

FLOW CYTOMETRY

# 流式细胞术

杜立颖 冯仁青 编著



北京大学出版社  
PEKING UNIVERSITY PRESS

# 流式细胞术

杜立颖 冯仁青 编著



北京大学出版社  
PEKING UNIVERSITY PRESS

## 内容简介

流式细胞术融合了流体力学、激光技术、电子工程、计算机技术和单克隆抗体染色技术等多学科的知识,成为一个专门的领域。它不仅应用于细胞生物学、植物学、分子生物学、生物化学、微生物学等理论科学的研究,以及血液学、免疫学、病理学、肿瘤学、遗传学等临床医学的疾病诊断和治疗,而且可以应用于农林畜牧养殖业及环境、食品、药品等检测。

本书的特点:(1)内容先进。展示了流式细胞术的最新技术及该领域研究的最新进展。(2)操作性强。文中列举了大量有代表性的实例、样本的处理方法、图谱的分析方法等供读者参考。(3)适用于教学。注重基础理论与实际问题的结合,图文并茂,文字简练。

本书可供综合性大学和农林、医学院校的本科生、研究生使用,也可供有关科研人员和检验人员使用。

## 图书在版编目(CIP)数据

流式细胞术/杜立颖,冯仁青编著. —北京:北京大学出版社,2008.7  
ISBN 978-7-301-13709-3

I. 流… II. ①杜…②冯… III. 细胞—生物样品分析—定量分析 IV. Q2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 056737 号

书 名:流式细胞术

著作责任者:杜立颖 冯仁青 编著

责任编辑:郑月娥 黄 炜

标准书号:ISBN 978-7-301-13709-3/Q·0115

出版发行:北京大学出版社

地 址:北京市海淀区成府路 205 号 100871

网 址:<http://www.pup.cn> 电子信箱:zye@pup.pku.edu.cn

电 话:邮购部 62752015 市场营销中心 62750672 编辑部 62752038 出版部 62754962

印 刷 者:世界知识印刷厂

经 销 者:新华书店

787 毫米×980 毫米 16 开本 14 印张 300 千字

2008 年 7 月第 1 版 2008 年 7 月第 1 次印刷

定 价:28.00 元

---

未经许可,不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

版权所有,侵权必究

举报电话:(010)62752024 电子信箱:fd@pup.pku.edu.cn

# 目 录

(14)	.....	现代细胞学 第二卷	
(28)	.....	基本原理 一	
(88)	.....	流式细胞术的组成及原理 二	
(81)	.....	操作技术 三	
(43)	.....	国外流式细胞学 第三卷	
<b>第一章 概述</b>	.....		(1)
(1) 第一节 什么是流式细胞术?	.....		(1)
(2) 第二节 流式细胞术能做什么?	.....		(1)
(3) 第三节 背景与回顾	.....		(2)
(4) 第四节 仪器简介	.....		(4)
(86) 一、BD公司	.....		(4)
二、Beckman Coulter公司	.....		(8)
(92) 三、Cytomation公司	.....		(12)
(82)	.....	流式细胞术原理 第一章	
<b>第二章 流式细胞术原理</b>	.....		(15)
(10) 第一节 工作原理	.....		(15)
(13) 第二节 液流系统	.....		(16)
(18) 一、鞘液	.....		(16)
(18) 二、喷嘴	.....		(17)
(18) 三、流式照射室	.....		(18)
(18) 第三节 光学检测系统	.....		(18)
(18) 一、激光和荧光	.....		(18)
(22) 二、激光照射液流	.....		(22)
(23) 三、光学信号的检测	.....		(23)
(26) 四、参与信号处理的光学元件	.....		(26)
(27) 五、光学信号检测系统	.....		(27)
(30) 第四节 电子控制系统	.....		(30)
(30) 一、光电检测器	.....		(30)
(32) 二、通道	.....		(32)
(32) 三、阈值	.....		(32)
(32) 小结	.....		(32)
(33) 参考文献	.....		(33)
(37)	.....	数据储存与分析系统 第一章	
<b>第三章 数据储存与分析系统</b>	.....		(34)
(34) 第一节 数据储存	.....		(34)

第二节 数据分析 .....	(34)
一、常用术语 .....	(35)
二、流式图谱的表现形式 .....	(38)
三、荧光补偿 .....	(46)
第三节 数据分析实例 .....	(54)
(1) 实例一：双参数 FSC/SSC 分析 .....	(54)
(1) 实例二：三参数 FSC/SSC/FL1 分析 .....	(54)
(1) 实例三：四参数 FSC/SSC/FL1/FL2 简单样本分析 .....	(55)
(3) 实例四：四参数 FSC/SSC/FL1/FL2 复杂样本分析 .....	(56)
(4) 小结 .....	(58)
(6) 参考文献 .....	(58)
(8) .....	
第四章 细胞分选 .....	(59)
第一节 细胞分选的原理 .....	(59)
(21) 一、液滴形成 .....	(59)
(21) 二、延迟时间 .....	(60)
(31) 三、液滴充电与偏转 .....	(62)
(6) 四、液滴的收集 .....	(62)
第二节 影响分选的因素 .....	(62)
(81) 一、分选速度 .....	(62)
(81) 二、分选门的设定 .....	(65)
(81) 三、分选模式 .....	(67)
第三节 分选的质量控制与评价 .....	(68)
(33) 一、分选的准确性 .....	(68)
(35) 二、分选的效率 .....	(69)
(37) 三、无菌分选 .....	(70)
(38) 四、分选对细胞活性的影响 .....	(70)
第四节 分选前的准备 .....	(71)
(33) 一、分选用细胞的制备要求 .....	(71)
(33) 二、准备的材料 .....	(72)
(33) 三、分选时需考虑的几个问题 .....	(72)
第五节 细胞分选的应用实例 .....	(73)
实例一：淋巴细胞分选 .....	(73)
(48) 实例二：组织特异性干细胞分选 .....	(73)
(48) 实例三：染料排斥性干细胞分选 .....	(76)

(III) 实例四: 精子分选 .....	(79)
(II) 小结 .....	(80)
(II) 参考文献 .....	(81)
(III) .....	
<b>第五章 细胞表面标志的检测 .....</b>	<b>(83)</b>
(II) 第一节 血液细胞的流式检测 .....	(83)
(II) 第二节 细胞表面标志的染色技术 .....	(85)
(III) 一、细胞的表面分化抗原 .....	(85)
(III) 二、直接染色法和间接染色法 .....	(86)
(II) 第三节 对照的设置 .....	(87)
(III) 一、阴性对照 .....	(87)
(III) 二、同型对照 .....	(89)
(III) 三、阳性对照 .....	(90)
(III) 四、荧光补偿 .....	(91)
(II) 第四节 定量测定 .....	(92)
(III) 一、外标法 .....	(92)
(III) 二、内标法 .....	(93)
(III) 三、标准曲线法 .....	(93)
(III) 四、分辨率 .....	(94)
(II) 第五节 设门的策略 .....	(95)
(III) 一、设门 .....	(96)
(III) 二、检验门 .....	(97)
(III) 三、荧光设门 .....	(100)
(III) 四、多色流式分析实例 .....	(101)
(II) 小结 .....	(103)
(II) 参考文献 .....	(103)
(III) .....	
<b>第六章 细胞内蛋白的检测 .....</b>	<b>(104)</b>
(II) 第一节 流式细胞术检测细胞内蛋白的特点 .....	(104)
(II) 第二节 细胞内蛋白染色通则 .....	(106)
(III) 一、细胞内蛋白染色的步骤 .....	(106)
(III) 二、细胞内蛋白染色应遵循的原则 .....	(107)
(II) 第三节 磷酸化蛋白的流式检测 .....	(107)
(III) 一、固定和通透细胞 .....	(108)
(III) 二、荧光抗体染色 .....	(109)

(05) 三、优化染色方法 .....	(111)
(08) 四、多种磷酸化蛋白同时检测 .....	(111)
(1) 第四节 细胞因子的流式检测 .....	(113)
一、T 淋巴细胞的细胞因子检测 .....	(113)
(88) 二、单核细胞的细胞因子检测 .....	(114)
(88) 三、细胞内蛋白流式检测的优缺点 .....	(115)
(2) 第五节 微球免疫测定法 .....	(115)
(88) 一、CBA 方法的原理 .....	(116)
(88) 二、CBA 方法的流程 .....	(116)
(78) 三、CBA 方法的检测范围 .....	(119)
(78) 四、CBA 方法的优缺点 .....	(120)
(4) 第六节 磷酸化蛋白与 DNA 同时检测 .....	(120)
(0) 小结 .....	(121)
(1) 参考文献 .....	(121)
(50) .....	宝树量宝 第四卷
<b>第七章 细胞核成分的检测 .....</b>	<b>(123)</b>
(1) 第一节 常用的 DNA 染料 .....	(123)
(1) 第二节 细胞周期与 DNA 的动态分析 .....	(125)
(10) 一、细胞周期的定量分析方法 .....	(126)
(20) 二、粘连细胞的分析 .....	(128)
(80) 三、BrdU/PI 双参数分析细胞周期 .....	(129)
(70) 四、BrdU/PI 双参数分析细胞周期的动态变化 .....	(130)
(00) 五、Hoechst/PI 双参数分析细胞周期的动态变化 .....	(131)
(1) 第三节 DNA 总量分析和倍体分析 .....	(131)
(80) 一、DNA 总量分析 .....	(131)
(80) 二、正常生物体的倍体分析 .....	(132)
三、肿瘤细胞的非整倍体分析 .....	(133)
(40) 四、植物倍体的分析 .....	(134)
(1) 第四节 细胞同步化 .....	(135)
(80) 一、自然同步化 .....	(135)
(80) 二、人工同步化 .....	(135)
(5) 第五节 DNA 与 RNA 同时检测 .....	(137)
(70) 一、吖啶橙(AO)同时检测 DNA 与 RNA .....	(137)
(80) 二、Hoechst 33342/PY 同时检测 DNA 和 RNA .....	(137)
(9) 第六节 DNA 与蛋白质同时检测 .....	(138)

(138) 一、DNA 和总蛋白同时检测 .....	(138)
(139) 二、DNA 和细胞周期蛋白同时检测 .....	(139)
(140) 第七节 染色体分析 .....	(140)
(142) 第八节 流式细胞术在死亡生物学中的应用 .....	(142)
(143) 一、散射光的检测 .....	(143)
(143) 二、caspases 检测 .....	(143)
(144) 三、线粒体膜电位的检测 .....	(144)
(147) 四、质膜的检测 .....	(147)
(148) 五、DNA 测定法 .....	(148)
(150) 六、流式微球免疫测定法 .....	(150)
七、细胞衰老与端粒测定 .....	(150)
(152) 八、坏死细胞检测 .....	(152)
(153) 小结 .....	(153)
(153) 参考文献 .....	(153)
(156) 第八章 流式细胞术的应用概述 .....	(156)
(156) 第一节 流式细胞术在生物学研究中的应用 .....	(156)
(156) 一、在细胞生物学中的应用 .....	(156)
(157) 二、在细胞周期研究和 DNA 倍体分析中的应用 .....	(157)
(157) 三、在细胞凋亡分析中的应用 .....	(157)
(157) 四、在染色体核型分析中的应用 .....	(157)
(157) 五、在分子遗传学中的应用 .....	(157)
(157) 六、在免疫学中的应用 .....	(157)
(158) 七、在植物学中的应用 .....	(158)
(158) 第二节 流式细胞术在医学研究及临床中的应用 .....	(158)
(158) 一、在肿瘤学中的应用 .....	(158)
(159) 二、在临床细胞免疫学中的应用 .....	(159)
(162) 三、在血液病治疗中的应用 .....	(162)
(163) 四、在血栓与出血性疾病治疗中的应用 .....	(163)
(164) 五、生物学领域的其他应用 .....	(164)
(164) 第三节 流式细胞术在农林畜牧养殖业中的应用 .....	(164)
(164) 一、在植物学中的应用 .....	(164)
(165) 二、在家畜性别控制中的应用 .....	(165)
(165) 三、在家畜疾病监控与预防中的应用 .....	(165)
(165) 第四节 流式细胞术在微生物学中的应用 .....	(165)



一、在病原微生物研究中的应用	(166)
二、在环境微生物研究中的应用	(167)
第五节 流式细胞术在食品、药品检测方面的应用	(168)
一、在食品检测中的应用	(168)
二、在药品检测中的应用	(169)
第六节 流式细胞术新技术的应用	(171)
一、CBA 方法	(171)
二、定量流式细胞术	(172)
小结	(172)
参考文献	(173)
第九章 流式细胞术的样本制备和染色方法	(175)
第一节 单细胞悬液的制备	(175)
一、小鼠末梢血的采集和单细胞悬液的制备	(175)
二、小鼠胸腺的分离和单细胞悬液的制备	(176)
三、小鼠骨髓的采集和单细胞悬液的制备	(176)
四、密度梯度离心法制备外周血单个核细胞悬液	(177)
五、小鼠脾脏的分离和单细胞悬液的制备	(178)
六、小鼠成体乳腺单细胞悬液的制备	(179)
七、小鼠胰腺单细胞悬液的制备	(179)
第二节 荧光素标记抗体的制备	(180)
一、FITC/ Texas Red 标记	(180)
二、生物素标记	(181)
三、Allophycocyanin(APC)或者 Phycoerythrin(PE)标记	(182)
第三节 流式分析和分选用的细胞染色方法	(183)
一、流式分析用的细胞染色方法	(183)
二、流式分选用的细胞染色方法	(184)
三、SP 细胞的染色方法	(185)
四、流式分选用的精子染色方法	(186)
第四节 流式细胞术检测细胞内分子	(186)
一、常用的细胞固定方法	(187)
二、细胞内分子的染色方法	(187)
三、细胞内和细胞外分子同时染色的方法	(188)
第五节 流式细胞术检测细胞周期	(188)
一、固定全细胞的 PI 染色方法	(189)

---

二、非固定细胞的无洗染色方法 .....	(190)
三、BrdU 染色方法 .....	(191)
四、植物细胞的 DNA 染色方法 .....	(191)
第六节 细胞同步化实验方法 .....	(192)
一、过胸腺嘧啶脱氧核苷法——S 期细胞同步化 .....	(192)
二、羟基脲法——S 期细胞同步化 .....	(193)
三、秋水仙胺法——M 期细胞同步化 .....	(193)
四、血清饥饿法——G <sub>0</sub> 期细胞同步化 .....	(194)
五、G <sub>1</sub> 期和 G <sub>2</sub> 期细胞同步化实验方法 .....	(194)
第七节 流式细胞术同时检测 DNA 和 RNA .....	(194)
一、Hoechst 33342/PY 同时检测 DNA 和 RNA .....	(194)
二、吖啶橙(AO)同时检测 DNA 和 RNA .....	(195)
第八节 细胞凋亡的检测 .....	(196)
一、PI 染色法——DNA 凋亡峰的检测 .....	(196)
二、Annexin V/PI 双标记法 .....	(197)
三、Hoechst 33342/PI 双染色法 .....	(198)
四、TUNEL 测定法 .....	(198)
小结 .....	(199)
参考文献 .....	(200)
附录 .....	(201)
一、流式细胞术相关网址 .....	(201)
二、流式细胞术相关实验方法网址 .....	(202)
三、荧光素试剂公司 .....	(202)
四、荧光素光谱网址 .....	(203)
五、荧光素激发和发射光谱一览表 .....	(204)

# 第一章 概 述

## 第一节 什么是流式细胞术?

流式细胞术研究的对象是动物细胞、植物细胞、细菌、病毒以及其中的遗传物质、各种蛋白或其他分子,还可以研究塑料微球或其他悬浮于液体中的微粒。它是对处于液流中的细胞或其他各种微粒进行多参数快速分析和分选的技术。

具体地说,流式细胞术可以对细胞膜上、细胞质中的蛋白、细胞因子和其他各种特异标志,以及细胞核中的 DNA、RNA 和蛋白等进行分析,上述各种细胞成分要用带有荧光素的特异抗体或染料进行染色才能检测到。仪器在收集大量细胞的基础上,可以根据细胞荧光强度的差异,从混合细胞群中鉴别出不同亚群,并对每一亚群的比例做出精确定量。流式细胞术不仅具有分析功能,尤为重要,还具有高速分选功能,可以从大量细胞中挑选出感兴趣的目标细胞,因此,这一技术不仅为科研、临床及教学等不同领域的研究工作提供了强有力的工具,而且将为医疗和农牧业生产等应用领域提供极其重要的支持。

流式细胞术的工作原理是:在一定压力下,鞘液带着细胞或微粒通过喷嘴中心进入到流式照射室,在流式照射室的分析点,激光照射到细胞发生散射和折射,发射出散射光;同时,细胞所携带的荧光素被激光激发并发射出荧光。前向散射光(FSC)和侧向散射光(SSC)检测器把散射光转换成电信号,荧光则被聚光器收集,不同颜色的荧光被双色反光镜转向不同的光电倍增管检测器,把荧光转换成电信号。散射光信号和荧光信号经过放大后,再经过数据化处理输入电脑并储存,根据细胞的散射光和荧光进行分析或分选。

## 第二节 流式细胞术能做什么?

了解了流式细胞术的原理,可以知道流式细胞术能够做下面的工作:

- 检测悬浮的动物细胞、植物细胞、细菌、病毒或其他微粒等。只要是悬浮的单细胞都可用于分析或分选,如血液、骨髓、体液中的细胞和培养的细胞等,实体组织只要经处理后制成单细胞悬液也能分析,实际上所有的组织细胞均可用于分析或分选。不仅如此,借助流式微球免疫定量技术,还可以通过在特制的微球上包被抗体、抗原或核酸探针等,同时测定细胞中的多种成分,比如各种细胞因子、自身抗体、特定的核酸序列等。

- 区分“活细胞”和“死细胞”。活细胞膜是完整的,激光照射到活细胞上会发生一定的散射、反射、折射等现象,因此,活细胞的散射光信号强。死细胞膜不完整,激光照射到死细胞不能发生散射等现象,因此,死细胞的散射光信号很弱。所以,根据散射光信号不同能够区分活细胞和死细胞。
- 鉴别“生物样本”与“非生物样本”。生物样本一般来说是不均一的,即使是同一种细胞,其大小和粒度都不同,在流式图谱中显示结果是前向散射光和侧向散射光分布比较广泛。而非生物样本,比如塑料微球,一般大小比较均一,是实心的或是空心的,微球内部不像细胞那么复杂,因此,散射光非常简单均一,在流式图谱中分布比较集中。
- 测定细胞的散射光、染色荧光及自发荧光。流式细胞术可以同时分析单个细胞的多种特征,如果用不同荧光素标记的不同单克隆抗体对细胞进行多种荧光染色,可获得一种细胞的多种信息,使细胞亚群的识别、计数和功能分析更为准确。通过荧光染色对单细胞的某些成分如 DNA 含量、抗原或受体表达量、离子浓度、酶活性等均可进行单细胞水平的定性与定量分析。
- 分析速度快,每秒测定  $10^3 \sim 5 \times 10^4$  个细胞。极短时间内可分析大量细胞,并且可以在极短的时间内从大量细胞中寻找出感兴趣的目标细胞。
- 挑选出感兴趣的单个细胞。这是流式细胞术与众不同之处——流式细胞分选。

流式细胞术已经广泛地应用于免疫学、细胞生物学、发育生物学、细胞动力学、生理学、分子生物学等生物学和医学研究的各个领域,已经成为临床医学方面的疾病诊断和治疗的必要工具。

流式细胞术开辟了一个不同寻常的领域,它是如何发生、发展的?它又是如何把计算机技术、电子工程、数学、光学、流体动力学和有机化学多种学科巧妙地融合在一起,把不同科学背景的人联系在一起共同研究,发展成为一个专门的领域,为生命科学的研究提供了强有力的工具?下面回顾一下科学工作者们的奇思妙想、互相借鉴、孜孜追求,最后化茧为蝶的艰难历程。

### 第三节 背景与回顾

正如大多数科学技术的进步一样,流式细胞术的发生与发展也是与特定的历史背景密切相关的。它的灵感来自于显微镜技术、血细胞计数仪和喷墨技术;正是这三种技术的共同发展奠定了世界上第一台流式细胞仪产生的基础。下面,简单地回顾历史,以便全面了解流式细胞术的发展及演变历程。

早在 17 世纪,显微镜技术就用于细胞和组织切片的检查,到了 19 世纪末,通过对细胞染色,人们可以在显微镜下清晰地看见细胞的结构。20 世纪 40~50 年代,有了荧光显微镜,这时抗体技术也有了很大发展,Albert Coons 发展了在抗体上交联荧光标记物的

技术,荧光标记的抗体技术获得了广泛的应用。Köhler 和 Milstein 又发展了单克隆抗体技术,单克隆抗体被大量地用于标记细胞的特异抗原,并以特异标志的不同对细胞进行分类,这样,细胞的亚型越分越细。不同类型细胞的特异标志用结合了荧光素的特异抗体染色,把细胞放在荧光显微镜的载玻片上,用适当的光源照射,细胞上的荧光素被激发,透过合适的滤光片即可以判断细胞的不同亚型。如果在显微镜上安装一个摄像头记录当时看到的荧光信号,再把视野中的细胞的荧光强度精确地定量,并用数据输出,这项技术的逻辑延伸就是流式细胞术产生的基础。

1934年,Andrew Moldaran 迈出了从显微镜技术向流式细胞术发展的第一步。他发明了一个仪器,能让细胞一个接着一个地通过毛细管,在显微镜的目镜上安装光电检测器能记录通过的每一个细胞,即这个仪器能够对细胞进行计数。20世纪60年代,Louis Kamensky 在显微镜的基础上发展了分光光度计,当细胞以500个/s的速度通过显微镜物镜时,分光光度计能测量和记录细胞的紫外吸收和蓝光的散射。1967年,Kamensky 和 Melamed 设计了分选仪器,它能给注射器提供电刺激,从液流中拉出感兴趣的目标细胞,然后收集这些特殊的细胞并拿到显微镜下观察分析,这便是流式分选的雏形。

在流式显微技术发展期间,Wallace Coulter 发明了血细胞计数仪,用于血细胞分析。20世纪50年代,血细胞计数仪已用于记录细胞数量,能快速、自动计数白细胞和红细胞,这个仪器很快成为医院血液实验室必备的仪器,它结合了很多分析仪器的特性,例如单个细胞快速通过喷嘴的技术、电子检测技术以及信号自动分析技术等,这是流式细胞仪具有的基础。

Mack Fulwyler 结合了 Coulter 的方法学与喷墨技术,进一步发展了流式细胞术。在喷墨技术中,通过喷嘴的快速振动,可以使液流断开形成均匀的、单一的液滴,这样就可以在适当的时间给特定的液滴充电并收集它。1953年,P. J. Crosland-Taylor 把流体动力学聚焦原理引入流式细胞仪的液流系统,对该领域的进一步发展起到了至关重要的作用,至此,流式细胞术的基本原理已经形成。

1969年,Marvin van Dilla 和同事们报道了第一台荧光检测的流式细胞仪,它用了 Kamensky 设计的照射系统和电子检测系统以及 Fulwyler 分选仪的快速流动和振动的液流系统,并利用了动力学聚焦的原理,这样,仪器有了轴流、照射系统和直角形光学检测系统,并用氩离子激光作为光源。Herzenberg 小组也用类似的仪器根据细胞所染的荧光素不同来分选小鼠脾细胞。流式细胞术从一开始,就引导着向多参数分析的方向发展。

现在,流式细胞仪同时向两个方向发展:一方面,大型机越来越复杂,能检测和分选不同类型的细胞,也能检测一个细胞的多种信息,而且仪器越来越灵敏,分选速度越来越快。尽管如此,大型机仍然在继续发展,它的进步始终标志着该技术和方法学发展的最前沿。另一方面,台式机外形越来越小巧,功能越来越强大,光学系统和液流系统更稳定,调节更简单,更易于操作,已经成为实验室必备的分析仪器。

## 第四节 仪器简介

世界上曾经有三个流式细胞仪生产制造商: BD 公司, Beckman Coulter 公司和 Cytomation 公司。2008 年初, Beckman Coulter 收购了 Cytomation, 为方便起见, 本书还是分三个公司来介绍产品。

### 一、BD 公司

BD 公司一直致力于研究生产最先进的流式细胞仪。自从 1974 年, BD 公司与美国斯坦福大学合作研制出全球第一台商用流式细胞分选仪(FACSTM), BD 公司就不断推陈出新, 在流式细胞术领域中始终保持领先地位。BD 公司生产的仪器型号较多。

#### 1. BD FACSCalibur

BD FACSCalibur(图 1.1)是全自动台式机, 配置一个氩离子激光(激发波长 488 nm, 15 mW)和一个二极管红激光(激发波长 635 nm, 5 mW), 能同时做四色分析; 多荧光素分析时, 用 FACSComp™软件自动设定电子补偿; 分析速度 10 000 个/s; 检测灵敏度小于 100MESF; 8 种自动化软件获取和分析系统, 按钮式液流控制, 操作方便。既能分析, 又能分选, 分选速度 300 个/s。

#### 仪器特点

(1) 开机无需等待: 预热 5 min 即可上机检测。

(2) 自动化程度高: FACSCalibur 按以用户为中心的系统设计, 从自动化样本处理、自动上样, 到按钮式液流控制、8 种自动化软件获取和分析, 每个环节都保证操作简便快捷, 并提供准确客观且具重复性的实验结果。

(3) 分析速度快: 荧光检测全部采用大型机优势配置——光电倍增器(PMT), 以保证最快的分析速度(10 000 个/s)。

(4) 四色分析系统: BD 专利的立体空间激发系统通过双激光实现四色分析, 最大限度地减少荧光信号之间的补偿, 提高检测灵敏度; 扩展了染料的选择范围, 拓宽了仪器的应用领域, 为流式细胞仪四色分析设立了行业标准。

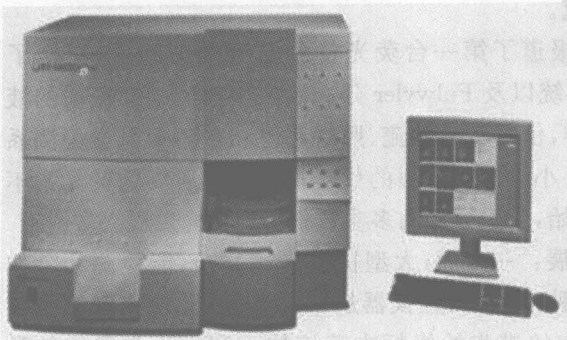


图 1.1 BD FACSCalibur 流式细胞仪

## 2. BD LSR

BD LSR(图 1.2)是世界上第一种带固定校准和紫外(UV)激光的六色荧光台式流式细胞仪,使用者不需经过繁琐的调试,就能容易地操作。配置两个激光光源(488 nm、633 nm)或三个激光光源(488 nm、633 nm 和 325 nm),同时做六色分析。BD LSR 增加了紫外激光,扩大了分析范围。

### 仪器特点

(1) 灵活性: 可选配两个或三个激光光源。所有激光器都是气冷且带固定校准。配备与其功能和动态范围相适合的 PMT。

(2) UV 激光: BD LSR 是世界上第一个配置 UV 于台式机的,固定校准,容易使用。可常规用于 Indo-1 测定  $Ca^{2+}$  通量,DAPI 或 Hoechst 分析 DNA(多参数分析)。

(3) 多色分析: 荧光染料可选范围增加。除标准 488 nm 激发的荧光染料外,还有 UV 激发的荧光染料如 DAPI、Hoechst 33342、Indo-1; He-Ne 激发的荧光染料如 APC、Cy5 等。

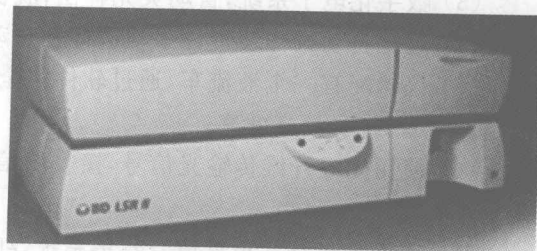


图 1.2 BD LSR 流式细胞仪

## 3. BD FACSCanto

BD FACSCanto(图 1.3)是一台可实现六色分析的台式流式细胞仪。该系统配有两个激光光源——蓝色激光(488 nm,风冷,20 mW 固态激光)和红色激光(633 nm,17 mW He-Ne 激光)。激光束通过光导纤维引导到达光束成形棱镜,聚焦在流动检测池上,光路更稳定,更不易受到操作环境变化的影响。产生的光信号由石英杯流动检测池后面的光胶耦合透镜收集,这种光胶的折光系数与透镜相同,大大提高了光信号收集效率。侧向

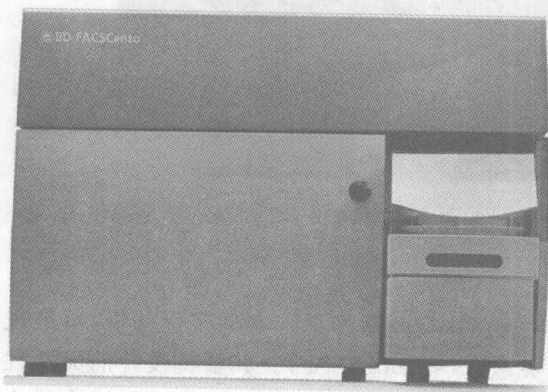


图 1.3 BD FACSCanto 流式细胞仪

角散射光和荧光信号聚焦于发射信号光导纤维小孔,由光纤引导至光信号检测系统——蓝色激光为八角形信号收集系统,红色激光为三角形信号收集系统,这种信号收集系统为 BD 公司专利。FACSCanto 的整个光激发系统和光收集系统固定校准,无需操作人员调整。FACSCanto 可以检测任意参数的脉冲信号高度(height)、面积(area)和宽度(width)以及比率,还可提供时间参数,可与任意参数结合,做动态检测。

### 仪器特点

- (1) 使用了新型进样管装置,使样本间的交叉污染小于 0.1%。
- (2) 灵敏度高,可检测很弱的信号。尤其适用于对含量极少的细胞进行高速分析。
- (3) 数字化电子系统,自动荧光补偿,脱机补偿。
- (4) 选配自动进样装置。手动进样和自动进样互相转换。
- (5) 仪器配有一个液流车,通过软件完全自动化,自动加鞘液,自动关闭,自动清洗鞘液桶。节省时间,提高效率。
- (6) 使用光导纤维传输光信号,接收的信号通过光胶耦合透镜收集,收集效率大,灵敏度高。
- (7) 蓝色激光是八角形信号收集系统,红色激光是三角形信号收集系统,为 BD 公司专利技术。

### 4. BD FACSVantage

BD FACSVantage(图 1.4)是大型分选仪,配置三个激光光源(355 nm、488 nm 和 635 nm),可以做六色分析;高速的数据处理电子系统及液流控制系统,分析速度 20 000 个/s;检测灵敏度小于 100MESF;AutoSort 具有液滴延迟自动计算功能;可以升级;二路分选,有封闭的分选系统。该仪器适于科研工作。

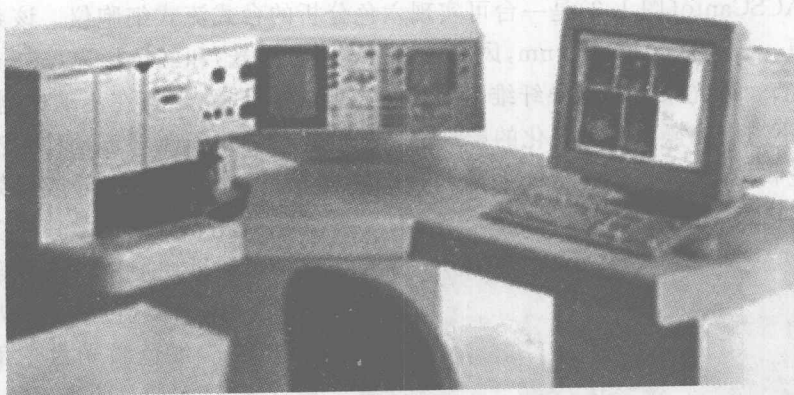


图 1.4 BD FACSVantage 流式细胞分选仪

### 仪器特点

(1) 六色荧光分析系统: BD 公司专利的立体空间激发系统实现多色分析,可最大限度地减少荧光信号之间的补偿,提高检测灵敏度( $<100\text{MESF}$ )。其整机设计的灵活性使用户可根据实际应用的需要选择不同的激光组合,可选配三个激光光源(包括染料头激光器)实现八参数六色荧光分析。

(2) 分析速度快: 高速的数据处理电子系统,配合高效的液流控制系统,保证其检测功



能。FACSVantage 标准分析速度为 20 000 个/s,最大分析速度可达 60 000 个/s。

(3) 先进的分选功能: AutoSort 液滴延迟自动计算功能,可精确而快速地设定分选条件,大大简化了分选设定所需的复杂计算。

(4) MasterSort 控制板自动提供 6 种分选模式,不同模式将满足不同实验所要求的纯度、回收率和计数精确性标准。

(5) 可设 16 种不同形状和大小的分选窗口和逻辑定义来精确确认多达 16 种不同细胞亚群。

(6) BD 公司独有的 MacroSORT Plus 功能选择可以扩展大颗粒分析和分选的应用范围,可用喷嘴直径可达 400  $\mu\text{m}$ 。

(7) AccuDrop 功能选项可以根据分选结果直接调出实际延迟时间,保证了最大的分选纯度和回收率。

(8) 点对点分选: 选配 CloneCyt Plus(automated cell deposition unit,简称 ACDU)系统,可使分选出的细胞与分析时的细胞建立点对点的对应关系。IndexSort 功能可记录分选于 96 孔或 24 孔板的单个细胞精确的表型信息,为细胞克隆扩增的结果提供可追溯的细胞特征。此项 BD 公司专有的功能保证了检测的细胞特性的确认和实验质量的控制。

(9) 脉冲处理系统: 通过分析信号脉冲的面积、宽度,区分实体组织标本中的粘连细胞群体,最大限度地减少假阳性,是实体组织 DNA 分析的解决之道;对两种荧光信号比率计算亦可用于钙离子流动的检测。

(10) 先进的 Macintosh 数据处理系统: 图形处理功能强大,是处理流式数据最佳的选择。所获数据可用 PC 机相应流式软件分析。

## 5. BD FACSDiVa

BD FACSDiVa(图 1.5)是在 FACSVantage SE 基础上的升级版,是真正的数字化仪器。除了具备 FACSVantage SE 的功能外,可以做到八色分析;提供了荧光补偿网络;QuadraSort 实现了四路分选。

### 仪器特点

(1) FACSDiVa 系统其数字化性能突出表现在: 可实现 10 个参数(2 个散射光和 8 个荧光参数)分析。

(2) 提供全面荧光补偿网络,即任何激光的任何荧光参数都可以相互补偿。



图 1.5 BD FACSDiVa 流式细胞分选仪