

## 中心实验室流式分选 BD AriaIII 预约使用注意事项

### 一、仪器简介

BD FACS Aria III 流式细胞仪，拥有 405nm、488nm、633nm 3 路激光 9 种荧光检测通道，可实现二路、四路以及多种规格孔板细胞分选。

### 二、使用预约规则

1. 开放时间：每周二、周三，上午 9 点至下午 5 点。
2. 预约方式：本仪器采取预约审核制度，使用者至少提前 3 天登录“仪器设备共享预约平台”进行预约。新用户请提前一周与仪器负责老师联系开通分选权限、拿贵重仪器申请书并说明自己实验内容，以确认样本是否能在中心实验室流式细胞分选仪使用。**实验内容包括：样本类型及细胞大小，目的细胞的流式画门逻辑与阳性比例数据，抗体或者荧光染料种类、波长等。**
3. 由于分选开、关机耗时长以及无菌鞘液制备较为麻烦，为了节约资源，预约分选前请向负责老师提供自己样本的目的细胞阳性比例，<5%者将酌情考虑是否需要开机。
4. 预约分选后，若因时间、样本质量等原因不能使用，请务必提前一天联系仪器负责老师取消预约。预约不用又未取消者，将按预约时间收费。如多次违反此规定，将取消其使用资格。
5. 机器空载会造成无为消耗，而且流式细胞仪激光是有使用寿命的，价格昂贵，所以实验人员必须准时。经常迟到，屡教不改者将取消其使用资格。
6. 以预约开始时间为开机时间，例如预约 9:00~11:00，负责老师会在 9 点准时去开机，请提前至分选间刷卡。
7. **BD FACS Aria III 专用于无菌分选，预约者前期所有相关实验务必保证全程无菌（尤其是动物实验取材）。若因样本制备不当导致管路污染影响他人实验，将取消其使用资格。**

### 三、仪器使用注意事项

1. 实验样本送样前必须放在标准的无菌的 5mL 流式上样管中，注意样管必须盖紧密封，防止污染。
2. 分选样品：流式样本为荧光染料标记好的单细胞悬液。推荐样品重悬体积为 200~1000uL；推荐浓度为  $10^6 \sim 10^7$  cells/ml。根据不同的细胞类型和细胞数量调整

样品体积。建议先小体积，可带上培养基，若细胞浓度高可以直接现场稀释。

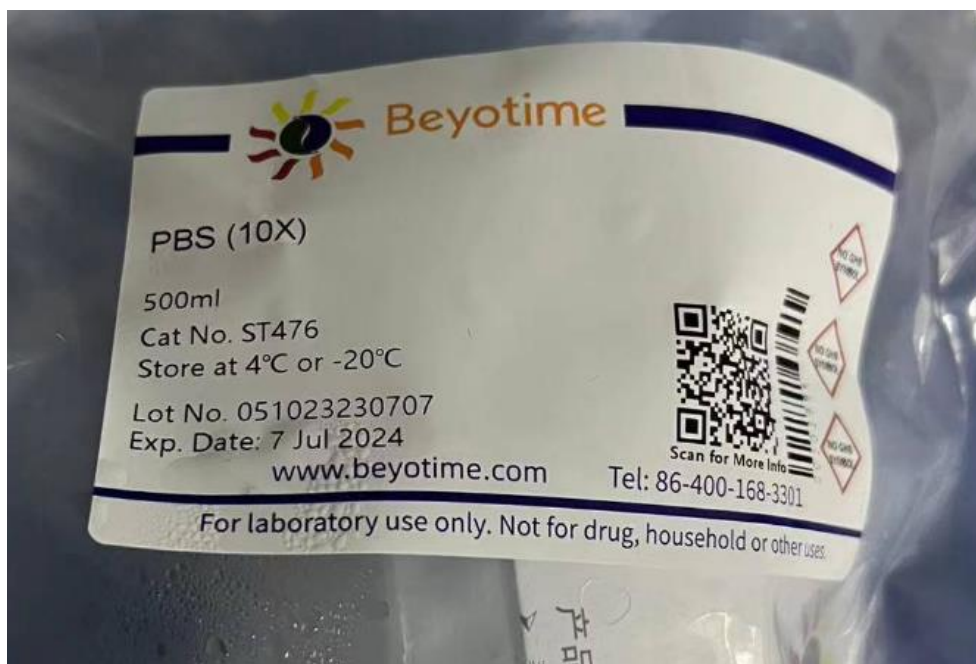
3. 上样之前，样品必须使用 300 目无菌过滤网过滤。

4. 多种荧光染色样本，需提供各种单一荧光染色的样本用以调整检测通道之间的荧光补偿。

5. 请准备含合适体积培养基的收集管，为防止污染，可在收集管中加入双抗。收集管类型：15mL 离心管、1.5mLEP 管、5mL 无菌流式上样管，请准备足够数量的收集管以备用。

6. 所有分选实验数据只保存三个月，过期不拷走的实验数据将被删除。只能用格式化的 U 盘拷贝实验数据，禁止使用个人 U 盘。

7. 即日起中心实验室不再提供分选鞘液，请各课题组提前自行准备商品化  $10\times$  PBS 缓冲液（碧云天货号：ST476，如图），于分选当日或提前交给仪器管理员。



# BD FACSAria™ III Cell Sorter

## Recommended Filter Guide\*

| Dyes                                                                                        | Application                                                | Filters          | Mirrors             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------|---------------------|
| <b>375 nm</b>                                                                               |                                                            |                  |                     |
| DAPI, Hoechst Blue                                                                          | Cell cycle                                                 | 450/20           | NA                  |
| Hoechst Red                                                                                 | Side population                                            | 670 LP           | 610 LP              |
| <b>405 nm</b>                                                                               |                                                            |                  |                     |
| BD Horizon Brilliant™ Violet 421, BD Horizon™ V450, BD Horizon™ VPD450, Pacific Blue™, DAPI | Cell surface markers                                       | 450/40           | NA                  |
| BD Horizon Brilliant™ Violet 510, BD Horizon™ V500, AmCyan                                  | "                                                          | 510/50           | 502 LP              |
| BD Horizon Brilliant™ Violet 605                                                            | "                                                          | 610/20           | 600 LP              |
| BD Horizon Brilliant™ Violet 650                                                            | "                                                          | 660/20           | 630 LP              |
| BD Horizon Brilliant™ Violet 711                                                            | "                                                          | 710/50           | 685 LP              |
| BD Horizon Brilliant™ Violet 786                                                            | "                                                          | 780/60           | 735 LP              |
| <b>445 nm</b>                                                                               |                                                            |                  |                     |
| SSC                                                                                         | Cell surface markers, live/dead discrimination, cell cycle | 445/15           | NA                  |
| CFP, AmCyan fluorescent protein                                                             | "                                                          | 510/80           | 470 LP              |
| <b>488 nm<sup>1</sup></b>                                                                   |                                                            |                  |                     |
| SSC                                                                                         | Cell surface markers, live/dead discrimination, cell cycle | 488/10           | NA                  |
| FITC, BD Horizon Brilliant™ Blue 515, Alexa Fluor® 488                                      | "                                                          | 530/30           | 502 LP              |
| PE                                                                                          | "                                                          | 585/42           | 556 LP              |
| BD Horizon™ PE-CF594, PE-Texas Red®, PI                                                     | "                                                          | 616/23           | 610 LP              |
| PerCP, PerCP-Cy™5.5                                                                         | "                                                          | 675/20 or 695/40 | 655 LP              |
| PE-Cy™7                                                                                     | "                                                          | 780/60           | 735 LP              |
| <b>561 nm<sup>2</sup></b>                                                                   |                                                            |                  |                     |
| PE, DsRed                                                                                   | Cell surface markers                                       | 582/15           | NA                  |
| PE-Texas Red®, mCherry, PI                                                                  | "                                                          | 610/20           | 600 LP              |
| PE-Cy™5, PE-Cy5.5                                                                           | "                                                          | 670/14 or 710/50 | 630 LP              |
| PE-Cy7                                                                                      | "                                                          | 780/60           | 735 LP              |
| <b>633 nm<sup>3</sup></b>                                                                   |                                                            |                  |                     |
| APC, Alexa Fluor® 647                                                                       | Cell surface markers                                       | 660/20           | NA                  |
| Alexa Fluor® 700                                                                            | "                                                          | 730/45           | 690 LP              |
| APC-Cy7, APC-H7                                                                             | "                                                          | 780/60           | 735 LP <sup>4</sup> |

\* Filter configurations recommended by BD Biosciences. Other application-specific lasers are available through the special order program.

LP = Longpass Filter

<sup>1</sup>Only SSC, FITC, and PerCP/PerCP-Cy5.5 are used when a 561-nm laser is installed.

<sup>2</sup>A 685 LP mirror comes with an optional PMT ordered for the 561-nm laser, enabling PE-Cy5 and PE-Cy5.5 to be used simultaneously.

<sup>3</sup>A 730/45 BP filter and 690 LP and 755 LP mirrors come with an optional PMT ordered for the 633-nm laser, enabling APC, Alexa Fluor® 700, and APC-H7 to be used simultaneously.

<sup>4</sup>755 LP if using with Alexa Fluor® 700.

Class 1 Laser Product.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.

Cy™ is a trademark of GE Healthcare. Cy dyes are subject to proprietary rights of GE Healthcare and Carnegie Mellon University and are made and sold under license from GE Healthcare only for research and in vitro diagnostic use. Any other use requires a commercial sublicense from GE Healthcare, 800 Centennial Avenue, Piscataway, NJ 08855-1327, USA.

Alexa Fluor® and Texas Red® are registered trademarks and Pacific Blue™ is a trademark of Life Technologies Corporation.

Living Colors [mCherry] is a registered trademark of Clontech.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2014 BD

23-11276-03



**BD Biosciences**  
bdbiosciences.com