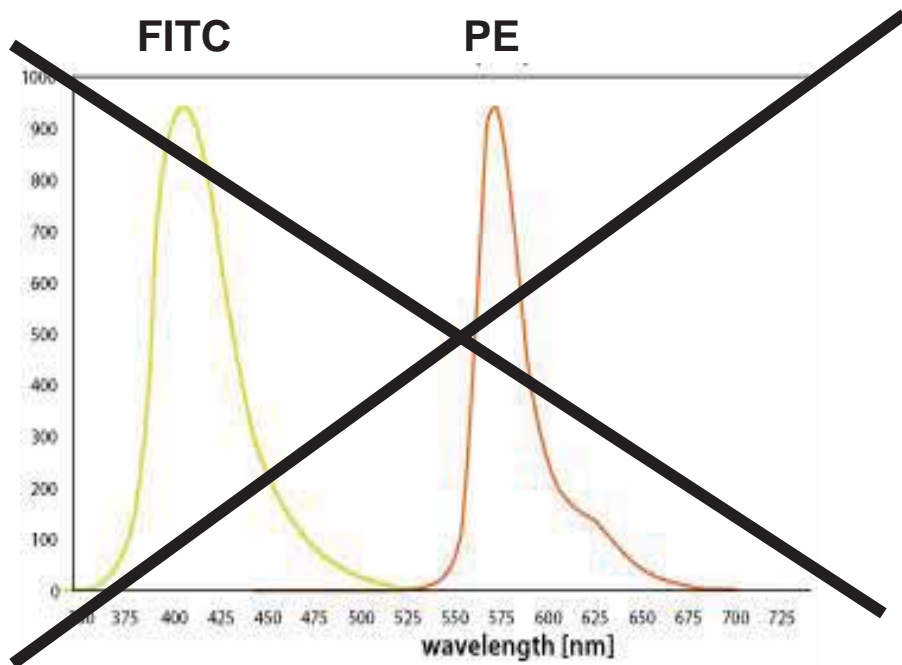


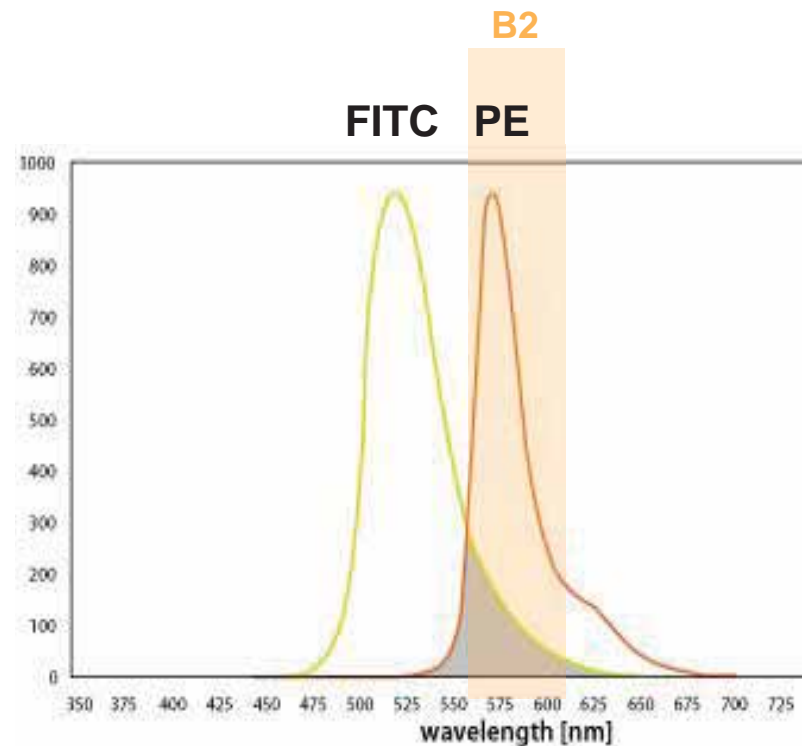
利用 MACSQuantify™ 软件在MACSQuant® Analyzer上进行补偿

MACSQuant® Analyzer 流式细胞仪培训

什么是光谱重叠？

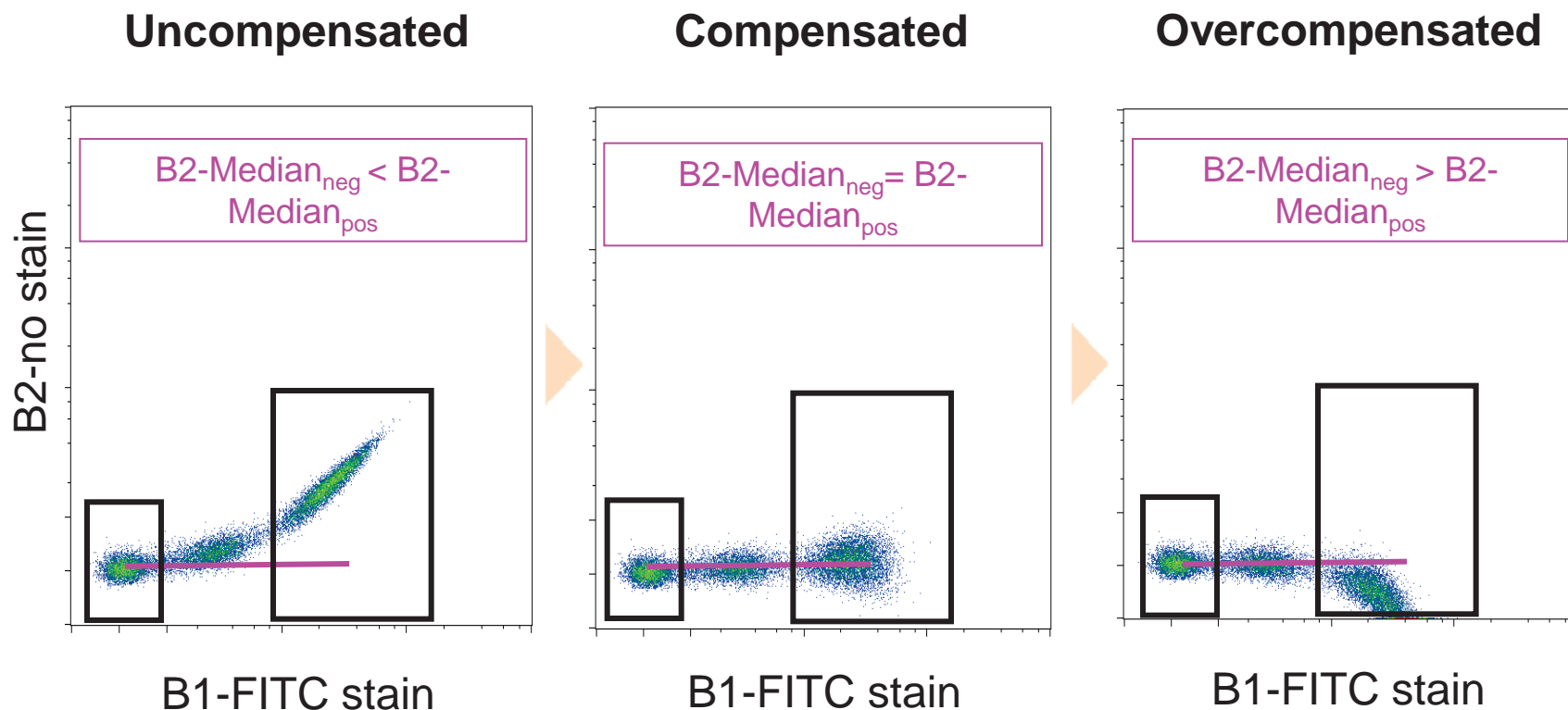


理想状态

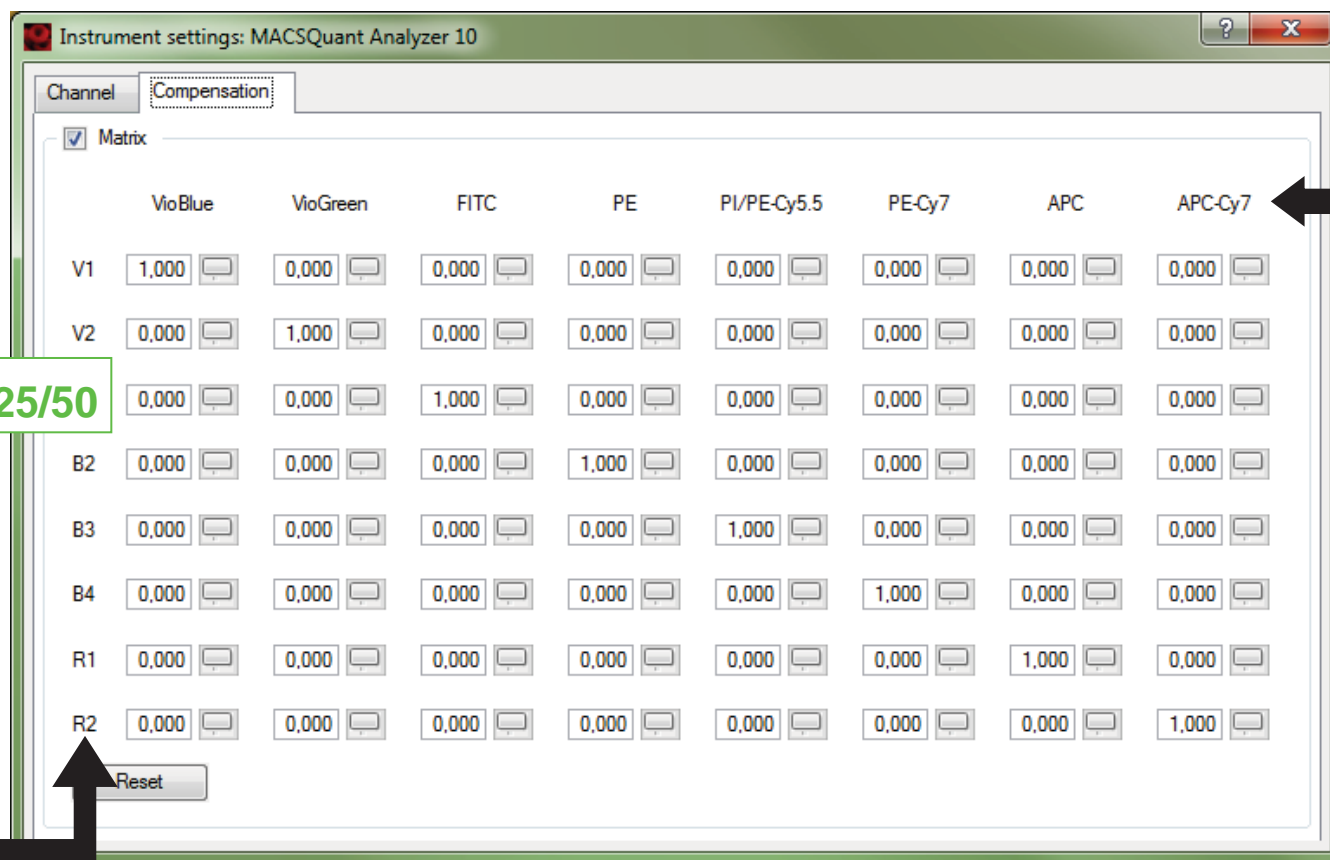


Spectral overlap

光谱重叠部分的补偿调节



MACSQuantify™ 软件的矩阵式补偿

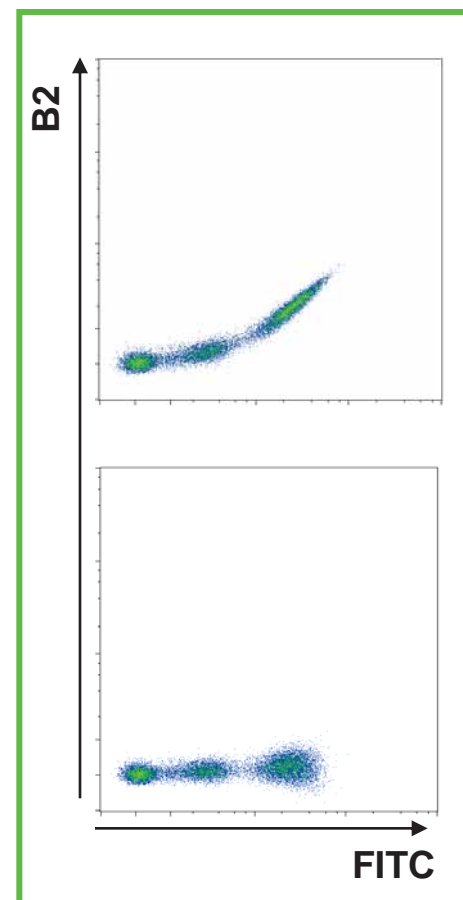
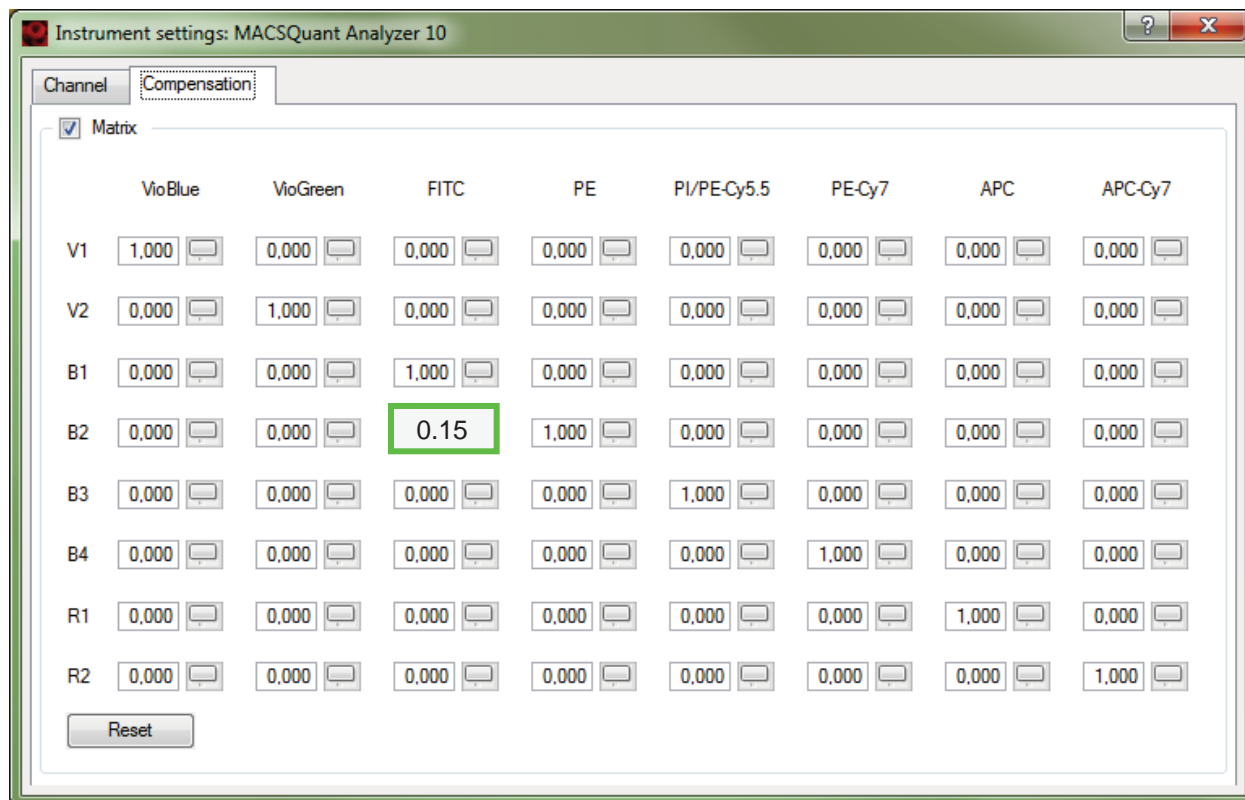


标记细胞的
荧光素

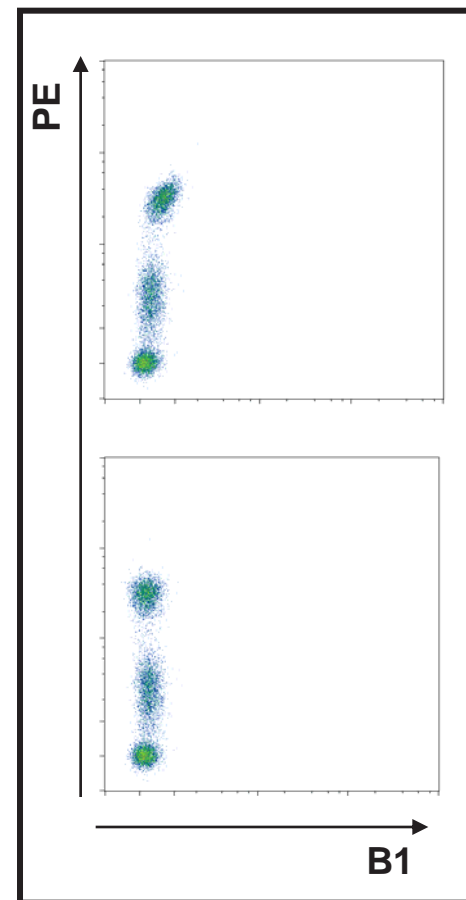
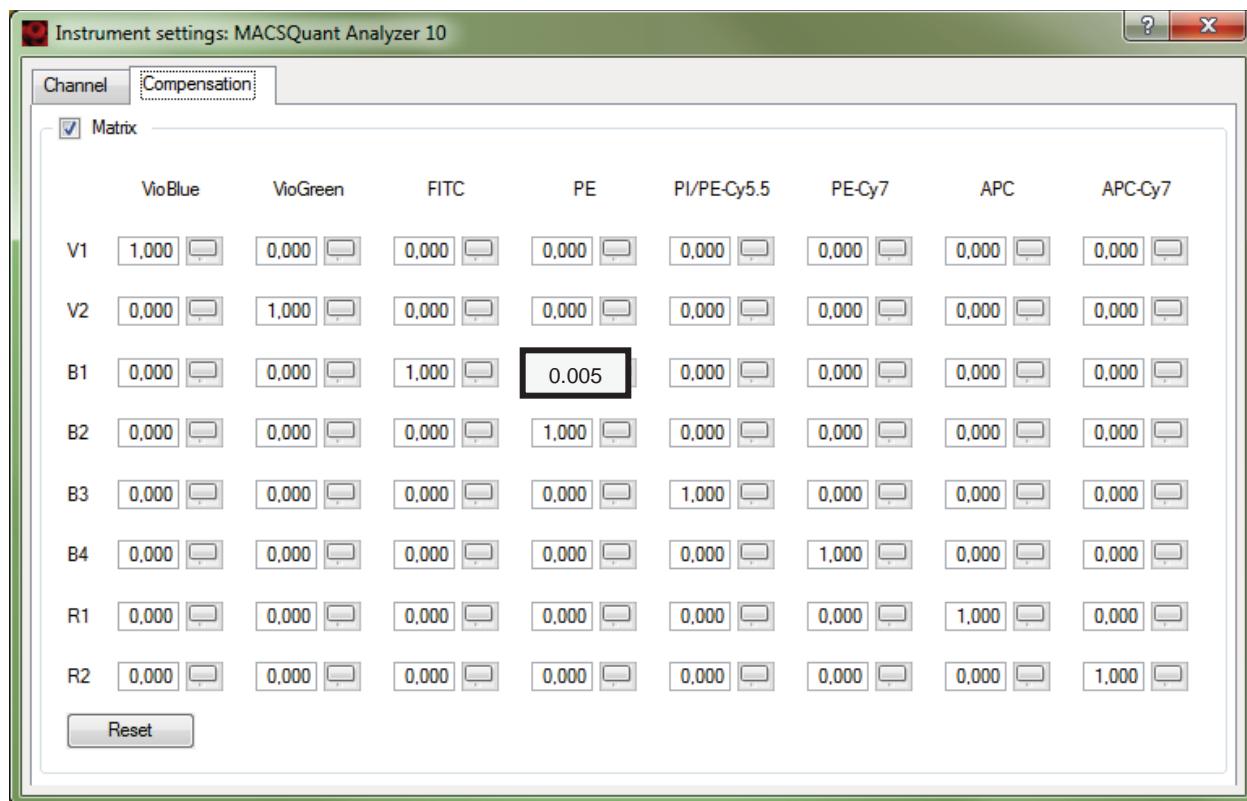
检测通道

手动调节补偿

- 通过矩阵式补偿减去荧光溢出到其他检测通道的部分



手动调节补偿



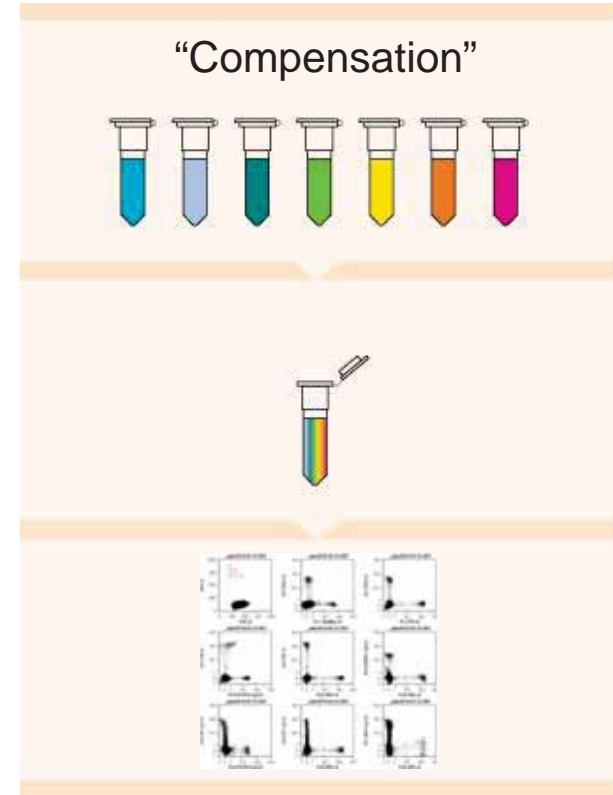
手动调节补偿

- 浪费时间
- 在多色分析中几乎不可能 (例如，8色流式分析)

=> 解决办法: 自动调节补偿!

利用MACSQuantify™ 软件自动调节补偿

- 利用细胞或微球调节补偿
- 需要单染的细胞或微球



自动调节补偿

- 在获取数据后，软件会自动计算补偿；
- 自动调节补偿后，软件会自动生成一个正确的矩阵式补偿值

补偿前

补偿后

Instrument settings: MACSQuant Analyzer 10

Channel Compensation

☒ Matrix

	VoBlue	VoGreen	FITC	PE	PI/PE-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-Cy7
V1	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
V2	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
B1	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
B2	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
B3	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
B4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000
R1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
R2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000

Reset

Instrument settings: MACSQuant Analyzer 10

Channel Compensation

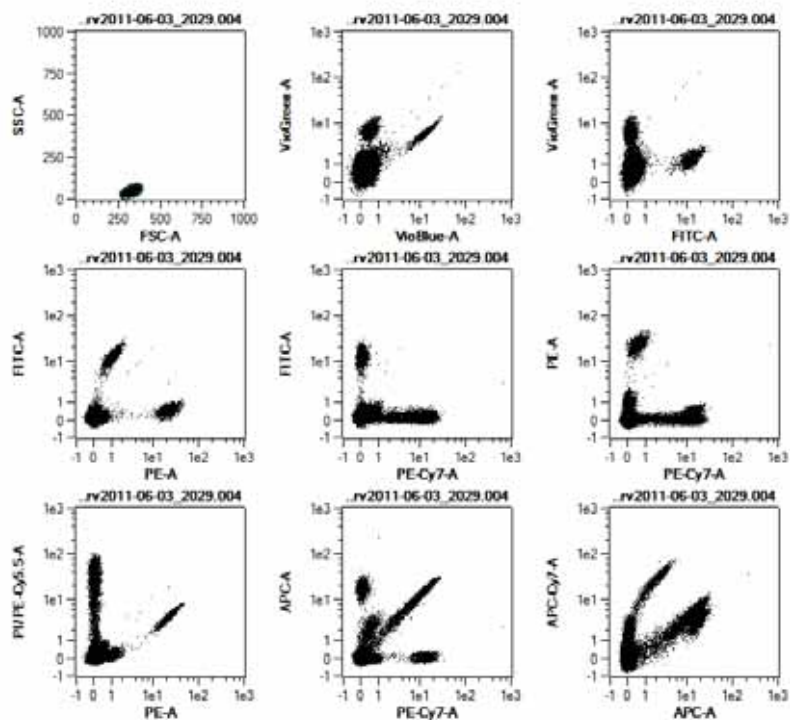
☒ Matrix

	VoBlue	VoGreen	FITC	PE	PI/PE-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-Cy7
V1	0,716	0,032	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
V2	0,284	0,968	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004
B1	0,000	0,000	0,860	0,012	0,000	0,001	0,000	0,002
B2	0,000	0,000	0,073	0,822	0,000	0,024	0,000	0,001
B3	0,000	0,000	0,012	0,147	0,549	0,028	0,011	0,002
B4	0,000	0,000	0,002	0,018	0,171	0,841	0,002	0,013
R1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,203	0,003	0,833	0,066
R2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,076	0,104	0,154	0,913

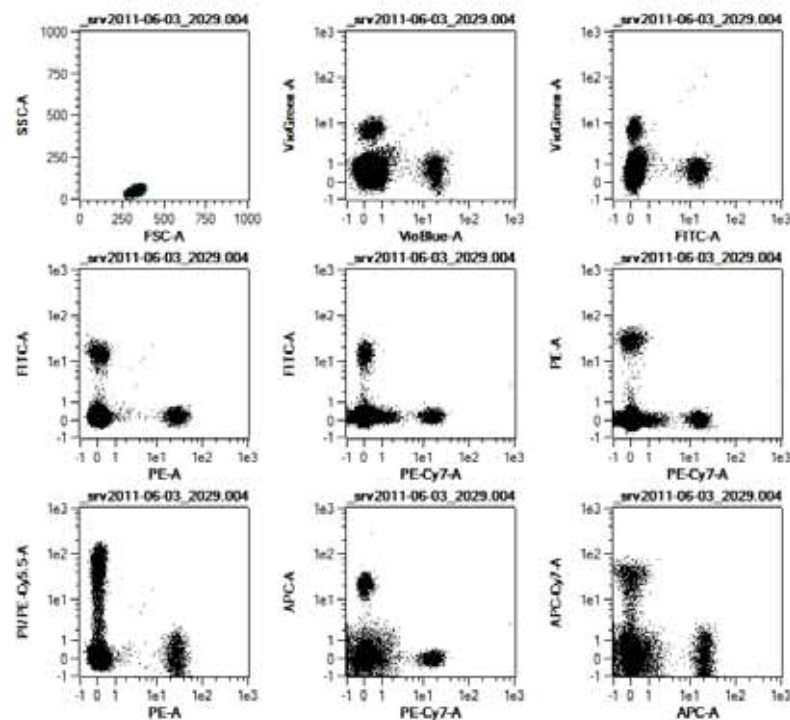
Reset

自动调节补偿后的结果图

补偿前



补偿后

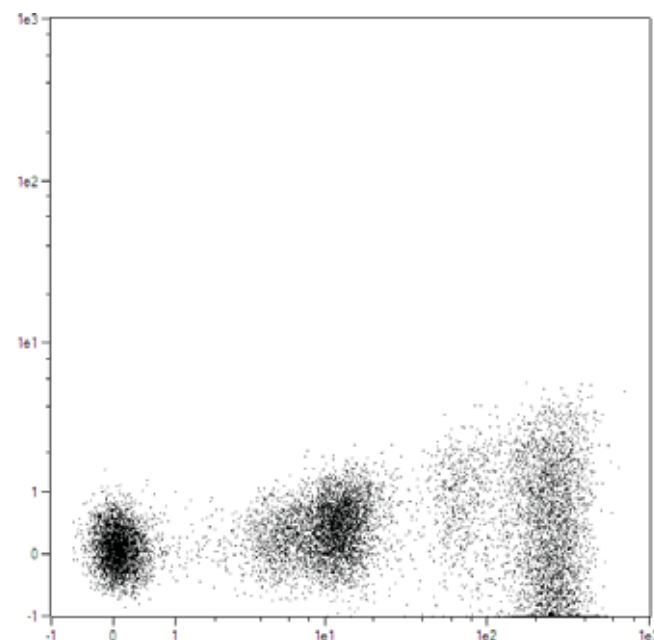
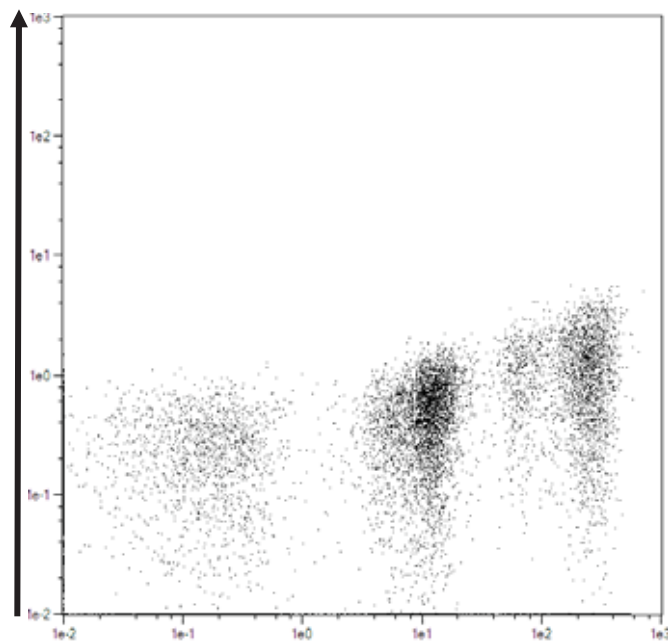
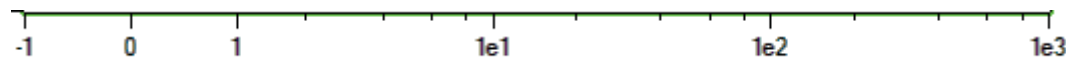


利用hlog标尺调节补偿

log5 scale

hlog scale

APC-Vio770



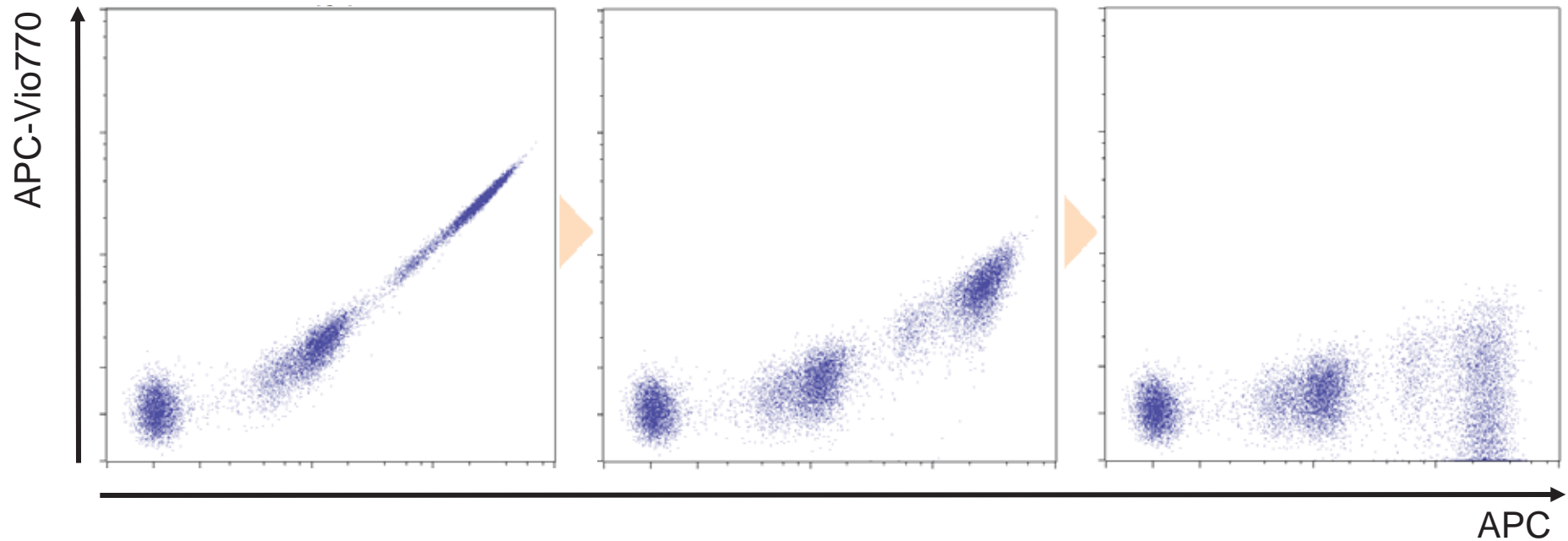
APC

细胞带有更高的荧光强度需要更多的荧光补偿

补偿不足

部分补偿

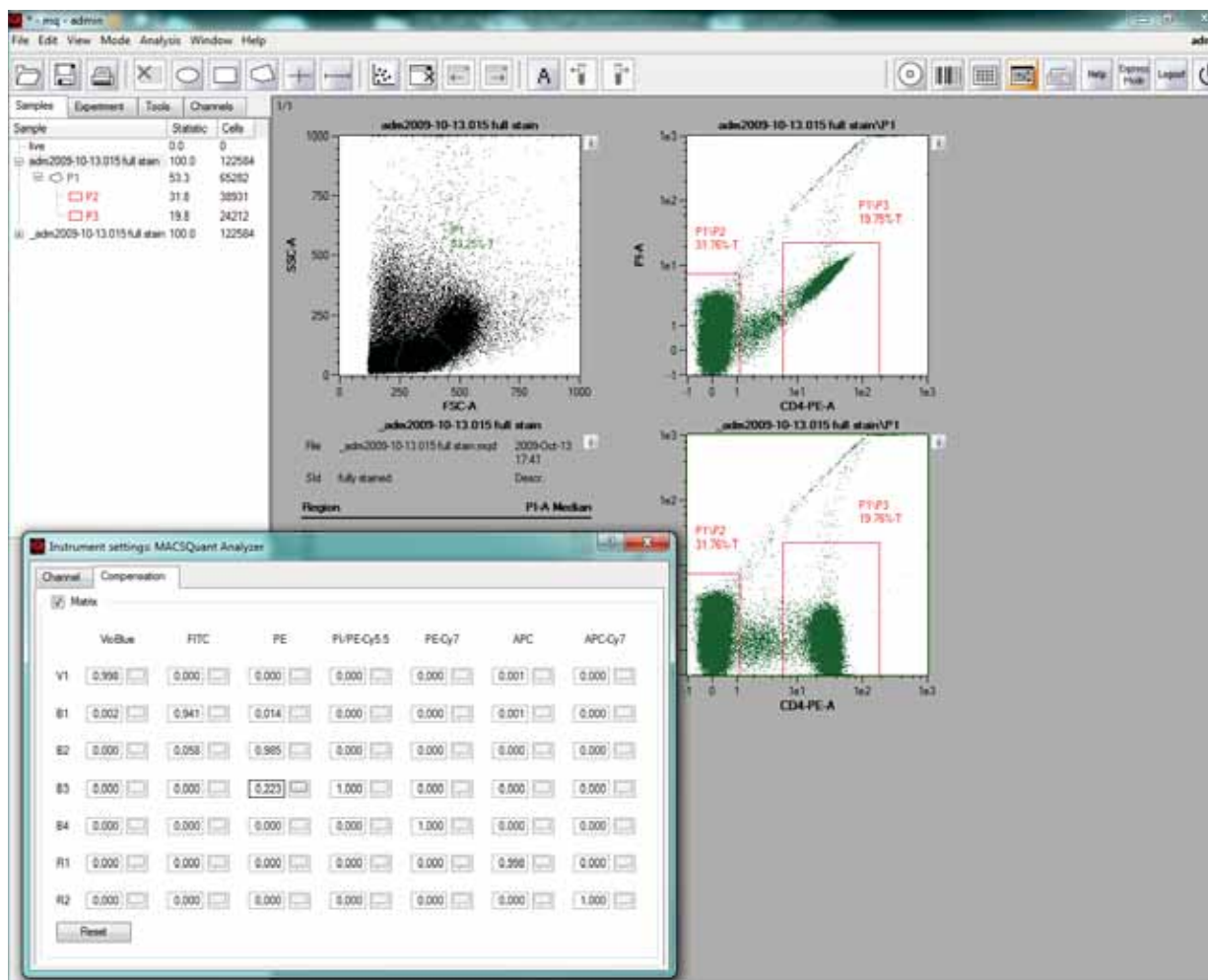
完全补偿



补偿的重要原则

- 带有相同荧光素的不同标志物可以用来调节补偿；染色强度是非常重要的
- 对于偶联的荧光素：选用相同批号荧光素进行补偿和实验
- 不能改变荧光素(e.g.将 FITC 变为 GFP => 都是 B1, 但是两者的光谱 不同)
- 用细胞调节补偿比用微球调节补偿更好

MACSQuantify™ 软件进行脱机补偿



Thank you