



Bedienungsanleitung FACS LSR Fortessa

Stand: 07.11.2019

1. Anwender

Jeder Anwender bekommt nach erfolgter Einweisung einen eigenen User-Zugang, den er auf Wunsch mit einem Passwort schützen kann.

2. Einschaltroutine

- a. LSR Fortessa (30min Aufwärmzeit für die Laser) und Computer einschalten.
- b. Computer Passwort eingeben.
- c. FACS Diva Programm starten.
- d. User auswählen.
- e. Flüssigkeitsstand kontrollieren, evtl. neuen Kanister anschließen.
- f. Röhrchen entfernen.
- g. Prime drücken 3 x
- h. Aqua dest. laden, Run drücken und ca. 5 min. spülen auf FLOW-Rate: High
- i. Danach wie gewohnt messen.
- j. Eintragung in die Betriebsbuchliste und Desinfektion des kompletten Arbeitsplatzes.

Achtung!!!

Wenn **Prime** gedrückt wurde, muss das Gerät danach ca. 3 min. mit Aqua dest. auf Run und FLOW-Rate: high laufen, damit der Schlauch bis zum Waste-Kanister lückenlos mit Flüssigkeit gefüllt ist. Ansonsten ist keine stabile Messung möglich!

Die **Übernadel** am Probeneinzug darf aus Sicherheitsgründen nicht abgenommen werden, nur in Ausnahmefällen und nach Absprache mit einer der Core-Facility-Mitarbeiterinnen!

Die **optischen Filter** dürfen nur nach Absprache mit einer der Core-Facility-Mitarbeiterinnen getauscht werden.

Im Gegensatz zum Canto II wird die Probennadel nicht gespült, d.h. es kann zu **Verschleppungen** kommen. Also sollte die Probennadel nach stark positiven Proben mit Aqua dest. gereinigt werden.

3. Ausschaltroutine

- a. 5 min Clean Lösung (ca. 3ml im FACS-Tube) messen bei FLOW-Rate: High.
Achtung: Die Clean Lösung enthält Hypochlorid!
- b. 5 min Rinse (ca. 3ml im FACS-Tube) messen bei FLOW-Rate: High.
- c. Aqua dest. Röhrchen laden.
- d. Gerät auf Standby schalten.
- e. Computer und LSR Fortessa ausschalten.

4. Flüssigkeitskanister wechseln

Wenn ein Kanister fast leer ist, Flüssigkeitssensor vom alten Kanister abschrauben, Pappe und Deckel vom neuen entfernen und Sensor an dem neuen Kanister festschrauben.
Vor dem Anbrechen eines neuen Kanisters, bitte erst den Rest aus dem vorigen alten Kanister in den aktuell verwendeten gießen!
Am Supply System „**Restart**“ drücken.
Vor dem Messen dann 1x Prime am LSR drücken (ohne Röhrchen am Probeneinzug)!

5. Müll entsorgen

Wenn der Müllkanister fast voll ist, sollte er getauscht werden. Neue Kanister finden Sie entweder im Schrank des FACS- Labors oder im Regal in der Spülküche (Raum-No:04.069).

Zum Tauschen der Kanister Flüssigkeitssensor **und Filterdeckel** vom alten Kanister abschrauben und jeweils mit Deckeln vom neuen Tank tauschen. Den vollen Müll-Kanister bitte **mit frischem Autoklavierband** und der Aufschrift „S2-Müll“ versehen und in der Spülküche in die Flüssigmüllwanne bei den Autoklaven stellen.

6. Datensicherung

Für die FACS-Daten Sicherung ist jeder User selbst verantwortlich!

Die Daten werden alle 1-2 Monate auf zwei Festplatten gesichert und anschließend aus der Diva gelöscht.

Falls Sie auf ältere Daten zurückgreifen wollen, fragen Sie bitte bei den Mitarbeitern der Core Unit nach.

Achtung: Die Daten auf dem Auswerte- PC werden nicht gesichert, sondern vierteljährlich gelöscht.

7. Auswertestation

Es gibt die Möglichkeit, die Daten kostenfrei an der Auswertestation zu analysieren. Bitte löschen Sie diese danach wieder aus der Diva-Software.

Um die Messdaten zu transferieren:

Experiment auswählen und im Computermenü Export starten.

File

↳ Export

↳ Experiment

↳ Ort auswählen (Browser > Desktop > „USB-Stick“)

Daten auf die Auswertestation spielen:

FACS- Diva Programm öffnen, Benutzer auswählen und im Computermenü Import starten.

File

- ↳ Import
- ↳ Experiment

8. Abrechnung

Für die Berechnung der Nutzerkosten wird nur die Zeit der Anmeldung am LSR Fortessa genutzt! Dabei wird vierteljährlich die Gesamtnutzungszeit für jeden Benutzer ermittelt.

9. Zeit reservieren

Die Buchung erfolgt über einen Online Kalender.

In der Zeit **zwischen 11:00-17:00 Uhr** darf man die **Analysegeräte nur max. 2h buchen**. Wenn Sie lange Versuche haben, buchen Sie bitte die Randzeiten vorher oder nachher z.B. XX - 13:00 Uhr oder 15:00 – XX Uhr.

Da den LSRFortessa sehr viele Anwender nutzen, reservieren Sie bitte das Gerät nur so lange wie Sie für ihre Messung benötigen.

Wenn Sie doch einmal viel eher am Gerät fertig sind, verkürzen Sie bitte den Termin im Buchungskalender und rufen den nächsten User an (wenn direkt nach Ihnen jemand eingetragen ist), damit dieser seinen Termin, wenn er möchte auch nach oben verschieben kann.

Bitte erscheinen Sie pünktlich, da der nächste Anwender ein Recht auf seine Zeit hat, auch wenn Sie noch nicht fertig sind.

10. Benutzerwechsel

a) Nach Ihnen ist direkt im Anschluss jemand eingetragen:

5 Minuten Clean messen (Run) auf FLOW- Rate: High

5 Minuten Aqua dest. messen (Run) auf FLOW- Rate: High

Das Aqua dest. Röhrchen stecken lassen, es sollte allerdings nicht mehr als 1ml enthalten.

Gerät auf Standby schalten!

Danach ausloggen.

b) Der nächste Nutzer ist in 2 Stunden oder später eingetragen:
Ausschaltroutine (Punkt 3) durchführen

11. Filterkonfiguration

| Laser | PMT | LP Filter | BP Filter | Fluoreszenzfarbstoff |
|-------|-----|-----------|-----------|--|
| 405nm | A | 750 | 785/60 | BV 785 |
| | B | 680 | 710/50 | BV 711 |
| | C | 630 | 661/20 | BV 650 BV 645 Qdot 655 |
| | D | 595 | 605/12 | BV 605 eFluor605 Qdot 605 |
| | E | 575 | 585/42 | BV 570 Qdot 585 |
| | F | 475 | 525/50 | AmCyan, Horizon V500, T-Sapphire, Alexa Fluor430, Cerulean |
| | G | leer | 450/50 | Pacific Blue, Horizon V450, mTag BFP, BV421 |
| 488nm | A | 685 | 695/40 | PerCP, PerCP-Cy5.5, 7-AAD |
| | B | 505 | 530/30 | FITC, EGFP/EYFP, Venus, AlexaFluor488, Cy2, DiOC _n (3), CFSE |
| | C | leer | 488/10 | SSC |
| 561nm | A | 750 | 780/60 | PE-Cy7 |
| | B | 685 | 710/50 | PE-Cy5.5, |
| | C | 635 | 670/30 | PE-Cy5, mPlum |
| | D | 600 | 610/20 | PE-Texas Red, PI, Ovid, mCherry |
| | E | 575 | 582/15 | PE, DsRed, tdTomato |
| 640nm | A | 750 | 780/60 | APC-Cy7, AlexaFluor750 |
| | B | 710 | 730/45 | AlexaFluor700 |
| | C | leer | 670/14 | APC, AlexaFluor647, Cy5, eFluor670 |

* Es gibt die Möglichkeit durch einen Filterwechsel GFP und YFP zu trennen!
Den Filterwechsel führen nur **Mitarbeiter der Core Facility** durch!!!