**流式细胞仪的操作流程**

1. **开机前预处理**
2. 仪器

倾倒废液（直接倒下水管道），添加鞘液（标记了**sheath**，装满），如果需要深度清洗（清洗液与超纯水=1:1；所有实验做完后），按下仪器正面的按钮，打开仪器上盖，并拧开旋钮，检查如**图1**位置的清洗液是否足够。每次加满鞘液后，大概能测50多个样。

**注：**深度清洗时，可以提前将仪器和电脑关机。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 518075258955454035  图 1 仪器内部，红箭头表示深度清洗液 | 108505928142838762  图 2 深度清洗液 | 470011856283889285  图 3 每日清洗液 |

1. 待测样

待测水体先过20 μm的**筛绢**，然后按待测样：**50%戊二醛**为**990 μl:10 μl**的比例加到冻存管中，剧烈**摇晃**后**避光处理15 min**。最后，液氮处理，储存在-80℃保存。

将冻存管样品先放于**37 ℃**解冻，等解冻后进行涡旋，使得病毒/细菌悬浮。然后，按照一定的比例添加**待测样品**、**TE buffer**（pH=7，无菌无酶）、**DMSO染液**（在避光环境下添加荧光染液，5μl）。加入后进行**涡旋**以将其混匀。最后，在**80℃中水浴**后便可以进行后续细胞计数。

1. **开机流程**
2. 打开**仪器**后盖的**电源开关**。
3. 登录计算机，**启动**软件CytExpert。
4. 确保显示器下方的状态栏上的**连接图标**为**绿色**。
5. 点击初始化
6. 点击细胞仪选项中的开机流程，使用超纯水清洗10 min。
7. 创建实验
8. 调节仪器设置和补偿
9. 点击初始化，删除之前实验中的名字（可以批量，保存TE，TE是空白对照，即**只加buffer和染液**），重新命名
10. 在测待测样的时候，点击“**记录**”选项（大概点击“**启动**”选项后2~3s；如果要拷贝数据，则使用格式化的U盘进行拷贝）。
11. 点击**细胞仪**，选择**每日清洗**（不低于3 min；先使用**蓝色液体**后在使用**超纯水**）。
12. 关闭仪器电源、关闭电脑。
13. 倾倒废液
14. **结果**

左下角的是背景噪音，右上角用紫色圈出来的是标品（100X SYBR Gold；已知固定大小，1μm beads），中间的点为细菌或病毒，不同的细菌或病毒之间会有**横线（“----”）**分开。第二个图代表的是表面复杂度。

