

BD 生物科学北京卓越中心
COE, BDBiosciences, Beijing, China

BD FACSMelody 培训手册



目 录

FACSMelody 系列培训所需设备/试剂.....	1
FACSMelody 日常开机程序	2
FACSMelody 仪器自动校准流程.....	5
荧光补偿计算.....	8
双色淋巴细胞亚群检测	11
分选设置	18
FACSMelody 日常关机程序	20
FACSMelody 系列日常保养和维护	22
FACSMelody 系列仪器使用的微球和试剂	25
Troubleshooting	26

FACSMelody 系列培训所需设备/试剂

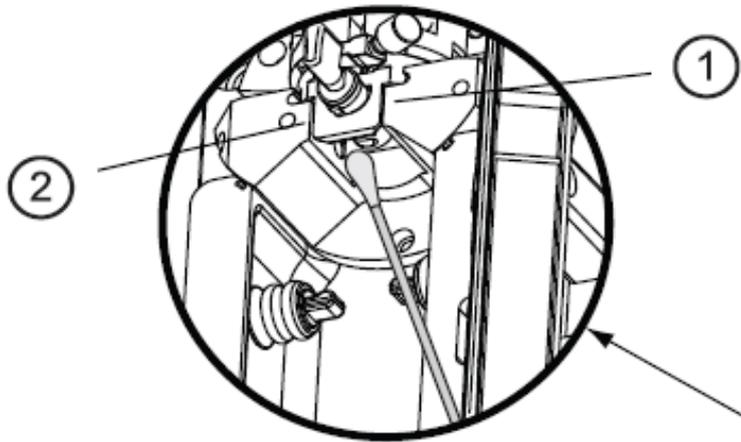
1. 普通低速离心机（实验要求：300g（1000~1500rpm），能离心 12X75mm 的 5ml 试管）；
2. 加样器及相应加样头若干：20ul，50ul，100ul，200ul，250ul，450ul，1ml；
3. 涡旋混匀器；
4. 烧杯，量筒或移液管，三个清洁的玻璃或带盖塑料试剂瓶（50-100ml），一个棕色瓶（约 500ml），漏斗，滤纸；
5. 300 目过滤尼龙网；
6. 可放置 12X75mm 的 5ml 试管的试管架 3 个；
7. 超声波清洗机；
8. 无棉棉签；
9. 擦镜纸；
10. PBS 溶液和蒸馏水（实验要求：0.22 μ m 滤膜过滤，高压灭菌（无菌分选））；
11. FACSClean 洗液；
12. 2ml 抗凝的人血样本/实验（最好是 EDTA-K₃ 抗凝）；
13. 多聚甲醛。

FACSMelody 日常开机程序

- 1、确保房间温度控制在 $22^{\circ}\text{C} \pm 1.5^{\circ}$
- 2、开机前开启压力泵，检查压力表的读数是否大于 100Psi。
 - A， 检查鞘液桶是否满，千万不能用摇晃鞘液桶来判断鞘液的多少，打开鞘液桶的盖子检查鞘液的量；
 - B， 或通过软件检查剩余时间。
- 3、添加鞘液时千万不要超过鞘液桶的提示线，同时要离提示线至少 0.5 厘米（（建议使用 BD 公司的 FACSFlow， 否则会导致 CS&T 失败）。
- 4、检查废液是否满，至少留 2/3 的余量。
- 5、打开压力泵开关，按下仪器前的红色电源开关；



- 6、开启电脑，输入密码“BDIS#1”，启动 BD FACSCorus 软件，输入用户名（Admin）及密码（FACSMelody#1）登陆；
- 7、仪器自动进行系统启动，显示“connected”，表明联机成功；
- 8、双击 TTerm，按下仪器开关，观察 TTerm 内是否有显示，如果 2 分钟以上没有显示内容，关掉机器，等 1 分钟后重新开机。
- 9、打开 Chorus 软件，打开左边菜单下方的“Stream”，观察图像上是否有漏水现象，如果漏水用干棉签将水吸干，千万不要上下左右用力，特别注意不要擦洗右边的小窗，用棉签蘸水轻微擦洗喷嘴下方，最后用干棉签将水吸干。见下图



10、 启动液流，在软件打开的界面上，选择“Run Daily Fluidics Startup”，按照屏幕上显示的提示操作，绿色的对勾表明成功完成了各项任务，否则会出现相应的错误信息；

Cytometer Connection ✔ Connected	Sheath Tank ✔ 17 hr 57 min remaining	Waste Tank ✔ OK
Last Shutdown: 03/01/2017 4:13 PM Type: Daily		
Last Fluidics Startup: 03/01/2017 4:51 PM Type: Daily		

Run Daily Fluidics Startup
Run Extended Fluidics Startup
Skip

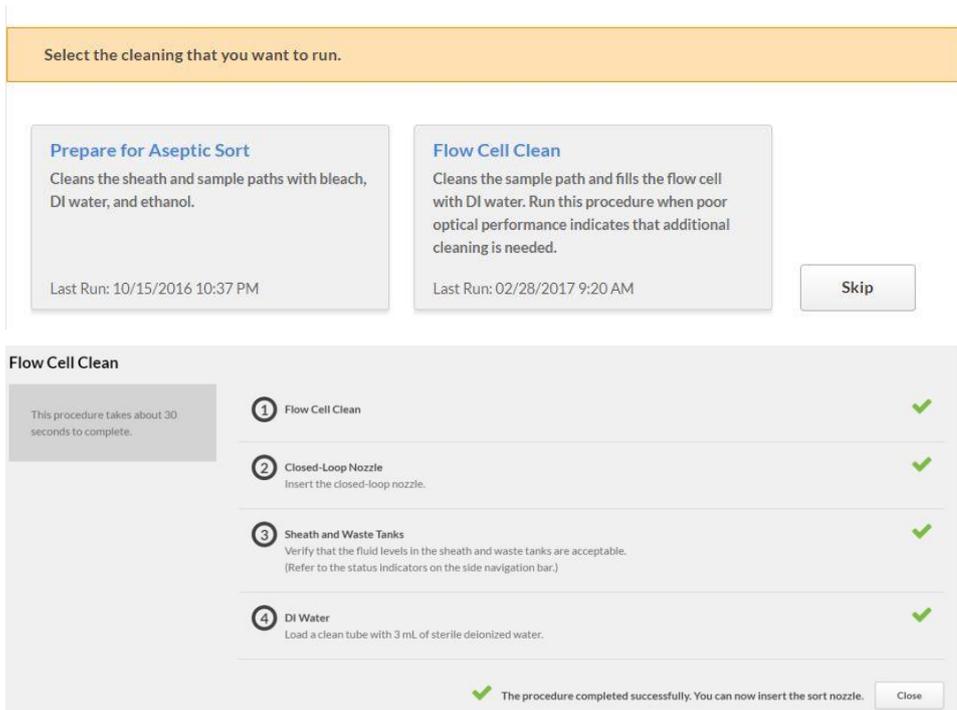
Daily Fluidics Startup

This procedure takes about 1 minute to complete.

①	Daily Fluidics Startup	✔
②	Closed-Loop Nozzle <small>Insert the closed-loop nozzle.</small>	✔
③	Sheath and Waste Tanks <small>Verify that the fluid levels in the sheath and waste tanks are acceptable. (Refer to the status indicators on the side navigation bar.)</small>	✔
④	Start Sheath Filter Purge and Prime the Stream	✔

✔ The procedure completed successfully. Close

11、 当各项任务完成后，点击“Close” “Continue”进入下一界面，选择“Flow Cell Clean”，按照提示操作，清洗流动室；



- 12、 完成后点击“Close” “Continue”，按照提示移除闭合喷嘴，拔出 closed Nozzle，用清水清洗一下，擦干插入储存处。
- 13、 将喷嘴超声 20 秒，取出用纸吸干喷嘴周围的水。喷嘴插入时不要太用力，以免损伤喷嘴上的 O 圈。插入超声清洗后的喷嘴，点击“Continue”；



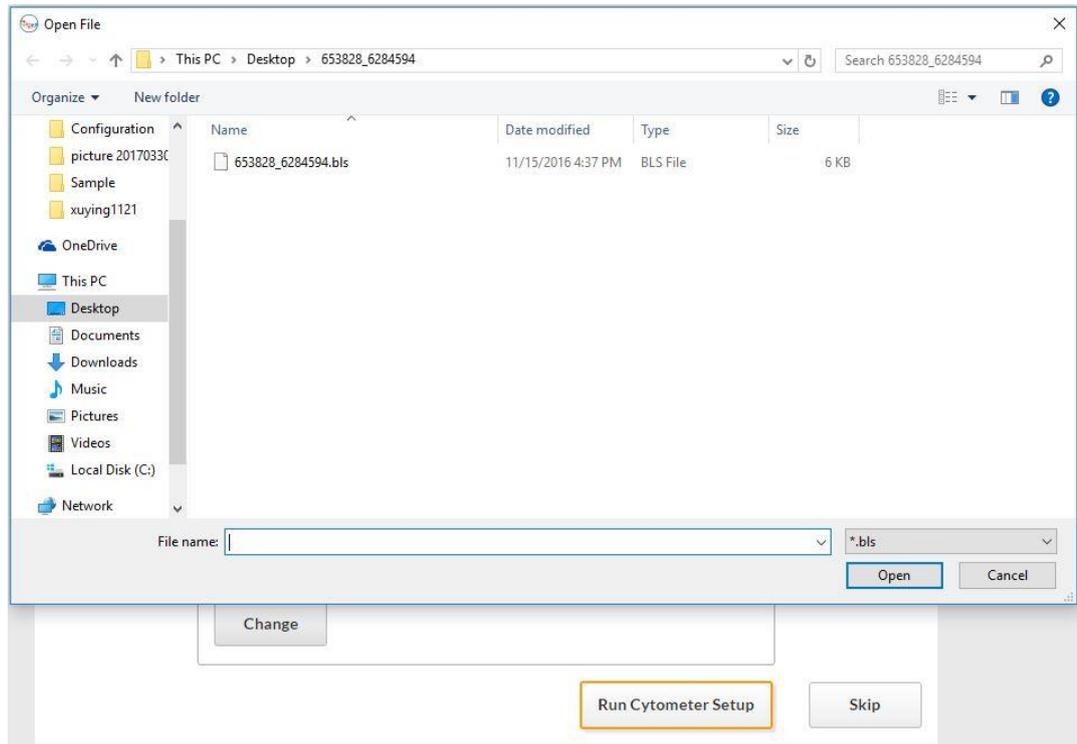
- 14、 检查液流车上的鞘液过滤器是否有气泡，如果有将气泡排掉。
- 15、 执行开液流指令，调整废液槽位置，使液流流入收集槽的中间（见下图。）



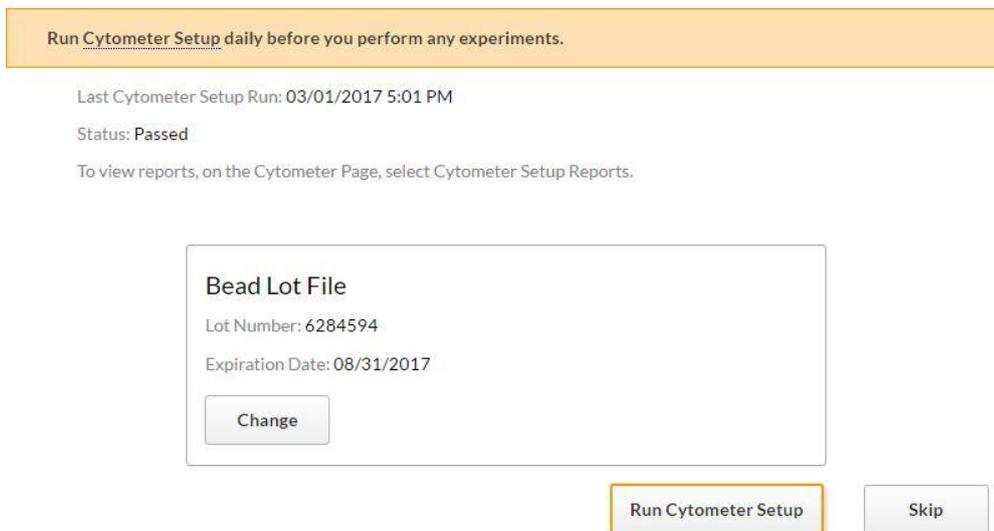
FACSMelody 仪器自动校准流程

1, 运行 CST 检查仪器性能;

- 1) 样本制备: 向 0.5ml 鞘液中加入 3 滴混合均匀的 CS&T 荧光微球;
- 2) 核对使用的微球的 Lot ID 号是否与 Lot Number 一致, 如果不一致点击“Change”, 选择下载的批次文件 (.bls), 更改 Lot Number 号;



3) 运行 CST, 点击“Run Cytometer Setup”;



4) 上样品管, 点击“Continue”, 仪器会自动进行检测;

Load a tube with CS&T beads.

Continue

Skip

Running Cytometer Setup...



Step 1 of 5: Initializing Cytometer

Cancel Cytometer Setup

- 5) 等待完成后，显示“Cytometer Setup completed successfully”，点击“Continue”；

✔ Cytometer Setup completed successfully.

Continue

2、上“Accudrop”测定 drop delay

- 1) 样本制备：向 1ml 鞘液中加入 1 滴混合均匀的 Accudrop 荧光微球；
- 2) 点击“Run Drop Delay”；

Run Drop Delay daily before you perform any experiments.

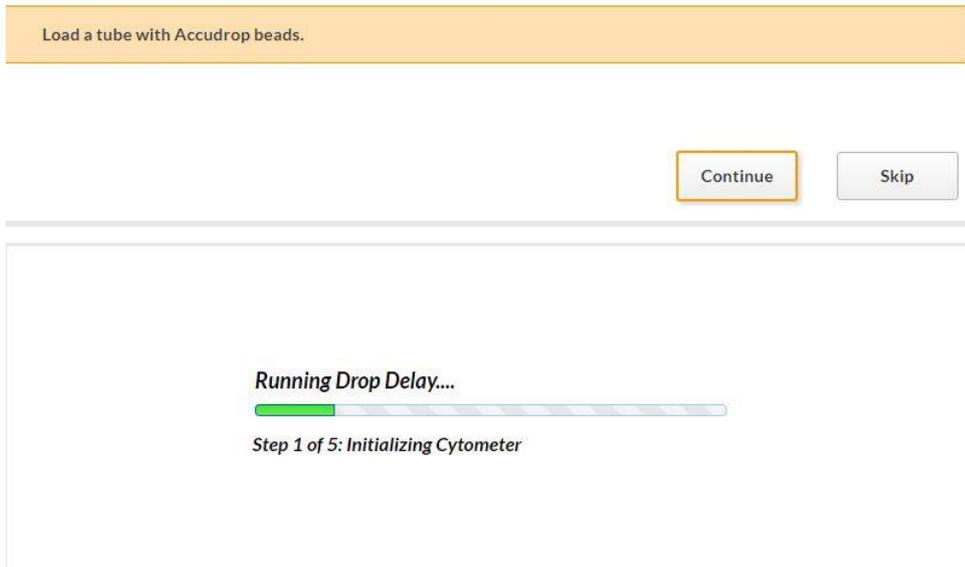
Drop Delay Last Run: 03/01/2017 5:46 PM

Status: Passed

Run Drop Delay

Skip

- 3) 上样品管，点击“Continue”；



- 4) 等待完成后，显示“Drop Delay completed successfully”，点击“Continue”进入主界面。



荧光补偿计算

BD FACSCorus 软件使用已储存的与特定染料光谱匹配的标准化 FC beads 来计算补偿，这是默认补偿值，推荐每 60 天用 FC beads 更新一下补偿。

自定义补偿：

任何实验默认的 FC beads 的补偿值都可以用自己的单阳补偿对照来自定义更新补偿。系统会根据新的值自动计算补偿。

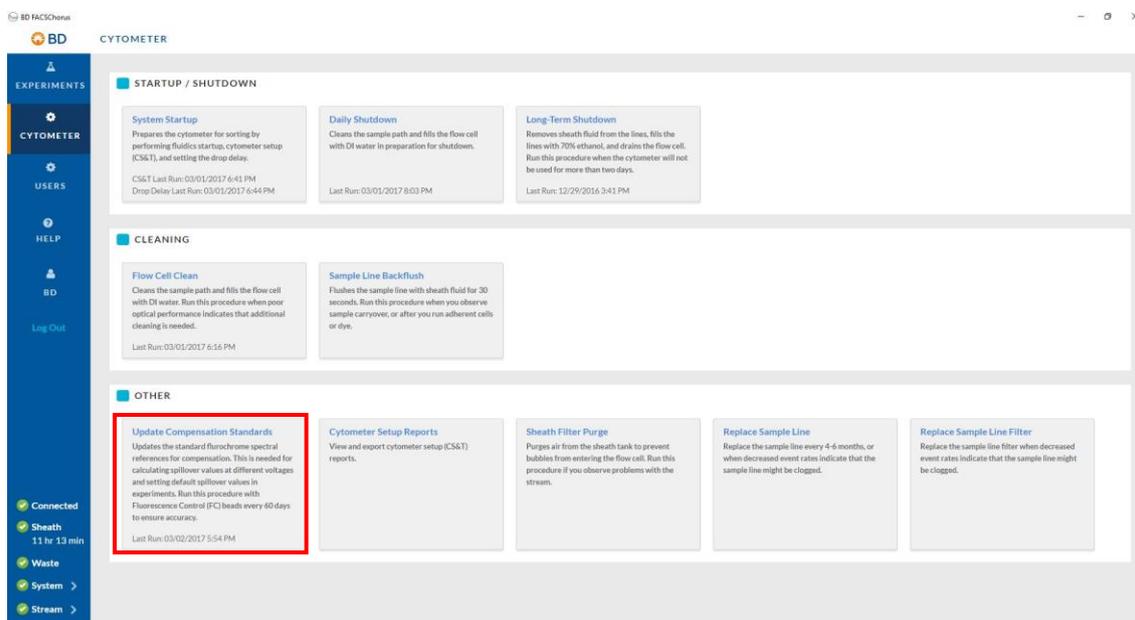
自定义的补偿可以仅更新个别荧光素，而不用更新整套。系统会根据已更新的和没有更新的值放在一起计算补偿，并进行更新。

【FC beads 批号文件更新】

在碧迪生物科学的官网（<http://www.bdbiosciences.com>）选择“仪器与软件”；找到 Melody，点击“Resources”；点击“bead lots files”；点击“BD FACSCorus FC Bead Lot Updater”，网页会提示下载一个小程序，下载后，双击打开，即可自动更新最新 FC beads 批号文件。

【系统补偿更新】

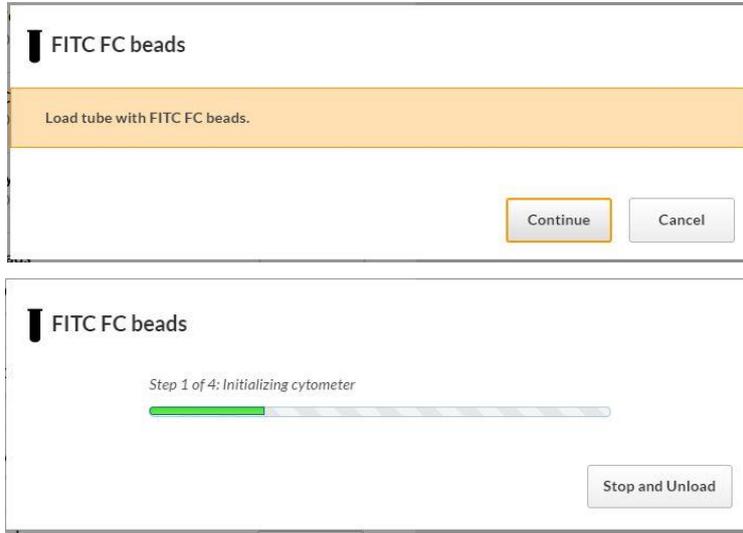
1. 在主页面中选择“CYTOMETER” —> “Update Compensation Standards”更新补偿值；



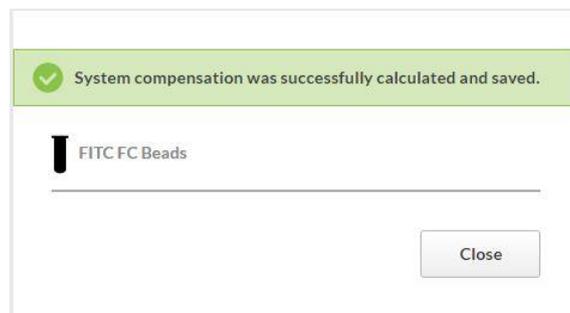
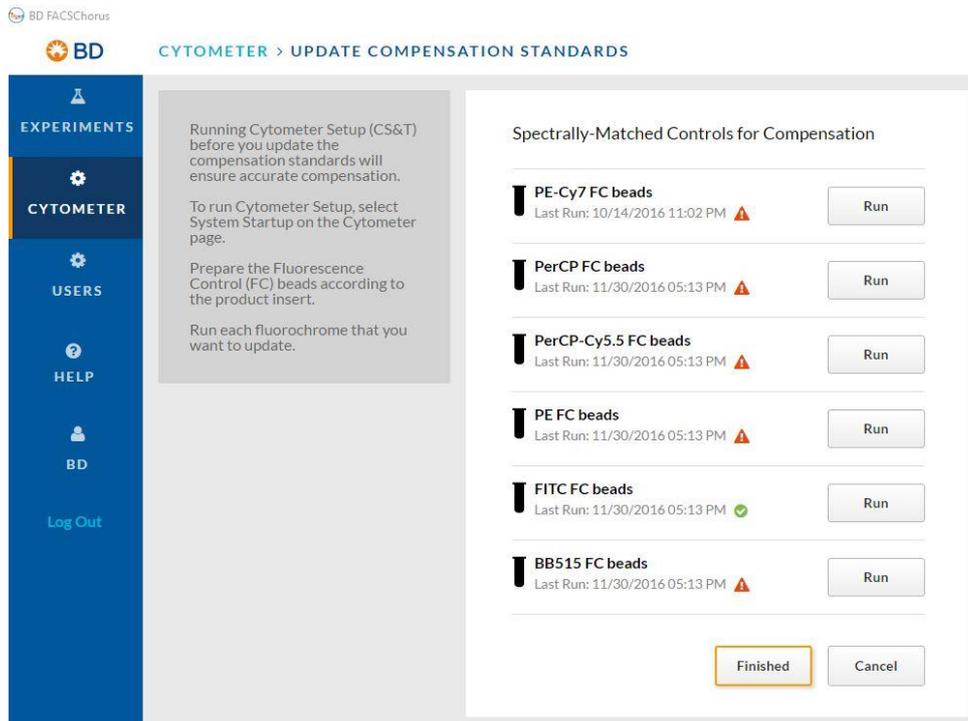
2. 准备好 FC beads；(FC beads 配制方法;将需要配制的 FCbeads 的密封袋平衡至室温，分别从中取出一支，室温避光放置，同时将密封袋冷藏保存；在各管中分别滴入 10 滴或 0.5ml BD FC Beads Dilution Buffer，涡旋 5 秒混匀，冷藏避光待用)

3. 选择需要更新的荧光素，点击“Run”；

4. 上相应的单阳管，系统自动进行补偿的计算及更新，更新后的补偿管后会出现绿色的对勾；

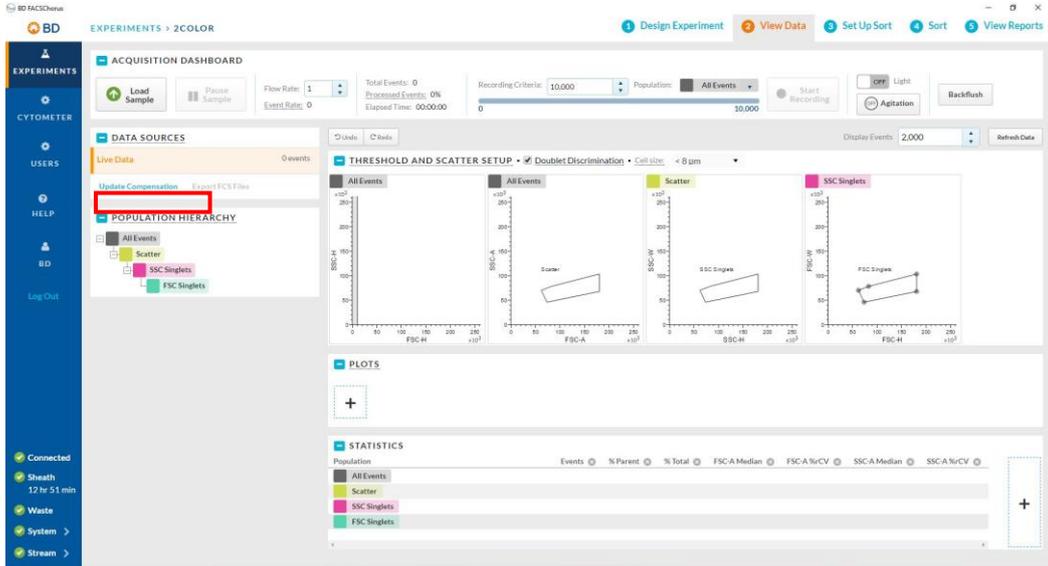


5. 结束后，点击“Finished”，系统自动保存计算的补偿值。

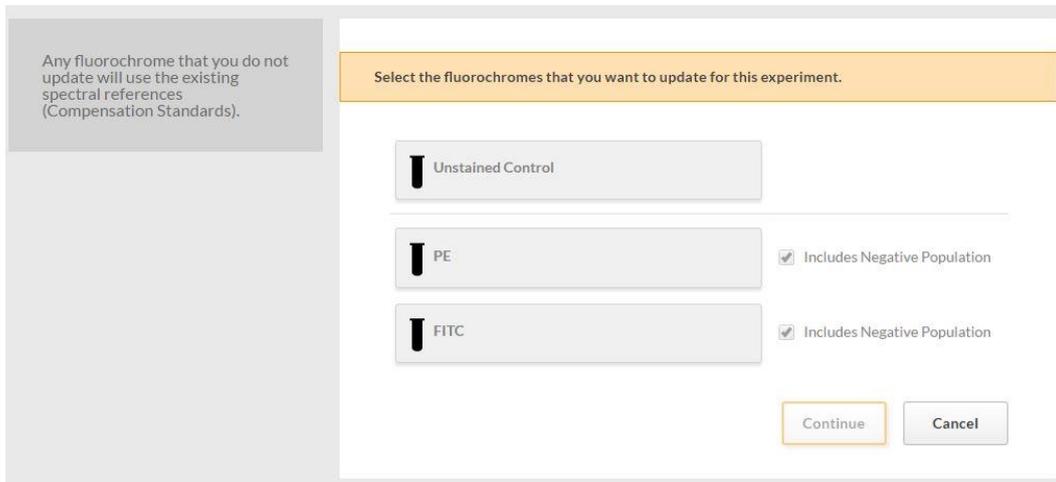


【个人实验的补偿更新】

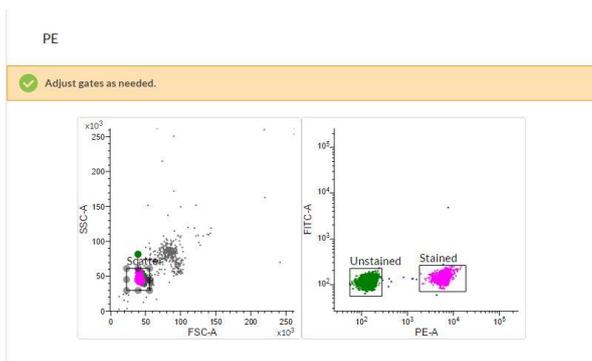
1. 选择“Experiment” > “View Data” > “Data Sources” > “Update Compensation”，打开更新补偿的对话框；



2. 选择想要更新的荧光素，只有选定的荧光素会在 Design Experiment （13 页中的图例）中显示；



3. 选择需要更新的管子，点击“Continue”，会出现一个新的对话框；
4. 选定对话框中的管子，正确上样，点击“Run”，将门调整到合适的位置；



5. 对剩下的管子，重复步骤 4；
6. 按照屏幕上的提示，直到所有的管完成。

双色淋巴细胞亚群检测

【试验准备】:

1. 实验目的和原理：利用荧光技术在不同的鼠抗人抗体上标记荧光素，该荧光抗体与人外周血中淋巴细胞表面的 CD 分子特异性结合，然后用流式细胞仪检测，计算各淋巴细胞亚群的百分比，了解人的免疫状态，从而指导临床诊断和治疗。
2. 血样采集：用 EDTA 真空采血管采集静脉血 2ml，反复颠倒 8-10 次，充分混匀；血样采集后 6 小时内处理、检测。
3. 主要试剂：（Cat No: 340182）
 - a: Simultest IMK Lymphocytes Kit 检测试剂盒：
 - ① Isotype Control (MouseIgG1/IgG2a)
 - ② CD3-FITC /CD19-PE
 - ③ CD3-FITC /CD4-PE
 - ④ CD3 FITC /CD8-PE
 - ⑤ CD3-FITC /CD16+CD56-PE
 - b: FACS Lysing Solution 溶血素（10X，使用前用蒸馏水稀释成 1X）；
 - c: PBS 溶液。

【样本制备】:

1. 取 5 支流式上样管，编号为 1、2、3、4、5，分别取 100 μ l 充分混匀的抗凝全血加入每支管管底，注意不要碰到管壁。
2. 依次加入 20 μ l Isotype Control (MouseIgG1/IgG2a)、CD3/CD19、CD3/CD4、CD3/CD8、CD3/CD16+CD56 双标荧光抗体，涡旋混匀。室温避光孵育 15-30 分钟。
3. 取出试管，每管加入 10 倍稀释的 1X FACS Lysing Solution 2ml，涡旋混匀，室温避光 10 2 分钟。
4. 300g，离心 5min。
5. 弃去上清液，每管加入 2ml 的 PBS，涡旋混匀。
6. 300g 离心 5min。
7. 弃去上清液，每管加入 0.5ml PBS 混匀，4 $^{\circ}$ C 避光，1h 内上机检测；若不能及时上机，加入 0.5ml 1-2% 的多聚甲醛，放 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存，48h 内上机检测。

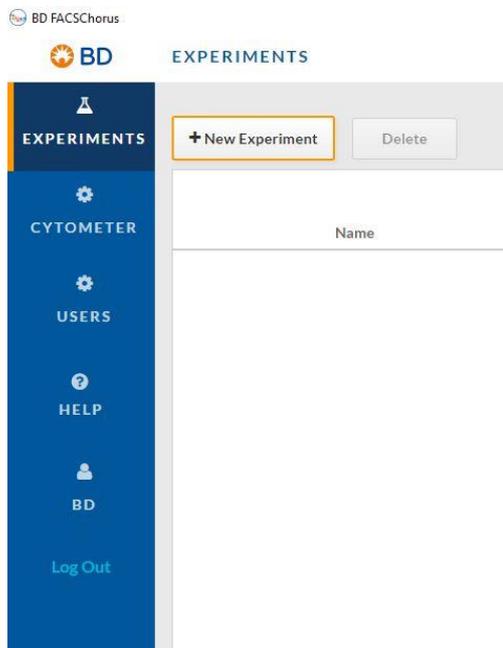
【注意事项】:

1. 弃掉试管中上清液时，一定保证一次性垂直倒掉，不能反复倾倒，防止细胞丢失。
2. 2~8°C保存，抗体试剂在保质期内稳定，不能冻存。抗体保存期间以及细胞孵育时应注意避光。试剂瓶应保持干燥。
3. 任何试剂的外观改变，如沉淀、变色，都表明试剂不稳定，这时试剂不能使用。
4. 为得到理想结果，血样应在静脉穿刺后 6h 内染色。
5. 操作时如未按指定的孵育时间、离心次数或温度进行，容易发生错误。
6. 抗体试剂虽含有叠氮钠保护剂，仍需注意微生物污染，以免导致错误结果。
7. 中国人群淋巴细胞亚群正常参考值（采用此 Kit 检测，**各实验室最好建立自己的参考值**）

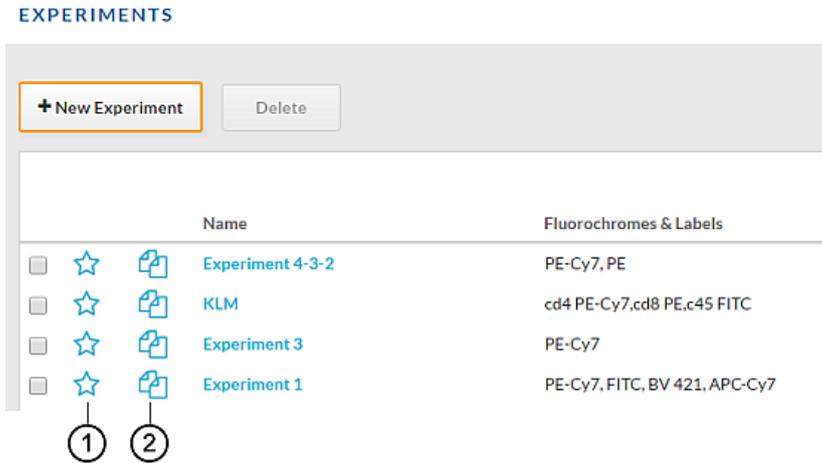
CD3（总 T 淋巴细胞）	50-84%
CD3+CD4+（Th 细胞）	27-51%
CD3+CD8+（Tc/Ts 细胞）	15-44%
CD3-CD16+CD56+（NK 细胞）	7-40%
CD3-CD19+（B 细胞）	5-18%
CD4/CD8（Th/Ts）	0.71-2.78

【创建实验】:

1. 在左侧的“navigation”栏中，选择“Experiment”;



2. 点击“+New Experiment”创建新的实验，选择“Blank Experiment”，创建新的实验;
3. （可选项）也可以从已存模板中开始新的实验;



① 实验模板选项

使用之前创建的实验模板，实验模板中包含初始实验中的各个参数，但不含任何数据和分选报告文件。在使用实验模板创建新的实验时，电压会根据最后一次的 CS&T 的设置更新；

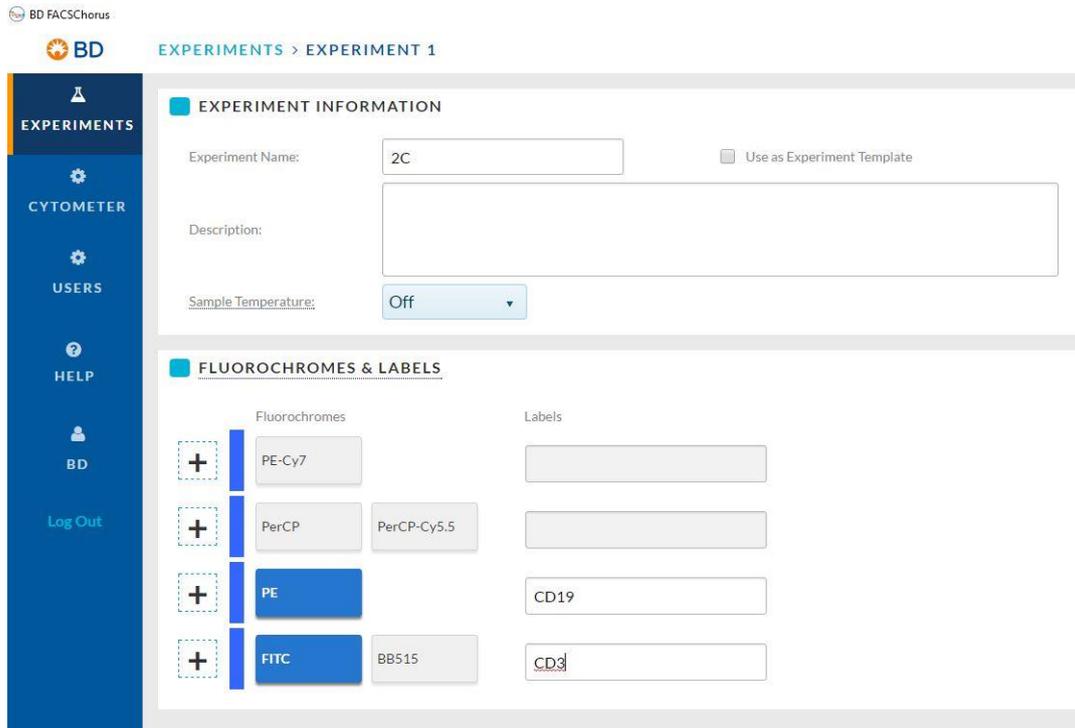
② 复制不含数据的实验

根据已保存的实验来创建新的实验，所有设置都一致，仅不含数据文件。文件只可以复制一次，当复制多次实验时，请使用“实验模板选项”。新创建的实验中电压会根据最后一次的 CS&T 的设置更新；

4. 在“Experiment Name”区输入实验名称（比如 2Color）；
5. （可选项）如果希望多次使用该实验，可建立实验模板，选择“Use as an experiment template”；
6. （可选项）选择“Sample Temperature”，让实验在指定的样品温度下开始实验，该选项只能控制上样仓的温度，不控制分选仓的温度；

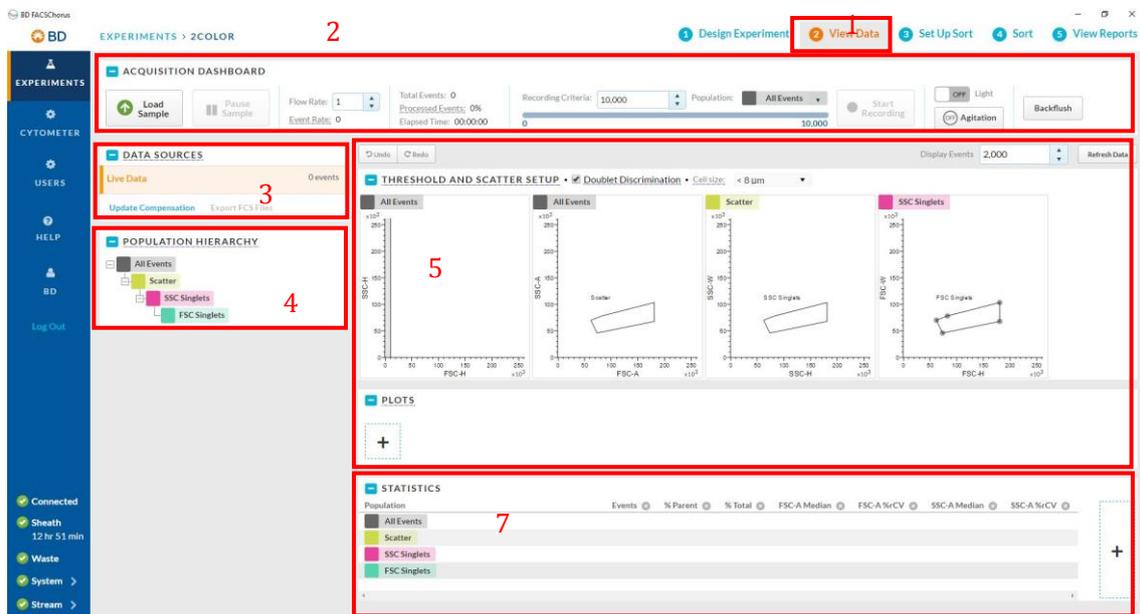


7. 在荧光素列表中选择一个或多个荧光素，点击任意一个荧光素旁边的“+”，在该列添加新的荧光素（用户自定义的荧光素会有*标志）；在“Labels”中可添加荧光素标记的抗体名称；每一列中只能选择一种荧光素；



- (可选项) 将鼠标悬浮在任一荧光素上，可以查看各激光和滤光片信息；

【定义视图界面】:



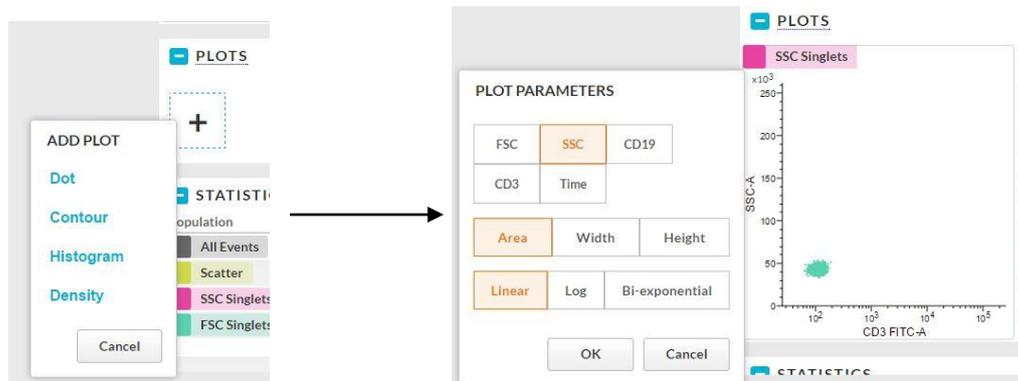
- 点击“View Data”;
- “Acquisition Dashboard”用于 load 或 unbad 样品，可选择调整：上样速度（flow rate），震荡频率（agitate samples），反冲上样针（backflush），样品室的灯光和数据记录选项；
- “Data Sources”界面用于选择想要查看的文件，导出数据文件，更新补偿；

4. “population hierarchy”用于查看各门的逻辑关系;
5. “plots”用于设置阈值, 改变电压, 和画门:

有 4 个默认的散点图, 分别为 All Events, Scatter, SSC singlets 和 FSC singlets。如果将 Doublet Discrimination 前的对勾勾掉, 则只会存在 2 个默认图。根据实验需要设置。



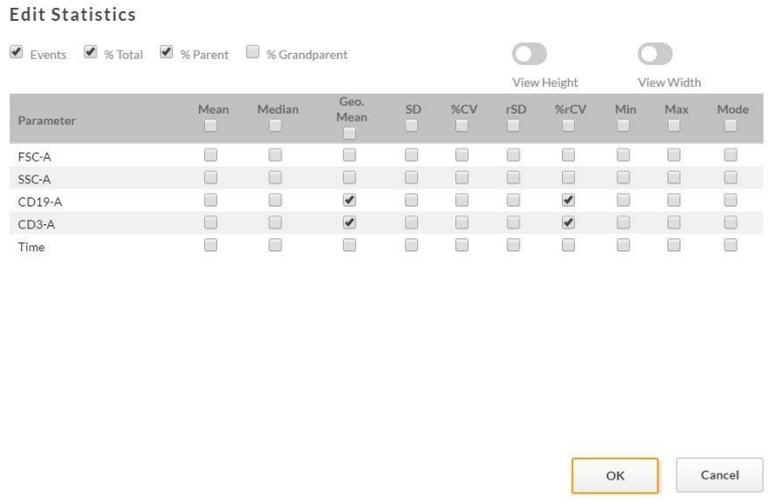
- ① 改变图的类型, 删除图, 选择 population filter 或 plot option (锯齿形按钮);
- ② 设置阈值: 将鼠标悬浮在在默认散点图上的阈值标记显示, 沿着坐标轴移动阈值标记来调整阈值, 点击阈值散点图的 x 轴, 可以选择想要设置的参数;
- ③ 改变电压: 将鼠标悬浮在散点图上的电压滑动显示, 沿着坐标轴移动滑条来调整电压, 或者使用 x-, y-轴的上下、左右箭头调整电压;
- ④ 添加散点图, 直方图, 等高线图或密度图, 点击“+”按钮, 选择图的类型, 改变图形大小可以将鼠标悬浮在图上点击 zoom 按钮;



6. 创建、移动、改变、删除门:

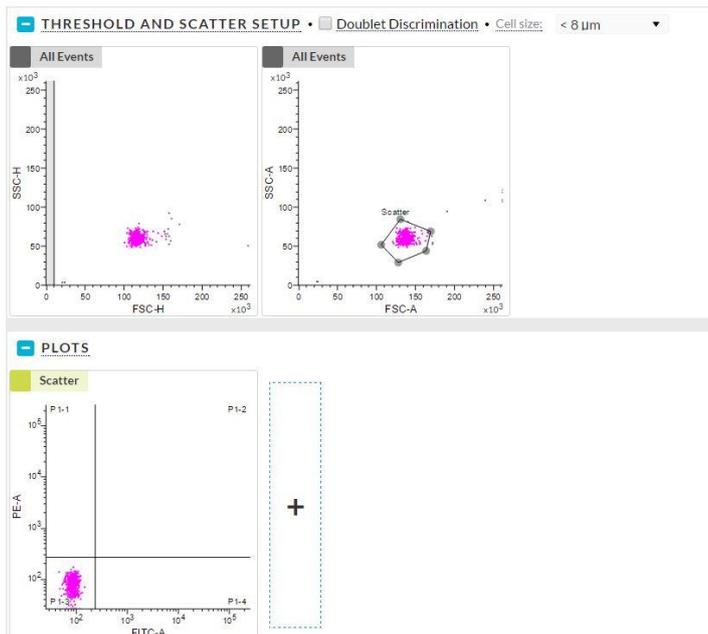
- ① 创建新的门, 单击带有虚线的正方形图标, 从列表选择一个形状, 然后在绘图上绘制门;
- ② 移动门, 选择门, 将其拖动到新的位置;

- ③ 修改门，选择门的顶点并拖动到别的位置；
 - ④ 删除门，在 **population hierarchy** 中选择想要删除的门，选择 X 进行删除；
7. 在屏幕底部 **STATISTICS** 中查看数据统计结果，点击“+”添加或编辑数据；

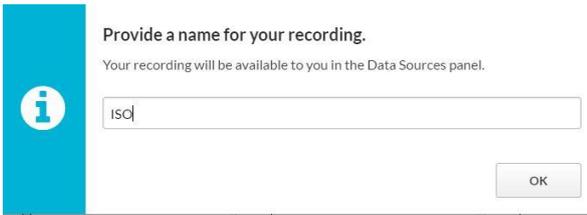


8. 上机检测：

- 1) 在 **PLOTS** 下画一张 FITC 和 PE 的双参数散点图；
- 2) 放同型对照管在上样仓上，点击“Load Sample”上样；
- 3) 调节 FSC 和 SSC 的电压，使得样品在图上分群明显，不压线，不超过检测范围；
- 4) 如果有必要，调整 FSC 阈值，减少碎片，同时保证淋巴细胞的完整性；
- 5) 调整门的位置，使其只圈中淋巴细胞；
- 6) 在荧光图中，选择仅显示选定细胞群，调整 FITC 和 PE 电压，尽量使阴性细胞位于图的坐下角位置，即认为是荧光表达的阴性区域；
- 7) 沿着阴性细胞群的上沿和右沿，画十字象限门点；



8) 击“Start Recording”记录第一管数据，命名；



The screenshot shows a dialog box with a blue header bar containing an information icon (i). The text inside the dialog reads: "Provide a name for your recording." followed by "Your recording will be available to you in the Data Sources panel." Below this text is a text input field containing the text "iscd". At the bottom right of the dialog is an "OK" button.

9) 依次上样，记录数据；

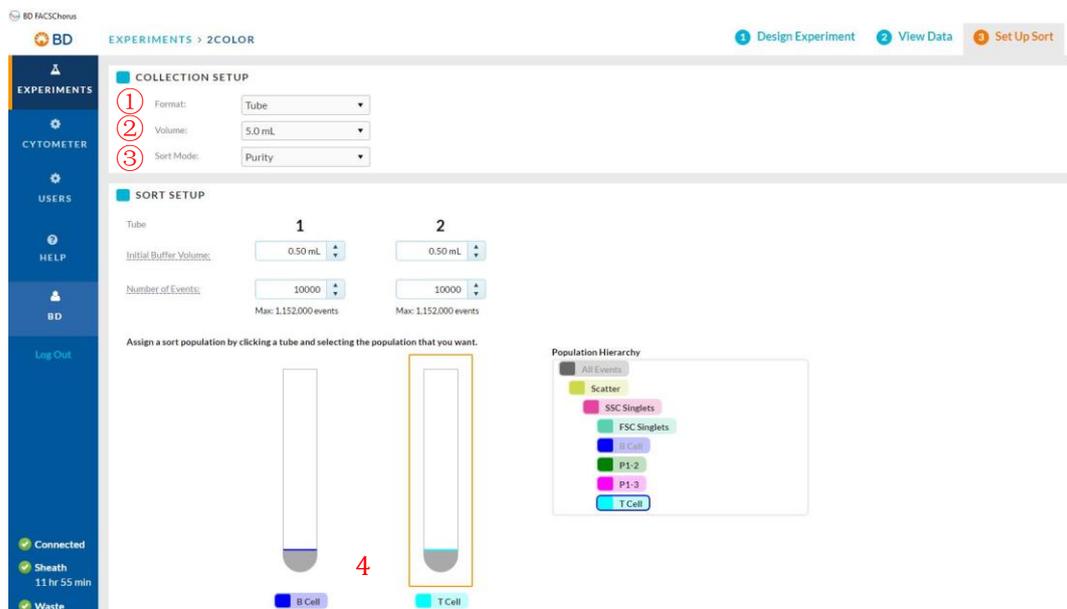
9. 数据导出：在“Data sources”中点击“Export All FCS files”。

分选设置

【流程】:

1. 在分选仓内安装合适的分选装置;
2. 点击"Set Up Sort"选项;
3. 选择分选细节, 比如:
 - ① Format, 定义收集装置 (Tube/ Plate/ Slide);
 - ② Volume, 定义收集的液体体积 (1.5 ml/ 2.0 ml/ 5.0 ml);
 - ③ Sort Mode, 选择不同的分选模式 Yield/ Purity/ Single cell;
4. 在下方的面板中, 定义分选的细胞群:

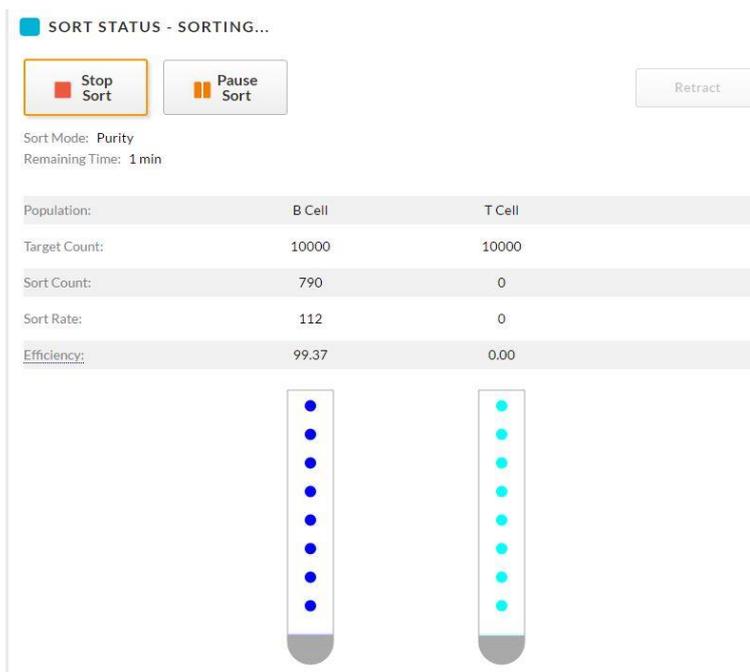
使用流式管分选的话, 首先选定流式管, 然后在 population hierarchy 中选择想要分选的细胞群, 选定后流式管的颜色与选定的细胞群颜色一致;



- 使用平板分选的话, 首先选定板上的不同孔, 然后在 population hierarchy 中选择想要分选的细胞群;



5. 在分选前，选择收集装置中加入的起始液体体积；
6. 选择分选到各个装置中的 event 数；
7. 点击“Load Sample”进行上样；
8. 点击“Start Sort”开始分选；

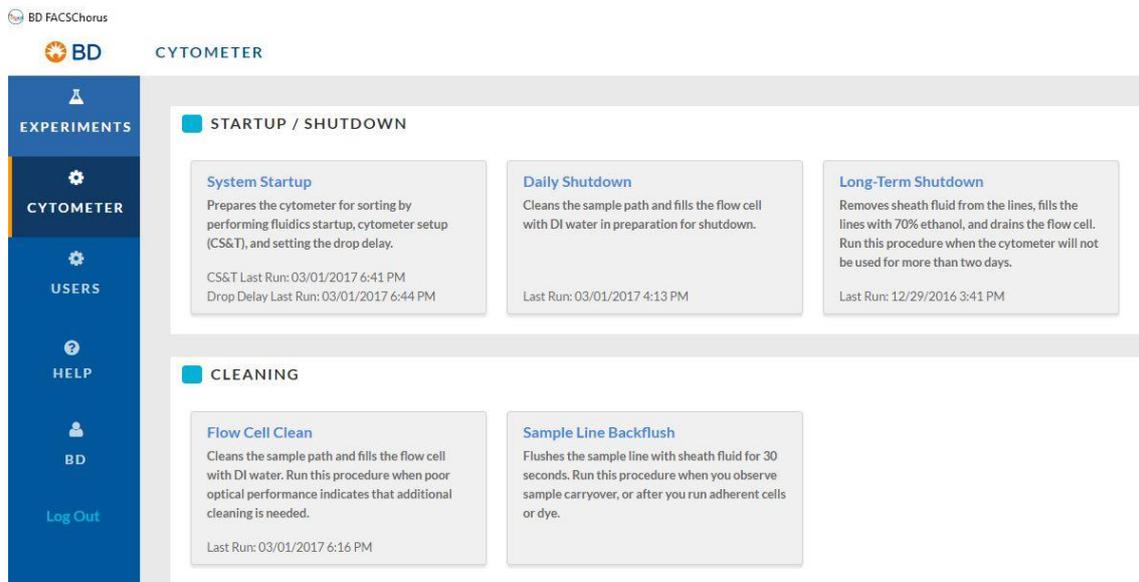


9. 点击“View Reports”查看分选报告，报告可以导出或打印。

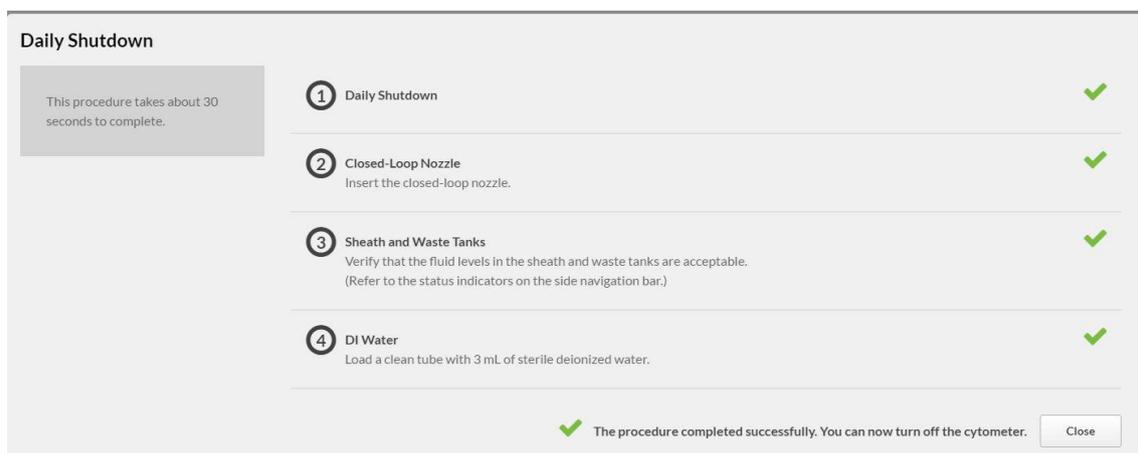


FACSMelody 日常关机程序

1. 用 3mL FACS Clean 清洗液的流式管上样 5 分钟，注意：Flow Rate 设置为 100。
2. 同样，用 3mL DI Water 的流式管，Flow Rate 设置为 100 上样 5 分钟。
3. 在 Stream 窗口中关闭液流，用温度在 60° 左右的水，倒入分选仓两边的废液槽内，冲洗暂留的 PBS，防止废液槽堵塞。
4. 在 Cytometer 页面，选择“Long-Trem Shutdown” 程序；



5. 按照向导完成步骤。



6. 如果看到有漏水现象，用干棉签将水吸干，千万不要上下左右用力，**特别注意不要擦洗右边的小窗**，然后棉签蘸水轻微擦洗喷嘴下方，最后用干棉签将水吸干（如果多次出现漏水现象，该喷嘴已经损坏，需要更换）。
7. 拿配制好的 Detergent Solution Concentrate (P/N660585)清洗液，运行 clean flowcell。

8. 将喷嘴超声 30 秒，吸干水后放置到带盖子的样本管保存。
9. 用纱布蘸水清洁分选仓，高压电极板，清洁 AccuDrop 收集镜片和 AccuDrop 激光射出处镜片。
10. 清洁流动室周围的盐结晶
11. 退出软件，关闭仪器和电脑，将鞘液桶的压力释放（向上拉鞘液桶的勾环直至压力显示为 0），关闭压力泵

FACSMelody 系列日常保养和维护

很多维护程序需要在液流关闭时进行，需要先手动关闭液流。

【液流关闭】:

1. 在导航栏中点击“Stream”;



2. 在 Stream 窗口，点击“Stop Stream”。

【清洁表面】:

1. 关闭液流;
2. 检查并清理以下部件表面：偏转板，上样仓，收集装置，分选仓内部，闭合喷嘴，插入喷嘴的基座，内部模块。

【清洗喷嘴】:

1. 将喷嘴从流式细胞仪上取出;
2. 将喷嘴置于含有 DI 水的流式管中超声 1 分钟，可以重复此步骤直至喷嘴干净；
注意：不可以使用漂白剂或是别的强性清洁剂清洗喷嘴。
3. 将喷嘴放在空气中干燥几分钟，或用擦镜纸擦干；
4. 将喷嘴重新插入流式细胞仪。

【偏转板清洁】:

1. 确保液流关闭;
2. 打开流式室门和分选仓门;
3. 确保分选仓旁边的红色警示灯是灭的，表明偏转板没有加电;
4. 通过旋转分选仓门前的螺丝打开分选仓;
5. 用蘸水的无棉棉签清洁偏转板;

6. 加电之前确保偏转板已经干燥。

【清空废液桶】:

每次开机装鞘液时都需要清空废液桶，在软件提示废液桶快满时也需要对废液桶进行清空。

1. 关闭液流；
2. 断开感应器、液流管跟废液桶的连接；
注意：当流式细胞仪运行时，废液桶会被加压。在开桶前等待 1 分钟解压。
3. 打开废液桶盖，根据实验室生物安全标准流程清空废液；
4. 在废液桶中加入约 1L 的消毒液，或者加入总体积 10% 的消毒液；
5. 盖上废液桶盖子，重新连上感应器与液流管；
6. 建议一个月更换一次废液桶的滤盖。

【无菌管理的制备】:

无菌管路制备可以对整个系统任何潜在污染进行清洁，在分选前，您都需要运行该程序。确保每种液流对应一个液流过滤器，不可以交叉使用。如果整个流程中使用的是同一个液流桶，在换成另一种不同溶液时，需要对桶用 DI 水进行彻底的清洗。

需要准备的试剂：

至少 2.5L 10% 的 Clean 清洗液；

至少 2.5L DI 水；

至少 2.5L 70% 的酒精；

至少 2.5L 鞘液。

1. 移去鞘液感应器；
2. 对鞘液桶进行高压或者 70% 的酒精过夜熏蒸；
3. 在软件 Cytometer 界面，选择 System Startup；
4. 选择完成一个液流启动的选项，或者点击“Skip”；
5. 选择“Prepare for Aseptic Sort”，点击“Start”；
6. 按照指示完成步骤。

Prepare for Aseptic Sort

Refer to the user's guide for complete instructions on preparing for aseptic sort.

If you use the same sheath tank for the entire procedure, make sure you rinse it thoroughly with DI water before you refill it with a different cleaning solution.

This procedure takes about 30 minutes to complete. Ensure that your computer will not enter sleep mode during this procedure.

1 Prepare for Aseptic Sort

Start

2 Closed-Loop Nozzle
Insert the closed-loop nozzle.

3 Bleach Decontamination
Install a sheath tank containing at least 2.5 L of 10% bleach solution.
Install the bleach filter on the sheath tank.
Empty the waste tank.

4 DI Water Flush
Install a sheath tank containing at least 2.5 L of sterile deionized water.
Install the deionized water filter.

5 Ethanol Decontamination
Install a sheath tank containing at least 2.5 L of 70% ethanol solution.
Install the ethanol filter on the sheath tank.
Empty the waste tank.

6 Sheath and Waste Tanks
Install the autoclaved sheath tank with at least 2.5 L of sterile, 1X PBS.
Install the sheath filter.
Empty the waste tank.

7 Start Sheath Filter Purge and Prime the Stream

Next

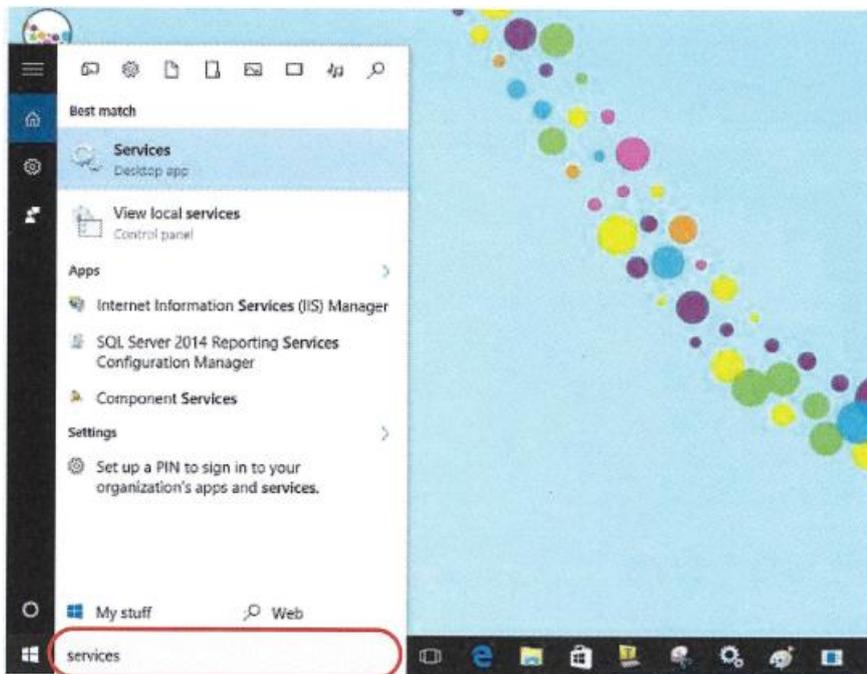
FACSMelody 系列仪器使用的微球和试剂

货号	英文品名	备 注
653828	BD CS&T RUO Beads (50 tests)	仪器状态检查&跟踪
661612	BD Accudrop Beads	细胞分选调节
661614	BD FC Beads Dilution Buffer	补偿的调节
661615	BD FC Beads FITC	补偿的调节
661616	BD FC Beads PE	补偿的调节
661619	BD FC Beads PerCP-Cy™5.5	补偿的调节
661618	BD FC Beads PerCP	补偿的调节
661617	BD FC Beads PE-Cy™ 7	补偿的调节
661620	BD FC Beads APC	补偿的调节
661622	BD FC Beads APC-Cy7	补偿的调节
661621	BD FC Beads APC-H7	补偿的调节
661625	BD FC Beads APC-R700	补偿的调节
661623	BD FC Beads V450	补偿的调节
661624	BD FC Beads V500-C	补偿的调节
661627	BD FC Beads BV421	补偿的调节
661628	BD FC Beads BV510	补偿的调节
661630	BD FC Beads BV786	补偿的调节
661631	BD FC Beads BV515	补偿的调节

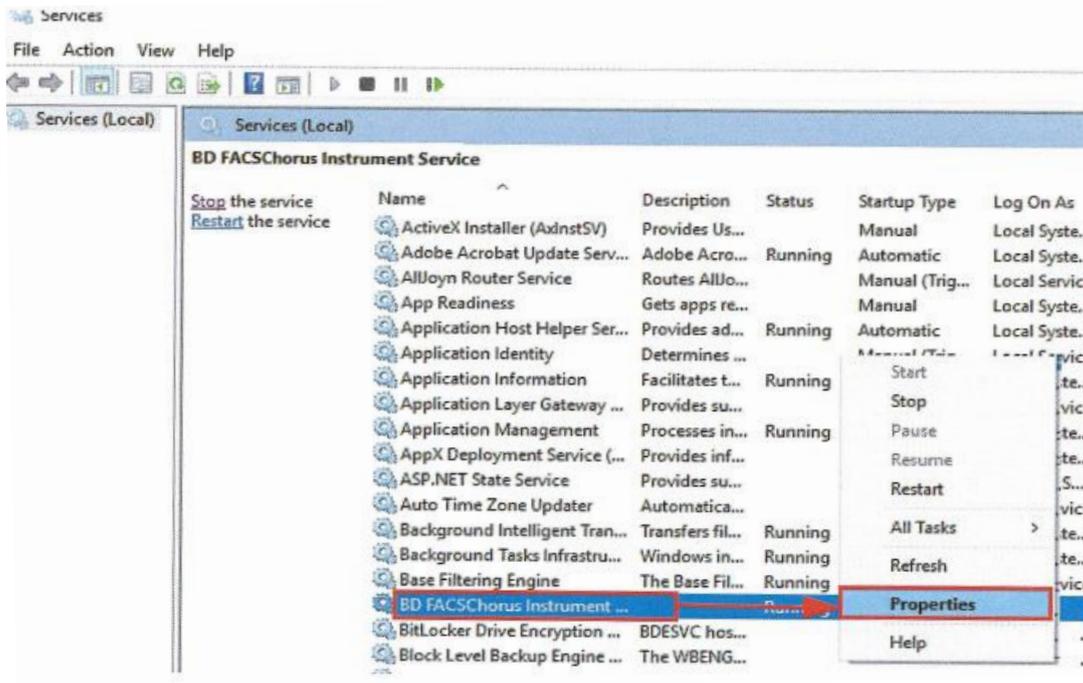
容器	适用液体	容积
鞘液桶	FACSFlow 鞘液 (货号 342003)	10L 不锈钢桶
	FACSClean solution 清洗液 (货号 340345)	
	75%乙醇	
	0.22um 滤过的去离子水 (无菌)	
	有效氯浓度 10%、无需过滤的次氯酸钠原液 1 升 (废液消毒)	
废液桶		10L 塑料桶

Troubleshooting

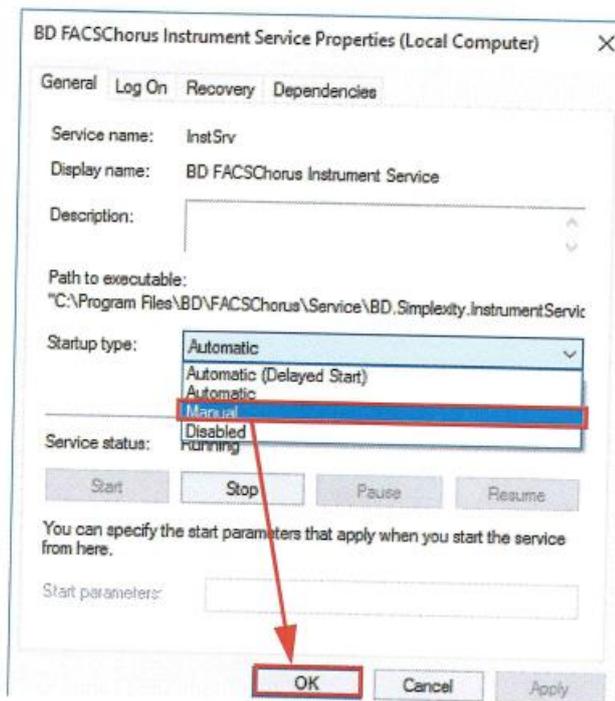
- 1、当出现无法开启液流或 AccuDrop 失败时，退出软件，进入工程师 Service 界面，用户名：service，密码：工程师 GID+6 位数字，双击左边菜单上的 Service，在工程师的指导下进行选 sort version 进行操作。
- 2、如果出现 CS&T 失败，将喷嘴超声清洗一下（1 分钟），如果还是失败，请用手动方式建立每个通道的直方图，上样运行 CST beads 并将观察到的情况跟工程师联系。
- 3、当出现软件无法与仪器联机的问题时，可尝试关闭所有电源，重新依次开启电脑，和 Melody 的电源。
- 4、当联机问题通过重启电脑和流式无法解决，请进行如下操作，打开计算机，
 - 1）在如图所示位置输入“Service”，然后双击打开 Service 应用。



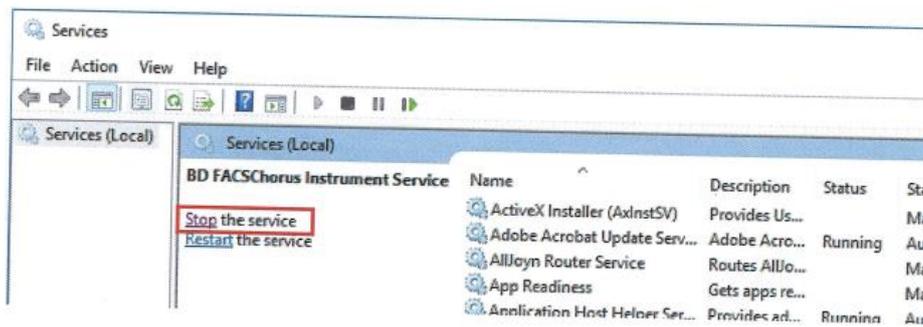
- 2）在打开的窗口中找到“BD FACSCorus Instrument Service.exe”右击，选择“Properties”点击打开



3) 在打开的对话框中找“Start Type”，选择 Manual，点击 Apply



4) 在如图中位置点击“Stop the service”



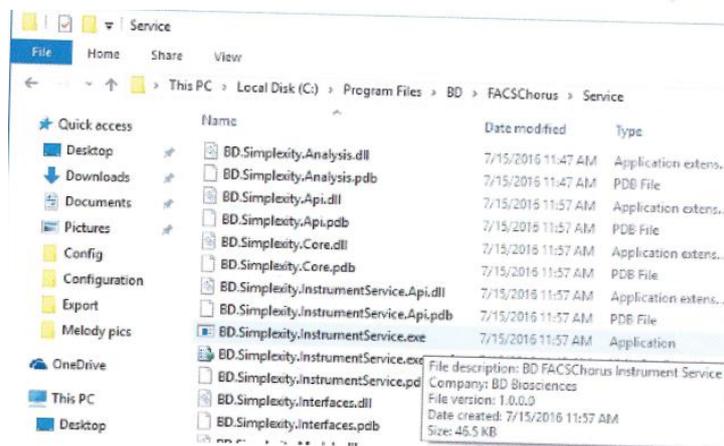
5) 打开仪器的 AC 电源, (电子系统部分后面) 和 DC 电源 (分选部分前面红色按钮)

6) 打开电脑桌上的 Tera Term 软件

7) 手动开启仪器服务的步骤 :

I. 找到以下路径

C:\Program Files\BD\FACSCorus\Service and locate BD.Simplicity.InstrumentService.exe



II. 右击 BD.Simplicity.InstrumentService.exe 文件, 右击选择 Run as Administrator.

III. 打开 BD FACSMelody 的软件, 登陆后检查仪器是否正常和软件连接。

8) 回到 3) 步, 将 Manual 改回 Automatic, 点击 ok, 关闭 Tera Term 窗口。