

Quick QC Guide for BD FACSuite Software

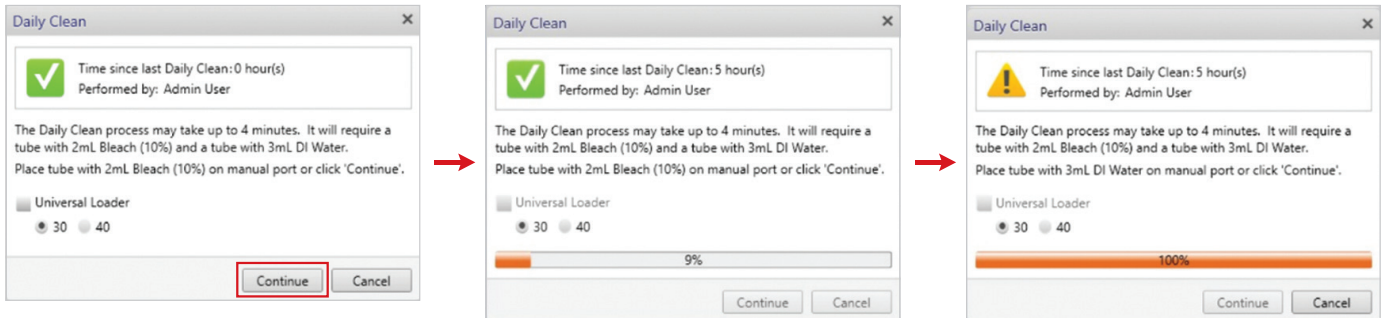


Daily cleaning

장비 사용 전 Cleaning 과정 수행

메뉴 > Cytometer > **Daily Clean**

- 수행 명령 창이 나타난 후,
- 10% Bleach(FACSClean) 2ml를 꽂으면 자동 실행된다.
- 10% Bleach 로딩이 끝나면 3ml DW tube를 꽂는다.

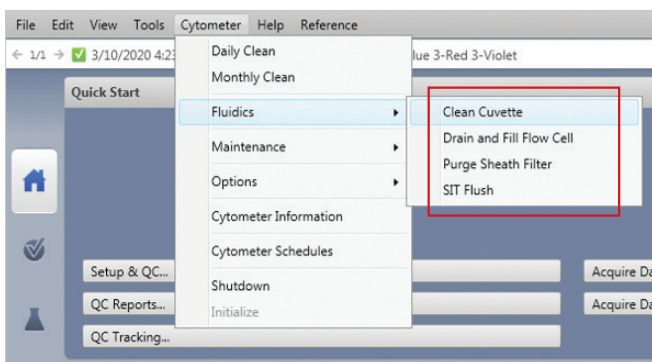


Fluidics Cleaning 종류

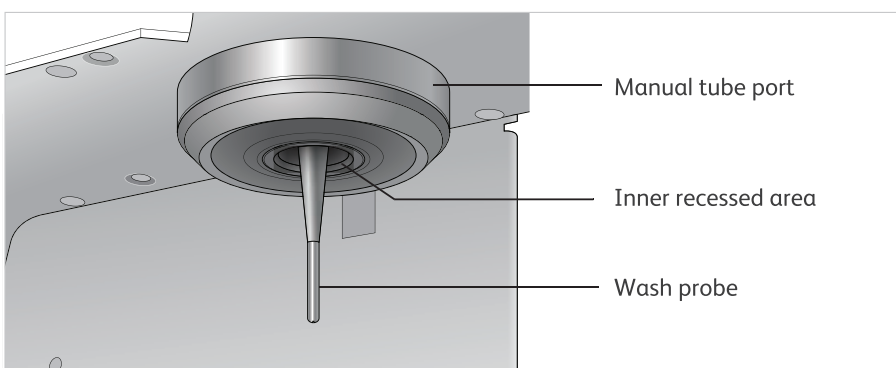
샘플 라인 및 Flow cell의 Cleaning이 필요시 수행한다.

메뉴 > Cytometer > **Fluidics**

- Clean Cuvette: Cleaning solution을 Flow cell 내에 채우기
- Drain and Fill Flow Cell: Flow cell 내 air bubble 제거 및 DW로 채우기
- Purge Sheath Filter: Sheath filter 내 bubble 제거하기
- SIT Flush: 샘플라인(Sample Injection Tube) Cleaning 수행하기



Manual Tube Port



LED 색 변화

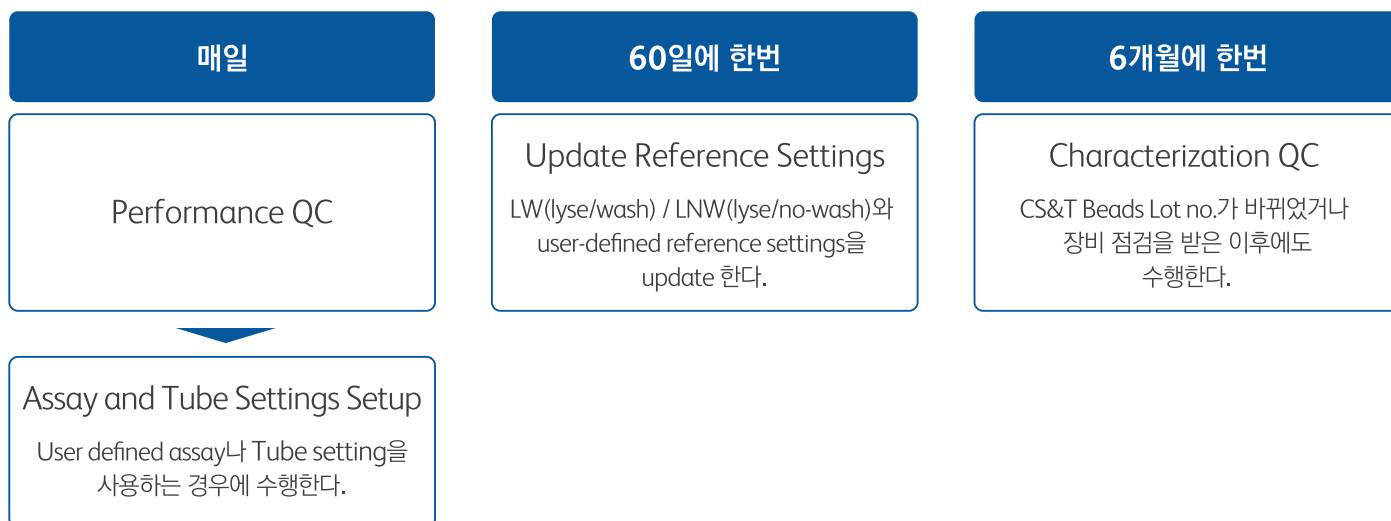
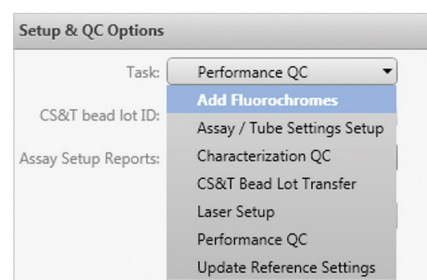
녹색 - Ready 상태 / 주황색 - SIT Flush 수행 중

Setup & QC Tasks

Overview

Setup and QC Tasks

- Characterization QC (CQC)
 - 초기 Flow cytometer의 performance를 결정한다. with CS&T
- Performance QC (PQC)
 - 일일 Flow cytometer의 performance를 확인한다. with CS&T
- Assay and Tube Settings Setup (ATSS)
 - 일일 성능을 기준으로 user-defined settings을 업데이트 한다. with CS&T
- Update Reference Settings
 - Spillover values 값을 다시 측정한다. with CS&T and FC Beads



BD™ CS&T Beads



BD™ FC Beads 5-Color Kit



Instrument setup and QC			
Item	Description	Regulatory Status	Cat. No.
BD™ CS&T Beads 50 Tests	Beads in liquid suspension for instrument QC. 50 tests	IVD	656504
BD™ CS&T Beads 150 Tests	Beads in liquid suspension for instrument QC. 150 tests	IVD	656505
BD™ FC Beads 7-Color Kit	Includes one pouch of 5 single-use tubes for each of the following 7 fluorochromes (35 tubes total): FITC, PE, PerCP-Cy™ 5.5, PerCP, PE-Cy™ 7, APC, APC-Cy™ 7. Used every 60 days to (re)establish fluorescence compensation.	IVD	656867
BD™ FC Beads 5-Color Kit	Includes one pouch of 5 single-use tubes for each of the following 5 fluorochromes (25 tubes total): BD Horizon™, APC-R700, APC-H7, BD Horizon V450, BD Horizon V500-C, BD Horizon Brilliant™ Violet 605. Used every 60 days to (re)establish fluorescence compensation.	IVD	661564
BD™ FC Beads 2-Color Kit	Includes one pouch of 5 single-use tubes for each of the following 7 fluorochromes (35 tubes total): FITC, PE, PerCP-Cy™ 5.5, PerCP, PE-Cy™ 7, APC, APC-Cy™ 7. Used every 60 days to (re)establish fluorescence compensation.	IVD	662996

BD FC Beads Products (Single Fluorescence)		
no.	Products	Regulation status
661614	FC beads dilution buffer	RUO
661615	BD™ FC Beads FITC	RUO
661616	BD™ FC Beads PE	RUO
661617	BD™ FC Beads PE-Cy7	RUO
661618	BD™ FC Beads PerCP	RUO
661619	BD™ FC Beads PerCP-Cy5.5	RUO
661620	BD™ FC Beads APC	RUO
661621	BD™ FC Beads APC-H7	RUO
661622	BD™ FC Beads APC-Cy7	RUO
661623	BD™ FC Beads V450	RUO
661624	BD™ FC Beads V500-C	RUO
661625	BD™ FC Beads APC-R700	RUO
661626	BD™ FC Beads BV605	RUO
661627	BD™ FC Beads BV421	RUO
661628	BD™ FC Beads BV510	RUO
661629	BD™ FC Beads BV711	RUO
661630	BD™ FC Beads BV786	RUO
661631	BD™ FC Beads BB515	RUO

※ RUO는 연구용, IVD는 체외진단용 입니다.

Characterization QC (CQC)

Characterization QC (CQC) 과정 설명

- Laser Alignment을 수행한다.
- 초기 % rCV, linearity 및 sensitivity 값을 정한다.
- Bright beads를 이용하여 MFI (median fluorescence intensity) 값을 정하기 위한 PMTV를 설정한다.
~ 120,000 for scatter channels
~ 100,000 for fluorescent channels

Setup Tasks	
Normal Fluidics Mode	
✓	Cytometer Initialization
✓	Laser Alignment
○	Laser Delays
●	Beads Identification
●	Determine Characterization Values
●	Determine Performance Values
●	Determine PMT Voltages
High Sensitivity Fluidics Mode	
●	Laser Delays
●	Determine Performance Values

Importing a CS&T Bead Lot

CS&T Bead Lot files을 <https://www.bdbiosciences.com/ko-kr/support/bd-biosciences-bead-lot-files>에서 download 한다.

- ① Navigation bar에서 Library를 click 한다.
- ② Beads and Reagents를 click 한 후, CS&T Beads를 click 한다.
- ③ Menu > File > Import click 후 bead lot file을 선택한다.
- ④ 새로운 bead lot file이 library에 추가 된다.

Library	
▶	Assays
▲	Beads and Reagents
	CS&T Beads
	FC Beads
	Reagents
	Trucount Tubes

Characterization QC (CQC)

Characterization QC (CQC)는 유세포 분석기의 성능을 추적하는데 사용될 기준 값을 설정하는 작업이다.

- Characterization QC 작업은 관리자 역할을 가진 사용자 (Administrator)만 실행할 수 있다.
- 6 개월마다 CQC 를 수행한다.
 - ① FACS tube를 준비한다.
 - ② BD FACSTFlow solution 1ml에 CS&T beads 4방울을 넣는다.
※ CS&T beads는 사용 전 충분히 흔들어서 잘 섞어준다.
 - ③ 잘 Mix해 준다.

Task	BD FACSTFlow™ solution minimum volume(mL)	Beads (number of drops)
Characterization QC	1.0	4
Performance QC	0.5	2
Assay and tube settings setup	0.5	2
Create tube settings	0.5	2
Create reference settings	0.5	2
Add fluorochromes to reference settings	0.5	2
Update reference settings	0.5	2

Running Characterization QC

- ① Navigation bar에서 Setup & QC를 click 한다.
- ② Task menu에서 Characterization QC를 선택한다.
- ③ CS&T Bead Lot ID를 확인한다.
- ④ 준비된 CS&T Bead tube를 loading 한 다음 Start 한다.

Characterization QC가 완료되면 완료 대화 상자가 열리고
성공했는지 또는 오류가 있는지를 나타낸다.

- ⑤ 계속를 click 한다.
- ⑥ Yes를 클릭하여 Report를 본다.
- ⑦ CS&T Bead tube를 제거한다.

Setup & QC Options

Task: Characterization QC

CS&T bead lot ID: 11881 (Expires: 8/31/2015)

New Lot...

Start

Abort

CQC Report

Cytometer Characterization QC Report

4-Blue 3-Red 3-Violet

Cytometer:
Cytometer Name:
Serial Number:
Fluidics Mode:
Last Characterization & QC:

BD FACSLytic
Julia
RZ6591800039
Normal
6/8/2017 2:51 PM

User:
Institution:

Admin User
None

Configuration Name: 4-Blue 3-Red 3-Violet

Last Modified: 4/3/2017 4:16 PM

SUMMARY: PASSED

Target MFI and %rCV values

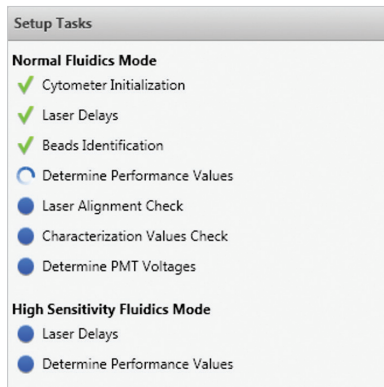
Linearity and sensitivity values

DETECTOR SETTINGS

Lot Info	Detector				PMT		Bright Bead		Mid Bead		Dim Bead		Linearity (±2%)			Resolution		
	Name	Mirror	Filter	Position	Voltage	Slope of Gain	Median	%rCV	Median	%rCV	Median	%rCV	Min Channel	Max Channel	Sensitivity	Electronic Noise RSD	Qr (x10³)	Br
LASER: Blue (Wavelength = 488nm)																		
X	FSC	-	-	FSC	423.4	0.0040	120,533	0.6	120,635	0.6	19,912	0.6	N/A	N/A	568	N/A	N/A	N/A
X	SSC	10	488/15	E	442.0	8.3287	121,980	1.6	123,300	1.6	56,423	0.9	N/A	N/A	1,514	N/A	N/A	N/A
X	FITC	507LP	527/32	D	616.8	8.6613	101,118	1.6	2,663	9.2	438	26.7	126	229,625	422	19.5	77.3	160
X	PE	560LP	586/42	C	549.9	8.5635	100,910	1.2	2,626	6.3	498	18.8	155	229,944	1,290	18.2	636.8	142
X	PerCP-Cy5.5	665LP	700/54	B	579.2	8.7237	99,647	2.1	2,262	9.5	404	22.6	84	229,892	512	20.2	36.2	18
X	PE-Cy7	752LP	783/56	A	625.0	8.9848	99,903	3.8	1,253	19.3	259	42.2	24	229,470	2,054	19.5	48.1	1
LASER: Red (Wavelength = 640nm)																		
X	APC	660/10	660/10	C	528.6	8.4813	101,205	1.7	2,805	8.0	494	19.6	170	228,756	568	19.3	52.5	21
X	APC-R700	705LP	720/30	B	507.8	8.5629	100,416	1.9	1,916	6.1	366	13.4	152	228,233	134	20.6	29.7	75
X	APC-Cy7	752LP	783/56	A	498.6	8.6866	101,237	2.4	1,642	6.1	337	13.4	91	224,520	123	19.9	41.3	138
LASER: Violet (Wavelength = 405nm)																		
X	V450	448/45	448/45	E	733.6	8.6550	100,928	2.6	6,076	8.6	747	37.1	153	228,177	153	21.0	72.3	1,251
X	V500-C	500LP	528/45	D	460.5	8.8811	101,307	2.3	2,641	7.2	341	21.7	95	228,462	120	21.8	39.0	977
X	BV605	606/36	606/36	C	693.9	8.4959	100,511	3.2	2,518	14.3	372	50.3	134	228,104	1,888	22.5	373.5	42

Performance QC (PQC)

Performance QC (PQC) 과정 설명



- Laser Alignment를 확인한다.
- % rCV, linearity, resolution 및 laser power를 측정한다.
- PMTV를 characterization QC 시 설정된 값과 비교한다.
- LW 및 LNW 설정에 대한 spillover matrix와 PMTV를 업데이트한다.

Performance QC (PQC)

Performance QC (PQC)은 오늘의 유세포 분석기 성능을 측정하는 것이다.

- 매일 실험 전 PQC를 실행하는 것을 원칙으로 한다.
- ① 12 x 75mm polystyrene tube를 준비한다.
 - ② BD FACSTFlow solution 0.5ml에 CS&T beads 2방울을 넣는다.
※ CS&T beads는 사용 전 충분히 흔들어 잘 섞어준다
 - ③ 잘 Mix해 준다.

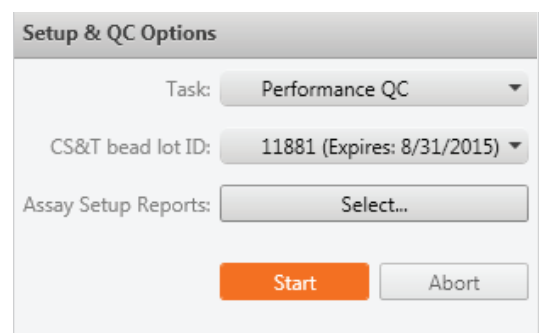
Task	BD FACSTFlow™ solution minimum volume(mL)	Beads (number of drops)
Characterization QC	1.0	4
Performance QC	0.5	2
Assay and tube settings setup	0.5	2
Create tube settings	0.5	2
Create reference settings	0.5	2
Add fluorochromes to reference settings	0.5	2
Update reference settings	0.5	2

Running Performance QC

- ① Navigation bar에서 Setup & QC를 click 한다.
- ② Task menu에서 Performance QC를 선택한다.
- ③ CS&T Bead Lot ID를 확인한다.
- ④ 준비된 CS&T Bead tube를 loading 한 다음 Start 한다.

Performance QC가 완료되면 완료 대화 상자가 열리고 성공했는지 또는 오류가 있는지를 나타낸다.

- ⑤ 계속을 클릭한다.
- ⑥ Yes를 클릭하여 Report를 본다.
- ⑦ CS&T Bead tube를 제거한다.



Performance QC Report & Levey-Jennings charts

Cytometer Performance QC Report 4-Blue 3-Red 3-Violet

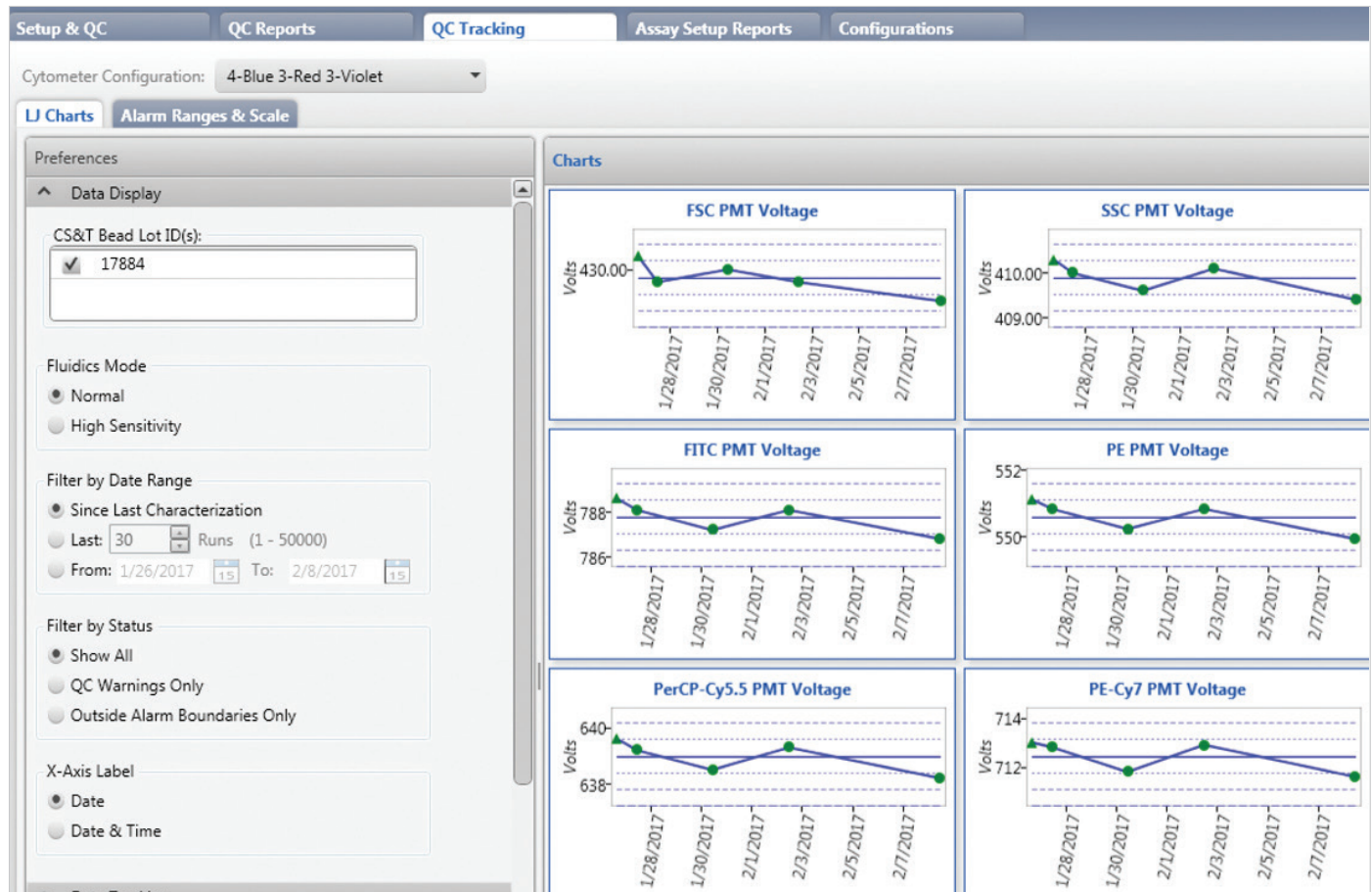
Cytometer:	BD FACSLytic-R	User:	Admin User
Cytometer Name:		Institution:	None
Serial Number:	11234		
Fluidics Mode:	Normal		
Last Characterization QC:	1/26/2017 3:07 PM		
Configuration Name: 4-Blue 3-Red 3-Violet		Last Modified: 2/8/2017 9:03 AM	

SUMMARY: PASSED

%rCV, linearity, sensitivity

DETECTOR SETTINGS

Lot Info	Detector				PMTV		Bright Bead	Linearity (±2%)			Resolution			
	Name	Mirror	Filter	Position	Actual	Δ	Median	% rCV	Min Channel	Max Channel	Sensitivity		Qr (x10 ³)	Br
											Actual	% Diff		
LASER: Blue (Wavelength = 488nm)														
X	FSC	-	-	FSC	429.5	-0.7	119,982	1.9	N/A	N/A	300	0	N/A	N/A
X	SSC	10	488/15	E	409.4	-0.9	119,938	3.3	N/A	N/A	300	0	N/A	N/A
X	FITC	507LP	527/32	D	786.8	-1.8	99,906	2.8	41	230,023	300	0	41.8	83
X	PE	560LP	586/42	C	549.9	-1.2	99,966	2.3	36	230,037	300	0	377.3	244
X	PerCP-Cy5.5	665LP	700/54	B	638.2	-1.4	99,929	3.0	29	229,872	300	0	26.2	116
X	PE-Cy7	752LP	783/56	A	711.6	-1.4	100,058	5.4	40	229,930	300	0	28.3	9
LASER: Red (Wavelength = 640nm)														
X	APC	660/10	660/10	C	603.6	0.4	100,154	2.6	38	229,625	300	0	40.9	186
X	APC-R700	705LP	720/30	B	560.0	0.3	100,072	3.1	5	229,691	300	0	15.3	0
X	APC-Cy7	752LP	783/56	A	543.6	0.1	99,917	4.3	41	230,057	300	0	18.4	0
LASER: Violet (Wavelength = 405nm)														
X	V450	448/45	448/45	E	699.5	-1.5	99,963	3.5	26	229,752	300	0	99.9	1,839
X	V500-C	500LP	528/45	D	463.7	-0.9	100,144	3.1	28	229,820	300	0	58.7	897
X	BV605	606/36	606/36	C	708.6	-1.6	99,981	3.4	51	229,828	300	0	285.9	41



Performance QC (PQC)

기준이 충족되지 않으면 결과 Report에 빨간색으로 표시되고, Report의 SUMMARY 항목에 FAILED로 나타난다.

Detector	%rCV <	Sensirivity >	Linearity Min <	Linearity Max >
FSC		30		
SSC		300		
FITC ^a	6	90	500	180,000
PE		250	500	180,000
PerCP-Cy5.5		110	500	180,000
PE-Cy7		140	500	180,000
APC ^b	6	130	500	180,000
APC-R700		50	500	180,000
APC-Cy7		40	500	180,000
V450 ^c	6	55	500	180,000
V500		70	500	180,000
BV605		250	500	180,000

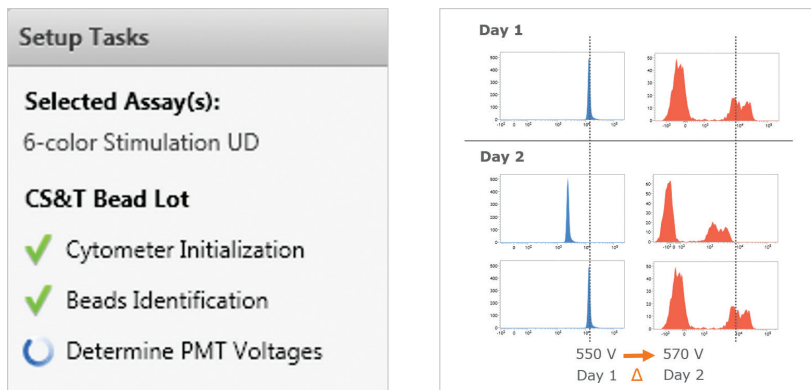
a. Blue Laser Primary Detector / b. Red Laser Primary Detector / c. Violet Laser Primary Detector

Assay and Tube Settings Setup (ATSS)

Assay and Tube Settings Setup (ATSS) 과정 설명

오늘의 유세포분석 장비의 상태를 user-defined tube settings/assays 세팅에 반영하기 위한 작업이다.

- CS&T beads를 사용하여 user-defined settings에 맞추어 PMTV를 조정하므로 일정한 형광의 밝기와 결과를 얻을 수 있다.



Assay and Tube Settings Setup

- ① Navigation bar에서 Setup & QC를 click 한다.
- ② Task에서 Assay/Tube Settings Setup을 선택한다.
- ③ CS&T bead lot ID를 확인한다.
- ④ Select를 클릭하면, Tube Settings and Assay Setup Reports table이 오른쪽에 열린다.
- ⑤ 해당 하는 Tube Setting의 Run Setup을 선택하거나, Run All Setup을 클릭한다.
- ⑥ BD FACSFlow solution 0.5ml에 CS&T beads 2방울을 loading 한 다음 Start 한다.

The 'Setup & QC Options' window shows the following configuration:

- Task:** Assay / Tube Settings Setup
- CS&T bead lot ID:** 17884 (Expires: 2/28/2020)
- Assays / Tube Settings:** Select...
- Buttons:** Start, Abort

The 'Select Tube Settings and Assay Setup Reports' window shows a table of settings:

Assay Name	Type	Author	Report
6-Color Stimulation UD	User-Defined	Admin User	✓

Additional settings and actions are visible in the background window:

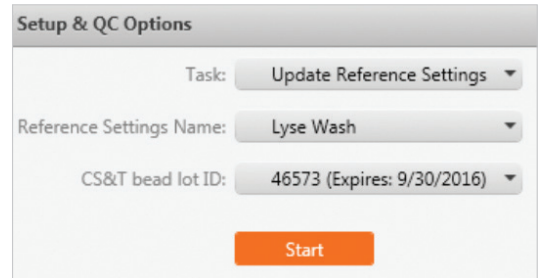
- Tube Settings:** Lyse Wash, Lyse No Wash, 6-Color Stimulation, Lab Practical_HP
- Actions:** Run Setup, Run All Setup, Generate All Reports

Update Reference Settings

Updating the Lyse Wash Settings

Default LW/LNW reference settings과 user-defined reference settings의 spillover 값을 update하는 과정으로 60일마다 수행해야 한다.

- ① Navigation bar에서 Setup & QC를 click 한다.
- ② Performance QC가 Pass 했는지 확인한다.
- ③ Task에서 Update Reference Settings을 선택한다.
- ④ Reference Settings Name을 Lyse Wash 선택한다.
- ⑤ CS&T bead lot ID를 확인한다.
- ⑥ Start 버튼을 누른다.



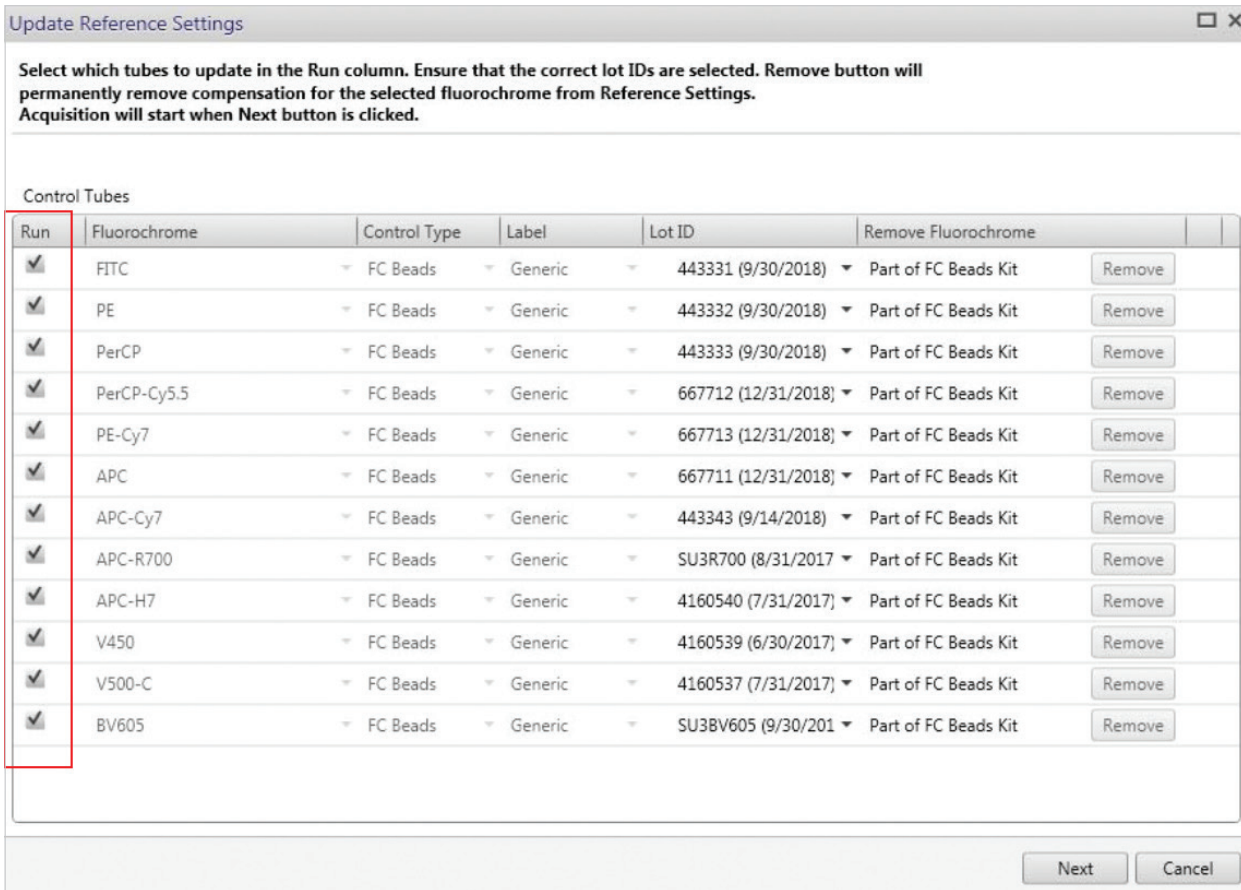
Setup & QC Options

Task: Update Reference Settings ▼

Reference Settings Name: Lyse Wash ▼

CS&T bead lot ID: 46573 (Expires: 9/30/2016) ▼

Start



Update Reference Settings

Select which tubes to update in the Run column. Ensure that the correct lot IDs are selected. Remove button will permanently remove compensation for the selected fluorochrome from Reference Settings. Acquisition will start when Next button is clicked.

Control Tubes

Run	Fluorochrome	Control Type	Label	Lot ID	Remove Fluorochrome
☒	FITC	FC Beads	Generic	443331 (9/30/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	PE	FC Beads	Generic	443332 (9/30/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	PerCP	FC Beads	Generic	443333 (9/30/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	PerCP-Cy5.5	FC Beads	Generic	667712 (12/31/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	PE-Cy7	FC Beads	Generic	667713 (12/31/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	APC	FC Beads	Generic	667711 (12/31/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	APC-Cy7	FC Beads	Generic	443343 (9/14/2018)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	APC-R700	FC Beads	Generic	SU3R700 (8/31/2017)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	APC-H7	FC Beads	Generic	4160540 (7/31/2017)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	V450	FC Beads	Generic	4160539 (6/30/2017)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	V500-C	FC Beads	Generic	4160537 (7/31/2017)	Part of FC Beads Kit Remove
☒	BV605	FC Beads	Generic	SU3BV605 (9/30/201)	Part of FC Beads Kit Remove

Next Cancel

- ⑦ 위의 화면에서 업데이트 하고자 하는 형광의 Run 버튼을 체크한다.
- ⑧ Lot ID를 다시 한번 확인하고 Next 버튼을 누른다.
- ⑨ CS&T 부터 순서대로 FC beads 형광 tube를 loading 해준다.

Monthly clean

Monthly clean은 fluidics system을 10% bleach solution으로 세척하고, DI water와 Sheath fluid로 씻어내는 과정으로 월 1회 수행한다.

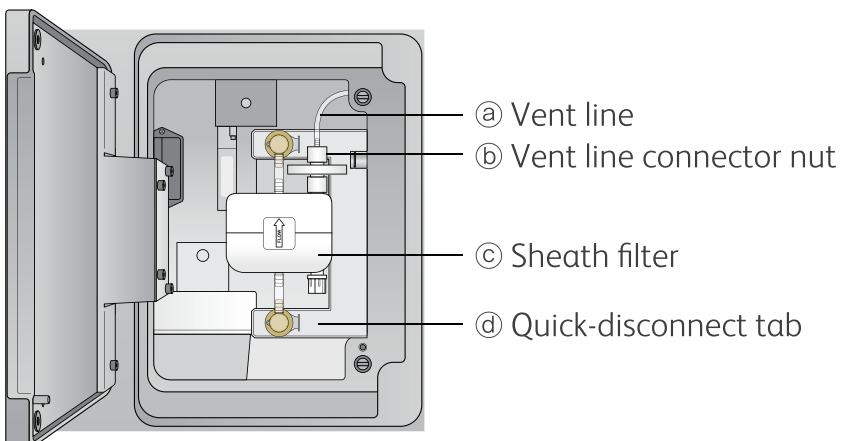
장비를 많이 사용하거나 오염이 의심되는 경우 더 자주 수행할 수 있으며 20분 정도 소요된다.

필요한 시약

- 2 mL of 10% bleach solution
- 3 mL of DI water
- 2 L of 10% bleach solution to fill the tank
- Sheath filter bypass assembly
- BD FACSTFlow sheath fluid to fill the sheath tank (5 L or 10 L)

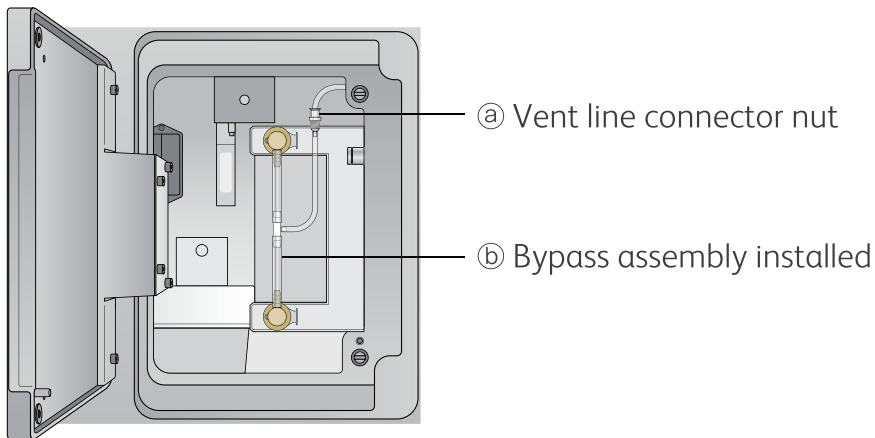
Perform the monthly clean procedure

- ① Menu > Cytometer > Monthly Clean을 선택한다.
- ② 10% bleach solution 2mL를 FACS tube에 담아 manual tube port에 꽂는다.
- ③ 별도의 tank(Bleach tank)에 10% bleach solution 2L를 준비한다.
- ④ Sheath tank에 연결된 보라색 connector를 Bleach tank에 연결한다
- ⑤ Sheath filter를 제거한 후 과정이 끝난 후 다시 제자리에 놓을 수 있도록 잘 보관한다.



- ① 장비 본체의 왼쪽의 문을 연다.
- ② Connector nut를 풀어 filter 상단의 vent line을 분리한다.
- ③ 필터 상단과 하단에 있는 quick-disconnect tab을 눌러 filter를 제거한다.

- ⑥ 2개의 quick-disconnect 및 vent line connector에 sheath filter bypass assembly를 다음 그림과 같이 설치한다.
- ※ Bypass assembly 설치하는 중요한 단계로, 잘못될 시 시스템에 손상을 줄 수 있다.

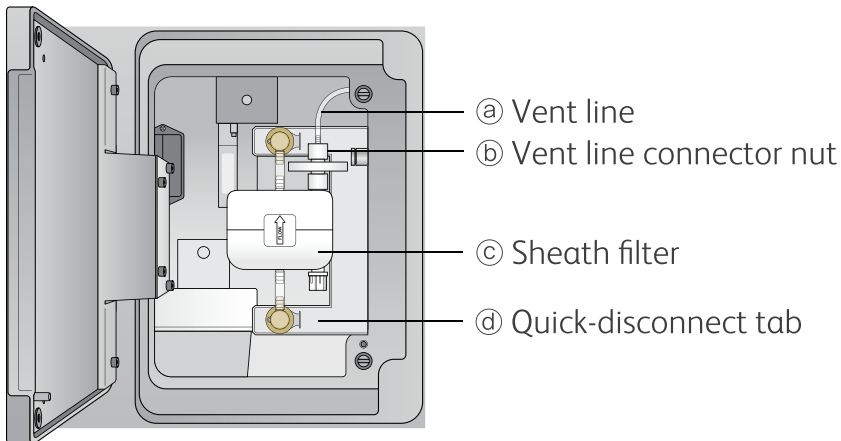


- ⑦ Dialog에서 cleaning process를 시작하기 위해 Continue를 click 한다.
- ⑧ Bleach cycle이 끝나면, bleach tube를 제거하고 3mL의 DI water가 들어있는 tube로 바꾸어준다.
- ⑨ Bleach tank를 제거하고 sheath tank를 연결한다.
- ⑩ Cleaning process를 계속하기 위해 Continue를 click 한다.
프로세스가 완료되면 메시지가 표시되고, 소프트웨어는 완료된 절차의 시간과 날짜를 기록한다.
- ⑪ Bypass assembly를 제거하고 sheath filter를 다시 설치한다.
- ※ Sheath filter의 방향은 Flow 화살표가 위를 향하도록 설치 한다.
- ⑫ Cytometer > Fluidics > Purge Sheath Filter를 2회 수행한다.

Replacing the sheath filters

Sheath filter (Cat.no. 651451)는 3개월에 한번 교체한다.

장비 본체의 왼쪽의 문을 연다.



- ① Connector nut를 풀어 filter 상단의 vent line을 분리한다
- ② 필터 상단과 하단에 있는 quick-disconnect tab을 눌러 filter를 제거한다.
- ③ 사용한 filter는 버린다.
- ④ 각 끝을 connector에 삽입하여 Flow 화살표를 위로 향하게 하여 새 filter assembly를 설치한다.
- ⑤ Connector nut를 조여 필터 상단의 vent line을 다시 연결한다.
- ⑥ Cytometer > Fluidics > Purge Sheath Filter를 선택하여 새 filter에 sheath fluid를 주입한다.
이 과정은 1분 정도 소요된다.
- ⑦ Filter를 채우기 위해 6번 과정을 반복한다. 완료되면 vent line에 fluid가 있는 것을 볼 수 있다.
- ⑧ Door를 닫고, Cytometer > Maintenance > Replace Sheath Filter를 선택한다.
- ⑨ 새 filter에 대한 정보를 넣은 후 OK를 click 한다.