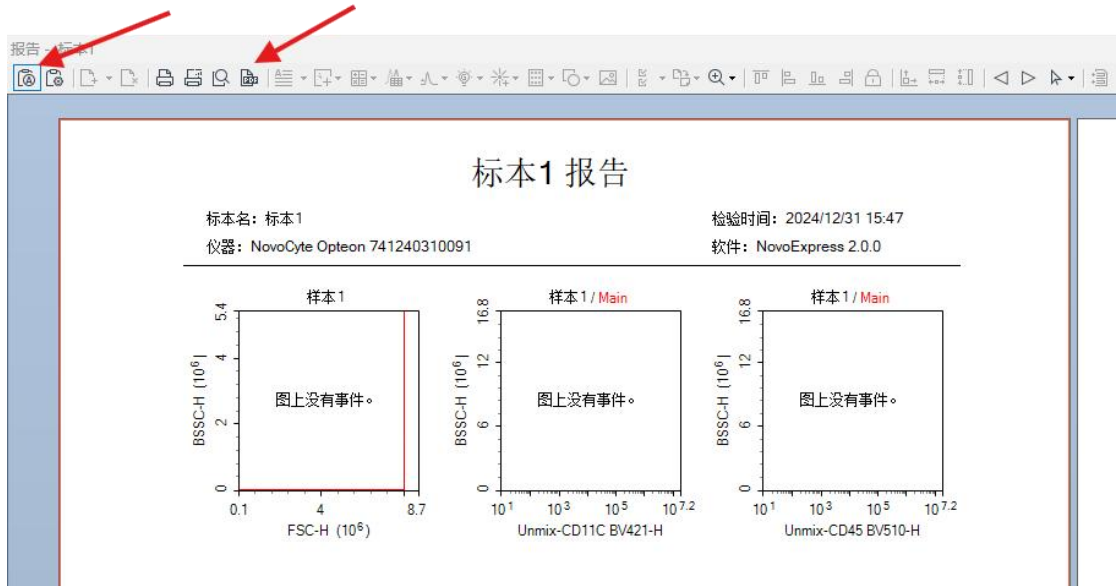
- ▶ 导出 FCS 文件: 在“实验管理”面板右键点击实验文件名称、标本或样本, 选择“导出 FCS 文件”。
 - 导出 FCS 文件时选择 FCS 2.0 格式有助于某些第三方软件更好的选择合适范围显示图形。
 - 在文件名或标本上点击, 可快速将整个文件中或某个标本下所有样本的 FCS 文件导出。
- ▶ 导入 FCS 文件: 在“实验管理”面板右键点击实验文件名称、标本或样本, 选择“导入 FCS 文件”。

自动报告

点击样本/标本下的报告既可打开报告,



根据需要开启或关闭自动报告模式，点击 PDF，导出报告 PDF 版本。



6. 关机与维护

- 日常关机

- 采集结束后，选择仪器，液路维护，清洗，当天后面没有预约一键关机，刷卡下机。清空废液桶，登记使用记录（委托用户注意登记通道数和委托样本数）

