FCS EXPRESS VERSION 4 (第4版)用户手册



FCS Express 4

流式细胞分析软件的未来之选

De Novo Software

FCS Express 4添加了微软Ribbon条式的交互界面，
功能更强大、应用更简单。

结合流式细胞分析功能和图像分析功能于一身。

目录

第1章 欢迎使用FCS Express第4版 18

1.1 关于本用户手册 18
1.2 系统要求 18
1.3 购买及安装FCS Express 19

第2章 学习如何使用FCS Express 22

2.1 视频教程 22
2.2 书面教程 22
2.3 完整的帮助系统 23
2.4 详细的用户手册 23
2.5 在线论坛 23
2.6 电子邮件支持 23

第3章 FCS Express快速导览 26

3.1 开始使用FCS Express 26
3.2 快速了解Ribbon条 28
3.2.1 应用程序按钮 29
3.2.2 快捷工具条 32
3.2.3 主页标签卡 33
3.2.4 插入标签卡 35
3.2.5 门操作标签卡 36
3.2.6 批处理标签卡 36
3.2.7 格式标签卡 38
3.2.8 文本标签卡 39
3.2.9 数据标签卡 40
3.2.10 多周期标签卡 43
3.2.11 视图标签卡 44
3.2.12 自定义Ribbon条 45

第4章 使用版面 50

4.1 版面概述 50
4.1.1 创建新版面 50
4.1.2 保存版面 51
4.1.3 打开以前创建的版面 53
4.1.4 关闭版面 55
4.1.5 使用页面 56
4.1.6 从版面中打印页面 59
4.1.7 从版面中把页面导出为图片 60
4.1.8 把版面导出为PowerPoint 演示文稿 60
4.1.9 把版面导出为PDF文件 61
4.1.10 在版面上导航定位 61
4.1.11 页面查看 62

4.1.12 版面缩放 62
4.1.13 文件自动恢复 62
4.1.14 使用多个版面 63
4.1.15 版面属性 63
4.2 停靠概述 63
4.2.1 打开可停靠窗口 64
4.2.2 窗口停靠 65
4.2.3 钉住已停靠的窗口 71
4.2.4 解除窗口停靠 72
4.2.5 关闭可停靠窗口 72
4.3 导航器 72
4.3.1 版面导航器 72
4.3.2 数据导航器 74
4.3.3 门导航器 75
4.4 版面页功能 75
4.4.1 在页面上插入对象 75
4.4.2 在页面上选择对象 76
4.4.3 在页面上组合对象 78
4.4.4 在页面上剪切、复制、删除、副本复制和粘贴对象 78
4.4.5 移动对象 79
4.4.6 改变对象大小 79
4.4.7 对象对齐 79
4.4.8 对象叠放次序 80
4.4.9 撤销修改 81
4.4.10 使用预定义的容器来进行页面版式设置 81
4.5 使用母版页 83
4.5.1 改变背景颜色和设计 83
第5章 使用图片 86
5.1 插入图片 86
5.2 格式化插入的图片 86
第6章 使用文本框 90
6.1 在页面上插入文本框 90
6.2 在文本框中输入和格式化文本 90
6.2.1 插入表格 93
6.2.2 格式化表格 94
6.2.2.1 *表格属性* 95
6.3 改变文本框大小 98
6.4 在绘图中加入文本框 98
6.5 格式化文本框功能 100
6.6 在文本框中添加标记 101
第7章 显示绘图 104
7.1 数据显示绘图类型 104
7.2 插入绘图 105
7.3 当前的数据文件 105

7.4 修改数据文件 106

第8章 对象格式化 110

8.1 概述 110
8.2 自定义默认选项 110
8.2.1 一般设置 111
8.2.2 绘图设置 113
8.2.2.1 *坐标轴选项* 114
8.2.2.2 *一维绘图选项* 114
8.2.2.3 *二维绘图选项* 115
8.2.2.4 *DNA选项* 116
8.2.3 统计选项 119
8.2.3.1 *绘图统计选项* 119
8.2.3.2 *DNA周期统计* 121
8.2.3.3 *DNA模型统计* 121
8.2.3.4 *DNA实验统计* 122
8.2.3.5 *细胞分裂拟合统计* 123
8.2.3.6 *分裂细胞群统计* 124
8.2.4 启动选项 125
8.2.5 门设置 126
8.2.6 文件/路径 127
8.2.7 对话框设置 128
8.2.8 保存设置 129
8.2.9 安全设置 131
8.2.10 文本框设置 131
8.2.11 用户信息 132
8.2.12 高级发布设置 133
8.2.13 数据保存 135
8.2.14 数据导入 137
8.2.14.1 *FCS文件选项* 137
8.2.14.2 *IsoCyte选项* 138
8.2.14.3 *Cell Profiler选项* 139
8.3 格式化所有对象共享的选项 140
8.3.1 一般设置 140
8.3.2 背景 141
8.3.3 边框和尺寸 142
8.4 格式化所有绘图共享的属性 144
8.4.1 分辨率概述 145
8.4.2 标题 146
8.4.3 图例 148
8.4.4 坐标轴 150
8.4.5 三维显示选项 151
8.4.6 放大绘图 153
8.5 格式化单参数柱状图 157
8.5.1 叠加图层 157
8.5.2 柱状图标识 160
8.5.3 柱状图特定选项 162
8.6 格式化二维绘图 164
8.6.1 叠加图层 165
8.6.2 象限 167
8.6.3 颜色层次 170

8.6.4 显示门 172
8.6.5 特定选项 173
8.7 使用键盘快捷键修改绘图坐标轴上的参数 177

第9章 FCS数据分析 180

9.1 使用门 180
9.1.1 创建门 181
9.1.2 移动门 188
9.1.3 改变门的大小 188
9.1.4 删除门 188
9.1.5 隐藏门 189
9.1.6 门视图对象 189
9.1.7 保存和导入门 190
9.1.8 门和剪切板 190
9.1.9 将门应用于绘图 191
9.1.10 链接门 191
9.1.11 有层次的门操作 193
9.2 使用标识 194
9.2.1 创建标识 194
9.2.2 移动标识 194
9.2.3 改变标识大小 194
9.2.4 删除标识 195
9.2.5 使用标识和剪切板 195
9.2.6 将标识链接到门 195
9.3 使用象限 196
9.3.1 选择象限 197
9.3.2 显示象限 197
9.3.3 移动象限 198
9.3.4 隐藏象限 198
9.3.5 把象限链接到象限 198
9.3.6 从象限创建门 199
9.3.7 把象限链接到门 199
9.3.8 使用象限和剪切板 199
9.4 统计 199
9.4.1 柱状图统计 200
9.4.2 二维绘图统计 201
9.4.3 使用统计和剪切板 202
9.4.4 格式化统计 203
9.5 坐标系 203
9.5.1 数据显示 204
9.5.2 门操作 205
9.5.3 象限 208

第10章 创建和使用参数标签组 210

第11章 自定义数据 214

11.1 添加自定义数据 214
11.2 使用自定义数据 215
11.2.1 添加行或列 218
11.2.2 删除行或列 219

11.3 为自定义数据重命名 220
11.4 删除自定义数据 221
11.5 用图像显示自定义数据 221
11.6 回归分析 226
11.6.1 回归分析实例 227
11.6.2 可用公式 236
第12章 使用参数数学 240
12.1 使用数学参数 240
12.2 创建参数数学序列 242
12.3 运行参数数学序列 244
第13章 浓度计算器 246
13.1 计算单一浓度 246
13.2 计算统计页上的浓度 248
第14章 柱状图减法工具 252
第15章 通道校正工具 256
15.1 创建新的通道校正 256
15.2 使用通道校正 259
15.3 通道校正窗口 260
第16章 补偿工具 262
16.1 软件补偿缺点 262
16.2 设置补偿定义 263
16.3 编辑补偿定义 264
16.4 自动计算补偿定义 266
16.5 应用补偿定义 267
16.6 选择缺省补偿 268
16.7 从二维绘图调整补偿定义 268
16.8 使用单独的补偿文件 270
16.9 保存补偿定义 270
16.10 导入补偿定义 270
第17章 使用FCS数据文件 272
17.1 查看和修改FCS文件头 272
17.2 额外的关键字 273
17.3 导出FCS文件数据 274
17.3.1 从单个文件导出FCS文件数据 274
17.3.2 从多个文件导出FCS文件数据:批量导出 276
第18章 数据网格 280

18.1 格式化数据网格 280
18.2 在数据网格上使用门 281
18.3 在数据网格上后置门 281
18.4 在数据网格上创建细胞编号门 283
18.5 图像展示 284

第19章 使用标记 286

19.1 插入页面版式标记 286
19.2 插入标记 287
19.3 通用标记属性 289
19.3.1 显示文本标记属性 289
19.3.2 数据源标记属性 292
19.4 编辑标记 296
19.4.1 编辑统计标记 296
19.4.1.1 *二维绘图统计标记选项* 296
19.4.1.2 *柱状图统计标记选项* 299
19.4.2 编辑关键字标记 300
19.4.3 编辑版面标记 302
19.4.3.1 *门标记* 302
19.4.3.2 *补偿标记* 305
19.4.3.3 *批处理标记* 305
19.4.4 系统标记 305
19.4.5 统计分类器标记 306
19.5 自定义标记 308
19.5.1 创建自定义标记 308
19.5.2 自定义标记实例1: 数学计算 310
19.5.3 自定义标记实例2: 用标记进行数学计算 312
19.5.4 自定义标记实例3: 添加文本 313
19.5.5 自定义标记实例4: 条件陈述 314
19.5.6 更复杂的自定义标记实例 314
19.5.7 在公式中插入函数 316
19.5.8 编辑自定义标记 317
19.5.9 格式化自定义标记 319
19.5.10 在自定义标记中使用逻辑值 320
19.5.11 在自定义标记中使用数组公式 321
19.5.12 删除自定义标记 321
19.6 自定义标记公式参考 322

第20章 批处理 326

20.1 使用数据列表 327
20.1.1 添加文件到数据列表 328
20.1.2 数据列表中的排序 330
20.1.3 使用数据列表修改绘图或标记中的数据集 332
20.1.3.1 *下一项/前一项* 332
20.1.3.2 *拖放操作* 332
20.1.3.3 *修改文件按钮* 334
20.2 添加批处理 334
20.2.1 批处理操作 338
20.2.1.1 *打印* 338

20.2.1.2 保存版面 339
20.2.1.3 保存至PowerPoint文稿 342
20.2.1.4 保存至PDF 344
20.2.1.5 保存为图片 346
20.2.1.6 文件夹(操作容器) 348
20.2.2 批处理报表 349
20.2.2.1 使用报表 352
20.2.2.2 创建报表模板 361
20.2.2.3 向报表中添加项目 361
20.2.2.4 为插入报表中的项目设置与特定报表相关的属性 362
20.2.2.5 在报表中添加图片 363
20.2.2.6 在报表中改变对象顺序和复制对象 365
20.3 批处理选项 367
20.4 运行批处理 368

第21章 使用面板 372

21.1 使用面板 372

第22章 使用模板 378

第23章 警告 380

23.1 创建警告 380
23.2 运行警告 382

第24章 导入外部文档 386

24.1 BD FACSDiva文件 386
24.1.1 如何导入FACSDiva实验文件 386
24.1.2 导入FACSDiva实验文件的技巧提示 391
24.2 Accuri CFlow文件 392
24.2.1 如何导入CFlow实验文件 392
24.2.2 导入CFlow实验数据的技巧提示 394

第25章 DNA分析 398

25.1 多周期计算包 398
25.2 插入DNA柱状图 399
25.3 格式化DNA柱状图 399
25.3.1 一般设置 400
25.3.2 周期选项 401
25.3.3 背景选项 402
25.4 设置DNA属性 402
25.5 多周期标签卡 403
25.6 DNA位置标识 405
25.7 DNA统计 408
25.8 DNA统计特有标记 410

第26章 细胞分裂分析 414

26.1 获取细胞分裂附加模块 414
26.2 插入细胞分裂柱状图 414
26.3 格式化细胞分裂柱状图 415
26.3.1 拟合参数选项 415
26.3.2 细胞分裂位置标识 417
26.4 细胞分裂统计 418
26.5 细胞分裂特有标记 420

第27章 动力学分析 424

27.1 插入动力学绘图 424
27.2 格式化动力学绘图 425
27.3 动力学统计 427
27.4 动力学特有标记 428

第28章 热图和图像绘图 432

28.1 使用热图 432
28.1.1 设置要显示的参数 434
28.1.2 选择配色方案 436
28.1.3 微孔门 438
28.2 使用图像绘图 440

第29章 封装注释 448

第30章 合作工具 452

30.1 打开、加入和预约会议 452
30.2 组织会议 457

第31章 从第3版升级 466

31.1 新功能 466
31.1.1 新的数据导入和保存功能 466
31.1.2 DNA分析 466
31.1.3 新绘图类型和增强功能 467
31.1.4 新的用户界面功能 467
31.1.5 新的门功能 468
31.1.6 新的批处理功能 468
31.1.7 新的自定义标记功能 468
31.1.8 新警告功能 469
31.1.9 新的参数数学功能 469
31.1.10 导航器 469
31.1.11 封装注释 469
31.1.12 新的数据网格功能 469
31.1.13 新的补偿功能 470
31.1.14 新的通道校正功能 470
31.1.15 新的数据列表功能 470
31.1.16 自定义数据 470
31.1.17 新的软件使用许可选项 470
31.1.18 FCS Express 4细胞图像分析功能 470

31.2 安全系统 471

第32章 安全设置 474

32.1 基于用户的安全设置 474
32.2 基于版面的安全设置 475
32.3 使用基于用户的安全设置 476
32.3.1 创建用户 477
32.3.2 编辑用户 478
32.3.3 删除用户 478
32.3.4 密码管理配置 479
32.4 使用安全组 479
32.4.1 创建用户安全组 481
32.4.2 编辑安全组 482
32.4.3 为安全组做副本 483
32.4.4 删除安全组 483
32.5 使用版面安全组 483
32.6 管理数据库 484

第33章 电子签名 488

33.1 签名管理 489
33.1.1 添加签名 489
33.1.2 修改签名 490
33.1.3 删除签名 491
33.2 版面签名 491
33.3 取消版面签名 492

第34章 版面历史 496

第35章 版面发布 500

35.1 把版面发布到De Novo Software网站 500
35.2 高级发布 503
35.3 默认发布选项 505
35.4 管理发布的版面 505
35.5 和其他人共享发布了的版面 506
35.6 FCS Express阅读器 507
35.6.1 获取FCS Express阅读器 507
35.6.2 FCS Express阅读器的功能局限 507
35.6.3 从FCS阅读器升级到FCS Express 507
35.7 额外网络托管方案 508

第36章 教程 510

36.1 使用对象 511
36.1.1 插入对象 511
36.1.2 选中对象和取消选中对象 512
36.1.3 修改对象大小 512
36.1.4 移动对象 513

36.1.5 删除对象 513
36.1.6 撤销所做修改 514
36.1.7 为对象做副本 514
36.1.8 选择多个对象 515
36.1.9 复制对象 516
36.1.10 粘贴对象 517
36.1.11 对象组合 518
36.1.12 对象对齐 519
36.1.13 对象叠放次序 523
36.2 插入绘图 525
36.2.1 插入二维绘图 525
36.2.2 插入柱状图 528
36.2.3 通过数据标签卡上的打开命令插入绘图 531
36.2.4 总是显示文件选择对话框 533
36.2.5 从资源管理器中插入绘图 537
36.3 格式化绘图 538
36.3.1 使用弹出菜单格式化绘图 538
36.3.2 格式化多个绘图 543
36.3.3 格式化绘图标题 549
36.3.4 格式化绘图坐标轴 554
36.3.5 格式化绘图背景 556
36.3.6 格式化图例 558
36.3.7 修改柱状图叠加图层 561
36.3.8 格式化三维选项 564
36.4 门操作 566
36.4.1 创建门 566
36.4.2 在二维绘图上创建一维门 573
36.4.3 从标识创建门 575
36.4.4 从象限创建门 577
36.4.5 创建组合门 578
36.4.6 移动门 582
36.4.7 改变门大小 583
36.4.8 删除门 586
36.4.9 应用门 586
36.5 文本框和标记 591
36.5.1 插入文本框 591
36.5.2 格式化文本框中的文本 594
36.5.3 格式化文本框属性 596
36.5.4 插入和修改表格 603
36.5.5 插入和修改标记 607
36.5.6 创建分类器标识 616
36.5.7 创建自定义标记 628
36.6 象限 639
36.6.1 矩形和浮动象限 639
36.6.2 百分比象限 646
36.7 把象限或标识链接到门 649
36.7.1 把象限链接到门 649
36.7.2 把标记链接到门 656
36.8 补偿 662
36.8.1 手动补偿 662
36.8.2 自动补偿 669

36.9 批处理 683
36.9.1 把绘图导出至PowerPoint 683
36.9.2 Excel报表(单元格模式) 694
36.9.3 Excel报表(列模式) 713
36.10 创建和使用面板 724
36.10.1 设置面板 724
36.10.2 创建版面 733
36.10.3 使用面板 742
36.10.4 保存和导入面板 747
36.11 停靠 748
36.11.1 停靠窗口的功能 754
36.11.2 停靠功能(多个窗口) 758
36.11.3 取消窗口停靠 768
36.12 数据导航器 769
36.12.1 打开以及停靠 770
36.12.2 数据导航器功能 775
36.13 门导航器 791
36.13.1 打开以及停靠 791
36.13.2 门导航器功能 797
36.14 版面导航器 805
36.14.1 打开以及停靠 806
36.14.2 版面导航器功能 811
36.15 创建和使用自定义数据 829
36.15.1 为自定义数据导入版面 829
36.15.2 插入数据网格 831
36.15.3 创建自定义数据 835
36.15.4 创建自定义标记 845
36.15.5 创建标记分类器 854
36.16 条形图和散点图 867
36.16.1 创建条形图和散点图 868
36.16.2 格式化条形图和散点图 877
36.17 滴定实验 890
36.17.1 定义自定义标记 890
36.17.2 创建自定义数据表格 909
36.17.3 插入散点图 919
36.18 大量数据流 930
36.18.1 导入、插入以及格式化热图 930
36.18.2 分析热图中的数据 943
36.18.3 使用批量分析 958
36.18.4 使用Z-函数功能 963
36.19 DNA分析 969
36.19.1 选择自动拟合(单周期分析) 969
36.19.2 自动拟合的扩展分析 981
36.19.3 格式化DNA柱状图 991
36.19.4 分析3周期数据 999
36.20 细胞分裂 1004
36.20.1 定义目标细胞群 1005
36.20.2 对进行分裂的T-细胞进行拟合 1014
36.20.3 格式化细胞分裂柱状图 1025

36.21 动力学 1030
36.21.1 使用参数数学 1031
36.21.2 应用门操作以及统计 1039
36.21.3 绘图数值 1042
36.21.4 叠加图层以及格式化动力学绘图 1047
36.21.5 修改分辨率的格式 1049
36.22 细胞浓度 1054
36.22.1 设置微珠门 1054
36.22.2 浓度计数器(微珠) 1057
36.22.3 浓度计数器(时间/流速) 1059
36.22.4 在统计窗口中显示浓度 1061
36.22.5 把浓度作为标记来显示 1068
36.23 通道校正 1073
36.23.1 设置微珠门和标记 1073
36.23.2 设置通道校正工具 1077
36.23.3 通道校正演示 1081
36.23.4 保存/导入通道校正 1083
36.23.5 设置通道校正默认值 1085
36.24 CellProfiler数据导出 1087
36.24.1 导出96孔格式图片 1087
36.24.2 导入和分析96孔图片 1096
36.24.3 导出单个图片 1103
36.24.4 导入单个图片数据 1111
36.24.5 导出数值数据(96孔) 1117
36.24.6 导入数值数据(96孔) 1121
36.24.7 导出单个图片数值数据 1126
36.24.8 导入单个图片数值数据 1131
36.25 从IsoCyte导出数据 1136
36.25.1 导出IsoCyte实验数据 1136
36.25.2 导入带有图片的IsoCyte数据 1138
36.25.3 以数值格式导出数据(仅限数据) 1143
36.25.4 导入数值格式数据 1144
36.26 图像绘图 1150
36.26.1 插入并且格式化图像绘图 1150
36.26.2 对图像绘图进行门操作 1156
36.26.3 使用数据网格来进行分析 1164
36.27 回归分析 1176
36.27.1 完成一个自定义数据网格 1177
36.27.2 创建回归拟合标记 1183
36.27.3 创建回归拟合叠加图层 1190
36.27.4 把回归应用到一个FCS文件上 1197
36.27.5 保存回归分析 1201
36.28 FCS Express 4 Image Cytometry介绍 1206
36.28.1 开始使用Image Cytometry 1207
36.28.2 使用大量数据模块处理图像数据 1236
36.28.3 针对图像数据的批处理以及生成报表操作 1258

内容索引 ***1291***

第 1 章

1 欢迎使用FCS Express第4版

FCS Express是一款市面上最先进的流式细胞数据和细胞图像分析软件，它具备其它任何产品都不具备的展示和分析功能。我们的开发理念是完全可以把复杂的数据分析软件建立在一个简单易用、功能强大的展示框架上来。

FCS Express第4版有一个全新的模仿当前微软Office (Microsoft Corporation，Redmond，WA)套件产品的用户界面。如果用户用过Office 2007(或更高版本)中的Ribbon条，在使用FCS Express时会觉得非常熟悉。

FCS Express简单易学。本手册介绍了所有FCS Express中的元素和功能。

1.1 关于本用户手册

本手册使用以下约定惯例:

在文本中，粗体印刷代表程序中的一个实际"对象"，它可以是用户在屏幕上看到的一段文本、一个用户交互元素，比如**Application Button(应用程序按钮)**或Layout **Navigation Toolbar(版面导航工具栏)，**也可以是一个FCS Express元素(例如，**Display Text(显示文本)**标记属性)。含有超链接的文本呈蓝色，并带有下划线。超链接文本的字体为非粗体。

在Windows操作系统中，"鼠标左键"指的是主鼠标键(即便用户是左撇子，并更换了左右按键使主鼠标键在用户的食指下方)。按照惯例，"右键点击"意味着按下辅鼠标键。在本手册中，除非文本中明确规定为"点击鼠标右键"，否则"按鼠标键"都指按主鼠标键。

FCS Express使用新的Ribbon条交互界面，大多数菜单和工具栏均被Application **Button(应用程序按钮)**以及**Tabs(标签卡)、Groups(命令组)**和Commands(**命令)**所替代。在使用Ribbon条时，使用向下的箭头标志选中**Application Button(应用程序按钮)**或Commands(**命令)**后出现的下拉命令列表被称为"选项库"。

在说明一个特定命令时，本手册常用以下惯例"Tab**→Group→Command(标签卡→组→命令)**"。例如，Home**→Pages→New Page(主页→页面→新建页面)**是指在主页标签卡的页面命令组上选择新建页面命令。

在PDF版本的用户手册中，每个超链接后都跟有链接目标所在的页码图标，例如  。这在用户想打印手册中部分内容时很有用。

1.2 系统要求

运行FCS Express Version 4的最低系统要求如下:

- Windows 2000*/ 2003/ XP/ Vista/ Windows 7
- Pentium III型兼容机，500 MHz
- 1GB内存
- 50MB硬盘空间

推荐系统配置:4GB内存

注:FCS Express 4充分利用计算机所有计算内核。因此，尽管多核计算机不是必需的，但很多功能在多核计算机会上会比在单核计算机上快很多。

*若在Windows 2000上使用FCS Express，必须安装GDI+ 。可从微软网站获得GDI+ :
http://www.microsoft.com/downloads/en/details.aspx?FamilyId=6A63AB9C-DF12-4D41-933C-BE590FEAA05A&displaylang=en

若在配有SQL Server安全体系的Windows 2000上使用FCS Express，必须安装MDAC。可从微软网站获得MDAC:
http://www.microsoft.com/downloads/en/details.aspx?FamilyID=78cac895-efc2-4f8e-a9e0-3a1afbd5922e

1.3 购买及安装FCS Express

可从我们网站http://www.denovosoftware.com购买FCS Express。在主页顶部单击**Purchase(购买)**菜单即可。用户可以选择在线购买或下载订购表格。如下载订购表格，可将填好的表格传真到:+001(213)814-1240或寄至

De Novo Software
3250 Wilshire Blvd., Suite 803
Los Angeles, CA 90010
USA

我们接受支票、汇票、电汇、订购单、Visa™卡和MasterCard™卡。除单机使用许可号外，我们也提供FCS Express网络版使用许可号和网站使用许可号。若需了解网站使用许可号，请联络sales@denovosoftware.com。

若在线购买该软件，用户可在购买时即下载FCS Express并立即使用。无论用户是否在线购买，我们都会寄一张含有FCS Express的CD到用户提供的地址。购买软件之后，终端用户会收到一封含有配置文件的确认电子邮件。

FCS Express 4有多种版本满足不同用户需求。若想了解不同版本的信息，请在主页上点击**Products(产品)**菜单。

关于各种使用许可的信息可在我们网站http://www.denovosoftware.com/site/WhichLicenseRight.shtml获得。

可在网页http://www.denovosoftware.com/site/InstallationInstructions.shtml获得完整安装指示(包括获取配置文件、使用加密狗和计数器及网站许可号)。

第 2 章

2 学习如何使用FCS Express

除了本用户手册和完整的帮助体系外，用户还可以通过其它多种渠道学习FCS Express的使用方法。这些方式包括视频[22]和书面[22]的教程、一个在线论坛[23]和电子邮件支持[23]。

2.1 视频教程

学习FCS Express可从观看在线视频开始。这些视频可通过选择**Application Button→Help→Video Tutorials(应用程序按钮→帮助→视频教程)**获得。它们也可在http://www.denovosoftware.com/site/TutorialVideos.shtml中找到。这些视频概括演示了FCS Express的很多功能并让用户大致了解在使用FCS Express时的多种操作方法。

2.2 书面教程

De Novo Software公司同时提供全面的、一步一步的描述如何使用FCS Express基本功能的书面教程。这些教程包含在本用户手册中，并也可通过选择**Application Button→Help→Tutorials(应用程序按钮→帮助→教程)**获得，也可在http://www.denovosoftware.com/site/manual/index.html?tutorials.htm中找到。以下是现有的教程(请访问我们网站来查看其它即将上线的教程):

- 使用对象[511]
- 插入绘图[525]
- 绘图格式化[538]
- 门操作[566]
- 文本框和标记[591]
- 象限[639]
- 象限/门连接标记[649]
- 补偿[662]
- 批处理[683]
- 创建和使用面板[724]
- 窗口停靠[748]
- 数据导航仪[769]
- 门导航仪[791]
- 排版导航仪[805]
- 创建和使用自定义数据[829]
- 条形和散点图[867]
- 滴定[890]
- 高容流[930]
- DNA分析[969]
- 细胞分裂分析[1004]
- 动力学分析[1030]
- 确定细胞浓度[1054]
- 通道校对[1073]
- Cellprofiler导出[1087]

- 从IsoCyte导出 1136
- 图像绘图 1150
- 线性回归分析 1176

2.3 完整的帮助系统

FCS Express提供一个全面完整的帮助系统。可通过选择**Application Button→Help→Contents(应用程序按钮→帮助→内容)**进入该帮助系统。用户可在该系统中查找任何主题。它以一种简单获取、互相参照的方式涵盖了与本用户手册中同样的内容。

2.4 详细的用户手册

FCS Express用户手册详细地解释了FCS Express的所有功能。可通过选择**Application Button→Help→FCS Express Manual(应用程序按钮→帮助→FCS Express用户手册)**获得用户手册。也可在De Novo Software 网站获取最新的版本。

2.5 在线论坛

除了上文所述的这些文本资料外，我们还提供一个在线论坛来讨论关于FCS Express的任何问题。该论坛列表由De Novo Software工作人员维护，可让FCS Express用户回应和学习某一用户提出的问题和意见。这是我们首选的技术支持方式，我们鼓励用户在该论坛贴出自己的问题、意见和建议。用户可通过选择**Application Button→Help→Online Forum(应用程序按钮→帮助→在线论坛)**或通过http://www.denovosoftware.com/forums/进入该论坛。

2.6 电子邮件支持

若有任何关于FCS Express的问题，请立即通过support@denovosoftware.com用英文和我们联络。

第3章

3 FCS Express快速导览

FCS Express第4版拥有一个全新的界面。工具栏和菜单栏已被Ribbon条所取代，此做法在设计上与常用的微软Office系列软件(Office 2007及更高版本)类似。Ribbon条帮用户快速找到要完成一任务所需的命令。这些命令有组织地集中存放，收集在各个标签下。每个标签对应于一类FCS Express的功能，比如插入绘图、门操作和批处理操作等。

3.1 开始使用FCS Express

启动FCS Express时，第一个出现的窗口是**User Selection(用户选择)**窗口(图3.1)。在该窗口里，用户可以选择将在该FCS Express时段要用的用户名及其配置。若要用已存在的用户账号登录，请选择**Default(默认)**用户或选择已建立的用户名，然后点击**Select(选择)**按钮。如要创建新用户，点击**New User...(新用户...)**并键入新用户名。使用结束时，用户账号会保存该用户所做的设置。

在**User Selection(用户选择)**窗口的左下角的**Import...(导入...)**按钮用来从FCS Express V3(第3版)安装目录中导入FCS Express Version 3(第3版)的用户设置文件(.fcg)。

请参见Customizing Default Preferences(自定义默认设置) 110章节获取修改用户设置的详细内容。注:通过选择**Application Button→System→Restore Preferences to Default Values(应用程序按钮→系统→恢复设置至默认值)**可将某一个用户的设置恢复为默认设置(即FCS Express出厂时的设置)。

若该FCS Express只有一个用户，用户可在**User Selection(用户选择)**窗口选择**Remember Me On This Computer(在这台电脑上记住我)**。FCS Express会在程序启动时以该用户名自动登录。要结束该功能，从**Application Button→System(应用程序按钮→系统)**登出即可。

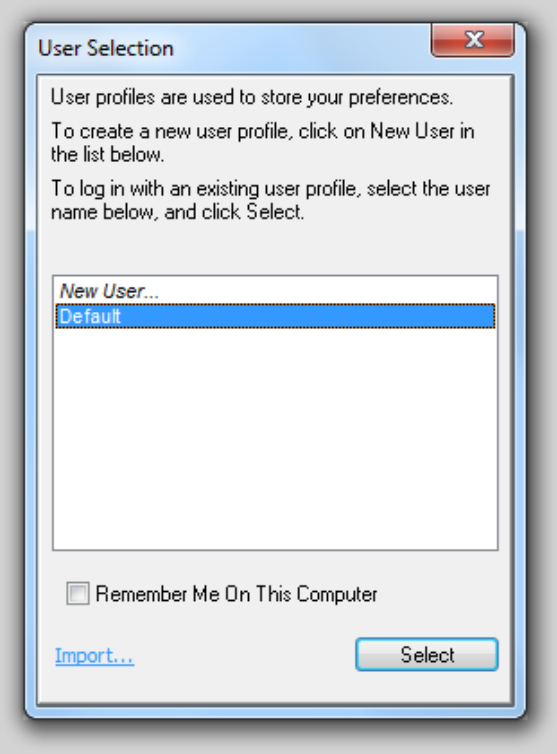


图3.1 User Selection Dialog (**用户选择对话框**)

选择某一用户后，为该用户保存的设置将被激活。因此，共享一台电脑的多用户可在不影响其他用户的情况下自定义各自的设置。

要删除某一用户，右键点击该用户名，从弹出菜单上选择**Delete User(删除用户)**。*注:一旦用户被删除,针对该用户的设置将无法恢复。*

注:如果用户在运行安全体系474，或在用网络加密狗，FCS Express会启动登陆屏幕提示用户输入用户名和密码。

用户选择一个用户名并点击**OK**，FCS Express会启动(图3.2)并显示一个文档(版面)。版面文件(.fey)是FCS Express的文档格式。默认的版面是一张有白色背景的单页面。

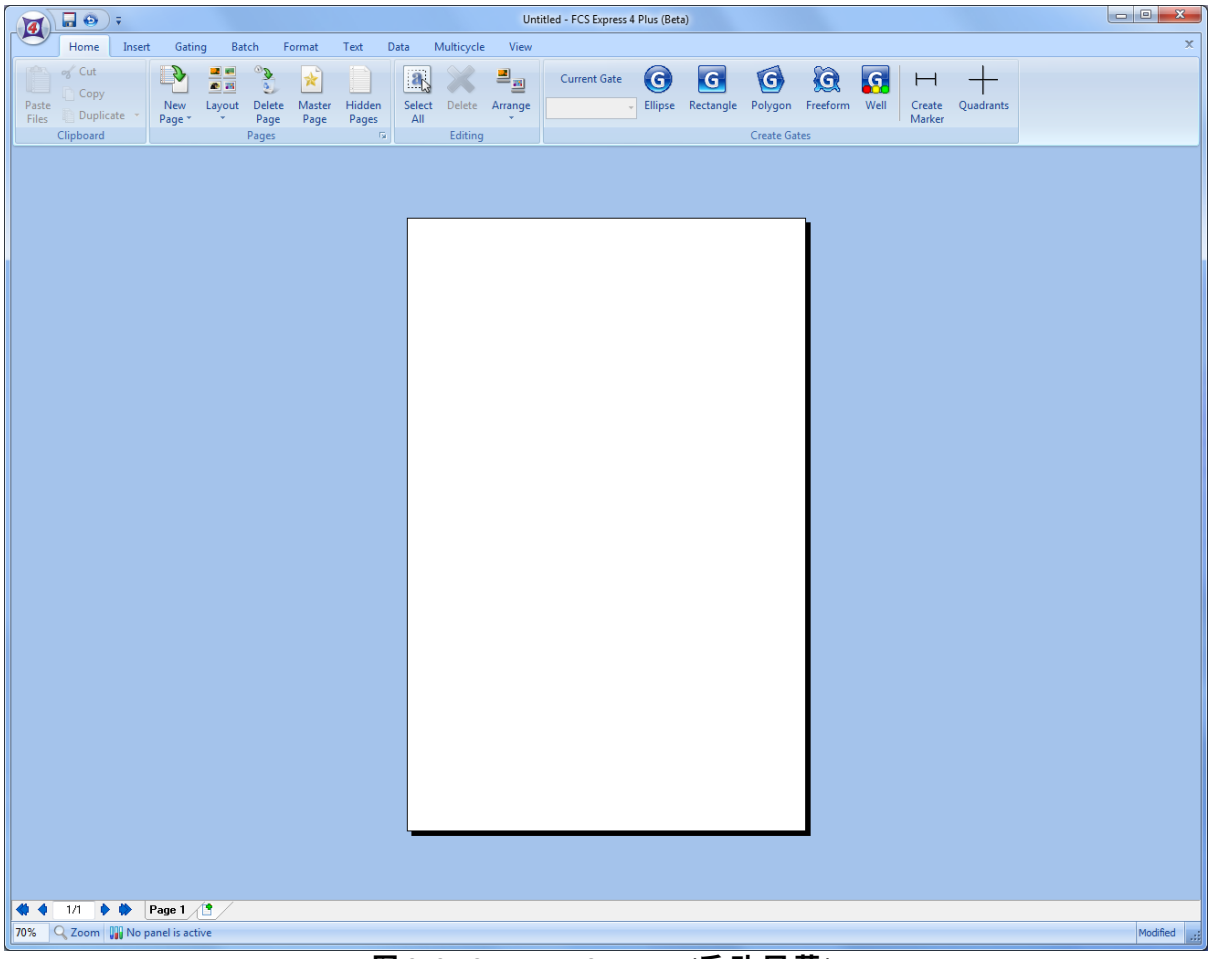


图 3.2 Startup Screen (**启动屏幕**)

若要打开一已存在的版面，请用**Application Button→Open Layout→Open Layout (应用程序按钮→打开版面→打开版面)**来调出**Load Layout(加载版面)**对话框。用户可从一个空白文档或从版面模板来创建一新版面，详细的讨论参见创建新版面 50。

版面文件可包含绘图、图片、文本框、统计窗口和数据窗口。门操作设置、参数标注集和其它分析功能也可直接存在版面文件中。另外，数据文件可直接嵌入版面文件，作为版面文件的一部分保存。

可同时打开任何数量的版面文件。

3.2 快速了解Ribbon条

Ribbon条(图3.3)在页面顶部。用户可在Ribbon条的左上角找到应用程序按钮 29和Quick **Access Toolbar(快捷工具条)。Quick Access Toolbar(快捷工具条)**是放置常用功

能的地方。用户可自定义[32]**Quick Access Toolbar(快捷工具条)**(甚至整个Ribbon条[45]) 的功能。在**Quick Access Toolbar(快捷工具条)**下有多个标签卡。每一个标签卡包含整理成**groups(组)**的命令按钮。一些组包含一个有多重格式选项的Dialog Box **Launcher Button(对话框启动按钮)**。

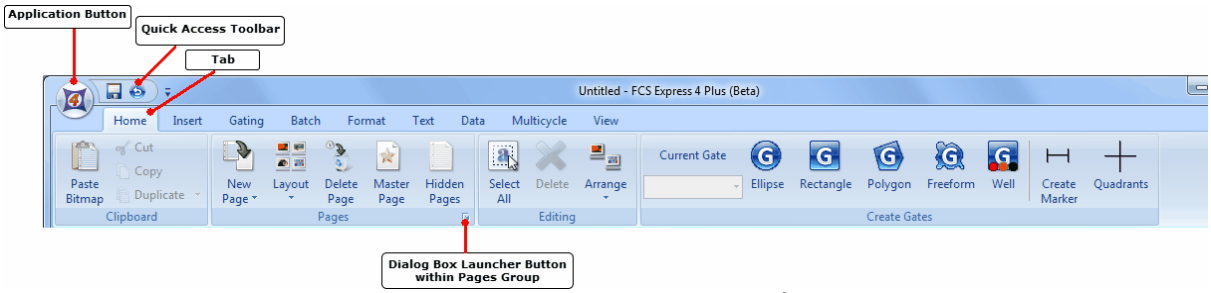


图 3.3 The Ribbon (Ribbon**条**)

在应用程序窗口左下方是**Layout Navigation Toolbar(版面导航工具栏)**(图3.4)用来在版面间切换[61]。在**Layout Navigation Toolbar(版面导航工具栏)**下方是缩放工具栏[62]。**Zoom Toolbar(缩放工具栏)**的右端是显示当前面板的**Status Bar(状态条)**(如使用面板[372]一节所介绍的那样)。

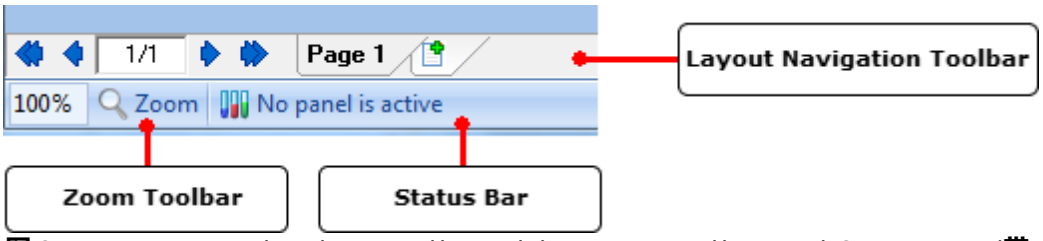


图 3.4 Layout Navigation Toolbar with Zoom Toolbar and Status Bar (**带有缩放工具栏和状态条的版面导航工具栏**)

Groups(组)中个别命令的启用和禁用取决于页面的当前状态。比如，若没有选项被选中，**Home(主页)**标签**Clipboard(剪贴板)组**里的**Cut(剪切)**、**Copy(复制)**和 **Duplicate(副本)**命令将不可用。Ribbon功能的详细介绍将在下面章节进行展开。

3.2.1 *应用程序按钮*

Application Button(应用程序按钮)命令区(图3.5)包括以下三部分的选项。它同时也包括两个按钮(右下角):**Edit Preferences(编辑设置)**和**Exit(退出)**。

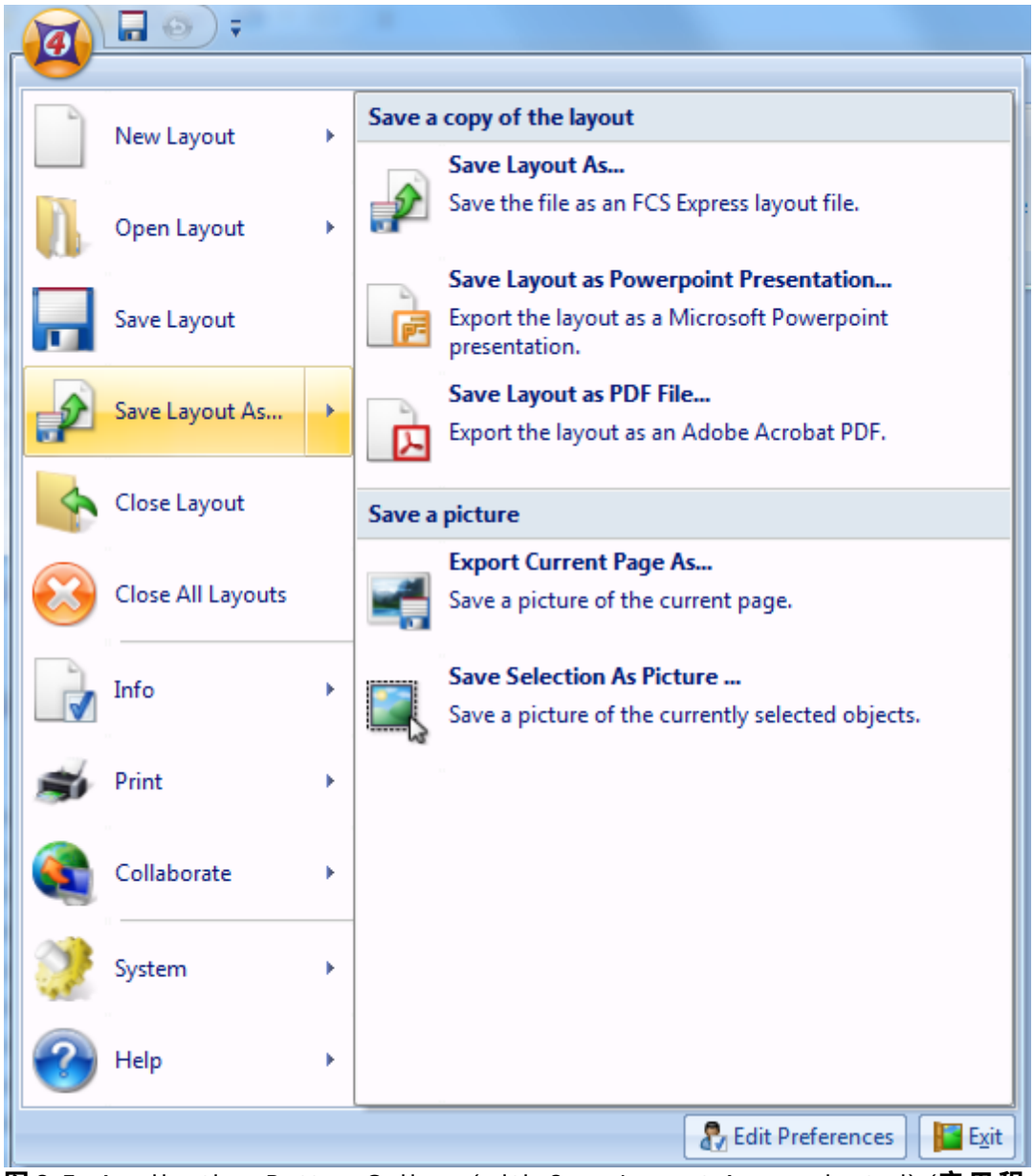


图3.5 Application Button Gallery (with Save Layout As... selected) (**应用程序按钮区(版面另存为...处于选中状态)**)

- **New Layout(新建版面)、Open Layout(打开版面)、Save Layout(保存版面)、Save Layout As...(版面另存为...)、Close Layout(关闭版面)及Close All Layouts(关闭所有版面)。**

  这些选项允许用户创建、打开、保存和关闭版面。**Open Layout(打开版面)**命令允许用户导入BD FACSDiva[386]和Accuri cFlow[392]文件。**Save Layout As...(版面另存为...)**选项允许用户把版面导出为PowerPoint演示稿或PDF。另外，用户还可将当前版面或选择的项目存为图片。

- **Info(信息)**

  该项目允许用户:

  - o 查看有关当前版面的信息。
  - o 查看版面修改记录(若用户已购买Audit Trails插件)。

- **Print(打印)**

  该选项用来:

  - o 选择打印机、选择打印哪些页及其它打印选项。
  - o 修改版面尺寸、方向和边距。
  - o 管理打印任务和下载。

- **Collaborate(合作)**

  该选项用来:

  - o 用De Novo Software的发布服务来发布用户的版面。
  - o 管理用户已发布的版面。
  - o 和其它用户连接，实时协同工作。

- **System(系统)**

  用该命令，用户可:

  - o 编辑当前用户信息。
  - o 恢复设置到默认值。
  - o 恢复工具条到默认值。
  - o 登出现有用户。
  - o 改变设置。
  - o 键入计数码来激活FCS Express。
  - o 管理在后台运行的任务。

- **Help(帮助)**

用该选项，用户可以:

- o 打开完整的帮助系统或PDF版用户手册。
- o 转到De Novo Software网站观看书面和视频教程。
- o 访问在线论坛。

*注:如果安全选项被激活的话，这里会有另一个选项Security(安全设置)。*474

Edit Preferences(编辑设置)按钮带出**Edit Preferences(编辑设置)**对话框，在此用户可为FCS Express每个对象类别选择默认(选项)，完全个性化工作环境。

Exit(退出)按钮关闭FCS Express。如果在该时段版面被修改，用户将会被提醒保存修改。

3.2.2 *快捷工具条*

默认**Quick Access Toolbar(快捷工具条)**有图标(图3.6)来**Save(保存)**当前版面或**Undo(撤销)**最后一个用户操作。FCS Express记得用户做的每一个操作。因此，用户可无限次地撤销操作，让用户回到在版面被修改之前的设置。

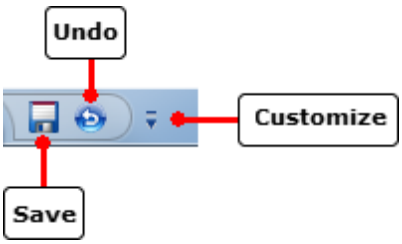


图3.6 Quick Access Toolbar Icons (**快捷工具条图标**)

点击**Customize(个性化设置)**命令(小箭头代表有"更多按钮")，带出一系列命令列表(图3.7)，允许用户完全个性化使用界面。

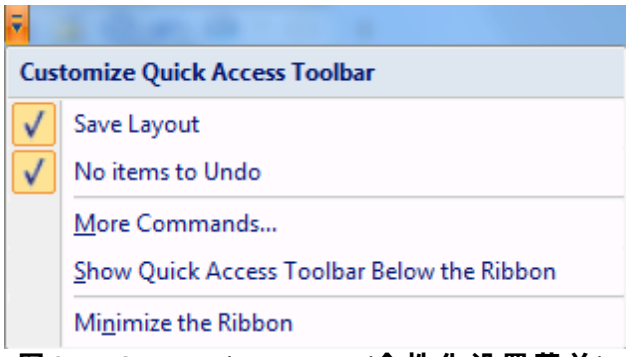


图3.7 Customize Menu (**个性化设置菜单**)

More Commands...(更多命令...)选项带出包含**Toolbars(工具条)**、**Commands(命令)**和 **Options(选项)**标签的**Customize(个性化设置)**对话框(图3.8)，在此用户可隐藏或选择任何Ribbon条上的命令组和出现在这些组中的命令。

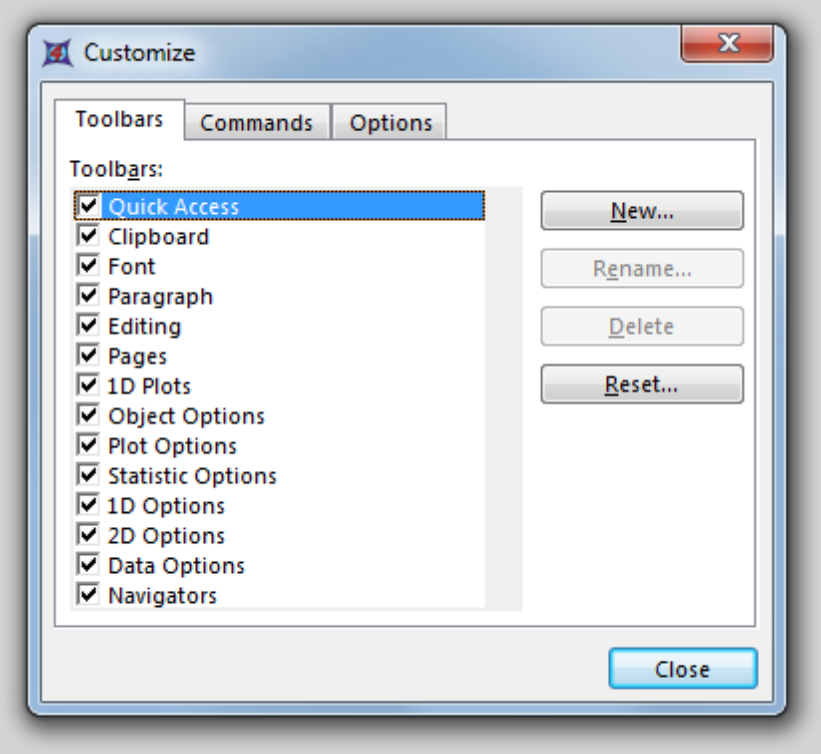


图3.8 Customize Dialog (**个性化设置对话框**)

在Application Button→**System(应用程序按钮→系统)中**, Reset Toolbars to **Default Settings(恢复工具条到默认设置)**命令会恢复用户做的更改。

3.2.3 主页标签卡

Home(主页)标签卡(图3.9)包含以下**groups(组)**:

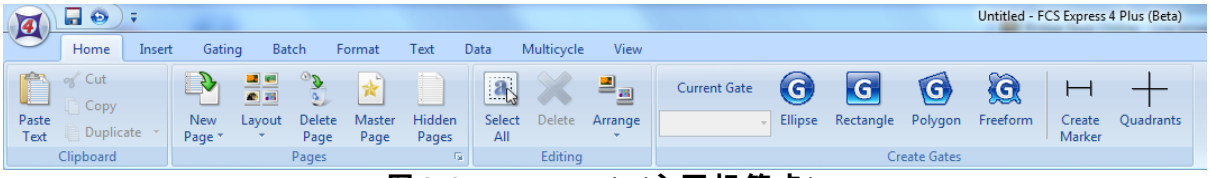


图3.9 Home Tab (**主页标签卡**)

- **Clipboard(剪切板)**
  - **Paste(粘贴)**命令允许从剪切板上粘贴内容。**Paste(粘贴)**命令标记会随剪切板上的对象类型而改变。
  - 在**Cut(剪切)**和**Copy(复制)**命令边上的精确的文本字样会根据版面上哪些对象被选中而相对改变。
  - **Duplicate(副本)**命令复制一份选择的对象。点击和**Duplicate(副本)**关联的down **arrow(向下的箭头)**，该命令扩展为五个选项: **Duplicate(副本)**, Duplicate and **Next(副本及下一项)**, Duplicate and Prev(ious)**(副本及前一项)**, Multiple **Duplicate and Next(多重副本及下一项)**和 Multiple Duplicate and Prev (ious)**(多重副本及前一项)。**和这些命令相关的下一项和前一项功能把所选的对象和所做的改变复制到用户数据文件列表的下一个和前一个文件中。多重副本命令允许对选择对象做多重复制。复制的对象位置可在用户选项111中设置。
  - 在Clipboard(**剪贴板)**组中的项目将操作绘图窗口、文本框及统计窗口等等，具体要取决于哪些对象目前在版面页上被选中。选项(例如文本框)可以从一个版面复制到另一个版面。您可以通过View→Windows→Switch Windows(**视图→窗口→切换窗口)**的命令在版面间切换。
- **Pages(页面)**
  - **New Page(新建页面)**命令的上半部分在版面中增加一个新的页面。**New Page(新建页面)**命令的下半部分打开一个命令列表，提供各种选项来添加一个页面，该页面有Place Holders(对象容器)来放置定义好的包含各种文本框、绘图和统计的版面。
  - **Layout(版面)**命令打开一个把Place Holders(对象容器)添加到当前页的命令列表，这些容器可放置定义好的文本框、绘图和统计。
  - **Delete Page(删除页面)**命令删除当前页。
  - **Master Page(母版页)**命令显示母版页83。
  - **Hidden Pages(显示隐藏页面)**命令用来显示用户以前选择在版面中隐藏56的页面。
- **Editing(编辑)**
  - **Select All(全选)**命令选择当前页的所有对象。
  - **Delete(删除)**命令删除当前选中的对象。
  - **Arrange(整理)** 命令延伸出**Order Objects(对象叠放次序)**、**Group Objects (对象组合)**和**Position Objects(对象对齐)**命令。**Order Objects(对象叠放次**

序) 允许用户安排哪些对象显示在哪些对象上方。该功能在有多个重叠的对象时非常有用。**Group Objects(对象组合)** 允许用户把几个对象组合起来，选中其中的任何一个对象将自动选中该组合中的所有对象。**Position Objects(对象对齐)** 用来把选中的对象左右、上下、居中、高度或宽度对齐。

- **Create Gates(创建门)**
  - **Create Gates(创建门)** 组包含多个命令。这些命令可在一个绘图上创建门(Ellipse **(椭圆形)**、**Rectangle(矩形)**、**Polygon(多边形)**、**Freeform(自由形状)和Well (细胞孔)**)、Markers(标识)(**Create Marker(创建标识)**)和 **Quadrants(象限)**的命令。它也允许用户快速查看一个绘图上有哪些门。这些功能将在使用门180时详述。

3.2.4 插入标签卡

Insert(插入) 标签卡(图3.10)包含四个命令**groups(组)**，来在版面页中插入各种对象:

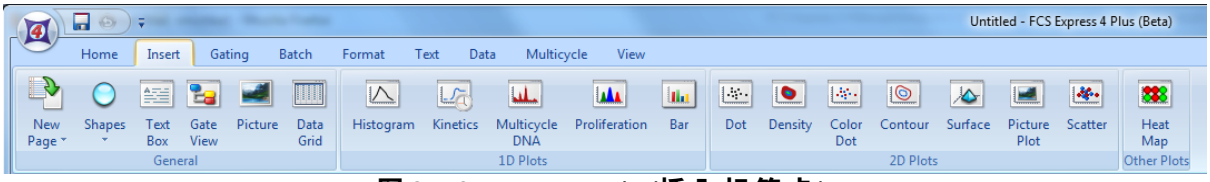


图 3.10 Insert Tab (**插入标签卡**)

- **General(常规)**

  - **New Page(新建页面)**命令的上半部分在版面中增加一个新的页面。**New Page(新建页面)**命令的下半部分打开一个命令列表，提供各种选项来添加一个页面，该页面有Place Holders(对象容器)来放置定义好的包含各种文本框、绘图和统计的版面。
    - **Shapes(图形)** 命令用来插入一个图形，例如**Line(直线)**，**Arrow(箭头)**，**Ellipse(椭圆)**或**Rectangle(矩形)**。
    - **Text Box(文本框)** 命令插入一个新文本框。
    - **Gate View(门视图)**允许用户插入一个门视图窗口，来查看和修改所有门的属性。
    - **Picture(图片)** 命令可从一个文件插入一张图片。
    - Data Grid(数据网格)命令280允许用户查看表格(电子表格)格式的数据或对自定义数据214进行操作。

- **1D Plots(一维绘图)**
  - **1D Plot(一维绘图)**命令组中的五个命令插入 Histograms(柱状图)104、Kinetics(动

力学绘图)424、Multicycle DNA(多周期DNA柱状图)399、Proliferation(细胞分裂柱状图)414和Bar(条形图)221。

- **2D Plots(二维绘图)**
  - o 二维绘图组中的七个命令插入二维**Dot(点状)**图，**Density(密度)**图、**Color Dot(彩色点状)**图、**Contour(轮廓)**图、**Surface(表面)**图、Picture Plots(图像绘图)440和Scatter plots(散点图)221。
- **Other Plots(其它绘图)**
  - o Heat Map(热图)432命令插入一个查看整个微孔滴定板统计数据的**Heat Map(热图)**。

3.2.5 门操作标签卡

Gating(门操作) 标签卡(图3.11)包含针对门操作的两个**groups(组)**:

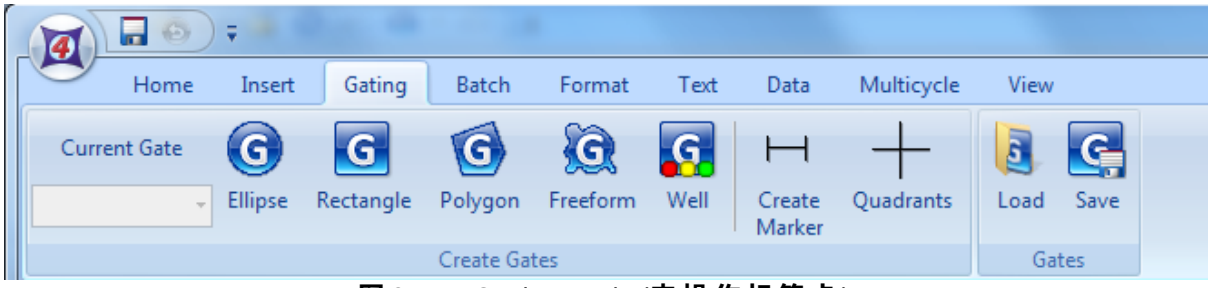


图 3.11 Gating Tab (**门操作标签卡**)

- **Create Gates(创建门)**

  Create Gates(创建门) 组包含在一个绘图上创建门(**Ellipse(椭圆形)**、**Rectangle(矩形)**、**Polygon(多边形)**、**Freeform(自由形状)**和**Well(细胞孔)**)、Markers(标识)(**Create Marker(创建标示)**)和 **Quadrants(象限)**的命令。改组命令也允许用户快速查看一个绘图上有哪些门。这些功能将在使用门180时详述。

- **Gates(门)**

  Load(载入)和 **Save(保存)** 命令允许用户保存门设置或将门设置导入另一个版面190。

3.2.6 批处理标签卡

Batch(批处理)标签卡(图3.12)包含两个 **groups(组)**。

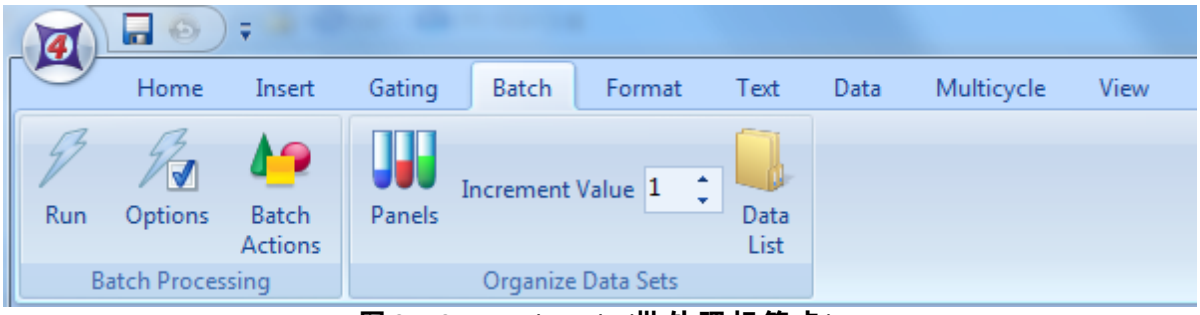


图 3.12 Batch Tab (**批处理标签卡**)

所有和该标签页相关的命令将在批处理326一章中详述。

- **Batch Processing(批处理)**
  - 一旦设置并确认所有批处理选项，**Run(运行)**命令将执行所有操作，包括打印、保存和生成报表等操作。
  - **Options(选项)**命令调出**Batch Processing Options(批处理选项)**窗口，在此可以:
    - 设置反复执行的次数。
    - 选择在运行批处理前是否警告。
    - 决定是否在每一次重复中间暂停。
    - 在批处理后的版面上恢复原始文件。
  - **Batch Actions(批操作)**命令调出**Batch Actions(批操作)**窗口，在此可设置批处理进程中的打印、生成报表和保存版面(到各种格式)等各种操作。
- **Organize Data Sets(组织数据集)**
  - **Panels(面板)**命令调出 操作面板时的面板信息对话框 372。
  - 在**Increment Value(步进值)**字段，可设置步进值，该值代表批处理中每一循环步进的文件数。步进值为1意味着转到下一个文件。
  - **Data List(数据列表)**命令调出可放置于软件界面任何位置的数据列表327窗口，来处理当前文件列表(或自定义数据)。

3.2.7 格式标签卡

Format(格式)标签卡(图3.13)包含七个**groups(组)**。这些命令允许用户修改一个或多个选中对象的属性。

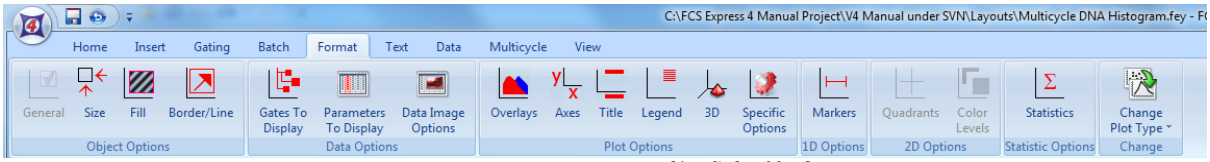


图 3.13 Format Tab (**格式标签卡**)

- **Object Options(对象选项)**: 每一个命令调出一个设置对象属性的对话框。
  - o **General(一般选项)**命令用作指定或修改对象名。
  - o 用**Size(尺寸)**命令，可改变或缩放对象的高度和宽带。同时可选择锁定图像宽高比。
  - o **Fill(填充)**命令用来设置对象背景属性(颜色或图片)、改变对象边缘和调整边框。
  - o **Border/ Lines(边框和线条)**命令用来设置包围选中对象的边框和线条的风格、颜色和线条宽度。
- **Data Options(数据选项)**
  - o **Gates to Display(显示门)**命令用来选择在绘图中显示哪些门。
  - o **Parameters to Display(显示参数)**命令允许用户选择在数据网格中显示哪些参数。
  - o **Data Image Options(数据图像选项)**控制图像放置在数据网格的某个单元格中。
- **Plot Options(绘图选项)**
  - o **Overlays(叠加图层)**命令用来选择一个叠加图层的属性，包括x- 和y- 参数、门、补偿、颜色和点的大小等等。
  - o **Axes(坐标轴)**、**Title(标题)**和**Legend(图例)**命令允许用户在这些区域放置文本并对其进行格式化。
  - o 如果用户对表面绘图进行操作，3D命令用来格式化显示属性，如缩放、旋转、提升、偏移量和角度等。
  - o **Specific Options(特定选项)**命令允许用户修改针对特定绘图的特定选项，比如绘图的分辨率以及针对多少个细胞作图等。

- **1D Options(一维选项)**

  如已创建了标识，**Markers(标识)**命令用来格式化单参数柱状图上的标识属性。

- **2D Options(二维选项)**

  o 用**Quadrants(象限)**命令，用户可以对双参数绘图中的象限进行格式化。

  o 如果用户在操作一个二维彩色图(比如，彩色点状图、密度图或轮廓图)，Color Levels **(颜色层次)**命令用来格式化颜色显示属性。

- **Statistic Options(统计选项)**

  若有要显示的统计数据，**Statistics(统计)**命令允许用户格式化统计数据的属性。

- **Change(改变绘图类型)**

  Change Plot Type(改变绘图类型)命令允许用户改变所选绘图的类型。点击 **Change Plot Type(改变绘图类型)**处的**down arrow(向下的箭头)**，用户可以通过下拉选项查看所有可用的绘图类型。

3.2.8 文本标签卡

Text(文本)标签卡(图3.14)包含四个**groups(组)**。

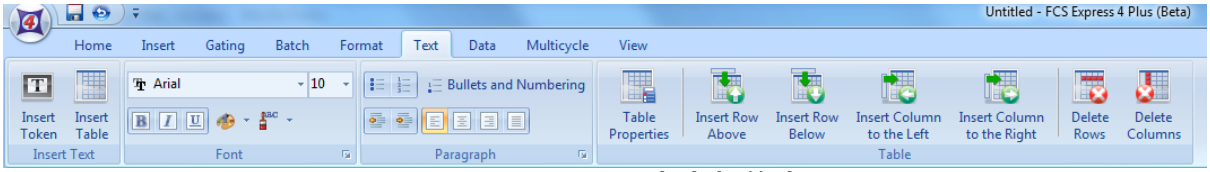


图 3.14 Text Tab (**文本标签卡**)

- **Insert Text(插入文本)**

  若一文本框被选中，**Insert Token(插入标记)**命令允许用户选择想要插入的预先定义好的标记。**Insert Table(插入表格)**命令用来在文本框中插入一表格并定义其属性。

- **Font(字体)和Paragraph(段落)**

  就像在字处理软件中一样，**Font(字体)**和**Paragraph(段落) groups(组)**中的命令用来格式化当前光标所在处的文本。若文本被选中，格式将应用于所选文本。用户可点击对话框启动按钮 28 (右下角的小箭头标志)来显示标准的**Font(字体)**或**Paragraph(段落)**对话框来一次格式化多个属性。尽管字体和段落命令一般应用于文本框，一些段落属性也适用于非文本框选项。例如，改变数据或统计的对齐方式也会改变文本的对齐方式。

- **Table(表格)**

  若表格被插入文本框中或图表被选中，Table **group(图表组)**用来:

  - o 显示表格属性。
  - o 在当前位置上方或下方插入行。
  - o 在当前位置左边或右边插入列。
  - o 删除表格最后一行或一列。

3.2.9 数据标签卡

Data(数据)标签卡(图3.15)有六个**groups(组)**:

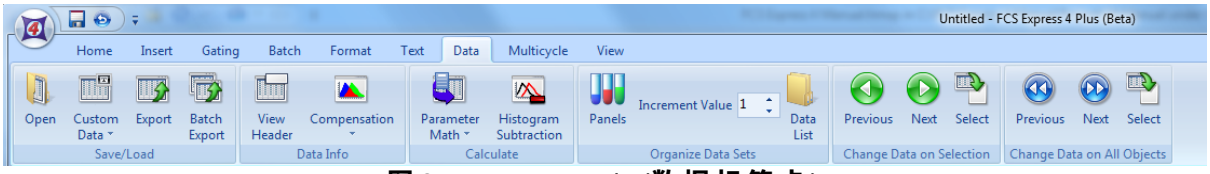


图 3.15 Data Tab (**数据标签卡**)

- **Save/ Load(保存/ 导入)**

  - o **Open(打开)**命令调出**Select a Data File(选择数据文件)**对话框(图3.16)，允许用户选择一数据集(比如一个FCS 文件)和从**Select Plot Types...(选择绘图类型...)**对话框中选择绘图的类型(图3.17)。**Select a Data File(选择数据文件)**对话框包括一个 **File List(文件列表)**标签，允许用户查看当前实验操作的数据文件或数据集，该对话框也包括一个**Active Files(当前文件)**标签(即当前版面打开的文件)。从**Files of type:(文件类型:)**下拉列表，用户可选择文件后缀，比如从不同设备制造商取得的文件，或逗号/ 符号间隔值文件(.csv)。

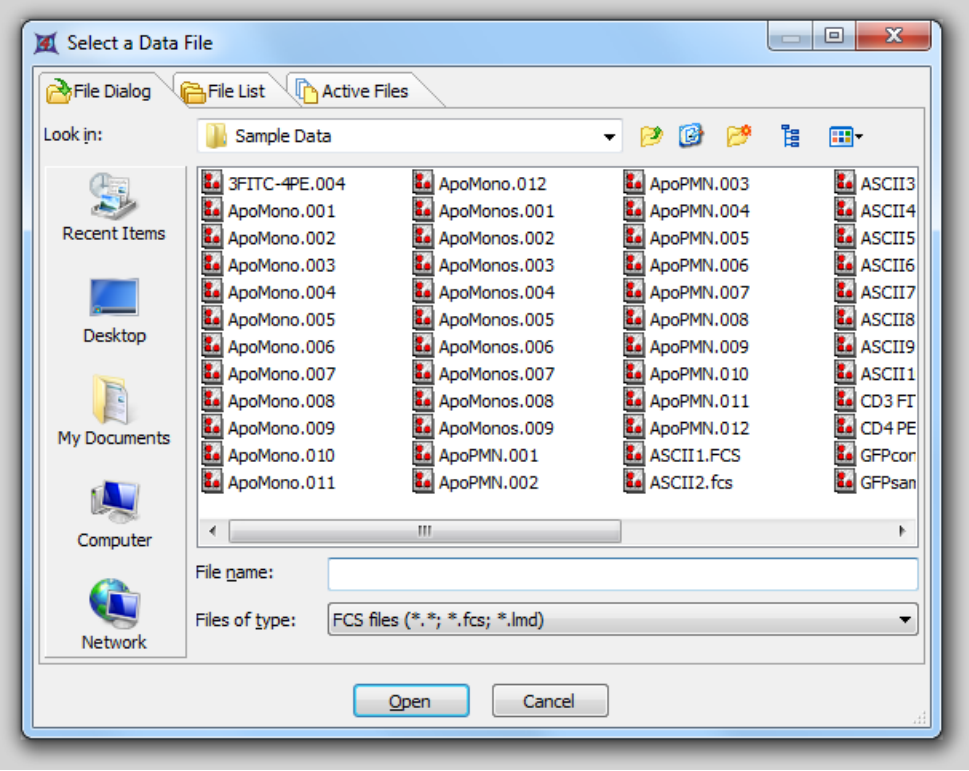


图 3.16 Select a Data File Dialog (**选择数据文件对话框**)

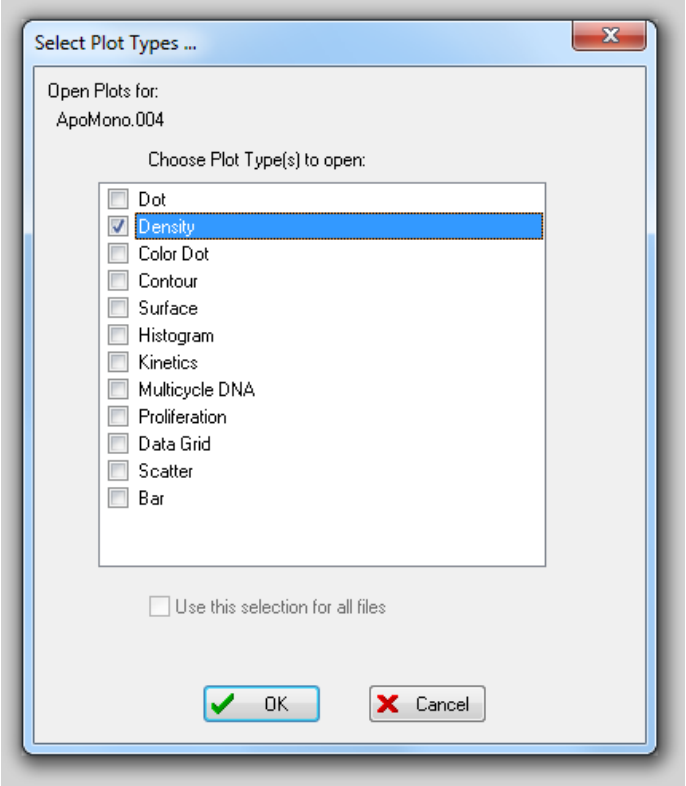


图 3.17 Select Plot Types Dialog (**选择绘图类型对话框**)

- **Custom Data(自定义数据)**命令允许创建新的自定义数据214。
- 用**Export(导出)**命令，可从单个打开的文件导出数据274。
- 可用Batch Export(批量导出)命令从多个文件顺序导出数据276。

• **Data Info(数据信息)**

- 若选中一绘图，**View Header(查看文件头)**命令调出对话框显示该文件的FCS文件头信息。若版面上没有绘图，**Select a Data File(选择数据文件)**对话框显示出来，用户可选择显示哪个头信息。
- 点击**Compensation(补偿)**命令调出命令列表，允许用户显示选择文件的补偿信息或导入和保存补偿信息。

• **Calculate(计算)**

- **Parameter Math(参数数学)**打开一个包含**Single Calculation(单项计算)**、**Sequence Setup(建立序列)**、**Run Sequence(运行系列)**、**Load Sequence(导入序列)**和**Save Sequence(保存序列)**命令的命令组。这些选项允许用户定义一个或一些列数学函数，保存这些函数并把这些函数应用于数据文件

240。

- o **Histogram Subtraction(柱状图减法)**命令允许用户应用四种数学方法比较试样和对照样本的柱状图252。

- **Organize Data Sets(组织数据集)**

  - o **Panels(面板)**命令调出使用面板时的面板信息对话框372。

  - o 在**Increment Value(步进值)**字段，可设置步进值，该值代表批处理中每一循环步进的文件数。步进值为1代表转到下一个文件。

  - o **Data List(数据列表)**命令调出可放置于软件界面任何位置的数据列表327窗口，来处理当前文件列表(或自定义数据)。

- **Change Data on Selection(改变选中的数据)**

  - o **Previous(前一个(组))**把选中的FCS文件改变到**Data List(数据列表)**中的前一个(组)文件。

  - o **Next(下一个(组))**把选中的FCS文件改变到**Data List(数据列表)**中的下一个(组)文件。

  - o **Select(选择)**调出**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，使用户可选择一个FCS文件。

- **Change Data on All Objects(改变所有对象的数据)**

  - o **Previous(前一个(组))**把所有FCS文件改变到**Data List(数据列表)**中的前一个文件。

  - o **Next(下一个(组))**把所有FCS文件改变到**Data List(数据列表)**中的下一个文件。

  - o **Select(选择)**调出**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，使用户可选择一FCS文件。

3.2.10 *多周期标签卡*

Multicycle Tab(多周期标签卡)403(图3.18)允许用户使用Phoenix Flow Systems发布的Multicycle AV插件。它包括两个组:

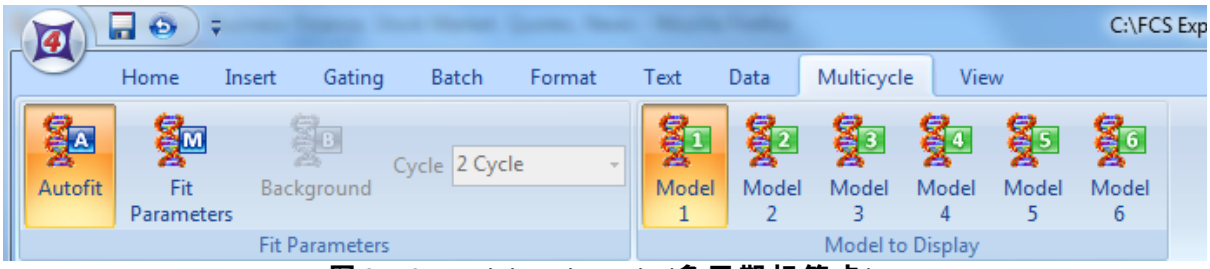


图 3.18 Multicycle Tab (**多周期标签卡**)

- **Fit Parameters(调整参数)**

  Autofit(自动调整) 命令自动调整周期参数。手动模式下，**Fit Parameters(调整参数)**命令调出一个对话框来格式化拟合模型属性，**Background(背景)**命令调出一对话框来格式化背景选项。**Cycle(周期)**下拉列表允许用户选择拟合模型的号码和细胞群的种类。

- **Model to Display(显示模型)**

  有六个**Model(模型)** 命令用来设置当前显示的模型参数。

3.2.11 *视图标签卡*

View(视图)标签卡(图3.19)包含三个**groups(组)**:

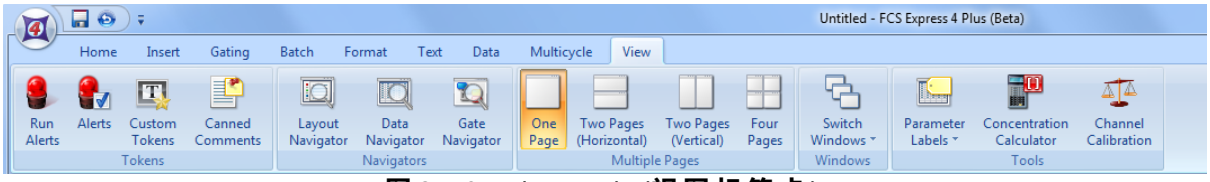


图 3.19 View Tab (**视图标签卡**)

- **Tokens(标记)**

  o 当建立多个Alert(警告)后，可以用**Run Alerts(运行警告)**命令"运行"它们。FCS Express以这些警告在**Alerts(警告)** 窗口中的顺序，依次检查警告公式。

  o **Alerts(警告)**命令调出一个可附在程序窗口的**Alerts(警告)** 窗口，在此可创建新警告 380。警告允许监视在特定条件下进行的数据分析。

  o **Custom Tokens(自定义标记)**命令调出可附在程序窗口的Custom Tokens **(自定义标记)**窗口，在此可创建新的自定义标记 308，以生成用户自己的统计数据。

  o **Canned Comments(封装注释)**命令调出一个可附在程序窗口的封装注释窗口来定义新的封装注释 448。

- **Navigators(导航器)**

- Layout Navigator(版面导航器)72命令调出一个可附在程序窗口的Layout **Navigator(版面导航器)**窗口，列出版面中的所有对象。

- Data Navigator(数据导航器)74命令调出一个可附在程序窗口的Data **Navigator(数据导航器)**窗口，列出版面中所有引用文件的参数。

- Gate Navigator(门导航器)75命令调出一个可附在程序窗口的Gate Navigator **(门导航器)**窗口，描述版面中绘图定义的门。

• **Multiple Pages(多重页面)**

- **Multiple Pages(多重页面)**组里有四个命令[**One Page(单页)**、Two Pages **(Horizontal)(横向双页)**、**Two Pages(Vertical)(纵向双页)**和Four Pages **(四页)**]，它们以不同方式来显示整个版面62。

• **Windows(窗口)**

若有多个版面打开，**Switch Windows(切换窗口)**命令允许用户选择某一个窗口为当前窗口。

• **Tools(工具)**

- **Parameter Labels(标签参数)**打开一个命令列表，包括**Modify Labels(修改标签)**、**Load Labels(导入标签)**和**Save Labels(保存标签)**命令。这些命令允许用户便捷地修改、收回和保存替代的标签参数210。

- **Concentration Calculator(浓度计算器)**命令调出可计算样品中细胞浓度246的**Concentration Calculator(浓度计算器)**窗口。

- **Channel Calibration(通道校对)**命令调出通道校对窗口260。在此可将轴向荧光强度刻度从线性或对数刻度改为一个代表抗原分子绝对数目或细胞表面结合点数目的尺度。

3.2.12 *自定义Ribbon条*

除使用Quick Access Toolbar(快捷工具条)右端的个性化设置命令32外，右键点击命令组上的命令或在命令组名称上右键点击，会调出一个命令列表(图3.20)，它包含Add the **command(添加命令)**(或命令组)到快捷工具条32。

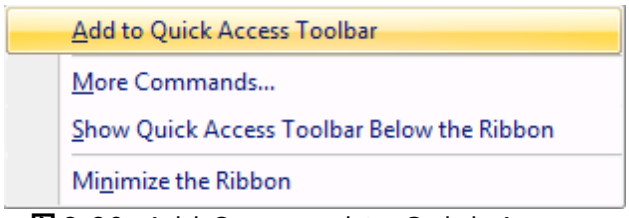


图3.20 Add Command to Quick Access Toolbar (向快捷工具栏中添加命令)

More Commands...(更多命令...)一项调出包括**Toolbars(工具栏)**、**Commands(命令)**和**Options(选项)**标签的**Customize(个性化设置)**对话框(图3.21)。在此用户可隐藏或添加任何Ribbon组及组中的命令。

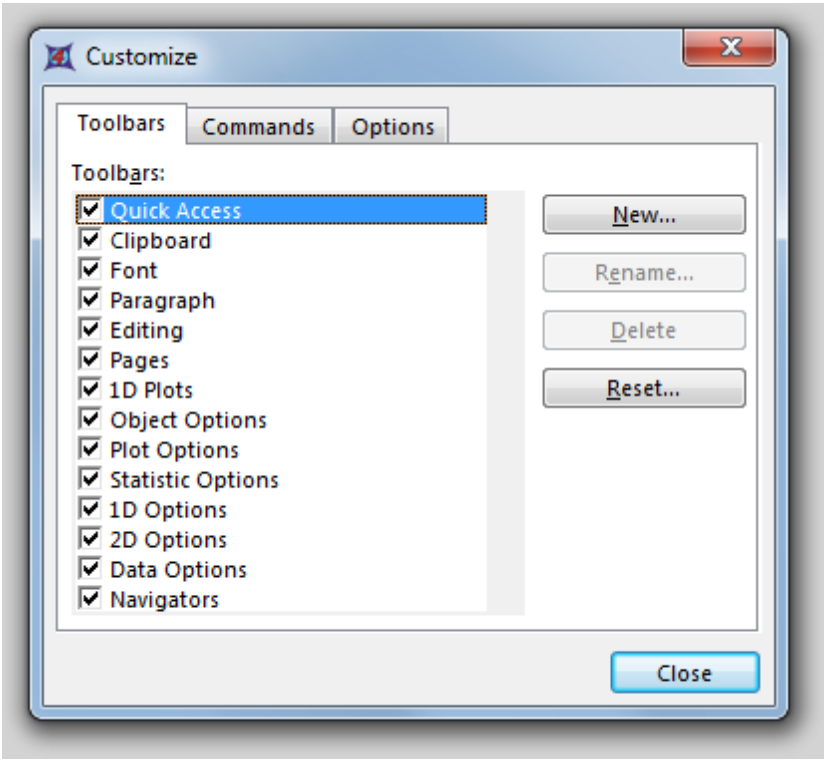


图3.21 Customize Dialog (个性化设置对话框)

Customize(个性化设置)对话框打开时，可对Ribbon条进行多种个性化设置。要从Ribbon条中删除选项:点击要删除的选项，按下鼠标键，拖动其到Ribbon条外，放开鼠标。若它被拖到Ribbon条的其它地方，它将被移到鼠标松开的地方。若要在Ribbon条上添加命令，选择**Commands(命令)**标签。从列表中选中一个命令，把其拖到Ribbon条(或快捷工具条)上用户希望该命令出现的地方。

在选择**Toolbars(工具条)**上选择一个工具条并按下**Reset...(恢复...)**按钮，可恢复该工具条(命令组)到其默认状态。

在Application Button→**System(应用程序按钮→系统**)下，Reset Toolbars to **Default Settings(恢复工具条到默认设置)**命令将重置所有工具条到默认设置。

第4章

4 使用版面

版面是FCS Express的基本构建模块。

4.1 版面概述

*版面*是FCS Express文档的名称。版面包含并组织绘图、区域、象限、统计、文本框、图像、打印设置等等。同一时间打开的版面数没有限制(除了计算机存储容量限制外)。将对象从一个版面复制到另一个也很容易。FCS Express有很多强大的格式和图像功能让用户随心所欲地显示数据。

FCS Express版面的组织和微软PowerPoint® 演示文稿很相像。就像演示文稿包括多张含有文本和图像的幻灯片一样，每个FCS Express版面包括一张或多张含有文本框、绘图、统计和其它对象的页面。也像PowerPoint中每一张幻灯片一样，FCS Express版面中的每一张均可修改、保存和导出。还可设置版面中的每张页面有不同的背景色或背景图像。另外，版面可被存为模板，应用于一批文件或链接到特定数据文件。当打开带链接的版面文件时，生成该版面的数据文件和绘图会被显示出来。该功能在记录临床案例时很有用，它可提供案例分析的档案记录。

文件插入版面中时，无论它是绘图、文本框、统计窗口还是图像，均可有多种方法对其进行操作。这里再次强调，若把版面中的对象和Powerpoint中的对象类比，会很有助于理解。用户可选择单个或多个对象，一旦选中，它们可移动、缩放或互相对齐。

4.1.1 *创建新版面*

可用任何以下选项来创建新版面:

- 选择Application Button→**New Layout(应用程序按钮→新建版面)**，可创建新的空白版面，或打开以前创建和保存的版面模板。以前创建的模板列表会出现在Recent Templates(最近的模板)选区(图4.1)。

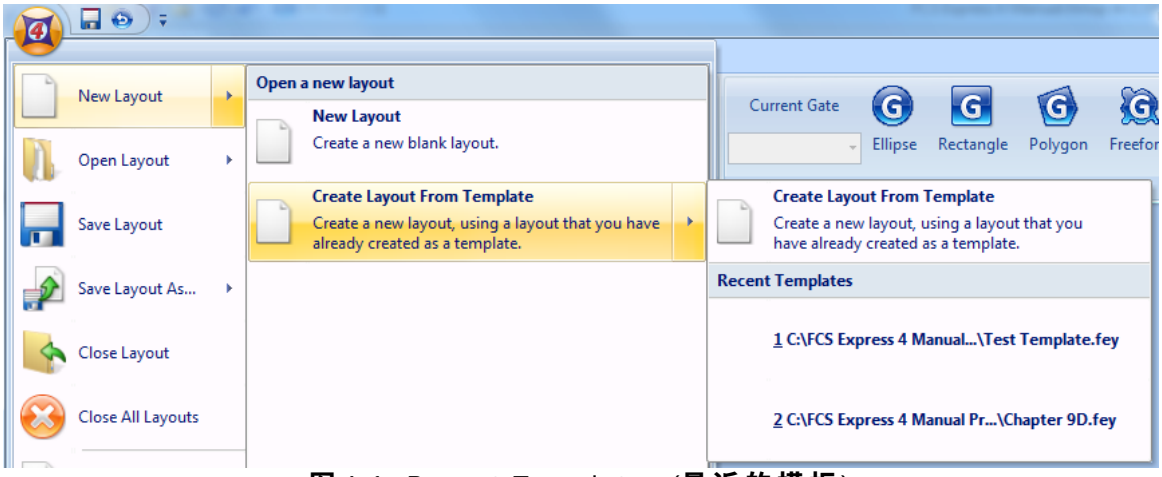


图 4.1 Recent Templates (**最近的模板**)

- 模板对于建立标准文件设置，例如边界、纸张大小、绘图、统计和页面方向等很有帮助。一个模板是指用户以前保存并决定作为模板使用的版面文件。要从模板创建新文档，请用Application Button→New Layout→Create Layout **From Template(应用程序按钮→新建版面→从模板创建版面)**命令。也可以指定某一保存的版面文件作为默认模板127。有默认模板时，在使用Application Button→**New Layout(应用程序按钮→新建版面)**命令的时候，FCS Express会打开该模板文件，而非一个空白文件。

- 当FCS Express从保存的模板打开新版面时，它会创建一个和该模板完全一样的新版面。但新版面不含任何数据，FCS Express也会"忘记"新版面来自模板。因此，当保存新版面时，会提示输入新的文件名，避免覆盖原模板。

- 选择 Home→**Pages→Layout(主页→页面→版面)**。用该方法，用户可选择空白版面或选择一些预定义的版面风格。

4.1.2 *保存版面*

可用以下方式保存版面:

- Application Button→**Save Layout(应用程序按钮→保存版面)。**
- 在快捷工具条32上点击**Save Current Layout(保存当前版面)**图标。
- 用Ctrl+S键盘快捷键。

以上任何方法均会调出**Save Layout(保存版面)**对话框(图4.2)，在此用户可键入文件名和保存地址。

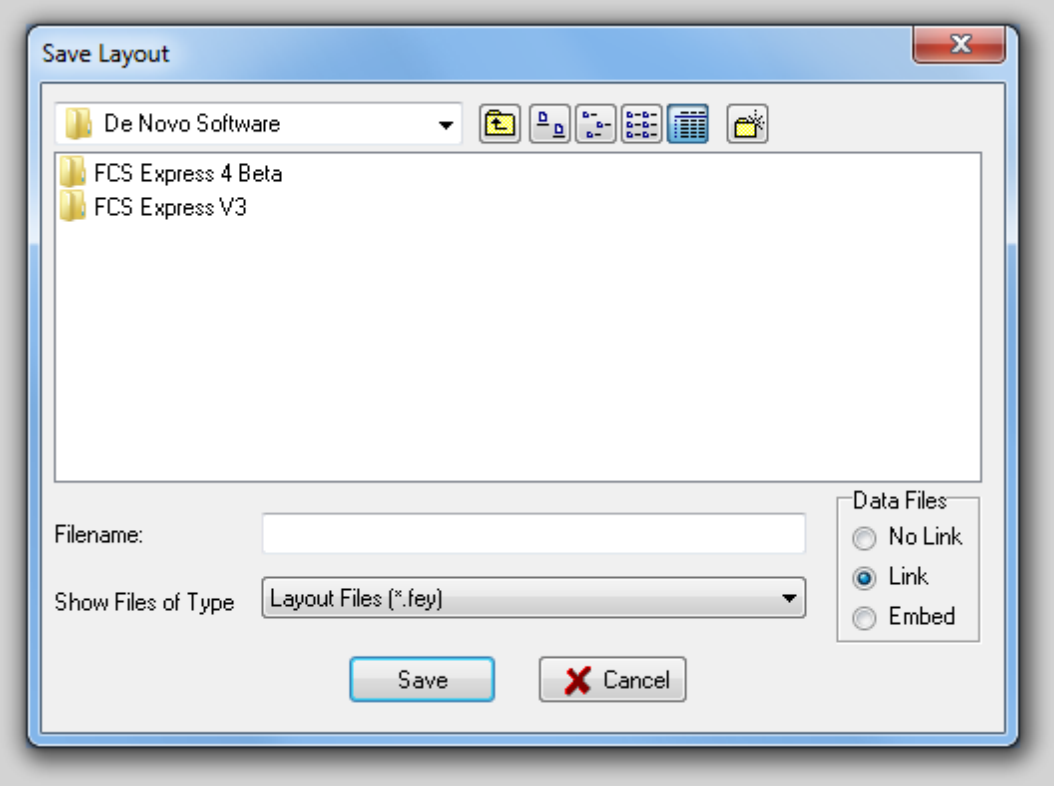


图 4.2 Save Layout Dialog (**保存版面对话框**)

保存版面时，在对话框右下角的**Data Files(数据文件)**组框里，用户可选无链接保存、带数据链接保存或带嵌入数据文件保存。

- 无链接文件保存(**No Link(无链接)**单选按钮)

  所有对象(绘图、统计框和数据列表选项，包括排序选项)的位置和格式均会被保存。打开无链接版面时，不会显示任何数据。无链接版面的文件要比有链接和嵌入版面文件要小。

- 带数据链接保存(**Link(链接)**单选按钮)

  所有对象的位置和格式均会被保存。该文件打开时，若数据文件可用或已被复制到版面文件打开的地方，该数据文件将被打开。但若版面文件在不含有该数据文件的电脑上打开时，数据将不会显示在版面的绘图或统计上。有链接文件要比数据嵌入文件小。

- 带嵌入数据文件保存[**Embed(嵌入)**单选按钮]

  所有对象的位置和格式均会被保存，实际数据文件也会被复制到该版面文件中。这让任何打开该版面文件的用户均可查看和分析数据，而不需要有原始文件。尽管有嵌入数据文件的版面文件可能比较大，它的大小仅约占原始数据文件的三分之二。所以嵌入数据的版面文件是发给合作人的最佳选择。

4.1.3 打开以前创建的版面

可用Application Button→**Open Layout(应用程序按钮→打开版面**)打开以前保存的版面。这将调出**Load Layout(加载版面)**对话框。点击应用程序按钮显示最近使用的文档(图4.3)。点击最近使用的文档，打开即可。

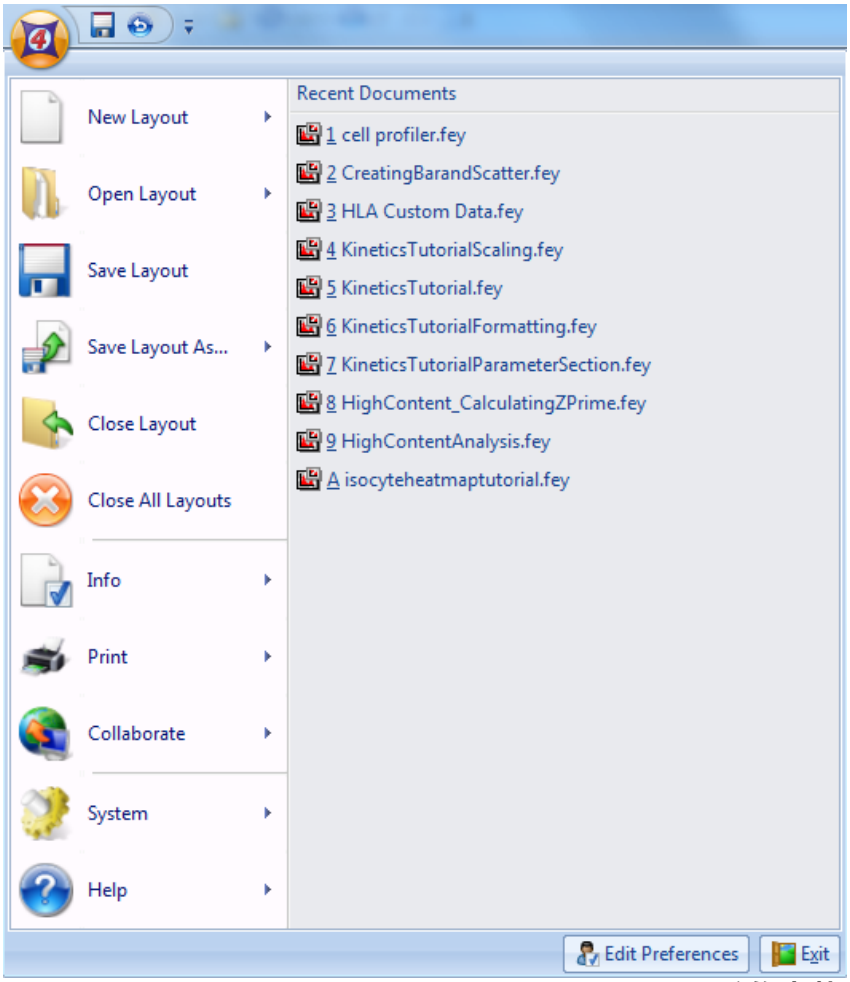


图 4.3 Recent Documents Appear on the Right (**最近的文档出现在右边**)

将鼠标移到要打开的文件。一旦文件被突出显示，对话框底部的**Layout Information(版面信息)**将显示被选版面文件的页面数、柱状图数、二维绘图数和文件链接状态 51 (图4.4)。

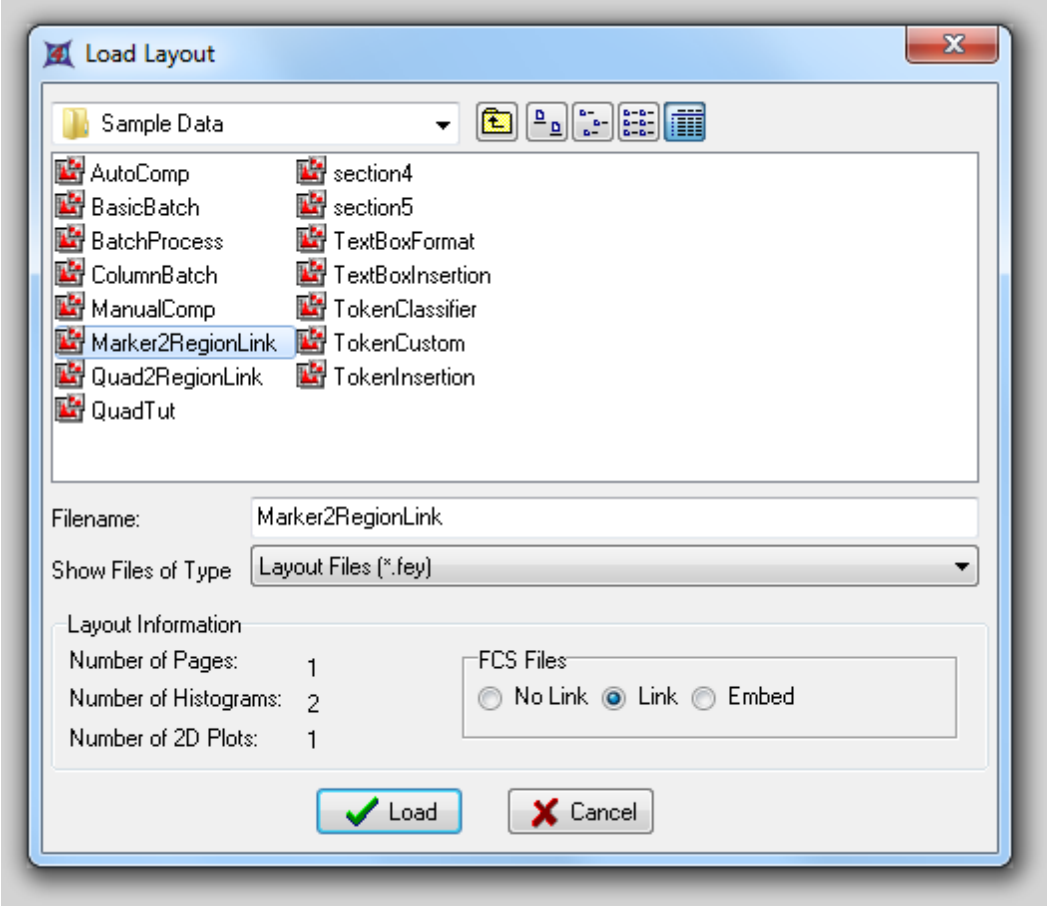


图4.4 Load Layout Dialog (**导入版面对话框**)

若用户打开的版面有FCS Express无法打开的链接文件，用户会在Select a Data **Directory(选择数据目录)**对话框中被告知，然后可从一个不同的文件夹导入数据文件(图4.5)。

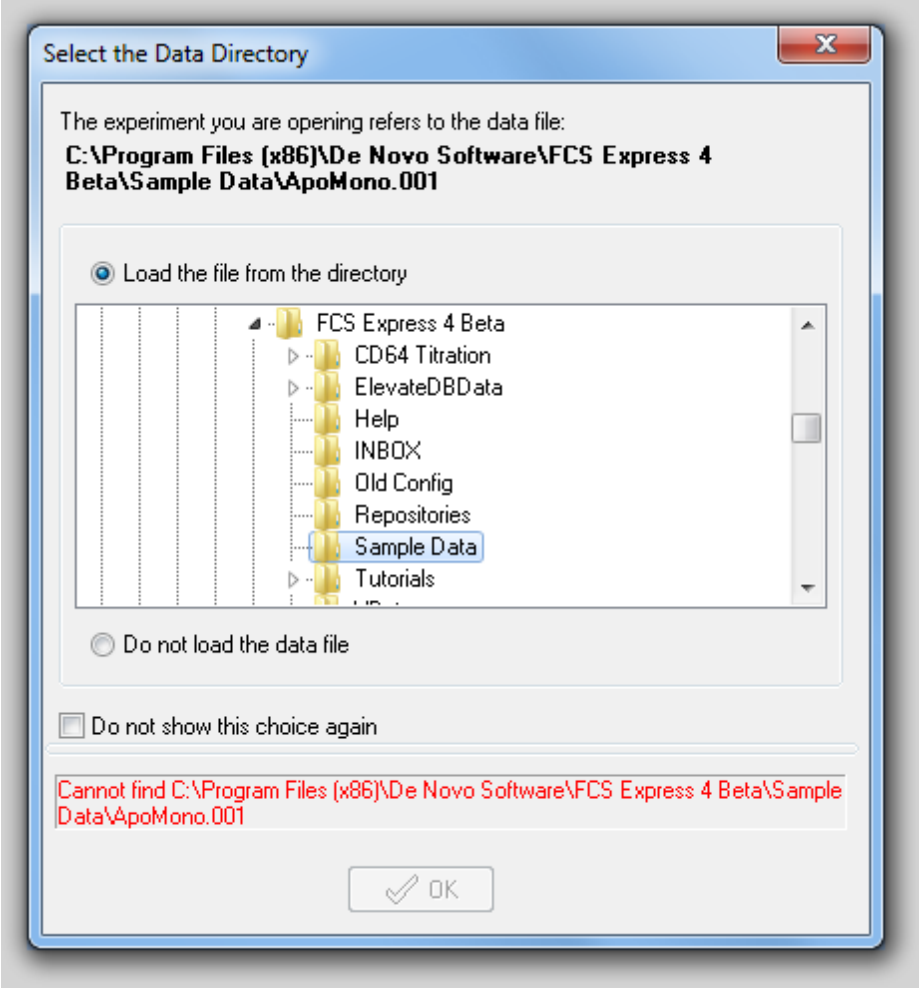


图 4.5 Missing Linked Data (**找不到链接的数据**)

4.1.4 *关闭版面*

FCS Express可同时打开多个版面。有两个方法可关闭当前版面:

- 激活想要关闭的版面(需要的话，用View→**Switch Windows(视图→切换窗口)**)，选择Application Button→**Close Layout(应用程序按钮→关闭版面)**。若唯一一个打开的版面是空白版面，这将关闭(退出)FCS Express。

- 若有多个版面同时打开，可点击应用程序窗口右上角两个"x" 图标中的任一个。

注: 若多个版面同时打开，窗口最右上角的两个"x"图标，一个是和窗口名同层的Close Program(关闭程序)"x"图标，一个是和标签名同层的Close Layout(关闭版面)"x" 图标；它们的功能相同(图4.6)，即只关闭当前版面。但只有一个版面打开时，点击Close Program(关闭程序)"x"将关闭(退出)FCS Express ;而点击下面的(Close Layout(关闭版面))"x"后，只有当前版面未经修改时整个程序才会关闭。

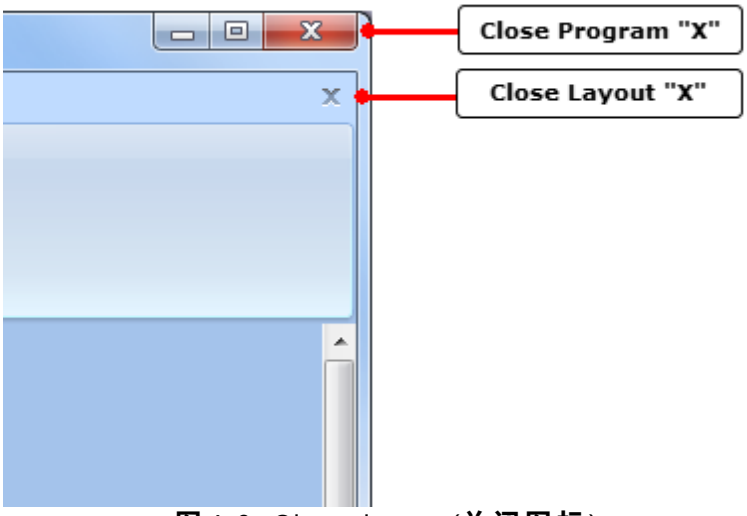


图4.6 Close icons (关闭图标)

- 要关闭所有版面文件，请选择Application Button→**Close All Layouts(应用程序按钮→关闭所有版面)**。

若版面在关闭时尚未保存，用户将被提示保存该版面。也可修改用户偏好129，使在版面关闭时，用户将不会被提醒保存文件。这种情况下，对原版面的所有修改都会被丢弃。

4.1.5 *使用页面*

有几种在版面中添加新页面的方法。以下三种方法会在当前页面*后*添加新页面:

- 选择Home→**Pages→New Page(主页→页面→新页面)**，而后从命令列表中选择要插入的页面种类。
- 右键点击版面，从弹出菜单中选择**New Page(新建页面)**。
- 点击**Layout Navigation Toolbar(版面导航工具栏)**的**Add Page(添加页面)**标签(在应用程序窗口底部左端)(图4.7)。

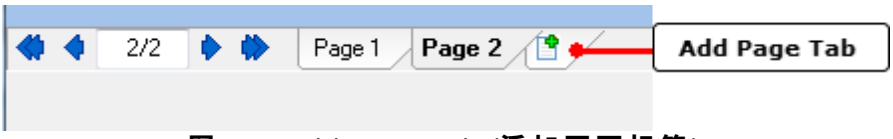


图4.7 Add Page Tab (添加页面标签)

要在版面中间插入页面，在Layout Navigation Toolbar**(版面导航工具栏)**上已有的**Page Tab(页标签)**(例如"Page 1"("第1页"))上右键点击，从弹出菜单中选择**Insert(插入)**，这会在选择的页*前*插入一张空白页。若要调整版面中的页面顺序，在Layout Navigation Toolbar**(版面导航工具栏)**上选择一个标签页，左右拖放其到一新的位置。

用户可为页面重命名。方法是:

1. 在页面上任何位置(或该页面对应的标签页上)右键点击，从弹出菜单中选择Format **(格式)**。
2. 在出现的**Formatting Page(格式化页面)**对话框中，在**Name(名称)**类别下的**Name(名称)**字段中输入新名称。

页面的可见性可通过格式化对话框设置。

1. 在页面上任何位置(或该页面对应的标签页上)右键点击，从弹出菜单中选择Format **(格式)**。
2. 在出现的**Formatting Page(格式化页面)**对话框中，点击**Visibility(可见性)**(图4.8)。使用单选按钮可将可见性设置为**Always visible(总是可见)**、Never visible **(总是不可见)**(即隐藏)或**Custom(自定义)**。如选择**Custom(自定义)**，用户可插入标记来计算一逻辑公式320(通过点击 T 按钮完成)，而该页只有在该标记的值为真时才可见。

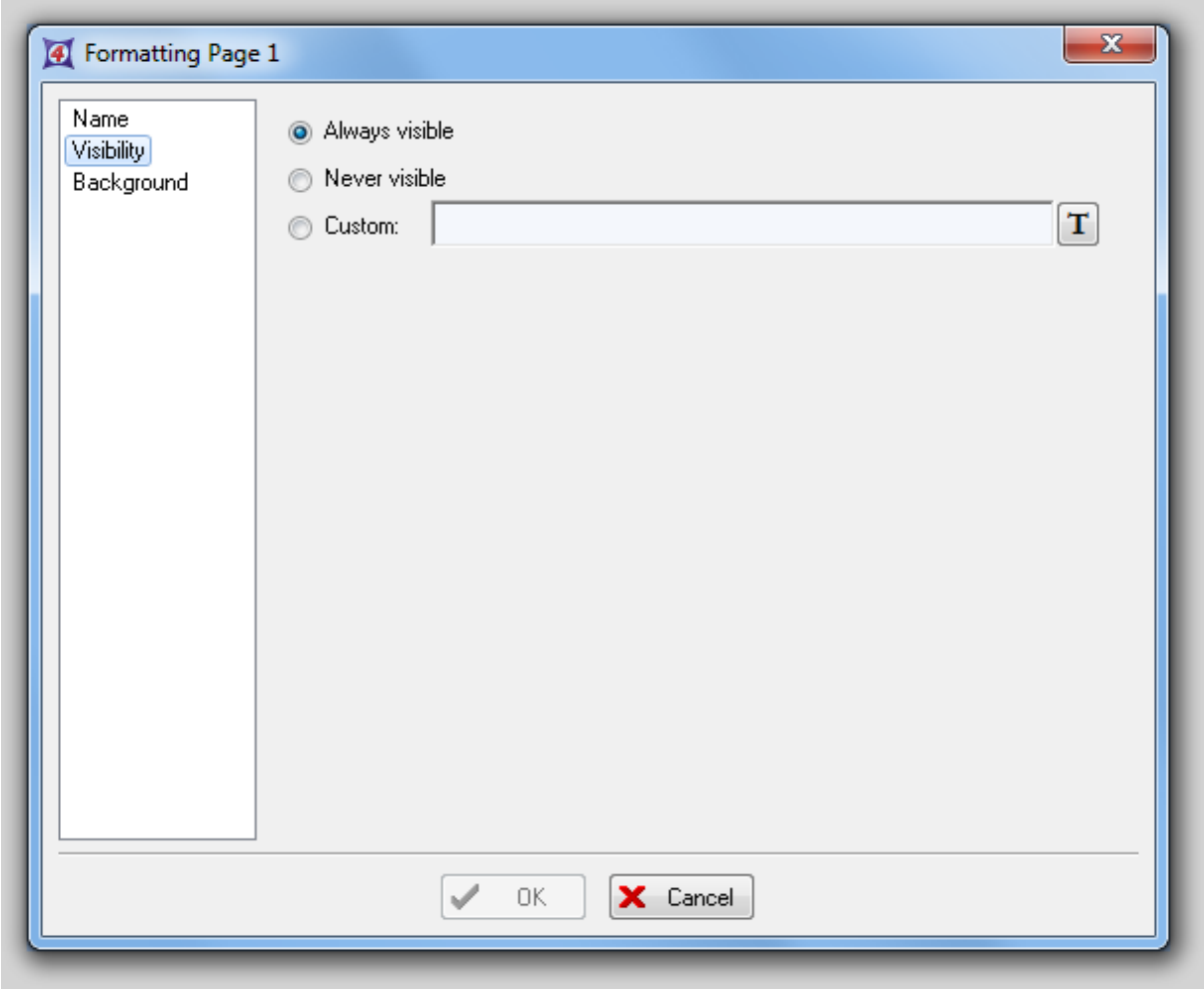


图4.8 Formatting Page Visibility (**格式化页面的可见性**)

页面的默认背景是母版页的背景83。但每一页可以自定义背景。要改变某页的背景设置:

1. 在页面上任何位置(或该页面对应的标签页上)右键点击，从弹出菜单中选择Format **(格式)。**
2. 在**Formatting Page(格式化页面)**对话框中，找到**Background(背景)**项(图4.9)。
3. 点击**Custom(自定义)**单选按钮。
4. 选择Color/**Fill Pattern(颜色/ 填充样式)、Gradient(梯度)**或**Image(图像)**。

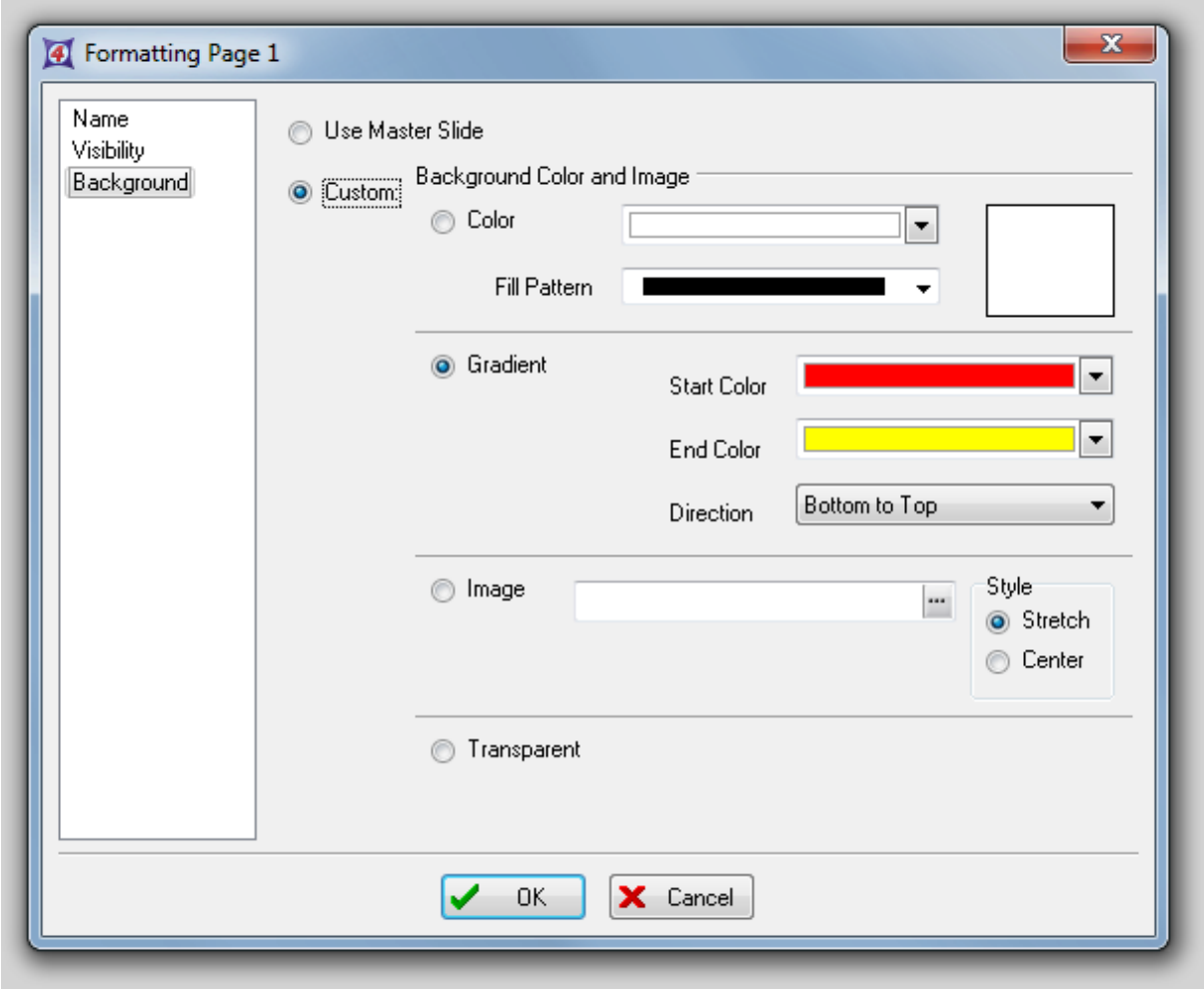


图4.9 Changing an Individual Page Background (**修改一个单独页面的背景**)

有几种删除当前页的方法:

- 选择Home→**Pages→Delete Page(主页→页面→删除页面)**。
- 右键点击页面，从弹出菜单中选择**Delete Page(删除页面)**。
- **在Layout Navigation Toolbar(版面导航工具栏)**上右键点击**Page Tab(页标签)**(例如 "**Page 2**"**("第2页")**)，从弹出菜单中选择**Delete Page(删除页)**。

4.1.6 *从版面中打印页面*

要打印版面中的某一页面(或几个页面)，选择Application Button→**Print(应用程序按钮→打印)**。一个标准**Print(打印)**对话框会跳出，让用户选择要打印的内容。打印出的页面会和屏幕上显示的页面一样。

要改变当前打印机和打印设置，选择Application Button→Print→**Page Setup(应用程序按钮→打印→页面设置)**来调出**Print Setup(打印设置)**对话框(图4.10)。在Print

Setup(打印设置)对话框中，可改变打印机、页边距和页面方向。改变页面方向时，要锁定每一对象在页面上的宽高比，请选中Maintain the size of all objects on the layout **(保持版面上所有对象大小)**。

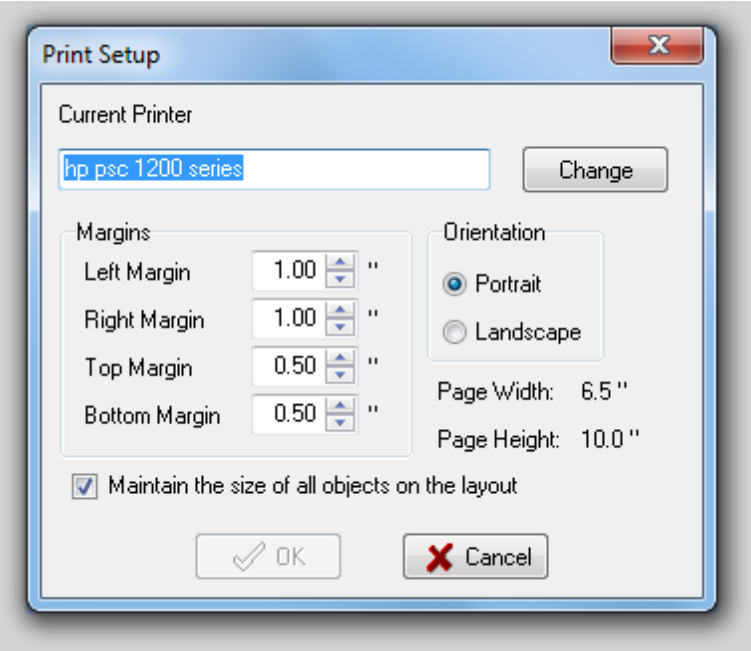


图4.10 Print Setup Dialog (**打印设置对话框**)

4.1.7 *从版面中把页面导出为图片*

页面可作为图像导出，方法是选择Application Button→**Save Layout As...→Export Current Page As...(应用程序按钮→版面另存为...→导出当前页面为...)**。

导出图片的格式可为Windows图元文件(*.emf)、JPEG(*.jpg)、位图文件(*.bmp)、Windows扩展图元文件(*.emf)(*.png)、GIF(*.gif)或 TIFF(*.tif)。

4.1.8 *把版面导出为PowerPoint 演示文稿*

页面可被直接导出为微软PowerPoint®演示文稿。演示文稿会看起来和FCS Express中的版面文件完全一样，即五页的FCS Express版面文件会变成五页的Powerpoint文件。所有绘图和文本框会像Windows图元文件那样被插入到PowerPoint演示文稿中，它们可在PowerPoint中被移动、缩放和操作。

要作为PowerPoint演示文稿保存，选择Application Button→Save Layout As...→**Save Layout as PowerPoint Presentation...(应用程序按钮→版面另存为...→将版面存为PowerPoint演示文稿...)**。

这会调出一个对话框，允许用户:

- 为文稿命名。

- 选择要导出的页面文件。
- 决定是否包括背景。

若选择导出背景，FCS Express母版页上的背景对象会被放置于PowerPoint母版幻灯片中。这些背景对象会出现在所有PowerPoint幻灯片中。

4.1.9 *把版面导出为PDF文件*

版面文件可直接存为Adobe PDF文件格式。相应的PDF文件和FCS Express文件看起来完全一样。

要作为PDF文件保存，选择Application Button→Save Layout As...→Save Layout as PDF File...(应用程序按钮→版面另存为...→将版面存为PDF文件...)。

会弹出一个对话框，允许用户:

- 为PDF文件命名。
- 设定PDF质量[**Low(低)**、**Medium(中)**、**High(高)**和**Highest(最高)**]。文档质量越高，图像越好，但文件也越大。PDF质量主要影响统计窗口和门视图的质量。
- 选择导出哪些页面。

4.1.10 *在版面上导航定位*

用户有多种在版面上导航定位的方法:

若版面比屏幕大，可用右方的垂直滚动条或鼠标滚轮移动到当前页的不同位置上。

- 按动键盘上**Page Down(下一页)**键转到版面下一页。
- 按动键盘上**Page Up(上一页)**键转到版面上一页。
- 右键点击版面从弹出菜单中选择**Previous Page(上一页)**或**Next Page(下一页)**。
- 使用版面导航工具栏 28(总是在版面的左下角)。在Layout Navigation Toolbar **(版面导航工具栏)**上，用户可以:
  - 点击有某一名称的页面(例如，"**Page 2(第2页)**")。
  - 在工具栏编辑字段直接输入目标页码。
  - 点击编辑字段左右边的箭头转到之后或之前的页码。单箭头按钮一页一页地切换。双箭头按钮转到版面的首页或尾页。

4.1.11 页面查看

在View→**Multiple Pages(视图→多重页面)**命令组，有四个命令 [**One Page(单页)**、**Two Pages(Horizontal)(横向双页)**、**Two Pages(Vertical)(纵向双页)**和**Four Pages(四页)**]，它们以不同的方式显示整个版面(图4.11)。

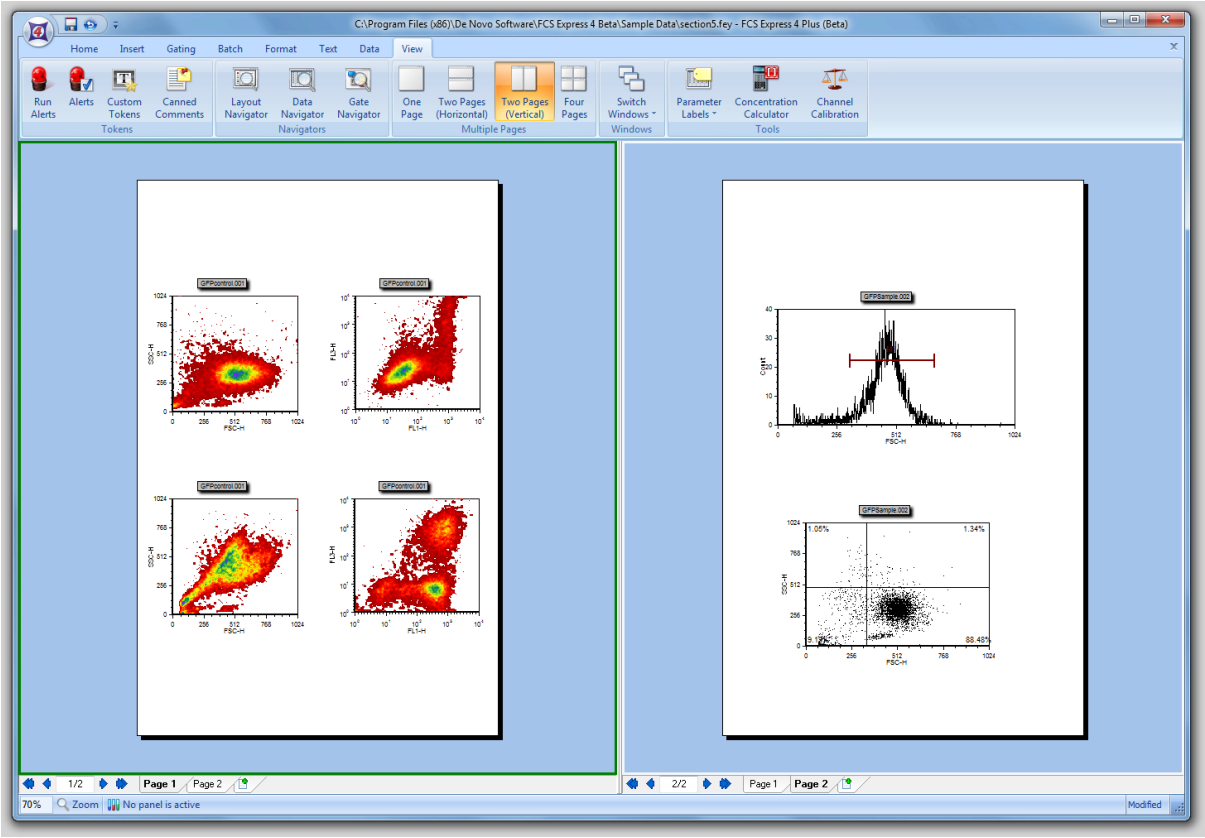


图4.11 Two Pages Vertical View (**纵向双页视图**)

4.1.12 版面缩放

使用版面导航工具栏[61]下方的缩放工具栏[28]来改变当前缩放值(以百分率显示)。用户可将想要的缩放比直接键入工具栏的编辑字段，或点击**Zoom(缩放)**命令(放大镜图标)调出Zoom **(缩放)**窗口。该窗口允许用户从预定义的几个缩放值中进行选择(或在编辑字段中直接键入缩放百分比)。

4.1.13 文件自动恢复

FCS Express可自动创建版面的备份文件，它被称为Auto Recovery(自动恢复)文件。默认设置下，自动恢复文件每五分钟保存一次。作为可自定义的一个选项，用户可通过编辑编辑设置中的保存页面选项[129]对话框来关闭该功能，或修改保存间隔时间。若FCS Express在没有询问用户是否保存版面情况下突然退出，下次程序启动时，用户会被询问是否从自动保存的文件中继续编辑。

4.1.14 使用多个版面

FCS Express可同时打开多个版面。每个版面在各自窗口打开。可把对象(绘图、数据文件或门等)从一个版面拖至另一版面。

可使用命令View→Windows→Switch Windows(**视图→窗口→切换窗口**)(并在下拉菜单中选择适当的版面)来决定哪个窗口为活动窗口。

4.1.15 版面属性

可以通过选择Application Button→**Info→Layout Properties(应用程序按钮→信息→版面属性)**来改变版面属性。

Layout Properties(版面属性)对话框(图4.12)显示版面信息，允许用户设定版面的打开密码。

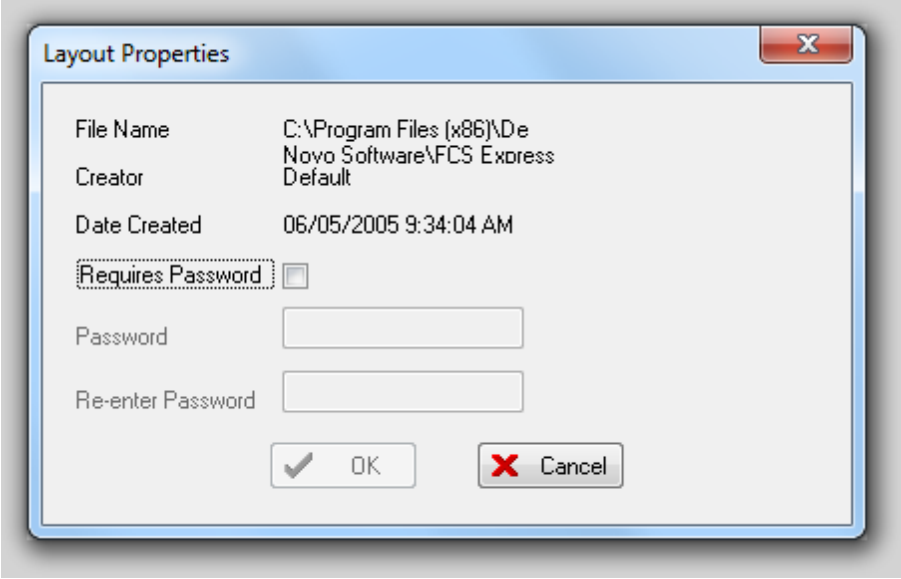


图 4.12 Layout Properties Dialog (**版面属性对话框**)

注:为版面加密时请慎重。如忘记密码，用户将不能打开版面。

若安全系统被激活474, **Layout Properties(版面属性)**对话框上会有其它选项。

4.2 停靠概述

FCS Express第4版有一个灵活的用户接口。它的最新功能"可停靠窗口"，让用户可根据需要个性化设置窗口。

以下窗口为可停靠窗口:

- 数据列表

- 版面导航器
- 数据导航器
- 门导航器
- 批操作
- 警告
- 自定义标记
- 封装注释

该章下面章节将解释如何操作可停靠窗口。

4.2.1 *打开可停靠窗口*

点击Ribbon 28 条上Batch Tab(批处理标签) 36、Data Tab(数据标签) 40或View Tab(视图标签) 44里相关命令来打开可停靠窗口。

打开可停靠窗口的命令列于下表。

可停靠窗口	命令
Data List(数据列表)	Data→Organize Date Sets→**Data List(数据→组织数据集→数据列表)** 或Batch→Organize Date Sets→**Data List(批处理→组织数据集→数据列表)**
Layout Navigator(版面导航器)	View→Navigators→**Layout Navigator(视图→导航器→版面导航器)**
Data Navigator(数据导航器)	View→Navigators→**Data Navigator(视图→导航器→数据导航器)**
Gate Navigator(门导航器)	View→Navigators→**Gate Navigator(视图→导航器→门导航器)**
Batch Actions(批操作)	Batch→**Batch Processing→Batch Actions(批处理→批处理→批操作)**
Alerts(警告)	View→**Tokens→Alerts(视图→标记→警告)**
Custom Tokens(自定义标记)	View→**Tokens→Custom Tokens(视图→标记→自定义标记)**
Canned Comments(封装注释)	View→**Tokens→Canned Comments(视图→标记→封装注释)**

窗口打开时，它们首先是未停靠的浮动窗口，处于屏幕中心(图4.13)。用户可让其作为一个浮动窗口，或将其停靠到用户喜欢的位置 65。

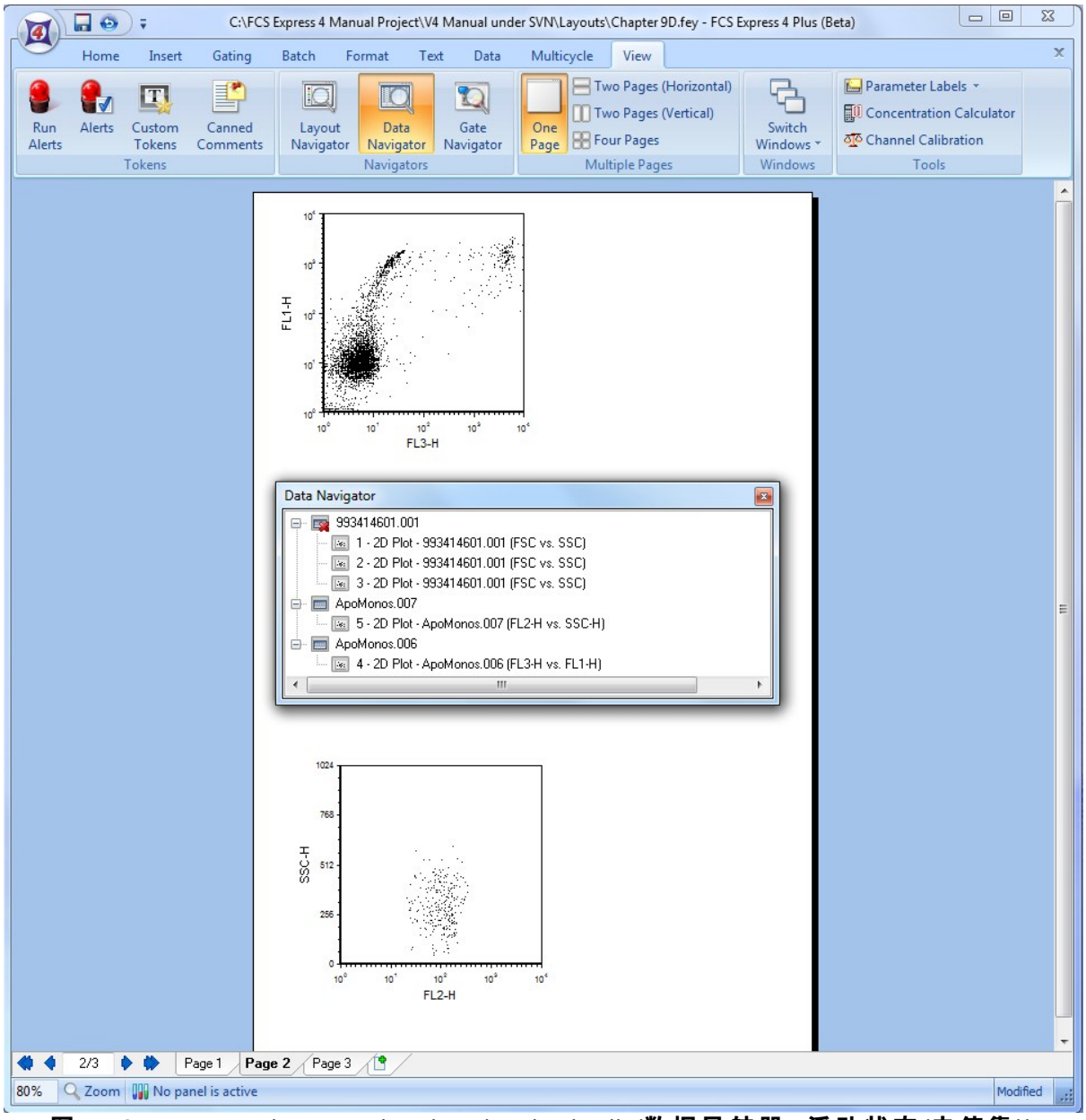


图 4.13 Data Navigator, Floating (Undocked) (**数据导航器，浮动状态(未停靠)**)

4.2.2 *窗口停靠*

要停靠浮动窗口:

- 将光标移到窗口标题栏上(图4.14)。

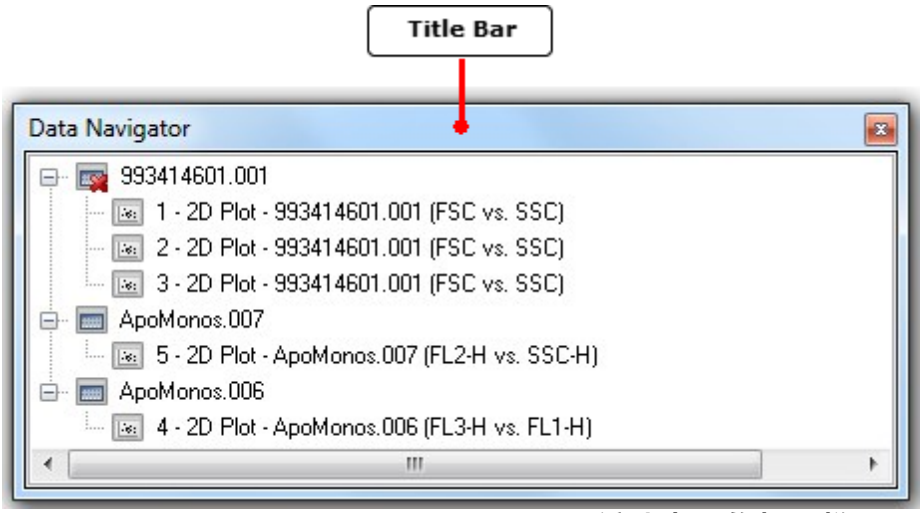


图 4.14 Title Bar of Floating Window (**浮动窗口的标题栏**)

- 在标题栏上按住鼠标并开始拖动窗口。*Docking Zone Selectors(停靠区选择钮)*(位于中间的方框和一组代表上、下、左、右停靠区的带有箭头的矩形)将出现在屏幕上(图4.15)。

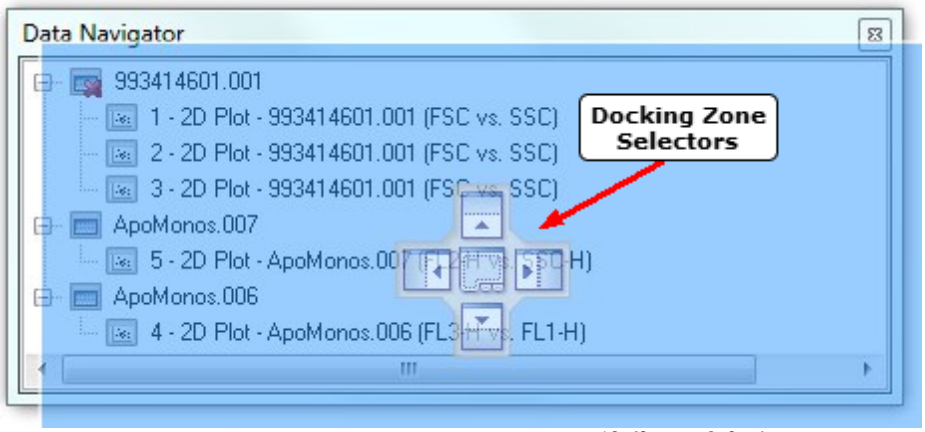


图 4.15 Docking Zone Selectors (**停靠区选择钮**)

- 按住鼠标不放，拖动光标到相应区域选择钮上。并非所有停靠区在所有时间都有效。当光标移到有效的停靠区选择钮上，蓝色的轮廓在该区出现(一个标签会确认该位置)。在例子(图4.16)中，光标被移到了右停靠区选择钮上。注意到占据整个屏幕右侧的"矩形"代表了窗口将被停靠的位置(为了更好地演示位于右下角的标签，它被从用户屏幕上的实际位置稍微移动了一些)。

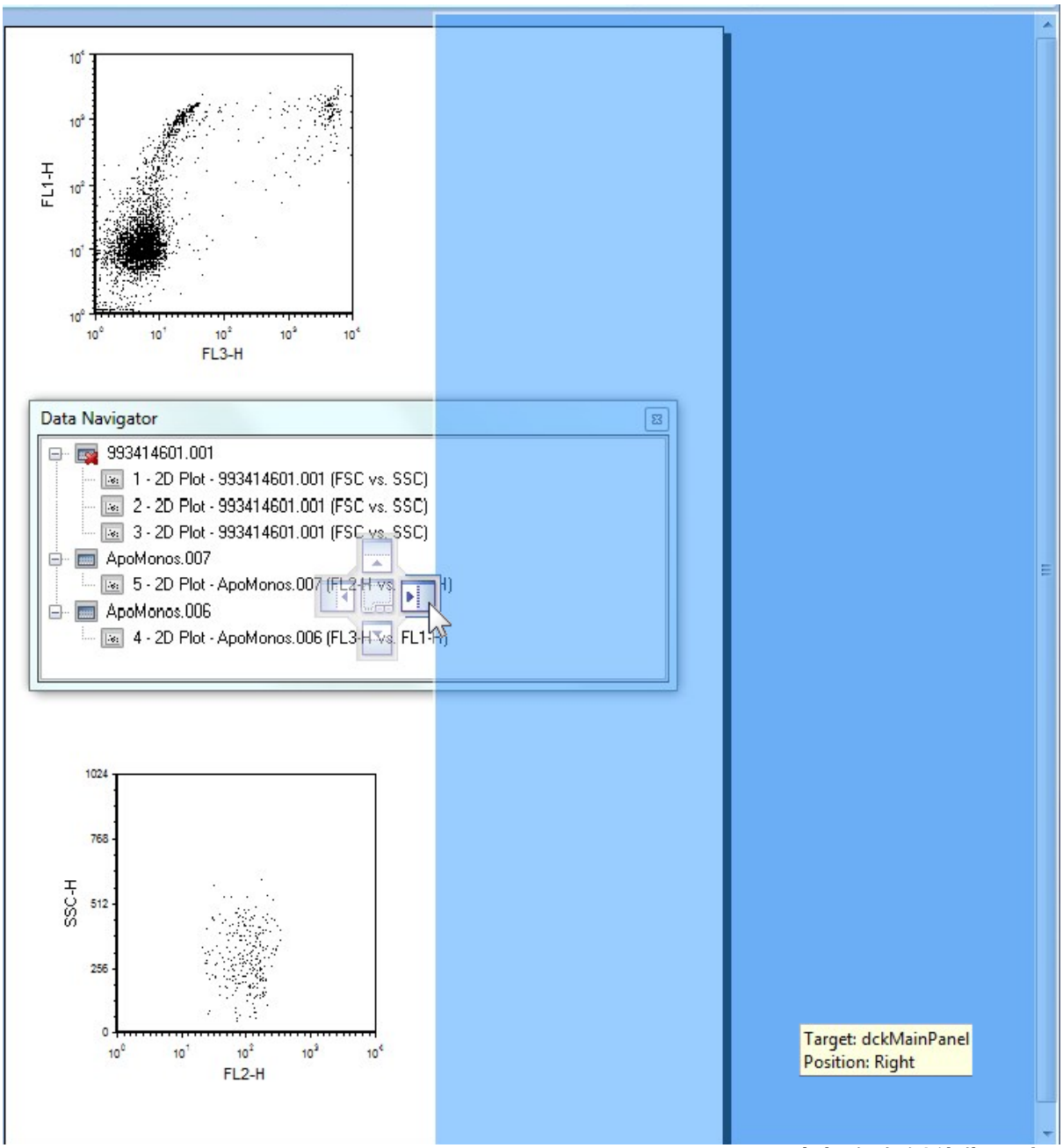


图 4.16 Cursor Positioned over Right Docking Zone Selector (**光标在右侧停靠区选择钮上**)

- 当光标位于停靠选择钮上时松开鼠标键，窗口就停靠到所选的位置上(图4.17)。

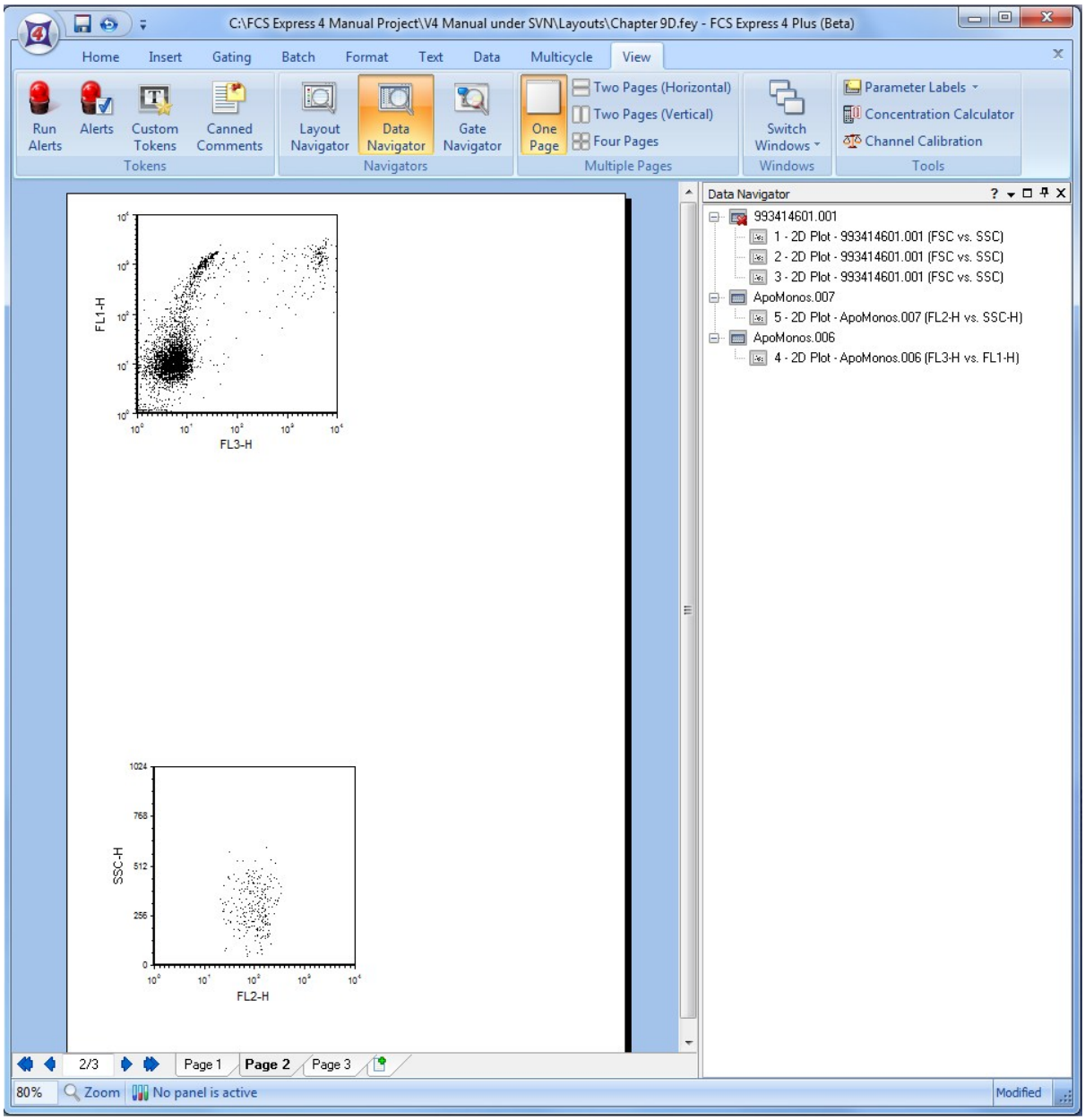


图4.17 Data Navigator Window Docked to the Right (**数据导航器窗口停靠在右侧**)

- 窗口被停靠后，用户若想停靠第二个窗口，停靠区域选择钮会出现在屏幕中央，并在第一个被停靠窗口的上方(图4.18)。该例子中，**Layout Navigator(版面导航器)** 被停靠在已经停靠的**Data Navigator(数据导航器)**里边。若用户将一个窗口停靠在另一个里，两个窗口会共享相同的位置，但由不同的标签页标明(图4.19)。若两个窗口停靠在相同位置但不在对方内部，它们会被水平或垂直的*分隔条*隔开(图4.20)。

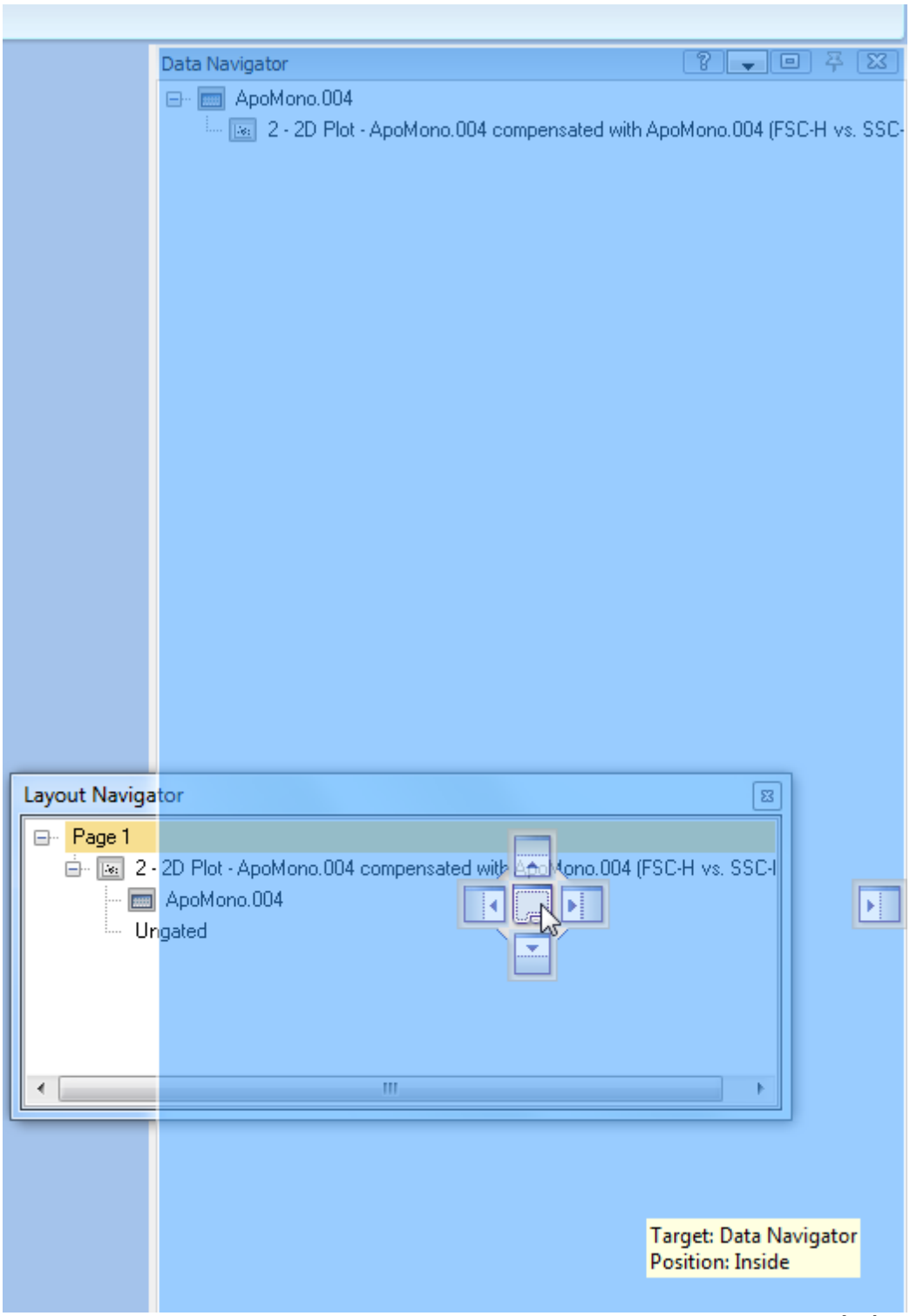


图 4.18 Docking the Layout Navigator inside the Data Navigator (**把版面导航器停靠在数据导航器内部**)

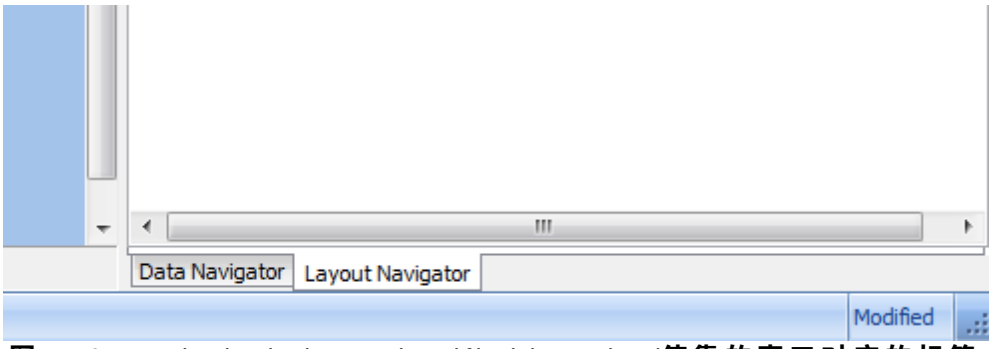


图4.19 Docked Windows Identified by Tabs (停靠的窗口对应的标签卡)

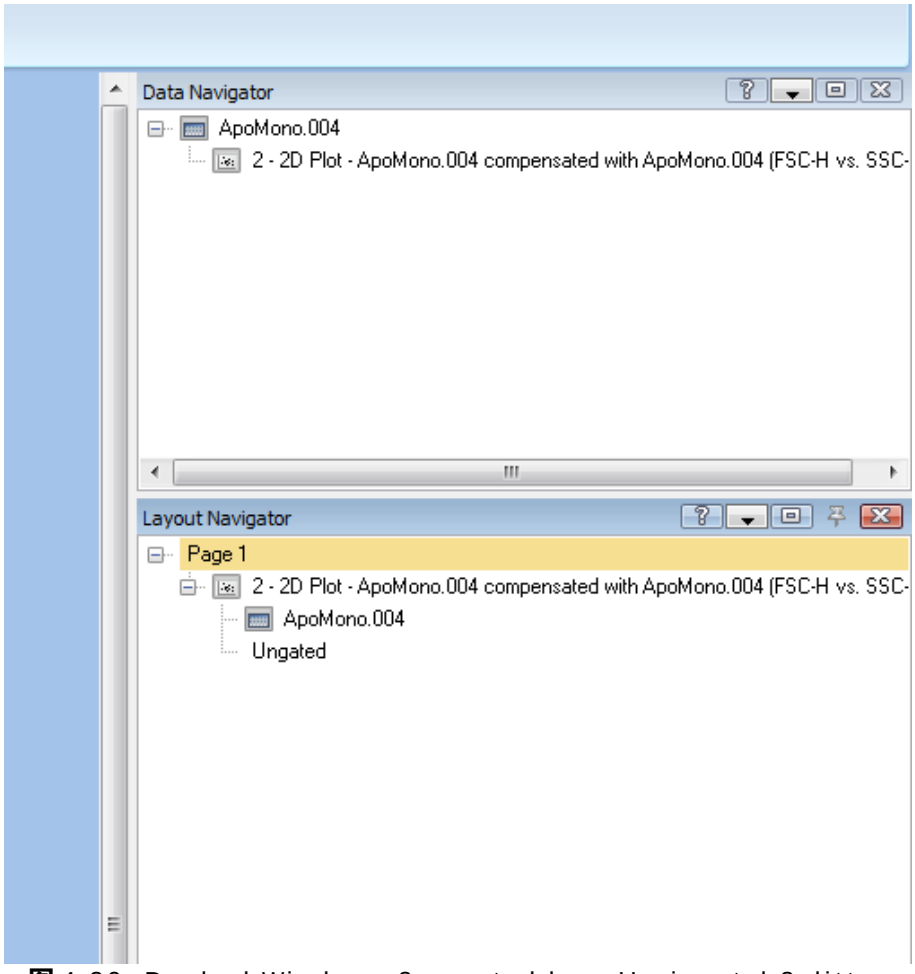


图4.20 Docked Windows Seperated by a Horizontal Splitter Bar (由水平分隔条隔开的停靠窗口)

注: 尽管停靠的窗口不是版面的一部分，它们的位置会和版面一起保存；当版面再次打开时，停靠窗口也会被调出。

4.2.3 *钉住已停靠的窗口*

停靠窗口在标题栏有多个图标。图钉图标(图4.21)代表*Auto Hide(自动隐藏)*功能。

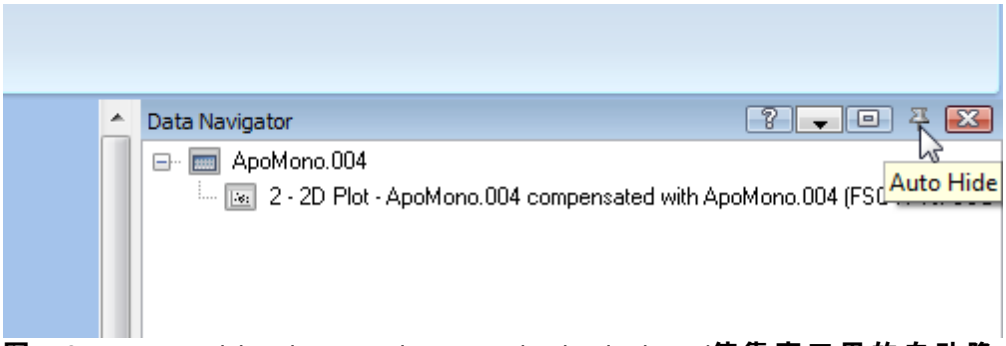


图4.21 Auto Hide Pin Icon in a Docked Window (**停靠窗口里的自动隐藏图钉图标**)

图钉指向下方代表停靠窗口处于标准设置(未被钉住)。当点击该图钉图标，*Auto Hide(自动隐藏)*属性会被激活。图钉转向左方，一个含有窗口名称的标签会出现在屏幕的边上(图4.22)。

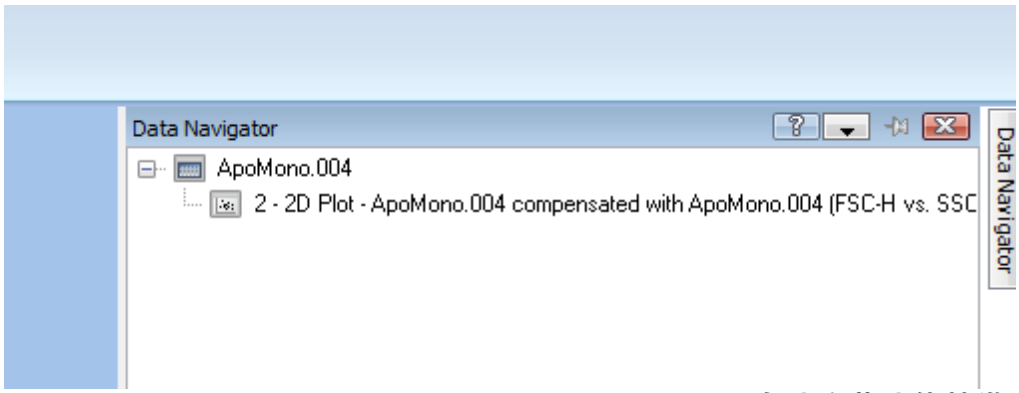


图4.22 Docked Window with Auto Hide Activated (**自动隐藏功能被激活的已停靠窗口**)

*Auto Hide(自动隐藏)*激活时，该窗口在光标移动到它上方时会打开。光标移开后(或点击屏幕上其它部分)，窗口会移向屏幕边缘，只有它的标签可见(图4.23)。窗口被钉住后，可点击X图标将其隐藏。要打开隐藏窗口，只需将光标移到标签上方。

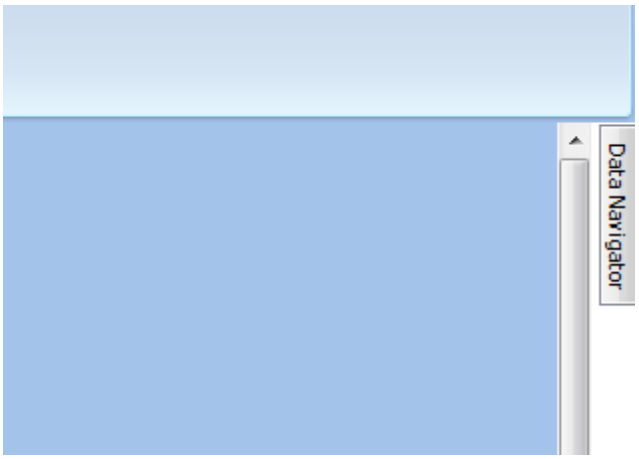


图4.23 Pinned Data Navigator Hidden from View (**从视图中隐藏的被钉住的数据导航窗口**)

注: 一个被钉住的窗口只有在解钉(亦即*Auto Hide(自动)* 隐藏被关闭)时才可被解锁[72]或关闭[72]。要为窗口解钉，先使窗口可见，然后点击图钉图标。

4.2.4 *解除窗口停靠*

注: 一个被图钉钉住的窗口只有在解钉[71]后方可取消停靠。

要取消解钉窗口的停靠:

- 将光标移到窗口的标题栏[65]上。
- 在标题栏上按下鼠标左键不放，将窗口从其停靠的位置移开。

4.2.5 *关闭可停靠窗口*

注: 钉住的窗口可在屏幕边缘显示，但只有解钉后方可关闭[71]。

要关闭已解钉的可停靠窗口，点击标题栏右侧的X图标。

4.3 导航器

FCS Express中的导航器是可被拖动和放置的可停靠窗口[63]，用来操作版面里的各种对象[72]、链接对象的数据源[74]和绘图上的门[75]。

4.3.1 *版面导航器*

Layout Navigator(版面导航器)以页、绘图和数据源的方式显示版面中所有对象的层次结构(图4.24)。

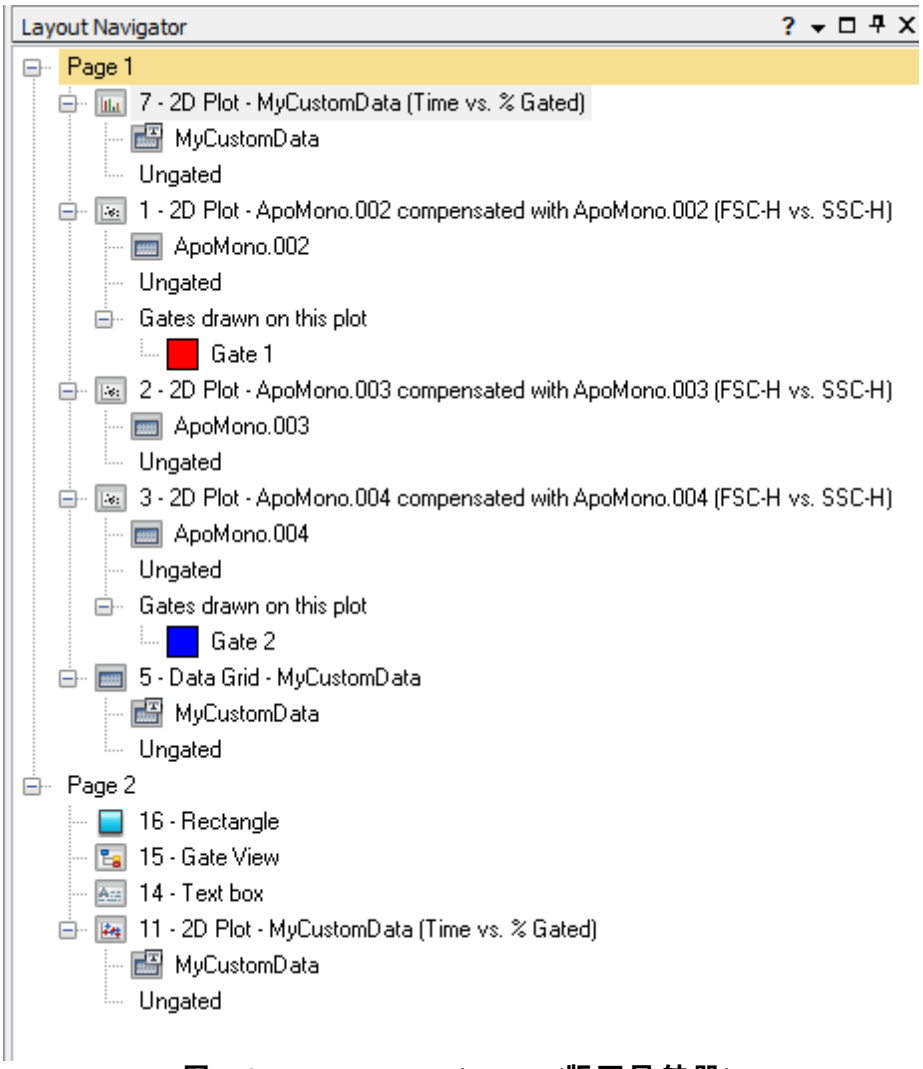


图 4.24 Layout Navigator (**版面导航器**)

Layout Navigator(版面导航器)结构的第一层是页码。第二层是页面上的对象，例如绘图、门视图、文本框和数据网格等。若对象(例如绘图或数据网格)包含数据，数据集会被显示，同时也显示该数据是否带有门。

在版面上选择一对象，**Data Navigator(数据导航器)**上相应的结点会被高亮显示。将光标放在停靠的**Data Navigator(数据导航器)**的一个对象上，该对象的一个缩略图会显示出来。当版面有多张页面时，点击**Data Navigator(数据导航器)**上的一个结点会显示该对象对应的版面页。

点击一个结点。按住鼠标键不放，拖动结点到页面某一位置放开鼠标。该拖放的结果如下表所述。

拖放操作	功能
拖动对象结点到版面空白处	将对象移到该位置。

拖动对象结点到版面中的一个对象上	将数据加入到该对象里。会有选项提示用户选择特殊粘贴格式。
拖动数据集结点到绘图上	将数据加入该绘图。用户会被提示是否替代已有数据还是作为新的叠加图层加入。
拖动数据集结点到版面空白处	调出选择绘图类型...40对话框，用绘图来打开该数据集。
拖动门到绘图上	将该门应用于该绘图上。
拖动绘图到文本框	提示用户在文本框中为该绘图创建关键词或统计标记。

4.3.2 *数据导航器*

Data Navigator(数据导航器)显示版面中数据集以及和这些数据集关联的绘图和数据网格的层次结构(图4.25)。

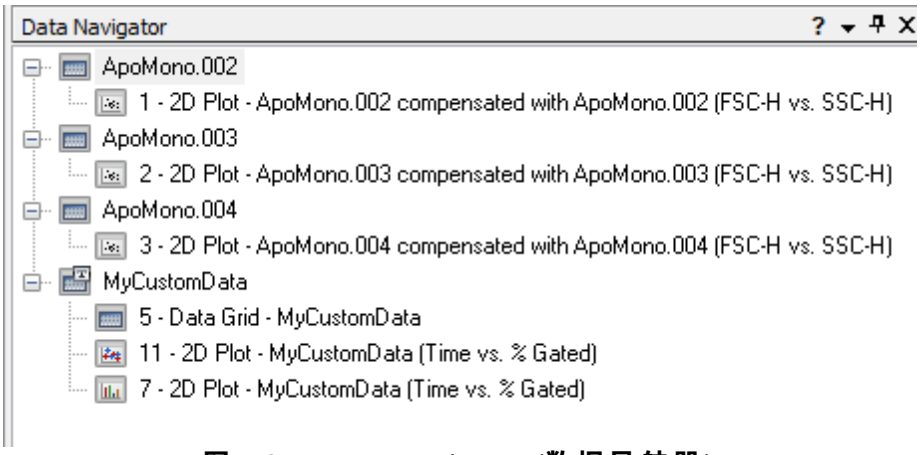


图4.25 Data Navigator(**数据导航器**)

Data Navigator(数据导航器)的第一层代表数据集结点。第二层是和数据集关联的绘图和数据网格。将光标移到**Data Navigator(数据导航器)**上的一个绘图或数据网格上将显示对象的缩略图。

点击某一结点。按住鼠标键不放，拖动该结点到页面某一位置后放开鼠标。该拖放的结果如下表所述。

拖放操作	功能
拖放数据结点到绘图上	将数据加入该绘图。用户会被提示是否替代已有数据还是作为新的叠加图层加入。
拖放数据集结点到版面空白处	调出选择绘图类型...40对话框，用绘图来打开该数据集。
拖放对象结点到版面空白处	将该对象移至此处。
拖放对象结点到版面已有对象上	将数据加入到该对象里。会有选项提示用户选择特殊粘贴格式。
在导航器内，将一个绘图拖至另一绘图上	调出**Paste Special(特殊粘贴)**对话框来插入数据或叠加图层。

4.3.3 门导航器

Gate Navigator(门导航器)以层次结构的方式显示页面中定义的门以及应用这些门的绘图(图4.26)。

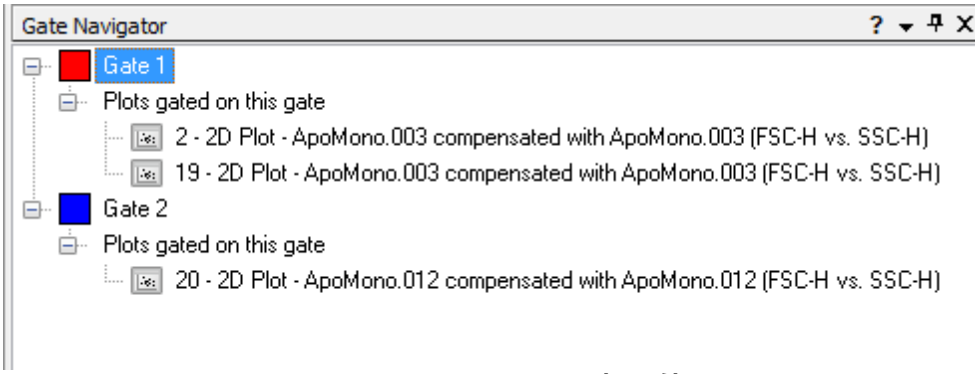


图 4.26 Gate Navigator (**门导航器**)

Gate Navigator(门导航器)的第一层代表页面中用户定义的门。第二层是使用这些门的绘图。将鼠标移到**Gate Navigator(门导航器)**的绘图上将显示该绘图的缩略图。

点击一个结点。按住鼠标键不放，拖动结点到页面某一位置放开鼠标。该拖放的结果如下表所述。

拖放操作	功能
将门结点拖到绘图上	将该门应用于绘图上
将绘图结点拖放到页面空白处	将绘图移到该新位置。
将绘图结点拖到版面中已有的绘图上	将数据加入到该对象里。会有选项提示用户选择特殊粘贴格式。

注: Gate Navigator(门导航器)是门视图189的一辅助工具。门视图除允许类似的拖放到绘图或从绘图拖放的功能外，也允许其它门操作。

4.4 版面页功能

在FCS Express中，对象的操作方式几乎和微软PowerPoint®中对象的操作方式一样。除单独对象可被拉伸、缩放和格式化外，任何对象还可和其它对象对齐。也可同时选择多个对象，来对它们进行同一操作。插入FCS Express页面中的所有对象都有一个和其相关的格式化菜单。要调出对象的格式化菜单，请移动鼠标到该对象上右键点击。格式化菜单出现后，便可选择想要的功能。

4.4.1 在页面上插入对象

可用插入标签35在当前页面插入对象。可插入的对象包含在四个命令组中:

- **General(常规)**

如**Shapes(形状)**(包括Line, Arrow, Ellipse, **Rectangle(线、箭头、椭圆、矩形)**)、**Text Box(文本框)、Gate View(门视图)、Picture(图片)**和**Data Grid(数据网格)**

- **1D Plots(一维绘图)**

  包括**Histogram(柱状图)、Kinetics(动力学绘图)、Multicycle DNA(多周期DNA图)、Proliferation(细胞分裂图)**和**Bar(条形图)**

- **2D Plots(二维绘图)**

  包括Dot**(点状图)**、Density**(密度图)**、Color Dot**(彩色点状图)**、Contour**(轮廓图)**、Surface**(表面图)、Picture Plot(图像绘图)**和**Scatter(散点图)**

- **Other Plots(其它绘图)**

  Heat Map(热图)

若在页面上插入具有默认大小的对象:

1. 点击命令组中的命令。
2. 将光标放置在页面上用户希望对象左上角出现的位置。
3. 单击页面，FCS Express会将该对象放置于此。

若在页面上插入自定义大小的对象:

1. 点击命令组中的命令。
2. 按下鼠标，在页面上拖出一个缩放矩形。
3. 松开鼠标。对象会插入该缩放矩形中。

4.4.2 *在页面上选择对象*

要在FCS Express中有效地使用对象或内容，用户必须理解 *编辑*模式和 *选中*模式的区别。

要操作一个对象，该对象必须先被选中。一个包围该对象的红色边框表示该对象被选中。只有选中的对象方可被移动、缩放或删除等等。

要编辑对象中的内容，该对象必须首先被选中。比如，要编辑一个门，含有该门的绘图必须处于编辑模式。当内容处于编辑模式，对象将带有绿色边框。

图4.27分别给出了处于选中模式和处于编辑模式的内容。



图4.27 Selected and Edit Modes (**选中和编辑模式**)

可同时选中多个内容，但只能有一个内容在一个时间处于编辑模式。

要使对象进入编辑模式，可在该对象内点击任何地方。绿色的边框会包围该对象，表明它处在编辑模式。若对象在编辑模式下，但不含有任何可被选中的内容，那么该对象会和它处于选中状态时看起来一样。想了解更多如何在绘图中编辑它包含的内容，请参考以下部分:在绘图中加入文本框 98、使用门 180和使用标识 194。

要使内容进入选中模式，请将光标移到该内容的边框上。光标会变成四头光标 。点一下边框，会有红色的边框显示该内容被选中。或者，要将内容引入选中模式，按下Shift 键，同时在该内容上点击任何地方。

可用两种方法来同时选中多个内容。第一种方法是使用点击和拖拽功能(图4.28)。若待选内容互相靠近，拖出一个包含所有内容的矩形将它们全部选中。在用户希望画矩形的位置的左上角点击鼠标不放，然后向下和向右拖拽光标。松开鼠标的点将定义矩形的右下角。所有在该矩形中的项目都将被选中(这样可一起操作它们)。

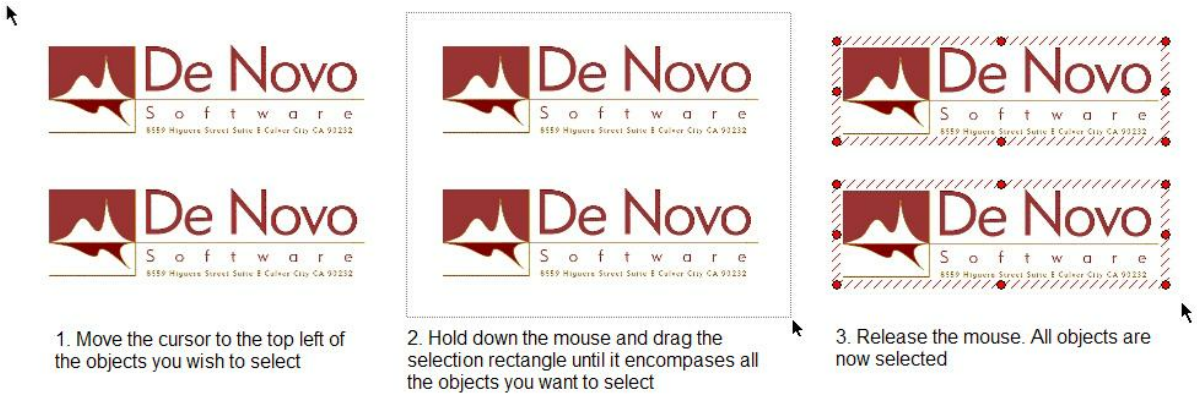


图4.28 Selecting Multiple Objects with Click and Drag (**用点击和拖拽的方式选中多个对象**)

第二种选择特定内容的方法在这些内容不在一起时非常有用。第一项内容被选中后，把鼠标放在下一个用户想选择的内容上。按下Shift键的同时点击鼠标。第二项内容现在应该有红色边框。继续该Shift - 点击过程来选中任何内容。所有文件均被选中后，它们可被如以下章节所描述的那样复制、剪切、缩放、移动和对齐。

若在当前页选择所有对象，请用Home→**Editing→Select All(主页→编辑→全选)**。或按**Ctrl+ A。**

在所选对象外围点击将把它们变成中立状态(无红色或绿色边界)。

4.4.3 在页面上组合对象

页面上的单独对象可被组合起来。组合之后，如果组合中的一个对象被选中，组合中所有对象都会被选中。

该操作在某些情况下很有用，比如，若几个对象的位置相对固定，用户想确保不会只移动其中的一个。而当对象被组合后，选中一个对象便会选中所有对象，移动操作将会应用于所有对象。

要创建一个组，像在选择页面上的对象 76一节解释的那样选中所有对象，然后执行如下操作之一:

- 从Home→**Editing→Arrange(主页→编辑→安排)**命令组中选择**Group(组合)** 命令。
- 当光标在某一被选的对象之上时，右键点击，在弹出菜单中选择**Grouping→Group(组合→组合)**。

要取消组合，请使用以下方式之一:

- 从Home→**Editing→Arrange(主页→编辑→安排)**命令组中选择**Ungroup(取消组合)** 命令。
- 当光标在某一被选的对象之上时，右键点击，从弹出菜单中选择**Grouping→Ungroup(组合→取消组合)**。

4.4.4 在页面上剪切、复制、删除、副本复制和粘贴对象

通过如在页面上选择对象 76一节描述的那样选择一个或多个对象，然后使用Home**→Clipboard(主页→剪切板)**命令来执行标准的字处理功能(比如，**Cut(剪切)**和**Copy(复制)**)。用这些命令复制到剪切板上的对象可用Home**→Clipboard→Paste(主页→剪贴板→粘贴)**命令被粘贴到不同页面甚至不同版面上。

要删除对象，选择该对象，然后执行Home**→Editing→Delete(主页→编辑→删除)**命令(或按键盘上的**Delete(删除)** 键)。

Home**→Clipboard→Duplicate(主页→剪切板→副本)**命令为所选对象做一副本。复制和粘贴功能会同时执行。点击和**Duplicate(副本)**关联的**down arrow(向下的箭头)**，该命令会扩展为五个选项: **Duplicate(副本)**, **Duplicate and Next(副本及下一项)**, Duplicate and Prev(ious)**(副本及前一项)**, **Multiple Duplicate and Next(多重副本和下一项)**，和 Multiple Duplicate and Prev(ious)**(多重副本和前一项)。**

和这些命令相关的下一项和前一项功能会为所选的对象和进行的修改做副本，然后将它们写入到数据列表上的下一项和前一项中。多重副本命令可多次复制所选对象。复制对象的位置可在用户偏好 111中设置。

注: FCS Express 4中，对象和文本可用复制和粘贴功能简单地复制到其它程序中，复制过程不会丢失格式信息。

4.4.5 移动对象

要移动一个对象，或一组对象，它们必须处在选中模式(如选择页面上的对象 76一节中所述的那样)。

要移动选中对象，将光标放在选中对象的"移动区域"(亦即，对象的红色边框内)上。注: 对于一些对象(例如图片)而言，"移动区域"是整个对象。一旦光标处在该区域上，它会变成四头箭头 。当四头箭头出现时，按下鼠标，把所选对象移动到指定的位置。放号对象后，松开鼠标。

也可用键盘移动所选对象。当对象被选中后，可按方向键来把对象上下左右移动。移动时按下Shift键可以更慢的速度移动对象。

4.4.6 改变对象大小

要缩放对象，将光标移至待缩放的矩形(对象边缘的黑色边框)上直到光标变成双向箭头。双向箭头出现后，按下鼠标，通过移动光标来缩放对象。在缩放时若按下Shift键，对象的宽高比将保持不变。

4.4.7 对象对齐

很容易对对象进行边对齐、顶端对齐、底端对齐、高度和宽度对齐。

要对齐多个对象，首先选择要对齐的对象，然后选择Home→**Editing→Arrange→Align(主页→编辑→安排→对齐)**命令。该命令会调出**Alignment(对齐)**对话框(图4.29)。

注: **Alignment(对齐)**对话框的平均分布选项保证在所有对象间横向和纵向有相同的间距。

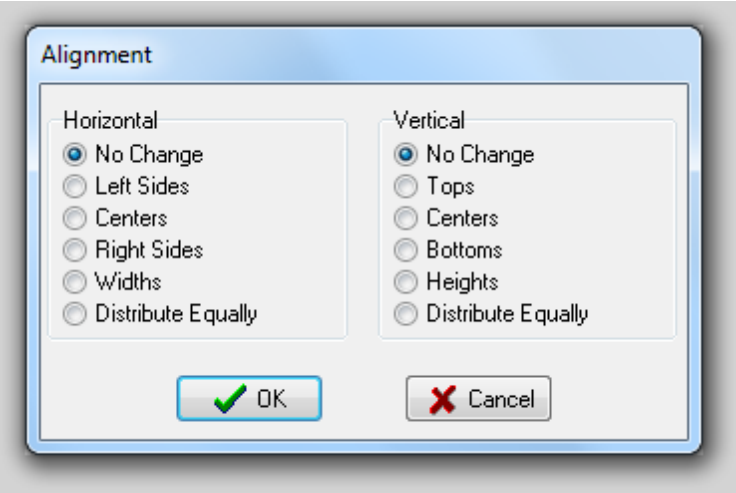


图4.29 Alignment Dialog (**对齐对话框**)

所选对象总与第一个选中的对象对齐。比如，如果选择几个对象，使用Home→**Editing→Arrange→Align(主页→编辑→安排→对齐)**命令，然后选择**Tops(顶端对**

齐)，那么所有对象的顶端会放置于和第一个对象的顶端对齐的位置上。一个纵向中心对齐的例子见图4.30。

另外，要使所有对象大小相同:

1. 选择其它对象要被缩放成与其大小相同的那个对象。
2. 按下Ctrl键，点击所有要被调整大小的对象。
3. 使用Home→Editing→Arrange→Align**(主页→编辑→安排→对齐)**命令，同时选择**Widths(宽度)**和**Heights(高度)**。所有对象将被调整为第一个所选对象的大小。



图4.30 Horizontal Center Alignment (**水平向中心对齐**)

4.4.8 *对象叠放次序*

用户可控制对象的优先显示次序。该操作当对象在页面上有交叠时非常有用，用户可决定把哪个对象放在上方。要改变对象的显示顺序，选择Home→**Editing→Arrange(主页→编辑→安排)**，然后从命令列表的**Order Objects(对象叠放次序)**选单上选择相应命令(或用右键选中对象而后从弹出菜单上选择**Order(叠放次序)**)。

这些命令的功能如下:

- **Bring to Front(移到最前)**

  将所选对象移到所有交叠对象的最前方。

- **Send to Back(放到最后)**

  将所选对象放在所有交叠对象的最后面。

- **Bring Forward(前置一层)**

  将所选对象从交叠对象堆中前置一层。

- **Send Backwards(后置一层)**

  将所选对象从交叠对象堆中后置一层。

在图4.31 中，用户调整了红色的圆形和绿色的矩形的显示顺序。

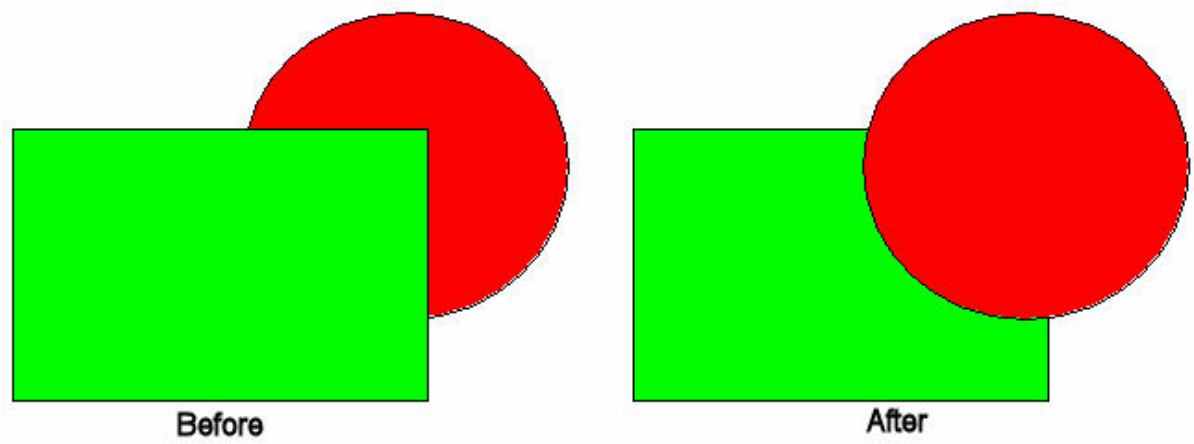


图 4.31 Ordering Objects (**排列对象叠放次序**)

4.4.9 *撤销修改*

FCS Express允许无限次地撤销操作。

要撤销对页面做的任何操作，从快捷工具条[32]中点击 (Undo(撤销))按钮。和撤销图标相关的弯曲的键头代表着是撤销还是保留。

可用键盘快捷键Ctrl+Z撤销最近一次的操作。

4.4.10 *使用预定义的容器来进行页面版式设置*

在和Home→**Pages→Layout(主页→页面→版面)**命令(或Home→**Pages→New Page(主页→页面→新建页面)**命令)相关的列表里，用户可为当前页面选择和应用预先定义好的版面(图4.32)。

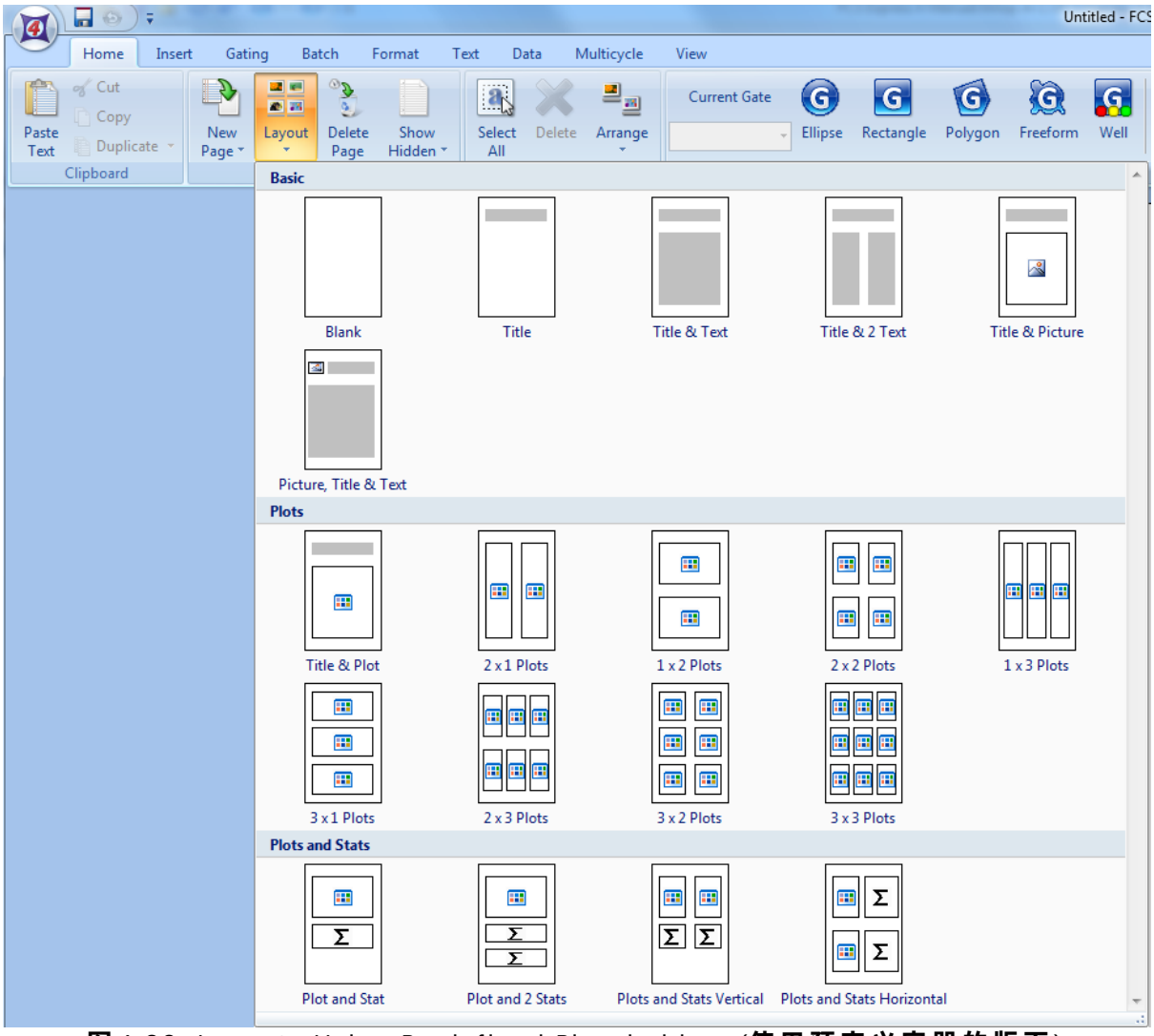


图 4.32 Layouts Using Predefined Placeholders (**使用预定义容器的版面**)

要最有效地使用该工具，可先在预先定义好的含有对象的版面里寻找用户想要创建的版面格式。选择其中一个版面格式后，当前版面会出现很多对象容器。这时用户只需用鼠标简单点击即可轻松地在对象容器中插入绘图、文本框和图片。操作对象容器和操作任何其它容器方法是一样的。对象容器可被移动、缩放、复制到剪切板或进行对齐。一个plot placeholder **(绘图容器)**的例子如图4.33所示。



图4.33 An Example Plot Placeholder (**绘图容器实例**)

4.5 使用母版页

母版页总是存在于版面中，因此并不需要被创建。任何插入到母版页中的内容将作为所有页面的默认背景出现。例如，插入到母版页中的包含当前日期、时间和页码的文本框会自动出现在版面中的所有页面上。但是，您也可以格式化单独页面 56，不把母版页作为该页面的背景出现。

要查看母版页，请选择Home→**Pages→Show Hidden Show→Master Page(主页→页面→显示隐藏的页面显示→母版页)**命令。

出现在所有页面中的默认背景，都可以在母版页上进行编辑，如改变背景颜色和设计 83一节中所述。

4.5.1 *改变背景颜色和设计*

要更改母版页的背景，如使用母版页 83一节中介绍的那样打开母版页，右键单击任意位置，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。当**Formatting Master Page(格式化母版页)**出现后，从左边的列表框中选择**Background(背景)**(图4.34)。

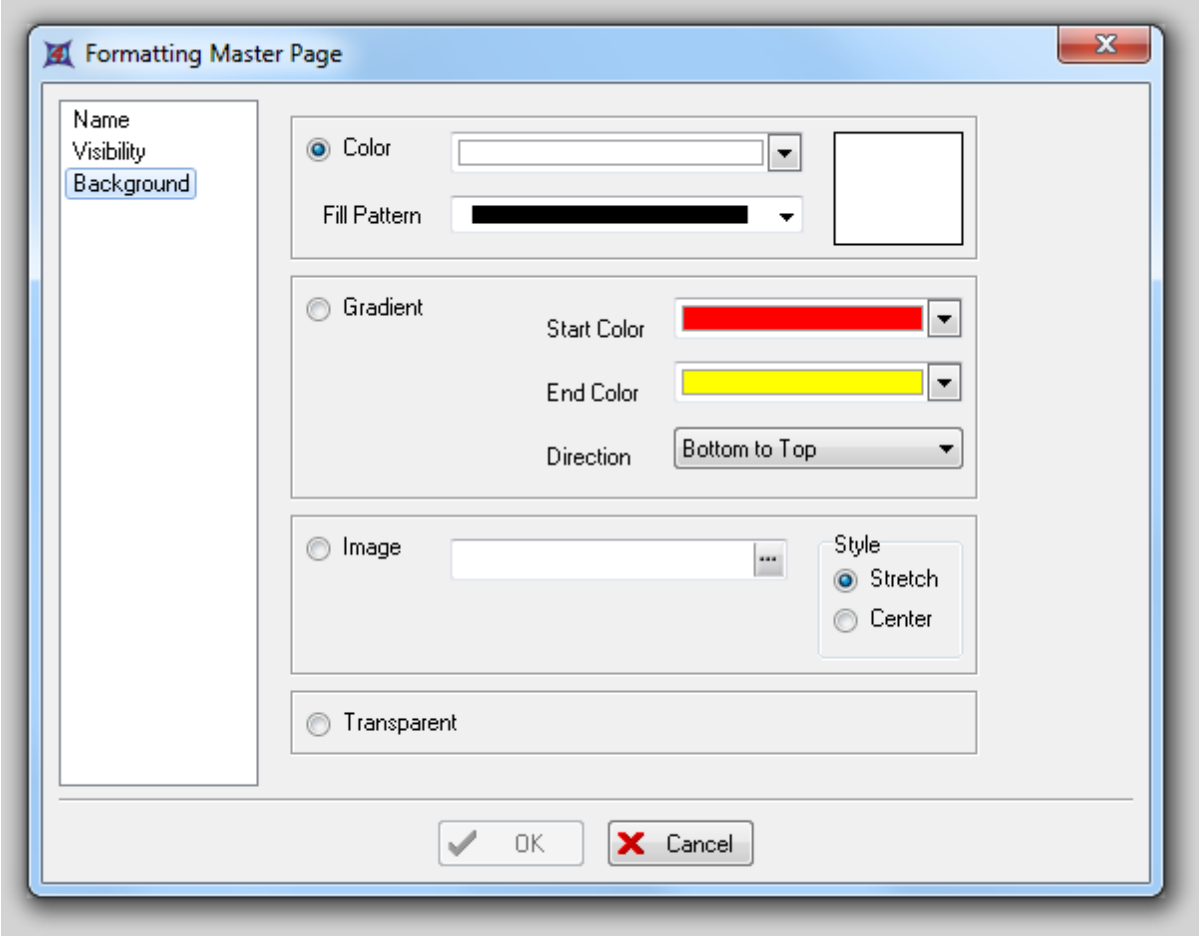


图 4.34 Formatting Master Page Background Screen (**格式化母版背景截屏**)

Master Page(母版页)背景的默认设置为纯白色。用户也可以选择另一种纯色、渐变色或图片作为背景。如果您选择一个图片，用户将能够将其拖拽到整个页面或将其放在页面中心。

除非在**Format Master Page(格式化母版页)**对话框上选择了**Transparent(透明)**单选按钮，否则在页面周围的边界处将始终显示细黑的阴影。如果用户只是想分析一些数据而不关心页面的具体布局，可选用透明页面。

第5章

5 使用图片

除了绘图和文本框外，FCS Express允许用户在版面中插入图片。

5.1 插入图片

要在版面中插入图片，请使用**Insert(插入)→General(常规)→Picture(图片)**命令。在版面中您想放置图片的地方单击，**Insert Picture(插入图片)**对话框(图5.1)便会出现，让您选择要插入的图片。一旦图片被选中，点击位于**Insert(插入)**按钮(文件名的右侧)的箭头，选择**Insert(插入)**或**Link to File(链接到文件)**。在这两种情况下，图像将被放置在当前页面。

如果您选择**Insert(插入)**，图片将被保存为版面文件的一部分。如果您选择**Link to File(链接到文件)**，图片不会被保存为版面的一部分，相应版面文件也会比较小。但是，如果版面文件被移动到另一台计算机中，或图片被移动到另一个位置上，版面打开时，将看不到链接的图片。

FCS Express支持下面的图片类型:Windows位图(*. BMP)、JPEG文件(*. JPG)、Windows图元文件(*. wmf)、Windows扩展图元文件(*. emf)、可移植网络图形(*. png)、GIF(*. gif)和TIFF(*. tif)。

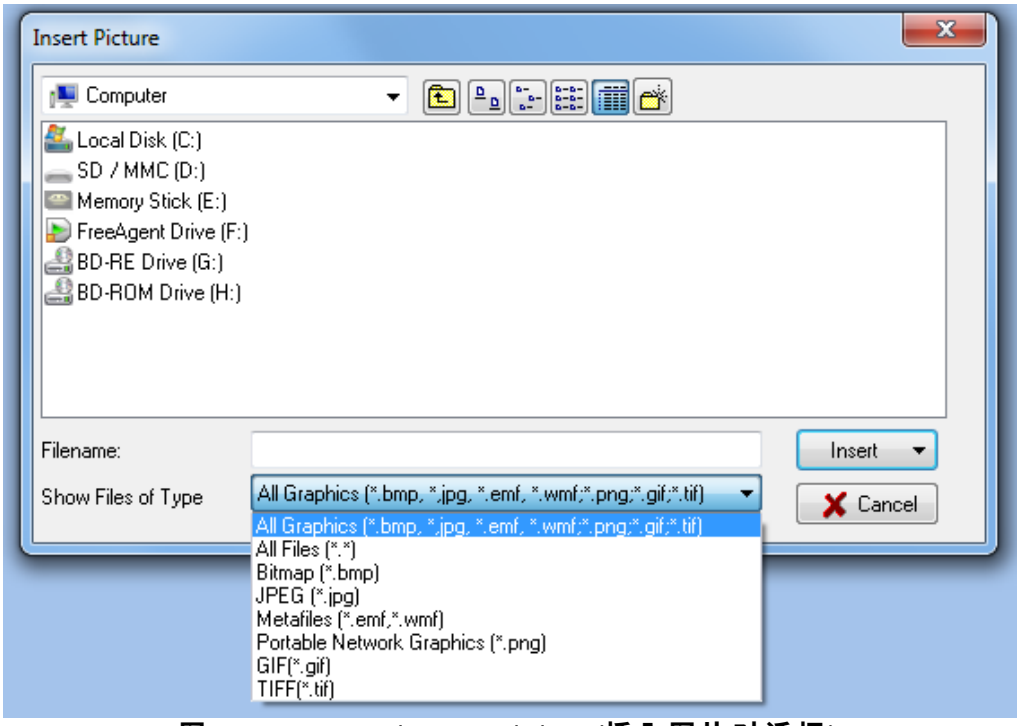


图 5.1 Insert Picture Dialog (**插入图片对话框**)

5.2 格式化插入的图片

要对图片进行格式化，请先选中图片，然后选择相应的命令**Format(格式)→Object Options(对象选项)**。或者，右键点击图片并从弹出式菜单中选择**Format(格式)**。

Formatting Picture(格式化图片)对话框将允许用户编辑图片的边界和大小142。

第 6 章

6 使用文本框

文本框用来在版面任何地方插入文本。文本框可用来显示文本、统计、图表、页码以及整幅图。文本框支持现代桌面出版软件中的所有格式选项，包括项目符号、数字编号和段落对齐等等。

6.1 在页面上插入文本框

要在页面中插入文本框，使用Insert→**General→Text Box(插入→常规→文本框)** 命令。文本框被插入页面时将处于编辑模式。

6.2 在文本框中输入和格式化文本

要在文本框中输入文本，在其内部任何地方单击，以使其进入编辑模式76。

对文本框的操作可像在常用的字处理软件中操作一样。用户可以:

- 在文本框中剪切/ 复制/ 粘贴文本。
- 格式化文本(字体、对齐等等)。
- 插入项目符号和编号。
- 从字处理软件中粘贴文本。
- 从文本框中复制文本，将其粘贴到字处理软件中。

最常用的格式化选项列于文本标签39中。更详细的文本格式化可用**Text(文本)→Font(字体)**和**Text(文本)→Paragraph(段落)**中的命令。

若文本框在编辑模式，改变字体将改变当前选择的文本。若文本框处于选中模式，改变文本属性将改变文本框中所有文本。当输入的文本达到文本框窗口的底部时，文本框会自动变大。

Font(字体)和**Paragraph(段落)**命令组在右下角有一个对话框启动钮，标志为  。

该**Font(字体)**对话框(图6.1)允许修改所有字体属性。用版面标签中的选项，用户可修改字间距和上标、下标的偏移量。

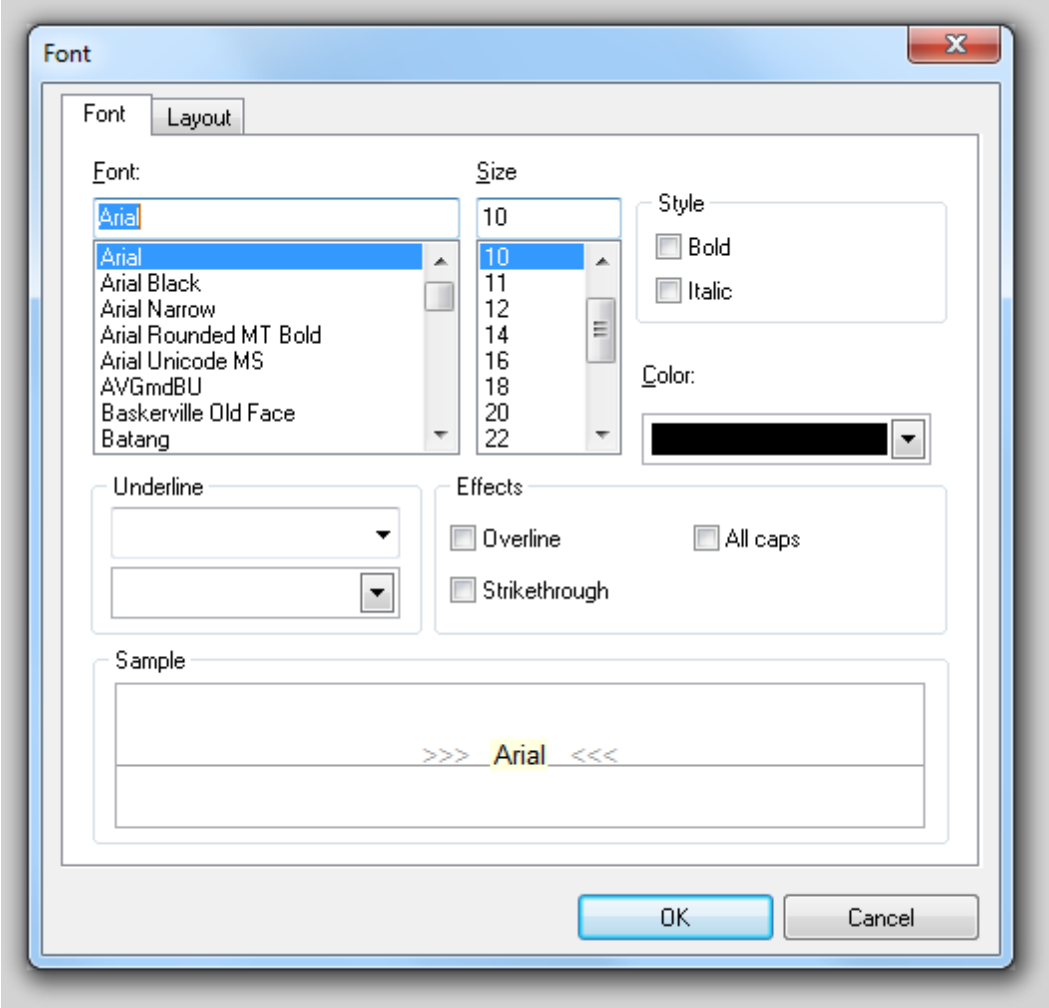


图 6.1 Font Dialog (**字体对话框**)

要设置段落格式的细节属性，可用**Paragraph(段落)**对话框启动钮。**Paragraph(段落)**对话框(图6.2)允许用户修改段落缩进和间距，包括文本对齐、行间距和首行嵌入等。

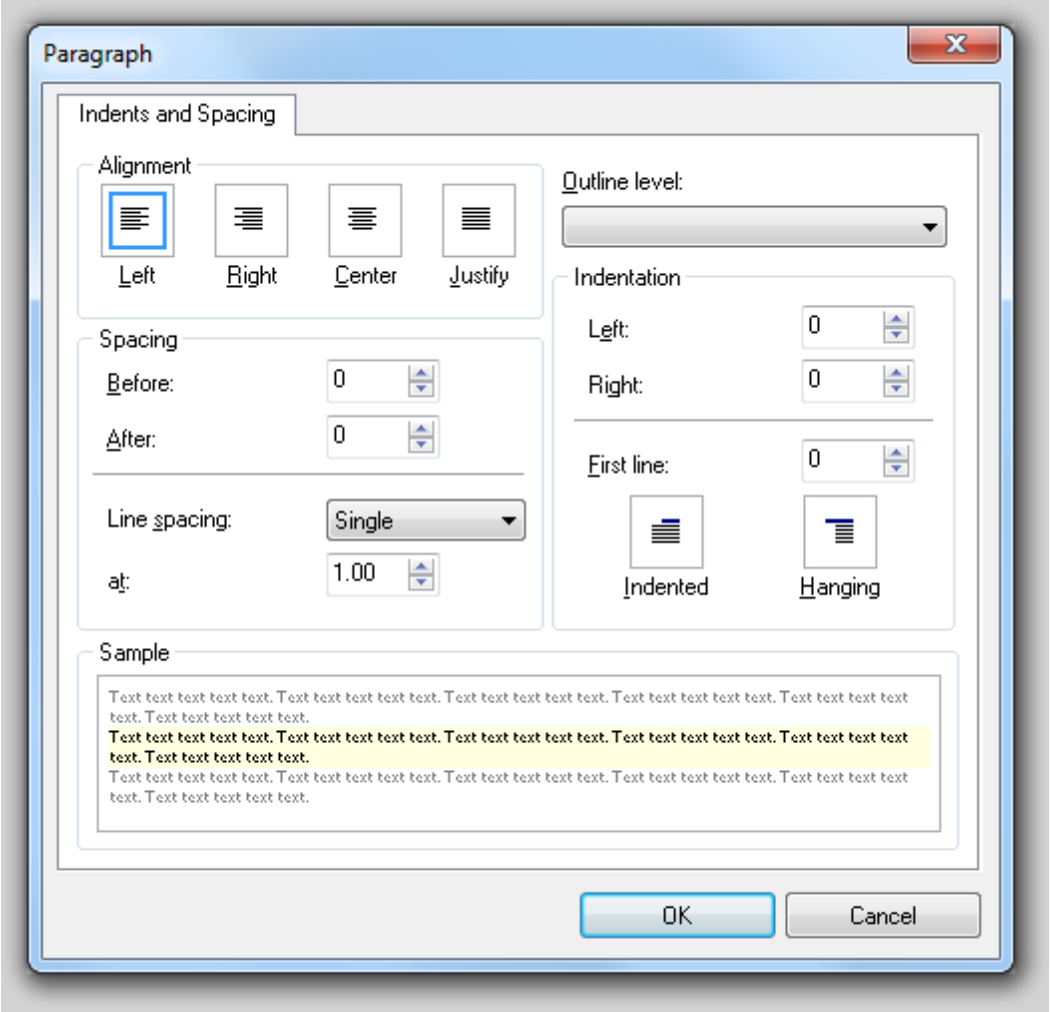


图 6.2 Paragraph Dialog (**段落对话框**)

要设置项目符号和编号格式的细节属性，当选中文本框时，点击Bullets and Numbering **(项目符号和编号)**按钮。**Bullets and Numbering(项目符号和编号)**对话框用户允许设置符号和编号外观。它也含有创建新类型项目符号的选项(图6.3)。

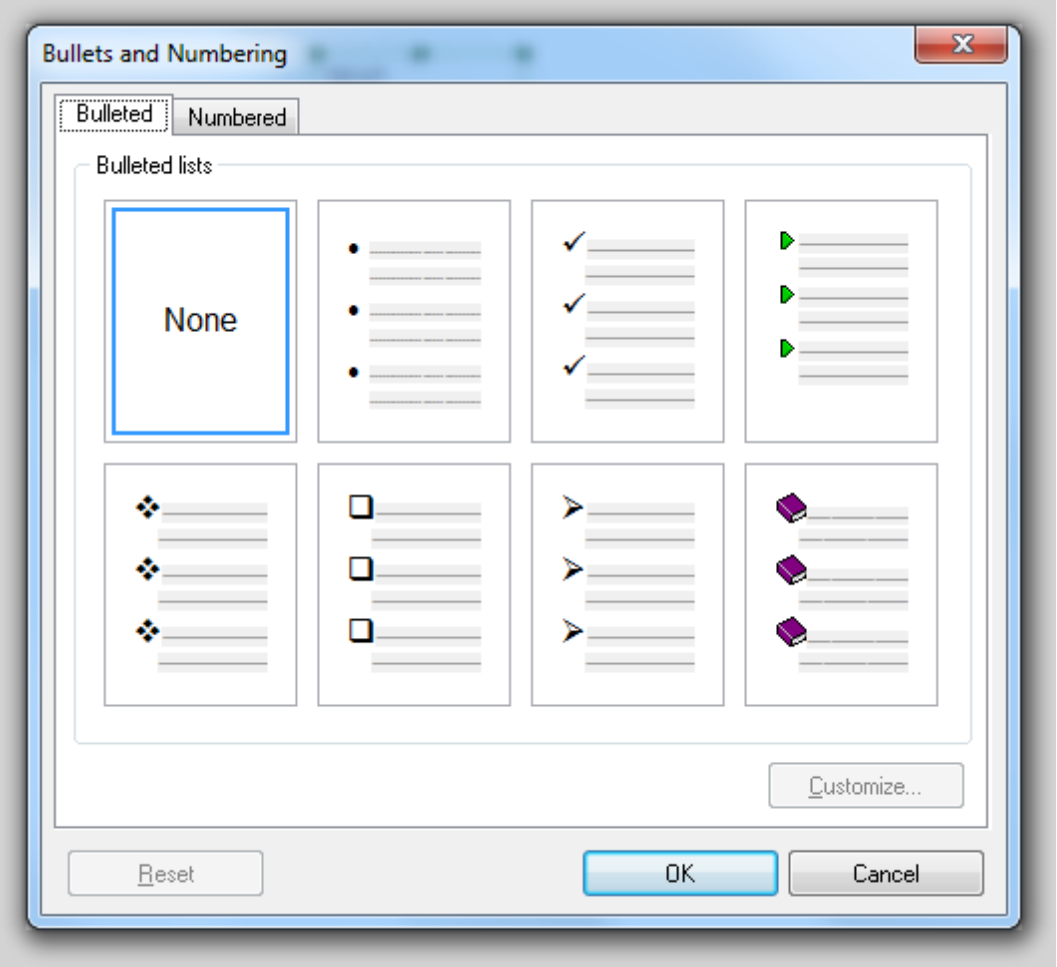


图 6.3 Bullets and Numbering Dialog (**项目符号和编号对话框**)

6.2.1 *插入表格*

可以用以下方式将表格插入文本框中:

- 如果文本框处于编辑模式，选择**Text(文本)→Insert Text(插入文本)→**Insert **Table(插入表格)**命令。
- 或右键点击文本框，在弹出菜单中选择**Table(表格)→Insert Table(插入表格)**。

这些命令会调出**Insert Table(插入图表)**对话框(图6.4)，在此可选择行和列的数目及表格大小。我们建议用自动调整尺寸功能以获得最佳效果。要保存这些设置以备将来创建表格，选择**Remember dimensions for new tables(记下尺寸以在将来建立新表格)**备选框。

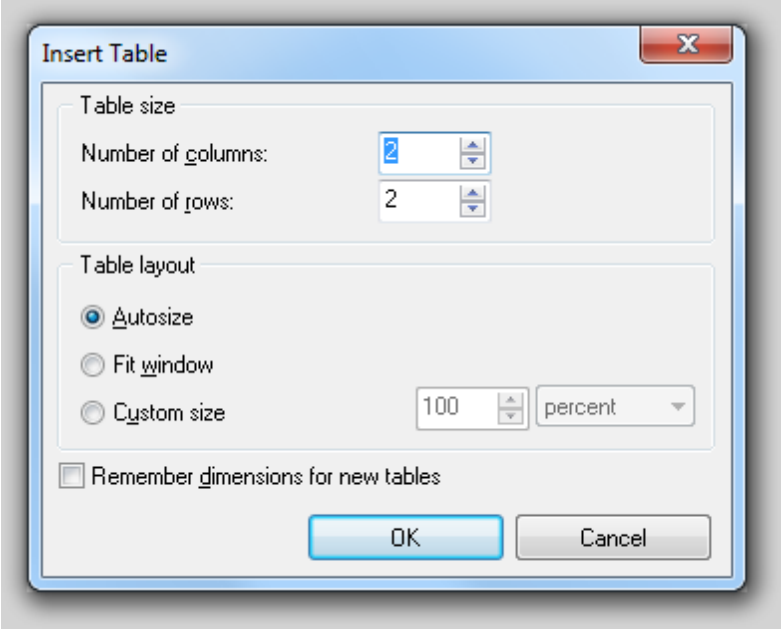


图 6.4 Insert Table Dialog (**插入表格对话框**)

表格也可从微软Word中粘贴过来。只要在Word中把表格复制到剪切板，然后选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Paste Metafile(粘贴图元文件)**命令(或使用键盘快捷键Ctrl+V)即可。

6.2.2 格式化表格

若用户用光标点击表格中的一个单元格(或通过拖拽光标高亮选择一组单元格)，用户可选用以下格式选项:

- 选择**Text(文本)→Table(表格)**命令组中的命令。
- 光标在表格上时点右键，从弹出菜单中选择**Table(表格)**，然后从下一级菜单中选择一个命令。

可用的格式化命令见下表。

命令	解释
Insert Row Above(在上方插入一行)	在光标所在的单元格上方插入一行。
Insert Row Below(在下方插入一行)	在光标所在的单元格下方插入一行。
Insert Column to the **Left(在左边插入一列)**	在光标所在单元格的左方插入一列。
Insert Column to the **Right(在右边插入一列)**	在光标所在单元格的右方插入一列。
Delete Rows(删除行)	删除当前行或所选行。
Delete Columns(删除	删除当前列或所选列。

命令	解释
列)	
Table Properties(表格属性) 95	打开一个菜单来设置一般表格属性或设置所选行和单元格的属性。
Merge Cells(合并单元格)	所有所选单元格会被合并为一个单元格。
Split Cells(拆分单元格)	该个(或多个)单元格会被拆分为多个单元格。

注: **Merge Cells(合并单元格)**和**Split Cells(拆分单元格)**命令只能通过弹出窗口找到。

6.2.2.1 表格属性

表格**Properties(属性)**窗口有3个标签页:

- **Table(表格)**标签页。

  这些设置适用于整个表格(图6.5):

  - **Width(宽度)**

    用像素或文本框宽度的百分比来设置表格宽度。(注: 大多数用户认为改变单行宽度比用这个选项来决定表格宽度好用。)

  - **Fill Color(填充颜色)**

    选择表格的背景色。

  - **Cell padding(单元格间隙)**

    设置单元格中的文本和其边框的空间。

  - **Cell spacing(单元格间距)**

    设置单元格之间的距离。

  - **Picture(图片)**

    插入图片作为表格背景。

  - **Table Border(表格边框)**

    设置表格边框(表格的外边框)的颜色和宽度。

  - **Cell Border(单元格边框)**

    设置单元格边框的颜色和宽度。

- **Rows(行)**标签页

  这些选项用于对所选行进行垂直对齐操作。

- **Cells(单元格)**标签页

  这些设置适用于选中的单元格(图6.6)。

  - **Width(宽度)**

    为当前或选中的单元格设置宽度。

  - **Height(高度)**

    为当前或选中的单元格设置高度。

  - **Fill Color(填充颜色)**

    为当前或选中的单元格设置背景色。

  - **Picture(图片)**

    插入图片作为当前或选中单元格的背景。

  - **Vertical alignment(垂直对齐)**

    使当前或选中单元格垂直对齐。(*注:* 要垂直对齐一整行，请使用表格 **Properties(属性)** - **Rows(行)**标签页。)

  - **Border(边框)**

    为当前或选中的单元格设置边框。

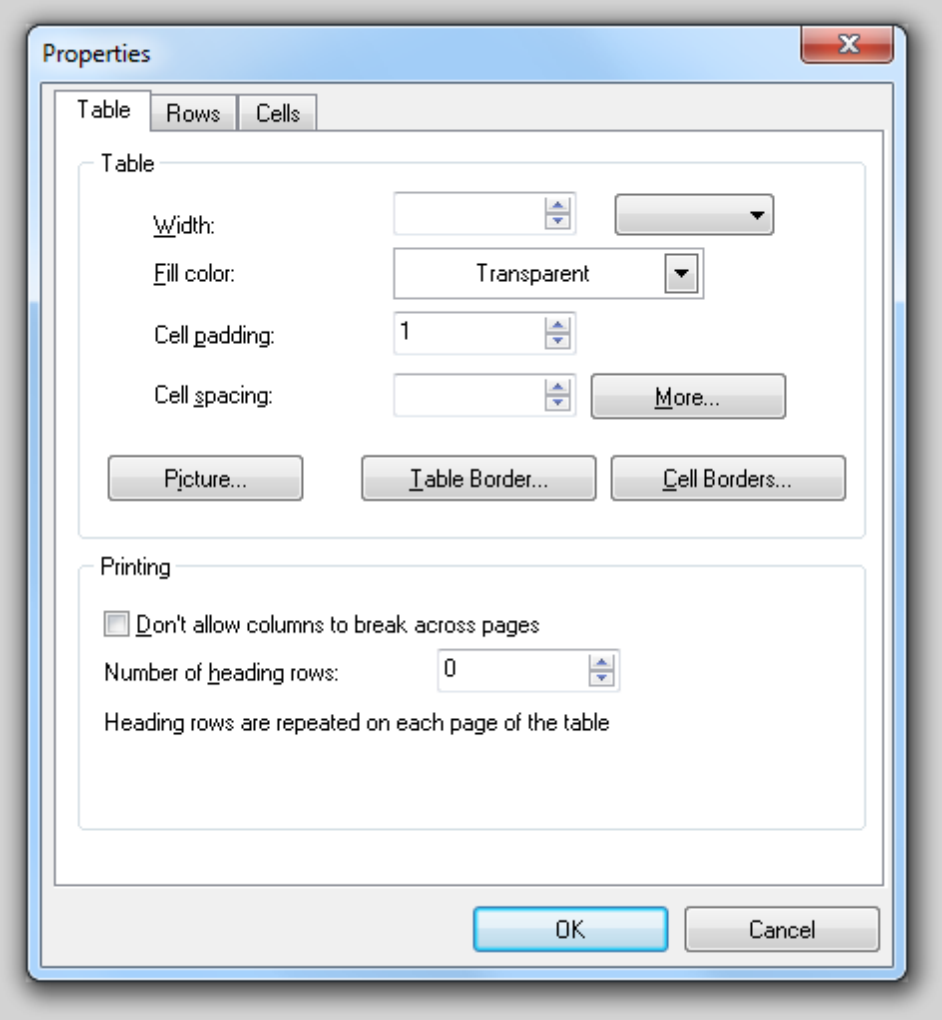


图 6.5 Table Properties - Table Tab (图表属性 - 图表标签)

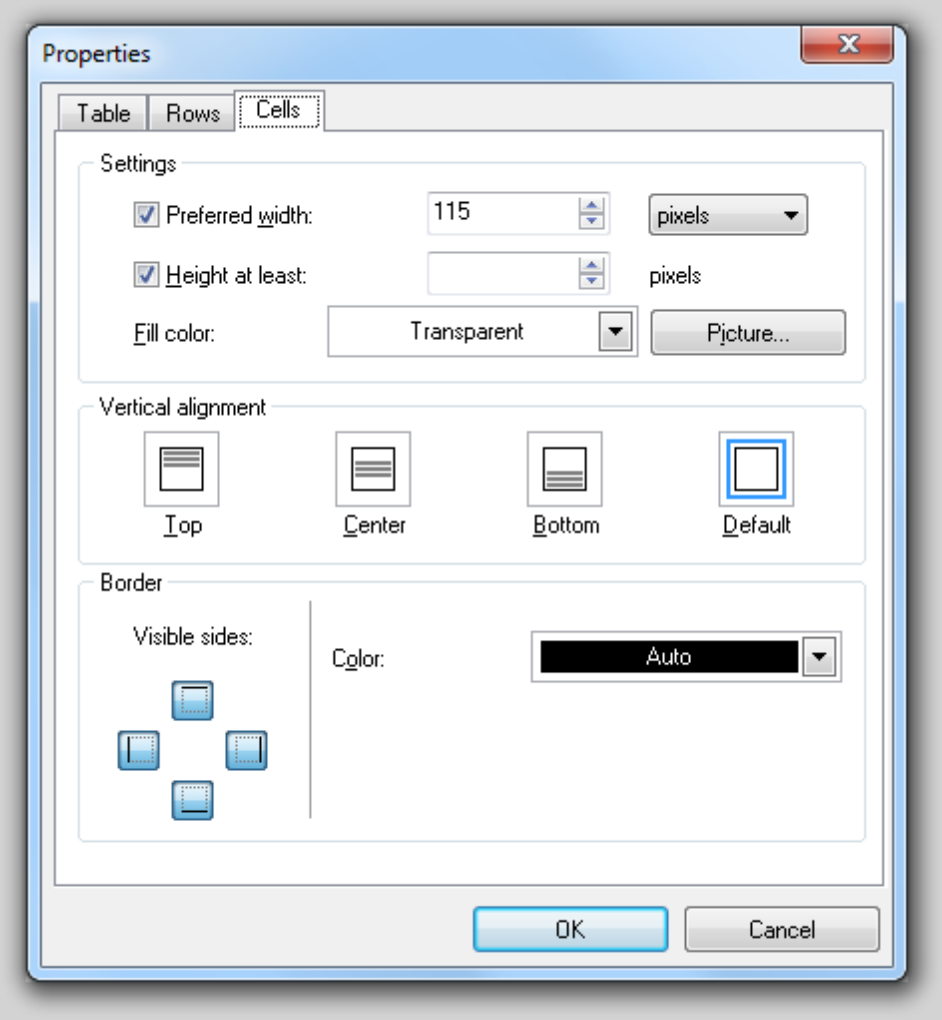


图 6.6 Table Properties - Cells Tab (图表属性 - 单元格标签)

6.3 改变文本框大小

可以像格式化文本框功能[100]中描述的那样改变文本框的大小。或者，用户可用在FCS Express中改变所有对象大小[79]的方法。这种操作有以下的例外:当文本框包含标记或表格时，用户将不可能将文本框变得比标记或表格还小。另外，用户不可能将文本框调整到比当前所显示的文本还要小的程度。无论是哪种情况，试图将文本框调整得过小的操作，都将让文本框自动调整为可接受的最小尺寸。还有，当加入的文本或其它对象(表格、标记等)装不下时，文本框会自动变大。

6.4 在绘图中加入文本框

可用以下方式在绘图中直接加入文本框:

- 点击绘图内部任何地方将其变成可编辑模式，这时选择**Insert(插入)→Text Box(文本框)**命令，然后点击绘图内部。

- 在绘图上右键点击，选择**Add Text Box(加入文本框)**。文本框会被插入到绘图边框内。

如果用户从绘图中删除了一个标识、象限或门文本，右键点击绘图从弹出菜单中选择相应命令(**Recreate Marker Text Boxes(重建标识文本框)**、**Recreate Gate Text Boxes(重建门文本框)**和**Recreate Quad Text Boxes(重建象限文本框)**)可再次创建这些文本框(图6.7)。

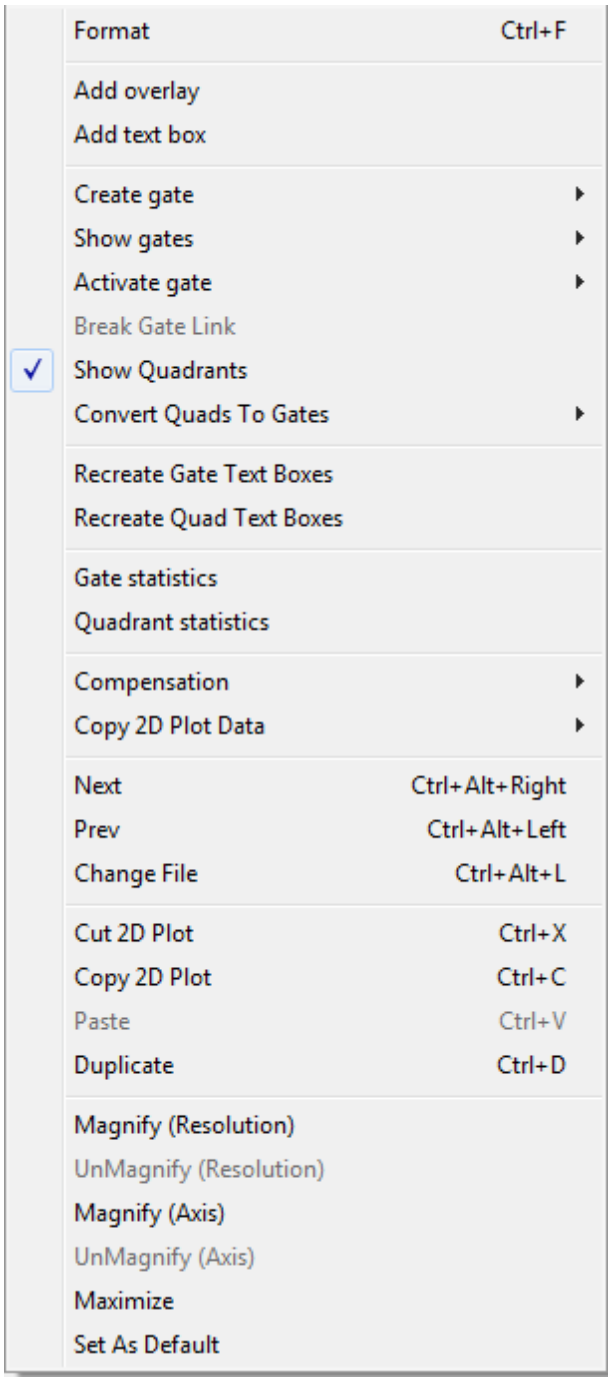


图 6.7 Right-click Pop-up Menu wth Recreate Gate and Quad Text Boxes Commands (**含有重建门和象限文本框命令的右键弹出菜**)

6.5 格式化文本框功能

可以通过以下方法设置文本框的边框、大小或背景:

- 选中文本框，然后选择**Format(格式)**标签中的命令。

- 打开格式窗口。方法是从弹出菜单中选择**Format(格式)**。(注:若文本框在绘图上，请确认文本框处于编辑模式)。格式窗口允许修改文本框的边框142、大小142和背景133。文本框的默认背景是透明背景。

6.6 在文本框中添加标记

除了文本以外，用户也可在有标记的文本框中插入统计数据和其它信息。这些文本框中的统计数据和各种信息会在分析数据改变时随之改变。要了解关于标记的更多信息，请参见使用标记286一节。

第 7 章

7 显示绘图

FCS Express支持多种数据显示的方法。使得用户可在数据窗口中查看原始数据280，或用该章所讲的多种绘图来显示数据。

7.1 数据显示绘图类型

FCS Express有12种绘图类型(在**Insert(插入)**标签页上归类为**1D Plots(一维绘图)**、**2D Plots(二维绘图)**和**Other Plots(其它绘图)**)，允许用户以多种方式显示数据。这些不同类型的绘图方式是:

- **1D Plots(一维绘图):** 一维绘图允许用户显示数据中的一个参数。用户可用此来显示数据的累积概率分布。
  - **Histogram(柱状图)**将用户数据显示为一些柱状区间，并对落于某一区间上的事件进行汇总。在**Histogram(柱状图)**上，事件值通常显示在X- 轴上，事件的次数显示于Y- 轴上。
  - 在Kinetics(动力学)424绘图上，X- 轴是时间参数，Y- 方向上的事件会在时间单元上进行平均。
  - Multicycle DNA(多周期DNA)399柱状图是针对DNA细胞周期统计的一维绘图子集。
  - Proliferation(细胞分裂)414柱状图是自动模拟细胞分裂统计的一维绘图子集。
  - Bar Charts(条形图)221可用图像的方式显示自定义数据214。
- **2D Plots(二维绘图):** 二维绘图允许用户用一个参数对另一个参数作图。
  - **Dot(点状图)**用一个点代表一个细胞。点状图总是以交叠的颜色来显示点。
  - **Density(密度图)**。在密度图上，一个区域的颜色反映了该区域有多少事件发生。
  - **Color Dot(彩色点状图)**。彩色点状图中，颜色可代表两件不同的事情。若绘图上只有一个叠加图层，那么颜色代表哪些细胞落入哪个门。如果图上有多个叠加图层，颜色则代表一个点属于哪个图层。若一点属于多个叠加图层，该点的颜色将根据图层的颜色随机选择。
  - **Contour(轮廓图)**和密度图相似，只是用轮廓线(而非颜色)来代表不同的细胞数。轮廓图看起来非常像拓扑地形图。
  - **Surface(表面图)**。除了有X- 和Y- 轴上的两个参数外，Z- 轴显示事件数目。
  - Picture Plots(图像绘图)440用来在整个二维区域显示细胞(或其它)图像的位置。
  - Scatter Plots(散点图)221以图像的形式显示自定义数据(比如生成滴定曲线)。

注: Dot(点状图)、Density(密度图)、Contour(轮廓图)和Color Dot(彩色点状图)均把数据分割成不连续数目的数据区间。因此，这些图中点的大小和将数据分为多少个数据区间有关。Scatter(散点图)不把用户的数据分成区间，而是在有数值的地方放一个图标。图标的大小由格式选项控制。查看含有大量数据点(即> 5000个)的数据集时，最好选择数据区间绘图。Scatter(散点图)可在显示小量数据集而且数据点的形状和风格更重要时使用。

- **Other Plots(其它绘图)**

  o Heat Maps(热图)432可显示微孔细胞板上所有微孔的统计数据(以颜色的方式显示)。

7.2 插入绘图

要在版面上插入默认大小的绘图，从**Insert(插入)**标签下的**1D Plot(一维绘图)**、**2D Plot(二维绘图)**或**Other Plot(其它绘图)**命令组上选择和插入绘图类型相关联的命令。然后，在版面上用户希望绘图左上角出现的地方点击(或在版面上拖拽出一个矩形)。将在当前数据文件105一节中讲述"如何使用FCS Express中和绘图相关的文件"。

要改变绘图的默认大小，请参见绘图统计设置119一节。

要改变绘图中的文件，请参见修改数据文件106一节。

7.3 当前的数据文件

第一次在版面中插入绘图，会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框(图7.1)。在**File Dialog(文件对话框)**、**File List(文件列表)**或**Active Files(活动文件)**标签页上找到想要的文件，然后点击**Open(打开)**。选中文件后，绘图就会打开，该文件成为当前文件。将来再打开该绘图时，系统不会再问用户选择数据文件，而会用当前的数据文件创建绘图。

每次用户选择一个显示数据文件的对象(或将该对象置于编辑模式)，对象中的数据文件就会变成当前的数据文件。

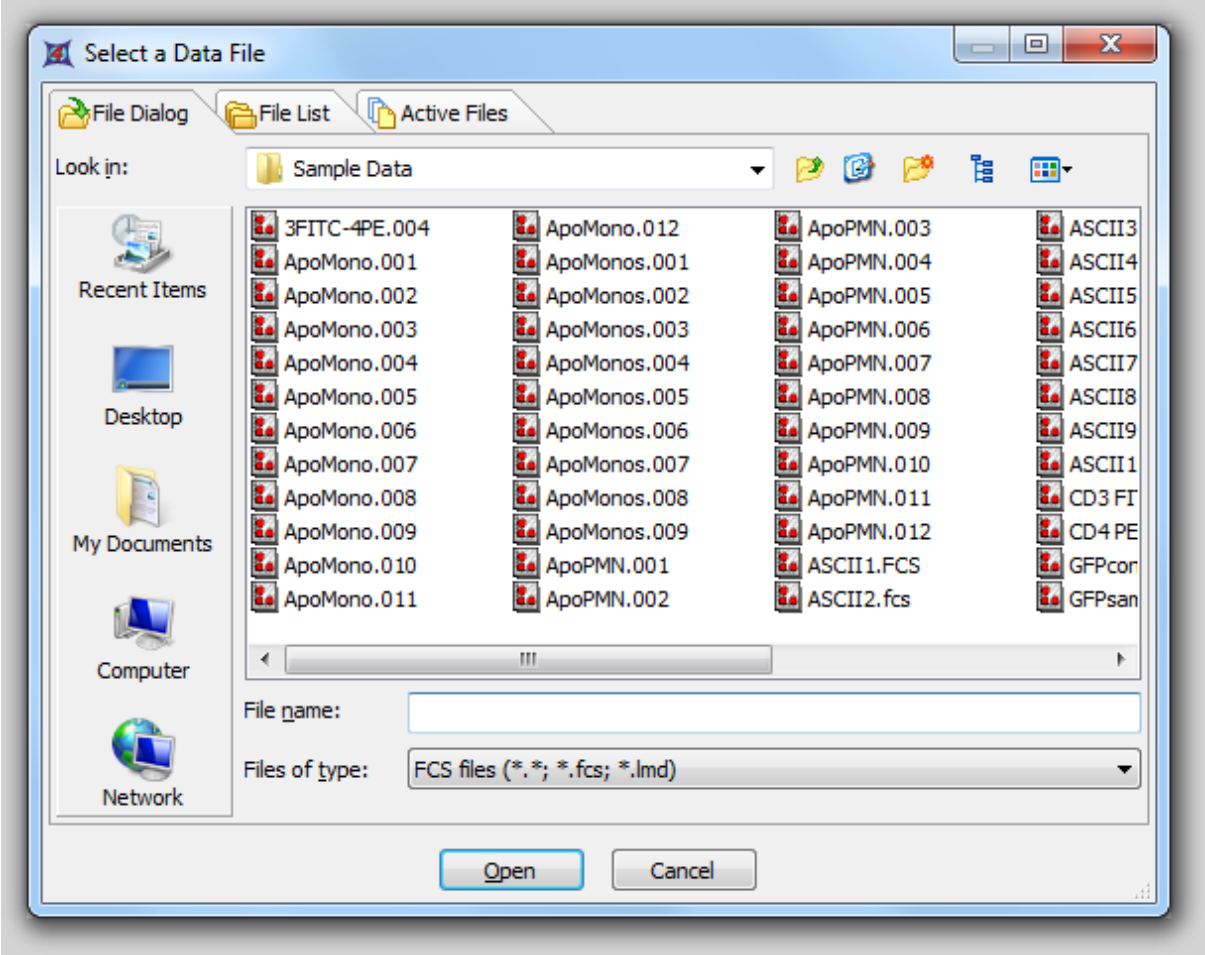


图 7.1 Select a Data File Dialog (选择数据文件对话框)

也可以设置FCS Express来提示用户每次打开一个绘图时都要指定一个数据文件。要想这样做，点击应用程序按钮[29]，然后点击在右下角的**Edit Preferences(编辑设置)**按钮。在**Edit Preferences(编辑设置)**对话框中，从左边的条目中选择**General(一般设置)**并选中**Always show a file selection dialog when opening new plots(在打开新绘图时总是显示文件选择对话框)**一项。设置之后，**Select a Data File(选择数据文件)**对话框每次在用户创建绘图时都会出现。

如果数据文件在数据分析过程中被修改了(即用户用参数数学创建或修改了一个参数)，在该数据文件从内存中被删除时，用户会被提示是否要保存该文件。如果不希望该提示出现，打开**Edit Preferences(编辑设置)**对话框(方法是点击**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑设置)**按钮)，选择**Save(保存)**，而后在底部选择Don't save **modified data files on close(关闭时不保存已修改的数据文件)**一项(请参看保存设置[129]一节)。

7.4 修改数据文件

可用几种方法修改绘图、数据窗口和文本框中的数据文件:

- 把一个绘图从版面中(或从导航器[72]上的绘图结点处)拖拽到另一版面。这会调出Paste

Special(特殊粘贴)对话框(图7.2)。

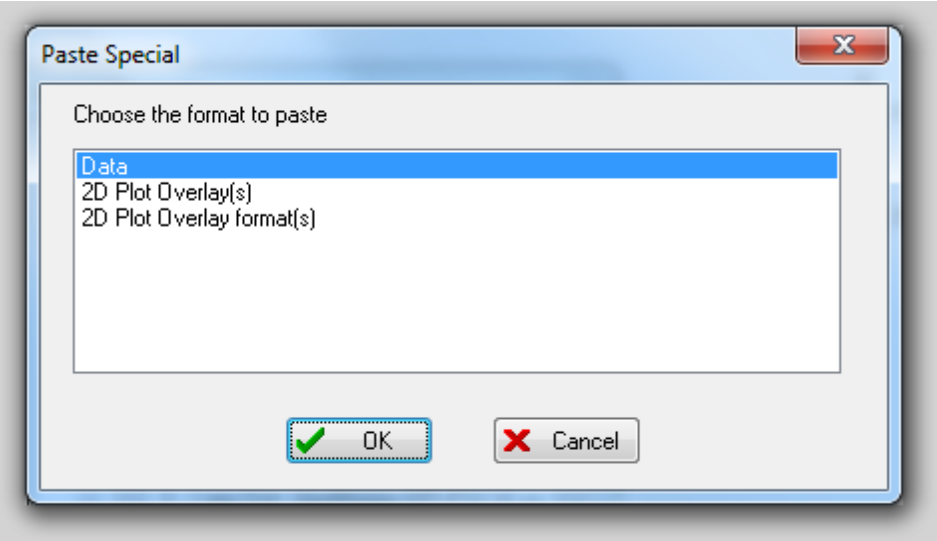


图 7.2 Paste Special Dialog (**特殊粘贴对话框**)

从**Paste Special(特殊粘贴)**对话框上选择**Data(数据)**后，可能会出现Select Drag **and Drop Action(选择拖放操作)**对话框(图7.3)，在此可选择replace the **existing overlays on the plot(替代绘图上已有的叠加图层)**或add the files **to the plot as new overlays(将文件作为新的叠加图层加入到绘图上)**。



图 7.3 Select Drag and Drop Action Dialog (**选择拖放操作对话框**)

- 在绘图上右键点击，然后从弹出菜单中选择**Next(下一个)**、**Prev(前一个)**或Change **File(修改文件)**。

- 用Data→**Change Data on Selection(数据→改变选中的数据)**(或Change **Data on All Objects(改变所有对象中的数据)**)命令组来修改所选对象(或所有对象)中的文件。

在弹出窗口中，**Next(下一个)**和**Prev(前一个)**会分别修改数据列表上的下一个和前一个文件。**Change File(修改文件)**会调出**Select a Data File(选择数据文件)**对话框。

如果用户在绘图上不是只有底层叠加图层(底层叠加图层指第一层)，请用Select a Data **File(选择数据文件)**下半部分来选择修改哪一图层(**Base overlay(底层叠加图层)**、**All overlays(所有叠加图层)**或**Select from the list(从列表中选择)**)。

第 8 章

8 对象格式化

要对版面上的对象进行格式化操作，FCS Express非常灵活，并提供多种选择。

8.1 概述

FCS Express中的对象均有很多不同的格式化属性。用户会经常修改这些属性来显示数据的重要特征。

在任何情况下，对属性的格式化都可通过右键单击对象、从弹出菜单上选择**Format(格式)**进行。修改属性也可以通过从格式标签 38 上选择相应的命令进行。

所有格式化窗口的操作方式都是一样的。图8.1给出了一个例子。左边的区域，由1标识，显示可被格式化的选项。可以选择其中一项进行修改。该项的属性会出现在表格右边，如2标识的区域所示。

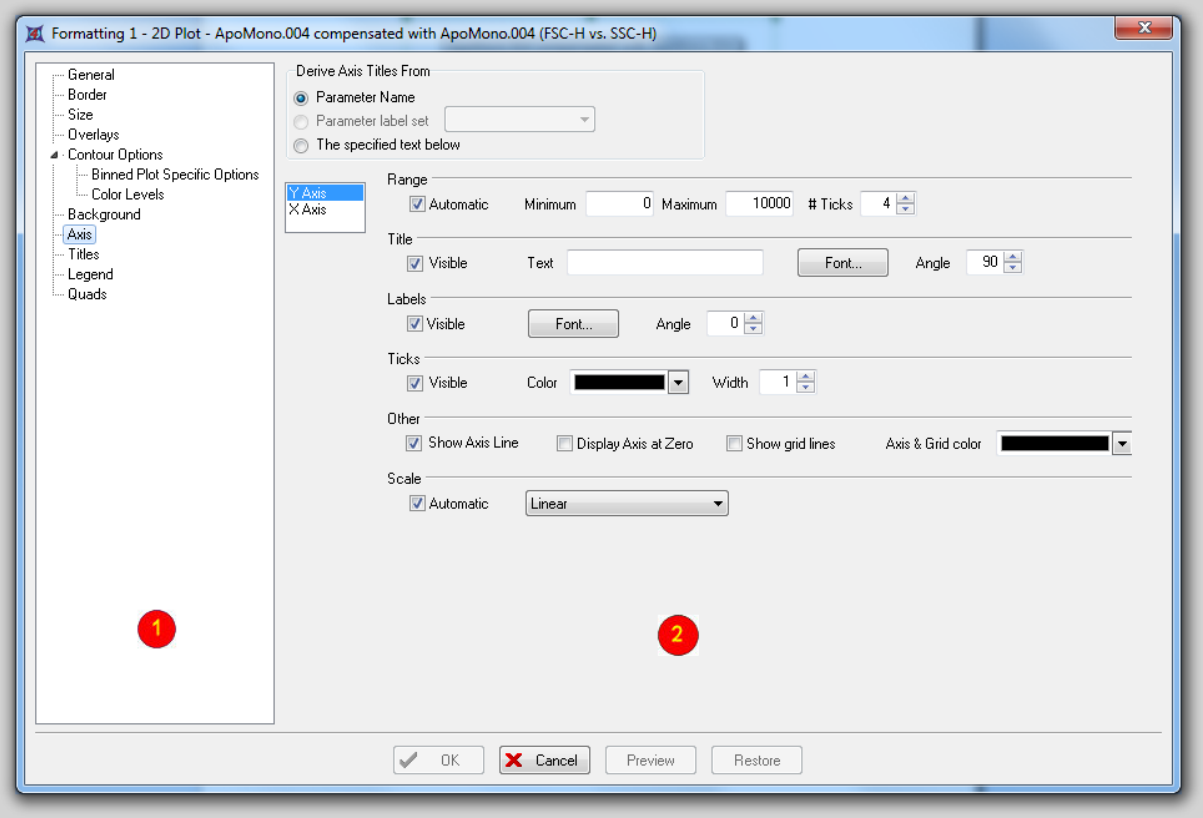


图 8.1 Formatting Dialog (**格式化对话框**)

8.2 自定义默认选项

FCS Express中有很多允许用户自定义工作环境的选项。比较节省时间的方法是建立一个用户名来保存常用选项，而不是每次在系统启动后修改默认设置。对这些选项的设置英文叫做Preferences。这些选项包括从绘图的大小和格式到FCS Express复制数据到剪切板中的方

法。

所有选项都可自定义，而后保存在特定的用户名下。任一时段对选项做的任何修改都会为该用户保存下来，这些修改不会影响其它用户。要为当前用户自定义选项，选择Application **Button(应用程序按钮)→Edit Preferences Button(编辑设置按钮)**。Edit **Preferences(编辑设置)**对话框(图8.2)的左边区域1，包含许多比较大的选项类别，每一选项类别包含放在一起的一些属性，见图中的区域2。该章其它章节将分别介绍各个类别。

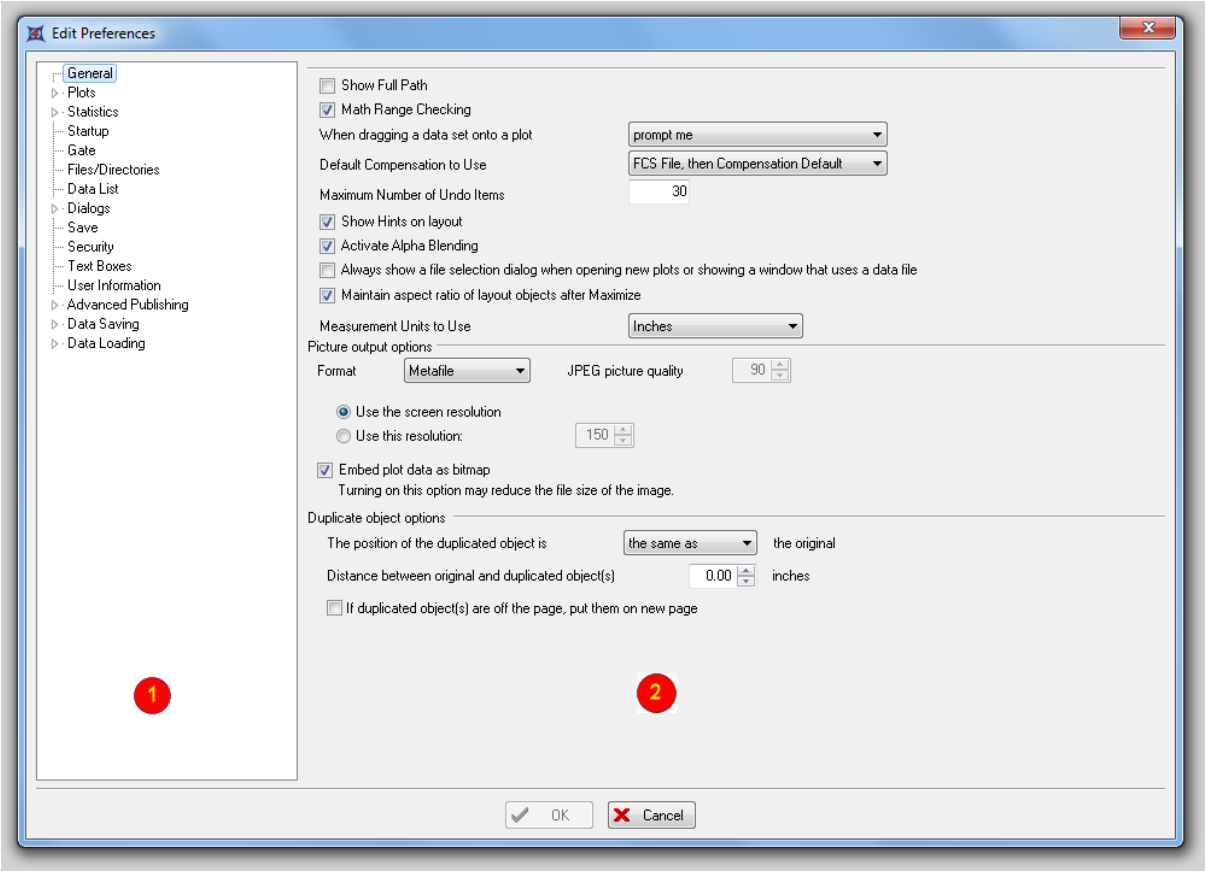


图 8.2 Edit Preferences Dialog Overview (**编辑选项对话框概览**)

8.2.1 一般设置

Edit Preferences(编辑设置)中的**General(一般设置)**属性对话框(图8.3)用来控制FCS Express的整体功能。

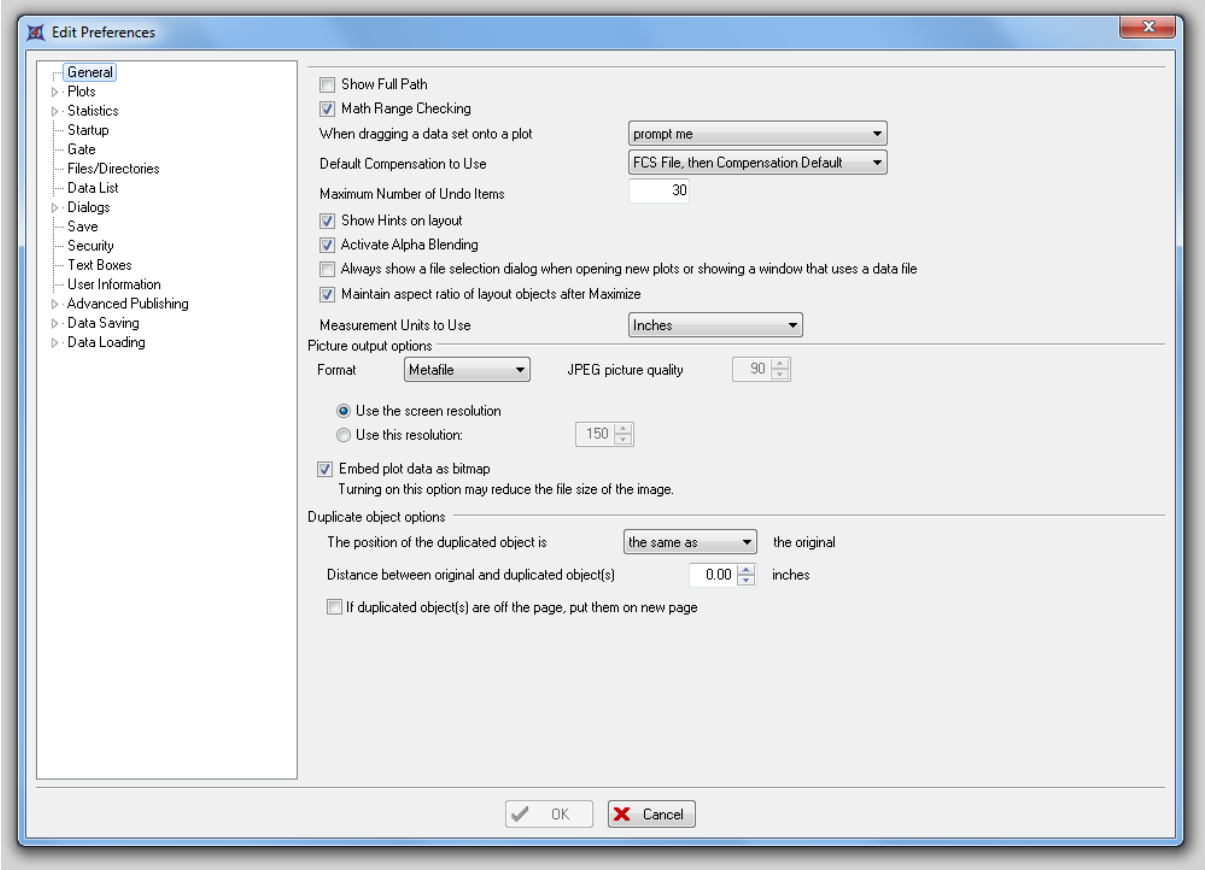


图 8.3 General Preferences (**一般设置**)

具体属性的解释见下表。

属性名	解释
Show Full Path(显示完全路径)	在这种情况下，文件名在FCS Express中显示出来。该选项允许用户选择显示整个路径和文件名，还是只显示文件名。
Math Range **Checking(数学范围核校)**	当进行参数数学操作时，有可能数学运算的结果超过文件允许的数据范围。使用FCS Express之外的其它分析软件包时，超出范围的数据可能导致不正确的结果显示。当**Math Range Checking(数据范围核校)**被选中时，超过最大允许值的数据会被保存为最大允许值。当Math Range **Checking(数据范围核校)**处于关闭状态时，超出范围的数据会按原数保存。
When dragging a data set onto a plot(当拖动一个数据集到绘图上时)	当拖动一个数据集到绘图上时，会发生以下三种动作之一:用拖到绘图上的数据**replace existing overlays(替代已有的叠加图层)**;add **overlays(添加叠加图层)**会将FCS文件添加到绘图中;或**prompt me(提示我)**选项将询问用户采取什么行动。请从下拉菜单中来选择要执行的动作。
Default Compensation to **Use(默认补偿)**	为新的叠加图层设置补偿，选择以下选项之一: • **None(不补偿)**。不用任何补偿。 • **Compensation Default(缺省补偿)**。在补偿信息窗口263里选择缺省补偿。 • **FCS File(FCS文件)**。从FCS文件头中获取数据采集时用的补偿。 • **FCS file, then Compensation Default(首选FCS文件，然后缺省补偿)**。FCS Express会从FCS文件导入补偿设置。如果FCS文件中不含

属性名	解释
	任何补偿，会使用补偿信息窗口中的缺省补偿。
Maximum Number of Undo **Items(最多撤销次数)**	设置撤销操作的最多次数。
Show Hints on **layout(在版面上显示提示)**	当选中该单选框时，鼠标移到绘图上后，一条提示信息会显示绘图的编号和当前显示的文件名。
Activate Alpha **Blending(激活Alpha混合)**	Alpha混合执行FCS Express的两个功能。 • 当选有多个绘图时，半透明的蓝色背景告诉用户哪个是选中的对象。 • 当移动和改变绘图大小时，半透明的图片代表绘图在其新位置或尺寸下的样子。关闭alpha混合功能会提高运算较慢的计算机的作图速度。
Always show a file selection dialog when opening new plots(总在打开新绘图时显示文件选择对话框)	设置FCS Express，使其在每次打开绘图时提示用户选择一个FCS文件。
Maintain aspect ratio of layout objects after Maximize(最大化后保持版面对象的宽高比)	选中该单选框会维持对象的宽高比(高对宽)。
Measurement Units to Use(测量单位)	从下拉菜单中选择**Inches(英寸)**或**Centimeters(厘米)**。
Picture output options(图片输出选项)	这些选项允许用户选择要复制到剪切板上的绘图图片的格式、质量和分辨率，以备将来使用。
Duplicate object **options(副本对象选项)**	这些选项控制在哪里放置新创建的副本对象。

8.2.2 绘图设置

绘图设置选项让用户选择绘图第一次打开时的样子。绘图中几乎所有的属性，包括大小、颜色、字体和背景等都可以设为默认值。

或者，可通过右键点击绘图，从下拉菜单中选择**Set as Default(设为默认)**。该绘图的属性将被设置为以后打开的所有绘图的默认值。

正如在格式化所有绘图共享的属性 144一节中描述的那样，一般属性设置基本概括了特定绘图属性。填充叠加图层区在叠加图层 157(格式化单参数柱状图)一节中讨论。而各种绘图特有的设置见以下各节。

8.2.2.1 坐标轴选项

如果要经常使用FCS 2.0跟FCS 3.0的标准数据文件，用户也许希望为每类对象设置不同的选项。比如，FCS 2.0文件里的荧光参数最好在四级对数坐标中查看，而FCS 3.0文件里的荧光参数最好在超对数坐标中查看。

每一类数据文件都有一整套的坐标轴选项(图8.4)。因此当用户在版面上打开新绘图时，坐标轴的默认设置将由数据文件类型决定。

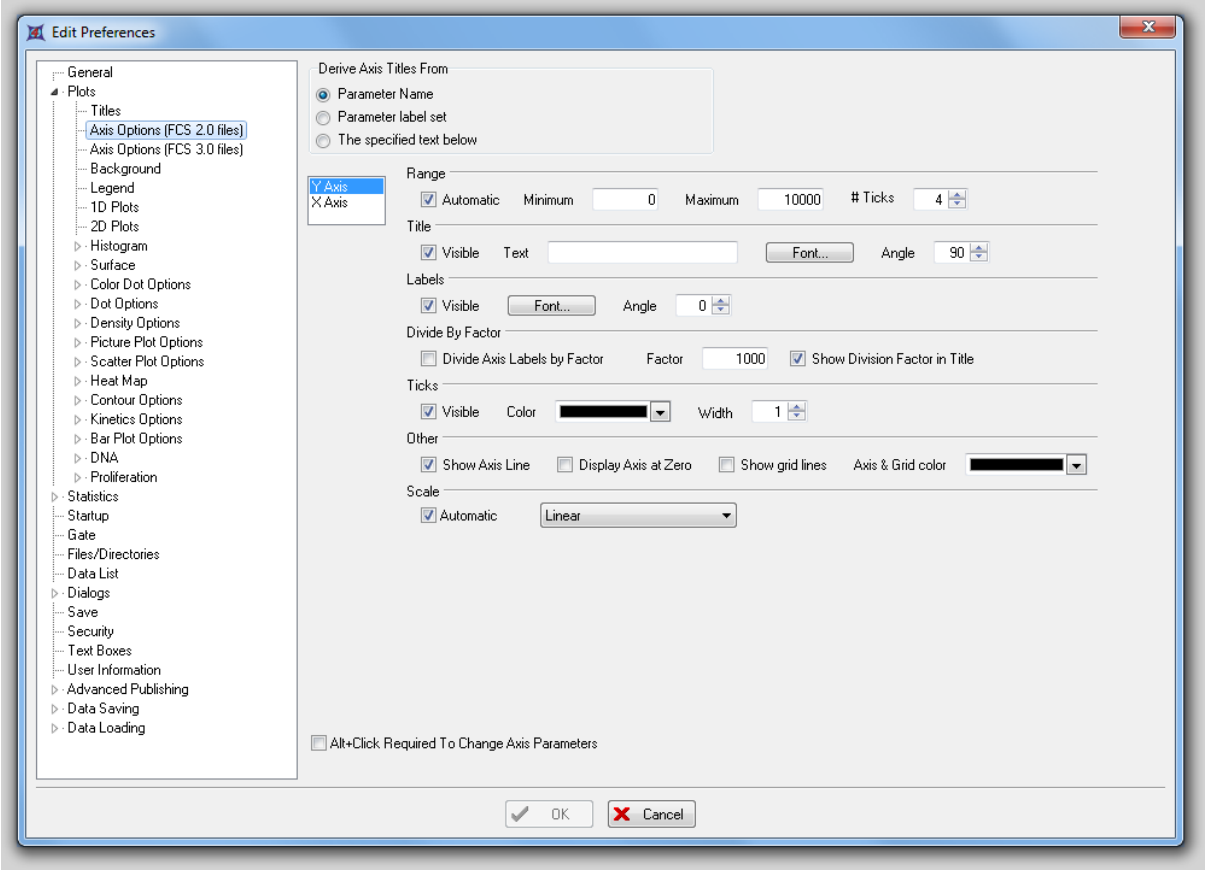


图 8.4 Edit Preferences - Axis Options (**编辑选项 - 数轴选项**)

默认情况下，点击绘图上的坐标轴的标签将允许用户改变该坐标轴的参数177。这不仅对于设计版面的用户来说很方便，对于偶尔修改数据这种操作也很方便。选中Alt + Click **Required To Change Axis Parameters(需要按下Alt键来改变坐标轴参数)**选框，用户可以设置必须使用Alt键来修改坐标轴参数。

8.2.2.2 一维绘图选项

一维绘图选项如图8.5所示。

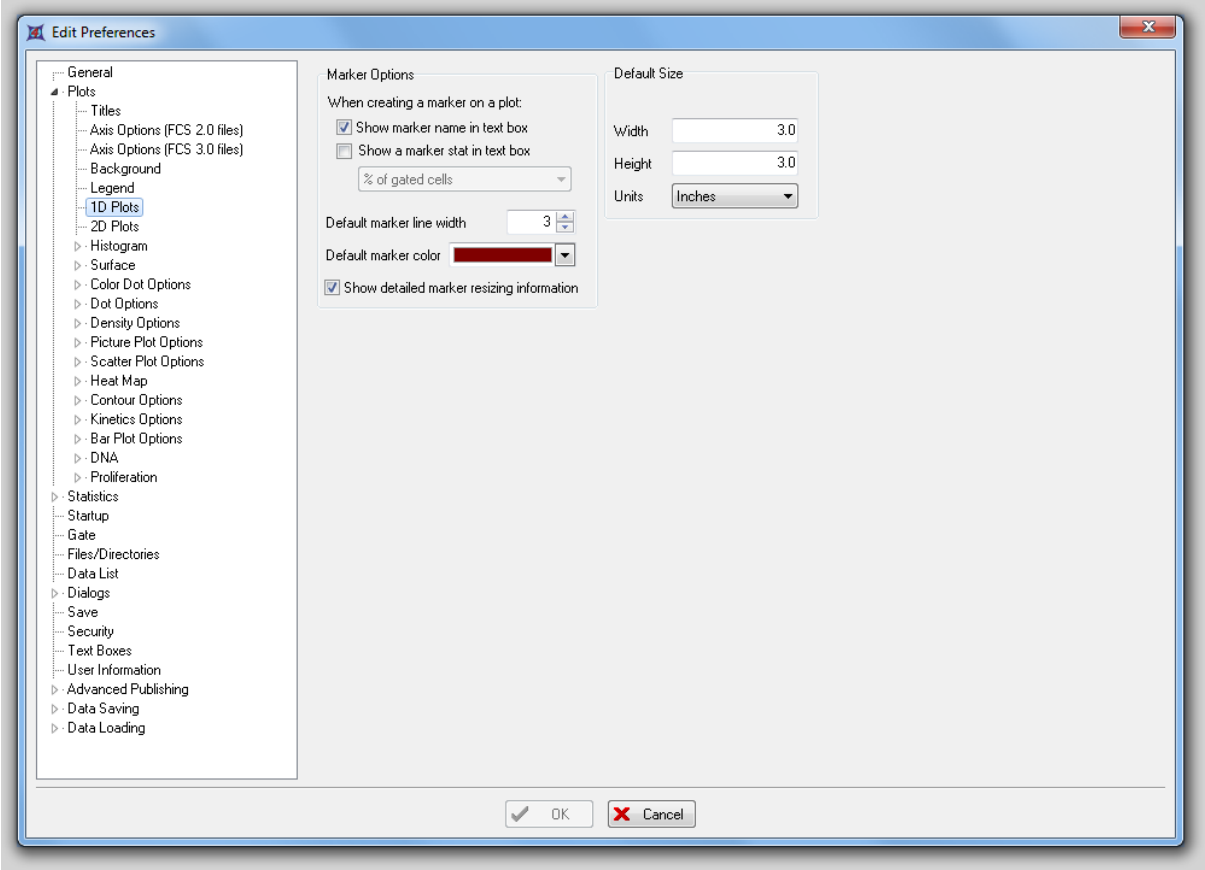


图 8.5 1D Plot Preferences (**一维绘图选项**)

与一维绘图相关的选项列于下表。

选项名	解释
Marker Options **(标识选项)**	标识被插入一维绘图中的默认选项。
Default Size(默认大小)	一维绘图的默认大小。

8.2.2.3 二维绘图选项

二维绘图选项(图8.6)包括与二维绘图相关的选项。

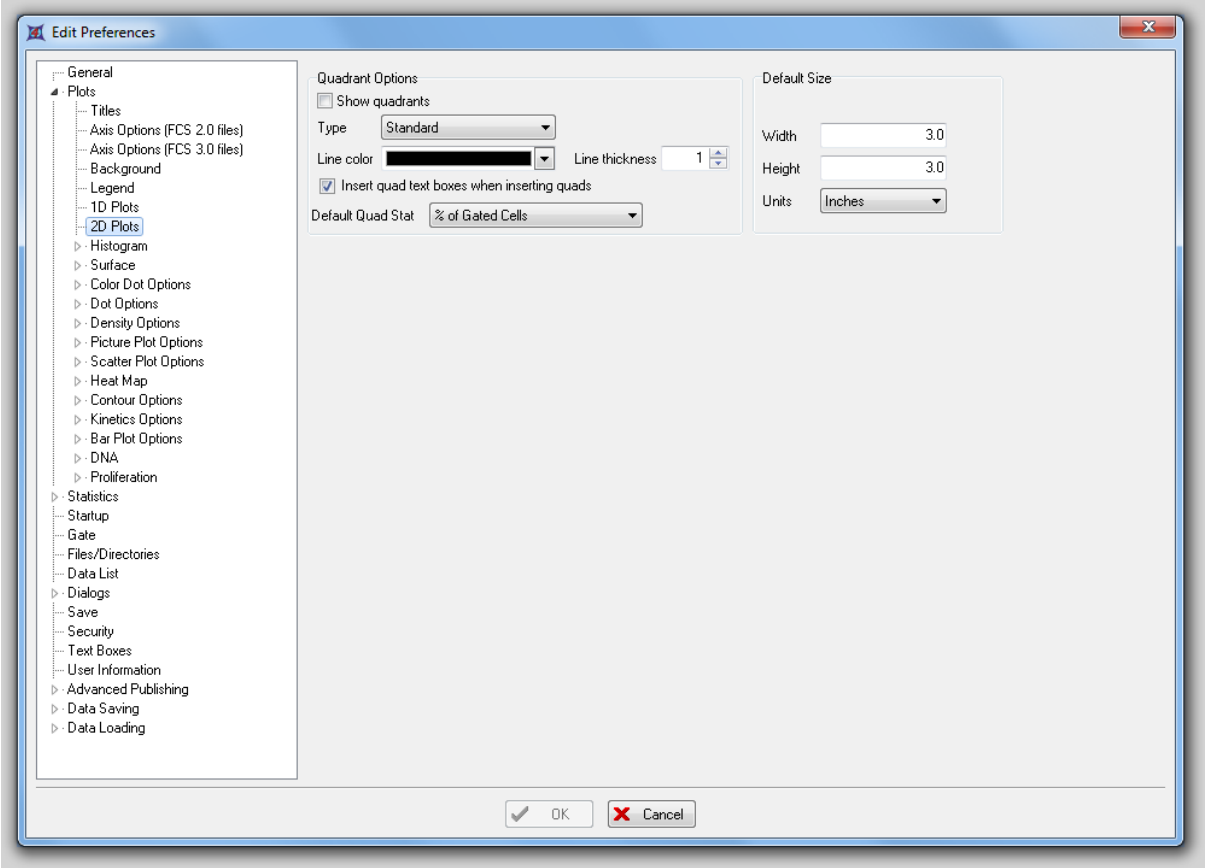


图 8.6 2D Plot Preferences (**二维绘图选项**)

二维绘图选项如下表所述。

选项名	解释
Quadrant **Options(象限选项)**	象限的默认选项。**Default Quad Stat(默认象限统计)**选项允许用户在第一次插入象限时设置哪些统计数据出现在所有四个象限的文本框中。
Default Size(默认大小)	二维绘图的默认尺寸。

8.2.2.4 DNA选项

DNA选项是在进行Multicycle(多周期)DNA分析398时的一般设置、叠加图层设置和位置标识设置。

- **General(一般设置)**

  DNA选项的一般属性设置(图8.7)包括用来处理多周期拟合模型的各种功能和设置绘制DNA柱状图时的各种参数。

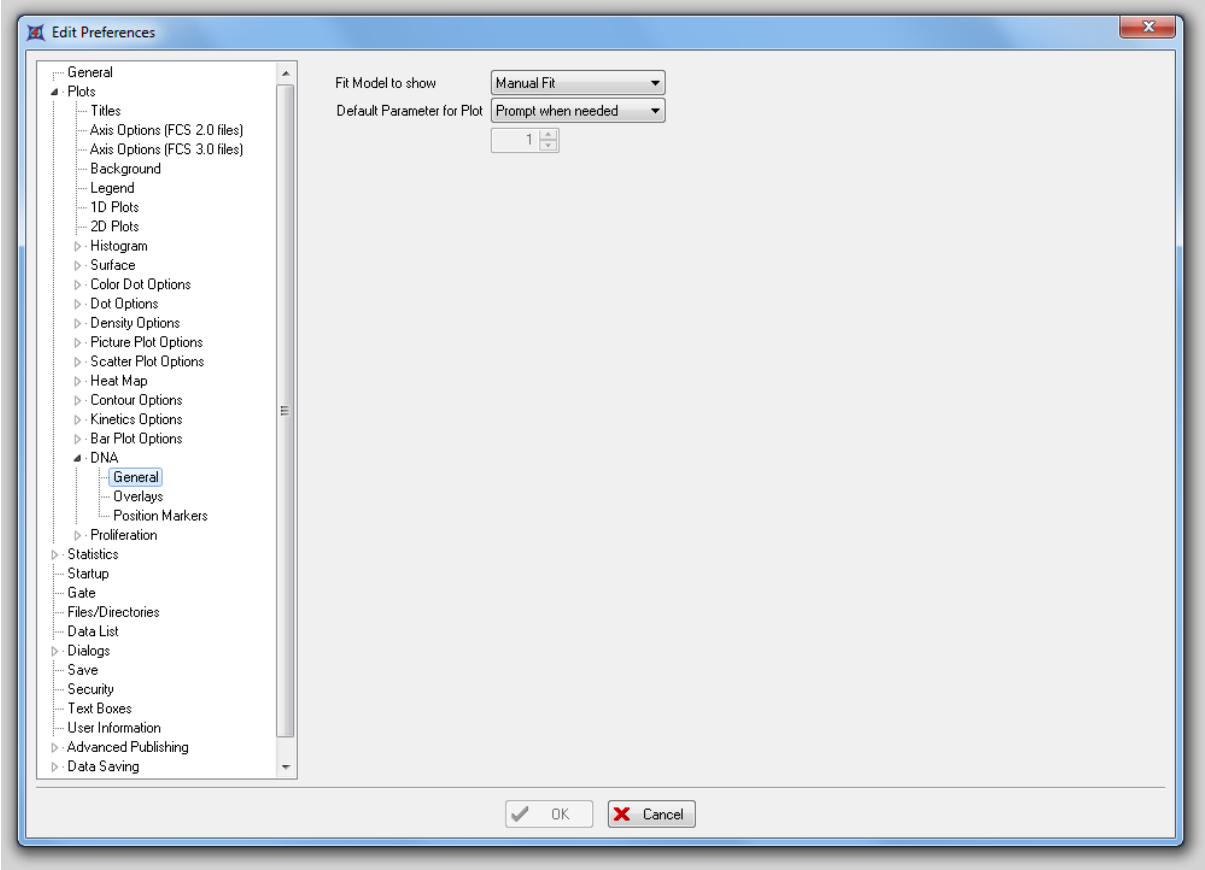


图 8.7 DNA General Preferences (DNA**一般选项**)

这些选项的解释如下表。

选项	解释
Fit Model to **show(要显示的拟合模型)**	进行多周期拟合时，将计算该拟合的六个不同参数。可在此选择显示哪个变量。六个变量的描述请参考"多周期"一节。
Default Parameter for **Plot(绘图默认参数)**	选择改变数据文件时要显示的参数。"Prompt when needed(在需要时提示)"会在用户每次修改数据文件时提示选择一个参数。"Use parameter below(使用以下参数)"允许用户总是显示下方由上下箭头选择的参数。

- **Overlays(叠加图层)**

DNA选项的叠加图层选项组(图8.8)允许用户设置计算后的叠加图层在DNA柱状图上的显示外观。

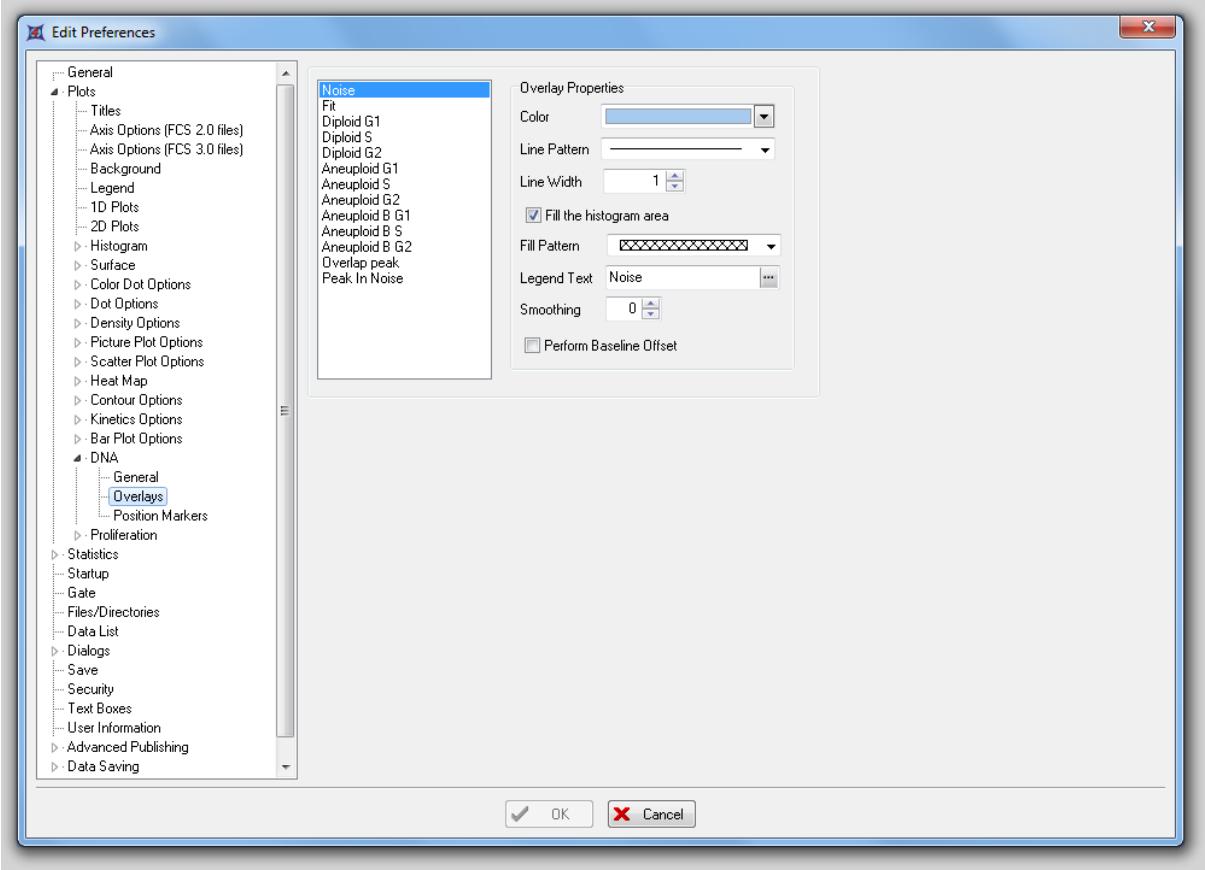


图 8.8 DNA Overlays Preferences (DNA**叠加图层选项**)

可从左边的列表框中选择一个或多个叠加图层来进行设置。可修改的视觉属性与一般柱状图叠加图层157中的视觉属性类似。

- **Position Markers(位置标识)**

可在DNA柱状图上显示位置标识405，来标记细胞周期参数的位置，例如G1相的平均值或背景区。DNA属性的位置标识允许用户设置这些标识的默认属性。

可从左边的列表框中选择一个或多个标识(图8.9)，然后从对话框的右边设置这些标识的线条选项。

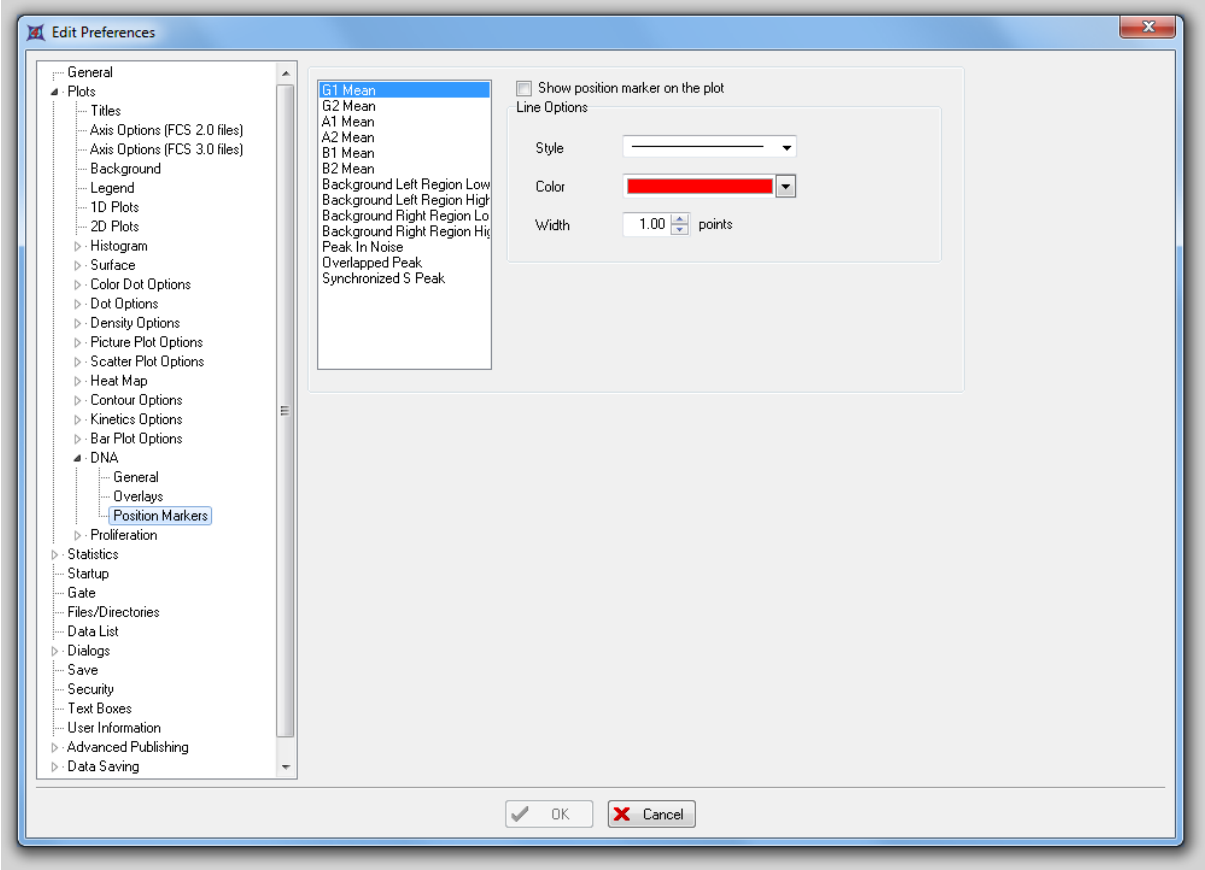


图 8.9 DNA Position Markers Preferences (DNA**位置标识选项**)

8.2.3 *统计选项*

Statistics(统计)选项类别下的子类别允许用户在统计窗口打开时选择默认类型与要列出的统计项目。不同类型的统计窗口有不同的选项。

8.2.3.1 绘图统计选项

Plot Statistics(绘图统计)选项(图8.10)决定一维和二维绘图统计的默认可视性和显示外观。

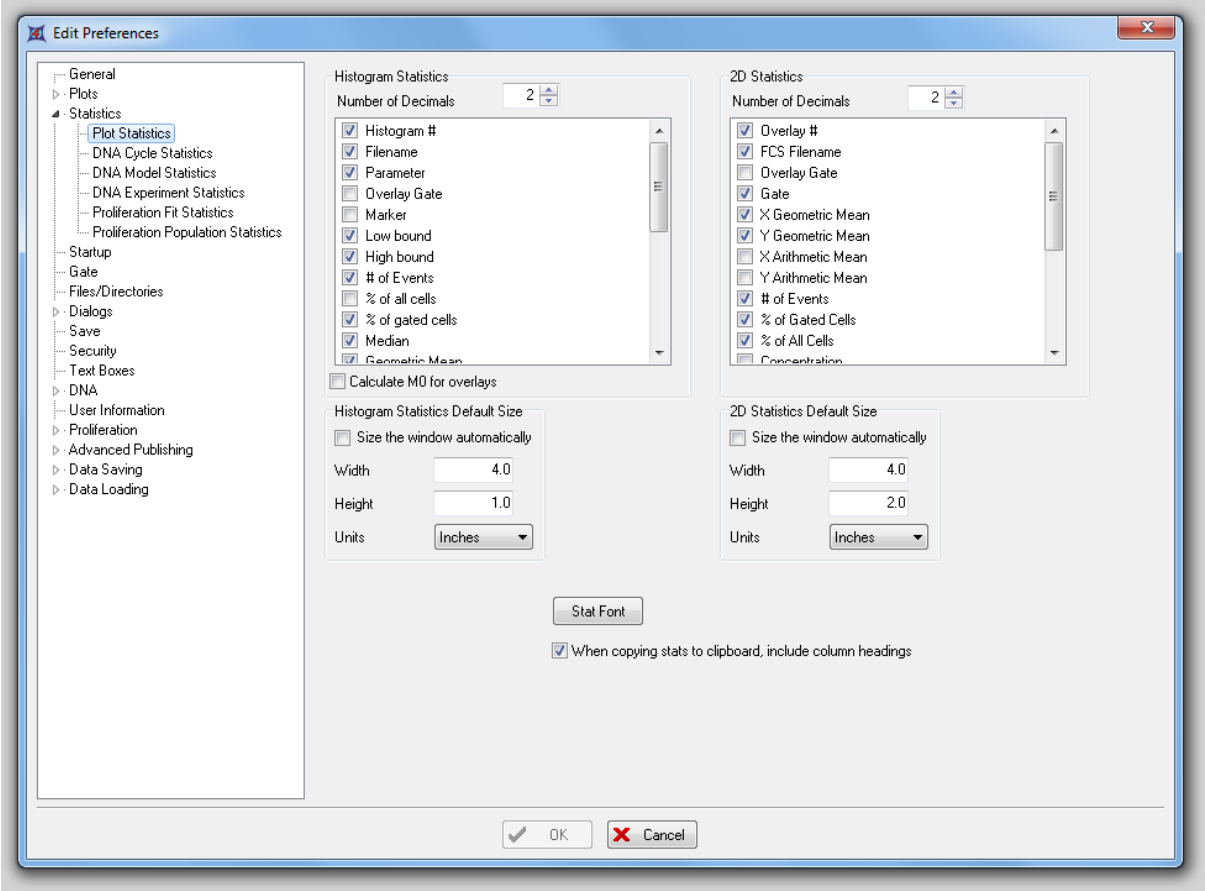


图 8.10 Plot Statistics Preferences (**绘图统计选项**)

开启或关闭统计可决定在一个统计窗口第一次打开时是否显示统计项目。每个统计项目的详细解释见分析FCS数据一章中的统计部分199一节。特别针对统计窗口(而非一般统计操作)的选项列于下表中。

选项名	解释
Number of **Decimals(小数位数)**	表明小数点右边小数的位数。
Calculate M0 for **overlays(为叠加图层计算M0)**	数据窗口列出柱状图上每个标识的统计数据。选上Calculate M0 for **overlays(为叠加图层计算M0)**会计算整个柱状图的统计数据，就好像标识不存在一样。
Histogram or 2D Statistics **Default Size(柱状图和二维统计默认大小)**	为统计窗口设置默认大小。如果加入的数据超出窗口边界，窗口大小会自动调整。
Stat Font(统计字体)	显示统计时使用的默认字体。

8.2.3.2 DNA周期统计

DNA Cycle Statistics(DNA周期统计)选项(图8.11)设置当DNA周期统计窗口打开时默认显示哪些统计。

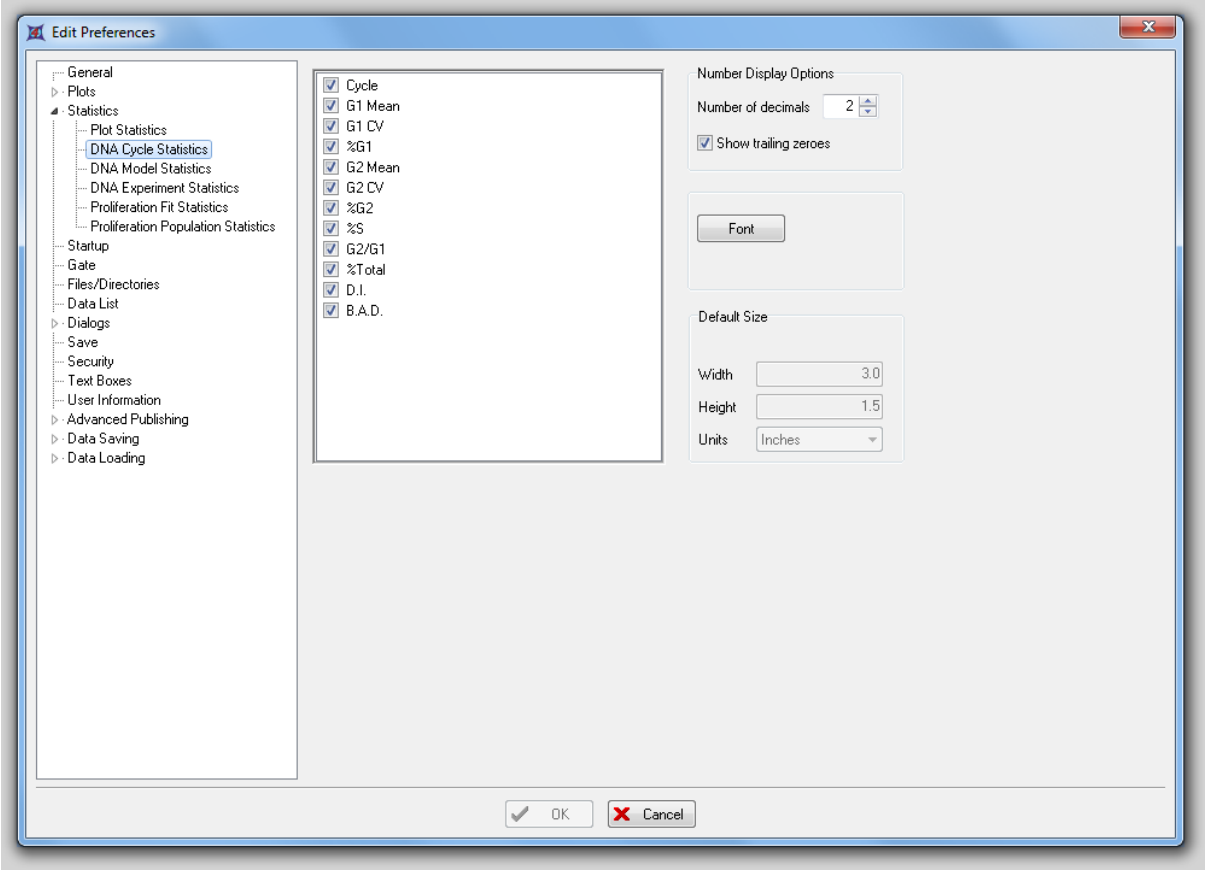


图 8.11 DNA Cycle Statistics Preferences (DNA**周期统计选项**)

可用同样的方式编辑列表框中的12个统计数据:

- 如果选中统计名称左边的复选框，统计窗口打开时将显示该统计数据。
  - 在**Number Display Options(数字显示选项)**中，可通过修改Number of **decimals(小数位数)**来控制该统计数据的小数位数，并选择是否显示末端的零。
  - 点击**Font(字体)**按钮将打开一个对话框，来对统计的字体显示进行设置。
  - **Default Size(默认大小)**选项设置当统计数据第一次被打开时统计窗口的大小。

8.2.3.3 DNA模型统计

DNA Model Statistics(DNA模型统计)选项(图8.12)设置当DNA模型统计窗口打开时默认显示哪些统计。

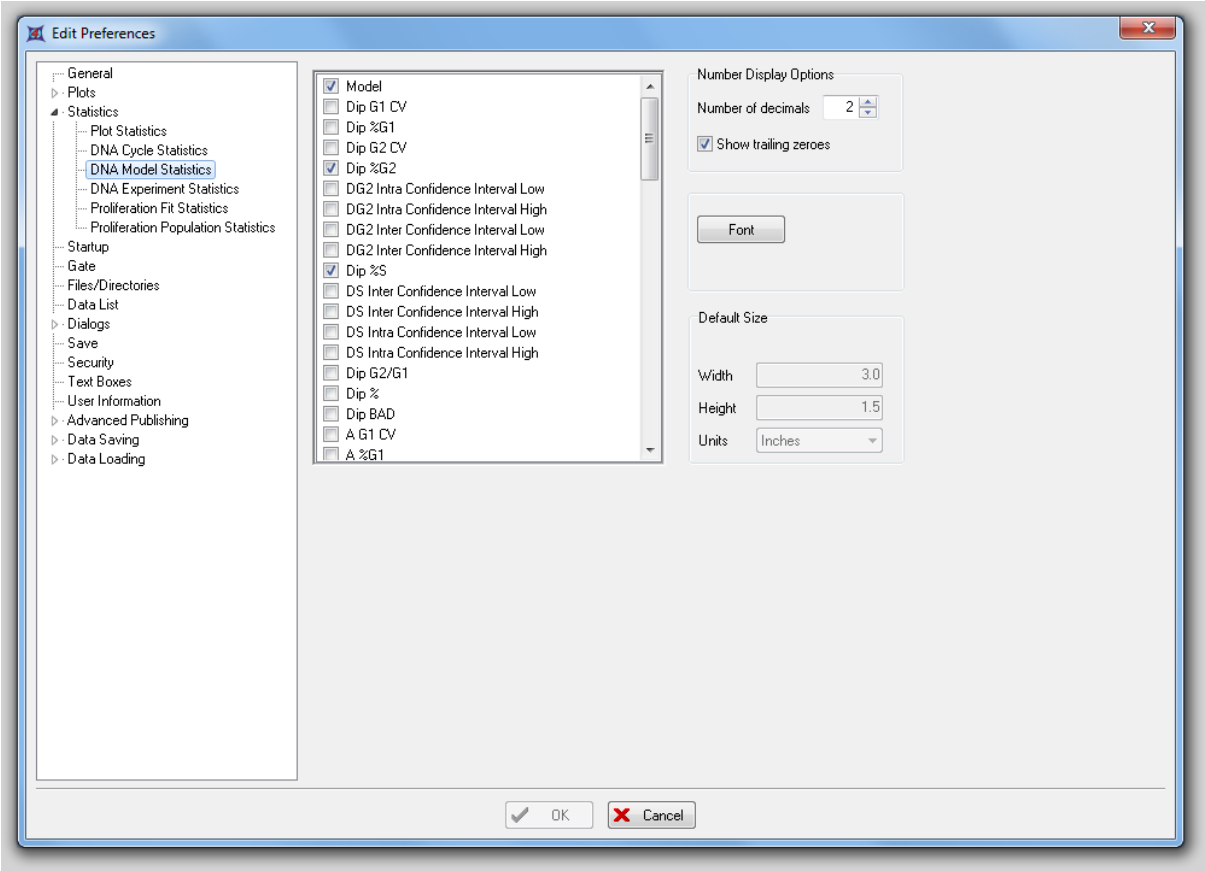


图 8.12 DNA Model Statistics Preferences (DNA**模型统计选项**)

只有当DNA分析包打开时才可进行DNA模型拟合。可用同样的方式编辑列表框中的72个统计数据:

- 如果选中统计名称左边的复选框，统计窗口打开时将显示该统计数据。
  - 在**Number Display Options(数字显示选项)**中，修改Number of decimals **(小数位数)**来控制该统计中的小数位数，并选择是否显示末端的零。
  - 点击**Font(字体)**按钮打开一个对话框来设置统计数据的字体。
  - **Default Size(默认大小)**选项控制统计数据第一次被打开时统计窗口的大小。

8.2.3.4 DNA实验统计

DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)选项(图8.13)控制当DNA实验统计窗口打开时默认显示哪些统计。

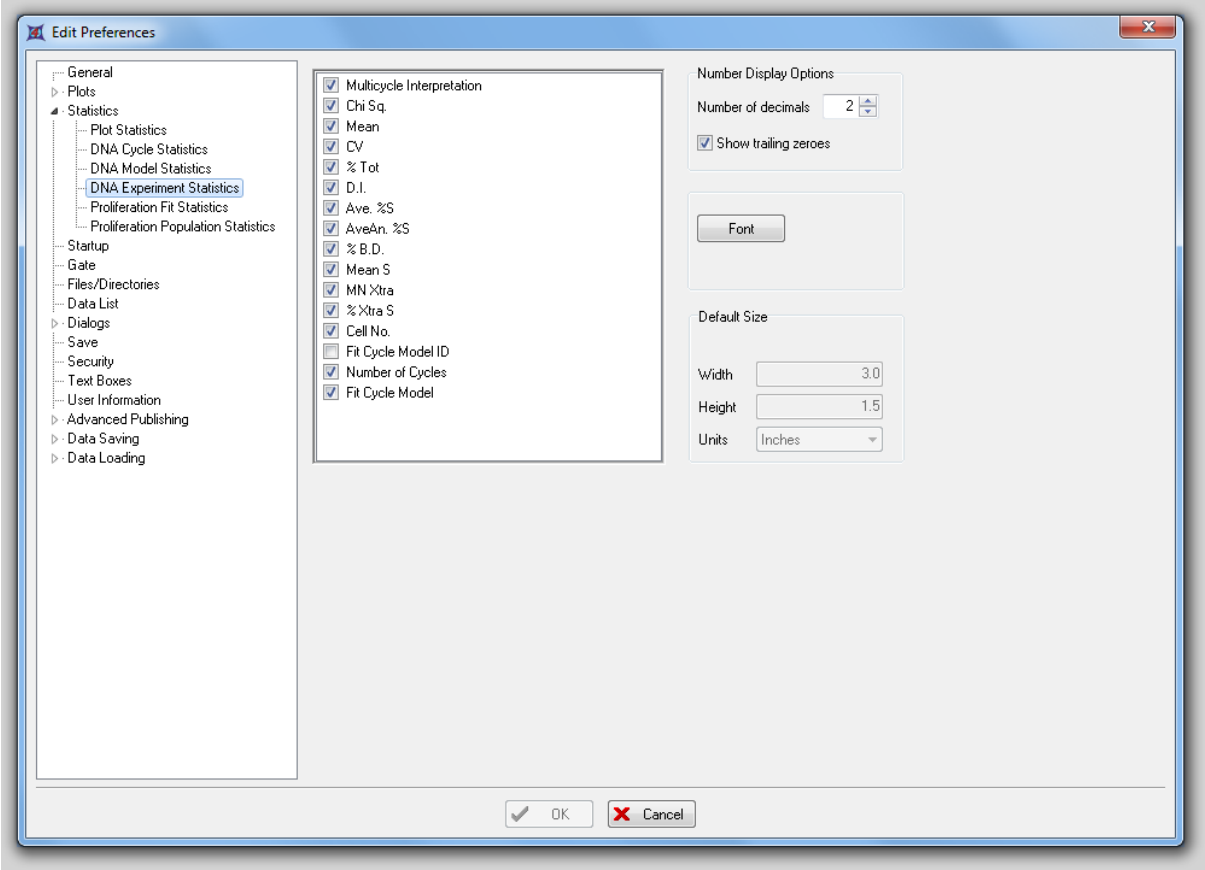


图 8.13 DNA Experiment Statistics Preferences (DNA**实验统计选项**)

可用同样的方式编辑列表框中的16个统计数据:

- 如果选中统计名称左边的复选框，统计窗口打开时将显示该统计数据。
  - 在**Number Display Options(数字显示选项)**中，修改Number of decimals **(小数位数)**来控制该统计中的小数位数，并选择是否显示末端的零。
  - 点击**Font(字体)**按钮会打开一个对话框，在此可设置统计数据的字体。
  - **Default Size(默认大小)**选项控制当统计数据第一次被打开时统计窗口的大小。

8.2.3.5 细胞分裂拟合统计

Proliferation Fit Statistics(细胞分裂拟合统计)选项(图8.14)控制当细胞分裂拟合统计窗口打开时默认显示哪些统计。

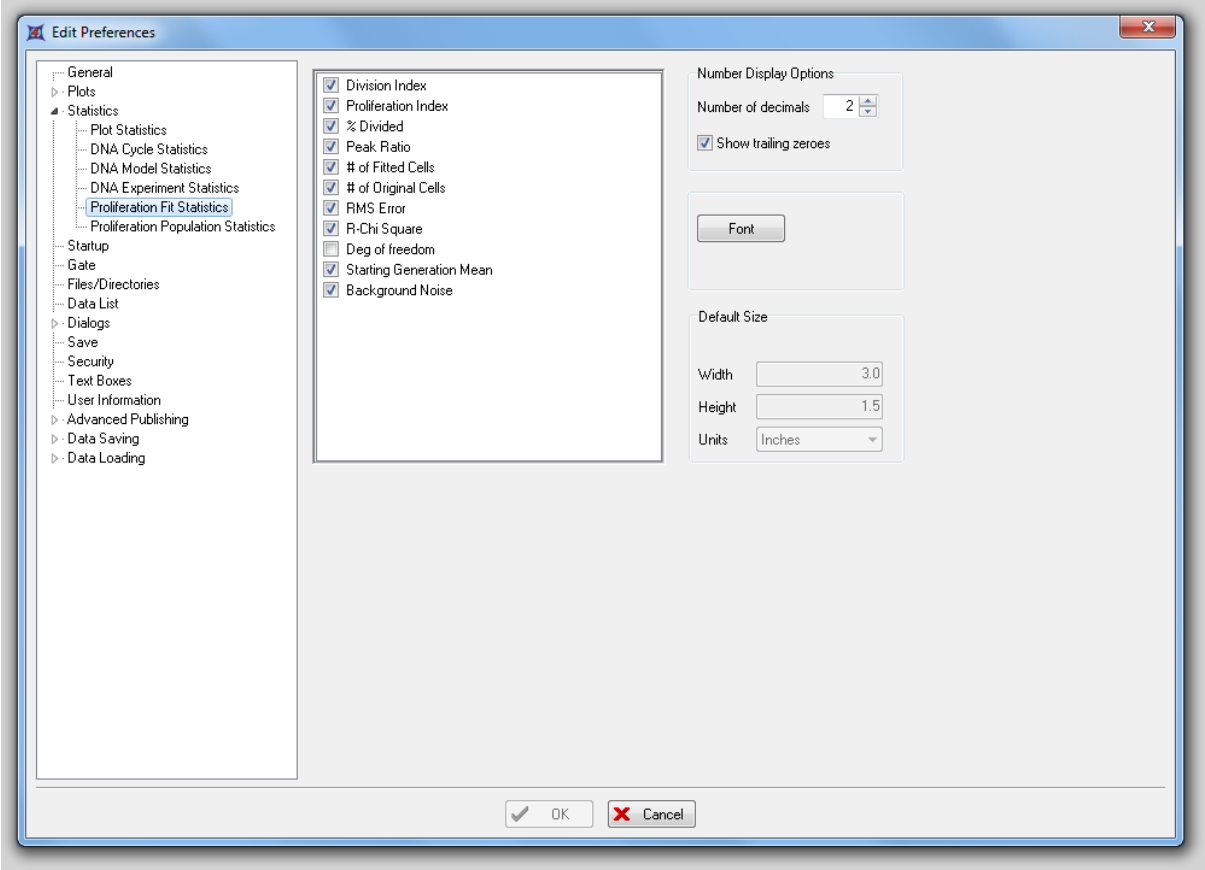


图 8.14 Proliferation Fit Statistics Preferences (**分裂拟合统计选项**)

可用同样的方式编辑列表框中的11个统计数据:

- 如果选中统计名称左边的复选框，统计窗口打开时将显示该统计数据。
  - 在**Number Display Options(数字显示选项)**中，修改Number of decimals **(小数位数)**来控制该统计中的小数位数，并选择是否显示末端的零。
  - 点击**Font(字体)**按钮来打开一个对话框，在此设置统计的字体。
  - **Default Size(默认大小)**选项控制当统计数据第一次被打开时统计窗口的大小。

8.2.3.6 分裂细胞群统计

Proliferation Population Statistics(分裂细胞群统计)选项(图8.15)控制当分裂细胞群统计窗口打开时默认显示哪些统计。

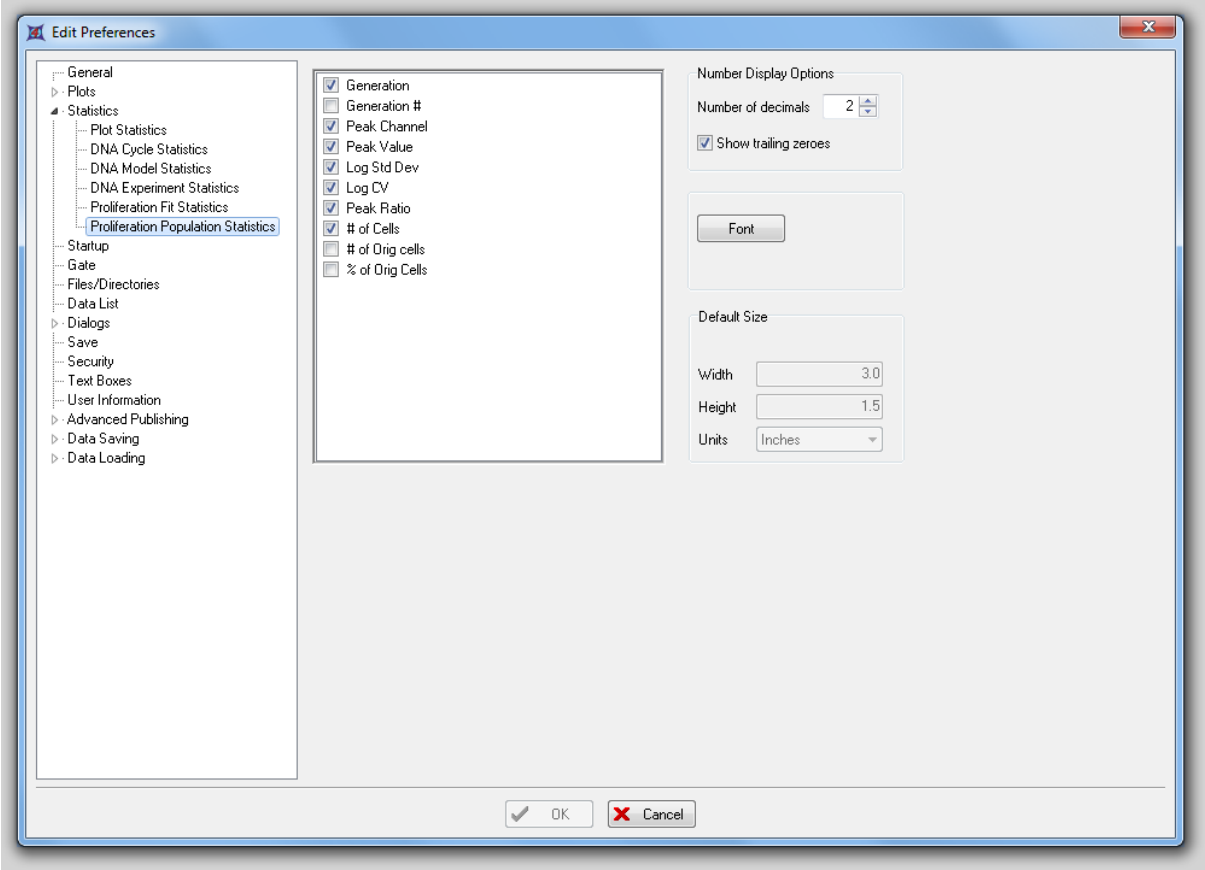


图 8.15 Proliferation Population Statistics Preferences (**分裂细胞群统计选项**)

可用同样的方式编辑列表框中的10个统计:

- 如果选中统计名称左边的复选框，统计窗口打开时将显示该统计数据。
- 在**Number Display Options(数字显示选项)**处，修改Number of decimals **(小数位数)**来控制该统计数据的小数位数，并选择是否显示末端的零。
- 点击**Font(字体)**按钮来打开一个对话框，设置统计数据的显示字体。
- **Default Size(默认大小)**选项控制当统计数据第一次被打开时统计窗口的大小。

8.2.4 *启动选项*

Startup(启动)选项允许用户控制FCS Express在启动时要做的事情。

通过勾选两个选项框，可选择是否:

- 在FCS Express启动时关联有.fey后缀的文件。

- 允许多用户登录。

如果选上**Allow multiple users(允许多用户)**，用户选择对话框将在FCS Express启动时出现。如果取消选择**Allow multiple users(允许多用户)**，系统将总是使用默认用户登录。

8.2.5 门设置

门设置选项(图8.16)允许用户为门设置默认选项。

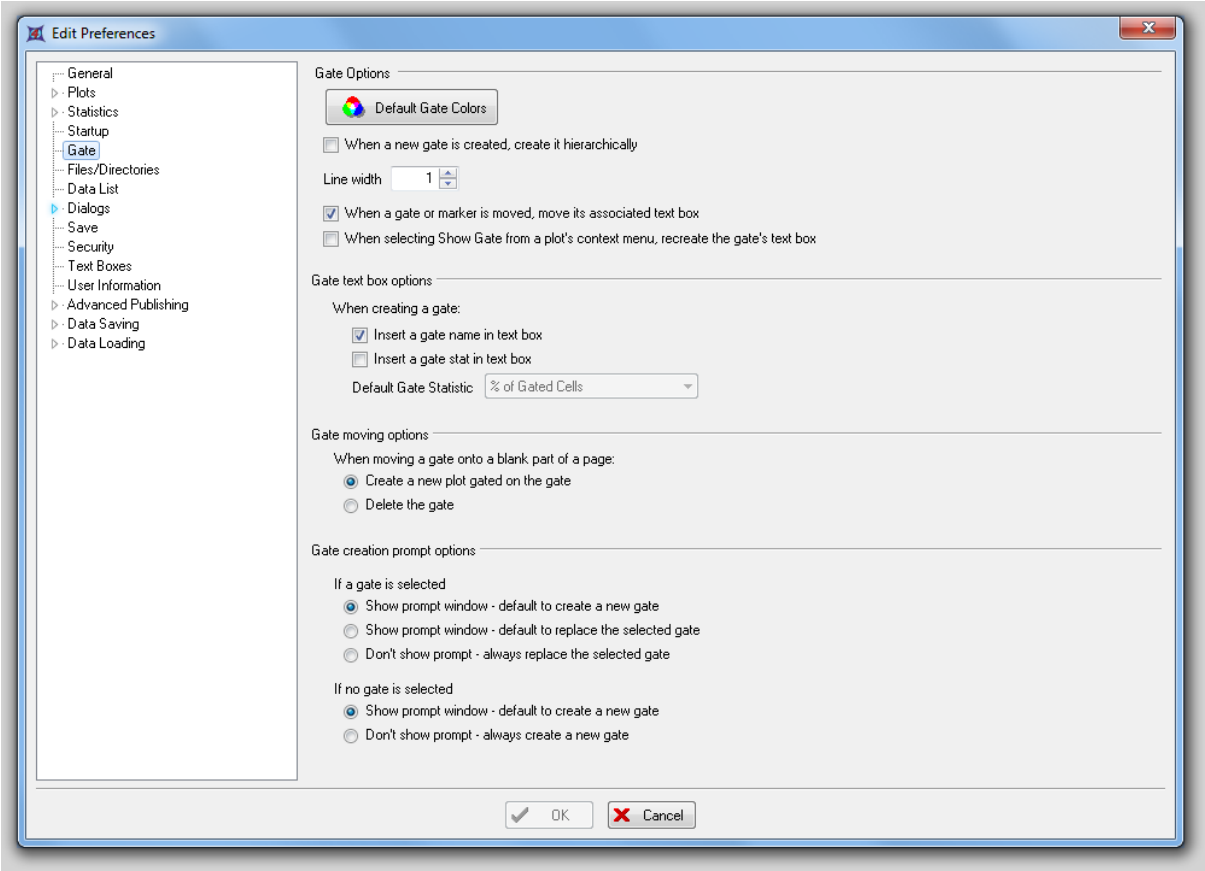


图 8.16 Gate Preferences (**门选项**)

对这些选项的解释见下表。

选项名	解释
Gate Options **(门选项)**	设置绘图上绘制门轮廓的线条颜色和宽度。决定: • 是否要将有层次的门操作193设置为新建门的默认选项。 • 当门或标识移动时，和它们相关的文本框是否也跟着移动。 • 当从绘图的上下文菜单中选择"显示门"命令时，是否重新创建该门的文本框。

选项名	解释
Gate text box **options(门文本框选项)**	定义**Default Gate Statistic(默认门统计)**。决定是否在文本框中插入门的名称或门统计，选择显示哪个门统计。
Gate moving **options(门移动选项)**	当移动一个门到空白页上时，选择是否**Delete the gate(删除门)**或Create a **new plot on the gate(创建一个带有该门的新绘图)**。
Gate creation prompt **options(门创建提示信息选项)**	当一个门被选中时或未被选中时，在此选择显示什么样的提示信息。

8.2.6 文件/路径

Files/ Directories(文件/ 路径)选项允许用户为FCS Express的许多操作选择默认的文件和路径(图8.17)。比如，如果用户经常打开同一模板创建版面，可在这里设置自动打开该模板的默认路径。

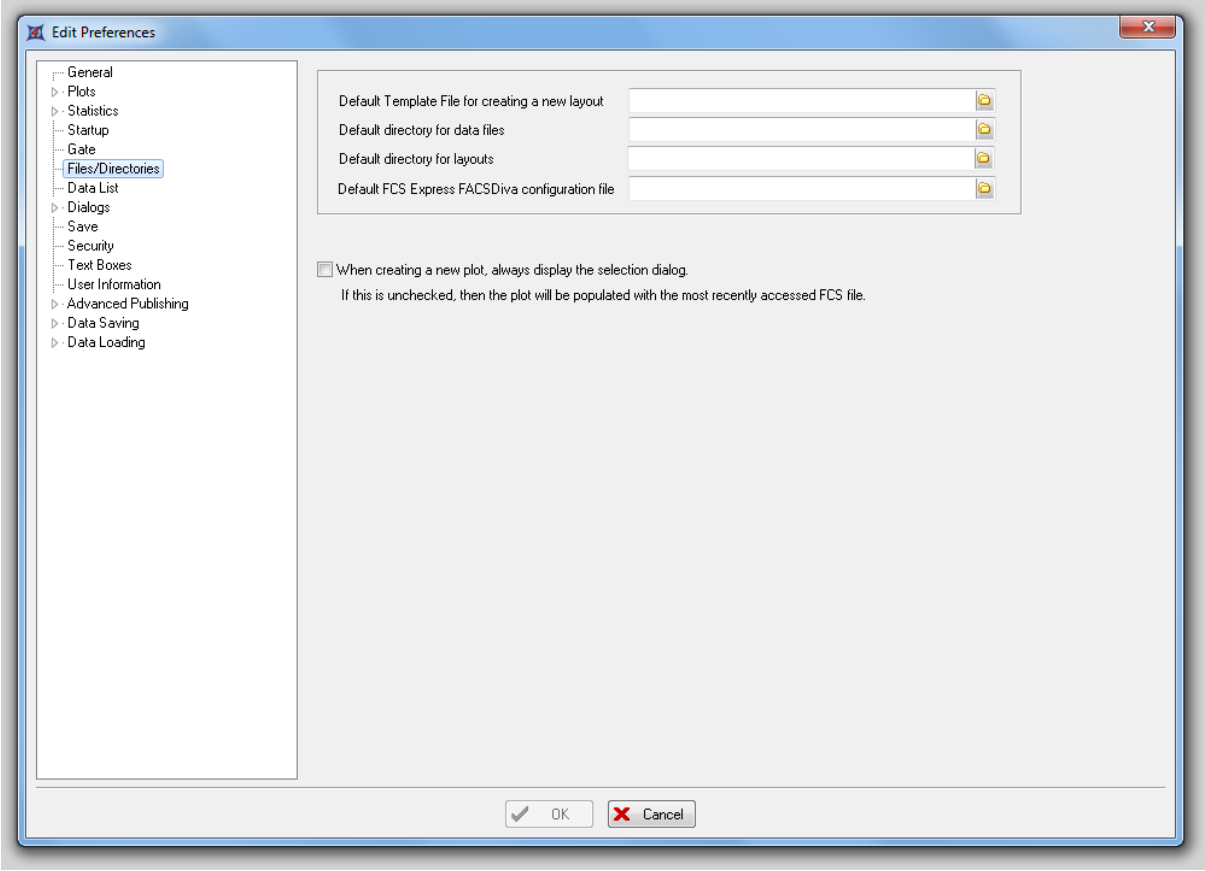


图 8.17 Files/Directories Preferences (**文件/路径选项**)

相关选项描述于下表中。

选项名	解释
Default Template File for creating a new **layout(创建新版面的默认模板文件)**	如果用户经常创建相同的版面，该默认选项会在创建新版面时自动打开该模板。参见使用模板 378一节来获取更多信息。
Default directory for **data files(数据文件的默认路径)**	当第一次打开一个FCS Express版面并需要导入数据文件时，FCS Express会在该路径中寻找数据文件。
Default directory for **layouts(版面的默认路径)**	当第一次打开版面 53时，打开版面对话框会首先在该路径启动。
Default FCS Express FACSDiva **configuration file(默认FCS Express FACSDiva配置文件)**	这是默认的FACSDiva配置文件 386。
When creating a new plot, always display the **selection dialog(创建绘图时，总是显示选择对话框)**	如果选中该对话框，用户会在创建新绘图时总被提示选择数据文件。

8.2.7 *对话框设置*

在FCS Express中的很多地方，用户被要求选择一个关键字、将其作为文本来进行评估和显示，这时就会用到关键字对话框。比如关键字可被插入到绘图标题 146和关键字标识 300中。

Dialogs(对话框)→Keyword Dialog(关键字对话框)中选项允许指明哪些关键字要出现在关键字对话框中(图8.18)。

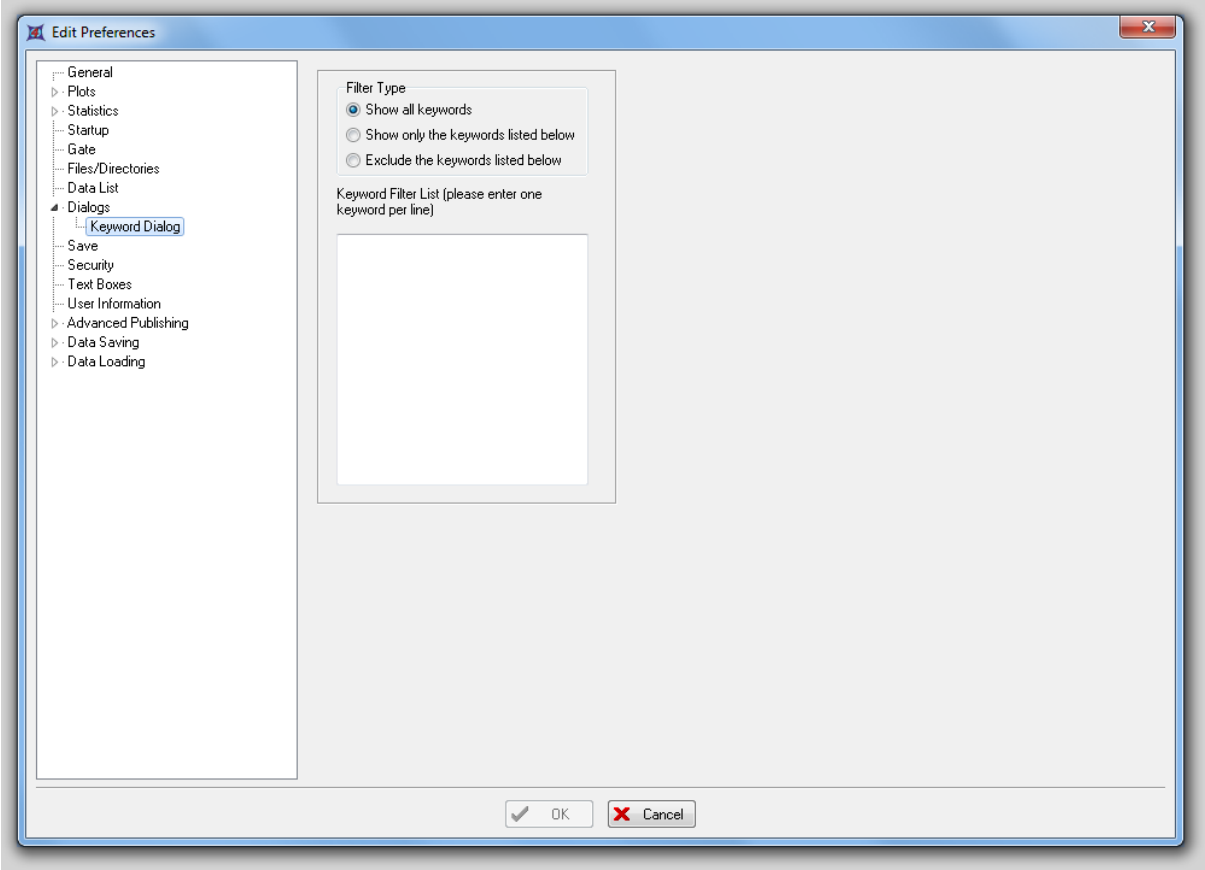


图 8.18 Keyword Dialog Preferences (**关键字对话框选项**)

可以选择以下选项之一:

- 显示所有关键字。
- 只显示关键字筛选列表中的关键字。
- 显示关键字筛选列表中未列出的关键字。

如果不选择**Show all keywords(显示使用关键字)**,则必须在下方的列表框中键入关键字。请在一行中只键入一个关键字。忽略大小写。可用通配符'*'代表任何字符。比如,要只显示以字母"P"开头的关键字,首先选择**Show only the keywords listed below(仅显示下面列出的关键字)**,然后在关键字列表中键入"P*"。

8.2.8 *保存设置*

Save(保存)选项(图8.19)允许用户选择怎样保存版面。这些选项的解释见下表。

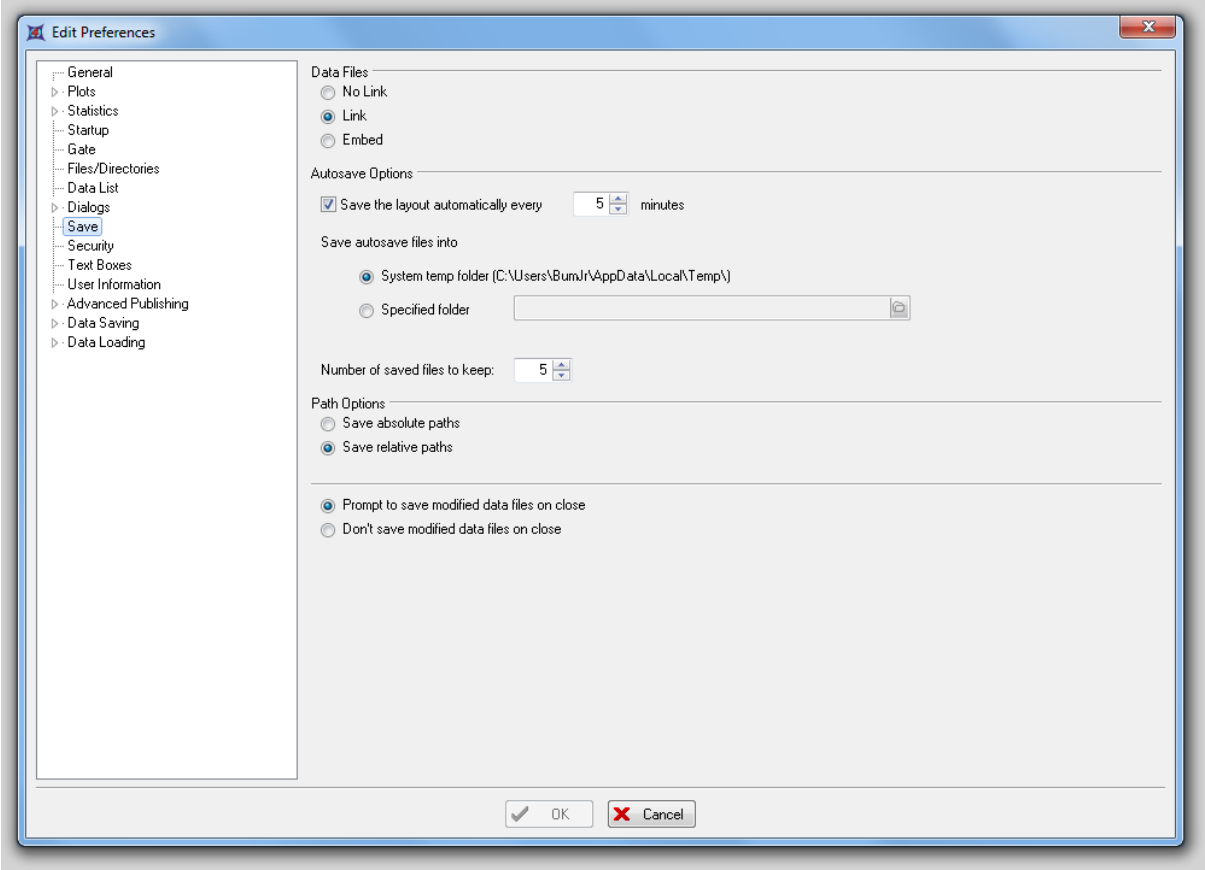


图 8.19 Save Preferences (**保存选项**)

选项名	解释
Data Files(数据文件)	版面链接和嵌入请参见保存版面 51 一节。
Autosave Options(自动保存选项)	版面会自动在指定时间间隔被保存在指定的位置。也可指定自动保存文件的数目。对自动恢复文件的解释，参见此处链接的一节 62。
Path Options(路径选项)	当版面文件和其链接的数据文件一起保存时，FCS Express会保存数据文件的硬盘地址(参见保存版面 51 一节)。 当选中**Save absolute paths(保存绝对路径)**单选按钮时，数据文件的完全路径会被保存。版面移动时不必移动数据文件，因为版面会记住这些文件的原始地址。 选中**Save relative paths(保存相对路径)**单选按钮会保存文件的相对路径。只要数据和版面文件在硬盘或CD的相同相对路径下，数据文件便会调入版面中。如果选择该选项，当移动版面时，用户应该相应地移动数据文件，使其和版面的相对位置与以前相同。 *例如*:假设版面和数据文件在C:\ data里。如果保存版面时选择

选项名	解释
	Save Absolute Paths(保存绝对路径)，版面文件会记住来C:\data里寻找数据文件。如果保存版面时选择Save Relative **Paths(保存相对路径)**，版面文件只会在它所在的文件夹里寻找数据文件，因为该文件夹是数据文件针对版面文件的相对路径(它们都在C:\data)下。如果把版面文件移到了另一个位置(C:\data1)，而把数据文件留在C:\data，选择Save **Absolute Paths(保存绝对路径)**的版面文件仍可找到数据文件，因为版面文件记得数据文件在C:\data里。保存时选择 **Save Relative Paths(保存相对路径)**的版面在该种情况下将找不到数据文件，因为它会在C:\data1里寻找数据文件，版面文件只记得在它所在的文件夹中寻找数据文件。 **Save Relative Paths(保存相对路径)**在把数据移到另一台电脑或外部存储介质例如闪存或CD时很有用，因为只要用户把版面文件和数据文件一起移动，版面文件在打开时就可找到数据文件。
Prompt to save(or Don't save)modified data files on **close(在关闭时提示保存(或不保存)修改过的数据文件)**	用户可以修改文件头信息，并用参数数学[240]来在头信息中创建新的参数。这些操作将创建一个和源文件不同的修改过的数据文件。选择Prompt to save modified data files on **close(在关闭时提示保存修改过的数据文件)**单选按钮会提示用户在关闭版面时保存修改的数据文件。如果选择Don't **save modified data files on close(关闭时不保存修改过的数据文件)**，修改过的数据文件将不会在版面关闭时保存，所做的修改会被丢弃。

8.2.9 安全设置

安全选项允许用户设置密码，以禁止他人修改自己的设置。

注：如果忘记密码，系统将无法恢复该密码保护的用户设置。

8.2.10 文本框设置

文本框选项允许用户为文本框设置默认外观(图8.20)。

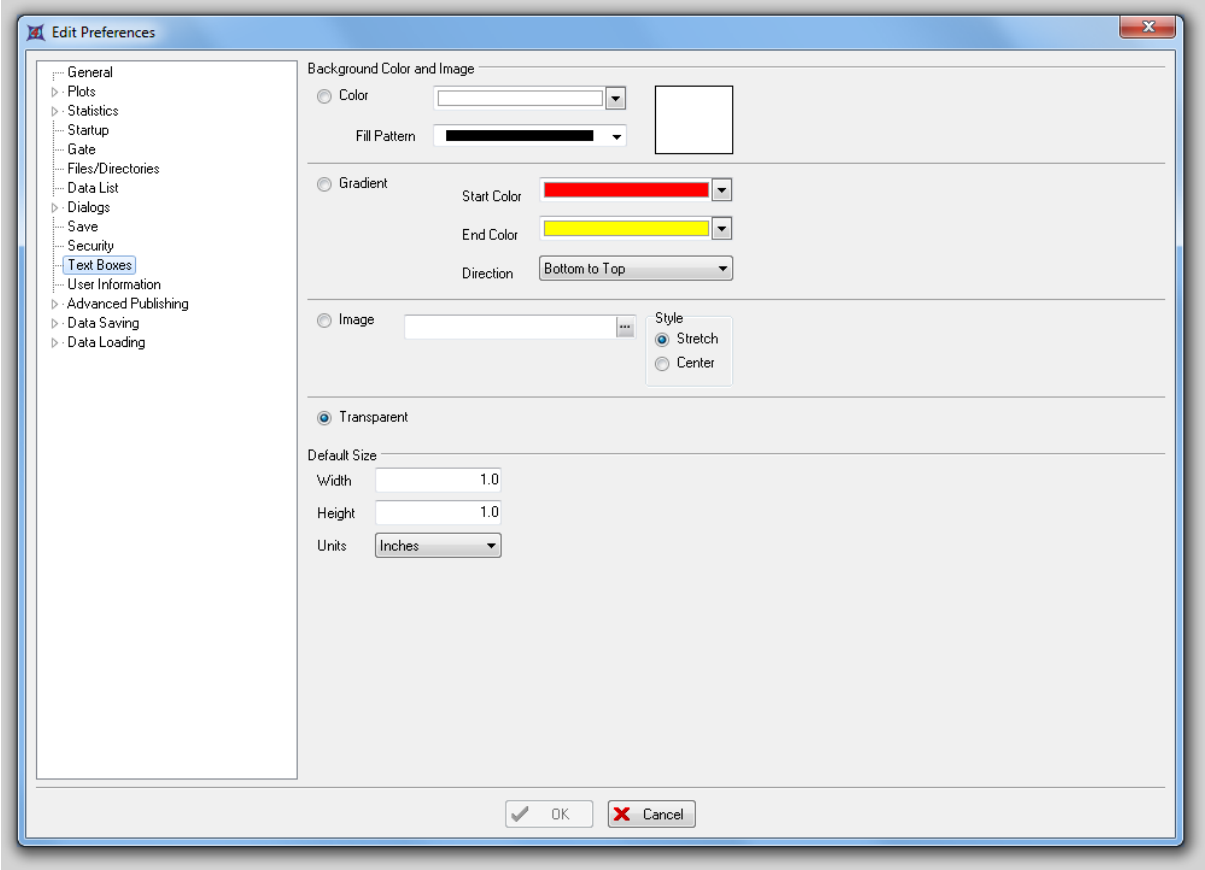


图 8.20 Edit Preferences - Text Boxes (**编辑属性 - 文本框**)

默认背景是透明背景。可选择用颜色或填充样式以及颜色梯度或图片来填充背景。也可设置文本框的默认尺寸。

8.2.11 *用户信息*

在用户信息下(图8.21)，可设置用户电子邮件地址、用户名和机构名。

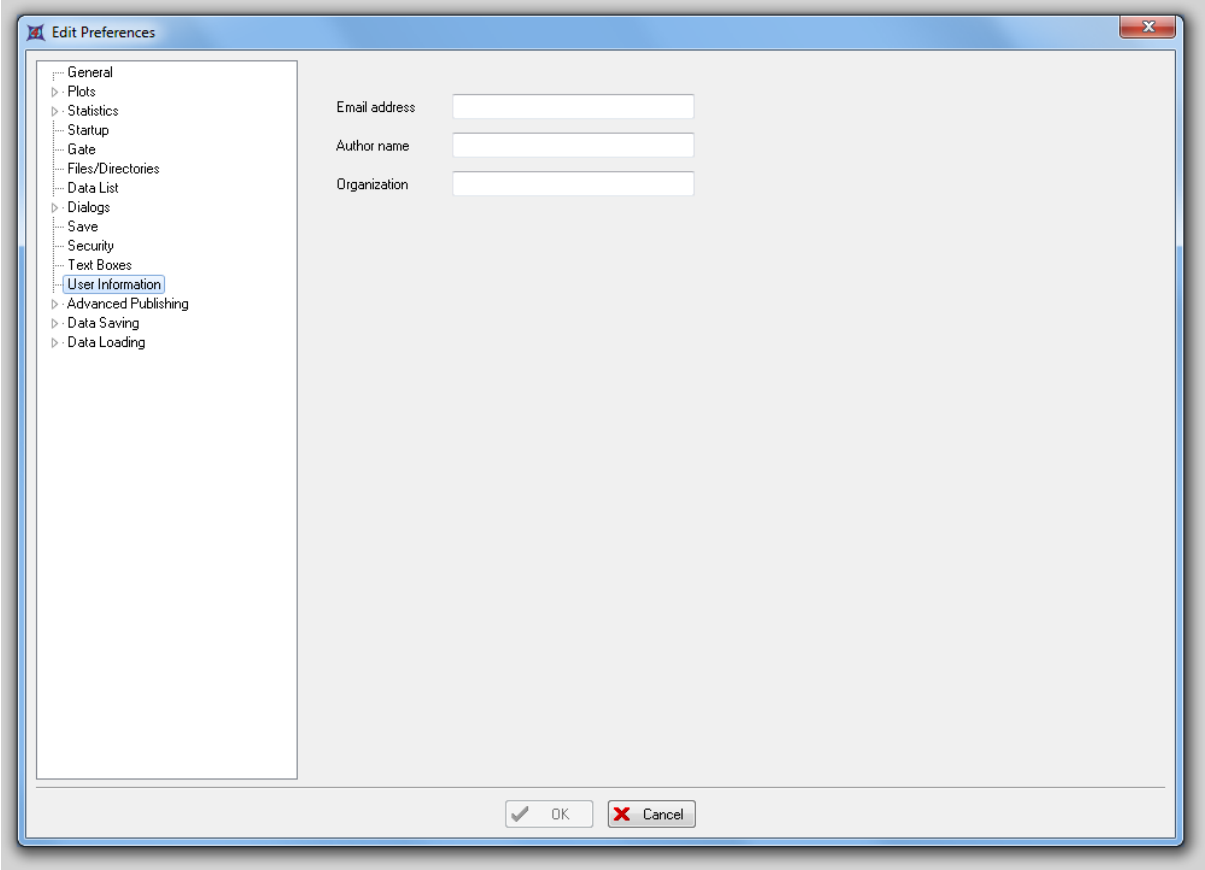


图 8.21 Edit Preferences - User Information (**编辑选项 - 用户信息**)

8.2.12 *高级发布设置*

在高级发布503下有两个子选项类: **Default Permissions(默认许可)**和Publishing **Options(发布选项)**。

默认许可允许用户限制其它用户对发布的版面进行修改和保存。选中该选项将允许该功能发挥作用。用户可为FCS Express中的几乎每一项功能自定义操作权限(图8.22)。

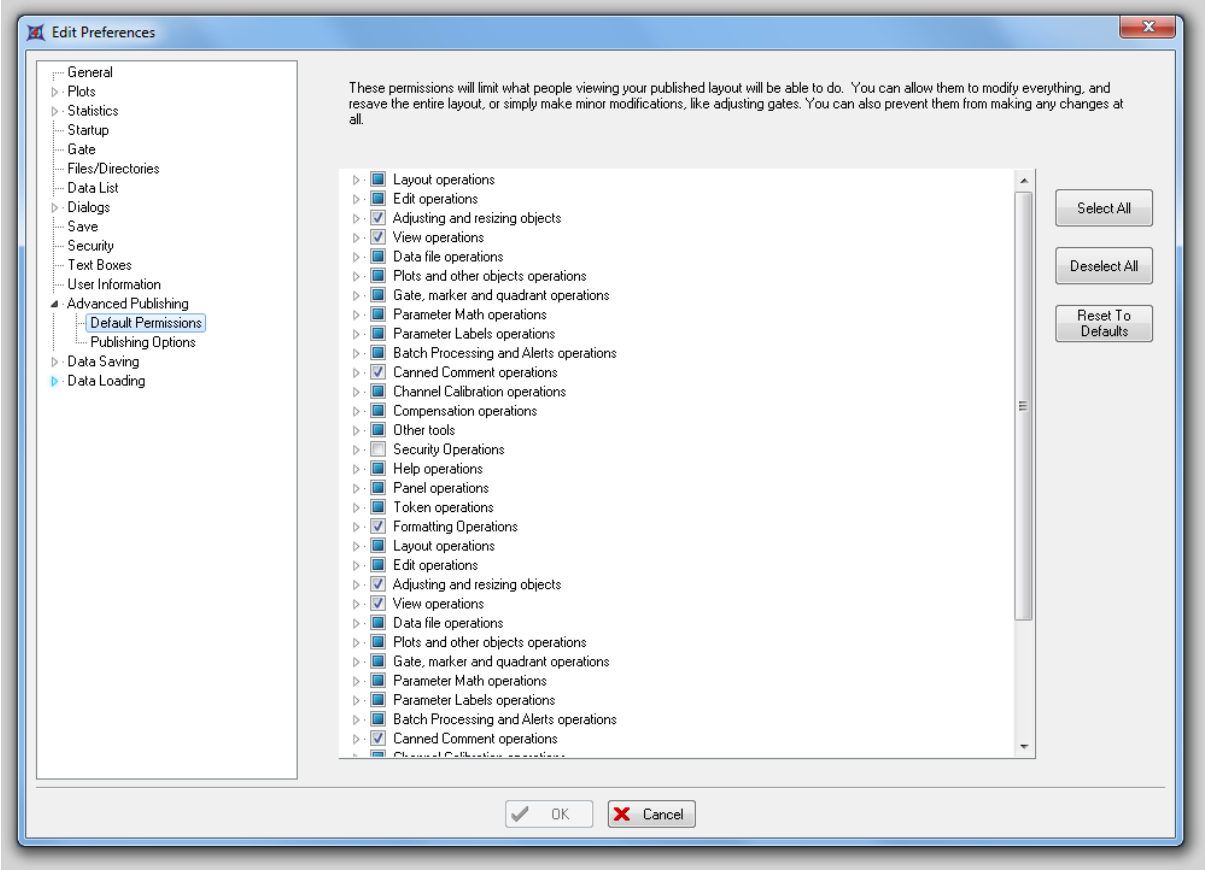


图 8.22 Advanced Publishing Default Permissions (**高级发布默认权限**)

Publishing Options(发布选项)允许用户控制在已发布的版面中是否可进行批处理。另外，可选择是否隐藏页面外的对象或是否允许在发布的页面上进行标记编辑(图8.23)。

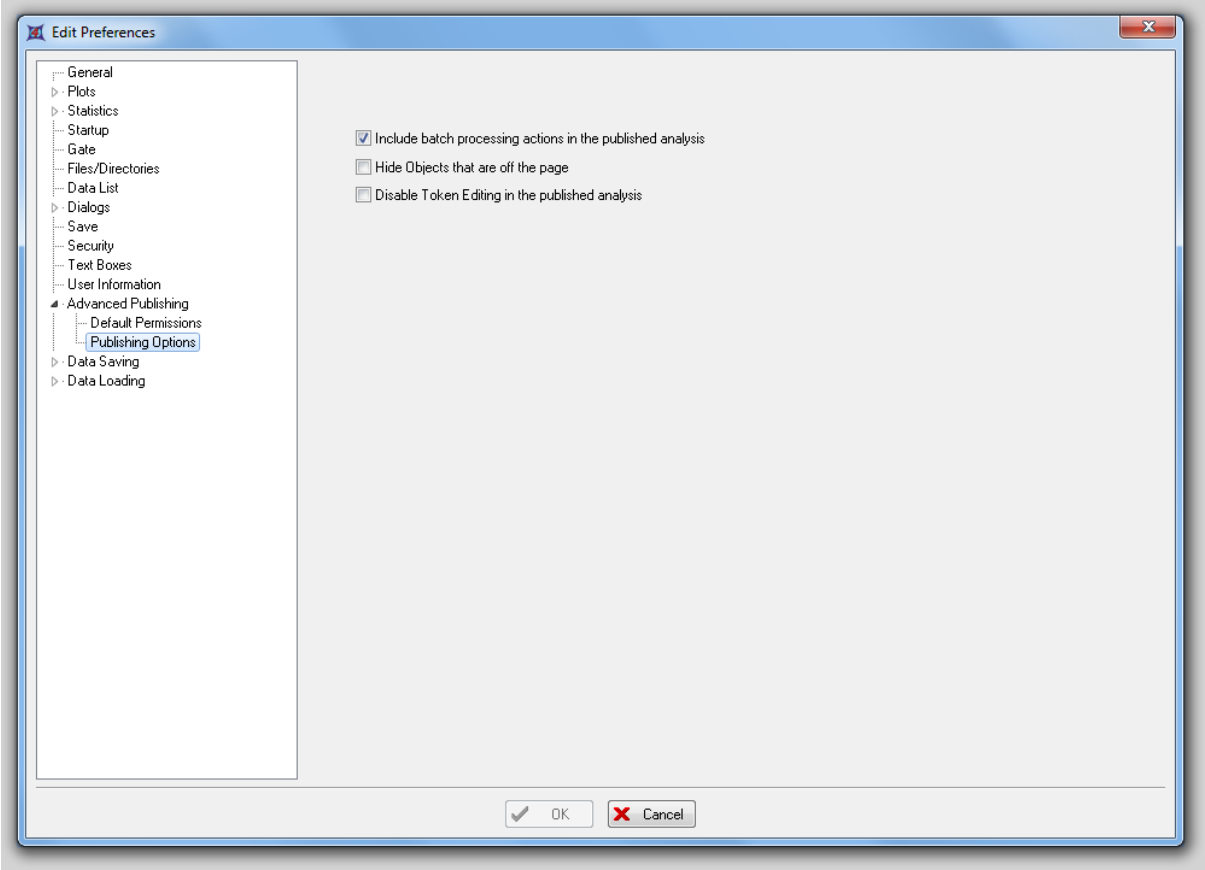


图 8.23 Advanced Publishing Options (**高级发布选项**)

8.2.13 *数据保存*

Data Saving(数据保存)有两个子选项:**Save as Text Format(作为文本格式保存)**和**FCS Format(FCS格式)**。

当将数据作为文本对象保存时,**Save as Text Format(保存为文本格式)**默认选项允许用户选择分隔符(默认为"comma"),并决定是否**Save Headers(保存文件头)**(图8.24)。

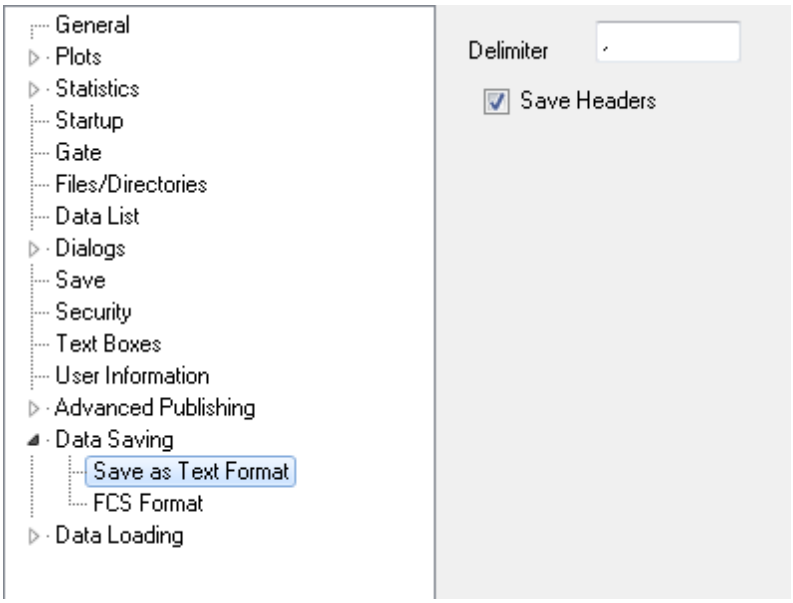


图 8.24 Data Saving - Save as Text Format Preferences (**数据保存 - 保存为文本格式设置**)

在将对象保存为**FCS Format(FCS格式)**时，也可为**Data Format(数据格式)**、**Endian Format(字节序格式)**和**FCS Version(FCS版本)**设置默认格式(图8.25)。

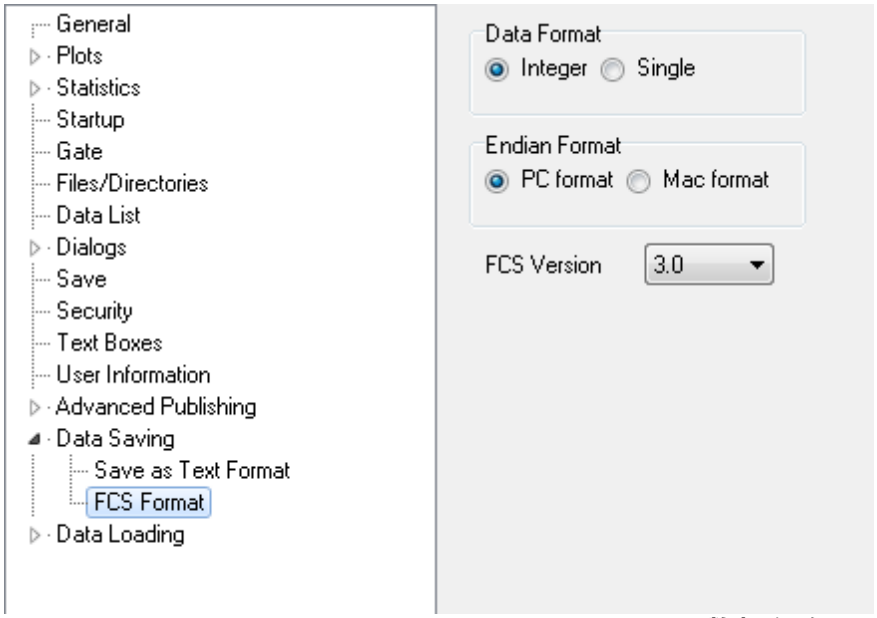


图 8.25 Data Saving - FCS Format Preferences (**数据保存 - FCS格式设置**)

8.2.14 数据导入

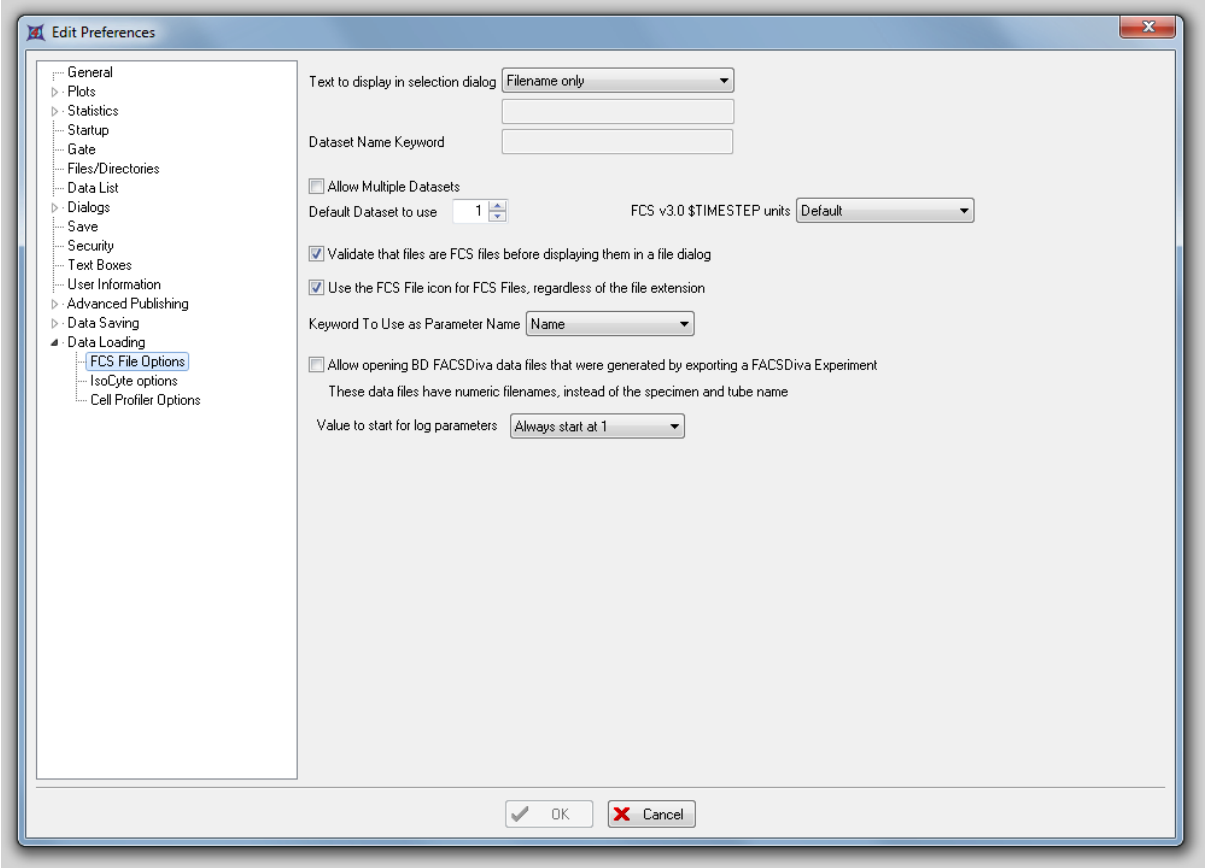
Data Loading(数据导入)选项包括**FCS File Options(FCS文件选项)**和其它仪器数据集属性，包括**IsoCyte options(IsoCyte选项)**和Cell Profiler Options(Cell **Profiler选项)**。

注: FCS Express 4 Flow软件、FCS Express 4 Image软件和 FCS Express 4 Plus软件可能包含不同的数据导入选项。

8.2.14.1 FCS文件选项

该选项只有使用FCS Express 4 Flow或FCS Express 4 Plus时才会出现。

FCS File Options(FCS文件选项)(图8.26)允许用户设置在数据选择对话框中浏览FCS文件的方式(比如在修改文件106、将文件加入数据列表328或插入新绘图105时)。对这些选项的解释见下表。



他 8.26 Edit Preferences - FCS File Options (编辑选项 - FCS文件选项)

选项	解释
Text to display in selection dialog(在选择对话框中显示文本)	FCS Express允许显示关键值(例如SAMPLE ID(样品名))和文件名。要获取关键字列表，使用Data(数据)

选项	解释
	→Data Info(数据选项)→View Header(查看文件头)命令，选择一个FCS文件，点击**All Keywords...(所有关键字...)**按钮。 从下拉式列表中选择**The text below(下方的文本)**来为下方的编辑字段解锁。键入用户想查看的关键字并用<和>将关键字括起来。比如，*<$SAMPLE ID(样品名)>*会将样品名作为文件名显示。
Dataset Name Keyword(数据集名称关键字)	从多组数据集选择数据时，为默认数据集选择一个关键字作为其数据集名称。
Allow Multiple Datasets(允许多重数据集)	一些FCS文件包含多重数据集。选中该选项，这些嵌入的数据集会被选中。
Default Dataset to use(默认数据集)	当**Allow Multiple Datasets(允许多重数据集)**未被选中时，该选项指明哪一个数据集会被默认导入。这种情况下，当用户从一个有多重数据集的对话框中选择一个文件时，FCS Express会导入指明的数据集，而非显示一个数据集列表。若该数据集不存在，FCS Express会导入文件中的第一个数据集。
FCS v3.0 $TIMESTEP units(FCS v3.0版本$TIMESTEP单位)	在FCS Express中显示时间参数时，从下拉菜单中选择时间单位。
Use the FCS File icon for FCS Files, **regardless of the file extension(不管文件后缀，为FCS文件使用FCS文件图标)**	FCS文件可以不同的后缀命名。选中该选项，FCS Express会检查所有文件看其是否是FCS文件(不考虑其后缀)，并用统一的图标显示这些FCS文件。注：该选项可能减慢文件对话框的显示速度。
Keyword To Use as Parameter Name **(关键字作为参数名使用)**	从下拉列表中选择关键字(或关键字组合)作为参数名使用。
Allow opening BD FACSDiva data files that were generated by **exporting a FACSDiva Experiment(允许打开FACSDiva Experiment导出生成的BD FACSDiva数据文件)**	选择该选框来打开从BD FACSDiva导出的由数字命名的文件。参见http://www.denovosoftware.com/site/FAQDivaInvalidDataMessage.shtml#QInvalidDivaDataMessage网页上详细的解释。最好可用FACSDiva将实验数据重新导出文件。
Value to start for log parameters(对数参数的起始值)	从下拉式菜单中选择对数坐标上参数的起始值。

8.2.14.2 IsoCyte选项

只有FCS Express 4 Image Cytometry和FCS Express 4 Plus有该选项。

当导入IsoCyte数据时，可选择**Load cell images(导入细胞图像)**或**Load as Plate(作为细胞板导入)**(图8.27)。

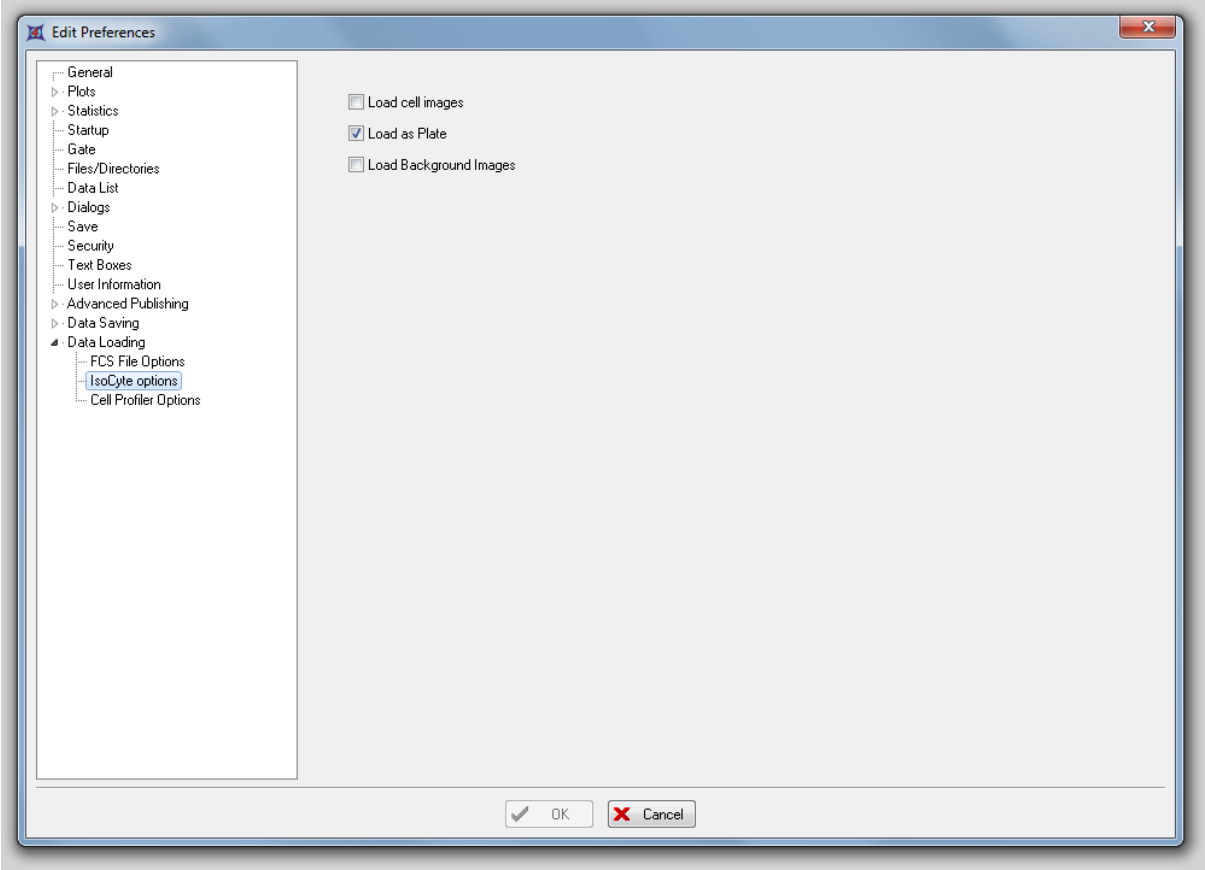


图 8.27 IsoCyte Data Loading Options (IsoCyte**数据导入选项**)

8.2.14.3 Cell Profiler选项

当从CellProfiler导入数据时，可选择**File delimiter(文件分隔符)**格式，或者是字符分隔值(.csv)文件或制表符分隔文件。也可选择是否**Load Images(导入图片)**、**Load path names from Cell Profiler table of contents file(从Cell Profiler内容文件表格导入路径名)**或**Load Background Images(导入背景图片)**(图8.28)。

如果勾选了**Load path names from Cell Profiler table of contents file(从Cell Profiler内容文件表格导入路径名)**，FCS Express会尝试从Cell Profiler内容文件表格指定的文件夹中导入图片。如果未选该项，FCS Express会尝试从CellProfiler文件所在的文件夹中导入图片。

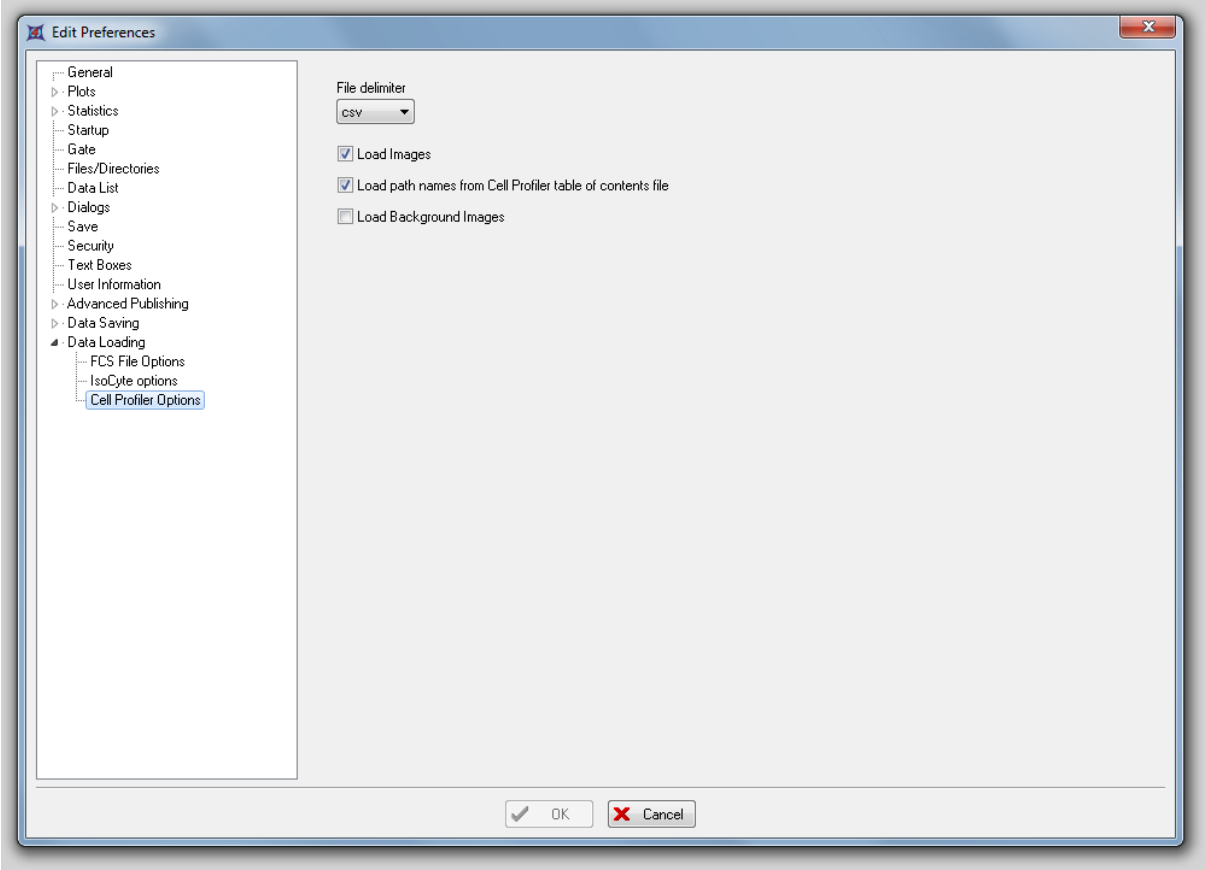


图 8.28 Cell Profiler Data Loading Options (Cell Profiler**数据导入选项**)

8.3 格式化所有对象共享的选项

该节讨论适用于版面中几乎所有对象的背景、边框和尺寸选项。对象包括文本框、绘图、柱状图、统计和图片等。这些选项可针对单个对象进行设置，而自定义过程适用于所有对象。

该节选项可由两种方法设置:

- 选中文件，使用Ribbon条上相关命令组**Format(格式)→Object Options(对象选项)**中的命令。
- 右键点击对象，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Background(背景)**、**Border(边框)**或**Size(大小)**类。在该方法中，**Preview(预览)**键使用户在使用命令前先预览其结果，而**Restore(恢复)**键可恢复对象到其先前状态。也可通过快捷工具条上的撤销键 32恢复对象到其先前状态。

8.3.1 *一般设置*

对大多数对象来说，仅有的一般属性选项是该对象的名称。对绘图来说，名称属性是显示在列表中的该绘图的名称，在这些列表中用户可选择绘图。名称也用在显示对象的导航器 72上。名称选项字段也包括为该名称插入一个标记的选项，插入方法是点击编辑字段右边的T按钮。

用户有两种方法来编辑**General(一般设置)**属性。

- 选择对象，然后使用**Format(格式)→Object Options(对象选项)→General(一般设置)**命令。
- 右键点击对象，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**General(一般设置)**。

Data Grids(数据网格)有一些额外的一般属性选项(图8.29)。

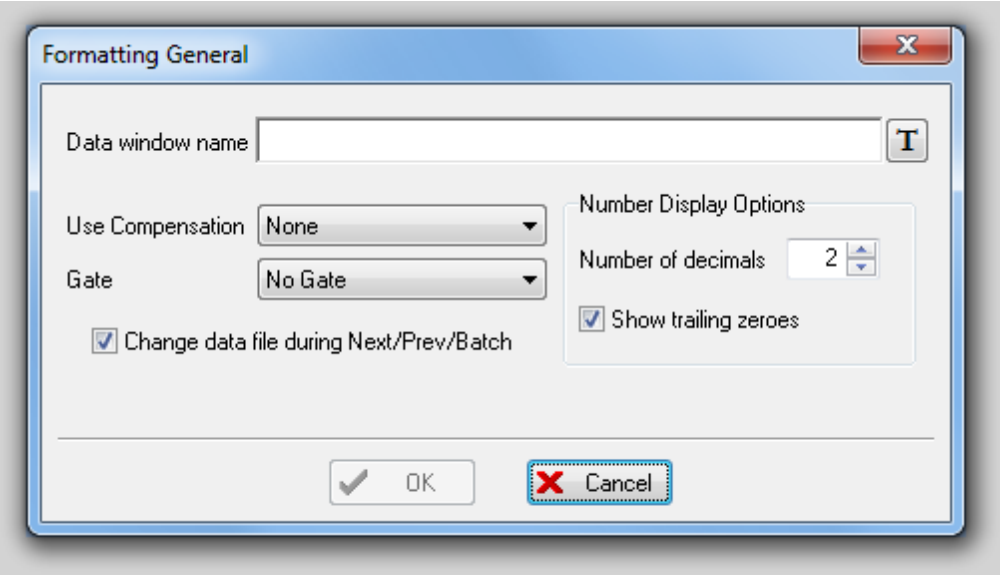


图 8.29 Formatting General Dialog for Data Grids (数据网格的一般格式化选项对话框)

除了一般性的名称属性(被称作**Data window name(数据窗口名)**)外，用户也可选择补偿262定义、哪个门来显示数据网格数据、如何在数据网格显示数据以及是否在批处理326或执行Next(下一项)或Previous(前一项)命令时修改数据等。

8.3.2 背景

Background(背景)选项(图8.30)允许用户修改对象的背景外观。要个性化设置背景，点击对象边框。当对象处于编辑或选中模式，背景是在红色或绿色边框内的区域。

可用两种方式格式化背景:

- 选择对象，使用**Format(格式)→Object Options(对象选项)→Fill(填充)**命令。
- 右键点击对象，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Background(背景)**选项。

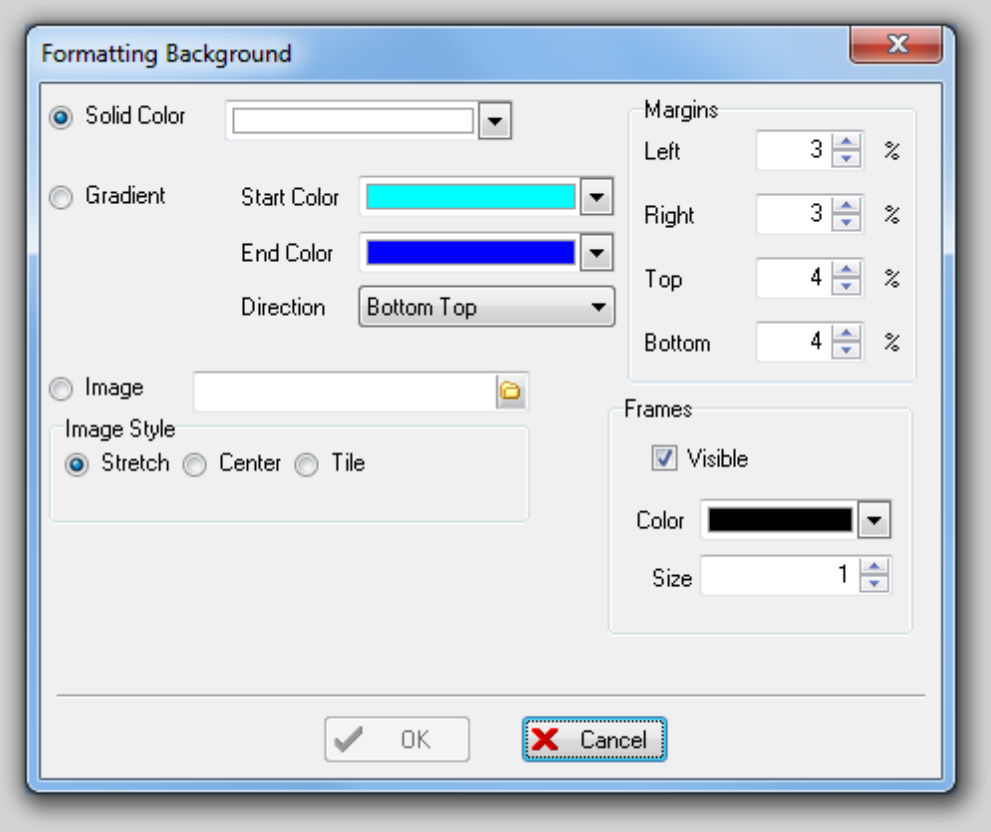


图 8.30 Formatting Background Dialog for a Plot (**针对绘图的格式化背景对话框**)

对话框打开后，可选择背景颜色(纯色或渐变色)。除了颜色外，可设置图像在背景上居中、拉伸或平铺。

对于一些对象(例如文本框、门视图或形状)，对话框的标题是Formatting Fill/ **Background(格式化填充/ 背景)**。用这些选项，可选择一个图案作为填充或将背景变成透明。透明化允许后面的对象显现出来。绘图不支持**Transparent(透明)**选项。

在格式化绘图时，通过**Margins(边界)**选项，可设置绘图的边界区域。该选项在绘图最右边的x-轴坐标标签被切掉时非常有用。若要避免这种情况发生，增加右边界的百分比来增加x-轴末端和右边界间的空间。

Frames(边框)选项(针对绘图)控制绘图上方和右侧的边框线是否可视。在此可设置边框线的颜色和粗细。

8.3.3 *边框和尺寸*

Border/ Line(边框/ 线条)选项(图8.31)允许用户调整对象的边框。默认情况下，对象不带有边框。

当对象处于编辑或选中模式下，任何边框都会在紧贴红色或绿色轮廓内部出现。用户有两种

方式来个性化设置边框和线条选项:

- 在对象处于编辑或选中模式下，使用**Format(格式)→Object Options(对象选项)→Border/ Line(边框/ 线条)**命令。
- 右键点击对象，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Border(边框)**(或 Line **(线条)**)选项。

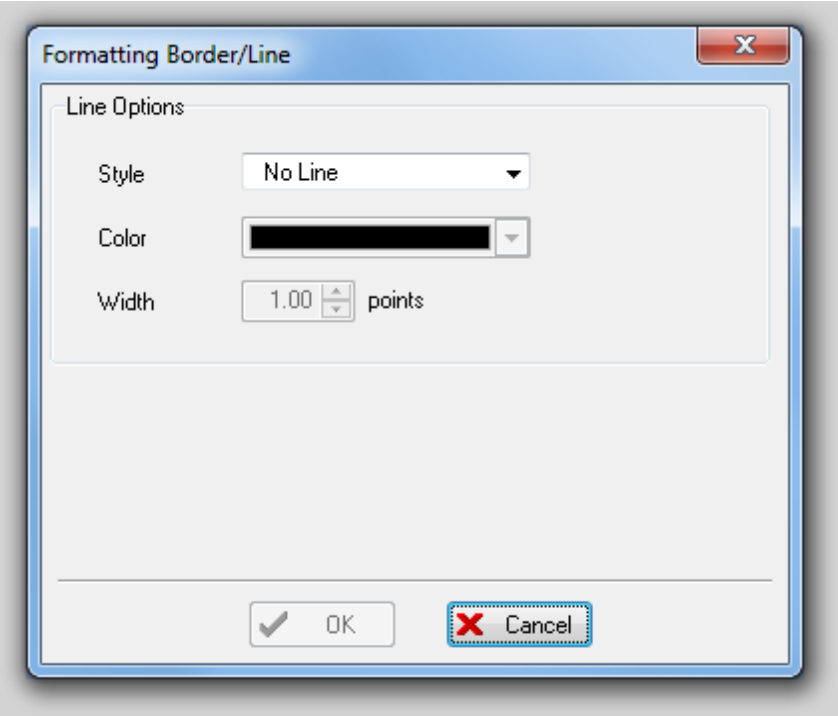


图 8.31 Formatting Border/Line Dialog (**格式化边框/线条对话框**)

Size(尺寸)选项(图8.32)用来调整现有对象的大小。所有尺寸的单位都是英寸。

要改变对象的尺寸，在对象处于编辑或选中模式下，使用**Format(格式)→**Object **Options(对象选项)→Size(尺寸)**命令，或右键点击对象，从下拉菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Size(尺寸)**选项。用户可修改绝对尺寸，或根据一定百分比缩放对象。选中**Lock Aspect Ratio(锁定宽高比)**复选框来保证对象宽高以同样比率改变(因而保持对象尺寸比例)。

原始尺寸只对插入的图片有意义。对于其它对象，原始尺寸总是和当前尺寸相同。

注:当要修改尺寸的对象是含有标记、表格或文本的文本框时，将不可能把文本框缩小至小于文本尺寸或标记和表格的尺寸(参见改变文本框大小 98)。

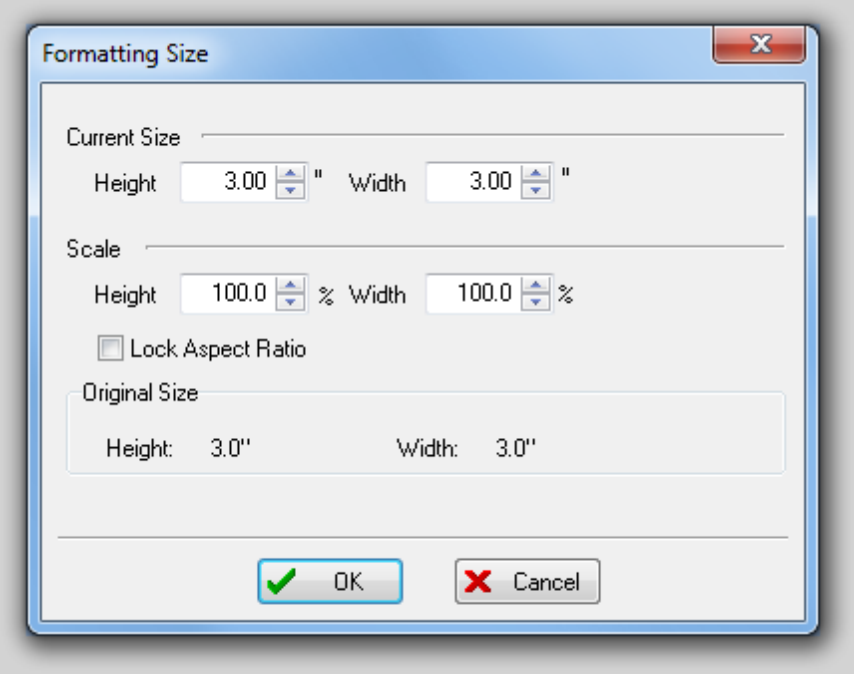


图 8.32 Formatting Size Dialog (**格式化尺寸对话框**)

8.4 格式化所有绘图共享的属性

除了所有对象共有的格式化选项140外，FCS Express所有绘图共享一些基本属性，比如标题、图例和三维属性。这些选项可让用户完全个性化设置每个绘图的外观。如果常打开具有相同属性的绘图，可设置改变默认的绘图选项113。

用户总可以通过右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**然后选择一项命令来格式化绘图。

绘图格式化之后:

- 点击OK来应用这些更改。
- 点击**Cancel(取消)**来放弃这些更改，关闭对话框，回到原先的绘图设置。
- 点击**Preview(预览)**，在真正使用这些修改前查看预览。**Preview(预览)**之后，点击OK来应用这些更改。
- 点击**Restore(恢复)**来放弃更改，继续编辑绘图。

通过点击绘图，然后选择Ribbon条上的格式标签38里的命令，也可修改很多属性。但是，这种方法没有预览和恢复功能。

8.4.1 分辨率概述

柱状图157和二维绘图164的分辨率选项位于Histogram(柱状图)→Histogram Specific Options(柱状图特定选项)162和Dot Options(点选项)→Binned Dot(or Plot)Specific Options(区间化的点(或绘图)特定选项)173下的**Formatting(格式化)**对话框。为这两类绘图设置的属性略有不同，但基本功能近似。

在这里我们要理解的关键概念是"什么是绘图的分辨率?'

分辨率是指数据被细分成*数据区间*(或称数据管道)的数目。显示绘图时，FCS Express将数据压缩到由用户选择的一定数目的数据区间里。该过程称为*数据分区*。这些数据区间里的数据的数目显示于绘图中。当分辨率低的时候，数据被压缩进较少的数据分区里，意味着数据分区里的数据数目较多。这就是为什么在柱状图、轮廓图和密度图中，当分辨率被降低时，图中的数据峰值会升高。FCS Express把数据放进数据区间的方法由坐标系203决定。

注:无论绘图上的分辨率有多高，统计运算都是基于整体数据进行的。

在FCS Express中，可以设置分辨率的具体值，而且控制显示的数据范围(最小和最大值):

- **分辨率值**
  - o 在柱状图中(图8.33)，可为正在使用的数据选择一个特定的分辨率区间，或从下拉菜单中将分辨率设置为一个具体值。

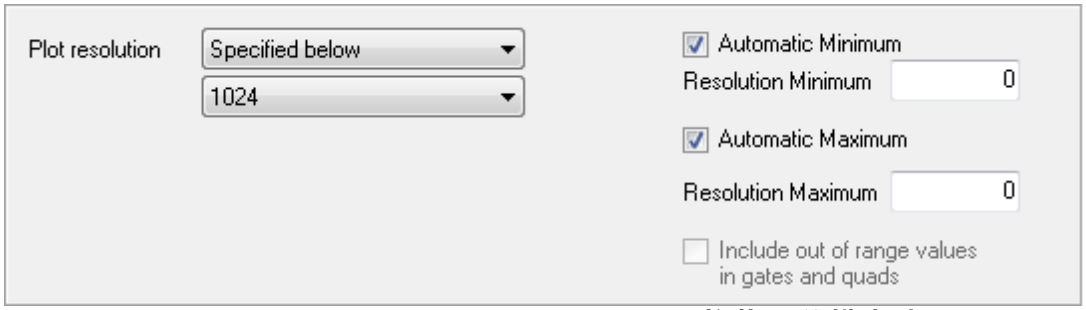


图 8.33 Histogram Resolution Options (**柱状图分辨率选项**)

  - o 对于二维绘图(图8.34)，用户可从下拉菜单中选择分辨率(32 x 32到1024 x 1024)。

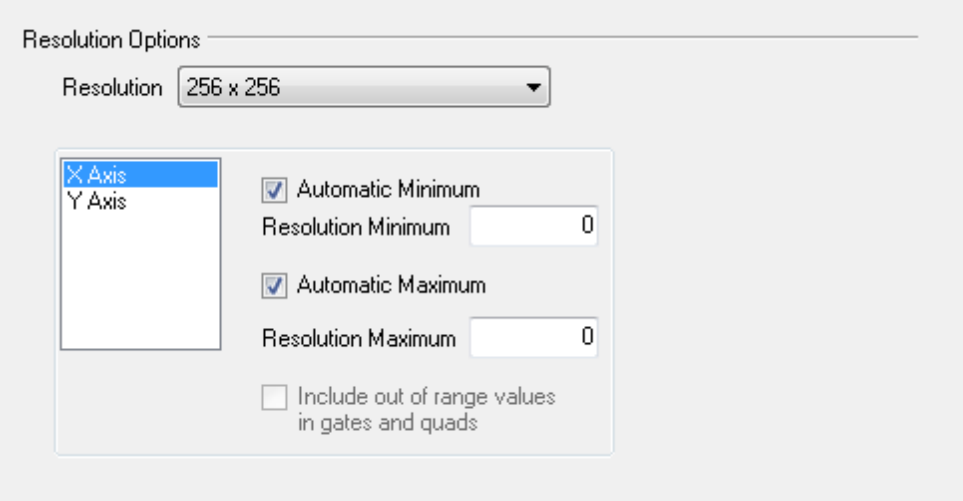


图 8.34 2D Plot Resolution Options (**二维绘图分辨率选项**)

- **Range of Data(数据范围)(即最小和最大值)**

  FCS Express让用户选择把全部数据设置到指定的分辨率(数据区间的数目)，或"切掉"数据头部或尾部的数据。在大多数情况下，选择把最大和最小值设置成默认值，即*自动*设定。设置最小和最大值出于两个考虑。第一是在某些情况下，一些设备保存极值。通常这只是噪音，不是有用的数据。如果在计算绘图时包括极值数据点，很大范围的信息将被丢失。这时，可通过设置极小或极大值来排除这些极值数据以包含更有意义的数据。第二个设置极小或极大值的原因是为小段数据提供详细的放大功能。用户可决定是否在门和象限中包括超出数据范围的数值。

- **Include Out of Range values in gates and quad(在门和象限中包括超出数据范围的数值)**

  如果用户还未选择在分辨率上使有最小和最大值，绘图中可能在可视区外仍有数据。通过选择**include out of range values in gates and quads(在门和象限中包括超出数据范围的数值)**，用户可选择是否在该绘图上的门和象限里包含这些数据。如果选中该项，并且门碰触到绘图的极限边界，那么该边界以外的数据会被包含在该门中。绘图上该边界外的数值也会包含在相应象限里。

8.4.2 *标题*

标题格式选项控制每个绘图上标题(头标题和脚标题)的文本设置和外观显示。

可用以下两种方法编辑标题选项:

- 选中绘图，使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Title(标题)**命令(图8.35)。

- 右键点击对象，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Titles(标题)**选项。

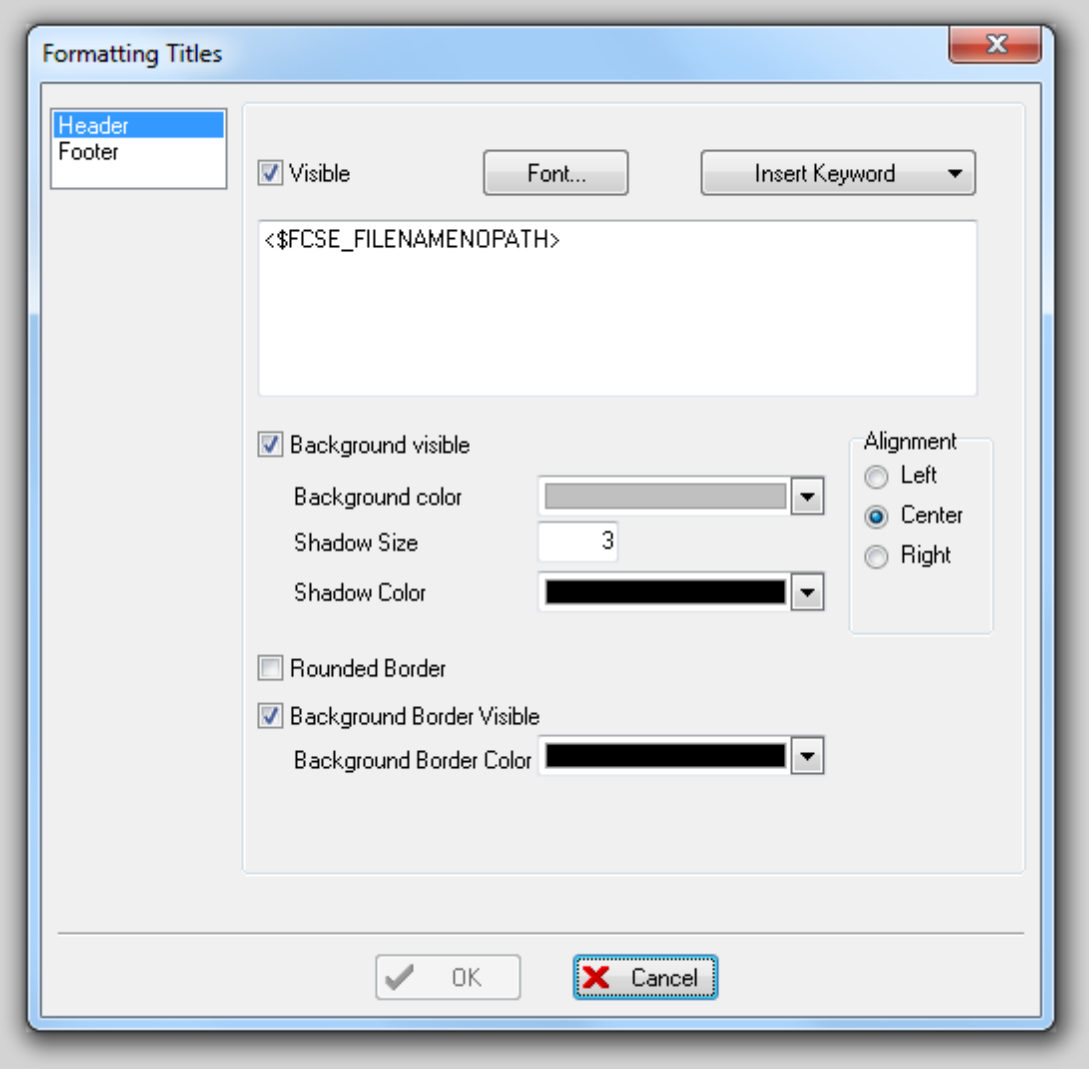


图 8.35 Formatting Titles (**格式化标题**)

标题可见是绘图标题的默认选项，位置'居中'、灰色背景、带有阴影和黑色边框。默认的标题文本是文件名关键码<$FCSE_FILENAMENOPATH>，代表含有补偿信息的文件名(不含硬盘\ 文件夹信息)。

标题文本选项解释见下表。

选项	解释
Header/**Footer(头标题/脚标题)**	从对话框的左上角选择Header(头标题)或Footer(脚标题)来决定编辑哪个文本框。头标题和脚标题可同时存在。
Visible(可视)	选中或不选中该项来显示或不显示头标题和脚标题。
Font(字体)	自定义头/脚标题字体样式、大小和文本颜色。
Text Field(文	在该字段为绘图键入头/脚标题文本。选择的关键字会以代码出现在该文本字

选项	解释
本字段)	段中，但在实际标题中会显示为相关的文件值。
Insert **Keyword(插入关键字)**	可在绘图标题中使用的特殊关键字下拉菜单。可选以下选项: • **FCS keyword(FCS关键字)**。打开针对现有文件的FCS关键字列表。从该列表中选择一个关键字作为头/脚标题来插入。重复此步加入更多的关键字。 • **File name with Path(带有路径的文件名)**。显示包括盘符和文件夹的数据文件名。 • **File name without path(不含路径的文件名)**。显示不带盘符和文件夹路径的数据文件名。 • **Current Gate(当前门)**。显示处于最底层的门的名称。

可通过更改背景、阴影宽度、阴影颜色及相对于绘图的对齐方式来自定义头标题和脚标题的外观。选择相应的"visible(可视)"复选框来激活该选项。要移除阴影，把**Shadow Size(阴影宽度)**设置为0。**Rounded Border(圆角边框)**复选框控制围绕头标题和脚标题的边框是否带有圆角(图8.36)。

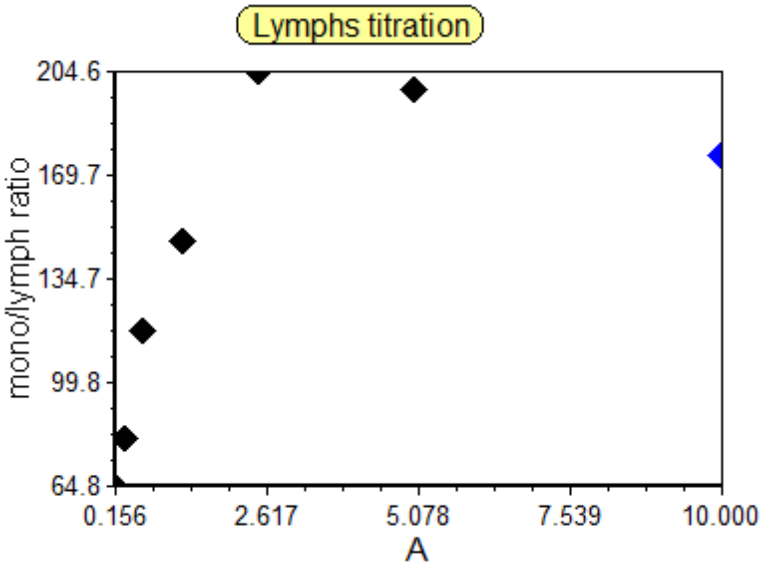


图 8.36 Header Title with Rounded Border (**带有圆角边框的头标题**)

8.4.3 *图例*

图例格式化选项控制和绘图相关的图例的外观和位置。

用户可用以下两种方法编辑图例选项:

- 选择该绘图，使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Legend(图例)**命令(图8.37)。
- 右键点击对象，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Legend(图例)**选项。

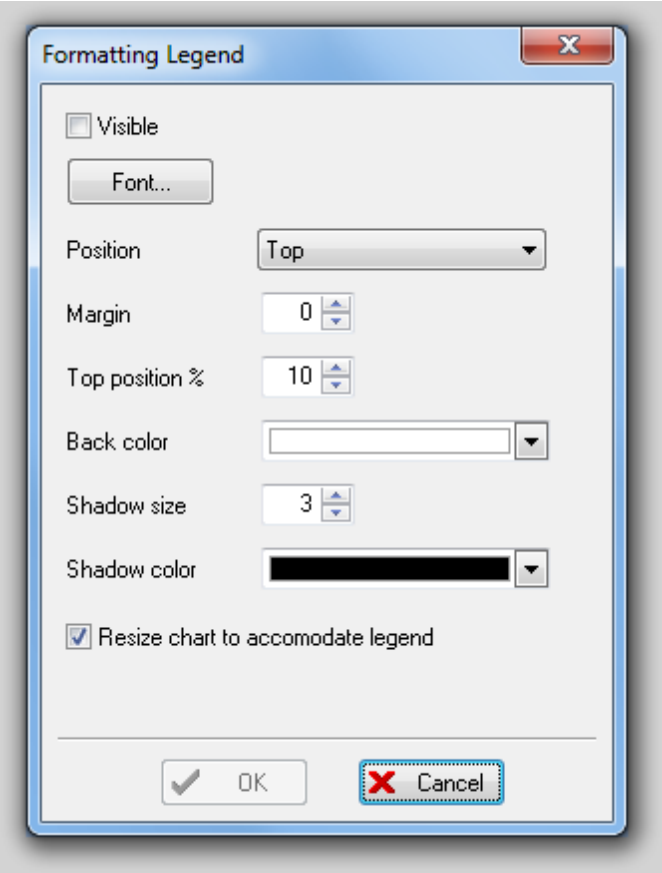


图 8.37 Formatting Legend Dialog (**格式化图例对话框**)

图例选项解释见下表。

选项	解释
Visible(可视)	选中或取消选择来显示或不显示图例。
Font...(字体...)	自定义图例字体样式、大小和文本颜色。
Position(位置)	设置图例的位置在绘图的上、下、左或右方。
Margin(边界)	设置图例离绘图有多远。Margin = 0为自动计算边界。
Top position %(上方位置百分比)	设置图例上缘所处的位置。
Back color(背景色)	为图例设置背景色。
Shadow size and **color(阴影尺寸和颜色)**	该值设置阴影的尺寸。0代表没有阴影。从下拉菜单中选择颜色。
Resize chart to accommodate **legend(根据图例调整图表大小)**	选中该复选框来调整绘图大小以容纳图例。不选该选项，图例和绘图会交叠。

8.4.4 坐标轴

坐标轴选项控制绘图坐标轴的外观和文本格式。

可用以下两种方法编辑坐标轴选项:

- 选择绘图，使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Axes(坐标轴)**命令(图8.38)。
- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Axis(坐标轴)**选项。

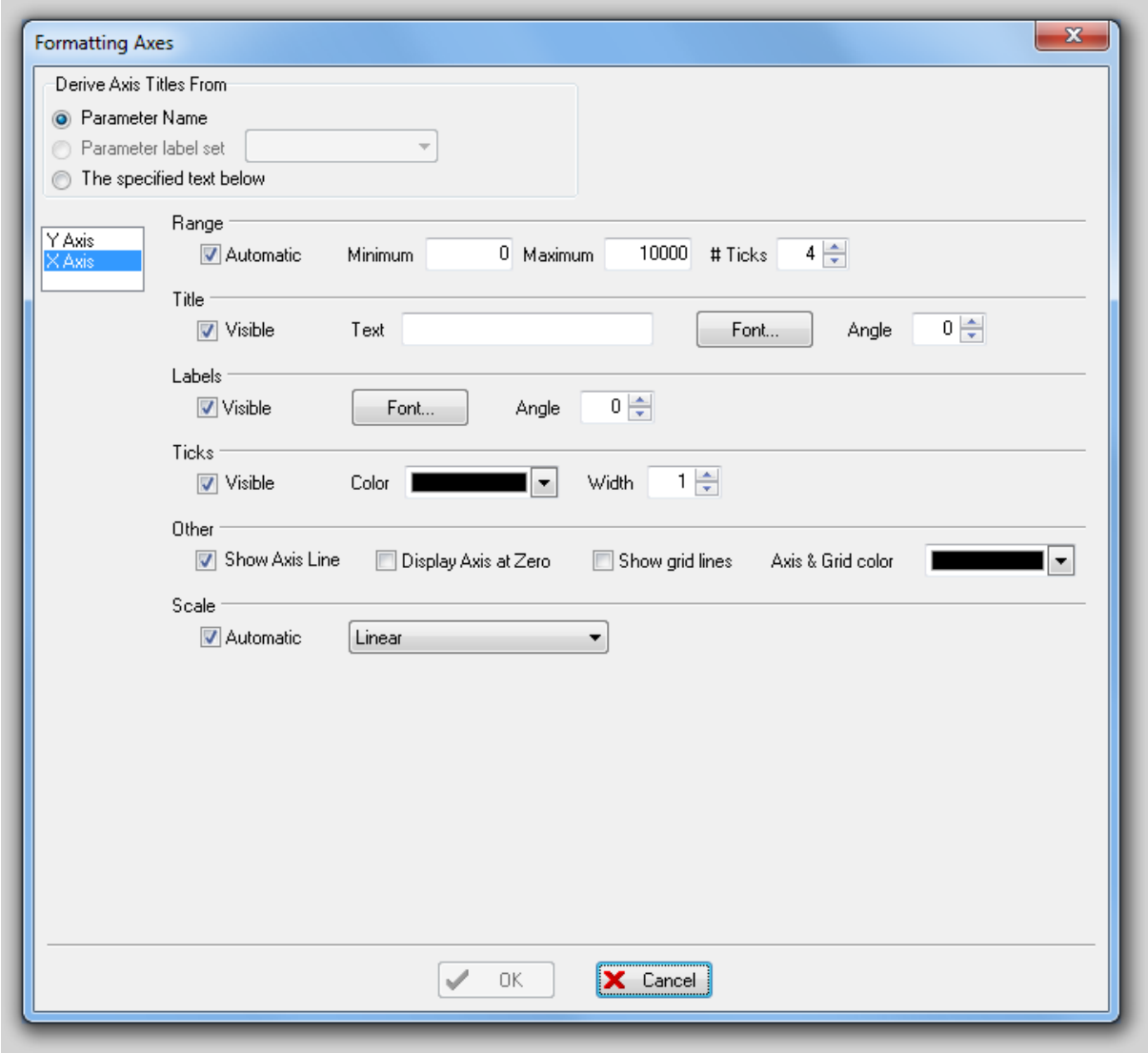


图 8.38 Formatting Axes Dialog (**格式坐标轴对话框**)

选项解释如下表。用**Visible(可视)**复选框，可决定显示哪些选项。

选项	解释
Derive Axis **Titles From(从...衍生出坐标轴标题)**	选择**Parameter Name(参数名称)**、Parameter label set(参数标签组)210(如果已经定义了一个标签组)或**Text(文本)**字段输入的文本(在下方**Title(标题)**处)。
Y轴 / X轴	从左边的对话框中选择**Y Axis(Y轴)**或**X Axis(X轴)**来决定编辑哪条坐标轴。
Range(数据范围)	针对所有显示数据的坐标轴: • 如果选中**Automatic(自动)**设置数据范围并且分辨率设置为自动145，那么数据范围或者从0开始，或者从最小数据值(一个负数)开始，然后延伸至最大数据值。 • 如果**Automatic(自动)**设置数据范围被选中，但是分辨率选项不是自动，数据范围是从分辨率选项设置的最小值到最大值。 • 对于柱状图的计数坐标轴，如果选中**Automatic(自动)**设置数据范围，数据轴将从0延伸至最大计数值。 • **Minimum(最大值)**。坐标轴显示的最大数值。该选项只有选中自动设置数据范围时才有用。 • **Maximum(最小值)**。坐标轴显示的最小数值。该选项只有选中自动设置数据范围时才有用。 • **# Ticks(刻度数)**。坐标轴上显示的刻度数。
Title(标题)	设置坐标轴标题是否可视、具体文本、字体样式、大小、颜色和角度。
Labels(标签)	设置坐标轴标签是否可视、字体样式、大小、颜色和数字角度。
Ticks(刻度)	设置线性和对数刻度是否可视、颜色和宽度。
Other(其它)	选择是否显示坐标轴和网格线，并格式化它们的颜色。
Scale(坐标系)	如果**Automatic(自动)**调整坐标系选中的话，坐标轴会显示在由FCS数据文件为该坐标参数定义的数据范围内。可以不用自动调整坐标系，而选择坐标轴调整203。

8.4.5 *三维显示选项*

尽管仅有表面绘图常常显示为三维形式(3D)，FCS Express有能力把柱状图渲染成三维形式。有多个叠加图层的柱状图可能在三维形式下看起来更好157。

三维显示选项控制三维绘图的外观和相对于用户的视角。可用两种方式来编辑表面绘图和柱状图的三维显示:

- 选中绘图，然后使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→3D(三维)**命令。
- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择相应的**Surface(表面)→Plot 3D Options(三维绘图选项)**或**Histogram(柱状图)→**Plot 3D Options **(三维绘图选项)**(图8.39)。

注: 在熟悉三维设置过程中，在不保存的情况下预览所做的修改是很有效的方法。右键点击绘图、选择相应的三维选项的好处是调出有预览和恢复键的对话框144。

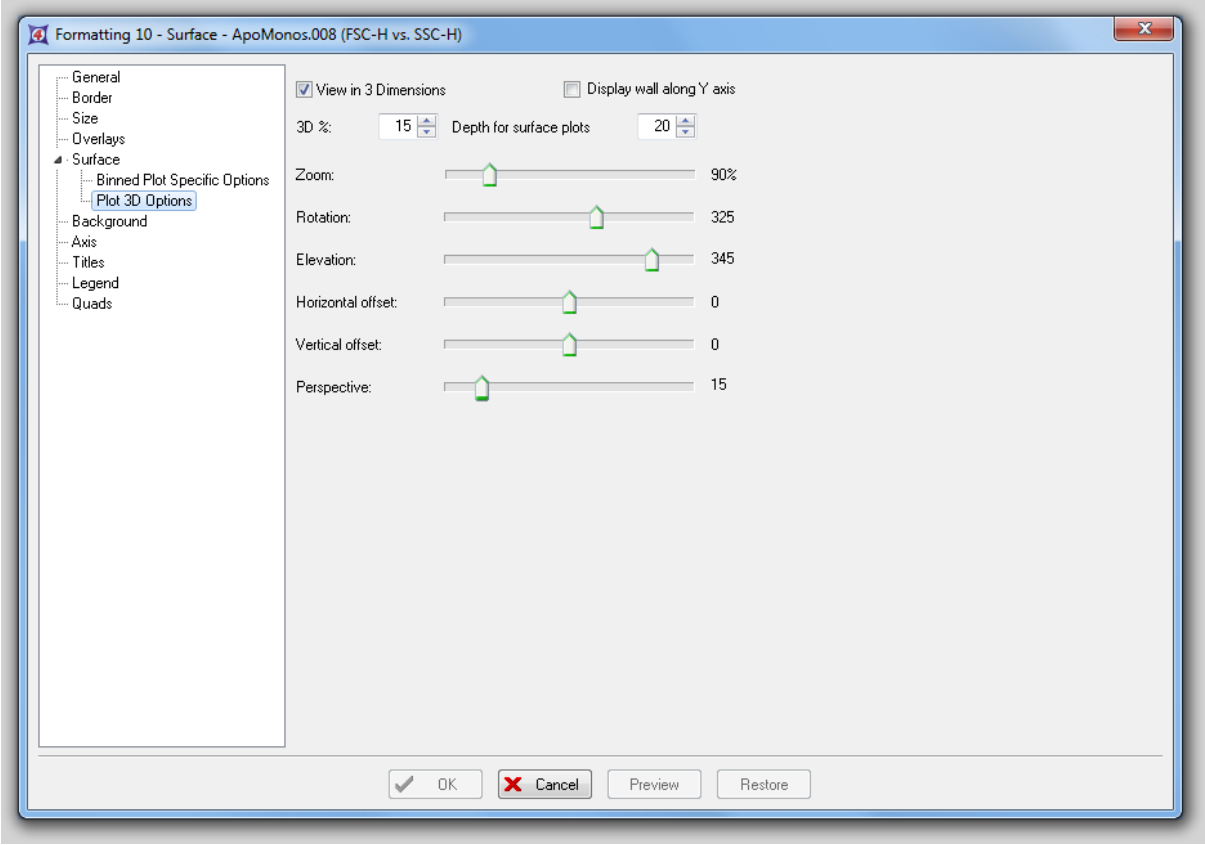


图 8.39 Formatting 3D Options for a Surface Plot (**格式化表面绘图的三维选项**)

用户通过点选或取消点选**View in 3 Dimensions(查看三维视图)**来开启或关闭三维视图。

用户可用复选框**Display wall along Y- axis(显示沿Y- 轴的墙)**来开启或关闭一面沿着Y- 轴的黄色墙壁。

绘图深度(从0%到100%)可用3D%选项(针对柱状图)或**Depth for surface plots(表面绘图的深度)** *上下箭头按钮*来控制。随着3D%的增加，第三维z- 轴变宽，单平面事件从点变成短线最后成长线。

其它选项可由滑动条控制:

- **Zoom(缩放)**将绘图在对象中从小于100%(小于当前尺寸)到500%进行缩放。随着缩放百分比的增加，轴和事件可能超出对象边界；这时可调低缩放值使轴和事件回到对象边界值内。缩放操作是可恢复的，不会有数据丢失。

- **Rotation(旋转)**带动绘图沿垂直轴旋转，范围从270到360度，360度旋转代表绘图直接面对用户，270度旋转将绘图顺时针(向左旋转90度)，使z- 轴的右半轴直接面对用户。

- **Elevation(俯仰)**将绘图沿水平轴旋转270到360度，360度旋转代表绘图直接面对用

户，270度旋转将绘图上端向前旋转(绘图向下旋转90度)，z- 轴上缘面向用户。

- **Horizontal offset(水平偏移量)**和**Vertical offset(垂直偏移量)**控制3D绘图在页面上的位置。
- **Perspective(远角)**是一个介于0- 100间的值，控制绘图在视觉上的距离感。

8.4.6 *放大绘图*

用户可以**Magnify(放大)**绘图(柱状图或二维绘图)的一个区域。

放大柱状图等同于为X- 轴设置最小和最大值150。

要放大柱状图，可以:

- 右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Magnify(放大)(Resolution(分辨率))**或**Magnify(放大)(Axis(轴))**。
- 在要放大部分的低刻度一端按下鼠标不放。
- 拖动鼠标到要放大部分的高刻度一端。
- 放开鼠标。

图8.40是一个放大操作的样本柱状图。

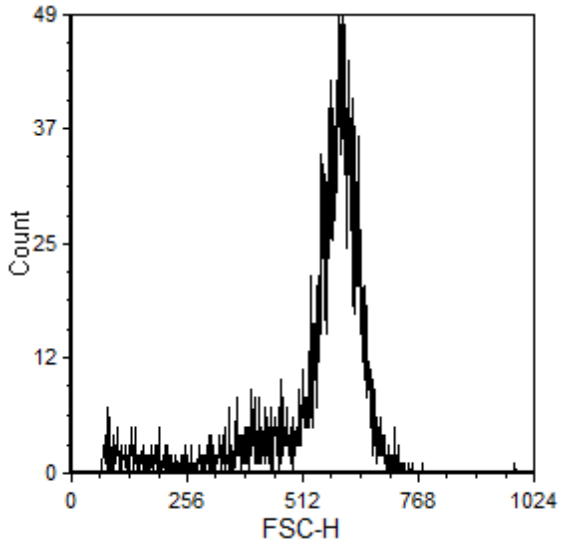


图 8.40 An Example Histogram Before Magnification (**放大前的样本柱状图**)

对通道445.8到776.8区执行**Magnify放大(Resolution(分辨率))**操作后的结果如图8.41所示。

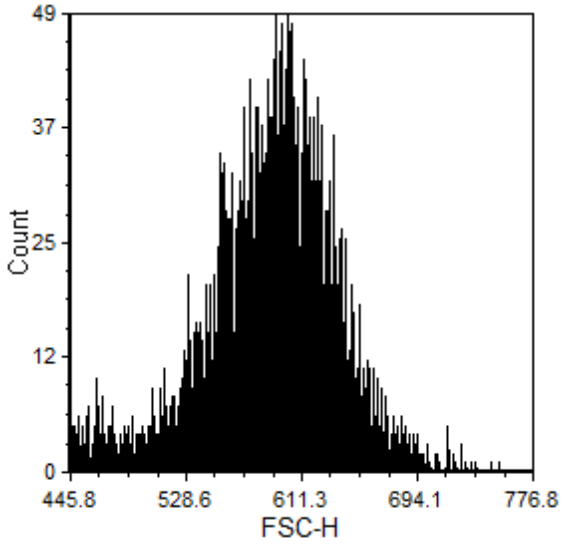


图 8.41 Magnify Resolution from Channel 445.8 to 776.8 (**对通道**445.8**到**776.8**进行分辨率放大**)

对通道445.8到776.8区执行**Magnify(放大)(Axis(轴))** 操作的结果显示在图8.42。

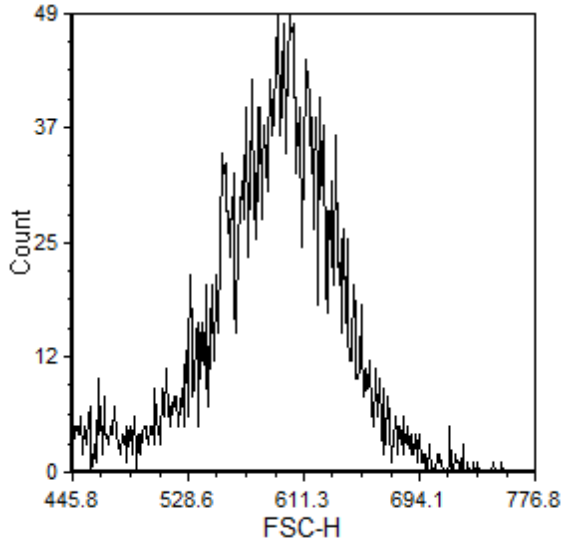


图 8.42 Magnify Axis from Channel 445.8 to 776.8 (**对通道**445.8**到**776.8**执行放大轴操作**)

要退出放大视图，右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**UnMagnify(Resolution)(取消放大(分辨率))**或 **UnMagnify(Axis)(取消放大(轴))**。

放大二维绘图会为X- 和Y- 轴设置最小和最大值。

要放大二维绘图:

- 右键点击二维绘图，从弹出菜单中选择**Magnify(Resolution)(放大(分辨率))**或**Magnify(Axis)(放大(轴))**。
- 在用户要放大的"矩形区域"的一端按下鼠标键不放。
- 拖动鼠标到要放大的"矩形区域"的另一端。
- 放开鼠标。

一个对二维绘图进行放大的操作如图8.43所示。

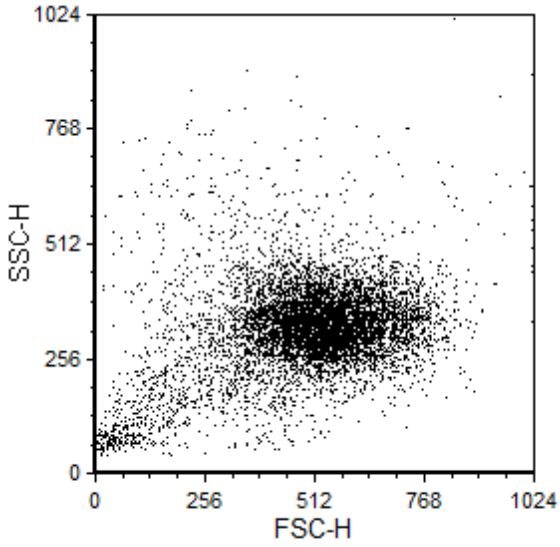


图 8.43 An Example 2D Plot Before Magnification (**一个二维绘图放大前的例子**)

对细胞分布最密集的区域进行**Magnify(Resolution)(放大(分辨率))**操作后的结果如图8.44所示。

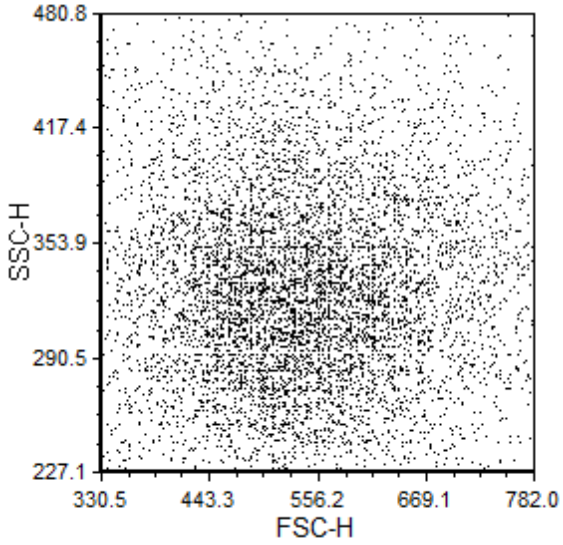


图 8.44 Magnify Resolution for a 2D Plot (**对二维绘图进行分辨率放大操作**)

对细胞分布最密集的区域进行**Magnify(Axis)(放大(轴))**操作后的结果如图8.45所示。

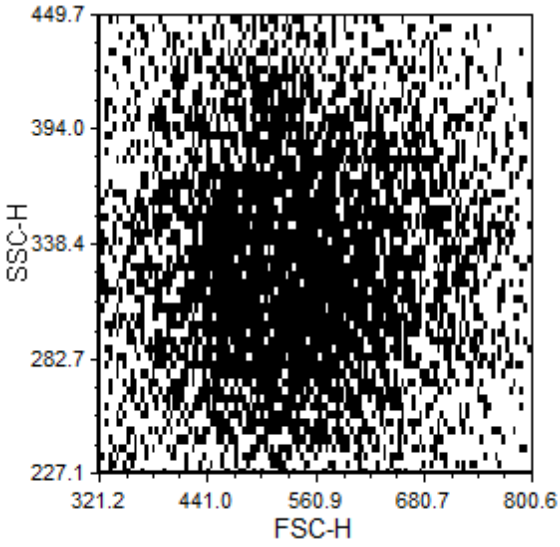


图 8.45 Magnify Axis for a 2D Plot (**对一个二维绘图进行轴放大操作**)

要退出放大，右键点击二维绘图，从弹出菜单中选择**UnMagnify(Resolution)(取消放大**

(分辨率))或 **UnMagnify(Axis)(取消放大(轴))**。

8.5 格式化单参数柱状图

除了所有对象都有的140和所有绘图都有的144格式化选项外，单参数柱状图有一些可以被格式化的特定的属性，比如叠加图层157、标识160、放大153和特定选项162。

叠加图层在FCS Express中被定义为在绘图上显示的一个数据集。柱状图上的一个数据集由数据文件和参数组成。一个柱状图可以包括一个或多个叠加图层。叠加图层可以添加到柱状图上，也可以从其上删除，但是第一层，也被称为基层叠加图层，不可以被删除。另外，尽管和基层有不同参数的数据文件可被添加到柱状图上，但坐标轴标题和刻度都是由基层叠加图层决定的。柱状图图例在让人理解有多层数据的柱状图时非常关键。

标识是由单参数定义的区域。

柱状图放大功能允许设置坐标轴的最小值和最大值来查看柱状图上的一个特定区域。

柱状图特有的选项包括标准化、绘图分辨率、多层数据的显示方式和为柱状图减法统计选择对照柱状图。

用户总可以通过右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Format(格式化)**然后选择一项命令来格式化绘图。该方法让用户可以使用**Preview(预览)**按钮在真正使用修改前查看预览。另外，如果柱状图被选中后，可从Ribbon条上的格式化标签38中选择要修改的选项。

8.5.1 *叠加图层*

Overlays(叠加图层)选项控制柱状图叠加图层的参数和外观。

可用以下两种方式编辑叠加图层:

- 选中柱状图，使用**Format(格式化)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令(图8.46)。
- 右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Format(格式化)**，然后选择**Overlays(叠加图层)**一项。

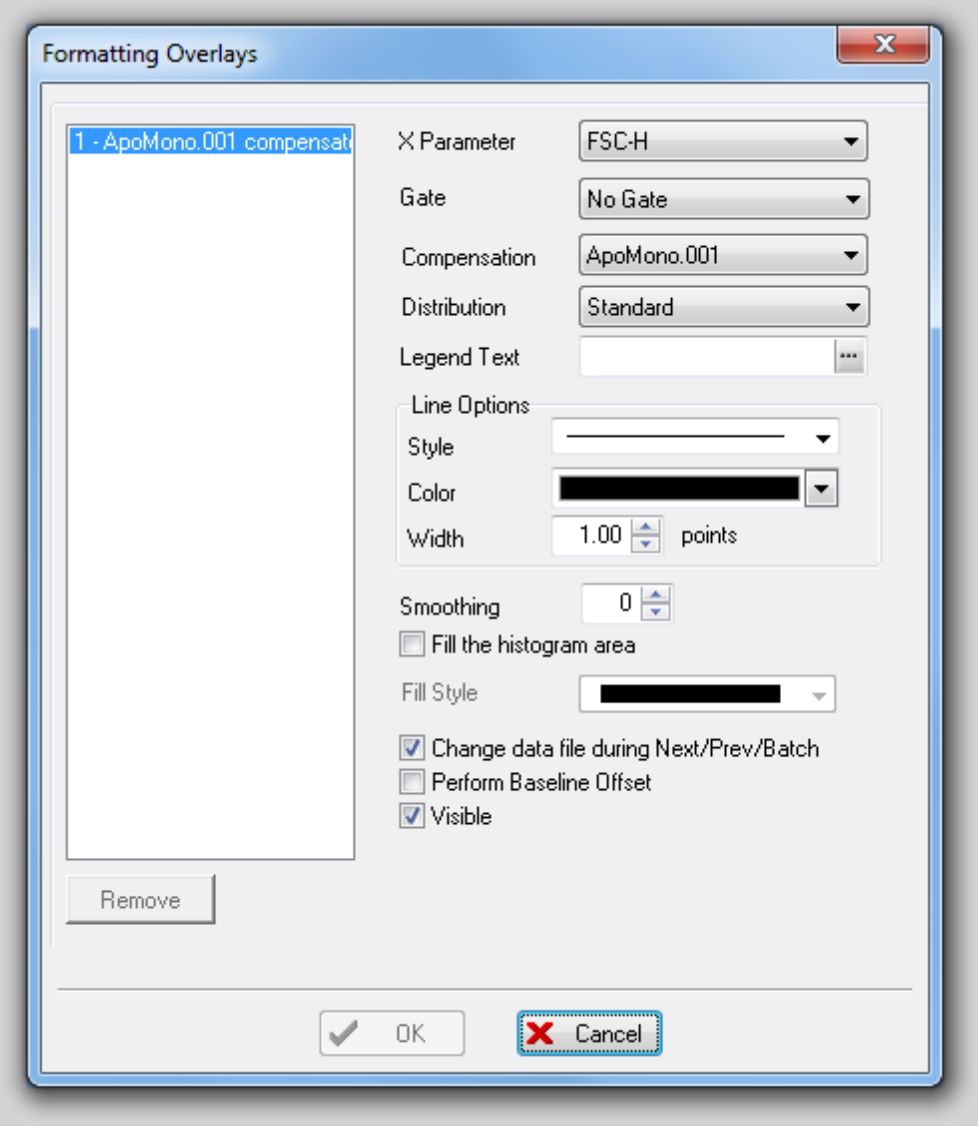


图 8.46 Formatting Histogram Overlays Dialog (**格式化柱状图叠加图层对话框**)

在对话框中，该柱状图上所有叠加图层会出现在左边的列表框中。可用微软Windows里的基本的技巧来选择一个或多个叠加图层，包括Shift键- 点击和Ctrl键- 点击。右边的属性针对当前选择的叠加图层。如果选择的叠加图层有多个，而它们的某个属性值不一样，该属性的内容将显现为空白。如果某属性值不是空白，表明这些选择的叠加图层有相同的属性值。这时改变选项会应用于所有的选择层。比如，如果选择三个叠加图层，然后改变门设置，三个叠加图层上的门设置都会被修改。要从一个绘图上移除叠加图层，先选择该层(或多个层)，然后点击**Remove(删除)**按钮。

叠加图层属性解释于下表。

选项	解释
X Parameter(X参数)	改变显示于柱状图上的某一参数。
Gate(门)	如果定义好了门[180], 那么用户可以通过选择某个门来限制在柱状图上显示的数据。
Compensation(补偿)	如果设置了补偿定义[262], 将使用该定义来补偿叠加图层上的数据。
Distribution(分布)	选中要显示的数据。**Standard(标准)**分布将把数据显示为每个通道上的事件数，**Cumulative(累积)**将显示累积分布频率(通常用来做统计测试)。关于积累分布频率的信息可在常用的统计教科书中找到。
Legend Text(图例文本)	该文本是在图例中出现在叠加图层标志旁边的文本。如果该项为空白，叠加图层的文件名会出现在图例中。点击图例文本旁边的省略号来从FCS文件的头信息中插入关键字。
Line Options(线条选项)	选择叠加图层的线条样式、颜色和宽度。
Smoothing(平滑处理)	设置叠加图层的平滑处理程度。
Fill the histogram **area(填充柱状图区域)**	选中该复选框，用填充样式来填充叠加图层。有填充的叠加图层可能在三维显示[151]中看起来更好(图8.47)。
Fill Style(填充样式)	可用来填充柱状图的样式。
Change data file during Next/Prev/ **Batch(在下一个文件/上一个文件/批处理时修改文件)**	选中该选项，该叠加图层对应的文件会在批处理[326]或在上一个文件或下一个文件[36]操作时改变。有多个叠加图层时，通常对照柱状图的该选项是不选的，以使对照柱状图在所有时间都保持不变。
Perform Baseline **Offset(执行基线偏移量)**	如果细胞值是零，系统会加上一个随机的偏移量使数据点出现在坐标轴上方。这将不影响统计操作。
Visible(可视)	可以在不删除叠加图层的情况下将其隐藏: 从列表中选择一个叠加图层，不要勾选**Visible(可视)**选项。勾选**Visible(可视)**将取消对该叠加图层的隐藏。

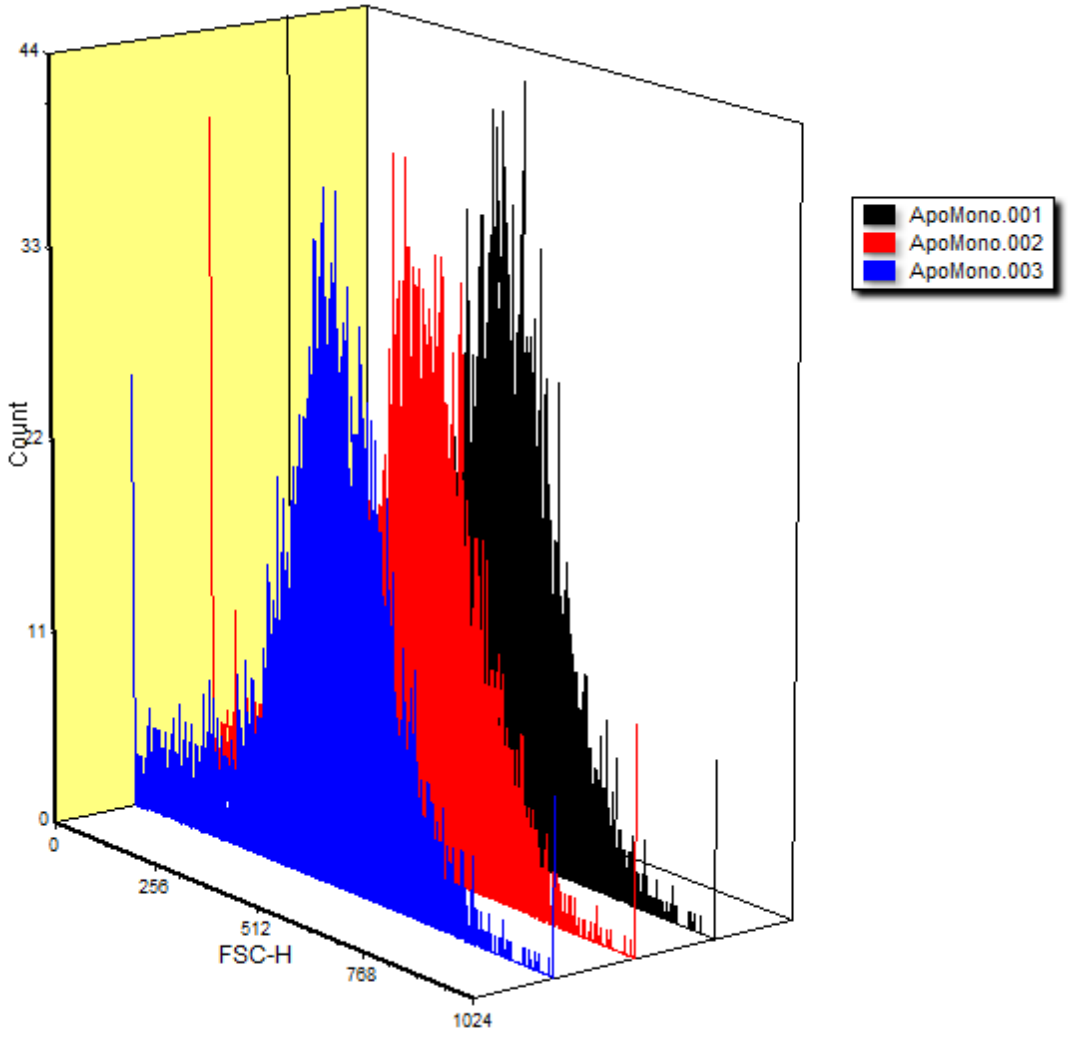


图 8.47 Histogram Overlays in 3D (**三维显示柱状图的叠加图层**)

8.5.2 *柱状图标识*

Markers(标识)选项允许用户控制柱状图标识的格式。

用户可用两种方法编辑标识:

- 选中柱状图，使用**Format(格式)→1D Options(一维选项)→Markers(标识)**命令(图8.48)。
- 右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Format(格式化)**，然后选择**Overlays(叠加图层)**一项。

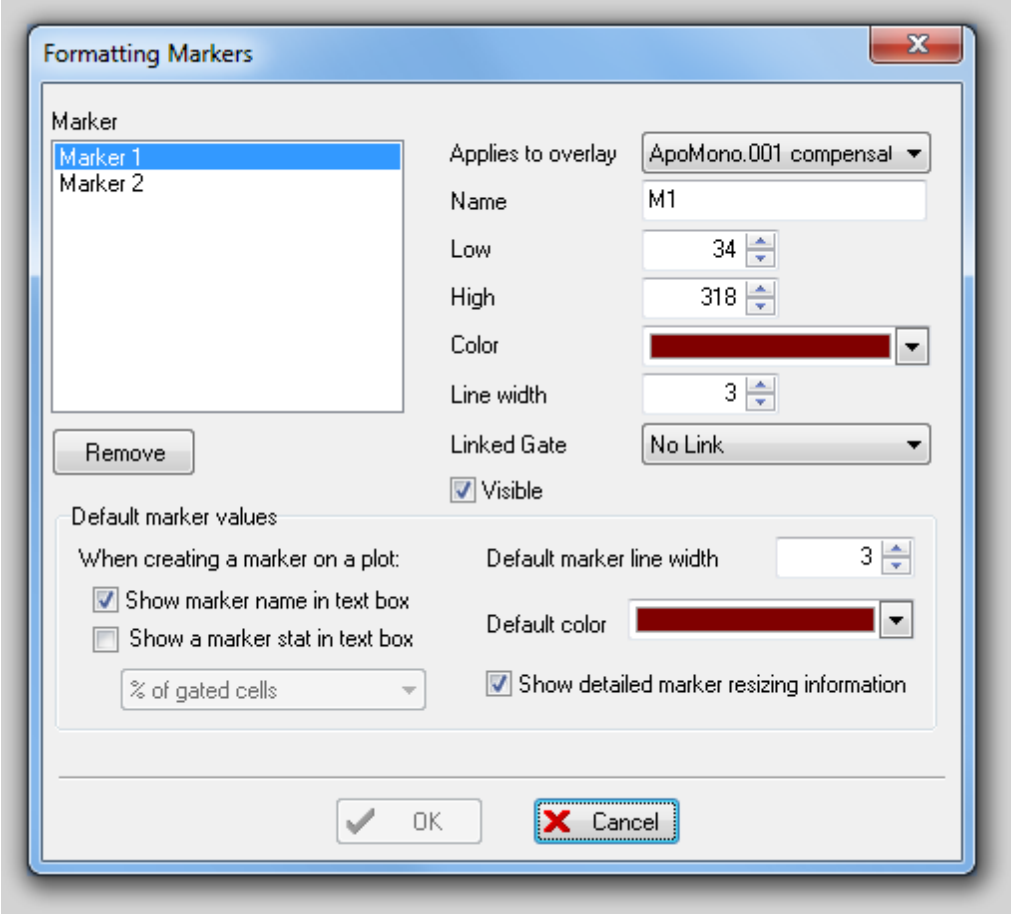


图 8.48 Formatting Markers Dialog (**格式化标识对话框**)

在对话框中，该柱状图上所有标识会出现在**Marker(标识)**列表框中。可用微软Windows里的技巧来选择一个或多个标识，包括**Shift键**- 点击和 **Ctrl键**- 点击。右边的属性针对当前选择的标识而设置。如果选择的标识有多个，而它们的某个属性值不一样，该属性的内容将显现为空白。如果某属性值不是空白，表明这些选择的标识有相同的属性值。改变某一属性会应用于所有的标识。比如，如果选择三个标识，然后改变颜色设置，三个标识的颜色设置都会被修改。要删除标识，将其选中，单击**Remove(删除)**按钮。

标识的属性解释于下表。

选项	解释
Applies to **overlay(应用于叠加图层)**	选择把标识应用于哪个叠加图层。统计操作会针对应用标识的那个叠加图层计算。
Name(名称)	当标识名标记被选中时，在绘图文本框中出现的标识名。
Low(低通道)	标识的低通道边界。
High(高通道)	标识的高通道边界。
Color(颜色)	绘制标识的颜色。
Line width(线	标识的线条宽度。

选项	解释
条宽度)	
Linked Gate(链接门)	标识链接的门 195。要删除标识和门的这个链接，选择**No Link(无链接)**。
Visible(可视)	可以在不移除标识的情况下将其隐藏: 从列表中选择标识，然后不点选**Visible(可视)**。点选**Visible(可视)**将取消对该标识的隐藏。
Default marker **values(缺省标识值)**	创建标识时，可选择是否在文本框中显示标识名或统计数据，并选择默认线条的宽度和颜色。如果选中标识统计，可从下拉菜单中选择显示哪种统计结果。如果选上**Show detailed marker resizing information(显示详细标识缩放信息)**，标识边界会出现在标识上方，会有一条降至坐标轴的竖线来显示缩放时的标识边界。

8.5.3 *柱状图特定选项*

柱状图特定选项包括一些控制数据如何在柱状图上显示的属性。

用户可用两种方式来编辑柱状图特定选项:

- 选中柱状图，使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)**命令(图8.49)。
- 右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Histogram(柱状图)→Histogram Specific Options(柱状图特定选项)**。

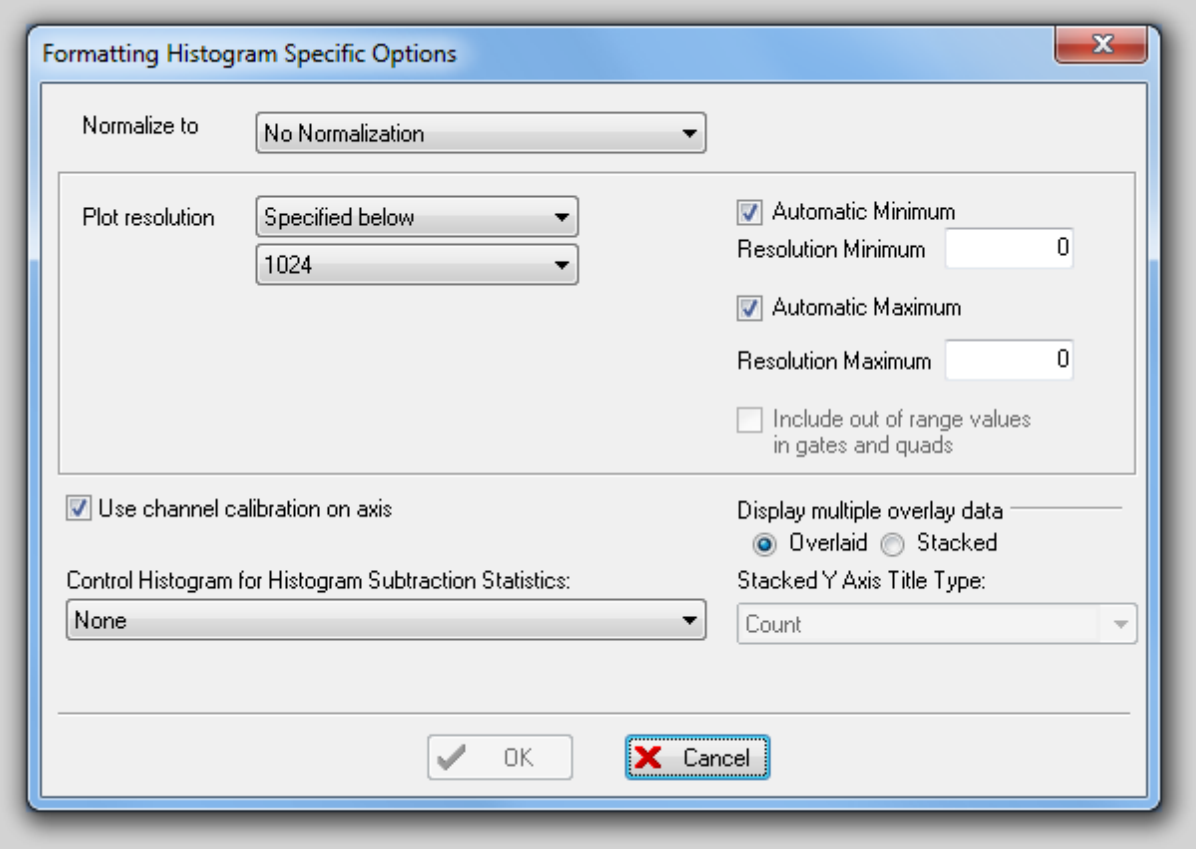


图 8.49 Formatting Histogram Specific Options (**格式化柱状图特定选项**)

选项解释见下表。参见分辨率概述145一节以进一步了解分辨率选项。

选项	解释
Normalize to(标准化于)	如果不同叠加图层在一个通道上含有不同数目的事件，尽管数据来自完全相同的细胞群，这些叠加图层也看起来不一样。从下拉菜单中选择一个叠加图层。其它叠加图层的事件数会标准化到看起来和所选的叠加图层具有相同的事件数。
Plot resolution(绘图分辨率)	在第一个下拉菜单中，选择是否选用数据指定的分辨率，还是从第二个下拉菜单中选择用户自己的分辨率。选择一个低于绘图真实分辨率的分辨率是一个让数据平滑的有效方式。
Automatic Minimum(自动选最小值)	选上该选项，FCS Express会开始在0或最小数据值(若最小数据值小于0)处为数据分区(把数据根据**Plot resolution(绘图分辨率)**来分区)。
Resolution Minimum(分辨率最小值)	指定数据分区的开始点。如果选中Automatic Minimum **(自动选最小值)**，该值会被忽略。
Automatic Maximum(自动选最大值)	选上该选项，FCS Express会在真实数据范围的最高值处完成分区(把数据根据**Plot resolution(绘图分辨率)**来分区)。
Resolution Maximum(分辨率最大值)	指定数据分区的结束点。如果选中Automatic Maximum **(自动选最大值)**，该值将被忽略。
Include Out of Range values **in gates and quad(在门和象**	选上该选项，在绘图分辨率选项之外的数据值会被视为低或高通道的一部分。如果门或象限碰触到低或高通道，该门或

选项	解释
限中包括超出数据范围的数值)	象限会包含这些通道里的细胞，尽管这些细胞实际在门或象限的边界外。
Use channel calibration on **axis(使用坐标轴通道校正)**	FCS Express可为坐标轴建立校正值256。如果定义了通道校正，选或不选该复选框会决定是否用校正过的数值替代一般性的通道数。
Control Histogram for Histogram Subtraction **Statistics(柱状图减法统计的对照柱状图)**	FCS Express会自动使用柱状图减法252来计算呈阳性的细胞数。在此可选择用哪一个叠加图层做对照。
Display multiple overlay data **(显示多叠加图层数据)**	在单个柱状图上显示叠加图层数据(**Overlaid(覆盖)**)或用分视图(**Stacked(叠放)**)。见图8.50。
Stacked Y Axis Title Type(叠放Y轴标题类型)	如果多层数据叠放显示，选择要使用的Y坐标轴标题。

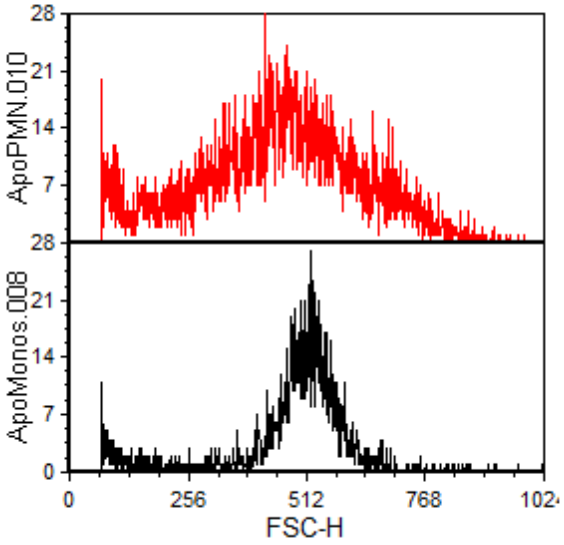


图 8.50 A Histogram with Two Overlays in Stacked View (**柱状图上两个叠加图层的叠放视图**)

8.6 格式化二维绘图

除了所有对象都有的140和所有绘图都有的144格式选项外，二维绘图有一些特定的格式化选项，例如叠加图层165、象限167、要显示的门172、密度图和轮廓图中的颜色层次170和其它特定选项173。

可以通过右键点击二维绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择一项属性来格式化绘图。该方法让用户可以使用**Preview(预览)**按钮在真正应用改动前查看预览。另外，如果一个二维绘图被选中后，可从Ribbon条上的格式化标签[38]选择要修改的属性。

8.6.1 *叠加图层*

所有二维绘图至少有一个叠加图层代表一个文件和两个要显示的参数。对于特定二维绘图(例如**Dot(点状图)**、**Color Dot(彩色点状图)**和**Scatter(散点图)**)，用户可以通过在绘图上右键点击，然后从下拉菜单中选择**Add overlay(添加叠加图层)**来加入更多的叠加图层。或者，将一个文件或绘图从版面上拖放到要插入的绘图上。

Overlays(叠加图层)选项控制二维叠加图层的参数和外观。

用户可用以下两种方式编辑叠加图层:

- 选中二维绘图，使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令(图8.51)。
- 右键点击二维绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Overlays(叠加图层)**选项。

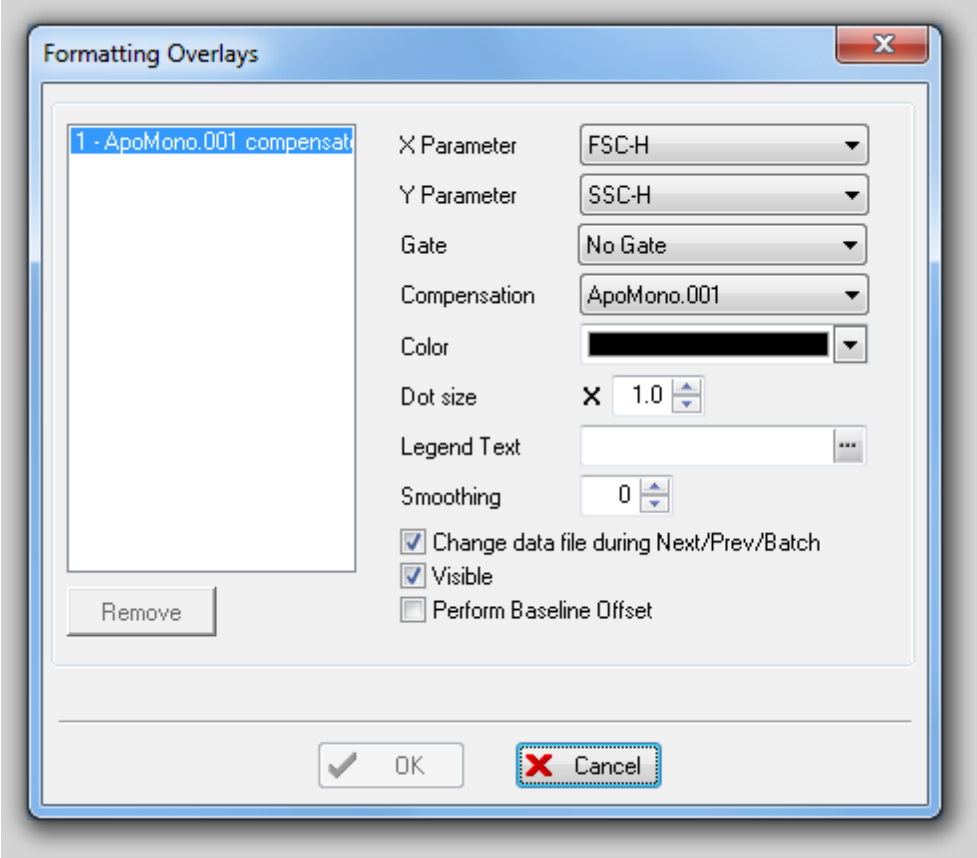


图 8.51 Formatting Overlays Dialog for 2D Dot Plots (**格式化二维点状图上的叠加图层对话框**)

在对话框中，该绘图上所有叠加图层会出现在左边的列表框中。如果绘图类型允许有多个叠加图层，可以用微软Windows里的基本技巧来选择一个或多个叠加图层，包括**Shift键**- 点击和**Ctrl键**- 点击。右边的属性与当前选择的叠加图层相对应。如果选择的叠加图层有多个，而它们的某个属性值不一样，该属性的内容将显现为空白。如果某属性值不是空白，则表明这些选择的叠加图层有相同的属性值。改变一个选项也会应用于所有的选择层。比如，如果选择三个叠加图层，然后改变门设置，那么三个叠加图层上的门设置都会被修改。要从一个绘图上移除叠加图层，选择该层(或多个层)，然后点击**Remove(删除)**按钮。

点状绘图的叠加图层属性解释见下表。

选项	解释
X Parameter(X参数)	改变X轴上显示的参数。
Y Parameter(Y参数)	改变Y轴上显示的参数。
Gate(门)	如果定义好了门[180]，在此选择要用的门来限制要在二维绘图上显示的数据。
Compensation(补偿)	如果设置了补偿定义[262]，将使用该定义来补偿叠加图层上的数据。
Color(颜色)	绘制叠加图层的颜色(用于点状图和彩色点状图)。默认的颜色可在编辑设置对话框里的二维绘图选项[115]处设置。
Dot Size(点大小)	FCS Express根据绘图的高度和宽度自动计算点的大小。修改该设置，可强迫图点的大小比FCS Express根据箭头框选择的参数计算出的点要大一点或小一点。注:如果在彩色点状图上有几个叠加图层，而希望叠加图层有不同的图点大小，那么绘图必须设置为冲突关闭[173]。
Legend Text(图例文本)	图例中出现在叠加图层标志旁边的文本。如果该项为空白，叠加图层的文件名会出现在图例中。点击图例文本旁边的省略号来从FCS文件的头信息中插入关键字。
Smoothing(平滑处理)	设置数据显示的平滑处理程度。
Change data file during Next/Prev/ **Batch(在下一个文件/上一个文件/批处理时修改文件)**	选中该选项，该叠加图层的文件会在批处理[326]或进行上一个文件或下一个文件[36]操作时改变。有多个叠加图层时，通常只有对照柱状图的该选项是不选的，以此来使对照柱状图在所有时间保持不变。
Visible(可视)	控制是否在该二维绘图上显示该叠加图层。
Perform Baseline **Offset(执行基线偏移量)**	如果细胞值是零，系统会加上一个随机的偏移量使数据点出现在坐标轴上方。这不会影响统计操作。

对于轮廓图和密度图，可以选择是否显示**Outliers(孤立点)**和控制**Outlier Dot Color(孤立点颜色)**和**Outlier Dot size(孤立点大小)**(图8.52)。

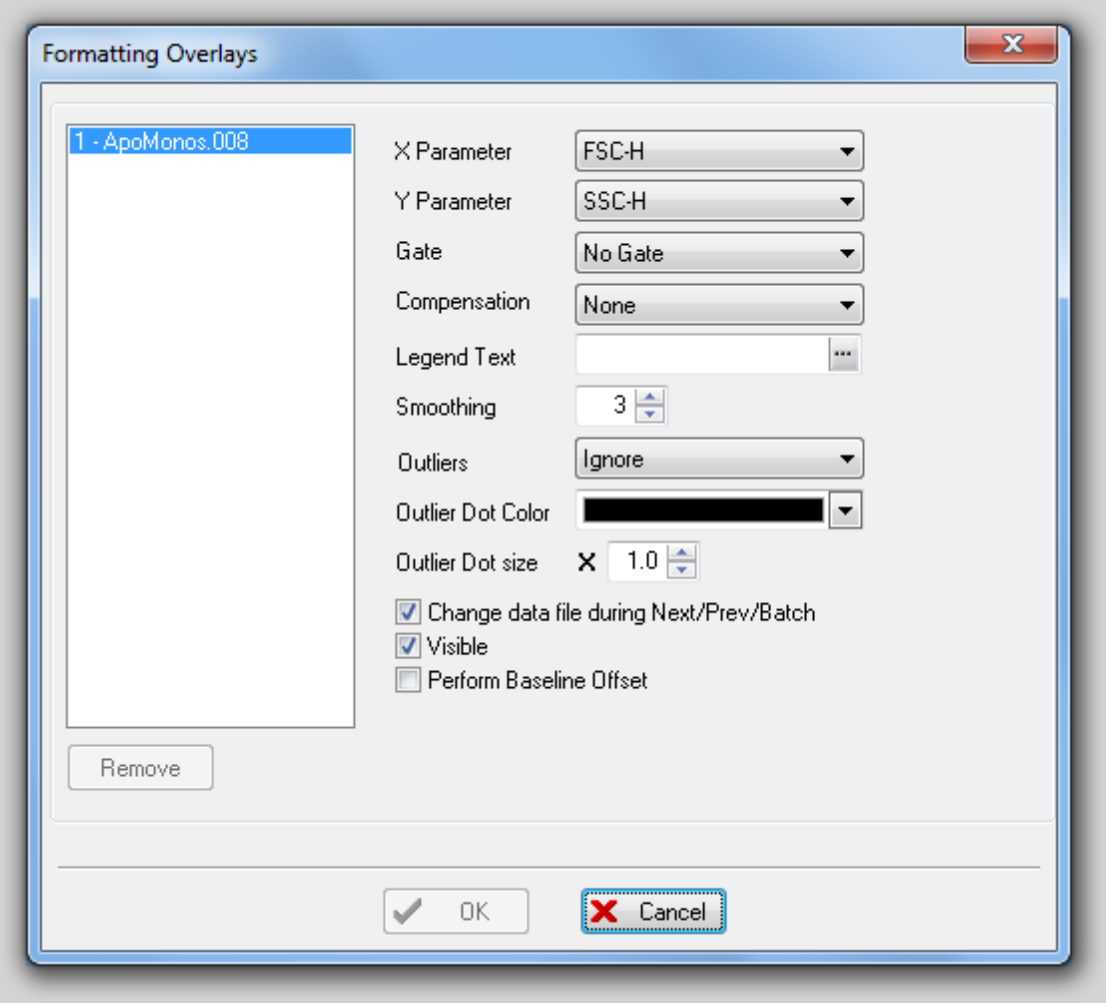


图 8.52 Formatting Contour or Density Plots (**格式化轮廓图或密度图**)

8.6.2 象限

Quadrants(象限)属性允许设置二维绘图的象限。象限也可从绘图上直接创建和设置196。

用户可用以下两种方式编辑象限:

- 选中二维绘图，使用**Format(格式)→2D Options(二维选项)→Quadrants(象限)**命令(图8.53)。
- 右键点击二维绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Quads(象限)**。

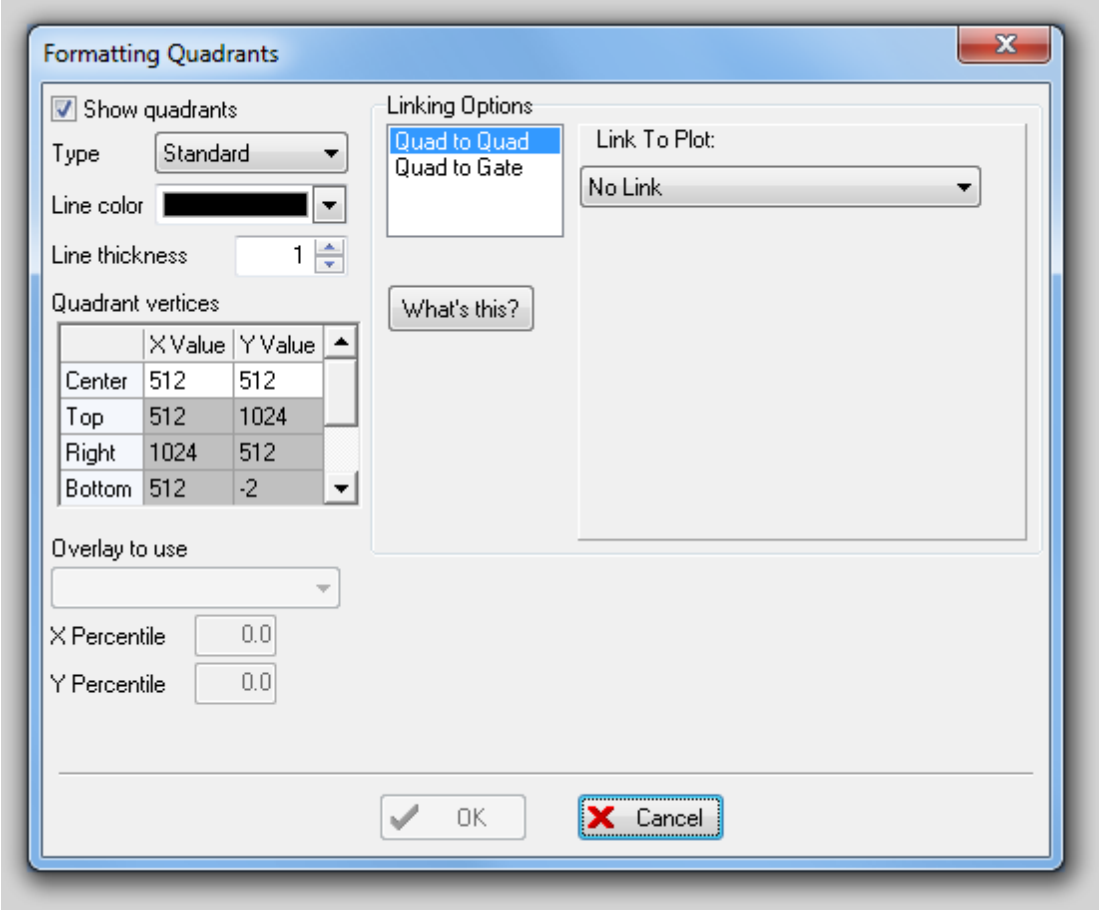


图 8.53 Formatting Quadrants Dialog (**格式化象限对话框**)

对话框左边的选项解释见下表。

选项	解释
Show quadrants **(显示象限)**	选择是否在绘图上显示象限。
Type(类型)	类型可以是以下之一: • **Standard(标准)**:四个象限都是矩形。 • **Floating(移动)**:象限可以是任何形状。 • **X Percentile(X百分比)**:象限是矩形,象限的X位置自动由X Percentile(X百分比)编辑字段的数值决定。 • **Y Percentile(Y百分比)**:象限是矩形,象限的Y位置自动由Y Percentile(Y百分比)编辑字段的数值决定。 • **Both Percentile(双百分比)**:象限是矩形,象限的X和Y位置自动由X Percentile(X百分比)和Y Percentile(Y百分比)编辑字段的数值分别决定。
Line color(线条颜色)和 **thickness(粗细)**	绘制象限线条的颜色和粗细。
Quadrant	象限顶点的精确坐标。可手动输入来精确控制象限位置。注:象限存储的分

选项	解释
vertices(象限顶点)	辨率是256x256 ;因此，并非允许任何数值用作象限顶点。
Overlay to use **(要使用的叠加图层)**	在计算X百分比和Y百分比象限类型时使用哪个叠加图层。
X Percentile(X百分比)	针对X百分比和双百分比象限类型，选用哪个百分比。
Y Percentile(Y百分比)	针对Y百分比和双百分比象限类型，选用哪个百分比。

Quadrant Linking Options(象限链接选项)

象限可或者链接到其它象限198或链接到门199。可从对话框的**Linking Options(链接选项)**区修改当前链接。

要修改象限到象限链接，选择**Quad to Quad(象限到象限)**，然后选择用户想要链接到当前绘图的绘图。当前绘图上的象限会变成所链接的绘图中的象限的"隶属物"，也就是说，当所链接的绘图象限属性更改后，当前绘图的象限也会更改。比如，若把绘图链接到同一类型的控制绘图上，该绘图中的象限会在该控制绘图调整时自动调整。

要把选项链接到门，选择**Quad to Gate(象限到门)**。对话框和图8.54很相似。

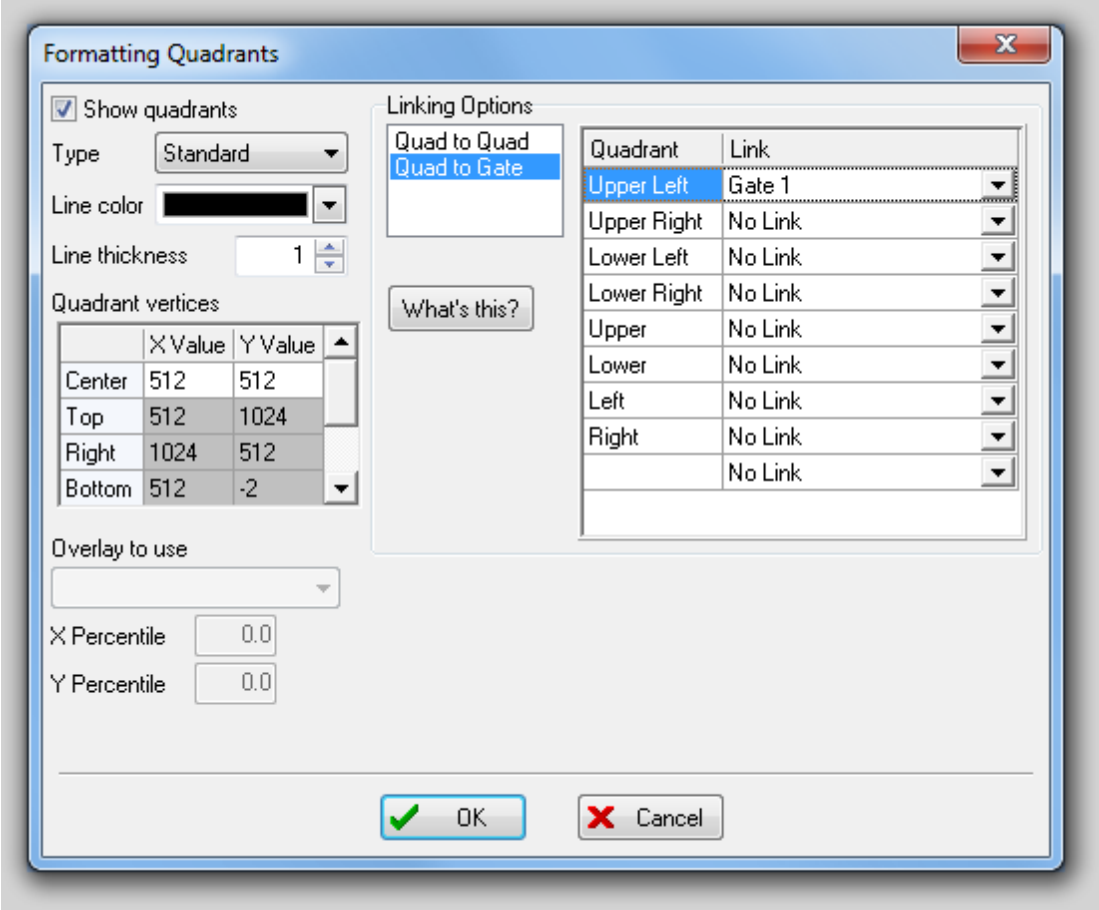


图 8.54 Linking Quad to Gate (**把象限链接到门**)

要修改链接，点击下拉列表右边向下的箭头。第一个选项总是**No Link(无链接)**，该选项允许用户解除象限和区域的链接。在**No Link(无链接)**的下方是可以链接到当前象限的门列表。一个门只可以链接到版面上的一个象限。有两个原因可以造成想要的门不在下拉列表中，一个是该门不是多边形或自由形，另一个是该门已经链接到当前视图的另一个象限或版面中的另一个绘图。

What's this?(这是什么?)按钮提供关于链接选项的一些有用信息。

8.6.3 *颜色层次*

Color Levels(颜色层次)选项用来控制在**Density(密度图)**或**Contour(轮廓图)**中不同密度层次上显示哪些颜色。可用两种方法来编辑 **Density(密度图)**或**Contour(轮廓图)**中的**Color Levels(颜色层次)**:

- 选中**Density(密度图)**或**Contour(轮廓图)**，然后用**Format(格式)**→2D Options **(二维选项)**→**Color Levels(颜色层次)**命令(图8.55)。
- 右键点击**Density(密度图)**或**Contour(轮廓图)**，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后相应地选择**Density Options(密度选项)**→**Color Levels(颜色层次)**或**Contour Options(轮廓选项)**→**Color Levels(颜色层次)**。

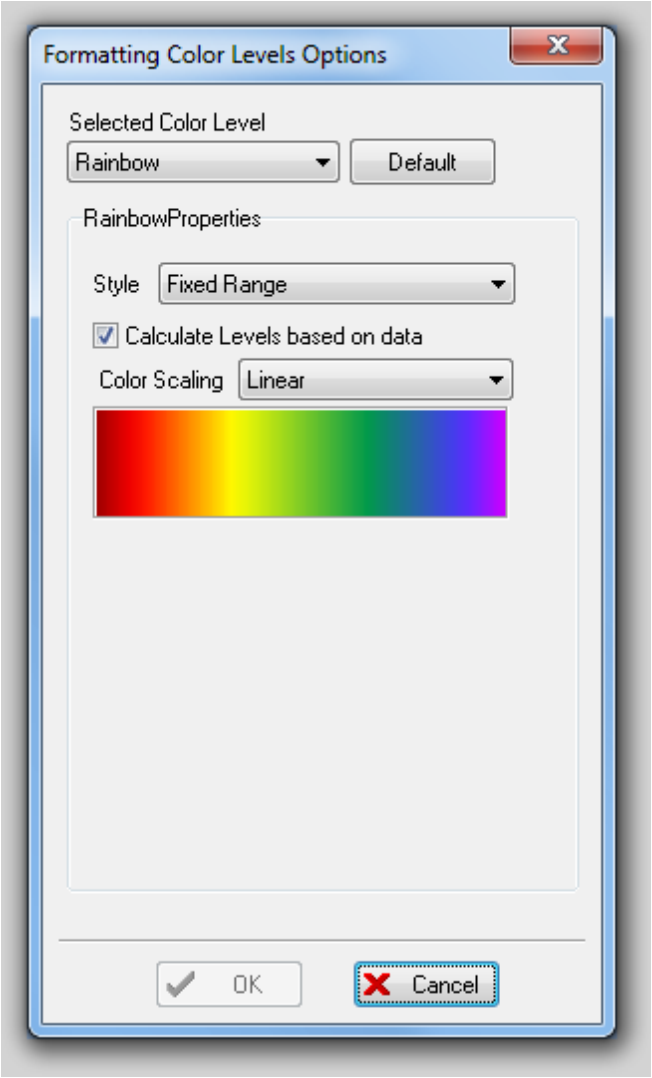


图 8.55 Contour Level Options (**颜色层次选项**)

从**Selected Color Level(选择的颜色层次)**下拉列表中选择谱图。**Rainbow(彩虹谱)**是**Density(密度图)**和**Contour(轮廓图)**的默认选项。但是，不同绘图列表中的选项也会稍有不同。选了颜色层次后，谱图中的颜色会显示于对话框的下半部分。可通过点击**Default(默认)**按钮回到彩虹谱样式。

Contour **Plots(轮廓图)**

除了两类绘图可用的色谱选项外，轮廓图还有以下选项可供选择:

- **Absolute(绝对值)**

  密度线条的颜色取决于细胞的数目是否少于该数值字段里的数值。

- **Percentile(百分比)**

  密度线条的颜色取决于细胞数是否小于细胞总数的x 百分比，其中x 是该数值字段中的数值。

选择和点击颜色盒子里的省略号，可对某一层颜色进行修改。可以通过点击(添加)或(删除)按钮来添加和删除某一层。

默认的显示轮廓层的方式是彩色图，但用户也可使用**Selected Color Level(选择的颜色层次)**下拉菜单来选择灰度图。如果选择灰度图，每一层的颜色会根据层次数目自动转化为从亮到暗的灰度。如果选择黑色，所有轮廓层会成为黑色线条。

当选择灰度图，灰度的层次会自动显示。可以编辑已存在的层的颜色。如果点击 来在灰度图上加入一层，用户会被提示从用户计算机全彩色范围(而非灰度层)中选择一个颜色。

8.6.4 *显示门*

格式化门显示属性用来设置用哪个门为事件着色。显示门功能适用于点状图、颜色点状图和散点图。用户可选择在数据网格280中显示哪个门。

可用两种方式编辑显示门选项:

- 选择绘图并使用**Format(格式)→Data Options(数据选项)→Gates to Display (要显示的门)**命令(图8.56)。
- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择Display Gate Options **(显示门选项)**(在每个特定绘图类的Plot Options(绘图选项)下)。

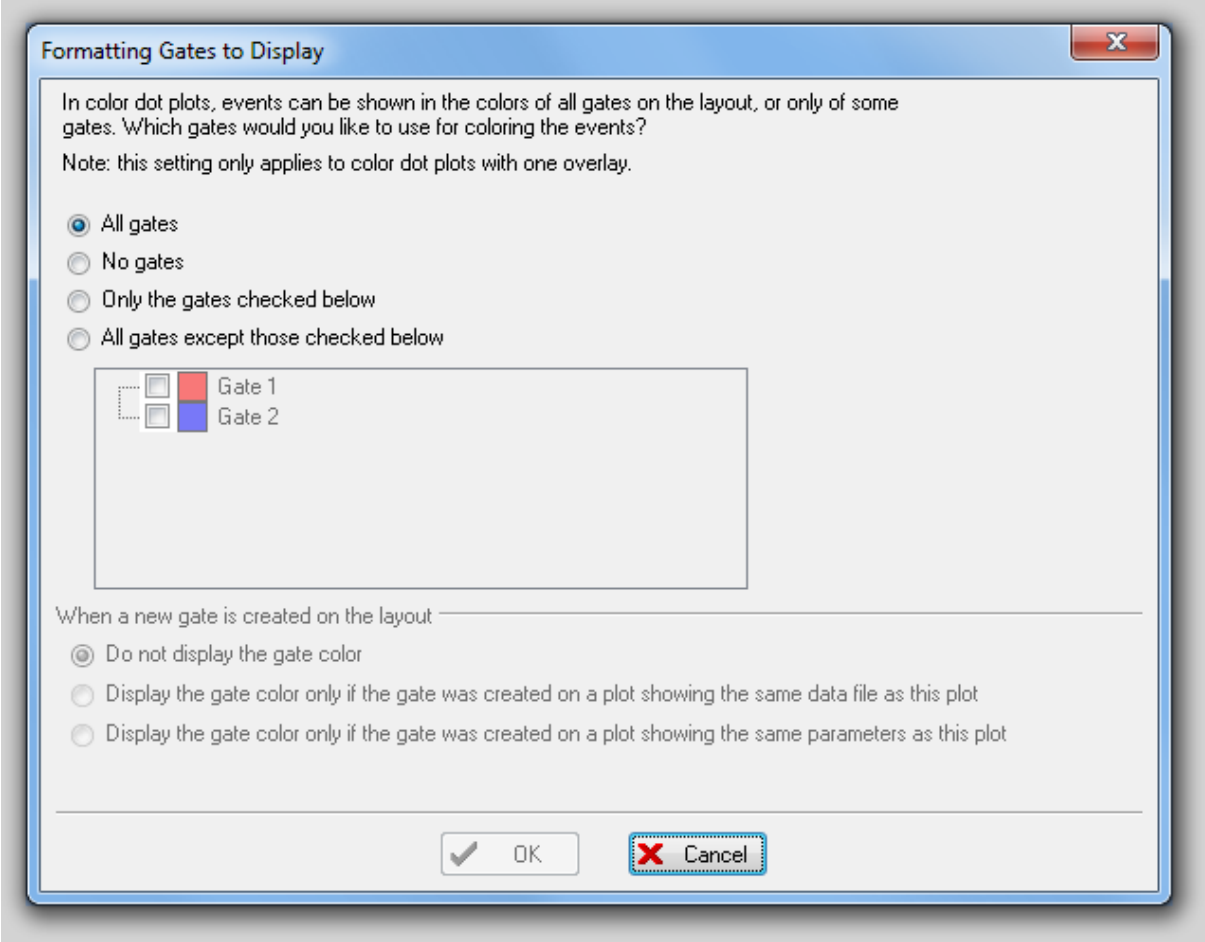


图 8.56 Formatting Gates to Display Dialog (**格式化要显示的门对话框**)

如果在点状图上有叠加图层，门的颜色将是这些点的颜色。如果有多个叠加图层，门的颜色会反映出不同的叠加图层。

在默认情况下，**All Gates(所有门)**一项是选定的。但是，可以选择Only the gates **checked below(仅以下选中的门)**，然后选择用户想显示颜色的那些门。或者，选择All **gates except those checked below(除了以下选中的门)**，然后选择用户想显示颜色的那些门。

在版面上创建新门时，可选择如何显示门的颜色。方法是: 在When a new gate is **created on the layout(当在版面上创建新的门时)**选项下，选择第二个或第三个单选键，如果新的**gate was created on a plot showing the same data file(门创建于显示同样数据的绘图上)**，或**on a plot showing the same parameters(创建于显示同样参数的绘图上)**，用户可让FCS Express显示在后置门绘图上显示门的颜色。

8.6.5 *特定选项*

Specific Options(特定选项)包含控制在二维绘图上显示数据的属性。

可用两种方式来编辑二维绘图的特定选项:

- 选择二维绘图，然后使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)**命令。对于点状图，这会调出Formatting Binned Dot **Specific Options(格式化区间化的数据点特定选项)**对话框(图8.57)或者**Formatting Binned Plot Specific Options(格式化区间化的绘图特定选项)**对话框(图8.58)。

- 右键点击二维绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，点击特定绘图类型旁边的三角形，然后选择相应的**Binned(区间化的)**[点或图]**特定 选项**类。

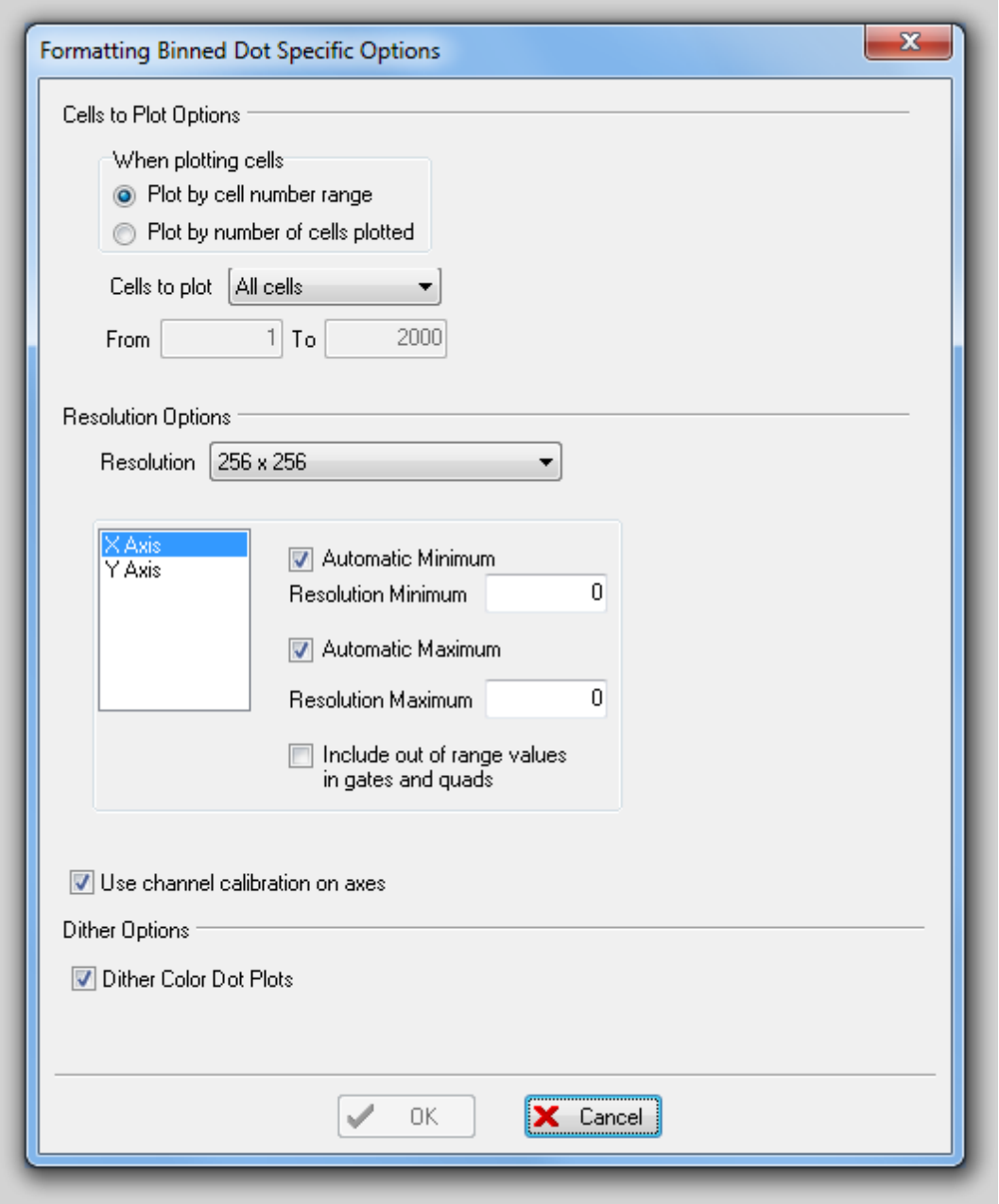


图 8.57 Formatting Binned Dot Specific Options Dialog (**格式化区间化的数据点特定选项对话框**)

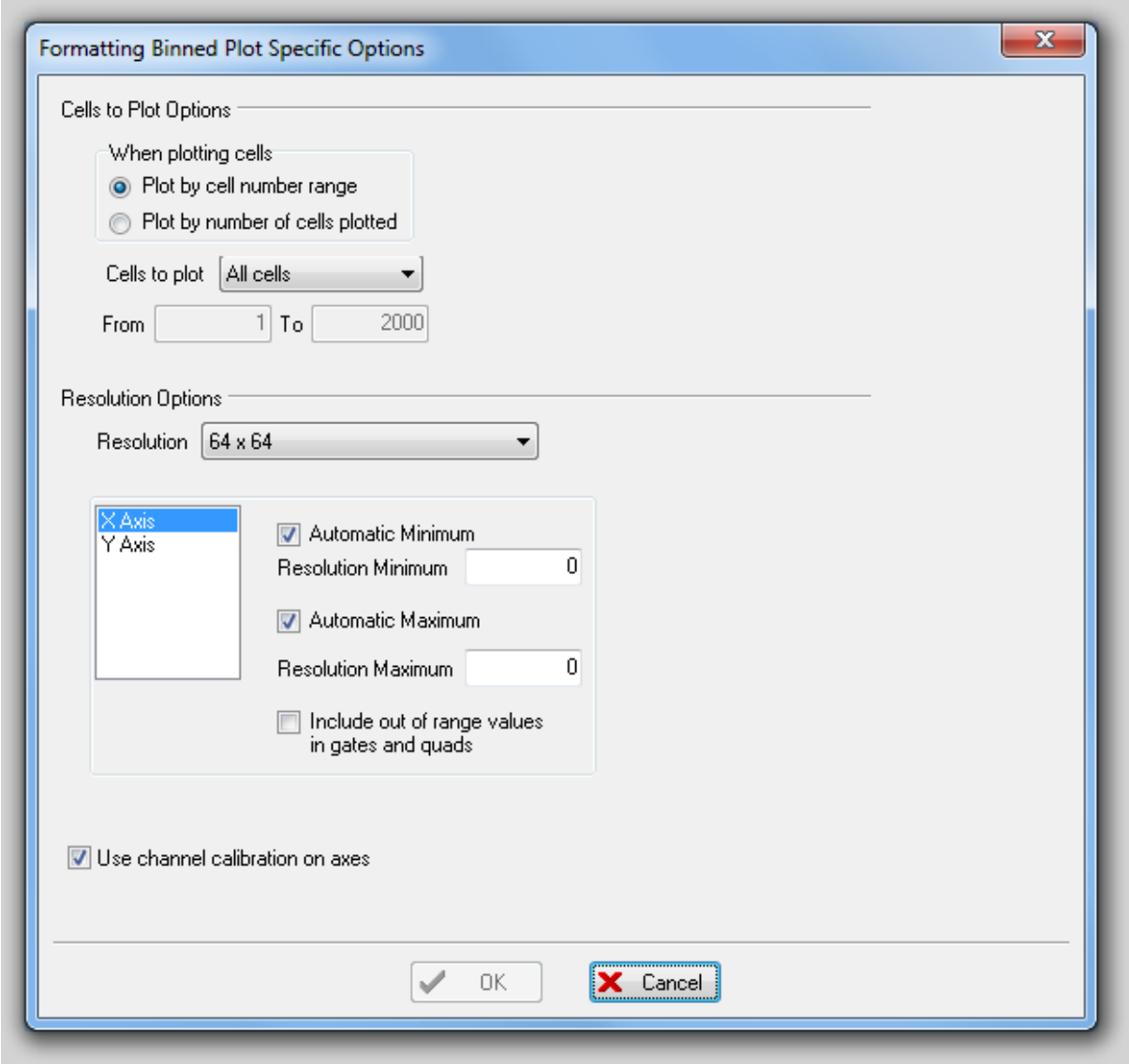


图 8.58 Formatting Binned Plot Specific Options Dialog (格式化区间化的绘图特定选项对话框)

选项解释见下表。参见分辨率概述 145一节以进一步了解分辨率选项。

选项	解释
Cells to Plot Options(细胞绘图选项)	控制用多少细胞来作图。如果用来作图的细胞较少，绘图速度会比较快。一般来说，如果细胞数是5000，便可见绘图的绝大部分结构。可用单选按钮选择**number range(数目范围)**或**number of cells plotted(作图细胞数)**。然后，从下拉列表中选择一个数值。统计计算总是基于数据集中的所有细胞，不考虑有多少细胞用来作图。

选项	解释
X Axis/ Y Axis(X轴/ Y轴)	X轴和Y轴分辨率选项可单独修改，或一起修改。要编辑一个坐标轴的选项，从列表中选中该坐标轴，然后修改其选项。要同时编辑两个轴的选项，从列表中同时选择两个轴(Shift**键** - 点击)。
Resolution(分辨率)	从下拉列表中可选择显示数据的分辨率。降低分辨率会非常有效地把数据变平滑。
Automatic Minimum(自动选最小值)	选上该选项，FCS Express会开始在0或最小数据值(若最小数据值小于0)处为数据分区(把数据根据**Plot resolution(绘图分辨率)**指定的数据分区数进行分区)。
Resolution Minimum(分辨率最小值)	指定从哪儿开始为数据分区。如果选中Automatic **Minimum(自动选最小值)**，该值会被忽略。
Automatic Maximum(自动选最大值)	选上该选项，FCS Express会在真实数据范围的最高值处完成分区(根据**Plot resolution(绘图分辨率)**的设定将数据分成一些通道)。
Resolution Maximum(分辨率最大值)	指定在哪儿完成数据分区。如果选中Automatic Minimum **(自动选最小值)**，该值会被忽略。
Include Out of Range values **in gates and quad(在门和象限中包括超出数据范围的数值)**	选上该选项，在绘图分辨率选项之外的数据值会被视为低或高通道的一部分。如果门或选项接触到低或高通道，它会包含这些细胞，尽管这些细胞实际是在门或象限的边界外。
Use channel calibration on **axes(使用坐标轴通道校正)**	FCS Express可为坐标轴建立校正值256。如果定义了通道校正，选或不选该复选框会决定是否用校正过的数值替代一般性的通道数。
Dither Color Dot Plots(颜色点状图冲突)(仅针对点状图)	当两个颜色不同的点重叠在一起(用户有多个叠加图层时或者一个事件落在了两个门重叠的区域时)，决定使用哪个颜色。如果开启冲突选项，系统会随机从两个颜色中选一个。如果关闭冲突选项，系统会选用最近使用的颜色(也就是说，如果用户定义了两个门，第2个门的颜色的优先级高于第1个门的颜色)。

8.7 使用键盘快捷键修改绘图坐标轴上的参数

像在柱状图叠加图层157和二维绘图叠加图层165中描述的那样，每个图的轴参数可在格式化对话框中修改。也可用键盘或鼠标来修改基层叠加图层的参数。

注:这两种方法都需要绘图处在编辑模式76。

- **Keyboard(键盘)**

  要用键盘修改显示在x - 轴上的参数，按下与想要显示的参数对应的数字键(比如，按下3来查看第三个参数)。要修改显示在二维绘图y- 轴的参数，同时按下Ctrl键和要显示的参数对应的数字键。

- **Mouse(鼠标)**

  要用鼠标修改坐标轴上的参数(柱状图的x - 轴，二维绘图上的任何一轴)，把鼠标移到坐标轴标签上，直到它变成一个手的形状。手形状出现后，按下鼠标不放，将出现一个弹出菜

单，它包含可修改的参数。(如果设置了需要Alt + 单击来修改参数114选项，点击鼠标时需要同时按下Alt键。)按下鼠标不放，将光标移到列表的新参数上，放开鼠标。如果列表出现后，而用户却不想修改参数，只要将鼠标移到列表外的任何区域放开鼠标即可。

第 9 章

9 FCS数据分析

FCS Express提供很多工具，例如门、标识、选项和统计，用来做流式细胞分析。在这一章，我们将详细解释这些工具，使用户可用它们来进行数据分析。

9.1 使用门

有些流式细胞软件认为区域和门不同。可在FCS Express中，两者没有不同。在FCS Express中，用户创建门，并将它们直接应用于数据。在本用户手册中，我们只使用"门"这个词。

用户可以创建不限数目的门。FCS Express支持几类门:

- 椭圆形门:椭圆形或圆形的门。
- 矩形门:正方形或矩形门。
- 多边形门:由直线连接的三个或多个顶点构成的门。
- 自由形状门:由各种直线或曲线构成的不规则形状的门。
- 一维门:在一维坐标上的门，即单参数柱状图上的门或x - 轴绘图上的门。
- 细胞孔门:在热图上的门，显示微量滴定板中所有孔的情况。
- 组合门:六种门中一个或多个的逻辑组合。

不同门类型的例子如图9.1所示。

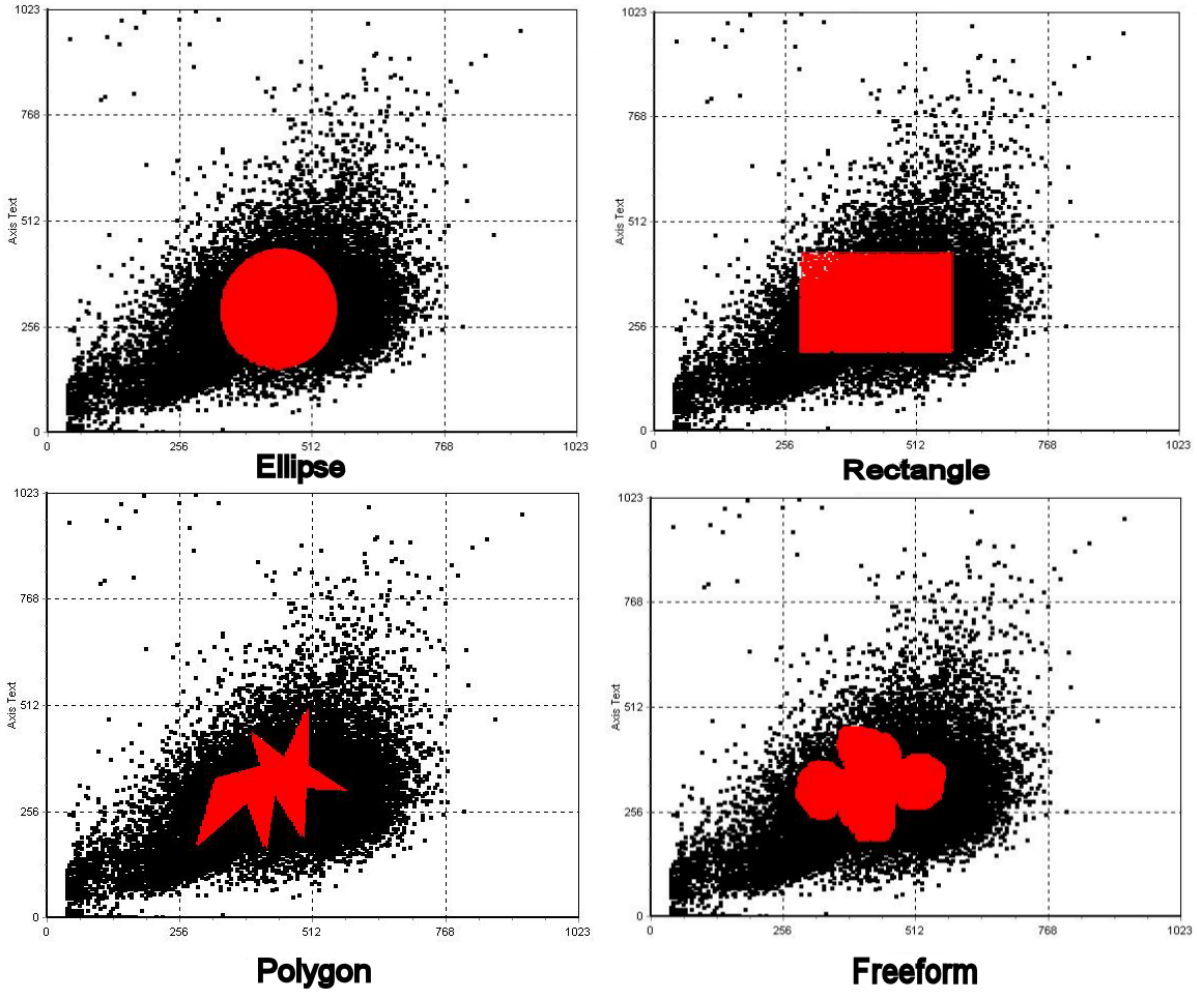


图 9.1 Examples of Different Gate Types (**几种门类型例子**)

9.1.1 *创建门*

用户可用几种方式创建门。要最有效地创建门，首先选择一个想要应用门的绘图，然后做以下操作之一:

- 从**Home(主页)→Create Gates(创建门)**中选择一个命令(例如，**Ellipse(椭圆)、Rectangle(矩形)、Polygon(多边形)**和**Freeform(自由形)**)。
- 从命令**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)**中选择想要的形状。
- 右键点击绘图，然后从弹出菜单中选择**Create Gate(创建门)**和门类型。

在绘制门的时候要想取消创建门，在完成操作前点击键盘上的Esc键即可。

- Elliptical or Rectangular Gates(椭圆形或矩形门)

选择**Ellipse(椭圆形)**或**Rectangle(矩形)**命令，将光标放置在绘图上用户希望门左上角出现的地方。然后，按住鼠标不放，向下拖动光标直到出现想要的门大小。松开鼠标键完成门的创建。注:可在门创建之后很容易地调整其大小。

- Polygonal Gates(多边形门)

  如果选择**Polygon(多边形)**命令，将光标放置在第一个顶点那里。然后，点击(之后松开)鼠标。继续以上操作，在不同位置放置光标，点击鼠标创建顶点。直线会连接这些顶点形成多边形。要完成并封住多边形门，点击出现在第一个多边形顶点的正方形。或者，敲击空格键来完成多边形门。敲击空格键会在用户创建的第一个和最后一个顶点间画一直线完成门的绘制。完成之后，除了创建的顶点之外，多边形外边会显示四个圈，用来成比例地缩放多边形。

- Freeform Gates(自由形门)

  如果选择**Freeform(自由形)**命令，将光标放置在想要开始绘制门的位置。按下并按住鼠标键不放，拖动鼠标画出门的形状。门会沿着光标的路径形成。要关闭和封住Freeform **(多边形)**门，放开鼠标。一条直线会自动连接第一个光标的位置和鼠标松开时光标的位置来创建门。完成后，自由形会有四个外围圈，用来成比例地缩放多边形。

- Well Gates(细胞孔门)

  如果选择**Well(细胞孔)**命令，可在热图上创建一个或多个细胞微孔门438(针对滴定板而言)。

- 1D Gates(一维门)

  像创建标识194中描述的那样在柱状图上创建一个**Marker(标识)**。然后，右键点击包含该标识的绘图，选择**Convert Marker to Gate(将标识转化为门)**、**Marker(标识)编号**以及**Convert(转化)**或**Convert and Link(转化和链接)**。如果选择Convert and **Link(转化和链接)**，改变原始的标识会改变相应的一维门。否则，移动或删除原始的标识不会影响一维门。

  要在二维绘图上创建一维门:

  o 选择**Gating(门操作)**(或**Home(主页)**)→**Create Gates(创建门)**→Create **Marker(创建标识)**命令。

  o 右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Create marker(创建标识)**。

  然后，将光标放在想要设置标识的左边界，按下鼠标不放。同时，以和X- 或Y- 轴平行的方式移动光标。将光标移到想要创建标识的右边界，松开鼠标。

完成创建门后会出现一个对话框(图9.2)，让用户为门起个名称、选择颜色并决定该门是否包括其内部的事件。要用新创建的门替代已有的门，选择**Replace an existing gate(替代已有的门)**单选按钮，从下拉菜单中选择用户想替代的门。

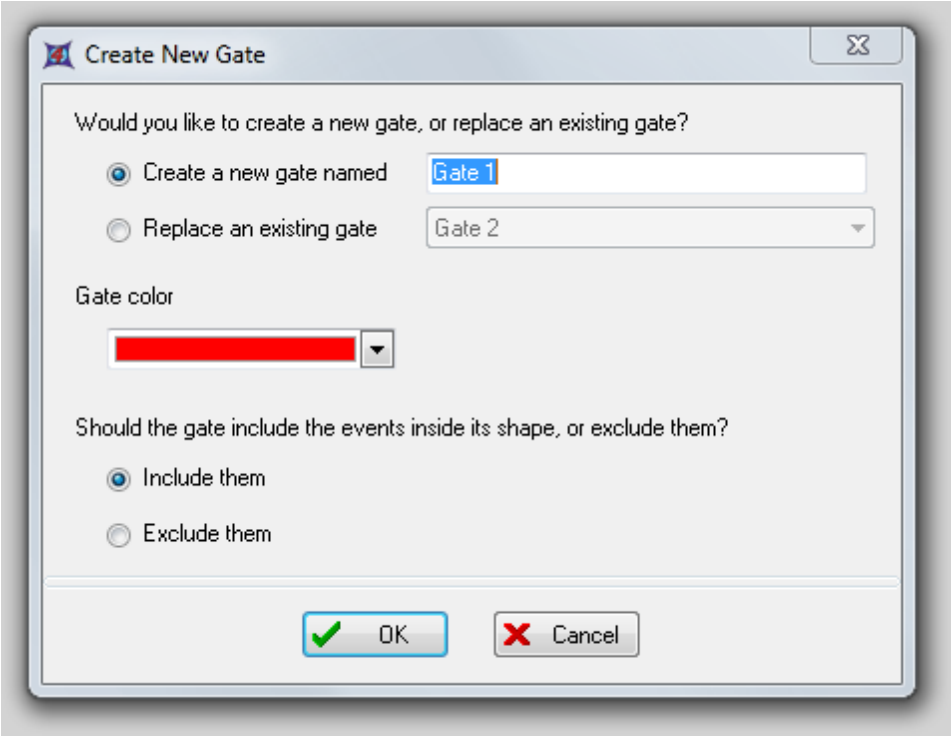


图 9.2 Create New Gate Dialog (**创建新门对话框**)

Creating Combination Gates(创建组合门)

合并门是指门与门的组合。要组合门，需要创建一个包含现有门的逻辑组合的门操作公式。门操作公式是由一个或几个门及逻辑运算符组成。运算符描述门操作区域如何组合并如何遵循逻辑运算规则。FCS Express支持以下运算符:

- **AND(与)**

  AND(与)在门操作公式中由"a"、"A"或"and"代表。如果键入门操作公式"1 a 2"(读作1与2)，只有同时落在门1和门2里的事件会被选中。

- **OR(或)**

  OR(或)在门操作公式中由"o"、"O"或"or" 代表。如果键入门操作公式"1 o 2"(读作1或2)，所有在门1和门2中的事件都会被选中。

- **NOT(非)**

  NOT(非)在门操作公式中由"n"、"N"或"not"代表。如果键入门操作公式"n1"(读作非1)，所有门1之外的事件都会被选中。

- **XOR(或非)**

  XOR(或非)在门操作公式中由"x"、"X"或"xor"代表。如果键入门操作公式"1 x 2"(读作1与非2)，只有在门1或门2，但不同时在二者的事件会被选中。注: XOR是eXclusive Or的缩写。"or(或)"和"xor(或非)"的区别在于"or(或)"表示选择落在两个区域的所有事件，而"xor(或非)"表示同时落在两个区域的事件将被排除在选择区外。

这四个逻辑操作符加上括号可创建组合门。最里边的括号内容最先计算，公式中剩下的内容从左到右计算。这允许用户很容易地创建复杂的门操作公式。以下是一些有效的门操作公式的例子。注:在FCS Express中输入公式时不需要空格，尽管一些人用空格来让公式可读性更强。

- "not lymphocytes or monocytes(非 淋巴细胞 或 单核细胞)"

  不是淋巴细胞的事件或单核细胞被选中。如果不用括号的话，NOT(非)操作只应用于淋巴细胞。

- "n(lymphocytes or monocytes)非(淋巴细胞 或 单核细胞)"

  首先执行"(lymphocytes or monocytes(淋巴细胞 或 单核细胞))"，然后执行非操作。现在所有不在淋巴细胞门里和不在单核细胞门里的事件被选中了。公式"Not lymphocytes And Not monocytes(非 淋巴细胞 和 非 单核细胞)"会有相同的结果。

- "(lymphocytes and monocytes)or(granulocytes and blasts)((淋巴细胞 和 单核细胞)或(粒性白细胞 和 原始血细胞))"

  同时在淋巴细胞和单核细胞门里的事件，以及同时在粒性白细胞和原始血细胞门里的事件被选中。因为"and"意味着事件必须在两个门里才会被选中，所以被选上的事件是那些淋巴细胞和单核细胞的交叠区，以及粒性白细胞和原始血细胞的交叠区。

Combination gates(组合门)可通过以下方式创建:

- 在版面上插入门视图对象189后(**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**)，在**Gate View(门视图)**上右键点击，然后从弹出窗口选择Add Combination **Gate(插入组合门)**。

会出现一个对话框(图9.3)。选择**Formula(公式)**字段，键入逻辑操作符和已有门的名称。在打字时，FCS Express会计算用户在敲入哪个门或逻辑运算符，并会为用户自动补全该词。如果有多个门或运算符与用户敲入的字母相符，可以用箭头键向下选择想要的门或运算符。敲**空格键**来接受选项。

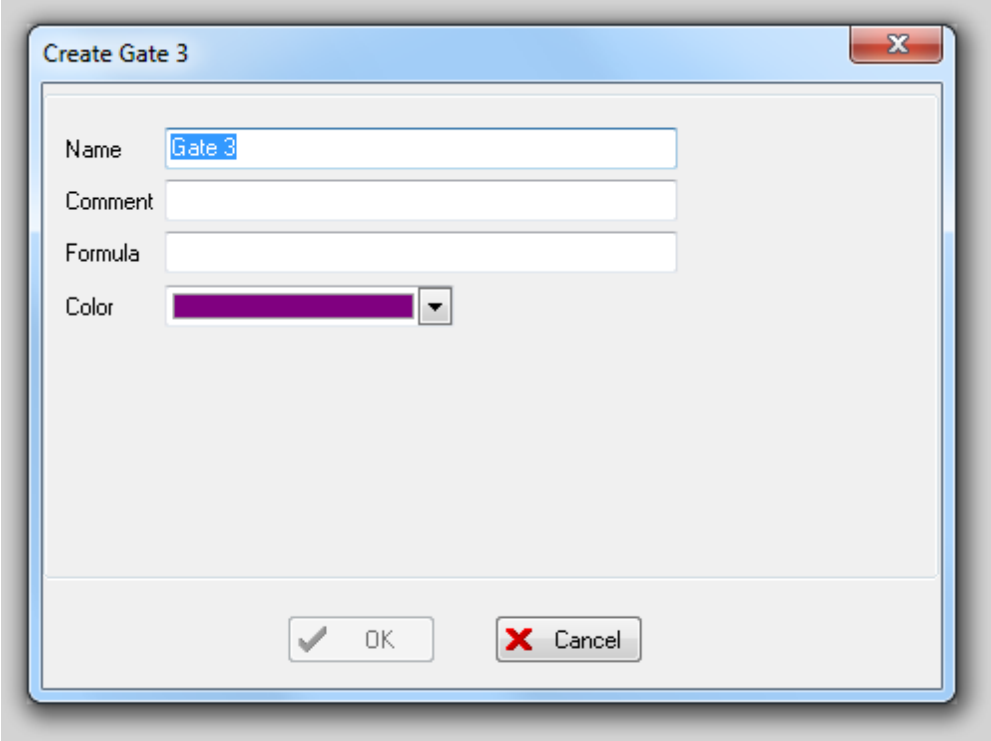


图 9.3 Creating a Combination Gate (**创建组合门**)

Adding a Combination Gate Matrix(添加组合门矩阵)

组合门矩阵是一组由已经存在的门创建的组合门。这组门包含每个以前存在的阳性和阴性门。比如，如果我们从一个标为"CD4"的门和一个标为"CD25"的门开始，选择这两个门，从它们创建一个组合门矩阵，会创建四个新门(图9.4):

- CD4+/CD25+
- CD4-/CD25+
- CD4+/CD25-
- CD4-/CD25-

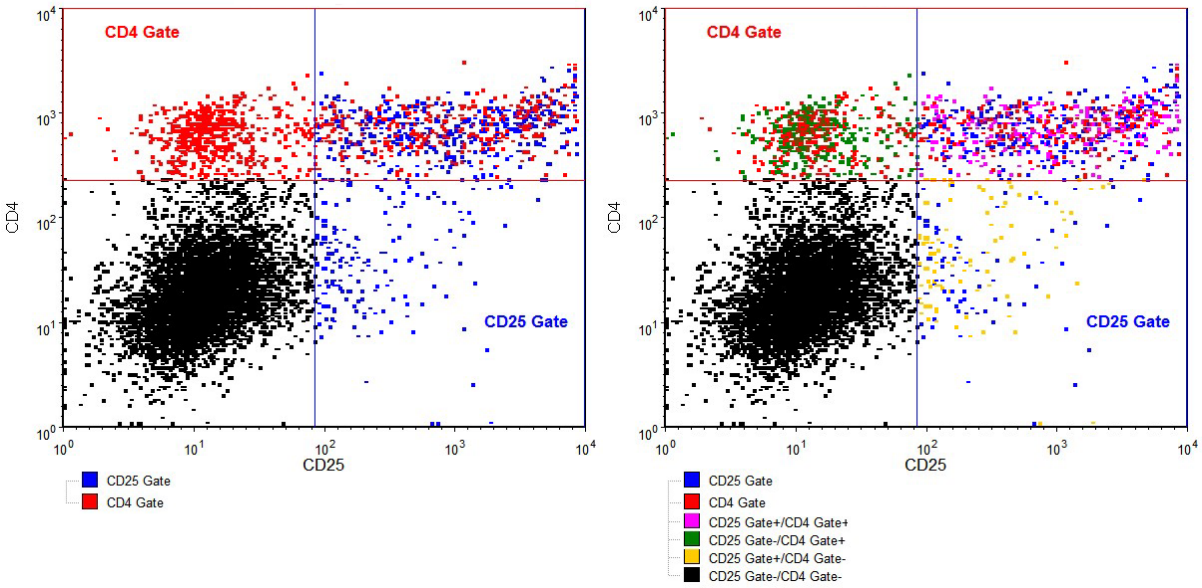


图 9.4 Combination Gate Matrix Example. Left: Gates applied to select all CD4+ or CD25+ cells. Right: Combination Gate Matrix applied to create gates for all four combinations. (**组合门矩阵例子。左图：用来选择所有**CD4+**或**CD25+**细胞的门。右图：组合门矩阵用来创建四个组合门。**)

一旦创建了新门，它们会被作为一般的门对待。任何对原始门的改变(比如重命名)不会导致新门重命名。新门可像其它组合门一样被删除或编辑。

要加入组合门矩阵:

在版面上插入门视图对象189(**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**)，选择用户想要用的门，然后右键点击**Gate View(门视图)**，从弹出菜单中选择 Add **Combination Gate Matrix(插入组合门矩阵)**(图9.5)。

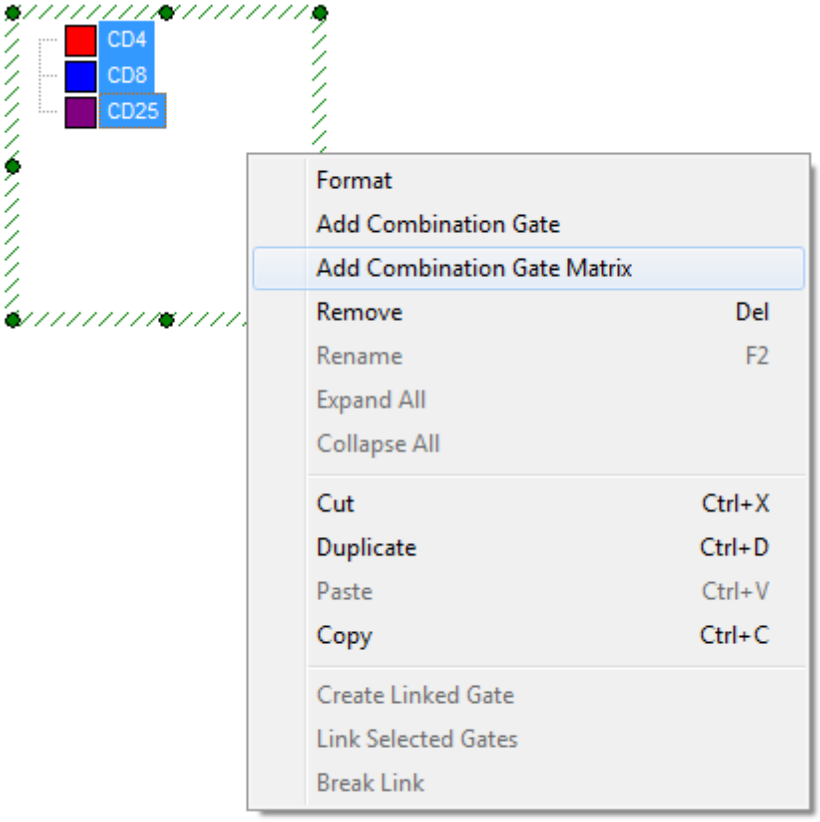


图 9.5 Adding a Combination Gate Matrix (**添加组合门矩阵**)

如果选择三个门来创建矩阵，矩阵添加之后，会有八个新的门。这些门如图9.6所示。

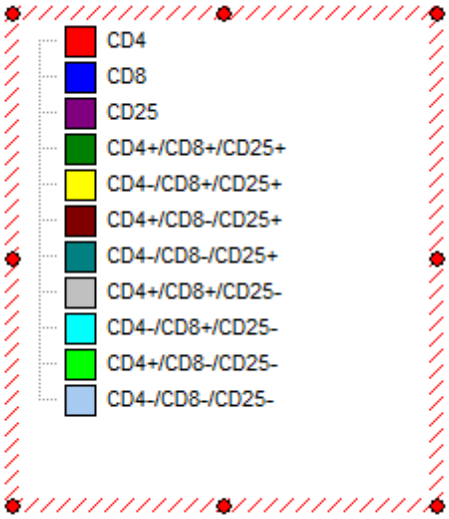


图 9.6 After Adding a Combination Gate Matrix (**添加组合门矩阵后**)

9.1.2 *移动门*

要移动一个门，在想要移动的门里单击鼠标一次。这会激活该门。光标会变为拖动光标，缩放把手会出现在门的顶点。要移动门，在门内任何地方点击并按住鼠标不动。移动鼠标来移动光标，门会跟着光标移动。在新位置放开鼠标，把门放置在那里。

操作开始后要取消门移动，按住Esc按钮，在松开Esc键前松开鼠标。

如果把一个门移到页面的空白处，结果会是:

- 创建应用该门的绘图
- 或删除该门

具体是以上哪种可能性将取决于编辑设置对话框中门命令页上"门移动"s那部分126的设置。

9.1.3 *改变门的大小*

要改变一个门的大小，当光标在要改变大小的门中时，左键点击鼠标。这会激活该门。光标会变为拖动光标，"缩放把手"会出现在门的顶点。将光标移到缩放把手处。正确的位置是当光标变成了可缩放的光标(一个双向的箭头)。点击该缩放光标并按住鼠标不放。移动鼠标来移动光标，顶点会跟着光标移动。放开鼠标把顶点放在新的位置。

在操作开始后，如果决定取消修改门的大小，请在松开鼠标前按下Esc键。

9.1.4 *删除门*

可用以下两种方式删除门:

- 从门视图对象189上选择一个门，然后:右键点击它，从弹出菜单中选择**Remove(删除)**

;或者在键盘上按**Delete(删除)**键 ;或选择**Home(主页)→Editing(编辑)→**Delete**(删除)**命令。

- 也可从绘图上用左键删除门。要删除一个门，在想删除的门上点击鼠标左键。这会激活该门。光标会变为拖动光标，缩放把手会出现在门的顶点。按Delete键或选择Home**(主页)→Editing(编辑)→Delete(删除)**命令。这时会出现一个对话框询问用户是否想完全删除门，还是只想从绘图中隐藏该门189。

9.1.5 *隐藏门*

要决定在一个二维绘图上哪个门可视，或者显示或隐藏一个门，在绘图上右键点击，然后从弹出菜单中选择**Show Gates(显示门)**。会出现一个列出当前已经定义的门的子菜单。在列表中点击一个门，使其在显示和隐藏状态间切换。

也可以从二维绘图上直接隐藏一个门:

1. 当光标在用户想隐藏或激活的门区域上时，点击鼠标。
2. 按下**Delete(删除)**键。
3. 在出现的对话框中选择**Hide(隐藏)**按钮。

注:只有当绘图的坐标轴和它在被创建时的坐标轴相符合时，该二维绘图才可被显示。

9.1.6 *门视图对象*

Gate View(门视图)对象允许在页面上放置一个门列表。作为一个对象，**Gate View(门视图)**会和其它任何对象一样被打印和显示。要了解更多对象属性，参见格式化所有对象共享的选项140。

要插入**Gate View(门视图)**对象，选择**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**命令。

很多命令可直接从**Gate View(门视图)**执行:

- 要从整个版面中删除一个门，从**Gate View(门视图)**中选择该门，点击**Delete(删除)**键。
- 要为门重命名，在**Gate View(门视图)**上选择该门，然后按F2键。输入新的名称，然后按**Enter(回车键)**。
- 要编辑门的所有属性，在**Gate View(门视图)**上双击调出**Edit Gate(编辑门)**对话框(图9.7)。如果用户勾选了**Alt+ Click required to select this gate(需要用Alt-点击来选择该门)**，那么只有在单击时按下Alt键才可选择这个门。这会防止不小心的改变门的顶点。
- 要重新安排门的层次结构193，可在**Gate View(门视图)**上拖放门到相应位置。比如，要把一个门做成另一个门的子门，把该门拖到父门上即可。
- 要为绘图添加门，从**Gate View(门视图)**上把该门拖到该绘图上即可。

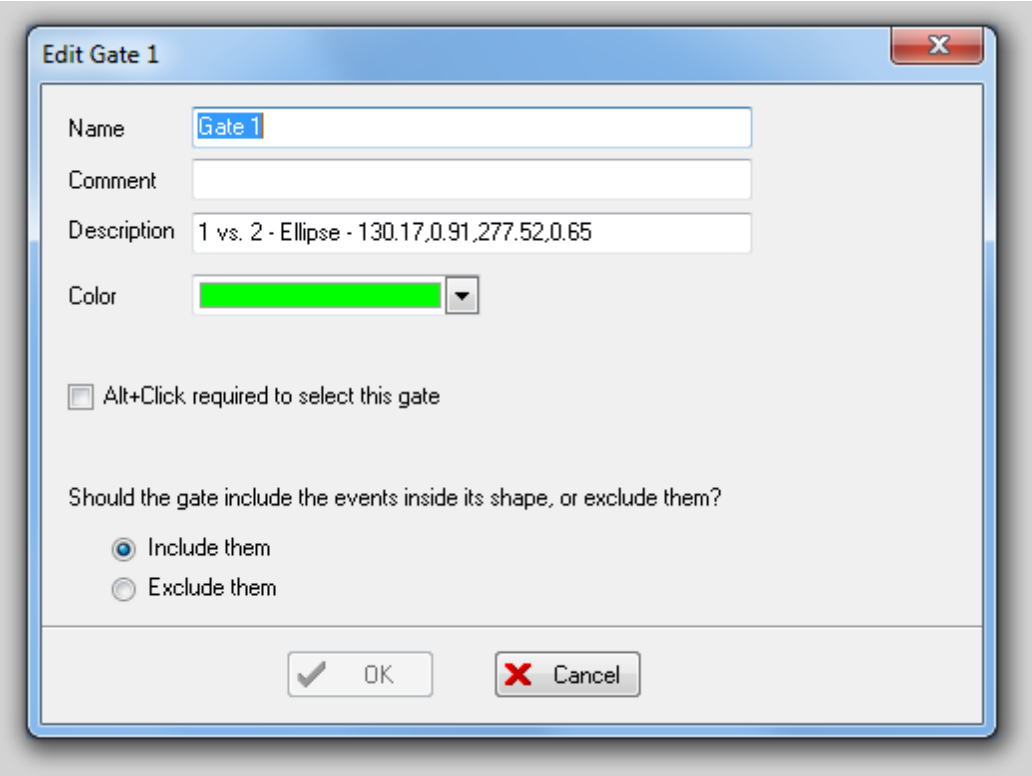


图 9.7 Edit Gate Dialog (**编辑门对话框**)

9.1.7 *保存和导入门*

门可以保存和导入 ;在一个版面中创建的门可以导入另一个版面。保存门会保存它们的所有信息，包括门的层次结构。要保存和导入门，分别选择**Gating(门操作)→Gates(门)→**Save **(保存)**和**Gating(门操作)→Gates(门)→Load(导入)**命令。

9.1.8 *门和剪切板*

在FCS Express内部可用剪切板复制和粘贴门。

- **将门复制到剪切板**

  当光标在用户希望复制的门上时点击鼠标。这会激活该门。选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Copy Gate(复制门)**命令或在键盘上按Ctrl+C。类似地，可在门视图189上选择该门，然后选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→**Copy Gate **(复制门)**或从键盘上按Ctrl+C。

- **将门剪切到剪切板**

  当光标在用户希望剪切的门上时点击鼠标。这会激活该门。选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Cut Gate(剪切门)**命令或在键盘上按Ctrl+X。类似地，可在门视图189上选择该门，然后选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Cut Gate(剪切门)**命令或从键盘上按Ctrl+X。如果从绘图上剪切门，会出现一个对话框，询问用户是否

完全删除此门还是将此门从绘图上隐藏。

9.1.9 *将门应用于绘图*

用户有几种方式来把门应用于绘图上，使得只有该门上的事件才会出现于该绘图上。绘图上的所有叠加图层并非只可以使用同一个门。

- 创建门视图189对象。在用户想要使用的门上按下鼠标键。按住鼠标键不放，把该门从**Gate View(门视图)**列表上拖到一个绘图上。
- 在绘图上选择一个门。按住鼠标不放，把该门拖到另一绘图上。
- 选中绘图，然后来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)**命令组。从Current **Gates(现有门)**下拉列表中选中该门。
- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。来到**Overlays(叠加图层)**页(参见格式化单参数柱状图157或格式化二维绘图164)，然后从下拉列表中选择现有使用的门。

9.1.10 *链接门*

在FCS Express Version 4中，可将同一类型的两个或多个门链接起来。这会让这些门成为互相的副本。将来，移动一个门或调整一个门的大小，会移动所有链接的门。

要链接两个门:

1. 在一个包含两个或多个相同类型的门的版面上插入一个**Gate View(门视图)**对象，方法是使用**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**命令。注:只能链接类型相同的门，例如，两个矩形门或两个椭圆形门。不可以链接一个矩形门和一个椭圆形门。
2. 在**Gate View(门视图)**中选择这两个门(使用Shift键- 点击的方法)。
3. 右键点击选中的任何一个门，从弹出菜单中选择**Link Selected Gates(链接所选的门)**(图9.8)。

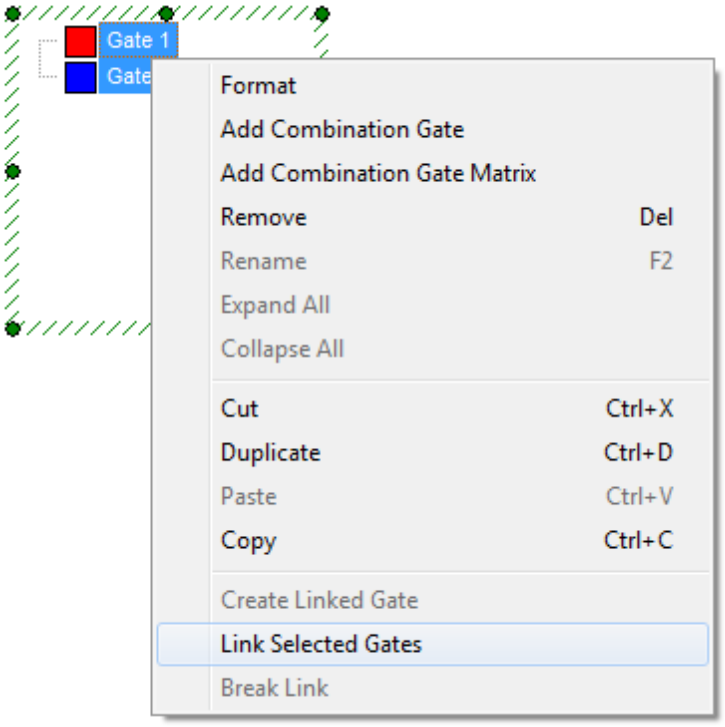


图 9.8 Linking Gates (**链接门**)

在**Gate View(门视图)**中，选上一个门后，门的图标会从正方形变成链条形，表明这些门是链接在一起的(图9.9)。

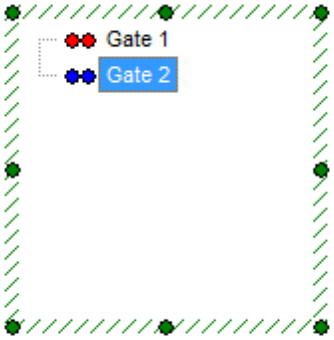


图 9.9 Linked Gates with Chain Icon (**链接在一起的门会带有链条状的图标**)

要解除链接:

1. 在**Gate View(门视图)**上，右键单击任一链接的门，然后从弹出菜单中选择Break **Link(取消链接)**。

也可以为一个门做完全复制/ 副本来创建链接门:

1. 在Gate View中，在要完全复制的门上右键单击，从弹出菜单中选择Create **Linked Gate(创建链接门)**。

9.1.11 *有层次的门操作*

在查看流式细胞数据时，常见的操作是分析和比较子细胞组。实践操作中便是用到逻辑运算符*AND(与)*的很多组合门。比如，用户可先指定一个活细胞群，意在检测该活细胞群中的淋巴细胞、单核细胞和粒性白细胞。要这样做，首先要定义门: *Live cells(活细胞)*、*Lymphocytes (淋巴细胞)*、*Monocytes(单核细胞)*和 *Granulocytes(粒性白细胞)*。然而，用户想要检测的子细胞群却是组合门: *Live cells and Lymphocytes(活细胞 与 淋巴细胞)*、*Live cells and Monocytes(活细胞 与 单核细胞)*和*Live cells and Granulocytes(活细胞 与 粒性白细胞)*。用逻辑组合门的方法，门列表上现在有七个门。如果再加入其它子细胞群，比如*T淋巴细胞和B淋巴细胞*，会进一步增加门的数目。

有层次的门结构通过引入"父"门和"子"门的概念来帮助这一类的分析。父门可以包括一个或多个子门，父门的门操作标准会传递给子门。在我们讨论的例子中，有层次的门结构将门的数目从七减少到了四，并且不必手动添加组合门公式。

版面当前的门操作层次结构列于门视图189中。

图9.10给出了我们这个例子中这些门的有层次的操作方法。



图 9.10 Gate View Showing Hierarchy (**展示门层次的查看门对象**)

注意到**Lymphocytes(淋巴细胞)**、**Granulocytes(粒性白细胞)**和**Monocytes(单核细胞)**门现在是**Live cells(活细胞)**门的子门了。这意味着如果用户将**Lymphocytes(淋巴细胞)**这个门用于绘图上，该门实际上是作用在*Live cells and Lymphocytes(活细胞和淋巴细胞)*上。同样的情况对另外两个门也适用。

用户可以在任何时候改变门操作的结构，方法是在**Gate View(门视图)**上单击门，然后将其

拖拽到一个新的层次位置。

如果在一个已经有门的绘图上加入新门，并且在门设置[126]中启用了when a new gate is **created, create it hierarchically(当创建新门时，总是将其加入门层次中)**，那么新门会成为已有门的子门。注意，该选项的默认设置是不启用。

9.2 使用标识

标识是用户在一维绘图上设置的区域(在其它数据分析软件中有时被称作"区域")。

9.2.1 *创建标识*

要在绘图上创建标识，可用以下方法:

- 选择**Gating(门操作)**(或**Home(主页)**)→**Create Gates(创建门)**→Create **Marker(创建标识)**命令。
- 在绘图上右键点击，从弹出菜单中选择**Create marker(创建标识)**。

然后，将光标放在想让标识左边界出现的位置，按下鼠标。按住鼠标不放，把光标向右移动。将光标移到想要的标识右边界出现的位置，松开鼠标。

9.2.2 *移动标识*

可用以下方法移动标识:

- 点击标识任何位置将其选中。当标识选中时，会出现三个调整把手，两个在边上，一个在中间。中间的把手用来移动标识。当光标移到中间把手上时，光标会变成四向箭头。按住鼠标不放，将其移到一个新位置。当标识移到新位置后，放开鼠标。要取消移动，按住**Esc(退出)**键，松开鼠标。
- 当包含用户要移动的标识的绘图处于选中或编辑状态时，使用**Format(格式)**→1D **Options(一维选项)**→**Markers(标识)**命令。这会调出**Formatting Markers(格式化标识)**对话框。在列表中选中要移动的标识。低参数值和高参数值分别代表标识左端和右端的边界。要修改这两个数值，可直接输入数值或用箭头按钮逐步增加或减少数值。然后点OK。
- 右键点击包含标识的绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。从格式化对话框中选择**Markers(标识)**项。在列表中选择要移动的标识。低参数值和参高数值分别代表标识左端和右端的边界。要修改这两个数值，可直接输入数值或用箭头按钮逐步增加或减少数值。然后点击OK。

9.2.3 *改变标识大小*

可用以下方法改变标识大小:

- 点击标识任何位置将其选中。当标识选中时，会出现三个调整把手，两个在边上，一个在

中间。在两端的把手用来调整标识大小。当光标移到两端把手上时，光标会变成双向箭头。在光标是双向箭头时，按下鼠标。按住鼠标不放，把标识边界移到一个新位置。当标识大小合适时，松开鼠标。

- 当包含标识的绘图处于选中或编辑状态时，使用**Format(格式)→1D Options(一维绘图)→Markers(标识)**命令。这会调出**Formatting Markers(格式化标识)**对话框。在列表中选中要调整大小的标识。低参数值和高参数值分别代表标识左端和右端的边界。要修改这两个数值，可直接输入数值或用箭头按钮逐步增加或减少数值。然后点OK。

- 右键点击包含标识的绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。从格式化对话框中选中**Markers(标识)**项。在列表中选中要改变大小的标识。低参数值和高参数值分别代表标识左端和右端的边界。要修改这两个数值，可直接输入数值或用箭头按钮逐步增加或减少数值。然后点OK。

9.2.4 *删除标识*

可用以下方法删除标识:

- 要从绘图中直接删除标识，在标识上任何位置点选它。当标识被选中时，会出现三个调整把手，两个在边上，一个在中间。在键盘上按**Delete(删除)**键或者选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Delete(删除)**命令。

- 当包含标识的绘图处于选中或编辑状态时，使用**Format(格式)→1D Options(一维绘图)→Markers(标识)**命令。这会调出**Formatting Markers(格式化标识)**对话框。在列表中选中要删除的标识。点击**Remove(删除)**键。然后点OK。

- 右键点击包含标识的绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。从格式化对话框中选择**Markers(标识)**项。在列表中选中要删除的标识。点击**Remove(删除)**键。然后点OK。

9.2.5 *使用标识和剪切板*

- 将标识复制或剪切到剪切板上

  在标识任何位置上点击选择它(会出现三个调整把手)。使用**Home(主页)→**Clipboard**(剪切板)→Cut Marker(剪切标识)**(或 **→Copy Marker(复制标识)**)命令。

- 粘贴标识

  选择要把标识粘贴到的绘图。使用**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→**Paste **Marker(粘贴标识)**命令。

9.2.6 *将标识链接到门*

当标识链接到门时，门会像标识一样自动调整大小或移动。可用格式化标识对话框中的标识列表来把标识链接到任何当前的一维门160。

也可从标识创建一个门来把它们自动链接起来。要这样做:

- 右键点击柱状图，选择相应的标识，然后从弹出菜单中选择Convert Marker to **Gate(把标识转化为门)→Convert and Link(转化并链接)**。如果在门创建提示选项中设置了显示提示单选按钮一项126(在Edit Preference(编辑设置)对话框中的Gate Preferences(门设置)那里)，用户会得到提示，要求为新门输入一个名称。

要解除和门的链接:

1. 使用**Format(格式)→1D Options(一维选项)→Markers(标识)**命令来调出**Formatting Markers(格式化标识)**对话框(或在柱状图上右键点击，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Markers(标识)**项)。
2. 从左边的列表选择标识。
3. 在**Linked Gate(链接的门)**下拉列表中，修改属性到**No Link(无链接)**。

9.3 使用象限

FCS Express支持三种不同类型的象限167: 标准、浮动和百分比。四个象限定义如下:Upper Left(左上)(UL)、Upper Right(右上)(UR)、Lower Left(左下)(LL)和Lower Right(右下)(LR)。

标准象限是大多数流式细胞软件都有的。四个象限是正方形或矩形，由一个中心点定义。移动中心点会移动所有四个象限。

浮动象限允许四个象限可以不是矩形。当象限可浮动时，每一个象限可有一个不同的形状。象限的终点不再连接到象限中心，每个象限顶点可被独立操作(参见以下浮动象限的例子)。浮动象限允许快速简单地获取与x和y轴不垂直的细胞群的统计数据。当只需要百分比时，这可消除补偿的必要。

标准象限和浮动象限的例子见图9.11。

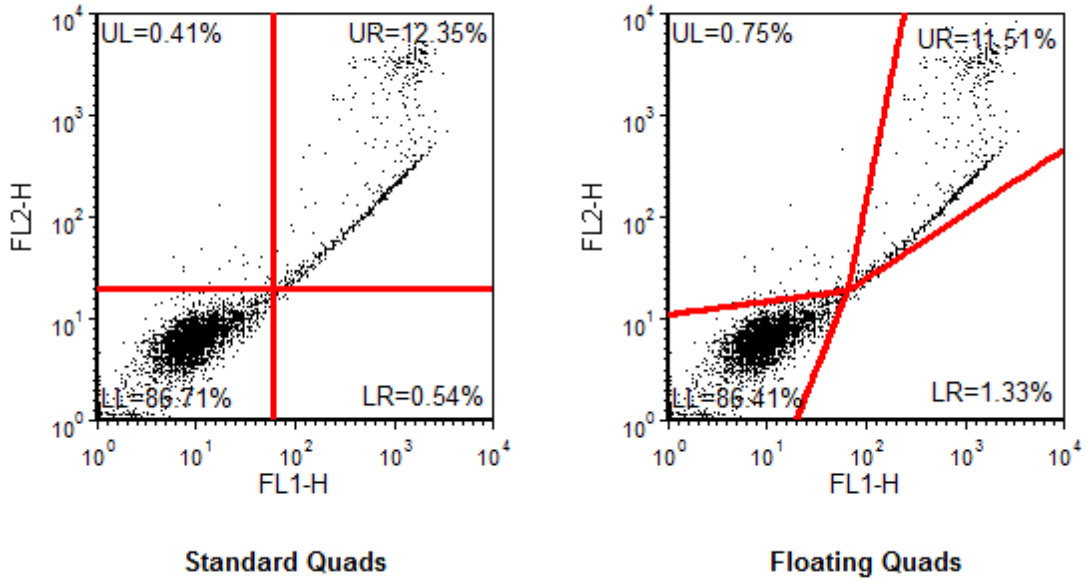


图 9.11 Standard vs Floating Quads (**标准象限和浮动象限比较**)

百分比象限和标准选项类似，只是象限顶点自动根据格式对话框的象限命令167计算。当绘图上的数据变化时，象限顶点会自动更新。比如，如果设置百分比为99%，象限会自动更新，以使中心象限顶点所在的通过高于99%的事件所在的通道。首先在对照样本上设置百分比象限、然后把这些象限和试样绘图链接起来是很有用的一种方法。象限链接在将象限链接到象限198一节中会详述。

9.3.1 选择象限

要选择象限，点击所有直线汇聚的顶点。如果选择标准象限，一个调整把手会在中心顶点出现。如果选择浮动象限，调整把手会在所有顶点出现。

9.3.2 显示象限

在绘图上只可以有一组象限。它们在绘图创建时自动创建。通过在编辑设置对话框中的二维绘图页115上选择**Show quadrants(显示象限)**复选框，可以控制是否自动显示象限。默认的设置是创建绘图时隐藏象限。

可用以下方法显示象限:

- 在绘图上右键点击，从弹出菜单中选择**Show Quadrants(显示象限)**。
- 选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Quadrants(象限)**命令，在绘图上用户希望象限中心点出现的地方点击。
- 右键点击绘图，然后选择**Format(格式)**一项。选择**Quads(象限)**类。点选Show **quadrants(显示象限)**复选框。

9.3.3 移动象限

绘图上象限的顶点可用鼠标点击拖动，或者在格式窗口的象限命令页上输入顶点坐标。

- **Moving Standard Quadrants(移动标准象限)**

  在要移动的象限中心顶点点击。如果光标变成了四头的箭头，说明用户点击到了正确的位置。在光标是四向箭头时，按下鼠标不放，把光标移到新的中心顶点位置。放开鼠标，象限即被移到新的位置。

- **Moving Floating Quadrants(移动浮动选项)**

  在要移动的象限中心顶点点击。当光标变成了四向的箭头，证明用户点击到了正确的位置。当四向箭头光标在五个顶点的任何一个顶点上方时，按下鼠标键不放，移动光标到新的顶点位置。放开鼠标。*注:*和标准象限一样，中心顶点可移到绘图上的任何位置。边界顶点只能沿着绘图边缘移动。

要从Format(格式)窗口直接输入顶点坐标，参见格式化二维绘图中的象限一节167。*注:* 用户有两种方法来调出直接输入顶点坐标的格式窗口: 一是右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**；二是选中绘图，使用**Format(格式)→2D Options(二维选项)→Quadrants(象限)**命令。

操作开始后要取消对象限的移动，只要在任何时候按下Esc键即可。

*注:*如果象限链接到另一绘图中的象限198，另一绘图上的象限也会跟着移动。另外，不可以移动百分比选项(参见格式化二维绘图下的象限一节167)。

9.3.4 隐藏象限

象限总是和绘图一起存在。它们永远不能被删除，但却可以隐藏。

可用几个方法来隐藏象限:

- 右键点击绘图，从弹出菜单中取消**Show Quadrants(显示象限)**选择。
- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择Format(格式)。在格式对话框上来到**Quads(象限)**部分，取消在**Show quadrants(显示象限)**复选框上的勾选。
- 选择绘图，使用**Format(格式)→2D Options(二维选项)→Quadrants(象限)**命令。取消在**Show quadrants(显示象限)**复选框上的勾选。
- 点击中心顶点来选择象限。在键盘上按**Delete(删除)**键，或选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Delete(删除)**命令。

9.3.5 把象限链接到象限

FCS Express允许把不同绘图上的象限链接起来。这意味着当一个绘图上的象限移动时，链接绘图上的象限也会自动移动。这在创建阴性对照象限时很有用，将阴性对照象限和试样象

限链接起来，那么更新试样数据上的象限会自动更新对照象限。要建立链接象限，参见象限链接象限167一节。

9.3.6 从象限创建门

可以从一个象限创建门。创建的门是一个拥有和象限同样坐标的多边形门。可从Upper **Left(左上)**、**Upper Right(右上)**、**Lower Left(左下)**、**Lower Right(右下)**、**Upper (上方)**(*左上加右上*)、**Lower(下方)**(*左下加右下*)、**Left(左侧)**(*左上加左下*)或**Right(右侧)**(*右上加右下*)象限创建门。

要从象限创建门:

右键点击绘图，然后从弹出菜单中选择**Convert Quads To Gates(将象限转化为门)**一项。从子菜单选择要转化成门的象限。选择**Convert(转化)**或转化并链接199。

9.3.7 把象限链接到门

用户可将象限链接到门，当象限移动时，门会自动调整到新的象限坐标。这允许用户有效地把象限作为门来使用。

创建和门的链接方法有:

- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择Convert Quads to Gates(将象限转化为门)下的Convert and Link(转化和链接)199(在从子菜单上选择该象限后)。
- 右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。选择**Quads(象限)**类。从列表框中选择**Quad to Gate(象限到门)**。从下拉列表中选择一个象限和一个多边形或自由形状的门。关于象限链接的解释可点击What's this?键查看，进一步的信息可在格式化二维绘图下的象限一节167找到。或者，要来到格式窗口，可选中绘图，然后使用Format **(格式)→2D Options(二维绘图)→Quadrants(象限)**命令。

9.3.8 使用象限和剪切板

用户可以从剪切板粘贴象限或将象限复制到剪切板。

- 把象限复制或剪切到剪切板

  点击中心顶点来选择象限。选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→**Copy Quad **(复制象限)**(或**→Cut Quad(剪切象限)**)命令。注:剪切并非删除象限，它只是将其隐藏。

- 粘贴象限

  选择要把象限粘贴到的绘图。选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→**Paste Quad **(粘贴象限)**命令。

9.4 统计

FCS Express可生成在分析流式细胞数据时可能用到的任何统计计算。统计计算可针对柱状图或二维绘图。只能针对那些被叠加图层上的门操作公式接受的细胞进行统计计算。

9.4.1 柱状图统计

统计计算会针对柱状图上所有叠加图层进行。如果有标识，统计计算会针对应用标识的所有叠加图层进行(参见创建标识194和柱状图标识160)。

要查看柱状图统计，右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Statistics(统计)**。

可用的统计操作见下表。

统计	解释
Histogram #(柱状图编号)	如果绘图上有多个可见叠加图层，统计计算会应用于每一层。**Histogram #(柱状图#)**显示统计计算列里面的叠加图层号码。叠加图层号码对应于格式窗口中叠加图层157页上叠加图层列表中的位置。
Filename(文件名)	叠加图层的文件名。
Parameter(参数)	在叠加图层上显示的参数名。参数名来源可在数据导入 - FCS文件选项137下的**Edit Preferences(编辑设置)对话框**中设置。
Overlay Gate(叠加图层门)	当前应用于叠加图层上的门的名称。
Marker(标识)	如果绘图上有多个标识，统计会针对有标识的所有叠加图层进行计算。**Marker(标识)**显示统计计算列上的标识编号。该标识编号对应于**Format(格式)**窗口的**Markers(标识)**页上标识列表中的位置(参见柱状图标识160一节)。
Low bound(低边界)	标识低边界的通道值。
High bound(高边界)	标识高边界的通道值。
# of Events(事件数)	被门操作公式接受的事件数。
% of all cells(细胞百分比)	被门操作公式接受的事件数以及在特定标识区间内的事件数除以FCS文件中的事件总数。
% of gated cells(门内细胞百分比)	被门操作公式接受的事件数以及在特定标识区间内的事件数除以显示于绘图上的事件总数。
Median(中间值)	被门操作公式接受的在特定标识区间内的所有事件的中间通道数值。
Geometric Mean(几何平均数)	被门操作公式接受的在特定标识区间内的所有事件的几何平均通道数值。和算术平均类似，只是n个数值先相乘，乘积的n次方根被作为平均数。
Arithmetic Mean(算术平均)	被门操作公式接受的在特定标识区间内的所有事件的算术平均通道数值。
CV(Coefficient of Variation(变异系数))	被门操作公式接受的在特定标识区间内的所有事件的变异系数。变异系数衡量数据的分布，等于标准偏差除以平均数。
RCV(Robust CV(强变异系数))	被门操作公式接受的所有事件的强变异系数。对于不符合一般高斯分布的数据群，RCV可能更有用。它等于0.75乘以内四分位数间距再除以中间数。内四分位数间距是处于第75%的通道值减去处于第25%的通道值。
5%-ile(第5%通道位置)	被门操作公式接受的细胞里第5%细胞数对应的通道值。
95%-ile(第95%通道位置)	被门操作公式接受的细胞里第95%细胞数对应的通道值。
25%-ile(第25%通道位置)	被门操作公式接受的细胞里第25%细胞数对应的通道值。
75%-ile(第75%通道位置)	被门操作公式接受的细胞里第75%细胞数对应的通道值。

Peak Value(峰值)	峰值通道上的事件数。
Peak Channel(峰值通道)	最多事件数对应的通道值。
Concentration(浓度)	门操作公式接受的细胞浓度。浓度计算中的参数可在浓度计算器246中设置。
Percent Positive(阳性百分比)	门操作公式接受的细胞中相对于对照叠加图层的阳性细胞百分比。对照叠加图层可在柱状图特定选项162处设置。
Standard Deviation **(标准偏差)**	衡量事件相对于平均值的偏差。是方差的二次方根。

当在版面中加入统计操作时，选择**Format(格式)→Statistics Options(统计选项)→Statistics(统计)**命令会调出一个可以格式化统计计算的对话框。选项Calculate M0 for **overlays(为叠加图层计算M0)**除了显示标识的统计数据之外，也显示没有任何标识的整个叠加图层的统计数据。

9.4.2 *二维绘图统计*

二维绘图可显示两种统计。两种统计的计算方法是一样的，但为统计目的而划分事件的方法有所区别。

- **Gate Statistics(门统计)**

  所有在**Gates to Display(要显示的门)**的数据选项里设置的门都会被进行统计计算，尽管有些门可能未显示在绘图上。可用以下方式来到"要显示的门"对话框:使用Format **(格式)→Data Options(数据选项)→Gates To Display(要显示的门)**命令，或者，右键点击统计窗口，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择格式化统计203对话框。

- **Quadrant Statistics(象限统计)**

  对所有象限进行统计计算。每个叠加图层将有四行统计数据，每一行对应一个象限。

要打开统计窗口，右键点击二维绘图，然后从弹出菜单中选择**Gate Statistics(门统计)**或**Quadrant Statistics(象限统计)**(如果象限没有显示，该选项是不可用的)。

统计选项列于下表。一个区域可以代指一个门或一个象限。

统计选项	解释
Overlay #(叠加图层编号)	如果绘图上有多个叠加图层，绘图上每个叠加图层的统计都会被计算。**Overlay #(叠加图层编号)**显示相应统计数据行的叠加图层编号。叠加图层编号对应于格式窗口里的叠加图层165页面上的叠加图层列表里的编号。
FCS Filename **(FCS文件名)**	和叠加图层编号对应的文件名。
Overlay Gate **(叠加图层门)**	当前被应用于叠加图层上的门的名称。
Gate/Quadant **(门/象限)**	应用统计计算的门和象限。
# of Events(事件数)	该区域里门操作公式接受的总的事件数。
X Geometric	门操作公式接受的X轴上事件的几何平均通道值。和算术平均类似，只是数

统计选项	解释
Mean(X轴几何平均)	值先相乘，乘积的N次方根作为几何平均。
Y Geometric **Mean(Y轴几何平均)**	门操作公式接受的Y轴上事件的几何平均通道值。和算术平均类似，只是数值先相乘，乘积的N次方根作为几何平均。
X Arithmetic **Mean(X轴算术平均)**	在门操作公式接受的区域里所有细胞在X轴上的算术平均通道值。
Y Arithmetic **Mean(Y轴算术平均)**	在门操作公式接受的区域里所有细胞在Y轴上的算术平均通道值。
X Median(X轴中间通道值)	在门操作公式接受的区域里所有细胞在X轴上的中间通道值。
Y Median(Y轴中间通道值)	在门操作公式接受的区域里所有细胞在Y轴上的中间通道值。
X CV(Coefficient of Variation)(X轴变异系数)	被特定标识的门操作公式所接受的X轴上事件的变异系数。CV衡量数据分布情况，等于标准偏差除以平均值。
Y CV(Y轴变异系数)	被特定标识的门操作公式所接受的Y轴上事件的变异系数。
X RCV(Robust CV)(X轴强变异系数)	X轴上为门操作公式接受的事件的强变异系数。当数据群不遵循高斯分布时，用RCV比CV更合适。RCV等于0.75乘以内四分位数间距再除以中间值。内四分位数间距是第75%的通道值减去第25%通道值。
Y RCV(Y轴强变异系数)	Y轴上为门操作公式接受的事件的强变异系数。
% of Gate **Cells(门细胞百分比)**	在特定区域的事件总数除以整个绘图上被门操作公式接受的事件总数。
% of All Cells **(占总细胞百分比)**	在特定区的事件总数除以FCS文件中事件总数。
Concentration **(浓度)**	被门操作公式接受的细胞浓度。浓度计算的参数可在浓度计算器 246 中设置。
X Standard **Deviation(X轴标准偏差)**	衡量事件偏离X轴平均值的程度。是方差的平方根。
Y Standard **Deviation(Y轴标准偏差)**	衡量事件偏离Y轴平均值的程度。是方差的平方根。

9.4.3 *使用统计和剪切板*

可以从统计窗口复制单个统计数据或一组相连的统计数据到剪切板上。首先，必须选择要复制的单元格。可以把统计数据粘贴到文本文件或电子表格里。从统计窗口中剪切单元格是不允许的。

点击一个单元格将其选中。单元格的背景会高亮显示为蓝色。要选择一组相连的单元格，先选中第一个，将其高亮显示。然后，按下Shift键，选择组里最后一个单元格。所有选择的单元格都有蓝色背景。

选中要复制的单元格，使用**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Copy Text(复制文本)**命令(或者Ctrl+C)来把统计数据(即统计名和所选单元格)复制到剪切板上。

9.4.4 格式化统计

用户可通过设置选项来控制哪些统计数据显示在哪些统计窗口上。

可以通过以下方式修改统计显示:

- 右键点击统计窗口。在弹出菜单上有一列统计数据。可以从该菜单选择任何统计选项。如果选上某项统计，其名称旁会出现一个核对符号。
- 鼠标右键点击统计窗口，从弹出窗口选择**Format(格式)**。在**Stats(统计)**页的列表框中勾选要显示的统计选项。
- 选中统计窗口，然后使用**Format(格式)→Statistics Options(统计选项)→Statistics(统计)**命令。在列表框中选择要显示的统计选项。

要格式化统计窗口，右键点击它，然后从弹出菜单中选择**Format(格式)**。用户有几个命令组来设置不同属性，这些属性包括统计窗口的大小、边框、可用哪些统计以及想要在哪些门上显示统计。

要设定打开统计窗口时的默认统计设置，使用**Edit Preferences(编辑设置)**下的绘图统计一类 119。如果在数据分析过程中经常使用同样的统计，使用该功能会比较方便。

9.5 坐标系

FCS数据一般是在线性或对数坐标下采集的，坐标数据信息存储在FCS数据文件的文件头中。尽管FCS Express支持在对数坐标下显示线性坐标，数据一般会按其采集时的坐标显示。

对数坐标的缺点是它不可以显示零以下的数值。这一点非常限制软件做数据补偿，因为常常很大一部分补偿数据出现在"零以下"的通道。负值在对数坐标系中因为被放在坐标轴上而常常被忽略，导致数据被过度补偿。

为克服这一限制，人们发明了几种其它的数据轴坐标系。这些坐标系的特点是它们在接近零的地方是线性，而在远离零的地方为对数。这些坐标系也可以显示零以下的数据。线性坐标和对数坐标相结合的坐标系称为混合型坐标系。关于这方面的更多资料可在以下文献中找到:

- Herzenberg LA, Tung J, Moore WA, Herzenberg LA, Parks DR.Interpreting flow cytometry data: a guide for the perplexed. *Nat Immunol* 2006;7:681-685.
- Parks DR, Roederer M, Moore WA.A New "Logicle" Display Method Avoids Deceptive Effects of Logarithmic Scaling for Low Signals and Compensated Data. *Cytometry A* 2006;69A:541-545.
- Bagwell CB.Hyperlog – A Flexible Log-like Transform for Negative, Zero,

and Positive Valued Data. *Cytometry A* 2005;64A:34-42.

- Battye FL.A Mathematically Simple Alternative to the Logarithmic Transform for Flow Cytometric Fluorescence Data Displays. *Cytometry A* 2006;69A:413-414.

FCS Express支持以下坐标体系:

- 线性: 标准线性坐标系
- 对数: 标准对数坐标系
- 支持负值的对数坐标: 一个改良的对数坐标系

$$T(x) = \begin{cases} Log(x), x > 0 \\ -Log(-x), x < 0 \\ 0, x = 0 \end{cases}$$

一般对数函数中不定义对零和负值的操作。如果它们是在补偿时生成的，就像在补偿数据中经常看到的那样，它们一般显示为叠放在坐标轴上的事件。可以处理负数的对数函数中，如果遇到负数，先计算其绝对值的对数，然后将其显示在坐标轴的负值部分，作为"负对数"显示，该值是其绝对值的镜像。零数值仍然放在坐标轴上。

- 双指数

双指数体系被BD FACSDiva软件普及化。因为我们和BD的密切合作，FCS Express现在支持FACSDiva在显示双指数数据方面的所有选项。实际上，我们引入了FACSDiva的计算反射点的专有算法，因此FCS Express的结果看起来和FACSDiva软件的结果完全一样。

- Hyperlog™2坐标系: 描述于Bagwell的文章中，详见前方的文献。
- Lin/ Log(线性/ 对数)坐标系: 描述于Battye的文章中，详见前方的文献。

$$T(x) = \begin{cases} ax, x < t \\ Log(cx), x > t \end{cases}$$

该转化在过渡点以下完全是线性，在过渡点以上完全是对数。系数 *a*和 *c*相配合，保证在过渡点的连续性。

9.5.1 数据显示

可用坐标轴格式化选项来调整绘图上的坐标系。所有数据文件，无论获取这些数据时的坐标是什么，都可在FCS Express中的任何坐标系中显示。坐标系只改变数据的显示方式，不会改变统计计算。

*Lin/Log(线性/对数)*和*Hyperlog(超对数)*坐标系都有可以调整的系数。系数可在**Scale(坐标系)**下**Axis(坐标轴)**页上格式化对话框(右键点击绘图，从弹出窗口选择**Format(格式)**)中进行修改。该参数被称为**Transition Point(过渡点)**，因为它描述了从线性主导区到对数主导区的过渡。*Hyperlog(超对数)*坐标系的该过渡参数等于Bagwell文章[203]中的参数*b*。

图9.12是一个把*Lin/Log*坐标系过渡点设置为200的例子。键入的过渡值是以通道为单位，不必像Bagwell文章中描述的那样选择数值。

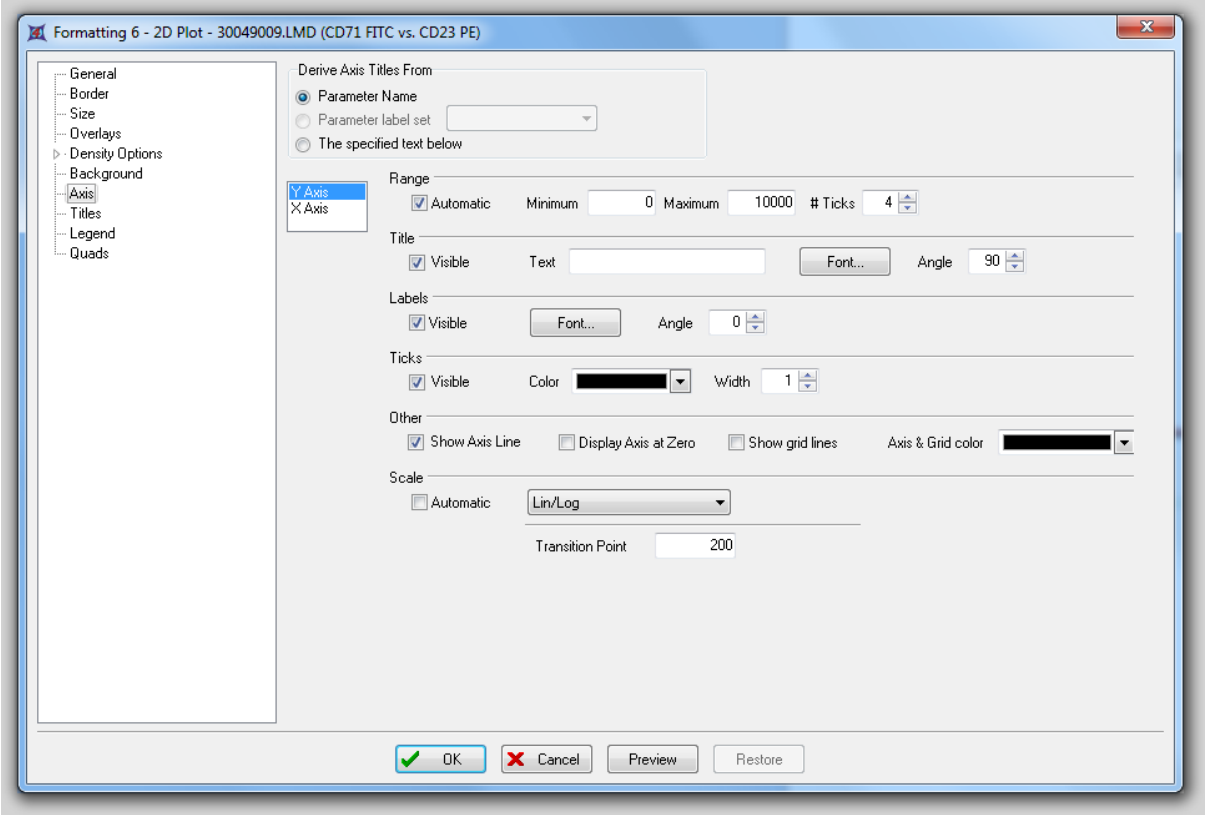


图 9.12 Setting the Transition Point for the Y-axis in Lin/Log Scaling (**为**Lin/Log **坐标系**Y-**轴设置过渡点**)

对所有这些过渡值而言，较小的过渡值会让绘图更真实地模拟标准对数图。过渡值的准确选取在很大程度上取决于用户的数据，一般来说，该值应不低于30。

9.5.2 门操作

在绘图上绘制门时，绘图上的坐标系也就变成了门的坐标系。这意味着如果把门画在一个有特殊坐标系的绘图上，当把门在另一个坐标系上显示时，它可能会因坐标系不同而被扭曲。如果门和绘图有相同的坐标系，但不同的过渡点，该门也可能被扭曲。创建该门时的坐标系称作原始坐标系，当前显示的坐标系称为非原始坐标系。

如图9.13所示，当门在一个非原始坐标系上显示时，它的形状看起来像是被扭曲了。该门创建于线性坐标系(左图)，而后显示于对数坐标系(右图)。注意到直线型的边界线在对数坐标空间看起来被扭曲了。这里没有任何错误，只是引入对数导致的形状扭曲。

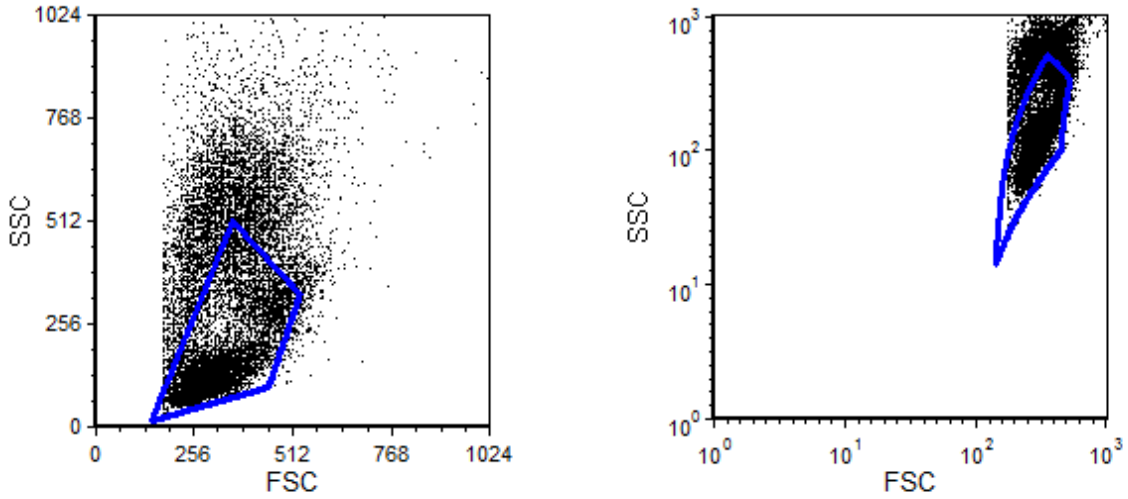


图 9.13 Warped Gates in Different Scalings (**在不同坐标系下扭曲的门**)

如果在非原始坐标空间上移动门188，门在移动过程中的形状可能改变，来反映坐标上不同区域的具体情形。在非原始坐标系上移动门有几点要考虑。因为门创建在原始坐标系上，它也许不能被移动到非原始坐标系上的任何地方。比如，假使在对数坐标上创建一个门，该坐标系没有负值，现在要在"带有负值的对数坐标"显示该门。要把该门移到包含负值的绘图区是不可能的，因为原始坐标系不支持负值。

下图显示了一个更细微的错误操作。在上图右侧的门(在对数坐标系下扭曲的门)移到了图9.14上的位置。很明显该门看起来不再是一个四边形。

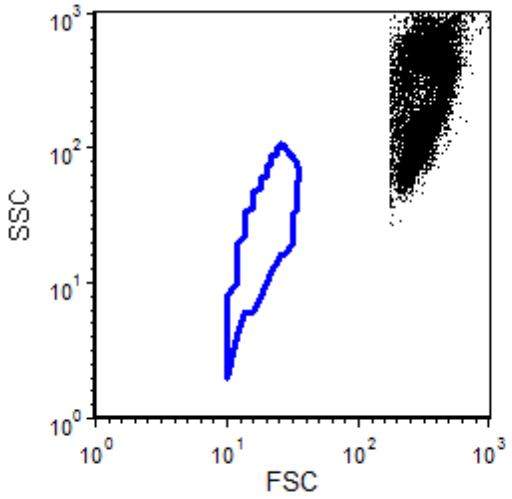


图 9.14 Distorted Gate in Non-native Space (**在非原始坐标空间里扭曲的门**)

对此的解释要在原始空间上看，见图9.15。很明显门的顶点(靠近原点)包括原始空间上一块很小的区域。因此，在原始空间上没有足够的分辨率来精确地绘制或计算它的边缘轮廓，因此在非原始空间看起来便是扭曲的了。

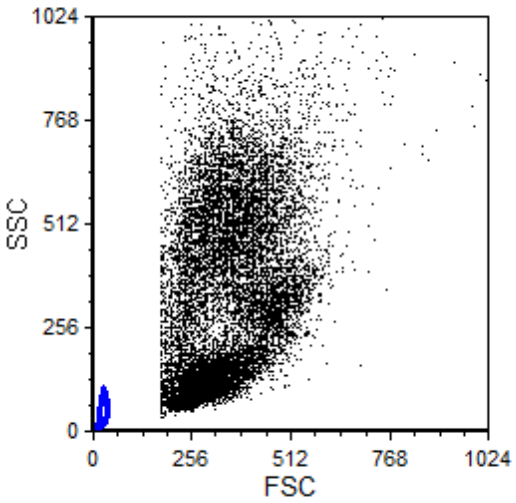


图 9.15 Not Enough Resolution in Native Space (**在原始空间上没有足够的分辨率**)

如果想在非原始空间显示一个门并希望该坐标体系是原始坐标体系，只要在非原始坐标系的绘图上画一个新的门即可(参见创建门[181]一节)。

9.5.3 象限

链接的象限[198]在不同坐标系上显示时也会被扭曲，如图9.16所示。

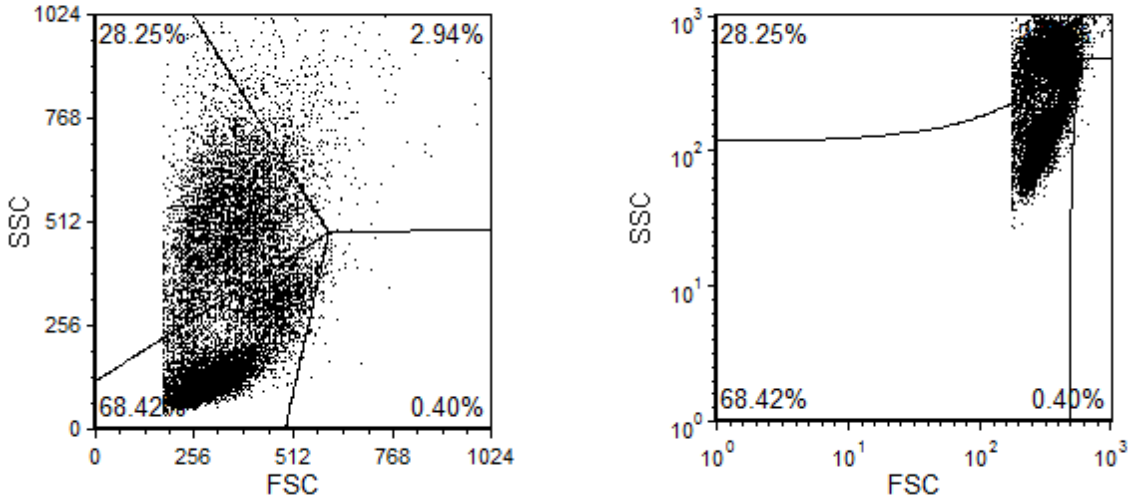


图 9.16 Linked Quads Displayed in Non-native Space (显示在非原始空间上的链接象限)

第10章

10 创建和使用参数标签组

FCS Express允许用户在为绘图坐标轴起名时有充分的自由，可包括任何信息。一般来说，绘图坐标标签或者从FCS文件头中获取，或者在数据分析时进行修改。但有时在采集数据时，记录了错误的参数信息，或者默认的参数未被修改，因而用户有时需要自己修改坐标轴标签。

FCS Express允许用户创建和FCS文件头参数相关联的"替换参数"标签组。当在数据分析时选中新的参数标签组时，"替换参数"标签(而非FCS文件头里的参数标签)会显示在绘图上。FCS Express允许用户定义多个参数标签组，每一个组有一个不同的名称。

参数标签组的好处在于它允许在不改变FCS文件头的情况下显示不同数据轴信息。通过修改绘图数据轴选项来使用标签组 150，而非修改FCS文件数据，用户可以在不影响数据文件的情况下自定义版面设置。

要创建新的参数标签组:

1. 选择**View(查看)→Tools(工具)→Parameter Labels(参数标签)→**Modify **Labels(修改标签)**命令。
2. 点击**Add Set(添加标签组)**按钮。
3. 为新的参数组键入一个名称，点击OK。
4. 点击**Add(添加)**按键。
5. 选择要修改的参数(参数1到25)。
6. 在**Label(标签)**字段输入替换名。
7. 点击OK。
8. 继续点击**Add(添加)**键来修改该参数标签组中其它的参数。可以点击标签来对它进行修改(或使用**Remove(删除)**键将其删除)。
9. 点击OK保存标签组。

如图10.1所示，名称为Lymphs的参数有三个替换标签。

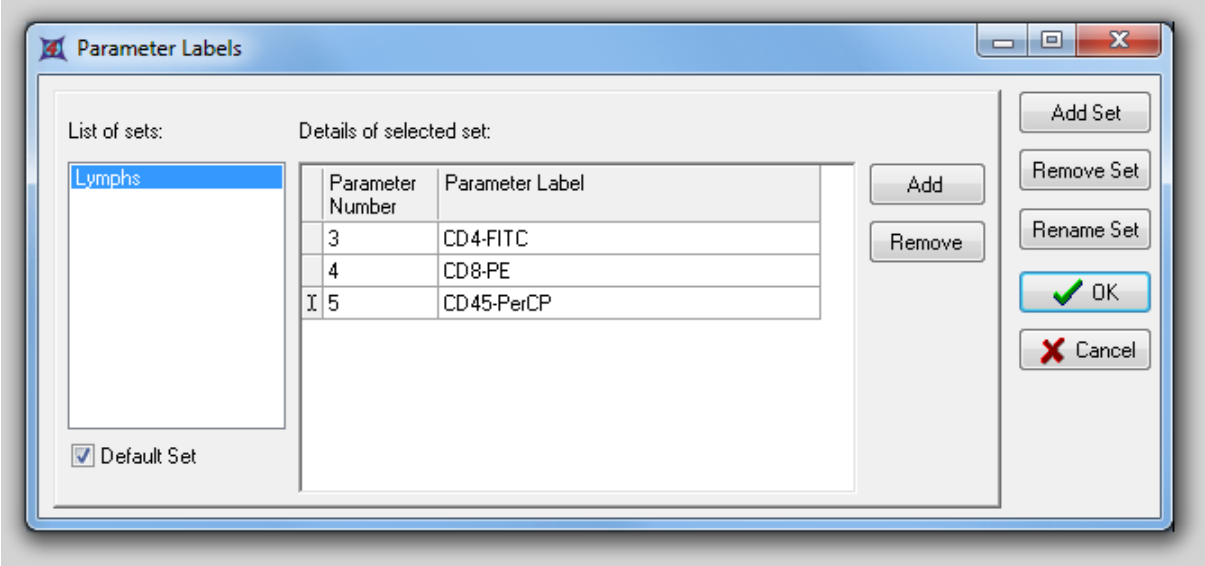


图 10.1 Parameter Label Sets (**参数标签组**)

如果设定数据轴从Lymphs标签组获取坐标轴名称，那么每当第3个参数出现在绘图上时，数据轴的标签将显示为CD4- FITC，而非存储在FCS文件头中的标签。选择一个标签组作为默认组，意味着该组会作为默认值出现在格式化坐标轴对话框中的Derive Axis Titles From (从...衍生出坐标轴标题)区里Parameter label set(参数标签组)选项旁边的下拉菜单里150。

用户可以保存参数标签组或从文件导入参数标签组，方法是分别选择**View(查看)→Tools(工具)→Parameter Labels(参数标签)→Save Labels(保存标签)**或**View(查看)→Tools(工具)→Parameter Labels(参数标签)→Load Labels(导入标签)**命令。参数标签自动和版面文件一起保存51。

第 11 章

11 自定义数据

Custom Data(自定义数据)的形式是表格或数据网格(也被称为电子表格)，用户可以:

- 定义代表实验参数的数据列。
- 用从公式或标记(统计计算或FCS Express中有的标记)计算出的数据填写表格中的数据列。

表格中的每一行代表一个数据集中的"细胞或事件"(类似于FCS文件中的单元格)。

用户可像使用任何种类的数据集那样来使用自定义数据。它会作为一个结点出现在数据导航器74中。也可以通过文件头来查看参数定义和关键词。

只要数据在列表，就可以用绘图的方式，例如条形图和散点图来显示数据221。比如，自定义数据可用来自动生成滴定曲线。

11.1 添加自定义数据

要定义**Custom Data(自定义数据)**，使用**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Custom Data(自定义数据)→New Custom Data(新建自定义数据)**命令来调出**Create new custom data(创建新自定义数据)**对话框(图11.1)。或者，如果数据导航器74可见，可以右键点击数据导航器，然后从弹出菜单中选择**New Custom Data(新建自定义数据)**。

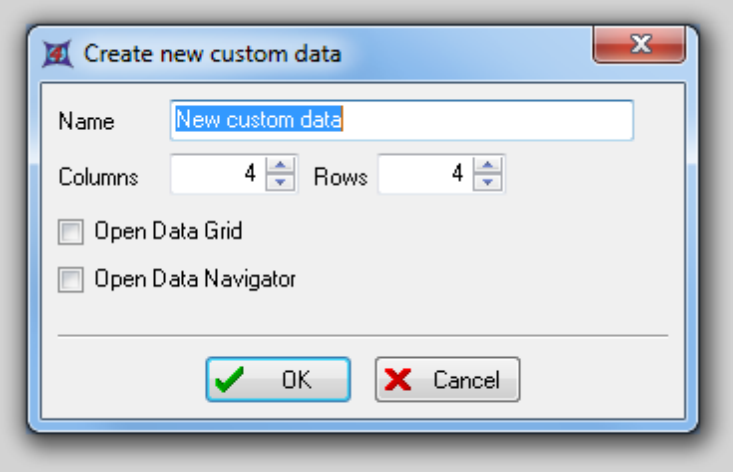


图 11.1 Create New Custom Data Dialog (创建新自定义数据对话框)

要为自定义数据创建表格(电子表格)元素，用户:

- 需要为数据集指定名称。

- 需要用箭头控制键来设置列和行的数目。行的数目代表数据元素的数目。列代表数据中参数。
- 可选择自动打开**Data Grid(数据网格)**或**Data Navigator(数据导航器)**。
- 完成设置后，点击OK。**Create new custom data(创建新自定义数据)**对话框会消失。除非数据导航器是可见的，否则屏幕上不会出现任何提示。但是，自定义数据已经被生成了。

11.2 使用自定义数据

要高效地使用**Custom Data(自定义数据)**，最好打开数据导航器74。

如果已经添加了自定义数据214，**Data Navigator(数据导航器)**上会有一个结点，名称是用户设置的(图11.2)。

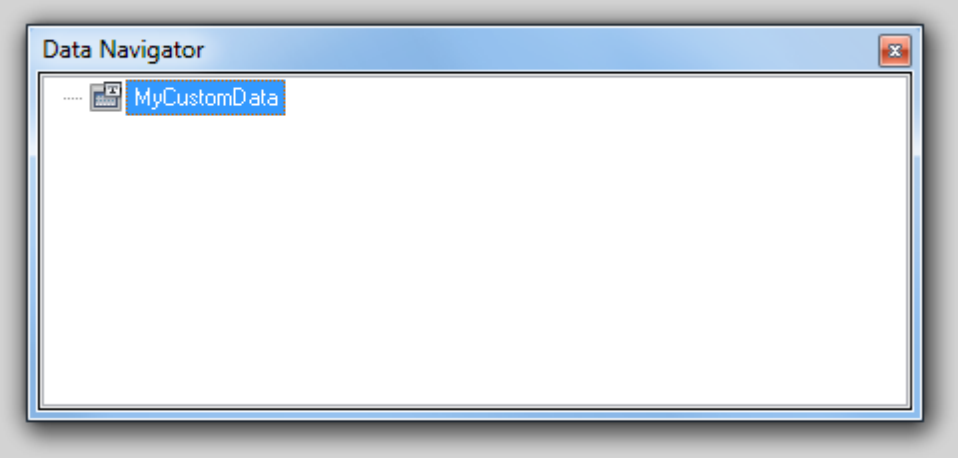


图 11.2 Data Navigator with Custom Data Node (**有自定义数据结点的数据导航器**)

用户在**Data Grid(数据网格)**中操作自定义数据。要在版面上添加**Data Grid(数据网格)**:

1. 点选Custom Data Node(自定义数据结点)，按住鼠标不放，把结点拖到版面上。**Select Plot Types...(选择绘图类型...)**对话框会出现。
2. 选择**Data Grid(数据网格)**(散点图和条形图也可以显示自定义数据)。
3. 点击OK。一个由前边定义好的行数和列数的**Data Grid(数据网格)**会出现(图11.3)。

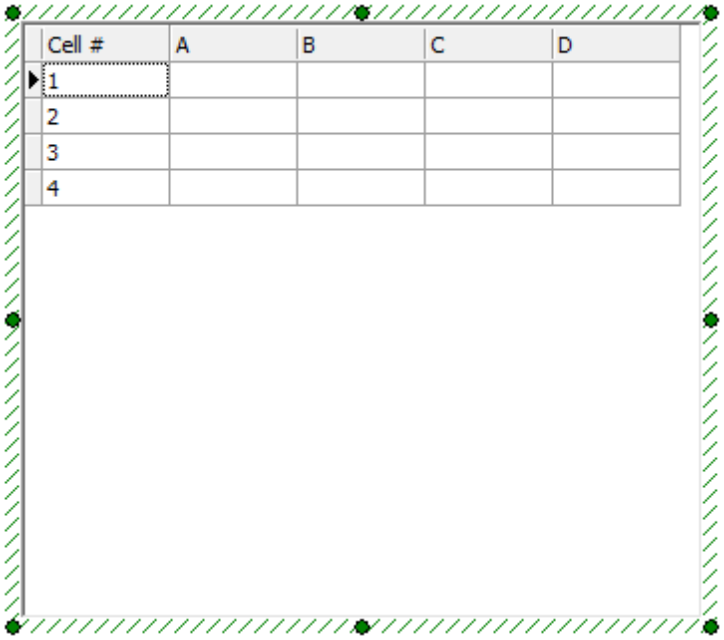


图 11.3 Empty Data Grid (Custom Data) (**空白数据网格(自定义数据)**)

缺省列名是**Cell#(细胞编号)**、**A**、B、C、D等等。**Cell#(细胞编号)**列是固定的(不可重命名)，系统会自动为行(代表自定义数据的"事件或细胞")编号。剩下的列代表自定义数据的参数。可以用以下方式为一列命名:

1. 点击列标题(例如A)来选择或者高亮显示整个列。
2. 在高亮显示的列上右键点击任何一处，从弹出菜单中选择Rename Selected **Column(为所选列重命名)**。
3. 在**Enter the new name for column(为列输入新的名称)**字段为该列重命名(图11.4)，然后点OK。

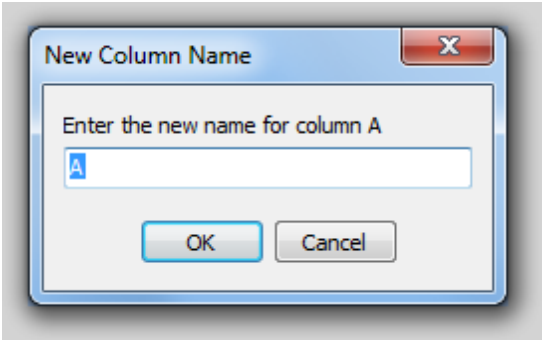


图 11.4 New Column Name (**新列名**)

要编辑单元格的内容:

- 点击单元格(**Cell#(细胞编号)**列以外的地方)来将其选中。数据网格上会出现一个编辑条(图11.5)。

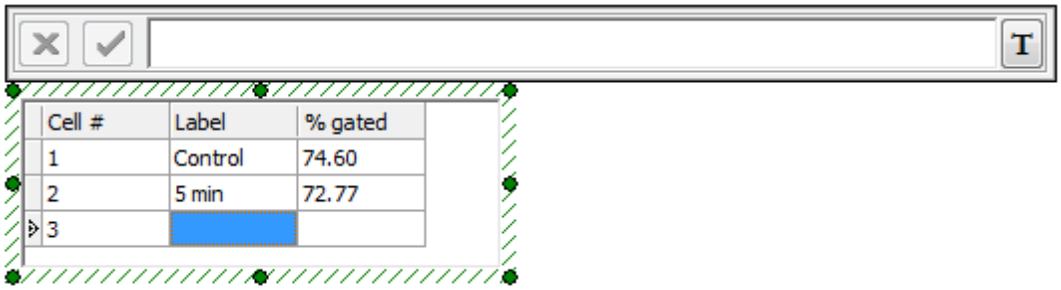


图 11.5 Custom Data -- Data Grid with Edit bar (**自定义数据 -- 有编辑条的数据网格**)

o 要输入文本，可直接立刻输入。光标自动移到编辑字段，输入的文本会立刻显示。或者，点击编辑字段，即可输入(图11.6)。

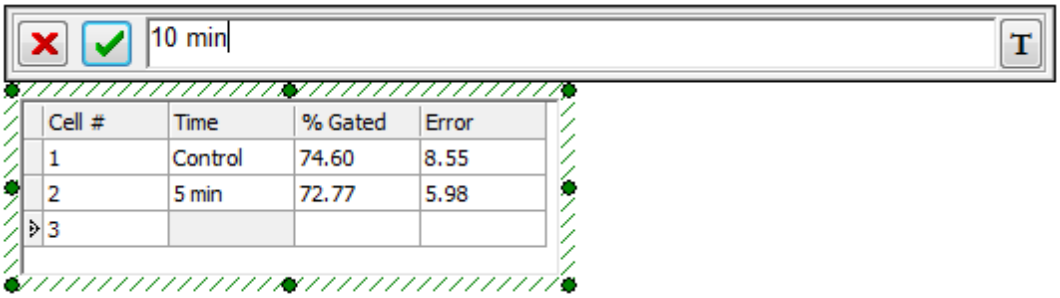


图 11.6 Custom Data -- Entering Text (**自定义数据 -- 输入文本**)

o 要输入数学公式，输入"=" ，然后是公式(图11.7)。

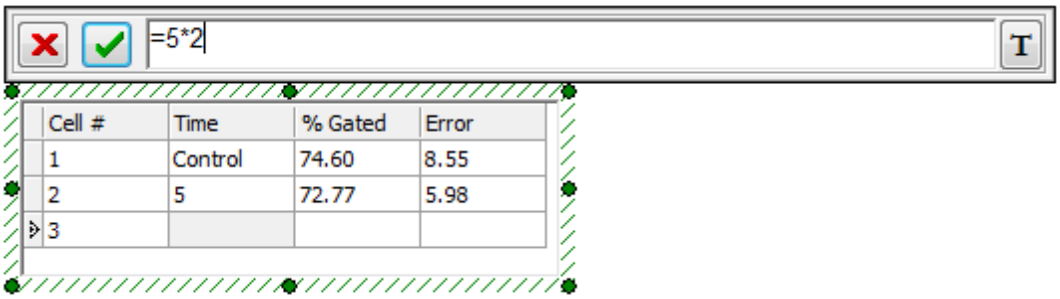


图 11.7 Custom Data -- Entering a Formula (**自定义数据 -- 输入公式**)

o 要插入统计计算或用户 *Token(标记)*, 点击T按钮, 然后选择一个标记, 插入方法与在文本框中插入标记方法类似287(图11.8)。

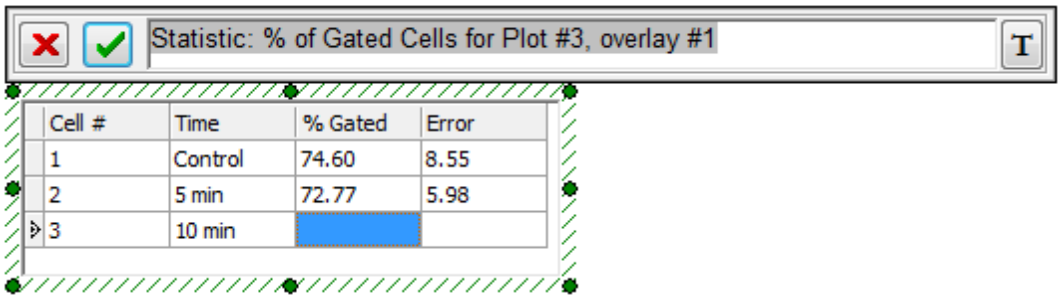


图 11.8 Custom Data -- Inserting a Statistic Token (**自定义数据 -- 插入统计标记**)

o 要接受编辑字段的输入, 点击 键。要取消编辑, 点击键。

11.2.1 *添加行或列*

要在**Custom Data(自定义数据)**表格(数据网格或电子表格)中添加行或列,

1. 点击和要添加新行或列的位置紧挨着的单元格, 将其选中。
2. 右键点击高亮显示的单元格。
3. 从弹出菜单中选择**Insert(插入)**(图11.9)。
4. 选择一个下方表格中描述的子命令。

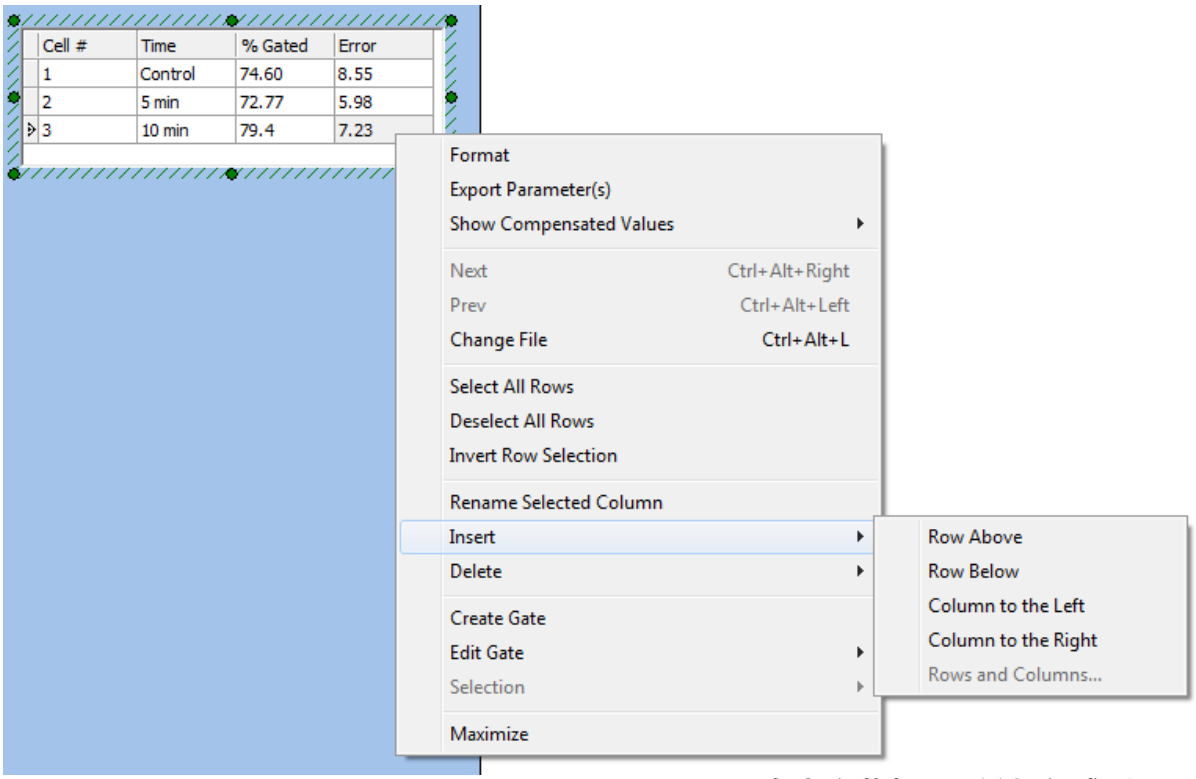


图 11.9 Custom Data -- Add Rows or Columns (**自定义数据 -- 添加行或列**)

菜单选项	解释
Row Above(上方添加行)	在所选行上方添加一行。在例子当中，新加的行会是第3行，当前第3行会变成第4行。
Row Below(下方添加行)	在所选行下方添加一行。在例子当中，新行将是第4行。
Column to the **Left(左边插入一列)**	在所选列的左方插入一列。在例子当中，新列会出现在% Gated列和Error列之间。需要为列选择一个列名。
Column to the **Right(右边插入一列)**	在所选列的右方插入一列。在例子当中，新列将是第5列(在**Error列**的右边)。需要为列选择一个列名。

11.2.2 *删除行或列*

要在**Custom Data(自定义数据)**表格(数据网格/ 电子表格)中删除行或列，

1. 点击想要删除行或列上一个单元格将其选中。要选择相邻的一个或多个行或列，选择第一个行或列，然后用**Shift键**- 点击选第二个。
2. 右键点击高亮显示的单元格。
3. 从弹出菜单中选择**Delete(删除)**(图11.10)。
4. 选择一个下方表格中描述的子命令。

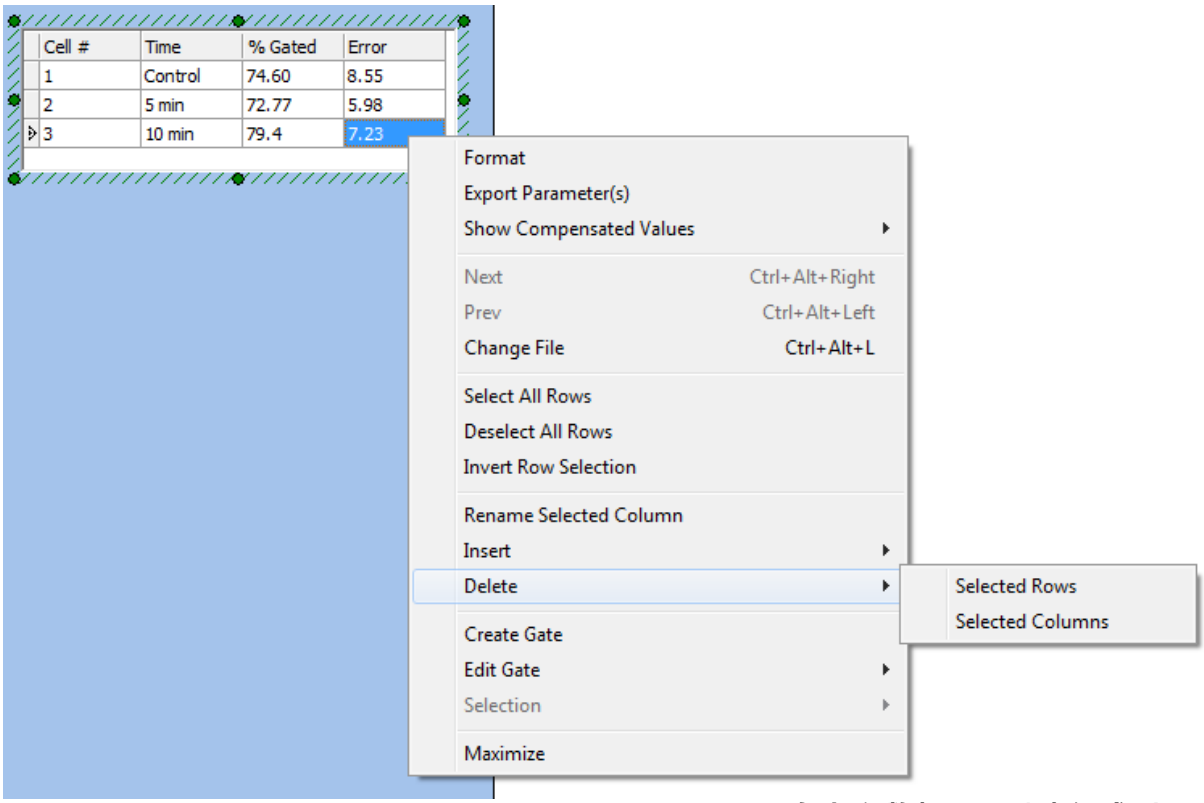


图 11.10 Custom Data -- Delete Rows or Columns (**自定义数据 -- 删除行或列**)

菜单选项	解释
Selected Rows(所选行)	删除所选的单元格所在的整个行。在例子当中，第3行会被删除。
Selected Columns **(所选列)**	删除所选的单元格所在的整个列。在例子中，Error列会被删除。

11.3 为自定义数据重命名

要为**Custom Data(自定义数据)**重命名:

1. 选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Custom Data(自定义数据)→Rename(重命名)**。所有定义好的自定义数据集都会出现在右边。
2. 选择要重命名的自定义数据集来调出**Rename data(为数据重命名)**对话框(图11.11)。在图中，用户在为*Lymphs titration*数据集重命名。
3. 在文本字段键入新的名称，点击OK。

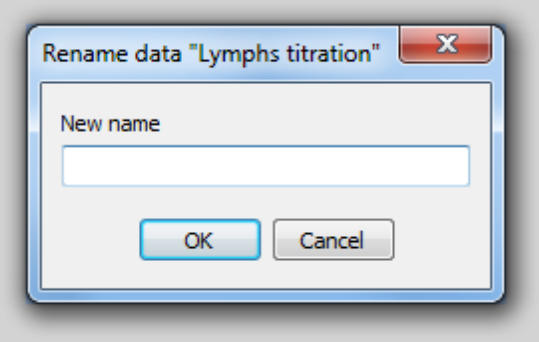


图 11.11 Rename Data Dialog (为数据重命名对话框)

或者，在数据导航器上右键点击自定义数据集，然后从弹出菜单中选择**Rename(重命名)**。在数据名称上会出现一个编辑框，允许输入新的自定义数据名称。

11.4 删除自定义数据

要删除一组**Custom Data(自定义数据)**:

1. 选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Custom Data(自定义数据)→Delete(删除)**。所有定义好的自定义数据集都会出现在右边。
2. 选择要删除的**Custom Data(自定义数据)**集。系统会提示用户确认选项。如果要立即恢复被不小心删除的自定义数据集，请使用快捷工具条上的撤销命令 32。

或者，在数据导航器上右键点击数据集，从弹出菜单中选择**Delete(删除)**，或按下键盘上的删除键将其删除。

11.5 用图像显示自定义数据

可以用条形图和散点图来显示**Custom Data(自定义数据)**。

要用条形图绘制自定义数据:

1. 使用**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Bar(条形图)**命令。
2. 选择条形图，然后点击**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**(图11.12)。
3. 把自定义数据中的数据列作为X和Y轴的参数。数据中的一列可设为条形图的误差列(图11.13)。

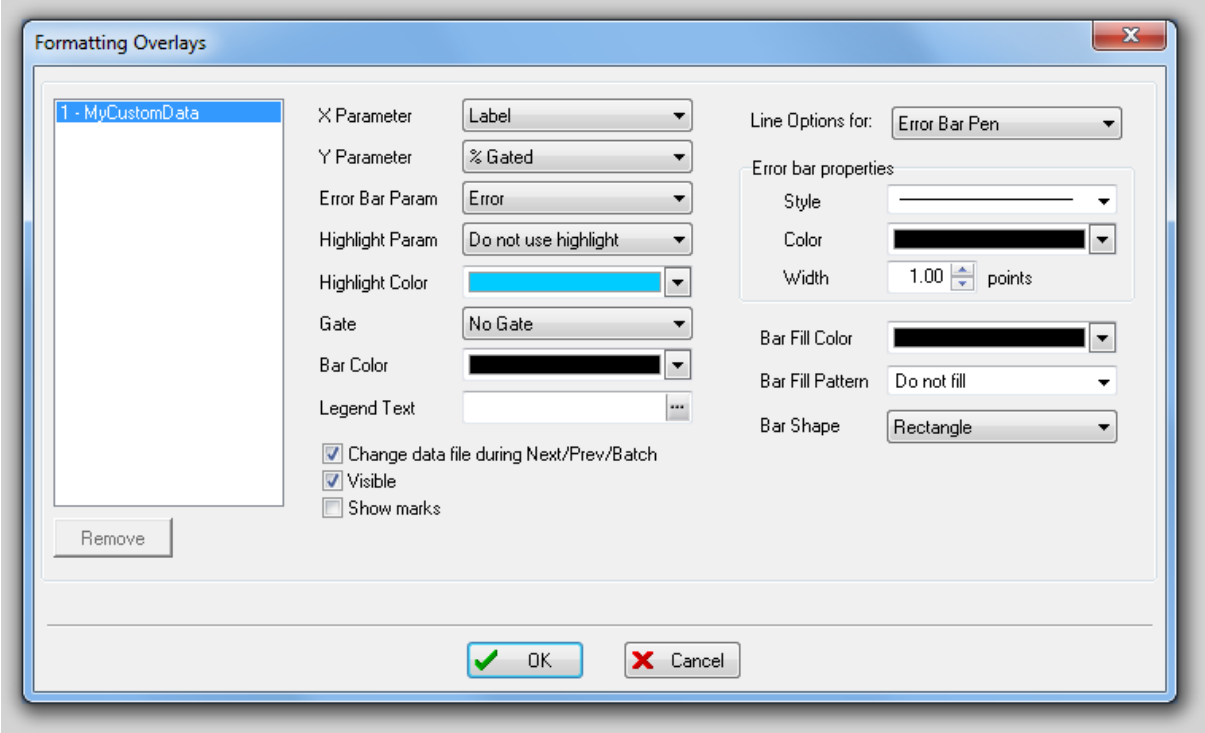


图 11.12 Bar Chart -- Formatting Overlays (条形图 - 格式化叠加图层)

Cell #	Time	% Gated	Error
1	Control	74.60	8.55
2	5 min	72.77	5.98
3	10 min	79.41	7.23

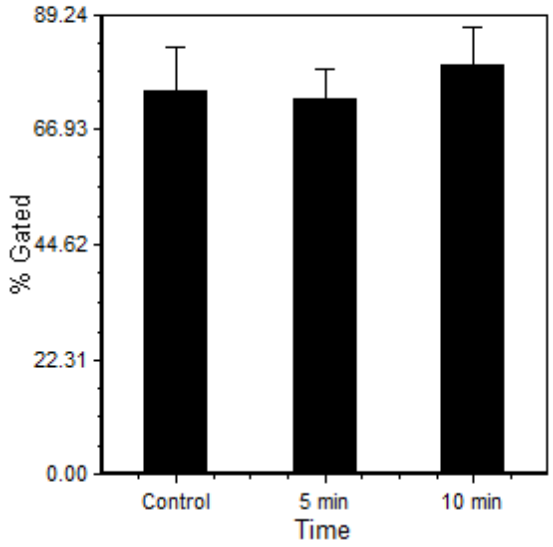


图 11.13 Bar Chart with Error Bars (**带有误差棒的条形图**)

如果数据符合一定标准，FCS Express可用预先设定好的颜色为条形着色。要使用该选项:

1. 在自定义数据中添加一列(比如名字为"Highlight")。
2. 在所有单元格上，加入一个格式来判断*TRUE(逻辑真)*或*FALSE(逻辑假)*。在例子中(图11.14)，该公式为*=% Gated < 40*。在Highlight列中，"*0*"代表该公式的结果是*FALSE(逻辑假)*。第三列的数值"*-1*"代表*TRUE(逻辑真)*。
3. 选择条形图，点击**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**。
4. 用下拉列表把**Highlight Param(高亮显示参数)**设置到有逻辑真/假公式的数据列上(在该例子中，该列名为Highlight)。
5. 从下拉列表设置**Highlight Color(高亮显示颜色)**(在该例子中，颜色是Light **Blue(浅蓝)**)。

Cell #	Time	% Gated	Error	Highlight
1	Control	74.60	8.55	0
2	5 min	72.77	5.98	0
3	10 min	29.41	7.23	-1

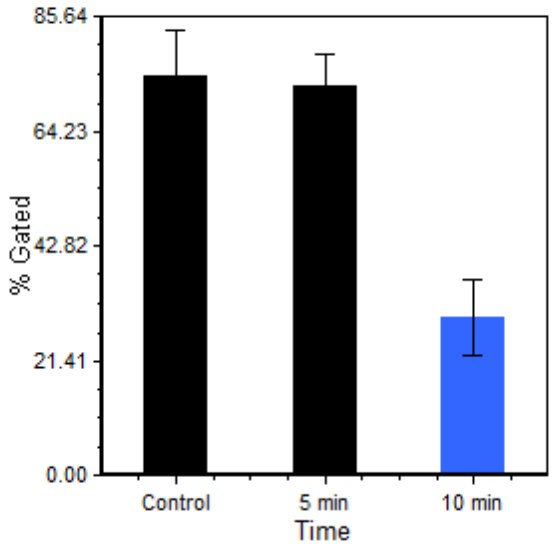


图 11.14 Bar Chart with Highlight (**有高亮显示的条形图**)

要用散点图来表现自定义数据(比如滴定曲线):

1. 使用**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Scatter(散点图)**命令，或把自定义数据从数据导航器上拖到页面的空白处，然后从**Select Plot Types…(选择绘图类型...)**对话框中选择**Scatter(散点图)**。
2. 选择散点图后点击**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**(图11.15)。
3. 把自定义数据中的数据列作为X和Y轴的参数。设置**Point Color(散点颜色)、fill color(填充颜色)、fill style(填充样式)、size(散点大小)**和**shape(形状)**。点击OK。自定义数据将会显示在图上(图11.16)。

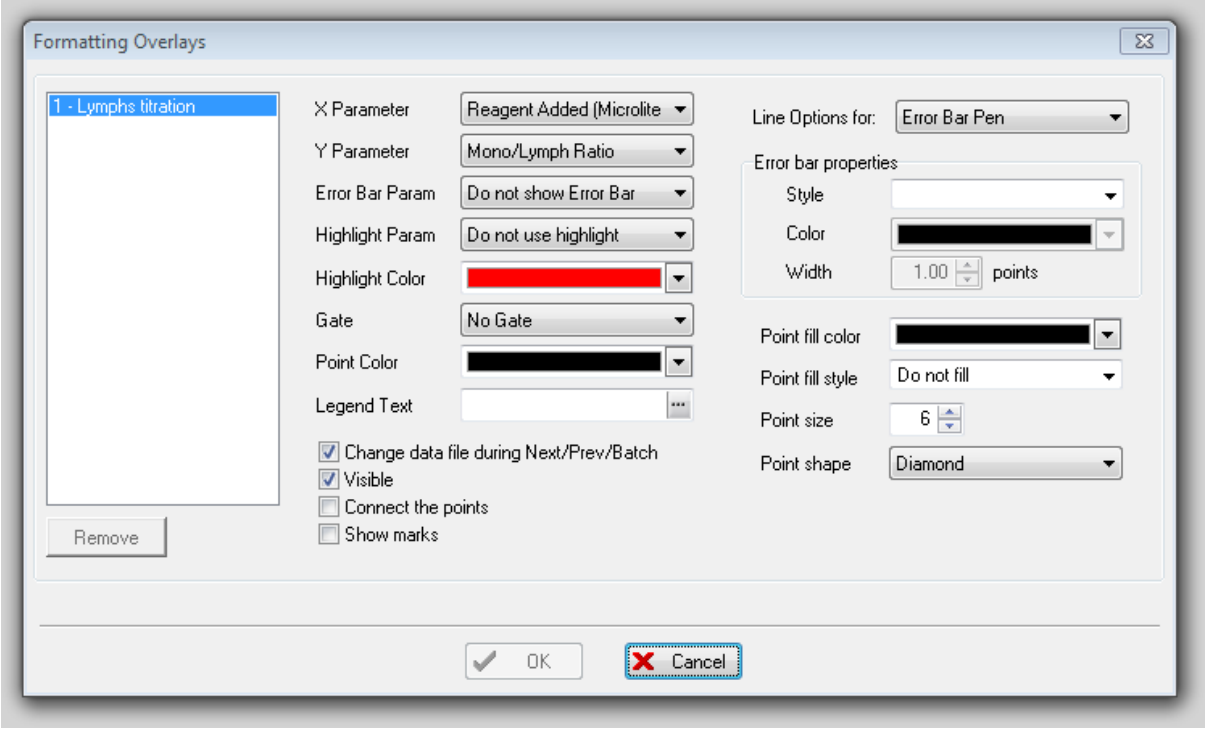


图 11.15 Formatting a Scatter Plot (格式化散点图)

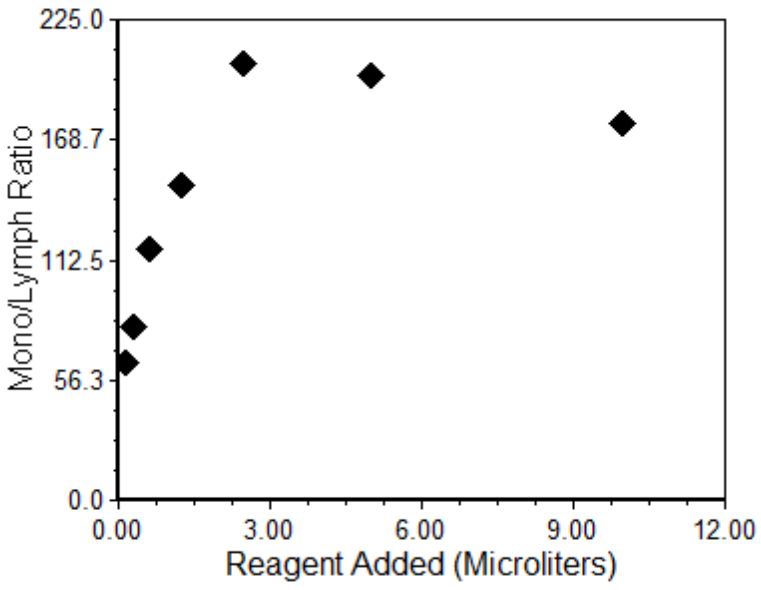


图 11.16 Scatter Plot (Titration Curve) (散点图(滴定曲线))

11.6 回归分析

FCS Express Version 4(第四版)可以对数据进行回归分析。

FCS Express为用户提供许多数学函数来创建自定义标记308和自定义数据214组。这些函数的操作方式和微软Excel™中的函数类似。当提到回归分析时，有四种基本函数可用于回归分析的所有公式中。在下表中，这些函数用红色斜体表示，*xxx*，代表针对某一公式236的FCS Express函数名称(FCS Express函数名可在可用的公式236中找到)。函数变量(或称参数)的描述列于表的右边。

回归函数类型	描述	变量	结果
Perform *xxx* Fit(进行 *xxx* 拟合)	把指定的X-Y值拟合到一个公式。	([X Values], [Y Values], [SD], [Fixed Parameters]) 其中，**X Values(X值)**是由逗号隔开的一列X值，通常由一系列标记286指定。 其中，**Y Values(Y值)**是由逗号隔开的一列Y值，通常由一系列标记286指定。 **Fixed Parameters(固定参数)**允许用户指定不应该被拟合的变量，它们的值由用户强制设置。固定参数的格式是一列由逗号分隔开的*var= value*，其中*var*是该公式236可用变量之一，而*value*是赋予该变量的固定数值。 SD，标准偏差，允许用户为每列Y值指定一个标准偏差，一般由一系列标记286指定。SD值为每一对相关联的X和Y值指定一个"权重"，较小的SD值权重较大，较大的SD值权重较小。如果SD未被指定，系统为每个Y值设置SD为零。	逗号分隔开的变量数值列表和它们的拟合值列表
Extract *xxx* Results(提取 *xxx* 结果)	从执行 *xxx* 拟合自定义标记操作的结果中提取一个特别变量。	提取 *xxx* 结果([modelParameters], "*Variable 1*" | "*Variable 2*" | "*Variable 3*") 其中，*xxx*代表一个公式236(即线性、S形、幂指数等)。 **modelParameters(模型参数)**代表逗号隔开的所有拟合变量和它们的值，由一个执行 *xxx* 拟合函数的标记286所定义。 *Variable(变量)*代表Perform *xxx* Fit函数所定义的变量，"|" 代表 "或" 。 当使用一个Perform *xxx* Fit函数时，它会定义一组独特的变量来取代例子中的"*Variable 1 Variable 2 Variable 3*": 也即... 线性公式中的"m" | "b" | "r2"或S形公式中的"A" | "B" | "C"| "r2"。用户必须删除不需要的变量来获得一个结果。比如ExtractLinearResults ([modelParameters], "m")会返回和该公式相关的变量"m"的结果。	指定变量值。
xxx XToY(*xxx* X到Y)	使用指定数据集中的X数值和"Model Parameters	*xxx* XToY(X, [modelParameters]) 其中，*xxx* 代表一个公式236(即线性、S形和幂指数等)。 **X Values(X值)**是由逗号隔开的一列X值，通常由一个标记286指定。	逗号分隔开的一列由相关公式、X值和拟合变量

	(模型参数)"或"Fit(拟合)"来返回一个Y值。	**modelParameters(模型参数)**代表一列逗号隔开的所有回归变量及它们的数值。通常是由Perform *xxx*Fit函数的一个标注[286]结果指定。	计算出的Y数值。
xxx YToX(*xxx*Y到X)	使用指定数据集中的Y数值和"Model Parameters(模型参数)"或"Fit(回归)"来返回一个X值。	*xxx*YToX(Y, [modelParameters]) 其中，*xxx*代表一个公式[236] (即线性、S形、幂指数等)。 **Y Values(Y值)**是由逗号隔开的一列Y值，通常由一个标记[286]指定。 **modelParameters(模型参数)**代表一列逗号隔开的所有回归变量及它们的数值。通常是由Perform *xxx*Fit函数的一个标注[286]结果指定。	逗号分隔开的一列由相关公式、Y值和拟合变量计算出的X数值。

要查看所有公式列表，请参见可用的公式[236]一节。要看使用这些公式的例子，请参见回归分析实例[227]一节或线性回归分析[1176]教程。

11.6.1 *回归分析实例*

回归分析通常在自定义数据集上进行。为演示如何使用这个功能，我们用一些固定值来创建一个数据集。一般来说，用户会使用标记[286]，代表分析中的一些统计计算。

在图11.17中，我们插入了一个2列、4行的自定义数据集[214](命名为Linear Regression Data (线性回归数据))，为X和Y两列进行了重命名[215]，然后在单元格中输入了一些数据值。

Cell #	X	Y
1	5	51
2	10	101
3	20	201
4	30	301

图 11.17 Custom Data for Regression Analysis (**用来回归分析的自定义数据**)

对这些数据进行线性回归的结果是斜率为10，Y轴截距为1。

回归分析使用了自定义标记[308]。

1. 首先，创建一个自定义标记，将其命名为**Linear Regression(线性回归)**。

如果右键点击**Custom Token(自定义标记)**窗口的公式区域然后选择Insert Function **(插入函数)**，就会看到一列可用的回归方法，每一个均以Perform开头(图11.18)。

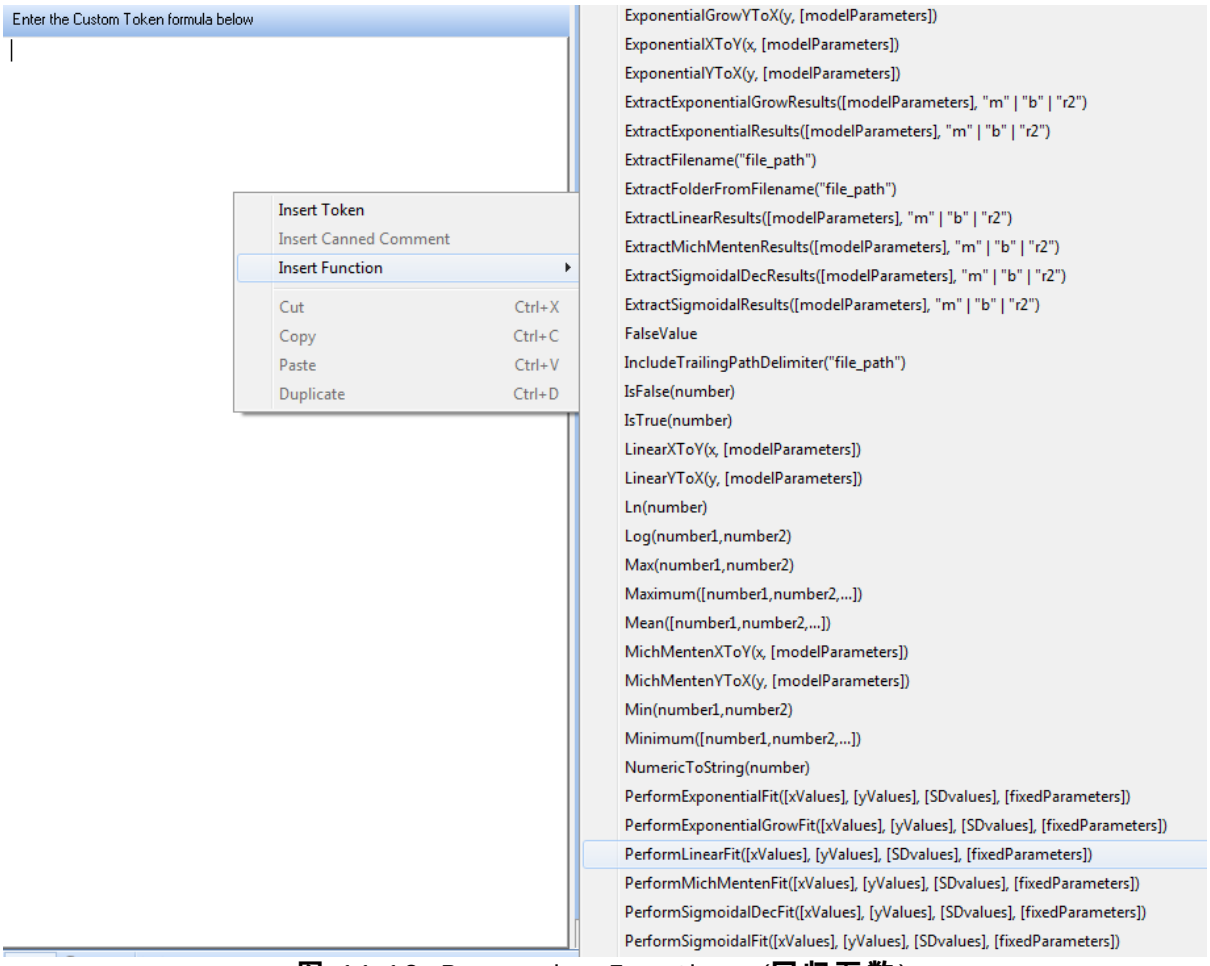


图 11.18 Regression Functions (回归函数)

2. 键入等号(=)来开始公式创建，右键点击来调出弹出菜单，然后选择Insert **Function(插入函数)→**PerformLinearFit([xValues, [yValues], [SDvalues], [fixedParameters])(图11.19))。

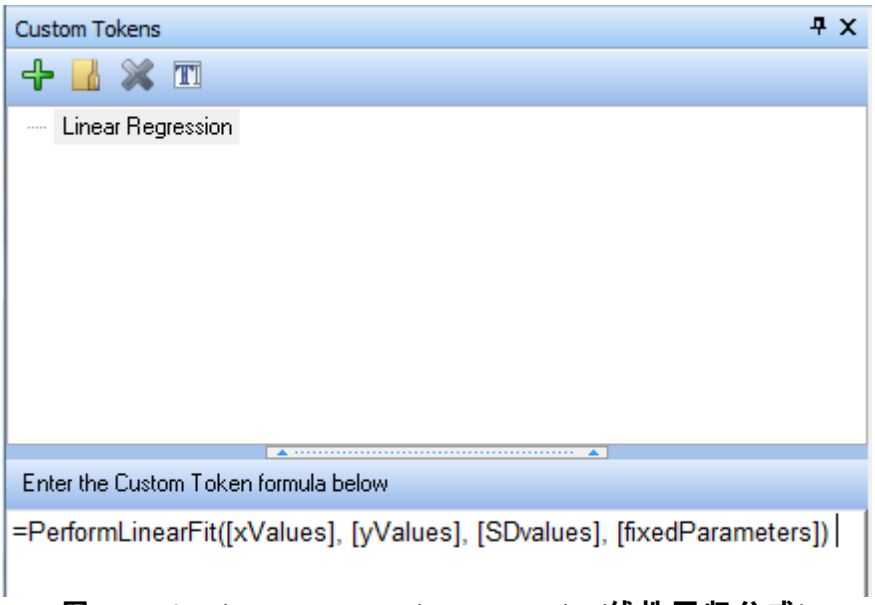


图 11.19 Linear Regression Formula (**线性回归公式**)

3. 在公式当中，高亮显示**x Values(x值)**，右键点击来调出弹出菜单，然后选择Insert **Token(插入标记)**(图11.20)。

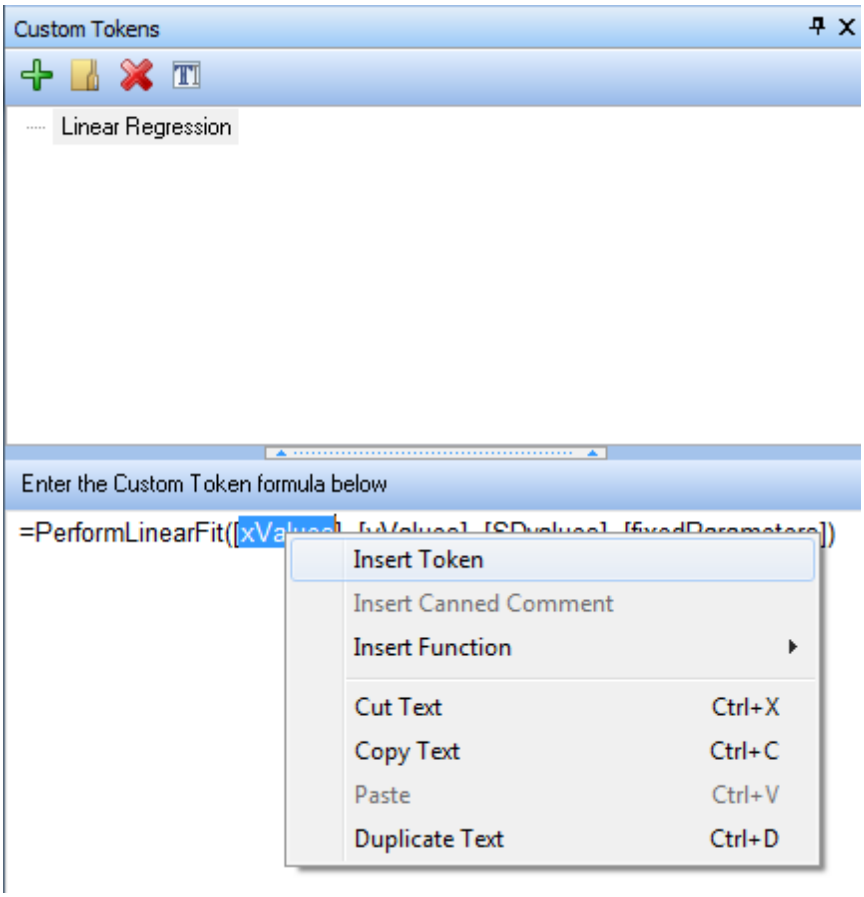


图 11.20 Inserting a Token into a Linear Regression Formula (**在线性回归公式中插入一标记**)

会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，其中有**Data Parameter(数据参数)**标记(图11.21)。

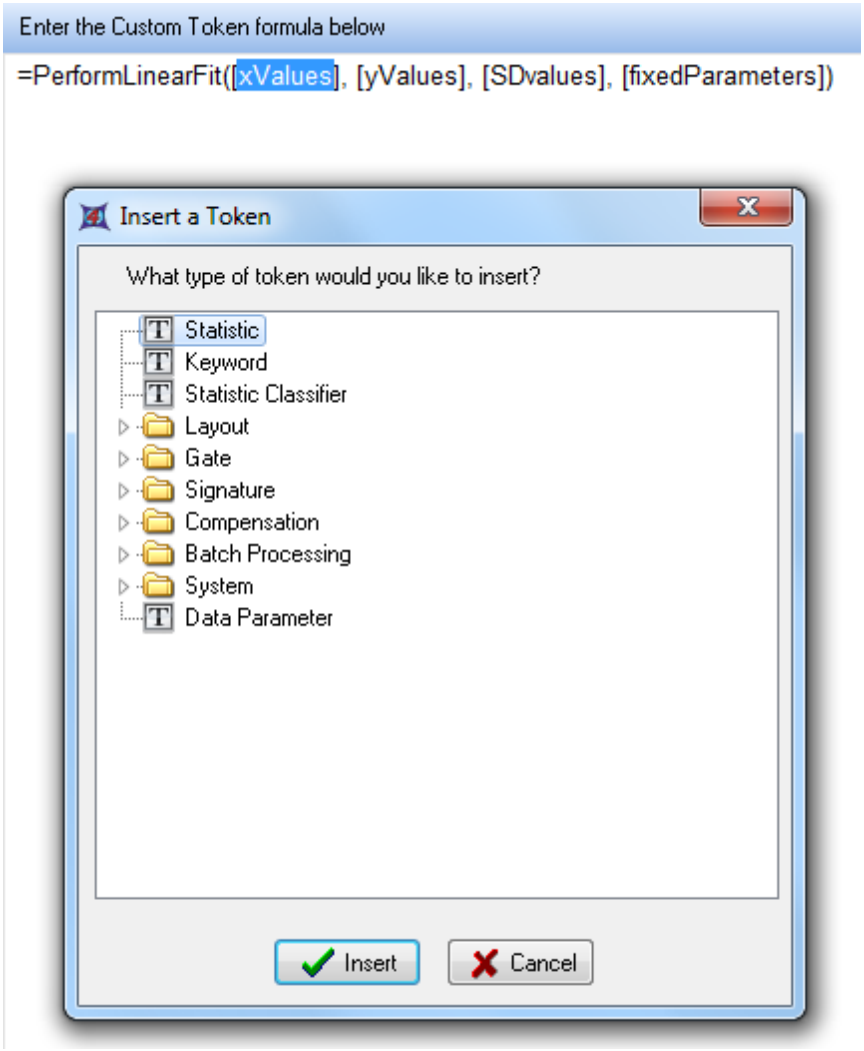


图 11.21 Data Parameter Token (**数据参数标记**)

4. 选择**Data Parameter(数据参数)**标记，然后点击**Insert(插入)**。

5. 在出现的**Create Data Parameter(创建数据参数)**对话框中，选择Custom **Data(自定义数据)**单选按钮作为**Data Source(数据源)**，然后选择Linear **Regression Data(线性拟合数据)**(图11.22)。

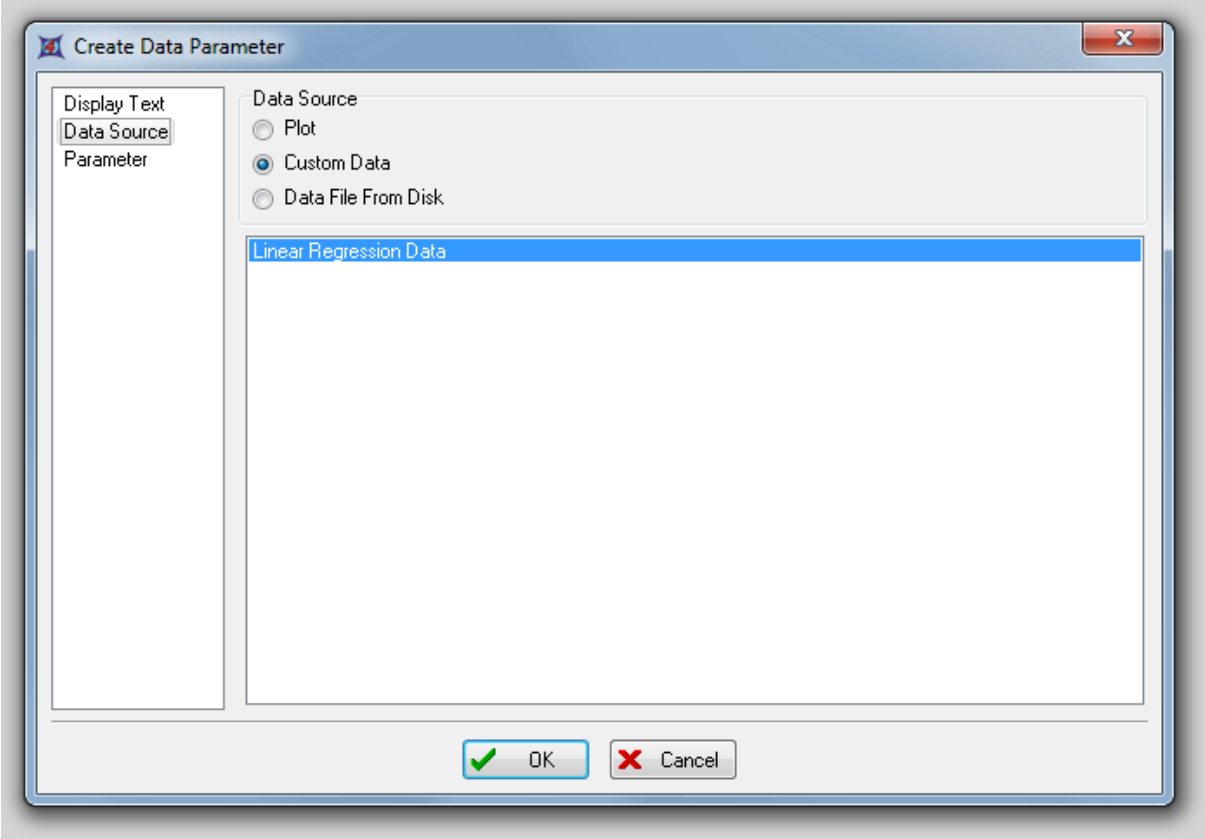


图 11.22 Create Data Parameter -- Data Source (**创建数据参数 -- 数据源**)

6. 然后，来到**Parameter(参数)**页面，从**Parameter(参数)**下拉列表中选择X列的数据(图11.23)。在**Output As(输出为)**一项，从下拉列表中选择**Macro(宏)**。选择**Data Values(数据值)**会将所有数据转化成数据串，这个操作在处理大量数据时需要时间较长。

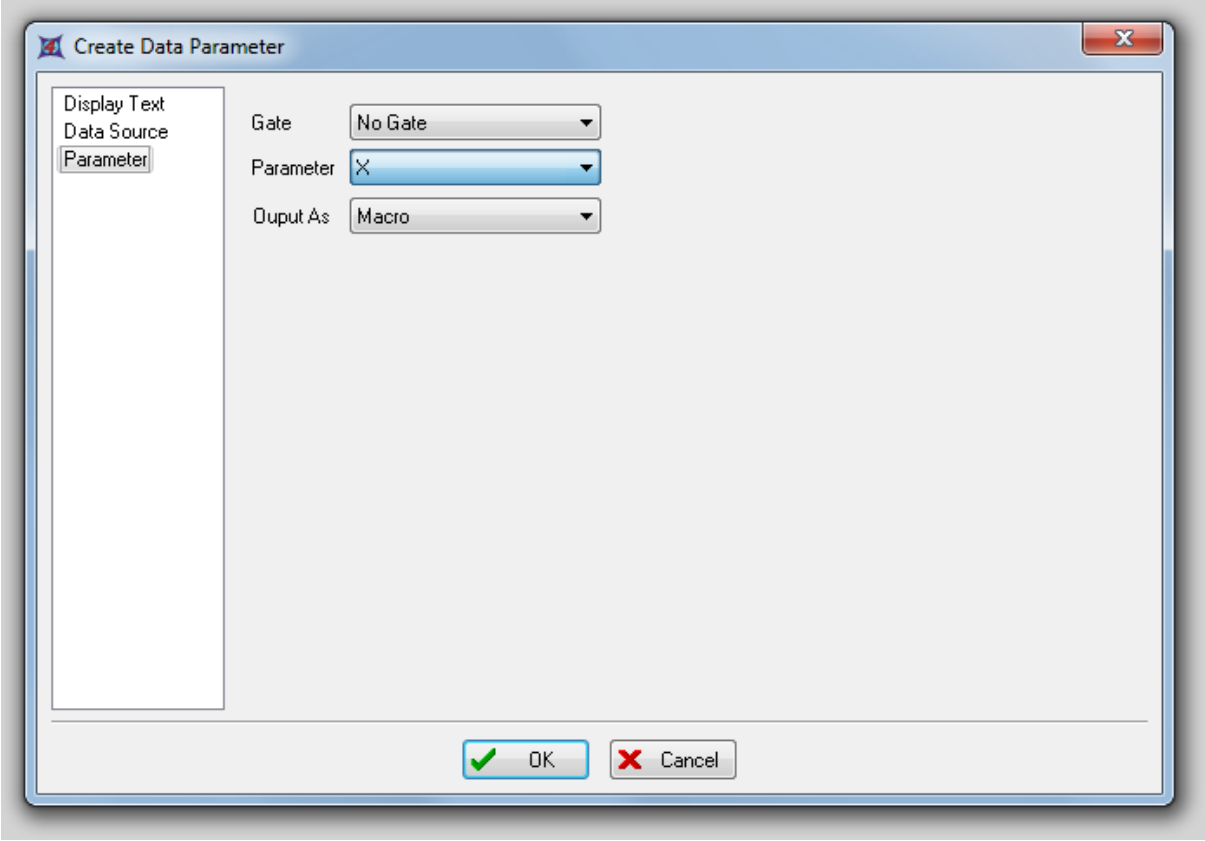


图 11.23 Create Data Parameter -- Parameter Page (**创建数据参数 -- 参数页面**)

7. 在公式中选中**yValues(y值)**和参数Y，重复3- 6步。

8. 高亮选择**SDvalues(标准偏差值)**，然后点击Del(删除)键(两个括号间不要输入任何内容)。**fixedParameters(固定参数)**一项也是如此(图11.24)。

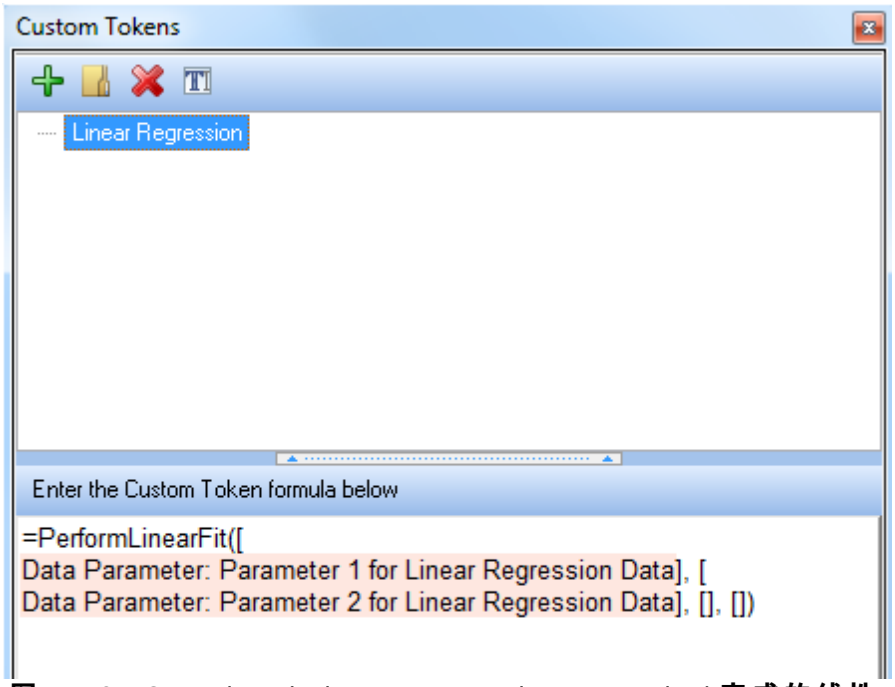


图 11.24 Completed Linear Regression Formula (**完成的线性回归公式**)

如果Y列数值来自于多个数据点，而且用户知道每个数据点的标准偏差，在线性回归公式中的**SDvalues(标准偏差值)**可输入一列由逗号隔开的数值。该模型给标准偏差值较低的数据点的权重较大。

线性拟合的固定参数是m(斜率)和b(Y轴截距)。如果固定参数字段不输入任何内容，那么该模型会拟合这两个数据。比如，如果想让Y轴截距为0，可在fixedParameters输入b=0，该模型会把该参数固定，而不是让其变动。

9. 将公式中的两个Data Parameter(数据参数)值转化成数值结果类型来进行显示319(它们会被高亮显示为蓝色，而非粉色)。

10. 在版面上插入一个文本框90。

11. 把自定义标记**Linear Regression(线性回归)**拖到文本框中。参数m，b，和 r2(r平方)值会显示出来(图11.25)。

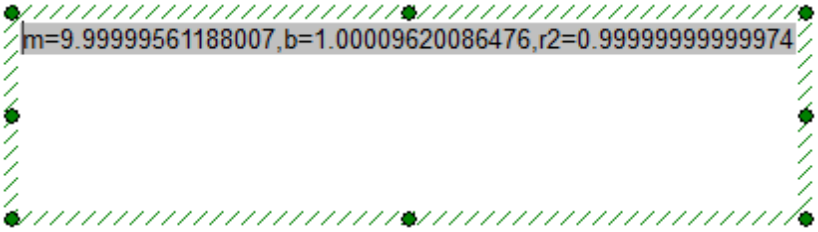


图 11.25 Linear Regression Token inserted into a Text Box (**在文本框中线性回归标记**)

结果是一列由逗号隔开的经由线性回归拟合所得的参数值。

如果在文本框中只想显示线性回归的斜率，可以创建一个新的自定义标记，然后:

12. 在第2步时，使用函数ExtractLinearResults([modelParameters], "m" | "b" | "r2")(图11.26)。

13. 然后，在第4步选择modelParameters，并插入**Linear Regression(线性回归)**标记。

14. 删除"b"和"r2"参数。

15. 创建一个文本框，插入文本"The slope is(斜率是): "。

16. 把斜率标记拖入文本框(图11.27)。

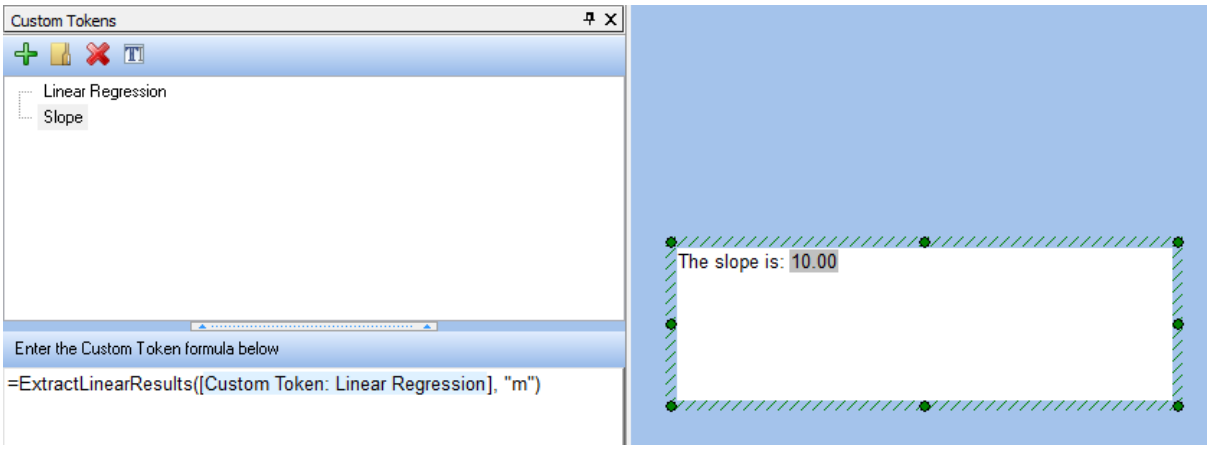


图 11.26 Slope Parameter of Linear Regression Analysis Inserted into a Text Box as a Token (**线性回归分析的斜率参数作为标记插入文本框中**)

总结来说，整个过程需要两步。先为拟合做一个自定义标记，然后再为该拟合中用户想用的参数做一个自定义标记。

11.6.2 可用公式

FCS Express Version 4(第四版)可将用户数据用不同的公式进行拟合。

下表中列出了这些公式名称、它们的数学表达式以及FCS Express在进行数据拟合时定义的参数。

公式名称	FCS Express 公式名	数学公式	变量
Michaelis Menten(米氏方程)	MichMenten	$Y = \frac{Vmax \cdot x}{Km + x}$	Vmax, Km
TwoSiteBinding(双位结合)	TwoSiteBinding	$Y = \frac{Vmax \cdot x}{Km + x} + \frac{Vmax_2 \cdot x}{Km_2 + x}$	Vmax, KM, Vmax2, KM2
Four Parameter Logistic(四参数Logistic)(4PL)	FourParmLogistic	$y = Imax + \frac{(Imin - Imax)}{1 + (x / IC50)^{Hill}}$	Imax, Imin, IC50, Hill
Five Parameter Logistic(五参数Logistic)(5PL)	FiveParmLogistic	$y = Imax + \frac{(Imin - Imax)}{(1 + (x / IC50)^{Hill})^{Asym}}$	Imax, Imin, IC50, Hill, Asym
Boltzmann(波尔兹曼)	Boltzmann	$y = Bottom + \frac{(Top - Bottom)}{1 + e^{\frac{(V50 - x)}{Slope}}}$	Bottom, Top, V50, Slope
Exponential(e指数)	Exponential	$y = A \cdot e^{-\left(\frac{x}{M}\right)} + C$	A, M, C
Two Phase Exponential(两相e指数)	TwoPhaseExponential	$y = A \cdot e^{-\left(\frac{x}{M}\right)} + A_2 \cdot e^{-\left(\frac{x}{M_2}\right)} + C$	A, M, A2, M2, C
Exponential Association(e指数关联)	ExpAssociation	$y = Ymax1 \cdot (1 - e^{-K1 \cdot x})$	Ymax1, K1
Two Phase Exponential Association(两相e指数关联)	TwoPhaseExpAssociation	$y = Ymax_1 \cdot (1 - e^{-K_1 \cdot x}) + Ymax_2 \cdot (1 - e^{-K_2 \cdot x})$	Ymax1, K1, Ymax2, K2
Exponential Grow(e指数增长)	ExponentialGrow	$y = A \cdot e^{Mx} + C$	A, M, C
Power(幂级数)	Power	$y = A_1 \cdot x^{B_1} + K$	A1, B1, K
Power Series(幂级数序列)	PowerSeries	$y = A_1 \cdot x^{B_1} + A_2 \cdot x^{B_2} + K$	A1, B1, A2, B2, K

Linear(线性)	Linear	$y = mx + b$	m , b
Parabolic(抛物线)	Parabolic	$y = mx + b + A_2 x^2$	m , b , A2
Cubic(三次方曲线)	Cubic	$y = mx + b + A_2 x^2 + A_3 x^3$	m , B, A2 , A3
Sine Wave(正弦曲线)	SineWave	$y = B + A \operatorname{Sin}(Fx + \varphi)$	Baseline(基线), Amplitude(幅值), Frequency(频率), Offset(偏移量)
Gaussian(高斯分布)	Gaussian	$y = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} + K$	A, SD, x Med , K
Sigmoidal(反曲线)	Sigmoidal	$y = \frac{C}{1 + A \cdot e^{-Bx}}$	A, B, C
Decreasing Sigmoidal(递减反曲线)	SigmoidalDec	$y = \frac{C}{1 + A \cdot e^{Bx}}$	A, B, C

第 12 章

12 使用参数数学

参数数学工具允许用户根据现有参数的数学组合来创建新的参数(或修改现有参数)。参数数学也同时允许用户创建一系列可应用于FCS文件的公式，或将该公式保存，并在数据文件打开时自动应用该公式。

12.1 使用数学参数

要对文件执行参数数学操作，选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Single Calculation(单次计算)**命令，该命令调出图12.1中的对话框。如果没有打开的数据文件，系统会提示用户选择一个数据文件。

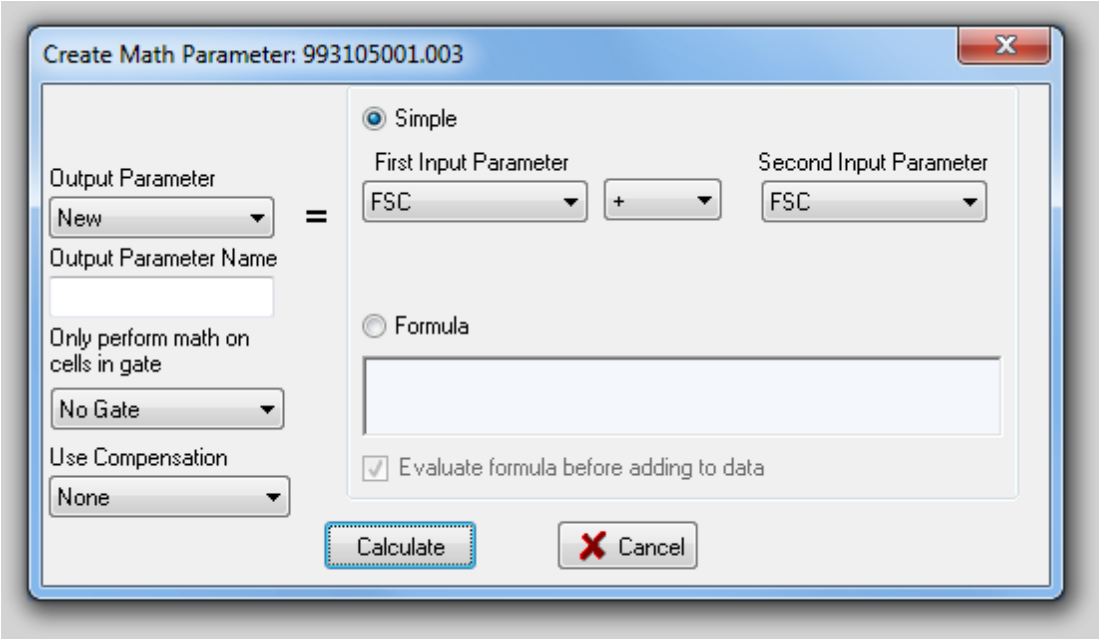


图 12.1 Parameter Math Dialog (**参数数学对话框**)

Output Parameter(输出参数)字段控制计算结果存储的位置。该参数可以是**New(新参数)**，意味着创建一个新参数，或可选择一个已存在、将被操作覆盖的参数。如果要创建新参数，请在**Output Parameter Name(输出参数名称)**字段输入该参数的名称。

如果在**Only perform math on cells in gate(只对门中的细胞执行数学计算)**下方指定一个门，参数数学会只针对被门公式接受的细胞进行。如果该字段为"**No Gate(没有门)**"，计算将应用于文件中所有细胞。

Use Compensation(使用补偿)字段允许用户选择数学计算是在补偿过或未经补偿262的数据上进行。要使用未经补偿的数据，请在该字段中选择"None"，否则选择要使用的补偿矩阵。

用户有两种方法来设置Parameter Math(参数数学)计算。点击单选按钮，选择在创建参数数

学时是要用**Simple(简单)**还是**Formula(公式)**。

对于一般计算来说，Simple(简单)选项通常是最方便的。选择**First Input Parameter(第一个输入参数)**，然后是数学运算符[只支持加法(+)、减法(-)、乘法(*)和除法(/)]，然后选择**Second Input Parameter(第二个输入参数)**。**Second Input Parameter(第二个输入参数)**可以是常数，在这种情况下**Second Input Parameter(第二个输入参数)**下面会有一个文本字段允许用户键入常数。

更复杂而灵活的设置参数数学的方法是直接输入一个**Formula(公式)**。公式的优点是可以在公式中组合多个数据，包括常规的和自定义的标记[286]和不同的计算方法。公式是以数学公式的形式输入的。每个参数由Pn代替，其中"n"是参数编号。一些允许的公式为:

- P1+P2
- (P1+P2)/(P4-100)
- sin(P3)/cos(P4)

要在公式中输入标记，右键点击**Formula(公式)**字段，然后从弹出菜单中选择Insert **Token(插入标记)**(图12.2)。

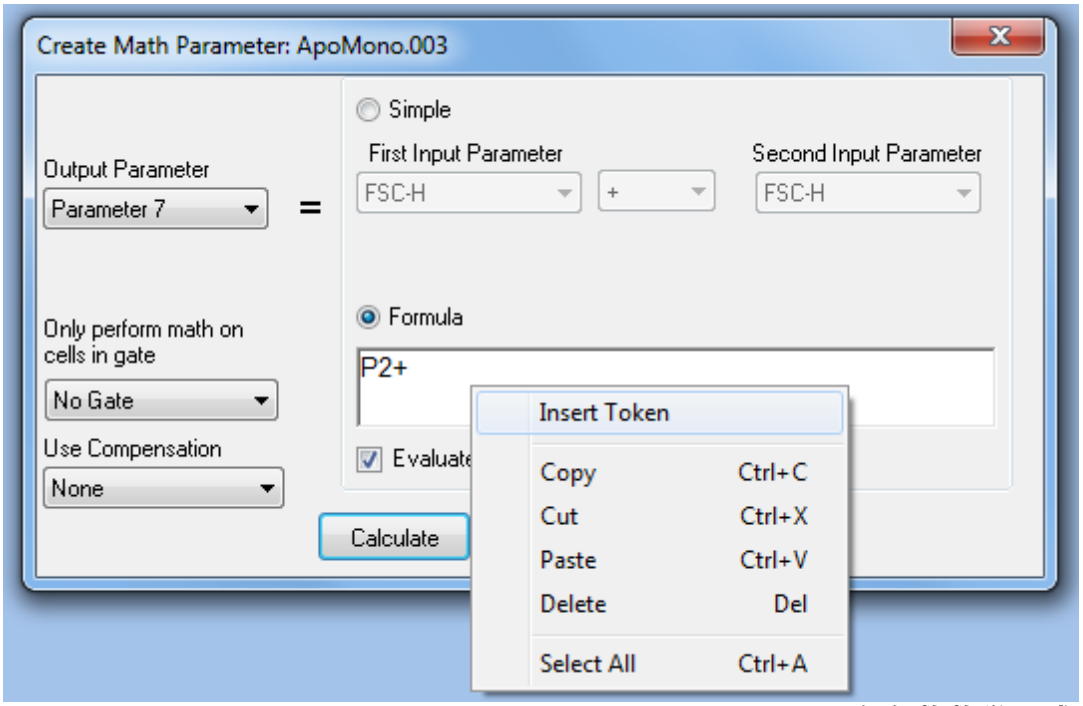


图 12.2 Inserting a Token into a Parameter Math Formula (**在参数数学公式中插入标记**)

除了插入标记外，在参数数学公式中可使用*Row(行)*作为特殊关键字。行指代数据网格[280]中的细胞编号一列。比如，公式*P1+Row*会为第一个细胞的P1参数上加1，为第二个细胞加2等等。

Evaluate tokens before adding to data(在将其加入数据前评估标记)复选框，控制插入公式中的标记在结果数据参数中是否仍是标记。如果该复选框是选中的(默认情况)，在数据网格的新参数列中，用户只会看到一个单纯的计算结果。如果该项未被选中，公式中每项的数值(例如，标记或特殊关键字)会在数据网格中分别显示，以便用户看到每项的贡献值。

如果决定要键入公式，请确保在前面使用 "=" 来使该公式被合理计算。

用户可查看所有公式运算符和函数集322。它们和自定义标记中的公式运算符和函数是相同的。

如果在参数数学计算中使用简单计算，或选择公式计算并选择了Evaluate tokens **before adding to data(在将其加入数据前评估标记)**复选框，操作的计算结果会被存为浮点数据值。如果使用公式计算而不选该复选框，结果会存为公式。

任何超过FCS文件中最大通道值的数据将被保存为最大值，或保存其原值，取决于Edit Preferences(编辑设置)对话框中General(一般设置)页下的Math Range Checking(数学范围核校)111中的设置。

点击**Calculate(计算)**按钮来执行计算操作。

12.2 创建参数数学序列

有时用户希望每次导入FCS文件时都执行一系列参数数学计算。尽管可以执行很多单公式计算240，有时用户也需要存储和绘制中间步骤的计算结果，这时参数数学序列会很有用。

要创建参数数学序列，选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Sequence Setup(设置序列)**命令，调出图12.3所示对话框。

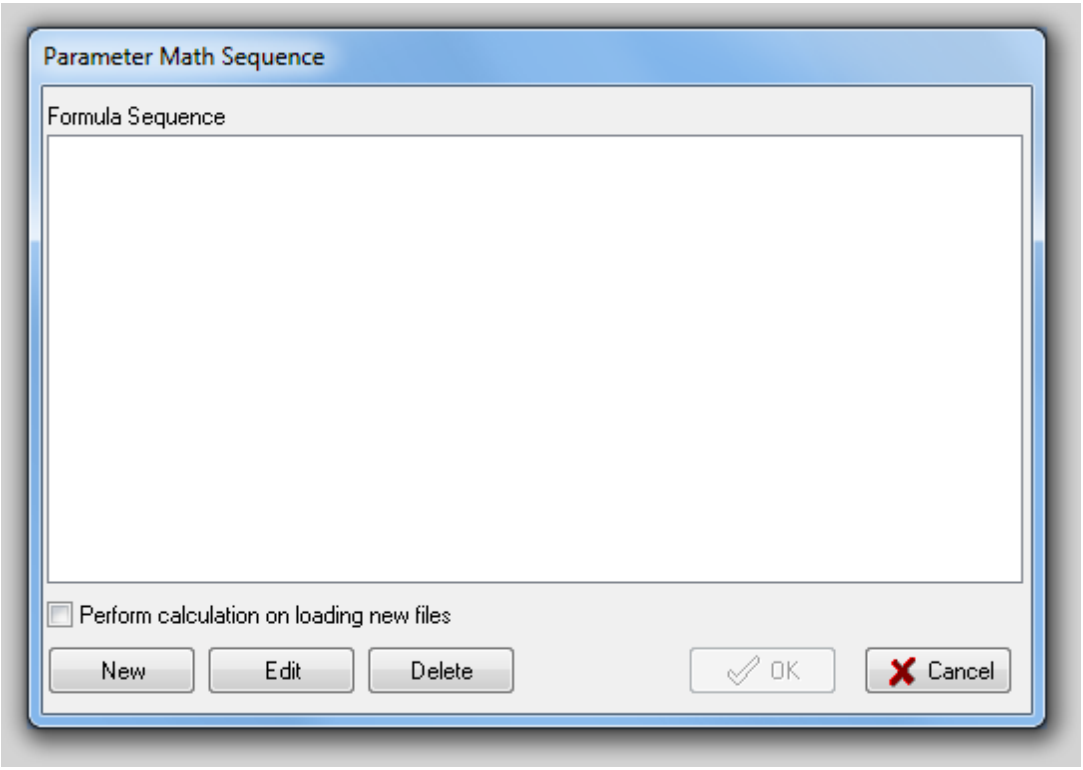


图 12.3 Parameter Math Sequence Window (**参数数学序列窗口**)

要在序列中创建新的计算过程，选择**New(新建)**按钮。如果没有打开的数据文件，FCS Express会让用户选择一个数据文件作为参数数学序列的模板。这时会出现Create New **Sequence Item(创建新序列项目)**对话框(图12.4)，在此可以像前面描述的那样输入一个计算公式240。

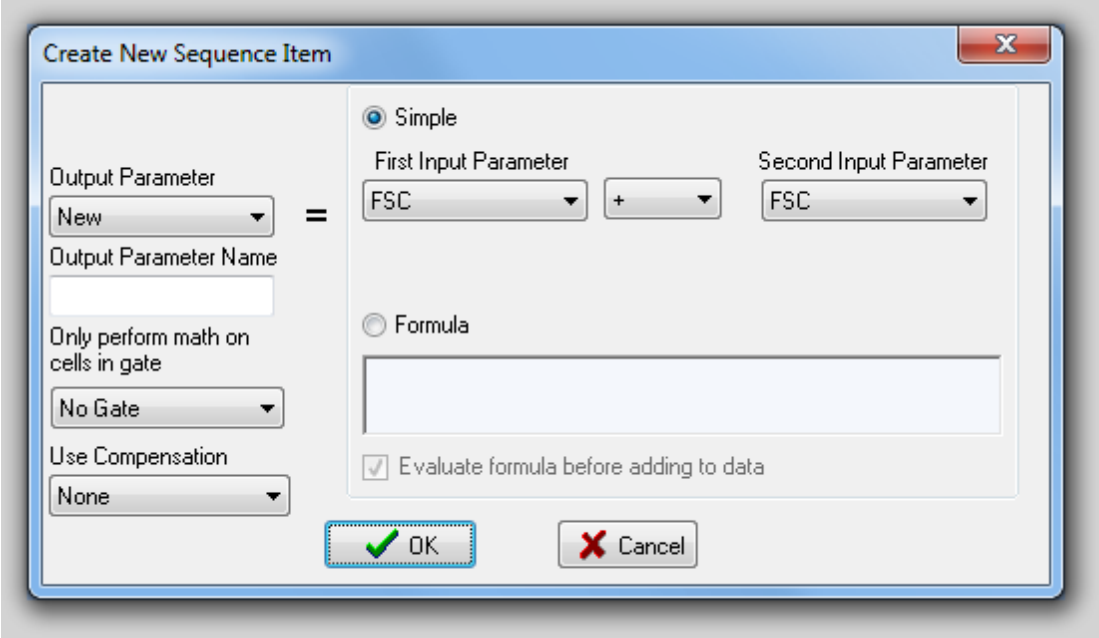


图 12.4 Parameter Math Create New Sequence Item Dialog (**参数数学之创建新序列项目对话框**)

要删除序列中一个计算公式，可以选中参数，然后按**Delete(删除)**键。要编辑序列中的计算公式，选中参数，然后按**Edit(编辑)**键。

如果希望对导入的新文件进行序列计算操作，请激活Perform calculation on loading **new files(在导入新文件时执行计算)**复选框。如果每次导入文件都要运行序列计算，可以让FCS Express在文件关闭时提醒保存序列计算。要停止该提示，取消在Save(保存)选项中的Prompt to save modified data Files on close(在文件关闭时提醒保存修改过的文件)复选框[129]。

Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Save Sequence(保存序列)命令调出一个标准的对话框来保存用户的参数数学序列(*.fcf格式)。

Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Load Sequence(导入序列)命令调出一个标准的对话框来导入以前保存的公式序列文件。

12.3 运行参数数学序列

除了可在新数据文件导入时运行参数数学序列外，用户也可在任何时候运行一个参数数学序列。要这样做，请先选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Run Sequence(运行序列)**，然后选择**On Top File(针对置顶文件)**或**On All Files(针对所有文件)**。

Top File(置顶文件)是最近查看的文件。如果一个绘图处于编辑模式，那其数据便是置顶文件。如果没有绘图处于编辑模式，那么最近打开的文件将是置顶文件。

第13章

13 浓度计算器

有些时候需要知道试样中细胞的绝对浓度。比如，用户也许要对淋巴球群或细菌群计数。大多数设备允许精确计数，但它们不提供获取这些计数的样品体积。

FCS Express可以通过流动速度和样品采集时间，或者通过添加进试样中已知浓度的微珠，来计算样品的体积。

FCS Express允许
：

- 计算单一样品的浓度。
- 自动计算浓度，并将其显示在统计窗口上。

13.1 计算单一浓度

要为浓度计算器设置恰当的参数，选择**View(查看)→Tools(工具)→**Concentration **Calculator(浓度计算器)**命令。

要计算单一浓度:

- 调出**Concentration Calculator(浓度计算器)**对话框的**Individual(单一)**标签(图 13.1)。

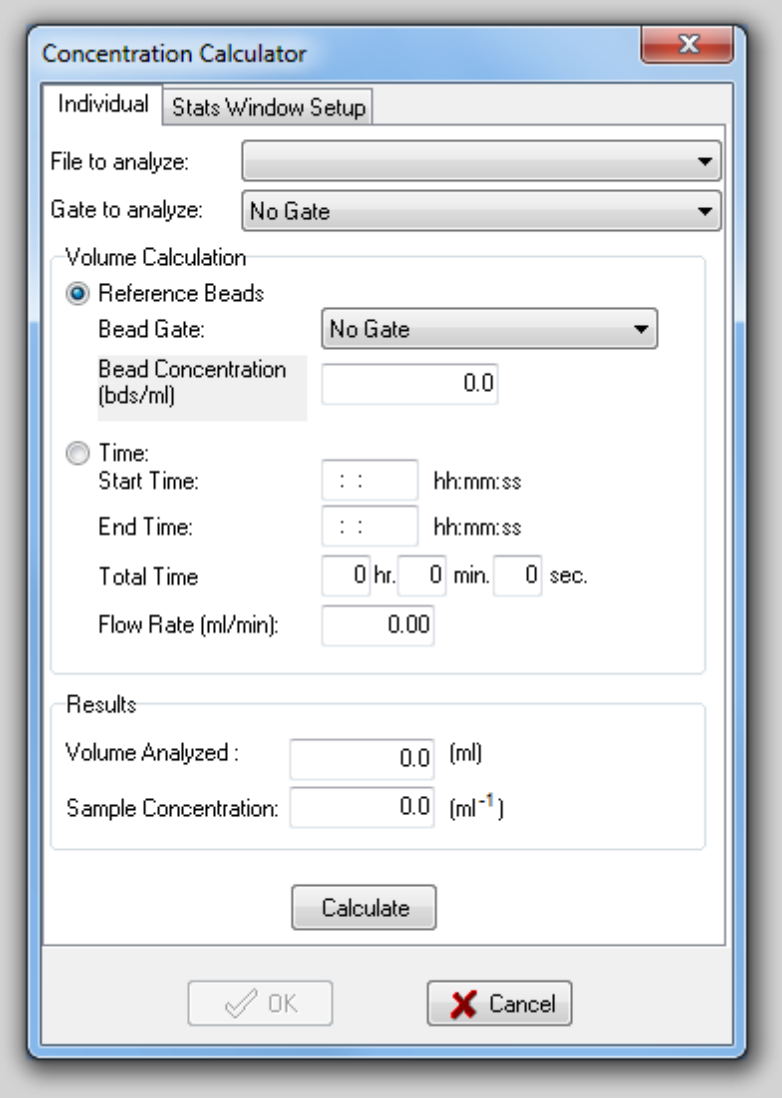


图 13.1 Concentration Calculator - Individual Tab (**浓度计算器 - 单一浓度标签**)

- 使用**File to analyze(要分析的文件)**下拉列表来选择要进行浓度计算的FCS文件。可以通过选择**Gate to analyze(要分析的门)**列表框来只对一部分细胞进行计算。
- 选择计算体积的方法: **Reference beads(对照微珠)**或者**Time(时间)**(参见下方)。
- 点击**Calculate(计算)**来计算实际浓度。试样体积会显示在**Volume Analyzed(分析过的体积)**字段，浓度会显示在**Sample Concentration(样品浓度)**字段。

- **Calculating Volume from Reference Beads(根据对照微珠计算体积)**

在试样中添加已知浓度的微珠是一个常用的计算试样体积的方法。通过数出在样品测试期间采集了多少微珠，可以计算出样品的体积。

- 在打开**Concentration Calculator(浓度计算器)**对话框前，在二维绘图上微珠区域画一个门。
- 选择Reference Beads(对照微珠)单选按钮。
- 在**Bead Gate(微珠门)**字段输入门的编号。
- 在**Bead Concentration(微珠浓度)**字段输入微珠的浓度。微珠的浓度单位必须是beads/ ml(微珠/ 毫升)。浓度可用科学计数法(比如，5 x 10^6/ ml可输入为5e6)。

- **Calculating Volume by Time(根据时间计算体积)**

在有些设备中，鞘液的流速是设定好的。如果知道流速和数据采集的时间，就可以计算体积。

- 在**Flow Rate(流速)**字段键入流速，单位是ml/ min。
- **Start Time(开始时间)**和**End Time(结束时间)**字段从FCS文件头部分的数据自动获取。如果这些时间不对，可以自己输入开始和结束时间。**Total Time(总时间)**由开始时间和结束时间的差别决定。也可以直接输入总时间。

13.2 计算统计页上的浓度

用户可以设置自动计算绘图上一个统计窗口的浓度。在这种情况下，必须告诉FCS Express该文件的体积是如何决定的。浓度的计算是用统计列中的细胞数除以体积。要设置统计浓度计算，使用**Concentration Calculator(浓度计算器)**上**Stats Window Setup(统计窗口设置)**标签(图13.2)，然后以和单一浓度计算相同的方式 246来为**Reference Beads(对照微珠)**或**Time(时间)**输入体积计算参数。

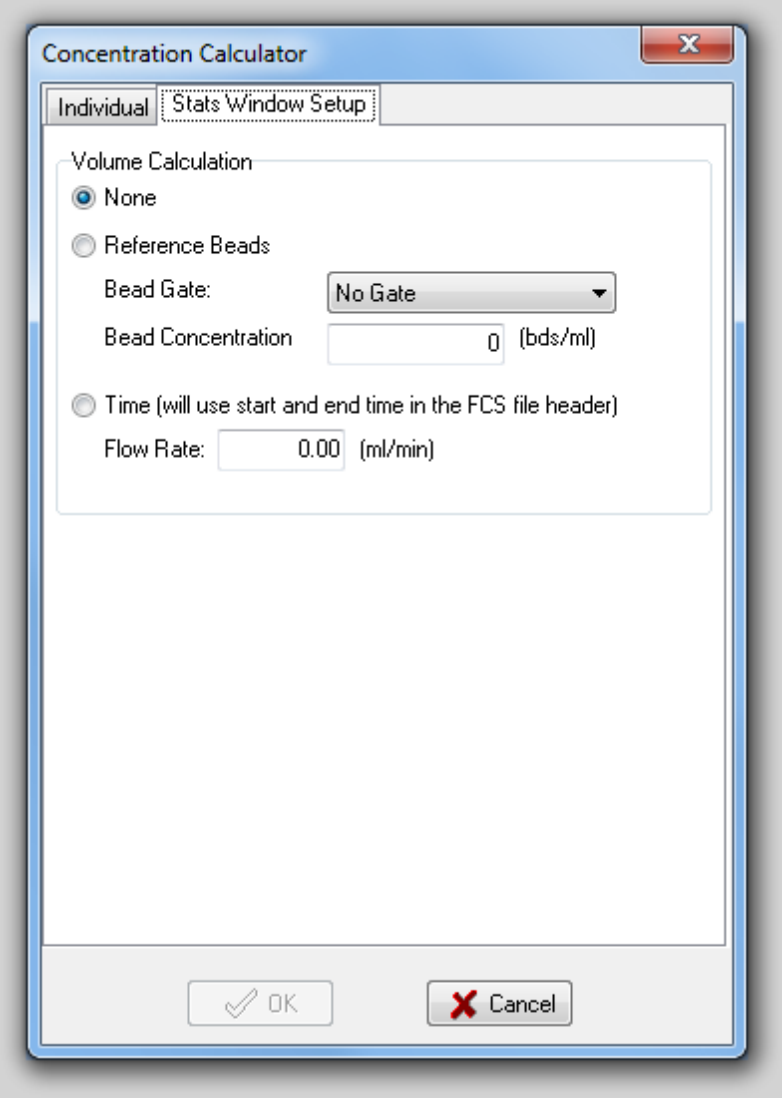


图 13.2 Concentration Calculator Dialog - Stats Window Setup (**浓度计算器对话框 - 设置统计窗口**)

第 14 章

14 柱状图减法工具

柱状图减法运算允许用户从样品柱状图上减去一个阴性对照的柱状图，从而确定该柱状图的阳性百分率。该运算可用于操作单个柱状图，也可通过设置来自动操作一系列柱状图并将结果显示于统计窗口上。

若要自动进行柱状图减法运算，并在柱状图统计窗口上显示:

- 请确认在统计窗口上阳性百分率一栏是可见的。
- 使用 **Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)** 命令(或在柱状图上右键点击，选择**Format(格式)**，再选**Histogram(柱状图)→Histogram Specific Options(柱状图特定选项)**)。把 **Control Histogram for Histogram Subtraction Statistics(柱状图减法统计的对照柱状图)**设置成适当的阴性对照(见图14.1)。统计柱状图减法总是使用 *Overton Subtraction(奥弗顿减法)*算法(描述见下方)。

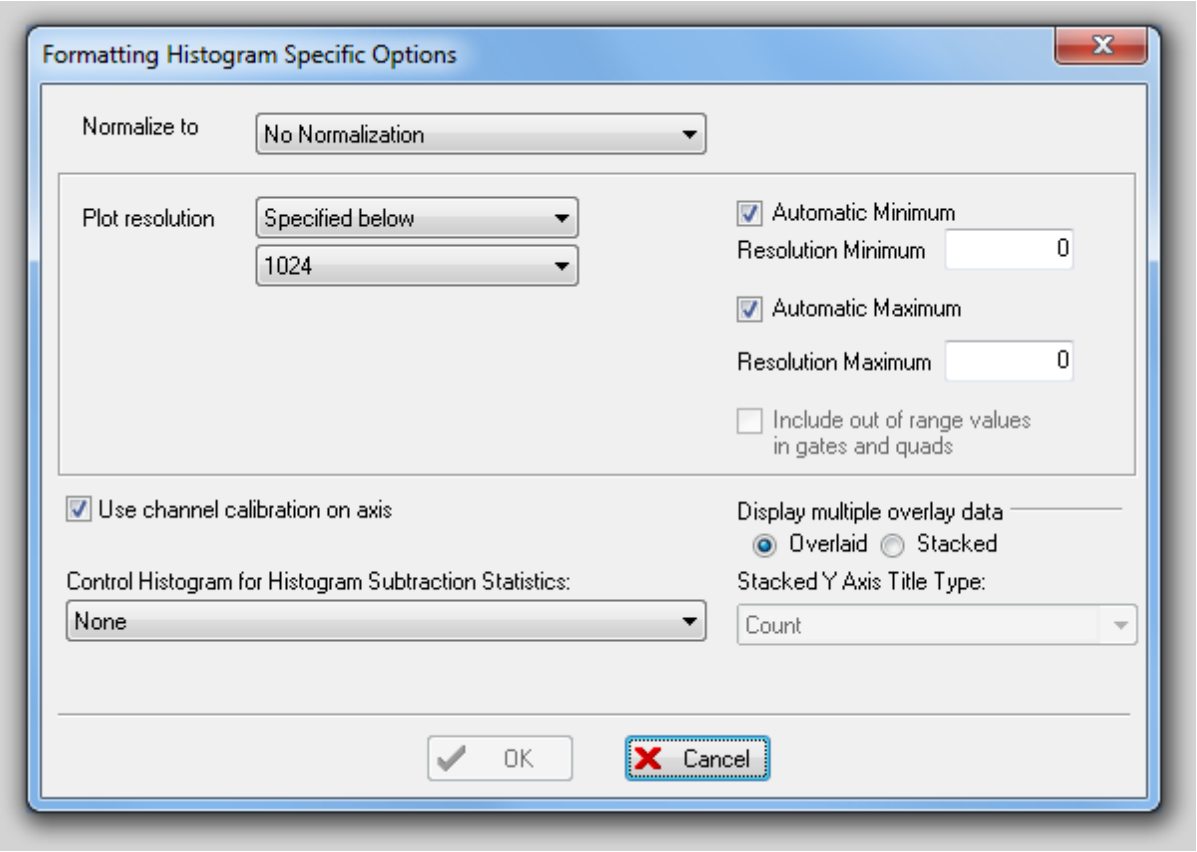


图 14.1 Formatting Hisotgram Specific Options Dialog (**格式化柱状图特有选项对话框**)

要做一个单独的柱状图运算，选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Histogram**

Subtraction(柱状图减法)命令，该命令会调出**Histogram Subtraction(柱状图减法)**窗口(见图14.2)。

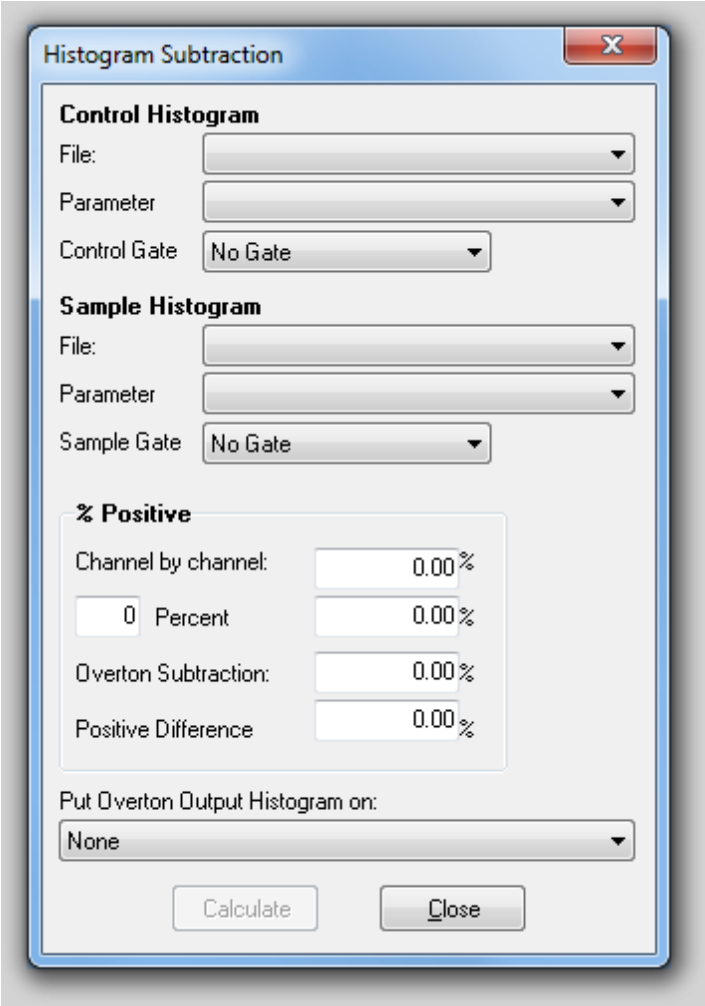


图 14.2 Histogram Subtraction Window (**柱状图减法窗口**)

柱状图减法运算可以在任何当前打开的FCS的文件上执行。为对照柱状图和样品柱状图在选择适当的**File(文件)**、**Parameter(参数)**以及**Control(对照门)**或**Sample Gate(样品门)**。阳性百分率可由四种不同的方法算出，其中Overton Subtraction(奥弗顿减法)和Positive Difference(正向差额算法)通常是最准确的。

用来计算% Positive(**阳性百分率)**的方法有:

- Channel by channel**(通道比较)**

  从样品柱状图中减去对照柱状图的操作是以通道为基准的。换句话说，是从样品试样

在通道N中的事件数减去对照试样在通道N中的事件数。将所有的阳性结果(即样本试样在通道N中的细胞比对照试样在通道N中的要多)相加，然后除以细胞总数来生成最后的阳性结果。

- X Percent**(X百分率)**

  在该方法中，用户需在对照细胞群的顶部设置一个边界通道值，并认为超过这个边界值的细胞为阳性。要确定边界值，在**Percent(百分率)**标签左边的编辑框中输入一个数值。若输入值是2，边界通道将低于对照细胞群的最高百分之二即在第98百分位。样品柱状图中高于这个值的任何细胞都会被认为是阳性的。

- Overton Subtraction**(奥弗顿减法)**

  这种减法运算类似于通道比较减法运算，只是负向差额(对照通道N中的细胞数比样品在同一通道N中的细胞数要多)会被添加到较低通道的正向差额上。在分析了所有通道后，剩余的阴性结果被设为零，而阳性结果总和除以细胞总数来生成一个阳性百分率。

- Positive Difference**(正向差额)**

  先计算样品和对照柱状图中通道N和通道N- 1的细胞百分比，而后确定它们之间的差额。随着N从第1个通道移到最后一个频道，相应的差额会被一一确定。找到的最大差额将作为阳性百分率。

奥弗顿减法的结果是一个包含所有阳性细胞的柱状图叠加图层。这一叠加图层可以放在已有的柱状图上，方法是在**Put Overton Output Histogram On(将奥弗顿输出柱状图放于)**一项中选择该柱状图。可以把它看作是该柱状图上一个一般的叠加图层来计算它的统计数据。

第15章

15 通道校正工具

定量流式细胞仪用来确定标识所有微粒的实际荧光配位基数(荧光染料或荧光染料及蛋白质的连接分子)。该方法需要用已知的荧光染料标准物来校正荧光通道数。该标准物把观察到的荧光强度换算为实际连接荧光染料分子的数目。

有几家公司特别设计出了有不同荧光强度的微珠，每个微珠上染料分子数精确控制。通过做一条关联通道编号和每个微珠上染料分子数目的曲线，可以精确判定细胞抗原分子、抗体分子和其它有用的标记分子的数目。

这类工作以前非常费力，要求用户使用流式细胞软件从微珠和样品获得一系列统计数据，然后把统计数据输入电子表格，绘成校正曲线，确定标准通道值，最后再使用该电子表格进行进一步的计算，将统计数据转化为每个细胞的配体数。

FCS Express可把整个程序自动化。一旦做好了通道校正，所有绘图会自动显示校正坐标轴，统计数据会显示为校正数值。要设置通道校正256，必须有一组携带荧光分子数目确定的微珠做对照。另外，必须知道有效的荧光强度- 蛋白质比率，以决定细胞上某一标记分子的数目。

15.1 创建新的通道校正

要创建新的通道校正:

- 请将微珠数据用柱状图显示，然后创建一个标识194来界定所有微珠，如图15.1所示。

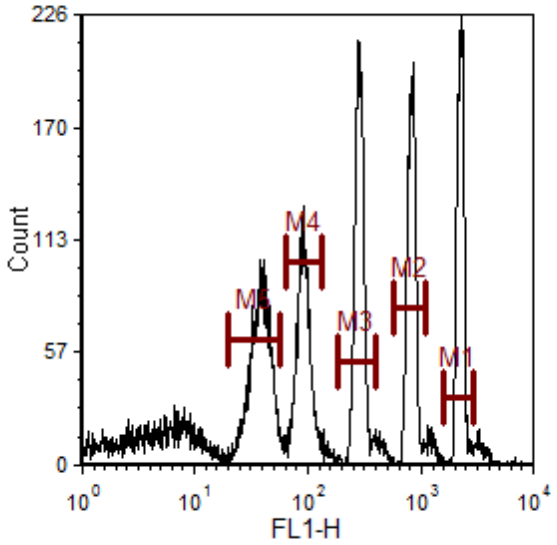


图 15.1 Setting Up Markers for Channel Calibration (**为通道校正设立标识**)

- 选择**View(查看)→Tools(工具)→Channel Calibration(通道校正)**命令。会出现通道校正窗口260(图15.2)。

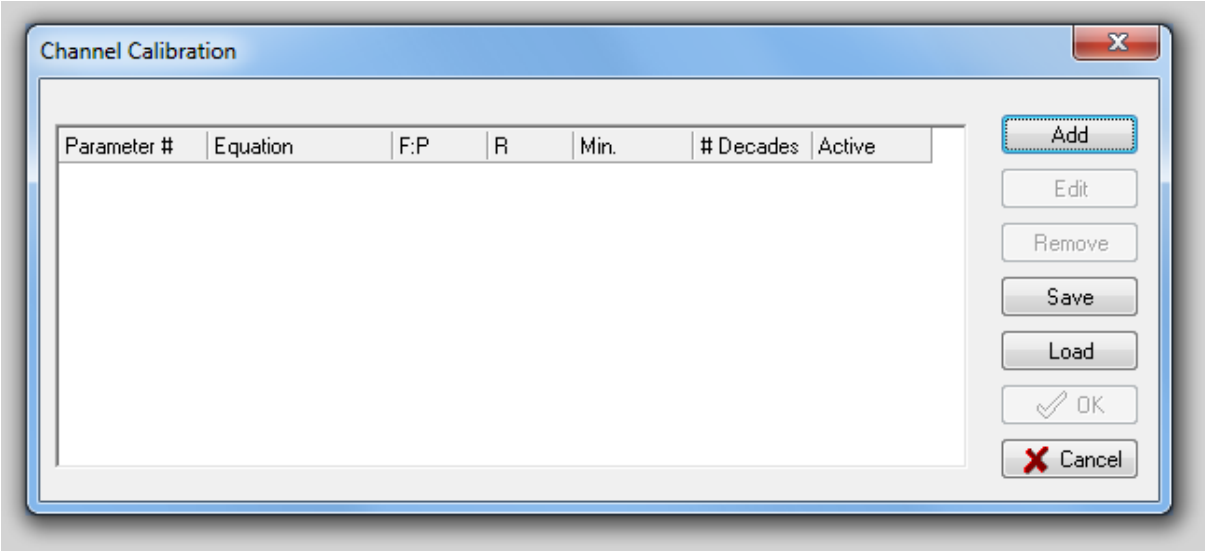


图15.2 Channel Calibration Window (**通道校正窗口**)

点击**Add(添加)**按钮来创建新的校正。**New Calibration(新校正)**对话框会跳出(图15.3)。

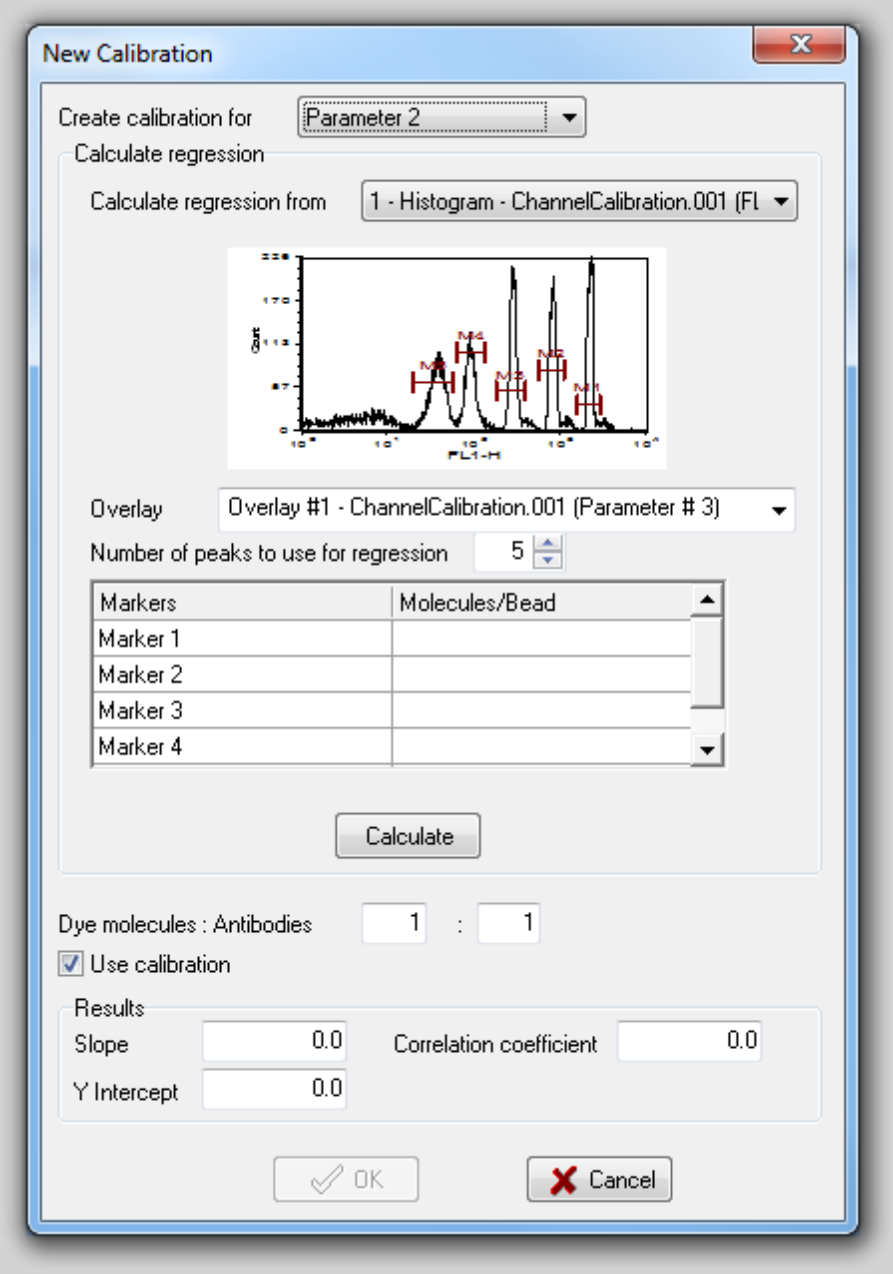


图15.3 New Calibration Dialog (**新校正对话框**)

- 从**Create calibration for(为...创建校正)**下拉列表中选择想要校正的参数。
- 从**Calculate regression from(从...计算拟合)**下拉列表中选择要使用的柱状图。
- 从**Overlay(叠加图层)**下拉菜单中选择柱状图上正确的叠加图层。当选中柱状图时，标识盒会自动在柱状图上为每个标识创建一项。可改变Number of peaks to use **for regression(拟合时要用的峰值数)**字段中的数值来选择更少的标识。必须用至少三个标识来计算拟合。

- 为每个峰值输入每个微珠上的分子数目。该数目由微珠的制造商提供。
- 点击**Calculate(计算)**按钮来进行新通道校正。新校正的公式(**Slope(斜率)**、**Y Intercept(Y轴截距)**、**Correlation coefficient(相关系数)**)会出现在**Results(结果)**框中。
- **Dye molecules:Antibodies(染料分子:抗体比率)**(也称为F:P)一般是1:1，但也可改成其它值。F:P比由实验中使用的抗体生产公司提供。
- 点击OK，接受这个新校正。

15.2 使用通道校正

FCS Express提供两种级别的控制，来决定一个参数是否应用校正:一个全局性的控制，一个针对单独绘图的控制。

如果不想用校正，可以选择**View(查看)→Tools(工具)→Channel Calibration(通道校正)**命令，然后取消选择在校正边上的**Active(激活)**复选框(图15.4)。

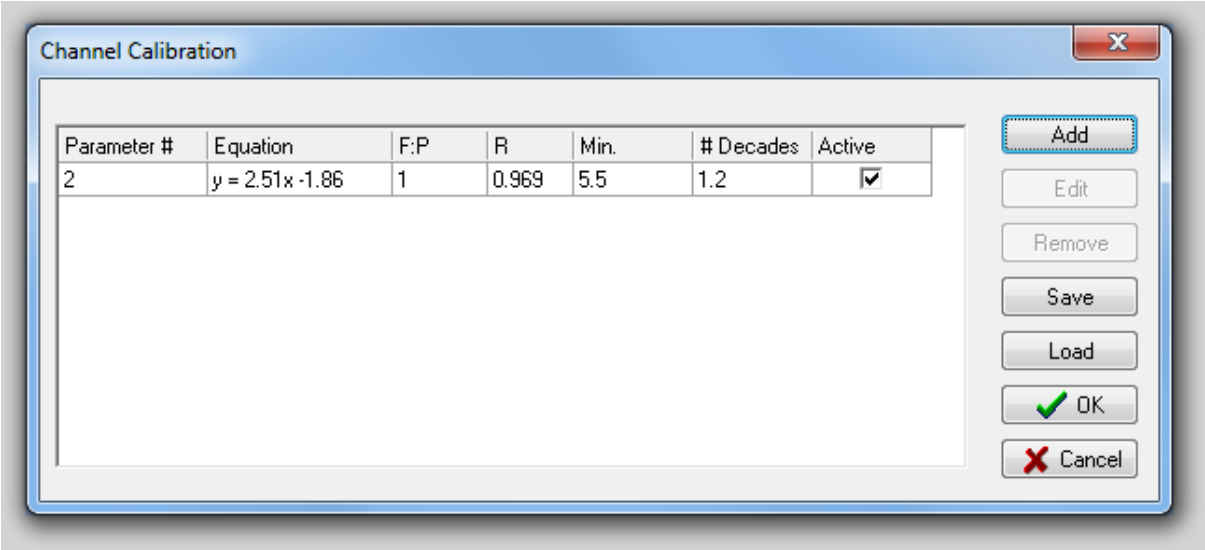


图15.4 Channel Calibration Window with Active Checkbox (**有"激活的"复选框的通道校正窗口**)

也可选择哪些绘图使用校正。柱状图162和二维绘图173的**Format(格式)**下的 **Specific Options(特定选项)**页均包含一个**Use channel calibrated on axis(使用数据轴有校正的通道)**复选框。如果选中该选项，任何有校正的参数都会被校正。如果未勾选Use **channel calibrated on axis(使用数据轴有校正的通道)**复选框，不管一个校正是否处于激活状态，它都不会被使用。

15.3 通道校正窗口

通道校正窗口显示当前所有设置的校正(图15.5)。可以为不同的参数定义不同的校正。FCS Express会自动使用合适的校正。

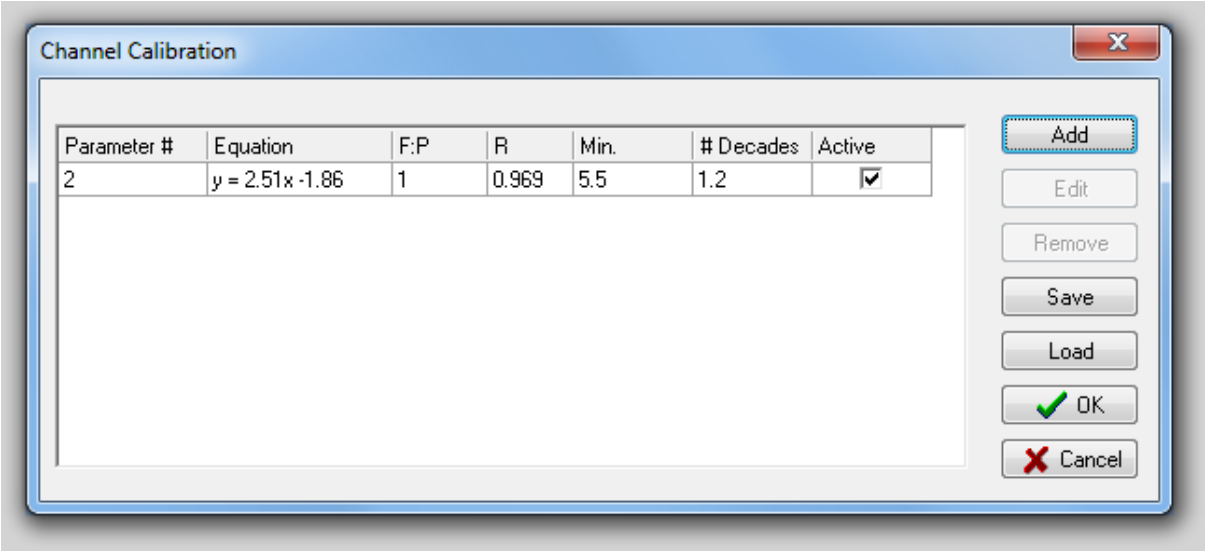


图15.5 Channel Calibration Window (**通道校正窗口**)

在**Channel Calibration(通道校正)**窗口中:

- **Parameter #(参数编号)**指明使用该校正的参数。
- **Equation(公式)**是进行通道校正时使用的线性回归公式。
- **F:P(F:P比率)**指代所选染料和抗体比率。
- R显示拟合公式和实际数据的拟合程度，数值1代表完美拟合。
- Min是可以解析的最小荧光分子数目。
- **# Decades(10的次方数)**代表设备可以测量的动态区间的范围可横跨多少个10次方。
- **Active(激活的)**代表该校正是否会应用于选择的参数。

要对已有的校正进行编辑，点击一行(例如上边的Parameter #2)将其选中，然后点击**Edit(编辑)**。这会调出这些数据的**New Calibration(新校正)**对话框，在此可以编辑上边提到的这些值。

第16章

16 补偿工具

在理想的情况下，用户选用的染色分子应该有很窄的发射光谱，从该染色分子发出的荧光仅可被设备上一个检测器检测到。但实际上，由于市面上的荧光分子发射光谱较宽，用户选用的染色分子发出的荧光有可能被第二个和第三个检测器检测到。换句话说，到达检测器上的荧光不仅包括从想要的染色分子发出的荧光，也包括从其它荧光分子发射出的荧光。

要调整或"补偿"这种光谱交叠，交叠中的某一百分比将从目标发射谱中被扣除。以前，这种补偿一般在数据采集时由设备执行。但是现代机器可以存储未经补偿的数据，补偿可在分析软件上进行。

计算实例: 参数2的荧光补偿 = 观测到的参数2的荧光强度减去观测到的参数1的荧光强度的5%。

补偿包括创建两个矩阵。溢出矩阵代表从某一通道溢出到旁边通道的信号。用来纠正该溢出的补偿矩阵是溢出矩阵的反矩阵。

FCS Express在处理补偿时使用以下用语。"目标参数"代表检测溢出信号的参数，该参数会被补偿修改。目标参数可有多个"源参数"。源参数指包括溢出的参数，用它来决定要从目标参数减去多少。换句话说，我们从目标参数中减去"渗入"其中的源参数的一个百分比。

在以上例子中，参数2是目标参数，参数1是源参数。一大组源参数和目标参数的集合称作一个*补偿定义*。"补偿定义"描述在特定条件下不同通道间相互影响的情况，它在数学上等于一个补偿矩阵。一般来说，设备用户在实验开始时会为所有通道设置补偿，并在整个实验期间使用这些设置。因此，补偿定义会应用于整个实验。

FCS Express可以在一个版面上存储多个补偿定义。这在分析同一版面上以不同方式获取的数据时很有用。每一天的实验补偿都可能会不同，因此要为每一天的实验设置不同的补偿定义。同一绘图上的不同叠加图层也可以使用不同的补偿定义。

另外，可为数据文件指定一个补偿定义。这意味着当FCS文件被导入绘图中时，绘图会自动使用相应的补偿。这样，用户不须为每个数据文件设置相应的补偿。

16.1 软件补偿缺点

软件补偿不是所有补偿问题的灵丹妙药。它的最好的应用对象是高分辨率(> 1024通道)线性数据。补偿必须应用于线性数据。因此，在补偿对数格式数据时必须将其转化为线性。对数到线性的转化可能引入取舍误差。另外，很难对通道数低于1024的存储数据应用软件补偿。相反，可以对通道数为1024或更高的数据进行软件补偿。

要详细地了解软件补偿是如何植入FCS Express中的，请在http://www.denovosoftware.com/site/FAQ.shtml网页参见我们的**Frequently Asked Questions(常见问题)**。

16.2 设置补偿定义

要查看版面上所有的补偿定义，选择**Data(数据)→Data Info(数据信息)→Compensation(补偿)→Compensation Info(补偿信息)**命令。Compensation **Info(补偿信息)**窗口将列出版面上所有的补偿定义(图16.1)。

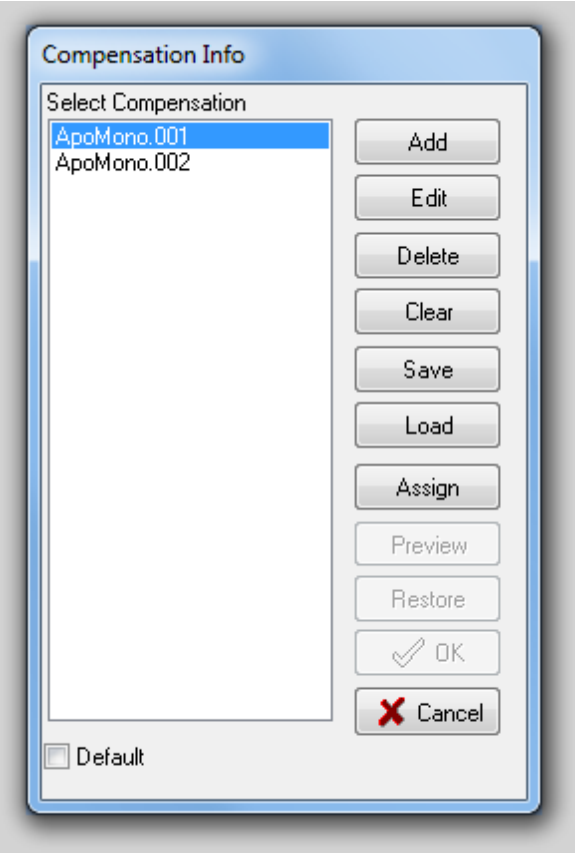


图16.1 Compensation Info Window with Available Compensation Definitions (**补偿信息窗口上现有的补偿定义**)

在**Compensation Info(补偿信息)**窗口上有很多操作。可通过点击相关按钮来执行这些操作，或者右键点击补偿窗口，从弹出菜单中选择相应操作。这些操作选项列于下表:

操作选项	解释
Add(添加)	添加新的补偿定义。该操作会创建一个新的补偿定义，也会出现编辑补偿定义窗口 264。
Edit(编辑)	从编辑补偿定义窗口 264编辑当前所选的补偿定义。
Delete(删除)	删除所选的补偿定义。
Clear(清除)	删除所有补偿定义。
Save(保存)	保存当前选择的补偿定义到一个补偿文件中。
Load(导入)	从一个文件导入补偿定义。

操作选项	解释
Assign(指定)	将当前选择的补偿定义作为补偿文件指定给一个或多个FCS文件。
Preview(预览)	预览所做的修改，查看它们在版面上的外观。
Restore(恢复)	将补偿定义恢复到修改前的状态。
OK	关闭窗口，应用修改。
Cancel(取消)	关闭窗口，取消所做修改。

要将补偿定义设置为默认补偿268，请从列表高亮选中该补偿定义，勾选**Default(默认)**按钮。默认补偿将应用于新建绘图。

16.3 编辑补偿定义

从**Compensation Info(补偿信息)**窗口选择**Add(添加)**或**Edit(编辑)**，可调出Edit **Compensation Definition(编辑补偿定义)**窗口(参见图16.2中的例子)。该窗口在左边有一个目标参数列表，源参数列表在右边(如果是新添加的补偿定义，这些列表在窗口第一次打开时会没有任何内容)。

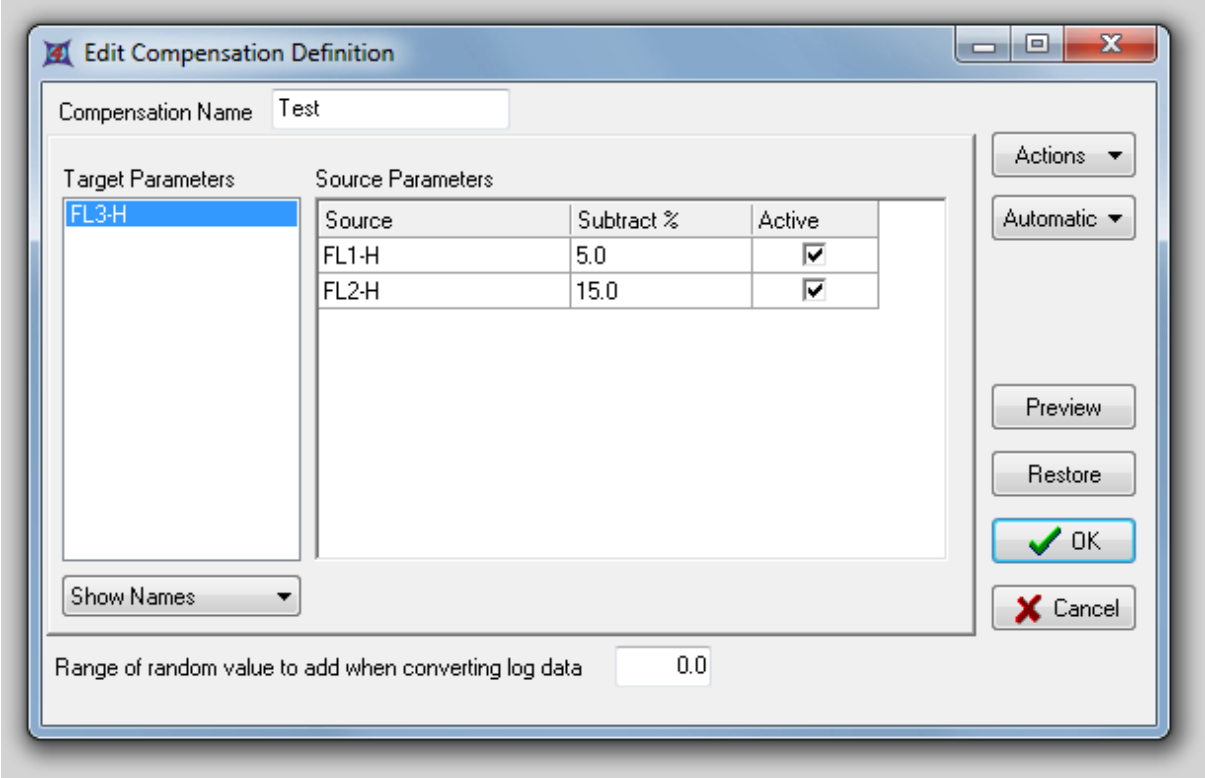


图16.2 Edit Compensation Definition Window (**编辑补偿定义窗口**)

该图给出了一个补偿设置的例子，FL3- H的最终值是在减去15%的FL2- H参数值和减去5%的FL1- H参数值之后的数值。每个补偿必须有一个独一无二的名称，它可在Compensation **Name(补偿名称)**字段键入。用户可以输入时间或试验编号作为补偿名称。

Target Parameters(目标参数)字段的下拉列表允许用户选择是否在补偿窗口显示参数名称或参数编号。

点击**Actions(操作)**键，从其下拉菜单中选择对某一目标参数进行**Add(添加)**、**Edit(编辑)**或Delete **Sources(删除源参数)**操作(图16.3)。选择相应的菜单项，也可以**Add(添加)**、**Edit(编辑)**或**Delete(删除)**所选的**Targets(目标参数)**或**Clear(清除)***所有***Targets(目标参数)**。

从**Actions(操作)**下拉菜单中选择**Transpose Matrix(矩阵转换)**来转换整个矩阵。该操作会交换源参数和目标参数。例如，如果原来的矩阵是:

> 补偿过的FL3 = 原FL3减去原FL2的15%，那么，转换过的矩阵变成补偿过的FL2 = 原FL2减去原FL3的15%。

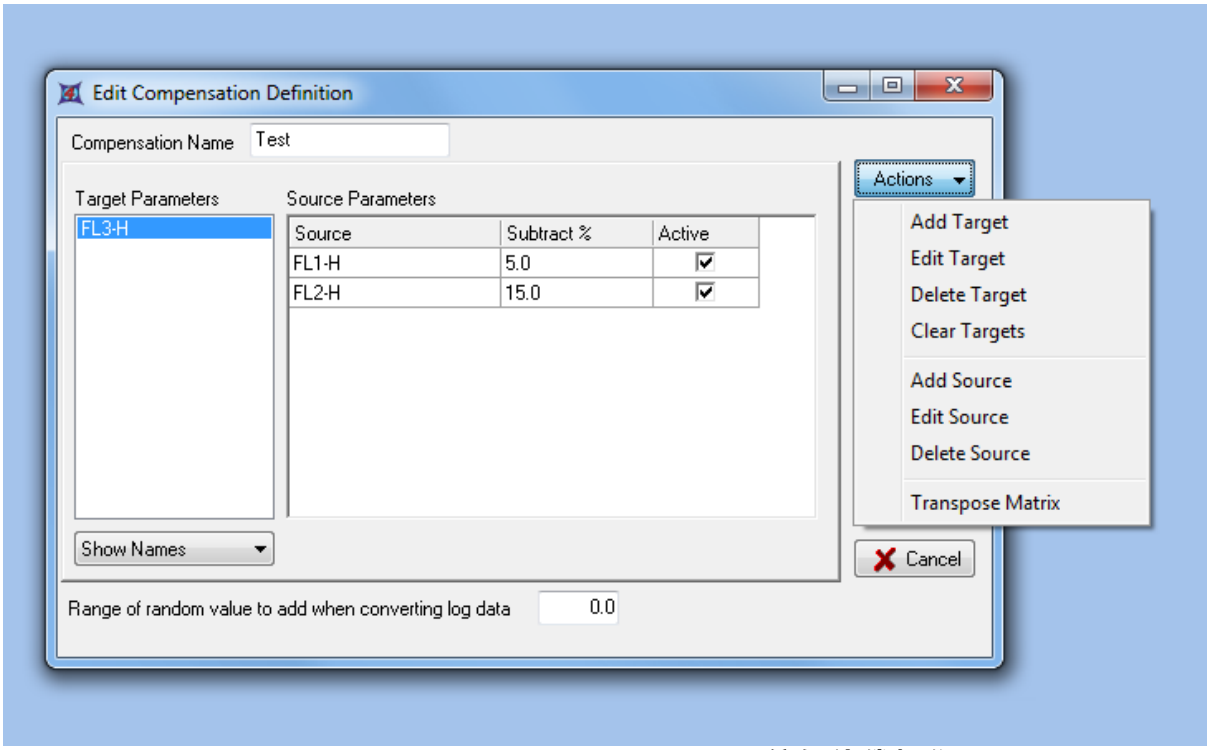


图16.3 Edit Compensation Actions (**编辑补偿操作**)

补偿只可以应用于线性数据。如果在FCS文件中存储了对数数据，该数据在应用补偿前必须转化为线性数据。然后，再将它转化成对数来进行显示。取决于源文件的分辨率，该操作可能导致数字化错误，使大量事件居中于一个通道。在补偿过程中，软件将自动把数据转化为线性，然后再转化回来。但如果观察到数字化错误，用户可在Range of random value to add **when converting log data(在转化对数数据时要插入的随机值范围)**字段输入一个数值将集中的数据分开。一般来说，该值应小于1。这会在线性数据转化回对数前为其添加一个随机数值。建议除非有明显的数据化错误，否则应把该值保留为0。

16.4 自动计算补偿定义

除了手动为每对"目标参数- 源参数"输入要减去的百分比外，也可以让FCS Express计算所有的补偿定义。要这样做，点击Automatic(自动)按钮，选择如图16.4所示的Automatic Compensation Setup Wizard(自动补偿设置向导)。

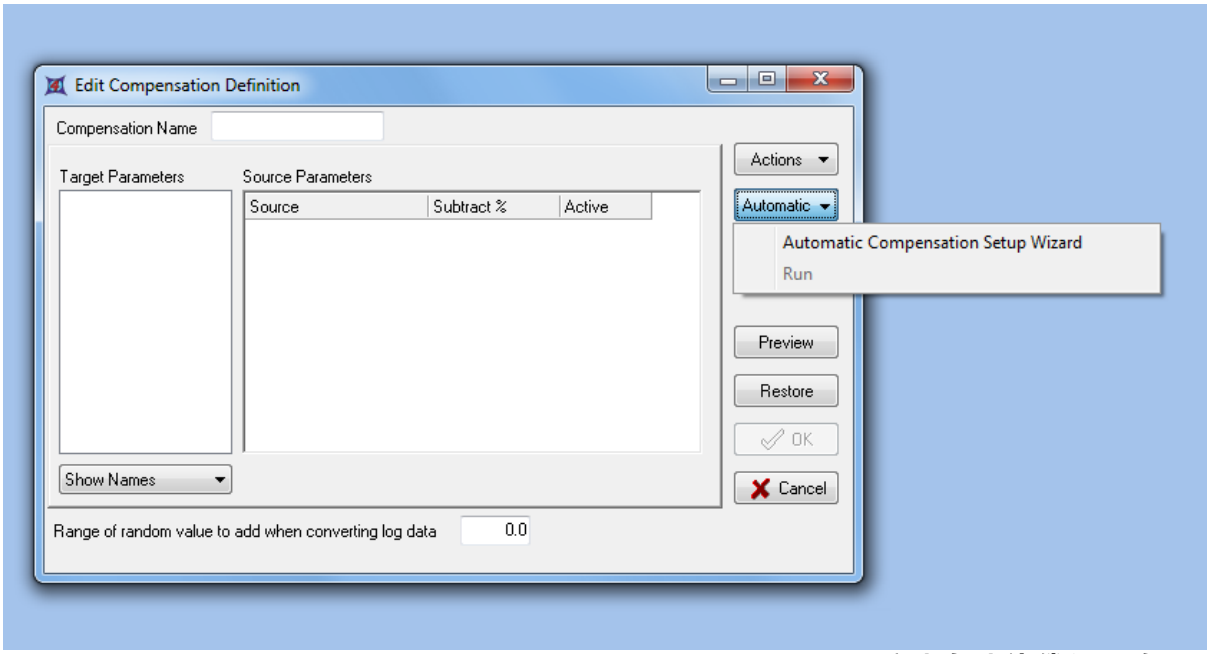


图16.4 Starting the Automatic Compensation Setup Wizard (**启动自动补偿设置向导**)

这会调出补偿向导(图16.5)。要自动计算补偿定义，需要一个FCS文件，该文件包含了为所有要补偿的参数准备的染色对照。用户可以选择为每个要补偿的参数输入一个未染色的对照。如果要这样做，那么背景荧光在计算补偿定义前会被减去。我们推荐用户既用非染色的对照，也用染色的对照来设置补偿定义。相应的选项取决于背景荧光的强度和染色如何影响背景荧光。用户可以试一下两种方法，看哪个更好。

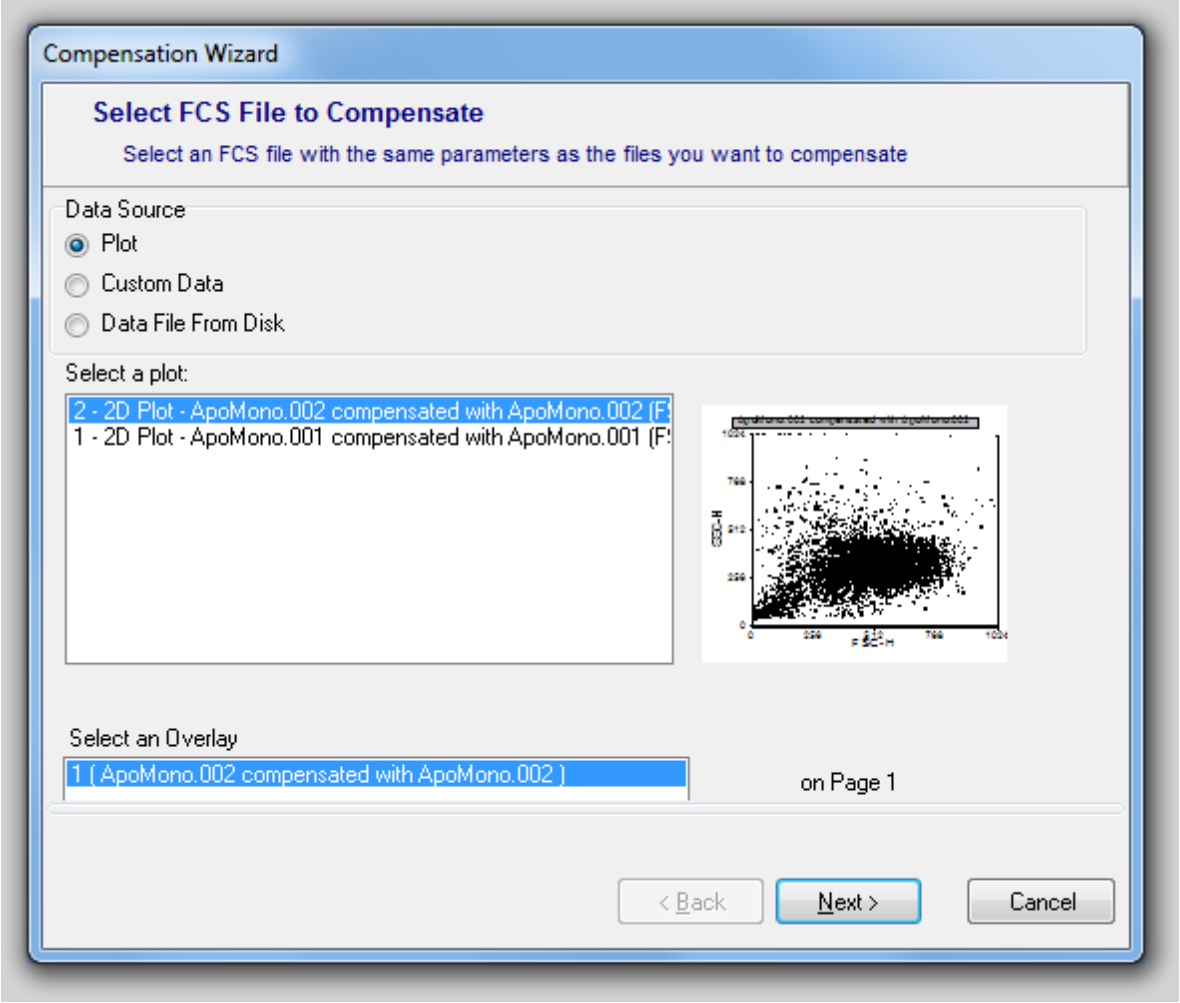


图 16.5 Compensation Wizard - Page 1 (**补偿向导 - 第**1**页**)

补偿向导有一步一步的说明来帮助用户设置新的补偿定义。完成该向导后，用户便可以编辑任何源参数- 目标参数对264。

自动补偿设置会和版面一起保存。如果设置单染色的对照来源于绘图，而非数据文件，并要从一个不同的数据集创建新的补偿矩阵，那么只要修改正在绘图上显示的数据，然后点击**Automatic(自动)**按钮，从下拉菜单中选择**Run(运行)**即可。该操作会把当前自动补偿设置应用于绘图上的新数据，使用户可以只通过单击一键便可创建新的补偿矩阵。

对于自动补偿向导的一步一步的介绍可在http://www.denovosoftware.com网页提供的教程中找到。

16.5 应用补偿定义

绘图上每个叠加图层和每个作为数据板被导入的文件都可有不同的补偿定义。要修改叠加图层的补偿定义，右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**。来到**Overlays(叠加图层)**页，选择要使用的补偿定义。或者，可以使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

另外，很多其它FCS Express功能允许用户使用补偿定义。比如，在进行参数数学时，在执行数学计算之前用户可决定选择应用哪个补偿定义。

16.6 选择缺省补偿

把叠加图层添加到绘图上时，FCS Express对补偿定义有很多默认选项。这些选项在Edit **Preferences(编辑设置)**对话框(**Application Button(应用程序按钮)**→Edit **Preferences Button(编辑设置按钮)**)上的**General(一般设置)**页上的Default **Compensation to Use(要使用的默认补偿)**下拉菜单中。这些选项的具体解释列于下表。

选项	解释
None(不补偿)	在绘图上添加叠加图层时，不应用任何补偿定义。
Compensation **Default(缺省补偿)**	使用缺省的补偿设置。要设置补偿定义，参见设置补偿定义 263一节。
FCS File(FCS文件)	将补偿定义应用于一个或多个FCS文件上。 • 选择**Data(数据)**→**Data Info(数据信息)**→**Compensation(补偿)**→**Compensation Info(补偿信息)**命令。 • 从列表框中选择一个补偿定义。 • 点击**Assign(指定)**按钮。 • 在对话框中选择一个或多个文件。 FCS Express会把补偿定义添加到所选的FCS文件的文件头中。当使用这些文件时，文件头中的补偿信息会被导入并应用于叠加图层。若没有补偿定义，将不会应用任何补偿。
FCS file, then Compensation **Default(首先FCS文件，然后缺省补偿)**	参见以上的FCS一项。但如果没有指定的补偿定义，会采用默认补偿定义(参见设置补偿定义 263一节)。

16.7 从二维绘图调整补偿定义

用户也可以从二维绘图本身调整补偿定义。请右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Compensation(补偿)**。补偿一项包含针对绘图上所有补偿选项的子菜单。

Compensation(补偿)子菜单上的第一项是**Create New(创建新补偿定义)**，允许用户创建新的补偿定义。如果选择**Create New(创建新补偿定义)**，那么会出现一个对话框，要用户为新补偿输入名称和附加信息(图16.6)。如果要编辑已有的补偿设置，请选择相应的子菜单。

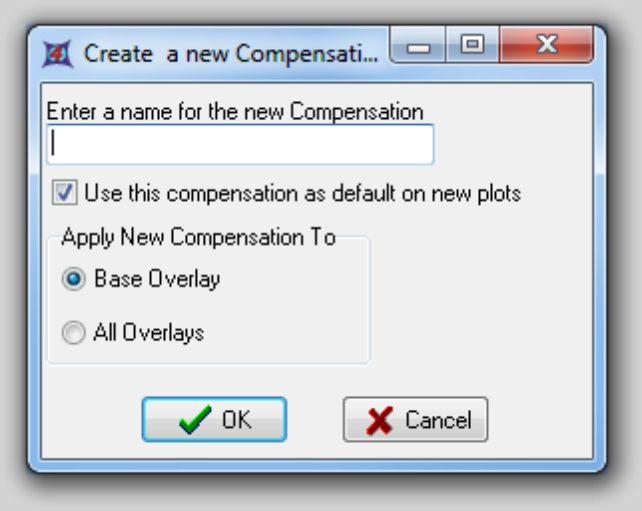


图 16.6 Creating a New Compensation from a 2D Plot (**从二维绘图创建新补偿**)

命名之后，点击OK键 如果选择要编辑的补偿定义，会出现**Edit Compensation(编辑补偿)**对话框(图16.7)。用该对话框来补偿绘图上的两个参数。请用滚动条来增加或减少补偿量。如果选择**Automatic Preview(自动预览)**，每次修改补偿时，绘图会根据新的补偿设置进行更新。

注:只有补偿定义被编辑的绘图会在用户修改补偿时进行更新。

点击Cancel来取消对补偿的更改。点击**Restore(恢复)**来忽略修改，继续编辑绘图。一旦点击OK键，整个版面的补偿设置会被修改到新数值。

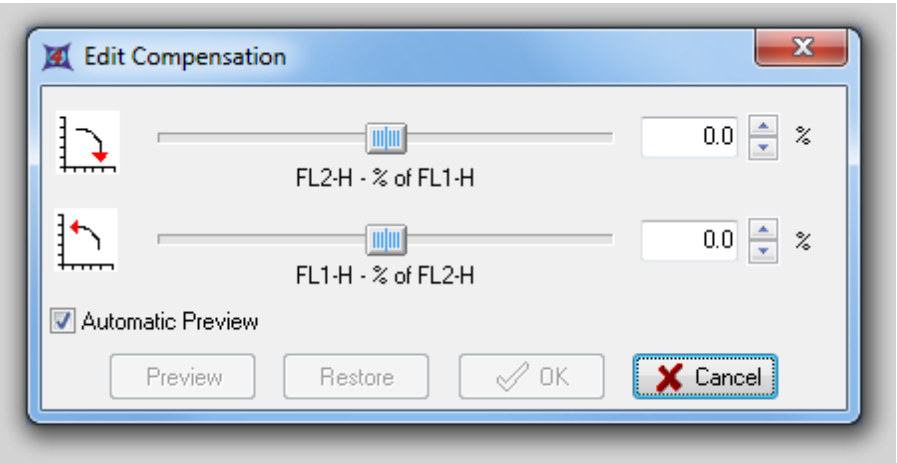


图 16.7 Edit Compensation Dialog (**编辑补偿对话框**)

16.8 使用单独的补偿文件

单独补偿矩阵在FCS Express中的后缀是*.compensation*。该后缀是由补偿信息对话框下的Assign(指定)或Save(保存)命令263添加的。

当导入列表模式文件，FCS Express会在导入文件所在的文件夹中寻找有相同名称但后缀为*.compensation*的文件。例如，如果导入*sample1.fcs*文件，那么FCS Express会寻找*sample1.fcs.compensation*。如果找到该文件，FCS Express便会导入该矩阵，认为它是为.fcs设置的。

如果未找到特定补偿文件，FCS Express会在和数据文件相同的文件夹下寻找**.allcompensation*类型的文件。在**.allcompensation*中的独立矩阵会应用于文件夹中所有文件。

注:如果文件夹有两个或多个.allcompensation类型文件，比如type1.allcompensation和type2.allcompensation，选择哪个文件是不可预知的。在这种情况下，FCS Express会随机挑选其中的一个。*

16.9 保存补偿定义

保存版面时，所有补偿定义会和版面一起保存。自动补偿设置也和每个补偿一起保存。

要将版面中的所有补偿定义保存到一个文件中(*.cmp*)，请选择**Data(数据)→Data Info(数据信息)→Compensation(补偿)→Save Compensation Info(保存补偿信息)**命令。

要单独保存一个补偿定义(*.compensation*)，请选择**Data(数据)→Data Info(数据信息)→Compensation(补偿)→Compensation Info(补偿信息)**命令，从Select **Compensation(选择补偿)**列表框中选择一个补偿，点击**Save(保存)**按钮。

16.10 导入补偿定义

补偿定义在版面导入时自动加载。要从一个文件导入一系列补偿文件(*.cmp*)，请所有Data **(数据)→Data Info(数据信息)→Compensation(补偿)→Load** Compensation **Info(补偿信息)**命令。

第17章

17 使用FCS数据文件

FCS Express使用户可以直接修改FCS文件。用户可以修改文件头的关键字、添加自己的关键字或把数据导出到一个表格中。

17.1 查看和修改FCS文件头

要查看当前FCS文件的头信息，使用**Data(数据)→Data Info(数据信息)→**View Header **(查看文件头)**命令。这时会出现View Header(查看文件头)窗口(图17.1)。如果没有打开的FCS文件，系统会弹出一个窗口让用户选择所需文件。

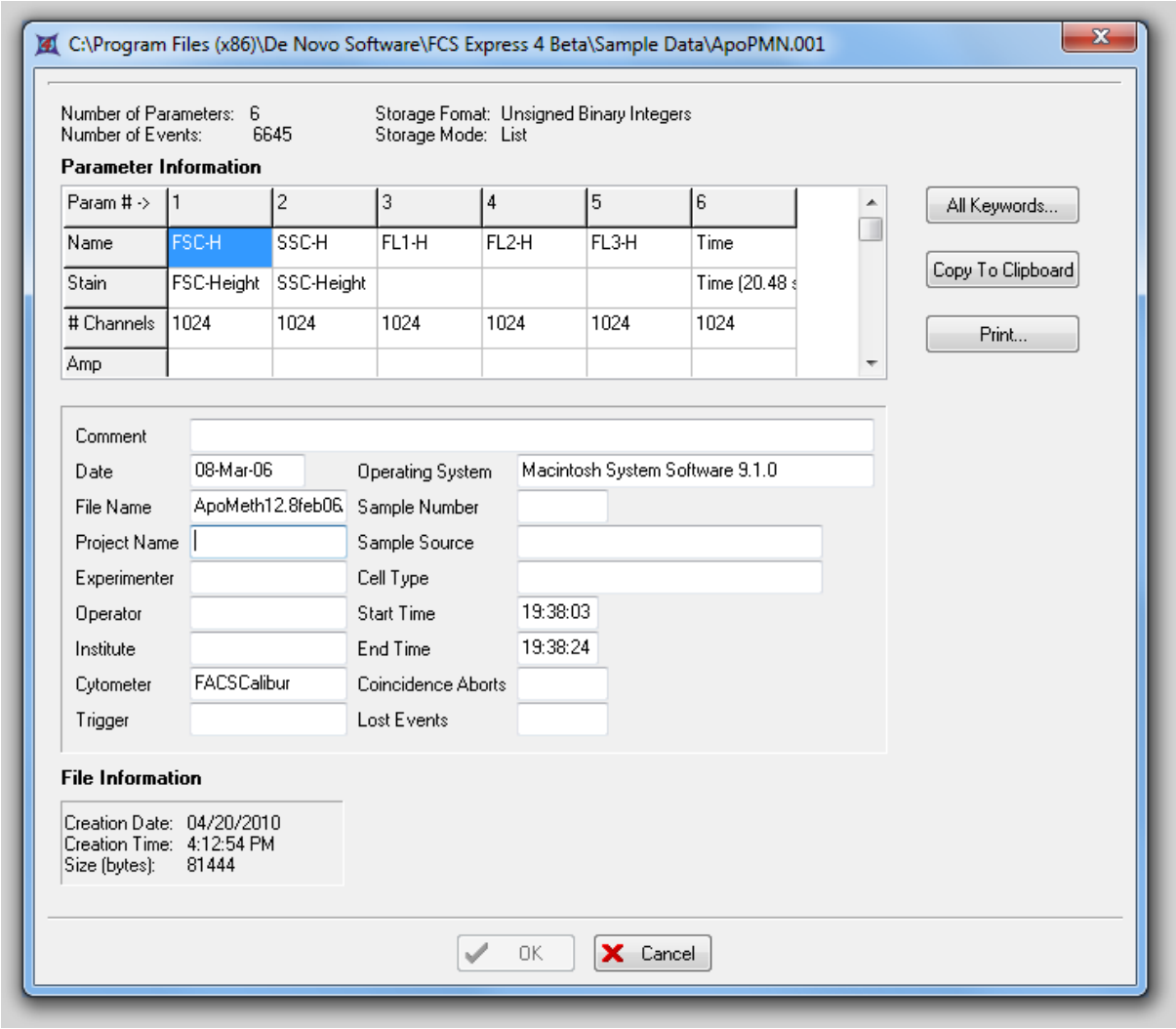


图17.1 View Header Window (**查看文件头窗口**)

和每个参数都有关系的关键字显示于**Parameter Information(参数信息)**字段中。用户可修改该表中除了**# Channels(通道编号)**和**Word Size(文字大小)**以外的所有参数。可也修改窗口中间可以编辑的字段。

要以$Keyword=Value($关键字=值)格式把所有关键字复制到剪切板(以便将来复制到文本文件)，请点击**Copy to Clipboard(复制到剪切板)**按钮。

要以$Keyword=Value($关键字=值)格式打印关键字，点击**Print...(打印...)**命令。

可以点击**All Keywords…(所有关键字...)**按钮来查看关键字完整列表。这时会跳出一个列出文件中所有关键字的对话框(图17.2)。要修改关键字的数值，可以点击该数值列，然后输入新的数值。*注:* 不是所有的值都可以修改。

要添加关键字，点击**Add Keyword(添加关键字)**按钮，这时会出现一个对话框，提示输入新的关键字及其数值。点击OK后，新的关键字会加到列表的底部。

要删除关键字，点击**Remove Keyword(删除关键字)**按钮。如果关键字是文件必须要有的，会出现一个对话框告知用户该关键字不可删除。如果该关键字不是文件必须的，删除后会出现一个确认对话框。

完成在**View keywords(查看关键字)- edit mode(编辑模式)**上所做的修改后，点击OK，修改将被保存到FCS文件头中。

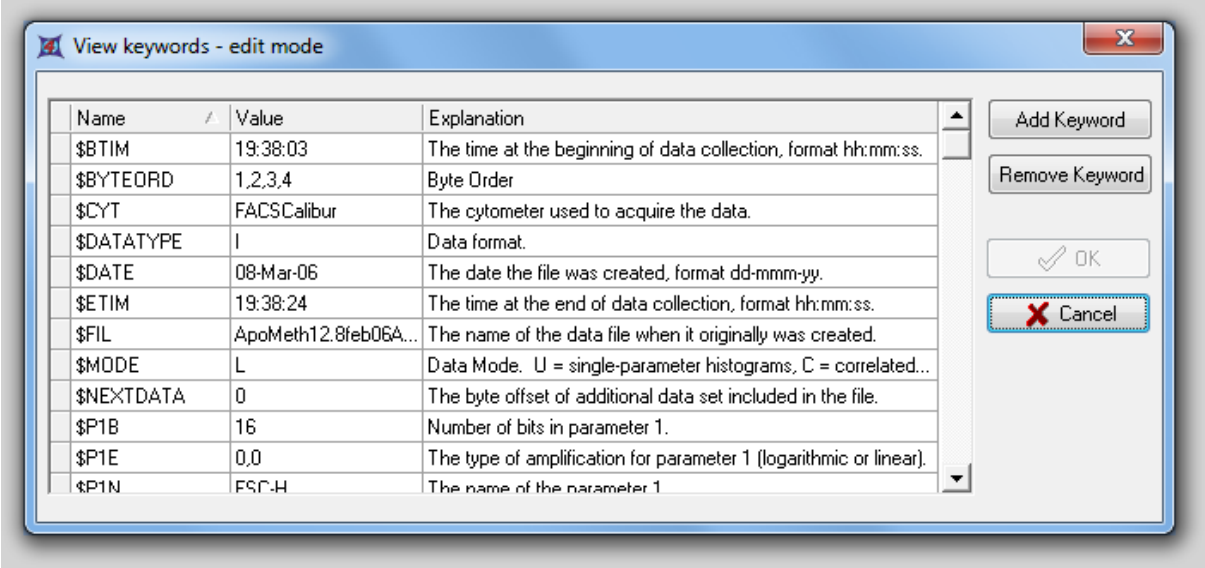


图17.2 View Keywords - Edit Mode (**查看关键字 - 编辑模式**)

17.2 额外的关键字

FCS Express允许将文本文件中的关键字(以**$Keyword=Value($关键字=值)**的方式)加到已存在的数据文件中:

- 如果关键字文本文件的名称是<filename>.extrakeywords.txt，并和同名数据文件<filename>在同一文件夹里，那么FCS Express在启动时会把这些其它的关键

字插入到数据文件中。

- 如果数据文件夹中的关键字文本文件的名称是*.allextrakeywords.txt，那么这些关键字会在所有数据文件被导入时加到这些文件中。

如果导入从微量滴定板上收集的一列FCS文件，或者把Accuri CFLOW文件作为微量滴定板导入，请在**Select a Data File(选择数据文件)**对话框的**Files of type(文件类型)**下拉列表上选择**FCS Plate folder(FCS滴定板文件夹)**。然后选择包含这些文件的文件夹。

在作为滴定板导入数据时，必须在一个其它关键字文件中说明滴定板的大小，创建包含关键字$PlateRows(滴定板行)和$PlateColumns(滴定板列)的关键字文件。在常用的96孔板上，该文件可包含以下文本:

$PlateRows= 8
$PlateColumns= 12

17.3 导出FCS文件数据

FCS Express通过两种方式把FCS文件中的数据导出(即保存)为不同的数据格式。用户既可以导出单个文件，也可以把几个文件一起"批量导出"。

17.3.1 *从单个文件导出FCS文件数据*

要从打开的FCS文件导出数据，使用**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Export(导出)**命令来调出**Export Data(导出数据)**对话框(图17.3)。

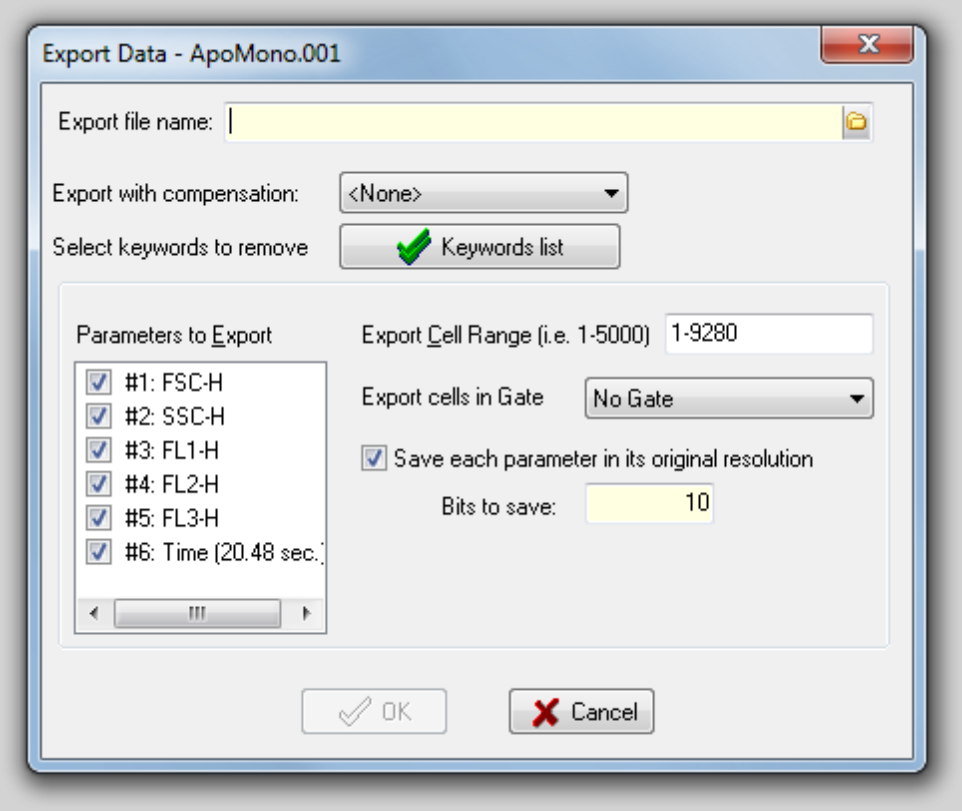


图 17.3 Export Data Dialog (**导出数据对话框**)

必须为要导出的数据指定一个名称和文件类型。建议点击**Export file name(导出文件名)**字段右边的文件夹图标。该操作会调出**Save As(另存为)**对话框，在此可选择文件保存于哪个文件夹，并为文件输入一个名称，然后选择文件类型。可以把数据导出为文本文件(*.txt)、逗号分隔文件(*.csv)、制表符分隔文件(*.tab)、空格分隔文件(*.prn)、FCS文件(*.fcs)或者DNS数据流文件(*.dns)。设置好文件名和类型后点击**Save(保存)**。

可从**Export with compensation(带有补偿导出)**下拉列表中选择导出时是否使用补偿。如果正在导出的文件有补偿定义，这些补偿定义可从列表上选择。用户也可编辑要导出的关键字。

用户有很多选项来决定导出哪些数据:

- 从**Parameters to Export(要导出的参数)**列表框中选择要导出哪些参数。
- 在**Export Cell Range(导出细胞范围)**选择导出哪些细胞。格式是[first cell number- last cell number(第一个细胞编号- 最后一个细胞编号)]。缺省选项是，文件中第一个细胞编号到最后一个细胞编号。
- 使用**Export cells in Gate(导出门中的细胞)**下拉列表导出门内的细胞。

最后，可以选择为每一数据导出多少位比特(也称为分辨率)。默认选项是应用源文件的分辨率。

这些都完成后，点击OK。

17.3.2 从多个文件导出FCS文件数据:批量导出

可用"批量导出"来连续导出多个文件中的数据。

1. 选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Batch Export(批量导出)**命令来调出批量导出对话框(图17.4)。
2. 点击**Add(添加)**来选择要导出的文件。可用**Remove(删除)**按钮从导出列表中删除文件(或用**Clear(清除)**按钮删除所有文件)。
3. 使用**Export as Individual Files(导出为单独文件)**选项来把文件导出为单个文件，或用**Export as Merged File(导出为合并文件)**选项把所有文件合并为一个文件。

导出选项，例如文件类型和各种针对数据的导出选项，和从单个文件导出数据274相似。

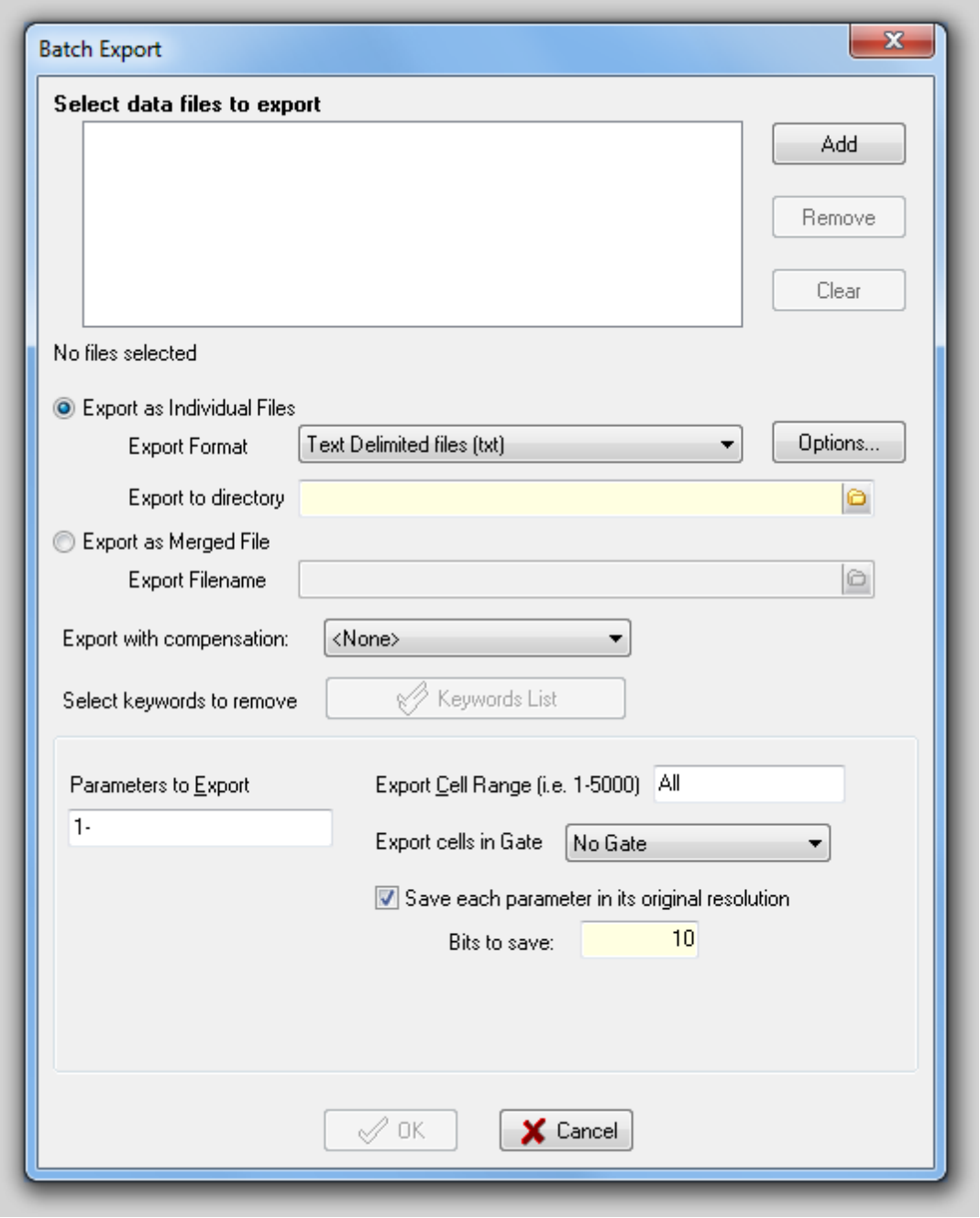


图 17.4 Batch Export Dialog (**批量导出对话框**)

第 18 章

18 数据网格

FCS Express允许查看数据集中每一个事件或"细胞"的原始采集数据。

选择**Insert(插入)→General(常规)→Data Grid(数据网格)**命令在版面中插入一个Data **Grid(数据网格)**来显示置于顶层的数据244(图17.5)。如果没有打开的数据集，系统会提示选择一个文件。

Cell #	FSC-Height	SSC-Height	FL1-H	FL2-H	FL3-H	Time (20.48
1	509.00	351.00	403.15	395.96	626.43	3.00
2	571.00	516.00	198.10	254.83	421.70	3.00
3	482.00	564.00	518.61	264.16	319.08	3.00
4	428.00	355.00	1321.58	1321.58	2090.80	3.00
5	396.00	376.00	770.40	1134.19	1963.22	3.00
6	337.00	317.00	973.38	1274.88	2246.79	3.00
7	247.00	291.00	1055.45	474.00	582.94	3.00
8	397.00	408.00	716.92	151.25	23.08	3.00
9	693.00	631.00	930.57	182.69	20.35	3.00
10	256.00	446.00	9.65	11.04	7.30	3.00
11	498.00	621.00	1084.32	421.70	449.10	3.00
12	717.00	423.00	342.89	74.32	15.12	3.00
13	435.00	360.00	557.31	649.38	1175.74	3.00
14	434.00	350.00	8.51	4.14	4.14	3.00
15	525.00	345.00	661.17	138.24	21.48	3.00
16	572.00	452.00	433.23	93.06	18.94	5.00
17	529.00	525.00	316.23	433.23	835.36	5.00
18	496.00	511.00	330.77	271.39	414.18	5.00
19	430.00	396.00	421.70	86.60	14.59	5.00
20	335.00	318.00	1036.63	964.66	1582.04	5.00
21	380.00	294.00	399.54	82.05	10.18	5.00

图17.5 Data Grid (**数据网格**)

要把原始数据复制到剪切板，选择要复制的单元格，然后使用**Home(主页)→**Clipboard **(剪切板)→Copy Text(复制文本)**命令。要选择整列，点击参数的列标题。要选择整行，点击细胞编号列左侧的灰色方框。

要把多个参数导出到文本文件，参见导出FCS文件数据274一节。

18.1 格式化数据网格

要格式化**Data Grid(数据网格)**，右键点击它，然后从弹出菜单中选择**Format(格式)**。使用**Parameters to Display(要显示的参数)**选项选择要在数据列里显示的参数(图17.6)。要

显示所选列，可选择**Only the items checked below(仅以下所选项目)**或者All **items except those checked below(除了以下所选项目之外的所有其它项目)**，然后选择相应的项目。

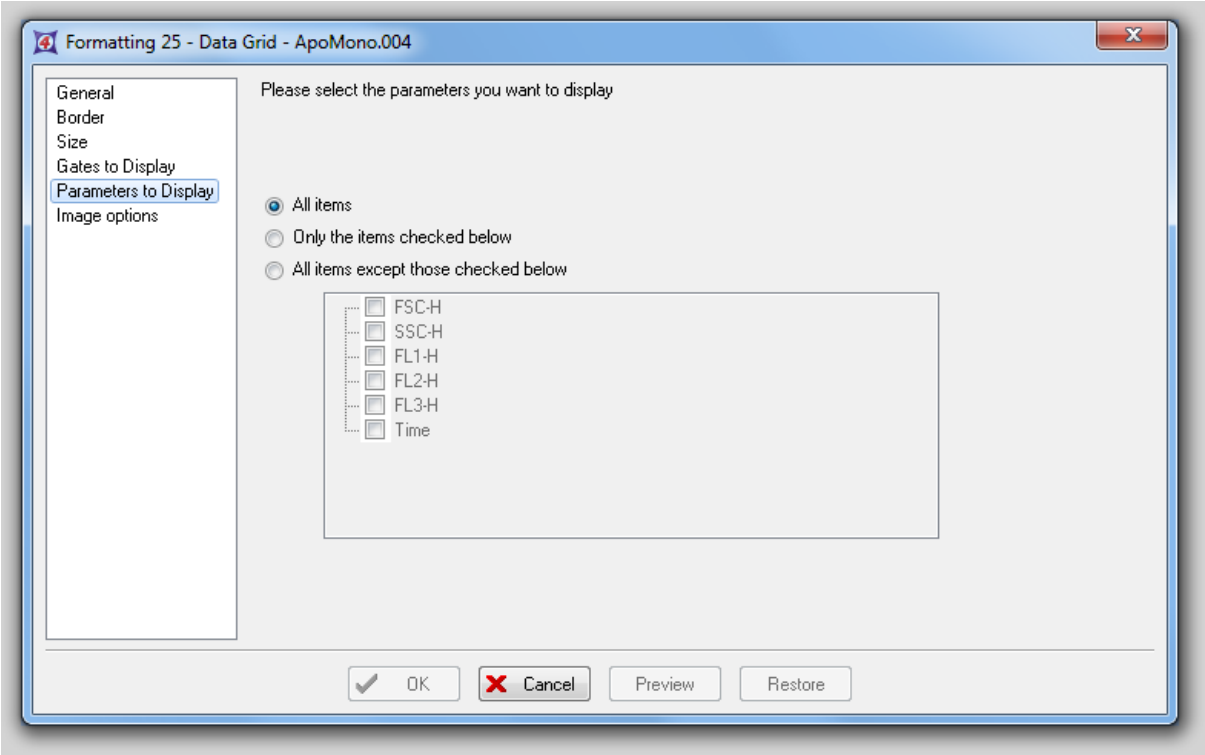


图17.6 Showing and Hiding Columns in a Data Grid (**显示或隐藏数据网格中的列**)

18.2 在数据网格上使用门

用户可在数据网格上使用门来仅仅显示门里的数据。要这样做，请使用**Gating(门操作)**(或**Home(主页)→Create Gates(创建门)**)命令，然后从**Current Gate(当前门)**的下拉列表中选择一个门。

18.3 在数据网格上后置门

可用以下选项为**Data Grid(数据网格)**进行*反向加门*:

1. 右键点击数据网格，然后从弹出菜单中选择**Format(格式)**。
2. 选择**Gates to Display(要显示的门)**选项。
3. 点击单选键来选择门操作方案，然后选择该方案下的相应门(图17.7)。

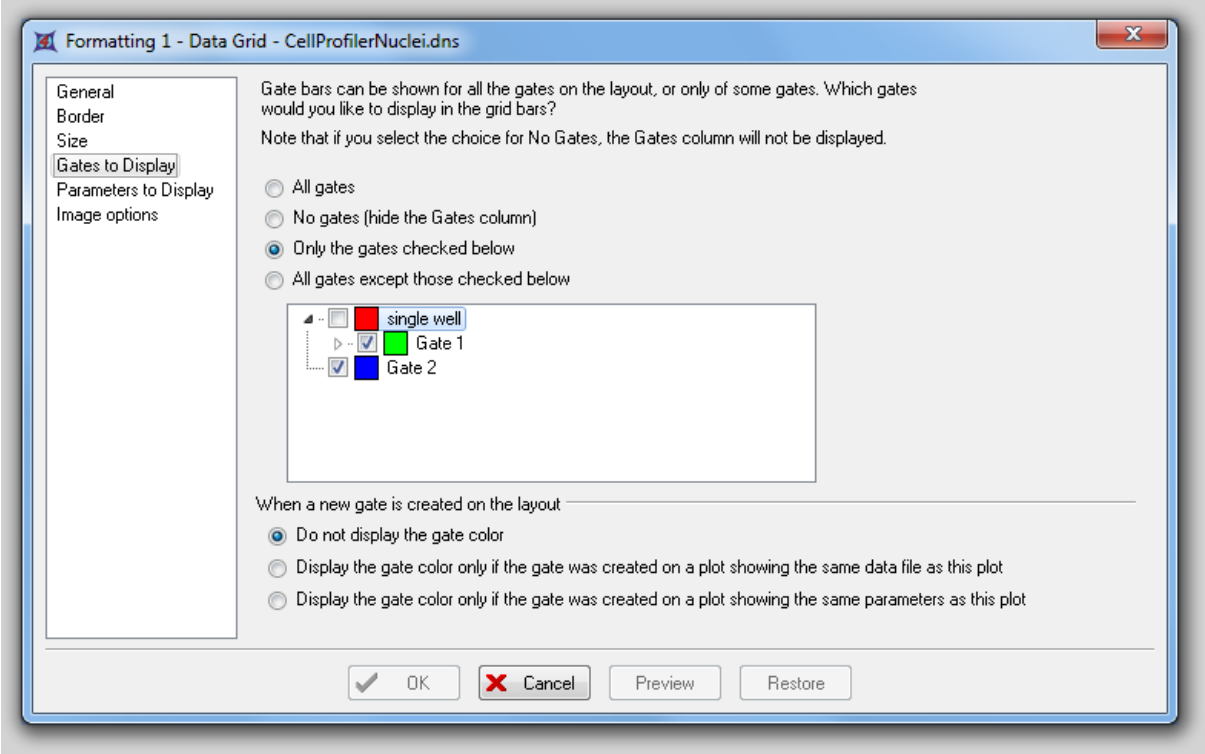


图17.7 Formatting a Data Grid - Gates to Display (**格式化数据网格 - 要显示的门**)

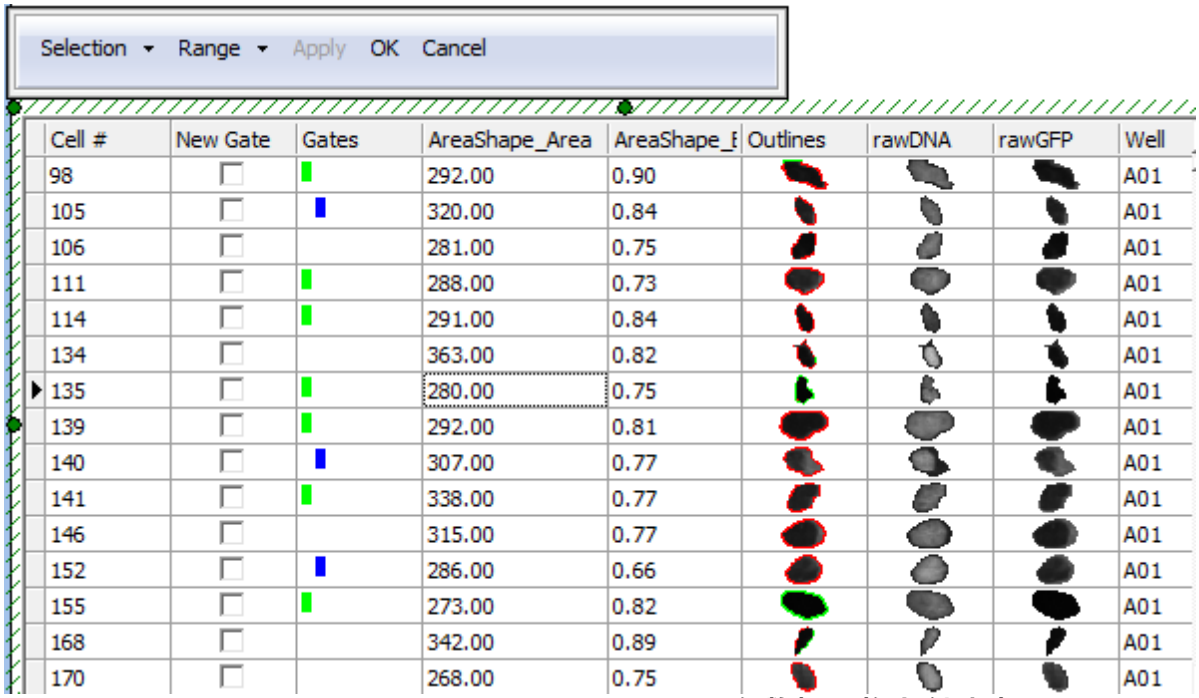
当门在**Data Grid(数据网格)**中显示时，会出现一列叫做**Gates(门)**的列。如果一个事件在多个门内，会有多个颜色小条(其颜色与门的颜色相对应)出现在**Gates(门)**列(图17.8)。

Cell #	Gates	AreaShape_Area	AreaShape_E	Outlines	rawDNA	rawGFP	Well
1		106.00	0.75				A01
2		170.00	0.44				A01
3		216.00	0.83				A01
4		344.00	0.84				A01
5		223.00	0.93				A01
6		266.00	0.73				A01
7		364.00	0.87				A01
8		139.00	0.86				A01
9		305.00	0.59				A01
10		169.00	0.68				A01
11		149.00	0.95				A01
12		212.00	0.85				A01
13		207.00	0.70				A01
14		140.00	0.89				A01
15		223.00	0.89				A01
16		153.00	0.72				A01

图17.8 Back-Gated Data Grid. Bars in the Gates column of some events show which gate(s) the cells fall in. (**有后置门的数据网格。内数据列里的小条显示细胞在哪些门内。**)

18.4 在数据网格上创建细胞编号门

要在**Data Grid(数据网格)**上创建门，右键点击数据网格，然后在弹出菜单中选择Create **Gate(创建门)**。一列叫做**New Gate(新门)**的新数据列会出现在网格上(图17.9)。



Cell #	New Gate	Gates	AreaShape_Area	AreaShape_E	Outlines	rawDNA	rawGFP	Well
98			292.00	0.90				A01
105			320.00	0.84				A01
106			281.00	0.75				A01
111			288.00	0.73				A01
114			291.00	0.84				A01
134			363.00	0.82				A01
135			280.00	0.75				A01
139			292.00	0.81				A01
140			307.00	0.77				A01
141			338.00	0.77				A01
146			315.00	0.77				A01
152			286.00	0.66				A01
155			273.00	0.82				A01
168			342.00	0.89				A01
170			268.00	0.75				A01

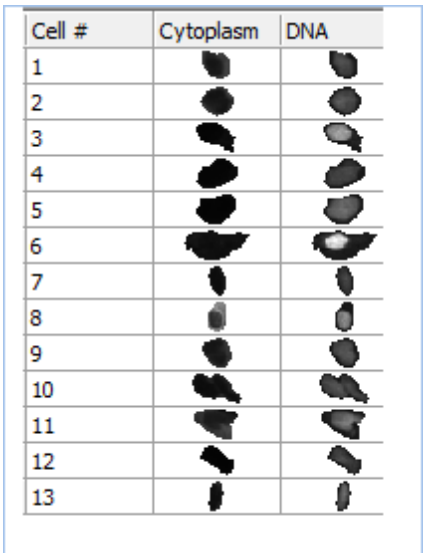
图17.9 Creating a Gate on a Data Grid(**在数据网格上创建门**)

在**New Gate(新门)**一列选中想在门中包含的事件(所谓的"Cell Number gates(细胞编号门)")然后点击OK来调出创建新门对话框，为新门命名和选择颜色 181。

可使用相关的下拉菜单项目来创建一个含有**Selection(选区)**或**Range(范围)**的门。

18.5 图像展示

如果使用FCS Express 4 Image Cytometry或FCS Express Plus，可以把数据网格作为图像浏览器。可从数据网格格式窗口 280选择仅显示有图像数据的参数。



要仅查看在某一门中的细胞图像，可在数据网格上设置一个门 281。

第 19 章

19 使用标记

FCS Express允许用户在文本框中插入叫做Tokens(标记)的特殊项目。标记会作为文本显示，但它们可以显示信息的动态计算结果，例如绘图统计、FCS文件关键词、版面属性和系统信息等。比如，标记可用来显示版面的页数、象限中事件的百分比和数据采集的设备。

一旦把标记放于文本框中，其显示的信息可像其它文本一样进行格式化90。仅需选中标记，用**Text(文本)**标签下的命名对其格式化即可，或右键点击选中的标记文本，然后从弹出窗口选择**Format(格式)→Token(标记)**选项。

标记内容是自动计算的，就是说只要它代表的信息改变时，标记文本会自动跟着变。

19.1 插入页面版式标记

以下例子是一个插入Page Layout Token(页面版式标记)的例子:

1. 创建一个新版面50。
2. 插入文本框90，然后输入"The number of pages on this layout is(该版面含有的页面数是) "(在"is(是)"字后留一个空格)。请确保闪动的光标在空格后。
3. 在文本框里闪烁的光标附近点击右键，然后在弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。会跳出**Insert a Token(插入标记)**对话框(图18.1)。

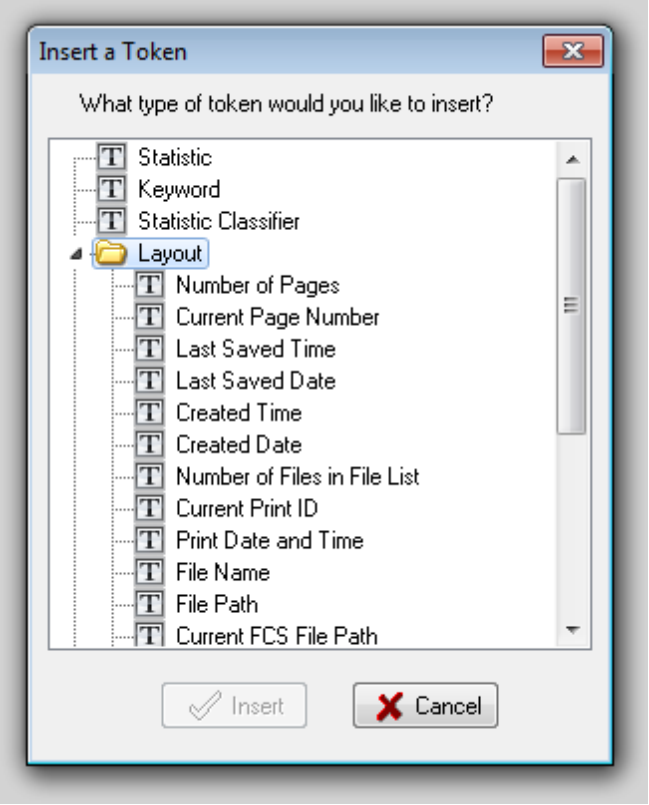


图18.1 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

4. 选择**Number of Pages(页面数)**标记(在**Layout(版面)**里边)，然后点击**Insert(插入)**。
5. 文本框看起来如图18.2所示。请注意数字1的背景是灰色的。在编辑模式下，这代表该文本是标记，而非一般文本。

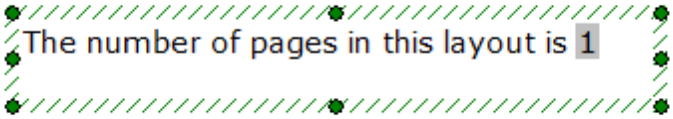


图18.2 Number of Pages Token in a Text Box (**文本框中页面数标记**)

6. 使用**Insert(插入)→General(常规)→New Page(新页面)→Blank(空白)**命令在版面中插入一个新页面。
7. FCS Express窗口会显示这张新空白页面。点击版面窗口左下角的**Page 1(第1页)**标签，回到有文本框和标记的页面。因为标记中显示的文本会根据其代表的内容而改变，标记文本变成了"2"，指示出新的页面数(图18.3)。

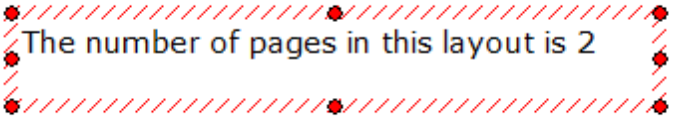


图18.3 Token Automatically Updates (**标记自动更新**)

19.2 插入标记

要在文本框中插入标记(或任何接受标记的编辑字段)，右键点击文本框，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**(或使用**Text(文本)→Insert Text(插入文本)→**Insert **Token(插入标记)**命令)。会跳出**Insert a Token(插入标记)**对话框(图18.4)。

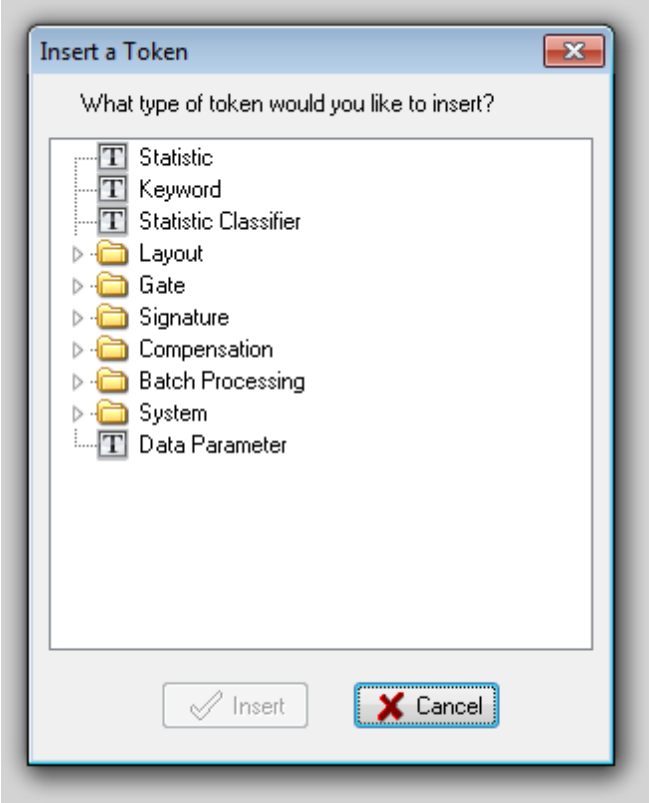


图 18.4 Insert a Token Dialog (**插入一标记对话框**)

用户有很多种可以插入的标记:

- **Statistic(统计)**

  显示绘图、象限和门统计数据。任何关于该统计的变化产生时，统计标记的值会自动更新。

- **Keyword(关键字)**

  显示存储在FCS文件头部分的信息。每个关键字包含一项信息，即数据收集时间、事件数等。

- **Statistic Classifier(统计分类器)**

  允许将统计数据以文本形式分类，即阳性或阴性细胞(参见统计分类器标记 306 一节)。

- **Layout(版面)**

  显示和版面相关的信息，包括页面数、版面创建时间、补偿设置、批处理和门信息等。

- **System(系统)**

显示与当前用户和其它与系统相关的数据。

- Custom(自定义标记)308

  这些是包含用户自定义公式的标记，它们可从自定义标记窗口创建308。自定义标记公式可包括数学运算符(例如除法和乘法)和条件运算，比如IF … THEN … ELSE(如果…，那么…，否则)。参见自定义标记308来获取更详细的解释。*注:因为必须先创建一个自定义标记，然后再将其插入文本框中，所有只有当一个或多个自定义标记创建后，自定义结点才会出现在标记对话框中。*

要插入标记，选择要插入的种类，然后点击**Insert(插入)**。或者，可以双击要插入的标记。**Insert(插入)**之后，会弹出一个对话框会，请用户为该标记设置属性。对标记属性的解释参见一般标记属性289一节。

19.3 通用标记属性

所有标记共享**Display Text(显示文本)**标记属性，而**Data Source(数据源)**标记属性只适用于**Statistic(统计)**和**Keyword(关键字)**标记。这两个属性将在以下章节讨论。

19.3.1 *显示文本标记属性*

当插入或编辑文本框中的标记时，可通过**Display Text(显示文本)**属性选择显示什么文本。所有标记可显示以下三类文本:

- **Token Value(标记值)**

  标记值是标记插入到文本框中的默认设置。标记会显示当前选择的统计、关键字等信息。比如:

  - 如果版面包括2页，标记"number of pages on the layout"会显示数字"2"。如果新加一页，显示的数字会变成"3"。
  - 如果绘图上有3043个事件，该绘图上代表事件数的标记值会在文本框显示"3043"。
  - 如果数据是在2005年第一天采集的，数据收集日期标记会显示"January 1，2005"。

- **Token Description(标记描述)**

  显示对一个标记的描述，而非显示一个值。这是当标记作为公式(例如在创建自定义标记308时)的一部分时的默认选项。比如:

  - 标记"number of pages on the layout"会显示为描述性的"Number of Pages"。
  - 第二个绘图上第一层的标记"number of events"会显示为描述性的"Statistic: # of Events for Plot #2，overlay #1"。

- **Text(文本)**

  显示用户为该标记定义的文本。比如:

o 如果输入文本"apple"，那么标记在文本框中会显示"apple"。
o 如果输入文本"My first draft"，那么标记会在文本框中显示"My first draft"。

下面的例子显示如何修改**Display Text(显示文本)**属性:

1. 先按插入页面版式标记286一节中第1- 5步创建一个标记。
2. 双击高亮显示的"1"，代表插入的页数标记值。**Edit Number of Pages(编辑页面数)**对话框跳出(图18.5)。注意到**Token Value(标记值)**被列为默认选项。

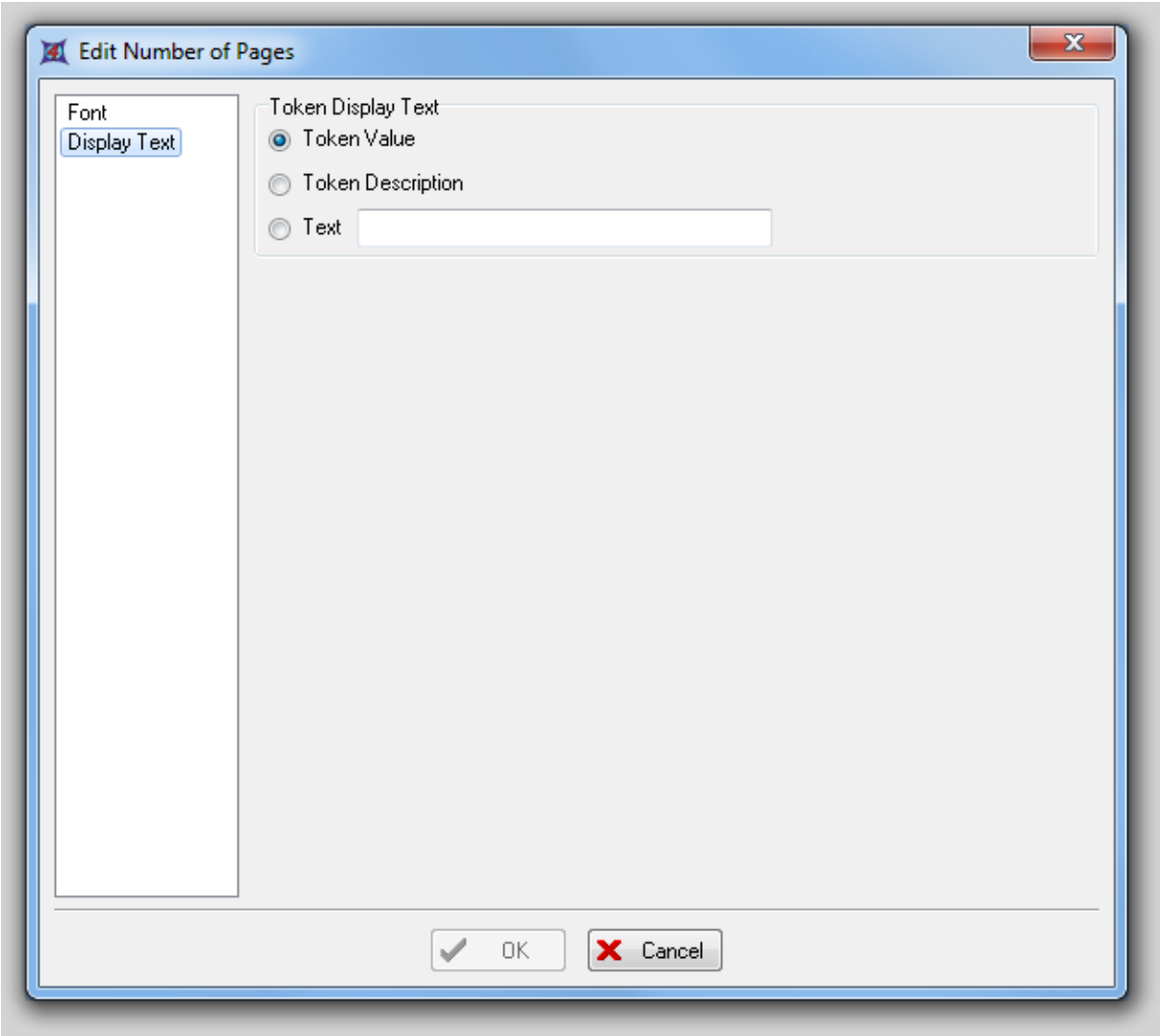


图18.5 Edit Number of Pages Dialog (**编辑页数对话框**)

3. 选择**Token Description(标记描述)**单选按钮，然后点击OK。标记现在会显示标记描述"Number of Pages(页数)"，如图18.6所示，而非标记值"1"。

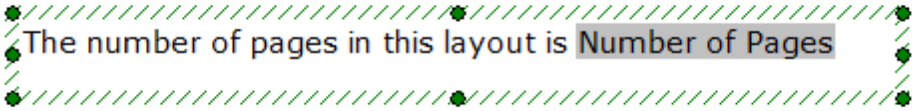


图18.6 Display Text - Token Description (**显示文本-标记描述**)

4. 双击突出显示的"Number of Pages(页面数)"标记回到Edit Number of Pages **(编辑页面数)**对话框。
5. 点击**Text(文本)**单选按钮，然后在编辑字段输入"# of Pages on my Layout(我的版面上的页数)"。
6. 点击OK。

标记现在显示你刚刚输入的文本(图18.7)。

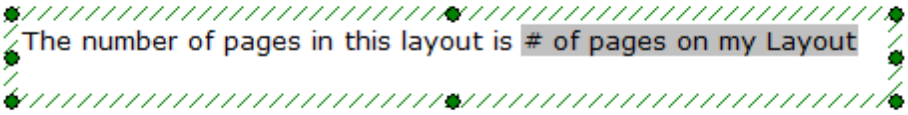


图18.7 Display Text - User Defined Text (**显示文本 - 用户定义的文本**)

Display Text(显示文本)选项也可通过右键点击文本框标记，然后从弹出菜单选择Display Text(显示文本)子菜单来完成(图18.8)。用户自定义的**Text(文本)**选项主要用在创建自定义标记308。

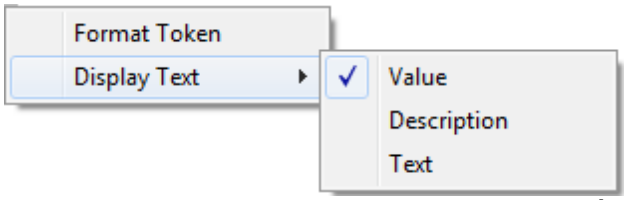


图18.8 Display Text Pop-up Menu (**显示文本弹出菜单**)

19.3.2 数据源标记属性

Data Source(数据源)标记属性只可应用于**Statistic(统计)**和**Keyword(关键字)**标记。很多这样的标记用来从版面上的FCS数据文件或绘图中获取信息。当版面上数据改变时，标记信息也会更新。

Keyword(关键字)标记显示FCS文件关键字信息，**Statistic(统计)**标记显示从FCS数据计算得来的统计数据。每个FCS文件包含多个关键字，这些关键字可在查看文件头窗口272查看。

Data Source(数据源)标记属性用来指定标记从哪儿获取信息。标记可直接从FCS文件或从绘图上显示的数据获取信息。如果数据源是绘图，当绘图上数据改变时，标记会相应地更新。

要为使用FCS数据文件的**Statistic(统计)**标记设置**Data Source(数据源)**属性:

1. 创建一个新版面50。
2. 插入文本框90，然后在其中输入"The number of events in my data file are(我数据文件中的事件数): "(在冒号后有一个空格)。请确保闪动的光标在空格后。
3. 在文本框闪动的光标附近右键点击，然后从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
4. 选择**Statistic(统计)**标记，然后点击**Insert(插入)**按键。会弹出Create Statistic **(创建统计)**对话框。如果版面上没有绘图(例如该例子)，选择Data File from Disk **(数据文件来自硬盘)**单选按钮(图18.9)。

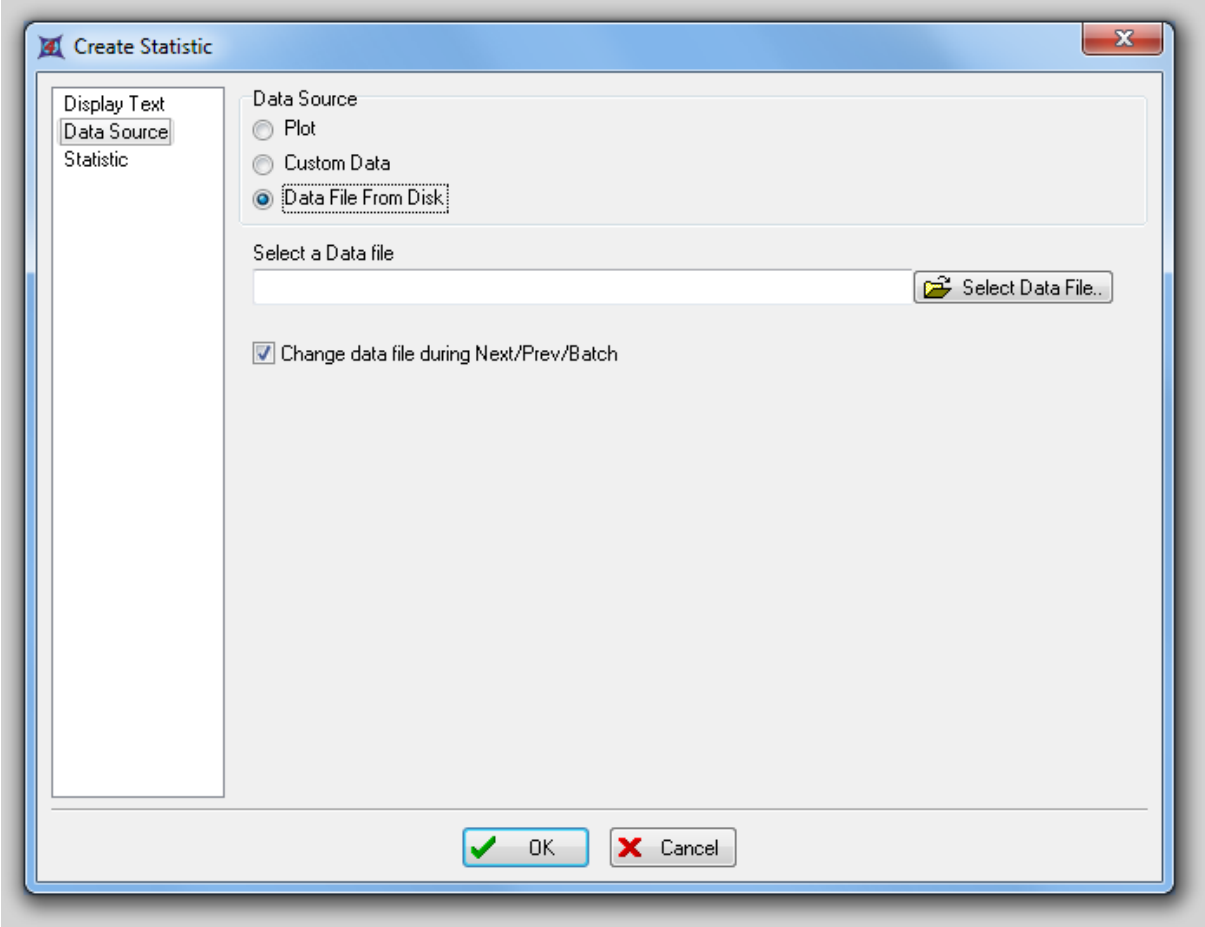


图 18.9 Create Statistic Dialog - Data Source - Data File from Disk (**创建统计对话框 - 数据源 - 数据文件来自硬盘**)

5. 点击**Select Data File(选择数据文件)**按钮来定位一个FCS文件。当选择了FCS文件后，文件名出现在**Select a Data file(选择数据文件)**字段下。
6. 保留默认选项:**Change data file during Next/ Prev/ Batch(在下一个/ 前一个/ 批处理时修改数据文件)**可用，这样标记信息在**Data Source(数据源)**修改时会随之更新。
7. 从**Create Statistic(创建统计)**对话框左上角的标记属性列表上点击**Statistic(统计)**。
8. 选择一个统计选项，比如**# of Events(事件数)** (图18.10)。

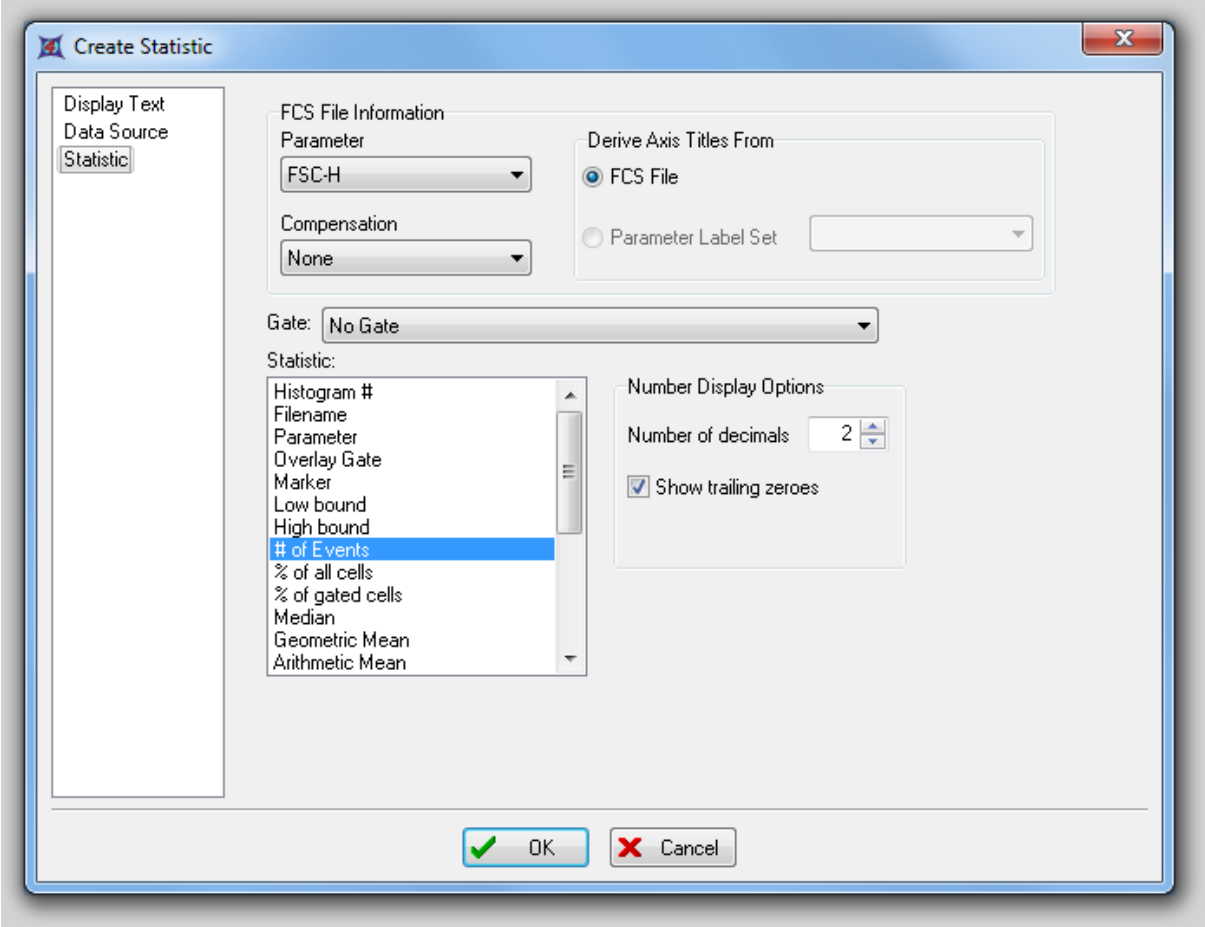


图18.10 Create Statistic Dialog - Statistic Page (**创建统计对话框 - 统计页**)

9. 点击OK。文本框会显示第2步输入的文本，紧跟其后的是第8步中针对第5步所选的FCS文件的统计数据。

要为使用绘图的**Statistic(统计)**标记设置**Data Source(数据源)**标记属性:

1. 创建一个绘图 50。
2. 插入二维点状绘图 105。
3. 插入文本框 90。
4. 右键点击文本框，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
5. 选择**Statistic(统计)**，然后点击**Insert(插入)**按钮。**Create Statistic(创建统计)**对话框上的**Data Source(数据源)**页会出现，其中**Plot(绘图)**作为默认Data **Source(数据源)**(图18.11)。

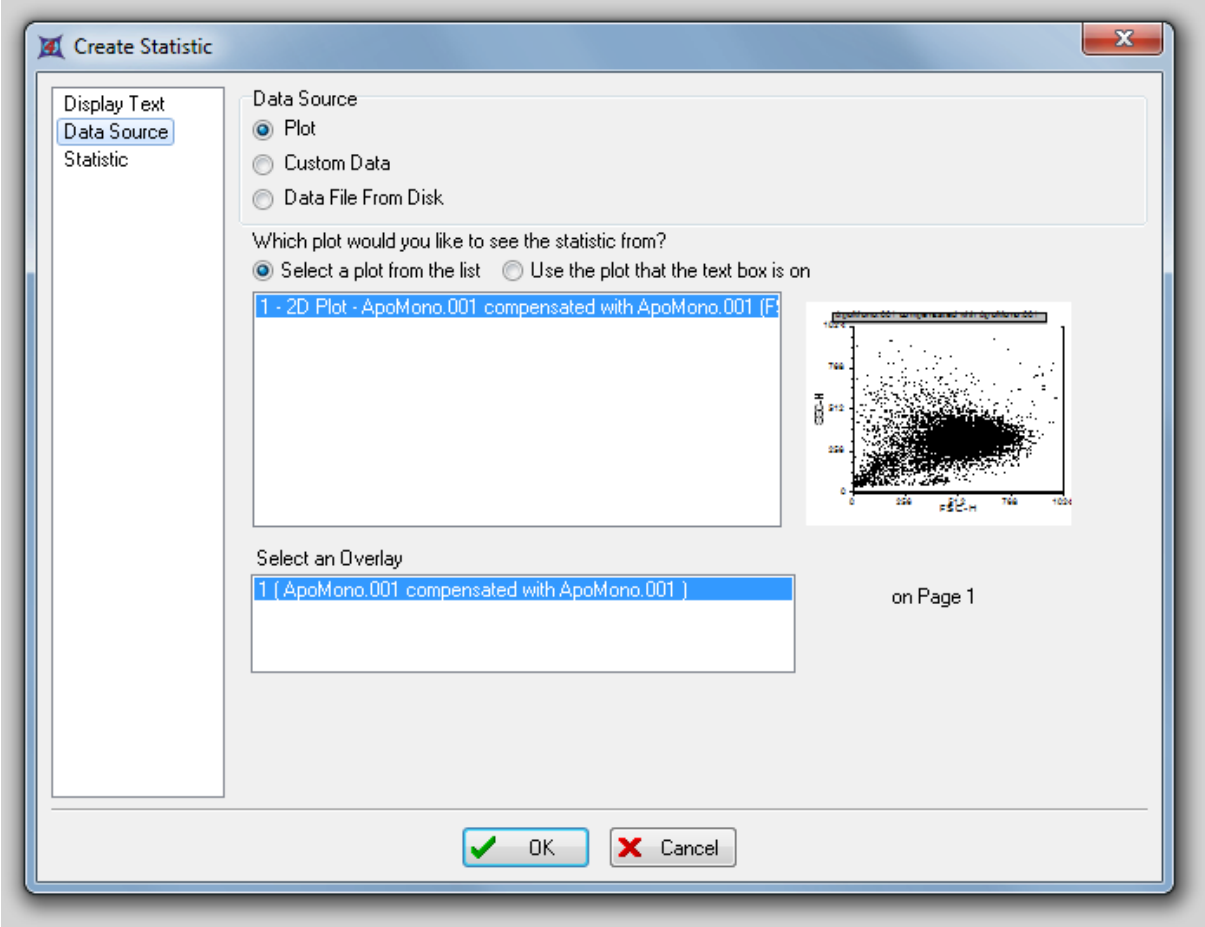


图 18.11 Create Statistic Dialog - Data Source Page (**创建统计对话框 - 数据源页**)

6. **Select a plot from the list(从列表中选择绘图)**字段列出版面上的绘图。**Select an Overlay(选择叠加图层)**字段列出所选绘图中所有的叠加图层。在该例子中，绘图上只有一个叠加图层，因此不需要为这些字段做选择。
7. 从**Create Statistic(创建统计)**对话框左上角的标记属性列表上点击**Statistic(统计)**。
8. 选择一个统计选项，比如**# of Events(事件数)**(图18.12)。
9. 点击OK按钮。

Create Statistic(创建统计)对话框关闭，可以看到文本框现在显示绘图中事件数目。

Keyword(关键字)标记的使用方法和**Statistics(统计)**标记的使用方法相同，但它有以下例外:

- 要插入关键字标记，在选择**Insert Token(插入标记)**后，请选择**Keyword(关键字)**。
- 在**Create Keyword(创建关键字)**对话框中，窗口左边会有**Keyword(关键字)**选

项。在选择该选项后，可以输入关键字，或从默认关键字列表中选择一个关键字(参见编辑关键字标记300一节)。

19.4 编辑标记

每一类的标记包含一系列可以编辑的属性。

19.4.1 *编辑统计标记*

要插入或编辑**Statistic(统计)**标记，需要设置以下属性:

- 显示文本289用来选择标记值、标记描述或用户定义的文本。
- 数据源292用来选择一个绘图或FCS文件作为标记的数据源。

注: **Create Statistic(创建统计)**对话框的**Statistic(统计)**页用来选择在统计标记中要显示的统计计算。因为**Statistic(统计)**选项会因**Data Source(数据源)**的不同而有所差异，所以用户必须首先选择**Data Source(数据源)**。**Data Source(数据源)**页是从Insert a **Token(插入标记)**对话框中选择**Statistic(统计)**后的默认页。

19.4.1.1 二维绘图统计标记选项

如果将二维绘图选作**Data Source(数据源)**，可设置以下属性(图18.13)。

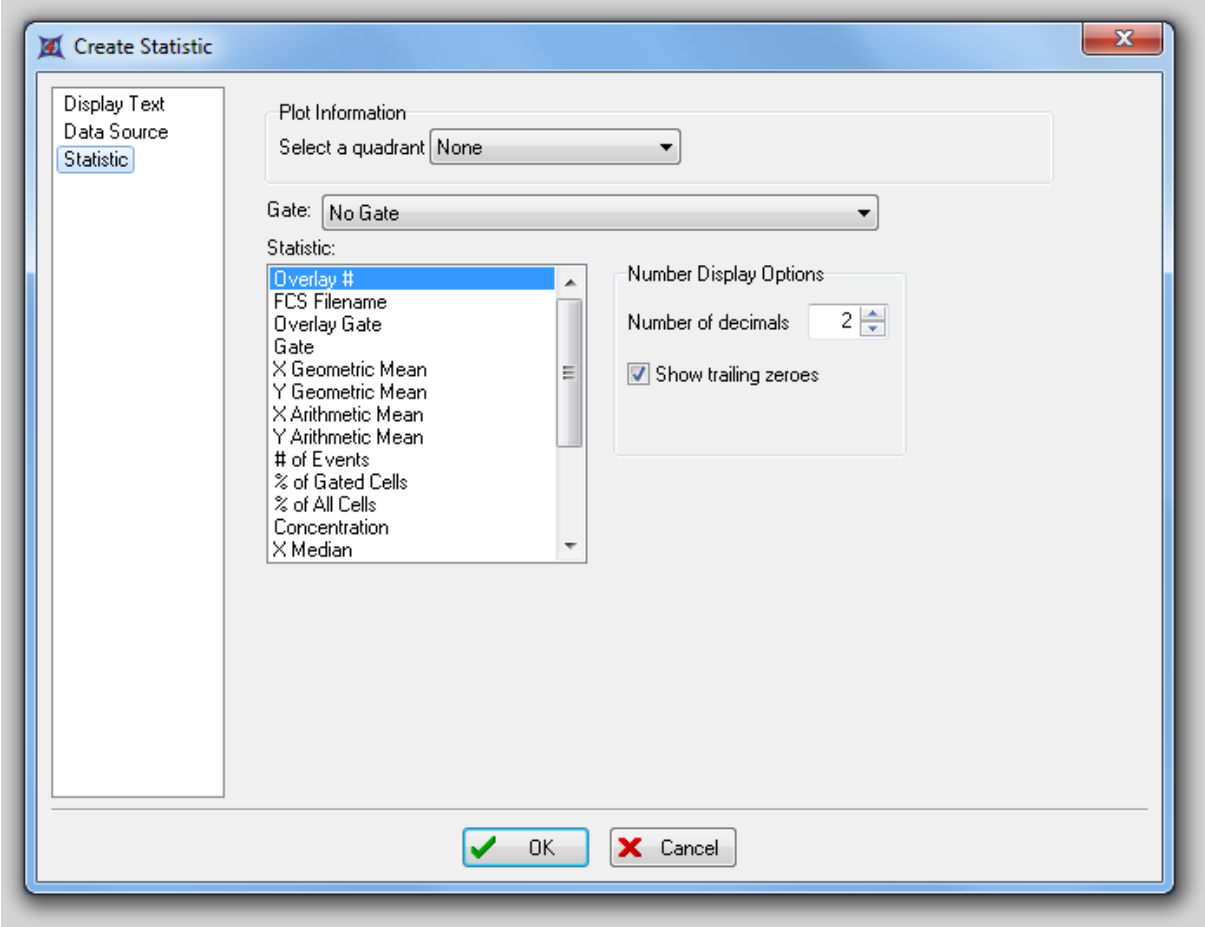


图 18.12 Statistic Options - 2D Plot as Data Source (**统计选项 - 二维绘图作为数据源**)

- **Plot Information(绘图信息)**

  从下拉列表中**Select a quadrant(选择一个象限)**作为统计的基础。默认选项是**None(无象限)**，程序将使用绘图上所有的事件。

- **Gate(门)**

  如果绘图上有门，请从下拉列表中选择一个门。默认选项是**No Gate(没有门)**。

- **Statistic(统计)**

  选择要显示的统计计算。选项的解释参见二维绘图统计 201。

- **Number Display Options(数字显示选项)**

  选择为该统计要显示的小数位数。默认选项是2位小数位。也可以设置是否显示末尾的零。

要从FCS文件插入或编辑一个**Statistic(统计)**标记，需要设置以下属性(图18.14):

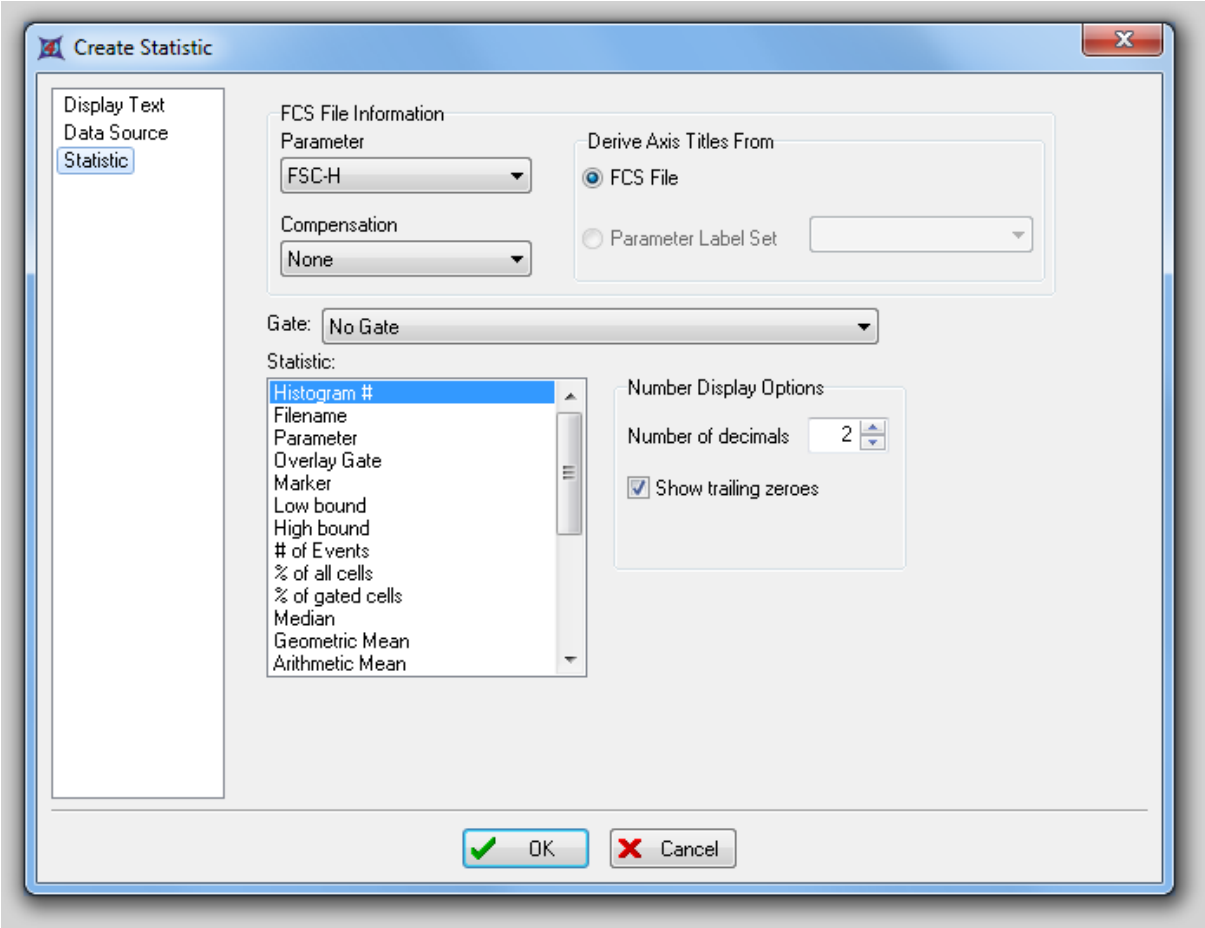


图18.13 Statistic Options - FCS File as a Data Source (**统计选项** - FCS**文件作为数据源**)

- **FCS File information(FCS文件信息)**
  - **Parameter(参数)**

    从下拉列表中选择要使用的参数值。

  - **Compensation(补偿)**

    为数据选择一个补偿定义263。默认设置是**None(无补偿)**。

  - **Derive Axis Titles From(从...衍生出坐标轴标题)**

    从**FCS File(FCS文件)**中选择坐标轴标题，或从预先定义好的参数标签组210中选择坐标轴标题。

- **Gate(门)**

  从下拉列表中选择一个门来计算针对该门的统计数据。

- **Statistic(统计)**

  从列表框中选择要计算的统计类型。

- **Number Display Options(数字显示选项)**

  选择显示统计的小数位数。默认选项是2位小数位。

19.4.1.2 柱状图统计标记选项

如果柱状图是统计标记的数据源，则可设置以下属性(图18.15)。

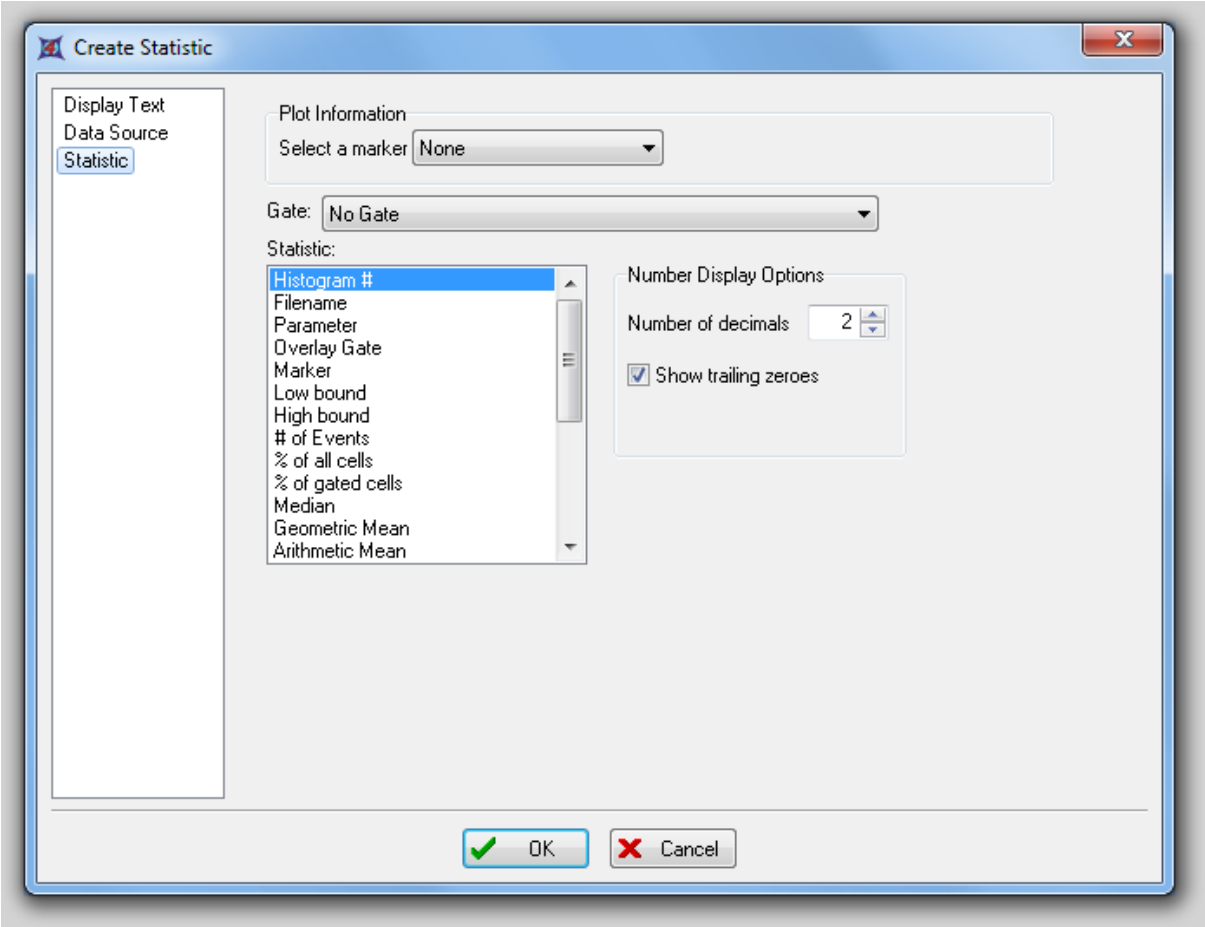


图 18.14 Statistic Options - Histogram as Data Source (**统计选项 - 柱状图作为数据源**)

- **Plot Information(绘图信息)**

从下拉列表**Select a marker(选择一个标识)**作为统计的基础。默认选项是**None(无标识)**，程序将使用绘图上的所有事件。

- **Gate(门)**

  如果柱状图数据是基于二维绘图上的一个门，请从下拉列表中选择一个门。默认选项是**No Gate(没有门)**。

- **Statistic(统计)**

  选择要显示的统计。选项的解释参见柱状图统计200。

- **Number Display Options(数字显示选项)**

  选择显示统计的小数位数。默认选项是2位小数位。也可以设置是否显示末尾的零。

19.4.2 *编辑关键字标记*

用户要插入或编辑**Keyword(关键字)**标记，可设置以下选项:

- 使用**Create Keyword(创建关键字)**对话框下的显示文本289页来选择在标记中出现的标记值、标记描述或用户定义的文本。
- 使用**Create Keyword(创建关键字)**对话框下的数据源292页来选择一个绘图或FCS文件作为标记的数据源。
- 使用**Create Keyword(创建关键字)**对话框下的**Keyword(关键字)**页来编辑要显示的关键字(图18.16)。*注:* 因为关键字选项因**Data Source(数据源)**不同而有所差异，所以必须先选择**Data Source(数据源)**，再设置**Keyword(关键字)**。

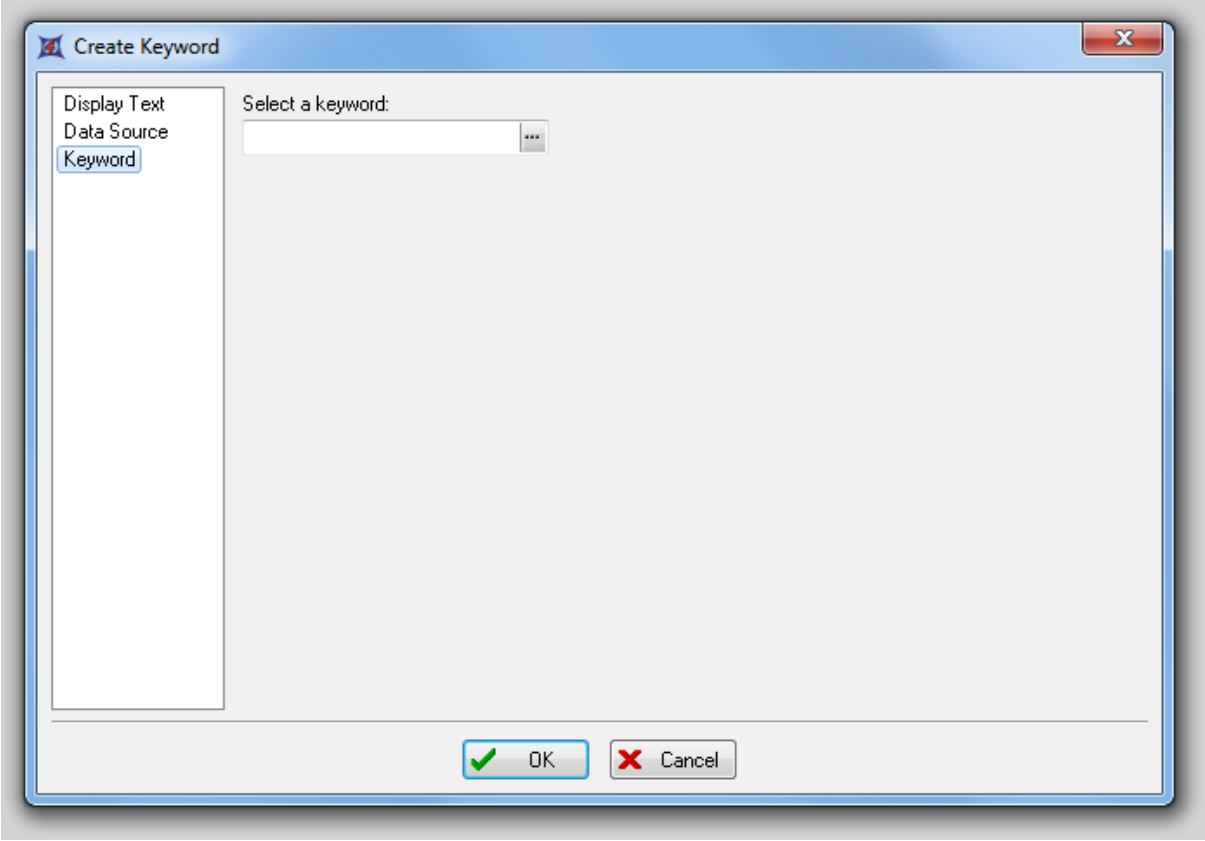


图 18.15 Keyword Properties (**关键字属性**)

- 选择一个关键字。点击省略号，调出**Please select a keyword(请选一个关键字)**对话框(图18.17)。如果需要的话，向下移动来查看所有**Keyword(关键字)**选项。选择要显示的**Keyword(关键字)**，然后点击OK，回到**Create Keyword(创建关键字)**对话框。点击OK，完成关键字的编辑或插入。

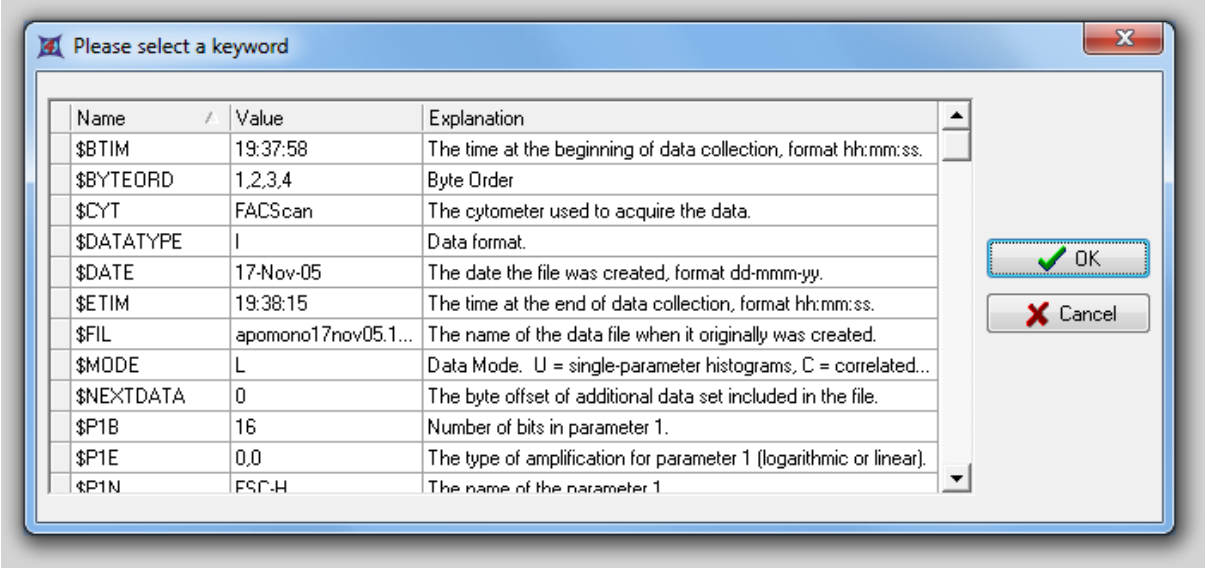


图 18.16 Select a Keyword (**选择关键字**)

19.4.3 *编辑版面标记*

版面标记显示和版面相关的信息，例如版面上的页数或版面创建的日期等。

要直接在文本框中插入版面标记:

1. 右键点击文本框。
2. 从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
3. 选择需要的**Layout(版面)**标记。
4. 点击**Insert(插入)**键。

要编辑文本格式或显示属性，右键点击版面标记，从弹出菜单中选择**Format Token(格式化标记)**或任何显示文本选项。

19.4.3.1 门标记

门标记显示版面上和门相关的信息。要查看门标记:

1. 右键点击文本框。
2. 从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
3. 点击**Insert a Token(插入门标记)**对话框上**Gate(门)**旁边的三角(图18.18)。

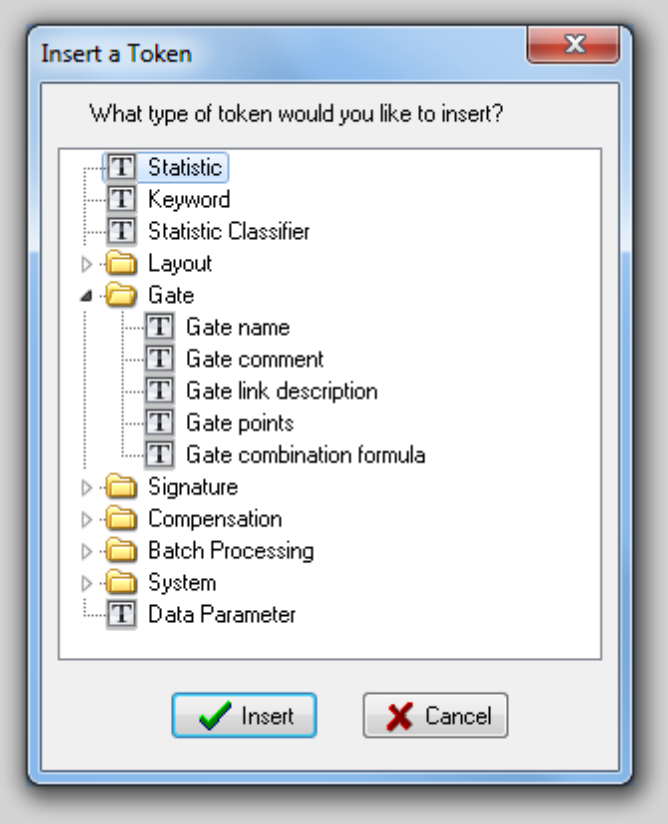


图 18.17 Choose a Gate Token (**选择门标记**)

4. 选择一个**Gate(门)**标记，然后点击**Insert(插入)**按钮。

在插入或编辑**Gate(门)**标记时，会出现**Create Gate Token(创建门标记)**对话框。

使用**Create Gate Token(创建门标记)**对话框上的显示文本289页来选择标记中的标记值、标记描述或用户定义的文本。

使用**Gate information(门信息)**页(图18.19)来:

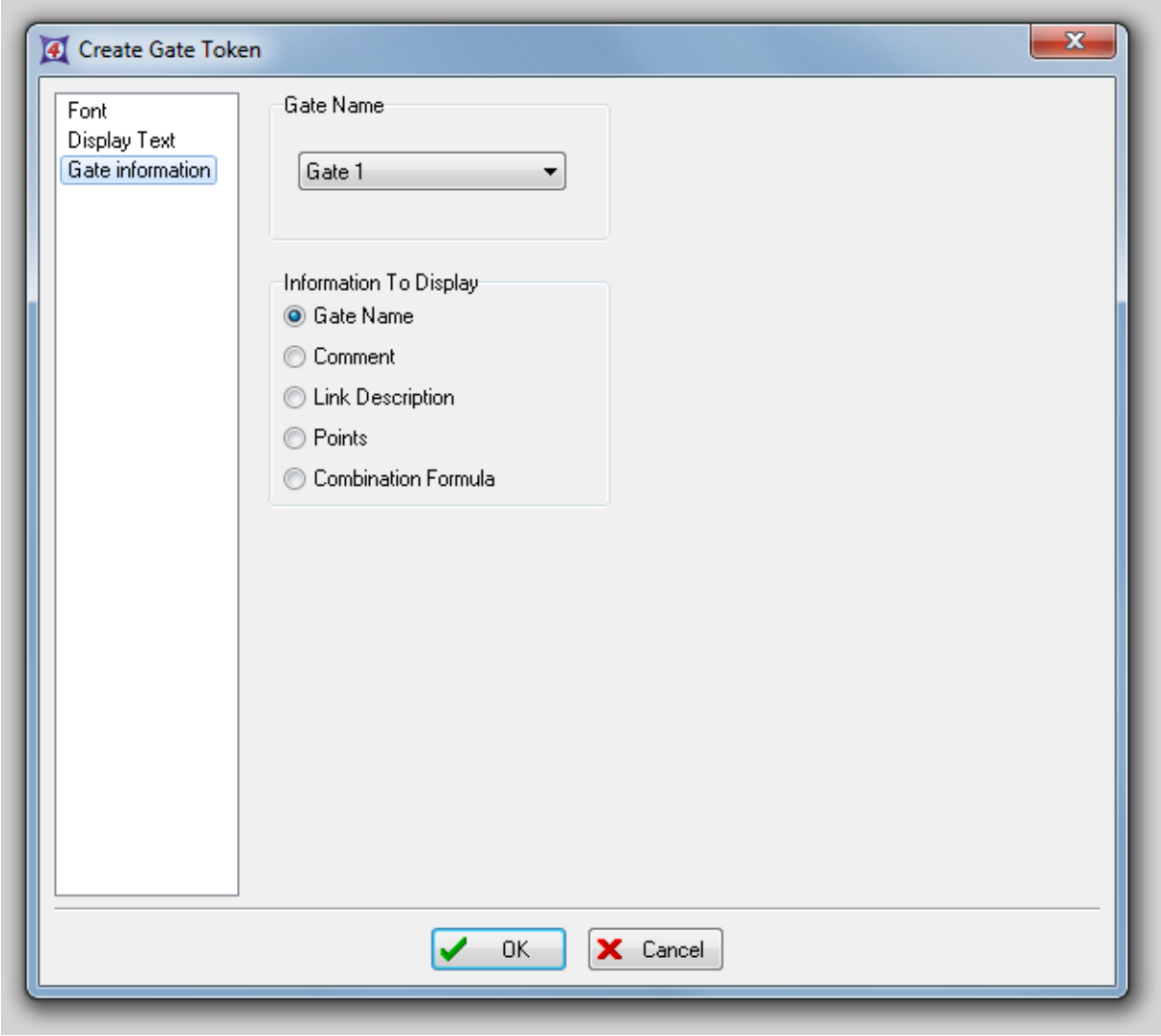


图18.18 Gate Token Options (**门标记选项**)

- 从下拉列表中选择标记数据所对应的**Gate Name(门名称)**。
- 选择以下一项**Information to Display(要显示的信息)**:
  - o **Gate Name(门名称)**

    这是该门在创建时的名称。该名称用来在整个FCS Express中指代该门。
  - o **Comment(注释)**

    这是用户在从门视图编辑门189时特别注明的文本。
  - o **Link Description(链接描述)**

如果门链接到一个象限或标识，这是对该链接的描述信息。

- **Points(点)**

  如果门是一个基本形状(椭圆、矩形、多边形或自由形)，而不是一个组合门，那么这是绘图上定义该基本形状的点。

- **Combination Formula(组合公式)**

  如果门是组合门，这是用来创建组合门的公式。

19.4.3.2 补偿标记

补偿标记允许用户插入和当前补偿262设置相关的信息。用户可选择不同源参数和目标参数，显示交叉矩阵或溢出矩阵。

19.4.3.3 批处理标记

批处理标记允许用户插入关于批处理当前状态的信息。这些标记用来创建动态文件名称，这些名称随批处理进度而改变(参见批处理之保存版面339一节)。

19.4.4 *系统标记*

System(系统)标记允许用户插入关于当前计算机时段的信息。当前系统标记有:当前FCS Express用户名、当前时间和当前Windows用户名。

要插入**System(系统)**标记:

1. 右键点击文本框。
2. 从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。必要的话，需要在列表框上移动直到看到**System(系统)**选项。
3. 点击**System(系统)**旁边的三角(图18.20)。

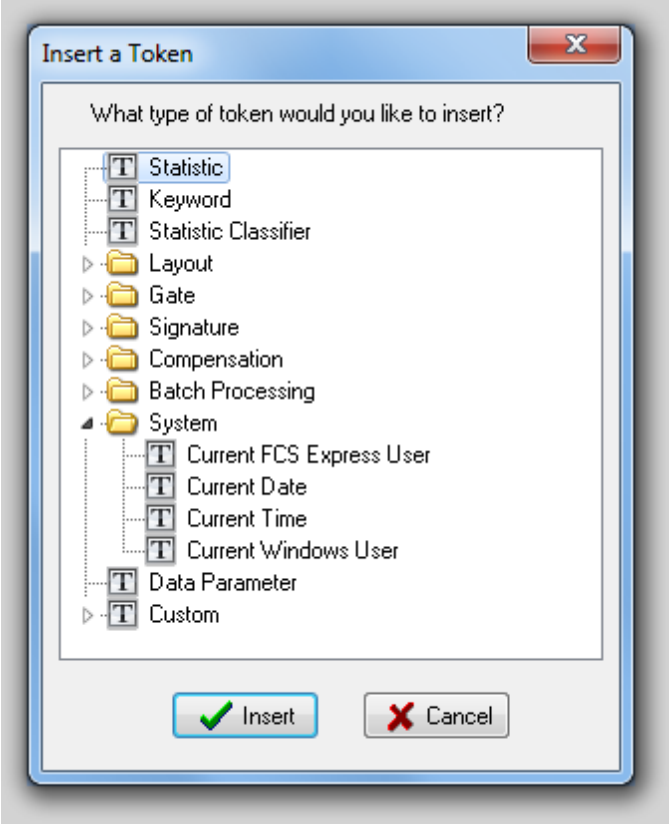


图18.19 System Tokens (**系统标记**)

4. 选择一个**System(系统)**标记，然后点击**Insert(插入)**按钮。

19.4.5 *统计分类器标记*

Statistic Classifier(统计分类器)标记允许用户用文本的格式为统计分类。比如，可以根据一个门或象限里细胞的数目，用统计分类器标记把一组细胞分为"阳性"或"阴性"。

要插入**Statistic Classifier(统计分类器)**标记:

1. 右键点击文本框。
2. 从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
3. 选择**Statistic Classifier(统计分类器)**选项，然后点击**Insert(插入)**按钮。这时会出现**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框。

要定义统计分类器标记，在**Enter a value to classify(键入一个要分类的值)**字段中输入要分类的值。可以在该字段中输入一个公式(与在自定义标记中使用的公式308类似)。但一般来说，可点击该字段右边的T按钮，插入一个**Statistic(统计)**标记。FCS Express根据用户在**List of classifications(分类规则列表)**中的设置来计算统计分类器标记。要**Add(添加)**、**Edit(编辑)**、**Remove(删除)**或重新排列分类标准，请点击列表右边的相应按钮。

如图18.21中的例子所示，统计分类器标记是基于左上象限中点状绘图里细胞的百分比。如果

细胞在左上象限的百分比大于或等于30%，点状图Y- 坐标轴上的荧光标记分子就被认为是阳性。如果百分比小于30%，细胞群会被界定为阴性。

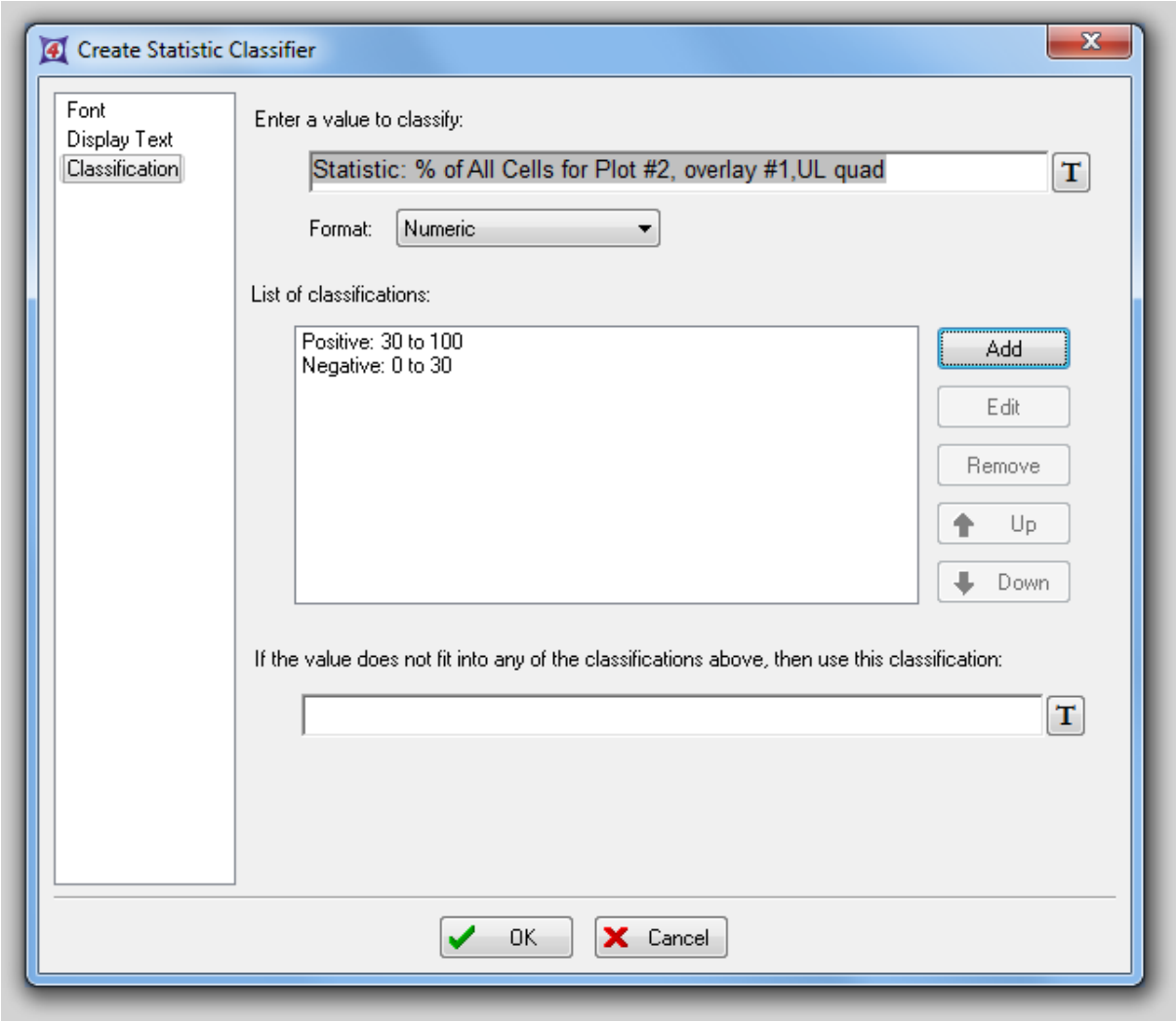


图 18.20 Statistic Classifier Example (**统计分类器标记实例**)

当分类定义有交叠时，FCS Express按照**List of classifications(分类规则列表)**上分类的前后顺序执行。在该例子中，如果左上象限细胞群的百分率正好是30%，这细胞群会被认为是阳性，因为**Positive: 30- 100(阳性:30- 100)**在列表上排在(或者说，放置于)**Negative: 0- 30(阴性:0- 30)**的前边。

如果列表中任何分类策略都不为"真"，那么用户可以为标记设置一个默认值。

图18.22给出了一个含有以上例子中统计分类器标记的文本框。Y- 轴显示CD19细胞，左上象限细胞的百分比是81.59%。

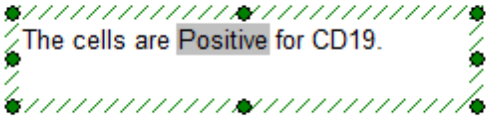


图 18.21 Text Box with Statistic Classifier (**带有统计分类器标记的文本框**)

19.5 自定义标记

Custom Tokens(自定义标记)包含用户自己定义的创建自定义统计的标记与文本的组合。用户可以使用数学计算和函数运算符来自定义标记公式。这些公式可包含任何标记，包括**Statistic(统计)**标记、**Keyword(关键字)**标记或其它**Custom(自定义)**标记。

一旦定义好了自定义标记，可以将它以和其它标记相同的方式插入到286文本框中。在数据分析过程中，FCS Express计算自定义标记的值，结果显示在(或返回到)包含自定义标记的文本框中。用自定义标记，用户可以:

- 创建包含标记和文本的数学表达式
- 用IF..THEN..ELSE(如果...那么...否则)限定词来创建条件陈述句
- 将数值串转化成如*Positive(阳性)*或*Negative(阴性)*这样的文本结果。

以下章节会帮助用户理解**Custom Tokens(自定义标记)**的好用之处。也可参考自定义标记公式运算符和函数的完全列表322。

注: FCS Express第4版使用Excel风格的公式计算格式。因此，公式必须以等号"= "开头。

19.5.1 *创建自定义标记*

要创建**Custom Token(自定义标记)**:

1. 点击**View(查看)→Tokens(标记)→Custom Tokens(自定义标记)**命令，调出可停靠窗口**Custom Tokens(自定义标记)**。
2. 确认**Custom Tokens(自定义标记)**窗口停靠在65屏幕左边或右边，以使得窗口的两部分都可见(图18.23)。**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的两部分，Custom Token List(自定义标记列表)和Custom Token Formula Editor(自定义标记公式编辑器)，被一条"分隔条"分开，可以移动该分隔条来调整两个区域的大小。

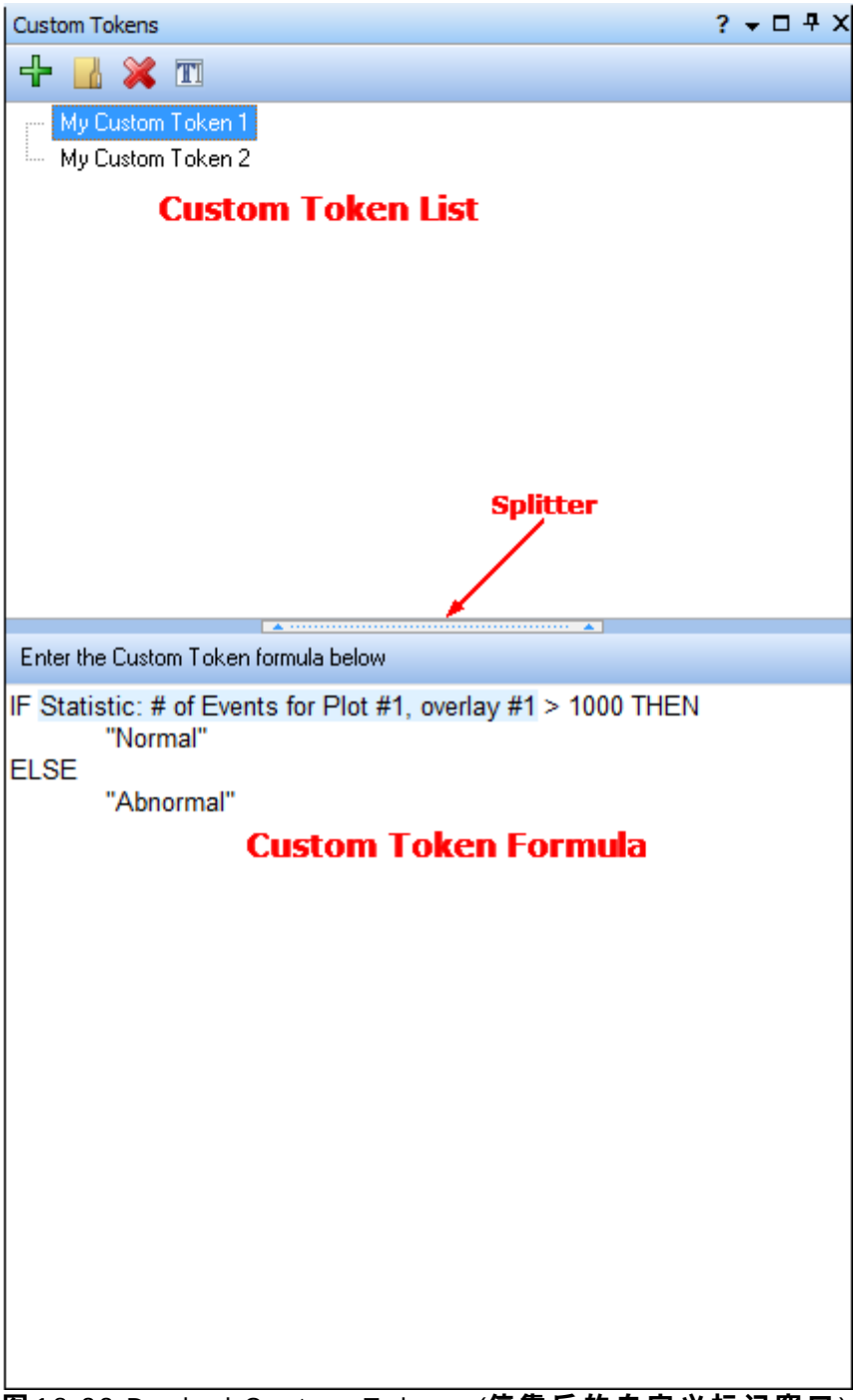


图 18.22 Docked Custom Tokens (**停靠后的自定义标记窗口**)

3. 点击(添加)图标。
4. 给**New Custom Token(新的自定义标记)**起一个名称。
5. 点击标记列表上该标记名称使其突出显示。
6. 输入或编辑公式:

- 右键点击公式区，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
- 从**Insert a Token(插入标记)**对话框中插入一个标记。
- 修改公式。可以使用针对自定义标记的运算符和函数322。

Custom Tokens(自定义标记)窗口的图标解释如下表。

图标	解释
	添加新的自定义标记。
	创建(并命名)一个新的文件夹来管理自定义标记。创建了该文件夹后，可以拖放自定义标记到该文件夹中。
	删除选择项目。*注:可以通过立刻点击快捷工具条上的撤销32命令来撤销删除操作。*
	为当前所选项目重命名。

要了解如何使用**Custom Token(自定义标记)**公式，参见该章以下章节中的例子。

19.5.2 *自定义标记实例1: 数学计算*

在这第一个例子中，用户会创建一个有简单公式的自定义标记，然后将其插入到一个文本框中。

1. 在停靠的自定义标记窗口308点击  (添加)。
2. 编辑名称为*Custom1(自定义1)*的**New Custom Token(新自定义标记)**。
3. 在分隔条下方的公式区里308，输入: *= 100 * 30*。
4. 点击**Custom1(自定义1)**来选中它。**Custom Token(自定义标记)**窗口应该看起来像图18.24所示。

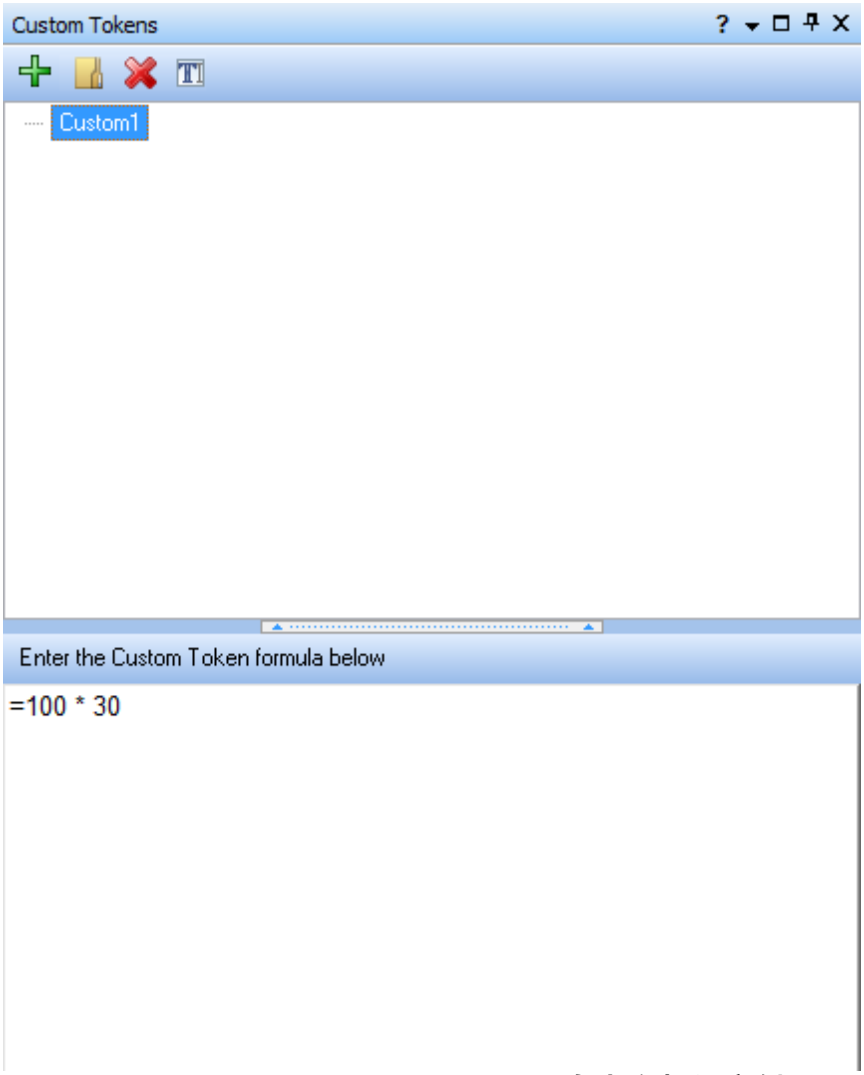


图 18.23 Custom Token Example 1 (**自定义标记实例** 1)

5. 在版面上创建一个文本框。
6. 在文本框中，输入: *The number of stars in the sky is(天上星星的数目是): <空格>*
7. 右键点击文本的末尾，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。
8. 在**Insert a Token(插入标记)**对话框的底部(图18.25)，确保**Custom(自定义)**选项是展开的(点击**Custom(自定义)**旁边的三角)，然后选择**Custom1(自定义1)**。

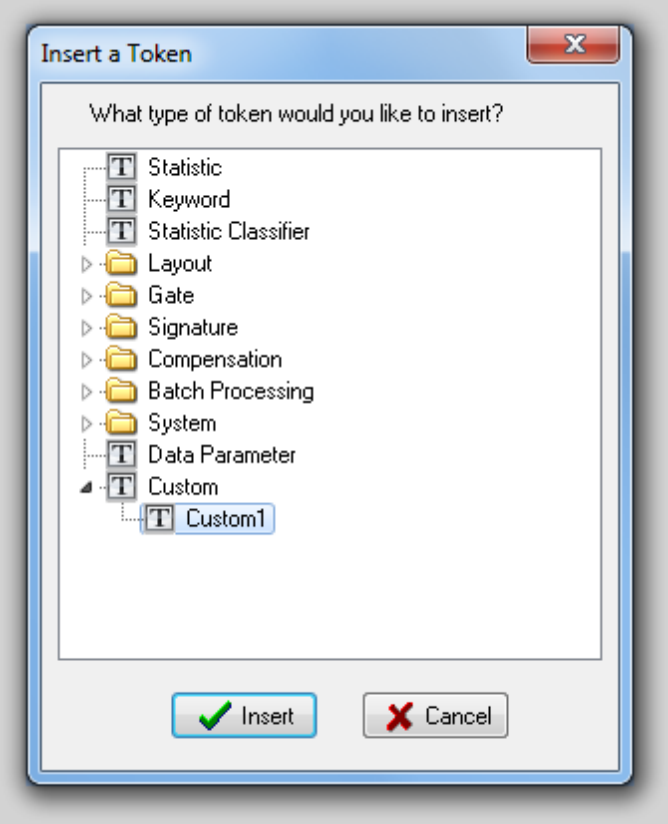


图 18.24 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

9. 当Custom1突出显示时，点击**Insert(插入)**按钮。文本框应显示: The number of stars in the sky is(天上星星的数目是): 3000.00。(数值的默认格式是两位小数。要想修改这一设置: 请右键点击文本框中的标记，从弹出菜单中选择**Format Token(格式化标记)**，然后通过**Output Format(输出格式)**页上带箭头的控制键修改设置)。文本框不在编辑模式时，*Custom1(自定义1)*标记会显示没有灰色背景的结果。

该例子说明了当**Custom Token(自定义标记)**插入到文本框中时，系统计算了它代表的公式，然后把结果显示了出来。

19.5.3 *自定义标记实例2: 用标记进行数学计算*

第二个例子介绍如何在公式中插入标记来创建更为复杂的自定义标记。

1. 先在版面上插入一个绘图105，然后插入文本框90。打开自定义标记窗口308，然后将其停靠65。
2. 在停靠的自定义标记窗口点击(添加)。
3. 编辑名称为*Custom2(自定义2)*的**New Custom Token(新自定义标记)**。
4. 在分隔条下方的公式区里308，输入: =。*注: FCS Express Version 4使用Excel风格的公式计算方法。因此，公式必须以等号"= "开头。*
5. 右键点击公式区，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。选择**Statistic(统计)**，然后点击**Insert(插入)**按键。
6. 在**Data Source(数据源)**页选择一个绘图，然后选择**Statistic(统计)**页，选择# of

Events(事件数)作为统计。点击OK。
7. 在公式区里，在标记的右边输入 *< 空格> / < 空格> 2*。
8. 点击**Custom2(自定义2)**来将其选中。**Custom Token(自定义标记)**公式看起来如图18.26所示。

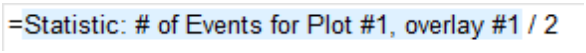


图18.25 Custom Token Example 2 (**自定义标记实例**2)

9. 右键点击文本框，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。在Insert a Token **(插入标记)**对话框的底部，请确保**Custom(自定义)**选项是展开的(点击**Custom(自定义)**旁边的三角)，然后选择**Custom2(自定义2)**，点击**Insert(插入)**按钮。

文本框应该显示自定义数据集中事件数除以2后的结果。

19.5.4 *自定义标记实例3：添加文本*

到现在为止，你已经看到公式如何计算并且返回数值结果。另外，公式也可用来显示文本。以下的例子将说明如何创建一个公式，用关键字标记添加文本来返回有用的信息:

1. 先在版面上插入一个绘图105，然后插入文本框90。打开自定义标记文本框308，然后将其停靠65。
2. 在停靠的自定义标记窗口点击(添加)。
3. 编辑名称为*Custom3(自定义3)*的**New Custom Token(新自定义标记)**。
4. 右键点击公式区，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。选择**Keyword(关键字)**，然后点击**Insert(插入)**按键。
5. 在**Data Source(数据源)**页选择一个绘图，选择**Keyword(关键字)**选项，然后点击省略号调出**Please select a keyword(请选择关键字)**对话框。
6. 选择$FIL，然后点击OK来退出**Please select a keyword(请选择关键字)**对话框，再点击OK来退出**Create Keyword(创建关键字)**对话框。
7. 在关键字标记后输入: *< 空格> was created on < 空格>*
8. 添加关键字**$DATE(日期)**(类似第5和6步)。公式字段应该如图18.27所示。

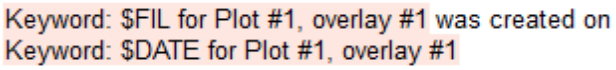


图18.26 Custom Token Example 3 Formula (**自定义标记实例**3**公式**)

9. 右键点击文本框，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。在Insert a Token **(插入标记)**对话框的底部，确保**Custom(自定义)**选项是展开的(方法是点击**Custom(自定义)**旁边的三角)，然后选择**Custom3(自定义3)**，点击**Insert(插入)**按钮。

文本框应如图18.28所示。

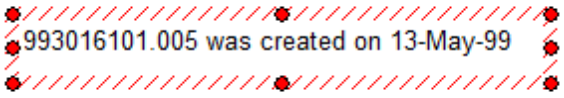


图18.27 Custom Token Example 3 (**自定义标记实例**3)

19.5.5 *自定义标记实例4: 条件陈述*

该实例说明如何在自定义标记公式中使用IF..THEN..ELSE(如果..那么..否则)条件陈述。

1. 先在版面上插入一个绘图[105]，然后插入文本框[90]。右键点击绘图，然后选择Show **Quadrants(显示象限)**。打开自定义标记文本框[308]，然后将其停靠[65]。
2. 在停靠的自定义标记窗口点击(添加)。
3. 编辑名称为*Custom4(自定义4)*的**New Custom Token(新自定义标记)**。
4. 在公式字段输入: *= IF < 空格>*
5. 右键点击公式区，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。选择**Statistic(统计)**，然后点击**Insert(插入)**按键。
6. 在**Data Source(数据源)**页选择一个绘图，然后选择**Statistic(统计)**区。
7. 在选择象限字段，从下拉列表中选择右下象限区。高亮显示**# of Events(事件数)**作为统计。点击OK。
8. 在公式区输入: *>3000 THEN "Normal" ELSE "Abnormal"*。公式字段应该如图18.29所示。

```
=IF Statistic: # of Events for Plot #1, overlay #1,LR quad>3000
THEN "Normal" ELSE "Abnormal"
```

图18.28 Custom Token Example 4 Formula (**自定义标记实例4公式**)

9. 右键点击文本框，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。在**Insert a Token(插入标记)**对话框的底部，确保**Custom(自定义)**选项是展开的(点击**Custom(自定义)**旁边的三角)，然后选择**Custom4(自定义4)**，点击**Insert(插入)**按钮。

如果右下象限的事件数超过3000，该标记会显示**Normal(正常)**，如果事件数小于或等于3000，标记会显示**Abnormal(不正常)**。如果移动了象限[198]，自定义标记公式会重新计算。因此，如果事件数从少于3000变成大于3000(或者相反)，标记会显示不同结果。

19.5.6 *更复杂的自定义标记实例*

以下两个例子演示如何使用更复杂的自定义标记:

- 自定义标记实例5演示使用括号控制数学公式计算的顺序。括号中的公式部分先被计算。图18.30中的自定义标记公式计算三个绘图的平均事件数。

```
=(Statistic: # of Events for Plot #1, overlay #1 +
Statistic: # of Events for Plot #4, overlay #1 +
Statistic: # of Events for Plot #5, overlay #1) / 3
```

图 18.29 Custom Token Example 5 Formula (**自定义标记实例**5**公式**)

- 自定义标记实例6演示如何使用嵌套的IF..THEN..ELSE句。图18.31中自定义标记公式，根据标识区事件的百分比，把柱状图上的荧光信号分类(图18.32)。如果80%的事件出现在右边的标记区(M1)，那么公式返回*Bright(荧光明亮)*。如果中间的标识区(M2)包含事件数的80%，那么*Medium(荧光强度适中)*降作为返回值。如果80%的事件出现在左边的标记区(M3)部分，那么公式返回*Dim(荧光很暗)*。如果没有任何一个标记含有多于80%的事件数，那么将返回*Unknown(未知)*。

```
=IF Statistic: % of gated cells for Plot #6, overlay #1,in marker 1>80 THEN "Bright"
ELSE IF Statistic: % of gated cells for Plot #6, overlay #1,in marker 2>80 THEN "Medium"
ELSE IF Statistic: % of gated cells for Plot #6, overlay #1,in marker 3>80 THEN "Dim"
ELSE "Unknown"
```

图 18.30 Custom Tonken Example 6 Formula (**自定义标记实例**6**公式**)

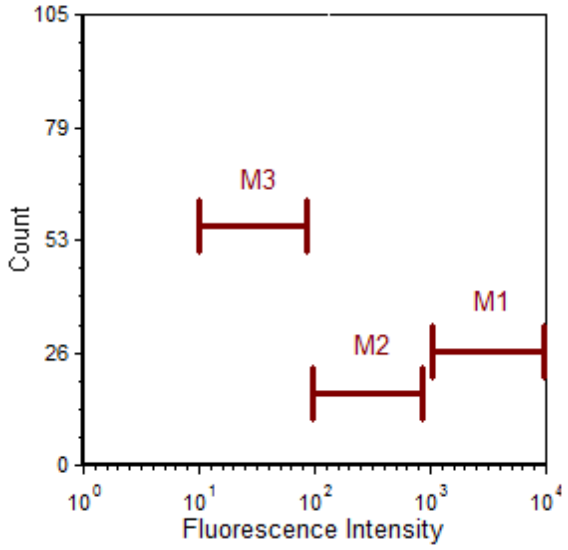


图 18.31 Fluorescence Intensity Marker Example (**荧光强度标识实例**)

其它条件同样可应用于第6个例子中。比如，如果两个标记包含80%以上的事件数，那么将返回*Bimodal(双模态)*。

19.5.7 在公式中插入函数

在自定义标记公式中可以插入很多数学函数322。要插入数学函数，右键点击公式中用户想要插入函数的地方，从弹出菜单中选择**Insert Function(插入函数)**，然后选择相应函数(图18.33)。

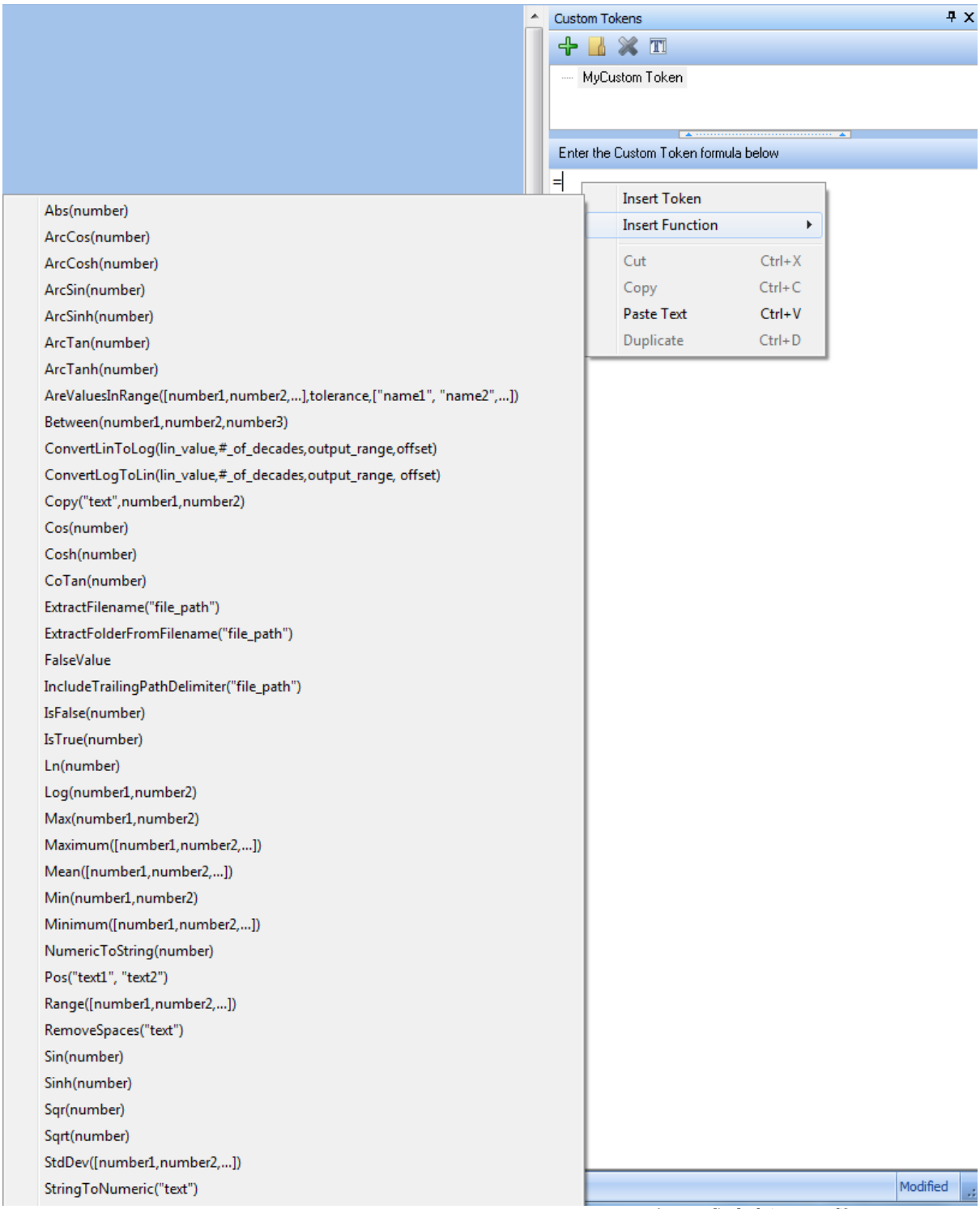


图 18.32 Inserting a Function into a Formula (**在公式中插入函数**)

19.5.8 *编辑自定义标记*

可以通过简单地从列表上点击一个自定义标记，来在自定义标记窗口 308中编辑公式。

如果已经在文本框中插入了一个自定义标记，可以通过两种方法打开**Edit(编辑)**对话框(图

18.34):

- 右键点击文本框中的自定义标记，然后从弹出菜单中选择**Format Token(格式化标记)**。
- 双击文本框中的标记。

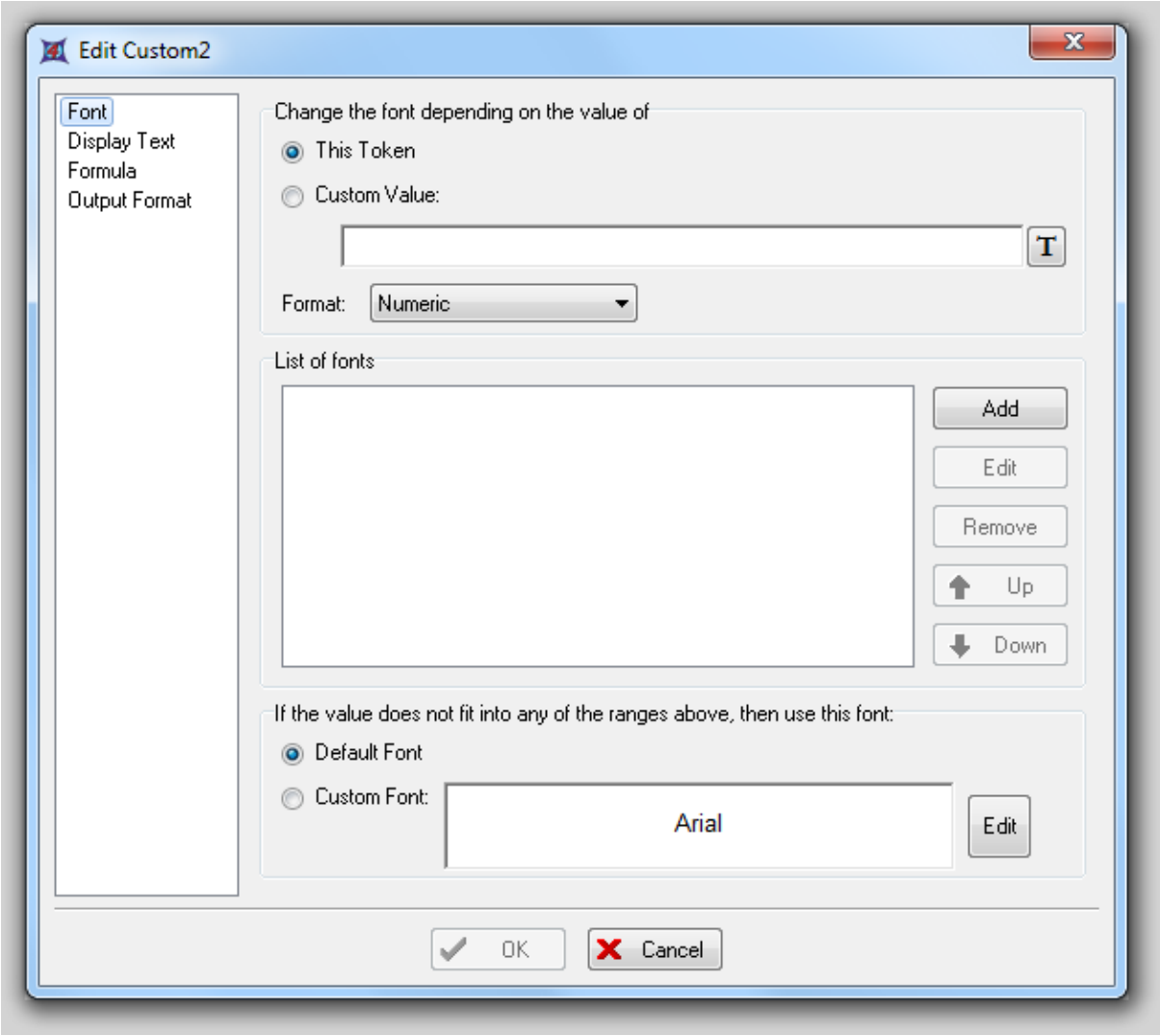


图18.33 Editing a Custom Token -- Font Page (**编辑自定义标记 -- 字体页**)

在**Font(字体)**页对话框，根据标记值或自定义值，用户可以为标记选择字体。点击**Add(添加)**来调出**Create Classification(创建分类规则)**对话框(图18.35)。要修改一系列数值的字体类型或颜色，选择**Custom Font(自定义字体)**单选按钮，然后点击**Edit(编辑)**键。然后设置范围，点击OK。为所有范围区间重复以上步骤。

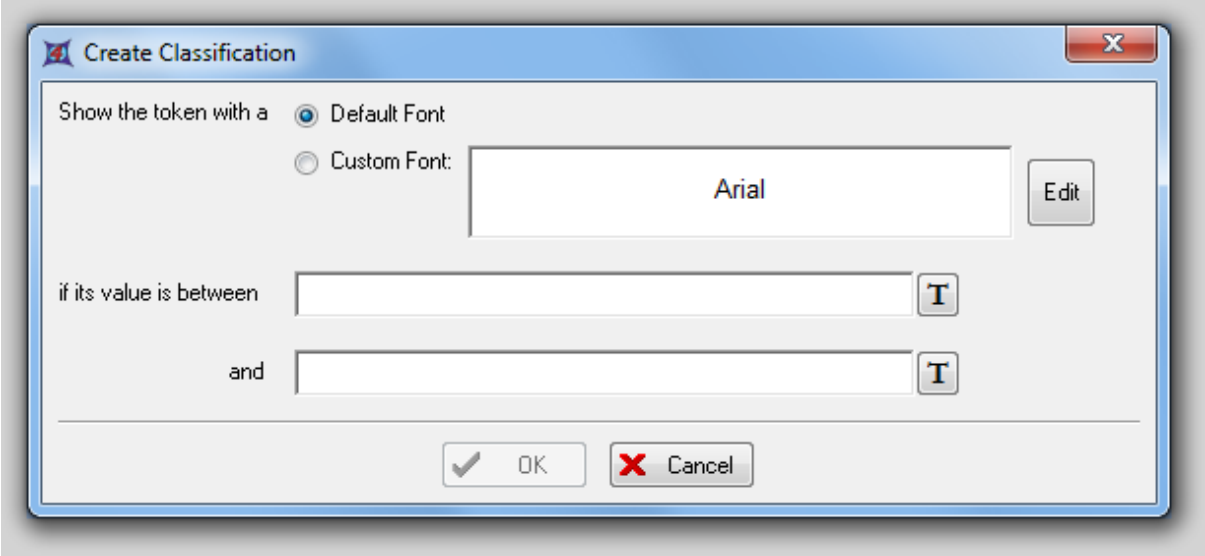


图 18.34 Create Classification Dialog (**创建分类对话框**)

如果在文本框中编辑自定义标记的公式(而非在自定义标记窗口中编辑)，用户会被提示是否要(在整个版面范围内)修改已有标记，或者创建只应用于该对话框的一个新标记。如果选择**Create New(创建新标记)**，系统会创建一个有默认名称的标记。要修改默认名称，在**Custom Token(自定义标记)**窗口右键点击新标记，从弹出菜单中选择**Rename(重命名)**，然后编辑该名称。

19.5.9 *格式化自定义标记*

如果用户希望标记输出想要的结果，那么FCS Express自定义公式必须遵循标准的数学表达式规则。除了标准的数学表达式操作外，FCS Express也可执行文本操作，即把两个文本词组连接起来。以下表格显示了生成正确的和不正确的文本结果的公式。

所需的输出结果	正确的公式	错误的公式
There are 5000 cells (有5000个细胞)	"There are" + "5000 cells"	"There are" + 5000 cells
4	2+2	"2"+"2"
22	"2"+"2"	2+2

在公式中插入标记时，它们被作为两种类型考虑: 数值结果标记或文本结果标记。当公式处于编辑状态，数值标记有蓝色背景色，文本标记有桃红色背景色。用户也可以修改标记类型，方法是在标记上右键点击，从弹出菜单中选择改变标记类型(图18.36)。

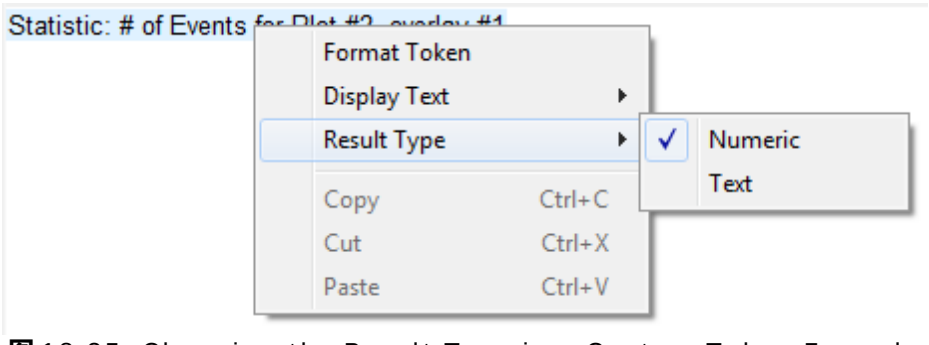


图18.35 Changing the Result Type in a Custom Token Formula
(**在自定义标记公式中修改结果类型**)

当在公式中新插入标记时，FCS Express会尝试选择合适的输出结果类型。但有时一些标记既可以是数字也可以是文本。这时需要用户来保证选择正确类型。标记结果的类型在FCS Express计算公式过程中很重要。请参考以下表中"在绘图2上有5000个细胞"的例子。

所需的输出结果	正确的公式	错误的公式
There are 5000 cells on plot 2(绘图2上有5000个细胞)	"There are " + # of Events for Plot #2 + " cells on plot 2"	"There are " + # of Events for Plot #2 + " cells on plot 2"
10000	# of Events for Plot #2 * 2	# of Events for Plot #2 * 2

在第一个例子中，不正确的公式把数值结果标记(蓝色)连接到文本上。正确的公式包含文本结果标记(桃红色)。

第二个例子中，不正确的公式把数学运算应用于文本结果标记(桃红色)。正确的公式包含数值结果标记(蓝色)。

如果标记放置在文本框中，不正确的公式会显示错误信号##ERROR##。

19.5.10 *在自定义标记中使用逻辑值*

用户可以创建返回逻辑值的自定义标记。比如，在自定义标记中选择的统计，Condition1，如图18.37所示，设置为和淋巴球门相关联。Condition1会根据淋巴球门中的细胞数，计算是TRUE(真)还是FALSE(假)。

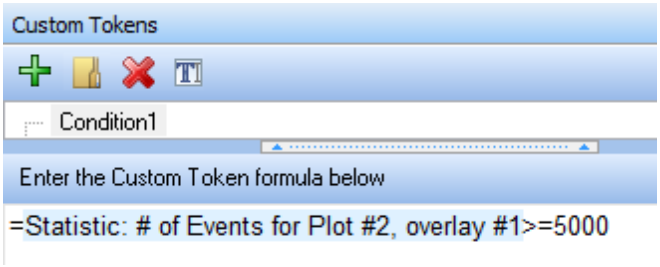


图 18.36 Token that Evaluates to TRUE or FALSE (**返回是真值或假值的标记**)

用户还可在另一标记中使用Condition1标记。要这样做，把标记的结果类型设置为数值类，然后使用IsTrue or IsFalse(真或假)函数322，如图18.38所示。

```
=IF IsTrue(Custom Token: Condition1) THEN
"There are at least 5000 cells in the lymphocyte gate." ELSE
"There are fewer than 5000 cells in the lymphocyte gate."
```

图 18.37 Using a Boolean token (**使用逻辑标记**)

19.5.11 *在自定义标记中使用数组公式*

用户可在数组中使用一些在自定义标记公式参考中描述的公式322，比如Mean(均值)、StdDev(标准偏差)、Minimum(最小值)、Maximum(最大值)和Range(数据范围)等。数组包括在方括号中由逗号分开的不限数目的元素。这些元素可以是参数或标记。

比如:

- 当在文本框中插入标记时，使用公式 *=Minimum([54, 36, 75, 89, 39]*会返回数值 *36* 。
- 在图18.39中的公式会返回四个绘图X轴中间值的平均值。

```
=Mean([Statistic: X Median for Plot #2, overlay #1,
       Statistic: X Median for Plot #5, overlay #1,
       Statistic: X Median for Plot #6, overlay #1,
       Statistic: X Median for Plot #7, overlay #1])
```

图 18.38 Using Tokens in an Array Formula (**在数组公式中使用标记**)

19.5.12 *删除自定义标记*

要删除一个自定义标记，请在自定义标记窗口列表308上右键点击一个标记，然后从弹出菜单中选择**Delete(删除)**。如果删除的标记也用在另一个自定义标记的公式中，那么后者在其所在的文本框会显示错误##ERROR##信息。

19.6 自定义标记公式参考

以下表格列出所有在创建自定义标记时在自定义标记编辑器308中可用的运算符和函数。

Arithmetic Operators(数学运算符)

运算符	描述
x+y	x和y相加
x-y	x减y
x*y	x和y相乘
x/y	x除以y
x^y	x的y次幂指数

Conditional/ Comparison Operators(条件/ 比较运算符)。在IF..THEN..ELSE中使用这些运算符。

运算符	描述
x>y	x大于y
x<y	x小于y
x=y	x等于y
x>=y	x大于或等于y
x<=y	x小于或等于y
x<>y	x不等于y

Mathematical Functions(数学函数)

函数	描述
Log(x, y)	以x为底的y的对数
Ln(x)	x的自然对数
ConvertLinToLog(I, J, K, L)	用以下参数将线性坐标值转化为对数坐标值: I = 线性值, J= # of decades(10的次方数), K = 输出范围, L = 偏移量
ConvertLogToLin(I, J, K, L)	用以下参数将对数坐标值转化为线性坐标值: I = 对数值, J= # of decades(10的次方数), K = 输入范围, L = 偏移量
Sin(x)	x的正弦值
Cos(x)	x的余弦值
ArcSin(x)	x的反正弦值
ArcCos(x)	x的反余弦值
Sinh(x)	x的双曲线正弦值
Cosh(x)	x的双曲线余弦值
ArcSinh(x)	x的双曲线反正弦值
ArcCosh(x)	x的双曲线反余弦值
Tan(x)	x的正切值
CoTan(x)	x的余切值
ArcTan(x)	x的反正切值
ArcTanh(x)	x的双曲线反正切值
Sqr(x)	x平方值
Sqrt(x)	x平方根值

函数	描述
Mean([x, y, z...])	返回数组[x，y，z，…]的平均值。数组可以有无限数目的元素。
StdDev([x, y, z...])	返回数组[x，y，z，…]的标准偏差。数组可以有无限数目的元素。
Minimum([x, y, z...])	返回数组[x，y，z，…]的最小值。数组可以有无限数目的元素。
Maximum([x, y, z...])	返回数组[x，y，z，…]的最大值。数组可以有无限数目的元素。
Range([x, y, z...])	返回(Maximum([x，y，z，…]) –Minimum([x，y，z，…]))的结果。
Abs(x)	x的绝对值
Max(x, y)	返回x和y中较大的值。
Min(x, y)	返回x和y中的较小值。
AreValuesInRange([x, y, z...], tolerance, [xName, yName, zName...])	如果数组[x，y，z...]中的值在彼此的公差百分比范围内，该函数返回True(真)。如果有任何一对数据不在彼此的公差百分比范围内，该函数会返回一段文本，特别指明这些数据。

Logical Operators(逻辑运算符)。这些逻辑运算符用在IF..THEN..ELSE句子中，或用来把两个公式组合起来。

运算符	描述
x OR y	x 或 y
x AND y	x 与 y
NOT(x AND y)	(x 与 y)的相反值

Converter Functions(转化函数)。这些用在更高级的公式中，来把数字转换成文本或进行相反的操作。它们在标记返回的数值不是用户想要的类型时很有用，用户可把它们转化成想要的类型，用在公式中。也可以用自定义标记格式化319中描述的那样修改结果类型。

函数	描述
stringToNumeric(x)	把文本(也称字符串)x转化成数值。
numericToString(x)	把数值x转化成字符串。

Boolean(True/ False)Functions(逻辑(真/ 假)函数)。这些函数返回将操作符应用于输入值所得的逻辑值。一些函数返回代表逻辑值的数值(- 1代表True(真)，0代表False(假))。

函数	描述
Between(x, y, z)	如果x处在y和z之间(包括等于y和z)，函数返回真，否则返回假。
IsTrue(x)	如果x的值是- 1，返回真。
IsFalse(x)	如果x的值是0，返回真。
TrueValue	返回- 1。
FalseValue	返回0。
IsSameText(Text1, Text2, CaseSensitive)	如果Text1(文本1)和Text2(文本2)相同，返回值为真。如果CaseSensitive为真，那么文本必须内容和大小都一致。

Text Manipulation Functions(文本操作函数)。这些函数可用来操作文本值或从已有文本值获取信息。

函数	描述
Pos(x，y)	x是用户正在查找的文本。y是被用来查找的文字段落。该函数返回x在y中的位置。如果不能在y中找到x，返回值是0。
RemoveSpaces(x)	从文本x中删除空格，返回删除空格后的结果。
Copy(x，y，z)	x是完全文本。y是开始复制文本的位置。z是从完全文本x中要复制的字母数(也称为字符数)。该函数返回一个文本x的子字符串，开始于y位置，复制z个字符。
x+y	如果x和y都是文本(即字符串)，返回x和y的拼接结果。

第 20 章

20 批处理

Batch Processing(批处理)允许用户在版面中顺序分析多个数据文件，而无需为每个文件分别设置新绘图。批处理还使用户能够以许多不同的格式打印、保存或导出用户版面和统计，这些格式包括PowerPoint演示文稿、Word文档、Excel电子表格、PDF文件或文本文件。

批处理会把相同的分析过程应用于**Data List(数据列表)**上的每一个项目。在批处理过程中，FCS Express自动执行Data(数据)→Change File on All Objects(在所有对象上修改某一文件)→Next File(下一个文件)命令332来系统地处理版面中的所有文件。项目的处理顺序是根据它们在**Data List(数据列表)**中的顺序，该顺序由批处理选项367或当前的活动面板372指定。

在批处理过程中，对文件的修改被称为"循环"。循环过程会"步进更新"每个绘图上的FCS文件，并"步进计算"绘图中的标记。

通过不为柱状图157或二维绘图165选择Change data file during Next/Prev/Batch **(在下一个/ 前一个/ 批处理过程中修改数据文件)**，用户可以不为某一特定叠加图层进行步进更新。例如，用户可以允许不步进更新一个叠加图层上的对照文件，而允许在其它叠加图层上步进更新。另外，通过关闭为标记数据源在下一个/ 前一个/ 批处理过程中修改数据292选项，用户可以不为某一标记函数进行步进计算。

FCS Express允许在循环中定义批处理任务。这些任务分为*Action(操作)*或*Report(报表)任务*:

- Action Processes(操作任务)338

  这些任务允许用户用多种格式来打印和保存版面。它们包括:

  - o Print(打印)
  - o Save Layout(保存版面)
  - o Save to PowerPoint(保存至PowerPoint文稿)
  - o Save as PDF(保存为PDF)
  - o Save as Picture(保存为图片)

- Report Processes(报表任务)349

  这些任务允许用户把版面信息导出到:

  - o 微软Excel
  - o 微软Word
  - o PDF文件
  - o 文本文件
  - o De Novo Software Data Services(DDS)文件

用户可以导出的信息包括绘图(作为图片)、统计(作为列、单元格或文本)和标记(即在文本框中

显示的标记信息)。一旦选择了把数据加入哪个报表中，用户可以指定导出到该报表中的具体项目。

设置好分析版面后，合理的**Batch Processing(批处理)**操作共包括四步:

1. 将希望分析的数据，以合适的顺序，加入到数据列表中328。
2. 把Batch Action(批操作)和Report(报表)操作添加到Batch Processing Action Screen(批操作窗口)中334。
3. 定义批处理选项367。
4. 执行批处理368。

20.1 使用数据列表

一旦用户创建好了一个版面来分析最初的数据，用户便可以开始创建**Batch Process(批处理)**来顺序分析剩下的项目。创建批处理的第一步是添加项目到**Data List(数据列表)**中。项目在**Data List(数据列表)**中的顺序很重要。这些项目将根据它们在列表中的顺序进行批处理，**Next(下一个)**和**Prev(前一个)**命令的操作也根据项目在列表中的顺序。

要访问**Data List(数据列表)**，请使用**Batch(批)**(或**Data(数据)**)→Organize Data Sets **(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令来调出**Data List(数据列表)**窗口(图19.1)。Data **List(数据列表)**是一个可停靠的窗口63。

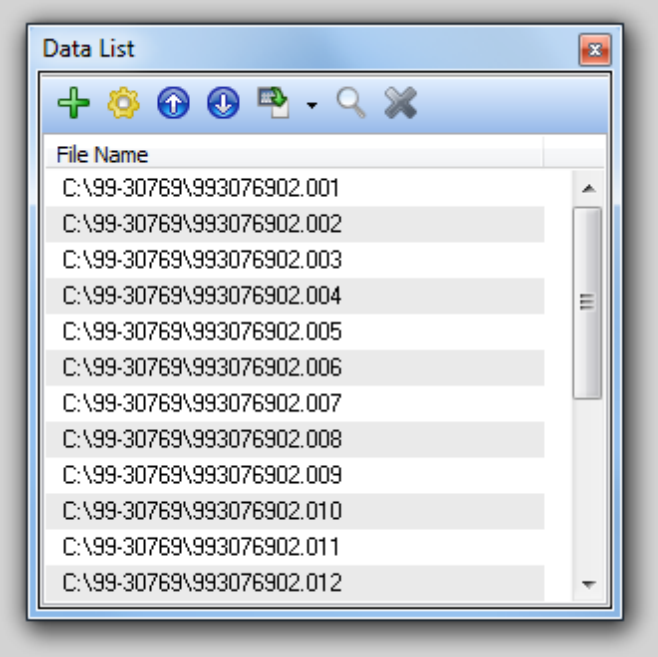


图 19.1 Data List Dialog (**数据列表对话框**)

Data List(数据列表)窗口中的图标解释见下表。

图标	解释
	添加文件。调出选择数据文件对话框 40。
	格式。调出**Format File List(格式化文件列表)**对话框，在此可添加用来排序的关键字。
	向上移动所选文件。
	向下移动所选文件。
	修改文件。
	使用查找数据文件 328对话框来查找某个文件。
	删除所选文件。

20.1.1 *添加文件到数据列表*

用户可用两种方法将数据集添加到**Data List(数据列表)**中:

- **无需查找，直接插入文件。**

  1. 通过Batch(批)(或Data(数据))→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)命令进入数据列表 327。
  2. 点击+按钮调出**Select a Data File(选择数据文件)**对话框。
  3. 选择相关文件，点击**Open(打开)**键来将文件添加到Data **List(数据列表)**中。对话框允许用标准的Windows技巧(例如，Shift-点击或Ctrl-点击来同时选择多个文件)添加多个文件。

  注:如果已经建立了一个活动的面板 372，用户只需选择面板中的第一个文件或管道，FCS Express会提示是否要自动导入面板上剩下的文件和管道。

- **查找文件或有条件地选择文件。**

  如果用户不知道想要的数据在哪里，或用户想要基于一个或多个条件来选择文件，用户可以进行一次查找。

  注: FCS Express Version 4不再局限于仅仅打开FCS文件。因此，要合理利用和关键字相关的函数，在执行关键字搜索前，必须高亮选择相关数据集/文件(以使FCS Express知道要显示哪一类关键字)。

  1. 通过Batch(批)(或Data(数据))→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)命令进入数据列表 327。
  2. 点击Search(搜索) 327按钮来调出**Find Data Files(查找数据文件)**对话框(图19.2)。

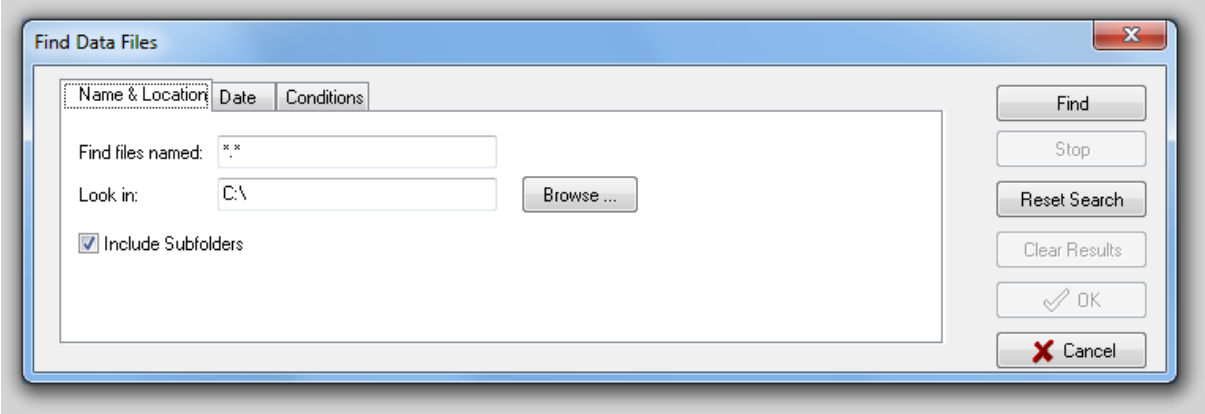


图19.2 Find Data Files Dialog (**查找数据文件对话框**)

在**Find Data Files(查找数据文件)**对话框顶部选择三个标签中的一个或多个来设定搜索条件，以找到想要添加到**Data List(数据列表)**中的文件。所有搜索结果协同工作，在点击**Find(查找)**按钮前可选择任何组合。

- 在**Name & Location(名称&位置)**标签，点击**Browse(查看)**按键，选择要搜索的路径，然后点击**Find(查找)**按钮。注: 请首先在**Name & Location(名称&位置)**标签设置查找路径，这甚至会比下面提到的根据日期或关键字条件查找还要快。

- 要根据文件日期搜索，点击**Date(日期)**标签，然后输入搜索条件。

- 要根据关键字值来搜索文件，选择**Conditions(条件)**标签。(请记住必须在Data **List(数据列表)**中选择一个数据集或文件来执行关键字搜索。)默认情况下，没有条件设置，因此请点击**Add Condition(添加条件)**按钮。表格中出现新的一行，第一列不可用。点击**Keyword(关键字)**列里的按键，从Please select a keyword **(请选择关键字)**对话框中选择一个关键字(例如，$TOT，代表事件总数)。在**Relation(关系)**和**Value(值)**列中，选择要搜索的关键字范围。例如，要搜索那些包含少于50000个事件数的文件，在**Relation(关系)**列中选择<(代表少于)，然后在**Value(值)**列中输入50000。

- 要根据一个或多个关键字查找，再次点击**Add Condition(添加条件)**按钮。这次，从第一列选择Operator(运算符)。运算符的默认选项是**AND(与操作)**，表明两个关键字条件必须都满足。否则，选择运算符**OR(或操作)**来指定只须满足一个条件即可。选择了运算符后，按照上述方法输入**Keyword(关键字)**、**Relation(关系)**和**Value(值)**。

当可以执行搜索时，点击**Find(查找)**键。请记住所有条件一起工作，因此在搜索之前，请选择一个开始查找的文件夹、日期条件和关键字条件。

FCS Express查找到满足搜索条件的文件时，窗口会扩展来显示**Search Results(查找结果)**字段。一旦找到相关文件，它们会被加到该字段中。要在搜索结束前停止，点击**Stop(停止)**按钮。图19.3显示了"C:\99- 31206 CLL"路径中包含少于50,000个细胞的文件。

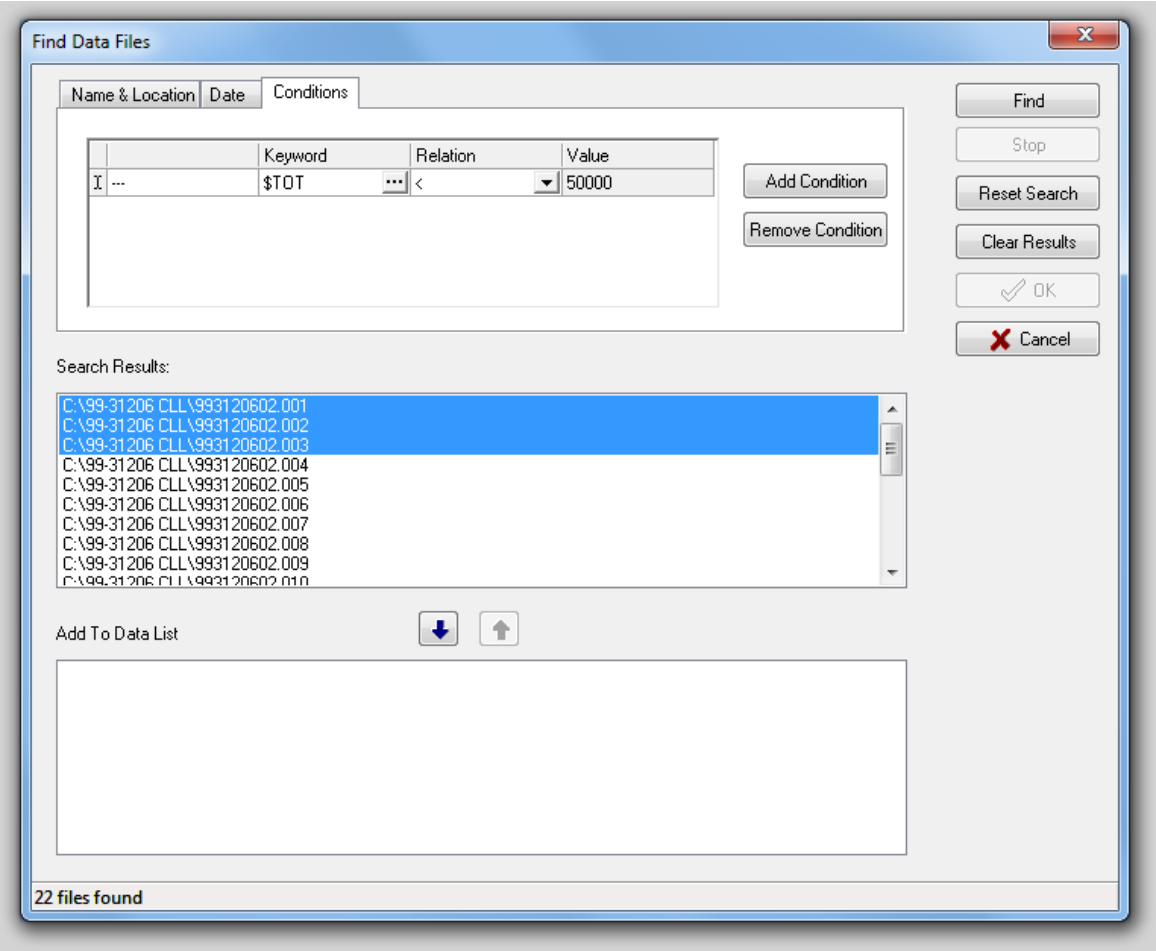


图 19.3 Search Files by Keyword (**根据关键字搜索文件**)

一旦找到所有文件，将要使用的文件添加到Data **List(数据列表)**中。要单独添加文件，点击文件名来将其选中。要选择多个文件，在点击文件名时按住Ctrl(或Shift)，然后点击OK。选中相关文件后，点击**Down Arrow(向下的箭头)**按键。要从Data **List(数据列表)**中移除文件到搜索结果字段，选择要移走的文件，点击Up **Arrow(向上的箭头)**按钮。在完成了为Data **List(数据列表)**添加文件后，点击OK。

如果想要进行第二次搜索，请首先从当前搜索结果中把相关文件添加到数据列表中，然后再执行第二次搜索。当文件添加到**Data List(数据列表)**中，并设置了一个活动的面板372后，每组文件(代表面板的管道)会显示交替的颜色。这让面板上的文件更容易区分。

20.1.2 *数据列表中的排序*

Data List(数据列表)窗口允许用户查看某些关键字的值，并可根据这些关键字为列表排序。

要选择查看的关键字:

1. 通过Batch(批)(或Data(数据))→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据

列表)命令进入数据列表327。

2. 在**Data List(数据列表)**中点击需要的条目，告知FCS Express显示哪些关键字。
3. 点击(格式)按钮调出**Format File List(格式化文件列表)**对话框。
4. 点击**Add(添加)**。会弹出**Please select one or more keywords(请选择一个或多个关键字)**对话框。
5. 点击一个关键字来将其选中。要选择更多的关键字，按住鼠标键的同时，点击Ctrl。
6. 选择了想要查看的所有关键字后，点击OK。

Data List(数据列表)会为每个用户选中的关键字列出新的一列(图19.4)。

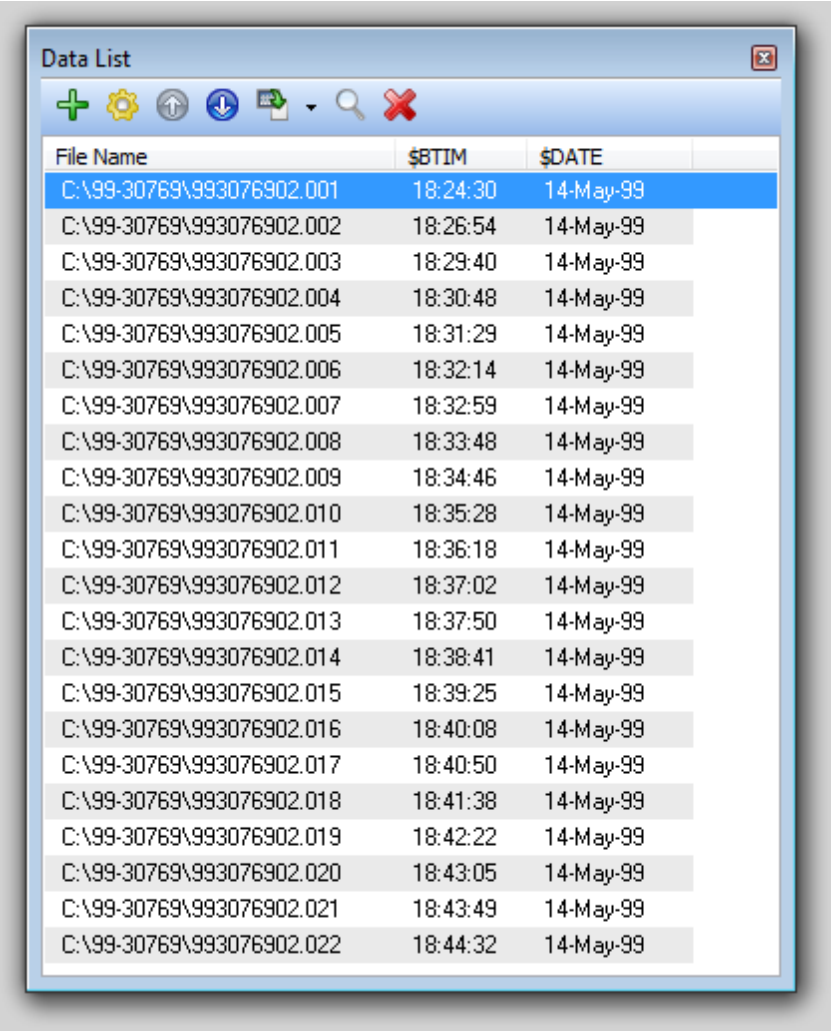


图 19.4 Data List with Keyword Columns (**有关键字列的数据列表**)

默认选项是**Data List(数据列表)**根据数据集名称按字母排序。要用其它标准为数据集排序，点击相关列的标题。列表便会根据该列的值排序。点击标题一次会按升序排列列表；再次点击标题会按降序排列列表；点击第三次又会回到升序排序。

用户也可以不通过点击列标题来调整单个文件(或文件组)的顺序。点击列表中的一行将其选中，然后点击(向上)键来将该文件向上移动，或用 (向下)键来将其下移。可以使用标准的Windows选择多对象技巧(Shift- 点击及Ctrl- 点击)一次选中几个文件行，然后点击 或 键来将它们一起移动。

20.1.3 使用数据列表修改绘图或标记中的数据集

批处理是处理有相同版式的多组数据集的有效工具。创建了**Data List(数据列表)**后，可用该表来修改绘图中的数据集，或修改标记中的数据源。

20.1.3.1 下一项/前一项

Next(下一项)和 Previous(前一项)函数会修改在以下对象上的数据集:

- 绘图
- 数据窗口
- 文本框中的标记
- 自定义标记
- 警告
- 批处理操作

要使用Next/ Previous(下一项/ 前一项)函数修改数据集，必须满足以下所有条件:

- 已定义了一个**Data List(数据列表)**;
- 要修改的对象(比如绘图)必须处于选中或编辑模式；
- 所选对象必须显示或链接到列表中的一个数据集；
- 最后，所选对象，例如柱状图157、二维绘图165和标记292，必须激活Change data file during Next/ Prev/ Batch(在下一项/ 前一项/ 批处理时修改数据)选项。

要把一个或多个所选对象上的数据集修改到前一项或后一项数据集上:

1. 选中要修改的绘图和/ 或标记文本框。
2. 使用以下方式之一:
   - 使用**Data(数据)→Change File on Selection(修改所选文件)→**Next File **(下一文件)**(或**Previous File(前一文件)**)命令。
   - 使用键盘快捷键**Alt+ 右键头**来执行"下一项"或**Alt+ 左箭头**执行"前一项"。
   - 右键点击所选对象，从弹出菜单中选择**Next(下一项)**或**Prev(前一项)**。

注: 要为版面中所有相关对象执行修改到**Data List(数据列表)**上下一项或前一项的操作，使用**Data(数据)→Change File on All Objects(修改所有对象上的文件)→**Next File **(下一个文件)**(或**Previous File(前一个文件)**)命令。

20.1.3.2 拖放操作

像FCS Express Version 4其它的可停靠的窗口63一样，**Data List(数据列表)**支持拖放功能。可直接从**Data List(数据列表)**拖拽一个数据集到版面上，来修改一个已存在的绘图或创

建一个新绘图。

当拖拽数据集到绘图上时，可在编辑设置的"一般设置"里的下拉列表中的When **dragging from the file list to a plot(当从文件列表中拖拽到绘图上)**设置拖拽功能。拖拽操作的结果会是:

- 取代绘图上的FCS文件；
- 用拖拽的文件创建一个新的叠加图层；
- 或者打开一个对话框来选择以上两个选项之一。

如果用户从**Data List(数据列表)**直接拖拽文件到版面上的空白区，会弹出一个Select **Plot Types...(选择绘图类型...)**对话框，询问用户希望打开哪个对象(图19.5)。

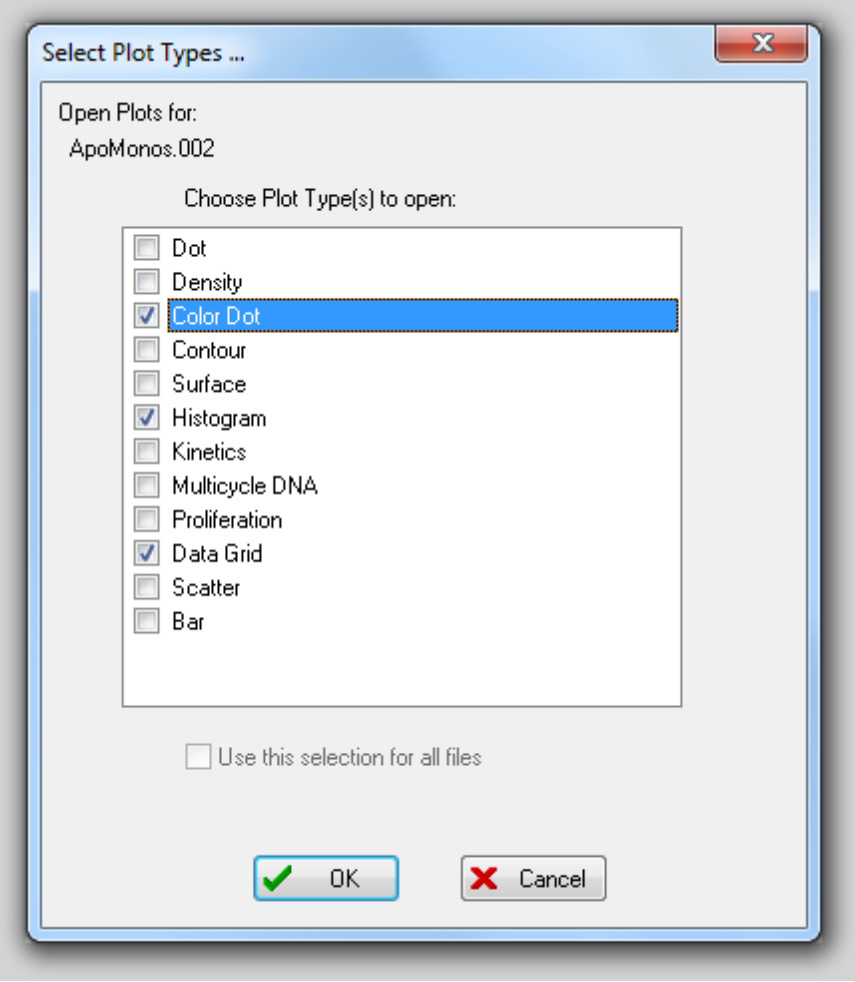


图 19.5 Select Plot Types...Dialog (**选择绘图类型... 对话框**)

可通过选中相应的复选框来选择一个或多个对象。选择对象类型后，新对象便会打开，显示用户从**Data List(数据列表)**中拖拽过来的数据集里的数据。

20.1.3.3 修改文件按钮

要使用**Data List(数据列表)**来修改绘图上的文件/ 数据集:

1. 点击数据列表上的一个数据集，将其选中。
2. 点击(修改文件)图标来选中**Change Data On Selected Plots(修改所选绘图上的数据)**或者从下拉菜单中选择**Change Data On All Plots(修改所有绘图上的数据)**。

20.2 添加批处理

创建**Data List(数据列表)**之后，批处理的第二步是定义执行哪些批处理操作。FCS Express允许用户在批处理中执行任务并报告结果326。

要添加批处理操作，请使用**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→**Batch Actions **(批操作)**命令调出可停靠的**Batch Actions(批操作)**窗口(图19.6)。

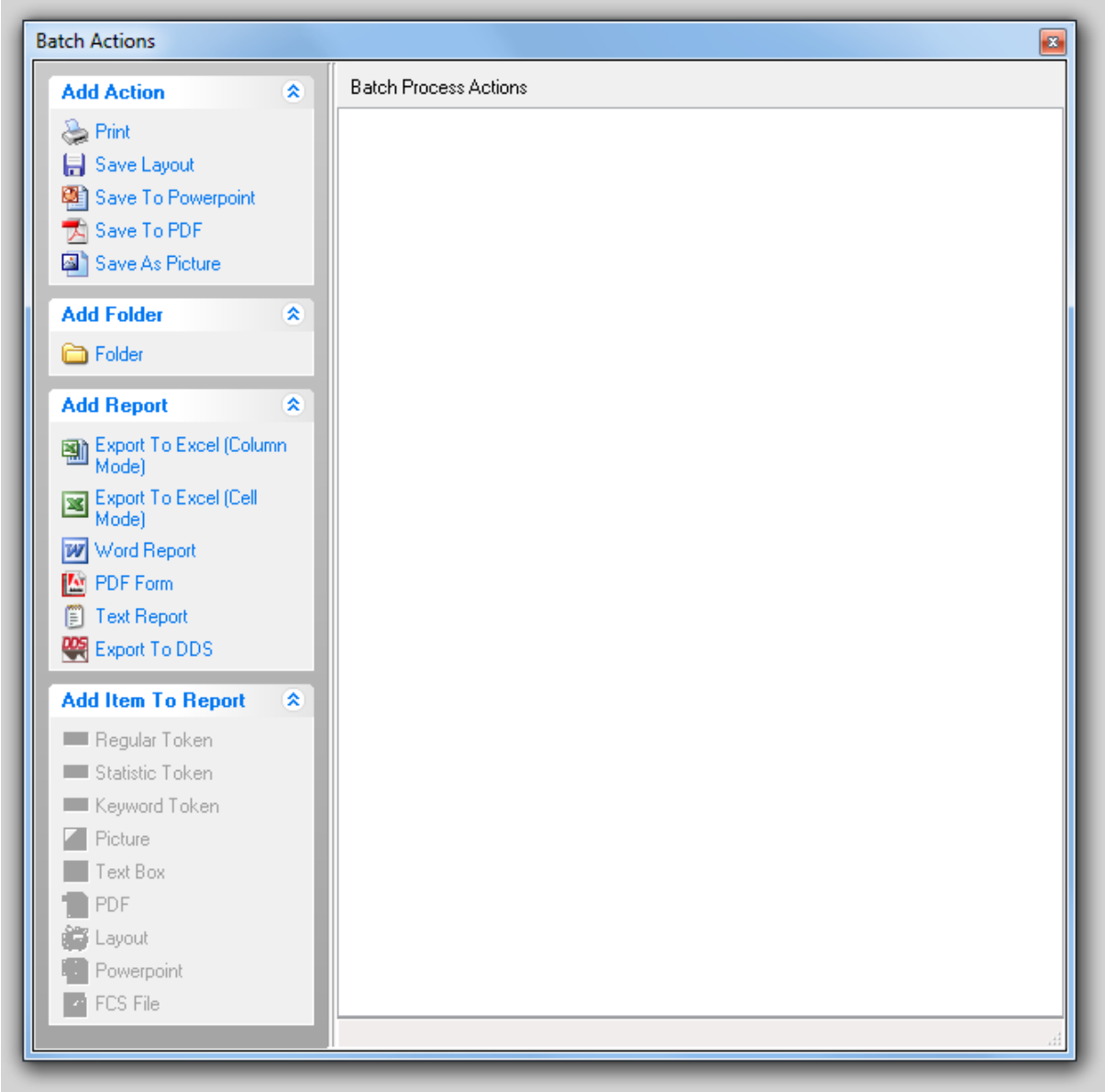


图 19.6 Batch Actions Window (**批操作窗口**)

要在**Batch Process Actions(批处理操作)**列表中添加新的任务，请在Batch Actions **(批操作)**窗口左侧的列表上点击相应的操作。这时会出现一个对话框，为每个操作设定相关属性。比如，要添加打印338操作，必须指定打印机、页数和打印份数。

当一个操作被添加到**Batch Process Actions(批处理操作)**列表上后，该操作会被自动设定为激活状态，并在批处理运行时得到执行(**Batch Process Actions(批处理操作)**列表上左侧的复选框会被选中)。要使该操作无效、使其在批处理时不被执行，请取消在操作名称左边的复选框上的勾选。

可在**Batch Process Actions(批处理操作)**列表上添加多项同一类的操作。例如，两个打印操作可同时处于有效状态。第一个打印操作可在#1号打印机上打印1- 5页，第二个打印机

可在#2号打印机上打印6- 10页。

以上例子中的两个打印操作都在列表上标记为"Print(打印)"，所以在复杂的批处理列表上修改操作名称可能会很有用处。要为列表上的操作重命名:

1. 选中操作名，然后按下键盘上的F2键(或右键点击操作名，然后从弹出菜单中选择**Rename(重命名)**)。
2. 输入新的操作名称。
3. 点击**Enter(输入)**。

图19.7给出了一个批处理进程，它包括了几个定义好的操作任务。两个打印操作被分别用描述性的文本命名。**Save Picture of Plot(将绘图保存为图片)**操作未被选中，表明在批处理运行时它不会被执行。

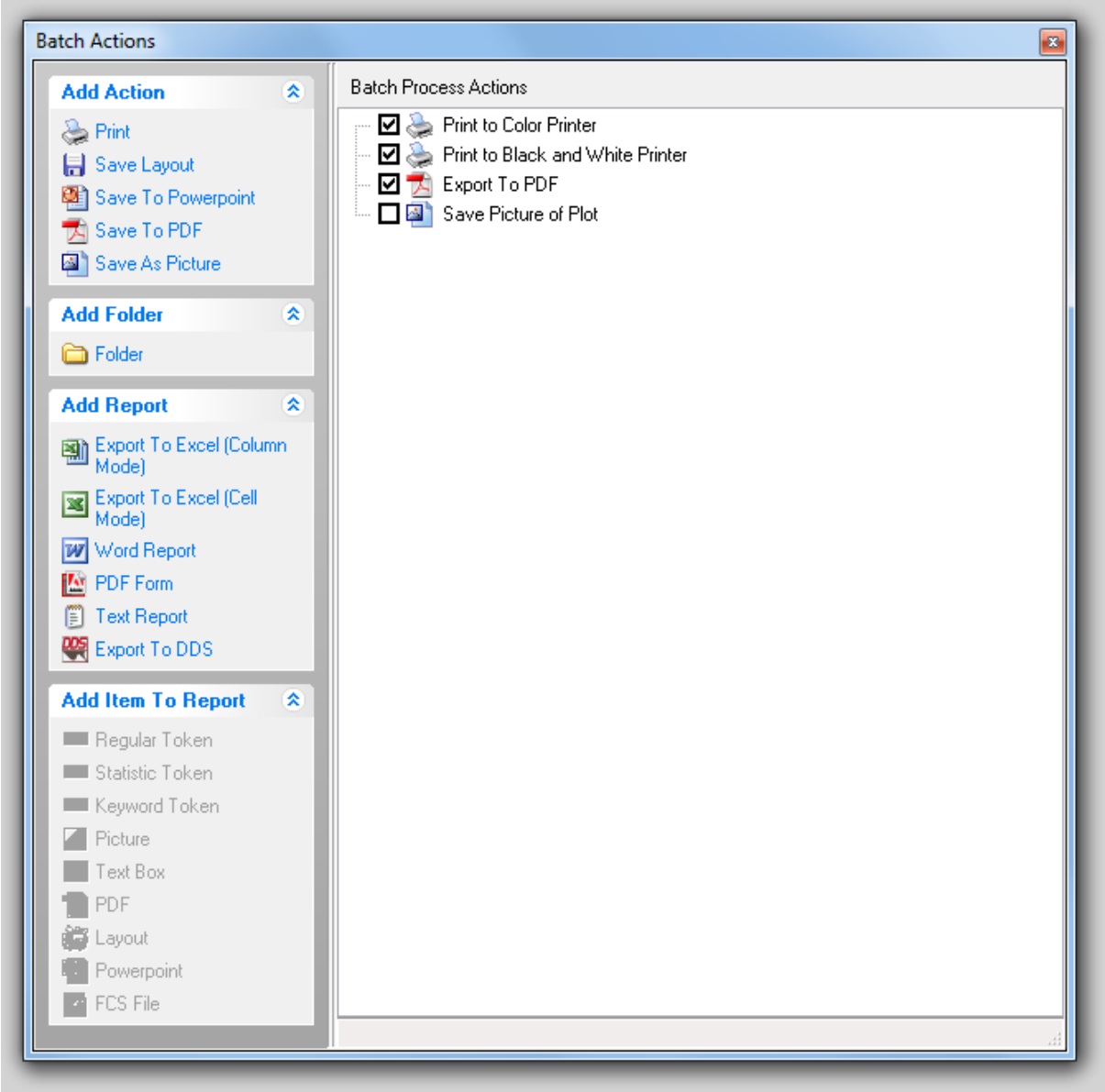


图 19.7 Batch Process Actions List with Actions (**带有操作任务的批处理操作列表**)

右键点击**Batch Process Actions(批处理操作)**列表上的某一操作会调出一个含有以下选项的弹出菜单:

- **Cut(剪切)/Copy(复制)/Paste(粘贴)**:允许用户对批操作进行复制和粘贴。这些操作可将标记从一个结果报表移到另一个。
- **Delete(删除)**:删除所选操作。
- **Rename(重命名)**:为所选操作输入一个描述性的名称。
- **Properties(属性)**:显示所选操作的属性对话框,可用来修改该操作的属性。

20.2.1 批处理操作

批处理操作包括打印版面338、保存版面339、保存到PowerPoint342、保存为PDF344和保存为图片346。用户可用文件夹(或称操作容器)348把操作归类。

在FCS Express Version 4中，对批处理操作的编辑已经成为流水线式的方式。系统将自动应用对批处理操作的修改。不需要点击OK。

20.2.1.1 打印

打印操作允许用户在批处理中自动打印某一设定范围的页面。

要创建打印操作，点击**Print(打印)**(在**Batch Actions(批处理)**窗口的**Add Action(添加操作)**区)。**Create Print Action(创建打印操作)**对话框(如图19.8)用来设置批处理过程中、每一轮循环中打印版面的方式。

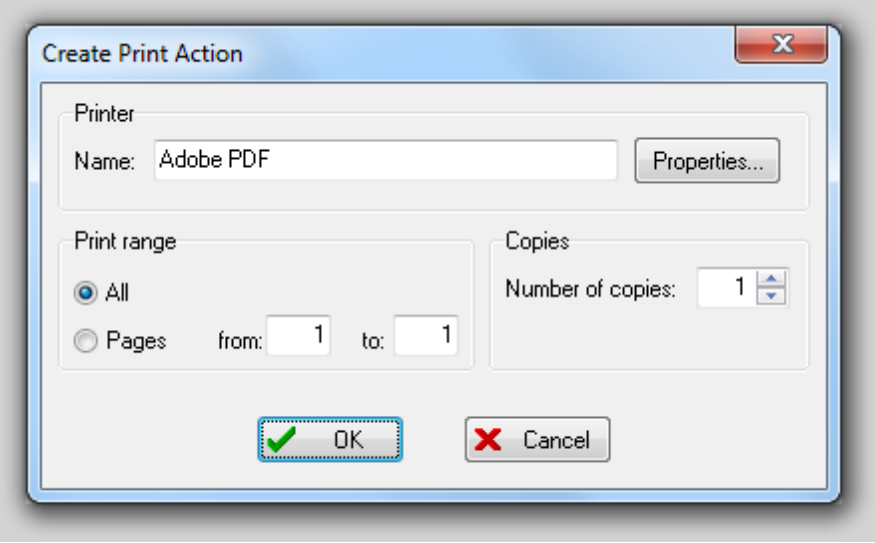


图19.8 Create Print Action Dialog (**创建打印操作对话框**)

Create Print Action(创建打印操作)对话框属性分成三部分:

- **Printer(打印机)**

  选择用哪个打印机打印版面。

- **Print range(打印页面范围)**

  选择打印版面中的哪些页。

- **Copies(打印份数)**

  指定打印份数。

完成设置后，点击OK。这将把打印操作添加到批操作列表中。

20.2.1.2 保存版面

要创建保存操作，在**Batch Actions(批操作)**窗口里的**Add Action(添加操作)**区点击**Save Layout(保存版面)**。

Create Save Layout Action(创建保存版面操作)对话框(图19.9)用来设置在每一轮循环后如何保存版面。

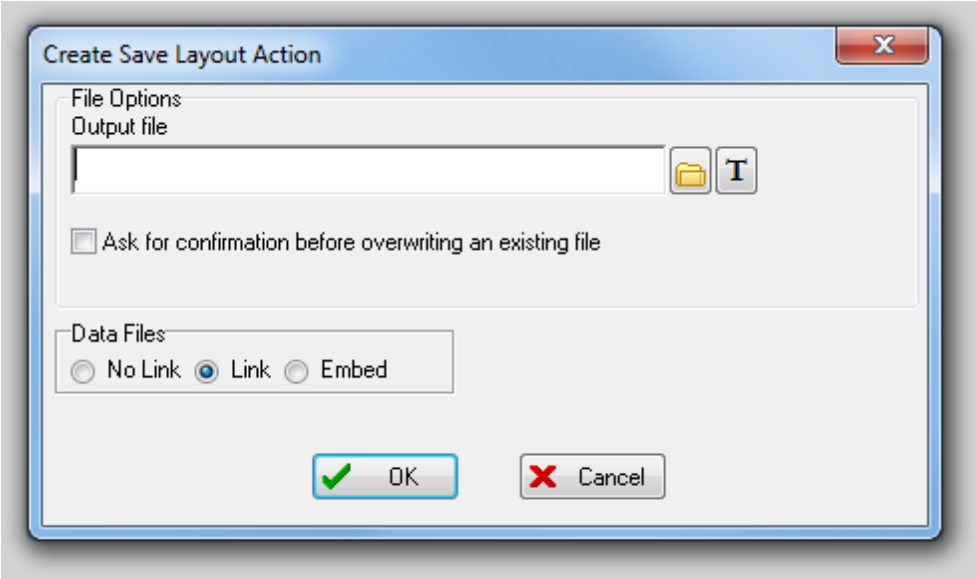


图19.9 Create Save Layout Action Dialog (**创建保存版面操作对话框**)

该操作的属性分为两个部分:

- **File Options(文件选项)**

  Output file(输出文件)字段决定每个保存版面的名称和位置。因为每一轮处理循环需要为每个文件起不同的名称，设置的文件名必须包括每一循环都会改变的动态信息。要创建动态文件名，用户必须插入一个标记[286]作为文件名的一部分。批处理过程中的动态文件名中最常用的标记是*Current iteration(当前循环)*标记。

  在把标记插入到**Output file(输出文件)**字段后，请首先确保在文件字段中输入一个文件名，然后将光标移至用户希望标记出现的位置。要插入Current iteration(当前循环)标记:

  1. 点击T按钮调出**Insert a Token(插入标记)**对话框。
  2. 点击**Batch Processing(批处理)**边上的三角。
  3. 选择**Current iteration(当前循环)**(图19.10)。
  4. 点击**Insert(插入)**。

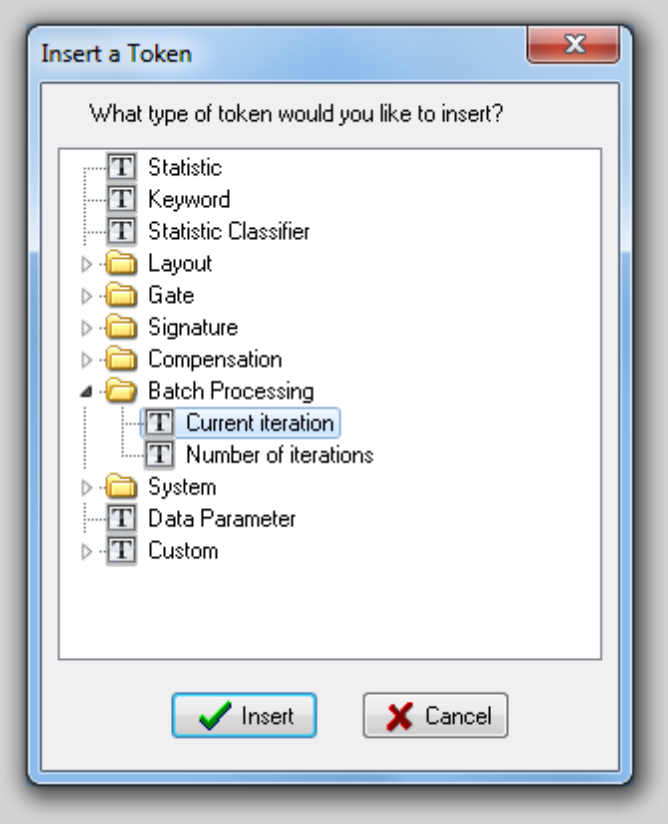


图 19.10 Insert a Current Iteration Token (**插入当前循环标记**)

图19.11给出了一个输出文件的例子，其中使用当前循环标记创建了一个动态文件名。

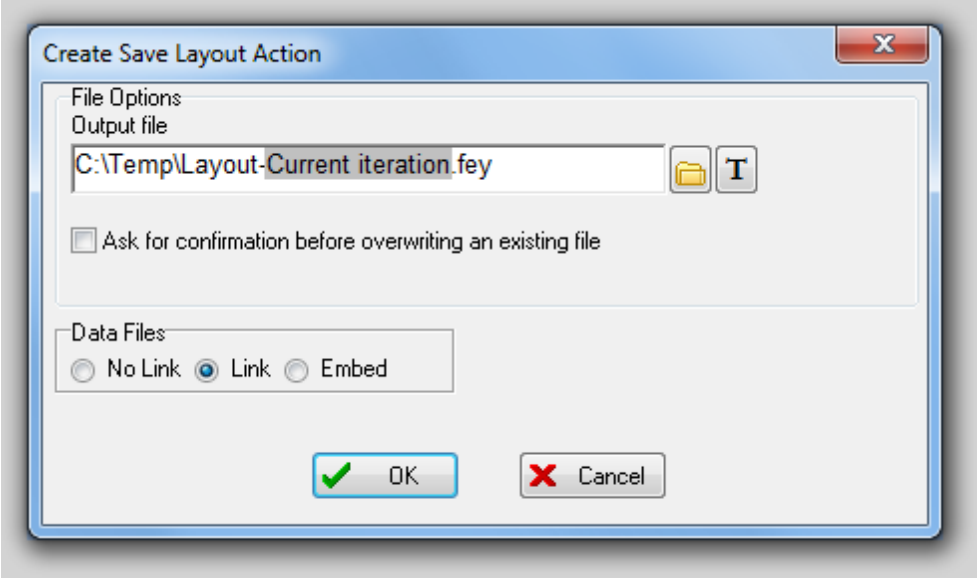


图 19.11 Example Output File with Current Iteration Token (**带有当前循环标记的输出文件实例**)

运行含有该输出文件的批处理会生成诸如*C:\Temp\Layout-1.fey*、*C:\Temp\Layout-2.fey*等文件。如果选中Ask for confirmation before **overwriting an existing file(在覆盖已有文件前获得确认)**一项，用户在批处理过程中会收到提示，来确认一个覆盖已有文件名的操作。

用户不一定非要使用*Current iteration(当前循环)*标记。也可以使用每一循环后都会改变的信息作为标记。例如，病人编号、样品编号或其它计数值都可以用来生成独特的动态文件名。

- **Data Files(数据文件)**

  该选项和保存版面对话框 51中的选项一样。

点击OK来结束编辑保存版面属性。这时，FCS Express会确认输出文件设置是否合理。如果输出文件字段是空白的，或如果路径名包含文件名中不允许的字符，系统会弹出一个含有出错信息的**Messages(消息)**窗口(图19.12)。

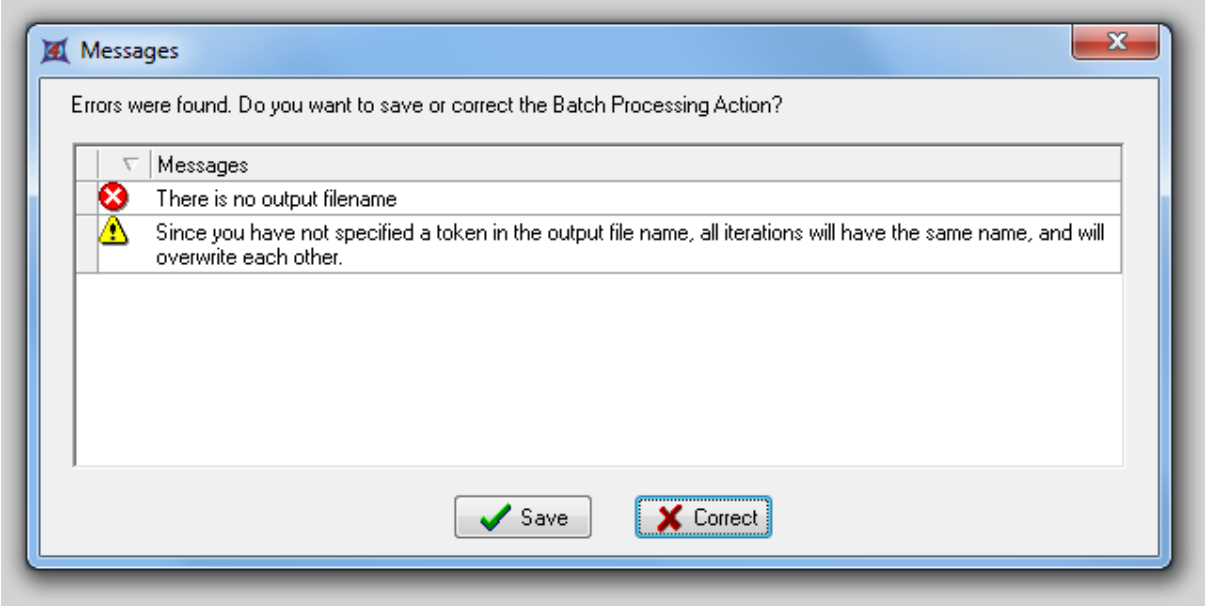


图19.12 Batch Processing Error Messages (**批处理出错消息**)

该对话框允许用户**Save(保存)**该含有错误选项的操作，或将其**Correct(改正)**。如果选择在不修改该错误的情况下保存操作，该操作将不会在批处理中得到执行。

20.2.1.3 保存至PowerPoint文稿

要创建Save To PowerPoint(保存至PowerPoint)操作，在**Batch Actions(批操作)**窗口里**Add Action(添加操作)**区点击**Save To PowerPoint(保存至PowerPoint)**选项。

Create Export to PowerPoint Action(创建导出至PowerPoint操作)对话框(图19.13)用来设置如何将版面在每一循环中保存到PowerPoint演示文稿。

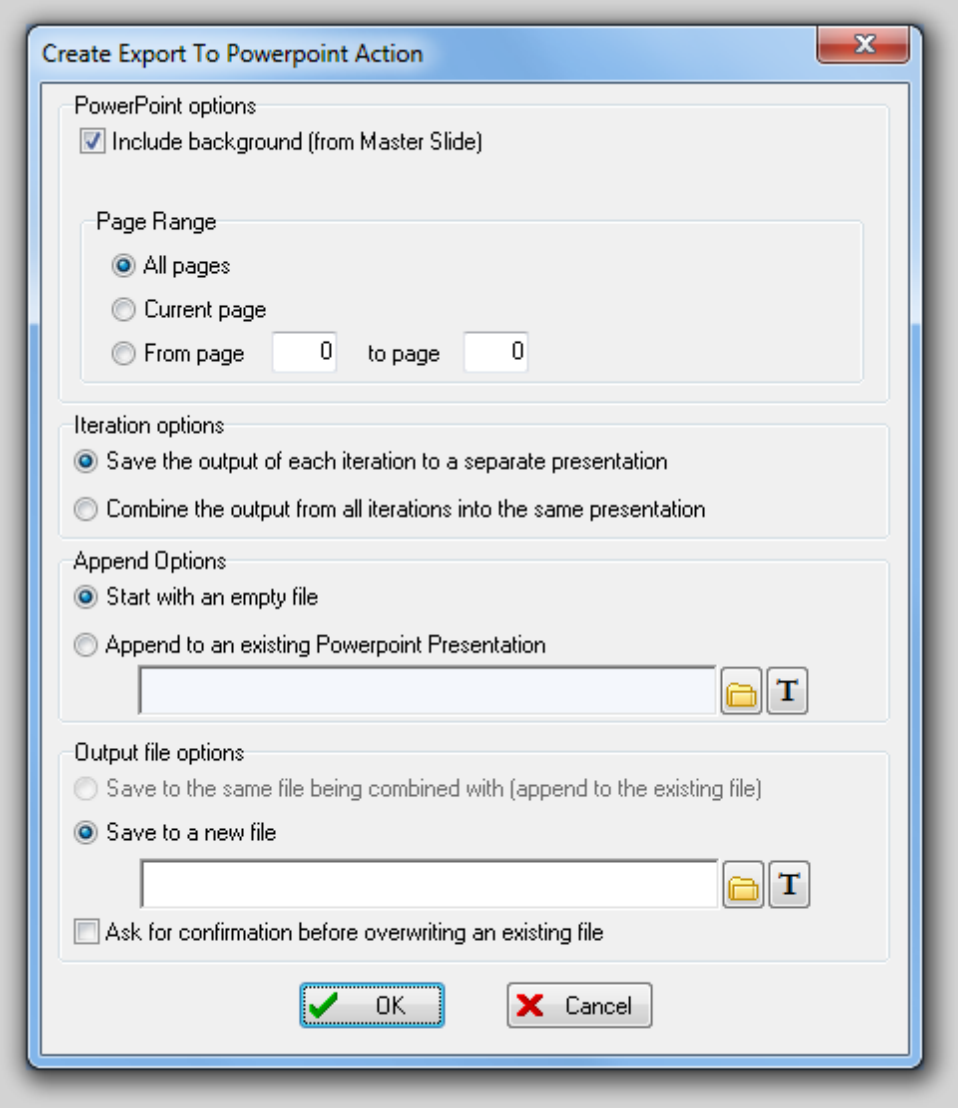


图 19.13 Create Export to PowerPoint Action Dialog (**创建导出至PowerPoint操作对话框**)

该操作的属性分为四部分:

- **PowerPoint选项**
  - o **Include background(from Master Slide)(包含背景(来自于母版幻灯片))**

    点选该选项时，母版页上的对象会放置在PowerPoint母版幻灯片中。
  - o **Page Range(页面范围)**

    选择要导出的页面范围。
- **Iteration options(循环选项)**

选择是将每一循环的输出结果保存到各自独立的文件，还是合并所有输出结果到一个幻灯片文件中。

- **Append Options(添加选项)**

  选择是要导出到一个新文件，还是添加输出文件到已有的PowerPoint幻灯片文件中。

- **Output file options(输出文件选项)**

  为要导出的PowerPoint文件键入一个文件名。参见保存版面- 文件选项一节来获取更多关于批量生成文件名的描述339。

完成属性编辑后，点击OK。

20.2.1.4 保存至PDF

要创建Save To PDF(保存至PDF)操作，在**Batch Actions(批操作)**窗口里的Add Action **(添加操作)**区点击**Save To PDF(保存至PDF)**。

Create Export to PDF Action(创建导出至PDF操作)对话框(图19.14)用来设置如何在每一循环中将版面保存到PDF文件。

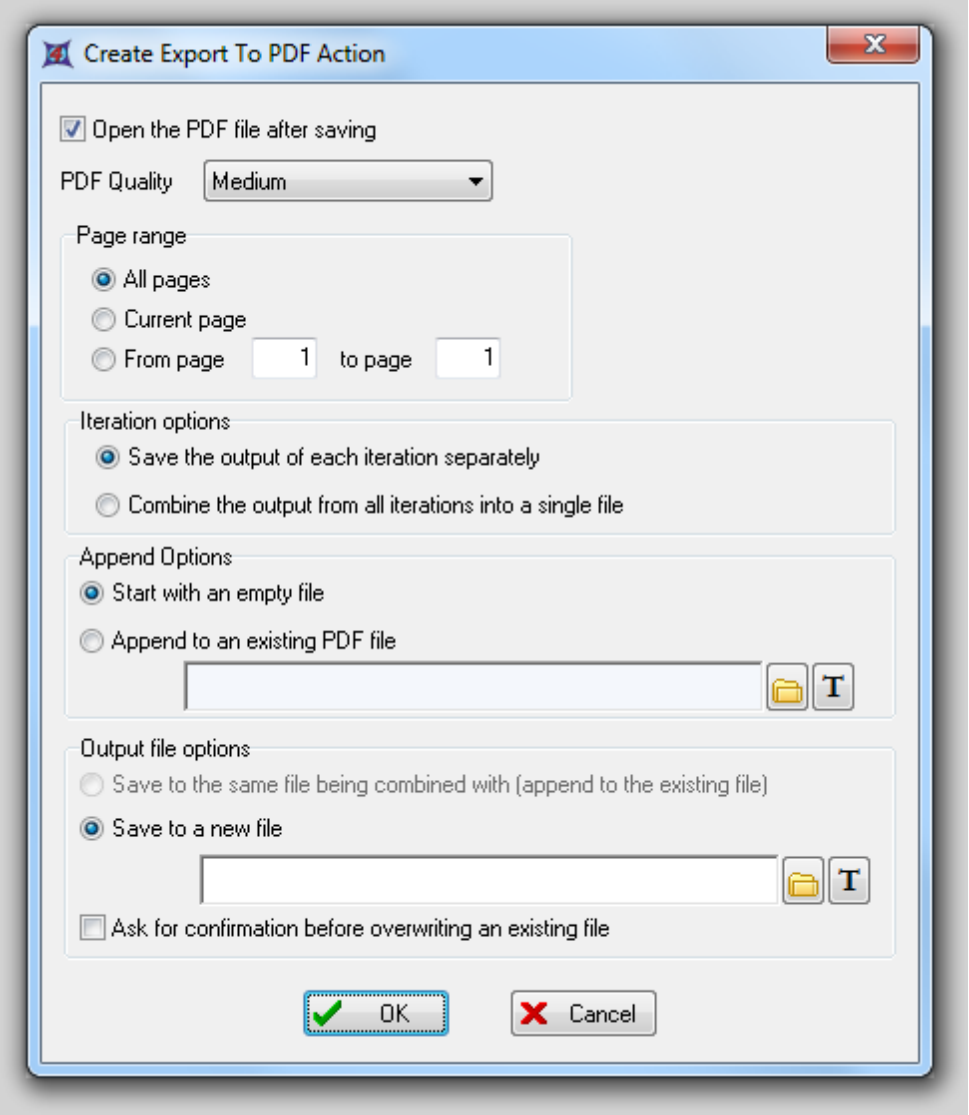


图 19.14 Create Export to PDF Action Dialog (**创建导出至**PDF**操作对话框**)

用户可以选择在保存后打开PDF文件。该操作的属性分为六个部分:

- **Open the PDF file after saving(保存后打开PDF文件)**

  点选该项后，每一循环结束后会打开相应的PDF文件。

- **PDF Quality(PDF质量)**

  从下拉菜单中设置PDF的质量(**Low(低)**、**Medium(中)**、**High(高)**还是**Highest(最高)**)。

- **Page Range(页面范围)**

选择要导出的版面页。

- **Iteration options(循环选项)**

  选择是否保存每一循环的输出文件到单独的文件中，还是把使用输出文件合并到一个文件中。

- **Append Options(添加选项)**

  选择是否把结果导出到新文件，还是添加输出文件到已有的PDF文件中。

- **Output file options(输出文件选项)**

  为要导出的PDF文件输入一个文件名。参见保存版面- 文件选项一节来获取更多关于批量生成文件名的描述339。

完成属性编辑后，点击OK。

20.2.1.5 保存为图片

要创建Save As Picture(保存为图片)操作，在**Batch Actions(批操作)**窗口里的Add **Action(添加操作)**区点击**Save As Picture(保存为图片)**选项。

Create Save Picture of Plot Action(创建保存绘图为图片操作)对话框(图19.15)用来设置如何在每一循环中将绘图或版面页保存为图片文件。

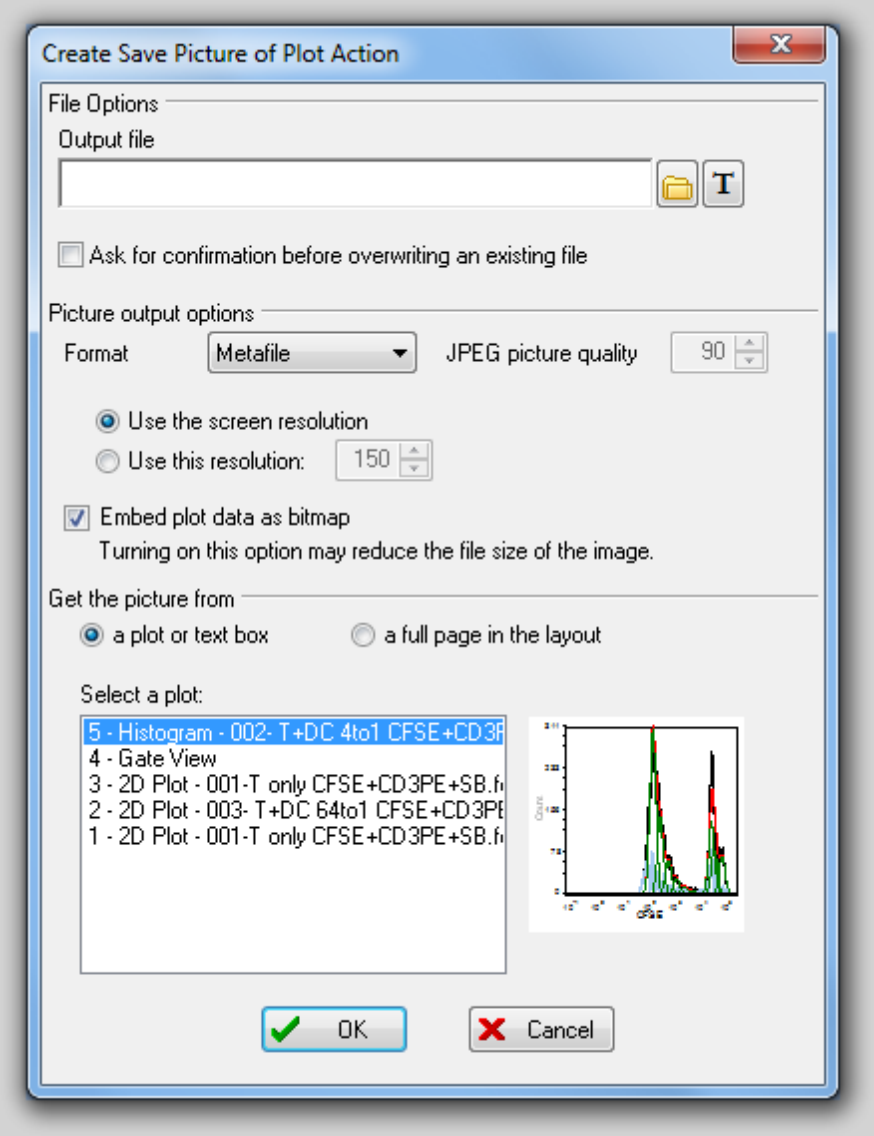


图 19.15 Create Save Picture of Plot Action Dialog (**创建保存绘图为图片操作对话框**)

该操作的属性有三个部分:

- **File Options(文件选项)**

  为导出文件键入文件名。参见保存版面- 文件选项一节来获取更多关于批量生成文件名的描述 339。

- **Picture output options(图片输出选项)**

  从下拉式菜单中选择文件类型(JPEG、**Bitmap(位图)**、**Metafile(图元文件)**、GIF、**PNG和tif格式**)。对于JPEG文件，可用箭头控制来选择图片质量。用户可用单选键按钮来选择分辨率。对于图元文件，用户可选择是否要把绘图数据嵌入一个位图文件中。

- **Get a picture from(从...获得文件)**

  使用单选按钮选择是要保存绘图或文本框还是整个一页。请从列表框中选择绘图或版面页。

完成属性编辑后，点击OK。

20.2.1.6 文件夹(操作容器)

文件夹(操作容器)用来组织批操作。但它们本身不生成任何输出结果。用户可把它们简单地理解为放置一组相关操作的容器。

使用文件夹的好处是通过取消选定某个文件夹，文件夹中的所有操作便都不会在批处理时执行。

图19.16中定义了两个文件夹。*Main Actions(主操作)*文件夹中的所有操作都会执行，因为*Main Actions(主操作)*文件夹是选中的。然而，*Supplemental Actions(辅助操作)*文件夹中的操作不会被执行(尽管其中每个单独操作都是选定的)，因为*Supplemental Actions(辅助操作)*文件夹未被选定。

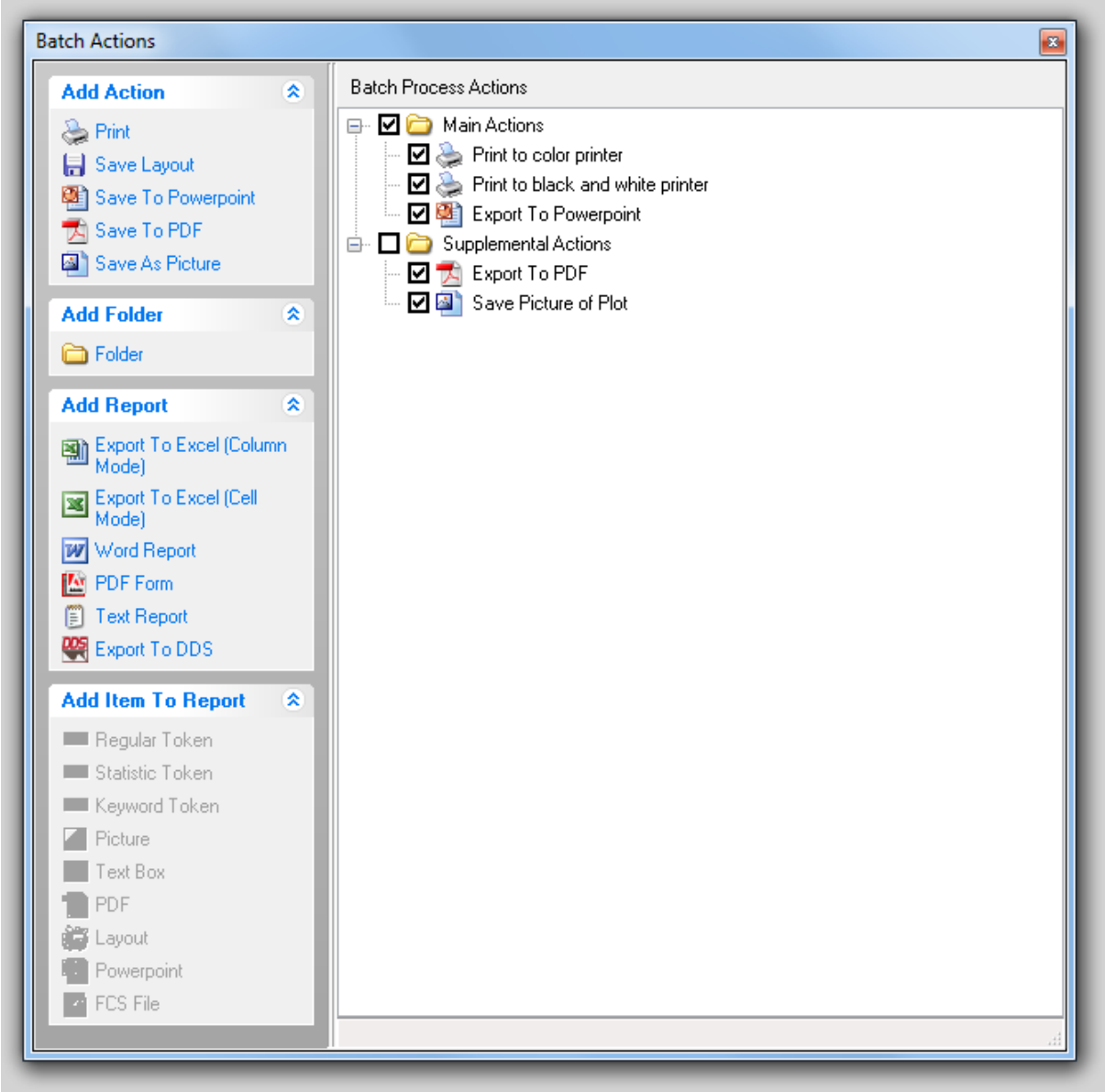


图 19.16 Folders (Action Containers) (**文件夹**(**操作容器**))

如果删除文件夹，那么它包含的所有操作也都会被删除。也可以像拖拽任何操作一样来拖拽文件夹，文件夹中包含的所有操作都会跟着移动。如果复制一个文件夹到剪切板，所有它包含的操作都会得到复制。

20.2.2 *批处理报表*

报表用来把项目(例如标记、图片)导出到Excel、Word或把这些项目作为文本/ PDF文件导出。所有报表均可包含标记，Word/ Excel报表还可包含图片。使用报表导出文件分两步:

1. 通过在**Batch Actions(批操作)**窗口选择**Add Report(添加报表)**，将报表类型添加到批操作列表中。
2. 将要导出的项目添加到恰当的报表进程中。

有六类报表类型可供选择:

- Excel - Column Mode(列模式)(支持文本)
- Excel - Cell Mode(单元格模式)(支持文本和图片)
- Word Report(Word报表)(支持文本和图片)
- PDF Form(PDF表格)(支持文本)
- Text Report(文本报表)(支持文本)
- DDS (*De Novo Data Services(De Novo数据服务)*)(支持标记、图片、PDF文件、PowerPoint幻灯片和数据文件)

可导出至报表的项目由报表类型决定。根据报表类型，可选的项目包括:

- 一般标记(所有可用标记，包括自定义标记)
- 统计标记
- 关键字标记
- 图片(版面上的绘图或版面中的整个一页，只可导出到Word、Excel- Cell Mode(单元格模式)和DDS报表中)
- 文本框(文本框中的文本(比如封装注释)可以导出到Excel工作表中的一列或其它位置)
- PDF
- 版面
- PowerPoint
- FCS File(FCS 文件)

Excel(单元格模式)报表的批处理操作请见图19.17。

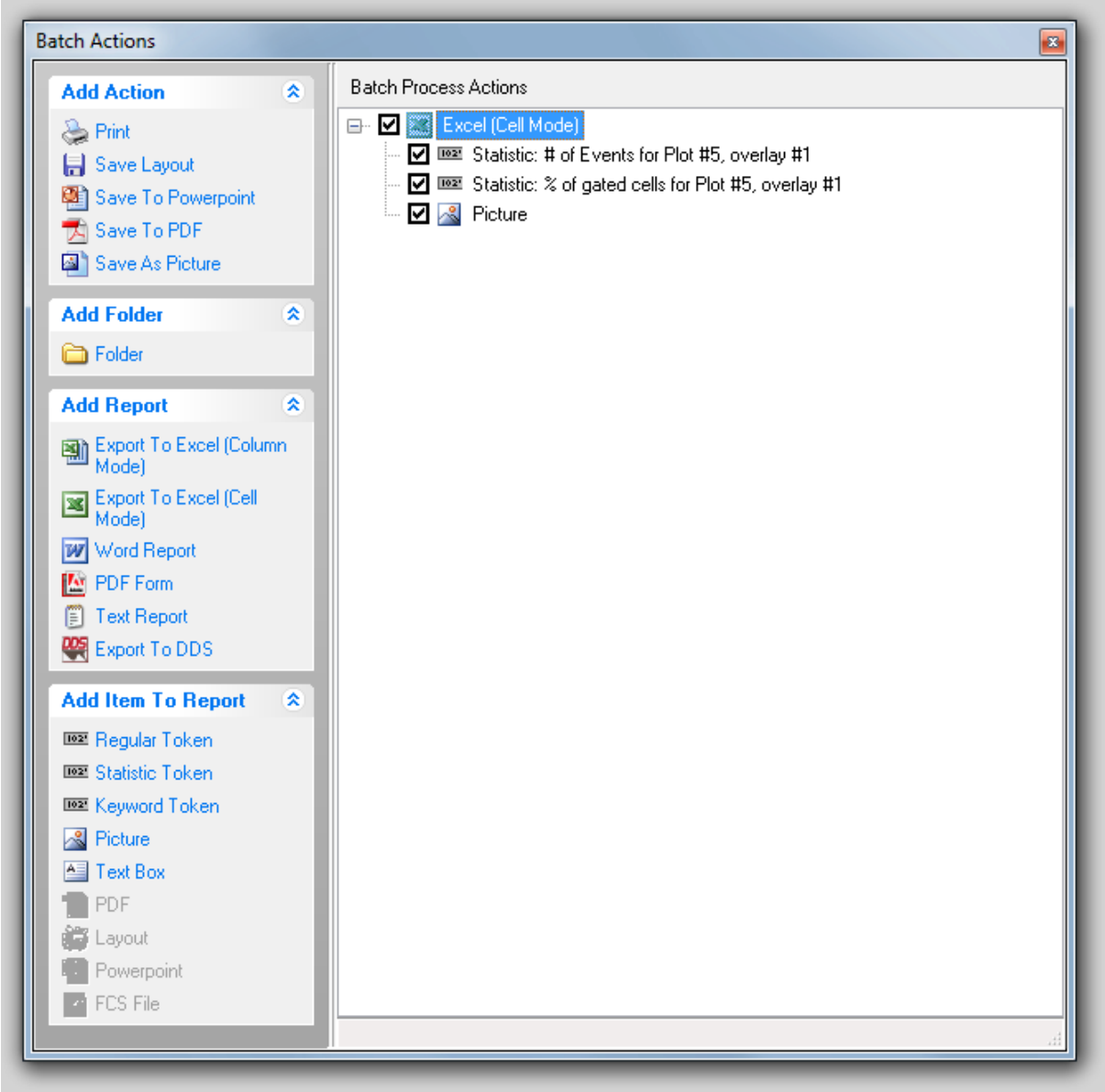


图19.17 Batch Process Actions for Excel Report (**用于**Excel**报表的批处理操作**)

该报表会在批处理的每一循环中导出两个统计计算和一个绘图图片。只有所选项目会被导出。

通过点选批处理操作前面的复选框，可决定是否在批处理中执行该操作。如果双击批处理操作(或右击然后从弹出菜单中选择**Properties(属性)**)，可以来到**Options(选项)**对话框的**Running Options(执行选项)**页来控制操作的活动状态(图19.18)。如果选择Set the **checkbox from the value of the expression below(根据以下表达式的值设置该复选框)**单选按钮，可以输入一个公式(使用一般或自定义标记)来控制操作。

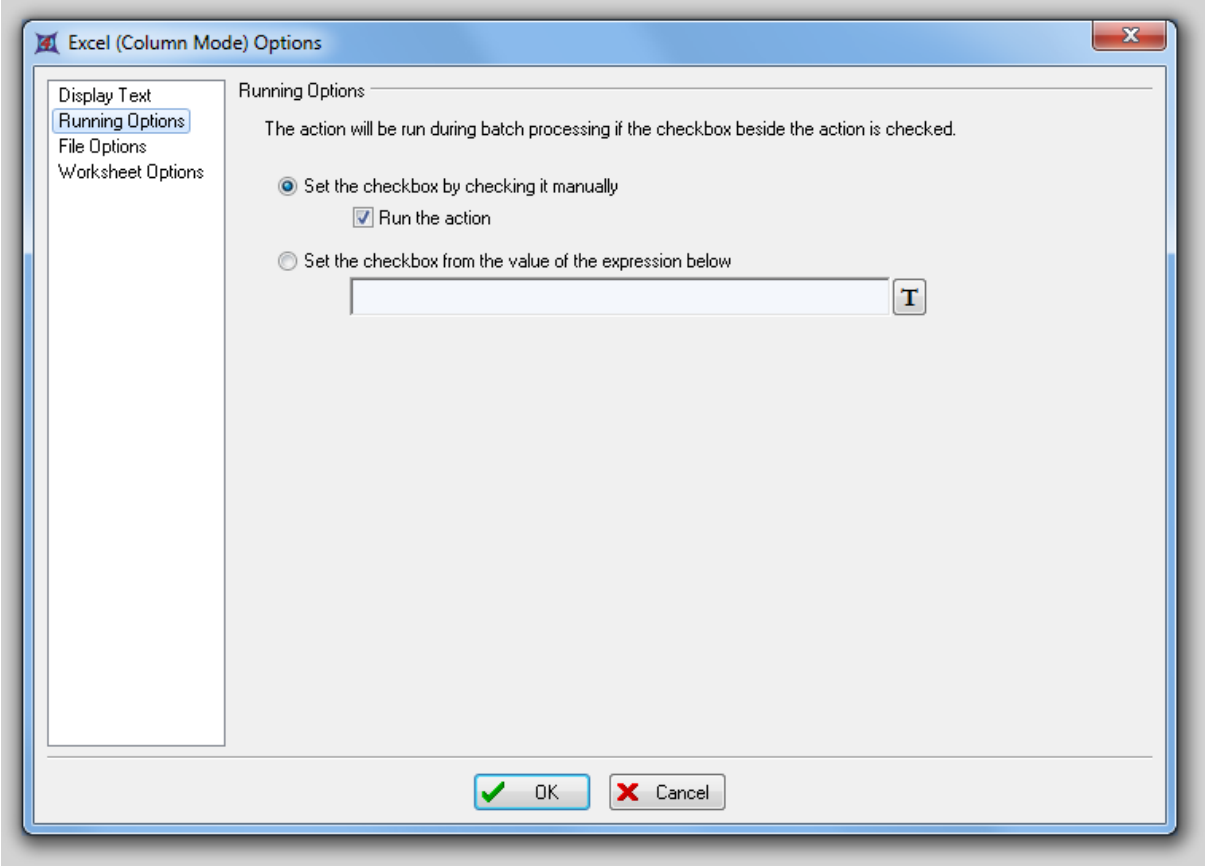


图19.18 Running Options (**运行选项**)

20.2.2.1 使用报表

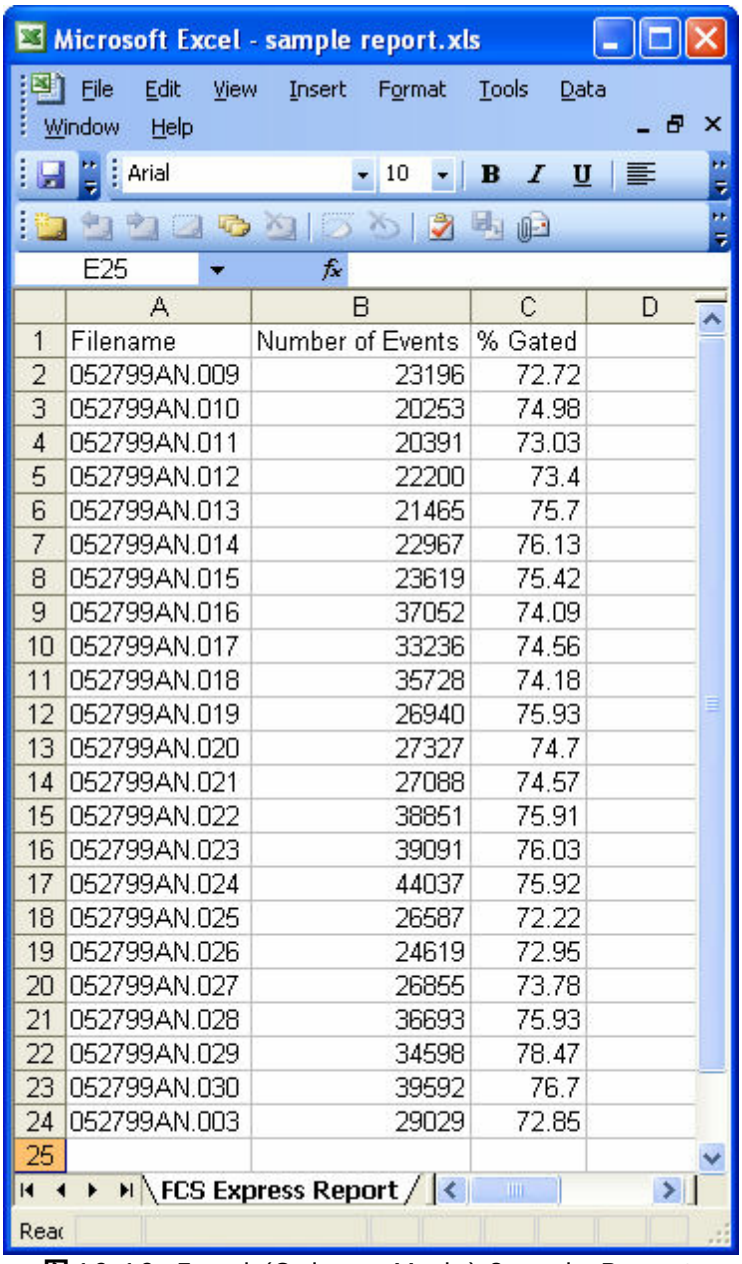
要创建新报表:

1. 使用**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)**命令。
2. 从**Batch Actions(批操作)**窗口的**Add Report(添加报表)**部分选择报表类型。这时会出现该报表类型的一个属性对话框。设置好属性后，报表会添加到Batch **Process Actions(批处理操作)**列表上。

用户可选用六种不同的报表类型:

- **Excel(Column Mode(列模式))**

  所有包含在该报表中的标记会写入一个微软Excel文件中。图片不能添加进该类报表中。每个标记会被记录到自己那列中。每一次循环所生成的该标记的值记录在同一列中的不同行中。Excel(列模式)报表输出结果实例请见图19.19。



	A	B	C	D
1	Filename	Number of Events	% Gated	
2	052799AN.009	23196	72.72	
3	052799AN.010	20253	74.98	
4	052799AN.011	20391	73.03	
5	052799AN.012	22200	73.4	
6	052799AN.013	21465	75.7	
7	052799AN.014	22967	76.13	
8	052799AN.015	23619	75.42	
9	052799AN.016	37052	74.09	
10	052799AN.017	33236	74.56	
11	052799AN.018	35728	74.18	
12	052799AN.019	26940	75.93	
13	052799AN.020	27327	74.7	
14	052799AN.021	27088	74.57	
15	052799AN.022	38851	75.91	
16	052799AN.023	39091	76.03	
17	052799AN.024	44037	75.92	
18	052799AN.025	26587	72.22	
19	052799AN.026	24619	72.95	
20	052799AN.027	26855	73.78	
21	052799AN.028	36693	75.93	
22	052799AN.029	34598	78.47	
23	052799AN.030	39592	76.7	
24	052799AN.003	29029	72.85	
25				

图 19.19 Excel (Column Mode) Sample Report
(Excel(**列模式**)**报表实例**)

Excel(Column Mode(列模式))Options(选项)对话框中**File Options(文件选项)**页(图19.20)有两部分:

- **Append Options(添加选项)**

  用这些单选按钮，可以选择**Start with an empty file(从空白文件开始)**或**Combine the output with the data in an existing file(把输出结果合并到已存在的文件中)**。如果合并到已有文件，FCS Express会将批处

理生成结果和在文本框中输入的Excel文件(.xls)中的数据进行合并。最后的输出结果(新循环数据加已有数据)会被写到另外一个工作表中。

- **Output file options(输出文件选项)**

  把数据合并到已有文件时，目标文件可以是一个新文件(.xls)或者是已存在的Excel工作表。

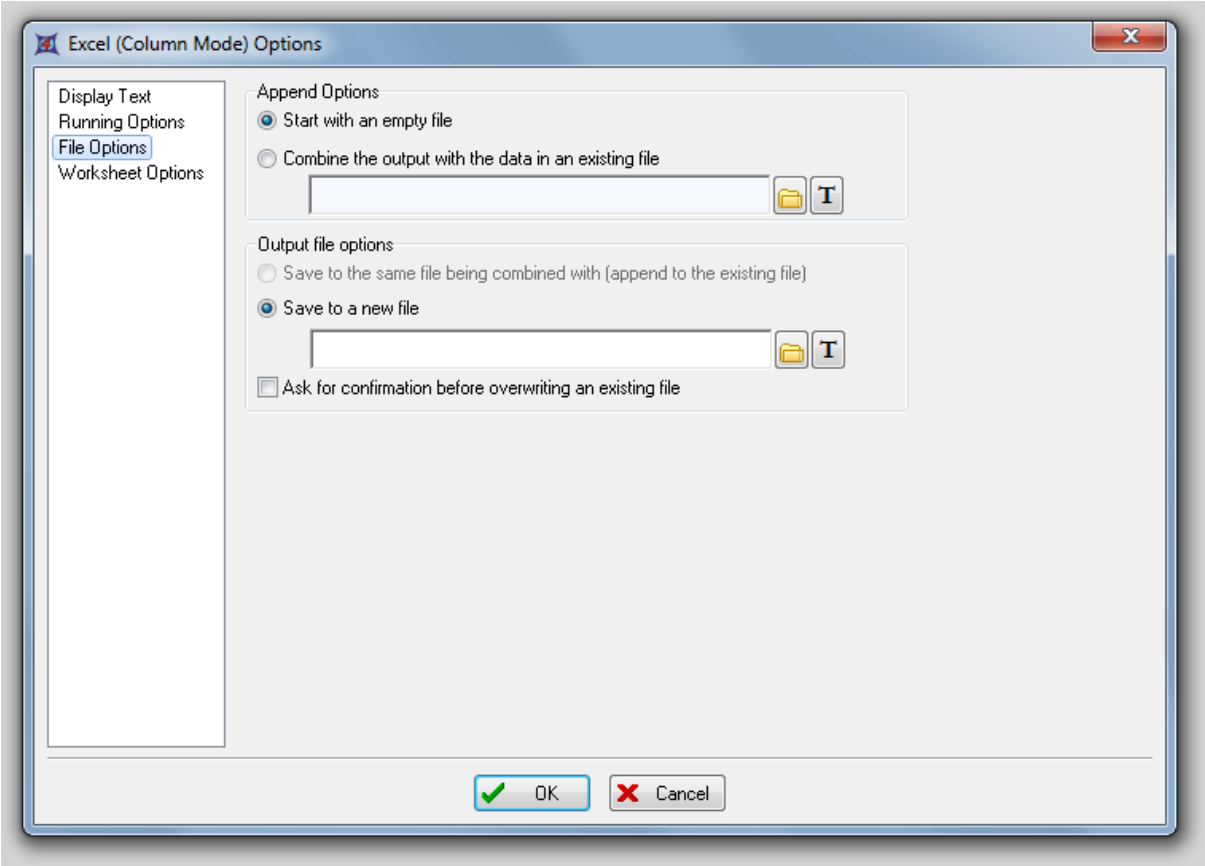


图19.20 Excel (Column Mode) File Options (Excel(**列模式**)**文件选项**)

Excel(Column Mode(列模式))Options(选项)对话框上的Worksheet Options **(工作表选项)**页允许用户为工作表命名(使用标记时该项为可选项)。用户可以使用**新的工作表**或**已有工作表**。如果使用一个已有的工作表，可以设置**Row(行)**、**Column(列)**(例如，从可用的第一行或第一列开始，或从某一特定行或列开始)和/ 或Header **Options(表头选项)**(图19.21)。

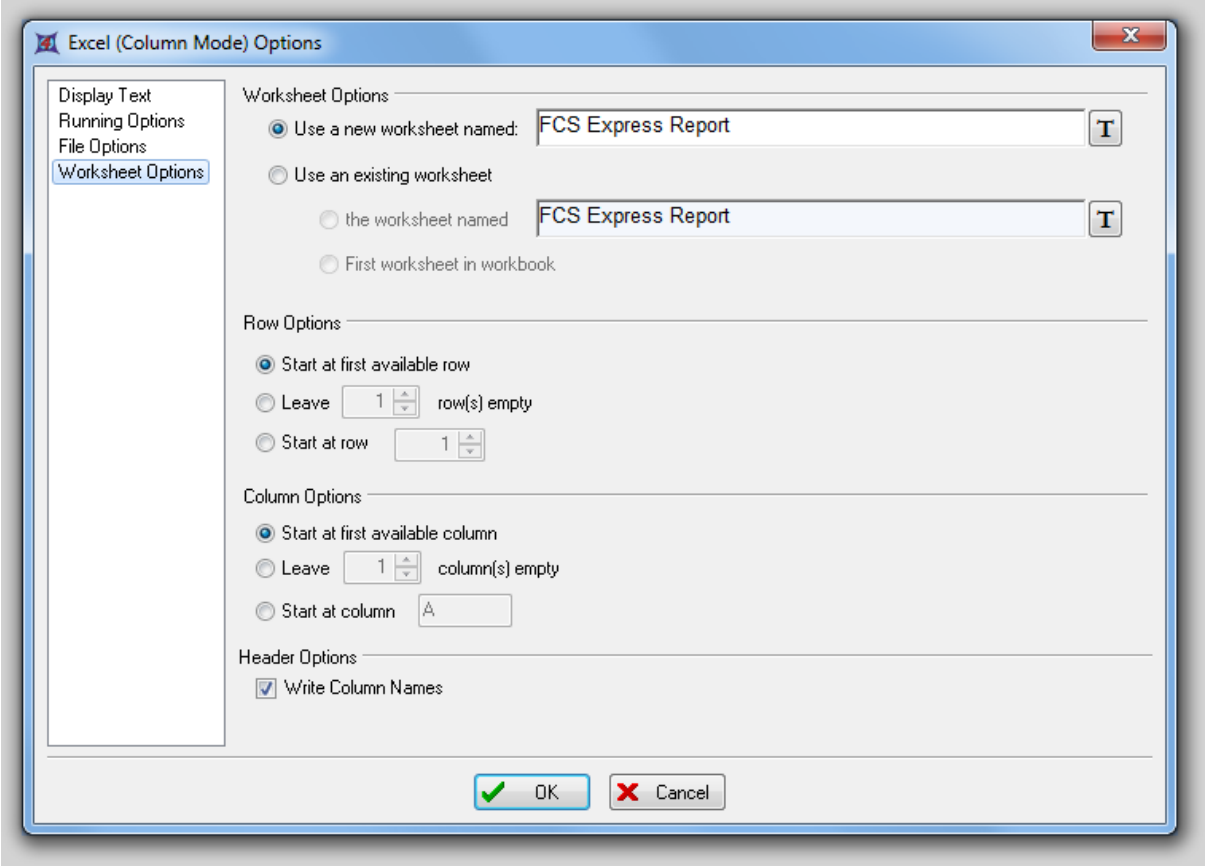
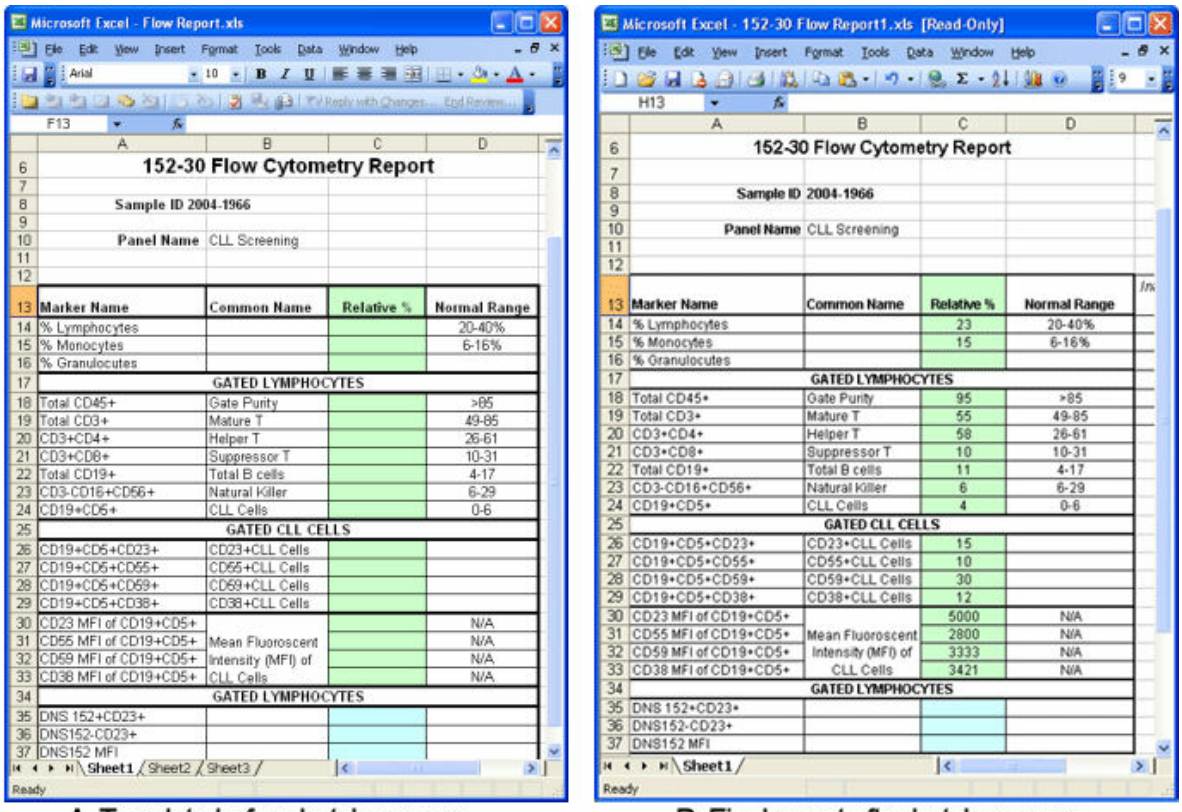


图 19.21 Worksheet Options (**工作表选项**)

- **Excel(Cell Mode(单元格模式))**

  Excel(Cell Mode(单元格))报表允许用户把数据合并到已有电子表格中。用户要选择一个包含标题、字体和颜色的Template Document(模板文档)(电子表格)，然后为某个输出项目(包括图片)设置单元格目标地址。例子见图19.22。



Microsoft Excel - Flow Report.xls

	A	B	C	D
6	152-30 Flow Cytometry Report			
7				
8	Sample ID 2004-1966			
9				
10	Panel Name	CLL Screening		
11				
12				
13	Marker Name	Common Name	Relative %	Normal Range
14	% Lymphocytes			20-40%
15	% Monocytes			6-16%
16	% Granulocutes			
17	GATED LYMPHOCYTES			
18	Total CD45+	Gate Purity		>85
19	Total CD3+	Mature T		49-85
20	CD3+CD4+	Helper T		26-61
21	CD3+CD8+	Suppressor T		10-31
22	Total CD19+	Total B cells		4-17
23	CD3-CD16+CD56+	Natural Killer		6-29
24	CD19+CD5+	CLL Cells		0-6
25	GATED CLL CELLS			
26	CD19+CD5+CD23+	CD23+CLL Cells		
27	CD19+CD5+CD55+	CD55+CLL Cells		
28	CD19+CD5+CD59+	CD59+CLL Cells		
29	CD19+CD5+CD38+	CD38+CLL Cells		
30	CD23 MFI of CD19+CD5+			N/A
31	CD55 MFI of CD19+CD5+	Mean Fluoroscent		N/A
32	CD59 MFI of CD19+CD5+	Intensity (MFI) of		N/A
33	CD38 MFI of CD19+CD5+	CLL Cells		N/A
34	GATED LYMPHOCYTES			
35	DNS 152+CD23+			
36	DNS152-CD23+			
37	DNS152 MFI			

Sheet1 / Sheet2 / Sheet3

Ready

A. Template before batch process

Microsoft Excel - 152-30 Flow Report1.xls [Read-Only]

	A	B	C	D
6	152-30 Flow Cytometry Report			
7				
8	Sample ID 2004-1966			
9				
10	Panel Name	CLL Screening		
11				
12				
13	Marker Name	Common Name	Relative %	Normal Range
14	% Lymphocytes		23	20-40%
15	% Monocytes		15	6-16%
16	% Granulocutes			
17	GATED LYMPHOCYTES			
18	Total CD45+	Gate Purity	95	>85
19	Total CD3+	Mature T	55	49-85
20	CD3+CD4+	Helper T	58	26-61
21	CD3+CD8+	Suppressor T	10	10-31
22	Total CD19+	Total B cells	11	4-17
23	CD3-CD16+CD56+	Natural Killer	6	6-29
24	CD19+CD5+	CLL Cells	4	0-6
25	GATED CLL CELLS			
26	CD19+CD5+CD23+	CD23+CLL Cells	15	
27	CD19+CD5+CD55+	CD55+CLL Cells	10	
28	CD19+CD5+CD59+	CD59+CLL Cells	30	
29	CD19+CD5+CD38+	CD38+CLL Cells	12	
30	CD23 MFI of CD19+CD5+		5000	N/A
31	CD55 MFI of CD19+CD5+	Mean Fluoroscent	2800	N/A
32	CD59 MFI of CD19+CD5+	Intensity (MFI) of	3333	N/A
33	CD38 MFI of CD19+CD5+	CLL Cells	3421	N/A
34	GATED LYMPHOCYTES			
35	DNS 152+CD23+			
36	DNS152-CD23+			
37	DNS152 MFI			

Sheet1

Ready

B. Final report after batch process

图 19.22 An Example Excel (Cell Mode) Report (Excel(**单元格模式**)**报表实例**)

Excel(Cell Mode(单元格模式))Options(选项)对话框上(图19.23)的File **Options(文件选项)**页有四个部分:

- **Template Document(模板文档)**

  输入预先格式化好的Excel工作表的文件名(和路径)。工作表中的第一个电子表格会被用作模板。

- **Iteration options(循环选项)**

  把批处理中的每一轮次的循环结果输出到各自的文件中(默认选项),或者,把所有轮次的循环结果都输出合并为一个文件。在后一种情况下,每一循环被记录到同一工作表中的不同电子表格中。

- **Append Options(添加选项)**和**Output file options(输出文件选项)**和前面列模式中提到的含义相同。

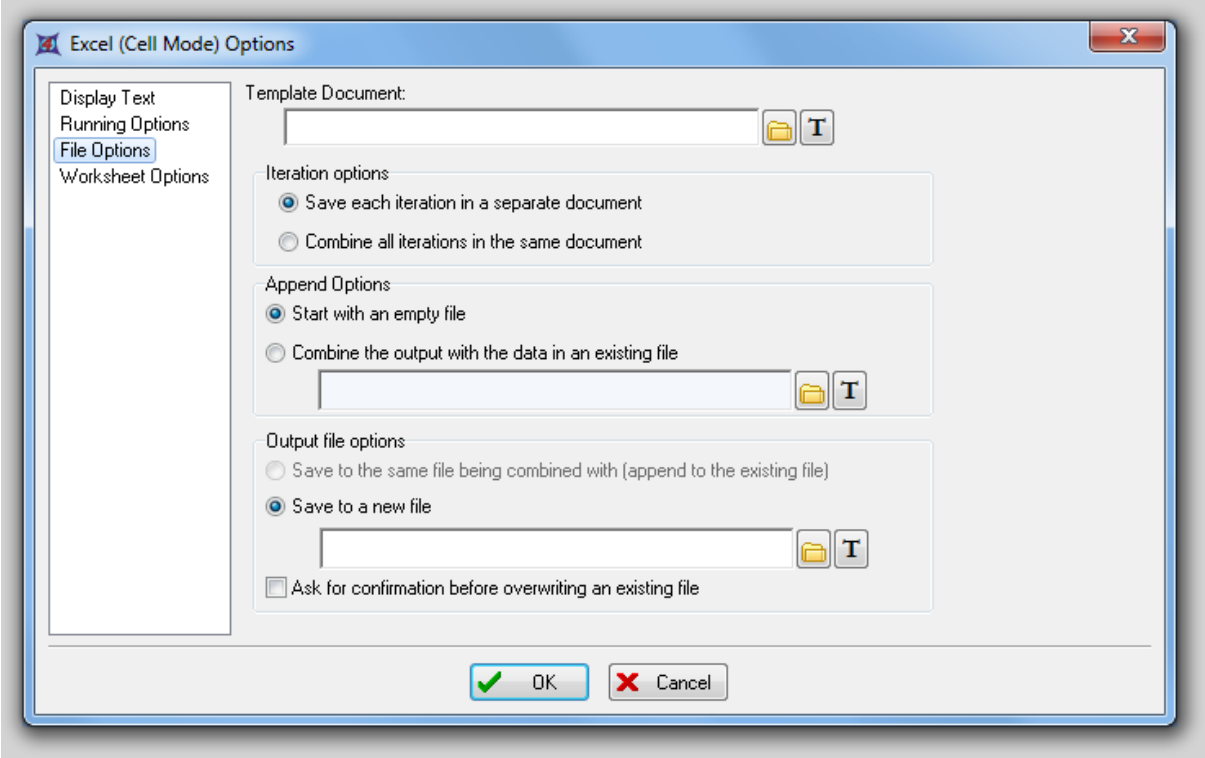


图 19.23 Excel (Cell Mode) File Options (Excel(**单元格模式**)**文件选项**)

- **Word Report(Word报表)**

  用该报表类型可创建和图19.24相似的Word文档。Word模板文档包含所有文件头信息和文本格式。结合批处理输出结果，用户可以创建专业优质的报表。所有Word报表中的标记，包括图片，会在每一批处理循环中，通过Word的邮件合并功能写入微软Word文件中。当为所有标记设置好Field Name(字段名)362后，标记值会合并到Word Merge Field(Word合并字段)中。设置带有邮件合并字段的Word报表的细节将在创建报表模板361一节介绍。

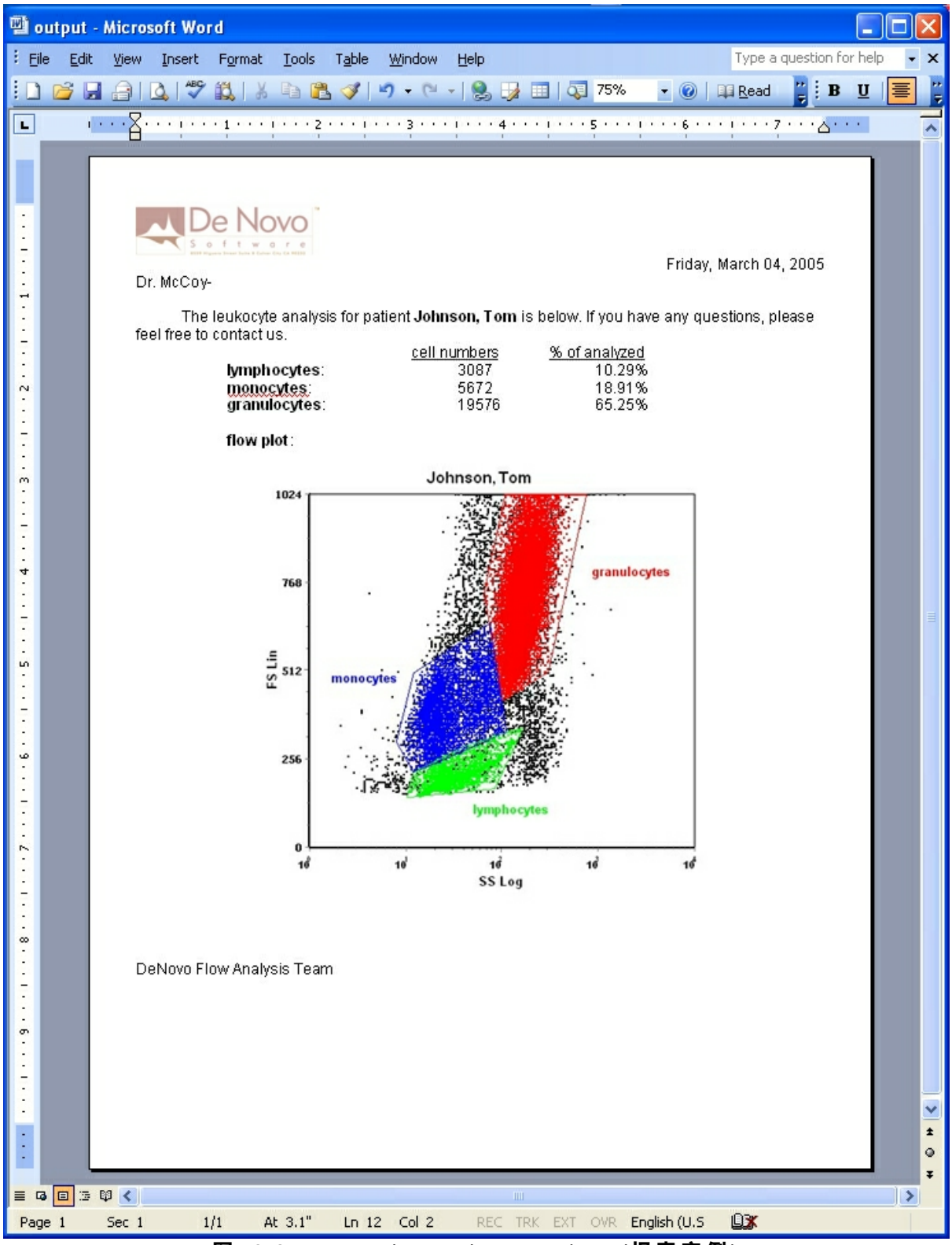


图19.24 Example Word Report (Word报表实例)

Word Report Options(Word报表选项)对话框的**File Options(文件选项)**页有四个选项与在Excel(Cell Mode(单元格))报表中描述过的选项类似:

- **Template Document(模板文档)**

  输入预先格式化好的Word文档的文件名(和路径)。

- **Iteration options(循环选项)**

  输出每一批循环结果到一个单独的文件(默认选项),或将所有批处理循环的结果输出合并为一个文件。

- **Append Options(添加选项)**和**Output file options(输出文件选项)**和前面列模式中提到的含义相同。

- **PDF Form Report(PDF表格报表)**

  除了直接导出用户版面到标准的PDF文件[61]外,FCS Express也可以把用户数据合并到PDF表格文件。PDF表格是特殊的PDF文件,它们允许用户在特定字段输入信息。FCS Express会导出报表中包含的所有标记到PDF文件中的特定字段。当所有标记都设置了一个Field Name(字段名)后[362],标记值会放置在预先格式化好的PDF文档中的指定字段。

  Export to PDF Options(导出到PDF选项)对话框的**File Options(文件选项)**页有四个部分与在Excel(Cell Mode(单元格))报表中描述过的类似:

  - **Template Document(模板文档)**

    输入预先格式化好的PDF模板文档的文件名(和路径)。

  - **Iteration options(循环选项)**

    输出每一轮循环到一个单独的文件(默认选项),或将所有批处理循环输出结果合并为一个文件。在后一种情况下,每一轮循环的输出结果都会被记录到PDF文档中新的一页上。

  - **Append Options(添加选项)**和**Output file options(输出文件选项)**和前面列模式中提到的含义相同。

- **Text Report(文本报表)**

  文本报表中的所有标记都会写到一个文本文件中,一列列隔开,由逗号分隔。文本文件的第一行包括每个导出文件的列标题。每一循环创建一行输出值。注:图片不能导出到这类报表。

Text File Report Options(文本文件报表选项)对话框的**File Options(文件选项)**页，和前面描述过的Excel(Column Mode(列模式))格式类似，它有两个部分:

- **Append Options(添加选项)**

  用这些单选按钮，可以选择**Start with an empty file(从空白文件开始)**或**Combine the output with the data in an existing file(把输出结果和已存在文件中的数据合并)**。如果合并到已有文件，FCS Express会将批处理生成结果和在文本框中输入的文本文件(.txt)中的数据合并。最后的输出结果(新循环加已有数据)会写到一个新的文本文件中。

- **Output file options(输出文件选项)**

  把数据合并到已有文件时，目标文件可以是新文件(.txt)或者已存在的文本文件。

- **DDS Report(DDS报表)**

  De Novo Software Data Services(De Novo Software数据服务，DDS)是一个简单易用的在线数据库，允许用户存储实验结果。数据通过导出到DDS批处理报表而被放置在DDS中。用DDS集成设置好版面后，只需使用批处理功能来运行用户数据，它们便被自动送到DDS。参见网页http://www.denovosoftware.com/site/dataservices.shtml来获取更多这方面的信息。

  Export to DDS Options(导出到DDS选项)对话框(图19.25)的DDS页用来输入用户名、密码和实验名称，并选择是否上传到De Novo Software DDS服务器(或一个**Alternate URL(其它的URL地址)**).

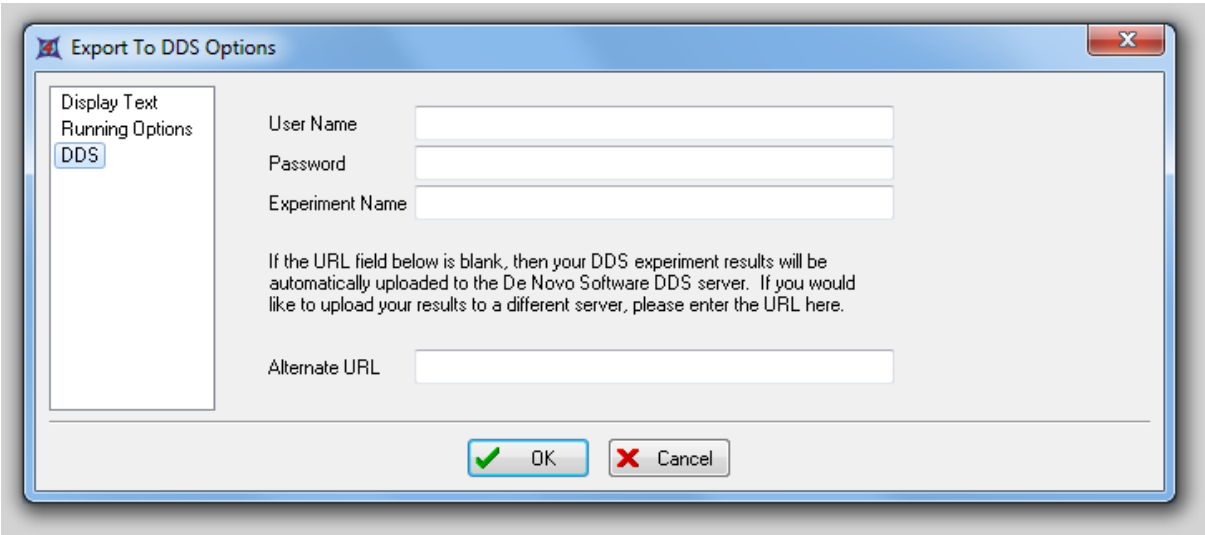


图19.25 Export to DDS Options (**导出至**DDS**选项**)

20.2.2.2 创建报表模板

用户可以创建针对Excel(Cell Mode(单元格模式))报表、PDF和Word报表的模板。

- *创建Excel模板*

  Excel模板指Excel电子表格。可以使用电子表格中任何Excel功能作为模板。只要在用户希望FCS Express添加数据或图片的地方留下空白单元格即可。然后在要导出的项目的选项对话框里的**Field(字段)**页上，把这些单元格输入到**Cell Address(单元格地址)**中。

- *创建PDF表格模板*

  当创建PDF模板时，PDF文件必须包括文本字段(这些字段必须有独特的名称)，FCS Express会把用户版面中的数据放在这些字段中。包含文本字段的PDF文件可由多种PDF创建程序，例如Adobe Acrobat®，生成。请参考用户自己的PDF创建程序来查看如何创建有文本字段的PDF文件。

- *创建Word模板*

  要创建Word报表，用户必须使用Word的邮件合并功能。这里简单解释一下如何创建邮件合并模板。更详细的信息，请参见用户自己版本的微软Word®所带的参考文件。

  创建Word报表模板时，必须把 *字段*键入Word文档，FCS Express会在批处理时把版面中的导出数据放置其中。在导出项目选项对话框的**Field(字段)**上，把这些数据字段作为**Mail Merge field name(邮件合并字段名称)**键入。

  请查看您的Word版本的帮助文件，来获得创建带有邮件合并字段的Word文档的详细信息。

20.2.2.3 向报表中添加项目

这里的*项目*指的是从FCS Express导出到报表中的数据。报表通常包含多个项目。当把一个项目添加到报表中时，它会被添加到该报表中项目列表的底部。要查看一份报表中包含的所有项目，点击报表名左边的+来展开报表。通过选择报表中的项目，把它们拖拽到新的位置，用户可以重新组织这些项目在报表中的顺序 365。也可以从一个报表中把项目拖拽到另一个报表中。

因为项目只能被直接添加到报表中，所有用户必须先把报表添加到Batch Process **Actions(批处理操作)**列表中，再添加项目到报表中。有两种把项目添加到报表中的方式:

- 从Text Box(文本框)或Statistics(统计)窗口添加项目。

  如果用户的版面含有打开的统计窗口，或含有带有标记的文本框，用户可添加全部或部分这些选项到存在的报表中。操作步骤如下:

  1. 使用 **Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)** 打开Batch Actions(批操作)窗口。
  2. 要确保在**Batch Process Actions(批处理操作)**列表上有一个报表。

3. 将Batch Actions(批操作)窗口停靠(或把它放在一个地方使你可以看到版面上的统计窗口或文本框)。
4. 要添加统计，选择统计表格中的单元格，然后将它们拖拽到Batch Process **Actions(批处理操作)**区的报表上。报表被高亮显示后，放开鼠标键。
5. 要添加文本框中的标记，请选择一个或多个标记，然后把它们拖拽到Batch **Process Actions(批处理操作)**区的报表上。报表被高亮显示后，放开鼠标键。

- 从Add Item to Report(添加项目到报表)列表上添加项目。

用户打开**Batch Actions(批操作)**窗口时，**Add Item to Report(添加项目到报表)**部分是不可用的。把报表添加到Batch Process Actions(批处理操作)列表上后，和该报表类型相应的项目就会变成可用。要把一个项目添加到报表中:

1. 使用 **Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)**命名来打开Batch Actions(批操作)窗口。
2. 点击将要包含该项目的报表。
3. 点击**Add Item to Report(添加项目到报表)**里的一个可用的项目。
4. 项目添加到报表中后，用户将需要配置该项目和"报表相关"的属性 362。该属性告诉FCS Express在最后的报表中何处插入该项目。

20.2.2.4 为插入报表中的项目设置与特定报表相关的属性

当把项目插入到报表中时，用户需要设置和特定报表相关的属性，来指示FCS Express把项目插入到最后报表的什么地方。该属性根据报表类型而有差异。通常可在报表项目选项对话框的**Field(字段)**页可找到该属性。例如，当从**Batch Actions(批操作)**窗口上的Add **Item to Report(添加项目到报表)**部分添加一个**Regular Token(一般标记)**时，在选中标记后，一个对话框会打开到**Field(字段)**页，相应属性可在相应文本字段中输入。也可在**Batch Process Actions(批处理操作)**列表上右键点击某一项目，然后从弹出菜单中选择**Properties(属性)**来找到**Field(字段)**页面。

- *Excel(Column Mode(列模式))和文本报表*

对于Excel(Column Mode(列模式))和文本报表，报表特定的属性是通过使用Column **Name(列名称)**来设置的(图19.26)。请在编辑字段中输入**Column Name(列名称)**。

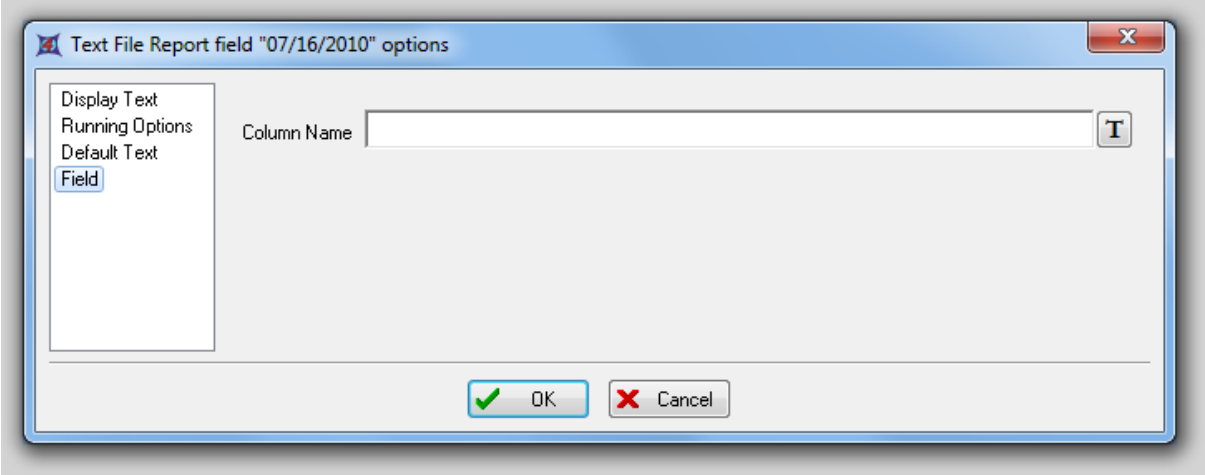


图 19.26 Column Name Property (**列名称属性**)

Column Name(列名称)指定出现在报表中包含用户数据那一列的顶端数据网格里的文本。比如，如果导出的标记显示绘图中事件的数目，一个可用的列名称可以是*Number of Events(事件数)*。默认的列名称总是用户版面中项目的名称。

- *Excel(Cell Mode(单元格模式))*

  针对Excel(Cell Mode(单元格模式))报表特定的属性在**Cell Address(单元格地址)**字段设定。单元格地址指定要写入数据的Excel单元格。

- *Word*

  Word报表的特定属性在**Mail Merge field name(邮件合并字段名)**中设置，该名称告诉用户Word模板中邮件合并字段361在何处放置版面项目。字段名称必须完全匹配在Word文档的名称。

- *PDF表格*

  对于PDF报表，具体的属性设置通过编辑**Field Name(字段名称)**来完成。该设置告诉用户PDF模板中文本字段361版面项目将被放置在何处。字段名称必须符合PDF中相应的字段。

20.2.2.5 在报表中添加图片

文本框、绘图或页面可作为图片导出到Excel(Cell Mode(单元格模式))、Word或DDS报表中。要向一个报表中添加图片:

1. 点击批操作窗口中添加报表部分相应的报表类型349。
2. 选中相应的报表类型，然后点击**Batch Actions(批操作)**窗口中Add Item to **Report(在报表中添加项目)**部分的**Picture(图片)**。

- *Excel(Cell Mode(单元格模式))*

  Excel(Cell Mode(单元格模式))"Picture(图片)"字段选项对话框的**Picture(图**

片)页会跳出(图19.27)。该页有两部分:

- **Picture output options(图片输出选项)**

  选择文件格式和分辨率346。注: JPEG图片质量直接和图片大小相关;高质量图片压缩程度小、占用空间大。

- **Get the picture from(从...获得图片)**

  选择是从版面导出一个对象(绘图或文本框)还是导出整个页面。

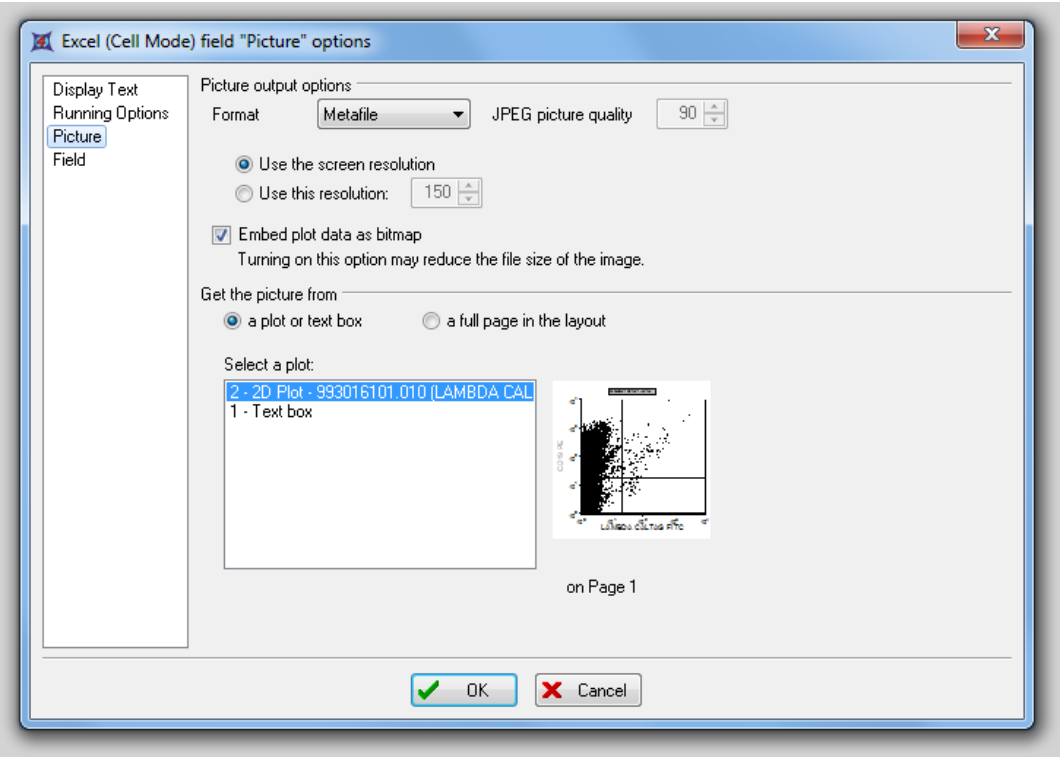


图19.27 Excell (Cell Mode) Picture Options (Excel(**单元格模式**)**图片选项**)

- *Word*

  Word Report field "Picture" options(Word报表"图片"字段选项)对话框上的**Picture(图片)**页和Excel(Cell Mode(单元格模式))对话框中的描述类似。

  Word Report field "Picture" options(Word报表"图片"字段选项)对话框里**Field(字段)**页上的Mail Merge field Name(邮件合并字段名)字段用来指明在Word模板中的什么位置插入图片。指定的字段的名称必须完全匹配Word模板文件中的相应字段。参见报表特定选项一章362来了解关于字段名属性的描述。

- *DDS*

Export to DDS field "Picture" options(导出至DDS"图片"字段选项)对话框里**Picture(图片)**页和前面描述的Excel(Cell Mode(单元格模式))对话框类似。登录http://www.denovosoftware.com/site/dataservices.shtml来获取关于De Novo Software Data Services(De Novo Software数据服务)选项的详细信息和使用该服务的教程。

20.2.2.6 在报表中改变对象顺序和复制对象

在Excel(Column Mode(列模式))和文本文件报表中，**Batch Actions(批操作)**列表上对象的顺序很重要，因为数据会依据报表中列出的顺序把它们写入报表列中。

要在报表中改变对象(例如标记)的位置，点击该对象，将其拖拽到列表上的另一个位置。在拖拽该对象越过其它对象时，会看到一条蓝线出现在其它对象上方(图19.28)。松开鼠标键，将对象放置在蓝线标志的位置。如果想要把对象放置到列表的末端，将其拖到列表顶端的报表名上即可。可以选中多个对象，一起来拖拽它们。

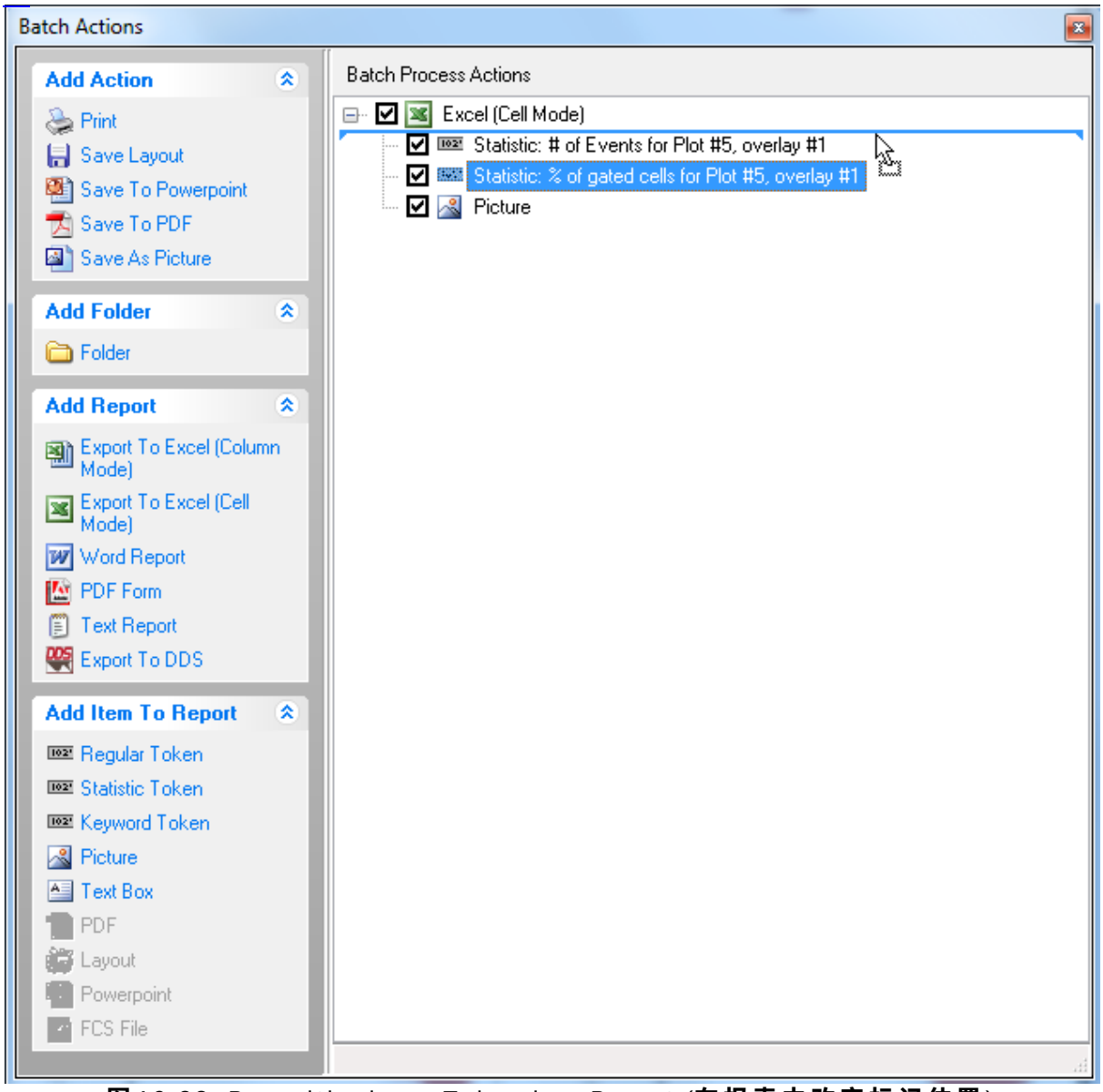


图 19.28 Repositioning a Token in a Report (**在报表中改变标记位置**)

要将对象放入新报表中，直接从当前报表将其拖拽到另一报表即可。该操作把该对象从当前报表中删除，而后将其添加至新报表的底部。另外一种方法是，右键点击对象，然后从弹出菜单选中**Cut BP Actions(剪切BP操作)**。点击目的地报表，右键点击，然后从弹出菜单选中**Paste BP Actions(粘贴BP操作)**。

要把对象复制到新报表中，点击将其选中，然后右键点击它，从弹出菜单中选择Copy BP **Actions(复制BP操作)**。点击目的地报表，右键点击它，然后从弹出菜单选中Paste BP **Actions(粘贴BP操作)**。或者，在将对象从一个报表拖到另一报表过程中，按下Ctrl键来进行复制。

*注：从一个报表移走或复制一个对象到另外一个报表后，请确保接收报表的报表特定属性*362

设置正确。尽管FCS Express会尝试设置新属性，但程序不可能保证每次的设置都正确。例如，FCS Express无法确定用新报表中的哪个单元格来插入新标记。

20.3 批处理选项

用户可以在运行批处理时控制循环的进行。要设置批处理选项，请使用**Batch(批)→**Batch **Processing(批处理)→Options(选项)**命令调出**Batch Processing Options(批处理选项)**对话框(图19.29)。

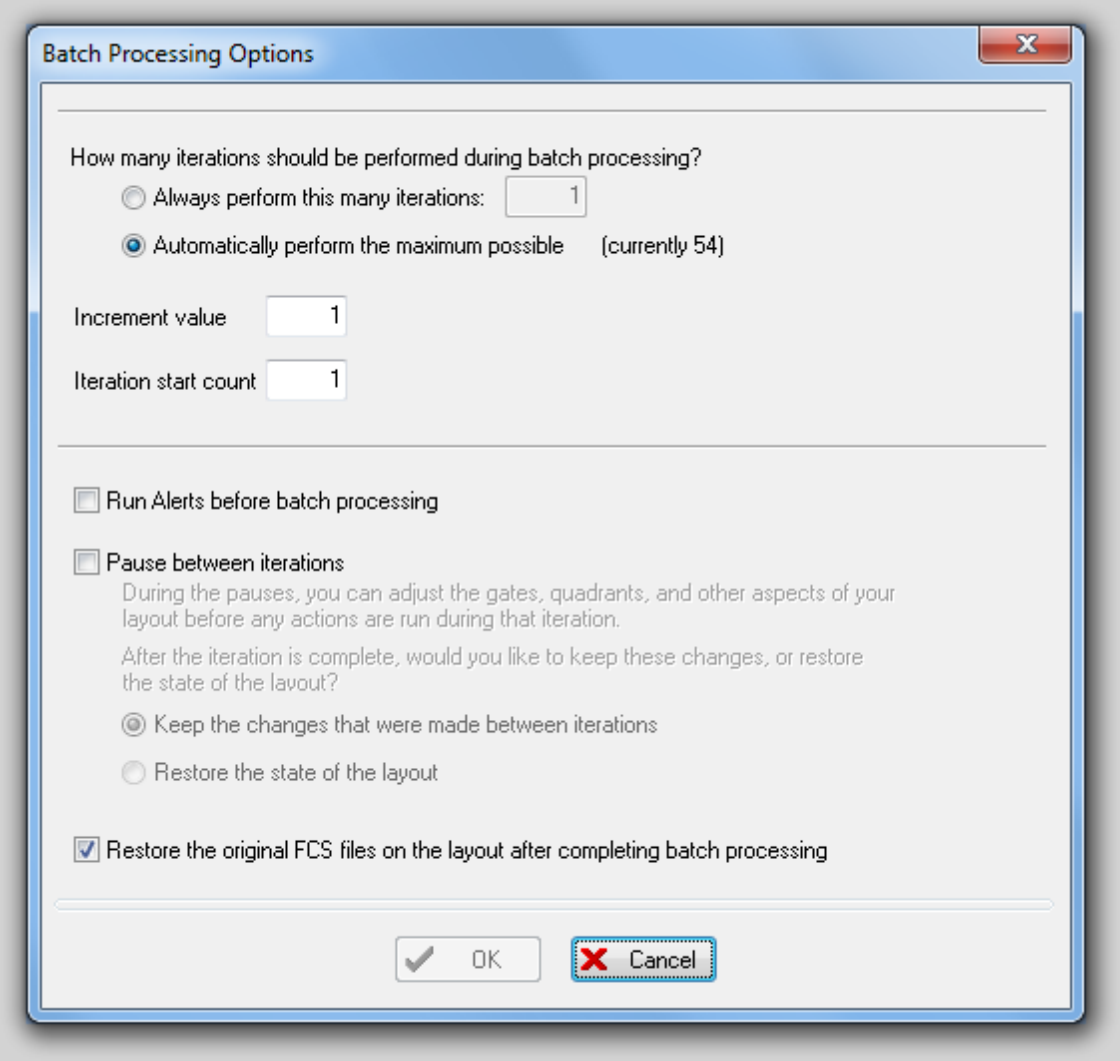


图19.29 Batch Processing Options Dialog (**批处理选项对话框**)

可设置的选项如下:

- How many iterations should be performed during batch **processing?(批处理过程中应执行多少次循环？)**

指定批处理要执行的循环次数。一般来说，用户会希望拥有数据列表里数据组数目允许的最大循环次数。如果选择Automatically perform the maximum **possible(自动执行的最大可能)**，FCS Express将根据数据列表里的数据组数、版面上文件的位置和步进值决定循环的数目。可以通过选择Always perform this **many iterations(始终执行这么多次循环)**，并在文本字段输入一值来取代该选项。

- **Increment value(步进值)**

  步进值是批处理每个循环结束后要步进的数据组数。步进值为1意味着移动到下一个数据组。步进值为2意味着跳过下一个数据集，使用第三个数据集。例如，如果步进值是1，并且一个打开的绘图包含数据列表里第一个FCS文件，第一次循环之后，打开的绘图将会包括数据列表里的第二个FCS文件。如果步进值是2，那么第一次循环之后，该绘图会包含第三个FCS文件，第二次循环后将包含第五个数据文件。如果应用了一个面板372，批处理步进值会被忽略，会用面板上的循环值来操作数据。

- **Iteration start count(循环开始计数)**

  循环开始计数是当前循环标记(通常在动态文件名中使用)的初始值。参见保存版面- 文件选项中关于批量生成文件的描述339来获取关于当前循环标记的更多信息。默认值是1。在随后循环中生成的所有文件名会自动加1。

- **Run alerts before batch processing(批处理前运行警告)**

  如果这个属性被选中，用户已设置的任何警告将会在批处理启动前运行。如果触发任何警告，可以选择中止或者继续批处理。

- **Pause between iterations(循环间的暂停)**

  如果这个属性被激活，系统将在每次循环开始时的批处理运行过程窗口中368提示用户单击**Continue(继续)**按钮。此设置允许您在下一循环前对门和象限做必要的调整。如果这个属性不被选中，批处理会不受干扰地运行。使用这些单选按钮，可以选择为下一循环**Keep the changes that were made between iterations(保存循环间所做的更改)**或**Restore the state of the layout(恢复到版面的状态)**。

- **批处理完成后，还原版面上原始的FCS文件。**

  当此属性被选中，版面中的所有对象在批处理结束后都将显示原始的数据集。如果未选该选项，批处理结束时，数据列表和相应的对象将指向最后一个数据集。

点击OK来保存所做设置。

20.4 运行批处理

在设定号所有批操作、批处理选项，并确认所有在批处理中包含的文件都在数据列表中后，就可以运行批处理了。运行批处理会执行所有操作，包括打印、保存和报表操作。

要运行批处理，请使用**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Run(运行)**命令。

批处理在运行过程中，将出现一个进度窗口，显示已完成多少循环，还剩下多少循环。如果选择在循环中间暂停，进度窗口会有一个**Continue(继续)**按钮，允许用户在继续前调整针对当前循环的分析。

如果批处理因任何原因中止，FCS Express将保存中止前的所有报表。

第 21 章

21 使用面板

在一个典型的实验中，用户常常使用不同的试样或条件，多次重复一套染色方法。一套染色方法被称为一个**Panel(面板)**。可以指定在面板上的试管数目，以及各试管的名称。一旦指定了一个活动面板，并添加文件到数据列表327，FCS Express会自动判断哪些数据文件对应于面板上的哪个试管。可以从**Data List(数据列表)**上修改这种关联。通过活动面板，当从Data **List(数据列表)**创建绘图时，绘图会知道显示的是哪个试管的数据。当修改**Data List(数据列表)**时，绘图会更新和试管相关的数据。

可使用**Batch(批)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令或点击版面底部的面板状态条键(带有试管图标)来打开**Panel Information(面板信息)**对话框，可在该对话框上添加、删除、编辑、保存或导入面板。

21.1 使用面板

使用面板最主要的好处是允许用户仅仅通过修改**Data List(数据列表)**来修改版面上的数据。例如，在第1天用户使用FCS Express来分析试管，为每个试管创建了绘图。第2天，用户需要在第1天用过的绘图上加载新数据。一旦正确设置**Panel(面板)**和**Data List(数据列表)**后，第1天创建的绘图修改之后便可显示第2天的数据，方法是仅仅把第2天的数据导入Data **List(数据列表)**。

以下例子来引导用户创建一个**Panel(面板)**并且充分利用**Data List(数据列表)**。

1. 选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令。会出现**Panel Information(面板信息)**对话框，如图20.1所示。

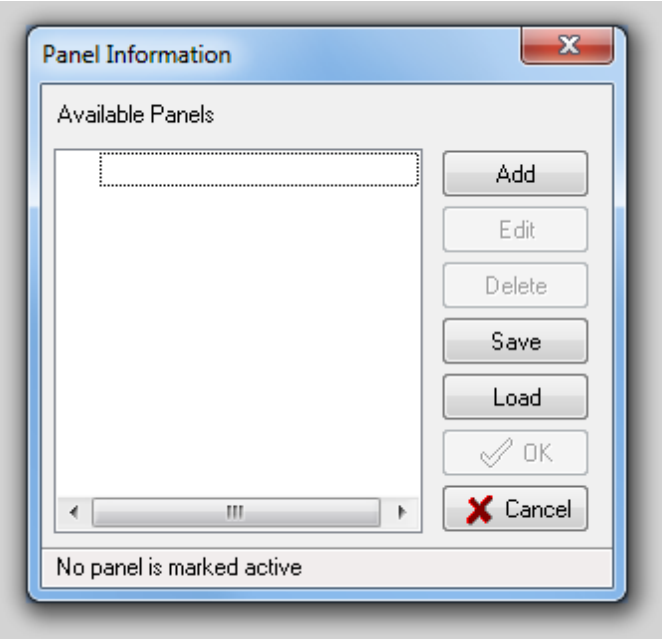


图20.1 Panel Information Dialog (面板信息对话框)

2. 点击**Add(添加)**按钮来创建一空白面板。该操作会调出Add Panel(添加面板)对话框(图20.2)。

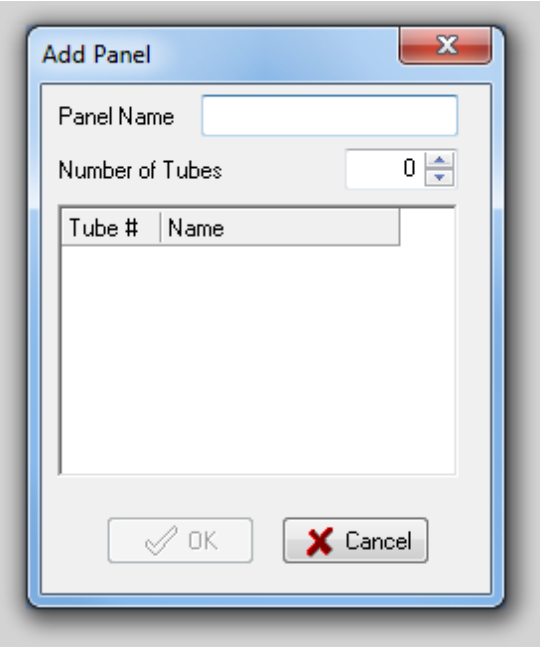


图20.2 Add Panel Window (**添加面板窗口**)

3. 在**Panel Name(面板名称)**字段输入一个名称，点击**Number of Tubes(试管数目)**右边的箭头来选择面板上试管数。每添加一个试管，表格中就会出现一行空白行。

4. 给每个试管起一个名称，输入到名称列里。

5. 完成设置面板后，点击OK。这时用户会回到**Panel Information(面板信息)**对话框，在这里可以查看新创建的面板。面板信息会和面板一起保存。也可以把该面板设置保存下来，用在其它面板中。**Panel Information(面板信息)**对话框允许用户Edit **(编辑)**、**Delete(删除)**、**Save(保存)**和**Load(导入)**面板。

6. 因为每个版面只可有一个活动面板，请确保用户想要用的面板处在活动状态(左边的复选框被选中)。

7. 点击OK以继续。下面请在版面上创建绘图并为它们加载数据。**Data List(数据列表)**会自动调用当前目录中的数据文件。

8. 使用**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令来调出**Data List(数据列表)**窗口(图20.3)。第一列显示面板上的试管，第二列显示和每个试管相关的数据文件。注意到数据已在面板上自动分组。如果试管连接到了错误的文件，可用Up(上)和Down(下)箭头按钮来重新排列文件。

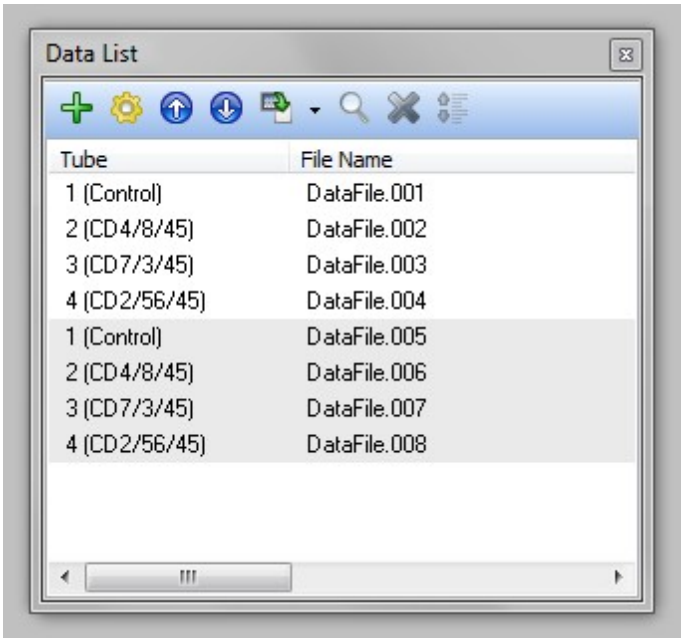


图20.3 Data List with 4-tube Example Panel (**有4个试管的面板数据列表**)

要使用**Data List(数据列表)**和面板一起来控制绘图上的数据文件，请进行以下操作:

1. 通过选择所有数据文件并点击**Remove(删除)**来删除**Data List(数据列表)**上的文件。

2. 点击OK。刚才显示数据的绘图现在空了。

3. 返回**Data List(数据列表)**，添加一组新的数据文件。方法是点击**Add(添加)**，然后选择要添加的文件。

4. 点击OK。空白的绘图现在显示和它们相关的数据文件。

如果已经应用了一个面板，并正在向文件列表添加文件，用户不用选择所有要添加的文件。请选择想添加的第一个文件，FCS Express会尝试决定还要导入多少个其它文件(图20.4)。

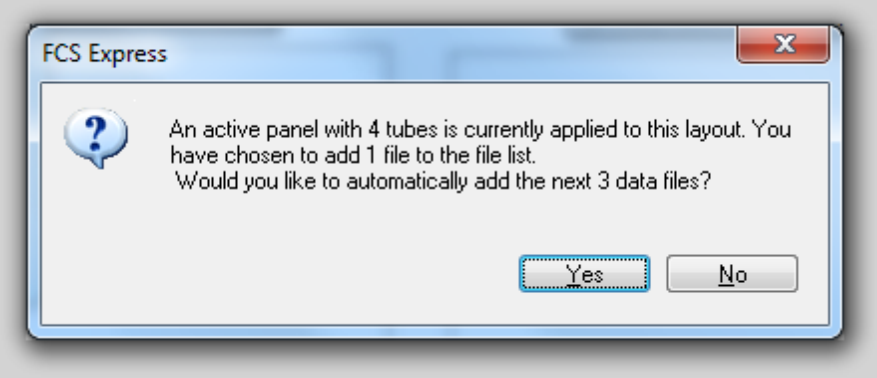


图 20.4 Automatically Populating a Panel (**自动为面板添加文件**)

第 22 章

22 使用模板

模板允许用户为实验设置默认外观和感觉。例如，如果用户喜欢特定大小的纸张，或特定页边距，或希望在每个版面上都包括公式徽标，可以通过创建模板来实现。

一个模板是用户根据需求设置的一个FCS Express版面。除此以外，它和其它版面没有什么不同。使用**Application Button(应用程序按钮)→New Layout(新建版面)→**Create **Layout From Template(从模板创建版面)**命令或命令组来选择一个版面，FCS Express即会将该版面保存为一个模板。点击**Create Layout From Template(从模板创建版面)**会调出**Create New Layout from Template(从模板创建新版面)**对话框，在此可挑选任何已有的版面。如果以前创建了一个或多个版面，可以从最近使用的模板区 50选择一个模板。

打开新版面时，它看起来会和模板版面一摸一样。但是FCS Express会"忘记"这个版面来自于模板，在第一次保存该新版面时，FCS Express会提示用户为版面选择一个新的文件名。

可以为所有新打开的版面设置一个"默认模板"。如果已设置好默认模板，那么Application **Button(应用程序按钮)→New Layout(新版面)**命令会调出该默认模板，而非空白模板。设置默认模板已在默认文件/ 路径 127一节中讲述过。

第 23 章

23 警告

Alert(警告)用来通知用户某一条件已得到满足。它通常用来做质量控制。比如，*如果门中的细胞数少于250时，要发出警告*。

可以定义无限数目的警告。创建警告之后，可以(一次)运行它们，所有满足条件的警告都会被显示出来。

从概念上理解，**Alerts(警告)**和自定义标记308很像。在警告中可使用包含标记的公式。但不同于自定义标记的是，警告公式的返回值总是只有TRUE(真)或FALSE(假)。

23.1 创建警告

要创建**Alert(警告)**:

1. 点击**View(查看)→Tokens(标记)→Alerts(警告)**命令来调出可停靠的**Alerts(警告)**窗口。
2. 请确保**Alerts(警告)**窗口停靠在屏幕左边或右边来保证窗口中的所有面板都可视(图22.1)。**Alerts(警告)**窗口的三个区域是:Alert List(警告列表)、Alert Formula Editor(警告公式编辑器)和Alert Message(警告信息)。列表和公式编辑区由一个分隔条隔开，可通过移动分隔条来调整各区大小。

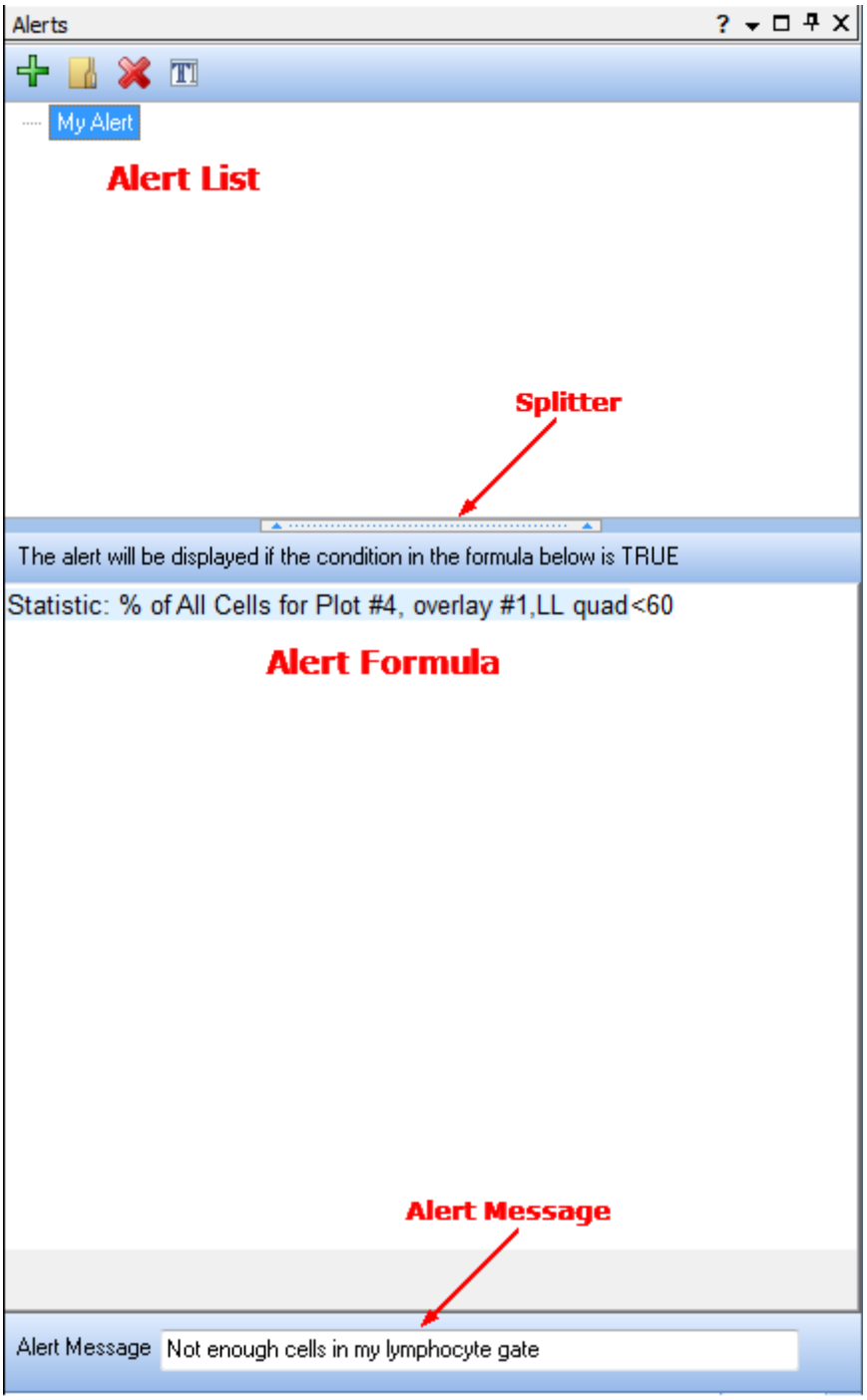


图 22.1 Docked Alert Window (**停靠的警告窗口**)

3. 点击(添加)图标。
4. 为**New Alert(新警告)**命名。
5. 点击列表上该警告名称使其突出显示。
6. 输入或编辑公式:

   - 右键点击公式区，从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。

- 从**Insert a Token(插入标记)**对话框中插入一个标记。
- 修改公式，使其计算结果为TRUE(真)或FALSE(假)陈述。用户可以使用所有针对自定义标记的运算符和函数322。图22.2显示了两个正确的公式实例。实例1中的公式用来判断第3号绘图、第1个叠加图层里左上象限中的细胞数是否多于2000。实例2中的公式会验证第3号绘图、第1个叠加图层上门中的细胞百分比是否在15%到50%之间。

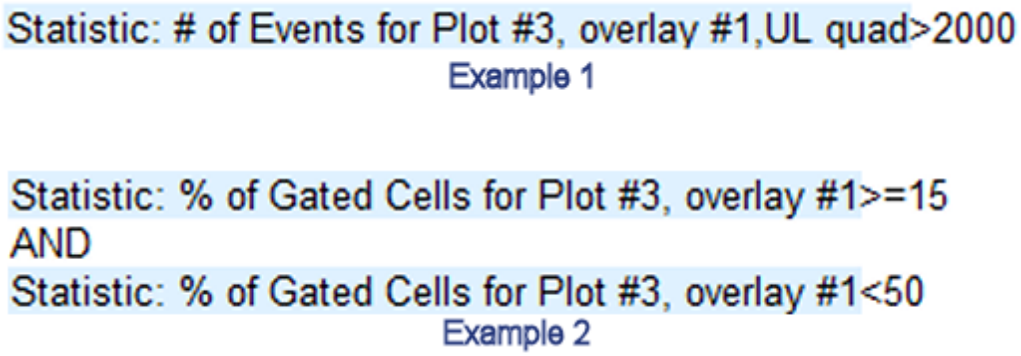


图22.2 Examples of Alert Formulas (**警告公式实例**)

7. 在窗口底部的**Alert Message(警告信息)**编辑字段里，请输入警告条件满足时要显示的文本。

Alerts(警告)窗口中的图标含义在下表列出。

图标	解释
	添加新警告。
	创建(和命名)一个新的文件夹来管理警告。文件夹创建后，可把警告拖放到文件夹中。
	删除选择项目。*注:可以通过立刻点击快捷工具条上的Undo(撤销)*32*命令来撤销删除操作。*
	为当前所选项目重命名。

23.2 运行警告

创建至少一个警告后，用户可以*运行*这些警告。FCS Express根据警告公式在警告窗口中出现的顺序来运行它们。可以不限次数地运行警告。

要运行警告，使用**View(查看)→Tokens(标记)→Run Alerts(运行警告)**命令。如果没有任何警告返回TRUE(真)值，会看到图22.3中显示的信息。

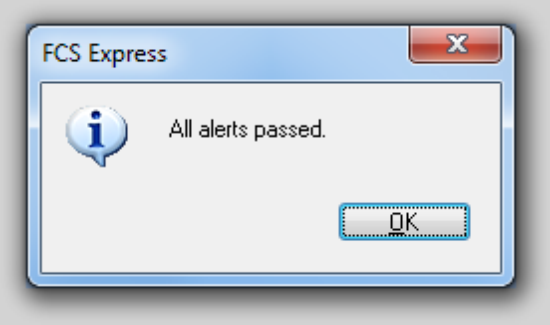


图 22.3 All Alerts Passed Message (**所有警告全部通过信息**)

如果有警告返回TRUE(真)值，系统会显示**Alert Summary(警告摘要)**对话框(图22.4)。

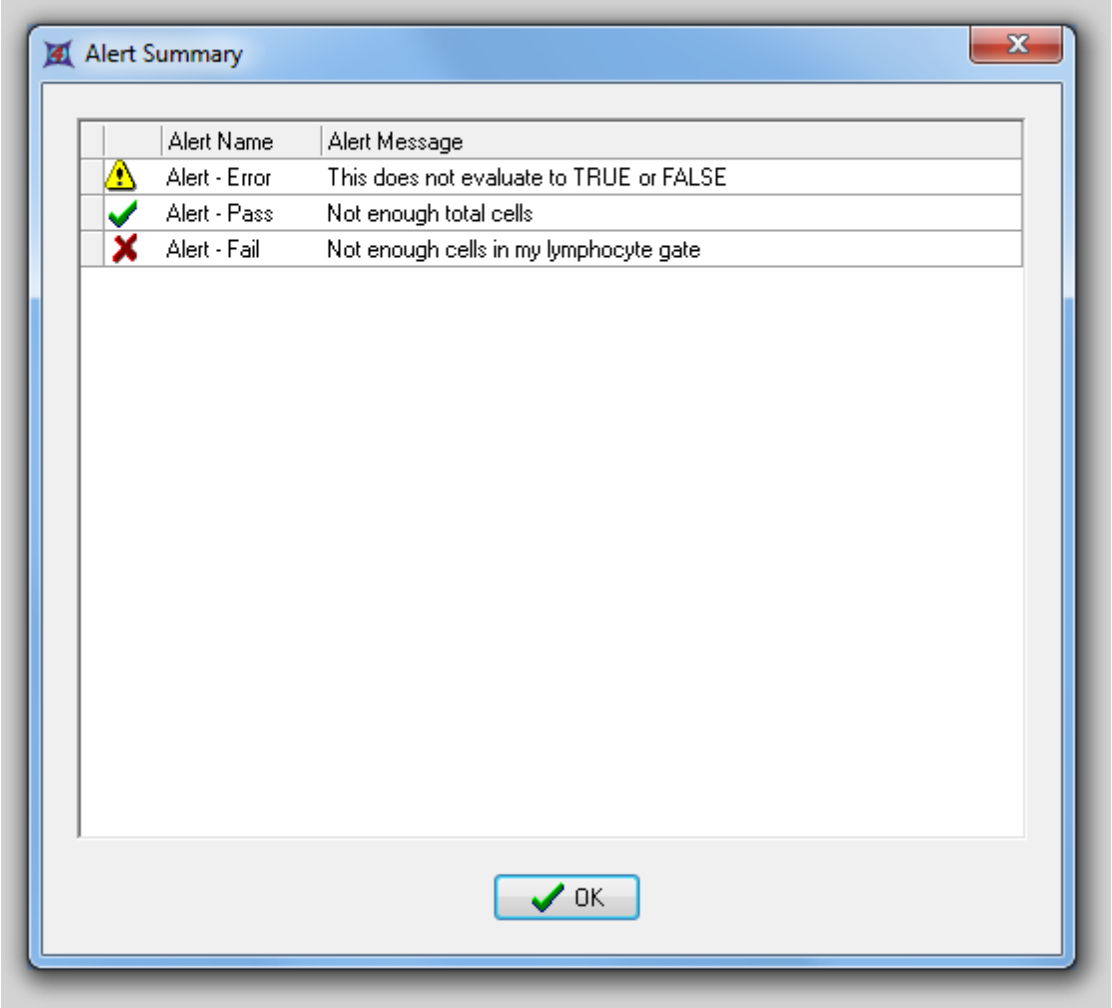


图 22.4 Alert Summary Dialog (**警告摘要对话框**)

在该**Alert Summary(警告摘要)**对话框的例子中，系统评估了三个警告。第一个警告是

Alert- Error(警告- 出错):没有评估任何TRUE(真)或FALSE(假)值，并生成了一个出错信息；第二个警告是**Alert - Pass(警告- 通过)**:没有检测到真值，通过；第三个警告是Alert – **Fail(警告- 失败)**:返回了TRUE(真值)，因此失败。Alert Message(警告信息)列显示每个警告在 **Alert Message(警告信息)**字段显示的文本。

可以通过点击任何一列的标题来为其排序。点击OK来关闭**Alert Summary(警告摘要)**对话框。

第 24 章

24 导入外部文档

FCS Express支持两种外部版面文件类型:

- BD FACSDiva实验文件。
- Accuri CFlow实验文件。

24.1 BD FACSDiva文件

和从任何其它设备导入数据文件一样，FCS Express标准版本可从BD FACSDiva软件导入FCS文件。不仅如此，FACSDiva Importer(FACSDiva导入器)也允许导入整个实验数据(FACSDiva第4版或更高版本)。

一个FACSDiva实验文件(后缀是*.xml*)是用户用FACSDiva软件导出数据时创建的(参见FACSDiva软件参考手册中"Exporting Experiments(导出实验)"一部分)。FACSDiva实验文件包括绘图、门和补偿设置信息等。

FACSDiva实验文件导入FCS Express中时会保留以下信息:

- 所有采集模板和分析工作表。
- 原始的、高分辨率的、浮点FCS数据。
- 所有带有适当门等级的门设置。
- 所有补偿设置。
- 所有标记和象限。

因为FACSDiva实验文件不包括其绘图所在页面的信息，FCS Express需要额外的信息来正确导入文件。另外，FCS Express需要知道用户想让绘图如何分布于版面页上。例如，一个FACSDiva实验文件有三个横向放置的绘图。该文件导入FCS Express中时，它们可放置在三个不同页面上，或同时放置在一个页面上。如果保持FCS版面页为标准的8.5英寸 x 11英寸大小，那么把三个绘图放在一个页面上，可能会导致绘图缩小。所以在导入时，用户可以设置FCS Express页面的大小来包含更多标准尺寸的绘图。

为导入BD FACSDiva实验文件设置了页面大小以及绘图在版面上的分布后，用户可以保存该设置，以在将来导入其它BD FACSDiva实验文件。该设置会保存到一个FCS Express FACSDiva配置文件386中。

24.1.1 *如何导入FACSDiva实验文件*

要导入FACSDiva实验文件:

1. 使用**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)→Import BD FACSDiva File...(导入BD FACSDiva文件...)**命令。
2. 浏览路径来选择要导入的FACSDiva实验文件(.xml)。找到文件后，点击**Load(导入)**。
3. 这时会出现**Import BD FACSDiva File Wizard(导入BD FACSDiva文件向导)**

。首先出现的是**Import Options(导入选项)**页(图23.1)。FACSDiva实验文件中的工作表会被显示出来，包括它们的类型(**Analysis worksheet(分析工作表)**或**Acquisition template(采集模板)**)。在**Import(导入)**一列，请选择要导入的工作表。至少要选择一个工作表才可继续。

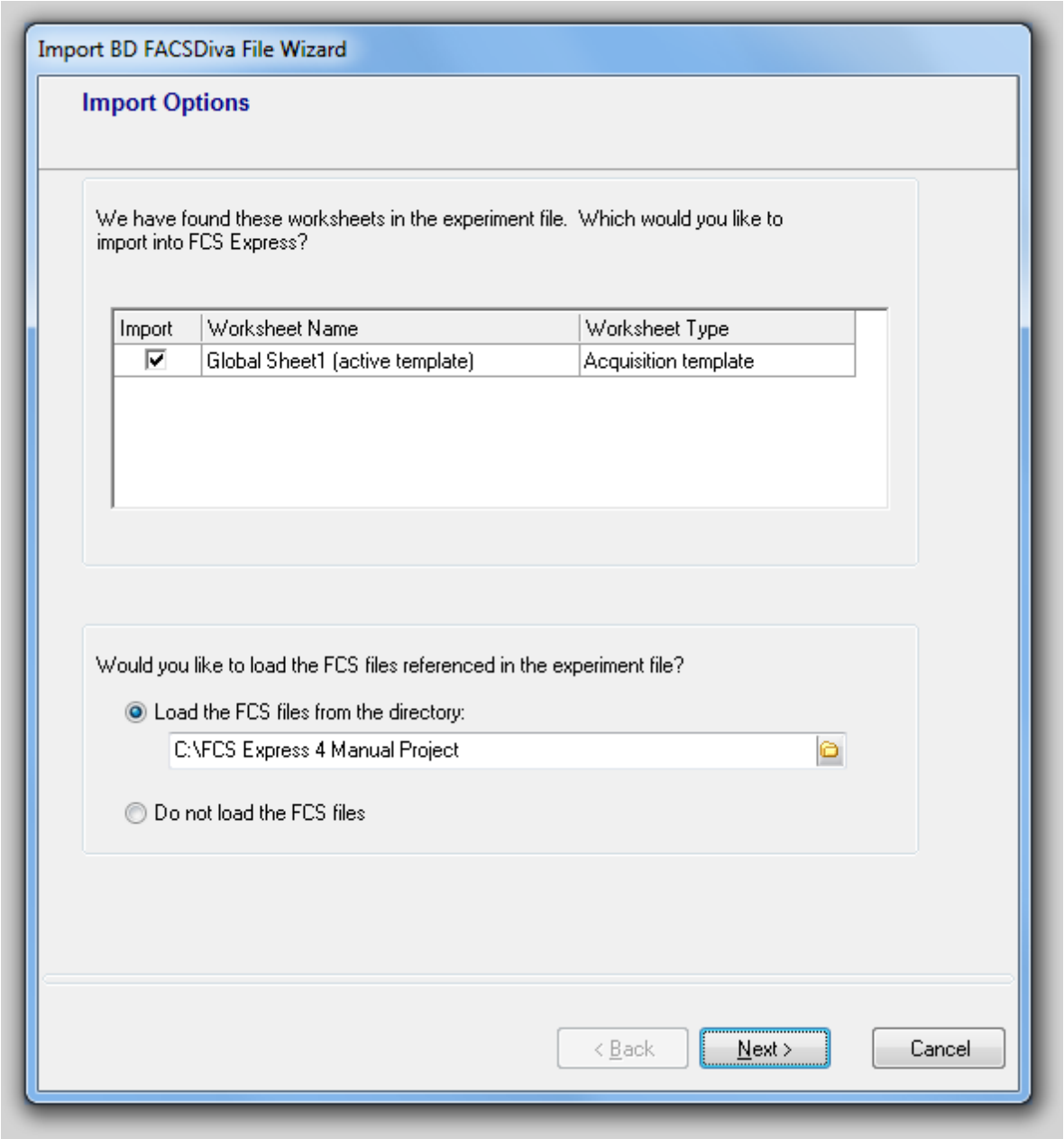


图 23.1 Import FACSDiva File Wizard - Import Options (**导入**FACSDiva**文件向导 - 导入选项**)

4. 在窗口的底部，选择是否导入和实验相关的FCS文件。如果不想导入FCS文件，选择单选按钮**Do not load the FCS files(不导入FCS文件)**。点击**Next(下一步)**以继续。

5. 这时会出现FCS Express FACSDiva configuration file(FCS Express **FACSDiva 配置文件)**页(图23.2)。可以选择导入已有的配置文件，或创建一个新的配置文件。如果选择导入已有的配置文件，请选择Use an existing configuration **file(使用已有配置文件)**单选按钮，选择文件后，点击**Next(下一步)**，*然后请继续到第8步*。如果选择创建新的配置文件，选择**Create a new configuration(创建新的配置文件)**单选按钮，然后点击**Next(下一步)**。

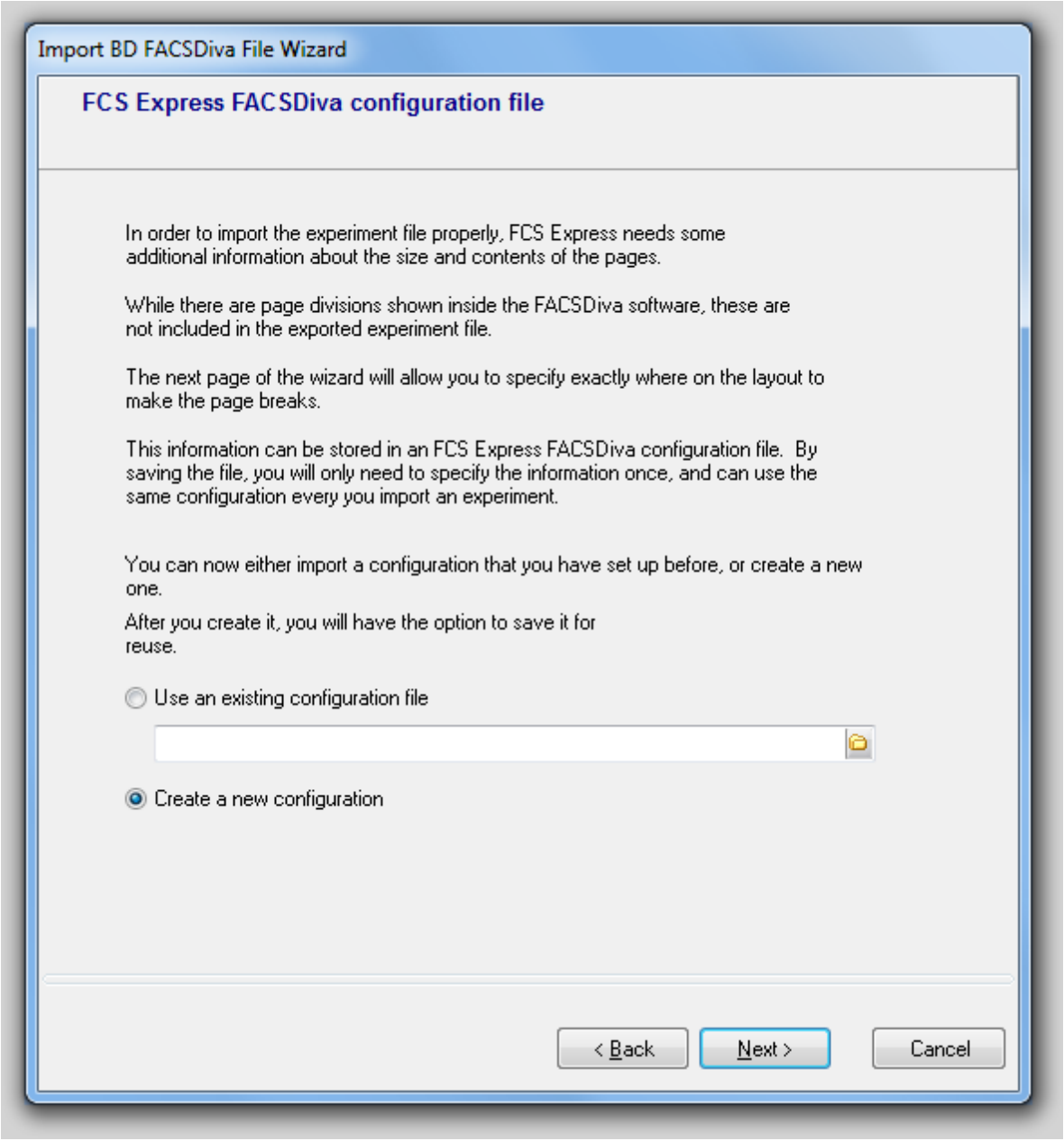


图23.2 Import FACSDiva File Wizard - Configuration File (**导入**FCSDiva**文件向导 - 配置文件**)

6. 如果要创建新配置，会出现Setting up the page size for the layout in FCS Express(为FCS Express版面设置页面尺寸)对话框(图23.3)。在此，可以设置FACSDiva实验文件中的绘图如何被导入到FCS Express版面中来。

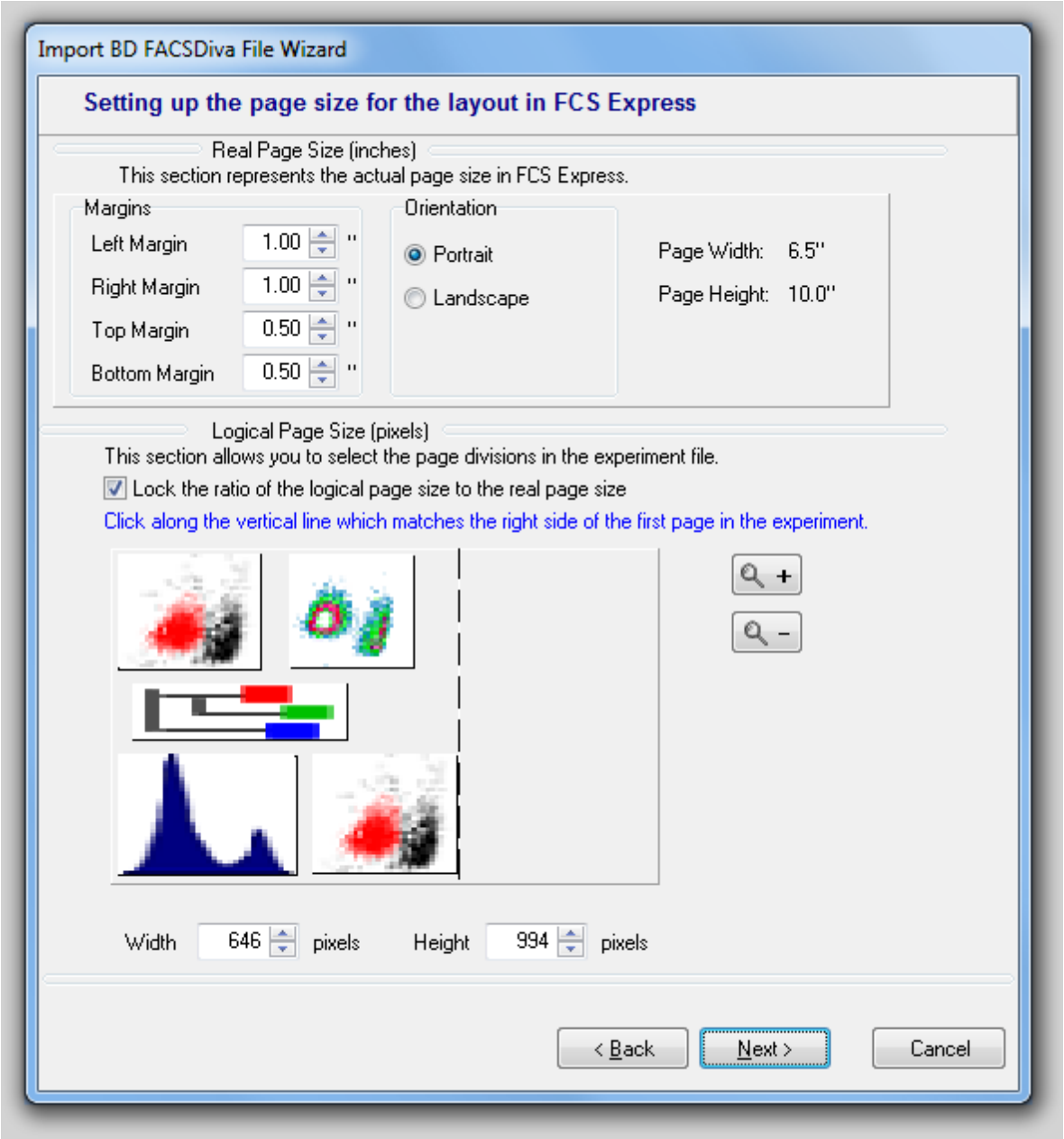


图 23.3 Import FACSDiva File Wizard - Setting Page Size (**导入**FACSDiva**文件向导 - 设置页面大小**)

窗口分为两部分:

- **Real Page Size(inches)(实际页面大小(英寸))**

  这部分允许设置版面的页面大小。默认大小是8.5 x 11英寸。在此也可以设置页边距。

- **Logical Page Size(pixels)(逻辑页面大小(像素))**

  该部分可以设置在FACSDiva实验文件被导入FCS Express中时的分隔方式。它将显示FACSDiva实验中的所有点状图和柱状图，使用模拟的绘图代表相应绘图。通过点击FACSDiva实验文件的展示页面，可以把实验分成几页。第一次点击后，可以看到一条纵向点状线，代表每一版面页的右边界，和一条横向点状线，代表版面页的底部。如果一个绘图在图中横跨多页，它会被放置在其左上角出现的版面页上。默认情况下，页面横竖比是锁定的，意味着页面宽度增加时，高度也会增加。

完成设置如何导入FACSDiva实验绘图后，点击**Next(下一步)**。

7. 向导的下一页，**Saving the configuration(保存设置)**，允许用户选择是否将前一页的设置保存到一个文件。保存的配置文件可用来导入其它FACSDiva实验(见第5步)。点击**Next(下一步)**以继续。

8. 如果在第三步中，选择导入*Analysis worksheet(分析工作表)*，那么FCS Express会显示实验。如果在导入FCS数据文件时也导入了一个*Acquisition template(采集模板)*，那么会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框(图23.4)。请展开一个名称标题，从列表选择一个FCS文件。点选FCS文件名后，点击OK。如果FCS Express不能找到该文件，系统会提示用户来查找该文件。

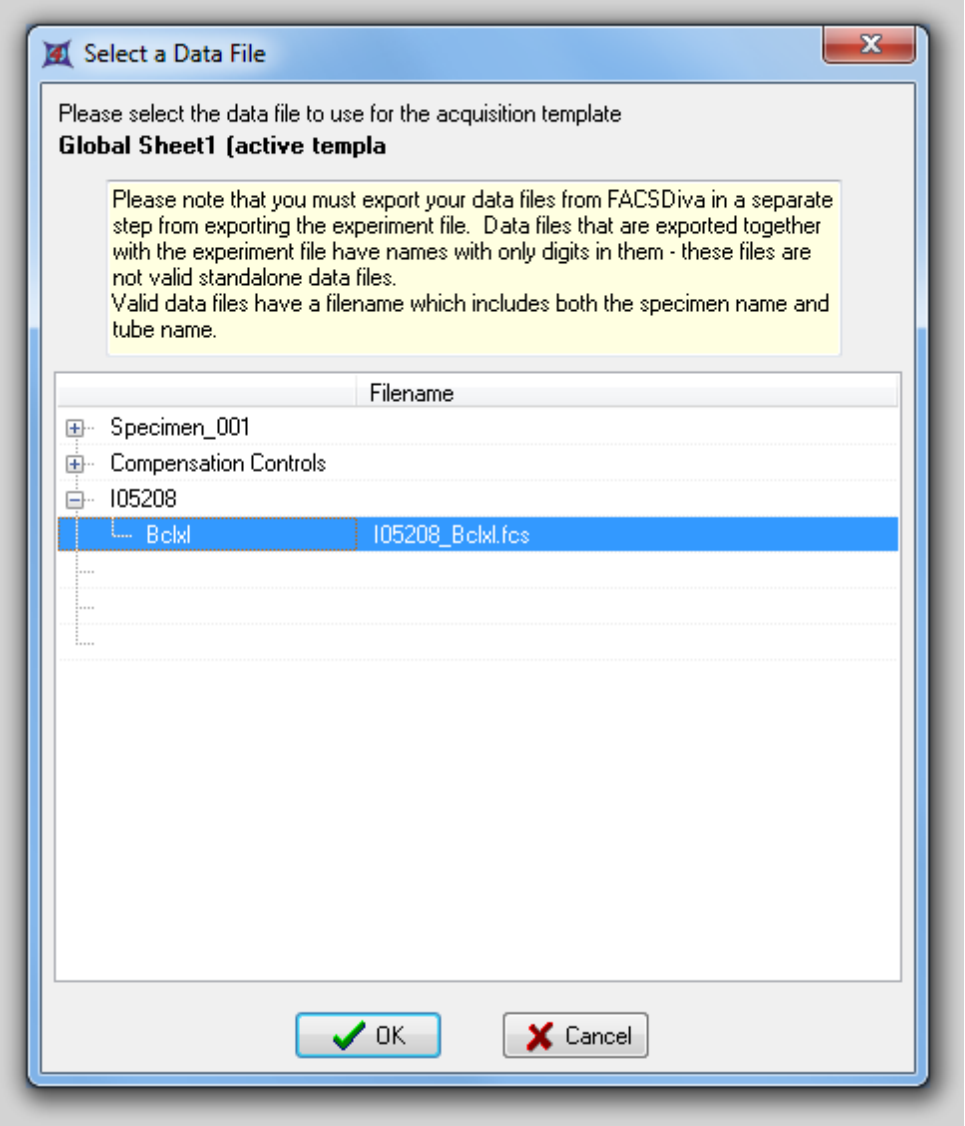


图 23.4 Selecting FCS File Data for an Imported FACSDiva Experiment (**为导入的**FACSDiva**实验选择**FCS**文件数据**)

9. 对于每个在第3步被选中的、带有采集模板的工作表，用户可以看到Select a data **file(选择数据文件)**对话框来导入FCS数据文件。

之后FCS Express会显示导入的FACSDiva实验数据，系统会像对待其它任何版面一样地来对待该实验数据。

24.1.2 导入*FACSDiva*实验文件的技巧提示

在考虑把FACSDiva实验文件导入到FCS Express中时，以下技巧值得考虑。

导入FACSDiva实验数据到FCS Express中时，所有实验绘图会重新在版面上创建。用户可对每个绘图使用标准的FCS Express技巧进行重新格式化144，同时，用户也可以在创建绘图前

使用编辑设置窗口来自定义设置110绘图的默认格式选项(例如字体、坐标轴坐标、绘图分辨率、叠加图层设置等)。要保证导入的绘图希望按用户的意愿显示，这里建议在导入FACSDiva实验数据前请充分利用这些默认选项。

用户最有可能进行的绘图设置包括:

- Legend visibility(是否显示图例)

  显示图例会占用一部分空间。因此，如果FACSDiva实验在一页上显示很多绘图，用户应该考虑隐藏图例。

- Histogram resolution(柱状图分辨率)

  一般来说，柱状图分辨率设置为"从FCS文件获取"。在有很多通道的高分辨率数据中，有些通道几乎可能会没有事件。将柱状图分辨率降到1024个通道可能会改进柱状图外观。

- Scaling the Axes(调整坐标系)

  当把实验导入FCS Express中时，绘图坐标系将采用存储在实验文件中的坐标设置。这并非说用户必须要保留这些坐标系的设置。例如，要导入的绘图原本是显示在横跨10的五次方范围的坐标系上，而用户可能认为用横跨10的四次方范围的坐标系显示反而更好。同时，用户也可以在线性、对数和双指数坐标系203间切换坐标系。

24.2 Accuri CFlow文件

Accuri C6是一个台式系统，提供的性能和功能类似于市场上领先的流式细胞仪，但该仪器和它的控制软件CFlow™易于使用，即使是新手也可快速设置实验和采集数据。

FCS Express提供Accuri导入器，使用户可以把FCS Express的功能强大的分析功能应用于CFlow获取的数据。FCS Express将导入CFlow文件中的所有实验信息，包括:

- 在收集和分析选项卡上的所有绘图。
- 原始的、高分辨率的、24位FCS数据。
- 有适当门层次的门设置。
- 所有补偿设置。
- 所有标记和象限。
- 所有绘图格式设置。

一旦用户的实验载入了FCS Express中，用户可以象处理从FCS Express获得的绘图那样处理这些绘图。

24.2.1 *如何导入CFlow实验文件*

要导入CFlow实验文件:

1. 使用**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)→Import Accuri CFlow File...(导入Accuri CFlow文件...)**命令。

2. 浏览路径来选择要导入的CFlow实验文件(后缀为.c6)。找到文件后，点击**Load(导入)**。

3. 这时会出现**Import Accuri CFlow File Wizard(导入Accuri CFlow文件向导)。**首先出现的是**Import Options(导入选项)**页(图23.5)。在该页上，可选择从CFlow Collect(搜集)和/ 或Analyze(分析)标签导入绘图。

4. 如果选择从Collect tab(搜集标签)导入绘图，请从下拉菜单中选择要用的数据文件。

5. 点击**Next(下一步)**以继续。

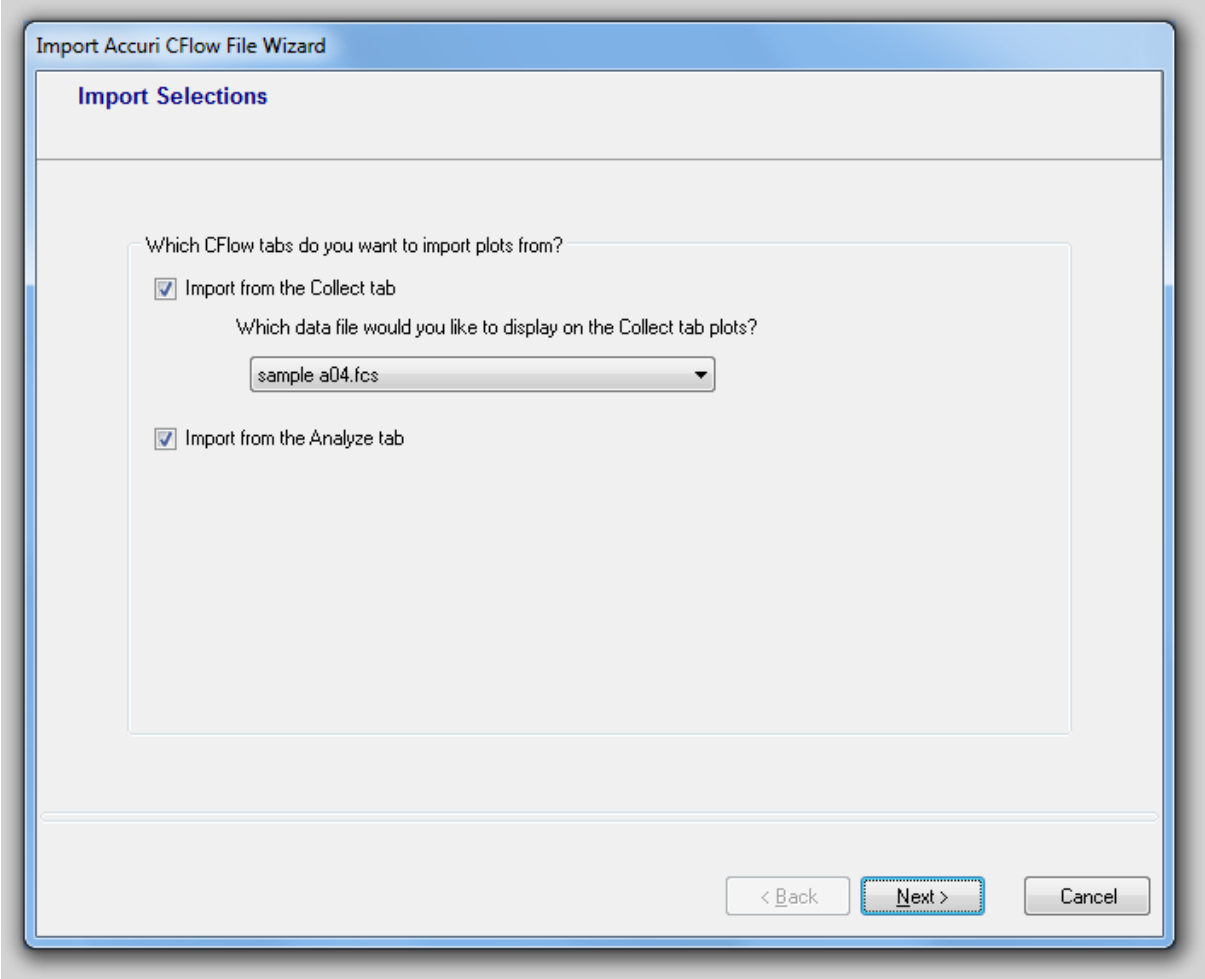


图23.5 Import Accuri CFlow File Wizard - Import Options (**导入**Accuri CFlow**文件向导 - 导入选项**)

这时会出现**Page Layout Options(页面设置选项)**页(图23.6)。在此，可以设置Accuri CFlow实验里的绘图如何导入到FCS Express中。

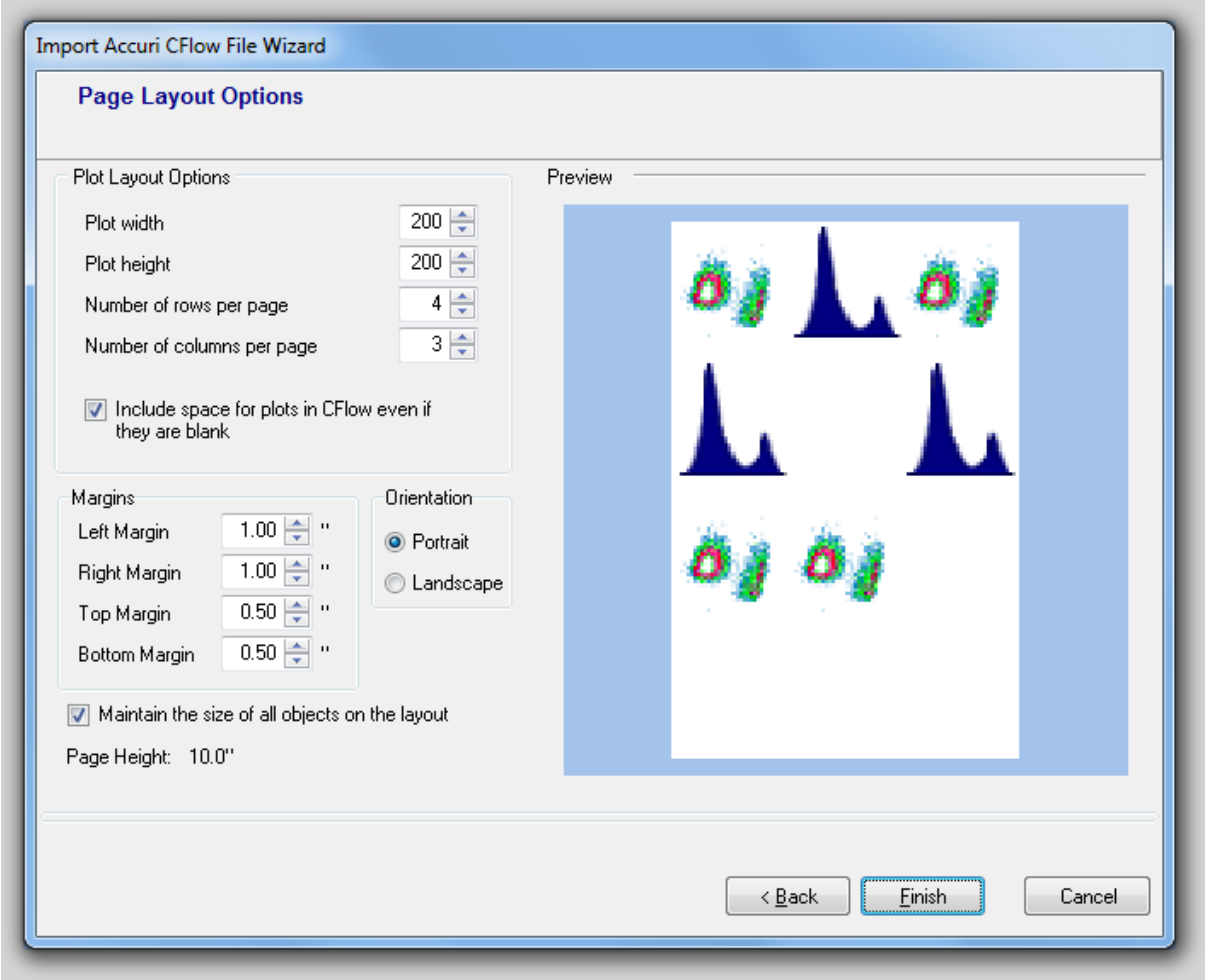


图23.6 Import Accuri CFlow File Wizard - Page Layout Options (**导入**Accuri CFlow **文件向导 - 页面设置选项**)

6. 使用左边的箭头控制可以设置**Plot width(绘图宽度)**、**Plot height(绘图高度)**、**Number of rows per page(每页行数)**、Number of columns per page **(每页列数)**以及页面的边距和方向。版面预览显示在右边。准备好后，点击**Finish(完成)**。FCS Express把CFlow页面完全复制一份，并以FCS Express版面的方式显示。绘图在FCS Express中的缩放和在CFlow中的缩放方式相同。所有区域、标识和门设置均会被保留，同时也会应用相应的参数名和补偿设置。

24.2.2 导入*CFlow*实验数据的技巧提示

以下信息和说明用来帮助导入和使用Accuri CFlow实验数据:

- 以下是FCS Express里推荐的设置，用来帮助用户更好地导入Accuri CFlow实验数据。

1. 使用Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences Button(编辑设置按钮)110命令来打开**Edit Preferences(编辑设置)**。

2. 选择**Data Load(数据导入)→FCS File Options(FCS文件选项)**命令组。请确保**Allow Multiple Datasets(允许多个数据集)**并未被勾选。尽管该设置在导入CFlow数据文件时并非必要，但它允许用户添加文件到数据列表，只有如此方可进行批处理。

3. 请不要勾选Validate that files are FCS Files before displaying them **in a file dialog(在文件对话框中显示FCS文件前确认这些文件确实是FCS文件)**。尽管该修改在导入CFlow数据文件时并不需要，但它可加快添加文件到文件列表中的速度。

- 把CFlow数据导入FCS绘图。

1. 请使用Insert Tab(插入标签)上的命令来插入一个绘图，就像使用其它数据文件创建绘图一般。当Select a Data File(选择一数据文件)对话框打开后，把文件类型修改为**CFlow文件(*.c6; *.cfl)**。

2. 找到想要打开的CFlow文件，双击它。对话框会显示CFlow文件中包含的所有FCS文件。选择正在查找的那个文件。

3. 点击**Open(打开)**。

第25章

25 DNA分析

FCS Express采用广为使用的MultiCycle™ DNA分析软件包(由University of Washington (华盛顿州大学)的Peter Rabinovich博士所写，由Phoenix Flow Systems出版(http://www.phoenixflow.com))，提供一套全面的DNA分析方案。

以下摘自Multicycle(多周期)软件包用户手册:

> "DNA含量直方图需要使用数学分析，以提取G1期、S期和G2期细胞分布分析... ...最灵活和准确的方法是建立一个DNA含量分布的数学模型，然后用曲线拟合的方法把该模型应用于数据。"Multicycle(多周期)模型包含了"最完善的模型"，例如"Dean和Jett模型，假设细胞周期直方图是一个理论上完美的高斯分布扩大的结果"，又如Fox模型，"提供了一种更灵活的S期的形状，但仍然不失Dean和Jett模型中S期的流畅性"。此外，为使复杂柱状图的细胞周期分析最可靠，Multicycle的另一特点是特别考虑对背景聚集物的拟合。

FCS Express 4包含了一份免费的、功能有限的Multicycle软件包。该免费版本只基于1个基本周期自动拟合，不提供背景校正。使用该免费版本时，如果碰到多个周期或者背景校正可改进拟合的情况，系统会显示通知信息。这两种情况需要Multicycle的完全版本来精确分析。

用户可购买Multicycle的完全版本插件。完整的版本允许1个、2个和3个周期拟合，并可手动更改参数和执行背景校正。

25.1 多周期计算包

FCS Express带有一个免费版本的Multicycle(多周期)计算包，可以计算不带背景校正的单周期拟合。Multicycle的完整版本需作为软件插件来购买。Multicycle(多周期)软件包可从Phoenix Flow Systems(http://www.phoenixflow.com)或De Novo Software购买。

Multicycle(多周期)模型在以下文献中被广泛地描述过:

- Rabinovitch, P.S.DNA content histogram and cell-cycle analysis. *Methods in Cell Biology*.41:263-296, 1994.
- Rabinovitch, P.S. Rabinovitch, P.S.Practical considerations for DNA content and cell cycle analysis.In: *Clinical Flow Cytometry: Principles and Applications*(Bauer, K.D., Duque, R.E., and Shankey, T.V., eds.)Williams and Wilkins, Baltimore, pp.117-142, 1992.
- Rabinovitch, P.S.Rabinovitch, P.S.DNA Histogram Analysis.In: *Cell Growth and Division*, 2nd Edition.(G.Studinski, ed.). Oxford University Press, Oxford, 1996.
- Kallioniemi, O-P., Visakorpi, T., Holli, K., Isola, J.J., and Rabinovitch, P.S. Automated peak detection and cell cycle analysis of flow cytometric histograms. *Cytometry* 16:250-255, 1994.

25.2 插入DNA柱状图

DNA Histograms(DNA柱状图)可像任何其它柱状图一样被插入到版面页中105。

使用**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Multicycle DNA(多周期DNA)**命令，然后点击版面页来插入一个标准大小的柱状图，或通过点击- 拖拉来插入任意大小的绘图。这时会出现一个文件对话框来请用户选择DNA数据文件。之后会出现一个拟合后的Multicycle DNA (多周期DNA)柱状图。用户经过格式化标准柱状图选项后，可显示图例148(图24.1)。

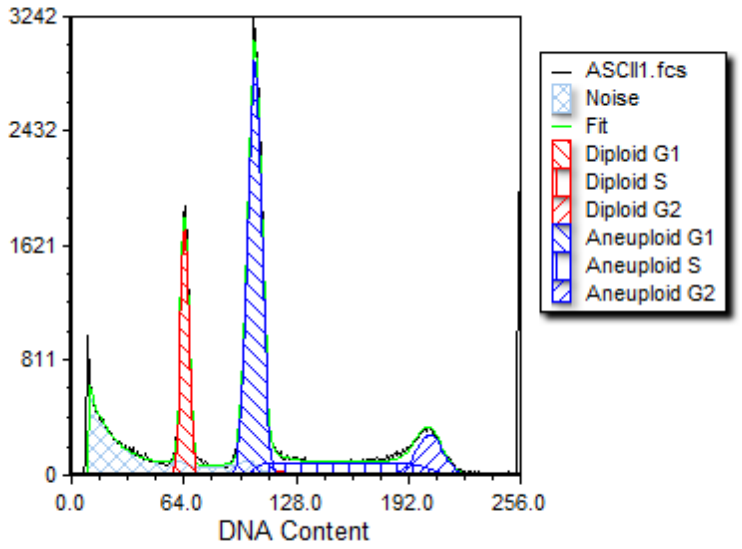


图24.1 Multicycle DNA Histogram with Legend (带有图例的多周期DNA柱状图)

FCS Express可以针对标准FCS列表模式下的数据文件或没有关联的FCS柱状图文件进行DNA曲线拟合。

25.3 格式化DNA柱状图

要格式化多周期DNA柱状图:

- 右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，点击DNA旁边的三角，从四个和DNA相关的选项类中选取一项:General(一般设置)400、Cycle(周期)401、Background (背景)402或Position Markers(位置标识)405。

其它可以格式化的类别和格式化标准柱状图中的相应选项157类似。

25.3.1 一般设置

DNA格式化选项下的**General(一般设置)**区设置数据如何在DNA柱状图上显示(图24.2)。

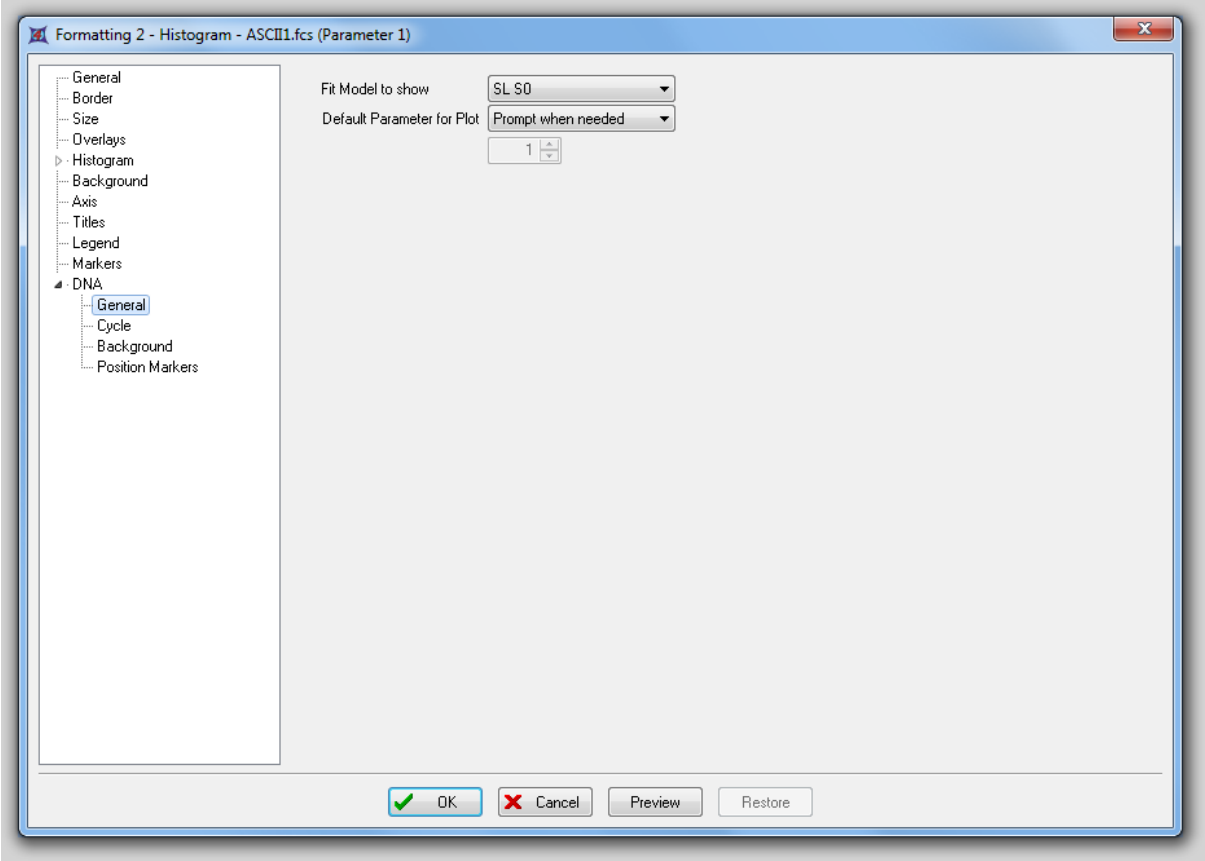


图24.2 Formatting a DNA Histogram - General Options (**格式化**DNA**柱状图 - 一般设置选项**)

相关选项描述如下。

选项名	解释
Fit Model to **show(要显示的拟合模型)**	当Multicycle(多周期模型)进行一个拟合时，它计算该拟合的六个不同变量。可在此选择显示哪个变量。六个变量的描述请参考Multicycle(多周期)参考手册。
Default Parameter for **Plot(绘图默认参数)**	选择改变数据文件时要显示的参数。"Prompt when needed(在需要时提示)"会在用户每次修改数据文件时提示选择一个参数。"Use parameter below(使用以下参数)"，允许用户总是显示通过下方箭头键选择的参数。

25.3.2 *周期选项*

Cycle(周期)选项描述DNA拟合中的不同参数。这些选项允许用户选择应用什么拟合模型，并为模型设置具体参数。

FCS Express默认选项是自动选择拟合类型(**Detect fit type automatically(自动检测拟合类型)**复选框是选中的)。进行自动检测拟合类型时，所有其它选项不起作用，因为Multricycle(多周期软件包)会计算所有拟合参数。

要自己设置拟合参数，取消选择**Detect fit type automatically(自动检测拟合类型)**复选框。其它选项均变得可用(图24.3)。

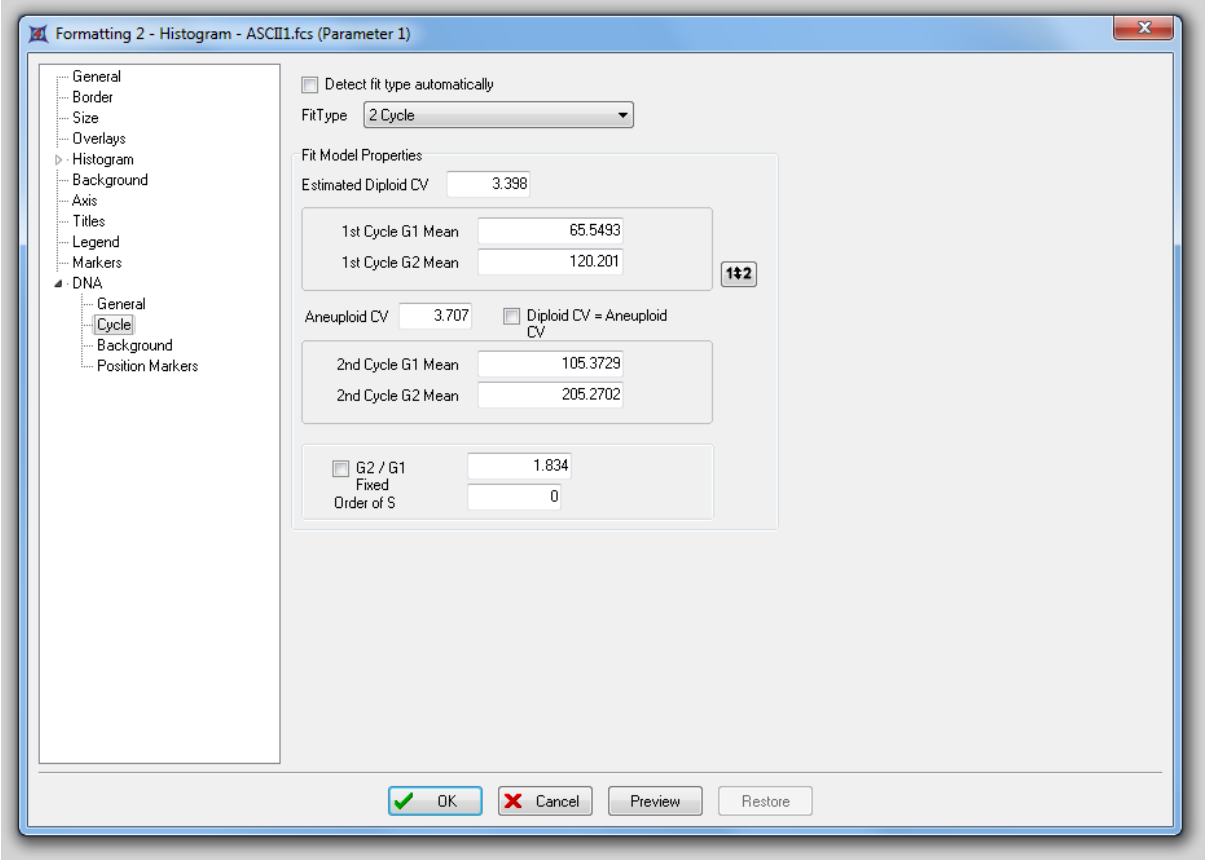


图24.3 Formatting a DNA Histogram - Cycle Options(**格式化**DNA**柱状图 - 周期选项**)

根据**Fit Type(文件类型)**下拉列表里选择的拟合类型，FCS Express会显示不同的拟合选项。图中的例子显示的是**2 Cycle(两周期)**拟合选项。Multicycle支持的拟合类型和可用于这些拟合的各种参数列表，请参考其使用说明。

修改拟合参数后，点击OK或**Preview(预览)**键来应用这些选择。Multicycle(多周期模型)将以输入的拟合参数作为拟合初始值，但计算过程中可能修正这些值以达到最好的拟合。要查看Multicycle(多周期)模型计算出的最终拟合值，请打开DNA统计窗口408或创建带有DNA特定标记410的文本框。

25.3.3 背景选项

Background(背景)选项(图24.4)控制Multicycle(多周期模型)如何计算背景信号(目的在于从试样中移除试样碎屑以达到精确拟合)。

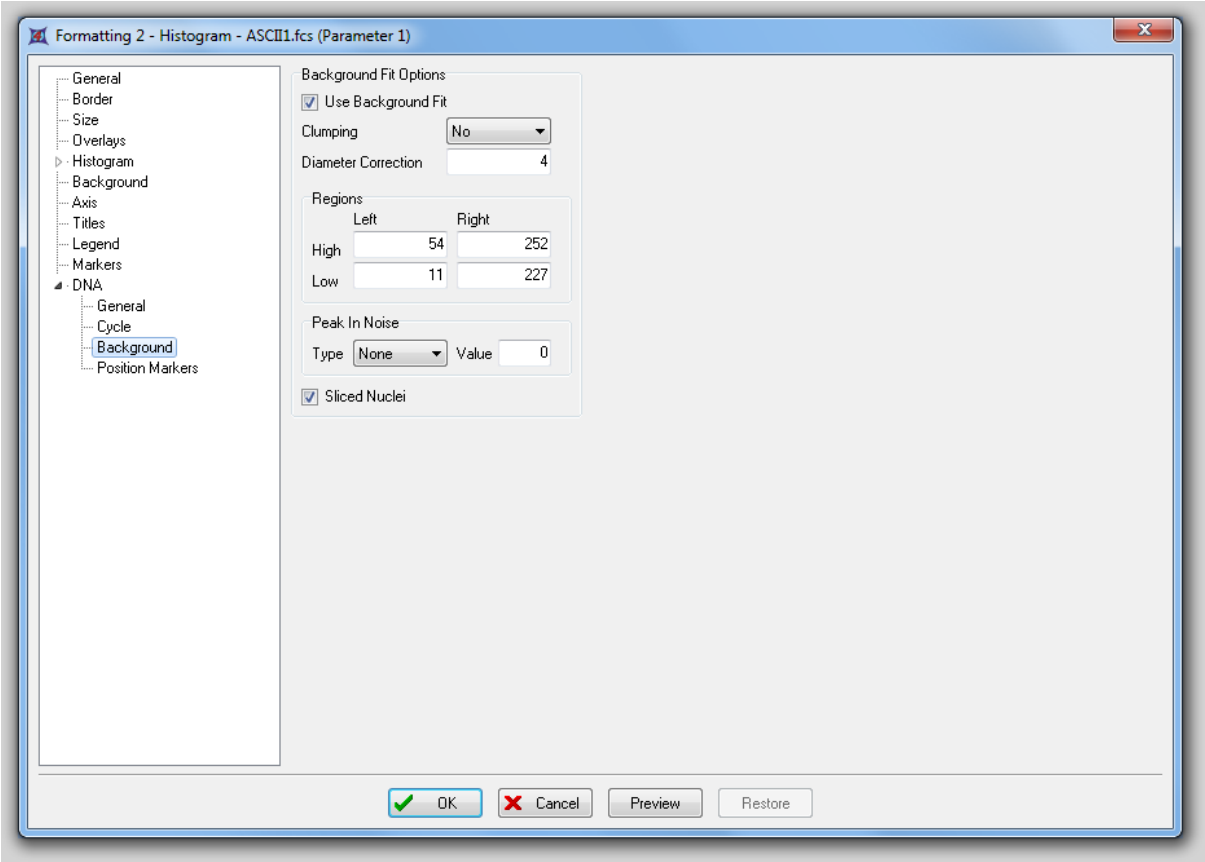


图24.4 Formatting a DNA Histogram - Background Options (**格式化**DNA**柱状图 - 背景选项**)

Use Background Fit(使用背景拟合)复选框控制Multicycle(多周期模型)是否计算背景信号并将其从拟合数据中删除。其它选项控制特定的背景拟合参数，这些选项在多周期模型用户手册中有详细解释。

25.4 设置DNA属性

DNA属性116包括使用多周期模型进行DNA分析398时用到的一般属性、叠加图层属性和位置标记属性，它们在格式化对象的相关章节中已经描述过116。

25.5 多周期标签卡

多周期模拟可用多个模型同时自动拟合和分析细胞周期柱状图。可用多周期命令标签来控制需要拟合的细胞群的数目和类型、当前显示的模型和背景选项(图24.5)。

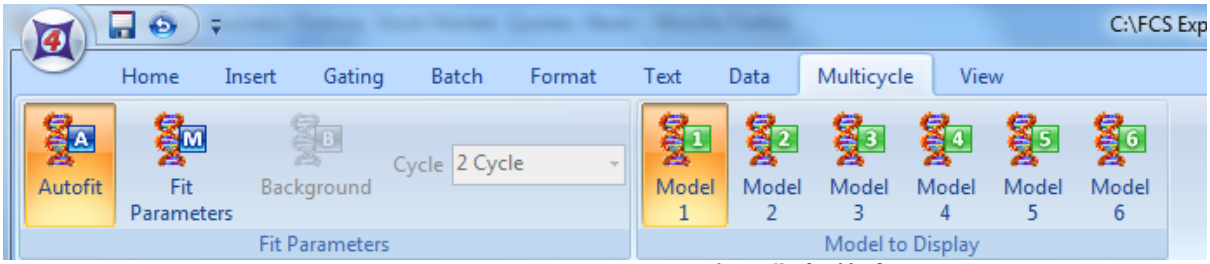


图24.5 The Multicycle Tab (**多周期标签卡**)

要自动分析一个DNA柱状图:

1. 使用**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Multicycle DNA(多周期DNA)**命令来把DNA柱状图插入到版面中。
2. 选择DNA柱状图，然后确认**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→Autofit(自动拟合)**命令被突出显示。使用自动拟合，Multicycle(多周期模型)会为用户选择周期拟合参数。
3. 右键点击DNA柱状图，然后从弹出菜单中选择**Statistics(统计)→**DNA Cycle **Statistics(DNA周期统计)**。请调整统计窗口的位置。
4. 右键点击DNA柱状图，然后从弹出窗口选择**Statistics(统计)→**DNA Model **Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**。请调整统计窗口的位置。

DNA周期统计中当前显示的模型在**Multicycle(多周期)→Model to Display(要显示的模型)**组上高亮显示。要修改模型，点击**Model to Display(要显示的模型)**命令组中的五个**Model(模型)**命令之一。

要修改为手动拟合，点击**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→**Autofit **(自动拟合)**，然后确认该命令/ 按钮未被高亮显示。使用手动拟合时:

- 要修改单循环拟合细胞群的数目或参数，请使用**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→Cycle(周期)**下拉菜单。
- 要修改拟合模型属性，请使用**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→Fit Parameters(拟合参数)**命令来调出**Formatting Fit Model Options(格式化拟合模型选项)**对话框(图24.6)。可以手动修改数据群的平均值和变异系数。可调整的属性会根据下拉列表中选择的**Fit Type(拟合类型)**有所不同。

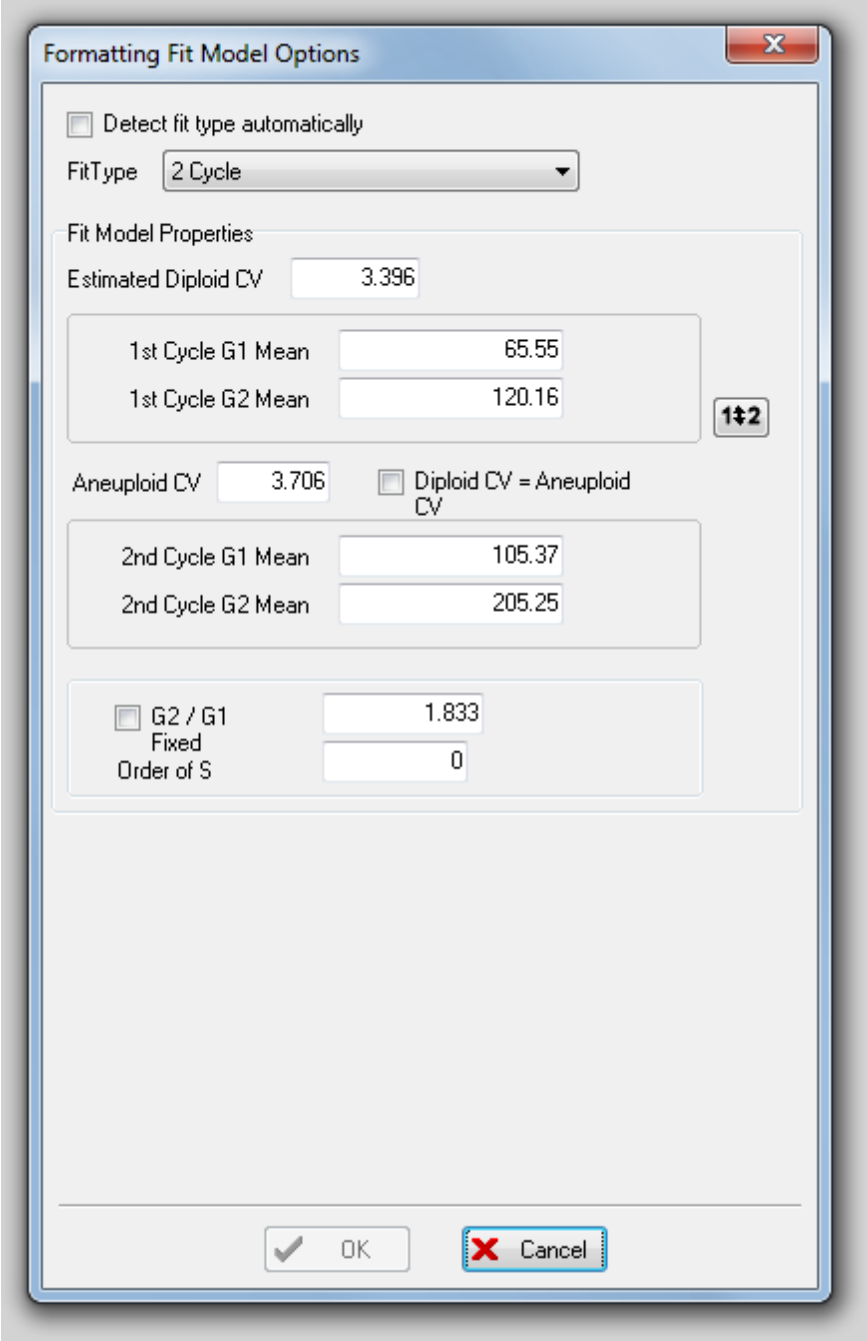


图24.6 Formatting Fit Model Options Dialog (**格式化拟合模型选项对话框**)

- 要修改背景参数，选择**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→Background(背景)**命令来调出**Formatting Background Options(格式化背景选项)**对话框(图24.7)。这些参数在多周期模型用户手册中均有描述。

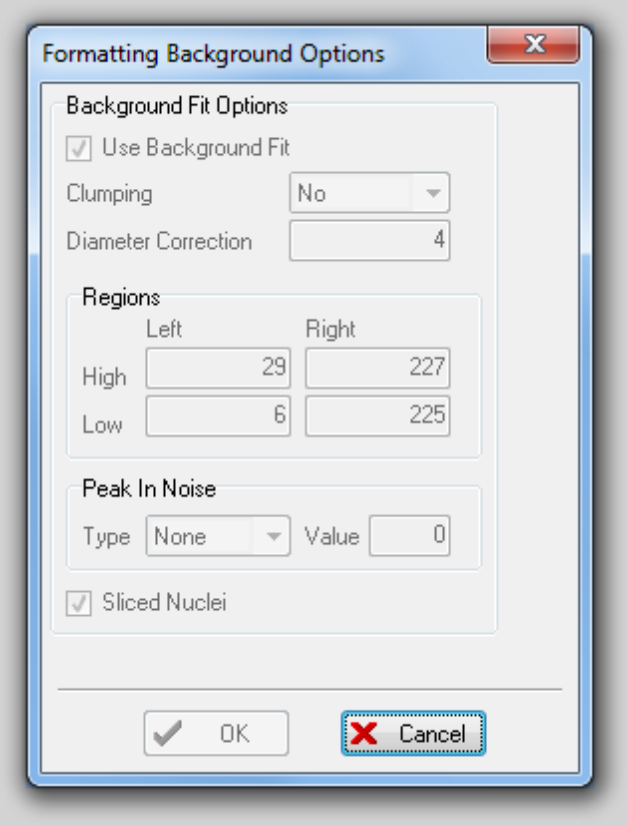


图 24.7 Formatting Background Options Dialog (**格式化背景选项对话框**)

25.6 DNA位置标识

细胞周期参数的位置(例如，G1平均值或背景区域)可使用DNA Position Markers(DNA **位置标识)**来显示(图24.8)。

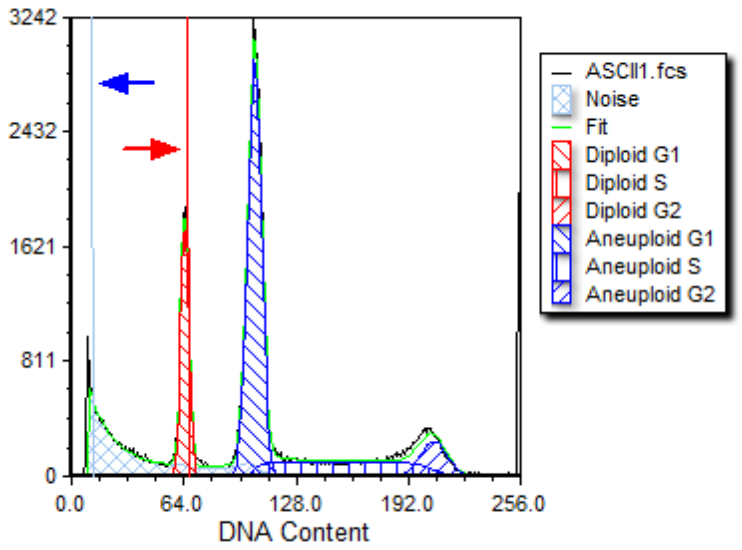


图24.8 DNA Histogram showing Background Region Low (blue) and G1 Mean (red) Position Markers (DNA**柱状图上的背景区域(蓝色)和**G1**平均值(红色)对应的位置标识**)

用户可以显示或隐藏位置标识，方法是右键点击DNA柱状图，从弹出菜单中选择DNA **Position Markers(DNA位置标识)**，然后从子菜单中选择位置标识(图24.9)。请选中一个标识来将其显示，取消选中来将其隐藏。

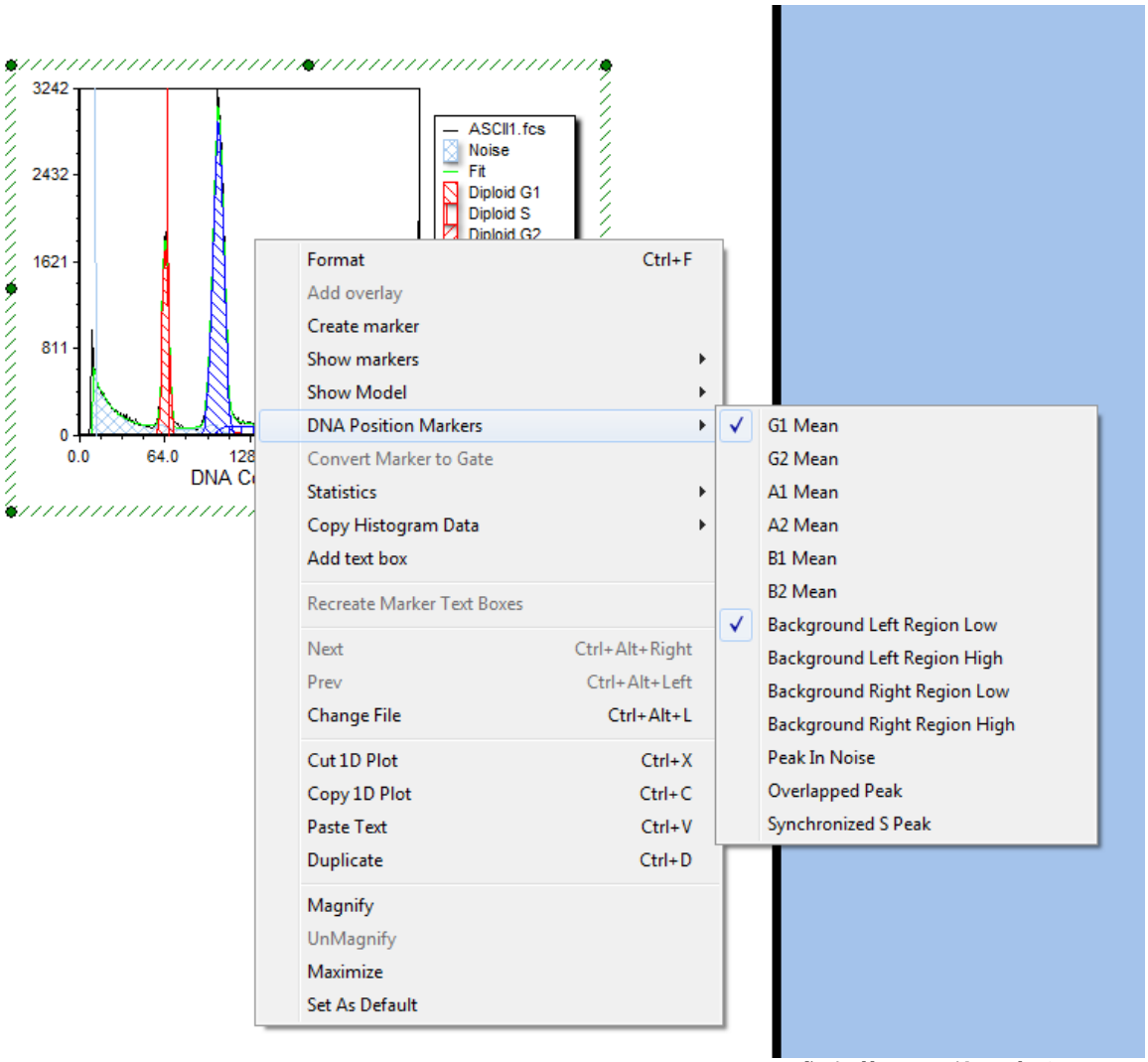


图 24.9 Showing or Hiding DNA Position Markers (**显示或隐藏**DNA**位置标识**)

要设置标识是否可视、类型、颜色和/ 或标识宽度，请右键点击DNA Histogram(DNA柱状图)，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，点击DNA旁边的三角，然后选择Position **Markers(位置标识)**页(图24.10)。从左边的列表选中标识(用**Ctrl+ 点击**来选择多个标识)。复选框**Show position marker on the plot(在绘图上显示位置标识)**控制所选标识是否可视。

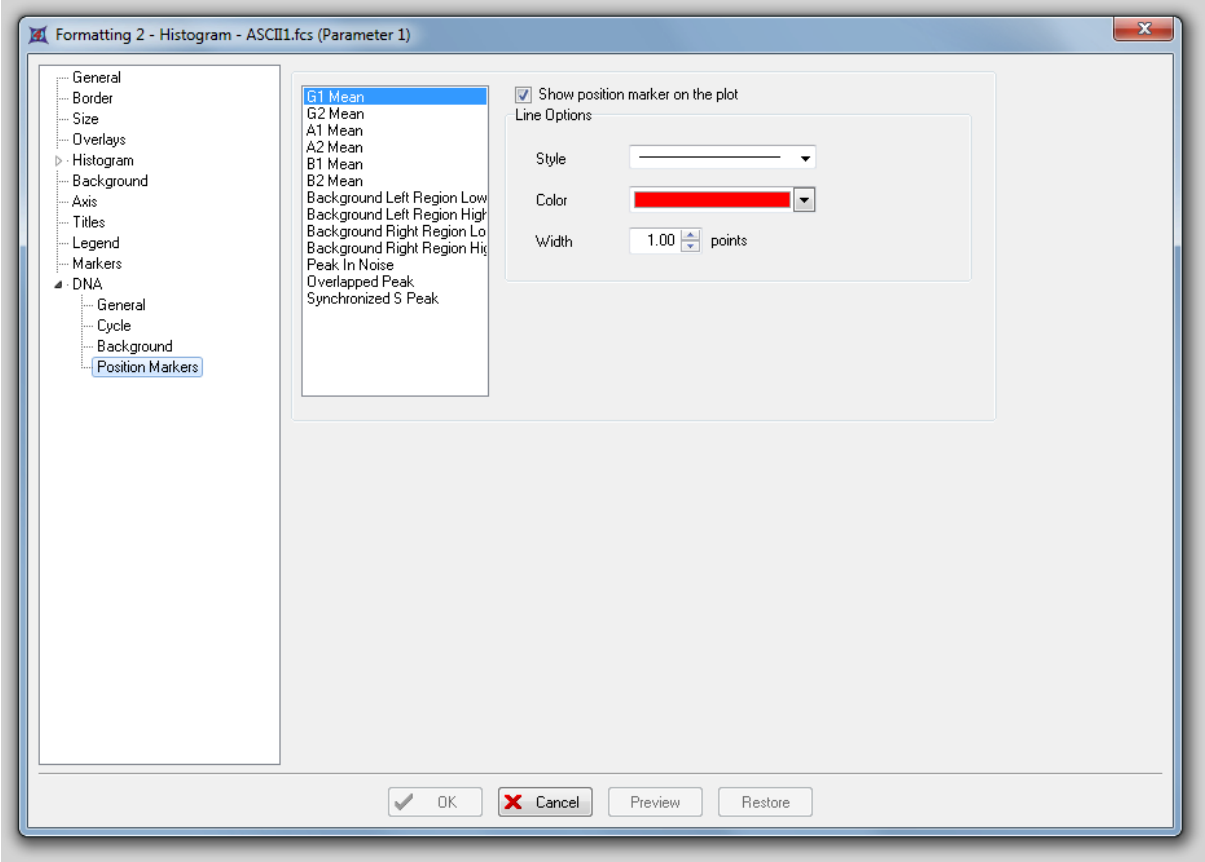


图24.10 Formatting a DNA histogram - Position Markers (**格式化**DNA**柱状图 - 位置标识**)

25.7 DNA统计

要打开DNA统计窗口，右键点击DNA柱状图，将鼠标移到弹出窗口的**Statistics(统计)**上方，然后从子菜单中选择需要的类型(图24.11)。

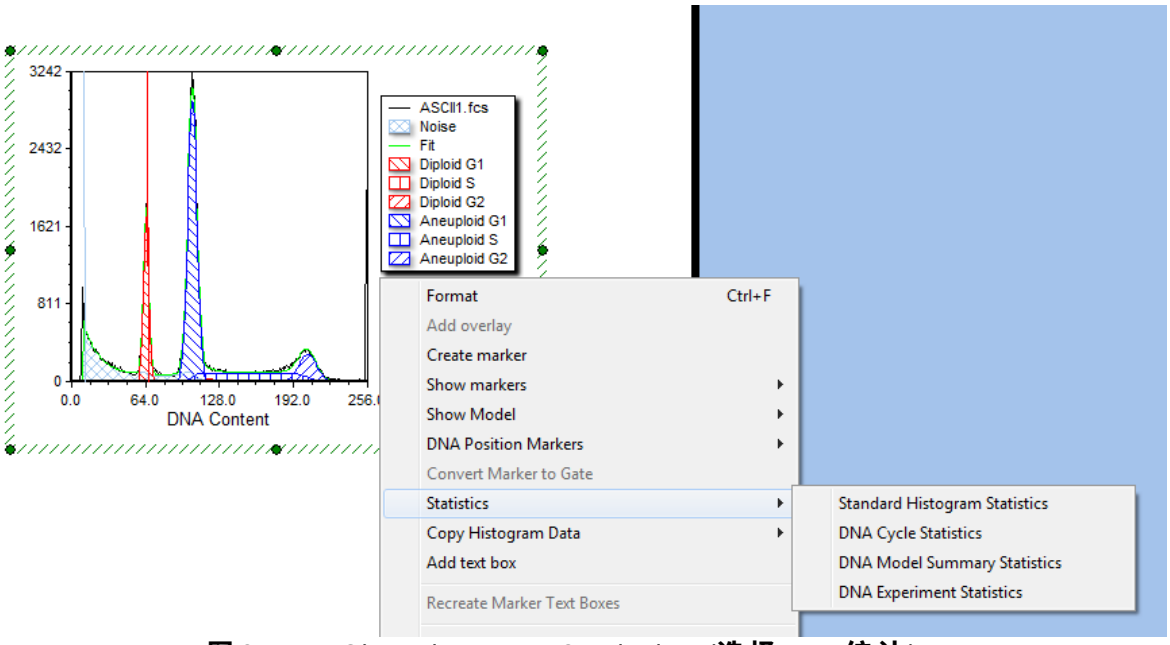


图 24.11 Choosing DNA Statistics (**选择**DNA**统计**)

第一个选项，Standard Histogram **Statistics(标准柱状图统计)**，是指那些不是特别针对DNA柱状图的统计200。

DNA Cycle Statistics(DNA周期统计)描述样品中的试样细胞群。三个可能的细胞群是Diploid(二倍体)、Aneuploid A(异倍体A)(或称异倍体1)和Aneuploid B(异倍体B)(或称异倍体2)。根据当前应用的拟合，每个数据群的统计数据显示在各自行中。图24.12给出了一个二重周期拟合的DNA周期统计实例。对各种周期统计的详细描述请参考Multicycle(多周期模型)用户手册。

Cycle	G1 Mean	G1 CV	%G1	G2 Mean	G2 CV	%G2	%S	G2/G1	%Total	D.I.	B.A.D.
Diploid	65.55	3.40	91.60	120.16	3.41	2.43	5.97	1.83	19.99	n/a	8.38
Aneuploid A	105.37	3.71	66.75	205.25	3.71	12.60	20.65	1.95	80.02	1.61	5.58

图 24.12 DNA Cycle Statistics for a Two Cycle Fit (**针对二重周期拟合的**DNA**周期统计**)

DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)汇总了Multicycle(多周期模型)每次进行DNA分析时计算的六个模型。每个模型出现在各自行中。各种DNA模型统计的详细描述请参考Multicycle(多周期模型)用户手册。

DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)显示一些额外的统计数据以及对整个实验的注释。该注释，旨在让用户感觉一下拟合的好坏，在Multicycle(多周期模型)用户手册中有更详细的描述(图24.13)。

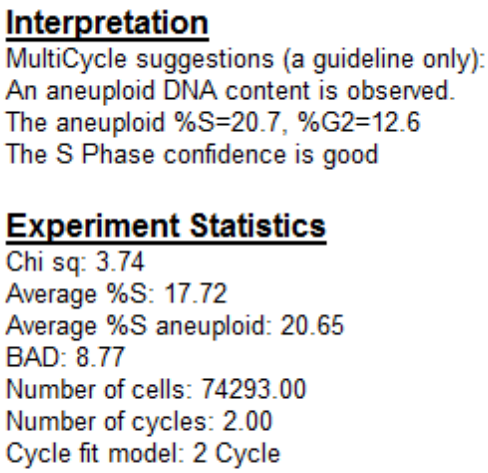


图 24.13 DNA Interpretation and Experiment Statistics (DNA**注释和实验统计**)

25.8 DNA统计特有标记

所有DNA统计项目都可用做标记286。DNA标记可以在文本框中287、自定义标记中308或者Alert(警告)380的公式中使用，它也可在批处理过程中导出至报表361。

要把DNA标记插入到文本框中:

1. 使用**Insert(插入)→General(常规)→Text Box(文本框)**命令插入一个文本框。
2. 右键点击文本框，然后选择**Insert Token(插入标记)**。
3. 选择**Statistic(统计)**，然后点击**Insert(插入)**按键来调出**Create Statistic(创建统计)**对话框。
4. 选择一个DNA柱状图作为**Data Source(数据源)**。
5. 打开**Statistic(统计)**页。
6. 从**Select a Statistic(选择统计)**下拉菜单中选择一项DNA统计408。如果选择DNA Cycle Statistics(DNA周期统计)，对话框会看起来像图24.14所示的那样。如果选择其它DNA统计(DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)或DNA Experiment Statistics(DNA实验统计))，列表框中的选项和特定项目会有所不同。

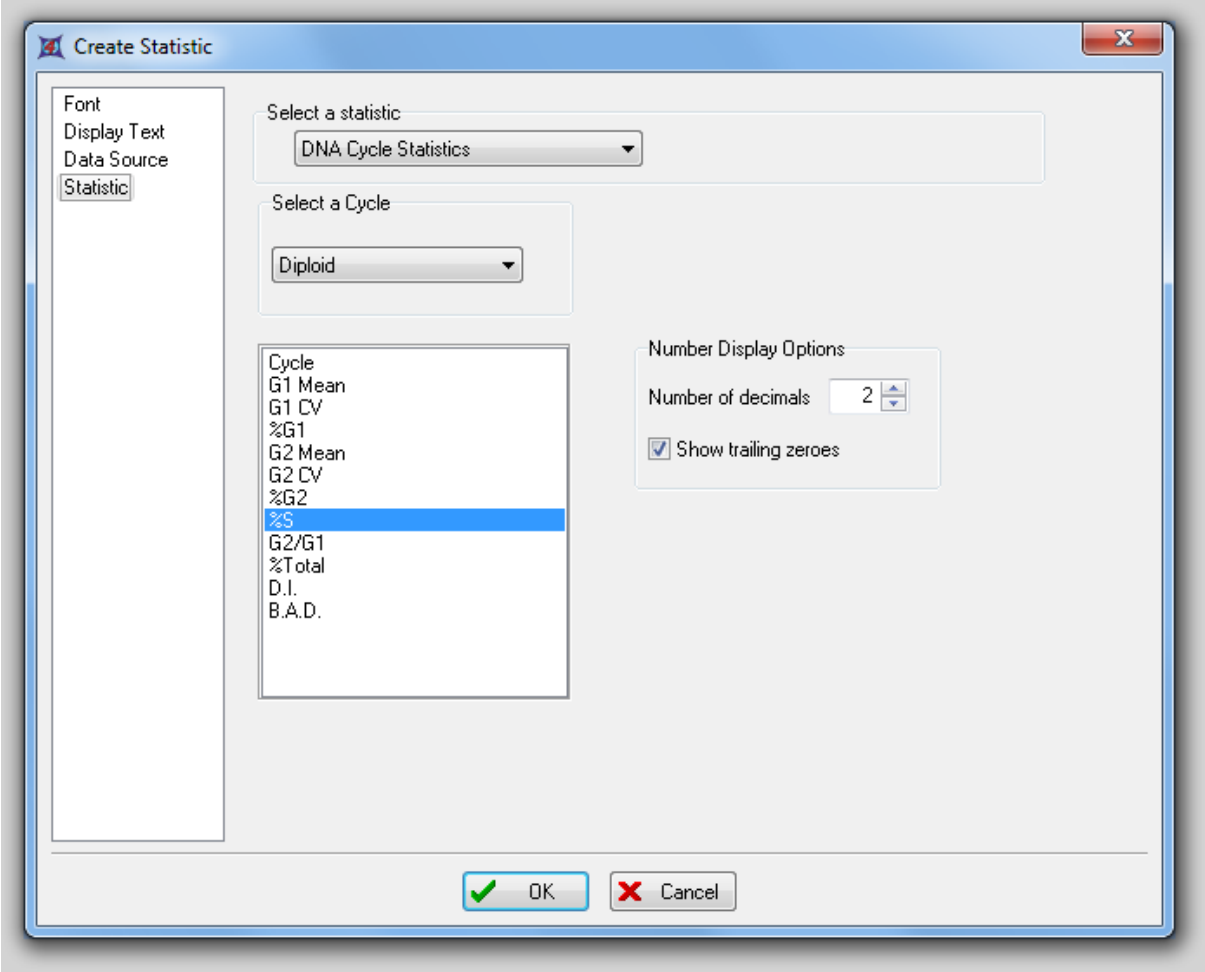


图 24.14 Create Statistics Dialog - DNA Cycle Statistics (**创建统计对话框** - DNA**周期统计**)

第 26 章

26 细胞分裂分析

荧光细胞染色和细胞分裂跟踪染料可以用来监测细胞分裂过程中的分裂次数和找出细胞分裂和分化的关系。

荧光跟踪染料主要分为两种:

- *标记一般蛋白质染料*

  用来标记一般蛋白质的染料(例如CFSE(羧基二乙酸荧光素琥珀酰亚胺酯))和细胞蛋白质中的氨基生成随机的共价键，属于高强度非渗透性细胞膜标记荧光分子。CFSE荧光强度很高，受488nm激光激发后，在515nm的"绿色"波段发出荧光。

- *一般性的膜结构标记染料*

  一般性膜结构标记染料，例如PKH和Cellvue是亲脂性化合物，它们可以牢固地、不通过共价键地插入细胞膜中。一般性的膜标记染料在荧光强度上有所差异；染料的颜色有多种，可用来做多颜色实验。

每次细胞分裂，颜料基本上会平均分配到两个子细胞中。因此，颜料荧光强度可用来衡量一个细胞已经分裂的次数。

染色之后，细胞群被定期经由流式细胞仪分析。最后可生成一个柱状图，用细胞数目对荧光强度作图。一般来说，细胞分裂染料可以用来跟踪8次细胞分裂，之后染料的荧光强度会降到未被染色的细胞自发荧光水平。

FCS Express的细胞分裂插件包(Proliferation Add-on)提供了一套曲线拟合算法，来检测分裂细胞的比例。

26.1 获取细胞分裂附加模块

FCS Express里的细胞分裂模块可执行复杂的曲线拟合，来定量描述细胞群的分裂特征。该功能可很方便地确定分裂细胞的比例和其它相关统计数据。

Cell Proliferation Analysis(细胞分裂分析)附加模块包已包含在FCS Express 4 Flow Cytometry专业版中。

26.2 插入细胞分裂柱状图

细胞分裂柱状图是根据设置的参数自动模拟细胞分裂统计的一维绘图子集。

注:细胞分裂柱状图的坐标轴150应设置为对数坐标。

在插入细胞分裂柱状图进行曲线拟合之前，用户应该为相应的细胞设置门。参见细胞分裂教程1004来获取这方面的更多信息。

要插入一个细胞分裂柱状图，请使用**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Proliferation(细胞分裂)**命令。如果必要的话，修改x - 轴参数177来反映CFSE荧光信号。

图25.1是一个荧光细胞分裂柱状图的例子。

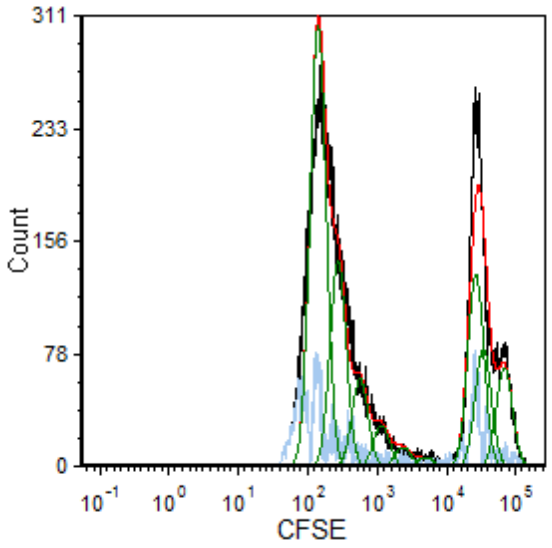


图25.1 Proliferation Histogram (**细胞分裂柱状图**)

默认的颜色设置解释于下表。

颜色	解释
黑色	整体柱状图轮廓。它包括所有数据而且不带有任何拟合的算法。
红色	拟合数据的整个轮廓。该轮廓排除了算法认为是噪声的那部分信号。
浅蓝色	这是算法判定为噪声信号的那部分，这部分信号不包括在统计计算中。
绿色	分裂细胞的模型拟合细胞群。这是对数据的实际拟合曲线，代表父代细胞、未分裂细胞群和所有正在进行分裂的细胞代。

26.3 格式化细胞分裂柱状图

除了一般柱状图都有的设置157外，细胞分裂柱状图有两个特殊的格式化属性选项组:拟合参数415和细胞分裂位置标识417。

26.3.1 *拟合参数选项*

如果运算规则发现有很大一群事件是噪音信号(细胞分裂柱状图上的浅蓝色)，用户可以修改**Proliferation Fit Parameters(细胞分裂拟合参数)**来改进模型的拟合。

要对细胞分裂柱状图上的拟合参数进行格式化:

1. 右键点击细胞分裂柱状图，然后从弹出菜单中选择**Format(格式)**。
2. 点击**Proliferation(细胞分裂)**旁边的三角来展开该命令区。
3. 要修改拟合模型，选择**Fit Parameters(拟合参数)**选项区(图25.2)。

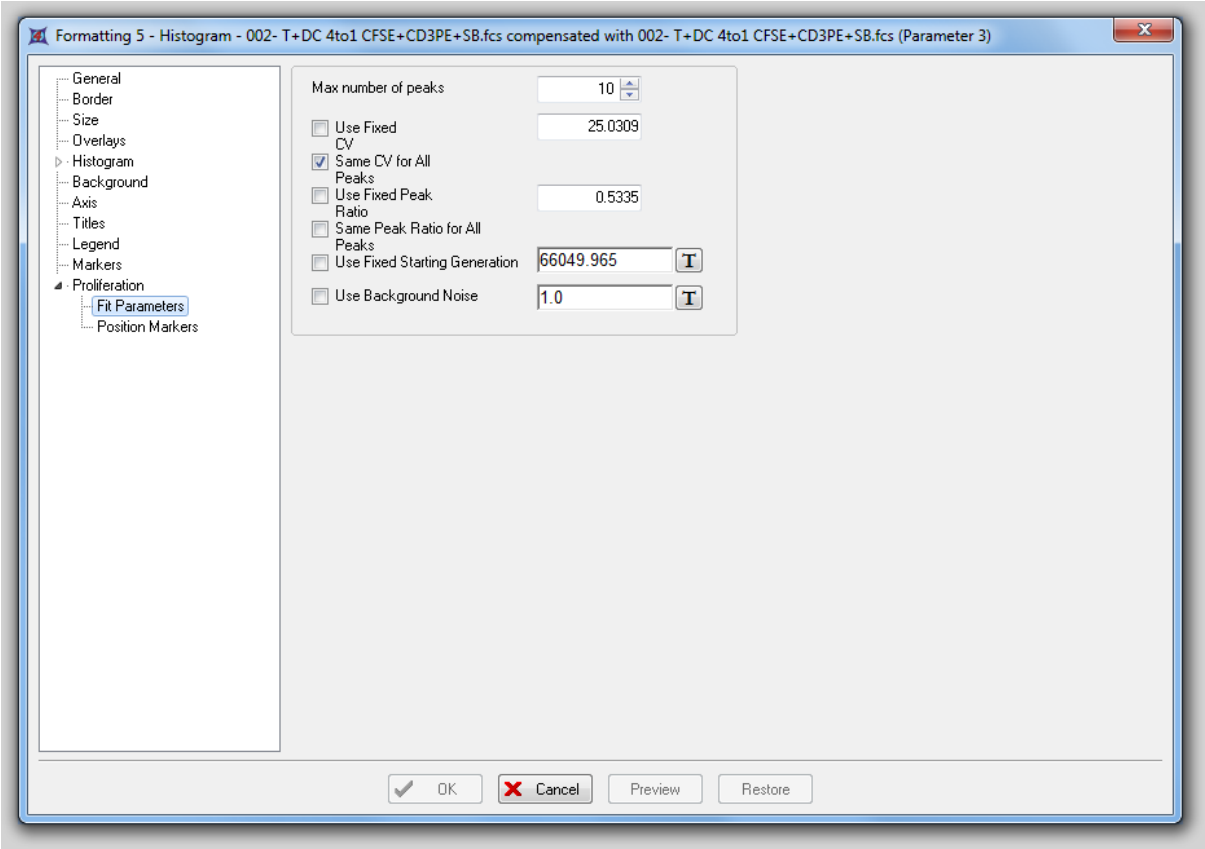


图25.2 Formatting Proliferation Fit Parameters (**格式化细胞分裂拟合参数**)

在**Fit Parameters(拟合参数)**一页，用户可以修改和算法相关的一系列属性，包括:

- 选择要计算的**Maximum number of peaks(最多数据峰的数目)**。
- 决定是否使用**Fixed CV(固定变异系数)**和/或**Same CV for All Peaks(所有数据峰使用相同的变异系数)**。
- 使用**Fixed Peak Ratio(固定的数据峰比率)**和/或Same Peak Ratio for All **Peaks(所有数据峰有相同的数据峰比率)**。
- 为**Fixed Starting Generation(固定起始细胞代数)**和/或Background Noise **(背景噪音)**设置参数。

以下是一个拟合算法工作原理的简单描述，它可以帮助用户设置以上属性:

- 拟合过程首先找到尚未分裂的细胞群在哪里。尽管用户可以手动设置寻找峰值，拟合过程可自动进行该步骤。在一些情况下，用户必须手动设置该项，因为可能细胞群中没有尚未分裂的细胞。

- 找到未分裂的细胞群后，该模型会寻找荧光值彼此降低了50%的那些细胞群。因为不是所有实验均按理论进行，模型会从50%这个数值点开始检查，但也会左右稍微移动一些来锁定真正的数据峰。可通过使用**Same Peak Ratio for All Peaks(为所有数据峰选择相同的比率)**选项来控制该操作。

- 要找到一个数据峰，该模型在对比未分裂细胞基础上，做出一些假设。可用Same CV **for All Peaks(所有数据峰使用相同的变异系数)**选项控制这些设置。

- 如果提供一个背景荧光数值，该模型可从所有计算中减去背景荧光。

- 因为算法使用实际的柱状图轮廓来进行拟合，柱状图数据不应该做平滑处理。只有在特殊情况下，例如当原始数据噪音很大时，才应该使用一点平滑处理，以使模型更好地拟合数据。

- 这些选项的存在是为了在模型中可以包含广泛的数据来源和生物行为。因此，要获得最好的拟合，开始的正确设置很重要。在实践中，该过程常常是用尝试法，直到参数设置可提供最好的拟合为止。

- 两种检查拟合好坏的方法是眼睛观察(做一个大概批判)和细胞分裂拟合统计 418。

26.3.2 *细胞分裂位置标识*

可在细胞分裂柱状图上显示Position Markers(位置标识)，来标记未分裂细胞峰的位置和/ 或背景区域。

要格式化细胞分裂位置标识:

1. 右键点击细胞分裂柱状图。
2. 从弹出菜单中选择**Format(格式)**。
3. 点击**Proliferation(细胞分裂)**旁边的三角来展开该项。
4. 选择**Position Markers(位置标识)**项。

从左边的列表框中选择**Undivided cells peak(未分裂细胞峰)**和/ 或**Background(背景)**属性(图25.3)，然后从右边选择线条类型。

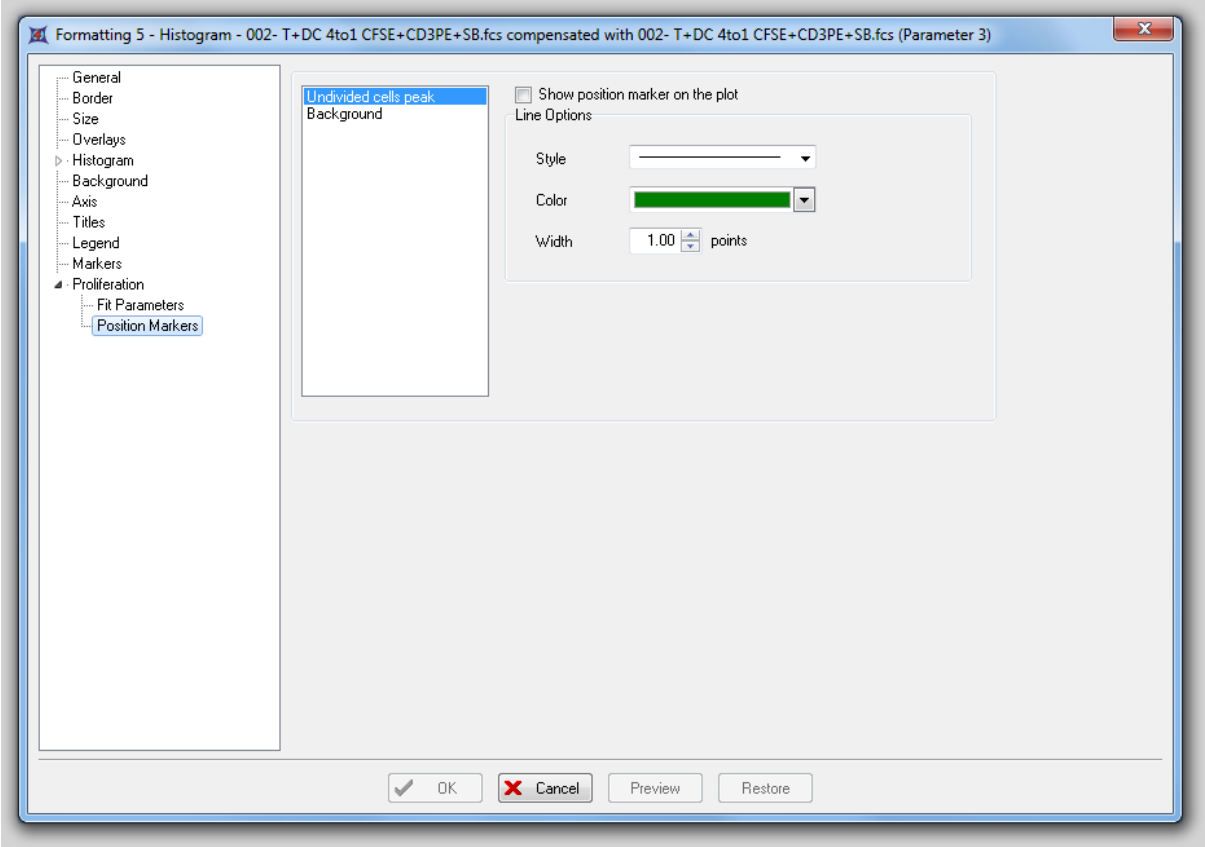


图 25.3 Formatting Proliferation Position Markers (**格式化细胞分裂位置标识**)

26.4 细胞分裂统计

有关"选择显示哪些细胞分裂拟合123和细胞分裂群124的统计数据"的内容，已在格式化对象一章中讲过。

要打开细胞分裂统计窗口，在细胞分裂统计柱状图上右键点击，将鼠标移至**Statistics(统计)**上方，然后从子菜单中选择所需的类型(图25.4)。

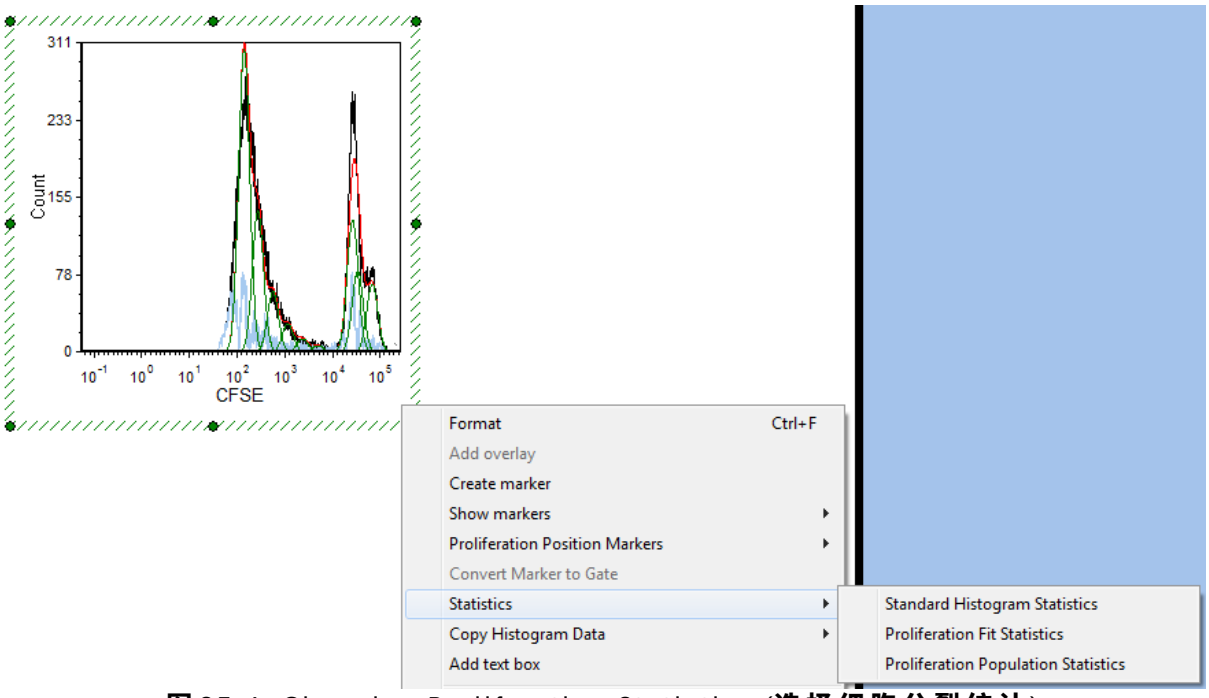


图 25.4 Choosing Proliferation Statistics (**选择细胞分裂统计**)

第一个选项，Standard Histogram **Statistics(标准柱状图统计)**，是指那些不是特别针对细胞分裂柱状图的统计计算200。

Proliferation Fit Statistics(细胞分裂拟合统计)描述拟合的数据。图25.5给出了一个细胞分裂拟合统计的例子。

Division Index	Proliferation Index	% Divided	Peak Ratio	# of Fitted Cells	# of Original Cells	RMS Error	R-Chi Square	Starting Generation Mean	Background Noise
10.04	5.80	53.10	0.53	36882.00	6326.36	16.22	63.68	66049.97	0.00

图 25.5 Proliferation Fit Statistics (**细胞分裂拟合统计**)

Proliferation Population Statistics(细胞分裂群统计)衡量在实验中分裂过的多代细胞(图25.6)。

Generation	Peak Channel	Peak Value	Log Std Dev	Log CV	Peak Ratio	# of Cells
Undivided Cells	66049.97	68.00	25.03	2.68	0.00	2967.00
Generation 1	32661.17	81.00	25.03	2.82	0.50	3560.00
Generation 2	25698.96	132.00	25.03	2.88	0.78	5827.00
Generation 3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Generation 4	4519.33	6.00	25.03	3.30	0.00	238.00
Generation 5	2136.54	13.00	25.03	3.53	0.48	562.00
Generation 6	1105.08	28.00	25.03	3.78	0.49	1216.00
Generation 7	546.45	60.00	25.03	4.08	0.49	2623.00
Generation 8	270.22	142.00	25.03	4.42	0.48	6254.00
Generation 9	139.76	304.00	25.03	4.80	0.51	13438.00

图 25.6 Proliferation Population Statistics (**细胞分裂群统计**)

26.5 细胞分裂特有标记

所有细胞分裂统计项目都可用做标记286。细胞分裂标记可以插入文本框中287，在自定义标记308或者警告380的公式中使用，也可在批处理过程中导出至报表361。

要把细胞分裂标记插入到文本框中:

1. 使用**Insert(插入)→General(常规)→Text Box(文本框)**命令插入一个文本框。
2. 右键点击文本框，然后选择**Insert Token(插入标记)**。
3. 选择**Statistic(统计)**，然后点击**Insert(插入)**按键来调出**Create Statistic(创建统计)**对话框。
4. 选择一个细胞分裂柱状图作为**Data Source(数据源)**。
5. 打开**Statistic(统计)**页。
6. 选择**Proliferation Population Statistics(分裂细胞群统计)**或者从Select a **Statistic(选择统计)**下拉列表中选择**Proliferation Fit Statistics(细胞分裂拟合统计)**。如果选择**Proliferation Population Statistics(分裂细胞群统计)**，对话框会看起来如图24.7所示。从 **Select Population(群选择)**下拉列表中选择一个细胞群，然后从列表框中选择一个统计项目，点击OK。

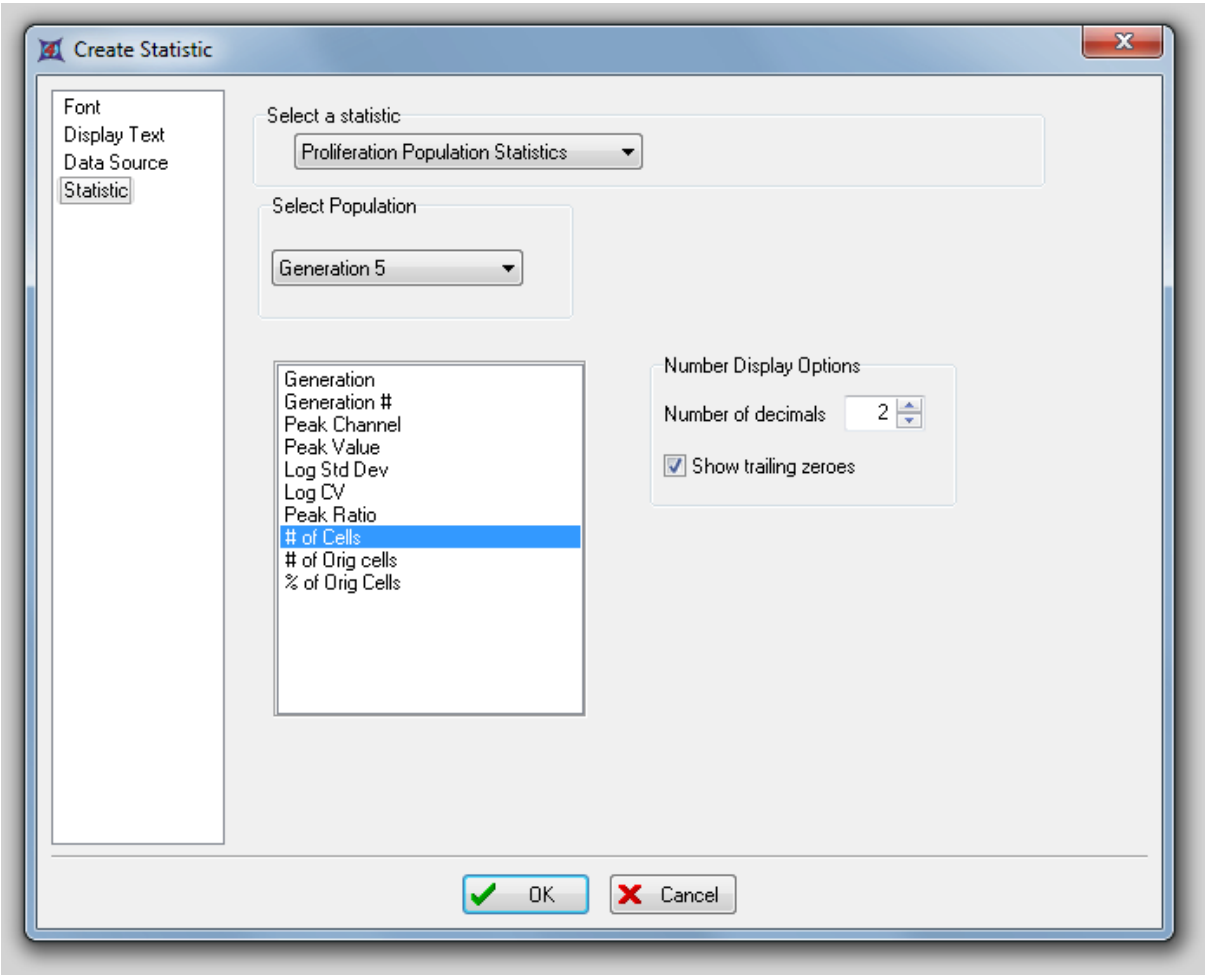


图 25.7 Choosing a Proliferation Population Statistic Token (**选择细胞分裂群统计标记**)

第 27 章

27 动力学分析

钙离子在细胞信号传导中发挥重要作用。细胞内钙离子的浓度对外界刺激可做出瞬时反应。有几个荧光染料可通过流式细胞仪来测量键合的Ca^{++}，它们包括Indo-1(需要紫外激光)，还有Fluo-3和Fura Red的组合(用在只可以发射488nm的设备上)。Fluo-3(最大荧光强度在530nm)的荧光强度随着Ca^{++}浓度增加而增加。Fura Red(最大荧光强度在650nm)的强度随Ca^{++}浓度增加而减弱。Fluo-3对Fura Red的荧光强度比可用来跟踪Ca^{++}浓度随时间的变化。

27.1 插入动力学绘图

在动力学分析中，X-坐标轴代表时间。通常，当荧光信号在实验开始时达到基线水平后，细胞会对外加的一个或多个药品刺激产生反应。

动力学绘图是一类特殊的一维绘图，它自动计算一个时间单位内Y-轴的*平均值*(例如算术平均、几何平均、中间值或大于阈值百分比)，然后为每个X-轴坐标值显示一个点(也可加选用颜色显示Y-轴的标准偏差)。

要插入动力学绘图，请使用**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Kinetics(动力学)**命令。必要的话，可将X-轴参数修改为时间，然后格式化X-轴数据范围或分辨率来反映用户实际实验(方法是右键点击柱状图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Axis(数据轴)**页来调整数据范围，或选择**Kinetics Options(动力学选项)→**Binned Plot Specific **Options(区间化绘图的特定选项)**命令区来设置分辨率)。

图26.1给出了一个动力学绘图的例子。

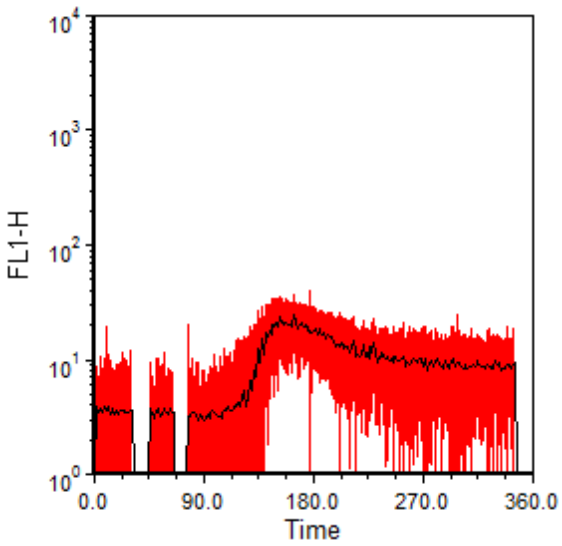


图26.1 Kinetics Histogram (Median FL1-H vs Time). Standard Deviation shown in red. (**动力学柱状图**(**中间值**FL1-H**对时间作图**)**。标准偏差显示为红色。**)

27.2 格式化动力学绘图

格式化动力学绘图时，叠加图层选项含有控制其外观的重要属性。用户可以用以下两种方法格式化这些属性:

- 选择动力学绘图，然后使用**Format(格式化)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。
- 右键点击动力学绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式化)**，然后选择**Overlays(叠加图层)**页(图26.2)。

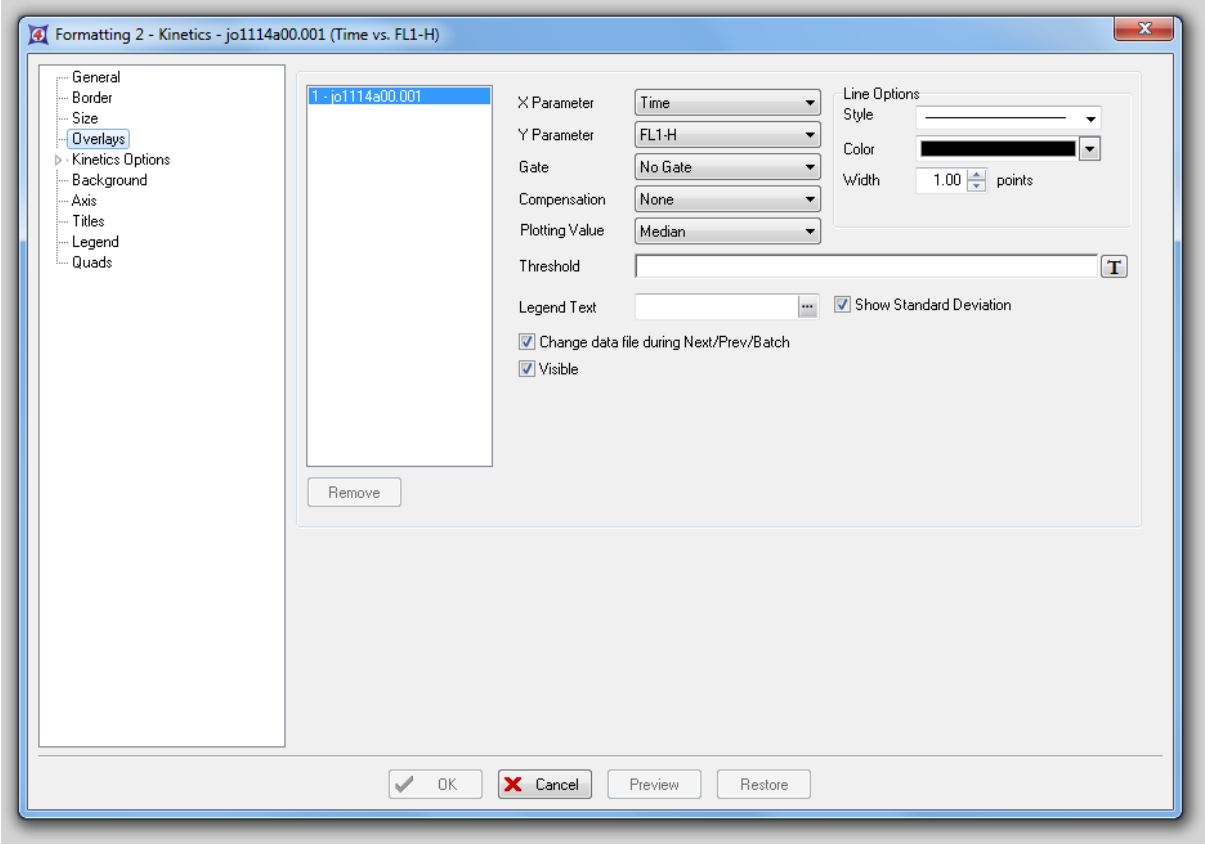


图 26.2 Formatting Kinetics Overlays (**格式化动力学叠加图层**)

选择一个**Plotting Value(绘图数值)**，它或者代表用来计算Y- 轴平均值的方法(**Mean(算术平均)**、**Geometric Mean(几何平均)**、**Median(中间值)**或**Count(计数)**)，或者代表**% Above (超出阈值百分比)**。其中"计数"代表事件数比时间(即事件发生率)。如果运行试样没有任何问题，"计数"应该是一个常数。

使用**% Above Threshold(超出阈值百分比)**作为绘图数值(图26.3)在判断百分之多少的细胞响应了动态分析时很有用。阈值(在**Threshold(阈值)**字段设置)可手动设置为一个Y- 轴切断值，或通过在公式中插入一个或多个统计标记299来设置。

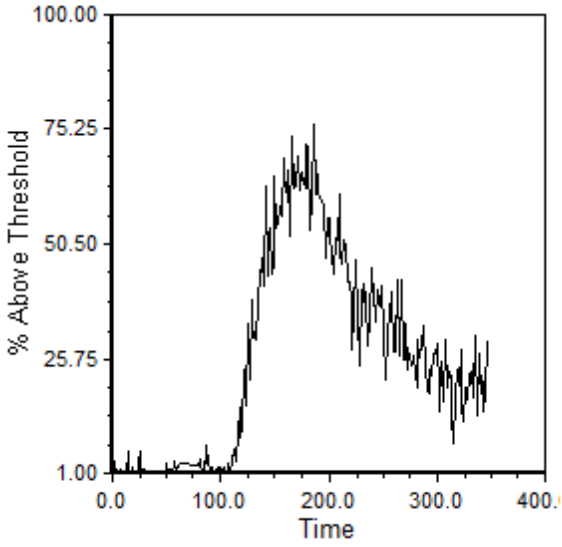


图26.3 Plotting the % Above Threshold Value (**对超出阈值百分比作图**)

Show Standard Deviation(显示标准偏差)复选框控制是否在绘图上的数值上加Y- 方向的标准偏差。

27.3 动力学统计

要计算和显示动力学统计，必须在动力学绘图上的时间常数上创建一个一维门。该一维门可用以下方式来设置:

- 选择**Gating(门操作)**(或**Home(主页)**)→**Create Gates(创建门)**→Create **Marker(创建标识)**命令。
- 右键点击动力学绘图，然后从弹出菜单中选择**Create gate(创建门)→Marker(标识)**。

然后，将光标放在想设置的标识左边界，按下鼠标。按住鼠标不放，把光标向右移动。将光标移到想要的标识右边界，松开鼠标。

创建一维门后，要显示统计(图26.4)，右键点击动力学绘图，然后从弹出菜单中选择Kinetics **Statistics(动力学统计)**。

Overlay Number	Overlay Legend	Gate	Start Time	End Time	Elapsed Time	Peak Value	Peak Time	Start to Peak Elapsed Time	Start to Peak Slope	Rising Phase baseline	Start Rising Phase	Rise to Peak Elapsed Time	Rise to Peak Slope
1.00	jo1114a00.001	Gate 2	79.12	153.33	74.21	7.02	149.79	70.67	0.04	112.69	112.69	37.10	0.06

图26.4 Kinetics Statistics (**动力学统计**)

动力学统计算法被设计为是自动检测信号上升阶段的开端，所以用户不用总把一维门放在上升阶段的起始点。可把标识开始点放在添加样品的时刻，然后FCS Express会检测上升阶段从哪开始。可用的统计方法显示于下表。

Statistic(统计)	解释
Overlay Number(叠加图层编号)	如果绘图上有多个叠加图层，系统会计算绘图上每个叠加图层的统计。**Overlay #(叠加图层编号)**显示那一行统计数据所对应的叠加图层编号。叠加图层编号对应于格式窗口里Overlays(叠加图层)页面上的叠加图层列表。
Overlay Legend(叠加图层图例)	默认图例是文件名。图例可在格式窗口上叠加图层页的Legend Text(图例文本)字段中修改。
Gate(门)	使用统计计算的门。该计算区间是时间参数上的一维门。
Start Time(开始时间)	标识左边界对应的时间。
End Time(终止时间)	标识右边界对应的时间。
Elapsed Time(持续时间)	终止时间减去开始时间。
Peak Value(峰值)	数据峰对应的Y-方向数值。
Peak Time(峰值时间)	数据峰对应的X-坐标时间。
Start to Peak **Elapsed time(开始到峰值时间)**	峰值时间减去开始时间。
Start to Peak Slope **(开始到峰值斜率)**	标识开始点到峰值段的斜率。
Rising Phase **Baseline(上升阶段基线)**	由算法决定的上升阶段开始前的基线。
Start Rising Phase **(上升阶段开始时间)**	由算法决定的上升阶段开始时间。
Rise to Peak **Elapsed Time(开始上升到峰值时间)**	峰值时间减去上升阶段开始时间。
Rise to Peak Slope **(上升到峰值斜率)**	开始上升阶段到峰值时间的斜率。

参见格式化统计 203一节来选择显示哪些统计。

27.4 动力学特有标记

所有动力学统计项目都可用做标记 286。动力学标记可以插入文本框中 287、在自定义标记 308或者警告 380中的公式里使用，也可在批处理过程中导出至报表 361。

要把动力学统计标记插入到文本框中:

1. 使用**Insert(插入)→General(常规)→Text Box(文本框)**命令插入一个文本框。
2. 右键点击文本框，然后选择**Insert Token(插入标记)**。
3. 选择**Statistic(统计)**，然后点击**Insert(插入)**按键来调出**Create Statistic(创建统**

计)对话框。

4. 选择一个动力学绘图作为**Data Source(数据源)**。
5. 打开**Statistic(统计)**页。
6. 从**Select a Statistic(选择统计)**下拉菜单中选择**Kinetics stats(动力学统计)**(图26.5)。从列表框中选择一个统计计算，然后点击OK。

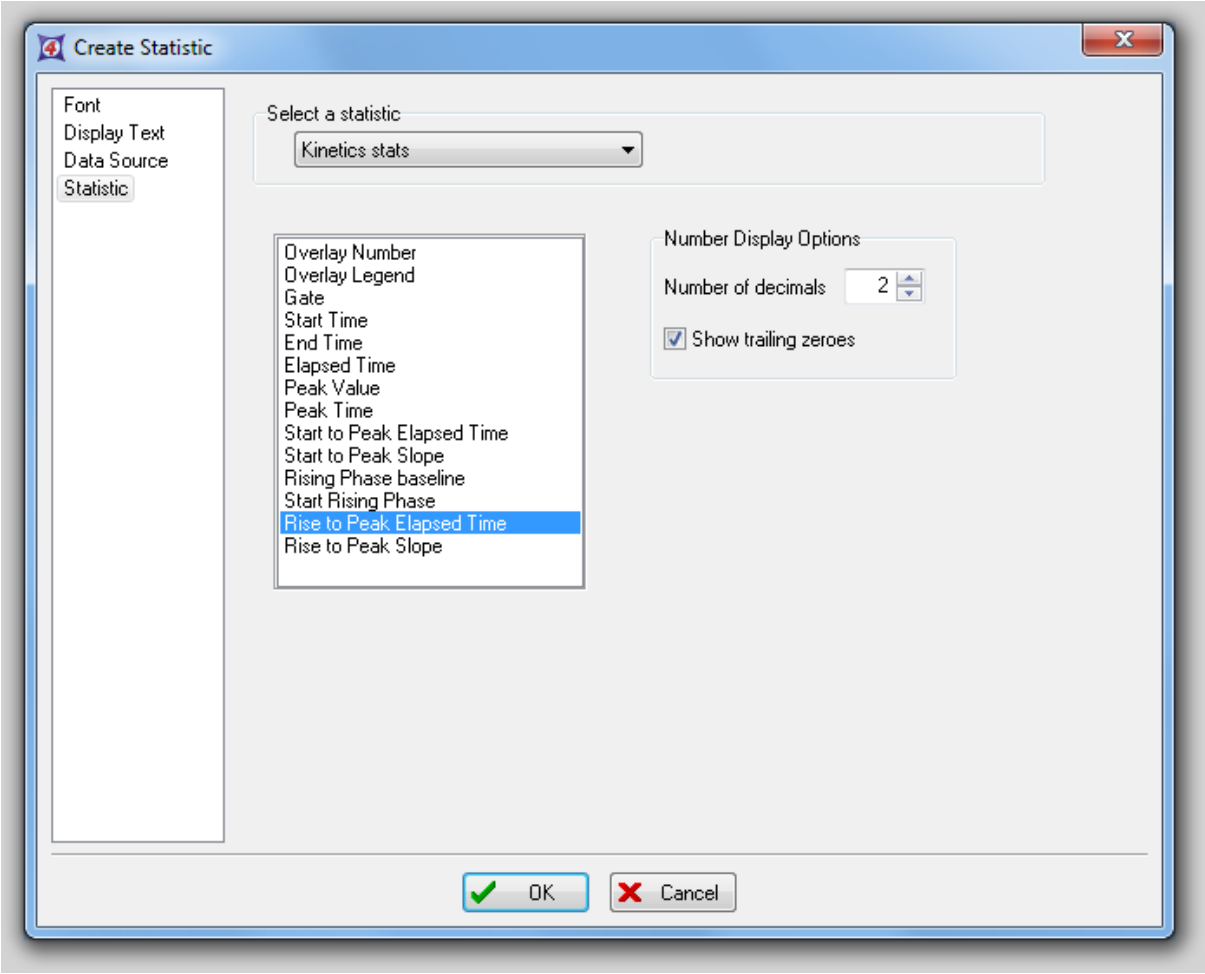


图26.5 Creating a Kinetics Statistics Token (**创建动力学统计标记**)

第 28 章

28 热图和图像绘图

在有大量数据输出的实验室，流式细胞仪检测和细胞成像通常是在96孔微孔板上进行的。从96孔微孔板上获取的数据一般包含96个独立的数据文件。FCS Express会自动合并所有文件到一个数据集中，然后将每个"细胞"和它所在的细胞孔进行关联。

Heat Map(热图)用一个和细胞板一样的网格来呈现用户数据，网格上每个孔根据显示的统计数据而带有不同的颜色。通过选择相应的配色方案和统计显示，用户可对实验有一个基本印象。通过比较每个细胞孔里的统计数据和微孔板上的整体数据，用户可快速看到那些偏离很大的细胞孔。

Picture Plots(图像绘图)显示二维细胞(或其它物体的)形态。可将其考虑为带有门的细胞图像集合。细胞的位置显示在由x- 和y- 轴构成的绘图上。门可应用于单个细胞或细胞组。

28.1 使用热图

要显示**Heat Map(热图)**:

1. 选择**Insert(插入)→Other Plots(其它绘图)→Heat Map(热图)**命令。
2. 在绘图上用户希望热图出现的地方点击(或点击- 拖拽)。

如果要导入从微孔板一起获取的一系列数据文件，或将Accuri CFlow文件作为微孔板导入，在选择数据文件40对话框上的**Files of type(文件类型)**下拉列表中选择**FCS Plate folder(FCS微孔板文件夹)**。然后选择包含这些文件的一个文件夹。该文件夹应该包含一个关键字文件273来说明微孔板的尺寸。

Heat Map(热图)中的数据显示在一个微孔板的二维格子上。例如，对于96孔的微孔板，热图包含八行(标识为A到H)和12列(标记为01到12)。正在显示的参数434被显示为y- 轴的标题。每个微孔根据所选的配色方案显示一种颜色436(图27.1)。

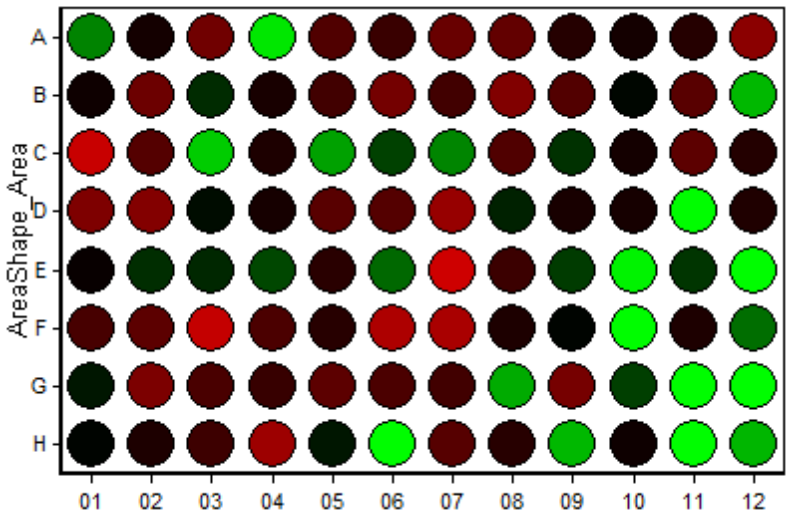


图27.1 Heat Map (**热图**)

如果有一个针对**Heat Map(热图)**的**Data Grid(数据网格)**也在显示时，其中会有一列**Well(细胞孔)**列来标明每个细胞在哪一个细胞孔中(图27.2)。

	Cell #	Gates	AreaShape_Area	AreaShape_	Outlines	rawDNA	rawGFP	Well
▶	1		106.00	0.68				A01
	2		170.00	0.76				A01
	3		216.00	0.69				A01
	4		344.00	0.66				A01
	5		223.00	0.66				A01
	6		266.00	0.71				A01
	7		364.00	0.56				A01
	8		139.00	0.63				A01
	9		305.00	0.85				A01
	10		169.00	0.70				A01
	11		149.00	0.41				A01
	12		212.00	0.63				A01
	13		207.00	0.66				A01
	14		140.00	0.56				A01
	15		223.00	0.71				A01
	16		153.00	0.74				A01

图27.2 Data Grid with Well Column (**有细胞孔列的数据网格**)

如果在含有**Heat Map(热图)**的版面中有一个**Text Box(文本框)**，用户可插入一个表格来显示每个微孔的实际数值。对于一个96孔微孔板，该操作会插入一个8x12的数据网格。要想

这样做，请右键点击文本框，选择**Insert Heat Map Stats Grid(插入热图统计数据网格)**，然后从菜单中选择**Heat Map(热图)**作为数据源(图27.3)。

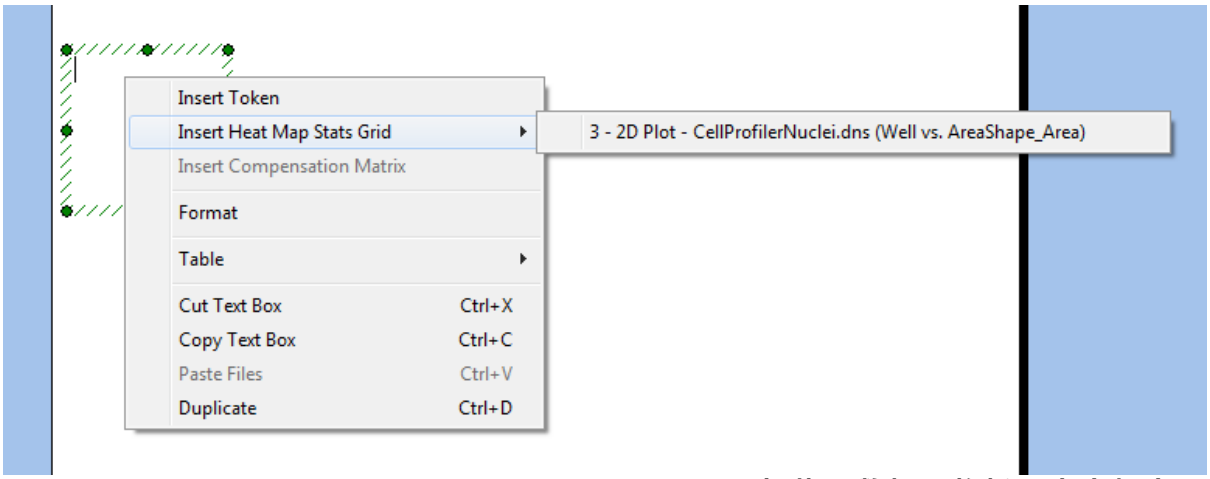


图27.3 Insert Heat Map Data Grid into a Text Box (**把热图数据网格插入文本框中**)

28.1.1 *设置要显示的参数*

要选择在**Heat Map(热图)**上显示的参数和统计，请使用以下方法:

- 选择**Heat Map(热图)**，然后使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。
- 右键点击**Heat Map(热图)**，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择Overlays **(叠加图层)**选项(图27.4)。
- 在Y- 轴上点击鼠标并按住不放，然后选择一个可用的参数。可用以上两个方法来设置要显示的统计。

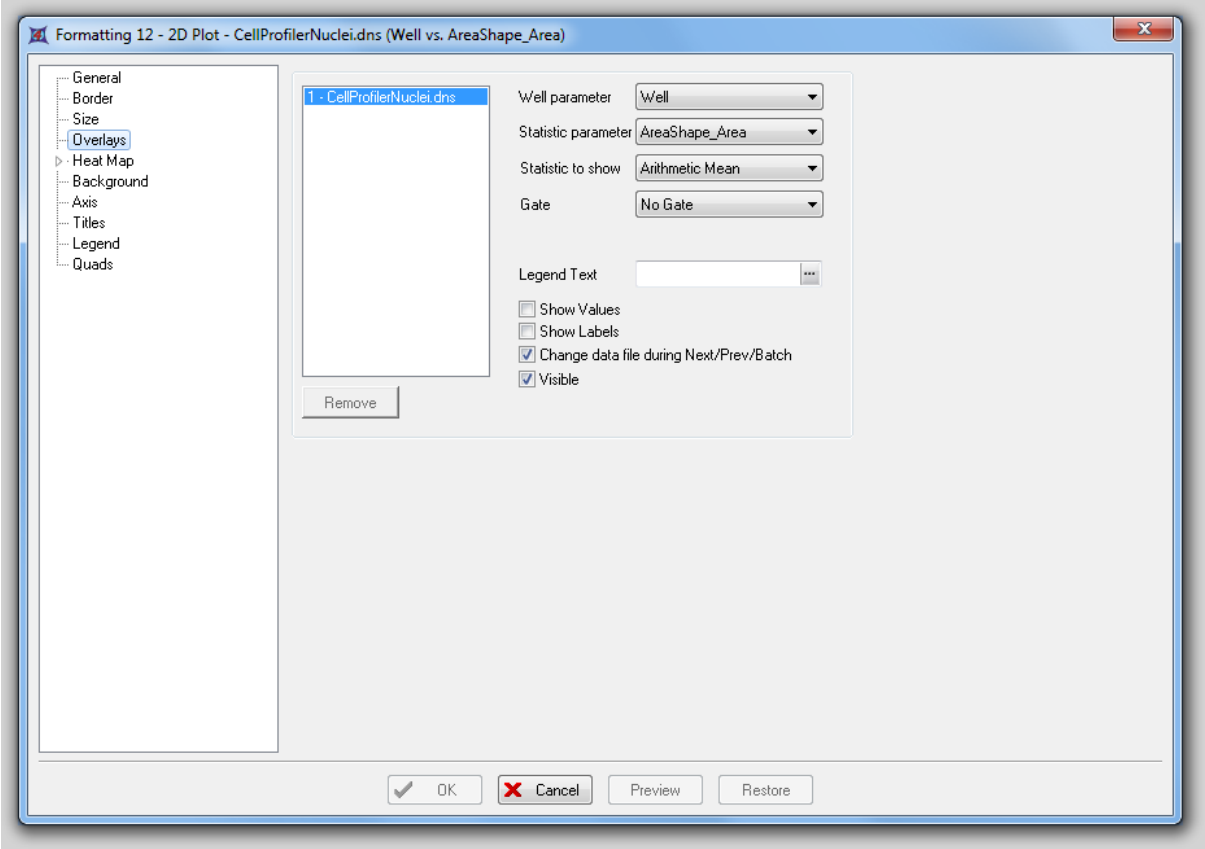


图 27.4 Heat Map - Setting the Statistic Parameter and Statistic to Show (**热图 - 设置统计参数和要显示的统计**)

显示的数据会是**Statistic parameter(统计参数)**和**Statistic to show(要显示的统计)**的组合(例如算术平均值、标准偏差、变异系数、中间数、事件数和第75%百分比等)属性。FCS Express计算从微孔板上所有微孔中获得的统计数值的平均值。然后，根据配色方案属性436，每个微孔会显示一个颜色。要为微孔设定颜色，一般是根据比较每个微孔的统计数值和以下两个值其中的一个:

- 整个微孔板的平均值±标准偏差。
- 一个事先定好的阈值。

请从**Statistic parameter(统计参数)**下拉列表中选择一个参数。该下拉列表一般包含从用户设备测量/ 计算所获取的一系列参数。从相应下拉列表里的已经定义好的统计数据里选择**Statistic to show(要显示的统计)**。

Heat Map(热图)可有一个像FCS Express中任何绘图中都可包含的**Gate(门)**。例如，可以在显示数据的点状图上画一个门，然后将其拖拽到热图上。也可以使用下拉列表来设置门。

28.1.2 选择配色方案

要为热图选择一个配色方案，首先请确认热图处于选择或编辑模式，然后使用以下方法:

- 选择**Format(格式)→2D Options(二维绘图)→Color Levels(颜色层次)**命令(图27.5)。
- 右键点击**Heat Map(热图)**，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择Heat Map **(热图)→Color Levels(颜色层次)**。

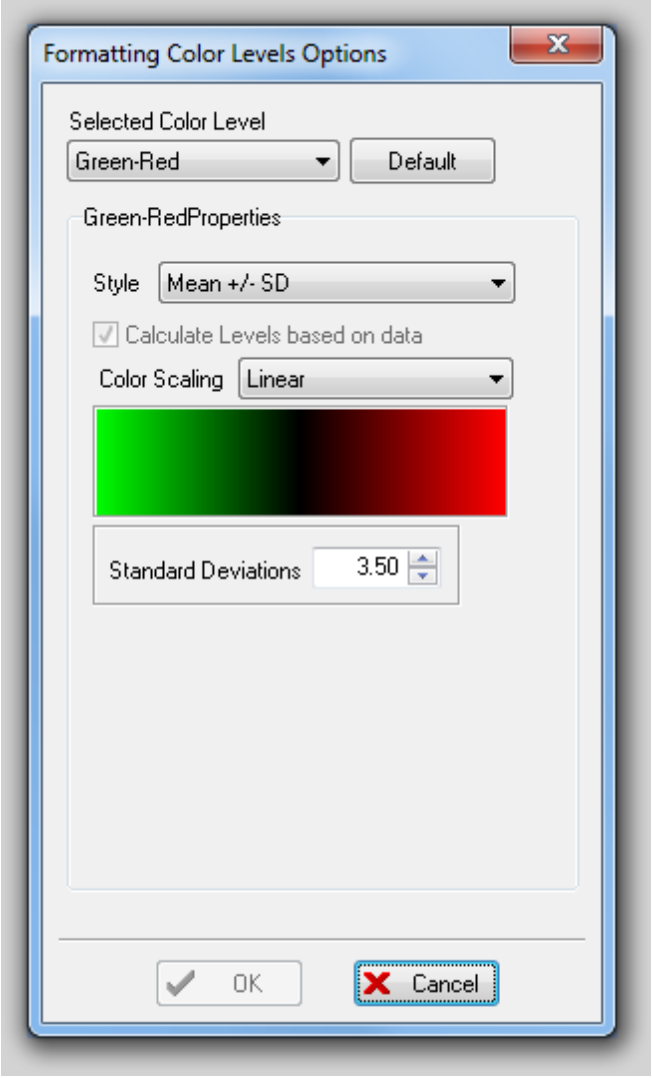


图27.5 Formatting Color Level Options (**格式化颜色层次选项**)

默认选项是**Green- Red(绿- 红)**配色方案、**Mean(数学平均)± SD(标准偏差)**的**Style(格式)**和在数值范围两侧的**3.5倍**标准偏差。这意味着如果微孔的统计值接近平均值，该孔将显示黑色，+ 3.5倍SD以外的微孔将显示纯红色，- 3.5倍SD以外的微孔显示纯绿色。

可以从**Selected Color Level(选择的配色方案)**下拉列表中选择另一配色方案。另一很有用的配色方案是**Threshold(阈值)**方案(图27.6)。

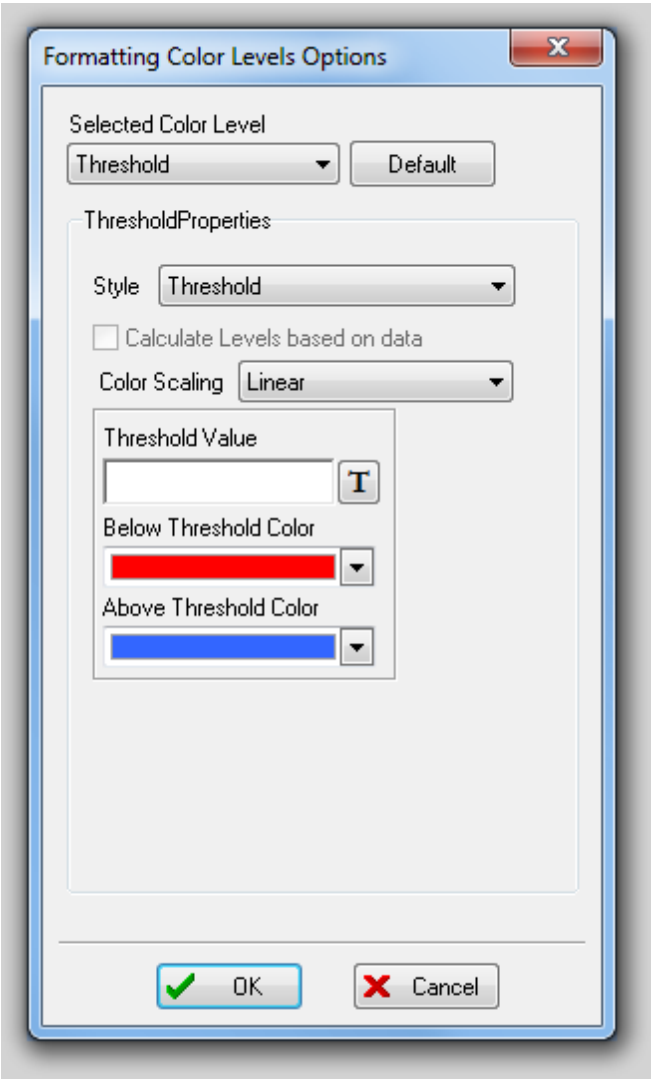


图27.6 Threshold Color Scheme (**阈值配色方案**)

当**Selected Color Level(选择的配色方案)**和**Style(风格)**都设置为**Threshold(阈值)**时，通过点击T键，可选择一个标记(例如，一个基于对照微孔的统计计算)来代表**Threshold Value(阈值)**。然后，使用下拉列表设置**Below Threshold(阈值以下)**和**Above Threshold(阈值以上)**的颜色。阈值以下的微孔会呈现一个颜色，阈值以上的微孔会呈现另一个颜色。

28.1.3 微孔门

可以在热图的一个或多个微孔上设置门。要创建**Well(微孔)**门:

1. 选择**Gating(门操作)**(或**Home(主页)**)→**Create Gates(创建门)**→**Well(微孔)**命令。(或者，右键点击热图，然后选择**Create gate(创建门)**→**Well(微孔)**)。
2. 点击热图白色区域。一个微孔门**Editing(编辑)**窗口(带有指示)会在热图上显示(图27.7)。

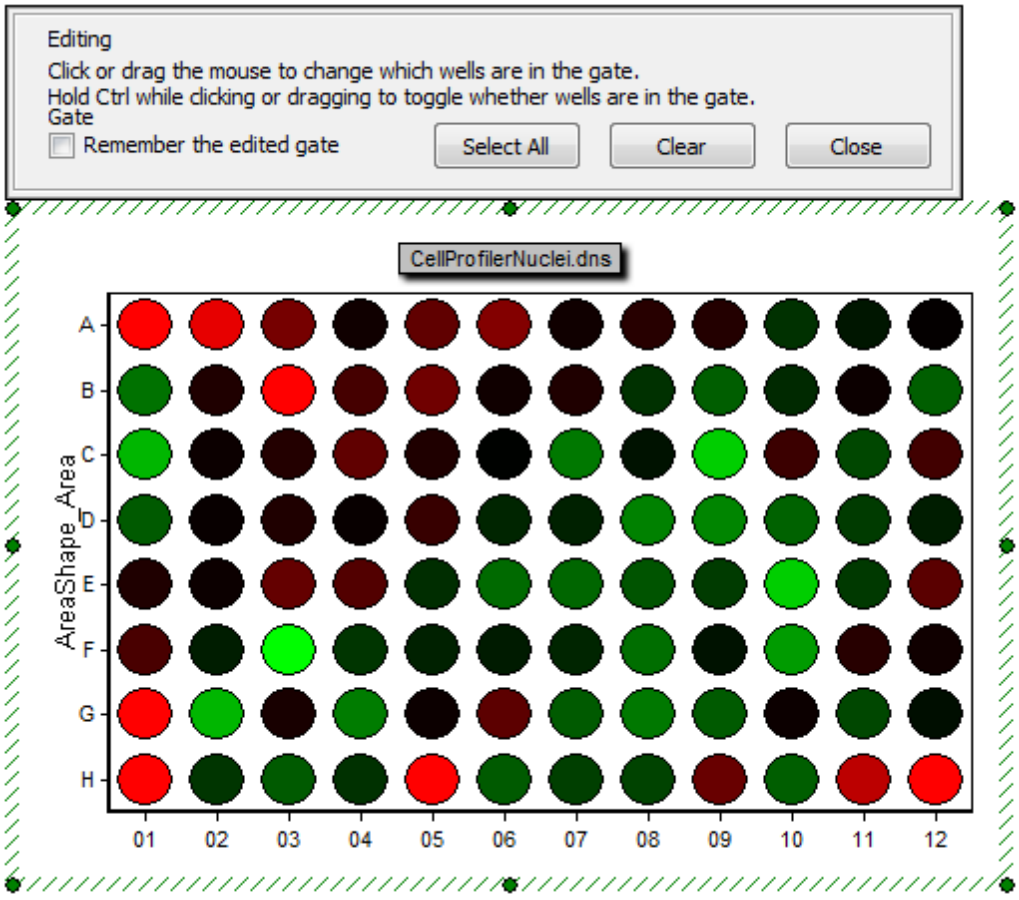


图 27.7 Setting a Well Gate (**设置微孔门**)

要设置一个具体的门，请执行以下操作之一:

- 点击一个微孔，将其选为门的一部分。
- 点击并拖拽出一个包括多个微孔的矩形来将矩形中所有的微孔选为门的一部分。

这时**Create New Gate(创建新门)**对话框会出现。选择一个名称和颜色，然后点击OK。

门里的微孔会被和门相同的颜色圈起来(图27.8)。

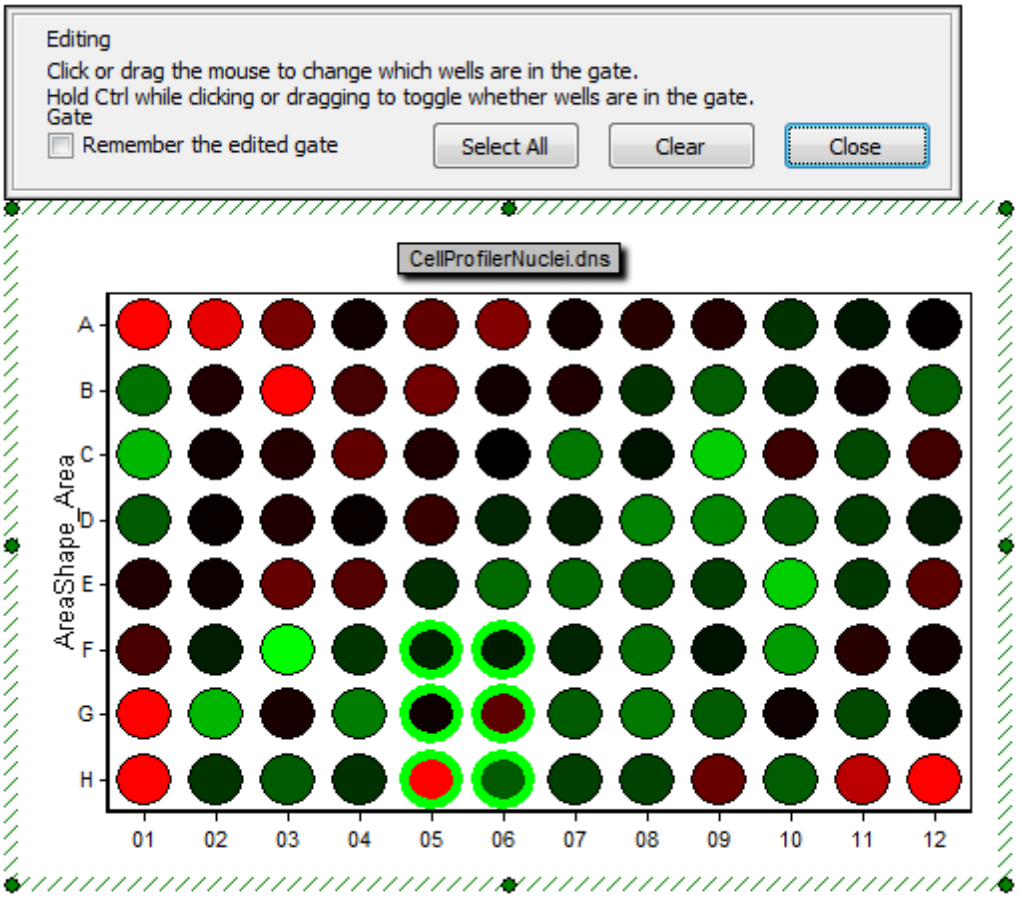


图27.8 Well Gate. Six wells are outlined in green (rows F-H, columns 05-06) (**微孔门。六个微孔的轮廓为绿色**(F-H**行**、05-06**列**))

要修改创建好的门，在新的微孔上点击或点击拖拽。以前选择的微孔便不再是门的一部分了。

要延伸刚创建的门，点击单个微孔(或在一组微孔上拖拽)时按住Ctrl键不放。新的微孔会添加到门中以前的微孔中(图27.9)。

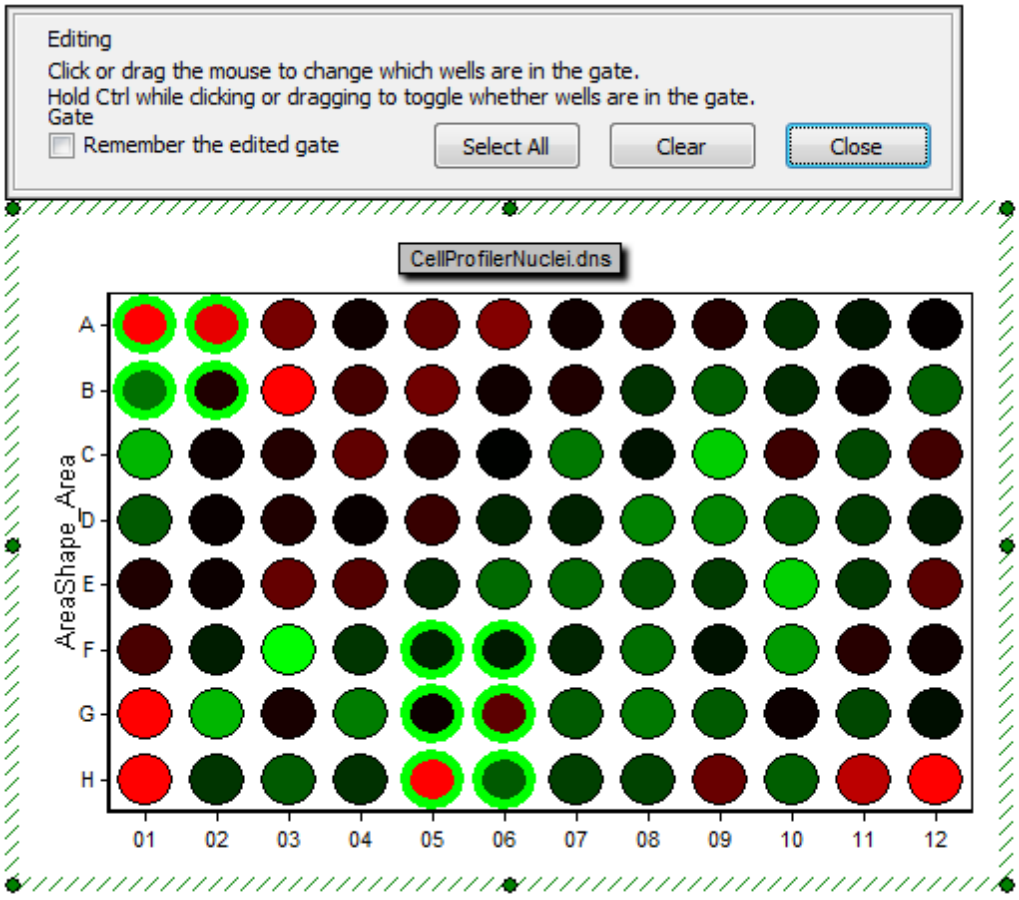


图27.9 Well Gates. Four new wells (rows A-B, columns 01-02) have been added to the previous gate by holding down the Ctrl key when dragging across the new wells. (**微孔门。四个新的微孔**(A-B**行**、01-02**列**), **通过在拖拽新的微孔时按下**Ctrl**键的方法，已经被添加到原来的门里。**)

完成编辑后，点击**Close(关闭)**。

要激活(或编辑)一个已有的**Well(微孔)**门，右键点击**Heat Map(热图)**，选择Activate **gate(激活门)**，然后从子菜单中选择要激活的门。

28.2 使用图像绘图

要在绘图上插入**Picture Plot(图像绘图)**，请使用**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Picture Plot(图像绘图)**命令。

要格式化绘图，请右键点击绘图，从弹出菜单中选择**Format(格式)**，然后选择**Overlays(叠加图层)**选项。使用下拉列表设置**Image to display(要显示的图像)**和相应的**Gate(门)**(例如在相应热图上设置的一个门 438)(图27.10)。另外，可以选择**Picture Plot(图像绘图)**，然后使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

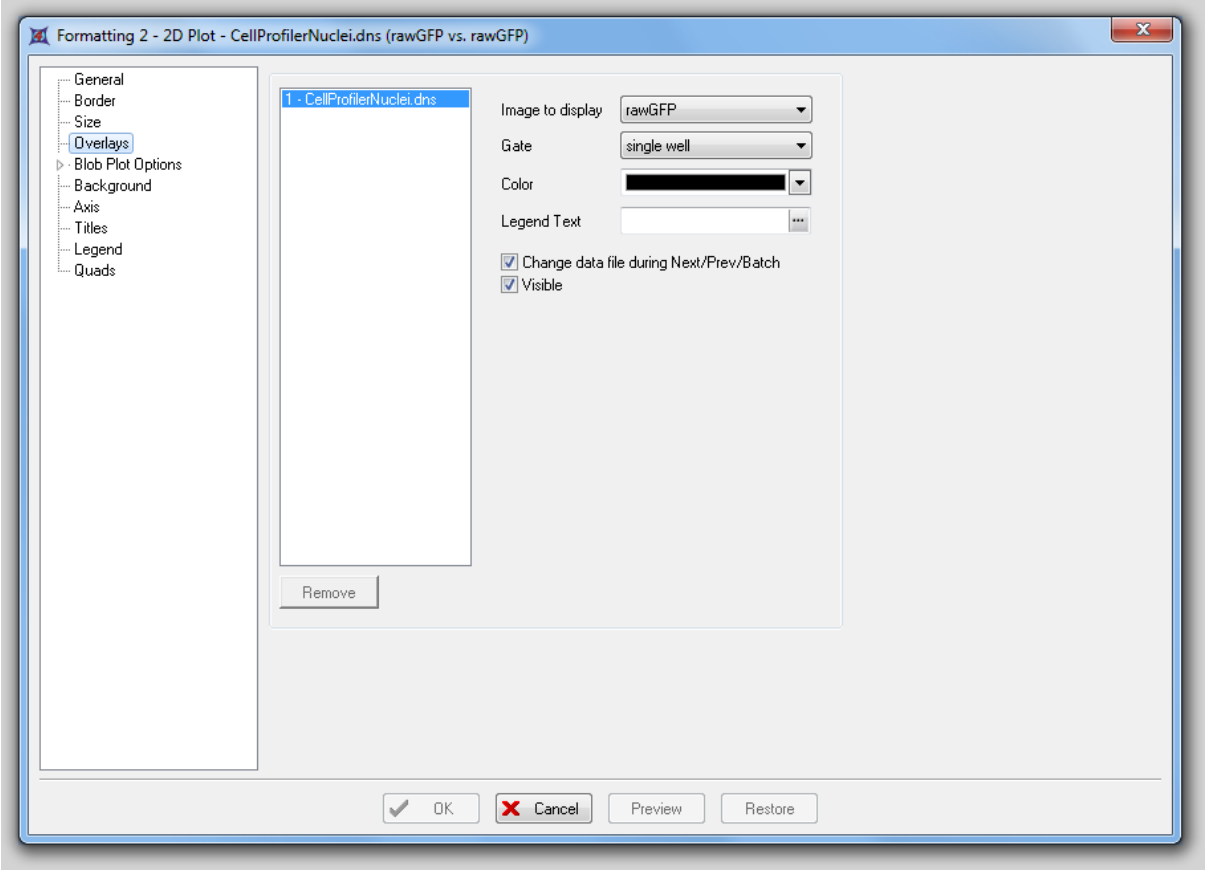


图27.10 Formatting a Picture Plot - Overlays Category (**格式化图片绘图 - 叠加图层选项**)

Picture Plot(图像绘图)会显示用户的细胞和它们成像的位置(例如在一个微孔门中选择的一个微孔)(图27.11)。坐标轴的单位是像素，原点(0，0)在区域左上角。要修改显示的参数，点击X- 轴坐标，然后从弹出列表选择新的参数。

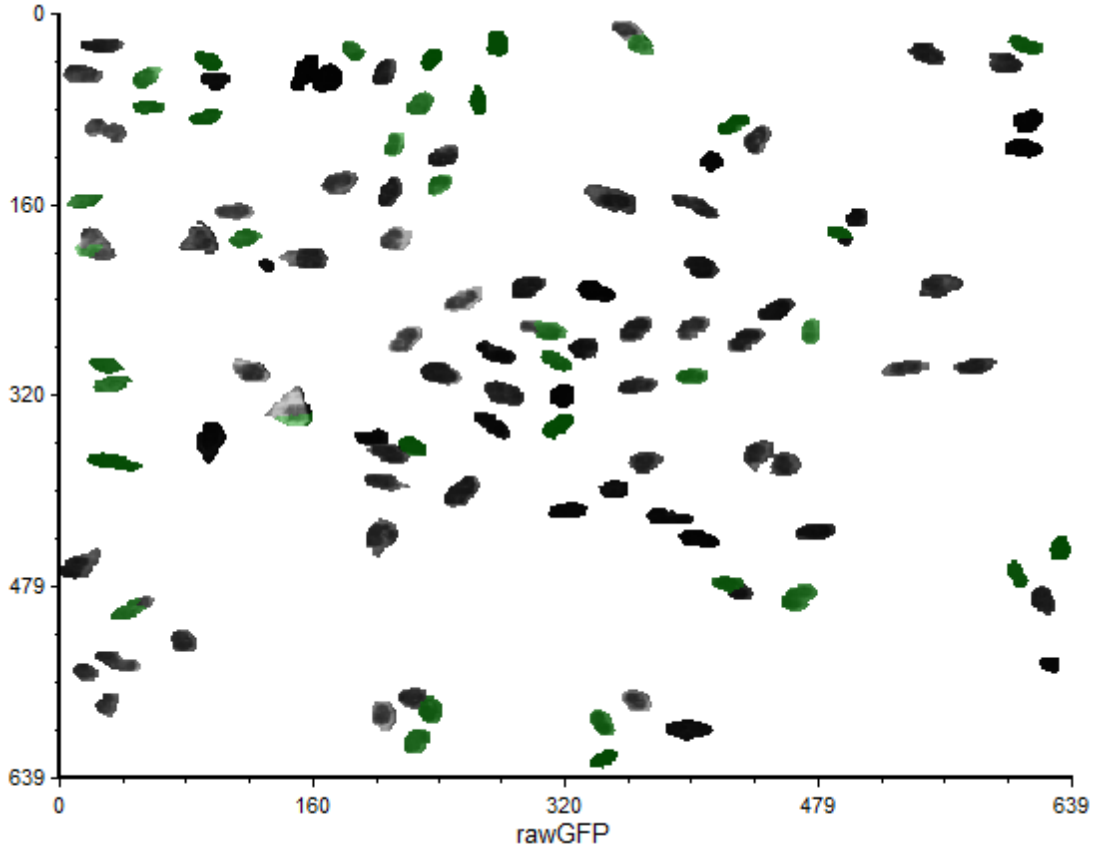


Figure 27.11 A Picture Plot (**图像绘图**)

要显示一个不同微孔中的图像，右键点击热图、选择激活门、然后从子菜单上选择相应门、然后选择另一个微孔[438]。

图像绘图可以添加后置门，就像在其它颜色点状绘图上添加后置门一般。换句话说，事件(在该情况下指细胞图像)可用它们所在的门的颜色来绘制。

要植入一个后置门操作:

1. 右键点击**Picture Plot(图像绘图)**。
2. 从弹出菜单中选择**Format(格式)**。
3. 点击**Picture Plot Options(图像绘图选项)**旁边的三角。
4. 选择**Display Gates Options(显示门选项)**。
5. 根据用户条件设置要显示的门(图27.12)。

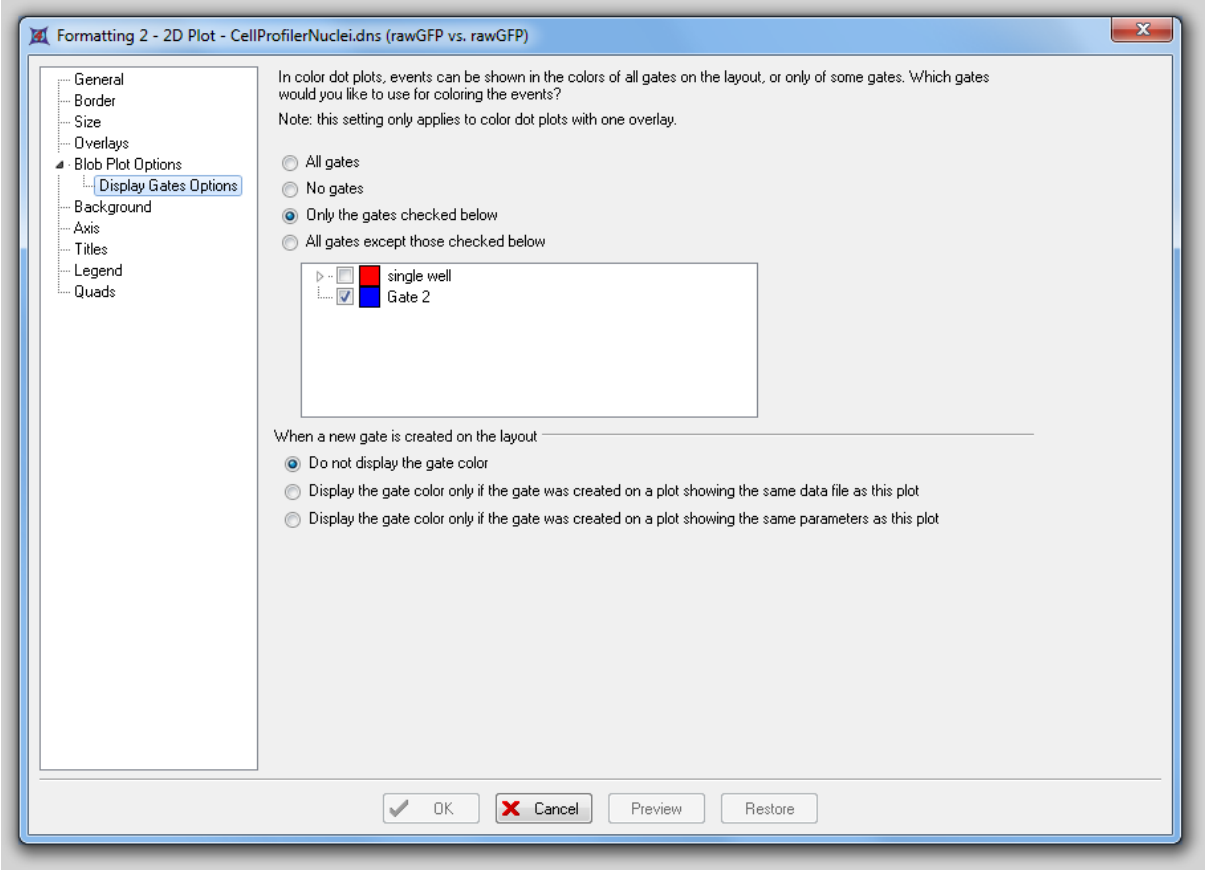


图 27.12 Picture Plot - Display Gates Options (**图像绘图 - 显示门选项**)

在该例子中，Gate 2(第2个门(深蓝色))被选中。点击OK后，Gate 2(第2个门)中的图像会被着色为蓝色(图27.13)。

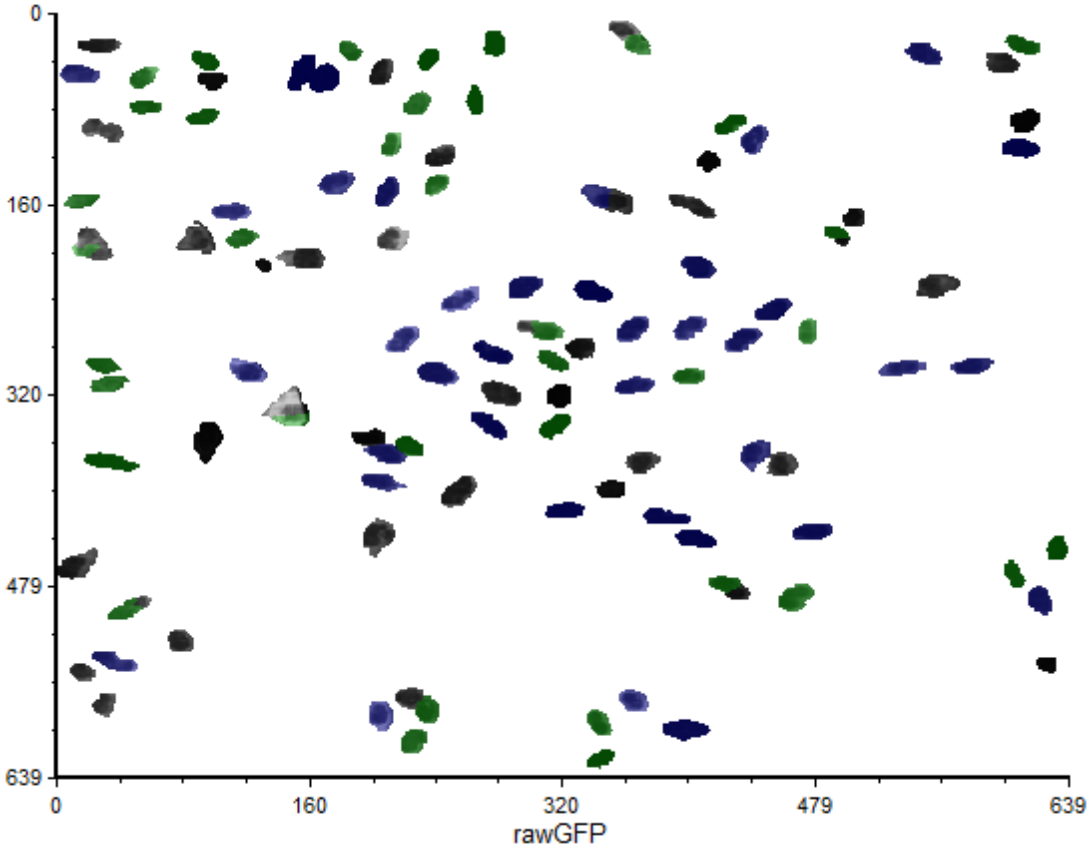


图27.13 Back-Gated Picture Plot. Many of the cells display the dark blue color of Gate 2. (**有后置门的图像绘图。很多细胞在第**2**个门中显示为深蓝色。**)

也可在**Picture Plot(图像绘图)**上为单个或一组细胞加一个门。请从**Gating(门操作)→ Create Gates(创建门)**命令组选择一个门形状，然后将其应用于绘图上。

在27.14中，单个细胞门(矩形)画在了**Picture Plot(图像绘图)**上(圈住绘图中上部的一个细胞)。可以像使用FCS Express中其它的门那样使用该门。例如，可以为数据网格后加一个门283来显示单个细胞门。

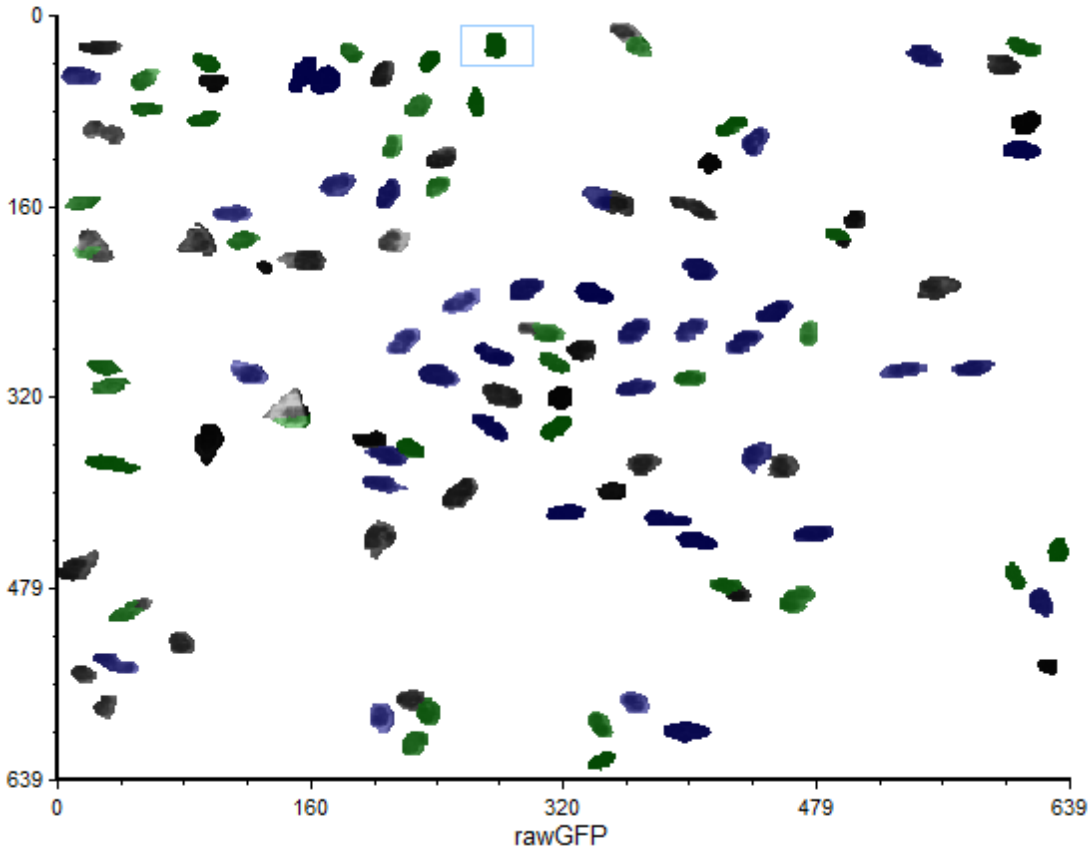


图27.14 Single-cell Gate (rectangle) Drawn on a Picture Plot (**画在图像绘图上的单个细胞门(矩形)**)

第 29 章

29 封装注释

封装注释，包括文本和标记(包括自定义标记)，是一种保存文本框中可用的文本库的方法。封装注释的整体外观和操作与使用自定义标记[308]类似。

要创建封装注释:

1. 请点击**View(查看)→Tokens(标记)→Canned Comments(封装注释)**命令来调出可停靠的**Canned Comments(封装注释)**窗口。
2. 请确保**Canned Comments(封装注释)**窗口停靠在[65]屏幕的左侧或右侧，以使窗口的两部分都可见。**Canned Comments(封装注释)**窗口的两个区域，Canned Comments List(封装注释列表)和Canned Comments Text Editor(封装注释文本编辑器)，由一个分隔条隔开，移动该分隔条可以调整两个区域的大小。
3. 在分隔条下方指定的区域为封装注释输入文本。用户可以插入任何文本、一般标记和自定义标记的组合(图28.1)。在该例子中创建了一个自定义标记，当门内的细胞百分比大于阈值时，显示*abnormal(不正常)*，当该百分比低于该阈值时，显示*normal(正常)*。
4. 从列表中选择封装注释，然后将其拖入文本框。文本会显示标记的值。当文本框处于编辑模式，标记会高亮显示为灰色(图28.2)。

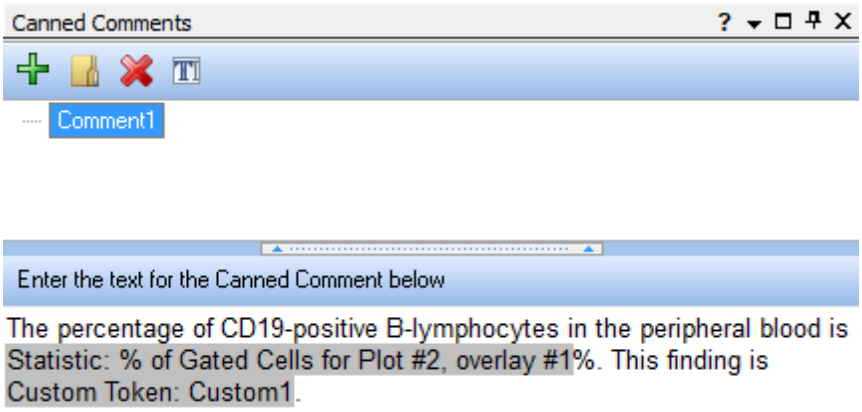


图28.1 Entering Canned Comment Text with Tokens (**输入带有标记的封装注释文本**)

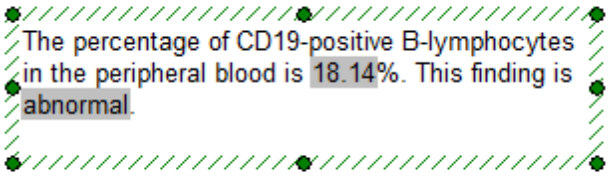


图28.2 Text Box with Canned Comment Containing Statistic and Custom Tokens (**文本框中的封装注释包括统计和自定义标记**)

Canned Comments(封装注释)窗口中的按钮含义解释于下表。

图标	解释
	添加封装注释。
	创建(并命名)一个新的文件夹来管理封装注释。文件夹创建后，可把封装注释拖放到文件夹中。
	删除选择项目。*注:可以通过点击快捷工具条上的Undo(撤销)*  *命令来撤销一个删除操作。*
	为当前所选项目重命名。

第 30 章

30 合作工具

该款合作工具是一款远程会议和桌面共享软件，使FCS Express Version 4用户通过互联网即可和其他用户连接，进行实时会议。会议组织者可以打开一个会话窗口，其他加入会话的用户可以看到FCS Express 4的演示文稿。与会人可以看到演示人的屏幕，并和其它与会人讨论。另外，与会人可以获得远程控制另一与会人电脑屏幕的权利。与会人也可以共享文件。

30.1 打开、加入和预约会议

要组织会议和开始会话，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Collaborate(合作)→Start Collaboration(开始合作)**命令。这会调出Portal(会议平台)窗口。

在屏幕的上方有四个选项:

- **Create a new meeting(创建新会议)**
  - o 作为会议组织者，请选择该选项来打开一个新的、未预约的会议(图29.1)。输入一个对该会议才适用的**Username(用户名)**和**Password(密码)**。其他与会人可以看到该用户名。点击**Login(登录)**。

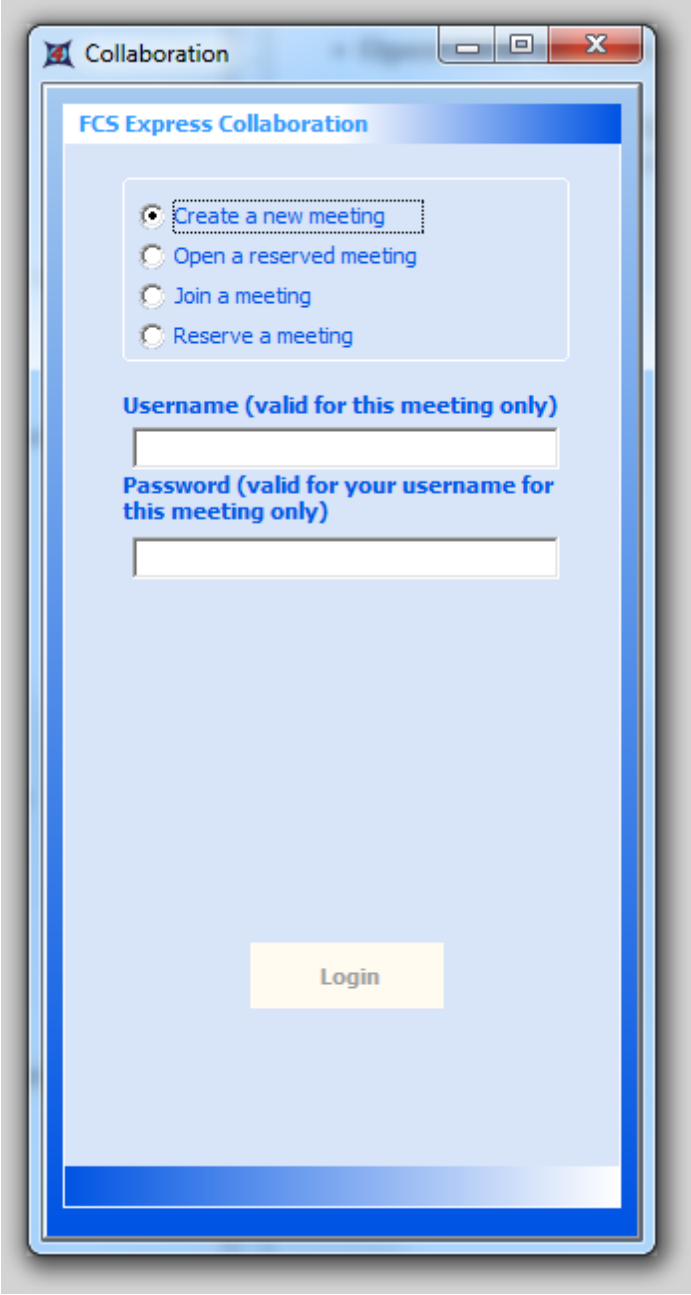


图 29.1 Collaboration Portal -- Create a New Meeting (**合作平台入口 - 创建新会议**)

o 这时会打开一个会议窗口，用户会获得一个会议ID(编号)。在图29.2给出的例子中，会议编号是616913，会议组织者(TheOrganizer)是第一个也是唯一的一个与会人。请把该会议编号送给其他要加入会议的人。

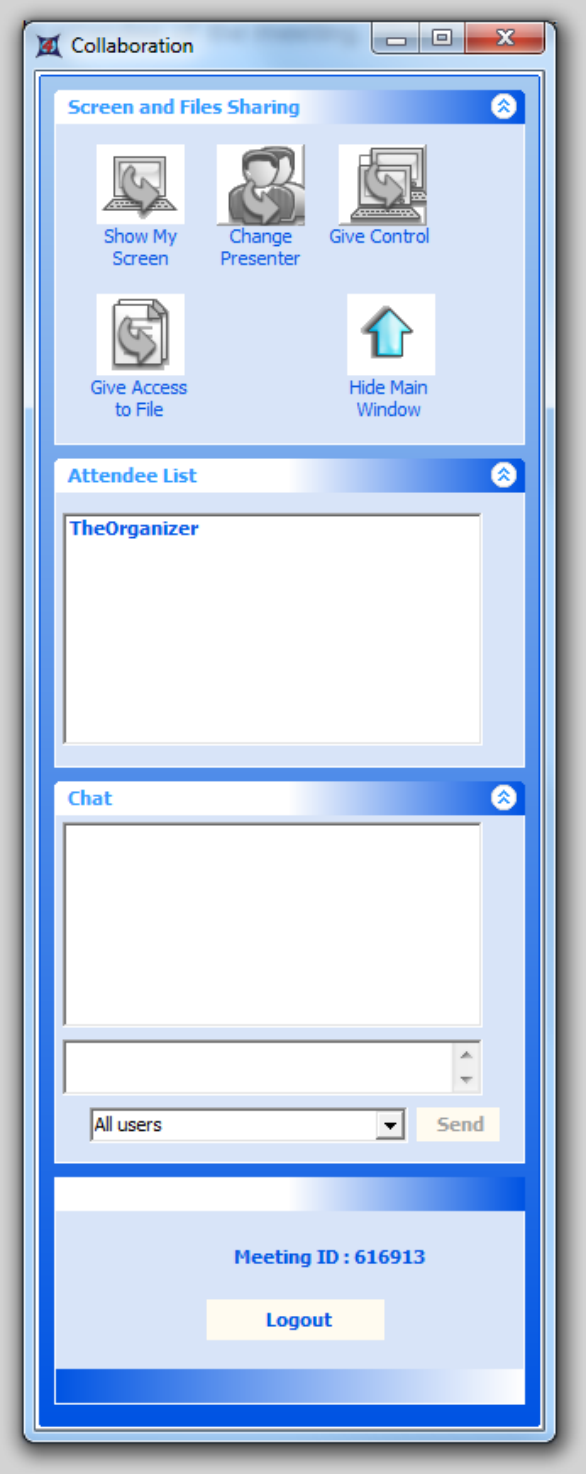


图 29.2 An Open Collaboration Session (**一个打开的合作会议**)

- **Open a reserved meeting(打开预约会议)**

要打开一个用户以前预约的会议，选择这个单选按钮，然后输入预约时保存下来的

Meeting ID(会议编号)和**Reservation code(预约代码)**(图29.3)。点击**Login(登录)**。用户的会议便会打开。请把该会议ID(编号)提供给其他与会人。

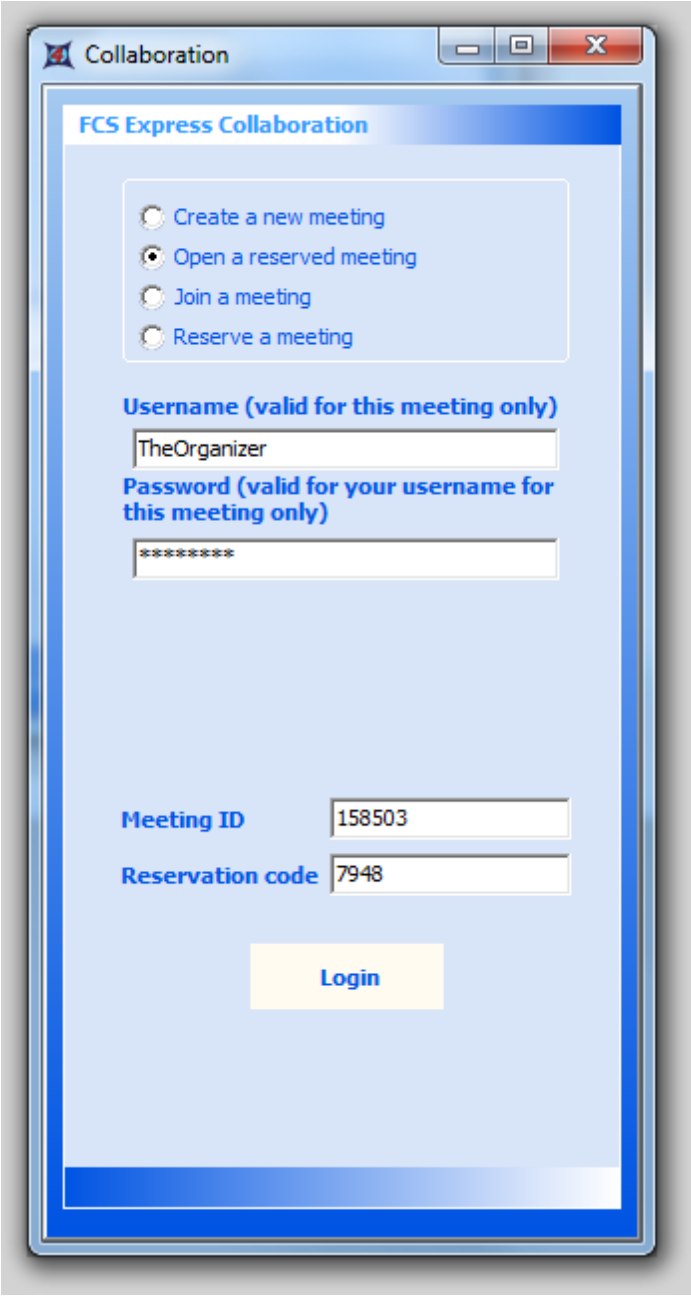


图29.3 Opening a Reserved Meeting (**打开预约的会议**)

- **Join an meeting(加入会议)**

这是该窗口的默认选项。如果组织者提供给你一个会议编号，请选择该单选按钮。

- **Reserve a meeting(会议预约)**

用户可使用该选项来预约一个会议，最早可提前10天预约。点击该单选按钮(图29.4)，使用下拉日历选择一个日期，然后点击**Make reservation(预约)**按钮。用户会获得一个Meeting ID(会议编号)和一个**Reservation code(预约代码)**。*记下这些号码。用户需要这两个号码来打开预约的会议*。会议编号可以通过电子邮件提前提供给其他与会人，以便他们在指定的时间登录。

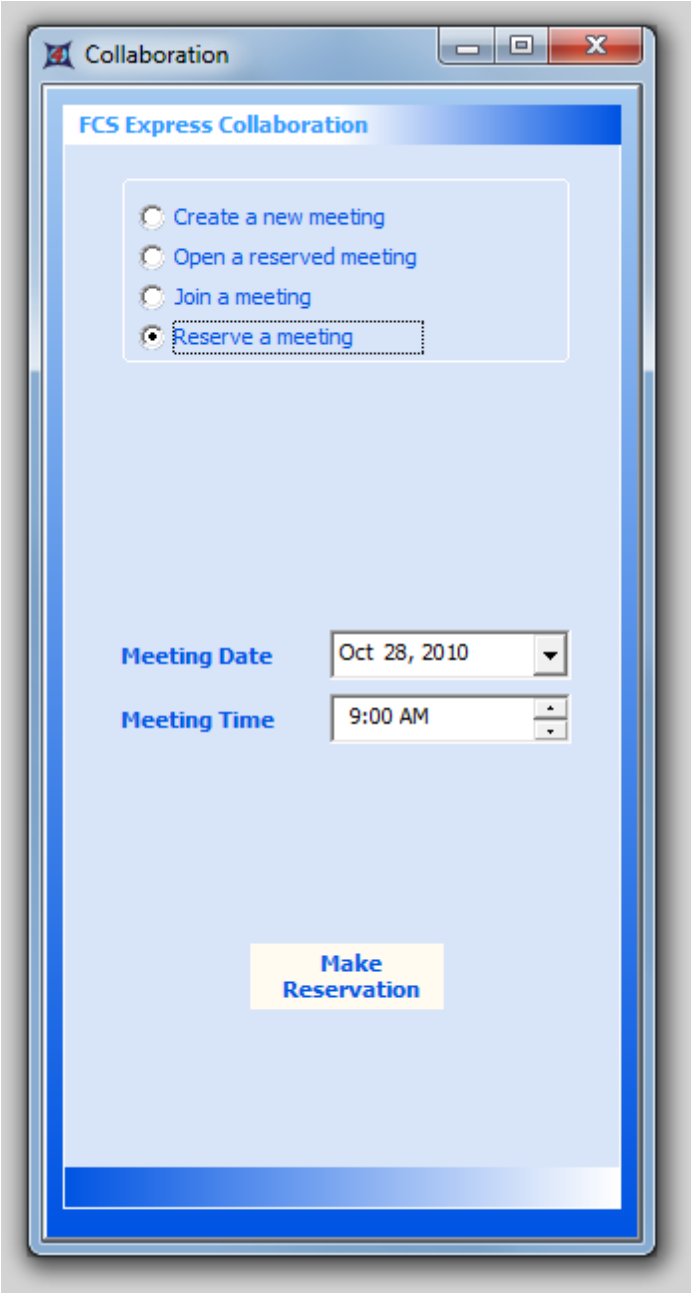


图29.4 Reserving a Meeting (**预约一个会议**)

30.2 组织会议

会议的组织者是默认的报告人，也是会议在开始阶段的控制人。Meeting ID(会议编号)给出后，**Collaboration(合作)**窗口会分为四个部分(图29.5):

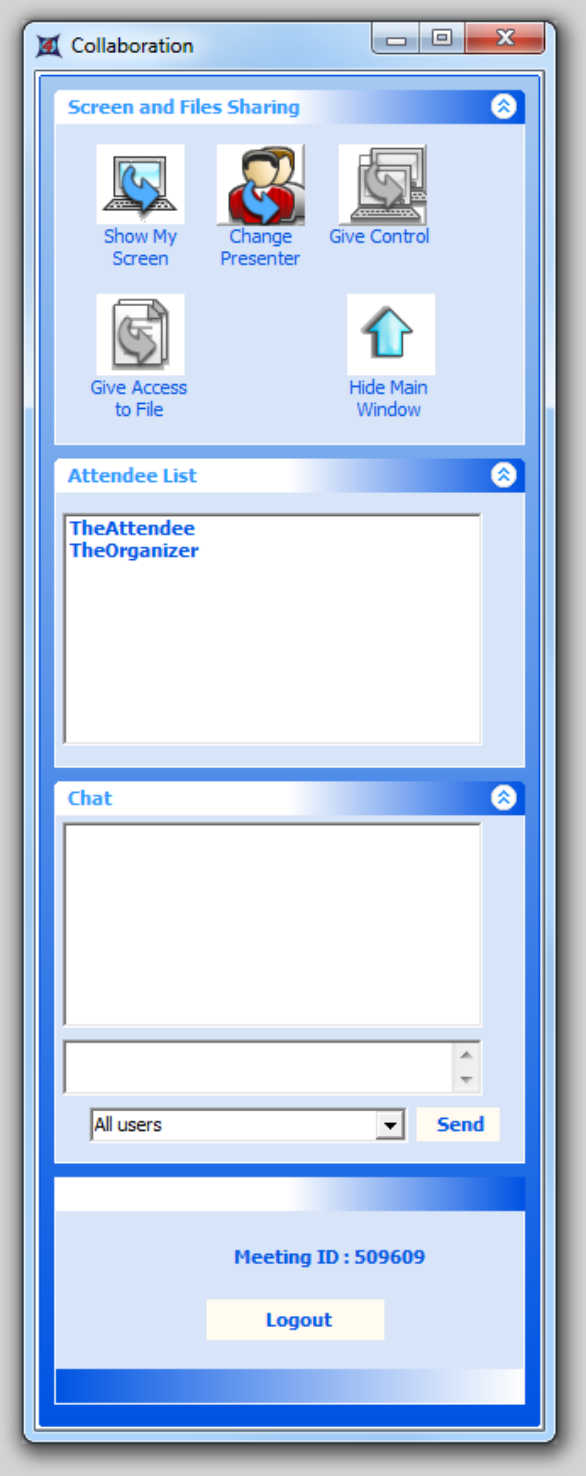


图29.5 Collaboration Window with a Meeting in Progress (有一个正在进行着的会议的合作窗口)

- **Screen and Files Sharing(屏幕和文件共享)**

本节包含具有以下功能的五个按钮:

- **Show My Screen(显示我的屏幕)**按钮启动/ 结束把报告人的桌面显示给其他与会者。起初，报告人是会议组织者。报告人点击**Show My Screen(显示我的桌面)**后，所有与会人会在他们的电脑上看到报告人的桌面，该按钮的标签会改为**Stop Showing(停止显示)**，同时 **Give Control(转让控制权)**按钮被激活。再次点击该按钮(**Stop Showing(停止显示)**)会停止显示桌面(其他与会人又会看到他们自己的桌面)。

- **Change Presenter(改变报告人)**按钮会把报告人的角色转到另一个与会人。点击该按钮，然后从弹出菜单中选择一个新的报告人。该报告人会收到提示来接受或拒绝作为报告人。如果他们接受，他们会被问及是否愿意开始显示他们的电脑屏幕。如果他们接受，您将会收到通知。作为报告人，他们现在控制会议(即他们现在可以向其他用户转移控制权或把报告人的角色转移格其他与会人)。

- **Give Control(转交控制权)**按钮让报告人允许另一个用户控制其桌面。按一下按钮，并从弹出式菜单中选择接收控制权的用户。该用户会收到从FCS Collaboration Portal(FCS合作平台)发出的信息 *"你现在可以控制报告人的桌面"*。他们点击OK后，便可用鼠标控制报告人的电脑。如果报告人再次点击按钮 **Change/ Stop Control(修改/ 终止控制**)，会弹出另一菜单，允许他收回控制权或将其传递给另外一个与会者。

- **Give Access to File(允许文件访问)**按钮仅在当报告人把控制权转交给另一个与会人时才可用。然后，报告人点击该按钮，另一用户便可以访问报告人计算机上的文件。*因为文件访问意味着另一用户可在你计算机上拥有所有浏览、创建、删除和移动文件的权利，你会被提示问及是否给予该特权。*

  给予文件访问权限后，双方都会收到一个Select the folder where the **received files will be saved(选择一个保存接收文件的文件夹**对话框(图29.6)。*注: 尽管文件传输是单方向的，双方都必须选择一个"Inbox(收件箱)"才可以继续。*

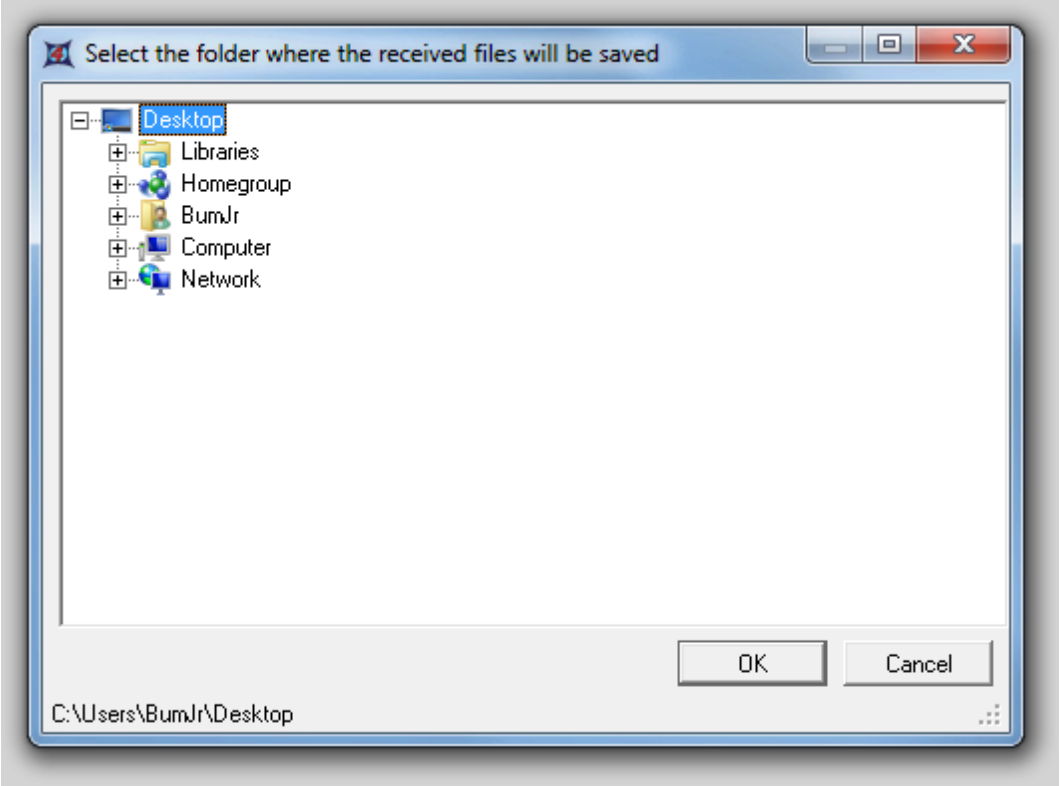


图29.6 Choosing an Inbox for File Transfer(**选择一个收件箱来进行文件传输**)

要进行文件传输，获得许可的用户首先要执行以下步骤:

1. 找到标有报告人用户名的**Files(文件)**窗口(图29.7)。该例子中，报告人是*TheOrganizer(组织者)*。

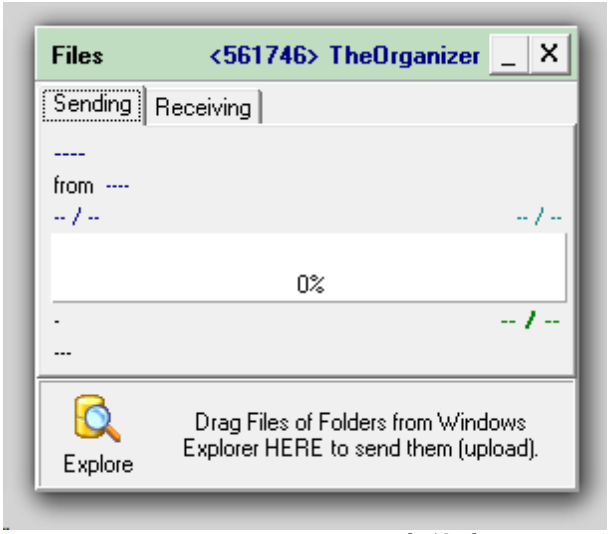


图29.7 Files Window (**文件窗口**)

2. 点击报告人的文件窗口左下方的Explore图标(按钮)来调出报告人的File Explorer(文件浏览器)窗口(图29.8)。

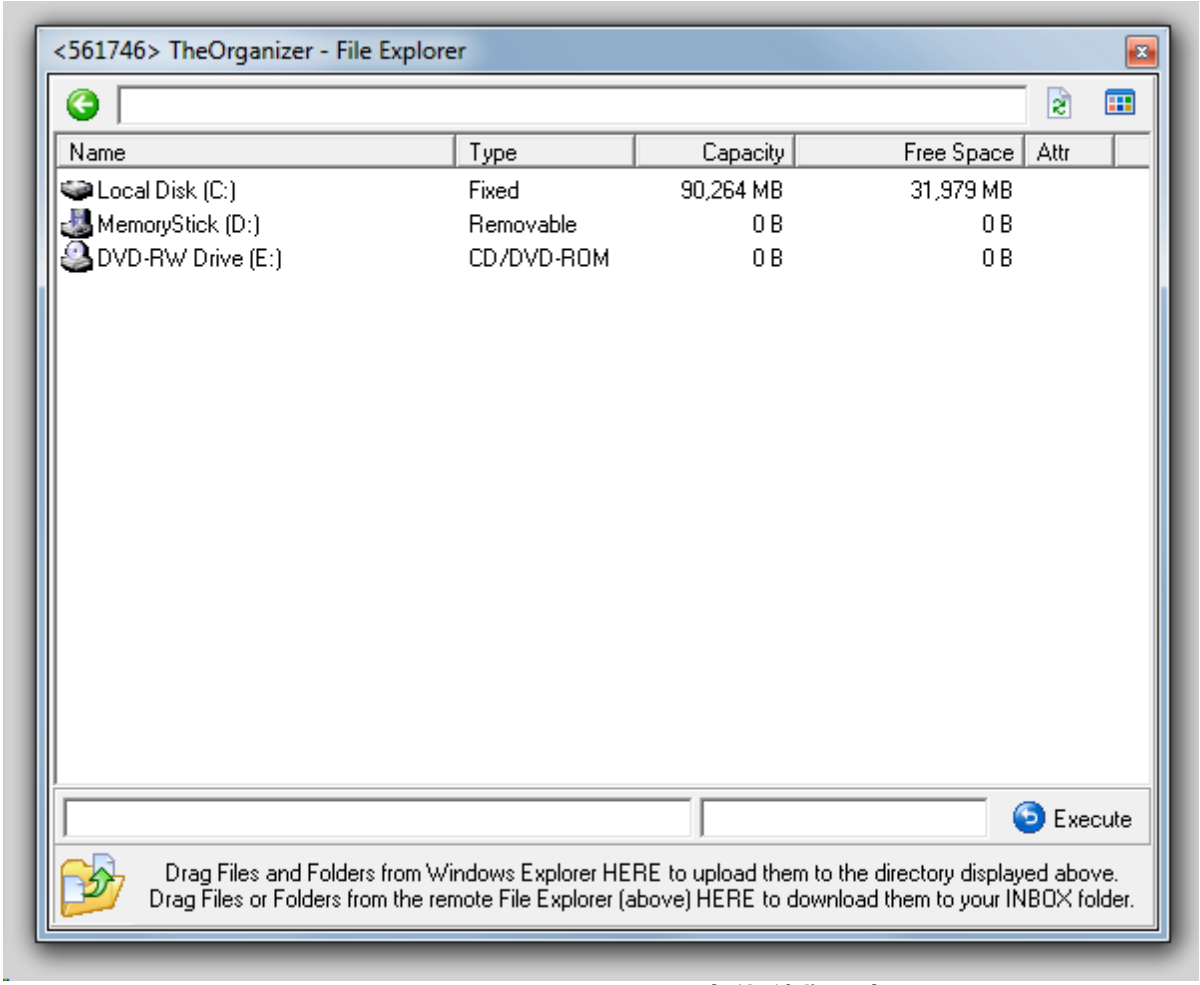


图 29.8 File Explorer Window (**文件浏览器窗口**)

3. 通过该窗口找到想要的文件。然后，点击和拖拽该文件到窗口的底部，在窗口底部标有"**HERE(这里)**"的区域松开文件(图29.9)。在图中，注意到当选择的文件被拖到该区时，光标变成了一个*带有文档的方向键*。

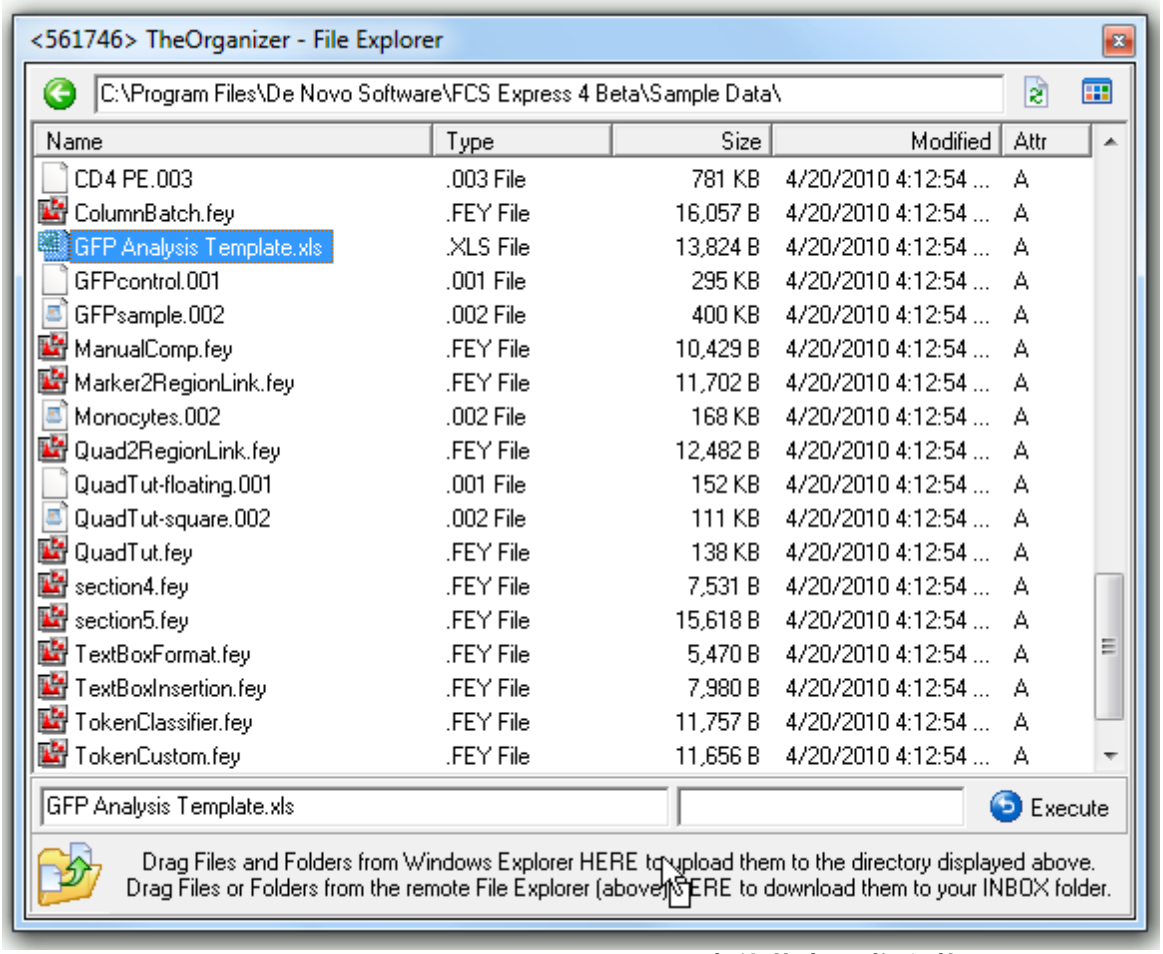


图29.9 File Sharing - Drag & Drop (**文件共享 - 拖和放**)

4. 文件会传输到用户电脑的"Inbox(收件箱)"里(上面已经选择过)。该过程可在**Files(文件)**窗口进行监视(图29.10)。

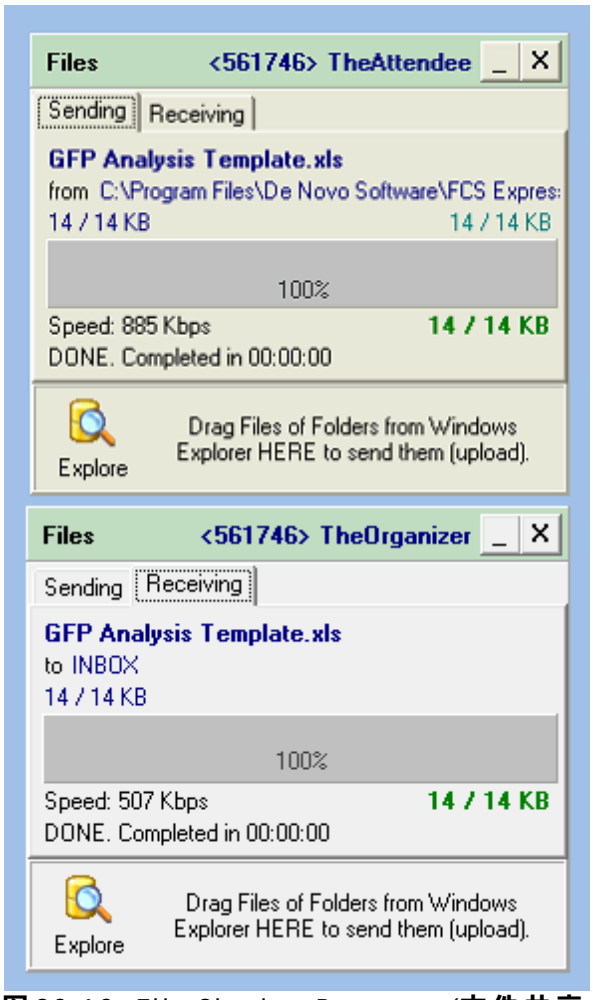


图 29.10 File Sharing Progress (**文件共享进程**)

o **Hide Main Window(隐藏主窗口)**

点击该按钮来把**Portal(平台)**窗口最小化(图29.11)。要重新打开**Portal(平台)**窗口，点击在最小化的窗口右边的向下的箭头图标(按钮)。



图 29.11 Minimized Portal Window (**最小化的平台窗口**)

- **Attendee List(参与人列表)**

  该区显示所有会议参与人的用户名。

- **Chat(聊天)**

  该部分包含四个控制部分(图29.12):

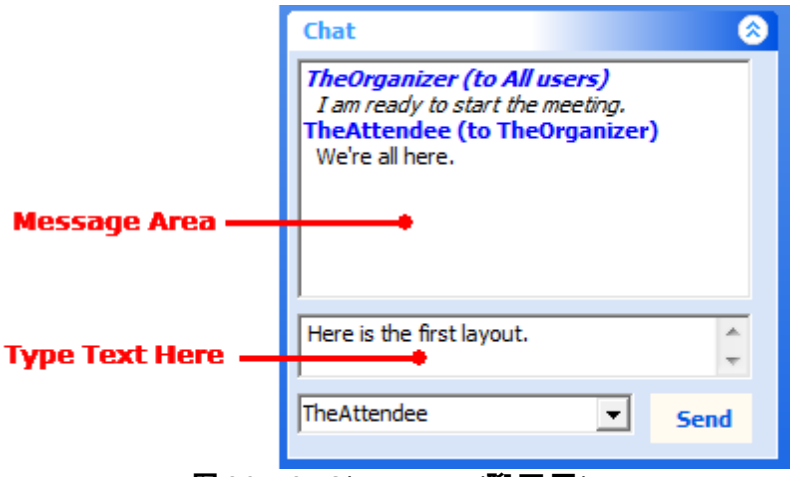


图29.12 Chat Area (聊天区)

  - o *Message area(信息区)*。聊天信息会显示在该区域里，并标注出谁发送了哪条信息。
  - o *输入聊天文本区*。该区是输入信息文本的地方。
  - o *下拉用户列表*。使用该列表来选择把信息送给哪个用户(**All users(所有用户)**还是使用某个用户名的单独用户)。
  - o **Send(发送)**按钮。输入文本并选择接收人后，点击**Send(发送)**。

- **Meeting ID and Logout Button(会议编号和退出按钮)**

  要退出会议，点击**Logout(退出)**。

第 31 章

31 从第3版升级

FCS Express 4是综合大量用户反馈后的结晶，提供给用户最需要的功能。这一最新版本秉承该软件创新、强大的传统，让用户可在类似于PowerPoint™风格的界面里工作。

另外，第4版还把像流水线作业一般的分析操作延伸到了细胞图像分析领域。所有用户熟知和信任的标准FCS Express功能都保留在该版软件中 ;此外，新版软件还添加了很多创新的功能选项，例如为图像上的细胞设置门、在细胞列表上为事件设置门、使用热图来组织实验和为微孔版设置门等。

31.1 新功能

除了在该章其它部分所描述的新功能外，FCS Express第4版还有以下改进:

- 速度: FCS Express现在使用计算机中所有计算内核，极大地提高了分析速度。
- 极大地提高了保存版面的速度。
- FCS Express中新增了合作工具452。
- 计算拟合模型226: 线性拟合、指数拟合、反曲线拟合和米氏方程拟合。

31.1.1 *新的数据导入和保存功能*

FCS Express第4版有以下新的数据导入和保存功能:

- 导入有链接数据的版面时，FCS Express会列出那些无法找到的文件，并提供让用户从另一个文件夹导入文件的选项53。
- 导入CSV(逗号分隔)40格式和制表符分隔格式的文件139。
- 从Isocyte138导入数据。
- 从Cell Profiler导入数据139。
- 把FCS数据作为细胞板来导入273(BD386、Guava、Sony、Quanta、Accuri392和Hypercyt)。
- 导入时间参数($FCS v3.0 TIMESTEP单位)137。
- 为对数坐标系中显示的参数选择一个起始值137。
- 通过创建额外关键字文件来导入数据文件时，导入额外的关键字273。
- 保存数据选项现在包含在导出和批处理导出窗口中274。
- 可用一系列格式(包括FCS 2.0和3.0)来保存数据135。
- 不限制导出参数的数目。

31.1.2 *DNA分析*

FCS Express第4版包括几项新的Multicycle DNA(多周期DNA)分析功能:

- 多周期拟合算法现在是默认安装的一部分。无需再单独安装398。
- 单细胞周期拟合(不包括背景校正)功能是免费的398。
- 当用单周期拟合模型不适合时，多周期拟合模块会提醒用户398。

- 分析速度更快。

31.1.3 新绘图类型和增强功能

FCS Express第4版添加了以下新的绘图类型和绘图增强功能:

- 用条形图和散点图绘制统计数据221。
- 通过把一个门拖放到版面上的空白区可自动创建一个带有门的绘图188。
- 把一个绘图拖拽到另一绘图上会修改目标绘图数据文件(取代已有文件或添加一个叠加图层)106。
- 散点图: 精确控制数据点大小和二维数据的形状221。
- 使用热图432来把微孔板数据形象地显示出来。
- 针对轮廓图和密度图的新的调色板170。
- 显示密度图和轮廓图中很外缘的数据165。
- 叠放的柱状图显示方式162。
- 数据网格: 创建用户自己的自定义数据214集。为数据网格创建和应用门。
- 从格式标签页上改变绘图类型38。
- 在二维绘图上直接放大153。
- 放大分辨率和数据轴选项153。
- 动力学绘图424。
- 页脚和/ 或标题可带圆角外框146。
- 在点状图上的两个坐标方向上直接画一维门181。
- 门可被自动加入到要显示的门列表中172。
- 重新构建标识、门或象限文本框98。
- 新的门文本框选项，即自动显示名称和/ 或用户设置的默认统计126。
- 关闭三维(表面)绘图中沿着Y- 轴的黄色的墙151。

31.1.4 新的用户界面功能

新的用户界面有以下核心功能:

- 新的Ribbon条风格的菜单系统28，类似于微软Office 2007/ 2010的外观和感觉。
- 多页面视图62。可以一次浏览四张页面。
- 不同版面文件现在可在不同窗口打开63。
- 页面上的标签提供更简单的组织和安排方式56。
- 改进了的拖放功能。简洁方便地拖放绘图、数据文件74、对象72、门75、标记以及其它选项。
- 停靠63体系。
- 页面的可视性可根据图标设置56。
- 每一页都可有一个不同的背景，或不要背景56。
- 现在可以为页面命名56。
- 很多以前是模态的窗口(一次只可打开一个，例如警告380或自定义标记308)现在是非模态的窗口，可被版面中其它的对象使用。
- 文本框可从一个版面复制到另一个版面33。
- 标记可根据它的值修改其字体(可选功能)317。
- 导出至更多的文件格式(PNG, GIF, TIFF, JPEG, EMF, BMP)60。
- 可插入更多格式(PNG, GIF, TIFF, JPEG, EMF, BMP)的图片。86

- 可用多种单位格式显示计量数据(公制的或英制的)111。
- 最大化一个视图时，可以选择保留宽高比111。
- 选择页面方向时，可为页面上所有对象锁定宽高比59。
- 删除了任务条26。

31.1.5 新的门功能

FCS Express 4有以下新的门功能:

- 链接的门。链接的门一起移动，要单独移动，先要取消链接191。
- 门标签现在可自动显示统计(例如阳性百分比%)126。
- 多边形和自由形门的大小调整功能181。
- 在点状图上的两个方向均可绘制一维门181。
- 创建"非"门181、替换门和控制门的颜色被以前更简单。
- 从右键点击菜单来重新创建删除的门文本框98。
- 门的位置可被锁定，以避免被意外地移动189。
- 根据用户设置，从一个绘图上把门拖放到页面的空白处，会复制该已存在的绘图并应用该门，或删除该门126。
- 门导航器75显示所有门的总体情况，并显示哪个绘图上有门。
- 当一个门或标记移动时，可选择是否移动相关联的选项126。
- 增加了新的门类型: 细胞数门283和微孔门438。
- 在图像绘图里的图像坐标上绘制门440。
- 门的命名现在从*Gate 1(第1个门)*开始。
- 可以把门移到绘图区域的外边。
- 针对门的计算操作使用所有计算机内核。

31.1.6 新的批处理功能

批处理操作拥有以下的新功能:

- 批处理窗口现在是一个可停靠的63窗口。
- 批处理的激活状态可通过自定义标记来控制349。
- 即使批处理过程出错，系统也会保存已经处理过的数据368。
- 可在一个Excel电子表格中的某个指定行、第一个可用行或一个工作表中添加数据352。
- 根据标记，在批处理中为新建的Excel工作表命名352。
- 对批处理操作的修改自动进行。无需点击OK338。
- 导出文本框中的文字349(和封装注释448配合使用特别有用)。
- 增强的拖放功能361。拖动绘图、文本框、标记和统计来创建批处理。
- 批处理报表完全支持所有版本的PowerPoint、Excel和Word352。
- 导出至图片操作支持更多的图片格式346(PNG，GIF，TIFF，JPEG，EMF，BMP)。

31.1.7 新的自定义标记功能

自定义标记有几个新的功能:

- 新的可停靠的63自定义标记308窗口: 拖拽标记来创建标记，并将它们插入文本框中。
- 创建文件夹来组织标记308。
- 标记可根据它们的值来修改字体317。

- 像Excel风格的公式计算方式(公式必须以"="开头)308。
- 使用右键点击菜单在公式中插入可用的函数316。
- 计算自定义公式的速度更快。
- 自定义标记在公式修改后实时更新。

31.1.8 新警告功能

使用"警告"时有以下新功能:

- 新的可停靠的63警告窗口。
- 创建文件夹来组织警告380。

31.1.9 新的参数数学功能

参数数学240的更新包括如下:

- 使用在参数数学序列步骤242的前一步中创建的参数，无需再点击Perform(执行)键。
- 参数数学公式现在可以包含标记240。
- 当计算含有标记的参数数学公式时，标记会保留在公式中，以使数据可以经常更新240。
- 参数数学公式可包含一个代表行编号的变量240。

31.1.10 导航器

FCS Express中的导航器提供版面的一个概观。它们是带有拖放功能的可停靠窗口63，帮助用户操作版面中的对象72、和对象相链接的数据源74以及绘图上的门75。

FCS Express第4版添加了以下三类导航器:

- 版面导航器72
- 数据导航器74
- 门导航器75

31.1.11 封装注释

FCS Express 4中，用户可创建包含文本和标记(包括自定义标记)的封装注释448，用来保存用在文本框中的文本库。

31.1.12 新的数据网格功能

新版本添加了以下新的数据网格功能:

- 添加218和删除219行和列(仅针对自定义数据)。
- 编辑215单元格(仅针对自定义数据)。
- 为列重新命名220(仅针对自定义数据)。
- 给数据网格加门283。
- 显示Gates to Display(要显示的门)(一列显示每个细胞所在的门的颜色的数据列)283。
- 根据数据网格的行来创建门(细胞编号门)283。
- 显示图片432。

- 显示和隐藏列283。

31.1.13 新的补偿功能

FCS Express 4有以下新的补偿功能:

- 保存/ 导出270和导入270针对单独数据或者针对文件夹中所有数据文件的补偿矩阵。
- 细胞板上每个细胞孔可以有单独的补偿设置267。
- 补偿计算使用计算机里所有的计算内核。
- 读取Partec设备补偿。
- 当应用补偿的数据不再被使用时，补偿会自动卸载。

31.1.14 新的通道校正功能

FCS Express 4里新的通道校正功能可以用来编辑已有的通道校正项目260。

31.1.15 新的数据列表功能

FCS Express Version 4里**Data List(数据列表)**(注意这是新的名称，以前称为*File List(文件列表)*)有一些新的功能:

- 该窗口现在是一个可停靠的63窗口，可停靠在两边，上方或下方。
- 可按照多个关键字排序330。
- 排序操作和其它数据列表选项现在可存为版面的一部分51。
- 为绘图选择一个文件或选择一个文件添加到列表中时，可在文件系统、数据列表或从活动的文件(当前版面上打开的文件)中选择文件105。

31.1.16 自定义数据

使用FCS Express第4版，用户可创建自定义数据214:

- 创建214用户自己的数据并为其作图221。
- 把数据值链接到其它数据和绘图上的统计计算上215。
- 在自定义数据中使用自定义标记215。
- 使用参数数学，为自定义数据创建新的参数，其中包含标记240。
- 无需将结果导出到另一程序(例如Excel)中，使用FCS Express把实验结果绘成条形图和散点图221。

31.1.17 新的软件使用许可选项

FCS Express 4中新加的软件许可选项:

- 互联网加密狗
- 网站许可证

31.1.18 FCS Express 4细胞图像分析功能

FCS Express现在可以处理用户的Image Cytometry(细胞图像分析)数据:

- 进行图像绘图440。
- 在绘图上设置门440。

- 后置门440。
- 在数据网格中显示图片432。
- 可读取几家细胞图像分析仪器的数据格式。
- 对图片执行流水线式的操作。

31.2 安全系统

FCS Express 4的安全系统也有新的提高:

- 增强了的安全硬件设施。
- 使用SQL服务器来存储安全许可。

第 32 章

32 安全设置

FCS Express拥有全面的安全体系，允许对不同用户的访问做出各种功能限制。这一点在保证数据分析的完整性和保证符合政府的有关规定方面，例如21 CFR Part 11，很重要。FCS Express提供多个层次的安全设置，将在本章以下章节中的展开介绍。

32.1 基于用户的安全设置

第一个层次的安全设置是基于特定用户的功能限制。激活安全设置后，每个用户必须使用用户名和密码来登录FCS Express(图31.1)。

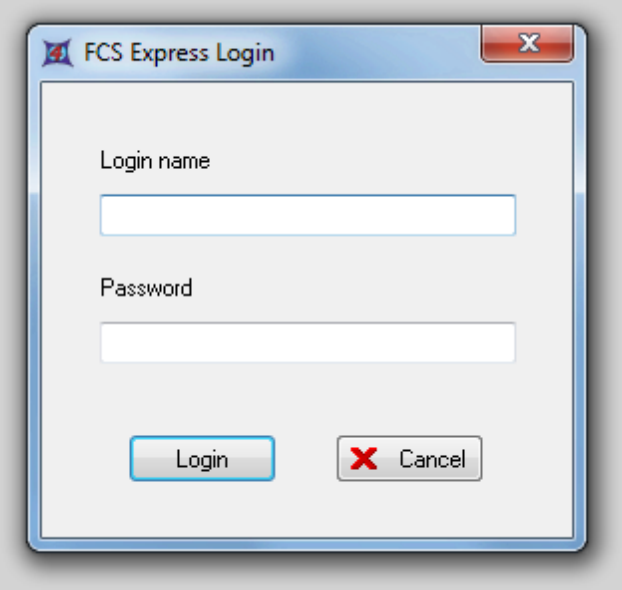


图31.1 Security Login (安全登录)

用户可在FCS Express下的**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)**那里创建和管理用户(图31.2)。

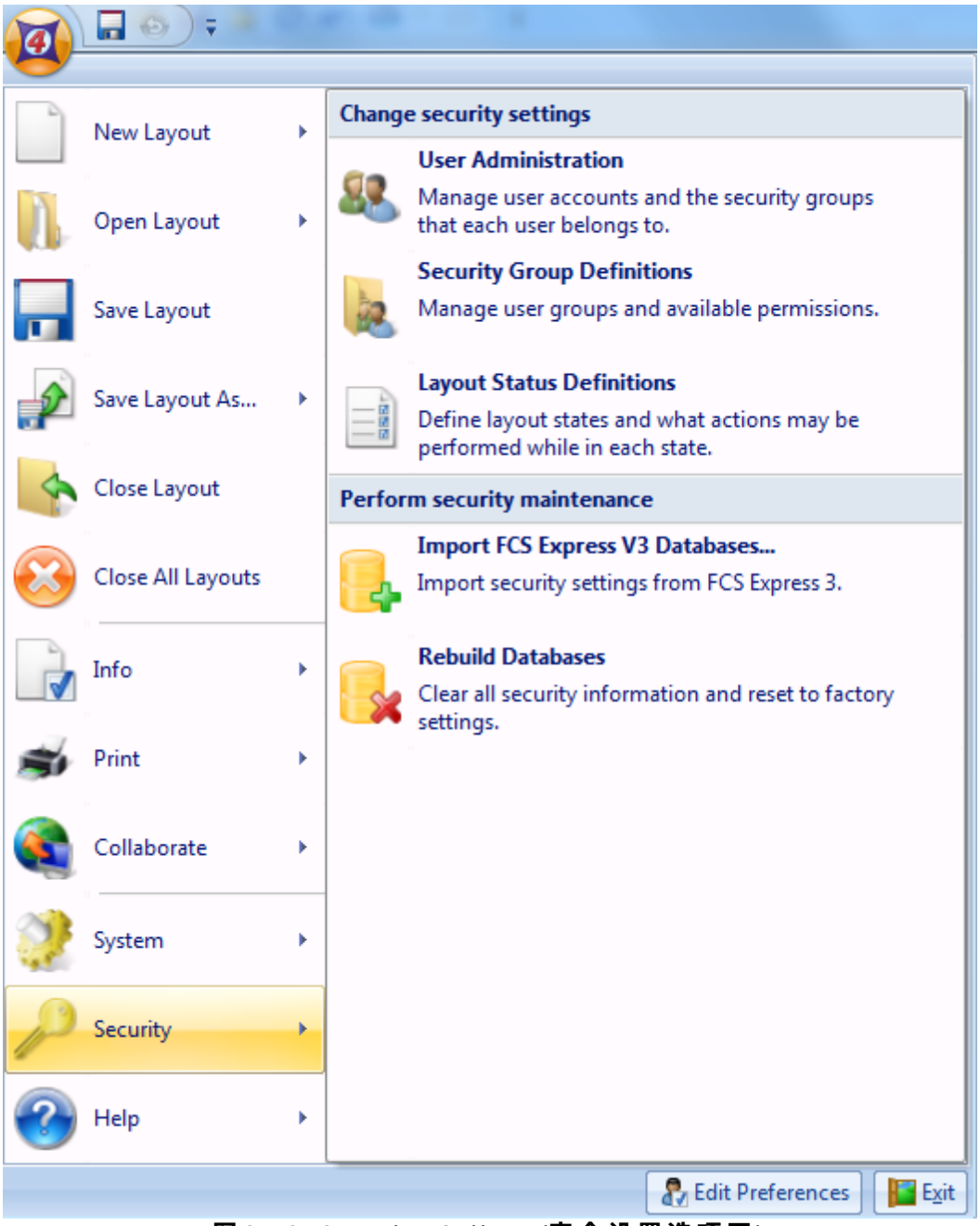


图 31.2 Security Gallery (**安全设置选项区**)

每个用户也被指定到一个User Security Group(用户安全组)，并只能进行该安全组允许的功能操作。因此，如果组A不允许用户打印版面，那么组A中的所有用户都将不可以打印版面。

32.2 基于版面的安全设置

第二个层次的安全设置是基于特定版面的功能限制。每个版面都有一个指定的Layout Security Group(版面安全组)。只有版面安全组允许的功能方可在该版面上使用。这些功能

和可在User Security Group(用户安全组)里设置的功能完全相同。例如，如果一个版面的安全设置隶属于一个不允许打印的版面安全组，那么任何用户(无论其用户安全组的设置如何)都将不可以打印该版面。

除了可为版面上每一个操作设置安全许可外，也可为整个版面设置一个密码。只有输入密码方可打开版面。系统以加密的格式保存该密码。如果丢失了密码，唯一打开版面的方法只有将它寄到De Novo Software做处理。

32.3 使用基于用户的安全设置

FCS Express自带一个默认用户，Administrator(管理员)。管理员默认的**Login name(登录名)**是*Admin*。管理员默认的密码是*password*。

注:该密码应该在第一次启动FCS Express后立即更改。

修改用户名密码的方法描述于编辑用户设置 478一节中。管理员属于Administrator Security Group(管理员安全组)。要获取更多关于安全组的信息，参见使用安全组 479一节。如其名称所指，管理员安全组可执行任何操作，并不可以被删除。

要对用户进行管理，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→User Administration(用户管理)**命令。这会调出用户管理员对话框(图31.3)。用户名按姓的首字母排序。

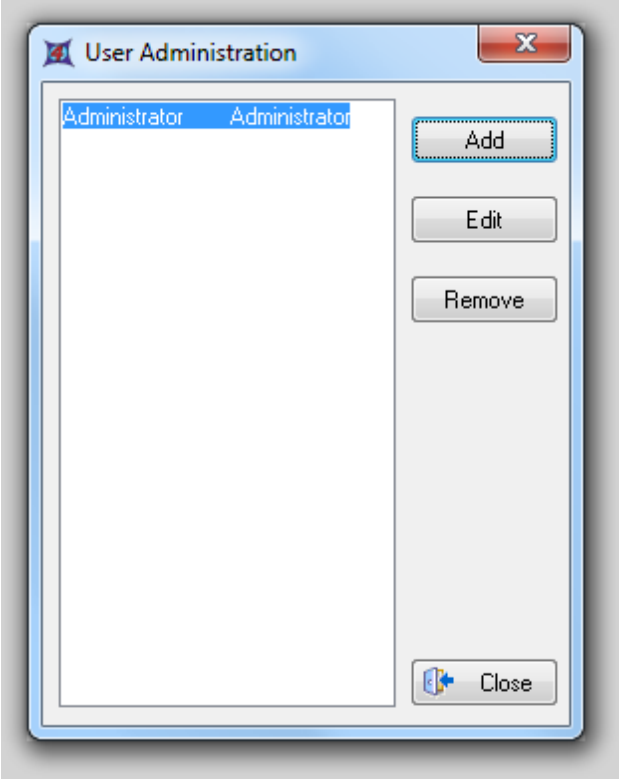


图31.3 User Administration Dialog (用户管理对话框)

32.3.1 *创建用户*

要创建一个用户:

1. 请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→**User **Administration(用户管理)**命令。
2. 点击**User Administration(用户管理)**对话框上的**Add(添加)**按钮。

这时会弹出Edit User Information(编辑用户信息)对话框(图31.4)。

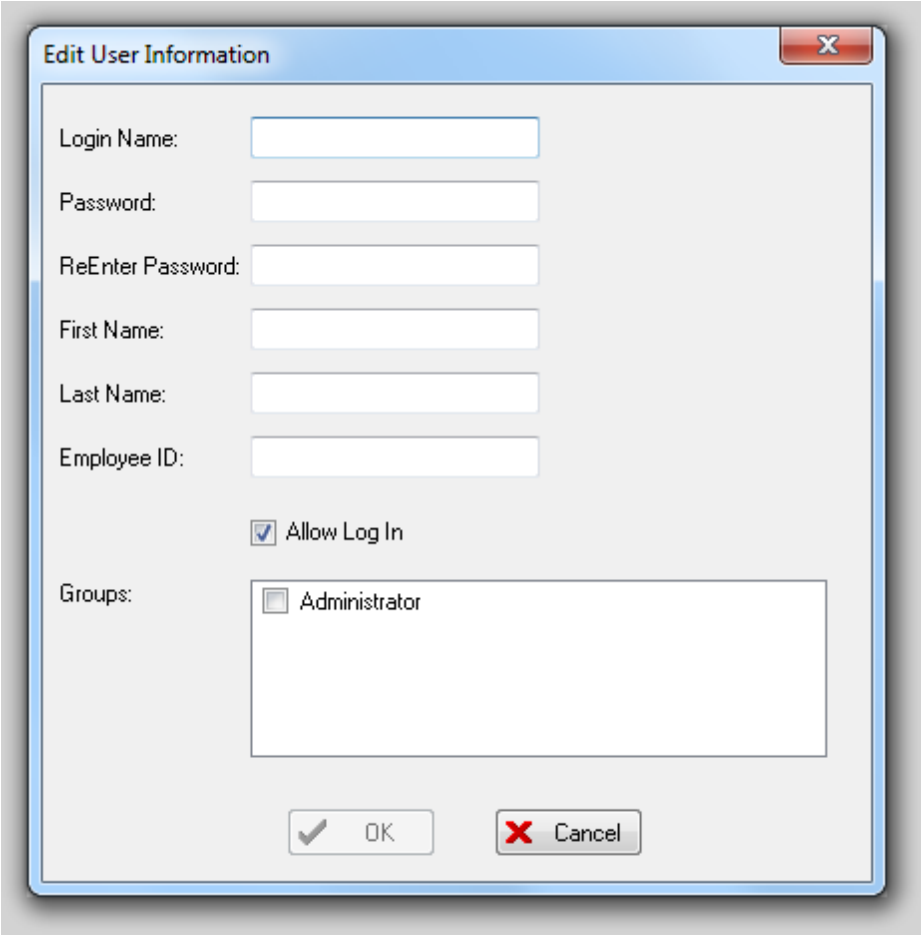


图31.4 Edit User Information Dialog (**编辑用户信息对话框**)

除了**Employee ID(雇员编号)**外的所有字段都必须填写。**Login Name(登录名)**字段必须独一无二(没有任何两个FCS Express用户可拥有相同的登录名)。要管理安全组,参见使用安全组 479一节。**Allow Log In(允许登录)**复选框决定该用户是否可以登录。

32.3.2 编辑用户

要编辑一个已有用户:

1. 请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→**User **Administration(用户管理)**命令。
2. 双击用户名，或者，选择用户后，然后在**User Administration(用户管理)**对话框上点击**Edit(编辑)**按钮。
3. 编辑信息后点击OK。

当前登录的用户可以修改自己的密码，方法是选择**Application Button(应用程序按钮)→System(系统)→Edit Information for Current User(编辑当前用户信息)**命令。这时会出现**Edit User Information(编辑用户信息)**对话框，但只有密码字段可以修改(图31.5)。

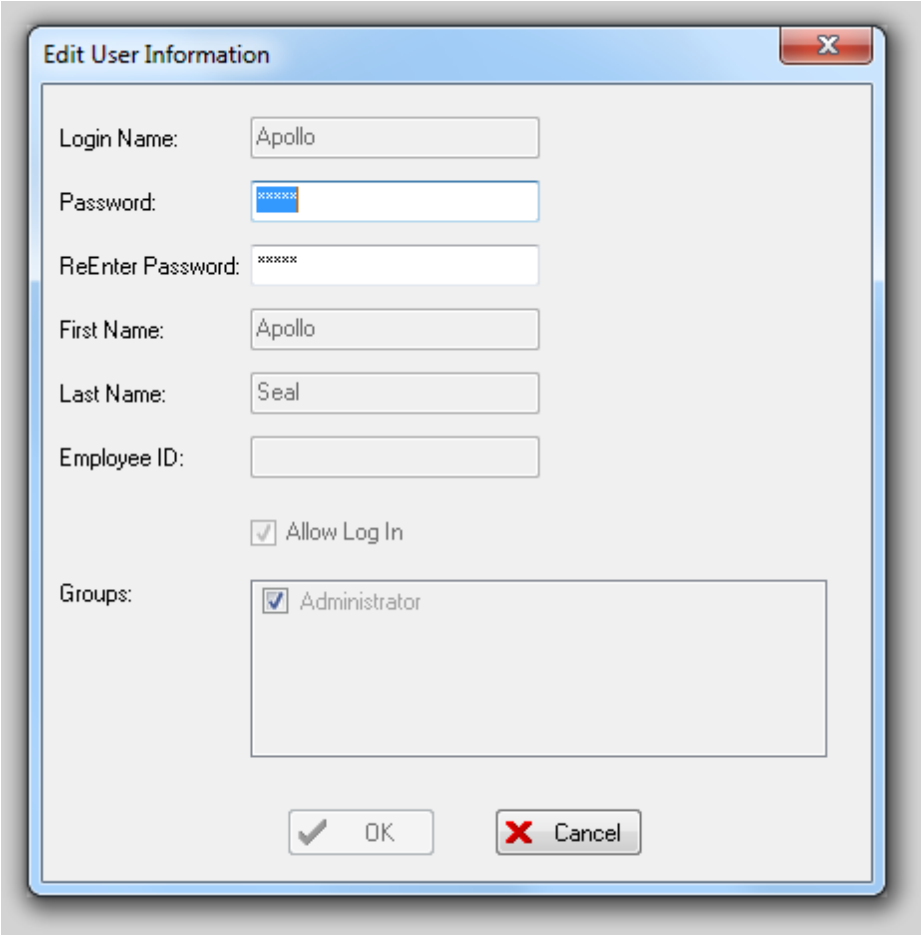


图31.5 Change Current User Password (**修改当前用户密码**)

32.3.3 删除用户

要删除一个用户:

1. 请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→**User **Administration(用户管理)**命令。
2. 选择一个用户，点击**User Administration(用户管理)**对话框里的**Remove(删除)**按钮。

FCS Express不允许删除可以登录的最后一个管理员。

注:用户删除操作不可逆，所以请谨慎使用该功能。

32.3.4 密码管理配置

FCS Express可使用XML文件来管理密码配置。密码配置文件(名称应该是*password.cfg.xml*)的格式如下:

```
<xml version="1.0" encoding="windows-1252">
<PasswordConfiguration>
 <AgingPeriodDays>0</AgingPeriodDays>
 <MaxAttempts>0</MaxAttempts>
</PasswordConfiguration>
```

如果密码配置文件在FCS Express的安装文件夹里，FCS Express会使用配置文件中的选项来强制执行密码有效天数(即多少天后用户需要修改密码)和用户尝试登录的最大次数。如果这些值设置为0，如以上的例子，密码有效天数和登录尝试次数将没有限制。要激活这些选项，请修改这些值来满足用户特定需求。

32.4 使用安全组

FCS Express中每个操作都有一个对应的使用权限。Security Groups(安全组)包含可以执行的Permissions(使用权限)列表。使用权限根据逻辑功能分组，如图31.6所示。

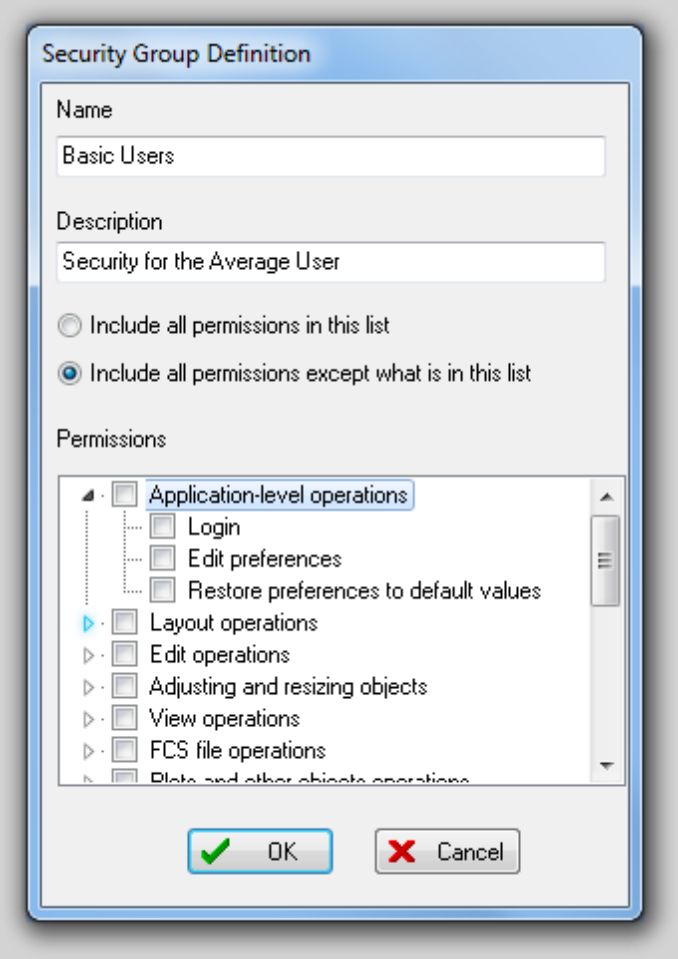


图31.6 Security Group Definition Dialog (安全组定义对话框)

用户可以选择包含所有选中的使用权限，或者，如果只想排除几个使用权限，那么可以"包括除了选中的使用权限之外的所有其它权限"。创建了一个安全组后，可将该安全组指定给一个用户 478。该用户则只可以执行那些被授予的用户权限。

FCS Express的出厂配置是管理员组，允许所有操作，不能被删除。

以下例子说明当一个用户登录时，用户权限如何工作。

一个用户被指定到了一个用户组，该组用户可执行除了打印版面之外的所有操作。该用户登入了FCS Express。该用户可导入版面，并对其进行修改。但当该用户打印版面时，会看到如图31.7所示的信息。该信息告诉用户不可以执行该操作。

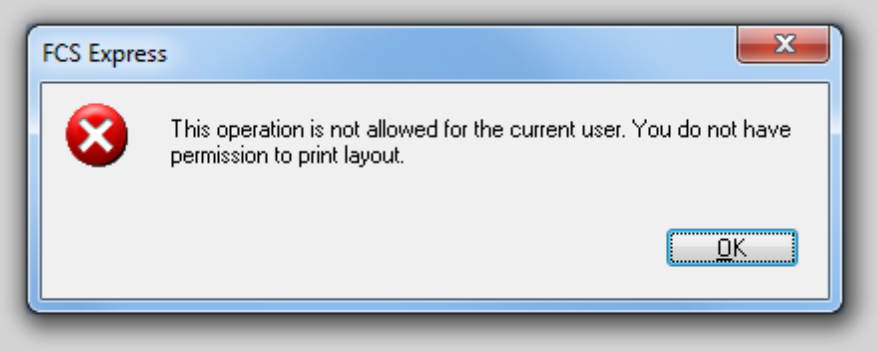


图31.7 Operation Not Allowed (操作不允许)

32.4.1 *创建用户安全组*

要创建新的安全组，使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→Security Group Definitions(安全组定义)**命令。这时会出现Security Group **Definitions(安全组定义)**对话框(图31.8)。

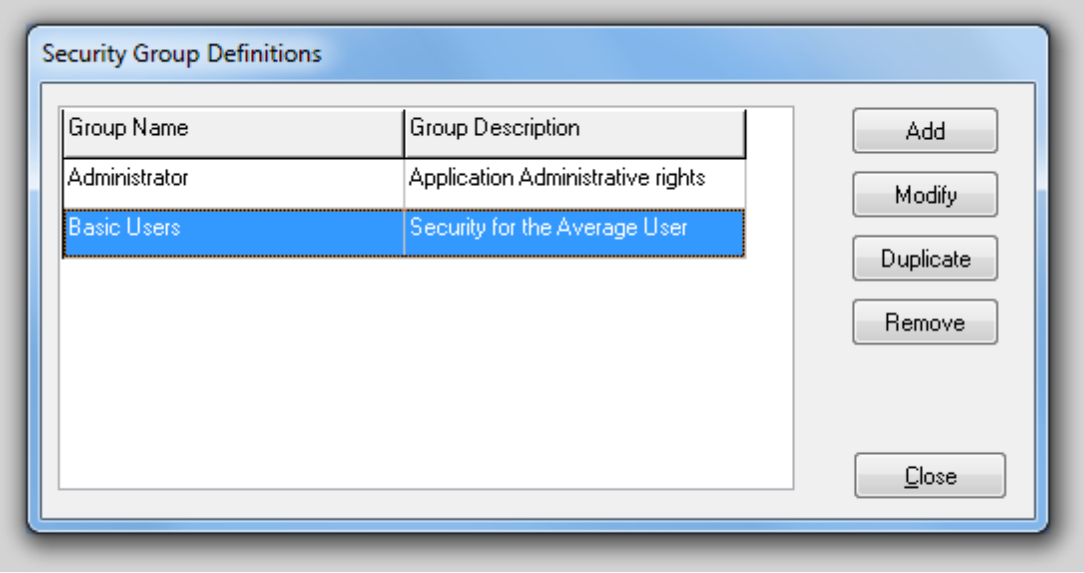


图31.8 Security Group Definitions Dialog (安全组定义对话框)

安全组按字母顺序排列。点击**Add(添加)**按钮来创建一个新的用户组，调出Security **Group Definition(安全组定义)**对话框(图31.9)。

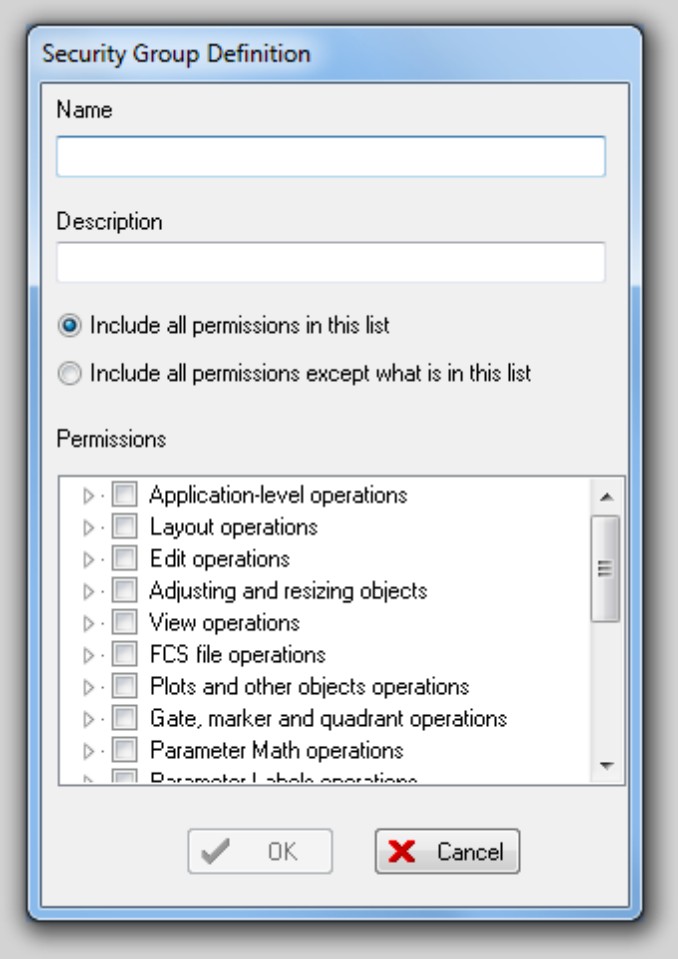


图31.9 Adding a New Security Group (**添加新的安全组**)

请为安全组指定一个**Name(名称)**，也可选填**Description(描述)**一项。要选择和一个类别对应的操作许可，请点击类别名旁边的复选框。要查看一个类别中所有的操作许可，可点击复选框旁边的三角。要选择某一个操作权限，可点击该操作权限旁边的复选框。使用单选按钮，可以选择包括列表中的所有操作许可，或者包括除了点选的操作以外的所有操作。完成定义用户组权限后，点击OK。

32.4.2 *编辑安全组*

要编辑一个安全组，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全选项)→Security Group Definitions(安全组定义)**命令，然后双击安全组，或者先点选该组然后点击**Modify(修改)**按钮。这会调出安全组定义对话框 479，在此可修改安全组权限。

这些权限只有在该用户登录时应用。如果用户使用权限在其登录期间修改过，新的权限要在用户再次登录时才会生效。

32.4.3 为安全组做副本

复制安全组功能允许用户方便地创建相似的安全组。要复制一个安全组，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全选项)→**Security Group **Definitions(安全组定义)**命令。选择要复制的安全组，点击**Duplicate(副本)**按键。这时会出现一个新组，名称和要复制的组的名称相同，只是多了"(copy)"一字。

这时可以点选这个新的安全组，点击**Modify(修改)**按钮，为安全组重命名并设置相应的权限。

32.4.4 删除安全组

要删除一个安全组，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全选项)→Security Group Definitions(安全组定义)**命令。选择要删除的安全组，然后点击**Remove(删除)**按钮。

FCS Express不会删除用户仍在使用的安全组。当隶属于该安全组的所有用户被指定为另外的安全组时，FCS Express才会允许删除该用户组。

32.5 使用版面安全组

版面安全组的工作方式和用户安全组完全相同。但是和版面安全组相关的权限只应用于某一版面文件(而用户安全组则针对于用户)。版面安全组的管理方式也和用户安全组完全相同。

要管理一个版面安全组，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→Layout Status Definitions(版面状态定义)**命令来调出Layout Status **Definitions(版面状态定义)**对话框(图31.10)。

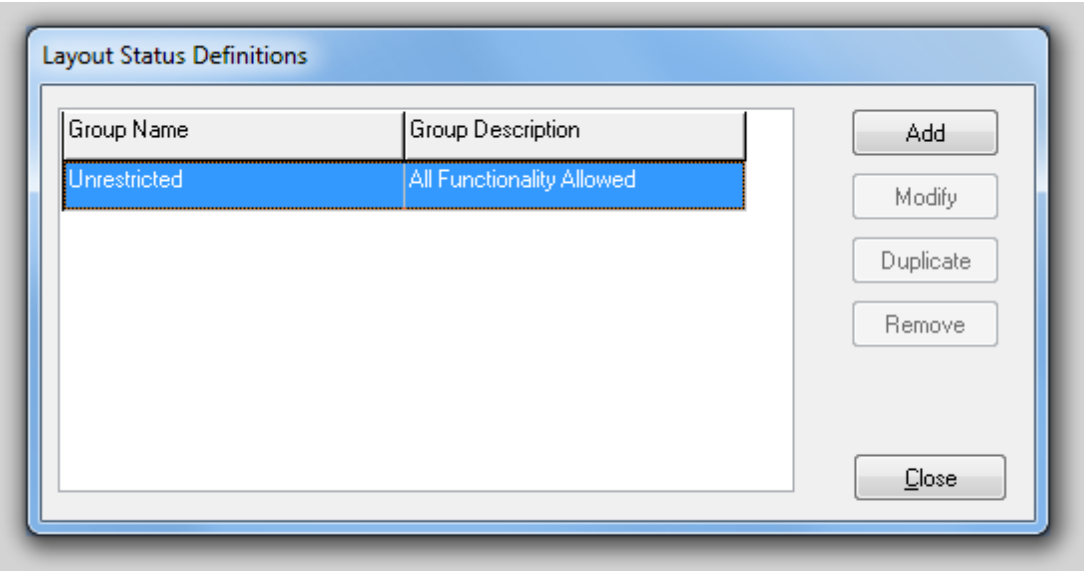


图31.10 Layout Status Definitions Dialog (**版面状态定义对话框**)

版面安全组的修改482、添加481和删除483的方式和用户安全组的相应操作完全相同。

如果当前版面属于一个版面安全组，该安全组禁止某项操作，而当前用户属于一个用户安全组，并且该用户安全组有执行该操作的权限，那么该操作将不允许被执行。因此，要执行一个操作，必须用户安全组和版面安全组同时许可才可以。

要把某一版面和一个特定的安全组相关联，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Layout Properties(版面属性)**命令(图31.11)。默认的安全组是**Unrestricted(无限制)**。这意味着可在该版面上进行任何操作。要修改用户组，请从列表框中选择一个不同的用户组。

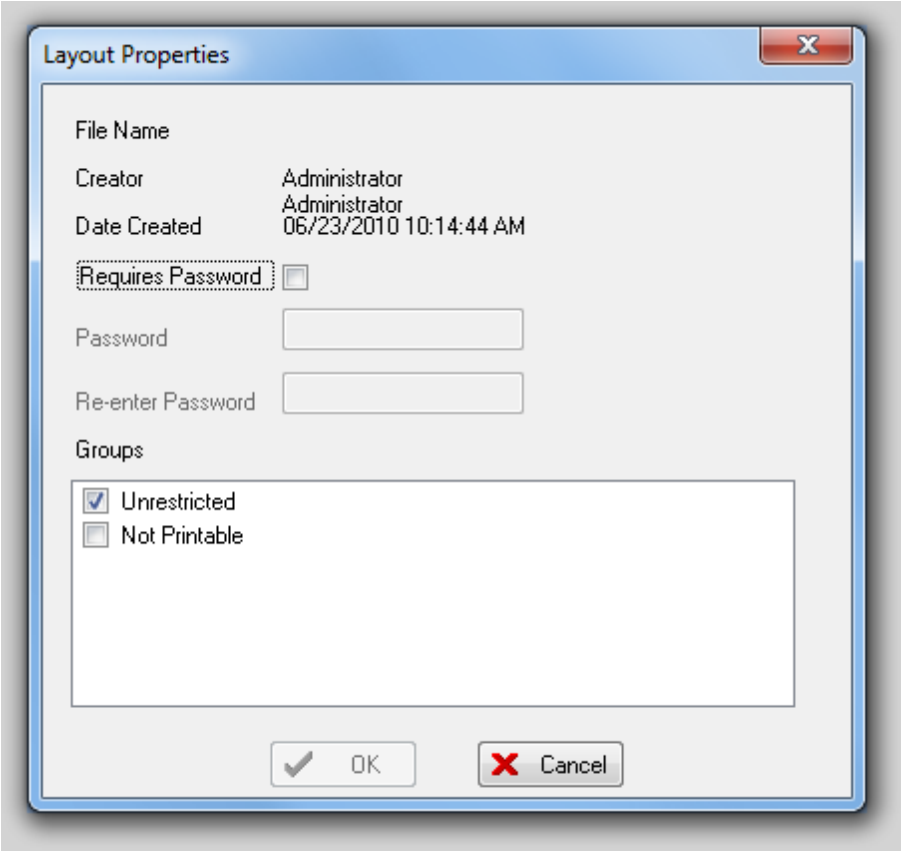


图31.11 Assigning a Layout to a Security Group (**把一个版面设定到一个安全组**)

Layout Properties(版面属性)窗口显示其它和版面相关的信息，例如文件名、创建版面的用户名和创建日期。也可在此处激活对该版面的密码保护。如果激活密码保护，当导入版面时，用户会收到要求输入密码的提示。如果密码不正确，文件将不会打开。

32.6 管理数据库

用户不需要对数据库做经常性的维护。但在一些特殊情况下，当数据库有损坏或被不小心删除时，有一些工具可以帮助用户维护数据库。在进行维护前，请通过 support@denovosoftware.com和De Novo Software联络，以确保要做的维护是必要的。

管理数据库时只可有一个用户登录。如果数据库被删除，可用**Application Button(应用程序按钮)→Security(安全设置)→Rebuild Databases(重建数据库)**命令来重建数据库。

第 33 章

33 电子签名

FCS Express支持一组全面管理和保存电子签名的功能。

电子签名一般和安全功能474配合使用。如果安全功能处于激活状态，当选择Application **Button(应用程序按钮)→Info(信息)**命令后，会出现一组**Electronic Signatures(电子签名)**选项(图32.1)。

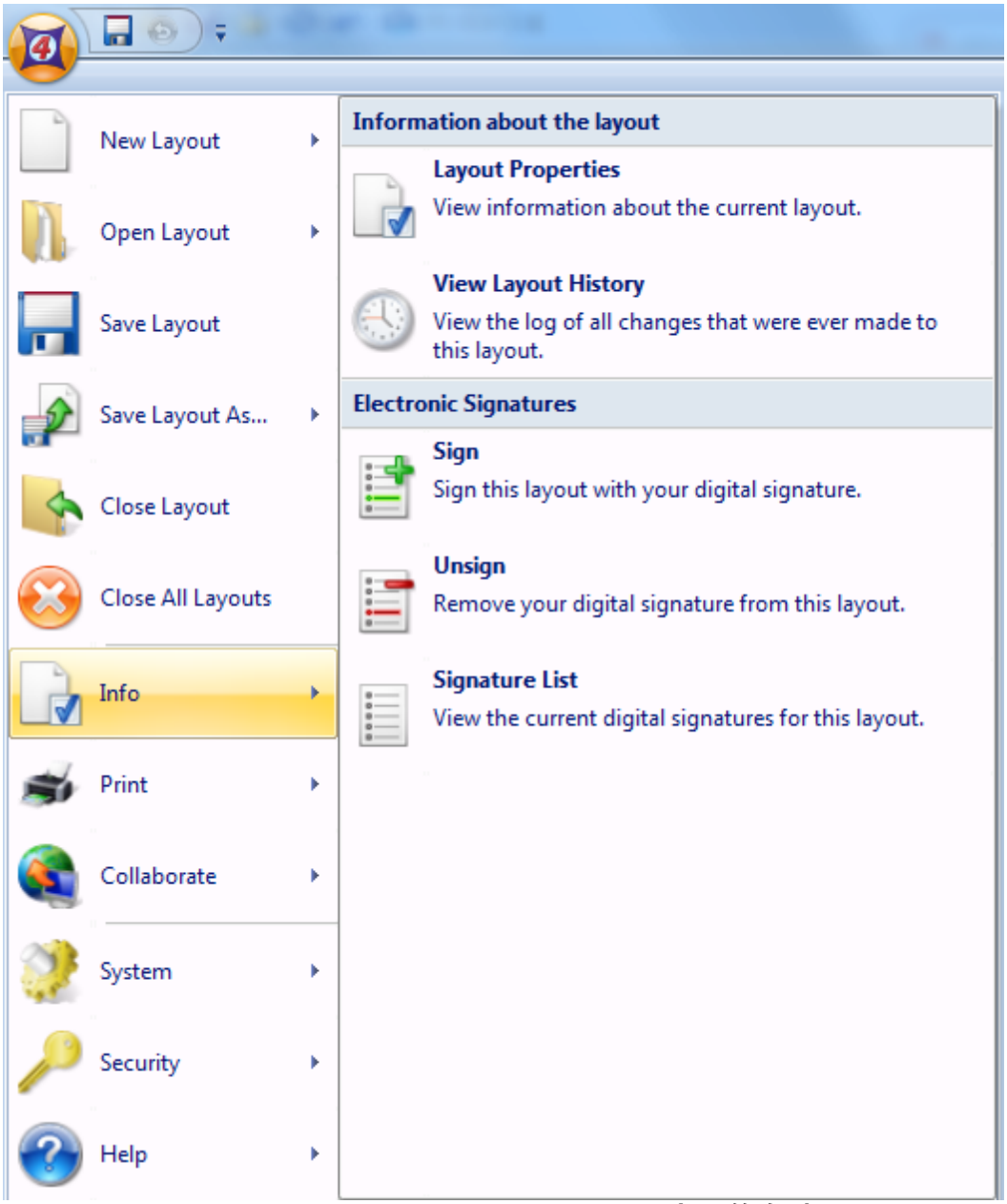


图32.1 Electronic Signatures Gallery (**电子签名选项**)

签名的数目和类型可完全由用户定义。如果记录功能是处于激活的话，FCS Express会记录

所有签名和取消签名的事件。

33.1 签名管理

可通过**Signature List(签名列表)**对话框来维护签名(图32.2)，可用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Signature List(签名列表)**命令来调出签名列表。



图32.2 Signature List Dialog (签名列表对话框)

完成添加489、修改490或删除491签名后，请点击**OK**来保存或点击**Cancel(取消)**来放弃操作。

33.1.1 添加签名

要添加新的签名:

1. 请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Signature List(签名列表)**命令调出**Signature List(签名列表)**对话框。
2. 点击**Add(添加)**按钮。一个新的签名会出现在左边的列表框中(图32.3)。



图32.3 Adding a New Signature (**添加新签名**)

签名属性会在修改签名 490一节中描述。

33.1.2 修改签名

要修改已有的签名:

1. 请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Signature List(签名列表)**命令调出**Signature List(签名列表)**对话框(如果它当前不可视的话)。
2. 选择左边列表框中要修改的签名。该签名的属性会出现在窗口中的Signature **Properties(签名属性)**部分(图32.4)。

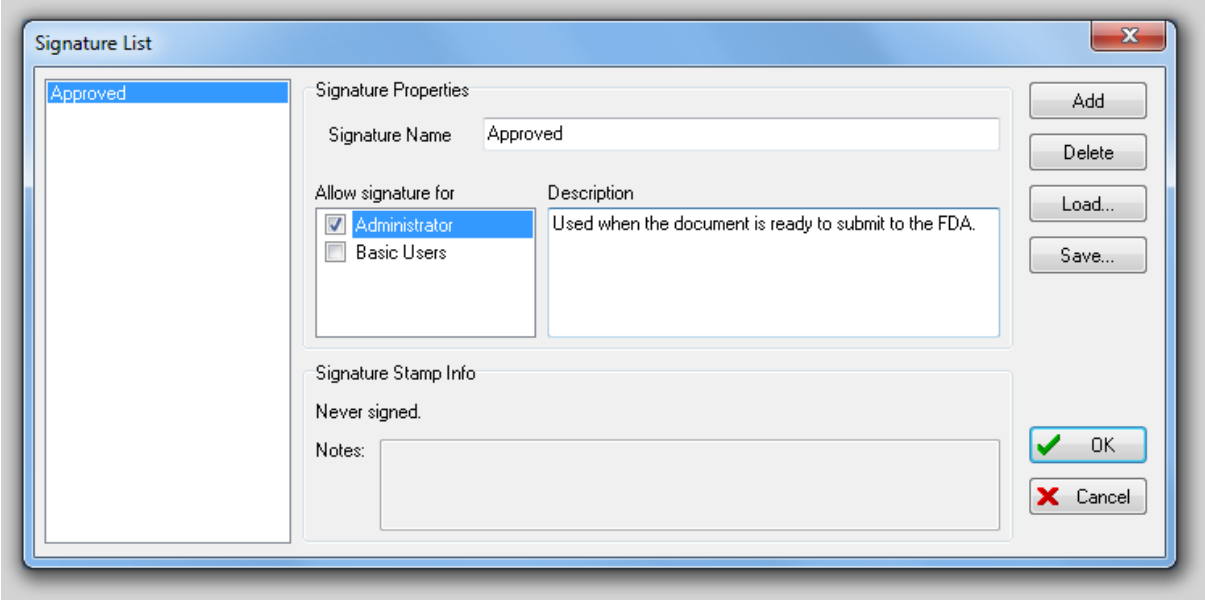


图 32.4 Modifying a Signature (**修改签名**)

签名的属性定义见下表。

属性	解释
Signature **Name(签名名称)**	签名的名称，该名称也是出现在版面里标记中的名称。它通常对应于版面的某个状态(例如审查中、批准等)。
Allow signature for **(签名只允许...使用)**	只有选中的安全组[479]成员允许使用该签名。
Description **(描述)**	对签名的一个简短描述。只作为参考目的。

33.1.3 *删除签名*

要删除一个签名:

1. 请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Signature List(签名列表)**命令来调出**Signature List(签名列表)**对话框。
2. 从左边的列表选择一个签名，然后点击**Delete(删除)**按钮。

33.2 版面签名

要在版面上签名，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Sign(签名)**命令调出签名对话框(图32.5)。

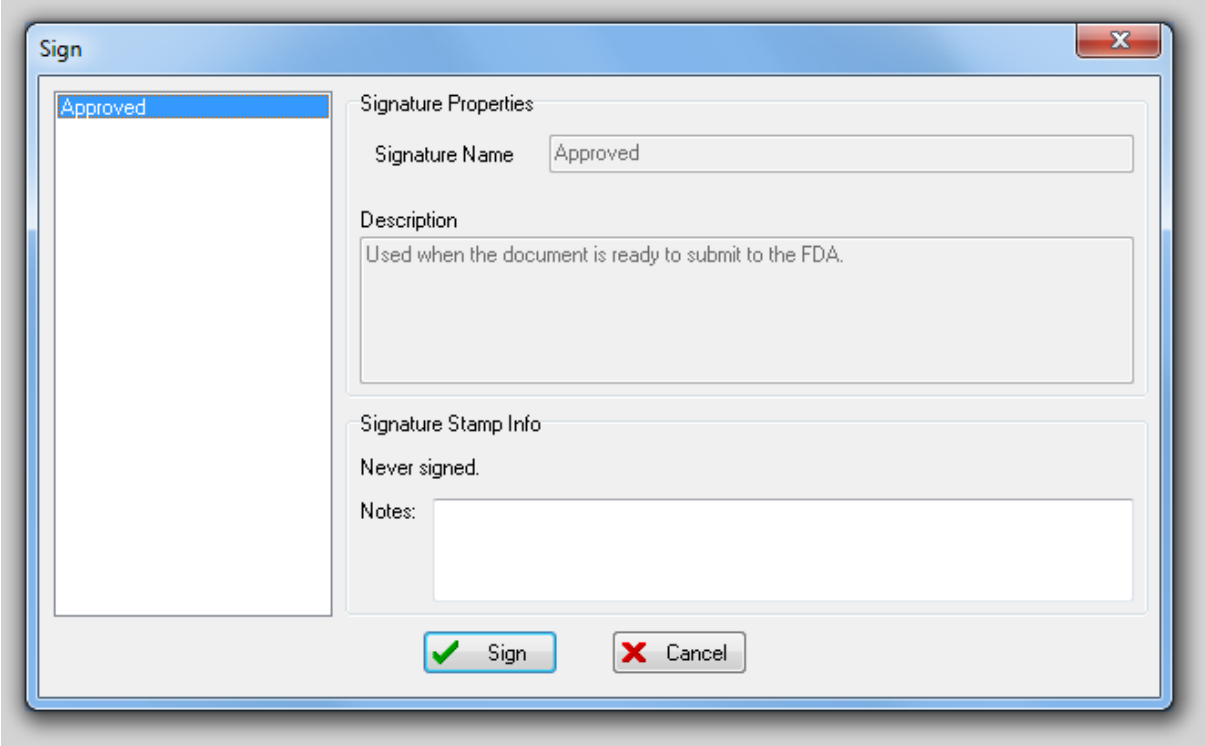


图32.5 Signing a Layout (**在版面上签名**)

左边的列表显示可用的签名，该列表针对用户当前的安全组。

点击**Sign(签名)**按钮来签署版面。可以在**Notes(备注)**字段输入备注(可选项)。点击**Sign(签名)**后，用户要求进行密码确认。

33.3 取消版面签名

要取消版面上一个已有的签名，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→Unsign(取消签名)**命令来调出**Unsign(取消签名)**对话框(图32.6)。

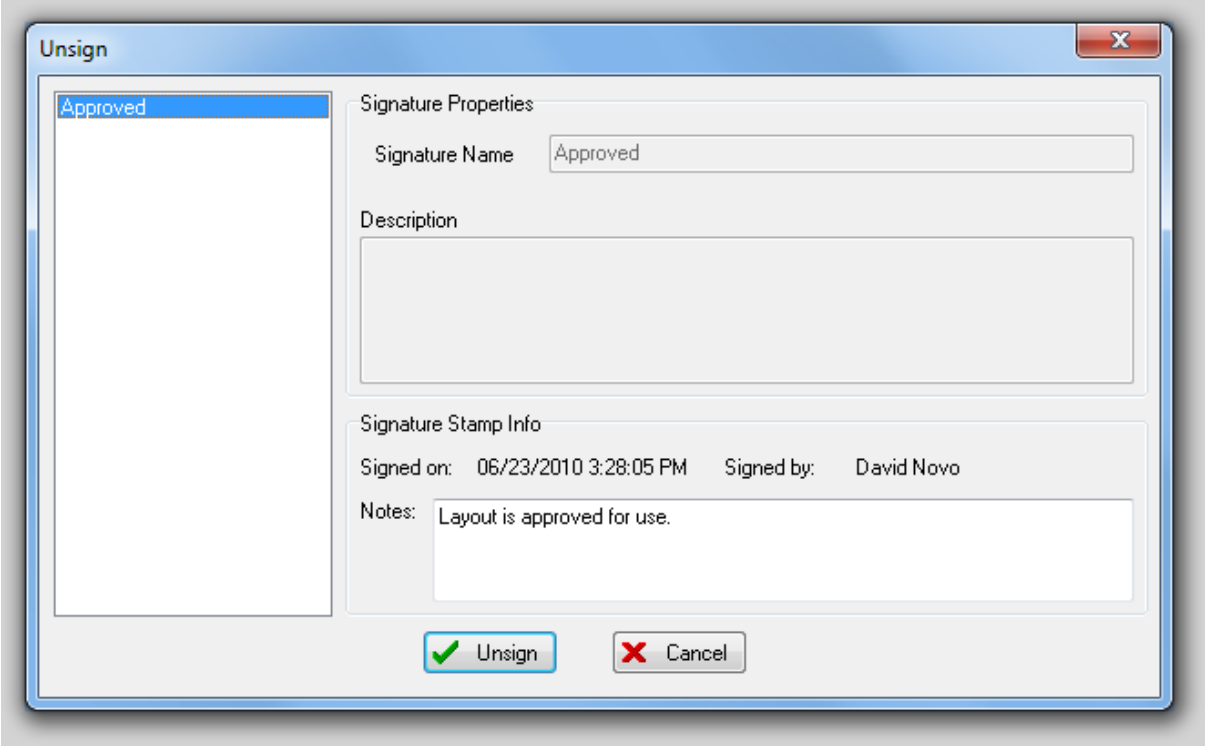


图 32.6 Unsigning a Layout (**取消版面上的签名**)

左边的列表包含当前用户在当前版面上的签名。选择想要删除的签名，点击**Unsign(取消签名)**按钮。可以在**Notes(备注)**字段输入备注(可选项)。点击**Unsign(取消签名)**按钮后，用户要求进行密码确认。

第34章

34 版面历史

FCS Express会记录用户在一个版面上做的所有操作。要查看操作历史，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Info(信息)→View Layout History(查看版面历史)**命令来调出版面历史浏览窗口(图33.1)。

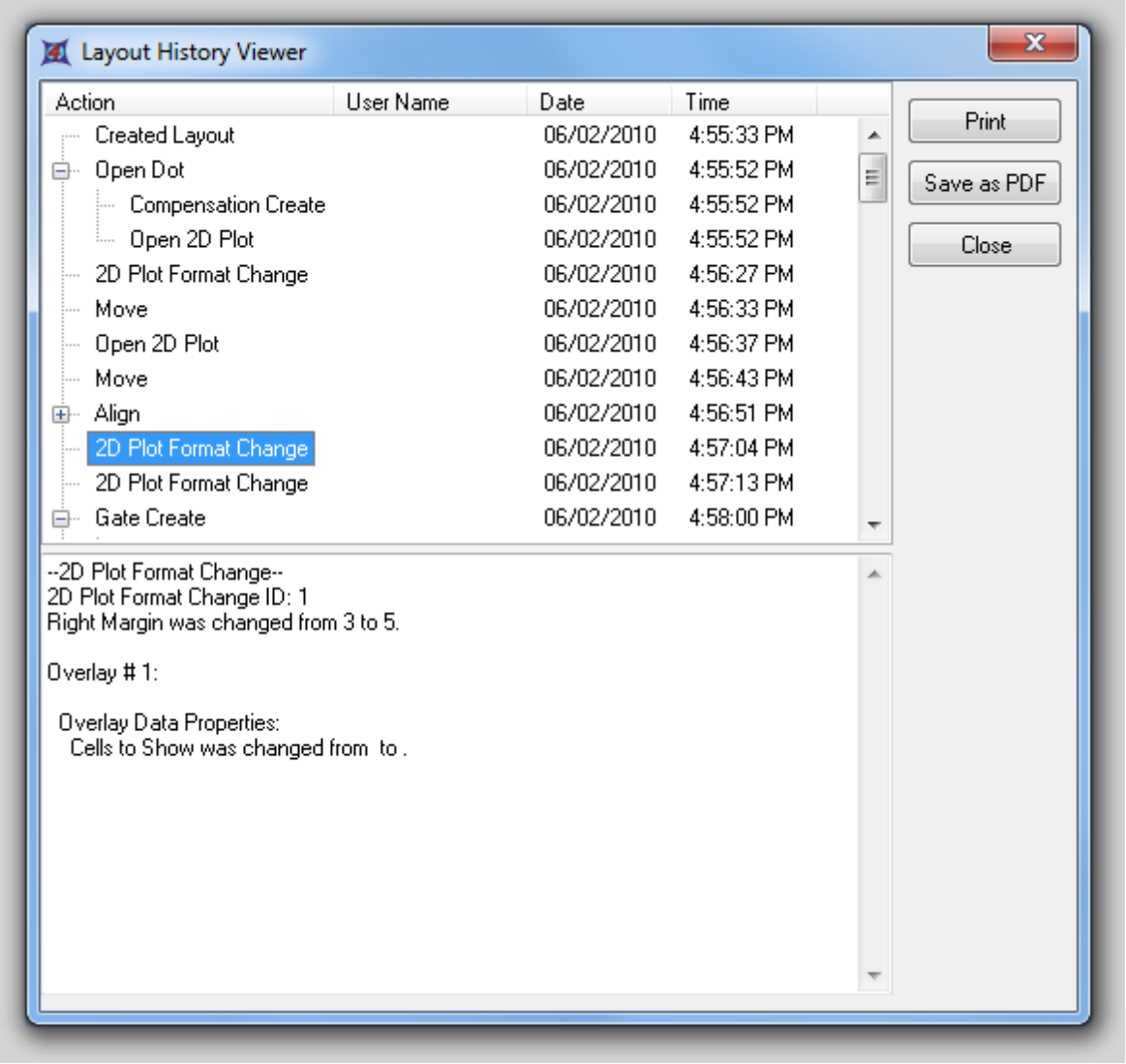


图33.1 Layout History Viewer (**版面历史浏览窗口**)

每个执行的操作包括以下信息:

- 在**Action(操作)**一栏，显示对操作的描述。
- 如果启动了安全选项，**User Name(用户名)**一栏会显示执行该操作的用户名。
- **Date(日期)**一栏显示操作执行的日期。
- **Time(时间)**一栏包含操作执行的时间。

有些操作会联动其它操作的发生。例如，创建页时，一个文本框会自动创建。所有相关联的操作被放在一个条目下。在图中，**Open Dot(打开点状图)**条目包含两个子条目，**Compensation Create(创建补偿)**和**Open 2D Plot(打开二维绘图)**。要查看一个操作的所有历史，点击操作左边的+。**Layout History Viewer(版面历史浏览器)**窗口下边的文本区包含了更多关于当前选中的操作的信息。

可以打印版面历史或者将其保存为PDF文件。

第35章

35 版面发布

FCS Express有一些很有特色的属性来让用户与其它科学家和研究者分享数据。用户可以通过发布版面来进行共享。版面发布后，可放在网站上，被世界上所有的人用FCS Express Reader(阅读器)507查看，该阅读器可在http://www.denovosoftware.com/site/reader.shtml免费获得。

一个发布的版面指一个专门的带有嵌入数据和修改限制的FCS Express版面。FCS Express Reader(阅读器)允许用户对数据在一些限制条件下507进行完全分析(包括移动门和创建新绘图)。

De Novo Software也提供免费的发布版面500服务。这些版面存放在我们的网站上，任何人通过互联网都可查看。用户不必担心把数据上传到网站或这些数据遭到暴露。这些都可交给FCS Express负责。

所有FCS Express用户都在我们网站上享有10M的免费空间，可用这些空间来发布版面。如果这些空间不够，可以购买更多的托管空间508。另外，还可把您的版面发布到你自己的网站上503。

35.1 把版面发布到De Novo Software网站

要把版面发布到De Novo Software网站，请使用**Application Button(应用程序按钮)→Collaborate(合作)→Publish Layout...(发布版面...)**命令。**Publishing Wizard(发布向导)**会在整个过程中指导用户。

在欢迎界面之后的第一页，用户输入关于版面的用户信息(**Title(头衔)**、**Author(作者)**和**Organization(工作组织)**)(图34.1)。

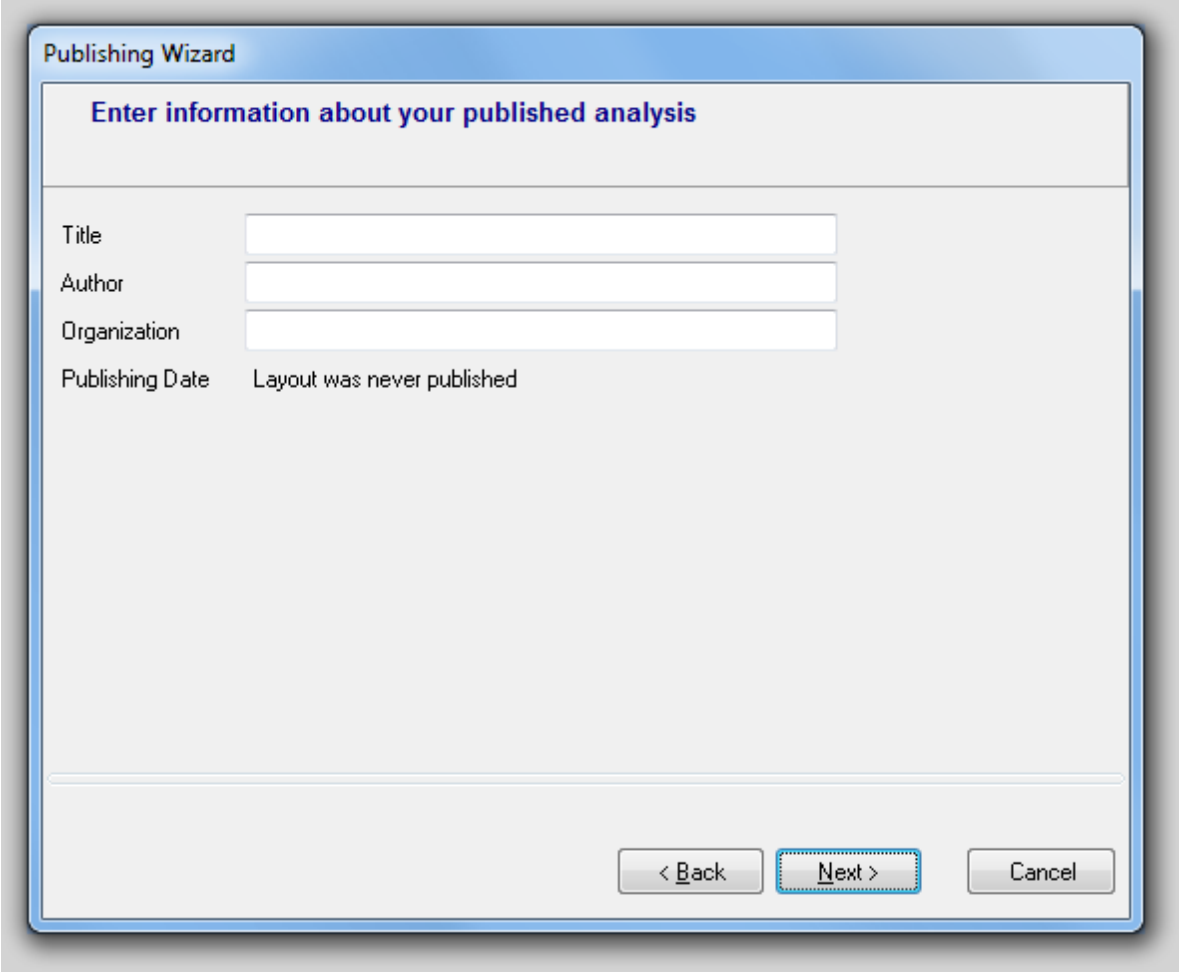


图 34.1 Publishing Information (**发布信息**)

该信息可选填，并只用作描述的目的。当输完用户信息后，点击**Next(下一步)**。

下一页(图34.2)允许用户选择将版面发布的位置。所有人都可以发布到De Novo Software的网站上。要把版面发布到当地硬盘，请参见高级发布 503一节。点击**Next(下一步)**来把版面发布到De Novo Software的网站上。

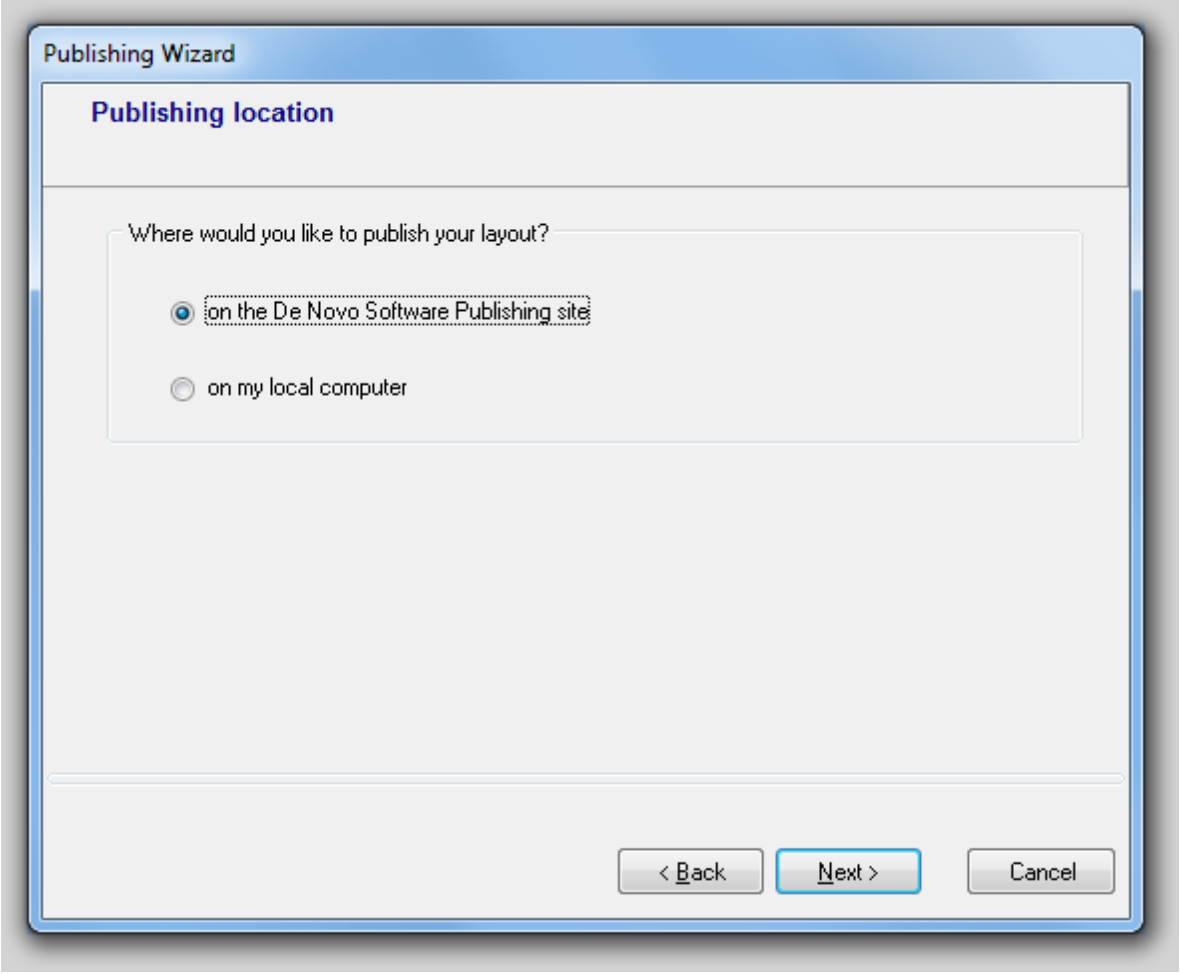


图34.2 Publishing Location (**发布位置**)

Publishing Wizard(发布向导)会要求用户使用电子邮件地址和密码来登录网站(图34.3)。这必须是用户在De Novo Software网站注册时使用的电子邮件地址和密码。

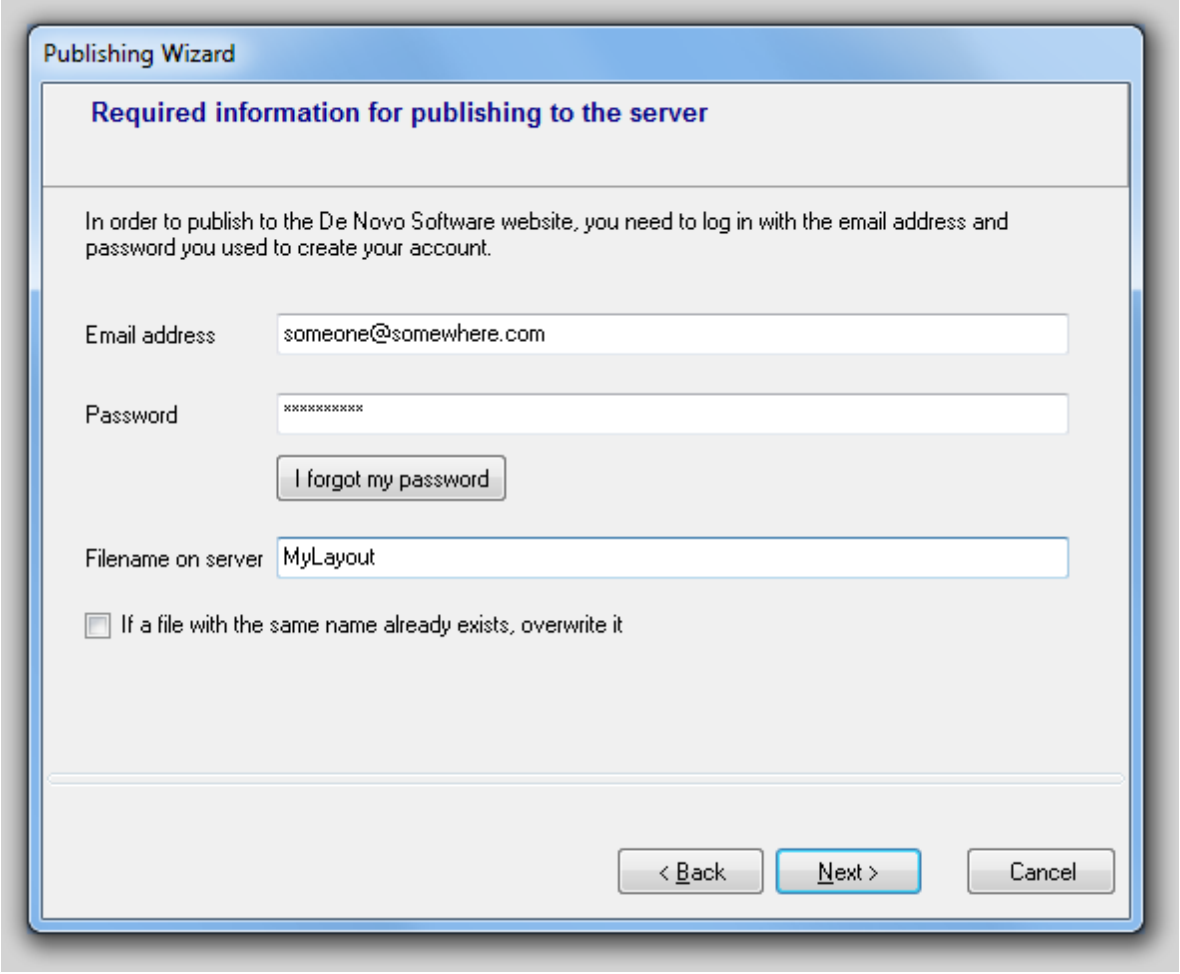


图 34.3 Logging in to the De Novo Software Server (**登录到** De Novo Software **服务器**)

用户可以提供一个发布版面的用户名。这是出现在维护列表505中的版面的名称。

输入必需的信息后，点击**Next(下一步)**。发布向导的最后一步显示一个URL网址，该网址是用户可以送给其它人访问已发布的版面的地址。点击**Copy(复制)**把该URL网址复制到剪切板，然后把其粘贴到电子邮件中。把该URL地址粘贴到网页浏览器上可允许装有FCS Express阅读器507的用户查看数据文件。

35.2 高级发布

如果购买了发布添加组件，可使用更多高级的发布功能。该组件允许用户把版面发布至任何位置，同时也可有更多选项来控制其它用户如何使用你发布的版面。

如果使用高级发布功能，**on my local computer(我本地的计算机)**选项会出现在发布向导的位置页500上。如果选择该单选按钮并点击**Next(下一步)**，会出现Set permissions **for the published layout(为发布的版面设置使用许可)**页(图34.4)窗口。

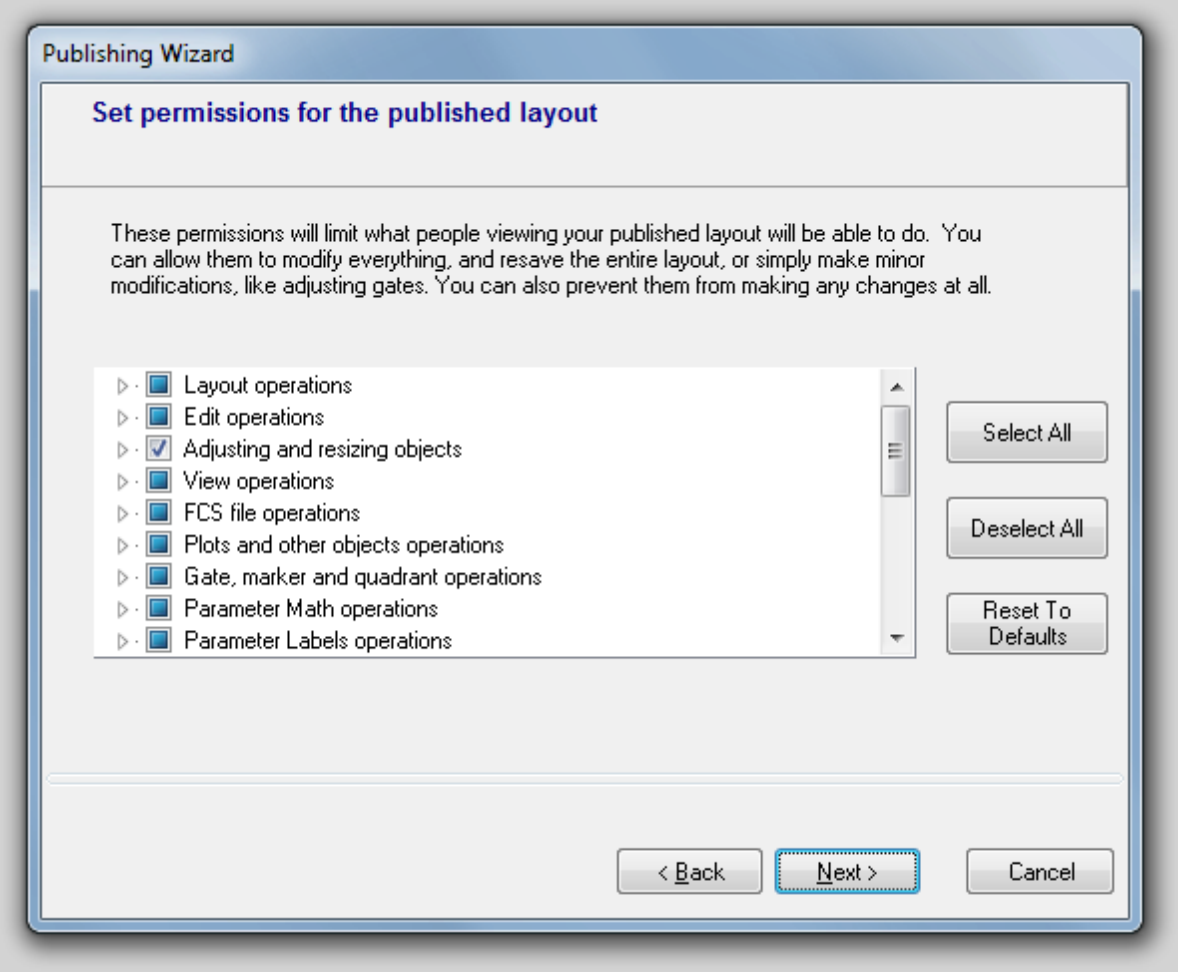


图34.4 Publishing Security Permissions (**发布安全许可**)

在该页，用户可选择版面的查看者可执行哪些操作。例如，如果要防止用户打印版面，可以把打印许可(在**Layout operations(版面操作)下**)设置为不可用。几乎所有FCS Express操作都有一个相关的、用户可设置为"允许"或"不允许"的许可代码。在FCS Express和FCS Express阅读器中打开发布的版面时会遵循这些许可规定。选择好许可后，点击**Next(下一步)**。

下一页(**Advanced publishing options(高级发布选项)**)允许用户控制其它选项，包括是否包括批处理操作和/ 或在发布的文档中禁止编辑标记。

发布版面到本地计算机时，下一页将要求用户选择文件名。发布的文件会有与标准的FCS Express版面文件相同的后缀(.fey)，并且数据会自动嵌入。所有发布的版面都可在FCS Express阅读器中打开。

35.3 默认发布选项

Default Permissions(默认选项)和**Publishing Options(发布选项)**可在编辑设置)对话框里的高级发布选项组[133]进行设置。

35.4 管理发布的版面

FCS Express允许用户对已经发布于De Novo Software网站上的版面进行删除和重命名操作。

选择**Application Button(应用程序按钮)→Collaborate(合作)→**Publishing **Maintenance(发布维护)**命令来打开**Manage your Published Layouts(管理分布的版面)**对话框(图34.5)。

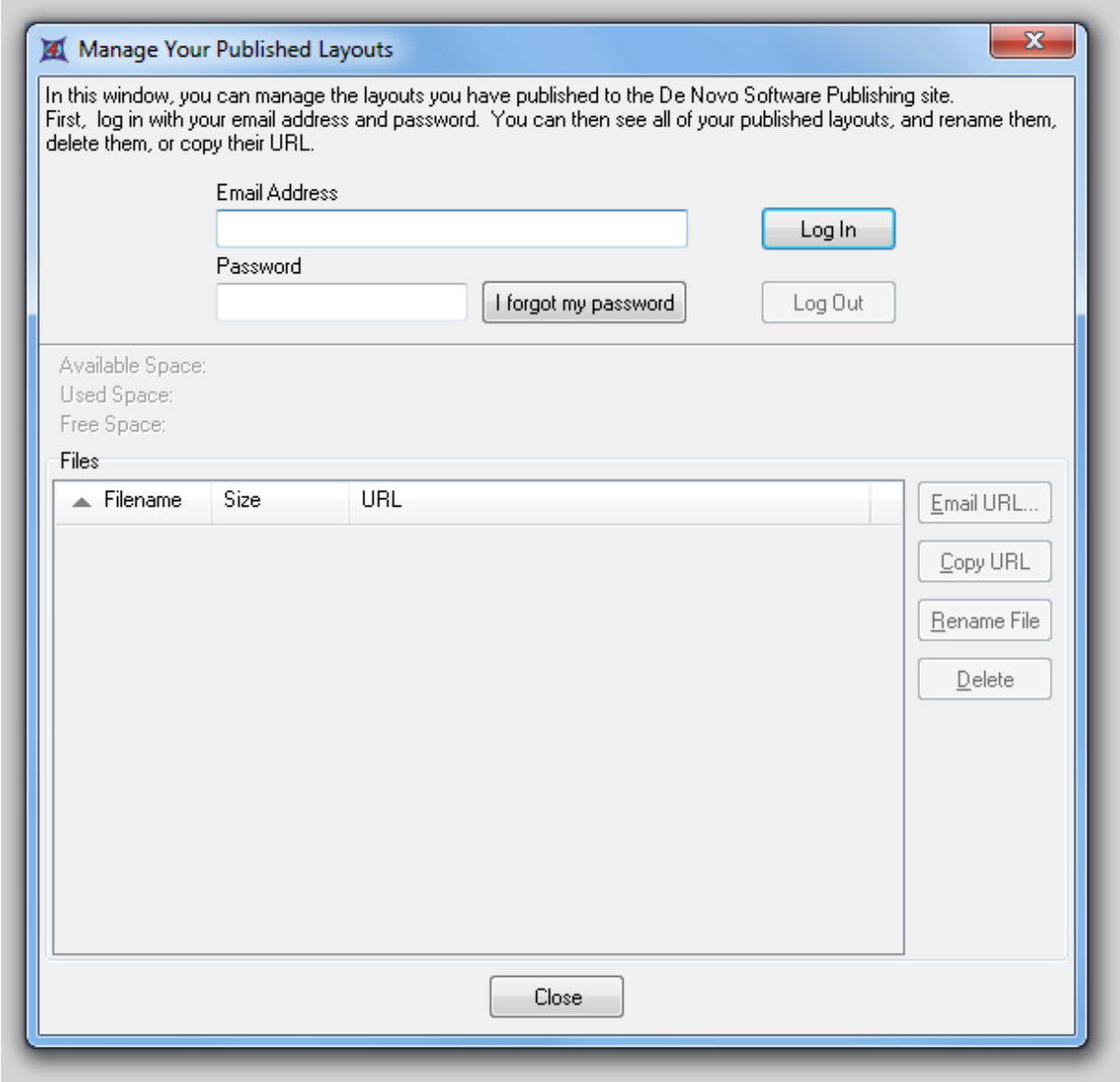


图 34.5 Managing Published Layouts (**管理发布了的版面**)

请输入**Email Address(电子邮件地址)**和**Password(密码)**，然后点击**Log In(登录)**按钮。必须使用和在De Novo Software网站注册用户时相同的电子邮件地址和密码。登入后，在窗口的底部会出现你在De Novo Software网站发布的所有版面。用户可以**Delete(删除)**或**Rename(重命名)**文件，也可以为任何发布的版面获取一个URL地址。如果需要多于10 MB的版面存储空间，可购买更大的托管空间508。

35.5 和其他人共享发布了的版面

要和其他人共享发布了的版面，他们必须在计算机上装有FCS Express或FCS Express阅读器。

只要把FCS Express生成的URL地址500(或用户在把版面发布到自己网站上时的URL地址)告

诉其他人即可。请将该URL地址粘贴到任何网页浏览器(图34.6)上，然后点击Enter键。

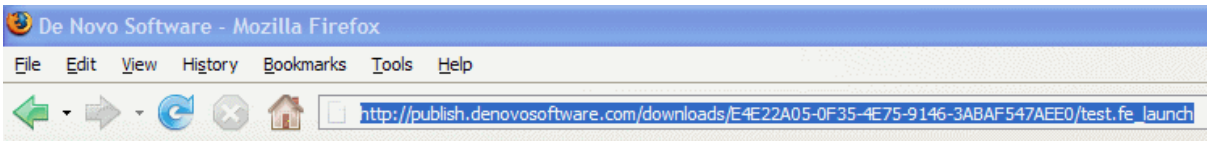


图34.6 Pasting the URL of a Published Layout into a Web Browser (**把一个发布了的版面的**URL**地址粘贴到浏览器上**)

35.6 FCS Express阅读器

用FCS Express阅读器，用户可以:

- 从网上查看以发布的数据分析。
- 执行版面的发布者允许你执行的使用操作。
- 重新分析数据。可以使用所有的FCS Express Professional(专业版)的分析功能。
- 从试剂供应厂商的网站上找到相关模板和演示，以便更好地开始使用它们的产品。
- 在任何时间升级到完全演示或者可购买的版本。

35.6.1 *获取FCS Express阅读器*

FCS Express Reader(阅读器)可免费在线下载http://www.denovosoftware.com/site/reader.shtml。

35.6.2 *FCS Express阅读器的功能局限*

FCS Express阅读器几乎允许用户执行FCS Express标准版本的所有分析功能。例如，可以添加新绘图、操作门、获取统计和打印等。但FCS Express阅读器存在有以下的功能局限:

- 只能使用嵌入在发布了的版面中的数据。不可在版面上修改数据文件、导入新的数据文件或运行批处理。

- 保存功能有一些局限。从FCS Express Reader保存的发布版面只能在保存它的计算机上、或者版面最先被发布的计算机上打开。这允许教师创建学生可以操作和保存的版面。修改后的版面可寄回给老师来评分(只要寄回的文件在发布版面的计算机上打开即可)。

35.6.3 *从FCS阅读器升级到FCS Express*

要从FCS Express Reader升级到FCS Express，请从http://www.denovosoftware.com购买相关版本。购买之后，可以在主菜单下选择**Help(帮助)→Upgrade from Reader(从阅读器升级)**来升级(图34.7)。

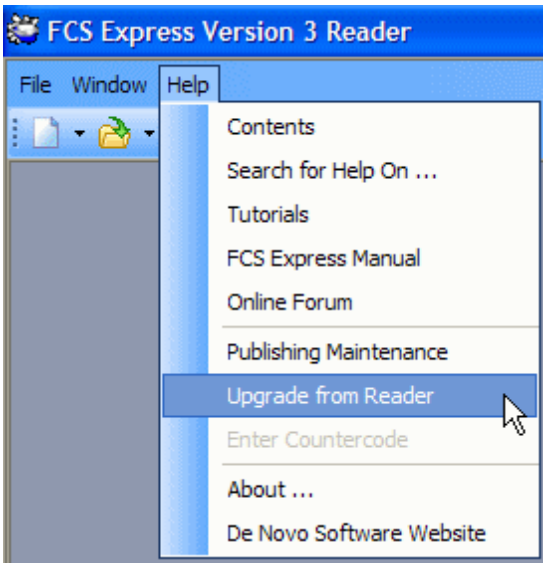


图34.7 Upgrade FCS Express Reader
(为FCS Express阅读器升级)

35.7 额外网络托管方案

想要在De Novo Software发布网站发布大于10M的版面，可以购买额外的托管方案。这些方案在我们的服务器上提供更多的存储空间。我们提供几种不同的托管服务。详细信息可在http://www.denovosoftware.com上找到。

第 36 章

36 教程

本章包含了详细的教程来讲解FCS Express第4版的功能，让用户很容易地学习如何使用软件中最常用的功能。

我们也提供了教程中的实例所使用的样本数据。这些样本数据可从De Novo Software的网站上的资料库下载:

http://www.denovosoftware.com/download/TutorialSampleData.zip。

下载资料库后，用户可把它解压到任何位置，比如到"我的文档"中。

当前已上线的教程包括:

- 使用对象511
- 插入绘图525
- 对绘图进行格式化538
- 门操作566
- 文本框和标记591
- 象限639
- 把象限或标识链接到门649
- 补偿662
- 批处理683
- 创建和使用面板724
- 停靠748
- 数据导航器769
- 门导航器791
- 版面导航器805
- 创建和使用自定义数据829
- 条形图和散点图867
- 滴定890
- 高涵量流930
- DNA分析969
- 细胞分裂1004
- 动力学1030
- 细胞浓度1054
- 通道校正1073
- 导出CellProfiler数据1087
- 从IsoCyte导出数据1136
- 图像绘图1150
- 回归分析1176
- FCS Express 4 Image Cytometry(细胞图像分析软件)简介1206

36.1 使用对象

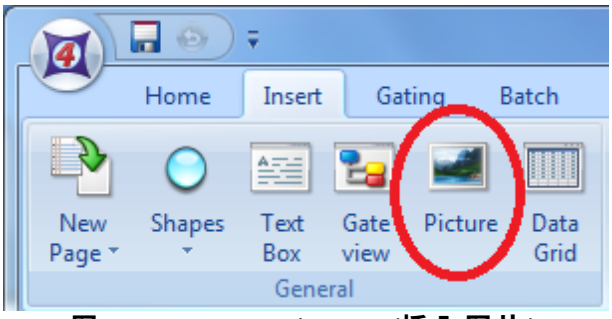
对象(例如绘图、文本框、统计表格和图片)是放在FCS Express文档(被称为版面)中的项目。操作FCS Express中的对象像操作微软PowerPoint中的对象一样，用户可以对它们进行移动、调整大小、删除、组合、对齐、剪切、复制和做副本。要对一个对象进行操作，必须先**选中**它。被红色边框包围着的对象代表着一个**选中的**对象。除此，对象还可以处于**编辑**模式，标志是一个绿色的边框。**编辑**模式将在稍后做详细介绍。

36.1.1 *插入对象*

要在页面上插入一个对象，只需从Ribbon条上的**Insert(插入)**标签卡选择该对象即可。在下面的例子中，我们会插入一张图片。

要插入图片:

1. 请选择**Insert(插入)→General(常规)→Picture(图片)**(图T1.1)。
2. 在用户希望图片左上角出现的地方点击鼠标。这时会跳出一个文件选择对话框，让用户选中要插入的图片。



图T1.1 Insert Picture (**插入图片**)

3. 如图T1.2中所示，请选中*Logo.png*文件(在本章剩下的部分我们会使用De Novo Software的标志作为例子)。如果*Logo.png*文件不存在，用户可以选择任何其它图片文件。



图T1.2 De Novo Software Logo (De Novo Software**标志**)

对象周围的红色边框代表对象处于选中状态。要了解更多选中和编辑模式的信息，请参考FCS Express用户手册中的*版面页功能*一节。

36.1.2 选中对象和取消选中对象

在对象外面的版面背景上任何地方点击，即可取消对对象的选中。要再次选中该对象:

1. 请把光标移动到对象的边框上方。
2. 点击边框。当光标变成了四向的箭头时，说明光标处在了正确的位置。

36.1.3 修改对象大小

对象被选中后，用户可以通过把光标移动到沿着对象边界出现的**调整大小手柄**(红色的圆圈，见图T1.3)上，来修改对象大小。

下面的例子展示了如何在横向和纵向同时改变对象大小:

1. 请把鼠标移动到对象右下角的调整大小手柄处，这时光标会变成一个双向的对角箭头光标。
2. 按下鼠标左键不放，同时移动光标到合适的位置。移动过程中会出现一个透明的对象预览图像，显示图像的新的尺寸。在移动过程中按下**Shift**键，可以保持对象的宽高比。
3. 放开鼠标，对象会变成预览图像所示的尺寸。



图T1.3 Resizing an Object (**修改对象大小**)

下面让我们来学习如何移动对象513。

36.1.4 移动对象

想要移动对象(图T1.4):

1. 请把鼠标沿着对象边框移动，直到出现一个四向的箭头光标为止。
2. 按下鼠标左键不放。
3. 移动鼠标。移动过程中，一个透明的预览图像会显示对象的新位置。
4. 继续移动鼠标，直到预览图像出现在用户希望的位置。
5. 放开鼠标键。该对象便会移动到新的位置。



图T1.4 Moving an Object (**移动对象**)

另外一种移动方式是，选中对象，按动键盘上的方向键(上下左右键)来移动对象。如果想要用键盘来小幅度地移动对象，按动方向键的同时，也请按住**Shift**键。

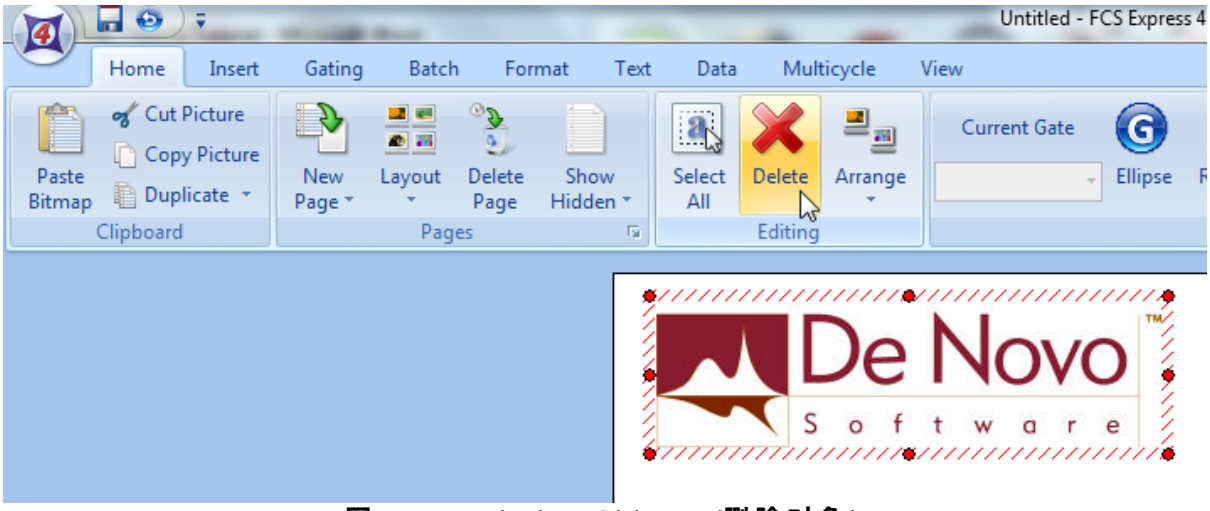
36.1.5 删除对象

想要删除对象:

1. 请按照前面介绍的那样512选中对象。
2. 在键盘上点击**Delete**键。

或者

3. 选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Delete(删除)**命令(图T1.5)。



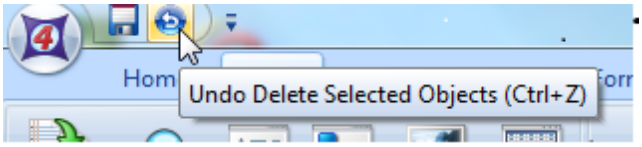
图T1.5 Deleting Objects (删除对象)

36.1.6 撤销所做修改

FCS Express第4版允许用户无限次地撤销所做的修改。

要撤销所做修改:

1. 请在**Quick Access Toolbar(快捷工具条)**中点击**Undo(撤销)**按钮(图T1.6)。**Undo(撤销)**菜单上的文本会变化，通知用户可以撤销哪些操作。例如，要撤销在上一节中[513]删除的图片，请点击**Undo(撤销)**按钮。也可以在键盘上按下**Ctrl+ Z**来撤销操作。



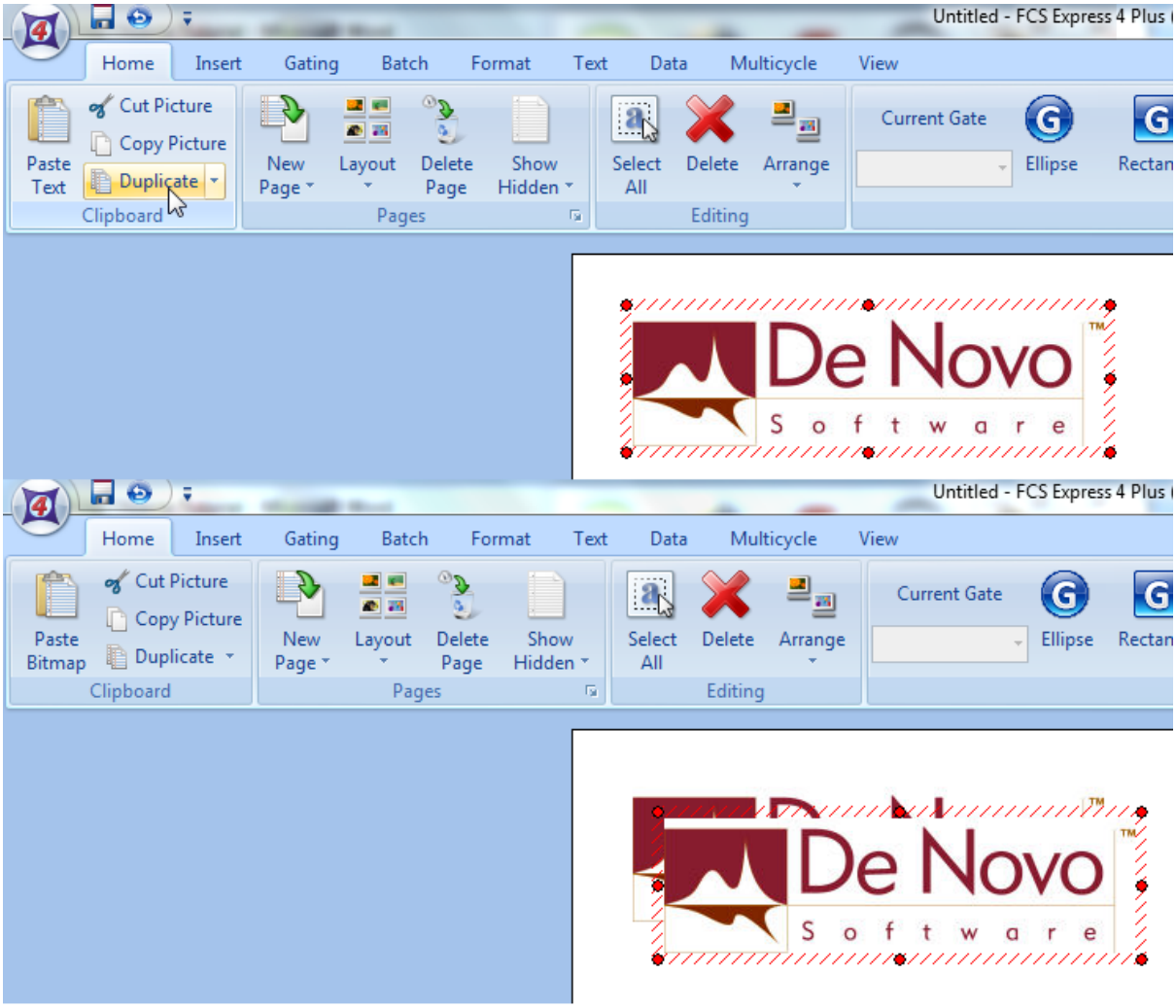
图T1.6 Undo (撤销操作)

36.1.7 为对象做副本

要为对象做副本:

1. 请按照前面介绍的那样[512]选中对象。

2. 然后选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Duplicate(副本)**命令。新的对象会出现在原始对象稍微偏右下的位置(图T1.7)。



图T1.7 Duplicating Objects (**为对象做副本**)

36.1.8 选择多个对象

要用鼠标选择多个对象(图T1.8):

1. 请把光标放在用户想要选择的对象的边框一角的外边。
2. 按下鼠标左键不放。

3. 移动光标。在版面内会出现一个蓝色的高亮矩形框。
4. 调整蓝色高亮矩形框的大小，直到它可以包括所有要被选中的对象。
5. 放开鼠标键。

所有对象均被选中，正如每个对象的红色边框所示。



图T1.8 Selecting Multiple Objects (**选择多个对象**)

要用键盘选中多个对象:

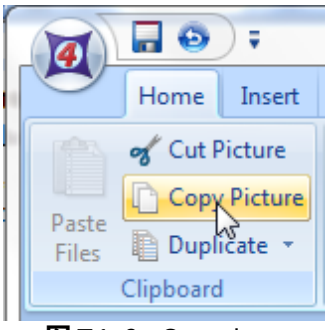
1. 在键盘上按下**Shift**键。
2. 在想要选中的对象边框内部点击一下。对象被选中后，它的边框会变成红色。
3. 按住**Shift**键，然后把光标移到用户想要选中的另一个对象上。
4. 在该对象边框内部点击一下。在点选多个对象过程中，也可以通过shift键加点击的方式来取消对选中对象的选择。
5. 重复第3和4步，直至所有要选中的对象都被选中。
6. 松开**Shift**键。所有已经选中的对象都会有红色的边框。

36.1.9 *复制对象*

FCS Express允许用户把一个或多个对象复制到剪切板，然后把它们粘贴到同一个或不同的版面页上。

要复制对象:

1. 请像前面介绍的那样[512]选中一个或多个对象。
2. 然后 从**Home(主页)**标签卡上的**Clipboard(剪切板)**命令组里选择**Copy Picture(复制图片)**命令(图T1.9)。**Copy(复制)**菜单的文本会告诉用户哪些对象将被复制。另外，也可用键盘快捷键**Ctrl+ C**来复制对象。

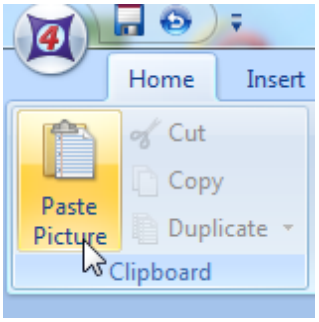


图T1.9 Copying Objects (**复制对象**)

36.1.10 粘贴对象

要粘贴在剪切板上的对象:

1. 请在**Home(主页)**标签卡上的**Clipboard(剪切板)**命令组中选择**Paste Picture (粘贴图片)**命令(图T1.10)。**Paste(粘贴)**菜单上的文本会告诉用户哪些对象将被粘贴。另外，可用键盘上的快捷键组合**Ctrl+ V**来粘贴对象。



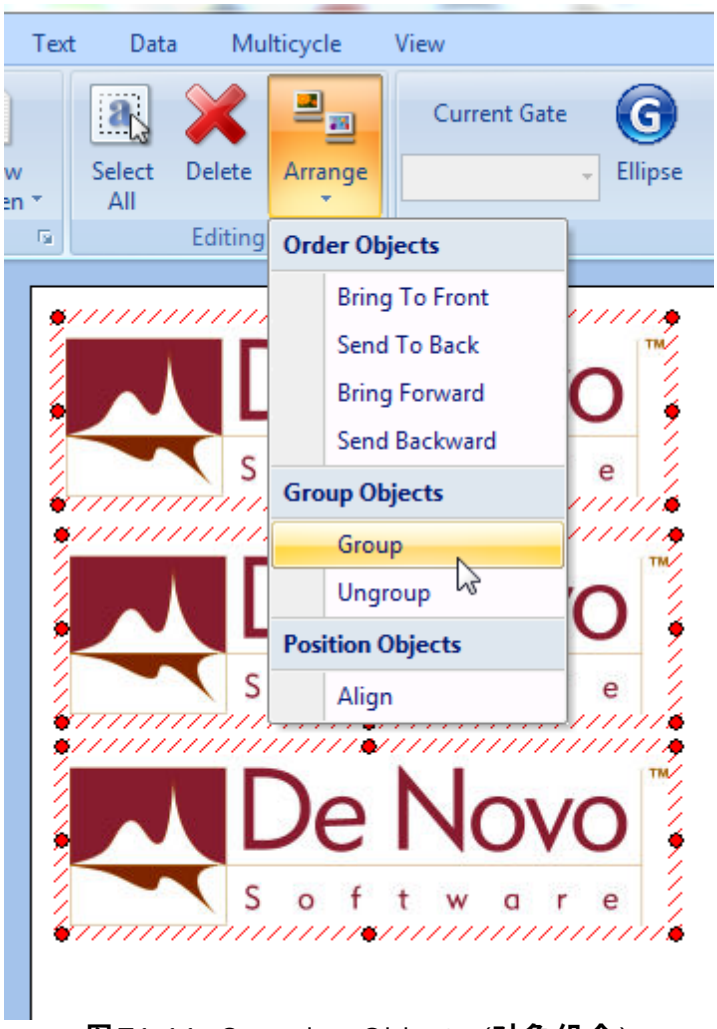
图T1.10 Pasting Objects (**粘贴对象**)

36.1.11 对象组合

页面上单个的对象可以被*组合*到一起。当选中一组中的一个对象时，该组中的所有对象都会被选中。这在以下情况下很有用: 例如，几个对象位置相对固定，而用户在移动过程中想要保证把这些对象一起移动，而非只移动其中的一个。

要把几个对象组合起来:

1. 请像前面介绍的那样[512]选中这些要组合的对象。
2. 然后从 **Home(主页)→Editing(编辑)→Arrange(安排)**命令的下拉菜单中选择 **Group (组合)**(图T1.11)。



图T1.11 Grouping Objects (**对象组合**)

3. 请点击版面的空白区来取消对这些对象的选择。

4. 点击组合对象中的一个对象的边框，所有对象应该都被选中。

要取消对象组合:

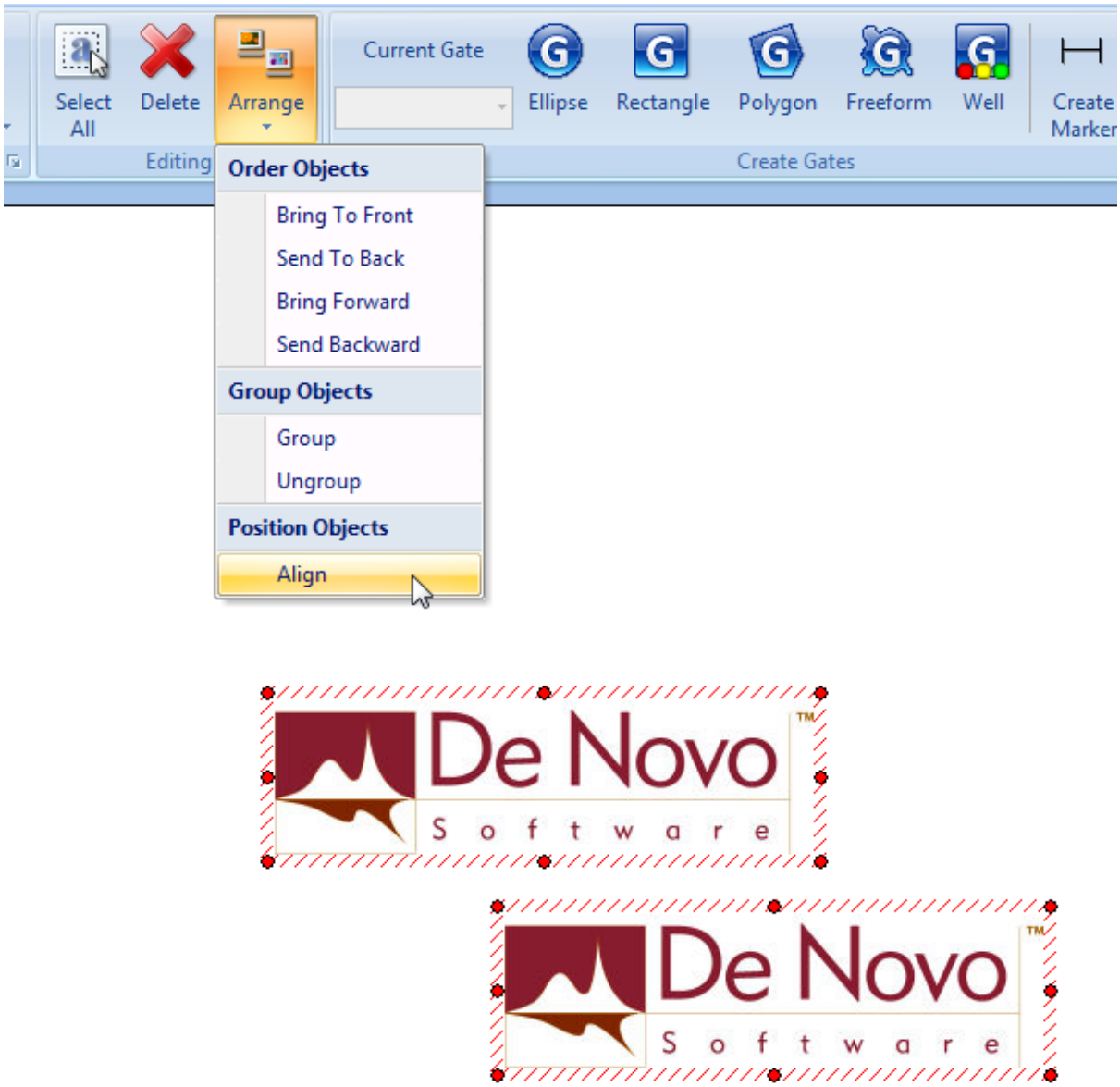
1. 请像上面介绍的那样选中要取消组合的对象。
2. 然后从 **Home(主页)→Editing(编辑)→Arrange(安排)**命令的下拉菜单中选择**Ungroup(取消组合)**。

36.1.12 对象对齐

FCS Express允许用户把对象在横向和纵向上进行边对齐、顶端对齐、底端对齐和中心对齐。该对齐功能也可允许用户根据一个对象的尺寸来调整另一个对象的高度或宽度。对象总是和第一个选中的对象看齐。

要水平向地对齐多个对象:

1. 请选中512所有要对齐的对象。
2. 然后从**Home(主页)→Editing(编辑)→Arrange(安排)**命令的下拉菜单中选择**Align(对齐)**(图T1.12)。这时在版面中心会出现一个**Alignment(对齐)**对话框。
3. 从横向对齐列表里选择**Centers(中心对齐)**，而纵向对齐仍保留在**No Change(不做改变)**选项(图T1.13)。
4. 请点击**OK**键。



图T1.12 Aligning Objects (Step 2) (对象对齐(第2步))

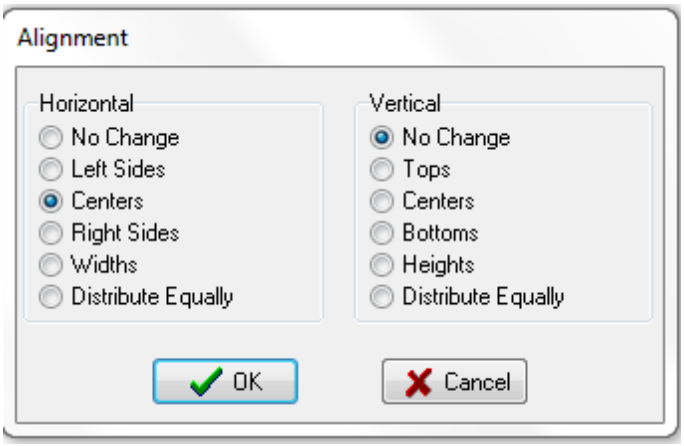


图 T1.13 Aligning Objects (Step 3) (**对象对齐**(**第** 3**步**))

选中的对象现在已经横向对齐，这些对象的横向中心在一条线上(图T1.14)。



图T1.14 Aligning Objects (Final Result) (**对象对齐(最后结果)**)

要使对象有相同的高度和宽度:

1. 请选中一个对象，该对象的尺寸将是其它对象要变成的尺寸。
2. 然后选中要调整尺寸的对象。
3. 请从**Home(主页)→Editing(编辑)→Arrange(安排)**命令的下拉菜单中选中**Align(对齐)**。

4. 从横向对齐列表里选择**Widths(宽度)**。
5. 从纵向对齐列表里选择**Heights(高度)**。
6. 点击**OK**按钮。

所有选中的对象现在都和第一个对象有相同的尺寸(图T1.15)。另外，宽度和高度也可以分别进行对齐设置。



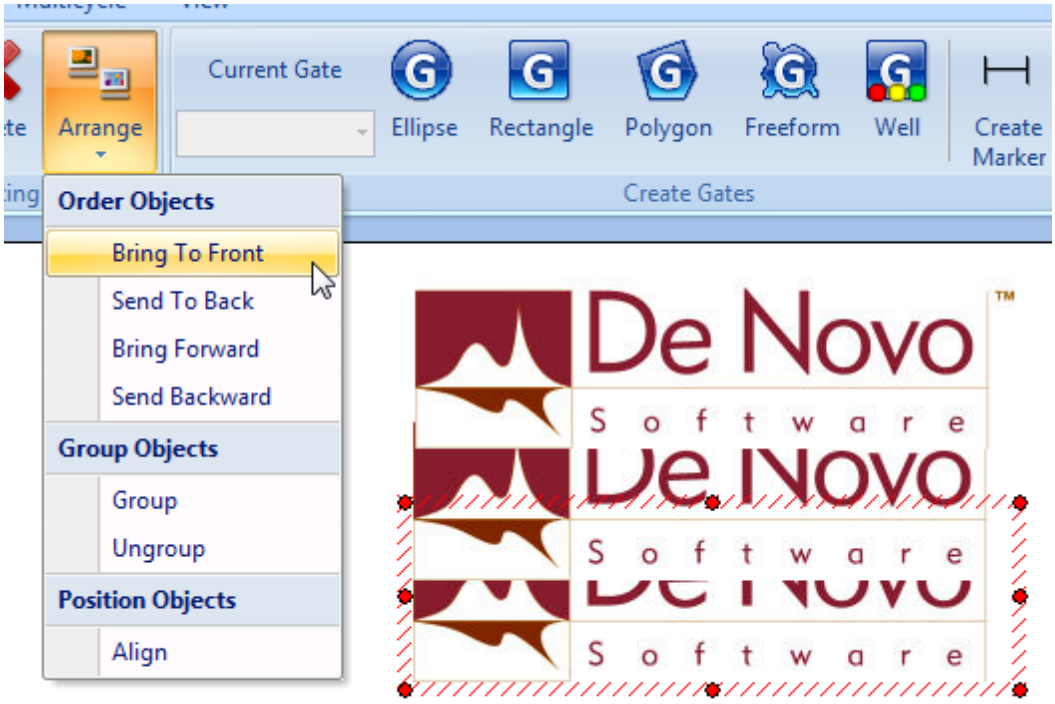
图T1.15 Aligning Height and Width (**高度和宽度对齐**)

36.1.13 *对象叠放次序*

FCS Express第4版允许用户把对象放置在其它对象的前方或后方。

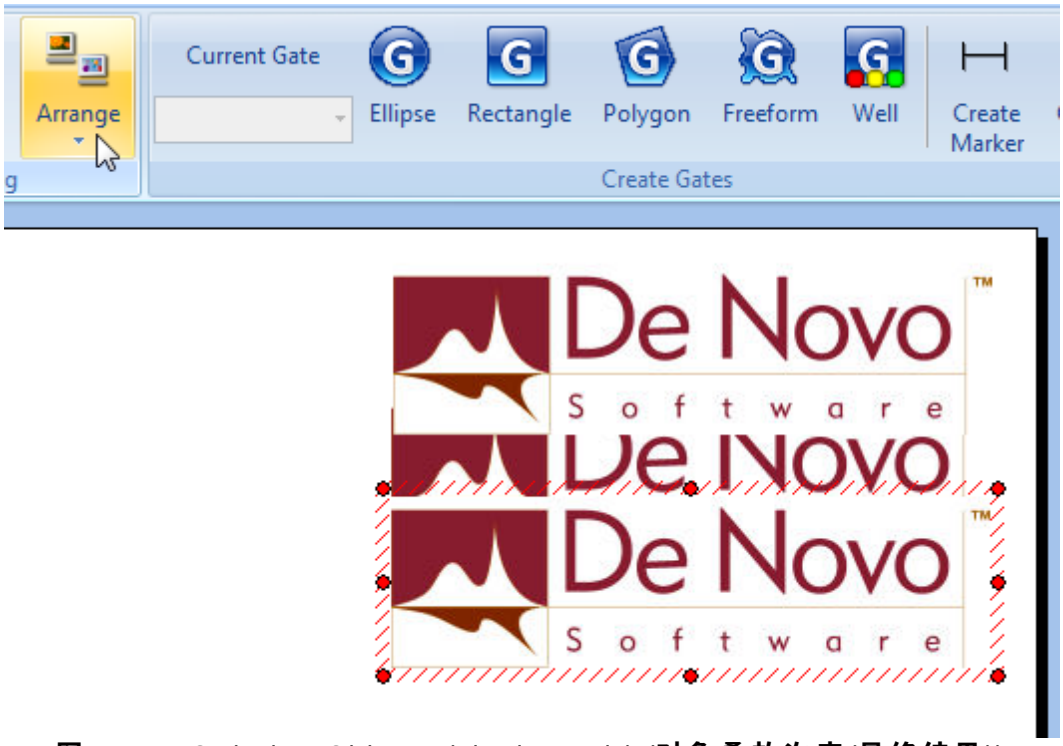
要把一个对象移到另一个对象的前方:

1. 请像前边介绍的那样512，选中要向前移动的对象。
2. 然后从 **Home(主页)→Editing(编辑)→Arrange(安排)**命令的下拉菜单中选择 **Bring to Front(移到最前)**(图T1.16)。



图T1.16 Ordering Objects (Step 2) (**对象叠放次序**(**第**2**步**))

选中的对象会被移到最前边(图T1.17)。



图T1.17 Ordering Objects (Final Result) (**对象叠放次序**(**最终结果**))

36.2 插入绘图

在本节中，我们会:

- 学习如何在版面中插入绘图。

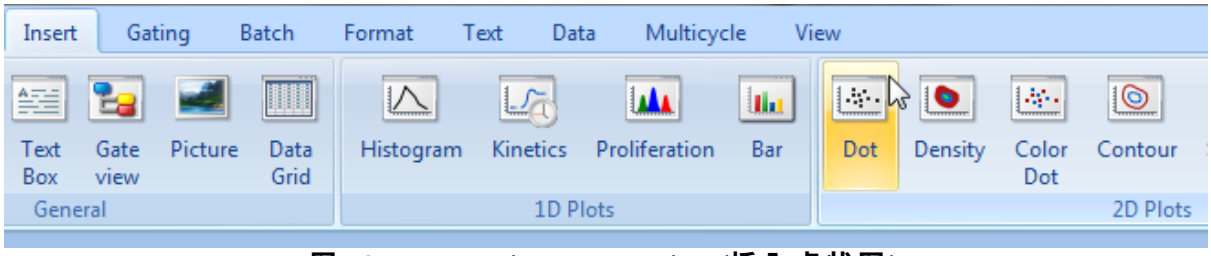
插入绘图最基本的方法是使用命令组**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)**、**→2D Plots (二维绘图)**或**→Other Plots(其它绘图)**中的命令。

用户在跟着本教程练习过程中可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库[510]里找到。这里我们会用到**GFPcontrol.001**和**GFPsample.002**两个文件。

36.2.1 *插入二维绘图*

要插入二维绘图:

1. 请选择**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Dot(点状图)**命令(图T2.1)。



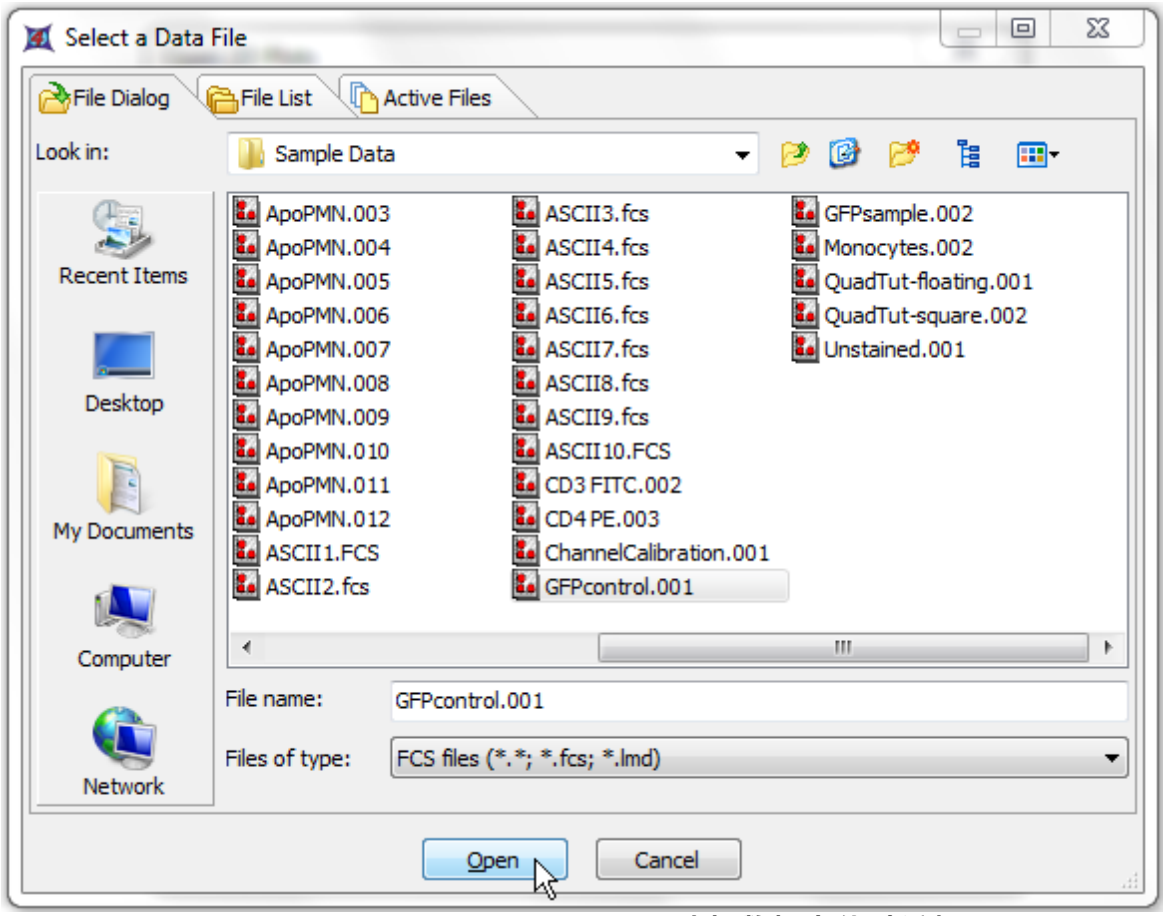
图T2.1 Inserting a Dot Plot (**插入点状图**)

2. 请把鼠标移动到版面上你希望绘图左上角出现的地方。

3. 在此处点击鼠标。

这时会出现**选择数据文件**对话框(图T2.2)。

注意到尽管对话框中的所有数据文件的后缀不一定是".fcs"，但它们都带有FCS文件图标。这是因为FCS Express知道很多FCS文件没有被保存为".fcs"格式，FCS Express会执行特别检查(并相应地设置了文件图标，让用户可以认出自己的FCS数据文件)。

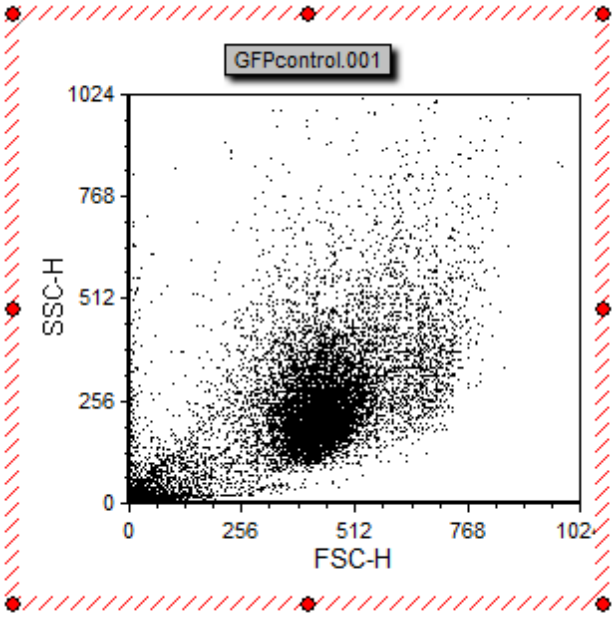


图T2.2 Select a Data File Dialog (**选择数据文件对话框**)

4. 请从FCS Express的**样本数据**目录下选择**GFPcontrol.001**文件(图T2.2)。

5. 请点击**Open(打开)**按钮。

新插入的二维点状图在版面上的大小为绘图的默认大小(图T2.3)。用户可以把光标移动到所选绘图的红色的把手上来调整绘图大小。请参见"使用对象"教程来更多地了解如何调整对象大小512。

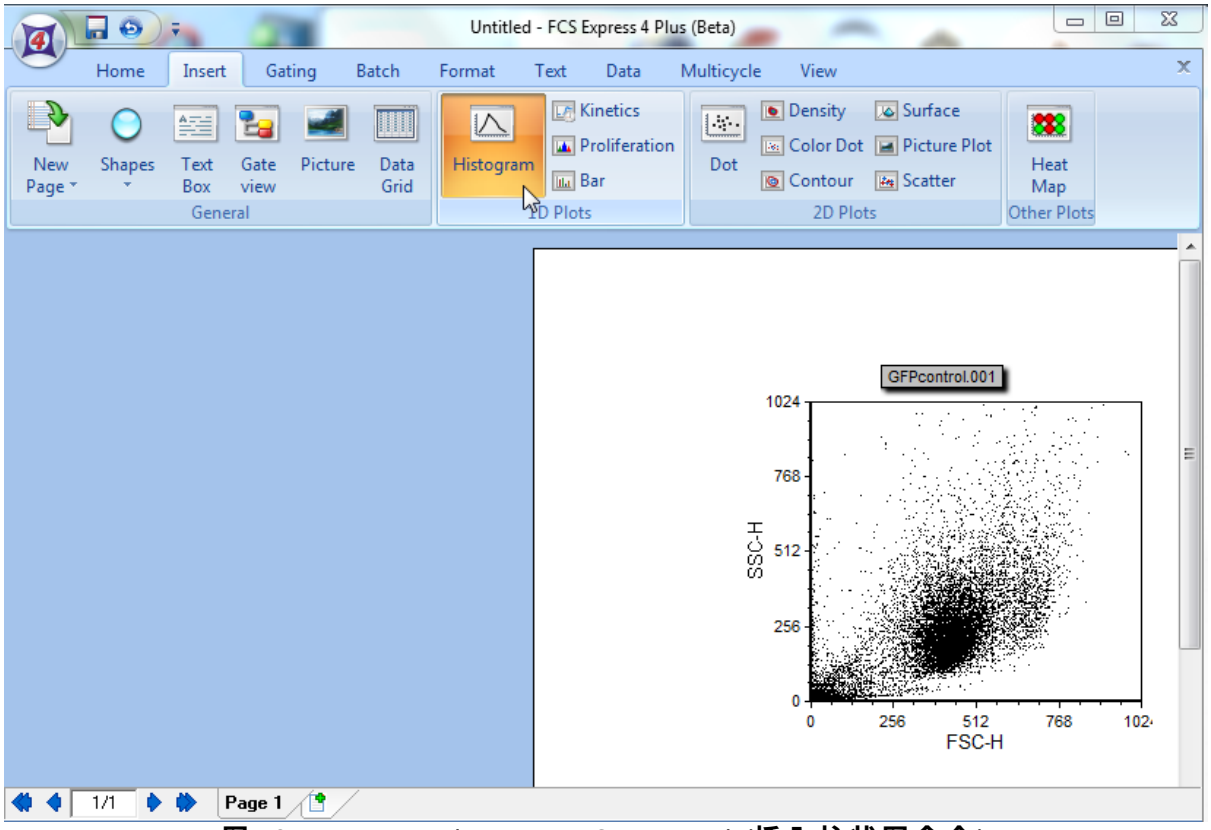


图T2.3 Inserting a 2D Plot (**插入二维绘图**)

36.2.2 插入柱状图

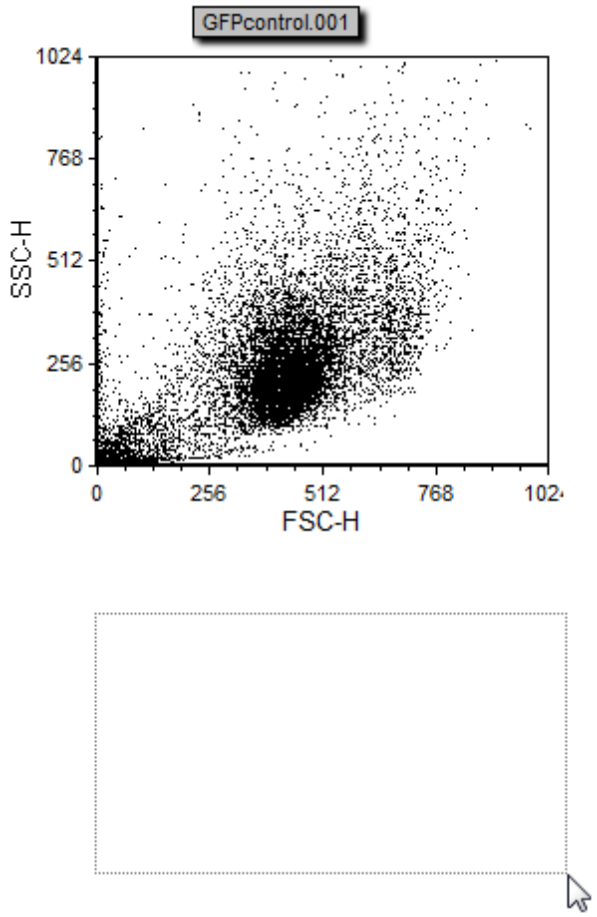
为演示如何插入自定义大小的一维绘图，我们将在前一节创建的版面中插入一个一维绘图。

1. 请选择**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Histogram(柱状图)**命令(图T2.4)。



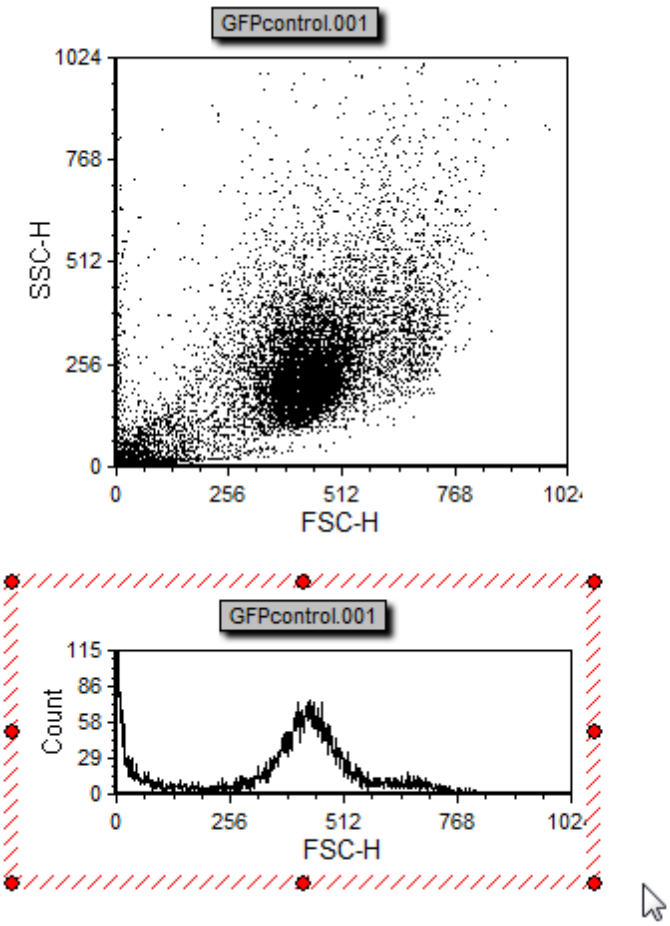
图T2.4 Insert Histogram Command (**插入柱状图命令**)

2. 请把鼠标移动到版面上你希望绘图左上角出现的地方。
3. 按下鼠标左键不放。
4. 移动光标，直到拖拽出的矩形大小是用户所希望的柱状图的大小(图T2.5)。



图T2.5 Insert Histogram (Step 4) (**插入柱状图**(**第**4**步**))

5. 放开鼠标键，柱状图(带有红色边框)会被插入到矩形边框里(图 T2.6)。



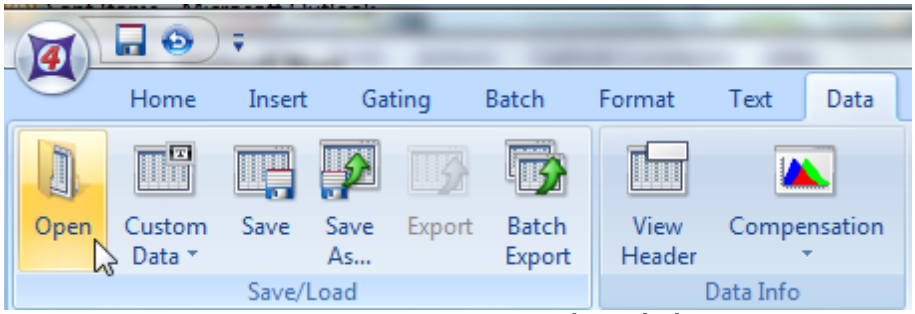
图T2.6 Insert Histogram (Step 5) (**插入柱状图**(**第**5**步**))

注意到插入柱状图时，系统没有提示选择数据文件。这是因为FCS Express在插入绘图时会采用最近使用的数据文件。只有当没有文件打开时，或用户在**Edit Preferences(编辑选项)**上选择了**When creating a new plot, always display the selection dialog (总是在创建新绘图时显示选择文件对话框)**(将在以后介绍533)，你才会被提示来选择一个数据文件。

36.2.3 *通过数据标签卡上的打开命令插入绘图*

要插入绘图:

1. 请选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Open(打开)**命令(图T2.7)。

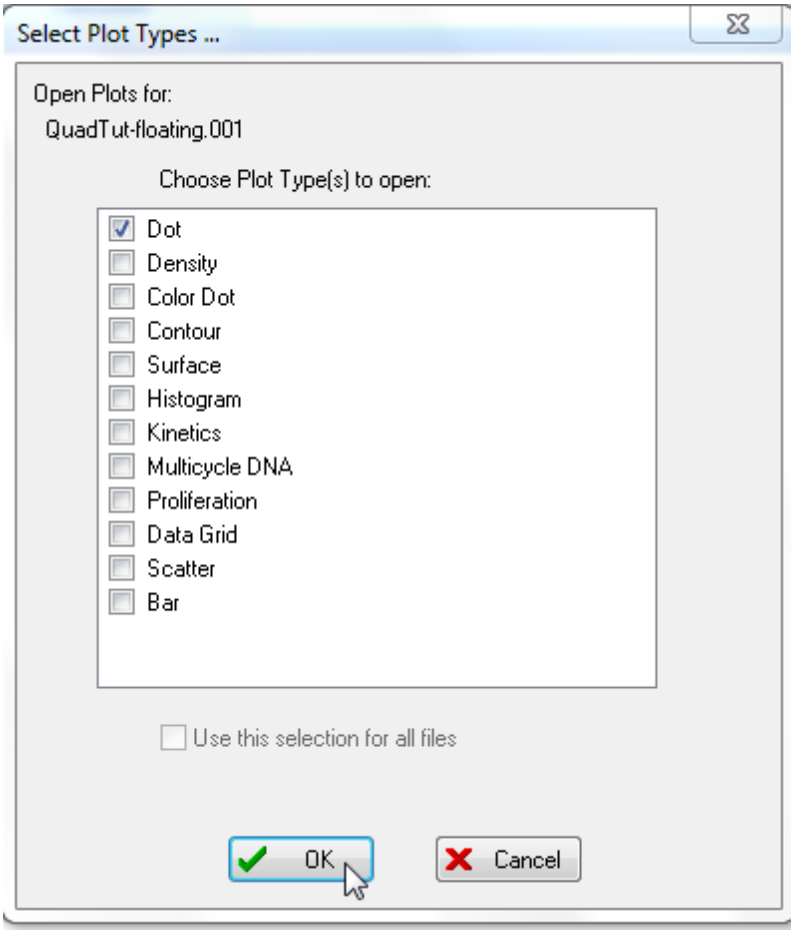


图T2.7 Open Command (**打开命令**)

这时**选择数据文件**对话框会打开，如前面的图T2.2 525所示。

2. 请从*FCS Express样本数据库*的路径中选择数据文件**GFPcontrol.001**。
3. 选择**Open(打开)**。

这时会出现**Select Plot Types...(选择绘图类型...)**对话框(图T2.8)。



图T2.8 Select Plot Types... Dialog (**选择绘图类型...对话框**)

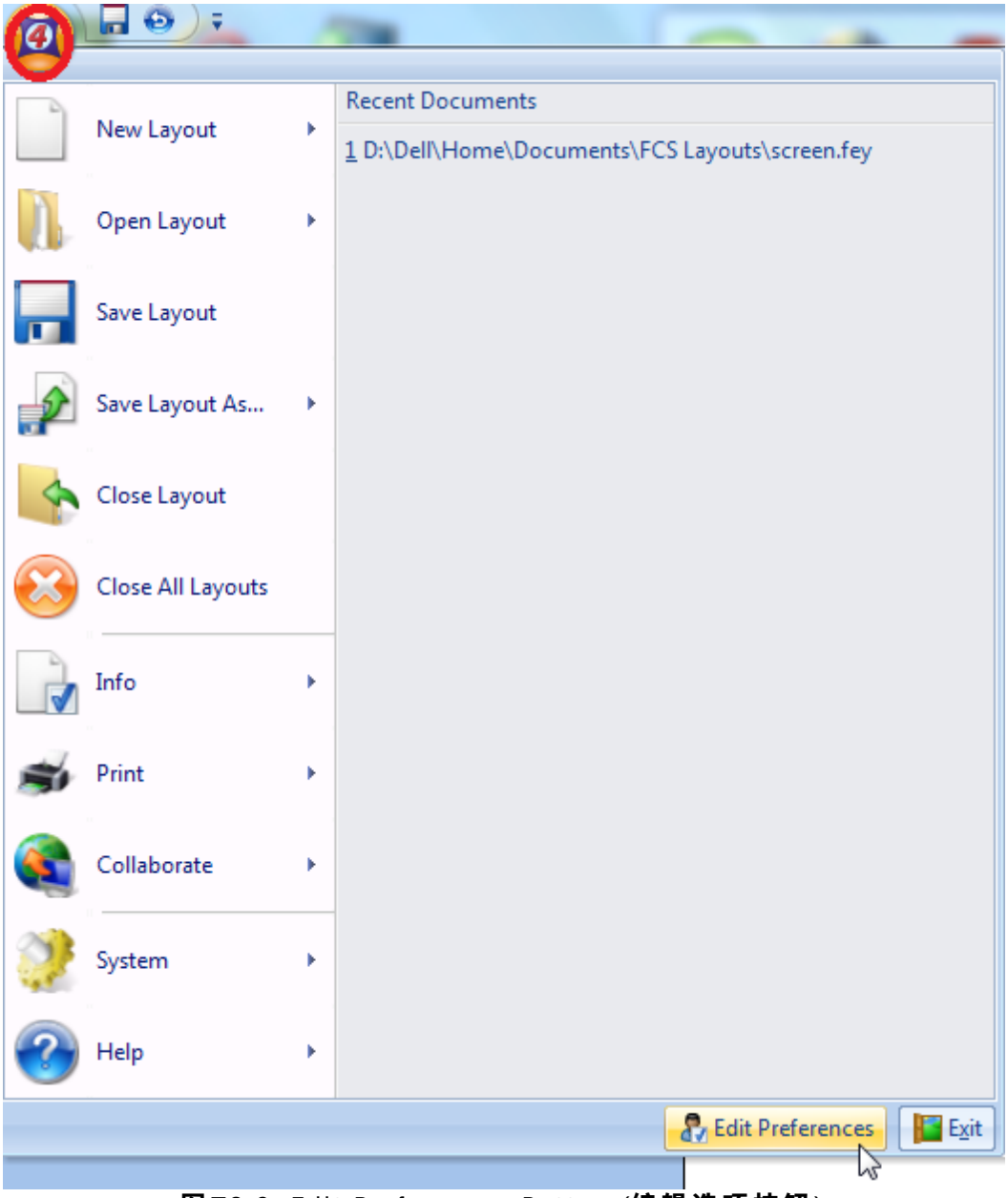
4. 请选择**Dot(点状图)**作为要打开的绘图类型。
5. 点击**OK**。

这时一个二维的点状图会出现在绘图中(带有红色边框，表明它处于选中状态)，如前面的图T2.3 525所示。

36.2.4 *总是显示文件选择对话框*

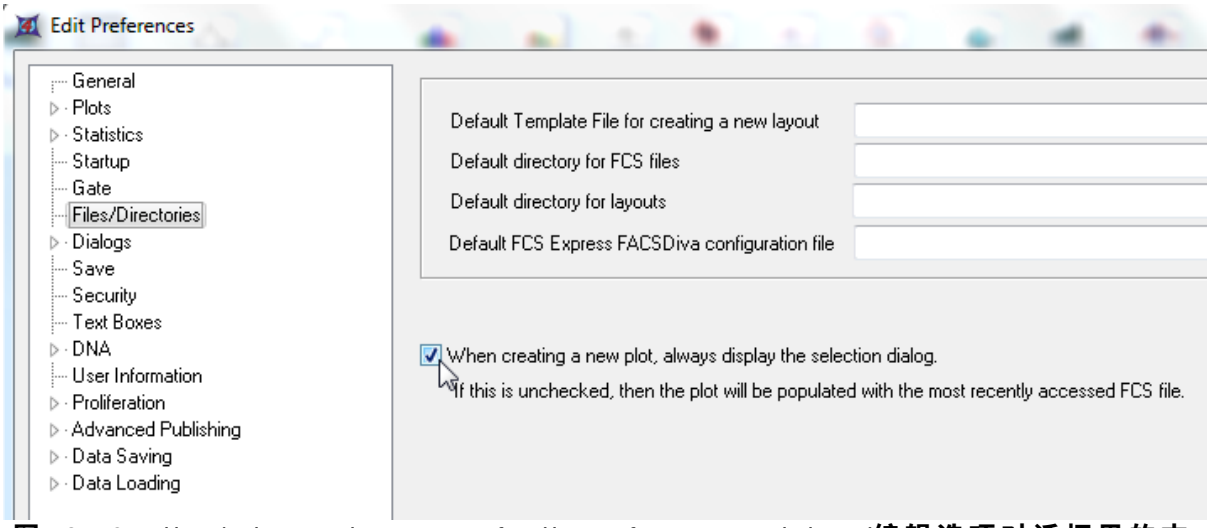
使用系统默认设置时，插入绘图操作会像前面介绍的那样。要在插入绘图时选择非默认文件，可在**Edit Preferences(编辑选项)**中设置**When creating a new plot, always display the selection dialog(总是在创建新绘图时显示文件选择对话框)**。

1. 请点击**Application Button(应用程序按钮)**(在图T2.9的左上角被红圈圈住的按钮)。
2. 然后点击**Edit Preferences(编辑选项)**(在图T2.9的右下角)。



图T2.9 Edit Preferences Button (**编辑选项按钮**)

这时会出现**Edit Preferences(编辑选项)**对话框(图T2.10)。



图T2.10 Files/Directories Page of Edit Preferences Dialog (**编辑选项对话框里的文件夹/路径页**)

3. 从左边的项目栏里选择**Files/ Directories(文件/ 路径)**类别。
4. 点选**When creating a new plot, always display the selection dialog (总是在创建新绘图时显示文件选择对话框)**复选框(图 T2.10)。
5. 点击**OK**键。

现在让我们来打开一个数据文件并插入一个二维绘图。

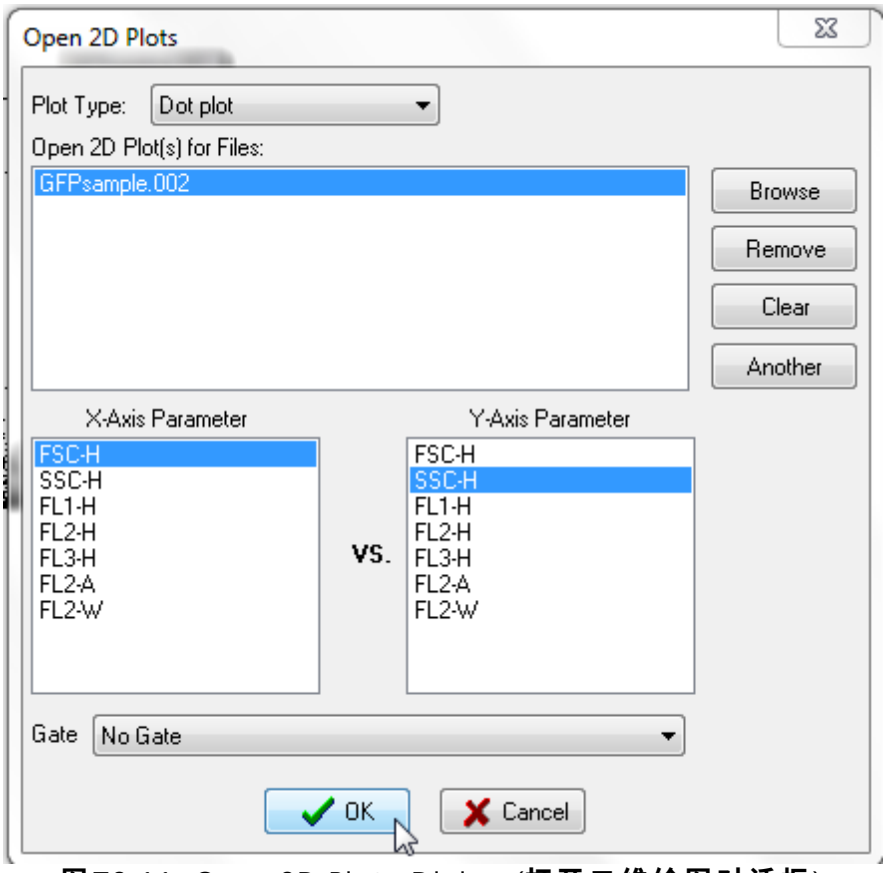
6. 请选择**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Dot(点状图)**命令。

这时会弹出**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，如图T2.2 525所示。

7. 请从**Select a Data File(选择数据文件)**对话框中选中**GFPsample.002**文件。
8. 请点击**Open(打开)**。

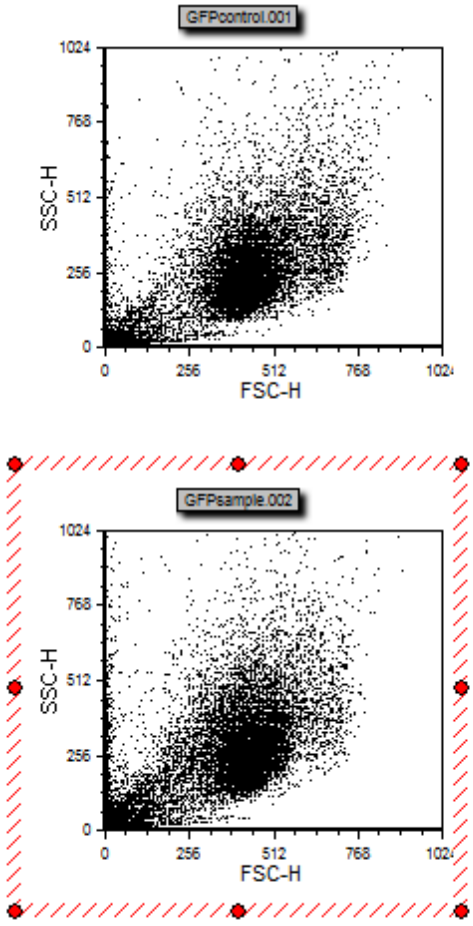
这时会弹出一个针对GFPsample.002的**Open 2D Plots(打开二维绘图)**对话框(图T2.11)。在此可为该二维绘图选择X和Y参数。

9. 请在**Open 2D Plots(打开二维绘图)**对话框上点击**OK**按钮，来选择默认参数。



图T2.11 Open 2D Plots Dialog (**打开二维绘图对话框**)

这时显示GFPsample.002的二维点状图会出现在版面中，如图T2.12所示。



图T2.12 Inserted 2D Plot (**插入二维绘图**)

36.2.5 *从资源管理器中插入绘图*

FCS Express提供了多种打开绘图和为绘图选择数据文件的方法。这些选项允许用户用自己喜欢的方式来从一个文件打开绘图。除了前面描述的方法外，用户也可以从资源管理器直接打开文件，然后在FCS Express中针对它们作图。

要使用资源管理器中的文件来打开一个新绘图:

1. 请打开资源管理器。
2. 然后在资源管理器中找到*FCS Express样本数据*目录。

3. 在资源管理器中选中**GFPSample.002**文件。
4. 按住鼠标左键不放，把**GFPSample.002**文件拖拽到FCS Express的版面中。

这时会弹出**Select Plot Types...(选择绘图类型...)**对话框，如图T2.8 531所示。

5. 在**Select Plot Types...(选择绘图类型...)**对话框上，请从**Choose Plot Type (s) to open(选择要打开的绘图类型)**窗口中选择**Dot(点状图)**。
6. 点击**OK**。

这时一个针对**GFPSample.002**、带有默认设置的二维点状绘图会出现在版面中。

用户也可从资源管理器中选择多个文件，把它们添加到版面中。如果同时添加多个绘图，**Select Plot Types…(选择绘图类型...)**对话框在插入每个绘图之前都会出现。

36.3 格式化绘图

所有绘图都共享一些相同的基本格式化选项，例如修改标题、轴、背景、图例以及三维显示。通过这些选项用户可以完全自定义绘图的外观。

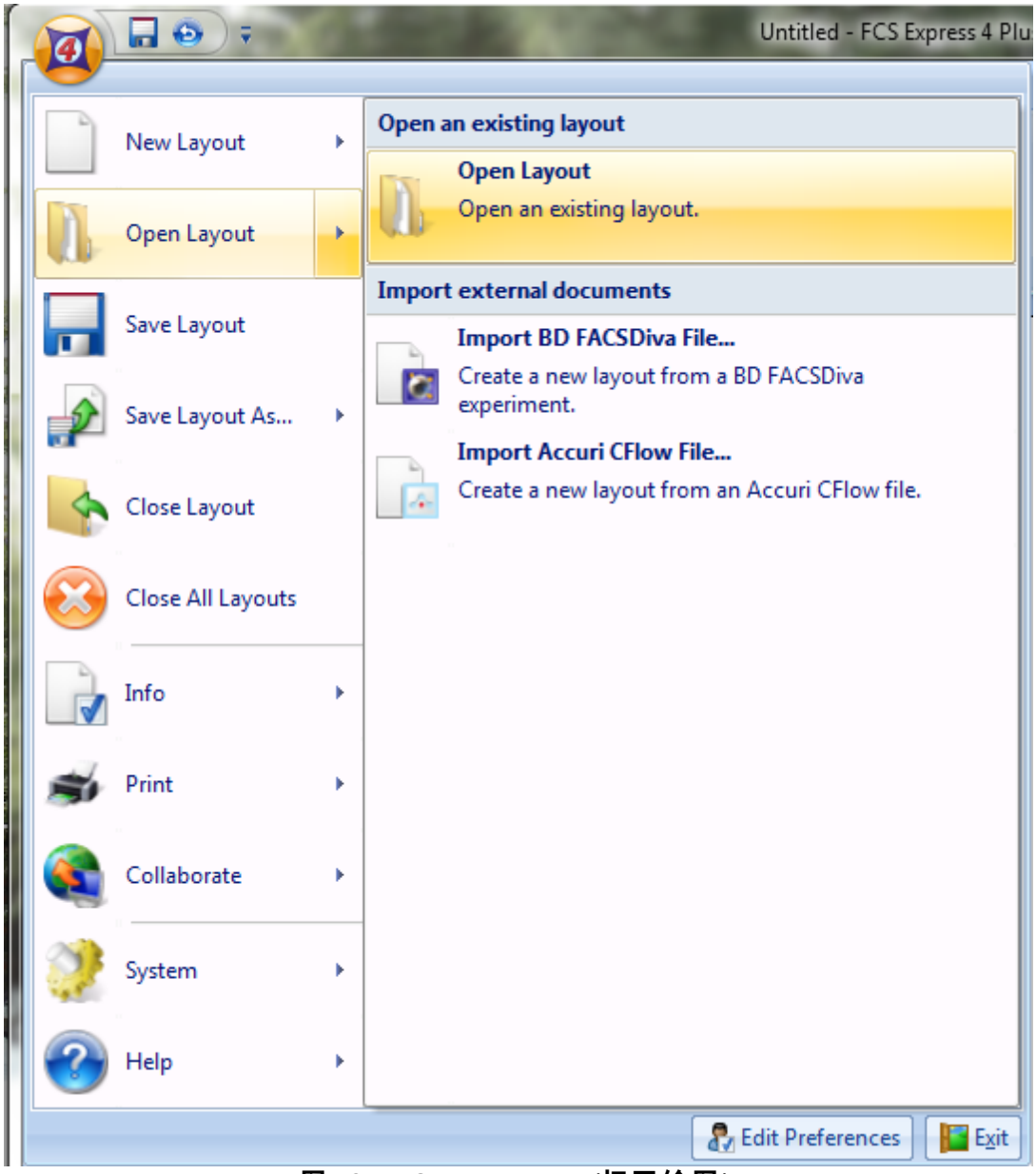
用户在跟着本教程练习过程中可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库 510里找到。本章中我们会使用**section4.fey**版面文件以及**ApoMono.001**和**ApoMono.002**两个数据文件。

36.3.1 *使用弹出菜单格式化绘图*

在本节中，我们会:

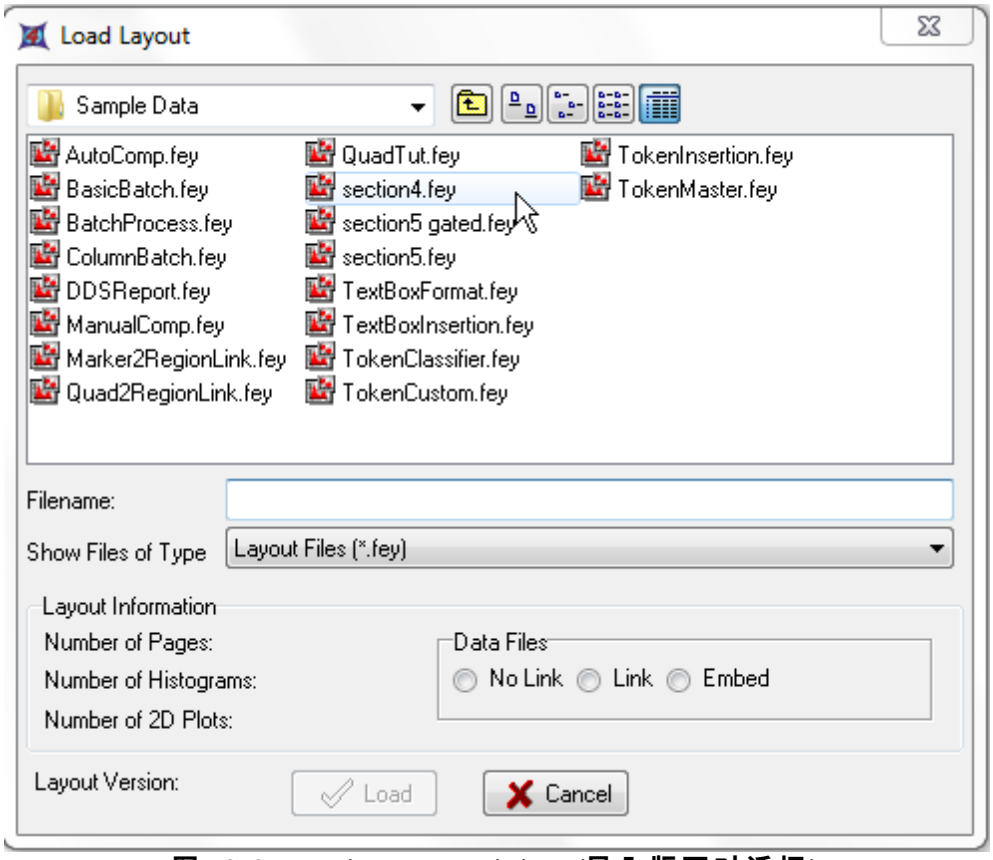
- 打开版面文件。
- 在绘图中插入数据。
- 使用弹出菜单格式化绘图。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)** (图T3.1)。



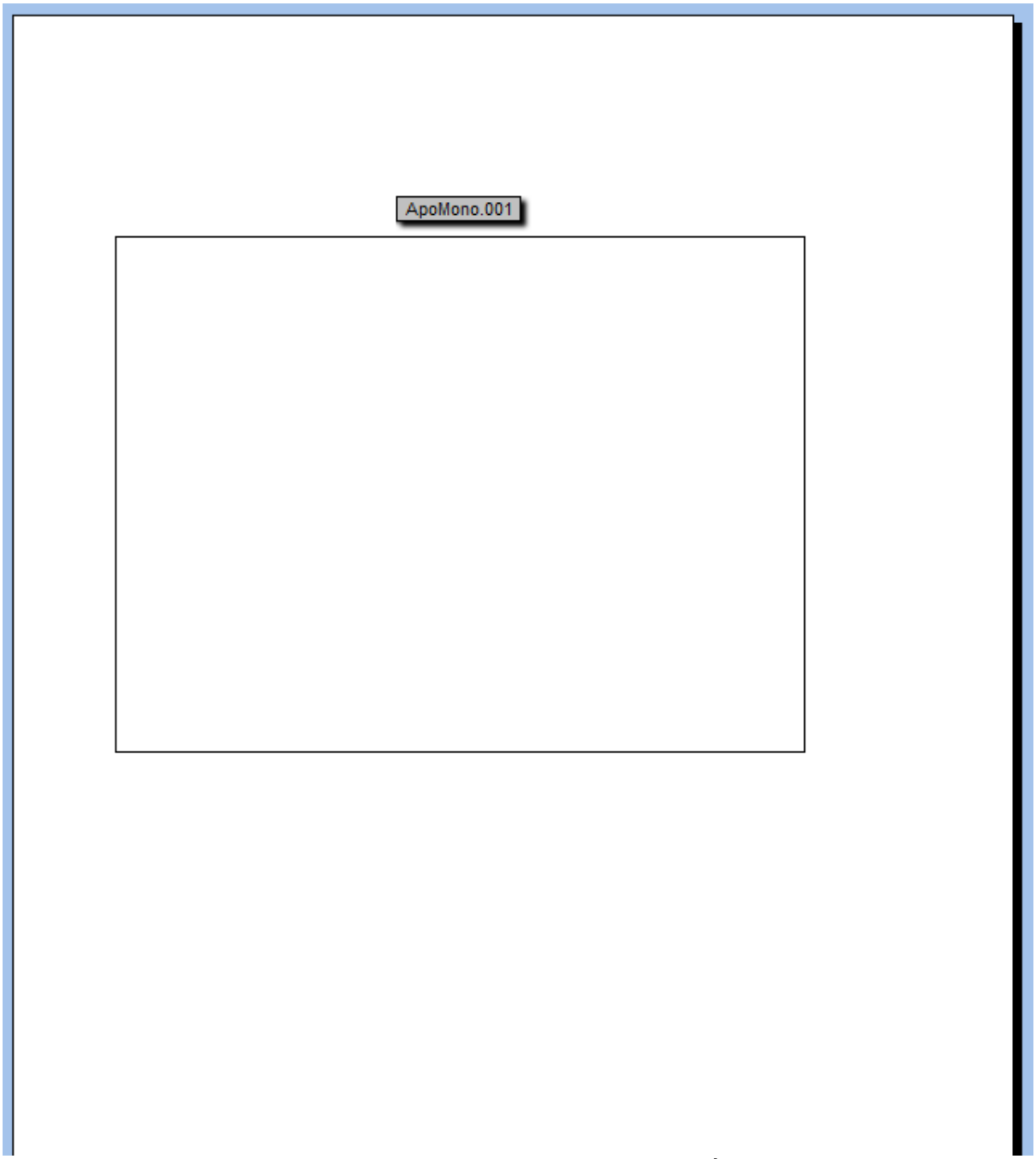
图T3.1 Open Layout (**打开绘图**)

2. 请从**Load Layout(导入版面)**对话框中选中位于教程样本数据库[510]中的**section4.fey**版面(图T3.2)。



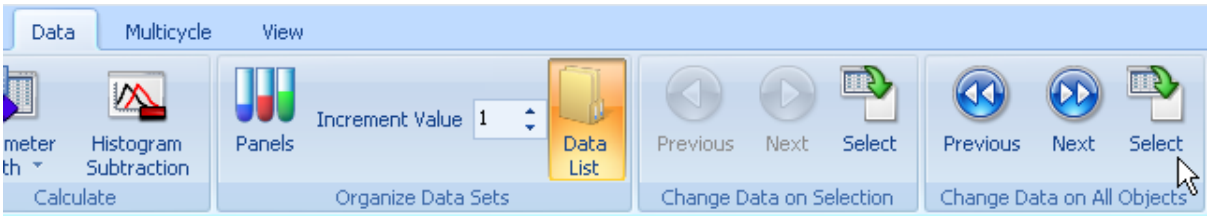
图T3.2 Load Layout Dialog (**导入版面对话框**)

该版面应该有一个空白的绘图(图T3.3)。



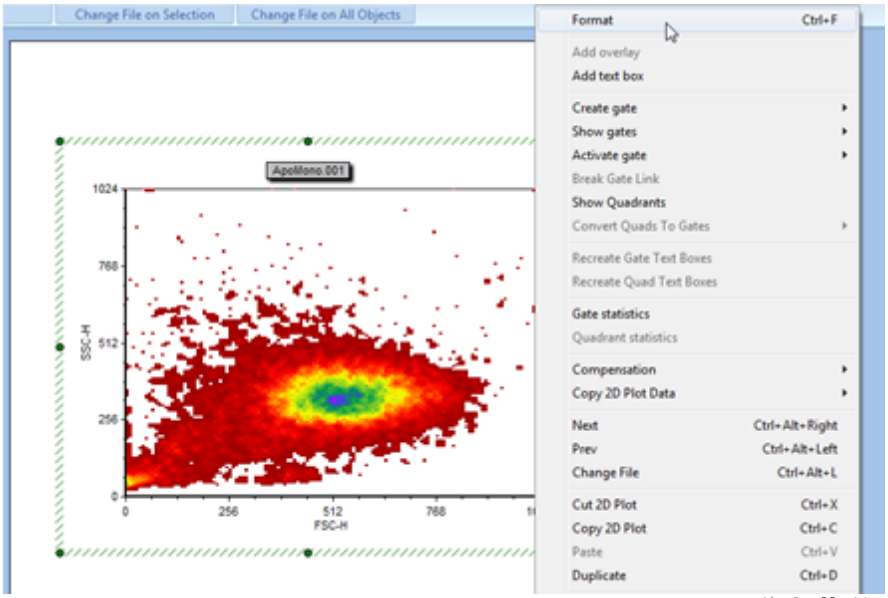
图T3.3 Section 4 Layout (Section 4**版面**)

3. 请使用**Data(数据)→Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)→Select(选择)**命令(如图T3.4中的光标所标示)，来在绘图中插入数据文件。



图T3.4 Select Command (Change Data on All Objects) (**选择命令(修改所有对象上的数据**))

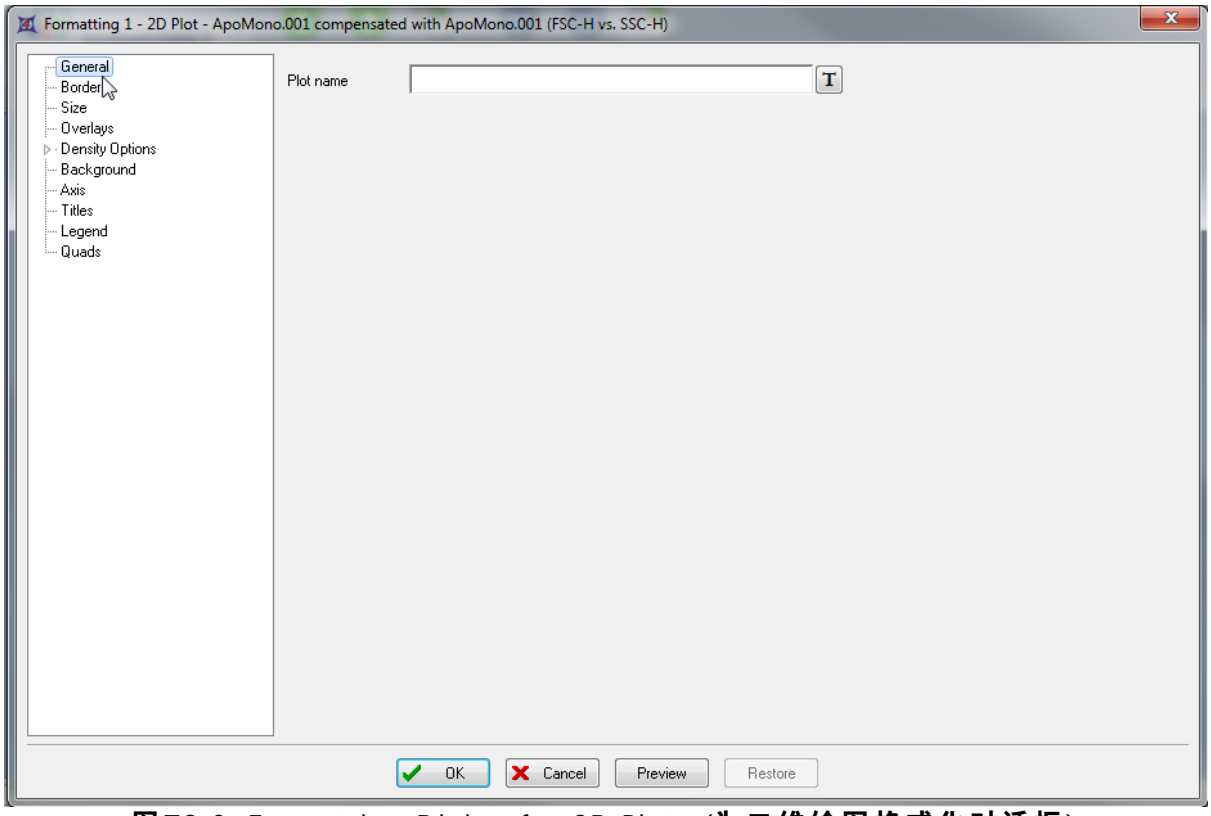
4. 请选中教程样本数据库[510]中的**ApoMono.001**FCS文件。
5. 右键点击绘图来调出弹出菜单(图T3.5)。
6. 请从弹出菜单中选择**Format(格式)**。



图T3.5 Selecting Format from the Pop-up Menu (**从弹出菜单选择格式**)

我们在此用这个二维绘图来演示如何使用弹出菜单，而实际上FCS Express中的所有对象都有一个相应的弹出菜单，并且对这些对象的格式化也非常相似。只要在绘图上右击，然后在弹出菜单上选择**Format(格式)**即可。

二维绘图的 **Formatting(格式化)**对话框见图T3.6。



图T3.6 Formatting Dialog for 2D Plots (**为二维绘图格式化对话框**)

FCS Express中的所有格式化对话框有一些相同的选项。左边的部分被称为*选项类别列表*。该列表列出了针对某一对象的所有选项类别。列表上的具体选项类别根据被格式化的对象的不同而有所变化。在列表上点击一个类别后，对话框的右边部分会显示针对该类别的具体选项。

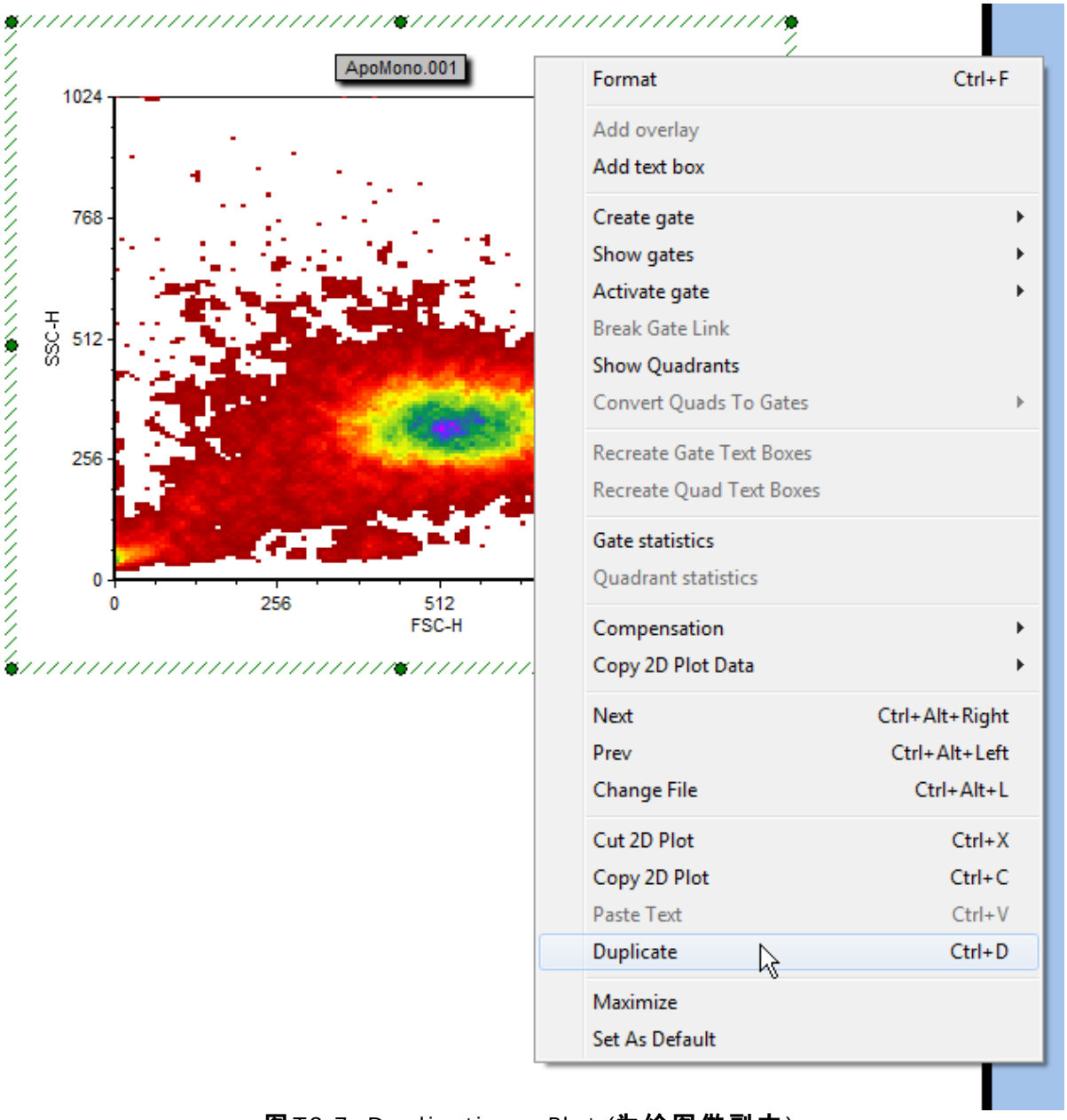
修改某一选项后，格式化对话框上的**OK**键会变成可用。用户也可以在不关闭格式化对话框的情况下**Preview(预览)**或**Restore(恢复)**对选项进行的修改。请别忘记，在点击**OK**来执行修改后，如果不喜欢所做的修改，用户总是可以在快捷工具条 32上选择**Undo(撤销)**命令来撤销所做的修改。

36.3.2 *格式化多个绘图*

在本节中，我们会:

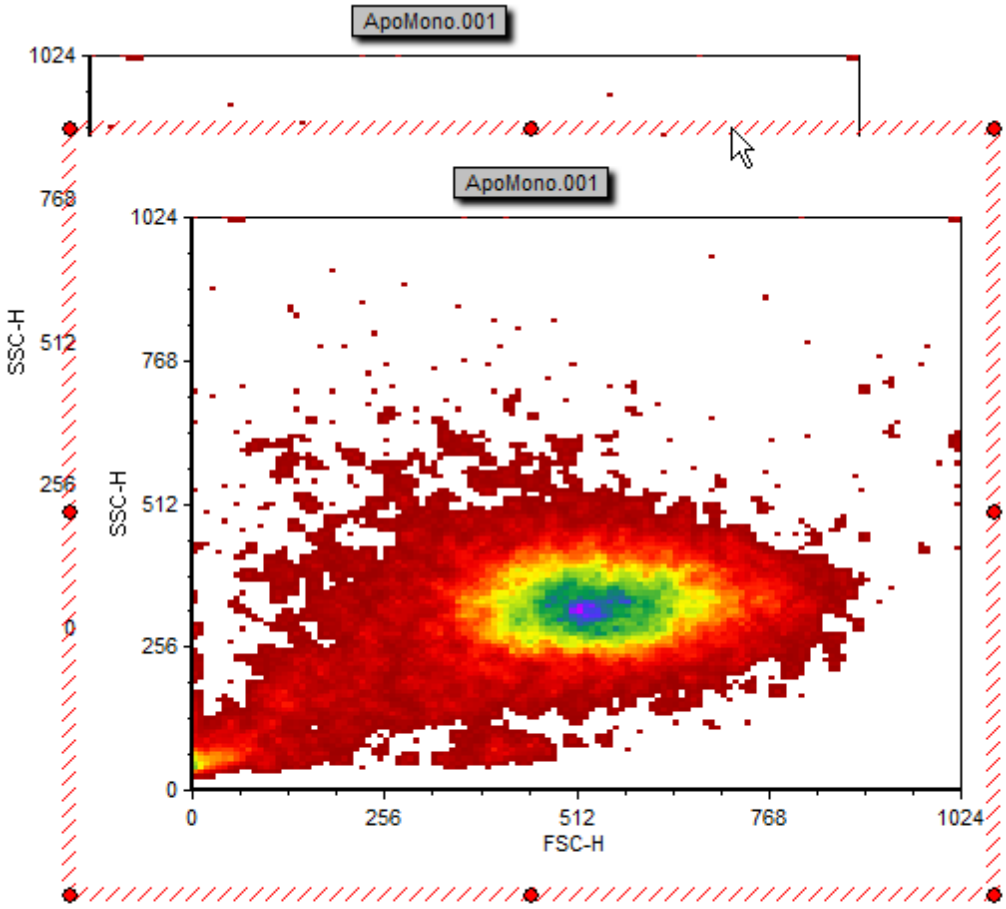
- 使用弹出菜单来为一个绘图做副本。
- 使用Ribbon条上的**Format(格式)**标签卡来同时格式化多个绘图。

1. 请右键点击绘图来调出弹出菜单。
2. 请从弹出菜单中选择**Duplicate(副本)**命令(图T3.7)。



图T3.7 Duplicating a Plot (**为绘图做副本**)

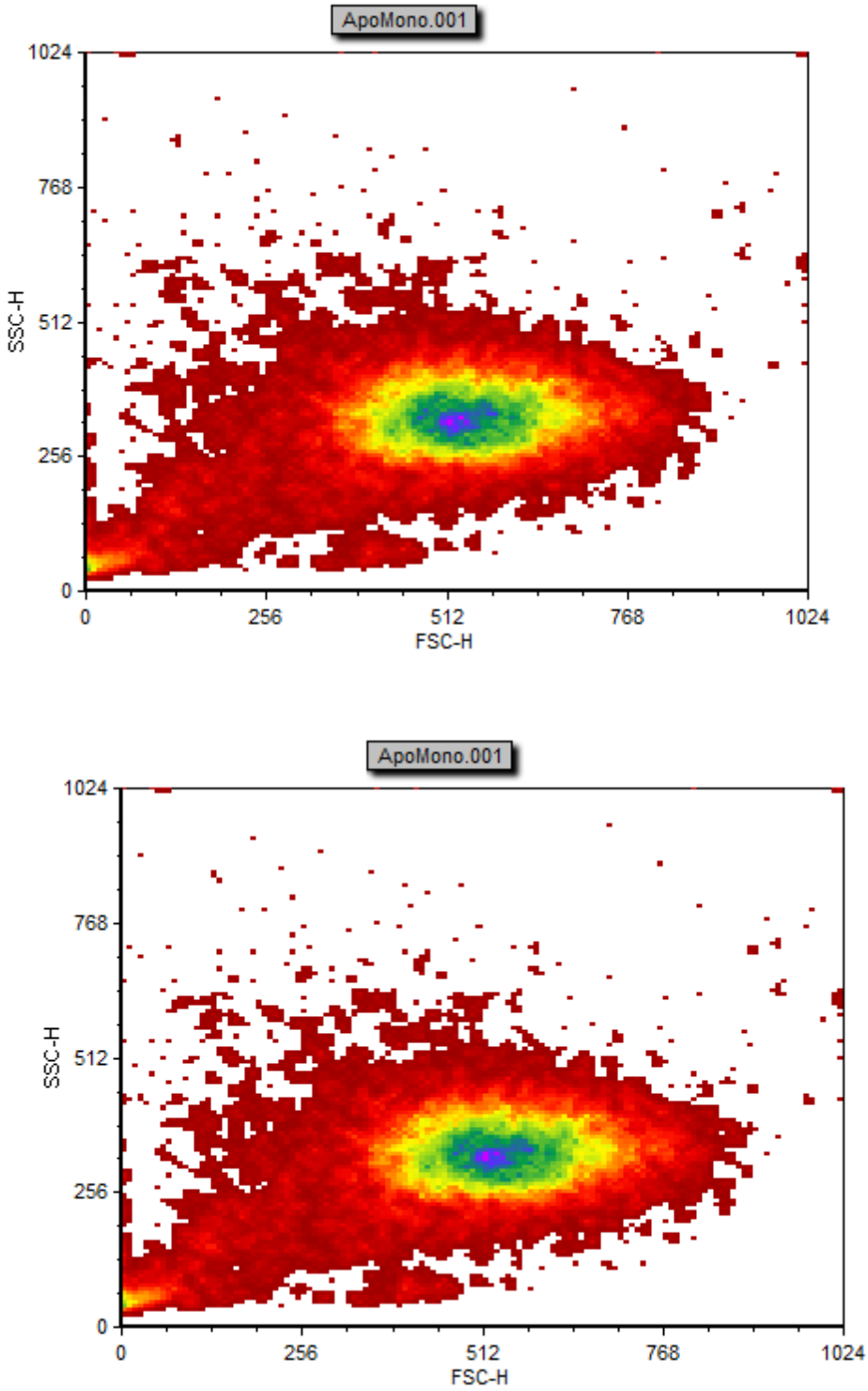
这时绘图的一个副本会出现在原始绘图的上方(图T3.8)。



图T3.8 Duplicated Plot (**为绘图做副本**)

3. 请把光标移动到副本绘图的顶端边界上，这时光标会变成一个四向的箭头。
4. 按住鼠标左键不放，把副本绘图向页面下方移动。
5. 当绘图移动到想要的位置时，松开鼠标。

这时页面上应该有两个完全相同的绘图，如图T3.9所示。

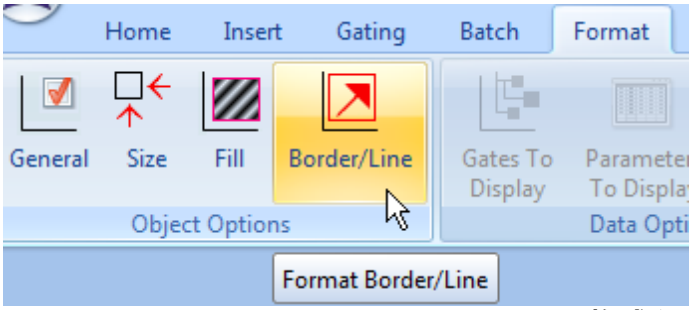


图T3.9 Duplicated Plots on a Layout Page (**在版面页上的副本绘图**)

6. 请选择页面上的两个绘图(参见关于选中多个对象515的教程)。

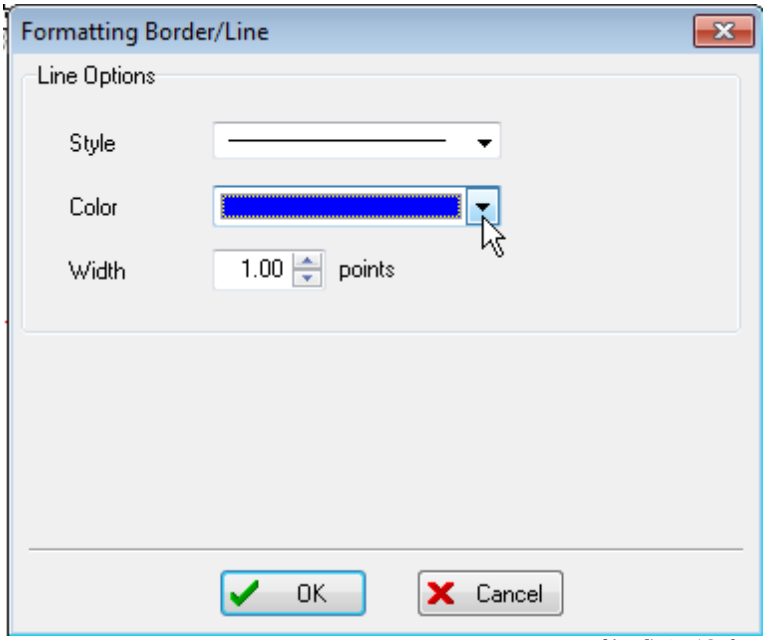
7. 请选择**Format(格式)→Object Options(对象选项)→Border/ Line(边框/ 线型)**(图T3.10)。

我们将同时格式化两个绘图的边框或线型。



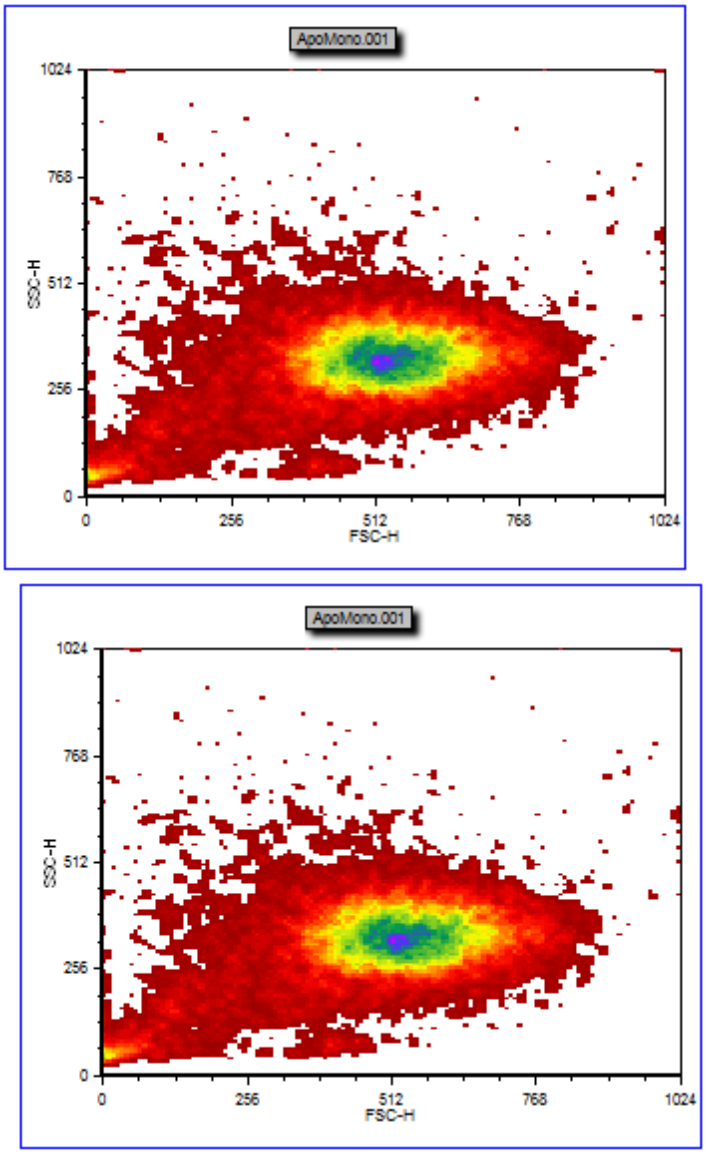
图T3.10 Format Border/Line Command (**格式化边框/线型命令**)

8. 请从**Formatting Border/ Line(格式化边框/ 线型)**对话框中选择线型。
9. 请在**Style(样式)**中选择实线。
10. 请选择蓝色作为线条的颜色(图T3.11)。
11. 请点击OK键。



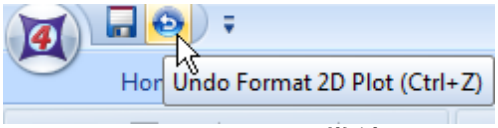
图T3.11 Formatting Border/Line Dialog (**格式化边框/线型对话框**)

两个绘图现在都有蓝色的边框，如图T3.12所示。



图T3.12 Plots with a Blue Border (**有蓝色边框的绘图**)

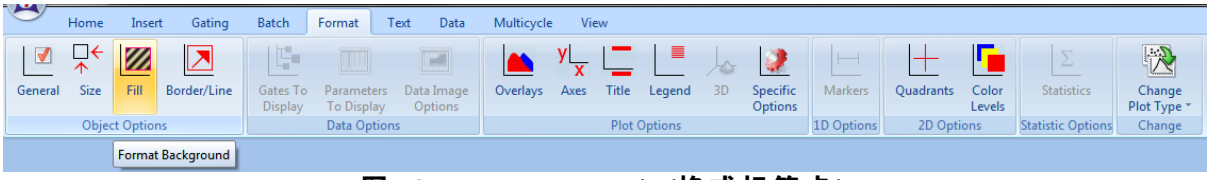
12. 请从快捷工具条[32]上选择**Undo(撤销)**命令来撤销对绘图所做的格式修改(图T3.13)。



图T3.13 Undo (撤销)

两个绘图现在恢复到了它们以前没有边框的样式。

Format(格式)标签卡上有很多可以用来格式化对象的选项(参见图T3.14)。把鼠标移到**Format(格式)**标签卡上的某一命令的上方，系统会显示一个对该命令的简短介绍，例如图T3.14中对**Fill(填充)**命令的简短介绍。



图T3.14 Format Tab (格式标签卡)

36.3.3 格式化绘图标题

在本节中，我们会:

- 对如何格式化绘图标题做一个概述。
- 修改标题文本。
- 修改标题字体。
- 修改阴影的宽带。
- 修改标题的对齐方式。
- 修改脚标题的属性。
- 插入关键字。

要修改绘图标题(下面的数字编号针对图T3.15):

1. 请右键点击上方的绘图来打开弹出菜单。
2. 请从弹出菜单中选择**Format(格式)**(图T3.5 538)。

3. 从**Plot Formatting(绘图格式化)**对话框中点击**Titles(标题)**类别(图T3.6 538)。这时会出现图35.44中显示的格式化标题类别选项。

4. 请从Header/ Footer(头标题/ 脚标题)列表框中选择**Header(头标题)** ❶。

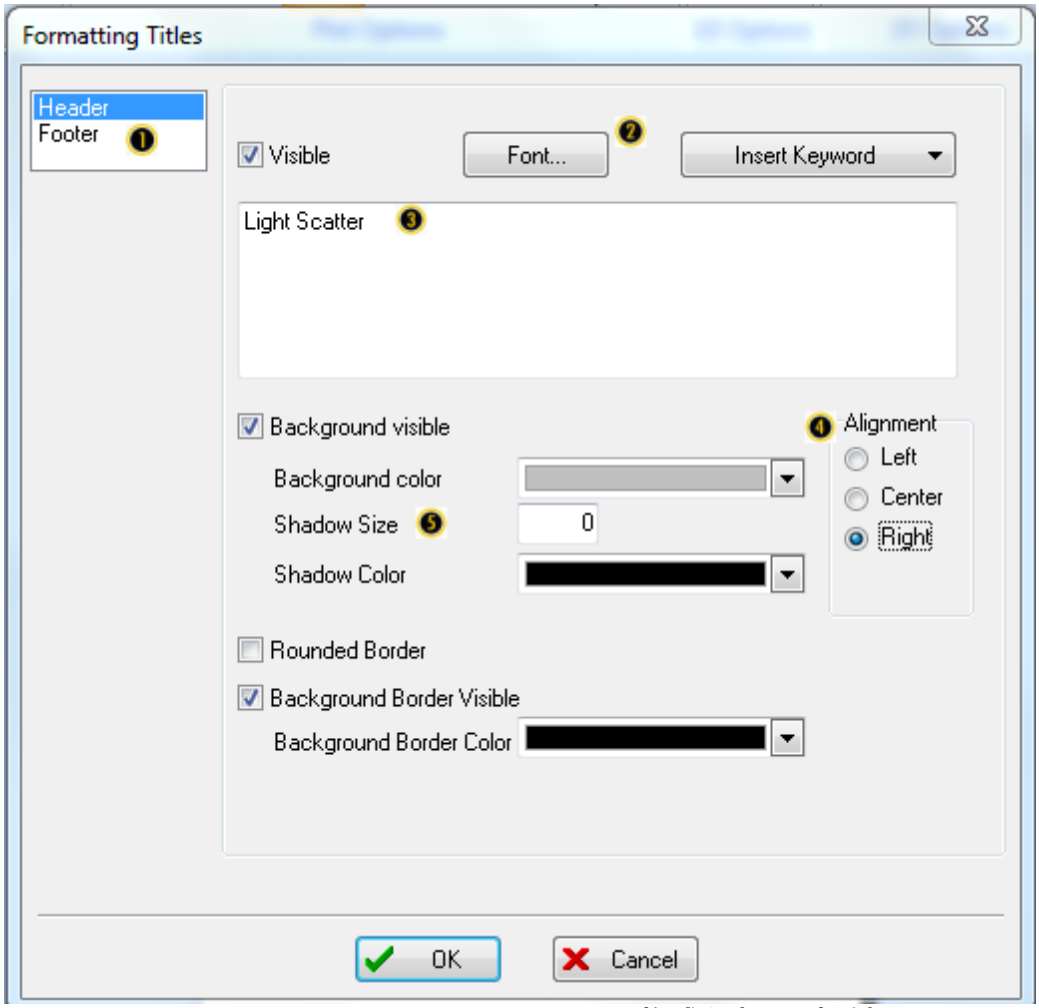
5. 请点击**Font(字体)**按钮 ❷，然后增加字号大小到**12**pt。

6. 改变字号之后，请点击**Font(字体)**对话框上的**OK**。

7. 请用文本"Light Scatter" ❸来替代现有标题。这是真正将显示为绘图标题的文本。

8. 请从**Alignment(对齐)**列表里选择**Right(右对齐)**，来把标题设置为右对齐 ❹。

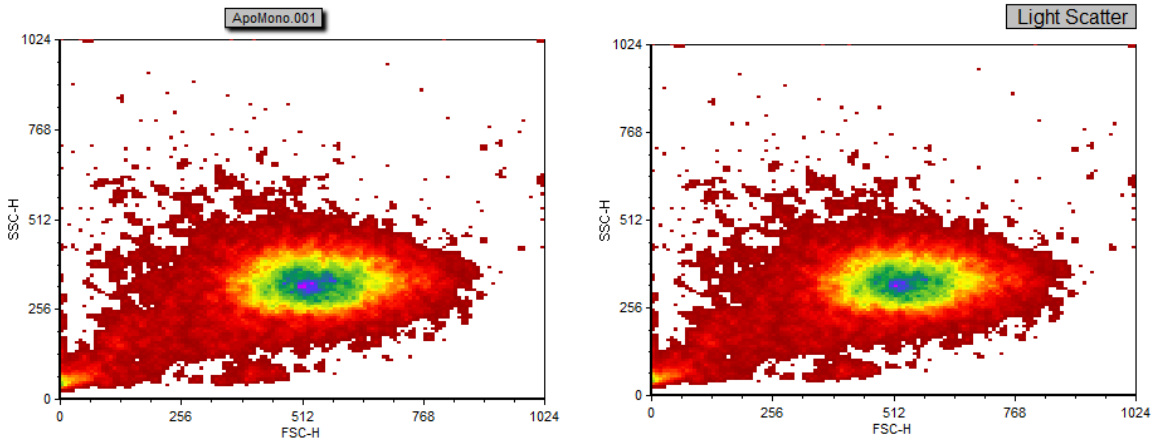
9. 把**Shadow Size(阴影尺寸)**修改为**0**，来移除头标题边框的阴影 ❺。



图T3.15 Formatting Titles Dialog (**格式化标题对话框**)

10. 请点击**OK**键来应用这些修改。

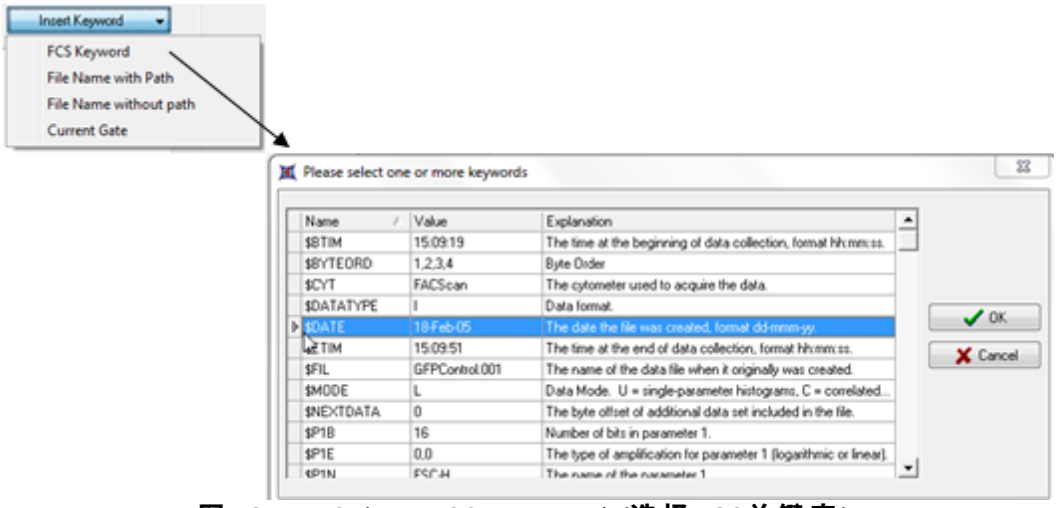
这时绘图应该看起来如图T3.16B所示。



图T3.16 Changing the Header Properties (**修改头标题属性**)

现在，让我们来修改脚标题属性(数字编号请参见图T3.18)：

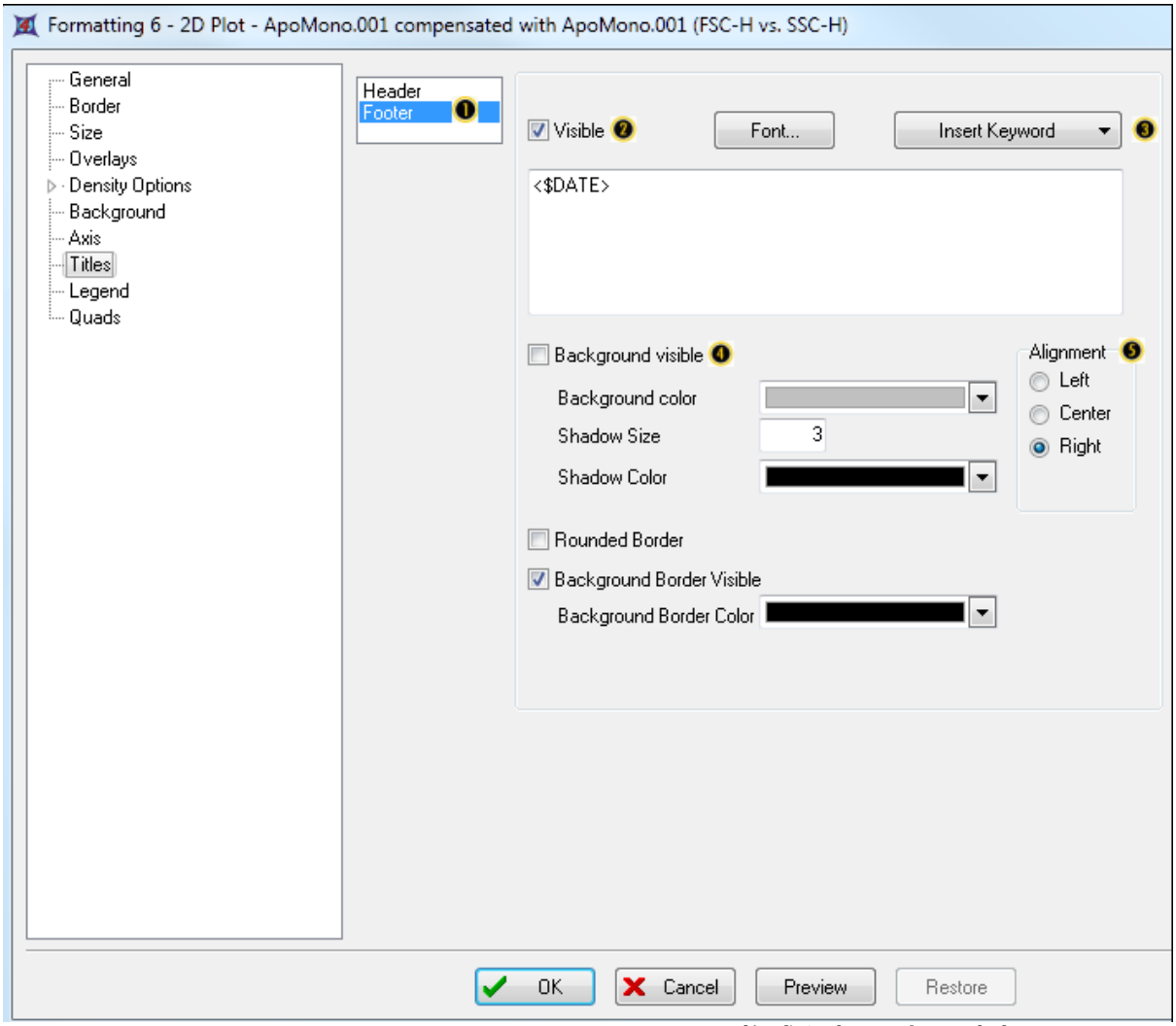
1. 在绘图上右键点击，然后从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
2. 请点击**Titles(标题)**选项类别。
3. 从Header/ Footer(头标题/ 脚标题)列表框中选择**Footer(脚标题)**❶。
4. 请勾选**Visible(可视)**复选框❷，以使脚标题可视。
5. 请从标题文本中删除**< $FIL>** 关键字。
6. 请点击**Insert Keyword(插入关键字)**按钮❸，然后从下拉菜单中选择**FCS Keyword(FCS关键字)**。这会调出关键字对话框(图T3.17)。该对话框允许用户插入FCS文件头中的任何关键字，来作为绘图的脚标题。当关键字的值改变时(比如当用户修改了数据文件后)，绘图中的值会自动跟着更新。



图T3.17 Select FCS Keyword (**选择**FCS**关键字**)

7. 请选择**$Date**关键字。该关键字会插入数据采集日期。
8. 点击**OK**键。
9. 请取消对**Background visible(背景可见)**复选框❹的勾选。
10. 请从**Alignment**列表框中选择**Right(右对齐)**，来把脚标题进行右对齐❺。

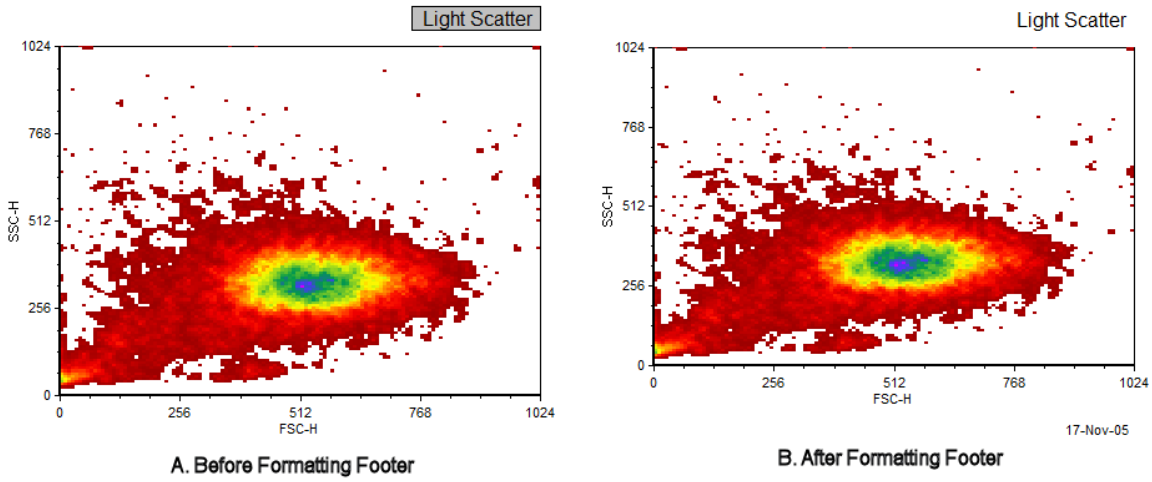
这时屏幕应看起来如图T3.18所示。



图T3.18 Formatting Titles Category (Footer) (**格式化标题选项(脚标题)**)

11. 点击**OK**来应用这些修改。

绘图应该看起来如图T3.19B所示。



图T3.19 Changing the Footer Properties (**修改脚标题属性**)

36.3.4 *格式化绘图坐标轴*

FCS Express有很多允许用户来自定义坐标轴外观的格式化选项。用户可以完全控制坐标轴的文本、字体、颜色以及很多其它外观属性。

我们会继续通过前面使用过的版面，来演示如何修改坐标轴属性。

在本节中，我们会:

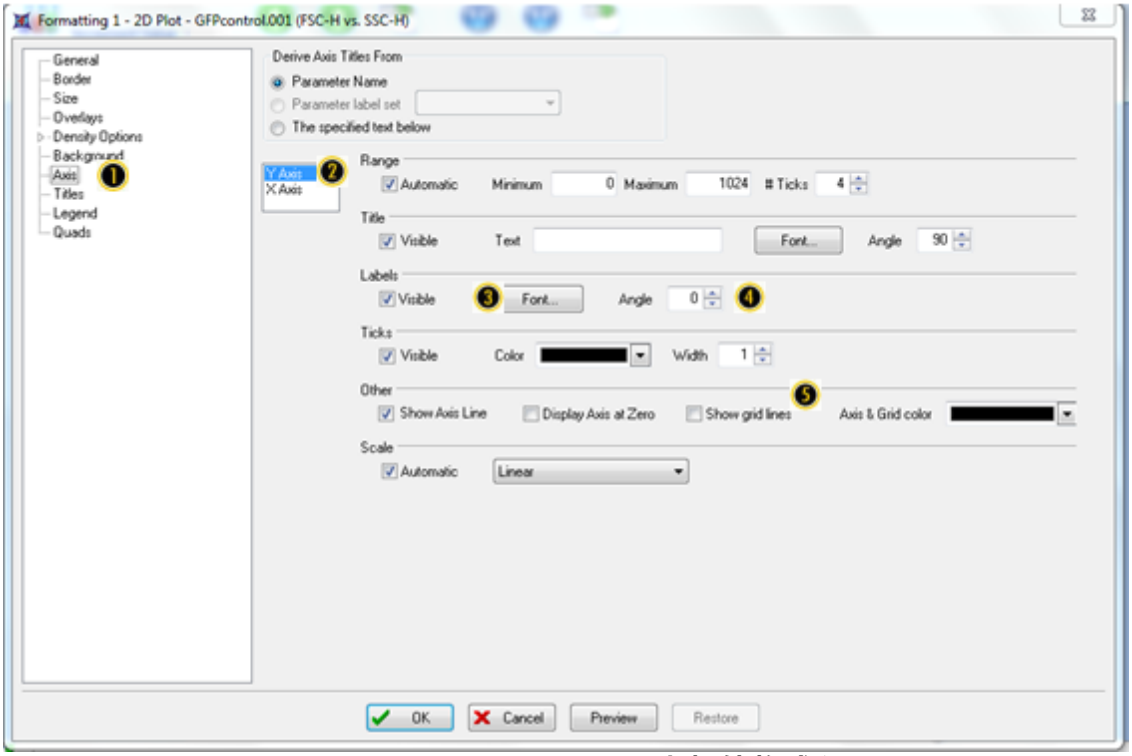
- 对如何格式化坐标轴做一个概述。
- 修改坐标轴字体属性。
- 在绘图上添加网格线。
- 修改坐标轴标签的倾斜角度。

要格式化坐标轴(数字编号针对图T3.20):

1. 请在绘图上右键点击，然后从弹出菜单选择**Format(格式)**。
2. 请点击**Axis(坐标轴)**选项类别❶。
3. 请点击**Y Axis(Y轴)** ❷来设定Y轴的属性。
4. 请点击**Font(字体)**按钮❸，然后把字体修改为**Bold(粗体)**。

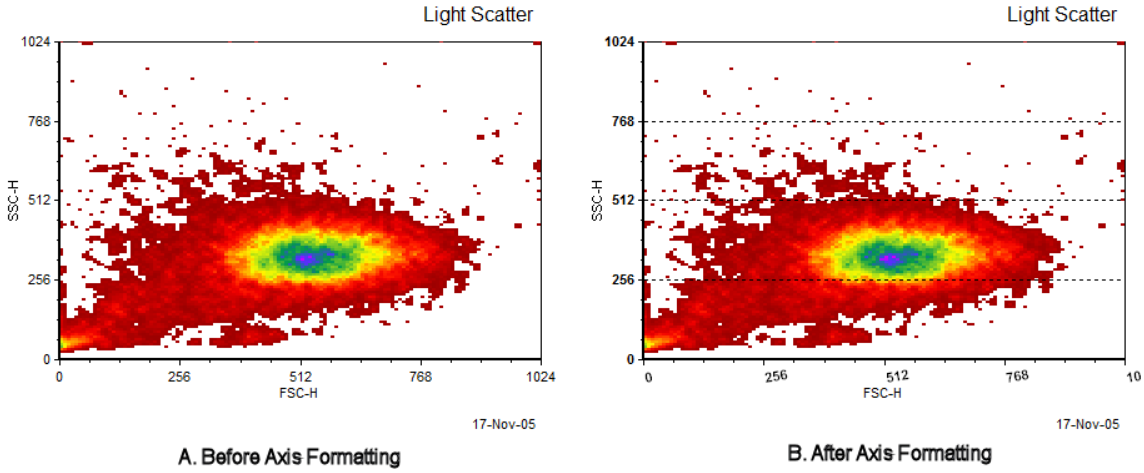
5. 请在**Font(字体)**对话框上点击**OK**，来接受对字体的更改。
6. 请点击**Show grid lines(显示网格线)**复选框❺来使网格线可视。
7. 请点击**X Axis(X轴)**❷来设置X轴的属性。
8. 请点击**Font(字体)**按钮❸，然后将字号修改为**Bold(粗体)**。
9. 请点击**Font(字体)**对话框上的**OK**键来接受对字体的修改。
10. 请把**Angle(倾斜角度)** ❹修改为10。

点击**OK**来接受这些修改。



图T3.20 Axis Formatting (**坐标轴格式化**)

绘图的坐标轴现在被从图T3.21A中的样子修改到了图T3.21B中的样子。



图T3.21 Formatting Axis Example (**格式化坐标轴实例**)

36.3.5 *格式化绘图背景*

FCS Express在格式化绘图背景方面也提供了很大的灵活性。FCS Express中几乎所有对象都具有我们下面将描述的这些背景选项。所有对象的背景都可以是纯色、渐变色或图像。很多对象也可被设置为透明。绘图背景选项很特别，因为用户也可以来调整绘图边缘的距离。

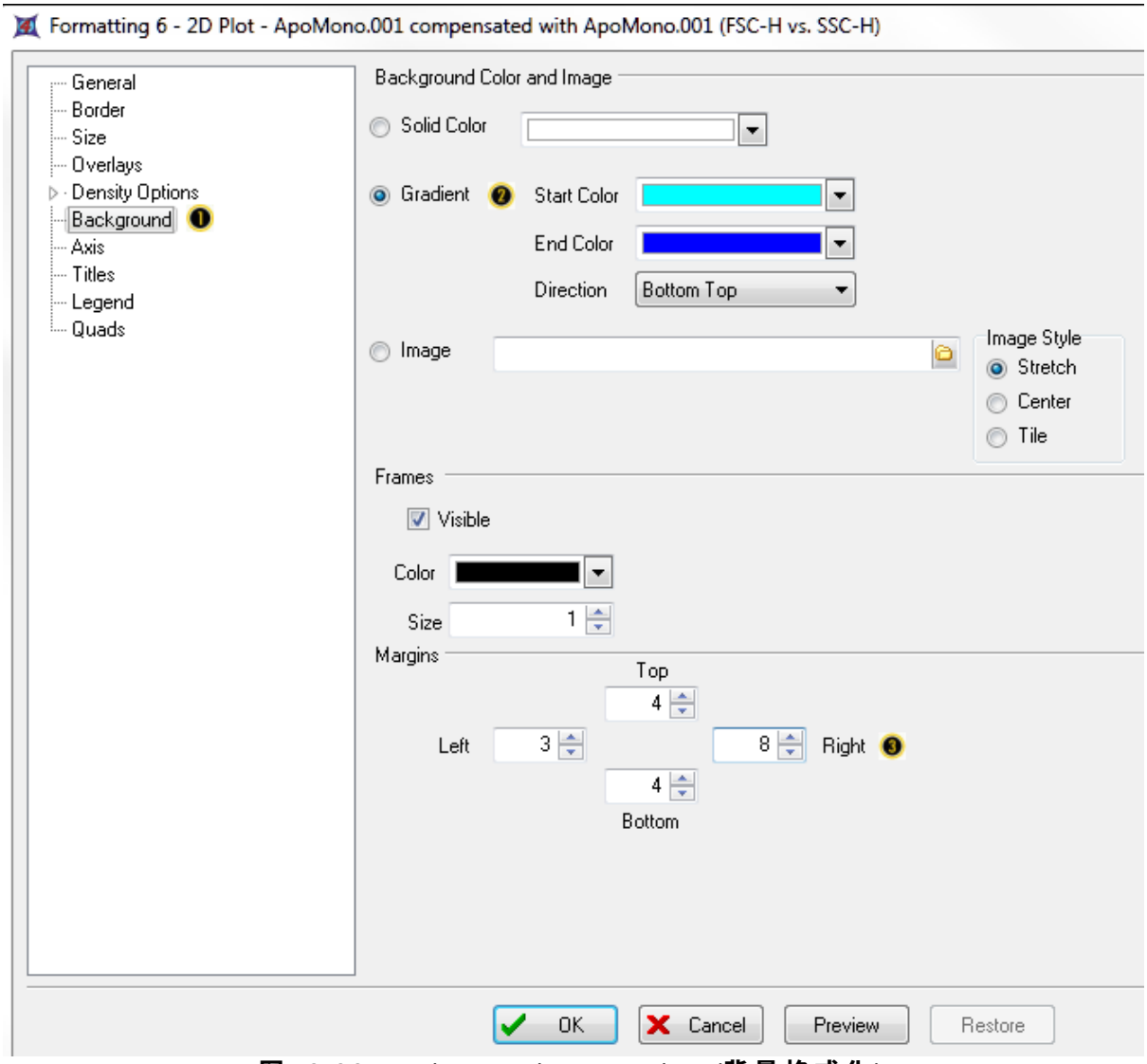
我们会继续使用前面使用的版面，来演示如何修改背景属性。在本节中，我们会:

- 对如何格式化背景做一个概述。
- 修改背景渐变色。
- 修改绘图边距。

要格式化图片背景(数字编号参见图T3.22):

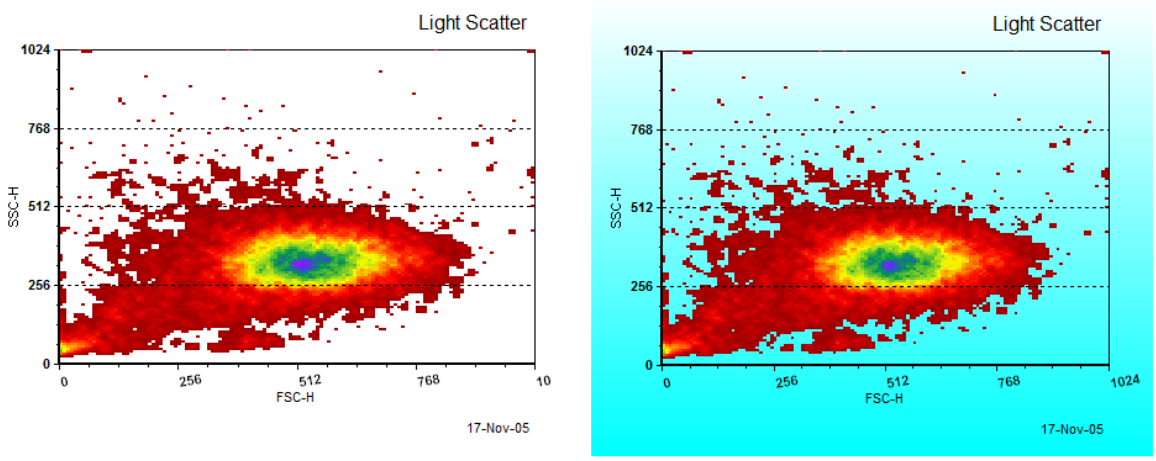
1. 右键点击绘图，然后从弹出菜单中选择**Format(格式)**。
2. 请点击**Background(背景)**选项类别❶。
3. 请点击**Gradient(渐变色)**单选按钮❷。
4. 请选择青绿色作为**Start Color(渐变开始颜色)**。
5. 请修改渐变的**End Color(终止颜色)**为白色。
6. 请修改**Right Margin(右边距)**❸为8%。该设置会移动绘图的右边距，让用户可以看到在图T3.21B 554中被切掉的最后一个坐标轴标签。

点击**OK**键来接受这些修改。



图T3.22 Background Formatting (**背景格式化**)

绘图背景现在已经被修改为一个渐变的背景，如图T3.23B所示。



A. Before Formatting Background　　B. After Formatting Background

图T3.23 Formatting Background (**格式化背景**)

36.3.6 *格式化图例*

图例在说明绘图上显示的数据时很有用，它也可以帮助区分绘图上的多个叠加数据文件。

在本节中，我们会:

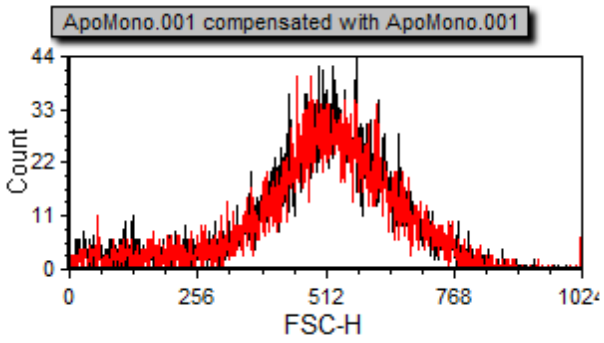
- 学习如何在柱状图上添加一个叠加图层。
- 对如何格式化图例做一个概述。
- 修改图例的字体。
- 修改图例的位置。

要对图例进行格式化，首先我们应创建一个有数据图层的柱状图。

1. 请使用数据文件**ApoMono.001**来插入一个柱状图。如果不知道怎样插入柱状图，请参见教程插入柱状图525。
2. 右键点击柱状图。
3. 请从弹出菜单中选择**Add Overlay(添加叠加图层)**。
4. 请选择数据文件**ApoMono.002**。请不要修改添加叠加图层窗口上的其它属性。
5. 请点击**OK**键，以添加叠加图层。

柱状图此时应该看起来如图T3.24所示。*如果图例已经在绘图上了，那是因为用户可能已把*

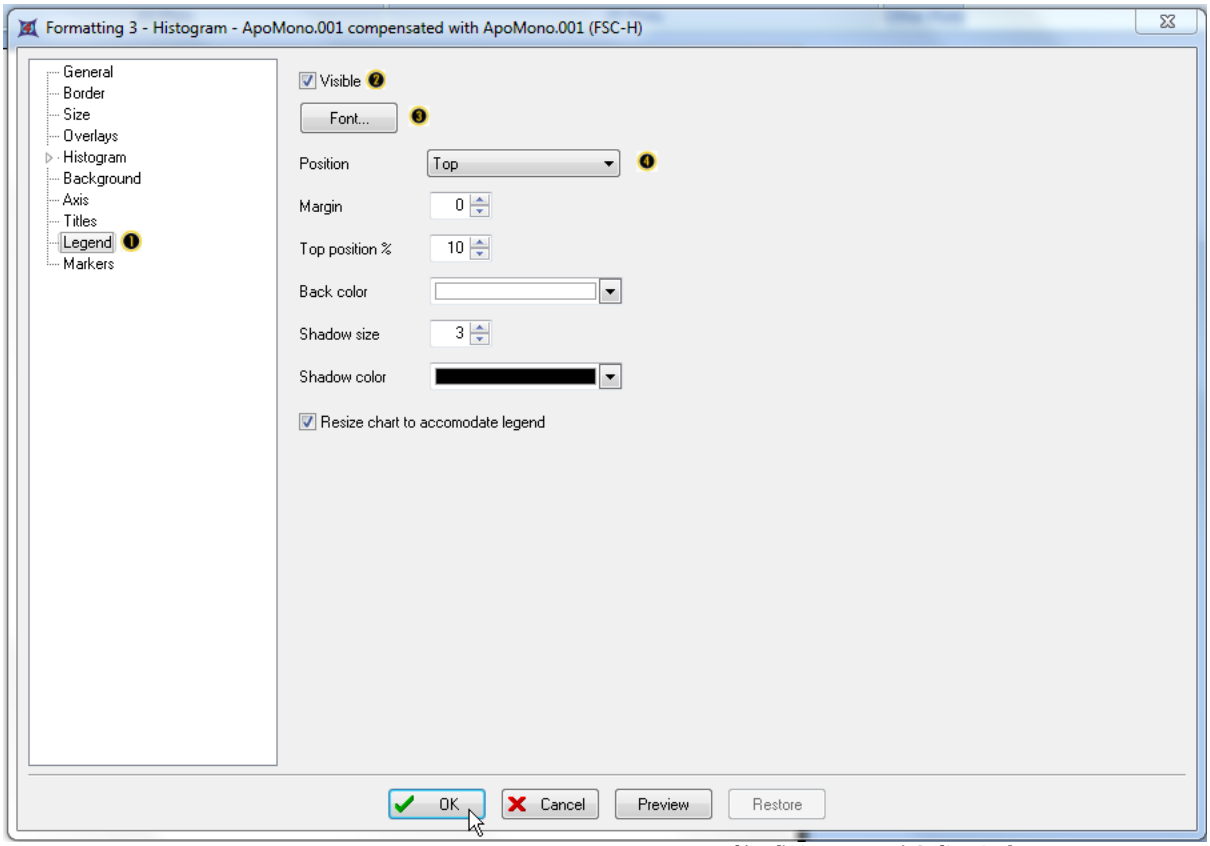
添加图例设置成了默认属性。



图T3.24 Histogram with Two Overlays (**有两个叠加图层的柱状图**)

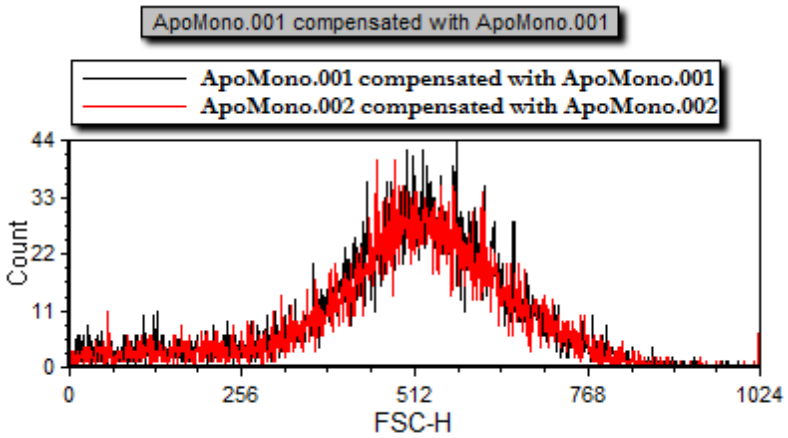
要格式化图例(以下数字编号请参见图T3.25):

1. 请右键点击柱状图，然后从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
2. 请选择Legend选项类别❶。
3. 如果**Visible(可视)**复选框❷未被勾选，请将其选定。
4. 请点击**Font(字体)**按钮❸，然后把字体修改为**Garamond**、**10**pt和**Bold**。
5. 请点击字体对话框上的**OK**键，接受所做的修改。
6. 请把**Position(位置)**❹修改为"Top(上方)"。
7. 请点击**OK**键，接受这些修改。



图T3.25 Formatting - Legend Category (**格式化 - 图例类别选项**)

这时绘图看起来应该如图T3.26所示。

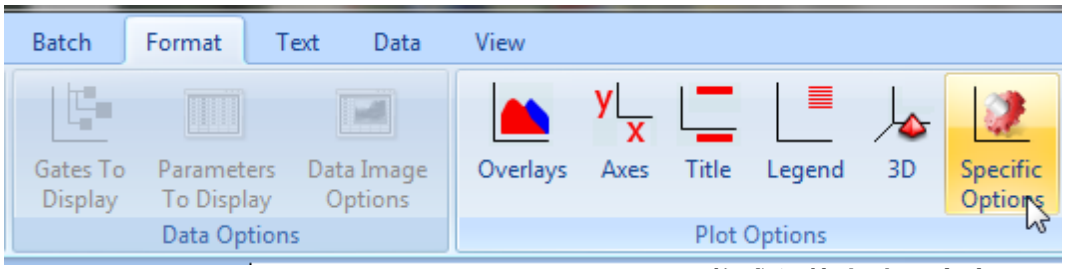


图T3.26 Histogram with Formatted Legend (**柱状图上经过格式化的图例**)

36.3.7 修改柱状图叠加图层

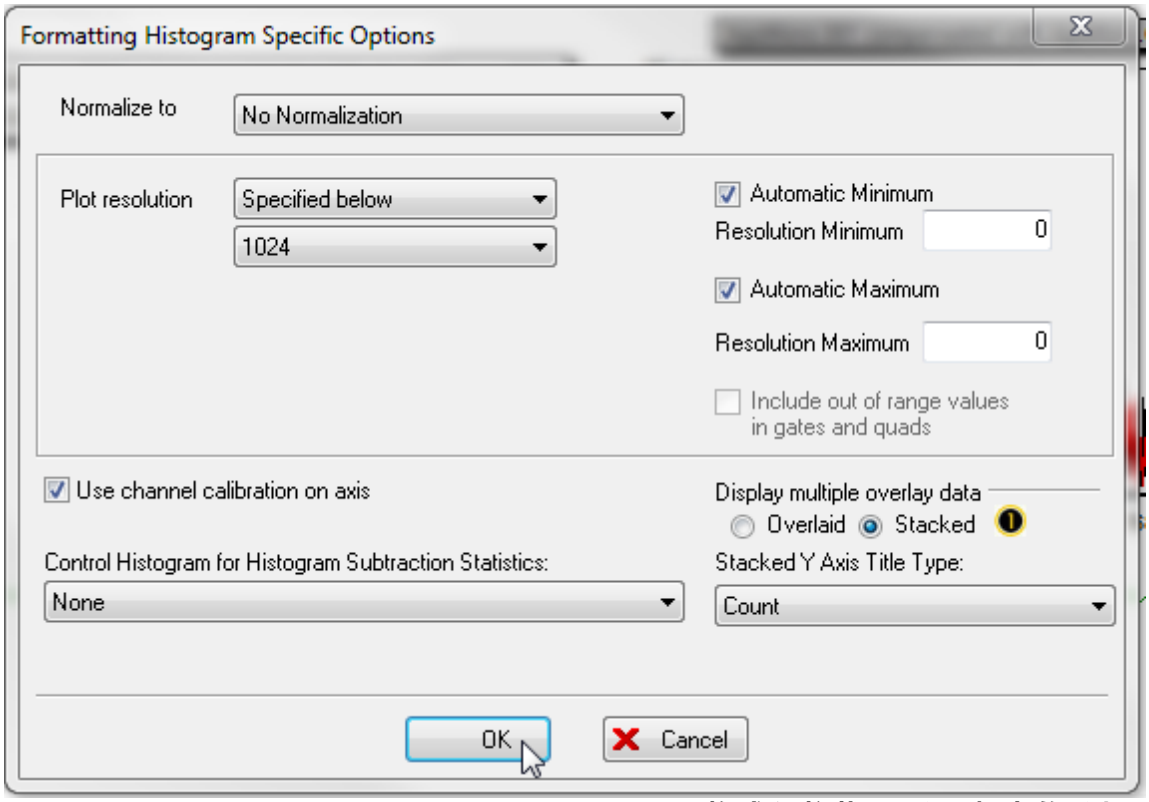
要把柱状图叠加图层修改为叠跺的方式:

1. 请选择一个柱状图(参见选中对象512一节)。
2. 请选择**Format(格式化)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)**命令(图T3.27)。这时会弹出**Formatting Histogram Specific Options (格式化柱状图特定选项)**对话框(图T3.28)。



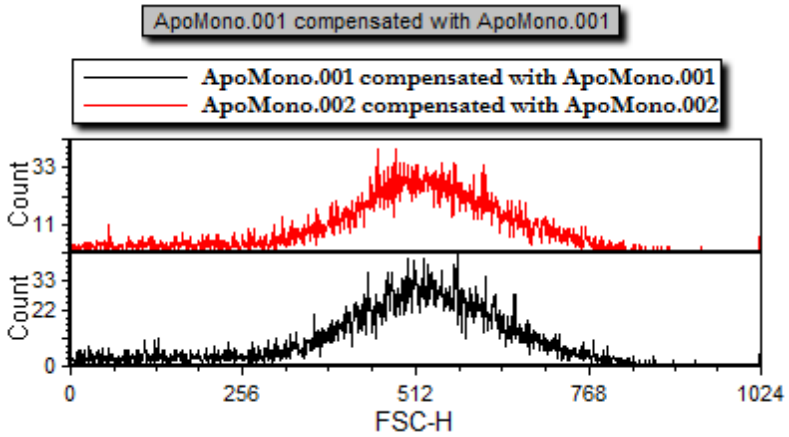
图T3.27 Format Specific Options Command (**格式化特定选项命令**)

3. 请在**Display multiple overlay data(显示多个叠加图层数据)**部分点选**Stacked(叠跺)** ❶(图T3.28)。
4. 请点击**OK**。



图T3.28 Format Histogram (Stacked Overlays) (**格式化柱状图(叠跺起来的叠加图层**))

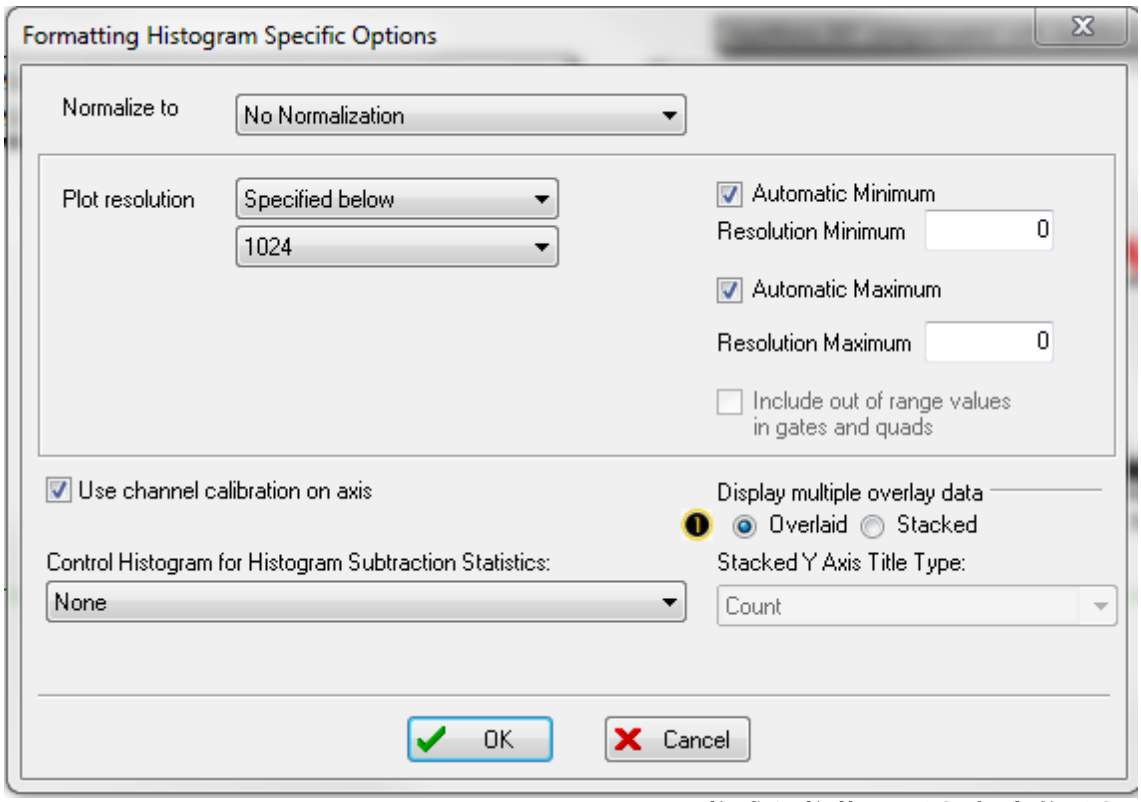
柱状图会变成叠跺的方式(图T3.29)。



图T3.29 Stacked Histograms (**叠跺柱状图**)

要把柱状图修改回为叠加方式:

1. 请选择**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)**命令。这时会出现**Formatting Histogram Specific Options(格式化柱状图特定选项)**对话框(图T3.30)。
2. 请在**Display multiple overlay data(显示多个叠加图层数据)**部分点选**Overlaid(叠加)** ❶。
3. 请点击**OK**键。



图T3.30 Format Histogram (Overlaid Overlays) (**格式化柱状图(叠加起来的叠加图层)**)

柱状图便会改回到叠加的方式(图T3.26 558)。

36.3.8 格式化三维选项

FCS Express支持用三维的方式查看柱状图。

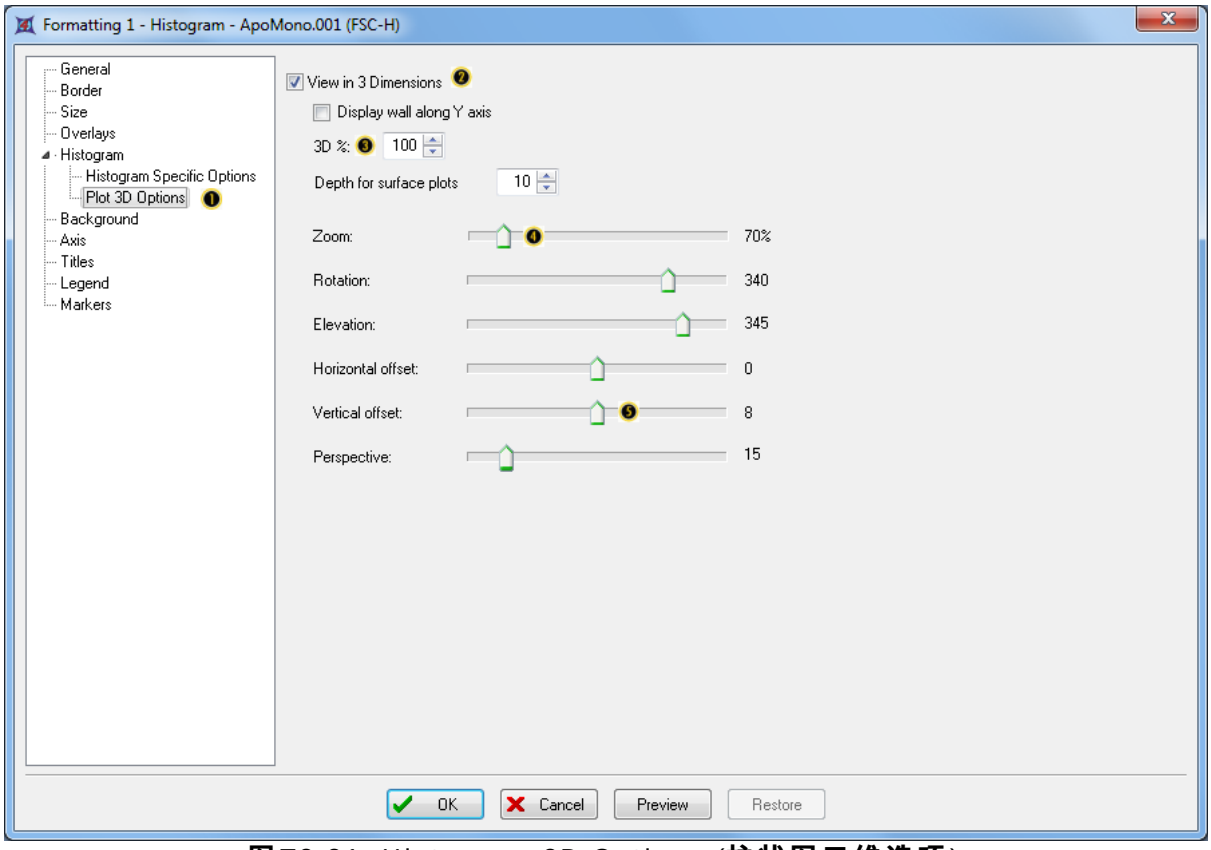
在本节中，我们会:

- 对三维选项做一个概述。
- 开启三维显示。
- 修改三维百分比。

我们将使用图T3.26 558中的柱状图。以下数字编号针对图T3.31。

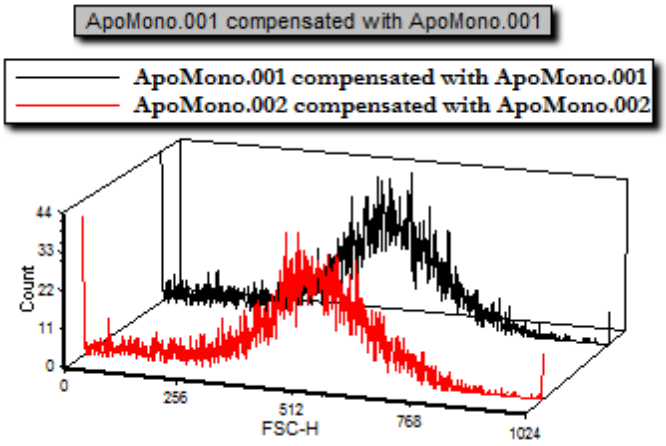
1. 请右键点击柱状图，然后选择**Format(格式)**。
2. 请点击**Histogram(柱状图)**类别选项下的子级类别选项**Plot 3D Options(绘图三维选项)** ❶。
3. 请点选**View in 3 Dimensions(在三维空间查看)** ❷。
4. 请把**3D %(三维百分比)** ❸修改为100%。
5. 请调整**Zoom(缩放)**滑动条到❹70%。
6. 请调整**Vertical offset(垂直偏移)**滑动条❺到大约10%。

请点击**OK**来应用这些修改。



图T3.31 Histogram 3D Options (**柱状图三维选项**)

该图现在应该看起来如图T3.32所示。



图T3.32 Histogram with 3D Overlays (**柱状图上的三维叠加图层**)

36.4 门操作

在FCS Express第4版中，用户可以创建六类门来进行流式细胞分析。这些门包括矩形门、椭圆形门、多边形门、自由形门、标识(一维)以及组合们。本教程会演示如何创建、操作和应用门。更多关于如何使用门的内容可在用户手册的"FCS数据分析"一章中找到180。

36.4.1 *创建门*

创建门最方便的方法是使用**Home(主页)**标签卡和**Gating(门操作)**标签卡里**Create Gates(创建门)**命令组中的命令。另外，除了标识(一维)以外，所有其它的门均可通过在二维绘图的弹出菜单上选择**Create Gate(创建门)**命令来创建(右键点击绘图来调出弹出菜单)。

在本章中，我们会:

- 打开一个以前创建的版面。
- 创建矩形门、椭圆形门、多边形门以及自由形门。
- 修改数据文件。
- 在二维绘图上创建一维门。
- 从标识创建一维门。
- 把象限转化为门。

用户在跟着本教程练习过程中可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库510里找到。这里我们会使用**section5.fey**版面文件以及**ApoMono.001**和**ApoMono.002**两个数据文件。

要打开一个版面:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开位于教程样本数据库510中的**section5.fey**版面。
3. 请选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Select All(选中所有)**命令。
4. 请选择**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Select (选中)**命令。
5. 请选中*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录中的**ApoMono.001**文件。

门通常是使用**Gating(门操作)**标签卡来创建的。这些门操作命令请见图T4.1，对它们的解释见下边的表格。门操作命令也可在**Home(主页)**标签卡中找到。在以后的内容中，我们将介绍

如何对从多孔细胞板里获取的数据进行门操作。



图T4.1 Gating Commands (**门操作命令**)

图标	解释
❶	插入椭圆形门
❷	插入矩形门
❸	插入多边形门
❹	插入自由形门
❺	插入标识
❻	插入象限

如果把鼠标移动到**Create Gates(创建门)**命令组中的命令上方，系统便会显示一个关于该命令的提示信息。

要查看门操作命令提示信息(图T4.2):

1. 请移动光标，使其处于**Rectangle(矩形门)** 按钮上方。
2. 保持鼠标半秒钟不动。



图T4.2 Gating Command Hint (**门操作命令提示**)

下面我们将在版面绘图中插入四种不同类型的门。

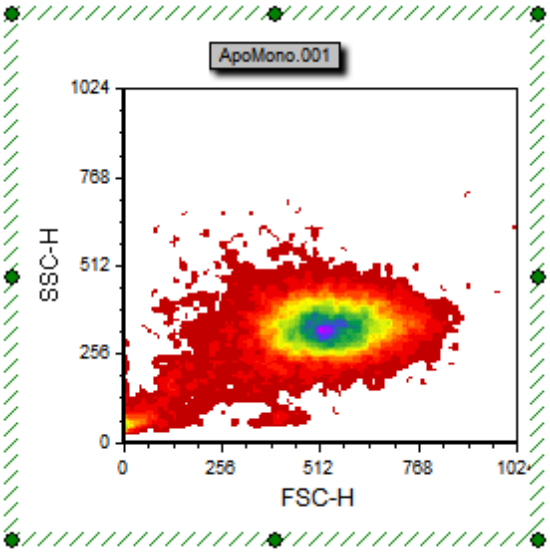
要创建矩形门:

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Rectangle(矩形门)**命令。命

令被选中时，按钮会有一个不同的颜色背景 

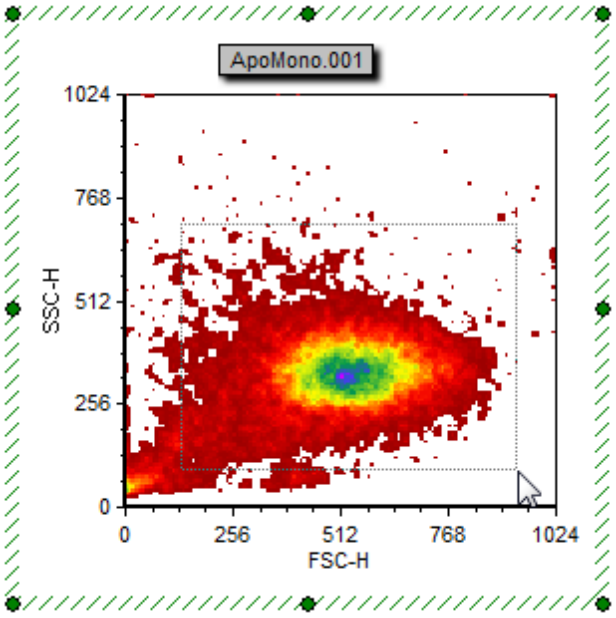
，提示用户它处于点中状态。

我们会在密度图上(图T4.3)的提示语"Create the **rectangular gate** on this plot(在该绘图上创建矩形门)"下方来创建一个矩形门。



图T4.3 Density Plot for First Gating Excercise (**第一次创建门时使用的密度图**)

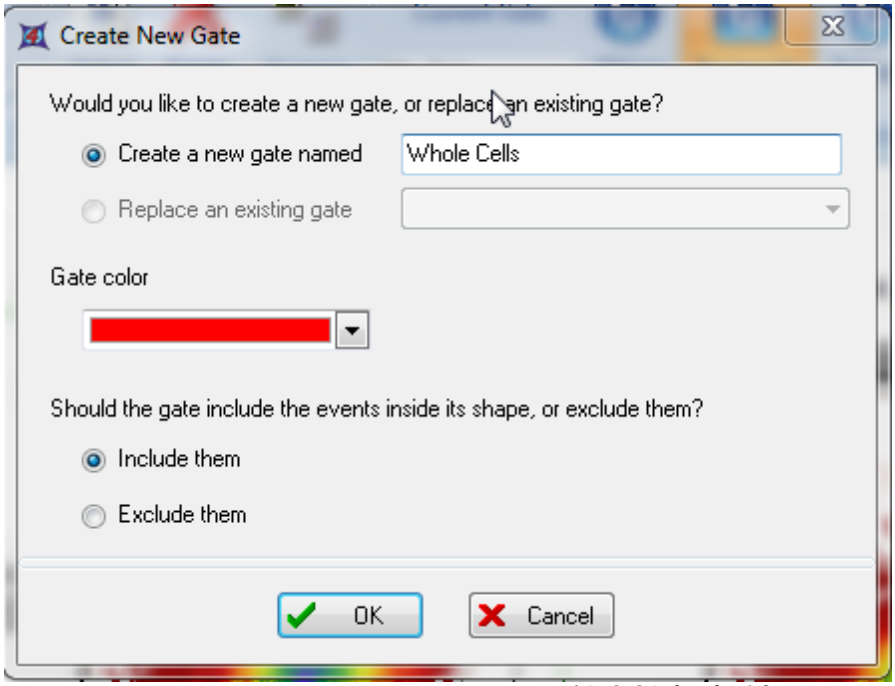
2. 请把鼠标移动到用户希望矩形门左上角出现的位置。
3. 按下鼠标左键不放。
4. 把光标拖动到门的右下角将要出现的地方(图T4.4)。



图T4.4 Creating Rectangular Gate (**创建矩形门**)

5. 放开鼠标键。

这时会出现**Create New Gate(创建新门)**对话框(图T4.5)。请为此新门取个名称。

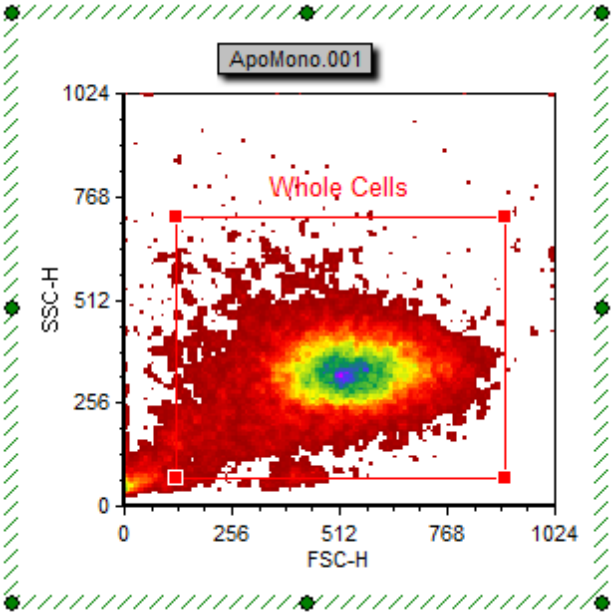


图T4.5 Create New Gate Dialog (**创建新门对话框**)

6. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**文本字段输入"Whole Cells(所有细胞)"。

7. 点击**OK**来应用该名称。

这时该门和显示其名称的文本框会出现在绘图上(图T4.6)。



图T4.6 Newly Created Rectangular Gate (**新创建的矩形门**)

注: 按下键盘上的ESC键，用户可以在创建门的任何一步中(2到5步)取消创建门的操作。该方法可应用于所有类型的门。

要创建椭圆形门:

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Ellipse(椭圆形门)**命令。命令被选中时，按钮会有一个不同的颜色背景 

，提示用户它处于点中状态。

我们会把椭圆形门创建在绘图上写有"Create the **elliptical gate** on this plot(在此绘图上创建椭圆形门)"的文本下方。

2. 请跟着上面的2- 5步来创建一个椭圆形门。

3. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**文本字段中输

入"Cells in ellipse(椭圆形中的细胞)"。

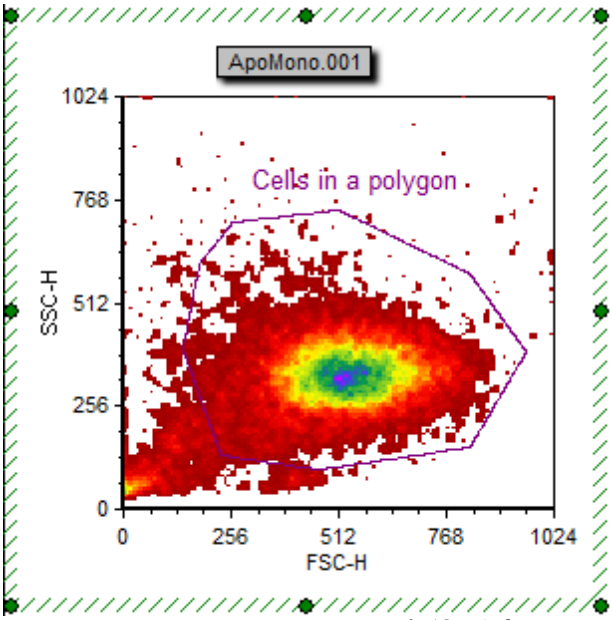
4. 请点击**OK**键来应用这个名称。

要创建多边形门:

我们会在绘图上写有"Create the **polygon gate** on this plot(在该绘图上创建多边形门)"的下方创建一个多边形门。

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Polygon(多边形门)**命令。命令被选中时，按钮会呈现出一个不同的颜色背景 

，提示用户它处于点中状态。
2. 请把鼠标移动到门的起始点。
3. 点击鼠标，开始画多边形门。这时会出现一个黑色的正方形，表明已经创建了第一个自由形的顶点。
4. 请把鼠标移动到另一个想要创建的门的顶点处。在鼠标移动过程中会出现一条跟着鼠标的线。
5. 请在新顶点的位置点击鼠标键。
6. 请重复第4- 5步，直到你想要关闭该多边形为止。
7. 请点击第一个顶点的黑色正方形，来关闭该多边形(图T4.7)。或者，用户可以按下空格键来关闭该多边形。



图T4.7 Polygon Gate (**多边形门**)

这时会弹出一个**Create New Gate(创建新门)**对话框，类似于图T4.5。我们现在可以给门起一个名称:

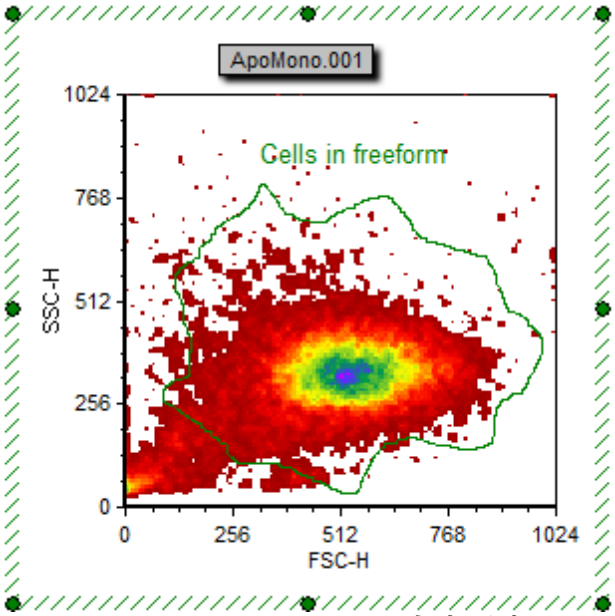
8. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**文本字段输入"Cells in a polygon(多边形中的细胞)"。
9. 请点击**OK**键，来应用该名称。

要创建自由形门:

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Freeform(自由形门)**命令。

   命令被选中时，按钮会呈现出一个不同的颜色背景 

，提示用户它处于点中状态。
2. 请把光标移动到想要开始创建自由形门的位置。
3. 按下鼠标左键不放。
4. 请移动鼠标来画出想要的形状，在移动过程中请不要松开鼠标。会有一条线跟着光标，提示门会在哪儿出现。
5. 请松开鼠标来创建该门(图T4.8)。



图T4.8 Freeform Gate (**自由形门**)

这时会跳出一个**Create New Gate(创建新门)**对话框，和图T4.5很类似。我们现在可以给门起一个名称:

6. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**字段中输入"Cells in freeform(在自由形门中的细胞)"。
7. 请点击**OK**键来应用该名称。

36.4.2 *在二维绘图上创建一维门*

一维门可以应用于二维绘图，也可以应用在单参数柱状图上(这时它们被称为*Markers(标识)*)。一维门的独特之处在于它仅仅针对于一维数据进行操作。我们在这里继续使用上面用到的版面。

要在二维绘图上创建一维门:

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Create Marker(创建标识)**命令。

选中**Create Marker(创建标识)**命令时，它会有一个不同颜色的背景 

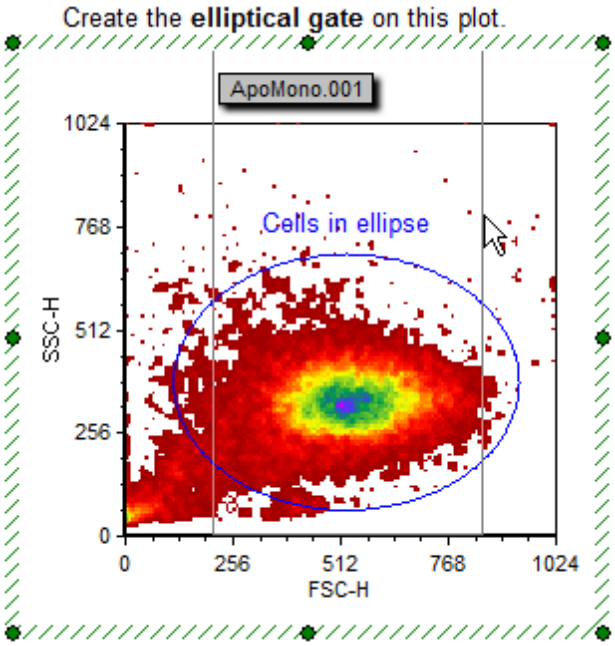
。

我们现在将在二维绘图上写有"**Create the elliptical gate**(创建**椭圆形门**)的文本下方创建一个一维门(图T4.9)。

2. 请把光标移到二维绘图上用户希望门开始的地方。
3. 按下鼠标左键不放。
4. 从左到右移动光标来在水平方向创建一个一维门。

从右到左或从左到右地移动光标会在x- 轴上创建一个一维门。沿着垂直方向移动光标，向上或向下，会在y- 轴方向上创建一个一维门。在本节中，我们会沿着x- 轴创建一个门。

5. 移到想要创建的门位置后，松开鼠标(图T4.9)。

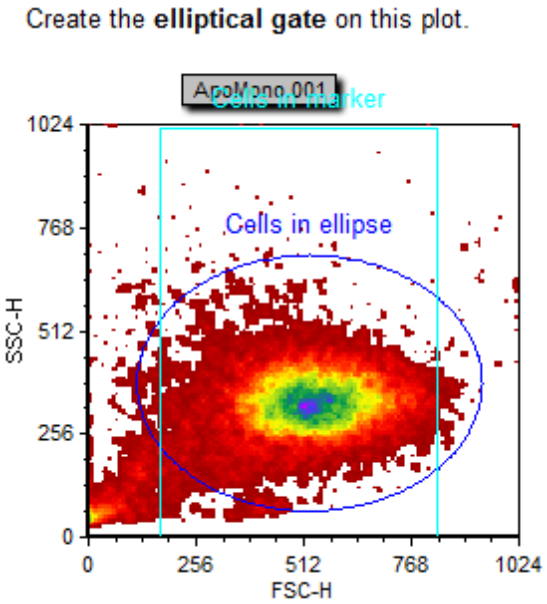


图T4.9 Creating a 1D Gate on a 2D Plot (**在二维绘图上创建一维门**)

这时会弹出如前面显示的**Create a new gate(创建新门)**对话框。

6. 在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**编辑字段输入"Cells in marker(标识中的细胞)"。
7. 请点击**OK**来接受该名称。

这时在二维绘图上会出现一个一维门(图T4.10)。



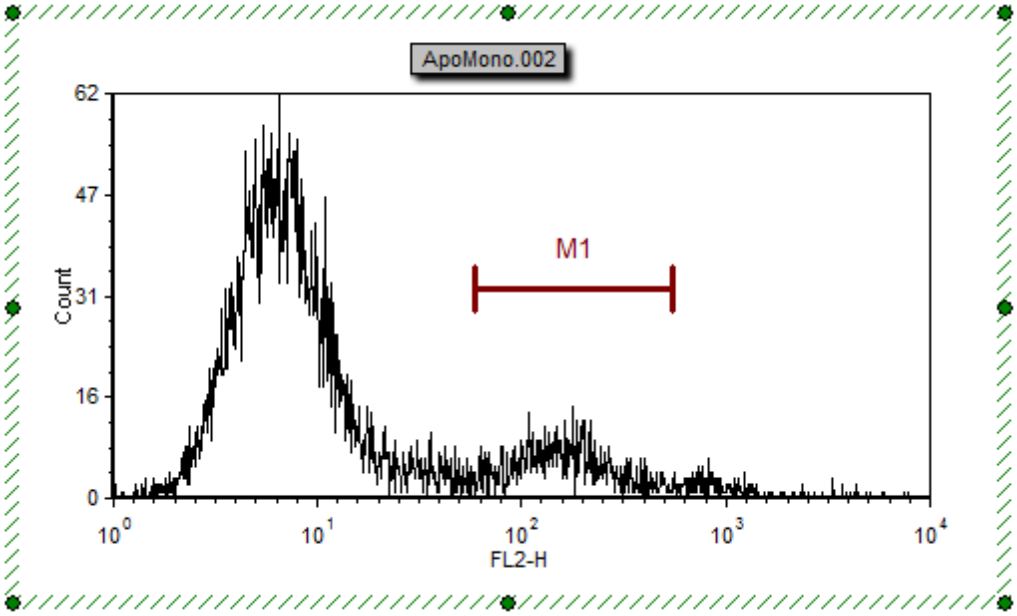
图T4.10 1D Gate on a 2D Plot (**二维绘图上的一维门**)

36.4.3 *从标识创建门*

要从一维绘图上的标识创建门:

1. 请从 **Layout Navigation Toolbar(版面导航条)**(窗口左下角)点击**Page 2(第2页)**标签。在该页上有一个空白的柱状图和一个点状图。
2. 请通过选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Select All(选中所有)**命令来选中所有的绘图。
3. 请选择**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Select (选中)**命令。
4. 请选中在教程样本数据库510中的**ApoMono.002**文件。
5. 点击文件对话框上的**Open(打开)**按钮来打开该文件。
6. 在柱状图的X- 轴标签(FSC- H)上按下鼠标。
7. 用鼠标滚动轮选中FL2- H作为新的X- 轴标签。

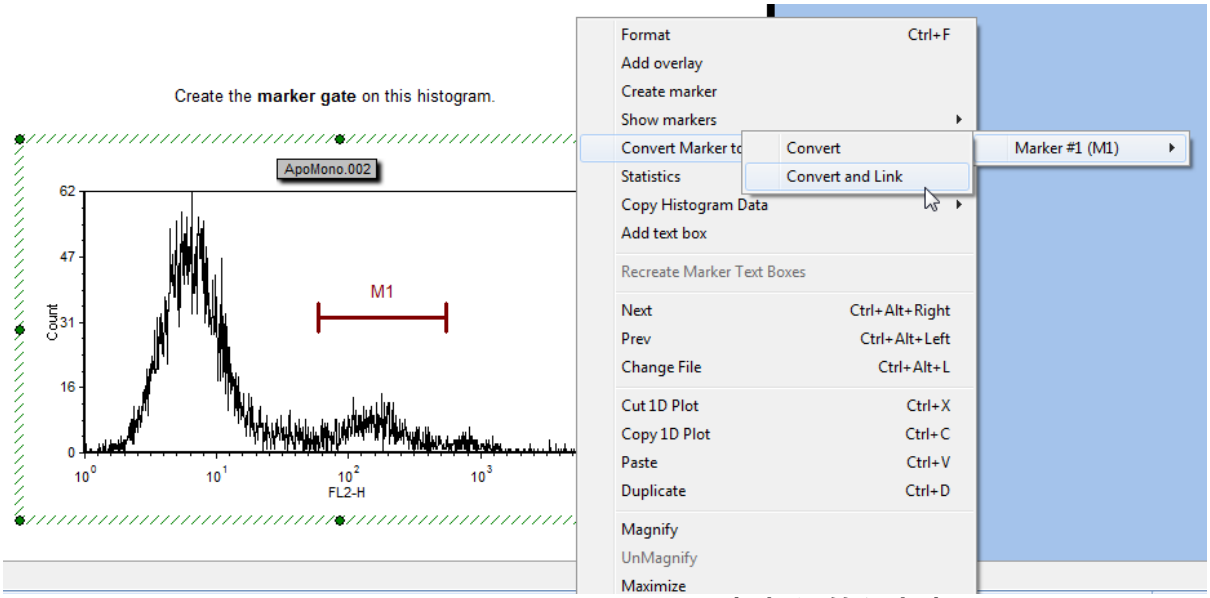
该柱状图现在看起来应该类似于图T4.11。



图T4.11 Histogram with Marker (**有标识的柱状图**)

8. 请右键点击柱状图，调出弹出菜单。

9. 请从弹出菜单中选择**Convert Marker to Gate(把标识转化为门)→Marker #1 (M1)(第1个标识(M1))→Convert and Link(转化并链接)**(图T4.12)。



图T4.12 Convert Marker to Gate (**把标识转化为门**)

这时会弹出一个对话框，请用户来为该门命名。

10. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**文本域输入"Marker Gate(标识门)"。

11. 请点击**OK**来接受该名称。

因为我们在前面选择了**Convert and link(转化和链接)**，该门现在已经链接到了这个标识上。这意味着该标识移动时，门也会跟着移动来反映新标识的位置。

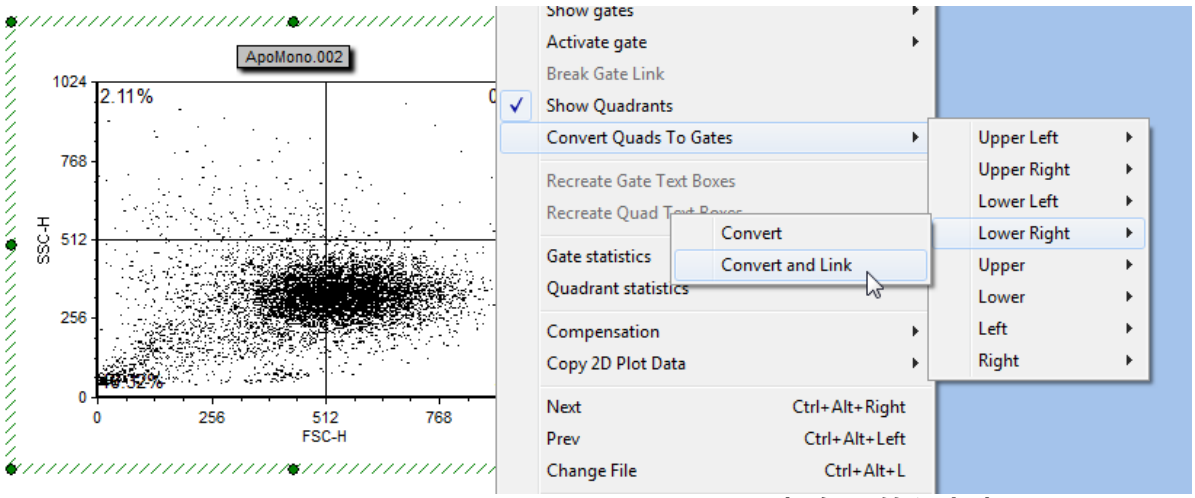
36.4.4 *从象限创建门*

用户也可以从象限来创建门。这个象限可以是标准象限、浮动象限或是百分比象限(要想进一步了解不同类型的象限，请参见使用象限一节196)。创建象限门的方法和创建标识门很类似。

在版面**Page 2(第2页)**的底部，用户可以看到一个带有象限的点状图。

1. 请右键点击点状图，调出弹出菜单。

2. 请从弹出菜单中选择**Convert Quads to Gate(把象限转化为门)→Lower Right(右下)→Convert and Link(转化并链接)**(图T4.13)。



图T4.13 Converting a Quadrant to a Gate (**把象限转化为门**)

这时会弹出一个对话框，请用户来为门命名。

3. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**编辑字段输入"Quadrant Gate(象限门)"。

4. 请点击**OK**键来接受该名称。

因为我们在上面选择了**Convert and link(转化并链接)**，该门现在已经链接到了右下象限。这意味着该象限移动时，门也会跟着移动来反映新象限的位置。

36.4.5 *创建组合门*

组合门是门的组合。创建组合门时，用户实际上是创建一个包括已有的门的逻辑公式。门公式是由一个门或多个门结合逻辑运算符形成。运算符描述把门组合起来的方法，遵循逻辑算术的法则。

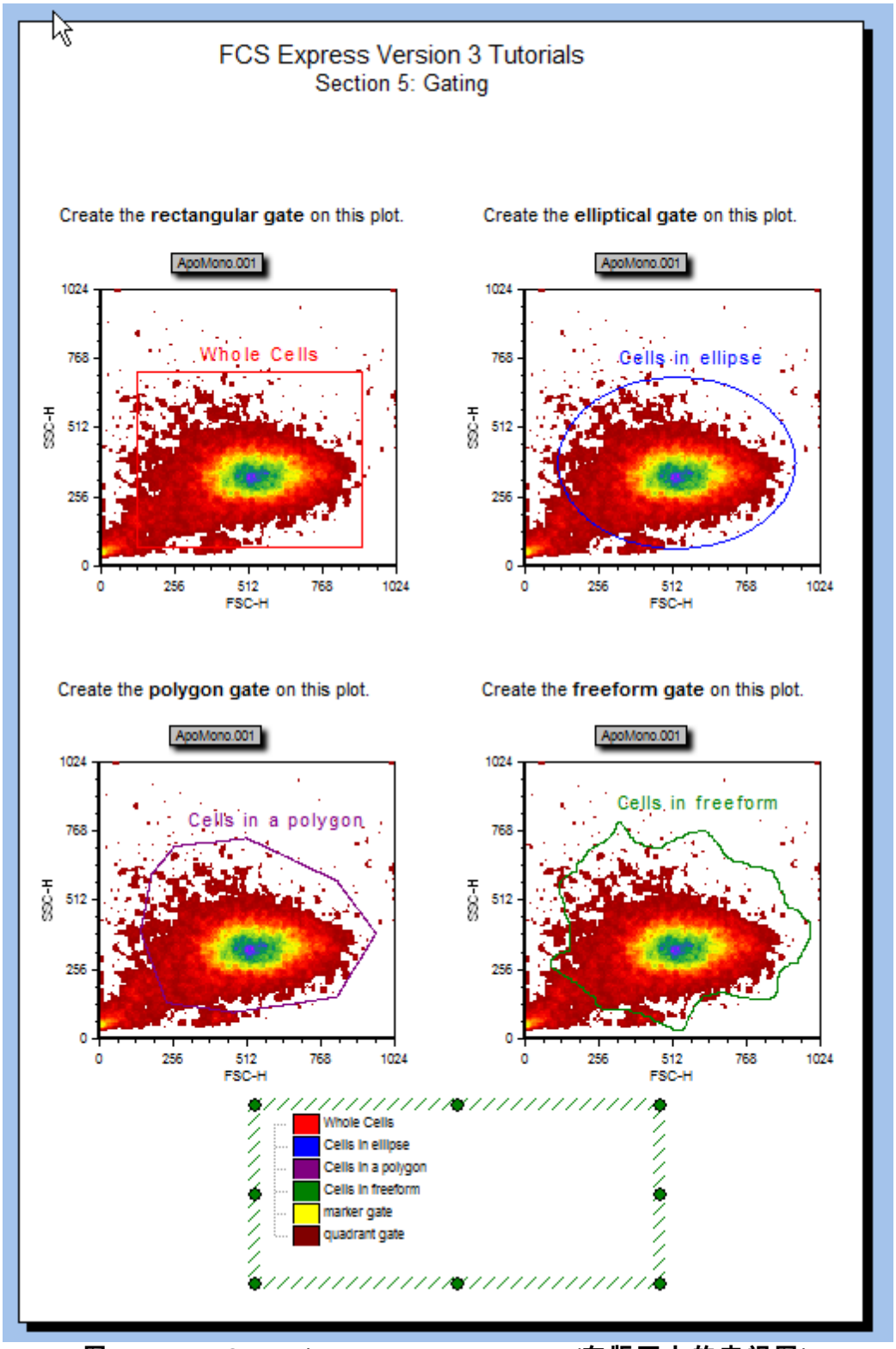
在本节中，我们会:

- 学习门视图的功能。
- 创建一个组合门。

我们会继续使用前面用过的同一版面。

要插入一个Gate View(门视图):

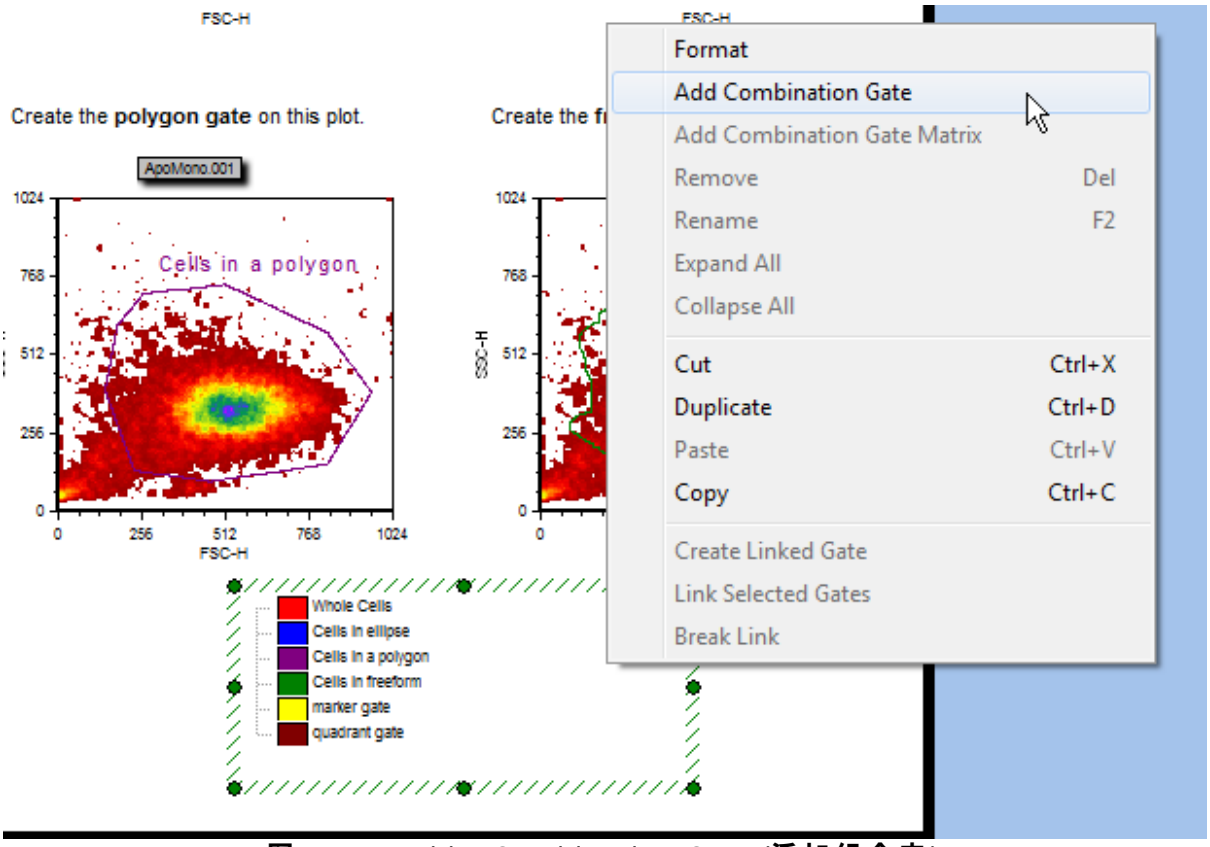
1. 请从**Layout Navigation Toolbar(版面导航条)**上选择**Page 1(第1页)**标签。
2. 请选择**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**命令。
3. 请在版面上用户希望**Gate View(门视图)**左上角出现的地方点击鼠标左键。
4. 这时**Gate View(门视图)**(图T4.14)会出现在版面上。



图T4.14 A Gate View on a Layout Page (在版面上的门视图)

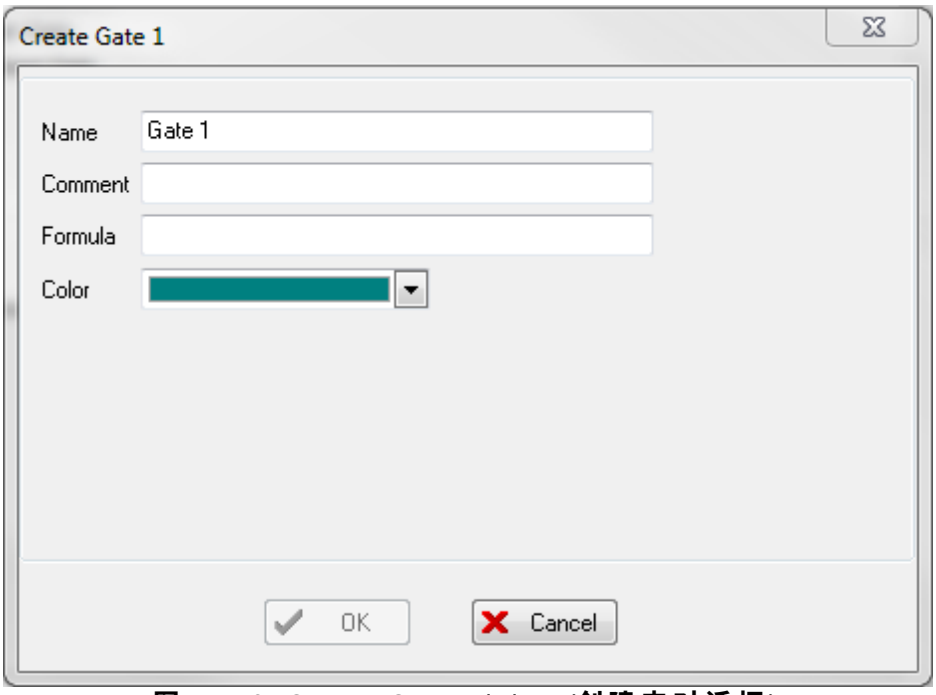
要创建组合门:

1. 请右键点击**Gate View(门视图)**，调出弹出菜单。
2. 请从菜单上选择**Add Combination Gate(添加组合门)**(图T4.15)。



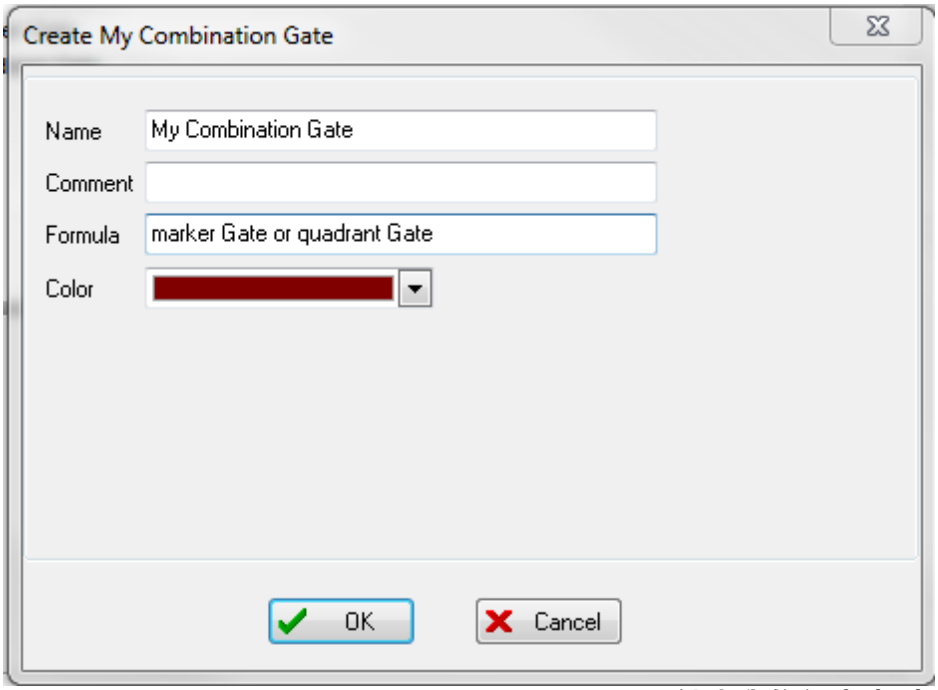
图T4.15 Add a Combination Gate (**添加组合门**)

3. 这时会出现**Create Gate(创建门)**编辑器(图T4.16)。



图T4.16 Create Gate Dialog (**创建门对话框**)

4. 请在**Name(名称)**字段中输入"My Combination Gate(我的组合门)"。
5. 请点击公式字段。
6. 请输入"m"。
7. 注意到文本"marker Gate(标识门)"已经自动为用户填写了。因为FCS Express知道该门是仅有的一个名称以字母"m"开头的门。
8. 请按下空格键来接受对"marker gate"的选择。
9. 请输入"o"。
10. 请按下空格键来接受"or(逻辑运算符或)"。
11. 请输入"q"。
12. 请按下空格键来接受"quadrant Gate(象限门)" 选项。
13. 请把颜色修改为"Plum(李子色)"。这时屏幕应该看起来如图T4.17所示。
14. 请点击**OK**键来创建组合门。



图T4.17 Create My Combination Gate Dialog (创建我的组合门对话框)

要想更多地了解如何创建组合门以及如何使用各种运算符，请参见用户手册部分的创建门 181一节。

36.4.6 *移动门*

在本节中，我们会:

- 激活一个门
- 移动门

1. 请在"Whole Cells(所有细胞)"门内部点击任何一个地方。这会激活该门。门被激活时，用户会在它的各个拐角看到调整大小的把手(红色矩形)，如图T4.6 566所示。
2. 在门里的任何位置上按下鼠标不放。
3. 移动鼠标。鼠标移动过程中，会看到一个门的轮廓也跟着移动。
4. 当把门移动到一个选定的新位置后，请松开鼠标键。

36.4.7 改变门大小

在本节中，我们会:

- 改变门的大小
- 成比例地改变一个有多个顶点的门。
- 单独地改变多边形门中一个顶点的位置。

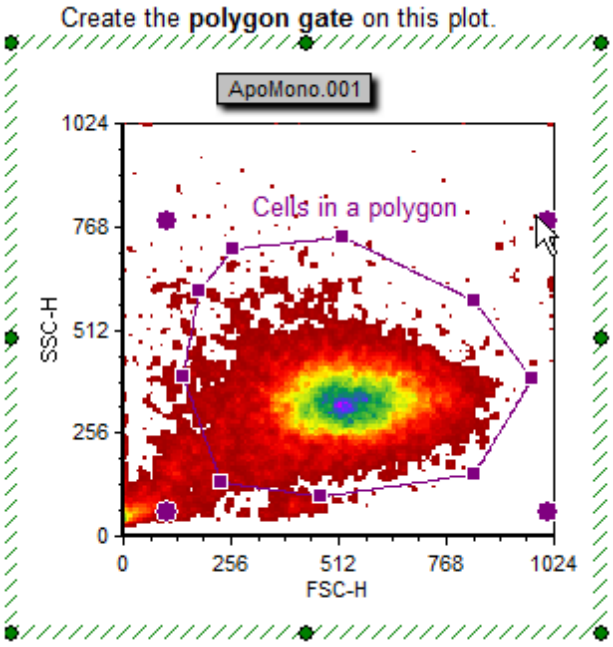
1. 请通过点击"Whole Cells(所有细胞)"门的内部来将其激活。
2. 请把光标移动到门的右上角的调整大小把手上。光标移到把手上时，它会变成一个两向的箭头。按下鼠标左键不放。
3. 移动鼠标。移动鼠标过程中，会看到一个门的轮廓跟着移动。
4. 当把门移动到一个选定的新位置后，请松开鼠标键。

移动门或修改门的过程中，用户可以随时按下键盘上的**Esc**键来取消相关操作。

通过使用门外围的改变大小的顶点，多边形和自由形门可以成比例地缩放。

成比例地修改多边形门的大小

1. 请点击多边形门的内部来将其选中。
2. 请把光标移动到右上方的外围调整大小把手上(如图T4.18中光标所示)。光标移到把手上时，它会变成一个两向的箭头。

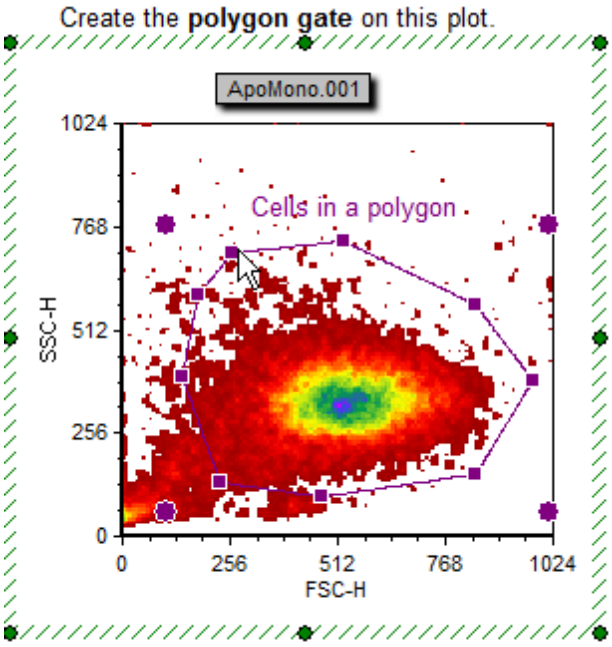


图T4.18 Proportional Resizing of a Polygon Gate (**成比例地缩放多边形门**)

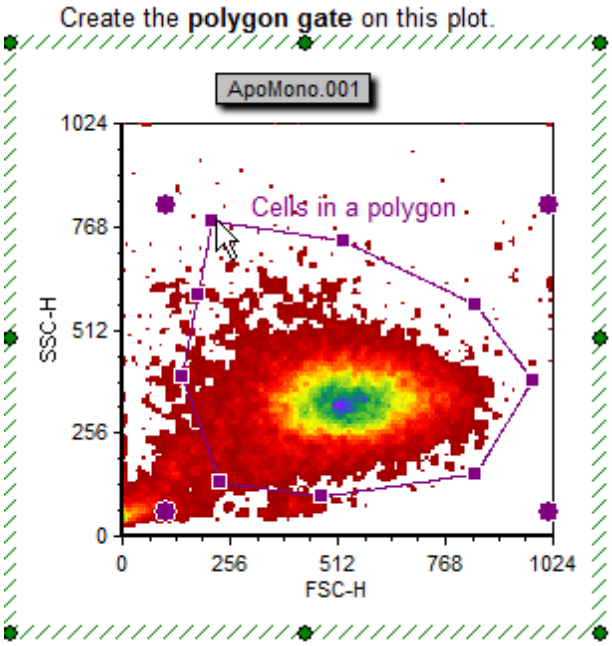
3. 按下鼠标左键不放。
4. 移动鼠标。移动鼠标过程中，会看到一个门的轮廓跟着移动。上下移动鼠标会修改门的高度，左右移动会修改门的宽度，沿着对角线方向移动鼠标会改变门的整体大小。
5. 门的大小合适后，请松开鼠标。

单独修改多边形门的顶点位置

1. 请点击多边形门的内部来将其选中。
2. 请把光标移动到多边形门左上角的顶点上(如图T4.19A中的光标所示)。光标移到把手上时，它会变成一个两向的箭头。
3. 按下鼠标左键不放。
4. 移动鼠标。鼠标移动过程中，这个顶点会移动，而其它的顶点保持不动。
5. 顶点移动到合适的位置后(如图T4.19B中的光标所示)，松开鼠标键。



图T4.19A Starting to Reisze a Polygon Vertex (**开始修改多边形顶点的位置**)



图T4.19B Moving a Polygon Vertex (**移动一个多边形顶点**)

36.4.8 *删除门*

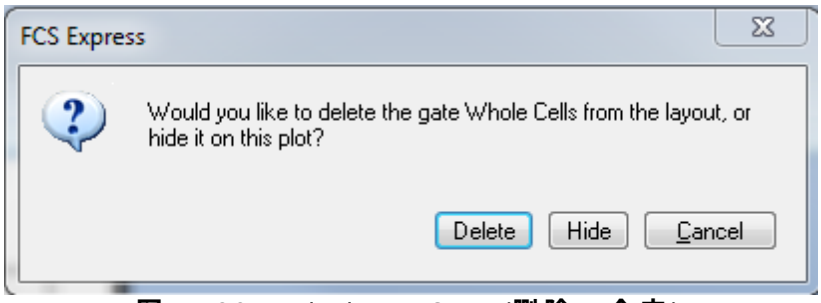
在本节中，我们会:

- 删除一个门

1. 请点击"Whole Cells(所有细胞)"门来将其激活。
2. 请按下键盘上的**Delete(删除)**键。

这时会出现一个对话框，询问用户是要删除"Whole Cells(所有细胞)"门，还是要将其隐藏(图T4.20)。

3. 请点击**Delete(删除)**键来删除"Whole Cells(所有细胞)"门。



图T4.20 Deleting a Gate (**删除一个门**)

"Whole Cells(所有细胞)"门现在应该从绘图中消失了。

36.4.9 *应用门*

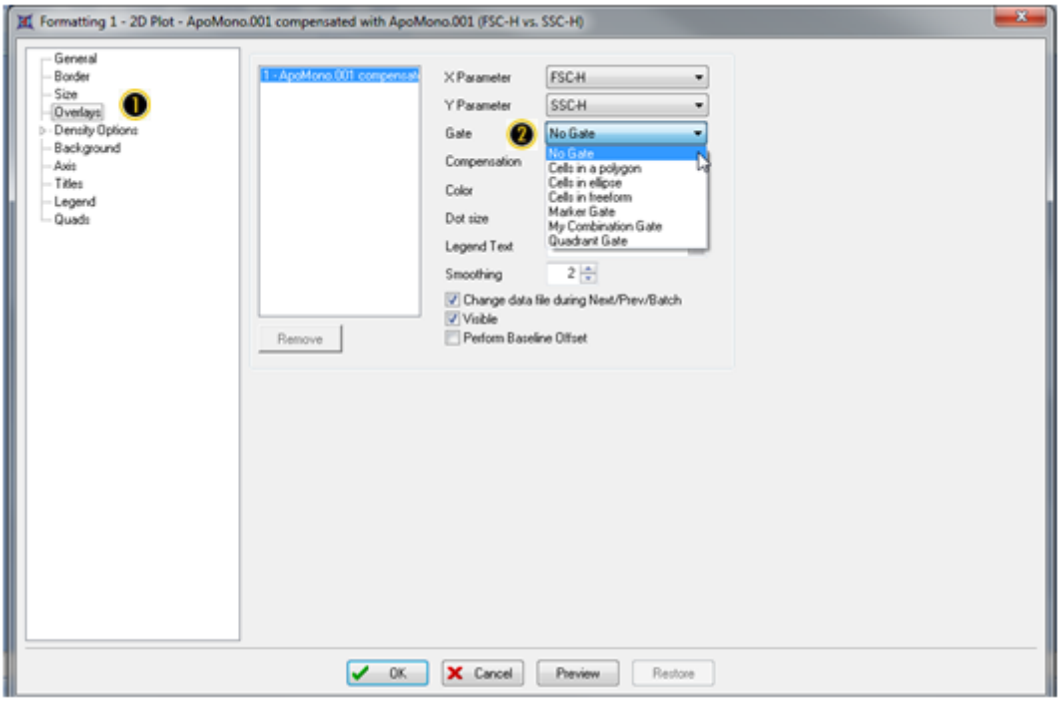
在以上的几个例子中，我们已经创建了几个门。现在我们来学习如何把它们应用到绘图上。

在本节中，我们会:

- 从格式窗口应用门。
- 从门操作标签卡上应用门。
- 从门导航器上应用门。

我们会继续使用一直在用的这个版面。以下的数字编号对应于图T4.21。

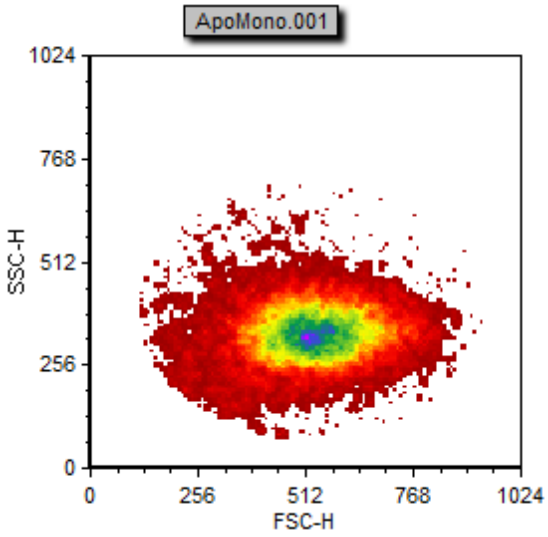
1. 在"Whole Cells(所有细胞)"门之前所在的绘图上右键点击。
2. 请从弹出菜单选择**Format(格式)**。
3. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项❶。
4. 请把**Gate(门)**❷修改为"Cells in ellipse(椭圆形中的细胞)"。



图T4.21 Formatting 2D Plots (Overlays Category) (**格式化二维绘图(叠加图层类别选项)**)

5. 请点击**OK**按钮来接受所做的修改。

绘图现在看起来应该如图T4.22所示。你的绘图可能不完全和图T4.22一模一样，因为你的椭圆形门可能在位置上和实例中有所不同。

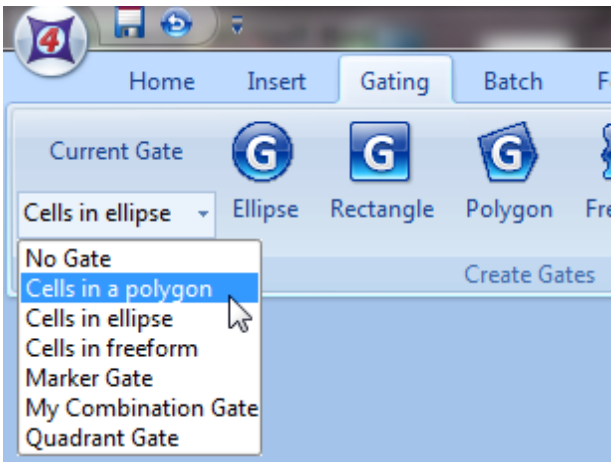


图T4.22 Plot Gated on "Cells in Ellipse" (**带有"椭圆形中的细胞"门的绘图**)

6. 请移动该椭圆形门。"Cells in ellipse(椭圆形中的细胞)"门移动时，应用该门的绘图的外观会随着更新。

7. 请点击刚刚应用了这个门的绘图，使其处于**编辑模式**。绘图处于编辑模式时，它的周围会有一圈绿色边框。

Gating(门操作)标签卡中的**Create Gates(创建门)**命令组里有一个编辑字段，位于**Create Gates(创建门)**命令组中左侧的位置。该字段现在会显示"Cells in ellipse(椭圆形中的细胞)"(见图T4.23)，表明当前绘图正在应用"Cells in ellipse(椭圆形中的细胞)"这个门。

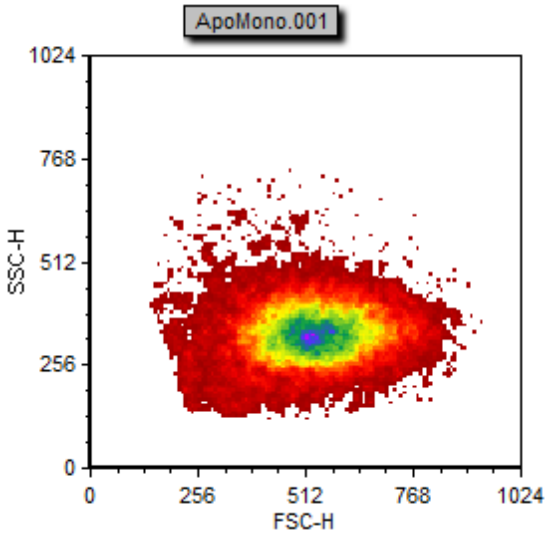


图T4.23 Selecting the "Cells in a Polygon" Gate (**选中"椭圆形中的细胞"门**)

8. 请点击"Cells in ellipse(椭圆形中的细胞)"旁边的箭头来下拉出可用的门。

9. 请选中"Cells in a polygon(多边形中的细胞)"门(图T4.23)。

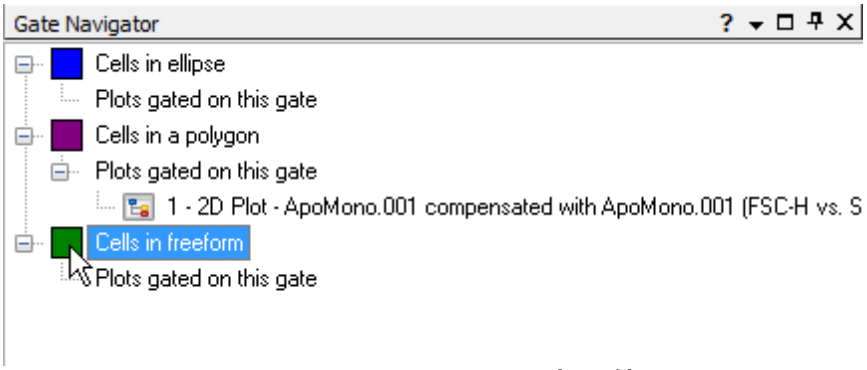
如图T4.24所示，现在绘图中应该只显示在"Cells in polygon(多边形中的细胞)"门中的细胞。



图T4.24 Plot Gated on "Cells in a Polygon" (**应用"多边形中的细胞"门的绘图**)

10. 请选择**View(视图)→Navigators(导航器)→Gate Navigator(门导航器)**命令。

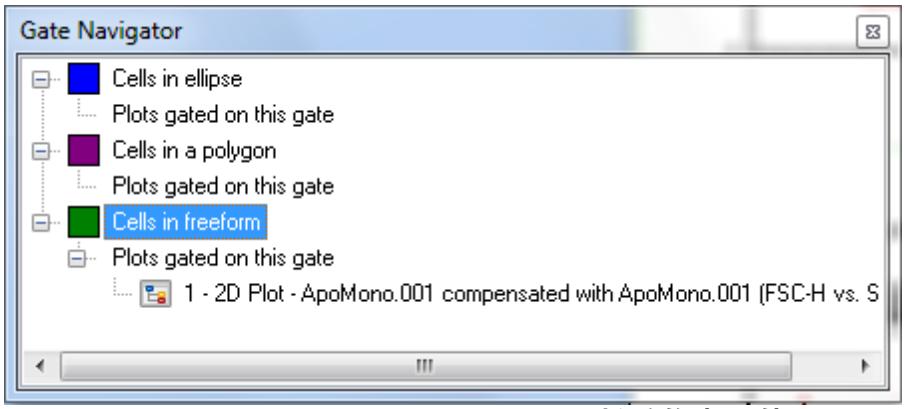
11. 这时会出现**Gate Navigator(门导航器)**(图T4.25)。**Gate Navigator(门导航器)**上显示版面里所有的当前门以及应用在某个绘图上的门。



图T4.25 Gate Navigator (**门导航器**)

12. 请把**Gate Navigator(门导航器)**移到版面的一边。
13. 请把光标移到**Gate Navigator(门导航器)**上的**Cells in freeform(在自由形门中的细胞)**门上。
14. 按下鼠标左键，选中**Cells in freeform(在自由形中的细胞)**门。**Cells in freeform(在自由形中的细胞)**门被选中时，它会被高亮显示(图T4.26)。
15. 按住鼠标不放，把该门拖拽到标有"Create the **rectangular gate** on this plot (在该绘图上创建矩形门)"的二维绘图上。
16. 松开鼠标。

如更新后的**Gate Navigator(门导航器)**(图T4.26)显示的那样，"Cells in freeform(在自由形中的细胞)"门现在被应用到了这个绘图上。



图T4.26 Gate Navigator Updated (**更新后的门导航器**)

36.5 文本框和标记

文本框可以让用户在版面中输入任何文本。它支持在当今字处理软件中可以找到的很多功能，例如文本格式化、表格、项目列表和编号，以及很多其它高级功能。除了标准的字处理功能外，FCS Express也支持在文本框中插入标记。标记是一些随着用户数据自动更新的动态文本。比如，如果用户在文本框中插入统计标记，标记的值会随着数据文件的改变而改变。

36.5.1 *插入文本框*

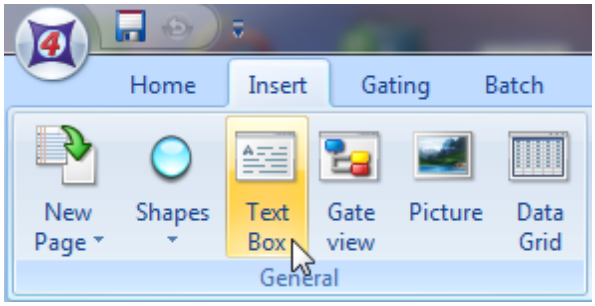
系统有几种插入文本框的方法，最常用的两种是: 插入默认大小的文本框和插入自定义大小的文本框。用户可以在二维绘图或柱状图中直接插入文本框，这样在移动绘图时，文本框也会跟着移动。

在本节中，我们会:

- 插入一个文本框。
- 插入一个自定义大小的文本框。
- 把文本框插入绘图中。

要插入一个默认大小的文本框:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→New Layout(新版面)**来创建一个新的版面。
2. 请选择**Insert(插入)→General(常规)→Text Box(文本框)**命令(图T5.1)。
3. 在绘图上点击一个位置来放置文本框。



图T5.1 Selecting the Insert Text Box Command (**选择插入文本框命令**)

默认的设置是，系统在版面上鼠标点击的地方插入一个1英寸x 1英寸的文本框。要修改这个默认的大小设置，请选择**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→Text Boxes(文本框)**。

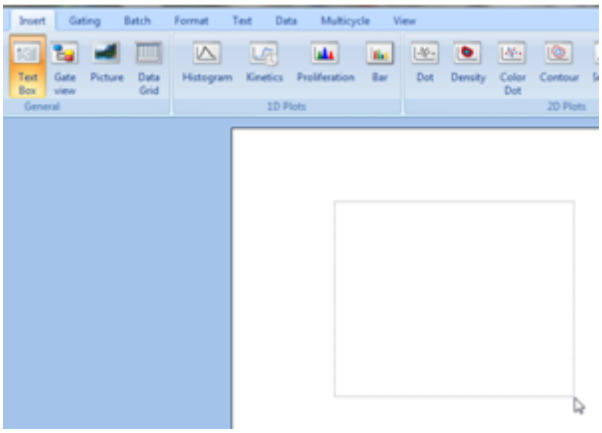
出现的文本框将处于编辑模式(绿色边框)，其中有一个闪动的光标(图T5.2)。这代表用户可以直接向文本框中输入文本。在文本框中输入文本和在微软PowerPoint™中输入文本类似。



图T5.2 Empty Text Box (**空白文本框**)

要插入一个自定义大小的文本框:

1. 请选择**Insert(插入)→General(常规)→Text Box(文本框)**命令。
2. 请把鼠标放在版面上用户希望文本框左上角出现的地方。
3. 按下鼠标左键不放。
4. 移动鼠标。移动鼠标过程中，一个虚线边框将显示对象的大小(图T5.3)。
5. 在把虚线框拖拽到想要的大小后，松开鼠标。这时一个空白的文本框会以编辑模式(绿色边框)被插入到该位置上。



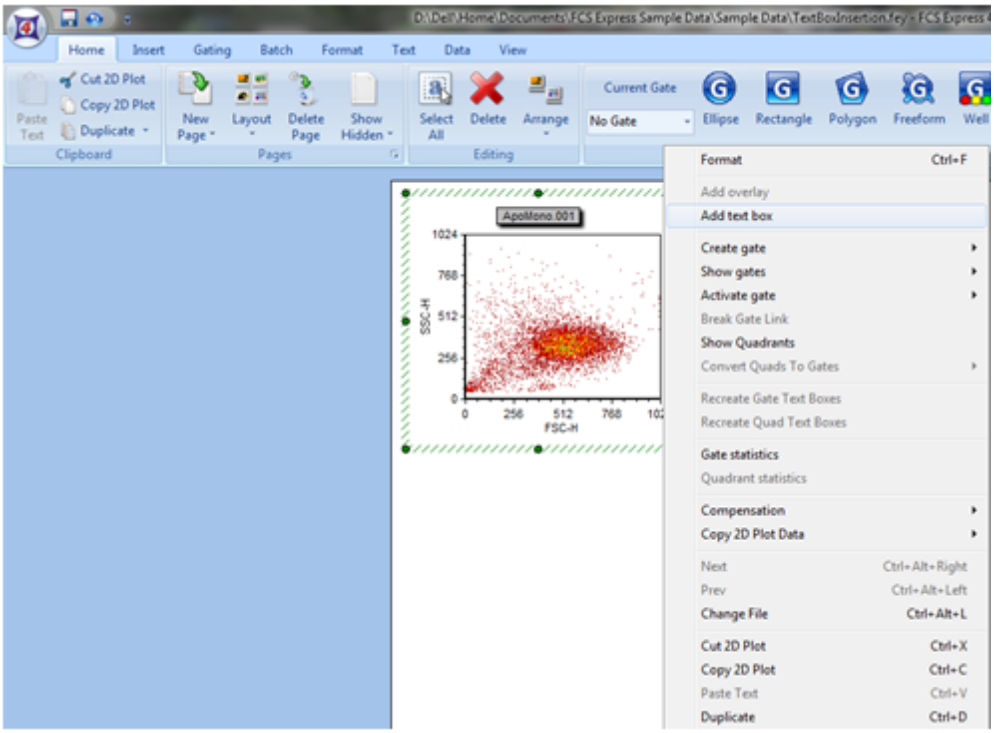
图T5.3 Inserting a Custom-sized Text Box (**插入自定义大小的文本框**)

要在一个二维绘图或柱状图上插入文本框:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**来关闭刚才使用的版面。
2. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
3. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹里的**TextBoxInsertion.fey**版面。

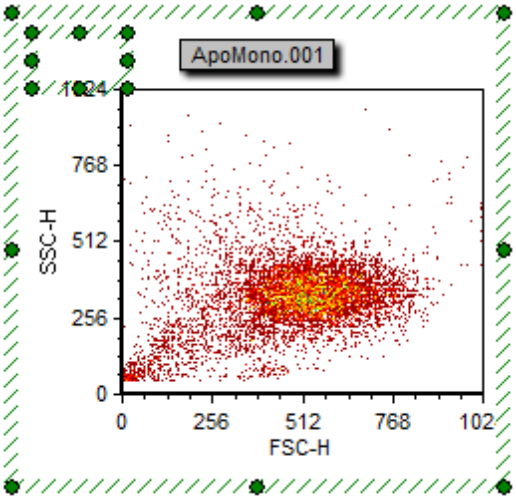
该版面包括一个由ApoMono.001文件生成的密度图，图中为SSC对FSC作图。

4. 右键点击绘图。这时绘图边框显示为绿色，表明绘图处于选中状态，同时也会出现一个弹出菜单。
5. 请从弹出菜单中选中**Add Text Box(插入文本框)**(图T5.4)。



图T5.4 Adding a Text Box to a Plot (**在绘图上插入文本框**)

这时在绘图左上角会出现一个较小的文本框(图T5.5)。这时便可开始输入文本。



图T5.5 Text Box Added to a Plot (**插入到绘图中的文本**)

该文本框已被嵌入了绘图中。移动绘图时文本框会跟着移动。用户可以把文本框移动到绘图上的任何位置。要想了解更多关于移动对象的内容，请参见关于使用对象的相关教程513。

6. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**来关闭我们刚才使用的版面。

36.5.2 *格式化文本框中的文本*

对文本框中的文本进行格式化和在微软Word™中对文本进行格式化非常类似。

在本节中，我们会:

- 修改字体。
- 修改字号。
- 修改段落对齐方式。

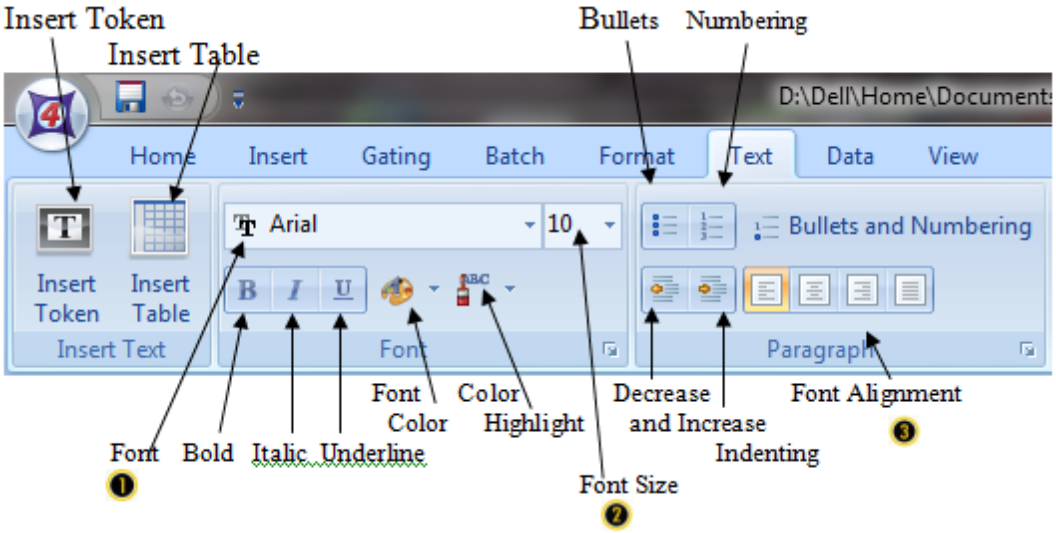
1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS样本数据)*文件夹中的版面文件**TextBoxFormat.fey**。

该版面文件包含一个处于页面中心的文本框，其中的文本为"This is a text box(这是一个文本框)"(图T5.6)。默认的文本设置是Arial字体、10pt大小和左对齐。



图T5.6 Text Box (**文本框**)

用户可以通过选择Ribbon条上的**Text(文本)**标签页来修改文本(图T5.7)。文本标签页上的文本命令和微软Word™中的命令非常相似。



图T5.7 Text Formatting Commands (**文本格式化命令**)

3. 请高亮选中文本框中的文本。
4. 请把字体❶修改为Courier Bold(Courier粗体)。
5. 请把字号❷增加到15pt。
6. 请把字体对齐方式❸修改为Right(右对齐)。

文本现在应该看起来如图T5.8中右边的"After"图像所示。



图T5.8 Formatting a Text Box (**格式化文本框**)

36.5.3 *格式化文本框属性*

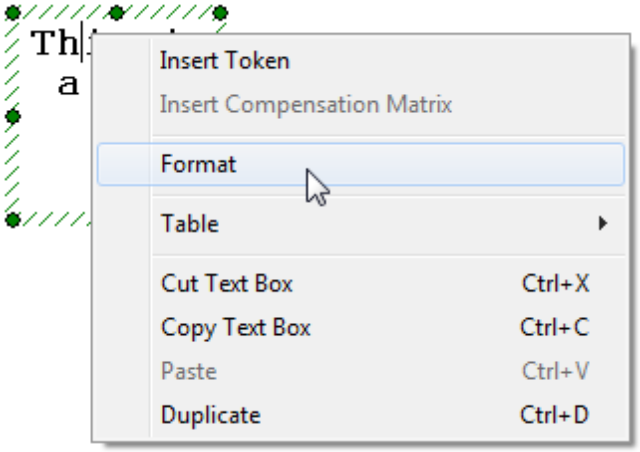
除了格式化文本框内的文本外，文本框自身的属性，例如大小、背景颜色以及边框类型均可被格式化。

在本节中，我们会:

- 修改边框。
- 修改文本框大小。
- 修改背景。

要格式化文本框属性:

1. 请右键点击图T5.6 594中的文本框。
2. 请从弹出菜单中选择**Format(格式)**(图T5.9)。



图T5.9 Selecting Format from the Pop-up Menu (**从弹出菜单中选择格式**)

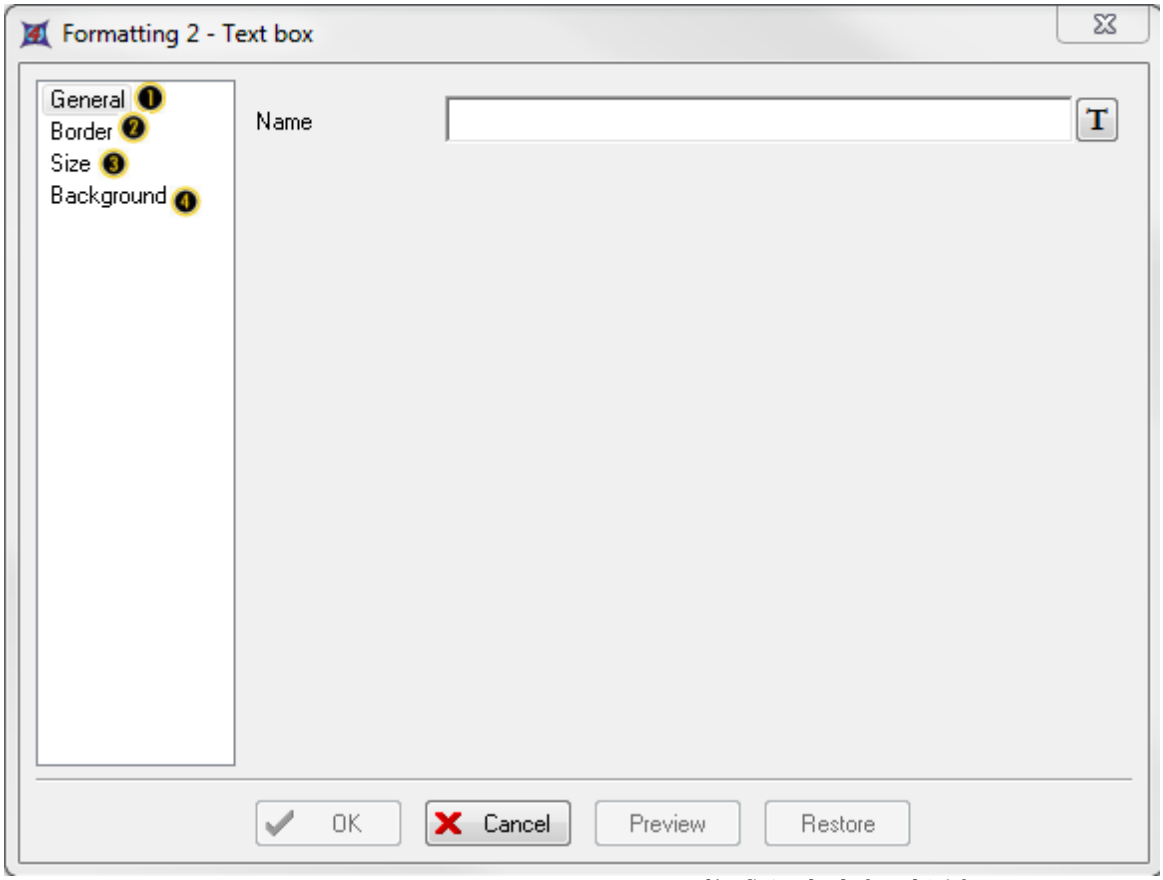
这时**Formatting Text box(格式化文本框)**对话框(图T5.10)会跳出，它包括四个类别选项:

A. General(常规) –修改文本框的名称❶。

B. Border(边框) –修改文本框边框或为文本框添加边框❷。

C. Size(尺寸) –修改文本框的大小❸。

D. Background(背景) –修改文本框的背景❹。

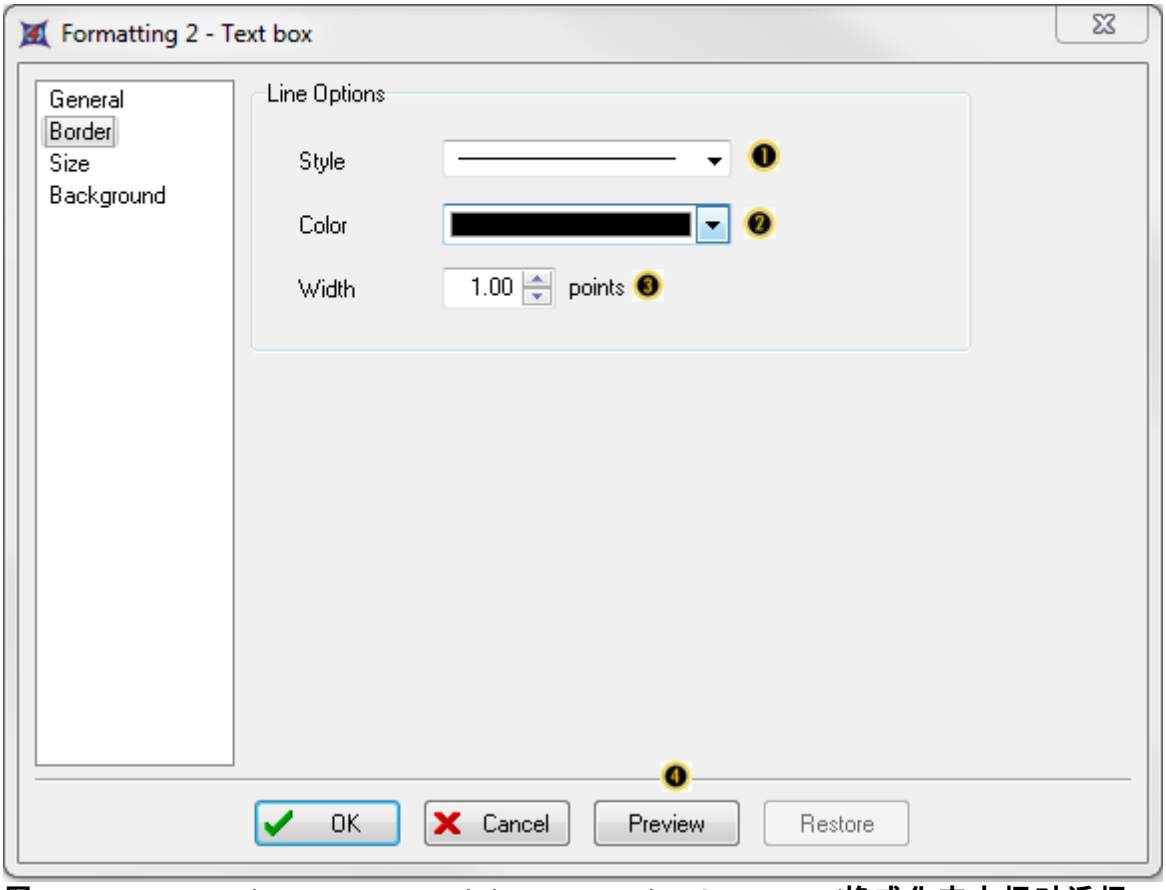


图T5.10 Formatting Text Box Dialog (**格式化文本框对话框**)

要修改边框:

1. 请点击**Formatting Text box(格式化文本框)**对话框里的**Border(边框)**类别选项❷(图T5.10)。

这时会出现**Border(边框)**页面(图T5.11)。

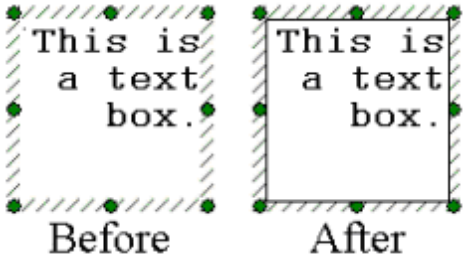


图T5.11 Formatting Text Box Dialog -- Border Category (**格式化文本框对话框 - 边框类别选项**)

在**Formatting Text box Border(格式化文本框边框)**页面上(图T5.11)，用户可以修改边框线型、颜色和粗细。默认的设置是没有边框。

2. 请从**Style(格式)** ❶ 下拉菜单中选择**Solid Line(实线)**。
3. 请从**Color(颜色)** ❷ 的下拉菜单中选择**Black(黑色)**。
4. 请从**Width(粗细)**字段使用箭头来选择线宽为**1.00** ❸ points(像素点)。
5. 请选择**Preview(预览)** ❹ 。

文本框现在看起来应该如图T5.12中右边的"After"图像所示。

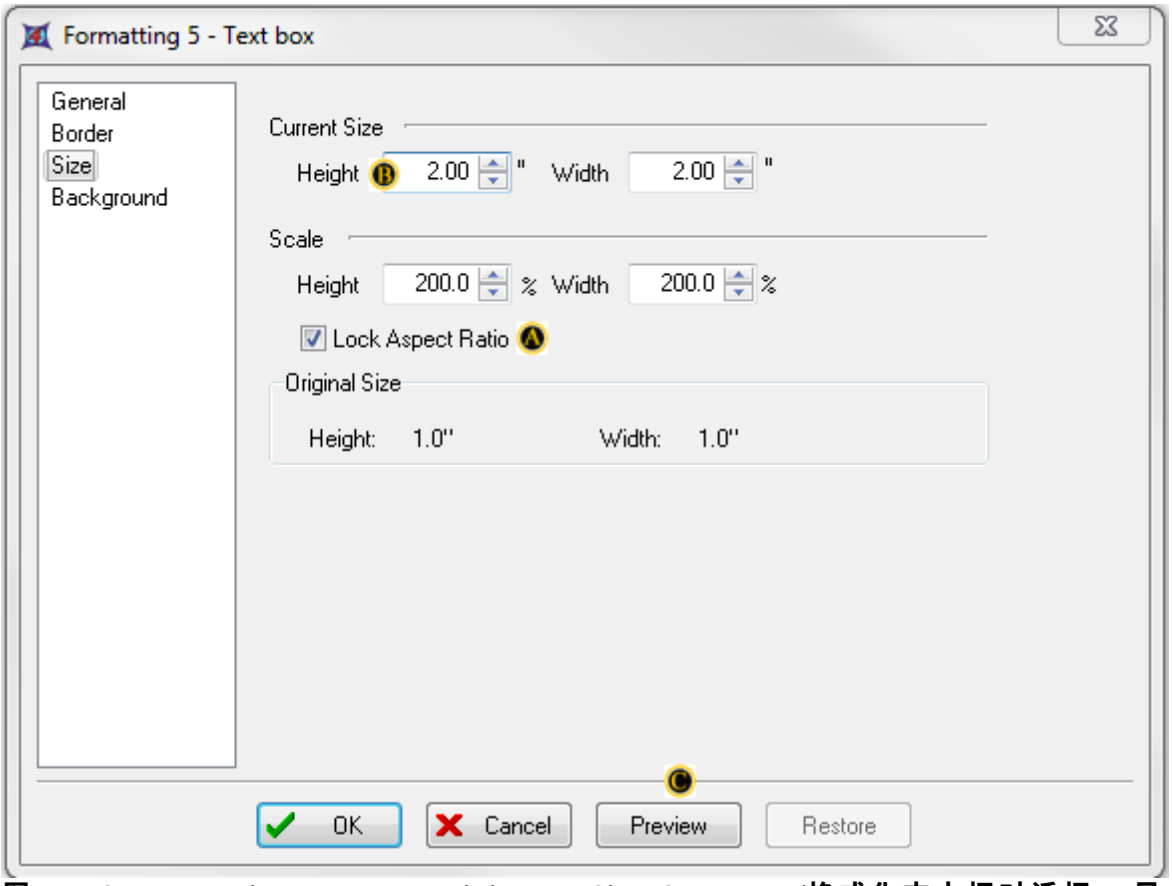


图T5.12 Text Box with Border (**有边框的文本框**)

要修改文本框的大小:

1. 请点击**Size(尺寸)**类别选项(图T5.10中的编号❸)。

这时会显示**Formatting Text box Size(格式化文本框尺寸)**页(图T5.13),用户可在其中修改文本框的大小。



图T5.12 Formatting Text Box Dialog -- Size Category (**格式化文本框对话框 - 尺寸类别选项**)

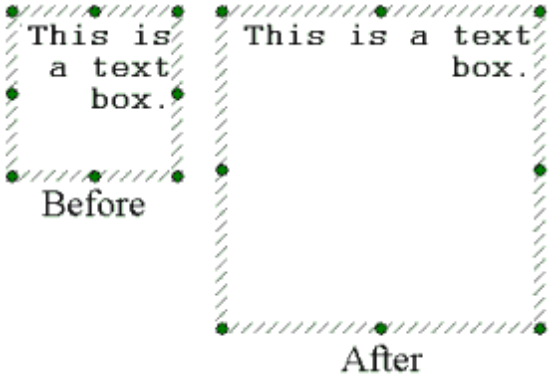
2.请点击**Lock Aspect Ratio(锁定宽高比)**A。

该选项会维持文本框原有的尺寸比例。

3. 请把**Height(高度)**改为**2.00 inches(2.00英寸)**B。把文本框高度设置为2.00英寸后，文本框的宽度也会自动调整为2.00英寸。

4. 请选择**Preview(预览)**C。

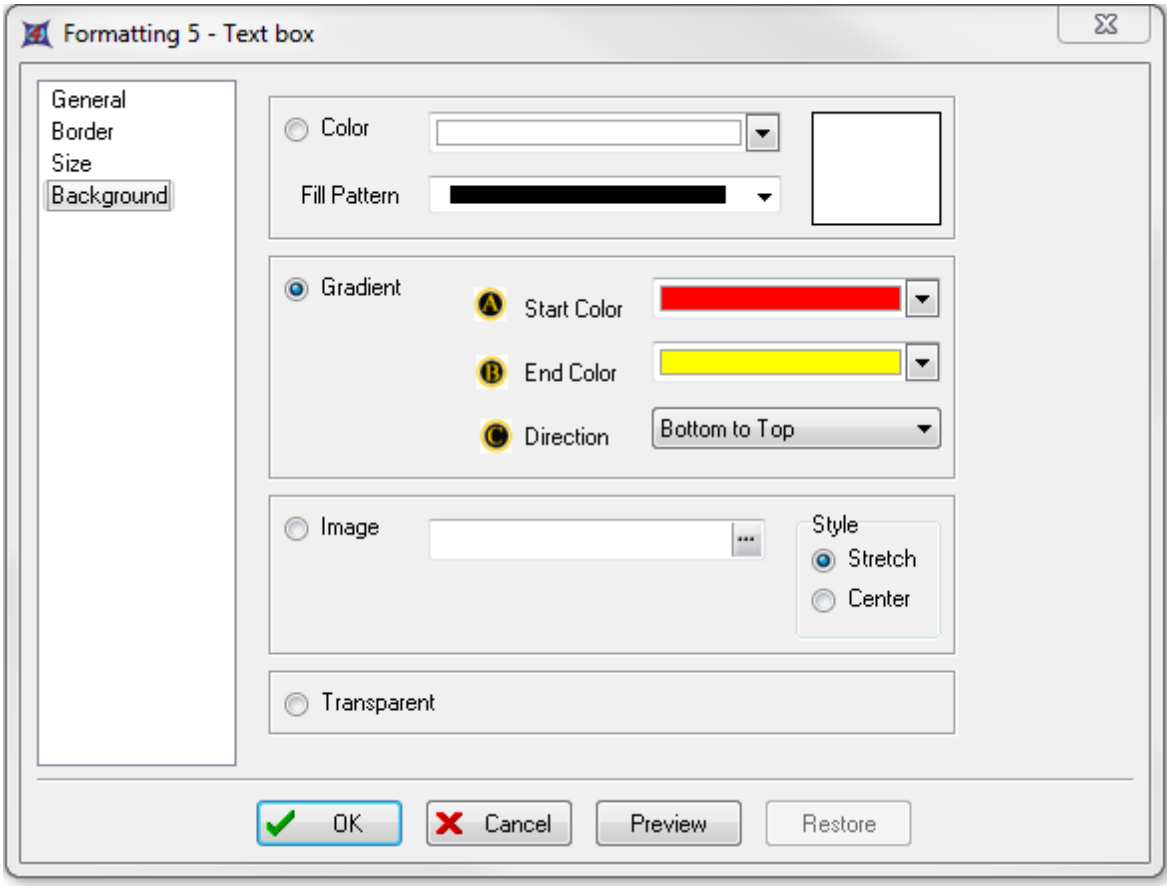
文本框这时看起来应该如图T5.14右边的"After"图像所示。



图T5.14 Modified Text Box Size (**修改后的文本框尺寸**)

要修改文本框的背景:

1. 请点击**Formatting Textbox(格式化文本框)**对话框(图T5.15)中的**Background(背景)**类别选项。

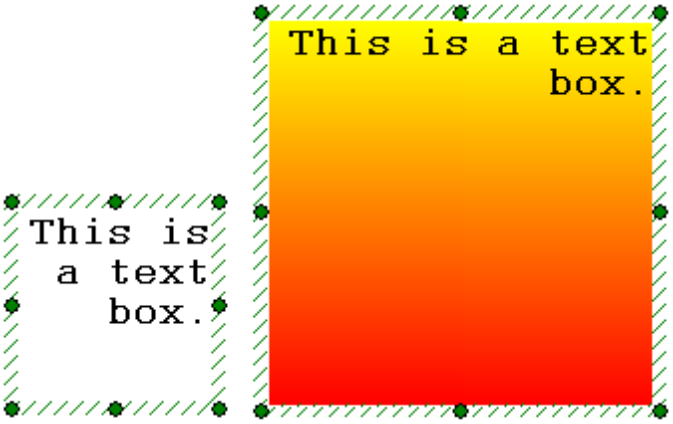


图T5.15 Formatting Text Box Dialog -- Background Category (**格式化文本框对话框 - 背景类别选项**)

这时会出现**Background(背景)**类别选项(图T5.15)。在此可以修改文本框的背景。默认的背景是纯白色。

2. 请从**background(背景)**区选择**Gradient(渐变)**。
3. 请把**Start Color(渐变开始色)**改为**Red(红色)**(图T5.15中的编号A)。
4. 请把**End Color(渐变终止颜色)**修改为**Yellow(黄色)**(图T5.15中的编号B)。
5. 请把**Direction(方向)**修改为**Bottom to Top(从底到顶)**(图T5.15中的编号C T5.15)。
6. 请点击**OK**。

最后的图像看起来应该如图T5.16右边的图像所示。



图T5.16 Text Box with New Background (**有新背景的文本框**)

7. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**来关闭我们刚刚使用的版面。

36.5.4 *插入和修改表格*

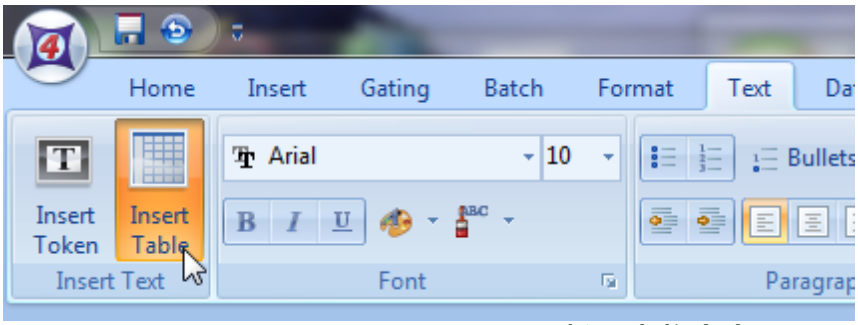
表格是版面中另一种插入数据和管理数据的方法。FCS Express支持许多与表格相关的格式化选项。

在本节中，我们会:

- 在文本框中插入一个表格。
- 修改表格属性。

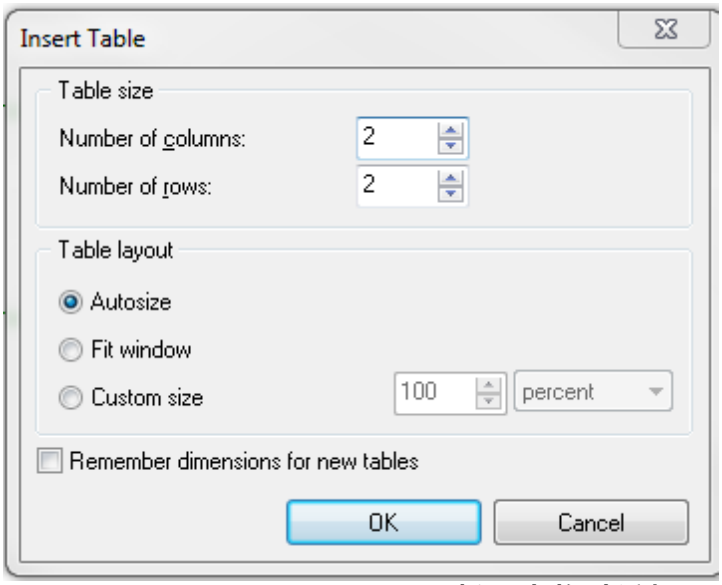
要插入表格:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→New Layout(新版面)**来打开一个新的版面。
2. 请插入一个文本框，使其处于编辑模式(绿色边框)。要想获取如何插入文本框方面的帮助，请参见该教程以前的章节"插入文本框" 591。
3. 请选择**Text(文本)→Insert Text(插入文本)→Insert Table(插入表格)**命令(图T5.17)。(用户也可以在文本框中右键点击，从弹出菜单中选择**Table(表格)→Insert Table(插入表格)**)。



图T5.17 Insert Table Command (插入表格命令)

这时会弹出**Insert Table(插入表格)**对话框(图T5.18)。

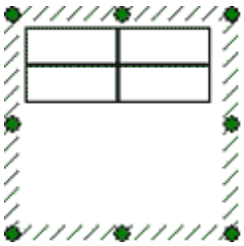


图T5.18 Insert Table Dialog (插入表格对话框)

在此可以选择新表格的属性。默认的设置是两行、两列的表格。

4. 请点击**OK**来接受默认的选项。

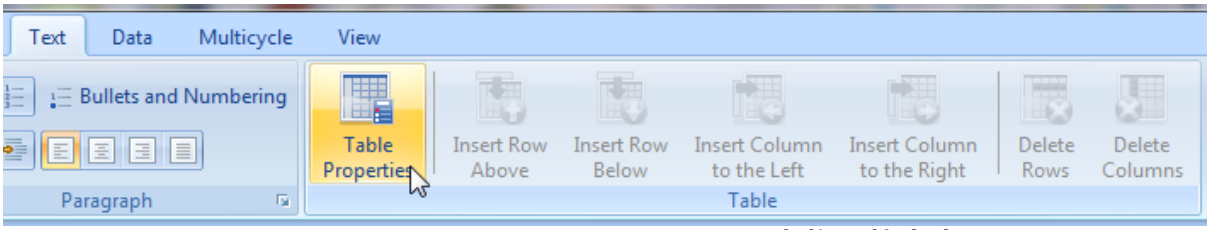
一个新的表格便出现在文本框的表格中(图T5.19)。



图T5.19 Table Inserted in a Text Box (**插入文本框中的表格**)

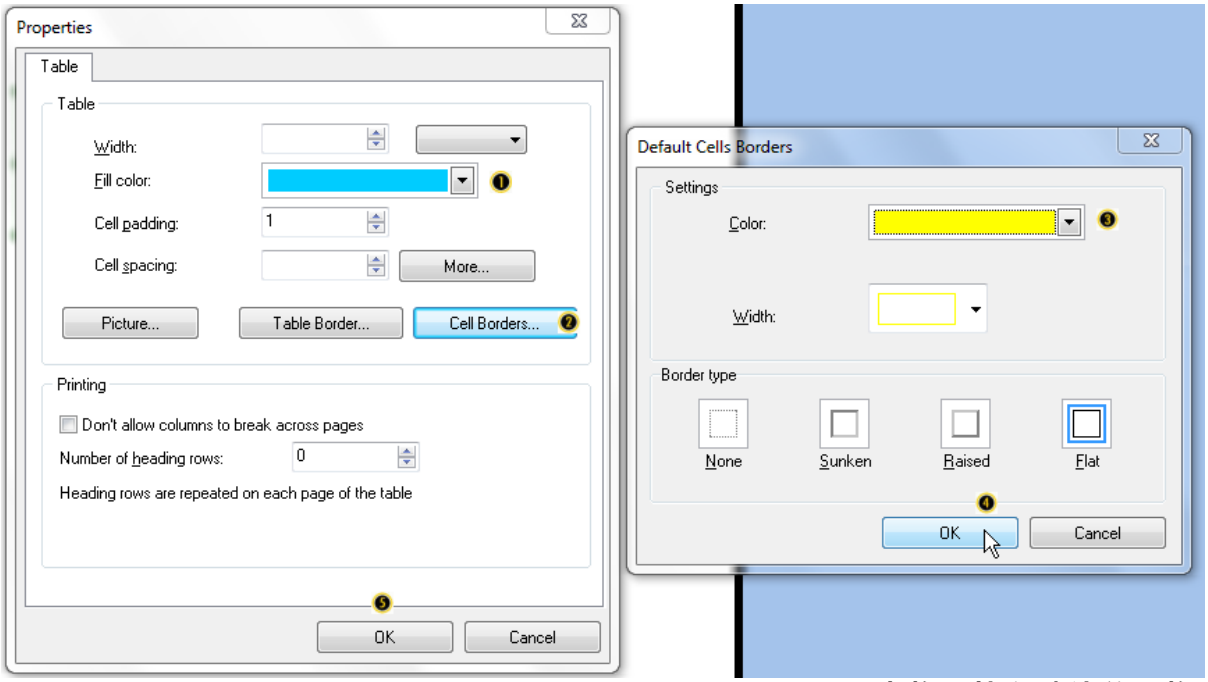
要修改表格:

1. 请点击表格内部来将其选中。
2. 请选择**Text(文本)→Table(表格)→Table Properties(表格属性)**命令(图T5.20) ;或者右键点击表格, 然后选择**Table(表格)→Table Properties(表格属性)**。



图T5.20 Table Properties Command (**表格属性命令**)

这时会弹出**Properties(属性)**对话框(图T5.21左图)。



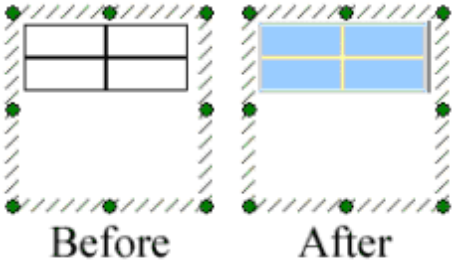
图T5.21 Table Properties and Default Cells Border Dialogs (**表格属性和默认单元格边框对话框**)

3. 请从**Fill Color(填充色)**❶下拉列表中选择**Sky Blue(天蓝色)**颜色。
4. 请点击**Cell Borders…(单元格边框...)**按钮❷。

这时会跳出**Default Cells Borders(默认单元格边框)**对话框(图T5.21右图)。

5. 请把单元格边框的**Color(颜色)**设置为**Yellow(黄色)** 。
6. 请点击**Default Cells Borders(默认单元格边框)**对话框上的**OK**按钮❹。
7. 请点击表格**Properties(属性)**对话框上的**OK**按钮❺来接受这些修改。

最后的表格看起来应该如图T5.22右边的表格所示。



图T5.22 Formatted Table (**格式化后的表格**)

8. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**来关闭正在使用的版面。

36.5.5 *插入和修改标记*

标记可以显示很多类型的项目: 统计、统计分类器、文件信息以及自定义数值。用户可以在文本框中插入标记。在关于标记的以下三节中，我们将使用在教程样本数据库510中的**ApoMono.002**文件。

在本节中，我们会:

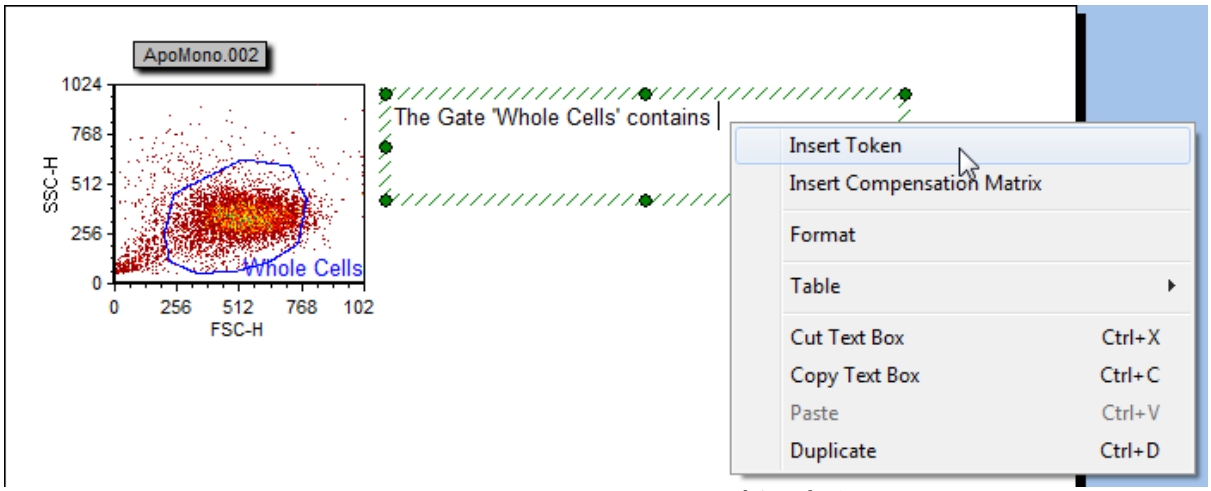
- 在文本框中插入标记。
- 修改标记的格式化选项。

要插入标记:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开在教程样本数据库510中的版面文件**TokenInsertion.fey**。
3. 在文本框中不完整的句子"The Gate 'Whole Cells' contains('Whole Cells'门包括)"中的"contains(包括)"后面左键点击。文本框这时应该出现一个绿色边框，表明它处于编辑模式，光标也应该在*contains*后边闪动。

我们将用统计数据"Whole Cells"门中的**#of Cells(细胞数)**来补全这句话。

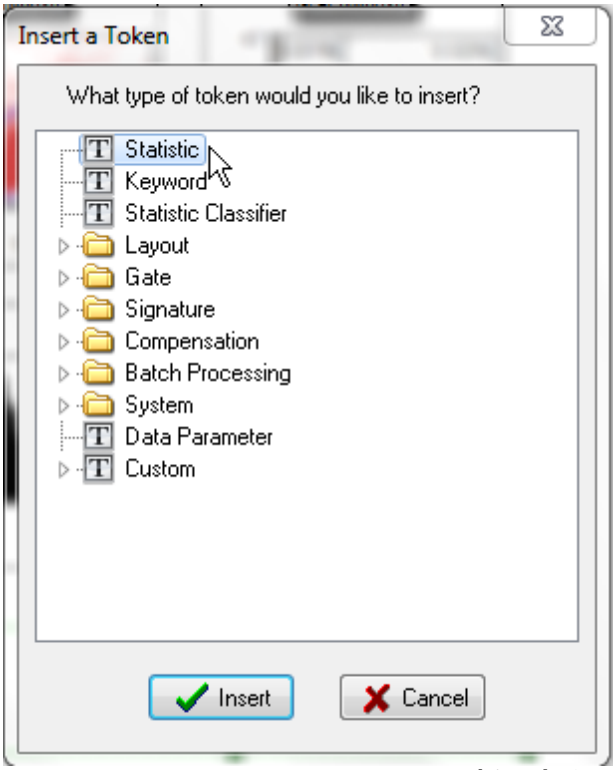
4. 在所选的文本框中右键点击。
5. 请从弹出菜单选择**Insert Token(插入标记)**(图T5.23)。



图T5.23 Inserting a Token (**插入标记**)

用户也可以用**Text(文本)→Insert Text(插入文本)→Insert Token(插入标记)**命令来插入标记。

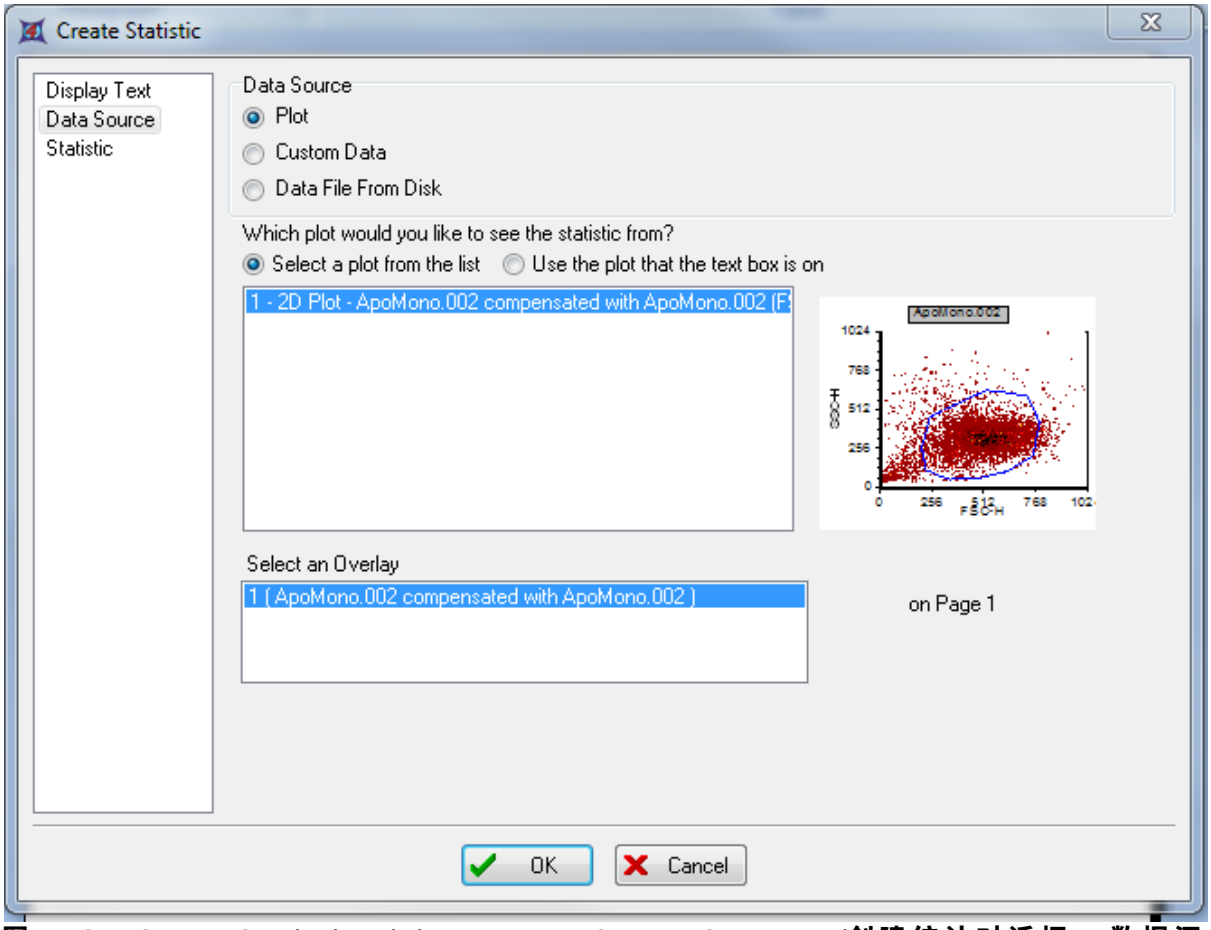
这时会弹出一个**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T5.24)。



图T5.24 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

6. 请点**Statistic(统计)**。
7. 请在对话框底部点击**Insert(插入)**。

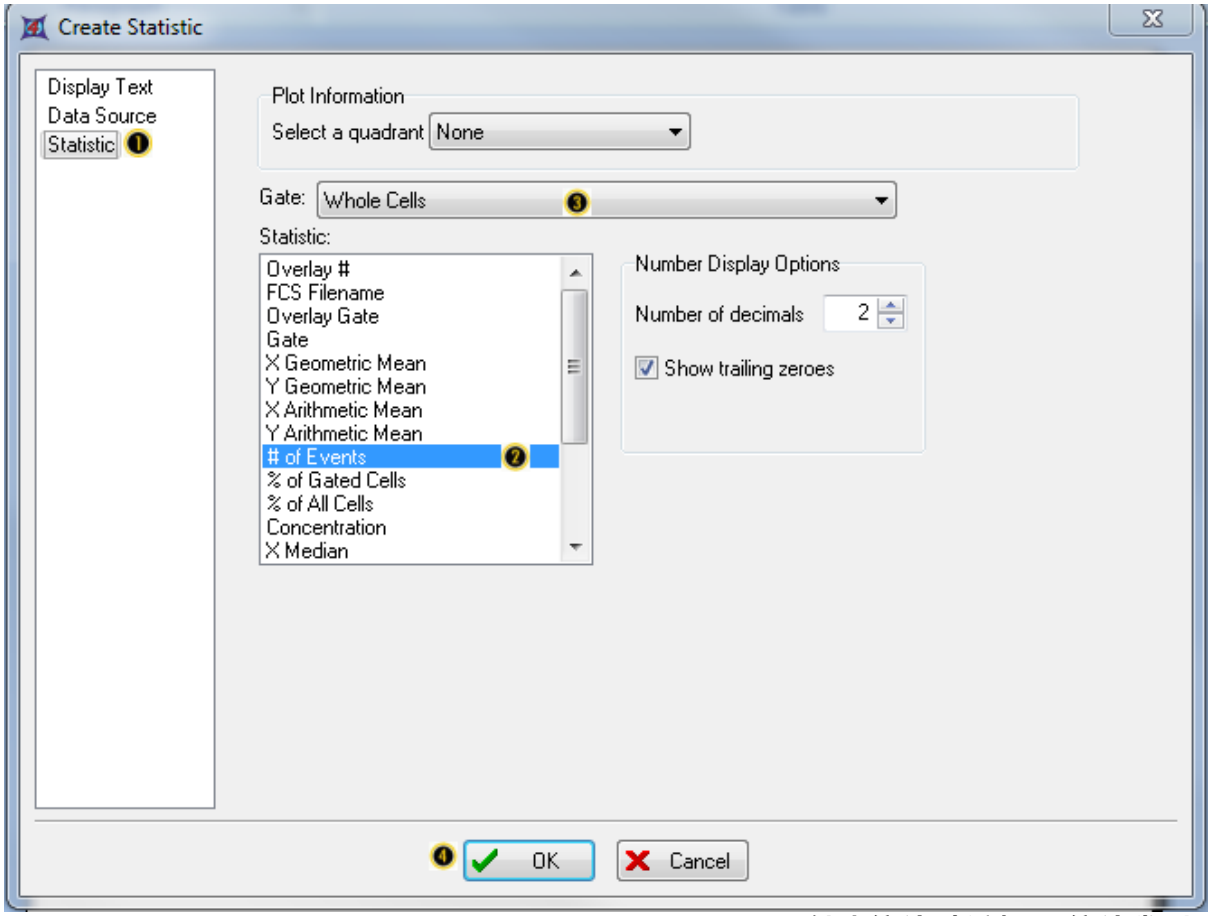
这时会弹出**Create Statistic(创建统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**类别选项(图T5.25)。用户不需要修改数据源，因为对话框中显示的数据源已经是ApoMono.002文件对应的FSC- SSC作图了。



图T5.25 Create Statistic Dialog -- Data Source Category (**创建统计对话框 - 数据源类别选项**)

8. 请点击**Create Statistic(创建统计)**对话框上的**Statistic(统计)**类别选项(图T5.26中的编号❶)。

这时显示在用户面前的将是**Create Statistic(创建统计)**对话框上的**Statistic(统计)**页面(图T5.26)。



图T5.26 Create Statistic Dialog -- Statistic Category (**创建统计对话框 - 统计类别选项**)

我们在这里选择想要显示的统计信息(图T5.26)。

9. 请选择**统计**列表框中的**#of Events(事件数)** ❷。

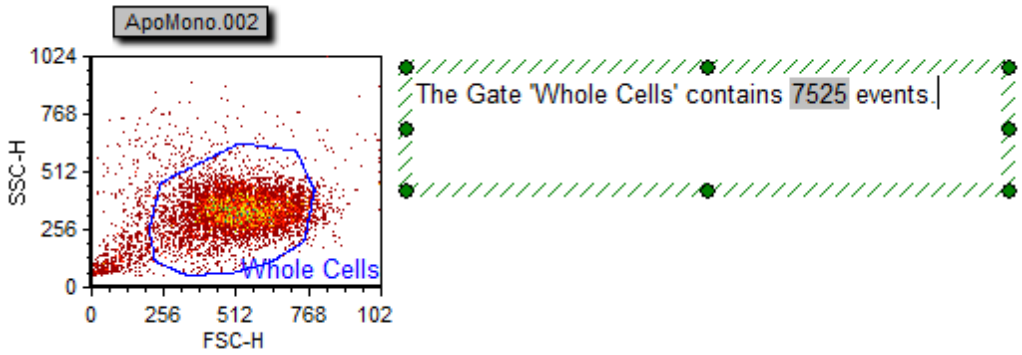
10. 请从**Gate(门)**下拉列表中选中**Whole Cells(所有细胞)** ❸。

11. 请点击**OK**键 ❹。

这时统计(# of events(事件数))便出现在文本框中的文本'The Gate Whole Cells contains'之后；当文本框处于编辑模式(绿色边框)时，该统计将显示为灰色高亮。灰色的背景表明该段文本是一个标记，不能被直接编辑。

12. 请在键盘上按下空格键并在文本框中的标记之后输入'events.'来补全整个句子。

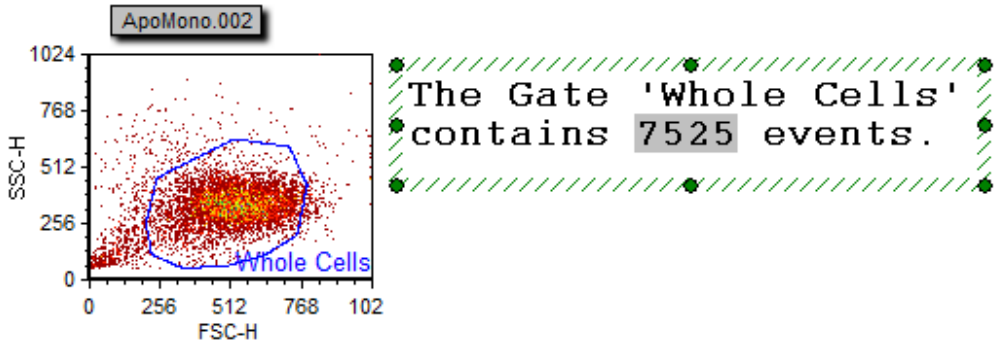
文本框现在看起来应该如图T5.27所示。标记文本和文本框中的普通文本有着相同的文本设置。



图T5.27 Text Box with Token (**含有标记的文本框**)

注: 标记也可以被插入到表格中。

用户对标记字体的格式化和对普通文本字体的格式化(前面介绍过)方式相同。图T5.28中的文本和图T5.27中的文本完全一样，只是字体改成了Courier、15pt和粗体。要想更多地了解如何修改文本框的文本格式，请参见格式化文本框中的文本一节 594。



图T5.28 Formatted Token Font (**格式化后的标记字体**)

用户也可以通过把绘图拖放到文本框里的方式把标记插入到文本框中。

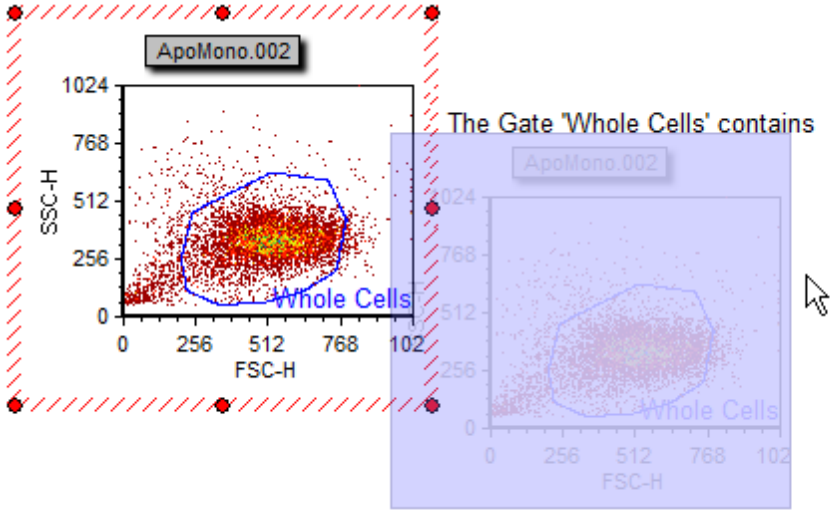
要通过拖放的方式插入标记:

首先，我们需要删除文本框中的标记。

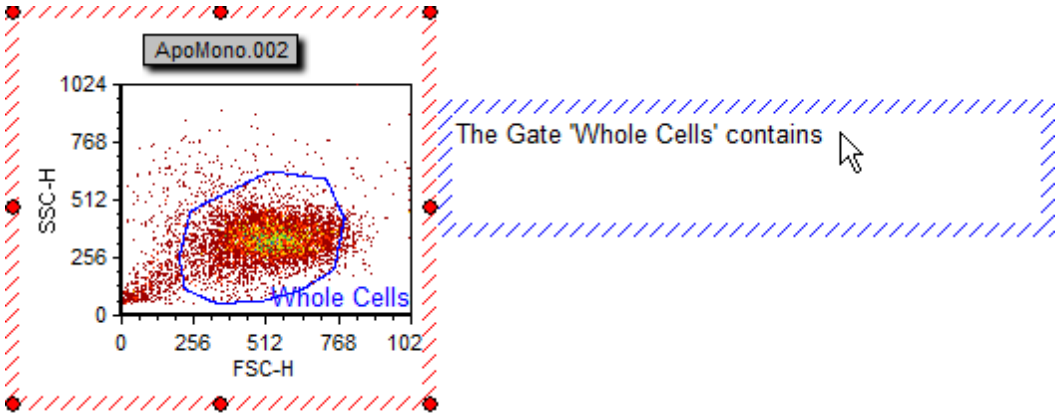
1. 请高亮选中文本框中的"**7525 events**."文本。

2. 请按下**Delete(删除)**键来删除该标记。
3. 请左键点击绘图**SSC- H v FSC- H ApoMono.002**的边框。绘图的边框应该变成红色来显示它处于编辑模式。
4. 按下鼠标左键不放，把光标(图T5.28)拖到文本框中"**contains**"后面的空白处(图T5.29)。

请松开鼠标键来把绘图放到文本框中。

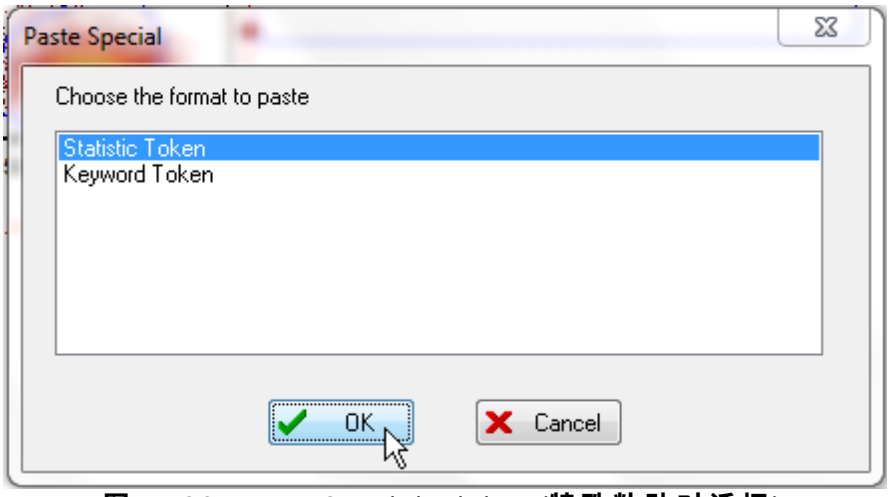


图T5.28 Dragging Token from Plot onto Text Box (**把标记从绘图中拖放到文本框中**)



图T5.29 Dropping Token onto Text Box (**把标记放到文本框中**)

这时会跳出**Paste Special(特殊粘贴)**对话框(图T5.30)。

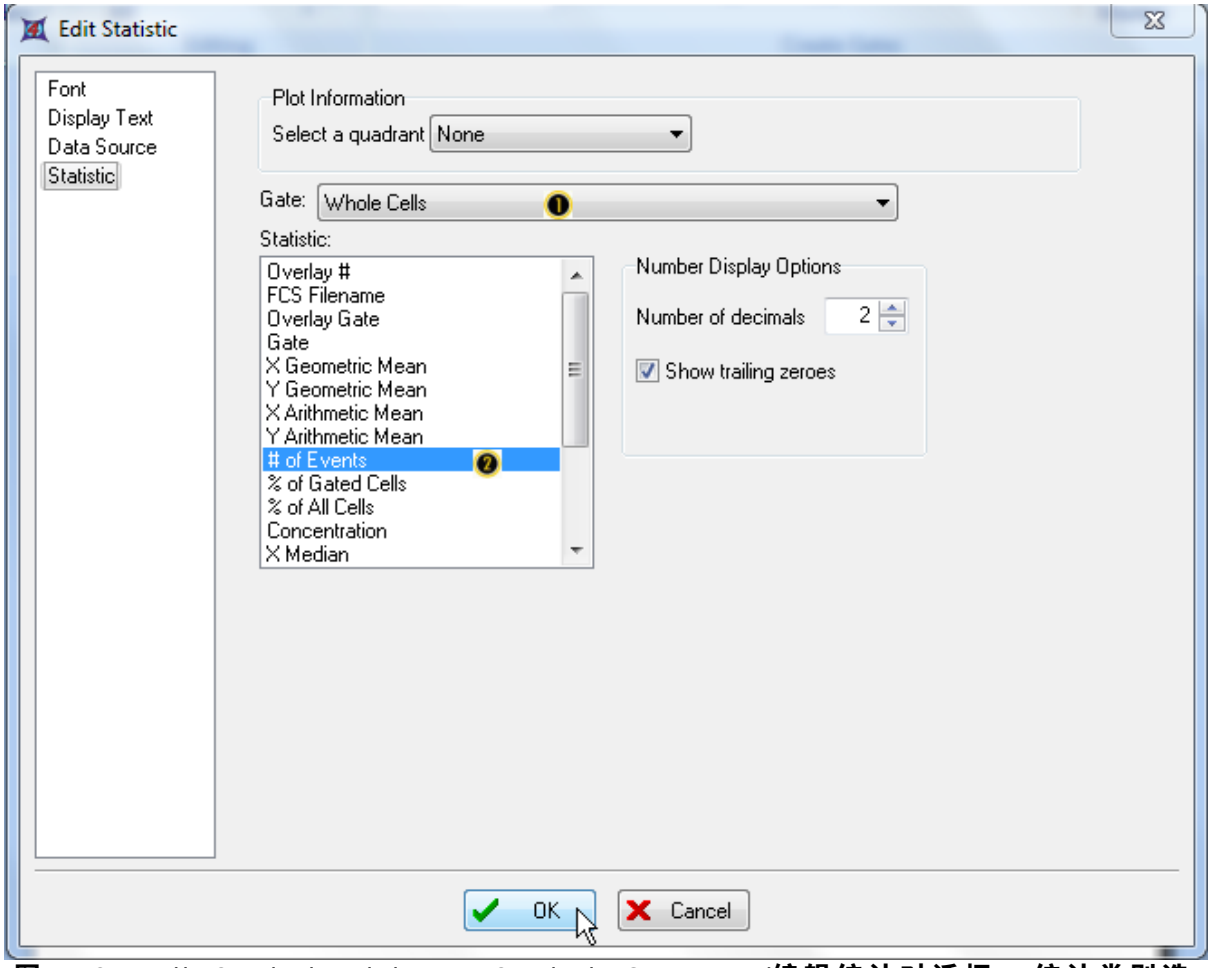


图T5.30 Paste Special Dialog (特殊粘贴对话框)

6. 请从**Paste Special(特殊粘贴)**对话框中选中**Statistic Token(统计标记)**(图T5.30)。
7. 请点击**OK**键。

这时会跳出**Edit Statistic(编辑统计)**对话框(图T5.31)。

8. 请在**Gate(门)**字段中选择**Whole Cells(所有细胞)** ❶(图T5.31)。
9. 请从**Statistic(统计)**框中选择**#of Events(事件数)** ❷一项。
10. 请点击**OK**。



图T5.31 Edit Statistic Dialog -- Statistic Category (**编辑统计对话框 - 统计类别选项**)

事件数(高亮为灰色)将会作为标记插入到文本框中的"**contains**"之后(图T5.29)。

11. 请在文本框中事件数标记(高亮为灰色)之后单击。

12. 在键盘上按下空格键，然后输入"events(事件)."来补全整个句子。

文本框现在看起来应如图T5.28所示。

13. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**来关闭我们正在使用的这个版面。

36.5.6 创建分类器标识

分类器标识从统计或自定义标记那里接收一个数值，然后把它划分到不同的类别。在该例子中，我们将使用在ApoMono.002文件中找到的FL1和FL2"与"操作后的阳性事件百分比，然后把该值分为低、中和高三类。

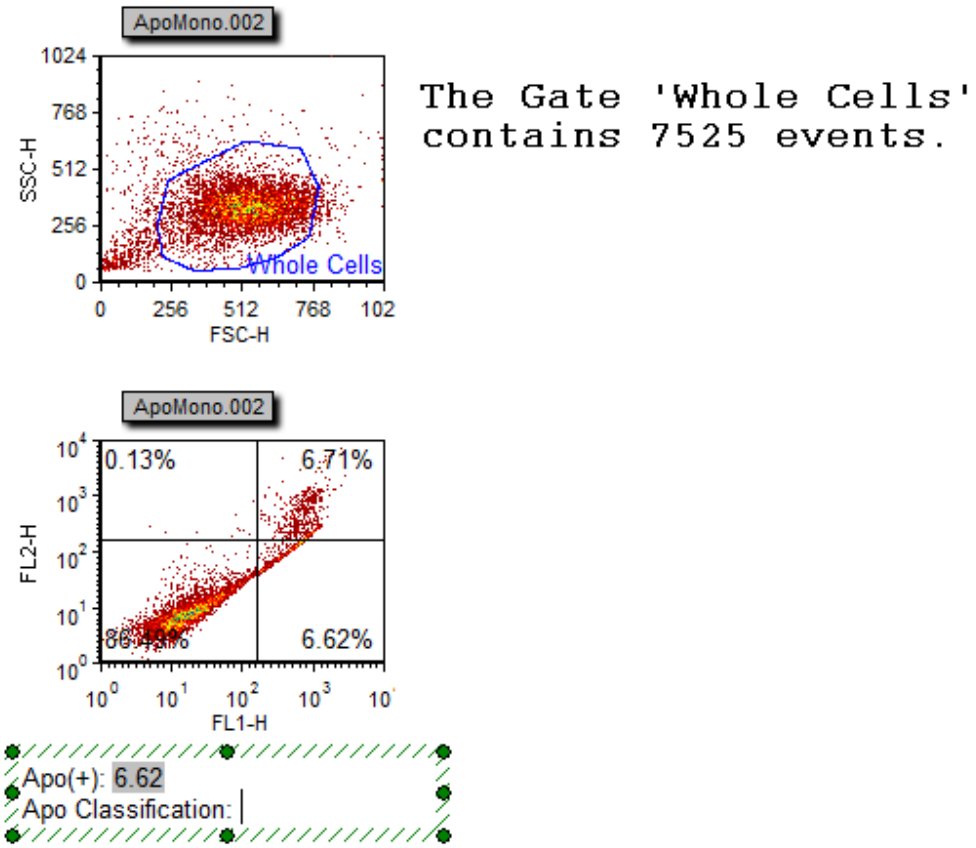
在本节中，我们会:

- 创建一个分类器标记。
- 创建三个分类条件。

要插入一个分类器标记:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库510中的**TokenClassifier.fey**版面。

该版面(图T5.32)包括在本教程"插入和修改标记"一节607中创建的绘图和文本框。绘图下方是一个新的、带有象限的FL1- FL2绘图，阳性百分比数据标记以及另外一个含有文本'ApoMono Classification(ApoMono分类条件):'的文本框。我们将在图T5.32中的文本末端插入一个统计分类器。



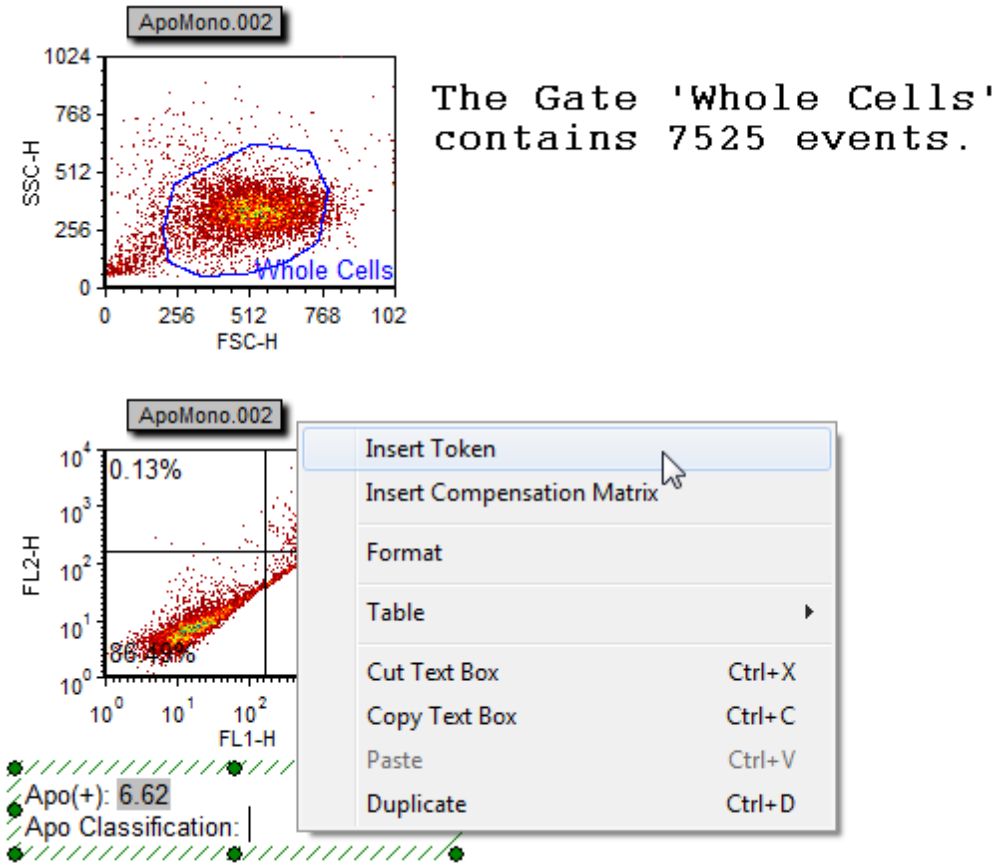
图T5.32 Token Classifier Layout (TokenClassifier.fey) (**标记分类器版面** (TokenClassifier.fey))

3. 请点击含有文本'Apo Classification:'的不完整的句子。

我们将使用右上象限的**% of Cells(细胞百分比)**(在该例子中是6.71%)对应的统计分类器来补全这个句子。

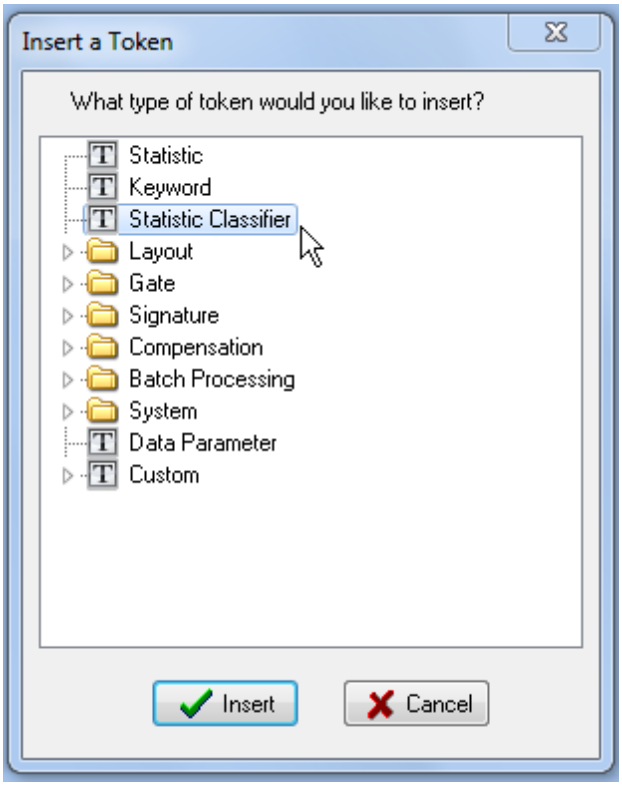
4. 请在文本框中'Apo Classification:'之后点击右键。

5. 请从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**(图T5.33)。



图T5.33 Selecting Insert Token from the Pop-up Menu (**从弹出菜单中选择插入标记**)

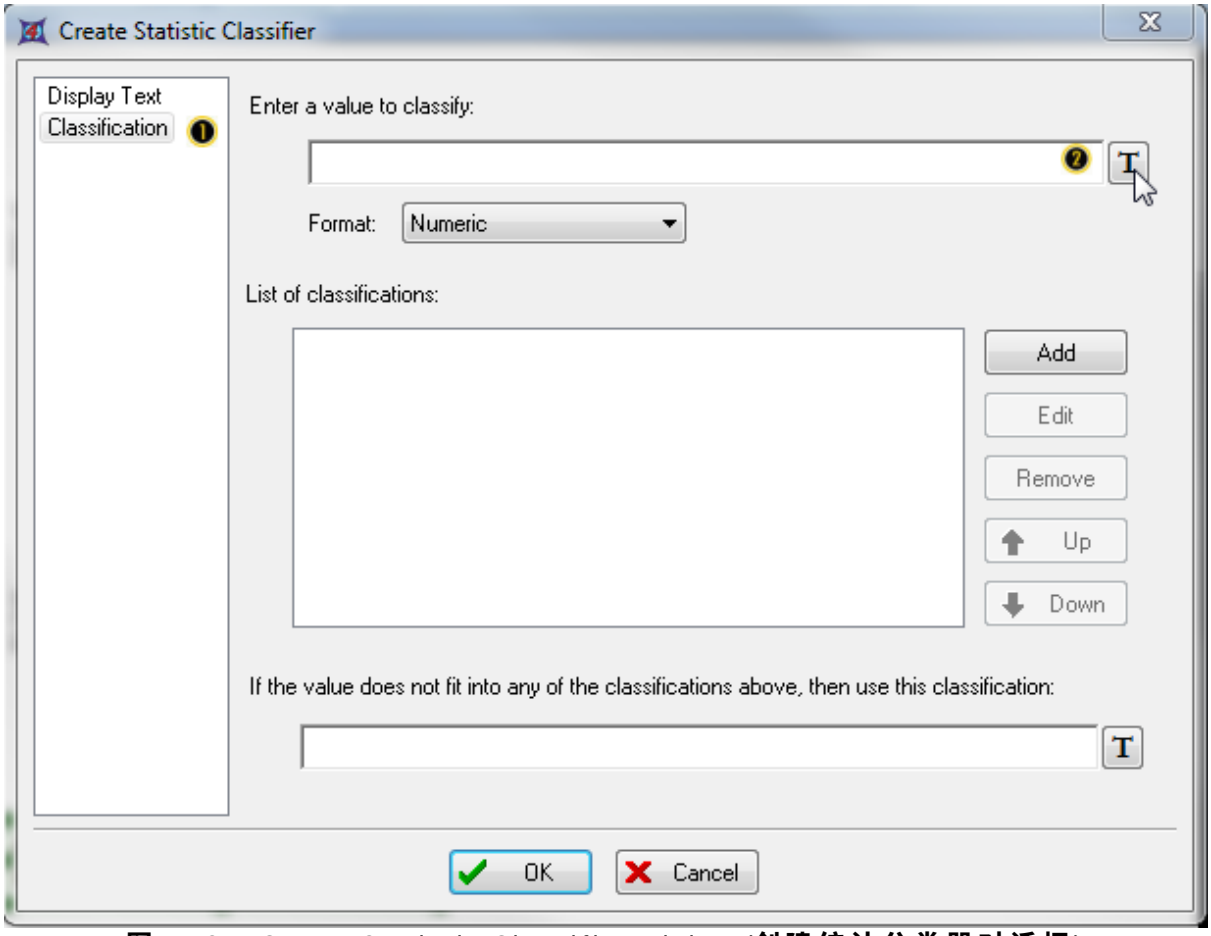
这时会弹出**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T5.34)。



图T5.34 Selecting Statistic Classifier from the Insert a Token Dialog (**从插入标记对话框中选择统计分类器**)

6. 请点击**Statistic Classifier(统计分类器)**作为要插入的标记类型。
7. 请点击**Insert(插入)**。

这时会弹出**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框(图T5.35)。



图T5.35 Create Statistic Classifier Dialog (**创建统计分类器对话框**)

8. 请点击**Classification(分类规则)**类别选项(图T5.35中的❶)。

在此我们将输入被分类的统计以及对统计数据进行分类的分类条件。

9. 请点击**Enter a value to classify(输入要分类的数值)**字段旁边的T(图T5.35中的❷)。

这时会跳出另外一个类似于图T5.34中的**Insert a Token(插入标记)**对话框。

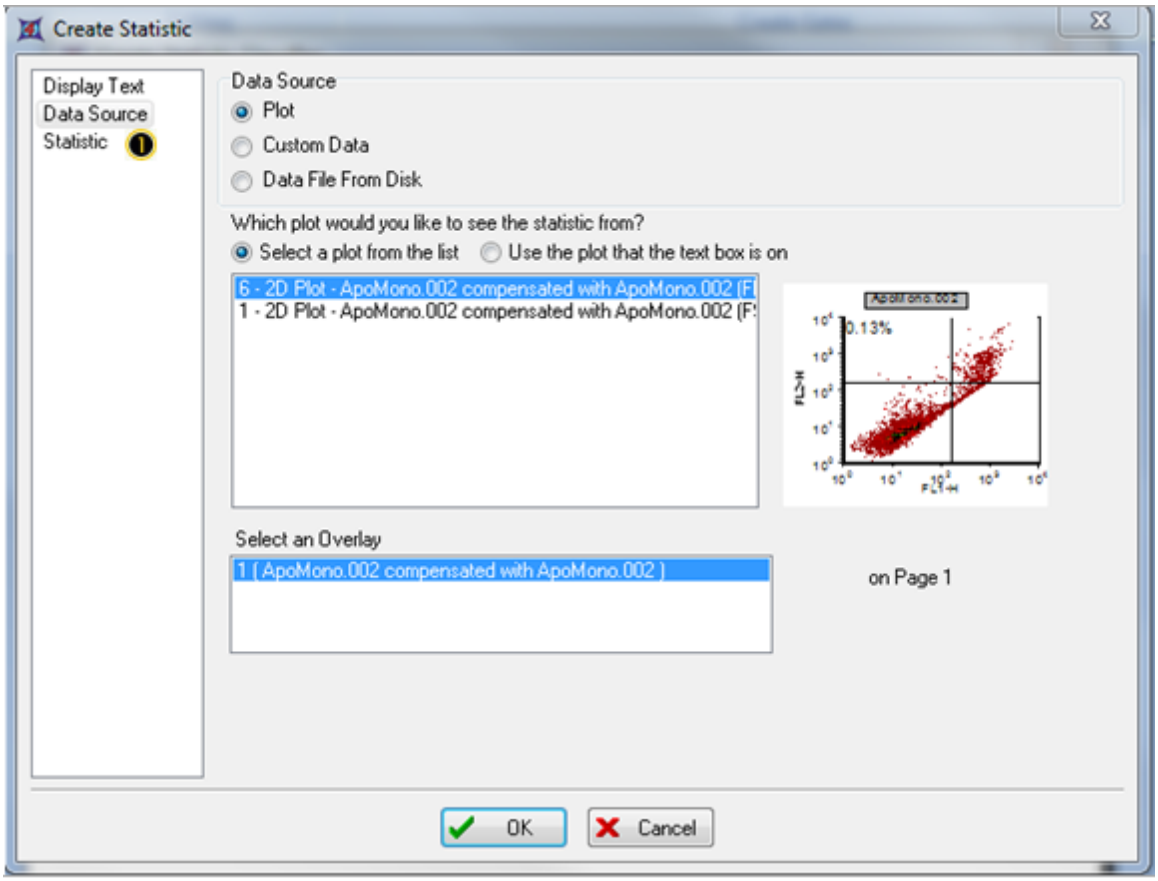
10. 请选择**Statistic(统计)**作为被分类的标记类别。

11. 请选择**Insert(插入)**。

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**类别选项(图T5.36)。

12. 请选择**6 - 2D plot - ApoMono.002 (FL1 vs. FL2)**作为数据源(图T5.36)。

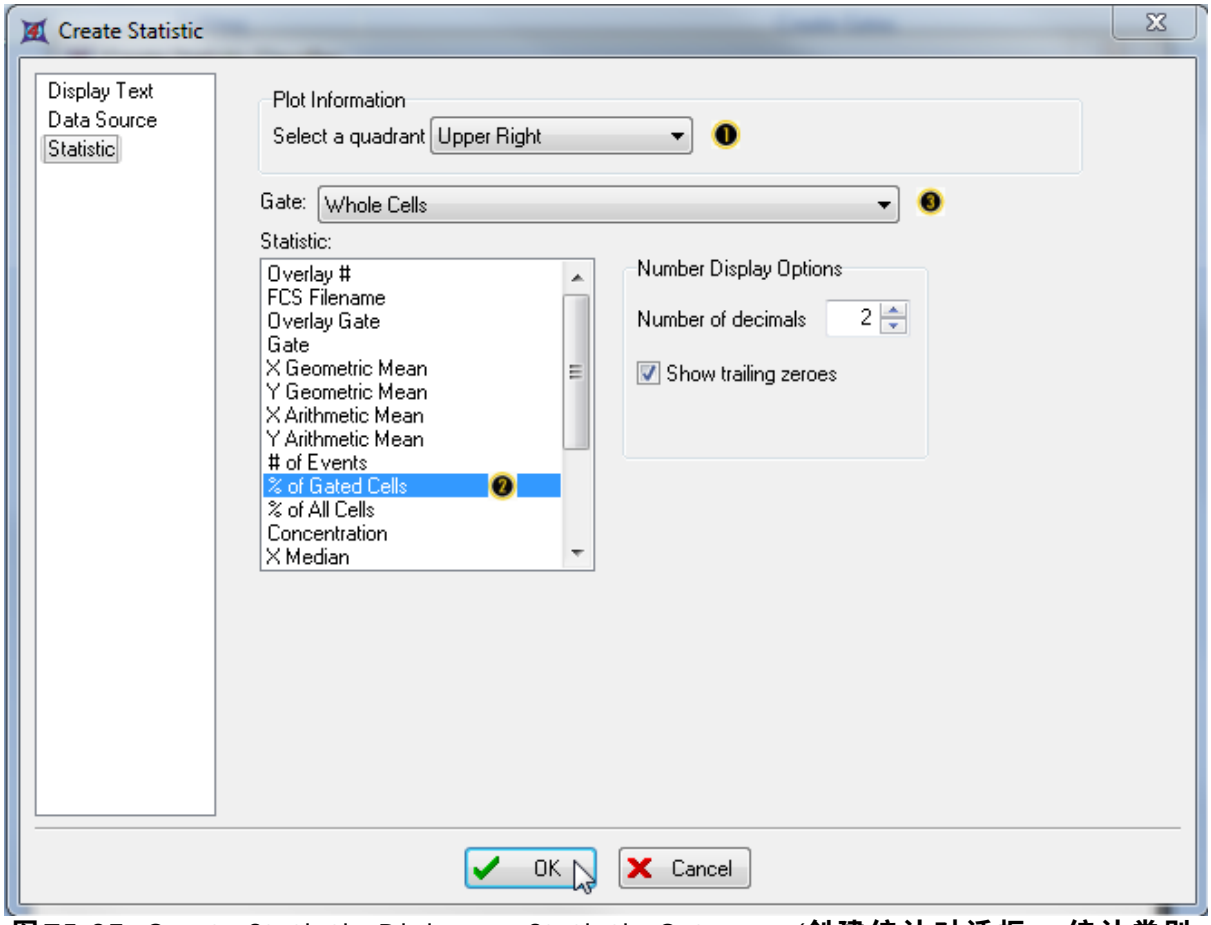
13. 请点击**Statistic(统计)**类别选项❶(图T5.36)。



图T5.36 Create Statistic Dialog -- Data Source Category (**创建统计对话框 - 数据源类别选项**)

现在我们将从**Create Statistic(创建统计)**对话框中选择要被分类的统计数据(图T5.37)。

14. 请从**Select a quadrant(选择象限)**下拉列表中选择**Upper Right(右上)**(图T5.37中的❶)。
15. 请从**Statistic:(统计:)**列表框中选择**% of Gated Cells(门中细胞百分比)**❷。
16. 请从**Gate:(门:)**的下拉列表中选择**Whole Cells(所有细胞)**❸。
17. 请点击**OK**。

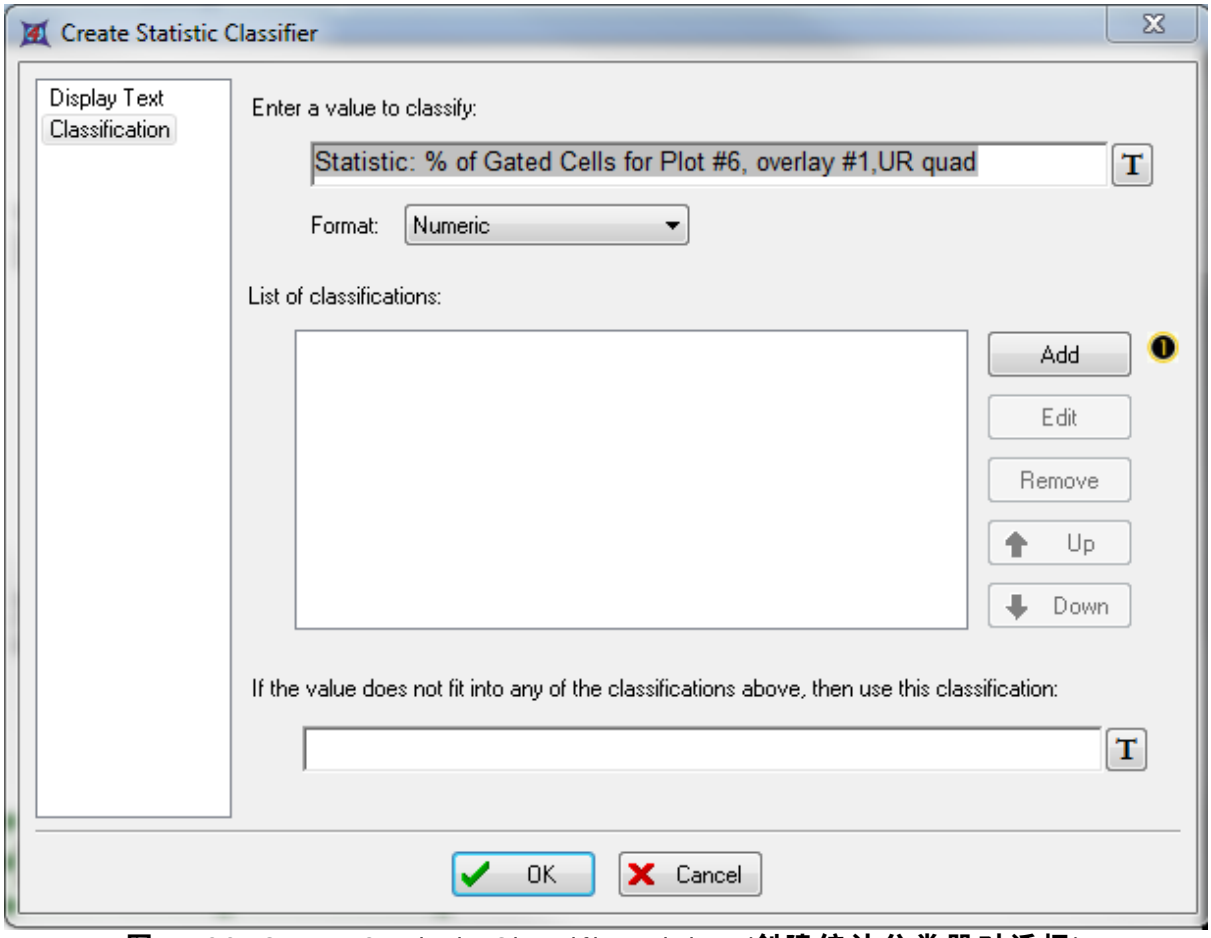


图T5.37 Create Statistic Dialog -- Statistic Category (**创建统计对话框 - 统计类别选项**)

这时会出现**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框，但这次对话框上含有我们刚刚在**Enter a value to classify(输入要分类的数值)**字段中输入的公式。

现在我们需要在**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框中插入**List of classifications(分类规则列表)**(图T5.38)。

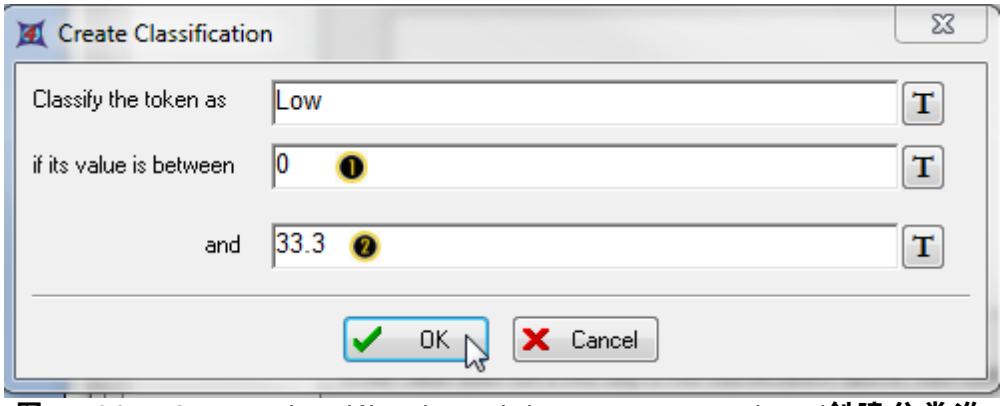
18. 请选择**Add(添加)** ❶(图T5.38)。



图T5.38 Create Statistic Classifier Dialog (**创建统计分类器对话框**)

这时会出现**Create Classification(创建分类规则)**对话框(图T5.39A)。

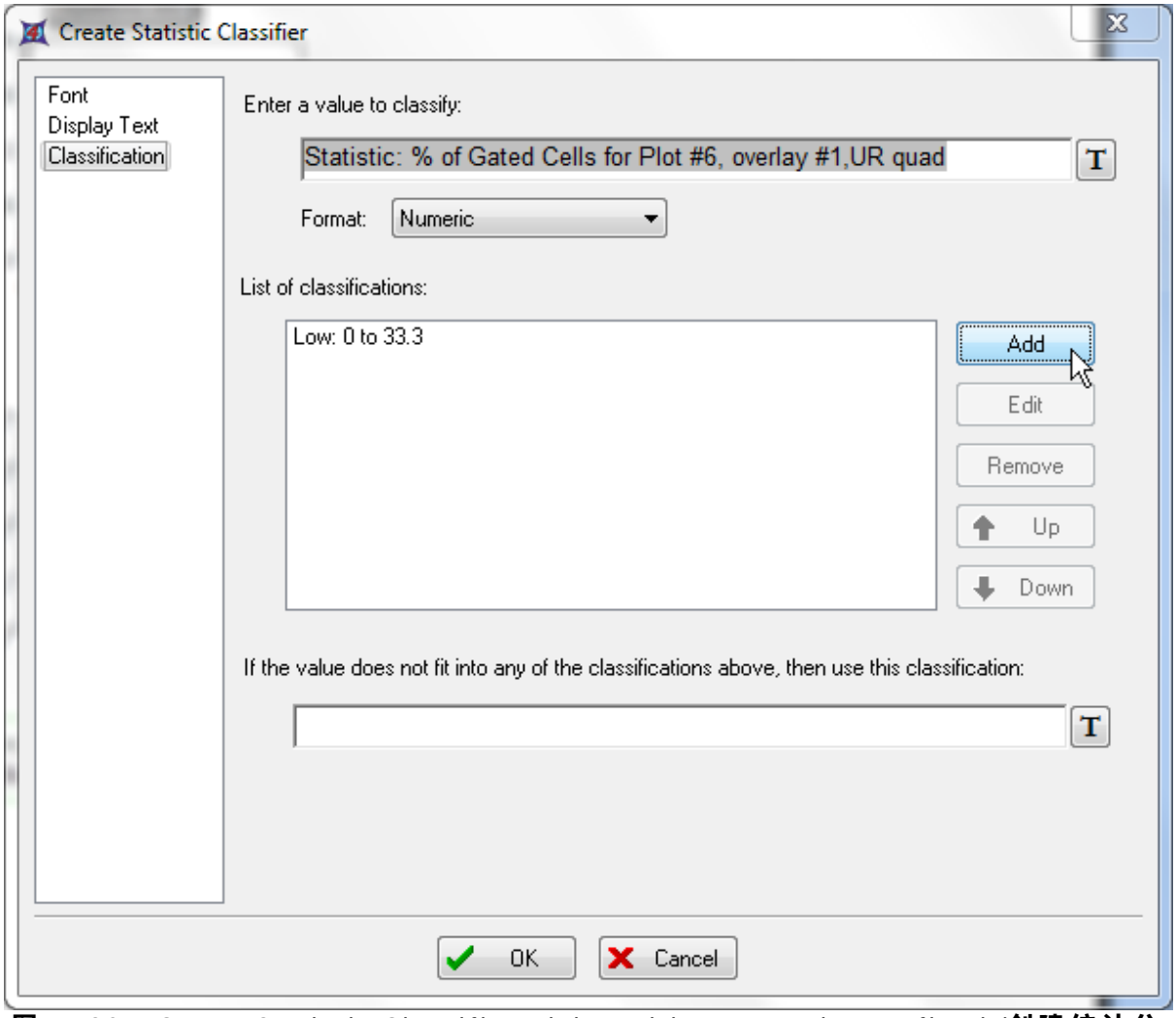
19. 请在**Classify the Token as(把标记归类为)**字段输入**Low(低)**。
20. 请输入**0** ❶作为下限。
21. 请输入**33.3** ❷作为上限。
22. 请点击**OK**。



图T5.39A Create classification Dialog -- "Low" Token (**创建分类准则对话框 - "低"标记**)

这时**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框会再次出现，"低"分类条件被列了出来(图T5.38)。

23. 请点击**Add(添加)**来在分类条件列表中加入一个新的"Medium(中)"(图T5.39B)。



图T5.39B Create Statistic Classifier Dialog with "Low" Token Defined (**创建统计分类器对话框，"低"标记已被定义好**)

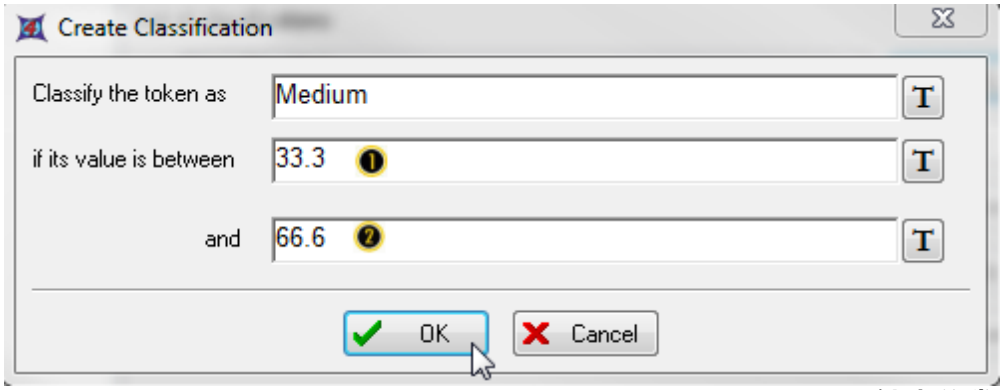
这时**Create Classification(创建分类规则)**对话框会再次出现(图T5.39C)，在此我们可以定义"Medium(中)"分类器标记。

24. 请在**Classify the Token as(把标记归类为)**字段中输入**Medium(中)**。

25. 请输入数值**33.3**作为下限❶。

26. 请输入数值**66.6**作为上限❷。

27.请点击**OK**键。



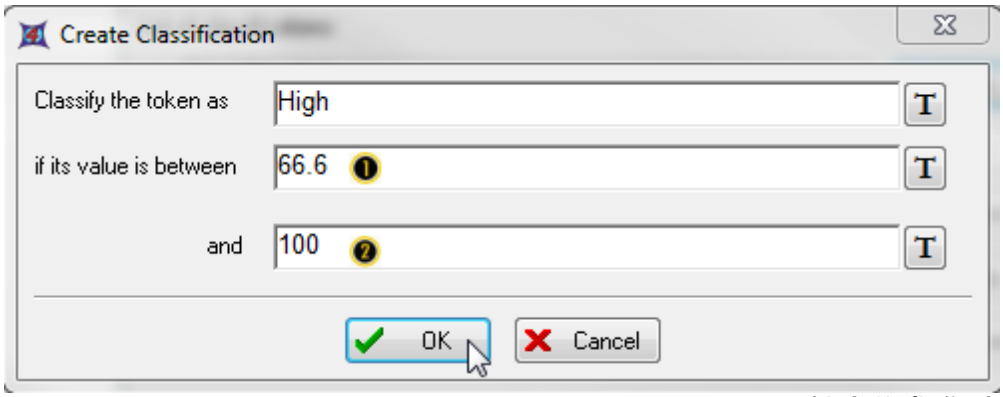
图T5.39C Create Classification Dialog -- "Medium" Token (创建分类器对话框 -- "中"标记)

Create Statistic Classifier(创建统计分类器)对话框会再次出现，外观和图T5.38相似，只是这次"Low(低)"和"Medium(中)"分类准则都列了出来。

28. 请从**Create Statistics Classifier(创建统计分类器)**对话框选择**Add(添加)**，来添加最后一个分类器，"High(高)"。

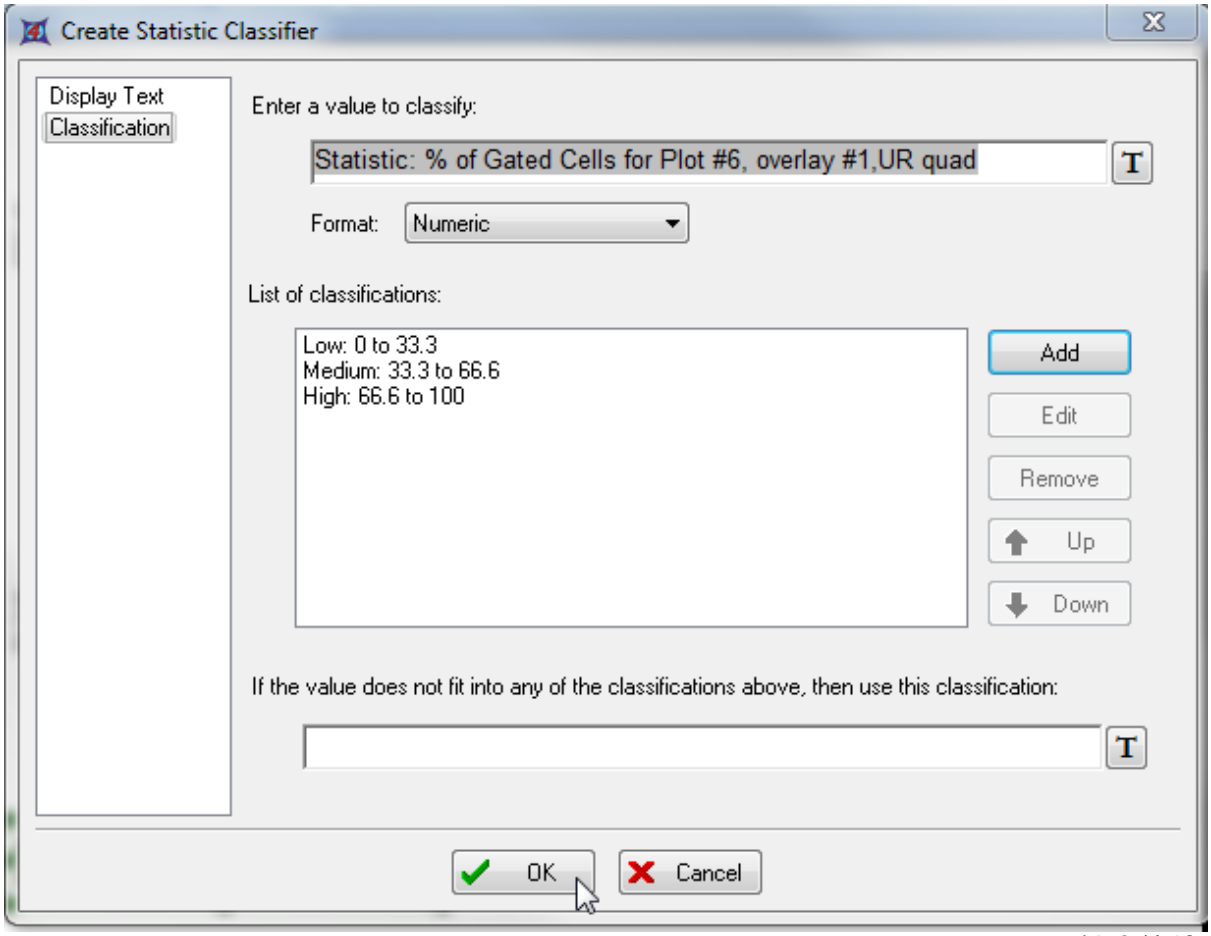
Create Classification(创建分类规则)对话框会再次出现(图T5.40)，在此我们来定义最后一个标记分类器。

29. 在**Classify the Token as(把标记归类为)**字段输入**High(高)**(图T5.40)。
30. 请输入数值**66.6** ❶作为下限。
31. 请输入数值**100** ❷作为上限。
32. 请点击**OK**。



图T5.40 Create Classification dialog -- "High" Token (创建分类准则对话框 -- "高"标记)

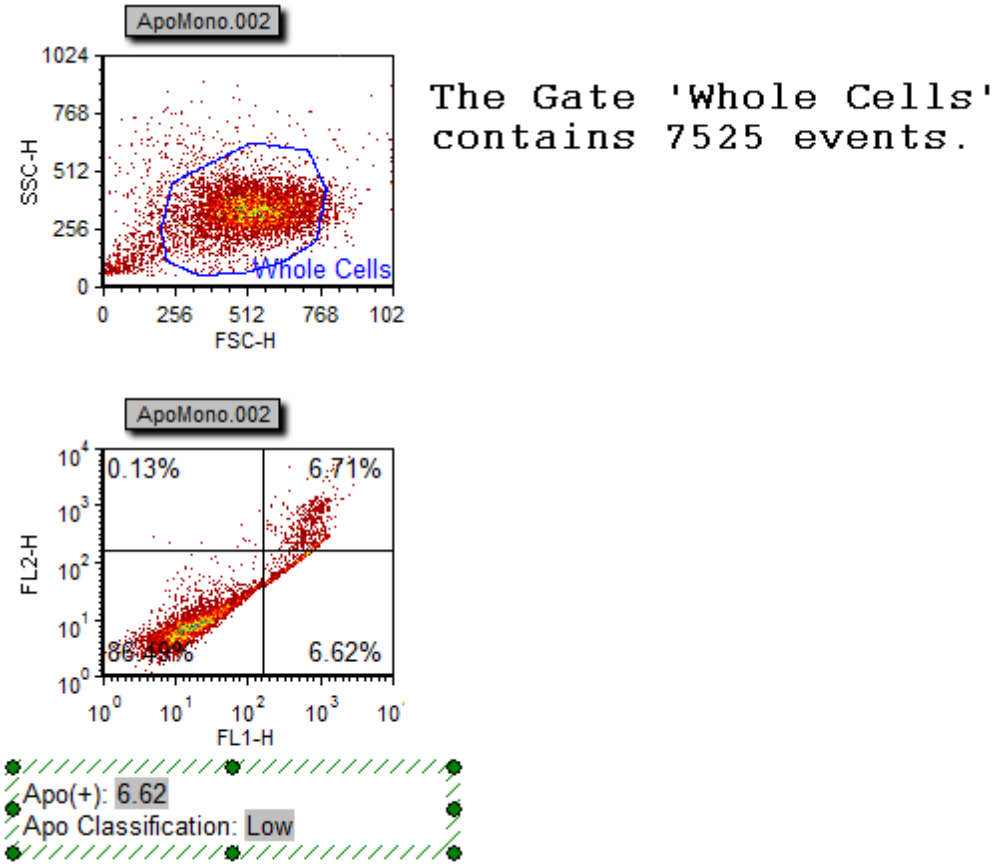
在再次出现的**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框中列出了"低"、"中"、"高"分类条件(图T5.41)。



图T5.41 Create Statistic Classifier Dialog with all Classifications Listed (**创建统计分类器对话框列出了所有分类准则**)

33. 请点击**OK**来接受这个新的分类器。

这时在文本框中的Apo classification字段应该出现**Low**(图T5.42)。如果移动了象限，分类器的内容会根据上面设置的条件自动更新。



图T5.42 Statsitic Classifier Token in the Text Box (**文本框中的统计分类器标记**)

34. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**来关闭我们刚刚使用过的这个版面。

36.5.7 *创建自定义标记*

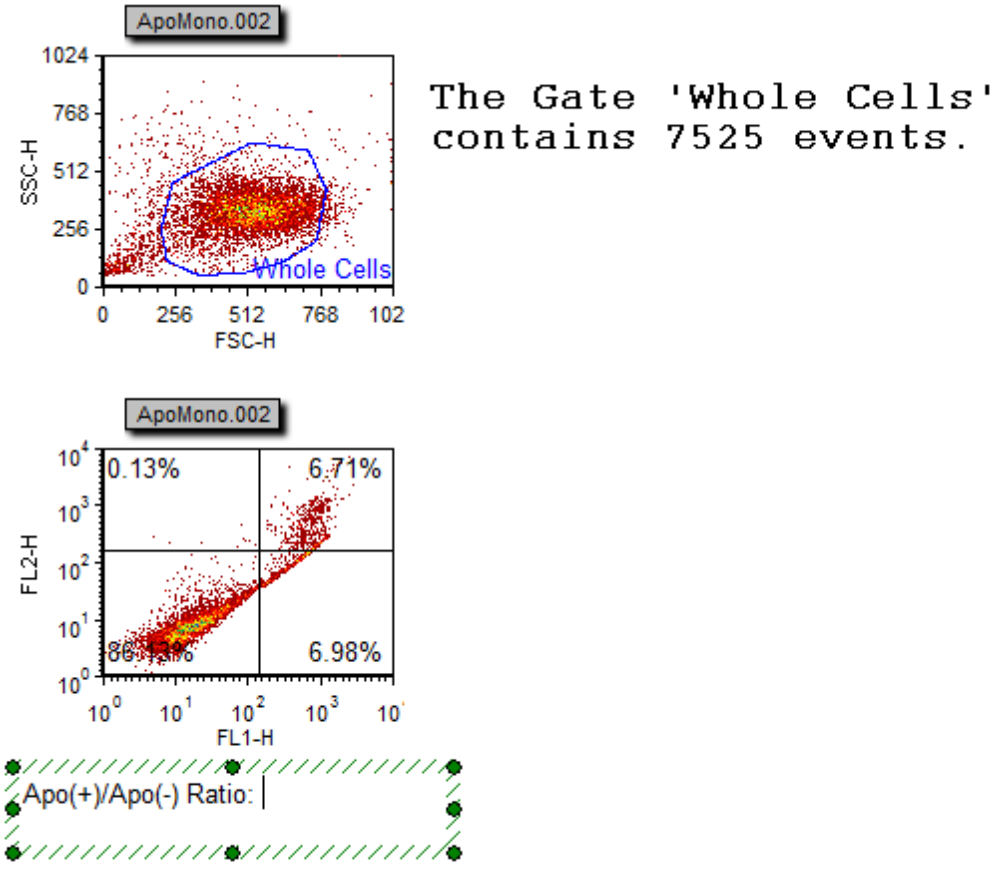
用户可以自行定义标记来创建各种类型的统计。在本节中，我们将计算阳性样本文件**ApoMono.002**中的Apo(+)/ Apo(-)比率。计算方法是用阳性细胞的数目除以阴性细胞的数目。

要插入一个自定义标记:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。

2. 请打开教程样本数据库510中的**TokenCustom.fey**文件。

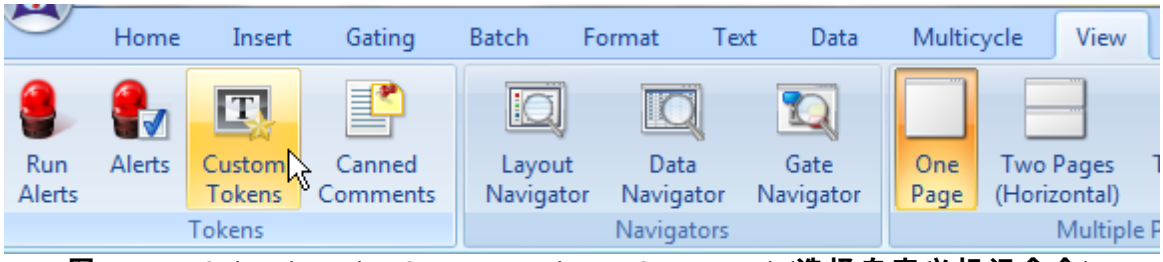
该版面(见图T5.43)包含本教程中插入标记607一节中使用过的绘图和文本框。绘图下方是一个新的FL1与FL2的作图，其中有几个象限，还有一个写有"Apo(+)/ Apo(-) ratio:"的文本框。我们将把自定义标记插入到这里(图T5.43)。



图T5.43 Custom Token Layout (TokenCustom.fey) (**自定义版面**((TokenCustom.fey)))

3. 请在文本框末尾不完整的文本'Apo(+)/Apo(-) Ratio:'之后点击。

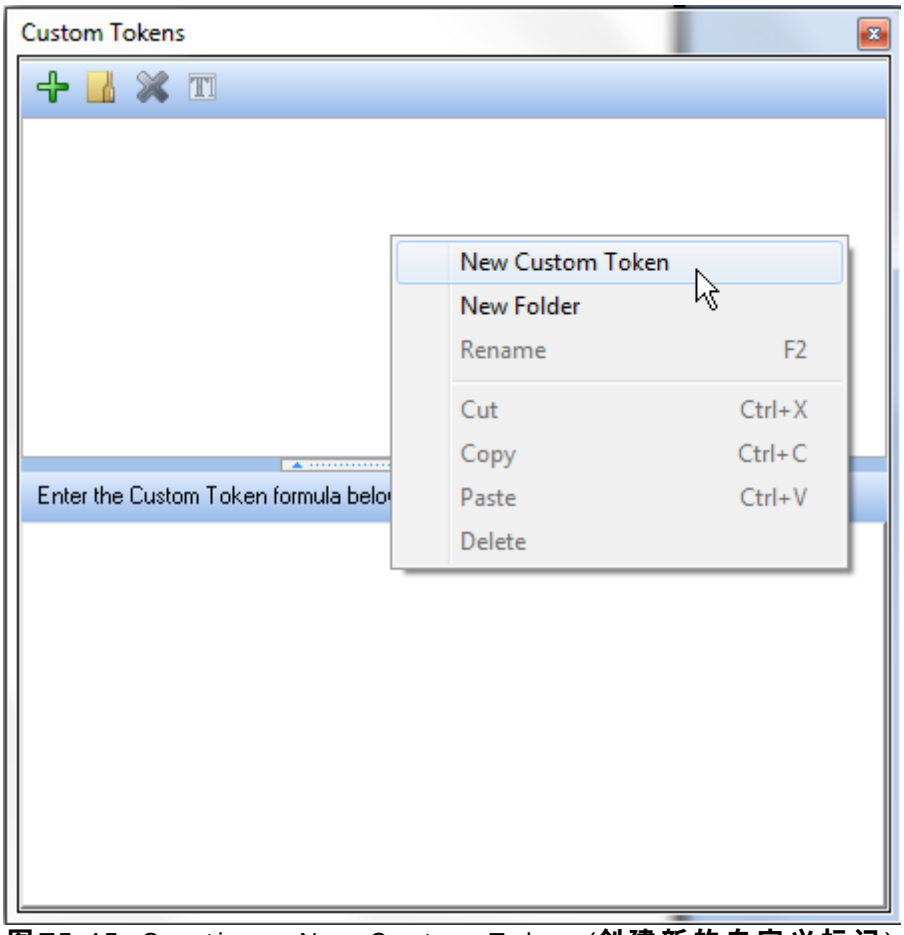
4. 请选择**View(视图)→Tokens(标记)→Custom Tokens(自定义标记)**命令(图T5.44)。



图T5.44 Selecting the Custom Tokens Command (**选择自定义标记命令**)

这时应弹出**Custom Tokens(自定义标记)**窗口(图T5.45)。

5. 请在**Custom Tokens(自定义对话框)**上右击。
6. 请从弹出菜单中选择**New Custom Token(新建自定义标记)**(图T5.45)。

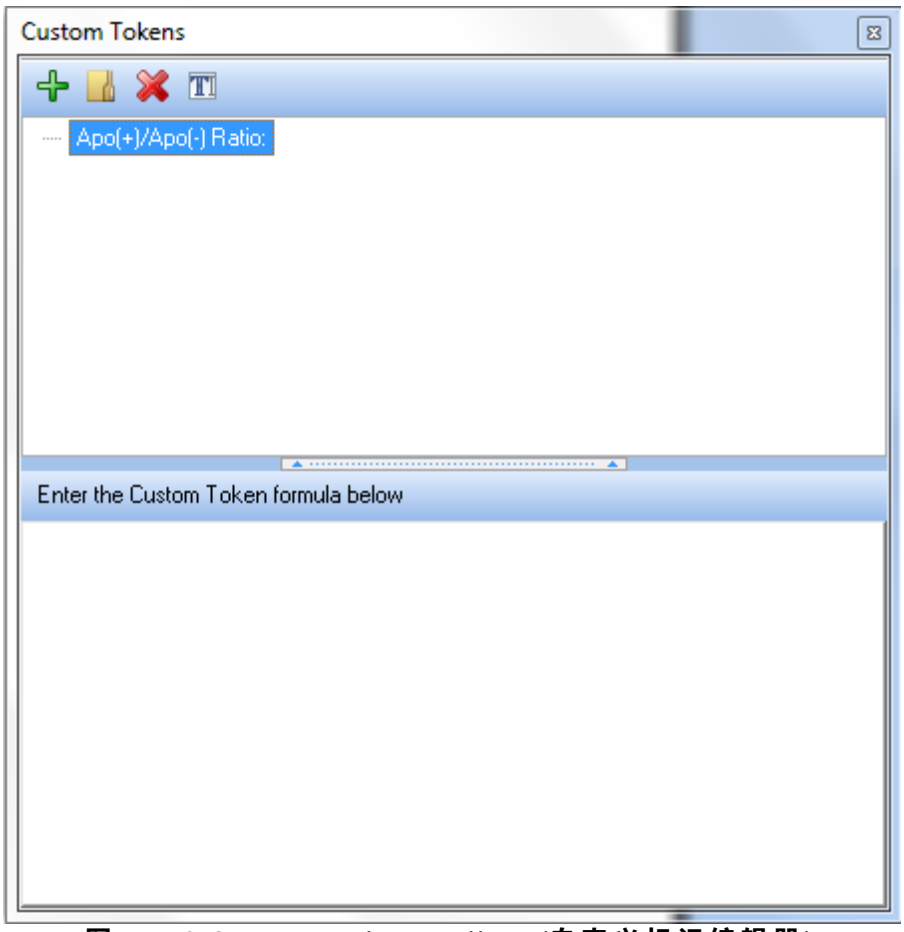


图T5.45 Creating a New Custom Token (**创建新的自定义标记**)

为计算该例子中的比率，我们将使用阳性事件的数目(右上象限)除以阴性事件的数目(下方的象限)。

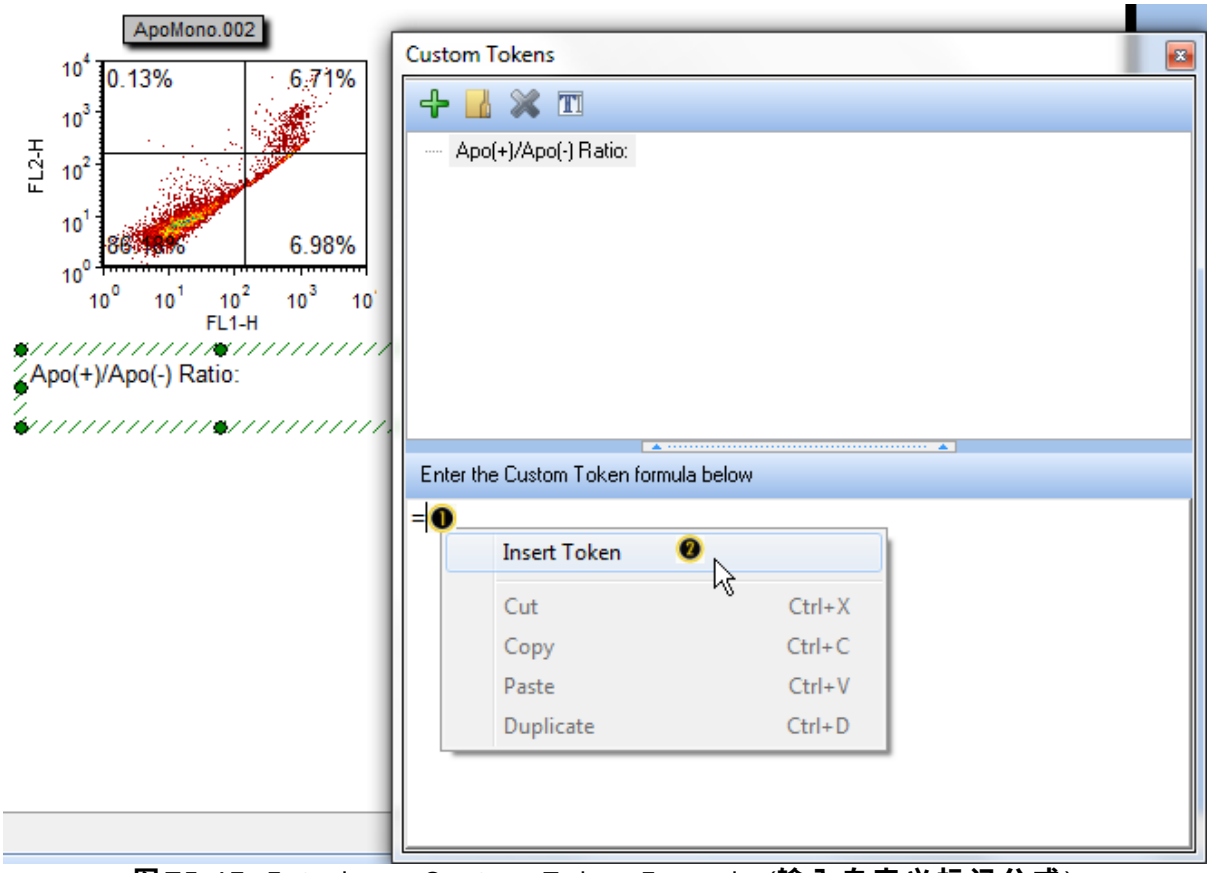
7. 请在新的自定义标记的名称区域输入"**Apo(+)/ Apo(-) Ratio:** "(图T5.46)。
8. 请点击**Enter**键。

自定义标记"Apo(+)/ Apo(-) Ratio:"现在应该被高亮显示(图T5.46)。



图T5.46 Custom Tokens Editor (**自定义标记编辑器**)

9. 请在窗口下半部分的自定义窗口中左键点击，然后输入一个等号**"= "** ❶(图T5.47)。
10. 请在窗口下半部分的**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中的等号后右键点击，调出相关弹出窗口。
11. 请从弹出窗口中选择**Insert Token(插入标记)**❷命令(图T5.47)。



图T5.47 Entering a Custom Token Formula (**输入自定义标记公式**)

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T5.24 607)。

12. 请点击**Statistic(统计)**。
13. 请点击**Insert(插入)**(图T5.24 607)。

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**类型选项(图T5.36 616)。

14. 请选择**6 - 2D plot - ApoMono.002 (FL1 vs. FL2)**文件作为数据源。
15. 请点击**Statistic(统计)**类别选项(图T5.36 616中的❶)。

这时**Create Statistic(创建统计)**窗口中的**Statistic(统计)**类别选项会出现(图T5.37 616)。我们现在要选择一个统计来作为自定义标记中的分子。

16. 请从**Select a quadrant(选择象限)**下拉列表中选择**Upper Right(右上)**❶象限作为我们的自定义统计标记的分子。
17. 请从**Statistic(统计)**列表框选择**% of Gated Cells(门中细胞百分比)**❷。

18. 请从**Gate(门)**下拉列表中选择**Whole Cells(所有细胞)** ❸。

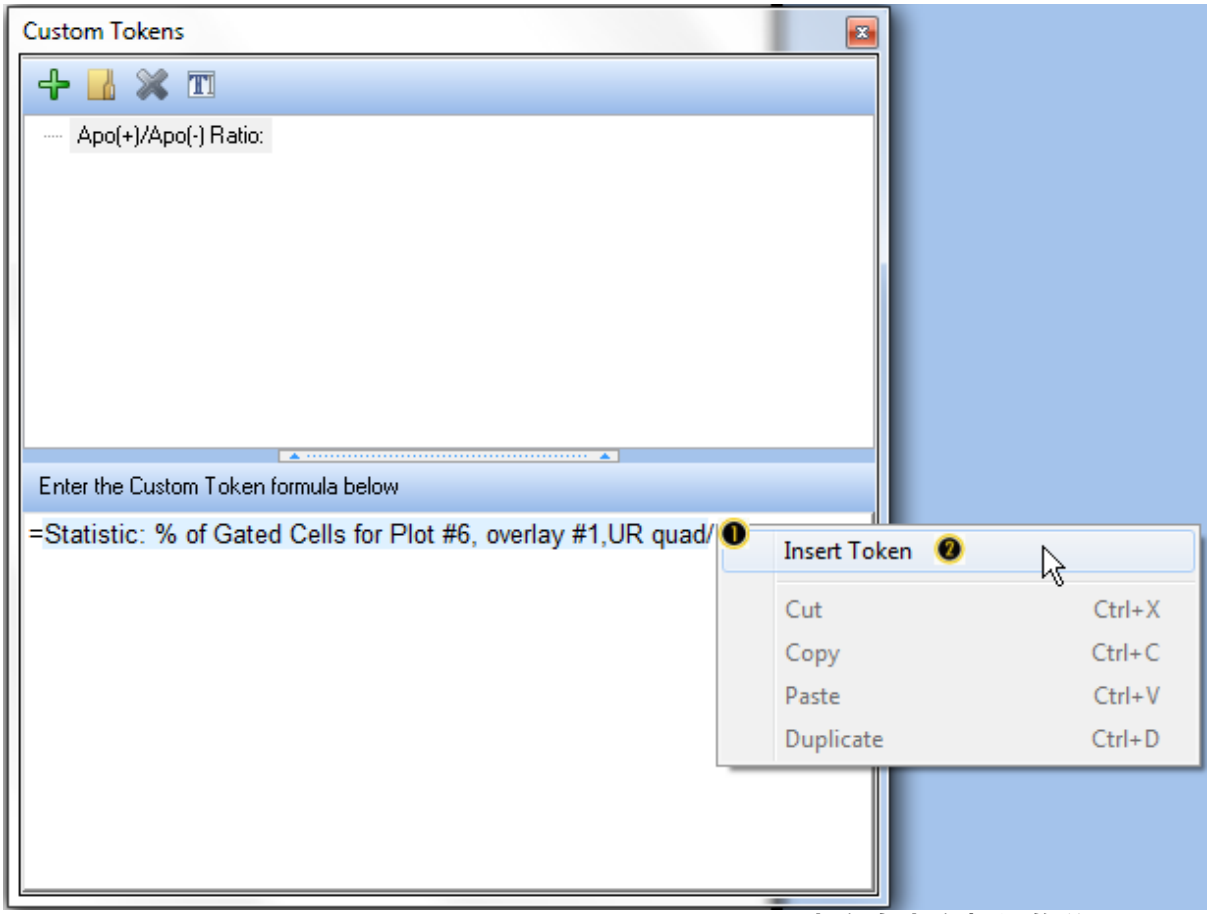
19. 请点击**OK** (图T5.37 616)。

Custom Tokens Editor(自定义标记编辑器)(图T5.48)会把公式字段的统计以浅蓝色高亮显示。这是我们自定义标记的分子。我们现在要为自定义标记定义运算符和分母。

20. 请在象限统计之后键入除号"/ "(图T5.48中的❶)。

21. 请在除号"/ "之后右键点击，调出弹出窗口。

22. 请从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**(图T5.48中的❷)。



图T5.48 Numerator Definition for Custom Token (**定义自定义标记的分子**)

这时会弹出**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T5.24 607)。

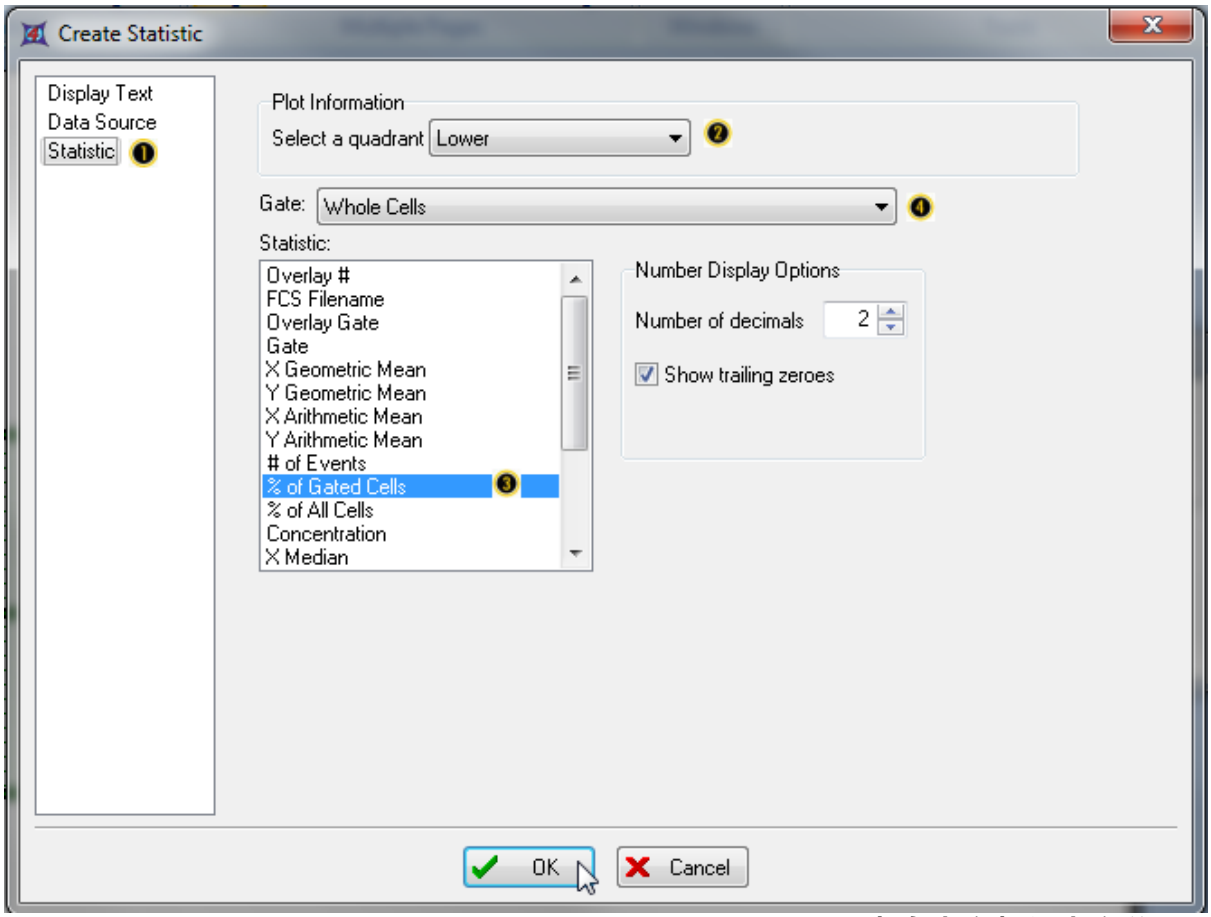
23. 请点击**Statistic(统计)**作为要插入的标记。

24. 请点击**Insert(插入)**(图T5.24 607)。

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**窗口的**Data Source(数据源)**类别选项(图T5.36 616)。现在让我们来为自定义标记定义分母。

25. 请选择**6 - 2D plot - ApoMono.002 (FL1 vs. FL2)**作为数据源图T5.36 616。
26. 请点击**Statistic(统计)**类别选项(图T5.49中的❶)。
27. 请在**Select a quadrant(选择象限)**下拉列表中选择**Lower(下方)**❷象限，作为自定义统计标记的分母。
28. 请从**Statistic(统计)**列表框中选择**% of Gated Cells(门中细胞百分比)**❸。
29. 请在门下拉列表中选择**Whole Cells(所有细胞)**❹。

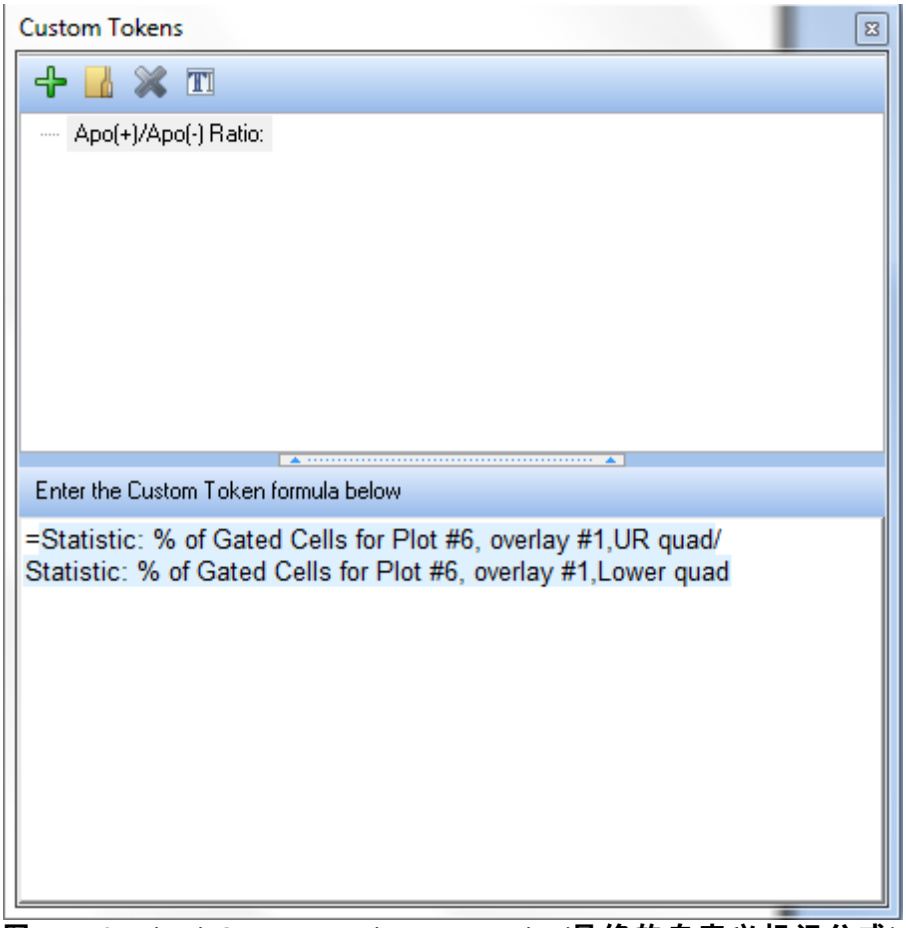
屏幕现在看起来应该如图T5.49所示。



图T5.49 Defining the Denominator for the Custom Token (**为自定义标记定义分母**)

30. 请点击**OK**。

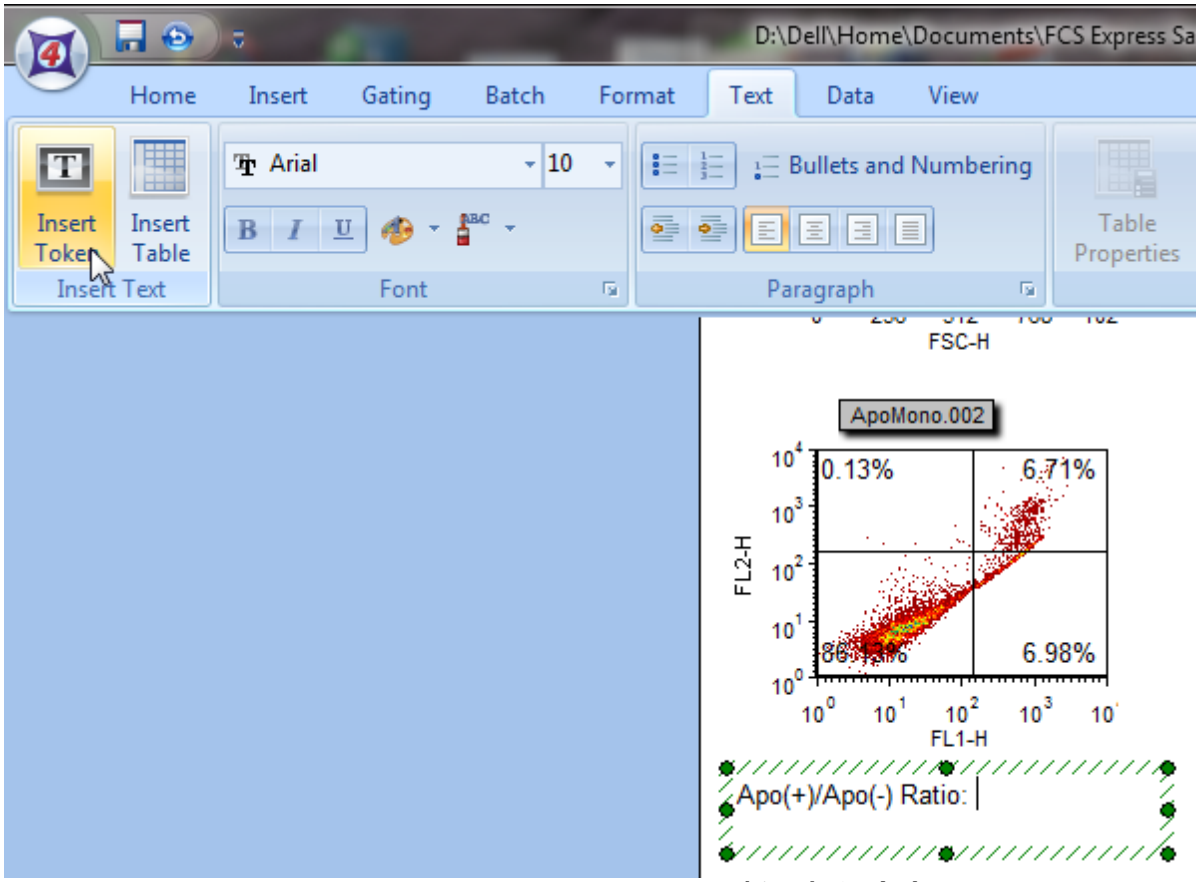
Custom Tokens(自定义标记)窗口(图T5.50)的公式字段中现在会显示右上象限的统计数据除以下方象限的统计数据。统计标记被高亮显示为蓝色，表明它们是数据型标记，而非文本型标记。



图T5.50 Final Custom Token Formula (**最终的自定义标记公式**)

创建了这个自定义标记后，我们可以把它插入到文本框中。

31. 请把光标移到文本框中"Apo(+)/ Apo(-) Ratio:"的末尾(图T5.51)。
32. 请从Ribbon条中选择**Text(文本)→Insert Text(插入文本)→Insert Token(插入标记)**(图T5.51)。(或者在"**Apo(+)/ Apo(-) Ratio:**"之后右键点击，调出弹出菜单，从中选择**insert token(插入标记)**。)

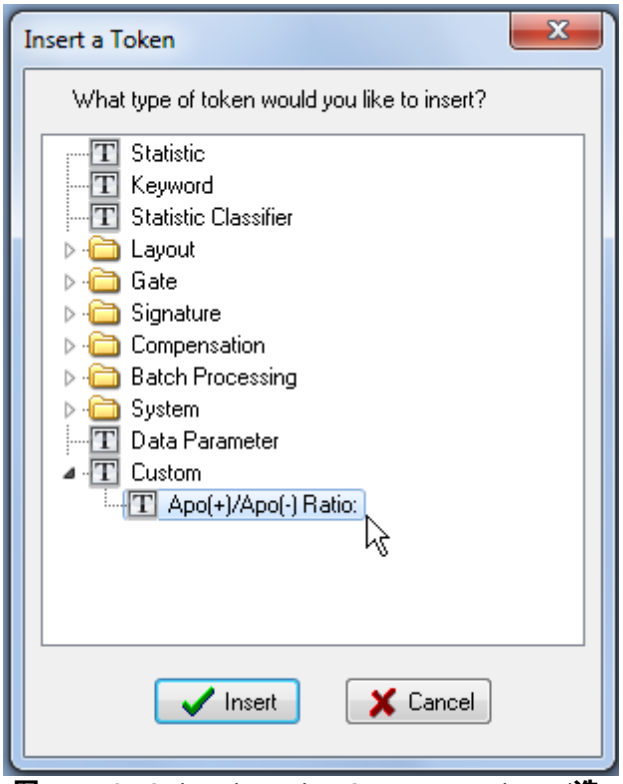


图T5.51 Insert Token Command (**插入标记命令**)

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，新的自定义标记**Apo(+)/ Apo(-) Ratio:**也列于其中(如图T5.52所示)。

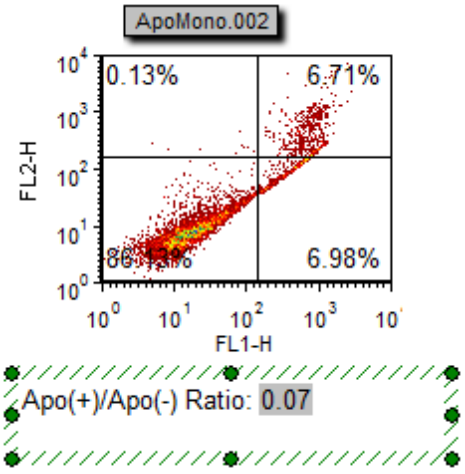
33. 请点击**Custom(自定义)→Apo(+)/ Apo(-) Ratio:**作为要插入的标记。

34. 请点击**Insert(插入)**来把这个标记插入到文本框中。



图T5.52 Selecting the Custom Token (**选择自定义标记**)

Apo(+)/ Apo(-) Ratio: 的值"0.07"将高亮显示为灰色(图T5.53)。



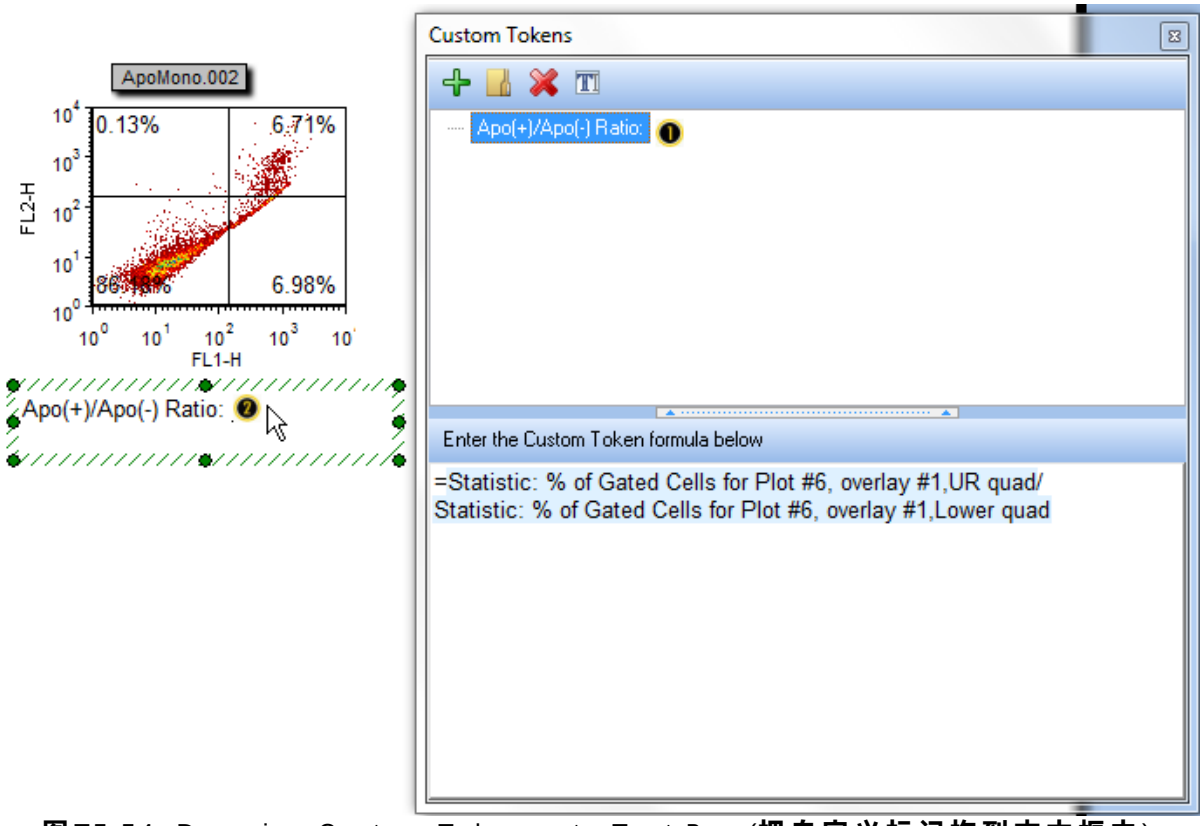
图T5.53 Displaying the Custom Token in the Text Box (**在文本框中显示自定义标记**)

现在让我们删除这个自定义标记，然后通过从**Custom Tokens(自定义标记)**窗口拖拽的

方式来将其插入到文本框中。

35. 请选中文本"**Apo(+)/ Apo(-) Ratio:**"之后的灰色文本框(图T5.53)。
36. 请按下**Backspace(回退)**键**Delete(删除)**键来把该自定义标记删除。

Custom Tokens(自定义标记)窗口应该仍然在版面上，如图T5.54所示。



图T5.54 Dragging Custom Token onto Text Box (**把自定义标记拖到文本框中**)

37. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中点击高亮为蓝色的自定义标记**Apo(+)/ Apo(-) Ratio:** ❶并按住鼠标键不放(图T5.54)。
38. 拖动鼠标，把光标移动到版面中文本框里的文本**Apo(+)/ Apo(-) Ratio:** ❷之后。
39. 放开鼠标键。

这个自定义标记现在又被插入到了文本框中，如图T5.53所示。

36.6 象限

FCS Express有很强大的象限功能。用户不仅可以设置"标准的"矩形象限，也可以设置浮动象限、百分比象限以及很多其它的象限类型。用户有很大的数据分析灵活性。

36.6.1 *矩形和浮动象限*

在本节中，我们会:

- 学习如何创建并移动矩形象限。
- 学习如何创建和移动浮动象限。

要创建和移动矩形象限:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库中的**QuadTut.fey**版面。

版面中有两个密度散点图。

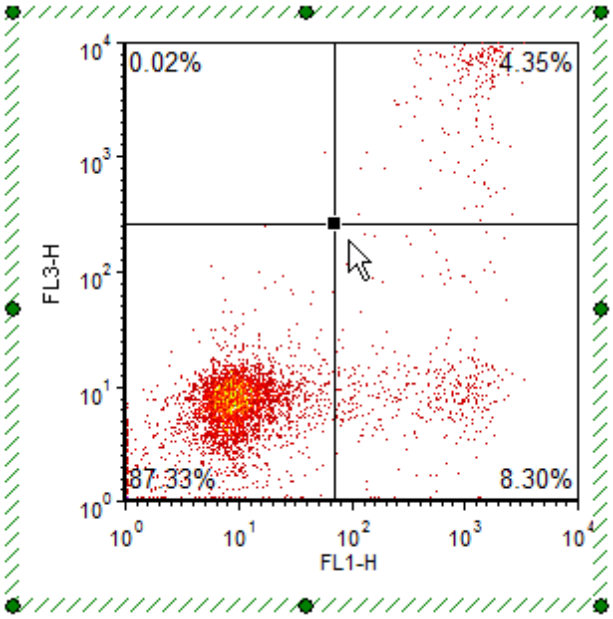
3. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Quadrants(象限)**命令(图T6.1)。



图T6.1 Selecting the Quadrants Command on the Gating Tab(**从门操作标签卡上选择象限命令**)

4. 请点击左侧的密度图。

这时会在绘图中出现一个矩形或称"标准的"象限，象限的中心在刚才鼠标点击的地方。注意到象限处于选中状态，象限的中心有一个矩形标志，象限的分界线交汇于此(中心节点)(图T6.2中光标所示的位置)。同时也注意到象限的百分比数据自动被放置在绘图的拐角处(图T6.2)。



图T6.2 Plot with Quadrants (**绘图中的象限**)

如果象限当前处于选中状态，请跳到第6步。

5. 请点击象限中间的中心节点来选中象限(图T6.2)。

6. 把鼠标移到象限中心的节点上方 ;鼠标应该变成一个四向的箭头。

我们现在将移动中心节点的位置来重新定义象限。

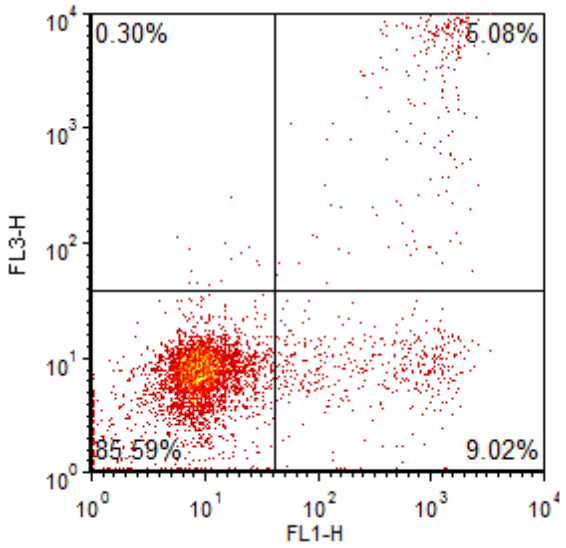
7. 当光标是四向箭头时，请点击鼠标左键。

8. 按住鼠标不动，把中心节点移动到想要的位置。

9. 当象限可以恰当地定义绘图中的三个细胞群时，松开鼠标。

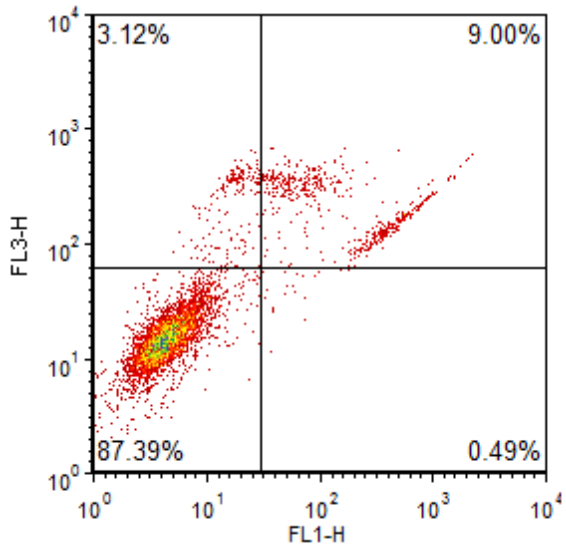
注意到移动中心节点后，每个象限对应的百分比会相应地变动。最后的绘图看起来应该类似于图T6.3。

,



图T6.3 Redefined Quadrants (**重新定义的象限**)

我们现在来看一下版面右边的绘图。在本例中，如果试着使用标准的矩形象限，我们将不能把绘图中的三个细胞群很明显地分开，如图T6.4所示。



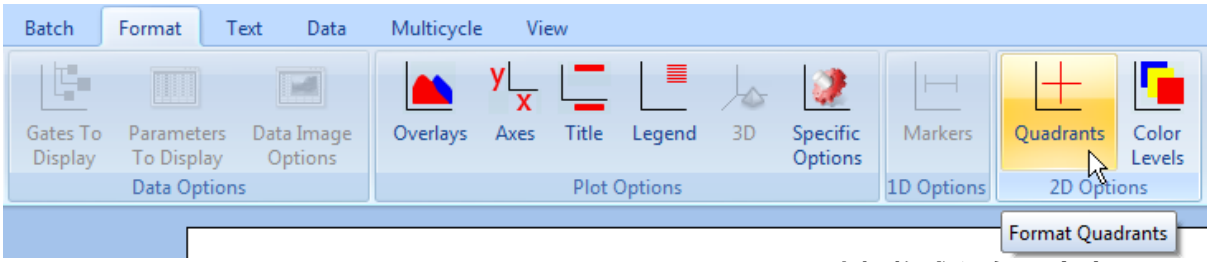
图T6.4 Improperly Defined Regions Using Standard Quadrants (**使用标准象限不恰当定义的数据区域**)

要克服这个问题 我们将在这个绘图上创建一个浮动绘图。

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Quadrants(象限)**命令(图T6.1)。
2. 请在右图中部点击。

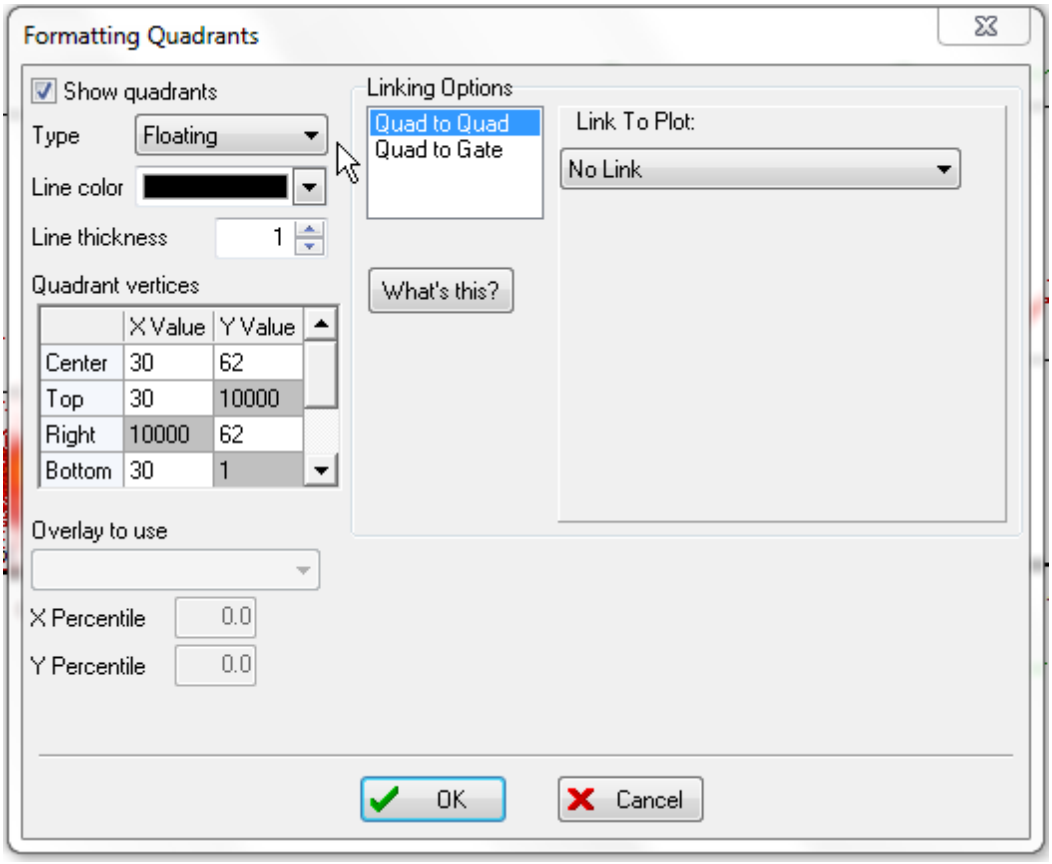
这时会出现一个标准的象限，类似于图T6.4。如果右图中的象限还未被选中，请将其选中。

3. 请选择**Format(格式)→2D Options(二维选项)→Quadrants(象限)**命令(图T6.5)。



图T6.5 Selecting the Format Quadrants Command (**选择格式化象限命令**)

这时会出现**Formatting Quadrants(格式化象限)**对话框(图T6.6)。



图T6.6 Formatting Quadrants Dialog (**格式化象限对话框**)

4. 请从下拉列表把象限的**Type(类型)**从**Standard(标准)**改为**Floating(浮动)**，如图T6.6中的光标处所示。

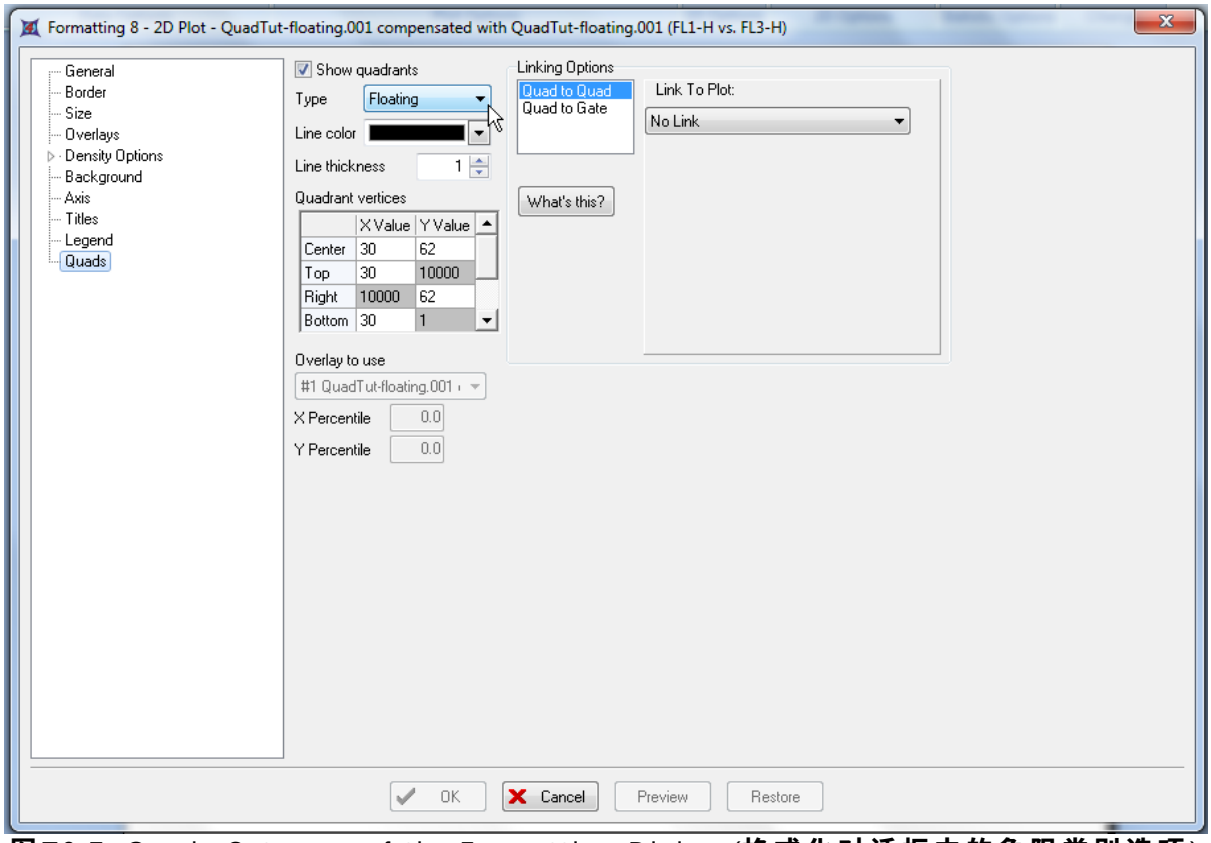
5. 请点击**OK**。

另外，用户可以使用和绘图相关联的弹出菜单来对象限进行格式化。

- 请右键点击右侧绘图，调出相关的弹出菜单。
- 请从弹出菜单中选择**Format(格式)**。

这时会出现**Format(格式)**对话框，如图T6.7。

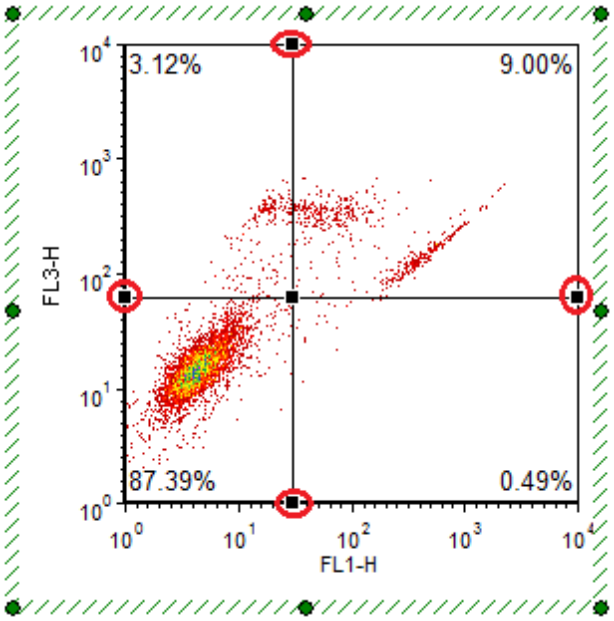
- 请从**Format(格式)**对话框左侧选择**Quads(象限)**类别选项(图T6.7)。
- 请从下拉列表中把象限的**Type(类型)**从**Standard(标准)**改为**Floating(浮动)**，如图T6.7中的光标处所示。
- 请点击**OK**。



图T6.7 Quads Category of the Formatting Dialog (**格式化对话框中的象限类别选项**)

6. 请点击右边绘图的象限中心节点来将其激活。

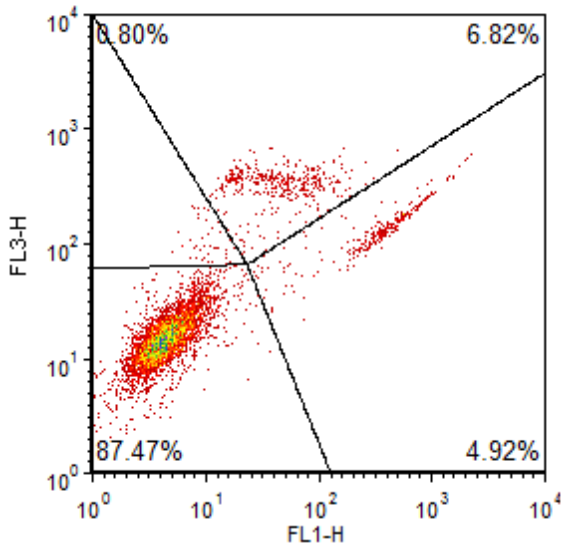
注意到不仅在中心节点处有一个小正方形，在象限边界线的终点处也都有小的正方形，如图T6.8中的红色圆圈所示。象限边界线的终点以及中心节点现在都是可移动的节点。



图T6.8 Floating Quadrant Selected for Editing (**选中的、有待编辑的浮动象限**)

7. 请把光标放在中心节点的小正方形上方，这时光标应该会变成一个四向的箭头。
8. 请按下鼠标左键，把中心节点移动到绘图上三个细胞群的中间。
9. 中心节点处于合适的位置时，松开鼠标。
10. 请把光标移到象限边界线末端的小正方形上，这时光标又应该变成一个四向的箭头。
11. 请按下鼠标左键，然后把象限边界线末端的正方形节点沿着坐标轴线移动来把三个细胞群分开。
12. 当象限边界线节点移动到合适的位置后，请松开鼠标。

重复第10步到第12步，直到象限的所有边界线节点都已被调整。最后的结果应该如图T6.9所示。



图T6.9 Floating Quadrants (**浮动象限**)

36.6.2 *百分比象限*

在本节中，我们会:

- 学习如何使用百分比来设置矩形象限。

FCS Express让用户可以根据百分数，而非手动的方式，来设置象限。

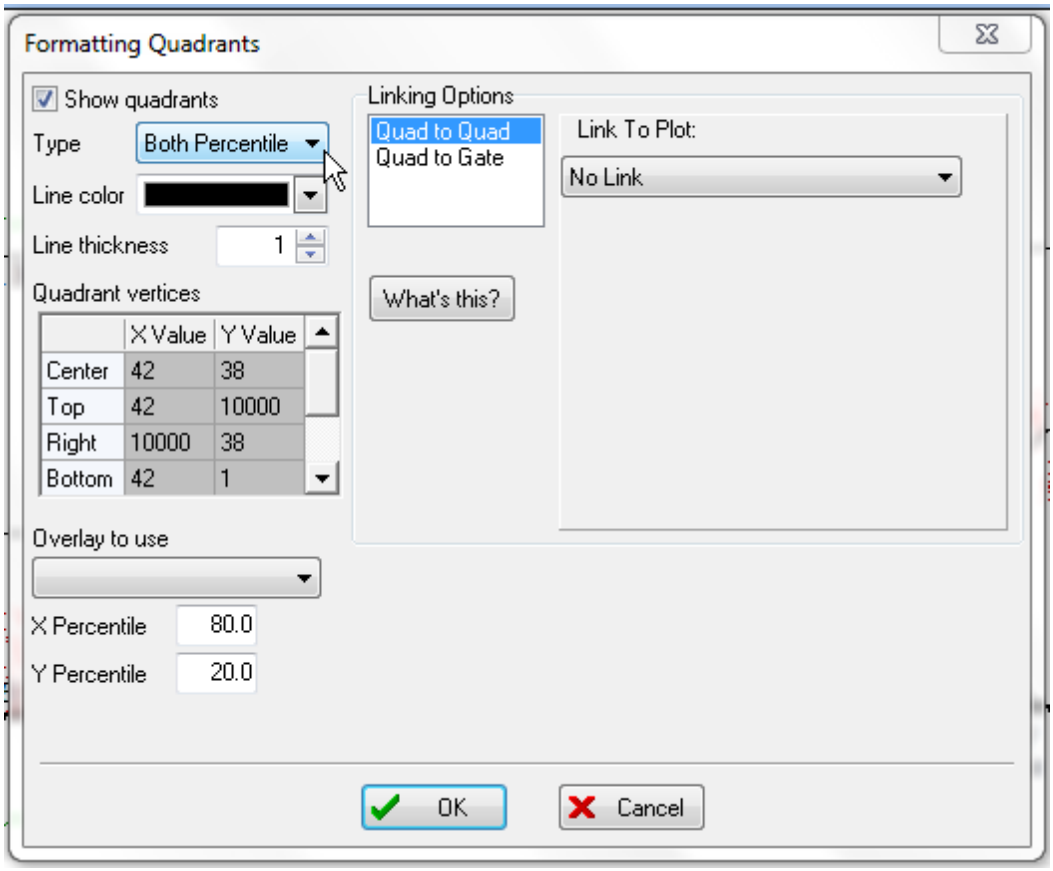
要用百分数设置象限:

1. 请在左边的绘图上点击，将其选中。
2. 请选择**Format(格式)→2D Options(二维选项)→Quadrants(象限)**命令(图T6.5 639)。

这时会出现**Formatting Quadrants(格式化象限)**对话框，如图T6.10所示。

3. 请在下拉菜单上把象限**Type(类型)**从**Standard(标准)**改为**Both Percentile(双百分比)**，如图T6.10所示。

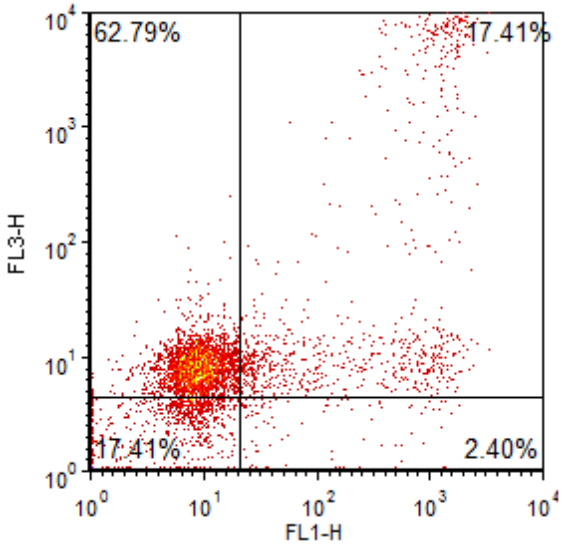
注意到在格式化象限对话框中**X Percentile(X百分比)**和**Y Percentile(Y百分比)**选项现在都可以进行设置(图T6.10)。



图T6.10 Formatting Quadrants Dialog -- Setting Type to Both Percentile (**格式化象限对话框 -- 把类型设置为双百分比**)

4. 请在**X Percentile(X百分比)**字段输入"**80**"(图T6.10)。
5. 请在**Y Percentile(Y百分比)**字段输入"**20**"(图T6.10)。
6. 请点击**OK**。

象限已经自动调整，如图T6.11所示。左上和右上象限中细胞总和大概是80%(±四舍五入误差)，右上和右下选项总和大概为20%(±四舍五入误差)。



图T6.11 Percentile Quadrants of 80% and 20% (80%**和**20%**的百分比象限**)

现在我们会使用绘图中的弹出菜单来格式化象限并修改X百分比和Y百分比的值。

7. 请右键点击绘图，调出相关的弹出菜单。
8. 请从弹出菜单中选择**Format(格式)**。
9. 请从**Formatting(格式化)**对话框的左边选择**Quads(象限)**类别选项(图T6.12)。
10. 请把**X和Y Percentiles(百分比)**分别修改为**82和8**(图T6.12)。
11. 请点击**Preview(预览)**，如图T6.12中的光标所示。

使用**Preview(预览)**可以让用户方便地调整百分比直到满意为止。

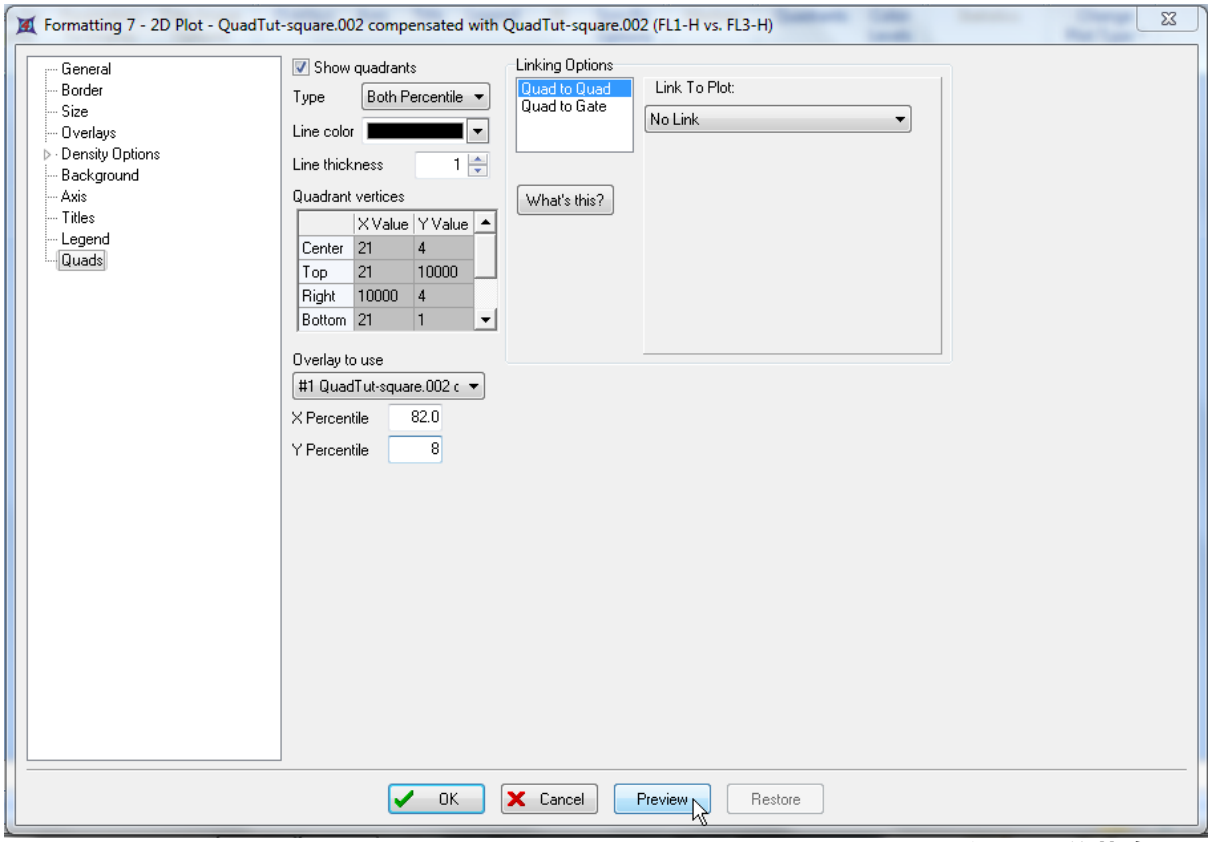


图 T6.12 Using Preview while Setting Percentile Quadrant Values (**设置百分比象限值时使用预览**)

百分比象限在绘图中有对照细胞群时非常有用。用户可以让象限自动调整来保证一个固定百分比的细胞群总是在左下象限中。然后，用户可以把对照绘图中的象限链接到试样绘图中的象限，所有象限将会相应地自动更新。

36.7 把象限或标识链接到门

FCS Express中有诸多节省时间的功能，其中之一就是使用象限来定义门。该功能在用象限定义一个阴性(或阳性)的细胞群、然后让绘图只显示门中的细胞群时非常有用。标记也可以用来定义门。

36.7.1 *把象限链接到门*

在本节中，我们会:

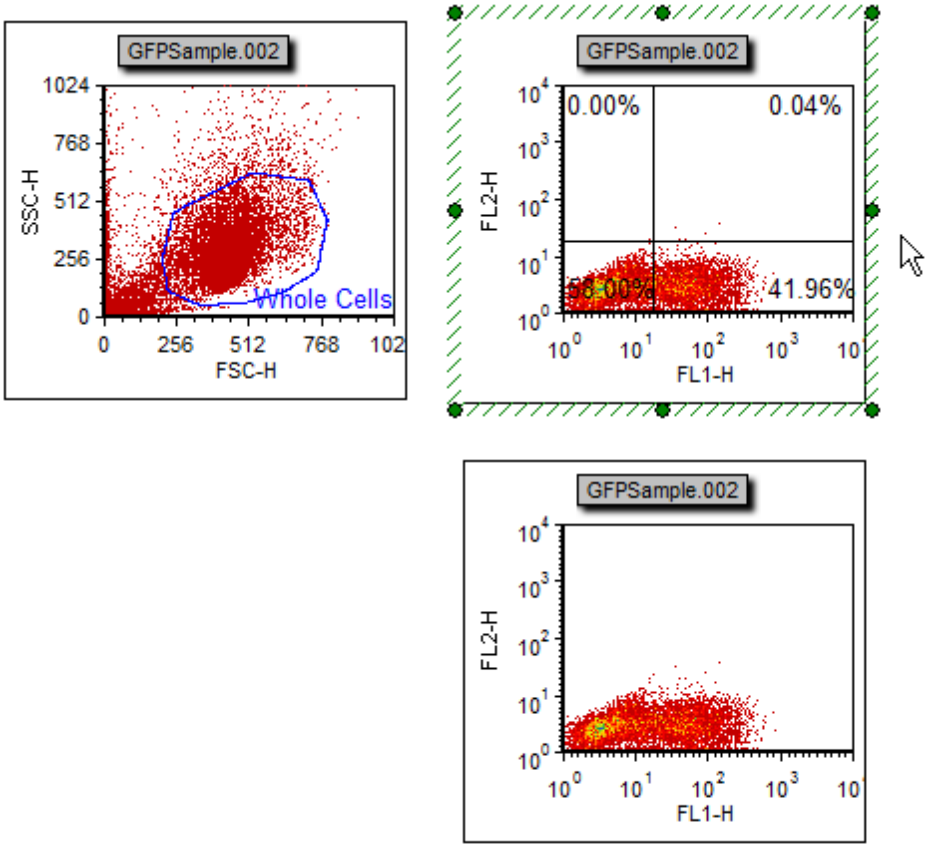
- 把一个象限链接到门。

- 移动一个有门链接的象限，然后观察门的自动更新。

要把一个区域链接到象限:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库510中的**Quad2RegionLink.fey**版面。

该版面包括**GFPsample.002**文件对应的三个二维密度图(图T7.1)。左边的绘图是FSC对SSC作图，有一个门叫**Whole Cells(所有细胞)**。右上的象限绘图是FL1对FL2作图，它反映了**Whole Cells**门中的细胞。下面的绘图是上面的绘图的一个副本，区别只是在于下面的绘图没有象限。

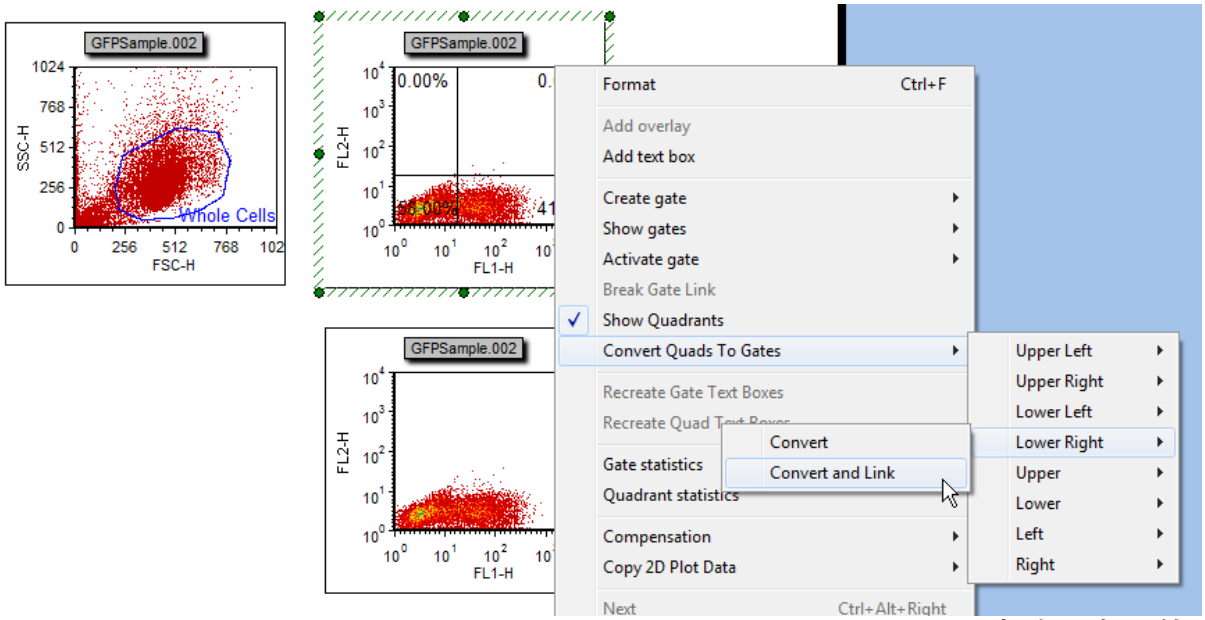


图T7.1 Quad2RegionLink.fey Layout (Quad2RegionLink.fey**版面**)

3. 右键点击右上方的有象限的FL1- FL2二维绘图(显示于图T7.1中的绿色边框内)。

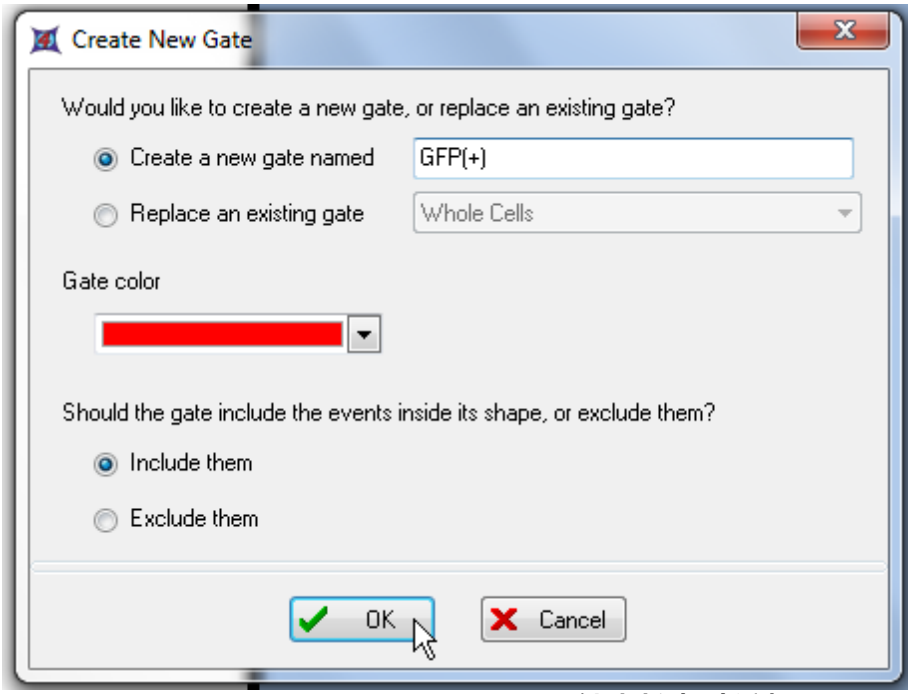
这会调出一个相关的弹出菜单(图T7.2)。

4. 请从弹出菜单中选择**Convert Quads to Gates(把象限转化为门)→Lower Right(右下)→Convert and Link(转化并链接)**(图T7.2)。



图T7.2 Converting and Linking the Lower Right Quadrant to a Gate (**把右下象限转化为门并将它们链接起来**)

这时会出现**Create New Gate(创建新门)**对话框(图T7.3)。在此，我们要为链接到右下象限的新门命名。

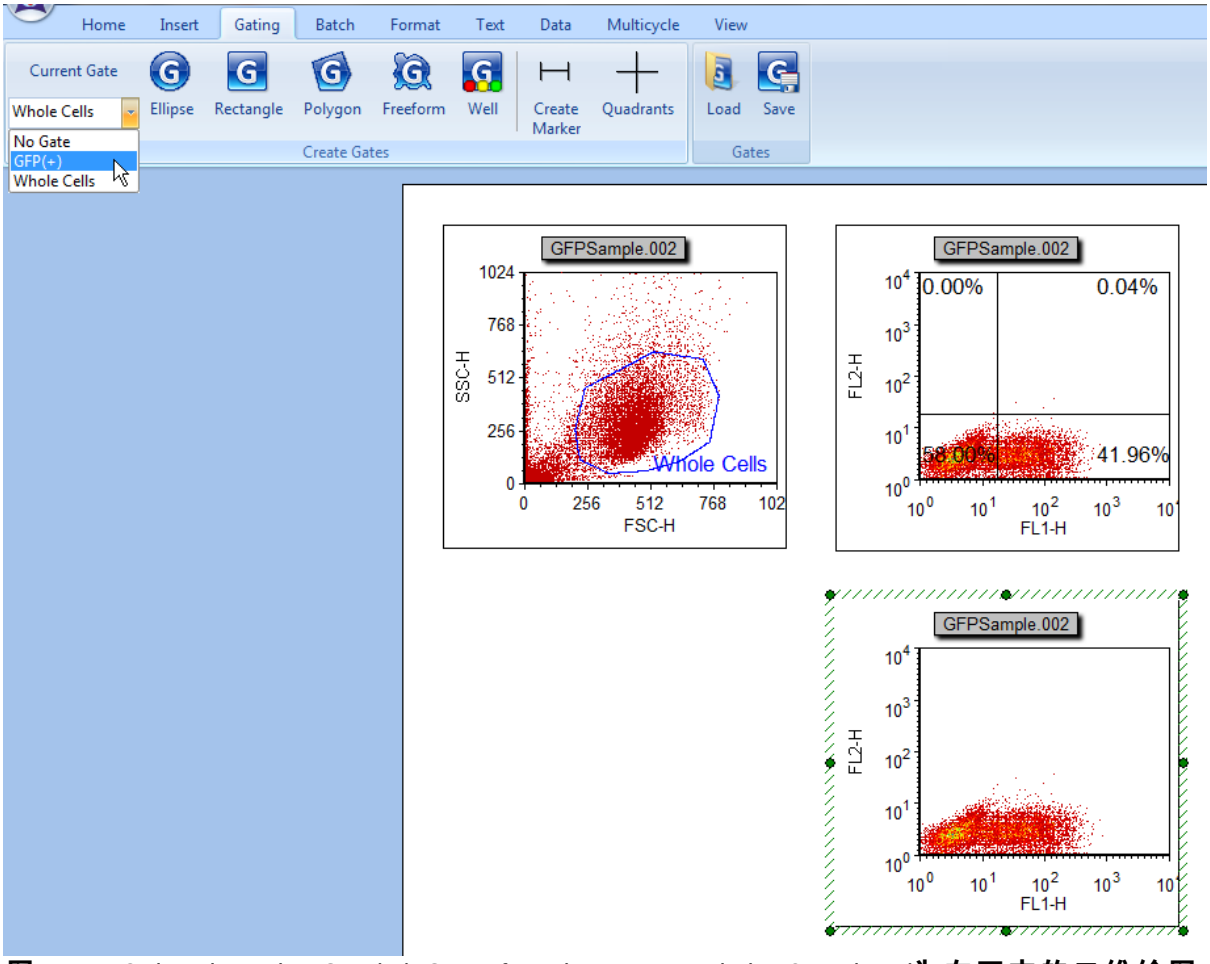


图T7.3 Create New Gate Dialog (**创建新门对话框**)

5. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**字段输入"**GFP(+)**"。
6. 请点击**OK**。

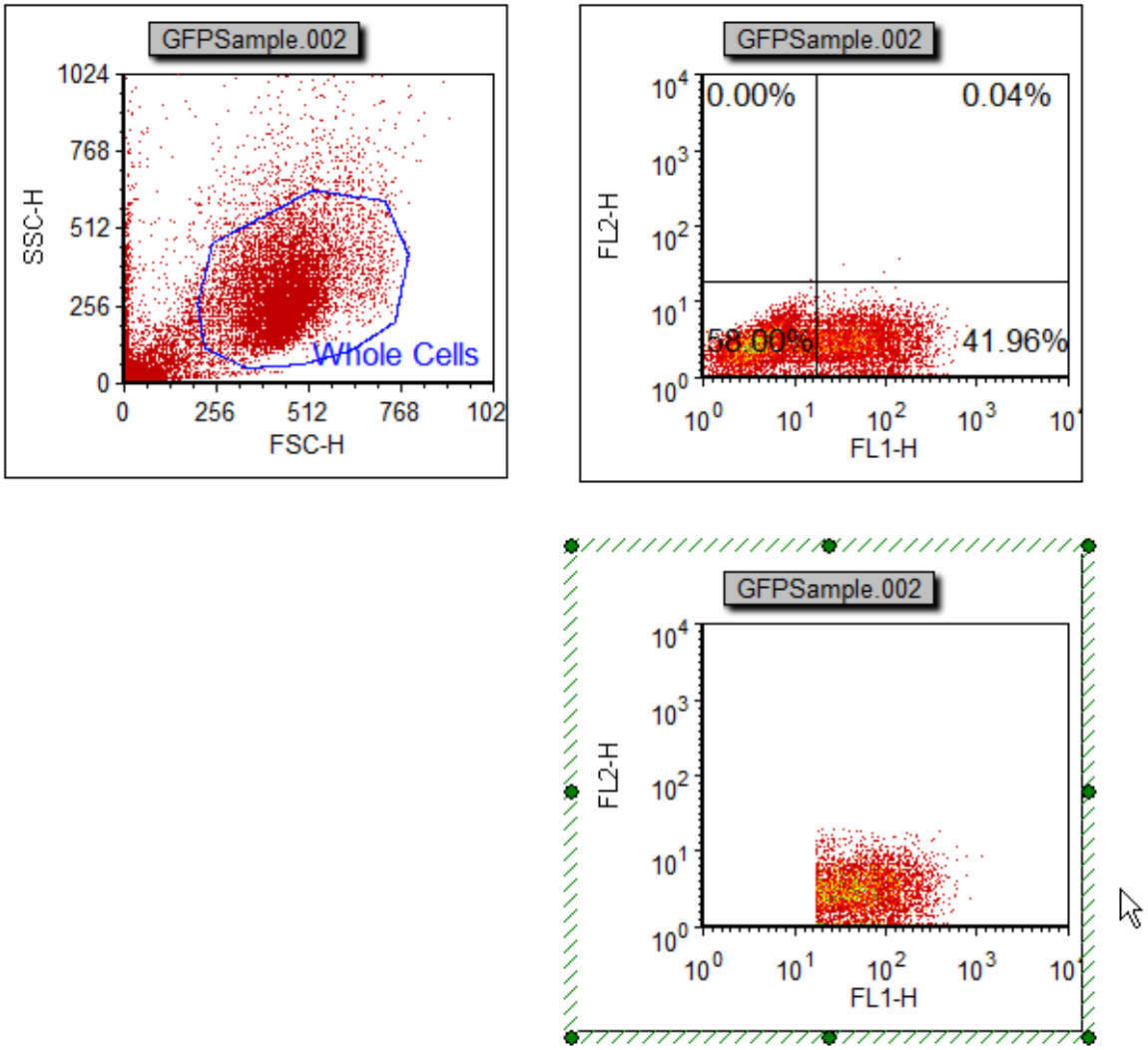
现在让我们把链接到右下象限的新门**GFP(+)**应用到右下方的二维绘图上。

7. 请点击右下方没有象限的二维绘图FL1- FL2。绘图的边界会变成绿色(图T7.4)。
8. 请选择**Gating(门操作)**标签(图T7.4)。
9. 请从**Current Gate(当前门)**的下拉列表里选择**GFP(+)**(图T7.4)。



图T7.4 Selecting the GFP(+) Gate for the Lower Right 2D Plot (**为右下方的二维绘图选择**GFP(+)**门**)

右下方的二维绘图现在只显示右下象限中的事件(图T7.5)。



图T7.5 Lower Right Plot Gated on GFP(+) (**右下方的绘图应用**GFP(+)**门**)

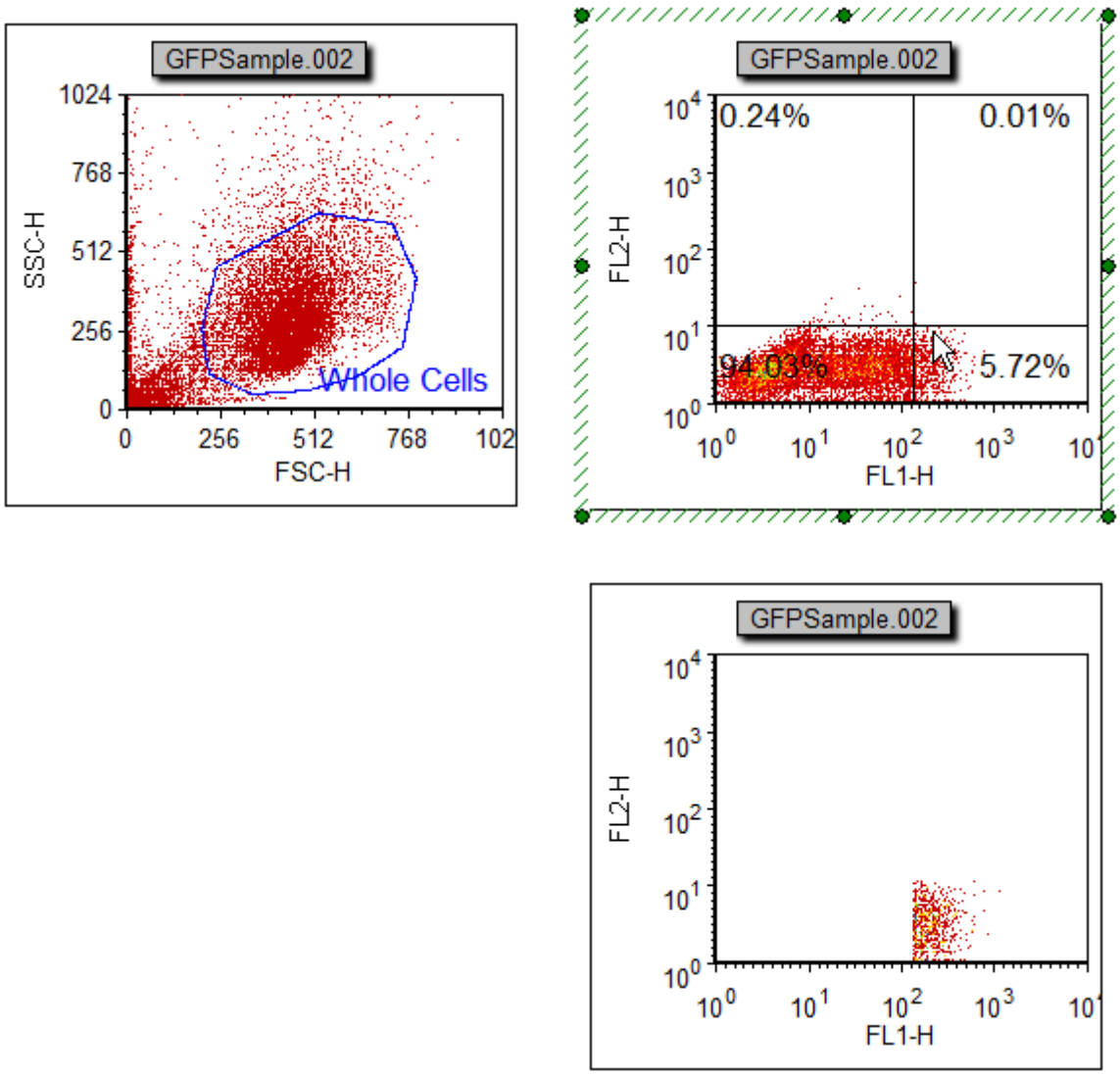
因为象限链接到了门，改变象限也会改变门**GFP(+)**。我们现在将演示如何移动象限也会移动链接到该象限的门**GFP(+)**。

要移动一个象限:

10. 请点击版面右上方的带有象限的二维绘图FL1- FL2。绘图边框会变成绿色(图T7.6)。
11. 请点击象限的顶点。当鼠标变成四向箭头时，说明象限被选中，可以进行编辑。
12. 请在顶点上按下鼠标键不放。
13. 把鼠标向右移。

14. 右下象限变小时，请松开鼠标(图T7.6)。

二维绘图FL1- FL2下部会做相应的改变来反映对右下象限所做的修改(图T7.6)。



图T7.6 GFP(+) Gate Updated after Quadrant Move (**象限移动后**GFP(+)**门随之更新**)

15. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**。

36.7.2 把标记链接到门

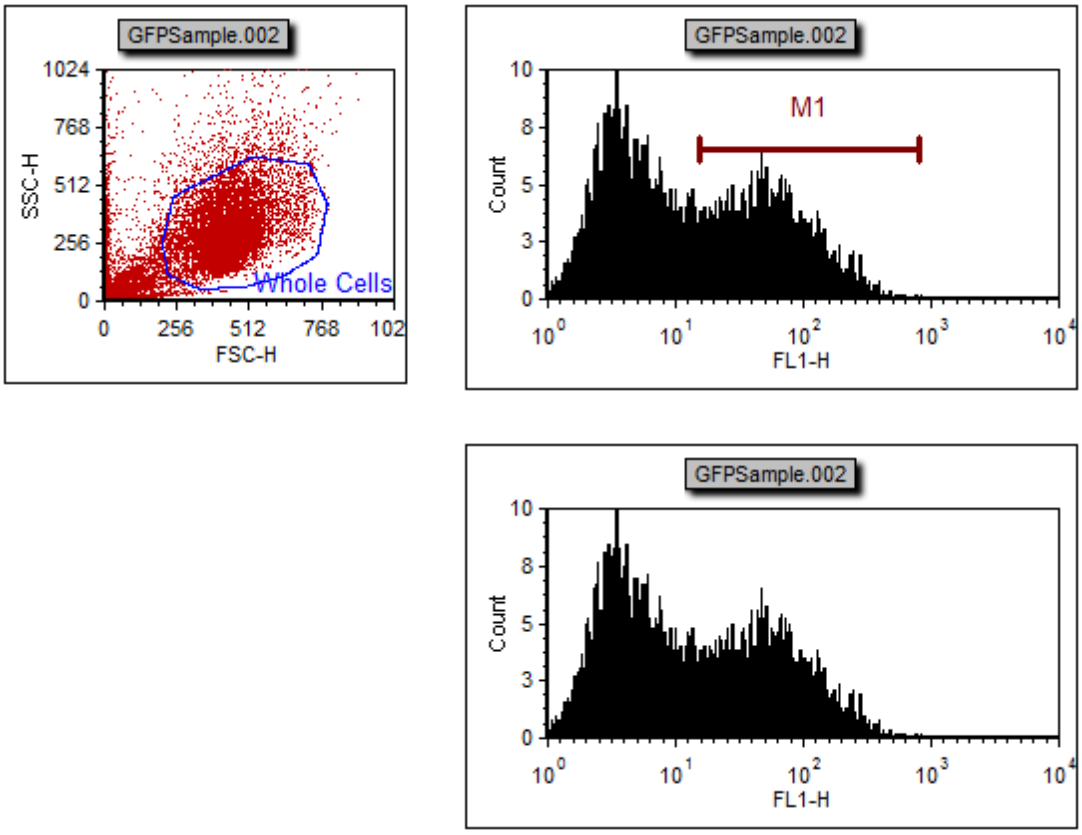
在本节中，我们会:

- 把标记链接到门。
- 移动一个有门链接的标记，然后观察门跟着自动更新。

通过选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Create Marker(创建标记)**可以把标记直接创建到二维绘图上。要想更多地了解如何在二维绘图上创建一维门，请参考教程中关于使用门的相关章节573。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库510中的**Marker2RegionLink.fey**版面。

该版面包括**GFPsample.002**文件对应的一个二维绘图和两个柱状图(图T7.7)。左上绘图FSC- SSC上有个**Whole Cells(所有细胞)**门。右上方的FL1柱状图有**Whole Cells(所有细胞)**门，并带有一个标记**M1**。下方的柱状图也是FL1的一个柱状图，只是它没有标记。

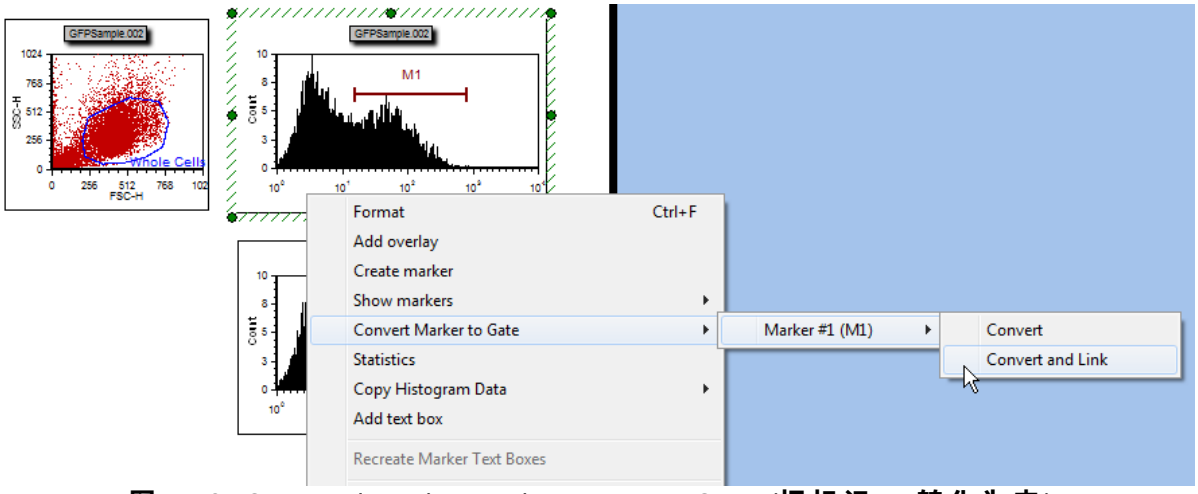


图T7.7 Marker2RegionLink.fey Layout (Marker2RegionLink.fey**版面**)

3. 请右键点击右上方的、有标记**M1**的FL1柱状图。

这将调出相关的弹出菜单。

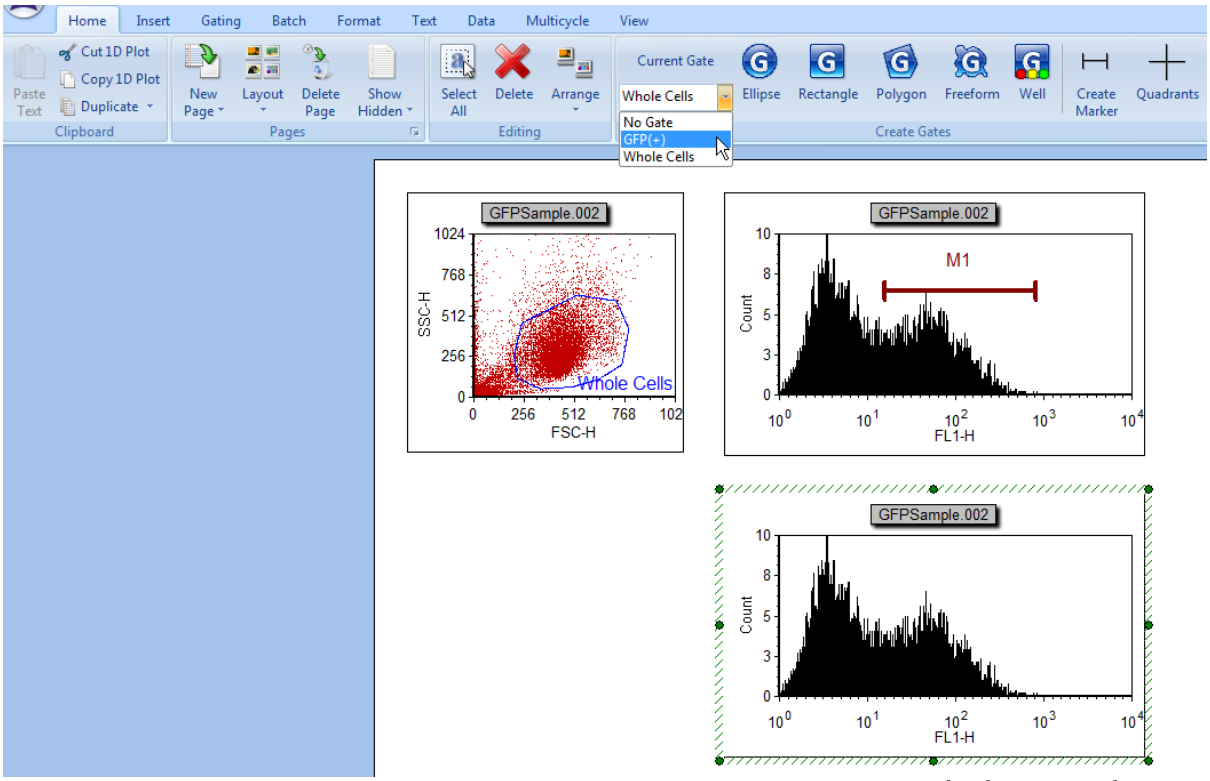
4. 请从弹出菜单上选择**Convert Marker to Gate(把标记转化为门)→Marker #1 (M1)(第1个标记(M1))→Convert and Link(转化并链接)**(图T7.8)。



图T7.8 Converting the Marker M1 to a Gate (**把标记**M1**转化为门**)

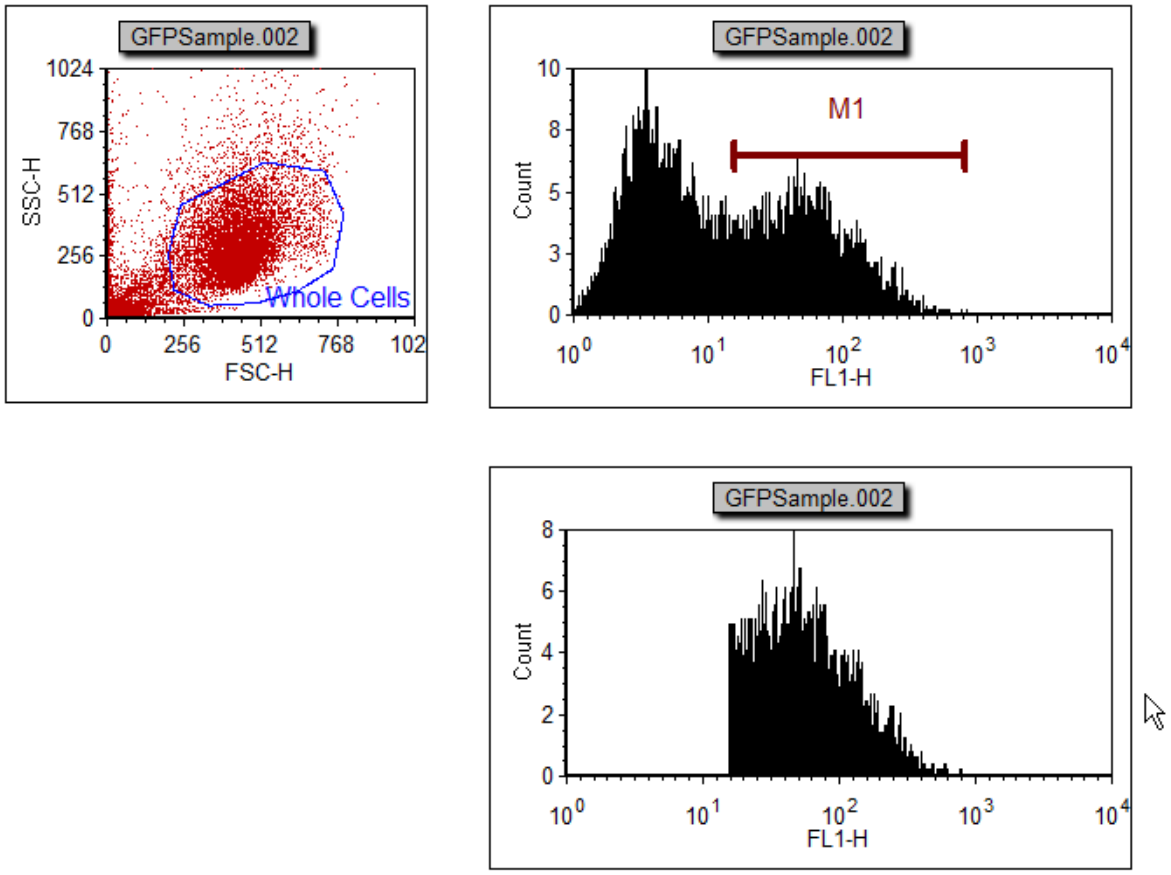
这时会出现**Create New Gate(创建新门)**对话框，如图T7.3 649所示。我们将在这里为链接到标记的新门命名。

5. 请在**Create a new gate named(创建一个新门，其名称是)**字段输入"**GFP(+)**"。
6. 请点击**OK** (图T7.3 649)。
7. 请在没有标记的右下方柱状图FL1内单击。绘图边框会变为绿色(图T7.9)。
8. 请像在图T7.4 649中介绍的那样选择**Gating(门操作)**标签卡。
    - 或者，请选择**Home(主页)**标签卡(图T7.9)。
9. 请从**Current Gate(当前门)**的下拉列表中选择**GFP(+)**(图T7.9)。



图T7.9 Applying the GFP(+) Gate to the Lower Right Histogram (**把门**GFP(+)**应用到右下方的柱状图**)

右下方的柱状图现在只显示标记**M1**里包含的事件(图T7.10)。

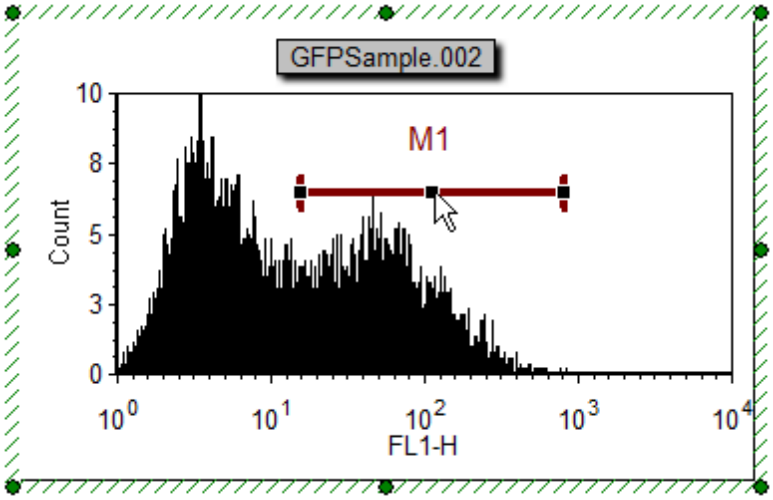


图T7.10 Lower Right Histogram Gated on GFP(+) (**右下方的绘图有**GFP(+)**门**)

因为标记**M1**链接到了门，修改标记的位置也会相应地改变**GFP(+)**门。

10. 请点击版面右上方的、带有标记**M1**的柱状图FL1。边框又一次地变成绿色。

11. 请在标记**M1**上单击，将其选中。当选中标记进行编辑时，标记有三个调整大小的矩形(图T7.11)。



图T7.11 Active Marker M1 with Resizing Rectangles (**有着调整大小矩形的活动标记**M1)

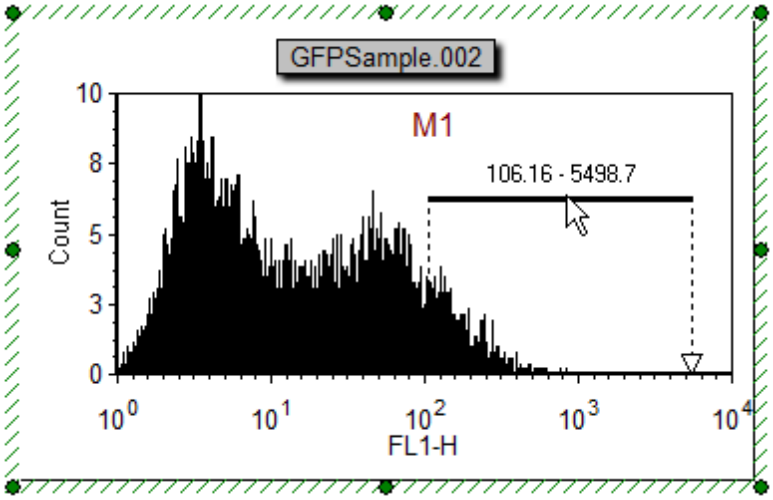
12. 请把鼠标移动到中间的调整大小矩形上。光标移动到调整矩形上时，它会变成一个四向的箭头。

现在我们把整个**M1**标记移动到柱状图上一个新的位置。或者，我们可以通过选中标记一端将其移动来改变标记大小。

13. 按下鼠标左键不放。

14. 请把鼠标向右移(图T7.12)。

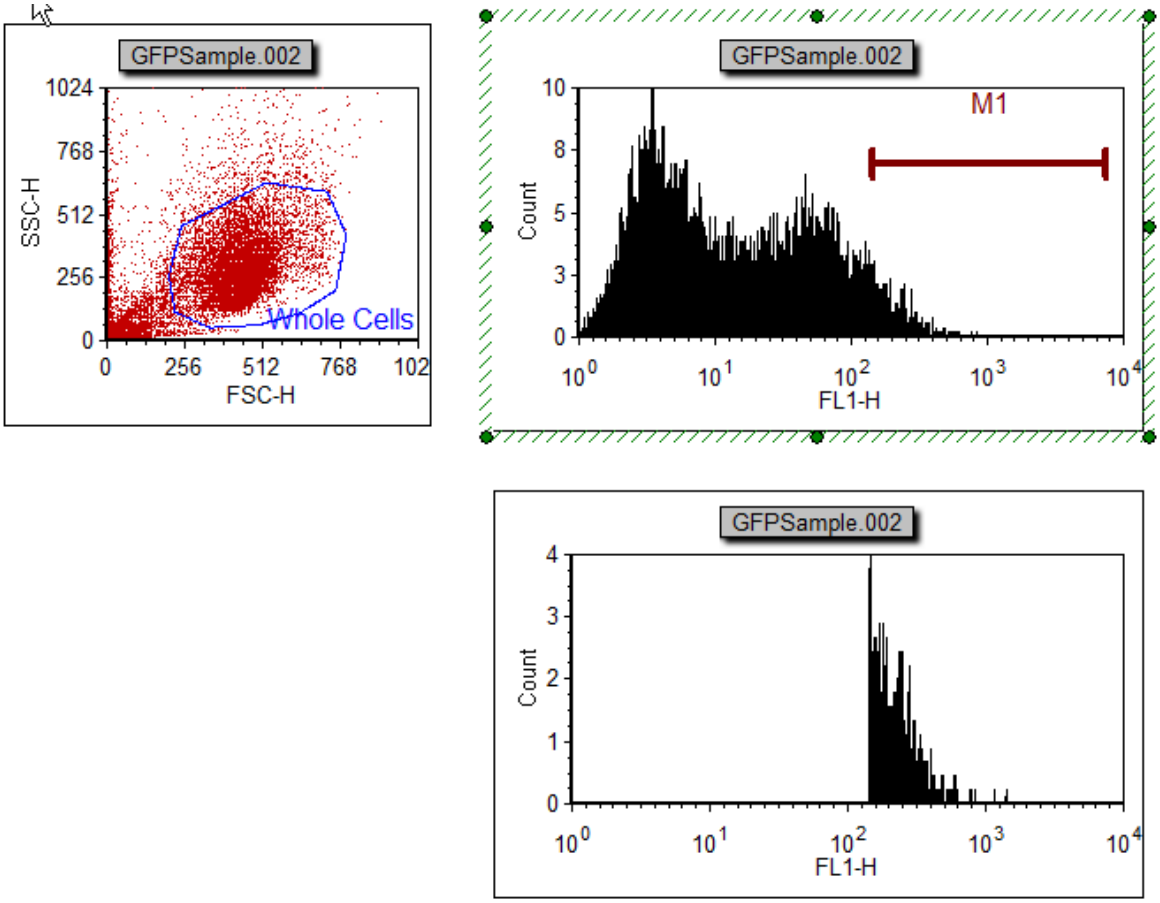
这时将出现指向下方的箭头，指明标记在x - 轴上的两个端点。标记上方是通道编号，指明标记的两个边界(图T7.12)。



图T7.12 Moving Marker M1 (**移动标记**M1)

15. 标记移动到想要的位置时，请松开鼠标(图T7.12)。

位于右下方的柱状图FL1会跟着更新，来反映对**M1**做的更改(图T7.13)。



图T7.13 Histogram Gated on GFP(+) Updated to Reflect Changes made to Marker M1 Position (**应用**GFP(+)**门的柱状图在标记**M1**位置变化后跟着更新**)

36.8 补偿

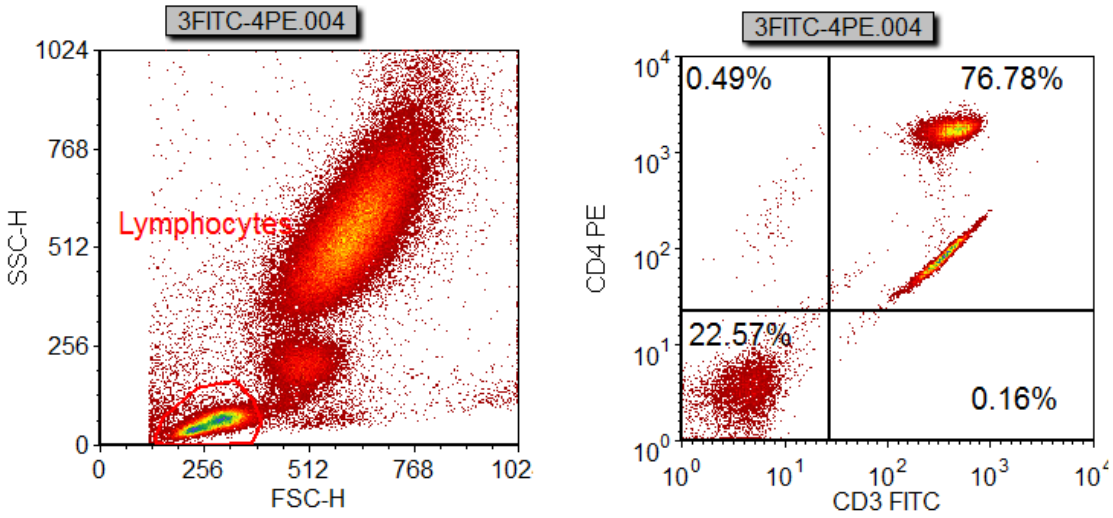
FCS Express中有两种使用软件补偿的方法。手动方法可以让用户使用滑动条来选择补偿水平。自动方法可以让用户使用单色染色对照样本来计算相应的补偿值。用户可以使用两种方法中的任何一种快速简便地设置补偿。在以下的例子中，我们将在FCS Express中打开两个带有针对淋巴球细胞群的版面。

36.8.1 *手动补偿*

要手动地调整补偿:

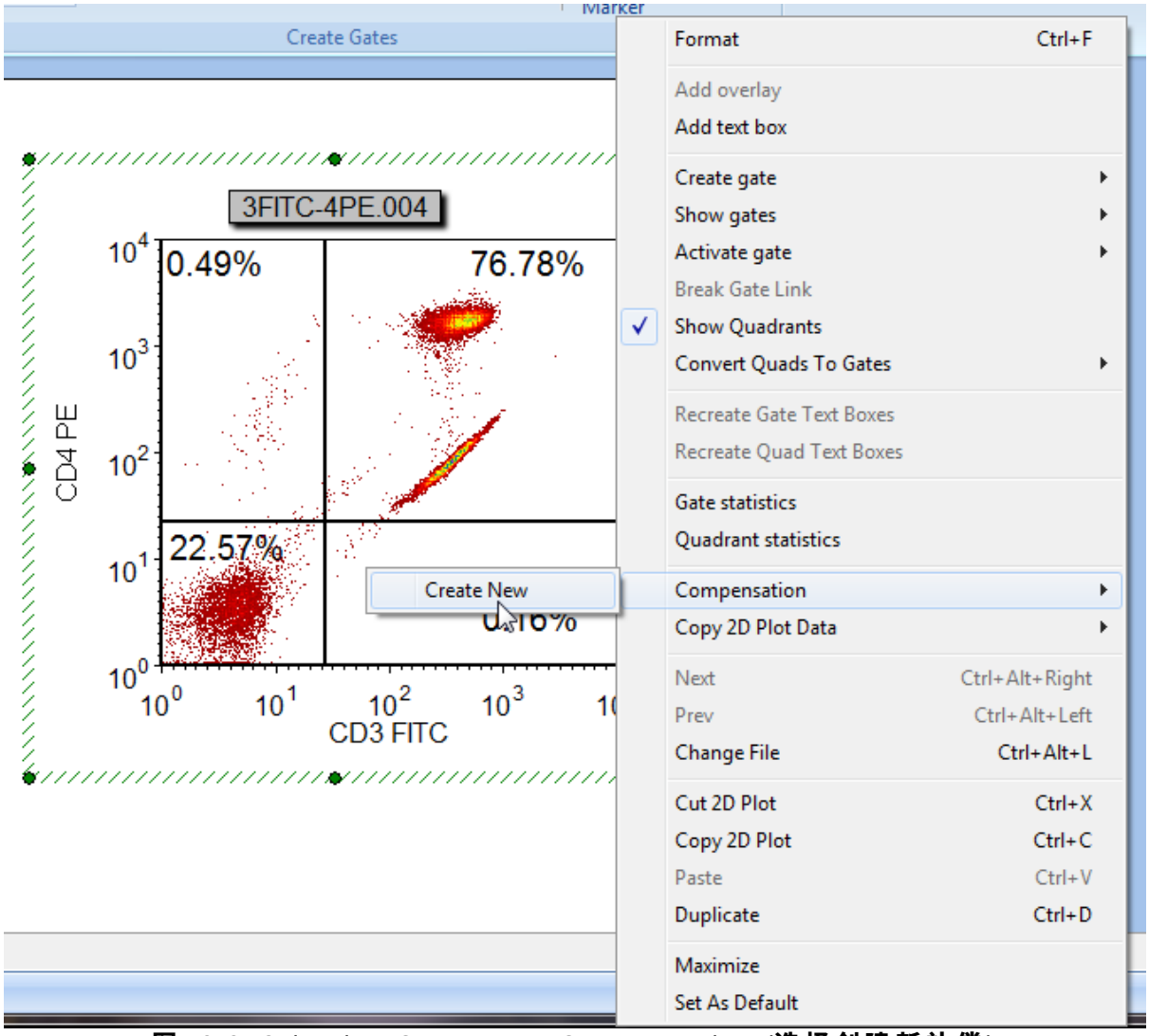
1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库510中的**ManualComp.fey**版面。

该版面包括两个密度图。绘图FSC- SSC上有一个针对淋巴球的门。右边的绘图FITC- PE是在淋巴球门上的门(图T8.1)。



图T8.1 Uncompensated Plots (**未补偿的绘图**)

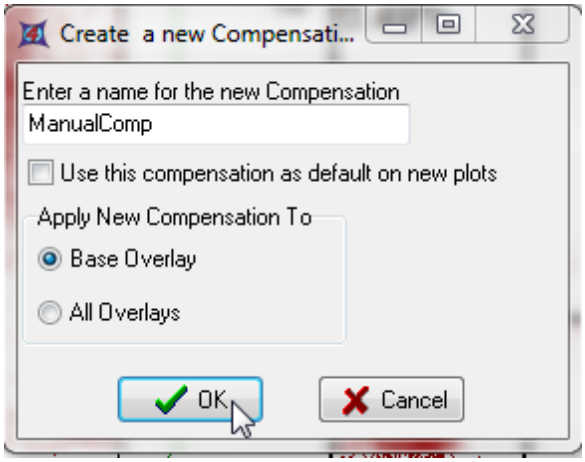
3. 请右键点击右侧的二维绘图来调出弹出菜单。
4. 请从弹出式菜单中选择**Compensation(补偿)→Create New(创建新补偿)**(图T8.2)。



图T8.2 Selecting Create New Compensation (**选择创建新补偿**)

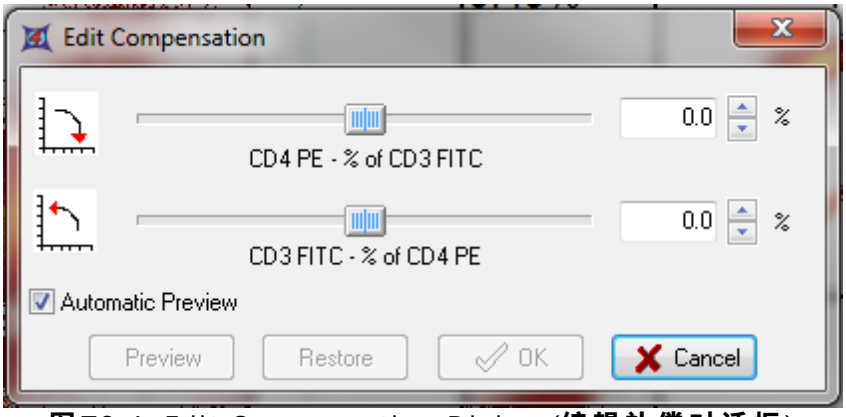
这时会出现一个**Create a new Compensation(创建新补偿)**对话框(图T8.3)。

5. 请在**Enter a name for the new Compensation(为新补偿输入一个名称)**字段输入"**ManualComp**"。
6. 请取消对复选框**Use this compensation as default on new plots(在新绘图上使用该补偿作为默认补偿)**的点选。
7. 请点击**OK**。



图T8.3 Create a new Compensation Dialog (**创建新补偿对话框**)

这时会出现**Edit Compensation(编辑补偿)**对话框(图T8.4)。

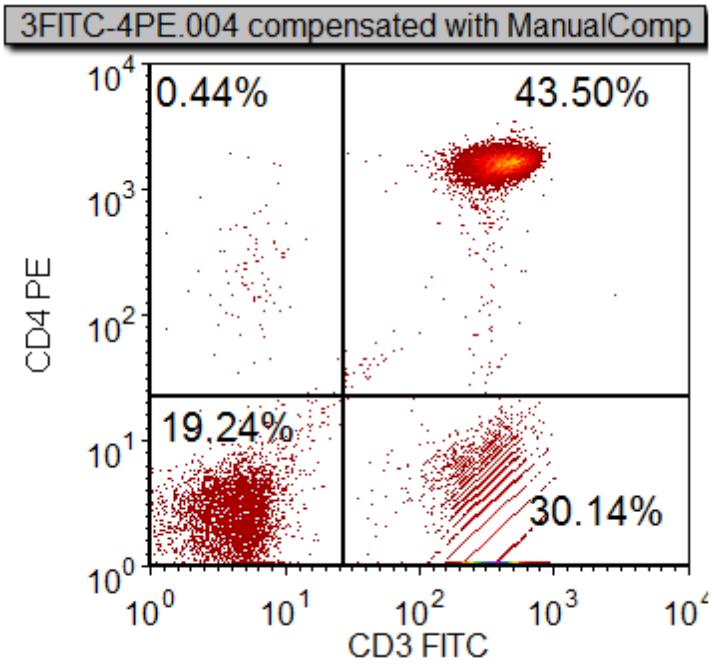


图T8.4 Edit Compensation Dialog (**编辑补偿对话框**)

8. 请调整图T8.4中的滑动条，使二维绘图看起来如图T8.5。

请不要补偿过度！合适的补偿要求CD4 PE - %of CD4 FITC约在22.0%左右，而CD3 FITC - %of CD4 PE约在1.0%左右。向右移动滑动条将把细胞群沿着滑动条左边图中的箭头方向移动。

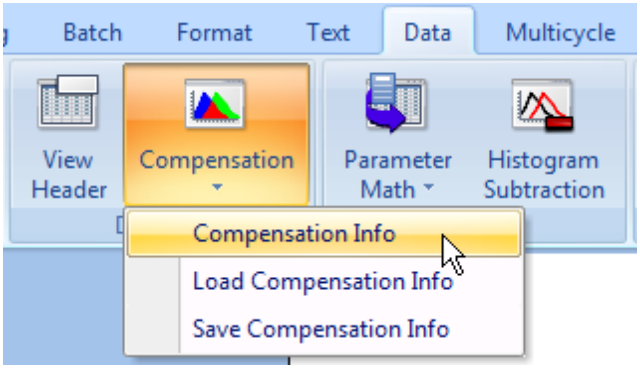
9. 请点击OK来选择手动补偿设置。



图T8.5 Manual Compensation using Edit Compensation Sliders (**使用编辑补偿滑动条进行手动补偿**)

注意到补偿之后右下象限中CD3 FITC (+)细胞群的*数字化错误*。要纠正这个数字化错误:

10.请选择**Data(数据)→Data Info(数据信息)→Compensation(补偿)→Compensation Info(补偿信息)**命令(图T8.6)。



图T8.6 Selecting the Compensation Info Command (**选择补偿信息命令**)

这时会出现**Compensation Info(补偿信息)**对话框(图T8.7)。

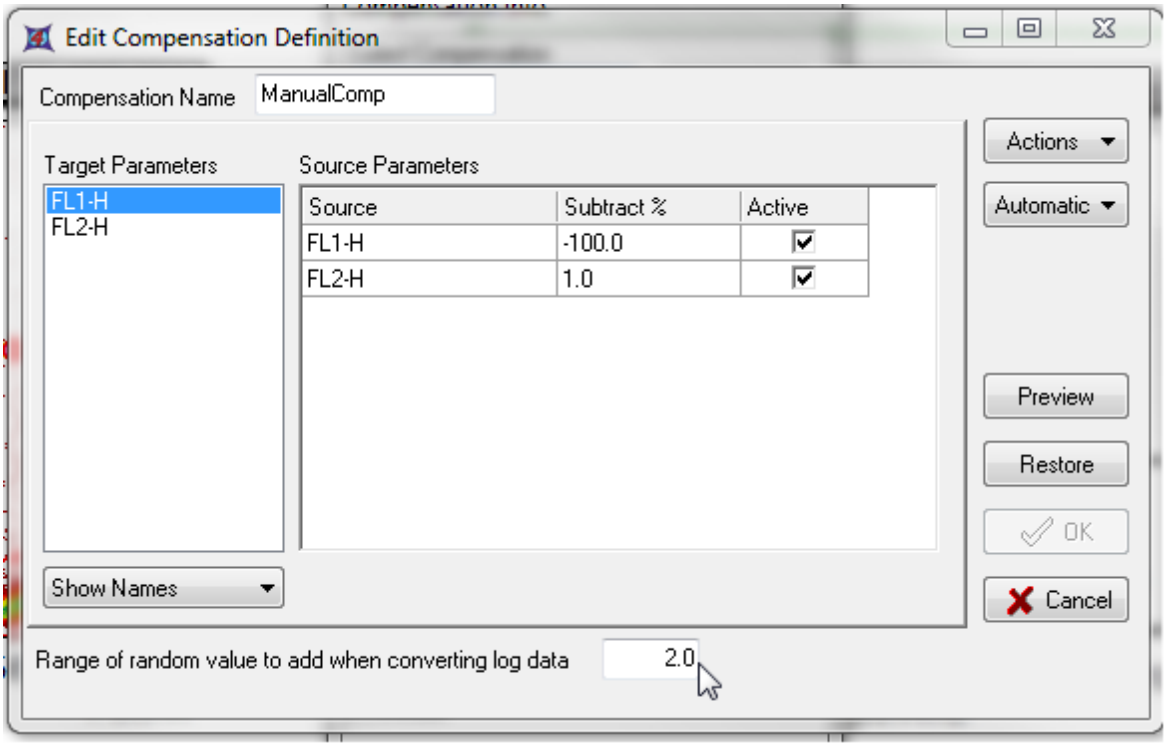


图T8.7 Compensation Info Dialog (**补偿信息对话框**)

11.请选择**ManualComp**补偿矩阵。

12.请点击**Edit(编辑)**。

这时会出现**Edit Compensation Definition(编辑补偿定义)**对话框(图T8.8)。



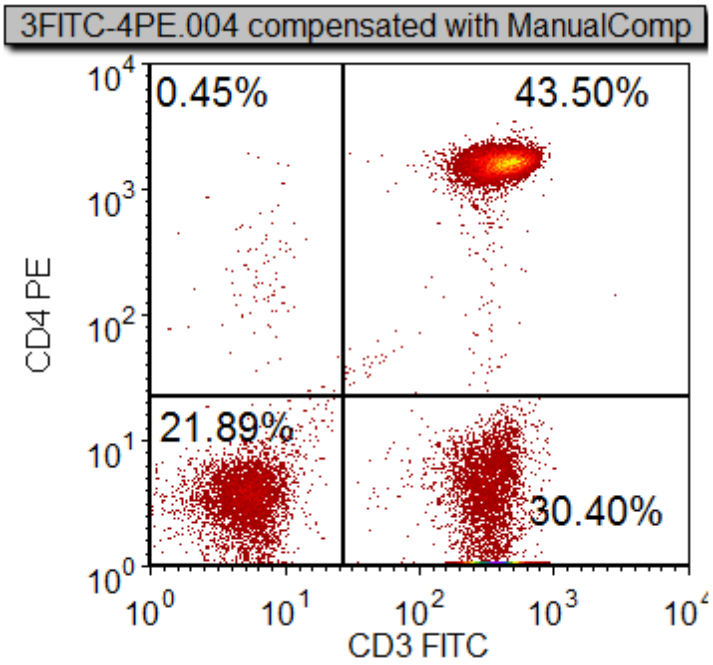
图T8.8 Adding a Random Value when Converting Raw Data (**转换原始数据时添加一个随机值**)

13. 请在**Range of random value to add when converting log data(转换对数数据时添加随机值的范围)**字段输入**2.0**(如图T8.8中的光标所示)。

14. 请点击**OK**键，**Edit Compensation Definition(编辑补偿定义)**对话框将被关闭。

15. 请点击**OK**键来应用**Compensation Info(补偿信息)**对话框中的设置。

这时右下象限中的FITC(+)细胞群将不再有数字化错误。前面插入的随机值用来纠正在二维绘图中的数字化数据显示错误(图T8.9)。



图T8.9 Compensation without Digitization Error (**没有数字化错误的补偿**)

36.8.2 *自动补偿*

要自动地调整补偿:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开在教程样本数据库[510]中的**AutoComp.fey**文件。

这是我们将要用来演示如何设置自动补偿的版面(图T8.10)。最上面的密度图是应用淋巴细胞门的FSC- SSC数据。要使用自动补偿，用户需要为每一个要补偿的参数准备一个单染色的对照样本和一个未染色的对照样本。在FSC- SSC密度图下面是四个未补偿的文件: 未染色的文件、单染色的CD3 FITC文件、单染色的CD4 PE文件以及CD3 FITC/ CD4 PE双重染色文件。

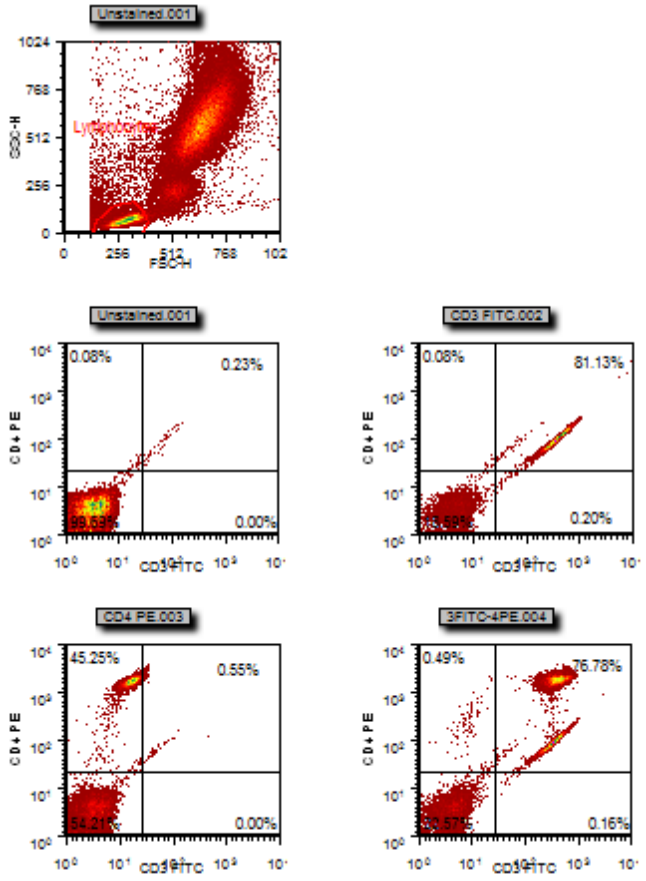
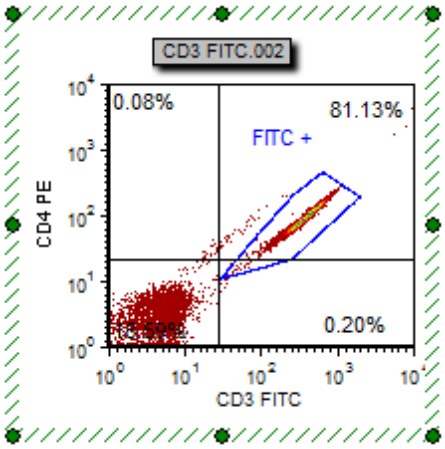


图 T8.10 Autocomp.fey Layout (Autocomp.fey **版面**)

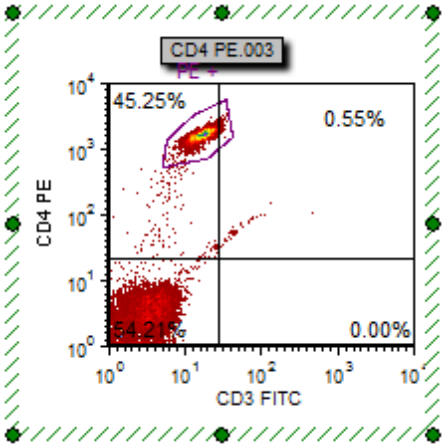
在该例子中，我们将为FL1和FL2设置补偿。实际应用中，只要用户为每个要补偿的染色通道准备一个单染色的阴性对照，也可对多个参数进行补偿。

3. 请在CD3 FITC.002绘图上创建一个包围FITC(+)细胞群的门，如图T8.11所示。如果要学习如何创建门，请参见门操作教程566。



图T8.11 Gate on a single-stained FITC Control (**在单染色的**FITC**对照数据上的门**)

4. 请在CD4 PE.003绘图上创建一个包围PE(+)细胞群的门(图T8.12)。

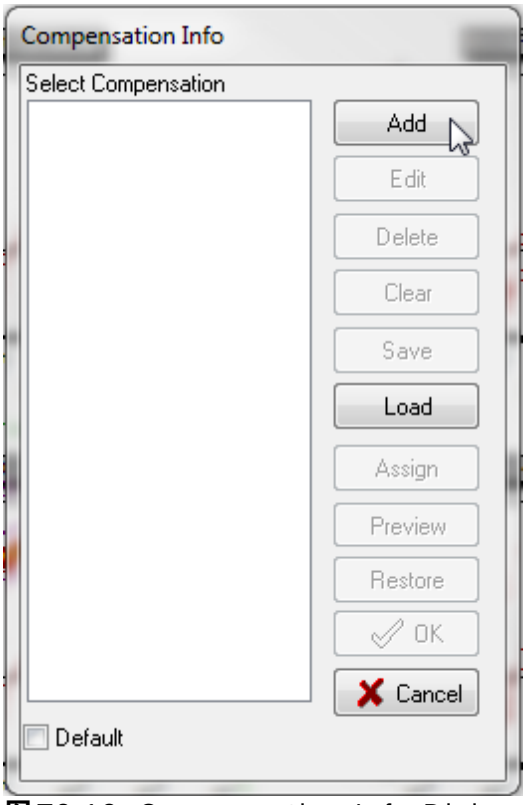


图T8.12 Gate on a single-stained PE Control (**在单染色的**PE**对照数据上的门**)

下面我们将使用刚刚创建的两个单色对照来设置补偿矩阵。

5. 请选择**Data(数据)→Data Info(数据信息)→Compensation(补偿)→Compensation Info(补偿信息)**命令(图T8.6 662)。

这时会出现**Compensation Info(补偿信息)**对话框(图T8.13)。

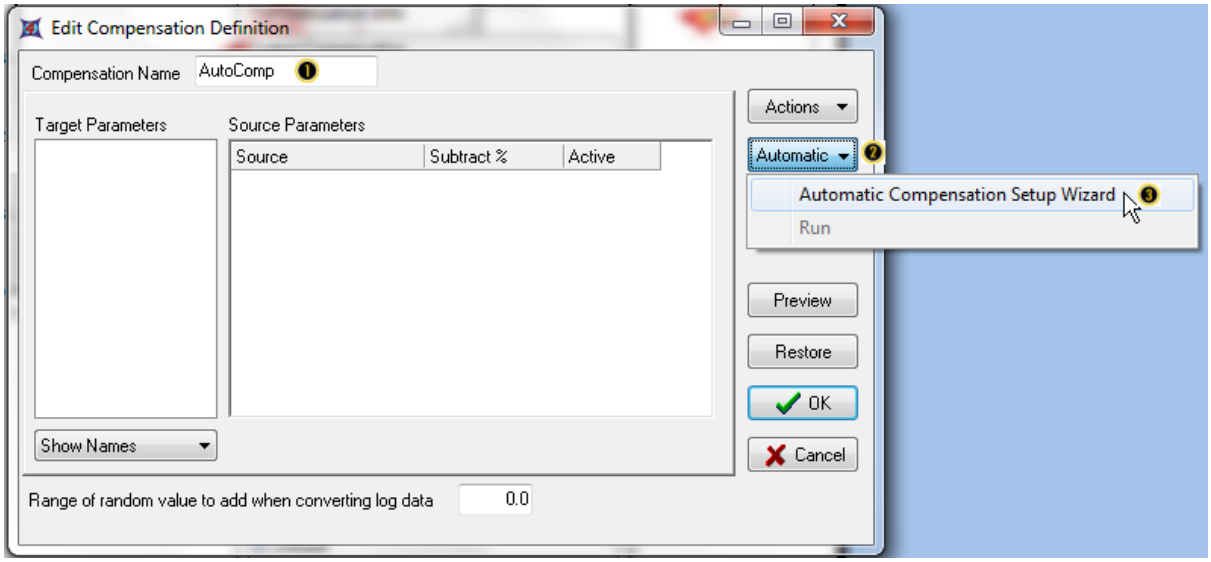


图T8.13 Compensation Info Dialog (**补偿信息对话框**)

6. 请在**Compensation Info(补偿信息)**对话框中选择**Add(添加)**(图T8.13)。

这时会出现**Edit Compensation Definition(编辑补偿定义)**对话框(图T8.14)。

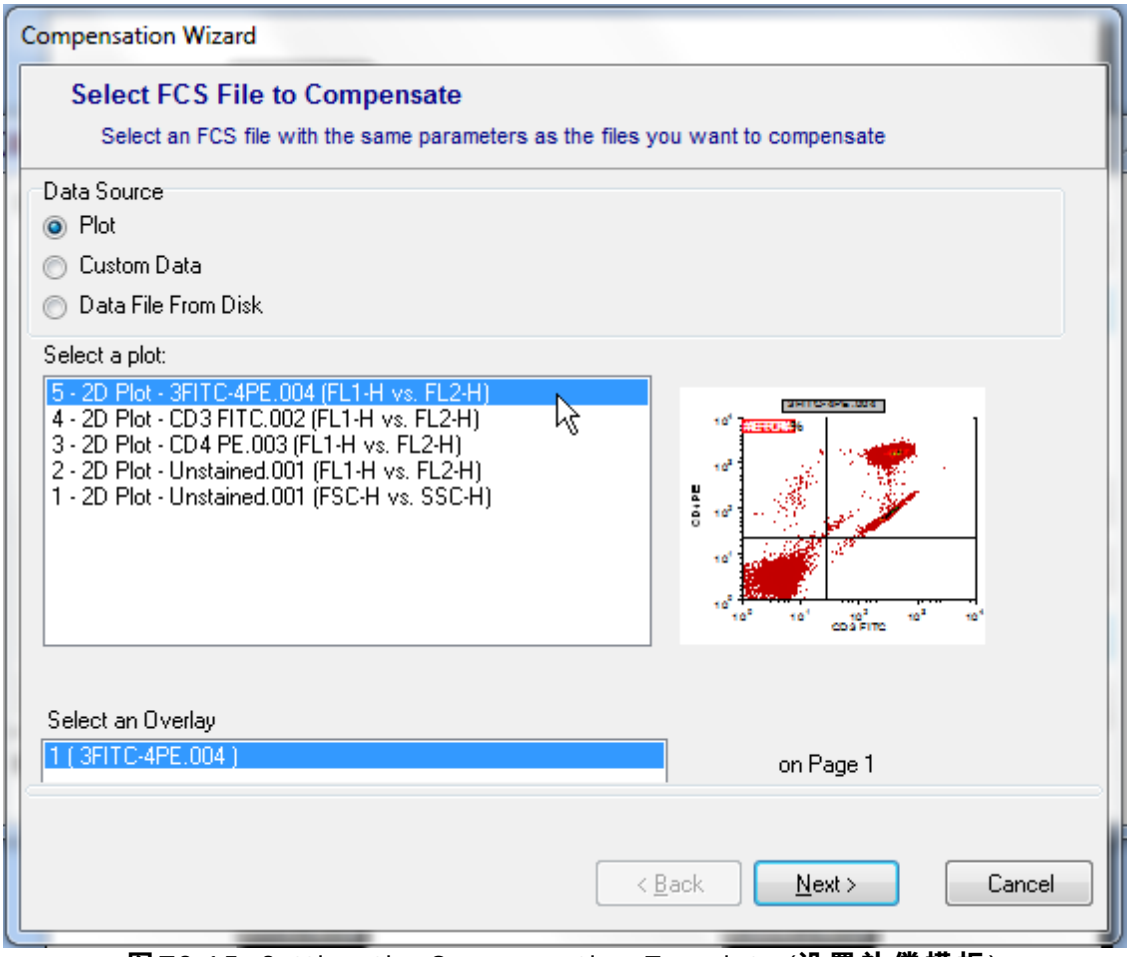
7. 请在**Compensation Name(补偿名称)**字段输入**AutoComp** ❶。
8. 请在对话框的右侧点击**Automatic(自动)** ❷(图T8.14)。
9. 请从下拉列表中选择**Automatic Compensation Setup Wizard(自动补偿设置向导)** ❸。



图T8.14 Creating an Automatic Compensation using the Edit Compensation Definition Dialog (**使用编辑补偿定义对话框来创建自动补偿**)

这时会出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的第一页(图T8.15)。在该页上，用户将要告诉FCS Express在整个自动补偿设置中要用哪个文件做模板。

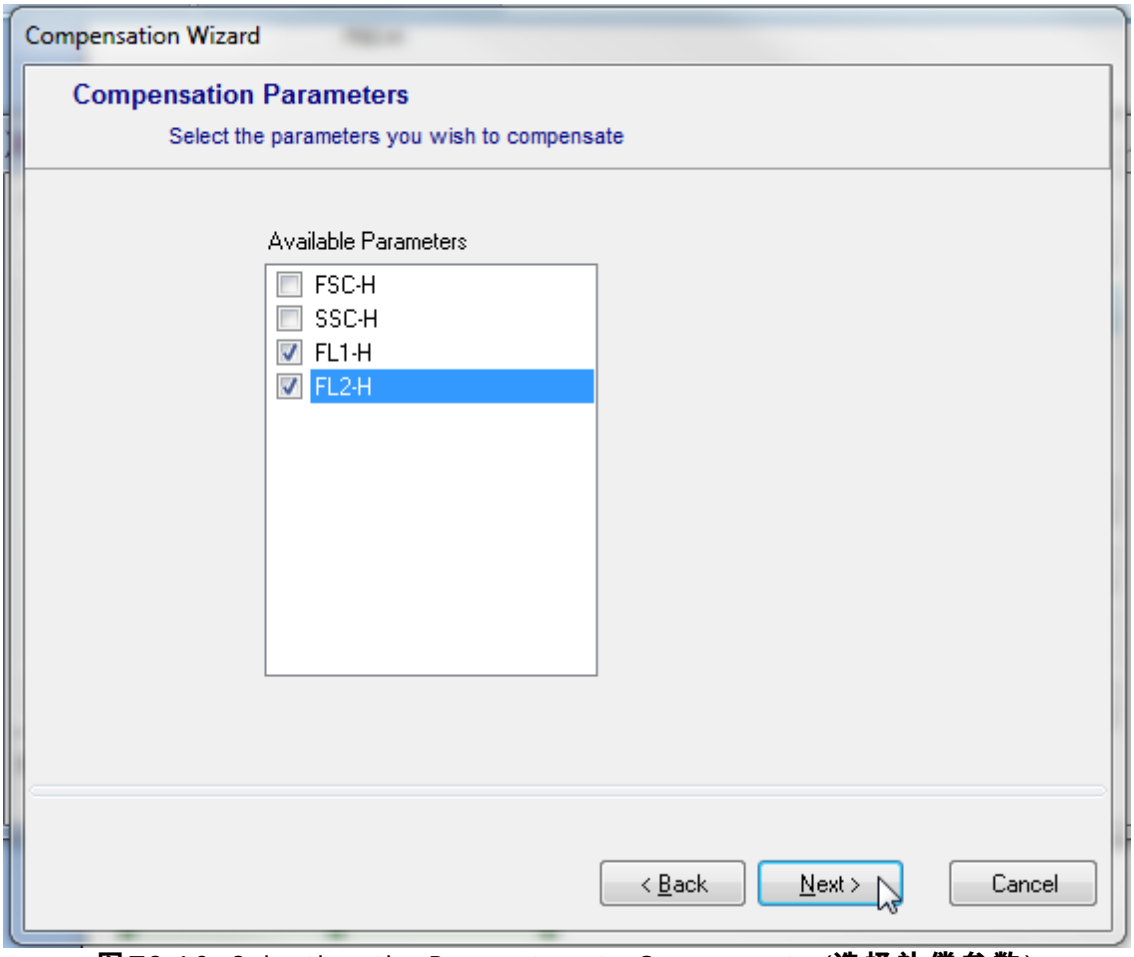
10. 请从绘图列表中选择第5个绘图(3FITC- 4PE.004，图T8.15中蓝色高亮显示的绘图)。



图T8.15 Setting the Compensation Template (**设置补偿模板**)

11. 请点击**Next(下一步)**(图T8.15)。

这时将出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的第二步(图T8.16)。在这一页上，我们将选择要补偿的参数。

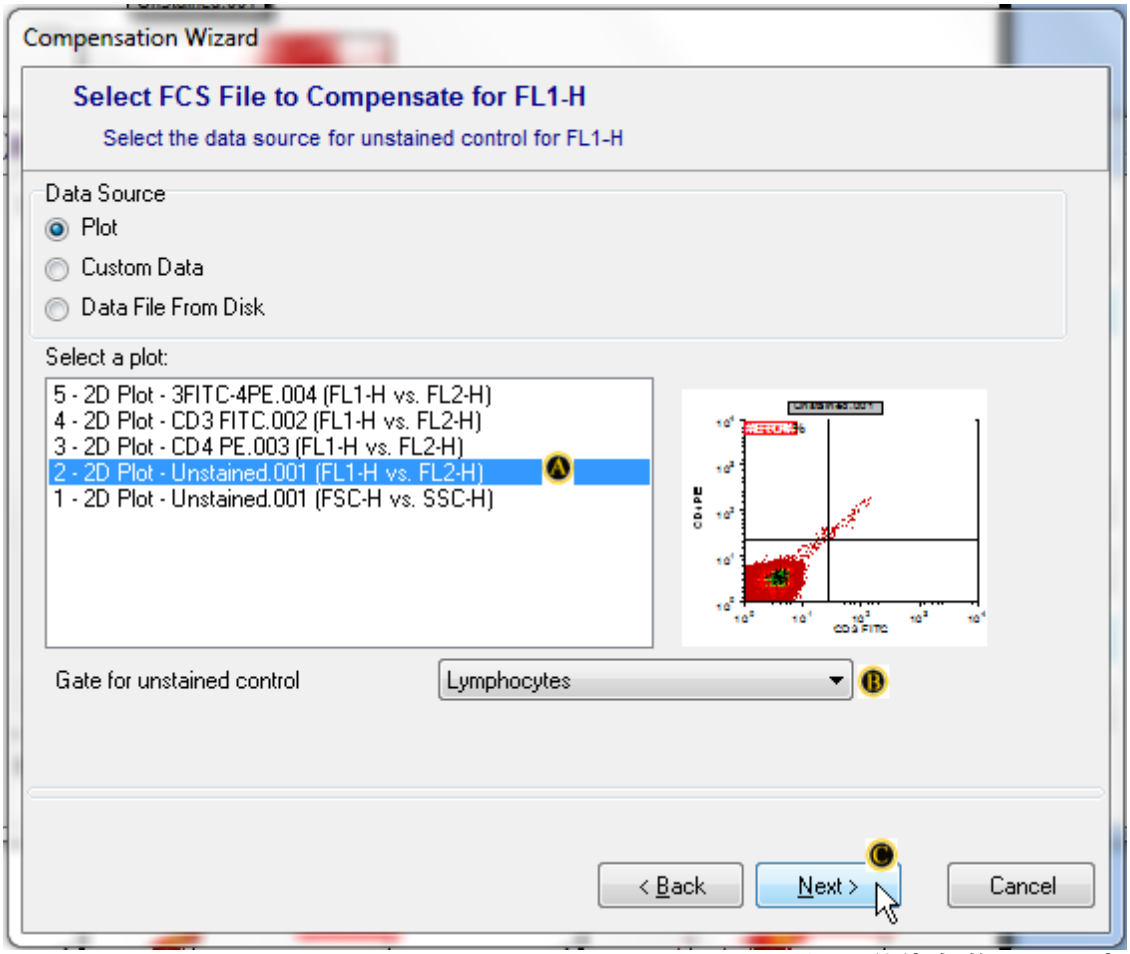


图T8.16 Selecting the Parameters to Compensate (**选择补偿参数**)

12. 请选择**FL1- H**和**FL2- H** (图T8.16)。

13. 请点击**Next(下一步)**。

这时将出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的第三页(图T8.17)。我们将在这里告诉FCS Express使用未染色的试样文件来对FL1- H进行补偿。



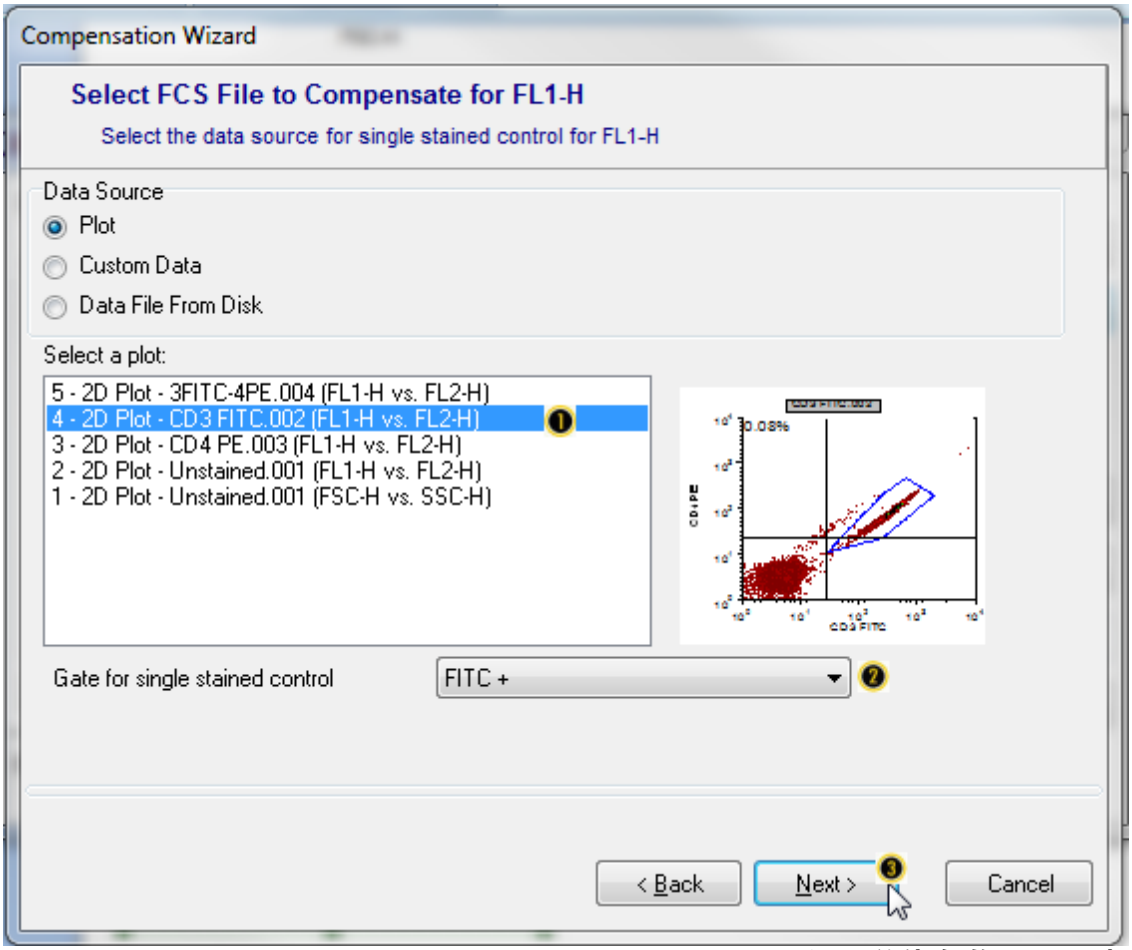
图T8.17 Setting up the single-stained FL1-H Control (**设置单染色的**FL1-H**对照**)

14. 请从绘图列表中选择第2个绘图(Unstained.001)Ⓐ(图T8.17)。

15. 请从**Gate for unstained control(未染色的阴性对照将使用的门)**下拉列表中选择**Lymphocytes(淋巴细胞)**Ⓑ门。

16. 请点击**Next(下一步)**Ⓒ按钮(图T8.17)。

这时将出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的第四页(图T8.18)。我们将在这一页告诉FCS Express哪一个文件包含FL1- H对应的单染色对照。



图T8.18 Setting up the single-stained FL1-H Control (**设置单染色的**FL1-H**对照**)

17. 请选择第4个绘图❶(CD3FITC.002) - 单染色FITC对照。

18. 请从**Gate for single stained control(单染色对照要使用的门)**下拉列表中选择**FITC+** ❷门。

19. 请点击**Next(下一步)** ❸(图T8.18)。

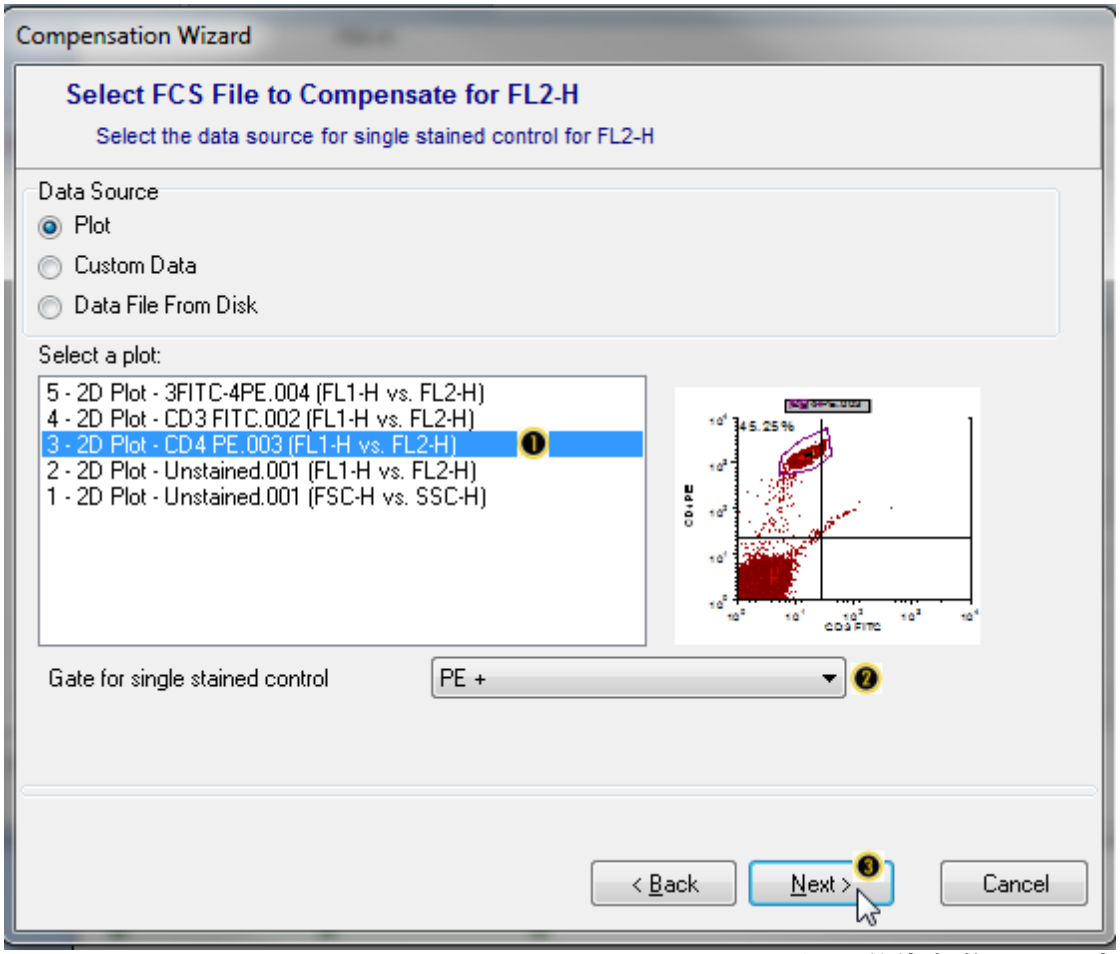
这时将出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的第五页。在此我们将告诉FCS Express为FL2- H使用哪个未染色的对照。这一页和图T8.17近似，只是在顶端我们将为FL2- H(而不是FL1- H)设置未染色对照。请参考图T8.17来为FL2- H设置未染色对照。

20. 请从绘图列表中选择第2个绘图(Unstained.001)Ⓐ(在这个例子中，两个颜色的无染色对照相同，但用户可以为它们设置不同的对照)。

21. 请从**Gate for unstained control(针对未染色对照的门)**下拉列表中选择**Lymphocytes(淋巴细胞)**Ⓑ门。

22. 请点击**Next(下一步)** ❸ 按钮。

这时将出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的第六页(图T8.19)。我们将在这一页告诉FCS Express哪一个文件包含FL2-H对应的单染色对照。



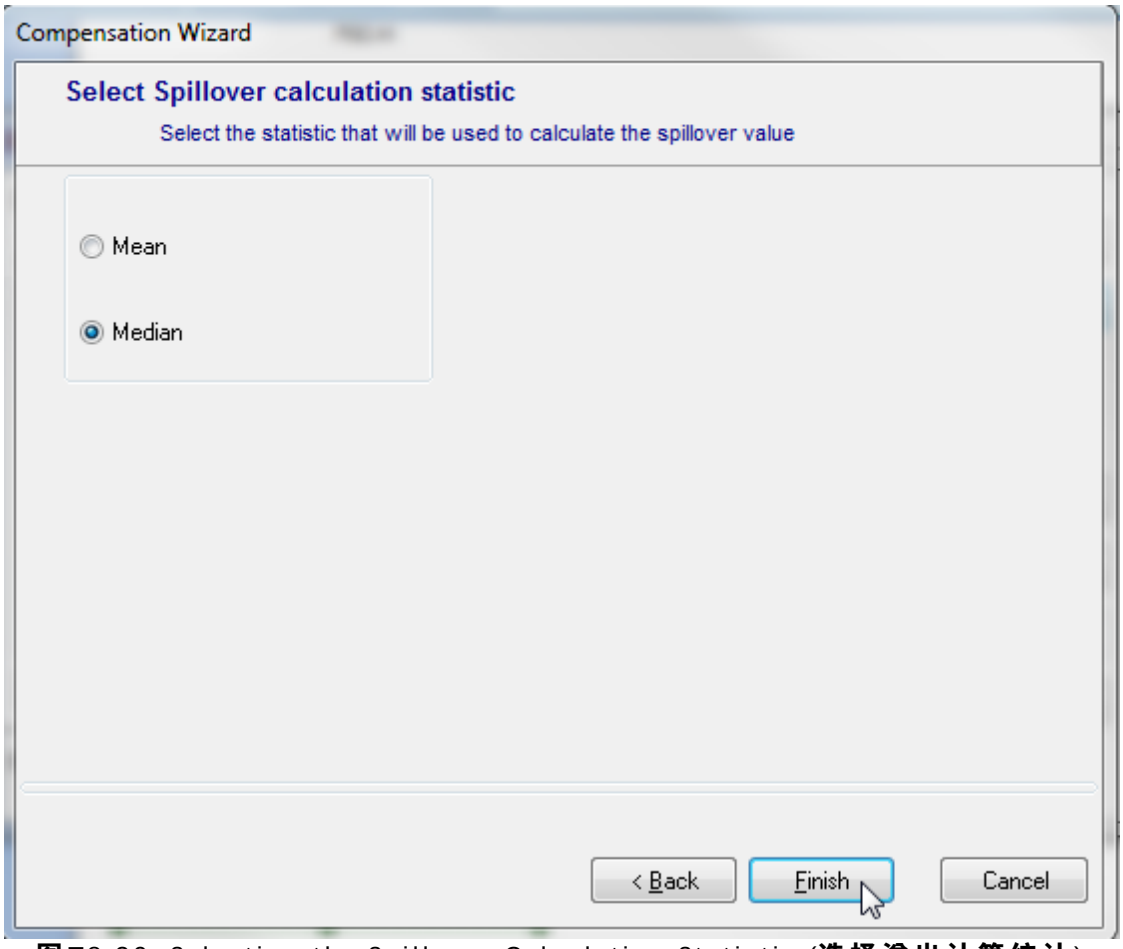
图T8.19 Setting up the single-stained FL2-H Control (**设置单染色的**FL2-H**对照**)

23. 请选择第3个绘图 ❶ (CD4PE.003) - 单染色PE对照。

24. 请在**Gate for single stained control(单染色对照应用的门)**下拉列表中选择**PE+** ❷ 。

25. 请点击**Next(下一步)** ❸ 按钮(图T8.19)。

这时会出现**Compensation Wizard(补偿向导)**的最后一页(图T8.20)。这里我们将选择使用平均数还是中间数作为溢出统计。一般来说是选择中间数。

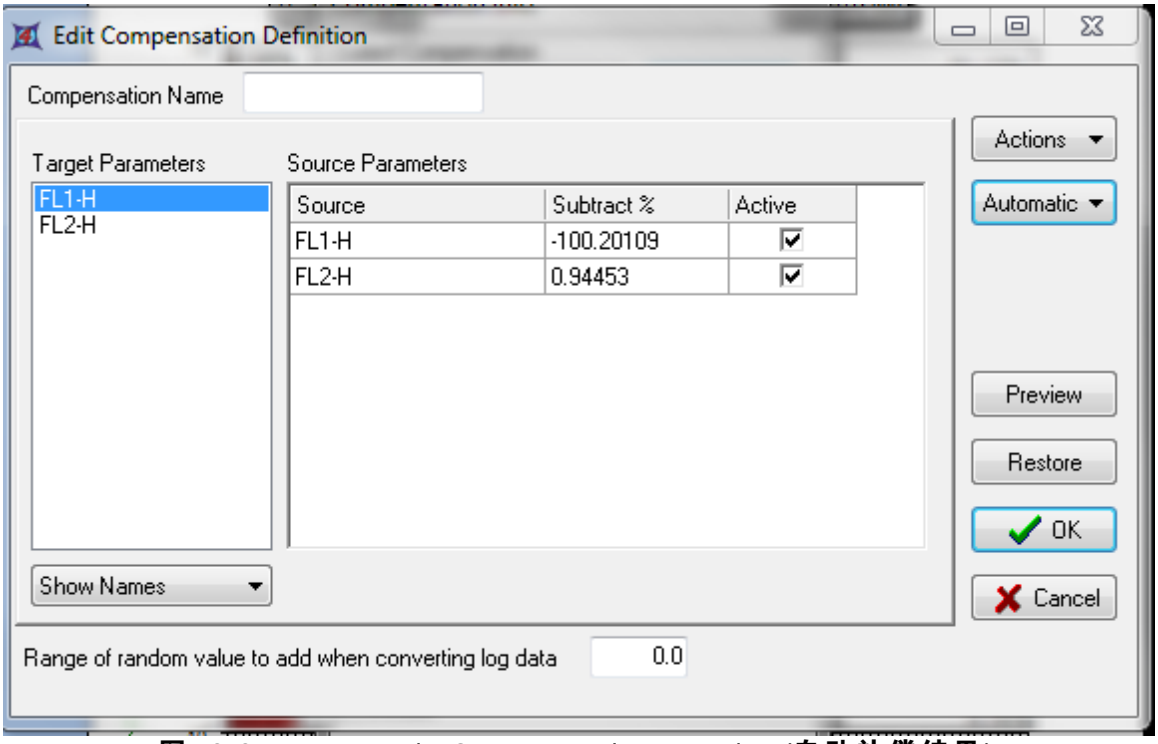


图T8.20 Selecting the Spillover Calculation Statistic (**选择溢出计算统计**)

26. 请点选**Median(中间数)**单选按钮。

27. 请点击**Finish(完成)**按钮(图T8.20)。

这时将再次出现**Edit Compensation Definition(编辑补偿定义)**对话框(图T8.21)。注意到补偿矩阵的结果已经计算了出来。

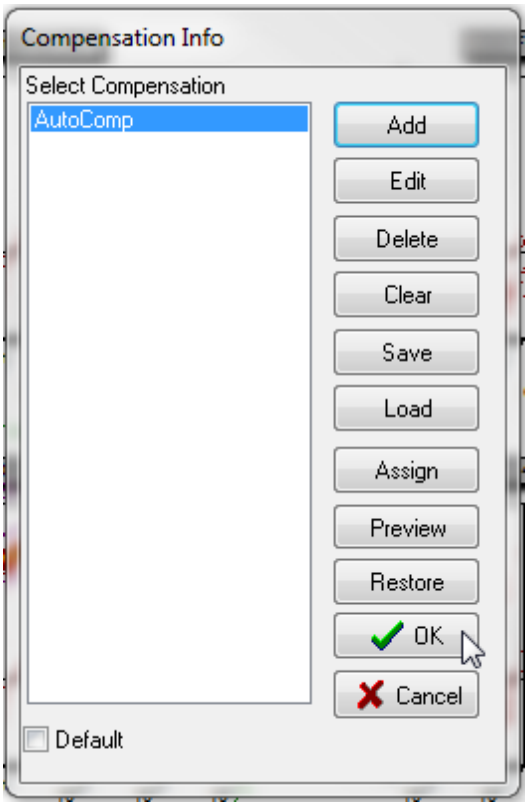


图T8.21 Automatic Compensation Results (**自动补偿结果**)

28. 请点击**Edit Compensation Definition(编辑补偿定义)**对话框中点击**OK** (图T8.21)。

29. 请在**Compensation Info(补偿信息)**对话框中点击**OK**(图T8.22)。

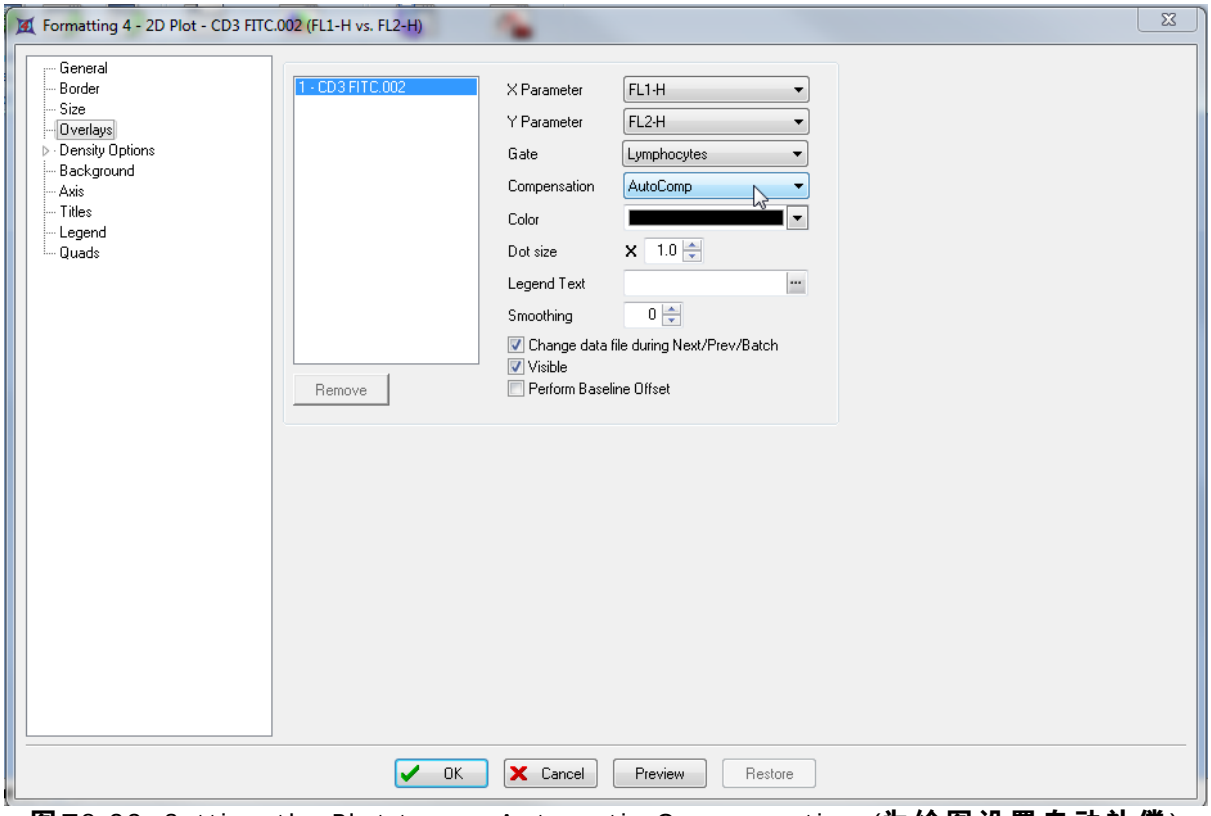
这时带有**AutoComp**的**Compensation Info(补偿信息)**对话框将再次出现(图T8.22)。



图T8.22 Compensation Info Dialog with AutoComp (**含有**AutoComp**的补偿信息对话框**)

现在我们将把这个自动补偿值应用到3FITC- 4PE双染色绘图上。

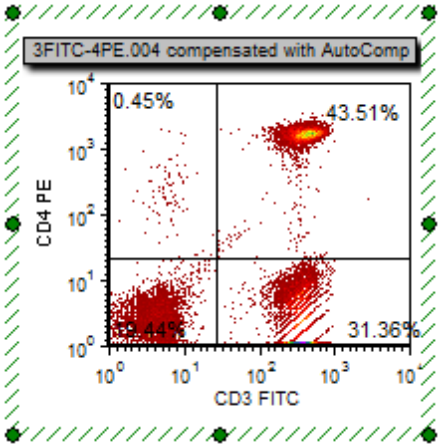
30. 请右键点击**3FITC- 4PE**绘图。
31. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
32. 请点击**Overlays(叠加图层)**类别选项(图T8.23)。
33. 请从**Compensation(补偿)**下拉列表中选择**AutoComp**。
34. 请点击**OK**。



图T8.23 Setting the Plot to use Automatic Compensation (**为绘图设置自动补偿**)

3FITC- 4PE密度图这时应该看起来如图T8.24所示。

如果想纠正右下象限中FITC+ 细胞群的数字化错误，请参考前一节手动补偿662中的最后一部分。



图T8.24 CD3 FITC - CD4 PE with Automatic Compensation (**经过自动补偿的**CD3 FITC - CD4 PE**图**)

36.9 批处理

批处理可以让用户顺序分析多个数据文件而无需为每个文件设置相应的绘图。批处理还可以让用户把版面和统计导出为多种格式，比如打印、保存和导出到PowerPoint、PDF、Excel、文本文件以及Word文件。

36.9.1 *把绘图导出至PowerPoint*

在本节中，我们会:

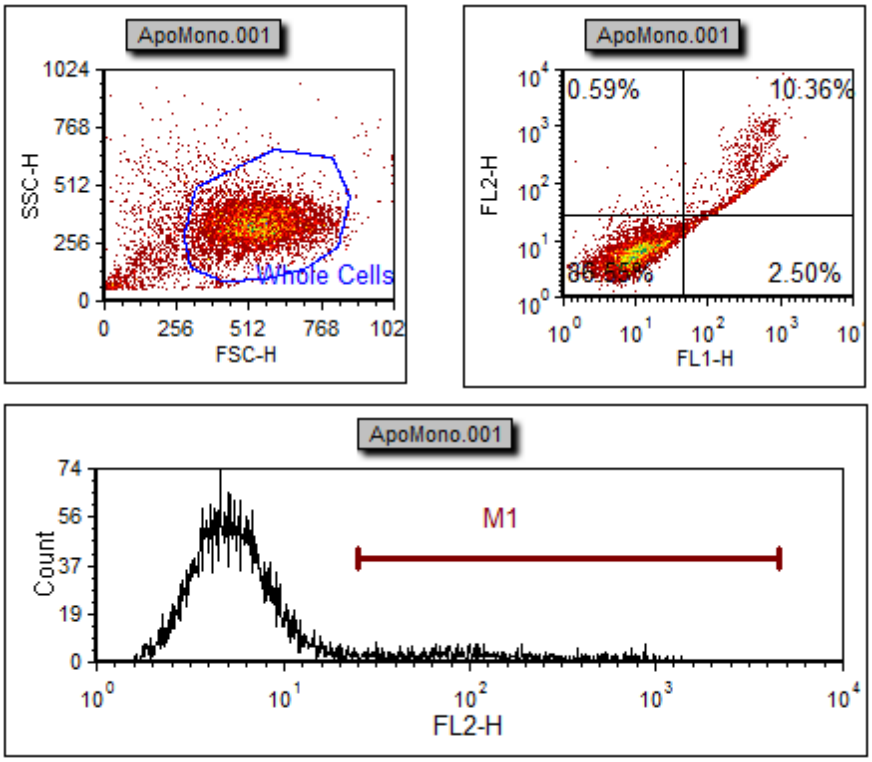
- 创建一个要进行批处理的数据文件列表。
- 把绘图导出到一个PowerPoint文件。

要运行批处理操作:

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开在教程样本数据库510中的**BatchProcess.fey**文件。

版面里有**ApoMono.001**文件对应的两个二维密度图和一个柱状图(图T9.1)。左边的绘图FSC- SSC上有一个名为**Whole Cells(所有细胞)**的门。右边的绘图FL1- FL2用象限的方式

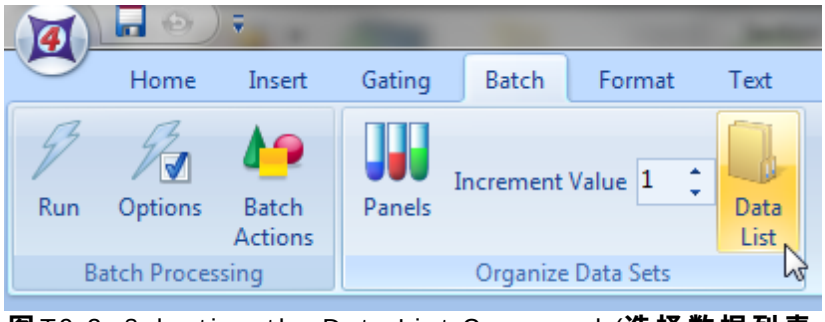
显示了**Whole Cells**门中的细胞。FL2柱状图也在应用**Whole Cells**门。



图T9.1 Batch Layout (BatchProcess.fey) (**批处理版面** (BatchProcess.fey))

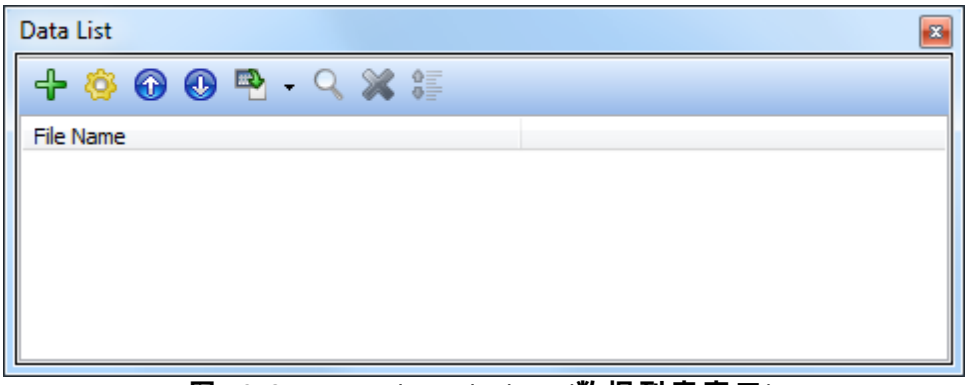
要运行一个批处理，必须先把文件放在**Data List(数据列表)**中。

3. 请选择**Batch(批处理)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令(图T9.2)。



图T9.2 Selecting the Data List Command (**选择数据列表命名**)

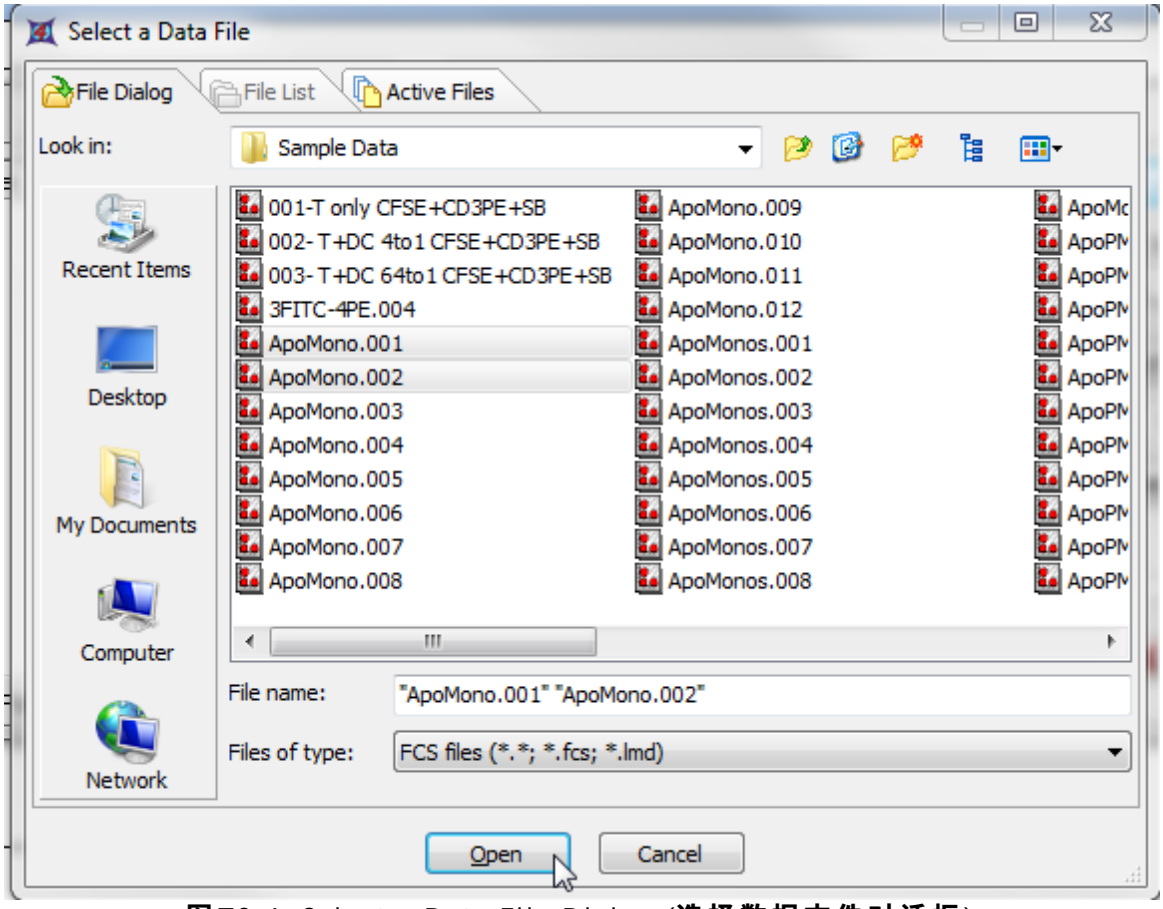
这时会出现**Data List(数据列表)**窗口(图T9.3)。



图T9.3 Data List Window (**数据列表窗口**)

4. 请点击绿色的加号来添加文件。

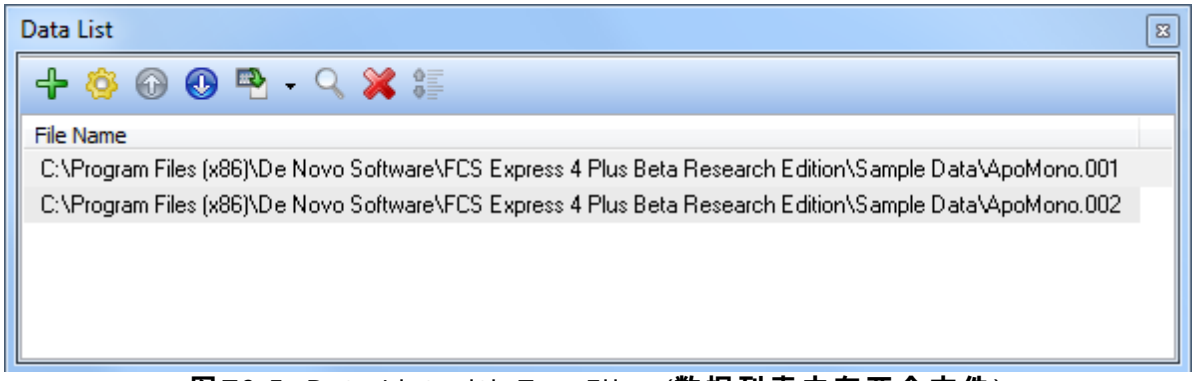
这时会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框(图T9.4)。



图T9.4 Select a Data File Dialog (**选择数据文件对话框**)

5. 请选中两个数据文件**ApoMono.001**和**ApoMono.002**。
6. 请点击**Open(打开)**。

Data List(数据列表)窗口会显示两个文件(图T9.5)。

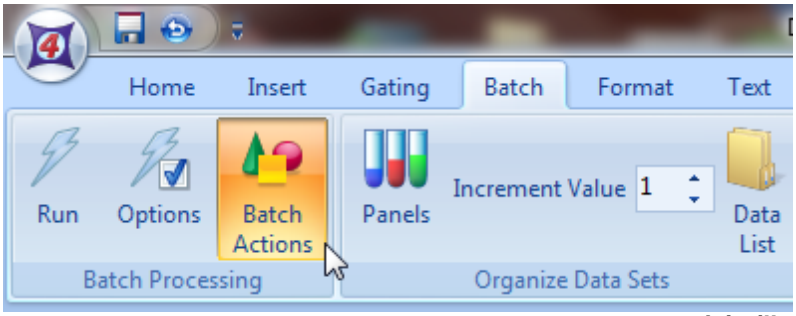


图T9.5 Data List with Two Files (**数据列表中有两个文件**)

注: 批处理过程中文件按照它们在数据列表中的位置被执行。

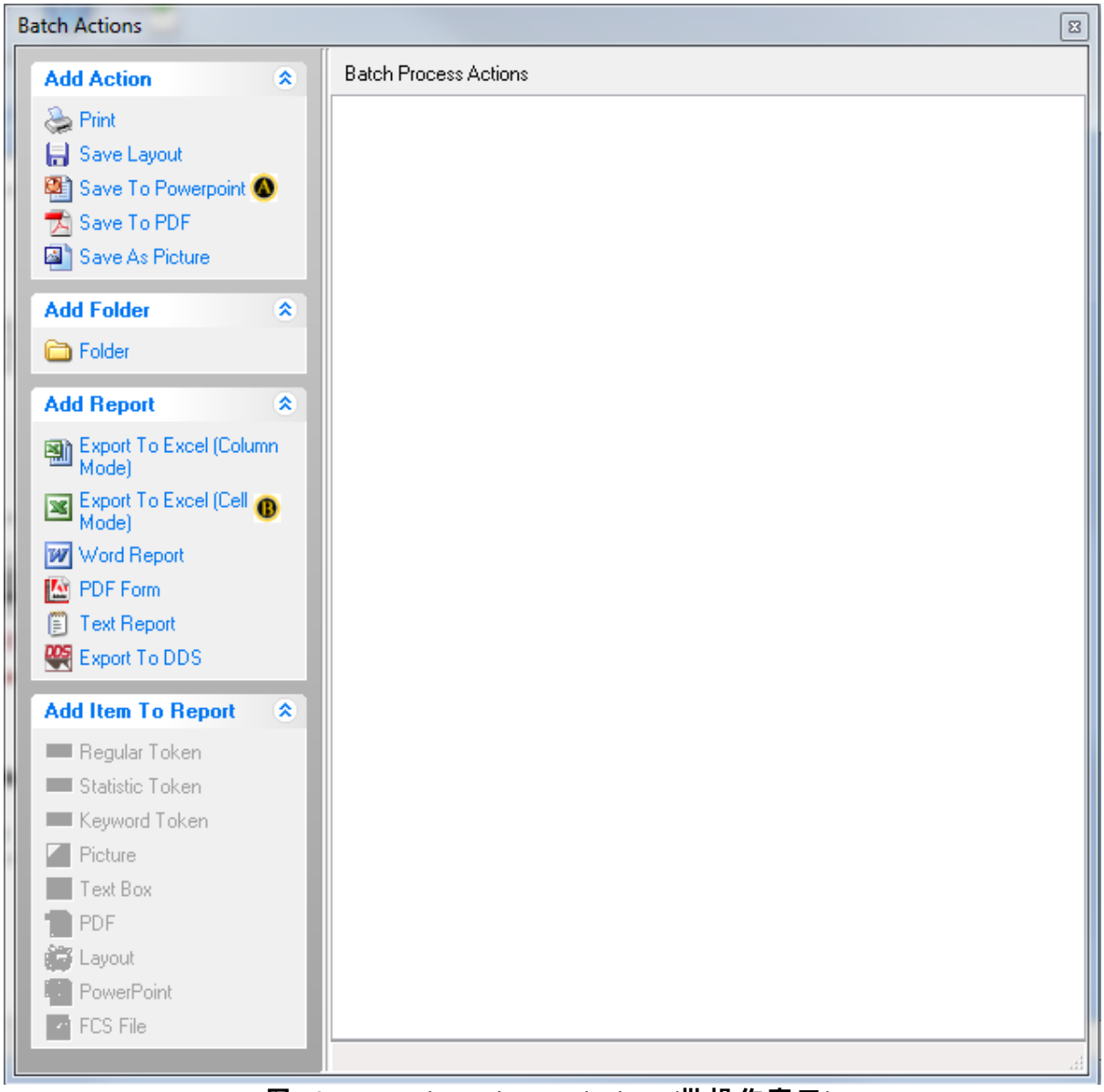
到现在我们已经告诉了FCS Express我们想要使用**BatchProcess.fey**版面并使用该版面来分析两个文件ApoMono.001和ApoMono.002。下一步是要让FCS Express知道对每个文件进行分析时都要做什么。

7. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)**命令(图T9.6)。



图T9.6 Selecting the Batch Actions Command (**选择批操作命令**)

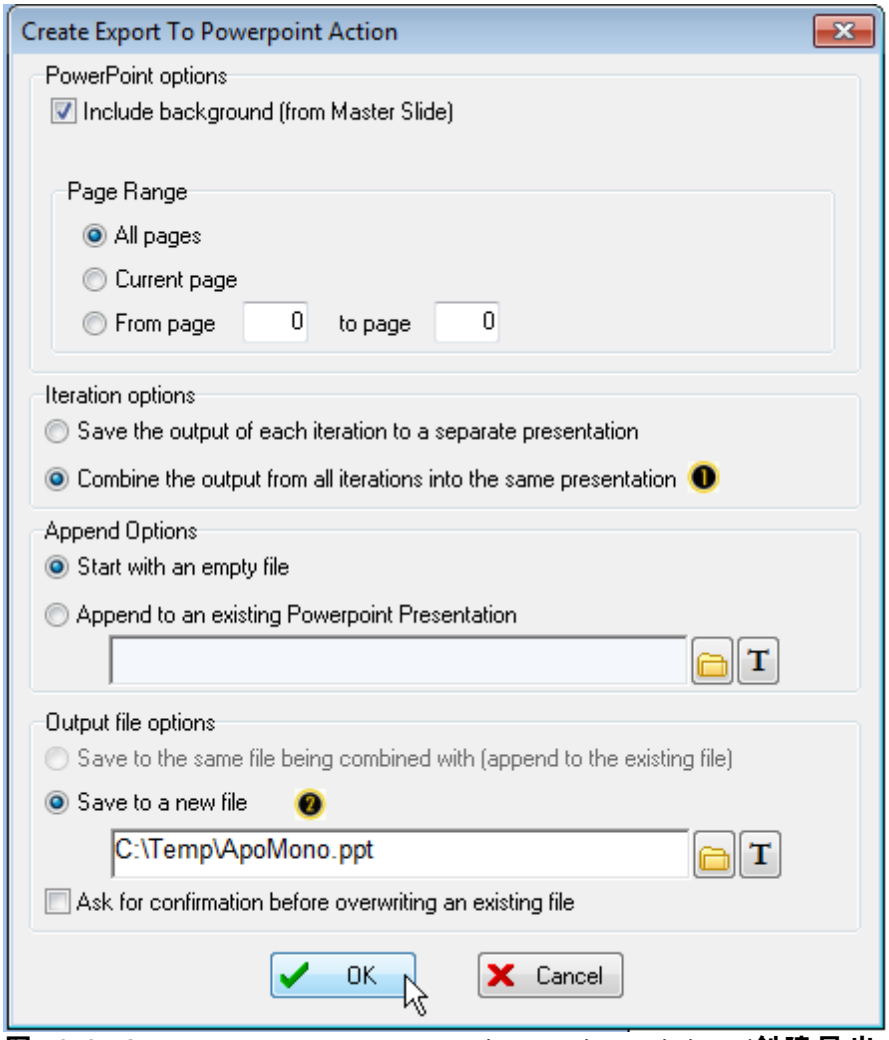
这时会出现**Batch Actions(批操作)**窗口(图T9.7)。用户将在这里告诉FCS Express在批处理过程中要执行哪些操作。我们需要批处理在每一循环中让FCS Express保存一个PowerPoint文件。



图T9.7 Batch Actions Window (**批操作窗口**)

8. 请从**Add Action(添加操作)**类别选项中选择**Save To PowerPoint(保存到PowerPoint)** (图T9.7)。

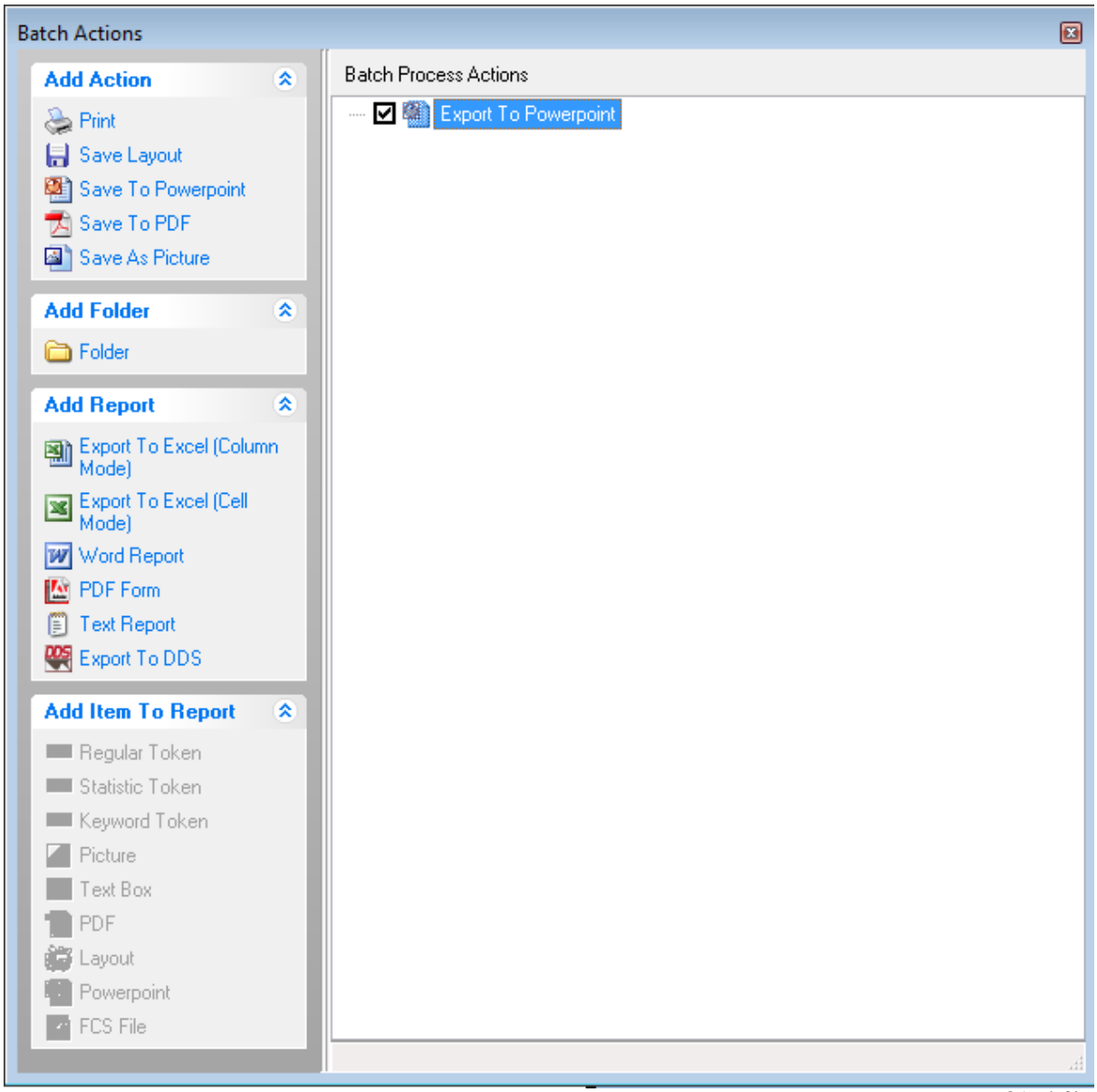
这时会弹出**Create Export To Powerpoint Action(创建导出至Powerpoint操作)**对话框(图T9.8)。



图T9.8 Create Export to PowerPoint Action Dialog (**创建导出至**PowerPoint**操作对话框**)

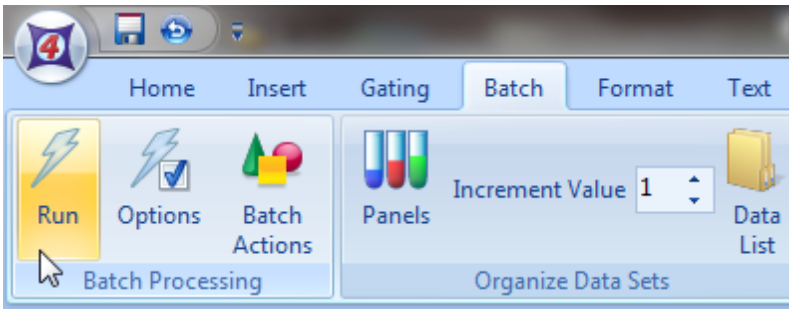
9. 请从**Iteration options(循环选项)**部分选择**Combine the output from all iterations into the same presentation(把所有循环输出的结果合并到一个演示文稿中)**❶。
10. 请从**Output file options(输出文件选项)**中选择**Save to a new file(保存到新文件)**❷。
11. 请输入**C:\Temp\ApoMono.ppt**作为**Save to a new file(保存到新文件)**的PowerPoint演示文稿。(如果没有C:\Temp文件夹，请另外选择一个文件夹)。
12. 请点击**OK**。

Batch Actions(批操作)窗口(图T9.9)现在已经更新，以此来反映在**Add Action(添加批操作)**类别选项(图T9.7)中的导出至PowerPoint的设置。



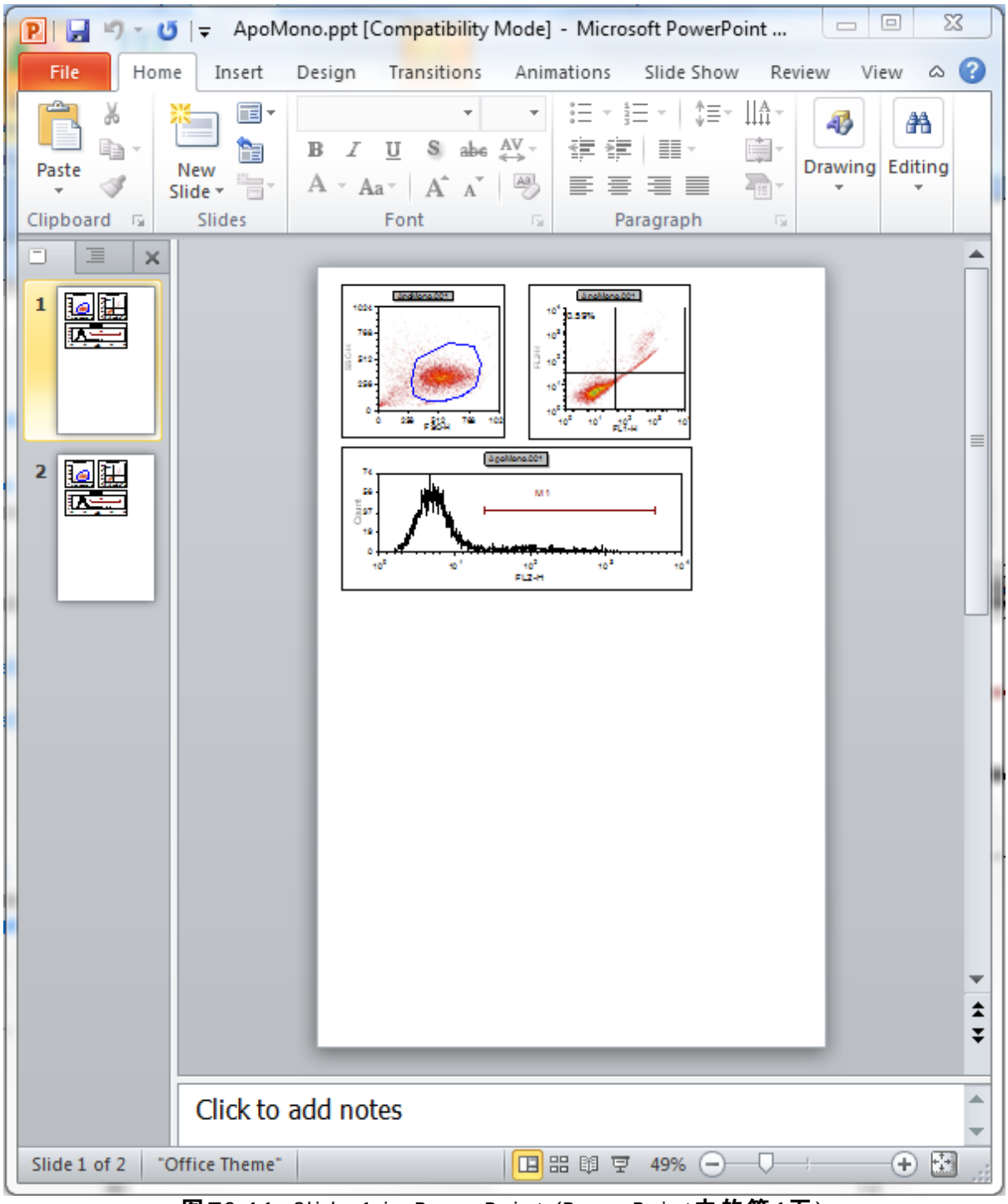
图T9.9 Batch Actions Window Updated with Export to PowerPoint Action (**更新后的批操作窗口含有导出至**PowerPoint**批操作**)

13. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Run(运行)**命令(图T9.10)。

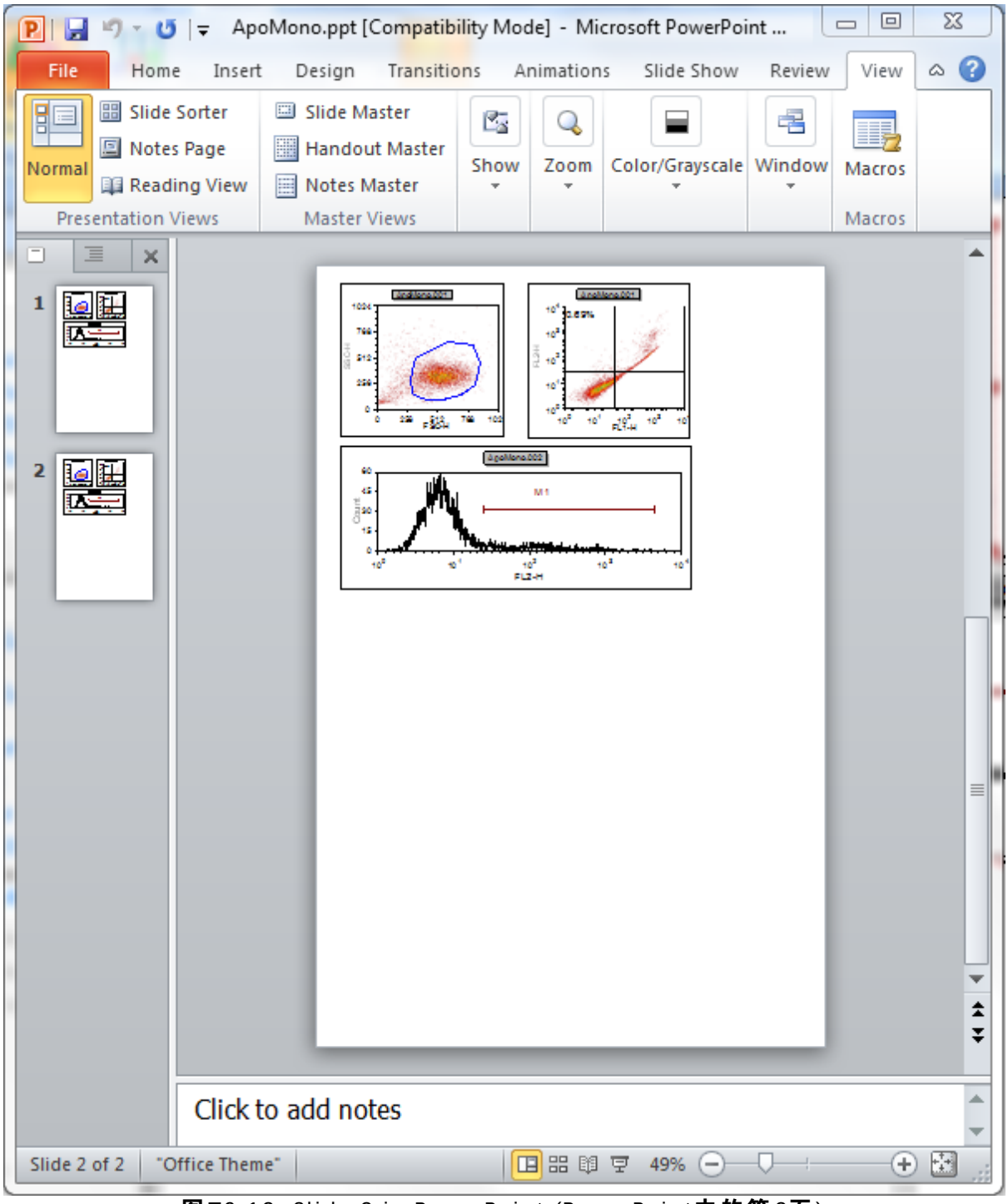


图T9.10 Selecting the Run Batch Process Command (**选择运行批处理命令**)

FCS Express将会运行批处理。在一系列自动执行的步骤之后，PowerPoint会被启动来打开**ApoMono.ppt**文件。这个文件包含两页: 第一页幻灯片显示数据文件**ApoMono.001**对应的版面(图T9.11)，第二页显示**ApoMono.002**数据文件对应的版面(图T9.12)。



图T9.11 Slide 1 in PowerPoint (PowerPoint中的第1页)



图T9.12 Slide 2 in PowerPoint (PowerPoint中的第2页)

36.9.2 *Excel报表(单元格模式)*

在本节中，我们会:

- 创建一个Excel(单元格模式)报表。
- 导出$FIL关键字。
- 导出$DATE关键字。
- 导出统计。
- 导出图片。
- 运行批处理。

方便起见，我们将使用上节使用过的版面。用户也可以在已有批操作的版面中加入报表。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Close Layout(关闭版面)**。
2. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
3. 请打开在教程样本数据库510中的**BatchProcess.fey**版面。

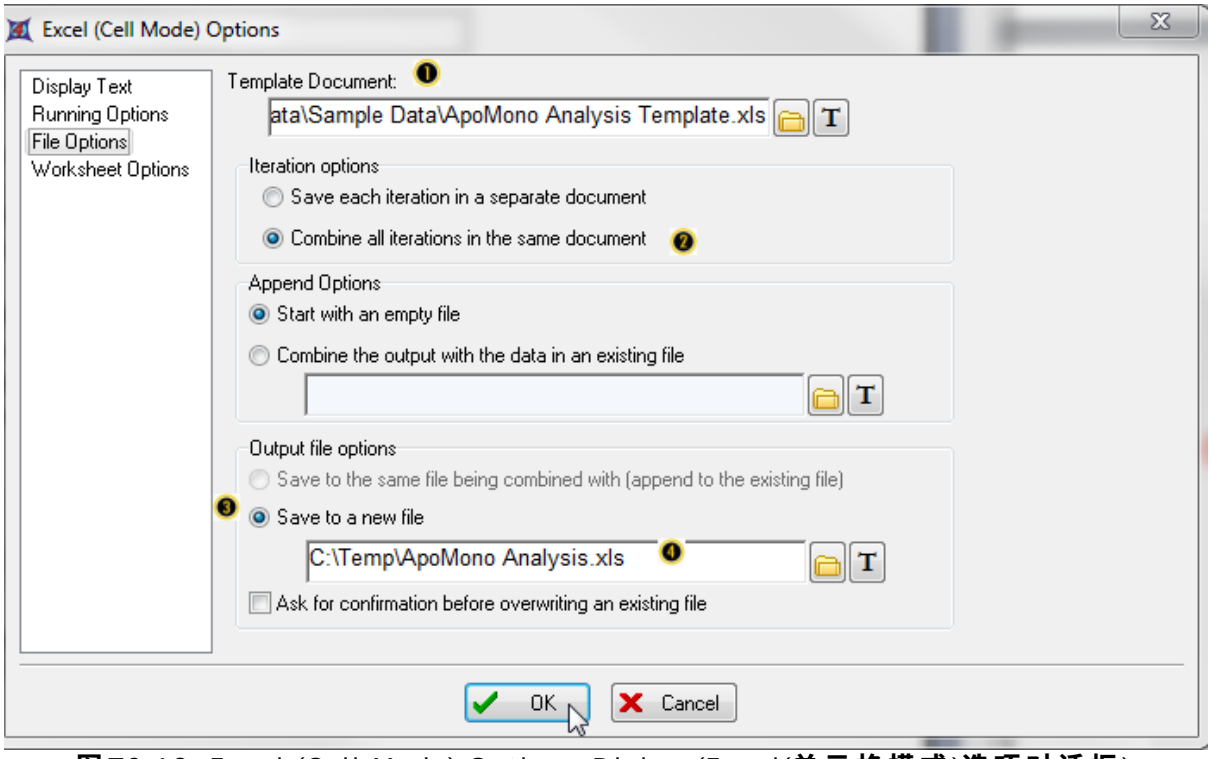
要执行一个Excel报表批处理进程:

4. 请创建一个带有**ApoMono.001**和**ApoMono.002**的**Data List(数据列表)**(请参见本教程中的上一节683)。
5. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)**命令(图T9.6 683)。

这时会出现**Batch Actions(批操作)**窗口(图T9.7)。

6. 请从**Add Report(添加报表)**类别选项选择**Export to Excel (Cell Mode)(导出到Excel(单元格模式))**(图T9.7 683)。

这时会出现 **Excel (Cell Mode) Options(Excel(单元格模式)选项)**对话框(图T9.13)。我们将使用这个对话框来设置如何把**Data List(数据列表)**中的文件以批处理的方式导出到Excel报表中。



图T9.13 Excel (Cell Mode) Options Dialog (Excel(**单元格模式**)**选项对话框**)

7. 请在**Template Document:(模板文档:)**字段点击"打开文件"图标❶(数码编号见图T9.13)。

8. 请从*FCS Express样本数据*文件夹中选择**ApoMono Analysis Template.xls**文件。

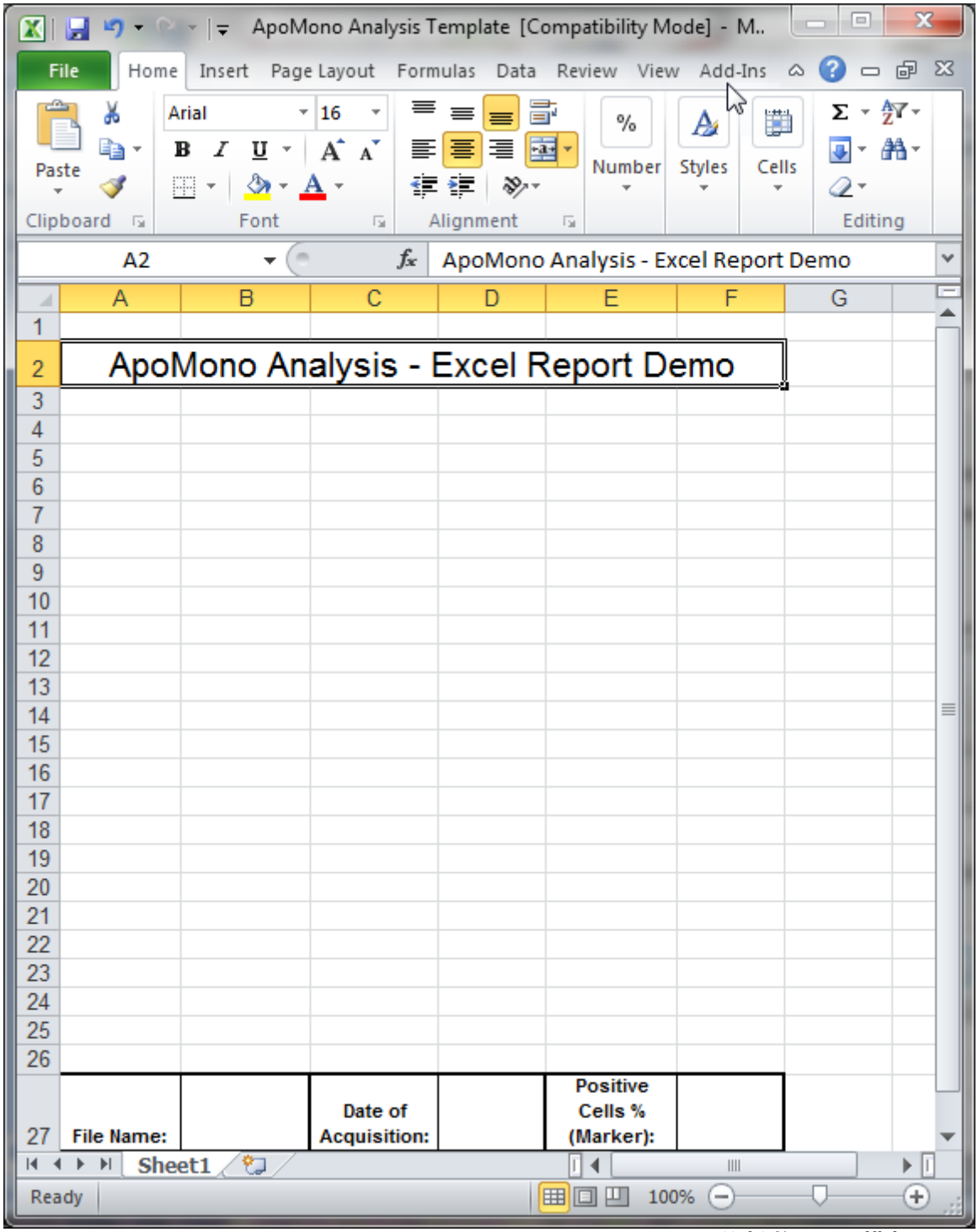
ApoMono Analysis Template.xls是一个包含报表背景的Excel文件。图T9.14显示了我们正在使用的Excel模板。

9. 请点击**Iteration options(循环选项)**部分的**Combine all iterations in the same document(把所有循环结果合并到同一文档中)**❷。

10. 请从**Output file options(输出文件选项)**部分点击**Save to a new file(保存到新文件)**❸。

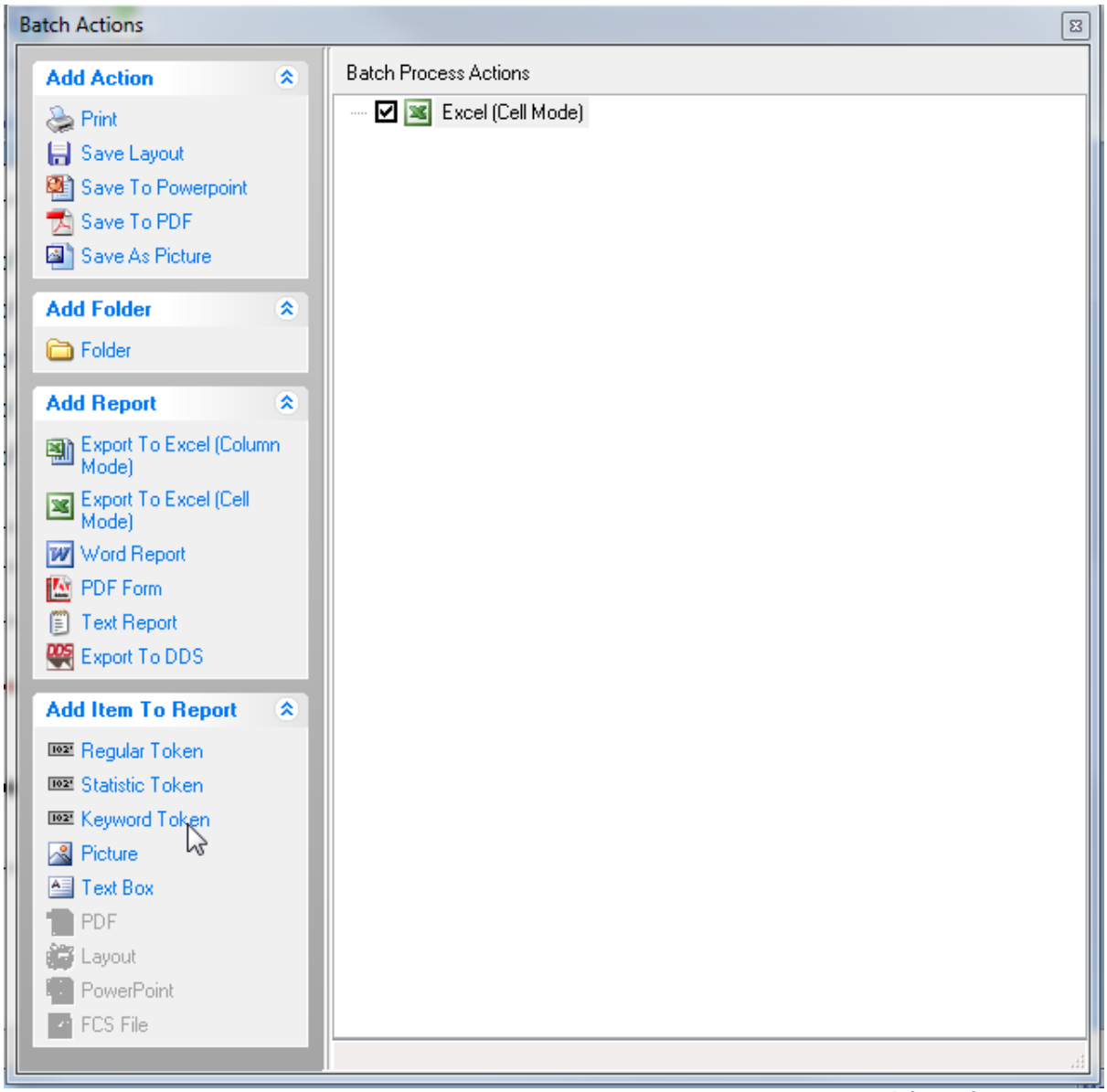
11. 请在**Save to a new file(保存到新文件)**字段中输入**C:\Temp\ApoMono Analysis.xls**，作为Excel报表的输出位置❹。(如果没有C:\Temp文件夹，请另外选择一个文件夹)。

12. 请点击**OK**键。



图T9.14 ApoMono Analysis Excel Template (ApoMono **分析的**Excel**模板**)

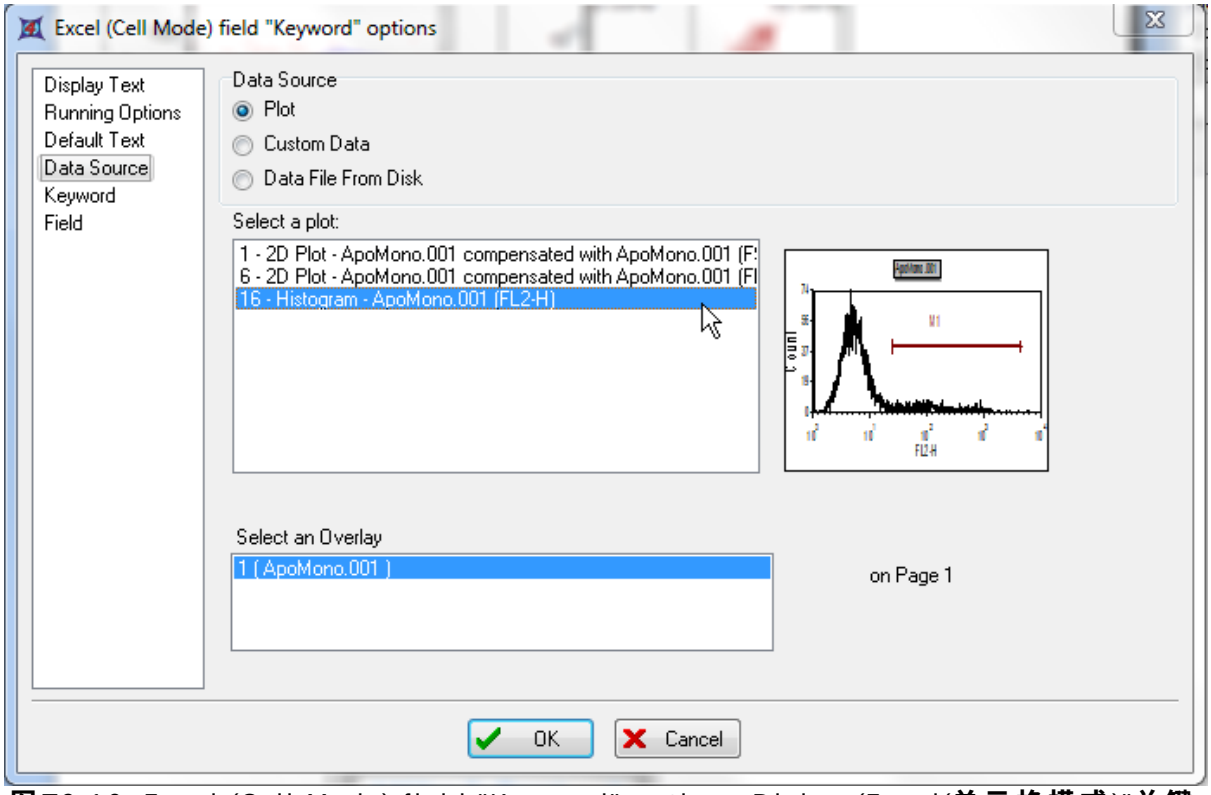
Batch Actions(批操作)窗口这时会显示导出到**Excel (Cell Mode)(Excel(单元格模式))**的操作已经列在了那里(图T9.15)。



图T9.15 Batch Actions Window with the Export To Excel Action (**列有导出到**Excel **操作的批操作窗口**)

13. 请从**Add Item to Report(把项目添加到报表中)**列表选项选择**Keyword Token(关键字标记)**(图T9.15中的光标所指处)。

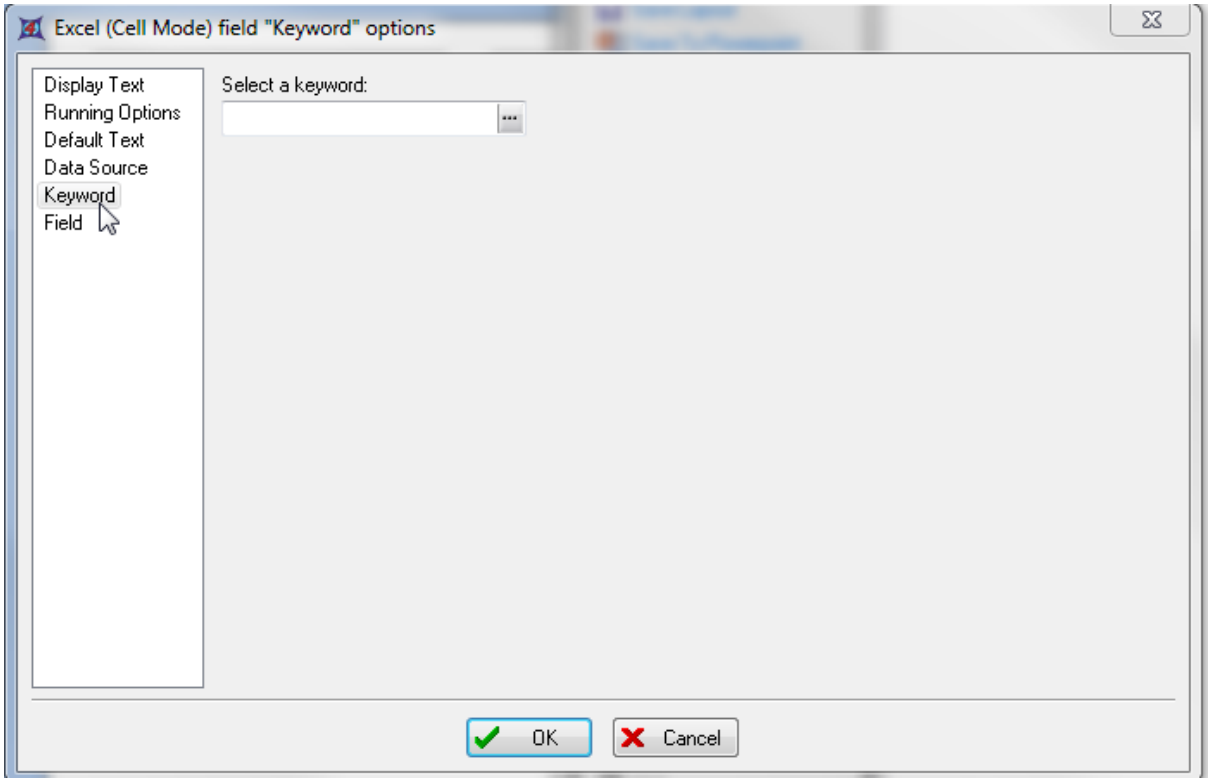
这时会出现**Excel (Cell Mode) field "Keyword" options(Excel (单元格模式)"关键字"字段选项)**对话框，显示**Data Source(数据源)**列表选项(图T9.16)。这里是我们定义导出到Excel中的"关键字"的地方。



图T9.16 Excel (Cell Mode) field "Keyword" options Dialog (Excel(**单元格模式**)"**关键字**"**字段选项**)**对话框**

14. 请选择**Keyword(关键字)**类别选项(图T9.16)。

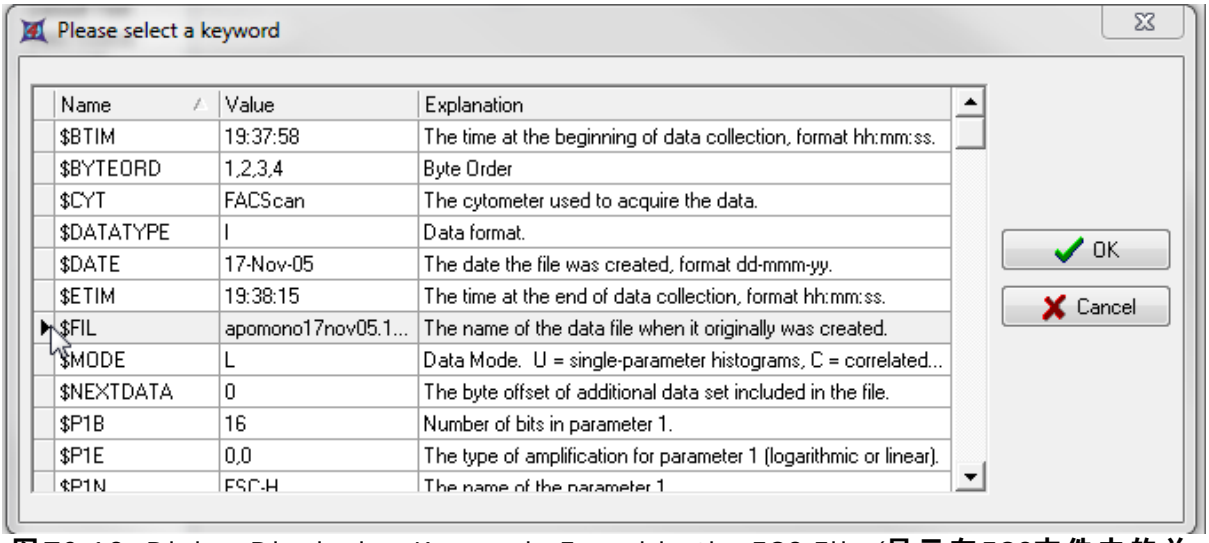
这时将出现**Keyword(关键字)**类别选项页(图T9.17)。



图T9.17 Excel (Cell Mode) field "Keyword" options Dialog -- Keyword Category (Excel(**单元格模式**)"**关键字**"**选项对话框** -- **关键字类别选项**)

15. 请点击**Select a keyword(选择关键字)**字段右边的省略号(…)按钮(图T9.17)。

这时会出现**Please select a keyword(请选择关键字)**对话框(图T9.18)。这个对话框显示了在FCS文件中可以找到的关键字。



图T9.18 Dialog Displaying Keywords Found in the FCS File (**显示在**FCS**文件中的关键字的对话框**)

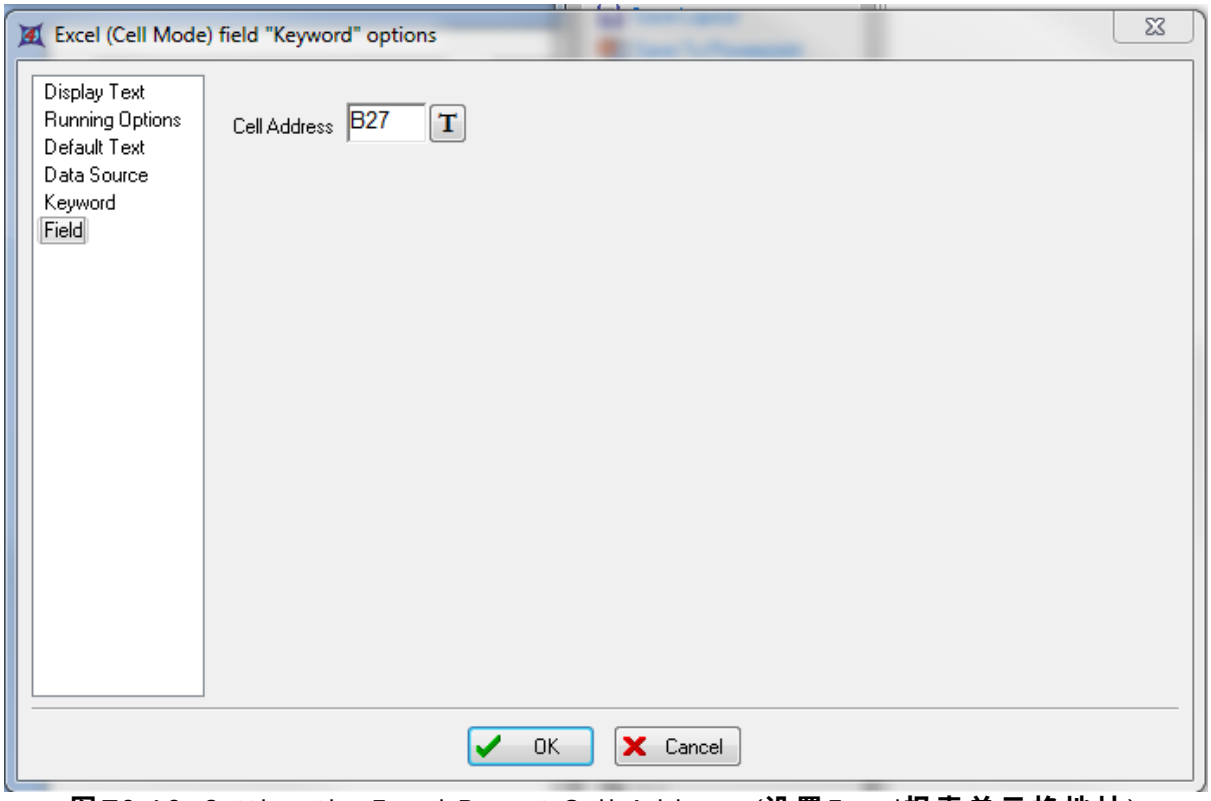
16. 请选择关键字**$FIL**(图T9.18)，该关键字是存储在FCS文件中的文件名关键字。

17. 请点击**OK**。

18. 请点击**Excel (Cell Mode) field "Keyword" options(Excel(单元格模式)"关键字"字段选项)**对话框上的**Field**类别选项(图T9.19)。

这时会出现**Excel (Cell Mode) field "Keyword" options(Excel(单元格模式)"关键字"字段选项)**对话框中的**Field(字段)**页。我们将在这里选择**$FIL**关键字数据在批处理过程中导出到Excel中的单元格的地址。

19. 请在**Cell Address(单元格地址)**字段中输入**B27**(图T9.19)。这一设置告诉FCS Express我们想要把FCS文件名输入到Excel模板中的B27单元格中(图T9.19)。



图T9.19 Setting the Excel Report Cell Address (**设置**Excel**报表单元格地址**)

20. 请点击**OK**键。

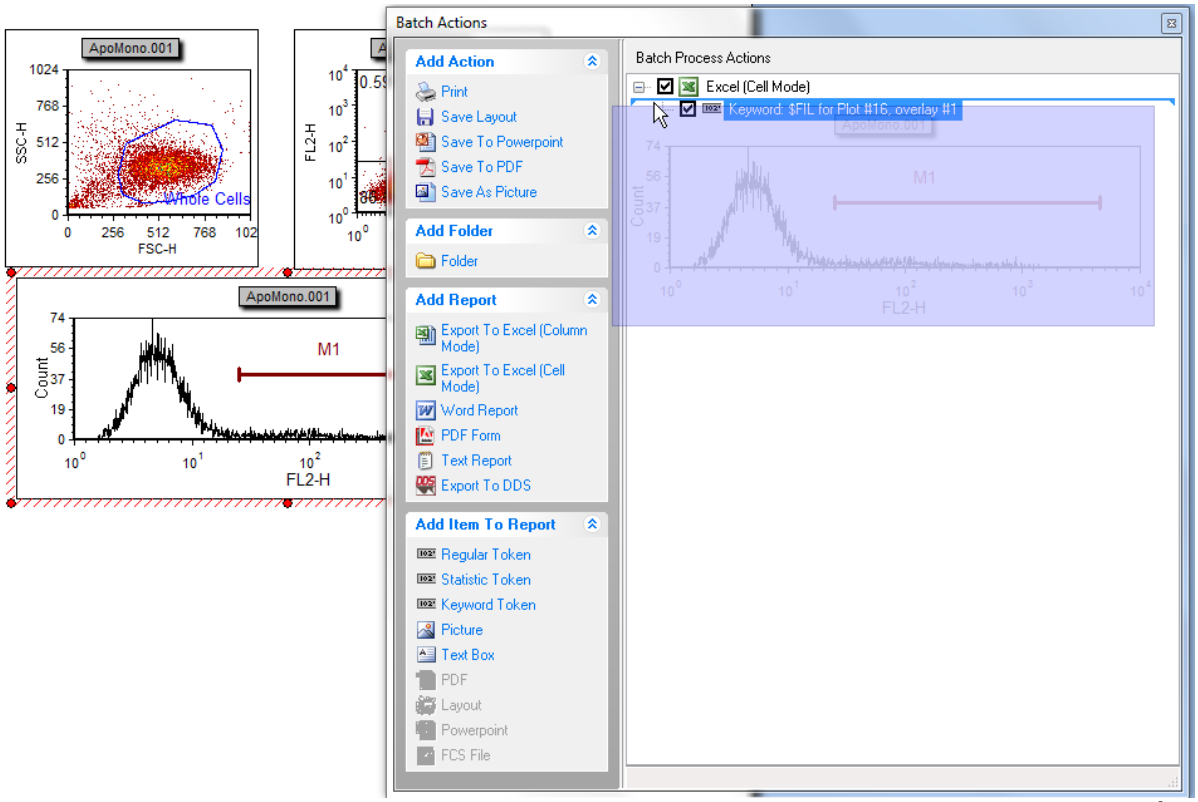
Batch Actions(批操作)窗口这时会显示批操作关键字**Keyword: $FIL**已经被添加到批操作类别中(图6.20A)。

用户也可以把选中的绘图拖放到**Batch Actions(批操作)**对话框中的**Batch Process Actions(批处理操作)**部分，把和绘图相关的标记导出到Excel中。

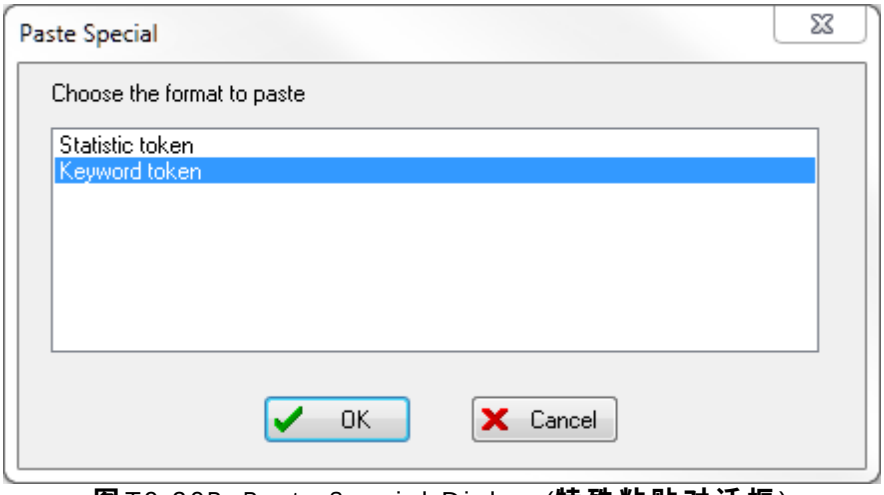
21. 请点击底部柱状图的边缘来将其选中。当柱状图的边框变成红色，说明它已被选中。

22. 请按下鼠标左键，把这个绘图拖到**Batch Actions(批操作)**对话框里的**Batch Process Actions(批处理操作)**部分(图T9.20A)。

23. 当绘图在**Batch Process Actions(批处理操作)**里边的**Excel (Cell Mode) (Excel(单元格模式))**文本的上方时，松开鼠标(图T9.20A)。这时会出现**Paste Special(特殊粘贴)**对话框(图T9.20B)。



图T9.20A Dragging and Dropping a Histogram onto the Batch Actions Window (**把柱状图拖放到批操作窗口中**)



图T9.20B Paste Special Dialog (**特殊粘贴对话框**)

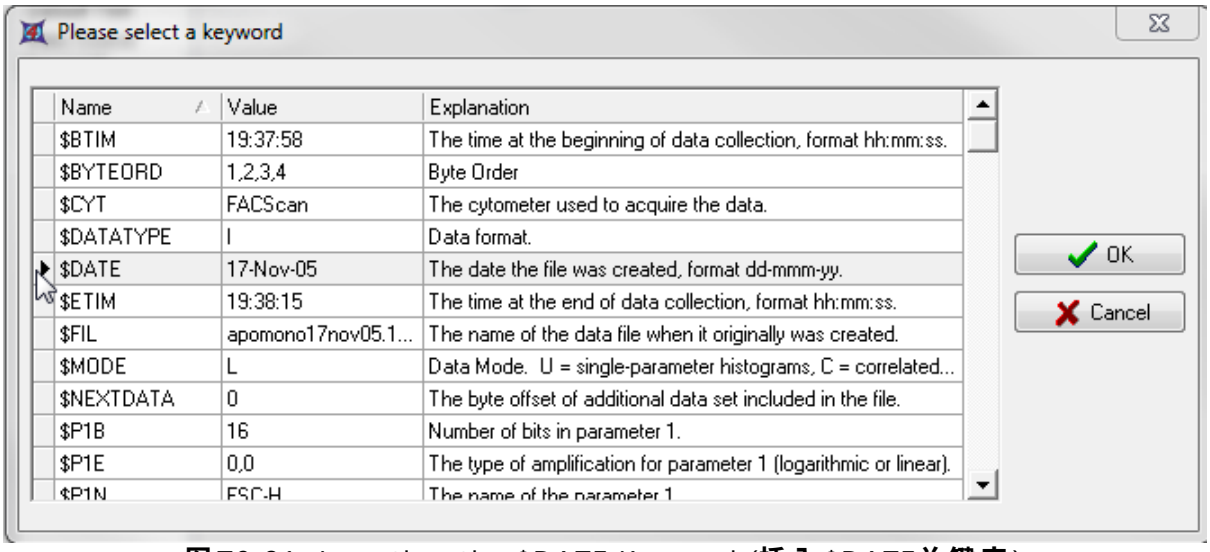
24. 请点击**Keyword token(关键字标记)**一项(图T9.20B)。

25. 请点击**OK**。

26. 请点击**Keyword(关键字)**类别选项。

27. 请点击**Select a keyword(选择关键字)**字段右方的省略号(…)按钮(图T9.17)。

这时**Please select a keyword(请选择关键字)**对话框会再次出现(图T9.21)。



图T9.21 Inserting the $DATE Keyword (**插入**$DATE**关键字**)

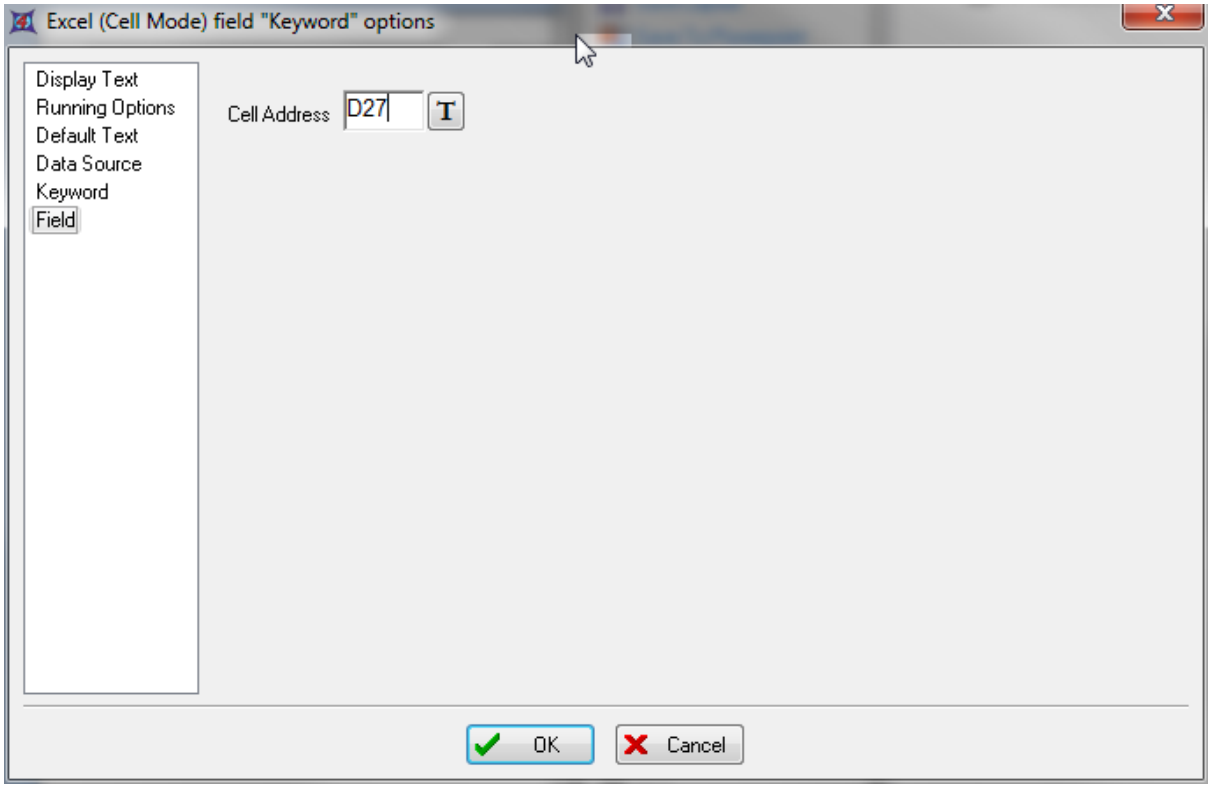
28. 请选择**$DATE**关键字(图T9.21)。

29. 请点击**OK** (图T9.21)。

30. 请在**Excel (Cell Mode) field "Keyword" options(Excel(单元格模式)"关键字"字段选项)**对话框中点击**Field(字段)**类别选项(图T9.22)。

这时会再次出现**Excel (Cell Mode) field "Keyword" options(Excel(单元格模式)"关键字"字段选项)**对话框中的**Field(字段)**页。

31. 请在**Cell Address(单元格地址)**字段中输入**D27**(图T9.22)。

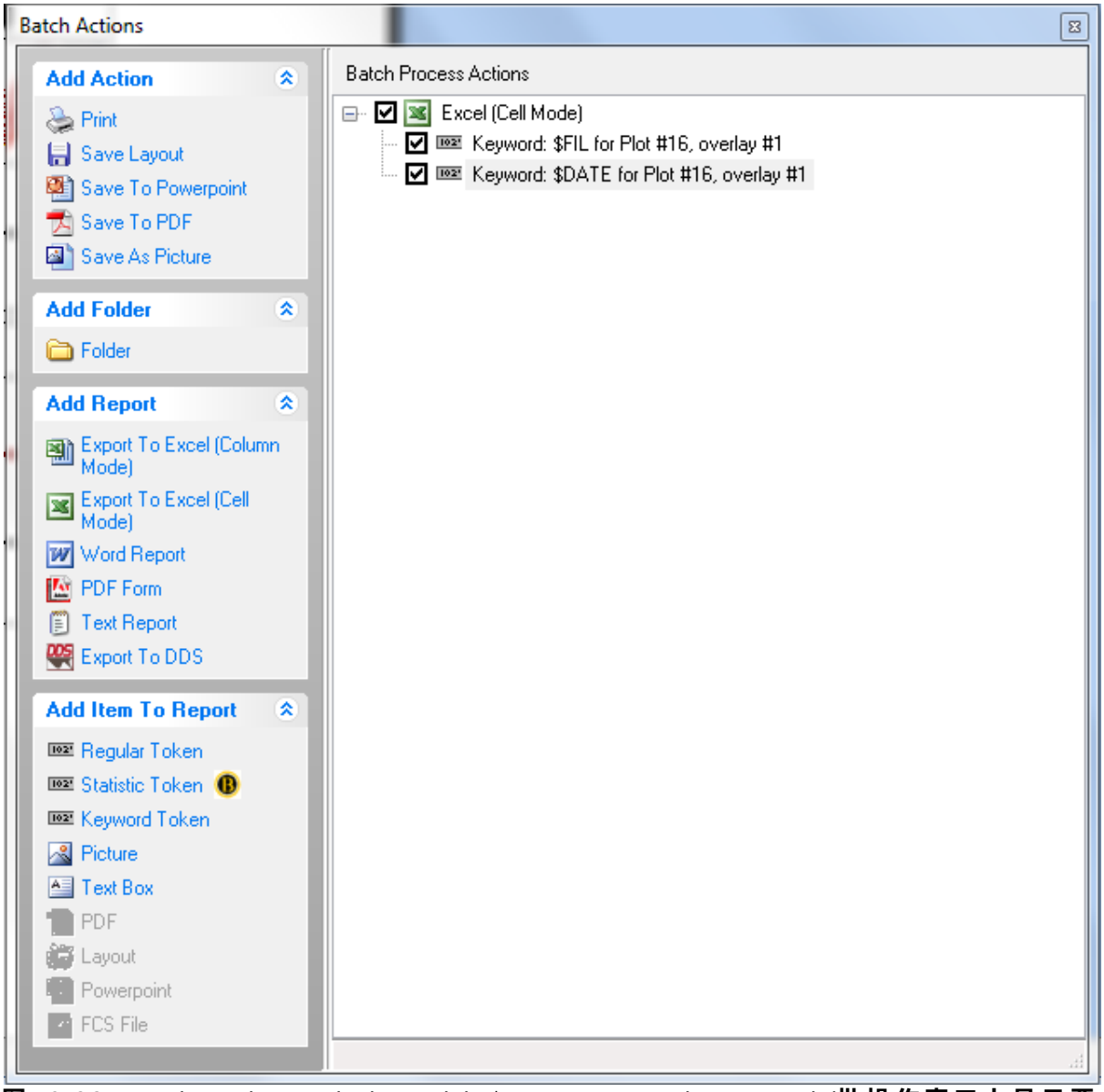


图T9.22 Cell Address Field Defined for Batch Export of $DATE Keyword to Excel (**为把**$DATE**关键字批导出到**Excel**中所定义的单元格地址字段**)

32. 请点击**OK** (图T9.22)。

Batch Actions(批操作)窗口将显示批操作关键字**Keyword: $DATE**已经被添加到批操作列表中(图9.23A)。

这就是说，假如现在使用数据列表中的文件进行批处理，文件名(保存在FCS的关键字$FIL中)以及创建日期(保存在FCS的关键字$DATE中)将分别被导出到图T9.13所示的单元格B27和D27中。



图T9.23 Batch Actions Window with $DATE Keyword Exported (**批操作窗口上显示要被导出的**$DATE**关键字**)

我们现在将选择一个要通过批量导出到Excel文件中的统计函数。

33. 请从**Batch Actions(批操作)**窗口中的**Add Item to Report(添加项目到报表中)**列表选项中选择**Statistic Token(统计标记)** (图T9.23)。

这时会出现一个选项对话框，如前图T9.16所示。

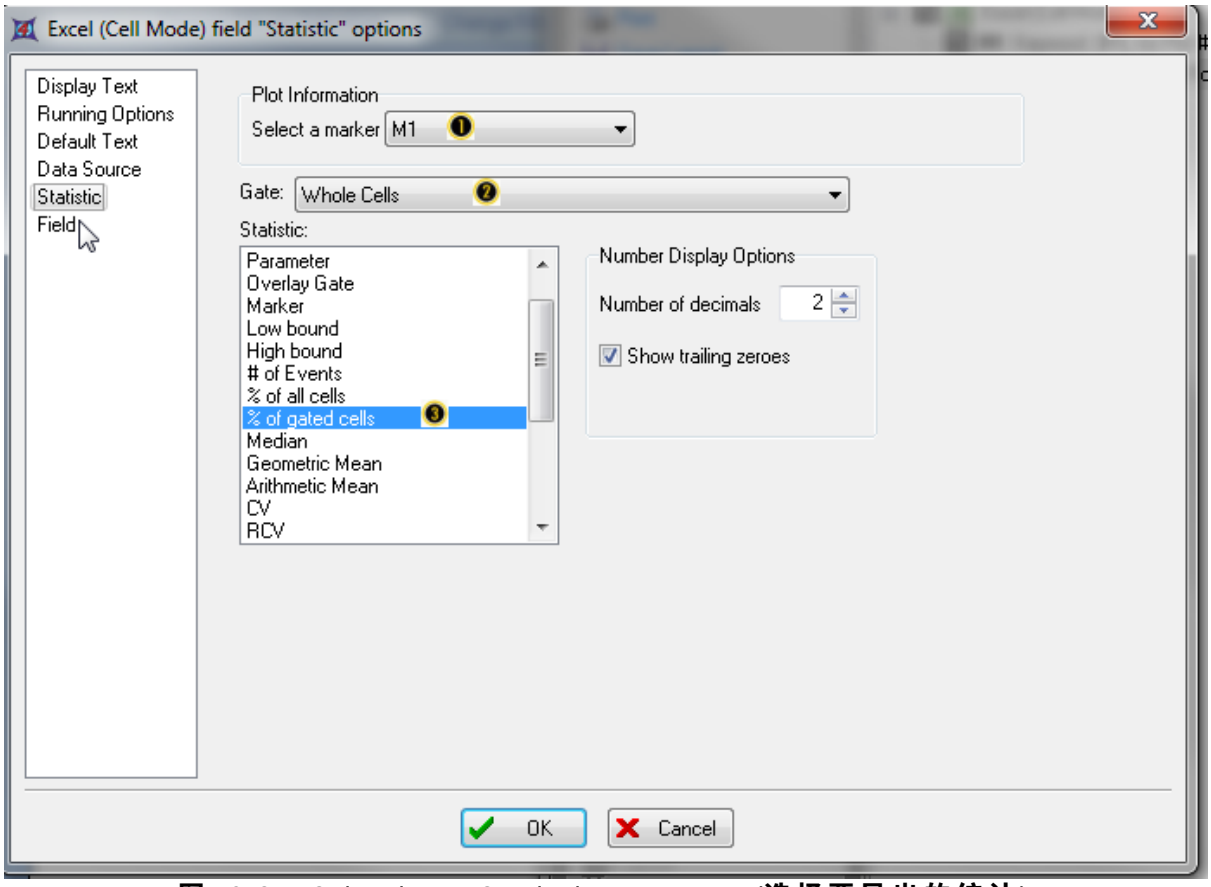
34. 请点击**Data Source(数据源)**类别选项(图T9.16)。

35. 请从**Select a plot:(选择绘图:)**字段中选择**Histogram – ApoMono.001**绘图

(图T9.16)。

36. 请点击**Statistic(统计)**类别选项(图T9.24)。

这时会出现**Excel (Cell Mode) field "Statistics" options(Excel(单元格)字段"统计"选项)**对话框中的**Statistic(统计)**页(图T9.24)。在这里我们要选择批量导出到Excel中的一个柱状图统计。



图T9.24 Selecting a Statistic to Export (**选择要导出的统计**)

37. 请从**Plot Information(绘图信息)**下拉列表中选择标记**M1** ❶。

38. 请从**Gate:(门:)**下拉列表中选择门**Whole Cells** ❷。

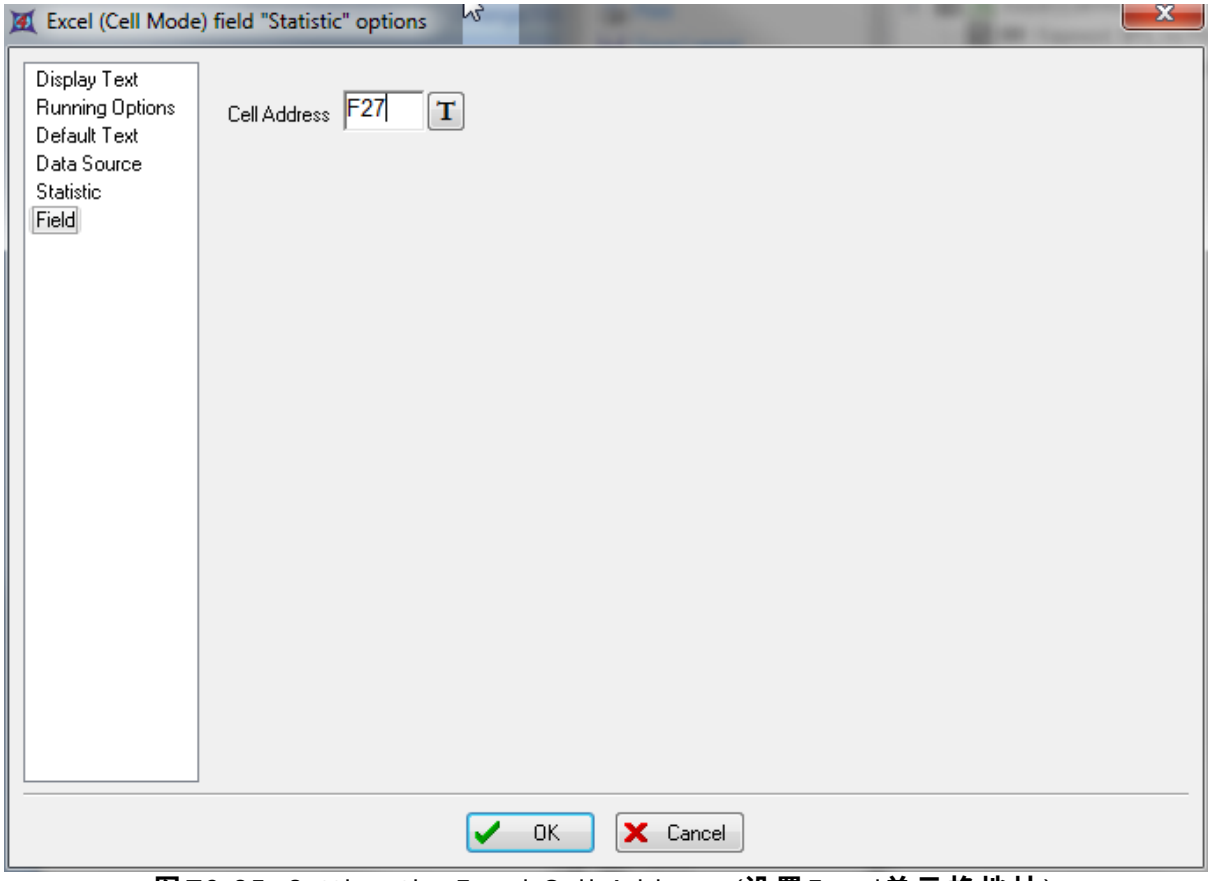
39. 请从**Statistic: (统计:)**列表框中选择统计**% of gated cells(门中细胞的百分比)** ❸。

40. 请点击**Field(字段)**列表选项(图T9.24)。

这时会出现**Excel (Cell Mode) field "Statistics" options(Excel(单元格模式)字**

段"统计"选项)对话框中的**Field(字段)**类别选项(图T9.25)。这里我们将选择统计数据在批处理过程中导出到Excel中的单元格的地址。

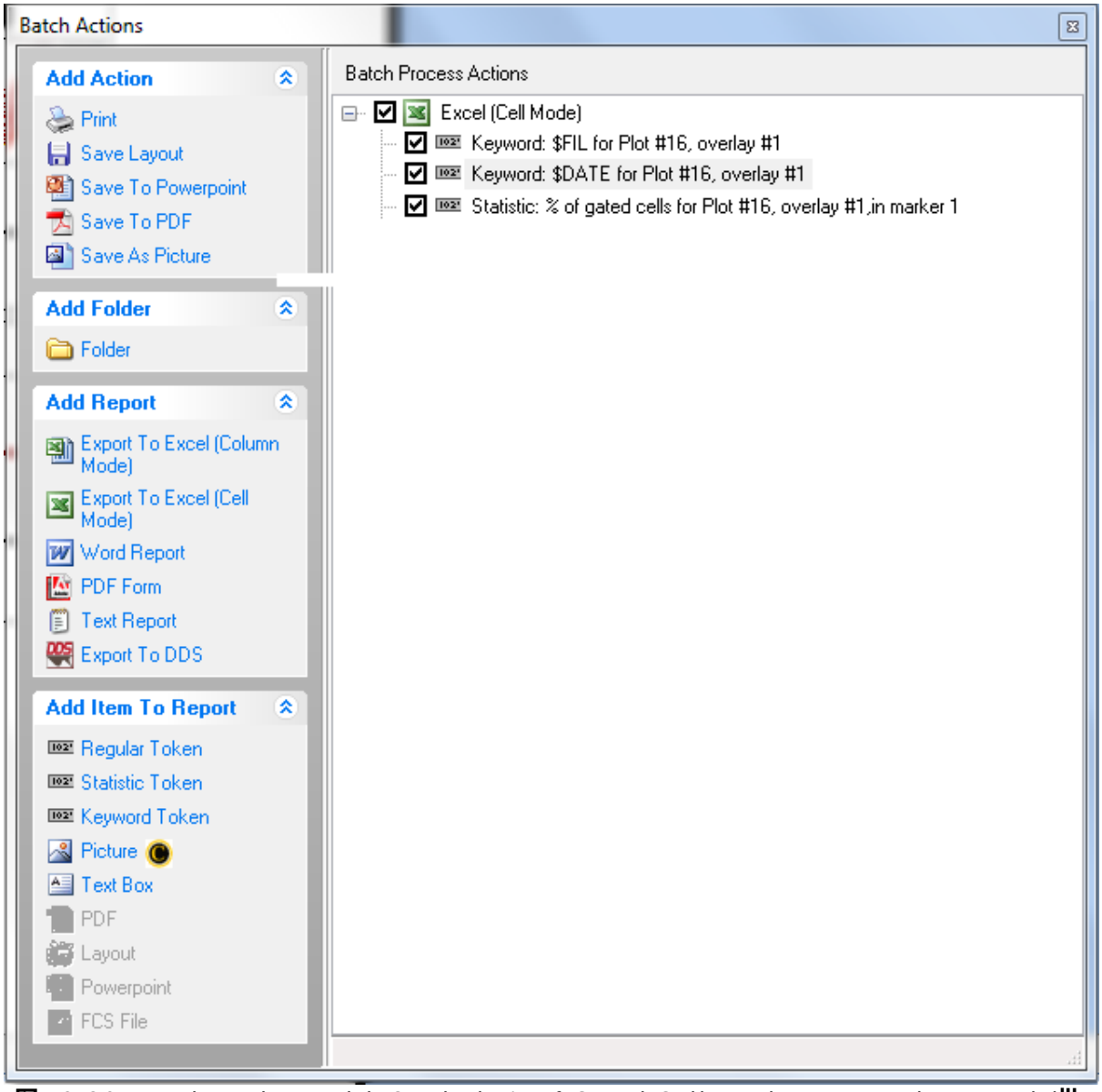
请在**Cell Address(单元格地址)**字段中输入**F27**(图T9.25)。这一设置告诉FCS Express我们想要把统计放到Excel模板中的F27单元格中(图T9.14)。



图T9.25 Setting the Excel Cell Address (**设置**Excel**单元格地址**)

41. 请点击**OK**来接受这些设置。

Batch Actions(批操作)窗口将显示批操作**Statistic: % of Gated Cells(统计: 门中细胞百分比)**已经被添加到批操作列表中(图T9.26)。

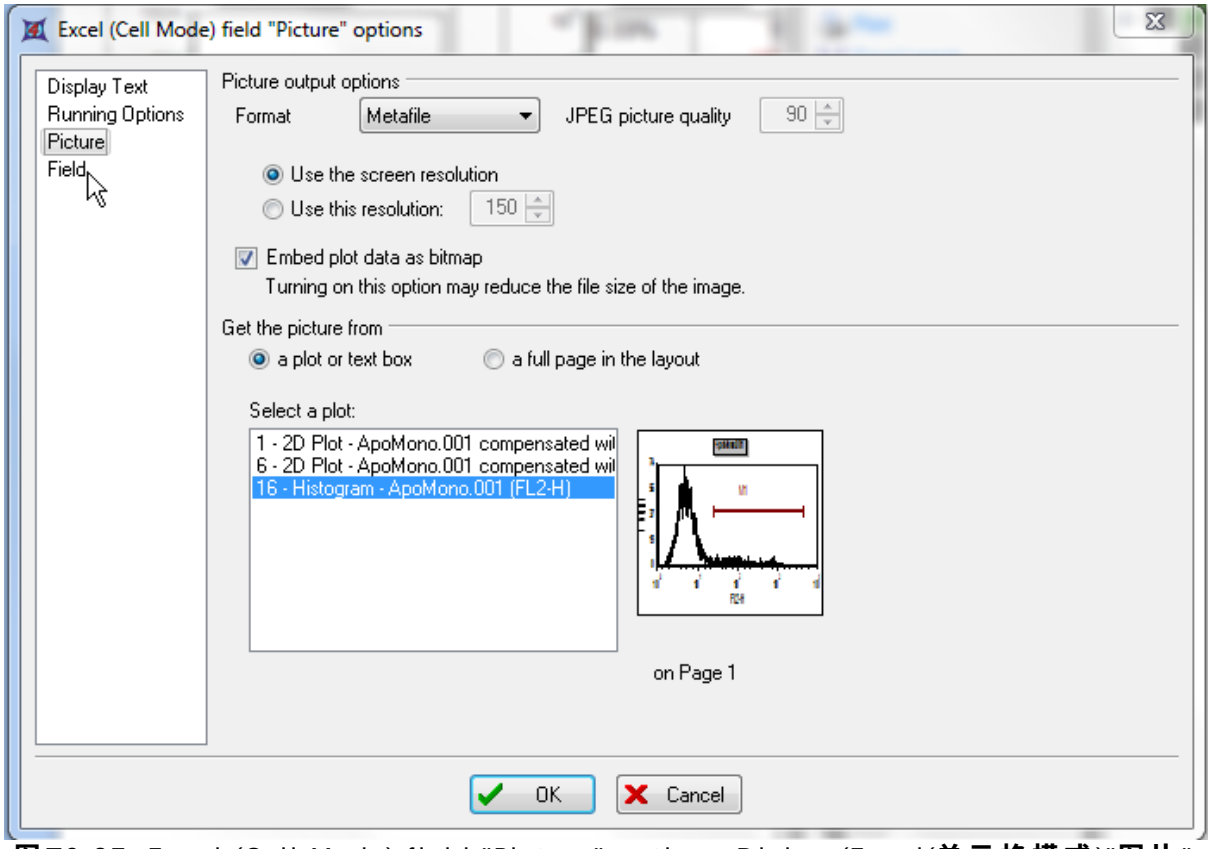


图T9.26 Batch Actions with Statistic % of Gated Cells to be Exported to Excel (**批操作窗口 - 门中细胞百分比统计将被导出到**Excel**中**)

我们现在将把一张图片通过批处理导出到Excel文件中。

42. 请从**Add Item to Report(把项目添加到报表中)**部分选择**Picture(图片)**(图T9.26)。

这时会出现 **Excel (Cell Mode) Options(Excel(单元格模式)选项)**对话框(图T9.27)。这里是我们定义将要被导出到Excel中的图片的地方。

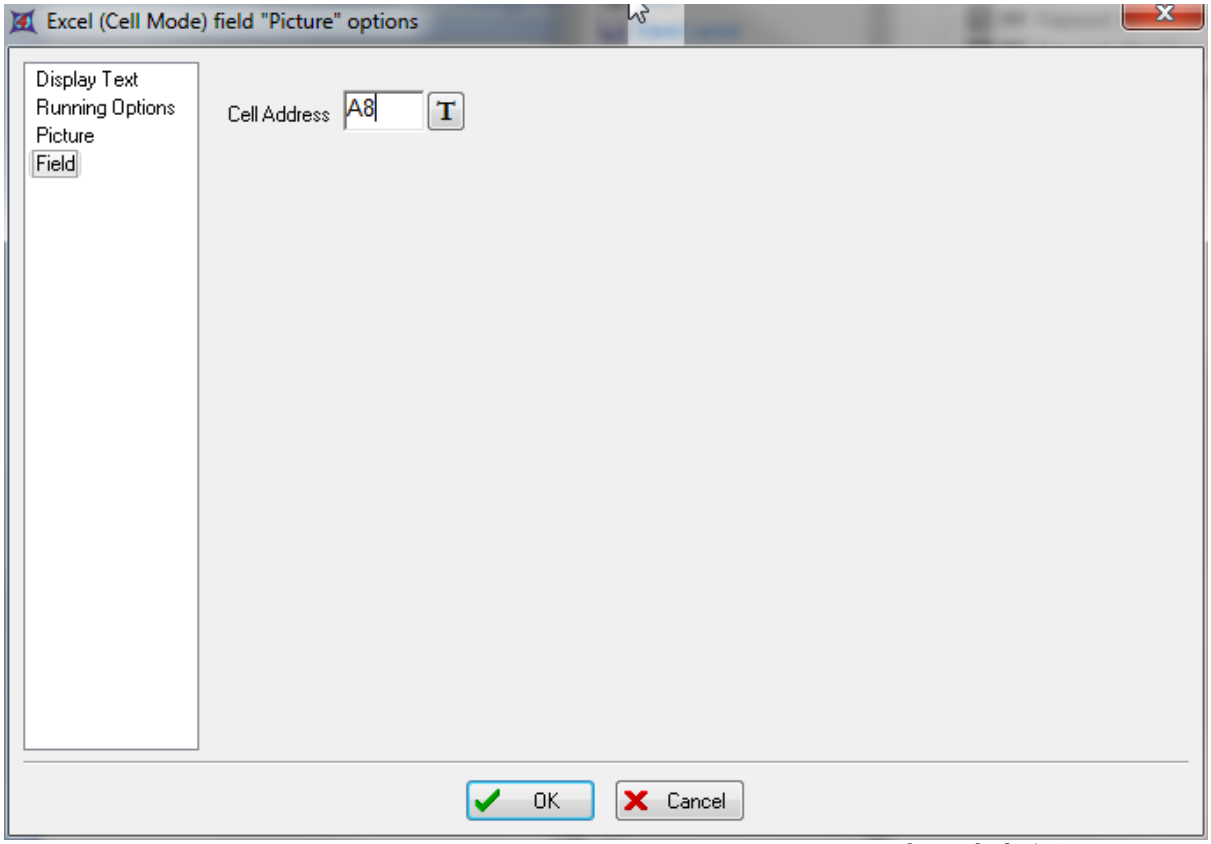


图T9.27 Excel (Cell Mode) field "Picture" options Dialog (Excel(**单元格模式**)"**图片**"**字段选项对话框**)

43. 请在**Select a Plot(选择绘图)**字段中选择 **Histogram – ApoMono.001**绘图(图T9.27)。

44. 请点击**Field(字段)**类别选项(图T9.28)。

这时会出现**Excel (Cell Mode) field "Picture" options(Excel(单元格模式)"图片"字段选项)**对话框中的**Field(字段)**类别选项(图T9.28)。这里我们将选择图片在批处理过程中导出到Excel中的单元格的地址。



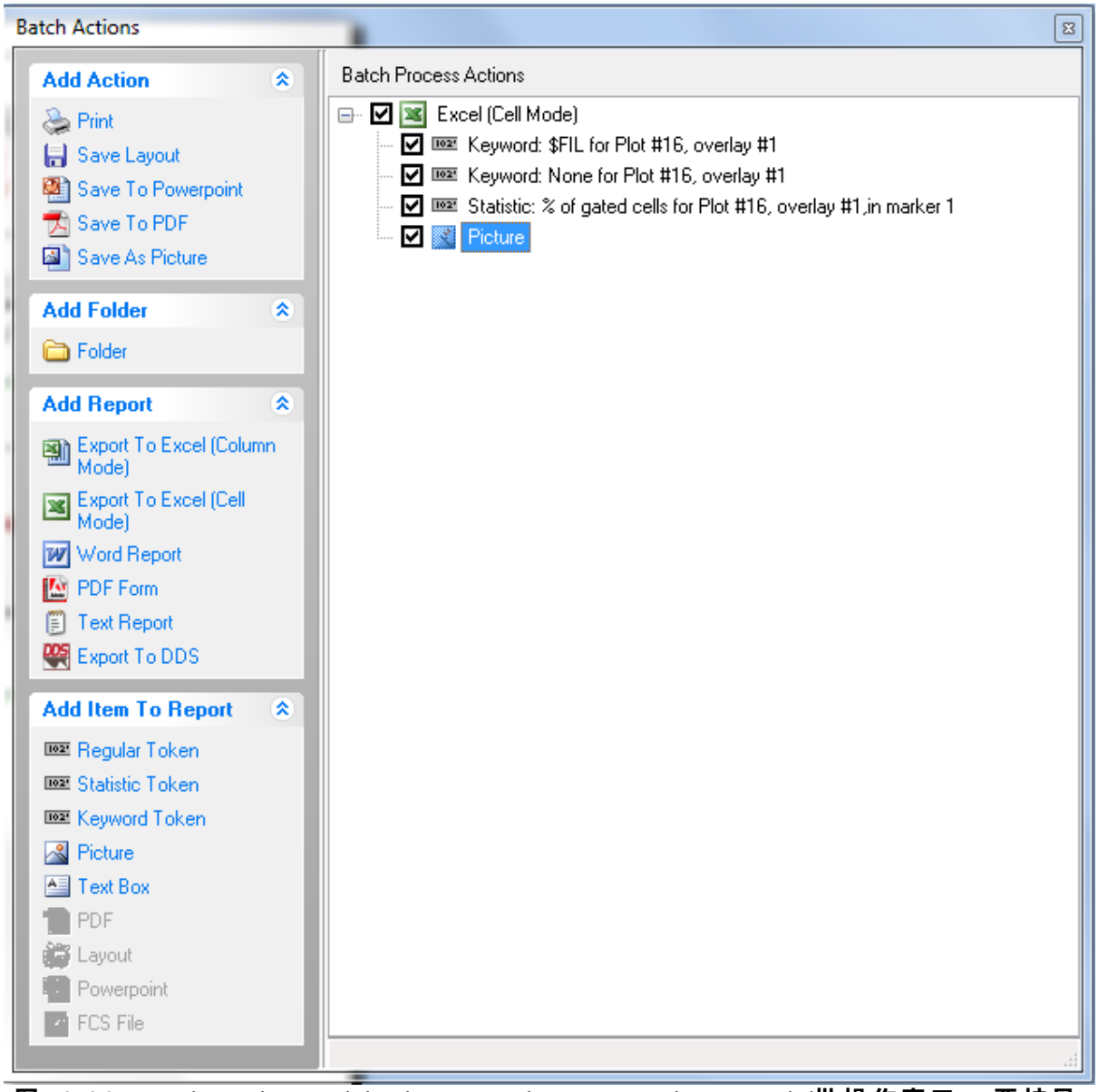
图T9.28 Setting the Excel Cell Address for the Picture Field (**为图片字段设置**Excel **单元格地址**)

45. 请在**Cell Address(单元格地址)**字段中输入**A8**(图T9.28)。

46. 请点击**OK**。

我们已经告诉FCS Express把文件**Histogram – ApoMono.001**中的一张图片导出到图T9.14中的Excel报表模板中。

Batch Actions(批操作)窗口将显示批操作**Picture**已经被添加到其中(图9.29)。



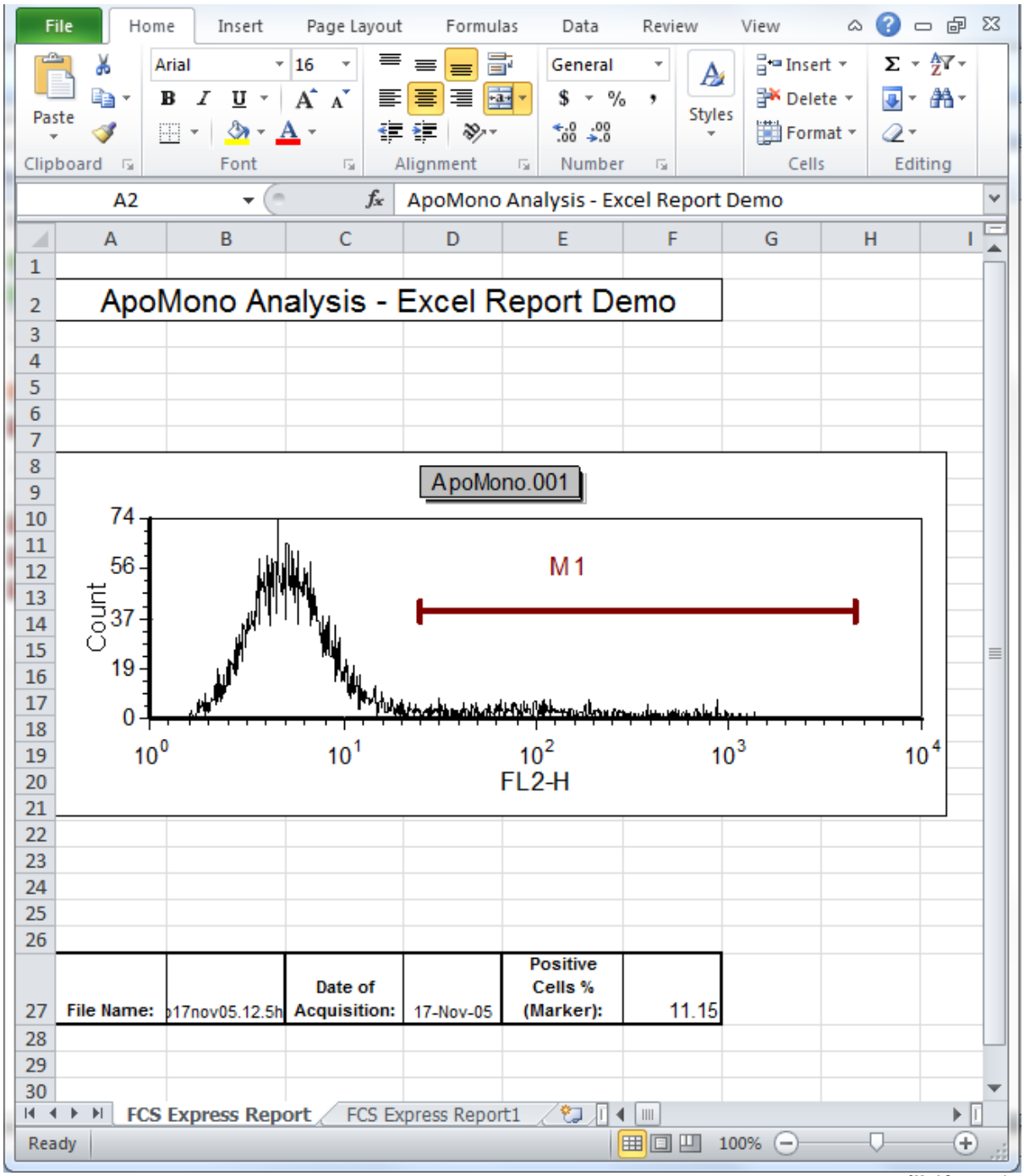
图T9.29 Batch Actions with Picture to be Exported to Excel (**批操作窗口 - 要被导出到**Excel**中的图片**)

47. 请点击窗口右上角的关闭按钮(**红色的x按钮**)，关闭批操作窗口(图T9.29)。

现在我们将返回到版面页中来运行这个批处理。

48. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Run(运行)**命令(图T9.10 683)。

FCS Express将执行这个批处理。批处理完成后会在用户指定的位置创建一个Excel文件(图T9.30)。该文件有两个工作表，一个工作表针对**ApoMono.001**，一个针对**ApoMono.002**。



图T9.30 First Sheet of the Final Excel Report from the Batch Processing (**批处理后生成的最后**Excel**报表，第一页**)

36.9.3 *Excel报表(列模式)*

Column Mode(列模式)批处理分析报表的创建方式和**Cell Mode(单元格模式)**的报表创建方式相似。

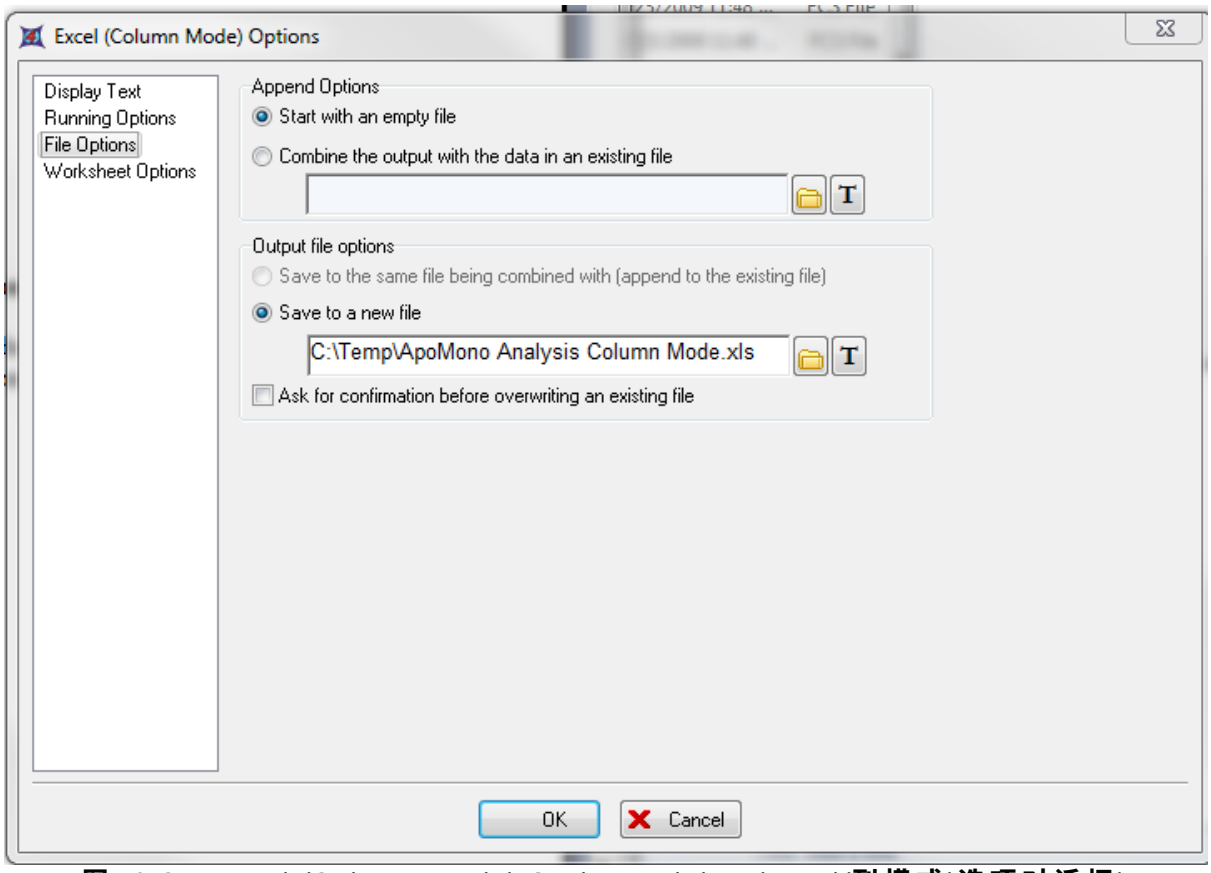
在这个练习中，我们会:

- 创建一个Excel列模式批处理分析报表。
- 把Excel单元格模式中的项目移动到列模式报表中。
- 把列标题插入到Excel批处理分析报表中。
- 把图片插入到Excel列模式批处理分析报表中。

1. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)**命令。批操作窗口看起来如图T9.29 694所示。

2. 请从**Add Report(添加报表)**部分选择**Export To Excel (Column Mode)(导出到Excel(列模式))**。

这时会出现**Excel (Column Mode) Options(Excel(列模式)选项)**对话框(图T9.31)。

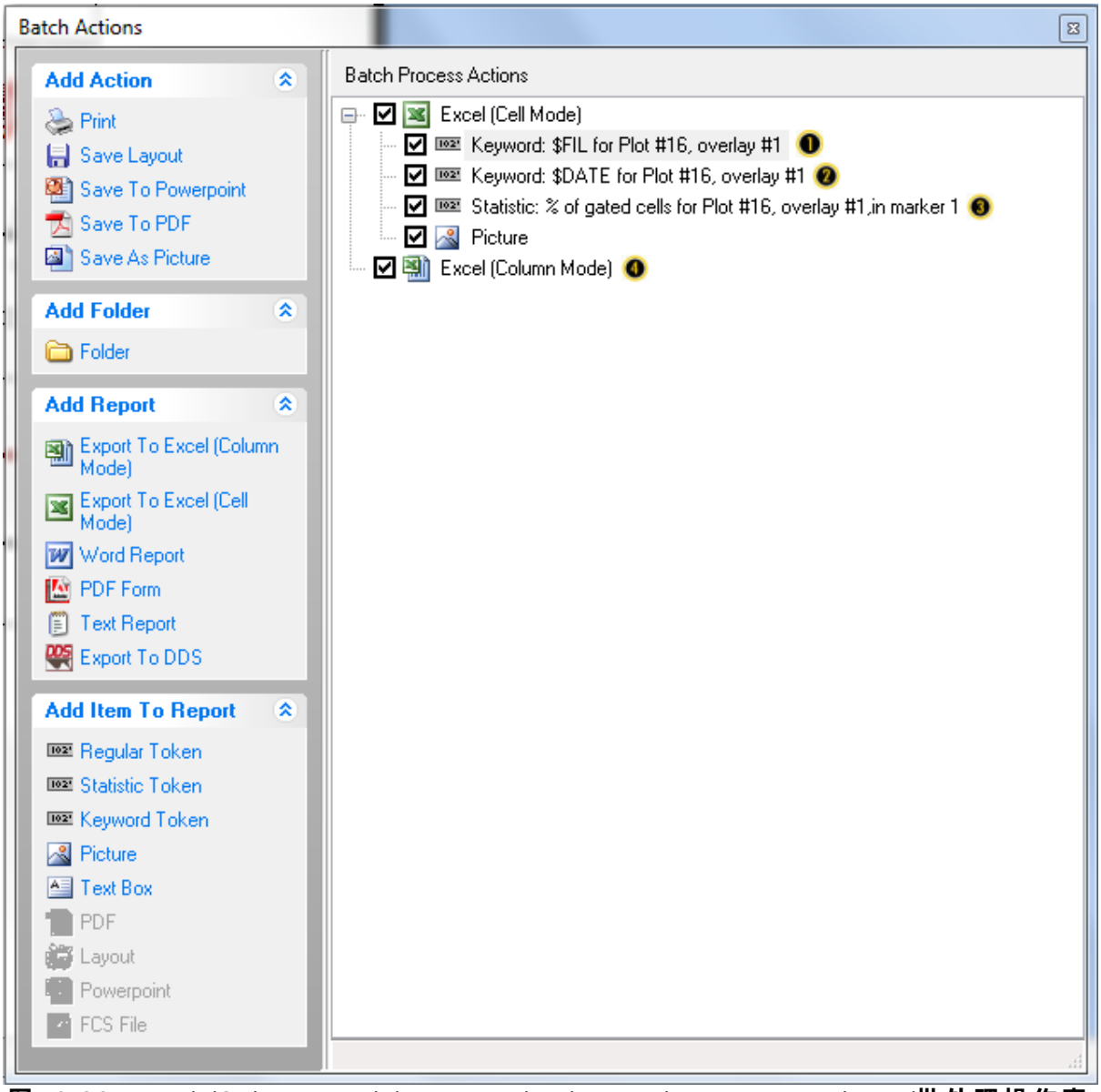


图T9.31 Excel (Column Mode) Options Dialog (Excel(**列模式**)**选项对话框**)

3. 请在**Save to a new file(保存到新文件)**字段中输入**C:\Temp\ApoMono Analysis Column Mode.xls**文件(图T9.31)。(如果没有C:\Temp文件夹，请另外选择一个文件夹)。

4. 请点击**OK**。

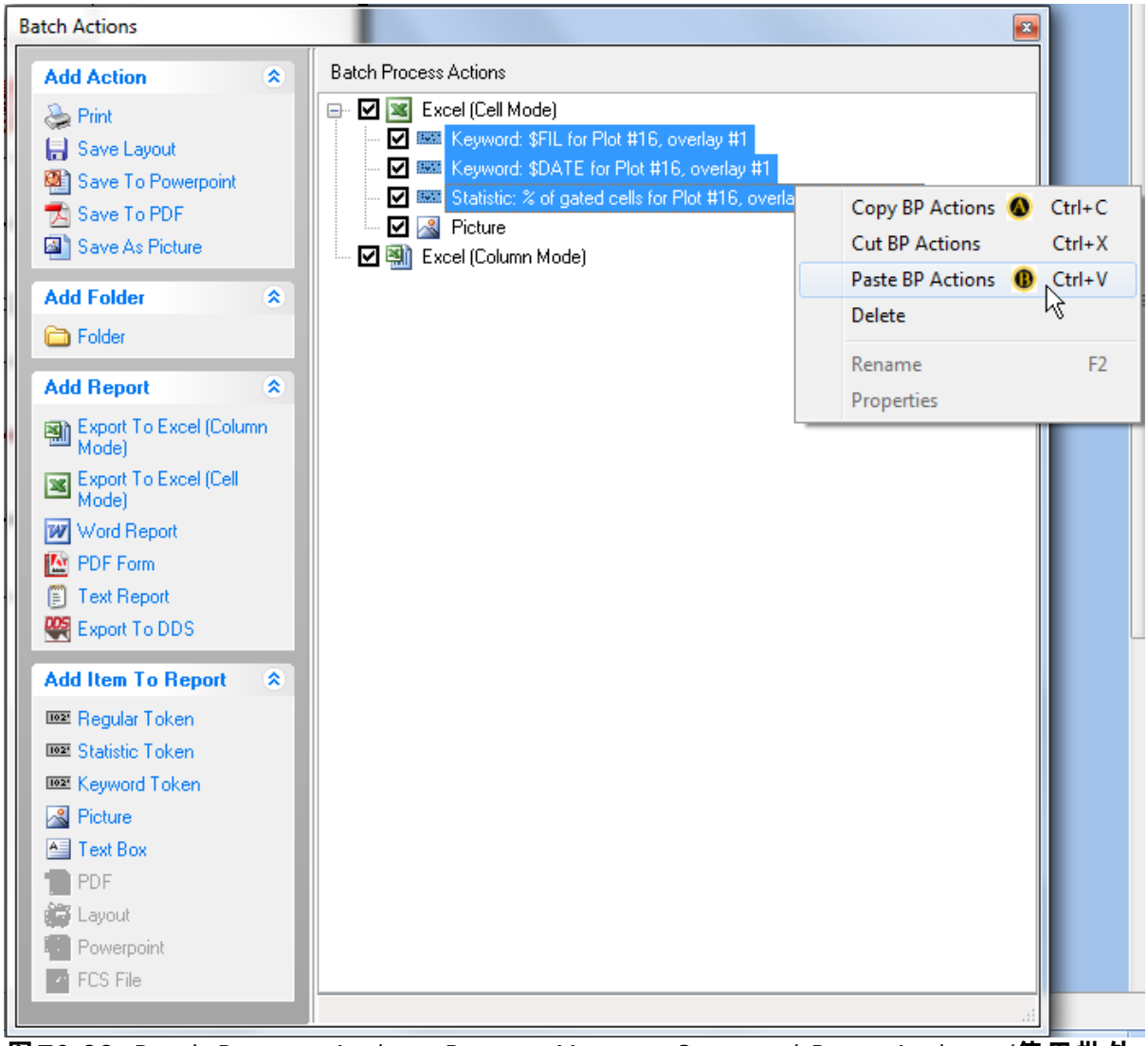
这时在窗口中的**Batch Process Actions(批处理操作)**部分会出现**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**进程(图T9.32)。现在我们将通过复制和粘贴的方法，把批处理操作从**Excel (Cell Mode)(Excel(单元格模式))**复制到**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**(图T9.32)。



图T9.32 Excel (Column Mode) Process in the Batch Process Actions (**批处理操作窗口中的**Excel(**列模式**)**进程**)

5. 请从**Excel (Cell mode)(Excel(单元格模式))**批处理进程中左键点击选中关键字**Keyword: $FIL** ❶ (图T9.32)。
6. 按下**Ctrl**键的同时，请从**Excel (Cell Mode)(Excel(单元格模式))**批处理进程中左键点选关键字**Keyword: $DATE** ❷和统计**Statistic: % of gated cells(统计: 门中细胞百分比)** ❸(图T9.32)。
7. 请同时按下**Ctrl** 和**"C"**键来复制所选项目。

- 或者，请右键点击来调出批处理操作弹出菜单(图T9.33)。
- 请选择**Copy BP Actions(复制批处理操作)** (图T9.33)。

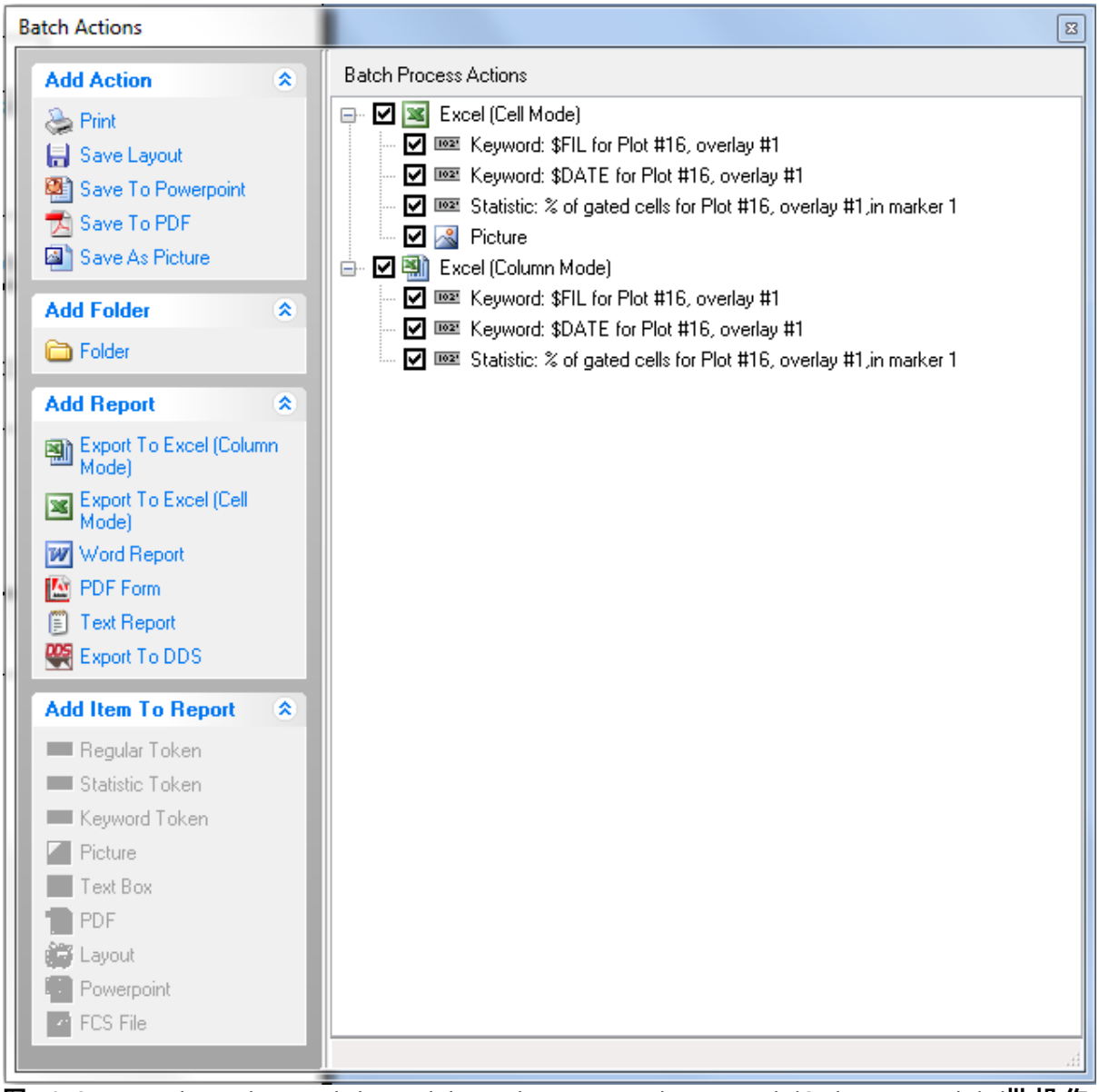


图T9.33 Batch Process Actions Pop-up Menu to Copy and Paste Actions (**使用批处理操作的弹出菜单来复制和粘贴批操作**)

8. 请在**Batch Actions(批操作)**窗口中通过左键点选**Excel (Column Mode) (Excel(列模式))**进程(图T9.32)。
9. 请同时按下**Ctrl和"V"**键来把所选项目粘贴到**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**批处理操作中(图T9.32)。
   - 或者，请右键点击来调出批处理操作弹出菜单(图T9.33)。

- 请选择**Copy BP Actions(复制批处理操作)** (图T9.33)。

这些批处理操作已经从**Excel (Cell Mode)(Excel(单元格模式))**复制到了**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**中，如图T9.34所示。



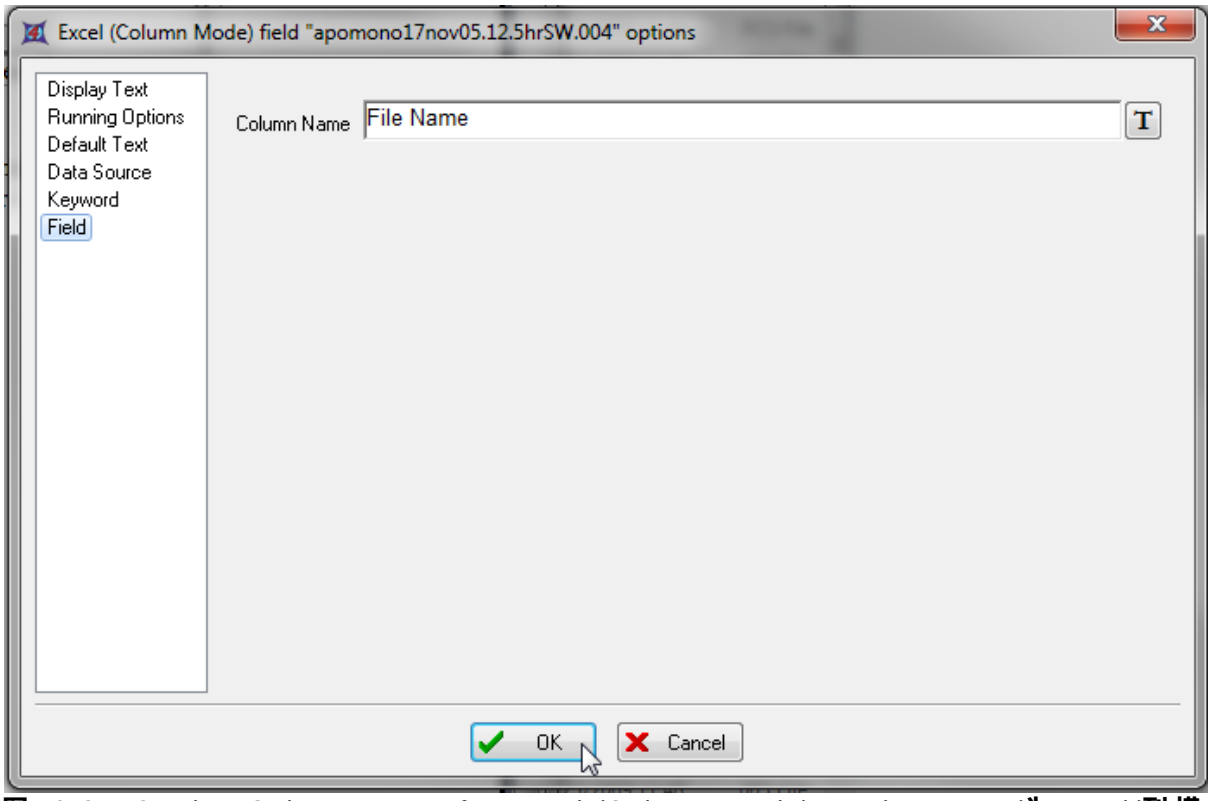
图T9.34 Batch Actions Dialog with Actions Pasted to Excel (Column Mode) (**批操作对话框中粘贴到**Excel(**列模式**)**中的批操作**)**

10. 请双击**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**批操作下的**Keyword: $FIL**关键字标记。

这时会出现**Excel field "Keyword: $FIL" options(Excel字段"Keyword: $FIL"选项)**对话框，这个对话框和图T9.16 694近似，只是标题不是**Cell Mode(单元格模式)**，而是**Column Mode(列模式)**。

11. 请点击**Field(字段)**类别选项(图T9.16 694)，调出字段页(图T9.35)。

12. 请在**Column Name(列名称)**字段输入**File Name(文件名)**(图T9.35)。



图T9.35 Setting Column Name for Excel (Column Mode) Batch Export (**为**Excel(**列模式**)**批导出设置列名称**)

13. 请点击**OK**来接受这个列名称并关闭窗口。

我们现在已经为把关键字标记$FIL批量导出到Excel(列模式)定义了列名。

14. 请双击**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**下的关键字标记**Keyword: $DATE**。

像前面一样，这时会出现**Excel field "Keyword: $DATE" options(Excel字段"Keyword: $DATE"选项)**对话框，这个对话框和图T9.16 694近似，只是标题不是**Cell Mode(单元格模式)**，而是**Column Mode(列模式)**。

15. 请点击**Field(字段)**列表选项(图T9.16 694)来调出字段页(图T9.35)。

16. 请在列名称字段输入**Date(日期)**。

17. 请点击**OK**。

18. 请双击**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**批操作下的 **Statistic: % of gated cells(统计: 门中细胞百分比)**标记，重复上述过程。

这时会出现**Excel field "Statistic: % of gated cells" options(Excel字段"Statistic: % of gated cells"选项)**对话框，该对话框和图T9.16 694非常相似，只是标题不是**Cell Mode(单元格模式)**，而是**Column Mode(列模式)**。

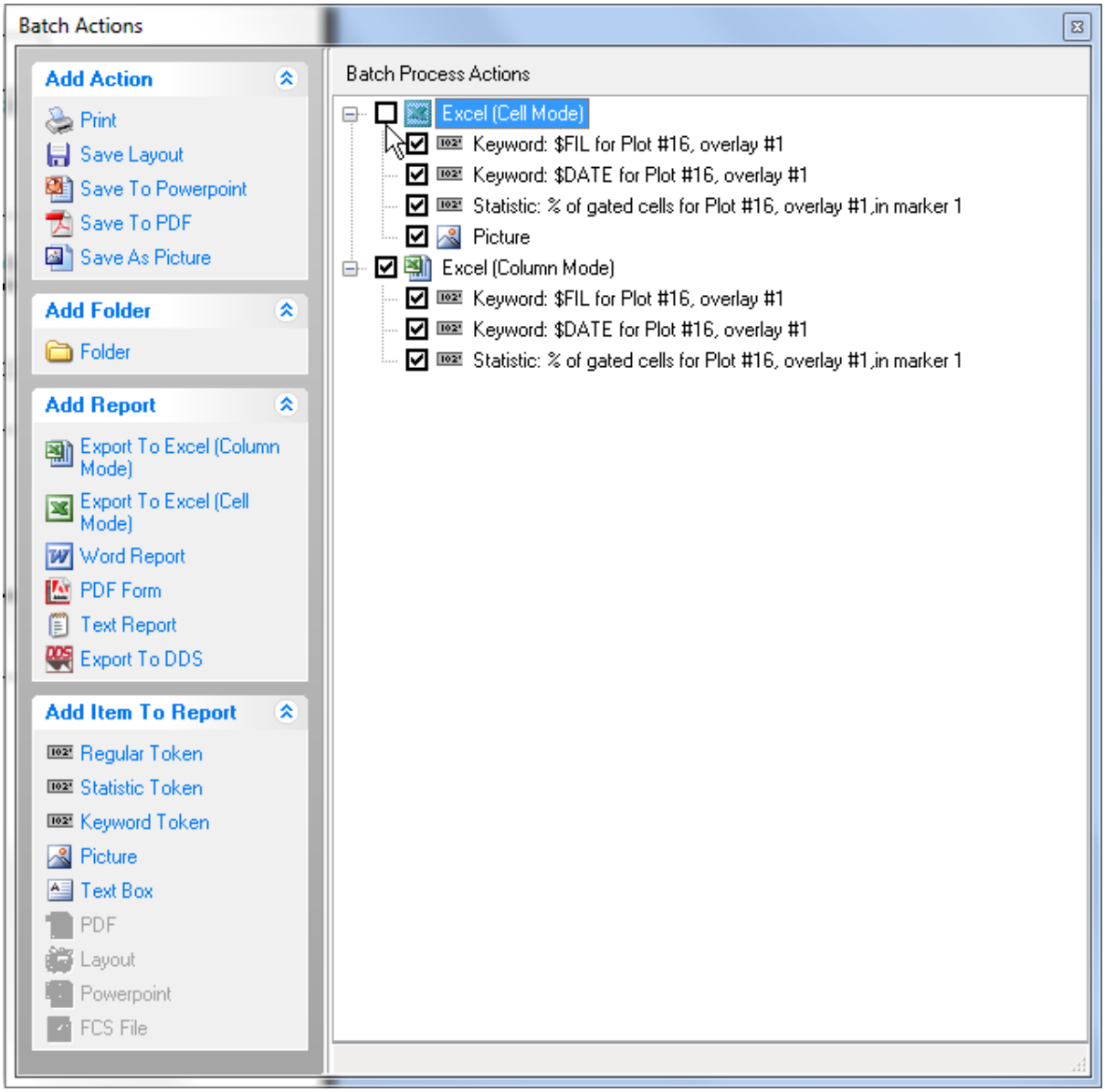
19. 请点击**Field(字段)**类别选项(图T9.16 694)来调出字段页(图T9.35)。

20. 请在列名称字段输入**Positive Cells % (Marker)(阳性细胞百分比(标记))**。

21. 请点击**OK**。

我们现在已经为所有Excel(列模式)批量导出定义了列名称(图T9.36)。

22. 请取消点选**Excel (Cell Mode)(Excel(单元格模式))**批操作(图T9.36)。

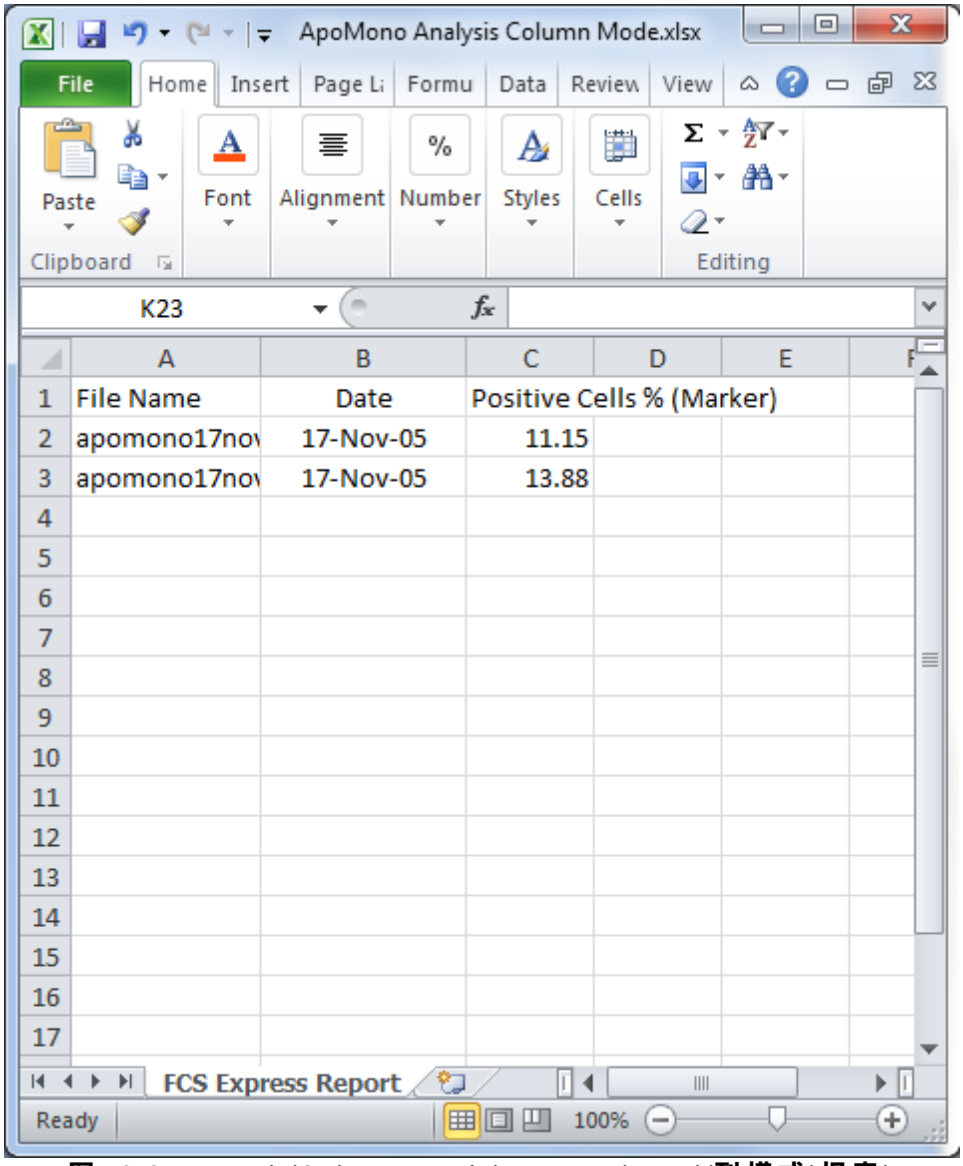


图T9.36 Deselect Excel (Cell Mode) to Batch Process Only Excel (Column Mode) (**取消点选**Excel(**单元格模式**), **仅仅批处理**Excel(**列模式**))

现在我们已经可以运行批处理，把数据导出到**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**。

23. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Run(运行)**命令(图T9.10 683)。

这时会出现Excel(列模式)报表，报表中有批处理的结果(图T9.37)。



图T9.37 Excel (Column Mode) Report (Excel(**列模式**)**报表**)

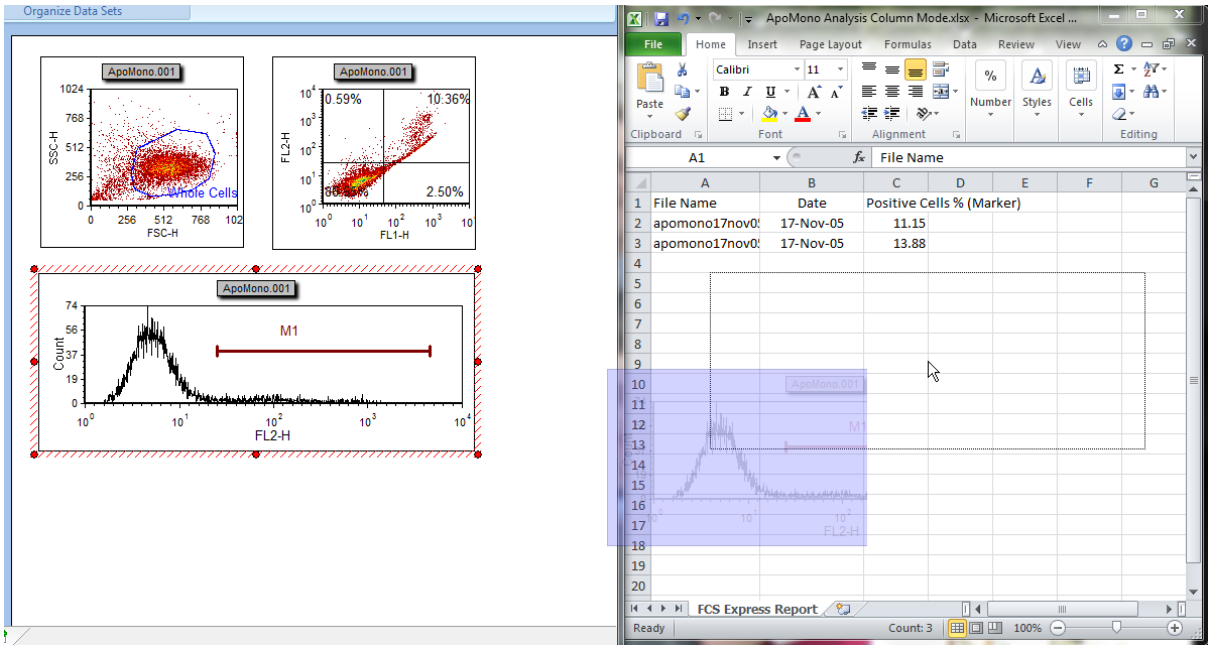
我们现在将使用拖放的方式，把一个绘图图片从FCS Express中拖拽到Excel电子表格中。

24. 请从FCS Express版面**BatchProcess.fey**中选择**ApoMono.001**柱状图。柱状图的边框在选中后会变红。

25. 请把光标箭头移动到柱状图的边界上，这时光标将变成一个四向箭头。

26. 点击鼠标左键。

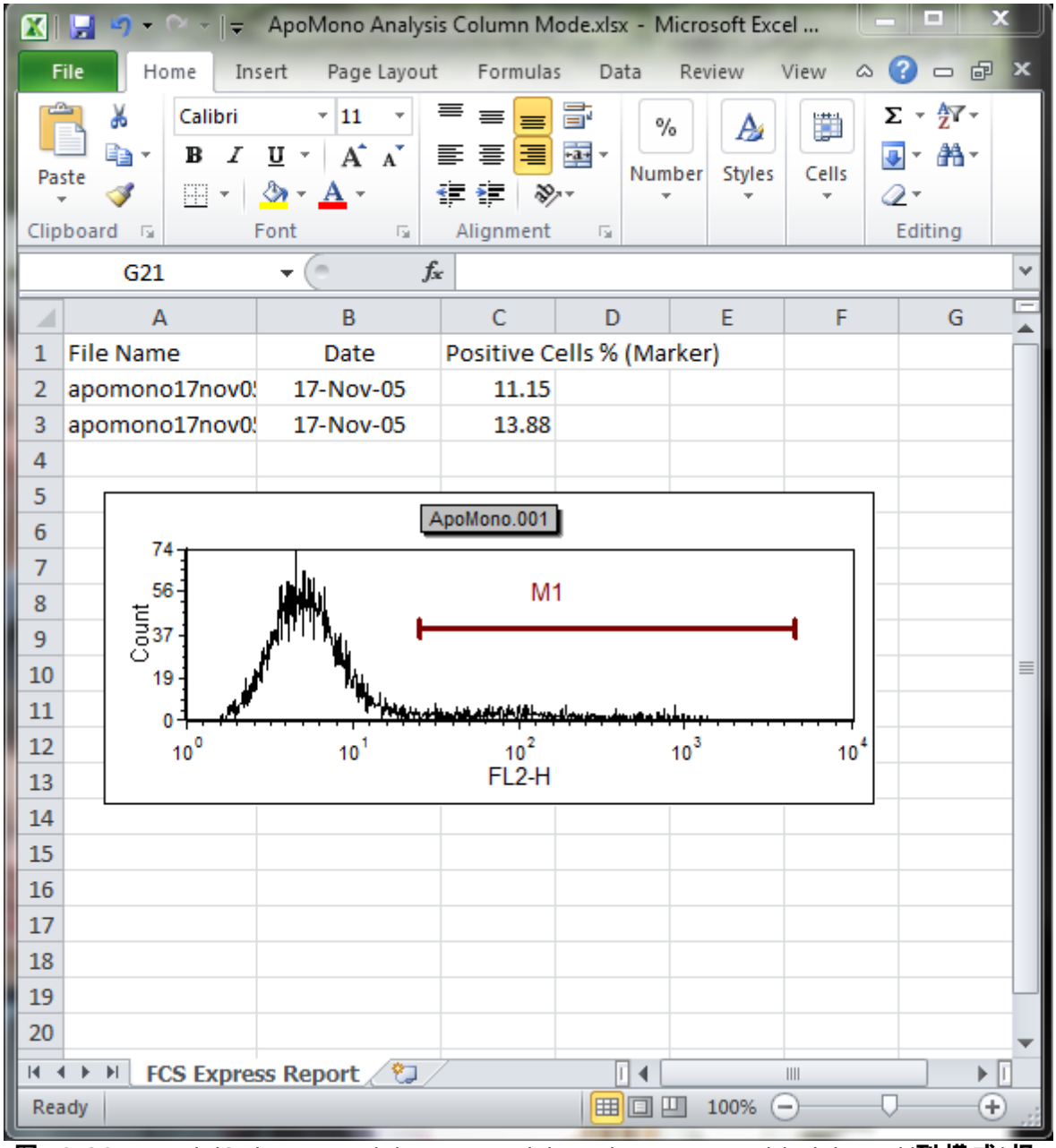
27. 请按下鼠标左键不放，把绘图从FCS版面中拖到Excel(列模式)报表的电子表格中(图T9.38)。



图T9.38 Dragging and Dropping a Plot Image from FCS Express to an Excel Spreadsheet (**把绘图从**FCS Express**中拖到**Excel**电子表格中**)

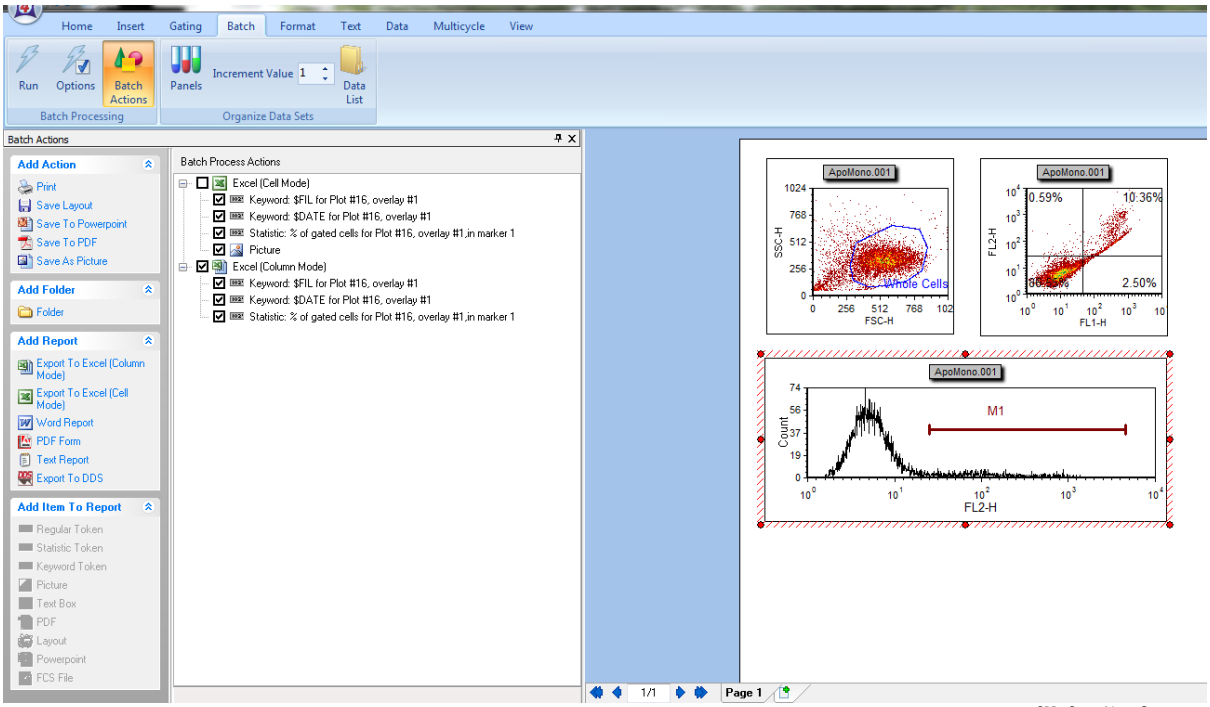
28. 当绘图移动到**Excel (Column Mode)(Excel(列模式))**批处理报表中统计数据的下方时，松开鼠标(图T9.38)。

这时一个柱状图的图像会出现在Excel电子表格中(图T9.39)。用户也可以把FCS Express中的对象通过拖放的方式复制到Word和PowerPoint中。



图T9.39 Excel (Column Mode) Report with a Plot Image Added (Excel(**列模式**)**报表中含有一个绘图图像**)

在定义批教程过程中，把**Batch Actions(批操作)**窗口停靠在窗口的一边会很有用。停靠**Batch Actions(批操作)**对话框会让向其中拖放绘图和标记操作变得非常简单，让用户可以很快地设置批处理操作。图T9.40是一个**Batch Actions(批处理)**对话框停靠在版面左边的例子。请参见停靠教程[748]来更好地学习FCS Express中的停靠功能。



图T9.40 Batch Actions Window Docked to the Left Side of the Layout (**批操作窗口停靠在版面左侧**)

36.10 创建和使用面板

在使用流式细胞分析工作中，经常要使用相同的分析"面板(程序)"来分析多个数据文件(例如，在医院里测定CD3- CD4- CD8时，一个染色方案要用在不同病人身上；又如，在病人进行了不同治疗之后，需要检测同一种表面标识分子的表达情况)。要使这类分析更加容易，FCS Express有所谓的**Panels(面板)**选项。面板可以让用户很快地把某一版面上的所有数据修改为另一组新的数据。

要使用FCS Express中的面板功能，用户首先要设置使用的试管数目，然后在版面上创建绘图和其它元素。一旦这些设置好了，用户仅仅通过点击几下鼠标，便可以导入另一组数据。

创建版面之后，用户便可以设置一个面板372。

36.10.1 *设置面板*

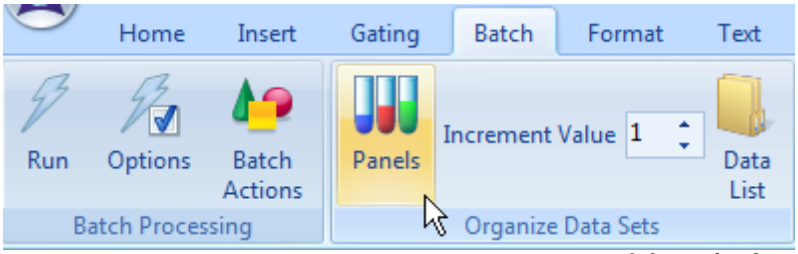
在本节中，我们会:

- 学习如何设置面板。
- 学习如何设置一个需要分析的实验文件列表。

在这个教程中，我们会对人体周边血液中多分叶核细胞的Annexin V －PI染色试样进行分析。这个面板包括四个不同钙离子浓度的试样，它们组成了一"组"需要重复检测的样品。相同的分析要为不同的治疗方案重复三次。

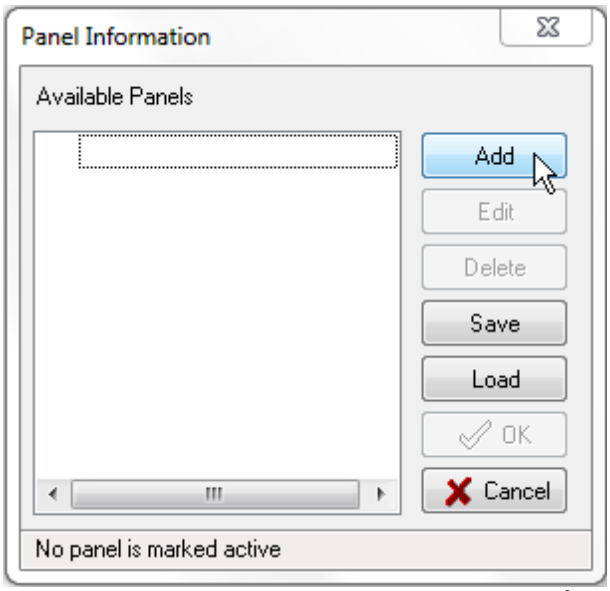
我们将从定义面板开始，然后设置文件列表。

1. 请打开一个新的空白版面。
2. 请选择**Batch(批)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令(图T10.1)。或者，请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令。



图T10.1 Selecting the Panels Command (**选择面板命令**)

这时会出现**Panel Information(面板信息)**对话框，如图T10.2所示。



图T10.2 Panel Information Dialog (**面板信息对话框**)

3. 请点击**Add(添加)**按钮(图T10.2)。

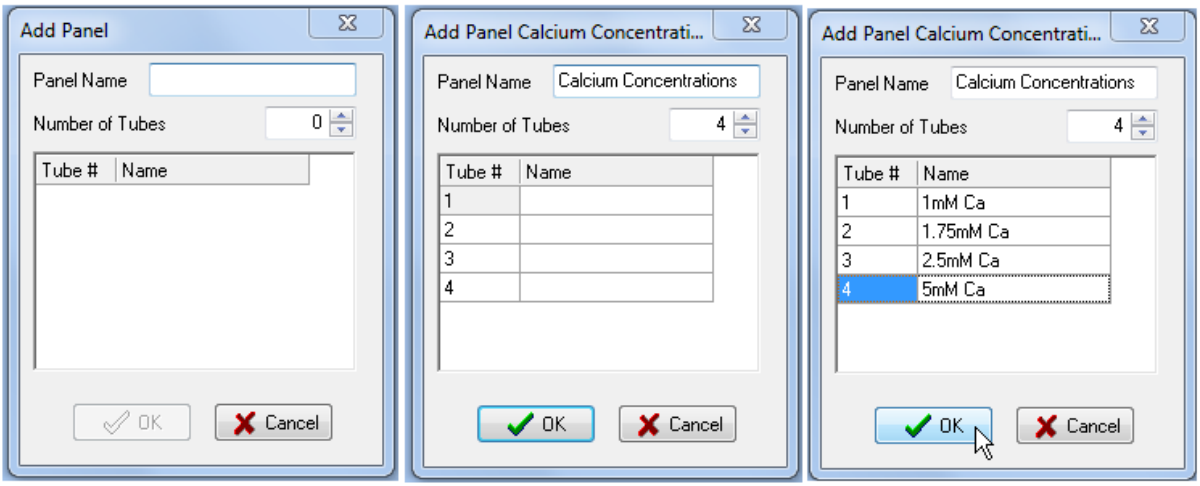
这时会出现**Add Panel(添加面板)**对话框，如图T10.3A所示。

4. 请在**Panel Name(面板名称)**字段输入"**Calcium Concentrations(钙离子)**"浓度。

5. 请点击**Number of Tubes(试管数目)**字段向上的箭头，直到该字段变成**4**。这时对话框看起来应该如图T10.3B所示。

6. 请在**Name(名称)**一列为每个试管输入名称，试管1到4的名称分别为: "**1 mM Ca**"、"**1.75 mM Ca**"、"**2.5 mM Ca**"以及"**5 mM Ca**"。这时对话框应该看起来如图T10.3C所示。

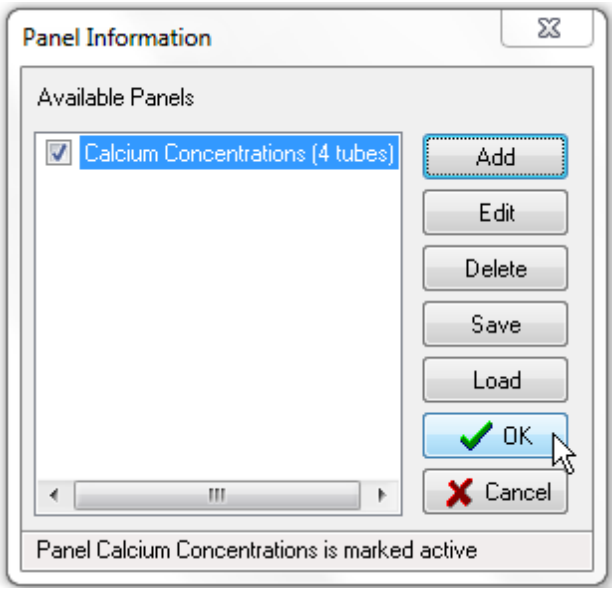
7. 请点击**OK**，关闭**Add Panel(添加面板)**对话框。



A. Add Panel Dialog　　B. Ready to add Tube Names　　C. Add Panel Dialog Completed

图T10.3 Setting up a Panel using the Add Panel Dialog (**使用添加面板对话框设置面板**)

这时的**Panel Information(面板信息)**对话框含有更新过的面板信息，如图T10.4所示。

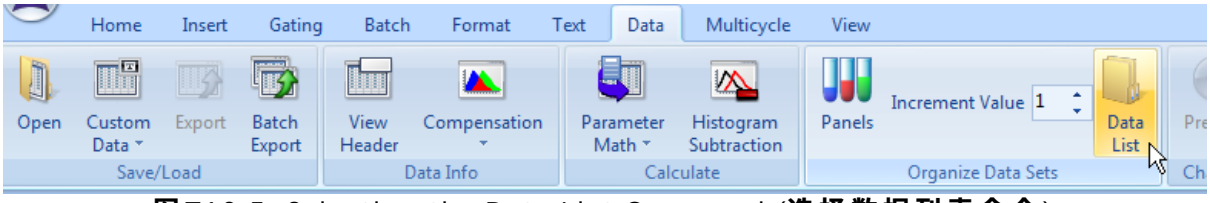


图T10.4 Updated Panel Information Dialog (**更新过的面板信息对话框**)

8. 请点击**OK**键，关闭**Panel Information(面板信息)**对话框(图T10.4)。

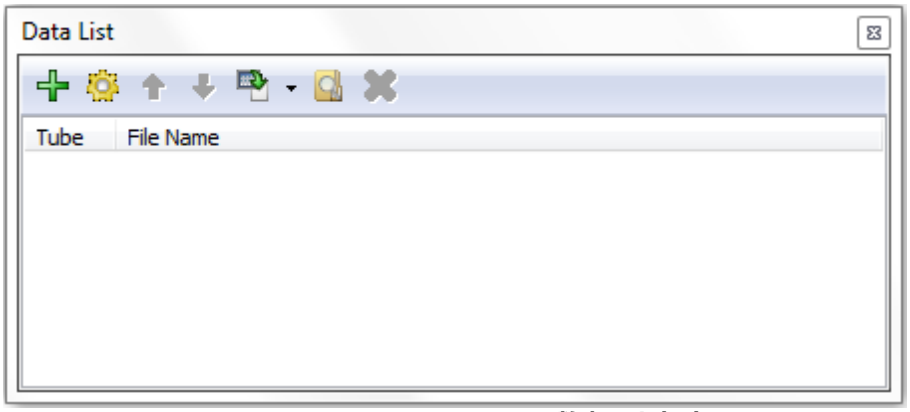
下一步我们将使用**Data List(数据列表)**来设置使用面板进行分析时的文件列表。

9. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令(图T10.5)。或者，请选择**Batch(批)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。



图T10.5 Selecting the Data List Command (**选择数据列表命令**)

这时将打开**Data List(数据列表)**窗口，如图T10.6所示。



图T10.6 Data List Window (**数据列表窗口**)

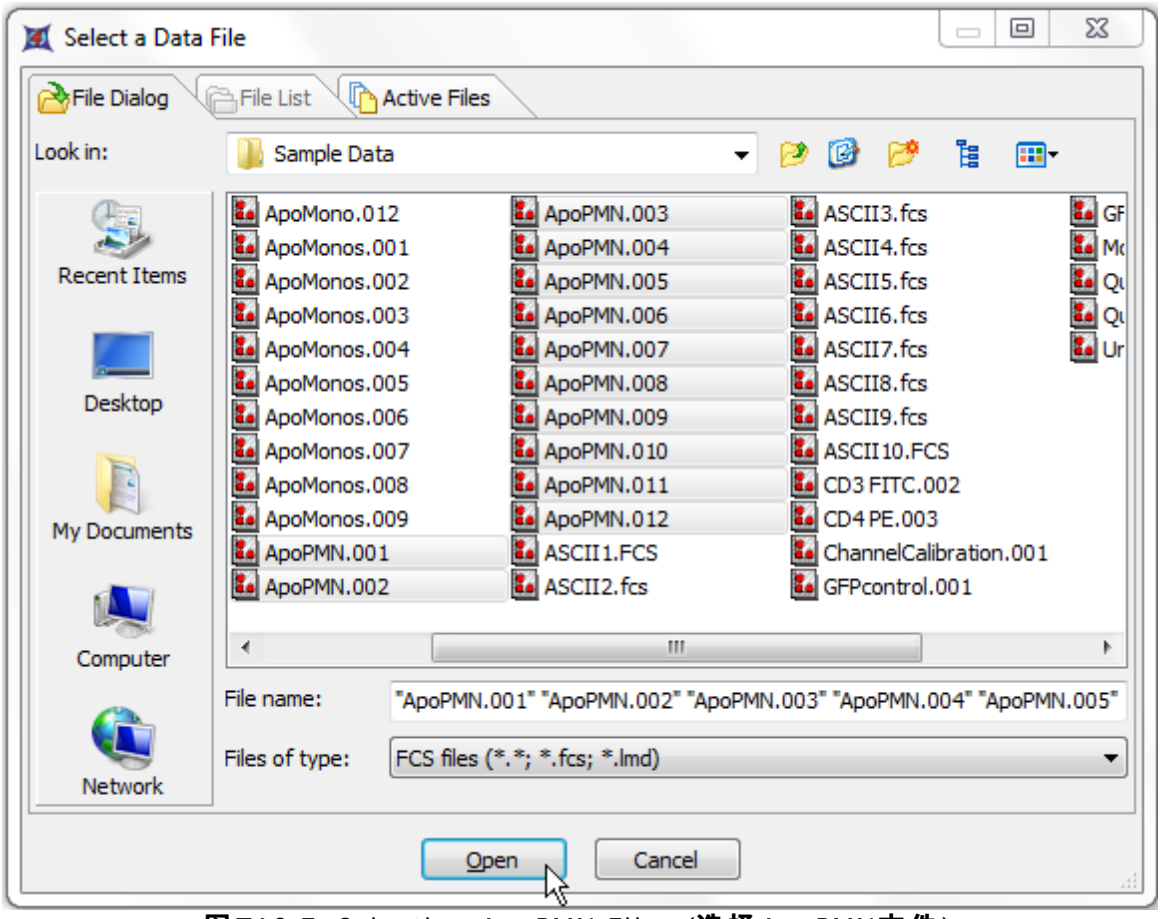
10. 请点击**Data List(数据列表)**上方的**Add** 按钮来添加文件。

这时会打开**Select a Data File(选择数据文件)**对话框(图T10.7)。

11. 请来到**Sample Data(样本数据)**文件夹。

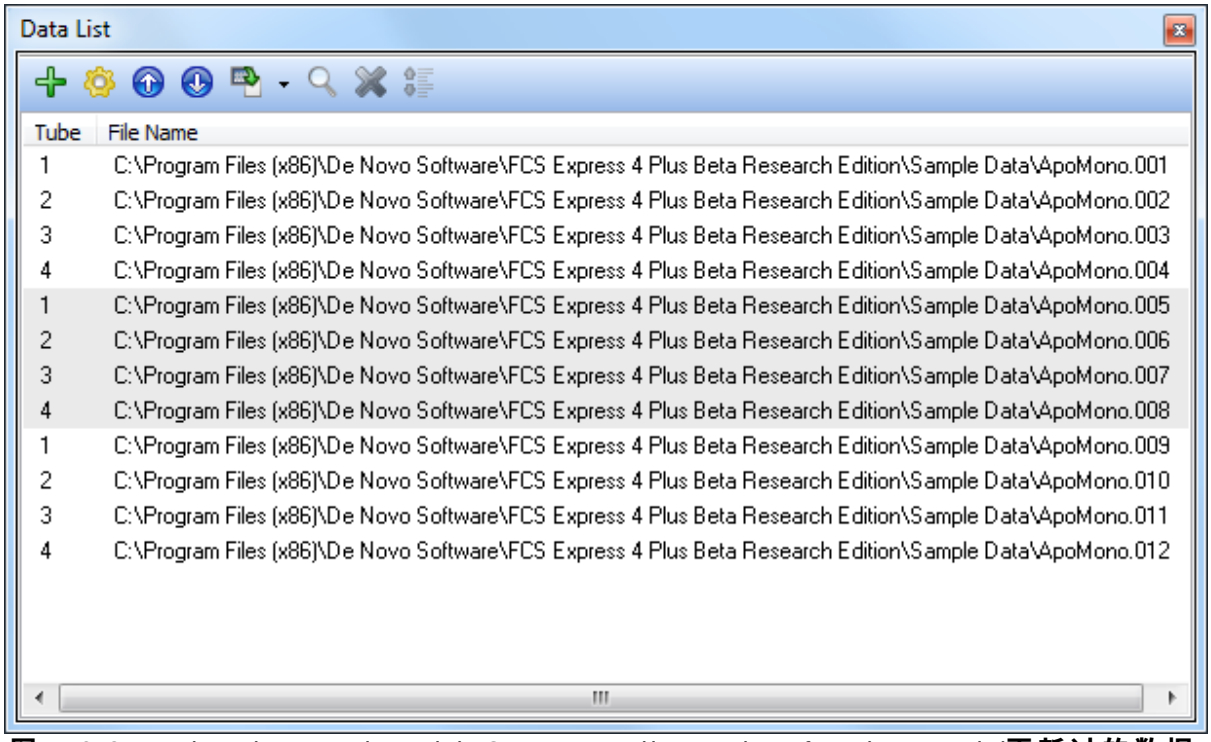
12. 请选择如图T10.7所示的12个文件，从**ApoPMN.001**到**ApoPMN.012**。(要一次选择多个文件，请先点击第一个文件**ApoPMN.001**，然后请在键盘上按下**Shift**键不放，再点击最后一个文件**ApoPMN.012**。)

13. 请点击**Open(打开)**(图T10.7)。



图T10.7 Selecting ApoPMN Files (**选择**ApoPMN**文件**)

现在**Data List(数据列表)**窗口中已经显示出了这些文件以及它们的路径名称。**Data List(数据列表)**窗口看起来应该如图T10.8所示，用户计算机上的路径名称可能会有所不同。



图T10.8 Updated Data List with Corresponding Tubes for the Panel (**更新过的数据文件列表以及其上对应于面板中的试管**)

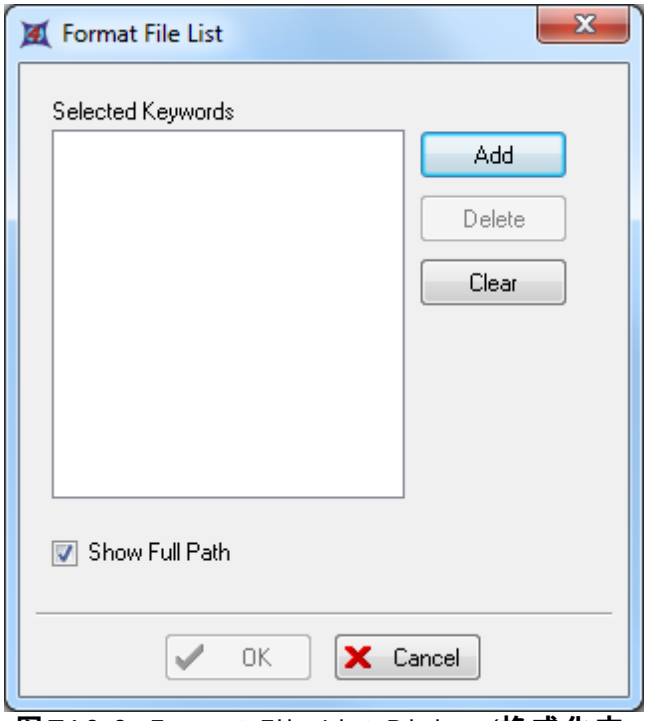
如图T10.8所示，**Data List(数据列表)**窗口左侧显示面板上的试管，右侧显示用户添加的文件。这种方式会非常好地帮助用户把文件和相关试管组织起来，以备将来分析所用。为更好地组织数据文件，FCS Express可以让用户把FCS文件中的关键字添加到文件列表所显示的信息中。我们现在就把FCS关键字**Sample ID(样本编号)**添加到文件列表中。

14. 请点击文件列表中的一个样本，将其高亮显示。

15. 请点击**Data List(数据列表)**窗口(图T10.8)中上方的**Format(格式化)** 按钮。

这时会出现**Format File List(格式化文件列表)**对话框，如图T10.9所示。

16. 请从**Format File List(格式化文件列表)**中选择**Add(添加)**。



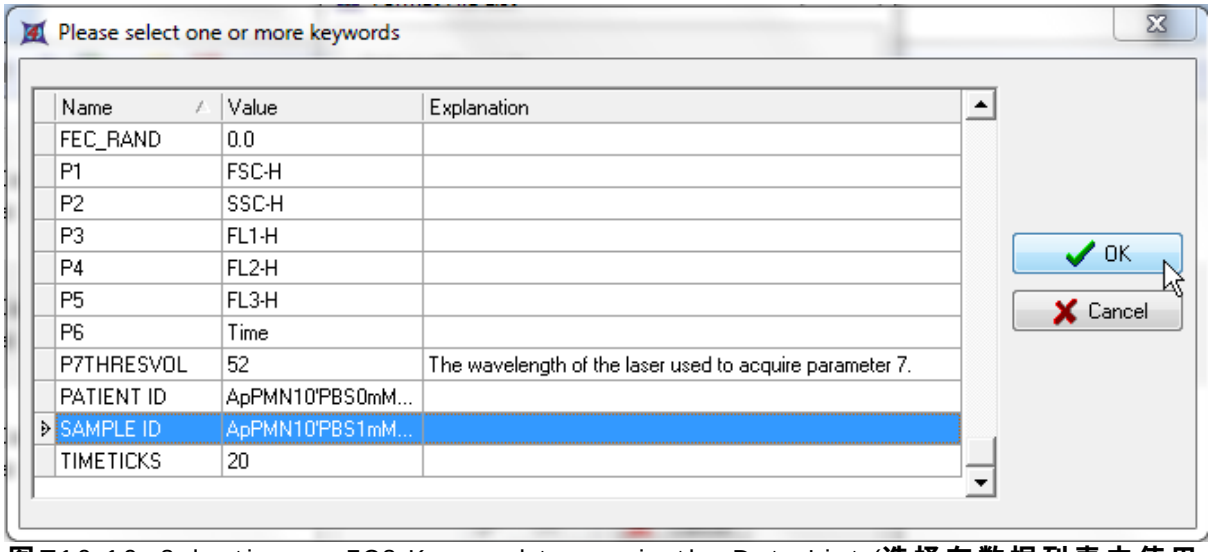
图T10.9 Format File List Dialog (**格式化文件列表对话框**)

这时会出现**Please select one or more keywords(请选择一个或多个关键字)**对话框，如图T10.10所示。在此我们将选择在**Data List(数据列表)**中要显示的**Sample ID(样本编号)**关键字。

17. 请点击滑动条向下的箭头来到列表的底部。

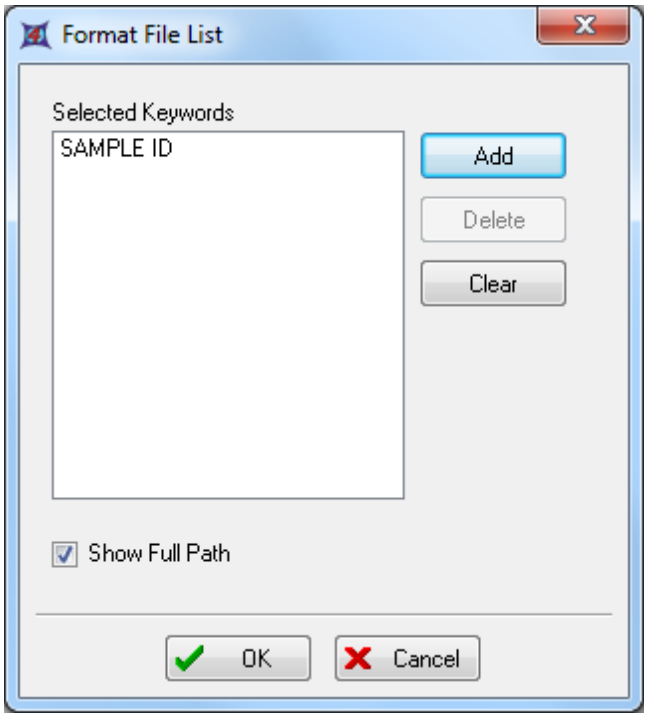
18. 请点击高亮显示于图T10.10中的**SAMPLE ID(样本编号)**。如果想要显示多个关键字，请在按下每个关键字的时候在键盘上点击**Ctrl**键。在本例中，我们仅仅选择样本编号关键字。

19. 请点击**OK**(图T10.10)。



图T10.10 Selecting an FCS Keyword to use in the Data List (**选择在数据列表中使用的**FCS**关键字**)

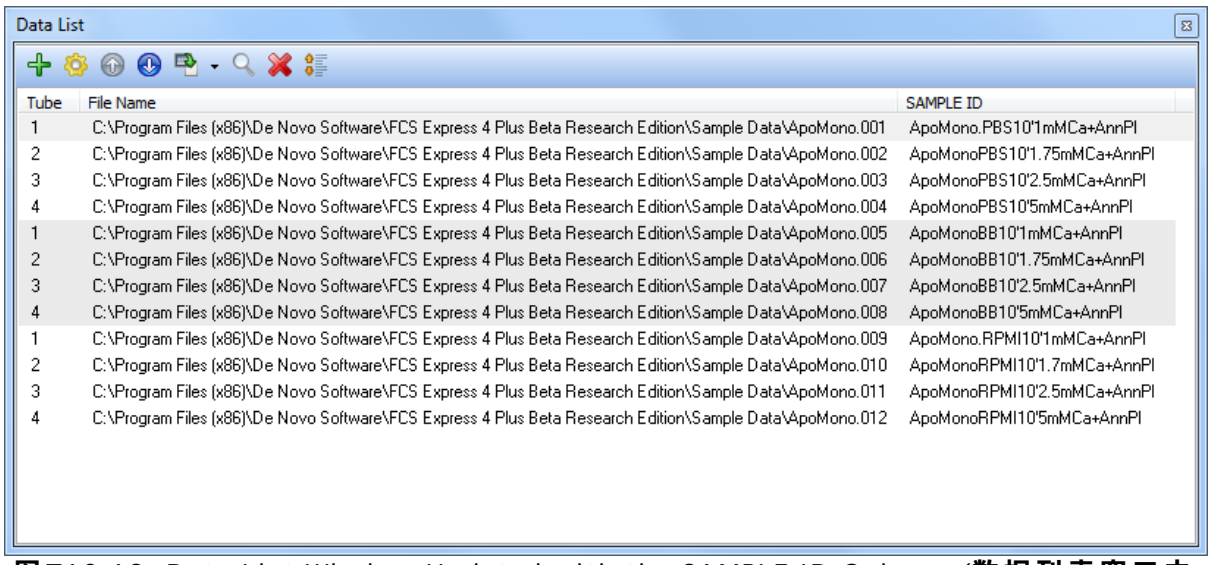
这时**Format File List(格式化文件列表)**对话框将在**Selected Keywords(已选中的关键字)**字段更新显示**SAMPLE ID(样本编号)**，如图T10.12所示。



图T10.12 Updated Format File List Dialog with SAMPLE ID as the Selected Keyword (**新的格式化文件列表中显示已选中的关键字"样本编号**")

20. 请点击**Format File List(格式化文件列表)**对话框中的**OK**(图T10.12)。

Data List(数据列表)对话框中现在有一个新列**SAMPLE ID(样本编号)**，如图T10.13所示。



图T10.13 Data List Window Updated with the SAMPLE ID Column (**数据列表窗口中的样本编号列**)

用户可以使用**Data List(数据列表)**对话框上方的图标(Figure T10.13)来操纵列表中的数据文件。

如前面演示的那样，用户可以点选添加键来添加更多的数据文件，也可以点选格式化按钮来添加更多的关键字。要在**Data List(数据列表中)**上下移动文件，请点选向上或向下箭头。要修改一个文件，请点选修改文件按钮；要查找文件，请点选查找按钮。要从列表中删除一个文件，请将该文件选中，然后点击删除按钮。

36.10.2 *创建版面*

在本节中，我们会:

- 为面板创建一个版面。

现在我们来创建一个版面，以便我们使用以前创建的面板来分析我们的实验数据。我们将使

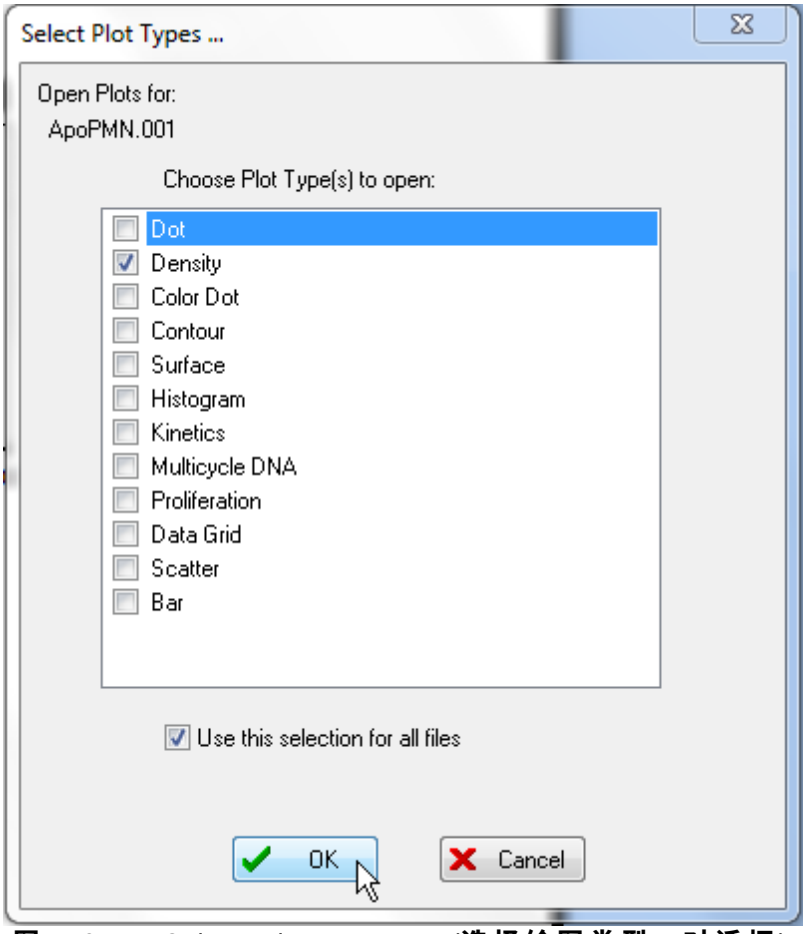
用绘图和门。(请参见以前的教程插入绘图525、格式化绘图538和使用门566。)

我们将为第一组样本创建四个绘图。

1. 如果**Data List(数据列表)**窗口没有打开，请把它打开。
2. 请选择列表中的前四个文件(请点击第一个文件，按下**Shift**键，然后再点击第四个文件)。
3. 请把选中的文件拖到**Data List(数据列表)**对话框的外边。
4. 松开鼠标键，把文件放到版面中的空白处。

这时会弹出**Select Plot Types…(选择绘图类型...)**对话框，如图T10.14所示。

5. 请选中**Density Plot(密度图)**选项，然后取消对其它绘图类型的选择。
6. 请勾选**Use this selection for all files(为所有文件使用这个选项)**。
7. 请点击**OK**键(图T10.14)。

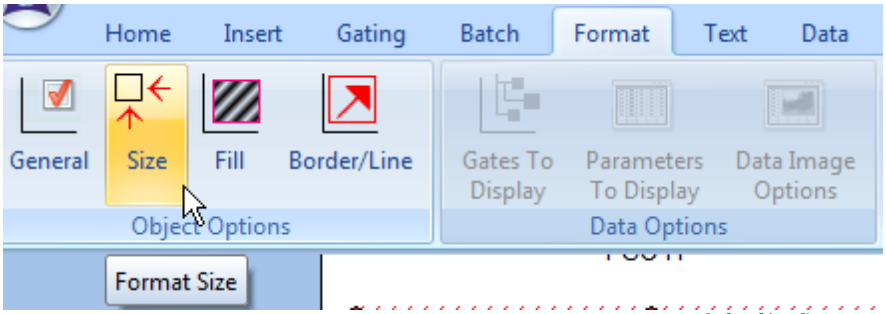


图T10.14 Select Plot Types... (**选择绘图类型...对话框**)

这时使用**Data List(数据列表)**里的前四个数据文件创建的四个密度图将出现在绘图中。我们现在要调整密度图的大小，把它们在版面中排成一列。

8. 请按下**Ctrl**键点击四个绘图来将它们全部选中。用户也许需要移动单个密度图来将其选中。或者，请按下鼠标键，拖出一个选框，把四个绘图全部包住 ;又或者，请选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Select All(选中所有)**命令。

9. 请选择**Format(格式)→Object Options(对象选项)→Size(尺寸)**命令(图T10.15)。

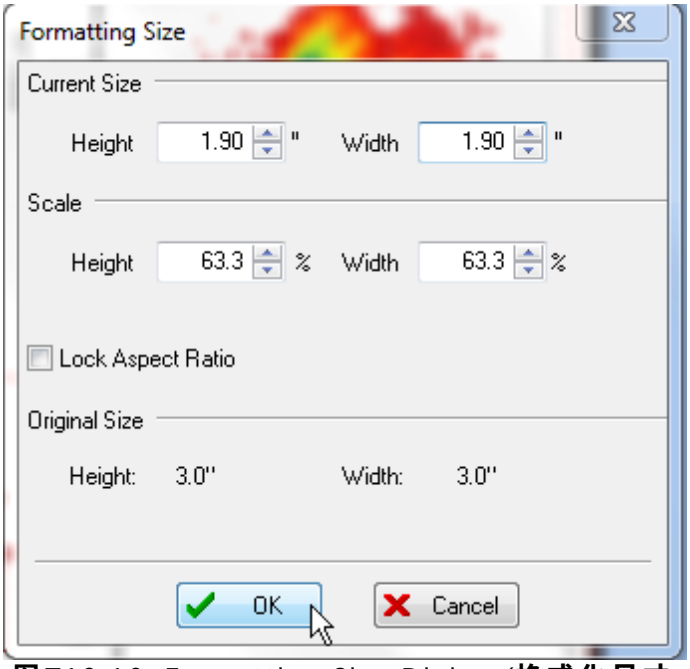


图T10.15 Selecting the Format Size Command (**选择格式化尺寸命令**)

这时会出现**Formatting Size(格式化尺寸)**对话框，类似于图T10.16。

10. 请在**Height(高度)**和**Width(宽度)**字段后都输入"**1.9**"，如图T10.16所示。或者，请点击**Height(高度)**和**Width(宽度)**字段旁边向下的箭头，把字段中的数值减至"**1.9**"。

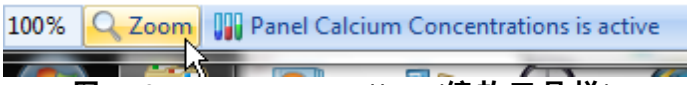
11. 请点击**OK**。



图T10.16 Formatting Size Dialog (**格式化尺寸对话框**)

我们现在将设置缩放以查看整个版面，使我们更方便地在绘图上调整四个密度图的位置。

12. 请从缩放工具栏[28]上选择缩放(图T10.17)。

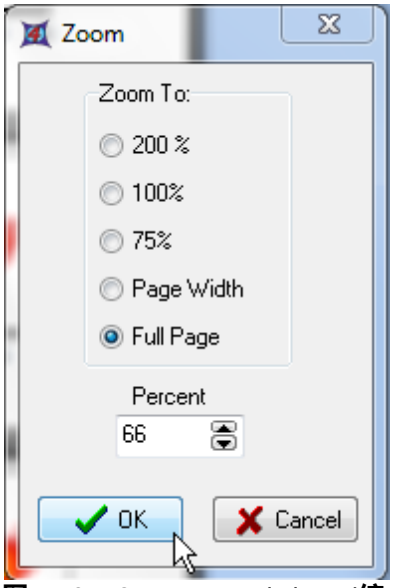


图T10.17 Zoom Toolbar (**缩放工具栏**)

这时会出现**Zoom(缩放)**对话框(图T10.18)。

13. 请选择**Full Page(整个页面)**单选按钮。

14. 请点击**OK**(图T10.18)。

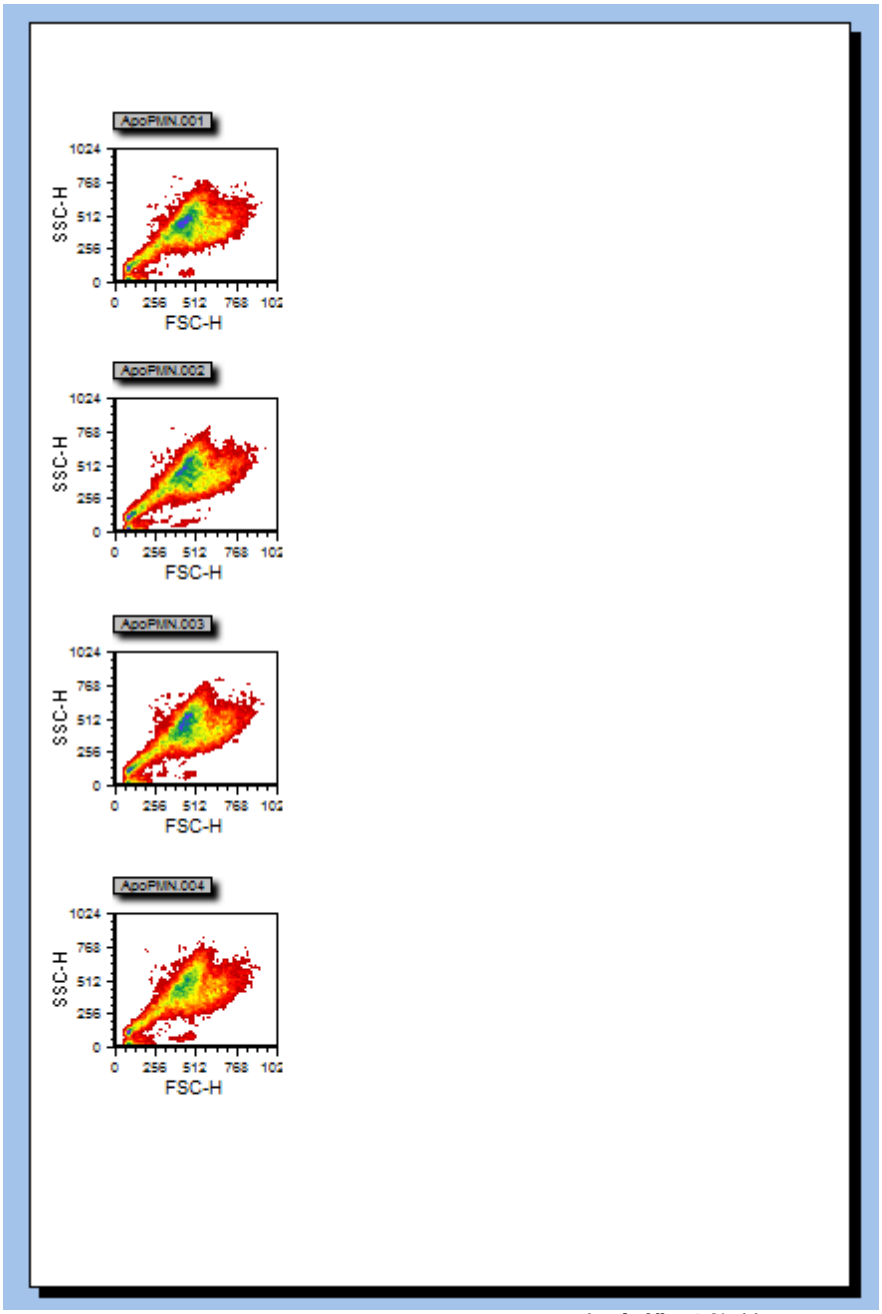


图T10.18 Zoom Dialog (**缩放对话框**)

这时屏幕上将呈现出整个版面。

15. 请移动密度图，把它们按照顺序排成一列。

用户的版面看起来应该如图T10.19所示(颜色可能会不同)。要更多地了解在FCS Express中怎样操作对象，请参见使用对象 513教程。



图T10.19 Plots Arranged in Order (**有序排列的绘图**)

现在我们将设置绘图的标题，让它们显示**File Name(文件名称)**和**Sample ID(样本编号)**(就像在**Data List(数据列表)**中那样)，使得它们更好地被识别出来。

16. 请选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Select All(选中所有)**命令，选中所有绘图。

17. 请选中**Format(格式化)→Plot Options(绘图选项)→Title(标题)**命令。

这时会出现类似于图T10.20中的**Formatting Titles(格式化标题)**对话框。以下几步中的数字编号都是针对该图而言。

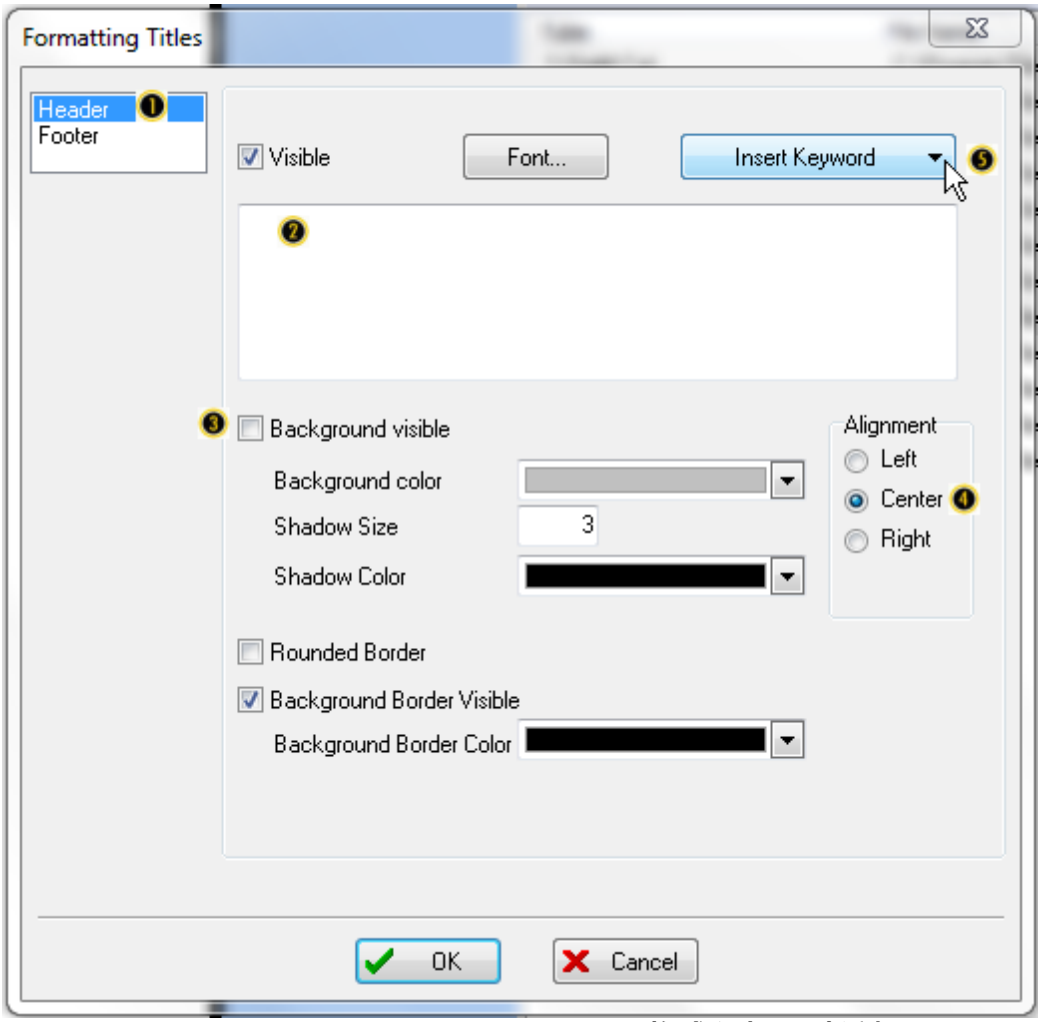
18. 请点击左侧的**Header(头标题)** ❶ 类别选项。

19. 请删除选项区域中间文本框中的内容 ❷ (如果文本框中有任何内容的话)。

20. 请取消**Background visible(背景可见)** ❸ 选项。

21. 请在**Alignment(对齐)**部分选择**Center(居中对齐)** ❹ 。

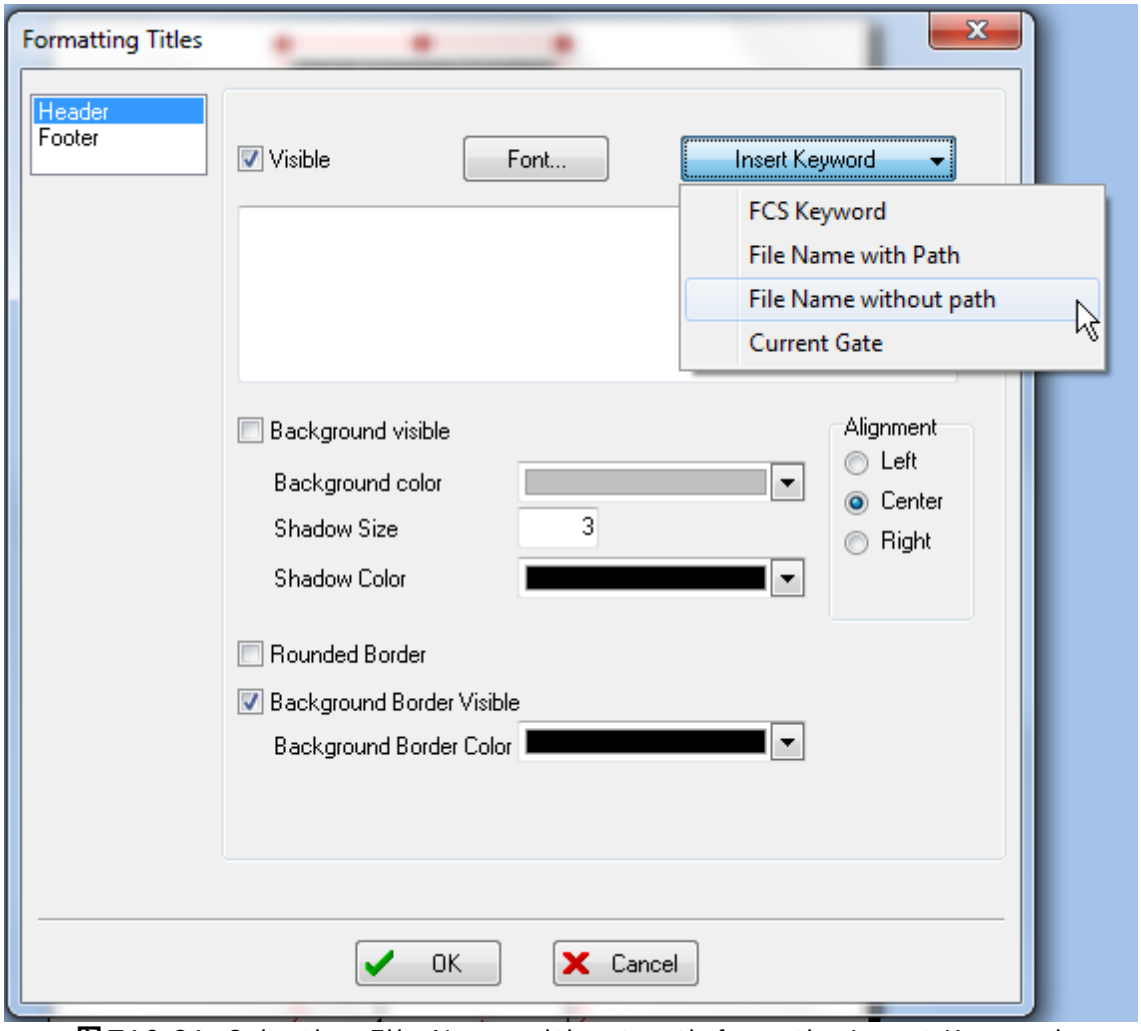
22. 请点击**Insert Keyword(插入关键字)**按钮 ❺ (图T10.20)。



图T10.20 Formatting Titles Dialog (**格式化标题对话框**)

23. 请从出现的下拉菜单中选中**File Name without path(没有路径的文件名称)**,

如图T10.21中的光标所示。



图T10.21 Selecting File Name without path from the Insert Keyword drop-down list on the Formatting Titles Dialog (**在格式化标题对话框中的插入关键字下拉列表中选择没有关键字的文件名称**)

这时**Formatting Titles(格式化标题)**对话框会显示字符串"<$FCSE_FILENAMENOPATH>"。

24. 请点击字符串的末尾，用**空格键**插入一个空格。

25. 请点击**Insert Keyword(插入关键字)**按钮。

26. 请从出现的下拉列表中选择**FCS Keyword(FCS关键字)**。

这时会出现**Please select one or more keywords…(请选择一个或多个关键字...)**对话框，如前图T10.10 724所示。

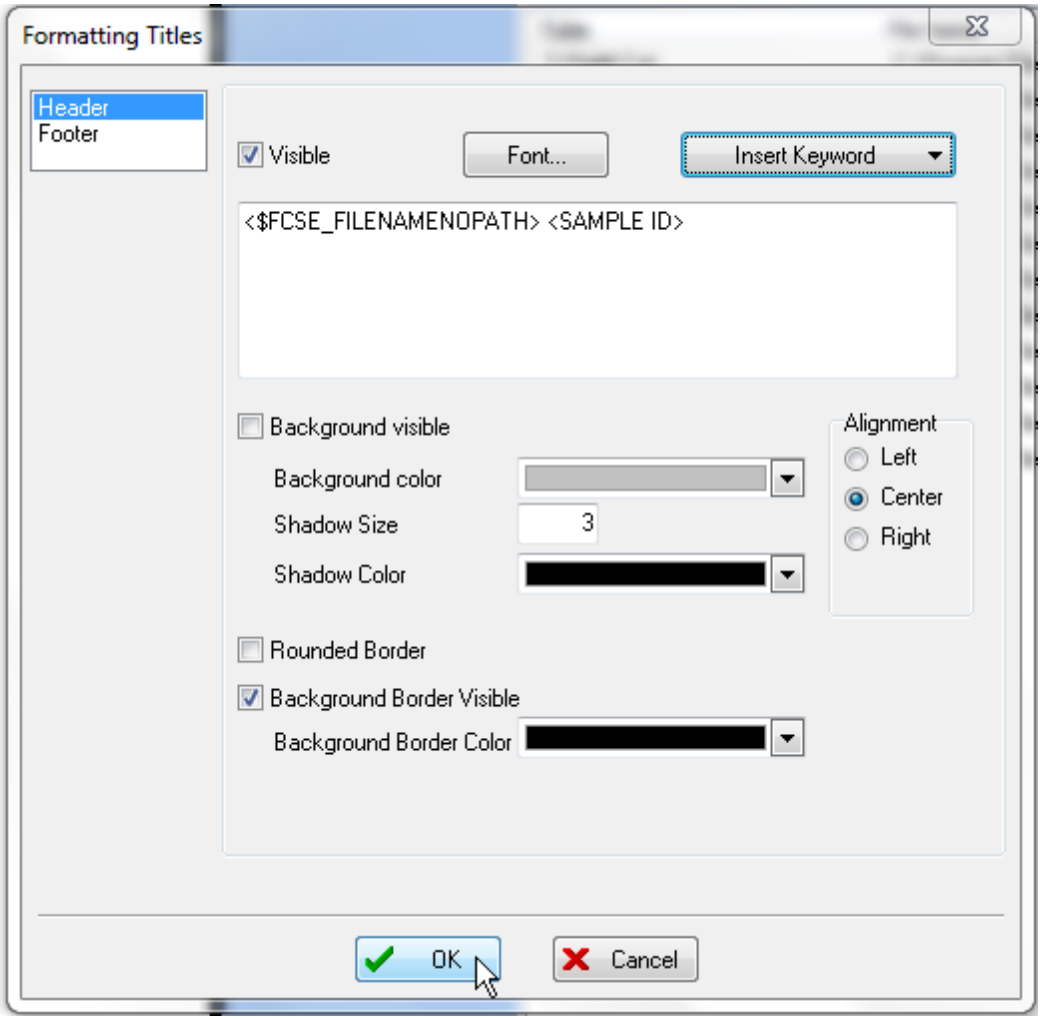
27. 请向下移动到关键字列表的底端。

28. 请点击**SAMPLE ID(样本编号)**(图T10.10 724)。

29. 请点击**OK**(图T10.10 724)。

这时第二个字符串被添加到**Formatting Titles(格式化标题)**对话框的文本框中，文本框现在应该显示"< $FCSE_FILENAMENOPATH> < SAMPLE ID> "，并看起来如图T10.22所示。

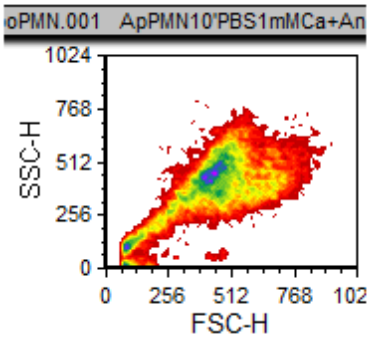
30. 请点击**OK**，关闭**Formatting Titles(格式化标题)**对话框。



图T10.22 Final Selection of Options on the Formatting Titles Dialog (**格式化标题对话框上最终的选项设置**)

这些绘图现在将显示如图T10.23所示的标题。但因为绘图尺寸被缩小，绘图标题的一些信息被切掉了。如果想要查看绘图标题的所有信息，请使用**Formatting Titles(格式化标题)**对

话框上的**Font(字体)**选项来缩小标题的文本字体。



图T10.23 Density Plot with FCS Filename and Sample ID in the Title (**标题中带有**FCS **文件名和样本编号的密度图**)

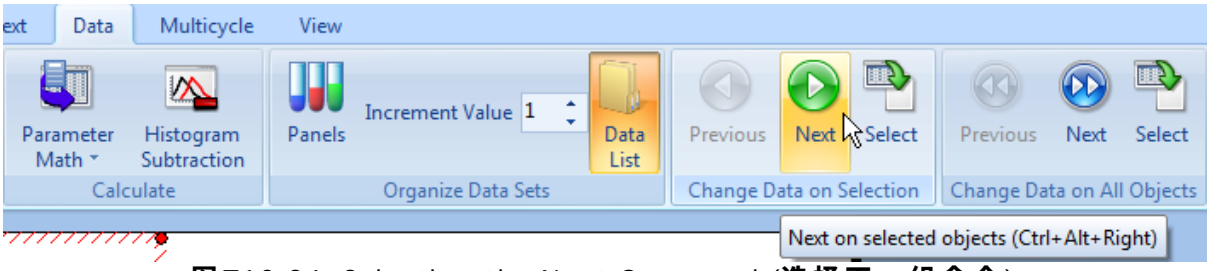
36.10.3 *使用面板*

在本例中，我们会:

- 使用面板来分析剩下的样本。
- 使用以前设置好的面板来扩展版面。
- 向已有的版面中导入新的数据。

我们现在将使用版面上创建的这个面板来分析剩下的样本。

1. 请用**Ctrl**键+ 点选的方式来选择所有四个密度图。或者，请选择**Home(主页)→Editing(编辑)→Select All(选中所有)**命令；也可以通过按下鼠标键不放来拖出一个选框，将四个绘图全部选中。
2. 请选中**Data(数据)→Change Data on Selection(改变选中的数据)→Next (下一组)**命令(图T10.24)。



图T10.24 Selecting the Next Command (**选择下一组命令**)

注意到点击**Next(下一组)**按钮之后，所选的四个绘图变了，变成**Data List(数据列表)**中的下一组数据；文件1到4变为文件5到8。

3. 请再次选择**Data(数据)→Change Data on Selection(改变选中的数据)→Next(下一组)**，来到**Data List(数据列表)**中面板上的第三组(也是最后一组)数据。

或者，在不选择任何绘图的情况下，用户可以通过从Ribbon条上选择**Data(数据)→Change Data on All Objects(改变所有对象上的数据)→Next(下一组)**(在图T10.24的最右边)，来到下一组数据。

要回头查看面板中的数据组，请再次选中所有数据绘图，然后选择**Data(数据)→Change Data on Selection(改变选中的数据)→Previous(前一组)**命令。或者，在不选择任何绘图的情况下，请选择**Data(数据)→Change Data on All Objects(改变所有对象上的数据)→Previous(前一组)**命令来向后查看数据组。

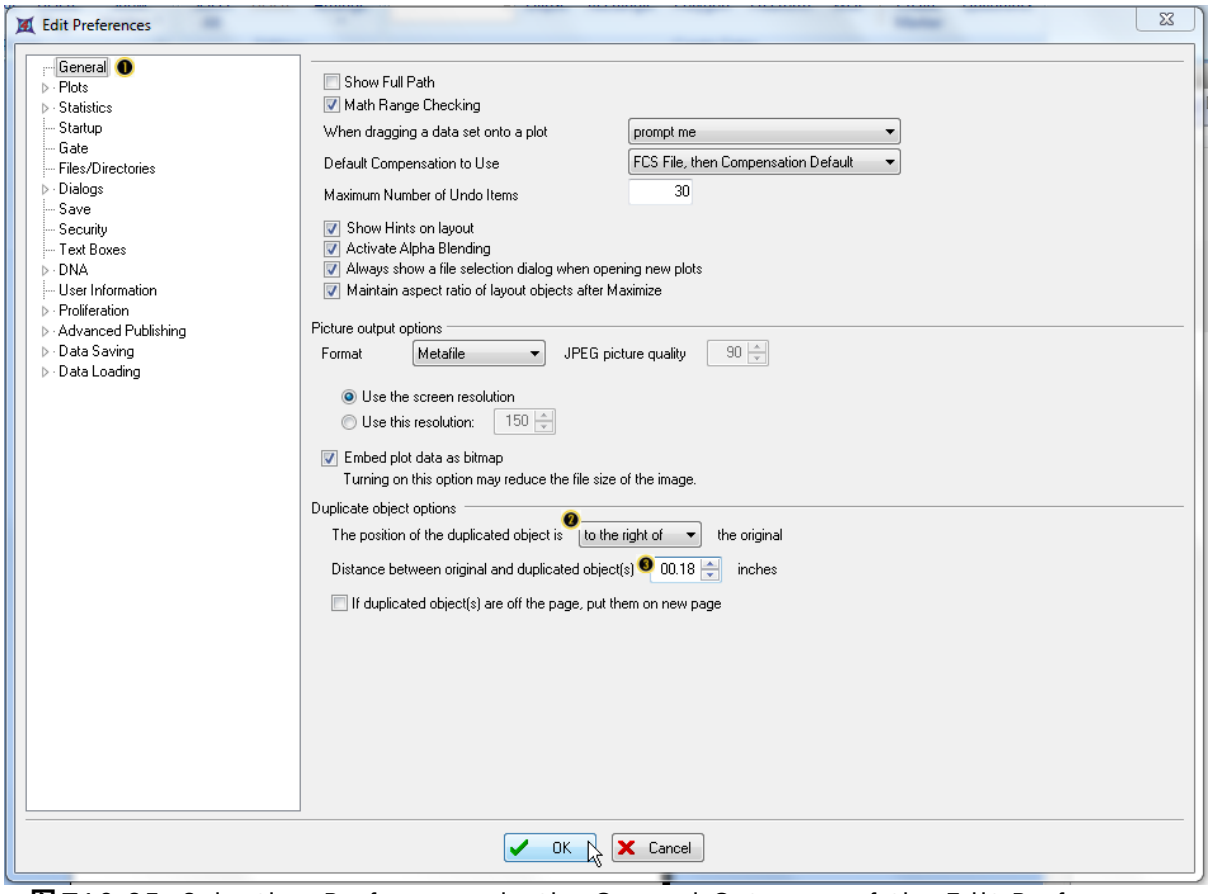
如果有和该绘图相关联的统计或标记，它们也会跟着相应地改变。这是一个快速查看实验或实验组的强大功能。

在执行接下来的几步之前，我们需要编辑一些系统选项，以确保我们为下几步操作设置好了系统环境。

4. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)**。

这时会出现和图T10.25类似的**Edit Preferences(编辑选项)**对话框；以下几步请以该绘图为参照。

5. 请从左侧列表中选择**General(常规)** ❶列表选项。
6. 请从**Duplicate object options(对象副本选项)**部分的**position of the duplicate object(副本对象的位置)**下拉列表中选择**to the right of(在右侧)**选项❷。
7. 请在**distance between original and duplicated object(s)(原对象和副本对象间的距离)**字段设置**0.18** ❸英寸。
8. 请点击**OK**(图T10.25)。



图T10.25 Selecting Preferences in the General Category of the Edit Preferences Dialog (**在编辑选项对话框中的常规选项中进行设置**)

在**Edit Preferences(编辑选项)**对话框设置这些选项将保证副本绘图放在原绘图右侧0.18英寸的位置。我们现在将使用该面板来扩展现有版面。

9. 请选中四个密度绘图。

10. 请选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Duplicate(副本)**命令。

这时会出现四个新的密度图，它们是原来四个密度图的副本。新的绘图在原绘图右侧0.18英寸的地方，为当前选中的绘图。

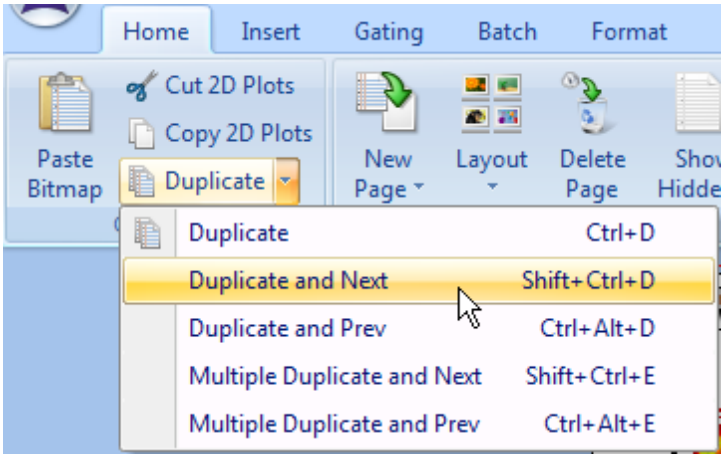
11. 请选择**Data(数据)→Change Data on Selection(改变选中的数据)→Next (下一组)**命令。

四个原来的绘图现在显示文件1- 4，而新一列的绘图显示文件5- 8。

12. 请选中第二列的四个密度图。

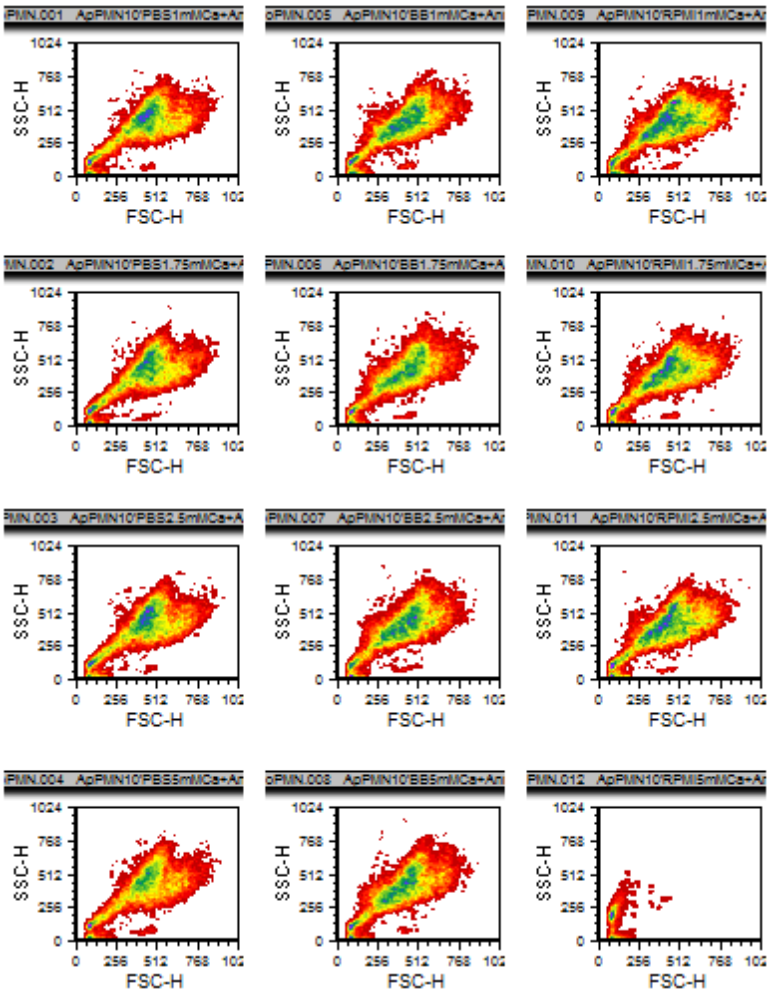
重复第10和第11步，复制第二列绘图，然后把最后一列绘图改为面板上的最后一组数据。

或者，用户可以选择第一列原来的四个密度图，然后从和**Duplicate(副本)**相关的下拉列表中选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Duplicate(副本)→Duplicate and Next(副本和下一个(组))**命令，如图T10.26所示。这是一个非常方便的创建方式，它不仅为四个绘图做副本，还会执行**Next(下一组)**操作，以便在新的副本绘图中显示下一组数据。



图T10.26 Selecting Duplicate and Next from Duplicate (**从副本菜单选择副本和下一组命令**)

使用上面的任何一种做副本和显示数据组的方法，用户得到的Calcium Concentrations(钙离子浓度)面板版面应该看起来类似于图10.27。



图T10.27 Full Panel Layout (**完整的面板版面**)

如你所见，一旦创建了面板，用户将很容易地扩展版面来显示所有数据。

我们现在将向版面中导入新数据。如果**Data List(数据列表)**窗口已经打开，那请跳到第15步。

13. 请从Ribbon窗口选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据组)→Data List(数据列表)**来打开**Data List(数据列表)**窗口。

14. 请在**Data List(数据列表)**中选中所有文件。

15. 请点击**Data List(数据列表)**对话框顶端的删除键，删除所有文件。

版面中的密度图现在会变成空白，因为我们已经从**Data List(数据列表)**中删除了所有的数据文件。

16. 请点击**Data List(数据列表)**窗口底部的**Add(添加)**按钮。

这时会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，如前图T10.7 724所示。

17. 请来到**Sample Data(样本数据)**文件夹。

18. 请选择文件**ApoMono.001**到**ApoMono.012**。

19. 请在**Select a Data File(选择数据文件)**对话框上点击**Open(打开)**。

版面中以前的文件现在被刚选择的文件(**ApoMono.001 –ApoMono.0012**)所替代。注意到这些绘图的样本编号和**Data List(数据列表)**中的面板试管编号一一对应。请记住如果二者有不符合的地方，用户可以适当调整列表中的文件顺序来使二者相符。

注意到所有密度图已经被位置和顺序都很正确的新的文件所替代！这是一个非常好的重复使用标准绘图的方法。用户可以使用分析版面，对所有新的实验数据重复以上这个过程；用户只需打开旧的版面，导入新的数据，然后为版面起一个新的名称即可。

36.10.4 *保存和导入面板*

在本节中，我们会:

- 学习如何保存和导入版面以在将来使用。

我们现在将保存和导入已经创建的面板以备将来使用。

1. 请点击**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令。或者，请选择**Batch(批)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令。

这时会出现**Panel Information(面板信息)**对话框，上面列出了钙离子浓度面板，并被标记为当前活动面板，如前图T10.4 724所示。

2. 请点击**Panel Information(面板信息)**对话框中的**Save(保存)**按钮。

这时会出现**Save As(另存为)**对话框。

3. 请来到**Sample Data(样本数据)**文件夹中，然后在文件名字段输入"**PanelDemo** "。

4. 请点击**Save As(另存为)**对话框中的**Save(保存)**。

我们现在已经保存了钙离子浓度面板。接着我们将保存当前版面，然后把保存的面板导入到新的版面中。

5. 请点击**Cancel(取消)**按钮，关闭**Panel Information(面板信息)**对话框。

6. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Save Layout(保存版面)**，保存当前版面。或者，请从快捷工具条32上选择**Save(保存)**图标。

如果之前还未保存这个版面，这时会出现**Save Layout(保存版面)**对话框。

7. 请选择**Sample Data(样本数据)**文件夹，在文件名称字段输入"**PanelDemoLayout**"。

8. 请在**Save Layout(保存版面)**对话框中点击**Save(保存)**。

9. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→New Layout(新版面)**，打开一个新的空白版面。

这时会出现一个空白版面。

10. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令。或者，请选择 **Batch(批)→Organize Data Sets(组织数据集)→Panels(面板)**命令。

这时会出现**Panel Information(面板信息)**对话框，对话框是空白的，如图T10.2724所示。

11. 请点击**Panel Information(面板信息)**的**Load(导入)**按钮。

这时会出现**Open(打开)**对话框。

12. 请来到**Sample Data(样本数据)**文件夹，选择"**PanelDemo.PanelInfo**"文件。

13. 请点击**Open(打开)**。

这时在**Panel Information(面板信息)**对话框中将显示以前保存的钙离子浓度面板，如前图T10.4724所示。保存一个面板让用户不用在每次创建版面时都重新定义一个面板。

14. 请点击**OK**键，激活钙离子浓度面板，同时关闭对话框。

钙离子浓度面板现在在这个版面上处于激活状态，用户可以使用这个面板来创建和分析一个带有绘图的新版面。

36.11 停靠

FCS Express第4版有一个很有用的功能，就是在版面上停靠窗口。停靠功能可以让用户把导航器窗口(版面导航器、数据导航器和门导航器)、标记窗口(自定义标记、封装注释和警告)以及数据列表窗口放置在版面上，然后把这些窗口中的一个或多个"停靠"在版面页外边的一个固定位置上。我们将在本教程中学习窗口停靠的诸多强大功能。

注：在这一章中我们会打开很多有意思的导航器，但在这里我们仅会集中讲解停靠功能。要想更多地了解如何使用这些导航器，请参见本教程中的版面导航器805、数据导航器769和门导航器791章节。

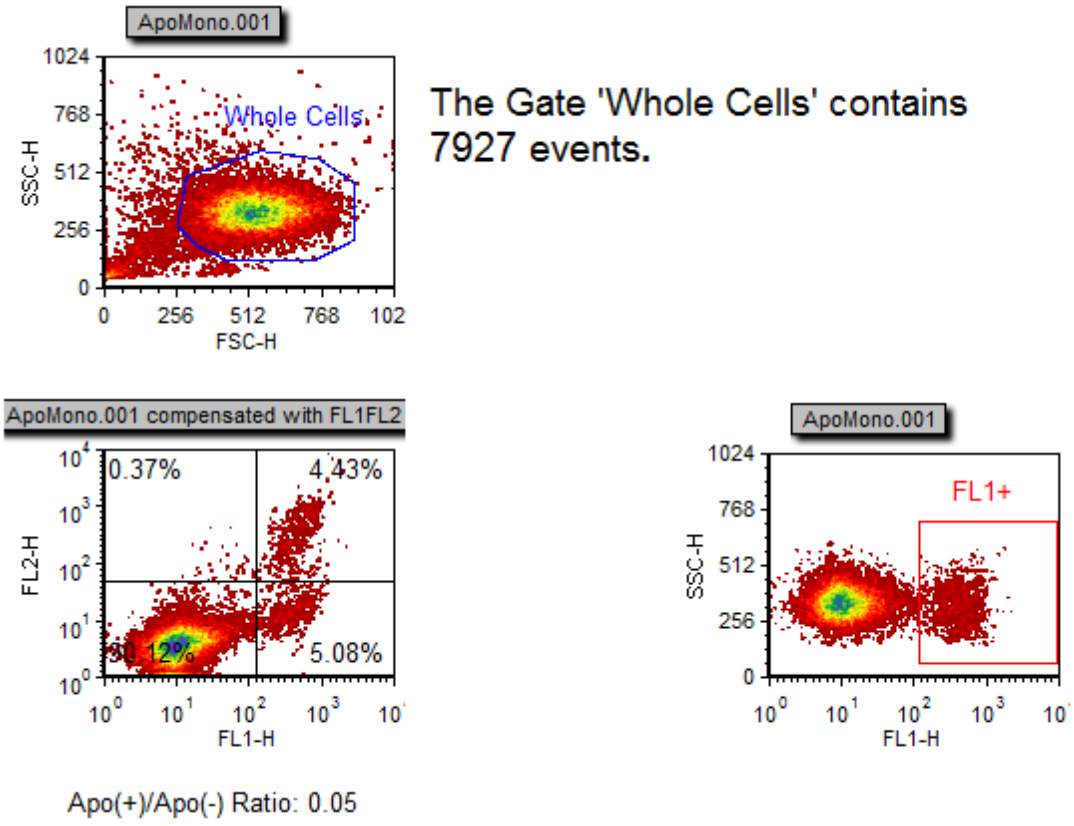
在本节中，我们会:

- 学习如何停靠一个窗口。
- 学习如何使用众多的停靠功能。
- 学习如何使用多个窗口的停靠功能。
- 学习如何解除窗口停靠。

要停靠一个窗口:

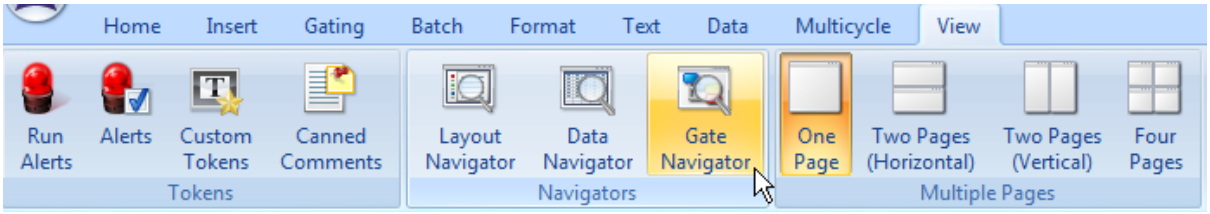
1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹里的**Docking.fey**版面。

这时会出现如图T11.1所示的版面。该版面看起来很像是在"标记"教程中用到的版面。



图T11.1 Docking Layout (**停靠版面**)

3. 请选择**View(查看)→Navigators(导航器)→Gate Navigator(门导航器)**命令(图T11.2)。



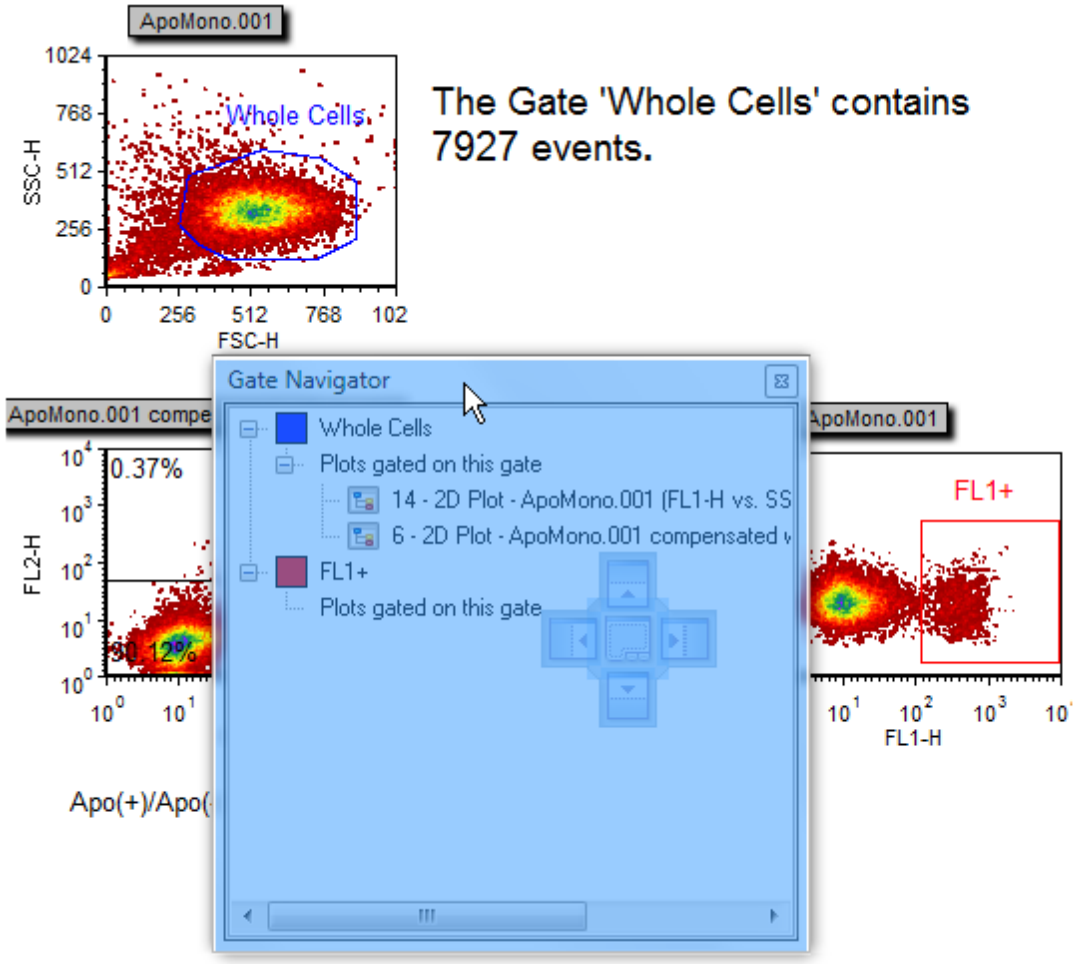
图T11.2 Selecting the Gate Navigator Command (**选择门导航器命令**)

这时在版面上会出现**Gate Navigator(门导航器)**。第一次打开可停靠窗口时，它们总是处于"浮动"状态。这表明它们可以被移动到任何位置，甚至被移动到版面外边。我们现在要把这个**Gate Navigator(门导航器)**窗口停靠到版面的左侧。

4. 请把鼠标放在**Gate Navigator(门导航器)**窗口的上边界处。

5. 按下鼠标左键不放。

请一直按着鼠标，移动**Gate Navigator(门导航器)**窗口。一旦开始移动**Gate Navigator(门导航器)**窗口，在版面的中心便会出现一个有四向箭头的图标，如图T11.3所示 ;这是停靠图标。停靠图标可以让用户为**Gate Navigator(门导航器)**窗口(或者任何其它的导航器窗口)选择停靠的位置。拖动窗口过程中，当光标移动到停靠图标上的四个箭头中的任何一个之上时，会出现一个蓝色的矩形区域，表明窗口将被停靠在窗口中的位置。但用户不可以把窗口直接停靠到版面页中，只能把它停靠在版面页的边上。



图T11.3 Docking Icon in the Center of the Layout (**在版面中心的停靠图标**)

请继续按住鼠标不放，把**Gate Navigator(门导航器)**向中心的停靠图标移动。

6. 请把**Gate Navigator(门导航器)**向停靠图标上向右的箭头移动。

7. 请继续按住鼠标键，把光标移动到向右的箭头上，如图T11.4A中的红圈所示。

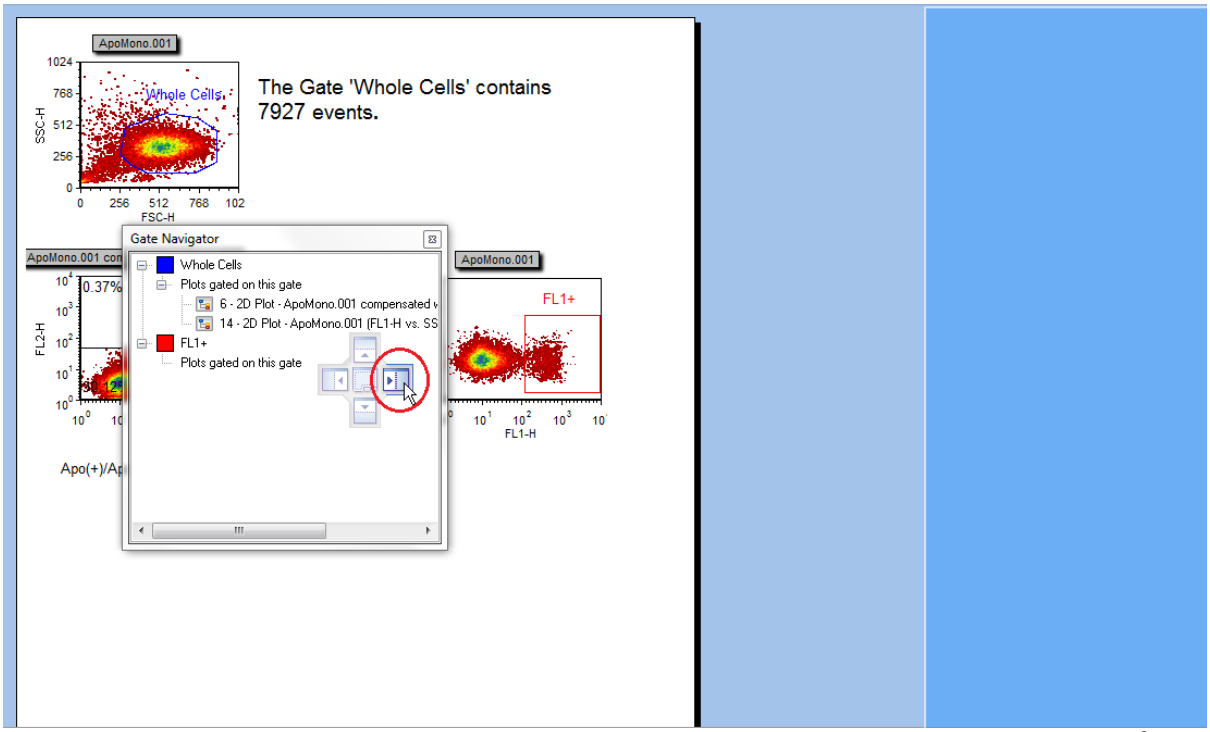
当光标在停靠图标的向右的箭头上时，在版面的右侧会出现一个蓝色的矩形窗口，指明导航器窗口将要停靠的位置，如图T11.4A所示。

8. 请继续按住鼠标键，重复第7和第8步，但把光标放在向下的停靠箭头上，如图T11.4B中的红圈所示。

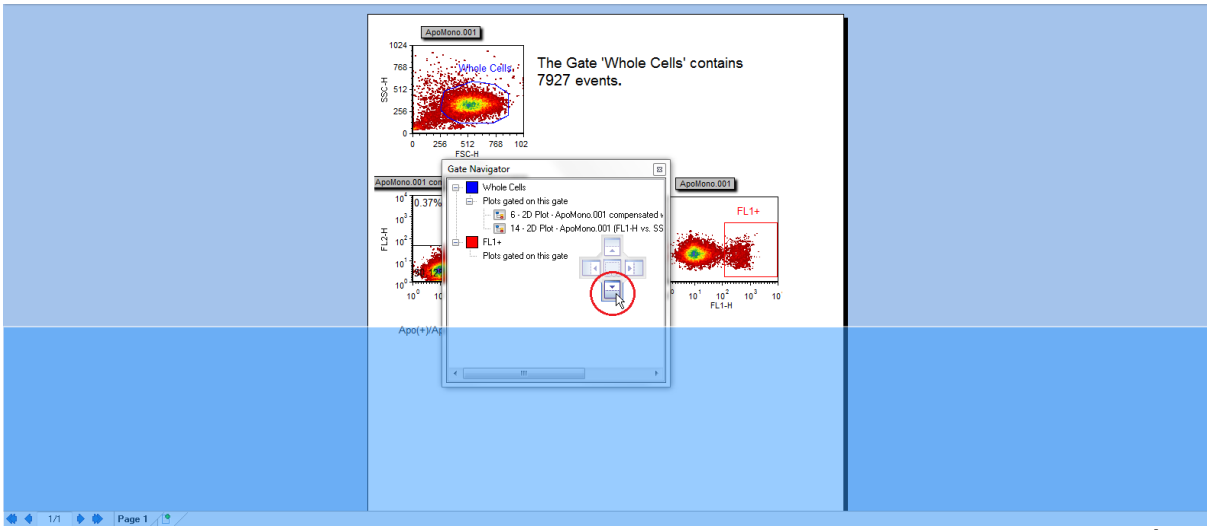
这时会再次有一个蓝色的矩形出现在屏幕底部、版面的下方，表明导航器窗口将来要停靠的地方(图T11.4B)。

9. 请继续按住鼠标键，但把光标放在左边的停靠箭头上，如图T11.4C中的红圈所示。

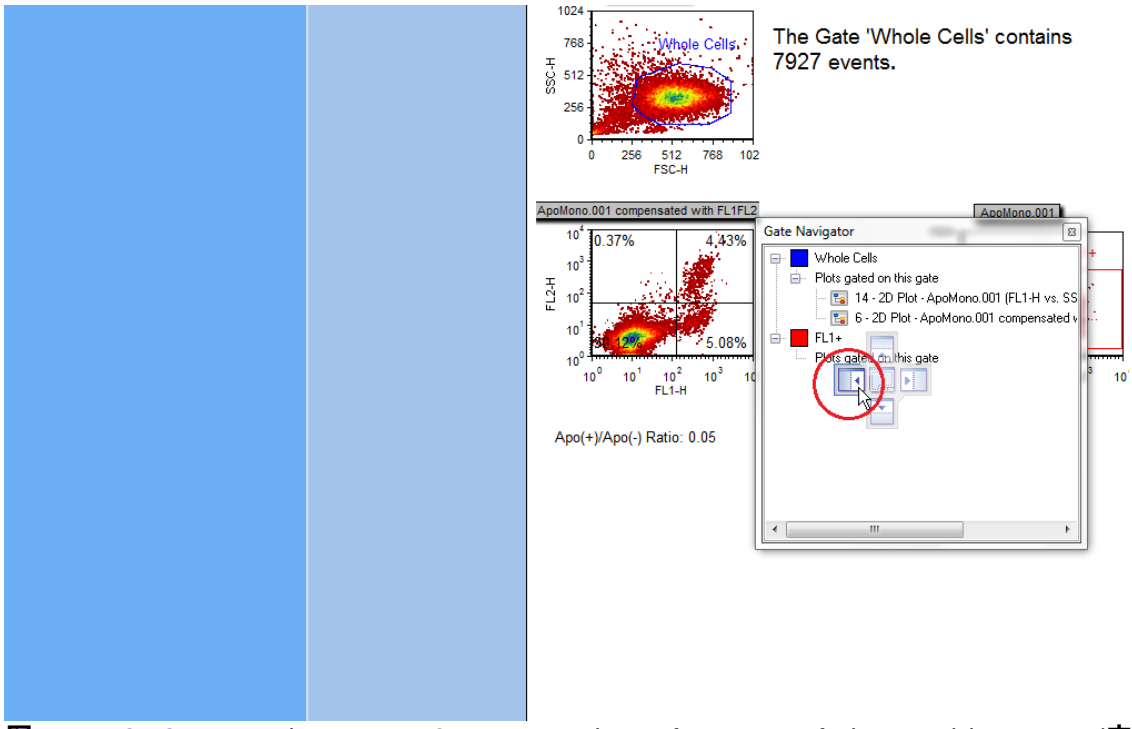
10. 当鼠标在停靠图标上向左的箭头上时，请松开鼠标键，如图T11.4C中的红圈所示。一个蓝色的矩形会再次出现在版面的左侧，这是版面窗口将要停靠的地方(图T11.4C)。



图T11.4A Gate Navigator -- Cursor on the Right Arrow of the Docking Icon (**门导航器 -- 光标在停靠图标右侧的箭头上**)

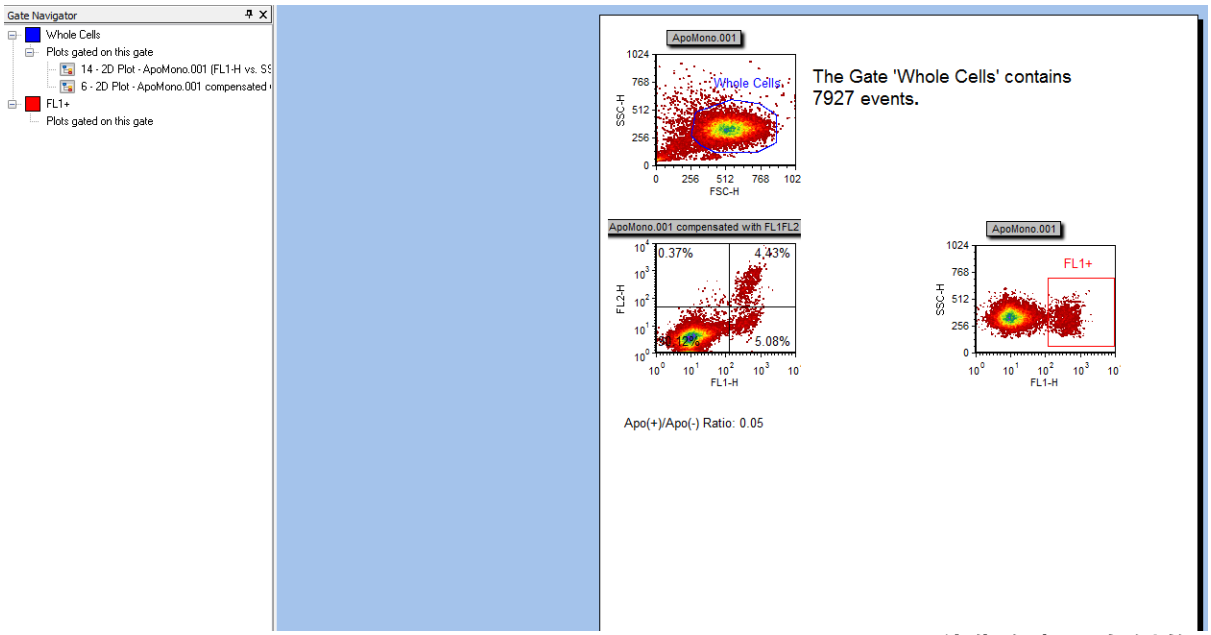


图T11.4B Gate Navigator -- Cursor on the Bottom Arrow of the Docking Icon (**门导航器 -- 光标在停靠图标的向下的箭头上**)



图T11.4C Gate Navigator -- Cursor on the Left Arrow of the Docking Icon (**门导航器 -- 光标在停靠图标上向左的箭头上**)

Gate Navigator(门导航器)现在被停靠在版面的左侧，如图T11.5所示。



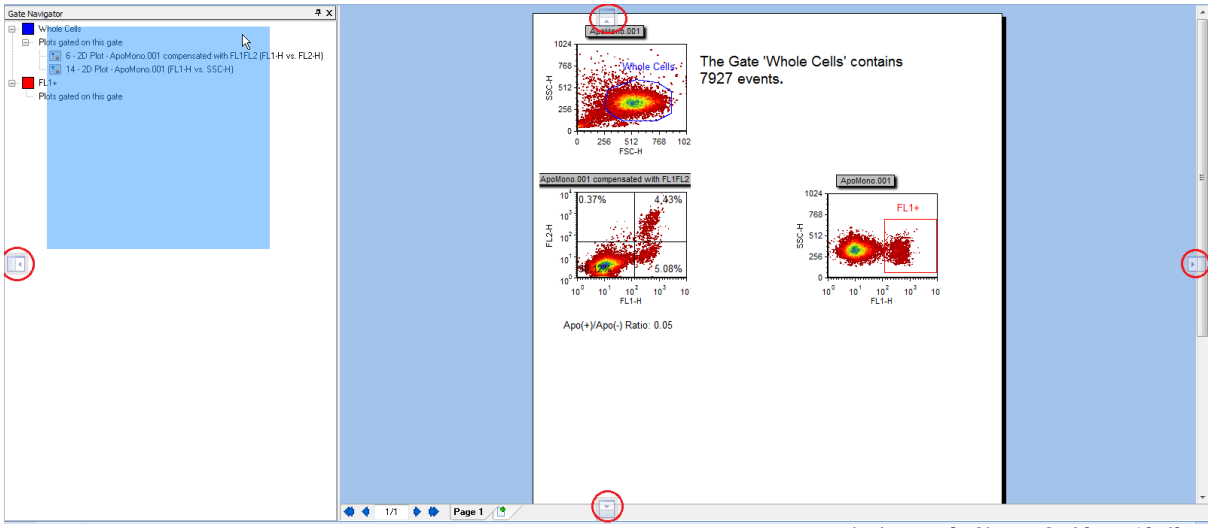
图T11.5 Gate Navigator Docked on the Left Side of the Layout (**停靠在版面左侧的门导航器**)

36.11.1 *停靠窗口的功能*

窗口停靠后，可以对它改变大小、取消停靠以及把它重新停靠在一个新的位置；用户还可以将其自动隐藏。请注意保存一个版面后，相应的停靠设置也被保存；当该版面被再次导入时，停靠设置也会跟着导入。我们现在就来看一下停靠窗口的各种功能。

1. 请把光标放在停靠的**Gate Navigator(门导航器)**的顶端边界处。
2. 请按下鼠标左键，在把**Gate Navigator(门导航器)**拖动到版面上的一个新的位置过程中，请不要松开鼠标。

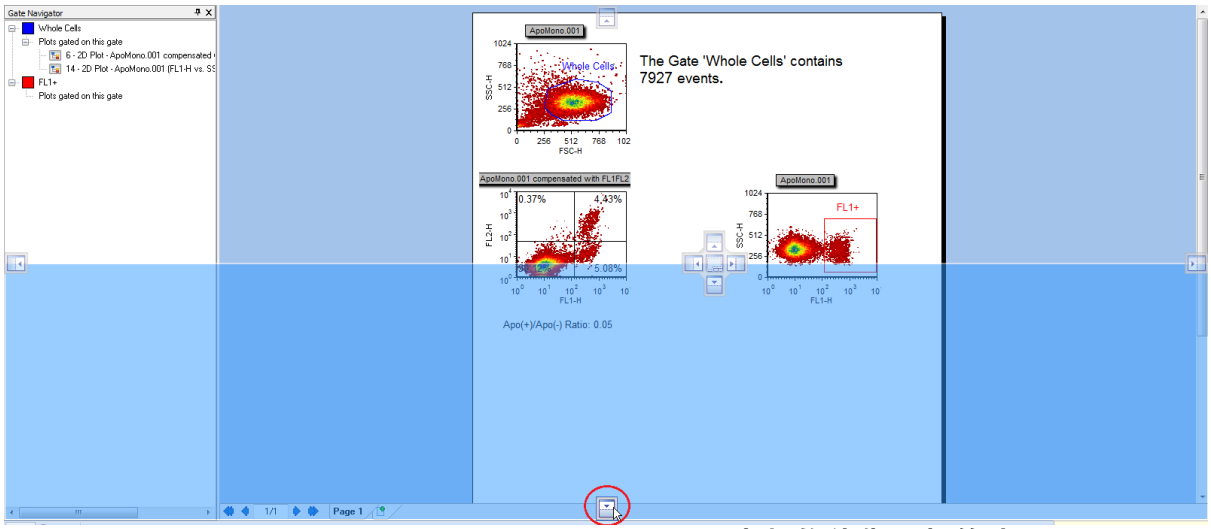
在版面中移动**Gate Navigator(门导航器)**时，版面的四个外侧方向会分别出现一个停靠箭头图标，如图T11.6中的四个红圈所示。如果继续把**Gate Navigator(门导航器)**向着面板的中心移动，中心停靠图标也会再次出现，如前图T11.3 748所示。



图T11.6 Four Outer Docking Icon Arrows Circled in Red (**在红圈中的四个外围停靠图标箭头**)

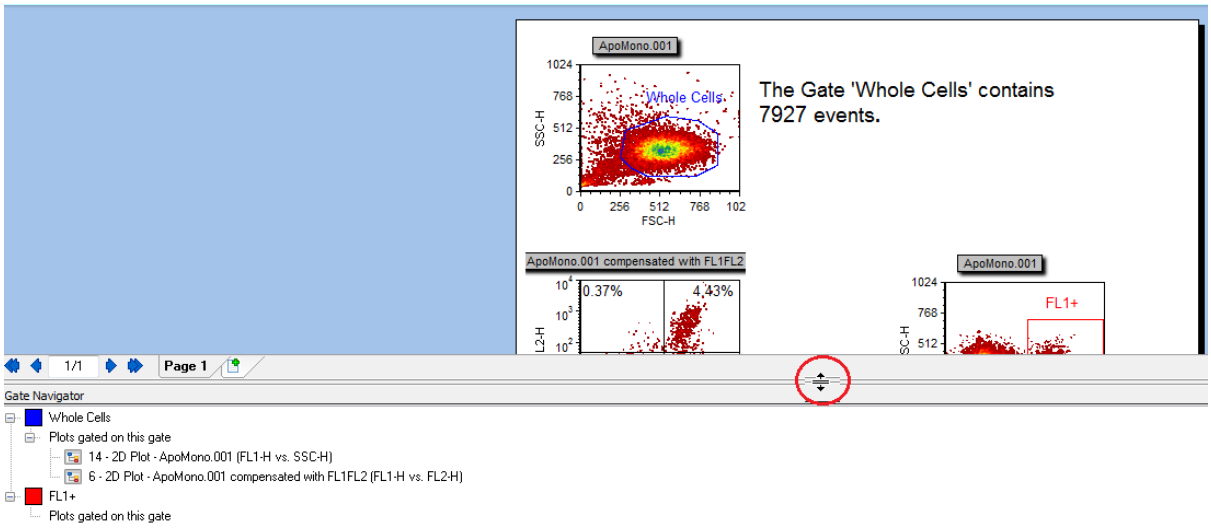
3. 请继续按住鼠标键，把**Gate Navigator(门导航器)**向着底部的停靠箭头移动。
4. 当光标在底端的停靠箭头上时，请松开鼠标，如图T11.7中的红圈所示。

注意到一个蓝色的矩形会再次出现在版面的底部，表明导航器窗口将要停靠的地方。



图T11.7 Bottom Docking Icon Arrow (**底部的停靠图标箭头**)

现在**Gate Navigator(门导航器)**被停靠在版面的底部，如图T11.8所示。但现在停靠的导航器太大，遮住了版面中的部分绘图。我们现在将把停靠窗口的尺寸调整到一个合适的大小。

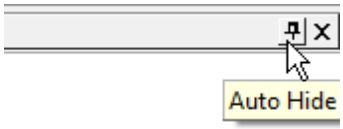


图T11.8 Gate Navigator Docked at the Bottom of the Layout (**停靠在版面底部的门导航器**)

5. 请把光标放在停靠的**Gate Navigator(门导航器)**的上边界处。
6. 慢慢移动光标，直到它变成了一个调整大小的图标(两条水平线，每条线有一个向外的箭头)，如图T11.8中的红圈所示。
7. 请按下鼠标键，在把**Gate Navigator(门导航器)**边框向下拖动过程中请不要松开鼠标。
8. 当停靠的**Gate Navigator(门导航器)**不再覆盖版面上的绘图时，请松开鼠标键。

除了修改停靠的导航器的大小外，我们也可以使用**Auto Hide(自动隐藏)**功能。**Auto Hide(自动隐藏)**功能让窗口保持在停靠、但却是隐藏的状态，并只显示一个带有停靠窗口的名称的标签。光标放在标签上时，停靠窗口会再次出现；只要光标停留在停靠窗口上，窗口就会一直可见。光标移到停靠窗口之外时，窗口便又会隐藏。

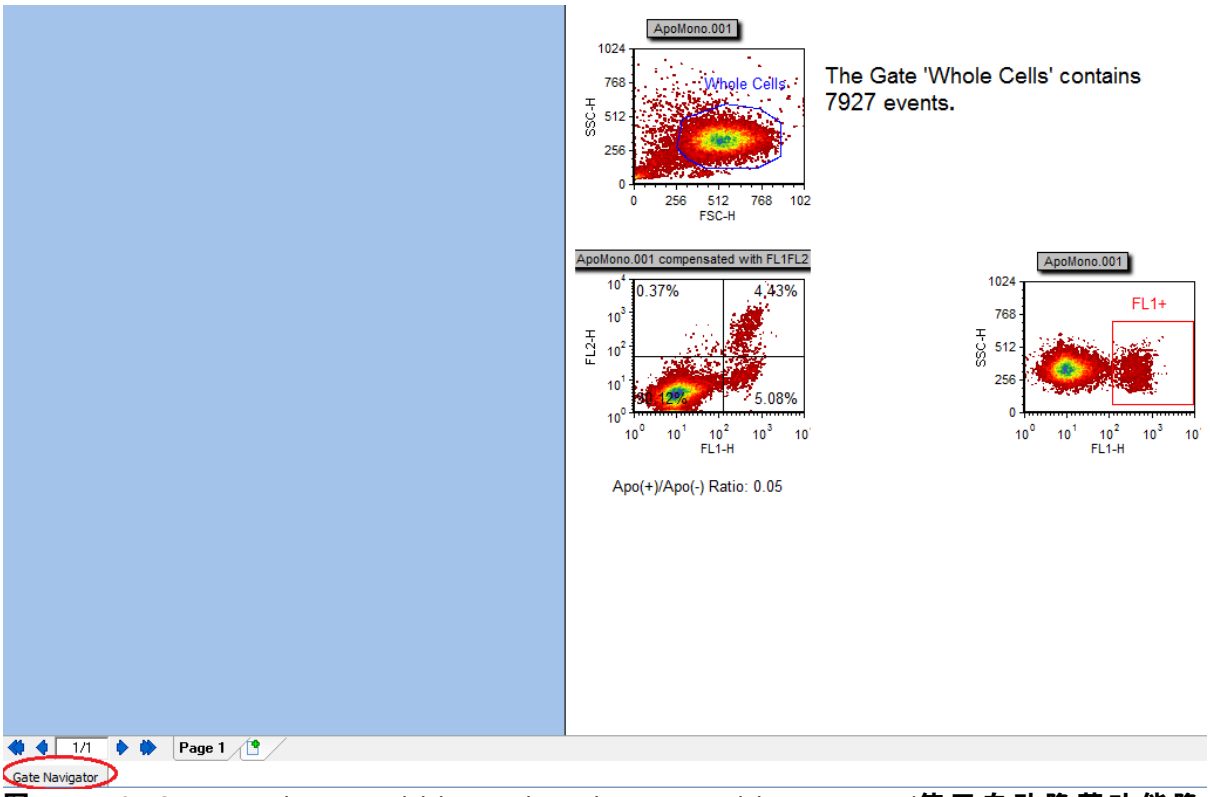
9. 请从停靠的**Gate Navigator(门导航器)**右上角点击**Auto Hide(自动隐藏)**图标，如图T11.9中的光标所示。



图T11.9 Auto Hide Icon (**自动隐藏图标**)

10. 请把光标从停靠的**Gate Navigator(门导航器)**上移开。

停靠的**Gate Navigator(门导航器)**现在隐藏到版面后边，可见的只有版面底部的一个标签，如图T11.10中的红圈所示。



图T11.10 Gate Navigator Hidden using the Auto Hide Feature (**使用自动隐藏功能隐藏了的门导航器**)

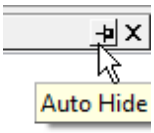
11. 请把光标移动到**Gate Navigator(门导航器)**标签上，如图T11.10中的红圈所示。

这时停靠的**Gate Navigator(门导航器)**会再次出现。我们现在将移除**Auto Hide(自动隐**

藏)功能，使**Gate Navigator(门导航器)**一直处于可见状态。

12. 请点击停靠的**Gate Navigator(门导航器)**右上角的**Auto Hide(自动隐藏)**图标(如图T11.11中的光标所示)，来删除窗口中的**Auto Hide(自动隐藏)**功能。

注意到**Auto Hide(自动隐藏)**图标已经从它以前的样子(图T11.9)变成了图T11.11中的样子。图T11.11中的**Auto Hide(自动隐藏)**的样子表明**Auto Hide(自动隐藏)**功能处于开启状态。但点击**Auto Hide(自动隐藏)**图标后，它将回到最初的样子，如图T11.9所示，表明**Auto Hide(自动隐藏)**功能被关闭。**Gate Navigator(门导航器)**窗口现在处于可见状态，停靠在版面底部。



图T11.11 Removing Auto Hide (**取消自动隐藏功能**)

36.11.2 *停靠功能(多个窗口)*

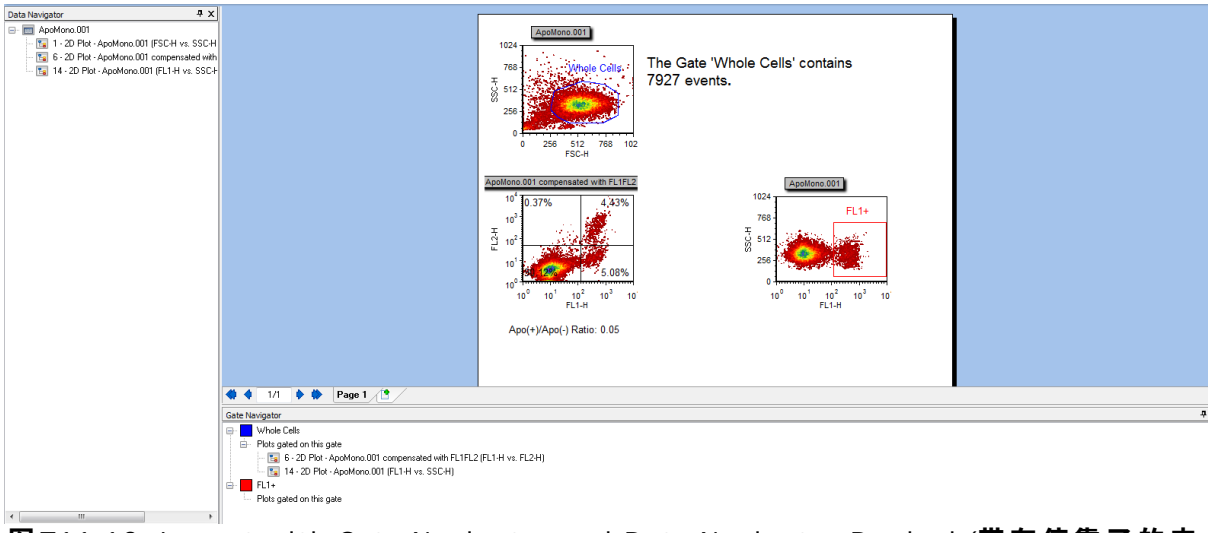
我们现在将打开并停靠更多的导航器以及自定义标记窗口，来演示停靠多个窗口的功能。请参考本章开始的内容来了解停靠的细节。

1. 请选择**View(视图)→Navigators(导航器)→Data Navigator(数据导航器)**命令。

这时在版面中将出现**Data Navigator(数据导航器)**。

2. 请把**Data Navigator(数据导航器)**窗口停靠在版面的左边。

这个版面现在有两个停靠窗口，在底部的**Gate Navigator(门导航器)**以及在左边的**Data Navigator(数据导航器)**，如图T11.12所示。



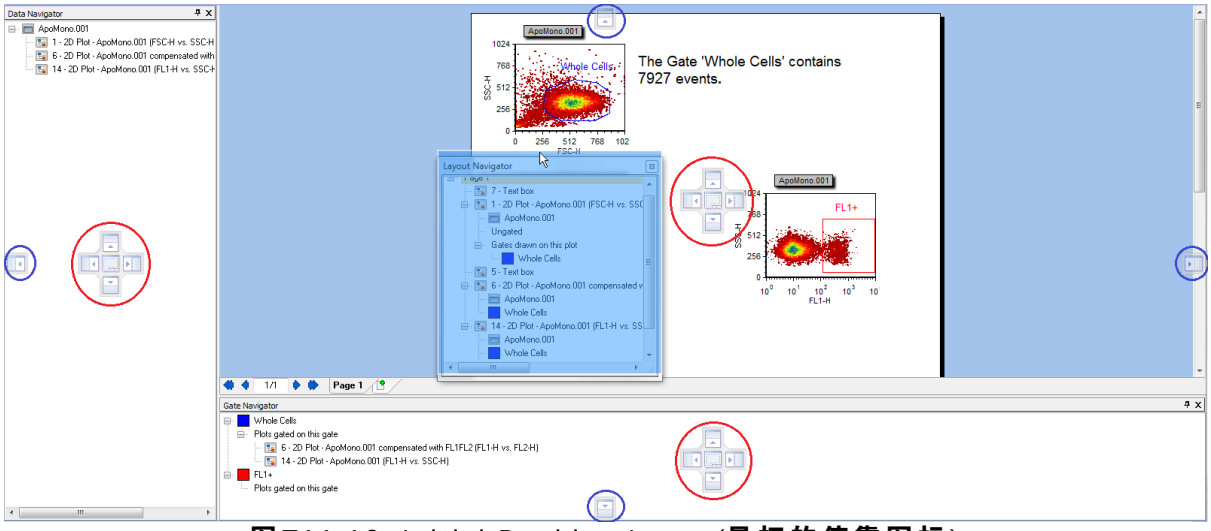
图T11.12 Layout with Gate Navigator and Data Navigator Docked (**带有停靠了的门导航器和数据导航器版面**)

3. 请选择**View(视图)→Navigators(导航器)→Layout Navigator(版面导航器)**命令。

这时**Layout Navigator(版面导航器)**也出现在版面中。我们现在将把**Layout Navigator(版面导航器)**停靠在版面的左侧。

4. 请把**Layout Navigator(版面导航器)**拖向版面左侧。

开始拖动**Layout Navigator(版面导航器)**时，四向箭头停靠图标和单向箭头停靠图标会出现在所有可以停靠的位置上(图T11.13)。四向的箭头图标见图T11.13中的红圈，单向箭头见蓝圈。一旦用户开始移动**Layout Navigator(版面导航器)**，这些停靠图标将会淡出，可以看到的停靠图标只剩下那些指示当前停靠位置的图标。四向箭头停靠图标将仅仅出现在某一个停靠区域内，表明该区域内可用的停靠位置。图T11.13中的蓝圈中的单向停靠箭头，总是出现在版面页的左侧、底部、右侧和顶部，表明这些停靠位置总是可用。

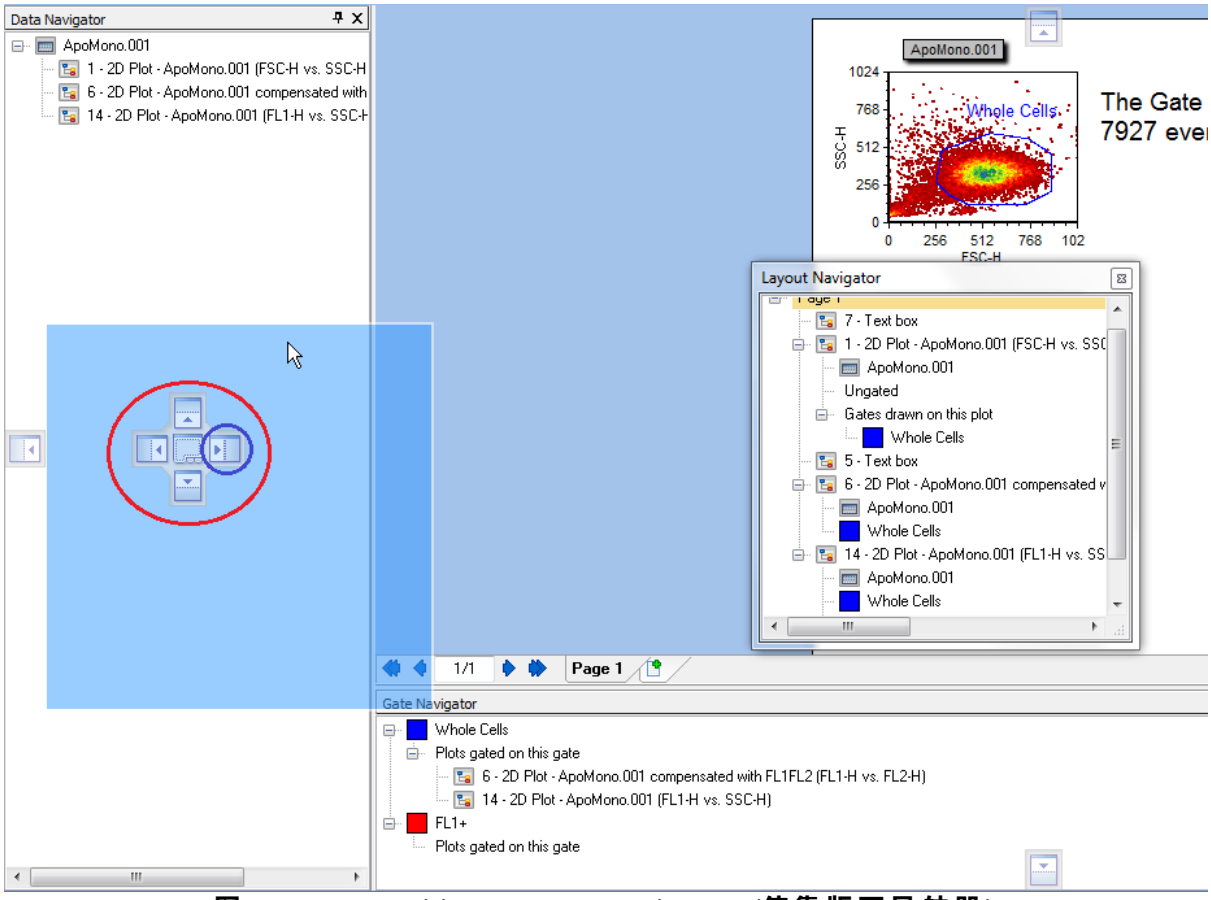


图T11.13 Initial Docking Icons (**最初的停靠图标**)

在把**Layout Navigator(版面导航器)**向版面的左侧移动过程中，四向箭头停靠图标将出现在左侧的停靠区域，如图T11.14中的红圈所示。四向箭头停靠图标指明了**Layout Navigator(版面导航器)**可用的停靠位置。最左边的单向停靠箭头表明，新窗口可以被停靠在最左边，即在当前停靠了的**Data Navigator(数据导航器)**的左侧。

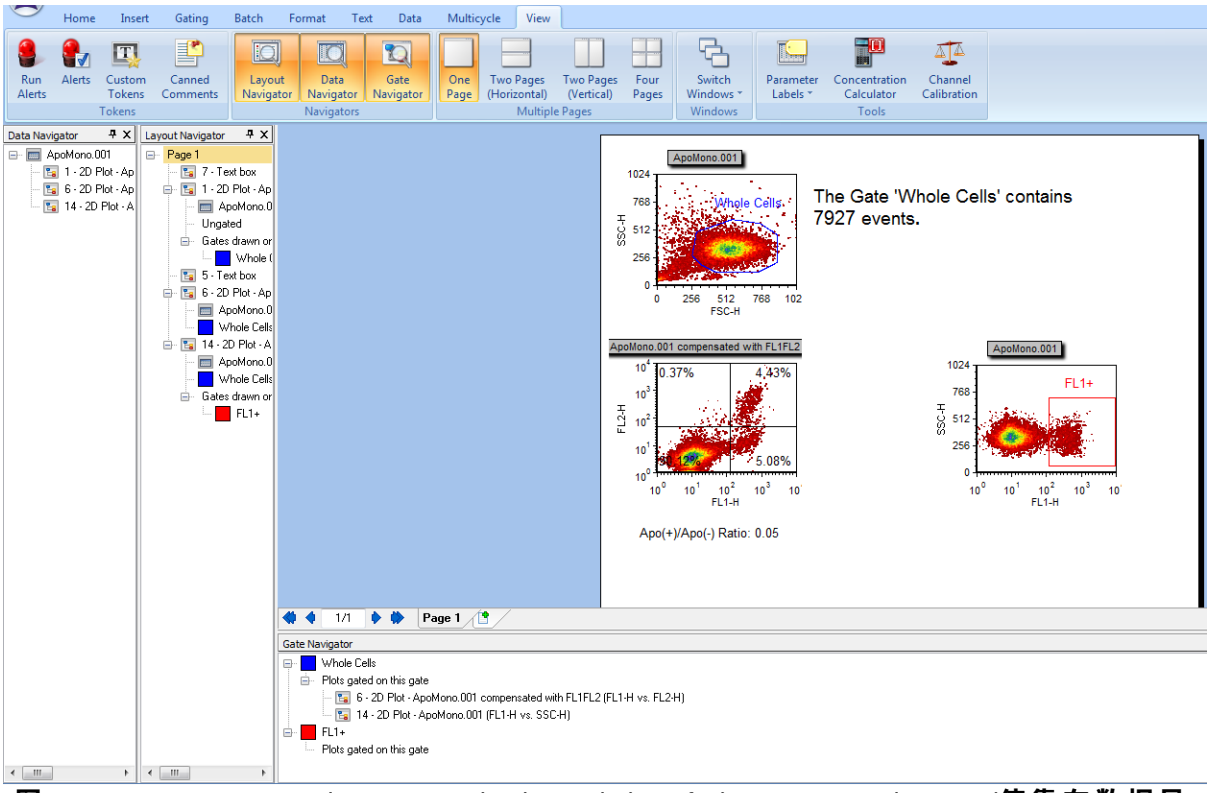
5. 请按下鼠标左键不放，把**Layout Navigator(版面导航器)**窗口拖向版面左侧的四向箭头停靠图标(图T11.14中的红圈)。

6. 当**Layout Navigator(版面导航器)**在指向右的箭头上时(图T11.14中的蓝圈)，请松开鼠标。



图T11.14 Docking Layout Navigator (**停靠版面导航器**)

Layout Navigator(版面导航器)现在已被停靠在版面的左侧、**Data Navigator(数据导航器)**的右边，如图T11.15所示。请注意版面导航器停靠在了**Data Navigator(数据导航器)**的内部，即两个停靠了的窗口共用以前**Data Navigator(数据导航器)**所占用的空间。



图T11.15 Layout Navigator Docked to Right of the Data Navigator (**停靠在数据导航器右侧的版面导航器**)

请注意停靠在版面中的所有窗口都被高亮显示在Ribbon条中(图T11.15)。我们现在将在版面上停靠**Custom Tokens(自定义标记)**窗口。但是这次我们将把它停靠在**Layout Navigator(版面导航器)**的上方。

7. 请选择**View(视图)→Tokens(标记)→Custom Tokens(自定义标记)**命令。

这时**Custom Tokens(自定义标记)**窗口会出现在版面中。

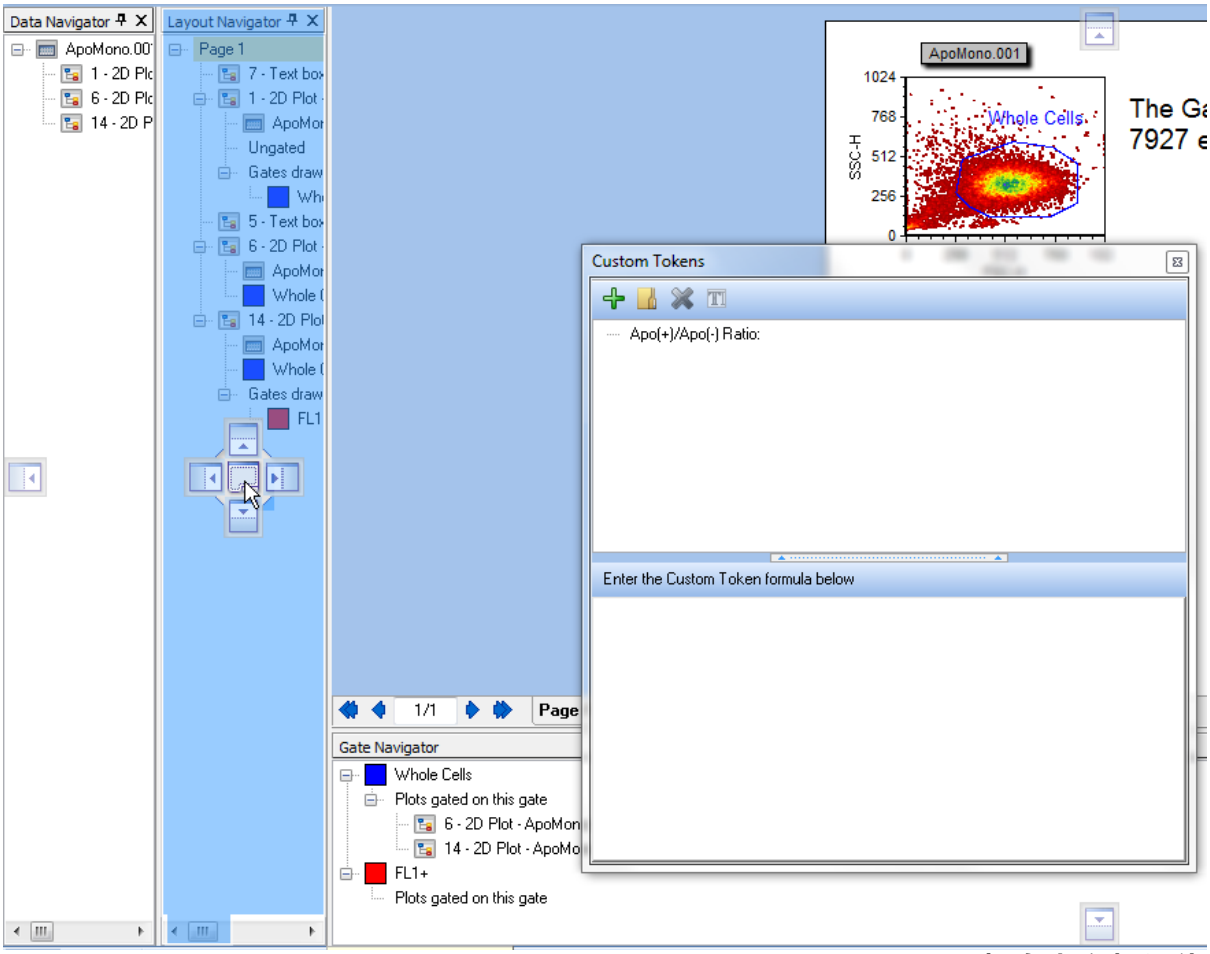
8. 请把**Custom Tokens(自定义标记)**窗口向版面的左侧拖动。

9. 请按下鼠标左键不放，把**Custom Tokens(自定义标记)**窗口向已停靠的**Layout Navigator(版面导航器)**中部拖动。

当**Custom Tokens(自定义标记)**窗口在**Layout Navigator(版面导航器)**上方时，四向的箭头停靠图标将会出现(图T11.16)。

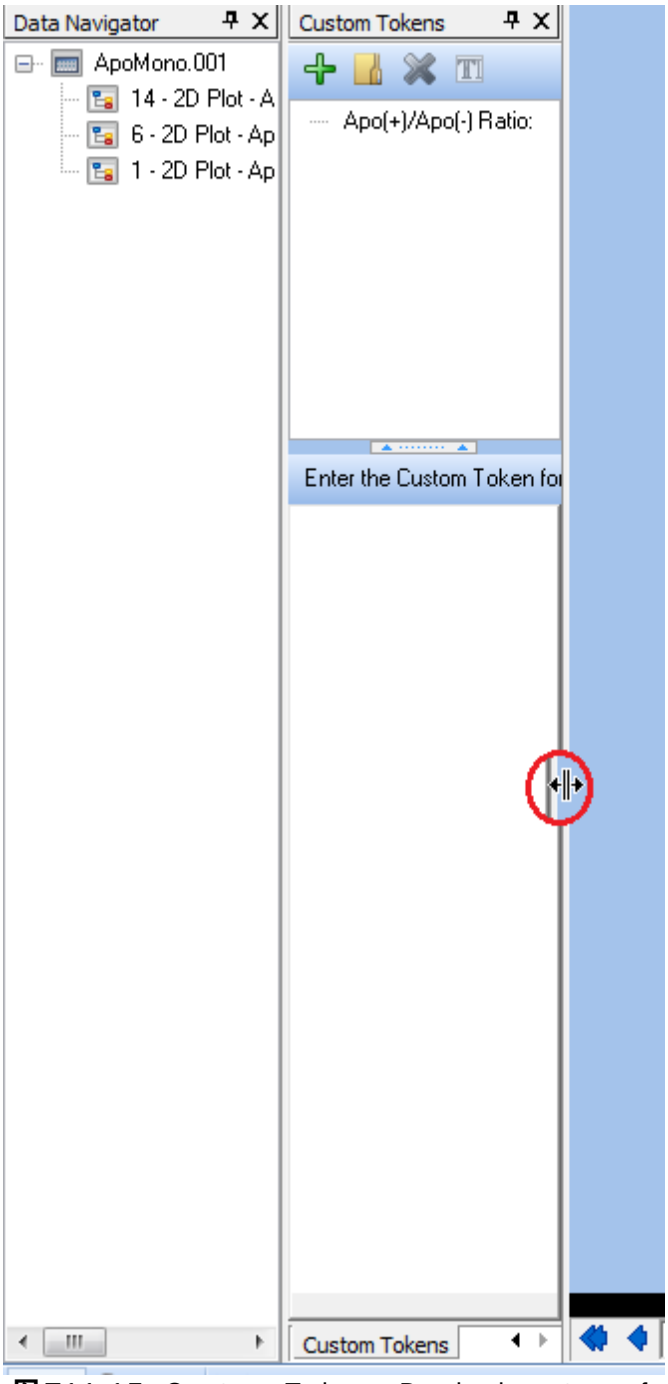
10. 当光标在**Layout Navigator(版面导航器)**中的停靠图标的中心区域时(如图T11.16中的光标位置所示)，请松开鼠标。

光标移动到正确的位置上时，会有一个蓝色的矩形指示出对应的停靠位置。



图T11.16 Docking Custom Tokens on top of the Layout Navigator (**把自定义标记停靠在版面导航器的上方**)

Custom Tokens(自定义标记)窗口现在停靠在了版面的左侧、**Layout Navigator(版面导航器)**的上方，如图T11.17所示。请注意在停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**的底部有一个名为**Custom Tokens(自定义标记)**的标签。但我们想看到两个已停靠的窗口对应的标签，所以我们将调整停靠窗口的大小，把它们变得大一些。



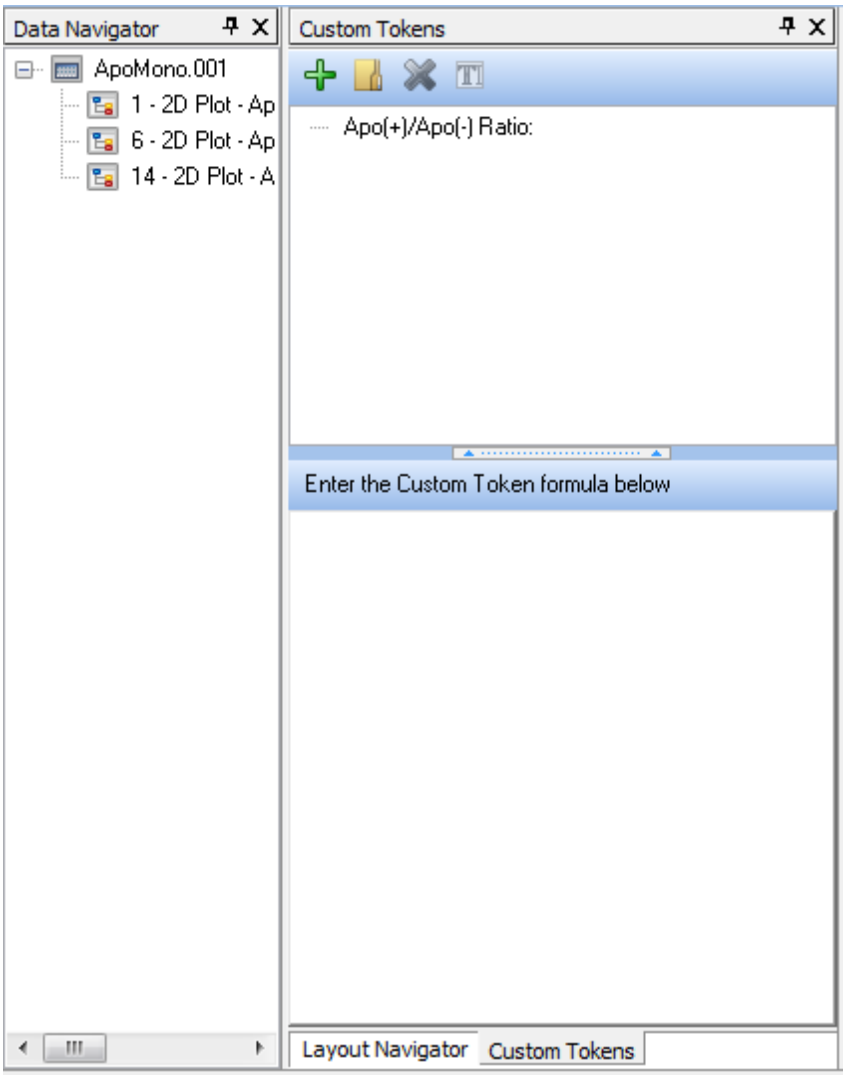
图T11.17 Custom Tokens Docked on top of the Layout Navigator (**自定义标记停靠在版面导航器的上方**)

11. 请把鼠标放在停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**的右边框上。

12. 请慢慢地把鼠标移动到边框上，直到出现调整大小图标，如图T11.17中的红圈所示。

13. 请按下鼠标不放，把边框向右拖。

14. 当可停靠窗口大到可以在底部显示**Custom Tokens(自定义标记)**和**Layout Navigator(版面导航器)**两个标签时，请松开鼠标键(图T11.18)。



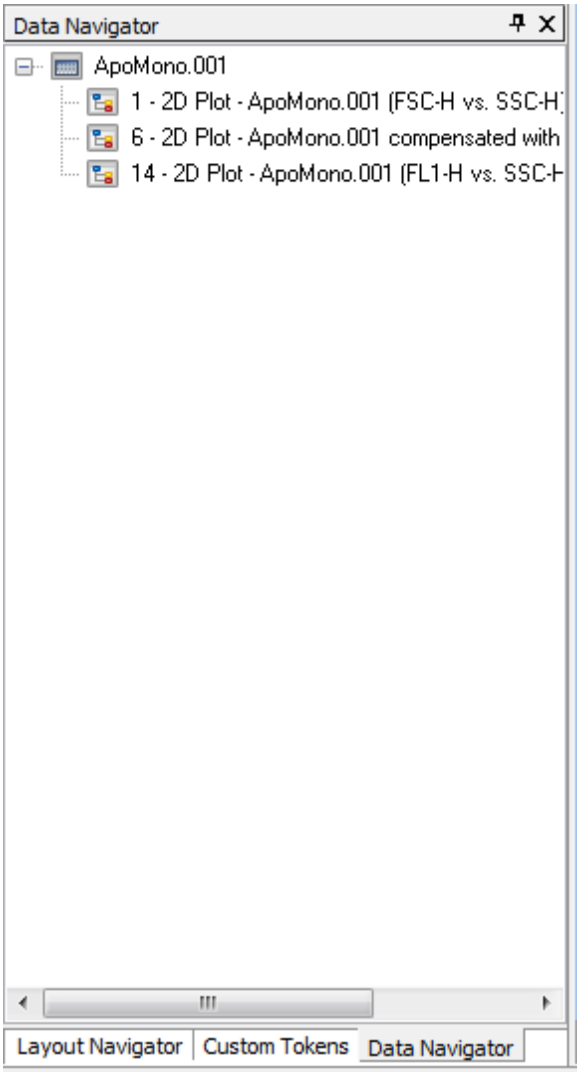
图T11.18 Custom Tokens and Layout Navigator Tabs (**自定义标记和版面导航器标签卡**)

我们现在将介绍当多个窗口停靠在同一位置时使用**Auto Hide(自动隐藏)**的好处。

15. 请选择已停靠的**Data Navigator(数据导航器)**。

16. 请拖动**Data Navigator(数据导航器)**，把它停靠在**Custom Tokens(自定义标记)**的上方。

Data Navigator(数据导航器)现在停靠在了**Custom Tokens(自定义标记)**和**Layout Navigator(版面导航器)**的上方，如图T11.19所示。如果看不到所有的三个标签，请调整停靠窗口的大小，把它们变宽。



图T11.19 Data Navigator Docked on top of Custom Tokens and Layout Navigator (**数据导航器停靠在自定义标记窗口和版面导航器窗口的上方**)

17. 请在**Data Navigators(数据导航器)**的右上角点击**Auto Hide(自动隐藏)**图标，如前图T11.9 754所示。

18. 请把光标从停靠了的**Data Navigator(数据导航器)**移开。

Auto Hide(自动隐藏)功能现在应用于所有的三个停靠了的窗口，只有停靠窗口的标签可

见，如图T11.20所示。要查看一个停靠了的窗口，请把光标移到相应的窗口标签之上即可。

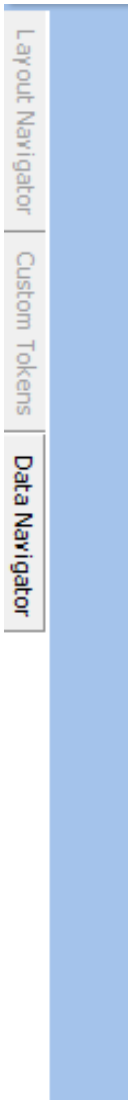


图 T11.20 Docked Windows using Auto Hide Feature (**停靠了的窗口使用自动隐藏功能**)

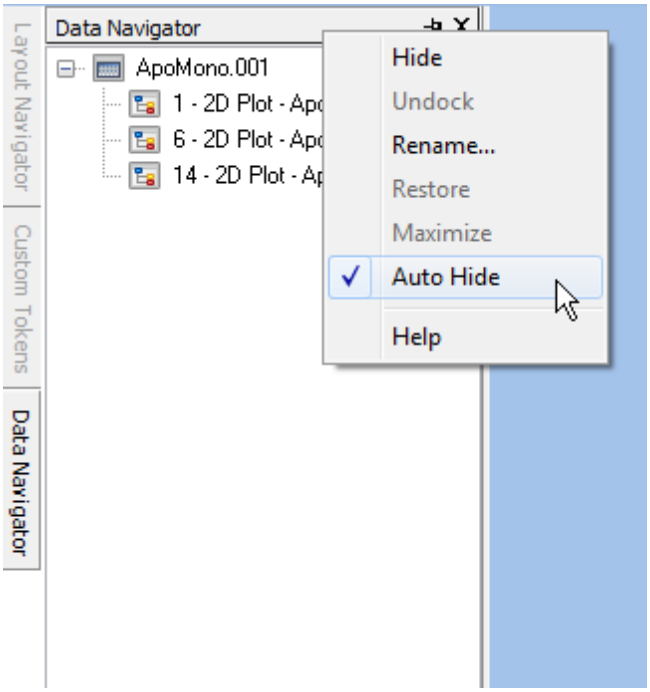
36.11.3 *取消窗口停靠*

要取消对一个窗口的停靠:

1. 请把光标放在停靠在版面底部的**Gate Navigator(门导航器)**的顶端边界上。
2. 请按下鼠标左键，把**Gate Navigator(门导航器)**从它现在的位置向上移动。
3. 当**Gate Navigator(门导航器)**移到想要的位置后，请松开鼠标键。请确保光标不在任何的停靠图标上。

要取消对使用**Auto Hide(自动隐藏)**功能的窗口的停靠，我们首先需要关闭**Auto Hide(自动隐藏)**功能 ;要这样做，有两种方法。

4. 请把光标移动到**Data Navigator(数据导航器)**标签的上方，使得**Data Navigator(数据导航器)**处于可见状态。
5. 请点击已停靠的**Data Navigator(数据导航器)**右上角的**Auto Hide(自动隐藏)**图标(如前图T11.11 754所示)来改变**Auto Hide(自动隐藏)**功能。或者，
   - 请把光标放在停靠的**Data Navigator(数据导航器)**的顶端边界上。
   - 请右键点击，调出相关的弹出菜单。
   - 请从弹出菜单中取消对**Auto Hide(自动隐藏)**的选择，如图T11.21中的光标所示。



图T11.21 Removing Auto Hide using the Pop-up Menu (**使用弹出菜单移除自动隐藏功能**)

现在这三个停靠窗口的**Auto Hide(自动取消)**功能就都被关闭了，我们可以取消对它们的停靠了。

6. 请右键点击停靠了的**Data Navigator(数据导航器)**的顶端边框，带出相关的弹出菜单。

7. 请从弹出菜单上选择**Undock(取消停靠)**。

或者，像前面演示的那样，可以通过把停靠的窗口拖回版面中，来取消对它们的停靠。

36.12 数据导航器

Data Navigator(数据导航器)对版面中所有的数据文件做一个总体概观。它以层次的结构显示所有的数据以及使用这些数据的绘图。**Data Navigator(数据导航器)**让用户可以操纵版面上的数据和绘图。例如，仅仅通过拖放**Data Navigator(数据导航器)**中的数据图标，用户便可以替换绘图上的数据或把数据叠放到绘图上。

在本节中，我们会:

- 打开并停靠**Data Navigator(数据导航器)**。
- 学习**Data Navigator(数据导航器)**的功能以及如何使用这些功能。具体地说，我们将使用**Data Navigator(数据导航器)**来:

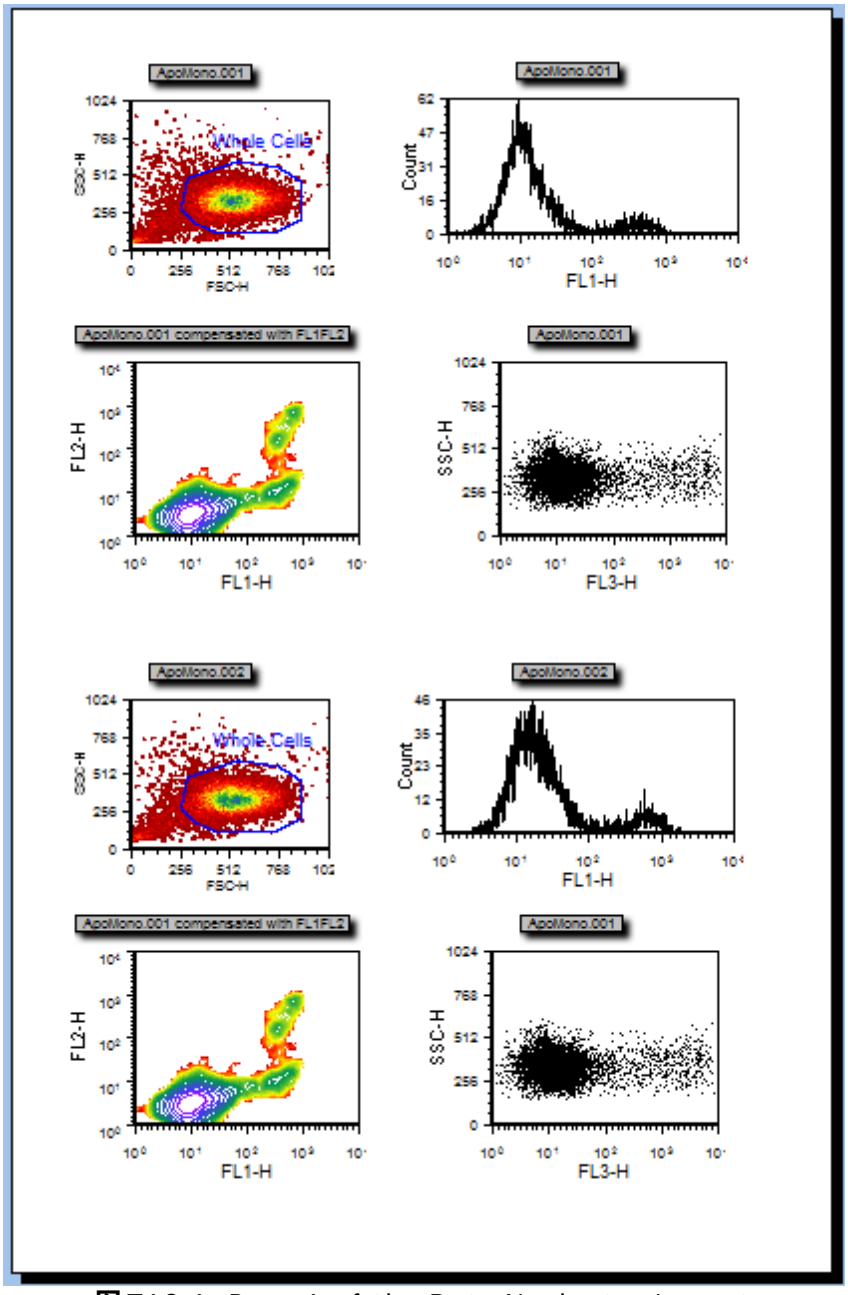
- 学习如何使用和一个数据文件相关联的绘图的缩略图。
- 如何在绘图上插入新的数据。
- 如何在柱状图上添加一个叠加图层。
- 如何在版面中插入新的绘图。

36.12.1 *打开以及停靠*

首先，我们将打开一个以前保存的版面，版面中的两个页面上有一些绘图和门。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库510中的**DataNavigator.fey**版面。

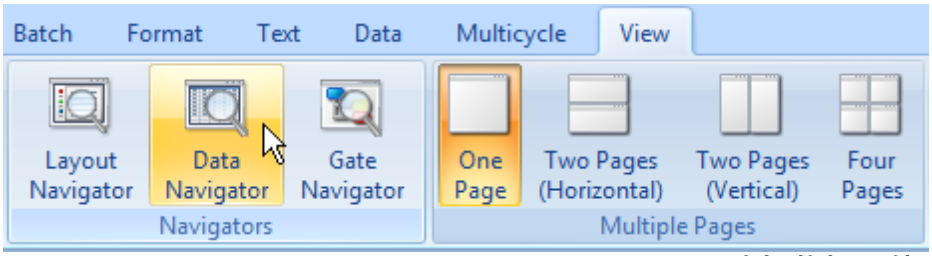
这时将出现版面上的第一个页面，如图T12.1所示。



图T12.1 Page 1 of the Data Navigator Layout (DataNavigator.fey) (**数据导航器版面**(DataNavigator.fey)**的第**1**页**)**

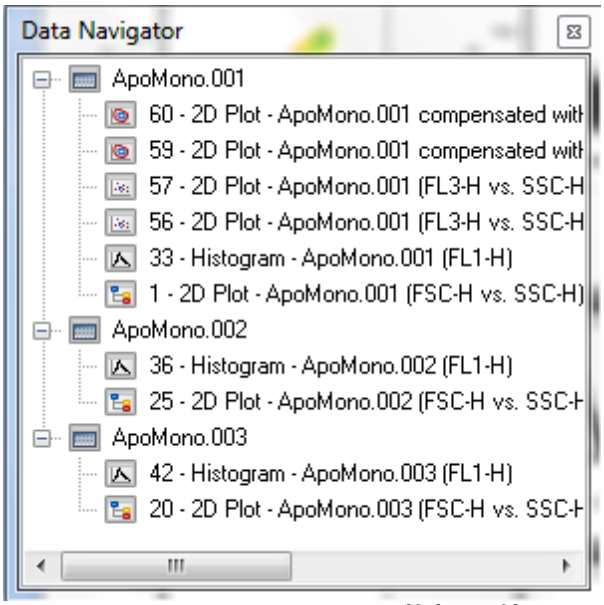
我们现在要打开**Data Navigator(数据导航器)**。

3. 请选择**View(视图)→Navigators(导航器)→Data Navigator(数据导航器)**命令(图T12.2)。



图T12.2 Selecting the Data Navigator Command (**选择数据导航器命令**)

这时会出现**Data Navigator(数据导航器)**，如图T12.3所示。我们现在将把它停靠在版面的左侧。要更好地学习如何停靠，请参见停靠教程748。

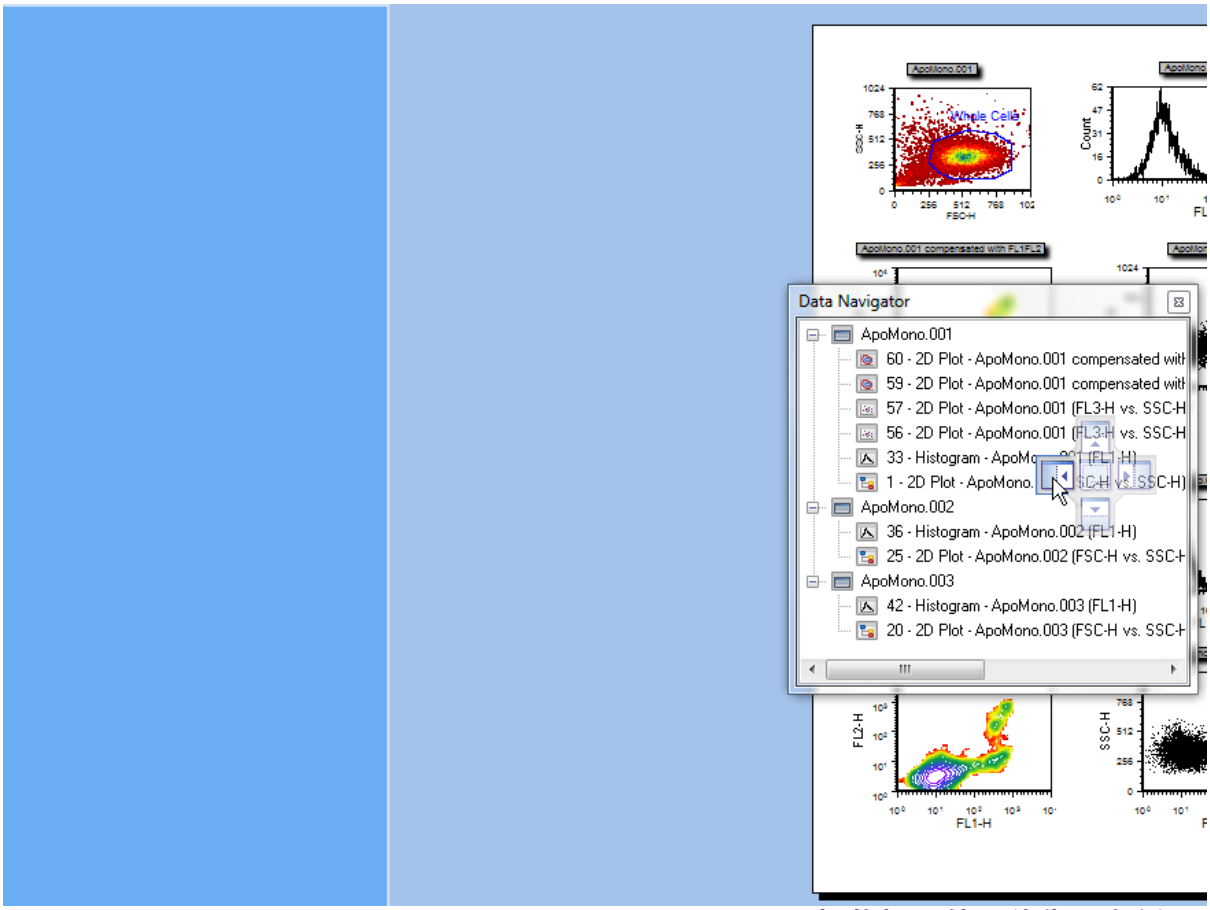


图T12.3 Data Navigator (**数据导航器**)

4. 请把光标放在**Data Navigator(数据导航器)**窗口的顶端边框上。
5. 请按下鼠标不放，移动**Data Navigator(数据导航器)**窗口。

一旦开始移动**Data Navigator(数据导航器)**窗口，在版面的中心便会出现一个四向停靠图标，如图T12.4所示。

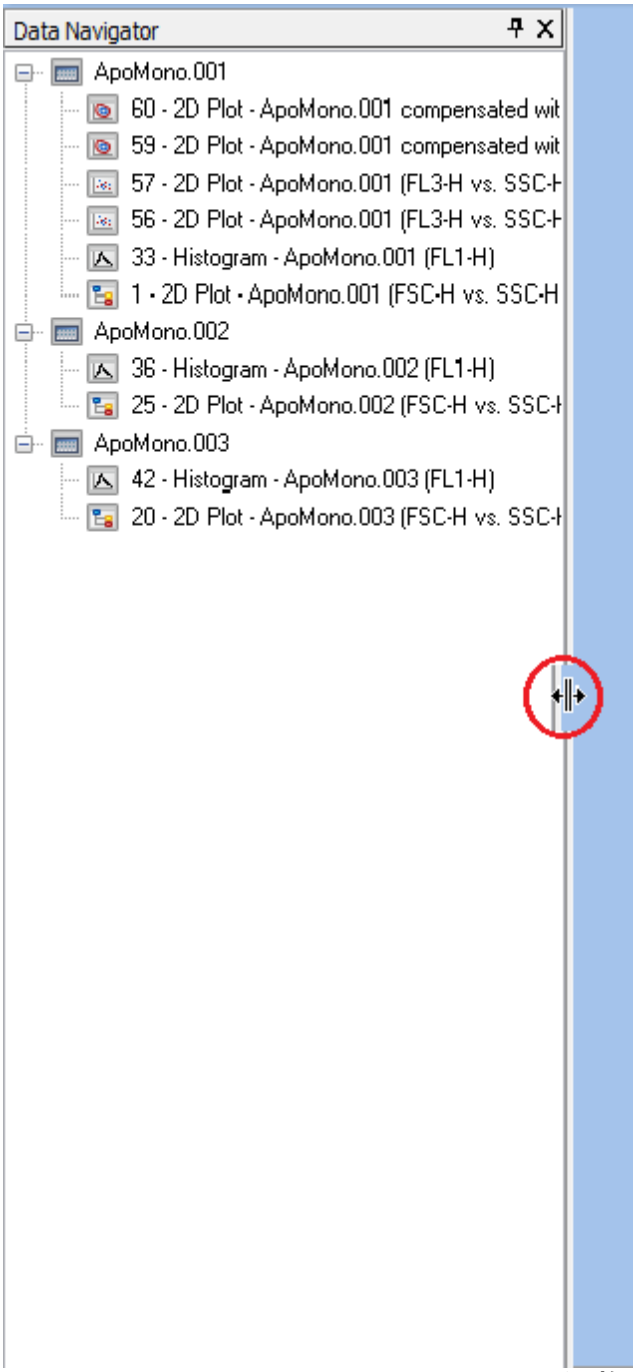
6. 请按住鼠标不放，把**Data Navigator(数据导航器)**向停靠图标的左向箭头移动。
7. 当光标在停靠图标的左向箭头上时，请松开鼠标，如图T12.4所示。光标移动到正确的位置上时，在版面的左侧会出现一个蓝色的矩形，指示出对应的停靠位置。



图T12.4 Docking the Data Navigator to the Left Side (**把数据导航器停靠到左侧**)

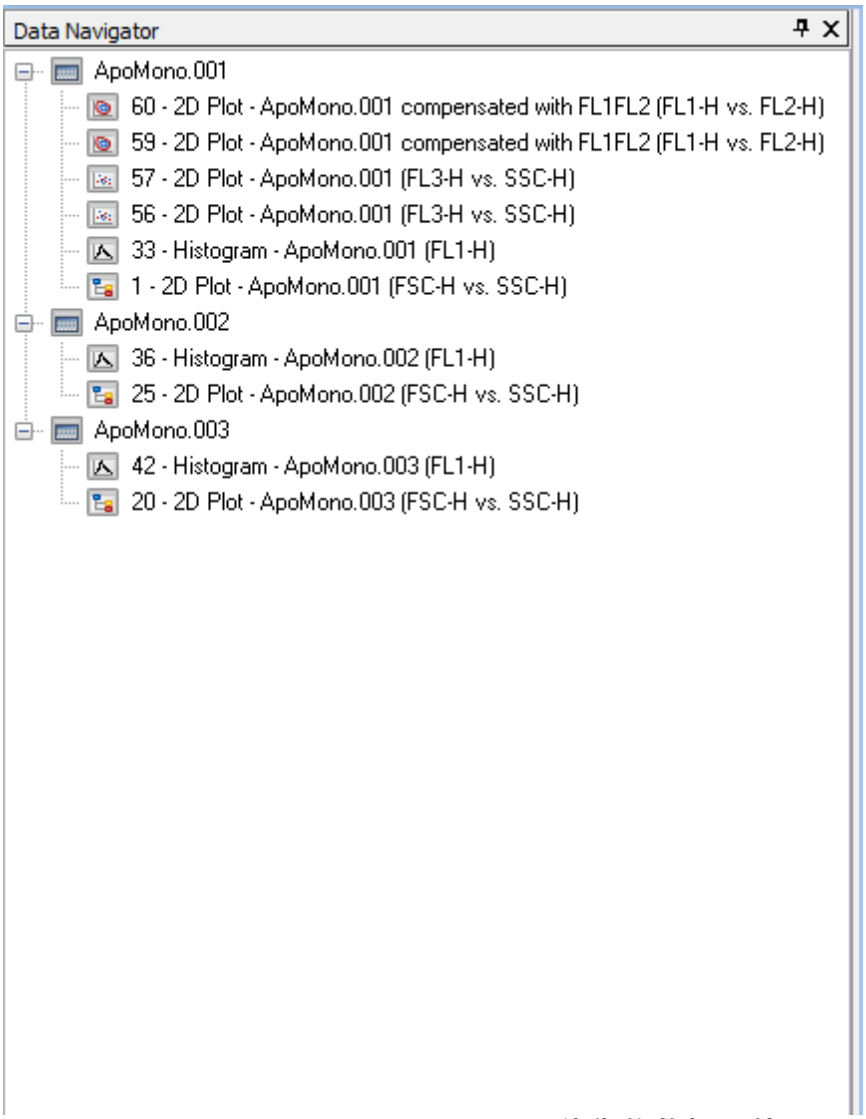
Data Navigator(数据导航器)现在被停靠在版面的左侧。但并不是所有的文本都可见，所以我们将调整停靠窗口的大小，把它变宽一些。

8. 请把光标移到已停靠的**Data Navigator(数据导航器)**的右侧边框外。
9. 请慢慢地把鼠标移动到边框上，直到出现调整大小图标，如图T12.5中的红圈所示。
10. 请按下鼠标不放，把边框向右拖。
11. 当可停靠窗口大到可以显示**Data Navigator(数据导航器)**中的所有文本时，请松开鼠标键，如图T12.6所示。



图T12.5 Resizing the Data Navigator (**调整数据导航器的大小**)

停靠了的**Data Navigator(数据导航器)**看起来应该如图T12.6所示。



图T12.6 Docked Data Navigator (**已停靠的数据导航器**)

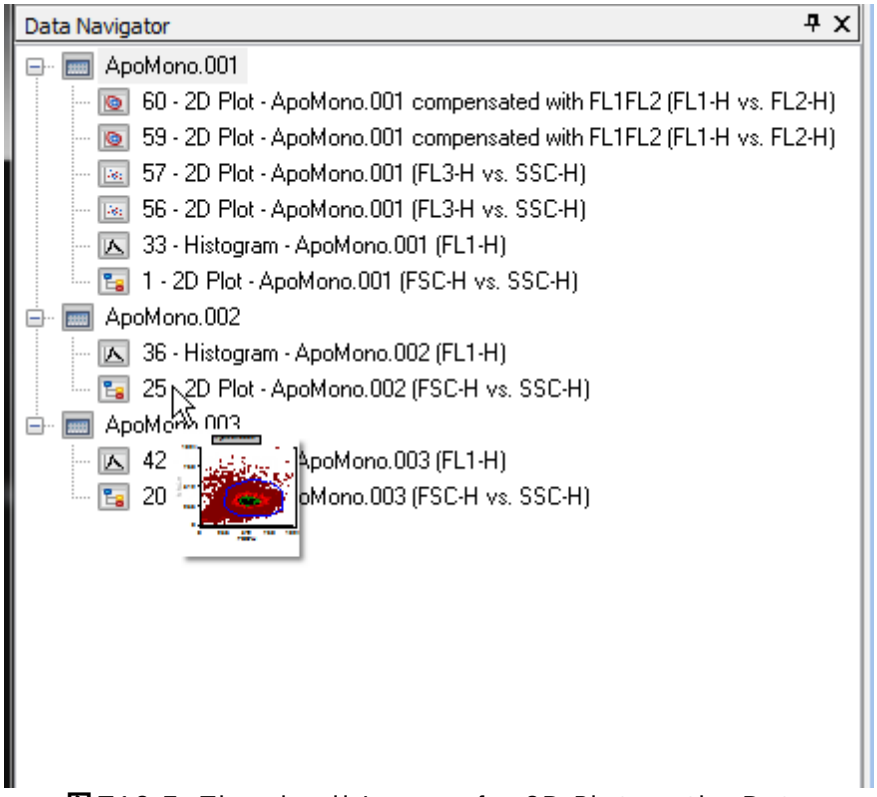
36.12.2 *数据导航器功能*

如图T12.6 770所示，**Data Navigator(数据导航器)**是按照版面中的数据文件来组织的。每个数据文件名称下是一个使用该数据文件的绘图列表。我们现在将学习**Data Navigator (数据导航器)**的众多功能。

1. 请把光标移到**Data Navigator(数据导航器)**上**ApoMono.002**数据文件列表下的**2D Plot – ApoMono.002 (FSC- H vs. SSC- H)**绘图上，如图T12.7中的光标所示。

这时会出现该二维绘图的一个缩略图，如图T12.7所示。这个快捷查看和一个数据文件相关联

的绘图方法很有用(特别是在绘图处在不可见状态时)。这个方法适用于**Data Navigator(数据导航器)**中列出的所有绘图。



图T12.7 Thumbnail Image of a 2D Plot on the Data Navigator (**数据导航器上一个二维绘图的缩略图**)

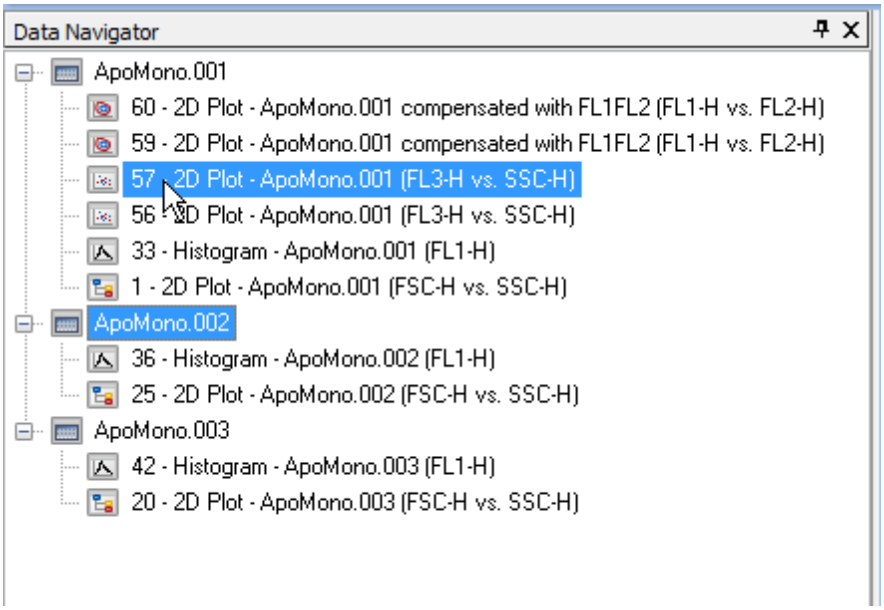
我们现在将使用**Data Navigator(数据导航器)**来修改显示在二维绘图上的数据。下面我们将仅仅使用**Data Navigator(数据导航器)**，来把版面右下方的二维绘图中的数据文件ApoMono.001替换为ApoMono.002。

2. 请把光标放到**Data Navigator(数据导航器)**里的数据文件**ApoMono.002**上(图T12.8中高亮显示为蓝色的文件)。

3. 请按下鼠标左键不放。

4. 请把**ApoMono.002**数据文件向上拖向绘图**57 – 2D Plot – ApoMono.001 (FL2- H vs. SSC- H)**，如图T12.8中光标所指的、高亮显示为蓝色的绘图所示。

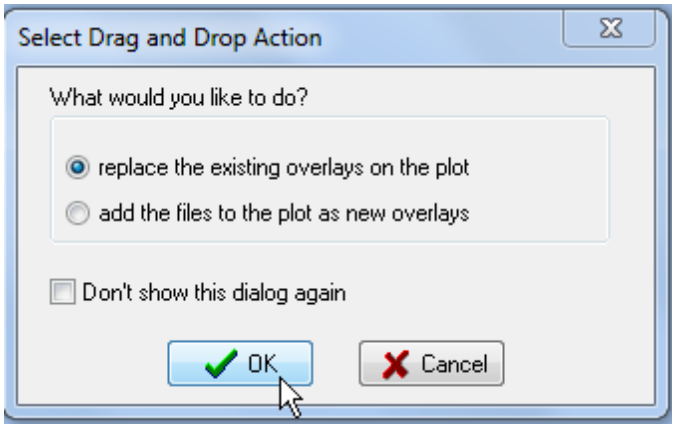
5. 当数据文件**ApoMono.002**在**57 – 2D Plot – ApoMono.001 (FL2- H vs. SSC- H)**上方时，请松开鼠标。



图T12.8 Dragging the ApoMono.002 data file onto a 2D plot in the Data Navigator (**在数据导航器中把数据文件**ApoMono.002**拖到一个二维绘图上**)

这时会出现**Select Drag and Drop Action(选择拖放操作)**对话框，如图T12.9所示。

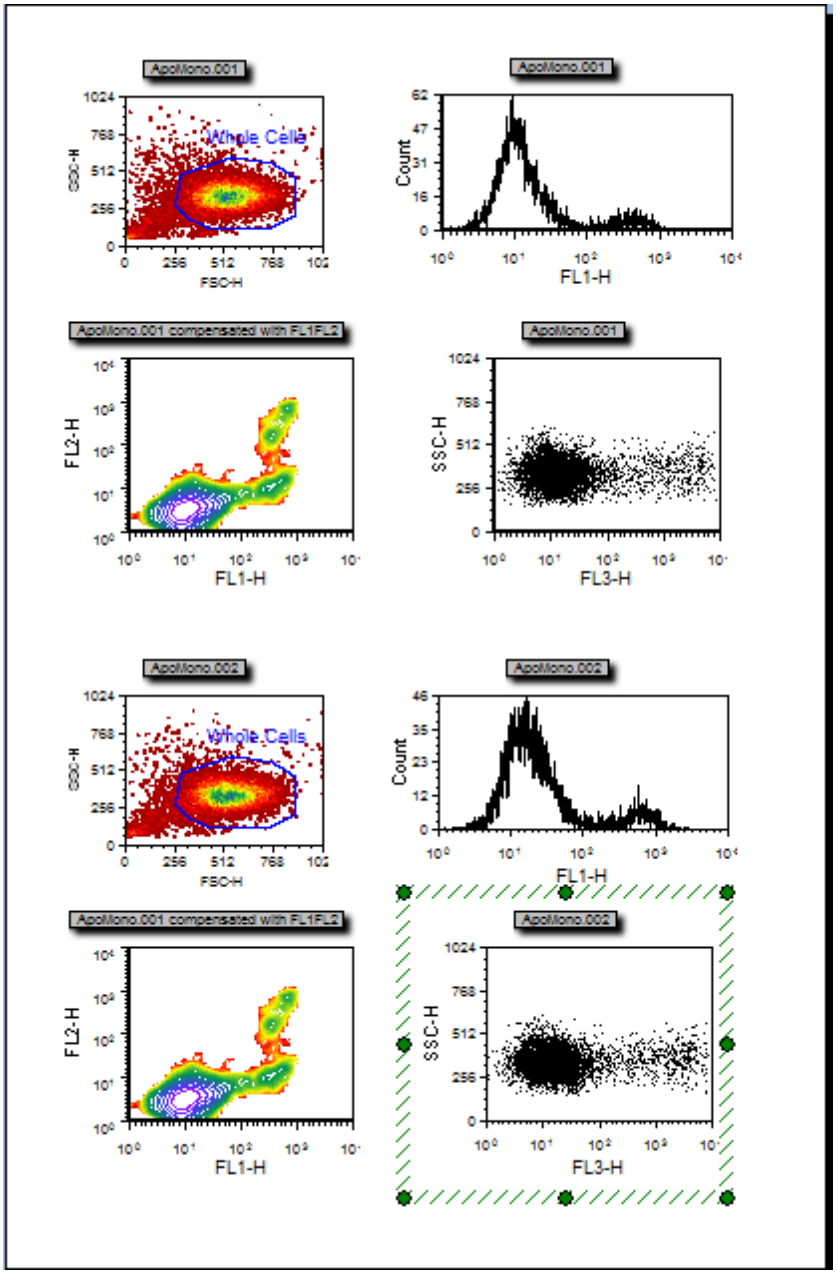
6. 请选择**replace the existing overlays in the plot(替换绘图中已有的叠加图层)**(图T12.9)。
7. 请点击**OK**。



图T12.9 Select Drag and Drop Action Dialog (**选择拖放操作对话框**)

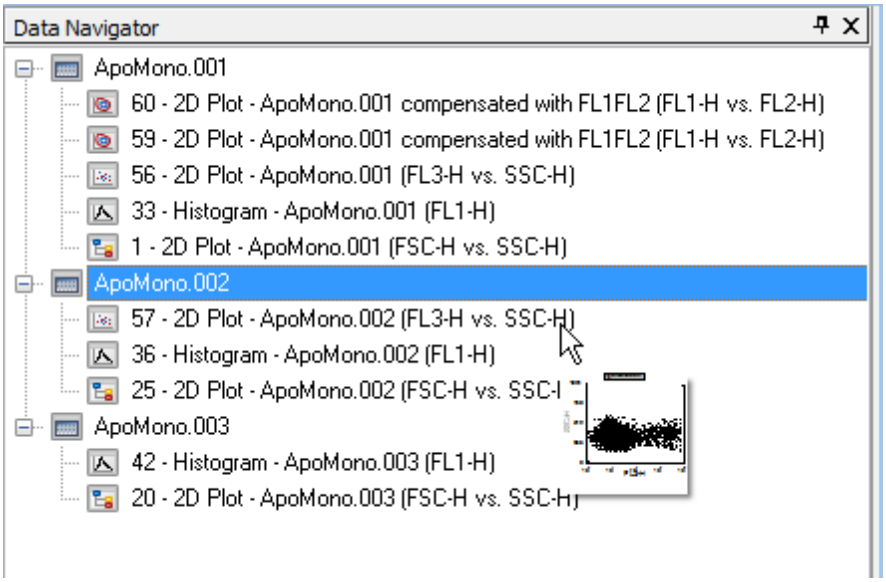
这时版面中右下方的二维绘图被选中(图T12.10中的绿色边框)，并已进行了更新，显示

ApoMono.002中的数据。



图T12.10 Selected and Updated 2D Plot with ApoMono.2 Data (**选中并更新过的二维绘图，显示**ApoMono.2**中的数据**)

这时**Data Navigator(数据导航器)**也进行了更新来反映所做的改动，如图T12.11所示。这时绘图**57 – 2D Plot – ApoMono.002 (FL2- H vs. SSC- H)**出现在**ApoMono.002**数据文件的下方，如图T12.11中的光标和缩略图所示。



图T12.11 Data Navigator Updated to Reflect ApoMono.002 Plot Changes (**更新了的数据导航器，显示针对**ApoMono.002**文件的绘图更改**)

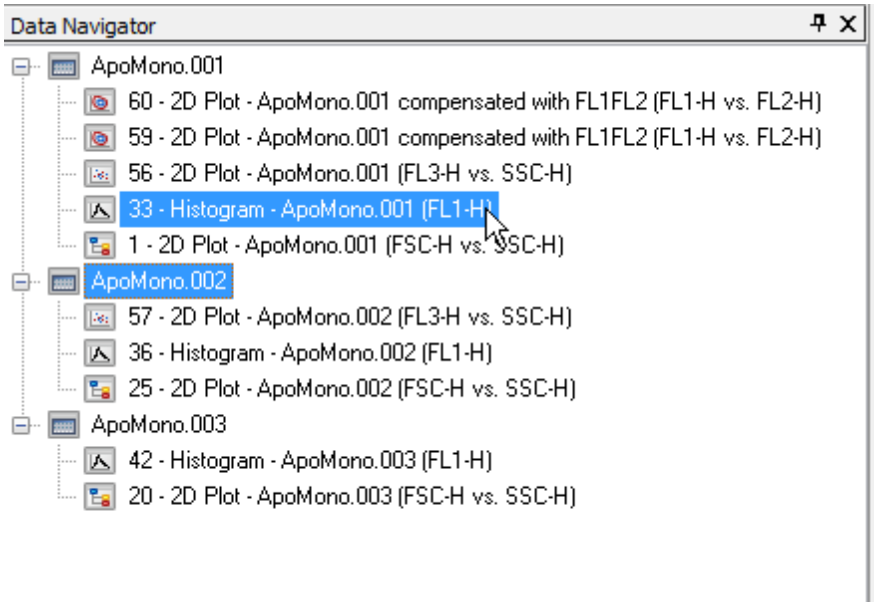
我们现在将在**Data Navigator(数据导航器)**中使用拖放操作来在一个柱状图中添加叠加图层。

8. 请把光标放到**Data Navigator(数据导航器)**里的数据文件**ApoMono.002**上(图T12.12中高亮显示为蓝色的文件)。

9. 请按下鼠标左键不放。

10. 请把数据文件**ApoMono.002**向上拖向柱状图**33 – Histogram – ApoMono.001 (FL1)**，如图T12.12中的光标和高亮的蓝色所示。

11. 数据文件**ApoMono.002**在柱状图上时，请松开鼠标。



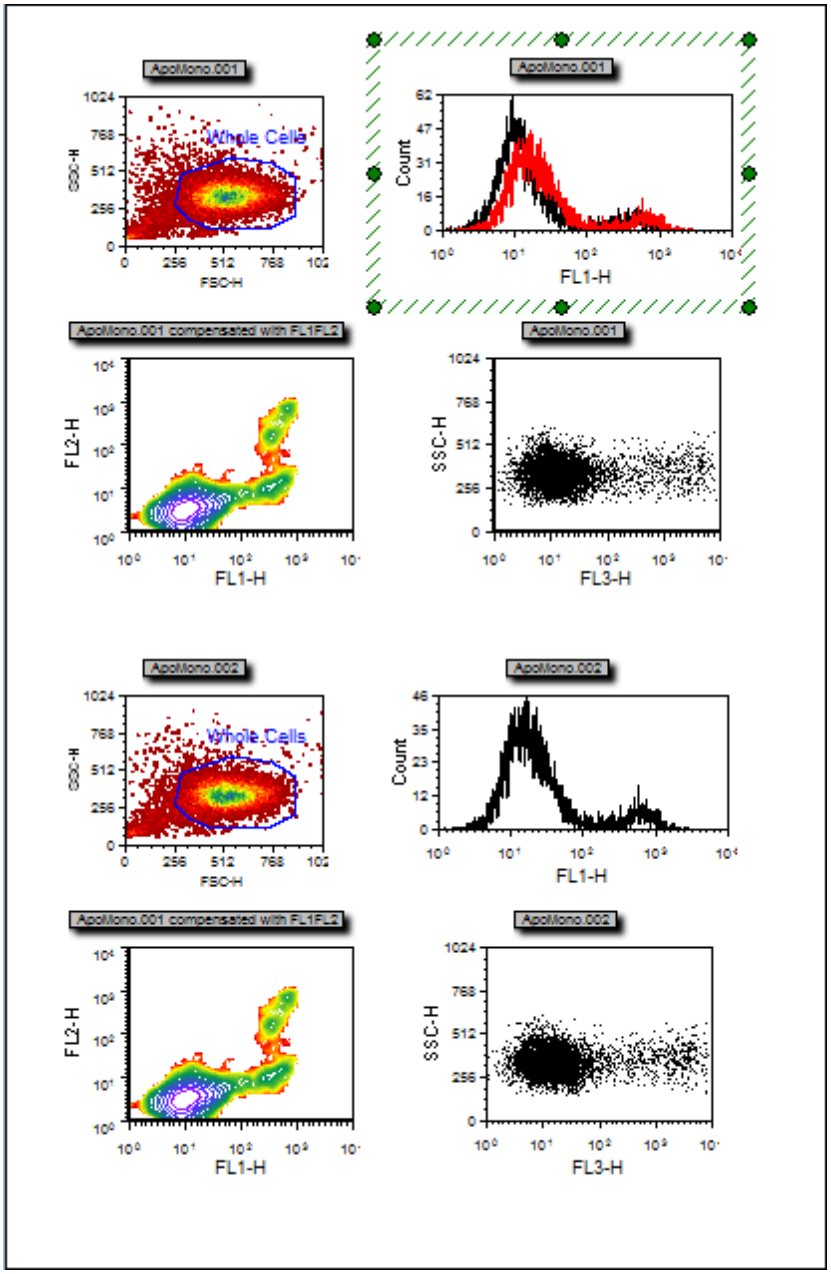
图T12.12 Dragging ApoMono.002 onto a Histogram Plot in the Data Navigator (**在数据导航器里把**ApoMono.002**文件拖到柱状图上**)

这时会出现**Select Drag and Drop Action(选择拖放操作)**对话框，如前图T12.9所示。但这次我们将修改对话框中的选项，允许在柱状图上叠加数据。

12. 请选择"**add the files to the plot as new overlays(把文件作为新的数据图层添加到绘图中)**"。

13. 请点击**OK**。

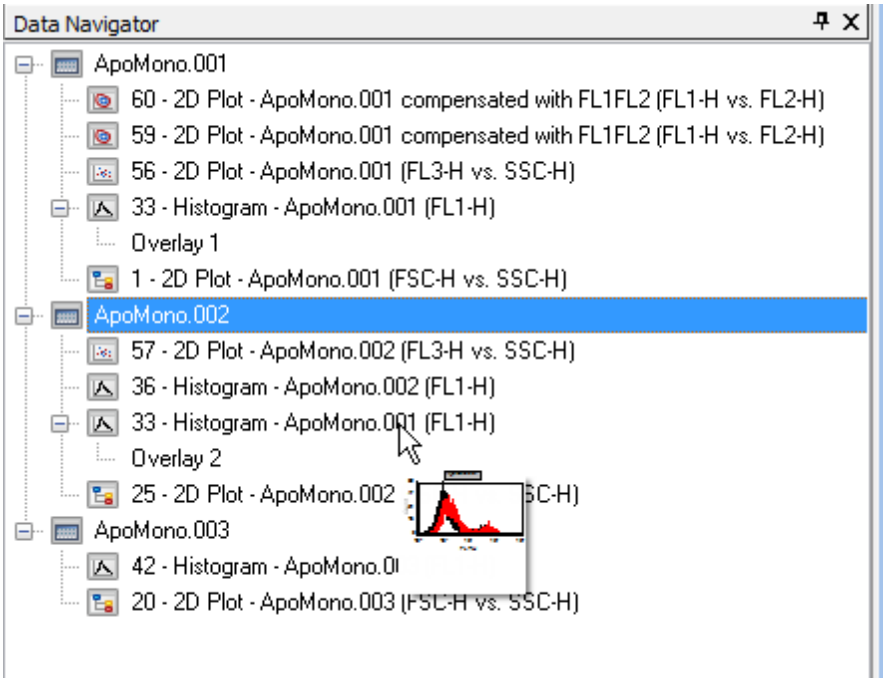
这时在版面右上方的柱状图也进行了更新，来显示ApoMono.002数据对应的叠加图层。该柱状图位于图T12.13中的绿色边框里，新的叠加图层显示为红色。



图T12.13 Histogram Updated to Show the Overlay of ApoMono.002 Data (**更新过的柱状图显示**ApoMono.002**数据对应的叠加图层**)

Data Navigator(数据导航器)也再次更新，显示这些修改，如图T12.14所示。这时在数据文件**ApoMono.002**下的列表里，会有一项为**33 – Histogram – ApoMono.001 (FL1- H)**，如图T12.14中的光标和缩略图所示。这时在柱状图的子文件列表中也会出现**Overlay 2**，表明数据文件**ApoMono.002**是柱状图**ApoMono.001**上的第二个叠加图层。注意到在数据文件**ApoMono.001**下的列表中，柱状图**33 – Histogram – ApoMono.001 (FL1- H)**列表也被更新，显示**Overlay 1(第1个叠加图层)**，表明数据文

件ApoMono.001是底层叠加图层。



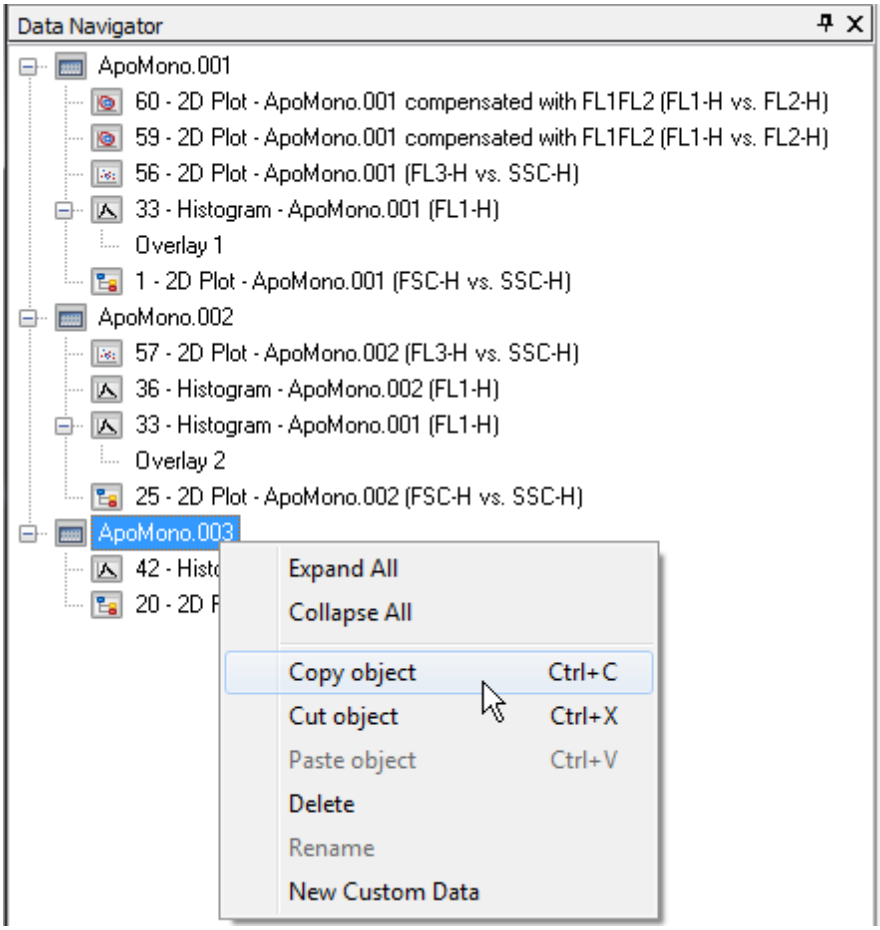
图T12.14 Updated Data Navigator with Overlay of ApoMono.002 Data (**更新过的、带有**ApoMono.002**数据文件的数据导航器**)

所有这些在**Data Navigator数据导航器**中进行的拖放数据的操作，也可以使用**Data Navigator(数据导航器)**的弹出窗口完成。我们现在就用**Data Navigator(数据导航器)**的弹出窗口来为版面中右上方的柱状图再添加一个叠加图层。

14. 请把光标移到**Data Navigator(数据导航器)**上的**ApoMono.003**数据文件列表上，如图T12.15中的蓝色高亮文件所示。

15. 请右键点击，调出相应的弹出菜单。

16. 请从弹出菜单上选择**Copy object(复制对象)**，如图T12.15中的光标所示。

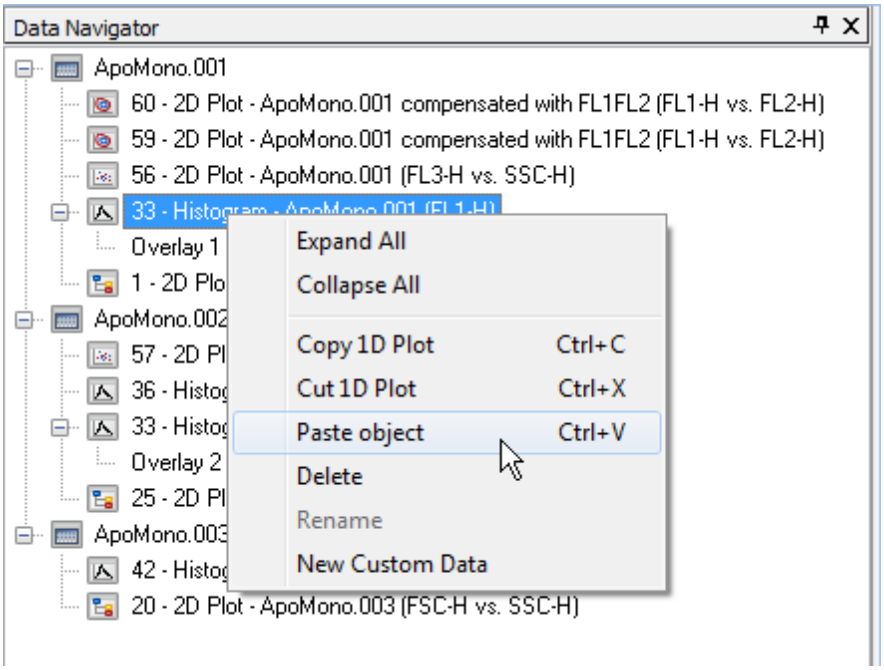


图T12.15 Copy Object Using Data Navigator Pop-up Menu (**使用数据导航器的弹出菜单来复制对象**)

17. 请把光标放在**Data Navigator(数据导航器)**中数据文件**ApoMono.001**下的**33 – Histogram – ApoMono.001 (Fl1- H)**绘图上，如图T12.16中的蓝色高亮所示。

18. 请右键点击，调出相应的弹出菜单。

19. 请从弹出菜单上选择**Paste object(粘贴对象)**，如图T12.16中的光标所示。



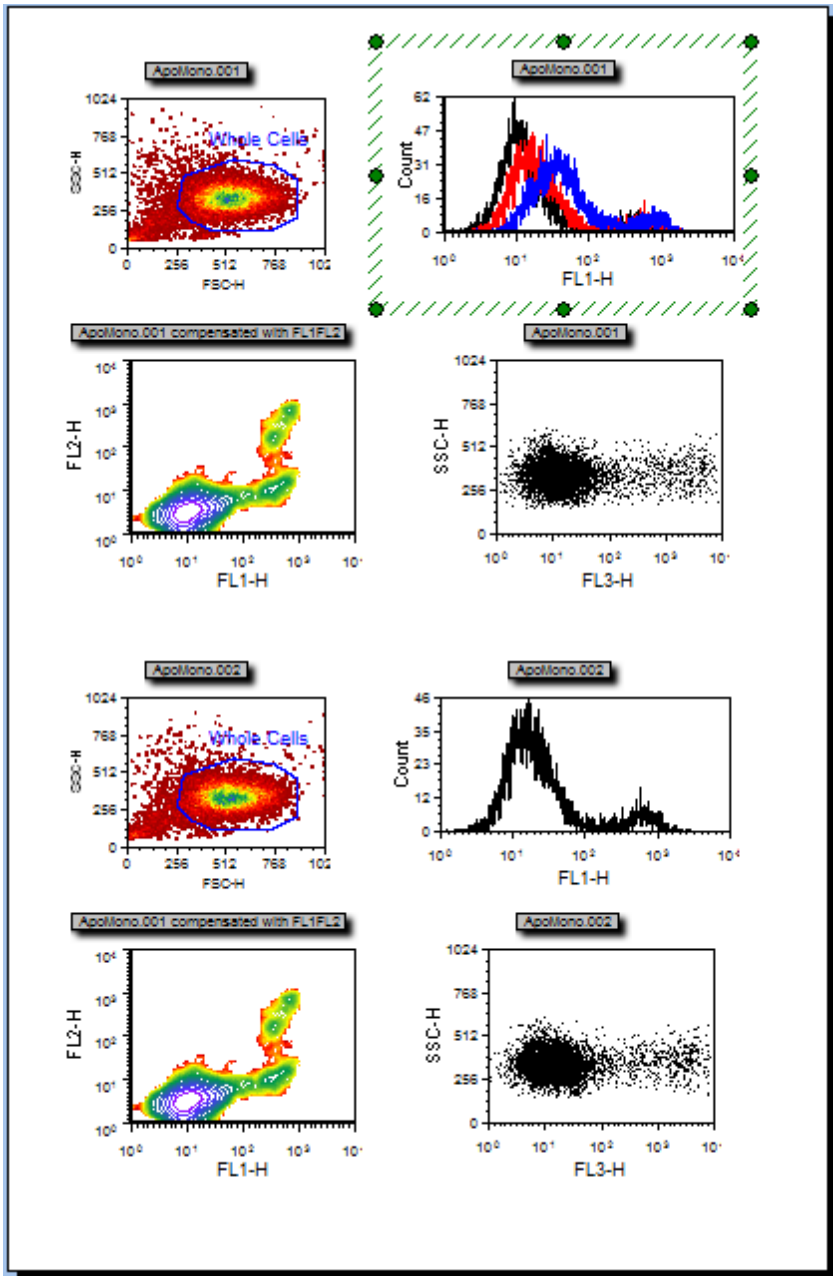
图T12.16 Paste Object Using Data Navigator Pop-up Menu (**使用数据导航器的弹出窗口粘贴对象**)

这时会出现**Select Drag and Drop Action(选择拖放操作)**对话框，如前图T12.9所示。但这次我们将修改对话框中的选项，允许在柱状图上叠加数据。

20. 请选择"**add the files to the plot as new overlays(把文件作为新的数据图层添加到绘图中)**"。

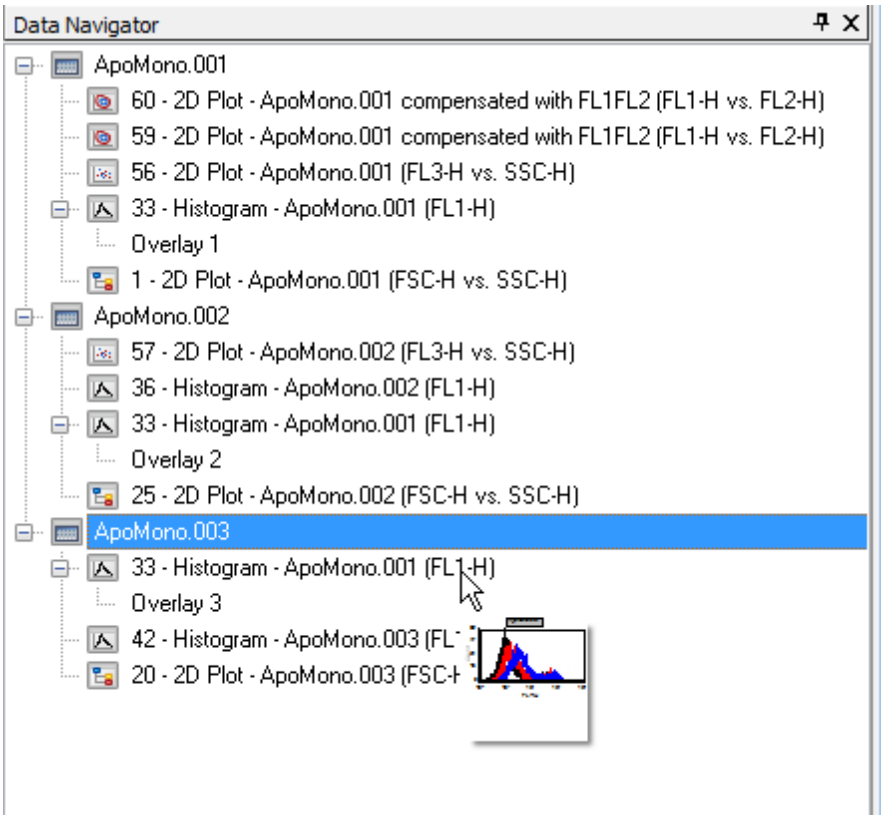
21. 请点击**OK**键。

这时在版面右上方的柱状图也进行了更新，来显示ApoMono.003数据对应的叠加图层。柱状图显示在绿色边框中，新的叠加图层数据显示为蓝色，如图T12.17所示。



图T12.17 Histogram Updated to Show the Overlay of ApoMono.003 Data (**更新过的柱状图显示**ApoMono.003**数据对应的叠加图层**)

Data Navigator(数据导航器)也会再次更新，显示这些修改，如图T12.18所示。这时在数据文件**ApoMono.003**下的列表里，会有一项为**33 - Histogram - ApoMono.001 (FL1- H)**，如图T12.18中的光标和缩略图所示。这时在柱状图的子文件列表中也会出现**Overlay 3(第3个叠加图层)**，表明数据文件**ApoMono.003**是柱状图**ApoMono.001**上的第三个叠加图层。



图T12.18 Updated Data Navigator with Overlay of ApoMono.003 Data (**更新过的、带有**ApoMono.003**数据文件的数据导航器**)

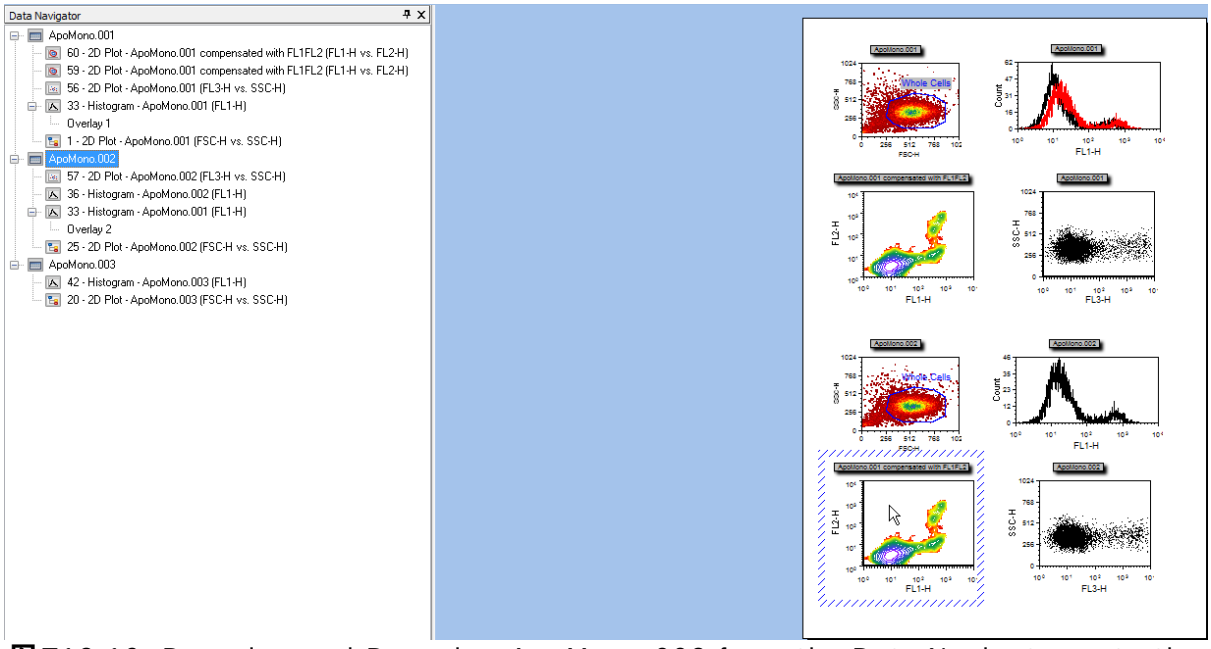
我们现在将从**Data Navigator(数据导航器)**中把一个数据文件拖放到版面中的一个绘图上。版面中左下角的轮廓图FL1- H - FL2- H正在使用的数据是ApoMono.001。我们将用数据文件ApoMono.002来替换这个数据文件。

22. 请把光标放到**Data Navigator(数据导航器)**里的数据文件**ApoMono.002**上(图T12.19中高亮显示为蓝色的文件)。

23. 按下鼠标左键不放。

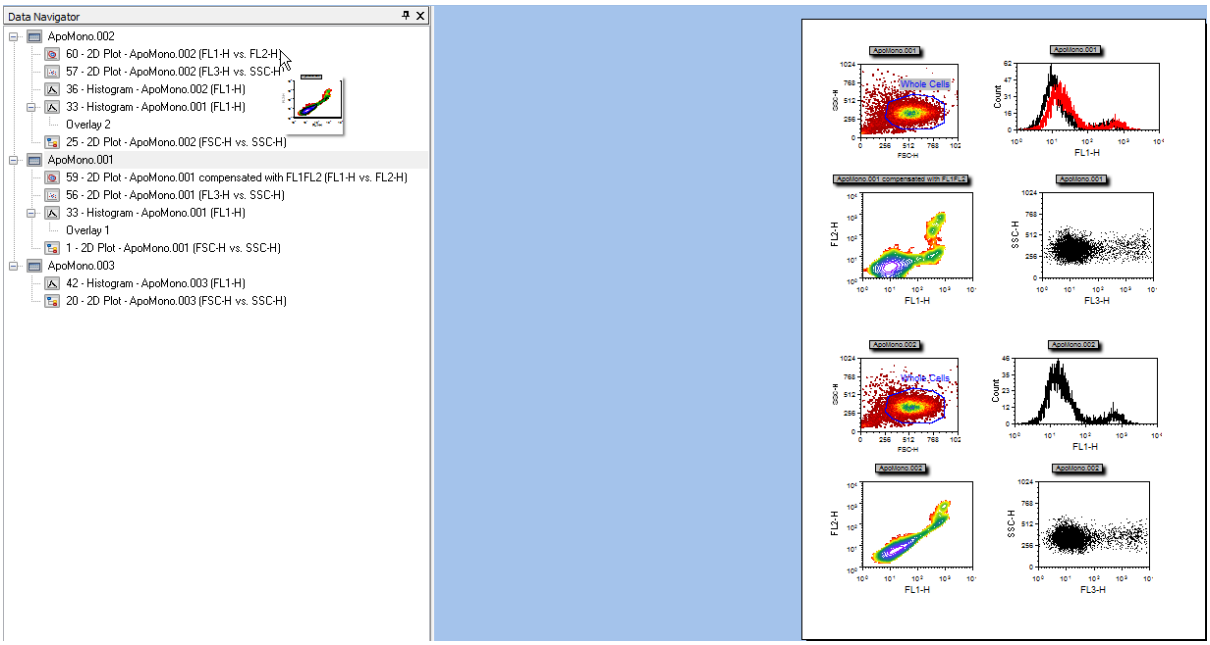
24. 请把数据文件**ApoMono.002**拖到版面中。

25. 当**ApoMono.002**移到左下角的轮廓图FL1- H - FL2- H上方时(图T12.19中的蓝色边框)，请松开鼠标。



图T12.19 Dragging and Dropping ApoMono.002 from the Data Navigator onto the Contour Plot on the Layout (**从数据导航器上把**ApoMono.002**拖放到版面上的轮廓图上**)

版面左下方的轮廓图和**Data Navigator(数据导航器)**都进行了相应更新，显示针对数据文件ApoMono.002的变化，如图T12.20所示。图T12.20中的光标和缩略图显示了**Data Navigator(数据导航器)**中的变化。



图T12.20 Updated Layout and Data Navigator with ApoMono.002 data on the Contour Plot (**更新过的版面和数据导航器显示轮廓图中的**ApoMono.002**数据文件**)

除了把数据文件从**Data Navigator(数据导航器)**上拖放到版面中的绘图上外，我们也可以使用**Data Navigator(数据导航器)**的弹出菜单来复制数据对象，然后版面上的弹出菜单里，把数据文件粘贴到轮廓图上。正如所有的弹出菜单一样，用户可以在**Data Navigator(数据导航器)**上右击对象，调出**Data Navigator(数据导航器)**弹出菜单。我们现在将使用**Data Navigator(数据导航器)**弹出菜单来在版面中插入一个新的绘图。

26. 请把光标移到**Data Navigator(数据导航器)**上的**ApoMono.001**上。
27. 请右键点击，调出相应的弹出菜单。
28. 请从弹出菜单上选择**Copy object(复制对象)**，如前图T12.15所示。
29. 请在版面底部点击**Page 2(第2页)**，如图T12.21所示。



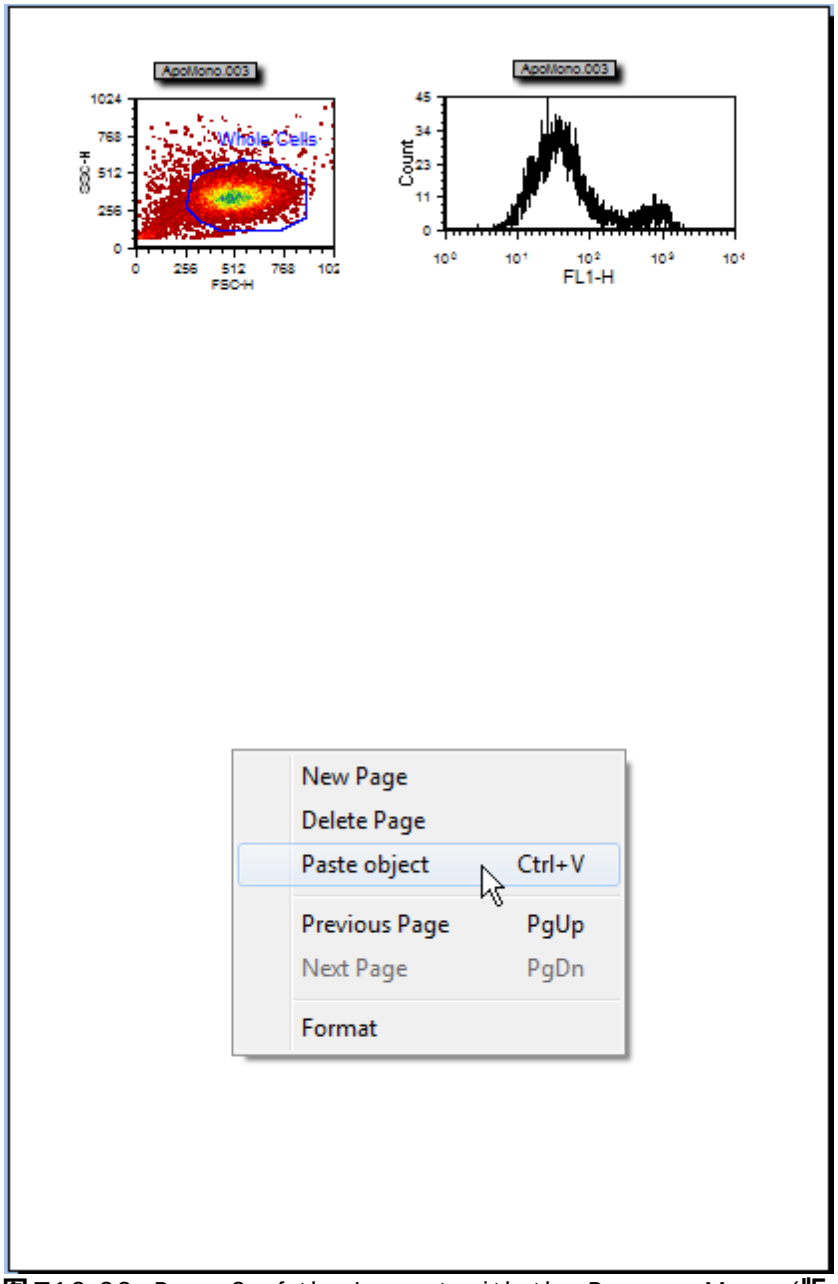
图T12.21 Selecting Page 2 (**选择第**2**页**)

这时会出现版面中的第2页，如图T12.22所示。

30. 请把光标放在版面中一个空白区。

31. 请右键点击，调出相应的弹出菜单，如图T12.22所示。

32. 请从弹出菜单上选择**Paste object(粘贴对象)**。

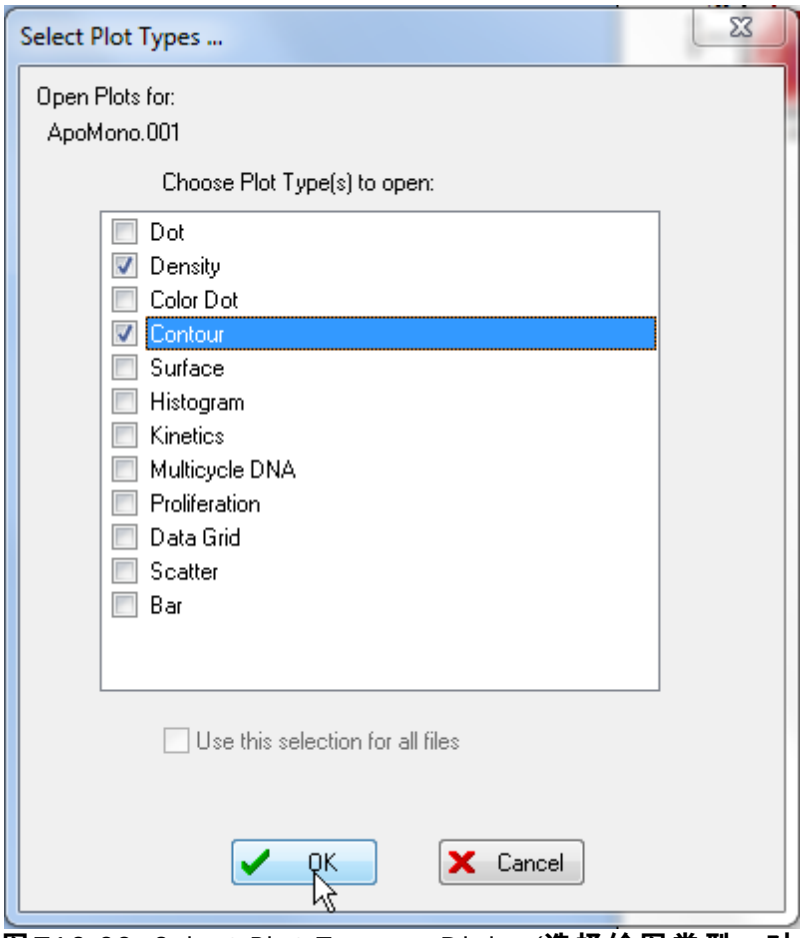


图T12.22 Page 2 of the Layout with the Pop-up Menu (**版面的第**2**页上的弹出菜单**)

这时会出现**Select Plot Types…(选择绘图类型...)**对话框，如图T12.23所示。

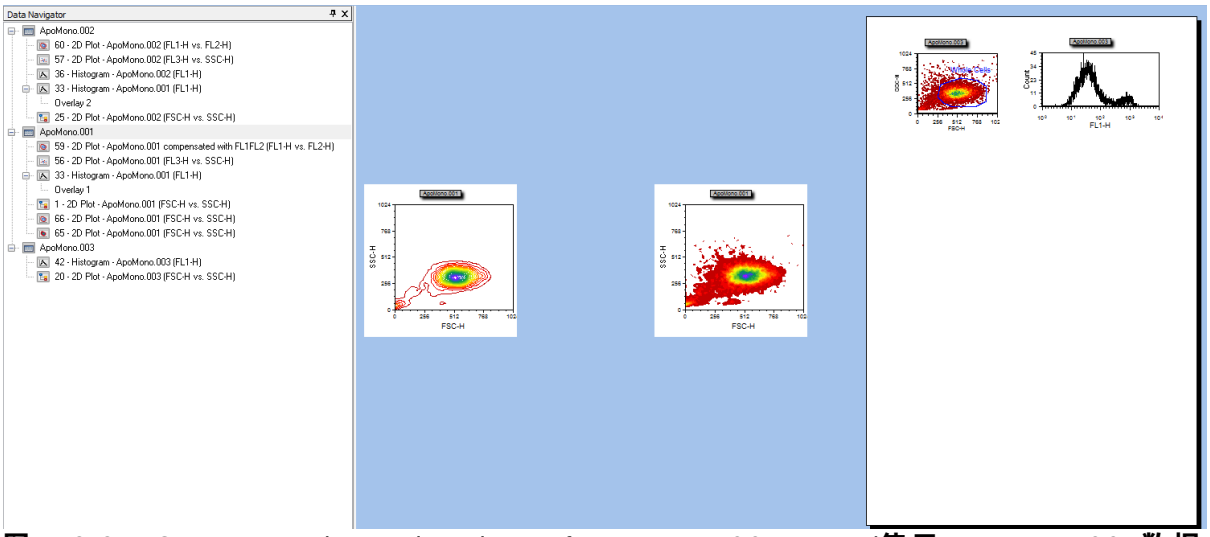
33. 请选择**Density(密度图)**和**Contour(轮廓图)**作为要打开的绘图类型(图T12.23)。

34. 请点击**OK**。



图T12.23 Select Plot Types... Dialog(选择绘图类型...对话框)

这时会出现使用ApoMono.001数据文件的轮廓图和密度图，它们使用FSC - SSC默认参数，如图T12.24所示。



图T12.24 Contour and Density Plots of ApoMono.001 Data (**使用**ApoMono.001**数据文件的轮廓图和密度图**)

36.13 门导航器

Gate Navigator(门导航器)让用户对版面中所有的门有一个总体概观。它把门以及和这些门相关的绘图以层次的方式显示出来。**Gate Navigator(门导航器)**让用户可以对版面上的门和绘图进行操作。比如，仅仅通过在**Gate Navigator(门导航器)**上拖放一个门图标，即可修改一个绘图正在使用的门。

在本章中，我们会:

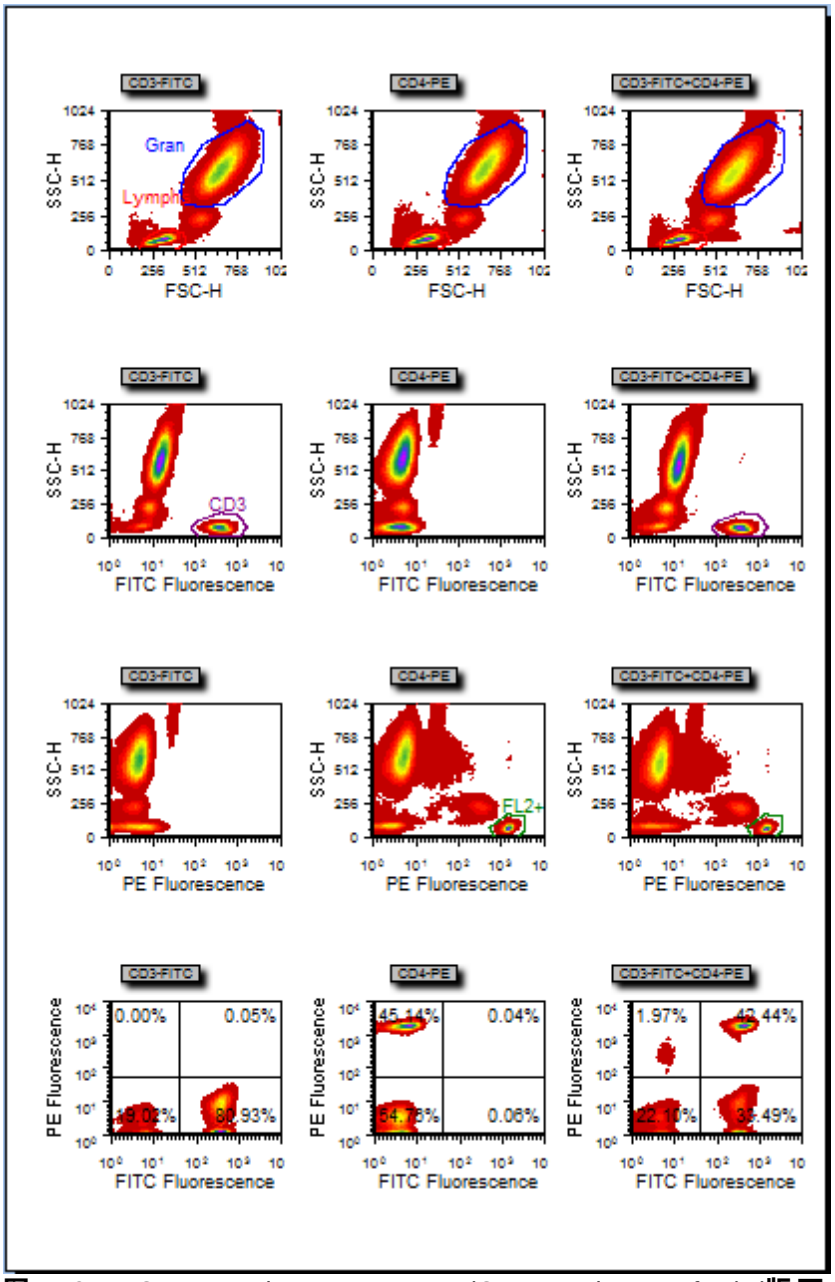
- 打开**Gate Navigator(门导航器)**，然后将其停靠。
- 学习**Gate Navigator(门导航器)**的功能以及如何使用这些功能。具体地说，我们将使用**Gate Navigator(门导航器)**来:
  - o 把门应用到版面中的绘图上。
  - o 把门插入到绘图中。

36.13.1 *打开以及停靠*

首先，我们将打开一个以前保存的版面，版面中的两个页面上有一些绘图和门。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS样本数据)*文件夹中的版面文件**GateNavigator.fey**。

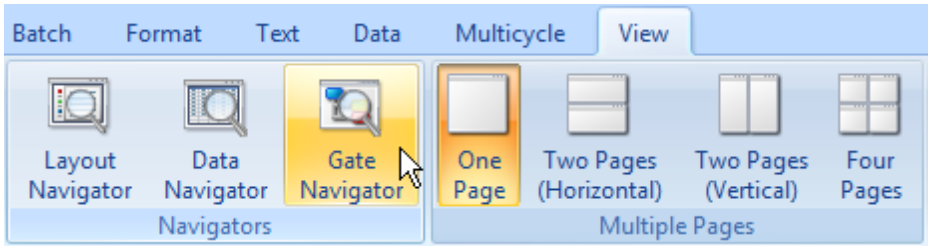
该版面如图T13.1所示。



图T13.1 Gate Navigator Layout (GateNavigator.fey) (**版面导航器版面**(GateNavigator.fey))

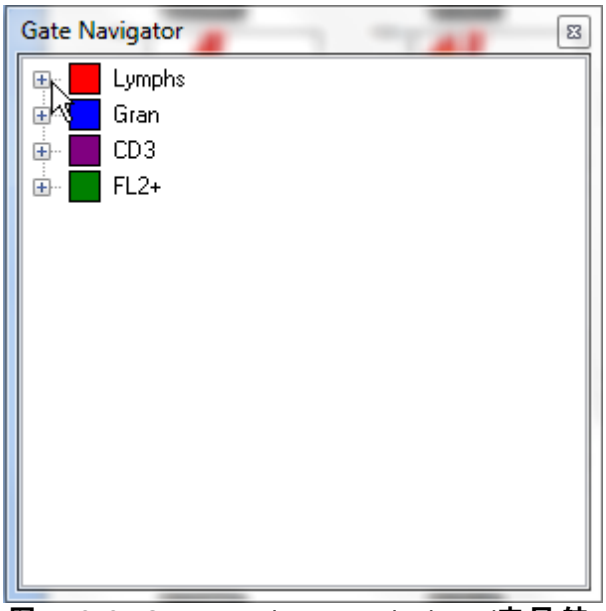
我们现在要打开**Gate Navigator(门导航器)**。

3. 请选择**View(视图)→Navigators(导航器)→Gate Navigator(门导航器)**命令(图T13.2)。



图T13.2 Selecting the Gate Navigator Command (**选择门导航器命令**)

这时会出现**Gate Navigator(门导航器)**，如图T13.3所示。我们现在将展开菜单来查看所有使用这些门的绘图列表。

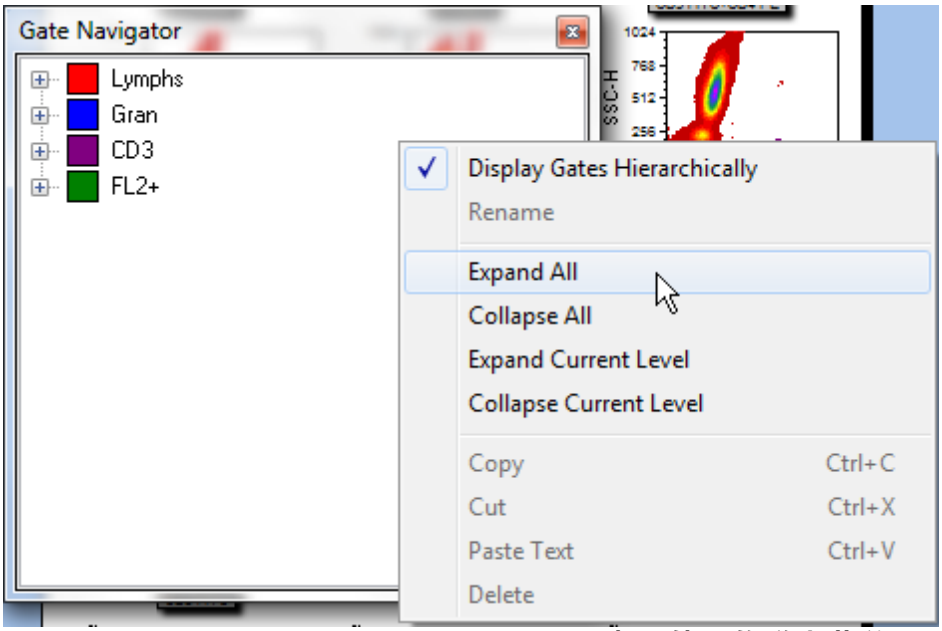


图T13.3 Gate Navigator Window (**门导航器窗口**)

4. 请点击**Lymphs**左边的"+ "图标(如图T13.3中的光标所示)来展开菜单。
5. 请继续点击各个"+ "图标，打开所有门对应的列表。

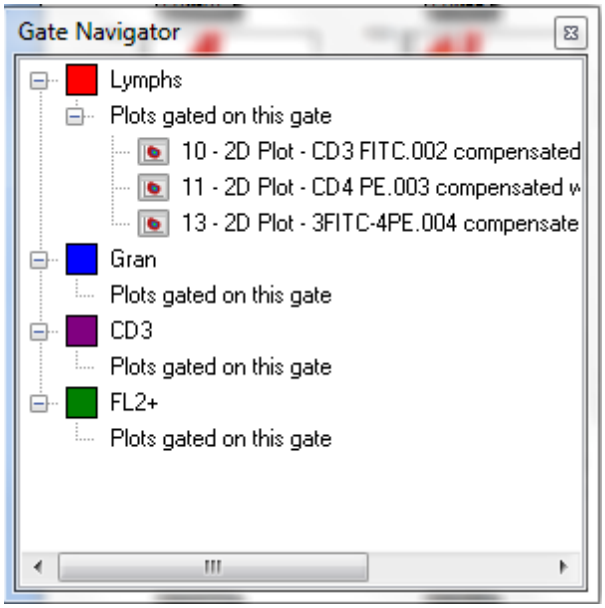
或者可以使用弹出菜单来展开**Gate Navigator(门导航器)**列表。

- 请把光标放在门导航器上。
- 请右键点击，调出弹出菜单(图T13.4)。
- 请选择**Expand All(展开所有)**，如图T13.4中的光标所示。



图T13.4 Gate Navigator Pop-up Menu (**门导航器的弹出菜单**)

这时的**Gate Navigator(门导航器)**应该看起来如图T13.5所示。



图T13.5 Gate Navigator with Listings Expanded (**列表展开后的门导航器**)

现在我们将把**Gate Navigator(门导航器)**停靠到版面的左边。要学习如何停靠窗口，请查看停靠教程 748 一节。

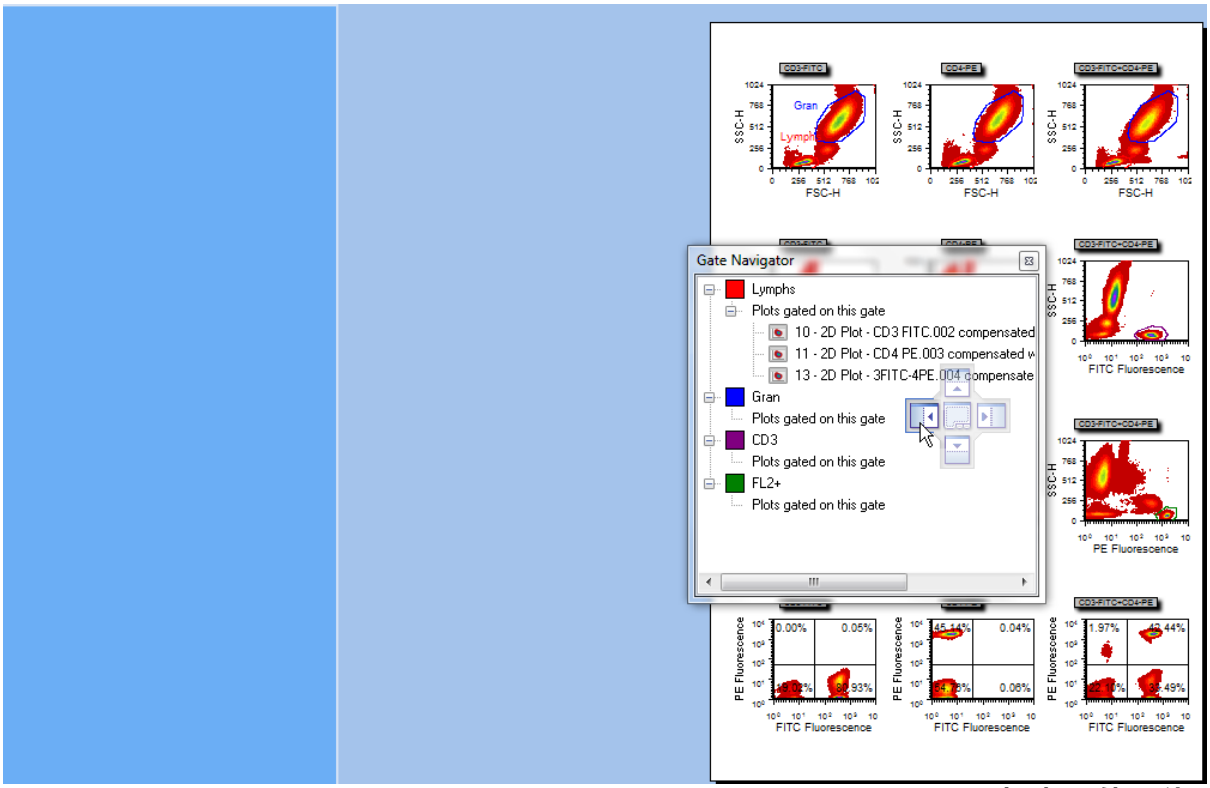
6. 请把光标放在**Gate Navigator(门导航器)**窗口的顶端边框上。

7. 请按下鼠标左键不放，移动**Gate Navigator(门导航器)**窗口。

一旦开始移动**Gate Navigator(门导航器)**窗口，在版面的中心便会出现一个四向停靠图标，如图T13.6所示。

8. 请按住鼠标不放，把**Gate Navigator(门导航器)**移向停靠图标的左向箭头。

9. 当光标在停靠图标的左向箭头上时，请松开鼠标，如图T13.6所示。光标移动到正确的位置上时，在版面的左侧会出现一个蓝色的矩形，指示出对应的停靠位置。



图T13.6 Docking the Gate Navigator to the Left Side of the Layout (**把门导航器停靠在版面左侧**)

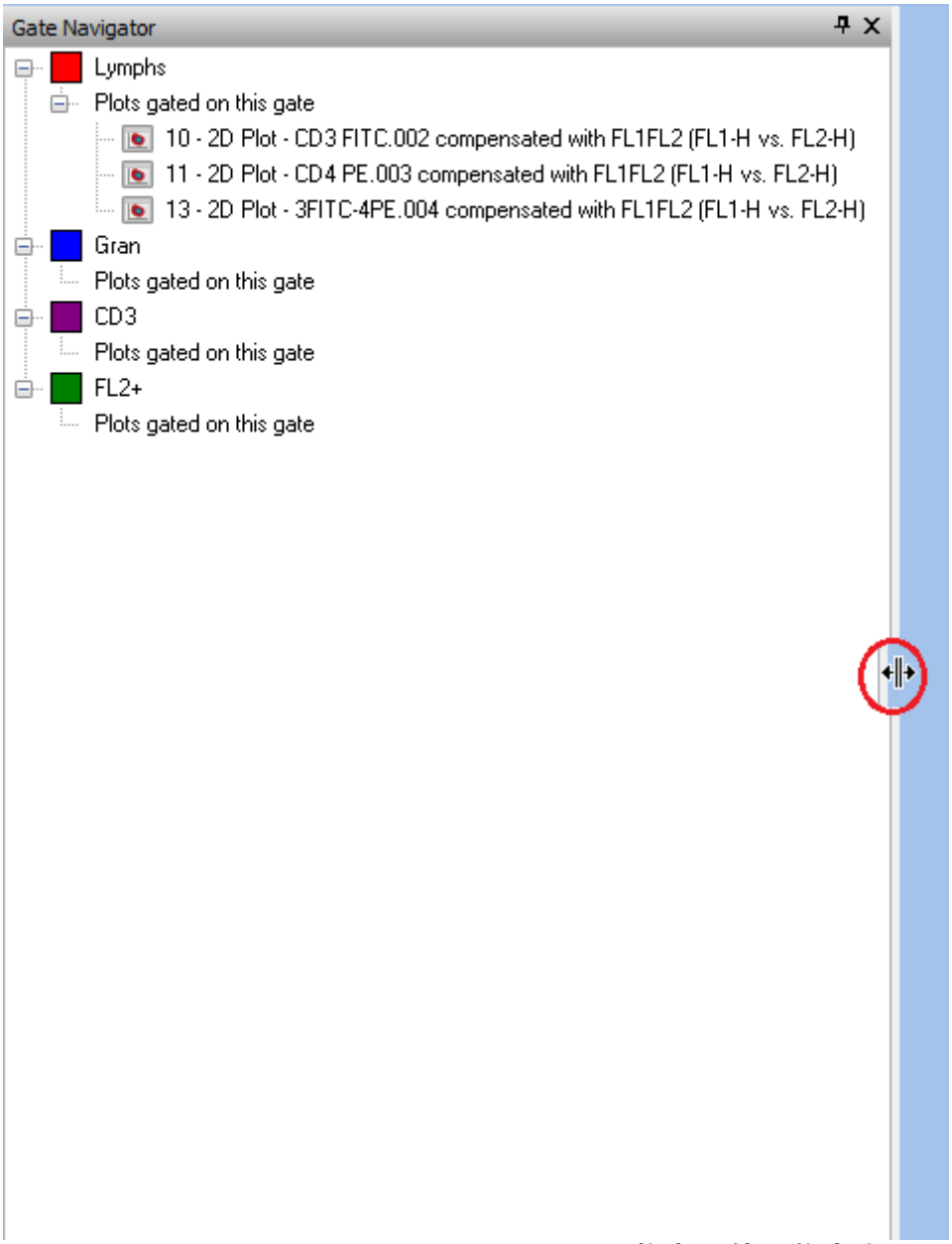
现在**Gate Navigator(门导航器)**被停靠到了版面的左侧。但并不是所有的文本都可见，所以我们将调整停靠窗口的大小，把它变宽一些。

10. 请把光标移到已停靠的**Gate Navigator(门导航器)**的右侧边界外。

11. 请慢慢地把鼠标移动到边框上，直到出现调整大小图标，如图T13.7中的红圈所示。

12. 在把边框向右拖的过程中，请不要松开鼠标。

13. 当可停靠窗口大到可以显示**Gate Navigator(门导航器)**中的所有文本时，请松开鼠标键，如图T13.7所示。



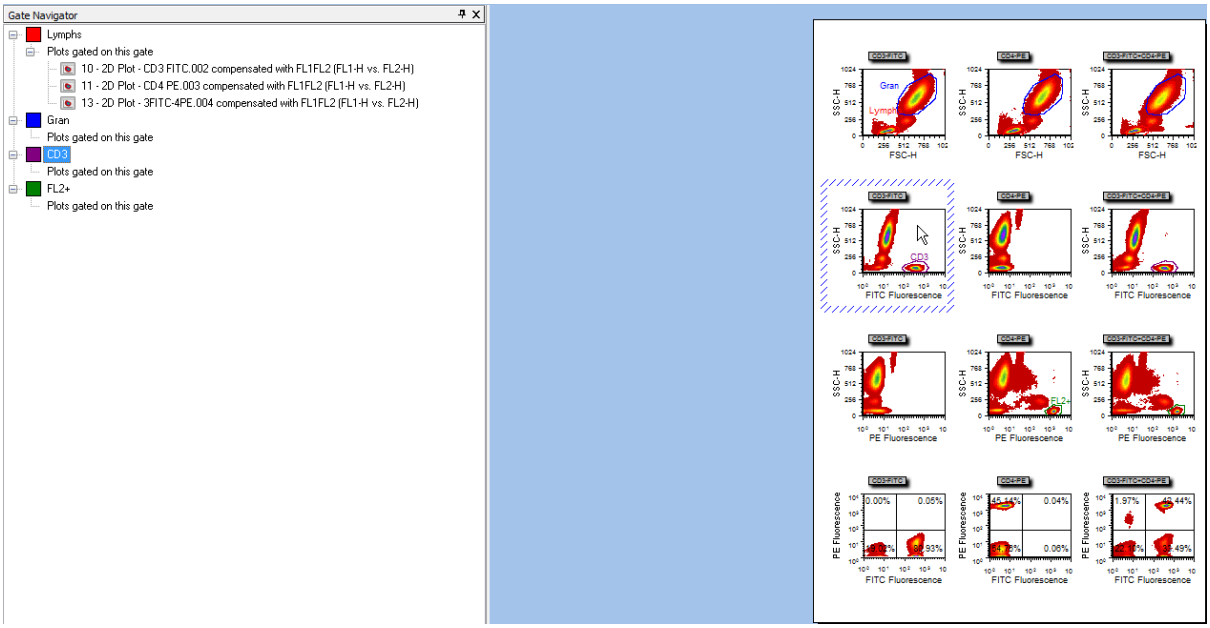
图T13.7 Resizing the Gate Navigator (**调整门导航器的大小**)

36.13.2 门导航器功能

如图T13.7 791所示，**Gate Navigator(门导航器)**的组织方式是根据版面中使用的门来进行的。每个门的下方是应用该门的一个绘图列表。当光标移到在**Gate Navigator(门导航器)**中列出的绘图上时会出现这些绘图的缩略图。这是一个快捷地查看哪个绘图应用哪个门的方法(特别是在绘图不处在可见状态时)。

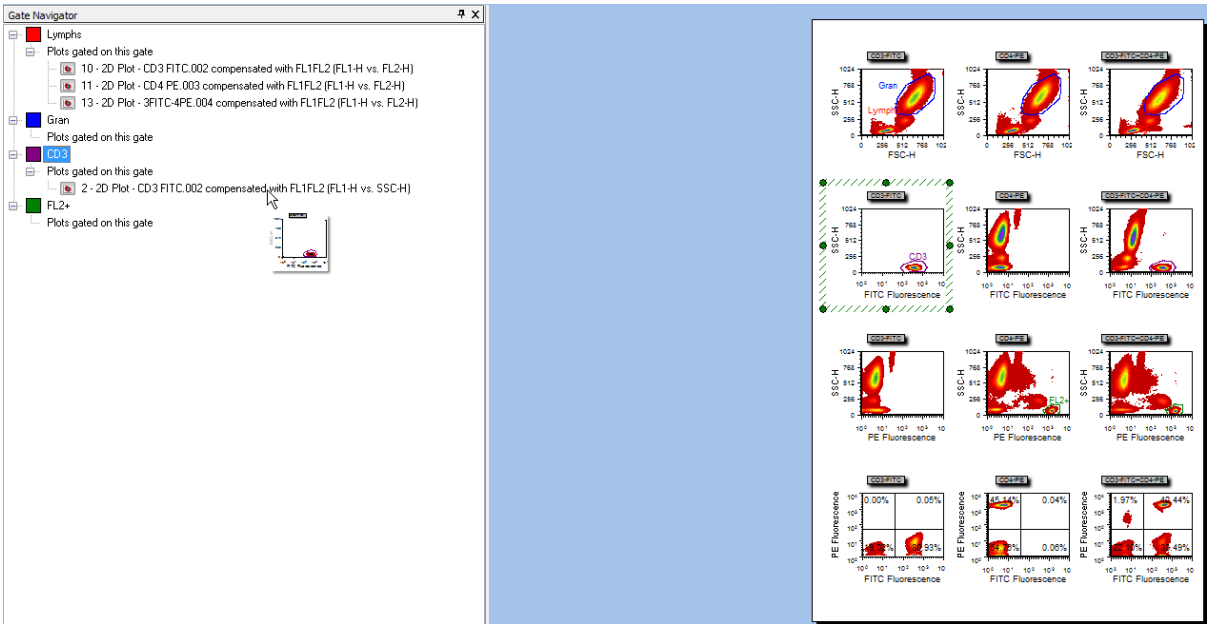
我们现在将学习**Gate Navigator(门导航器)**的功能，让我们从使用**Gate Navigator(门导航器)**把一个门应用于一个绘图开始。具体地说，我们会把门**CD3**以及**FL2+** 先后应用到版面中的二维绘图上。

1. 请把光标放在**Gate Navigator(门导航器)**上的**CD3**门上，如图T13.8中的蓝色高亮所示。
2. 按下鼠标左键不放。
3. 请把门**CD3**向版面上拖动。
4. 当门**CD3**拖到版面中左栏第二行的二维绘图CD3- FITC(FITC fluorescence对SSC-H作图)上时，请松开鼠标(如图T13.8中的蓝色轮廓线和光标所示)。



图T13.8 Dragging and Dropping the CD3 Gate from the Gate Navigator onto a Density Plot on the Layout (**把门导航器上的**CD3**门拖放到版面中的密度图上**)

这时二维密度图CD3- FITC(FITC对SSC- H作图)会自动更新，反映出它已经应用了门**CD3**，如图T13.9所示。这时**Gate Navigator(门导航器)**也会更新，在**CD3**门下方的列表中会出现二维密度图CD3- FITC (FL1- H vs. SSC- H)，如图T13.9中的光标和缩略图所示。



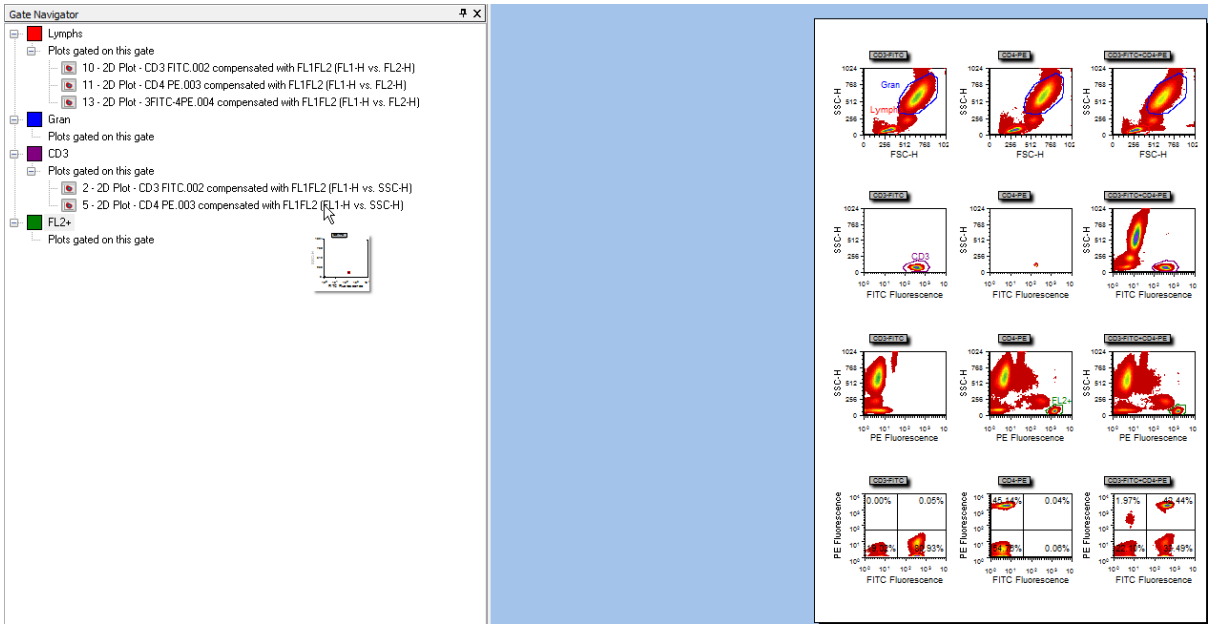
图T13.9 Application of the CD3 Gate to the 2D Density Plot of CD3-FITC (FL1-H vs. SSC-H) (**把**CD3**门应用到二维密度图**CD3-FITC (FL1-H**对**SSC-H)**上**)

我们现在要使用拖放操作，把**CD3**门通过**Gate Navigator(门导航器)**来应用到版面上其它的FITC Fluorescence与SSC-H的二维绘图上。

5. 请重复第1步到第3步。

6. 当门**CD3**在版面上第二行中间一列的二维密度图CD4-PE(FITC fluorescence对SSC-H作图)上时，请松开鼠标。

这时该二维绘图和**Gate Navigator(门导航器)**会同时更新，显示**CD3**门已经应用到了CD4-PE (FITC fluorescence vs. SSC-H)绘图上，如图T13.10所示。

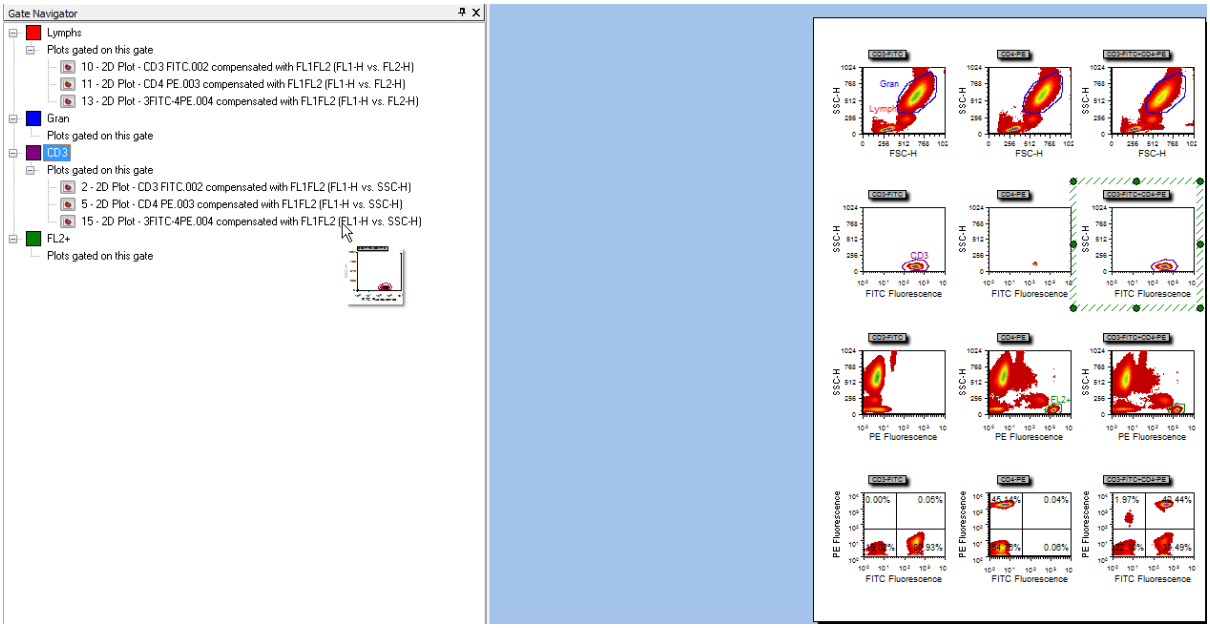


图T13.10 Application of the CD3 Gate to the 2D Density Plot of CD4-PE (FL1-H vs. SSC-H) (**把**CD3**门应用到二维密度图**CD4-PE (FL1-H vs. SSC-H)**上**)

7. 请重复第1步到第3步。

8. 当门**CD3**拖到版面中第二行最后一列的二维绘图CD3- FITC+ CD4- PE(FITC fluorescence对SSC- H作图)上时，请松开鼠标。

这时二维绘图和**Gate Navigator(门导航器)**会同时更新，显示**CD3**门被应用到了绘图CD3- FITC+ CD4- PE (FITC fluorescence vs. SSC- H)上，如图T13.11所示。



图T13.11 Application of the CD3 Gate to the 2D Density Plot of CD3-FITC+CD4-PE (FL1-H vs. SSC-H) (**把**CD3**门应用到二维密度图** CD3-FITC+CD4-PE (FL1-H vs. SSC-H)**上**)

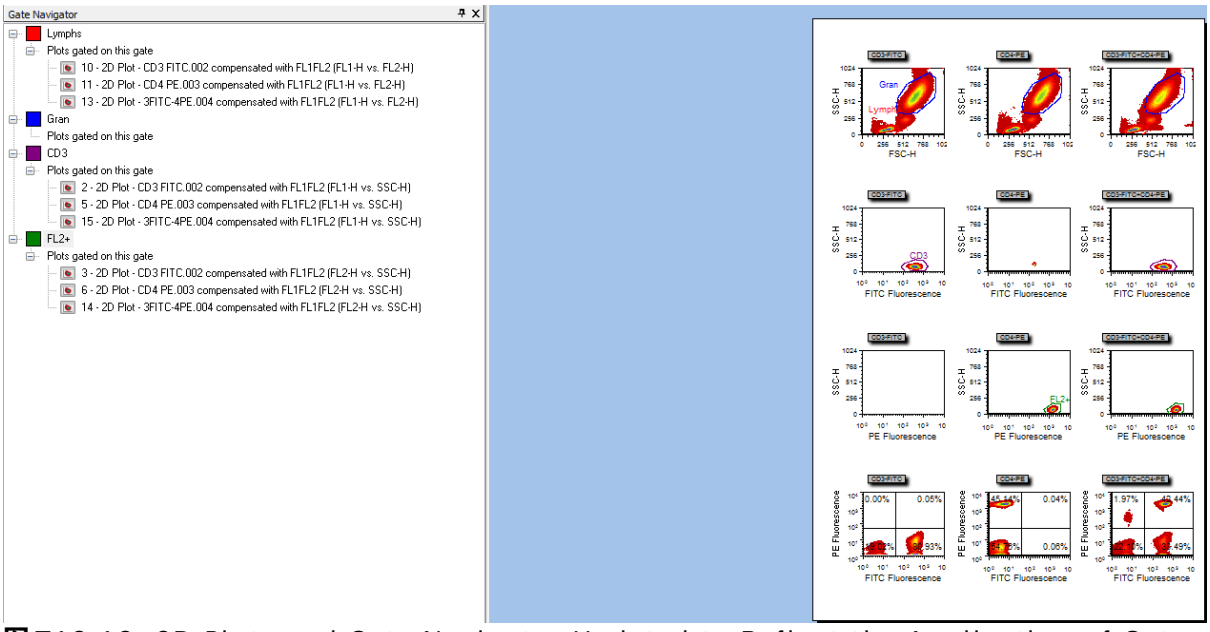
现在我们将把**FL2+** 门应用到版面中第三行的二维绘图PE Fluorescence对SSC- H作图上。

9. 请把光标放在**Gate Navigator(门导航器)**的**FL2+** 门上。
10. 按下鼠标左键不放。
11. 请把门**FL2+** 向版面上拖动。
12. 当门**FL2+** 拖到绘图上第三行第一列的二维密度图CD3- FITC(PE fluorescence对SSC- H作图)上时，请松开鼠标。

这时二维绘图和**Gate Navigator(门导航器)**会同时更新，显示**FL2+** 门被应用到绘图CD3- FITC(PE Fluorescence对SSC- H作图)上。我们现在将把门**FL2+** 应用到其它的PE Fluorescence与SSC- H的二维绘图上。

13. 请重复第9步到第11步。
14. 当门**FL2+** 移到版面上第三行中间一列的二维密度图CD4- PE(PE fluorescence对SSC- H作图)上时，请松开鼠标。
15. 请重复第9步到第11步。
16. 当门**FL2+** 移到二维密度图CD3- FITC+ CD4- PE(PE fluorescence与SSC- H作图)上时，请松开鼠标。

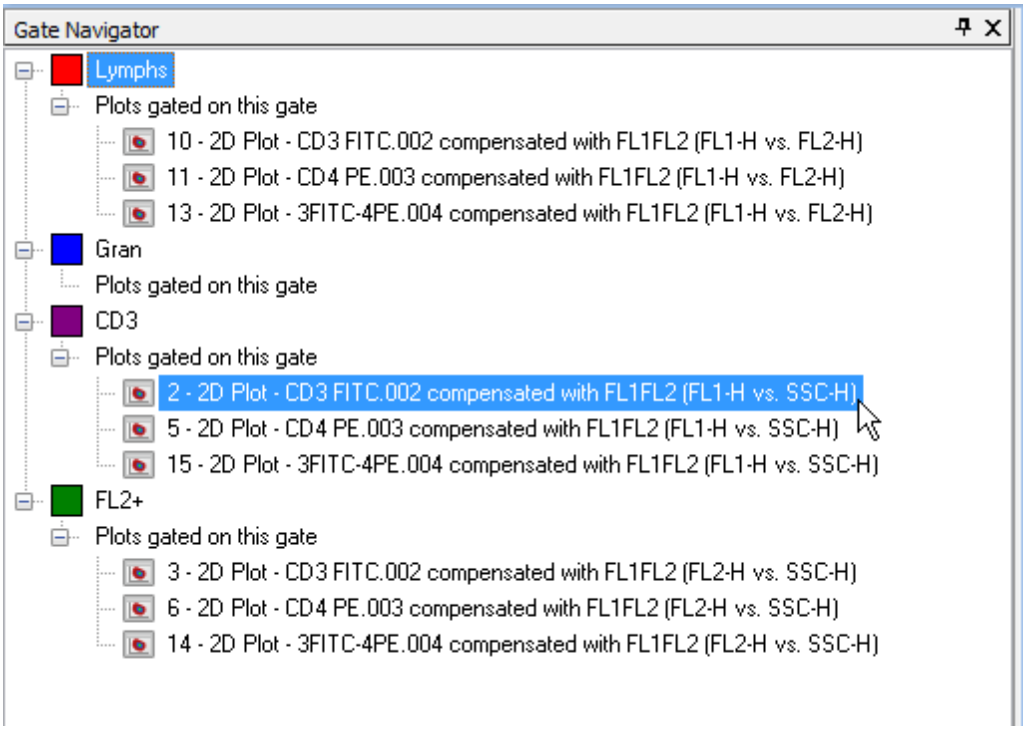
版面上的二维绘图和**Gate Navigator(门导航器)**看起来应该如图T13.12所示。



图T13.12 2D Plots and Gate Navigator Updated to Reflect the Application of Gates (**更新了的门导航器，显示门的使用情况**)

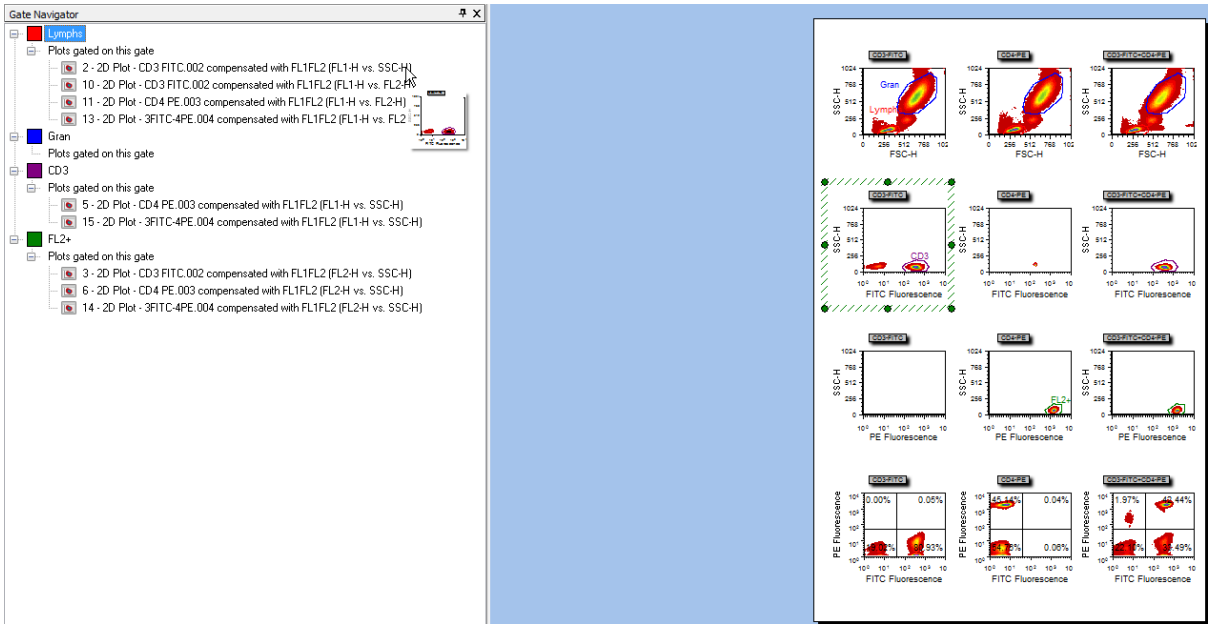
既然我们有这么多的使用了门的二维绘图，我们可以在**Gate Navigator(门导航器)**上对门进行拖放，以修改哪些绘图使用哪个门。我们现在将只使用门导航器来把**Lymphs**门放在正在使用**CD3**门的二维绘图上。

17. 请把光标放在**Lymphs**门上，如图T13.13中的蓝色高亮所示。
18. 按下鼠标左键不放。
19. 请在**Gate Navigator(门导航器)**上把**Lymphs**门向下拖。
20. 当**Lymphs** 门在列表中**2D plot – CD3 FITC.002 (FL1- H vs. SSC- H)**绘图(如图T13.13中的光标和蓝色高亮所示)上时，请松开鼠标。



图T13.13 Dragging and Dropping the Lymphs Gate on the Gate Navigator (**在门导航器上拖放**Lymphs**门**)

仅仅通过在**Gate Navigator(门导航器)**上对门进行拖放操作，**Lymphs**门已经被应用到了二维绘图CD3- FITC.002(FL1- H对SSC- H作图)上。更新过的二维绘图带有绿色边框；更新过的**Gate Navigator(门导航器)**绘图列表如图T13.14中的光标和缩略图所示。



图T13.14 Updated Gate Navigator and Layout Reflect the Application of the Lymphs Gate (**更新过的门导航器和更新过的版面显示**Lymphs**门的使用情况**)

除了在绘图上拖放**Lymphs**门外，我们也可以使用相应的弹出菜单。

我们现在将使用**Gate Navigator(门导航器)**来把绘图移到版面中的一个新页面上。首先，我们要在版面中插入一个新页面。

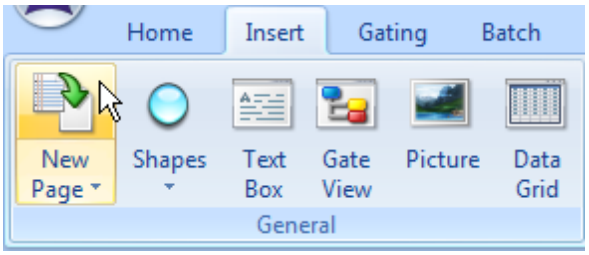
21. 请点击位于版面底部的插入新页面图标，如图T13.15中的光标所示。



图T13.15 Insert New Page (**插入新页面**)

或者可以用插入命令，来插入一个新的版面。

- 请选择**Insert(插入)→General(常规)→New Page(新页面)**命令，如图T13.16中的光标所示。



图T13.16 Selecting the Insert New Page Command (**选择插入新页面命令**)

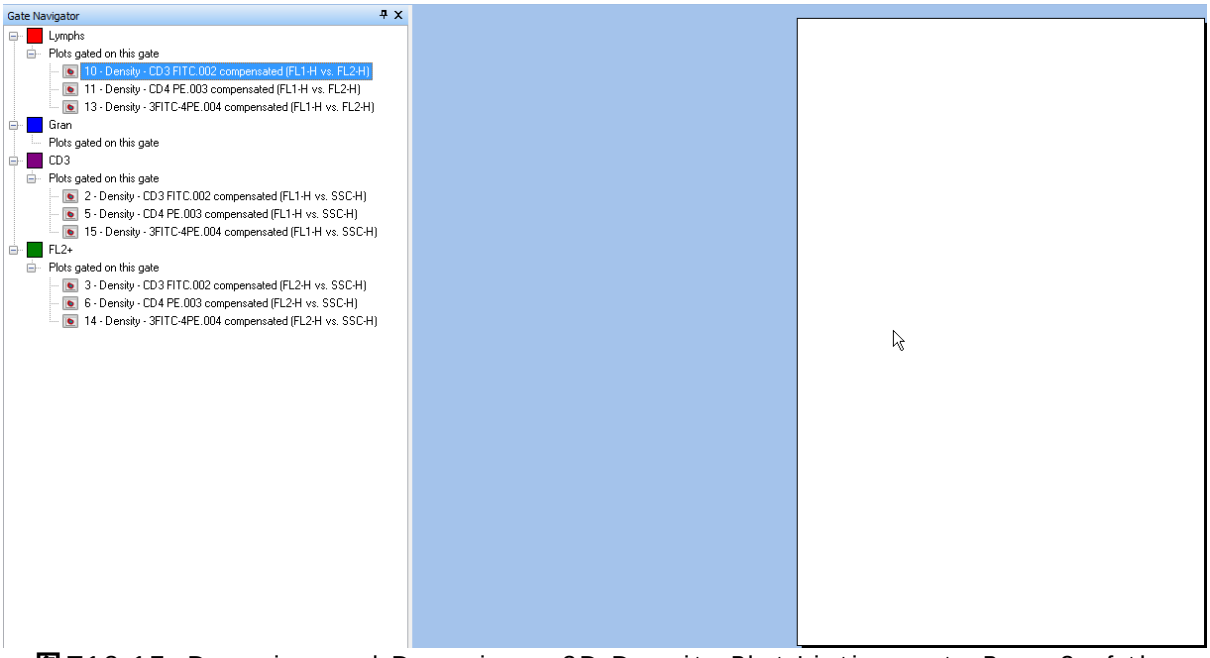
这时在版面中会出现一个新页面。

22. 请把光标放在**Data Navigator(数据导航器)**上**Lymphs**门下的二维密度图**CD3FITC.002 (FL1- H vs. FL2- H)**上，如图T13.17中的蓝色高亮所示。

23. 按下鼠标左键不放。

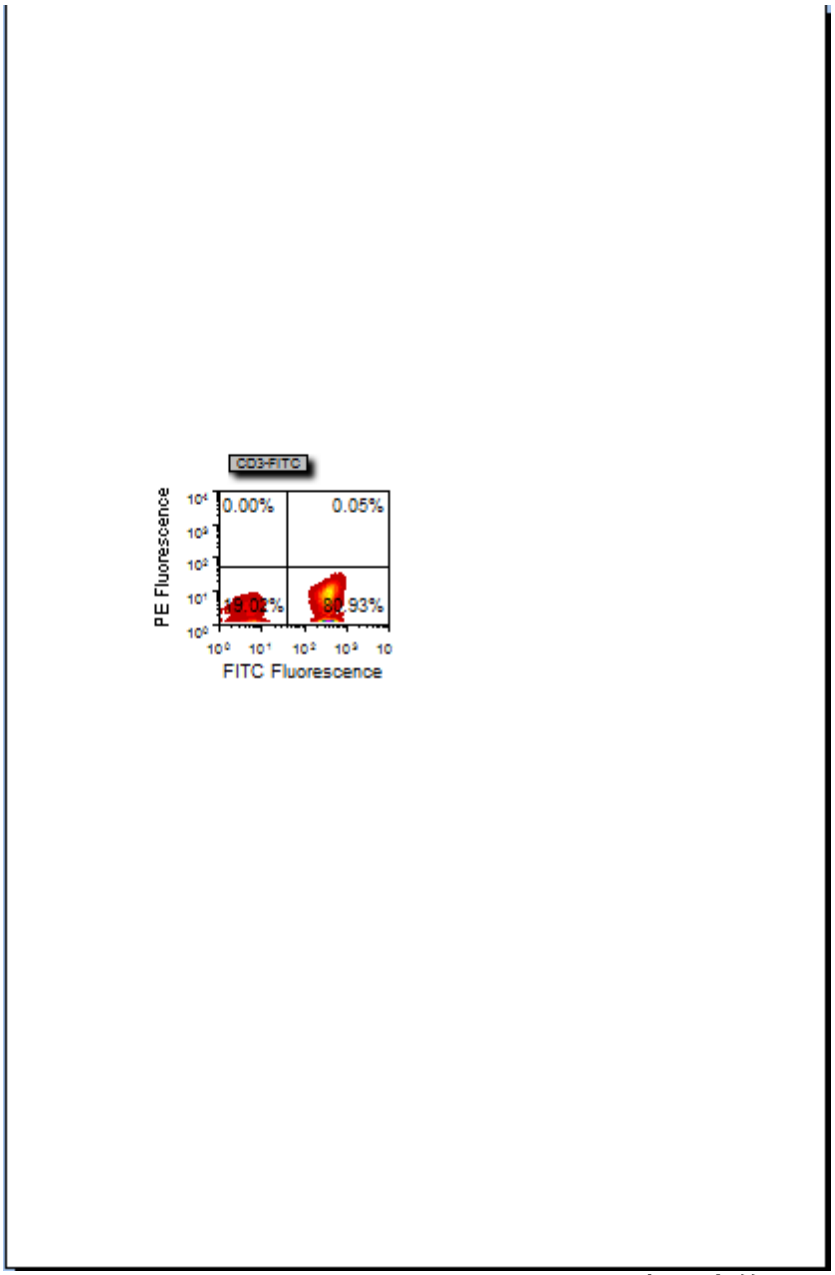
24. 请把绘图从**Gate Navigator(版面导航器)**上拖到版面中的第2页上。

25. 当绘图在第2页上时(如图T13.17所示)，请松开鼠标。



图T13.17 Dragging and Dropping a 2D Density Plot Listing onto Page 2 of the Layout (**把二维密度图从门导航器上拖放到版面中的第2页上**)

这时应用**Lymphs**的二维密度图CD3FITC.002 (FL1- H对FL2- H作图)便出现在版面中的第2页上，如图T13.18所示。



图T13.18 2D Plot on Page 2 of the Layout (**版面中第**2**页上的二维绘图**)

36.14 版面导航器

Layout Navigator(版面导航器)呈现给用户一个对于整个版面的概览。版面导航器以结构层次的方式显示出版面中的所有页面以及每个页面上的绘图和数据文件。**Layout Navigator(版面导航器)**同时可让用户在版面内部对绘图及与其相关的门进行操作。例如，仅仅通过在**Layout Navigator(版面导航器)**上拖放绘图图标，用户便可以把绘图从一个页面移向另一页面。

在本章中，我们将:

- 打开并停靠**Layout Navigator(版面导航器)**。
- 学习**Layout Navigator(版面导航器)**的功能以及如何使用这些功能。具体地说，我们将使用**Layout Navigator(版面导航器)**来:
  - o 把一个门应用到一个绘图上。
  - o 如何在柱状图上添加一个叠加图层。
  - o 插入新的绘图。
  - o 把绘图从一个页面移到另一个页面。

36.14.1 *打开以及停靠*

首先，我们将打开一个以前保存的版面，版面中的多个版面上有一些绘图和门。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请打开教程样本数据库510中的**LayoutNavigator.fey**版面。

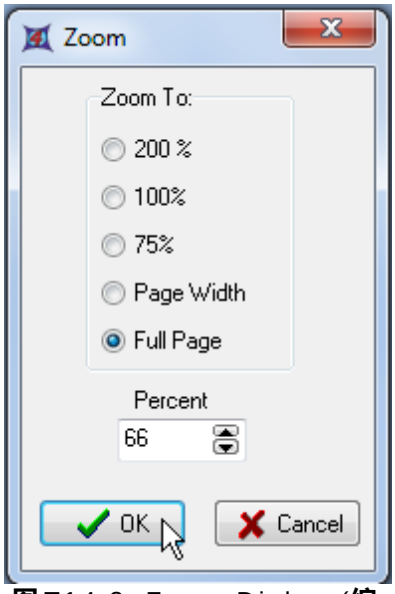
这时会出现这个版面。但我们看不见其中的一部分版面，因此我们需要使用缩放功能，来在屏幕上显示整个版面页。

3. 请点击屏幕左下角的缩放工具栏中的**Zoom(缩放)**图标(如图T14.1中的光标所示)。



图T14.1 Zoom Icon (**缩放图标**)

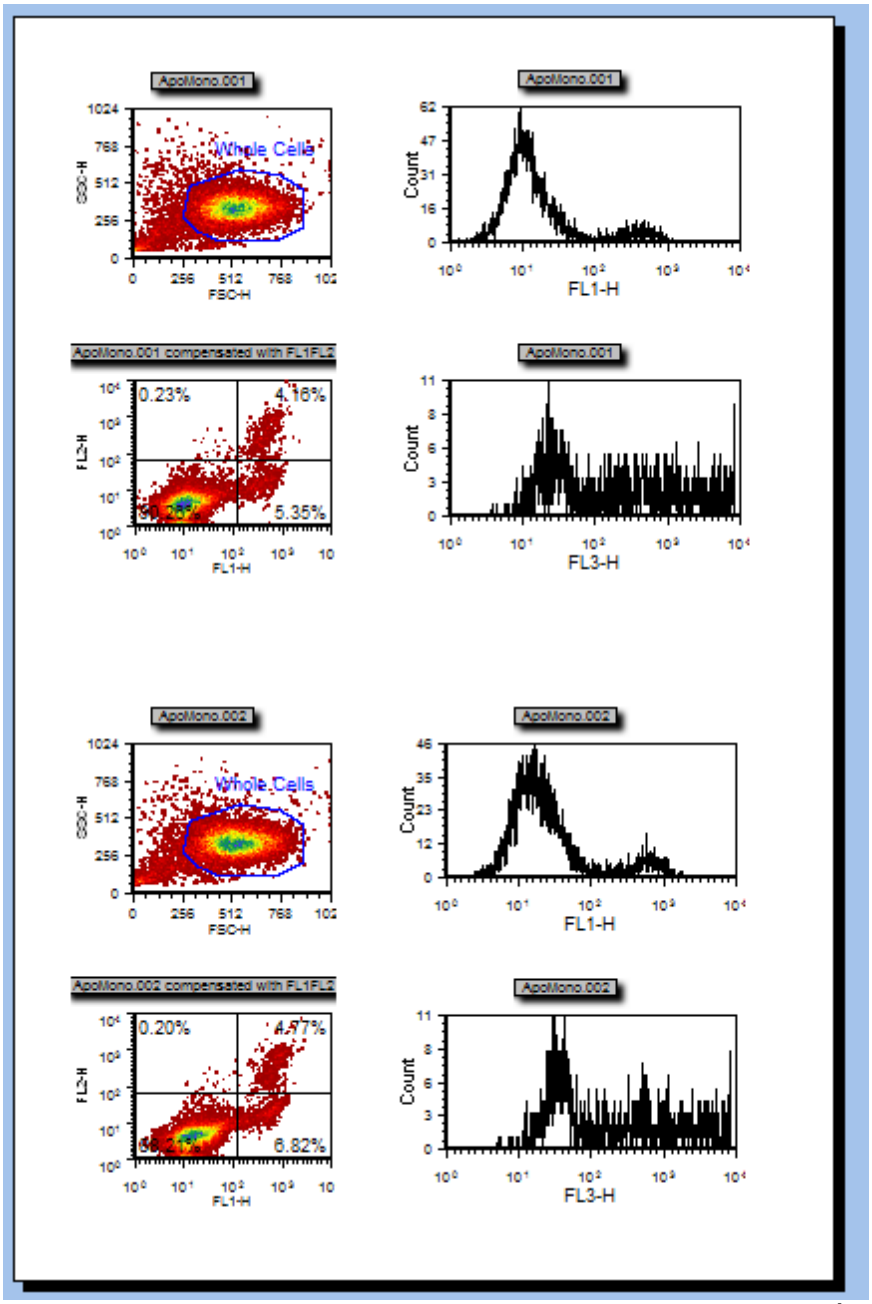
这时会出现**Zoom(缩放)**对话框，如图T14.2所示。



图T14.2 Zoom Dialog (**缩放对话框**)

4. 请选择**Full Page(整个页面)**。
5. 请点击**OK**。

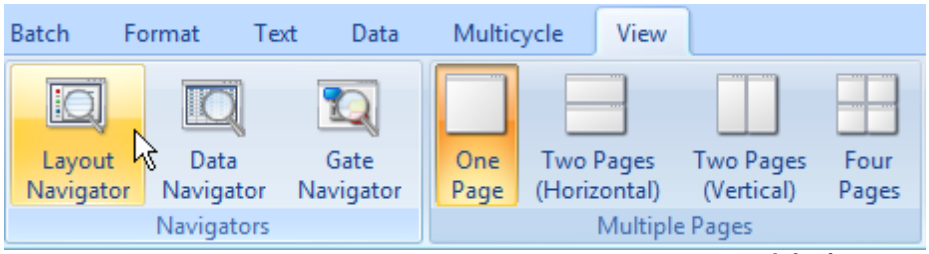
这时版面页会进行更新，显示整个版面页，如图T14.3所示。注意到屏幕底部的标签(图T14.1)显示，在版面中有两个页面。



图T14.3 Layout Navigator Layout (LayoutNavigator.fey) (**版面导航器版面**(LayoutNavigator.fey))

我们现在将打开**Layout Navigator(版面导航器)**。

6. 请选择**View(视图)→Navigators(导航器)→Layout Navigator(版面导航器)**命令(图T14.4)。



图T14.4 Selecting the Layout Navigator Command (**选择版面导航器命令**)

这时会出现**Layout Navigator(版面导航器)**。我们现在要把它停靠到版面的右侧。要更好地学习如何停靠，请参见停靠教程748。

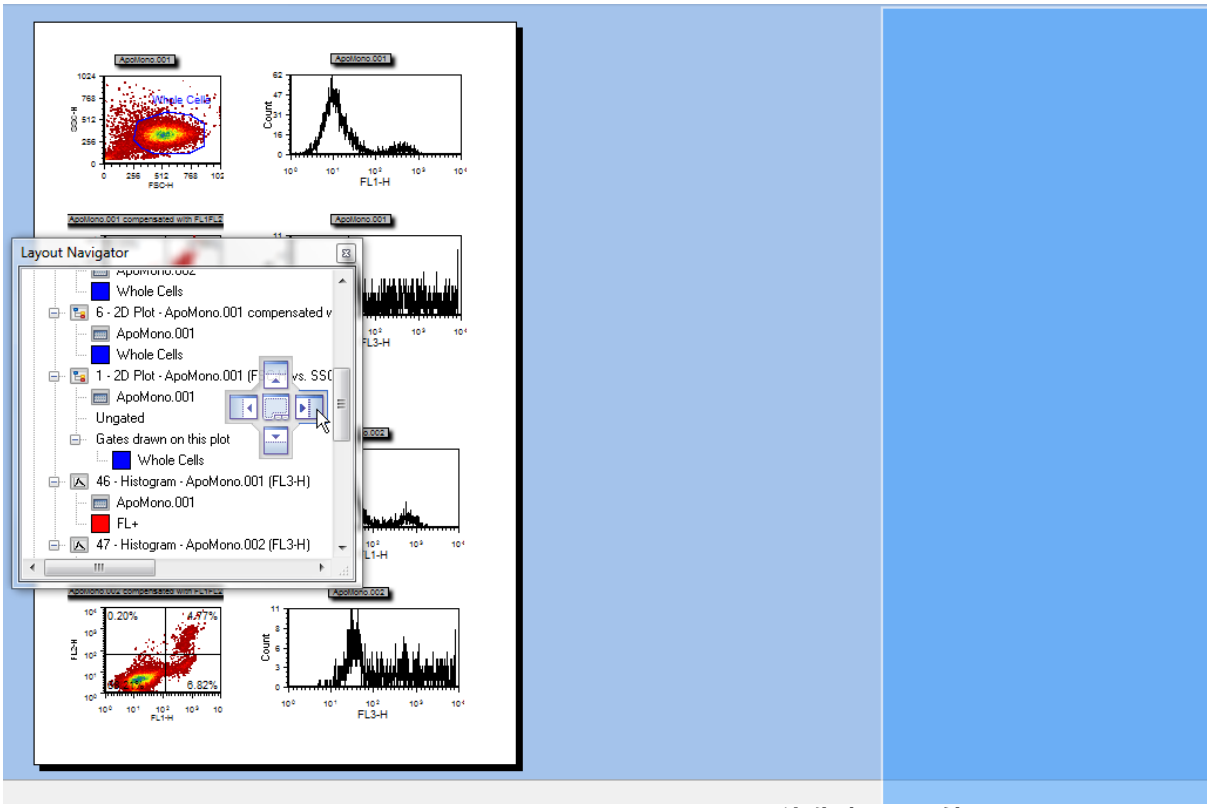
7. 请把鼠标放在**Layout Navigator(版面导航器)**窗口的上边界上。

8. 请按下鼠标左键不放，移动**Layout Navigator(版面导航器)**窗口。

开始移动**Layout Navigator(版面导航器)**窗口后，在版面的中心会出现一个四向箭头的停靠图标，如图T14.5所示。

9. 请继续按住鼠标不放，把**Layout Navigator(版面导航器)**移向停靠图标的向右的箭头。

10. 当光标在停靠图标的右向箭头上时，请松开鼠标键，如图T14.5中的光标所示。光标移动到正确的位置上时，在版面的右侧会出现一个蓝色的矩形，指示出将要停靠的位置。.

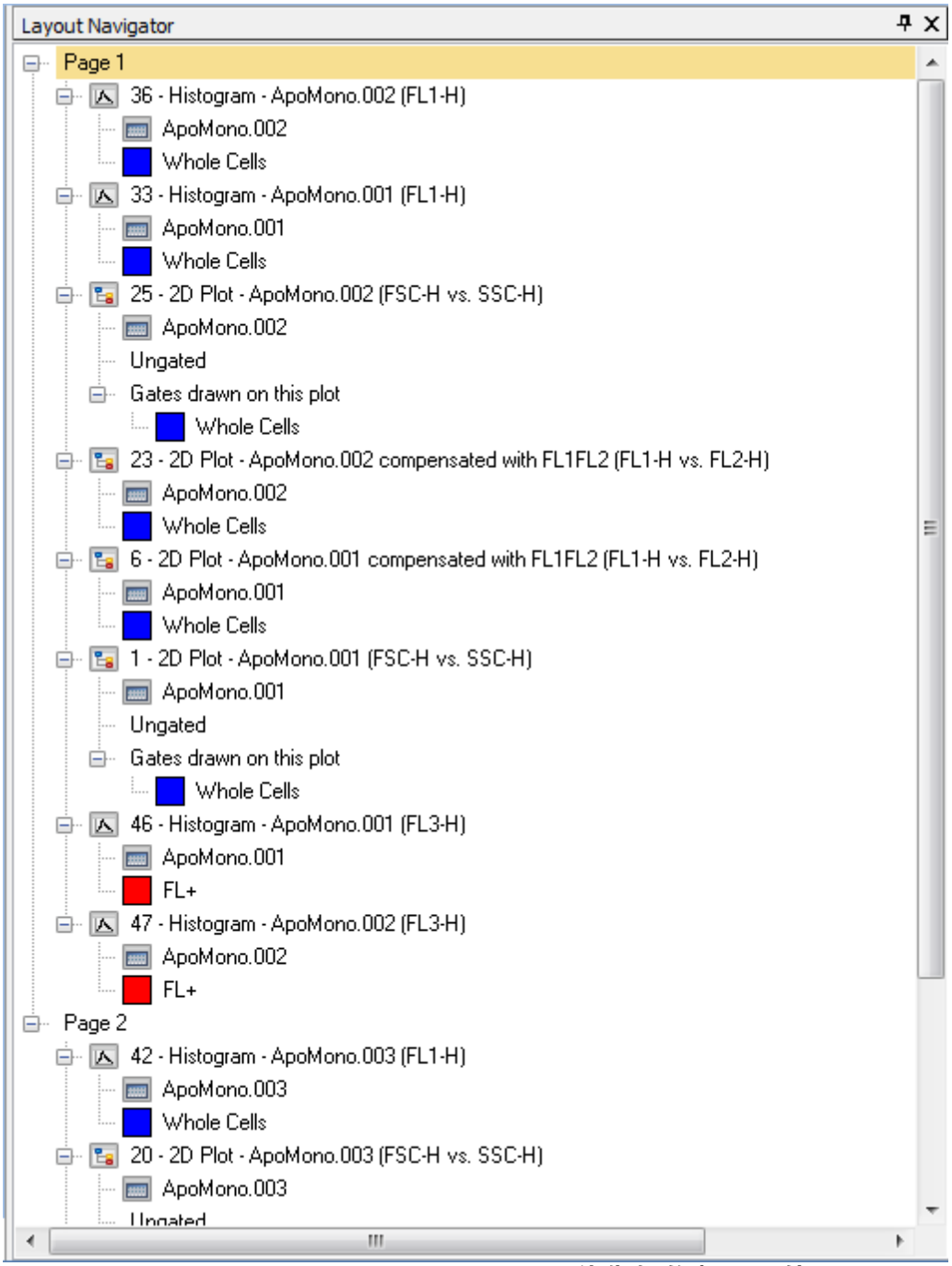


图T14.5 Docking the Layout Navigator (**停靠版面导航器**)

Layout Navigator(版面导航器)现在就被停靠到了版面的右侧。但我们看不到所有的文本，所以我们将调整停靠窗口的大小，把它变宽一些。

11. 请把光标移到已停靠的**Layout Navigator(版面导航器)**的左侧边界上。
12. 请慢慢地把鼠标移动到导航器的边框上，直到出现调整大小图标。
13. 在把边框向左拖的过程中，请不要松开鼠标。
14. 当可停靠窗口大到可以显示**Layout Navigator(版面导航器)**中的所有文本时，请松开鼠标键，如图T14.6所示。
15. 请使用已停靠的窗口右侧上的滚动条，来到**Layout Navigator(版面导航器)**的顶部。

这时停靠着的**Layout Navigator(版面导航器)**应该看起来如图T14.6所示。



图T14.6 Docked Layout Navigator (**停靠好的版面导航器**)

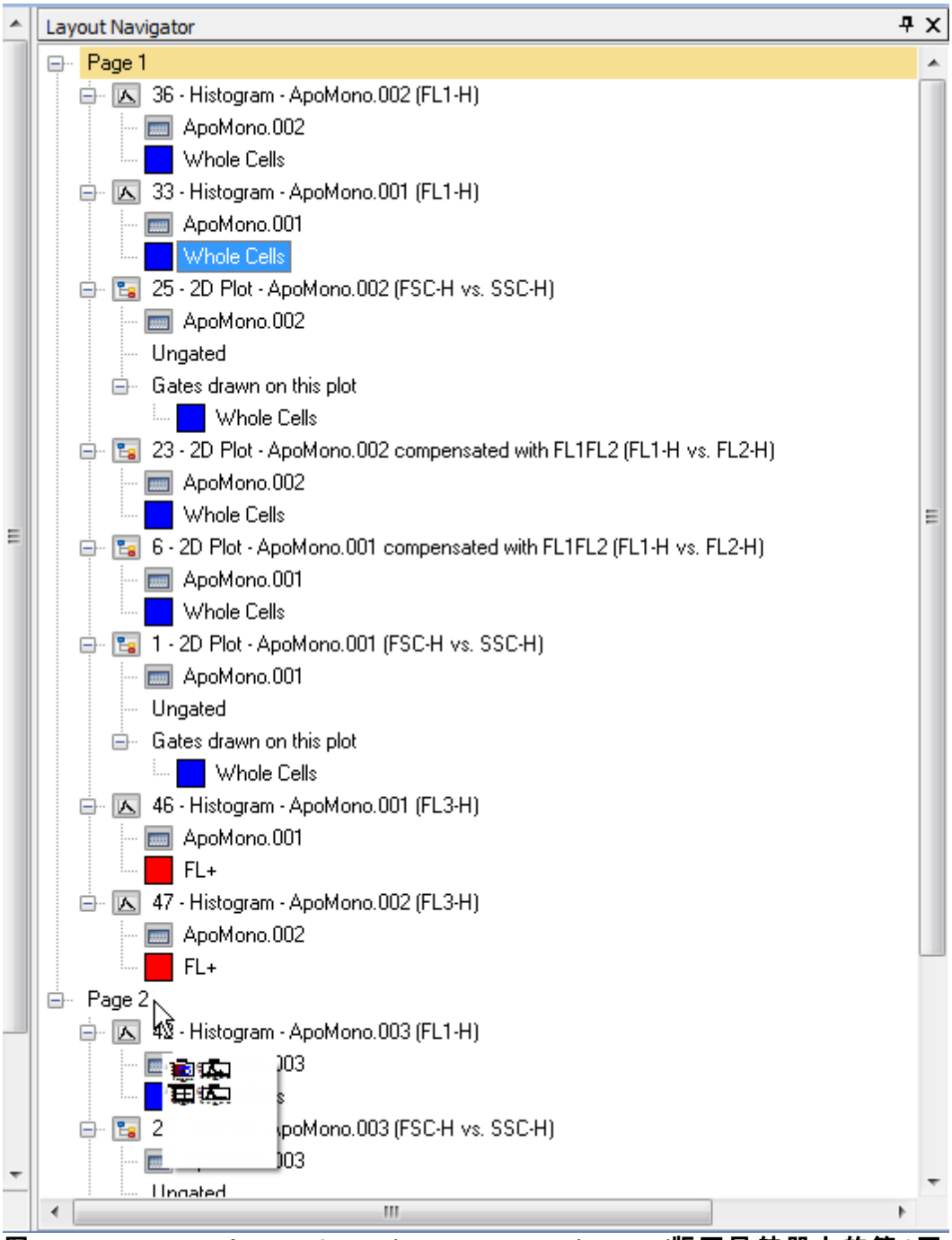
36.14.2 *版面导航器功能*

Layout Navigator(版面导航器)的组织方式是根据版面页来组织。注意到当前页(第1页)

被高亮显示，如图14.7所示。在这一页下列出了该页上的所有绘图。每一个绘图下列出了文件名、应用的门以及其它信息。现在我们将探讨**Layout Navigator(版面导航器)**的众多功能。

1. 请把鼠标移到**Layout Navigator(版面导航器)**上的**Page 2(第2页)**上，如图T14.7中的光标所指。

这时会显示实际版面页的一个缩略图，如图T14.7所示。这是一个快速地查看版面上绘图的方式(特别当该绘图不处在可见状态时)。这个缩略图功能也适用于**Layout Navigator(版面导航器)**上的绘图列项。当把鼠标放在**Layout Navigator(版面导航器)**上的绘图列项上时，会出现一个该绘图的缩略图。

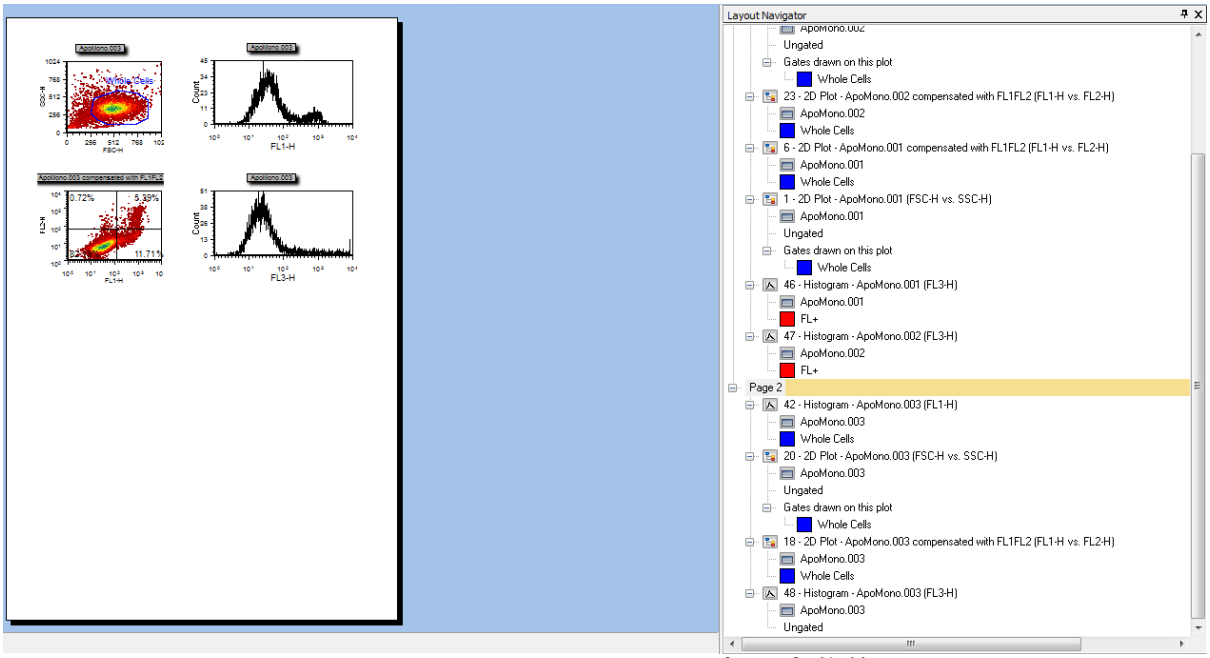


图T14.7 Image of Page 2 on the Layout Navigator (**版面导航器上的第**2**页的图像**)

2. 请在**Layout Navigator(版面导航器)**上点击**Page 2(第2页)**。

这时会出现版面的第2页，上面有四个绘图，如图T14.8所示。这是另外一种在版面上改变正在显示的页面的方式。该页面看起来正如前面在**Layout Navigator(版面导航器)**上显示的

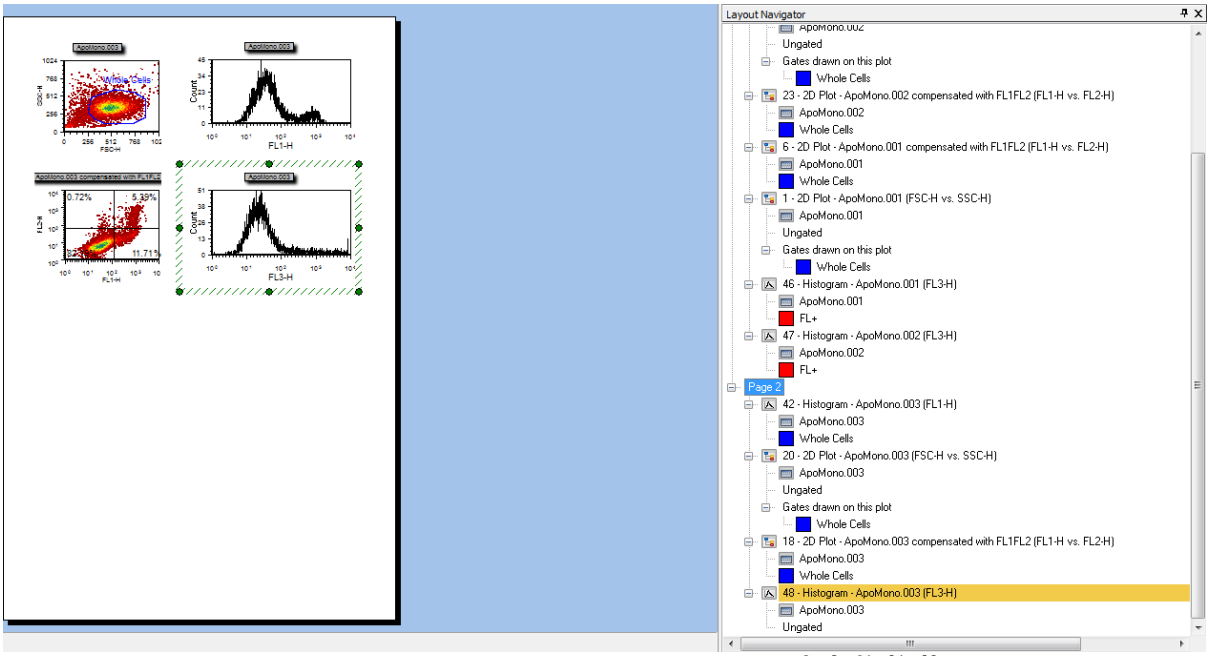
缩略图(图T14.7)一模一样。同时也请注意，现在在**Layout Navigator(版面导航器)**上高亮显示的是第2页，表明它是当前呈现在用户面前的页面。



图T14.8 Page 2 of the Layout (**版面中的第**2**页**)

3. 请选中版面右下角的柱状图ApoMono.003 FL3- H(图T14.9)。

注意到**Layout Navigator(版面导航器)**上的柱状图ApoMono.003 (FL3- H)现在被高亮显示，如图T14.9。



图T14.9 ApoMono.003 (FL3-H) Histogram Selected (**选中的柱状图**ApoMono.003 (FL3-H))

和其它FL3- H柱状图不同，这一柱状图没有使用**FL+** 门。我们现在就使用**Layout Navigator(版面导航器)**来把门**FL+** 应用到柱状图ApoMono.003 (FL3- H)上。

4. 请把光标放在**Layout Navigator(版面导航器)**里的第1页上的**Histogram – ApoMono.002 (FL3- H)**下面的**FL+** 门上，如图T14.10中高亮显示为蓝色的一项。

5. 请按下鼠标左键不放。

6. 请不要松开鼠标，把**FL+** 门拖向**Layout Navigator(版面导航器)**里第2页上的**Histogram – ApoMono.003 (FL3- H)**柱状图。

7. 当门**FL+** 拖到**Histogram – ApoMono.003 (FL3- H)**上时，请松开鼠标，如图T14.10中的高亮和光标所示。

8. 请点击Undo(撤销)，把门从柱状图上删除。

另外一种把门应用到柱状图的方法是直接从**Layout Navigator(版面导航器)**上把门拖到版面中的柱状图上。

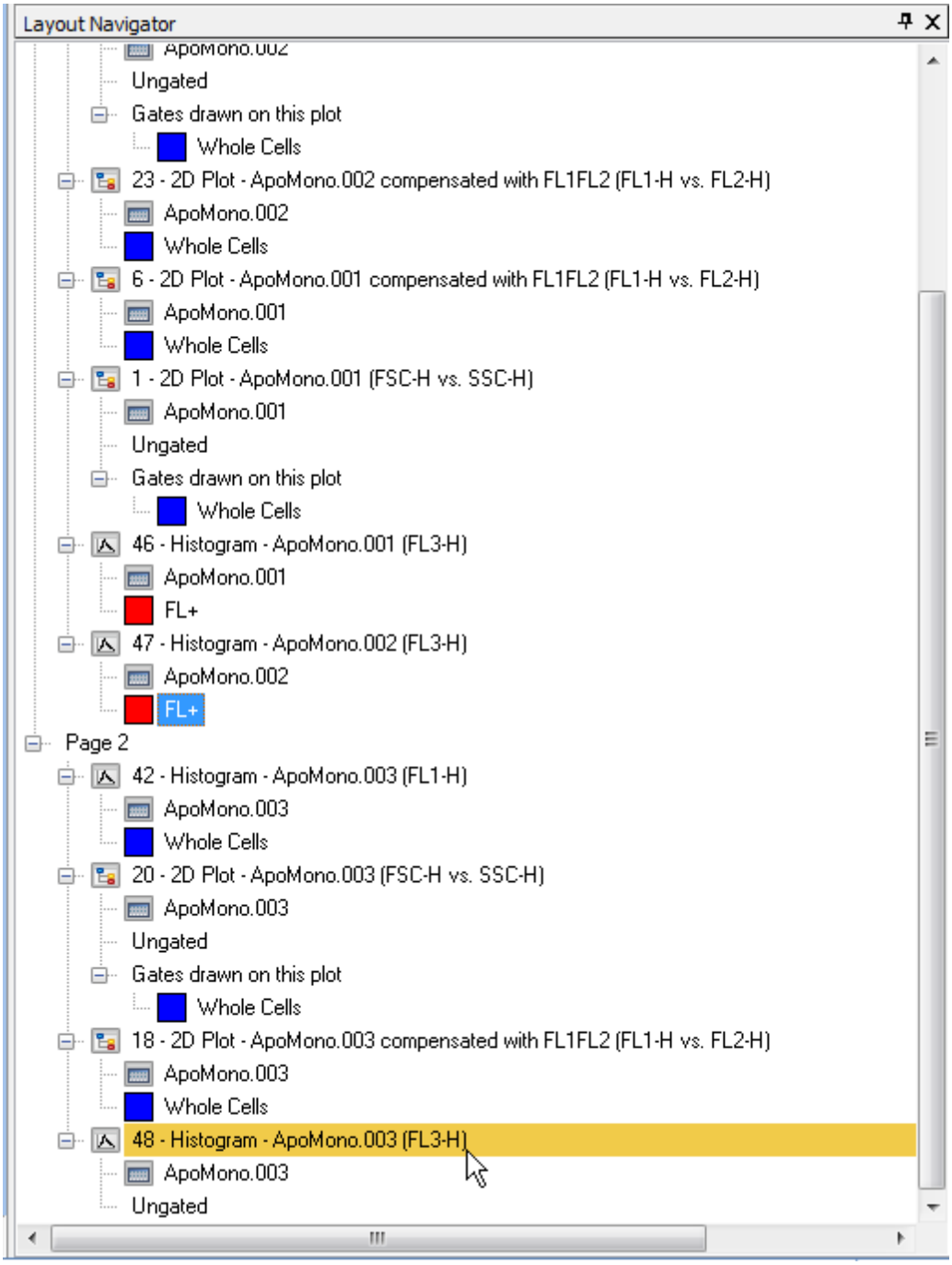
A. 请点击**Layout Navigator(版面导航器)**上的**Page 2(第2页)**，显示该页面。

B. 请把光标放在**Layout Navigator(版面导航器)**里的第1页上的**Histogram - ApoMono.002 (FL3- H)**下面的**FL+** 门上，如图T14.10中高亮显示为蓝色的一项。

C. 请按下鼠标左键不放。

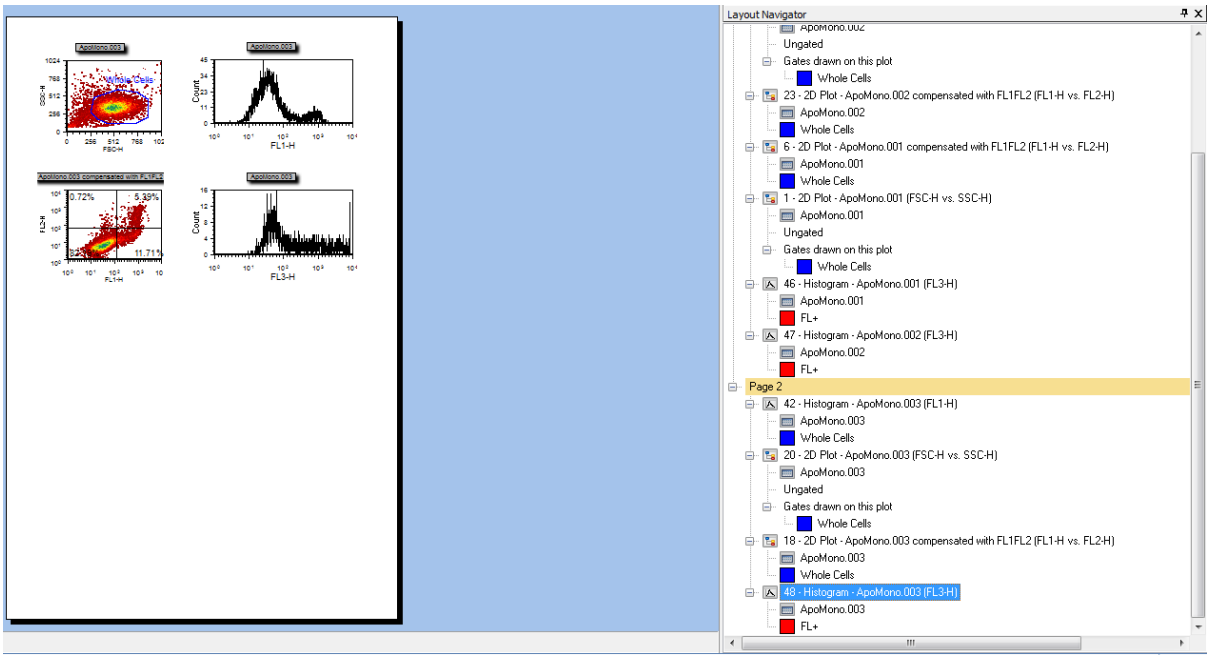
D. 请不要松开鼠标，把门**FL+** 拖到第2页上的柱状图**ApoMono.003 FL3- H**上。

E. 当FL+ 门在绘图**ApoMono.003 FL3- H**上时，请松开鼠标。



图T14.10 Dragging and Dropping the FL+ Gate onto ApoMono.003 (FL3-H) with the Layout Navigator (**使用版面导航器把门**FL+**拖到** ApoMono.003 (FL3-H)**上**)

这时柱状图ApoMono.003 (FL3- H)会相应地更新，显示已经应用了**FL+** 门，如图T14.11所示。**Layout Navigator(版面导航器)**也会相应更新，显示**FL+** 门已经被应用到了柱状图ApoMono.003 (FL3- H)上。

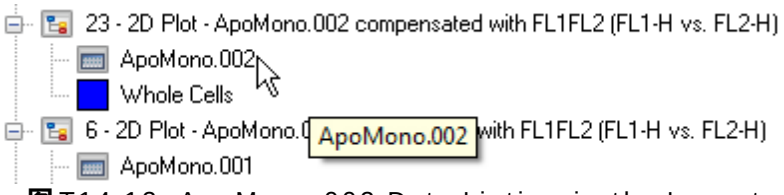


图T14.11 ApoMono.003 (FL3-H) Histogram with FL+ Gate (**使用了**FL+**门的柱状图** ApoMono.003 (FL3-H))

Layout Navigator(版面导航器)有一个强大的功能，就是可以把绘图、门以及数据从**Layout Navigator(版面导航器)**上直接拖到版面中。到此为止我们已经演示了两种通过**Layout Navigator(版面导航器)**把门应用于一个绘图上的方法。下面我们将使用**Layout Navigator(版面导航器)**来在柱状图上添加一个叠加图层。

9. 请点击**Layout Navigator(版面导航器)**上的**Page 2(第2页)**来将其显示。

10. 请把光标放在**Layout Navigator(版面导航器)**上数据**ApoMono.002**的对应项上(具体这一项在哪一个绘图下没有关系)，如图T14.12中的光标所示。



图T14.12 ApoMono.002 Data Listing in the Layout Navigator (**版面导航器里的**ApoMono.002**数据列项**)

11. 请按下鼠标左键不放。

12. 请不要松开鼠标，把ApoMono.002数据拖到版面中。

13. 当光标在柱状图ApoMono.003 FL1- H上时，请松开鼠标。

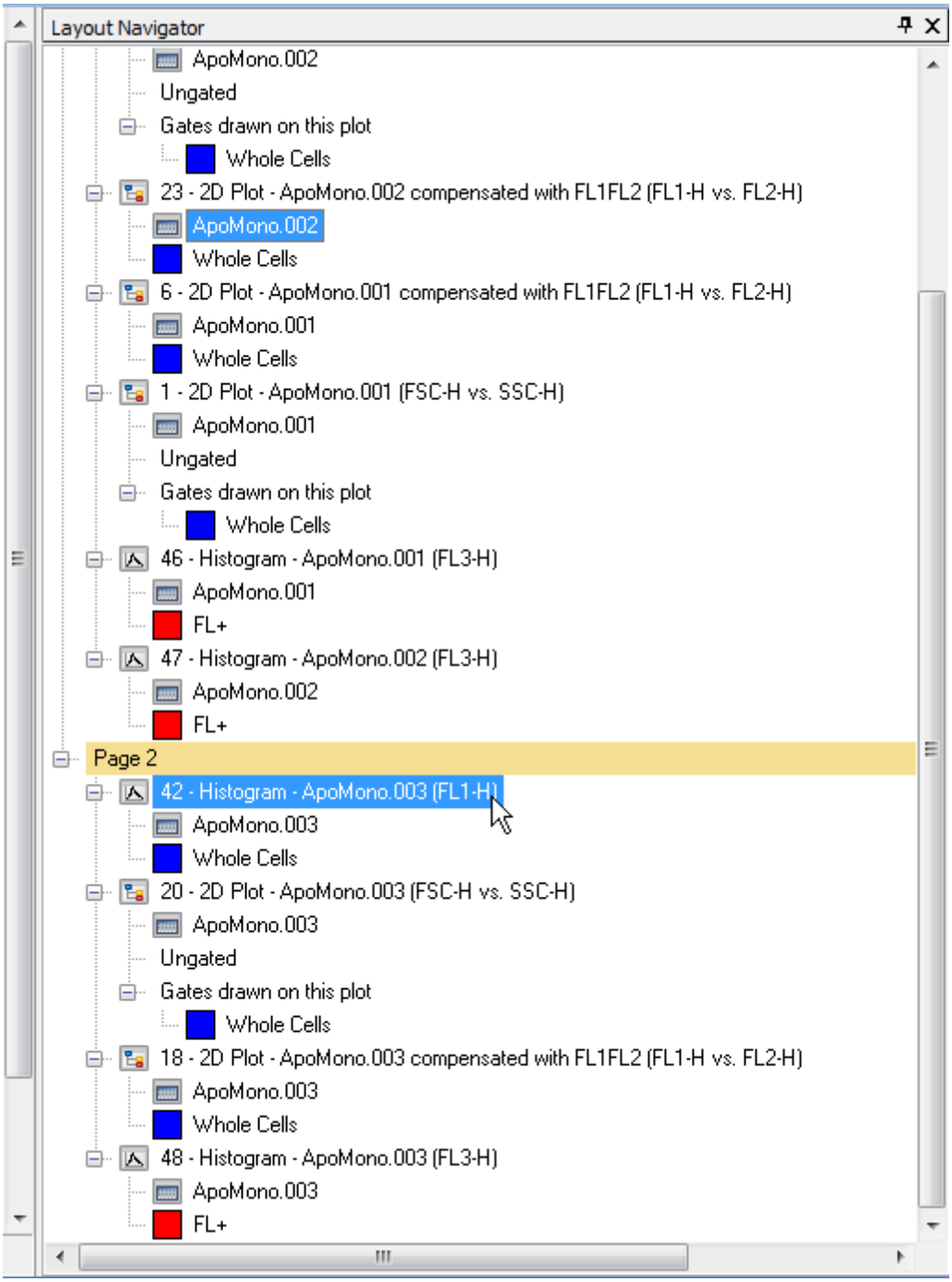
另一种方法是在**Layout Navigator(版面导航器)**上直接拖放数据。

A. 请把鼠标放在**Layout Navigator(版面导航器)**上数据ApoMono.002的对应项上，如图T14.12中的光标所示。

B. 请按下鼠标左键不放。

C. 请不要松开鼠标，在**Navigator Layout(版面导航器)**上把数据ApoMono.002拖向绘图**Histogram – ApoMono.003 (FL1- H)**对应的列项。

D. 当光标在**Histogram – ApoMono.003 (FL1- H)**绘图上时(图T14.13中高亮显示的和光标所指示的一项)，请松开鼠标。

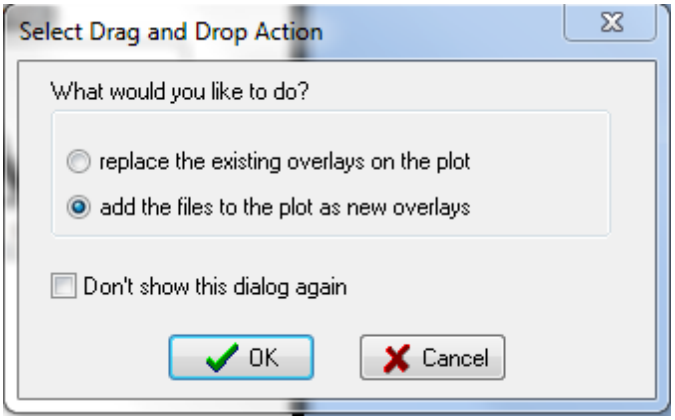


图T14.13 Dragging and Dropping ApoMono.002 Data within the Layout Navigator (**在版面导航器内拖放**ApoMono.002**数据**)

这时会出现**Select Drag and Drop Action(选择拖放操作)**对话框，如图T14.14所示。

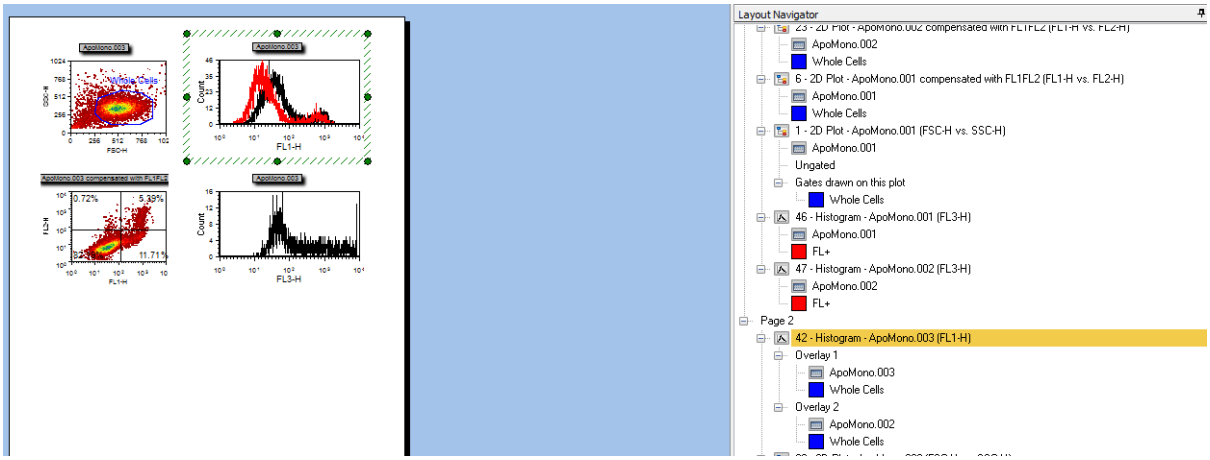
14. 请选择**add the files to the plot as new overlays(把文件作为新的叠加图层添加到绘图中)**。

15. 请点击**OK**。



图T14.14 Select Drag and Drop Action Dialog (**选择拖放操作对话框**)

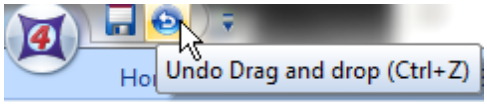
这时ApoMono.003 FL1- H柱状图会自动更新，显示ApoMono.002对应的叠加图层，如图T14.15所示。**Layout Navigator(版面导航器)**也会更新，显示在柱状图ApoMono.003 (FL1- H)上有叠加图层，如图T14.15中的高亮显示项。



图T14.15 ApoMono.003 (FL1-H) Histogram with Overlay of ApoMono.002 Data (ApoMono.003 (FL1-H)**柱状图上的**ApoMono.002**叠加图层**)

我们现在将取消这个添加数据层的操作。

16. 请点击**Quick Access Toolbar(快捷工具条)**上的**Undo(撤销)**图标(图T14.16)。

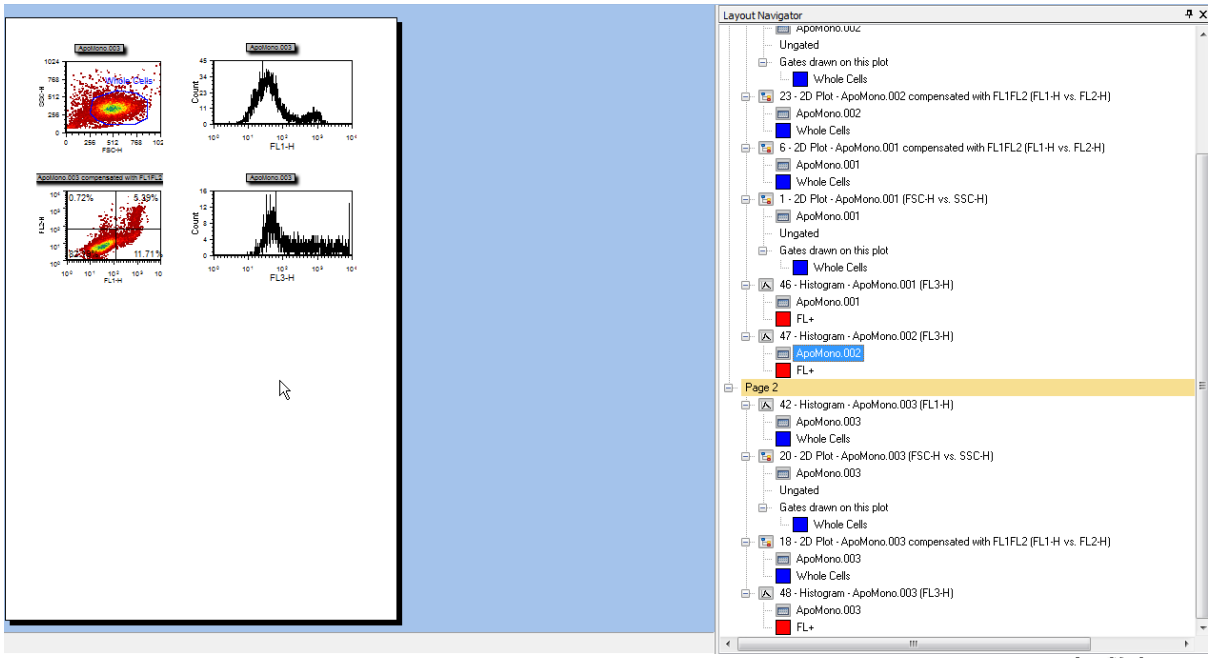


图T14.16 Undo Drag and Drop (**撤销拖放操作**)

这时柱状图ApoMono.003 FL1- H会自动更新，显示叠加图层已被移除。

我们现在要使用**Layout Navigator(版面导航器)**来在版面中的第2页上插入一个新的绘图。

17. 如果第2页不是当前显示的页面，请在**Layout Navigator(版面导航器)**上点击**Page 2(第2页)**。
18. 请把光标放在**Layout Navigator(版面导航器)**上数据**ApoMono.002**的对应项上(具体这一项在哪一个绘图下没有关系)，如图T14.17中的蓝色高亮所示。
19. 请按下鼠标左键不放。
20. 请不要松开鼠标，把ApoMono.002数据拖到版面中的第2页上。
21. 当光标在版面上的一处空白区域时(如图T14.17中的光标所示)，请松开鼠标。

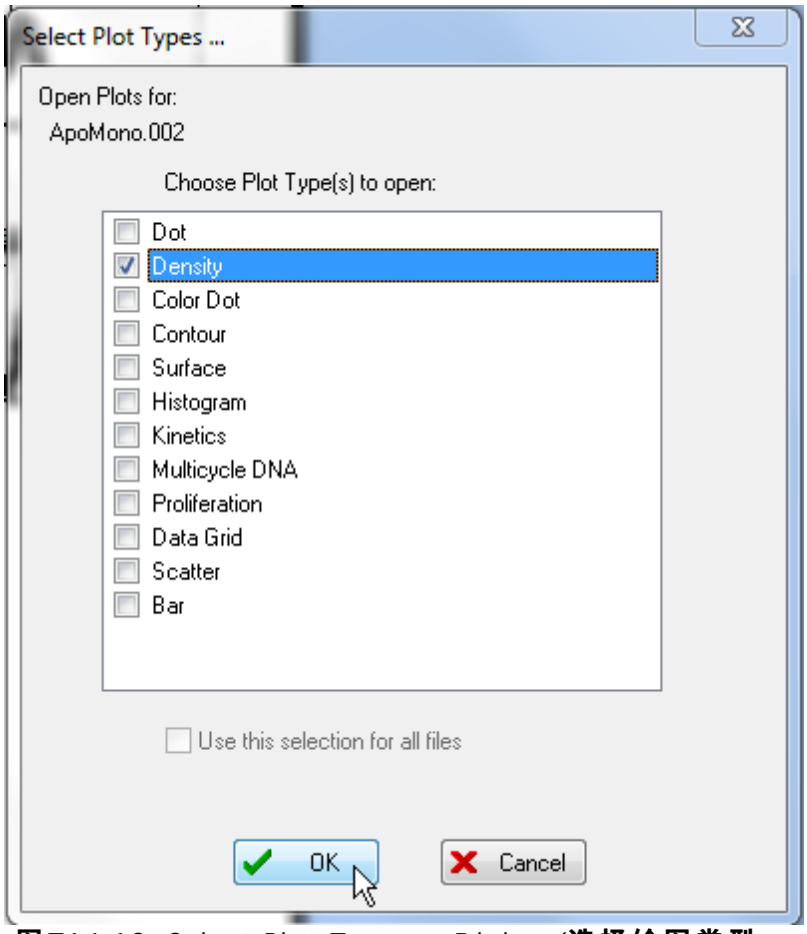


图T14.17 Dragging and Dropping ApoMono.002 Data onto the Layout (**把数据ApoMono.002拖放到版面上**)

这时会出现**Select Plot Types…(选择绘图类型...)**对话框，如图T14.18所示。

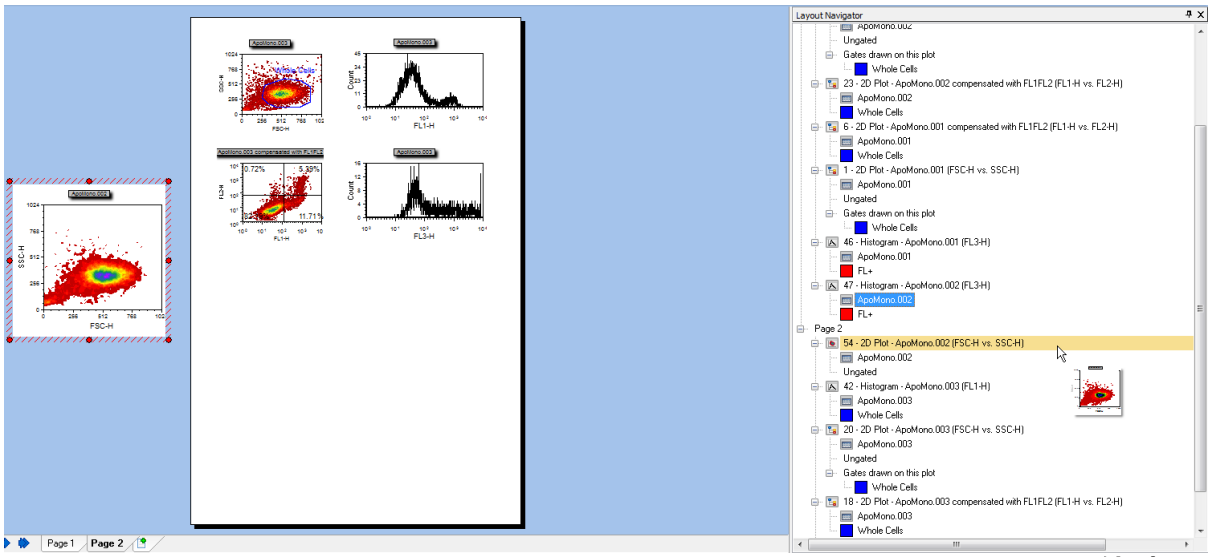
22. 请选择**Density(密度图)**来打开数据ApoMono.002(图T14.18)。

23. 请点击**OK**。



图T14.18 Select Plot Types... Dialog (**选择绘图类型...对话框**)

这时在版面上会出现一个对应于ApoMono.002数据文件的密度图，图中使用FSC和SSC作为默认参数。**Layout Navigator(版面导航器)**也会更新，显示在版面上的第2页插入了一个二维绘图，如图T14.19中的光标所示。



图T14.19 Density plot of ApoMono.002 with Updated Layout Navigator (**针对**ApoMono.002**的密度图以及更新过的版面导航器**)

现在让我们取消对这个二维绘图的插入操作。

24. 请在**Quick Access Toolbar(快捷工具条)**上点击**Undo(撤销)**图标，如前图T14.16所示。

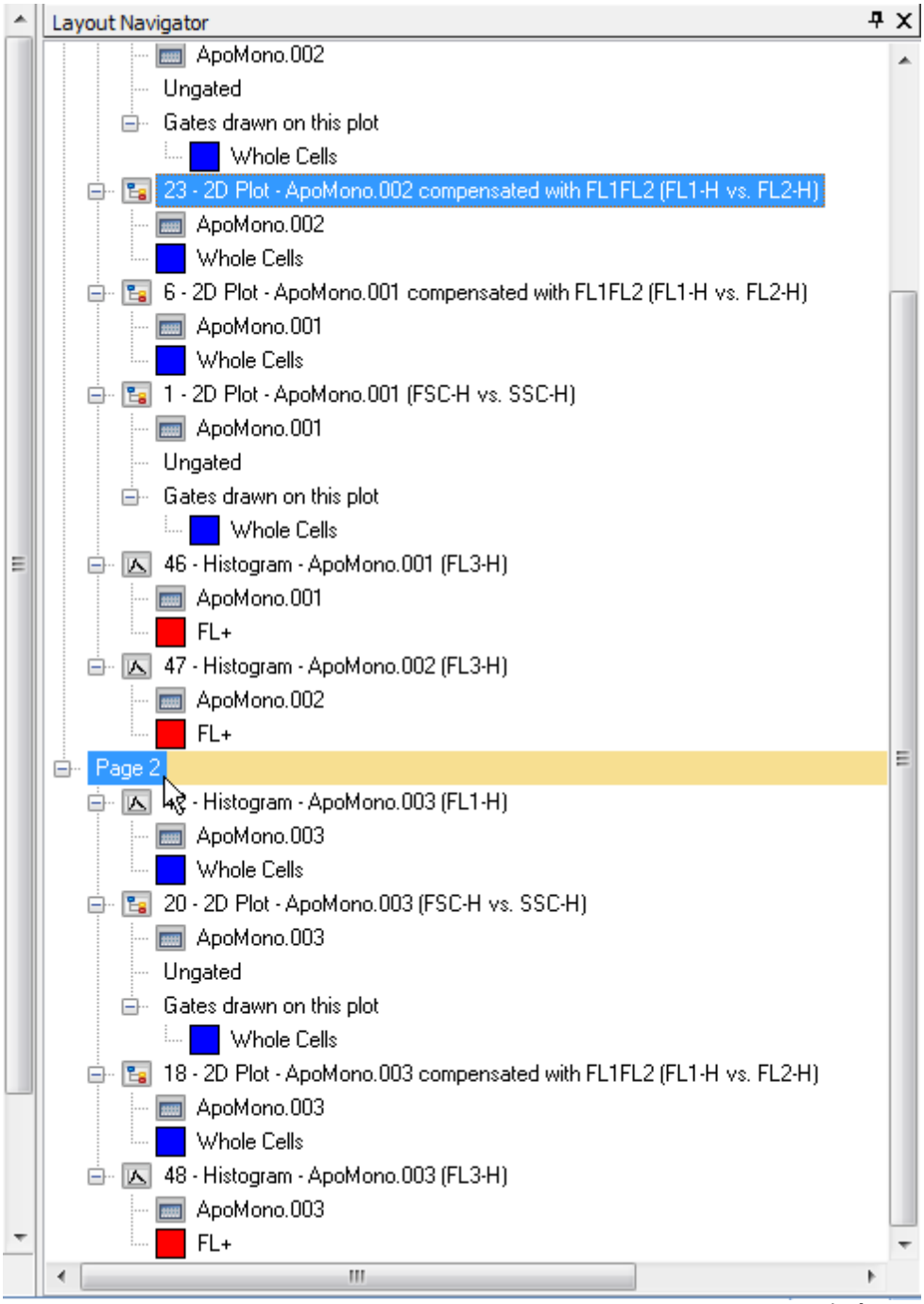
我们现在将使用**Layout Navigator(版面导航器)**，把绘图从一页移到另一页。

25. 请把光标移到**2D Plot – ApoMono.002 compensated with FL1FL2 (FL1- H vs. FL2- H)**上，如图T14.20中的蓝色高亮所示。

26. 请按下鼠标左键不放。

27. 请不要松开鼠标，在**Layout Navigator(版面导航器)**上把这个二维绘图向下移。

28. 当光标在**Layout Navigator(版面导航器)**上的**Page 2(第2页)**上时，请松开鼠标，如图T14.20中的光标所示。

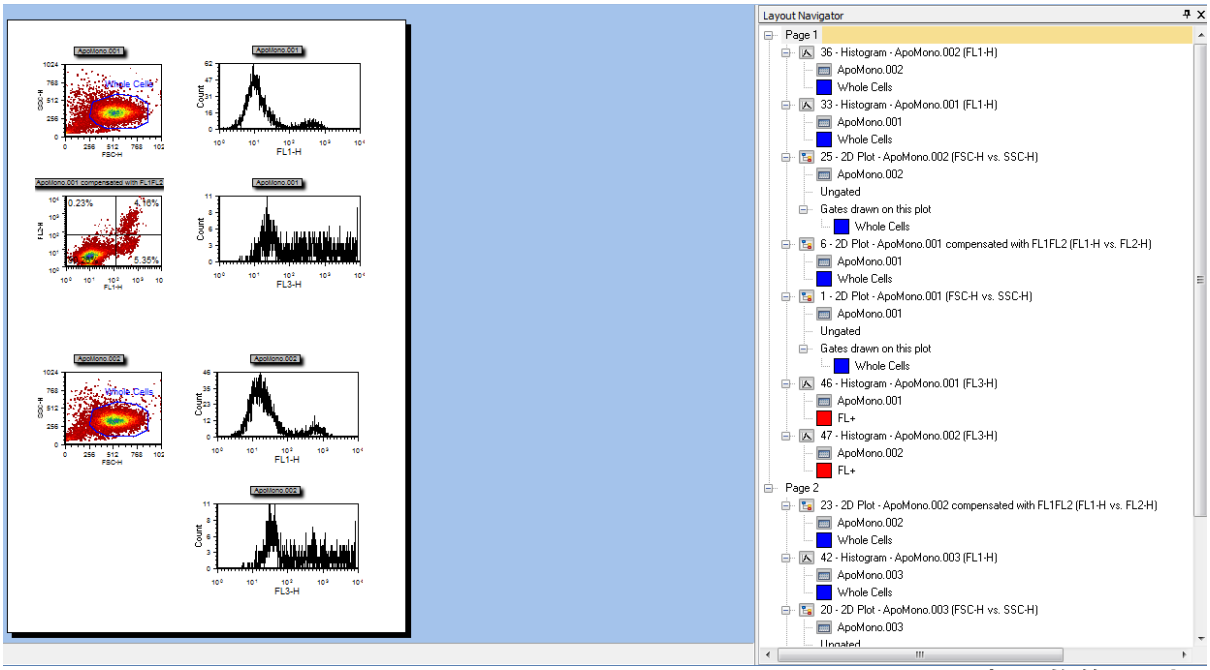


图T14.20 Moving a Plot to Page 2 in the Layout Navigator (**在版面导航器上把绘图移到第**2**页**)

这时版面和**Layout Navigator(版面导航器)**都会进行更新，显示这个二维绘图的新位置。

29. 请在**Layout Navigator(版面导航器)**上点击**Page 1(第1页)**，如图T14.21中的黄色高亮显示所示。

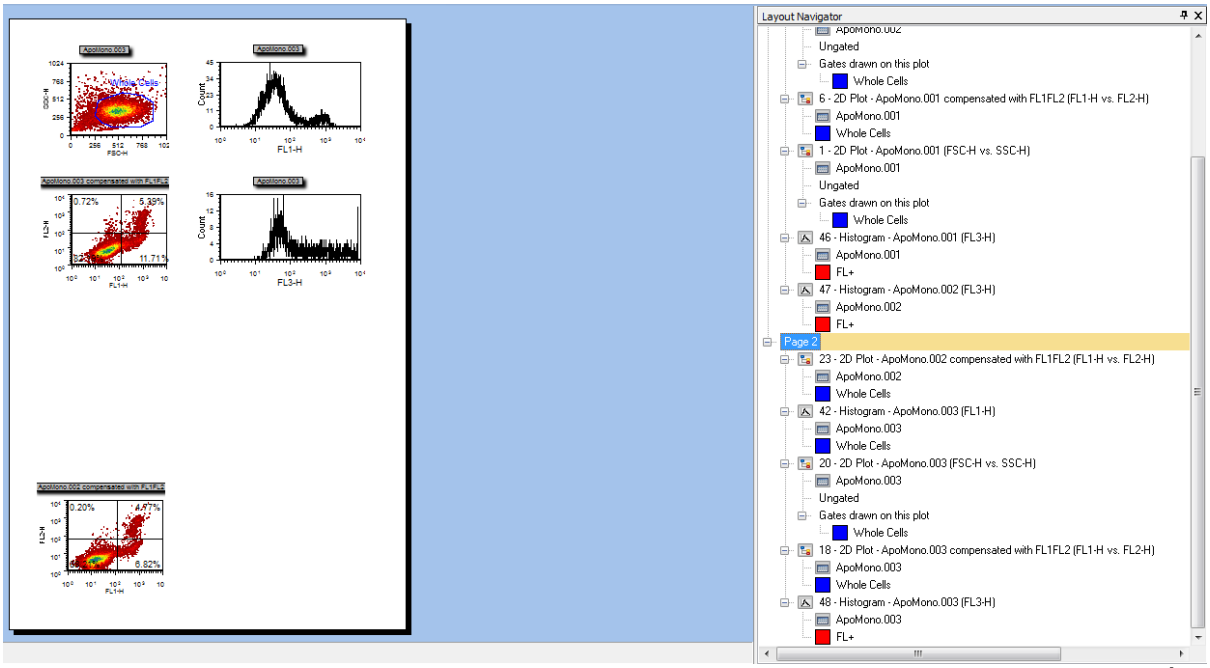
这时会出现第1页，如图T14.21所示。注意到ApoMono.002对应的二维绘图FL1- FL2现在已经不在第1页上了，因为它已经被移到版面中的第2页上了。



图T14.21 Page 1 of the Layout without the ApoMono.002 2D Plot (**版面的第1页上已经不再有二维绘图**ApoMono.002**了**)

30. 请在**Layout Navigator(版面导航器)**上点击**Page 2(第2页)**，如图T14.22中的黄色高亮所示。

这时会出现版面的第2页，如图T14.22所示。注意到ApoMono.002对应的二维绘图FL1- FL2已被添加到了版面的左下角，**Layout Navigator(版面导航器)**也显示出了该绘图被添加到了第2页上。



图T14.22 Page 2 of the Layout with the Addition of the ApoMono.002 2D Plot (**版面的第**2**页上添加了二维绘图**ApoMono.002)

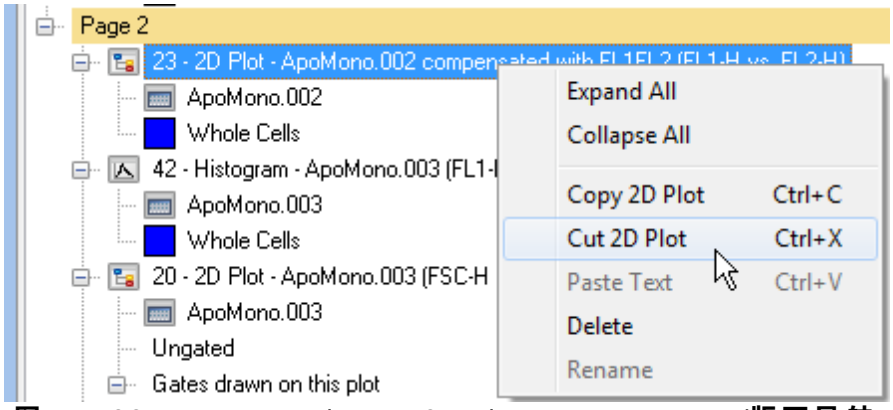
另一种移动绘图的方法是在**Layout Navigator(版面导航器)**上把二维绘图列项直接拖放到版面的第2页上。

前面介绍的这些使用**Layout Navigator(版面导航器)**对数据、门以及绘图的操作都涉及到了对对象进行拖放操作。而另一种完成以上这些操作的方法就是使用和**Layout Navigator(版面导航器)**上的对象对应的弹出菜单。和所有弹出菜单一样，**Layout Navigator(版面导航器)**的弹出菜单可用右键点击**Layout Navigator(版面导航器)**上的相应对象来调出。我们现在就用**Layout Navigator(版面导航器)**上的二维绘图弹出菜单，把第2页上的二维绘图移回到第1页上。

31. 请把光标放在**Layout Navigator(版面导航器)**第2页上的**2D Plot – ApoMono.002 compensated with FL1FL2 (FL1- H vs. FL2- H)**一项，如图T14.23中的蓝色高亮所显示。

32. 请右键点击**Layout Navigator(版面导航器)**，调出二维绘图弹出菜单，如图T14.23所示。

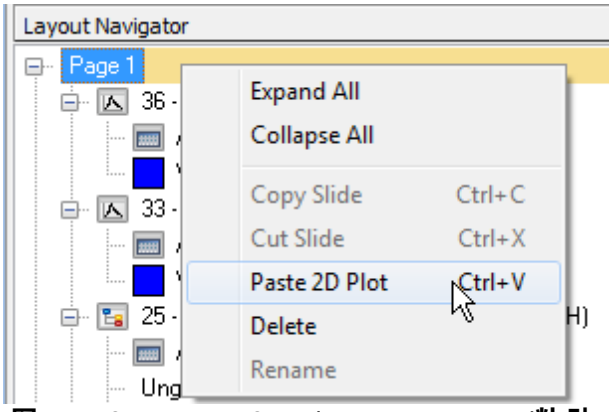
33. 请从菜单上选择**Cut 2D Plot(剪切二维绘图)**(图T14.23)。



图T14.23 Layout Navigator 2D Plot Pop-up Menu (**版面导航器的二维绘图弹出菜单**)

这个二维绘图现在就被从第2页上剪切下来。

34. 请在**Layout Navigator(版面导航器)**上选择**Page 1(第1页)**。
35. 请右键点击，调出**Layout Navigator(版面导航器)**弹出菜单(图T14.24)。
36. 请从菜单上选择**Paste 2D Plot(粘贴二维绘图)**(图T14.24)。



图T14.24 Paste 2D Plot Menu Item (**粘贴二维绘图菜单选项**)

或者，通过第31步到第33步剪切绘图后，用户可以直接把光标放在版面中的第1页上，然后右键点击调出弹出菜单，选择**Paste(粘贴)**来粘贴二维绘图。

现在，二维绘图就又被粘回到了第1页上，**Layout Navigator(版面导航器)**也进行了相应的更新，显示这一变化。

36.15 创建和使用自定义数据

FCS Express中有很多工具来让用户创建自己的数据组，并用这些数据组来作图。用户的数据组(称为自定义数据组)可以包括多种(但并不只限于这些)数据源，例如关键字标记、统计标记、自定义标记以及标记分类器。创建包含这些标记的数据组的优点在于，当版面改变时(例如创建一个门或显示一个新的数据组后)，自定义数据组会跟着改变。自定义数据组让用户可以非常方便地使用数据网格、条形图或散点图展示实验结果。在本章中，我们将着重于创建和使用自定义数据组。

我们将创建一个自定义数据组来帮助分析一项HLA交叉配血实验。流式细胞分析常常被用来预测接受器官移植的病人的血清中有多少可溶性的IgG将结合到移植的器官上。一般认为，大多数的IgG会结合到捐赠人细胞上的HLA分子上。一个阴性的交叉配血是指，接受器官移植的病人的血清中的可溶性IgG不会大量地结合到捐赠人的淋巴细胞上。这种阴性的交叉配血将有助于移植器官的存活。具体来说，我们将使用FITC标注的抗人IgG来检测捐赠人的T- 细胞和B- 细胞与接受捐赠人的IgG的结合情况。

在本章中，我们会:

- 导入一个版面，该版面含有进行HLA交叉配血实验中所需的所有绘图。
- 创建带有自定义标签的数据网格。
- 在数据网格中插入各种标记和数据。
- 使用多种在数据网格中输入信息的方法。
- 向数据网格中输入新的列。
- 在数据网格中插入标记分类器。

36.15.1 *为自定义数据导入版面*

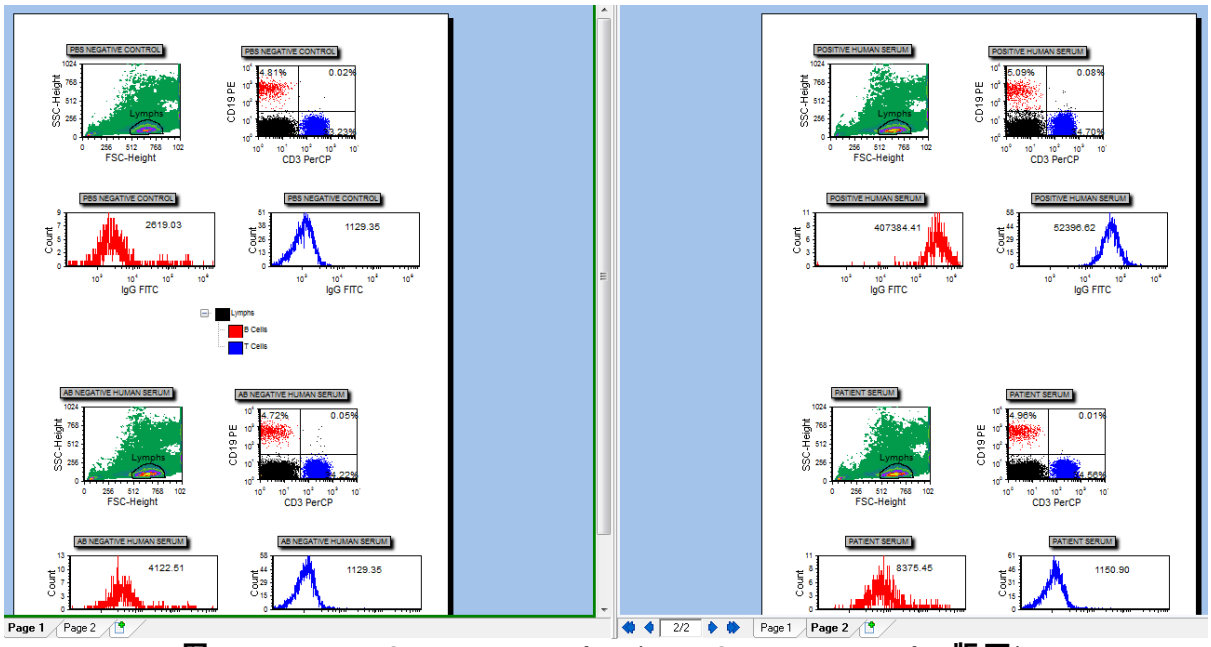
在这一节中，我们将:

1. 导入一个版面，该版面含有进行HLA交叉配血实验中所需的所有绘图。

首先，让我们来导入一个两页的包含HLA交叉配血的版面。这个版面包括四组绘图，分别对应于两个阴性对照、一个阳性对照以及一个接受捐赠候选人的血清。

2. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
3. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹里的**HLA Custom Data.fey**版面。

这时会出现两个紧挨着的页面，如图T15.1所示。



图T15.1 HLA Custom Data.fey (HLA Custom Data.fey**版面**)

让我们先来看一下第1页顶部的四个绘图，它们都标有"PBS NEGATIVE CONTROL"，如图T15.2所示。左上角的绘图显示了捐赠人的细胞 ;图中已有一个画在淋巴细胞群上的门，标注为"Lymphs"。右上角的密度图仅仅显示了淋巴细胞门中的细胞群，右下象限(蓝色)为CD3阳性T- 细胞，左上象限(红色)是CD13阳性B- 细胞。这两个针对T- 细胞和B- 细胞的象限已经被转化成了门，并且是Lymphs门的子门，如图中的门视图窗口所示。底部的两个柱状图(从左到右)分别应用了B- 细胞群门(红色)和T- 细胞群门(蓝色)。柱状图里的数字是T- 细胞和B- 细胞对应的IgG FITC参数的MESF中间数。

版面上的其它绘图是这四个绘图的副本，用来显示其它三个数据文件中的数据。

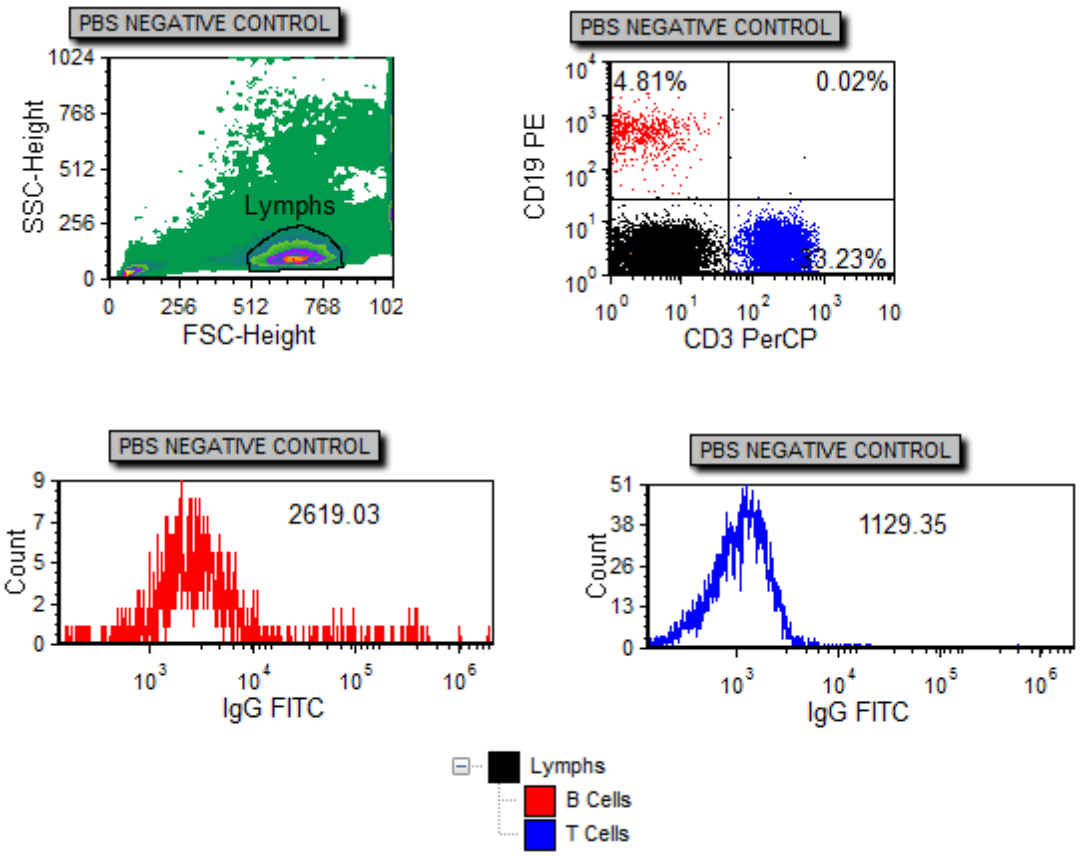


图 T15.2 Layout of PBS NEGATVE CONTROL Plots and Gate View (PBS**阴性对照绘图和门视图**)

该版面并非使用任意的通道值，而是使用FITC MESF微珠校正过的通道值。这就是说IgG FITC柱状图使用的是校正过的FITC MESF坐标系。要更多地了解使用微珠的信息，请参考教程使用微珠校正荧光信号[1073]。如图T15.2所示，PBS NEG CONTROL B- 细胞柱状图的中间值是2619.03。这就是说，结合到捐献者B- 细胞上的可溶性IgG对应的IgG FITC信号强度大约是2,619倍的MESF。

36.15.2 *插入数据网格*

在这一节中，我们将:

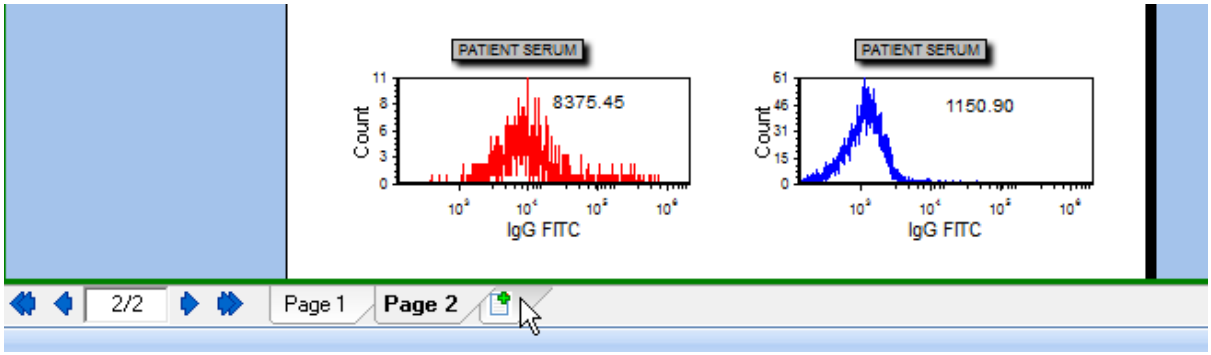
- 创建一个带有自定义列名称的数据网格。
- 创建数据网格，并把列名称和数据插入到数据网格中。

因为IgG柱状图的坐标系已经被校正过，我们便可以使用B- 细胞和T- 细胞柱状图中的MESF中间值来创建一个自定义数据组。最终，我们希望这个自定义数据组可以告诉我们从病人那里取得的血清样品和捐献人细胞间的相容关系是"阳性"、"阴性"还是"弱阳性"。要想这样做，我们首先要定义什么可以被认为是"阳性"，什么可以被认为是"阴性"。要获取这样的定义，我们分析了多个阴性对照血清样本，以确定一个平均的FITC MESF值。分析过程中获得的标准偏差用来确定一个"边界"值。这里我们将假设这些"阳性"、"阴性"以及"弱阳性"对应的FITC MESF值已经被确定好了。

首先，让我们在版面中插入一个空白页面，然后插入一个自定义数据网格。

1. 请选择**Insert(插入)→General(常规)→New Page(新页面)**命令。

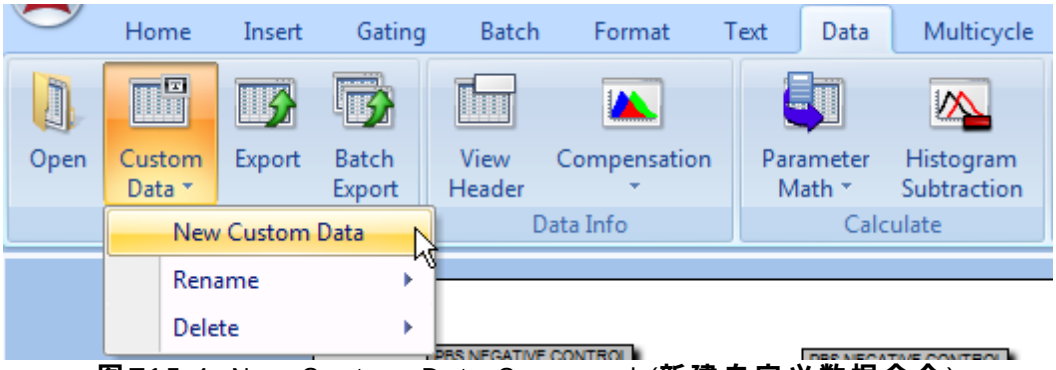
或者，请点击版面第2页底部的新建页面图标，如图T15.3中的光标所示。



图T15.3 New Page Tab/Icon (**新建页面标签/图标**)

这时会出现一个新的空白页。

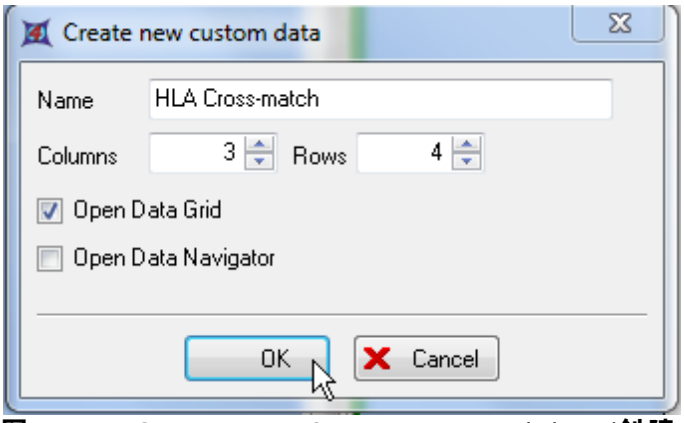
2. 请选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Custom Data(自定义数据)→New Custom Data(新建自定义数据)**命令(图T15.4)。



图T15.4 New Custom Data Command (**新建自定义数据命令**)

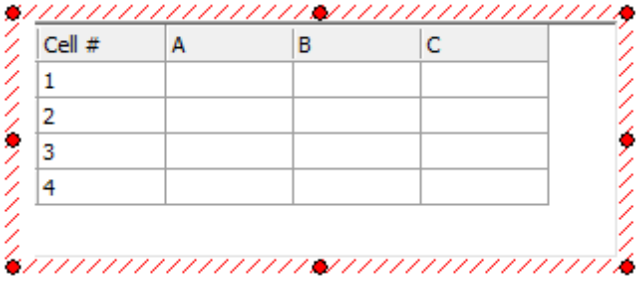
这时会出现**Create new custom data(创建新的自定义数据)**对话框。以下步骤请参考图T15.5。

3. 请在**Name(名称)**字段输入"HLA Cross- match"。
4. 请把**Columns(列)**值修改为"3"。
5. 请保留**Rows(行)**值为"4"。
6. 请选中**Open Data Grid(打开数据网格)**复选框。
7. 请点击**OK**。



图T15.5 Create New Custom Data Dialog (**创建新的自定义数据对话框**)

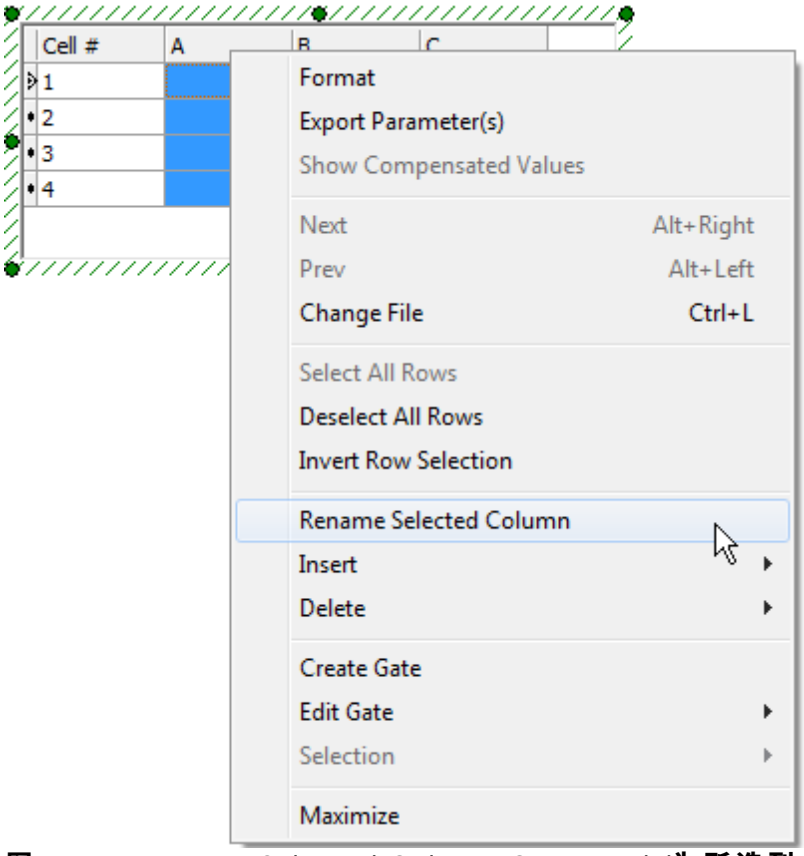
这时在版面中的第3页上应该出现一个空白的数据网格，如图T15.6所示。如果这个数据网格出现在了另外一页上，请使用剪切和复制的方式把它贴到第3页上。



图T15.6 Empty Data Grid (**空白的数据网格**)

我们现在将要为这些列命名。以下步骤请参考图T15.7。

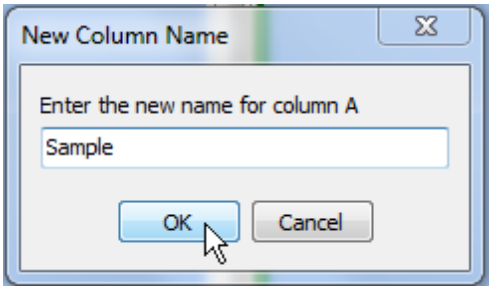
8. 请右键点击标有"A"的单元格(代表A列)，调出弹出菜单。
9. 请从弹出菜单中选择**Rename Selected Column(为所选列重命名)**，如图中光标所示。



图T15.7 Rename Selected Column Command (**为所选列重命名命令**)

这时会出现**New Column Name(新的列名称)**对话框，如图T15.8所示。

10. 请在文本字段输入"Sample"。
11. 请点击**OK**。



图T15.8 New Column Name Dialog (**新的列名称对话框**)

以前标识为"A"的第一列，现在变成了"Sample"。

12. 请为标记为"B"的列重复第8步到第9步。
13. 请输入"Bcell Median"作为新的列名称。
14. 请点击**OK**。
15. 请为标记为"C"的列重复第8步到第9步。
16. 请输入"Tcell Median"作为新的列名称。
17. 请点击**OK**。

数据网格的各列现在已经被恰当地标记好了，如图T15.9所示。

Cell #	Sample	Bcell Median	Tcell Median
1			
2			
3			
4			

图T15.9 Data Grid with Column Labels (**带有新的列标记的数据网格**)

36.15.3 *创建自定义数据*

在这一节中，我们将:

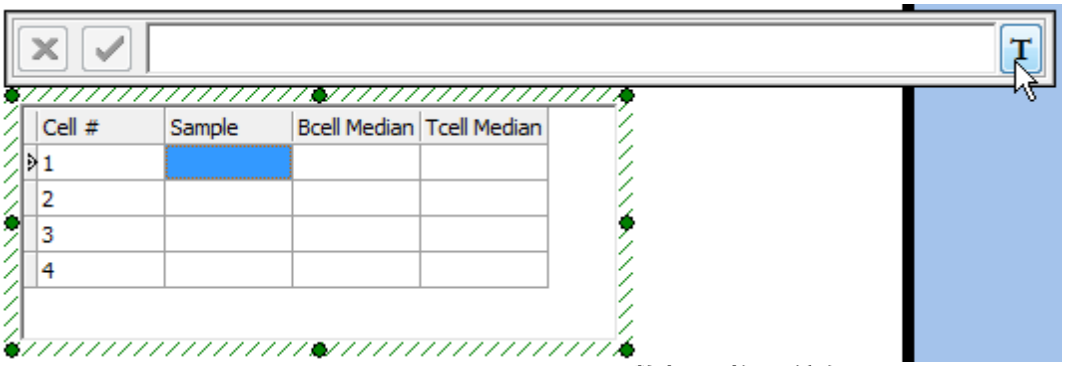
- 在数据网格中插入关键字和统计标记。
- 使用多种方法向数据网格中输入信息。

我们将在"Sample"列中插入一个关键字标记。我们将使用FCS关键字*$SRC*，因为这个关键字对试样有一个很好的描述。事实上，绘图标题使用的都是*$SRC*关键字，而非文件名。

1. 请在"Sample"列最顶端的单元格里点击，如图T15.10中的蓝色高亮所示。

这时在顶端会出现数据网格编辑器窗口，如图T15.10所示。我们现在将在这个单元格中插入关键字。

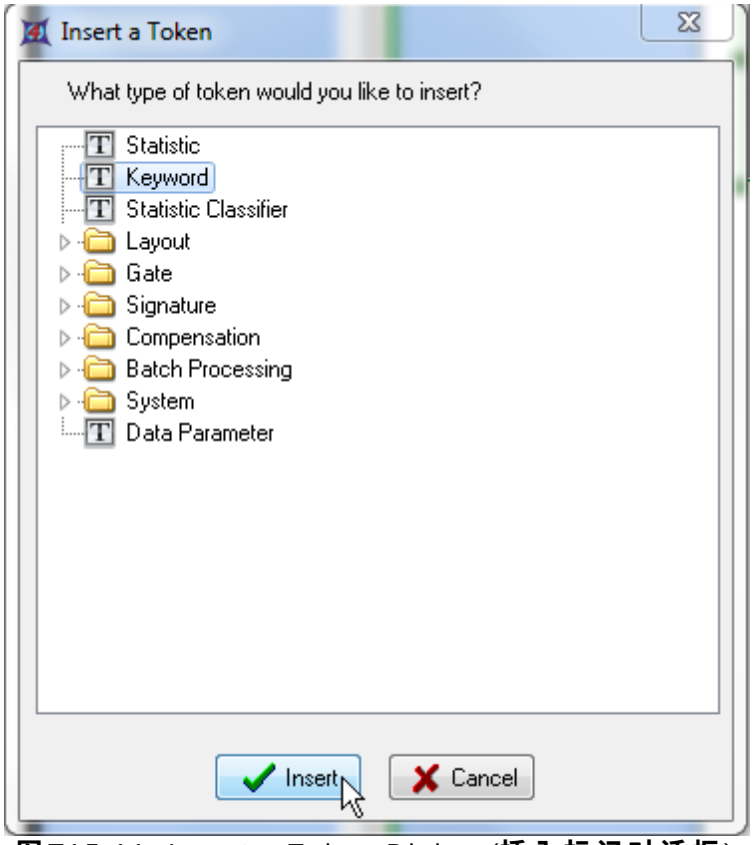
2. 请点击标记图标，如图T15.10中的光标所示。



图T15.10 Data Grid with Editor (**数据网格及编辑器**)

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如图T15.11所示。

3. 请选择**Keyword(关键字)**。
4. 请点击**OK**。

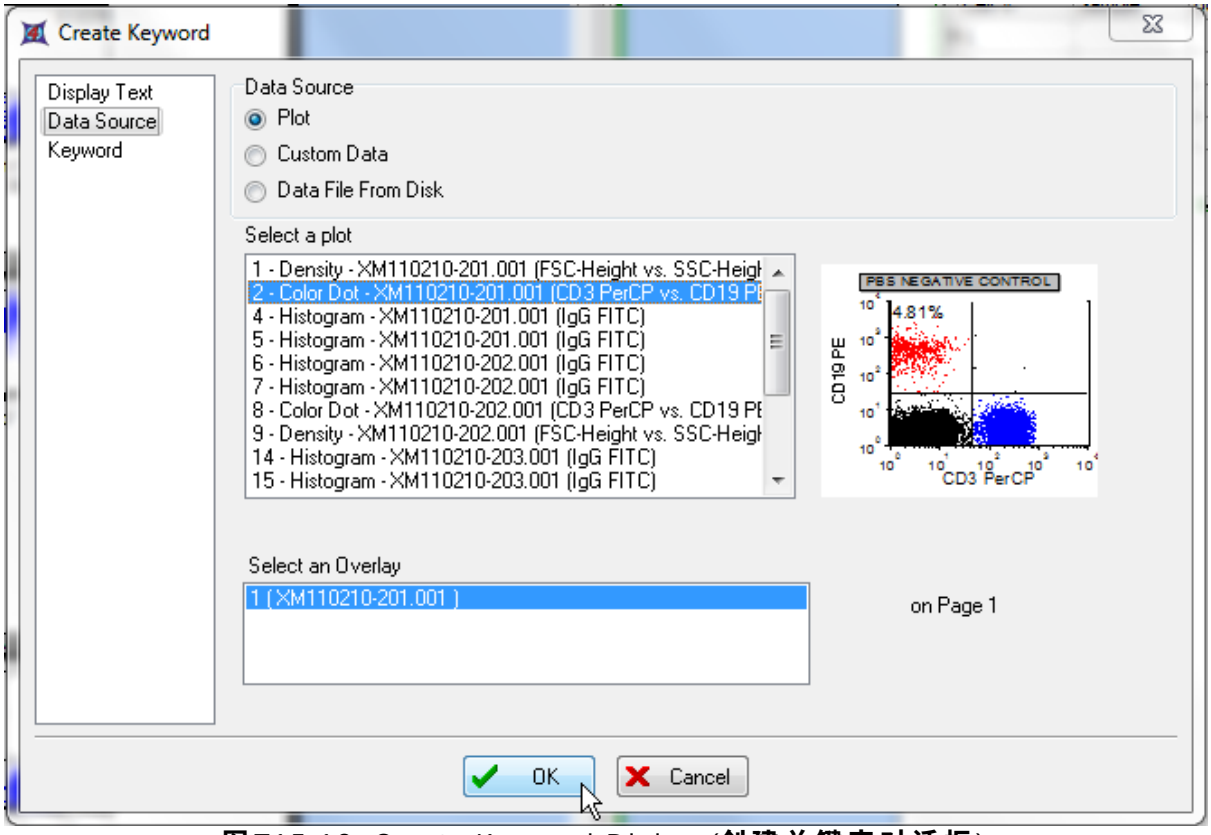


图T15.11 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

这时会出现**Create Keyword(创建关键字)**对话框，显示**Data Source(数据源)**列表选项，如图T15.12所示。

5. 请选中和数据文件XM110210- 201.001 (PBS NEGATIVE CONTROL)相关的任意一个绘图，如图T15.12中的蓝色高亮所示。

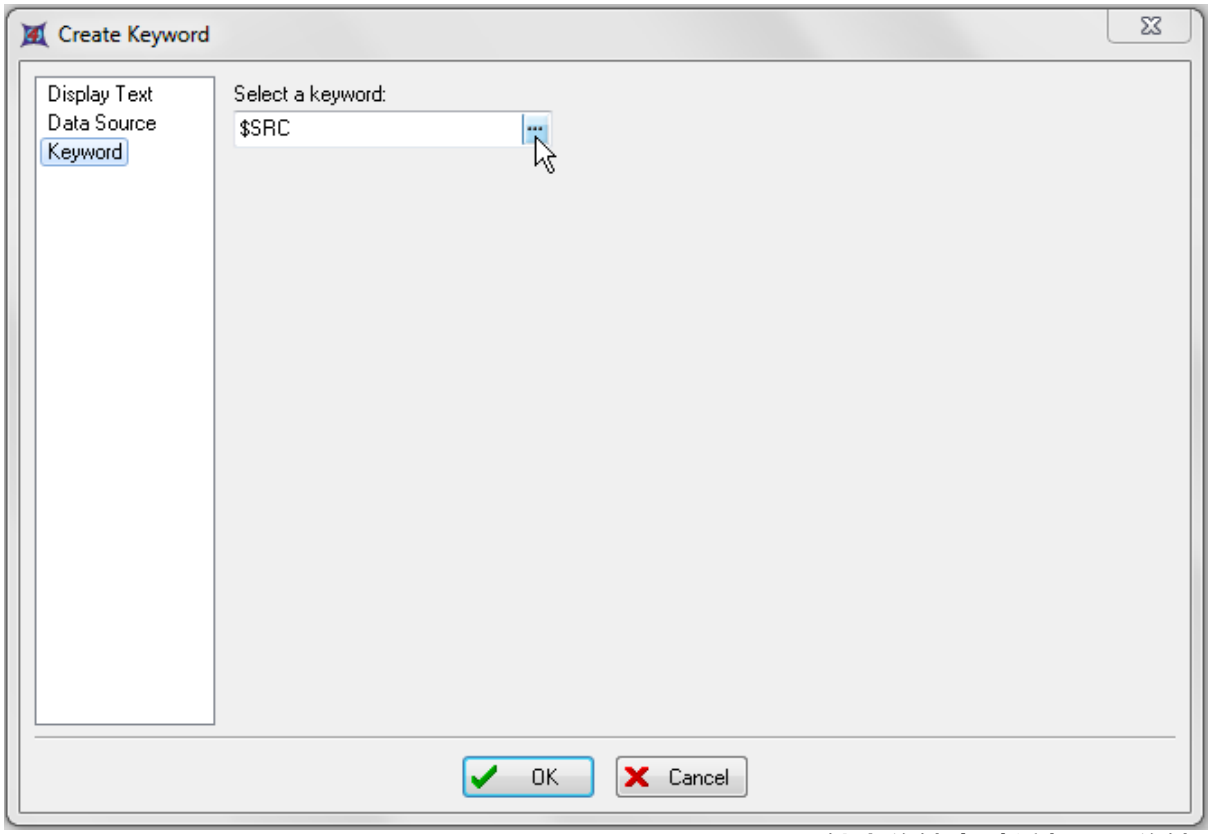
6. 请在左边选择**Keyword(关键字)**列表选项。



图T15.12 Create Keyword Dialog (**创建关键字对话框**)

这时会出现**Create Keyword(创建关键字)**对话框中的**Keyword(关键字)**列表选项，如图T15.13所示。

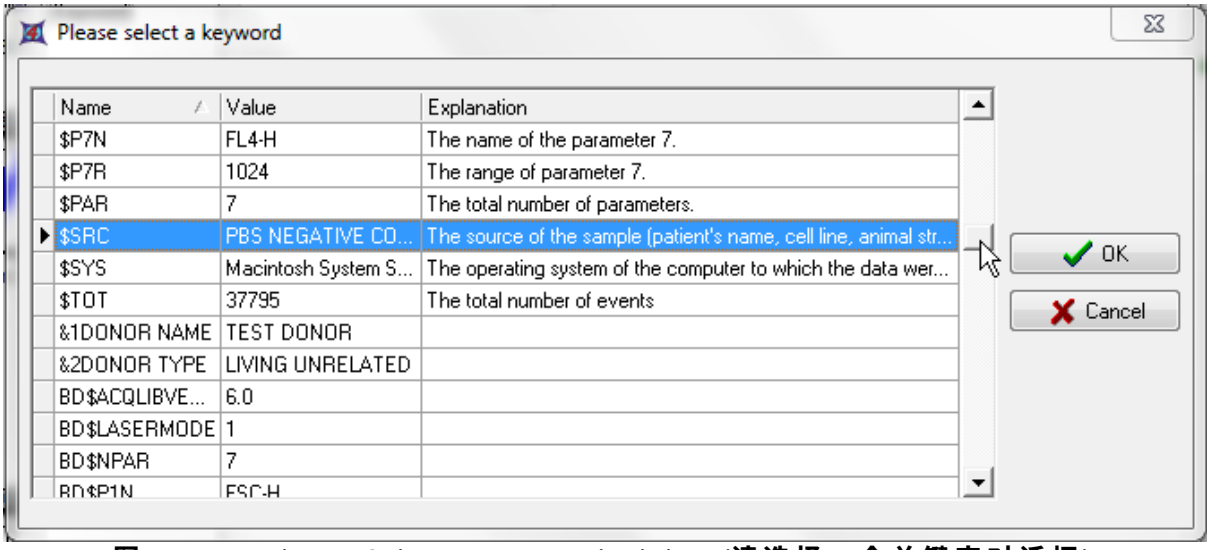
7. 请在**Select a keyword(选择关键字)**文本字段输入"$SRC"。
8. 请点击**OK**。



图T15.13 Create Keyword Dialog -- Keyword Category (**创建关键字对话框 -- 关键字类别选项**)

或者，请点击省略号图标，如图T15.13中的光标所示。这时会出现**Please select a keyword(请选择一个关键字)** 对话框，如图T15.14所示。

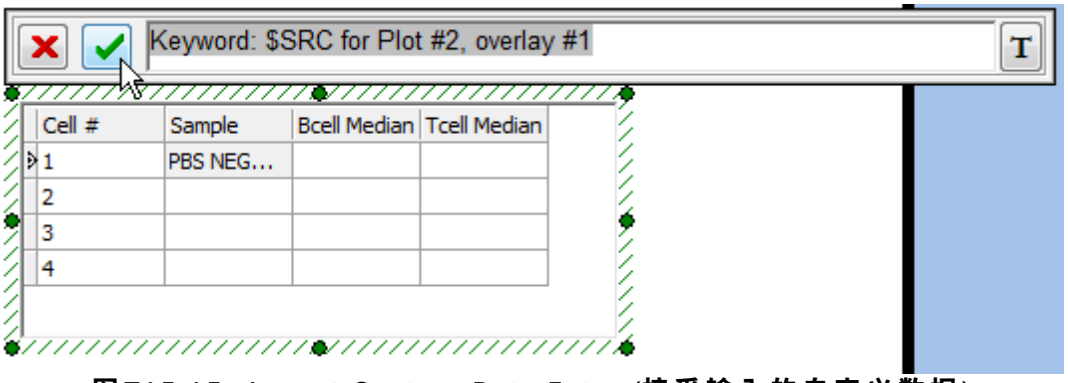
- 请向下滚动，选中**$SRC**，如图T15.14中的蓝色高亮所示。
- 请点击**OK**。
- 请在**Create Keyword(创建关键字)**对话框中点击**OK**。



图T15.14 Please Select a Keyword Dialog (**请选择一个关键字对话框**)

这时数据网格会进行更新，显示插入的关键字，编辑器窗口也填写了相应内容，如图T15.15所示。

9. 请在键盘上点击ENTER键，或点击图T15.15中所示的绿色对钩图标，接受所输入的内容。



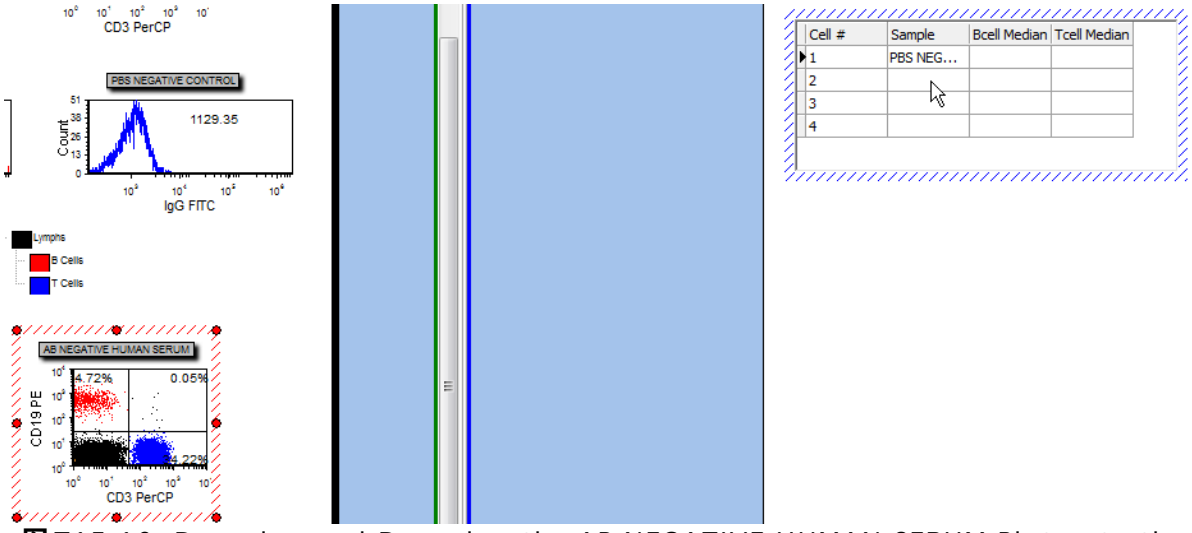
图T15.15 Accept Custom Data Entry (**接受输入的自定义数据**)

下面我们将填充"Sample"列中剩下的单元格。但这次我们将不重复以上的这些步骤，而是仅仅把相应的绘图拖到数据网格中。

10. 请把光标放在"AB NEGATIVE HUMAN SERUM"的一个二维绘图上，如图T15.16中的红色高亮所示。

11. 请按下鼠标左键，把绘图拖向数据网格，如图T15.16所示。

12. 当绘图在Sample列上的第二个单元格上时，请松开鼠标左键，如图T15.16中的光标所示。

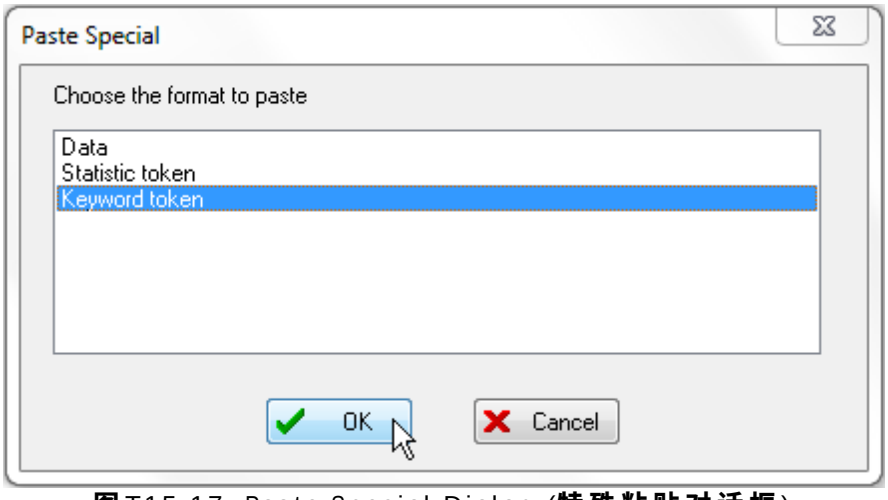


图T15.16 Dragging and Dropping the AB NEGATIVE HUMAN SERUM Plot onto the Data Grid (**把绘图**AB NEGATIVE HUMAN SERUM**拖放到数据网格上**)

这时会出现**Paste Special(特殊粘贴)**对话框，如图T15.17所示。

13. 请选择**Keyword token(关键字标记)**，如图T15.17中的蓝色高亮所示。

14. 请点击**OK**。



图T15.17 Paste Special Dialog (**特殊粘贴对话框**)

这时会出现**Edit Keyword(编辑关键字)**，类似于前图T15.13中**Create Keyword(创建关键字)**对话框中的关键字类别选项。

15. 请在**Select a keyword(选择一个关键字)**文本字段输入"$SRC"。

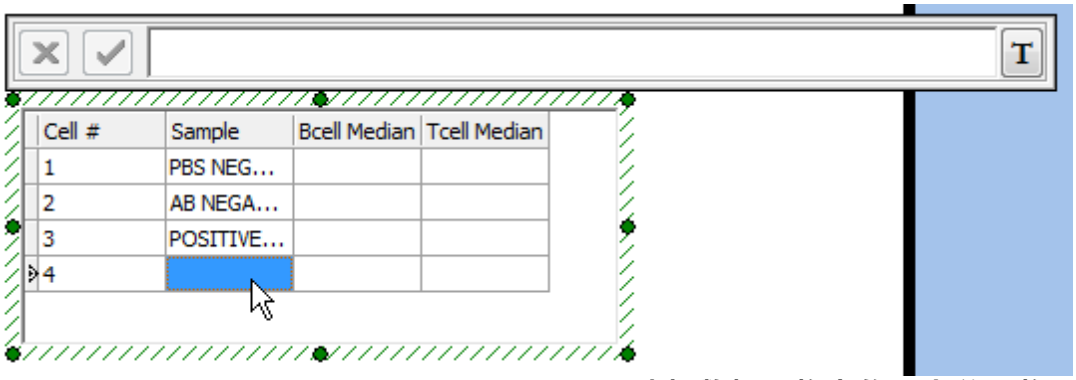
16. 请点击**OK**。

提示: 把绘图拖到版面上接受标记的地方是一个快捷的创建标记的方法，因为用户不必再像上面第5步中那样手动地选择数据源。

这时**Sample**列中的第二个单元格会相应地更新，显示添加了与AB NEGATIVE HUMAN SERUM绘图对应的标记。我们现在将填充**Sample**列中其它的单元格。请使用AB POSITIVE SERUM绘图，为**Sample**列中的第三个单元格重复第10步到第16步。对于Sample列中的最后一个单元格，我们将手动地来输入样本信息，以演示如何使用数据网格编辑器。

17. 请点击Sample列中的第四个单元格，如图T15.18中的蓝色高亮所示。

这时在数据网格底部会出现自定义数据编辑器，如图T15.18所示。



图T15.18 Selecting a Cell in the Data Grid (**选择数据网格中的一个单元格**)

18. 请输入"PATIENT SERUM(病人血清)"。

输入一开始，文本就会自动出现在自定义数据编辑器中，如图T15.19所示。同时也请注意，图T15.19中的绿色接受图标以及红色的删除图标现在也都可用了。现在我们将接受在编辑器中输入的信息。

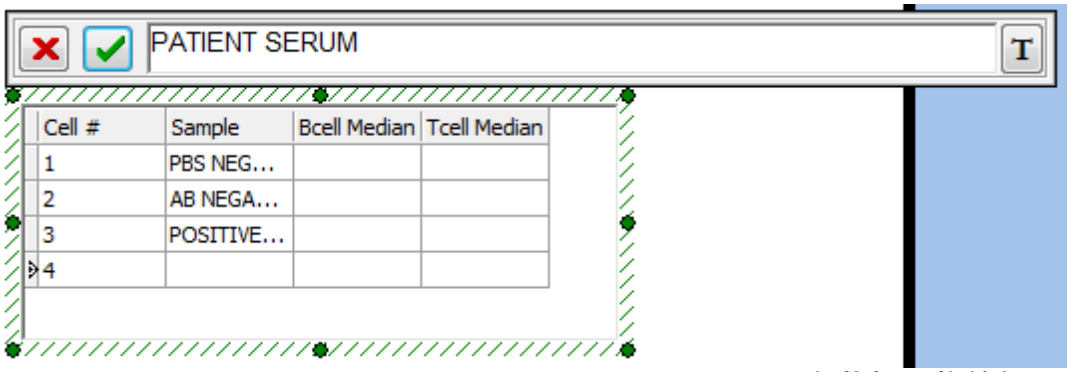


图 T15.19 Manual Entry of Data in the Data Grid Editor (**在数据网格编辑器中手动输入数据**)

19. 请点击键盘上的ENTER键，或编辑器中的接受图标。

或者，请点击自定义数据网格外的任何地方，接受在自定义数据编辑器中的输入。如果不希望保存在编辑器中输入的数据，请选择删除图标，或者点击键盘上的**Esc**键，所做的修改便会被取消。

现在数据网格中的Sample列就被填写好了，如图T15.20所示。

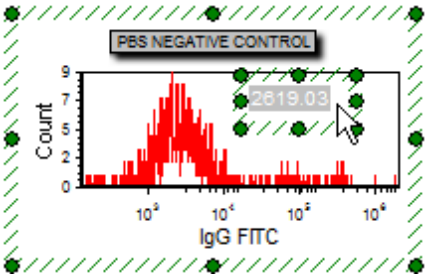
Cell #	Sample	Bcell Median	Tcell Median
1	PBS NEG...		
2	AB NEGA...		
3	POSITIVE...		
4	PATIENT ...		

图 T15.20 Sample Column Completed (**填写好的** Sample**列**)

我们现在将在"Bcell Median"和"Tcell Median"列中插入标记统计。因为这些中间值已经在柱状图中作为标记显示，我们现在仅需把它们复制粘贴到"Bcell Median"列和"Tcell Median"列中的单元格即可。

20. 请把光标放在PBS NEGATIVE CONTROL柱状图(版面中的红色绘图)中B细胞中间值标记的开始位置。

21. 请选中B- 细胞中间值标记。当文本变为白色时(如图T15.21所示)，说明它被选中。

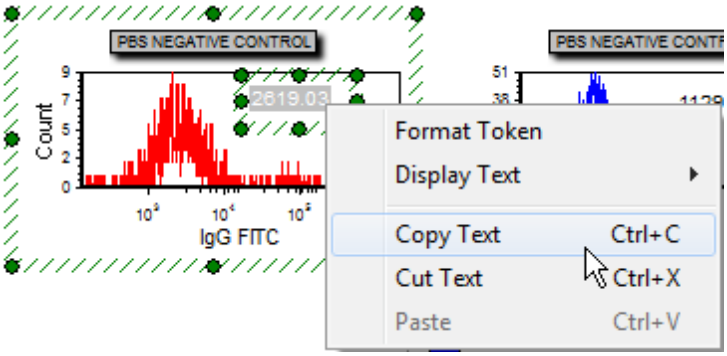


图T15.21 Token Value Selected (**选中的标记值**)

22. 请使用**Ctrl+ C**把文本复制到剪切板上。

或者，在第21步之后，可用弹出菜单来复制B- 细胞中间值标记。

- 请右键点击，调出弹出菜单。
- 请从弹出菜单中选中**Copy Text(复制文本)**，如图T15.22中的高亮和光标所指示。



图T15.22 Copying a Token Using the Pop-up Menu (**使用弹出菜单复制一个标记**)

我们现在将把B- 细胞中间值标记复制到数据网格"Bcell Median"列中的相应单元格中。

23. 请在"Bcell Median"列中的第一个单元格内点击，将其选中。

这时在数据网格的顶端会出现自定义数据编辑器。

24. 请点击自定义数据编辑器中的文本窗口。

25. 请使用键盘键**Ctrl+ V**来粘贴文本。

26. 请点击数据网格外部任何地方，接受所做的输入。

或者，在第24步之后，可用弹出菜单粘贴标记文本。

- 请在"Bcell Median"列中的第一个单元格上右键点击，调出弹出菜单。
- 请从弹出菜单选择**Paste Text(粘贴文本)**。
- 请点击数据网格外部任何地方，接受所做的输入。

"Bcell Median"列剩下的单元格可使用类似于第20步到第26步中的复制和粘贴的方法进行填充，这时请分别使用AB NEGATIVE HUMAN SERUM、POSTIVE SERUM以及PATIENT SERUM对应的B- 细胞柱状图。数据网格中的"Tcell Median"列可以通过复制T- 细胞柱状图(版面中的蓝色绘图)中的标记中间值文本来进行填充。再次地，请重复第20步到第26步，只是这次使用T- cell中间值标记即可。数据网格中的所有的"Bcell Median"和"Tcell Median"列中的单元格现在就都应该被填写好了，如图T15.23所示。

Cell #	Sample	Bcell Median	Tcell Median
1	PBS NEG...	2619.03	1129.35
2	AB NEGA...	4122.51	1129.35
3	POSITIVE...	407384.41	52396.62
4	PATIENT ...	8375.45	1150.90

图T15.23 Data Grid with B- and T-Cell Median Values (**含有**B-**细胞和T-细胞中间值的数据网格**)

36.15.4 *创建自定义标记*

在这一节中，我们将:

- 创建自定义标记。
- 在数据网格中插入新的列。
- 在数据网格中插入自定义标记。
- 创建在数据网格中用到的标记分类器。

到现在为止，我们在数据网格中已经有了所有的关键数据，但我们还需要决定病人的血清和捐献人细胞之间的相容关系是"阳性"、"阴性"还是"弱阳性"。

首先，我们必须创建自定义标记，根据"阴性"值将"Sample(样本)"的荧光强度的中间值进行归一化。我们会使用PBS NEGATIVE CONTROL(PBS阴性对照)样本里的B- 细胞和T- 细胞的

MESF FITC中间值作为"阴性"数值，然后把这个值从样本的MESF FITC中间值中减去。首先请调出**Custom Tokens(自定义标记)**窗口。

1. 请选择**View(视图)→Tokens(标记)→Custom Tokens(自定义标记)**命令。

这时**Custom Tokens(自定义标记)**窗口会出现在版面中。我们现在要把这个窗口停靠在版面的右侧。要更多地了解如何停靠，请参考停靠教程一节748。

2. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的上边框处。
3. 请按下鼠标左键不放，把**Custom Tokens(自定义标记)**窗口拖向四向停靠图标的右向箭头。
4. 当**Custom Tokens(自定义标记)**窗口在四向停靠图标的右向箭头上时，请松开鼠标。

这时**Custom Tokens(自定义标记)**窗口就被停靠到了版面的右侧。现在我们要创建自定义标记，这些标记将代表样本的MESF值相对于PBS NEGATIVE CONTROL(PBS阴性对照)的MESF值的偏移。要想更多地了解如何创建自定义标记，请参考自定义标记教程一节628。

5. 请点击**Custom Tokens(自定义标记)**窗口顶端的标志，如图T15.24中的光标所示。

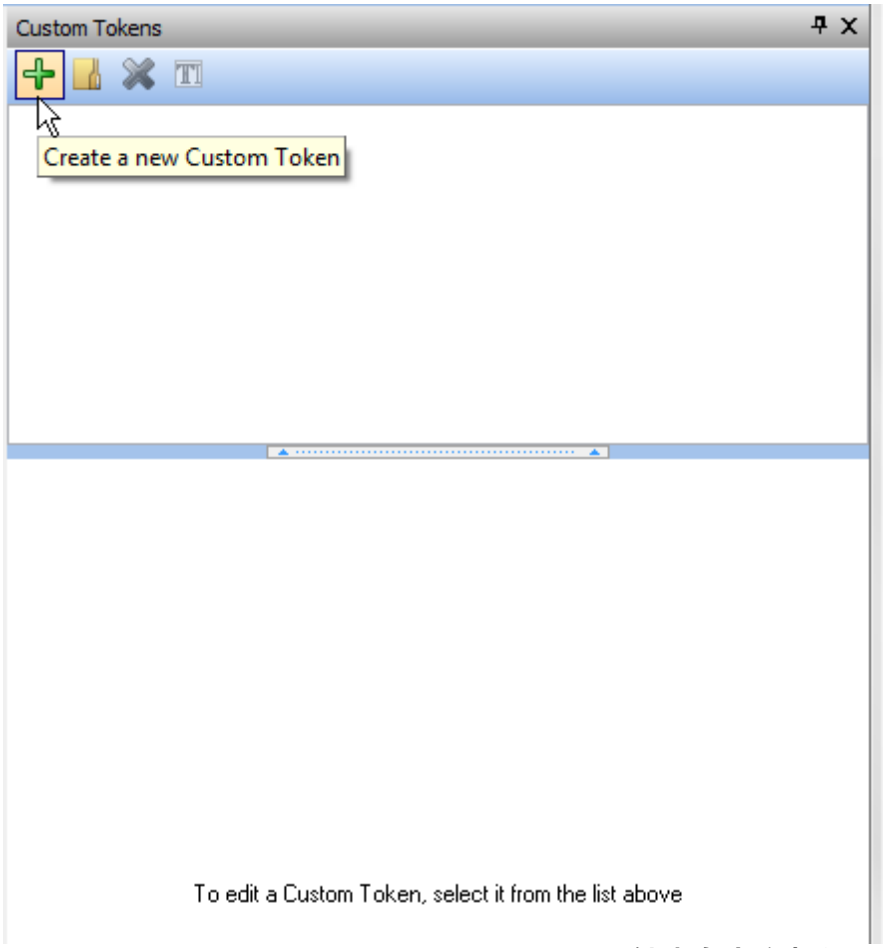


图 T15.24 Creating a New Custom Token (**创建自定义标记**)

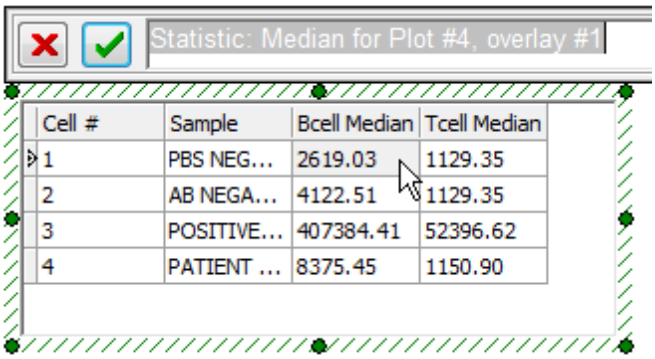
6. 请为自定义标记输入名称"BShift PBS"。
7. 请点击自定义标记窗口的底部，开始输入公式。
8. 请在自定义标记公式定义区输入"= "。

我们现在要把数据网格中相应的中间值标记复制到自定义标记公式区中。以下步骤均针对图T15.25。

9. 请点击数据网格"Bcell Median"列中的第一个单元格，如图中的光标和灰色高亮所指示。

这时在上方会出现自定义数据编辑器窗口，显示统计标记的定义。

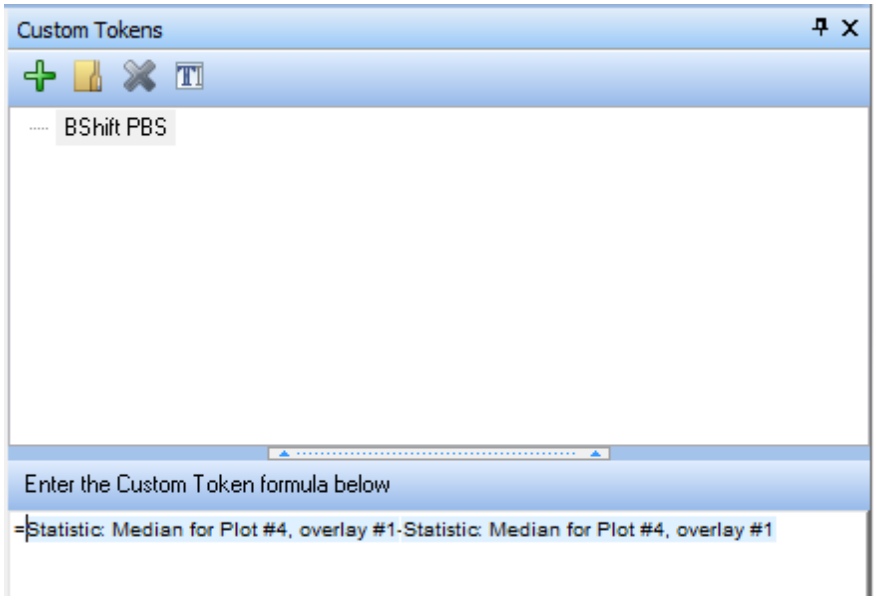
10. 请在编辑器窗口选中统计标记。当文本是白色的时候，表明文本已经被选中。
11. 请使用键盘键**Ctrl+ C**来复制文本。



图T15.25 Copying the 'BCell Median' Token for the PBS NEGATIVE CONTROL Sample (**为** PBS NEGATIVE CONTROL**样本复制**'BCell Median'**标记**)

以下的步骤将针对图T15.26。

12. 请选中"BShift PBS"自定义标记。
13. 请在自定义标记公式区里点击"="的右侧。
14. 请用键盘键**Ctrl+V**，粘贴"Bcell Median"的标记定义公式。
15. 请在"Bcell Median"标记定义旁边输入"-"。
16. 请用键盘键**Ctrl+V**，粘贴"Bcell Median"的标记定义公式。



图T15.26 Creating the B-cell Median Shift Custom Token Definition (**创建**"B-**细胞中间值偏移**"**自定义标记**)

我们现在就为"B- 细胞中间值MESF对PBS NEGATIVE CONTROL(PBS阴性对照)样本的偏移"定义好了自定义标记，叫做"BShift PBS"。根据定义，这个偏移值应该为0。现在我们要为AB NEGATIVE HUMAN SERUM样本的B- 细胞偏移创建自定义标记，并称其为"BShift NegSerum"；我们使用的方法是复制和粘贴"BShift PBS"自定义标记。我们要把AB NEGATIVE SERUM的"Bcell Meidan"统计标记从数据网格拖放到自定义标记"BShift NegSerum"的公式定义中的相应位置。

17. 如果"BShift PBS"自定义标记并非处于选中状态，请将其选中。
18. 请把光标放在自定义标记的公式定义窗口中"= "的左侧。
19. 请选中"BShift PBS"自定义标记。当文本是白色的时候，表明文本已经被选中。
20. 请使用键盘键**Ctrl+ C**来复制自定义标记"BShift PBS"的公式定义。
21. 请点击**Custom Tokens(自定义标记)**窗口顶端的标志，如图T15.24中的光标所示。
22. 请为新创建的自定义标记输入名称"BShift NegSerum"。
23. 请点击自定义标记公式定义区内部。
24. 请用键盘键**Ctrl+ V**，粘贴"Bcell Median"的标记的定义公式。

以下步骤均针对图T15.27。

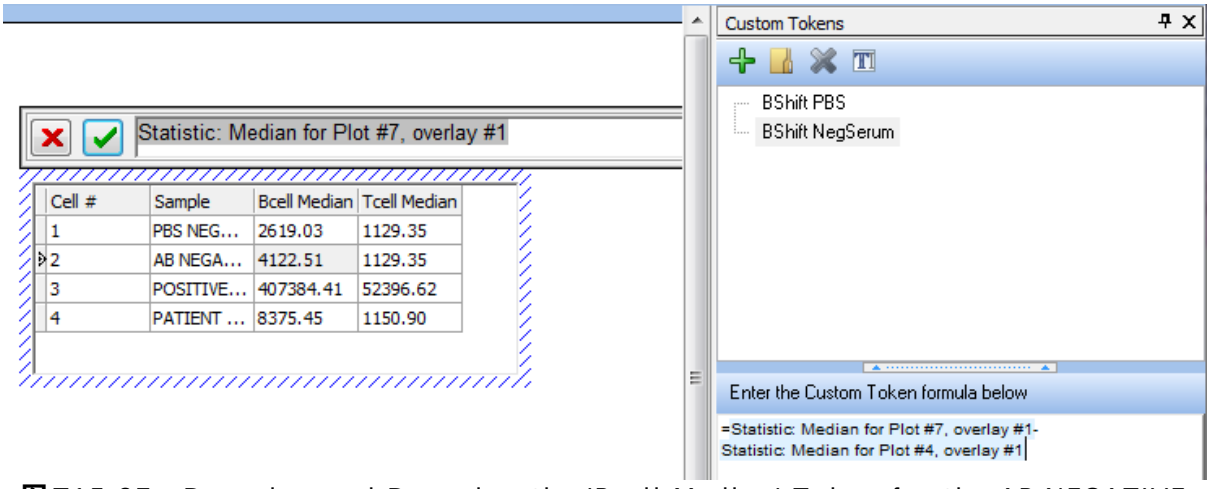
25. 请删除公式中"= "之后、"- "之前的文本。

26. 请选中数据网格中"Bcell Median"列里的第二行单元格，如图T15.27中的灰色高亮所示。

27. 请在编辑器窗口选中统计标记。当文本是白色的时候，表明文本已经被选中。

28. 请按下鼠标左键不放，把标记拖向自定义标记的公式定义窗口。

29. 当标记拖到自定义标记的公式定义窗口中的"="号后、"-"号前时，请松开鼠标。



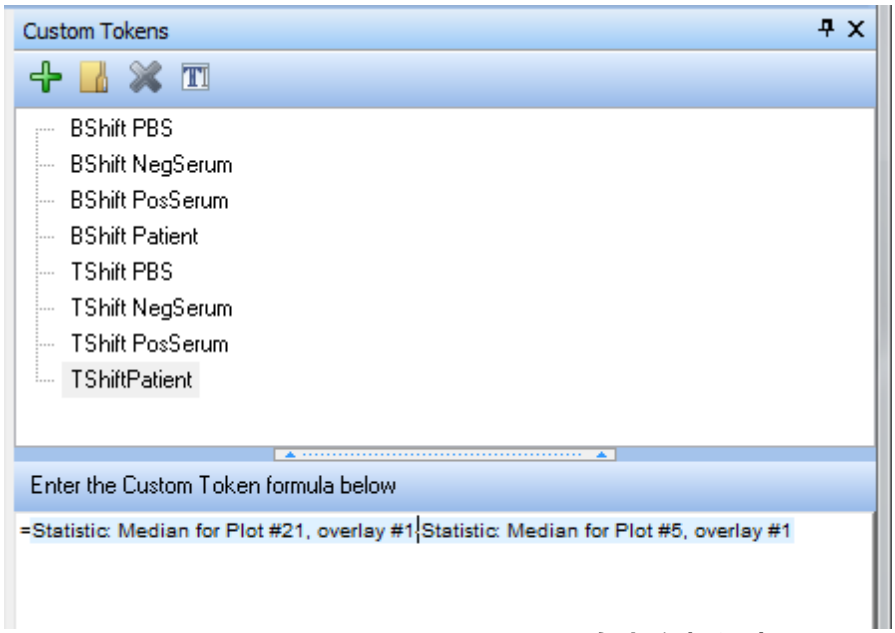
图T15.27 Dragging and Dropping the 'Bcell Median' Token for the AB NEGATIVE HUMAN SERUM Sample into the Custom Token Definition (**把**AB NEGATIVE HUMAN SERUM**样本对应的**'Bcell Median'**标记拖放到自定义标记公式定义窗口中**)

"BShift NegSerum"自定义标记现在已经定义为AB NEGATIVE HUMAN SERUM样本中的B-细胞中间数 –PBS NEGATIVE CONTROL样本中的B- 细胞中间数，如图T15.27所示。

要定义剩下的"B细胞偏移"自定义标记，请使用数据网格中POSITIVE HUMAN SERUM和PATIENT SERUM样本对应的B- 细胞中间值标记，重复第16步到第28步。请分别使用"BShift PosSerum"和"BShift Patient"作为这两个自定义标记的名称。

同样，请使用数据网格中所有样本对应的T- 细胞中间值标记，重复第16步到第28步来定义"T细胞偏移自定义标记"。请不要忘记从所有样本中减去PBS NEGATIVE CONTROL(PBS阴性对照)对应的T- 细胞中间值，并在自定义标记名称中把"B"替换为"T"。

这些都做好后，**Custom Tokens(自定义标记)**窗口将看起来如图T15.28所示，图中显示了自定义标记"TShift Patient"对应的公式。

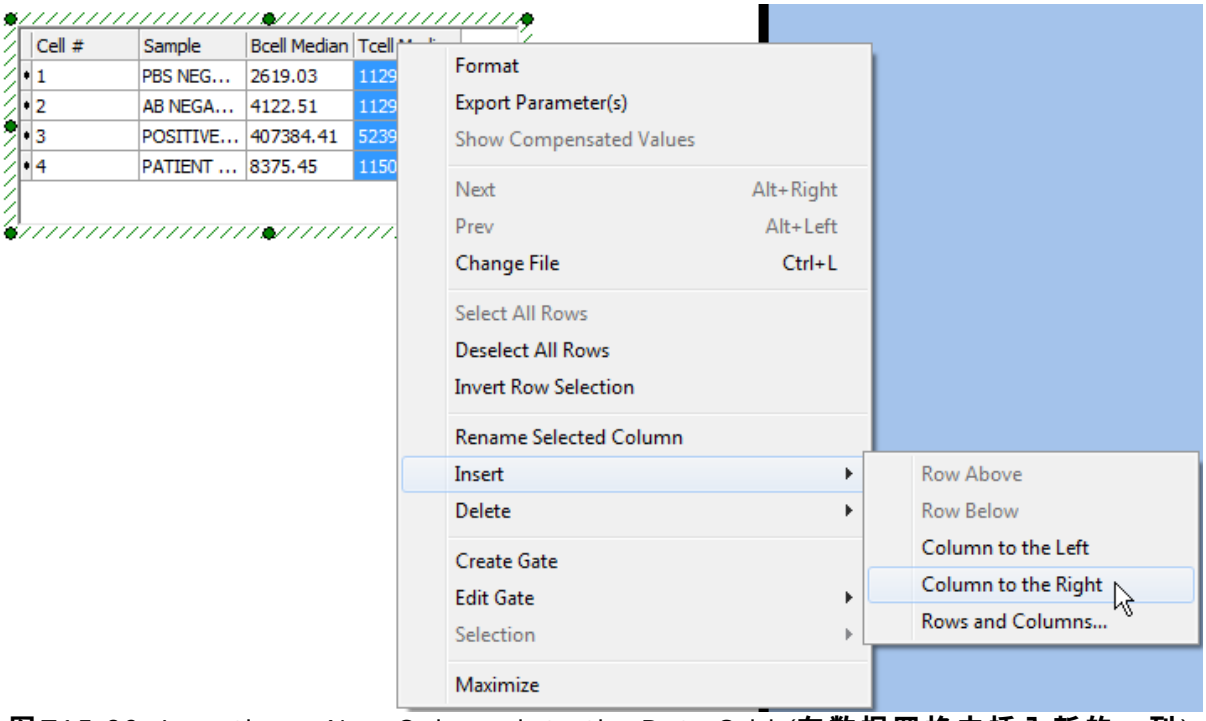


图T15.28 Custom Tokens Window (**自定义标记窗口**)

我们现在将把B细胞和T细胞偏移值自定义标记添加到数据网格中，所以我们需要在数据网格中添加两列新列。以下步骤均针对图T15.29。

30. 请右键点击"Tcell Median"列标头，调出弹出菜单。

31. 请从弹出菜单中选择**Insert(插入)→Column to the Right(把列插入到右侧)**。



图T15.29 Inserting a New Column into the Data Grid (**在数据网格中插入新的一列**)

这时会出现**New Column Name(新列名称)**对话框，类似于前面的图T15.8 831。

32. 请在新列名称文本字段输入"BShift"。

33. 请点击**OK**。

这时一个名为"BShift"的新列会出现在数据网格中。请重复第29步到第32步，在新创建的"BShift"列右侧插入新的一列"TShift"。这些操作完成后，数据网格看起来应该如图T15.30所示。

Cell #	Sample	Bcell Median	Tcell Median	BShift	TShift
1	PBS NEG...	2619.03	1129.35		
2	AB NEGA...	4122.51	1129.35		
3	POSITIVE...	407384.41	52396.62		
4	PATIENT ...	8375.45	1150.90		

图T15.30 Data Grid with New 'BShift' and 'TShift' Columns (**数据网格中的新列**'BShift'**和**'TShift')

我们现在要把自定义标记拖放到新列BShift和TShift的单元格中。以下各步均针对图T15.31。

34. 请把光标放在"BShift PBS"自定义标记上，如图中的蓝色高亮部分所示。

35. 请按下鼠标左键不放。

36. 请把自定义标记拖向数据网格中的"BShift"列。

37. 当自定义标记在数据网格"BShift"列中的第一个单元格上时(如图中的光标所示)，请松开鼠标。

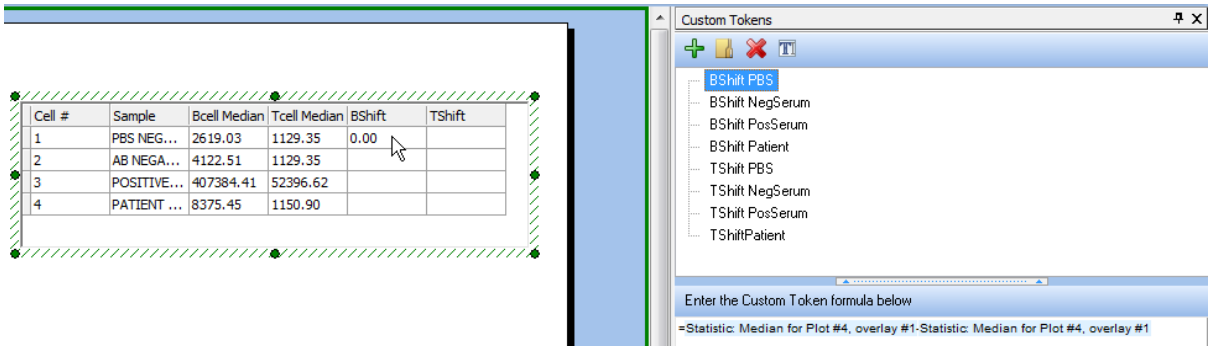


图 T15.31 Dragging and Dropping the 'BShift PBS' Custom Token into the Data Grid (**把自定义标记**'BShif PBS'**拖放到数据网格中**)

这时数据网格会进行更新，显示插入的"BShift PBS"自定义标记，该标记在图T15.31中显示为0.00。这里为零是有道理的，因为PBS NEGATIVE CONTROL(PBS阴性对照)样本中的B- 细胞的MESF荧光强度中间值被定义为阴性。请把各个自定义标记拖放到BShift和TShift列中相应的单元格中，把数据网格填写完整。这些都完成后，数据网格看起来应该如图T15.32所示。

Cell #	Sample	Bcell Median	Tcell Median	BShift	TShift
1	PBS NEG...	2619.03	1129.35	0.00	0.00
2	AB NEGA...	4122.51	1129.35	1503.48	0.00
3	POSITIVE...	407384.41	52396.62	404765.38	51267.27
4	PATIENT ...	8375.45	1150.90	5756.42	21.55

图 T15.32 Data Grid with 'BShift' and 'TShift' Columns Completed (**数据网格中填好的**'BShif'**和**'TShift'**列**)

我们现在可以关闭停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**窗口。

38. 请点击停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**窗口右上角的"X"。

36.15.5 *创建标记分类器*

在这一节中,我们将:

- 使用自定义标记创建标记分类器。
- 创建有自定义列标题的数据网格。
- 把标记分类器插入到新的数据网格中。

现在我们将使用"BShift"和"TShift"自定义标记数据，来在数据网格中定义标记分类器("NEG(阴性)"、"POS(阳性)"以及"WEAK(弱阳性)")。我们将用这些标记分类器来对样本进行分类，最后决定病人血清匹配的结果。首先，我们要插入一个新的三列四行的数据网格，我们将来要把最后的结果放在其中。

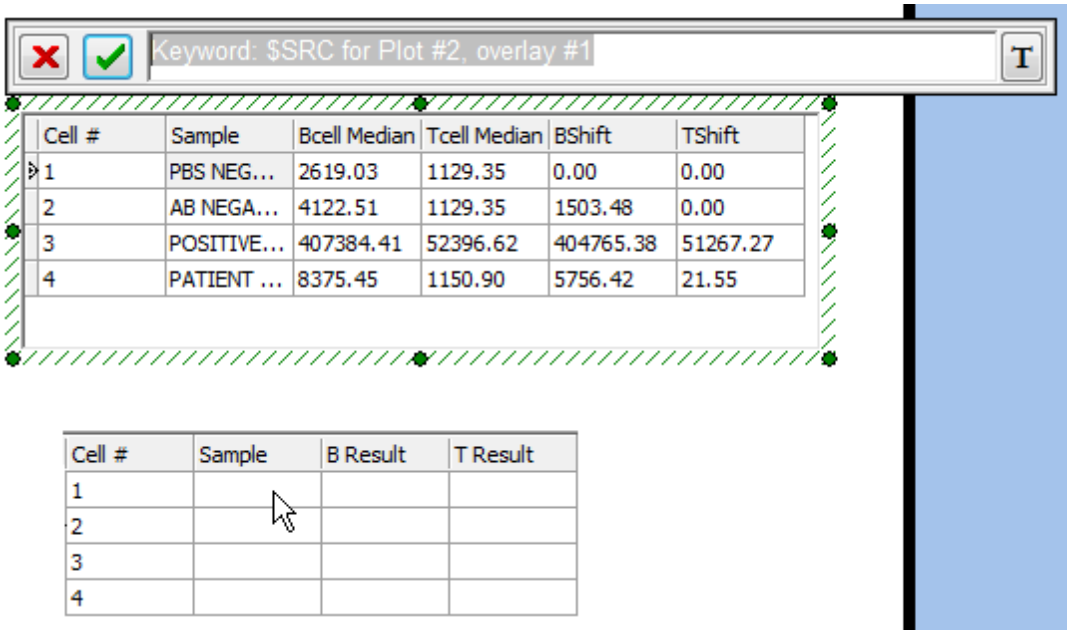
1. 如果第3页不是当前页面，请把它选为当前页。
2. 请重复插入数据网格一节中的第1步到第7步831，只是把数据网格的名称改为"HLA Results"。

这时在版面中的第3页会出现一个数据网格。请把这个数据网格移到"HLA cross- match"数据网格下方的空白区。我们下面要为新创建的"HLA Results"数据网格中的各列重命名。

3. 请重复插入数据网格一节中的第8步到第17步831，只是把各列分别命名为"Sample"、"B Result"以及"T Result"。

我们现在要把关键字标记*$SRC*插入到"Sample"列中，使用的方法是从"HLA cross-match"数据网格中复制"Smaple"列。以下步骤针对图T15.33。

4. 请点击"HLA cross- match"数据网格中"Sample"一列的第一个单元格，如图中的灰色高亮所示。
5. 请从"HLA cross- match"数据网格编辑器窗口选中关键字标记。被选中的关键字显示为白色。
6. 请使用键盘上的**Ctrl+ C**来复制所选文本。
7. 请点击"HLA Results"数据网格中"Sample"列中的第一个单元格，如图中的光标所示。



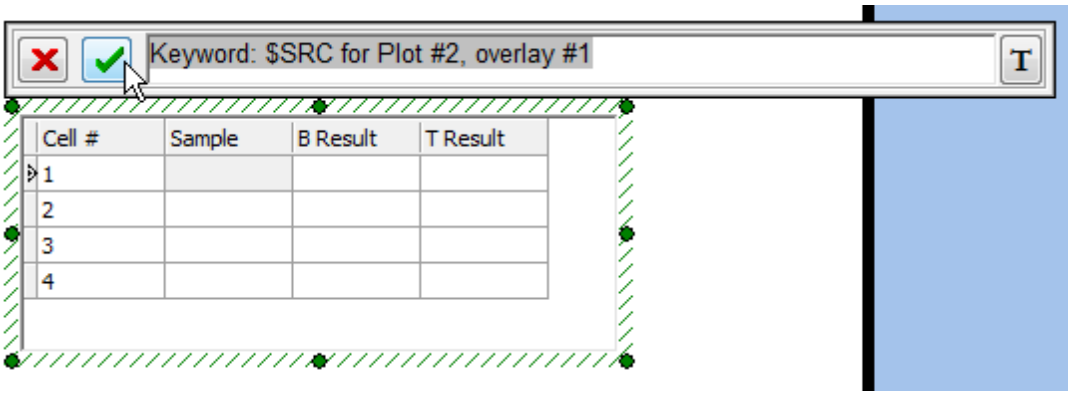
图T15.33 Copying the Keyword Token from the 'HLA cross-match' Data Grid (**从**'HLA cross-match'**数据网格中复制关键字标记**)

我们现在要把这个关键字标记粘贴到新建的"HLA Results"数据网格的"Sample"列里。以下步骤都针对图T15.34。

8. 请点击"HLA Results"数据网格里"Sample"列中的第一个单元格，如图中的灰色高亮所示。

9. 请使用键盘**Ctrl+ V**把这个关键字标记粘贴到"HLA Results"数据网格的编辑器中。

10. 请点击绿色的对勾符号(如图中的光标所示)，接受所做的输入。

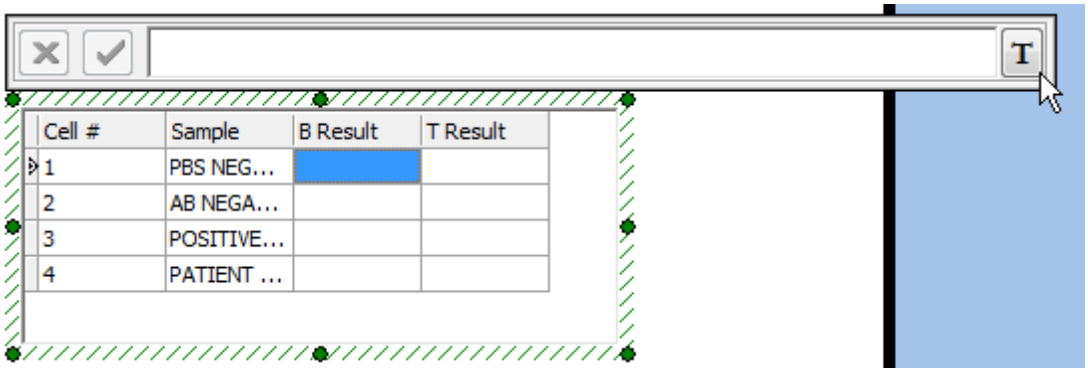


图T15.34 Pasting the Keyword Token into the 'Sample' Column of the 'HLA Results' Data Grid (**把关键字标记粘贴到**'HLA Results'**数据网格里的**'Sample'**列中**)

我们现在将用复制和粘贴来填充Sample列中剩下的单元格。

11. 请为数据网格中"Sample"列里的第二、第三以及第四个单元格重复第4步到第10步，直到网格中的"Sample"列都被填充好，如图T15.35所示。

这些都完成后，HLA Results数据网格应该看起来如图15.35所示。



图T15.35 New Data Grid with 'Sample', 'B Result', and T Result' Columns (**新的数据网格中的**'Sample'、'B Result'**以及**'T Result'**列**)

我们现在将开始定义标记分类器，以对所有样本结果进行分类。要想更多地了解如何创建标记分类器，请参见使用文本框和标记教程一节616。

12. 请点击"B Result"列中的第一个单元格，如图T15.35中的蓝色高亮所示。

13. 请点击自定义数据编辑器窗口中的标记图标，如图T15.35中的光标所示。

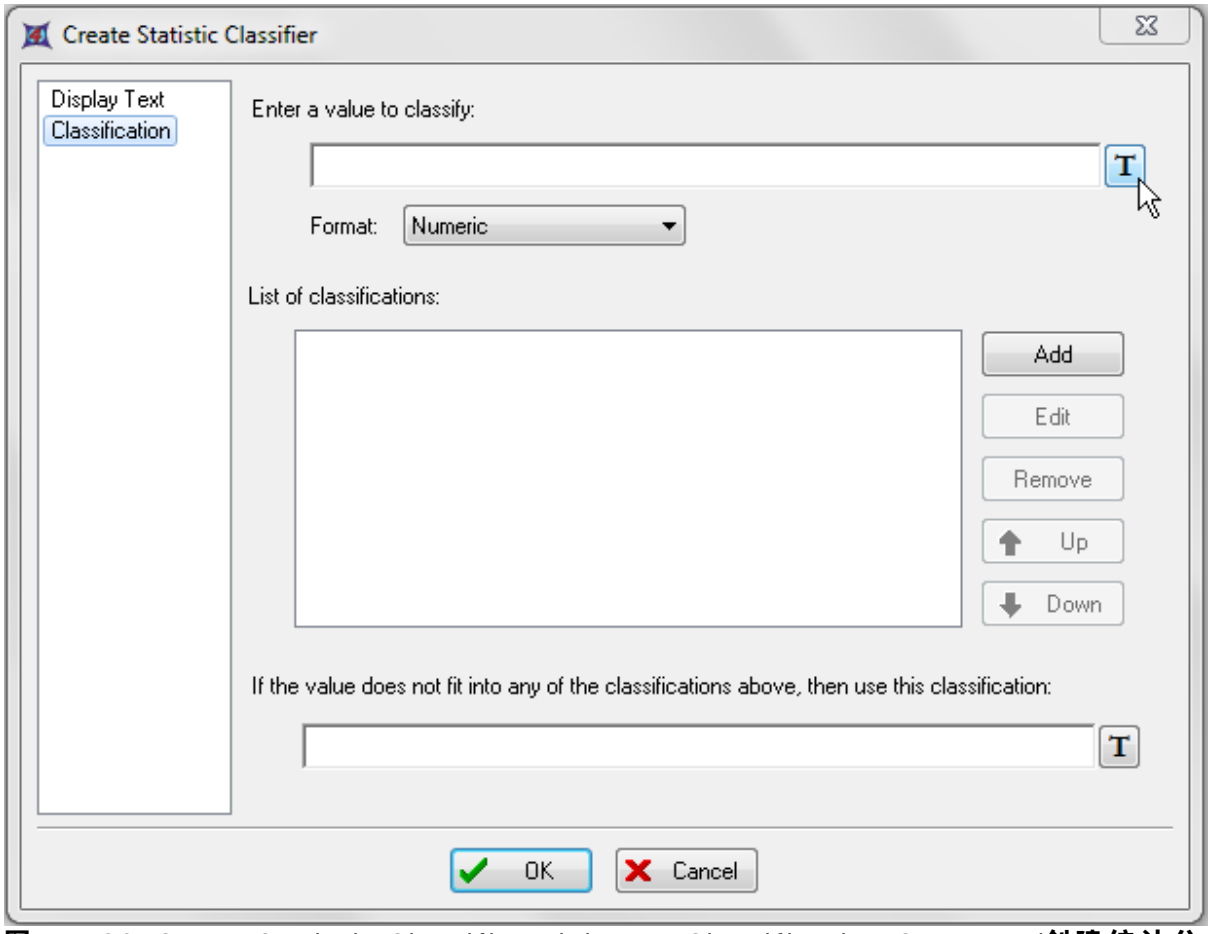
这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如前面的图T15.11835所示。但是这次用户将注意到在**Custom(自定义)**类别选项下方有新的列项。

14. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框中选择**Statistic Classifier(统计分类器)**。

15. 请点击**Insert(插入)**。

这时会出现**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**下的**Classification(分类规则)**对话框，如图T15.36所示。这里我们将定义统计分类器，把我们的结果分类为"NEG(阴性)"、"WEAK(弱阳性)"或"POS(阳性)"。但首先我们需要告诉分类器我们想对什么进行分类。

16. 请点击"Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)"文本字段旁边的标记图标，如图T15.36中的光标所示。

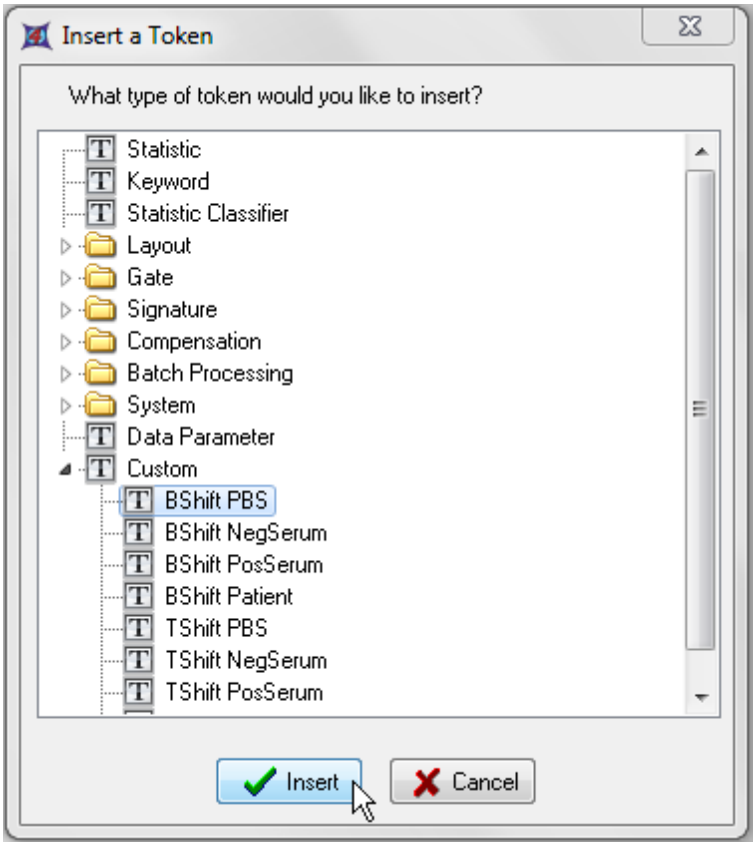


图T15.36 Create Statistic Classifier Dialog -- Classification Category (**创建统计分类器对话框 -- 分类选项**)

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如图T15.37所示。在此我们将为我们的标记分类器选择自定义标记。

17. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框上的**Custom(自定义)**列表选项中选择**BShift PBS**，如图T15.37中的蓝色高亮所示。

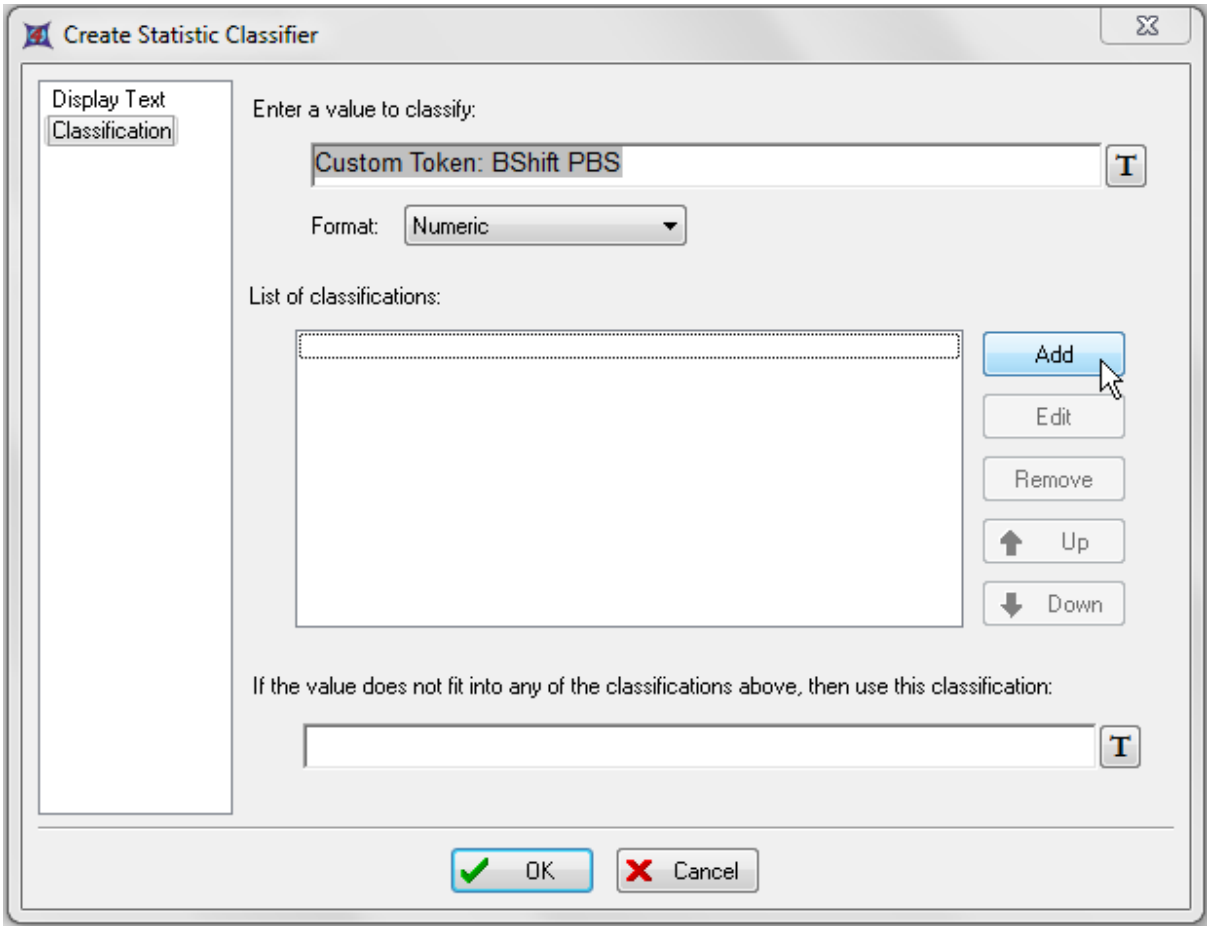
18. 请点击**Insert(插入)**。



图T15.37 Insert a Token Dialog with Custom Tokens to Classify (**插入标记对话框上用来分类的自定义标记**)

这时会再次出现**Create Statistic Classifier(创建统计分类器)**对话框中的**Classification(分类规则)**类别选项。但现在"Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)"字段已经列出了自定义标记"BShift PBS"，如图T15.38所示。下面我们就为分类器输入一个具体的分类规则列表。

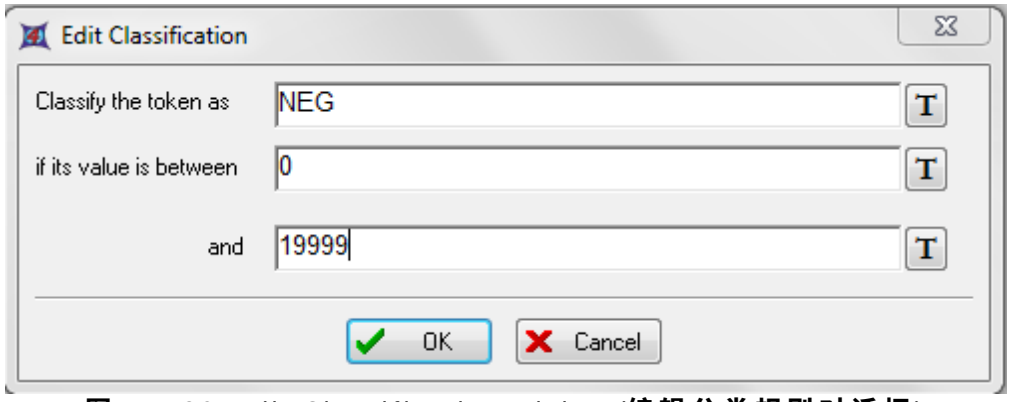
19. 请点击**Add(添加)**按钮，如图T15.38中的光标和蓝色高亮所示。



图T15.38 Adding the List of Classifiers in the Create Statistic Classifier Dialog (**把分类器列表添加到创建统计分类器对话框中**)

这时会出现**Edit Classification(编辑分类规则)**对话框。以下各步都是针对图T15.39。

20. 请在**Classify the token as(把标记归类为)**文本字段输入"NEG"。
21. 请在**if its value is between(如果标记的值在...和...之间)**文本字段输入"0"。
22. 请在**and(和)**文本字段里输入"19999"。
23. 请点击**OK**。



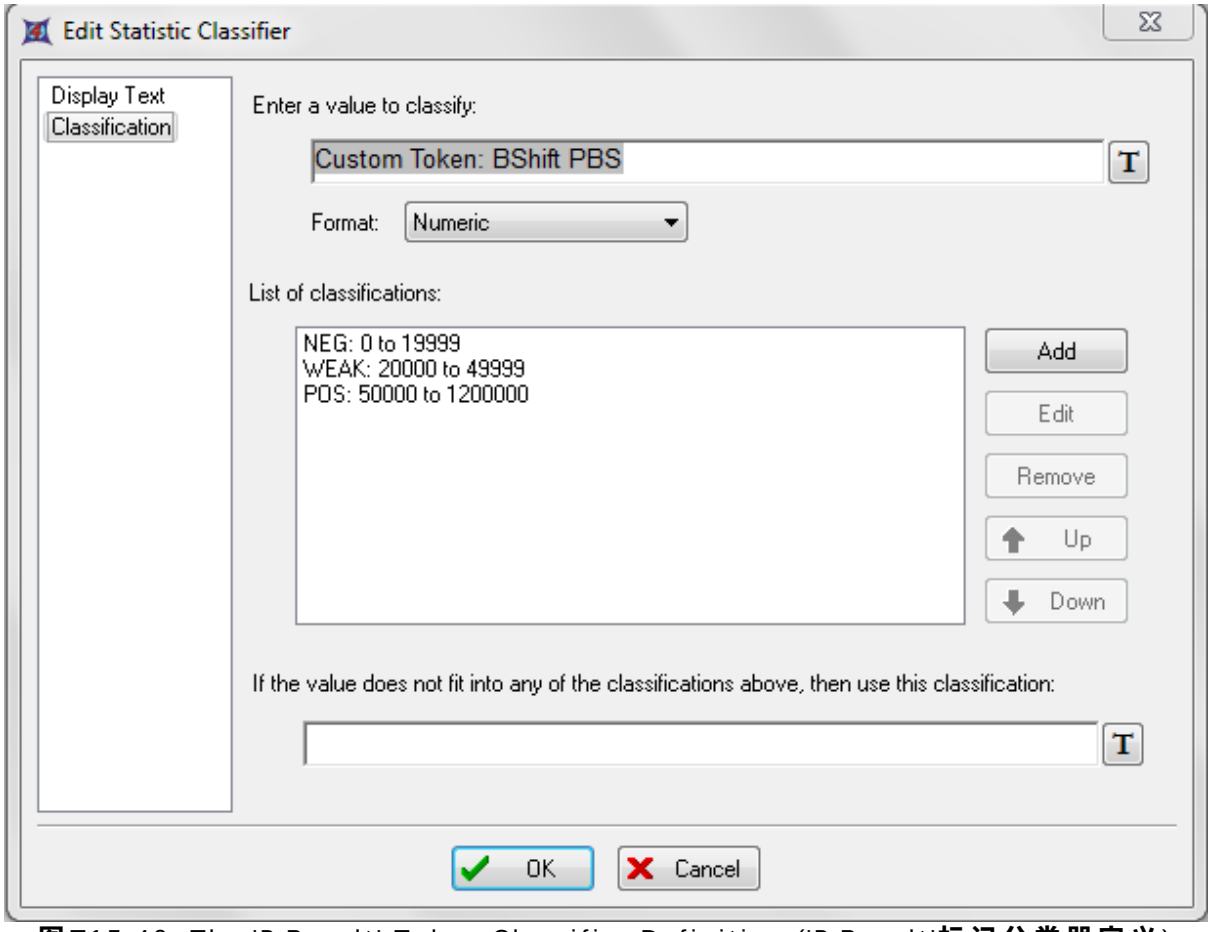
图T15.39 Edit Classification Dialog (**编辑分类规则对话框**)

这时又会出现**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**下的**Classification(分类规则)**类别选项对话框。但现在的**List of classifications:(分类规则列表)**字段已经有"NEG"分类规则列在那里了。我们现在就已经把"BShift"自定义标记的"NEG"分类规则定义为在0到19,999之间。这就是说，如果样本中B细胞的MESF FITC荧光中间值在减去PBS NEGATIVE CONTROL之后小于20,000，那么该样本就被分到阴性或"NEG"一类。

现在让我们来继续定义其它的两个分类"WEAK"和"POS"。

24. 请点击**Add(添加)**按钮，如图T15.38中的光标和蓝色高亮所示。
25. 请在**Create Classification(创建分类规则)**对话框中的**Classify the token as(把标记归类为)**文本字段输入"WEAK"。
26. 请在**if its value is between(如果标记的值在...和...之间)**文本字段输入"20000"。
27. 请在**and(和)**文本字段中输入"49999"。
28. 请点击**OK**。
29. 请点击**Add(添加)**按钮，如图T15.38中的光标和蓝色高亮所示。
30. 请在**Classify the token as(把标记归类为)**文本字段输入"POS"。
31. 请在**if its value is between(如果标记的值在...和...之间)**文本字段输入"50000"。
32. 请在**and(和)**文本字段输入"1200000"。
33. 请点击**OK**。

这时**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框看起来应该如图T15.40所示，上面显示了针对"BShift"自定义标记的一个完整的分类器定义。



图T15.40 The 'B Result' Token Classifier Definition ('B Result'**标记分类器定义**)

34. 请点击**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框上的**OK**，接受这组定义。

这时"HLA Results"数据网格也进行了更新，显示出在"B Result"列的第一个单元格中添加的标记分类器，如图T15.41所示。

Cell #	Sample	B Result	T Result
1	PBS NEG...	NEG	
2	AB NEGA...		
3	POSITIVE...		
4	PATIENT ...		

图T15.41 Token Classifier for the 'B Result' Column (**针对**'B Result'**列的标记分类器**)

既然我们已经创建了"B Result"列可以使用的分类器，我们便可以把这个分类器复制到这一列中其它的单元格中。这时我们需要做的就是对标记分类器进行编辑，以使用相应的样本数据。

35. 请复制我们在前一步中刚刚创建的"BShift PBS"自定义标记分类器。

36. 请把"BShift PBS"自定义标记分类器粘贴到"HLA Results"数据网格中B Result列里的第二个单元格的编辑器中。

现在我们需要对标记分类器进行格式化，使得它可以使用AB NEGATIVE HUMAN SERUM样本中的BShift自定义标记。

37. 请在数据网格编辑器"Classification of: 0.00"上双击。

这时会出现**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框中的**Display Text(显示文本)**类别选项。

38. 请选择**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框上的**Classification (分类规则)**选项(类似于图T15. 40中所示)。

我们现在来编辑要被分类的值。

39. 请从**Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)**文本字段中删除"Custom Token: BShift PBS"。

40. 请点击**Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)**文本字段旁边的标记图标，如图T15.36中的光标所示。

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如前面的图T15.37所示。在此我们将选择另外一个自定义标记进行分类。

41. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框中的**Custom(自定义)**类别选项中选中**BShift NegSerum**。

42. 请点击**Insert(插入)**。

这时会再次出现**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框中的**Classification (分类规则)**选项。但是**Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)**文本字段中的自定义标记已经改为"BShift NegSerum"。现在我们将重复上边的这些步骤，把"B Result"列中剩下的单元格填好。

43. 请为"B Result"列中的第三个单元格重复第36步到第42步。但在第41步，请选择**BShift PosSerum**。

44. 请为"B Result"列中的第四个单元格重复第36步到第42步。但在第41步，请选择**BShift Patient**。

这时"HLA Results"数据网格中的"B Result"列就应该完整了，并应该看起来如图T15.42所示。

Cell #	Sample	B Result	T Result
1	PBS NEG...	NEG	
2	AB NEGA...	NEG	
3	POSITIVE...	POS	
4	PATIENT ...	NEG	

图T15.42 Completed 'B Result' Column (**完整填好的**'B Result'**列**)

现在我们将使用"TShift"自定义标记来为"T Result"列定义标记分类器。

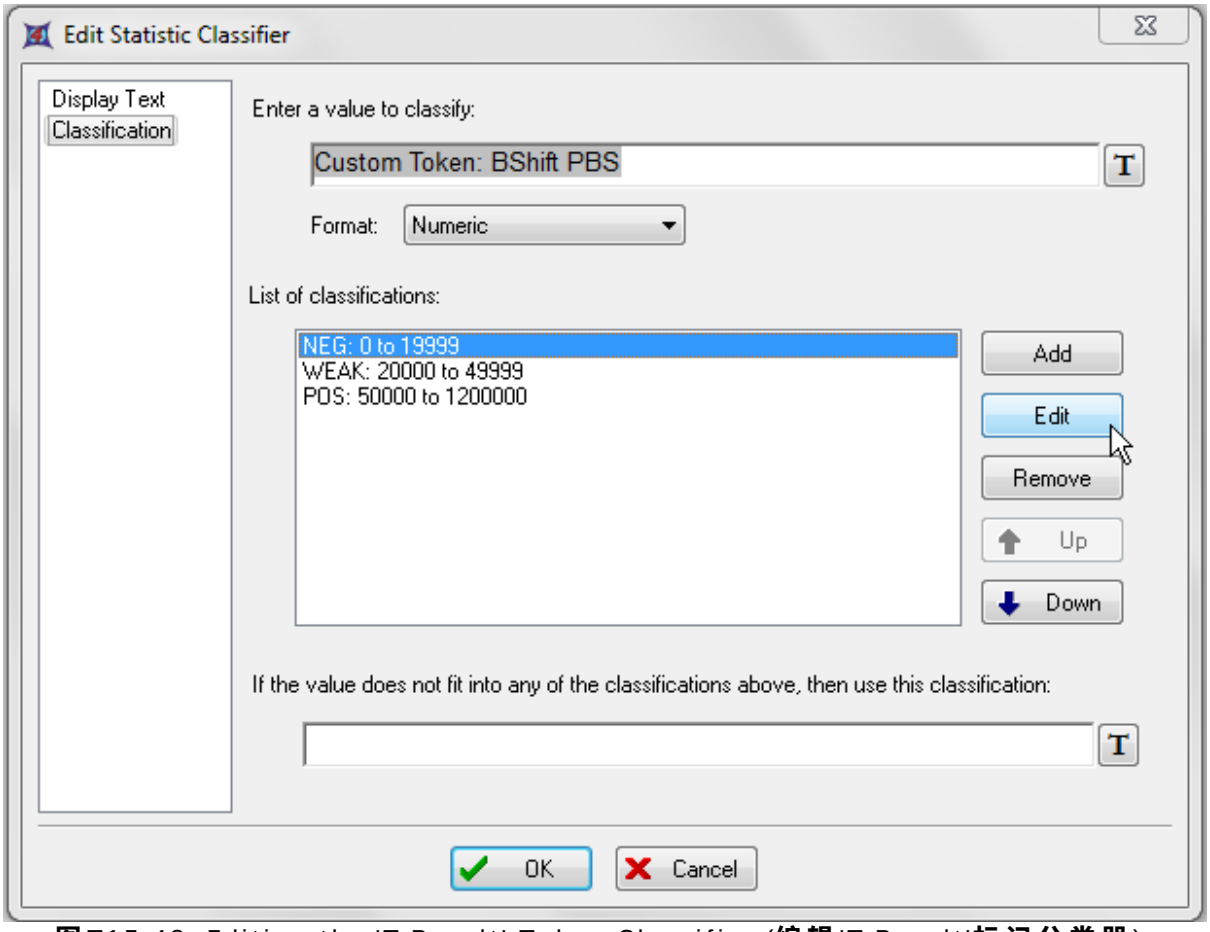
45. 请选择"B Result"列中的第一个单元格。
46. 请复制标记分类器"Classification of: 0.00"。
47. 请选择"T Result"列中的第一个单元格。
48. 请把标记分类器粘贴到"T Result"列里第一个单元格的编辑器中。
49. 请双击标记分类器"Classification of: 0.00"，以对其进行编辑。

这时会出现**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框上的**Display Text(显示文本)**类别选项。

50. 请选择**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框中的**Classification (分类规则)**列表选项。

我们将要修改进行分类的值以及分类规则列表。以下步骤均针对图T15.43。

51. 请选中**List of classifications:(分类规则列表:)**列表框中的**NEG: 0 to 19999** ，如图中的蓝色高亮所示。
52. 请点击**Edit(编辑)**。



图T15.43 Editing the 'T Result' Token Classifier (**编辑**'T Result'**标记分类器**)

这时会出现**Edit Classification(编辑分类规则)**对话框，如前面的图T15.39所示。在此我们将修改"NEG"的上限。

53. 请在**and(和)**文本字段中把"19999"改为"1999"。

54. 请点击**OK**。

这时再次出现的**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框中的**Classification (分类规则)**类别选项中的"NEG"被重新定义为从0到1,999之间。我们现在将继续来编辑"WEAK"和"POS"两个分类。

55. 请在**List of classifications:(分类规则列表:)**列表框中选中**WEAK: 20000 to 49999**。

56. 请点击**Edit(编辑)**。

57. 请把**if its value is between(如果标记的值在...和...之间)**文本字段中的"20000"改为"2000"。

58. 请在**and(和)**文本字段中把"49999"改为"8000"。

59. 请点击**OK**。

60. 请在**List of classifications:(分类规则列表:)**列表框中选中**POS: 50000 to 1200000**。

61. 请点击**Edit(编辑)**。

62. 请在**if its value is between(如果标记的值在...和...之间)**文本字段把"49999"改为"8000"。

63. 请点击**OK**。

现在我们需要把要进行分类的标记从自定义标记"BShift PBS"改为自定义标记"TShift PBS"。

64. 请删除**Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)**文本字段中的"Custom Token: BShift PBS"。

65. 请点击**Enter a value to classify:(输入一个要进行分类的值:)**文本窗口旁边的标记图标，如图T15.36中的光标所示。

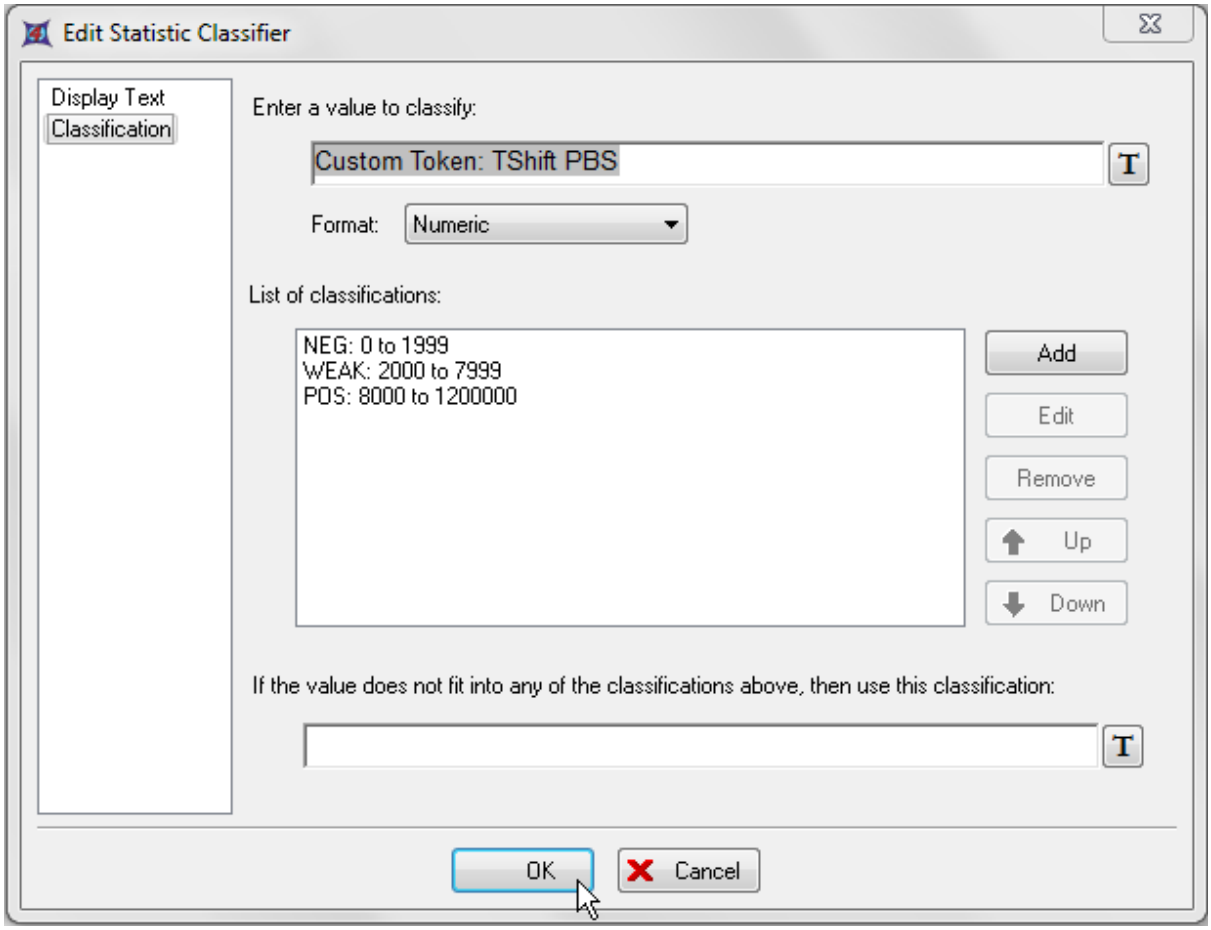
这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如前图T15.37所示。

66. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框中的**Custom(自定义)**列表选项中选中**TShift PBS**。

67. 请点击**Insert(插入)**。

这时**Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)**对话框看起来应该如图T15.44所示，上面显示了针对"TShift PBS"自定义标记的一个完整的分类器定义。

68. 请点击**OK**。



图T15.44 Classifier Definitions of the 'TShift PBS' Custom Token for the 'T Result' Column ('T Result'**列里使用的针对**'TShift PBS'**自定义标记的分类器**)

我们现在已经为"TShift PBS"自定义标记创建了分类规则列表。接下来我们要把这个分类器应用到"T Result"列中其它的"TShift"自定义标记上。最简单的方法还是把"T Result"列中的第一个单元格中的"TShift PBS"自定义标记分类器复制到列中的其它单元格中。

69. 请为"T Result"列重复第35步到第44步，只是把"BShift"自定义标记替换为"TShift"自定义标记。

当完成所有的复制、粘贴以及编辑标记分类器后，"HLA Results"数据网格将会整个被填满，看起来应该如图T15.45所示。

Cell #	Sample	B Result	T Result
1	PBS NEG...	NEG	NEG
2	AB NEGA...	NEG	NEG
3	POSITIVE...	POS	POS
4	PATIENT ...	NEG	NEG

图 T15.45 Completed 'HLA Results' Data Grid (**填好的** 'HLA Results' **数据网格**)

既然我们在数据表中创建了所有的自定义标记以及标记分类器，那么我们就可以保存这个版面，并把它应用到其它数据组上。因为大多数的数据网格都只使用标记，所以数据值会随着绘图的更新而更新。

36.16 条形图和散点图

FCS Express现在可以让用户在版面上直接显示条形图和散点图。在FCS Express中创建的条形图和散点图会随着图上的门的改变而自动更新。有了条形图和散点图，用户无需再做很多中间步骤，例如创建表格、导出数据、把数据在Excel中重新整合以及把新创建的绘图导出以供将来图片处理所用等等。条形图和散点图可以被格式化，然后导出到PowerPoint和PDF中，导出方法与FCS Express中任何其它绘图的导出方法一样，这点让使用条形图和散点图变得非常容易。用户可以在非常短的时间内利用条形图和散点图对数据进行汇总，生成具有发表质量的图片。

在这章教程中，我们将学习如何:

- 使用自定义数据网格来绘制条形图和散点图
- 创建在条形图和散点图中使用的标记
- 手动地为条形图和散点图输入数值
- 使用标记在绘图中创建误差线
- 格式化条形图和散点图
- 创建条件公式以高亮显示数据组
- 在条形图和散点图上添加叠加图层

条形图和散点图根据自定义数据网格来显示用户关注的数据。自定义数据网格可以被想成是电子表格，电子表格中的单元格的数值是基于绘图数据的统计数值。用户在开始本章学习之前，请先熟悉自定义数据的功能(参见自定义数据教程 829)。

36.16.1 *创建条形图和散点图*

在这一节中，我们将学习如何:

- 使用自定义数据网格来绘制条形图和散点图
- 创建在条形图和散点图中使用的标记
- 手动地为条形图和散点图输入数值
- 在绘图中使用标记创建误差线

在这个例子中，我们用一个条形图来显示数据。请注意以下为条形图创建自定义数据表格的步骤也适用于散点图。

我们将使用位于教程样本数据库510中的**CreatingBarandScatter.fey**版面。这个版面中有四个不同条件下的样本。这些条件如下:

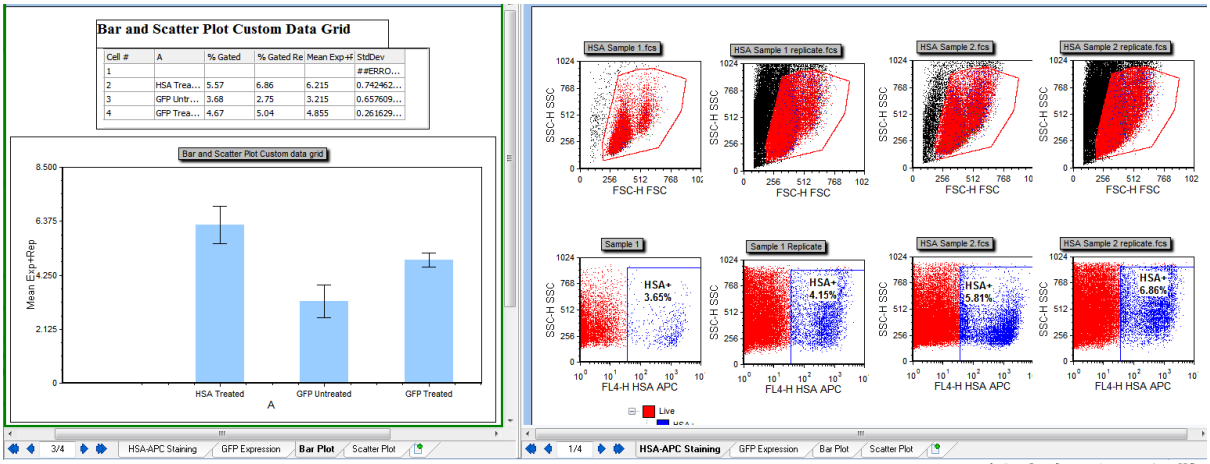
条件	样本名称	标识分子
HSA Untreated (未经HSA处理过的)	Sample 1 (样本1)	HSA- APC
HSA Treated (HSA处理过的)	Sample 2 (样本2)	HSA- APC
GFP Untreated (未经GFP处理过的)	Sample 3 (样本3)	GFP
GFP Treated (GFP处理过的)	Sample 4 (样本4)	GFP

1. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录中的**CreatingBarandScatter.fey**版面。

这个版面有四个页面: HSA- APC Staining(HSA- APC染色)、GFP Expression(GFP表达)、Bar Plot(条形图)以及Scatter Plot(散点图)。

2. 请选择**View(视图)→Multiple Pages(多重页面)→Two Pages (Vertical)(纵向双页)**命令。
3. 请点击Bar Plot页标签，把这页显示在屏幕的左侧。
4. 请点击HSA- APC Staining页标签，把它显示在屏幕的右侧。

这时绘图看起来应该如图T16.1所示。



图T16.1 Create Bar and Scatter Layout Viewed with Multiple Pages (**创建条形图和散点图版面并以多页的方式查看**)

在**Bar Plot(条形图)**页中可以看到一个名为**Bar and Scatter Plot Custom Data Grid(条形图和散点图自定义数据网格)**的自定义数据网格。为方便起见，表格中的三行都已经填好了(图T16.2)。我们现在仅仅来填写最上面一行(其它三行的填写方式和这行的填写方式相同)。

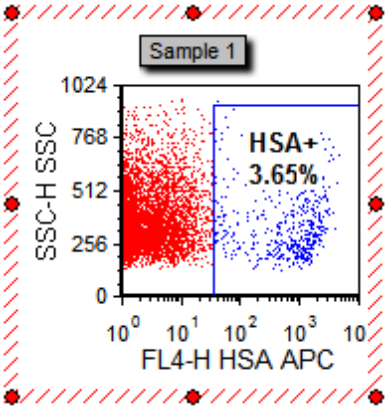
Bar and Scatter Plot Custom Data Grid

Cell #	A	% Gated	% Gated Re	Mean Exp+F	StdDev
1					##ERRO...
2	HSA Trea...	5.81	6.86	6.335	0.742462...
3	GFP Untr...	3.68	2.75	3.215	0.657609...
4	GFP Trea...	4.67	5.04	4.855	0.261629...

图T16.2 Custom Data Grid for Bar and Scatter Plot Tutorial (**针对条形图和散点图教程的自定义数据网格**)

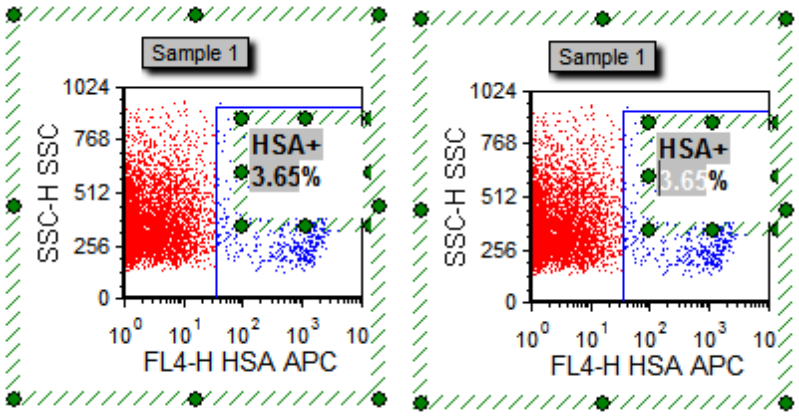
5. 请点击A列标头，将其选中。
6. 请右键点击列标头。
7. 请从弹出菜单上选择**Rename Selected Column(为所选列重命名)**。
8. 请在**New Column Name(新列名称)**对话框中输入"Sample"。

9. 请点击**OK**。
10. 请点击**Sample**列里的第1行。
11. 请输入"HSA Untreated"作为样本名称。
12. 请选择**HSA- APC Staining**页面中的名为**Sample 1(样本1)**的绘图(图T16.3)。



图T16.3 Selecting Sample 1 (**选中绘图"样本**1")

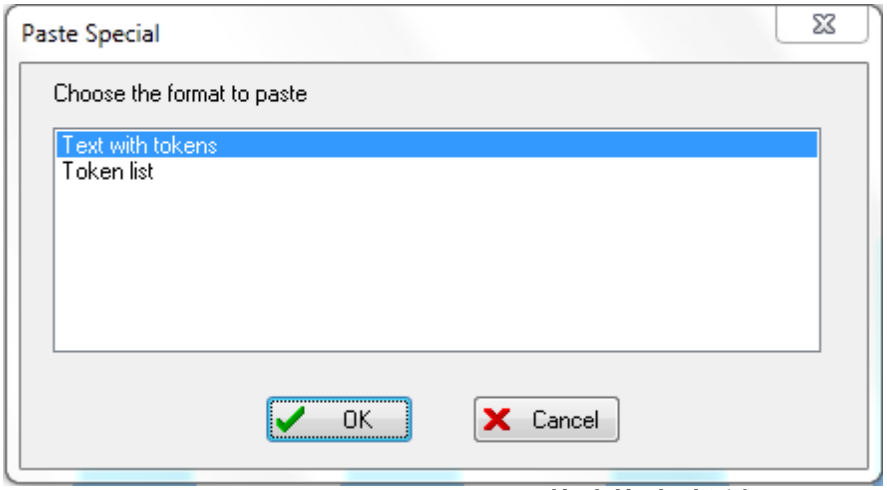
13. 请点击绘图上的门统计文本框(文本框的边界会变为绿色，表明它处于编辑模式) 。
14. 请选择门中细胞百分比标记(标记文本被选中时会变成白色，如图T16.4所示)。



图T16.4 Left: Token Ready for Selection. Right: Token Selected. (**左图**: **标记处于备选状态。右图**: **标记被选中。**)

15. 当光标在选中的标记上时，请按下**Ctrl**键不放，把标记拖到**% Gated(门中细胞百分比)**列中的第1行中。

16. 请点击**Paste Special(特殊粘贴)**对话框中的**OK**键 (图T16.5)。



图T16.5 Paste Special Dialog (**特殊粘贴对话框**)

17. 请点击自定义数据网格中的**% Gated(门中细胞百分比)**列中的第1行。

18. 请对**Sample 1 Replicate(样本1副本)**绘图重复第14步到第17步，把标记拖到**% Gated Rep**列的第1行里。

19. 请点击**% Gated**列的第1行。

20. 请在对话框中选择标记描述。

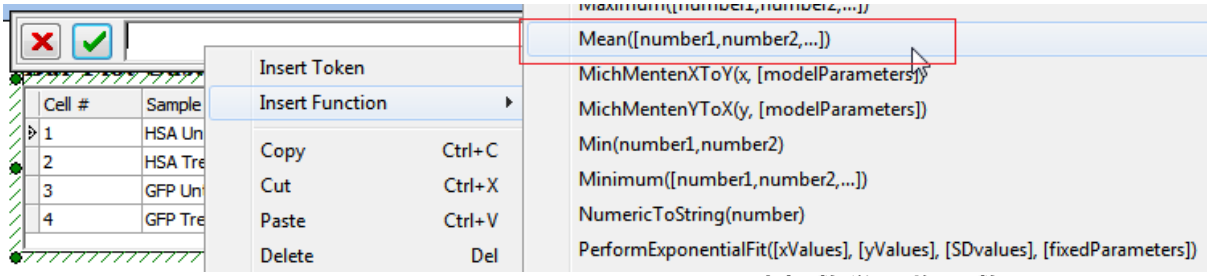
21. 请按下**Ctrl+ C**键来复制标记。

22. 请点击**Mean Exp+ Rep**列中的第1行。这时会弹出一个对话框，在此可输入单元格文本。

23. 请右键点击对话框。

24. 请在弹出菜单中选择**Insert Function(插入函数)**。

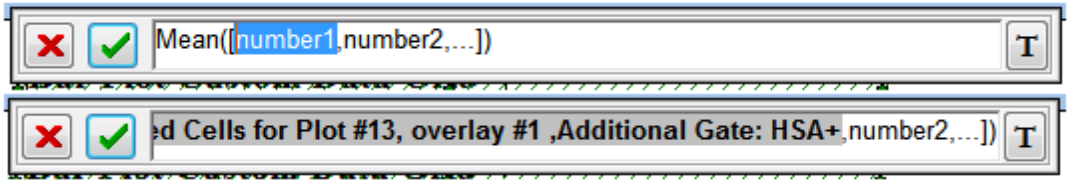
25. 请从函数列表中选择**Mean([number1,number2,...])**(图T16.6)。



图T16.6 Selecting the Mean Function (**选择数学平均函数**)

26. 请在对话框中选择**number 1(第1个数值)**(图T16.7)。

27. 请按下**Ctrl+V**，粘贴在第21步中复制的内容(图T16.7)。



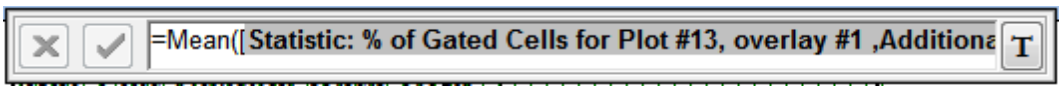
图T16.7 Top: Select number 1 for Replacement with a Token. Bottom: Pasting the Copied Token to Replace the Function Reference. (**上图：选中第1个数值，准备将其替换为一个标记。下图：粘贴复制的标记，取代函数中的参数**)

28. 请为**% Gated Rep**列中的第1行重复第20步到第22步。

29. 请选中**Mean Exp+Rep**列中的**number 2,…**。

30. 请使用**Ctrl+V**，把第28步中复制的内容进行粘贴。

31. 请在函数公式中的**Mean(算术平均)**前面插入一个"="号(图T16.8)。



图T16.8 Inserting an Equal Sign Before Mean Completes the Function Formula (**请在**"Mean"**前面插入一个等号，使函数公式完整**)

32. 请点击**Enter**键。

这时在绘图中便会出现HSA Untreated对应的条形，它的值是Sample 1及其同条件副本的算术平均。我们现在要使用标准偏差函数来为HSA Untreated对应的条形加一个误差线。这

个例子中已经选择了StdDev函数，方法和在第24步及第25步中选择算术平均函数的方法相同。样本1副本试样的统计标记已经被输入好了，现在我们只需输入样本1自身对应的统计标记即可。

33. 请点击**StdDev**列中的第1行。

34. 请选中文本"**INSERT SAMPLE 1 STAIN STAT HERE(请在此插入样本1的染色统计数据)**"(图T16.9)。



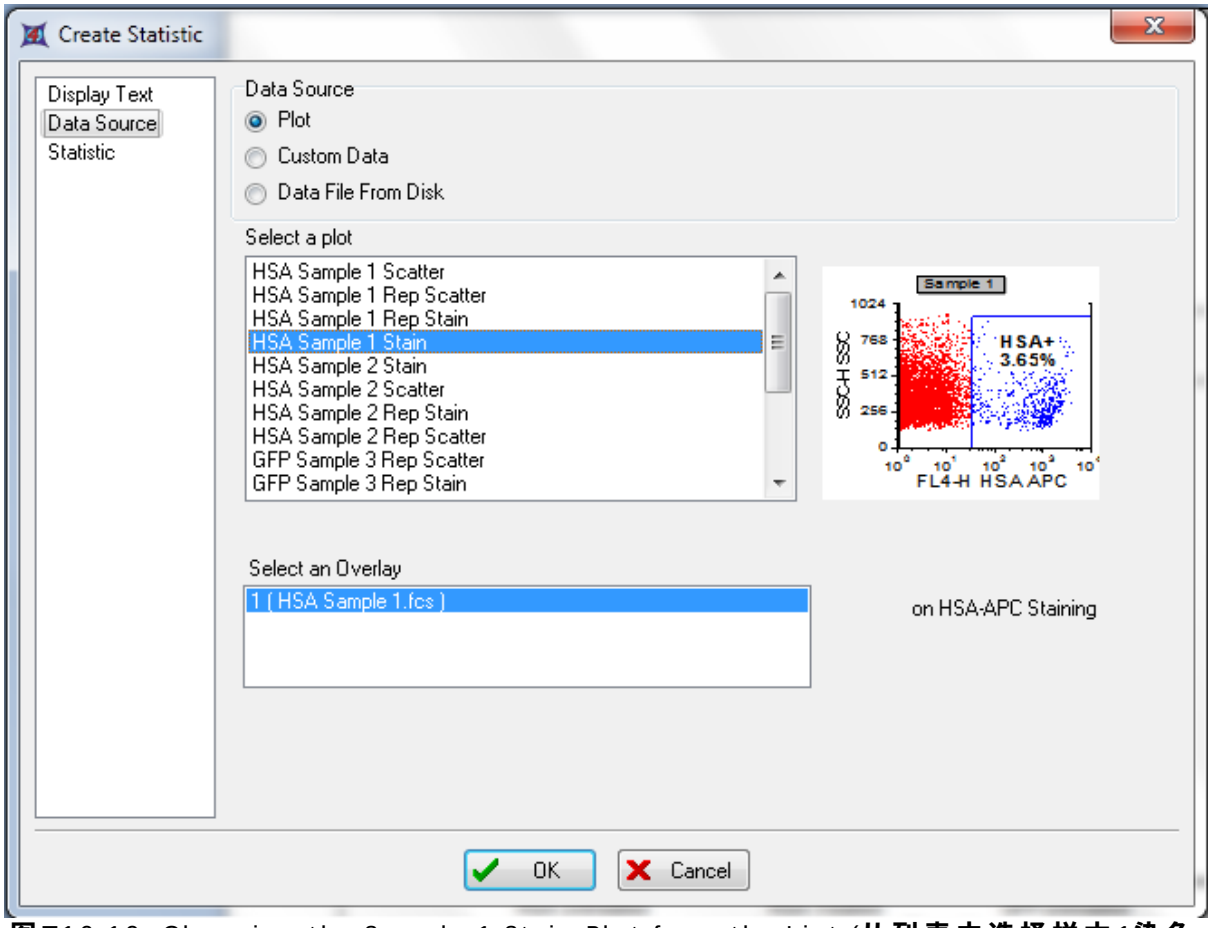
图T16.9 Selecting Text to Insert a Token (**选中文本以插入一个标记**)

35. 请右键点击选中的文本。

36. 请从弹出菜单中选择**Insert Token(插入标记)**。

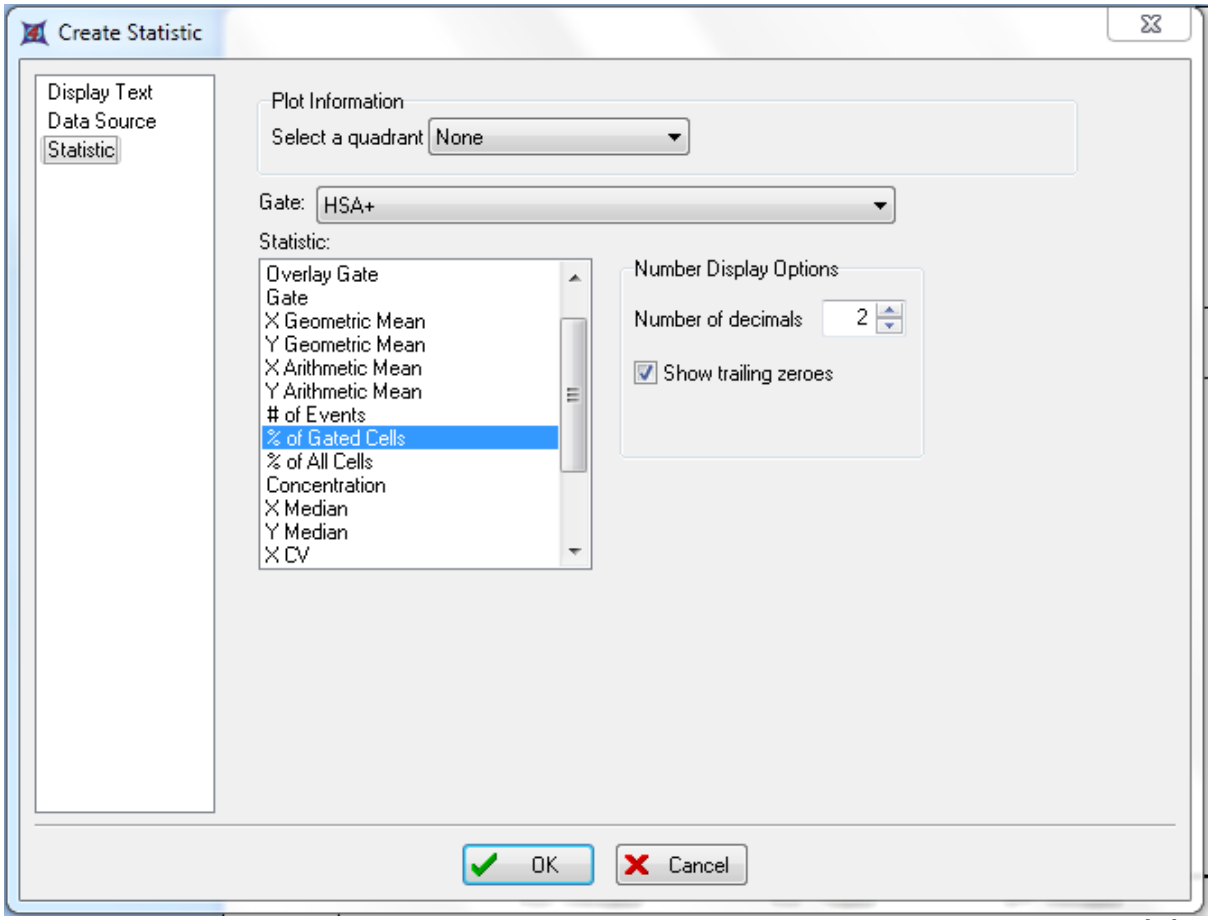
37. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框中双击**Statistic(统计)**。

38. 请从**Select a Plot(选择绘图)**列表框中选择**HSA Sample 1 Stain(HSA样本1染色)**(图T16.10)。



图T16.10 Choosing the Sample 1 Stain Plot from the List (**从列表中选择样本1染色绘图**)

39. 请在左侧选择**Statistic(统计)**列表选项。
40. 请从**Gate(门)**下拉列表中选择**HSA+** (T16.11)。
41. 请从**Statistic(统计)**列表框中选择**% of Gated Cells(门中细胞百分比)**(图T16.11)。
42. 请点击**OK**。

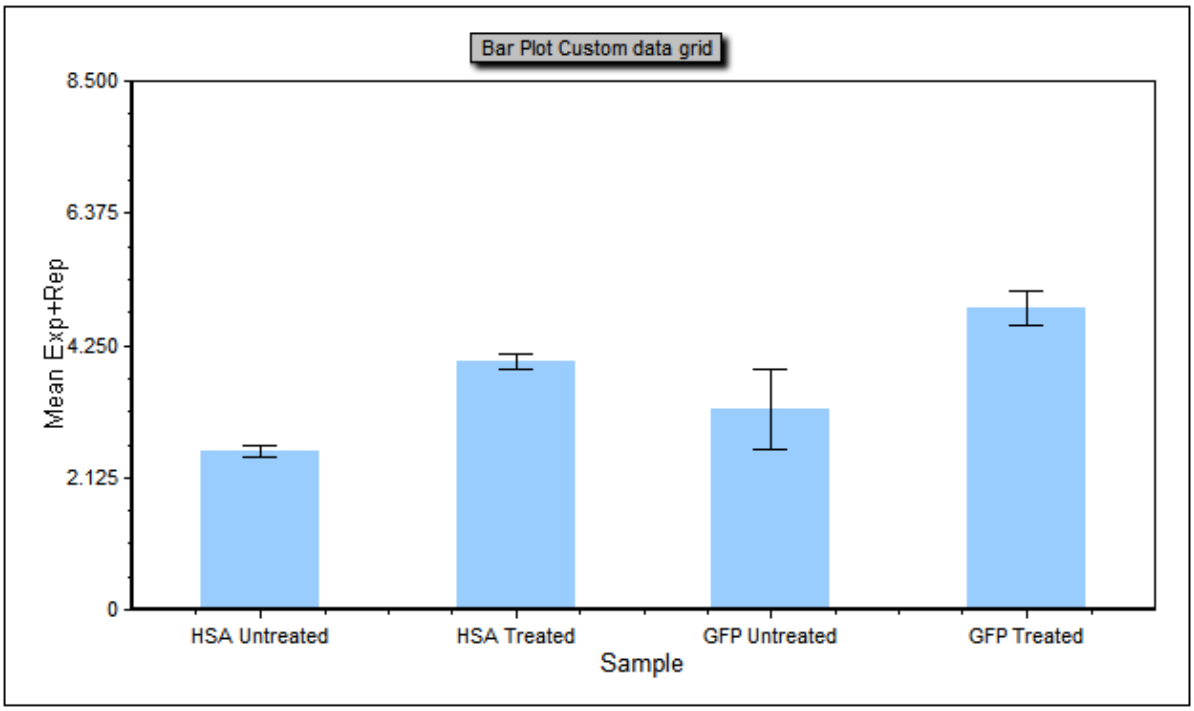


图T16.11 Choosing the Gate and Token for the Standard Deviation Function (**为标准偏差函数选择门和标记**)

43. 请在自定义数据公式编辑器中的文本**StdDev(标准偏差)**前面输入一个"="号。

44. 请点击版面上其它地方，退出自定义数据公式编辑器。

这时的条形图看起来应该如图T16.12所示。现在**HSA Untreated**条形会有一个根据样本1及其同条件样本生成的标准偏差误差线。请试着移动一下HSA- APC Staining页面中的门来观察条形图中的条形以及误差线做自动调整。



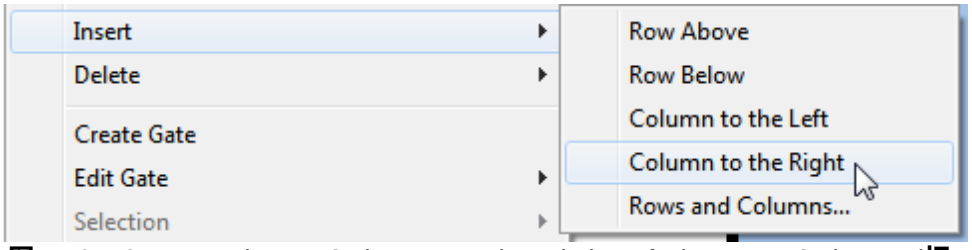
图T16.12 Completed Bar Plot (**完成了的条形图**)

键入自定义数据网格(就像我们前面刚刚建好的那个)中的数据也可以做成散点图。作为一个例子，我们现在来把我们刚刚创建的数据用散点图来显示，这个散点图已经被插入到版面中并预先定义好了。

45. 请点击**Scatter Plot(散点图)**页标签。

46. 请在条形图和散点图自定义数据网格中右键点击**StdDev**列。

47. 请选择**Insert(插入)→Column to the Right(把列插入到右侧)**(图T16.13)。



图T16.13 Inserting a Column to the Right of the Last Column (**把一列插入到最后一列的右侧**)

48. 请把这列命名为"Sample #"(图T16.14)。

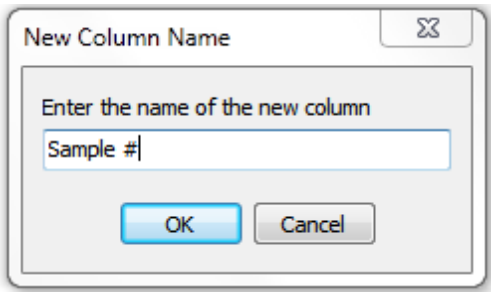


图 T16.14 New Column Name Dialog (**新列名称对话框**)

49. 请选择**Sample #**作为散点图的X- 轴参数。
50. 请点击条形图和散点图自定义数据网格中**Sample #**列的第1行。
51. 请在单元格中输入"1"。
52. 请针对**Sample #**列中的第2行到第4行重复第51到第52步，把数字2- 4分别输入其中。

请注意散点图在这些数值输入到自定义数据网格的单元格中后自动进行了更新。

36.16.2 *格式化条形图和散点图*

尽管创建条形图和散点图是实时查看数据的一种好方法，但是大多数用户最后还是想把数据发表或与他人分享。各种绘图都可以在FCS Express中进行完全格式化，这就是说用户可以在FCS Express中直接创建具有发表质量的图像而无需借助任何其它中间编辑程序。在这节教程中，我们将主要演示条形图和散点图所独具的格式化选项。要了解关于格式化的基本操作方法，请参见格式化绘图一节 538。我们将使用**FormattingBarandScatterPlots.fey**版面，该版面包括一些样本数据文件、一个条形图和一个散点图 ;我们将进行的操作有:

- 格式化条形图和散点图以便:
  - o 调整条形/ 散点的颜色和填充选项
  - o 修改误差线格式及颜色
  - o 为数据条和数据点应用特殊颜色
  - o 在绘图上显示数据值

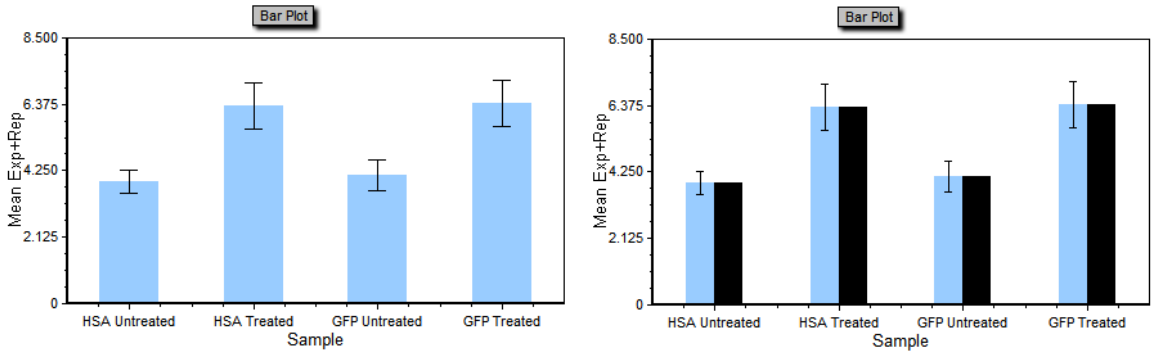
- o 在散点图上连线
- 创建条件公式以高亮显示数据组
- 在条形图和散点图上添加叠加图层

格式化条形图

1. 请打开教程样本数据库510中的**FormattingBarandScatterPlots.fey**版面。
2. 请选中**View(视图)→Multiple Pages(多重页面)→Two Pages (Vertical)(纵向双页)**命令。
3. 请点击**Bar Plot(条形图)**页标签，把它显示在屏幕的左侧。
4. 请点击**Scatter Plot(散点图)**页标签，把它放在屏幕的右边。

我们现在将把在散点图上的数据叠加到条形图上，来查看**% Gated(门中细胞百分比)**列上的数据(条形图上已有**Mean Exp+ Rep**列对应的数据)。我们现在要对新加图层上的条形进行格式化，改变条形颜色、填充图案和边框设置。

5. 请把散点图拖到条形图上(图T16.15)。



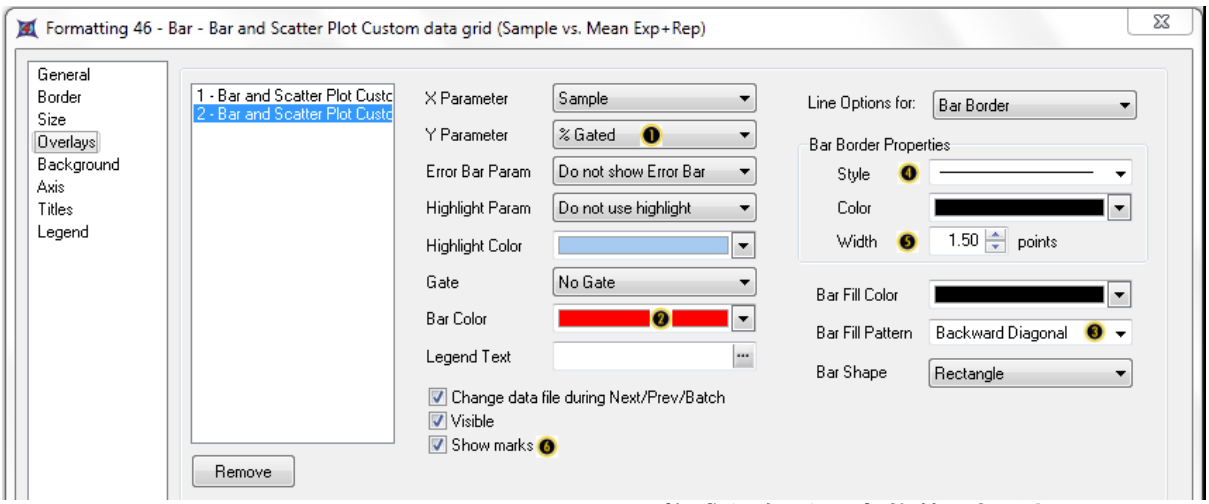
图T16.15 Left: Bar Plot Before Dragging and Dropping Scatter Plot as Overlay. Right: Bar Plot After Dragging and Dropping Scatter Plot as Overlay (**左图**: **把散点图拖上来之前的条形图。右图**: **把散点图作为新加叠加图层拖到条形图上后的结果。**)

6. 请右键点击条形图。
7. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
8. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

9. 请点击第"2"个叠加图层，将其选中。

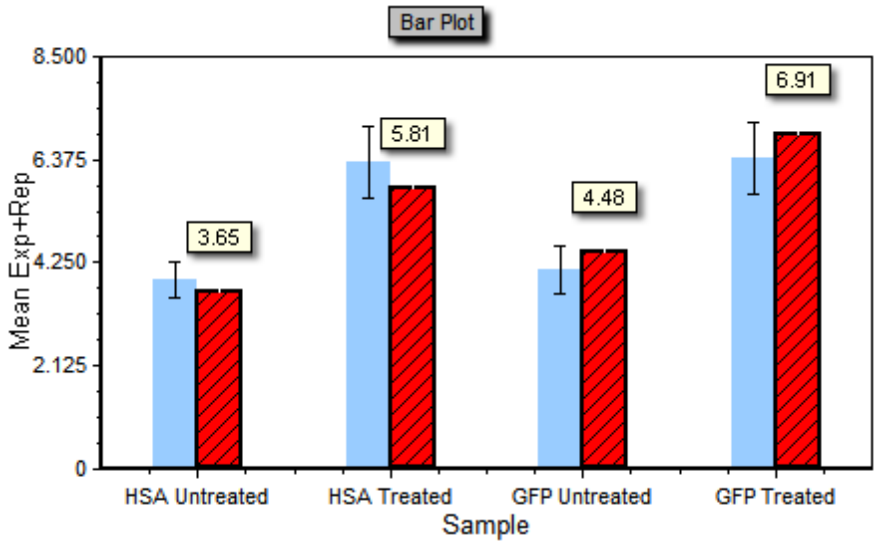
以下的步骤针对图T16.16。

10. 请从**Y Parameter(参数)**下拉列表中❶选择**% Gated(门中细胞百分比)**。
11. 请把**Bar Color(条形颜色)**改为红色❷。
12. 请把**Bar Fill Pattern(条形填充图案)**改成**Backward Diagonal(向后的对角线)**❸。
13. 请把**Line Options for: (针对...的线条选项)**改成**Bar Border(条码)**。
14. 请从**Bar Border Properties(条码属性)**选项框❹中的**Style(线型)**中选中第一种实线线型。
15. 请把**Width(宽度)**改为**1.5**❺。
16. 请勾选**Show Marks(显示数值)**复选框❻。
17. 请点击**Preview(预览)**。



图T16.16 Formatting Bar Plot Overlay 2 (**格式化条形图中的第**2**个叠加图层**)

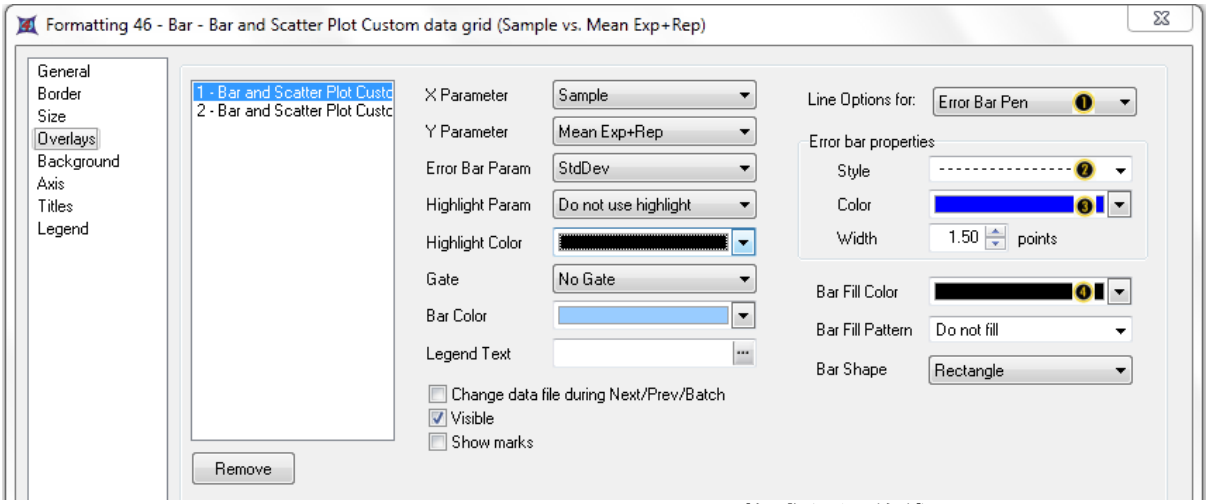
条形图现在看起来应该如图T16.17所示。图上现在有%Gated以及Mean Exp+Rep两列对应的条形图。Show Marks(显示数值)选项在绘图上加上了一些文本框，显示条形代表的数值。



图T16.17 Bar Plot After Formatting was Applied(**格式化之后的条形图**)

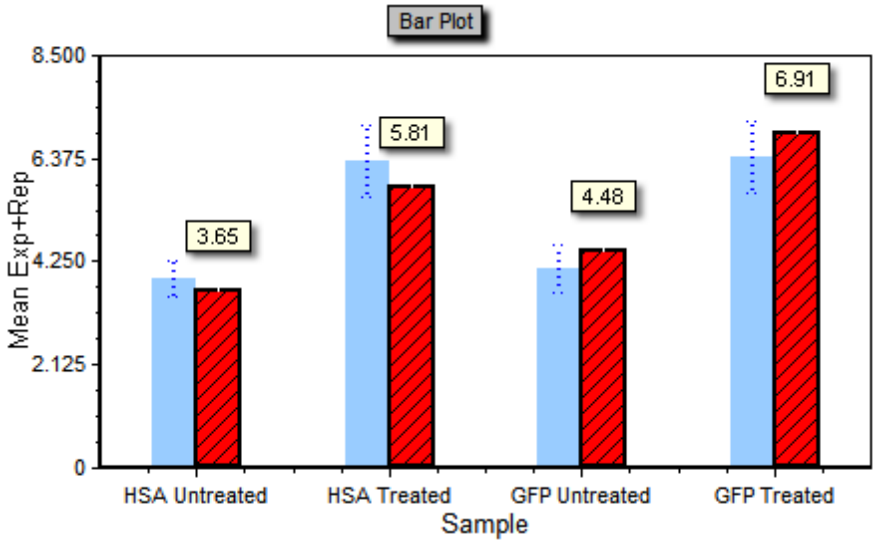
我们现在将对误差线进行格式化操作(图T16.18)。

18. 请点击叠加图层"1"，将其选中。
19. 请在**Line Options for:(针对...的线条选项)**选择**Error Bar Pen(误差线画笔)** ❶。
20. 请在误差线属性中把**Style(线型)**改为虚线❷。
21. 请把**Color(颜色)**改成蓝色❸。
22. 请把**Width(宽度)**改到1.5❹。
23. 请点击**Preview(预览)**。



图T16.18 Formatting Error Bars (**格式化误差线**)

这时这个条形图看起来应该如图T16.19所示。误差线现在已经变成了蓝色虚线，宽度比以前宽了一些。



图T16.19 Error Bars Formatted on the Bar Plot (**条形图上格式化过的误差线**)

我们现在将使用特别着色功能来显示某些数据条。特别着色显示的条形的颜色与叠加图层的默认颜色不同，这个颜色是用户可以自己选择的。在条形和散点图绘图自定义数据网格中有一个标为特别着色显示的列，其中所有单元格都包含以下公式:

= if (Token for %Gated cells in each sample) < 4 then "true" else "false"

这个公式会根据公式中标记的结果为单元格设置一个真值或假值(请双击自定义数据网格中的标记来查看其来源)。使用这个特别着色显示功能时，真值代表特别着色显示数据条，假值代表不进行特别着色显示。现在让我们把特别着色显示参数应用到条形图中最初的叠加图层上，来特别着色显示那些%Gated(门中细胞百分比)少于4%的数据条。

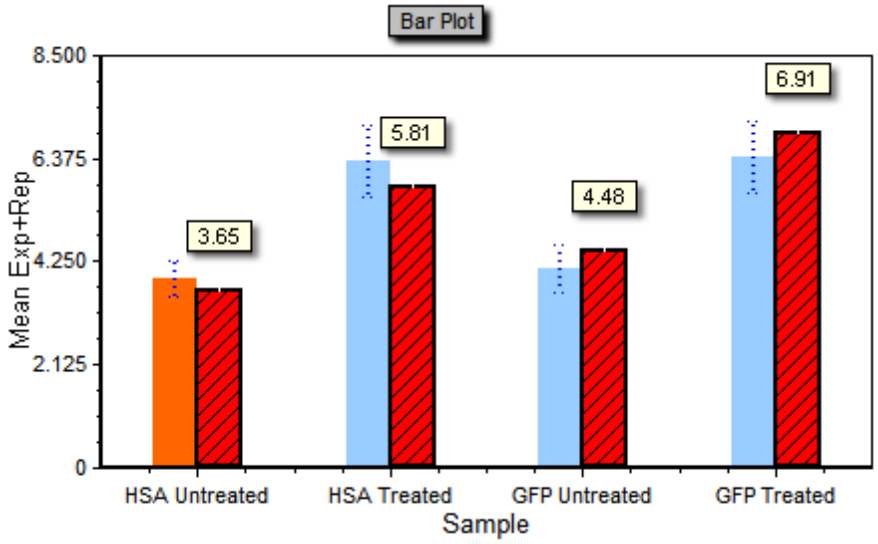
24. 请选中底层叠加图层"1"。

25. 请从**Highlight Param(特别着色显示参数)**下拉列表中选择"Highlighting(特别着色显示)"。

26. 请选择橙色作为**Highlight Color(特别着色显示颜色)**。

27. 请点击**OK**。

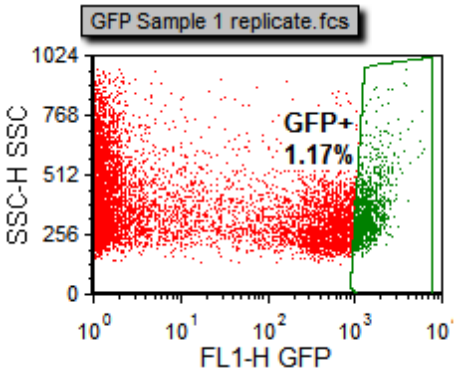
这时条形图看起来应该如图T16.20所示。条形中%Gated列值少于4%的将被特别着色显示为橙色。让我们现在来修改一下GFP+ 门，以观察特别着色随着门改变而改变的情形。



图T16.20 Highlighting Applied to Bar Plot (**应用于条形图上的特别着色颜色**)

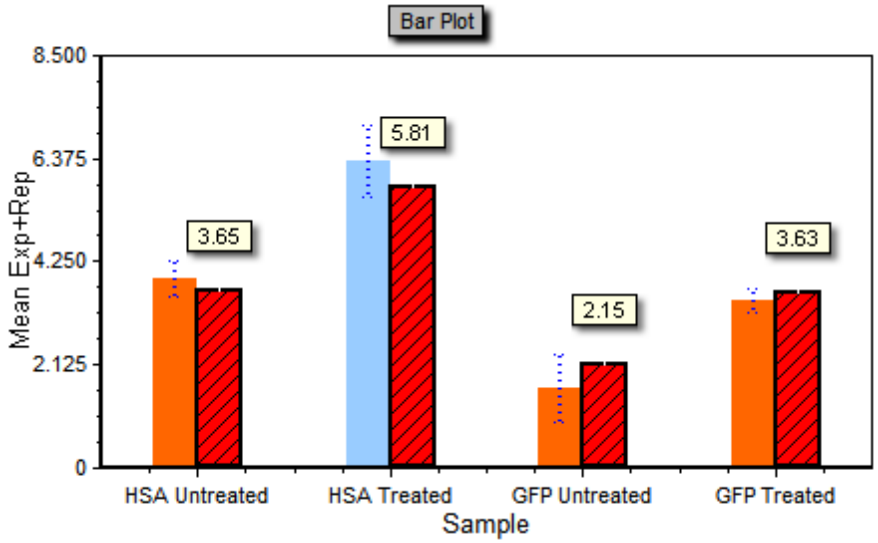
28. 请把屏幕右侧的页面点选到**GFP Expression(GFP表达)**页面。

29. 请把GFP+ 门的一侧边界移到大约10^3 的位置，如图T16.21所示。



图T16.21 Adjusting the GFP+ Gate (**调整**GFP+**门**)

注意到自定义数据表格中的GFP Untreated(没有经过GFP处理)和GFP Treated(经过GFP处理)的样本中的门中细胞百分比都变到了小于4%。另外，特别着色显示值也变成了"真"。所以特别着色颜色显示在了相应的数据条上(图T16.22)。



图T16.22 Bar Plot Colors Automatically Updating in Response to Moving a Gate (**条形图颜色随着门的移动而自动更新**)

我们同样可以选择在条形图上查看哪个叠加图层。

30. 请右键点击条形图。
31. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
32. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

33. 请点击第"2"个叠加图层，将其选中。

34. 请不要勾选**Visible(可视)**复选框。

35. 请点击**OK**。

这时条形图上只会显示第一个叠加图层中的数据，在该层中Y参数被设置到Mean Exp+Rep列。

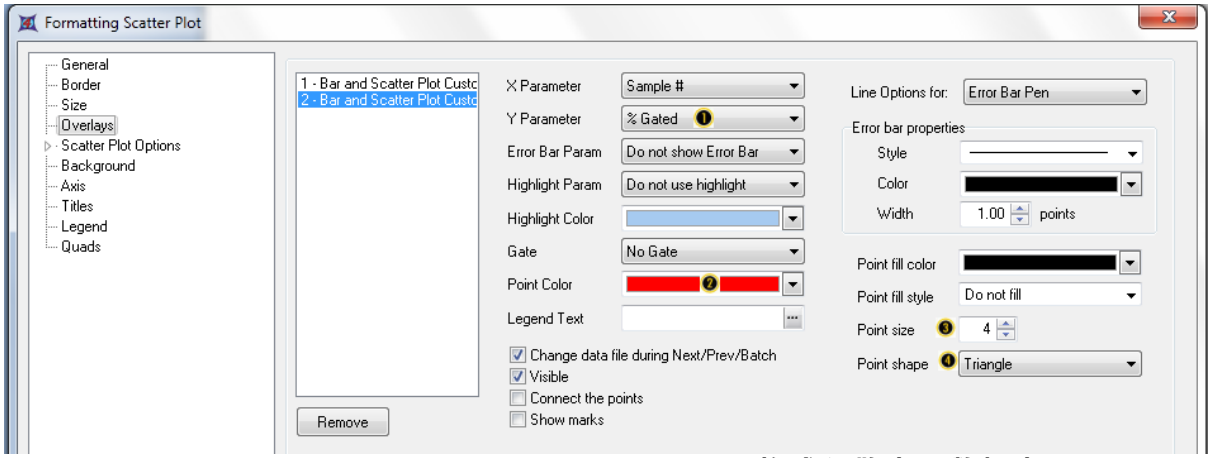
格式化散点图

1. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录中的**FormattingBarandScatterPlots.fey**版面。
2. 请选择**View(视图)→Multiple Pages(多重页面)→Two Pages (Vertical)(纵向双页)**命令。
3. 请在屏幕左侧选择**Scatter Plot(散点图)**页标签。
4. 请在屏幕右侧选择**Bar Plot(条形图)**页标签。

现在我们将把在条形图上显示的数据作为叠加图层添加到散点图上，来一起查看%Gated列和Mean Exp+ Rep列对应的数据。

5. 请选中条形图，把它拖到散点图上。
6. 请右键点击散点图。
7. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
8. 请选中**Overlays(叠加图层)**类别选项。
9. 请点击第"2"个叠加图层，将其选中。

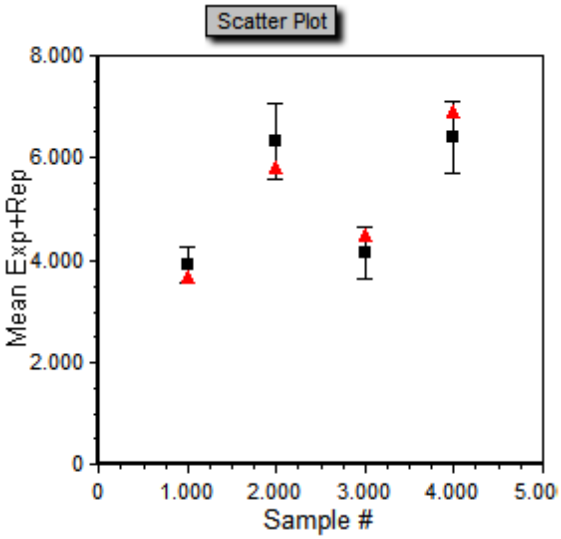
以下的步骤针对图T16.23。



图T16.23 Formatting Scatter Plot Points (**格式化散点图数据点**)

10. 请从**Y Parameter(参数)**下拉列表中❶选择**% Gated(门中细胞百分比)**。
11. 请把**Point Color(数据点)**颜色修改为红色❷。
12. 请把**Point size(数据点尺寸)**修改为4❸。
13. 请把**Point shape(数据点形状)**修改为**triangle(三角形)**❹。
14. 请点击**Preview(预览)**。

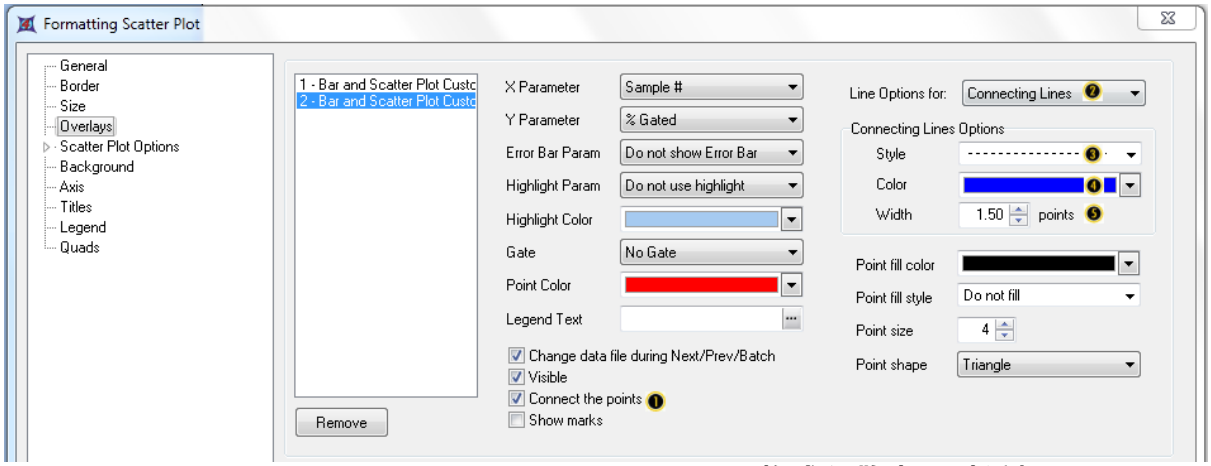
这时这个散点图看起来应该如图T16.24所示。绘图中Mean Exp+Rep列对应的数据点为黑色的方块，而%Gated列对应的数据点为红色三角。



图T16.24 Scatter Plot After Formatting Points (**格式化数据点后的散点图**)

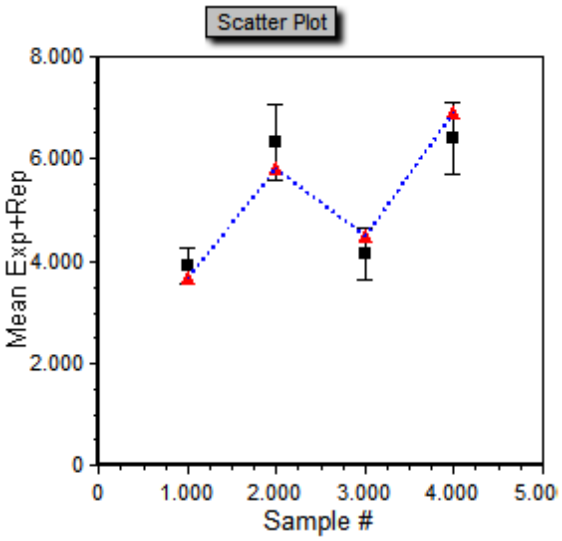
我们现在要把这些点用一条线连接回来(参考图T16.25)。

15. 请勾选**Connect the points(连接数据点)**复选框❶。
16. 请把**Line Options for:(针对...的线条选项)**修改为**Connecting Lines(连接线)**❷。
17. 请在**Connecting Lines Options(连接线选项)**下的**Style(线型)**里选择第三种线型(虚线)❸。
18. 请把**Color(颜色)**修改为蓝色❹。
19. 请把**Width(宽度)**改为1.5❺。
20. 请点击**Preview(预览)**。



图T16.25 Formatting Scatter Plot Dialog (**格式化散点图对话框**)

这时在第2个叠加图层上会显示出蓝色的虚线连接线(图T16.26)。



图T16.26 Points in the Scatter Plot Connected by Lines (**散点图上由线连起来的数据点**)

我们现在将使用特别着色功能来显示某些数据点。在条形和散点图绘图自定义表格中有一个标为特别着色显示的列，其中所有单元格都包含以下公式:

= if (Token for %Gated cells in each sample) < 4 then "true" else "false"

这个公式会根据公式中标记的结果为单元格设置一个真值或假值(请双击自定义数据网格中的标记来查看其来源)。使用这个特别着色显示功能时，真值代表特别着色显示数据点，假值代表不特别着色显示。现在让我们把特别着色显示参数应用到散点图中最初的叠加图层上，来特别着色显示那些%Gated(门中细胞百分比)少于4%的数据点。

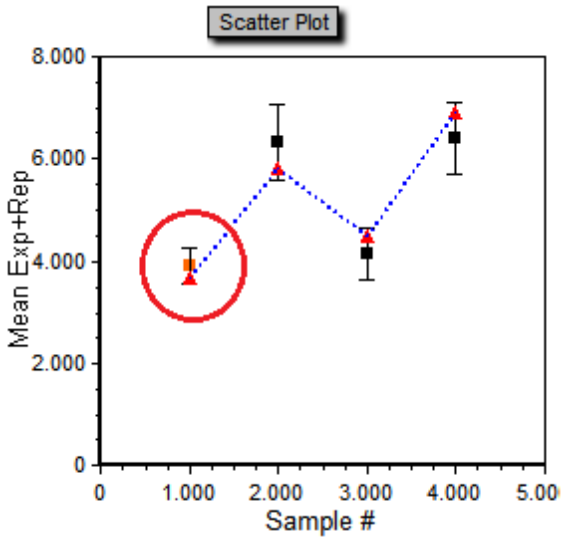
21. 请选中底层叠加图层"1"。

22. 请从**Highlight Param(特别着色显示参数)**下拉列表中选择"Highlighting(特别着色显示)"。

23. 请选择橙色作为**Highlight Color(特别着色显示颜色)**。

24. 请点击**OK**。

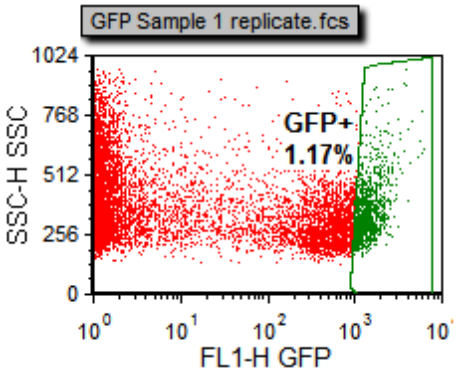
散点图现在看起来应该如图T16.27所示，在%Gated列中小于4%的数据点会被特别着色显示为橙色。让我们现在来修改一下GFP+ 门，以观察特别着色随着门改变而改变的情形。



图T16.27 Highlighting Applied to the Scatter Plot. The First Square Point has Change to Orange. (**把特别着色应用到散点图上。第一个方形数据点已经变成了橙色。**)

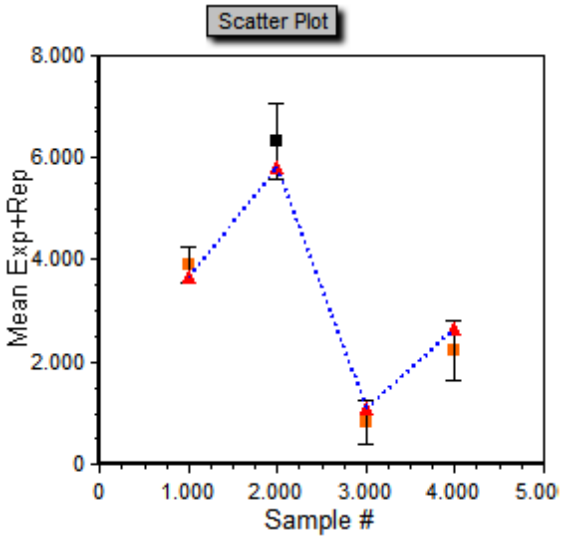
25. 请点击**GFP Expression(GFP表达)**标签页。

26. 请把GFP+ 门的左侧边界移到大约10^3的位置，如图T16.28所示。



图T16.28 Adjusting the GFP+ Gate (**调整**GFP+**门**)

注意到自定义数据表格中的GFP Untreated(没有经过GFP处理)和GFP Treated(经过GFP处理)的样本中的门中细胞百分比都变到了小于4%。特别着色显示的数据变成了真，特别着色被加到了新的数据点上(图T16.29)。



图T16.29 Scatter PLot Highlighting Updated After Changing Gate (**修改门之后散点图上的高亮显示随之更新**)

我们同样可以选择在散点图上查看哪个叠加图层。

27. 请右键点击散点图。

28. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。

29. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

30. 请点击第"2"个叠加图层，将其选中。

31. 请不要勾选**Visible(可视)**复选框。

32. 请点击**OK**。

这时散点图上只会显示第一个叠加图层中的数据，在该层中Y参数被设置到Mean Exp+Rep列。

36.17 滴定实验

FCS Express中有很多工具来让用户创建自己的数据组，并用这些数据组来作图。用户创建的数据组(称为自定义数据组)中可以包括从门中获得的数据。当门改变时，自定义数据组和任何基于这些数据组的门都会改变。这一特点让用户可以很容易地创建汇总绘图，显示所有实验结果。

在这一节教程中，我们将使用自定义数据组和绘图来帮助把抗体滴定实验中的数据用图像呈现出来，帮助用户选择最佳的抗体浓度，最好地把阳性细胞和阴性细胞区分开来。

在我们要分析的实验中有七个经过不同浓度的CD64染色的外周血单核细胞试样。因为CD64只可以在巨噬细胞和单核细胞上找到，我们将考察单核细胞染色强度与淋巴细胞染色强度的比值。阴性细胞群以淋巴细胞为标准；阳性细胞以单核细胞为标准。

在本章的例子中，我们会:

- 创建一些自定义标记来自动计算CD64的信号和噪声信号的比值。
- 使用自定义标记来创建自定义数据表格。
- 插入一个显示自定义数据的散点图。

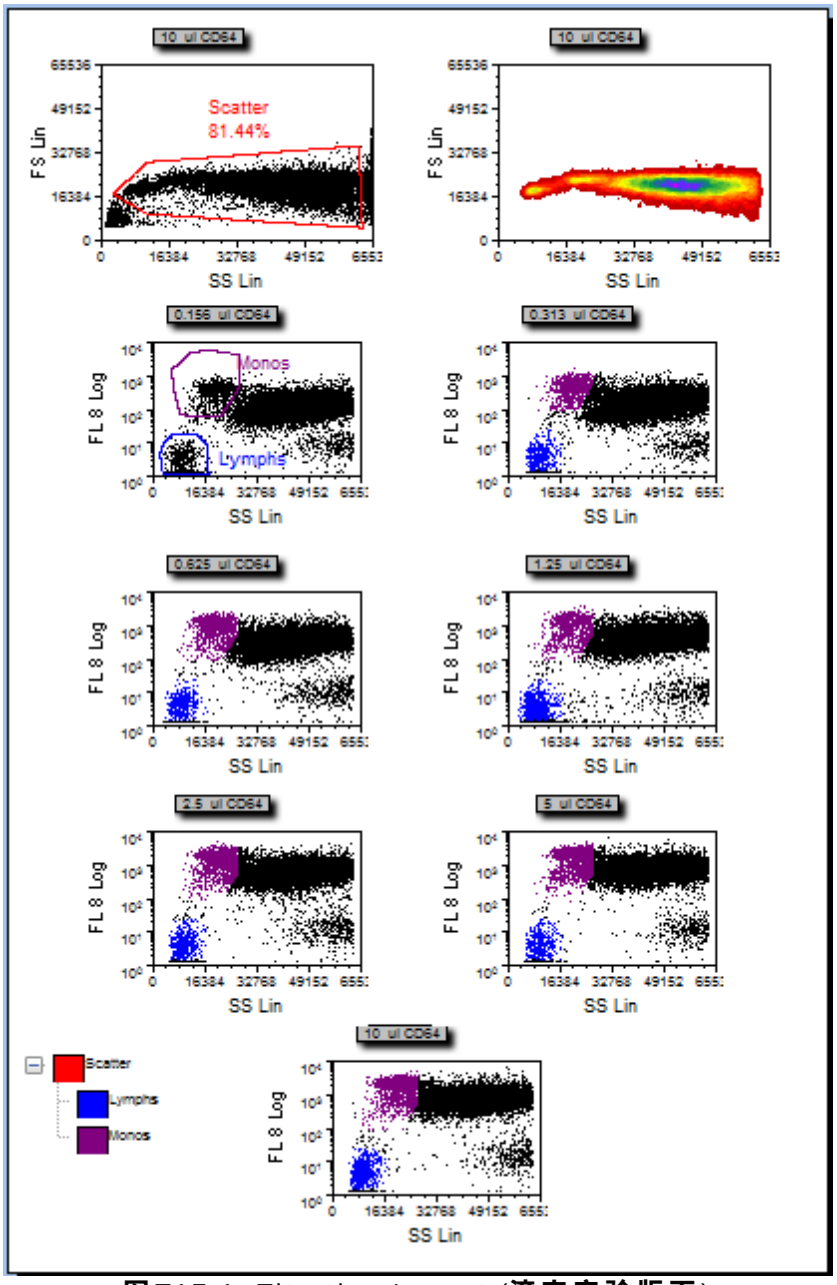
36.17.1 *定义自定义标记*

在这个教程中，我们将使用一个有二维密度图的版面，这些密度图中有七个数据文件对应的门，每个数据文件对应不同体积的CD64抗体。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。

2. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS样本数据)*文件夹中的版面文件**Titration.fey**。

这时应该出现如图T17.1所示的版面。



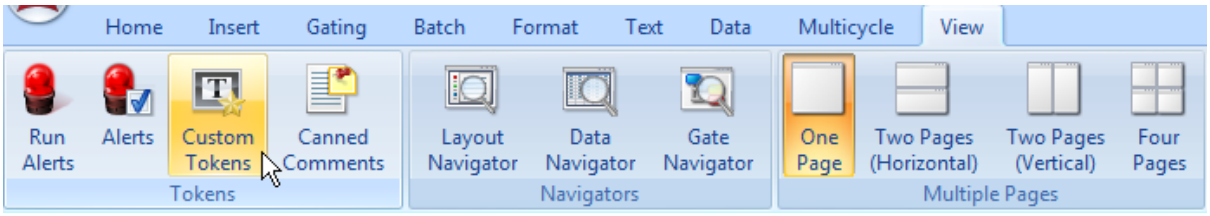
图T17.1 Titration Layout (**滴定实验版面**)

在版面的左上角是一个点状图(Side Scatter(SS)对Forward Scatter(FS)作图)，图中有一个散点门，画在红色边框中。*Scatter(散点)*门已经排除了那些很弱和很强的信号。版面上的所有其它绘图都针对*Scatter(散点)*门中的数据。七个不同体积量的CD64添加到了周边血单核细胞上；其结果显示在了七个点状图上。为了定义这个滴定实验中的阴性细胞群，我们在淋巴细胞群上已经画了一个门，如二维绘图SS Lin- FL 8 Log(也即Side Scatter- CD64绘图)中的蓝色*Lymphs(淋巴细胞)*门所示。阳性细胞群(也就是单核细胞群)被定义为紫色的*Monos(单核细胞)*门。在绘图的左下角是**Gate View(门视图)**窗口，显示了*Lymphs(淋巴细胞)*门和*Mono(单核细胞)*门都是*Scatter(散点)*门的子门，表明这些数据首先应用了*Scatter(散点)*门，

然后应用了*Lymphs(淋巴细胞)*门和*Mono(单核细胞)*门。

我们现在要为在实验中使用的七个CD64体积创建一些自定义标记，以便计算CD64信号和噪声信号的比率。这些自定义标记将被定义为单核细胞(阳性细胞)的平均荧光强度与淋巴细胞(阴性细胞)的平均荧光强度的比值。

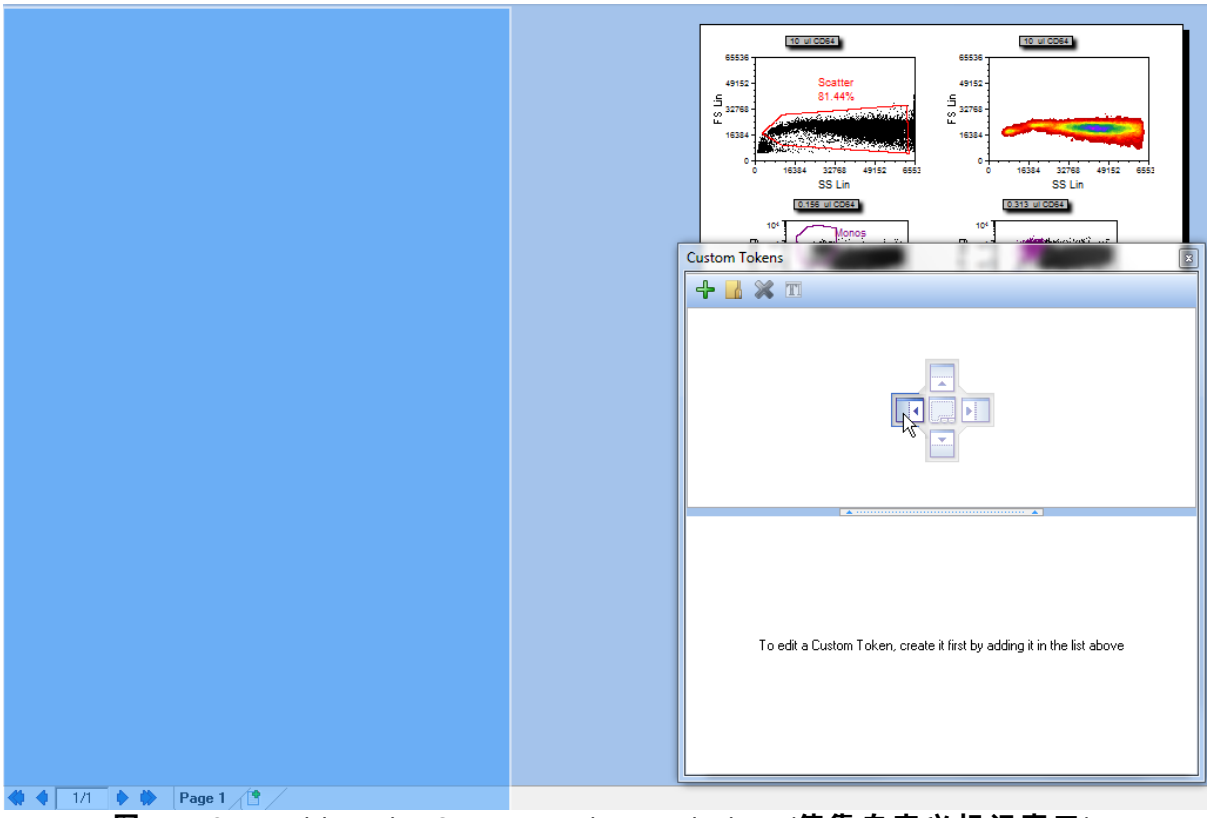
3. 请选择**View(视图)→Tokens(标记)→Custom Tokens(自定义标记)**命令(图T17.2)。



图T17.2 Selecting the Custom Tokens Command (**选中自定义标记命令**)

这时会在版面上出现**Custom Tokens(自定义标记)**窗口。我们现在要把这个窗口停靠在版面的左侧。要学习如何停靠窗口，请查看停靠教程 748一节。

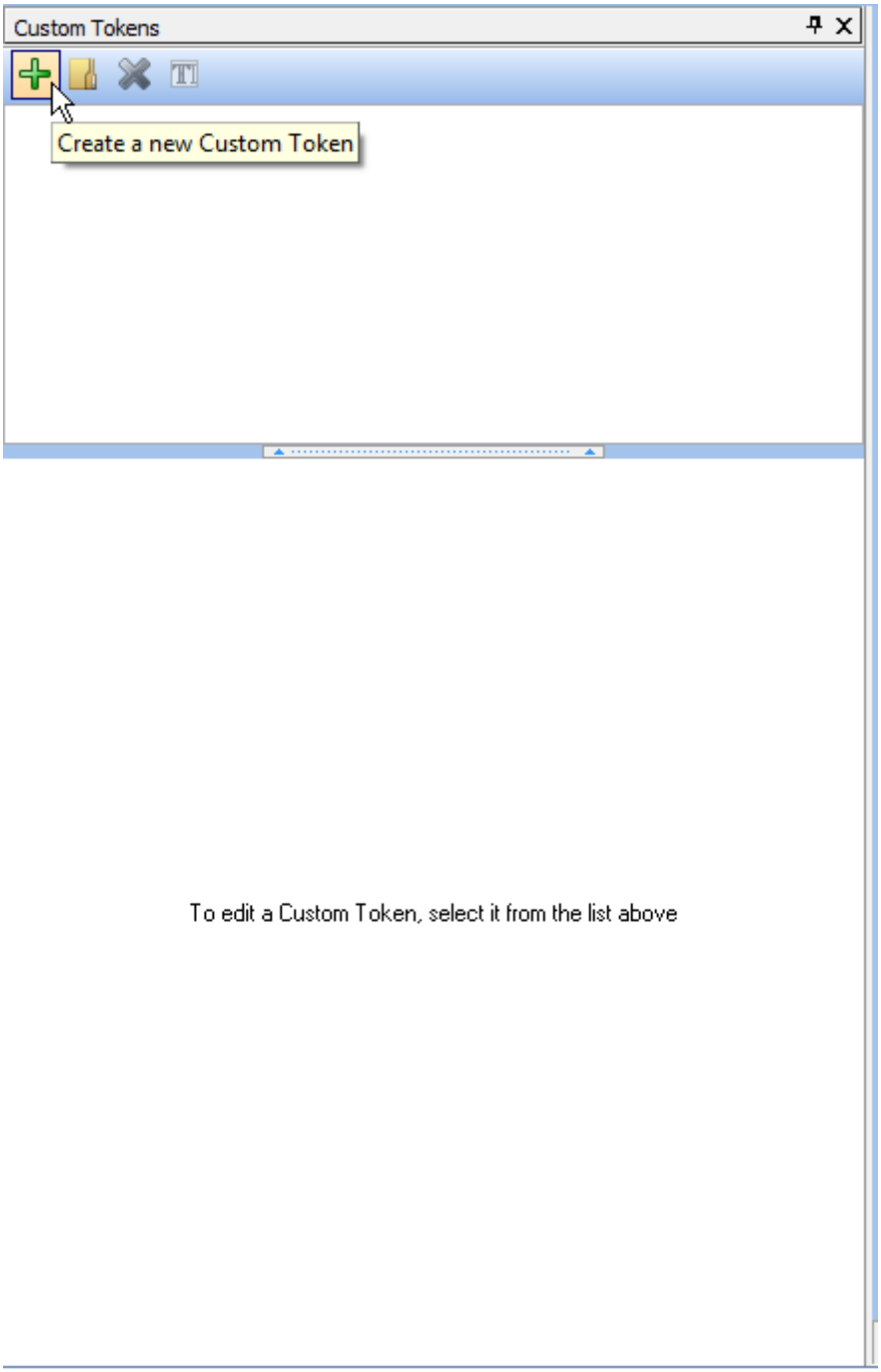
4. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的顶端边界上。
5. 请按下鼠标左键不放。
6. 请不要松开鼠标，把**Custom Tokens(自定义标记)**窗口拖向停靠箭头图标的左向箭头。
7. 当光标在停靠图标的左向箭头上时，请松开鼠标，如图T17.3所示。



图T17.3 Docking the Custom Tokens Window (**停靠自定义标记窗口**)

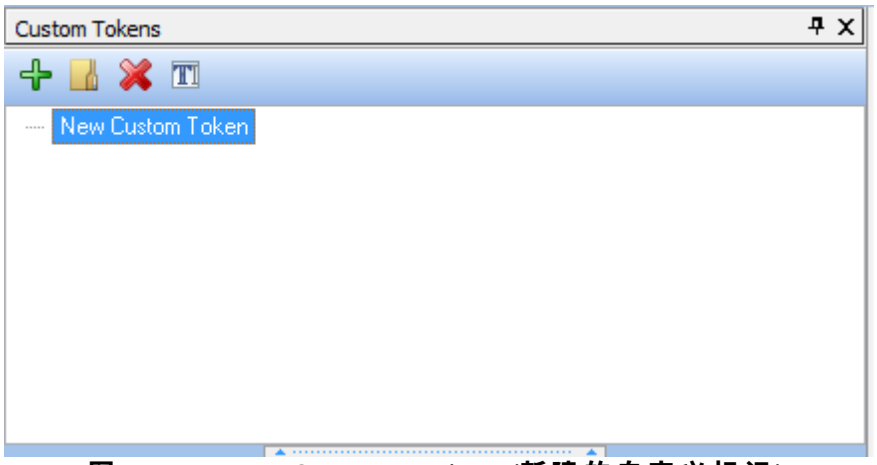
Custom Tokens(自定义标记)窗口现在就被停靠在了版面的左侧。现在让我们来创建自定义标记。想要更多地了解如何创建自定义标记，请查看使用文本框和标记591一节。

8. 请点击**Custom Tokens(自定义标记)**窗口顶端的"+ "标志，如图T17.4中的光标所示。



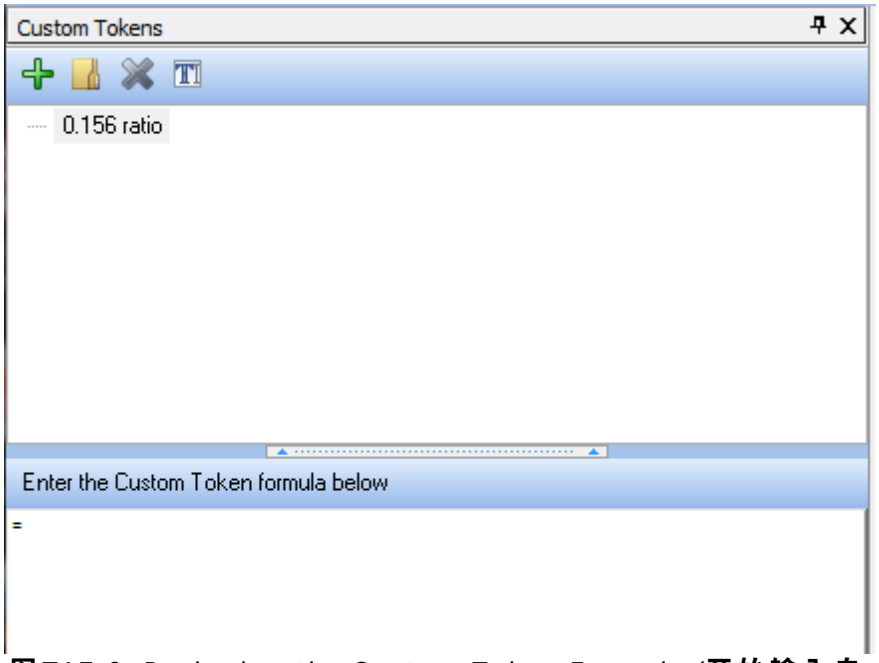
图T17.4 Creating a New Custom Token (**创建新的自定义标记**)

这时一个新的Custom Token(自定义标记)308会出现在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的上半部分，如图T17.5所示。



图T17.5 New Custom Token (**新建的自定义标记**)

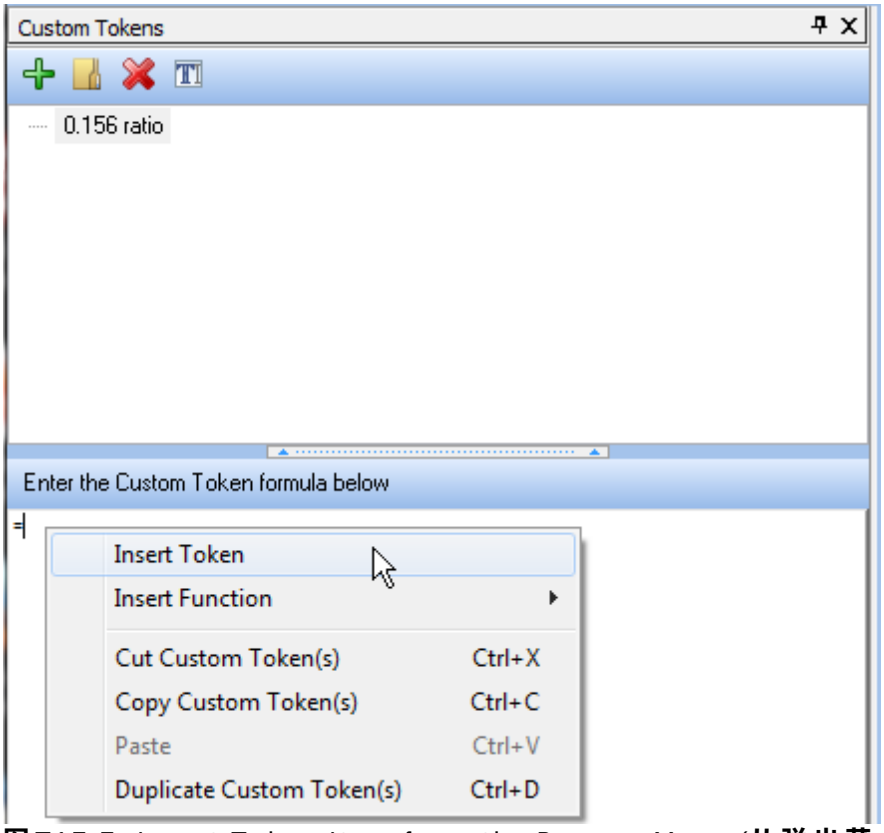
9. 请左键点击**New Custom Token(新的自定义标记)**来编辑其名称。
10. 请输入"0.156 ratio"文本。
11. 请点击回车键，**0.156 ratio**现在被蓝色高亮显示。
12. 请在自定义标记的下半部分的**Enter Custom Token formula below(请在下方输入自定义标记公式)**下方点击。
13. 请输入"="(图T17.6)。



图T17.6 Beginning the Custom Token Formula (**开始输入自定义标记公式**)

14. 请在"= "旁边右键点击，调出弹出菜单。

15. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**，如图T17.7中的光标所示。

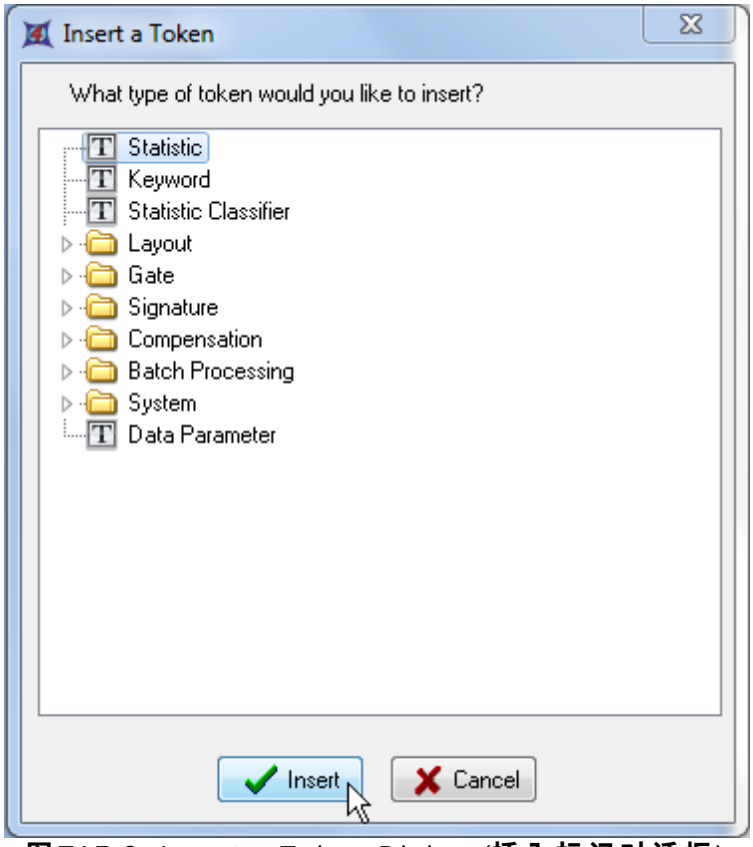


图T17.7 Insert Token Item from the Pop-up Menu (**从弹出菜单上插入标记**)

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T17.8)。

16. 请选择**Statistic(统计)**，如图T17.8中的蓝色高亮所示。

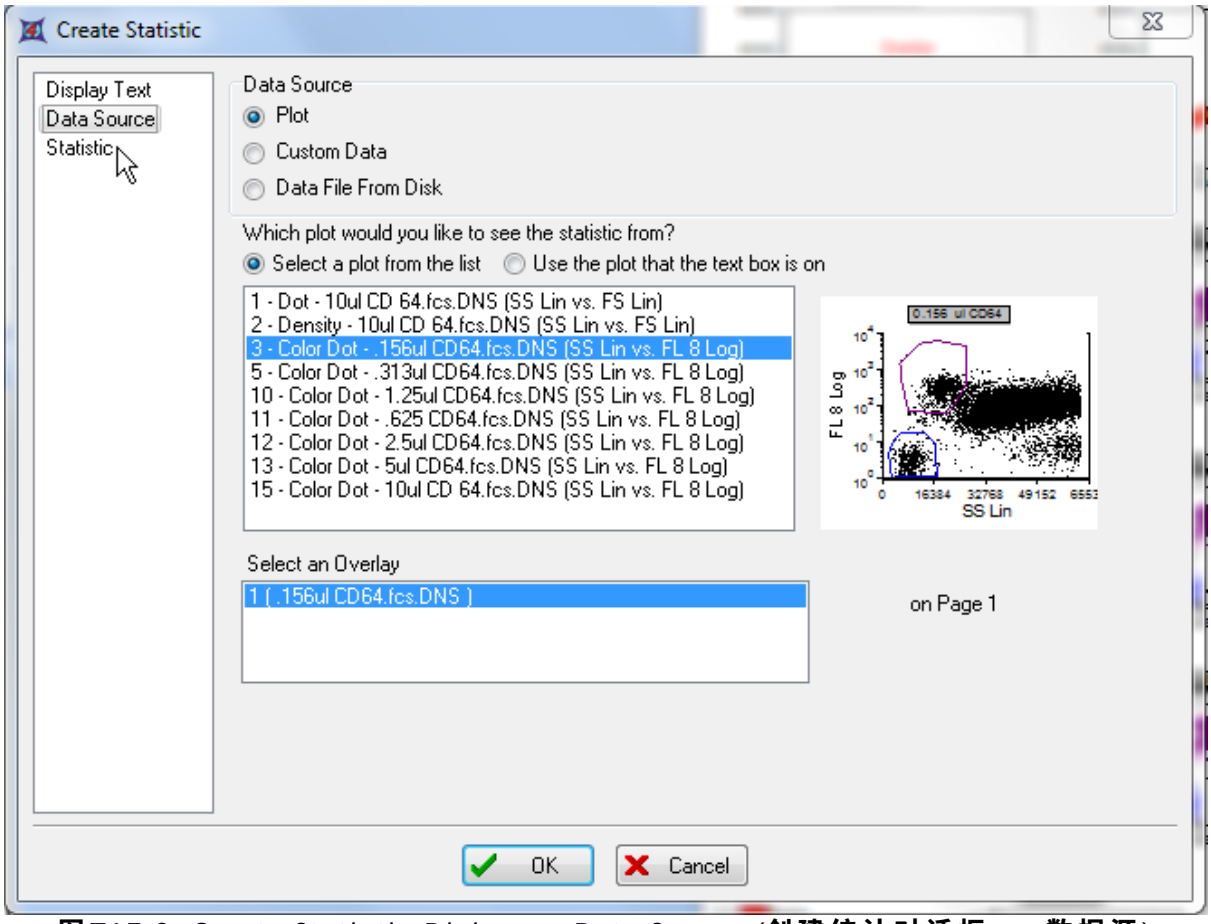
17. 请点击**Insert(插入)**。



图T17.8 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

这时会弹出**Create Statistic(插入统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**类别选项，如图T17.9所示。在这里我们为自定义标记选择数据源。

18. 请选择**Color Dot - .156ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**，如图T17.9中的蓝色高亮所示。



图T17.9 Create Statistic Dialog -- Data Source (**创建统计对话框 -- 数据源**)

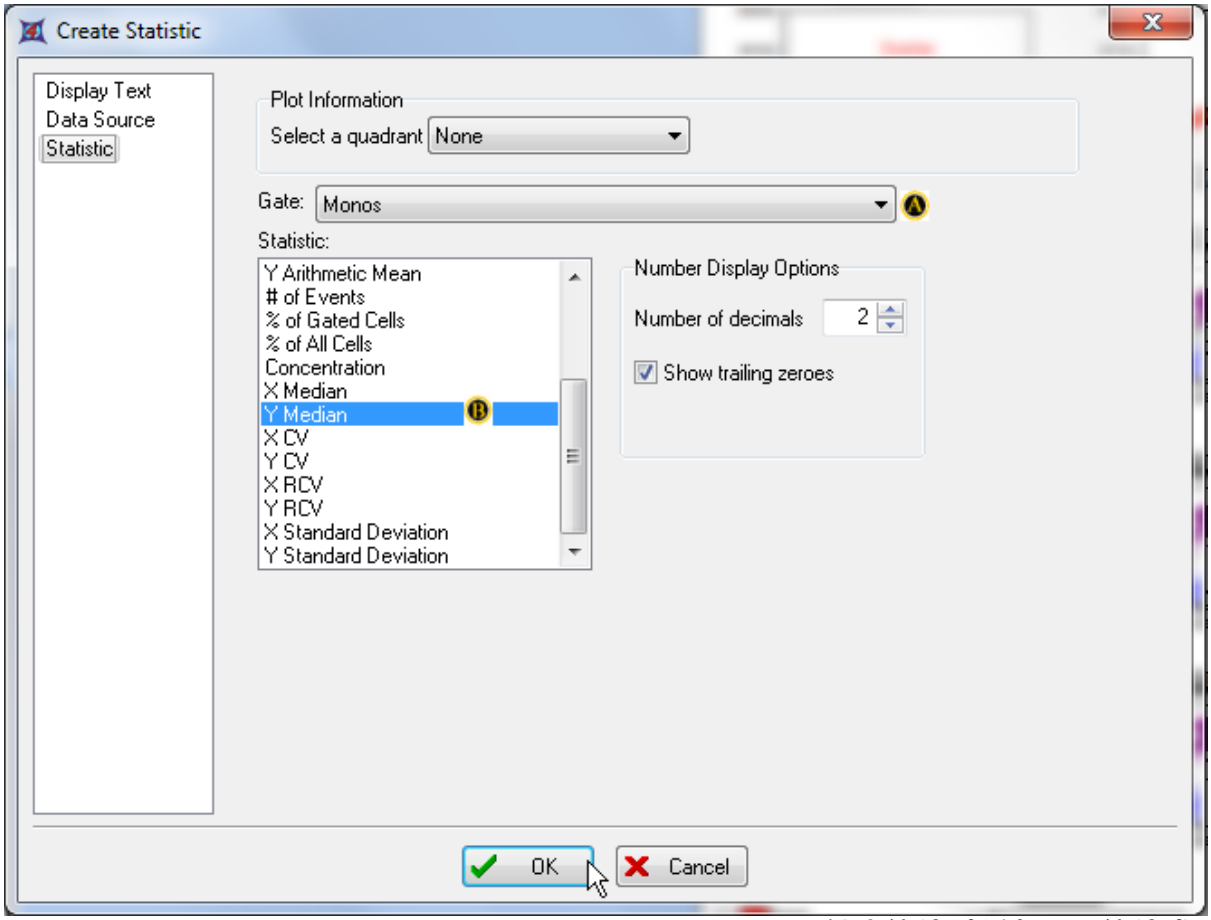
19. 请在左边选择**Statistic(统计)**类别选项，如图T17.9中的光标所示。

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框上的**Statistic(统计)**页面，如图T17.10所示。

20. 请从**Gate:(门:)**下拉列表中Ⓐ选择**Monos**。

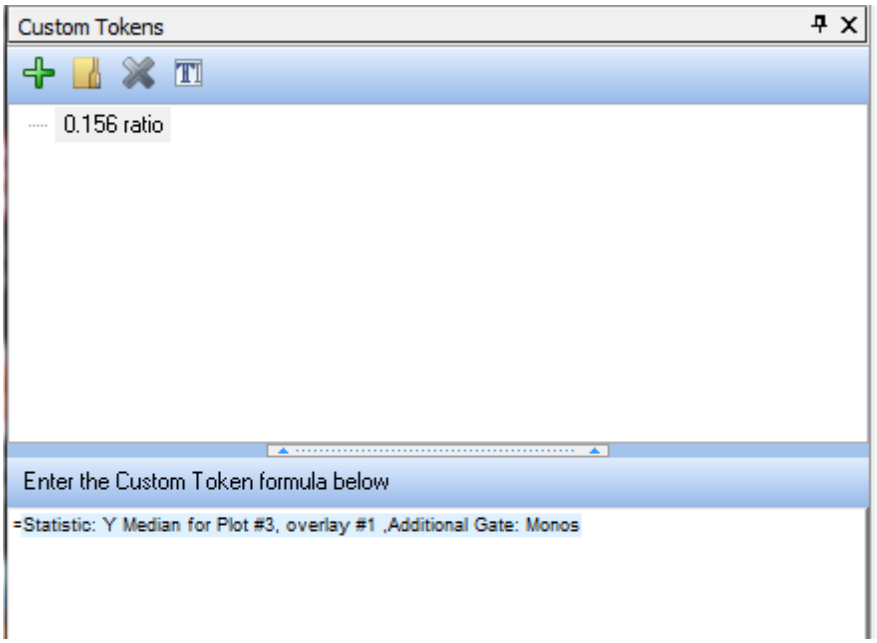
21. 请从**Statistics:(统计:)**列表框中Ⓑ选择**Y- median(Y向中间值)**。

22. 请点击**OK**。



图T17.10 Create Statistic Dialog -- Statistic Category (**创建统计对话框 -- 统计类别选项**)

这时自定义标记"0.156 ratio"的分子部分就被定义好了，如图T17.11所示。



图T17.11 Numerator Definition of Custom Token '0.156 Ratio' (**设置自定义标记**'0.156 Ratio'**的分子**)

我们现在已经创建好了将来在自定义标记**0.156 ratio**中作为分子(也就是阳性细胞群)的部分。现在我们要对自定义标记的分母，阴性细胞群，进行定义。

23. 请在自定义标记格式区域中的"**Statistic: Y Median for Plot #3, overlay #1, Additional Gate: Monos**"文本后输入"/ "。 注意: "/ "是除号，就像在微软Excel中的使用方法一样。

24. 请选中文本"**Statistic: Y Median for Plot #3, overlay #1, Additional Gate: Monos**"。

25. 请使用键盘键Ctrl+ C来复制这些文本。

也可以使用弹出菜单来复制文本。

- 选中标记之后，请右键点击，调出弹出菜单。
- 请从弹出菜单上选择**Copy Text(复制文本)**。

26. 请把光标放在"/ "之后，然后左键点击。

27. 请使用键盘键Ctrl+ V来复制自定义标记文本。

也可以使用弹出菜单来复制文本。

- 请在除号"/ "之后右键点击，调出弹出窗口。
- 请从弹出菜单上选择**Paste Text(粘贴文本)**。

这时自定义标记公式会显示以上这些把分子复制到分母处的操作。现在让我们来编辑对分母的定义。

28. 请在**Custom Token(自定义标记)**公式窗口双击刚刚粘贴的分母标记文本。

这时会出现**Edit Statistic(编辑统计)**对话框，如前图T17.9所示的**Create Statistic(创建统计)**对话框。我们现在会用到*Lymphs(淋巴细胞)*门，我们不需要编辑**Data Source(数据源)**页面，因为我们会使用相同的绘图。

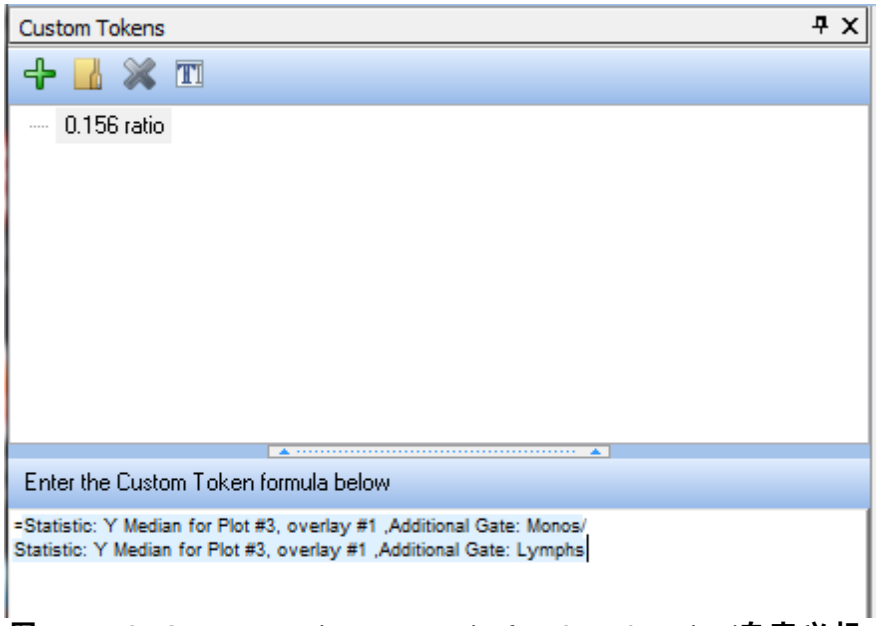
29. 请从**Edit Statistic(编辑统计)**对话框中选择**Statistic(统计)**类别选项。

这时会出现**Edit Statistic(标记统计)**对话框中的**Statistic(统计)**页面，就像前面图T17.10中的**Create Statistic(创建统计)**对话框所示，但这次我们将选择*Lymphs(淋巴细胞)*门。

30. 请从**Gate:(门:)**下拉列表中选择**Lymphs(淋巴细胞)**门。

31. 请选择**OK**。

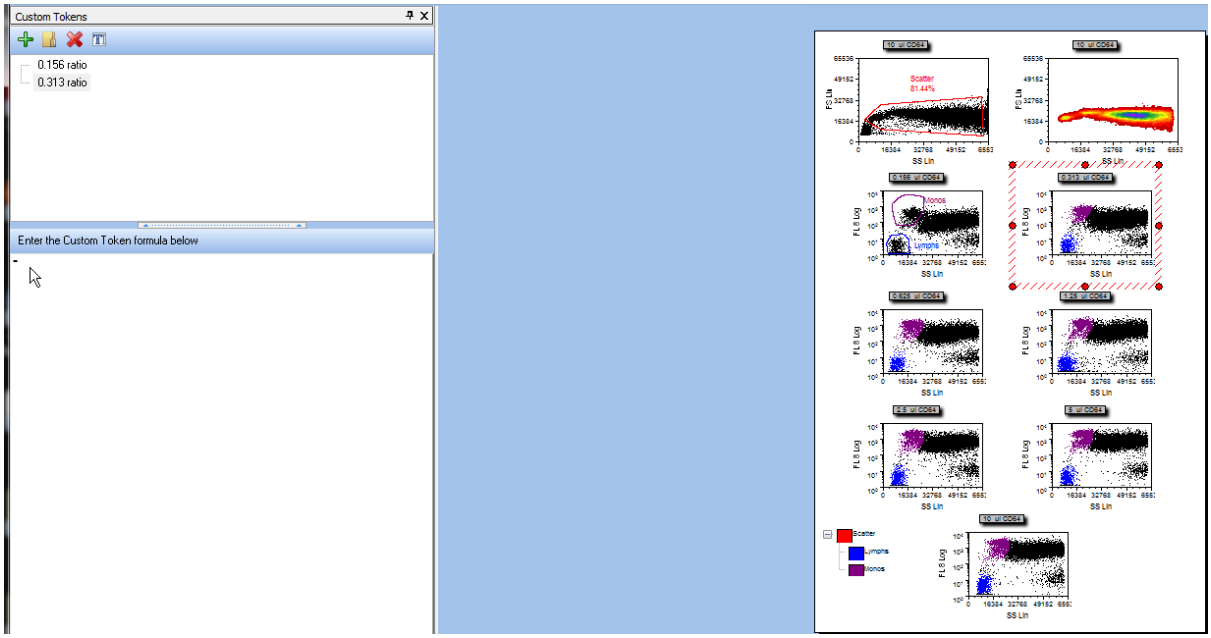
这时**0.156 ratio**对应的自定义标记公式会进行更新，反映以上的这些修改，如图T17.12所示。



图T17.12 Custom Token Formula for 0.156 ratio (**自定义标记**0.156 ratio**对应的公式**)

现在我们要为0.313 µl CD64数据创建一个自定义标记。但是这次我们将不使用复制和粘贴的方法来创建自定义标记，我们会直接把0.313 µl CD64彩色散点图拖放到**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的下半部分里来。

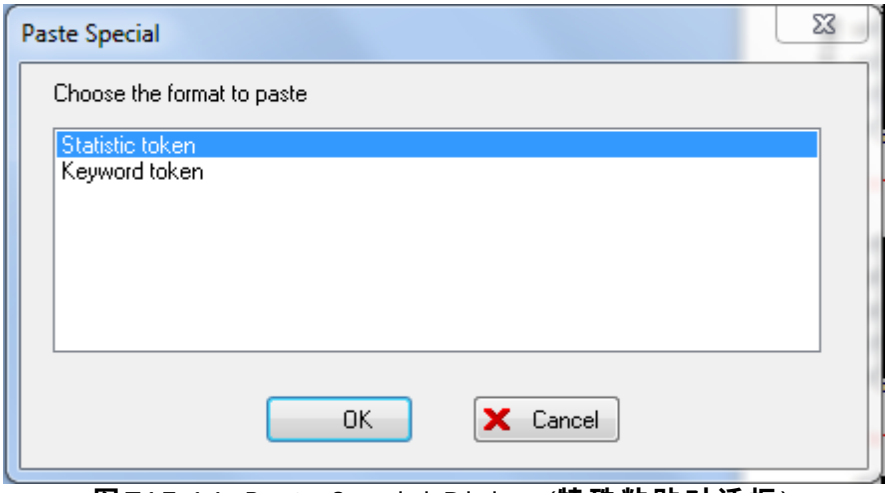
32. 请点击**Custom Tokens(自定义标记)**窗口顶端的"+"标志，如图T17.4中的光标所示。
33. 请在**New Custom Token(新的自定义标记)**文本处输入"0.313 ratio"。
34. 点击回车键，**0.313 ratio**现在被蓝色高亮显示。
35. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的下半部分的**Enter Custom Token formula below(请在下方输入自定义标记公式)**下方点击。
36. 请输入"="(图T17.6)。
37. 请把光标放在绘图**0.313ul CD64**上，如图T17.13中的红色边框所示。
38. 请按下鼠标左键不放。
39. 请不要松开鼠标，把绘图拖到**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的下半部分。
40. 当光标在"="右侧时(如图T17.13所示)，请松开鼠标。



图T17.13 Dragging and Dropping the 0.313µl CD64 Plot onto the Custom Token Formula (**把**0.313µl CD64**绘图拖放到自定义标记公式区中**)

这时会出现**Paste Special(特殊粘贴)**对话框，如图T17.14所示。

41. 请选择**Statistic token(统计标记)**，如图T17.14中的蓝色高亮所示。
42. 请点击**OK**。



图T17.14 Paste Special Dialog (**特殊粘贴对话框**)

这时**Edit Statistic(编辑统计)**的**Statistic(统计)**选项对话框会再次出现，如前图T17.10

中的**Create Statistic(创建统计)**对话框所示。再次，我们会使用和图T17.10中相同的统计设置来定义**0.313 ratio**自定义标记中的分子。当我们把绘图拖拽到**Custom Tokens (自定义标记)**公式窗口中时，数据源已经被设置为0.313 µl CD64绘图。以下步骤均针对图T17.10。

43. 请从**Gate:**下拉列表中选择**Monos(单核细胞)**。
44. 请从**Statistics:(统计:)**列表框中选择**Y- median(Y向中间值)**。
45. 请点击**OK**。

这样我们就为**0.313 ratio**自定义标记设置好了分子。现在我们需要设置分母，方法仍然是拖放**0.313ul CD64**绘图。

46. 请在自定义标记格式区域中的"**Statistic: Y Median for Plot #5, overlay #1, Additional Gate: Monos**"文本后输入"/ "。
47. 请把光标放在绘图**0.313ul CD64**上方，如图T17.13中的红色边框所示。
48. 请按下鼠标左键不放。
49. 请不要松开鼠标，把绘图拖到**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的下半部分。
50. 当绘图拖到"/ "右侧时，请松开鼠标左键。

这时会再次出现**Paste Special(特殊粘贴)**对话框，如前图T17.14所示。

51. 请选择**Statistic token(统计标记)**，如图T17.14中的蓝色高亮所示。
52. 请点击**OK**。

这时会出现**Edit Statistic(编辑统计)**对话框中的**Statistic(统计)**页，如前图T17.10中的**Create Statistic(创建统计)**对话框所示。我们将再次使用**Y- median(Y向平均值)**作为统计选项。但这次我们将选择*Lymphs(淋巴细胞)*门，作为分母。

53. 请从**Gate:(门:)**下拉列表中选择**Lymphs(淋巴细胞)**。
54. 请从**Statistics:(统计:)**列表框中选择**Y- median(Y向中间值)**。
55. 请点击**OK**。

这时会出现**Custom Tokens(自定义标记)**窗口，如图T17.15所示，其中自定义标记**0.156 ratio**和**0.313 ratio**已被分别定义好了。

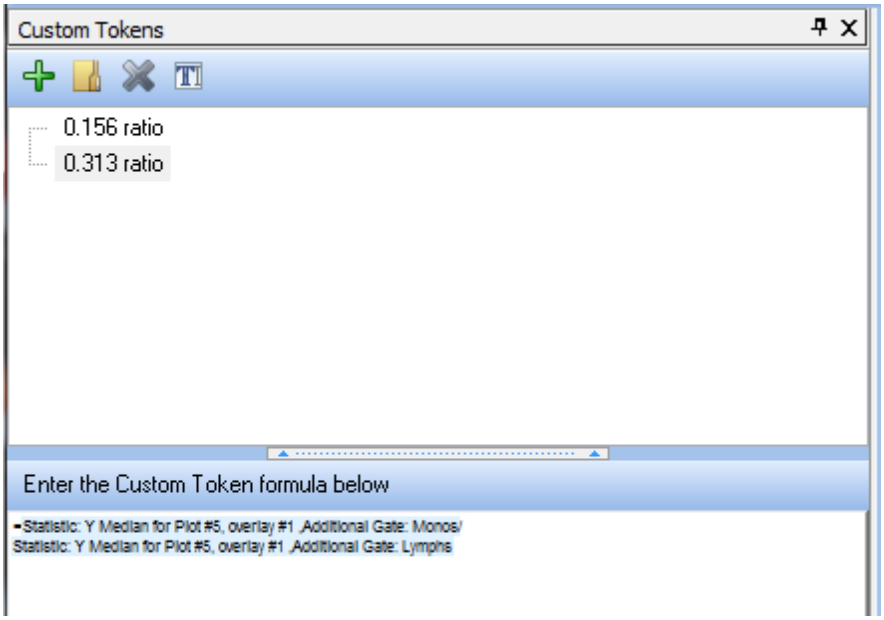


Figure T17.15 Custom Token Definitions for the First Two CD64 Concentrations (**为前两个**CD64**浓度设置的自定义标记**)

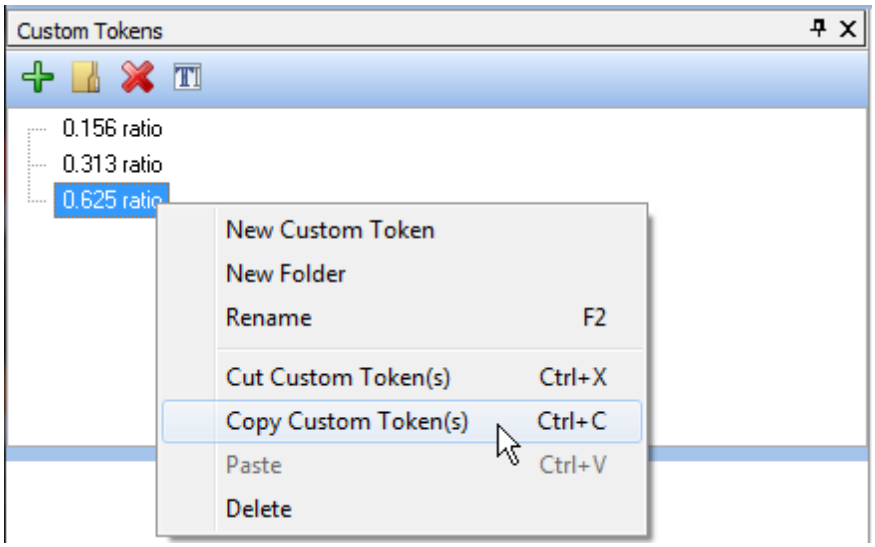
现在让我们来定义针对0.625 µl CD64数据的自定义标记。这次我们不会从创建自定义标记的第一步开始，而是通过复制和粘贴**0.313 ratio**自定义标记来完成。

56. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口顶端边框上的"+ "图标上左键点击。
57. 请在**New Custom Token(新的自定义标记)**文本处输入"0.625 ratio"。
58. 点击回车键，**0.625 ratio**现在被蓝色高亮显示。
59. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**上面的窗口中选择**0.313 ratio**。
60. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口下方"= "的前面。
61. 请按下鼠标左键不放，选中自定义标记**0.313 ratio**的文本定义。
62. 请使用键盘键**Ctrl+ C**来复制这些文本。
63. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口上半部分选中**0.625 ratio**。
64. 请把光标放在**the Custom Tokens(自定义标记)**窗口的下半部分。
65. 请使用键盘键**Ctrl+ V**来粘贴文本。
66. 请把光标放在定义分子"**Statistic: Y Median for Plot #5, overlay #1, Additional Gate: Monos**"的文本上。
67. 请双击文本，调出**Edit Statistic(编辑统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**页面。

68. 请选中**Color Dot - 0.625ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**。
69. 请点击**OK**。
70. 请把光标放在定义分母"**Statistic: Y Median for Plot #5, overlay #1, Additional Gate: Lymphs**"的文本上。
71. 请双击文本，调出**Edit Statistic(标记统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**页面，如前图T17.9所示的**Create Statistic(创建统计)**对话框。
72. 请选中**Color Dot - 0.625ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**。
73. 请点击**OK**。

现在**0.625 ratio**自定义标记就被设置为使用0.625 µl CD64数据了。我们现在要使用弹出菜单中的复制和粘贴命令，用**0.625 ratio**自定义标记来衍生出1.25 ratio自定义标记。

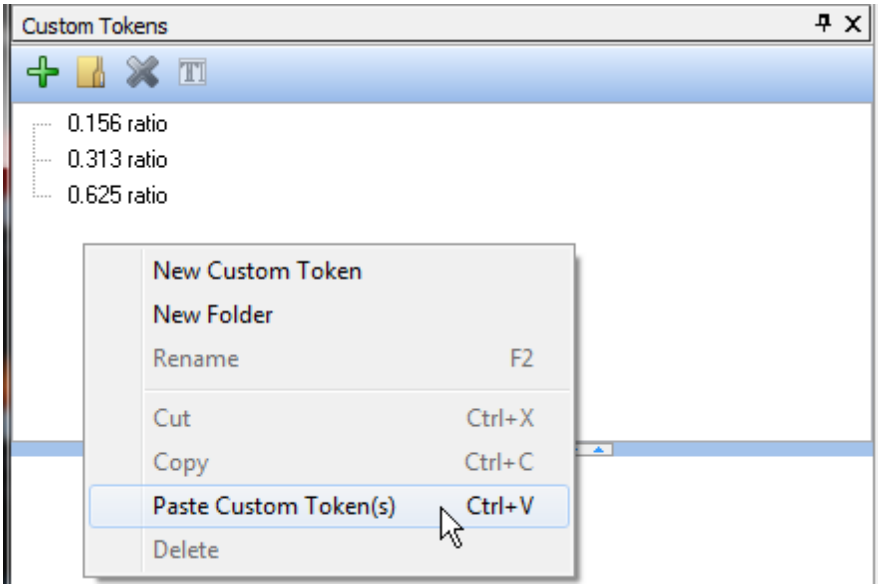
74. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中的文本**0.625 ratio**上方。
75. 请右键点击，调出弹出菜单。
76. 请从弹出菜单中选择**Copy Custom Token(s)(复制自定义标记)**命令(图T17.16)。



图T17.16 Copy Custom Token(s) Item in the Pop-up Menu (**使用弹出菜单复制自定义标记**)

77. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中的文本**0.625 ratio**的下方。
78. 请右键点击，调出弹出菜单。

79. 请从弹出菜单上选择**Paste Custom Token(s)(粘贴自定义标记)**(图T17.17)。



图T17.17 Paste Custom Token(s) Item in the Pop-up Menu (**使用弹出菜单粘贴自定义标记**)

这时有两个自定义标记0.625 ratio。现在我们要修改刚刚出现的这个标记的名字以及其定义，以使用1.25 µl CD64绘图数据。

80. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中的**0.625 ratio**文本上，如图T17.18中的高亮显示所示。

81. 请右键点击，调出弹出菜单。

82. 请在弹出菜单上选择**Rename(重命名)**。

83. 请输入"1.25 ratio"。

84. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的下半部分中定义分子的标记"**Statistic: Y Median for Plot #11, overlay #1, Additional Gate: Monos**"上，如图T17.18中的光标所示。

85. 请双击文本，调出**Edit Statistic(编辑统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**页面。

86. 请选中**Color Dot - 1.25ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**。

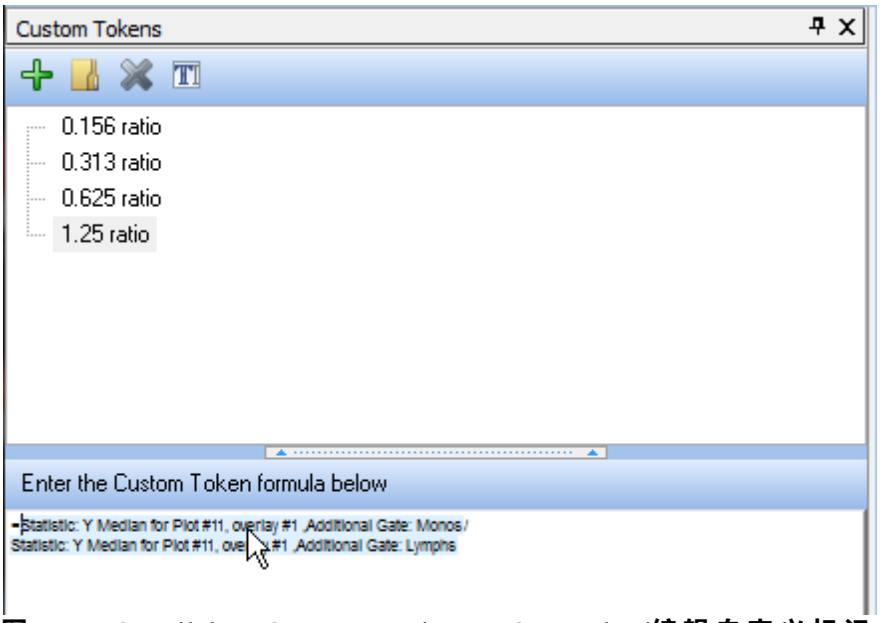
87. 请选择**OK**。

88. 请把光标放在定义分母"**Statistic: Y Median for Plot #11, overlay #1, Additional Gate: Lymphs**"的文本上。

89. 请双击文本，调出**Edit Statistic(标记统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**页面，如前图T17.9所示的**Create Statistic(创建统计)**对话框。

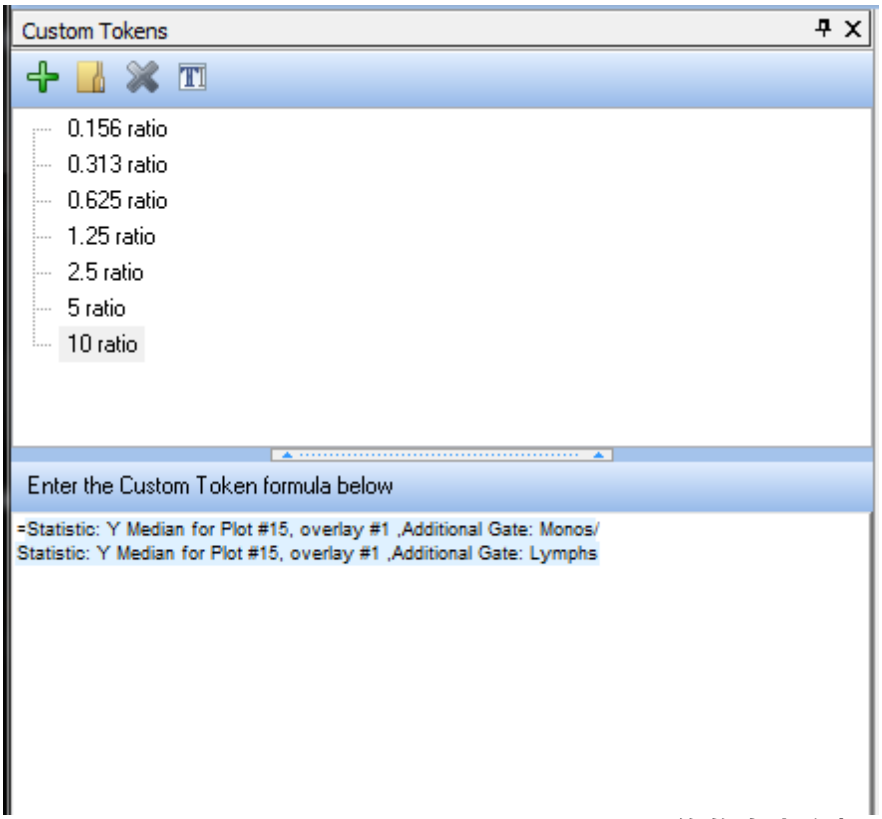
90. 请选中**Color Dot - 1.25ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**。

91. 请点击**OK**。



图T17.18 Editing Custom Token 1.25 Ratio (**编辑自定义标记** 1.25Ratio)

请使用前面介绍的复制和粘贴方法，继续定义2.5 µl、5 µl以及10 µl CD64绘图对应的自定义标记。请重复第75步到第92步，但用2.5 µl、5 µl以及10 µl数据来分别替代1.25 µl数据，直到所有的自定义标记都被定义好。最后自定义标记窗口应该看起来如图T17.19所示。

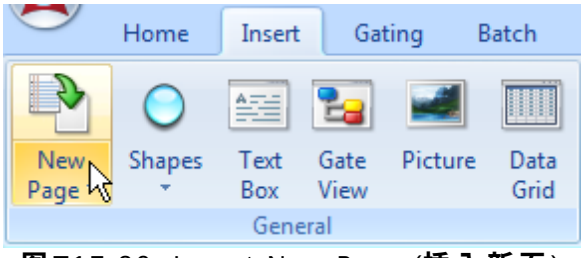


图T17.19 Final Custom Token Definitions (**最终的自定义标记定义**)

36.17.2 *创建自定义数据表格*

现在我们将用"滴定比值自定义标记"来创建一个针对CD64浓度(体积)与"单核细胞/ 淋巴细胞的CD64染色比值"的自定义数据表格。一个自定义数据表格类似于一个电子表格，在这个表格中用户可以创建和编辑单元格。我们首先要在版面中插入一个新的空白页。

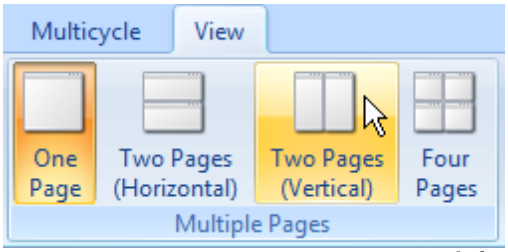
1. 请选中**Insert(插入)→General(常规)→New Page(新建页)**命令(图T17.20)。



图T17.20 Insert New Page (**插入新页**)

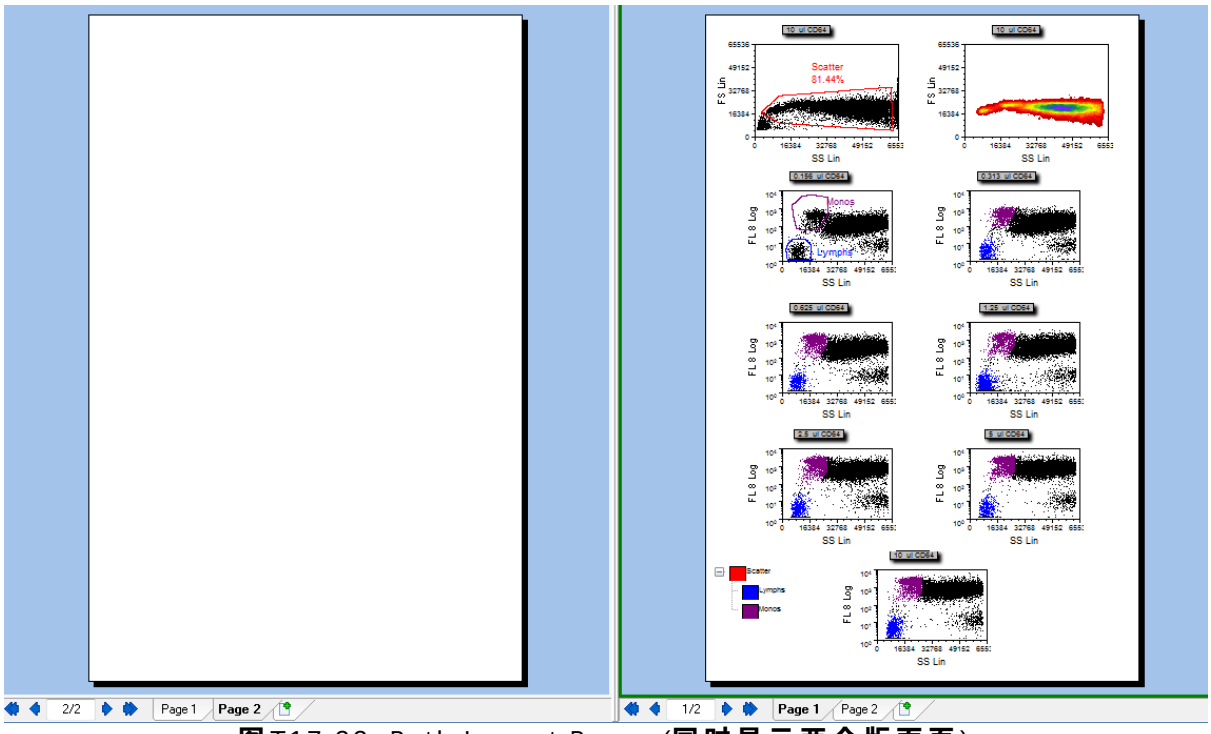
这时会出现一个新页面。现在我们要修改视图以便在屏幕上同时可以看到两个页面。

2. 请选择**View(视图)→Multiple Pages(多重页面)→Two Pages (Vertical)(纵向双页)**命令(图T17.21)。



图T17.21 View Two Pages (**同时查看双页**)

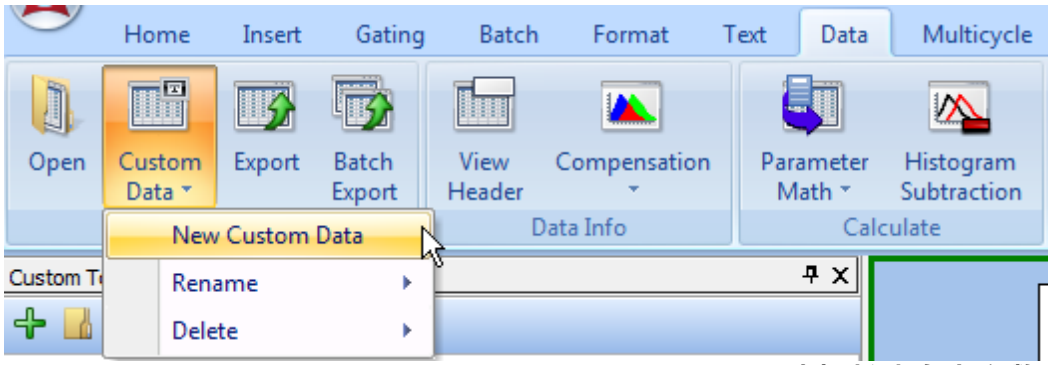
这时两个版面页如图T17.22所示，第2页在第1页的左侧。



图T17.22 Both Layout Pages (**同时显示两个版面页**)

我们现在要在第2页上插入一个自定义数据表格。

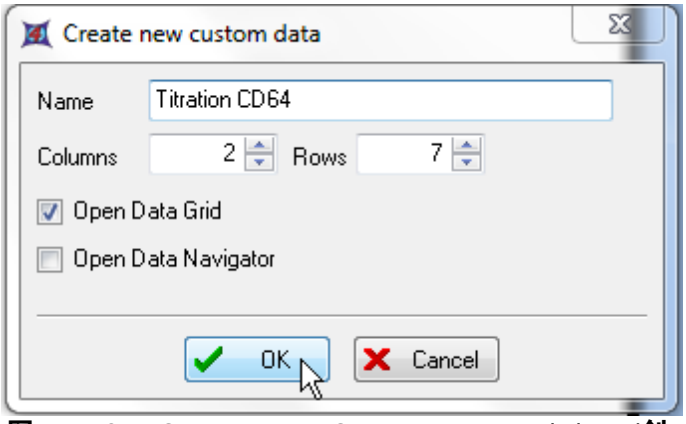
3. 请选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Custom Data(自定义数据)→New Custom Data(新建自定义数据)**命令(图T17.23)。



图T17.23 Selecting the New Custom Data Command (**选择新建自定义数据命令**)

这时会出现**Create new custom data(创建新的自定义数据)**对话框，类似于图T17.24所示。

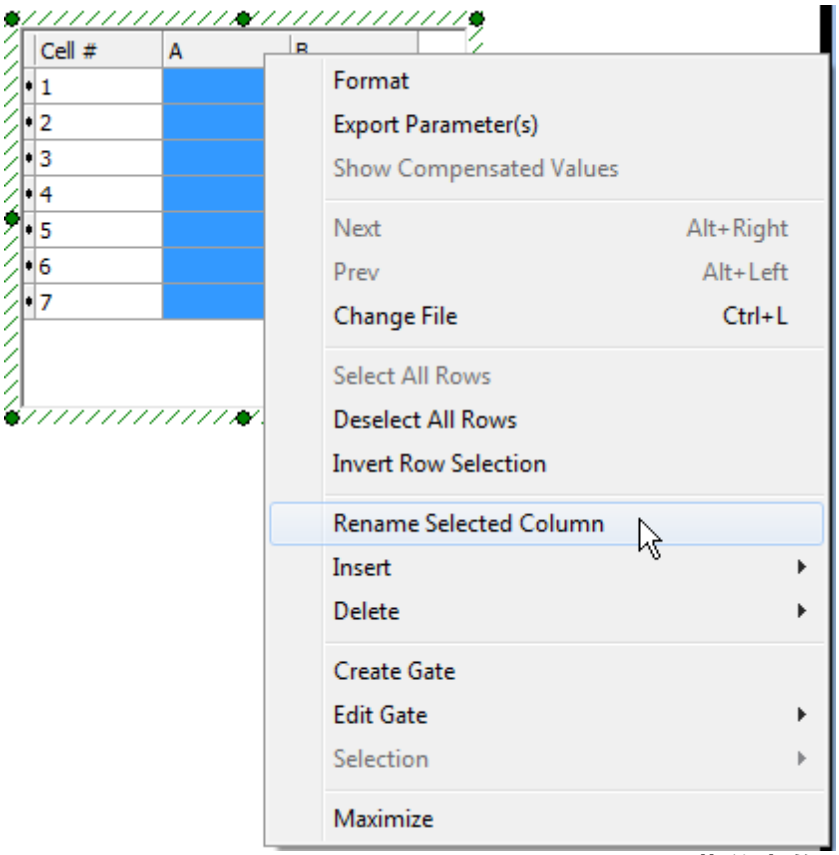
4. 请在名称一栏中输入"Titration CD64(CD64滴定实验)"。
5. 请把**Columns(列)**值修改为"2"。
6. 请把**Rows(行)**值修改为"7"。
7. 请选中**Open Data Grid(打开数据网格)**复选框。
8. 请点击**OK**。



图T17.24 Create New Custom Data Dialog (**创建新的自定义数据对话框**)

这时在版面的第2页上会出现一个自定义数据表格。我们现在要对表格中的列名称进行格式化操作。

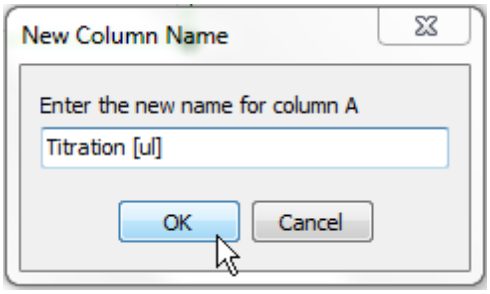
9. 请点击列表头"A"，如图T17.25中的蓝色高亮所示。
10. 请右键点击，调出弹出菜单。
11. 请从弹出菜单中选择**Rename Selected Column(为所选列重命名)**。



图T17.25 Rename Selected Column Menu Item (**菜单中的"为所选列重命名"选项**)

这时会出现**New Column Name(新的列名称)**对话框，如图T17.26所示。

12. 请在**Enter the new name for column A(为A列输入新名称)**字段中输入"volume [ul]"。
13. 请点击**OK**。

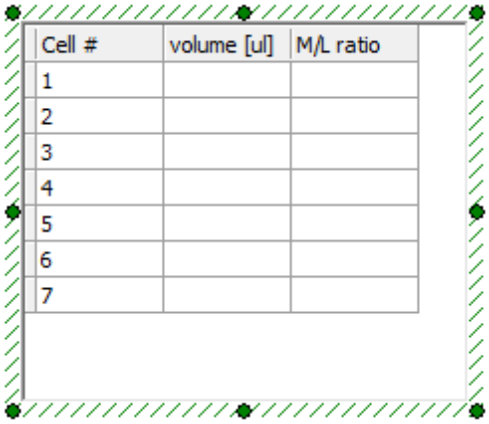


图T17.26 New Column Name Dialog (**新的列名称对话框**)

这时自定义数据表格会显示新的列名称。我们现在要为B列重复第9步到第11步。

14. 请点击列表头为"B"的列。
15. 请右键点击，调出弹出菜单。
16. 请选择**Rename Selected Column(为所选列重命名)**。
17. 请在**New Column Name(新的列名称)**对话框中的**Enter the new name for column B(为B列输入新名称)**字段中输入"M/ L ratio"。这是我们在自定义标记中使用的单核细胞与淋巴细胞的比值。
18. 请点击**OK**。

这时自定义数据表格中的各列就被命名好了，如图T17.27所示。

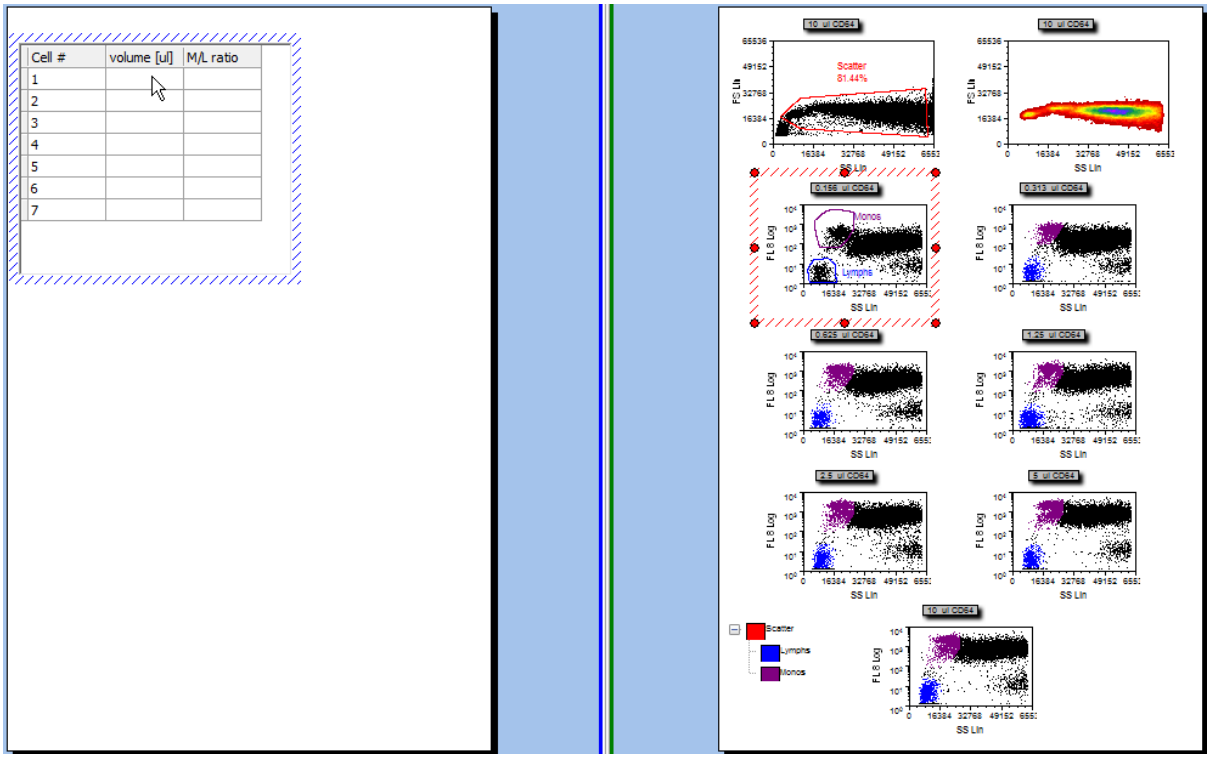


图T17.27 Custom Data Table with Column Names (**自定义数据表格中的列名称**)

我们现在要通过把相应绘图拖放到自定义表格中的方式，来填写自定义数据表格中的各个单

元格。自定义数据表格中的**volume(体积)**一列可以用数据文件中的关键字*conc(浓度)*来填充，这些浓度值反映了实验中使用的CD64的体积。我们也可以在自定义数据表格中直接输入体积值。但是使用关键字标记*conc*会让数据分析更灵活，也会为将来的滴定实验创建一个通用的模板。如果用户的另外一个滴定实验有七个浓度，并且也使用单核细胞与淋巴细胞比率以及*conc*关键字，用户可以把数据文件直接导入这个版面中，从而使用自定义标记和自定义表格中的设定。

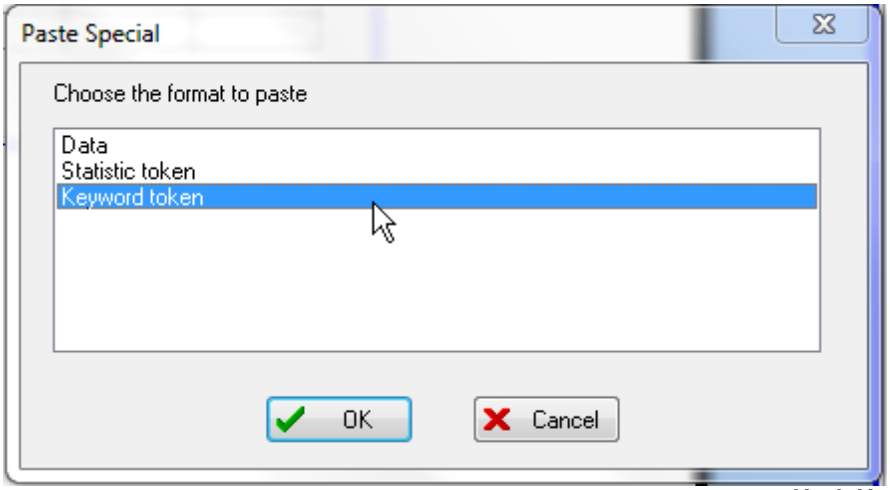
19. 请把光标放在**0.156 ul CD64**绘图上，如图T17.28中的红色边框所示。
20. 请按下鼠标左键不放，把绘图拖到自定义数据表格中。
21. 当光标在**volume [ul]**列里的第一个单元格上时(如图T17.28中光标所示)，请松开鼠标。



图T17.28 Dragging and Dropping the 0.156 ul CD64 Plot onto the Custom Data Table (**把**0.156 ul CD64**绘图拖放到自定义数据表格中**)

这时会出现**Paste Special(特殊粘贴)**对话框，如图T17.29所示。所有的数据文件都有一个关键字"conc"，指明用来染色的CD64的浓度。

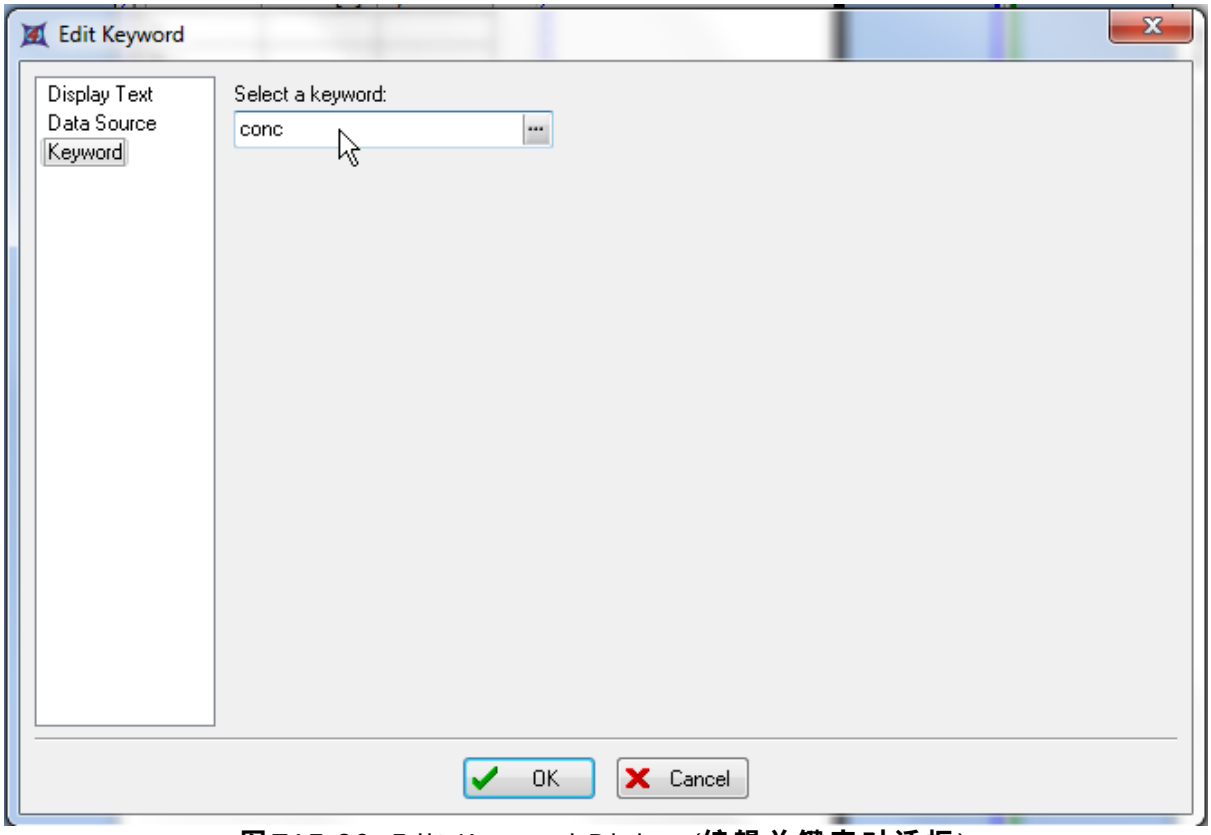
22. 请选择**keyword token(关键字标记)**，如图T17.29中的高亮显示所示。



图T17.29 Keyword Token in the Paste Special Dialog (**特殊粘贴对话框中的关键字标记**)

这时会出现**Edit Keyword(标记关键字)**对话框，如图T17.30所示。

23. 请在**Select a keyword:(选择关键字:)**字段输入"conc"，如图T17.30中的光标所示。
24. 请点击**OK**。



图T17.30 Edit Keyword Dialog (**编辑关键字对话框**)

自定义数据表格**volume(体积)**列中的第一个单元格这时会做相应的更新，显示插入关键字*conc*后的结果0.156。我们现在要把这个关键字标记复制和粘贴到**volume(体积)**列中的下一个单元格中。

25. 请点击**0.156**，如图T17.31中的蓝色高亮所示。

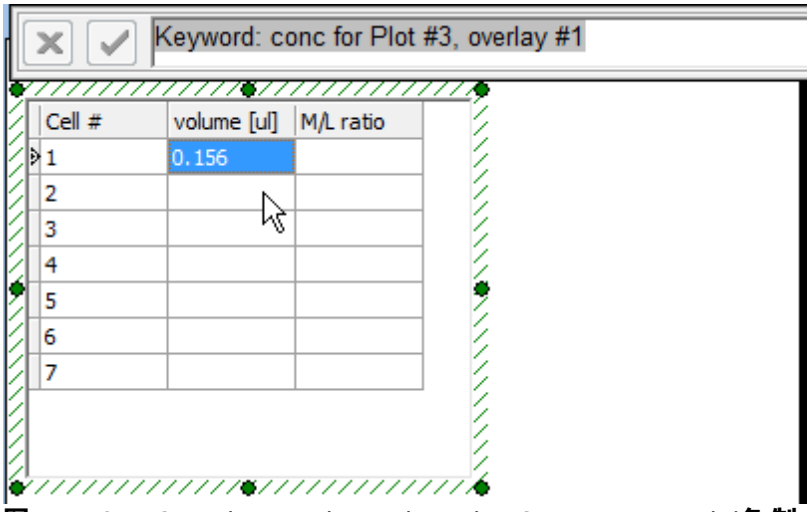
26. 请选择单元格编辑器里的灰色高亮文本"Keyword: conc for Plot #3, overlay #1"(图T17.31)。*注意:* 每次点击一个单元格，在它对应的编辑器中用户都可以修改当前单元格中的内容。

27. 请使用键盘键**Ctrl+ C**来复制这些文本。

28. 请点击列中的下一个单元格，如图T17.31中的光标所示。

29. 请把光标放在编辑器窗口里(这时应该是空白的)。

30. 请使用键盘键**Ctrl+ V**来粘贴文本。



图T17.31 Copying and Pasting the Conc Keyword (**复制和粘贴浓度关键字**)

我们现在要来编辑关键字标记，来选用0.313 µl CD64绘图。

31. 请双击文本"Keyword: conc for Plot #3, overlay #1"。

这时会出现**Edit Statistic(编辑统计)**对话框中的**Data Source(数据源)**页面，如前图T17.9[890]中的**Create Statistic(创建统计)**对话框所示。

32. 请选中**Color Dot - 0.313 ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**。

33. 请点击**OK**。

请为"volume(体积)"这列中的其它单元格重复第28步到第33步，并分别选择剩下的五个绘图(从0.625 µl CD64到10 µl CD64)作为数据源。这时的自定义数据表格看起来应该如图T17.32所示。

Cell #	volume [ul]	M/L ratio
1	0.156	
2	0.313	
3	0.625	
4	1.25	
5	2.5	
6	5	
7	10	

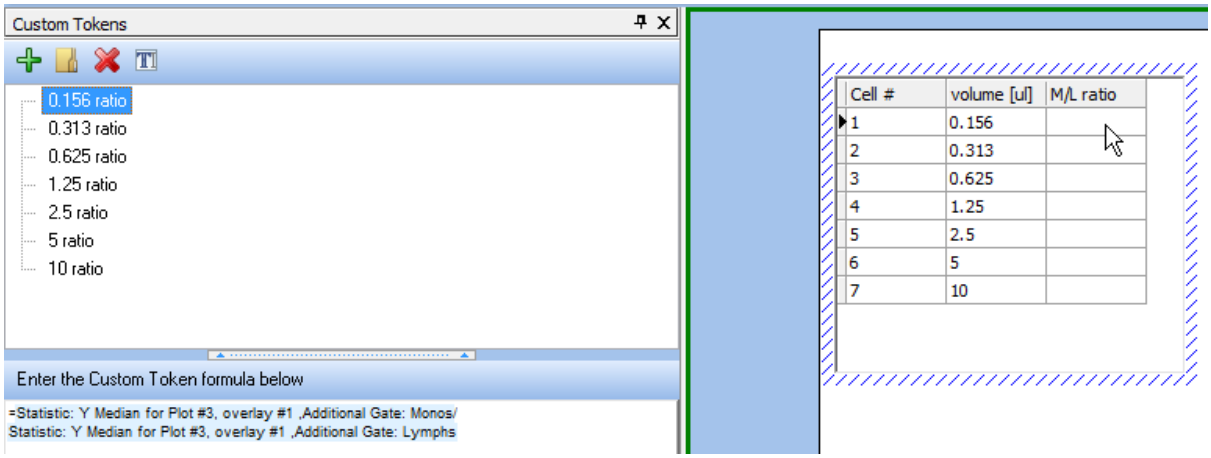
图T17.32 Custom Data Table with Volumn Values (**自定义数据表格中的体积数据**)

我们现在要为**M/ L ratio(单核细胞/ 淋巴细胞比值)**列输入数据，方法是把我们以前定义好的自定义比值标记拖到自定义数据表格中的**M/ L ratio**列里来。

34. 请把光标放在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中的**0.156 ratio**标记上，如图T17.33中的蓝色标记所示。

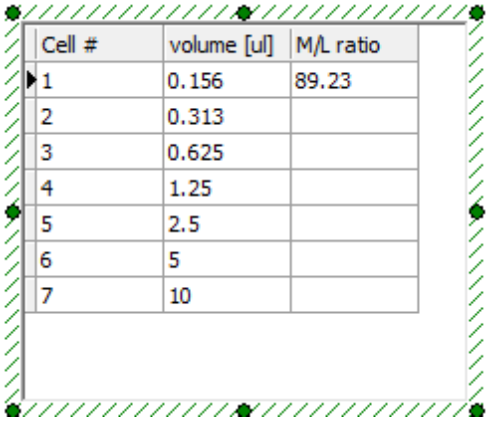
35. 请按下鼠标左键不放，把**0.156 ratio**标记拖到自定义数据表格中。

36. 当光标在**M/ L ratio**列里的第一个单元格上时(如图T17.33所示)，请松开鼠标。



图T17.33 Dragging and Dropping the Custom Token onto the Custom Data Table (**把自定义标记拖放到自定义数据表格中**)

这时自定义标记会显示CD64的体积为0.156 µl时对应的单核细胞与淋巴细胞的比值，如图T17.34所示。



Cell #	volume [ul]	M/L ratio
1	0.156	89.23
2	0.313	
3	0.625	
4	1.25	
5	2.5	
6	5	
7	10	

图T17.34 Custom Data Table Updated with 0.156µl Data (**自定义数据表格中的**0.156µl**对应的数据**)

请为剩下的所有的自定义比值标记(0.313到10)重复第34步到第36步，从而填充自定义数据表格中的**M/L ratio**一列。这时的自定义数据表格看起来应该如图T17.35所示。

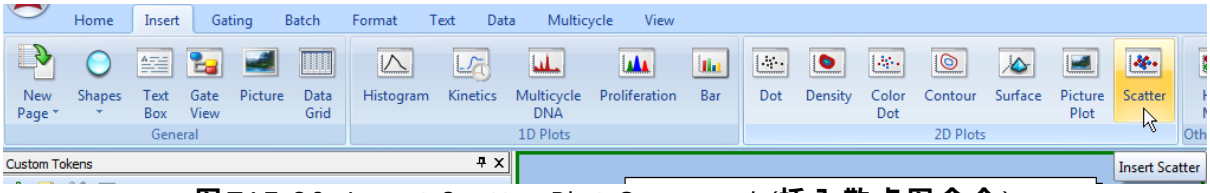
Cell #	volume [ul]	M/L ratio
1	0.156	90.39
2	0.313	128.74
3	0.625	245.42
4	1.25	260.02
5	2.5	364.16
6	5	394.73
7	10	325.67

图T17.35 Final Custom Data Table (**最终的自定义数据表格**)

观察一下这个自定义数据表格就会发现最大的单核细胞与淋巴细胞的比值(394.73)是在当使用5 µl的CD64获得的。在下一节中，我们将为这些数据插入一个散点图 919，以便更好地显示滴定曲线。

36.17.3 *插入散点图*

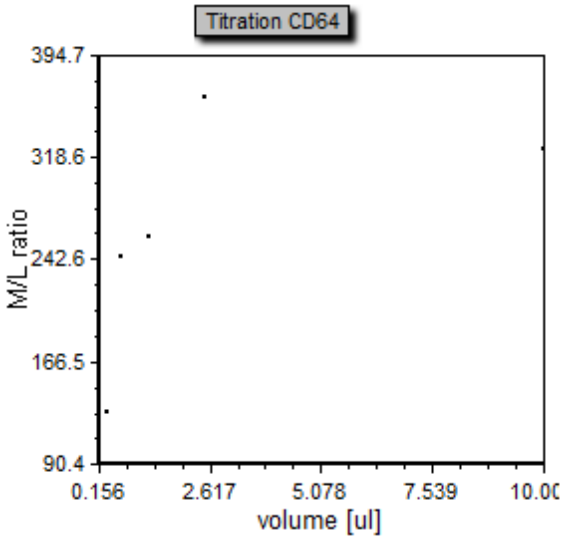
1. 请选中自定义数据表格，它会显示一个绿色的边框。
2. 请选中**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Scatter(散点图)**命令(图T17.36)。



图T17.36 Insert Scatter Plot Command (**插入散点图命令**)

3. 请点击版面中第2页上的空白区。

这时会出现一个使用自定义数据表格中的滴定数据的二维散点图，如图T17.37所示。



图T17.37 Scatter Plot of Titration Data (**滴定数据对应的散点图**)

但是散点图中的数据点非常小，用户无法很好地查看数据。我们现在要对这个绘图进行格式化，把数据点放大并把它们连接起来。让我们来修改一下x- 数轴和y- 数轴，把数据点放大到最大。

4. 请右键点击散点图，调出弹出菜单。

5. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。

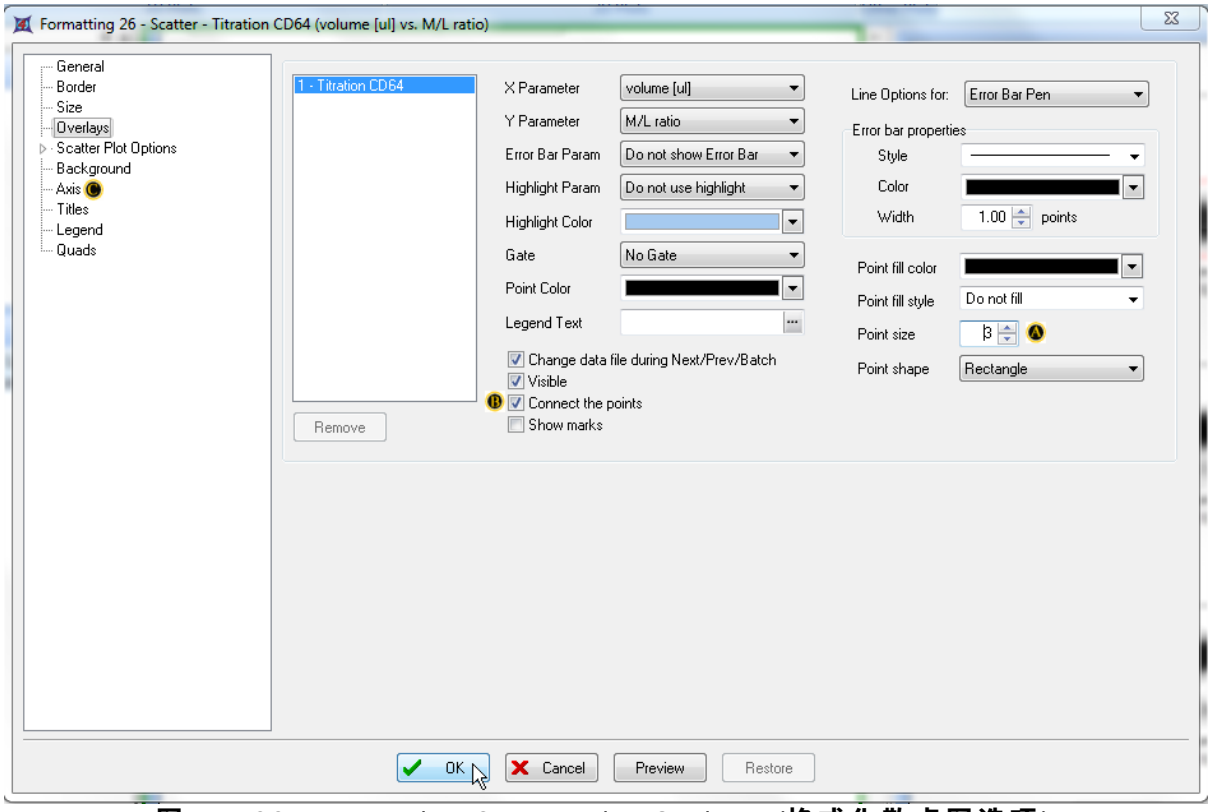
这时会出现针对散点图的**Formatting(格式化)**对话框。以下步骤均针对图T17.38。

6. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项，如图中的高亮所示。

7. 请把数据点的大小改为"3"。

8. 请点选**Connect the points(连接数据点)** B。

9. 请点选**Axis(数轴)** C类别选项。



图T17.38 Formatting Scatter Plot Options (**格式化散点图选项**)

这时会显现**Formatting(格式化)**散点图对话框中的**Axis(数轴)**页面。以下步骤均针对图T17.39A和图T17.39B。

10. 请选择**Y axis(Y轴)**，如图T17.39A中的蓝色高亮显示。

11. 请取消对**Automatic Range(自动调整坐标系)**的勾选，如图中的光标所示。

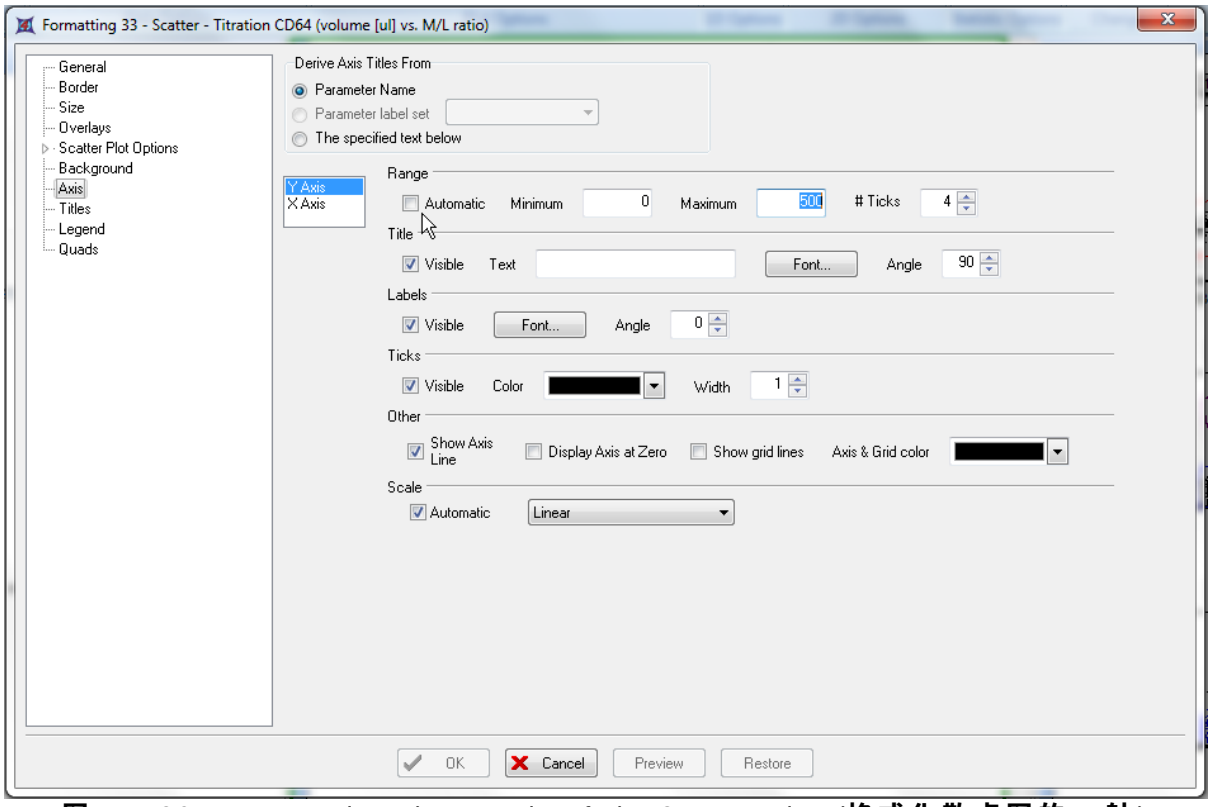
12. 请在**Maximum Range(最大坐标值)**窗口中输入"**500**"，如图中的蓝色高亮所示。

13. 请选中**X axis(X数轴)**，如图T17.39B中的蓝色高亮所示。

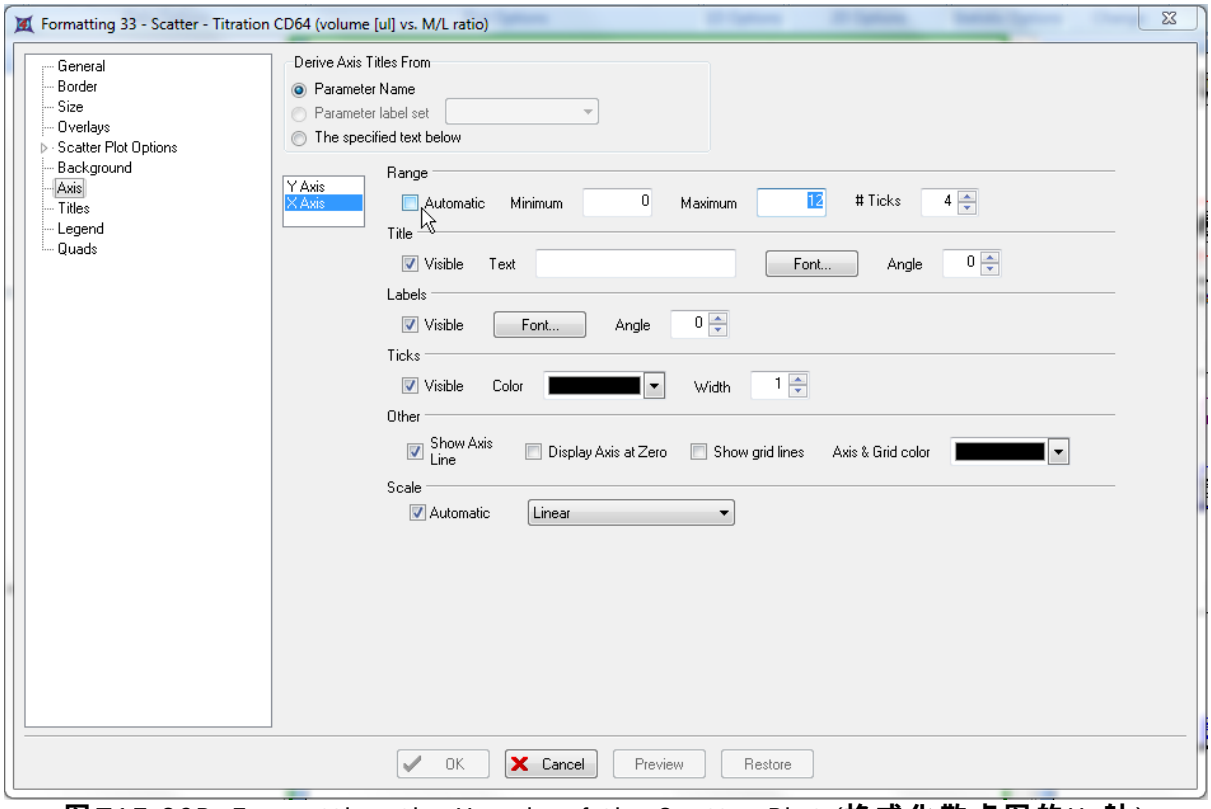
14. 请取消对**Automatic Range(自动调整坐标系)**的勾选，如图中的光标所示。

15. 请在**Maximum Range(最大坐标值)**窗口中输入"**12**"，如图中的蓝色高亮所示。

16. 请点击**OK**。

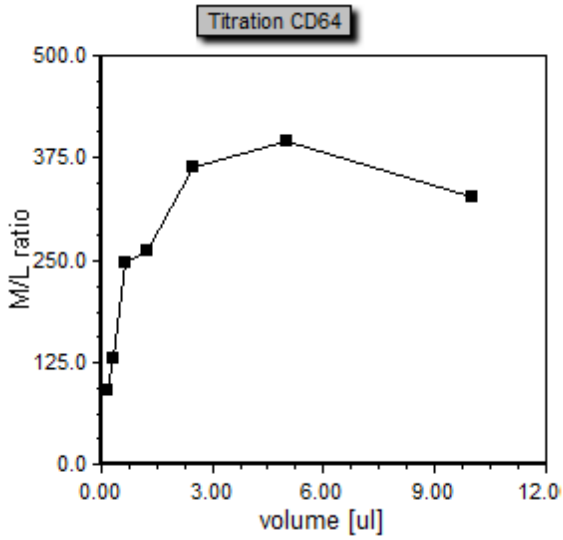


图T17.39A Formatting the Y-axis of the Scatter Plot (格式化散点图的Y-轴)



图T17.39B Formatting the X-axis of the Scatter Plot (**格式化散点图的**X-**轴**)

这时的散点图中的数据点比以前大了，并且被用线连了起来，坐标轴的显示范围也进行了调整，如图T17.40所示。

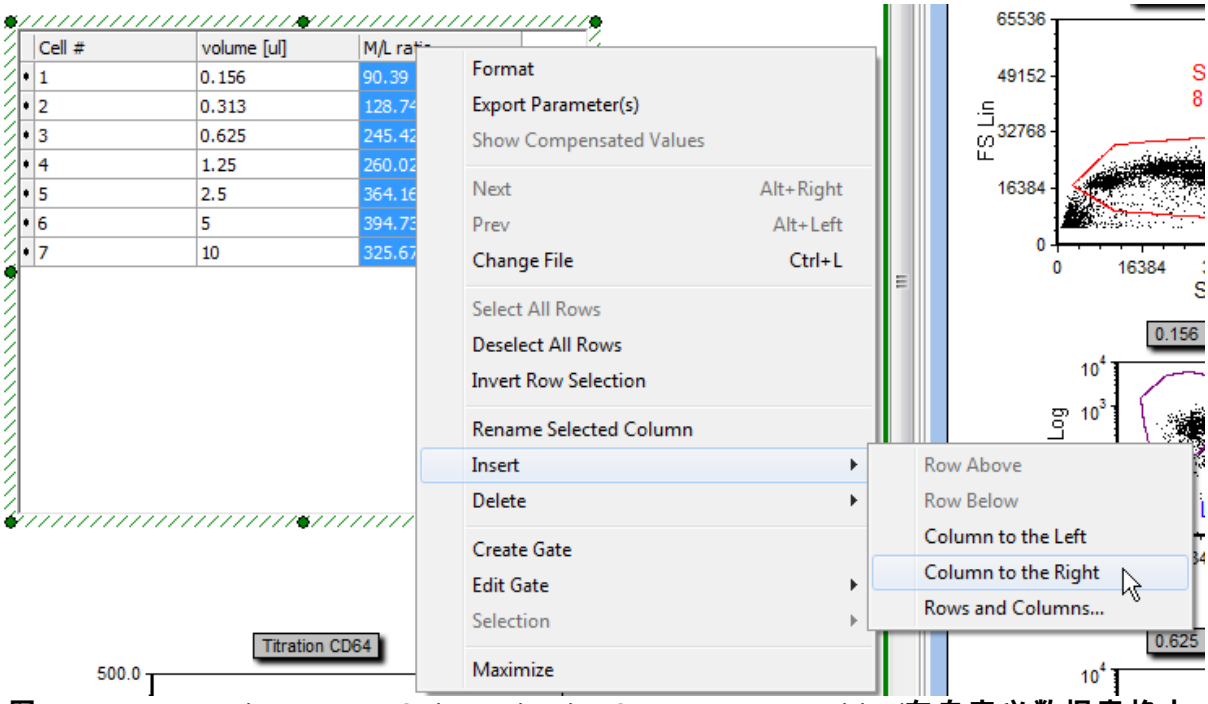


图T17.40 Formatted Titration Scatter Plot (**格式化后的滴定散点图**)

我们现在要在滴定图中插入更多的数据来反映单核细胞群的变差系数(CV)。这些数据我们将以误差线的方式插入到散点图中。首先，我们需要在滴定自定义数据表格中为单核细胞CV数据插入新的一列。

17. 请在自定义数据表格中的**M/ L ratio**列中右键点击，调出弹出菜单。

18. 请从弹出菜单上选择**Insert(插入)→Column to the Right(在列的右侧插入)**命令。如图T17.41中的蓝色高亮和光标所示。



图T17.41 Inserting a New Column in the Custom Data Table (**在自定义数据表格中插入新的一列**)

这时会出现**New Colum Name(新列名)**对话框。

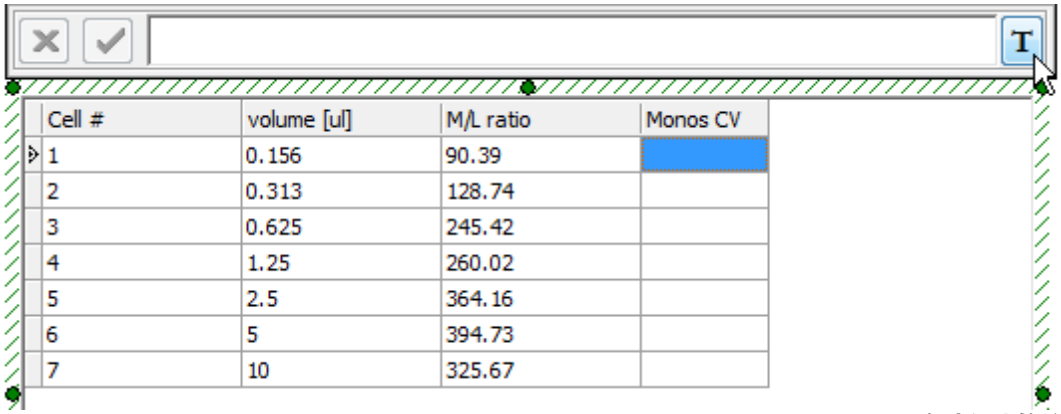
19. 请在新列名字段中输入"**Monos CV**"。

20. 请点击**OK**。

这时在**M/ L ratio**列的右侧会出现一个名为**Monos CV**的空白列。我们现在要在这个新列中插入代表单核细胞群CD64荧光强度的CV的标记。以下步骤均针对图T17.42。

21. 请点击**Monos CV**列中的第一个单元格，如图中的蓝色高亮所示。

22. 请点击标记图标，如图中的光标和蓝色高亮所示。



图T17.42 Inserting Token Data into a Cell of the New Column (**在新列的单元格中插入标记数据**)

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如前图T17.8 890所示。

23. 请点选**Statistic(统计)**标记。

24. 请点击**Insert(插入)**。

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框，如前图T17.9 890所示。

25. 请选中**Color Dot - .156ul CD64.fcs.DNS (SS Lin vs. FL 8 Log)**绘图，如图T17.9 890中的蓝色高亮所示。

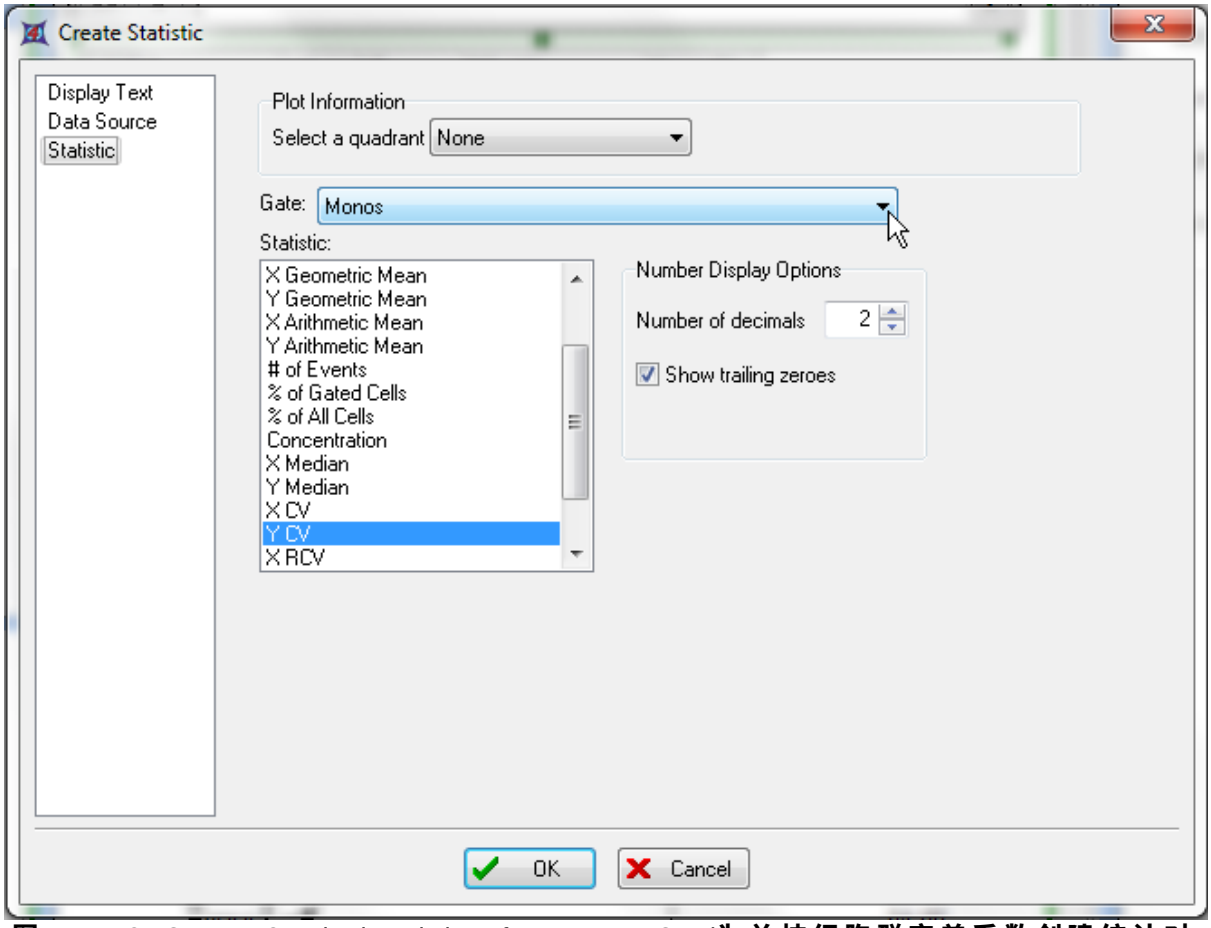
26. 请在左边选择**Statistic(统计)**类别选项，如图T17.9 890中的光标所示。

这时会显示**Create Statistic(创建统计)**对话框中的**Statistic(统计)**页面，在此我们会选择单核细胞Y向的CV作为标记的统计。以下步骤均针对图T17.43。

27. 请从**Statistic:(统计:)**列表框中选择**Y CV(Y向变差系数)**，如图中的蓝色高亮所示。

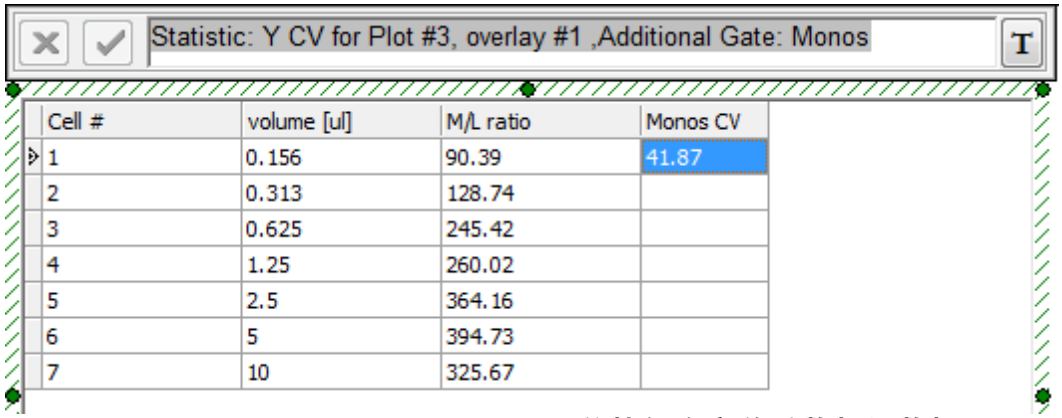
28. 请从**Gate:(门:)**下拉列表中选择**Monos(单核细胞)**，如图中的光标和蓝色高亮所示。

29. 请点击**OK**。



图T17.43 Create Statistic Dialog for Monos CV (**为单核细胞群变差系数创建统计对话框**)

这时滴定自定义数据表格会相应地显示出0.156 µL试样对应的**Monos CV(单核细胞变差系数)**统计标记，如图T17.44中的蓝色高亮所示。



Cell #	volume [ul]	M/L ratio	Monos CV
1	0.156	90.39	41.87
2	0.313	128.74	
3	0.625	245.42	
4	1.25	260.02	
5	2.5	364.16	
6	5	394.73	
7	10	325.67	

图T17.44 Monos CV Token Data (**单核细胞变差系数标记数据**)

请重复第21步到第29步，把**Monos CV**列中其它的单元格填好。或者，用户可以使用复制和粘贴的组合来完成这些操作(就像以前章节介绍过的那样)，但一定要记住使用相应的数据绘图来对相应的标记进行更新。**Monos CV**列被填好后，它看起来应该如图T17.45所示。

Cell #	volume [ul]	M/L ratio	Monos CV
1	0.156	90.39	41.87
2	0.313	128.74	45.12
3	0.625	245.42	46.92
4	1.25	260.02	59.94
5	2.5	364.16	55.13
6	5	394.73	54.00
7	10	325.67	56.65

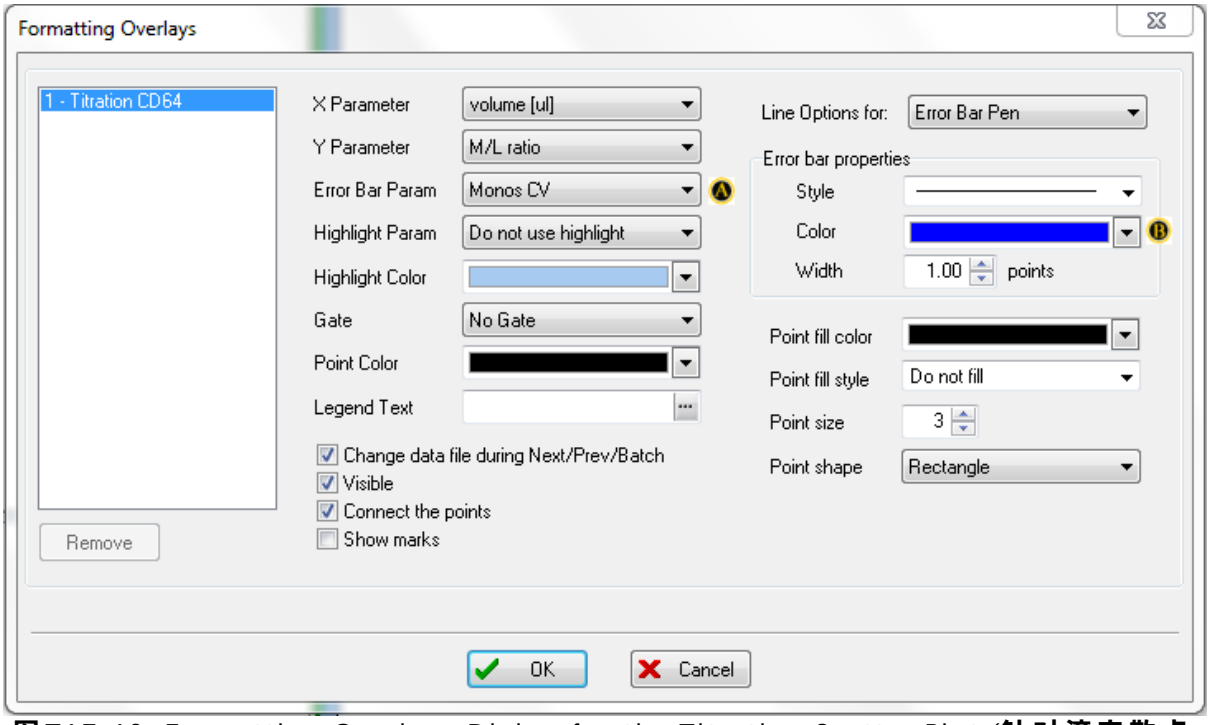
图T17.45 Titration Custom Data Table with Monos CV Column Completed (**滴定自定义数据表格中填好的单核细胞变差系数列**)

我们现在要在滴定散点图上把单核细胞变差系数作为误差线来插入。

30. 请点击滴定散点图，将其选中。
31. 请选择**Format(格式)→Plot Options(绘图类型)→Overlays(叠加图层)**命令。

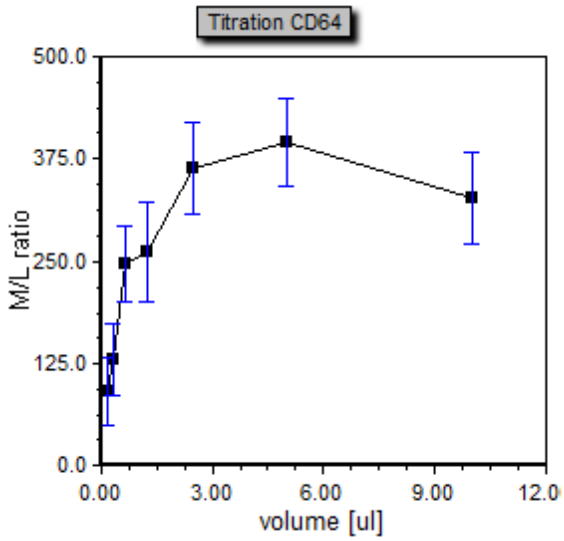
这时会出现格式化叠加图层对话框。以下步骤均针对图T17.46。

32. 请从**Error Bar Param(误差线参数)**下拉列表中选中**Monos CV(单核细胞变差系数)**。
33. 请从**Error bar properties Color(误差线颜色)**下拉列表中选择蓝色。
34. 请点击**OK**。



图T17.46 Formatting Overlays Dialog for the Titration Scatter Plot (**针对滴定散点图的格式化叠加图层对话框**)

这时滴定散点图将显示根据单核细胞变差系数所绘制的误差线(蓝色)，如图T17.47所示。



图T17.47 Titration Scatter Plot with Error Bars (**滴定散点图上的误差线**)

36.18 大量数据流

FCS Express第4版不断地创新，现在可以分析96孔板流式细胞数据。在本章中，我们将学习如何:

- 把数据作为FCS细胞板文件夹文件导入
- 插入热图
- 格式化热图
- 在热图上应用门
- 查看多个细胞孔以及单独细胞孔对应的绘图
- 用细胞孔数据创建叠加图层
- 对多个细胞板进行批处理
- 使用Z- 函数功能来计算Z- 筛选因子

36.18.1 导入、插入以及格式化热图

在这一节中，我们将学习如何:

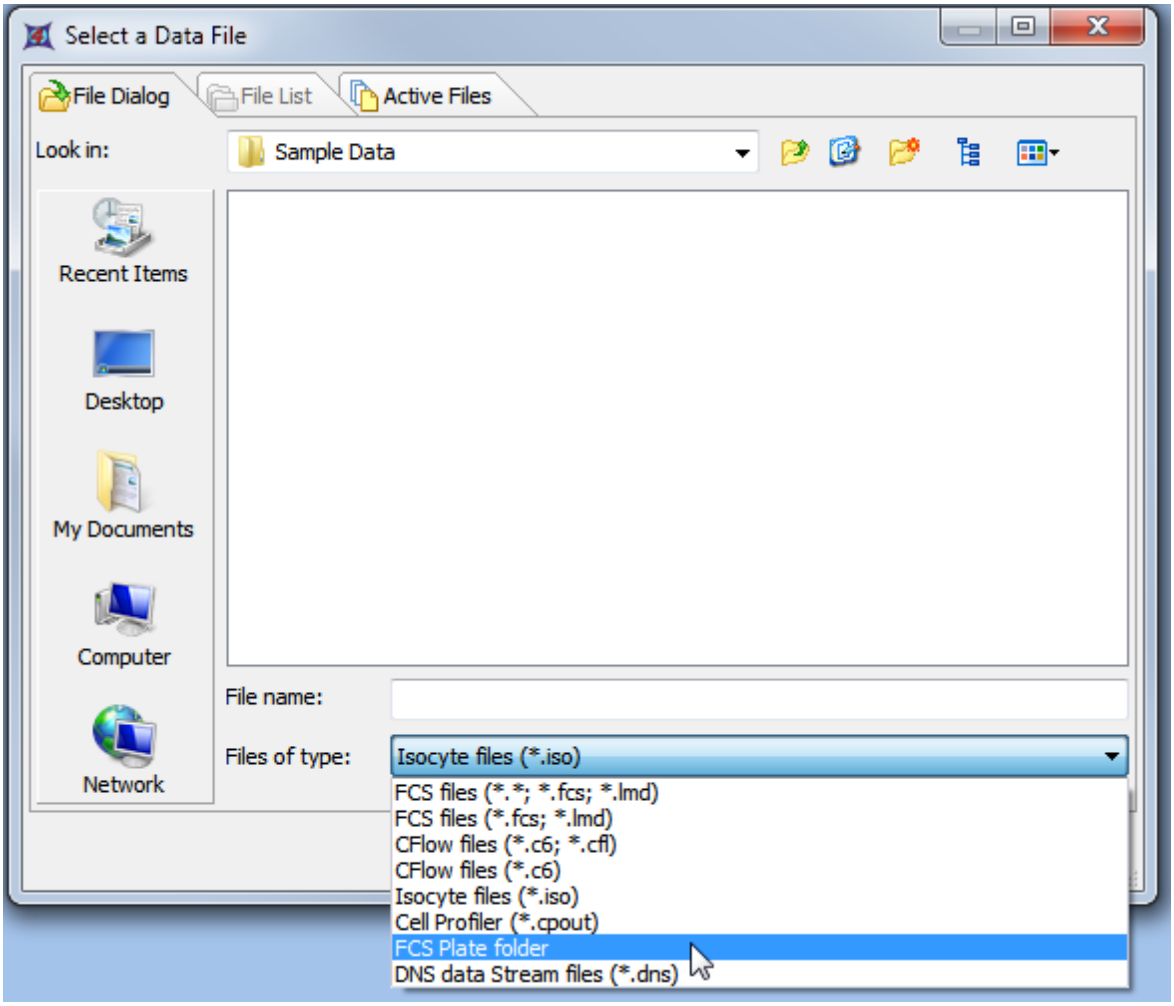
- 以FCS细胞板文件夹的格式导入数据
- 插入热图
- 修改热图的方向
- 选择要在细胞孔中显示的统计和参数
- 修改热图的颜色层次
- 调整颜色的样式
- 仅仅在热图中显示门中的事件

我们将使用位于教程样本数据库510中的**HighContentFormatting.fey**版面。这个版面中有一个在本节末尾时要使用的二维绘图。

在本节中，用户将要学习如何导入一个基于96孔板实验的文件夹。FCS Express可以处理细胞板中任意数目和任意排列方式的细胞孔。我们将要使用的数据在教程样本数据库510中。为方便起见，这里只包括了一行零一个细胞孔对应的数据。

要导入大多数类型的96孔板流式数据，用户必须选中所有从细胞板那里获得的数据文件，而非只是其中的一个数据文件。

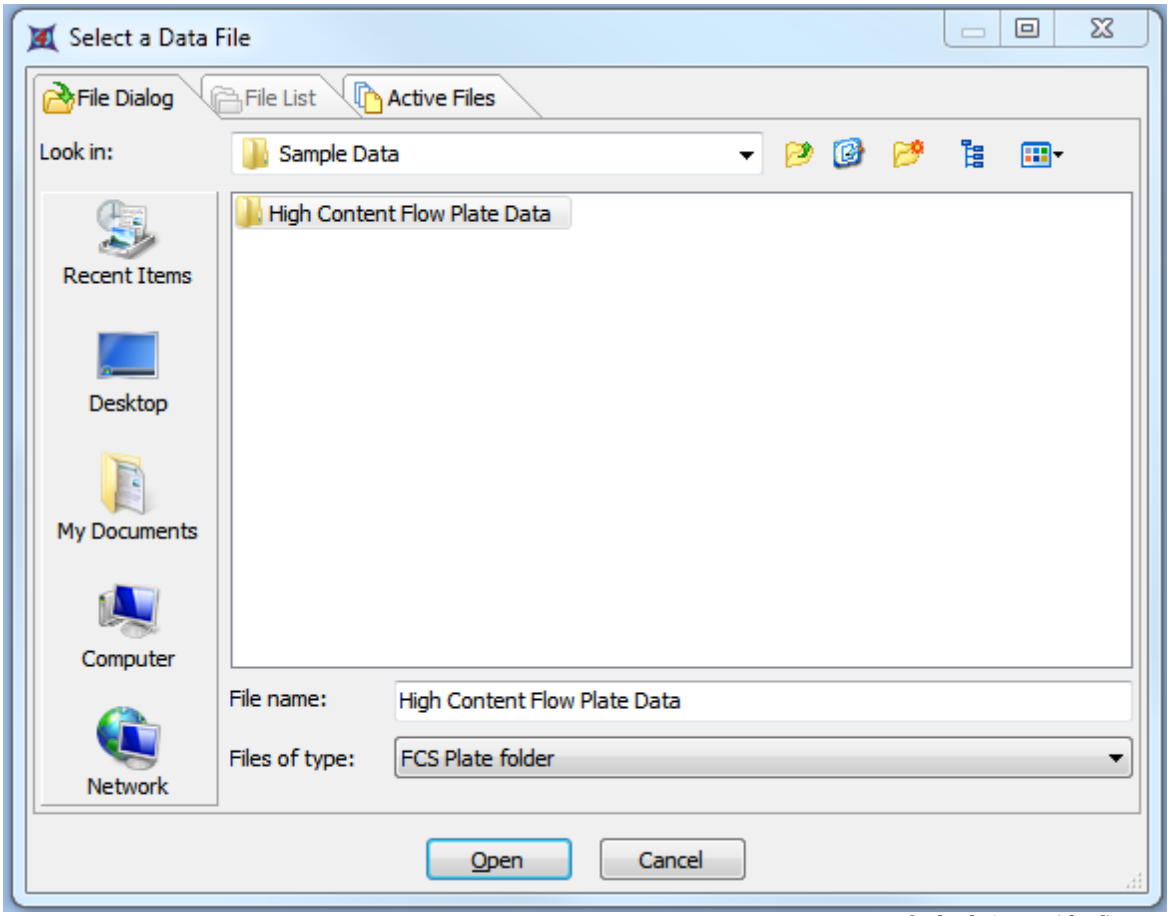
1. 请从教程样本数据库510中导入**HighContentFormatting.fey**版面文件。
2. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
3. 请点击图标，把数据文件添加到数据列表中。
4. 请从**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选择**FCS Plate folder(FCS细胞板文件夹)**(图T18.1)。



图T18.1 Choosing FCS Plate Folder from the Files of Type: Drop-down List (**从"文件类型:"下拉列表中选择**FCS**细胞板文件夹**)

5. 请来到教程样本数据库510中的**High Content Flow Plate Data(高涵量流细胞**

板数据)文件夹(图T18.2)。



图T18.2 Choosing the High Content Flow Plate Data Folder (**选中高涵量流式孔板数据文件夹**)

6. 请在文件夹上单击一次。请不要进入文件夹，因为我们想要选中文件夹中所有内容。
7. 请点击**Open(打开)**。

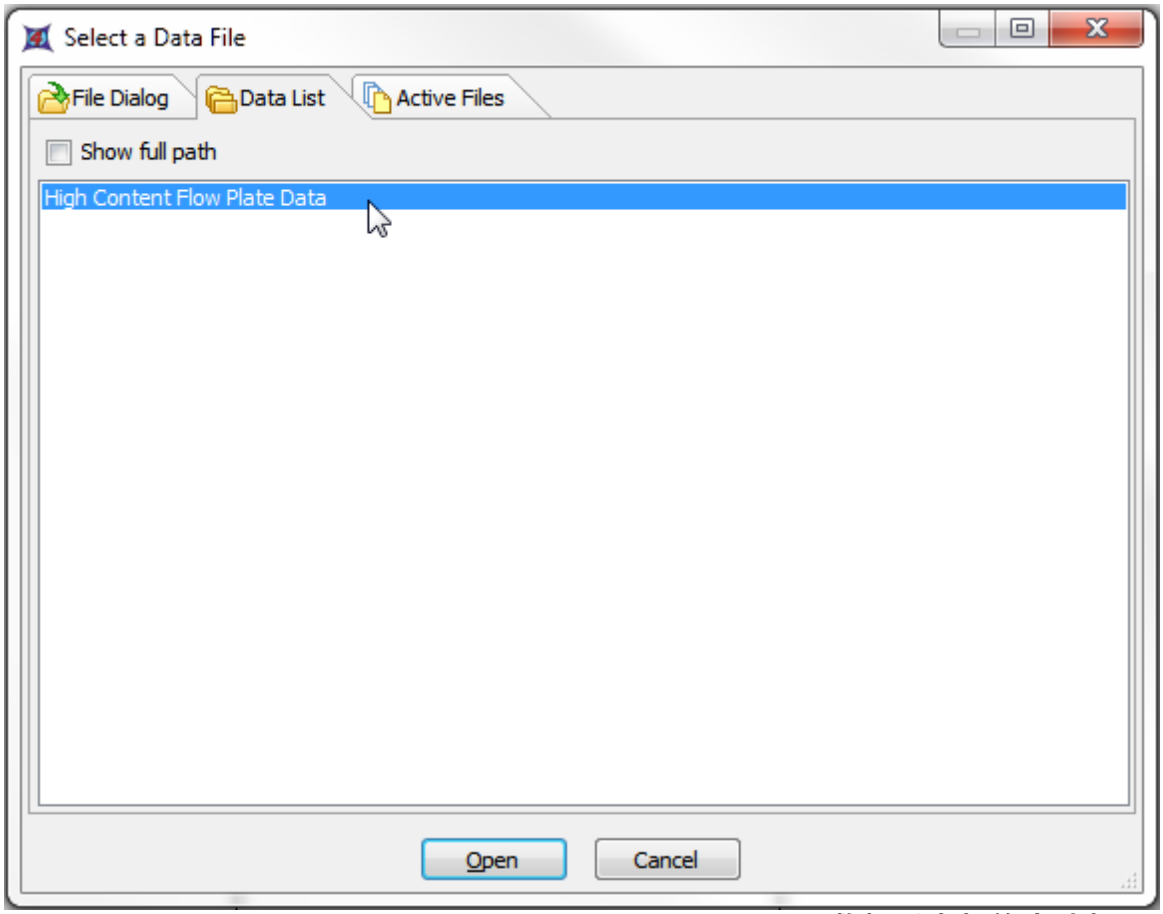
这时这个文件夹会作为一个文件出现在数据列表中。这个文件包括.FCS文件以及细胞板中所有细胞孔中的数据。

注: 要想让FCS Express认出进行分析的细胞板的设置(也即是24孔、48孔、96孔还是384孔)，文件夹中必须有一个定义细胞板的文件。在这个例子中，这个文件已经在样本文件夹中了，其名称是"**plate.AllExtraKeywords.txt**"。这应用了FCS Express中的一个特殊功能 ;用这个功能用户可以在一个文件中插入额外的关键字而无需修改这个文件。详细内容请参见FCS Express用户手册中的第17.2节273 *额外关键字*273。

8. 请选择**Insert(插入)→Other Plots(其它绘图)→Heat Map(热图)**。

9. 请在版面中用户想要插入热图的地方点击。

10. 请点击**Select a Data File(插入数据文件)**对话框中的**Data List(数据列表)**标签(图T18.3)。

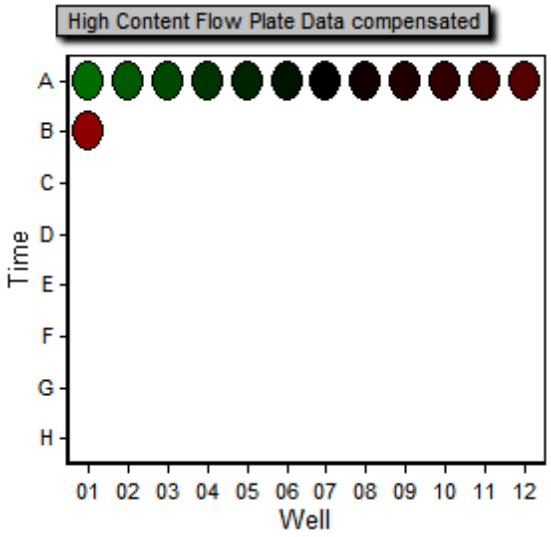


图T18.3 Choosing a Data File from the Data List Tab (**从数据列表标签中选择一个数据文件**)

11. 请双击**High Content Flow Plate Data(高涵量流细胞板数据)**来选中数据文件夹。

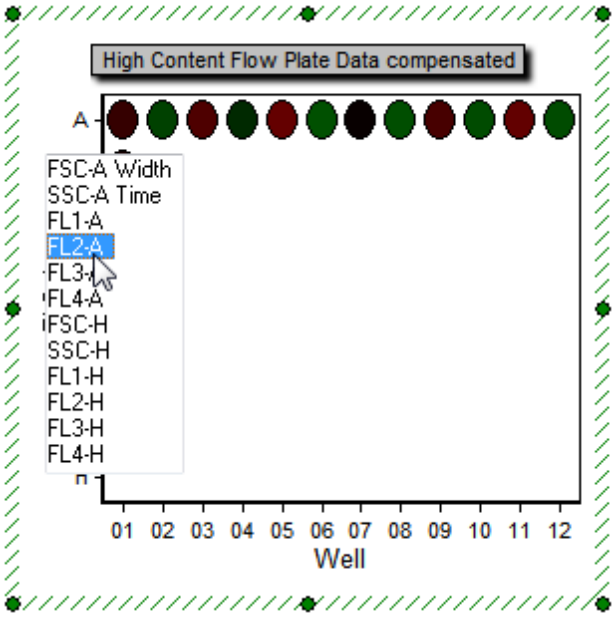
12. 请点击**OK**。

这时在版面上会出现一个热图，如图T18.4所示。这个热图仅仅显示了细胞孔A1- 12和B1，因为我们在样本数据中仅仅包括了这些细胞孔。在这组数据集中我们关心的参数是FL2- A。我们现在就来修改数轴来显示这个参数。



图T18.4 Inserted Heat Map (**插入的热图**)

13. 请点击细胞板行编号旁边的数轴参数(图T18.5)。



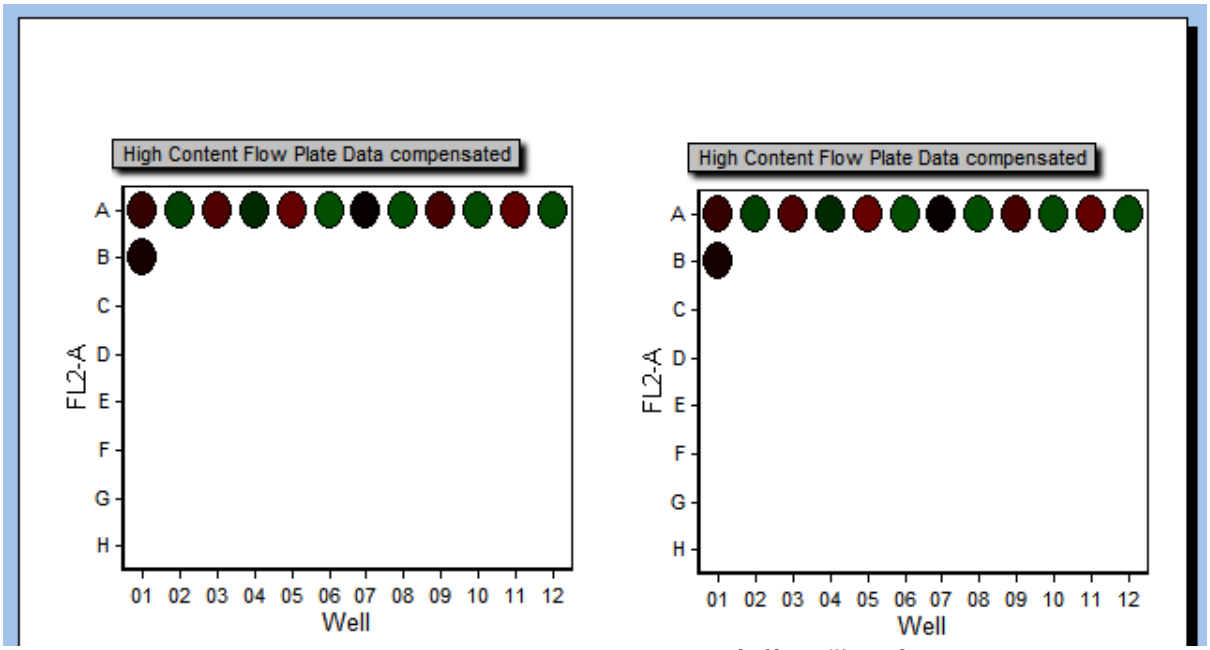
图T18.5 Changing the Heat Map Parameter (**修改热图参数**)

14. 请从弹出菜单上选择**FL2- A**。

注意: 以上绘图中的颜色反映了热图中每个细胞孔对应的FL2- A通道上的算术平均。在本节稍后的内容里我们将演示如何修改绘图中的统计。

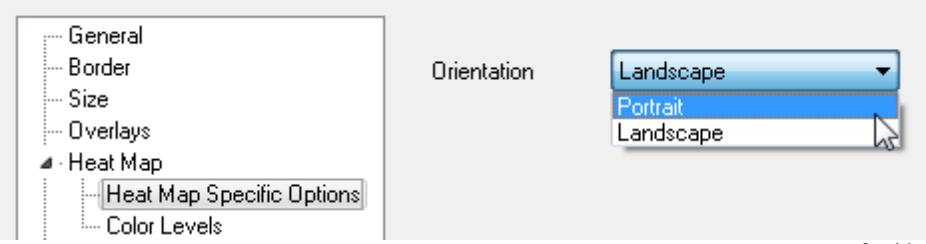
我们现在要为这个热图做个副本，然后修改新建热图的方向。

15. 请选中该热图。
16. 请选择**Home(主页)→Clipboard(剪切板)→Duplicate 2D Plot(为二维绘图做副本)**。(另外的方法是使用复制和粘贴命令)。这时在版面上会出现原始热图的一个副本。请调整这两个绘图的位置，使它们看起来如图T18.6所示。



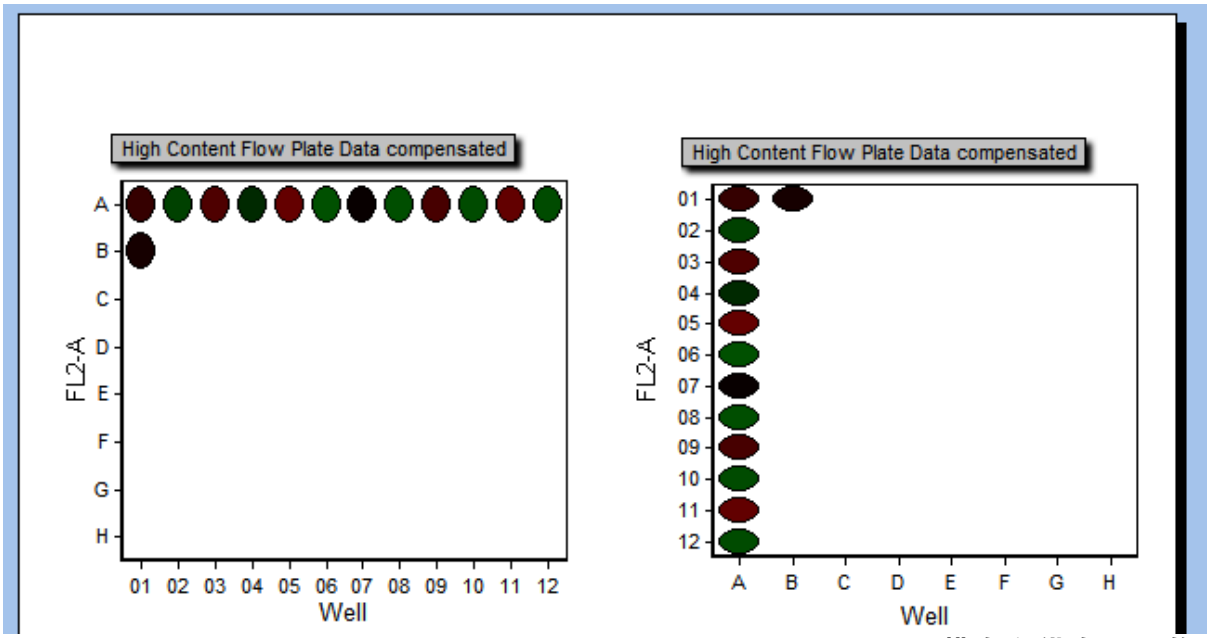
图T18.6 Duplicate Heat Maps (**为热图做副本**)

17. 请右键点击版面右侧新创建的热图 。
18. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
19. 请选择**Heat Map(热图)→Heat Map Specific Options(热图特有选项)**。
20. 请把绘图的方向从**Landscape(横向)**改为**Portrait(纵向)**(图T18.7)。



图T18.7 Changing Orientation from Landscape to Portrait (**把绘图方向从横向修改为纵向**)

这时版面看起来应该如图T18.8所示。用户可以根据实验版面或显示/ 发表需要来修改热图的方向。



图T18.8 Heat Maps Displayed in Landscape and Portrait Modes (**横向和纵向显示的热图**)

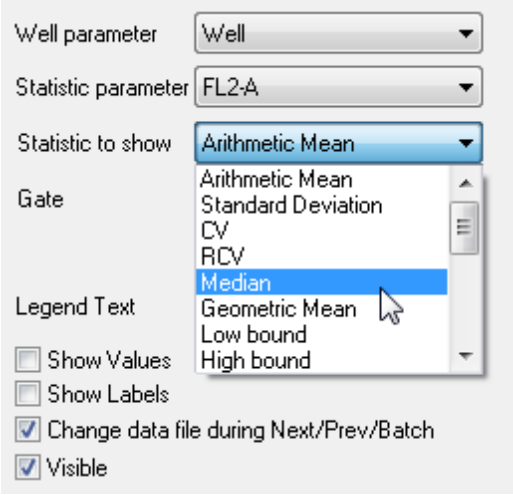
我们现在要修改热图中颜色代表的统计数据。

21. 请按下**Ctrl+ Z**来撤销对绘图方向的修改。
22. 请右键点击左边绘图。
23. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
24. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

热图现在显示的是细胞孔中所有事件的算术平均值，如**Statistic to show(要显示的统计)**

字段中显示的那样。

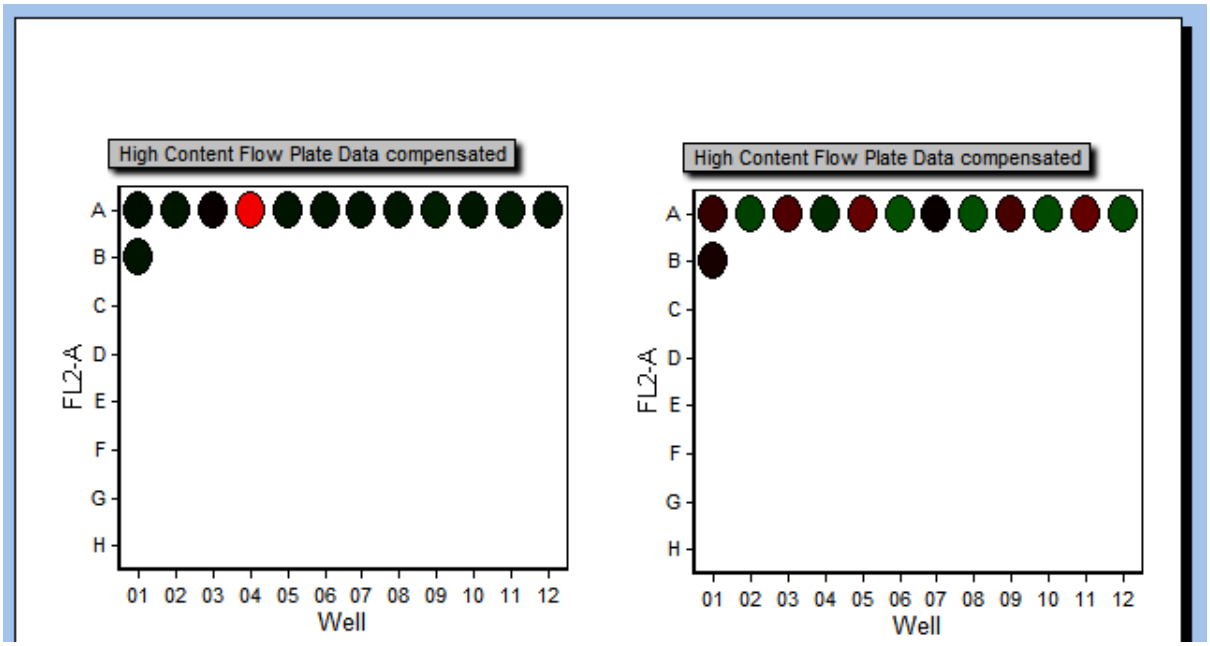
25. 请从**Statistic to show(要显示的统计)**下拉列表中把要显示的统计改为**Median (中间数)**(图T18.9)。



图T18.9 Changing the Statistic to Show in the Heat Map (**修改在热图中要显示的统计**)

26. 请点击**OK**。

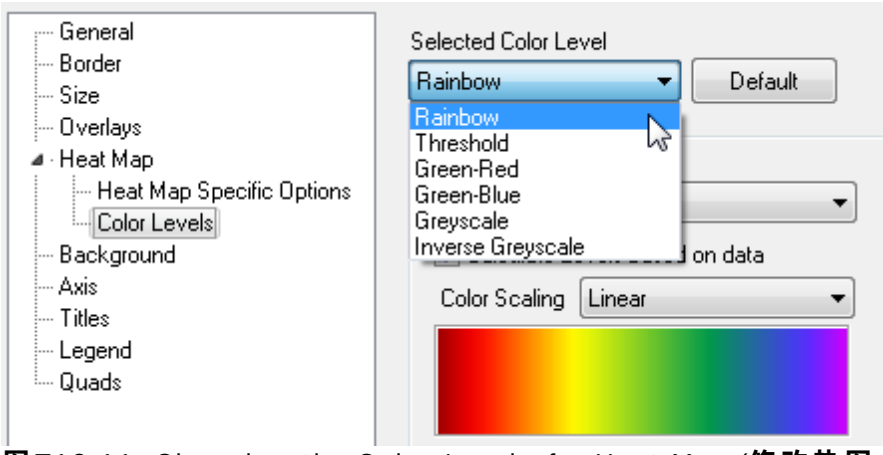
这时版面应该看起来如图T18.10所示。注意到左边的绘图现在有一个非常明显的"热"孔A4。在这个例子中，中间数(左图)比算术平均(右图)能更好地区分"热"孔(红色)和"冷"孔(绿色)。



图T18.10 Heat Maps Displaying Statistics for Median (Left) and Arithmetic Mean (Right). (**显示中间数(左图)和算术平均(右图)的热图**)

我们现在将要调整热图中的颜色层次，这在显示热图和把阳性样本与阴性样本区分开来时是非常有用。

27. 请右键点击左边绘图。
28. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
29. 请选择**Heat Map(热图)→Color Levels(颜色层次)**类别选项。
30. 请在**Selected Color Level(选中的颜色层次)**下拉列表中选中**Rainbow(彩虹)**(图T18.11)。



图T18.11 Changing the Color Level of a Heat Map (**修改热图的颜色层次**)

31. 请点击**Preview(预览)**。

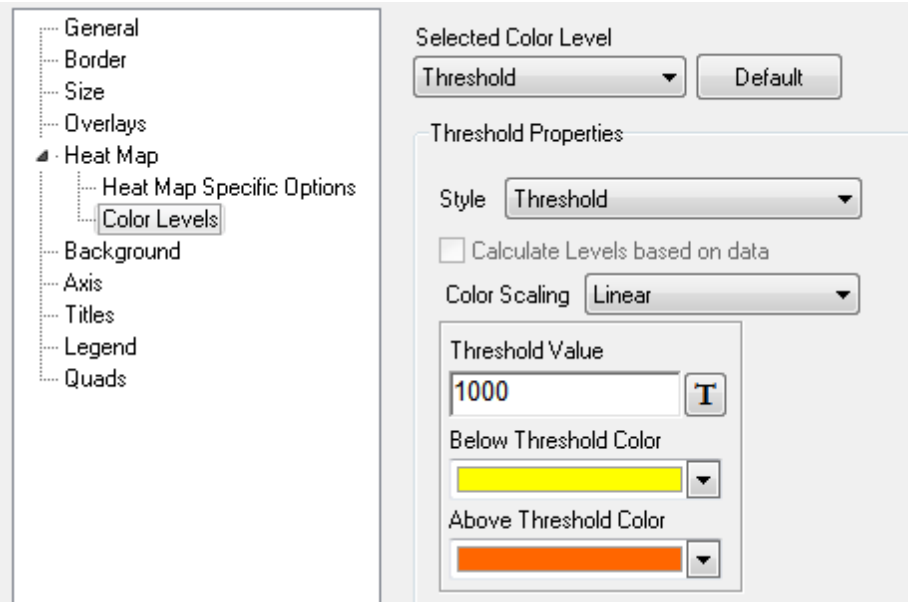
请把格式化对话框移到旁边，这样用户可以观察热图的变化。请把颜色层次分别改为Green-Red(绿- 红)、Green- Blue(绿- 蓝) 、Greyscale(灰度图)以及Inverse Greyscale(反向灰度图)，以观察它们的不同。颜色层次中的Threshold(阈值)选项将为所有超过该阈值的细胞孔指定一个颜色。我们现在要键入一个阈值来参考这一功能(图T18.12)。

32. 请在**Selected Color Level(选中的颜色层次)**下拉列表中选择**Threshold(阈值)**选项。

33. 请在**Threshold Value(阈值)**字段输入"1000"。

34. 请把**Below Threshold Color(阈值以下的颜色)**改为黄色。

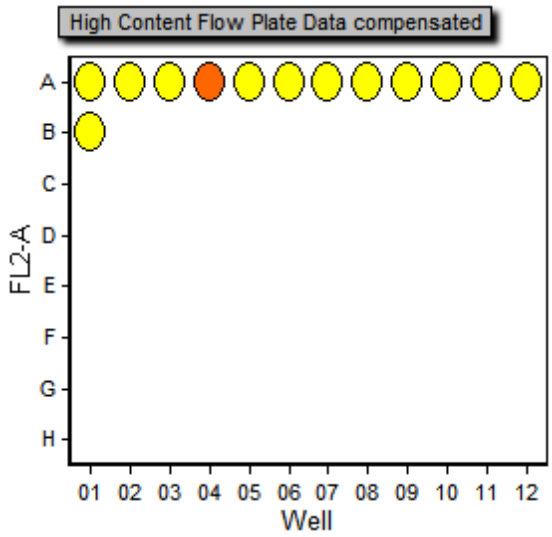
35. 请把**Above Threshold Color(阈值以上的颜色)**改为橙色。



图T18.12 Defining a Threshold to Display as a Color Level in a Heat Map (**为热图中的颜色层次定义一个边界值**)

36. 请点击**OK**。

这时的热图应该看起来如图T18.13所示。那些FL2- A中间值在1000之上的细胞孔将显示为橙色，相反那些FL2- A中间值在1000之下的细胞孔将显示为黄色。

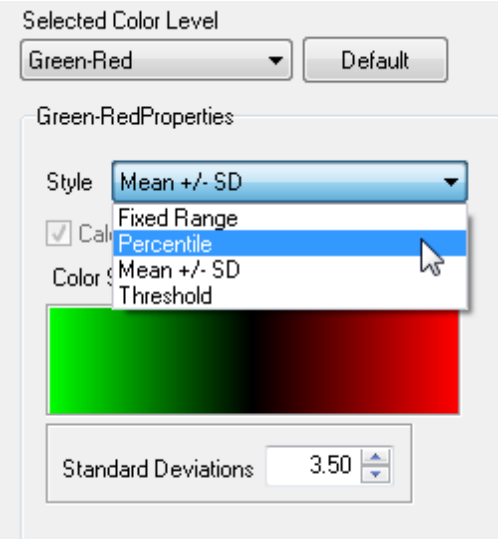


图T18.13 Heat Map with Threshold Color Level (**热图对应的边界值颜色层次**)

注: 请查看选择颜色主题436一节来更多地了解如何为热图选择颜色。

我们现在要修改颜色层次的样式。"样式"在这里指的是如何用不同颜色显示热图中不同数值。默认的方式是"mean +/- SD(平均±标准偏差)"。该方法把细胞板上正好是所有细胞孔平均值的细胞孔指定为黑色。偏离平均值的细胞孔，根据它们是对平均值的正向偏离还是负向偏离，被指定为两个颜色中的一个。一个细胞孔的颜色与某一特定颜色的接近程度取决于用户定义的标准偏差值，默认情况下该值为3.5倍标准偏差。对于红- 绿颜色层次，比平均值低三倍的细胞孔显示为绿色，比平均值高三倍的细胞孔显示为红色。在这个对话框中还有三个其它的选项: fixed range(固定范围)、percentile(百分比)以及threshold(阈值)。

37. 请按下**Ctrl+ A**，同时选中版面上的两个绘图。
38. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。
39. 请把**Statistic to show(要显示的统计)**修改为**Median(中间数)**。
40. 请右键点击左边绘图。
41. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
42. 请选择**Heat Map(热图)→Color Levels(颜色层次)**类别选项。
43. 请把**Selected Color Level(选中的颜色层次)**修改为 **Green- Red(绿- 红)**。
44. 请把**Style(样式)**从下拉列表中修改为**Percentile(百分比)**(图T18.14)。



图T18.14 Changing the Style of the Heat Map Color Levels (**修改热图颜色层次的样式**)

45. 请点击**OK**。

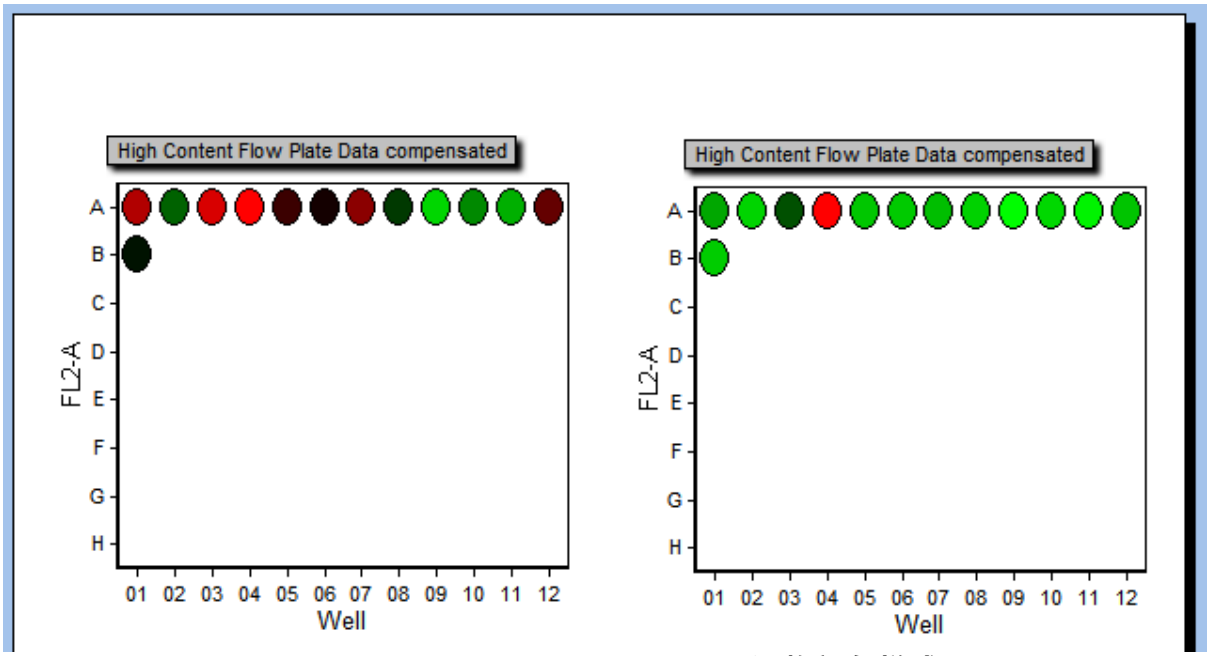
46. 请为右图重复第40步到第43步。

47. 请把**Style(样式)**修改为**Fixed Range(固定范围)**(在右图上)。

48. 请从**Color Scaling(颜色范围)**下拉列表中选择**Logarithmic(对数)**(在右图上)。

49. 请点击**OK**。

这时的版面和热图看起来应该如图T18.15所示。注意到颜色层次随着**Style(样式)**从**Mean +/- SD(平均±标准偏差)**到**Percentile(百分比)**然后再到**Fixed Range(固定范围)**的变化而变化。



图T18.15 Adjusting Color Styles (**调整颜色样式**)

现在让我们把FCS细胞板文件夹中的数据导入到版面中的二维绘图中，然后在绘图上应用门，最后在热图上应用绘图来显示仅仅在门中的事件。

50. 请选中标为"**2D Plot for Gating**"的绘图。

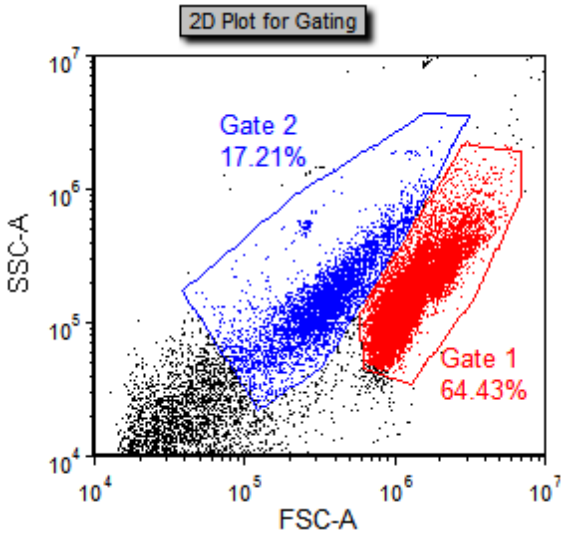
51. 请选中**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Select (选择)**命令。

52. 请选中**Data List(数据列表)**标签卡。

53. 请选中**High Content Flow Plate Data(高涵量流式细胞板数据)**。

54. 请点击**Open**。

55. 请在二维绘图上应用图T18.16中所示的两个门。



图T18.16 A Gated 2D Plot Created from the High Content Flow Plate Data (**一个应用了门的创建自高涵量流式孔板数据的二维绘图**)

注: 因为上边的绘图未经过门处理，所以它显示出数据文件中所有细胞孔中的事件。

56. 请选中左边的热图。

57. 请从**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**下拉列表中选中**Gate 1(第1个门)**。

58. 请选中右边的热图。

59. 请从**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**下拉列表中选中**Gate 2(第2个门)**。

注意到热图现在仅仅显示门中的细胞。请试着移动一下门来观察热图的变化。

36.18.2 *分析热图中的数据*

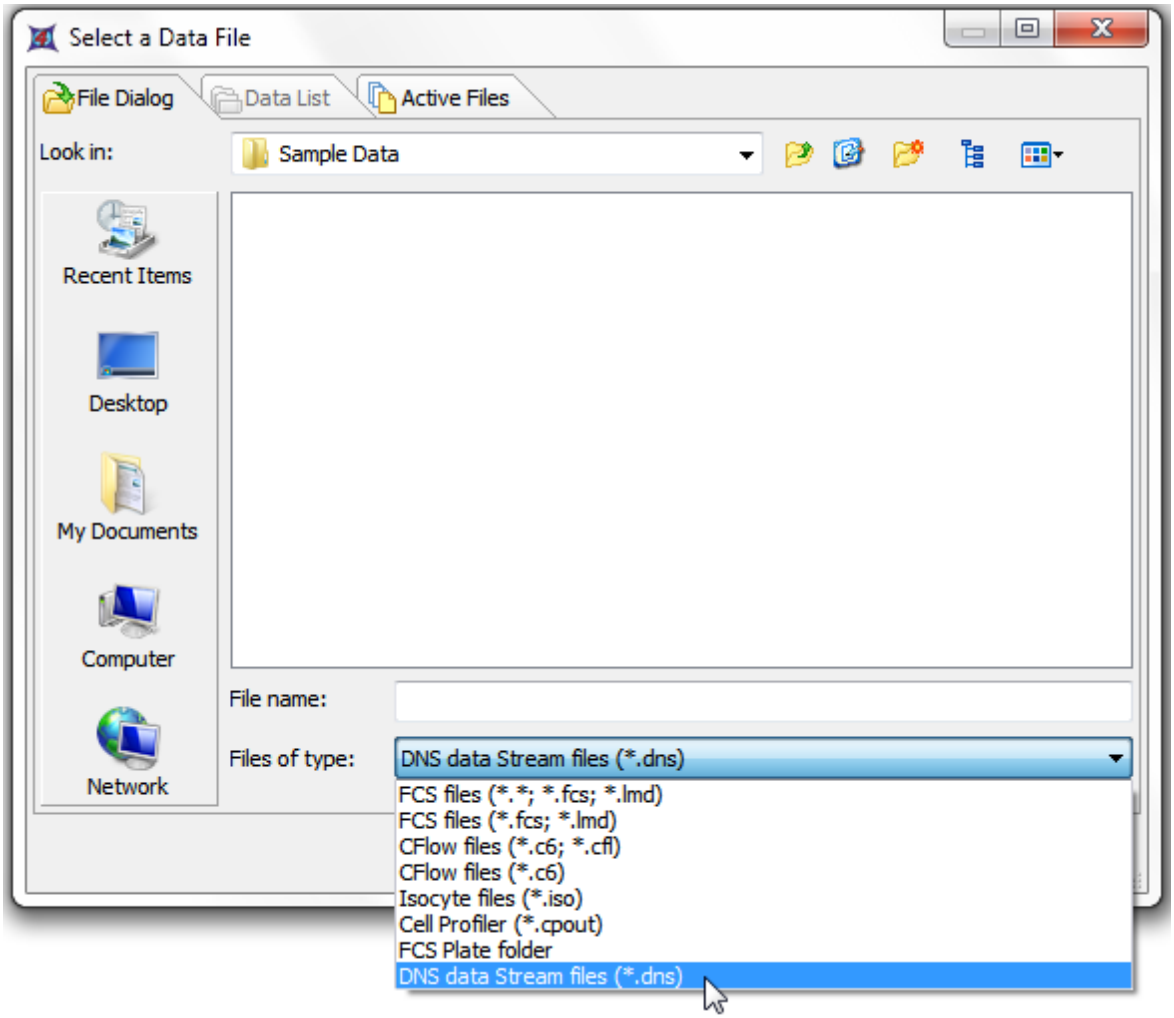
在这一节中，我们将学习如何:

- 在热图上创建门

- 使用细胞孔门来查看单细胞孔和多细胞孔对应的二维绘图中的事件
- 创建热图叠加图层，用以在一个图上查看多个细胞孔中的事件

我们将使用一个数据集，来查找FL2- A呈阳性的细胞孔。我们将使用**HighContentAnalysis.fey**版面以及**HighContent96wellData.dns**数据文件(.dns是FCS Express创建的一种特殊文件格式)。原始数据集中有96个FCS文件，这些文件是从一个基于细胞板的采集系统中获得的。

1. 请导入**HighContentAnalysis.fey**版面。
2. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
3. 请点击图标，把数据文件添加到数据列表中。
4. 请从**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选中**DNS data Stream files(DNS数据流数据) (*.dns)**(图T18.17)。



图T18.17 Choosing DNS Data Stream Files (**选中**DNS**数据流文件**)

5. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录(图T18.18)。



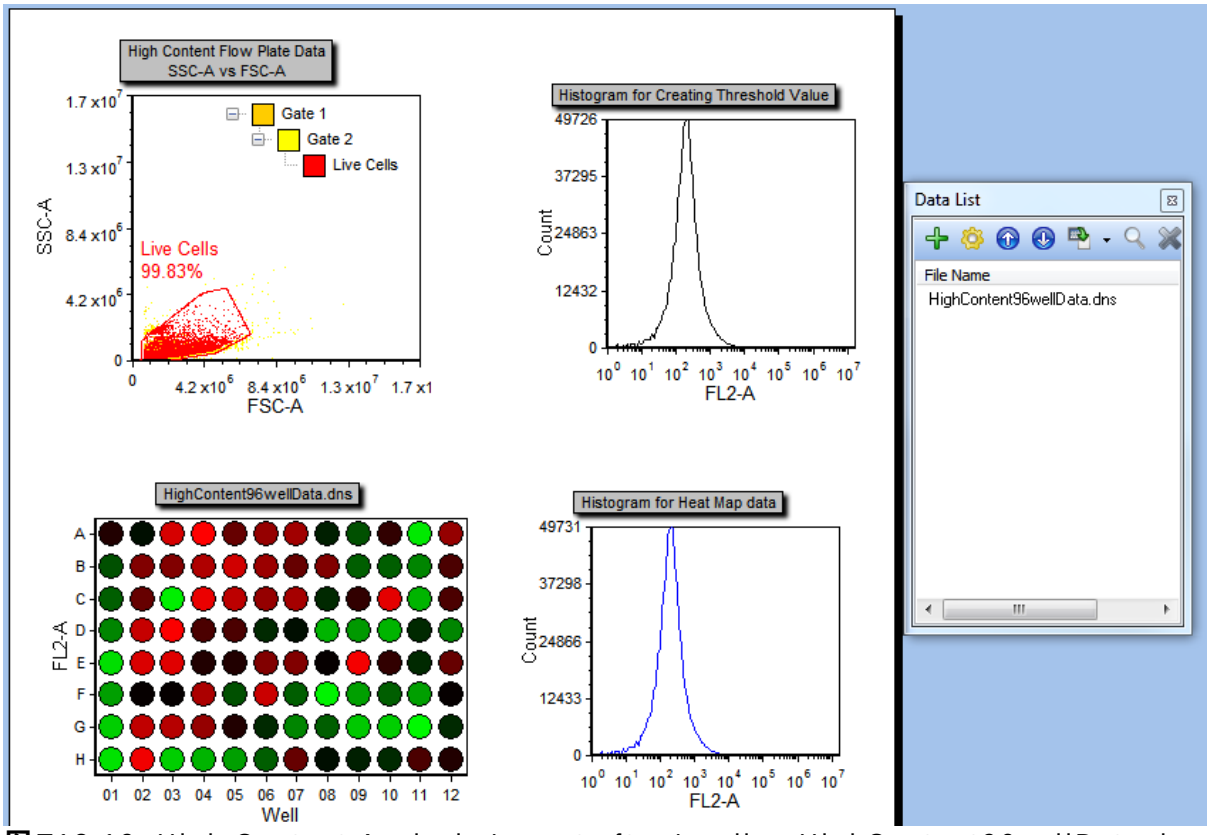
图T18.18 Choosing the HighContent96wellData.dns File (**选择** HighContent96wellData.dns**文件**)

6. 请选中"**HighContent96wellData.dns**"文件(图T18.18)。
7. 请点击**Open(打开)**。

这时这个文件会出现在数据列表中。这个文件包含从96个细胞孔中获得的、以.dns格式存储的数据。在我们插入热图之前，我们要把这些数据导入到版面中的绘图里。

8. 请选择**Data(数据)→Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)→Select(选中)**命令。
9. 请选中**Data List(数据列表)**标签卡。
10. 请选中**HighContent96wellData.dns**文件。
11. 请点击**Open(打开)**。

这时绘图看起来应该如图T18.19。



图T18.19 High Content Analysis Layout after Loading HighContent96wellData.dns File (**在导入**HighContent96wellData.dns**文件后的高涵量分析版面**)

版面中的彩色点状图显示了.dns文件中的所有数据(图T18.19)。二维绘图中有一个Live Cells(活细胞)门，热图中仅仅显示这个门中的细胞。

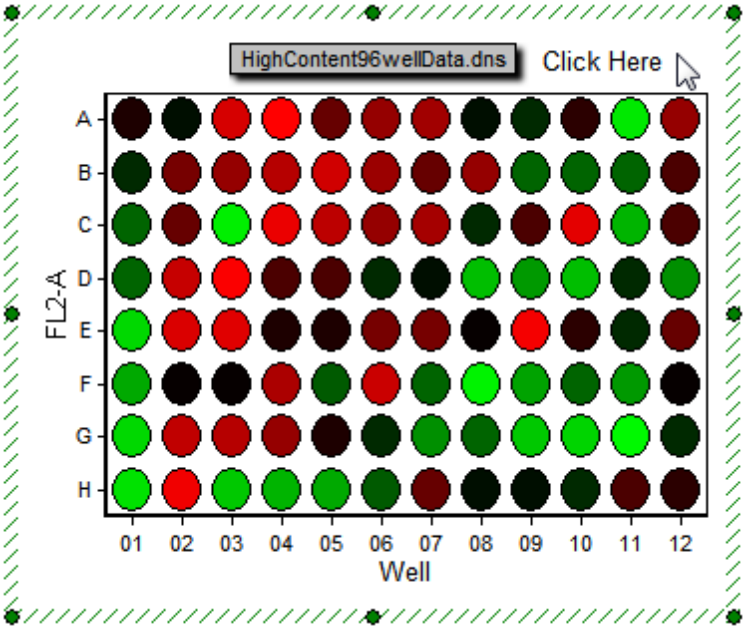
热图中FL2- A参数对应的"热"孔显示为红色，"冷"孔显示为绿色。不同程度的热度由从红到黑到绿的过渡色代表。

我们现在要在热图上应用门。

12. 请右键点击热图。

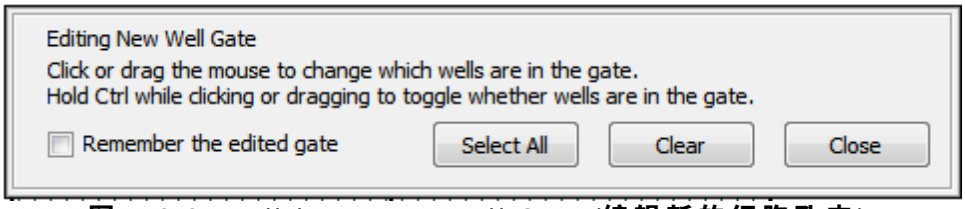
13. 请从弹出菜单上选中**Create Gate(创建门)→Well(细胞孔)**。

14. 请点击细胞板边缘(但实际在绿色选框中)的空白区域，如图T18.20中的光标所示(点击一个细胞孔将直接把该孔选为门操作的对象)。



图T18.20 Creating a Well Gate (**创建细胞孔门**)

这时会出现Editing New Well Gate(编辑新的细胞孔门)对话框(图T18.21)。



图T18.21 Editing a New Well Gate (**编辑新的细胞孔门**)

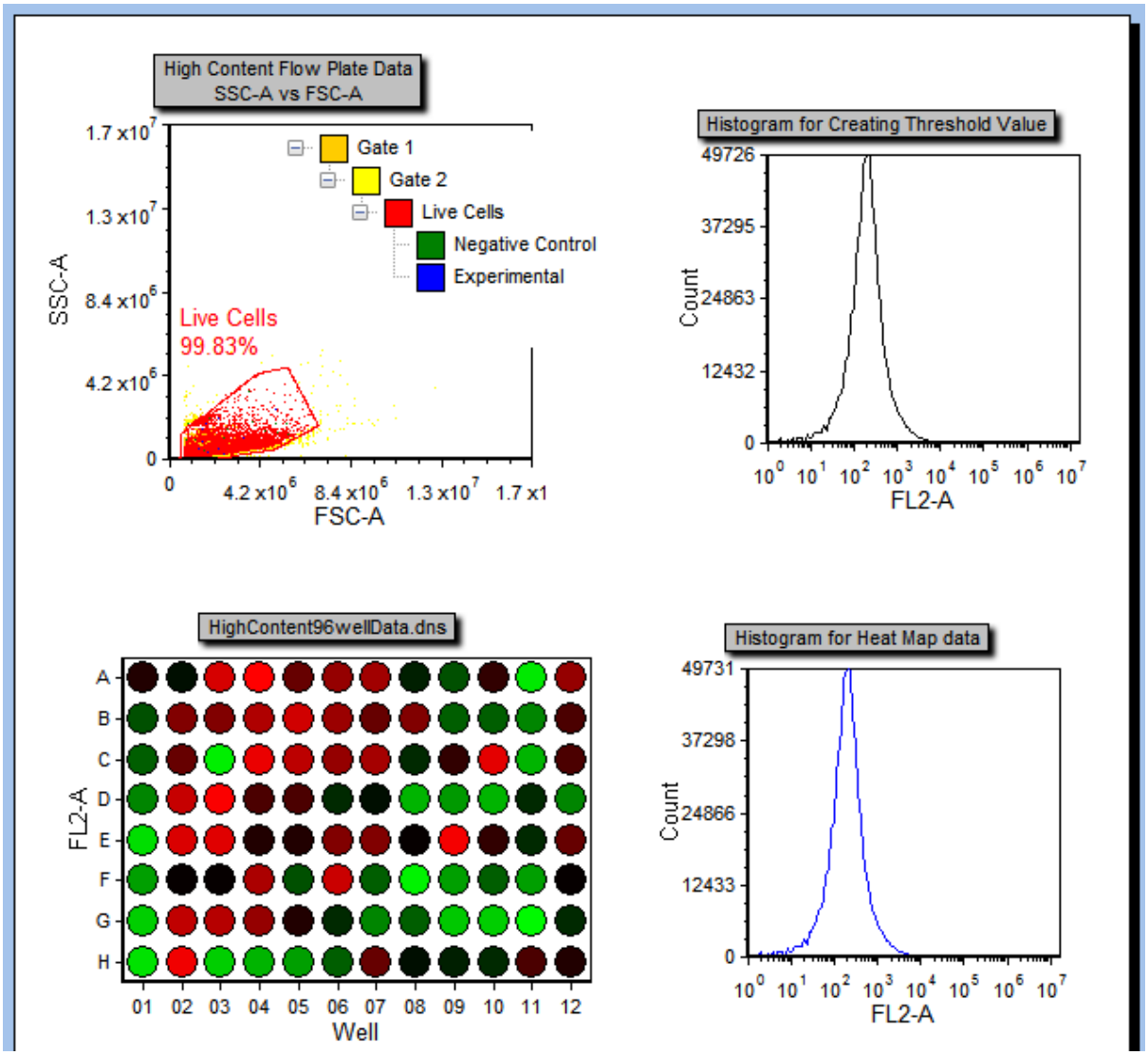
15. 请点击编号为H12的门。这时会出现**Create New Gate(创建新门)**对话框。
16. 请输入"Negative Control(阴性对照)"作为门的名字。
17. 请把门的颜色改为绿色。
18. 请点击**OK**。
19. 请选中**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Well(细胞孔)**命令(图T18.22)。



图T18.22 Selecting the Create Well Gate Command (**选中创建细胞门命令**)

20. 请直接点击A4孔。这时会出现**Create New Gate(创建新门)**对话框。
21. 请输入"Experimental(实验)"作为门的名称。
22. 请把门的颜色修改为蓝色**。**
23. 请把"阴性对照"和"实验"两个门拖到"Live Cells(活细胞)"门上，在门视图上创建一个子门结构层次。

这时的版面以及门视图看起来应该如图T18.23所示。



图T18.23 Layout with Gate View Indicating Hierarchical Gating of the Negative Control and Experimental Gates (**版面中的门视图显示"阴性对照"以及"实验"门的层次结构**)

我们现在要创建一个柱状图叠加图层来查看不同细胞孔中的数据。

24. 请把热图拖向版面中名为Histogram for Heat Map data(热图数据对应的柱状图)的柱状图上。这将在柱状图上显示和热图中完全相同的数据。

25. 请右键点击柱状图。

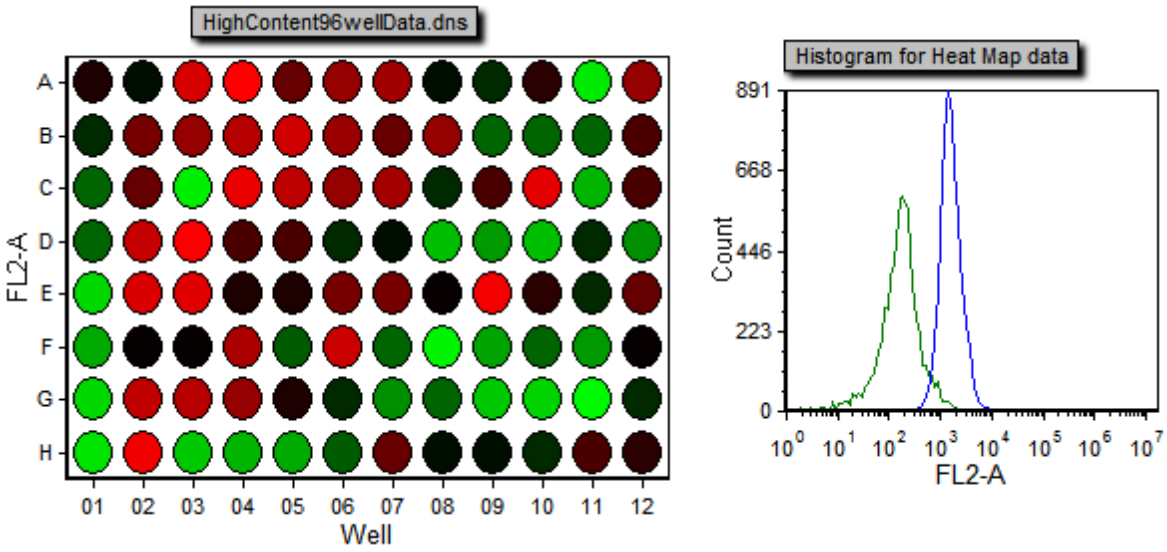
26. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。

27. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

在叠加图层列表中有两个叠加图层，它们对应着相同的FCS细胞板文件夹文件。

28. 请点选列表上的第一个叠加图层。
29. 请把**Gate(门)**修改为"Negative Control(阴性对照)"。
30. 请在**Line Options(线条选项)**下把**Color(颜色)**修改为绿色。
31. 请选中列表中的第二个叠加图层。
32. 请把**Gate(门)**修改为"Experimental(实验)"。
33. 请在**Line Options(线条选项)**下把**Color(颜色)**修改为蓝色。
34. 请点击**OK**。

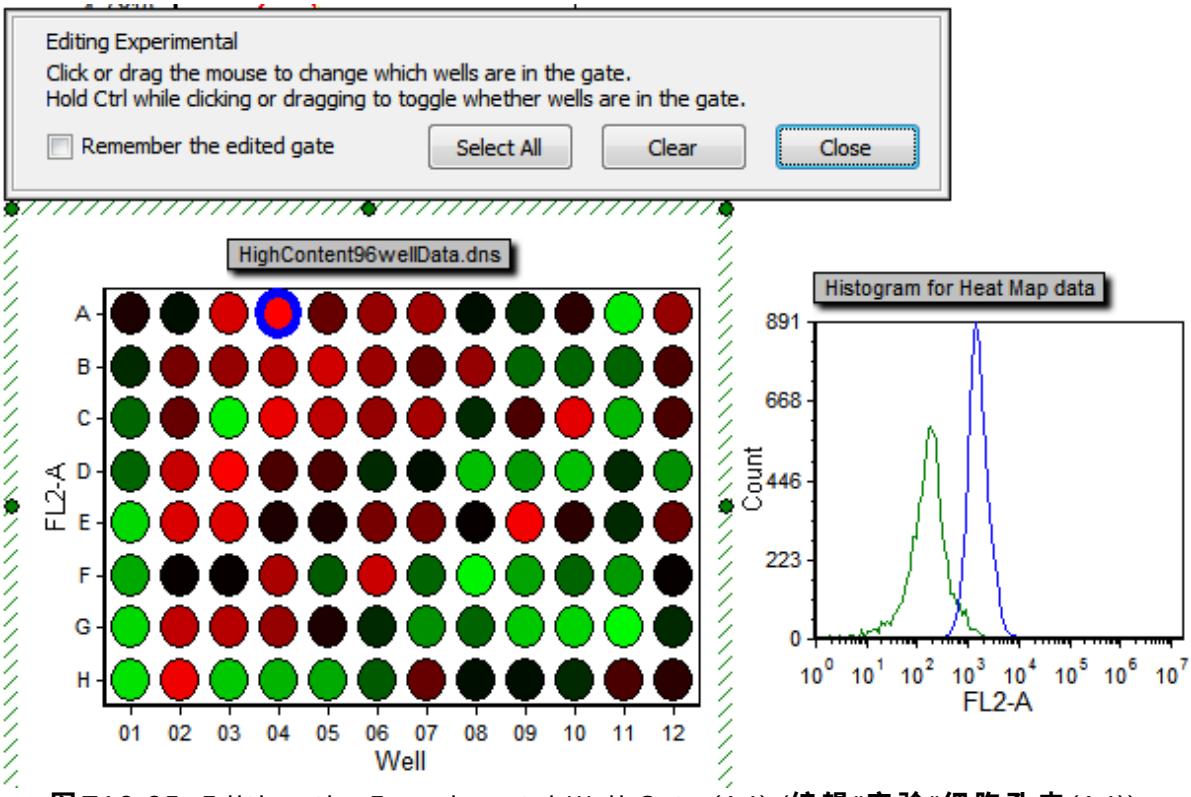
这时的柱状图应该看起来如图T18.24所示，其中"Negative Control(阴性对照)"门中的细胞显示为绿色，"Experimental(实验)"门中的细胞显示为蓝色。



图T18.24 Histogram Displaying Events from Well Gates (**显示细胞孔门中的柱状图**)

我们现在要标记这些细胞孔门，以选中不同的细胞孔。

35. 请右键点击热图。
36. 请从弹出菜单上选中**Edit Gate(编辑门)→Experimental(实验)**。这时会出现**Editing(编辑)**细胞孔门对话框，A4细胞孔同时也被高亮显示为蓝色(图T18.25)。

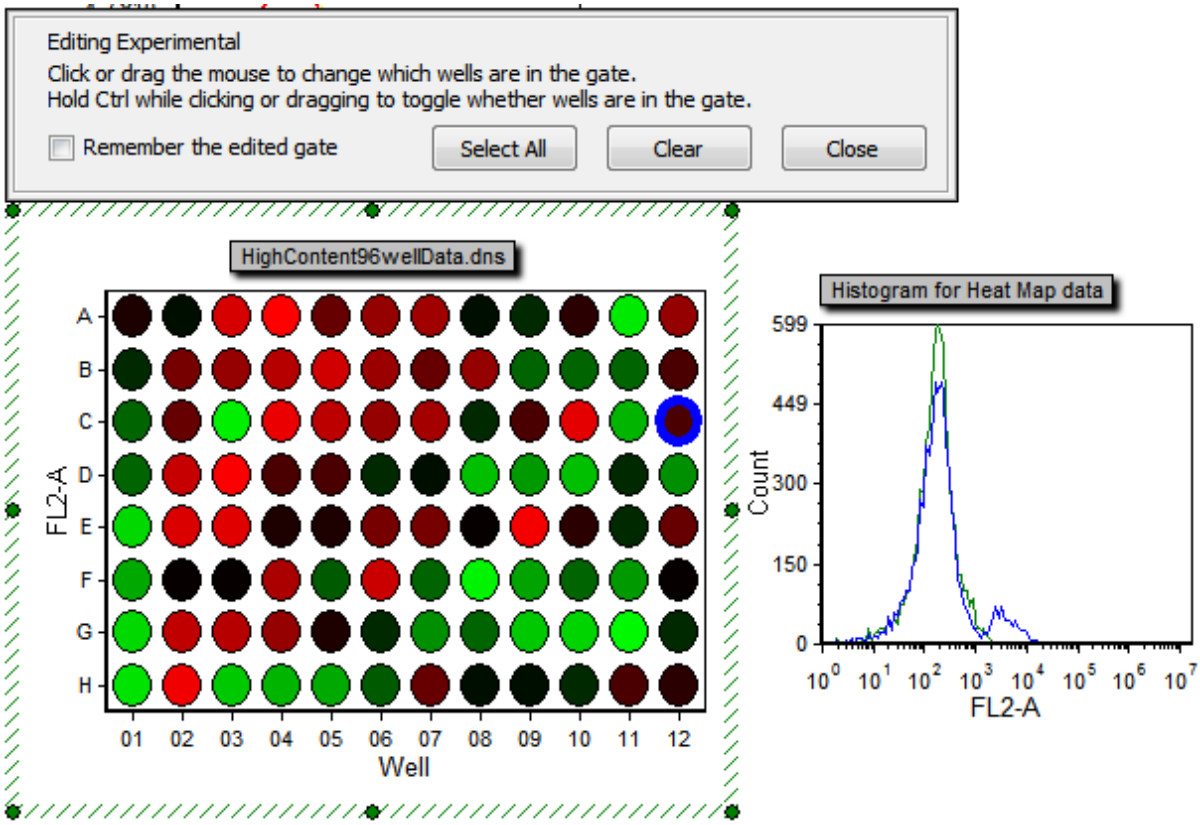


图T18.25 Editing the Experimental Well Gate (A4) (**编辑"实验"细胞孔门**(A4))

37. 请点击细胞孔C12。

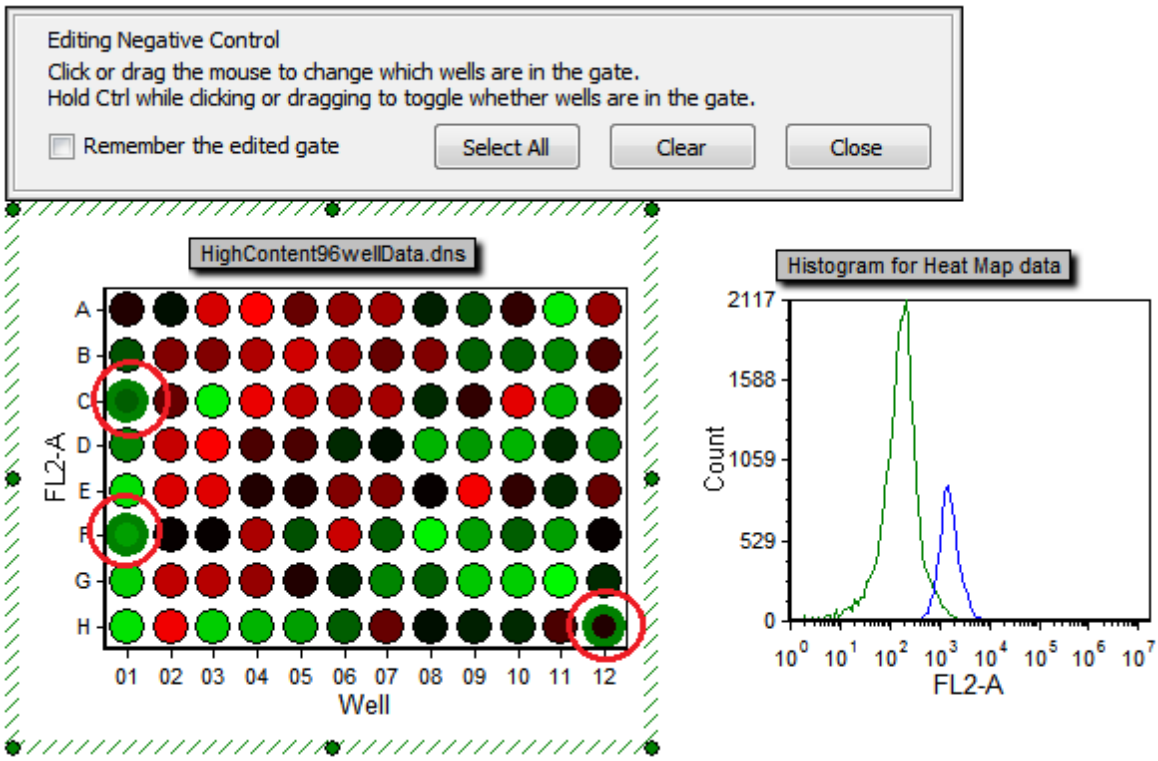
注意到"实验"柱状图中的数据峰有些移动，因为它显示的是新选中的门(细胞孔)中的细胞(图T18.26)。

C12细胞孔的FL2- A染色不是很均匀，而那些比较"冷"的细胞孔的染色(例如G9，请点击G9来查看染色)和阴性对照有交叠。我们现在来选中几个"阴性的"细胞孔来在柱状图上更好地查看阴性细胞群。



图T18.26 Experimental Well Gate Changed to C12 (C12**被选为"实验"细胞孔门**)

38. 请在细胞孔门的**Editing(编辑)**窗口中点击**Close(关闭)**。
39. 请在键盘上按下**Ctrl+ Z**，撤销对门的修改。
40. 请右键点击热图。
41. 请从弹出菜单上选择**Edit Gate(编辑门)→Negative Control(阴性对照)**。
42. 请按下**Ctrl**键。
43. 请点击细胞孔C1和F1(图T18.27)。
44. 请松开**Ctrl**键。

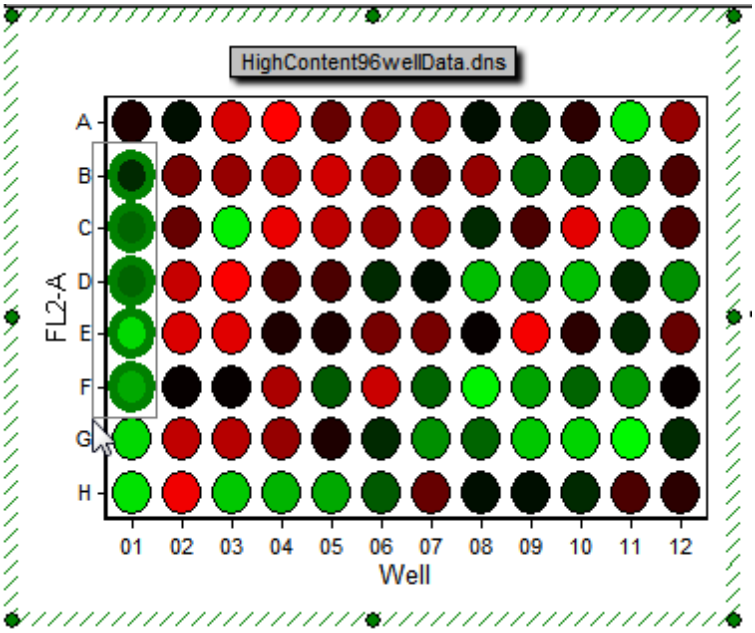


图T18.27 Selecting Multiple Non-consecutive Wells (C1, F1, and H12) (**选中多个位置不连续的细胞孔**(C1、F1**和**H12))

用户可以用这种方式选中多个位置不连续的细胞孔。注意到柱状图进行了相应的更新来显示选中的多个细胞孔(图T18.27中的C1、F1以及H12)。我们现在要用一个选框来选择多个细胞孔。

45. 在细胞孔B1的右上方点击并按下鼠标不放。

46. 向左下方拖动鼠标，选中B1- F1。注意到一个选框的出现，显示选中了哪些细胞孔(图T18.28)。



图T18.28 Selecting Multiple Continuous Wells (**选中多个连续的细胞孔**)

47. 请松开鼠标，选中这些细胞孔。

用户也可以通过使用画选择框结合"Ctrl+ 点击"的方式来同时选中多个细胞孔。

48. 请按下**Ctrl**键。

49. 请选中B1- F1。

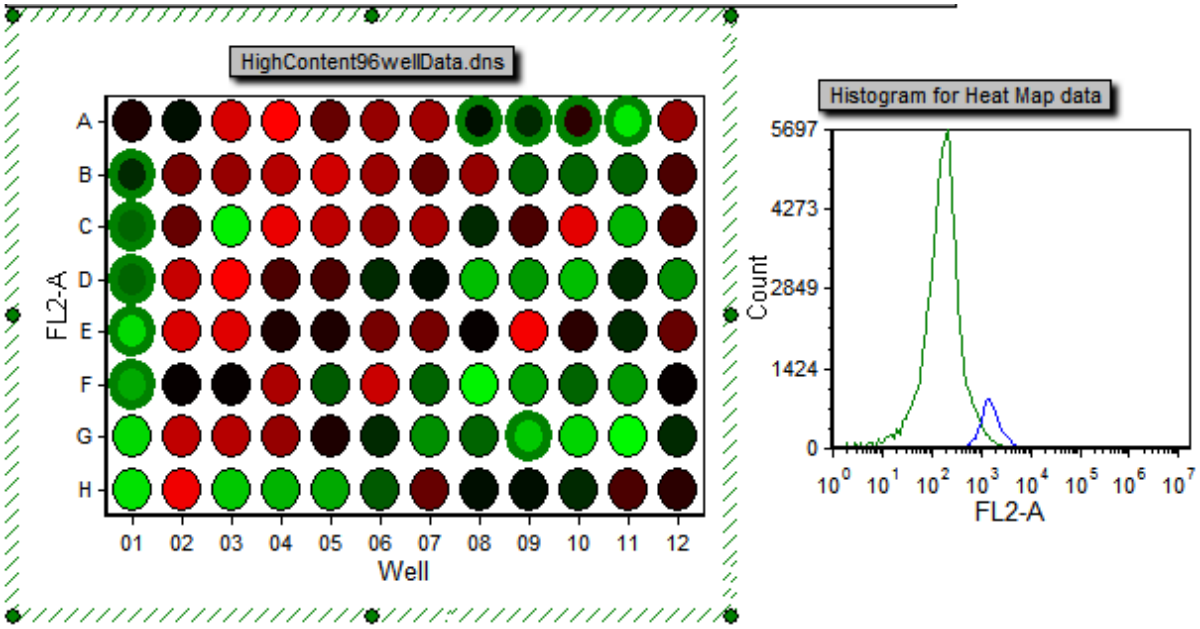
50. 请点击G9细胞孔，将其选中(请不要松开**Ctrl**键)。

51. 请创建一个选择框(请仍不要松开**Ctrl**键)，选中A8- A11。

52. 请松开**Ctrl**键。

53. 请从Editing Well Gate(编辑细胞孔门)上点击**Close(关闭)**。

现在选中了细胞孔B1- F1、A8- A11以及G9，它们一起被显示在了柱状图中的阴性对照峰上(图T18.29)。



图T18.29 Multiple Well Selection (**选中多个细胞孔**)

用户也可以用相同的方式，取消对细胞孔门的选择。

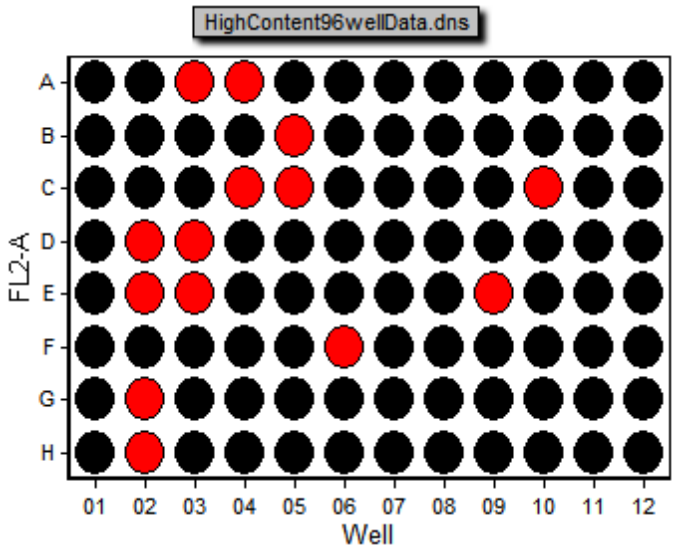
54. 请右键点击热图。
55. 请从弹出菜单上选中**Edit Gate(编辑门)→Negative Control(阴性对照)**。
56. **请右键点击**细胞孔A8。注意到这个细胞孔门已经被删除了。
57. **请通过Ctrl+ 拖拽**的方式在细胞孔B1- F1上画一个框。这些连在一起的细胞孔门也将被删除。

虽然选中细胞孔进行门操作或把细胞孔显示在柱状图和二维绘图上非常有用，但是很多用户仍想知道哪些细胞孔有着较高的通道值。我们现在就来对热图进行格式化，只显示那些在某一阈值之上的细胞孔。

58. 请选择名为"Histogram for Creating Threshold Value(用来创建阈值的柱状图)"的柱状图。
59. 请选中**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Select (选择)**命令。
60. 请选择**Data List(数据列表)**标签。
61. 请选中**High Content Flow Plate Data(高涵量流式孔板数据)**文件。
62. 请点击**Open(打开)**。
63. 请右键点击**Heat Map(热图)**。

64. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
65. 请选中**Heat Map(热图)→Colors Levels(颜色层次)**类别选项。
66. 请从下拉窗口中把**Style(样式)**修改为**Threshold(阈值)**。
67. 请在**Threshold Value(阈值)**字段中点击图标，插入一个标记。
68. 请在**Insert a Token(插入标记)**对话框中双击**Statistic(统计)**。
69. 请在**Select a plot(选择绘图)**列表框中选中"**Histogram for Creating Threshold Value**"绘图。
70. 请在**Create Statistic(创建统计)**对话框的左侧选中**Statistic(统计)**类别选项。
71. 请从**Gate(门)**下拉列表中选中**Live Cells(活细胞)**。
72. 请在**Statistic(统计)**列表框中选中**Median(中间数)**。
73. 请点击**OK**。
74. 请把**Above Threshold Color(阈值以上的颜色)**改为红色。
75. 请点击**OK**。

这时的热图应该看起来如图T18.30所示。红色代表细胞孔中FL2- A的荧光强度中间值高于整个细胞板的荧光强度中间值。



图T18.30 Threshold Defined as Median Value (**阈值定义为中间值**)

36.18.3 使用批量分析

我们现在要学习如何设置一个批处理进程来分析多个细胞板中的数据。热图的批处理功能和FCS Express中其它类型绘图的批处理功能相同。要更多地了解如何进行批处理，我们建议用户在开始本节之前读一下批处理教程683。

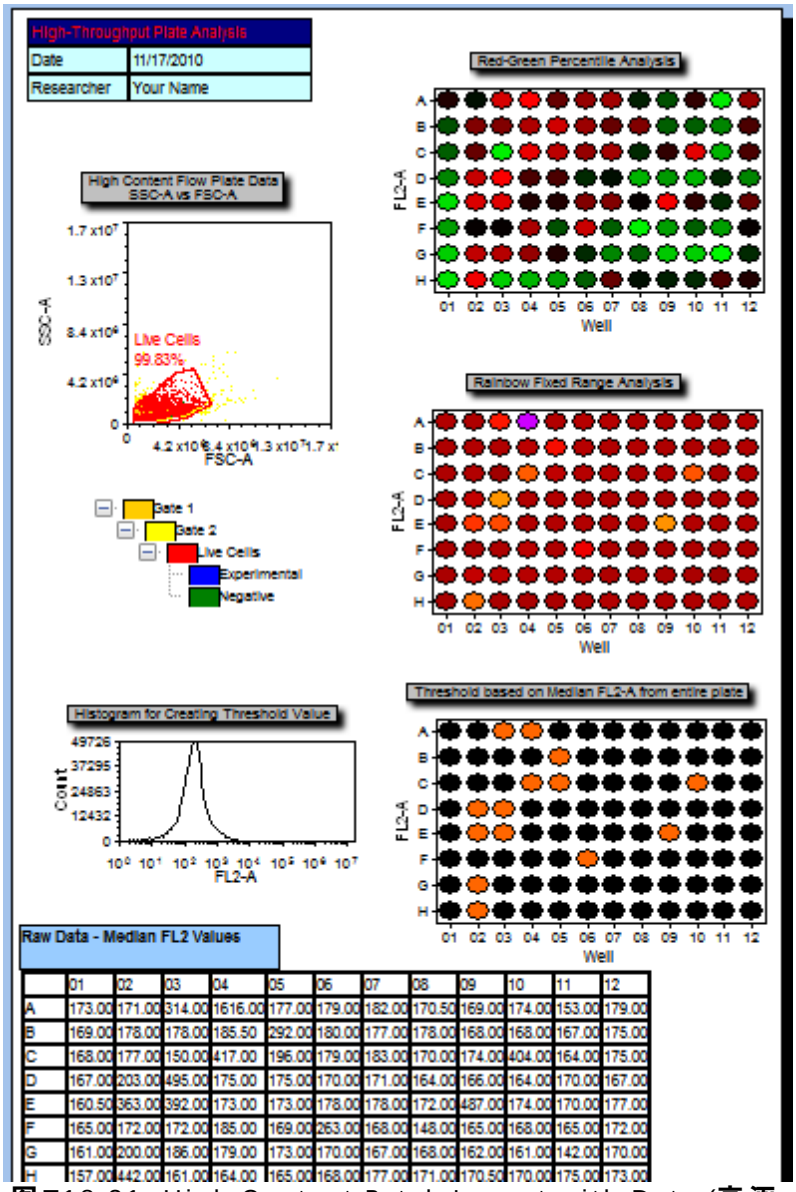
我们会使用HighContentBatch.fey版面、HighContent96wellData.dns数据文件以及HighContentNewPlate.dns数据文件(.dns是一个文件后缀，这类文件是由FCS Express中创建的，允许对数据进行特别压缩)。

1. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS样本数据)*文件夹中的版面文件**HighContentBatch.fey**。

这个文件保存为非链接文件，我们必须在开始添加批操作之前把我们的细胞板数据导入到数据列表中。

2. 请选中**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
3. 请点击图标，把数据文件插入到数据列表中。
4. 请从**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选中**DNS data Stream files (*.dns)(DNS数据流文件(*.dns))**。
5. 请选中**HighContent96wellData.dns**文件和**HighContentNewPlate.dns**文件。
6. 请点击**Open(打开)**。
7. 请选中**Data(数据)→Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)→Select(选择)**命令。
8. 请点击**Data List(数据列表)**标签。
9. 请选择**HighContent96wellData.dns**文件。
10. 请点击**Open(打开)**。

这时的版面看起来如图T18.31所示。文件中有三种热图数据的显示方式以及一个显示热图中所有细胞孔统计数据的表格。我们现在要定义批操作来在数据列表上导出两个细胞板文件。



	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	173.00	171.00	314.00	1616.00	177.00	179.00	182.00	170.50	169.00	174.00	153.00	179.00
B	169.00	178.00	178.00	185.50	292.00	180.00	177.00	178.00	168.00	168.00	167.00	175.00
C	168.00	177.00	150.00	417.00	196.00	179.00	183.00	170.00	174.00	404.00	164.00	175.00
D	167.00	203.00	495.00	175.00	175.00	170.00	171.00	164.00	166.00	164.00	170.00	167.00
E	160.50	363.00	392.00	173.00	173.00	178.00	178.00	172.00	487.00	174.00	170.00	177.00
F	165.00	172.00	172.00	185.00	169.00	263.00	168.00	148.00	165.00	168.00	165.00	172.00
G	161.00	200.00	186.00	179.00	173.00	170.00	167.00	168.00	162.00	161.00	142.00	170.00
H	157.00	442.00	161.00	164.00	165.00	168.00	177.00	171.00	170.50	170.00	175.00	173.00

图T18.31 High Content Batch Layout with Data (**高涵量据批处理版面**)

11. 请选择**Batch(批)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions(批操作)**命令。

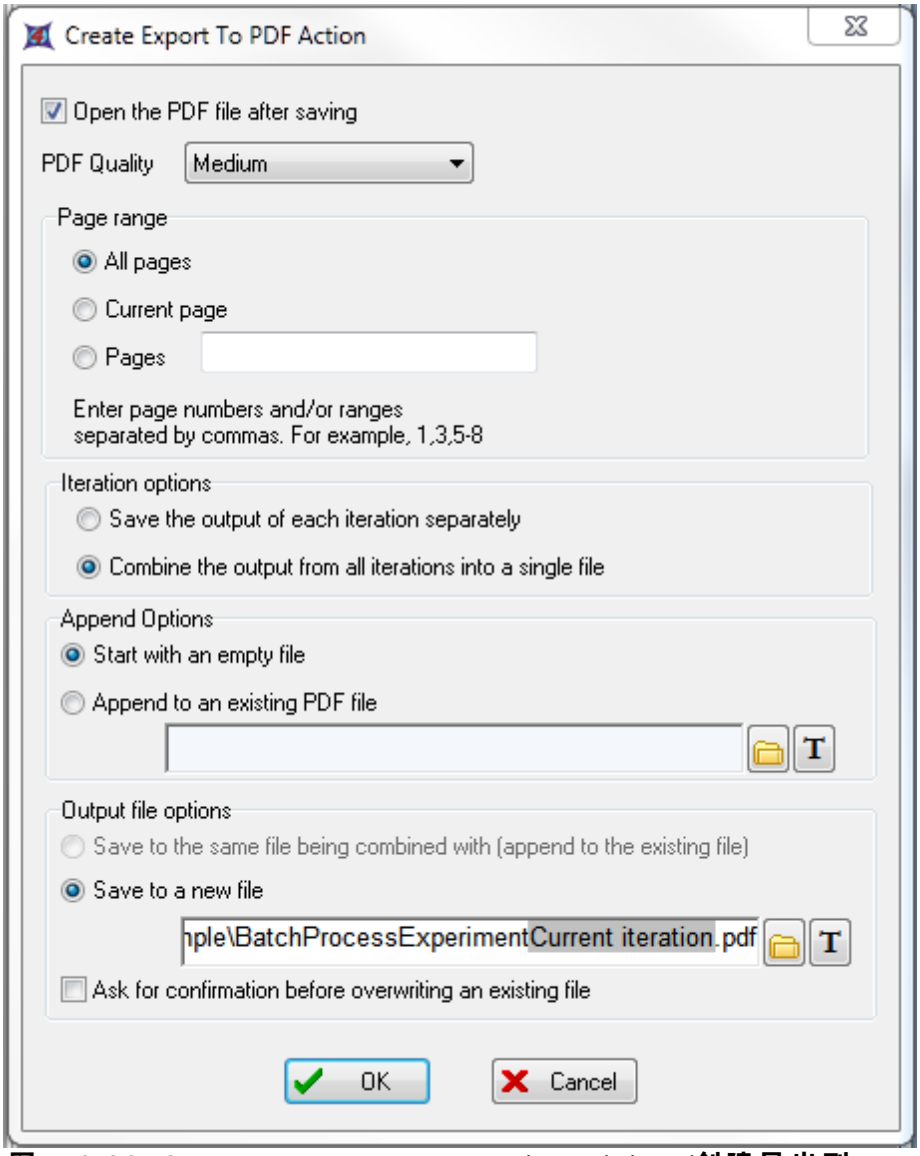
12. 请从**Add Action(添加批操作)**区域选择**Save to PDF(保存到PDF)**。

13. 请点击**Iteration options(循环选项)**下的**Combine the output from all iterations into a single file(把所有循环的输出合并到一个文件中)**单选按钮。

14. 请在**Save to a new file(保存到新文件)**字段中为pdf文件选择一个名称和文件夹。

15. 请在文件名后、后缀前直接点击。
16. 请点击  图标，插入一个标记。
17. 请在**Insert a Token(插入标记)**对话框中选中**Batch Processing(批处理)→Current iteration(当前循环)**。
18. 请点击**Insert(插入)**。

Create Export To PDF Action(创建导出到PDF批操作)对话框这时应该如图T18.32所示。



图T18.32 Create Export To PDF Action Dialog (创建导出到PDF批操作对话框)

19. 请点击**OK**。

20. 请在**Add Action(添加操作)**区域选中**Save to Powerpoint(保存到Powerpoint)**。

21. 请在**Save to a new file(保存到新文件)**字段选择一个文件名和保存位置。

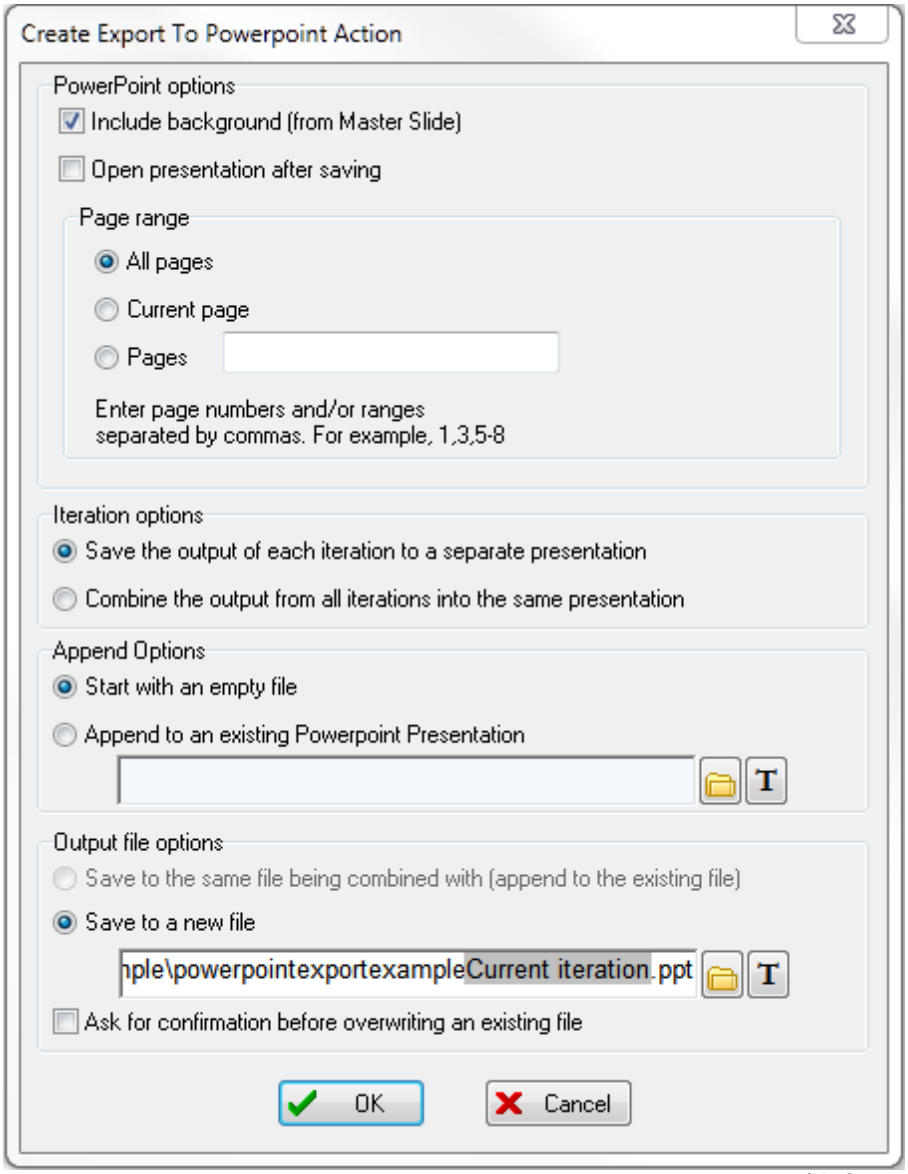
22. 请在文件名后、后缀前直接点击。

23. 请点击  图标，插入一个标记。

24. 请在**Insert a Token(插入标记)**对话框选择**Batch Processing(批处理)→Current iteration(当前循环)**。

25. 请点击**Insert(插入)**。

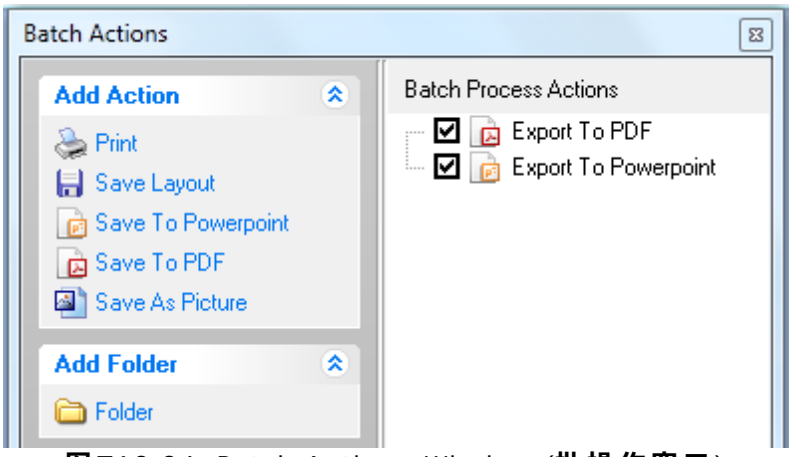
Create Export To Powerpoint Action(创建导出到Powerpoint批操作)对话框这时应该如图T18.33所示。



图T18.33 Create Export To Powerpoint Action Dialog (**创建导出到**Powerpoint**操作对话框**)

26. 请点击**OK**。

这时**Batch Actions(批操作)**窗口看起来如图T18.34所示。运行这个批处理将创建一个新的PDF文件，PDF中每页对应批处理中的一个文件，该批处理还会为每个文件创建一个PowerPoint结果文件。



图T18.34 Batch Actions Window (**批操作窗口**)

27. 请选中**Batch(批)→Batch Processing(批操作)→Run(运行)**命令。

批操作会逐次处理数据列表中的每一个文件，然后导出我们之前添加的各项操作。因为数据列表中只有两个文件，PDF中会有两页。

36.18.4 *使用Z-函数功能*

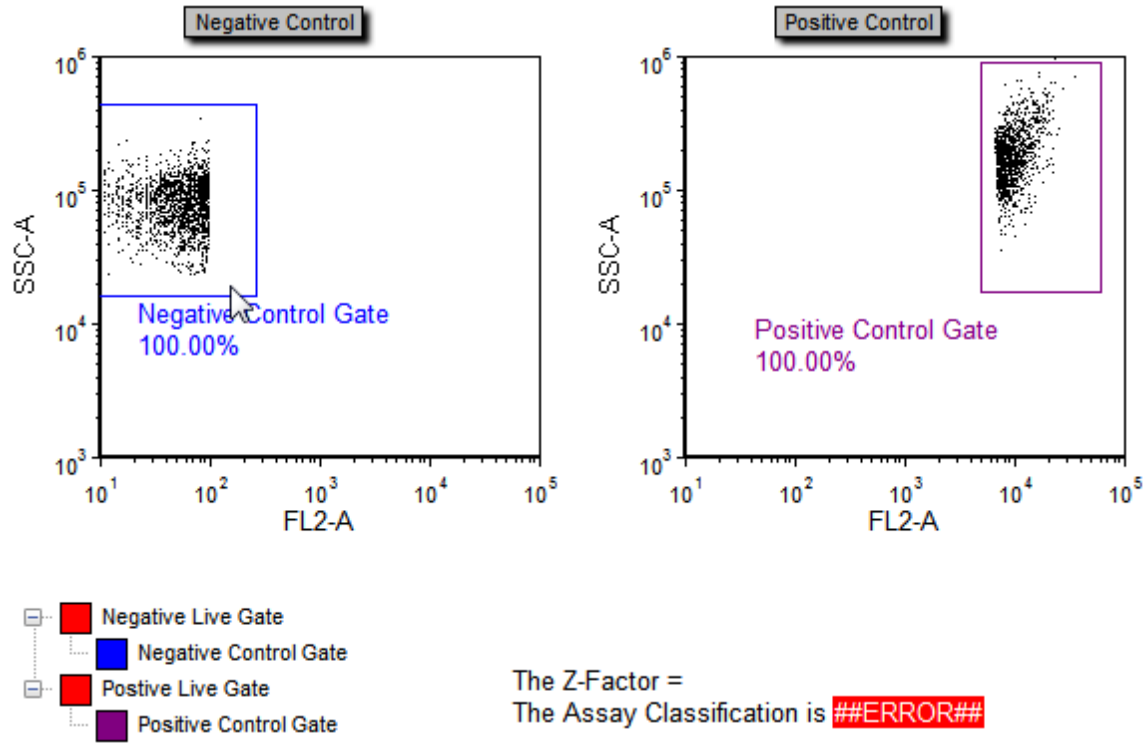
在大批量筛选实验过程中，实验员经常要对大量(十几万到几千万)的未知实验样本和阳性以及阴性对照做比较。大批量筛选费事也费资源。因此，在开始大批量筛选实验之前用户可以进行一个小规模(或尝试性)的实验，考察一下是否有必要进行大规模筛选。Z-因子用来衡量大范围、高速输出筛选实验的可行性。

FCS Express现在提供在自定义标记中使用Z-函数的功能，让用户可以方便地计算Z-因子。

我们将使用**HighContent_CalculatingZPrime.fey**版面，这个版面中已经嵌入了阳性和阴性的.fcs文件。我们将在这一节中使用标记和自定义标记。要想更多地了解如何使用标记，请查看使用文本框和标记教程591。

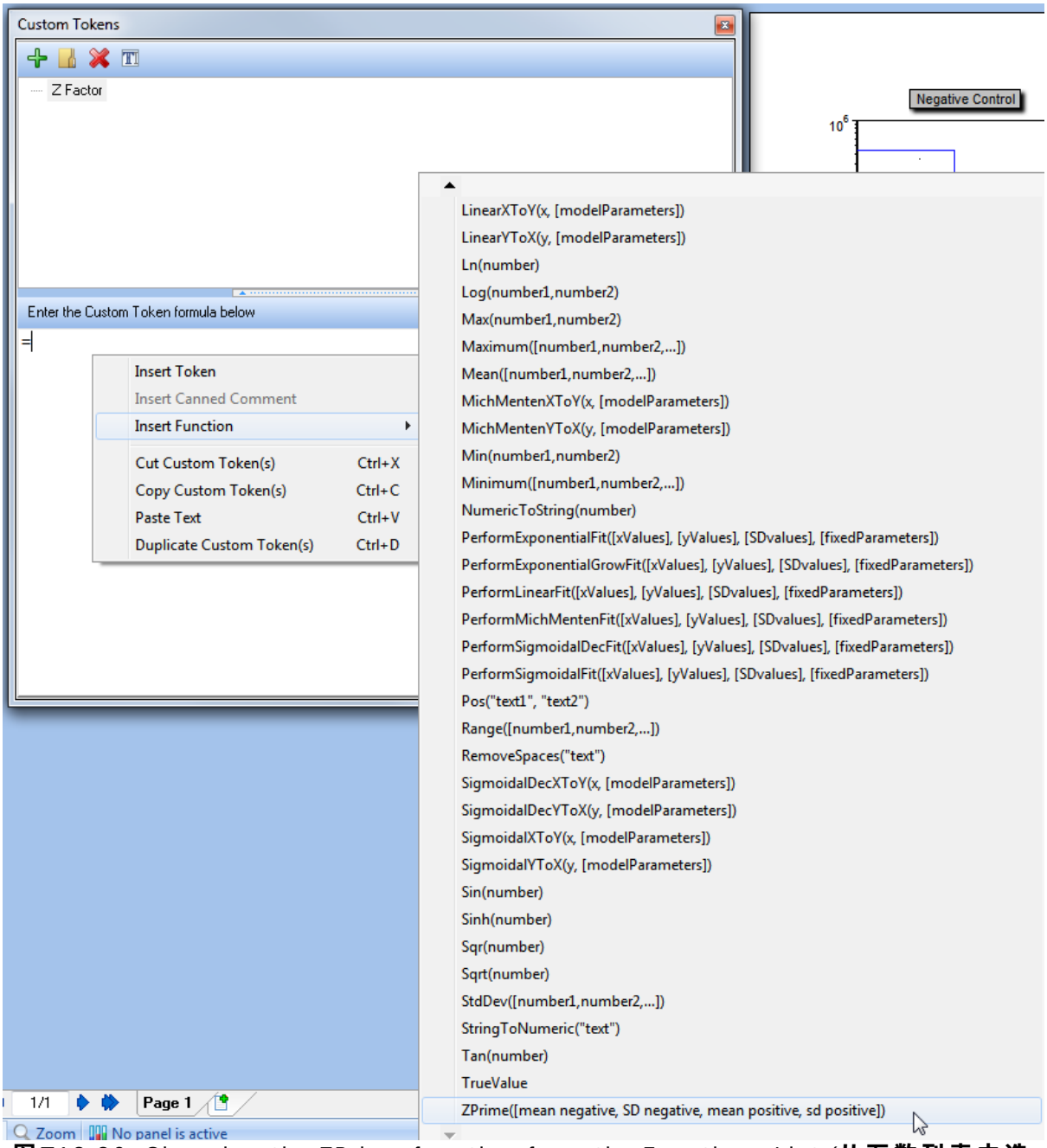
1. 请打开*FCS Express Sample Data(FCS样本数据)*文件夹中的版面文件**HighContent_CalculatingZPrime.fey**。

这时版面看起来应该如图T18.35所示。版面左边有一个阴性对照文件，右边有一个阳性对照文件。版面中也有一个文本框，在那里有一个Z-因子的公式以及一个标记分类器。



图T18.35 High Content Calculating Z-Prime Layout (**计算Z-函数的高涵量版面**)

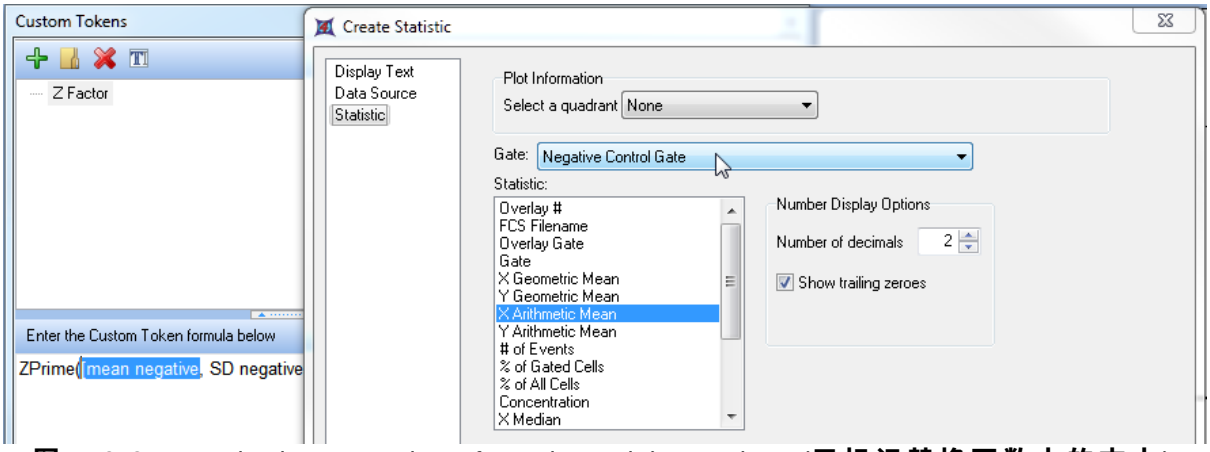
2. 请选中**View(视图)→Tokens(标记)→Custom Tokens(自定义标记)**命令。
3. 请点击**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中的✚图标。
4. 请把新的自定义标记命名为"Z Factor(Z因子)"。
5. 请在**Enter the Custom Token formula below(请在下方输入自定义标记公式)**字段中点击。
6. 请键入等号("= ")。
7. 请在等号后右键点击。
8. 请从弹出菜单上选择**Insert Function(插入函数)**。
9. 请从列表中选择**ZPrime([mean negative, SD negative, mean positive, sd positive])**函数(图T18.36)。(或者，请按下Z来在列表上选中自动插入的函数)。



图T18.36 Choosing the ZPrime function from the Functions List (**从函数列表中选择Z函数**)

10. 请在公式字段把**[mean negative**高亮显示(图T18.37)。
11. 请右键点击高亮显示的文本，然后选择**Insert Token(插入标记)**。
12. 请双击**Statistic(统计)**。

13. 请选择**Negative Control(阴性对照)**绘图作为数据源。
14. 请在左边点击**Statistic(统计)**。
15. 请从下拉列表中选择**Negative Control Gate(阴性对照门)**。
16. 请从**Statistic(统计)**列表框中选择**X Arithmetic Mean(X算术平均值)**。
17. 请点击**OK**。



图T18.37 Replacing Text in a function with a Token (**用标记替换函数中的文本**)

18. 请在公式字段中高亮选中**SD negative(SD阴性)**。
19. 请右键点击高亮显示的文本，然后选择**Insert Token(插入标记)**。
20. 请双击**Statistic(统计)**。
21. 请选中**Negative Control(阴性对照)**绘图作为数据源。
22. 请在左边点击**Statistic(统计)**。
23. 请从下拉门列表中选择**Negative Control Gate(阴性对照门)**。
24. 请从**Statistic(统计)**列表框中选择**X Standard Deviation(X轴标准偏差)**。
25. 请点击**OK**。
26. 请为"**mean positive**"和"**SD positive]**"重复第11步到第25步并使用**Positive Control(阳性对照)**绘图和门。

Z因子自定义标记公式现在看起来应该如图T18.38所示，其中的所有文本容器都被相应的标记所替代。

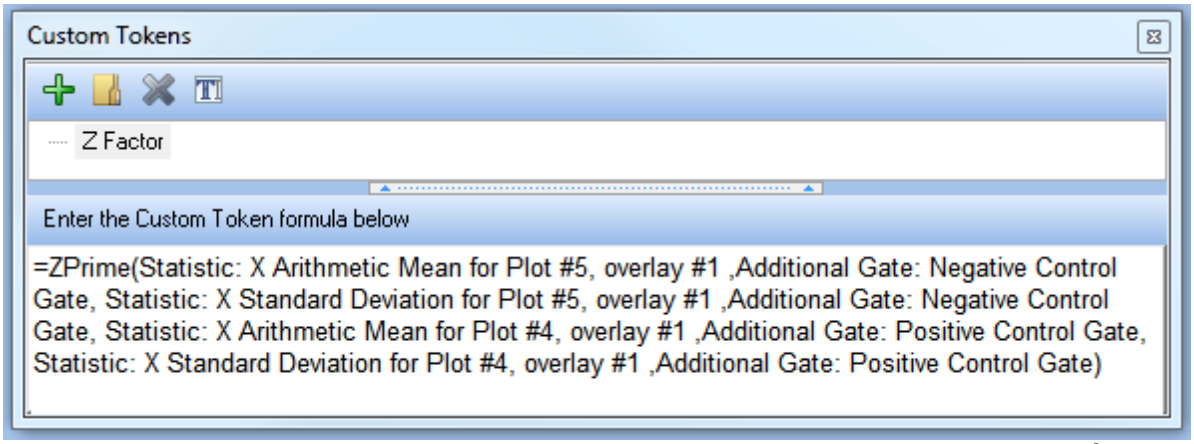


图 T18.38 Z Factor Represented by the Z-Prime Function in FCS Express (**由** FCS Express **中的** Z-**值函数代表的** Z **因子**)

27. 请在版面中文本框里的"**The Z- Factor =** "文本之后右键点击。
28. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。
29. 请在**Custom(自定义)**下双击**Z Factor(Z因子)**。

文本框中的Z- 因子自定义标记现在显示的值应该为**0.00**。

我们将沿用文献Zhang JH, Chung TD, Oldenburg KR, A Simple Statistical Parameter for Use in Evaluation and Validation of High Throughput Screening Assays. *J Biomol Screen*. 1999;4(2):67- 73中对Z- 因子的定义。

- Z- 因子为1，非常理想。Z- 因子永远不会大于1.0。
- Z- 因子在0.5到1.0之间表明这是一个很好的测试。
- Z- 因子在0到0.5之间表明测试介于好和不好的边界。
- Z- 因子在0以下说明实验中的阳性对照和阴性对照有所交叠，这不太利于对实验样本进行筛检。

在这个版面上已经定义了一个自定义分类器来对Z- 因子进行分类。要激活分类器标记:

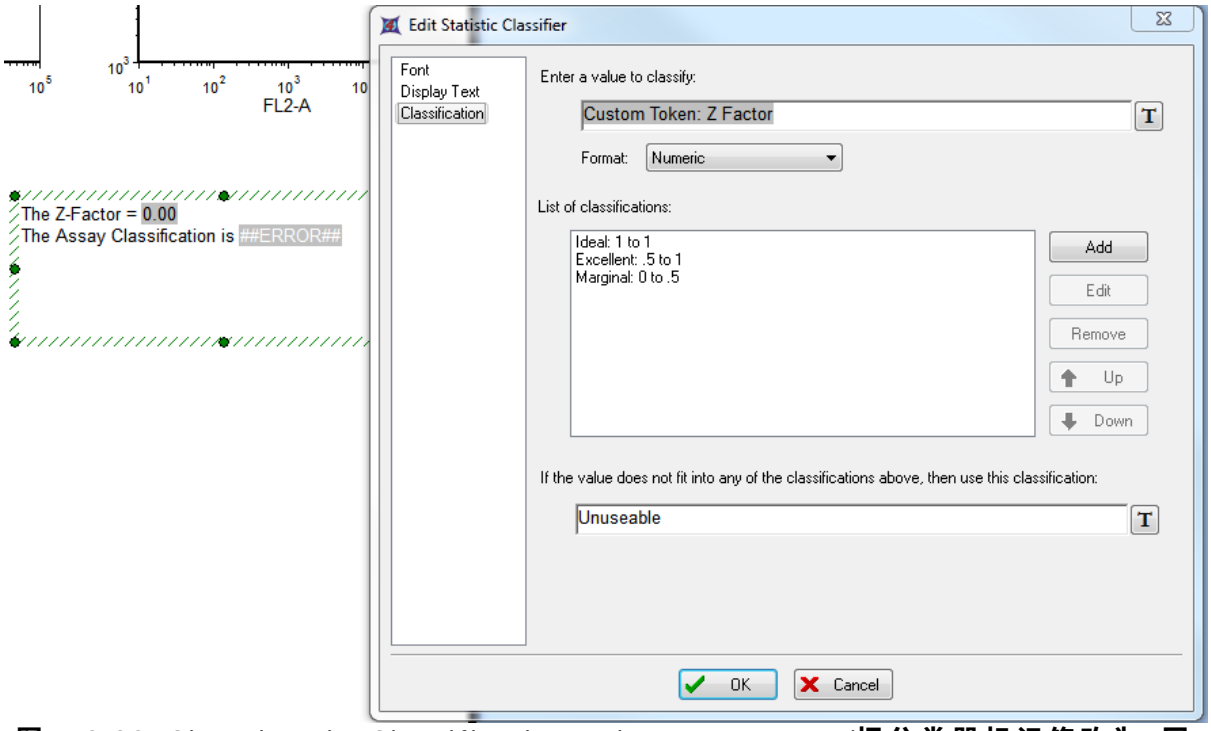
30. 请在"**The Assay Classification is**"文本旁边的**##ERROR##**上右键点击。
31. 请从弹出菜单上选择**Format Token(格式化标记)**。
32. 请选择**Classification(分类规则)**类别选项。
33. 请在**Enter a value to classify(输入要分类的数值)**字段中删除"**4 does not**

exist"文本。

34. 请点击**Enter a value to classify(输入要分类的数值)**字段中的图标。

35. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框中双击**Z Factor(Z因子)**。

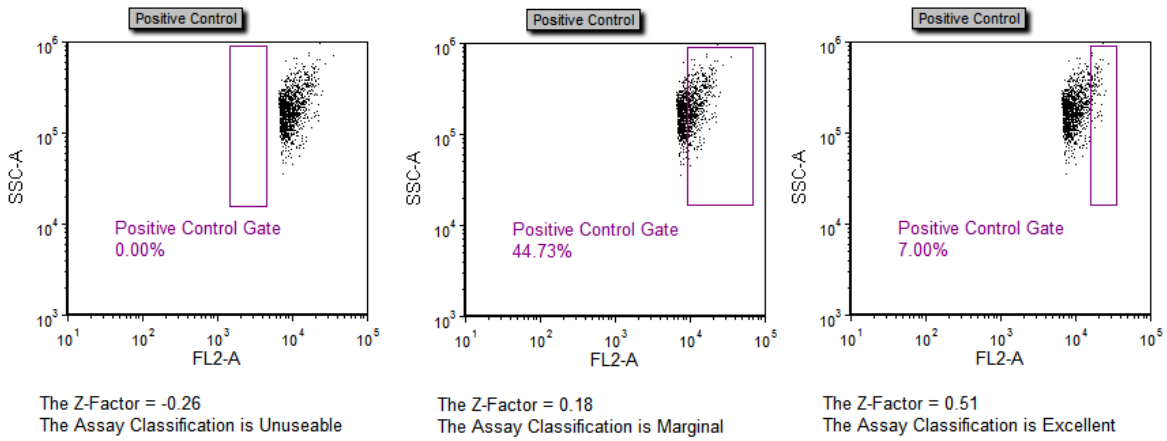
Edit Statistic Classifier(编辑统计分类器)对话框应该看起来如图T18.39所示。



图T18.39 Changing the Classification Token to Z Factor (**把分类器标记修改为**Z**因子**)

36. 请点击**OK**。

因为该分类器的值为0.00，所以Assay Classification(测试分类器)显示**Marginal(边界的)**。把阳性门调整到试样的不同区域将实时地更新Z因子以及实验分类器。



图T18.40 Gating on the Sample Data Causes the Z Factor and Classification to Update in Real Time (**样本数据上门的改变会更新Z因子以及测试分类器**)

36.19 DNA分析

在本章中，我们将学习如何使用MultiCycle(多周期软件包)来分析不同类型的细胞周期柱状图。在*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹中有十个名为ASCII1.fcs到ASCII10.fcs的文件，它们提供了可用多周期软件包进行分析的不同DNA细胞周期数据。

多周期软件包的优势在于: 它使用多个数据模型以及FCS Express中的批处理功能来分析细胞周期柱状图。

FCS Express第4版包括了一个多周期模型的基础版本。基础版本将使用单周期模型来拟合用户的数据，拟合过程中不进行背景或者聚集和碎片修正。单周期分析的意思是模型只模拟一个细胞群。高级版本将可以拟合两个非整倍体细胞群(这被认为是3- 周期模型)，同时模型提供背景以及聚集和碎片校正。高级版本需要单独购买。

在本章的例子中，我们会:

- 使用门操作来排除重叠的细胞。
- 使用多周期软件包中的自动拟合功能来分析DNA柱状图。
- 格式化多周期柱状图。
- 使用没有自动拟合的多周期软件包来分析DNA柱状图。

36.19.1 *选择自动拟合(单周期分析)*

对门进行设置来排除成对的细胞:

要排除成对的细胞，我们将检查DNA荧光信号的高度与DNA荧光信号的面积之间的二维绘

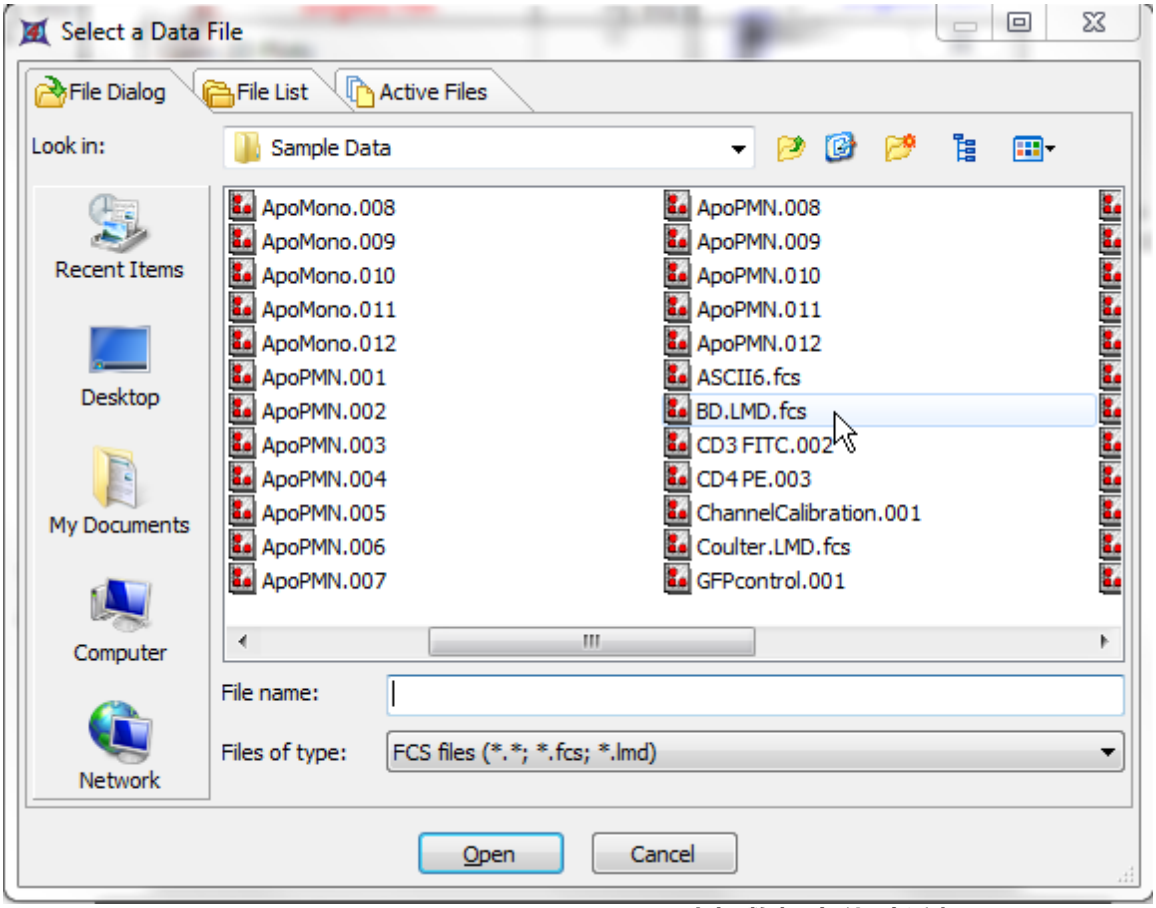
图，然后在单个细胞事件上画门。很多时候用户也会使用DNA荧光信号的宽度与DNA荧光信号的面积之间的二维绘图。信号的高度与从DNA染料发出的荧光信号的峰值相对应。信号的面积是DNA染料发出的荧光信号峰下的计算面积。信号宽度代表DNA染料发出的荧光信号峰的时间。具体的激光束和其它设备条件将决定哪些参数最适合把单细胞与成对的细胞区分开来。在我们的例子中，DNA荧光面积信号对应的参数是FL2- A，DNA荧光宽度信号对应的参数是FL2- W，DNA荧光高度信号对应的参数是FL2- H。

如果用户已经打开了一个空白版面，请跳到第2步。

1. 请选择 **Application Button(应用程序按钮)→New Layout(新版面)**。
2. 请选中**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Dot(点状图)**命令。
3. 请在空白版面内任何地方点击。

这时会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框(图T19.1)。

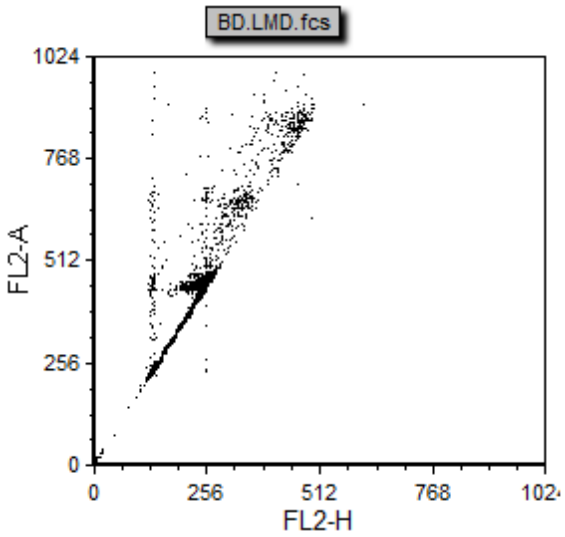
4. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹中。
5. 请选中**BD.LMD.FCS**文件(图T19.1)。
6. 请点击**Open(打开)**。



图T19.1 Select a Data File Dialog (**选择数据文件对话框**)

这时版面上会出现一个点状图。

7. 请点击x- 轴，然后从弹出菜单上选择**FL2- H**。
8. 请点击y- 轴，然后从弹出的参数菜单上选择**FL2- A**。这时点状图应该看起来如图T19.2所示。



图T19.2 Dot Plot of FL2-H vs FL2-A
(FL2-H**与**FL2-A**形成的点状图**)

我们现在要在二维绘图上创建一个门来排除粘在一起的两个细胞以及那些看起来像是四倍体DNA的数据。我们要排除那些有高含量DNA的细胞，因为我们想要执行的是单循环DNA分析。以下步骤均针对图T19.3。要想了解如何创建门，请参见门操作教程一节566。

9. 请选择FL2- H与FL2- A点状图。

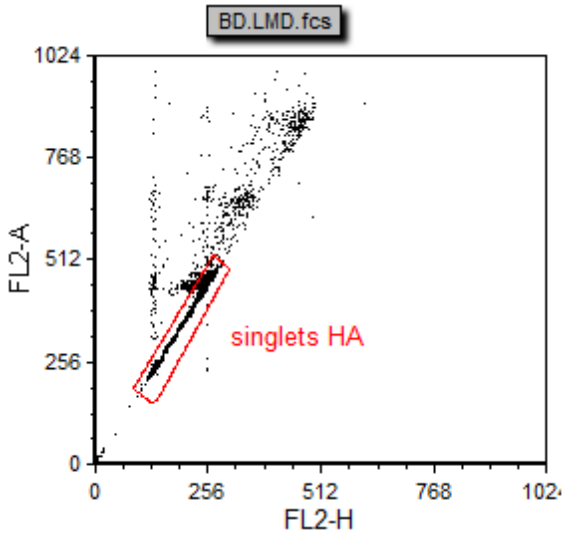
10. 请选中**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Polygon(多边形门)**命令。

11. 请创建一个如图T19.3中所示的多边形门。

这时会出现**Create a New Gate(创建新门)**对话框。

12. 请把门命名为"singlets HA"。

这时门应该看起来如图T19.3所示。



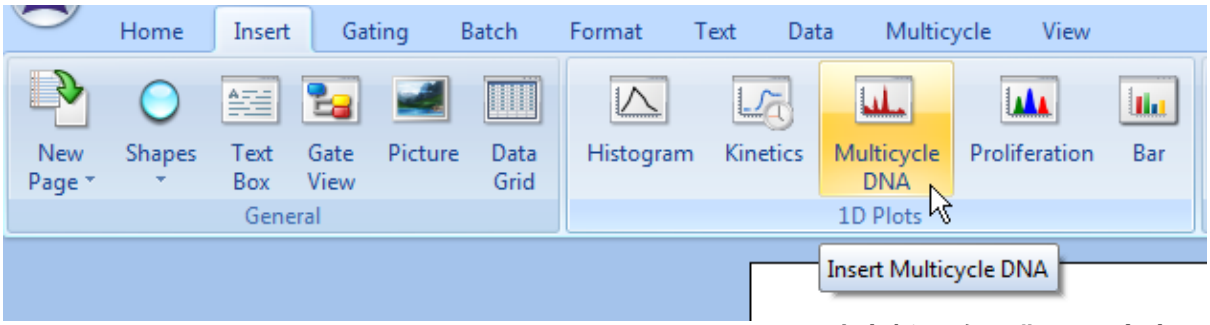
图T19.3 Gate to Exclude Doublets and Cells with High DNA Content (**排除双细胞以及高**DNA**内容的细胞的门**)

我们现在已经可以使用多周期软件包中的自动拟合功能来执行DNA细胞周期分析了。

插入多周期柱状图:

13. 请选中**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Multicycle DNA(多周期DNA)**命令(图T19.4)。

14. 请在版面上的空白区点击。



图T19.4 Selecting the Insert Muticycle DNA Command (**选中插入多周期**DNA**命令**)

这时会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，如前图T19.1所示。

15. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹。

16. 请选择**BD.LMD.FCS**文件(图T19.1)。

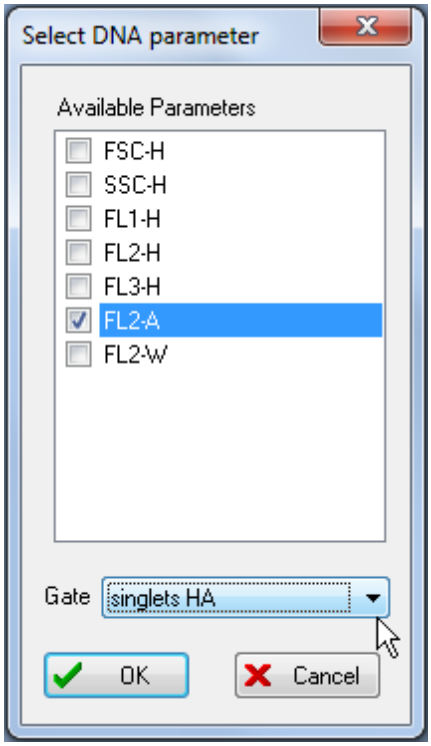
17. 请点击**Open(打开)**。

这时会出现**Select DNA parameter(选择DNA参数)**对话框，如图T19.5所示。以下步骤均针对图T19.5。

18. 请选择**FL2- A**作为参数，如图中的蓝色高亮所示。

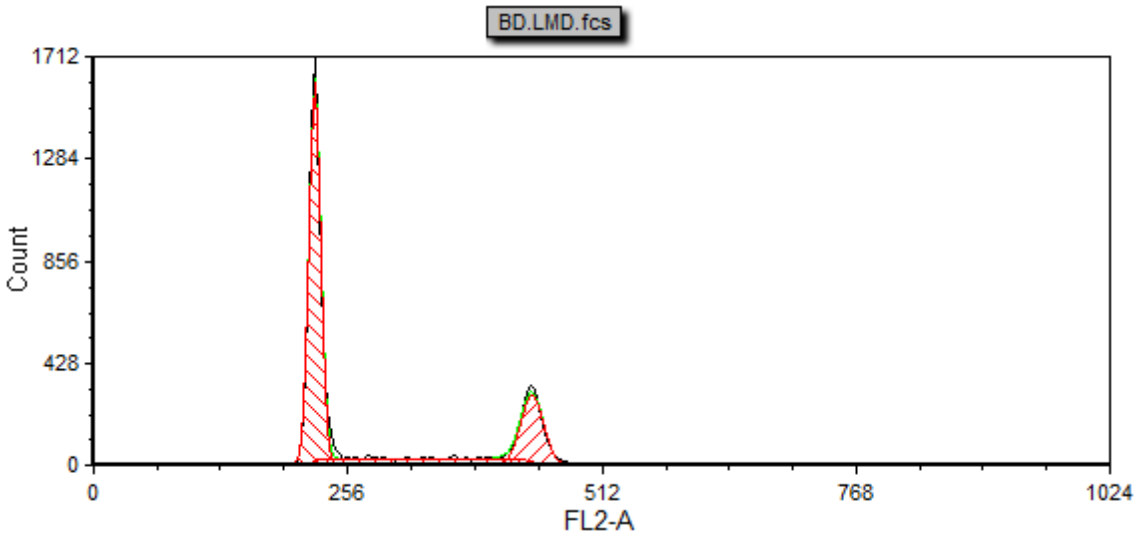
19. 请从**Gate(门)**的下拉列表中选择"singlets HA"，如图中的光标所示。

20. 请点击**OK**。



图T19.5 Select DNA Parameter Dialog (**选择**DNA**参数对话框**)

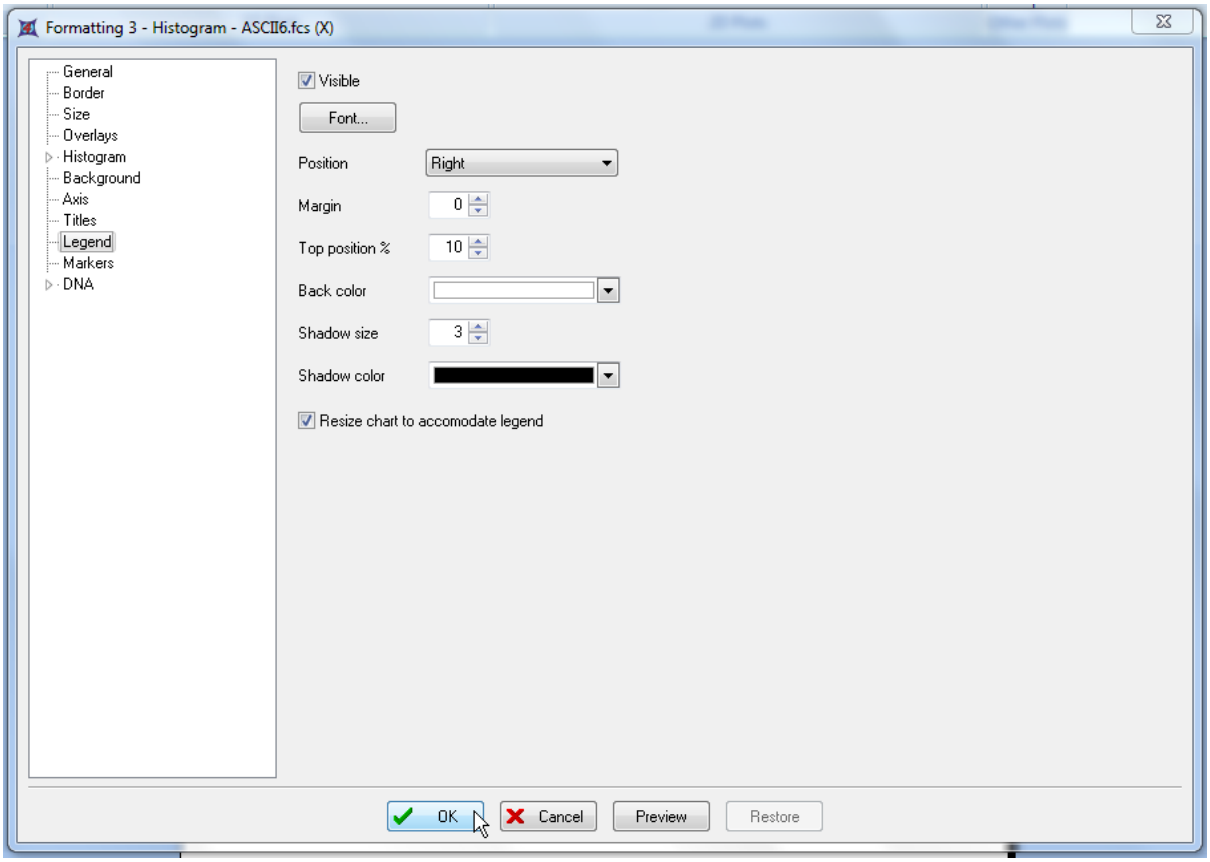
应用**singlets HA**门的FL2- A柱状图经过使用自动拟合的多周期分析，如图T19.6所示。



图T19.6 MultiCycle Analysis of FL2-A Using Singlets HA Gate (**对使用了**Singlet HA**门的**FL2-A**图进行多周期分析**)

我们现在将显示和多周期DNA分析相关的图例信息。

21. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。
22. 请在弹出菜单上选择**Format(格式)**。
23. 请从**Formatting(格式化)**对话框中选择**Legend(图例)**类别选项(图T19.7)。
24. 请点击**Visible(可视)**复选框。
25. 请点击**OK**(图T19.7)。

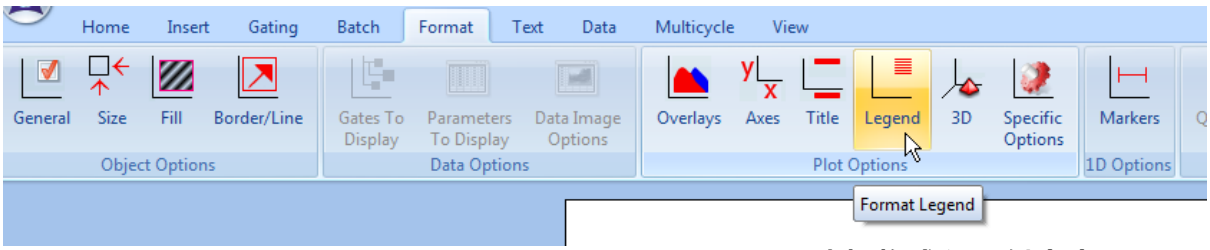


图T19.7 Formatting the DNA histogram to Display the Legend Associated with MultiCycle Analysis (**格式化**DNA**柱状图来显示和多周期分析相关的图例**)

或者，可用**Format Legend(格式化图例)**命令来显示图例信息，方法如下:

- 请单击柱状图，柱状图这时应该有一个绿色边框。

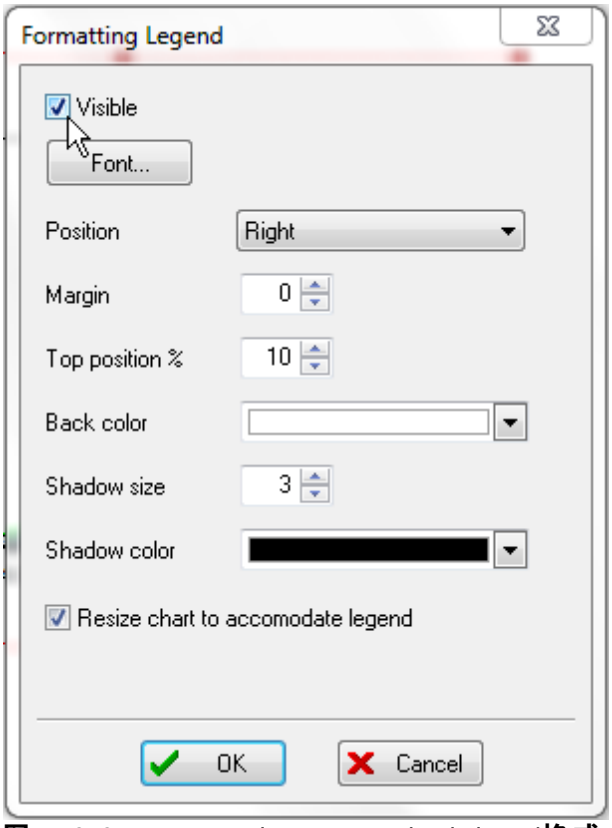
请选择**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Legend(图例)**命令(图T19.8)。



图T19.8 Selecting the Format Legend Command (**选择格式化图例命令**)

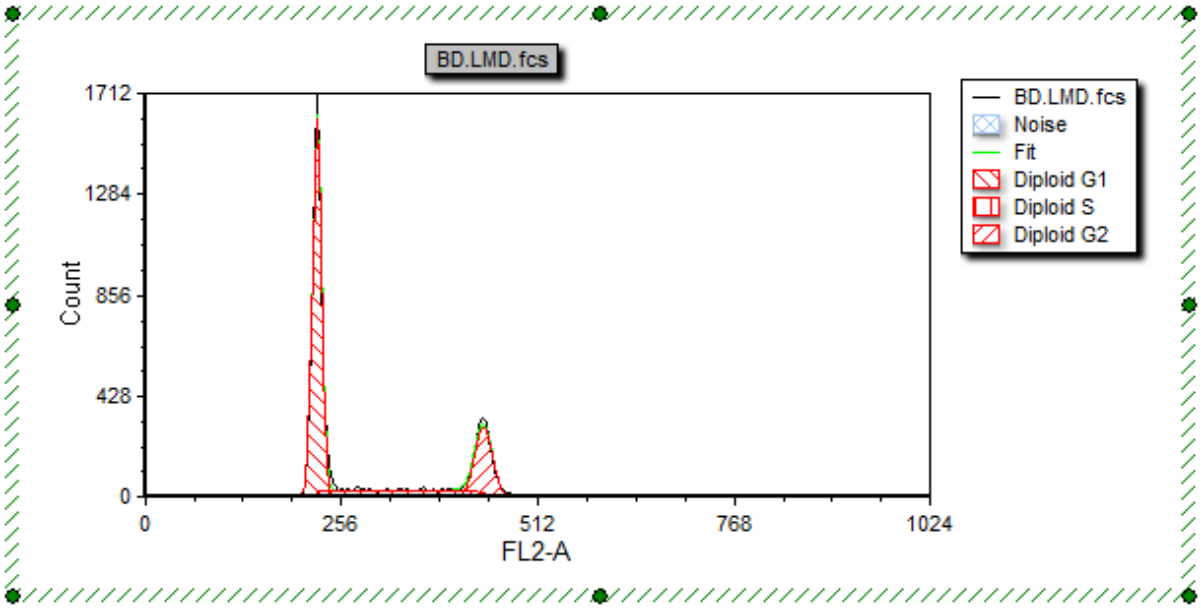
这时会出现**Formatting Legend(格式化图例)**对话框(图T19.9)。

- 请在**Formatting Legend(格式化图例)**对话框中单击**Visible(可见)**复选框。
- 请点击**OK**。



图T19.9 Formatting Legend Dialog (**格式化图例对话框**)

这时和多周期DNA分析相关的图例会出现在柱状图的右侧(图T19.10)。

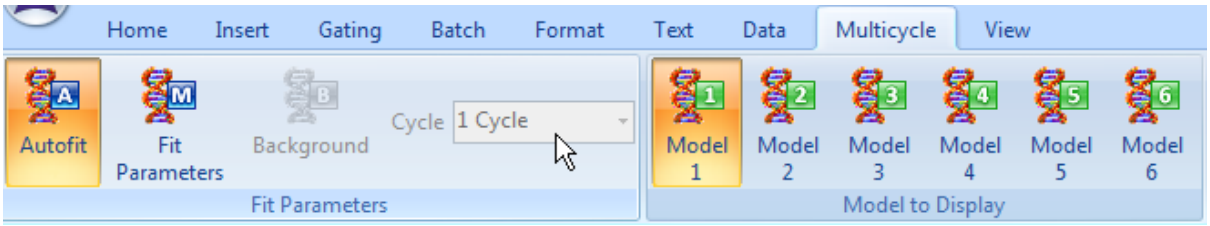


图T19.10 MultiCycle DNA Histogram Cell Cycle Analysis with Associated Legend (**多周期**DNA**柱状图细胞周期分析以及相关图例**)

如你在图例中看到的那样，这个柱状图仅仅包括二倍体细胞，因此可以用多周期软件包的自动拟合功能来执行多周期分析。我们可以通过检测Ribbon条上的多周期信息来确认这一点。

26. 请左键点击柱状图将其选中，这时柱状图应该有一个绿色边框(图T19.10)。

27. 请选中**Multicycle(多周期)**标签卡(图T19.11)。



图T19.11 The Multicycle Tab (**多周期标签卡**)

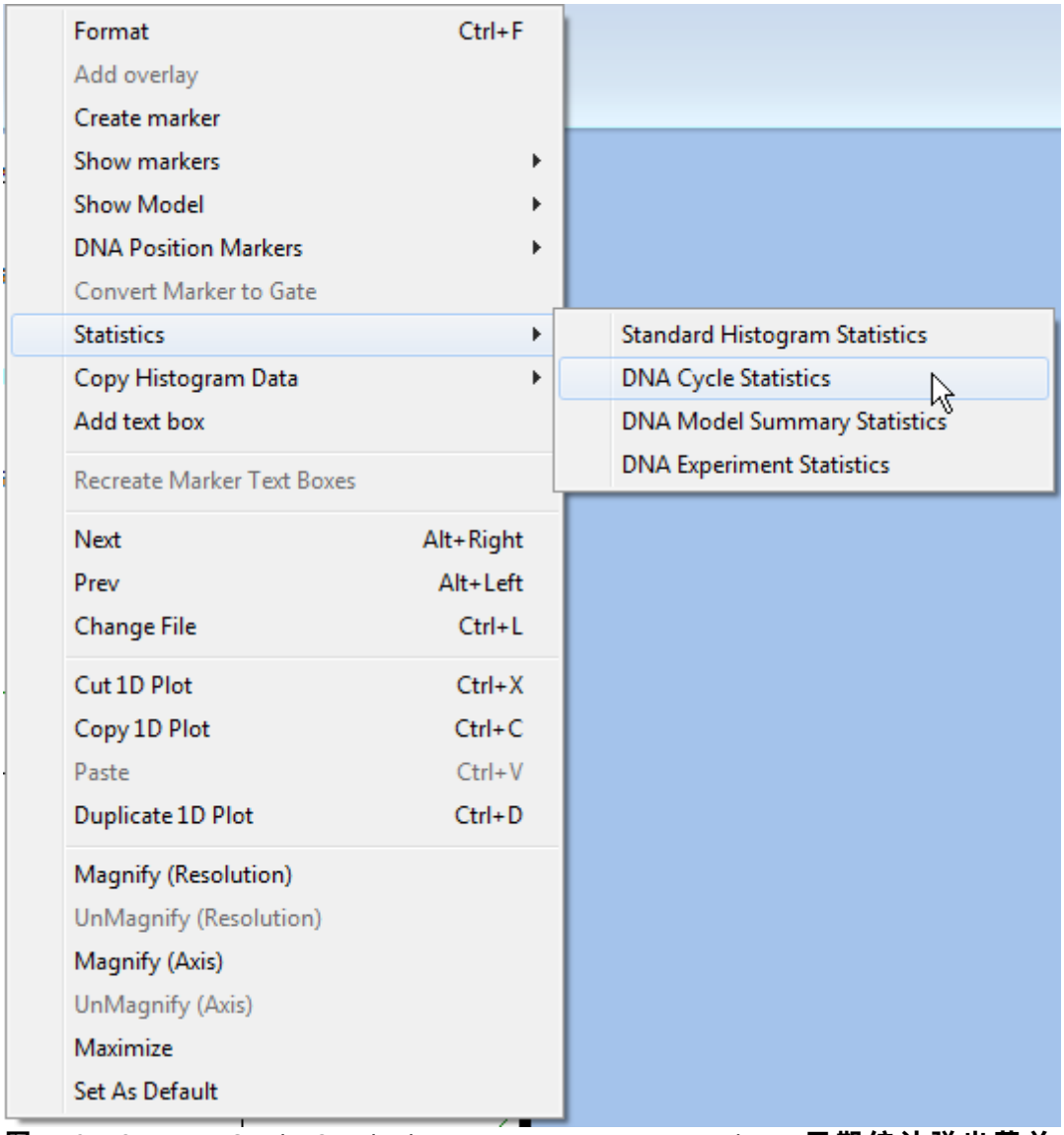
注意到**Autofit(自动拟合)**以及**Model 1(模型1)**被高亮显示为橙色(图T19.11)。这表明多周期拟合模型和模型1正被用来分析这个DNA柱状图。同时也注意到图T19.11中光标所指的单周期也被选中。

注: 要想了解不同模型之间的区别，请参考多周期软件包手册。

我们现在要来查看针对这个柱状图的所有统计选项。

28. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。

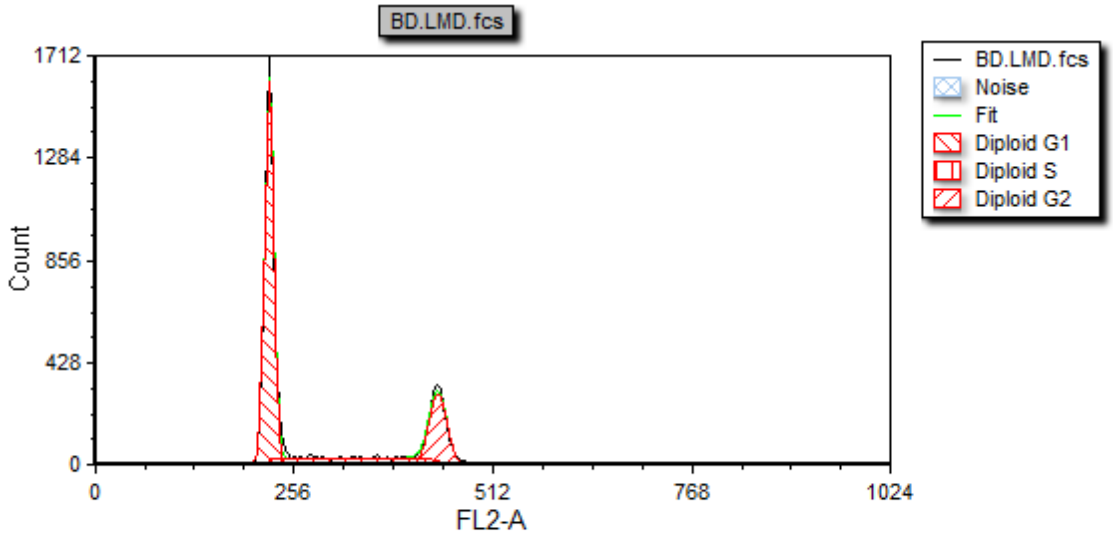
29. 请从弹出菜单上选中**Statistics(统计)→DNA Cycle Statistics(DNA周期统计)**(图T19.12)。



图T19.12 DNA Cycle Statistics Pop-up Menu Item (DNA**周期统计弹出菜单选项**)

这时会出现当前模型(**Model 1(模型1)**)对应的**DNA Cycle Statistics(DNA周期统计)**(图T19.13)。注意到用户可能有和在这里看到的不同的统计数值，因为用户的单细胞门可能和本节中绘制的门有所不同。

30. 请把**DNA Cycle Statistics(DNA周期统计)**窗口移到绘图的下方(图T19.13)。



Cycle	G1 Mean	G1 CV	%G1	G2 Mean	G2 CV	%G2	%S	G2/G1	%Total	B.A.D.
Diploid	227.49	2.54	61.72	445.10	2.53	21.94	16.34	1.96	100.00	0.18

图T19.13 DNA Cell Cycle Statistics from the MultiCycle Model 1 Analysis of the Histogram (**柱状图多周期模型1分析给出的**DNA**细胞周期统计数据**)

31. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。

32. 请出弹出菜单上选中**Statistics(统计)→DNA Model Summary Statistics (DNA模型摘要统计)**，如前图T19.12所示。

这时会出现**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**窗口，显示所有应用于当前柱状图上定义好的多周期模型。**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**窗口中的六个模型分别对应于**Multicycle(多周期)→Model to Display(要显示的模型)**组中的六个模型(图T19.11)。**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**显示在FCS Express中设置的默认统计，在稍后的教程中我们将修改这些设置。

33. 请把**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**窗口放到**DNA Cell Cycle Statistics(DNA 细胞周期统计)**窗口的下方(图T19.14)。

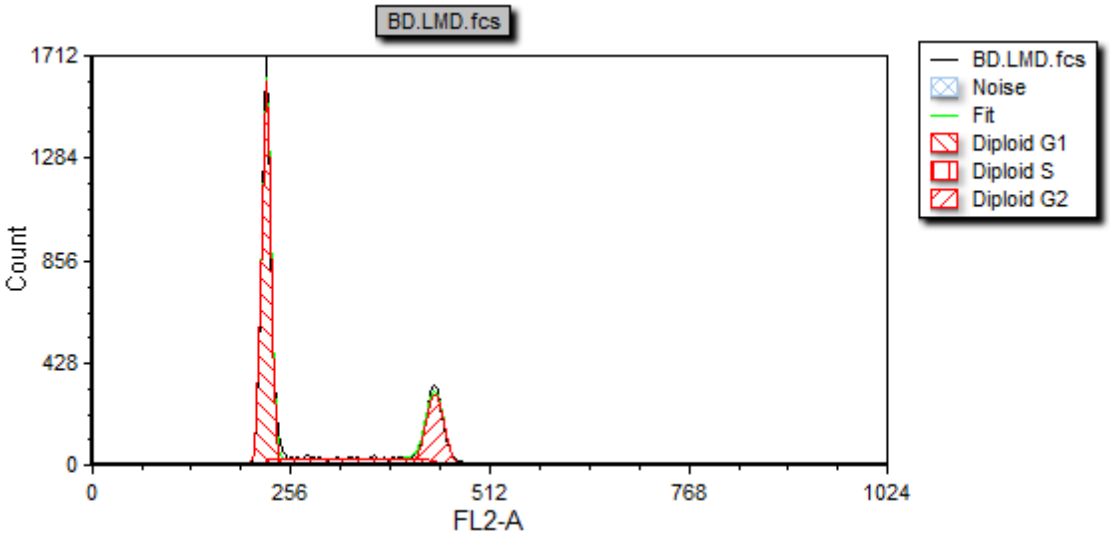
34. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。

35. 请从弹出菜单上选中**Statistics(统计)→DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)**，如前图T19.12所示。

这时会出现**DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)**窗口，窗口中有对DNA模型的解释以及实验统计数据。

36. 请把**DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)**窗口移到**DNA Model**

Summary Statistics(DNA模型摘要统计)窗口的旁边(图T19.14)。



Cycle	G1 Mean	G1 CV	%G1	G2 Mean	G2 CV	%G2	%S	G2/G1	%Total	B.A.D.
Diploid	227.49	2.54	61.72	445.10	2.53	21.94	16.34	1.96	100.00	0.18

Model	Dip %G2	Dip %S	Chis
SL S0	21.94	16.34	2.65
SL CL S0	18.32	17.03	2.39
+G2/G1 Fixed	20.14	17.46	4.18
+Aggregates	24.22	16.32	6.04
+S Order = 1	22.31	16.20	2.56
+CVs Fixed	22.28	16.23	2.53

Interpretation

MultiCycle suggestions (a guideline only):
No abnormal DNA content is observed.
The diploid %S=16.3, %G2=21.9
The S Phase confidence is good

Experiment Statistics

Chi sq: 2.65
BAD: 0.18
Number of cells: 9647.00
Number of cycles: 1.00
Cycle fit model: 1 Cycle

图T19.14 DNA Histogram with All of the MultiCycle Statistics Windows (DNA**柱状图以及所有的多周期统计窗口**)

36.19.2 *自动拟合的扩展分析*

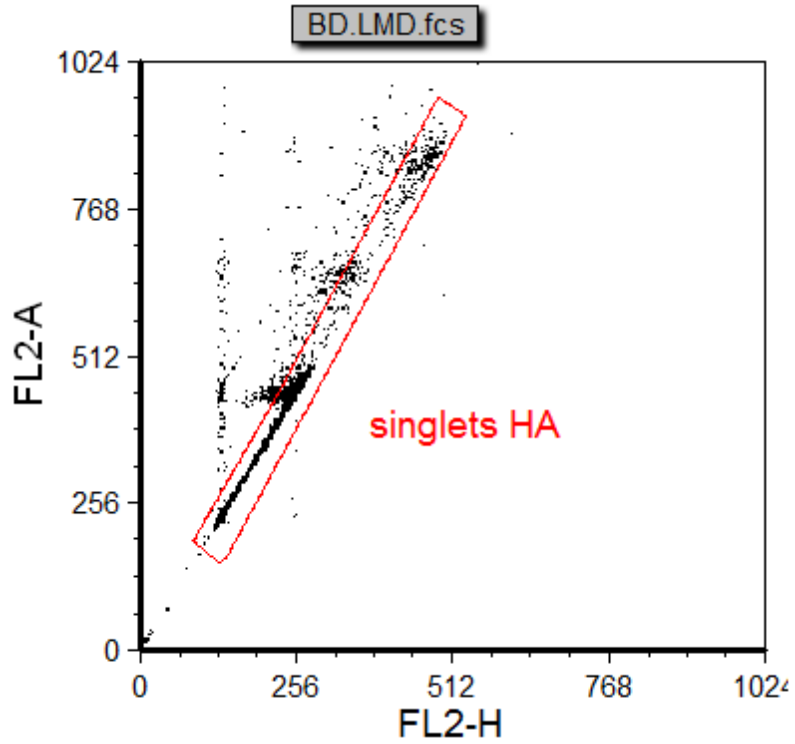
我们现在要调整"singlet HA"门来包括含有更多DNA含量的细胞。多周期分析包中的自动拟合基础版本将继续执行单周期分析。但是高级多周期版本中的自动拟合功能将自动决定是对

柱状图数据使用单周期、两周期还是三周期拟合。

请参考图T19.15来画门的最终位置。

1. 请点击"singlet HA"门的内部来将其激活以供编辑。
2. 请把光标移到右上角的调整大小把手上；这时光标应该变成一个双向的箭头。
3. 请按下鼠标左键，把门的右上角向上拖动。
4. 当这一角移到用户想要的位置后，请松开鼠标(图T19.15)。
5. 请为门的左上角重复第2步到第4步。

这时的门看起来应该如图T19.15所示，它包括了一些有着较高DNA含量的细胞，但仍排除了绝大多数的双细胞。



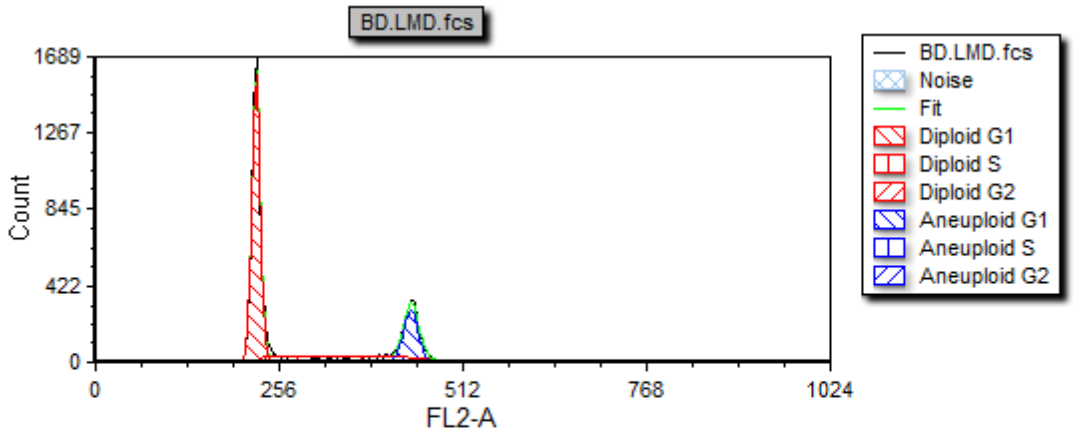
图T19.15 Gate Modified to Include Cells with Higher DNA Content (**修改之后的门包括有着较高**DNA**浓度的细胞**)

这时多周期软件包中的自动拟合功能已经对细胞周期分析进行了更新，如图T19.16所示。
注: 图T19.16演示了使用高级多周期版本进行的分析。多周期软件包的基础版本将继续对柱状图应用单周期模型。

在这章剩下的部分我们将使用多周期DNA分析包的高级版本。但所有DNA柱状图的格式化功

能以及相关的统计在多周期的基础版本中都有，并且设置方式也相同。

注意到DNA分析现在显示的是一个非整倍体细胞群，如图T19.16中的蓝色曲线所示。事实上，MultiCycle Interpretation(多周期解释)信息表明这个细胞群很有可能是一个四倍体细胞群。另外要注意的地方是拟合中使用了两周期模型。这项信息显示在了实验统计窗口中，用户也可以通过选择DNA柱状图然后选择**Multicycle(多周期)**标签卡来找到这项信息。



Cycle	G1 Mean	G1 CV	%G1	G2 Mean	G2 CV	%G2	%S	G2/G1	%Total	D.I.	B.A.D.
Diploid	227.48	2.56	76.01	460.58	2.56	2.46	21.53	2.03	78.23	n/a	0.17
Aneuploid A	443.67	2.23	84.49	853.52	2.23	5.96	9.55	1.92	21.77	1.95	0.11

Model	Dip %G2	Dip %S	A %G2	A %S	Chis
SL S0	2.46	21.53	5.96	9.55	1.72
SL CL S0	2.50	21.53	6.16	7.36	1.64
+G2/G1 Fixed	9.57	19.14	4.06	16.02	2.16
+Aggregates	0.00	20.21	4.98	7.09	1.81
+S Order = 1	2.31	21.38	5.94	9.29	1.71
+CVs Fixed	0.02	22.10	5.76	8.56	1.75

Interpretation

MultiCycle suggestions (a guideline only):
A near-tetraploid aneuploid DNA content is observed.
The tetraploid %S=9.55, %G2=5.96
The S Phase confidence is fair
Note: % cells, inter-model error,

Experiment Statistics

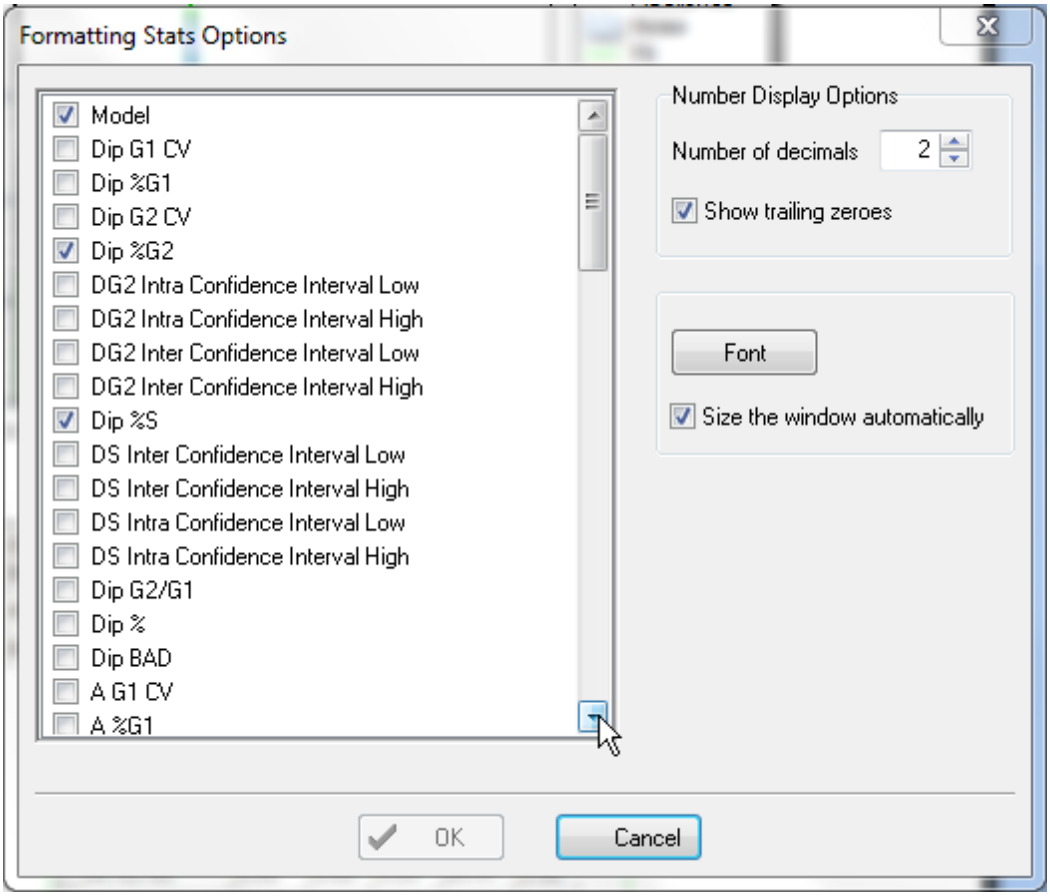
Chi sq: 1.72
Average %S: 18.92
Average %S aneuploid: 9.55
BAD: 0.18
Number of cells: 10068.00
Number of cycles: 2.00
Cycle fit model: 2 Cycle

图T19.16 Autofit MultiCycle Analysis with Modified gate (**自动拟合多周期分析以及修改过的门**)

现在我们要选择一些我们希望在**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**表格中显示的统计。用户有多种选择表格中显示的统计数据的方法，这些方法同样可以用来选择显示那些和DNA相关的统计(如前图T19.12 969弹出菜单上显示的那些)。要更多地了解如何格式化绘图，请参见格式化绘图 538教程。首先，我们要关闭**DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)**窗口，这样我们会有空间来扩展**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**窗口。

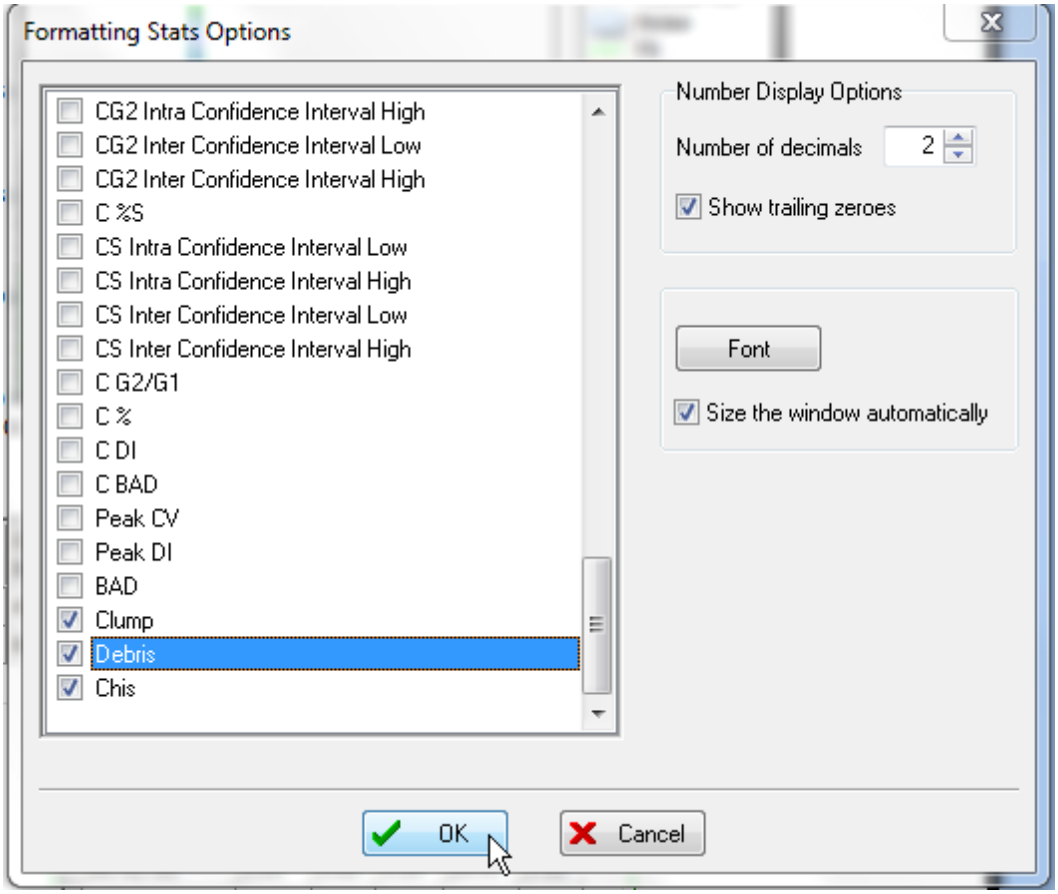
6. 请把光标移到**DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)**窗口的边上。
7. 请在光标变成四向箭头时单击鼠标，当窗口有一个红色边框时说明窗口处于编辑状态。
8. 请在键盘上按下**Del(删除)**键，或者从**Home(主页)→Editing(编辑)**上选中删除。
9. 请在**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**窗口上点击，将其选中。
10. 请选择**Format(格式)→Statistic Options(统计选项)→Statistics(统计)**命令。

这时会出现**Formatting Stats Options(格式化统计选项)**对话框(图T19.17)。



图T19.17 Formatting Stats Options Dialog for DNA Model Summary Statistics (**为**DNA**模型摘要统计格式化统计选项对话框**)

11. 请选中向下的箭头，如图T19.17中的光标所示。
12. 继续按下鼠标左键，来到列表底部。
13. 请点击**Clump(结块)**和**Debris(碎片)**旁边的选框，如图T19.18所示。
14. 请点击**OK**。



图T19.18 Selecting Clump and Debris from the Formatting Stats Options Dialog (**从格式化统计选项对话框中选择结块和碎片选项**)

这时**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**表格会进行更新，显示所选的统计数据，如图T19.19所示。

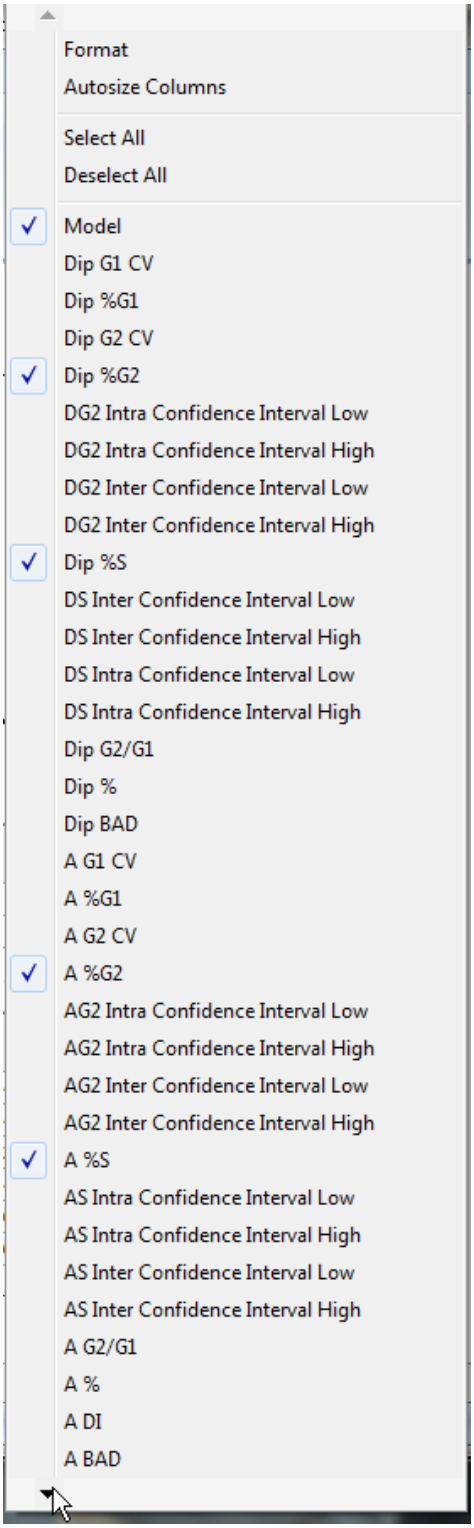
Model	Dip %G2	Dip %S	A %G2	A %S	Clump	Debris	Chis
SL S0	1.12	22.21	5.89	8.01	-1.00	0.27	1.63
SL CL S0	1.19	22.18	6.06	6.40	0.75	0.27	1.60
+G2/G1 Fixed	9.59	19.16	3.89	14.43	-1.00	0.27	2.05
+Aggregates	0.00	20.21	5.10	6.26	0.60	0.28	1.74
+S Order = 1	1.14	21.97	5.83	7.82	-1.00	0.28	1.62
+CVs Fixed	0.00	22.47	5.74	7.34	-1.00	0.30	1.70

图T19.19 DNA Model Summary Statistics Table Updated to Show to Clump and Debris (**更新过的**DNA**模型摘要统计表格显示结块和碎片数据**)

或者，用户可以使用和**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**相关的弹出菜单来选择或取消对某个统计的选择。

- 请右键点击**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**窗口，调出弹出菜单。

这时会出现**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**弹出菜单(图 T19.20)。



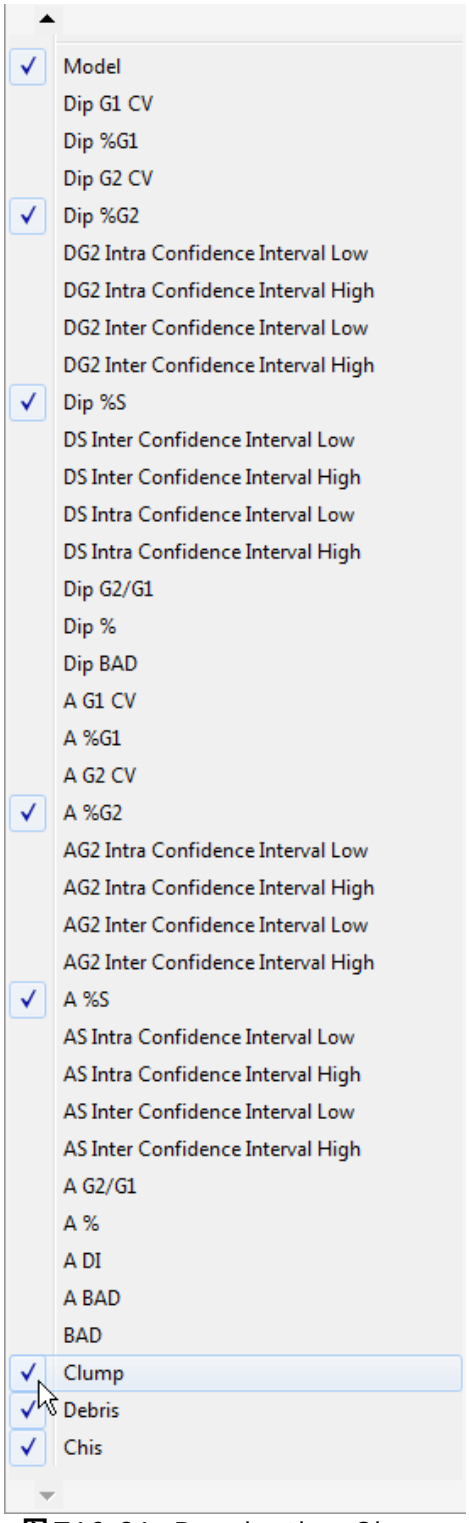
图T19.20 DNA Model Summary Statistics Pop-up Menu (DNA**模型摘要统计弹出菜单**)

- 请选中菜单左下角的箭头来向下翻动，如图T19.20所示。
- 请不要松开鼠标，直到来到菜单底部(图T19.21)。
- 请在**Clump(结块)**旁边点击，取消对它的选择，如图T19.21中的光标所示。

这时弹出菜单会消失，**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**表格会进行更新，**Clump(结块)**一项已被移除。

- 请重复以上步骤来取消对**Debris(碎片)**的选择，碎片选项位于图T19.21中**Clump(结块)**的下方。

这时弹出菜单又会消失，**DNA Model Summary Statistics(DNA模型摘要统计)**表格会再次进行更新，显示**Debris(碎片)**一项已被删除。



图T19.21 Deselecting Clump from the DNA Model Summary Statistics Pop-up Menu (**从**DNA **模型摘要统计弹出菜单上取消对结块一项的选择**)

用户可以在**Multicycle(多周期)→Model to Display(要显示的模型)**组中选择不同的DNA细胞周期模型。DNA细胞周期统计窗口会相应地更新，反映所做的修改。请尝试从应用**Autofit(自动拟合)**的**Multicycle(多周期)**标签卡上选择不同的模型，然后观察DNA细胞周期窗口中结果的变化。在使用多周期软件包的完整版本时，柱状图上的显示也会更新来反映所选模型的拟合变化。不同模型的区别在于模型的复杂性(是否在CV或者G2/ G1平均比值上应用限制)以及是否包括软件集聚补偿等。要想更多地了解这些不同的模型，请参见多周期软件包的用户文档。

我们会经常想对DNA模型的图像做一个快速的查看。但是有着最低**Chis(卡方值)**的模型常常是最好的拟合，如图T19.22中红圈所示。在这个例子中，第2个模型**Model 2 (SL CL S0)**有着最低的**Chis(卡方值)** ;但是另外两个模型也有着相似的**Chis(卡方值)**。

Model	Dip %G2	Dip %S	A %G2	A %S	Chis
SL S0	1.12	22.21	5.89	8.01	1.63
SL CL S0	1.19	22.18	6.06	6.40	1.60
+G2/G1 Fixed	9.59	19.16	3.89	14.43	2.05
+Aggregates	0.00	20.21	5.10	6.26	1.74
+S Order = 1	1.14	21.97	5.83	7.82	1.62
+CVs Fixed	0.00	22.47	5.74	7.34	1.70

图T19.22 DNA Cell Cycle Model with the Lowest Chis (Chi-square) Value (DNA**细胞周期模型以及最低卡方值**)

36.19.3 *格式化DNA柱状图*

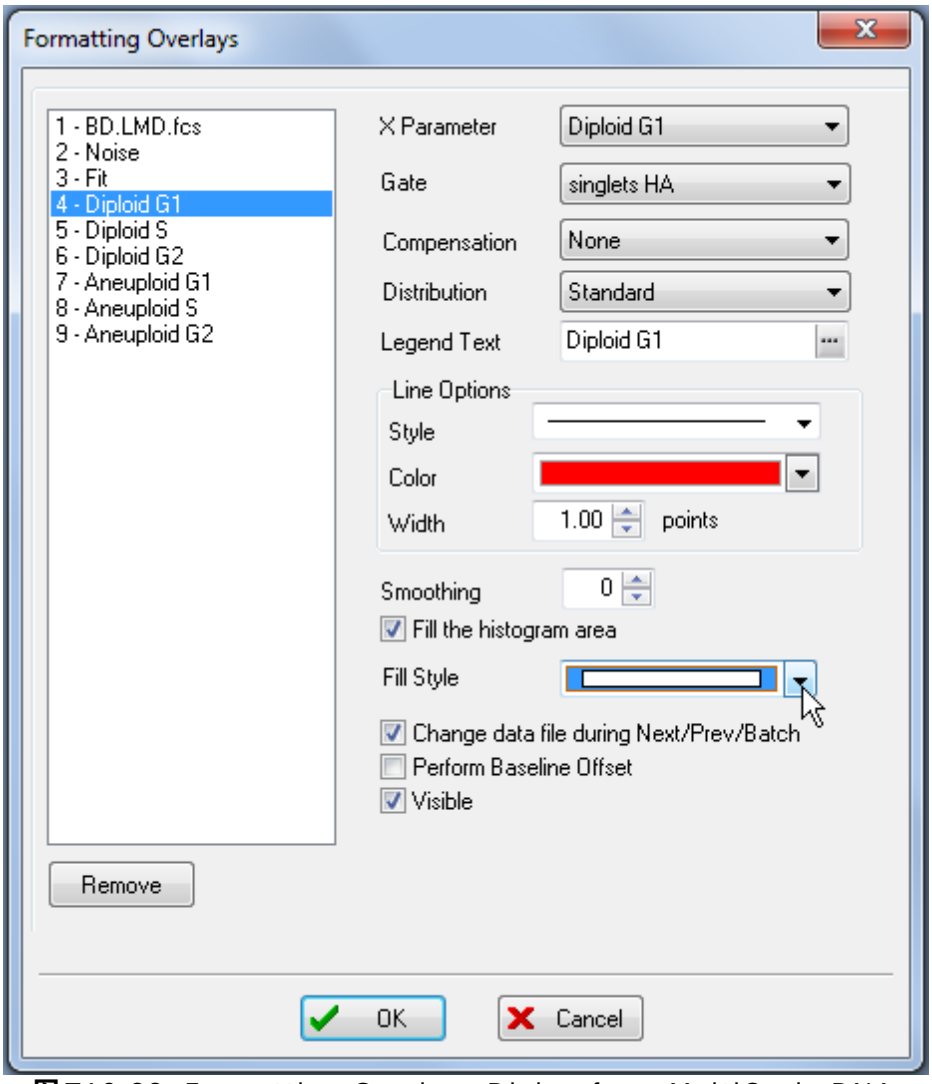
FCS Express中有很多格式化功能，它们帮助用户对多周期DNA柱状图分析做一个视觉上的评估。不同的细胞周期细胞群可以有不同的阴影，用户可以显示某一细胞群中间值对应的标记。另外，用户可以在柱状图上对某一区域进行放大，以便更细致地查看绘图。

首先让我们在多周期柱状图上把二倍体细胞群的颜色修改为单色。

1. 请点击多周期柱状图将其选中。
2. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

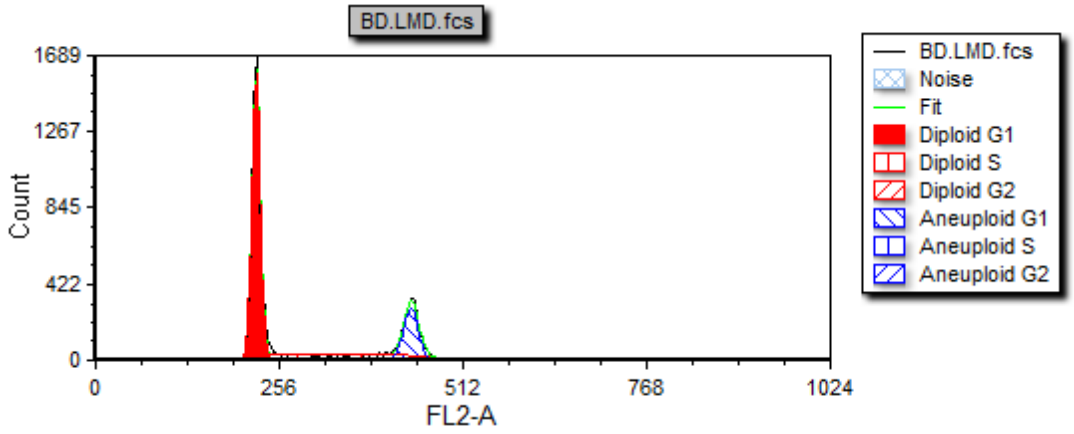
这时会出现**Formatting Overlays(格式化叠加图层)**对话框，如图T19.23所示。以下步骤均针对图T19.23。

3. 请从左边选中**Diploid G1(二倍体G1)**，如图中的蓝色所示。
4. 请从下拉菜单中的Fill Style(填充样式)中选择单色，如图中的光标所示。
5. 请点击**OK**。



图T19.23 Formatting Overlays Dialog for a MultiCycle DNA Histogram (**多周期**DNA**柱状图的格式化叠加图层对话框**)

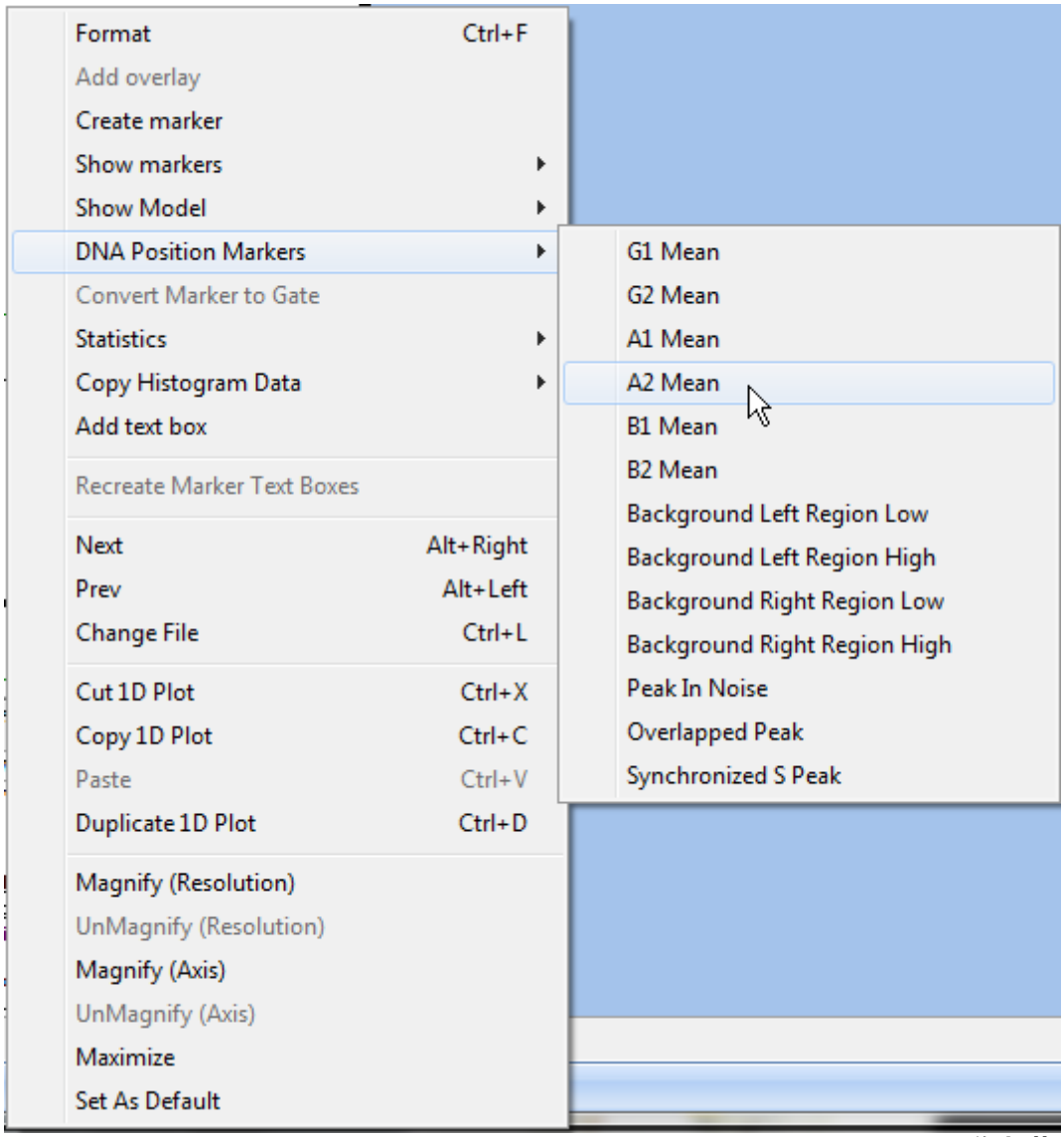
这时多周期柱状图会进行更新，反映出图T19.24中进行的修改。或者，我们可以右键点击DNA柱状图，调出弹出菜单，选择**Format(格式)**，然后选择**Overlays(叠加图层)**来对柱状图叠加图层进行格式化。



图T19.24 MultiCycle DNA Histogram Updated with Solid Fill on the Diploid Peak (**更新后的多周期**DNA**柱状图中的单色二倍体数据峰**)

现在我们要在柱状图上添加一个标记，表明非整倍体G2峰值的位置。

6. 请右键点击DNA柱状图，调出弹出菜单。
7. 请从菜单上选择**DNA Position Markers(DNA位置标识)→A2 Mean(A2平均值)**，如图T19.25中的光标所示。



图T19.25 Selecting DNA Position Markers on the Pop-up Menu (**从弹出菜单上选择**DNA**位置标识**)

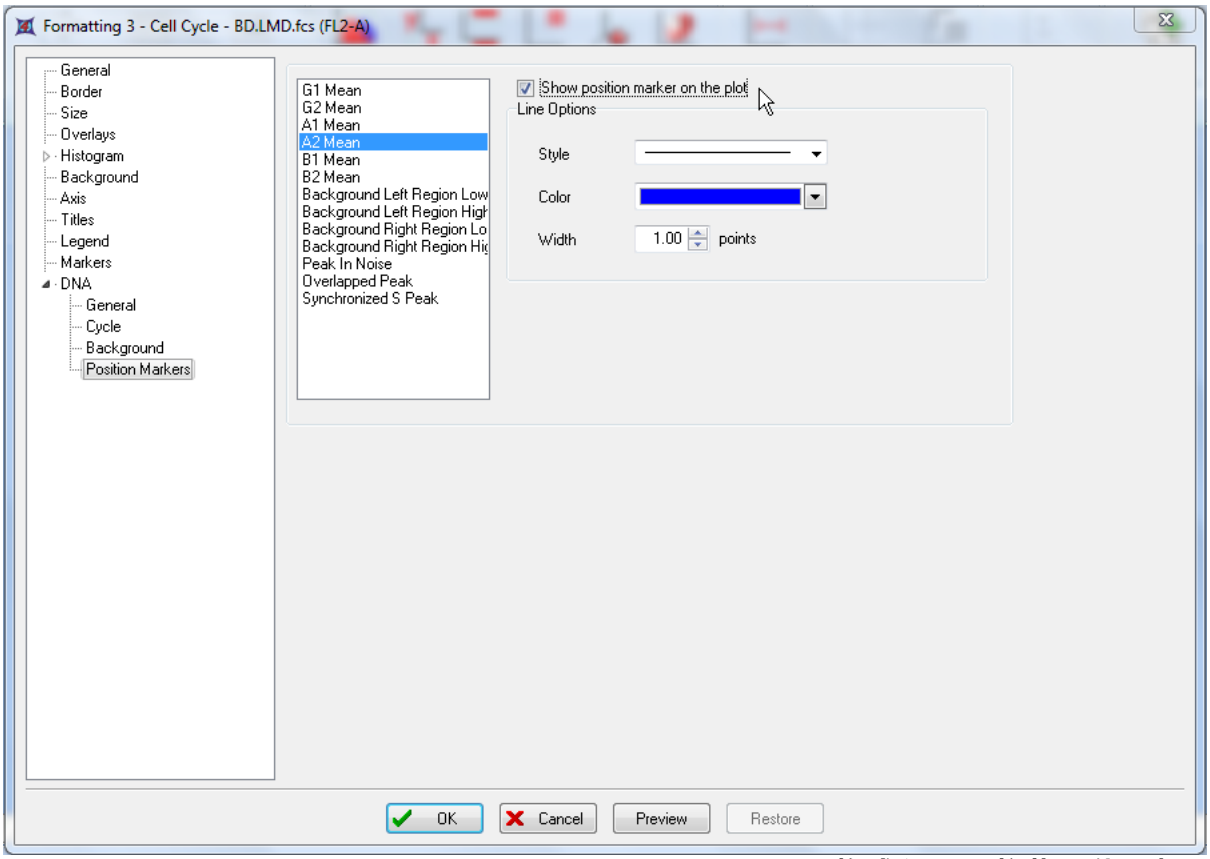
或者，DNA位置标识可从弹出菜单上的**Format(格式)**一项来调出。

- 请右键点击柱状图，调出弹出菜单。
- 请从菜单是选中**Format(格式)**。

这时会出现柱状图格式化窗口，以下步骤均针对图T19.26。

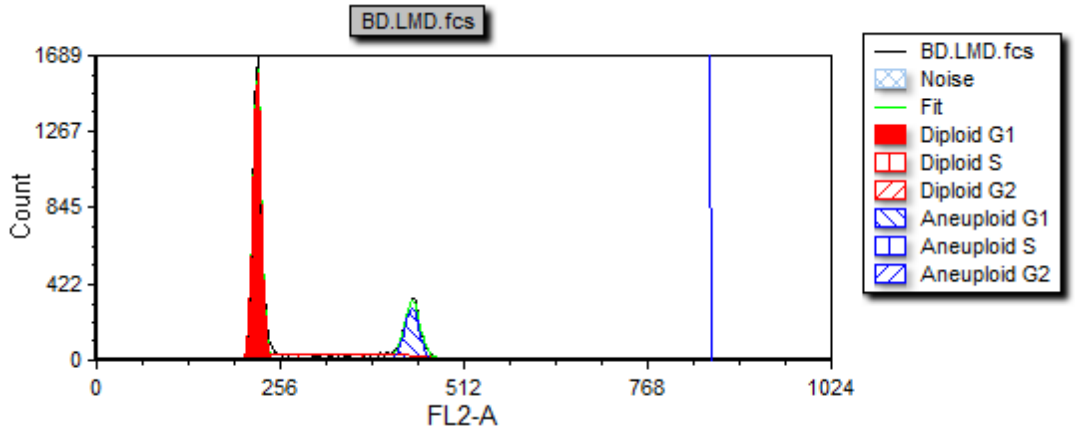
- 请从左边的类别选项选中**DNA→Position Markers(位置标识)**，如图中的淡蓝色显示。

- 请选中**Show position marker on the plot(在绘图上显示位置标记)**复选框，如图中的光标所示。
- 请选中**A2 Mean(A2平均值)**，如图中的蓝色高亮所示。
- 请点击**OK**。



图T19.26 Formatting DNA Histogram Position Markers (**格式化**DNA**柱状图位置标识**)

这时在多周期DNA柱状图上非整倍体G2信号峰的平均值位置处会出现一条垂直线(图T19.27)。



图T19.27 MultiCycle Histogram Updated with a DNA Position Marker on the Aneuploid G2 Mean (**更新过的多周期柱状图以及代表非整倍体**G2**平均数的**DNA**位置标识**)

我们现在要在DNA柱状图上进行放大，来更近地考察一下非整倍体细胞群。

8. 请右键点击DNA柱状图，调出弹出菜单。

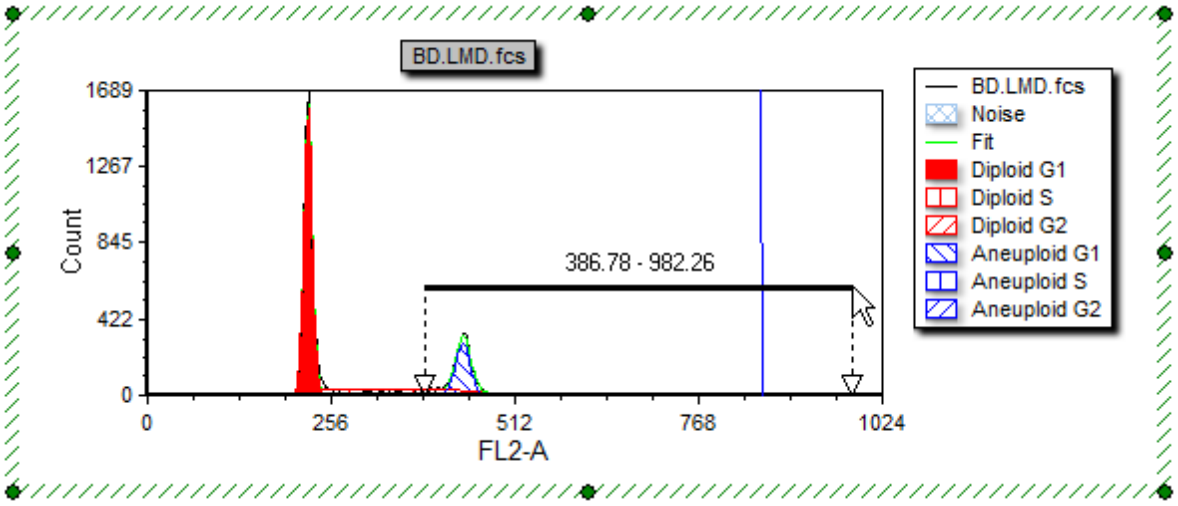
9. 请从弹出菜单上选中**Magnify (Axis)(放大(轴))**(图T19.25)。

以下步骤均针对图T19.28。

10. 请把光标放在DNA柱状图上非整倍体G1数据峰的左侧。

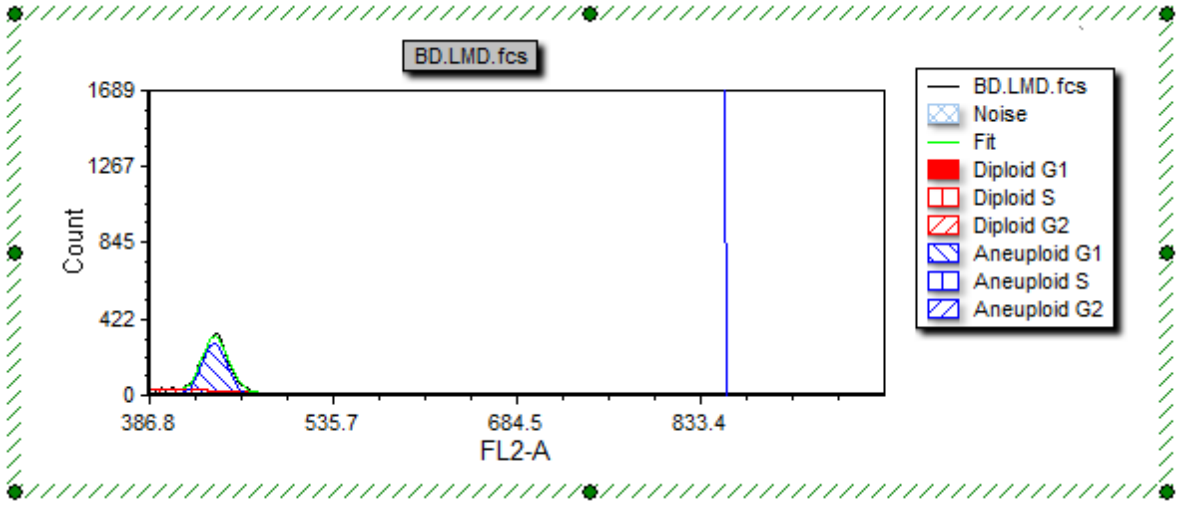
11. 请按下鼠标左键向右移。

12. 当向右的箭头在DNA位置标识的右侧时，请松开鼠标(如图中的光标所示)。



图T19.28 Selecting an Area on the X-axis to Zoom (**在**X-**轴上选中一个区域来进行放大**)

柱状图这时已经进行了更新，放大到前几步选中的x- 轴部分，如图T19.29所示。



图T19.29 Histogram Zoomed (**放大后的柱状图**)

我们现在要修改柱状图上的y- 向坐标。

13. 请点击柱状图，将其选中。

14. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Axes(坐标轴)**命令。

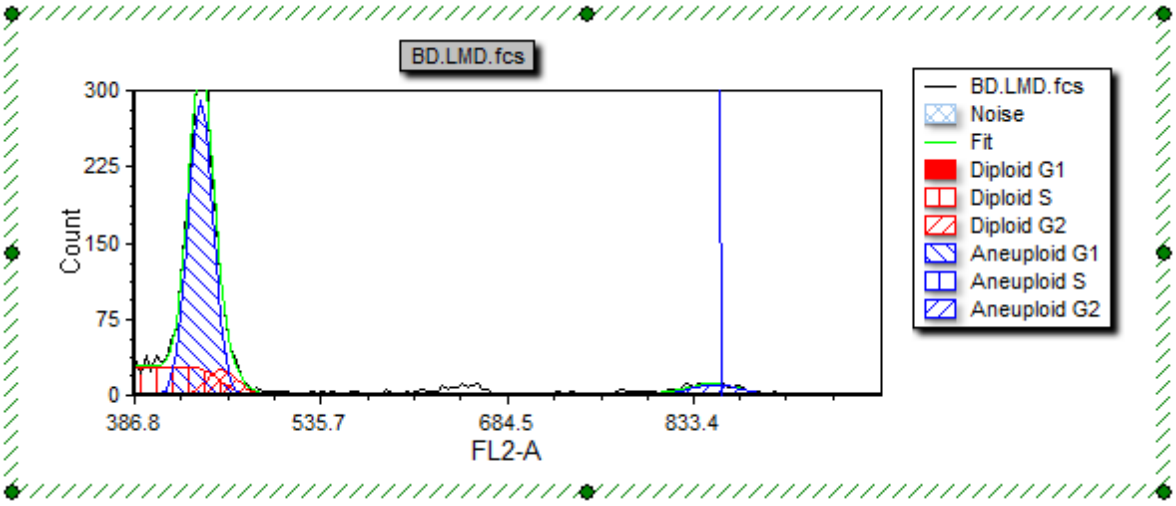
这时会出现**Formatting Axes(格式化坐标轴)**对话框。以下步骤请参考图T19.30。

15. 请选中**Y- Axis(Y- 轴)**，如图中的蓝色高亮所示。
16. 请点击**Automatic(自动)**旁边的复选框，取消对该选项的选择，如图中的光标所示。
17. 请输入"300"，作为Y- 轴的最大值，如图中的蓝色高亮所示。
18. 点击**OK**。



图T19.30 Formatting Axes Dialog (**格式化坐标轴对话框**)

这时多周期柱状图会进行更新，y- 轴的范围变成0到300，如图T19.31所示。



图T19.31 MultiCycle Histogram with Rescaled Y-axis (**多周期柱状图以及调整后的**Y-**轴**)

36.19.4 *分析3周期数据*

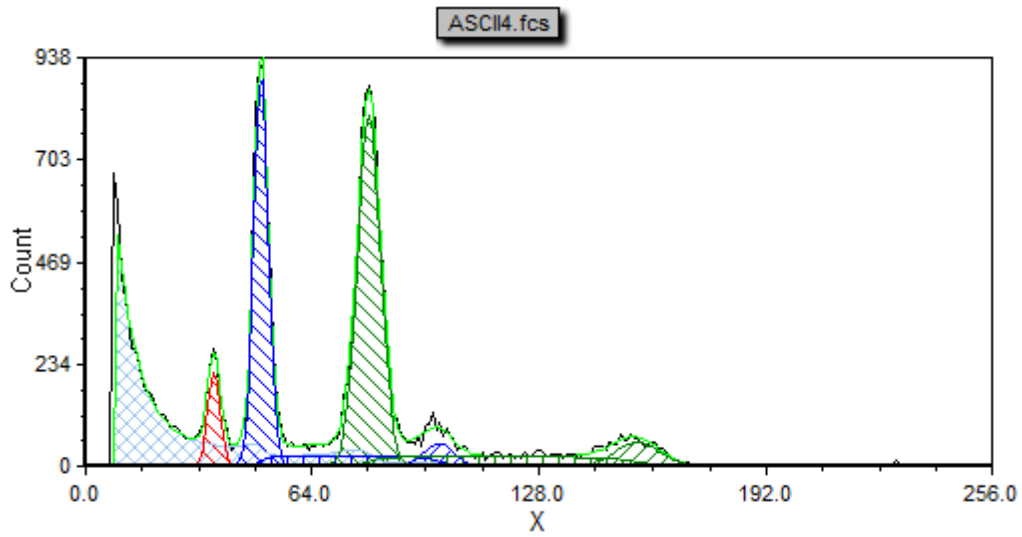
对包括多周期细胞群的DNA柱状图的分析需要多周期软件包高级版本，该版本需要另行购买。首先我们将打开一个空白版面页，插入一个有着多个非整倍体细胞群的DNA柱状图。

1. 请选中**Application Button(应用程序按钮)→New Layout(新版面)**。
2. 请选中**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Multicycle DNA(多周期DNA)**命令(图T19.4 969)。
3. 请在版面上的空白区点击。

这时会出现**Select a Data File(选中数据文件)**对话框，如前图T19.1 969所示。

4. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹中。
5. 请选中**ASCII4.fcs**文件。
6. 请点击**Open(打开)**。

这时会出现多周期DNA柱状图，如图T19.32所示。注意到图上的两个非整倍体细胞群(分别显示为蓝色以及绿色)是柱状图中的绝大部分信号。



图T19.32 MultiCycle DNA Histogram with Two Aneuploid Populations (**多周期**DNA**柱状图以及两个非整倍体细胞群**)

用户可以插入**DNA Cycle(DNA周期)**、**DNA Model Summary(DNA模型摘要)** 以及**DNA Experiment Statistics(DNA实验统计)**窗口(如前几节演示的那样)来进一步参考该柱状图。但很明显这个DNA柱状图有多周期细胞群，多周期软件包似乎也很好地捕捉到了它们。

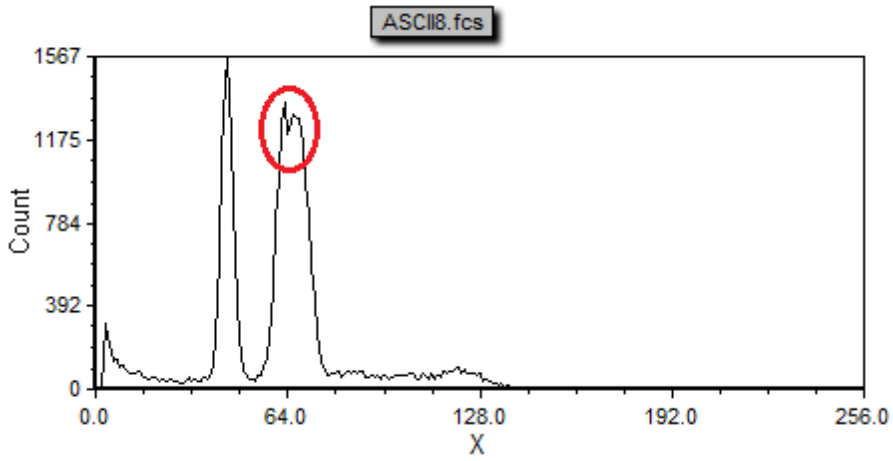
我们现在来看一个更难分析的柱状图，因为非整倍体细胞群相互交叠，多周期软件包中的自动拟合功能未能正确地锁定这两个非整倍体细胞群，因此我们需要手动进行设置。首先让我们来插入柱状图。

7. 请选中**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Histogram(柱状图)**命令。
8. 请在版面上的空白区点击。

这时会出现**Select a Data File(选中数据文件)**对话框，如前图T19.1 969所示。

9. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹。
10. 请选中**ASCII8.fcs**文件。
11. 请点击**Open(打开)**。

这时会出现ASCII8.fcs柱状图，如图T19.33所示。注意到图中有一个非单倍体数据峰，如图中的红圈所示。仔细观察该图就会发现图中可能有两个DNA含量相同的非单倍体数据峰。我们现在将使用多周期软件包的自动拟合功能来分析该DNA柱状图，并且演示在该例子下这一分析不会给出正确结果。



图T19.33 ASCII8.fcs Histogram (ASCII8.fcs**柱状图**)

12. 请选中**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Multicycle DNA(多周期DNA)**命令(图T19.4 969)。

13. 请在版面上的空白区点击。

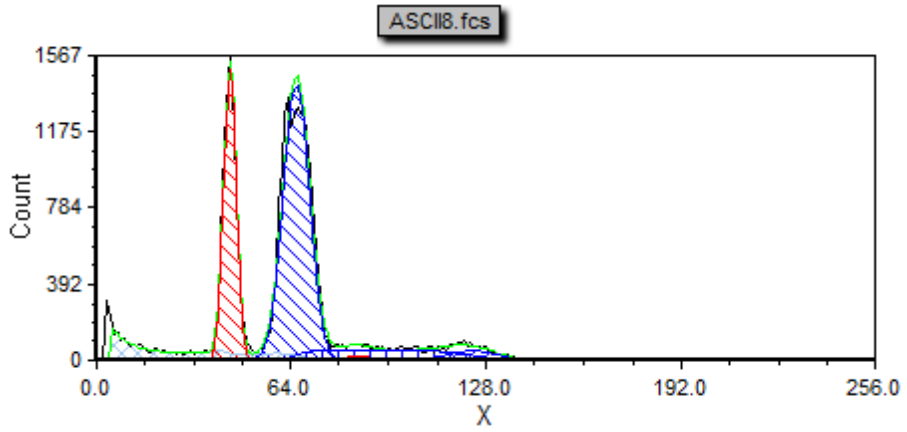
这时会出现**Select a Data File(选中数据文件)**对话框，如前图T19.1 969所示。

14. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹。

15. 请选中文件**ASCII8.fcs**。

16. 请点击**Open**。

这时会出现多周期DNA柱状图，如图T19.34所示。多周期软件包的自动拟合功能已经使用两周期模型对柱状图进行了分析，并认为图中只有一个非单倍体细胞群，如图中的蓝色所示。我们现在要在不运用自动拟合的情况下来分析DNA柱状图。



图T19.34 Autofit MultiCycle Analysis of ASCII8.fcs (**对**ASCII8.fcs **进行多周期分析的自动拟合**)

17. 请在ASCII8.fcs对应的多周期柱状图上点击，将其选中。

18. 请选择**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→Fit Parameters (拟合参数)**命令。

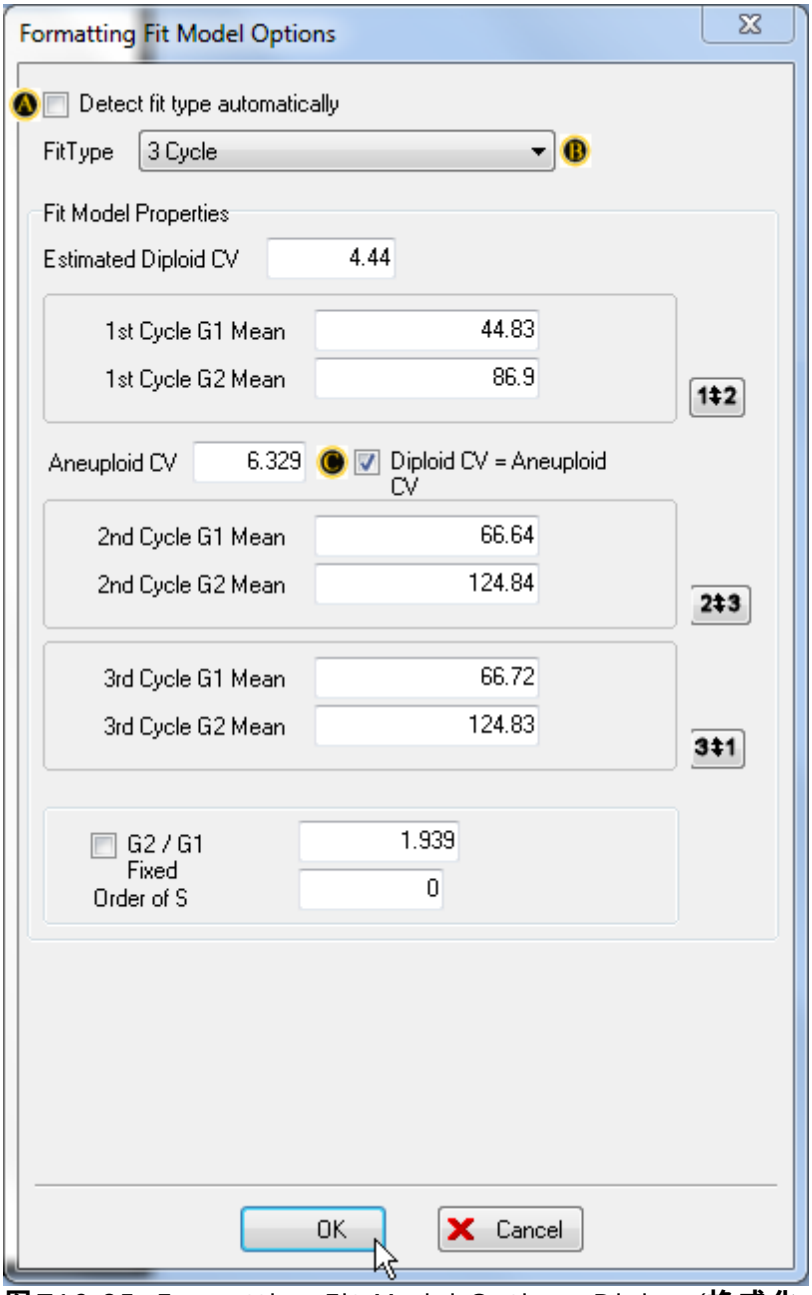
这时会出现**Formatting Fit Model Options(格式化拟合模型选项)**对话框。以下步骤均针对图T19.35。

19. 请取消**Detect fit type automatically(自动检测拟合类型)**旁边的复选框Ⓐ，这将关闭自动拟合。

20. 请从**Fit Type(拟合类型)**下拉菜单中选中**3 Cycle(3周期)**Ⓑ。

21. 请选中**Diploid CV = Aneuploid CV(二倍体CV = 非整倍体CV)**旁边的复选框Ⓒ。

22. 请点击**OK**。



图T19.35 Formatting Fit Model Options Dialog (**格式化拟合模型选项对话框**)

我们现在已经关闭了自动拟合功能并告诉多周期软件包使用3周期模型。我们同时也指明了对该模型的附加限制:二倍体信号峰的CV应该和非整倍体信号峰的CV相同。这时在柱状图上会显示使用手动设置进行的多周期拟合，如图T19.36所示。

另外，用户可以在**Multicycle(多周期)**标签卡上关闭自动拟合功能，然后选中3周期模型。

- 请选中**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→Autofit(自动拟合)**

命令来关闭自动拟合功能。

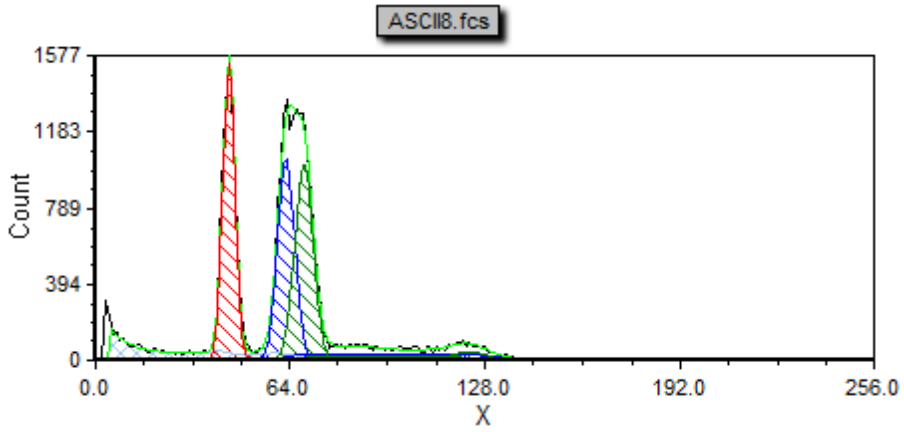
- 请从**Cycle(周期)**下拉列表中选中**Multicycle(多周期)→Fit Parameters(拟合参数)→3 Cycle(3周期)**命令。
- 请右键点击ASCII8多周期对话框，调出弹出菜单。
- 请从弹出菜单上选中**Format(格式)**。

这时会出现**Formatting Cell Cycle(格式化细胞周期)**窗口。

- 请从窗口左边选中**DNA→Cell Cycle(细胞周期)**类别选项。

这时会出现**Formatting Cell Cycle(格式化细胞周期)**对话框中的**DNA Cell Cycle (DNA细胞周期)**页，该页和图T19.35中的**Formatting Fit Model Options(格式化拟合模型选项)**非常相似。

- 请选中**Diploid CV = Aneuploid CV(二倍体CV = 非整倍体CV)**旁边的复选框(图T19.35)。
- 请点击**OK**。



图T19.36 Manual MultiCycle Fit (**手动设置多周期拟合**)

36.20 细胞分裂

在研究细胞分裂时常用的方法之一是染色剂稀释技术。在这个技术中，实验人员关心的细胞(通常是T-细胞)被统一地用一种染料(通常是CFSE)进行标注。细胞每进行一次分裂，染色剂便被平均分配到两个子细胞中。因此，随着时间的推移，进行了分裂的细胞群的特征信号峰将比未分裂的细胞群的信号峰强度要弱。FCS Express里的细胞分裂模块可执行复杂的曲线拟合，来定量描述细胞群的分裂特征。该功能可以方便地决定分裂细胞的比例以及方便地修改和添加数据。

在本章教程中，我们将学习如何使用这一功能。

注： 为用户方便起见，本教程中的所有文件都已经过补偿。要了解关于补偿的更多信息，请参见补偿教程662。

36.20.1 *定义目标细胞群*

在本节中，我们将:

- 学习如何在T- 细胞群上应用门。

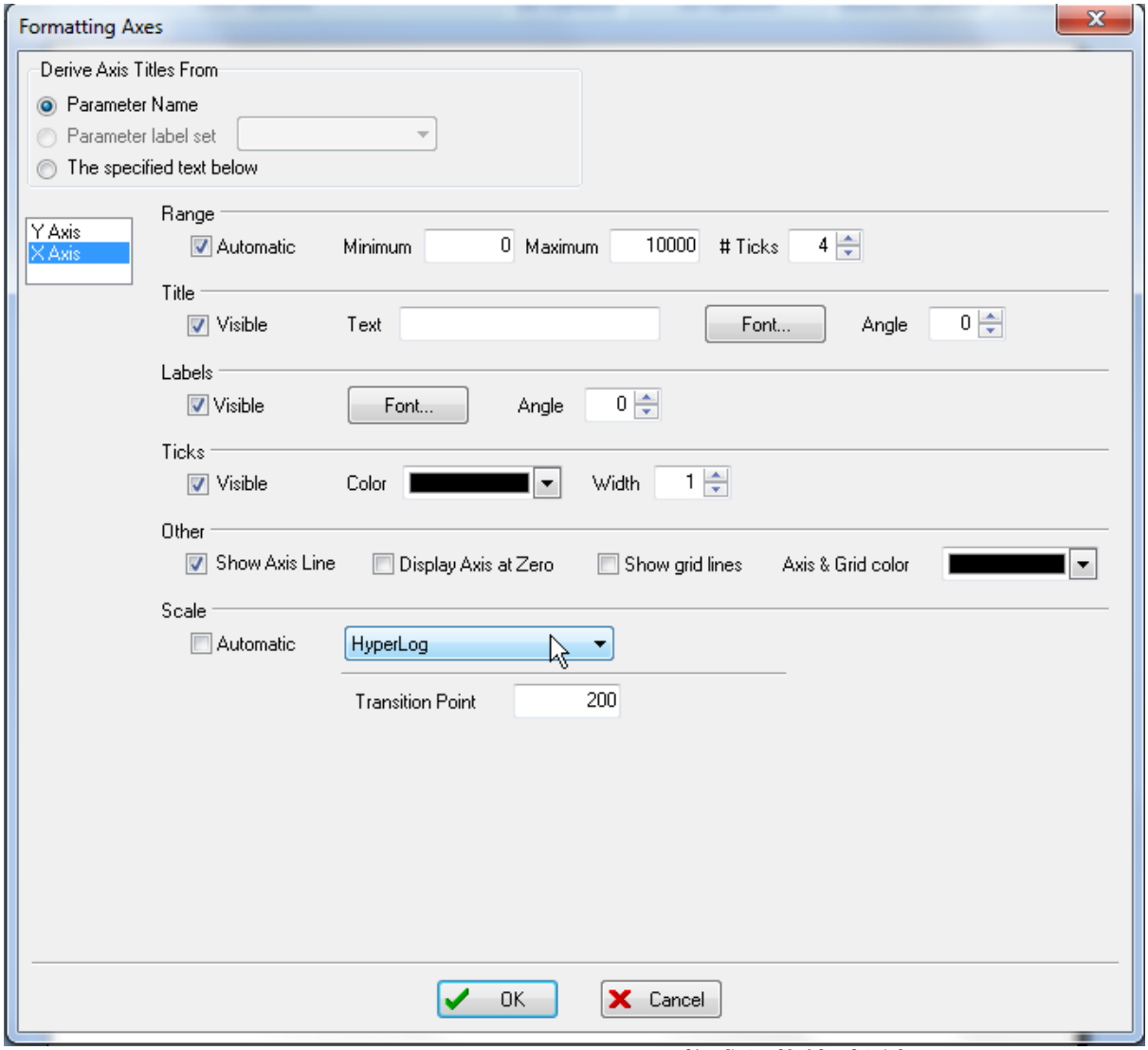
1. 请打开一个新的空白版面。
2. 请从*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹中插入**001- T only CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**对应的PE- A与SSC- H之间的点状图。要更好地了解如何打开一个绘图，请查看插入绘图525教程。

数轴的默认设置是线性坐标。但因为这组数据已经经过补偿，查看数据的最好方法是用一个在数值较低区是线性、数值较高区是对数的坐标系。在此我们将为x- 轴使用HyperLog(超对数)设置。要更多的了解FCS Express支持的各种坐标系，请参考坐标系203一节。

3. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Axes(坐标轴)**命令。

这时会出现**Formatting Axes(格式化坐标轴)**对话框，如图T20.1所示。

4. 请选中**X- axis(X- 轴)**，如图T20.1中的蓝色高亮所示。
5. 请从**Scale(坐标系)**下拉列表中选中**HyperLog(超对数坐标系)**，如图T20.1中的光标所示。
6. 请点击**OK**。



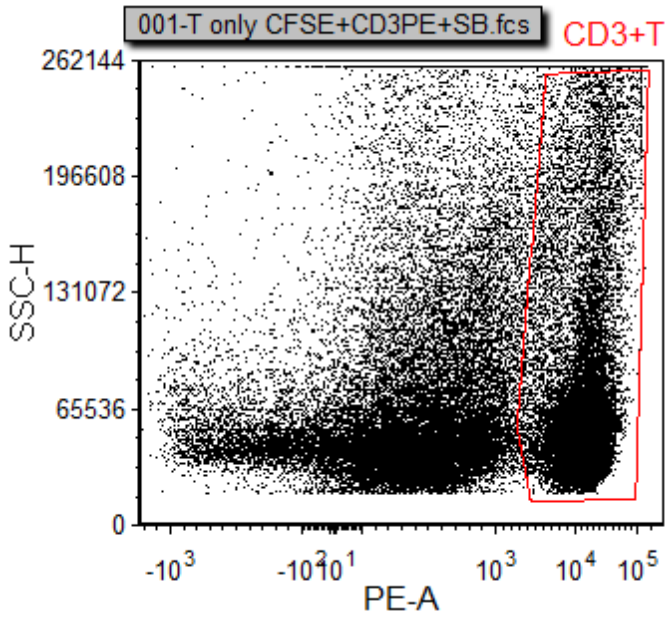
图T20.1 Formatting Axes Dialog (**格式化数轴对话框**)

现在点状图应该已经进行了更新，显示x - 轴的超对数坐标。样本中的染色剂是CD3- PE，因此我们将在CD3- 阳性细胞上应用一个门来定义T- 细胞群，并排除那些有很大侧向分散信号的细胞。

7. 请创建一个包围CD3+ 的T- 细胞的多边形门(图T20.2)。

8. 请把这个门命名为"**CD3+ T**"。

这个门看起来应该和Figure T20.2中显示的门相似(要想更多地了解如何创建门，请参考门操作教程566)。



图T20.2 T-cell Gate on CD3+ Cells (**应用在**CD3+**细胞上的**T-**细胞门**)

样本中也使用了染色剂Sytox Blue，该染色剂和碘化丙啶类似，可以帮助我们排除那些被Sytox Blue染色的"死"细胞。

9. 请点击纵向坐标轴名"**SSC- H**"，把它改为代表Sytox Blue染色的"**AlexaFluor 405- A**"。

10. 请把y- 轴坐标改为**HyperLog(超对数)**。请参考前边的第3步到第6步，只是在此要使用y- 轴，而非x- 轴。

我们现在要在CD3PE与Sytox Blue的绘图上应用以前创建的CD3+ T门来初步定义T- 细胞，如图T20.2所示。

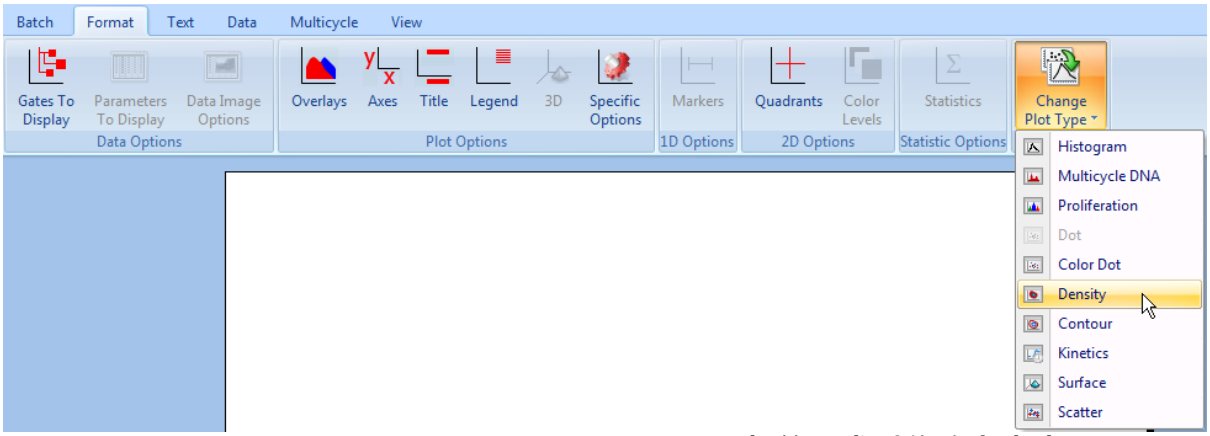
11. 如图点状图并非处于选中状态，请点击来将其选中。

12. 请从下拉列表中选中**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)→CD3+ T**(图T20.3)。



图T20.3 Selecting the CD3+T Gate (**选中**CD3+T**门**)

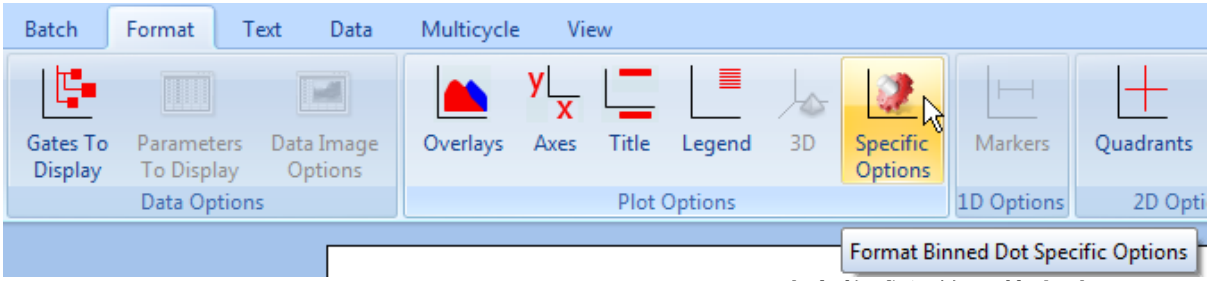
13. 请从下拉列表中选中**Format(格式)→Change(修改)→Change Plot Type(修改绘图类型)→Density(密度图)**(图T20.4)。



图T20.4 Changing the Plot Type to Density (**把绘图类型修改为密度图**)

这时的散点图显现为密度图(图T20.7A)。我们现在要来修改密度图的分辨率。

14. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)**命令(图T20.5)。

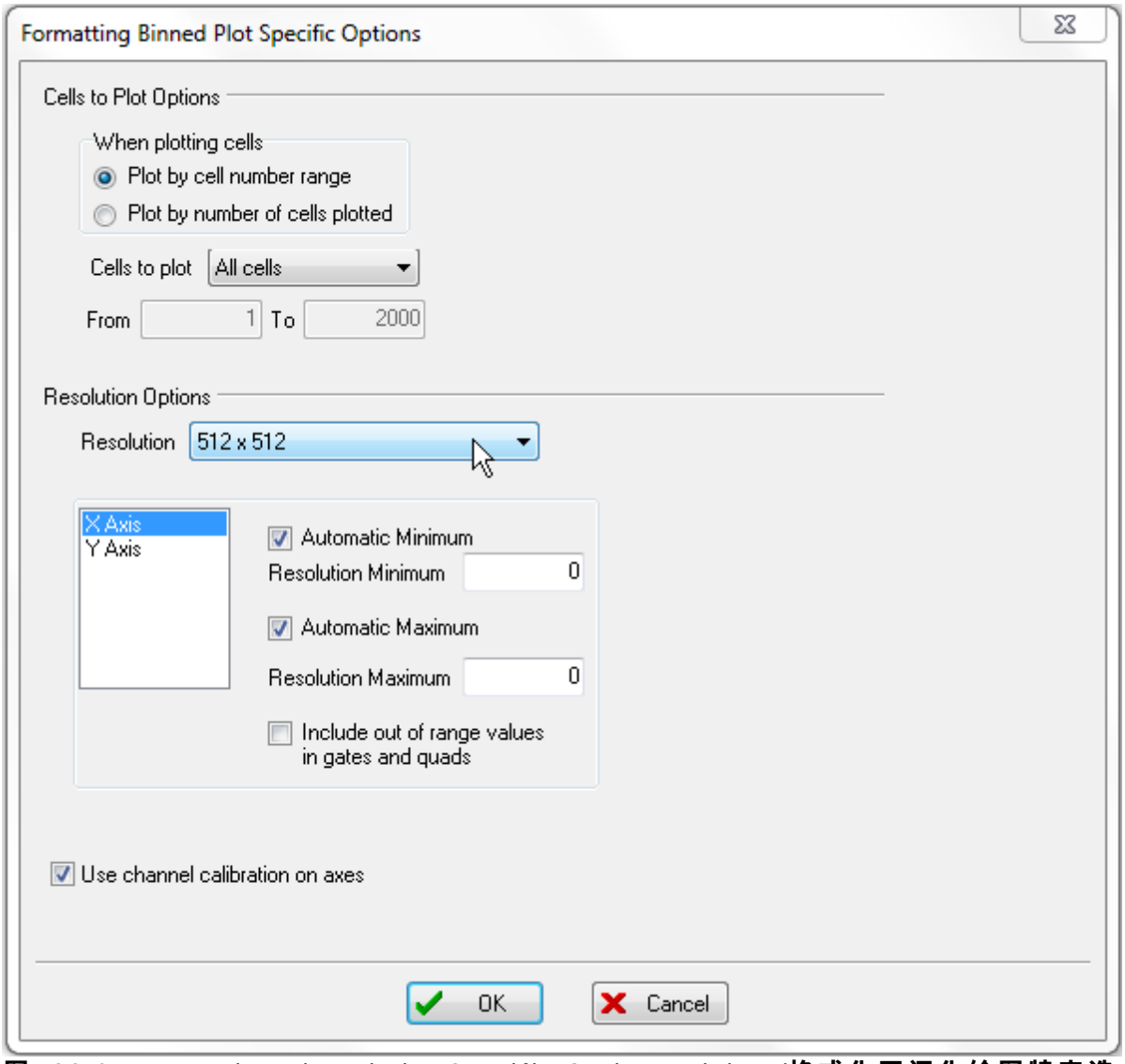


图T20.5 Selecting Format Plot Specific Options (**选中格式化绘图特定选项**)

这时会出现**Formatting Binned Plot Specific Options(格式化区间绘图特定选项)**对话框(图T20.6)。

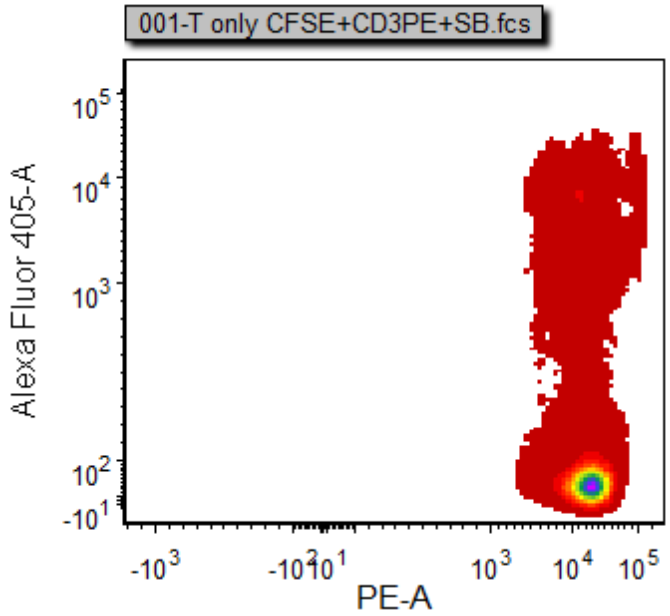
15. 请从对话框中的**Resolution Options(分辨率选项)**页上的**Resolution(分辨率)**下拉列表中选择**512 x 512**，如图T20.6中的光标所示。

16. 请点击**OK**。

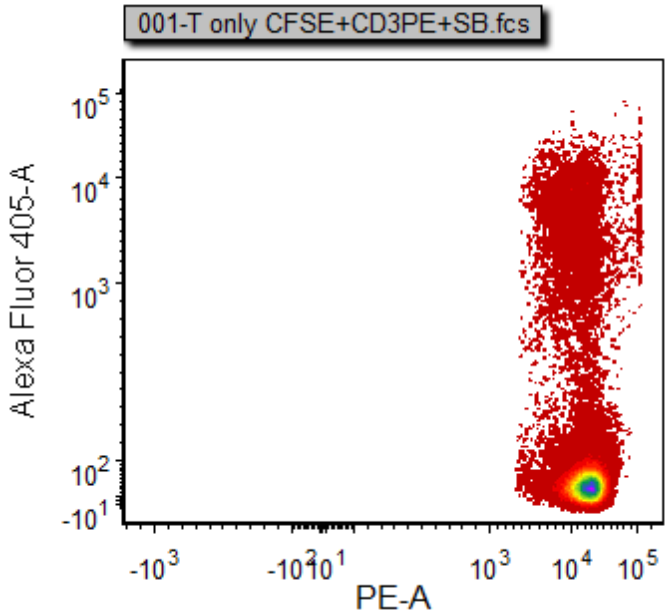


图T20.6 Formatting Binned Plot Specific Options Dialog (**格式化区间化绘图特定选项**)

这时会出现这个密度图，显示512 x 512分辨率，如图T20.7B所示。



图T20.7A Density Plot with Default Resolution (**密度图，默认分辨率**)



图T20.7B Density Plot with 512 x 512 Resolution (**密度图，分辨率为**512 x 512)

17. 如果密度图并非处于选中状态，请点击来将其选中。

18. 请选中**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Next (下一个)**命令。

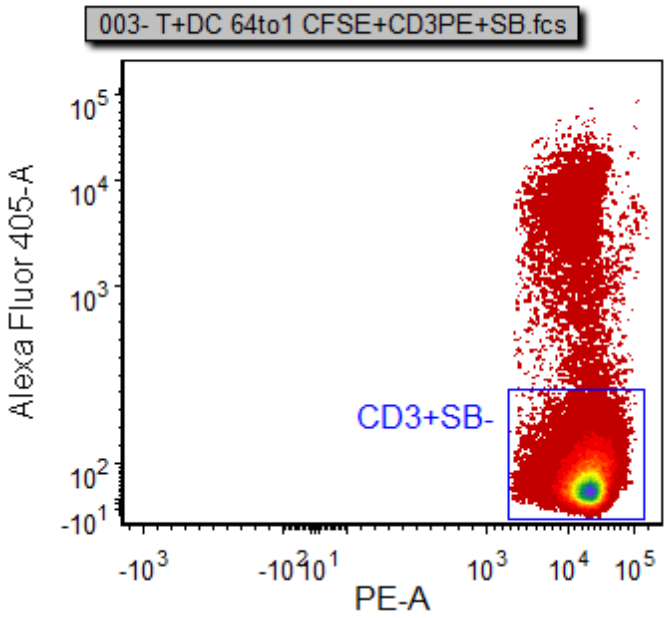
19. 请再次点击**Next(下一个)**按钮，向前翻两个文件，来到**003- T+DC 64to1 CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**文件。

这时密度图会进行更新来显示新的数据文件。我们将使用这些数据来进一步定义使用Sytox Blue的T- 细胞门，以排除"死"细胞。

20. 请在CD3阳性以及Sytox Blue阴性细胞周围创建一个矩形门如图T20.8所示。

21. 请把门命名为**CD3+ SB-** 。

这时绘图和门看起来应该如图T20.8所示。



图T20.8 Density Plot with CD3+SB- Gate to Further Define T-cells (**在密度图上创建**CD3+SB-**门来进一步定义**T-**细胞**)

现在我们要为**CD3+ SB-** 门创建一个子门**CD3+ T**。通过在Sytox Blue阴性细胞上创建门，我们已经排除了死细胞，因为Sytox Blue染色剂只可以进入细胞膜缺乏抵抗力的细胞(这些细胞被认为是死细胞)。

22. 请选中**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**命令。

23. 请在版面上你希望Gate View(门视图)窗口出现的地方点击。

这时门视图窗口会出现在版面上(图T20.9A)。

24. 请拖到**CD3+ SB-** 门，将其作为**CD3+ T**的子门。

25. 请点击**CD3+ T**门旁边的"**+** "图标，展开列表。

这时**CD3+ SB-** 门已经是**CD3+ T**门的子门了，门视图窗口将看起来如图T20.9B所示。



图T20.9A Initial Gate View Window (**开始时的门视图窗口**)



图T20.9B Gate View with CD3+SB- as a Child Gate (**门视图中**CD3+SB-**作为子门**)

如果密度图并非处于选中状态，请点击来将其选中。

26. 请从下拉列表中选中**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)→CD3+ SB-** 。

这时的密度图将进行更新，显示CD3+ SB- 门。

27. 请选中**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Previous(前一个(项))**命令。

28. 请点击**Previous(前一个(项))**按钮两次，向后移动两个文件到**001- T only CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**文件。

这时绘图应该回到了**001- T only CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**。

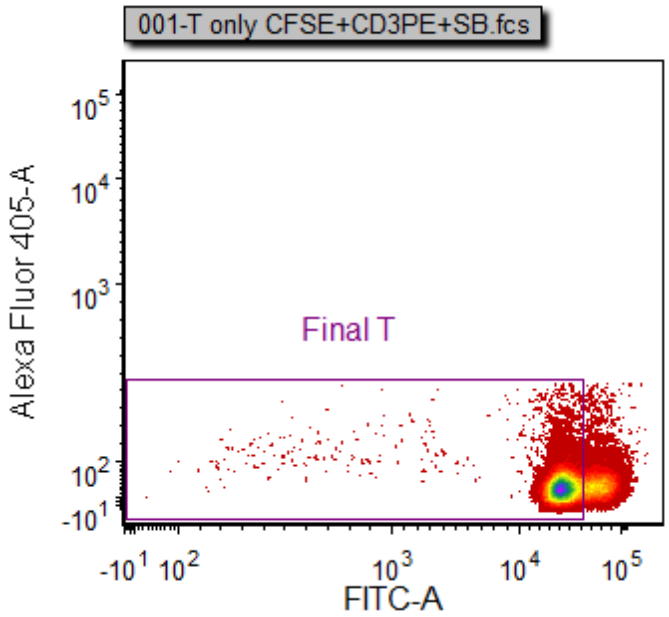
29. 请把密度图的水平坐标轴改为**FITC- A**。这个坐标代表CFSE染色。

30. 请创建一个门来排除较高的CFSE (FITC- A)值但却包括所有其它事件，如图T20.10所示。

在这个例子中的有着比主要细胞群较高CFSE值的细胞是非自然信号，应该被排除。

31. 请把这个门命名为"**Final T**"。

这时的绘图和门看起来应该如图T20.10所示。



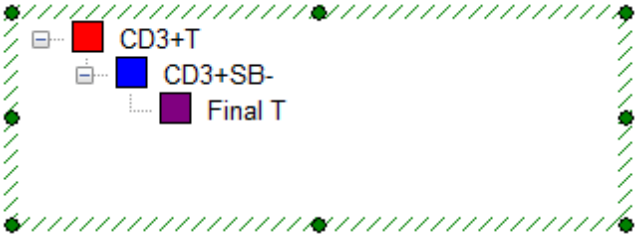
图T20.10 Density Plot of CFSE vs Sytox Blue with Final T Gate Defined (CFSE**以及**Sytox Blue**密度图以及绘图上定义的最后的**T**细胞门**)

这时门视图也应该进行更新来显示**Final T**门。

32. 请把**Final T**门拖为**CD3+ SB-** 门的子门。

33. 请点击**CD3+ SB-** 门旁边的"+"号来展开列表。

最后的**Gate View(门视图)**窗口应该看起来如图T20.11所示。



图T20.11 Gate View with Final Gate Relationshps (**门视图上最后的各个门之间的关系**)

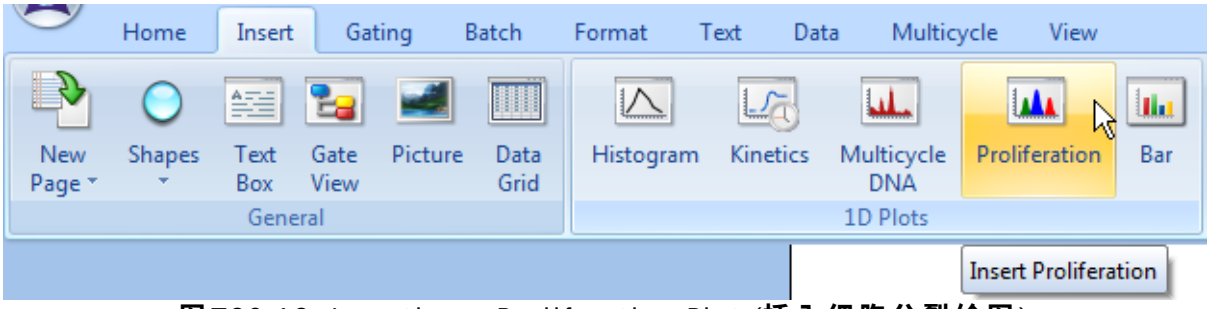
注意到在图T20.10中，**Final T**门中的事件显示出CFSE荧光强度有一个范围。这些是正在分裂的T- 细胞。在下一节1014中，我们将学习如何对正在分裂的T- 细胞进行拟合。

36.20.2 *对进行分裂的T- 细胞进行拟合*

在本节中，我们将:

- 学习如何把曲线拟合算法应用于柱状图。

1. 请选中**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Proliferation(细胞分裂)**命令(图T20.12)。



图T20.12 Inserting a Proliferation Plot (**插入细胞分裂绘图**)

2. 请在版面上想要添加柱状图的地方点击。

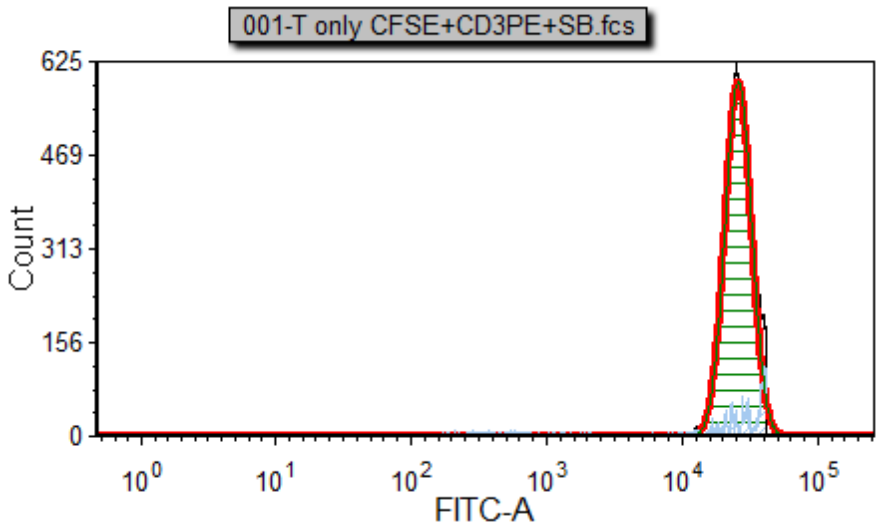
如果出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，请选择**001- T only CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**文件。或者， 因为这个文件是最近使用的文件，新绘图应该自动显示这个文件上的数据。

3. 请为水平数轴选中**FITC- A**来显示CFSE染色。

4. 请从下拉列表中选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate (当前门)→Final T(Final T门)**来在柱状图上应用Final T门。

如果绘图是在线性坐标系上，请把它改为对数坐标，方法是选择**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Axes(数轴)**命令，然后在**Formatting Axes(格式化数轴)**对话框中的下拉列表中选择**Log(对数)**。

最初的对柱状图的曲线拟合应该看起来如图T20.13所示。这是对未进行分裂的对照细胞的曲线拟合结果。

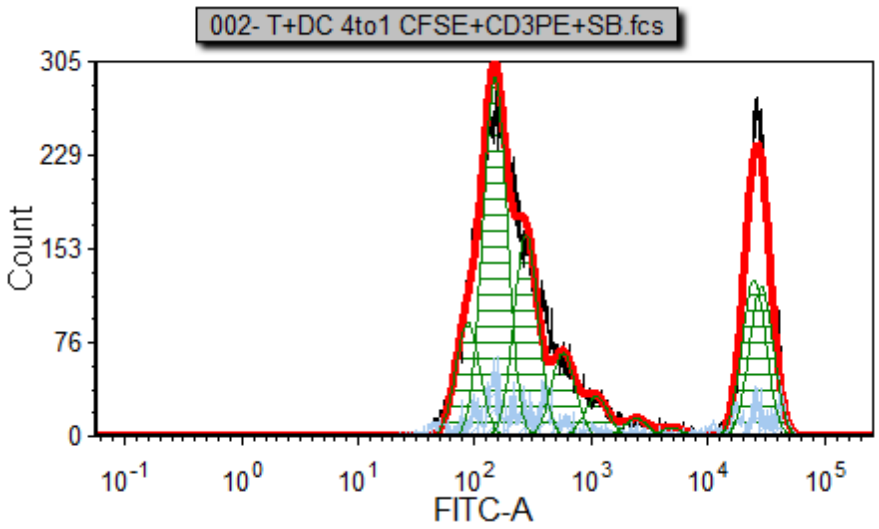


图T20.13 Proliferation Fitting to Control Histogram (**对"对照柱状图"进行细胞分裂拟合**)

现在让我们来导入一个有分裂细胞的文件。

5. 请选择**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Next(下一个)**命令向前翻一个文件到**002- T+DC 4to1 CSFE+ CD3PE+ SB.fcs文件**。

这时的曲线拟合柱状图看起来应该如图T20.14所示。



图T20.14 Initial Curve Fitting on Histogram of Proliferating Cells
(**对正在分裂的细胞进行拟合的初始曲线**)

细胞分裂曲线拟合的默认颜色如下:

黑色 –柱状图整体轮廓。它包括所有数据而且不代表任何拟合算法的输出。

红色 –被拟合的数据的整体轮廓。该轮廓排除了算法认为是噪声的那部分信号。

浅蓝色 –噪声。这是算法判定为噪声信号的那部分，这部分信号不包括在统计计算中。

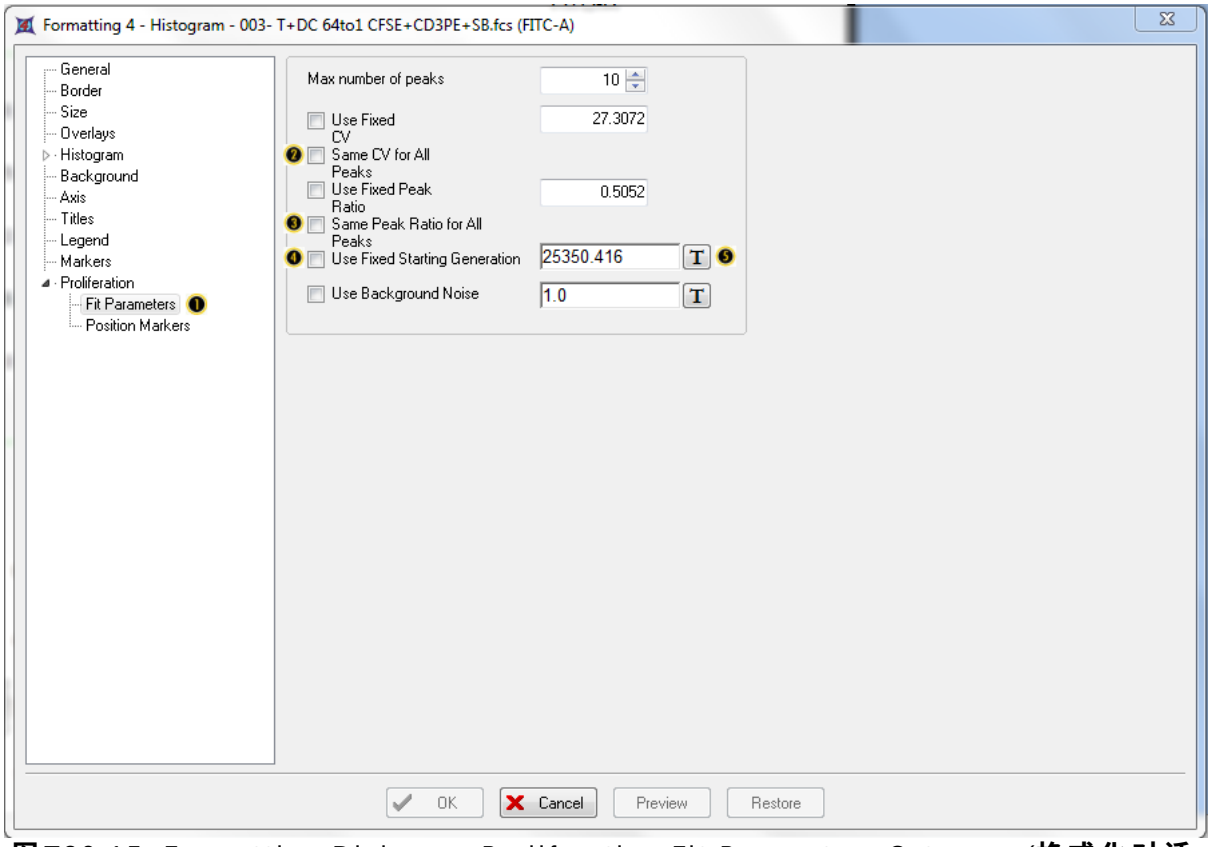
绿色 – 模型拟合的分裂细胞群。这是对数据拟合后的实际曲线，代表父代细胞、未分裂细胞群和所有正在进行分裂的细胞代。

注意到在图T20.14中有显示为浅蓝色的细胞，它们被模型认为是噪声信号。理想情况下，越少细胞被认为是噪声信号越好。现在我们要来修改一下细胞分裂拟合参数，尝试能否改进对模型的拟合。

6. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。
7. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。

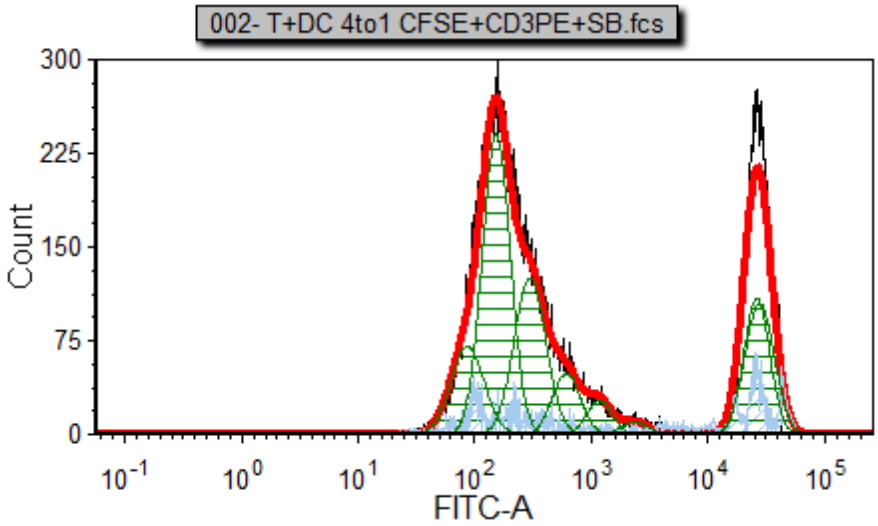
这时会出现**Formatting(格式化)**对话框(图T20.15)。

8. 请从对话框左边选择**Proliferation(细胞分裂)→Fit Parameters(拟合参数)** (图T20.15)。
9. 请不要选择**Same CV for All Peaks(所有信号峰使用相同的变差系数)** (图T20.15)。
10. 请点击**OK**。



图T20.15 Formatting Dialog -- Proliferation Fit Parameters Category (**格式化对话框 -- 细胞分裂拟合参数类别选项**)

这时细胞分裂柱状图应该看起来如图T20.16所示。



图T20.16 Proliferation Histogram with Improved Proliferation Fit (**细胞分裂柱状图上改进过的细胞分裂拟合**)

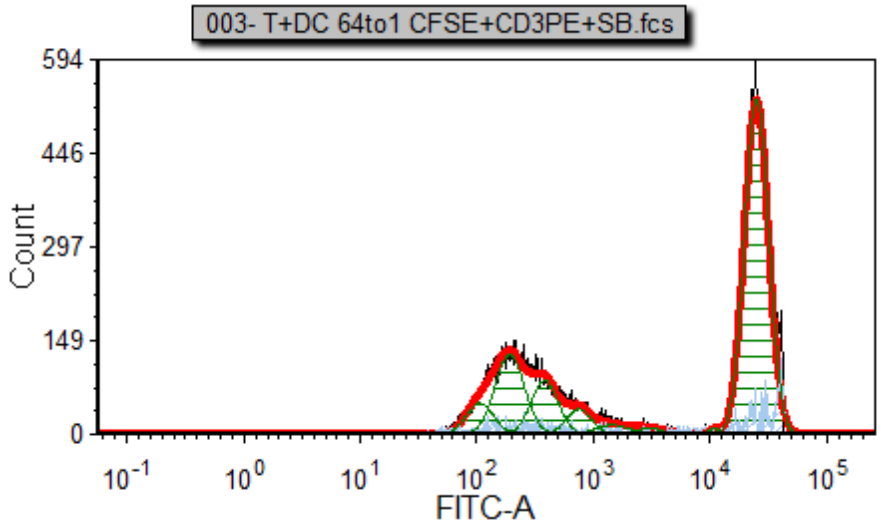
现在的拟合比以前要好一些了。注意到红色的曲线(拟合轮廓线)和黑色的曲线(原始数据轮廓线)靠得更近了。但是为了更好地考察拟合的好坏，我们需要使用统计数据，也就是我们现在要讨论的内容。

技术介绍: 以下技术注释将简短地描述拟合过程是如何实现的。这些信息可以更好地帮助用户理解如何调整影响拟合的参数。如果不想了解这些细节，请直接跳过。

- 拟合过程首先找到尚未分裂的细胞群在哪里。用户可以手动设置来寻找这些峰值，但该步骤完全可以自动进行，如下所述。在某些情况下，用户还是需要自己做一些设置，因为选中的细胞群也许已经不再包括那些尚未分裂的细胞了。
- 找到未分裂的细胞群后，该模型会寻找荧光值相对降低了50%的那些细胞群。因为不是所有实验均按原理进行，模型会从50%这个数值开始，但也会左右稍微移动一下来锁定真正的数据峰。用户可以通过使用**Same Peak Ratio for All Peaks (为所有数据峰选择相同的比率)** ❸ 选项来控制该操作(图T20.15)。
- 为找到一个数据峰，拟合模型在对比未分裂细胞基础上会做出一些假设。用户也可以控制这些设置，例如选中或取消选中**Same CV for All Peaks(所有数据峰使用相同的变差系数)** ❷ 选项，如图T20.15中所示。
- 如果提供一个背景荧光数值，该模型可从所有计算中减去背景荧光。
- 因为算法使用实际的柱状图轮廓来进行拟合，柱状图数据不应该做平滑处理。只有在特殊情况下，例如当原始数据噪音信号过大时，才应该使用一点平滑处理，以使模型更好地拟合数据。
- 这些选项是为了让模型能够适用于更广泛的数据源和生物行为。因此，要获得最好的拟合，开始的正确设置很重要。在实践中，该过程常常是用尝试法，直到参数设置可提供最好的拟合为止。
- 我们有两种评估拟合好坏的方法；第一种方法是视觉观察，有一个整体感觉；第二种方法是拟合统计，也就是我们下面要讨论的内容。

11. 请选中**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Next (下一个)**命令，向下翻一个文件来到文件**003-T+DC 64to1 CSFE+ CD3PE+ SB.fcs**。

这时对柱状图的细胞分裂拟合应该看起来如图T20.17所示。注意，和前个文件不同，在这个样本中只有很少的细胞已经进行了分裂。



图T20.17 Proliferation Fit Model on Sample 003- T+DC 64to1 CSFE+CD3PE+SB.fcs (**针对**003- T+DC 64to1 CSFE+CD3PE+SB.fcs**文件的细胞分裂拟合模型**)

在某些情况下，用户想要使用对照柱状图中的未分裂的细胞峰的峰值。尽管在本例中我们不需要这个值，我们还是来学习一下这个功能。

12. 请选择**Insert(插入)→1D Plots(一维绘图)→Histogram(柱状图)**命令来插入一个新的柱状图(而非曲线拟合柱状图)。

13. 请在版面上想要添加柱状图的地方点击。

如果柱状图自动导入当前数据文件:

14.请选择**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Previous(前一个)**命令。

15. 请点击**Previous(前一个)**按钮两次，回退两个文件到对照文件**001- T only CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**。

16. 请把**Final T**门应用到柱状图上。

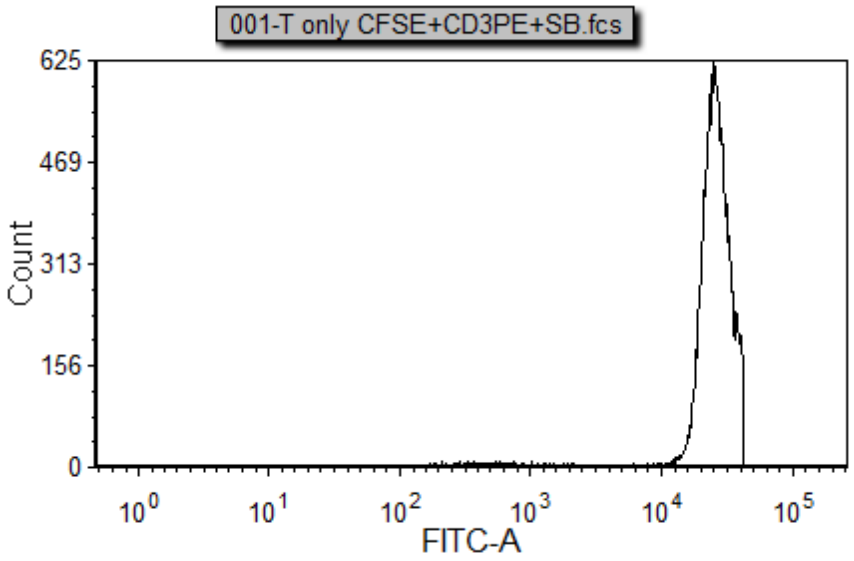
17. 请把x- 坐标参数修改为**FITC- A**。

如果柱状图没有自动导入并出现了**Select a Data File(选择数据文件)**对话框，那么:

- 请从**Select a Data File(选择数据文件)**对话框选中**001- T only CFSE+ CD3PE+ SB.fcs**。
- 请从**Open Histogram(打开柱状图)**对话框中的参数列表上选择**FITC- A**。
- 请从**Open Histogram(打开柱状图)**对话框上的下拉门列表中选中**Final T**。

18. 请把柱状图的x - 轴坐标设置为**Log(对数)**。

这时的对照柱状图看起来应该如图T20.18所示。



图T20.18 Control Histogram (**对照柱状图**)

19. 请右键点击文件**003- T+ DC 64to1 CSFE+ CD3PE+ SB.fcs**对应的细胞分裂柱状图，调出相关的弹出菜单。

20. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。

21. 请在对话框的左边选中**Proliferation(细胞分裂)→Fit Parameters(拟合参数)** ❶选项，如前图T20.15所示。

22. 请选择**Use Fixed Starting Generation(使用固定的起始细胞代)** ❹选项(图T20.15)。

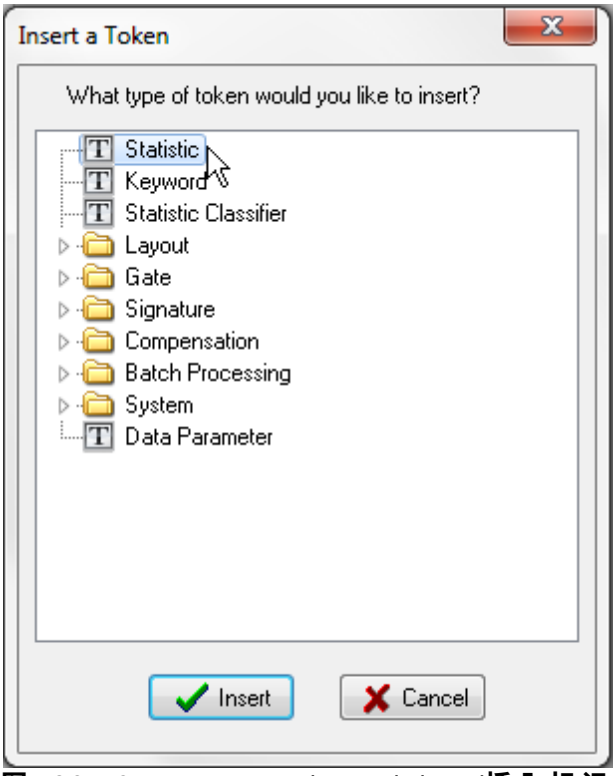
23. 请删除**Use Fixed Starting Generation(使用固定的起始细胞代)**字段中的内容。

24. 请点击**Use Fixed Starting Generation(使用固定的起始细胞代)**旁边的**Token(标记)** ❺按钮(图T20.15)。

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T20.19)。

25. 请在列表顶端选择**Statistic(统计)**，如图T20.19中的光标所示。

26. 请点击**Insert(插入)**。

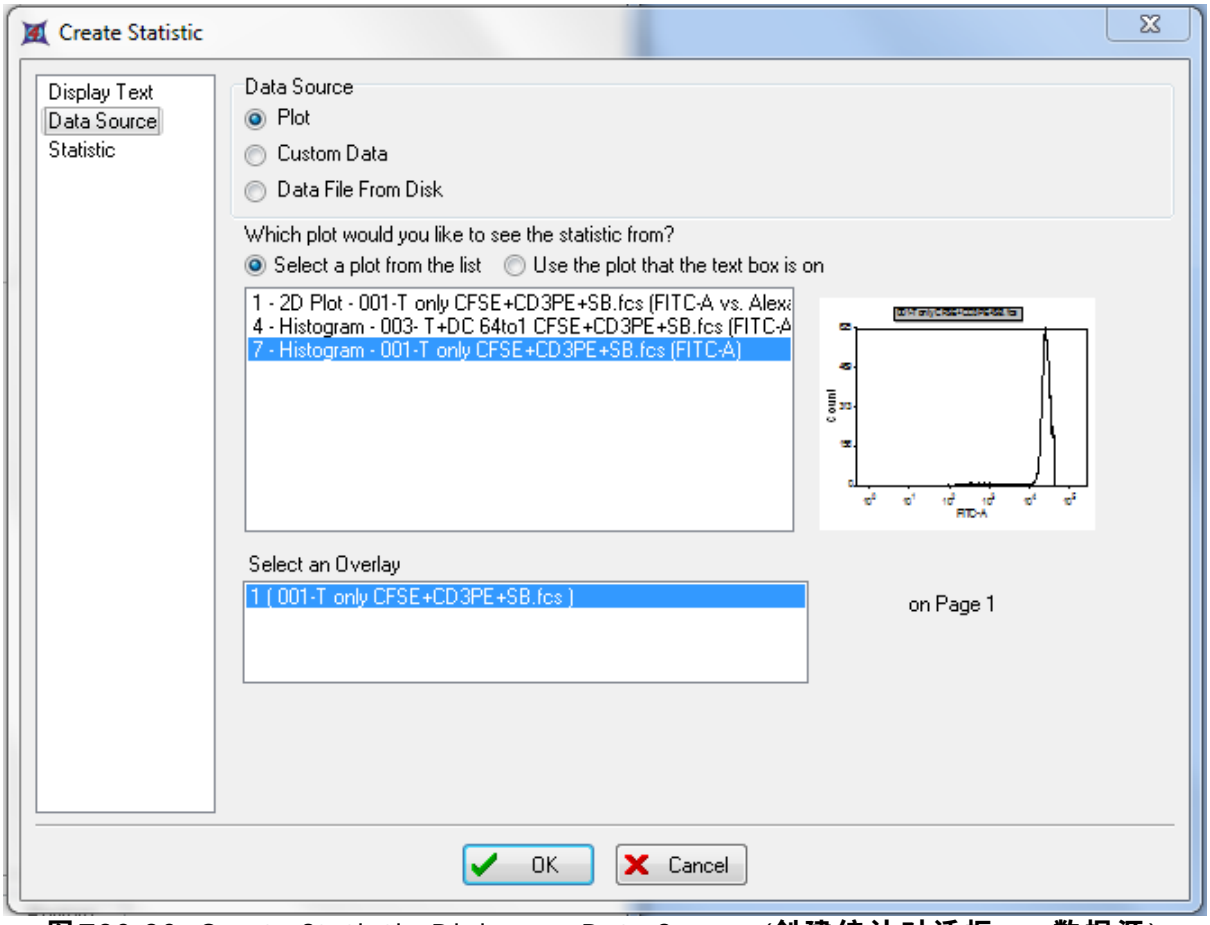


图T20.19 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框，**Data Source(数据源)**选项被选中(图T20.20)。

27. 请选中对照柱状图，如图T20.20中的蓝色高亮所示。注意到所选柱状图的预览出现在右方。

28. 请从左边的列表中选择**Statistic(统计)**列表选项(图T20.20)。



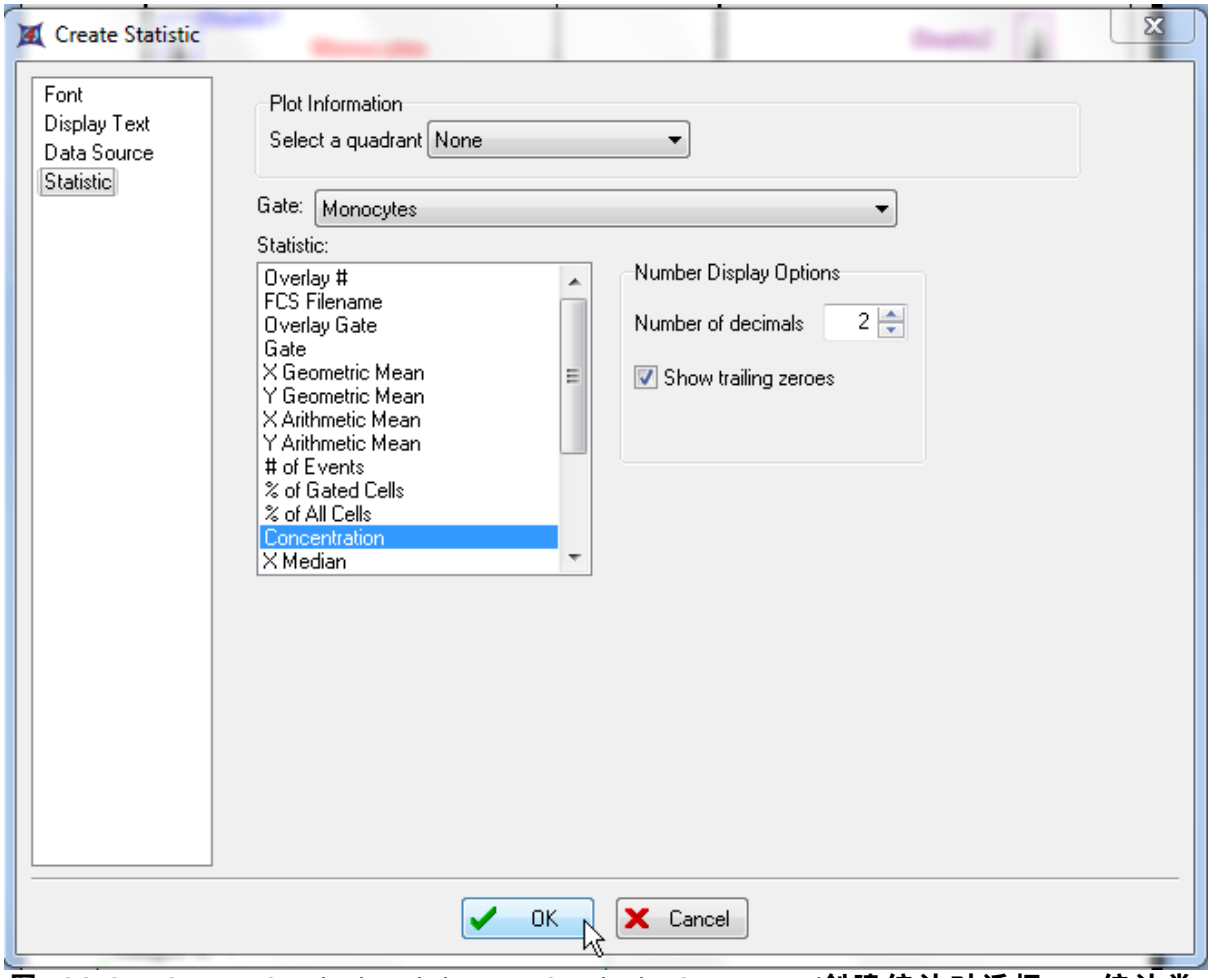
图T20.20 Create Statistic Dialog -- Data Source (**创建统计对话框 -- 数据源**)

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框中的**Statistic(统计)**页面(图T20.21)。

29. 请从**Statistic(统计)**选项中选择**Median(中间值)**，如图T20.21中的蓝色高亮所示。

因为柱状图已经应用了门，我们无需再指定门。

30. 请点击**OK**。



图T20.21 Create Statistic Dialog -- Statistic Category (**创建统计对话框 -- 统计类别选项**)

这时的**Formatting(格式化)**对话框将会显示**Use Fixed Starting Generation(使用固定的起始细胞代)**字段中含有我们刚刚创建的标记统计(柱状图的中间值)。

31. 请点击**OK**键来关闭**Formatting(格式化)**对话框。

这时的细胞分裂柱状图**003- T+ DC 64to1 CSFE+ CD3PE+ SB.fcs**将进行更新，显示曲线拟合算法已经使用了对照柱状图的中间值作为起始细胞代位置，而不是让曲线拟合算法计算起始细胞代细胞群的位置。

实际上拟合并未改变多少。这是因为曲线拟合算法正确地找到了细胞分裂样本中的起始细胞代。但在某些情况下，手动设置对照样本中的起始细胞代还是很重要的。而且有时在CFSE实验中，对照样本的信号峰的荧光值会和实验样本中的未分裂细胞的信号峰的荧光值有所偏差。这些偏差有时就已经可以让用户必须放弃使用对照柱状图来设置未分裂细胞的位置了。如在上面的技术介绍中提到的那样，选择正确的设置在取得可靠的拟合过程中非常关键。

36.20.3 *格式化细胞分裂柱状图*

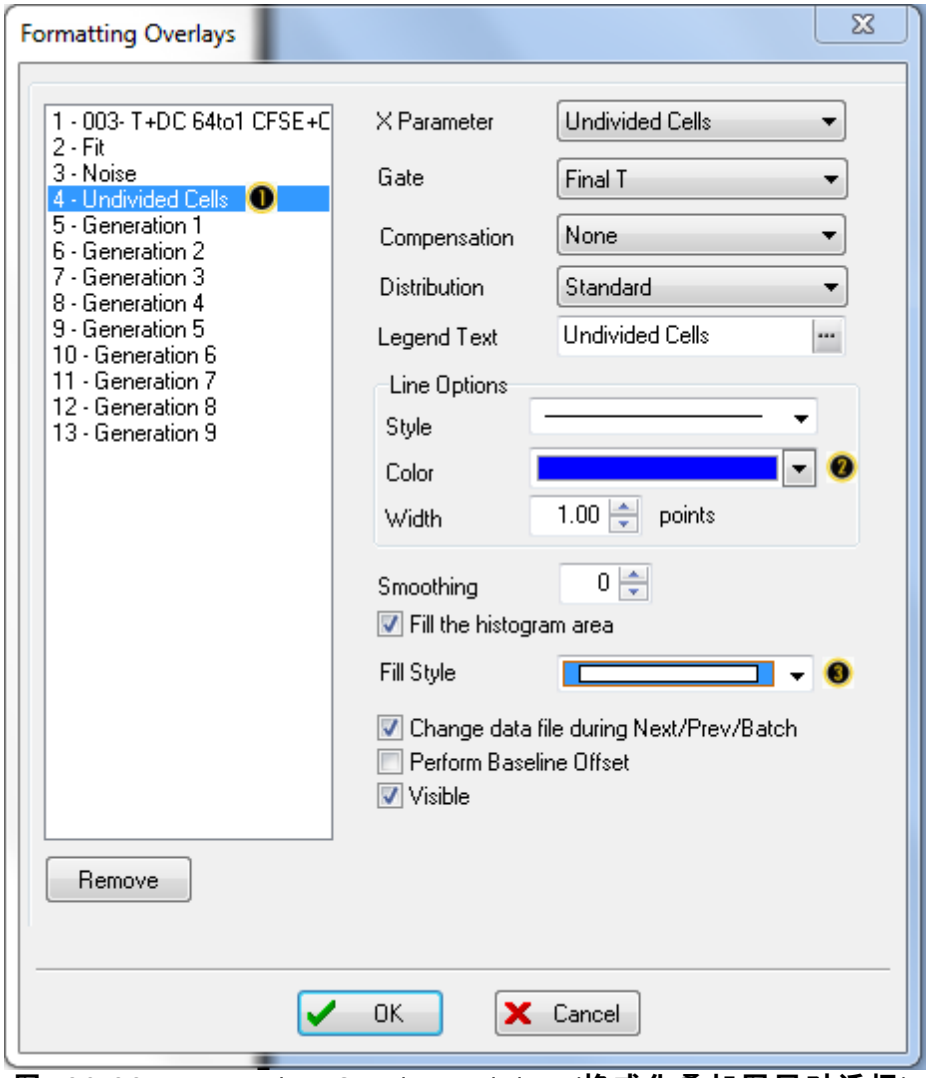
在本节中，我们将:

- 学习如何为细胞分裂曲线加上不同的颜色，以更好地查看用户感兴趣的细胞群。
- 学习如何创建曲线拟合统计。
- 学习如何对细胞分裂柱状图做平滑处理。

1. 请在细胞分裂柱状图上点击，将其选中。
2. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

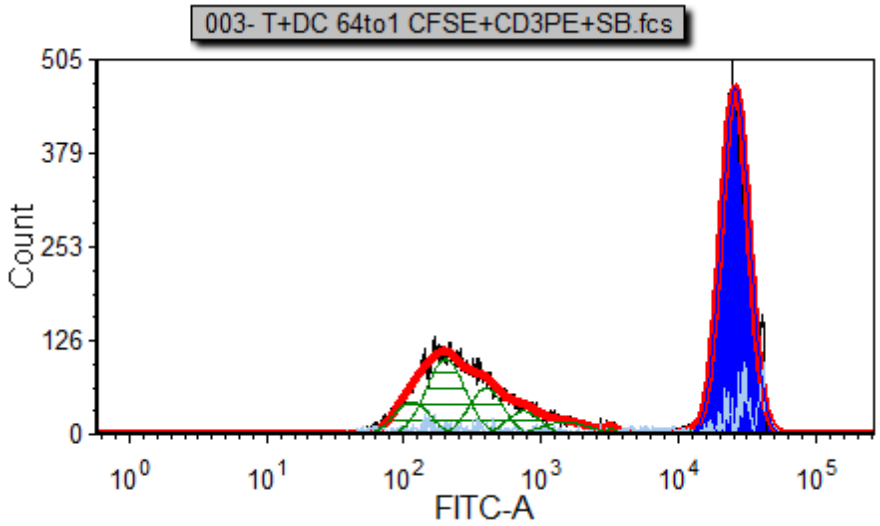
这时会出现**Formatting Overlays (格式化叠加图层)**对话框(图T20.22)。

3. 请从左边选中**Undivided Cells(未分裂的细胞)** ❶叠加图层(图T20.22)。
4. 请从**Color(颜色)**下拉列表中选中**Blue(蓝色)** ❷。
5. 请从**Fill Style(填充样式)**下拉列表中选中第一个选项，一个完全填充的矩形 ❸。
6. 请点击**OK**。



图T20.22 Formatting Overlays Dialog (**格式化叠加图层对话框**)

这时会出现细胞分裂柱状图，其中蓝色的信号峰代表未分裂的细胞(图T20.23)。这让用户可以很容易地确认拟合峰的正确位置。用户可以通过这种方式修改一个或所有的拟合元素。



图T20.23 Proliferation Histogram Formatted to Show Undivided Cells in Blue (**格式化的细胞分裂柱状图显示蓝色的未分裂细胞**)

RMS error(均方根误差)以及**R- Chi Square(R- 卡方)**是两个衡量拟合好坏的统计数据。在设置细胞分裂拟合参数时，注意一下参数修改如何影响这两个统计数据是非常重要的。从数学理论上说，能够使得**RMS error(均方根误差)**以及**R- Chi Square(R- 卡方)**最小的设置组合是最好的拟合。我们现在来演示一下和细胞分裂模型相关的统计。

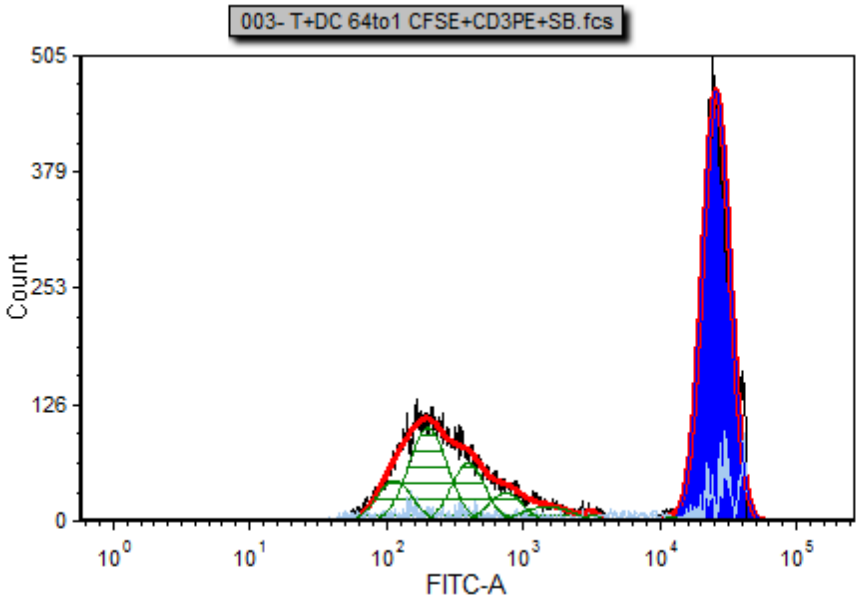
7. 请右键点击细胞分裂柱状图，调出相关弹出菜单。
8. 请从弹出菜单上选中**Statistics(统计)→Proliferation Fit Statistics(细胞分裂拟合统计)**。

这时会出现**Proliferation Fit Statistics(细胞分裂拟合统计)**窗口。

9. 请右键点击细胞分裂柱状图，调出相关弹出菜单。
10. 请选中**Statistics(统计)→Proliferation Population Statistics(细胞分裂细胞群统计)**。

这时会出现**Proliferation Population Statistics(细胞分裂细胞群统计)**窗口。

11. 请移动一下这两个统计窗口，让细胞分裂柱状图处于可见状态(图T20.24)。



Division Index	Proliferation Index	% Divided	Peak Ratio	# of Fitted Cells	# of Original Cells	RMS Error	R-Chi Square	Starting Generation Mean	Background Noise
48.81	1.71	1.48	0.52	37037.00	21602.90	12.01	20.88	25703.10	0.00

Generation	Peak Channel	Peak Value	Log Std Dev	Log CV	Peak Ratio	# of Cells
Undivided Cells	25674.32	467.00	25.79	3.07	0.00	21284.00
Generation 1	11985.77	5.00	16.27	2.08	0.47	113.00
Generation 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Generation 3	3120.28	7.00	13.09	1.93	0.00	147.00
Generation 4	1315.98	16.00	44.94	7.28	0.47	1244.00
Generation 5	715.46	31.00	31.58	5.62	0.50	1680.00
Generation 6	379.22	62.00	31.51	6.15	0.53	3437.00
Generation 7	198.46	101.00	36.37	7.92	0.51	6435.00
Generation 8	107.90	44.00	32.55	7.85	0.57	2508.00
Generation 9	0.00	0.00	n/a	n/a	0.59	0.00

图T20.24 Proliferation Histogram with the Proliferation Fit Statistics and Population Statistics (**细胞分裂柱状图以及细胞分裂拟合统计和细胞群统计**)

我们现在要来把细胞分裂柱状图进行平滑处理。

12. 请点击细胞分裂柱状图，将其激活。

13. 请选中 **Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

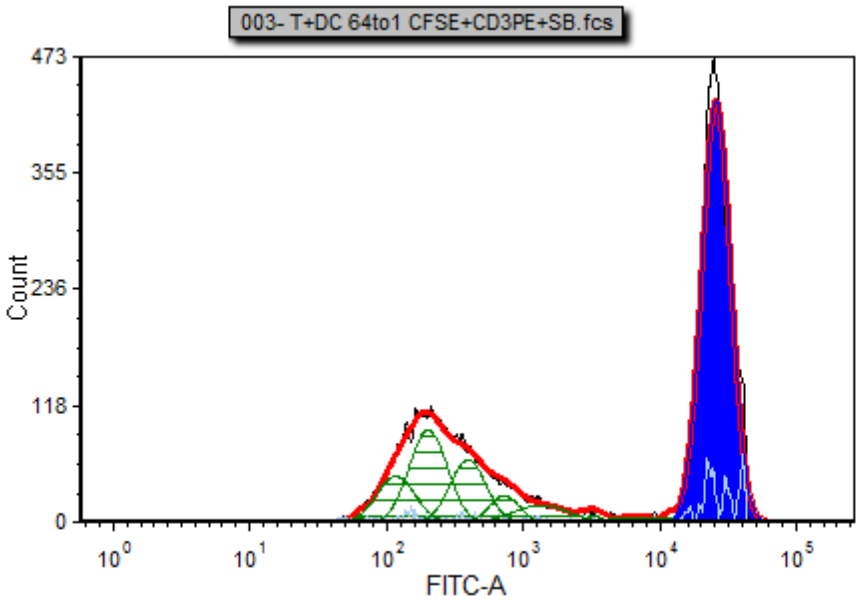
这时会出现**Formatting Overlays(格式化叠加图层)**对话框，如图T20.22所示。

注意到，在默认情况下，左手边的第一个叠加图层处于选中状态。这将是我们要进行平滑处理的叠加图层，因为其它的叠加图层都是从拟合算法中计算出来的。

14. 请把**Smoothing(平滑度)**增加到**2**。

15. 请点击**OK。**

这时细胞分裂柱状图以及统计数据已经进行了更新，来显示这个平滑处理(图T20.25)。黑色的原始数据轮廓线平滑了很多，但是拟合曲线基本没变。尽管这一处理给出了一个更好的视觉呈现，但这一功能要谨慎使用，因为它会影响使用原始数据获得的统计数据，因而进一步影响对数据的表述。



Division Index	Proliferation Index	% Divided	Peak Ratio	# of Fitted Cells	# of Original Cells	RMS Error	R-Chi Square	Starting Generation Mean	Background Noise
36.18	1.75	2.14	0.52	36964.00	20951.71	9.86	43.65	25703.10	0.00

Generation	Peak Channel	Peak Value	Log Std Dev	Log CV	Peak Ratio	# of Cells
Undivided Cells	25674.32	428.00	27.10	3.22	0.00	20504.00
Generation 1	11248.55	5.00	8.79	1.13	0.45	75.00
Generation 2	5251.26	5.00	67.47	9.18	0.57	528.00
Generation 3	3080.92	7.00	16.84	2.48	0.48	191.00
Generation 4	1159.07	17.00	53.27	8.75	0.42	1573.00
Generation 5	706.43	27.00	28.40	5.07	0.54	1313.00
Generation 6	384.06	63.00	33.80	6.60	0.54	3714.00
Generation 7	198.46	94.00	35.29	7.68	0.51	5814.00
Generation 8	110.67	46.00	36.19	8.69	0.58	2915.00
Generation 9	62.51	5.00	10.75	2.93	0.54	76.00

图T20.25 Proliferation Histogram and Associated Statistics with Smoothing (**细胞分裂柱状图以及和平滑处理相关的统计**)

36.21 动力学

很多流式细胞仪可以在FCS文件中记录时间参数，用户因而可以进行动力学实验。动力学实验在考察DNA含量变化、抗体结合以及钙离子运输随时间变化的实验中非常有用。用户通过在样本中添加一种化学物质(一般来说是一种药剂)并观察探测物的流入、流出以及与其它物质的结合随时间的变化情况，可以搜集非常特殊的信息。FCS Express为用户提供了一种简单、友好的显示和分析动力学数据的方法 ;分析过程改变时，绘图会跟着自动更新。

在本章教程中，我们将演示如何:

- 创建参数数学公式来查看比值。
- 创建门以及为**Kinetics Plots(动力学绘图)**显示统计参数。
- 用绘图显示平均数、几何平均数、中间数、超过阈值百分比以及计数值。
- 叠加多个**Kinetics Plots(动力学绘图)**数据层。
- 对**Kinetics Plot(动力学绘图)**进行格式化来查看有着正确分辨率的数据。

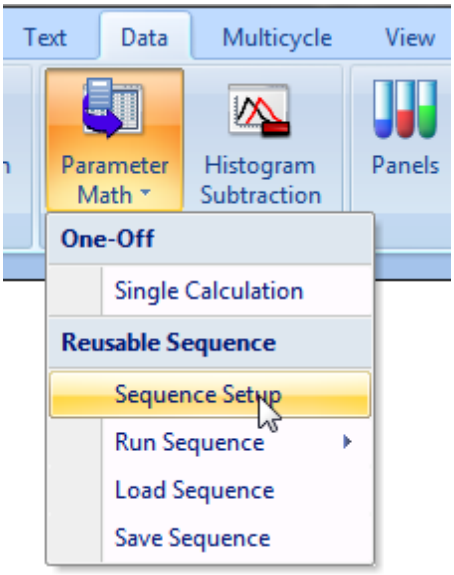
36.21.1 *使用参数数学*

在检测动力学数据过程中常常要来定义一个比值。这个比值可能是两个染色剂之间的比值，有可能是同一个染色剂在两个不同发射波长上的比值。FCS Express的参数数学功能可以让用户定义在分析中有可能用到的简单比率或者复杂的公式操作。FCS Express将可以计算和显示**实际的比值**，而非一些其它软件中用到的人为定义的成倍整数。

在这节中，我们将学习如何创建在动力学绘图中使用的参数数学公式。

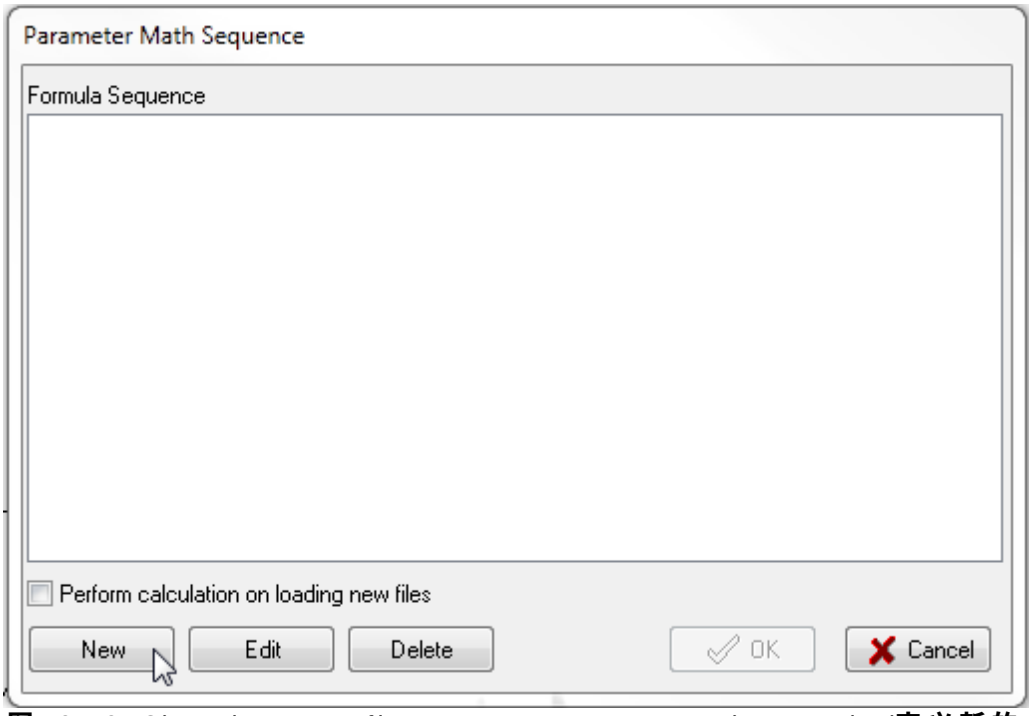
在本教程学习过程中，用户可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库 510里找到。数据文件**KineticsTutorial.fey**、**kinetics10.010**以及**kinetics25.025**已经被嵌入到了将要在这里使用的版面中。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请从**Load Layout(导入版面)**对话框选中位于*FCS Express样本数据目录*中的**KineticsTutorial.fey**版面。
3. 请选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Sequence Setup(设置序列)**(图T21.1)。



图T21.1 Selecting the Parameter Math Sequence Setup Command (**选中参数数学序列设置命令**)

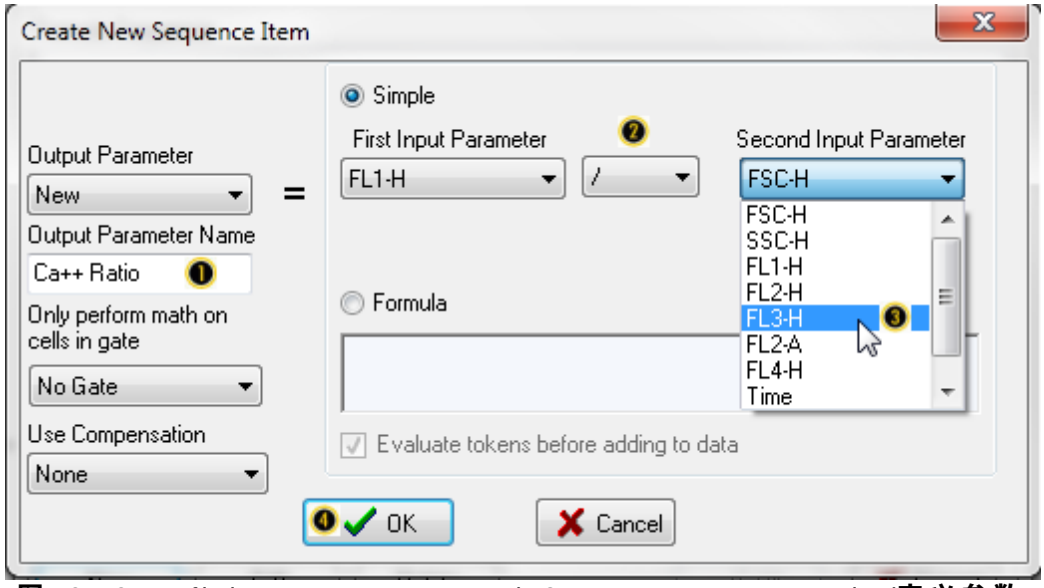
4. 请在**Parameter Math Sequence(参数数学序列)**对话框中选中**New(新建)**(图T21.2)来定义一个新的公式。



图T21.2 Choosing to Define a New Parameter Math Formula (**定义新的参数数学公式**)

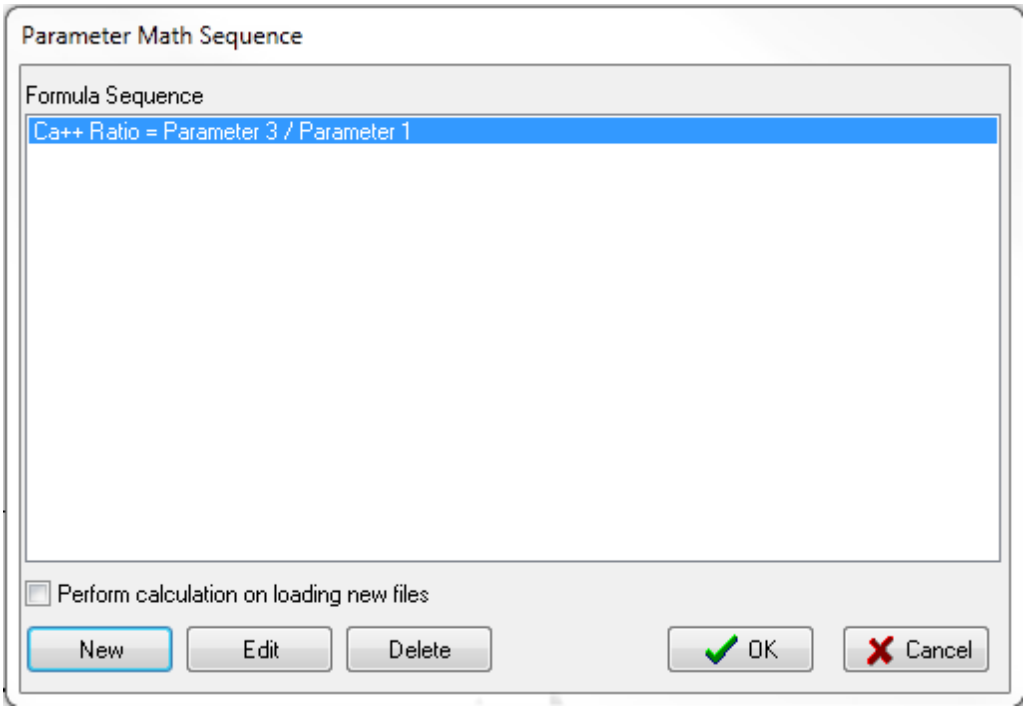
以下步骤均针对图T21.3。

5. 请在**Output Parameter Name(输出参数名称)**选框中输入**Ca++ Ratio(钙离子比率)** ❶。
6. 请选中除法数学运算符"**/** ❷。
7. 请把**Second Input Parameter(第二个输入参数)**改为**FL3- H** ❸。
8. 请点击**OK** ❹。



图T21.3 Defining a Parameter Math Sequence Item Formula (**定义参数数学序列公式**)

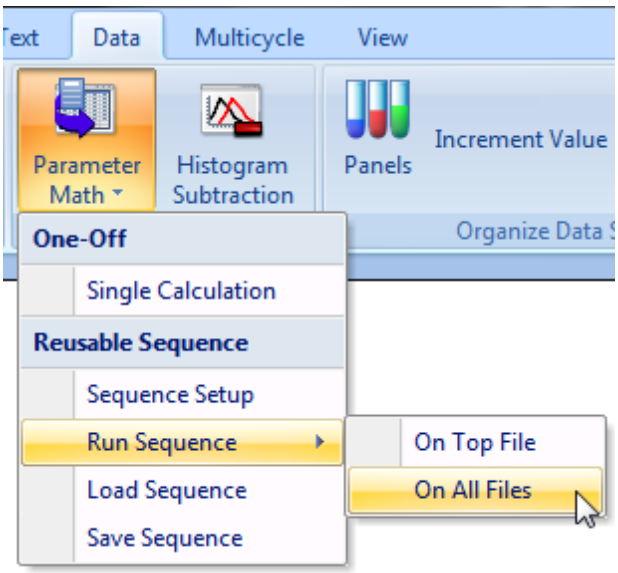
这时的**Parameter Math Sequence(参数数学序列)**对话框将显示我们刚才定义的公式序列(图T21.4)。



图T21.4 Parameter Math Sequence Dialog with Formula Displayed (**显示公式的参数数学序列对话框**)

9. 请点击**OK**。

10. 请选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Run Sequence(运行序列)→On All Files(应用到所有文件)**命令来应用这个公式(图T21.5)。



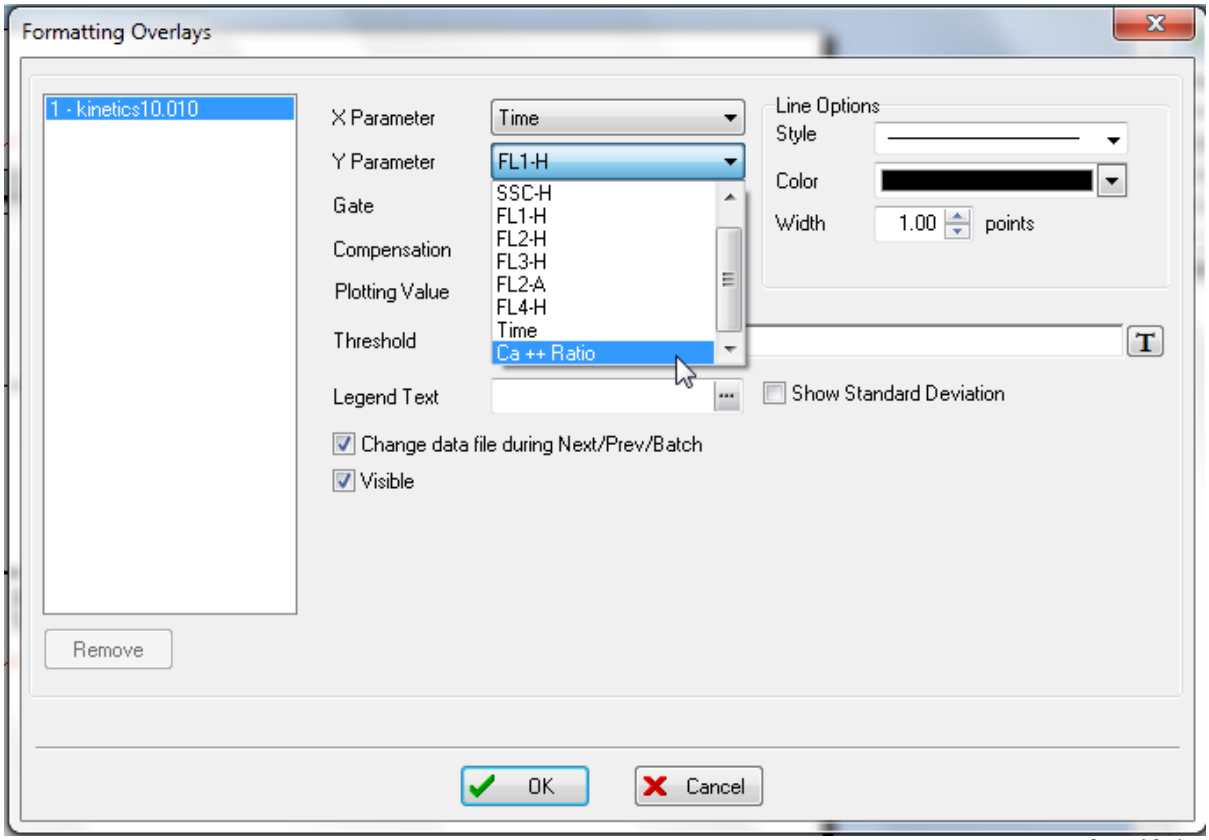
图T21.5 Applying the Parameter Math Formula to All Files (**把参数数学公式应用到所有文件上**)

11. 请在键盘上按下**Ctrl+ A,** 选中所有绘图。

12. 请选择**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

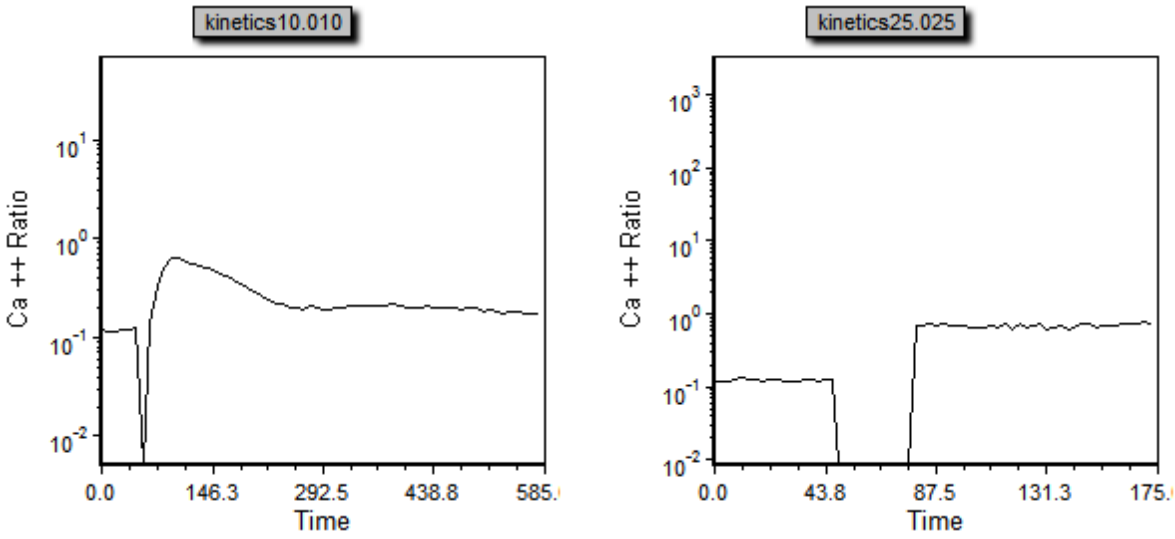
13. 请在**Y- Parameter(Y- 参数)**的下拉列表中选中**Ca+ + Ratio(钙离子比率)**(也就是参数数学定义的公式)(图T21.6)。

14. 请点击**OK**。



图T21.6 Changing the Y Axis to the Ratio Defined by the Parameter Math (**把Y轴参数改为由参数数学定义的比率**)

版面上的绘图现在应该看起来如图T21.7所示。因为参数数学计算的第一个参数是对数参数，FCS Express会假定新创建的参数也应该是一个对数参数。这种假设在一般情况下是对的，但在本例子中并非如此。因为绘图显示实际的比率数值，我们需要来调整数值设置以在线性坐标系中显示数据。



图T21.7 Ca++ Ratio vs Time (**钙离子比率与时间图**)

15. 请点击**Ctrl+ A**，选中所有绘图。

16. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Axes(数轴)**命令。

以下步骤均针对图T21.8。

17. 请从左边的列表中选择**Y- Axis(Y- 轴)** ❶。

18. 请在**Range(范围)** ❷选项处取消对**Automatic(自动)**的勾选。

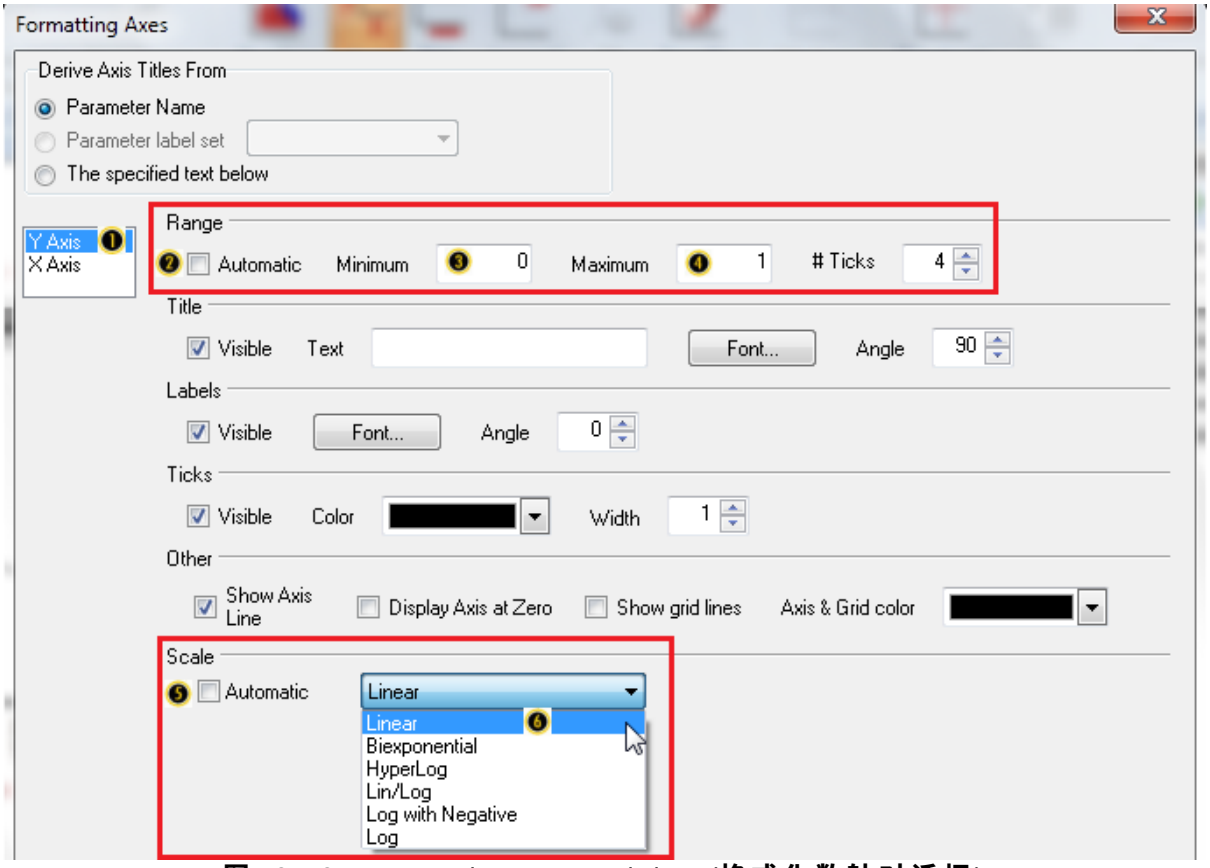
19. 请把范围中的**Minimum(最小值)**设置为0 。

20. 请把范围中的**Maximum(最大值)**设置为1 。

21. 请在**Scale(坐标系)** ❺下不要点选**Automatic(自动)**。

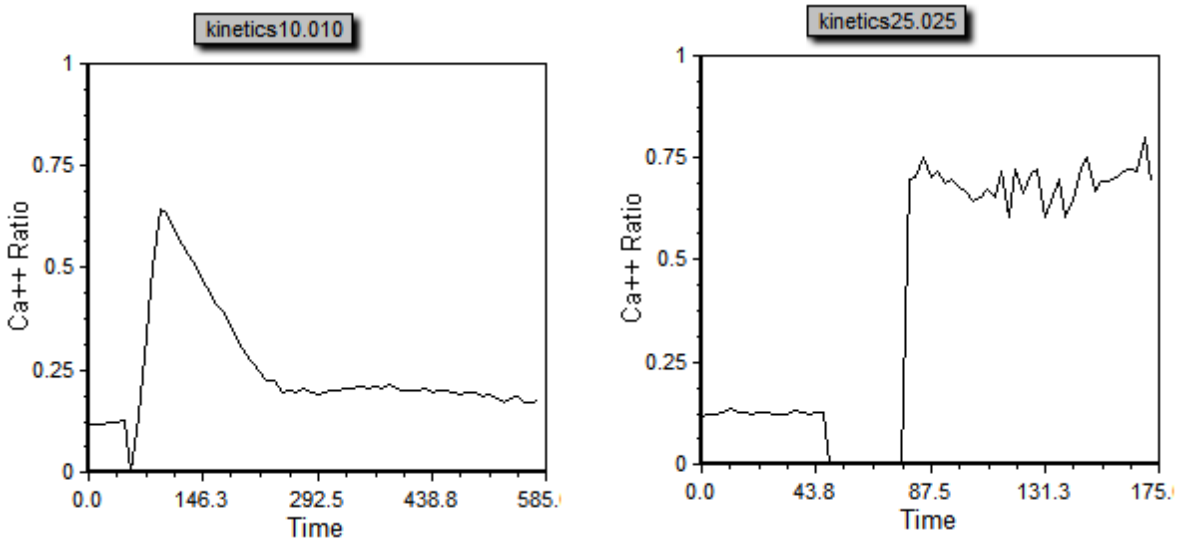
22. 请从下拉列表中选择**Linear(线性)** ❻。

23. 请点击**OK**。



图T21.8 Formatting Axes Dialog (**格式化数轴对话框**)

这时版面中的绘图应该看起来如图T21.9所示。



图T21.9 Plots Scaled Correctly to Display the Ca++ Ratio (**正确调整了坐标系的绘图显示**Ca++**比率**)

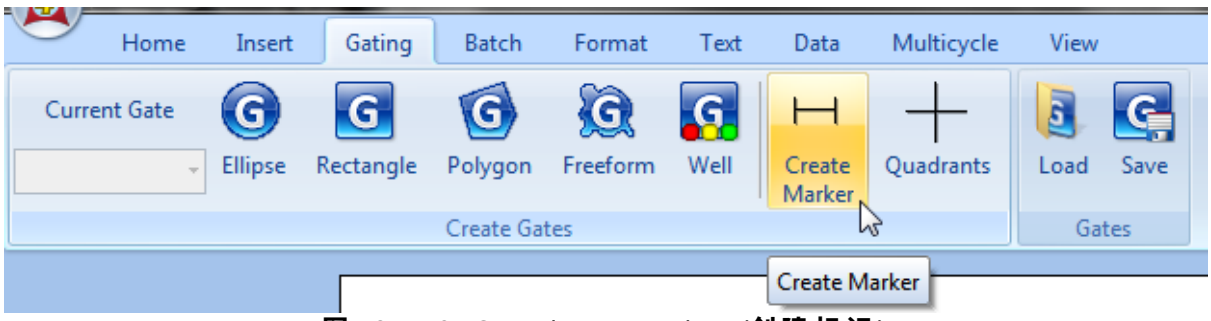
36.21.2 *应用门操作以及统计*

在这一节中，你将会学到如何把一个门应用到动力学绘图上以及查看针对门的动力学统计。

用户在跟着本教程练习过程中可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库510里找到。在这里我们会使用数据文件**KineticsTutorial.fey**、**kinetics10.010**以及**kinetics25.025**。在开始之前，请先完成使用参数数学1031一节中的步骤。

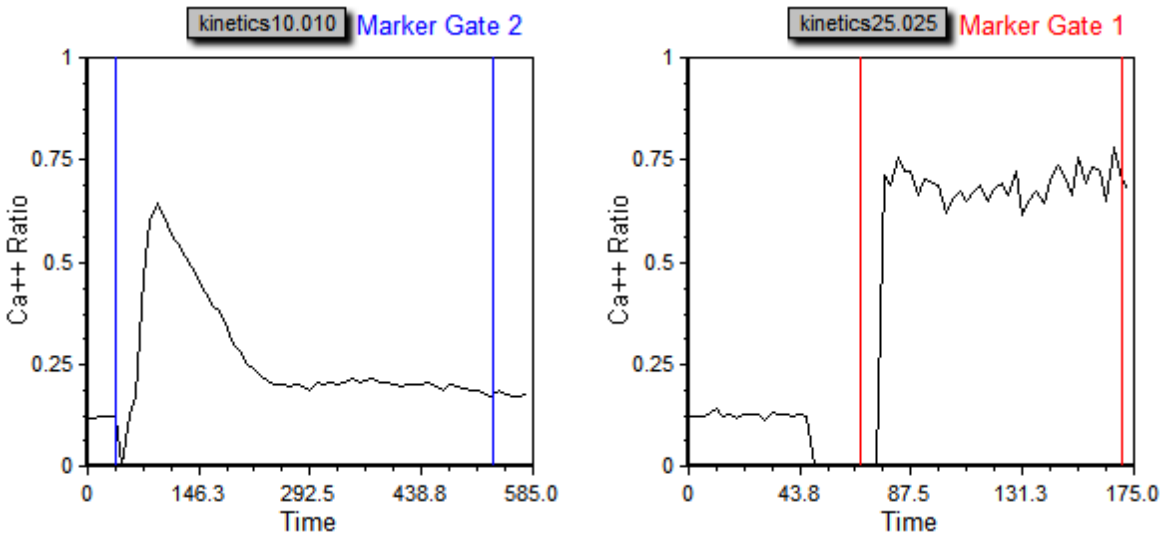
注: 要获得动力学绘图的统计数据，用户必须在时间轴上创建一些一维门。用户可以创建多个一维门，FCS Express将为所有门计算各种统计数据。

1. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Create Marker(创建标识)**(图T21.10)。



图T21.10 Creating a Marker (**创建标识**)

2. 请在样本**kinetics25.025**上创建一个类似于图T21.11中的门。
3. 请把门命名为"Marker Gate 1(标识门1)"。
4. 请选中**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Create Marker(创建标识)**命令。
5. 请在样本**kinetis10.010**上创建一个类似于图T21.11中的门。
6. 请把门命名为"Marker Gate 2(标识门2)"。

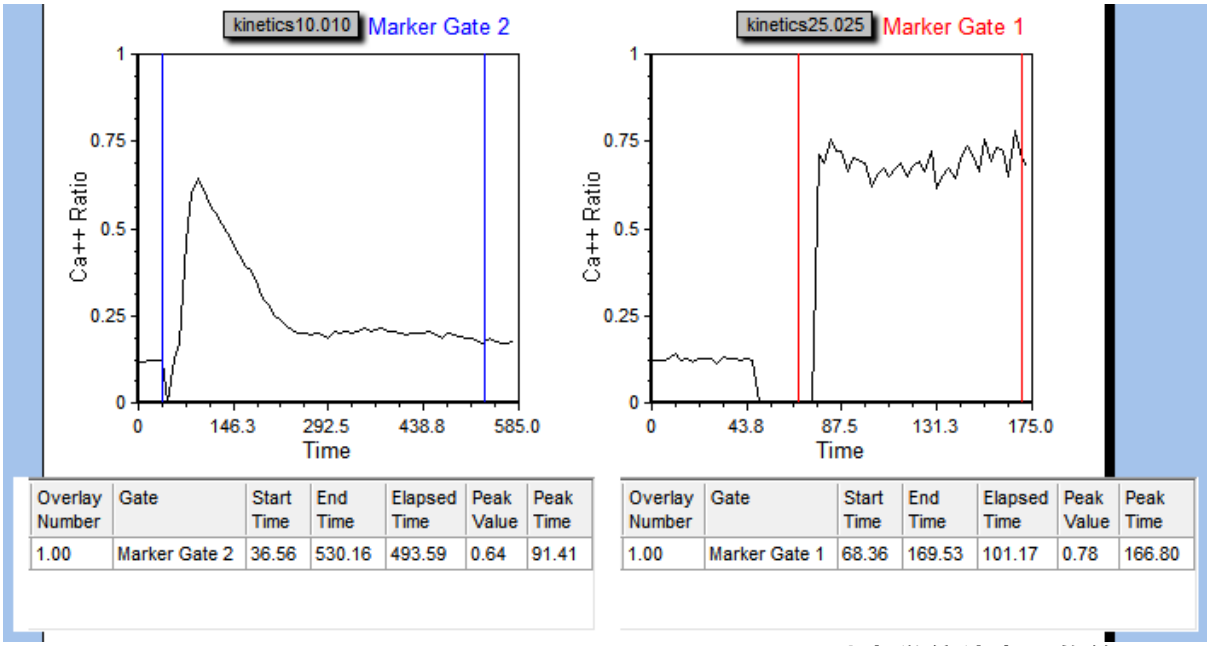


图T21.11 Kinetics Plots with 1D Gates Applied (**应用一维门的动力学绘图**)

7. 请右键点击**kinetics25.025**绘图。
8. 请从弹出菜单上选择**Kinetics Statistics(动力学统计)**。这时在绘图上将出现**Kinetics Statistics(动力学统计)**窗口。
9. 请把**Kinetics Statistics(动力学统计)**窗口移到版面上一个方便操作的位置上。
10. 请在**kinetics10.010** 绘图上右键点击。
11. 请从弹出菜单上选择**Kinetics Statistics(动力学统计)**。这时在版面上将出现**Kinetics Statistics(动力学统计)**窗口。
12. 请把**Kinetics Statistics(动力学统计)**窗口移到版面上一个方便操作的位置上。

这时的版面应该看起来如图T21.12所示。请右键点击**Kinetics Statistics(动力学统计)**窗口，在动力学统计窗口上用户可以查看多至14个动力学统计数据(图T21.13)。这些值会随着

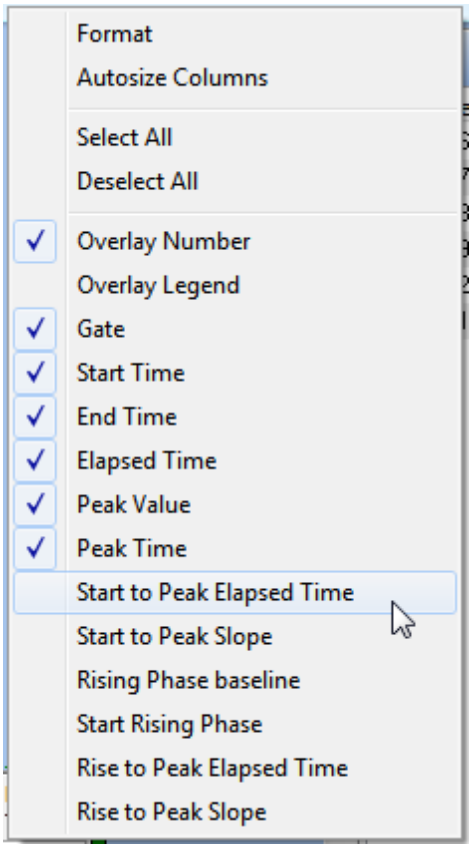
门的改变而自动进行调整。



Overlay Number	Gate	Start Time	End Time	Elapsed Time	Peak Value	Peak Time
1.00	Marker Gate 2	36.56	530.16	493.59	0.64	91.41

Overlay Number	Gate	Start Time	End Time	Elapsed Time	Peak Value	Peak Time
1.00	Marker Gate 1	68.36	169.53	101.17	0.78	166.80

图T21.12 Plots with Kinetics Statistics Windows (**显示动力学统计窗口的绘图**)



图T21.13 Kinetics Statistics Pop-up Menu (**动力学统计弹出菜单**)

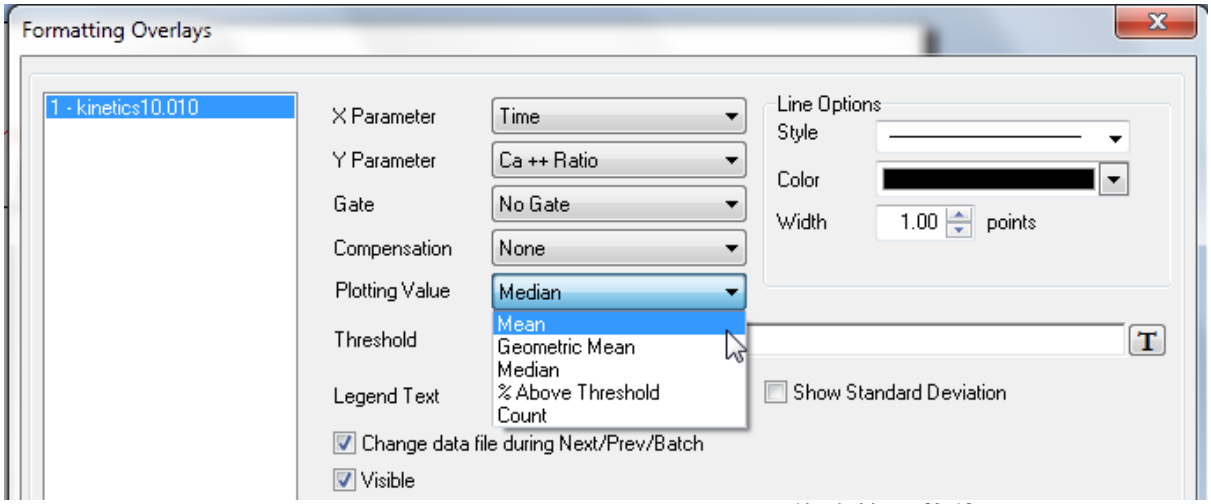
36.21.3 *绘图数值*

在动力学绘图中默认的绘图数值是"中间数"参数，但很多情况下我们也想查看其它参数，例如平均值、几何平均值、计数值以及在阈值之上的百分比。在这一节中，我们将学习如何修改这些绘图数值以及如何根据门/ 标记来设定阈值。

本节中使用的样本数据文件可在教程样本数据库510里找到。在这里要用到的版面文件是**KineticsTutorialParameterSection.fey**。版面中已经嵌入了**kinetics10.010**以及**kinetics25.025**样本数据，并且应用了Ca+ + 比率参数数学公式。

1. 请点击**kinetics10.010** 绘图，将其选中。
2. 请右键点击绘图，从弹出菜单上选中**Format(格式)**。
3. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

4. 请把**Plotting Value(绘图数值)**从**Median(中间数)**改为**Mean(平均值)**(图T21.14)。



图T21.14 Changing the Plotting Value (**修改绘图数值**)

5. 请移动一下**Formatting Overlays(格式化叠加图层)**对话框，让**kinetics10.010**绘图处于可见状态。

6. 请点击**Preview(预览)**。

这时绘图会进行更新，在Y- 轴上显示Mean Ca+ + Ratio(平均钙离子比率)。用户可以重复第1步到第6步来查看任何绘图数值。

7. 请把**Plotting value(绘图数值)**修改为**Count(计数值)**。

8. 请点击**Preview(预览)**。

选中计数值将对每个单位时间内所获得的事件数进行作图。这在进行质量控制、确保事件发生率始终一致时非常有用。注意到因为细胞数较少，数据中有很多波峰以及波谷。我们现在要修改一下分辨率，以便在恰当的分辨率下查看**#Events/ Time(事件数/ 时间)**。

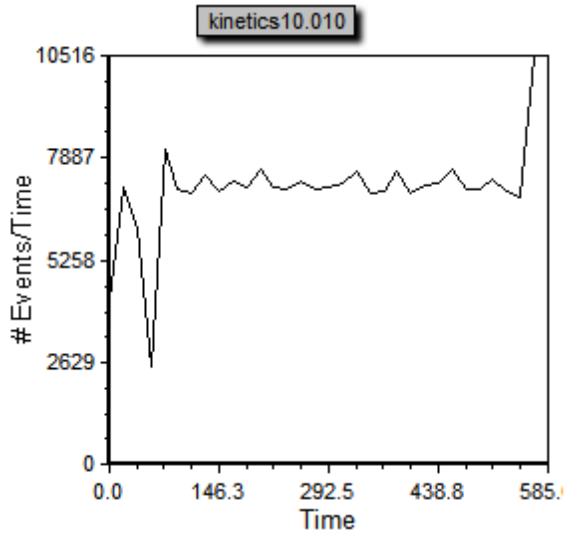
9. 请选中**Kinetics Options(动力学选项)→Binned Plot Specific Options(区间化绘图特定选项)**类别选项(在**Formatting(格式化)**对话框中)。

10. 请从**Resolution(分辨率)**下拉列表中把Y- 轴分辨率改为**32x32**(请确保在列表中选中了Y- 轴)。

11. 请点击**OK**。

这时的绘图应该看起来如图T21.15所示。计数值与时间图是查看样本流速的有效方法(该图可以显示样本是在何时被放在设备上的或在何时被从设备上拿走的，它也可以显示流速为何加快或降低)。请注意在数据采集开始时的波谷，它代表着样本被拿去加药 还有采集最后的尖

峰，那时流速增加，因为细胞在数据采集过程中沉降而使细胞浓度增加。

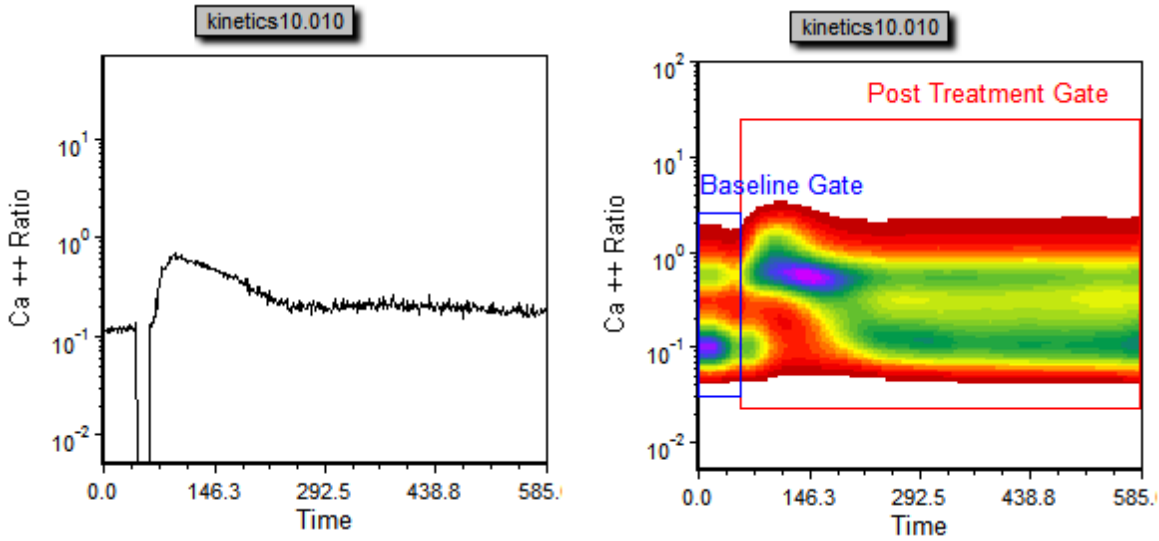


图T21.15 Kinetics Plot Displaying Count vs. Time (**动力学绘图显示计数值对时间图**)

现在我们要在一个新页以及新绘图上设置一个阈值，来把**% Above Threshold(高于阈值百分比)**作为绘图数值。

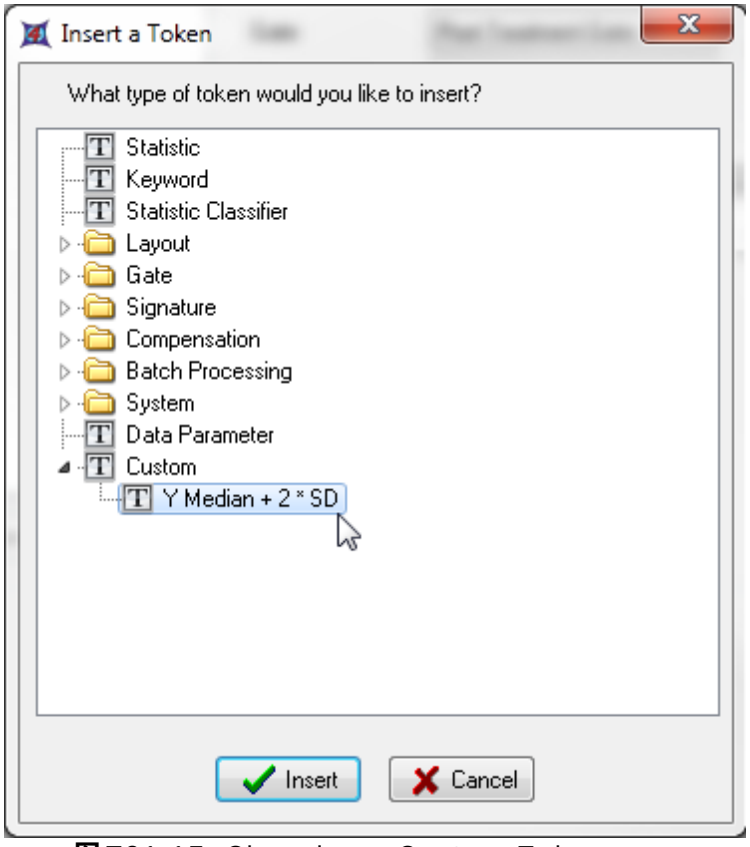
12. 请从页面标签卡上选择**% Above Threshold(高于阈值百分比)**。

这时用户会看到一个针对**kinetics10.010**的**Kinetics Plot(动力学绘图)**以及一个**Density Plot(密度图)**，其中**Density Plot(密度图)**上有两个门(图T21.16)。门的应用如下: **Baseline(基线门)**包括加入化学药物之前的事件。从门中获得的统计数据将作为绘制% Above Threshold(阈值以上百分比)绘图的基线值。**Post Treatment Gate(药物处理之后门)**包括了加入化学药物之后的事件。我们现在要对这个门中荧光信号高于基线的细胞百分比进行作图。



图T21.16 Kinetics and Density Plots with Thresholding Gates Applied (**动力学绘图以及应用了边界值门的密度图**)

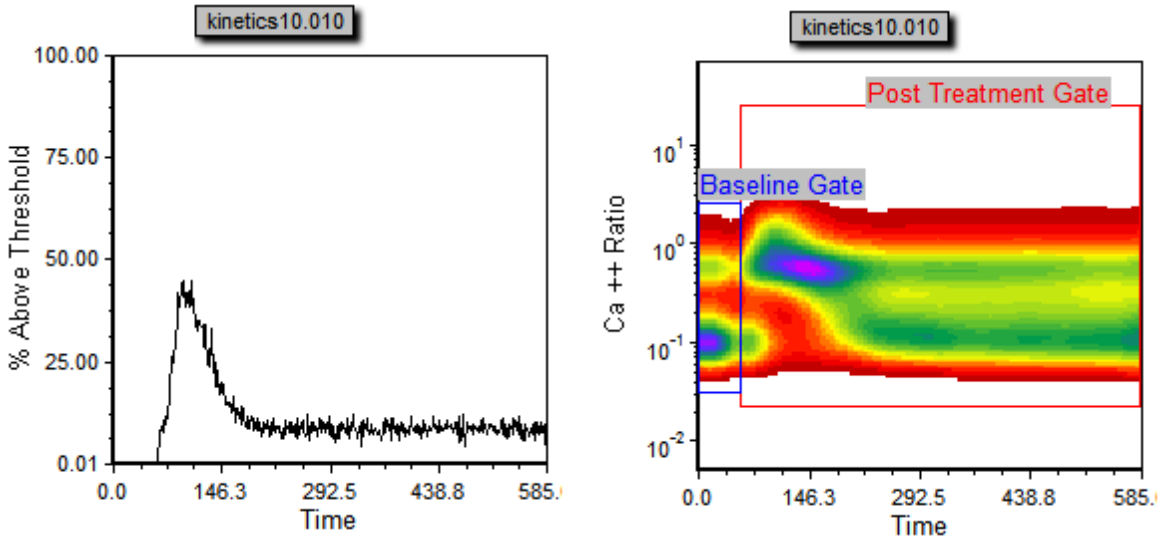
13. 请选中左边的动力学绘图。
14. 请右键点击动力学绘图。
15. 请从弹出菜单上选中**Format(格式)**。
16. 请选中**Overlays(叠加图层)**类别选项。
17. 请从**Gate(门)**下拉列表中选中"Post Treatment Gate(药物处理后)"门。
18. 请从**Plotting Values(绘图数值)**下拉列表中选中**% Above Threshold(阈值以上百分比)**。
19. 请在**Threshold(阈值)**字段点击标记图标T。
20. 请从**Insert a Token(插入标记)**对话框中的**Custom(自定义)**中选择"**Y Median + 2 * SD(Y中间值 + 两倍的标准偏差)**"(图T21.17)。*(Y中间值 + 两倍标准偏差自定义标记代表基线门的Y中间值加上两个基线门中的Y中间值的标准偏差。)*



图T21.17 Choosing a Custom Token as a Threshold Value (**选中自定义标记作为边界值**)

21. 请点击**OK**。

这时版面中的绘图应该看起来如图T21.18所示。绘图中现在显示的是在"药物处理后"门中的、Ca+ + 比率参数高于Y- 中间值加上两倍标准偏差的事件百分比。



图T21.18 Kinetics Plot Displayed as % Above Threshold (**动力学绘图显示为边界值以上百分比**)

36.21.4 *叠加图层以及格式化动力学绘图*

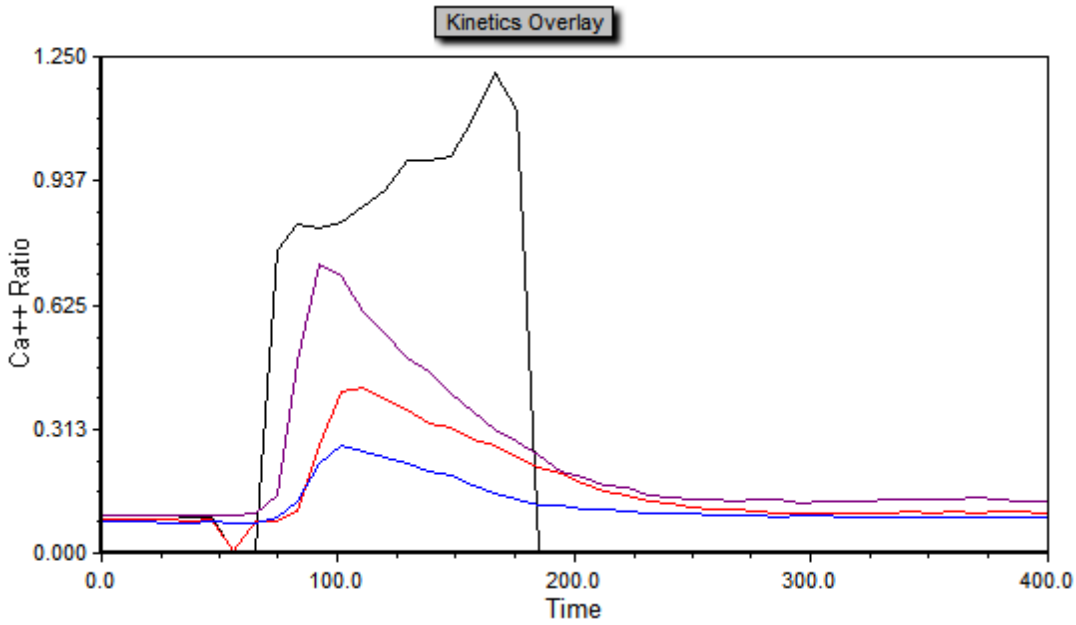
我们常常希望在一个绘图上看到多个样本，以查看样本的变化或者把实验样本和对照进行比较。在这一节中，我们将学习如何叠加多个动力学样本，如何把参数数学应用到叠加图层上，以及如何对叠加图层进行格式化以更方便地查看数据。

用户在跟着本教程练习过程中可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库510里找到。在本节中我们将用到**KineticsTutorialFormatting.fey**、**kinetics8.008**、**kinetics9.009**、**kinetics10.010**以及**kinetics25.025**数据文件。

1. 请选中 **Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请从**Load Layout(导入版面)**对话框选中位于*FCS Express样本数据目录*中的**KineticsTutorialFormatting.fey**版面。
3. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
4. 请点击图标，把数据文件添加到数据列表中。
5. 请选中*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录中的**kinetics8.008**、**kinetics9.009**、**kinetics10.010**以及**kinetics25.025**文件。
6. 请右键点击标记为**Kinetics Overlay(动力学叠加图层)**的绘图。

7. 请从弹出菜单上选中**Change File(修改文件)**。
8. 请在**Select a Data File(选中数据文件)**对话框中选中**Data List(数据列表)**标签页。
9. 请双击**kinetics25.025**。
10. 请右键点击**Kinetics Overlay(动力学叠加图层)**绘图。
11. 请从弹出菜单上选中**Add overlay(添加叠加图层)**。
12. 请点击**Select a Data File(选择数据文件)**对话框中的**Data List(数据列表)**标签。
13. 请按下Ctrl键，同时点击**kinetics8.008**、**kinetics9.009**以及**kinetics10.010**样本，在数据列表上将它们选中。
14. 请点击**Open(打开)**。
15. 请点击**OK**。
16. 请把**Kinetics Overlay(动力学叠加图层)**上的Y- 轴参数修改为**Ca++ Ratio (Ca++比率)**。
17. 请从**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**中选中**Live Cells(活细胞)**。

绘图现在包括所有样本对应的叠加图层，并应看起来如图T21.19所示。

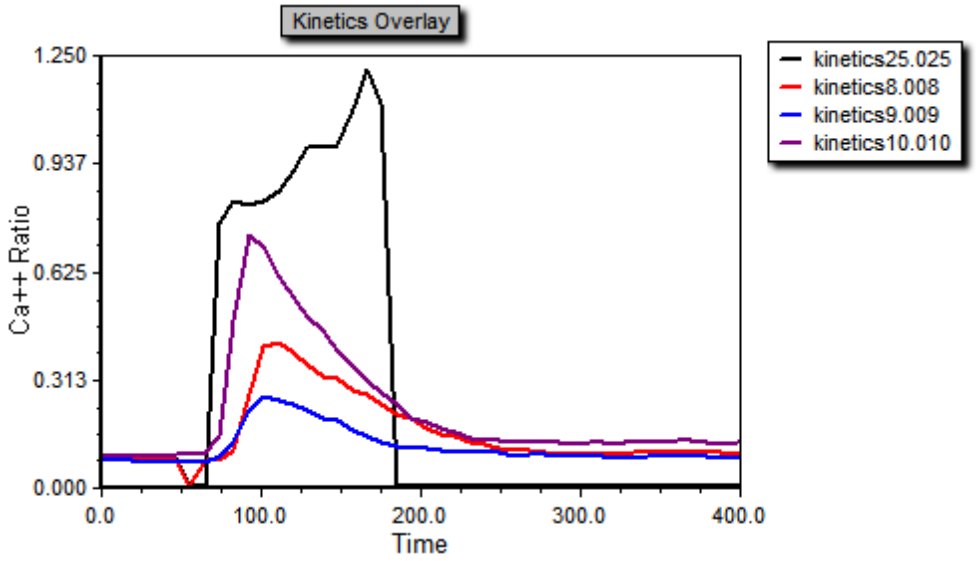


图T21.19 Multiple Kinetics Overlays (**多个动力学叠加图层**)

我们现在要对绘图进行格式化，使其更好看一些。

18. 请右键点击绘图。
19. 请从弹出菜单上选中**Format(格式)**。
20. 请选中**Overlays(叠加图层)**类别选项。
21. **请按下Ctrl键，并点选**列表框中的所有绘图，把它们选中。
22. 请把**Line Options(线条选项)→Width(宽度)**修改为**1.50**。
23. 请选中**Legend(图例)**类别选项。
24. 请点选**Visible(可视)**复选框。
25. 请点击**OK**。

这时的绘图应该看起来如图T21.20所示。



图T21.20 Kinetics Plots Formatted (**格式化后的动力学绘图**)

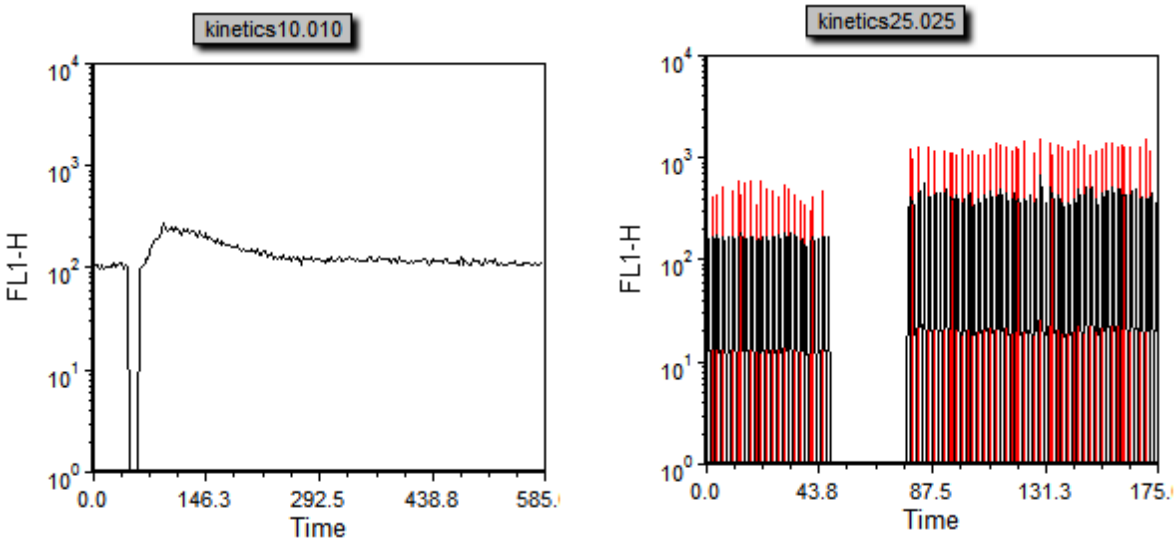
36.21.5 *修改分辨率的格式*

用户的动力学数据文件有时在默认设置下不能被很好地显示。在这一节中，我们将学习如何调整分辨率以便正确地查看用户数据，以及如何显示动力学曲线的标准偏差。

用户在跟着本教程练习过程中可以使用自己的数据，也可以使用本教程提供的样本数据。样本数据文件可在教程样本数据库510里找到。在这里我们会使用数据文件**KineticsTutorialScaling.fey**、**kinetics10.010**以及**kinetics25.025**。

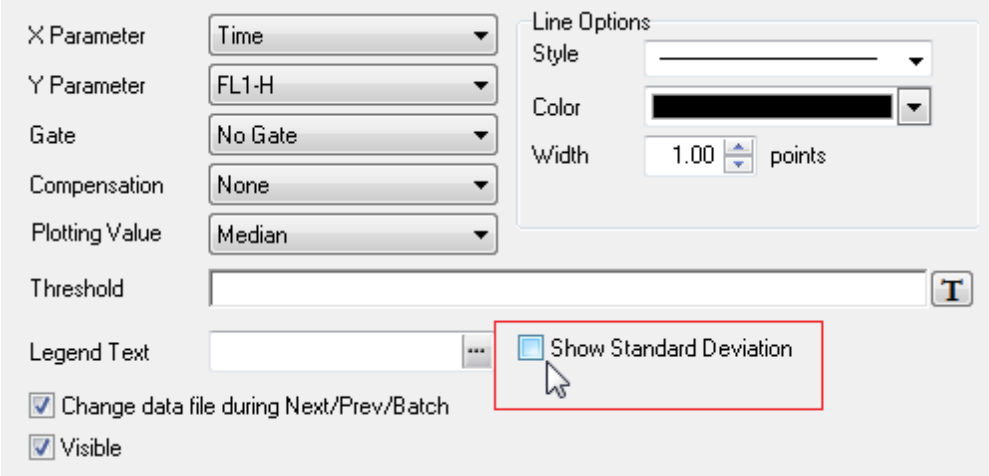
1. 请选中**Application Button(应用程序按钮)→Open Layout(打开版面)**。
2. 请从**Load Layout(导入版面)**对话框选中位于*FCS Express样本数据目录*中的**KineticsTutorialScaling.fey**版面。

这时的版面应该看起来如下方的图T21.21。红线显示的是样本的标准偏差，而黑线显示的是FI- 1的"中间数"数值。样本**kinetics10.010**被正确地显示，并未显示标准偏差。样本**kinetics25.025**有一个很多波动的黑色信号线，并带有标准偏差。波动的黑线是因为绘图的分辨率过高。我们现在就来对kinetics25.025绘图进行格式化，去掉标准偏差，并调整一下分辨率以便更好地显示绘图。



图T21.21 Kinetics Tutorial Layout After Adding Sample Data (**加入样本数据后的动力学教程版面**)

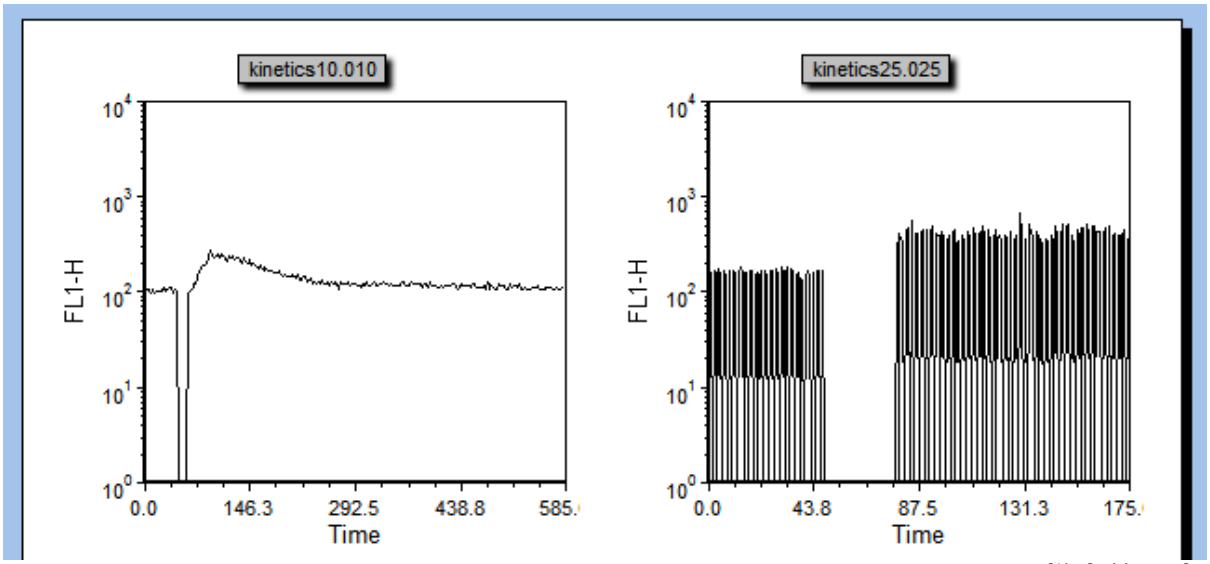
3. 请点击**kinetics25.025**绘图，将其选中。
4. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。
5. 请不要勾选**Show Standard Deviation(显示标准偏差)**复选框(图T21.22)。



图T21.22 Unchecking Show Standard Deviation (**取消对显示标准偏差的勾选**)

6. 请点击**OK**。

红色的标准偏差线现在已经从图T21.23中被去掉了。



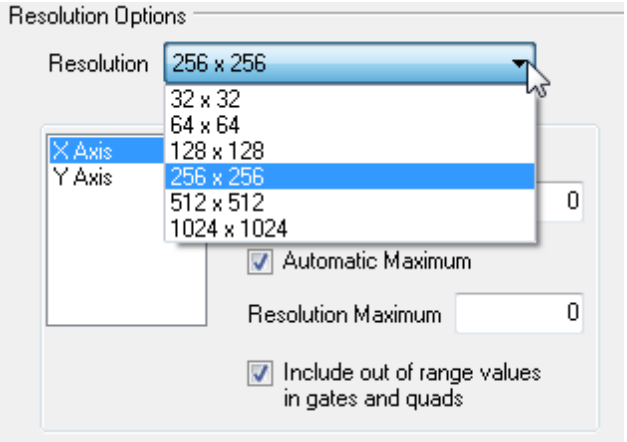
图T21.23 Sample Plots with Standard Deviation Highlighting Removed (**样本绘图中的标准偏差线已被拿掉了**)

我们现在要修改样本**kinetics25.025**的分辨率以便更合适地显示绘图。

7. 请右键点击**kinetics25.025**绘图。
8. 请从弹出菜单上选中**Format(格式)**。

9. 请选中**Kinetics Option(动力学选项)→Binned Plot Specific Options(区间化的绘图特定选项)**类别选项。

10. 请在**Resolution Options(分辨率选项)**下的下拉列表中点击**Resolution(分辨率)**(图T21.24)。

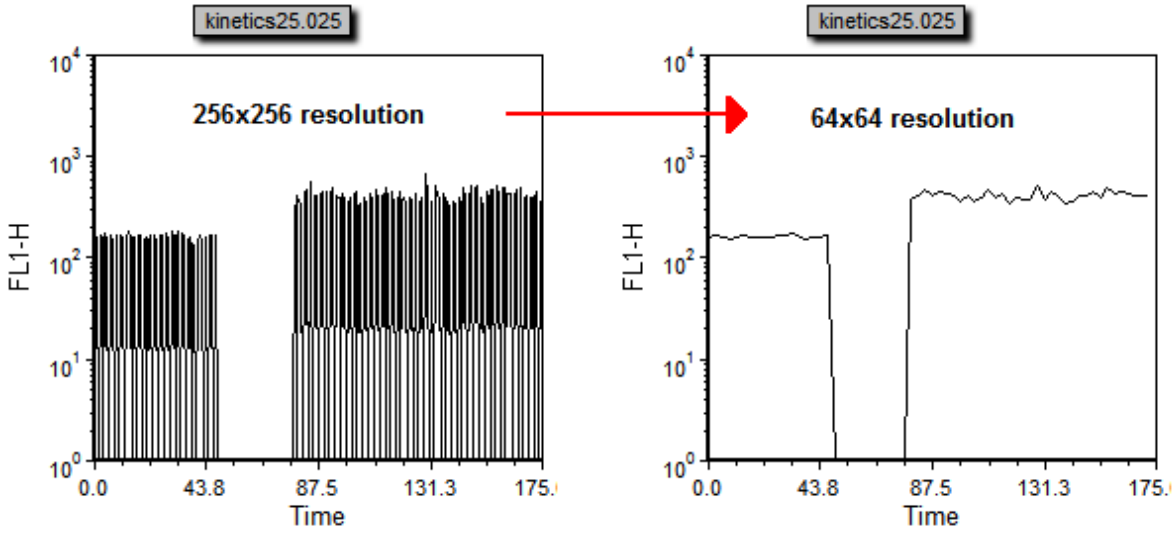


图T21.24 Changing the Resolution on a Plot (**在绘图上修改分辨率**)

11. 请选中**64x64**分辨率选项。

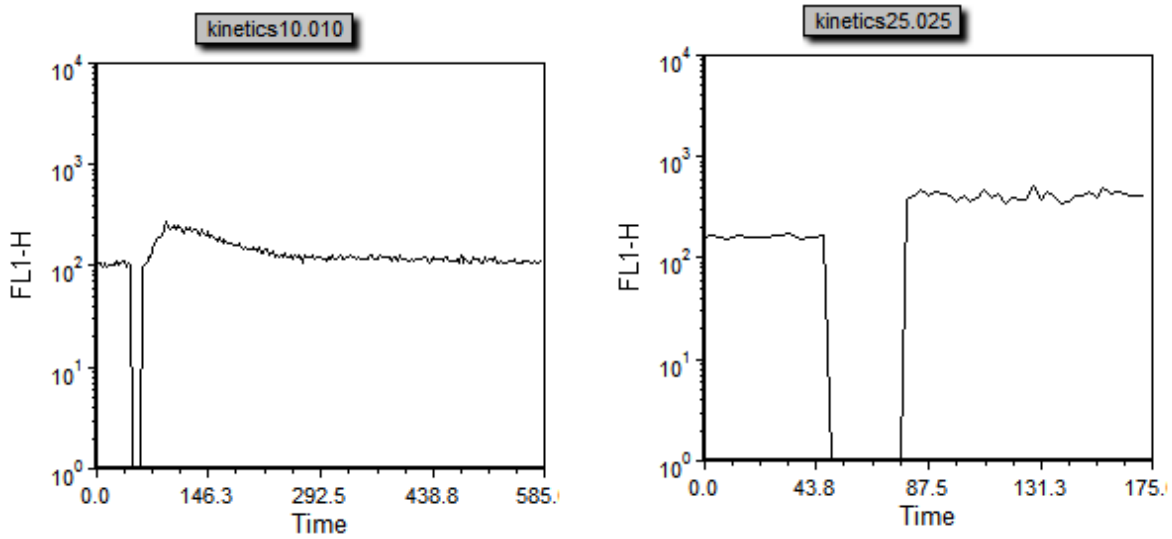
12. 请点击**OK。**

绘图现在已经更新，并被显示在合适的坐标范围里，如图T21.25所示。



图T21.25 Changing the Resolution: 256x256 (Left) to 64x64 (Right) (**修改分辨率**: 256x256(**左图**)**修改为**64x64(**右图**))

经过以上的这些步骤之后，版面看起来应该如图T21.26所示。



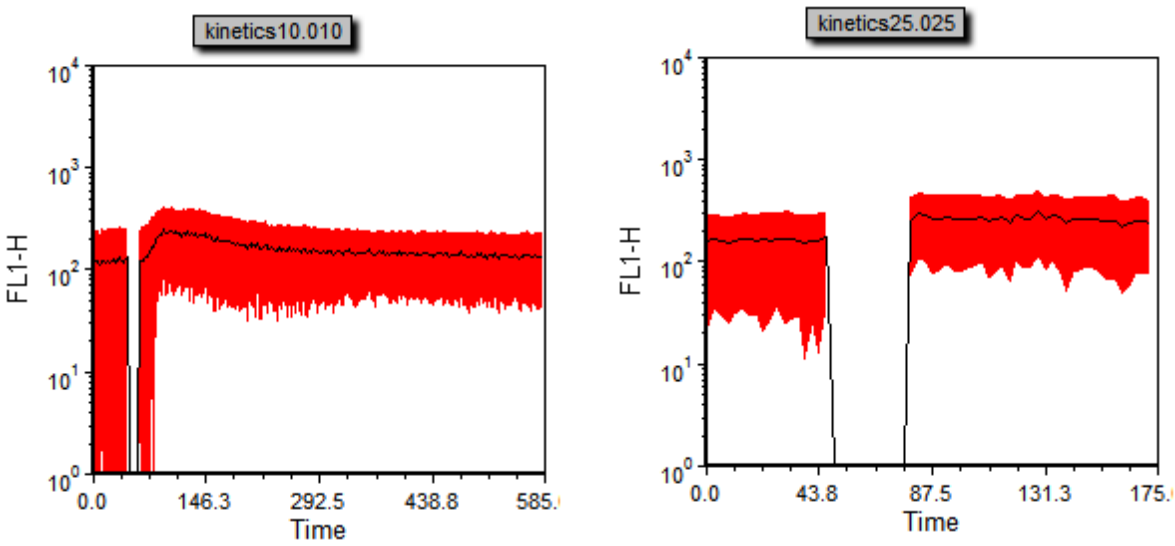
图T21.26 Kinetics Plots Scaled Properly (**动力学绘图被恰当地显示**)

我们现在要在两个绘图上同时应用标准偏差线。

13. 请在键盘上按下**Ctrl+ A**，选中所有绘图。
14. 请选中**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Overlays(叠加图层)**命令。

15. 请把**Gate(门)**选到**Gate 1(第1个门)**。
16. 请选中**Show Standard Deviation(显示标准偏差)**复选框。
17. 请点击**OK**键。

版面应该看起来如图T21.27所示。



图T21.27 Kinetics Plots with Standard Deviation Highlighting Applied (**应用了标准偏差线的动力学绘图**)

36.22 细胞浓度

FCS Express可以计算样本中细胞的绝对浓度。计算是通过自动计算采集过程中的样本体积来实现的。样本体积的计算方法有a)利用样本管中已知浓度的微珠，或者b)通过样本流速以及采集时间来计算。FCS Express可以把浓度显示为一次性的计算结果，或者把它显示在统计表格中，又或者作为一个标记来进行显示。

36.22.1 *设置微珠门*

在本节中，我们将:

- 学习如何使用有层次的门操作来在微珠上应用门。

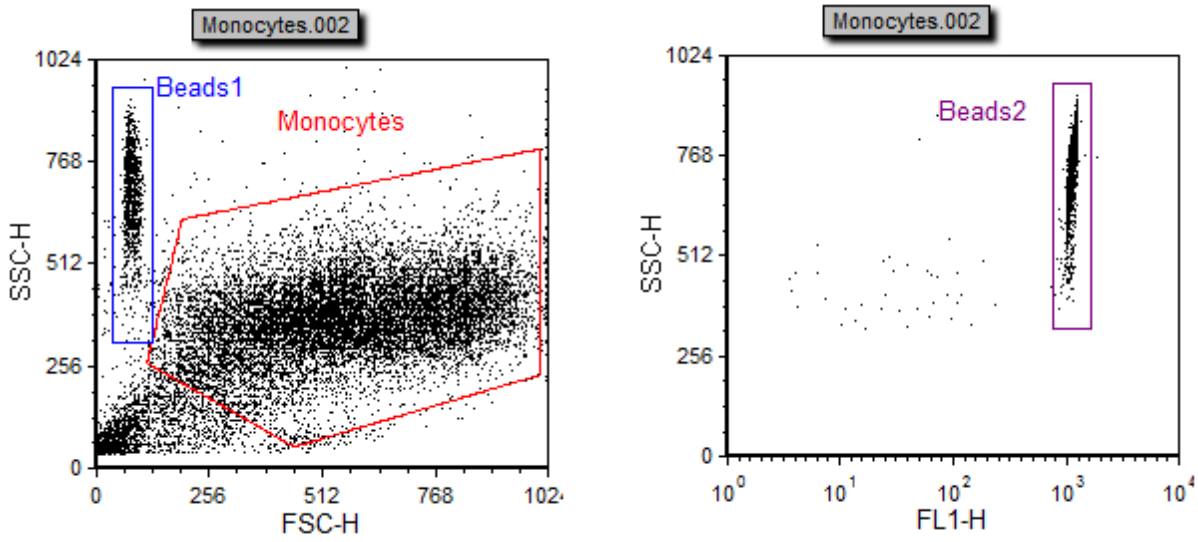
要想更多地了解如何插入绘图525，请参见教程中的修改章节。

1. 请打开一个新的空白版面。

2. 请插入一个前向为FSC- H参数、侧向为SSC- H参数的点状图文件**Monocytes.002** (在*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹中)。
3. 请在单核细胞周围创建一个多边形门，并把它命名为**Monocytes(单核细胞)**(图T22.1)。
4. 请在微珠周围创建一个进行门，将其命名为**Beads1(微珠1)**(图T22.1)。

这些门看起来应该如图T22.1中的左图所示。要想更多地了解如何创建门，请参见门操作教程 566。

5. 请再创建一个点状图，来显示FL1- H与SSC- H的绘图(图T22.1)。
6. 请将**Beads1(微珠1)**门应用到新绘图上。要想更多地了解如何应用门，请参考门操作教程 566。
7. 请在微珠周围画一个矩形门，将其命名为**Beads2(微珠2)**，如图T22.1中的右图所示。

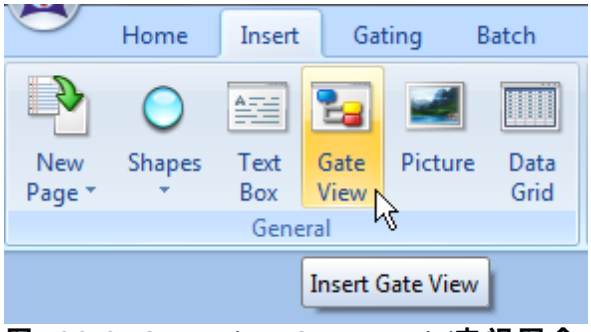


图T22.1 Gates for Monocytes and Beads (**单核细胞以及微珠门**)

Beads2(微珠2)门进一步将细胞与微珠区分开来。根据样本中细胞与微珠的分离程度，用户可以只使用一个门，但是使用两个门往往可以更干净地把微珠事件分开。

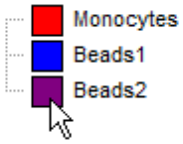
我们现在要把**Beads2(微珠2)**门设置为**Beads1(微珠1)**门的子门。这会使**Beads2(微珠2)**门中的事件从**Beads1(微珠1)**门中的事件中进一步筛选。这类似于一个组合门: "**Beads1 AND Beads2(微珠门1 "与" 微珠门2)**"。

8. 请选中**Insert(插入)→General(常规)→Gate View(门视图)**命令(图T22.2)。
9. 请在版面中你想要插入**Gate View(门视图)**窗口的位置左键点击。



图T22.2 Gate View Command (**门视图命令**)

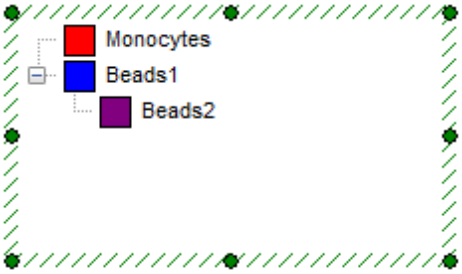
这时会出现**Gate View(门视图)**窗口，如图T22.3所示。



图T22.3 Gate View (**门视图**)

10. 请把光标放在**Gate View(门视图)**窗口上的**Beads2(微珠2)**门(图T22.3)。
11. 请按下鼠标左键不放，把**Beads2(微珠2)**门拖到**Beads1(微珠1)**门的上方。
12. 请松开鼠标，把**Beads2(微珠2)**门放到**Beads 1(微珠1)**门上。

这时的**Gate View(门视图)**应该看起来如图T22.4所示。



图T22.4 Gate View with Child Gate (**带有子门的门视图**)

现在**Beads2(微珠2)**门已经是**Beads1(微珠1)**的子门了，如图T22.4所示。

36.22.2 *浓度计数器(微珠)*

在本例中，我们会:

- 确定在浓度计算中要用到的变量。
- 设置使用微珠的浓度计数器。
- 进行一次计算。

为计算浓度，我们需要以下四个参数:

A. 需要进行分析的文件。

B. 目标细胞。

C. 包括添加进样本试管中的微珠的门。

D. 样本试管中微珠的浓度。

既然针对细胞和微珠进行门操作的策略已经很明确了，那么就让我们来做一些真正的计算。

1. 请选中**View(视图)→Tools(工具)→Concentration Calculator(浓度计数器)**命令(图T22.5)。

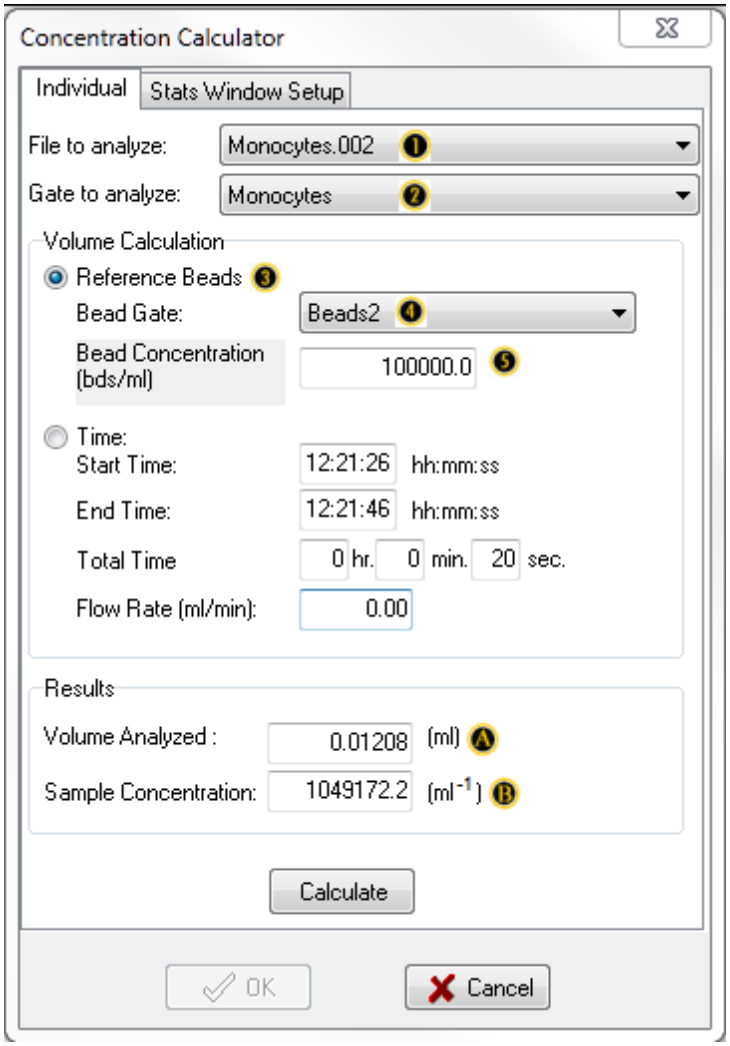


图T22.5 Concentration Calculator Command (**浓度计数器命令**)

这时会出现**Concentration Calculator(浓度计数器)**对话框，如图T22.6所示。以下步骤均针对图T22.6。

2. 请从下拉列表中选中**File to analyze(要分析的文件)**，在这个例子中便是**Monocytes.002** ❶。
3. 请从下拉列表中选中**Monocytes(单核细胞)**门，作为**Gate to analyze(要分析的门)** ❷。
4. 请选中**Reference Beads(参考微珠)**单选按钮 ❸ 作为**Volume Calculation(体积计算)**的类型。
5. 请为**Bead Gate(微珠门)** ❹ 选中**Beads2(微珠2)**。
6. 请在样本试管中输入微珠的浓度。在这个例子中，我们将使用**100,000**个微珠/ mL ❺ 。
7. 请点击**Calculate(计算)**按钮。

在**Concentration Calculator(浓度计数器)**的**Results(结果)**部分，要分析的样本的体积出现在**Volume Analyzed(分析体积)** Ⓐ 字段，**Monocytes(单核细胞)**门中细胞的浓度出现在**Sample Concentration(样本浓度)** Ⓑ 字段(图T22.6)。



图T22.6 Concentration Calculator Dialog Using Beads (**使用微珠的浓度计数器对话框**)

8. 请点击**Cancel(取消)**来关闭**Concentration Calculator(浓度计数器)**对话框。

36.22.3 *浓度计数器(时间/流速)*

在本例中，我们会:

- 使用实验数据的采集时间以及流速来设置浓度计算器。
- 进行一次计算。

1. 请选中**View(视图)→Tools(工具)→Concentration Calculator(浓度计算器)**命令(图T22.5 1057)。

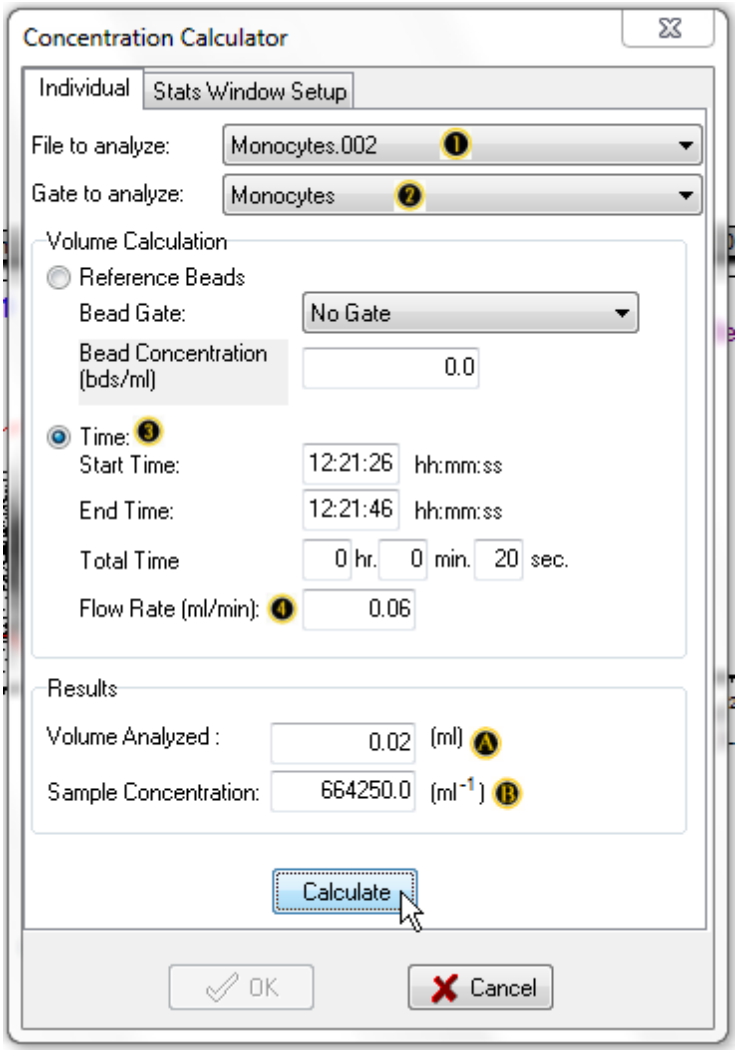
这时会再次出现**Concentration Calculator(浓度计算器)**对话框，如图T22.7所示。以下步骤均针对图T22.7。

2. 请从下拉列表中选中**File to analyze(要分析的文件)**，在这个例子中便是**Monocytes.002** ❶。
3. 请从下拉列表中选中**Monocytes(单核细胞)**门，作为**Gate to analyze(要分析的门)** ❷。
4. 请选中**Time(时间)**单选按钮 ❸，作为**Volume Calculation(体积计算)**的类型。

默认出现的是嵌在FCS数据文件中的开始和结束时间，**Total Time(总时间)**会自动计算出来。用户可以自己输入开始以及结束的时间，或者直接输入一个**Total Time(总时间)**。

5. 请输入在数据采集时使用的**Flow Rate(流速)**。在本例中，我们将使用**0.06**mL/min ❹。
6. 请点击**Calculate(计算)**按钮。

Results(结果)部分会显示分析样本的体积 Ⓐ 以及在**Monocytes**门 Ⓑ 中细胞的浓度(图T22.7)。



图T22.7 Concentration Calculator Dialog Using Time and Flow Rate (**使用时间以及流速的浓度计算器对话框**)

7. 请点击**Cancel(取消)**来关闭**Concentration Calculator(浓度计算器)**对话框。

36.22.4 *在统计窗口中显示浓度*

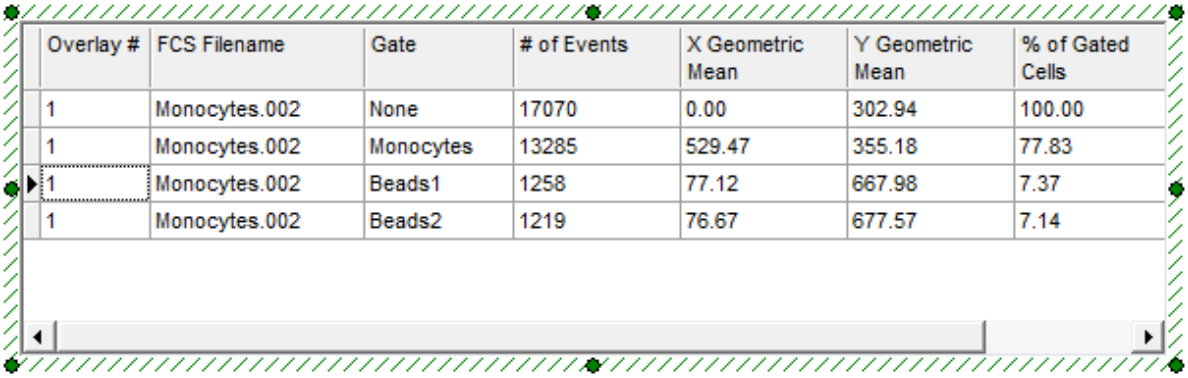
在本例中，我们会:

- 使用微珠(或时间)以及流速来设置浓度计算器，以在版面中显示结果。
- 把计算好的浓度作为统计数据显示在**统计窗口中**。

我们已经学会了怎样对一个样本中的细胞浓度进行一次性地计算。我们现在要学习如何使用**statistics window(统计窗口)**把这些数据显示在版面中。

1. 请右键点击包括**Beads1(微珠)**以及**Monocytes(单核细胞)**门的、带有前向以及侧向散点的绘图，调出弹出菜单。
2. 请从弹出菜单上选中**Gate Statistics(门统计)**。

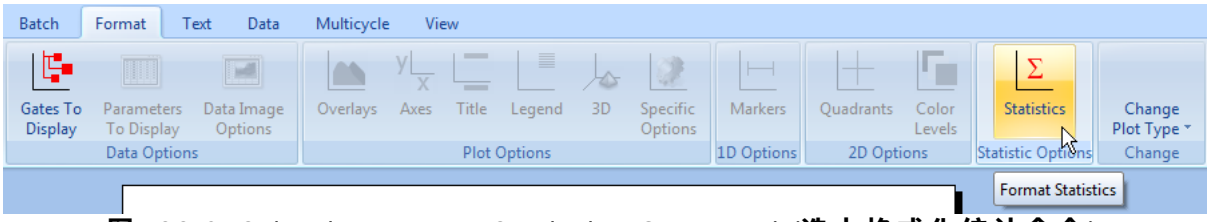
这时会出现**statistics window(统计窗口)**(图T22.8)。请把统计窗口移到版面上一个方便操作的位置上。



Overlay #	FCS Filename	Gate	# of Events	X Geometric Mean	Y Geometric Mean	% of Gated Cells
1	Monocytes.002	None	17070	0.00	302.94	100.00
1	Monocytes.002	Monocytes	13285	529.47	355.18	77.83
1	Monocytes.002	Beads1	1258	77.12	667.98	7.37
1	Monocytes.002	Beads2	1219	76.67	677.57	7.14

图T22.8 Statistics Window (**统计窗口**)

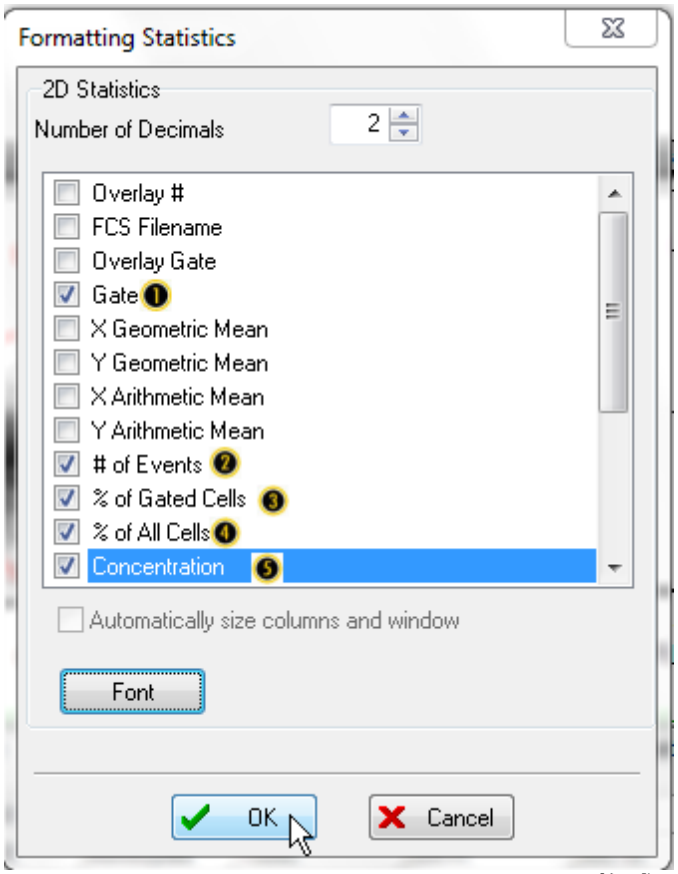
3. 请在**statistics window(统计窗口)**上左键点击，将其选中；窗口应该有一个绿色的边框(图T22.8)。
4. 请选中**Format(格式)→Statistics Options(统计选项)→Statistics(统计)**命令(图T22.9)。



图T22.9 Selecting Format Statistics Command (**选中格式化统计命令**)

这时会出现**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框(图T22.10)。我们现在要来选择在版面中的**statistics window(统计窗口)**中显示哪些统计数据。

5. 请在**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框中仅仅选择以下选项(图T22.10):
   - **Gate(门)** ❶
   - **Number of Events(事件数)** ❷
   - **% of Gated Cells(门中细胞百分比)** ❸
   - **% of All Cells(占总细胞百分比)** ❹
   - **Concentration(浓度)** ❺
6. 请点击**OK**，关闭**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框。



图T22.10 Formatting Statistics Dialog (**格式化统计对话框**)

这时会出现**statistics window(统计窗口)**，如图T22.11所示，显示仅仅在**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框中选中的项目。

Gate	# of Events	% of Gated Cells	% of All Cells	Concentration
None	17070	100.00	100.00	0.00
Monocytes	13231	77.51	77.51	0.00
Beads1	1261	7.39	7.39	0.00
Beads2	1220	7.15	7.15	0.00

图T22.11 Statistics Window after Formatting (**格式化后的统计窗口**)

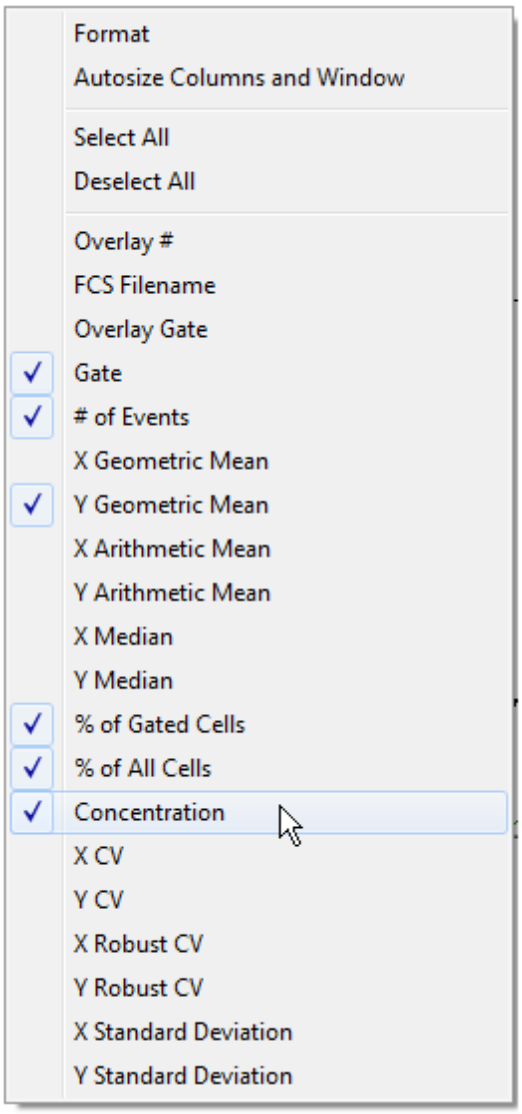
我们有两种其它的方法来对**statistics window(统计窗口)**进行格式化，以便仅仅显示我们想要的统计:

- 使用**statistics window(统计窗口)**弹出菜单来选中要显示的统计:

  A. 请右键点击**statistics window(统计窗口)**，调出相关的弹出菜单(图T22.12)。

  B. 请左键点击想要显示的统计选项。

  C. 请左键点击那些你不想要的选项(图T22.12)。



图T22.12 Statistics Window Pop-up Menu (**统计窗口弹出菜单**)

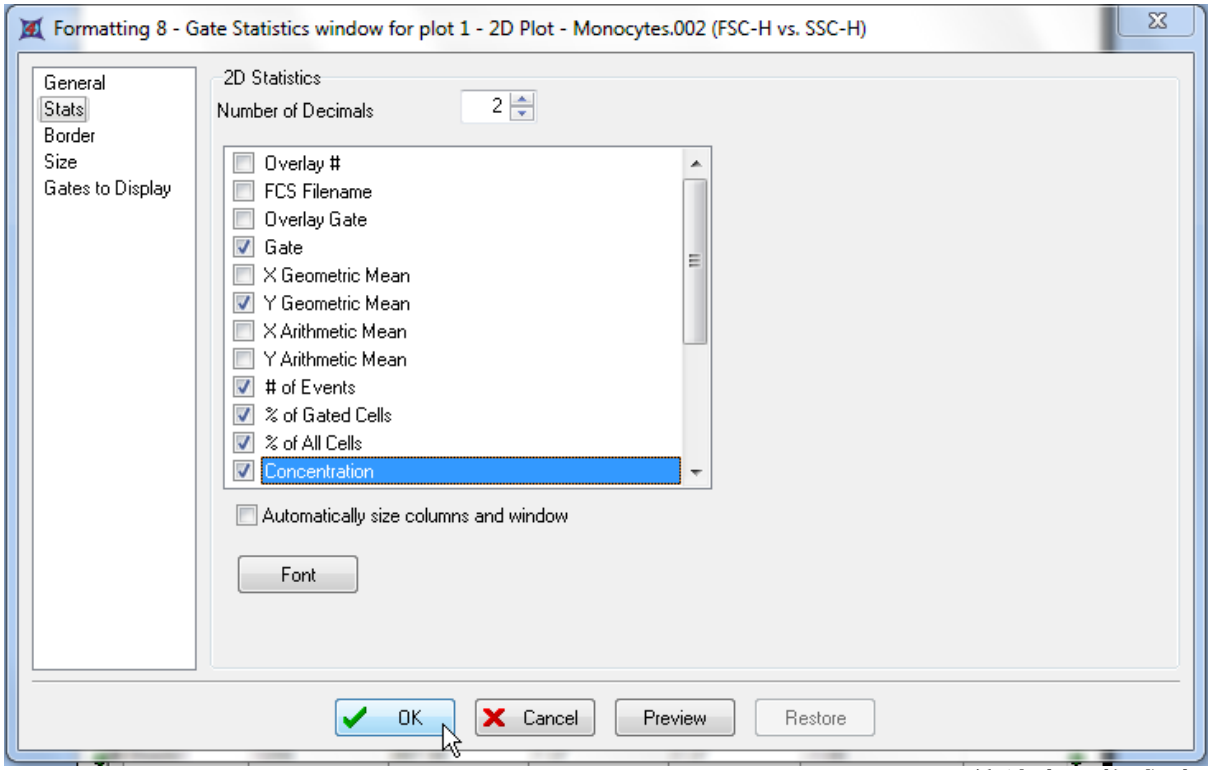
- 使用**statistics window Format(统计窗口格式)**对话框来选中要显示的统计:

  A. 请右键点击**statistics window(统计窗口)**，调出相关菜单(图T22.12)。

  B. 请从弹出菜单上选中**Format(格式)**。

  C. 请从**Format(格式)**对话框左侧区域中选中**Stats(统计)**类别选项(图T22.13)。

  D. 请设置你想要显示的统计，然后点击**OK**(图T22.13)。



图T22.13 Stats Category of the Statistics Window Format Dialog (**统计窗口格式对话框中的统计类别选项**)

正如图T22.11中所示，**statistics window(统计窗口)**中有一列为**Concentration(浓度)**，但它还未进行定义，所以只显示零。我们现在就来对FCS Express进行设置，来计算这些浓度。

7. 请选中**View(视图)→Tools(工具)→Concentration Calculator(浓度计算器)**命令(图T22.5[1057])。

这时会出现**Concentration Calculator(浓度计算器)**对话框，如前图T22.7[1059]所示。

8. 请点击名为**Stats Window Setup(统计窗口设置)**的第二个标签卡(图T22.14)。

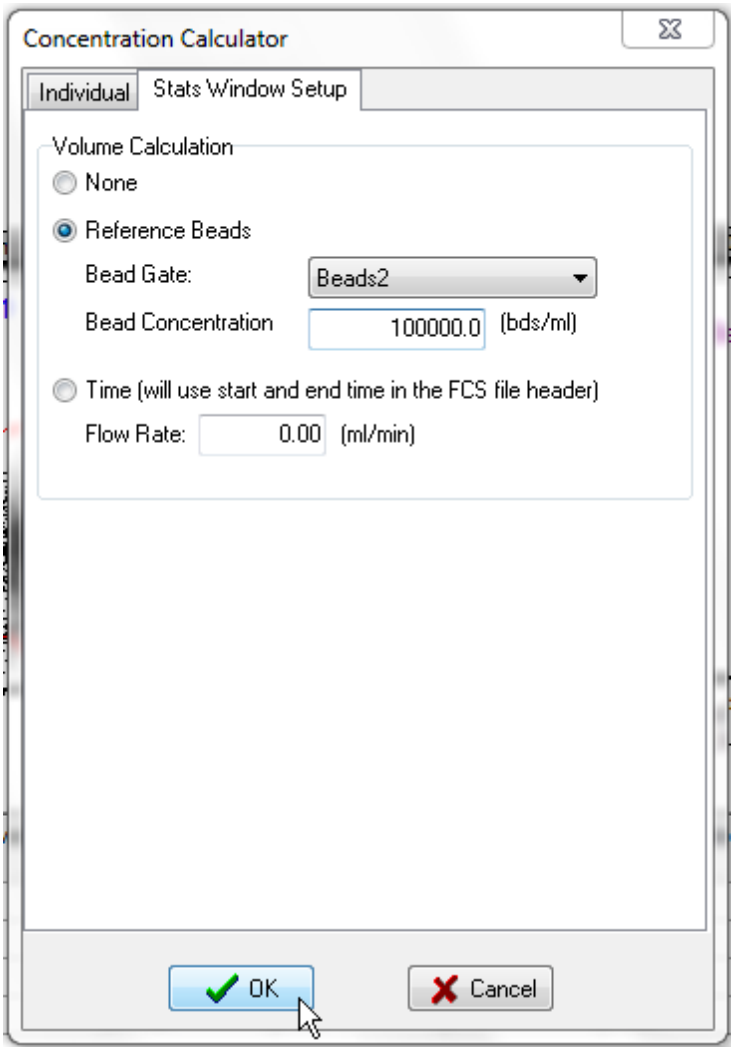
和前面一样，有两种计算浓度的方法: a) 指明一个**(bead gate)微珠门**并给出样本中微珠的浓度，或者b) 使用数据采集中获得的**time(时间)**和样本**flow rate(流速)**。我们将在这里设置参考微珠，如图T22.14所示。

9. 请选中**Reference Beads(参考微珠)**单选按钮。

10. 请从微珠门下拉列表中选中**Beads2(微珠2)**。

11. 请在**Bead Concentration(微珠浓度)**字段输入**100000**。

12. 请点击**OK** (图T22.14)。



图T22.14 Concentration Calculator Dialog -- Stats Window Setup (**浓度计算器对话框 -- 设置统计窗口**)

现在，**statistics window(统计窗口)**中的**Concentration(浓度)**列会显示根据我们前面定义的参数计算出的绘图中的所有门的浓度(图T22.15)。这个设置会应用于整个版面，并被用来计算版面中所有绘图的浓度统计。

Gate	# of Events	Y Geometric Mean	% of Gated Cells	% of All Cells	Concentration
None	17070	302.94	100.00	100.00	1400328.14
Monocytes	13285	355.18	77.83	77.83	1089827.73
Beads1	1258	667.98	7.37	7.37	103199.34
Beads2	1219	677.57	7.14	7.14	100000.00

图T22.15 Statistics Window with Concentration Results by Gate (**统计窗口以及根据门计算出的浓度结果**)

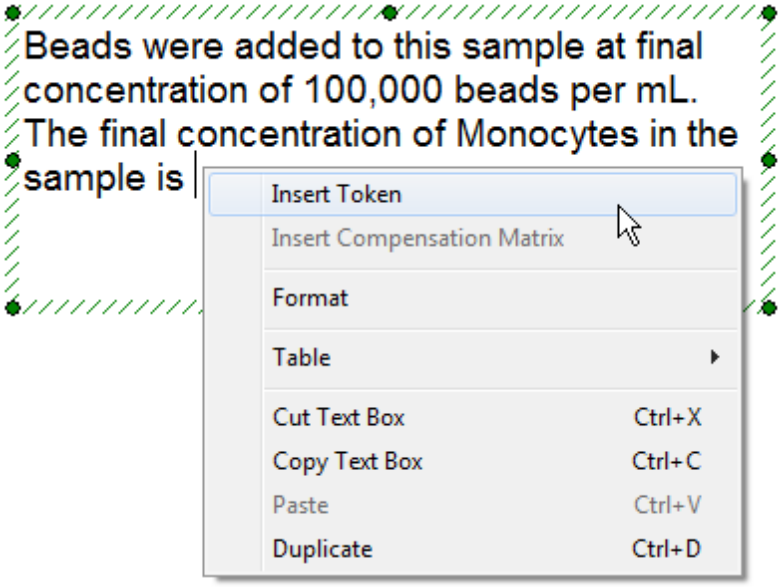
36.22.5 *把浓度作为标记来显示*

在本例中，我们会:

- 把浓度作为标记来显示。

用户可以使用FCS Express中的标记来在文本框中插入统计数据以便更好地呈现数据结果。要想获取更多这方面的信息，请参见使用文本框和标记的教程591。如果你还未设置浓度计算，请先参考本教程中的前一节1061。

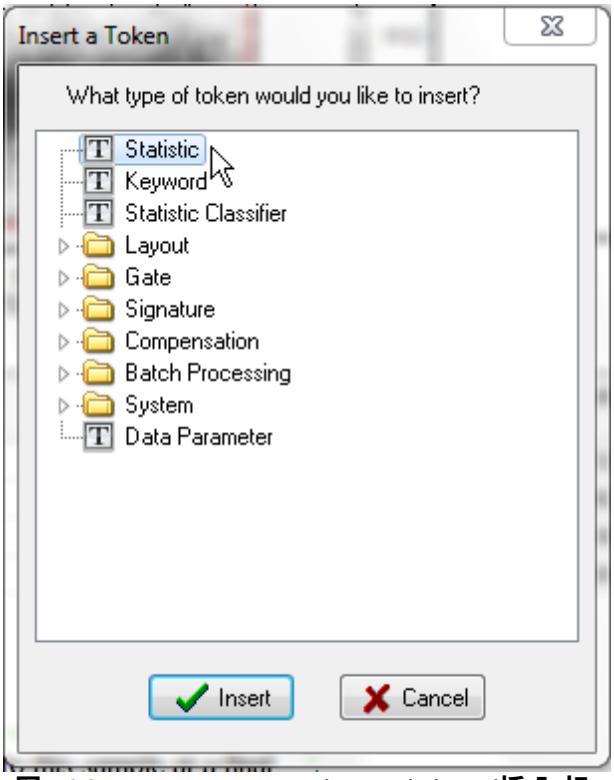
1. 请在版面中创建一个空白文本框。
2. 请在文本框中输入以下文本"**Beads were added to this sample at a final concentration of 50,000 beads per mL. The final concentration of Monocytes in the sample is < blank space> .(样本中加入的微珠浓度是50,000个微珠/ mL。样本中单核细胞的浓度是< 空格> 。)**"。
3. 请在文本框中的空格里右键点击，调出弹出菜单(图T22.16)。
4. 请在弹出菜单上选中**Insert Token(插入标记)**(图T22.16)。



图T22.16 Inserting a Token in a Text Box (**在文本框中插入标记**)

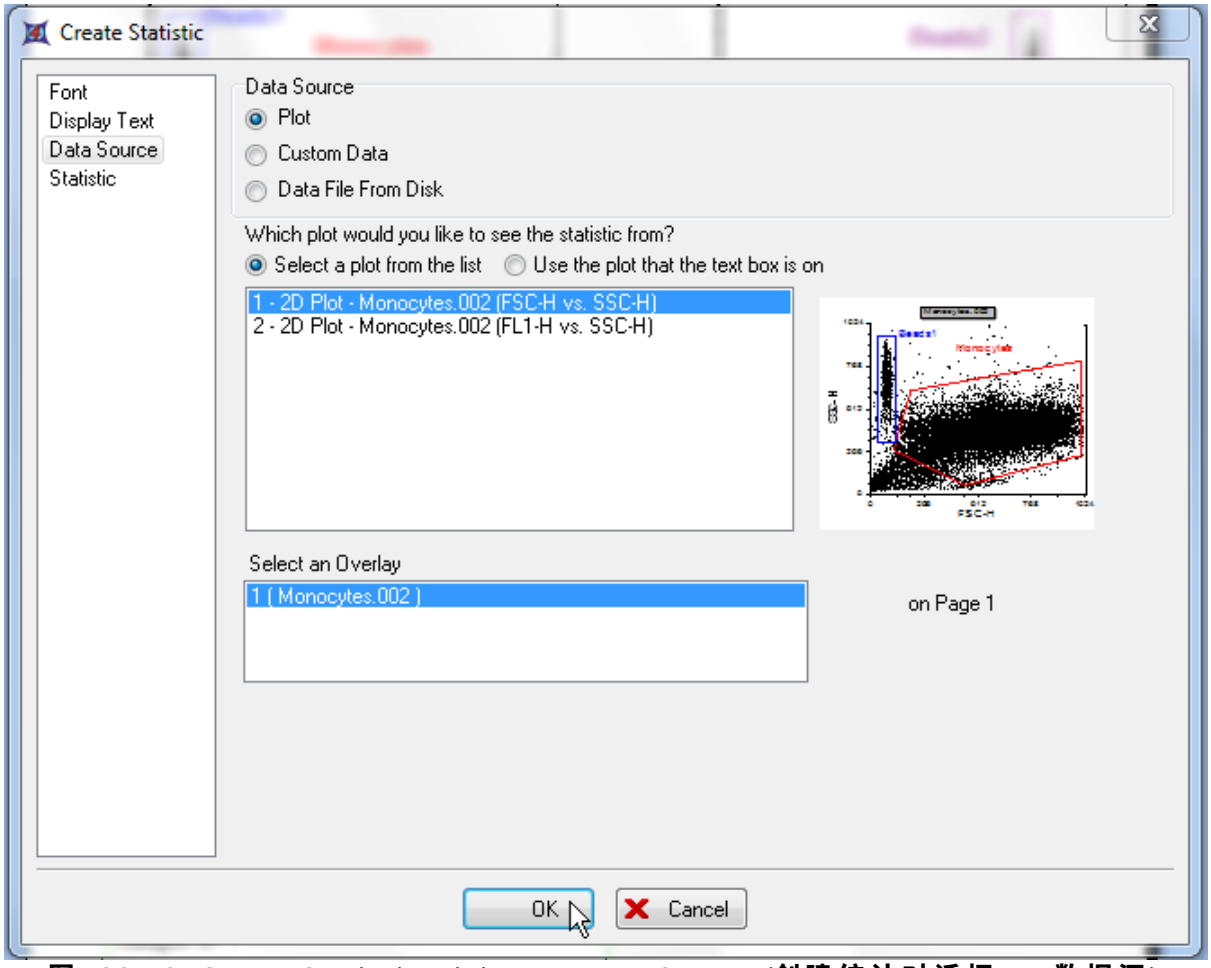
这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框(图T22.17)。

5. 请在**Insert a Token(插入标记)**对话框中选中**Statistic(统计)**。
6. 请点击**Insert(插入)**(图T22.17)。



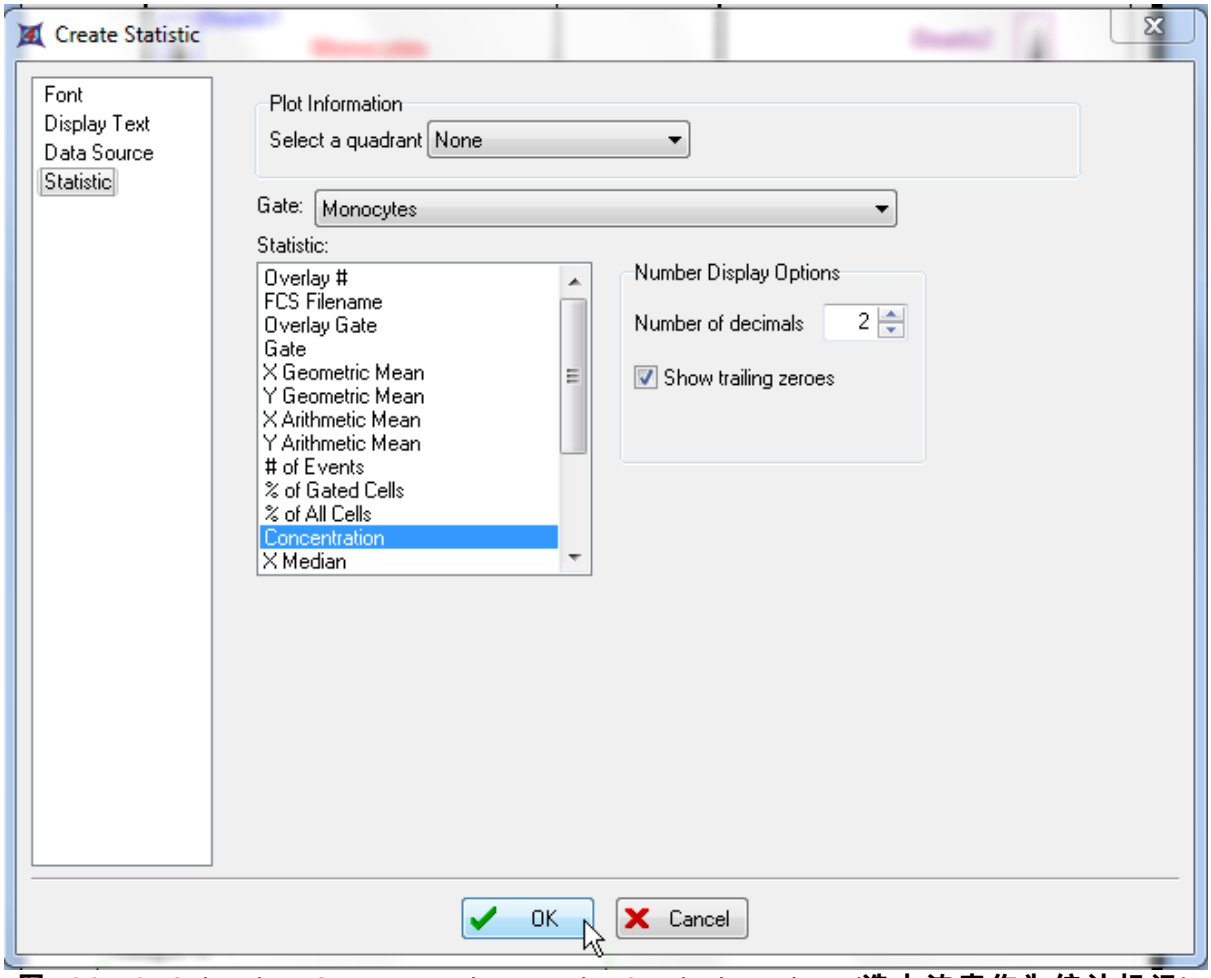
图T22.17 Insert a Token Dialog (**插入标记对话框**)

这时会出现**Create Statistic(创建统计)**对话框，显示**Data Source(数据源)**类别选项(图T22.18)。在这里用户应该设置标记应该对应哪一个绘图，也就是说哪个绘图的数据将被用来进行浓度计算。如果绘图上有多个叠加图层，用户也将可以指定在计算中使用具体哪个叠加图层。因为我们已经在教程中创建了一个简单的版面，所以在这个对话框上我们没有需要修改的地方。



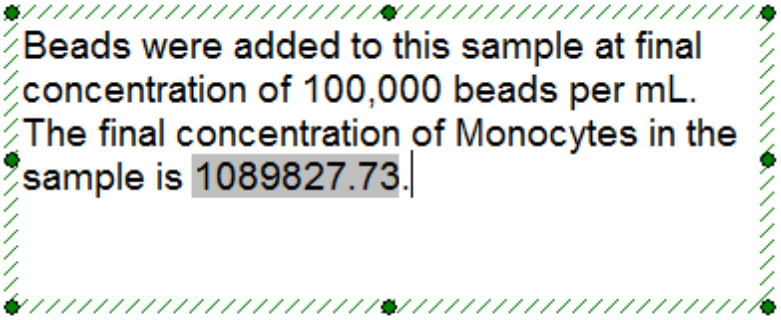
图T22.18 Create Statistic Dialog -- Data Source (**创建统计对话框 -- 数据源**)

7. 请在对话框左侧点击**Statistic(统计)**类别选项(图T22.19)。
8. 请从**Gate(门)**下拉列表中选中**Monocytes(单核细胞)**。
9. 请从**Statistic(统计)**列表中选择**Concentration(浓度)**。
10. 请点击**OK**(图T22.19)。



图T22.19 Selecting Concentration as the Statistic Token (**选中浓度作为统计标记**)

这时文本框会进行更新，显示我们通过标记定义的单核细胞浓度，如图T22.20中的灰色高亮所示。



图T22.20 Text Box with the Concentration Token Value
(**显示有浓度标记值的文本框**)

用户现在可以看到标记中的数目和出现在**statistic window(统计窗口)**中"Monocytes(单核细胞)"门中的相关数目是一致的。我们刚刚做的是在两个地方指定了在[计算细胞浓度时要用到的四个参数](1057): 体积是由**Concentration Calculator(浓度计算器)**中的**Stats Window Setup(统计窗口设置)**决定的 ;细胞的数目是由标记设置自身决定的。

36.23 通道校正

FCS Express通过使用校正颗粒，使得对用户样本的绝对荧光值的确定变得相对简单。使用通道校正工具，用户可以使用校正颗粒来对FCS Express进行设置，让绘图和统计来显示相关的MESF荧光数值。

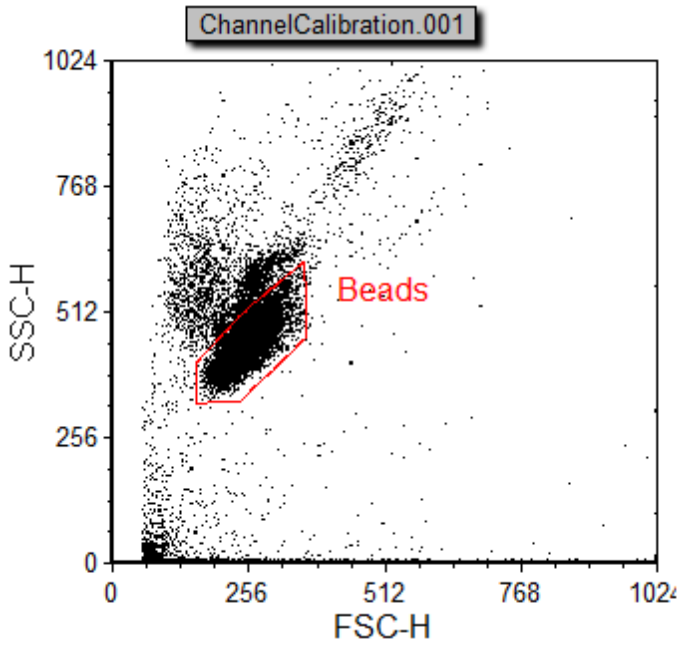
36.23.1 *设置微珠门和标记*

在本例中，我们会:

- 学习如何来设置微珠门。
- 学习如何把标记应用到微珠的荧光信号峰上。
- 在FCS Express中设置通道校正的默认值。

1. 请打开一个新的空白版面。
2. 请插入在[教程样本数据库](510)中的名为 **ChannelCalibration.001**的有前向散点与侧向散点的绘图。要想更多地了解如何插入绘图，请参考关于[插入绘图的教程](525)。
3. 请在微珠周围创建一个多边形门。

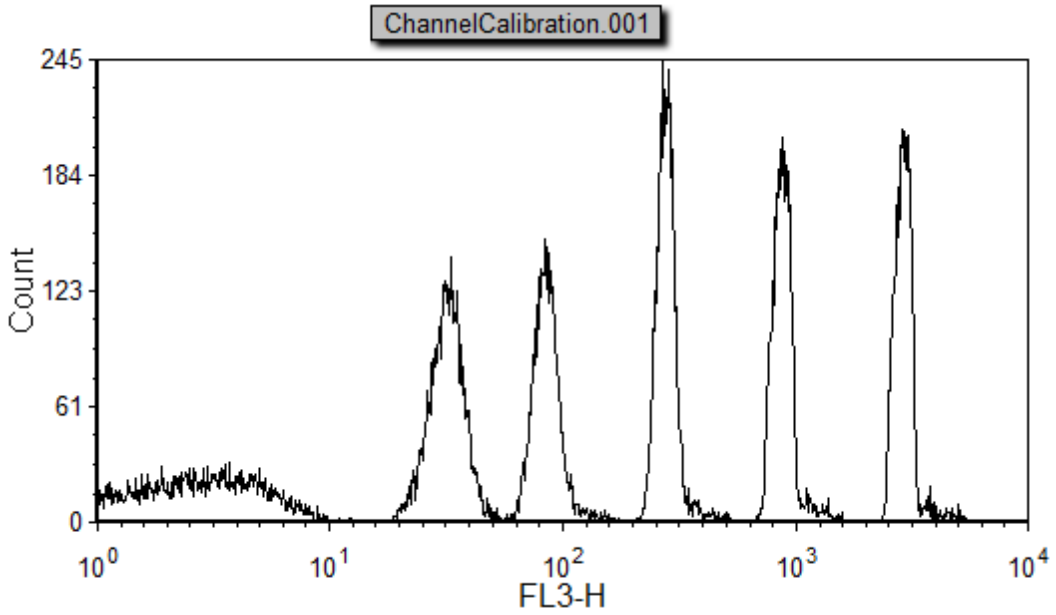
这个门应该看起来如图T23.1中的绘图所示。要想更多地了解如何创建门，请参考门操作教程 566。



图T23.1 Polygonal Gate (**多边形门**)

4. 请为同一个文件插入一个新的柱状图。
5. 请将其设置为显示FL3- H通道。
6. 请把**Beads(微珠)**门应用到新的柱状图上。

这时柱状图应该看起来如图T23.2所示。



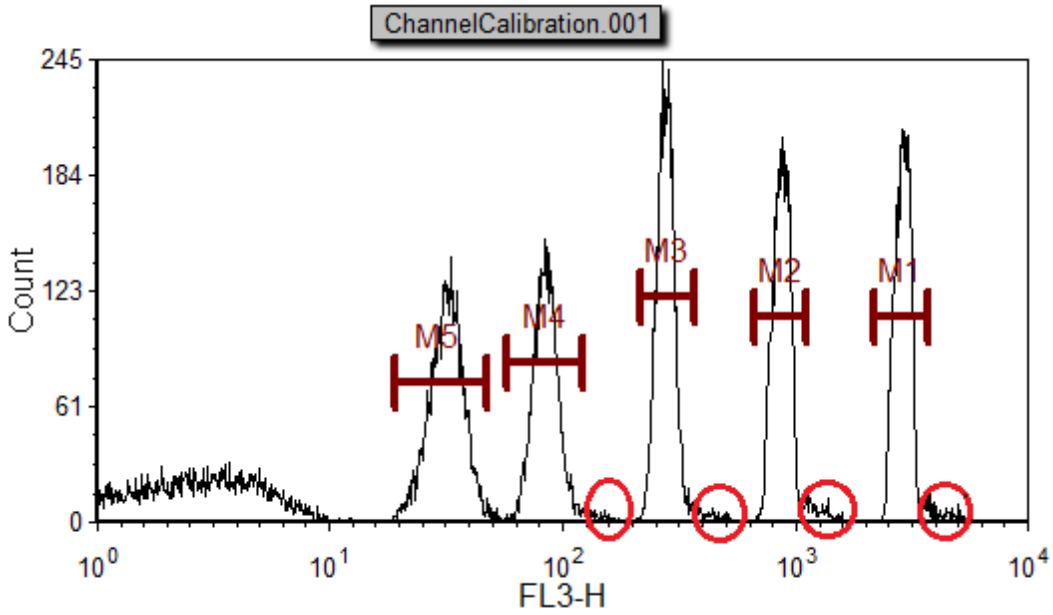
图T23.2 Histogram of FL3-H with Beads Gate Applied (**应用了微珠门的**FL3-H**柱状图**)

这时的柱状图上会显示五个校正颗粒对应的荧光信号峰以及一个"空白"峰。我们现在要在每个峰上设置一个标记来对这些峰进行进一步描述。

7. 请选择**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Create Marker(创建标记)**命令。
8. 请把光标放在柱状图内部、最亮的峰的左边。
9. 按下鼠标左键，把鼠标拖到信号峰的右边。
10. 当光标在信号峰的右侧时，请松开鼠标键。请不要选中信号峰后面代表双细胞的"尾巴"信号区(图T23.3中红圈所示)。

创建标记后，用户可以将标记选中，移动整个标记，或修改标记边界。要想更多地了解如何修改标记的大小，请查看教程中介绍把标记链接到门的那部分656。

请为其它四个峰，从最亮的峰到最暗的峰，重复第7步到第9步，请不要考虑和"空白"微珠相关联的最低的信号峰。用户现在应该有五个标记，每个标记对应一个荧光峰，如图T23.3所示。



图T23.3 Markers M1 through M5 for the five Fluorescent Peaks (red circles indicate doublets) (**标记**M1**到**M5**对应五个荧光峰**(**红圈代表双连体细胞**))

注: FCS Express默认的设置是在数轴上使用通道校正。因此，在设置通道校正之前需要设置一下显示微珠的柱状图，让它不要使用通道校正，因为这是我们原始的对照。

11. 请右键点击在FL3通道显示校正微珠的柱状图，调出相关的弹出菜单。

12. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)** 。

这时会出现针对该柱状图的**Formatting(格式化)**对话框。

13. 请从**Formatting(格式化)**对话框左边的类别选项中选择**Histogram(柱状图)→Histogram Specific Options(柱状图特定选项)**。

这时会出现**Formatting(格式化)**对话框中的**Histogram Specific Options(柱状图特定选项)**(图T23.4)。

14. 请取消对**Use channel calibration on axis(在数轴上使用通道校正)**选项的勾选，如图中的光标所示(图T23.4)。

15. 请点击**OK**。

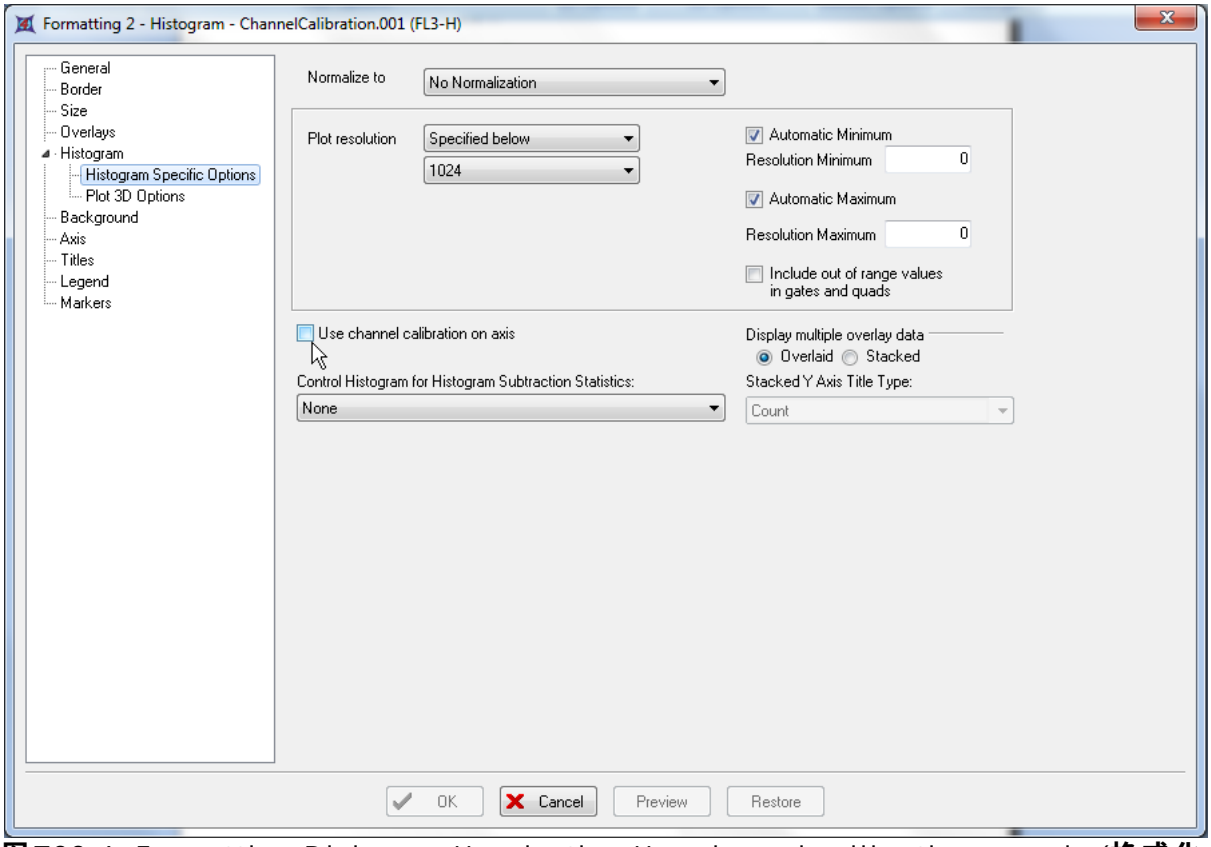


图 T23.4 Formatting Dialog -- Unselecting Use channel calibration on axis (**格式化对话框 -- 请取消对"在数轴上使用通道校正"的勾选**)

36.23.2 *设置通道校正工具*

在本例中，我们会:

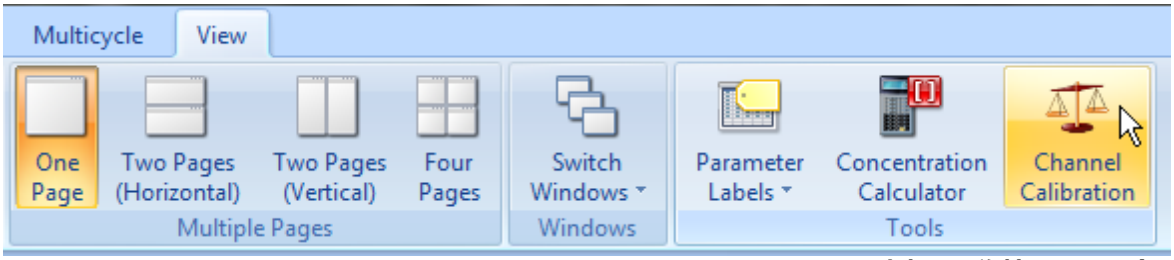
- 确定通道校对中需要的变量。
- 使用在前一节中做好的微珠门以及标记来设置通道校正。
- 获取校正信息。

开始设置之前，我们要先阐述一下流式细胞FCS数据是如何被格式化的。一般来说，FCS文件中的第一个参数是前向散射，紧跟着的是侧向散射，然后是荧光通道按序排列，FL1、FL2、FL3等等。有些设备把参数名直接嵌入FCS文件中，用户可以在Channel Calibration(通道校正)工具中查看这些参数(参见以下的教程)。但在本节教程中使用的这个文件没有这些嵌入信息。但是我们知道"Parameter 5(第5个参数)"代表FL3，这就是我们想要校正的通道。如果不知道一个参数对应于哪个荧光通道，用户可以通过选择**Data(数据)→DataInfo(数据信息)**

→**View Header(查看文件头)**命令来查看FCS的文本头信息。这时会出现一个对话框，以表格的方式显示FCS数据文件头信息中的所有参数信息。

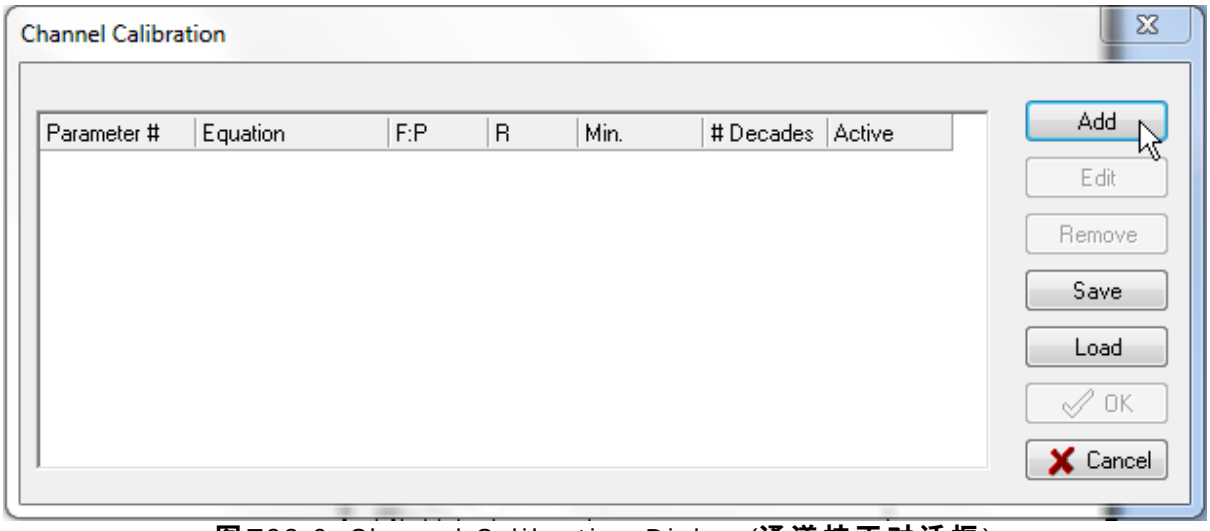
我们现在就来设置通道校正工具。

1. 请选中**View(查看)→Tools(工具)→Channel Calibration(通道校正)**命令(图T23.5)。



图T23.5 Selecting the Channel Calibration Tool Command (**选择通道校正工具命令**)

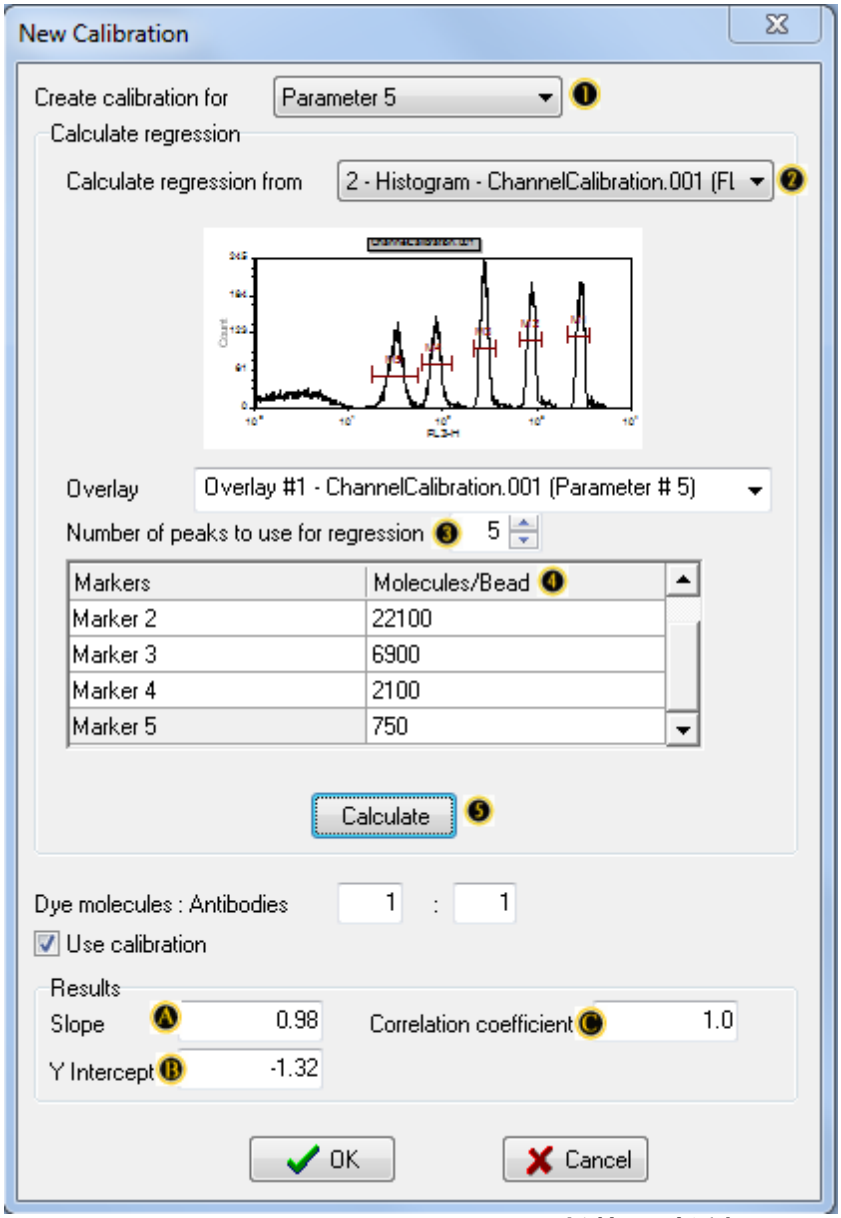
这时会出现**Channel Calibration(通道校正)**对话框(图T23.6)。



图T23.6 Channel Calibration Dialog (**通道校正对话框**)

2. 请点击**Channel Calibration(通道校正)**对话框上的**Add(添加)**按钮(图T23.6)。

这时会出现一个**New Calibration(新校正)**对话框，类似于图T23.7。



图T23.7 New Calibration Dialog (**新校正对话框**)

3. 请从**Create calibration for(为...创建校正)** ❶下拉列表中选中**Parameter 5 (第5个参数)**(图T23.7)。

4. 请从**Calculate regression from(从...计算回归)**下拉列表中选择有校正微珠的柱状图**Histogram - ChannelCalibation.001 (FL3)** ❷。

注: 如果在柱状图上有多个叠加图层，请在**Overlay(叠加图层)**一项中选择使用哪个图层。在本例中的柱状图只是一个简单的柱状图。因此，图上没有其它叠加图层。用户不需要在对话框上做任何修改。

5. 请在**Number of peaks to use for regression(回归过程中用到的信号峰的数目)**字段输入"**5**"❸。

一般来说最好使用所有信号峰(除去空白峰) ;但如果因某种原因用户想要删除某个信号峰，也是可以的。用户必须使用最少三个信号峰来计算回归。

6. 请在**Molecules/ Bead(分子/ 微珠)**❹列中为每个数据峰输入以下荧光值(如图T23.7): 从Marker 1(第1个标记)开始，分别为**77100**、**22100**、**6900**、**2100**以及**750**。

这些值是由微珠制造商提供的，它们常被称为MESF –Mean Equivalent of Soluble Fluorochrome(可溶性荧光染料溶解平衡值)。在本例中的MESF值是针对PE- Cy5分子的。

如果用户选择的信号峰数少于柱状图上的实际信号峰数，例如从五个峰中选四个，请保证从左边的一列中选中正确的标记。

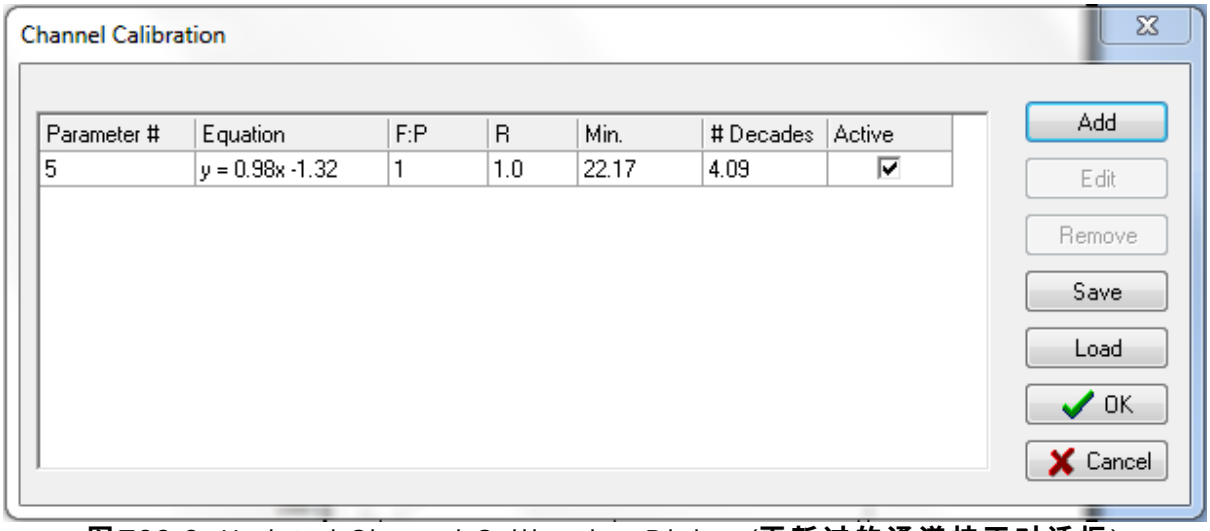
7. 请点击**Calculate(计算)**按钮❺(图T23.7)。

这时**New Calibration(新校正)**对话框以及计算结果，也即**Slope(斜率)** 、**Y Intercept (Y轴截距)**和**Correlation coefficient(拟合系数)** 看起来应该如图T23.7所示。FCS Express使用对数值计算回归。最小检测阈值是在回归公式中把通道设为"1"时获得的荧光信号。级数(机器的动态范围)的计算公式为斜率的倒数。

8. 请点击**OK**，关闭**New Calibration(新校正)**对话框。

这时出现的**Channel Calibration(通道校正)**对话框将如图T23.8所示。现在可以使用通道校正了。

如果用户定义了多个参数的校正，它们都会在这里出现。如果选中了**Active(有效的)**选项，那么在版面中将应用该校正设置(应用于那些勾选了**Use channel calibration on axis (在数轴上使用通道校正)**选项的绘图)。对于每一个参数用户只可以定义一个有效的校正。



图T23.8 Updated Channel Calibration Dialog (**更新过的通道校正对话框**)

注: 我们在这里没有演示，但用户可以通过在Channel Calibration(通道校正)列表中选中某个参数已有的校正设置，来对其进行编辑，方法是按下**Edit(编辑)**按钮。

9. 请点击**OK**，关闭**Channel Calibration(通道校正)**对话框，返回到版面上。

36.23.3 *通道校正演示*

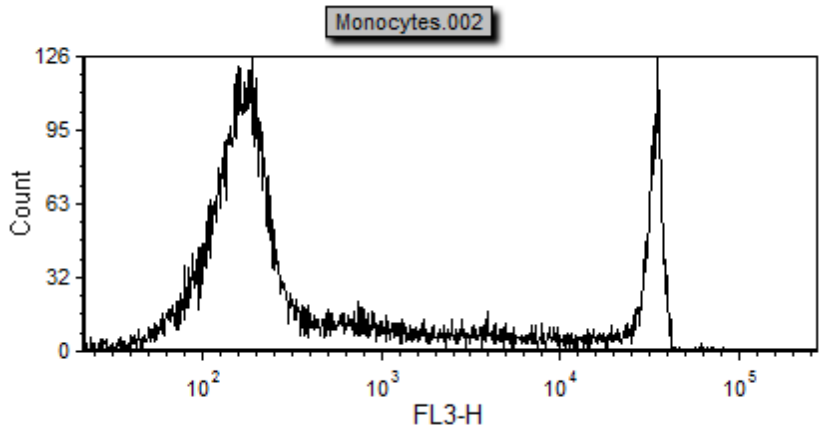
在本例中，我们会:

- 演示通道校正在数据显示上的影响。

我们现在要来打开一个新的柱状图，演示通道校正如何影响数据的显示。

1. 请使用教程样本数据库510中的**Monocytes.002**文件来插入一个新的柱状图。
2. 请设置新的柱状图，让它来显示通道FL3- H。
3. 请确保柱状图上未应用门。

这时的柱状图应该看起来如图T23.9所示。注意到x - 轴从低于10^2延伸到高于10^5。数轴显示为已经经过校正，代表可溶性PE- Cy5分子的平均等值数。这是因为默认的设置是在所有绘图上使用校正过的数轴。

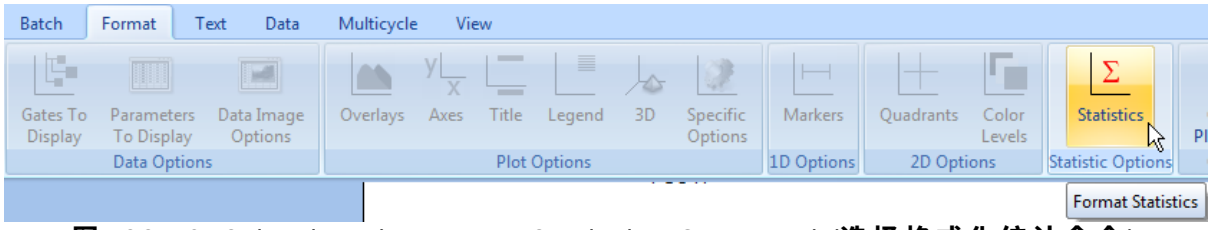


图T23.9 Histogram with Calibrated Axis (**带有校正过的数轴的柱状图**)

4. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。
5. 请从弹出菜单上选中**Statistics(统计)**。

这时会出现和柱状图相关的**Statistics window(统计窗口)**。

6. 请把**Statistics window(统计窗口)**移到柱状图的下方。
7. 请在**Statistics window(统计窗口)**内部点击，将其选中 ;这时它周围应该有一个绿色边框。
8. 请选中**Format(格式)→Statistics Options(统计选项)→Statistics(统计)**命令(图T23.10)。



图T23.10 Selecting the Format Statistics Command (**选择格式化统计命令**)

这时会出现**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框。

9. 请选中**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框中的以下项目: **Median(中间数)**、**Geometric Mean(几何平均数)**、**Arithmetic Mean(算术平均数)**、**CV(变差系数)**、**Peak Value(峰值)**以及**Peak Channel(峰值通道)**。

10. 请取消对**Formatting Statistics(格式化统计)**对话框中其它项目的选择。

11. 请点击**OK**。

这时的统计窗口应该看起来如图T23.11所示。

Median	Geometric Mean	Arithmetic Mean	CV	Peak Value	Peak Channel
208.85	585.87	6075.46	204.76	126.00	190.51

图T23.11 Statistics Window for Histogram with Calibrated Axis (**经过数轴矫正的柱状图所对应的统计窗口**)

12. 请右键点击柱状图，调出相关弹出菜单。

13. 请从弹出菜单上选中**Format(格式化)**。

这时会出现**Formatting(格式化)**对话框。

14. 请移动一下**Formatting(格式化)**对话框，使得柱状图以及统计窗口都可见。

15. 请在**Formatting(格式化)**对话框左边的类别选项中选择**Histogram(柱状图)→Histogram Specific Options(柱状图特定选项)**，如前面的图T23.4 1073所示。

注意到**Use channel calibration on axis(在数轴上使用通道校正)**处于选中状态。

16. 请取消对**Use channel calibration on axis(在数轴上使用通道校正)**选项的勾选(图T23.4 1073)。

17. 请点击**Preview(预览)**键。

注意到柱状图曲线自身并未改变，但数轴却回到了未经校对的10^0到10^4范围。注意到当数轴从校正改为非校正后，统计窗口的数值也随着改变。当校正有效时，统计数据的单位代表PE-Cy5的MESF值。不使用校正时，统计数据的单位代表FCS文件中从原始数据中获得的没有特定意义的值。

18. 请点击**Cancel(取消)**，关闭**Formatting(格式化)**对话框。

36.23.4 *保存/导入通道校正*

在本例中，我们会:

- 学习如何保存和导入不同通道校正设置。

既然我们已经设置了这个校正(或将来要做的多个校正设置)，我们便可以把它们保存起来，以便将来用到其它版面上。例如，如果用户有多个样本，要在不同的版面中进行分析，用户便可以在一个版面上做校正设置，将其保存，然后在所有其它版面上打开该校正设置。这样用户可以避免在每个版面中进行重复校正过程。请记住: 用户只应该把同一个校正设置应用到使用相同流式细胞仪设置采集的数据样本上。

我们现在要来保存该校正设置。

1. 请选择**View(查看)→Tools(工具)→Channel Calibration(通道校正)**命令(图T23.5 1077)。

这时会出现**Channel Calibration(通道校正)**对话框，如前面的图T23.8 1077所示。

2. 请选择你刚刚创建的校正设置。你应该只有一个通道校正设置。
3. 请点击**Save(保存)**按钮。

这时会出现**Save As(保存为)**对话框。

4. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹中，然后输入"**CalibDemo(校正演示)**"。
5. 请点击**Save(保存)**。

我们现在要把这个校正设置导入到一个新的版面中。

6. 请点击**Cancel(取消)**，关闭**Channel Calibration(通道校正)**对话框。
7. 请从应用程序按钮中选择**Save Layout(保存版面)**来保存当前版面。
8. 请在键盘上按下**Ctrl + N**，打开一个空白版面。
9. 请选择**View(查看)→Tools(工具)→Channel Calibration(通道校正)**命令。

这时出现的**Channel Calibration(通道校正)**对话框中没有定义好的校正设置，如前面的图T23.6 1077所示。

10. 请点击**Load(导入)**按钮。

这时会出现**Open(打开)**对话框，在此我们可以选择要导入的校正文件。

11. 请来到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*文件夹，然后选择刚刚保存的"**CalibDemo(校正演示)**"文件。
12. 请点击**Open(打开)**。

这时的**Channel Calibration(通道校正)**对话框看起来如图T23.8所示，其中的校正信息正如以前保存的一样。

13. 请点击**Cancel(取消)**，关闭**Channel Calibration(通道校正)**对话框。

14. 请关闭当前的空白版面，回到我们刚才使用的版面中。

36.23.5 *设置通道校正默认值*

在本例中，我们会:

- 学习如何为FCS Express中的绘图修改默认的通道校正选项。

如前面提到的那样，默认选项是FCS Express用来对所有绘图进行通道校正的选项。但针对某一特定绘图，用户可以决定是否启用这些默认的通道校正选项。我们现在就来演示用户如何关闭所有二维点状图的通道校正选项。

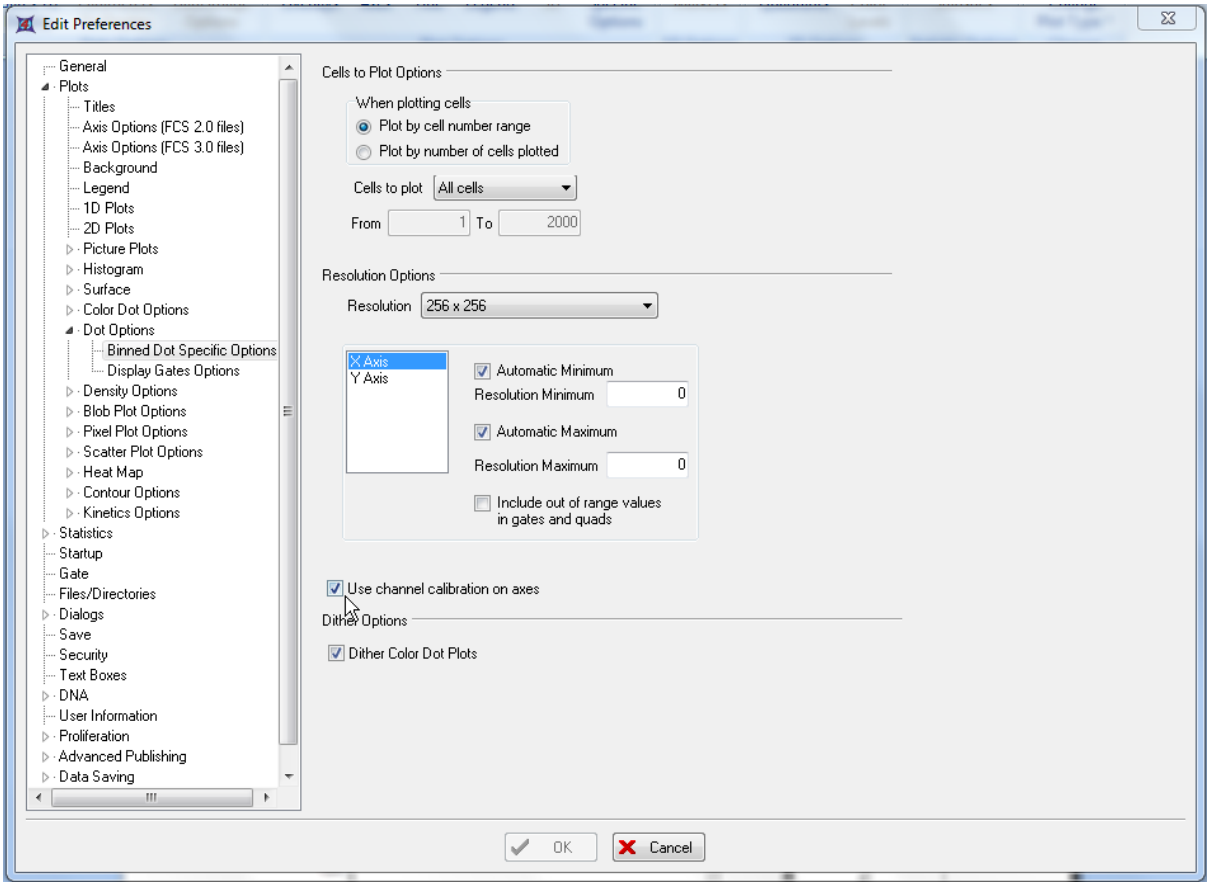
1. 请选中**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)**。

这时会出现**Edit Preferences(编辑选项)**对话框(图T23.12)。

2. 请在**Edit Preferences(编辑选项)**对话框的左侧选择**Plots(绘图)→Dot Options(数据点选项)→Binned Dots Specific Options(区间化的数据点特定选项)**子选项，如图T23.12中的灰色高亮显示。

3. 请取消对**Use channel calibration on axes(在数轴上使用通道校正)**复选框的勾选，如图T23.12中的光标所示。

4. 请点击**OK**，关闭**Edit Preferences(编辑选项)**对话框。



图T23.12 Edit Preferences Dialog -- Unselecting Use channel calibration on axes for 2D Dot Plots (**编辑选项对话框 -- 为二维绘图取消对"在数轴上使用通道校正"的选择**)

这一设置将保证所有新的二维点状图都不会使用通道校正。如果我们要删除其它类型二维绘图的通道校正，我们将需要来到**Edit Preferences(编辑选项)**对话框中的**Plots(绘图)**类别选项下的特定子选项来进行设置。

注意到用户随时可以对某一绘图(而非所有绘图)的通道校正进行编辑或者将其删除，方法是或者使用**Format(格式)→Plot Options(绘图选项)→Specific Options(特定选项)**命令，或者使用前面步骤中显示的、绘图弹出菜单上的**Format(格式)**对话框。当和绘图相关的**Formatting(格式化)**对话框出现时，请为二维点状图选择**Dot Options(数据点选项)→Binned Dot Specific Options(区间化数据点特定选项)**，而为柱状图选择**Histogram(柱状图)→Histogram Specific Options(柱状图特定选项)**。然后，请选中或不要选中**Use channel calibration on axes(在数轴上使用通道校正)**复选框。

请记住，在用来设置新的通道校正的柱状图上，请不要勾选**Use channel calibration on axes(在数轴上使用通道校正)**选项。

36.24 CellProfiler数据导出

CellProfiler是一款免费的开放源代码的软件，它让生物学家可以从数千张图片中定量测量细胞的显性类型。CellProfiler可以自动找到某一图片中所有的细胞，然后测量每个细胞的参数。De Novo软件和CellProfiler的开发者进行了合作，让用户在FCS Express 4中可以分析大批量图像数据。用户数据被恰当地从CellProfiler导出后，FCS Express可以导入这些数据，把用户的数据集显示在大家都熟知的二维绘图以及一些新的绘图类型，例如图像绘图和热图上。

在本教程的前两节中，你将学到:

- 如何从一个96孔的细胞板成像实验中导出CellProfiler数据。
- 如何把数据导入到FCS Express第4版中。

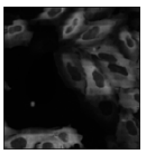
注意: 本教程不会讨论如何创建和使用CellProfiler中的管道功能。本教程将主要针对如何修改已有的管道文件，以把数据导出为FCS Express可以读入的格式。

36.24.1 *导出96孔格式图片*

把数据导出到FCS Express时需要的(或必须修改的)CellProfiler模块包括Load Images(导入图像)模块、Convert Objects to Images(把对象转化为图像)模块、Save Images(保存图像)模块以及Export to Spreadsheet(导出到工作表)模块。本例中最后完成的管道文件可以在教程样本数据库510中找到，其名称是**Section1pipelineCOMPLETED.cp**。这个设置好的、作为模板的管道可用来和你的管道进行比较。

我们要用到的样本数据集可以从CellProfiler Examples(CellProfiler样本)网站下载，它被标记为"**Human cytoplasm- nucleus transloction assay (SBS Bioimage)(人体细胞质- 核易位实验(Bioimage))**"。

- **Human cytoplasm-nucleus translocation assay (SBS Bioimage):** This example includes an advanced example of illumination correction - creating an illumination correction function from all images in a 96-well plate. This pipeline also demonstrates how to load dosage information via the LoadData module, how to use advanced methods for primary and seecondary object identifcation, and how to calculate the Z' factor, a measure of assay quality. More about these images can be found at the BBBC.
  [Download] (40 MB)
  [Tutorial]



CellProfiler Example Link (CellProfiler**样本链接**)

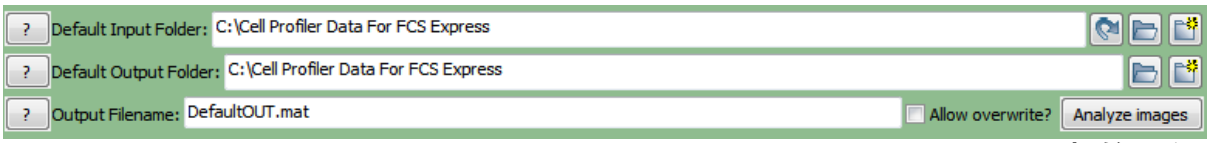
从CellProfiler导出数据的各个模块已经根据Section1pipeline.cp被进行了分解。导入

Section1pipeline.cp后，请遵循以下步骤来修改管道，以便为向FCS Express导出做准备。

选择默认的输入和输出文件夹

要正确地组织数据以便将来在FCS Express中使用，首先请保证在CellProfiler中默认的输入(存储你图片的地方)以及输出文件夹是同一个文件夹(在Input/ Output Folder(输入/ 输出文件夹)窗口中进行设置)(图T24.1)。

注意: DefaultOUT.mat文件也将被导出到Output Folder(输出文件夹)。这个文件可在MATLAB中使用。如果你不想用这个文件，我们建议你将其删除，以节省硬盘空间。



图T24.1 Set the Default Input and Output Folders to the Same Location (**把输入和输出文件夹设置为同一个文件夹**)

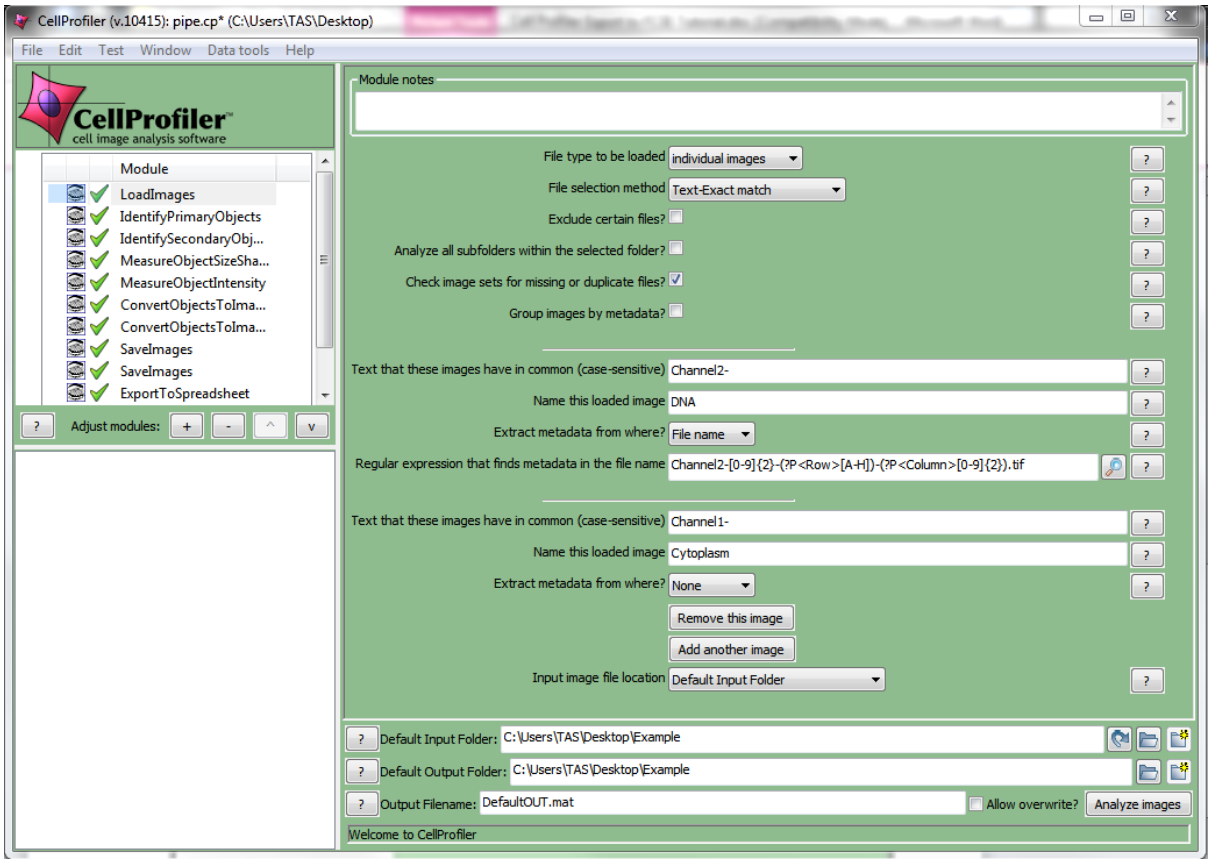
设置LoadImages Module(导入图片模块)

要想让FCS Express认出96孔数据格式，图片文件名中的元数据必须被提取出来。我们必须定义一个Regular Expression(一般表达式)来找到文件名或数据路径中的元数据。步骤如下(图T24.2):

1. 请从**Extract metadata from where?(从哪里提取元数据?)**下拉列表中点击**Channel2- (信号通道2-)**。
2. 请选择你想要使用的元数据。对本例来说，请选择**File name(文件名称)**。
3. 请在**Regular expression that finds metadata in the file name.(在文件名中寻找元数据的一般表达式。)**字段中输入你想要使用的"Regular Expression (一般表达式)"。针对本例我们将使用"Channel2- [0- 9]{2}- (?P< Row> [A- H])- (?P< Column> [0- 9]{2}).tif"，本表达式根据图片名称中Row Letter(行字母)以及Column Number(列数字)定义了图片中细胞板的位置。

注:

- 请点击以下链接来查看"Regular Expressions(一般表达式)"教程以及如何翻译一般表达式。
- 我们只需为一个数据集中的一个图片设置元数据以及一般表达式。在本例中，我们为第2个通道做了这些设置。



图T24.2 Setting up a Regular Expression in the LoadImages Module for a 96 Well Plate Experiment (**在导入图片模块中为一个**96**孔的细胞板实验设置一般表达式**)

ConvertObjectsToImage Modules (把对象转化为图片模块)

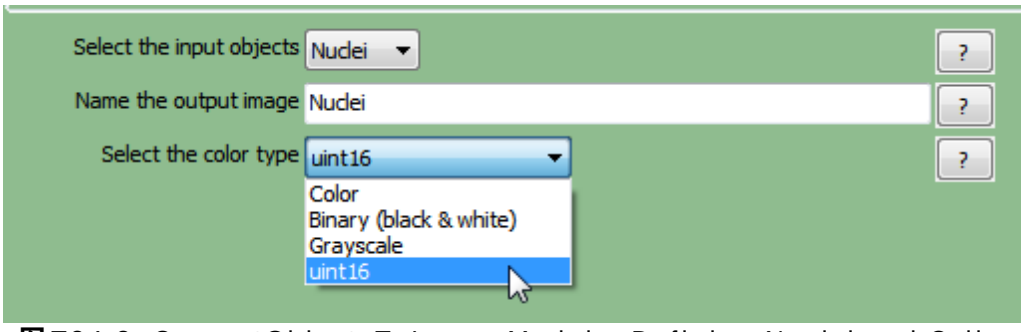
在该模块中，在"Identify Primary/ Secondary Objects(确认主要/ 次要对象)"模块中定义好的对象将被转化为FCS Express在导入和分析中可以使用的图片蒙版。图T24.3给出了一个模块窗口的例子。

4. 请在管道中选择第一个**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**模块 。
5. 请从 **Select the input objects(选择输入对象)**下拉菜单中选择**Nuclei(细胞核)**。
6. 请在**Name the output image(为输出图片命名)**中选择一个名字。例如，可以使用"Nuclei(细胞核)"。
7. 请在**Select the color type(选择颜色类型)**下拉菜单中选择颜色类型，请选择**uint16**(图T24.3)。
8. 请在管道中选择第二个**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**。
9. 请在**Select the input object(选择输入对象)**下拉列表中选择**Cells(细胞)**。

10. 请在**Name the output image(为输出图片命名)**中输入想要的名称。在本例中，我们将使用"Cells(细胞)"。

11. 请在**Select the color type(选择颜色类型)**下拉菜单中选择颜色类型，请选择**uint16**。

*注:*在定义你自己的管道时，请为你通过Identify Primary/ Secondary Objects(确认主要/次要对象)模块定义的对象重复第4步到第7步。



图T24.3 ConvertObjectsToImage Module: Defining Nuclei and Cells Image Masks (**把对象转化为图片模块**: **定义细胞核以及细胞图像蒙版**)

SaveImages Module (保存图片模块)

我们在**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**模块中定义的图像蒙版必须被保存下来并且和原始的图像/ 数据进行关联。

12. 请在管道中选择第一个**SaveImages(保存图片)**模块。

13. 请在**Select the type of image to save(选择保存的图片类型)**下拉列表中选择**Image(图片)**。

14. 请在**Select the image to save(选择要保存的图片)**中选择**Cells(细胞)**。

注: 定义自己的管道时，请选择在**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**模块中定义的相应的图片。

15. 请在**Select method for constructing file names(选择构建文件名的方法)**下拉列表中选择**single name(单文件名)**。

16. 请在**Enter single file name(输入单文件名)**中输入任何你想要的名字，然后再输入一个连字符**"- "**。在本例中，我们使用**CellLabel-** 。

17. 请在**CellLabel-** 后右键点击，选择**Row(行)**，然后在其后面输入一个连字符**"- "**。

18. 请在**Row-** 后右键点击，然后选择**Column(列)**。

19. 请选择管道中的第二个**SaveImages(保存图片)**模块。

20. 请从**Select the type of image to save(选择保存的图片类型)**下拉菜单中选

择**Image(图片)**。

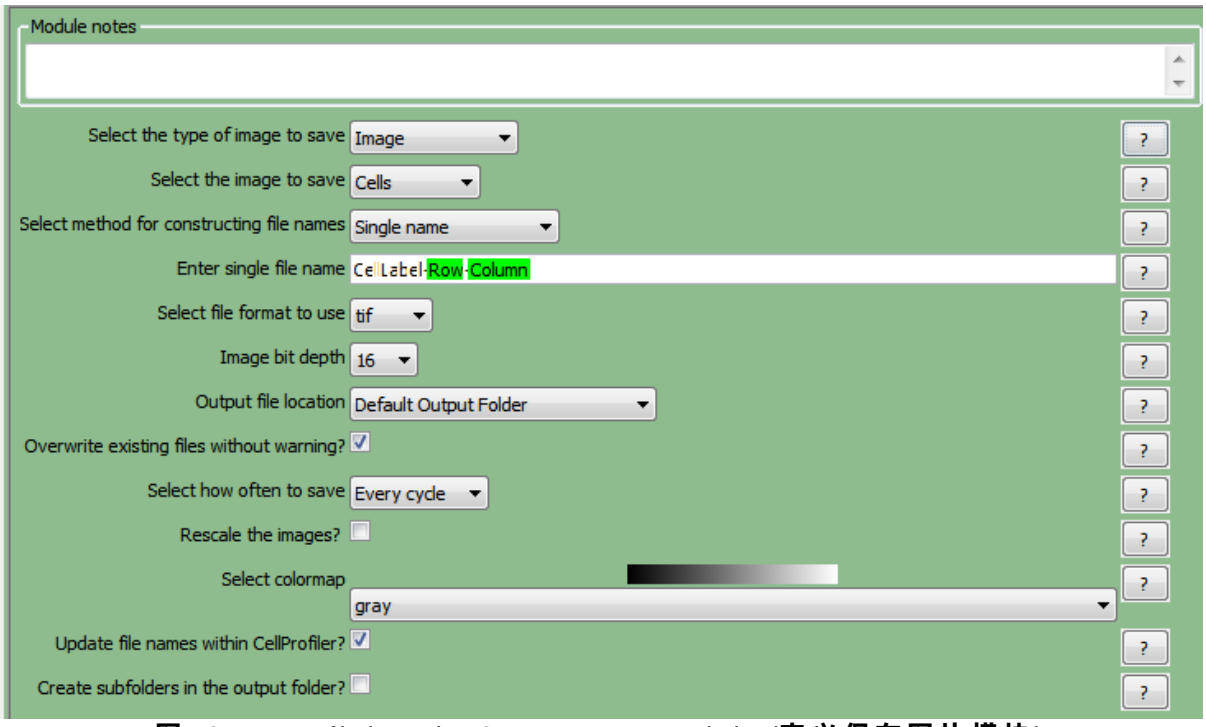
21. 请从**Select the image to save(选择要保存的图片)**中选择**Nuclei(细胞核)**。
22. 请在**Select method for constructing file names(选择构建文件名的方法)**下拉列表中选择**Single name(单文件名)**。
23. 请在**Enter single file name(输入单文件名)**中输入任何你想要的名字，然后再输入一个连字符**"- "**。在本例中，我们将使用**NucleiLabel-** 。
24. 请在**NucleiLabel-** 后右键点击，选择**Row(行)**，然后在其后输入一个连字符**"- "**。
25. 请在**Row-** 后右键点击，然后选择**Column(列)**。

注: Row(行)和Column(列)是你为导入图片模块定义的一般表达式数值。使用一般表达式将根据输入文件名中的文本为每个输出文件设置一个独一无二的名称。这将防止输出文件互相覆盖，并让FCS Express可以找到每个图片文件对应的图片蒙版。

请为**CellLabel**以及**NucleiLabel**的**SaveImages(保存图片)**模块执行以下的第26到32步。

26. 请从**Select the format to use(选择使用的格式)**下拉列表中选择**tif**。
27. 请在**Image bit depth(图片比特深度)**下拉列表中选择**16**。
28. 请从**Output file location(输出文件位置)选择Default Output Folder(默认输出文件夹)**。
29. 请点选**Overwrite existing files without warning?(覆盖已有文件时不进行警告？)**复选框。
30. 请从**Select how often to save(选择如何保存)**下拉列表中选择**Every cycle(每个周期)**。
31. 请从**Select colormap(选择颜色图)**下拉列表中选择**gray(灰度)**。
32. 请勾选**Update file names within CellProfiler?(在CellProfiler里更新文件名？)**复选框。

这时**CellLabel**的**SaveImages(保存图片)**模块看起来应该如图T24.4所示。



图T24.4 Defining the SaveImages Module (**定义保存图片模块**)

ExportToSpreadsheet Module (导出到电子表格模块)

既然所有的图片以及对象的图片模板都已经定义并保存好了，用户现在即可让CellProfiler导出用户想要在FCS Express中查看的测量数据。在本例中，我们将导出所有的测量数据。

33. 请选择**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块。
34. 请从下拉列表中选择**Comma(逗号)(",")**作为列分隔符。
35. 请取消对**Prepend the output file name to the data file names?(在数据文件名称前追加输出文件名)**复选框的勾选。
36. 请从**Output file location(输出文件位置)**下拉列表中选择**Default Output Folder(默认输出文件夹)**。
37. 请取消对**Export all measurements?(导出所有测量数据？)**的点选。
38. 请从第一个**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Image(图片)**。
39. 请取消对**Use the object name for the file name?(为文件名使用对象名？)**的勾选。
40. 请把文件名设置为**Image.cptoc**。
41. 请选择**Add another data set(添加另外一组数据集)**。

42. 请从第二个**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Nuclei(细胞核)**。

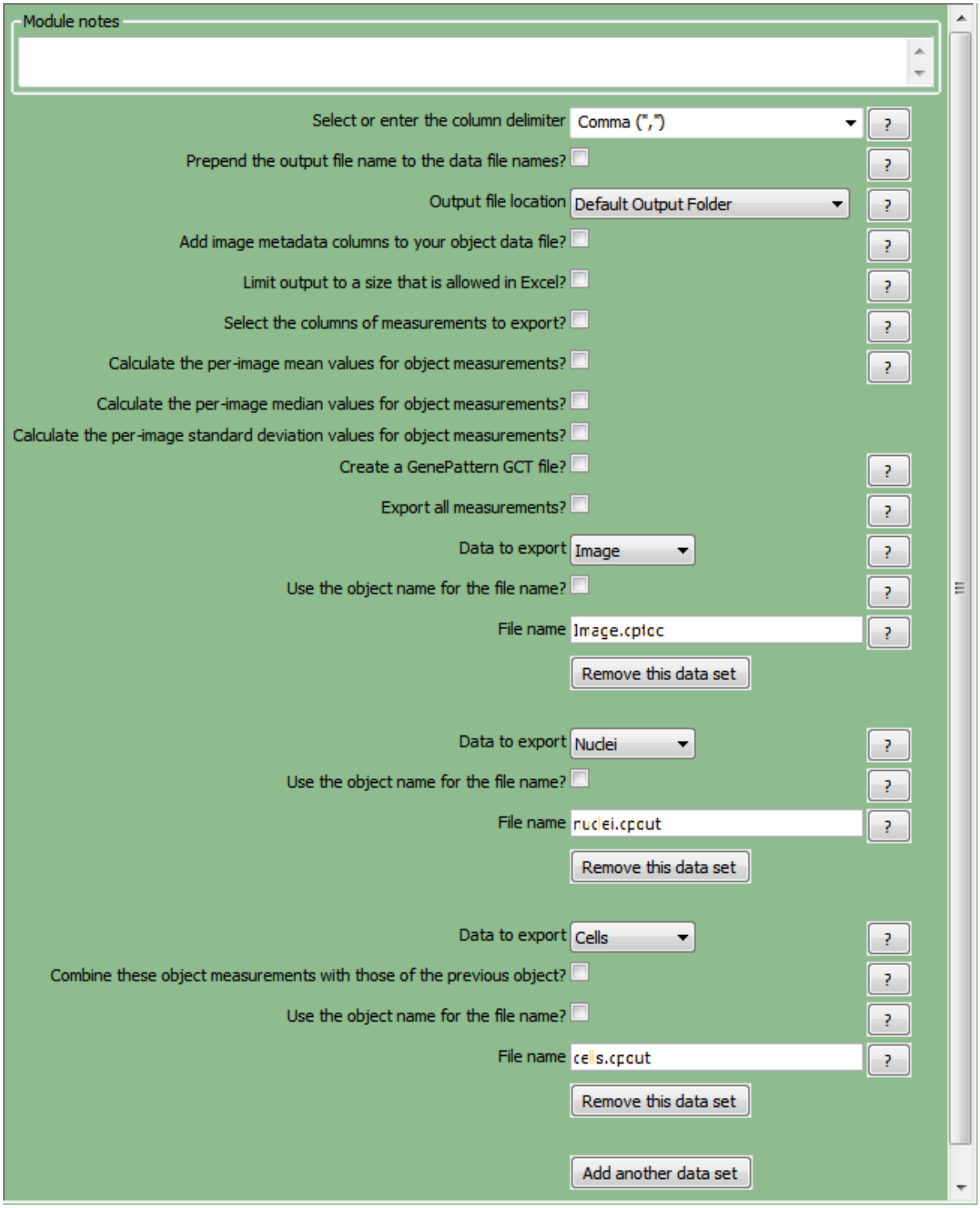
43. 请取消对**Use the object name for the file name(使用对象名作为文件名)**的勾选。

44. 请把文件名设置为**nuclei.cpout**。

45. 请为**"Cells(细胞)"**重复第41- 44步，把文件名设置为**cells.cpout**。

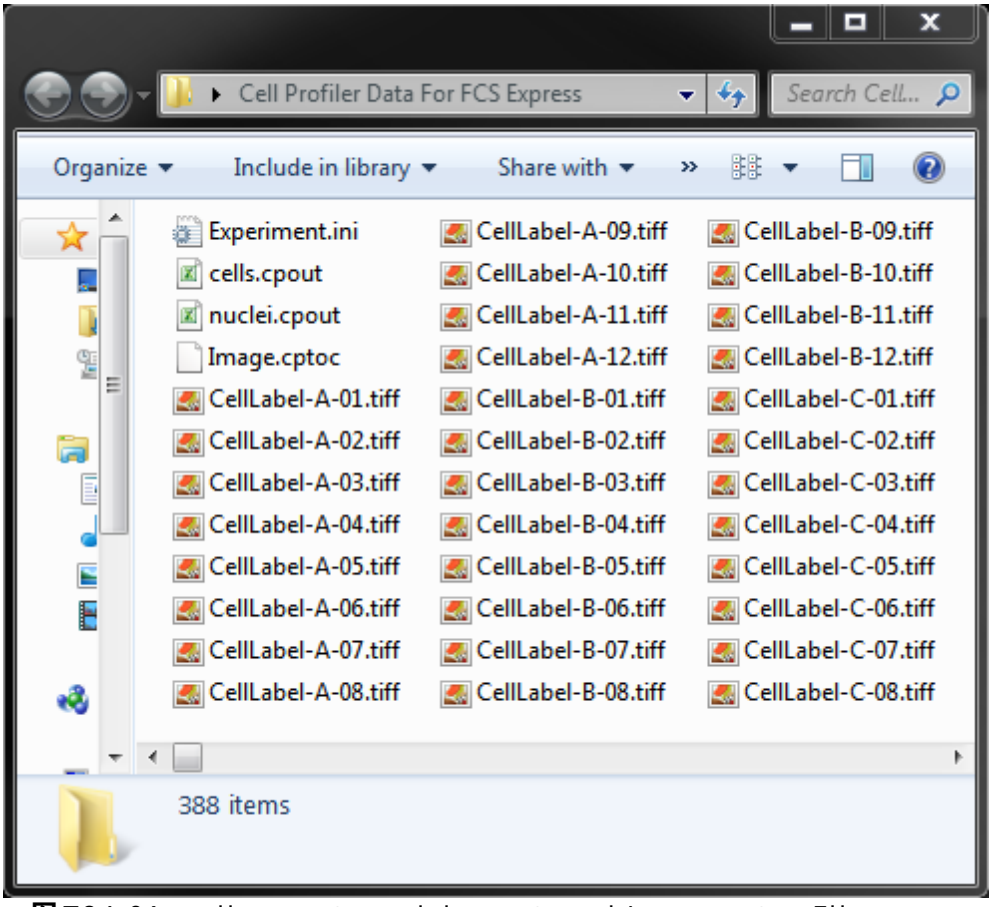
这些都做完后，**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块应该看起来如图T24.5所示。

注意: 文件后缀".cptoc"代表CellProfiler Table of Contents(CellProfiler内容表格), 而".cpout"代表CellProfiler Output(CellProfiler输出)。"Image.cptoc"文件中保存着在管道中处理的所有对象的位置以及图片数目的信息, 而"Nuclei.cpout"和"Cells.cpout"分别存储与单个对象以及分析相关的实际列表模式数据。每个在CellProfiler中定义的对象模板都应该有一个独立的".cpout"文件。我们只需要一个"Image.cptoc"文件。

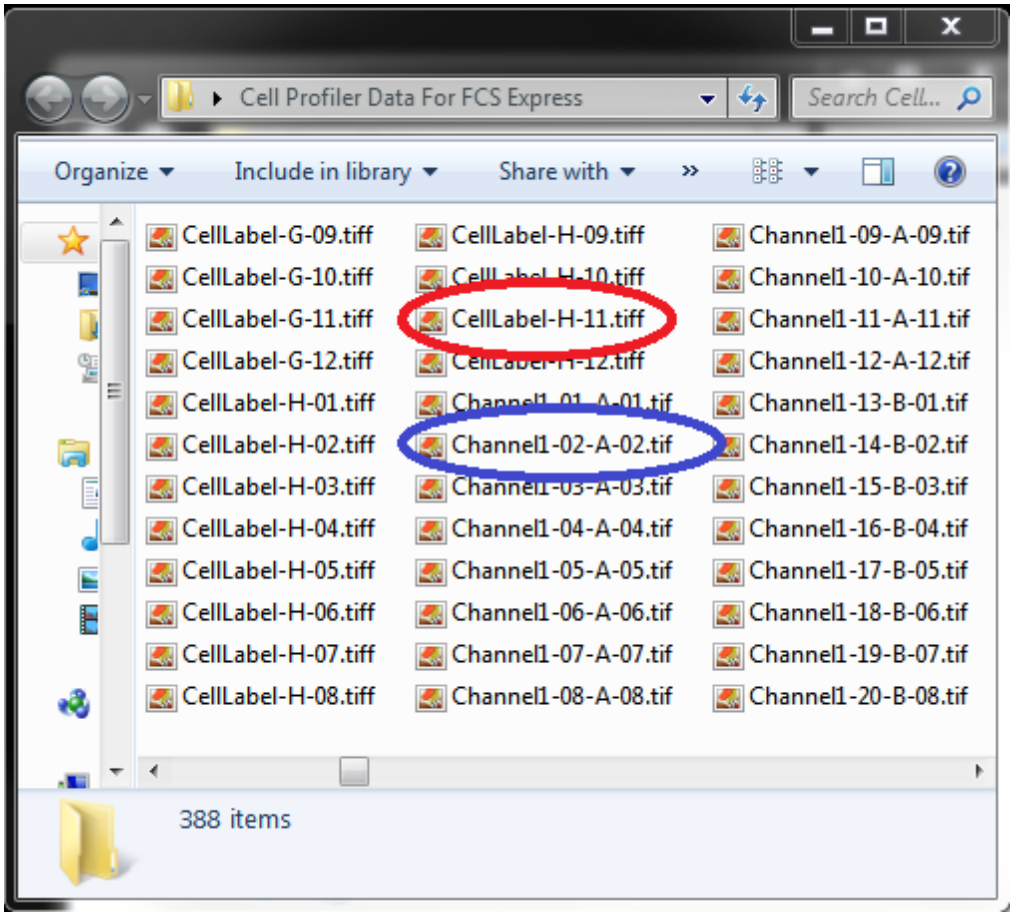


图T24.5 ExportToSpreadsheet Module Set Up to Export Image.cptoc, nuclei.cpout, and cells.cpout (**被设置为导出到**Image.cptoc、nuclei.cpout**以及**cells.cpout**的**ExportToSpreadsheet**模块(导出到电子表格模块**))

46. 请选择**Analyze images(分析图片)**来运行管道。图片所在的文件夹将包括cells.cpout、nuclei.cpout以及Image.cptoc文件(图T24.6A)。该文件夹中还有对应于细胞板上每个原始图片/细胞孔的一个CellLabel以及一个NucleiLabel图片(图T24.6B)。



图T24.6A cells.cpout, nuclei.cpout, and Image.cptoc Files were Created. Experiment.ini was Downloaded. (cells.cpout、nuclei.cpout **以及**Image.cptoc**文件已创建**，Experiment.ini**文件已下载。**)



图T24.6B NucleiLabel and CellLabel image mask .tiff Have Been Created for Every Well of the Plate. The File Names Reflect the Row and Column Numbers for the CellLabels (Red Oval) and Channels (Blue Oval). (**细胞板中的每个细胞孔对应的**NucleiLable**和**CellLabel**已经被创建好了。文件名反映了**CellLabel(**红色椭圆**)**以及**Channels(**蓝色椭圆**)对应的行号和列号。**)

36.24.2 导入和分析96孔图片

在CellProfiler中调整了导出设置并运行了管道后，你可以把数据导入到FCS Express第4版中。FCS Express仅仅只需要关于实验设置的另外一条信息。CellProfiler现在还不能以在实验中用到的细胞板格式导出。一些标准的细胞板格式定义可以在FCS Express网站下载。在本例中，我们将使用一个96孔板模板，用户可在Tutorial Sample Data archive(教程样本数据库)[510]中找到这个模板，其名称是**Experiment.ini**。细胞板格式定义文件必须被命名为**Experiment.ini**，并且放置到用户在CellProfiler中定义的**Default Output Folder(默认输出文件夹)**中(图T24.6A[1087])。

1. 请从CellProfiler Examples(CellProfiler样本)网站下载样本数据。
2. 请把**Section1pipelineCOMPLETED.cp**管道文件导入到CellProfiler中。
3. 请在CellProfiler中选择默认的输入和输出文件夹，以便导入和存储数据，如图T24.1 1087所示。
4. 请在CellProfiler中分析图片。

把96孔板拍照实验导入到FCS Express中

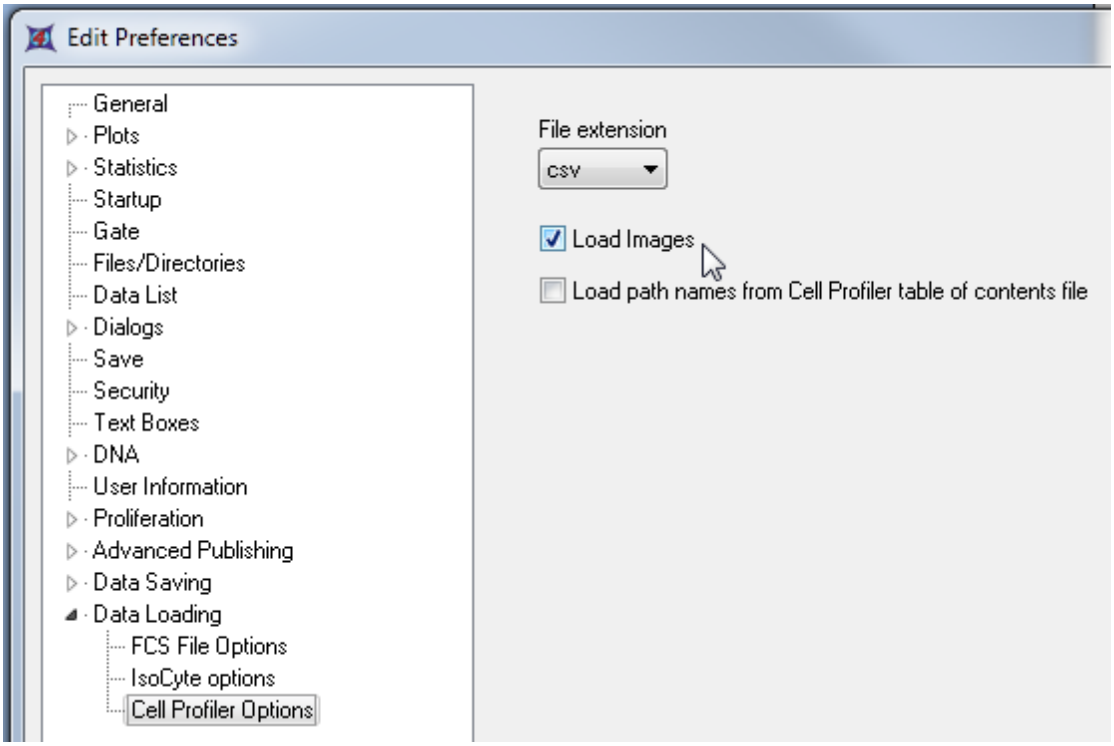
在开始以下步骤之前，我们先对FCS Express Preferences(FCS Express设置)进行一下解释:

必须通过以下方式来激活*File selection(文件选择)*对话框:

A. 请来到 **Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→General(常规)**。
B. 请选中**Always show a file selection dialog when opening new plots or showing a window that uses a data file(在打开新的绘图或者显示一个实验数据文件窗口时总是显示文件选择对话框)**复选框。

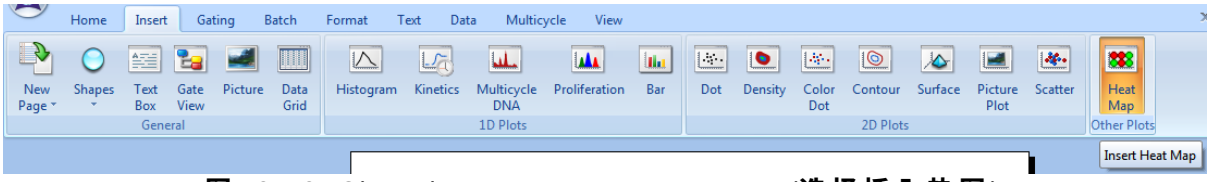
(启用这个功能不是使用FCS Express时必须要选择的条件，在本教程中选择这个功能只是为了方便起见。)

5. 请打开FCS Express第4版。
6. 请打开**Edit Preferences(编辑选项)**对话框，然后从**Data Loading(数据导入)**类别选项中选择**Cell Profiler Options(CellProfiler选项)**(图T24.7)。
7. 请从**delimiter(分隔符)**下拉列表中选择**csv**。
8. 请点选**Load Images(导入图片)**复选框。
9. 请取消对**Load path names from Cell Profiler table of contents file (从CellProfiler内容列表文件中导入路径名)**复选框的勾选。
10. 请点击**OK**，关闭**Edit Preferences(编辑选项)**对话框。



图T24.7 CellProfiler Data Loading Options for a 96 Well Plate Experiment with Images (96**孔细胞板图片实验对应的**CellProfiler**数据导入选项**)

11. 请选择**Insert(插入)→Other Plots(其它绘图)→Heat Map(热图)**命令(图T24.8)。

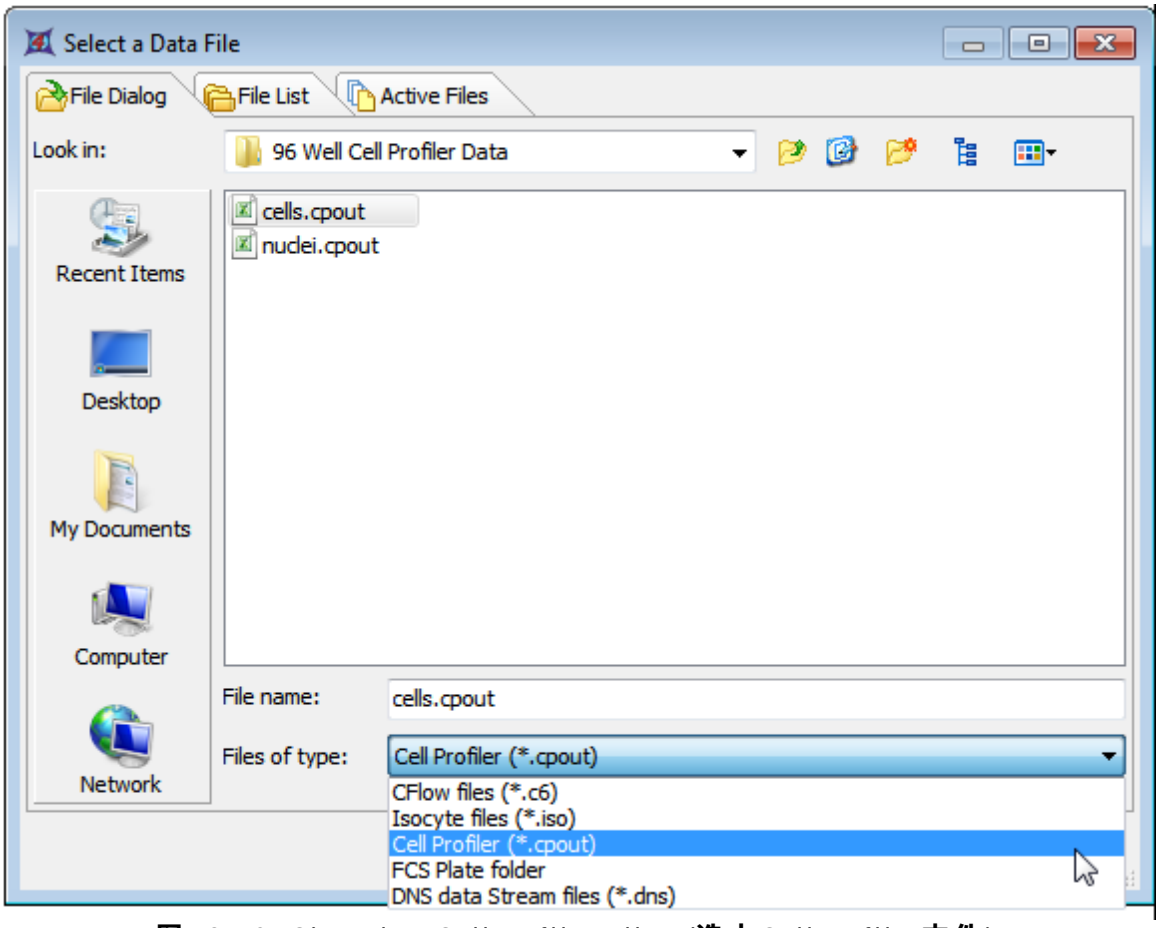


图T24.8 Choosing to Insert a Heat Map (**选择插入热图**)

12. 请在版面上任何地方点击，这时会出现**Select a Data File(选中数据文件)**对话框。

13. 请来到你保存CellProfiler输出数据的*Default Output Folder(默认输出文件夹)*。

14. 请在**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选中**Cell Profiler(*.cpout)**(图T24.9)。这时会出现CellProfiler输出的那些文件的图标。在本例中，它们的名称分别为**cells.cpout**以及**nuclei.cpout**。



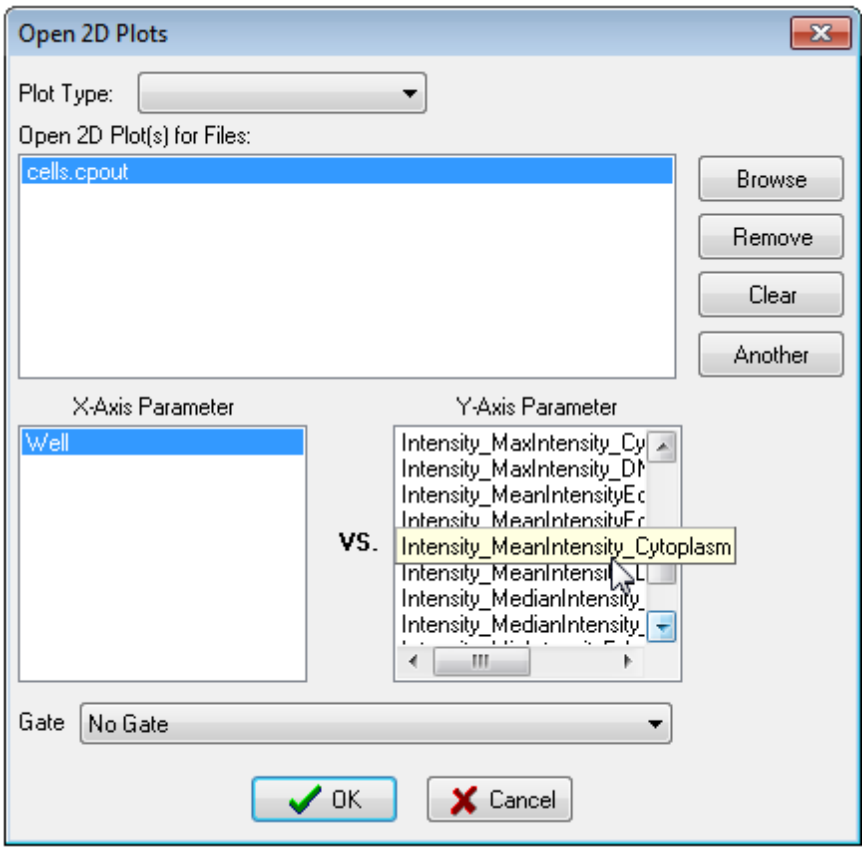
图T24.9 Choosing CellProfiler Files (**选中**CellProfiler**文件**)

15. 请选中**cells.cpout**。

16. 请点击**Open(打开)**。

注: 在本例中，我们将使用cells.cpout文件，该文件将显示在CellProfiler中归为*IdentifySecondaryObjects(确认次要对象)*模块中的对象的数据，这一模块对应于整个细胞区域。文件nuclei.cpout将显示CellProfiler中归为*IdentifyPrimaryObjects(确定主要对象)*模块中的对象的数据，这个模块对应于细胞的细胞核区域。

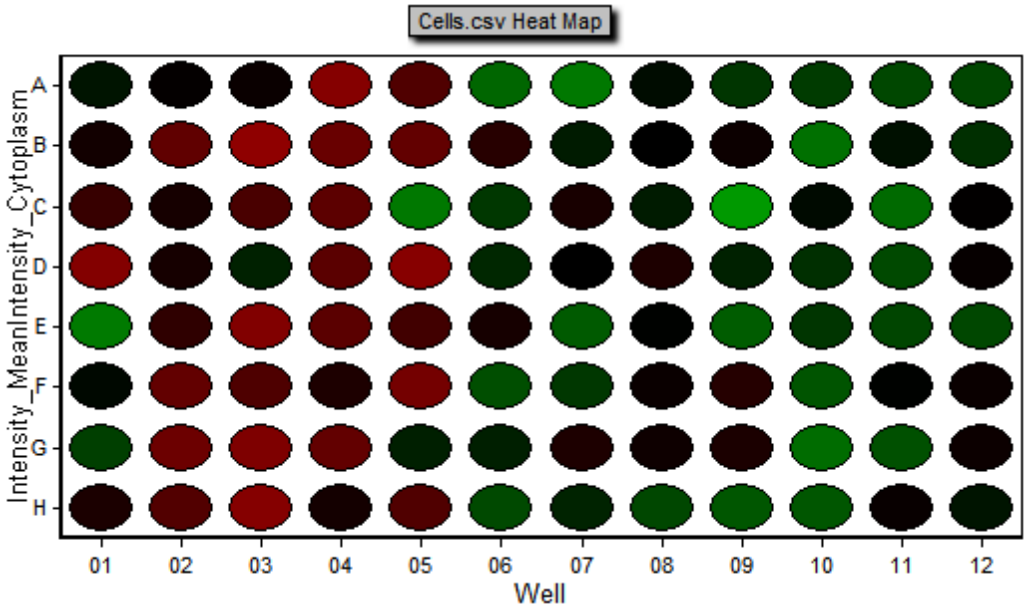
17. 请在**Open 2D Plots(打开二维绘图)**对话框中点选你希望在热图中查看的**Y-Axis Parameter(Y- 轴参数)**。在本例中，请选择**Intensity_MeanIntensity_Cytoplasm(强度_平均强度_细胞质)**(图T24.10)。



图T24.10 Opening a Heat Map and Choosing the Y-Axis Parameter from the Open 2D Plots Dialog (**打开热图，然后从"打开二维绘图"对话框中选择**Y-**轴参数**)

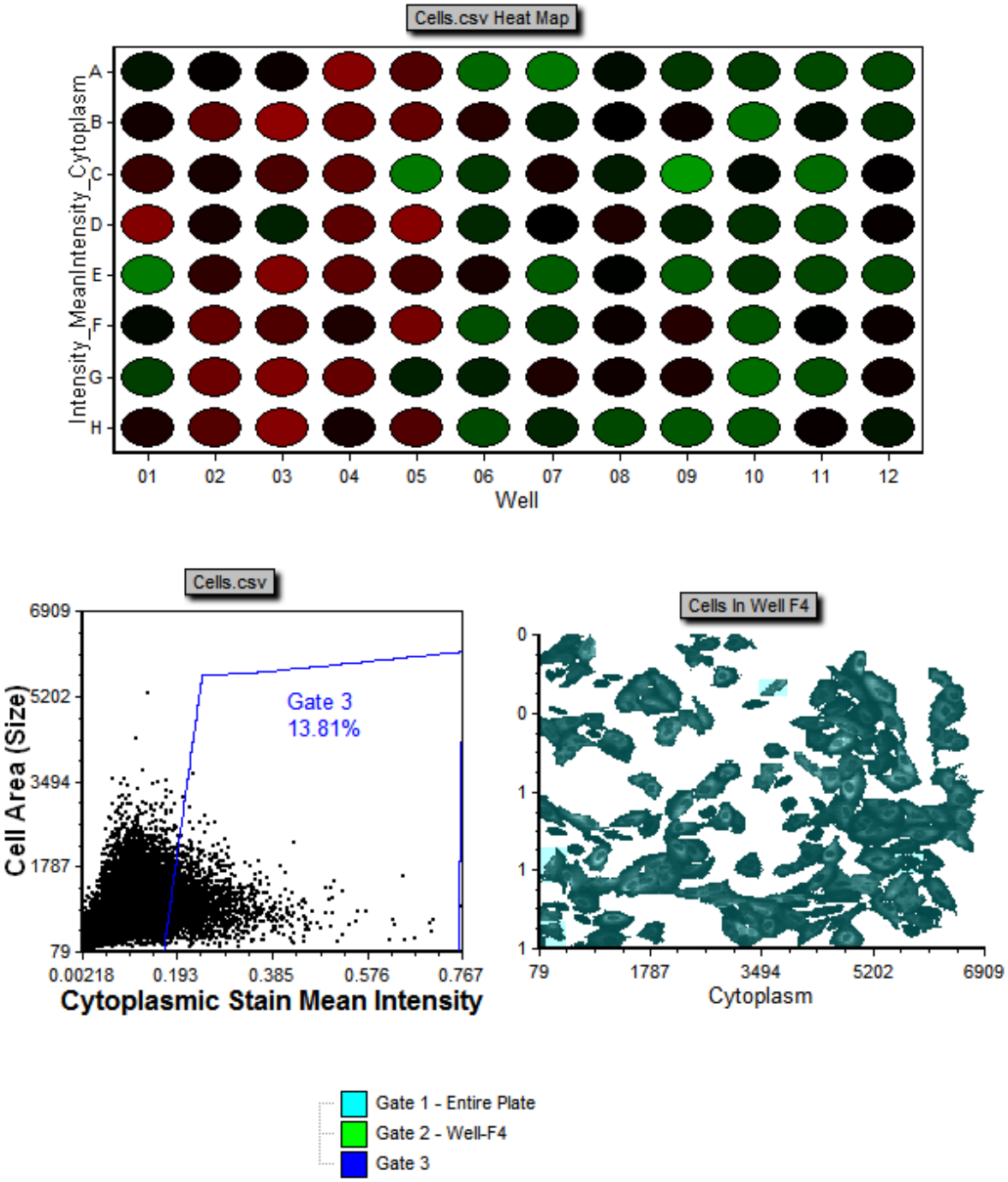
18. 请点击**OK**。

这时在版面上会出现一个热图，显示数据被成功导入(图T24.11)。



图T24.11 Example of a Heat Map Generated from CellProfiler Data (**由CellProfiler数据生成的热图实例**)

现在可以通过使用**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Well(细胞孔)**命令来为热图应用门。插入一个基于细胞孔门的二维绘图将让用户可以像在点状图中那样查看数据，或者像在图像绘图中那样查看图像 (图T24.12)。



图T24.12 A Heat Map from CellProfiler Data with Corresponding Dot and Picture Plots (**由**CellProfiler**数据生成的热图以及相应的点状图和图像绘图**)

36.24.3 导出单个图片

在以下两节中，你将学习:

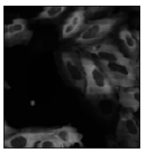
- 如何从CellProfiler中导出不是从96孔板中获取的一组单个图片。
- 如何把数据导入到FCS Express第4版中。

这一部分适用于单个图片数据组，这组图片可能不是从96孔板上采集的，而是从一个玻片上拍下来的。

在这一节中我们要用到的向FCS Express中导出数据的CellProfiler模块包括: LoadImages(导入图片)模块、ConvertObjectsTo Images(把对象转化为图片模块)、SaveImages(保存图片)模块以及ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)模块。本例中最后完成的管道文件可以在教程样本数据库510中找到，其名称是**Section2pipelineCOMPLETED.cp**。这个完整的、作为模板的管道可以用来和用户的管道进行比较。

我们要使用的样本数据集中的图片可在 教程样本数据库510中找到，其名称是"**5 and 10 minute time point images(5分钟和10分钟时间点的图片)**"。这些图片是基于CellProfiler样本中的样本实验"**Human cytoplasm- nucleus translocation assay (SBS Bioimage) (人类细胞质- 核易位实验(SBS Bioimage))**" 。

- **Human cytoplasm-nucleus translocation assay (SBS Bioimage):** This example includes an advanced example of illumination correction - creating an illumination correction function from all images in a 96-well plate. This pipeline also demonstrates how to load dosage information via the LoadData module, how to use advanced methods for primary and seecondary object identifcation, and how to calculate the Z' factor, a measure of assay quality. More about these images can be found at the BBBC.
  [Download] (40 MB)
  [Tutorial]



我们将把从CellProfiler中导出数据的步骤依据模块划分如下。为了向FCS Express中导出做准备，导入**Section2pipeline.cp**后，请遵循以下步骤来修改管道。

选择默认的输入和输出文件夹

要让FCS Express正确地组织数据，首先请保证在CellProfiler中默认的输入文件夹(存储图片的地方)以及输出文件夹是同一个文件夹(在Input/ Output Folder(输入/ 输出文件夹)窗口中进行设置)(图T24.13)。

注意: DefaultOUT.mat文件也将被导出到Output Folder(输出文件夹)中。这个文件可在MATLAB中使用。如果不想用这个文件，我们建议将其删除，以节省硬盘空间。



图T24.13 Set the Default Input and Output Folders to the Same Location (**把输入和输出文件夹设置为同一个文件夹**)

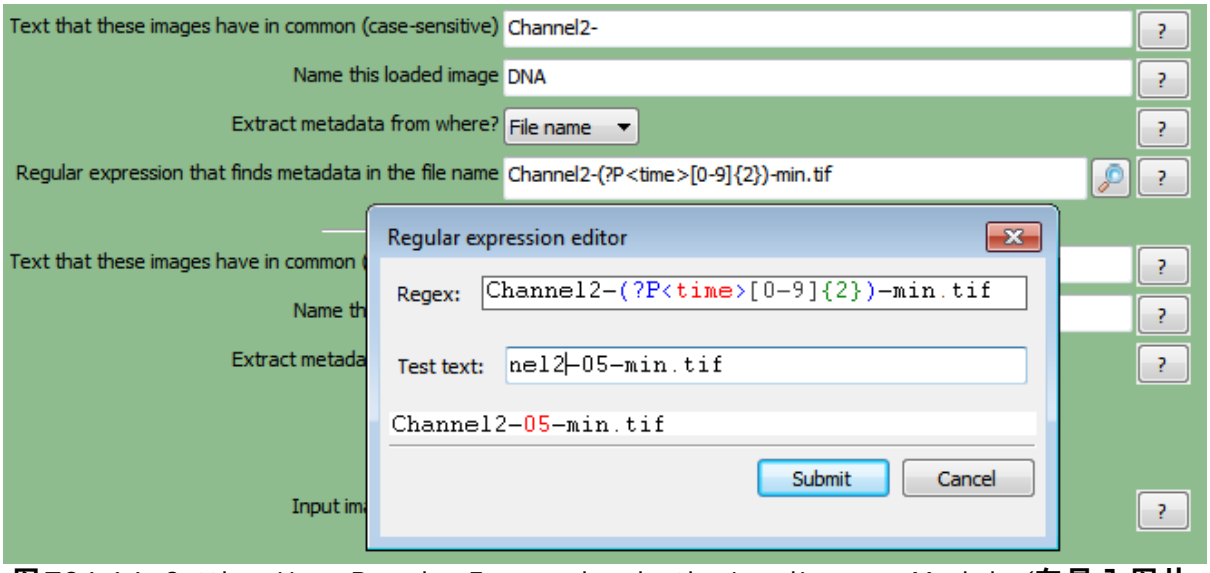
设置LoadImages Module(导入图片模块)

要想让FCS Express通过管道读出数据，图片文件名中的元数据必须被提取出来。我们必须定义一个Regular Expression(一般表达式)，用以在下面步骤中要使用到的文件名或数据路径中找到元数据(图T24.14):

1. 请从**Extract metadata from where?(从哪里提取元数据?)**下拉列表中点击**Channel2-**。
2. 请选择你想要使用的元数据。对本例来说，请选择**File name(文件名称)**。
3. 请在**Regular expression that finds metadata in the file name.(在文件名中寻找元数据的一般表达式。)**字段中输入你想要使用的**"Regular Expression (一般表达式)"。**在本例中，我们将使用"Channel2- [0- 9]{2}- (?P< Row> [A- H])- (?P< Column> [0- 9]{2}).tif"，该表达式根据图片名中的行字母以及列数字定义了图片在细胞板上的位置。

注:

- 请点击以下链接来查看"一般表达式"教程以及如何翻译一般表达式。
- 我们只需为数据集中的一个图片设置元数据以及一般表达式。在本例中，我们为第2个通道做了这些设置。



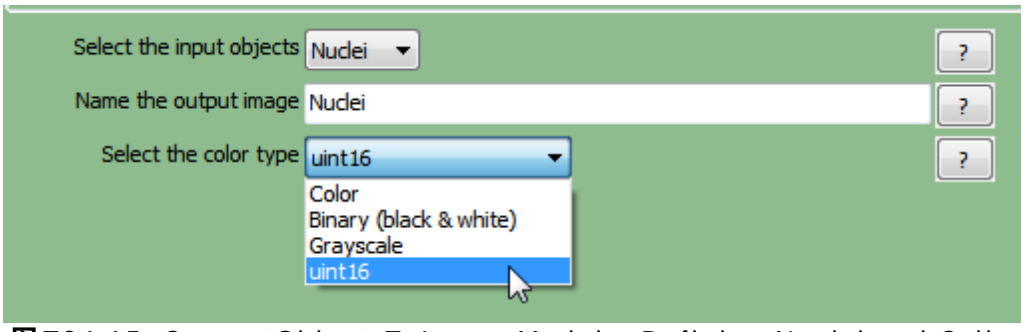
图T24.14 Setting Up a Regular Expression in the LoadImages Module (**在导入图片模块中设置一般表达式**)

ConvertObjectsToImage Modules (把对象转化为图片模块)

在该模块中，模块"Identify Primary/ Secondary Objects(确认主要/ 次要对象)"中定义好的对象将被转化为FCS Express在导入和分析中可以使用的图片蒙版。图T24.15给出了一个该模块窗口的例子。

4. 请选择管道中的第一个**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**模块 。
5. 请从**Select the input objects(选择输入对象)**下拉列表中选择**Nuclei(细胞核)**。
6. 请在**Name the output image(为输出图片命名)**字段中选择一个名字。例如，可以使用"Nuclei(细胞核)"。
7. 请在**Select the color type(选择颜色类型)**下拉菜单中选择颜色类型，请选择**uint16**(图T24.15)。
8. 请在管道中选择第二个**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**。
9. 请在**Select the input object(选择输入对象)**下拉列表中选择**Cells(细胞)**。
10. 请在**Name the output image(为输出图片命名)**字段输入想要的名称。本例中，我们将使用"Cells(细胞)"。
11. 请在**Select the color type(选择颜色类型)**下拉菜单上选择颜色类型，请选择**uint16**。

注:在定义你自己的管道时，请为通过Identify Primary/ Secondary Objects(确认主要/ 次要对象)模块定义的对象重复第4步到第7步。



图T24.15 ConvertObjectsToImage Module: Defining Nuclei and Cells Image Masks (**把对象转化为图片模块**: **定义细胞核以及细胞图像蒙版**)

SaveImages Module (保存图片模块)

我们在**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**模块中定义的图像蒙版必须被保存下来并且和原始的图像/ 数据进行关联。

12. 请选择管道中的第一个**SaveImages(保存图片)**模块。
13. 请在**Select the type of image to save(选择保存的图片类型)**下拉列表中选择**Image(图像)**。
14. 请在**Select the image to save(选择要保存的图片)**中选择**Cells(细胞)**。

注: 定义自己的管道时，请选择在**ConvertObjectsToImage(把对象转化为图片)**模块中定义的相应的图片。

15. 请在**Select method for constructing file names(创建构建文件名的方法)**下拉列表中选择**Single name(单个文件名)**。
16. 请在**Enter single file name(输入单文件名)**字段输入任何你想要的名字，然后再输入一个连字符**"- "**。在本例中，我们使用**CellLabel-** 。
17. 请在**CellLabel-** 后右键点击，然后选择**Time(时间)**。
18. 请选择管道中的第二个**SaveImages(保存图片)**模块。
19. 请从**Select the type of image to save(选择保存的图片类型)**下拉菜单中选择**Image(图片)**。
20. 请从**Select the image to save(选择要保存的图片)**中选择**Nuclei(细胞核)**。
21. 请在**Select method for constructing file names(创建构建文件名的方法)**下拉列表中选择**Single name(单个文件名)**。
22. 请在**Enter single file name(输入单个文件名)**字段输入任何你想要的名字，然后再输入一个连字符**"- "**。在本例中，我们将使用**NucleiLabel-** 。

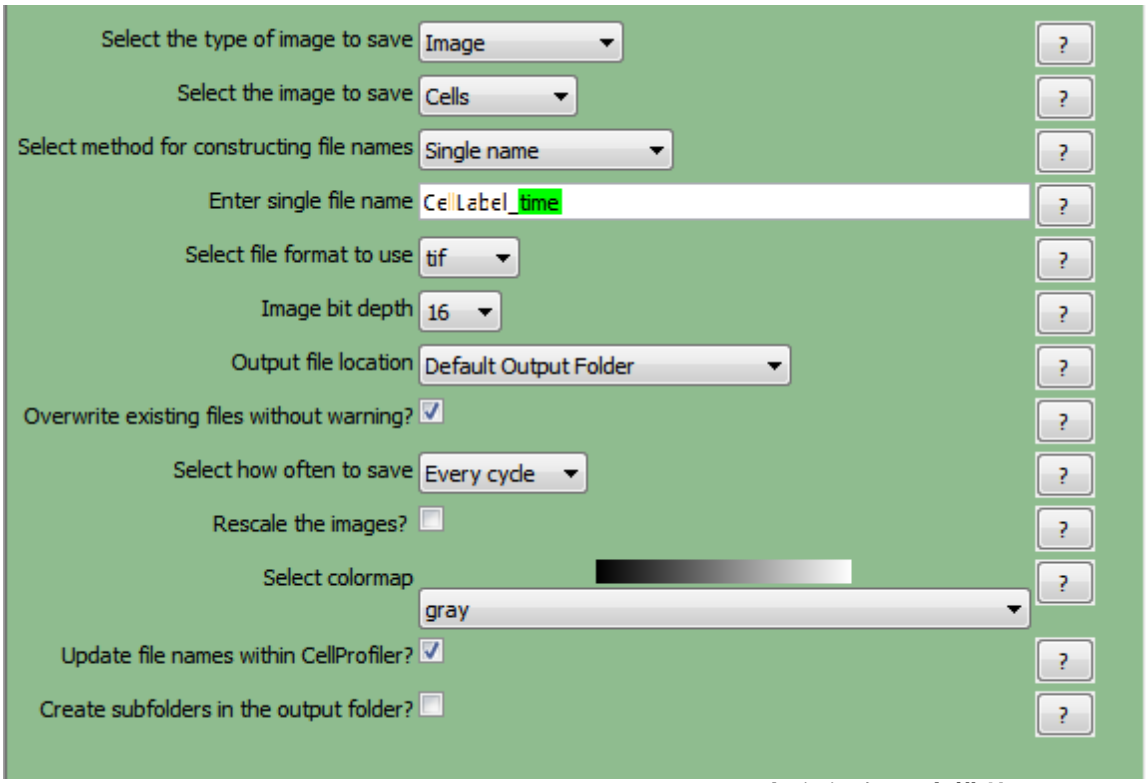
23. 请在**NucleiLabel-** 后右键点击，选择**time(时间)**。

注：这是为导入图片模块把"时间"值定义为一般表达式。使用一般表达式将为每个输出文件根据输入文件名的文本设置一个独一无二的名字。这将防止输出文件间的相互覆盖，并让FCS Express可以找到每个图片文件对应的图片蒙版。

请为**CellLabel**以及**NucleiLabel**的**SaveImages(保存图片)**模块执行以下的第24到第30步。

24. 请从**Select the format to use(选择使用的格式)**下拉列表中选择**tif**。
25. 请在**Image bit depth(图片比特深度)**下拉列表中选择**16**。
26. 请从**Output file location(输出文件位置)**选择**Default Output Folder(默认输出文件夹)**。
27. 请点选**Overwrite existing files without warning?(覆盖已有文件时不进行警告？)**复选框。
28. 请从**Select how often to save(选择如何保存)**下拉列表中选择**Every cycle(每个周期)**。
29. 请从**Select colormap(选择颜色图)**下拉列表中选择**gray(灰度)**。
30. 请勾选**Update file names within CellProfiler?(在CellProfiler里更新文件名？)**复选框。

这时**CellLabel(细胞标记)**的**SaveImages(保存图片)**模块看起来应该如图T24.16所示。



图T24.16 Defining the SaveImages Module (**定义保存图片模块**)

ExportToSpreadsheet Module (导出到电子表格模块)

既然所有的图片以及对象图片模板都已经定义并保存好了，用户现在即可让CellProfiler导出用户想要在FCS Express中查看的测量数据。在本例中，我们将导出所有的测量数据。

31. 请选择**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块。
32. 请从下拉列表中选择**Comma(逗号)(",")**作为列分隔符。
33. 请取消对**Prepend the output file name to the data file names?(在数据文件名称前追加数据文件名？)**复选框的勾选。
34. 请从**Output file location(输出文件位置)**下拉列表中选择**Default Output Folder(默认输出文件夹)**。
35. 请取消对**Export all measurements?(导出所有测量数据？)**的点选。
36. 请从第一个**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Image(图片)**。
37. 请取消对**Use the object name for the file name?(为文件名使用对象名？)**的勾选。
38. 请把文件名设置为**Image.cptoc**。

39. 请选择**Add another data set(添加另外一组数据集)**。

40. 请从第二个**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Nuclei(细胞核)**。

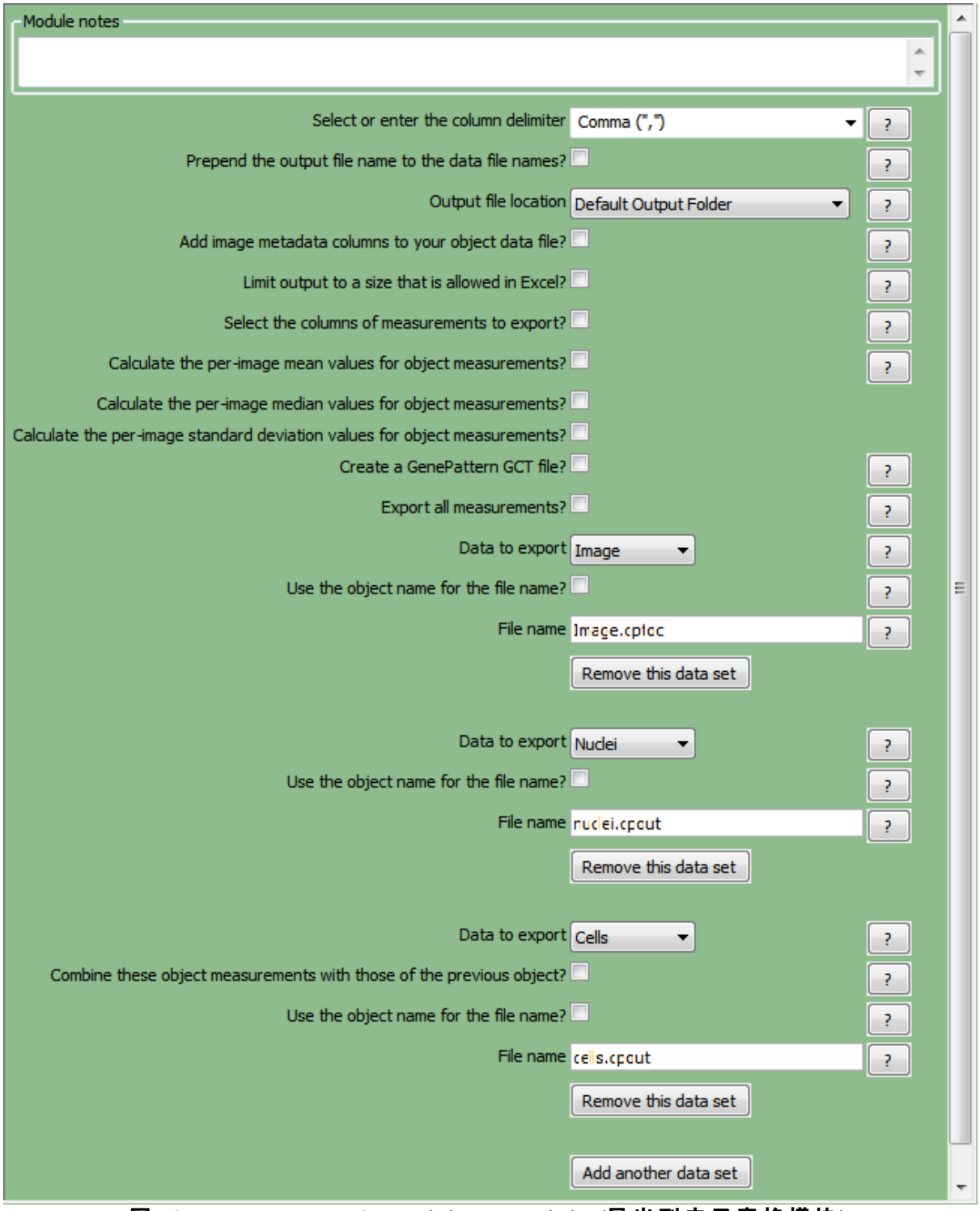
41. 请取消对**Use the object name for the file name(使用对象名作为文件名)**的勾选。

42. 请把文件名设置为**nuclei.cpout**。

43. 请为**"Cells(细胞)"**重复第39- 42步，把文件名设置为**cells.cpout**。

这些都做完后，**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块应该看起来如图T24.17所示。

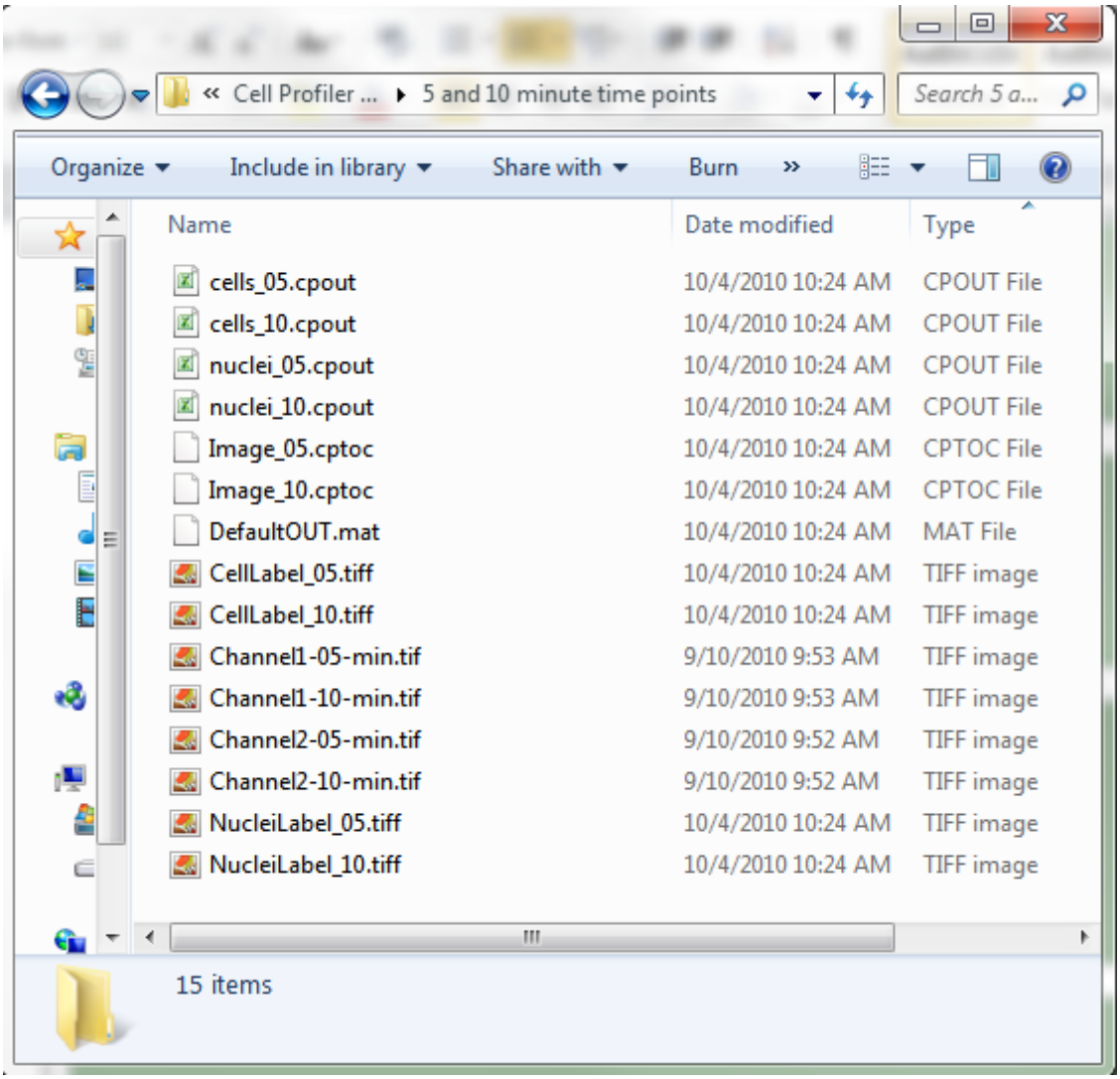
注意: 文件后缀".cptoc"代表CellProfiler Table of Contents(CellProfiler内容表格), 而".cpout"代表CellProfiler Output(CellProfiler输出)。"Image.cptoc"文件中保存着在管道中处理的所有对象的位置以及图片数目的信息, 而"Nuclei.cpout"和"Cells.cpout"分别存储和单个对象以及分析相关的实际列表模式数据。每个在CellProfiler中定义的对象模板都应该有一个独立的".cpout"文件。我们只需要一个"Image.cptoc"文件。



图T24.17 ExportToSpreadsheet Module (**导出到电子表格模块**)

44. 请选择**Analyze images(分析图片)**来运行管道。图片所在的文件夹将包括每个时间点对应的cells.cpout、nuclei.cpout以及Image.cptoc文件。该文件夹中还有对应

于实验中每个原始图片的一个CellLabel以及一个NucleiLabel图片(图T24.18)。



图T24.18 Example of Output Folder once CellProfiler Analysis is Complete (CellProfiler**分析完成后的输出文件夹实例**)

在下一节中，我们将把单个图片实验导入到FCS Express中。

36.24.4 导入单个图片数据

这一部分涉及一组不是从96孔板中、而是从比如玻片上获取的单个图片。

在CellProfiler中调整导出设置并运行了管道后，用户便可以来分析图片并把数据导入到FCS Express第4版中。

1. 请在CellProfiler中导入Section2pipelineCOMPLETED.cp管道文件。
2. 请在CellProfiler中选择默认的输入以及输出文件夹来导入和保存数据，如图T24.13 1103所示。
3. 在CellProfiler中分析图片。

把单个图片实验导入到FCS Express中

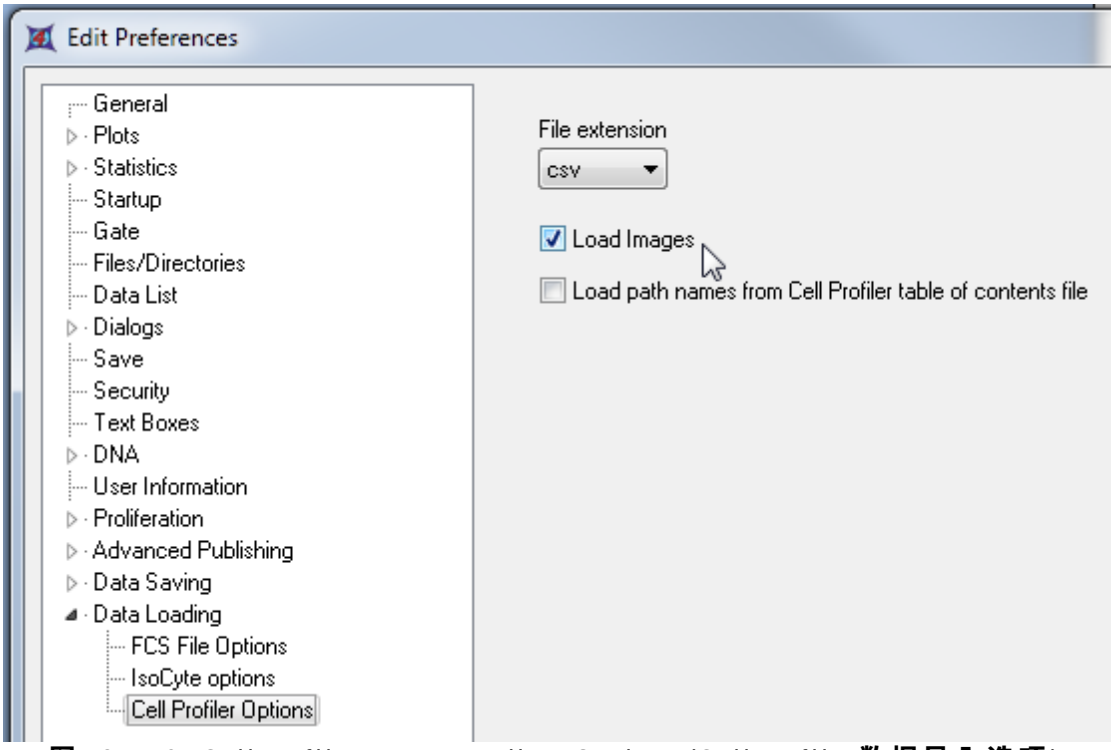
在进行下列步骤之前，我们需要对FCS Express Preferences(FCS Express选项)进行一些说明:

用户需要激活*File selection(文件选择)*对话框:

A. 请来到 **Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→General(常规)**。
B. 请点选**Always show a file selection dialog when opening new plots or showing a window that uses a data file(打开新绘图或显示使用数据文件的窗口时总是显示文件选择窗口)**复选框。

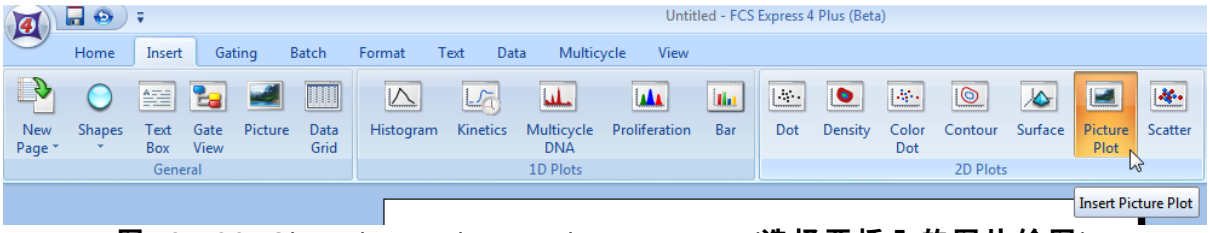
(该选项不是使用FCS Express时的必须选项，我们在此将其打开仅仅是为了方便起见。)

4. 请打开FCS Express第4版。
5. 请打开**Edit Preferences(编辑选项)**对话框，然后从**Data Loading(数据导入)**类别选项中选择**Cell Profiler Options(CellProfiler选项)**(图T24.19)。
6. 请从**delimiter(分隔符)**下拉列表中选择**csv(逗号分隔值)**。
7. 请选中**Load Images(导入图片)**复选框。
8. 请取消对**Load path names from Cell Profiler table of contents file (从CellProfiler内容表格文件中导入路径名)**复选框的勾选。
9. 请点击**OK**，关闭**Edit Preferences(编辑选项)**对话框。



图T24.19 CellProfiler Data Loading Options(CellProfiler**数据导入选项**)

10. 请选择**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Picture Plots(图像绘图)** 命令(图T24.20)。

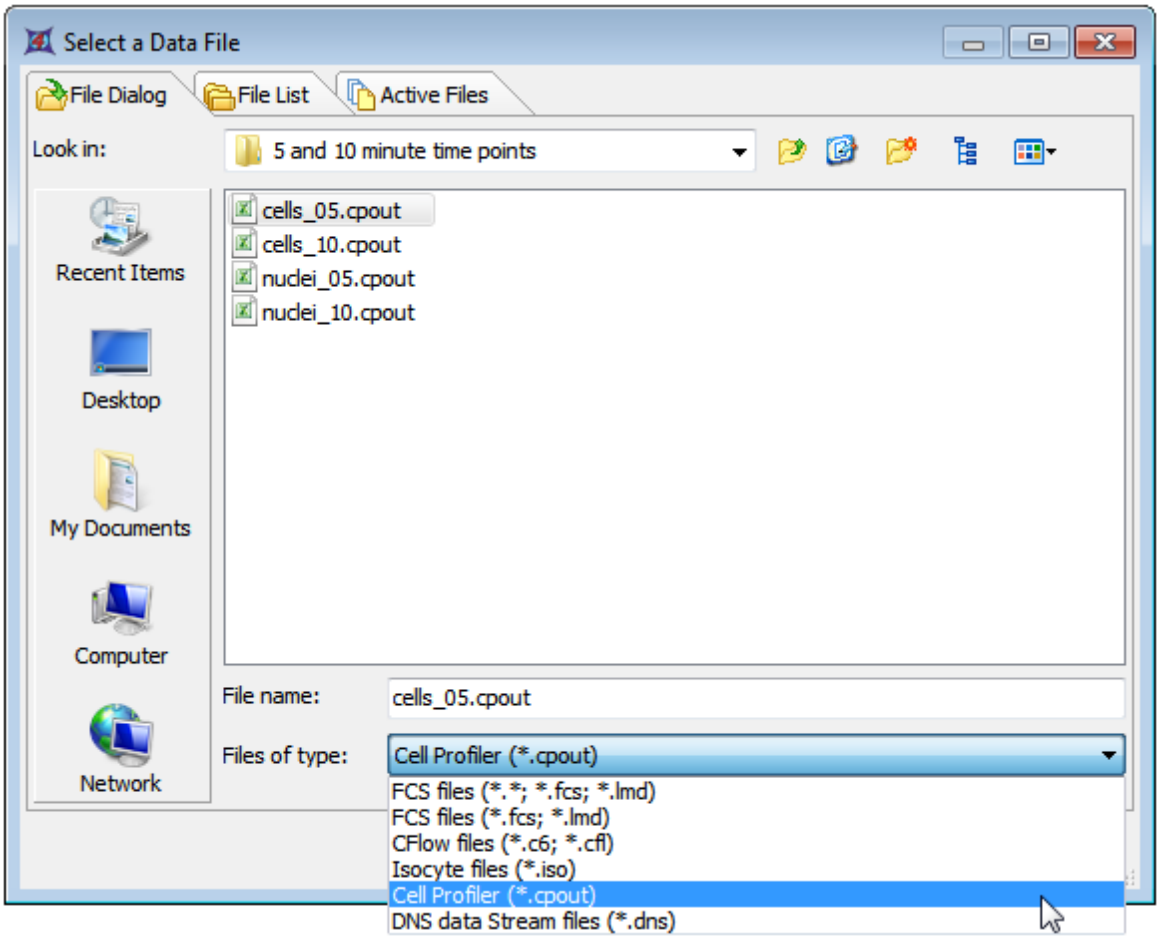


图T24.20 Choosing a Picture Plot to Insert (**选择要插入的图片绘图**)

11. 请在版面中点击，这时会出现**Select a Data File(选择数据文件)**对话框。

12. 请来到你存储从CellProfiler中导出的数据所在的*Default Output Folder(默认输出文件夹)*中。

13. 请从**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选择**CellProfiler (*.cpout)**(图T24.21)。这时会出现从CellProfiler中导出的文件的图标。在本例中，它们是cells_05.cpout以及nuclei_05.cpout文件。



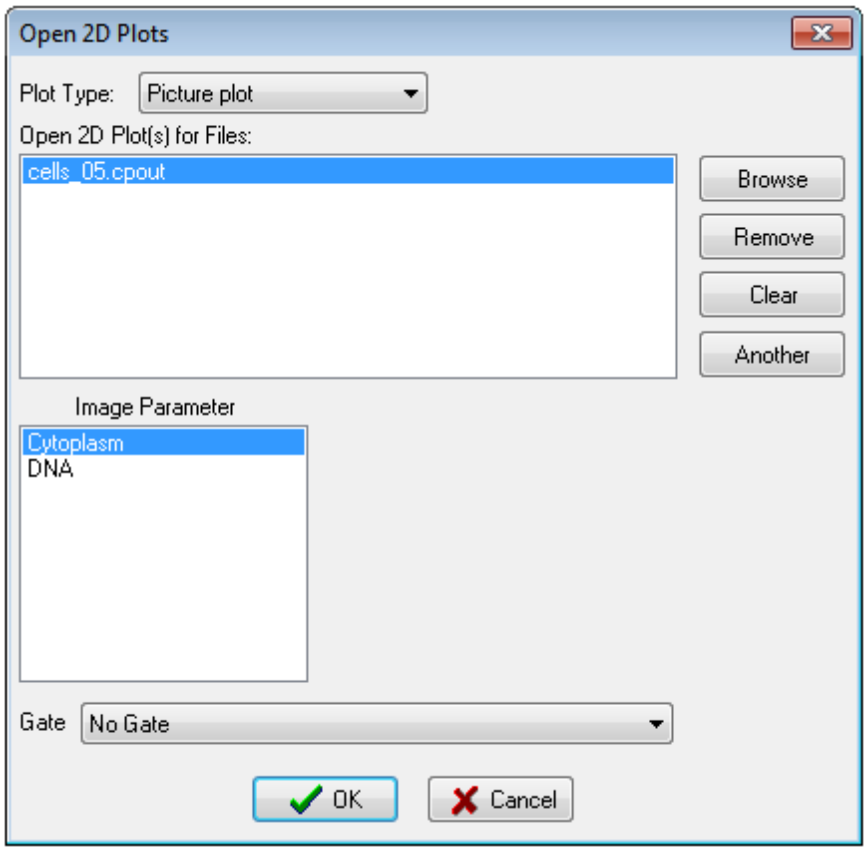
图T24.21 Select a Data File Dialog (**选中数据文件对话框**)

14. 请点选**cells_05.cpout**，然后点击**Open(打开)**。

注: 在本例中，我们将使用**cells_05.cpout**文件，本文件将显示CellProfiler中被IdentifySecondaryObjects(确定次要对象)模块确定为5分钟时间点的那些对象，它们对应于整个细胞的面积。**Nuclei_05.cpout**将显示被CellProfiler中IdentifyPrimaryObjects(确定主要对象)模块确定为5分钟时间点的那些对象，它们对应于细胞核的面积。

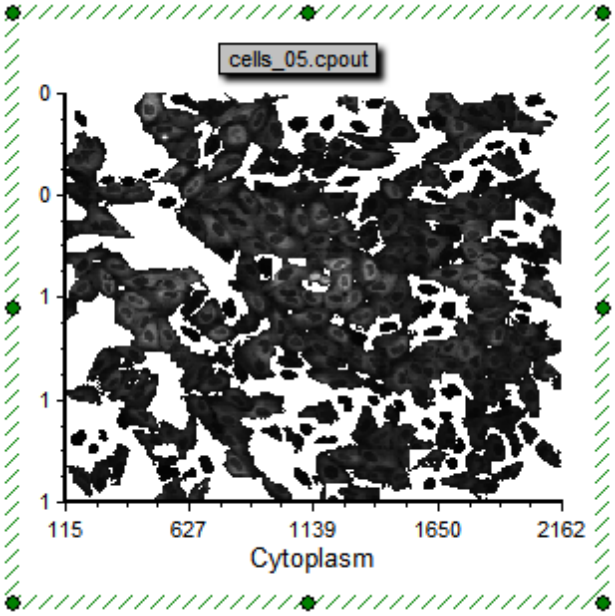
15. 请在**Open 2D Plots(打开二维绘图)**对话框中的**Image Parameter(图片参数)**列表框中选择**Cytoplasm(细胞质)**(图T24.22)，以便查看细胞质图像。

16. 请点击**OK**。



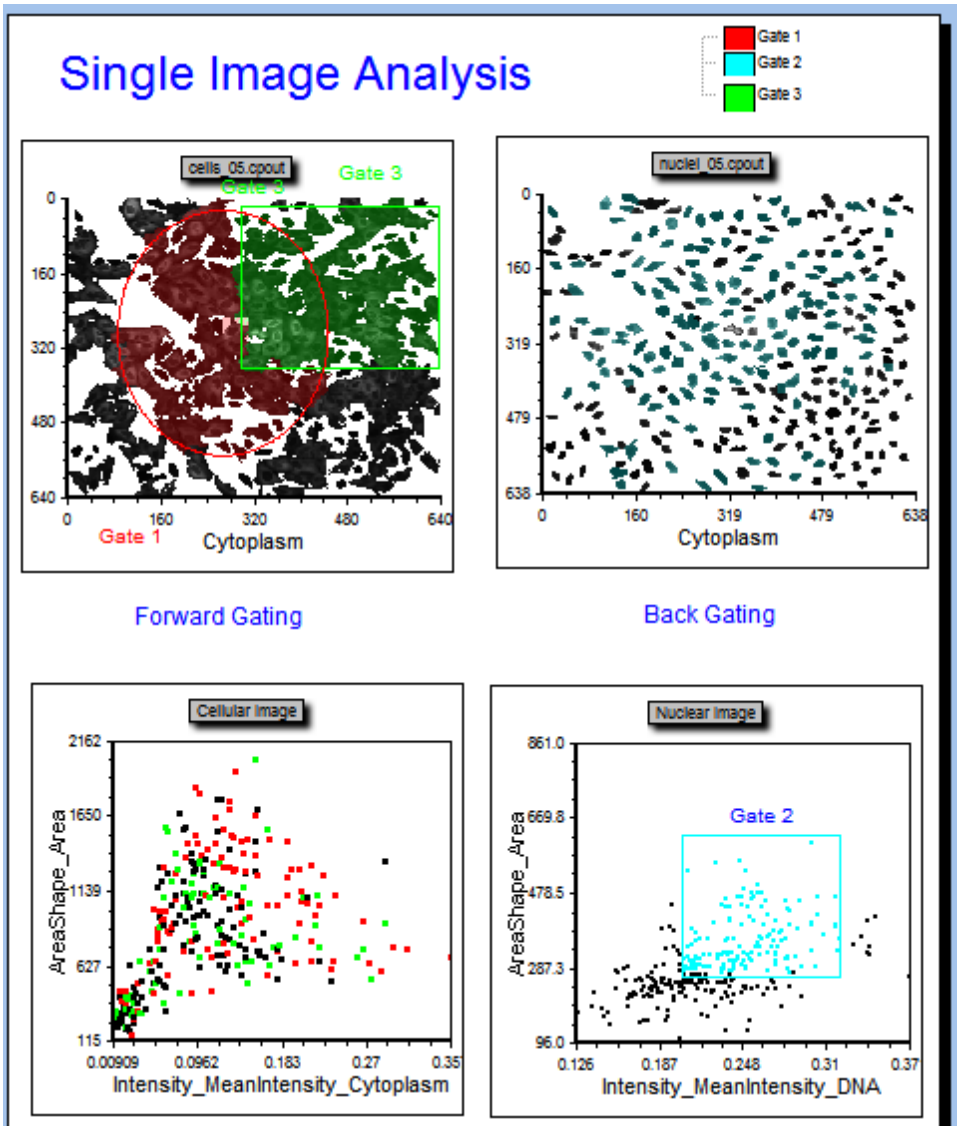
图T24.22 Choosing Image Parameters from the Open 2D Plots Dialog (**从打开的二维绘图对话框中选择图片参数**)

这时在版面上会出现一个**Picture Plot(图像绘图)**，表明数据已被成功导入(图T24.23)。



图T24.23 Example of the Cells (5 Minute Time Point) Picture Plot (**细胞**(5**分钟时间点**)**图片绘图实例**)

在该**Picture Plots(图像绘图)**上可创建任何二维绘图。根据图像绘图上的门所创建的二维绘图，可以让用户使用熟悉的点状图来查看数据，也可以让用户只查看图像绘图中的几部分(图T24.24)。



图T24.24 Example of Gating on a Picture Plot and Backgating from a Dot Plot to a Picture Plot (**在图片绘图上进行门操作以及从点状图到图片绘图的后置门操作**)

36.24.5 *导出数值数据(96孔)*

在本节教程中，我们将学习:

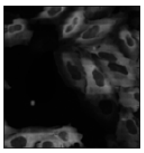
- 如何从一个96孔板CellProfiler管道文件中仅仅导出数值数据。

在这一节中我们要用到的向FCS Express中导出数据的CellProfiler模块包括: LoadImages

(导入图片)模块以及ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)模块。通过本例设置好的管道文件可以在教程样本数据库[510]中找到，其名称是**Section3pipelineCOMPLETED.cp**。这个完整的、作为模板的管道文件可以用来和用户的管道文件进行比较。

我们要用到的样本数据集可以从Cell Profiler样本网站下载，它被标记为"**Human cytoplasm- nucleus transloction assay (SBS Bioimage)(人类细胞质- 核易位实验(Bioimage))"。**

- **Human cytoplasm-nucleus translocation assay (SBS Bioimage):** This example includes an advanced example of illumination correction - creating an illumination correction function from all images in a 96-well plate. This pipeline also demonstrates how to load dosage information via the LoadData module, how to use advanced methods for primary and seecondary object identifcation, and how to calculate the Z' factor, a measure of assay quality. More about these images can be found at the BBBC.
  [Download] (40 MB)
  [Tutorial]



CellProfiler Example Link (CellProfiler**样本链接**)

我们根据Section3pipeline.cp文件把从CellProfiler导出数据的步骤进行了模块化分解。导入Section3pipeline.cp后，请遵循以下步骤来修改管道，以便为向FCS Express导出做准备。

选择默认的输入和输出文件夹

为使FCS Express可以正确地导入你的数据，首先请保证在CellProfiler中设置的默认输入(存储你的图片的文件夹)以及输出文件夹是同一个文件夹(在Input/ Output Folder(输入/ 输出文件夹)窗口中进行设置)。

注意: DefaultOUT.mat文件也将被导出到Output Folder(输出文件夹)。这个文件可在MATLAB中使用。如果你不想要这个文件，我们建议你将其删除，以节省硬盘空间。

设置LoadImages Module(导入图片模块)

要想让FCS Express通过管道读出你的数据，图片文件名中的元数据必须被提取出来。我们必须定义一个Regular Expression(一般表达式)，以便在下面步骤中使用到的文件名或数据路径中找到元数据:

1. 请点击**Extract metadata from where?(从哪里提取元数据?)**下拉列表。
2. 请选择你想要使用的元数据。对本例来说，请选择**File name(文件名称)**。
3. 请在**Regular expression that finds metadata in the file name.(在文件名中寻找元数据的一般表达式。)**字段中输入你想要使用的**"Regular Expression (一般表达式)"。**在本例中，我们将使用"Channel2- [0- 9]{2}- (?P< Row> [A- H])- (?

P< Column> [0- 9]{2}).tif"，该表达式根据图片名中的行字母以及列数字定义了图片在细胞板上的位置。

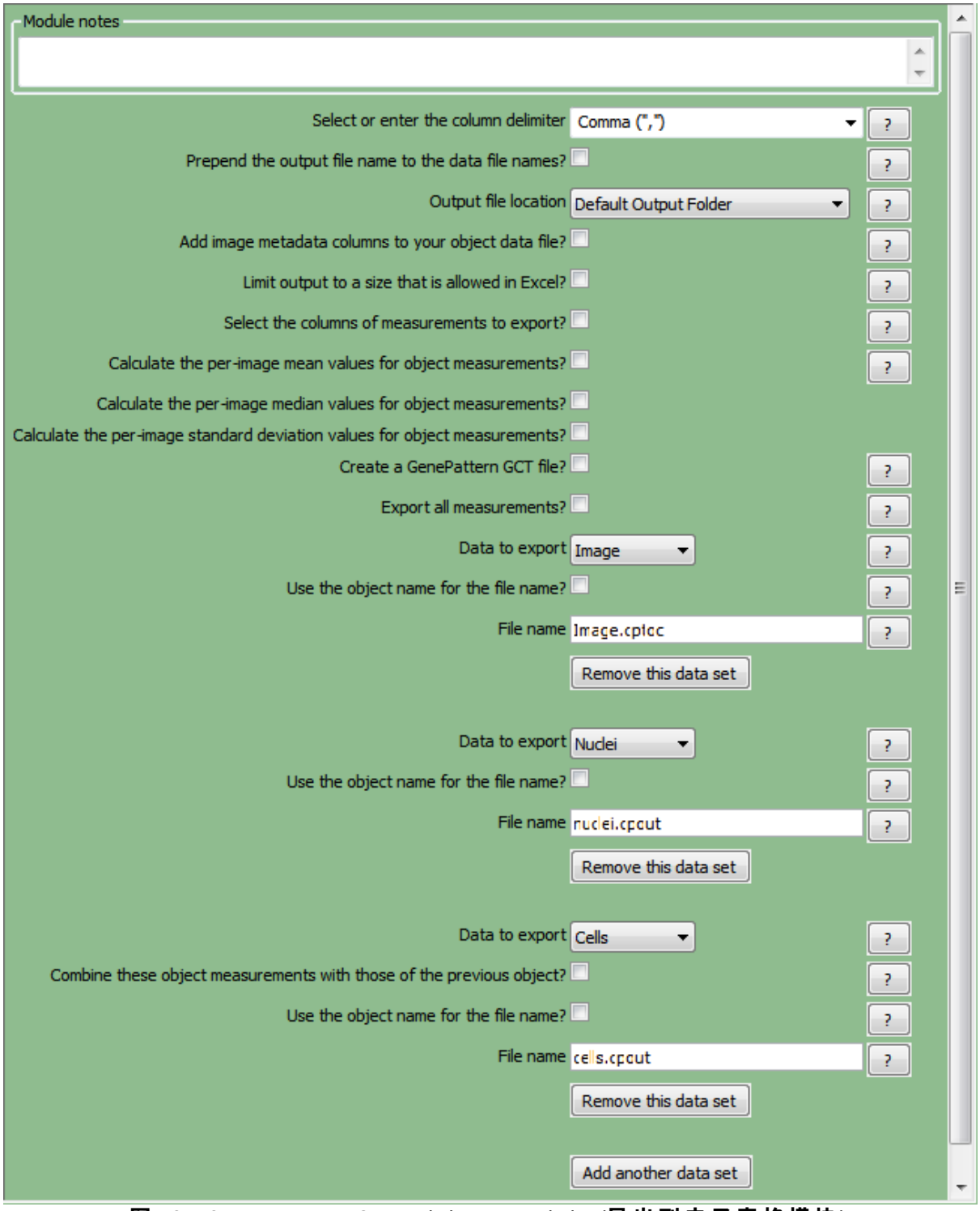
ExportToSpreadsheet Module (导出到电子表格模块)

既然所有的"图片"以及"对象图片模板"都已经定义并保存好了，用户现在即可让CellProfiler导出用户想要在FCS Express查看的测量数据。在本例中，我们将导出所有的测量数据。

4. 请选中**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块。
5. 请从下拉列表中选择**Comma(逗号)(",")**作为列分隔符。
6. 请取消对**Prepend the output file name to the data file names?(在数据文件名称前追加输出文件名?)**复选框的勾选。
7. 请从**Output file location(输出文件位置)**下拉列表中选择**Default Output Folder(默认输出文件夹)**。
8. 请取消对**Export all measurements?(导出所有测量数据?)**的点选。
9. 请从第一个**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Image(图片)**。
10. 请取消对**Use the object name for the file name?(使用对象名作为文件名?)**的勾选。
11. 请把文件名设置为**Image.cptoc**。
12. 请选择**Add another data set(添加另外一组数据集)**。
13. 请从第二个**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Nuclei(细胞核)**。
14. 请取消对**Use the object name for the file name(使用对象名作为文件名)**的勾选。
15. 请把文件名设置为**nuclei.cpout**。
16. 请为**"Cells(细胞)"**重复第12- 15步，把文件名设置为**cells.cpout**。

这些都做完后，**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块应该看起来如图T24.25所示。

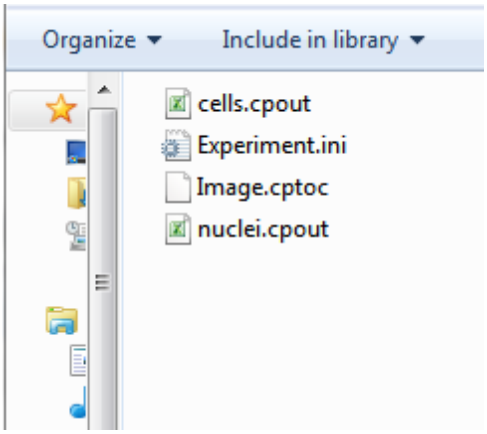
注意: 文件后缀".cptoc"代表CellProfiler Table of Contents(CellProfiler内容表格), 而".cpout"代表CellProfiler Output(CellProfiler输出)。"Image.cptoc"文件中保存着在管道中处理的所有对象的位置以及图片数目的信息, 而"Nuclei.cpout"和"Cells.cpout"分别存储与单个对象以及分析相关的实际列表模式数据。每个在CellProfiler中定义的对象模板都应该有一个独立的".cpout"文件。但我们只需要一个"Image.cptoc"文件。



图T24.25 ExportToSpreadsheet Module (**导出到电子表格模块**)

17. 请选择**Analyze images(分析图片)**来运行管道。你图片所在的文件夹将包括cells.cpout、nuclei.cpout以及Image.cptoc文件(图T24.26)。

注意: DefaultOUT.mat文件也将被导出到Output Folder(输出文件夹)。该文件是为了在MATLAB中使用。如果你不想用这个文件，我们建议你将其删除，以节省硬盘空间。



图T24.26 Data Only Output Files
(**只有数据输出文件**)

36.24.6 导入数值数据(96孔)

在本节中，你将会学到:

- 如何把数据导入到FCS Express第4版中，以便查看热图、二维绘图以及一维绘图。

在CellProfiler中调整了导出设置并运行了管道后，你可以把数据导入到FCS Express第4版中。FCS Express只需要关于实验设置的另外一项信息 。CellProfiler现在还不能以实验中用到的细胞板格式导出。一些标准的细胞板格式定义可以在FCS Express网站下载。在本例中，我们将使用一个96孔板模板，用户可在Tutorial Sample Data archive(教程样本数据库)510中找到这个模板，其名称是**Experiment.ini。**细胞板格式定义文件必须被命名为**Experiment.ini**，并且放置在你在CellProfiler中定义的**Default Output Folder(默认输出文件夹)**中。

1. 请下载在前一节1117中用到的样本数据。
2. 请在CellProfiler中导入**Section3pipelineCOMPLETED.cp**管道文件。
3. 请在CellProfiler中选择默认的输入和输出文件夹。
4. 在CellProfiler中分析图片。

仅导入96孔板数值数据

在开始以下步骤之前，我们先对FCS Express Preferences(FCS Express设置)做一点解释:

必须通过以下方式来激活*File selection(文件选择)*对话框:

A. 请来到**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→General(常规)**。

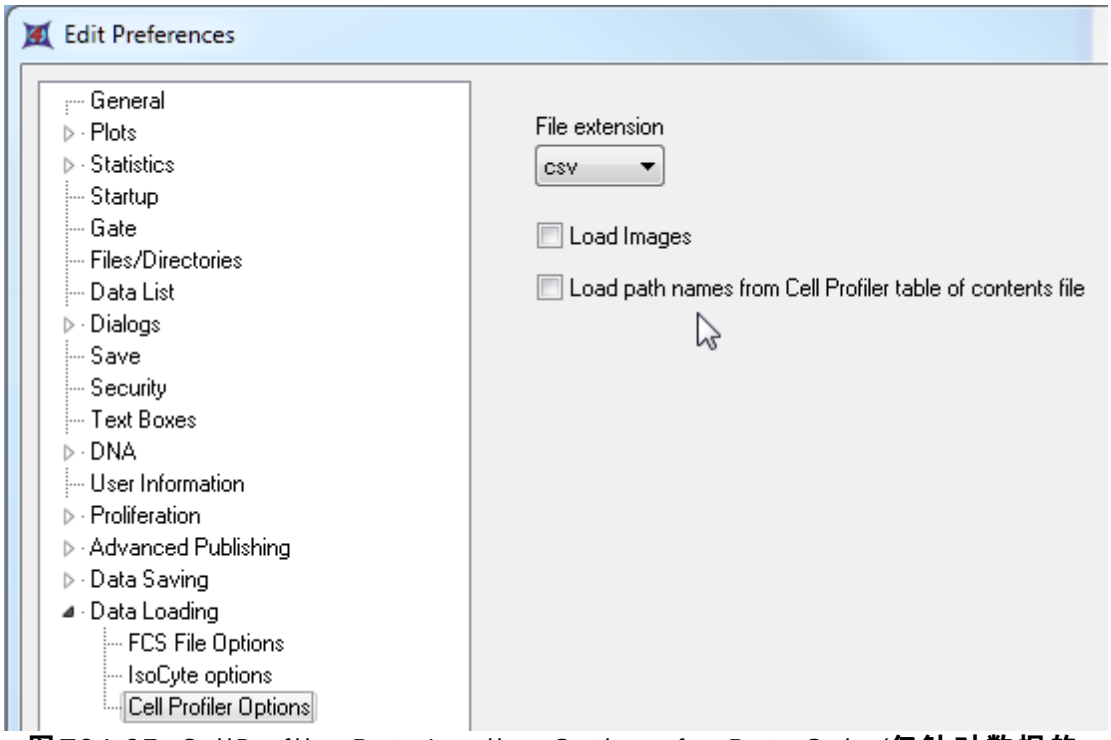
B. 请选中 **Always show a file selection dialog when opening new plots or showing a window that uses a data file(在打开新的绘图或者显示一个实验数据文件窗口时总是显示文件选择对话框)**复选框。

(启用这个功能不是使用FCS Express时必须要选择的条件，在本教程中选择这个功能只是为了方便起见。)

5. 请打开FCS Express第4版。
6. 请打开**Edit Preferences(编辑选项)**对话框，然后从**Data Loading(数据导入)**类别选项中选择**Cell Profiler Options(CellProfiler选项)**(图T24.27)。
7. 请从**delimiter(分隔符)**下拉列表中选中**csv(逗号分隔值)**。
8. 请取消对**Load path names from Cell Profiler table of contents file (从CellProfiler内容列表文件中导入路径名)**复选框的勾选。
9. 请点击**OK**来关闭**Edit Preferences(编辑选项)**对话框。

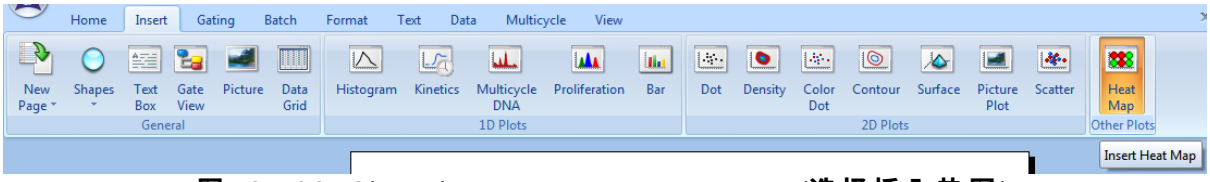
注: 本例中没有和数据相关的图片，所以是否勾选**Load Images(导入图片)**复选框影响不大。

这些都做完后，对话框看起来应该如图T24.27所示。



图T24.27 CellProfiler Data Loading Options for Data Only (**仅针对数据的**CellProfiler**数据导入选项**)

10. 请选择**Insert(插入)→Other Plots(其它绘图)→Heat Map(热图)**命令 (图T24.28)。

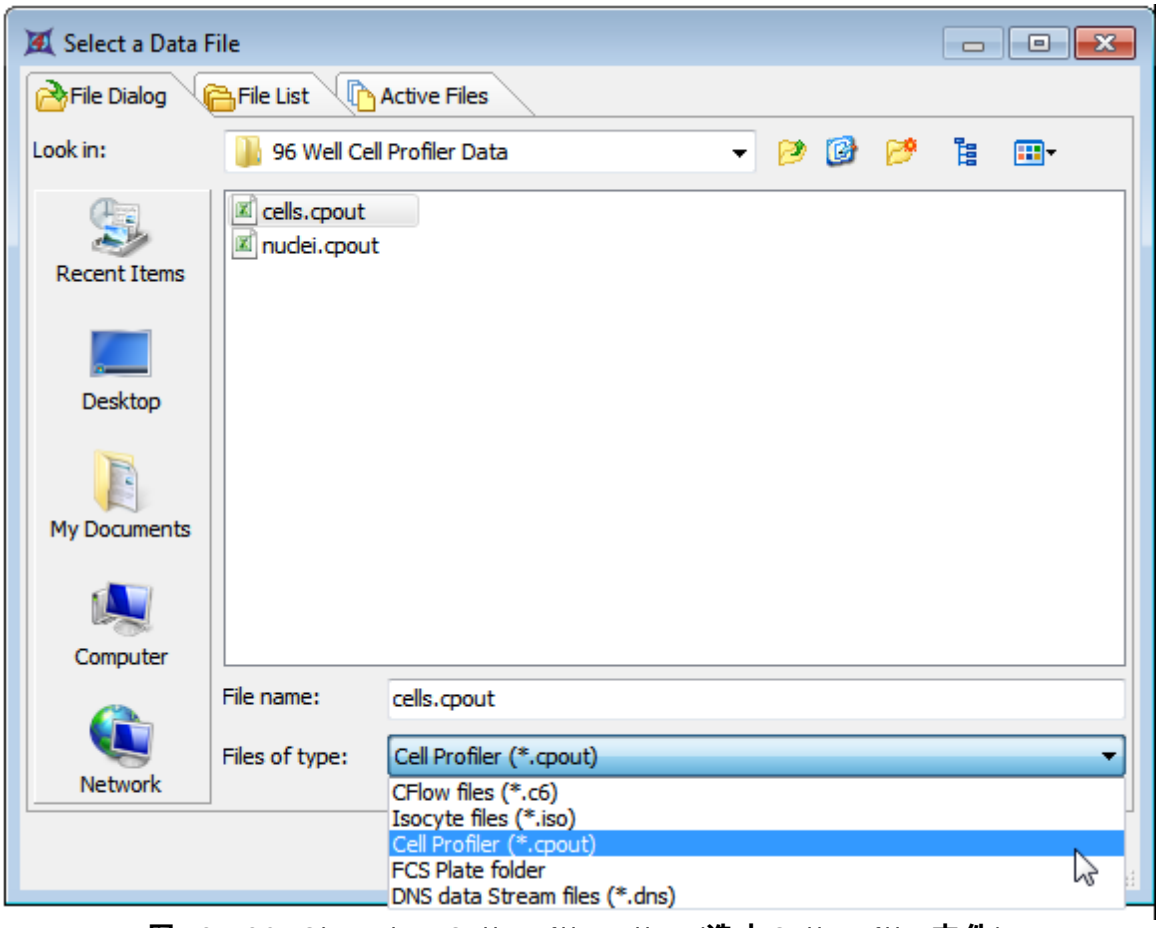


图T24.28 Choosing to Insert a Heat Map (**选择插入热图**)

11. 请在版面上任何地方点击，这时会出现**Select a Data File(选中数据文件)**。

12. 请来到你保存CellProfiler输出数据的*Default Output Folder(默认输出文件夹)*。

13. 请在**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选中**Cell Profiler(*.cpout)**(图T24.29)。这时会出现CellProfiler输出的那些文件的图标。在本例中，它们的名称分别为**cells.cpout**以及**nuclei.cpout**。

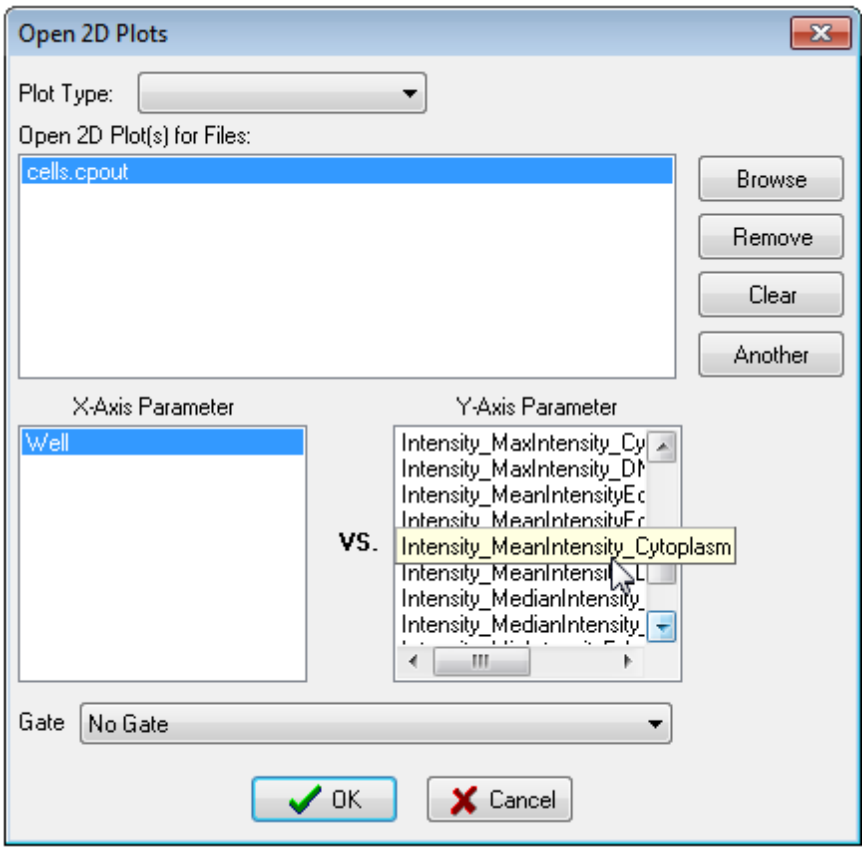


图T24.29 Choosing CellProfiler Files (**选中**CellProfiler**文件**)

14. 请选中**cells.cpout** ，然后点击**Open(打开)**。

注: 在本例中，我们将使用cells.cpout文件，该文件将显示在CellProfiler中归为*IdentifySecondaryObjects(确认次要对象)*模块中的对象的数据，这一模块对应于整个细胞面积。文件nuclei.cpout将显示CellProfiler中归为*IdentifyPrimaryObjects(确定主要对象)*模块中的对象的数据，这个模块对应细胞核区域。

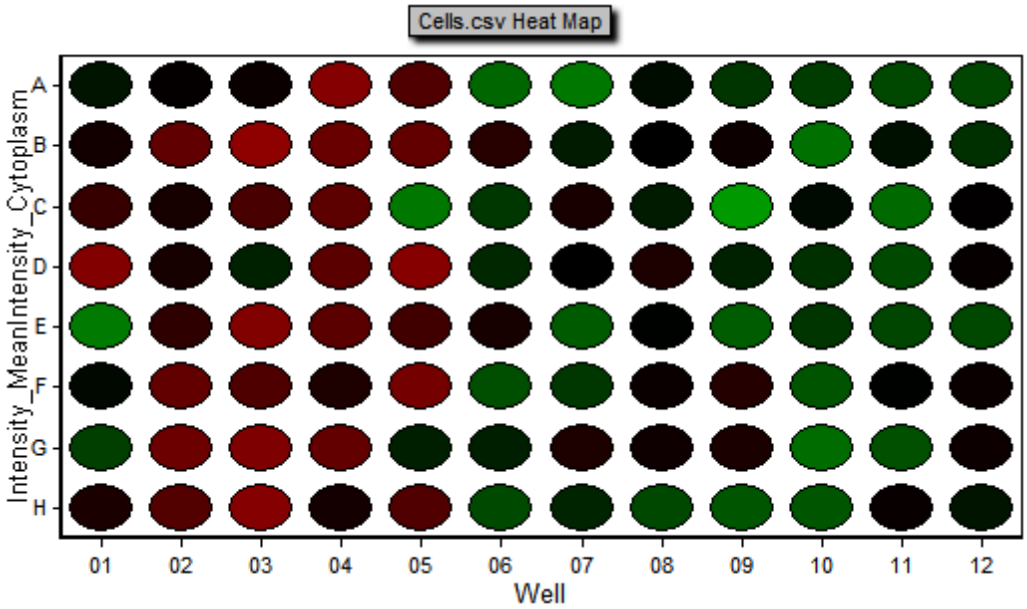
15. 请在**Open 2D Plots(打开二维绘图)**对话框中点选你希望在热图中查看的**Y-Axis Parameter(Y- 轴参数)**。在本例中，请选择**Intensity_MeanIntensity_Cytoplasm(强度_平均强度_细胞质)**(图T24.30)。



图T24.30 Opening a Heat Map and Choosing the Y-Axis Parameter from the Open 2D Plots Dialog (**打开热图，然后从"打开二维绘图对话框"中选择**Y-**轴参数**)

16. 请点击**OK**。

这时在版面上会出现一个热图，显示数据被成功导入(图T24.31)。



图T24.31 Example of a Heat Map Generated from CellProfiler Data (**由CellProfiler数据生成的热图实例**)

36.24.7 *导出单个图片数值数据*

在本节中，你将会学到:

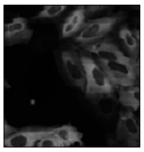
- 如何从CellProfiler中用数值的方式导出不是从96孔板中获取的一组单个图片。

这一部分适用于单个图片数据组，这组图片不是从96孔板上采集的，而是从玻片等试样上拍下来的。

在这一节中我们要用到的向FCS Express中导出数据的CellProfiler模块包括: LoadImages (导入图片)模块以及ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)模块。通过本例设置好的管道文件可以在教程样本数据库[510]中找到，其名称是**Section4pipelineCOMPLETED.cp**。这个设置好的、作为模板的管道可以用来和用户的管道进行比较。

我们要使用的样本数据集中的图片可在教程样本数据库[510]中找到，其名称是"**5 and 10 minute time point images(5分钟和10分钟时间点的图片)"**。这些图片是基于CellProfiler样本中的样本实验"**Human cytoplasm- nucleus translocation assay (SBS Bioimage) (人类细胞质- 核易位实验(SBS Bioimage))"** 。

- **Human cytoplasm-nucleus translocation assay (SBS Bioimage):** This example includes an advanced example of illumination correction - creating an illumination correction function from all images in a 96-well plate. This pipeline also demonstrates how to load dosage information via the LoadData module, how to use advanced methods for primary and seecondary object identifcation, and how to calculate the Z' factor, a measure of assay quality. More about these images can be found at the BBBC.
  [Download] (40 MB)
  [Tutorial]



我们将从CellProfiler中导出数据的步骤依据模块划分如下。导入**Section4pipeline.cp**后，请遵循以下步骤来修改管道，以便为向FCS Express导出做准备。

选择默认的输入和输出文件夹

为使FCS Express可以正确地导入你的数据，首先请保证在CellProfiler中设置的默认输入(存储你的图片的文件夹)以及输出文件夹是同一个文件夹(在Input/ Output Folder(输入/ 输出文件夹)窗口中进行设置)。

注意: DefaultOUT.mat文件也将被导出到Output Folder(输出文件夹)。这个文件可在MATLAB中使用。如果你不想用这个文件，我们建议你将其删除，以节省硬盘空间。

设置LoadImages Module(导入图片模块)

要想让FCS Express通过管道读出你的数据，图片文件名中的元数据必须被提取出来。我们必须定义一个Regular Expression(一般表达式)，以便在下面步骤中使用到的文件名或数据路径中找到元数据:

1. 请从**Extract metadata from where?(从哪里提取元数据?)**下拉列表中点击**Channel2-** 。
2. 请选择你想要使用的元数据。对本例来说，请选择**File name(文件名称)**。
3. 请在**Regular expression that finds metadata in the file name.(在文件名中寻找元数据的一般表达式。)字段中输入你想要使用的"Regular Expression(一般表达式)"。** 在本例中，请使用"Channel2- (?P< time> [0- 9]{2})- min.tif"，它会根据文件名为数据集中的图片指定一个"时间"参数。

ExportToSpreadsheet Module (导出到电子表格模块)

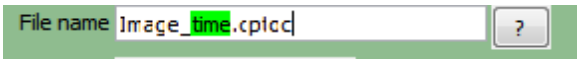
既然已经导入所有的图片并指定了元数据，用户现在即可让CellProfiler导出用户想要在FCS Express查看的测量数据。在本例中，我们将导出所有的测量数据。

4. 请从下拉列表中选择**Comma(逗号)(",")**作为列分隔符。
5. 请取消对**Use the object name for the file name?(为文件名使用对象名？)**的勾选。
6. 请从**Output file location(输出文件位置)**下拉列表中选择**Default Output**

Folder(默认输出文件夹)。

7. 请取消对**Export all measurements(导出所有测量数据)**的点选。
8. 请从**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Image(图片)**。
9. 请取消对**Use the object name for the file name(使用对象名作为文件名)**的勾选。
10. 请输入**Image_(图片_)**。
11. 请在"Image_"后右键点击。
12. 请从一般表达式弹出菜单上选择**time(时间)**。
13. 请在"time"后输入.cptoc 。

这时的文件名应该看起来如图T24.32所示。



图T24.32 Inserting the "time" Variable into the File Name (**在文件名中插入"时间"变量**)

注: **"time(时间)"**是一个你在LoadImages(导入图片)模块中定义的一般表达式中的一个值。使用一般表达式将为每个输出文件根据输入文件名称中的文本设置一个独一无二的名字。这将防止输出文件间的相互覆盖，并让FCS Express可以找到每个图片文件对应的图片蒙版。

14. 请选择**Add another data set(添加另外一组数据集)**。
15. 请从**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Nuclei(细胞核)**。
16. 请取消对**Use the object name for the file name(为文件名使用对象名)**的勾选。
17. 请输入**nuclei_(细胞核_)**。
18. 请在"nuclei_"后右键点击。
19. 请从一般表达式弹出菜单上选择**time(时间)**。
20. 请在"time"后输入.cpout 。
21. 请选择**Add another data set(添加另外一组数据集)**。

22. 请从**Data to export(要导出的数据)**下拉列表中选择**Cells(细胞)**。

23. 请取消对**Use the object name for the file name(使用对象名作为文件名)**的勾选。

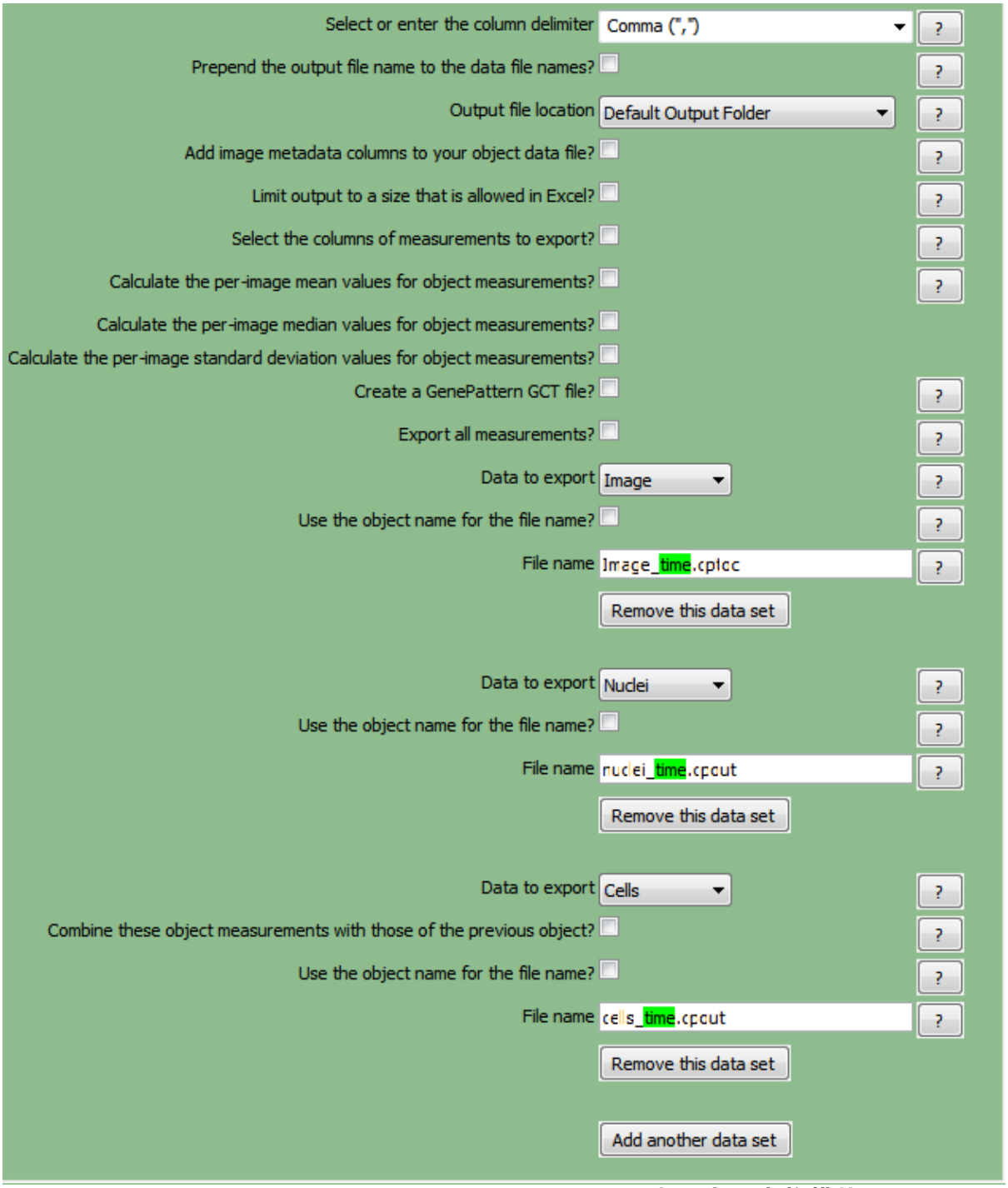
24. 请输入cells_**(细胞_)。**

25. 请在"cells_"后右键点击。

26. 请从一般表达式弹出菜单上选择**time(时间)**。

27. 请在"time"后输入.cpout。

这些都做完后，**ExportToSpreadsheet(导出到电子表格)**模块应该看起来如图T24.33所示。

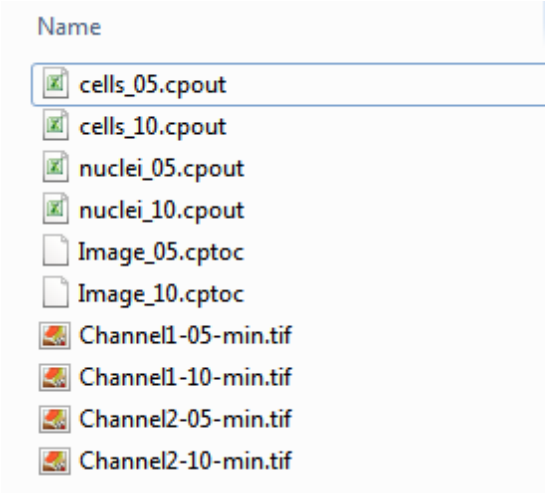


图T24.33 ExportToSpreadsheet Module (**导出到电子表格模块**)

28. 请选择**Analyze images(分析图片)**来运行管道。你的图片所在的文件夹将包括每个时间点对应的cells.cpout、nuclei.cpout以及Image.cptoc文件(图T24.34)。

注意: DefaultOUT.mat文件也将被导出到Output Folder(输出文件夹)。该文件是为了在

MATLAB中使用。如果你不想用这个文件，我们建议你将其删除，以节省硬盘空间。



图T24.34 Example of Output Folder once CellProfiler Analysis is Complete (CellProfiler**分析完成后的输出文件夹实例**)

36.24.8 *导入单个图片数值数据*

在本节中，你将会学到:

- 如何把数据导入到FCS Express第4版中，以便查看二维绘图以及一维绘图。

这一部分适用于单个图片数据组，这组图片不是从96孔板上采集的，而是从玻片等样本上采集的。

在CellProfiler中调整了导出设置并运行了管道后，你便可以来分析图片，把数据导入到FCS Express第4版中。

1. 请把**Section4pipelineCOMPLETED.cp**管道文件导入到CellProfiler中。
2. 请在CellProfiler中选择默认的输入和输出文件夹。
3. 请在CellProfiler中分析图片。

把单个图片实验导入到FCS Express中

在开始以下步骤之前，我们先对FCS Express Preferences(FCS Express设置)做一点解释:

用户应该通过以下方式来激活*File selection(文件选择)*对话框:

A. 请来到**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→General(常规)**。

B. 请选中**Always show a file selection dialog when opening new plots or showing a window that uses a data file(在打开新的绘图或者显示一个实验数据文件窗口时总是显示文件选择对话框)**复选框。

(启用这个功能不是使用FCS Express时必须要选择的条件，在本教程中选择这个功能只是为了方便起见。)

4. 请打开FCS Express第4版。

5. 请打开**Edit Preferences(编辑选项)**对话框，然后从**Data Loading(数据导入)**类别选项中选择**Cell Profiler Options(CellProfiler选项)**(图T24.27 1121)。

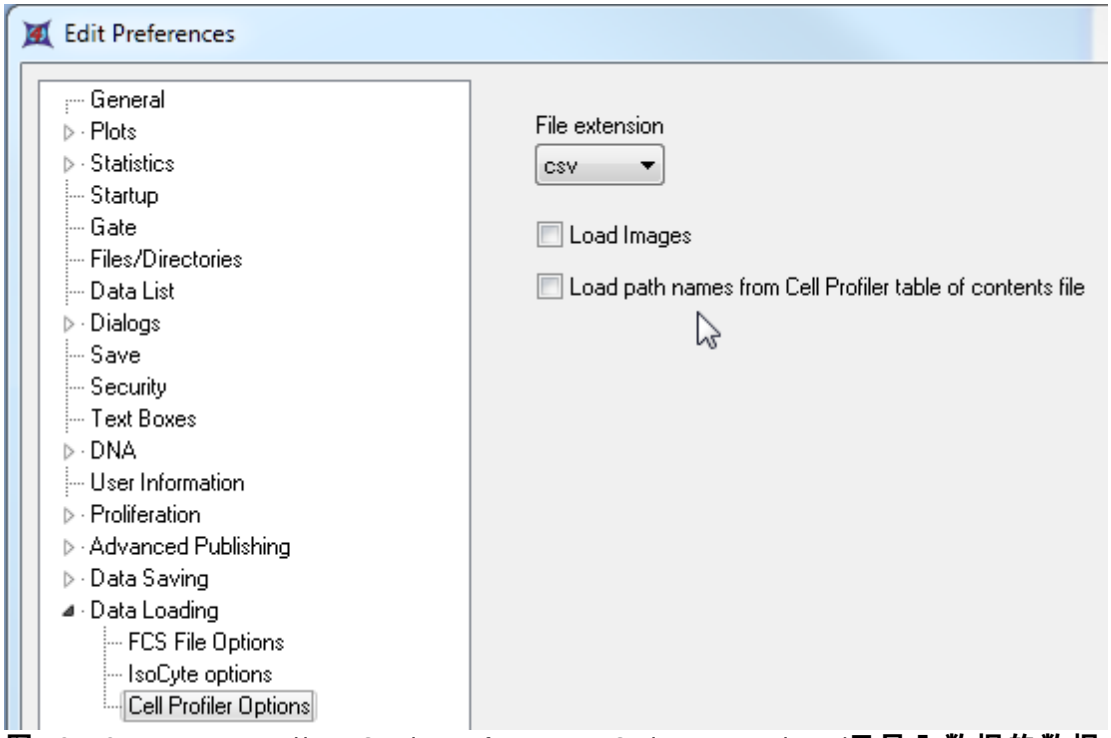
6. 请从**delimiter(分隔符)**下拉列表中选择**csv(逗号分隔值)**。

7. 请取消对**Load path names from Cell Profiler table of contents file (从CellProfiler内容列表文件中导入路径名)**复选框的勾选。

注: 本例中没有和数据相关的图片，所以是否勾选**Load Images(导入图片)**复选框影响不大。

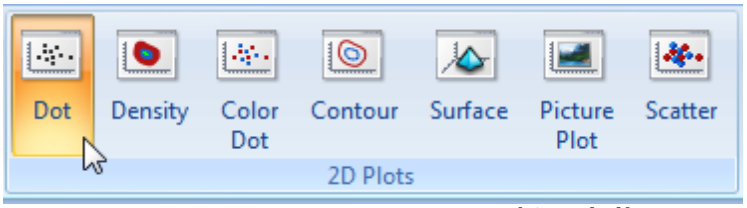
8. 请点击**OK**，关闭**Edit Preferences(编辑选项)**对话框。

这些都做完后，对话框看起来应该如图T24.35所示。



图T24.35 Data Loading Options for Data Only Importing (**只导入数据的数据导入选项**)

9. 请选择**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Dot(点状图)**(图T24.36)命令。

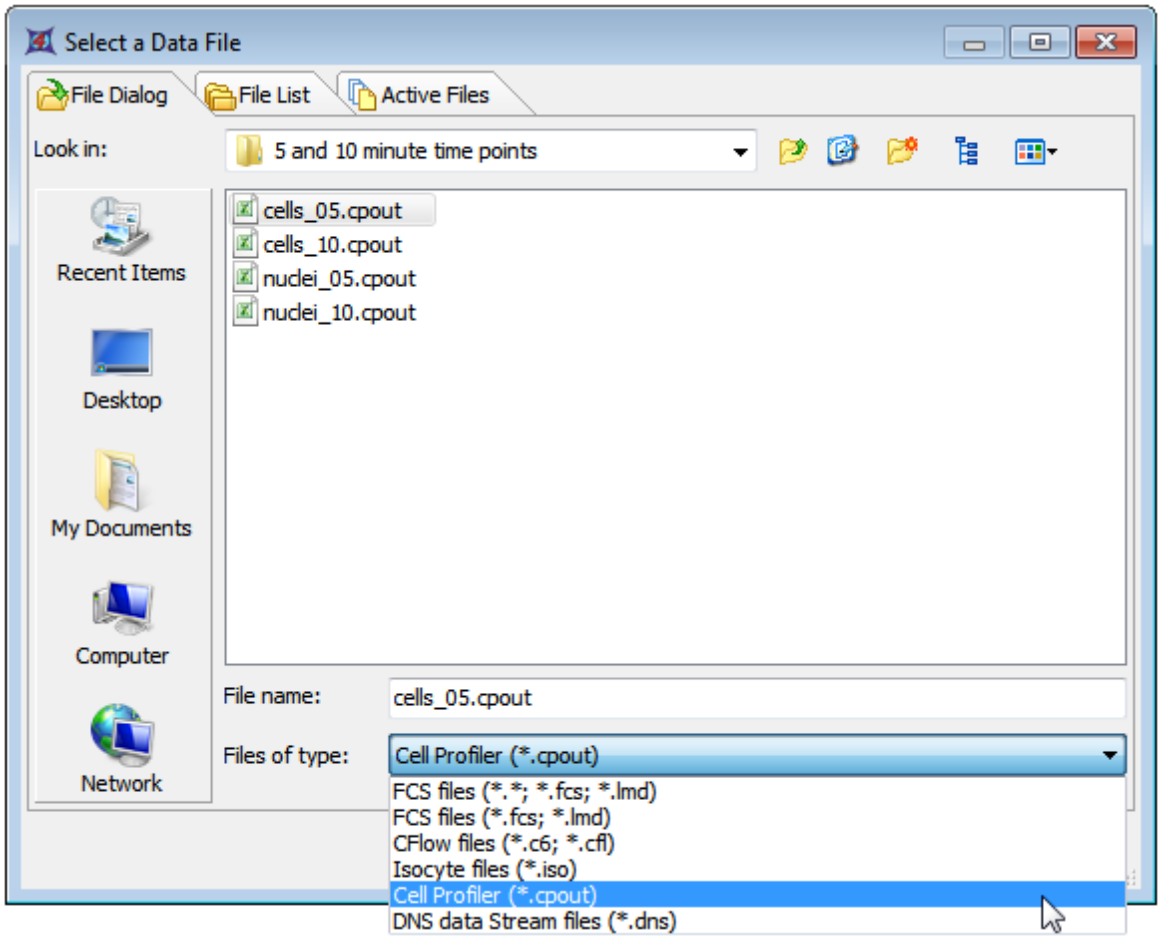


图T24.36 Inserting a Dot Plot (**插入点状图**)

10. 请在版面上任何地方点击，这时会出现**Select a Data File(选中数据文件)**对话框。

11. 请来到你保存CellProfiler输出数据的*Default Output Folder(默认输出文件夹)*。

12. 请在**Files of type:(文件类型:)**下拉列表中选中**Cell Profiler(*.cpout)**。 在本例中，它们的名称分别为**cells_05.cpout**和**nuclei_05.cpout**(图T24.37)。



图T24.37 Select a Data File Dialog (**选择数据文件对话框**)

13. 请选择**cells_05.cpout**。
14. 请点击**Open(打开)**。

注: 在本例中, 我们将使用cells_05.cpout文件, 该文件将显示在CellProfiler中被IdentifySecondaryObjects(确认次要对象)模块归为5分钟时间点的对象的数据, 这一模块对应于整个细胞区域。文件nuclei_05.cpout将显示CellProfiler中被IdentifyPrimaryObjects(确定主要对象)模块归为5分钟时间点的对象的数据, 这个模块对应于细胞的细胞核区域。

15. 请从**X- Axis parameter(X- 轴参数)**选框中选择**AreaShape_Area(面积图形_面积)**(图T24.38)。
16. 请从**Y- Axis parameter(Y- 轴参数)**选框中选择**Intensity_MeanIntensity_Cytoplasm(强度_平均强度_细胞质)**(图T24.38)。
17. 请点击**OK**。

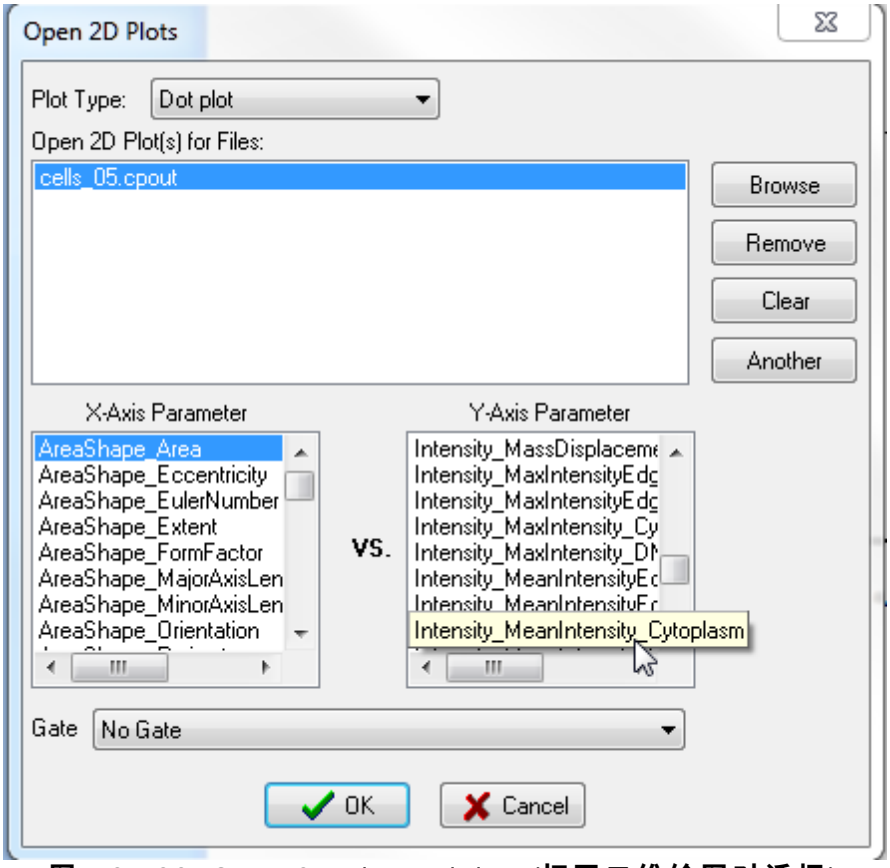


图 T24.38 Open 2D Plots Dialog (**打开二维绘图对话框**)

这时在版面上会出现一个**Dot Plot(点状图)**，显示数据被成功导入 (图T24.39)。

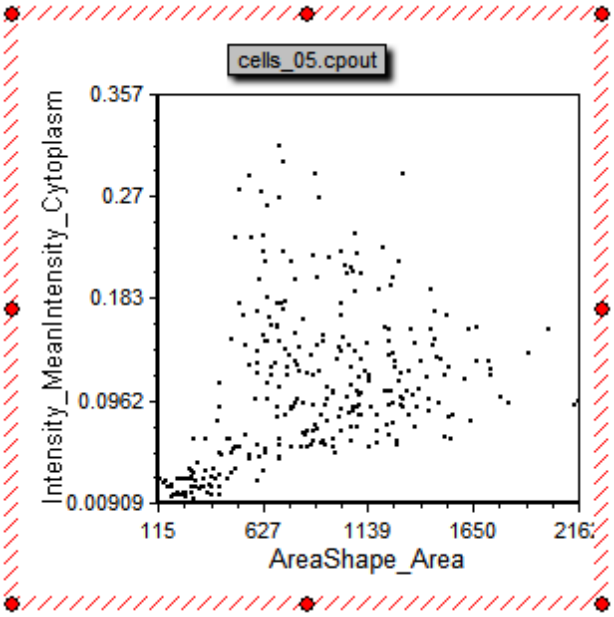


图 T24.39 Dot Plot Created for cells_05.cpout (**为**cells_05.cpout**创建的点状图**)

36.25 从IsoCyte导出数据

IsoCyte™ Imaging Cytometer(IsoCyte™成像细胞仪)让用户可以使用自己或设备上定义的格式，对基因芯片、微珠、细胞以及细菌群进行实时快速检测和分类。**IsoCyte**细胞仪非常适合进行基于细胞的高效筛选实验，这让它和**FCS Express**的高容量以及批处理功能非常契合。De Novo软件和Molecular Devices公司合作，让用户可以在FCS Express第4版中分析**IsoCyte**生成的大批量数据。只要用户在**IsoCyte** 软件中对数据进行恰当保存，FCS Express便可以导入这些数据，把用户的数据集显示在大家都很熟悉的二维绘图以及一些新的绘图类型，例如图像绘图和热图上。

36.25.1 *导出IsoCyte实验数据*

在本教程中，你将学到:

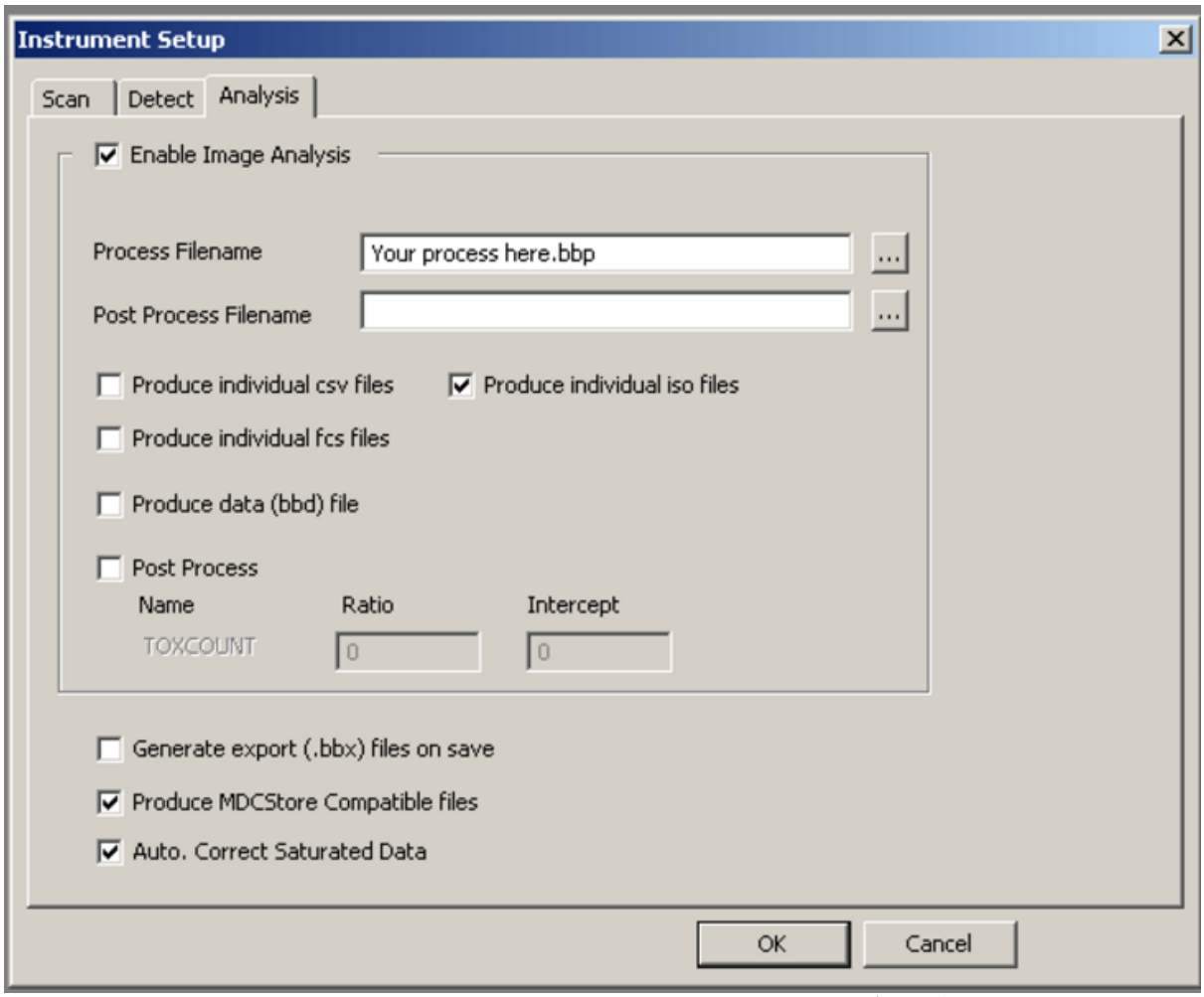
- 如何保存从一个实验中获得的带有图片的**IsoCyte**数据。
- 如何把数据导入到FCS Express第4版中。

Isocyte设置 –保存图片以及对象数据

1. 请从菜单条选择**Instrument Setup(仪器设置)**。

2. 请点击**Analysis Tab(分析标签)**。
3. 请点击**Produce individual iso files(生成单个iso文件)**复选框。这将为每个细胞孔保存分析后的对象数据。
4. 请点击**Produce MDCStore Compatible files(生成MDCStore兼容文件)**复选框。这将为每个细胞孔保存原始的tiff图片。
5. 请确保**Auto. Correct Saturated Data(自动。校正饱和数据)**复选框也被选中。
6. 请点击**OK**。

这些都做完后，设备设置窗口看起来应该如图T25.1所示。



图T25.1 Instrument Setup for IsoCyte (IsoCyte**仪器设置**)

7. 请在IsoCyte中分析你的实验数据。

8. 请在IsoCyte中保存你的实验。

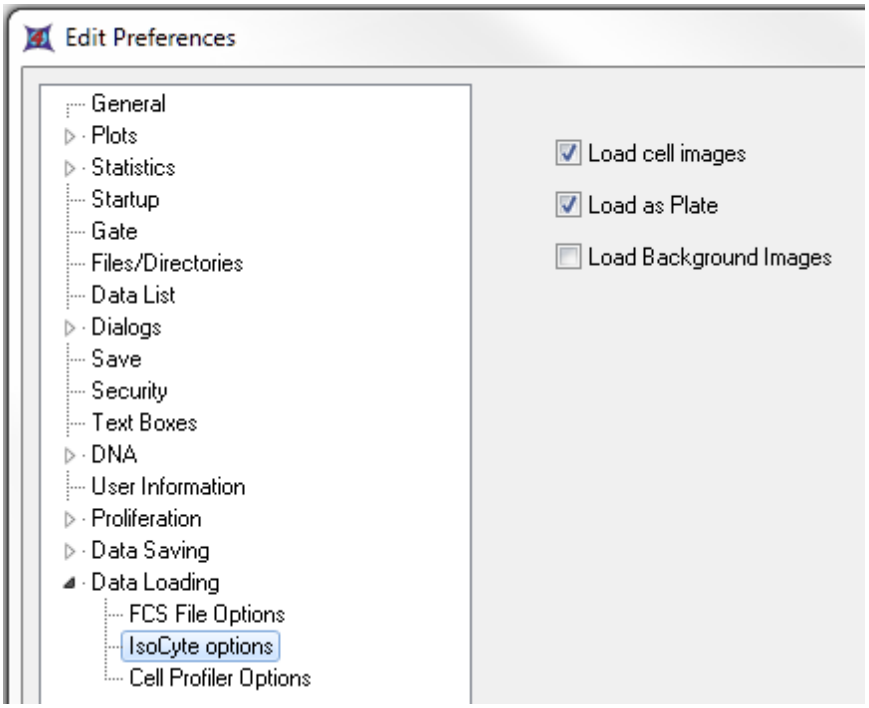
36.25.2 导入带有图片的IsoCyte数据

在IsoCyte中调整了导出设置后，用户便可以把数据导入到FCS Express第4版中。

在本节中用到的IsoCyte文件可以在教程样本数据库[510]中找到。

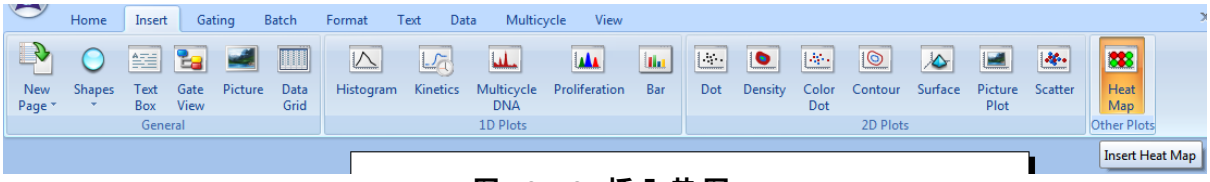
1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→Data Loading(数据导入)→IsoCyte Options(IsoCyte选项)**。
2. 请点击**Load cell images(导入细胞图片)**复选框。
3. 请点击**Load as Plate(作为细胞板导入)**复选框。
4. 请点击OK。

Data Loading(数据导入)选项中的**IsoCyte options(IsoCyte选项)**页面看起来应该如图T25.2所示。



图T25.2 Setting up IsoCyte Data Loading Preferences in FCS Express (**在**FCS Express**中设置**IsoCyte**数据导入选项**)

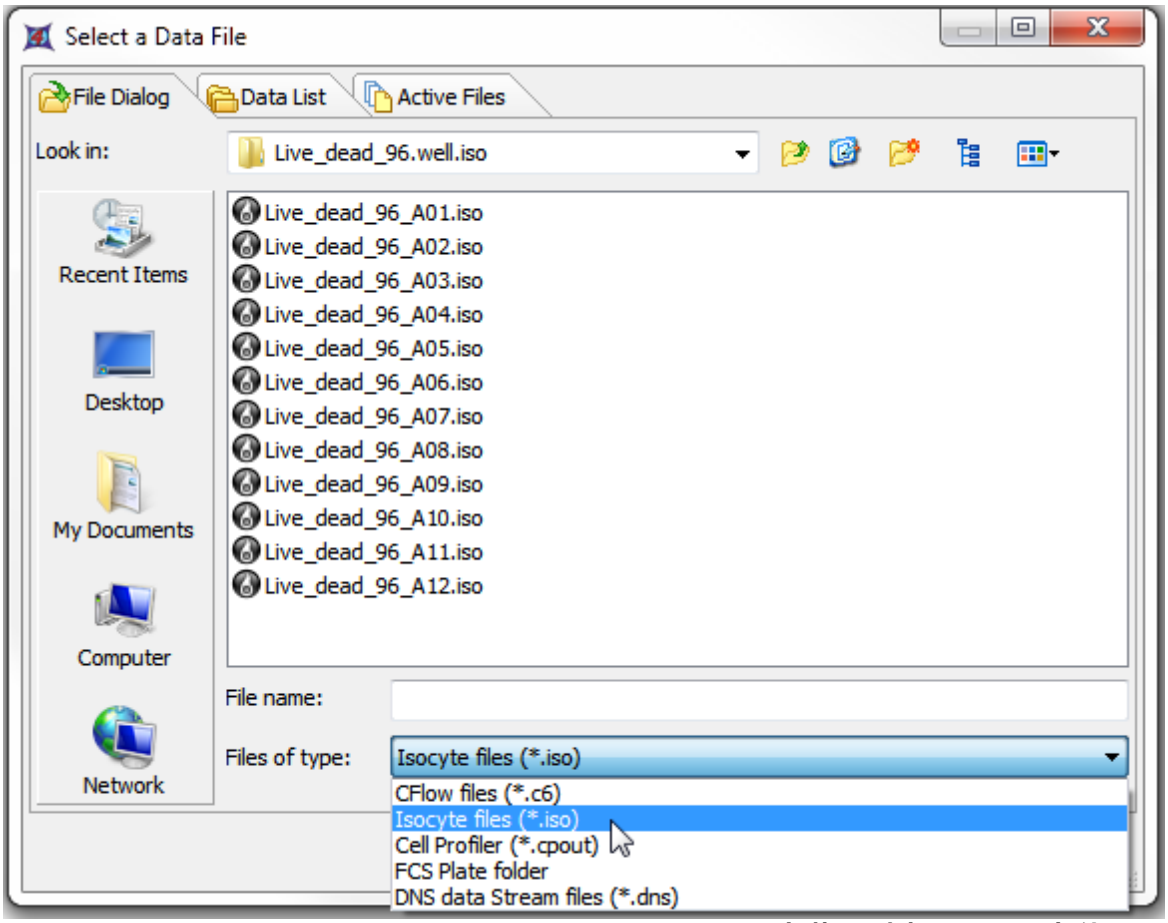
5. 请选择**Insert(插入)→Other Plots(其它绘图)→Heat Map(热图)**命令(图T25.3)。



图T25.3 **插入热图**

6. 请点击版面。

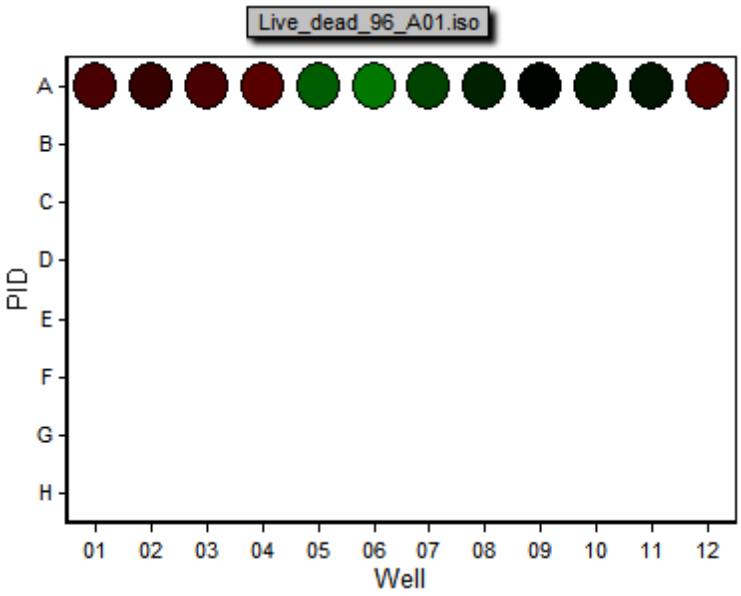
7. 请从**Select a Data File(选择数据文件)**对话框中的**files of type:(文件类型:)**下拉列表中选择**Isocyte files(Isoctye文件)(*.iso)**(图T25.4)。



图T25.4 Choosing an IsoCyte file for a Heat Map (**为热图选择**IsoCyte**文件**)

8. 请来到**Sample Data(样本数据)→Isocyte With Images(带有图片的Isocyte)→Live_dead_96.well.iso**文件夹。
9. 请选中列表中的**Live_dead_96_A01.iso**文件。
10. 请点击**Open(打开)**。

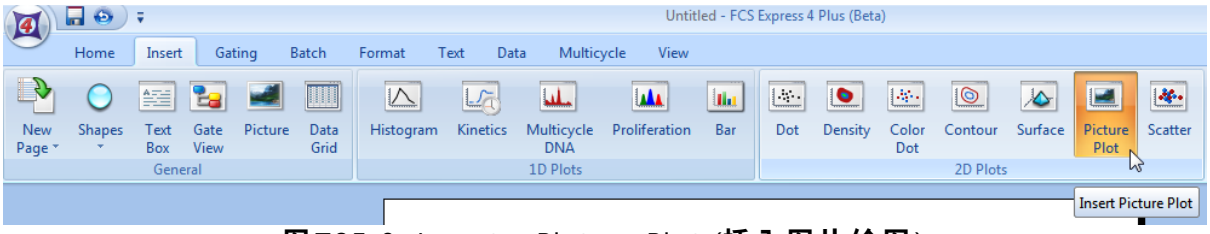
这时会出现一个显示你的数据的热图，表明数据被成功导入(图T25.5)。我们在本节中使用的数据集仅仅包括一行样本。



图T25.5 A Heat Map Generated from IsoCyte Data (**从**IsoCyte**数据生成的热图**)

要想查看和每个细胞孔对应的图片

11. 请通过选择**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Picture Plot(图像绘图)**来插入一个**Picture Plot(图像绘图)**(图T25.6)。



图T25.6 Insert a Picture Plot (**插入图片绘图**)

12. 请点击版面。

这时在版面上会出现一个图像绘图(图T25.7)。图像绘图把整个细胞板上的图片作为一个叠加图层显示出来。我们现在要创建一个细胞孔门，把它应用在图像绘图上，以便显示仅仅和这个细胞孔相关的图片。

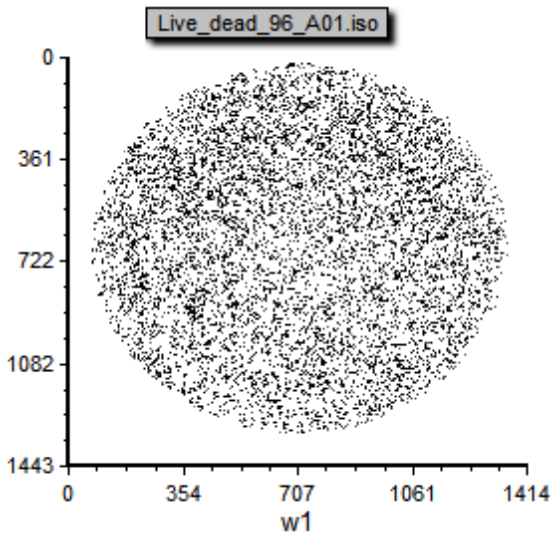
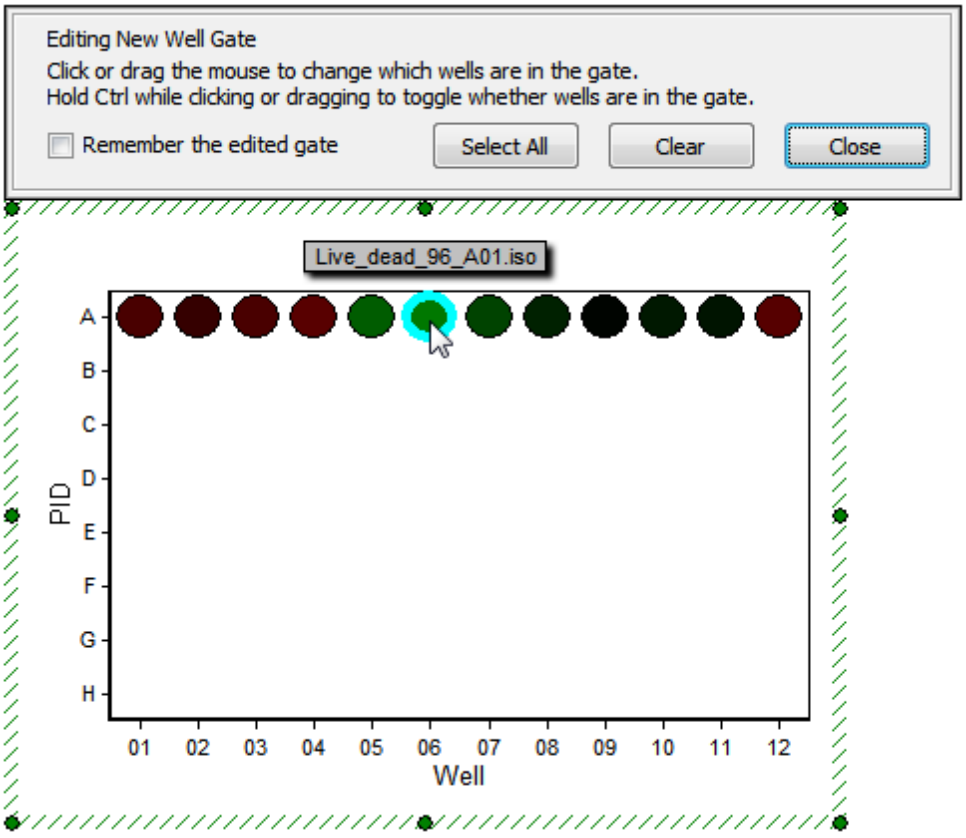


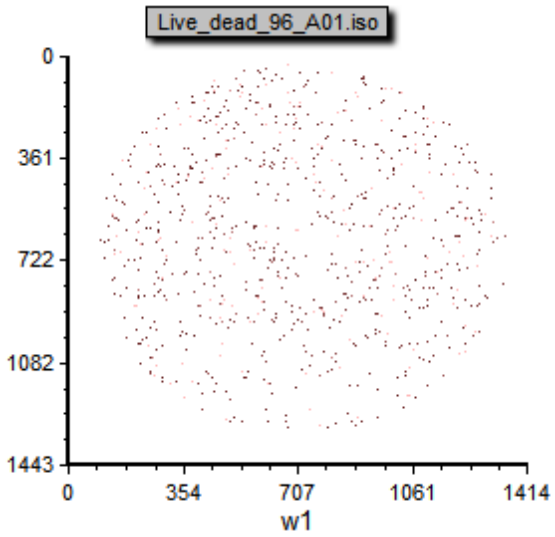
图 T25.7 A Picture Plot with All Images/Cells from All Wells on the Same Plot (**一个图片绘图把所有细胞孔中的图片/细胞显示在同一绘图上**)

13. 请为**Heat Map(热图)**中的A6细胞孔创建一个细胞孔门438(图T25.8)。



图T25.8 Gating a Heat Map (**在热图上进行门操作**)

14. 请把上一步中的**Well Gate(细胞孔门)**应用到**Picture Plot(图像绘图)**上(图T25.9)。要想更多地了解如何应用门，请参见门操作教程586。



图T25.9 Picture Plot with Well Gate Applied (**应用了门操作的图片绘图**)

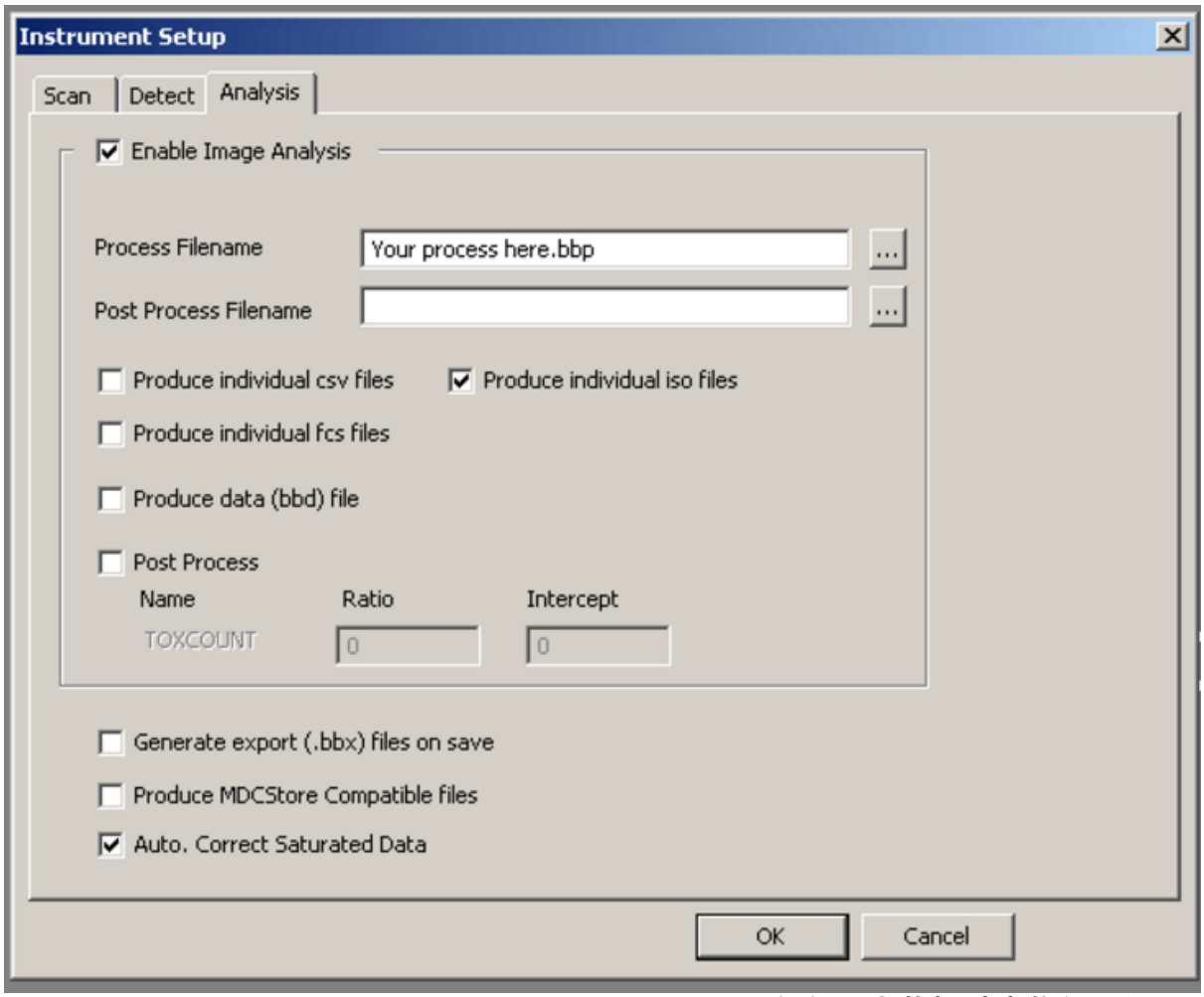
现在**Picture Plot(图像绘图)**中显示的图片就是根据细胞孔门所定义的。对**Well Gate(细胞孔门)**进行编辑或者选择不同的细胞孔将改变**Picture Plot(图像绘图)**中显示的图像。

36.25.3 *以数值格式导出数据(仅限数据)*

Isocyte设置 - 保存对象数据

1. 请从IsoCyte软件的主菜单中选择**Instrument Setup(仪器设置)**。
2. 请点击**Analysis Tab(分析标签)**。
3. 请点击**Produce individual iso files(生成单个iso文件)**复选框。这将为每个细胞孔保存分析过的对象数据。
4. 请确保**Auto. Correct Saturated Data(自动。校正饱和数据)**复选框也被选中。

这时的仪器设置对话框看起来应该如图T25.10所示。



图T25.10 Instrument Setup for Data Only Exporting (**仅仅导出数据对应的仪器设置**)

5. 请点击**OK**。
6. 请在IsoCyte中分析你的实验数据。
7. 请在IsoCyte中保存你的实验。

36.25.4 导入数值格式数据

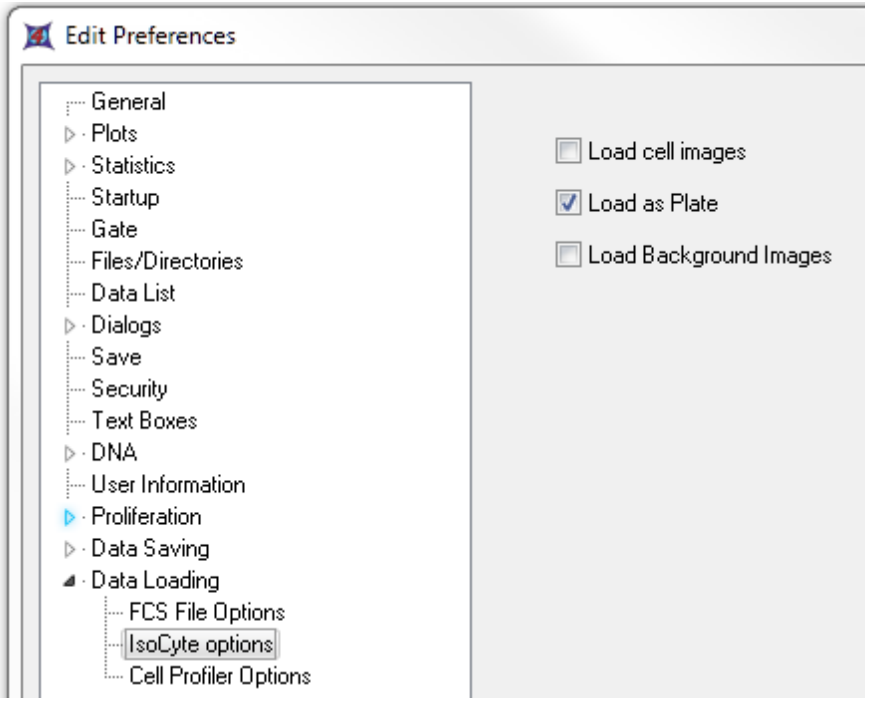
在**IsoCyte**中调整了导出设置并进行了分析后，你便可以把数据导入到FCS Express第4版中。

在本节中用到的IsoCyte文件可在教程样本数据库510中找到。

1. 请选择**Application Button(应用程序按钮)→Edit Preferences(编辑选项)→Data Loading(数据导入)→IsoCyte Options(IsoCyte选项)**。
2. 请取消对**Load cell images(导入细胞图片)**复选框的勾选。
3. 请点击**OK**。

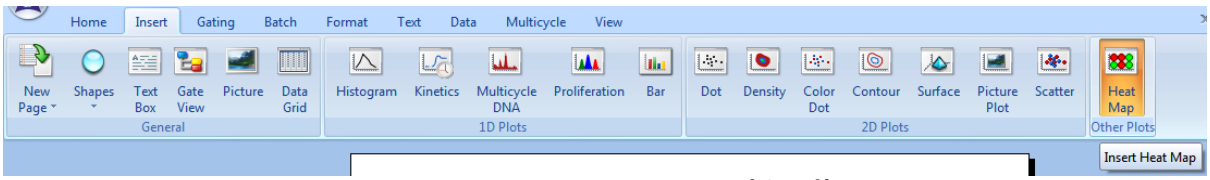
*注: 在本例中, 没有和数据相关的图片。因此, 是否点选**Load Images(导入图片)**复选框不会影响数据导入。*

这些都做完后, IsoCyte数据导入选项应该看起来如图T25.11所示。



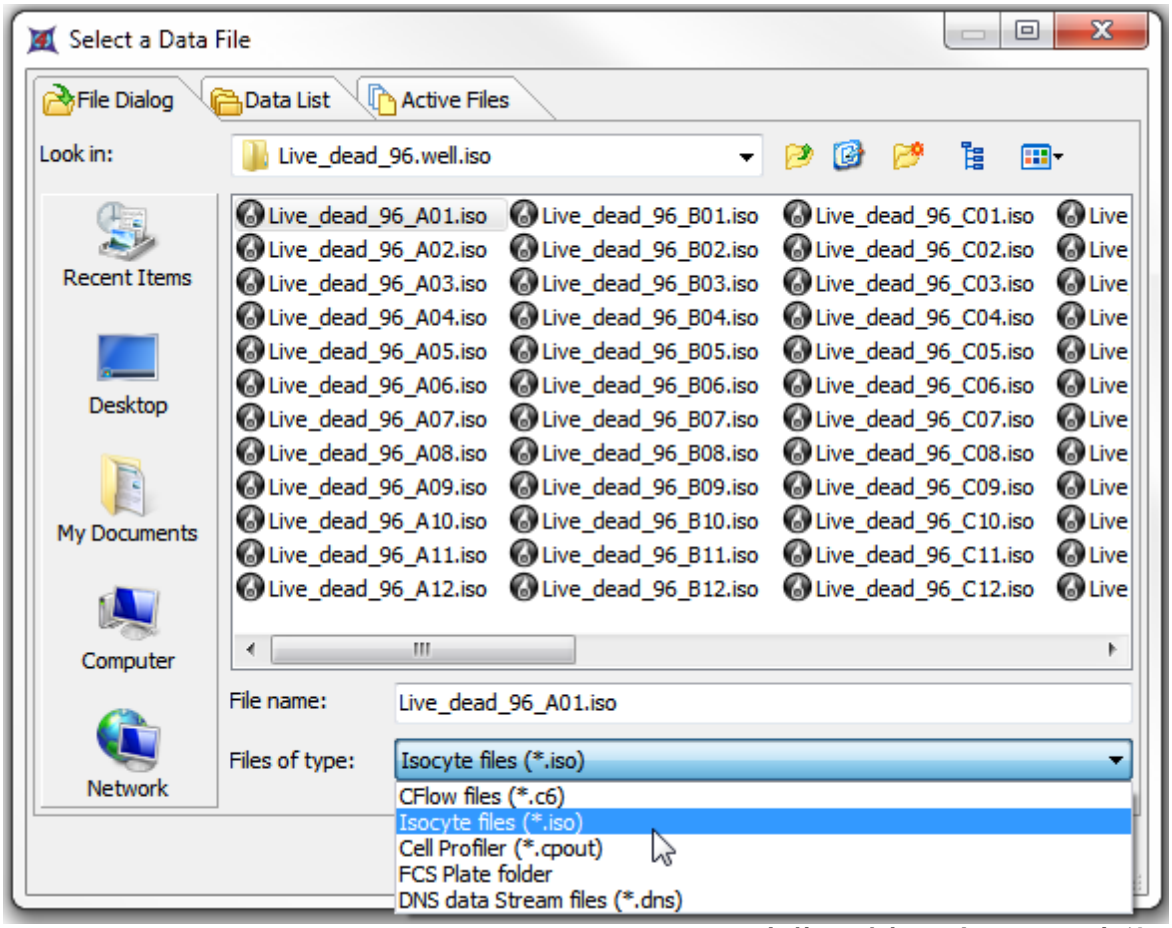
图T25.11 IsoCyte Data Loading Options for Numeric Data Only (**仅仅针对数值数据的**IsoCyte**数据导入选项**)

4. 请选择**Insert(插入)→Other Plots(其它绘图)→Heat Map(热图)**命令 (图T25.12)。



图T25.12 Insert a Heat Map (**插入热图**)

5. 请在版面上点击。
6. 请从**Select a Data File(选择数据文件)**对话框中的**files of type:(文件类型:)**下拉列表中选择**Isocyte files(Isocyte文件)(*.iso)** (图T25.13)。



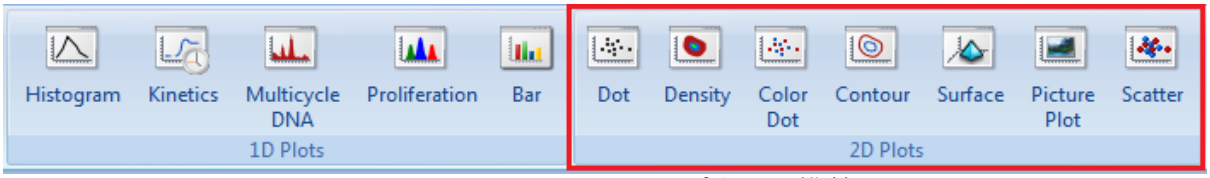
图T25.13 Choosing an IsoCyte File for a Heat Map (**为热图选择一个**IsoCyte**文件**)

7. 请来到**Sample Data(样本数据)→Isocyte Data Without Images(没有图片的Isocyte数据)→Live_dead_96.well.iso**文件夹中。
8. 请在列表中选择**Live_dead_96_A01.iso**文件。
9. 请点击**Open(打开)**。

这时会出现一个显示数据的热图，表明数据被成功导入。

要查看和每个细胞孔对应的数据

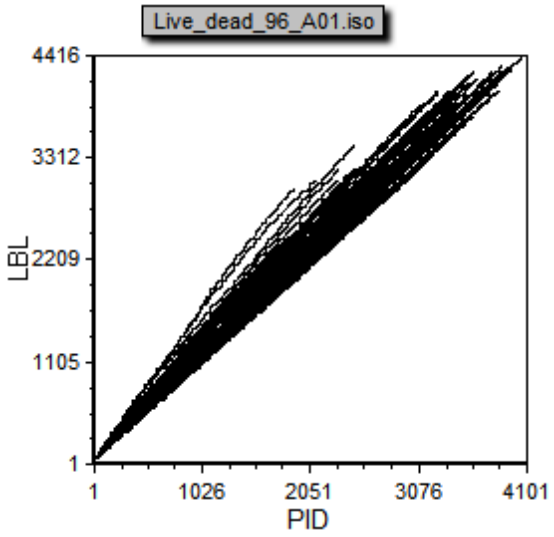
10. 请通过选择**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Dot Plot(点状图)**来插入一个**2D Dot Plot(二维点状图)**(图T25.14)。*注:* 也可以插入柱状图、点状图、密度图、彩色散点图、轮廓图以及表面绘图。



图T25.14 Insert a 2D Plot (**插入二维绘图**)

11. 请在版面上点击。

这时会出现一个**Heat Map(热图)**,包括数据集中的所有事件(图T25.15)。



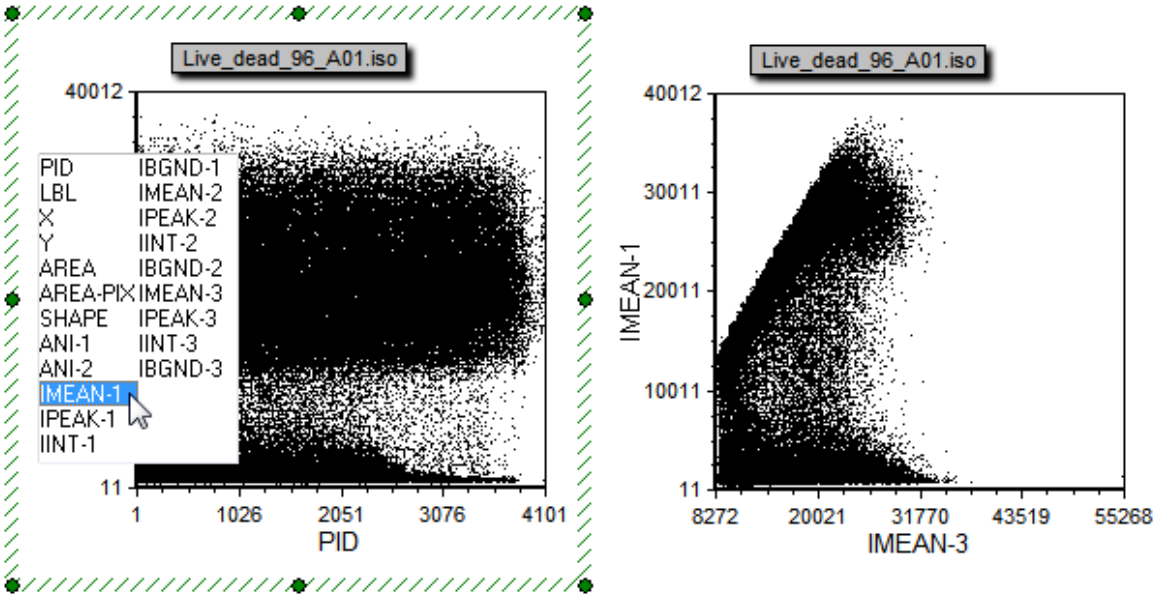
图T25.15 Dot Plot created from IsoCyte Data (**从**Isocyte**数据创建的点状图**)

注: 绘图中默认使用PID对LBL作图, 因为这是数据文件中最前面的两个参数。

在我们的例子中,我们要把坐标轴修改为**I- MEAN1对I- MEAN3**作图,以便查看相关数据(图T25.16)。

12. 请把Y- 轴参数修改为IMEAN- 1。

13. 请把X- 轴参数修改为IMEAN- 3。



图T25.16 Changing the Plot Axes (**修改绘图数轴**)

14. 请为**Heat Map(热图)**上的C3细胞孔创建一个细胞孔门438(图T25.17)。

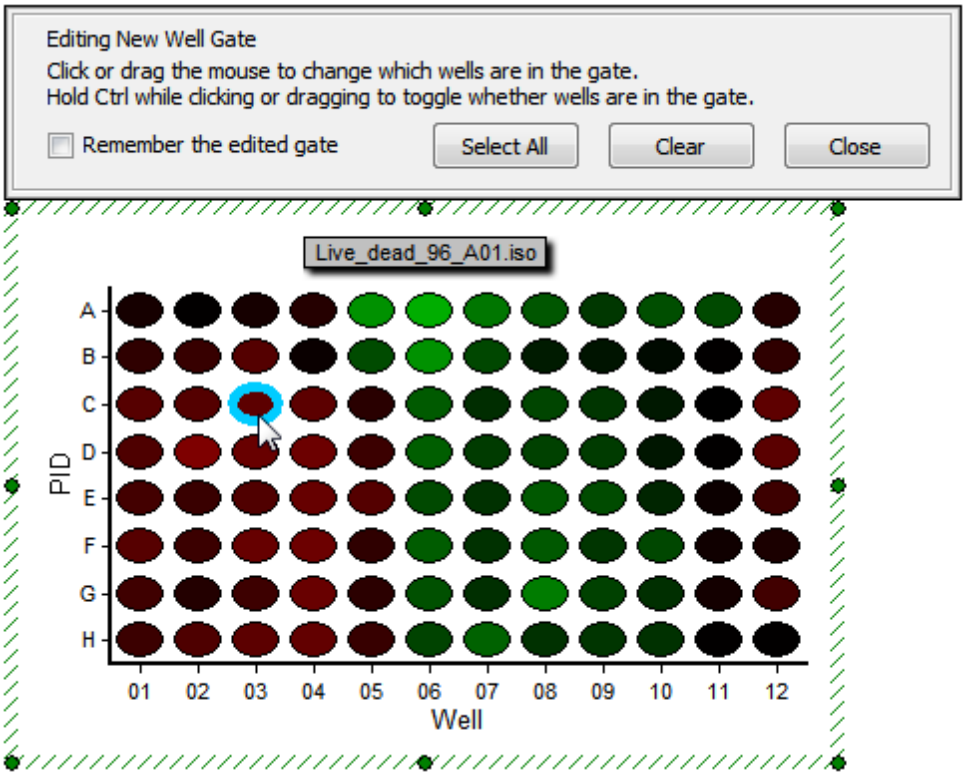
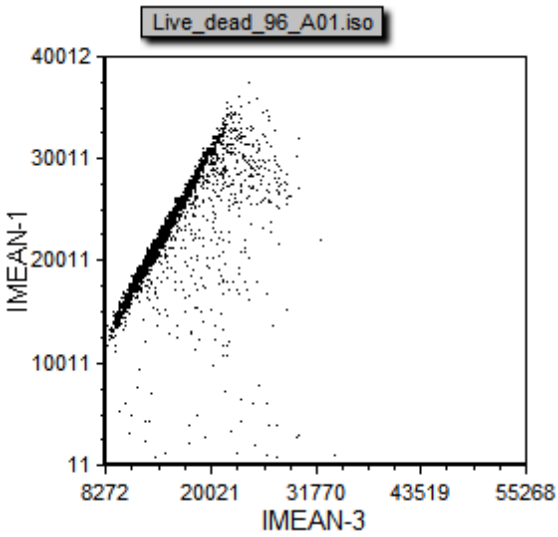


图 T25.17 Create a Well Gate on the Heat Map (**在热图上创建细胞孔门**)

15. 请把上一步中的**Well Gate(细胞孔门)**应用到**Dot Plot(点状图)**上。

现在显示在**Plot(绘图)**中的数据便是根据细胞孔门中的数据所绘制(图T25.18)。编辑**Well Gate(细胞孔门)**以及选择其它的单个或多个细胞孔将改变**Plot(绘图)**中的数据。



图T25.18 Dot Plot Gated by Well (**应用细胞孔门的点状图**)

36.26 图像绘图

FCS Express现在支持图像绘图，它可以让用户导入图片来进行分析。图像绘图可以显示导入的绘图，让用户直接在图像上添加门，然后执行FCS Express中提供的各种分析功能。在绘图中被识别出来的单个细胞可被进一步划分到细胞库中，让用户对细胞进行逐个分析。

在本章教程中，我们将学习如何:

- 插入图像绘图，然后对其进行格式化
- 创建多通道叠加图层来合并图像
- 在图像绘图上使用门
- 从图像绘图生成统计数据
- 使用细胞库来进行门操作或者查看单个细胞

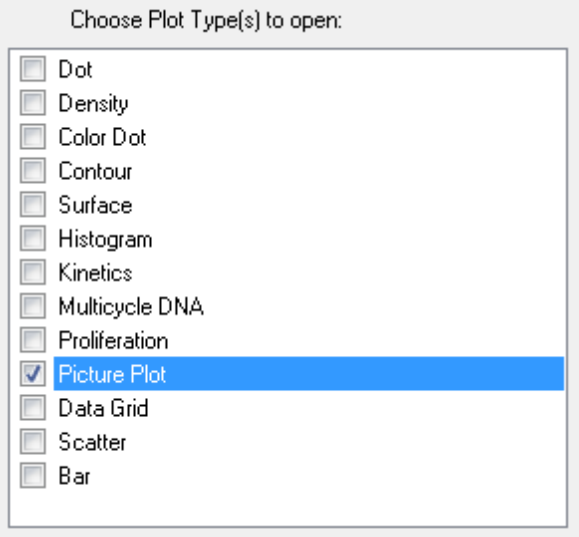
36.26.1 *插入并且格式化图像绘图*

在这一节中，我们将学习如何:

- 为查看图像绘图进行相关设置
- 选择要显示的通道

- 创建多通道叠加图层以创建合并图像

1. 请打开一个新版面。
2. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
3. 请从教程样本数据库510中把pictureplotsample1.dns和pictureplotsample2.dns文件添加到**Data List(数据列表)**中。
4. 请把pictureplotsample1.dns文件从**Data List(数据列表)**中拖放到版面上。
5. 请点击**Picture Plot(图像绘图)**并且保证其它复选框未被选中(图T26.1)。

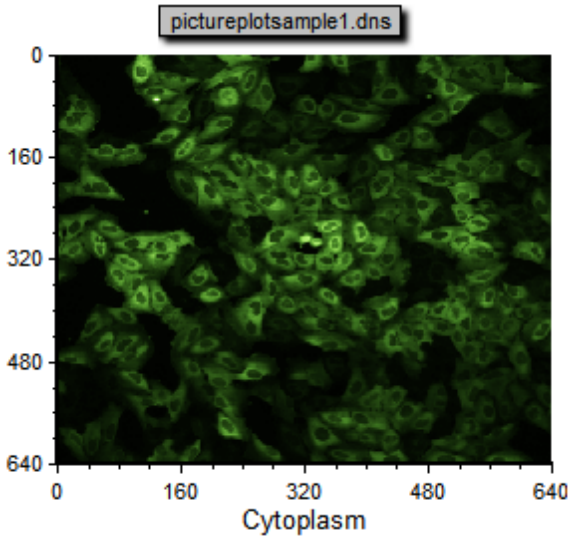


图T26.1 Choosing to Insert a Picture Plot (**选择插入图像绘图**)

6. 请点击**OK**。

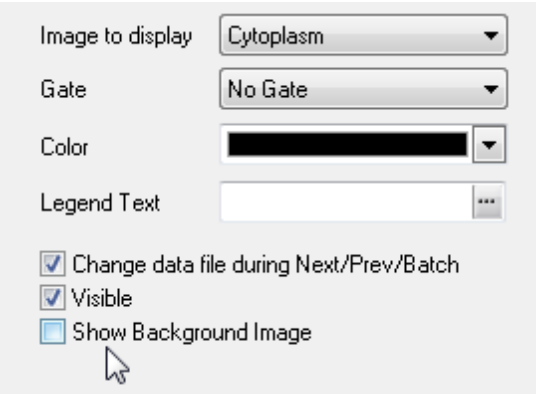
这时在版面上会出现一个图像绘图，如图T26.2所示。我们现在来修改一下 "查看背景选项 "，以便仅仅显示单个细胞的蒙版，而不显示图像背景。

注: 数轴上的刻度数值反映了像素坐标。你现在可以通过修改数轴格式化选项把这些刻度数值关掉。



图T26.2 Picture Plot for pictureplotsample1.dns Inserted in the Layout (**插入到版面中的**pictureplotsample1.dns**文件对应的图像绘图**)

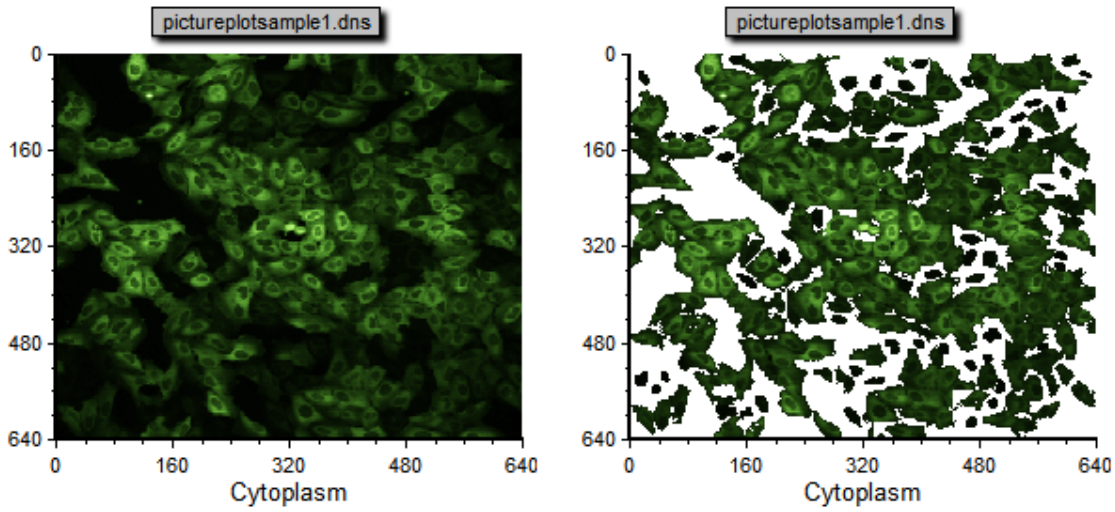
7. 请右键点击图像绘图。
8. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
9. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。
10. 请取消对**Show Background Image(显示背景图像)**的勾选(图T26.3)。



图T26.3 Deselecting the Show Background Images Option (**取消显示背景图像的选择**)

11. 请点击**Preview(预览)**。

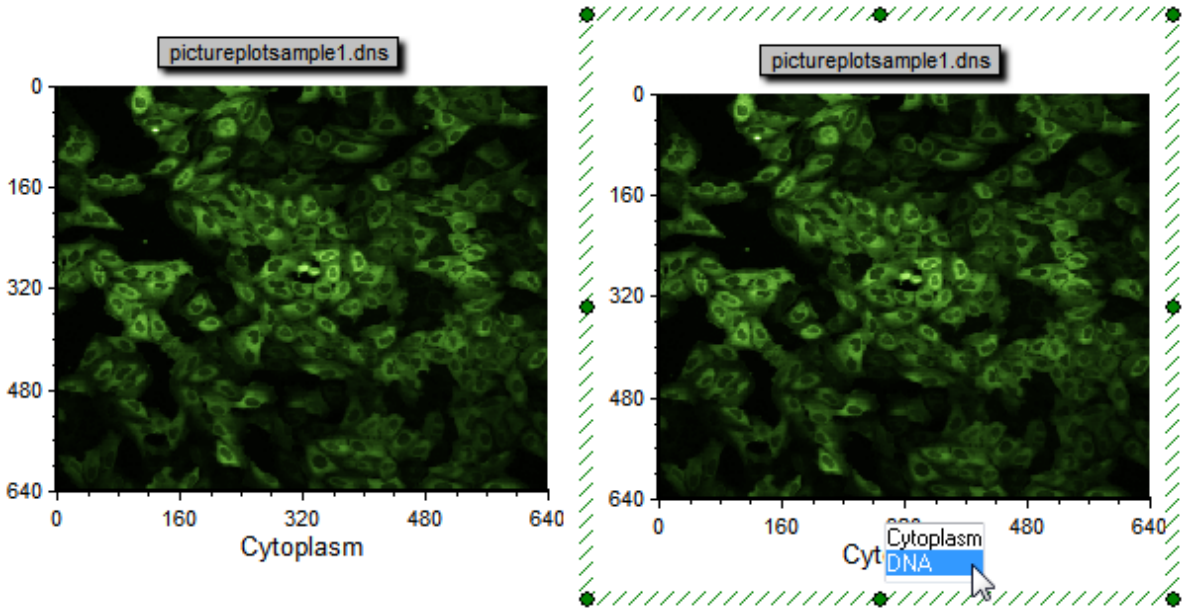
请把格式化窗口移到旁边，这样你可以看到图像绘图。注意到黑色的背景已经被拿掉了，屏幕上仅仅显示单个的细胞(图T26.4)。



图T26.4 Before (Left) and After (Right) Removing the Background Image (**移除背景图像前(左图)与移除背景图像后(右图)比较**)

我们现在来看一下图像的另外一个通道，然后创建一个两通道合并图像。

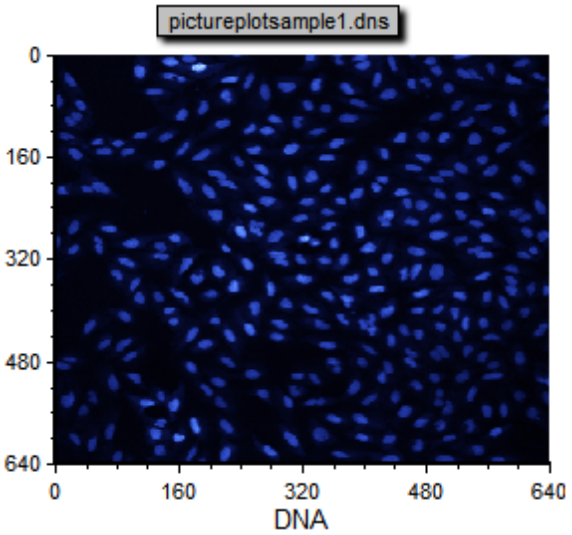
12. 请点击**Cancel(取消)**，回到有背景的图像。
13. 请把图像绘图复制和粘贴到版面中任意位置。
14. 请在新绘图的名称上点击并按住不放(图T26.5)。



图T26.5 Choosing the DNA Imaging Channel (**选择**DNA**图像通道**)

15. 请选择DNA以查看图像中的DNA通道(图T26.5)。

图像绘图现在看起来应该如图T26.6所示，显示和图像绘图相关的DNA图像。



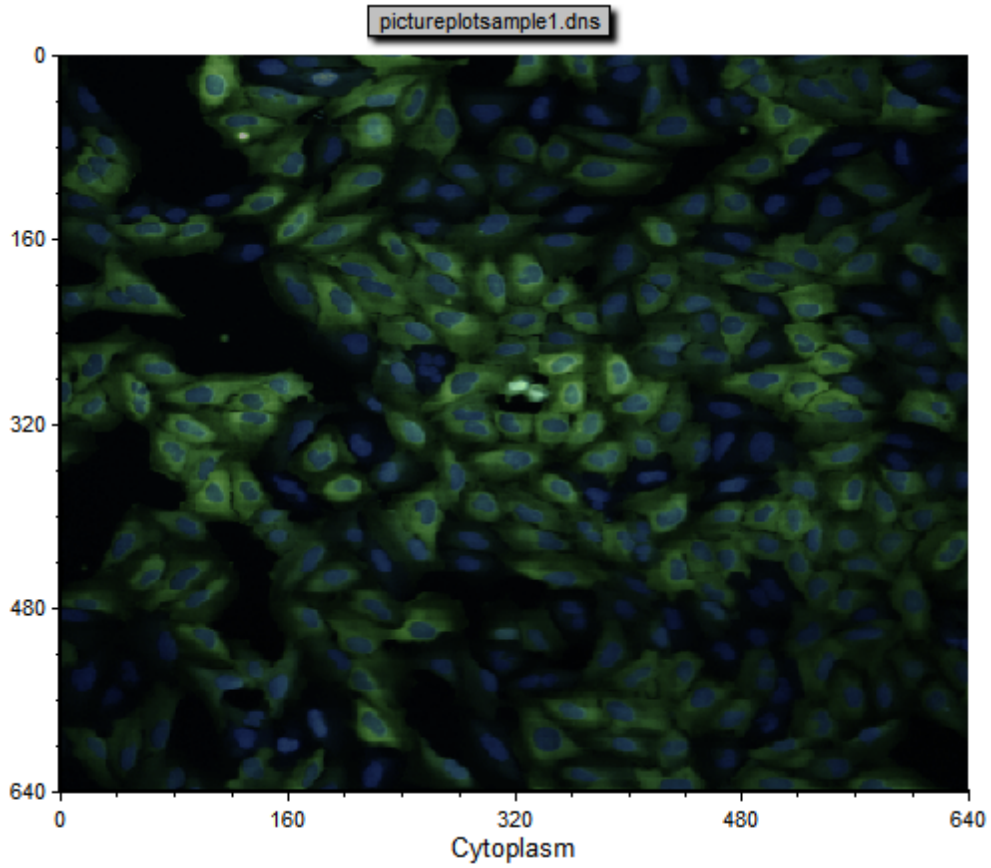
图T26.6 The DNA Image Channel Associated with pictureplotsample1.dns (**与**pictureplotsample1.dns**相关的**DNA**图像通道**)

16. 请把显示DNA通道的绘图拖放到显示细胞质通道的绘图上。

17. 请从**Paste Special(特殊粘贴)**对话框上选择**2D Plot Overlay(s)(二维绘图叠加图层)**。

18. 请点击**OK**。

这时的图像绘图看起来应该如图T26.7所示，DNA通道叠加到了细胞质通道上方，构成了一个合并图像。



图T26.7 Picture Plot Overlay Displaying the Cytoplasmic and DNA Channels as a Merged Image (**把细胞质和**DNA**通道作为一个合并图像显示出来的图像绘图叠加图层**)

就像FCS Express中的任何其它绘图一样，图像绘图中的数据可以使用**Next(下一个)**和**Previous(前一个)**命令来进行翻动。我们现在就来使用这些命令来改变图像绘图中显示的图像。

19. 请点击新建的叠加图层，将其选中。

20. 请选择**Data(数据)→Change Data on Selection(修改选中的数据)→Next**

(下一个)命令。

图像绘图将显示**Data List(数据列表)**中的下一个样本/ 图像。FCS Express可以处理彩色以及灰度图像(如与pictureplotsample2.dns相关的灰度绘图)。

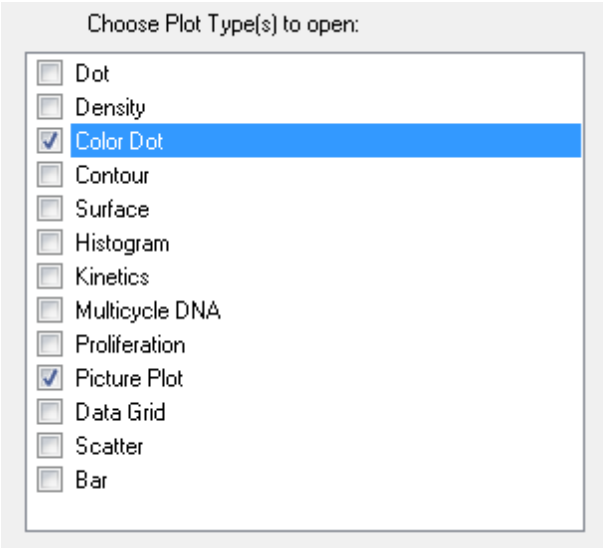
36.26.2 *对图像绘图进行门操作*

在这一节中，我们将学习如何:

- 在图像绘图上添加门
- 调整图像绘图选项以便查看门
- 从图像绘图向散点图添加后置门或者从散点图向图像绘图添加后置门
- 查看图像绘图门对应的统计数据

在一个图像绘图上应用门和在任何FCS Express中的其它绘图上应用门非常类似。想要对门操作有一个初步了解，请查看门操作教程 566。

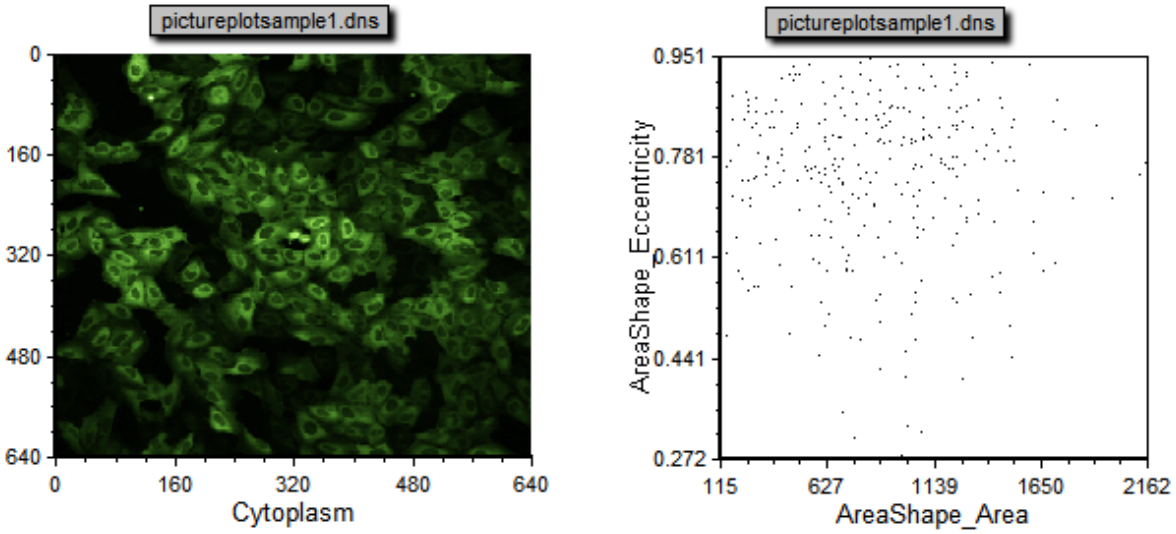
1. 请打开一个新版面。
2. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
3. 请从*Tutorial Sample Data archive(教程样本数据库)*中把pictureplotsample1.dns导入**Data List(数据列表)**中。
4. 请把pictureplotsample1.dns文件从**Data List(数据列表)**中拖放到版面上。
5. 请点击**Picture Plot(图像绘图)**以及**Color Dot(彩色点状图)**，然后保证其它复选框没有被选中(图T26.8)。



图T26.8 Choosing to Insert a Picture Plot and Color Dot Plot(**选择插入图像绘图以及彩色点状图**)

6. 请点击**OK**。

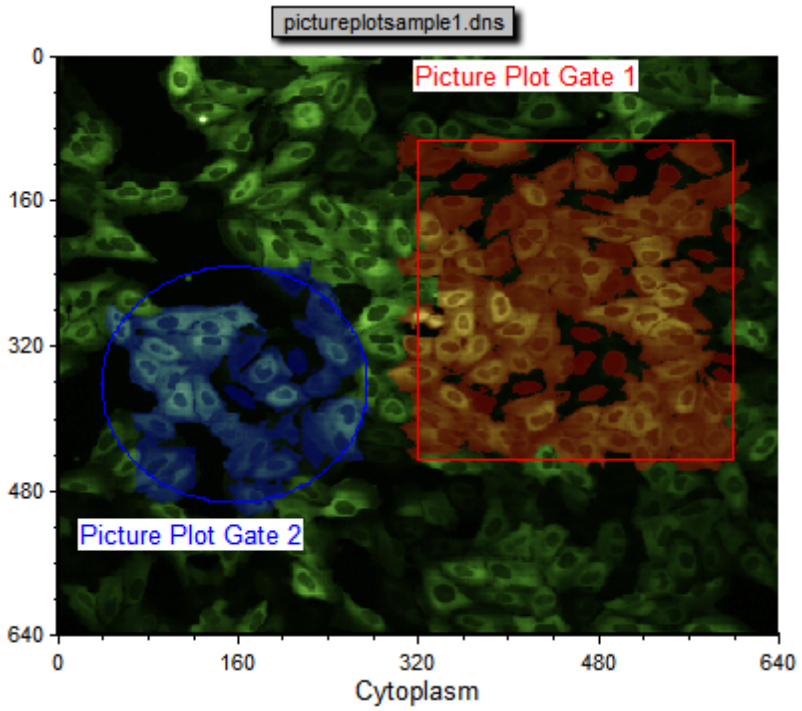
这时该文件对应的彩色点状图以及图像绘图会出现在版面中。请把这两个图并排排列，如图T26.9所示。



图T26.9 Arrangement of the Picture Plot and Color Dot Plot on the Layout (**在版面上排列图像绘图以及彩色点状图**)

7. 请在图像绘图上创建一个如图T26.10中所示的矩形门，然后将其命名为Picture Plot Gate 1(图像绘图门1)。

8. 请在图像绘图上再创建一个如图T26.10中所示的门(椭圆形门)并将其命名为Picture Plot Gate 2(图像绘图门2)。



图T26.10 Creating Gates on the Picture Plot (**在图片绘图上创建门**)

注意到图像绘图中，在门中的细胞也被高亮为和门相同的颜色(图T26.10)。同时也注意到彩色点状图中不同颜色门中的细胞有着不同的颜色。有时，在点状图上区分不同颜色或者不同事件可能会有些困难，因为一个图片只有有限的事件数。让我们现在来对点状图进行格式化，以便更加容易地对其进行查看和分析。

9. 请右键点击彩色点状图。

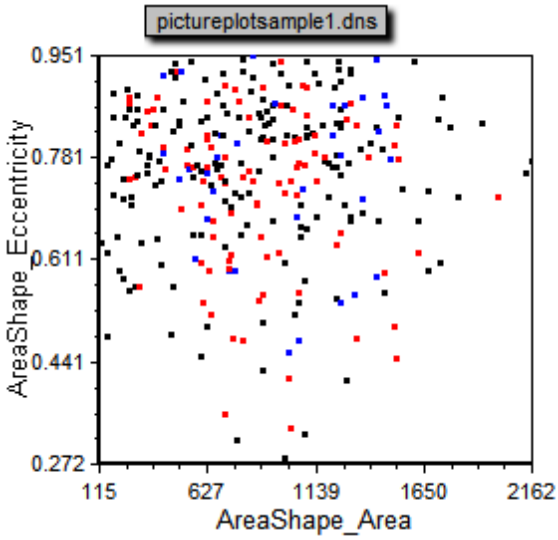
10. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。

11. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

12. 请把**Dot size(数据点大小)**改为10。

13. 请点击**OK**。

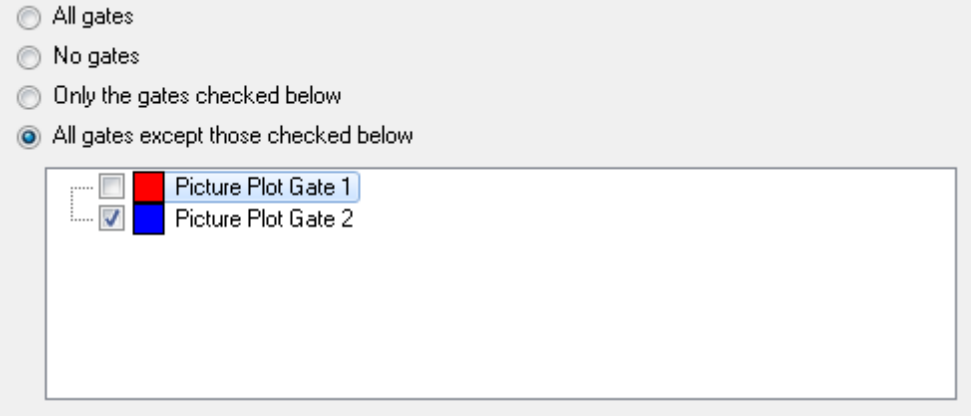
数据点图现在看起来应该如图T26.11所示，在不同图像绘图门中的事件也更容易区分。



图T26.11 Color Dot Plot with Dots Enlarged (**数据点被放大的彩色点状图**)

我们现在要对图像绘图进行格式化以便仅仅显示一个图像绘图门中的细胞。

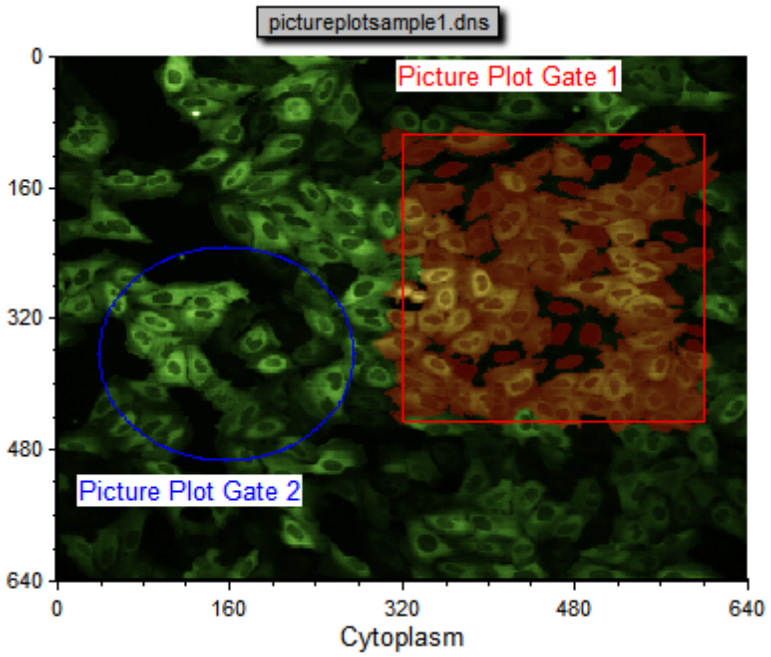
14. 请右键点击图像绘图。
15. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
16. 请选择**Picture Plot Options(图像绘图选项)→Display Gates Options(显示门选项)**类别选项。
17. 请选择**All gates except those checked below(除了下面中的门之外所的门)**单选按钮(图T26.12)。
18. 请点选复选框**Picture Plot Gate 2(图像绘图门2)**(图T26.12)。



图T26.12 Choosing to Display All Gates Except Picture Plot Gate 2 (**选择显示除了图像绘图门**2**以外的其它门**)

19. 请点击**OK**。

这时的图像绘图看起来应该如图T26.13所示，图中仅仅特别显示了图像绘图门1中的细胞。



图T26.13 Picture Plot Highlighting Only Cells Found Within Picture Plot Gate 1 (**图像绘图仅仅高亮显示在图像绘图门**1**中的细胞**)

我们现在将根据图像绘图门来对彩色点状图进行门操作。

20. 请点击彩色点状图，将其选中。

21. 请来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**，然后从**Current Gate(当前门)**下拉列表中选择**Picture Plot Gate 1(图像绘图门1)**。

注意到彩色点状图现在仅仅显示图像绘图门1中定义的事件(图T26.14)。

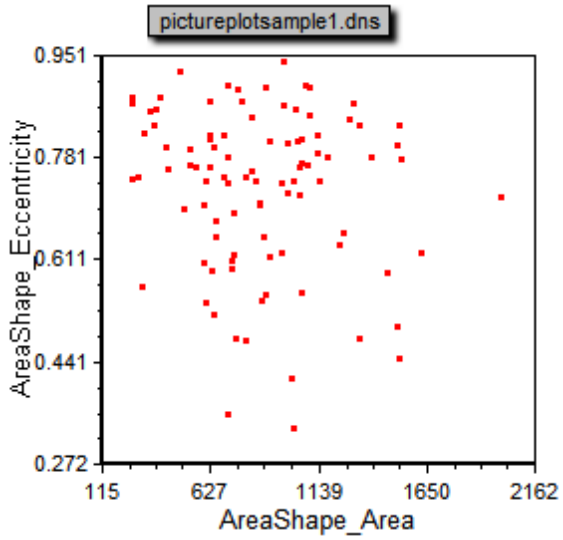
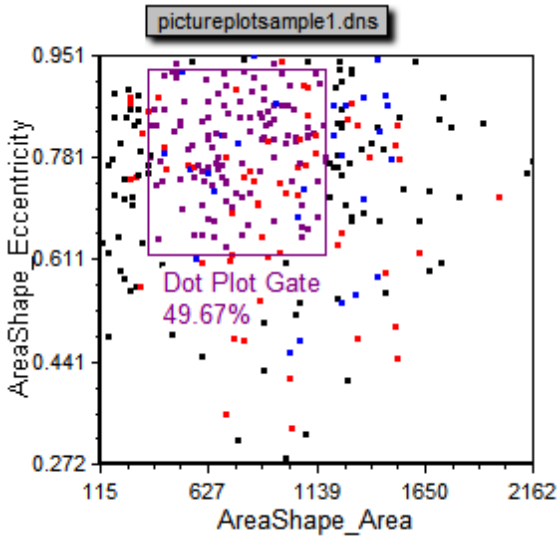


图26.14 Color Dot Plot Displaying Cells from Picture Plot Gate 1 (**显示图像绘图门1中的细胞的彩色点状图**)

我们现在来在彩色点状图上设置一个门并将其应用到图像绘图上。

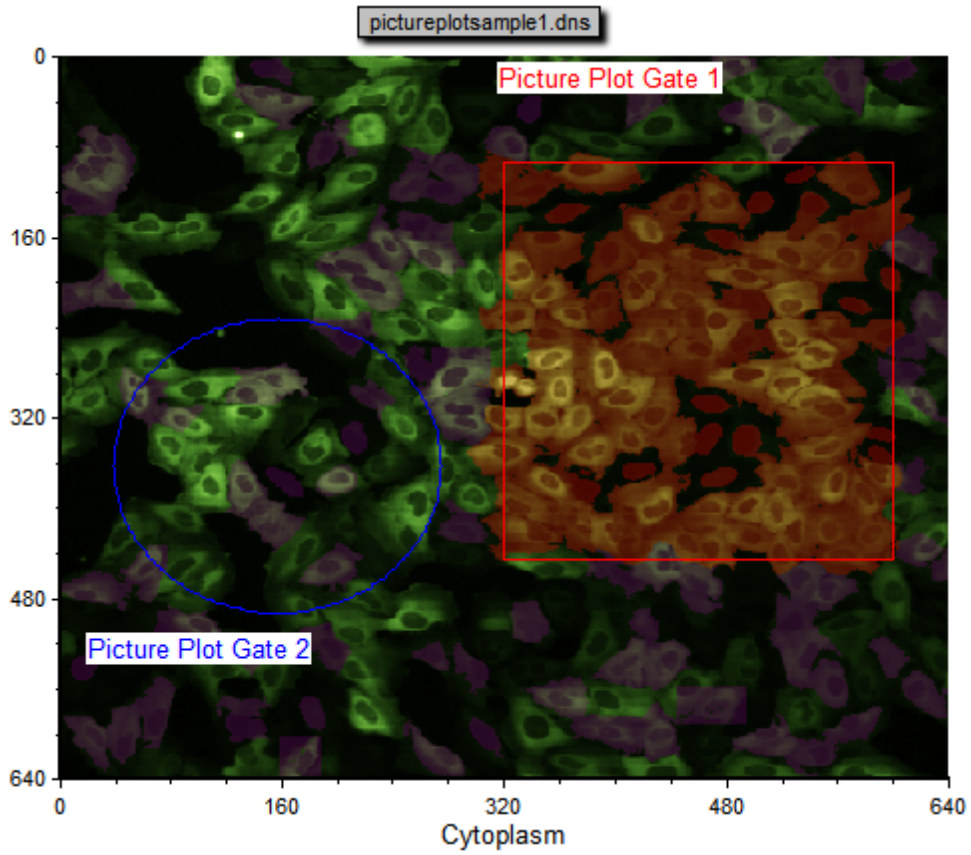
22. 请按下Ctrl+Z，取消门操作。

23. 请在彩色点状图上创建一个如图T26.15中所示的矩形门并将其命名为Dot Plot Gate(点状图门)。



图T26.15 Applying a Gate to the Dot Plot (**把一个门应用于点状图**)

注意到图像绘图现在用紫色来显示那些刚刚在点状图上创建的门中的细胞(图T26.16)。请移动一下点状图门并观察图像绘图中紫色的细胞随点状图门移动而变化的情况。当根据数值结果来选定某一细胞群时，这种门操作的方法可能会比较有用。

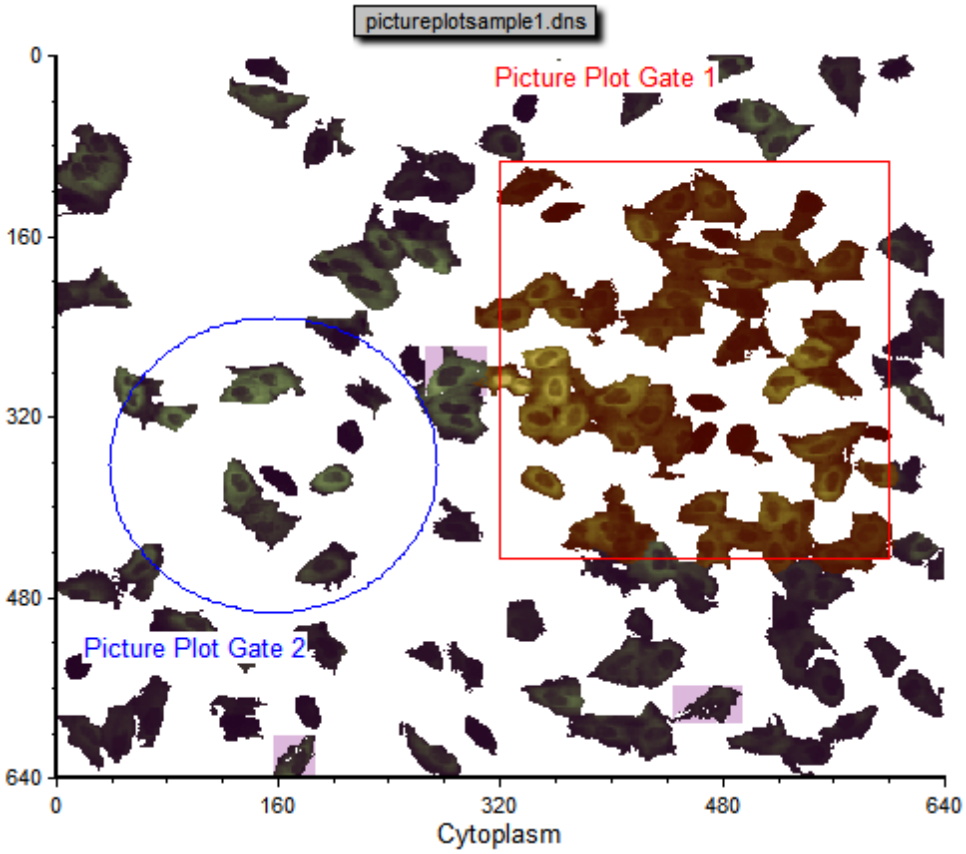


图T26.16 Picture Plot Displaying the Dot Plot Gated Cells in Purple (**把点状图门中的细胞显示为紫色的图像绘图**)

在点状图门中的细胞也可以显示在没有背景的图像中。

24. 请右键点击图像绘图。
25. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
26. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。
27. 请取消对**Show Background Image(显示背景图像)**的点选。
28. 请点击**OK**。
29. 请来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**，然后从**Current Gate(当前门)**下拉列表中选择**Dot Plot Gate(点状图门)**。

图像绘图现在看起来应该如图T26.17所示，显示仅仅在点状图门中的细胞。请移动一下点状图门并实时地观察图像绘图中细胞的变化。



图T26.17 Picture Plot with Dot Plot Gate Applied (**应用了点状图门的图像绘图**)

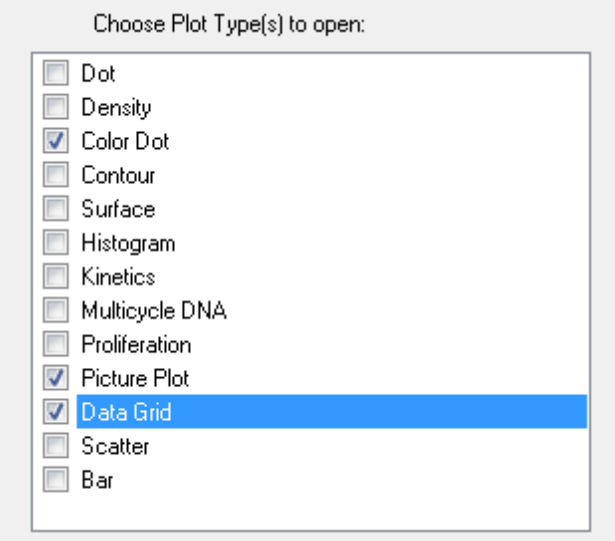
36.26.3 *使用数据网格来进行分析*

FCS Express允许用户为任何绘图插入一个数据网格。数据网格通常以单元格的形式显示参数数据。在图像细胞分析中，数据网格可以作为一个图像列表来查看单独细胞的图像以及相关参数。

在这一节中，我们将学习如何:

- 插入一个数据网格/ 细胞列表
- 对数据网格/ 细胞列表进行格式化以显示多个细胞的图像和参数。
- 把门应用到数据网格/ 细胞列表上。
- 在一个数据网格/ 细胞列表上创建门

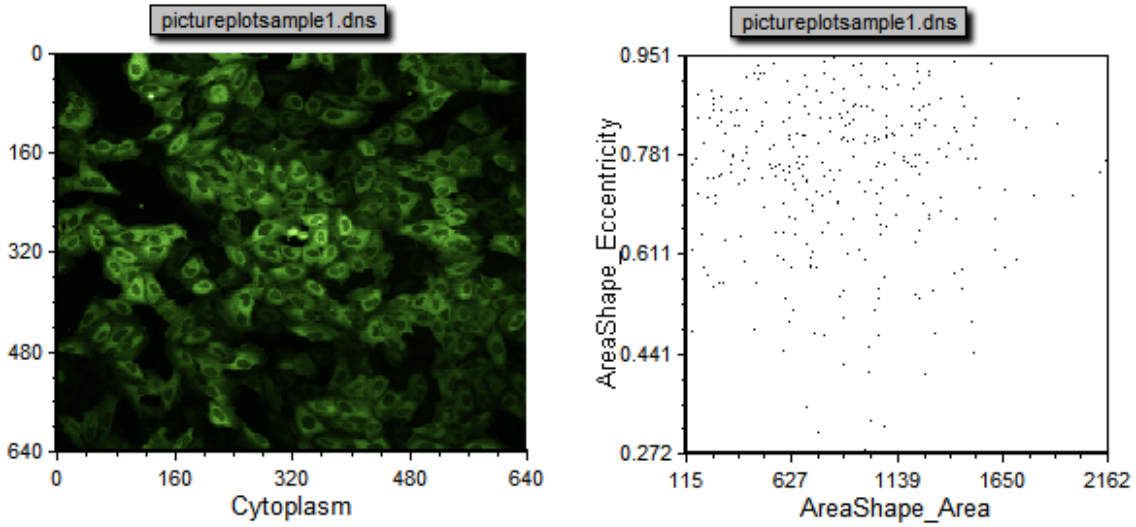
1. 请打开一个新版面。
2. 请选择**Data(数据)→Organize Data Sets(组织数据集)→Data List(数据列表)**命令。
3. 请从*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录中把pictureplotsample1.dns文件添加到**Data List(数据列表)**中。
4. 请把pictureplotsample1.dns文件从**Data List(数据列表)**中拖放到版面上。
5. 请选中**Data Grid(数据网格)**、**Picture Plot(图像绘图)**以及 **Color Dot(彩色点状图)**，并保证其它复选框没有被选中(图T26.18)。



图T26.18 Inserting a Data Grid and Two Plots (**插入一个数据网格以及两个绘图**)

6. 请点击**OK**。

这时在版面上会出现一个图像绘图、一个数据网格以及一个彩色点状图。请把这些绘图和网格如图T26.19中那样进行排列。



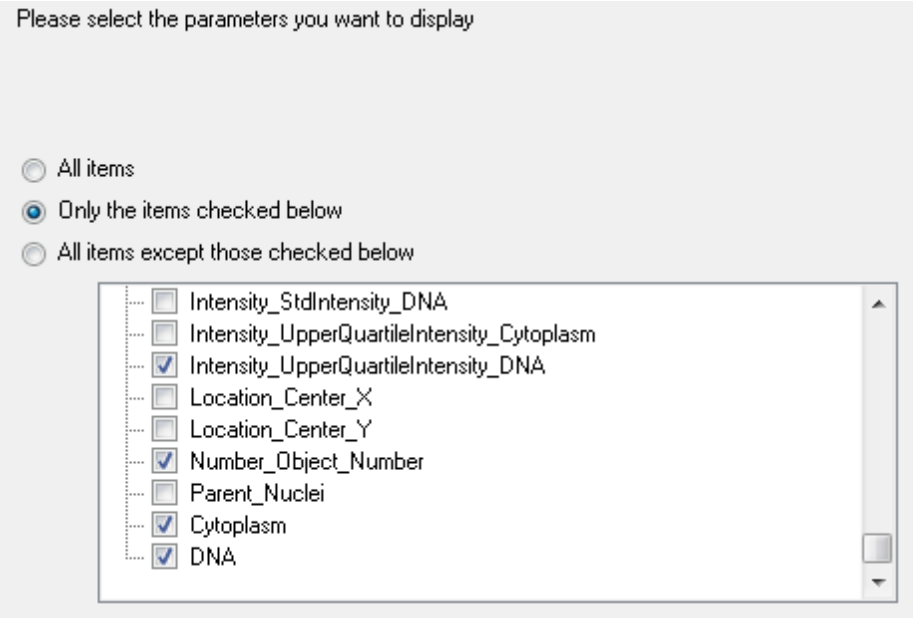
Cell #	AreaShape_	AreaShape_	AreaShape_	AreaShape_	AreaShape_	AreaShape_	AreaShape_	AreaSha
1	551.00	0.74	1.00	0.59	0.49	34.28	23.05	36.53
2	695.00	0.81	1.00	0.62	0.61	40.43	23.72	-23.40
3	483.00	0.83	1.00	0.58	0.56	34.66	19.14	26.79
4	381.00	0.64	1.00	0.55	0.34	25.98	20.05	-18.07
5	371.00	0.83	1.00	0.59	0.33	30.35	17.13	-15.95
6	1541.00	0.72	1.00	0.40	0.24	61.03	42.49	-22.21
7	1090.00	0.82	1.00	0.58	0.47	51.34	29.17	72.54
8	1296.00	0.67	1.00	0.72	0.69	47.74	35.28	-67.73
9	626.00	0.49	1.00	0.59	0.60	31.23	27.21	0.82
10	2162.00	0.77	1.00	0.61	0.46	67.19	43.10	32.21
11	659.00	0.75	1.00	0.48	0.49	38.05	25.01	36.77
12	172.00	0.88	1.00	0.57	0.66	21.94	10.44	33.50
13	870.00	0.84	1.00	0.55	0.44	47.68	26.01	-79.85
14	641.00	0.73	1.00	0.56	0.44	37.12	25.47	-61.72

图T26.19 A Picture Plot, Data Grid, and Color Dot Plot Arranged on the Layout for Analysis (**版面上的图像绘图、数据网格以及彩色点状图**)

数据网格可以被用做细胞列表，以便查看图像绘图和门中的细胞。我们可以对网格进行格式化来显示细胞轮廓、统计参数以及从数据中生成的门。

7. 请右键点击数据网格。
8. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
9. 请选择**Parameters to Display(要显示的参数)**类别选项。

10. 请点击**Only the items checked below(仅限下面选中的项目)**单选按钮(图T26.20)。
11. 请来到列表底部，点选以下复选框(图T26.20):
    a. Intensity_UpperQuartileIntensity_DNA
    b. Number_Object_Number
    c. Cytoplasm
    d. DNA



图T26.20 Formatting the Parameters to Display for the Data Grid (**格式化数据网格要显示的参数**)

12. 请选择**Gates to Display(要显示的门)**类别选项。
13. 请点击**All gates(所有门)**单选按钮。
14. 请点击**OK**。

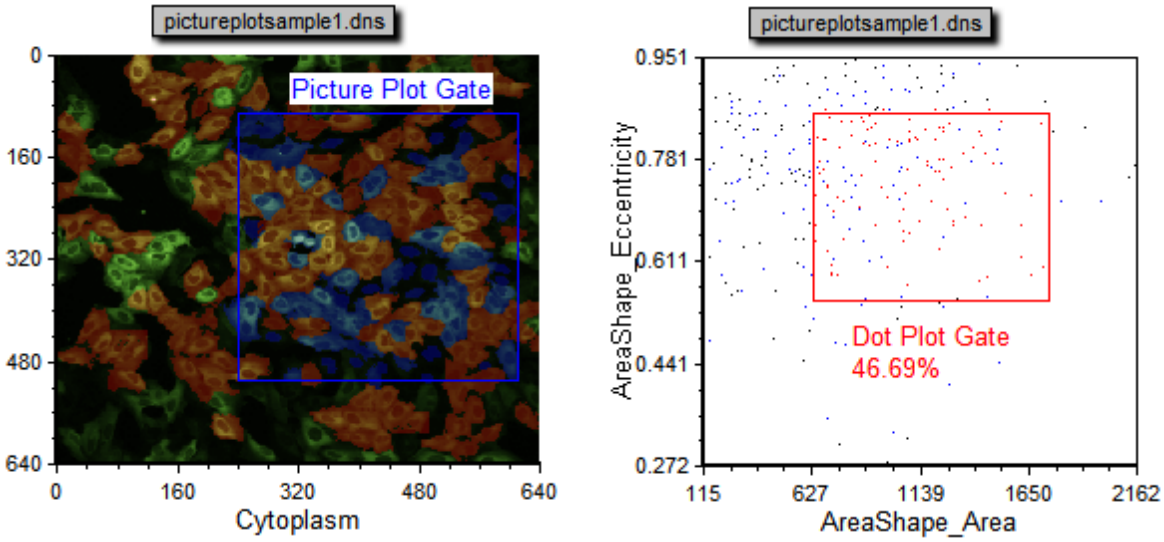
数据网格现在显示所有细胞的参数值、截下来的细胞质图片和DNA图片以及为门准备的一列单元格(图T26.21)。我们现在要在点状图以及图像绘图上创建门，然后在数据网格中使用这些门来查看细胞。

Cell #	Gates	Intensity_Ur	Number_Ob	Cytoplasm	DNA
1		0.09	1.00		
2		0.15	2.00		
3		0.53	3.00		
4		0.24	4.00		
5		0.37	5.00		
6		0.13	6.00		
7		0.06	7.00		
8		0.10	8.00		
9		0.18	9.00		
10		0.07	10.00		
11		0.14	11.00		
12		0.24	12.00		
13		0.14	13.00		
14		0.10	14.00		
15		0.09	15.00		

图T26.21 Data Grid Displaying the Chosen Parameters, Individual Cell Images, and a Column for Gates (**数据网格显示选中的参数、细胞图像以及"门"列**)

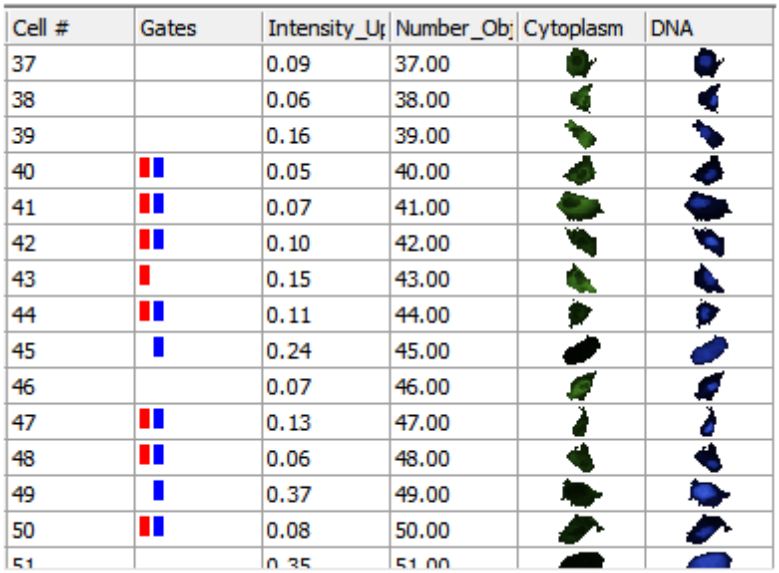
15. 请在点状图上创建一个如图T26.22中所示的门，然后将其命名为"Dot Plot Gate(点状图门)"。

16. 请在图像绘图上创建一个如图T26.22中所示的门，然后将其命名为"Picture Plot Gate(图像绘图门)"。



图T26.22 Examples of Gates to Create on the Picture and Dot Plots (**在图像绘图以及点状图上创建门时可以参考的实例**)

向下翻动数据网格，注意到现在门列中显示一些彩色的矩形条(图T26.23)。这些矩形代表了哪些细胞在哪些门中。如果一个细胞在多个门中，那么在"Gates(门)"列里将出现多个彩色条。如果"Gates(门)"列为空，表明该细胞不在任何现在显示的门中。



Cell #	Gates	Intensity_U	Number_Ob	Cytoplasm	DNA
37		0.09	37.00		
38		0.06	38.00		
39		0.16	39.00		
40		0.05	40.00		
41		0.07	41.00		
42		0.10	42.00		
43		0.15	43.00		
44		0.11	44.00		
45		0.24	45.00		
46		0.07	46.00		
47		0.13	47.00		
48		0.06	48.00		
49		0.37	49.00		
50		0.08	50.00		
51		0.35	51.00		

图T26.23 Data Grid Displaying Dot Plot and Picture Plot Gates as Colored Rectangular Boxes (**数据网格把点状图和图像绘图门显示为彩色矩形**)

我们现在要把点状图和图像绘图门应用到数据网格中以便查看在这些门中的细胞。

17. 请点击数据网格，将其选中。

18. 请来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**，然后从**Current Gate(当前门)**下拉列表中选择**Dot Plot Gate(点状图门)**。

19. 请适当调整点状图，使其选中比现在少一些的细胞，如图T26.24所示。

注意到细胞列表相应地进行了更新，仅仅显示在点状图门中选中的细胞。这是一个逐步缩小范围、找到感兴趣的细胞的例子。

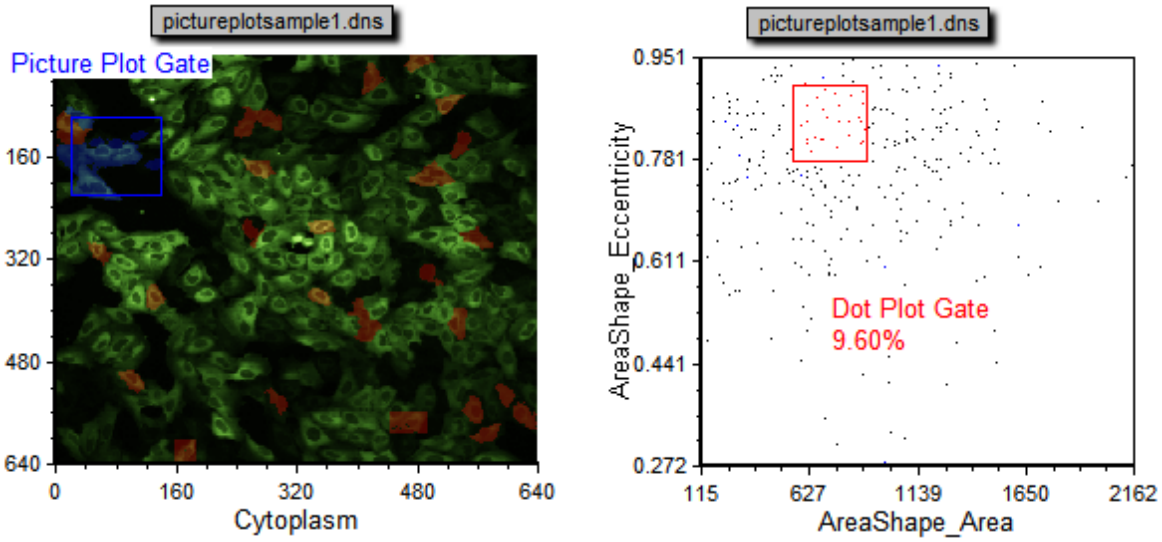
20. 请点击数据网格，将其选中。

21. 请来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**，然后从**Current Gate(当前门)**下拉列表中选择**Picture Plot Gate (图像绘图门)**。

22. 请适当调整图像绘图，选中比现在少一些的细胞，如图T26.24所示。

注意到细胞列表相应地进行了更新，仅仅显示在图像绘图门中选中的细胞。这是一个逐步缩

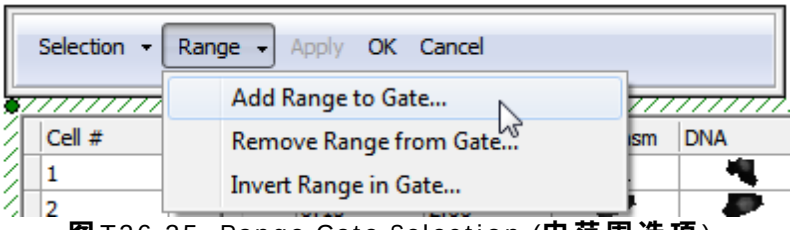
小范围、找到感兴趣的细胞的例子。



图T26.24 Adjusting the Dot Plot and Picture Plot Gates to Select Fewer Events (**调整点状图以及图像绘图，选中更少的事件**)

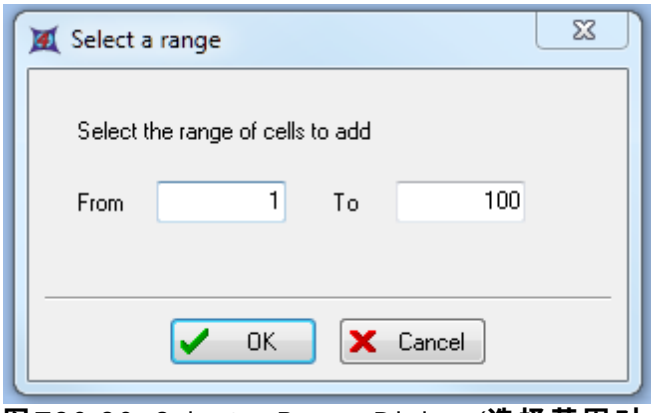
我们现在要直接在数据网格上创建一个门，来把这些事件显示在点状图和图像绘图上。

23. 请点击数据网格，将其选中。
24. 请来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**，然后从**Current Gate(当前门)**下拉列表中选择**No Gate(没有门)**。
25. 请右键点击数据网格。
26. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。这时会出现一个Range Gate(范围门)选项，如图T26.25所示。
27. 请点击**Range(范围)**。
28. 请从下拉列表中选择**Add Range to Gate...(添加范围到门...)**。



图T26.25 Range Gate Selection (**门范围选项**)

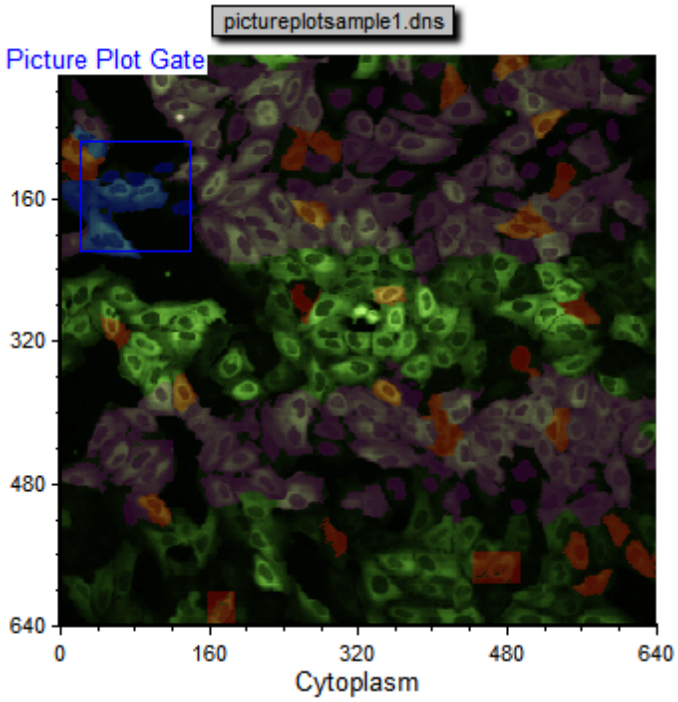
29. 请在范围中输入**From(从)**1**To(到)**100(图T26.26)。



图T26.26 Select a Range Dialog (**选择范围对话框**)

30. 请点击**OK**。
31. 请点击**Range(范围)**。
32. 请从下拉列表中选择**Add Range to Gate...(添加范围到门...)**。
33. 请在范围中输入**From(从)**180**To(到)**250。
34. 请点击**OK**。
35. 请在范围门选择窗口点击**OK**。
36. 请把新门命名为Range Gate(范围门)。
37. 请点击**OK**。

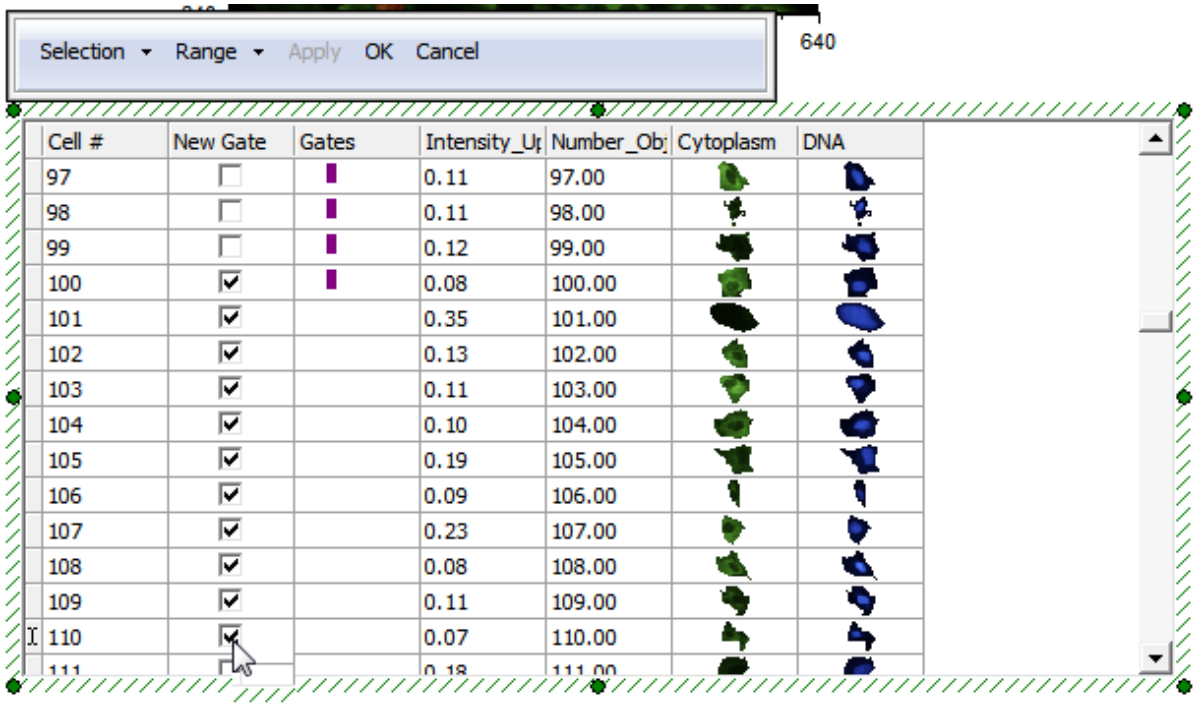
注意: 现在的图像绘图和散点图会用范围门的颜色(本例中为紫色)来显示范围门中的细胞(图T26.27)。



图T26.27 Picture Plot Displaying the Eevents in the Range Gate as Purple Highlighted Cells (**图像绘图把范围门中的事件显示为紫色**)

也可以选择一个其它细胞范围。

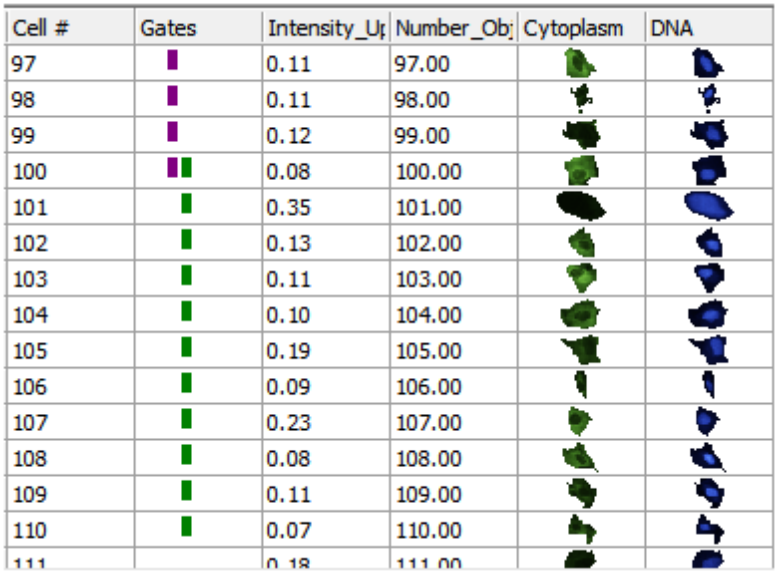
38. 请右键点击数据网格。
39. 请从弹出菜单上选择**Create Gate(创建门)**。
40. 请通过在**New Gate(新门)**一列中选中细胞100到110对应的复选框来选中细胞100到110(图T26.28)。



图T26.28 Selecting Individual Cells for Gating by Checking the Boxes in the New Gate Column (**在新门列中选中复选框来对细胞进行门操作**)

41. 请在范围门选择区点击**OK**。
42. 请将该门命名为"Selected Cells(选中的细胞)"。
43. 请点击**OK**。

这时针对这些细胞的一个新的范围门将被创建(图T26.29)。



Cell #	Gates	Intensity_U	Number_Ob	Cytoplasm	DNA
97		0.11	97.00		
98		0.11	98.00		
99		0.12	99.00		
100		0.08	100.00		
101		0.35	101.00		
102		0.13	102.00		
103		0.11	103.00		
104		0.10	104.00		
105		0.19	105.00		
106		0.09	106.00		
107		0.23	107.00		
108		0.08	108.00		
109		0.11	109.00		
110		0.07	110.00		
111		0.18	111.00		

图T26.29 Selected Cells Range Gate Displayed as a Green Box in the Gates Column (**选中的细胞范围门在门列被显示为绿色矩形**)

要在图像绘图以及点状图上查看该门里的细胞，我们需要对两个绘图进行一个快速的设置以更方便地查看一小部分细胞。

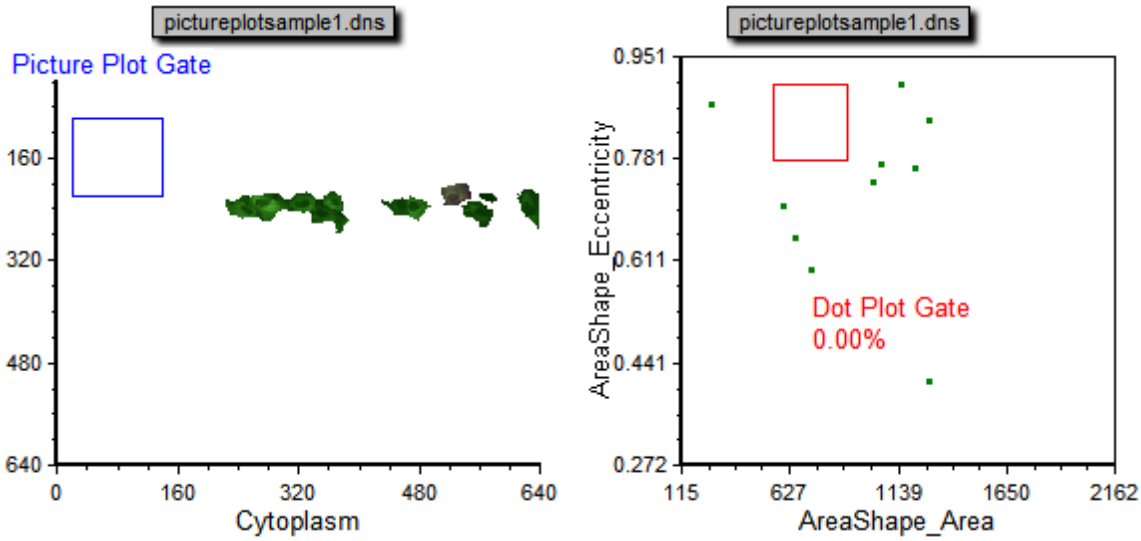
44. 请右键点击图像绘图。
45. 请从弹出菜单上选中**Format(格式)**。
46. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。
47. 请取消对**Show Background Image(显示背景图像)**复选框的选择。
48. 请点击**OK**。
49. 请右键点击彩色散点图。
50. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
51. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。
52. 请把**Dot size(散点大小)**改为 10。
53. 请点击**OK**。

我们现在要把Selected Cells(选中的细胞)门应用到两个绘图上，以便在这两个绘图上仅仅查看这些事件。

54. 请选中点状图以及图像绘图。

55. 请来到**Gating(门操作)→Create Gates(创建门)→Current Gate(当前门)**，然后从**Current Gate(当前门)**下拉列表中选择**Selected Cells(选中的细胞)**。

这时的点状图以及图像绘图将仅仅显示以上通过手动点选复选框所选择的细胞(图T26.30)。另一范围或者其它细胞可以在任何时间被添加进来。



图T26.30 Plots Gated on the Range Gate (**应用范围门的绘图**)

56. 请右键点击数据网格。

57. 请从弹出菜单上选择**Edit Gate(编辑门)→Selected Cells(选中的细胞)**。

58. 请点击**Range(范围)**。

59. 请从下拉列表中选择**Add Range to Gate(向门中添加范围)**。

60. 请输入范围**From(从)**1**To(到)**50。

61. 请点击**OK**。

62. 请点击范围门选择区的**Apply(应用)**来实时查看对门的修改。

63. 请在范围门选择区点击**OK**。

图像绘图以及点状图现在将显示新键入和编辑的范围(图T26.31)。同时请注意因为有事件落到了点状图门中，百分比统计数据也进行了更新。

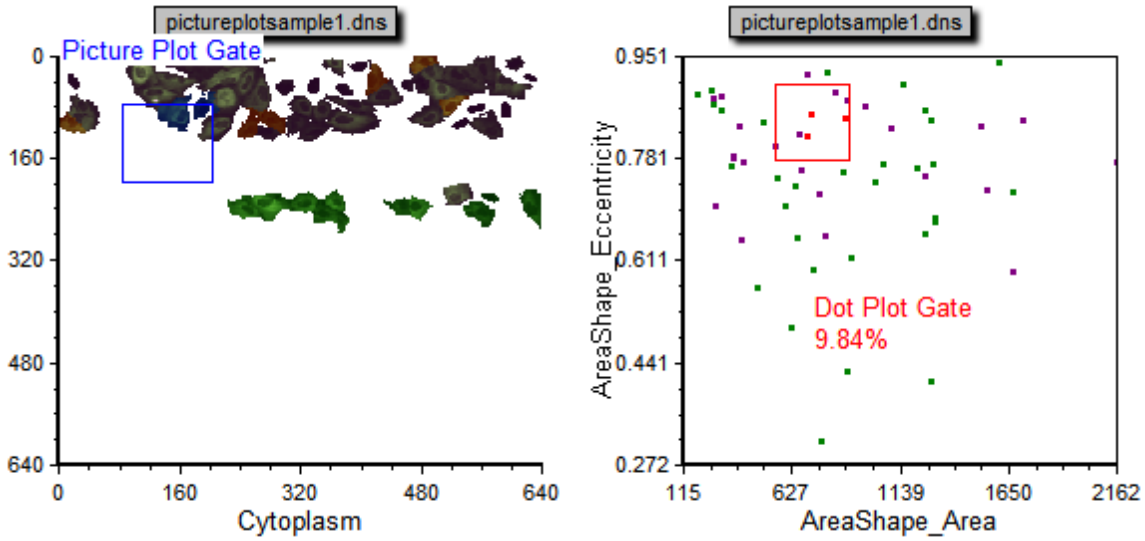


图 T26.31 Picture Plot and Dot Plot After Adding a New Range to the Selected Cells Gate (**把一个新的范围添加到选中的细胞门后的图像绘图以及点状图**)

36.27 回归分析

FCS Express为用户提供许多数学函数来创建自定义标记和自定义数据组。这些函数的操作方式和Microsoft Excel™中的函数操作方式类似。在本章教程中，我们将对FITC(异硫氰酸荧光素)对应的MESF(可溶性荧光染料溶解平衡值)微珠数据执行线性回归分析，以便取得一个可以返回某一数据通道值对应的FITC MESF的值的公式。因为FCS Express也提供了一个简单易用的通道校正工具256，该工具使用一组微珠的MESF数据来把数轴校正到MESF值，所以该教程在演示如何创建自定义标记以及自定义数据组并对它们进行作图时显得格外有用，另外，该教程在演示如何在FCS Express中使用回归分析来拟合数据时也很有用。

在本章中，我们将:

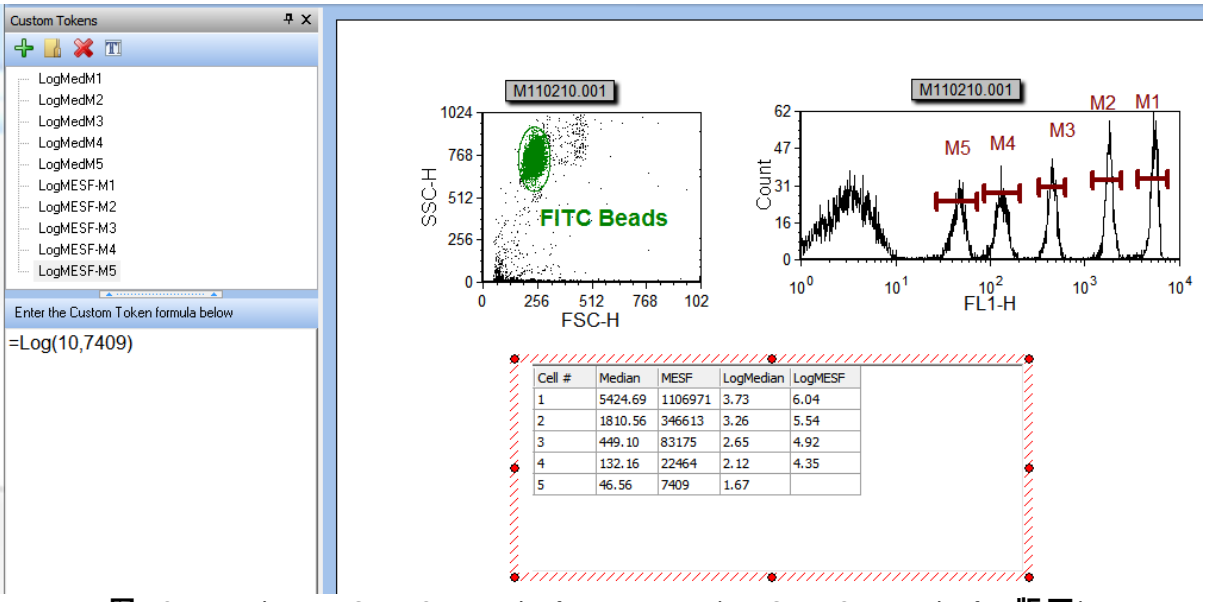
- 导入一个带有柱状图标记以及数据网格的MESF微珠柱状图。
- 插入一个数据网格值对应的散点图。
- 使用MESF微珠数据创建一个线性拟合自定义标记。
- 把回归结果叠加于数据网格散点图上。
- 把线性回归公式保存为一个其它FCS数据文件可以使用的文本文件。
- 把线性回归应用到一个FCS数据文件以获取MESF数据。

36.27.1 完成一个自定义数据网格

在本节教程中，我们将使用一个有FITC MESF微珠绘图、自定义标记、以及自定义数据集的版面文件。

1. 请打开在教程样本数据库510中的版面文件**FITC MESF Beads.fey**。

这时应该会出现以下版面，如图T27.1所示。



图T27.1 The FITC MESF Beads.fey Layout (FITC MESF Beads.fey**版面**)

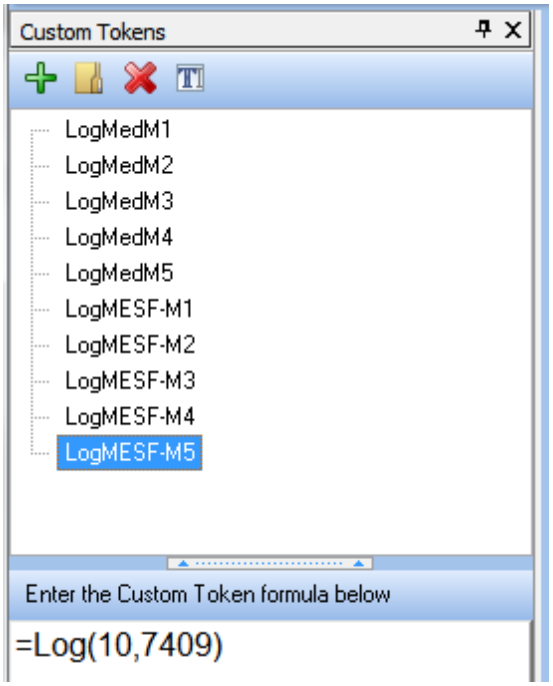
在版面的左上角是一个FITC微珠散点图，其中有微珠事件。散点图的右侧是一个FITC柱状图，显示门"FITC Beads"中的数据；图中有五个应用在FITC微珠群上的标记。

在两个图的下方是名称为"FITC MESF"的自定义数据网格。请花一点时间来点击查看一下数据网格中每一列，看一下数据网格编辑器中的输入。第一列是柱状图中每个标记的中间数，它是由统计标记来定义的。第二列是每一微珠群对应的MESF FITC数值，它是手动输入的数据值。第三列和第四列是中间数以及MESF微珠群的对数值，它们也是由自定义标记定义的。要想更多地了解如何创建自定义数据网格，请查看自定义数据教程829。

屏幕的左边是停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**窗口。所有的自定义标记都使用对数函数来把线性值转化为以10为底的对数值。如果你点击了某个自定义标记，该标记的公式定义会出现在停靠窗口的下半部分。对数函数有两个变量：第一个变量表示底数，在这个例子中是10；第二个变量是你想要进行对数操作的数值。

注意到数据网格最右下角的单元格(在LogMESF一列中)是空的。我们现在将要把自定义标记"LogMESF- M5"从停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中拖放到这个空单元格里，以补全这个自定义数据集。

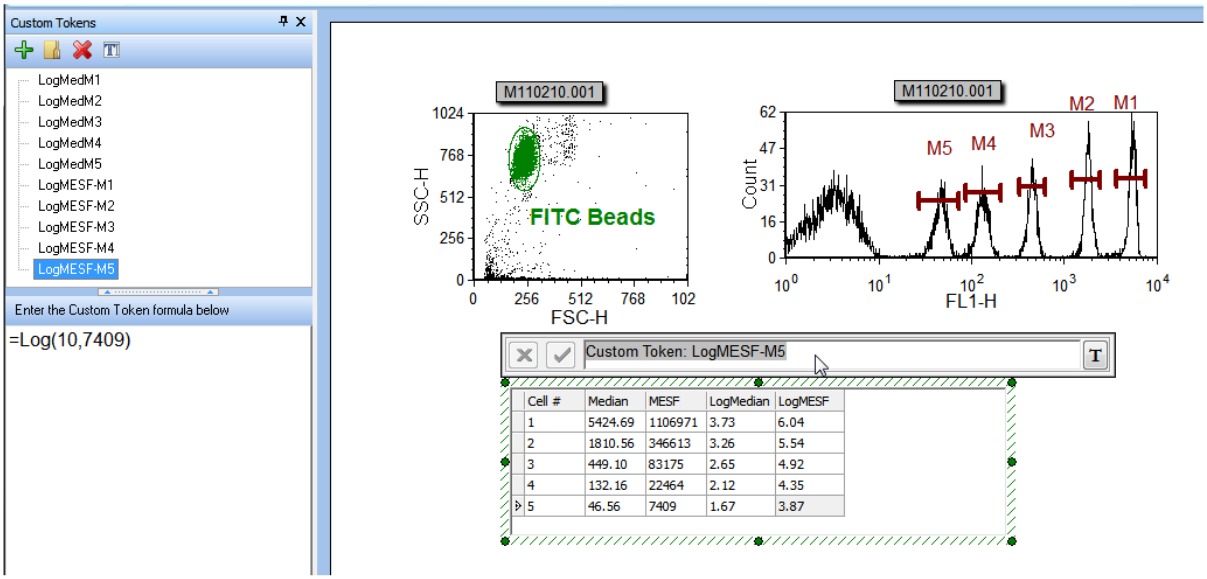
2. 请把光标放在自定义标记"LogMESF- M5"的上方，如图T27.2中的蓝色所示。



图T27.2 Selecting the LogMESF-M5 Custom Token (**选中自定义标记** LogMESF-M5)

3. 请把自定义标记LogMESF- M5从**Custom Tokens(自定义标记)**窗口拖到LogMESF列的第5行上。

我们现在就完成了对自定义数据网格的填充，如图T27.3所示。

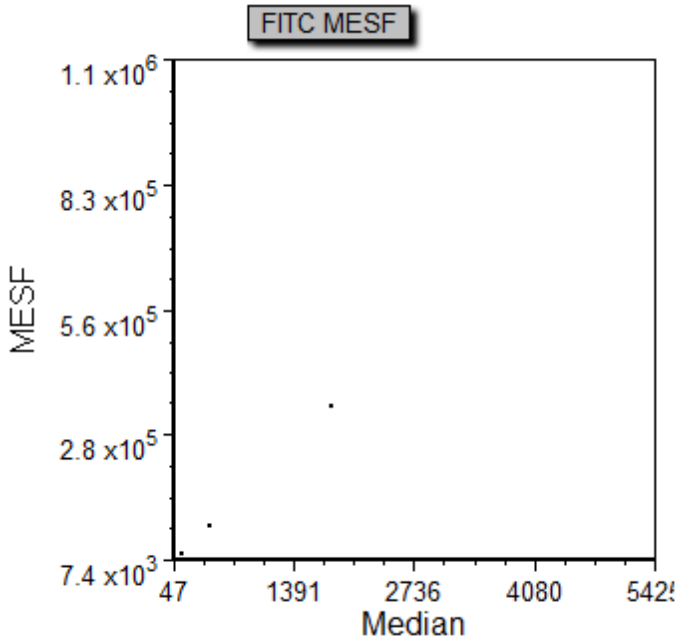


图T27.3 Custom Token Successfully Placed in the Custom Data Grid (**被成功地放到了自定义数据网格中的自定义标记**)

现在，我们要使用自定义数据网格中的FITC微珠数据来插入一个散点图。

4. 请选中自定义数据网格，选中后它应该有一个绿色边框。
5. 请选中**Insert(插入)→2D Plots(二维绘图)→Scatter(散点图)**命令。
6. 请点击版面中自定义数据网格下方的空白区。

这时会出现一个使用自定义数据网格中前两列数据("Median"以及"MESF")所绘制的二维散点图，如图T27.4所示。



图T27.4 Scatter Plot of Median and MESF Data from the Data Grid (**反映数据网格中的中间数以及**MESF**数据的散点图**)

我们现在要对散点图进行格式化，以便显示数据网格中的中间数的对数和MESF数据的对数值。

7. 请把光标放在Y- 轴名称"MESF"上。
8. 请点击鼠标左键并按住不放，这时会出现数据网格的参数列表，如图T27.5所示。
9. 当光标移到"Log MESF"上时，请松开鼠标，如图T27.5中的蓝色高亮以及光标所示。

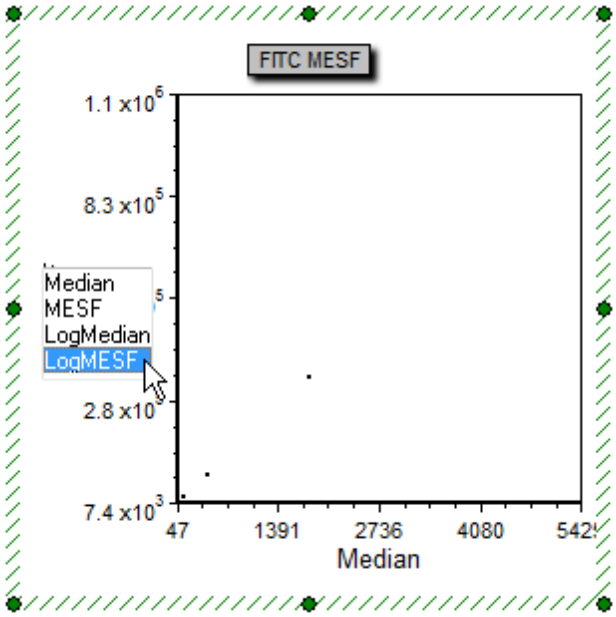


图 T27.5 Selecting 'LogMESF' Data for the Y-axis
(**为** Y-**轴选中**"LogMESF"**数据**)

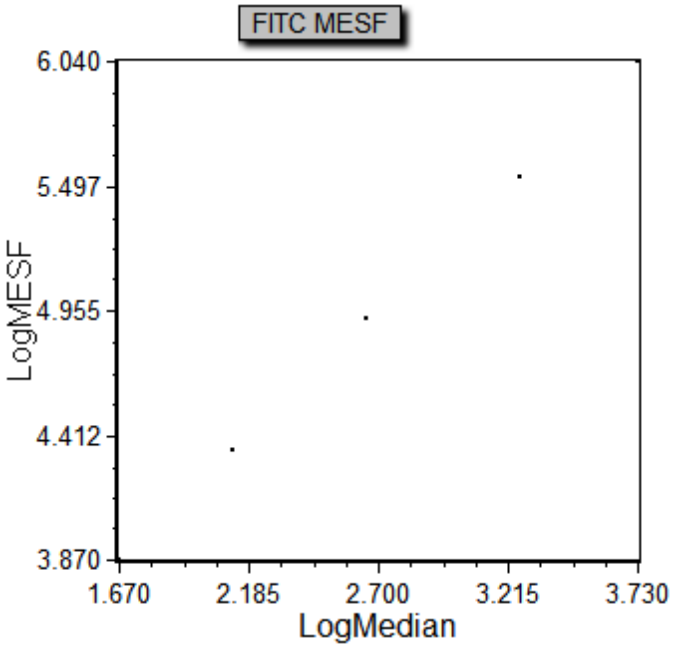
现在的散点图应该进行了更新，显示Y- 轴变成了"LogMESF"数据。我们现在要把X- 轴参数修改为"LogMedian"数据。

10. 请把光标放在X- 轴名称"Median"上。

11. 请点击鼠标左键并按住不放，这时会出现数据网格的参数列表。

12. 当光标在"LogMedian"上时，请松开鼠标。

现在的散点图应该进行了更新，显示X- 轴变成了对应的"LogMedian"数据，散点图如图T27.6所示。

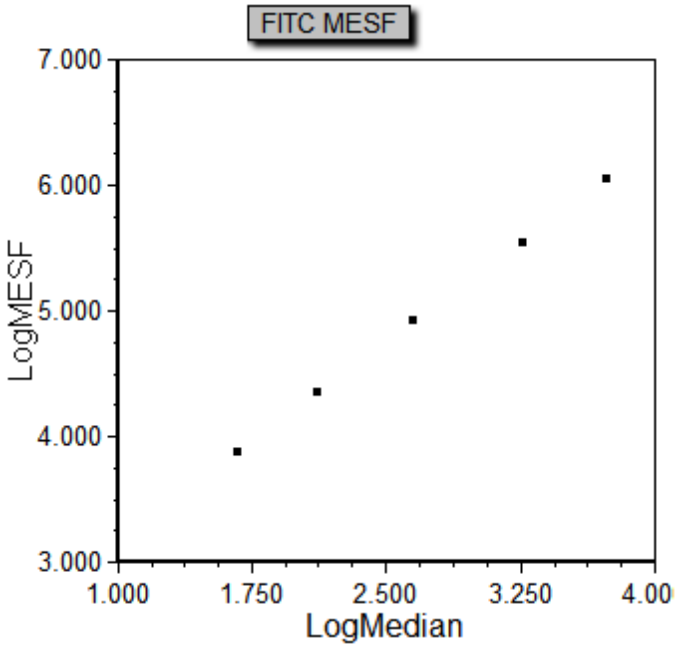


图T27.6 Scatter Plot with Log Median and MESF Values from the Custom Data Grid (**显示自定义数据网格中的中间数以及**MESF**对数数据的散点图**)

我们现在要对散点图进行格式化以便更好地观察五个数据点。

13. 请右键点击散点图。
14. 请从弹出菜单上选中**Format(格式化)**。
15. 请选中**Axis(数轴)**类别选项。
16. 请点击**Range(范围)**旁边的**Y Axis(Y轴)**。
17. 请把**Y Axis Range Minimum(Y轴范围最小值)**选为3。
18. 请把**Y Axis Range Maximum(Y轴范围最大值)**选为7。
19. 请点击**Range(范围)**左边的**X Axis(X轴)**。
20. 请把**X Axis Range Minimum(X轴范围最小值)**选为1。
21. 请把**X Axis Range Maximum(X轴范围最大值)**选为4。
22. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。
23. 请把**Point Size(数据点大小)**改为2。
24. 请点击**OK**。

这时的散点图将看起来如图T27.7所示。现在被格式化后的散点图把所有数据点都显示了出来，而且数据点也比以前大。



图T27.7 Scatter Plot Formatted to Display the Data Points Larger and on a Set Scale (**格式化后的散点图在设定的范围内显示比以前大的数据点**)

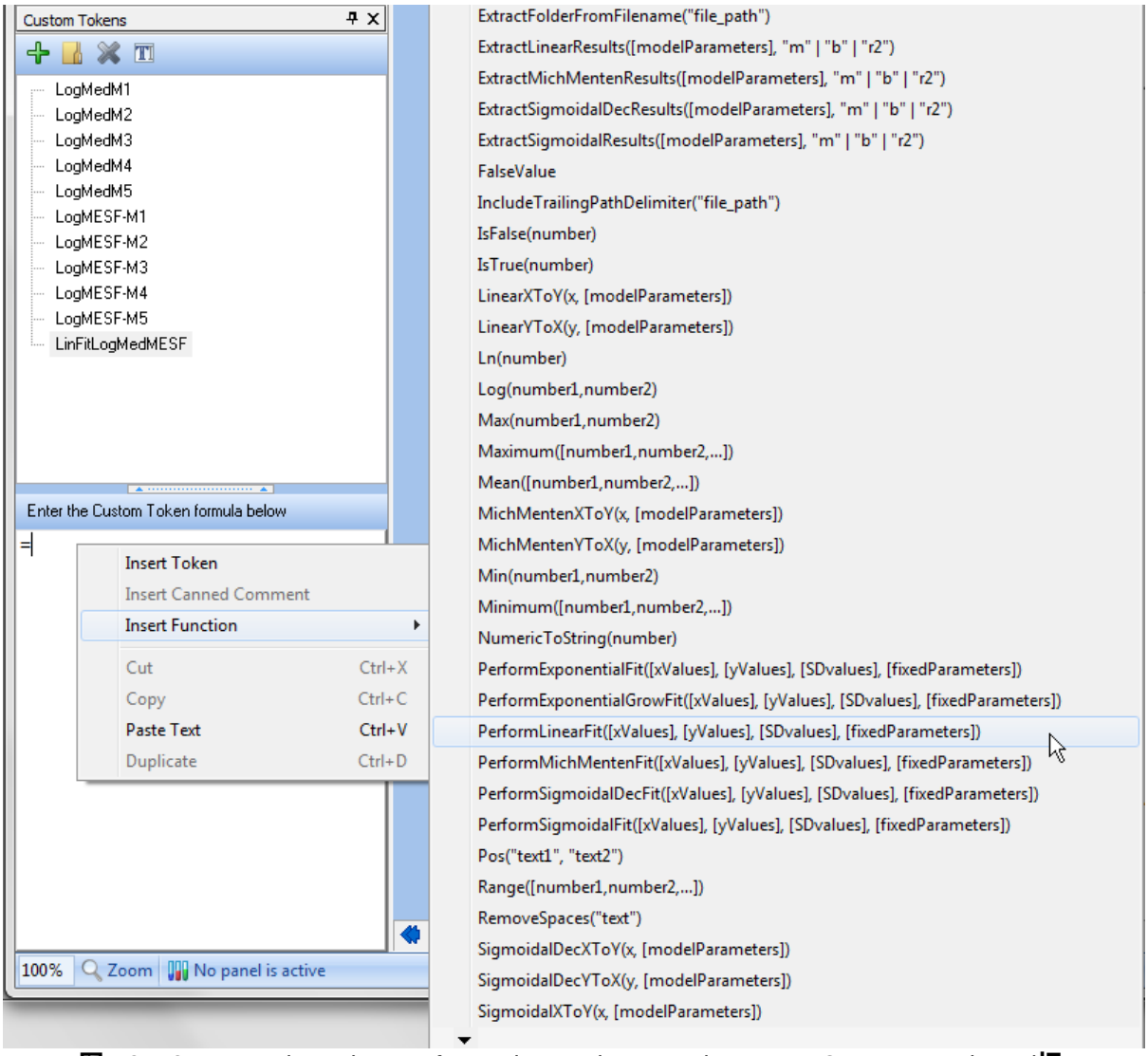
36.27.2 *创建回归拟合标记*

我们现在将使用五个微珠群的对数值(数据网格中的值)来执行一个线性回归，返回一个*y = mx + b*形式的线性公式。线性拟合将通过创建和使用自定义标记来完成。

1. 请点击**Custom Tokens(自定义标记)**窗口顶端的绿色加号符号。

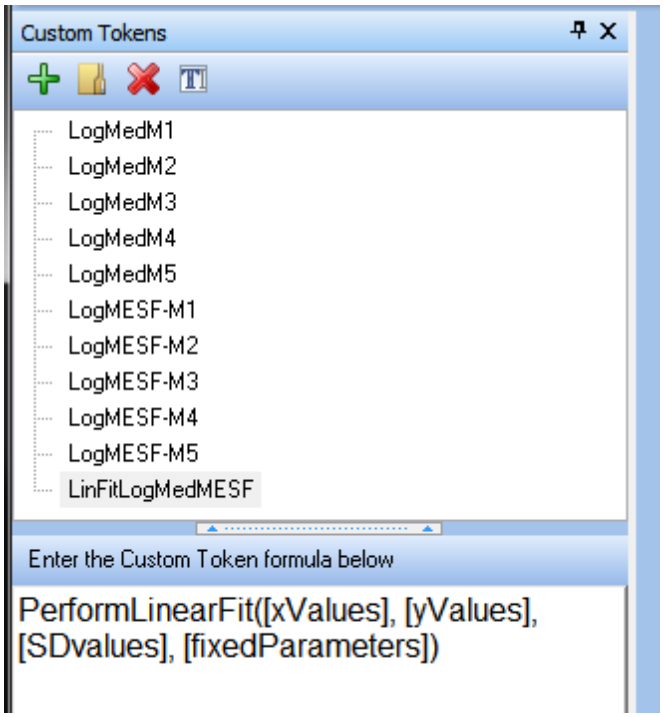
这时会出现一个蓝色的自定义标记，名称为"New Custom Token(新的自定义标记)"。

2. 请选择"New Custom Token(新的自定义标记)"名称。
3. 请键入"LinFitLogMedMESF"。
4. 请在自定义标记公式窗口中右键点击。
5. 请选择**Insert Function(插入函数)→PerformLinearFit([xValues], [yValues], [SDvalues], [fixedParameters])**，如图T27.8所示。(必要的话，请点击向下的箭头，直到"PerformLinearFit"可见。)



图T27.8 Inserting the PerformLinearFit Function as a Custom Token (把PerformLinearFit函数作为自定义标记插入)

"LinFitLogMedMESF"对应的自定义标记公式会进行更新，显示PerformLinearFit函数的插入，如图T27.9所示。但是，我们需要为线性拟合指定x和y数据。

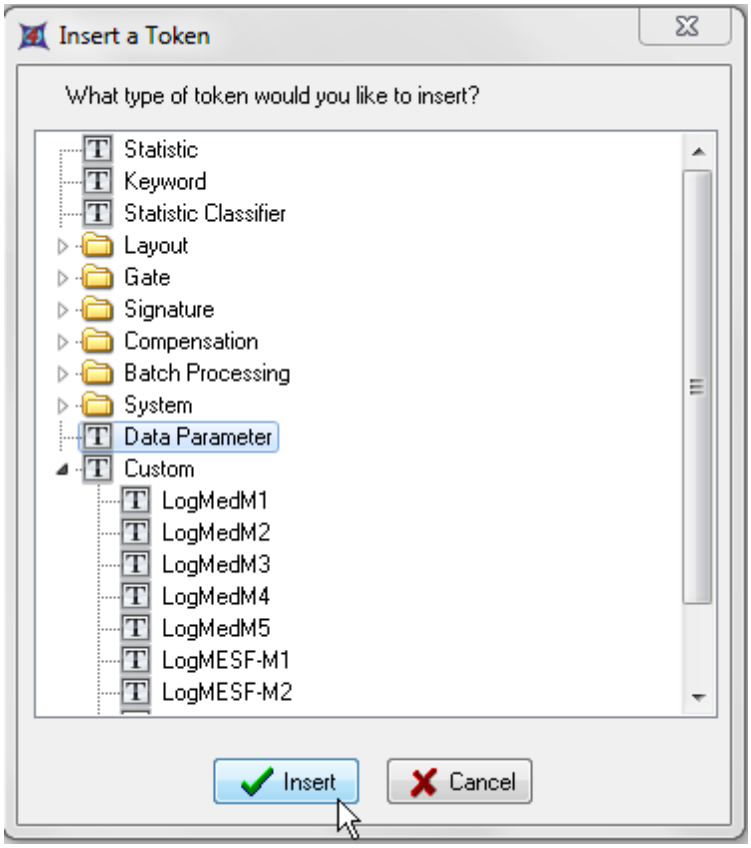


图T27.9 The Perform Linear Fit Function Displayed in the Custom Tokens Window (**在自定义标记窗口中显示的执行线性拟合函数**)

6. 请把文本**x Values(x 值)**高亮显示。
7. 请右键点击高亮显示的文本，调出弹出菜单。
8. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。

这时会出现**Insert a Token(插入标记)**对话框，如图T27.10所示。

9. 请选择**Data Parameter(数据参数)**，如图T27.10中的蓝色高亮所示。
10. 请点击**Insert(插入)**。



图T27.10 The Insert a Token Dialog with Data Parameter Selected (**插入标记对话框以及选中的数据参数**)

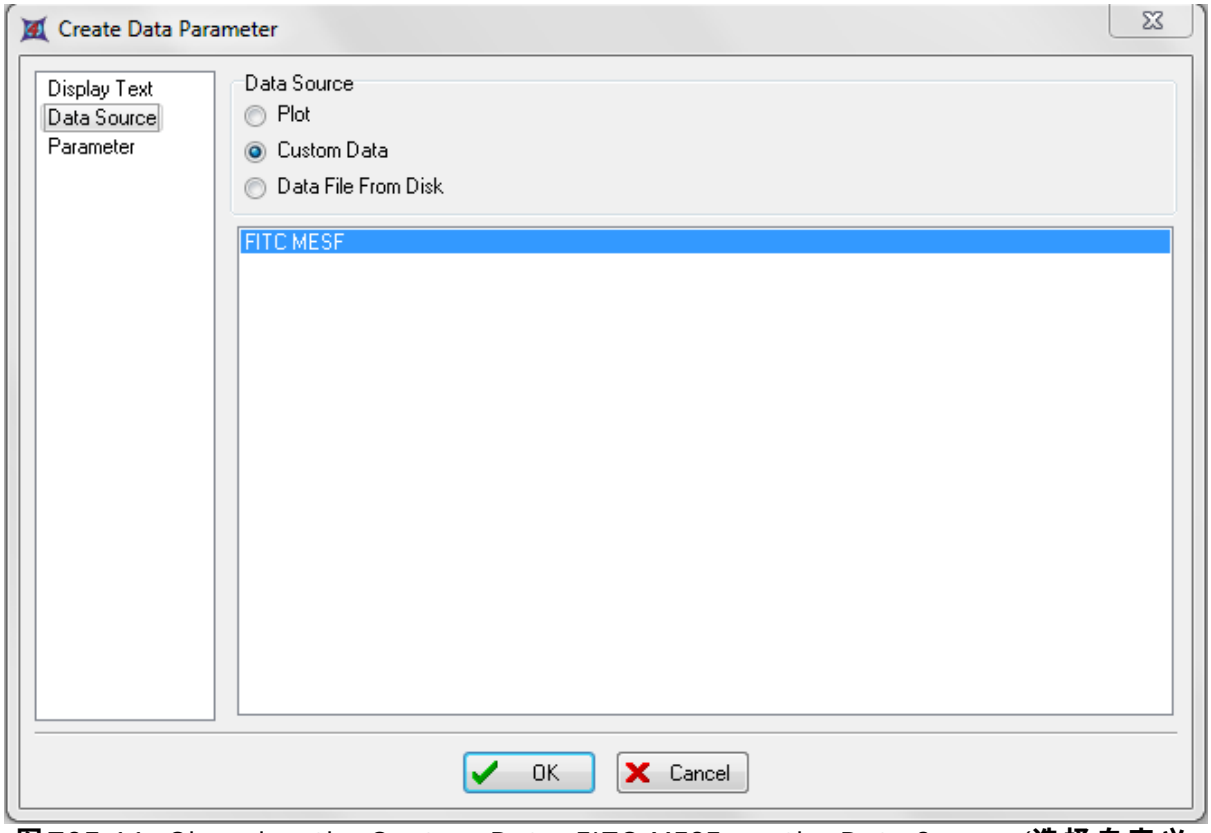
这时会出现**Create Data Parameter(创建数据参数)**对话框。

我们现在要使用FITC MESF数据网格中的对数中间值数据作为线性拟合函数中的x值。

11. 请选择**Data Source(数据源)**类别选项，如图T27.11中的高亮显示所示。

12. 请选择**Custom Data(自定义数据)**单选按钮作为数据源，如图T27.11所示。

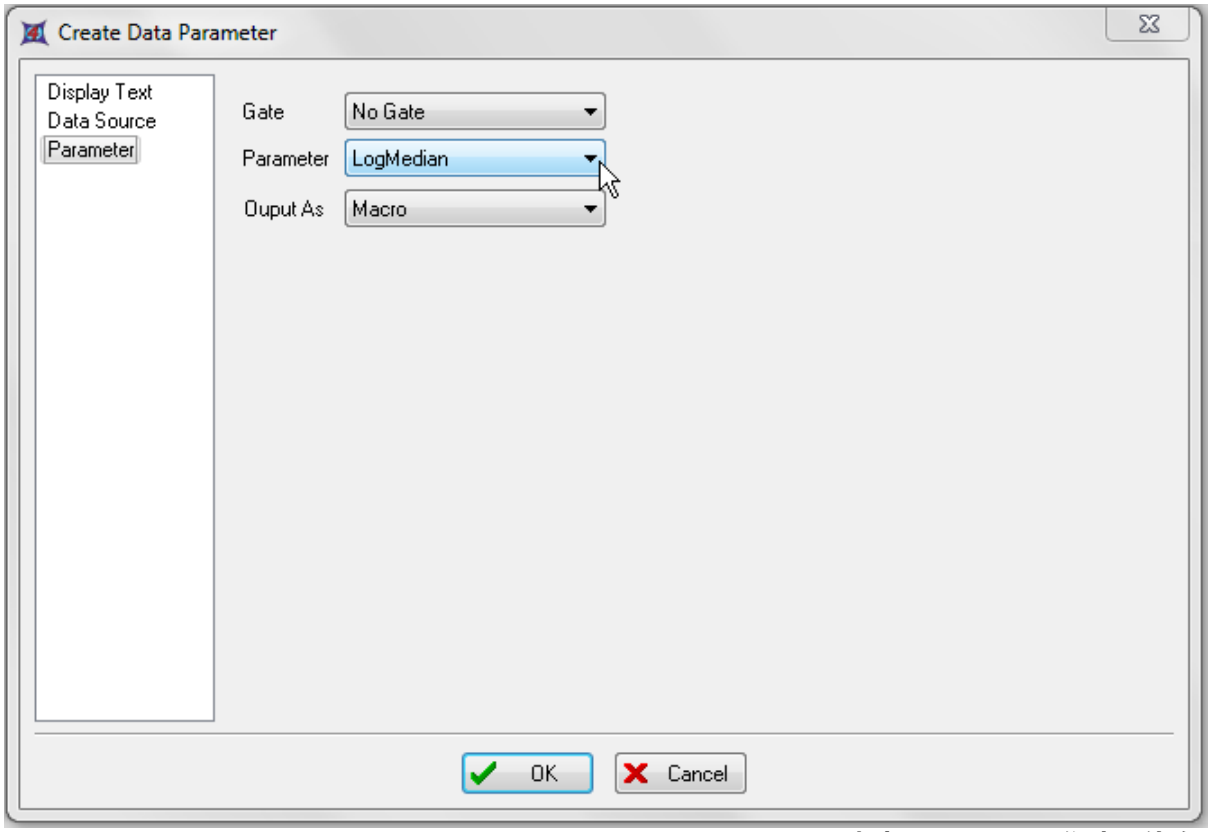
FITC MESF将出现，如图T27.11中的蓝色高亮所示。现在，我们将使用"FITC MESF"自定义数据。 *注:* 自定义数据在一开始创建时被命名为"FITC MESF"。



图T27.11 Choosing the Custom Data, FITC MESF, as the Data Source (**选择自定义数据**FITC MESF**作为数据源**)

13. 请选择**Parameter(参数)**类别选项，如图T27.12中的高亮显示所示。

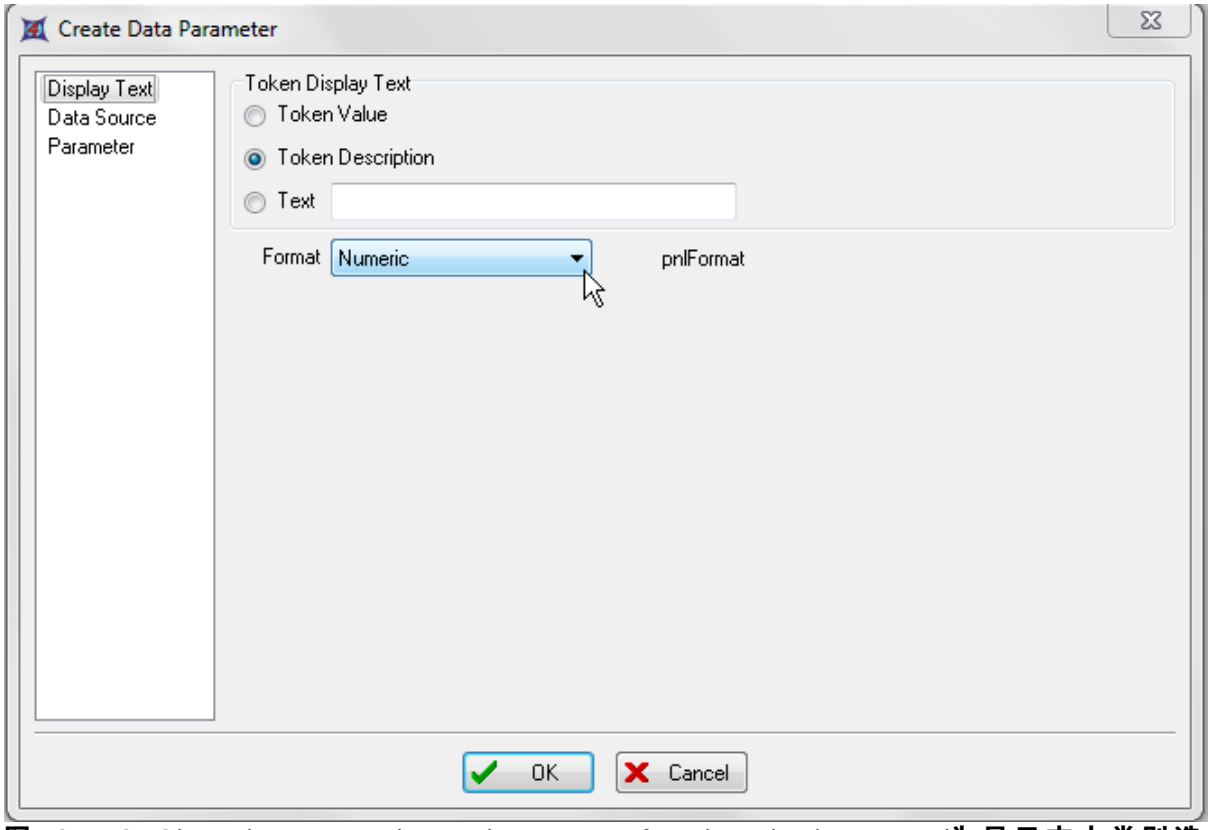
14. 请从**Parameter(参数)**下拉列表中选中**LogMedian**，如图T27.12中的光标和蓝色高亮所示。



图T27.12 Choosing LogMedian as the X Value Parameter (**选中**LogMedian**作为**X**值参数**)

15. 请选择**Display Text(显示文本)**类别选项，如图T27.13中的高亮显示所示。

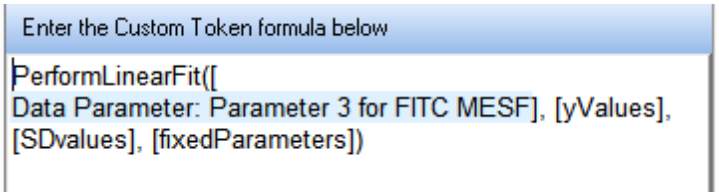
16. 请从**Format(格式)**下拉列表中选中**Numeric(数值)**，如图T27.13中的光标和蓝色高亮所示。



图T27.13 Choosing Numeric as the Format for the Display Text (**为显示文本类别选项中的格式选择数值**)

17. 请点击**OK**。

PerformLinearFit函数公式进行了更新来反映对x Values(x 值)的选择，如图T27.14中的高亮显示所示。



图T27.14 The Perform Linear Fit Function with the xValues Parameter Defined as a Token (x**值参数被定义为标记的"执行线性拟合"函数**)

现在，请为yValues重复第6到第17步，请在第6步选中并替代**yValues**文本，请在第14步选择**Log MESF**。

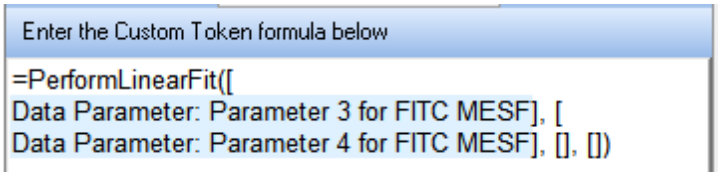
18. 请在PerformLinearFit中删除**SDvalues(标准偏差值)**文本，请小心，不要删掉方形括号。

19. 请删除文本**fixedParameters**，但也请不要删掉它外面的方形括号。

20. 请在公式的开头输入"="，如图T27.15所示。

如果想要强制线性拟合的y轴截距为零，请在上面删除的"fixedParameters"文本处输入"b=0"。同时，如果我们想要为数值应用标准偏差，我们就要在上面删除掉的"SDvalues"文本中输入相应的信息。

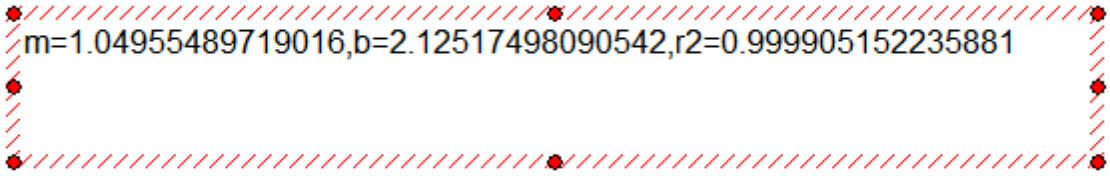
这时的PerformLinearFit函数定义看起来应该如图T27.15所示。



图T27.15 Completed PerformLinearFit Custom Token Formula (**完成设置后的**PerformLinearFit**自定义标记公式**)

我们现在要把这个公式插入到版面中以便查看计算结果。

21. 请把LinFitLogMedMESF自定义标记从自定义标记导航器上拖拽到版面上的一块空白区处。这时系统会自动创建一个文本框，线性拟合标记会被插入其中。线性拟合标记显示于T27.16中。

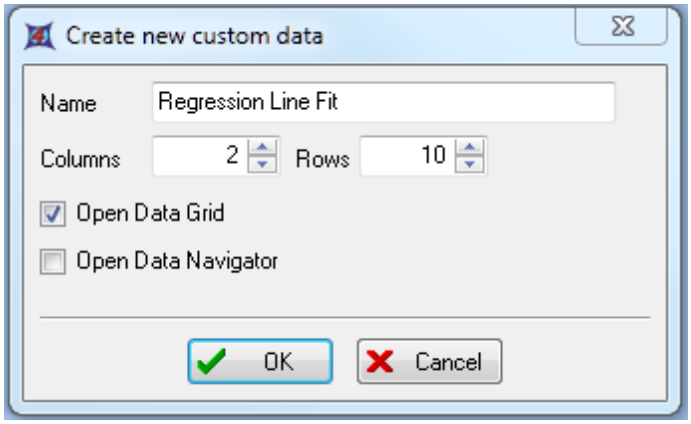


图T27.16 The LinFitLogMedMESF Custom Token Formula Output Displayed in a Text Box (**显示于文本框中的**LinFitLogMedMESF**自定义标记公式的输出**)

36.27.3 *创建回归拟合叠加图层*

为回归定义一个公式固然有用，但有时我们更想把线性拟合用数据点显示出来。在这一节中，我们将使用一个为线性数值创建的线性拟合，然后把它叠加到散点图上。

1. 请导入样本教程数据库[510]中的**Linear Regression Analysis(线性回归分析)**里的FITC MESF Beads Completed.fey版面。
2. 请来到版面上的第2页。
3. 请选择**Data(数据)→Save/ Load(保存/ 导入)→Custom Data(自定义数据)→New Custom Data(新建自定义数据)**命令。
4. 请把新建的自定义数据命名为Regression Line Fit(回归线性拟合)(图T27.17)。
5. 请把**Columns(列)**数改为2(图T27.17)。
6. 请把**Rows(行)**数改为10(图T27.17)。
7. 请选中**Open Data Grid(打开数据网格)**复选框(图T27.17)。



图T27.17 Creating a New Custom Data Grid with 2 Columns and 10 Rows (**创建一个有着2列10行的新建自定义数据网格**)

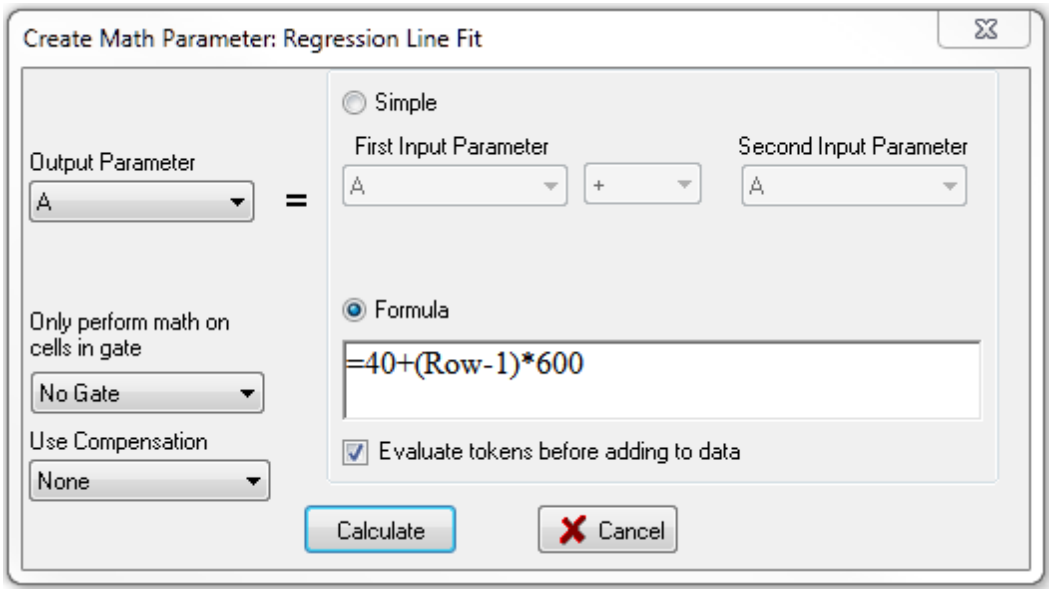
8. 请点击**OK**。

我们将使用该自定义数据网格来为线性拟合计算数值，计算的依据是版面中散点图上的公式。我们首先来计算一列X值，计算的根据是后面要通过直线公式用来计算Y值的那些数据。

这一系列X值必须根据你的数据分成数据区间。在这个数据组中，中间数的范围大约从40到5500(自定义数据网格中的Median(中间数)一列)。在本例中，我们把这些值分成10个数据区间，区间之间的步进值是546[(5500- 40)/ 10 = 546]。我们把546四舍五入到600，所以最后的数值范围是40到5440。这里定义的范围将给出直线的上下边界。我们将使用参数数学来计算数据网格中的10行数值。

9. 请点击Regression Line Fit(回归线性拟合)自定义数据网格来将其选中。
10. 请选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Single Calculation(单个计算)**命令。

11. 请把**Output Parameter(输出参数)**修改为**A**(图T27.18)。
12. 请点击**Formula(公式)**单选按钮(图T27.18)。
13. 请输入以下公式:"= 40+ (Row- 1)*600"(图T27.18)。
14. 请点击**Calculate(计算)**(图T27.18)。



图T27.18 Defining Parameter Math for Column A in the Regression Line Fit Custom Data (**为回归线性拟合自定义数据中的**A**列定义参数数学**)

数据网格中的列A将被这些参数数学计算出的数值所填充。我们使用的公式把40设为最小值并使用当前的行号减去一作为每一区间的乘数。计算的结果就是自定义数据网格中的数据表格，如图T27.19所示。

Cell #	A	B
1	40	
2	640	
3	1240	
4	1840	
5	2440	
6	3040	
7	3640	
8	4240	
9	4840	
10	5440	

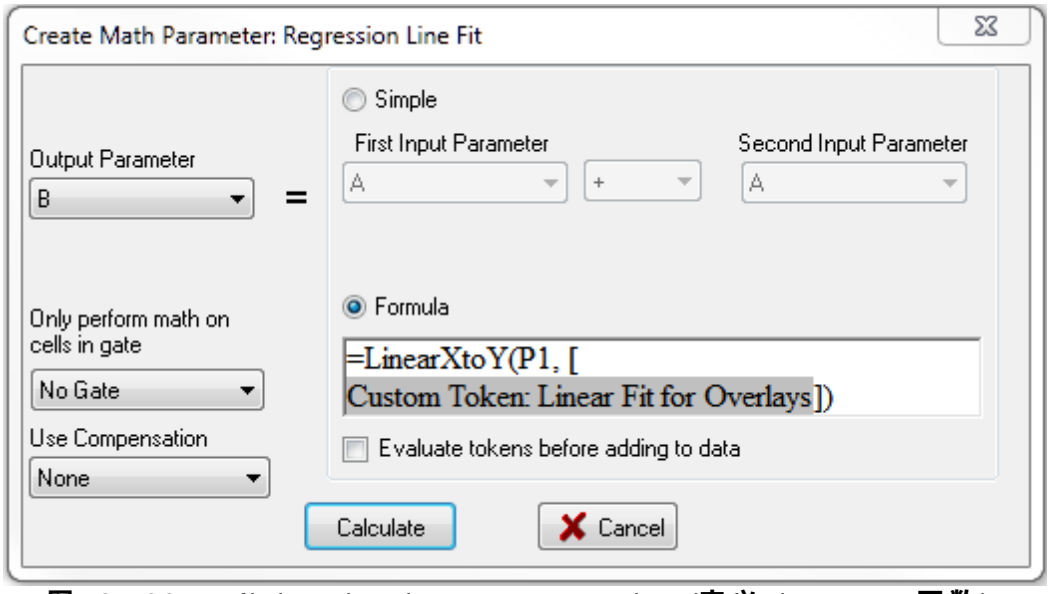
图 27.19 Column A Calculated by Parameter Math (**由参数数学计算的列** A)

我们现在将根据线性拟合来计算Y值，计算将基于自定义标记*Linear Fit for Overlays(叠加图层对应的线性拟合)*为直线定义的公式，该自定义标记是通过和创建线性回归标记 1183一节中相似的步骤创建的。

15. 请点击Regression Line Fit(回归线性拟合)自定义数据网格来将其选中。
16. 请选择**Data(数据)→Calculate(计算)→Parameter Math(参数数学)→Single Calculation(单个计算)**命令。
17. 请把**Output Parameter(输出参数)**修改为**B**(图T27.20)。
18. 请点击**Formula(公式)**单选按钮(图T27.20)。
19. 请在公式文本框中输入以下文本: = LinearXtoY(P1, [
20. 请在公式中的方括号后右键点击。
21. 请点击**Insert Token(插入标记)。**
22. 请插入在**Custom(自定义)**选项下的**Linear Fit for Overlays(叠加图层对应的线性拟合)**标记。
23. 请点击**Insert(插入)**。
24. 请键入一个右侧方括号，然后键入圆括号的右半部，完成标记输入。

请取消对**Evaluate tokens before adding to data(在将其插入数据前评估标记)**复选框的选择(图T27.20)。

最后的公式看起来应该如图T27.20所示。



图T27.20 Defining the LinearXtoY Function (**定义**LinearXtoY**函数**)

25. 请点击**Calculate(计算)**。

数据网格将进行更新，显示从直线公式以及数据网格中的X值计算出的Y值(LinearXtoY公式中的X值由P1= Parameter 1(参数1)= Column A(A列)定义)，如图T27.21所示。

Cell #	A	B
1	40	-446.873...
2	640	122391.5...
3	1240	245230.0...
4	1840	368068.5...
5	2440	490907.0...
6	3040	613745.4...
7	3640	736583.9...
8	4240	859422.4...
9	4840	982260.9...
10	5440	1105099....

图T27.21 Completed Custom Data Grid for Linear Regression (**为线性回归设置好的自定义数据网格**)

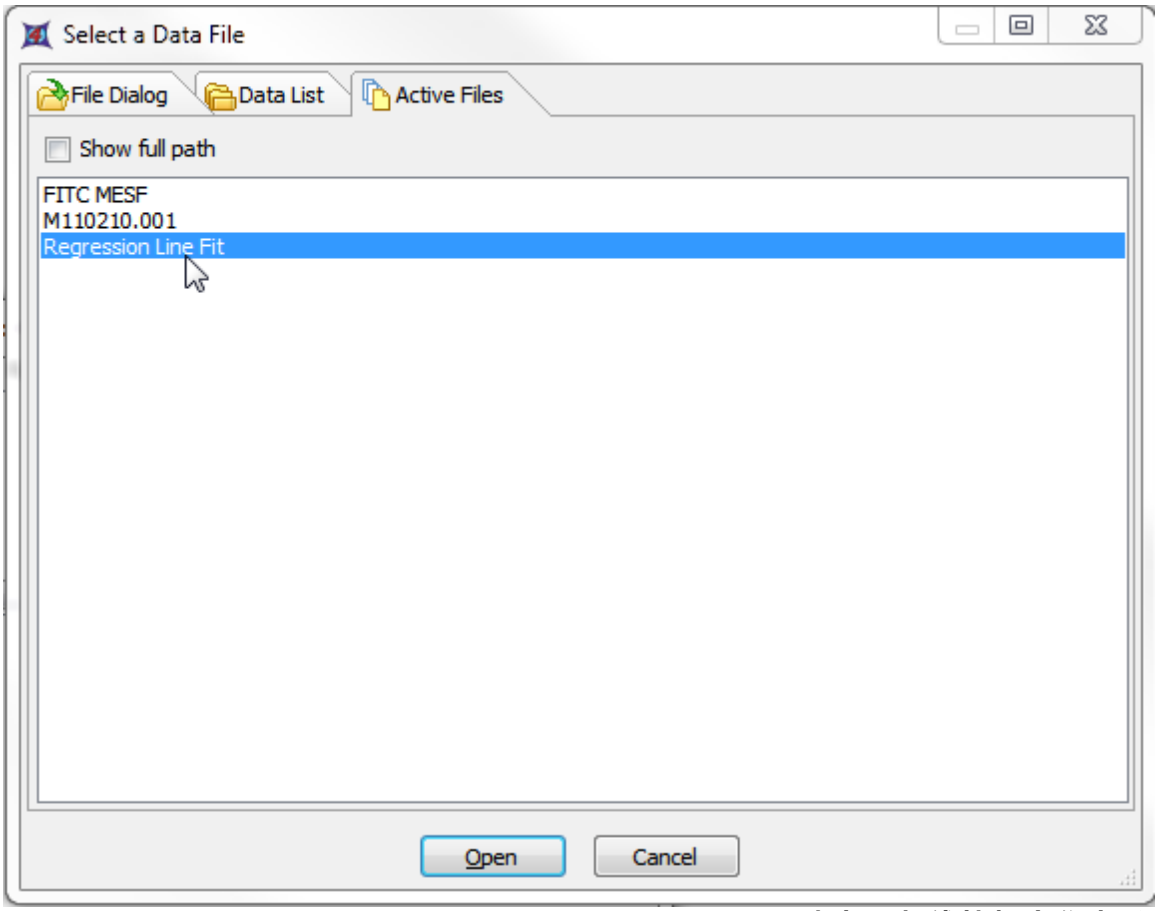
我们现在将把数据网格叠加到散点图上，以显示直线拟合。

26. 请右键点击散点图。

27. 请从弹出菜单上选择**Add overlay(添加叠加图层)**。

28. 请选择**Active Files(当前文件)**标签(图T27.22)。

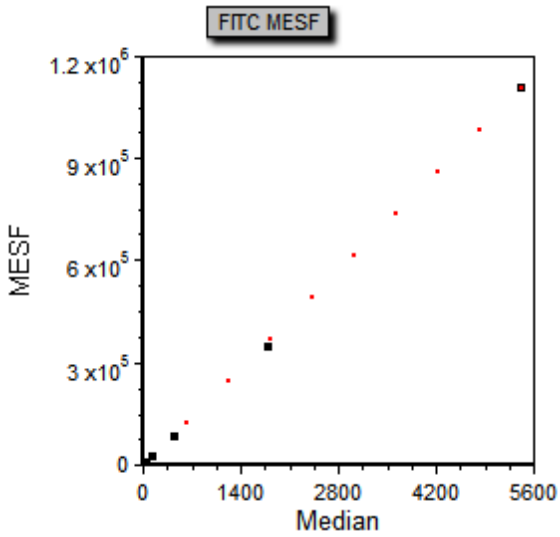
29. 请在**Regression Line Fit(回归线性拟合)**上双击(图T27.22)。



图T27.22 Choosing Regression Line Fit as an Overlay (**选中回归线性拟合作为叠加图层**)

30. 请在**Add overlay(s) for:(添加叠加图层于:)**对话框上点击**OK**。

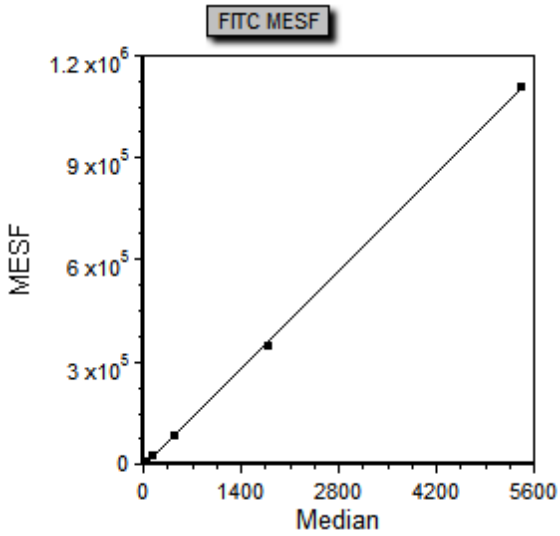
回归直线将以红色数据点出现在散点图上(图T27.23)。我们将对散点图进行格式化，把回归变成一条简单直线。



图T27.23 Regression Line Fit Data Overlayed on the Scatter Plot (**叠加于散点图上的回归直线拟合数据**)

31. 请右键点击散点图。
32. 请从弹出菜单上选择**Format(格式)**。
33. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。
34. 请选择**Regression Line Fit(回归直线拟合)**叠加图层。
35. 请把**Point Shape(数据点形状)**修改为**Do Not Show(不显示)**。
36. 请点选**Connect the points(连接数据点)**复选框。
37. 请点击**OK**。

散点图现在看起来应该如图T27.24所示，其中原始数据显示为数据点，而回归直线拟合显示为一条黑线。



图T27.24 Scatter Plot Displaying Raw Data as Dots and the Regression as a Black Line (**把原始数据显示为数据点、把回归数据显示为一条黑线的散点图**)

36.27.4 *把回归应用到一个FCS文件上*

我们现在将使用线性回归公式来计算MESF数据。在下面的这个例子中，线性回归已经被保存为一个自定义标记。这个标记已经在创建线性回归标记1183一节中被作为关键字添加到数据文件中了。我们将使用自定义标记以及回归公式关键字来完成一个表格的输入，同时也将根据这些数值来创建一个散点图。

我们将使用的版面包括4页。第1页和第2页定义了阴性对照、阳性对照以及病人样本。**MESF Calculations(MESF计算)**页面是我们将完成线性回归和补全MESF数据的地方。我们将使用**Bar Plots(条形图)**页面来把完整的数据显示出来。

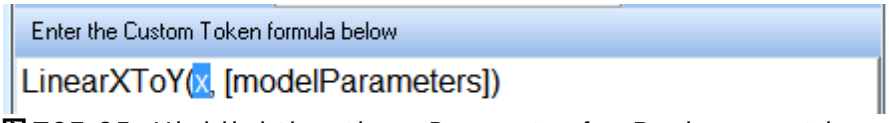
1. 请在教程样本数据库510中的**Calculating MESF From Regression(从回归计算MESF)**文件夹打开**HLA CrossMatch.fey**版面。

2. 请来到版面中的**MESF Calculations(MESF计算)**页上。

我们将创建自定义标记来评估病人血清中结合到潜在捐献者B细胞和T细胞上的IgG的数量。我们将分两步来做: 首先，我们将使用公式。把表格1中的Bcell Median(B细胞中间值)转化为以10为底的对数值；然后，这些值将被根据FITCMESF LinReg自定义标记转化为Y轴(MESF)数值。FITCMESF LinReg自定义标记包含一个在创建线性回归标记1183一节中已经创建的拟合公式。

为方便起见，我们已把线性中间值转换为对数中间值的自定义标记在表1中预先定义好了。我们现在将要创建在表2中使用到的针对FITC MESF数值的自定义标记。

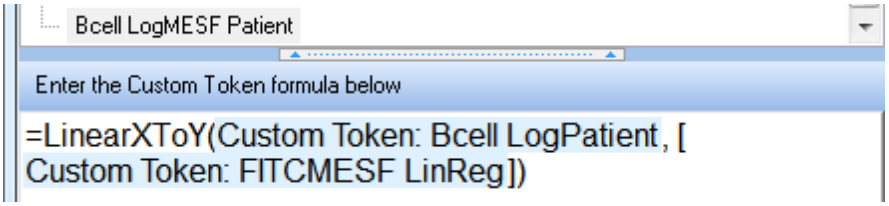
3. 请在停靠的**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中点击加号图标，创建一个新的自定义标记。
4. 请把新的自定义标记命名为"Bcell LogMESF Patient"。
5. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的**Enter the Custom Token formula below(请在下方输入自定义标记公式)**区域内右键点击。
6. 请从弹出菜单上选择**Insert Function(插入函数)→LinearXtoY(x, [modelParameters])**。
7. 请在图T27.25中的公式里高亮选择文本"x"。



图T27.25 Highlighting the x Parameter for Replacement by a Token Value (**高亮显示**x**参数，用标记值将其替换**)

8. 请右键点击选中的文本。
9. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。
10. 请从**Custom(自定义)**选项中插入**Bcell LogPatient**标记。
11. 请在公式中高亮选择文本**modelParameters(模型参数)**。
12. 请右键点击选中的文本。
13. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。
14. 请从**Custom(自定义)**选项中插入**FITCMESF LinReg**标记。
15. 请在公式前输入一个等号"="。

这时的公式看起来应该如图T27.26所示。



图T27.26 Formula for Calculating the Log MESF Value for the Patient Sample (**用来计算病人样本的**MESF**对数值的公式**)

16. 请把BCell LogMESF Patient标记从**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中拖到表2中**Bcell Log MESF**一列里的第4行。

该表格现在将显示通过我们刚刚创建的自定义标记公式计算出的B- Cell Log MESF(B- 细胞MESF对数)值。我们现在要为Tcell LogMESF创建一个相同的公式。

17. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中点击加号图标来创建一个新的自定义标记。

18. 请把新的自定义标记命名为Tcell LogMESF Patient。

19. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口的**Enter the Custom Token formula below(请在下方输入自定义标记公式)**区域内右键点击。

20. 请从弹出菜单上选择**Insert Function(插入函数)→LinearXtoY(x, [modelParameters])**。

21. 请在公式中高亮选择文本"x"。

22. 请右键点击选中的文本。

23. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。

24. 请从**Custom(自定义)**选项中插入**Tcell LogPatient**标记。

25. 请在公式中高亮选择文本**modelParameters(模型参数)**。

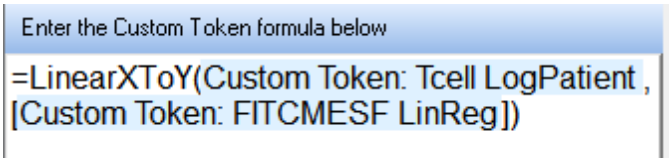
26. 请右键点击选中的文本。

27. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。

28. 请从**Custom(自定义)**选项中插入**FITCMESF LinReg**标记。

29. 请在公式前输入一个等号"="。

这时的公式将看起来如图T27.27所示。



图T27.27 The Completed Custom Token Formula for Tcell LogMESF Patient (**补全的针对**Tcell LogMESF Patient**的自定义标记公式**)

30. 请把TCell LogMESF Patient标记从**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中拖到表2中**Tcell Log MESF**一列里的第4行。

该表格现在将显示通过我们刚刚创建的自定义标记公式计算出的T- Cell Log MESF(T- 细胞MESF对数)值。

我们现在将创建一个自定义标记来为表2中的Bcell MESF以及Tcell MESF列计算线性MESF数值(回归是在对数坐标上计算的，但我们需要在绘图上反映的却是线性值)。

31. 请点击表2中的**Bcell MESF**列中的第4行。
32. 请在数据网格编辑器中输入公式"= 10^"。
33. 请在10^后右键点击。
34. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。
35. 请从**Custom(自定义)**选项中插入**Bcell LogMESF Patient**标记。

这时的公式看起来应该如图T27.28所示。



图T27.28 Formula for Converting Log MESF Values to Linear MESF Values (**把**MESF**对数值转换为**MESF**线性值的公式**)

36. 请对表2中**Tcell MESF**列中的第4行重复第31步到第35步，请使用**Custom(自定义)**类别中的**Tcell LogMESF Patient**标记。

表格现在就完整了，它应该看起来如图T27.29所示。

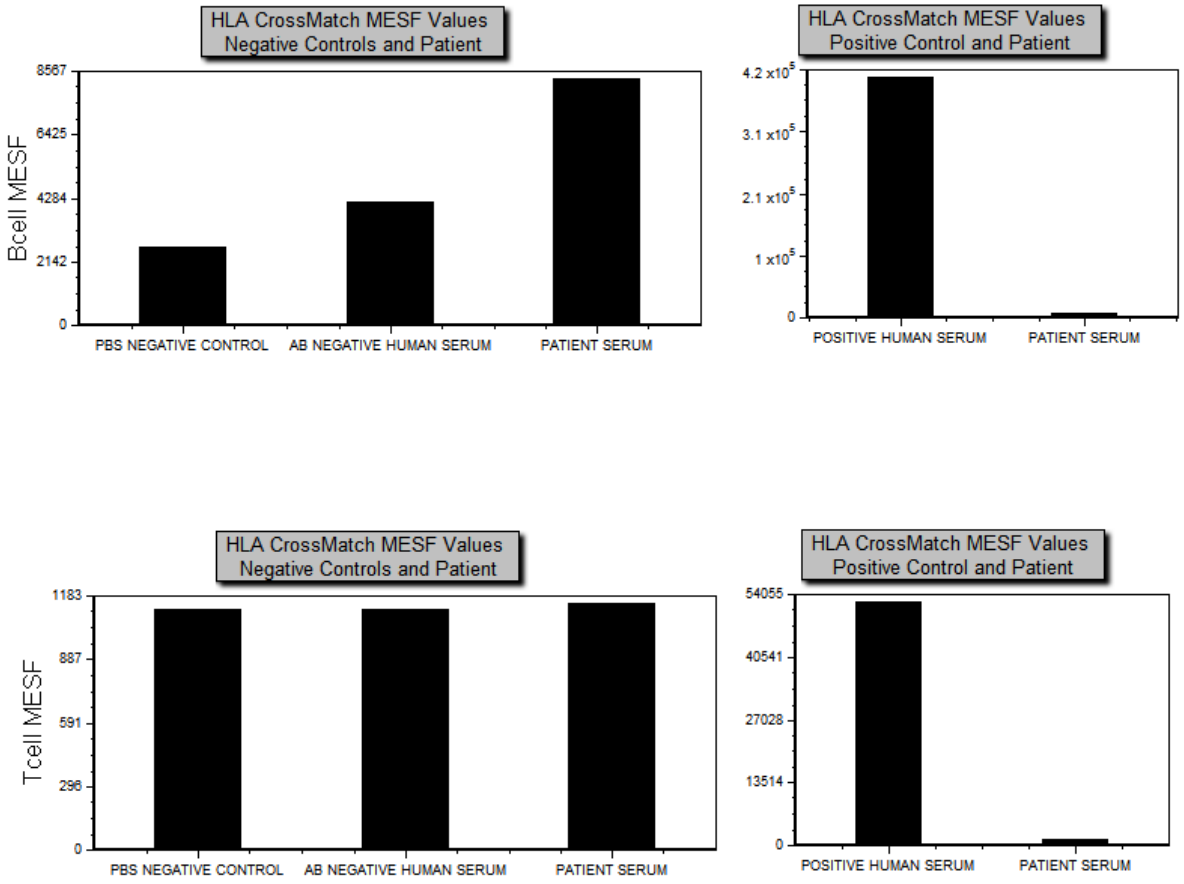
Table 2

HLA Cross-Match Data Set - FITC MESF Values

Cell #	Sample	Bcell LogMESF	Tcell LogMESF	Bcell MESF	Tcell MESF
1	PBS NEGATI...	3.42	3.05	2630.2679...	1122.0184...
2	AB NEGATIV...	3.62	3.05	4168.6938...	1122.0184...
3	POSITIVE H...	5.61	4.72	407380.27...	52480.746...
4	PATIENT SE...	3.92	3.06	8317.6377...	1148.1536...

图T27.29 The Completed HLA Cross Match FITC MESF Data Table (**完整的**HLA**与**FITC MESF**交叉对比的数据表格**)

要在条形图中查看表格中的结果(图T27.30)，请点击**Bar Plots(条形图)**版面页(如果想要更多地了解如何创建条形图，请查看条形图和散点图教程867)。你会看到病人血清的B- Cell MESF数值比阴性对照略有提高，但远远在阳性对照下方。病人血清中的T- Cell MESF数值在阴性对照范围区间，也远远低于阳性对照。



图T27.30 Bar Charts Displaying the FITC MESF HLA Cross Match Data from B- and T-cells (**显示**B-**细胞和**T-**细胞的**FITC MESF HLA**交叉对比数据的条形图**)

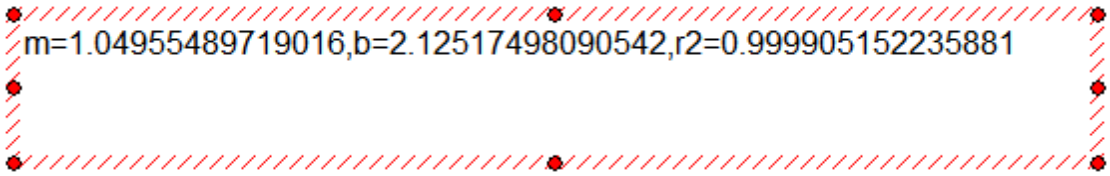
36.27.5 *保存回归分析*

一个线性回归公式创建之后，我们可以在版面中将它显示出来，在散点图上把它叠加在一个线性拟合上，甚至可以把它作为一个关键字保存下来，以便在将来的实验和分析中使用。因为我们经常使用一个版面来进行校正，而用另一个版面来进行分析，所以我们常常会把回归保存下来以便将来在任何版面中使用。在这一节中，我们将学习如何把一个拟合公式保存为关键字以便将来在其它版面中使用。

1. 请导入样本教程数据库[510]中的**Linear Regression Analysis(线性回归分析)**里的**FITC MESF Beads Completed.fey**版面。

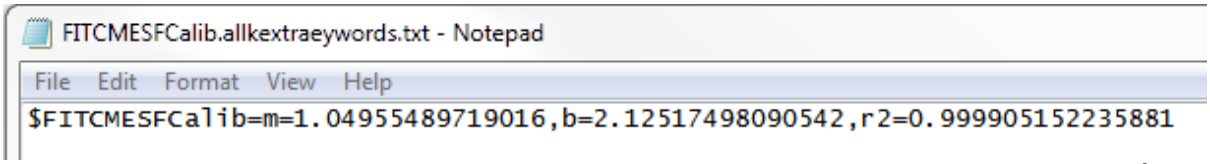
2. 请把**LinFitLogMedMESF**自定义标记从**Custom Tokens(自定义标记)**导航器上拖拽到版面上的空白处。

这时系统会自动创建一个文本框，线性回归标记会被插入其中。这个线性回归标记显示于图T27.31中。



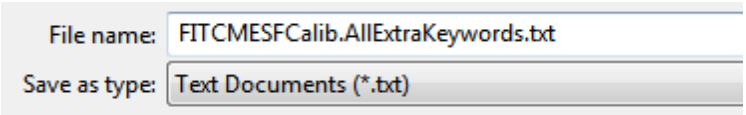
图T27.31 The LinFitLogMedMESF Custom Token Formula Output Displayed in a Text Box (**显示于文本框中的**LinFitLogMedMESF**自定义标记公式的输出**)

3. 请右击文本框。
4. 请从弹出菜单上选择**Copy Text Box(复制文本框)**。
5. 请打开一个文本编辑程序，例如微软Windows中的记事本。
6. 请把文本粘贴到该文本编辑软件中。
7. 请在所有文本前输入一个"$"符号，然后输入你想让该关键字被显示的名称，最后输入等号(图T27.32)。在这个例子中，请使用: "$FITCMESFCalib="。



图T27.32 Creating an Extra Keyword for the Regression Formula in Notepad (**为回归公式在记事本中创建一个额外的关键字**)

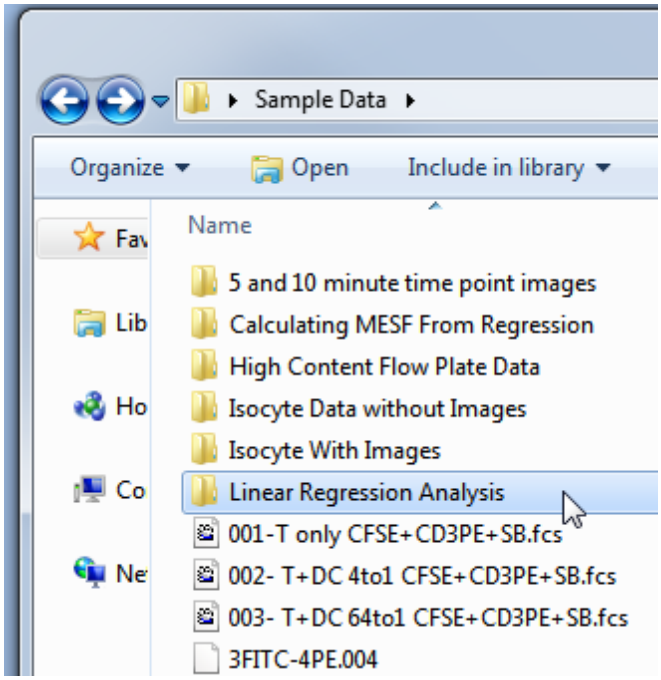
8. 请把文本文件以FITCMESFCalib.AllExtraKeywords.txt的名字保存(图T27.33)在一个容易找到的地方，例如桌面上。



图T27.33 Saving the Keyword Text Document (**保存关键字文本文件**)

FCS Express可以从外部文件导入关键字，作为导入数据文件的一部分[273]。这些关键字在FCS Express中被认为是文件自身的一部分。这是一个把外部数据导入分析版面中的一种很方便的方法。我们将在以下步骤中让回归拟合关键字可以在另外一个版面中使用。

9. 请复制你刚刚创建的FITCMESFCalib.AllExtraKeywords.txt文件，把它粘贴到*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*目录中的**Linear Regression Analysis(线性回归分析)**文件夹中(图T27.34)。



图T27.34 Paste the FITCMESFCalib.AllExtraKeywords.txt File into the Linear Regression Analysis Folder (**把FITCMESFCalib.AllExtraKeywords.txt文件粘贴到线性回归分析文件夹**)

10. 请导入*FCS Express Sample Data(FCS Express样本数据)*路径中的**Linear Regression Analysis(线性回归分析)**文件夹里的**HLA CrossMatch Keyword Regression.fey**版面文件。

该版面包含一些样本文件以及为**MESF Calculations(MESF计算)**准备的一页。我们现在来使用保存为关键字的回归公式来完成该表格。

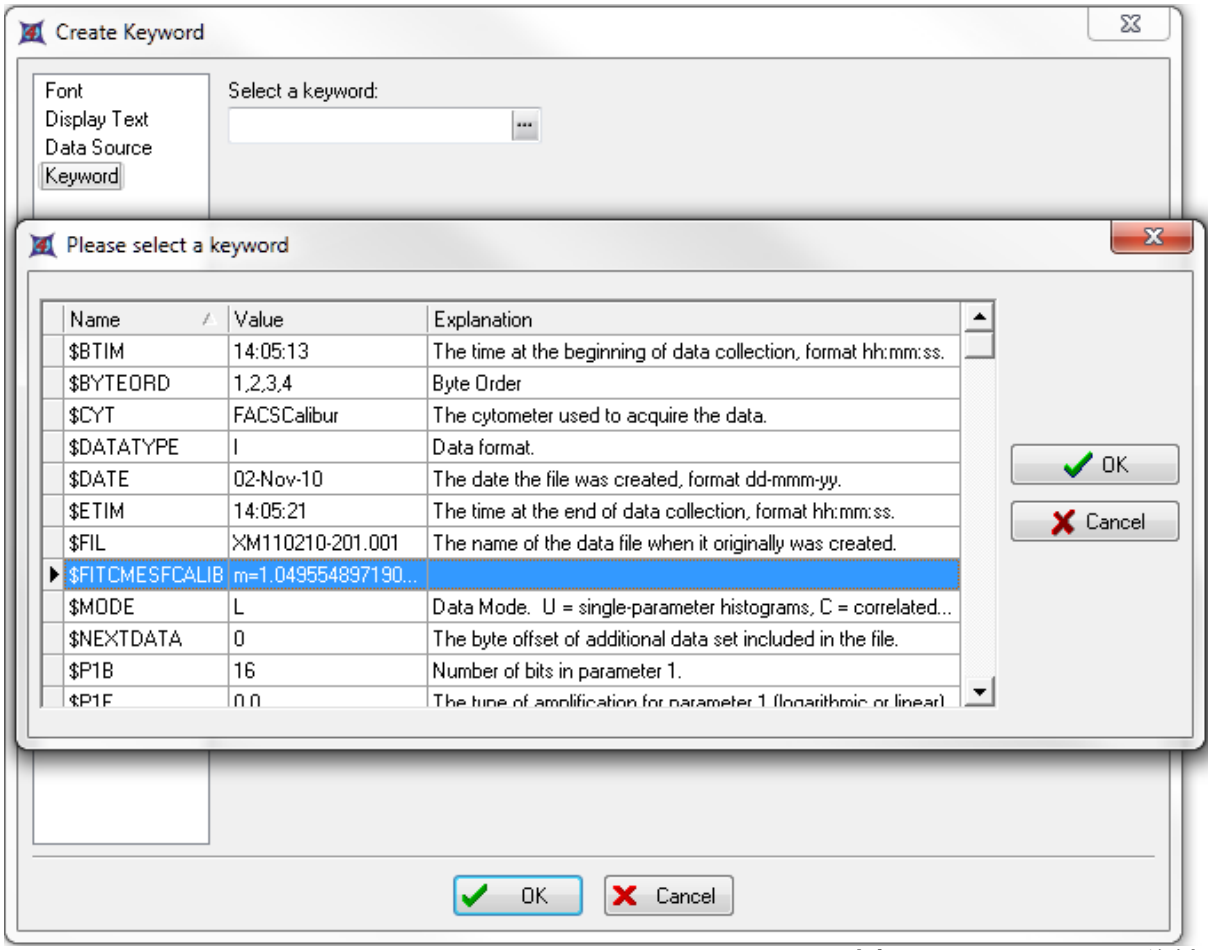
11. 请点击**Tcell LogMESF Patient**自定义标记，将其选中。

12. 请在**Custom Tokens(自定义标记)**窗口里的**Enter the Custom Token formula below(请在下方输入自定义标记公式)**区域内右键点击。

13. 请从弹出菜单上选择**Insert Function(插入函数)→LinearXtoY(x, [modelParameters])**。

14. 请在公式中高亮选择文本"x"。

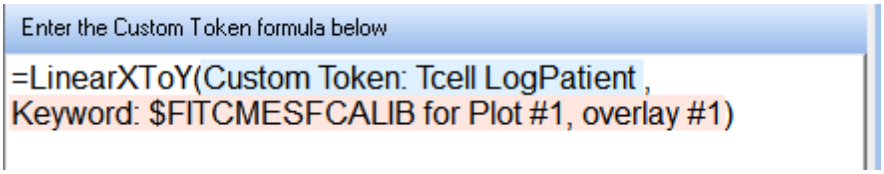
15. 请右键点击选中的文本。
16. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。
17. 请从**Custom(自定义)**选项中插入**Tcell LogPatient**标记。
18. 请高亮选择公式中的文本**[modelParameters]**(*注: 在本例中必须选择方形括号*)。
19. 请右键点击选中的文本。
20. 请从弹出菜单上选择**Insert Token(插入标记)**。
21. 请双击**Keyword(关键字)**。
22. 请在**Create Keyword(创建关键字)**对话框中选择**Keyword(关键字)**选项(图T27.35)。
23. 请点击省略号。
24. 请向下翻动到**$FITCMESFCALIB**关键字(图T27.35)。
25. 请点击**$FITCMESFCALIB**关键字，将其选中(图T27.35)。



图T27.35 Choosing the $FITCMESFCALIB Keyword Token (**选择**$FITCMESFCALIB**关键字标记**)

26. 请点击**OK**。
27. 请再次点击**OK**。
28. 请在公式前输入一个等号"="。

这时的公式将看起来如图T27.36所示。



图T27.36 Completed Custom Token Formula for Tcell LogMESF Patient (**补全的针对**Tcell LogMESF Patient**的自定义标记公式**)

29. 请把**TCell LogMESF Patient**标记从**Custom Tokens(自定义标记)**窗口中拖到表2中**Tcell Log MESF**一列里的第4行。

该表格现在就完整了，并显示通过我们刚刚创建的自定义标记公式计算出的T- Cell Log MESF(T- 细胞MESF对数)值。这个公式中使用了存储为关键字的回归公式。

总之，当试着创建应用于样本数据的校正回归拟合时，最好的做法是先准备一个版面来创建该回归拟合。这版面应该包含所有的对照数据。然后把这个最终的回归拟合存储为一个"allextrakeywords.txt"文件。然后请再创建一个分析版面，用来分析实际数据以及应用你创建的回归分析。分析版面将通过你在文件"allextrakeywords.txt"中定义的关键字获取该回归公式。通过把"allextrakeywords.txt"文件放到相关数据文件所在的文件夹中，你可以保证所有数据文件将包含你想要用的回归分析。

36.28 FCS Express 4 Image Cytometry介绍

为图像细胞分析数据设计的流式细胞分析环境

FCS Express 4 Image Cytometry(FCS Express第4版图像细胞分析软件)是FCS Express的一个新的成员，包含炫目和独特的处理图像细胞数据的工具。

本教程旨在对很多有用的新工具提供一个概述，让用户可以像处理流式细胞数据那样处理图像数据。现在你可以把基于细胞群的图像分析和基于单个细胞的图像分析结合起来。

本教程有三个部分，通过使用已有的例子，我们向您演示如何使用FCS Express 4 Image Cytometry。这一教程和De Novo Software网站上的介绍FCS Express 4 Image Cytometry使用方法的视频相互呼应。我们建议您看完视频**之后**再开始阅读本教程。这样您就会更好地理解本概述以及数据代表的生物问题。

在本章中，你将导入和查看图像数据组，建立和修改门操作，在细胞列表中查看单个细胞以及使用High Content Add- on(高涵量添加包)432来优化和查看一个96- 孔板细胞核易位实验。高涵量添加包让用户可以查看这个细胞板上的多个参数结果和图像。

我们会提供一个批处理分析以及FCS Express报表工具的简短例子。本教程不会对和FCS Express 4相同的那部分功能进行详细讲解，因为它们在已有的教程510中详细讲解过了。当遇到相关操作时，本章将直接引用FCS Express 4教程中的相关教程。

在本章中，我们将会具体地:

- 演示导入图像细胞分析数据以及对图像的操作
- 在有细胞图像列表的数据网格中查看门中的细胞群
- 查看图像细胞分析相关的报表数据
- 对一个细胞核运输实验进行优化
- 使用"高涵量分析"模块来对96- 孔细胞板中的基于图像的实验进行分析
- 查看批处理分析以及和图像细胞分析相关的报表选项

因为图像数据占用空间很大，我们在每一节教程中只处理几个图片。这些图片嵌入在了样本版面中。在"高涵量添加包"实例中，我们的教程样本数据库中不提供所有的96- 孔板的数据。如果你想在本介绍性教程上进一步练习并且使用整个实验对应的数据，请查看CellProfiler导出教程1087中的步骤。

下一节1207

36.28.1 开始使用Image Cytometry

在这一节中，我们将学习如何:

- 设置导入图像数据时需要的组件
- 导入一个带有图像数据的版面
- 使用图像绘图来修改以及插入新的数据绘图
- 应用实例图像对应的门操作方法
- 创建一个数据网格并创建一个"细胞列表"来包括细胞图像
- 在视觉上检测和优化"细胞核易位"实验对应的控制设置
- 为显示细胞列表的数据网格修改设置和门操作

了解FCS Express 4 Image Cytometry的图像数据导入操作

当对图像数据进行操作时，我们有几个数据要素要考虑: 原始图像数据、用来定义图片内单独对象的分区图以及测出的每个对象对应的多参数结果。理想情况下，所有这些数据都应该为FCS Express 4准备好了。如果仅有细胞多参数数据，你仍然可以使用不含有交互图片选项的流式细胞分析工具。

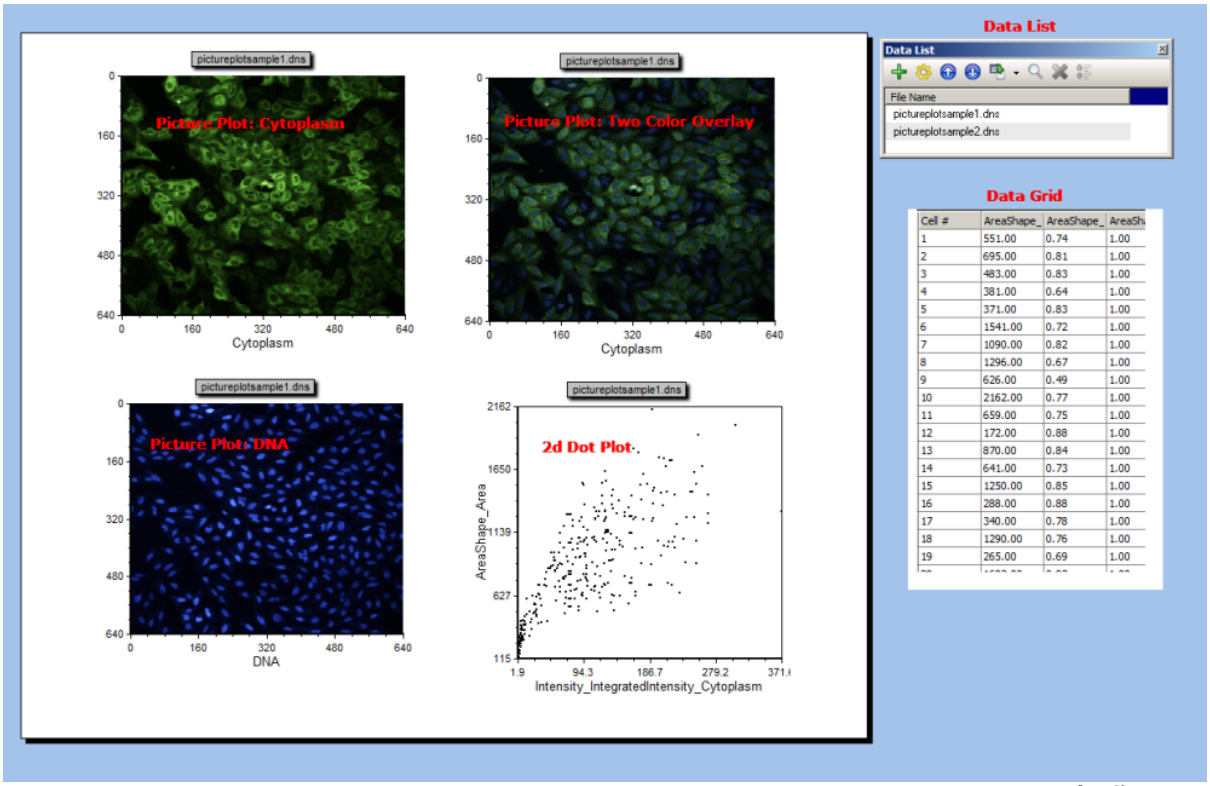
如果你也有图像和分区图的话，FCS Express可以把多参数结果重新和源图像链接起来。这样，单个细胞便会在图像绘图1150中高亮显示出来 ;单个细胞的图像也可以在细胞列表中显示和操作 ;有意义的多参数数据也可以在基于细胞的基础上进行查看。因为FCS Express 4 Image Cytometry可以从多个图像平台导入数据，所以你可以轻松地导入和操作你的数据。

第1部分: 处理Image Cytometry数据

我们将使用位于教程样本数据库510中 **IntroToImage1.fey**版面。该版面文件包含一个详细的、预先格式化好的处理图像数据的方法。作为对图像细胞分析软件的一个介绍性教程，我们将不会花很多时间来介绍我们在其它章节详细介绍过的操作。如果用到的话，我们会在本教程中引用相关的章节。

1. 请导入**IntroToImage1.fey**版面。多参数数据以及图像已经嵌入了本版面中。

这是一个2页的版面，请确认你正在查看的是**Example(实例)页。**本页包括关于细胞数据的三个图像绘图1150以及一个彩色点状图525(图T28.1)。页面中也有一个"Data List(数据列表)"来显示版面中使用的数据；页面中工作区的右侧还有一个"Data Grid(数据网格)831"来显示单个细胞信息。你可以把绘图以及数据网格放在**Example页中的任何地方。**该版面还包括一个**空白页**。



图T28.1 Overview of the IntroToImage1.fey layout (IntroToImage1.fey**概览**)

Dot Plot(点状图)525显示由CellProfiler测量和保存的两个参数，它们分别在X轴和Y轴上。你可以很方便地修改显示在点状图525上的参数。我们接下来要修改一下X轴参数。

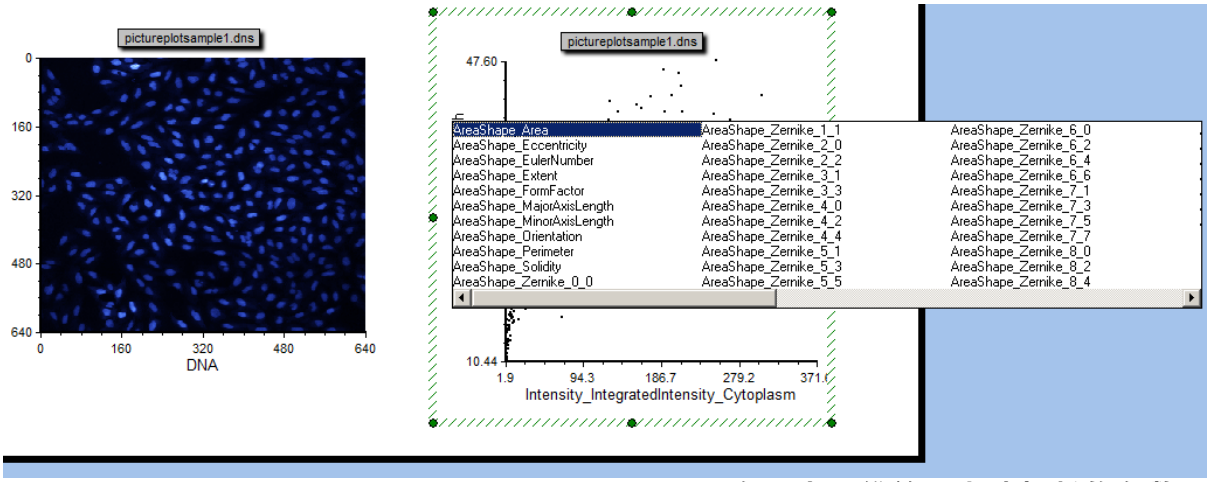
2. 请在点状图的X轴的数轴名上按下鼠标不放。这时你会看到一个参数菜单(图T28.2)。

3. 按住鼠标不放而在列表框中左右移动，以查看参数列表。

4. 请移动鼠标，直到你想要的参数被高亮显示。

5. 请松开鼠标。

新的参数被选中了，显示在X- 轴上。这种方法可应用于任何有多参数的绘图类型上。



图T28.2 Selecting a New Parameter on a 2d Plot. (**在一个二维绘图上选择新的参数。**)

"撤销"操作是FCS Express 4中一个很有用的功能。请记住在你做了某项修改后，你均可以使用CTRL+ Z来任何多次地撤销修改。FCS Express 4支持无限次的撤销命令。

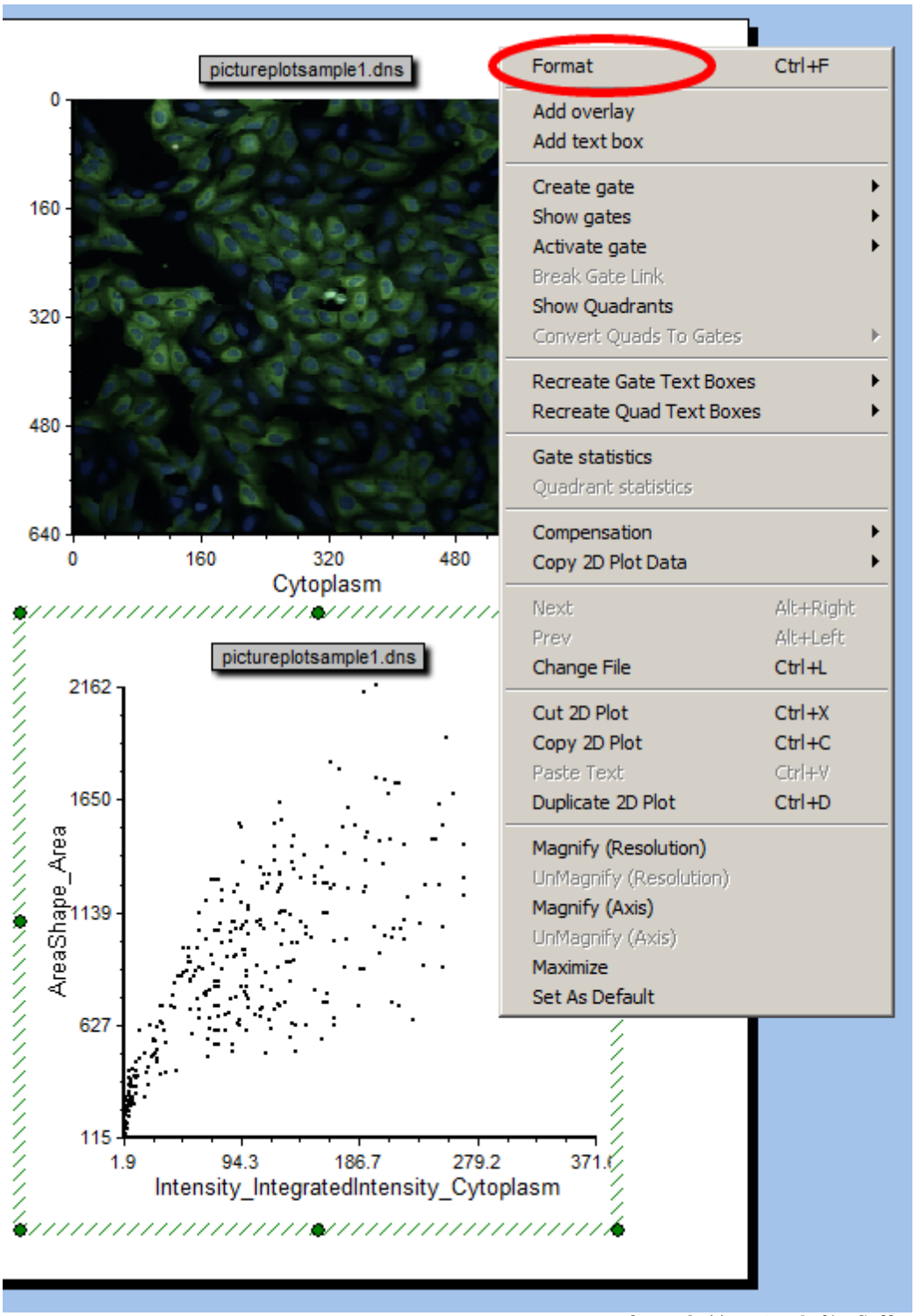
6. 请在键盘上按下CTRL+ Z，取消对X- 轴新参数的选择。

还有一种修改X- Y轴参数显示以及修改点状图其它属性的方法。

7. 请右键点击Dot Plot(点状图)525。

8. 请从弹出菜单选择**Format(格式)**(图T28.3)。

这是绘图的常规格式屏幕。FCS Express中的所有绘图以及很多其它项目有着相同的格式修改方式。

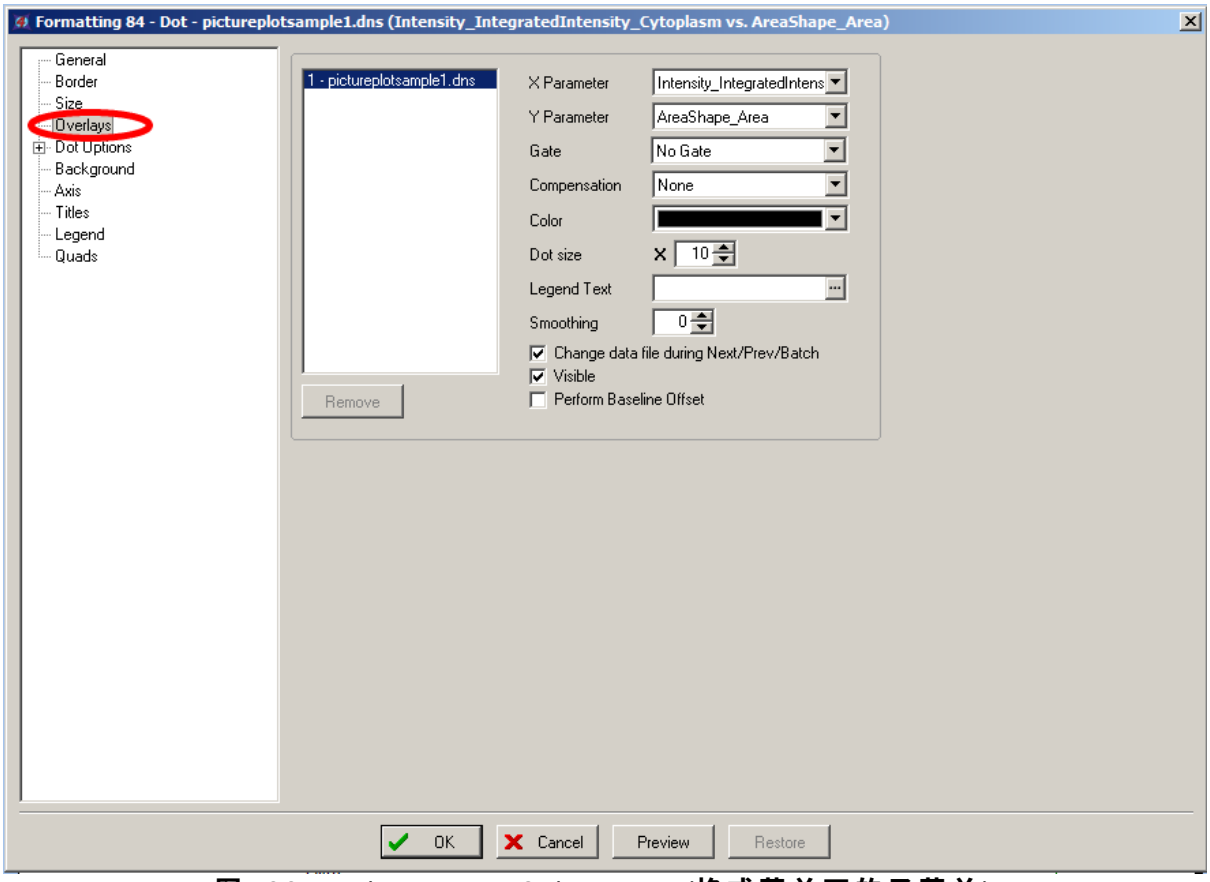


图T28.3 Launching the Format Menu for a Plot (**为一个绘图调出格式菜单**)

注意到现在你有几个选项来修改绘图。在此可对绘图所有的选项进行格式化。**X and Y**

Parameters(X和Y轴参数)也可以用这种方式来修改。在本节中我们会多次用到**Formatting(格式化)**菜单，所以请熟悉一下菜单上的选项，但此刻请不要做任何修改。

9. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项(图T28.4)。



图T28.4 The Format Sub Menus (**格式菜单下的子菜单**)

10. 请确认数据点大小为10。如果不是，请将其改为10。请点击**OK**按钮，关闭格式对话框。

11. 请选择**Gating tab(门操作标签卡)→Create Gates(创建门)→Rectangle(矩形门)**命令。(图T28.5)

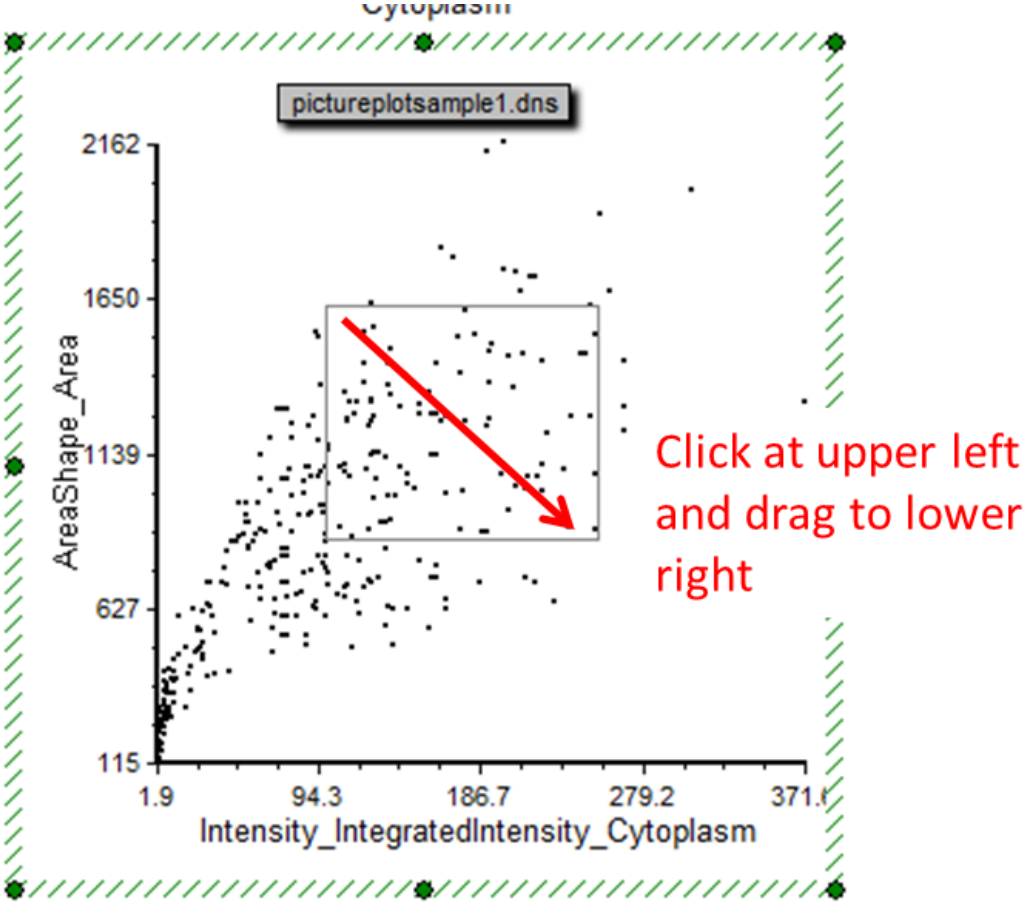


图T28.5 Selection of Gate Type (选择门类型)

12. 请在Dot Plot(点状图)525的中心按下鼠标左键不放。

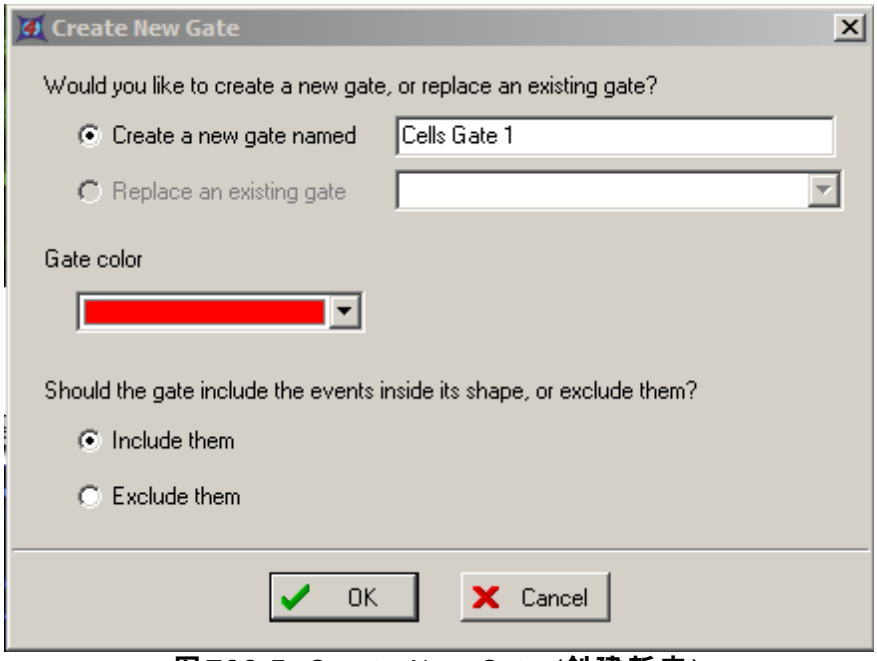
13. 不要松开鼠标，在点状图上向下、向右拖拽出一个矩形(图T28.6)。

14. 当门的大小合适时，请松开鼠标。



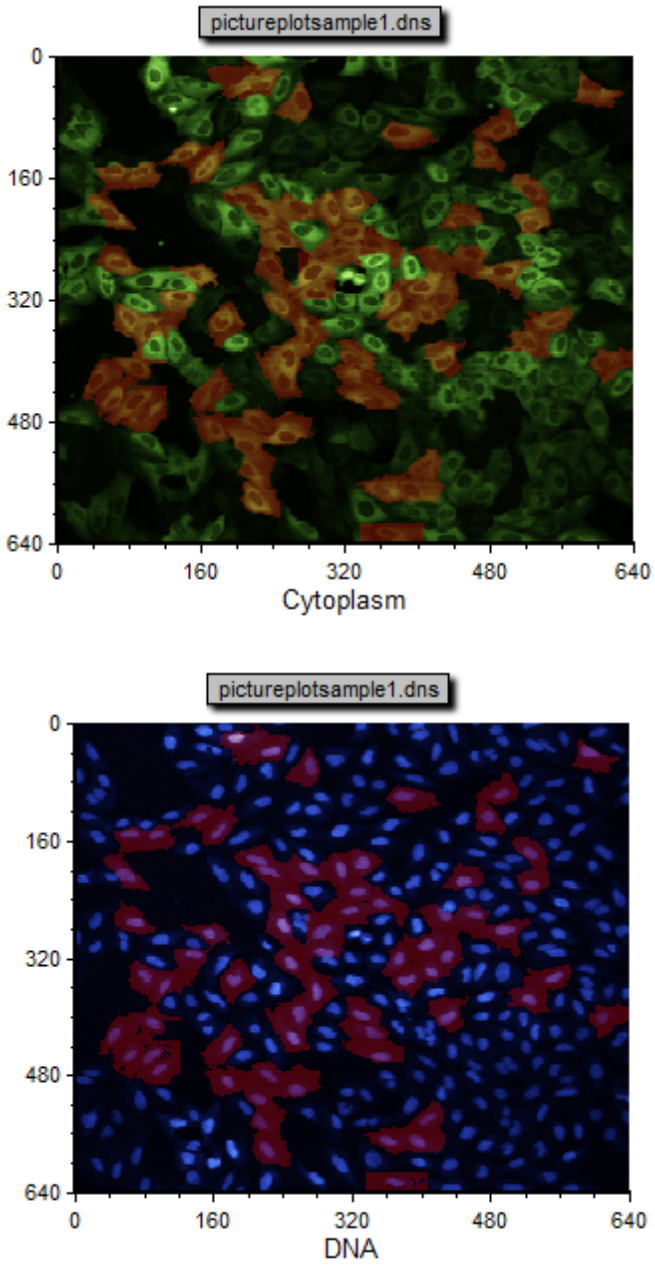
图T28.6 Drawing a Rectangular Gate (画矩形门)

15. 当**Create New Gate(创建新门)**对话框出现时，请输入名称"**Cells Gate 1**"(图T28.7)。



图T28.7 Create New Gate (**创建新门**)

16. 请点击**OK。** 注意到包含在门中的细胞在两个图片绘图中显示为红色(图T28.8)。



图T28.8 Highlighting of Cells Included in Cells Gate 1 (**把在门**"Gate 1"**中的细胞高亮显示**)

还记得**Unlimited Undo(无限次撤销)**操作是FCS Express 4中一个很有用的功能吧。请记住在你做了某项修改后，你可以使用CTRL+ Z来撤销所做修改。

17. 请在键盘上按下CTRL+ Z，撤销对**Cells Gate 1的添加。**

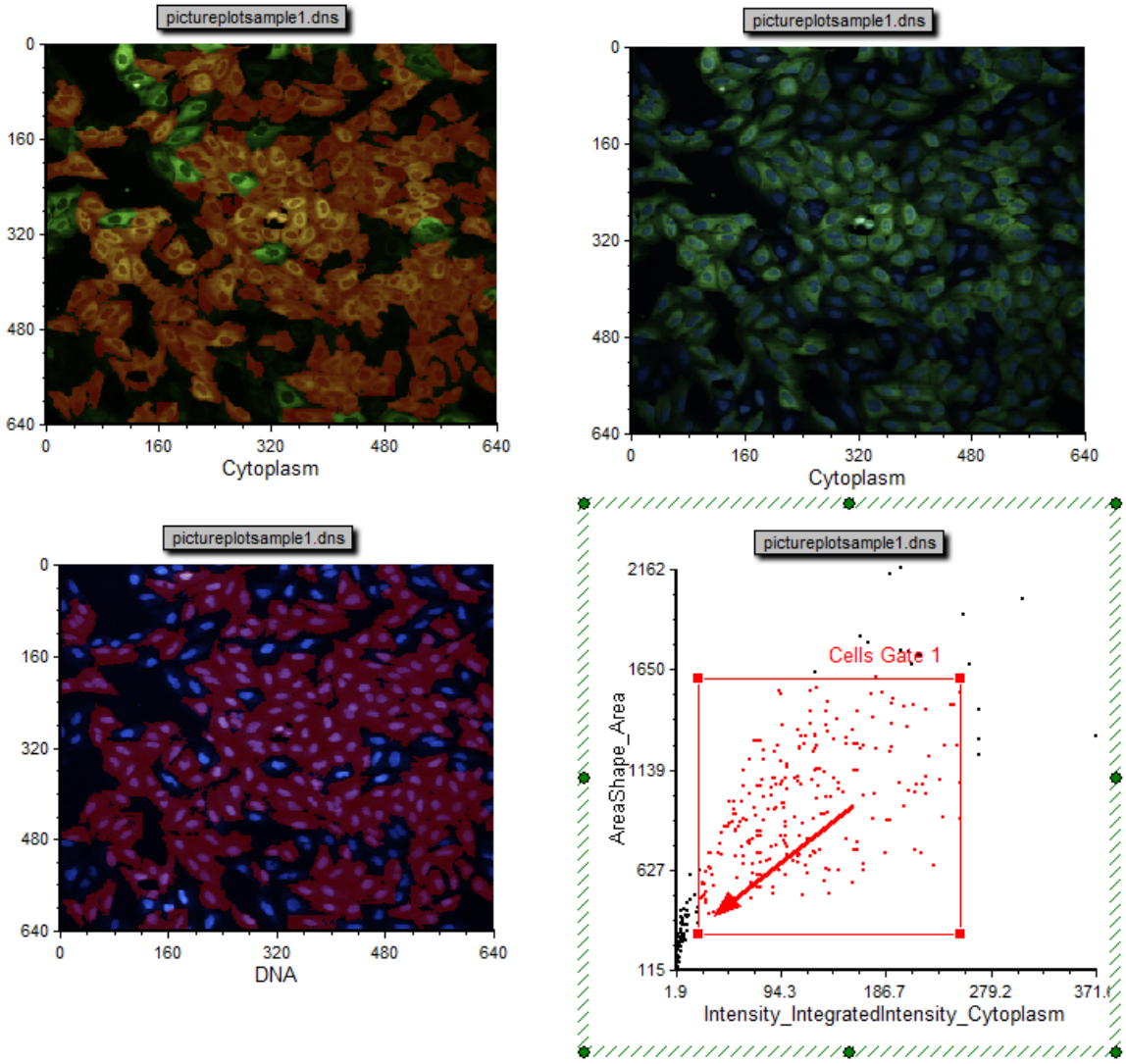
18. 请重复第10步到第14步来重新创建**Cells Gate 1**门。

19. 请在点状图上的**Cells Gate 1**门内点击一次。

    这将把该门选中。在一个选中的矩形门中，矩形的四角会各有一个方块。这些方块叫"顶点"，你可以拖拽它们来修改门的形状。

20. 请在**Cells gate 1**门的一个顶点上按住不放。

21. 请向左下方移动鼠标，沿着图T28.9中红色箭头的方向，直到门的大小如下图T28.9所示。



图T28.9 Increasing the Size of Cells Gate 1 (**放大门**"Cells Gate 1"**的尺寸**)

22. 请松开鼠标。注意到变大的门中包括了更多的细胞，这也就意味着图像中有更多的细胞将

变成红色(图T28.9)。

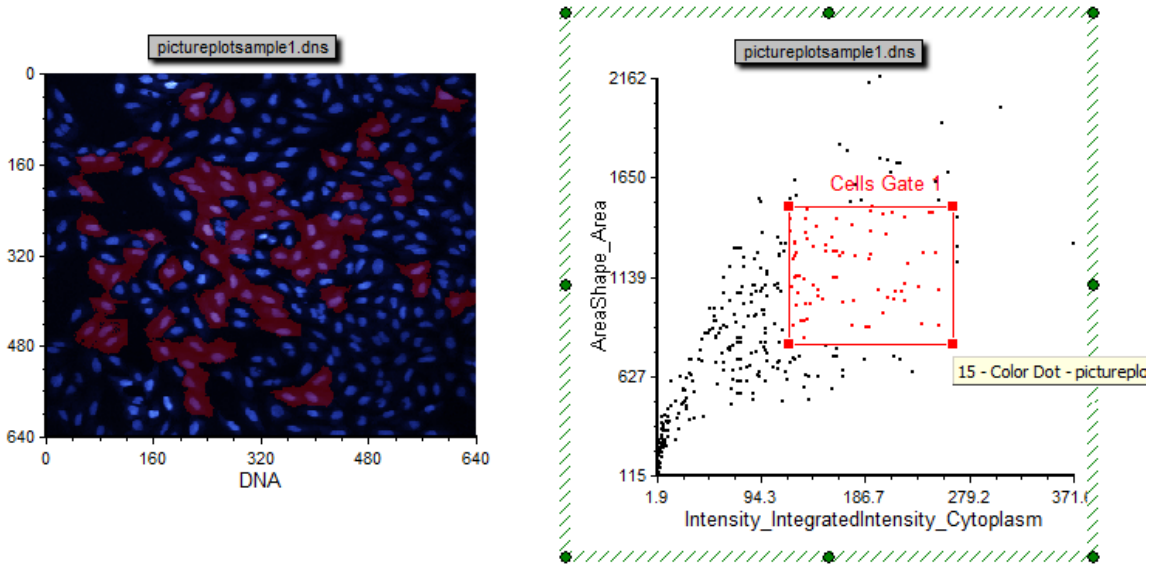
你也可以移动一个门。

23. 请在门内(而非在顶点上)按下鼠标左键不放，如图T28.10所示。

24. 按下鼠标不放，请把门移动到一个新的位置。

25. 当把门移动到一个选定的新位置后，请松开鼠标键。

请观察: 在图像绘图中，由于门的移动，细胞的高亮显示状态可能被改变。



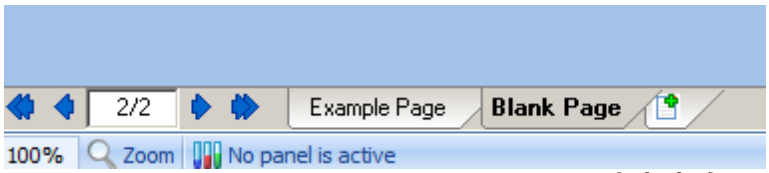
图T28.10 Moving Cells Gate 1 (**移动**"Cells Gate 1"**门**)

26.请关闭版面，**请不要**保存修改。

第2部分: 从零开始建立一个版面页

27. 请打开**IntroToImage1.fey**版面。我们将一点一点从零开始创建Example(实例)页。

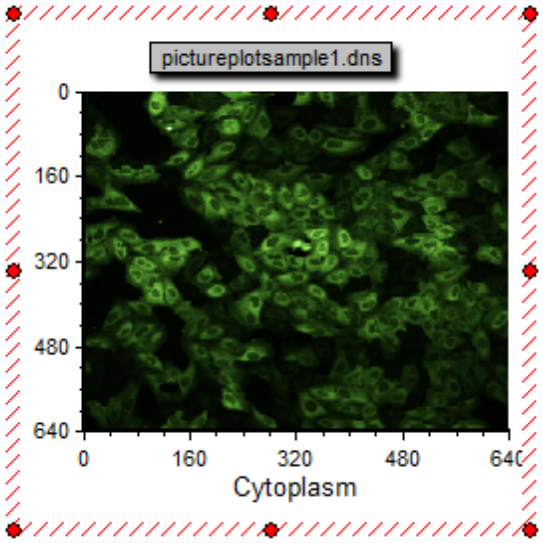
28. 请点击**Blank Page(空白页)**标签卡。(图T28.11)



图T28.11 Selecting the Blank Page Tab (**选中空白页标签卡**)

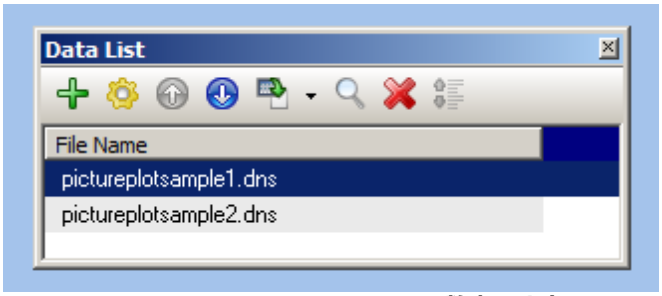
29. 请点击**Insert tab(插入标签卡)→Insert 2D plots(插入二维绘图)→Picture Plot (图像绘图)**

30. 请按下鼠标左键不放，在空白页的任何位置拖出一个正方形。这会插入一个有着细胞图像的图像绘图(图T28.12)。



图T28.12 The Inserted Picture Plot (**插入的图像绘图**)

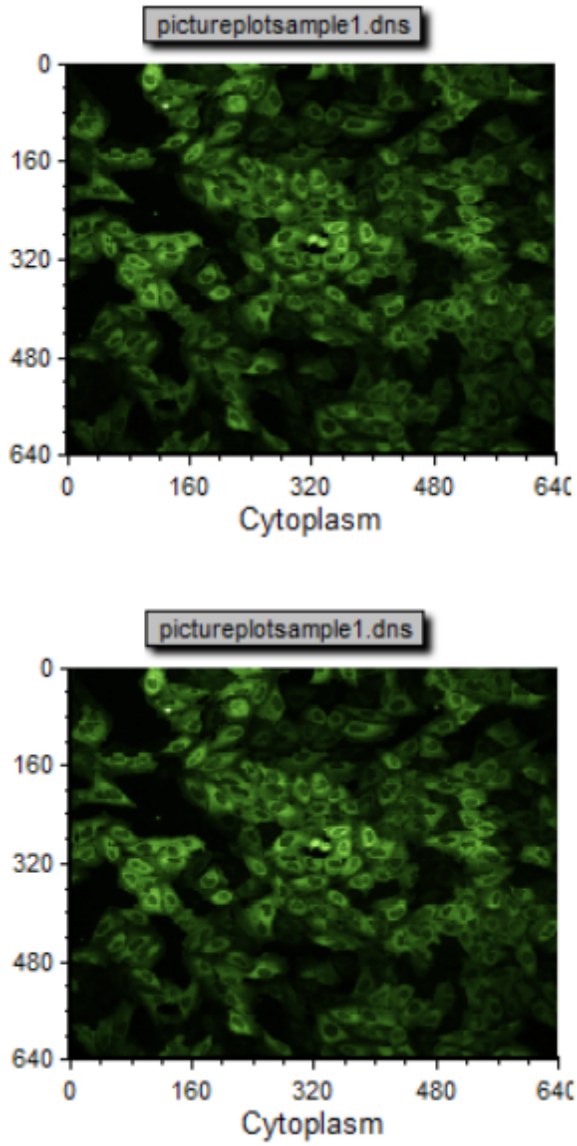
这个图像绘图将被命名为**pictureplotsample1.dns**。这是因为这一数据是嵌入在版面中的，如数据列表所示(图T28.13)。(注意："pictureplot1.dns"在你的绘图上可能不会高亮显示为深蓝色，这没关系。)



图T28.13 The Data List (**数据列表**)

31. 请点击**pictureplotsample1.dns**图像绘图1150，将其选中。
32. 请复制(CTRL+ C)**pictureplotsample1.dns**图像绘图1150
33. 请在同一页面上原始图像的下方粘贴(CTRL+ V)**pictureplotsample1.dns**。

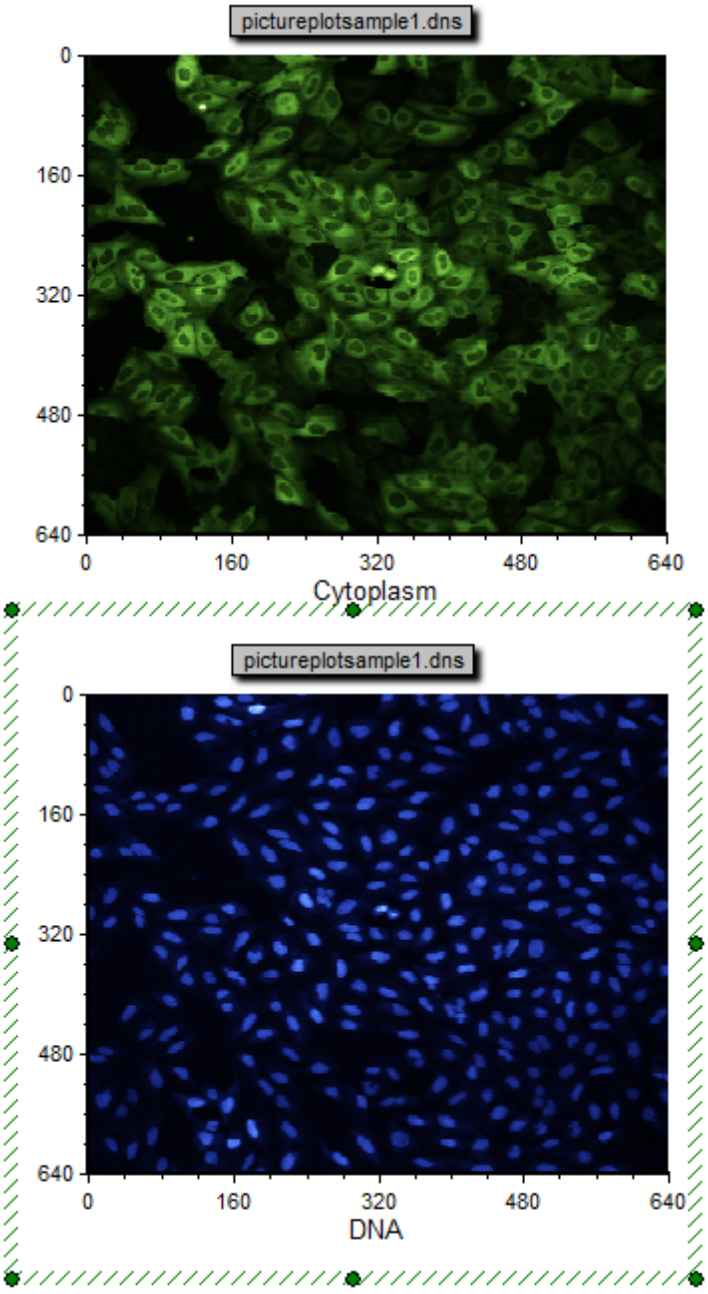
你现在应该有两个相同的绘图，一个在另一个的上方，如图T28.14所示。



图T28.14 Copy and Paste a Picture Plot (**复制和粘贴图像绘图**)

34. 请点击粘贴的图像绘图的X- 轴名称，将其从**Cytoplasm(细胞质)**修改为**DNA**(图T28.15)，方法如前面第2步或第7- 9步描述的那样。

在下面的图T28.15中，你应该有绿色的Cytoplasm(细胞质)和蓝色的Nuclear(细胞核)。



图T28.15 Changing the Image Parameter of a Picture Plot (**修改图像绘图的图像参数**)

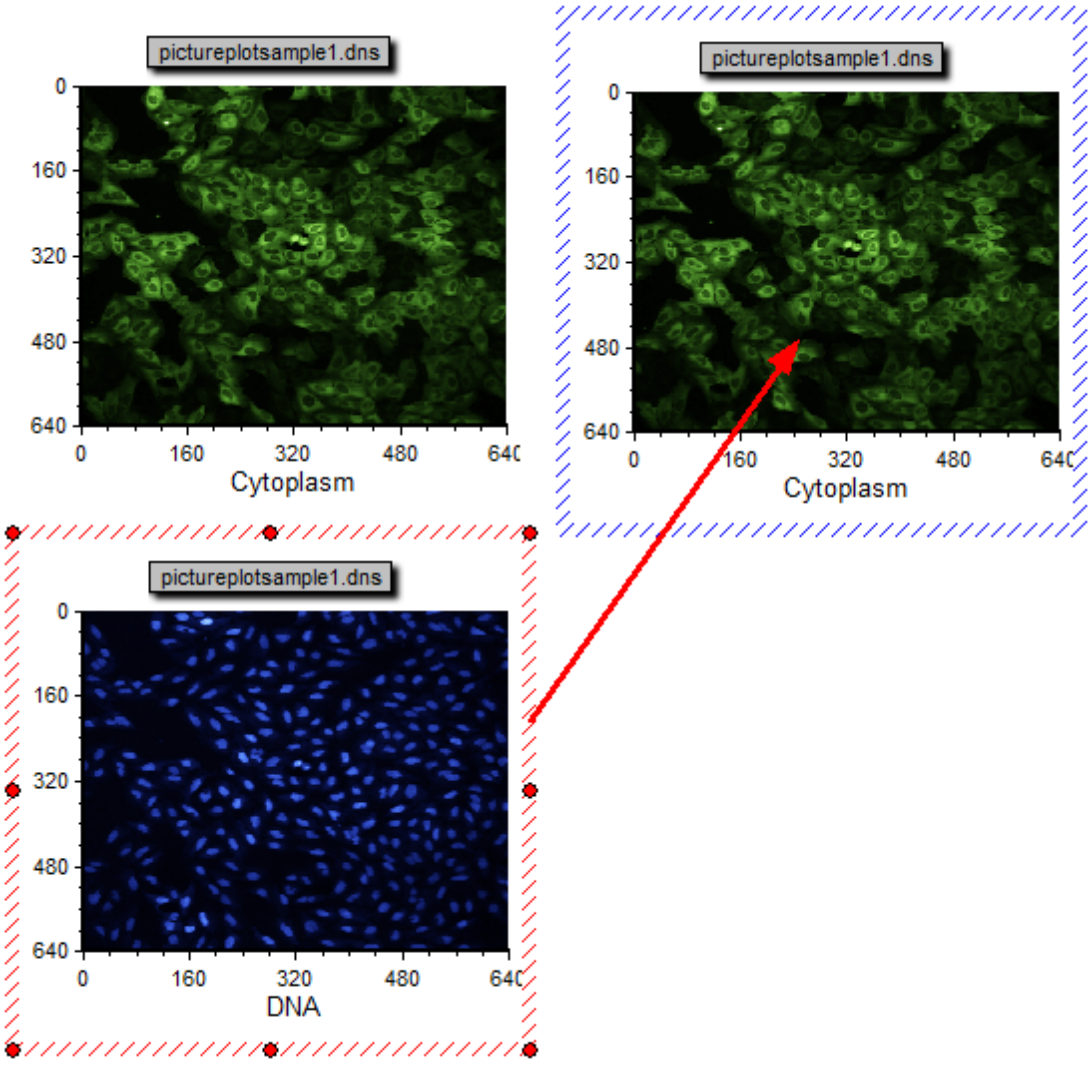
35. 请点击版面上任何空白的地方。请在页面上右上角再次粘贴**pictureplotsample1.dns**绘图。

36. 请点击左下方的显示**DNA**的图像绘图[1150]，将其置于编辑状态。(请确保绘图周围的选框变为绿色，如图T28.15所示)。

37. 请点击图像绘图周围的绿色边框，将其置于选择模式。当绘图处于选中模式时，你可以将其移动或修改其大小。

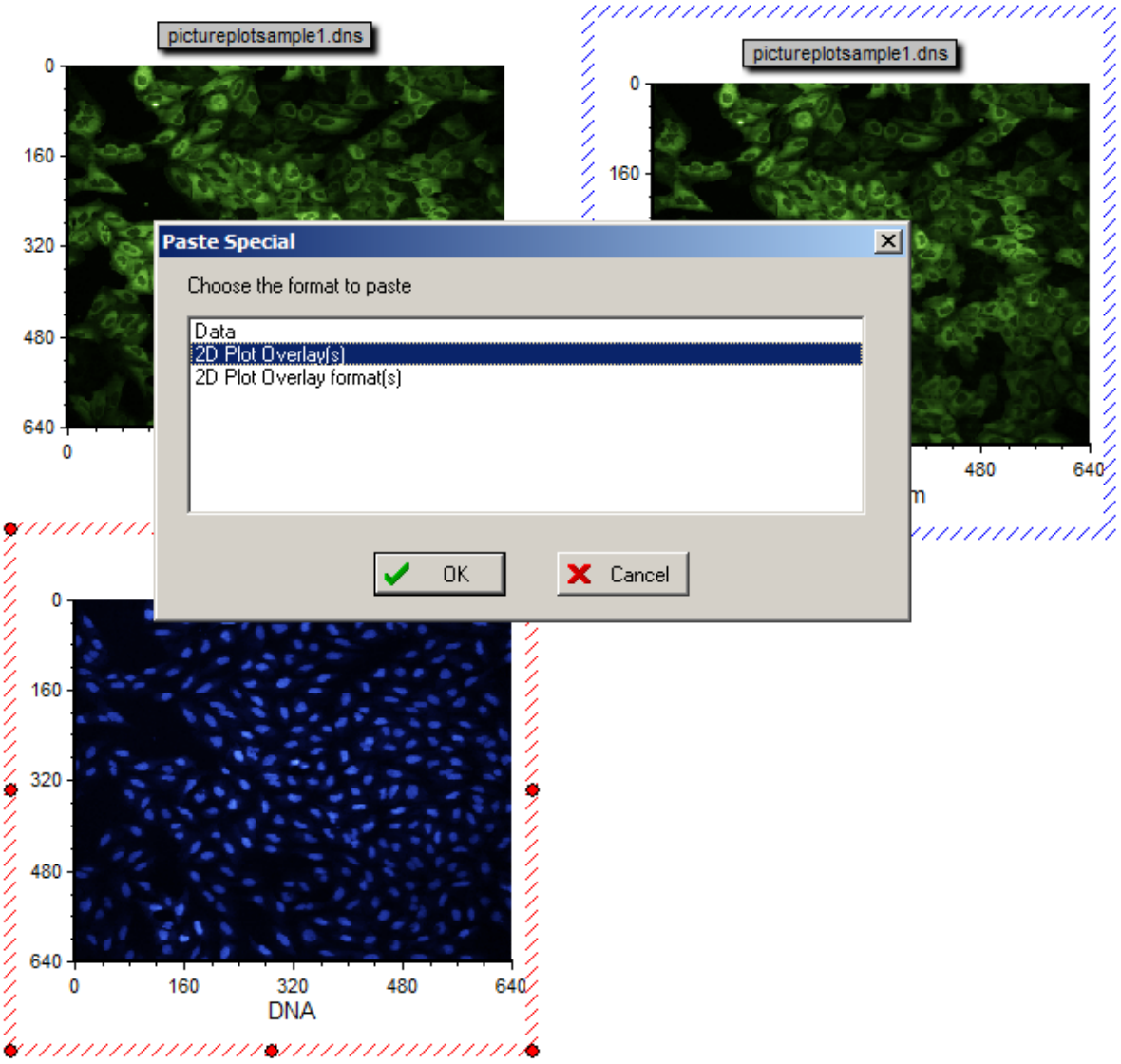
38. 当光标在显示DNA图像的图像绘图的红色边框上时，请按下鼠标不放。

39. 请移动鼠标，把DNA绘图移到细胞质绘图的右上方。当"+ "出现在光标附近并且绘图的边界变成蓝色的时候，意味着光标处在了正确的位置上(图T28.16)。



图T28.16 Drag and Drop a Picture Plot onto Another Picture Plot to Create a 2d Overlay (**把一个图像绘图拖到另一个图像绘图上来创建一个二维叠加图**)

这时会出现一个**Paste Special(特殊粘贴)**对话框，如下图T28.17所示。

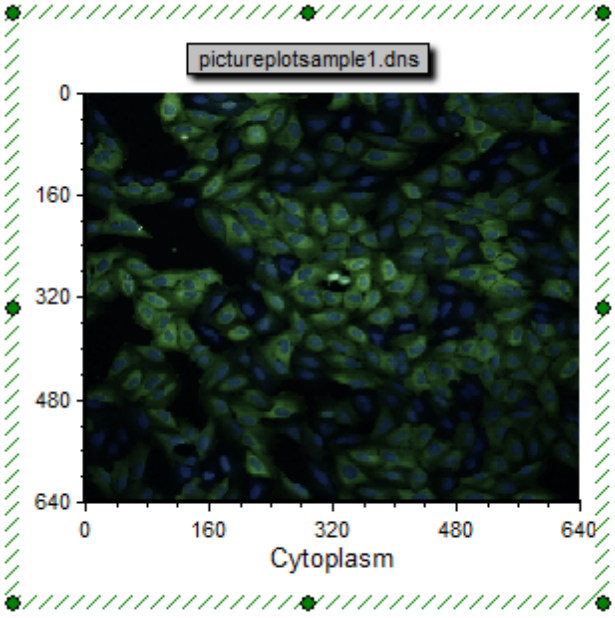


图T28.17 Selecting 2D Plot Overlay(s) (**选中二维绘图叠加图层**)

40. 请选中"**2D Plot Overlay(s)(二维绘图叠加图层)**"。

41. 请点击**OK**。

这将创建一个双通道叠加图层，如图T28.18所示。



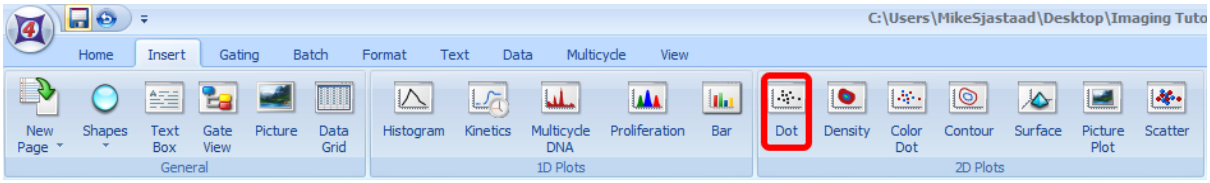
图T28.18 Completed 2D Overlay (**完整的二维叠加图层**)

注:

要学习其它导入新的图像数据集以及插入图像绘图的方法，请查看图像绘图1150教程。

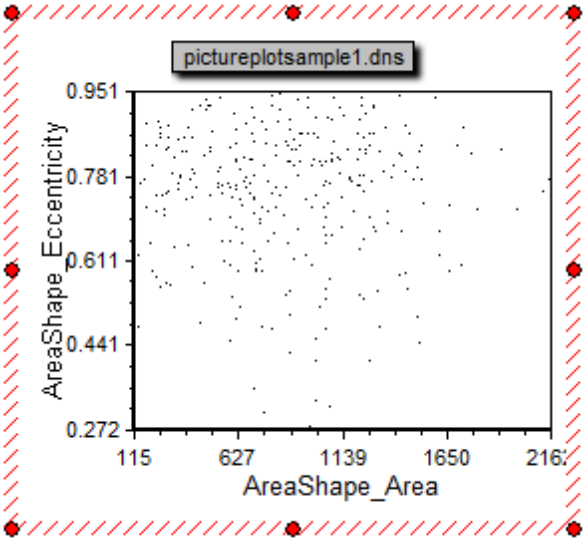
要学习其它修改数据和图像绘图的方法，请参考格式化绘图538教程。

42. 请从**Insert Tab(插入标签卡)→Insert 2D Plots(插入二维绘图)→Dot(点状图)**插入一个点状图525(图T28.19)。



图T28.19 Selecting the Dot Plot Icon (**选中点状图图标**)

43. 请右键点击点状图525，打开**Format(格式)**窗口以便修改默认的显示(图T28.20)。



图T28.20 Default Configuration of Inserted Dot Plot (**插入的点状图的默认设置**)

44. 请选中**Format(格式)**。

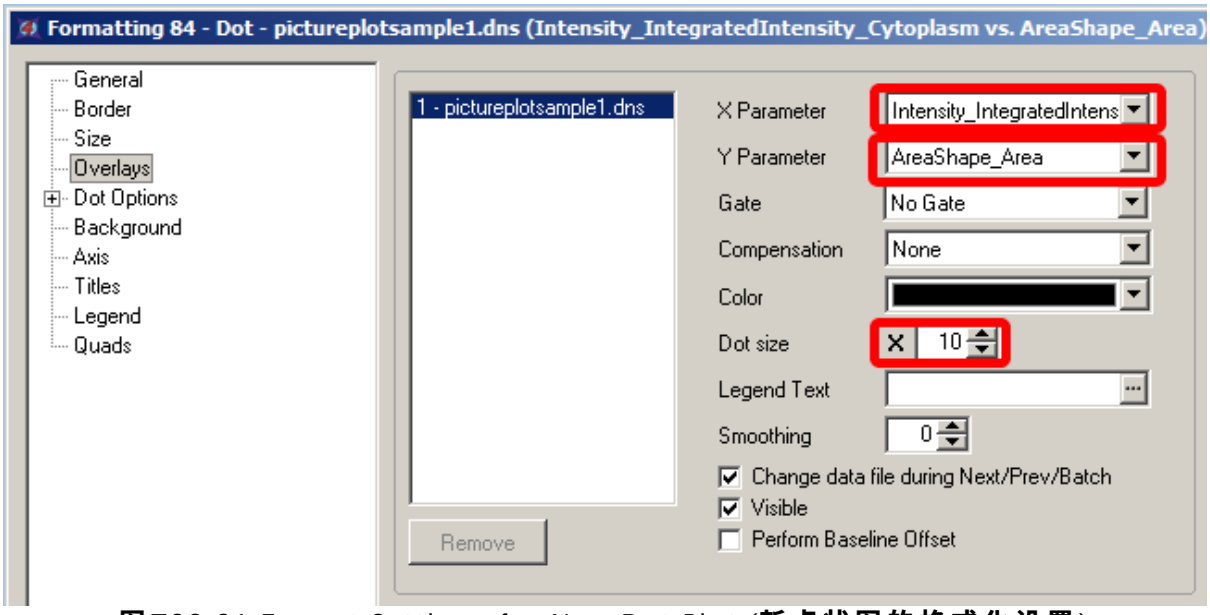
45. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

46. 请把**X Parameter(X参数)**设为**Intensity_IntegratedInstensity_Cytoplasm**，如下图T28.21所示。

47. 请把**Y Parameter(Y参数)**设置为**AreaShape_Area**，如下图T28.21所示。

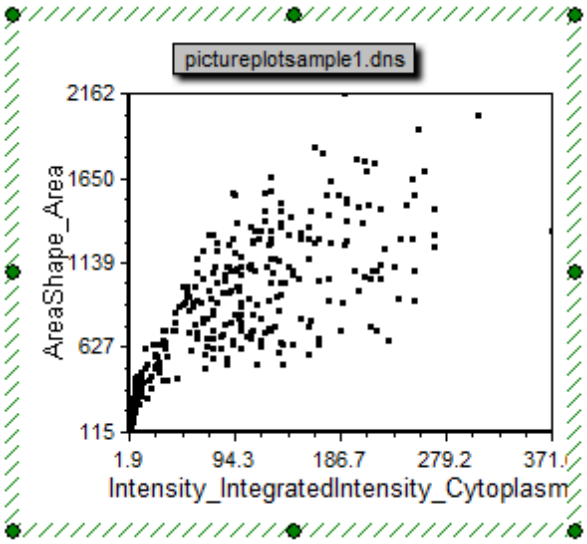
48. 请把**Dot size(数据点大小)**从**1.0**增加到**10**(图T28.21)。

49. 请点击**OK**。



图T28.21 Format Settings for New Dot Plot (**新点状图的格式化设置**)

点状图现在看起来应如图T28.22所示。



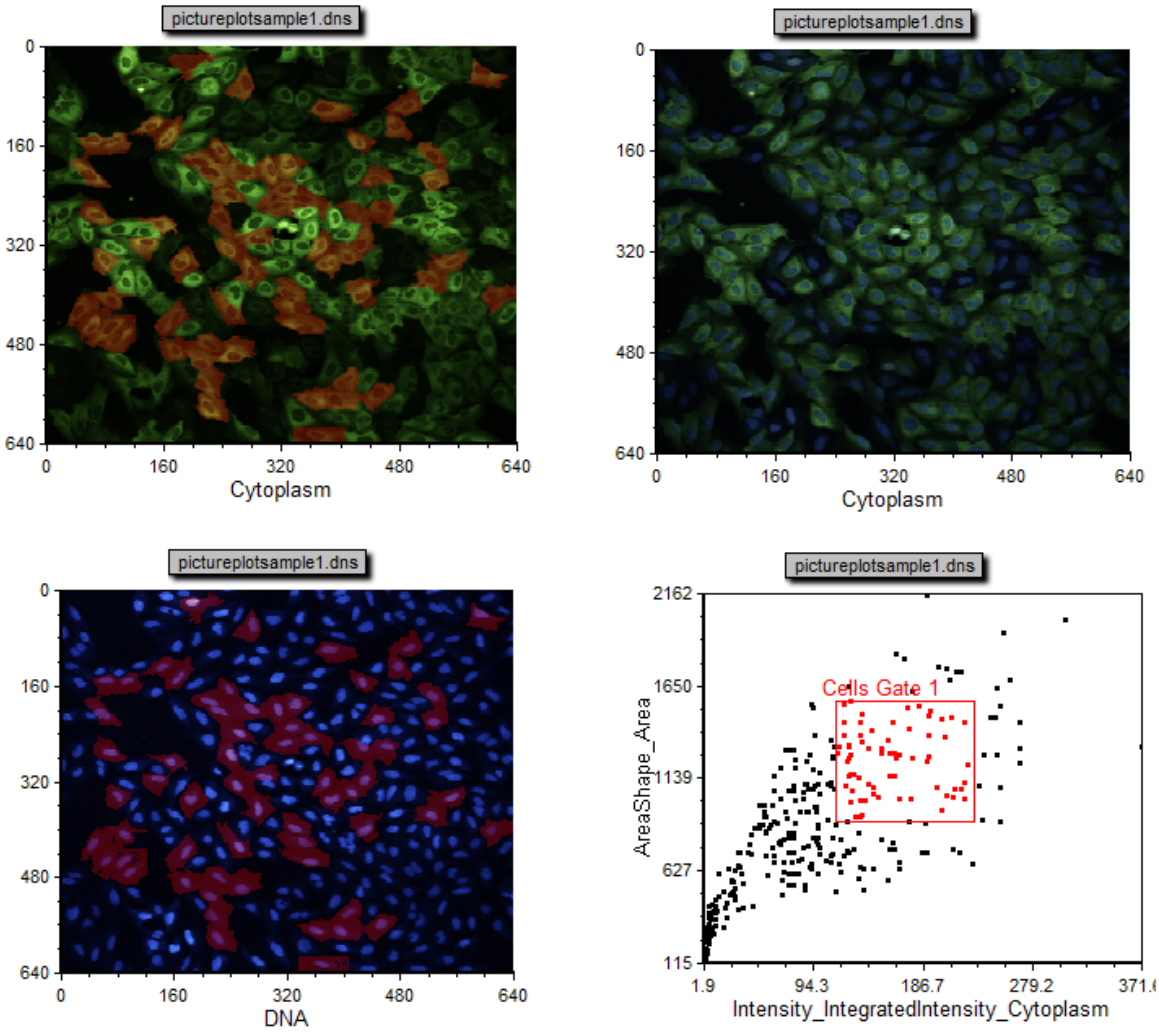
图T28.22 Formatted Dot Plot (**格式化的点状图**)

50. 如在本教程前面描述的那样(第11- 14步), 请通过选择**Gating tab(门操作标签)→Create Gates(创建门)→Rectangle(矩形门)**来插入一个门[205]。

51. 请把这个门[205]命名为**Cells Gate 1**。

52. 请点击**OK**。

你的**Blank page(空白页)**现在应该看起来如图T28.23所示。



图T28.23 Completed Example Page (**完成的实例页面**)

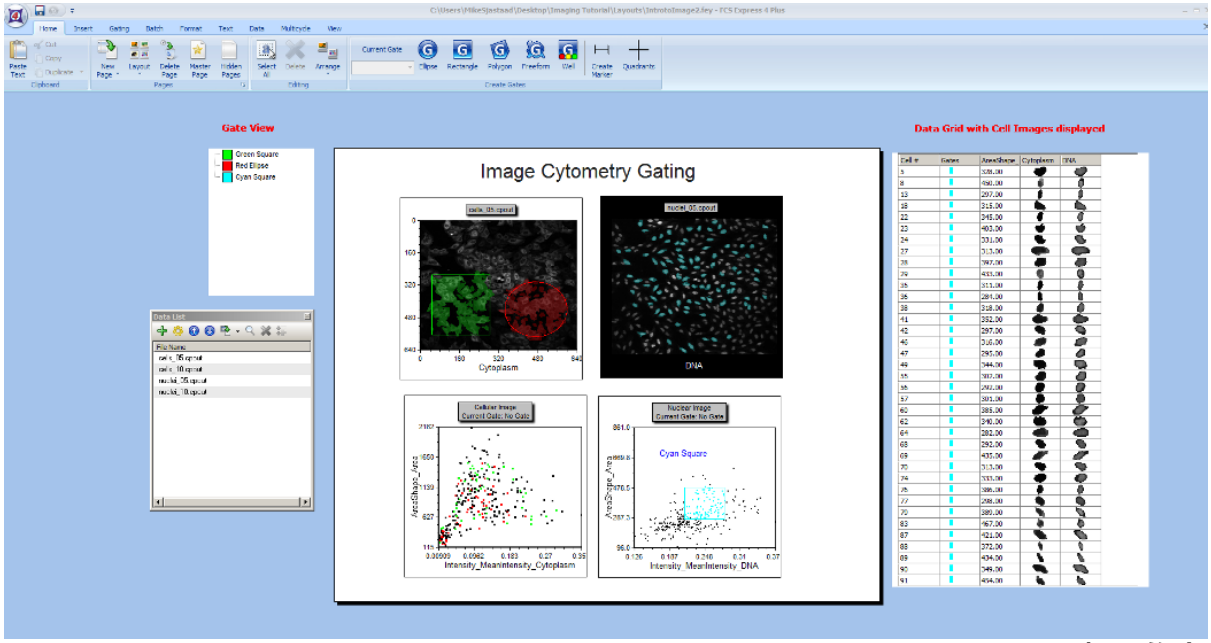
53. 请关闭版面，**请不要**保存修改。

第3部分：图像门操作方法

在使用图像细胞分析软件时，我们常常在代表细胞数据的点状图上应用门，然后在原始图像上查看门中的细胞。查看实际的细胞图像可以帮助确定门中的细胞群代表细胞形态上的预期改变。在这一部分，我们将1)为一张图片上的细胞应用门并且更新绘图，2)在绘图上添加门以更新图片中高亮显示的细胞。

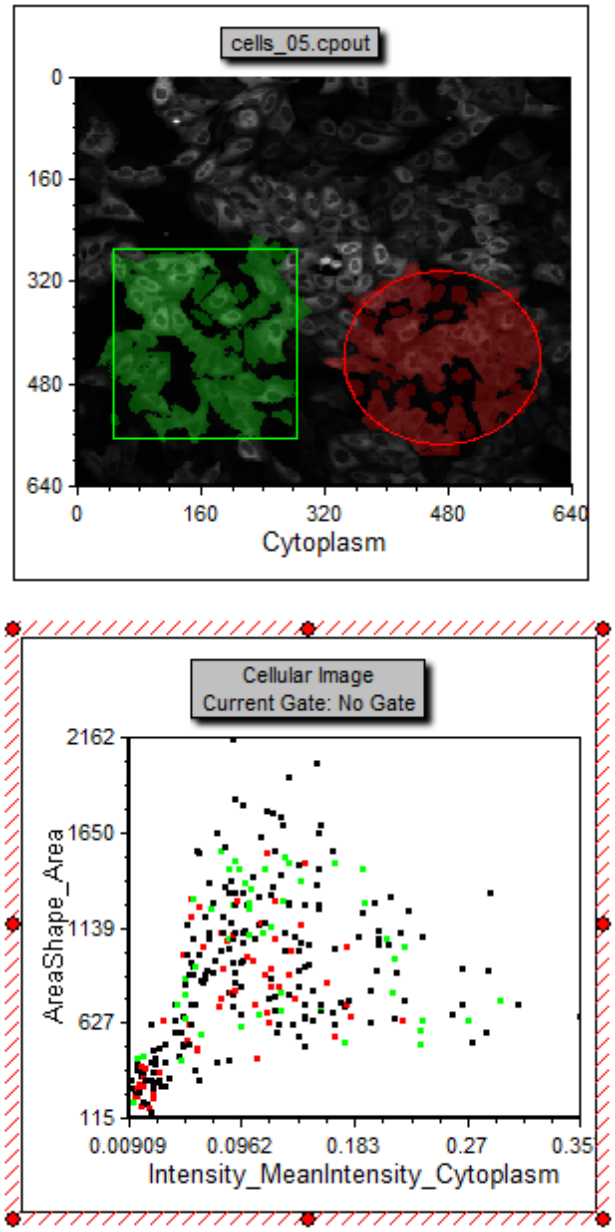
54. 请从教程样本数据库510中导入**IntroToImage2.fey**版面。

这一版面有两个从细胞核易位实验的细胞数据中获取的图像绘图1150以及两个彩色点状图525。这些图片代表了相同细胞的细胞核染色以及细胞质染色(图T28.24)。请注意在细胞质图像上应用的门。这些门分别为一个绿色的矩形门以及一个红色的圈状门。注意到图像下方彩色点状图中的红色和绿色的数据点，它们代表了在图像绘图1150中的门中的细胞。注意到我们也在版面中包括了一个Gate View(门视图)189以及细胞列表 。这些组件可以帮助我们跟踪版面中的活动。还未讨论的项目标记为红色。下方的图T28.26显示了这个完整的版面。



图T28.24 Complete Layout view for IntroToImage2.fey (IntroToImage2.fey**版面的完整版面视图**)

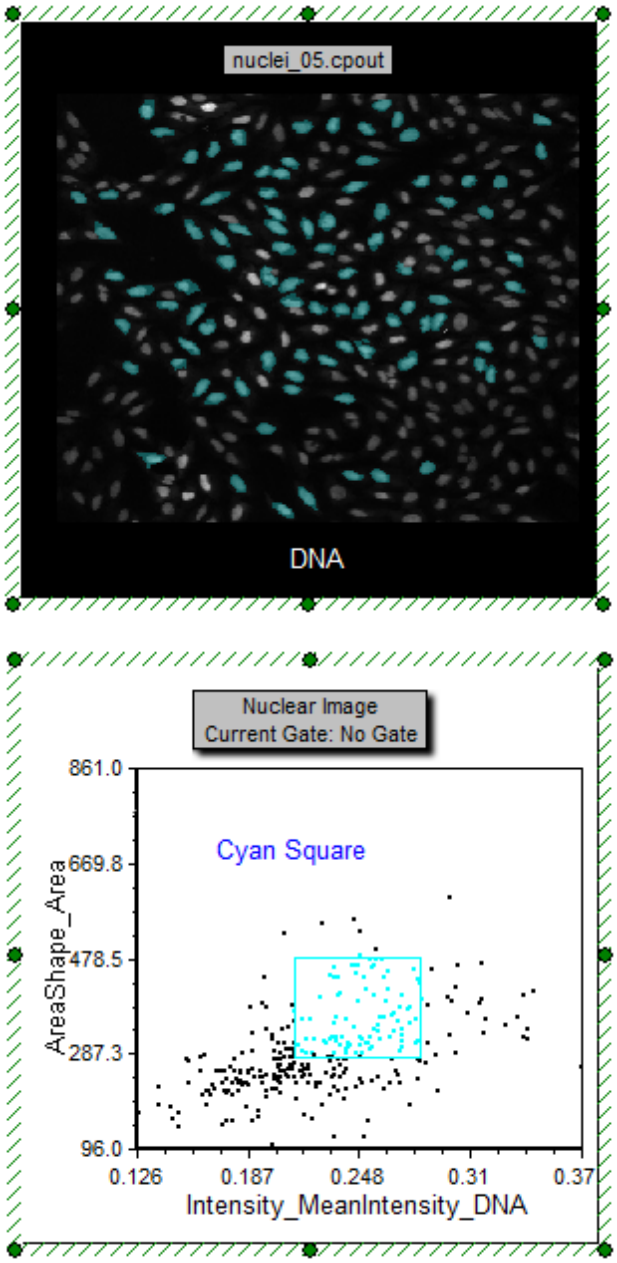
55. 请选中图T28.25中的绿色矩形门以及红色圈形门并将它们移动。请观察图片下方的点状图525中红色和绿色数据点的更新，它们显示哪些细胞在门205里。



图T28.25 Dot Plot Displaying Gated Cells in Color (**点状图中用颜色显示门中的细胞**)

注意到在页面右下方的**Nuclear Image(细胞核图像)**点状图上的**Cyan Square(蓝绿色**

矩形门)(图T28.26)。注意到图像绘图**nuclei_05.cpout**中在蓝绿色矩形门中的细胞被高亮显示为蓝绿色。



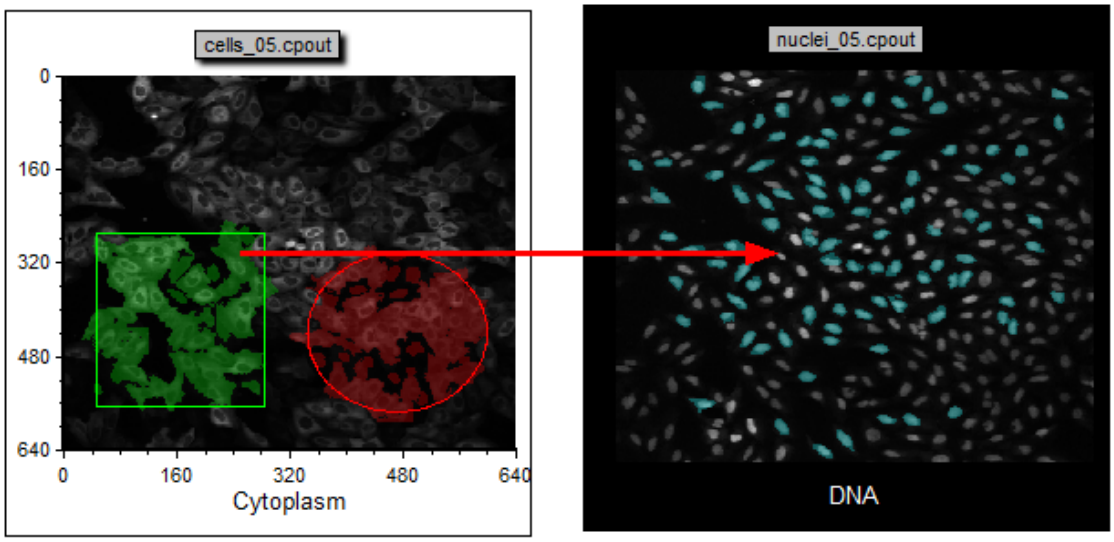
图T28.26 Cell Within Cyan Square Gate are Higlighted (**在蓝绿色门中的细胞被高亮显示**)

56. 请像本教程前面(第23- 25步)介绍的那样选择、移动以及放大**Cyan Square Gate(蓝**

绿色矩形门)。

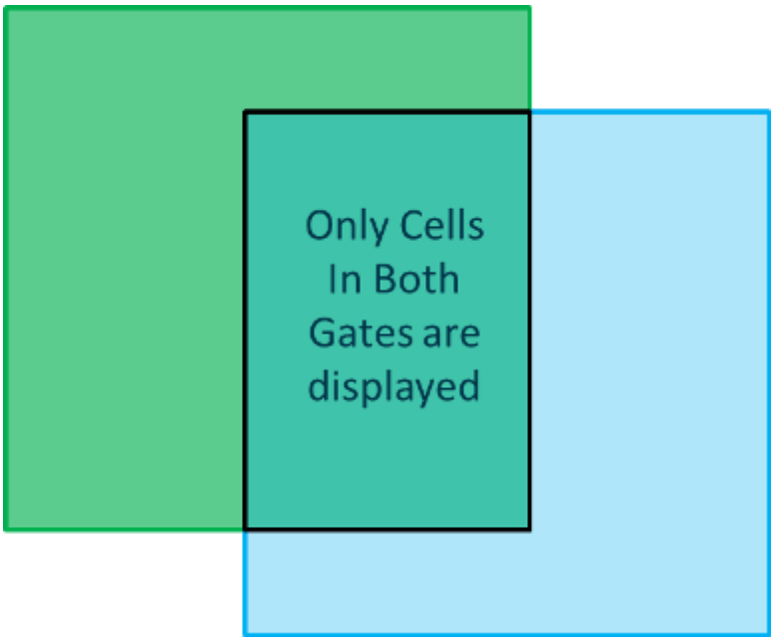
注意到在**DNA**图像中蓝绿色细胞的更新情况。

57. 请把**Green Square(绿色矩形门)**从**Cytoplasm(细胞质)**图像绘图1150中拖到显示蓝绿色细胞的**DNA**图像绘图1150中，如图T28.27所示。

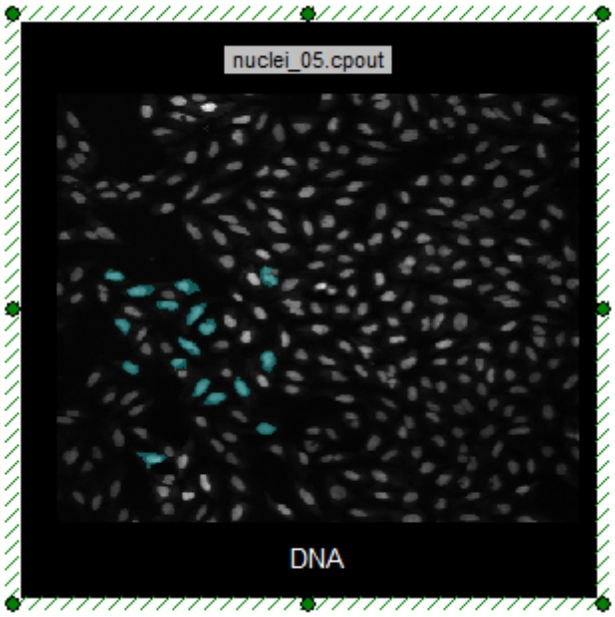


图T28.27 Drag and Drop a Gate to Another Plot (**把一个门拖到另一个绘图上**)

注意到现在仅仅在**Green Square(绿色矩形)**门中的细胞显示为蓝绿色。**DNA**图像绘图仅仅高亮显示蓝绿色门中的细胞，因为绿色方形门也应用到了该绘图上，现在绘图仅仅高亮显示既在蓝绿色门又在绿色门中的细胞(图T28.28a和b)。



图T28.28a Venn Diagram of Combined Green Square and Cyan Gates (绿色矩形门和蓝绿色门组合后的维恩图例)

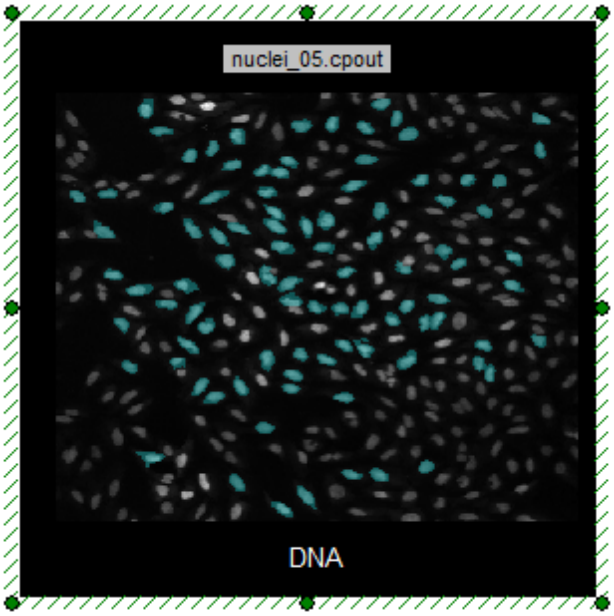


图T28.28b Highlighted Cells Are Within Combined Gates (高亮显示的细胞在组合门中)

58. 请按下CTRL+Z，取消把**Green Square(绿色矩形)**门应用于**nuclei_05.cpout**图像绘图上的操作。

59. 请把**Cyan Square(蓝绿色矩形)**门从细胞核图像点状图中移到**DNA**图像绘图上，重新把蓝绿色门应用到图像绘图上。

注意到在图像中仅仅门中的细胞可见(图T28.29)。(图像显示可能不会有什么改变，因为蓝绿色门在添加绿色门之前就被应用到绘图上了)

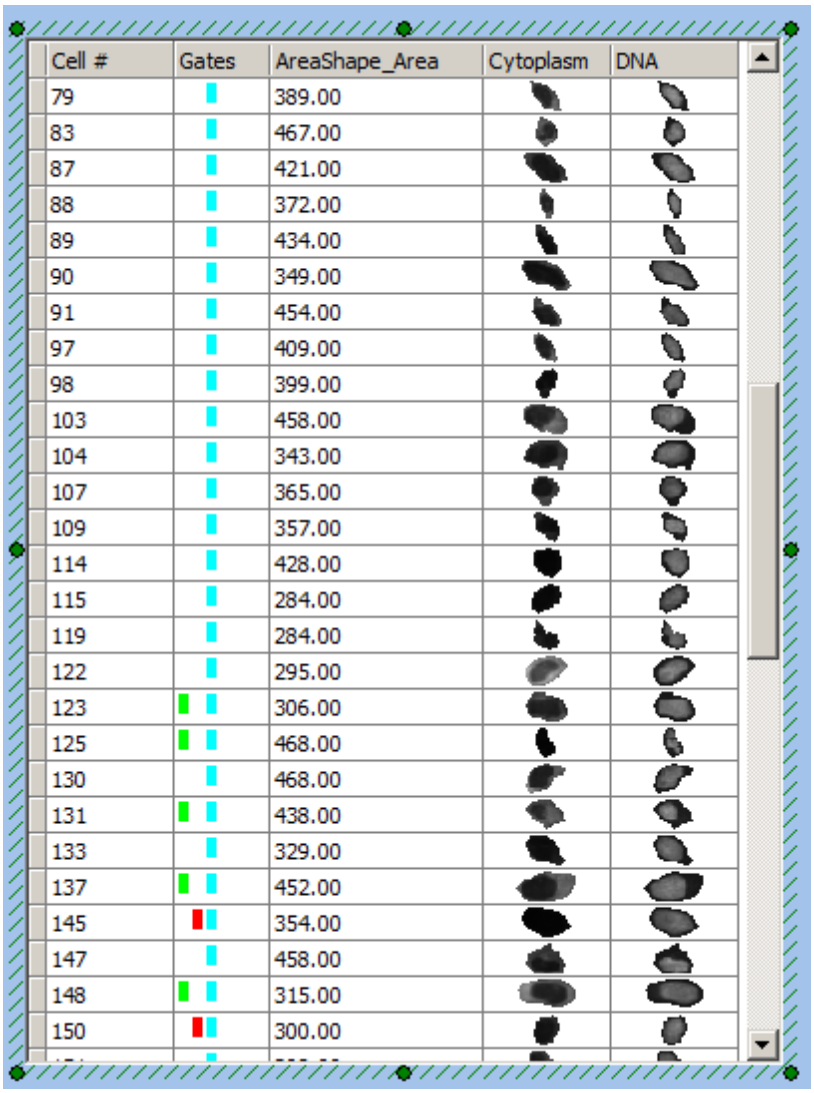


图T28.29 Cells within Cyan Gate Highlighted on Picture Plot (**图像绘图上蓝绿色门中的细胞被高亮显示**)

注意到数据网格831在显示细胞图像。细胞的图像在版面右侧提供了一个"Cell Gallery(细胞列表)"，显示图像中的所有细胞以及选定的参数数据。注意到一个细胞所在的门被显示在**Gates(门)**一列中，其标志为一个彩色矩形(见下方的T28.30)。

60. 请把**Cyan Square(蓝绿色矩形)**门从细胞核图像点状图中移到数据网格831上。

注意到数据网格831里的细胞列表现在仅仅显示**Cyan Square(蓝绿色矩形)**门中的细胞。那些既在**Cyan Square(蓝绿色矩形)**门中，也在**Green Square(绿色矩形)**和/ 或**Red Circle(红色矩形)**门中的细胞也被标注出来(你也许要向下翻才能看到它们)。注意 :你的数据网格831也许不会看起来完全和图T28.30中显示的一样，因为数据网格中的数据取决于演示版面中门的最后的位置。



Cell #	Gates	AreaShape_Area	Cytoplasm	DNA
79		389.00		
83		467.00		
87		421.00		
88		372.00		
89		434.00		
90		349.00		
91		454.00		
97		409.00		
98		399.00		
103		458.00		
104		343.00		
107		365.00		
109		357.00		
114		428.00		
115		284.00		
119		284.00		
122		295.00		
123		306.00		
125		468.00		
130		468.00		
131		438.00		
133		329.00		
137		452.00		
145		354.00		
147		458.00		
148		315.00		
150		300.00		

图T28.30 Example of Data Grid with Cyan Gate Applied (**应用了蓝绿色门的数据网格实例**)

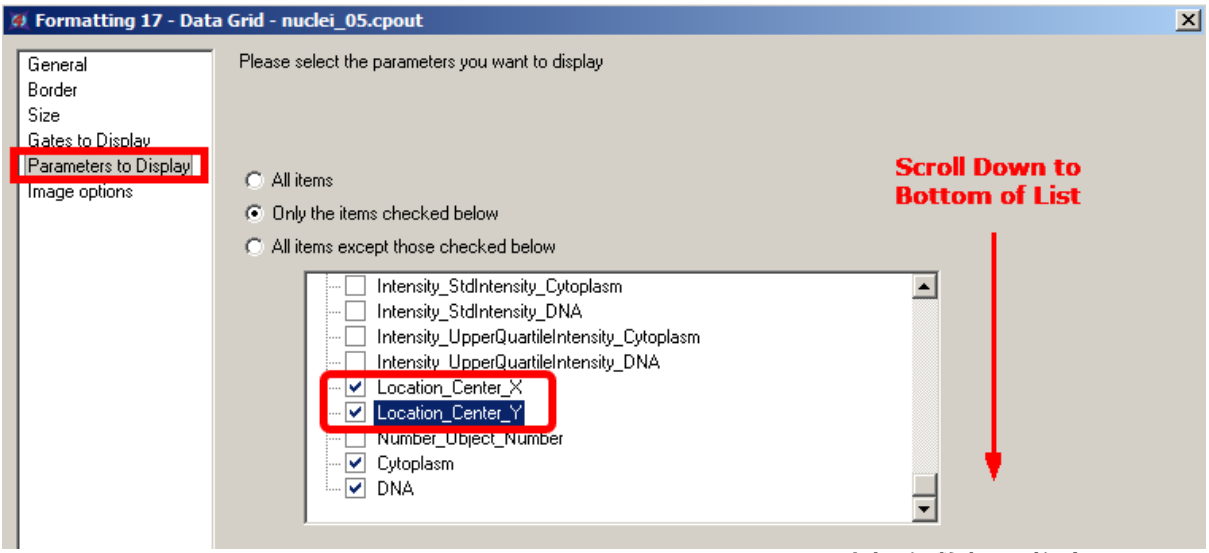
61. 请把**Cyan Square(蓝绿色矩形)**门移到**DNA**图像绘图上其它的位置并查看细胞列表中细胞的变化以及图像绘图的更新。

62. 请左键点击显示细胞列表的数据网格831, 将其选中。

63. 右键点击数据网格831, 然后选择**Format(格式)**, 打开细胞列表的格式化窗口。

64. 请点击**Parameters to Display(要显示的参数)**。

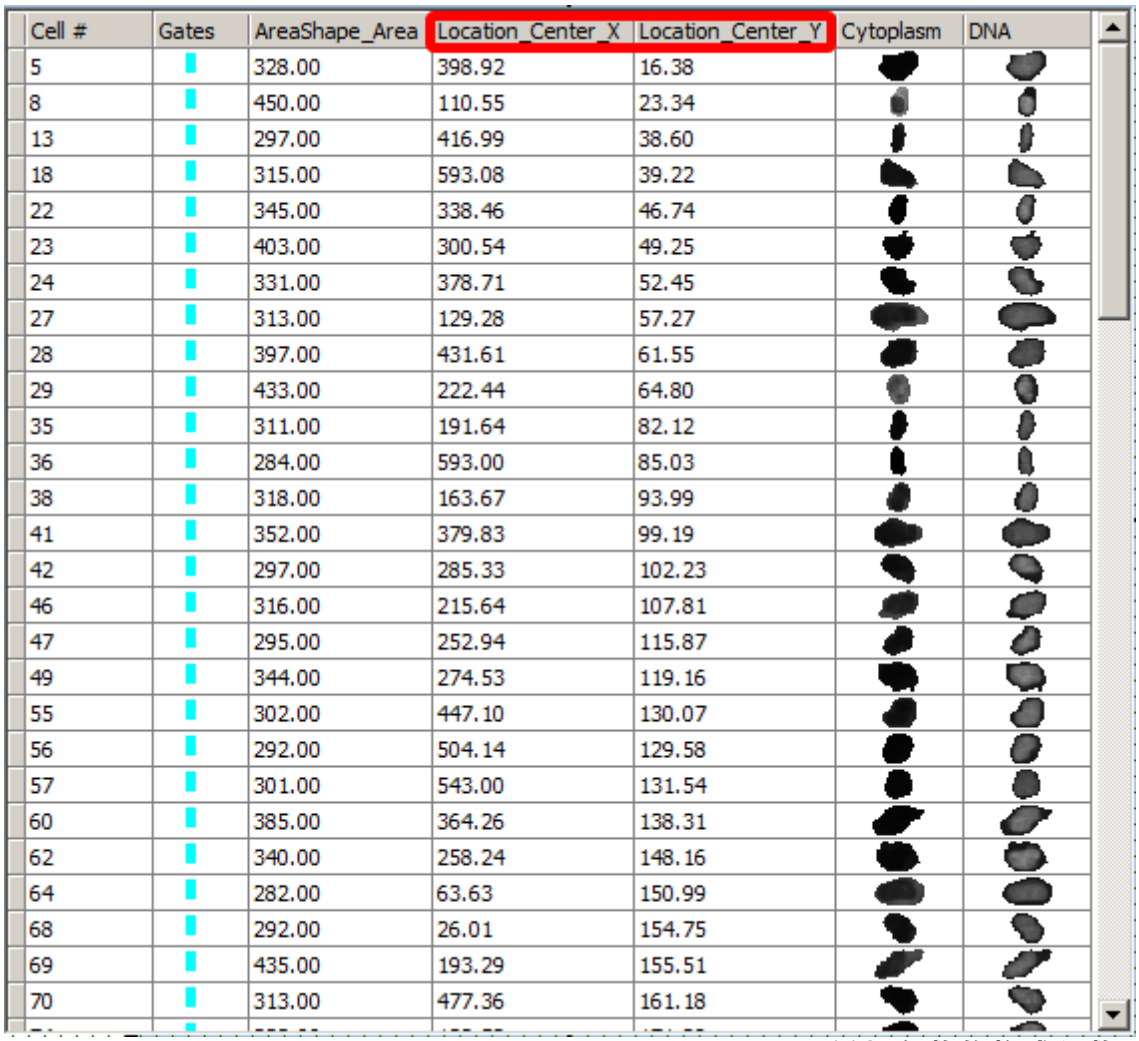
65. 请向下翻，点击**Location_Center_X** 以及**Location_Center_Y** 旁边的复选框，把它们显示在细胞列表中(图T28.31)。



图T28.31 Selecting Parameters to Display in Data Grid (**选择在数据网格中要显示的参数**)

66. 请点击**OK**。

注意到细胞列表现在已经显示刚刚选择的变量。请放大数据网格的大小，查看所有内容。如果列标题过长，你可以扩展列宽。这些细胞图像被显示出来是因为列表底部的**Cytoplasm(细胞质)**以及**DNA**图像名旁边的复选框被选中了(图T28.32)。我们在以后将把向数据网格中添加细胞图像这一操作称为向数据网格中添加一个"Cell Gallery(细胞列表)"。



Cell #	Gates	AreaShape_Area	Location_Center_X	Location_Center_Y	Cytoplasm	DNA
5		328.00	398.92	16.38		
8		450.00	110.55	23.34		
13		297.00	416.99	38.60		
18		315.00	593.08	39.22		
22		345.00	338.46	46.74		
23		403.00	300.54	49.25		
24		331.00	378.71	52.45		
27		313.00	129.28	57.27		
28		397.00	431.61	61.55		
29		433.00	222.44	64.80		
35		311.00	191.64	82.12		
36		284.00	593.00	85.03		
38		318.00	163.67	93.99		
41		352.00	379.83	99.19		
42		297.00	285.33	102.23		
46		316.00	215.64	107.81		
47		295.00	252.94	115.87		
49		344.00	274.53	119.16		
55		302.00	447.10	130.07		
56		292.00	504.14	129.58		
57		301.00	543.00	131.54		
60		385.00	364.26	138.31		
62		340.00	258.24	148.16		
64		282.00	63.63	150.99		
68		292.00	26.01	154.75		
69		435.00	193.29	155.51		
70		313.00	477.36	161.18		

图T28.32 Formatted Data Grid With Added Parameters (**添加参数的格式化数据网格**)

67. 请关闭版面，**请不要**保存修改。

注: 要想更多地了解门操作选项，请参见"门操作181"教程。

下一节1236

36.28.2 *使用大量数据模块处理图像数据*

在这一节中，我们将学习如何:

- 导入一个"96孔板细胞核易位实验"版面
- 查看版面，用图像绘图以及点状图查看对照细胞孔结果。

- 使用热图并以细胞板视图的方式来查看细胞的关键性参数
- 使用多个热图和数据网格来在报表中显示结果
- 为细胞核易位实验优化门设置
- 了解FCS Express 4中的"Tokens(标记)"可以如何被用在报表中
- 创建和操纵一个数据网格来显示"Cell Gallery(细胞列表)"

我们将使用位于教程样本数据库510中的 "**IntroToImage3.fey**"版面。该版面包含了一个详细的预先设置好的模板。如果你不太熟悉FCS Express 4 Image Cytometry，请先阅读本教程中的开始使用Image Cytometry1207一节。

第1部分：使用高涵量模块进行数据分析时对图像进行门操作的方法

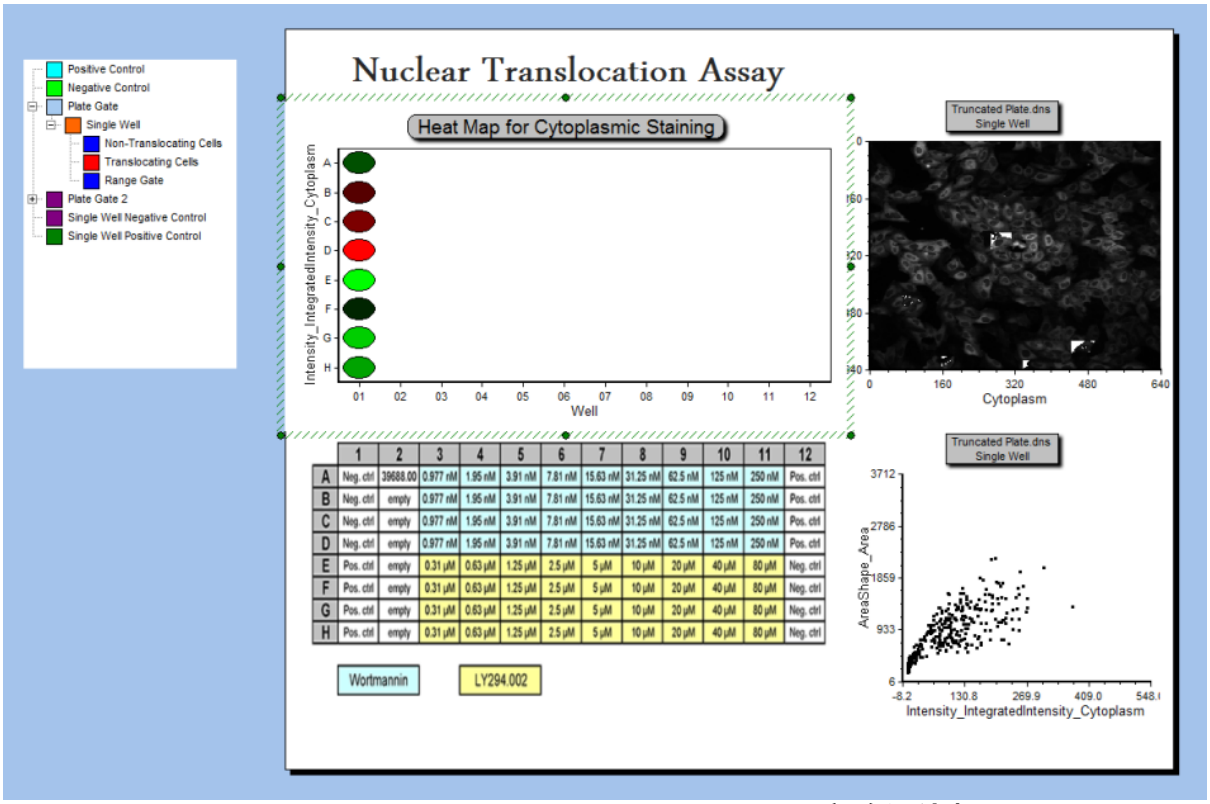
图像细胞分析常常针对从玻片或多孔细胞板上获取的多个图像以便考察不同的实验条件、所加化学药品以及多个样本源。在多个条件下进行的细胞成像研究常常被称为"高涵量分析"。针对FCS Express的**High Content Add-on(高涵量插件)**可以让用户在热图432上操作和查看从多个样本获取的数据。这类数据常常是从多孔细胞板(6孔到1536孔板)上获取的。热图可以把从细胞孔中测量出的细胞参数显示为一个颜色图。

因为原始数据集过大，我们在本节中提供的例子不会包括所有细胞孔对应的数据。如果你想对整个数据集进行操作，或者创建自己的数据集，请访问**CellProfiler导出**教程中的导出96孔格式图片1087一节。那节中的教程提供了一个原始数据集(一个完整的CellProfiler管道)的链接，教程中还讲解了如何在FCS Express 4 Image Cytometry中导入和查看数据。

1. 请从教程样本数据库510中导入**IntroToImage3.fey**版面。

请确保你查看的是**Experiment Design(实验设计)**页面。这页包含了在一个96孔板上进行的细胞核易位实验数据。页面上一个热图432以细胞板的方式，把Y-轴参数(在本例中为**Intensity_IntegratedIntensity_Cytoplasm**参数)以绿(低)到红(高)的颜色频谱显示出来。

在热图432下方是一个细胞板图，显示了在每个细胞孔中添加的化学药品(图T28.33)。第1列包含了4个条件完全相同的阴性对照以及4个条件完全相同的阳性对照细胞孔。右上方的图像绘图1150显示了 细胞孔A-01中的细胞质染色图像。它下方的点状图525是细胞面积对综合细胞质强度作图。最左边的"Gate View(门视图)189"显示了在本版面中用到的所有预先定义好的门。我们在本节教程中不会涉及到所有门，但当你想针对本版面做进一步练习时，这些门可能会很有用。



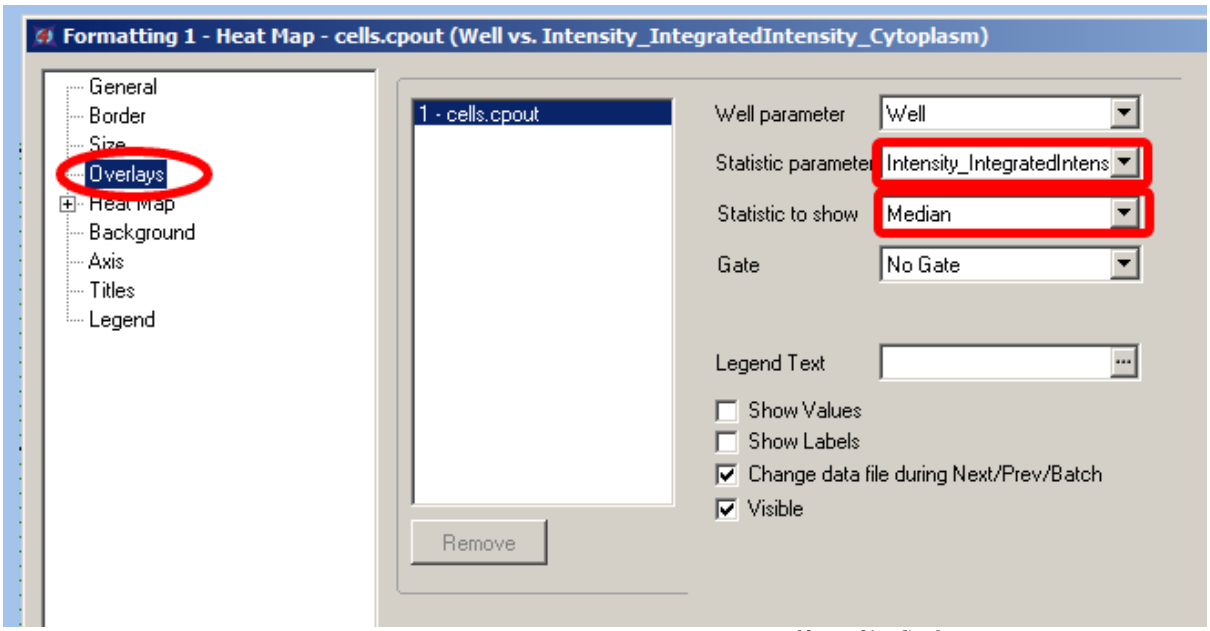
图T28.33 The Experiment Design Layout Page (**实验设计版面页**)

2. 请右键点击热图[432]。

3. 请选择**Format(格式)**。

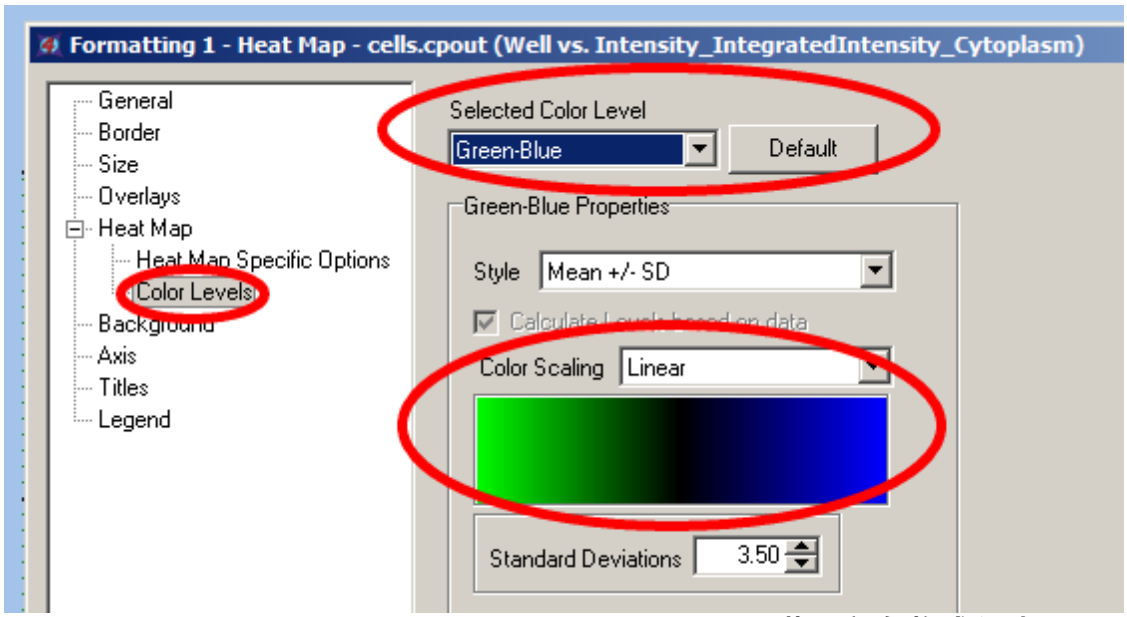
4. 请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项(图T28.34)。

注意到你可以通过修改**Statistic parameter(统计参数)**选项来选择在热图上显示的参数，你也可以通过修改**Statistic to show(要显示的统计)**选项来决定显示哪个统计数据。在本例中我们在绘图上显示的是所有细胞的**Median(中间值)**。请看一下变量选项，但请不要修改**Intensity_IntegratedIntensity_Cytoplasm**。



图T28.34 Format Options for Heat Map (**热图格式选项**)

5. 请左键点击Heat Map(热图)旁边的"+ ",展开热图显示选项(图T28.35)。



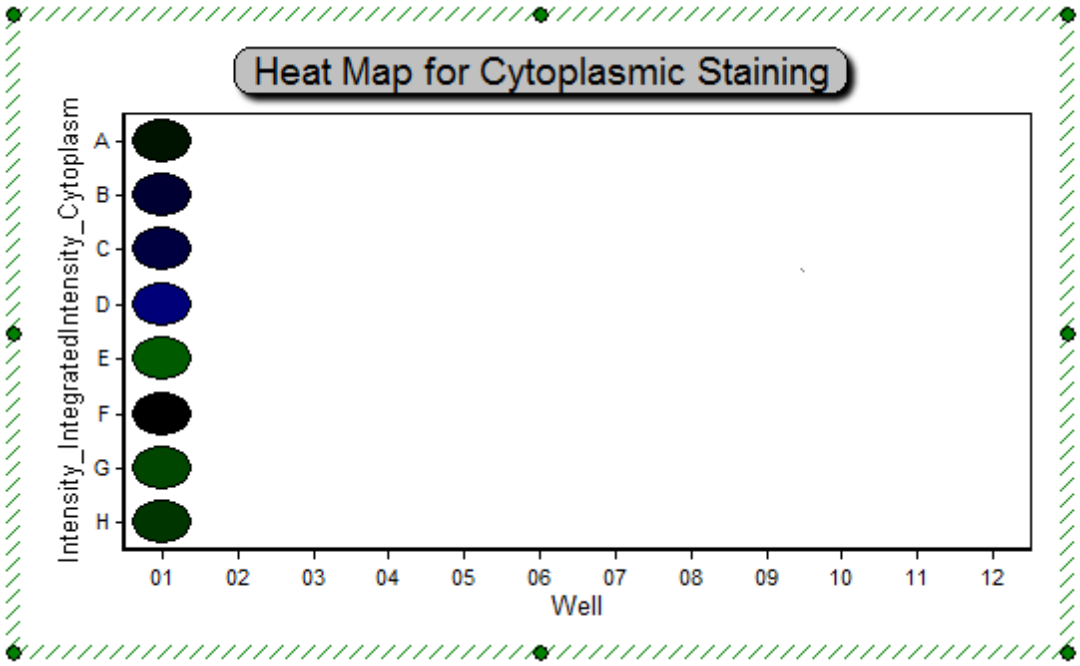
图T28.35 Color Formatting Option for Heat Maps (**热图颜色格式化选项**)

6. 请选择**Color Levels(颜色层次)**类别选项。

这个类别选项让你可以设置在热图上使用的颜色方案。注意到你可以通过**Selected Color Level(选中的颜色层次)**下拉菜单选择颜色方案，通过**Style(样式)**下拉菜单选择颜色显示格式化类型 ;你同时可以选择以**linear(线性)**还是**logarithmic(对数)**的方式显示**Color Scaling(颜色范围)**。

7. 请把**Selected Color Level(选中的颜色层次)**改为**Green- Blue(绿- 蓝)**。

8. 请点击**OK**。这时的热图应该看起来如图T28.36所示。

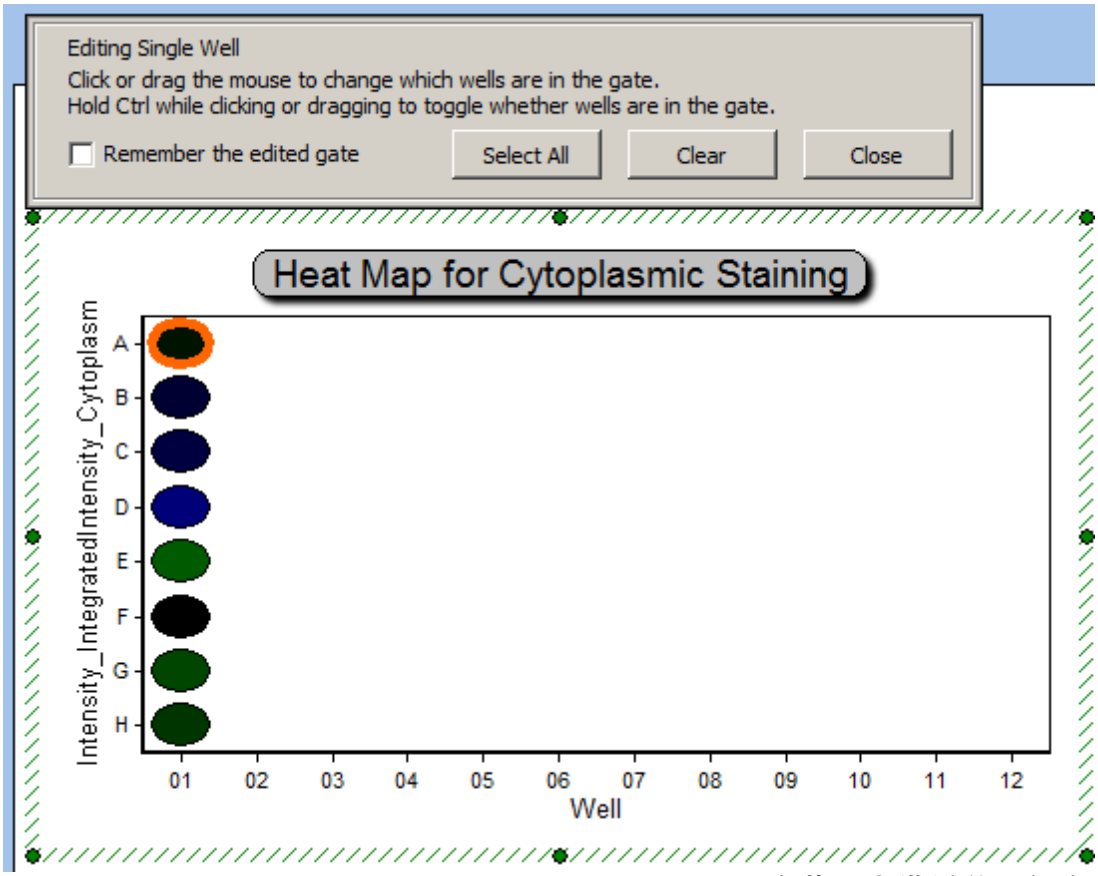


图T28.36 Green-Blue Scaled Heat Map (**绿-蓝热图**)

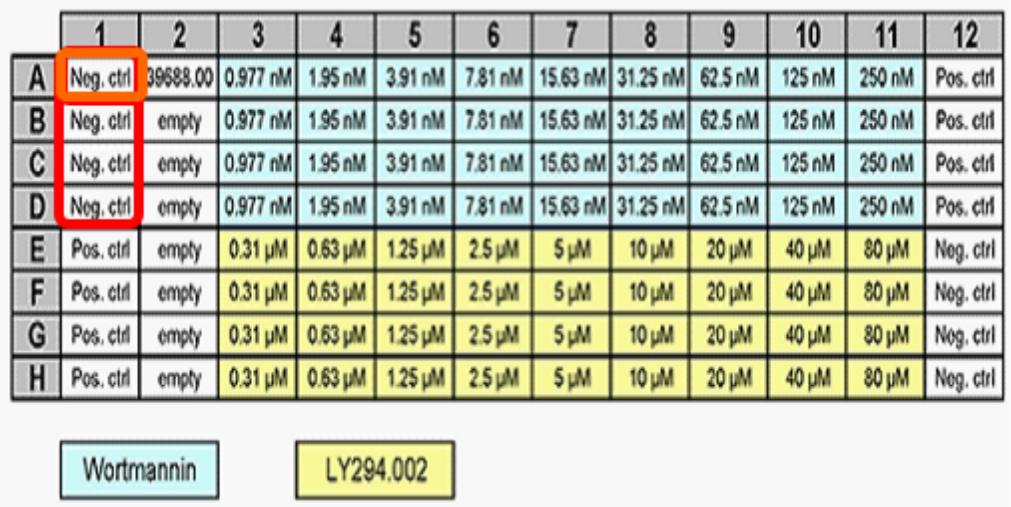
9. 请右键点击热图[432]。

10.请从弹出菜单上选择**Edit Gate(编辑门)→Single Well(单细胞孔)**。

这将允许我们编辑前面创建的"单细胞孔"门。注意到在热图的A- 01孔上出现一个橙色的圆圈(图T28.37a)，表明细胞孔A- 01是唯一的一个"单细胞孔"门。对照一下细胞板图，你将会发现这个孔是四个阴性对照孔之一(图T28.37b)。



图T28.37a Activating Single Well Gate on Heat Map (**在热图上激活单孔细胞门**)



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Neg. ctrl	39688.00	0.977 nM	1.95 nM	3.91 nM	7.81 nM	15.63 nM	31.25 nM	62.5 nM	125 nM	250 nM	Pos. ctrl
B	Neg. ctrl	empty	0.977 nM	1.95 nM	3.91 nM	7.81 nM	15.63 nM	31.25 nM	62.5 nM	125 nM	250 nM	Pos. ctrl
C	Neg. ctrl	empty	0.977 nM	1.95 nM	3.91 nM	7.81 nM	15.63 nM	31.25 nM	62.5 nM	125 nM	250 nM	Pos. ctrl
D	Neg. ctrl	empty	0.977 nM	1.95 nM	3.91 nM	7.81 nM	15.63 nM	31.25 nM	62.5 nM	125 nM	250 nM	Pos. ctrl
E	Pos. ctrl	empty	0.31 µM	0.63 µM	1.25 µM	2.5 µM	5 µM	10 µM	20 µM	40 µM	80 µM	Neg. ctrl
F	Pos. ctrl	empty	0.31 µM	0.63 µM	1.25 µM	2.5 µM	5 µM	10 µM	20 µM	40 µM	80 µM	Neg. ctrl
G	Pos. ctrl	empty	0.31 µM	0.63 µM	1.25 µM	2.5 µM	5 µM	10 µM	20 µM	40 µM	80 µM	Neg. ctrl
H	Pos. ctrl	empty	0.31 µM	0.63 µM	1.25 µM	2.5 µM	5 µM	10 µM	20 µM	40 µM	80 µM	Neg. ctrl

Wortmannin LY294.002

图T28.37b Compound Map For 96-Well Plate (96**孔板上使用的化学试剂**)

11.请点击**B- 01孔**(另外一个阴性对照孔)。

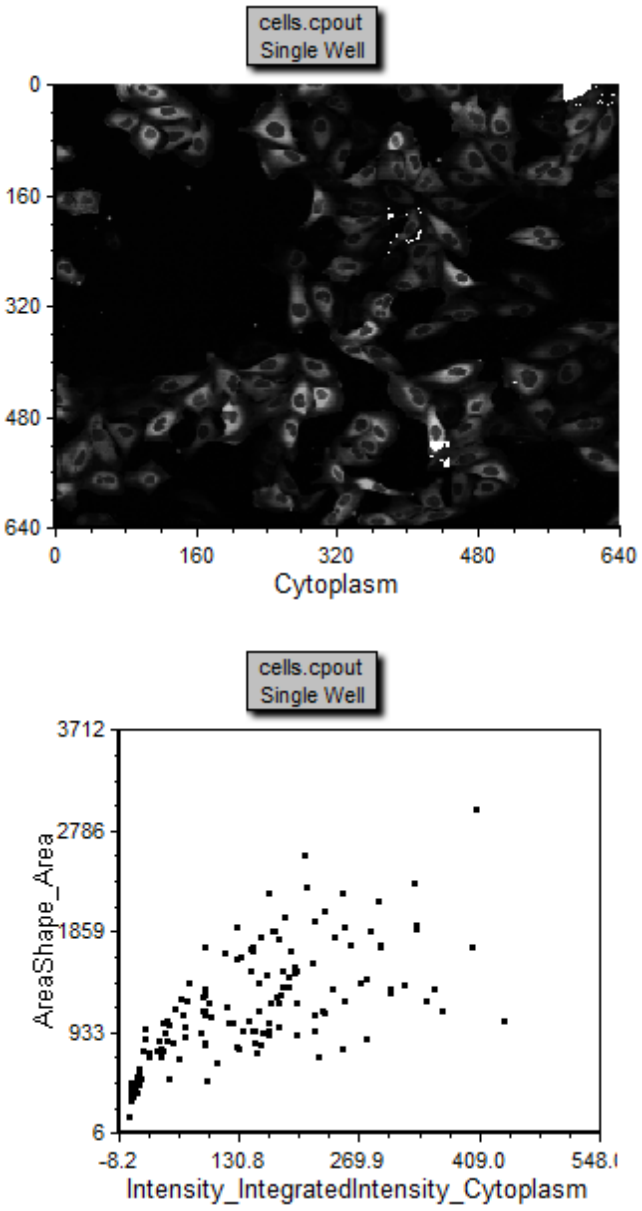
点击**B- 01孔**后，你就把"**单细胞孔**"门改到了只包括**B- 01孔**数据，而不再包括**A- 01孔**数据。

注意到图像绘图和点状图都进行了相应的更新来显示**B- 01孔**对应的图像和数据(图T28.38a)。

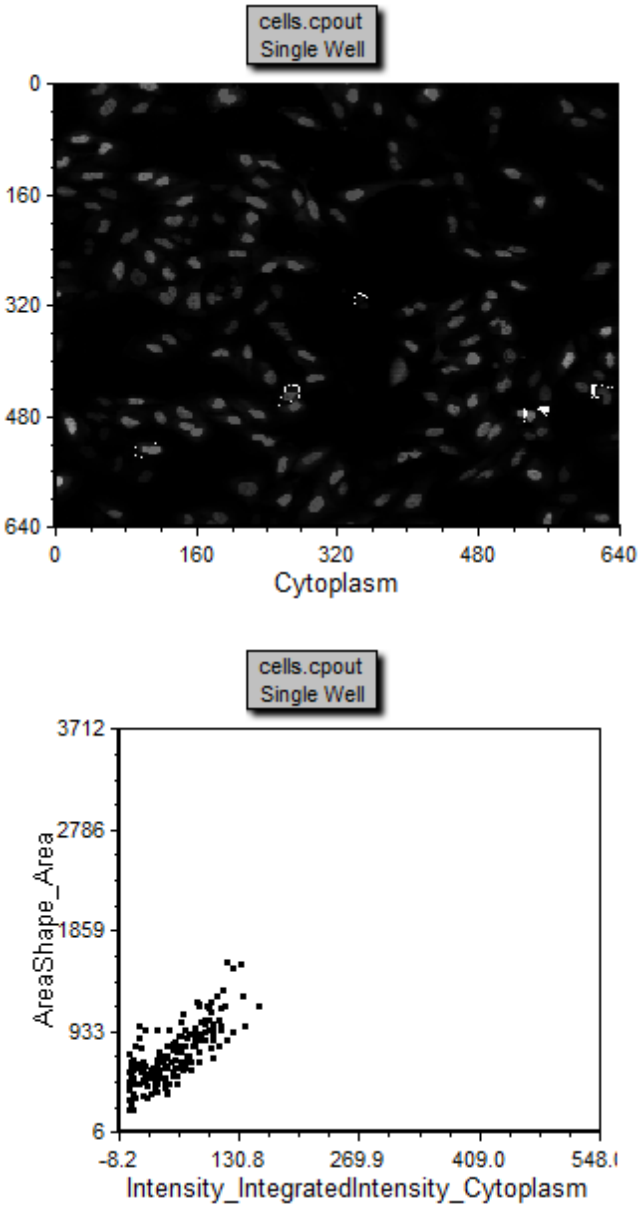
12.请点击**E- 01孔** (阳性对照)。注意到图像绘图和点状图都进行了相应更新来显示**E- 01孔**对应的图像和数据(图T28.38b)。

注意到**E- 01孔**图像中的细胞核的染色浓度更高。注意到点状图分布也显示细胞质的染色也较靠近荧光强度小的区域。该结果说明荧光剂从细胞质移向了细胞核。这些在分布上的改变可以用来帮助创建门。

B- 01孔(阴性对照) **E- 01孔(阳性对照)**



图T28.38a Well B-01 (B-01**孔**)

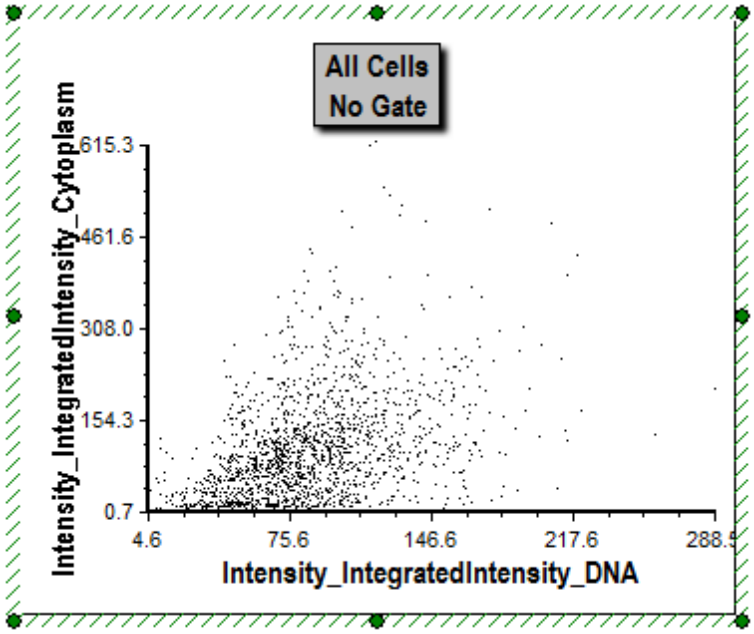


图T28.38b Well E-01 (E-01**孔**)

选择最优化的参数

13.请选择**Choosing Parameters(选择参数)**页面。

注意到在本页有三个点状图。最上面的点状图"**All Cells No Gate(所有细胞，没有门)**"显示所有细胞的分布，是**Intensity_IntegratedIntensity_Cytoplasm**对**Intensity_IntegratedIntensity_DNA**作图。在这一绘图上，细胞分布较为分散(图T28.39)。



图T28.39 Choosing Parameters Using a Dot Plot (**使用点状图选择参数**)

14.请右键点击点状图"**All Cells No Gate(所有细胞，没有门)**"。

15.请选择**Format(格式)**。

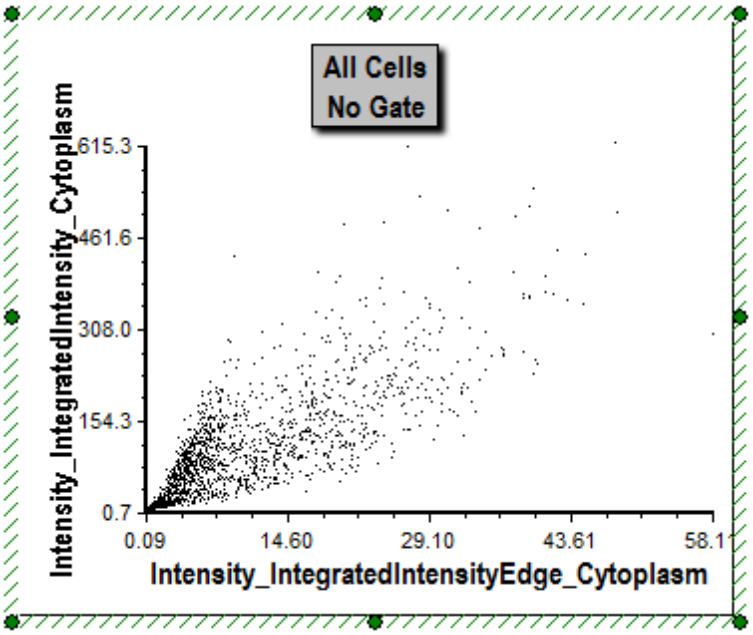
16.请选择**Overlays(叠加图层)**类别选项。

17.请把**X Parameter(X参数)**修改为

Intensity_IntegratedIntensityEdge_Cytoplasm。

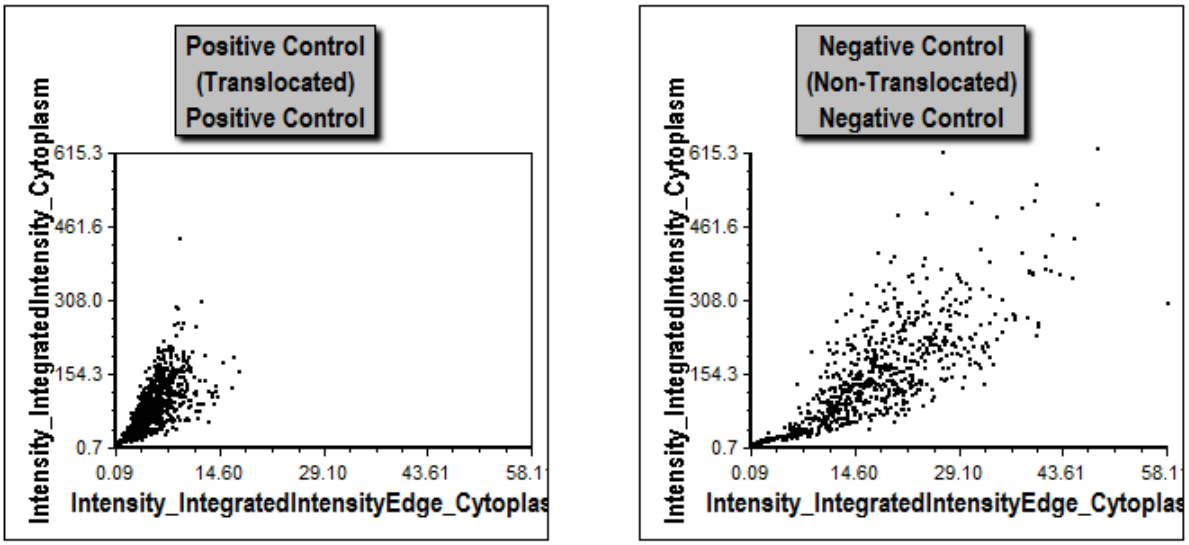
18.请点击**OK。**

请查看下面的图T28.40。注意到该绘图是细胞板上第一列中所有细胞的分布。这对于创建门来说再好不过，因为阳性对照与阴性对照有着明显的区分。阳性对照细胞集中在绘图的原点处(图T28.40)。我们已经确定了两个参数来把阳性对照与阴性对照分离开来。在蛋白质从细胞质转移到细胞核过程中，细胞质的外缘改变最大。因此，比较细胞质外缘荧光强度与整个细胞质荧光强度的变化是蛋白质向细胞核转移的很敏锐的一个因子。我们将在本节教程剩下的部分使用一些参数的组合。



图T28.40 Choosing Alternate Parameters (**选择其它的参数**)

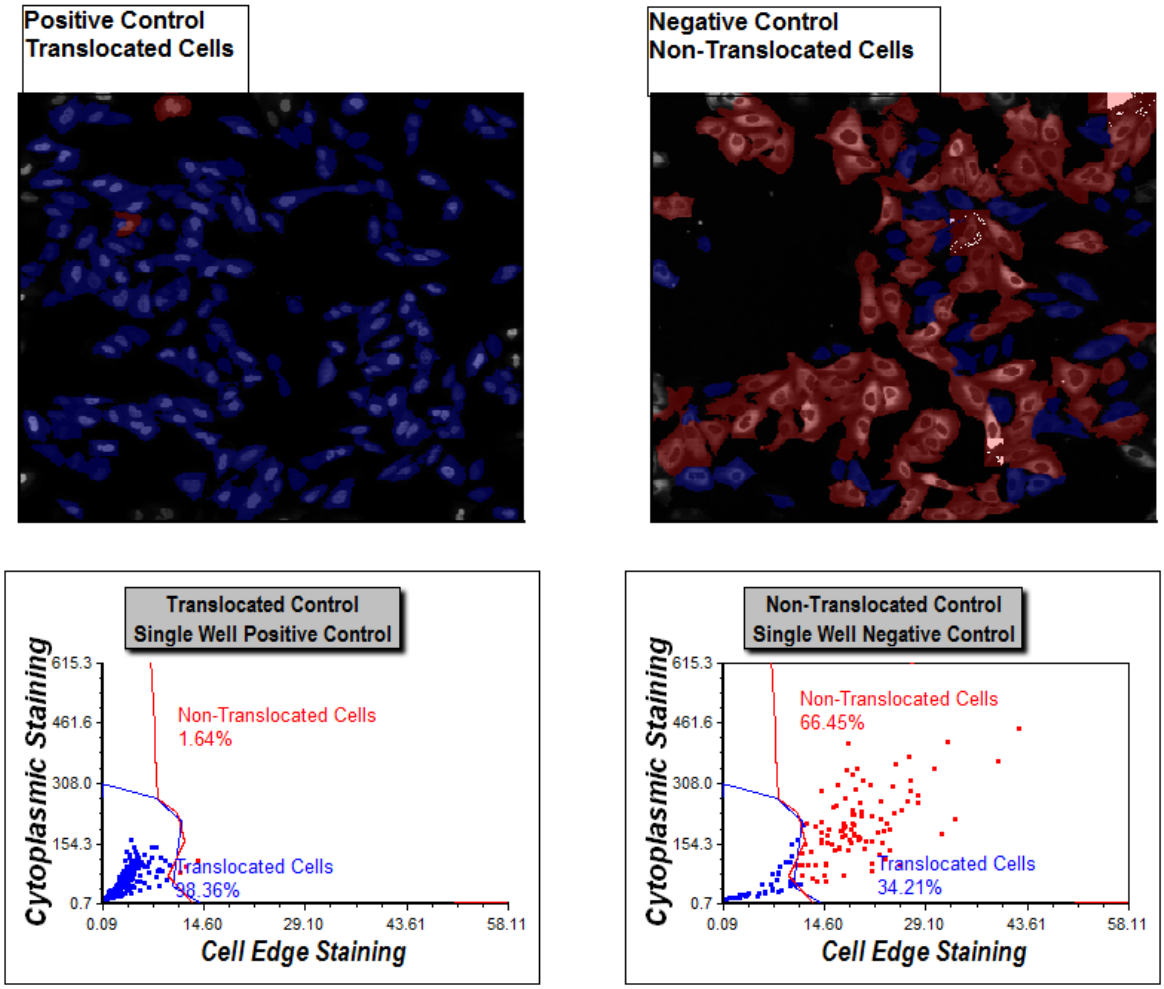
注意到下面的两个点状图(图T28.41)分别显示阳性细胞以及阴性细胞，我们看到它们有完全不同的细胞群分布特征。这些分布特征已经被用来定义门了。



图T28.41 Comparison of Distributions of Positive and Negative Control Cells (**比较阳性和阴性对照细胞分布**)

19.请选择**Applying Gates(应用门)**页面。

注意到在图T28.42中分别显示了阳性和阴性对照孔的图像绘图，与它们对应的点状图在它们的下方。红色的**Non- Translocated Cells(未发生核易位的细胞)**门以及蓝色的**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**门应用在了两个点状图上。



图T28.42 Display of Gates on Dot Plots and Gated Cell in Picture Plots (**点状图上的门以及图像绘图中的在门里的细胞**)

请仔细看一下图像绘图，你会看到红色的细胞和蓝色的细胞在形态上非常不同。仔细看一下点状图。你会看到阳性对照与阴性对照孔的点状图都应用了**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**门以及**Non- Translocated Cells(未发生核易位的细胞)**门。这两个门的设置首先参考了**Choosing Parameters(选择参数)**页面上的分布；同时门的设置也建立在对本页上的图像绘图的考察基础上，以便确保门中的细胞有着正确的形态。图像绘图应用了后置门，把**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**以及**Non- Translocated(未**

发生核易位的细胞)分别标记为蓝色与红色。注意到每个门中的细胞百分比都以文本框的方式显示在了绘图上。在左边的阳性对照图像绘图中有98.36%的细胞为**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**(蓝色)，只有1.64%的细胞为**Non- Translocated Cells(未发生核易位的细胞)**(红色)。**Non- Translocated Cells(未发生核易位的细胞)**门仍然有明显的细胞质边界染色，尽管它们在阳性对照细胞孔中。

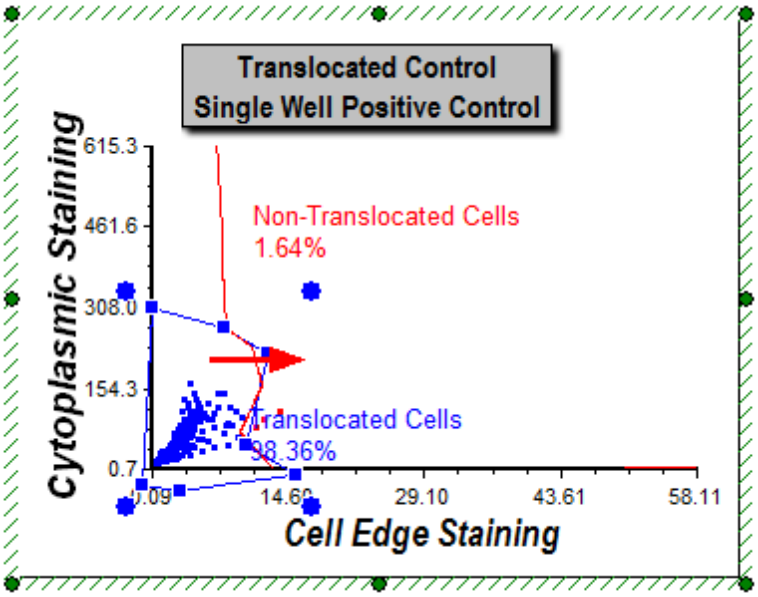
在**Non- Translocated(未发生核易位)**的图像绘图中，66.45%的细胞在**Non-Translocated(未发生核易位)**门中，在图像中它们主要表现为细胞质染色，细胞核染色几乎没有。34.21%的细胞在**Translocated Cells(发生了核易位)**的门中。这些结果对于对照来讲都是在预期范围内的，因为驱动核易位的化学物质可以说是几乎100%有效，尽管在阴性对照中仍有自动激活核易位的现象，那里我们看到了不少的发生了核易位的细胞。使用这一选择门操作的方法，我们可以在接下来的分析中、在基于单个细胞的基础上解释阴性对照样本里的自动激活现象。分析这些亚细胞群可以帮助提高实验的质量。

注: 在本例中，**Translocated Cells(发生了核易位)**以及**Non- Translocated(未发生核易位)**门的名字既显示在了点状图上，也显示在了门中细胞的**百分比**附近。这在FCS Express中可以用"Tokens(标记)[607]"很容易地做到。 标记[607]非常方便，它让你可以在文本框中插入统计信息(以及其它很多信息) ;它可以放在页面上，也可以放在绘图上。 标记[607]可在版面上的很多位置上显示从版面上其它地方获取的信息。当一个门的位置改变时或者导入新的数据组时，标记[607]的文本或数值会自动更新。我们不会在此详细讨论标记[607]。要想更多地了解创建和使用"标记[607]"，请查看"文本框和标记[287]"教程，或者请查看"使用标记[286]"部分的教程。

20.请点击点状图上的蓝色**Translocated Cells(发生了核易位)**细胞门，将其选中。

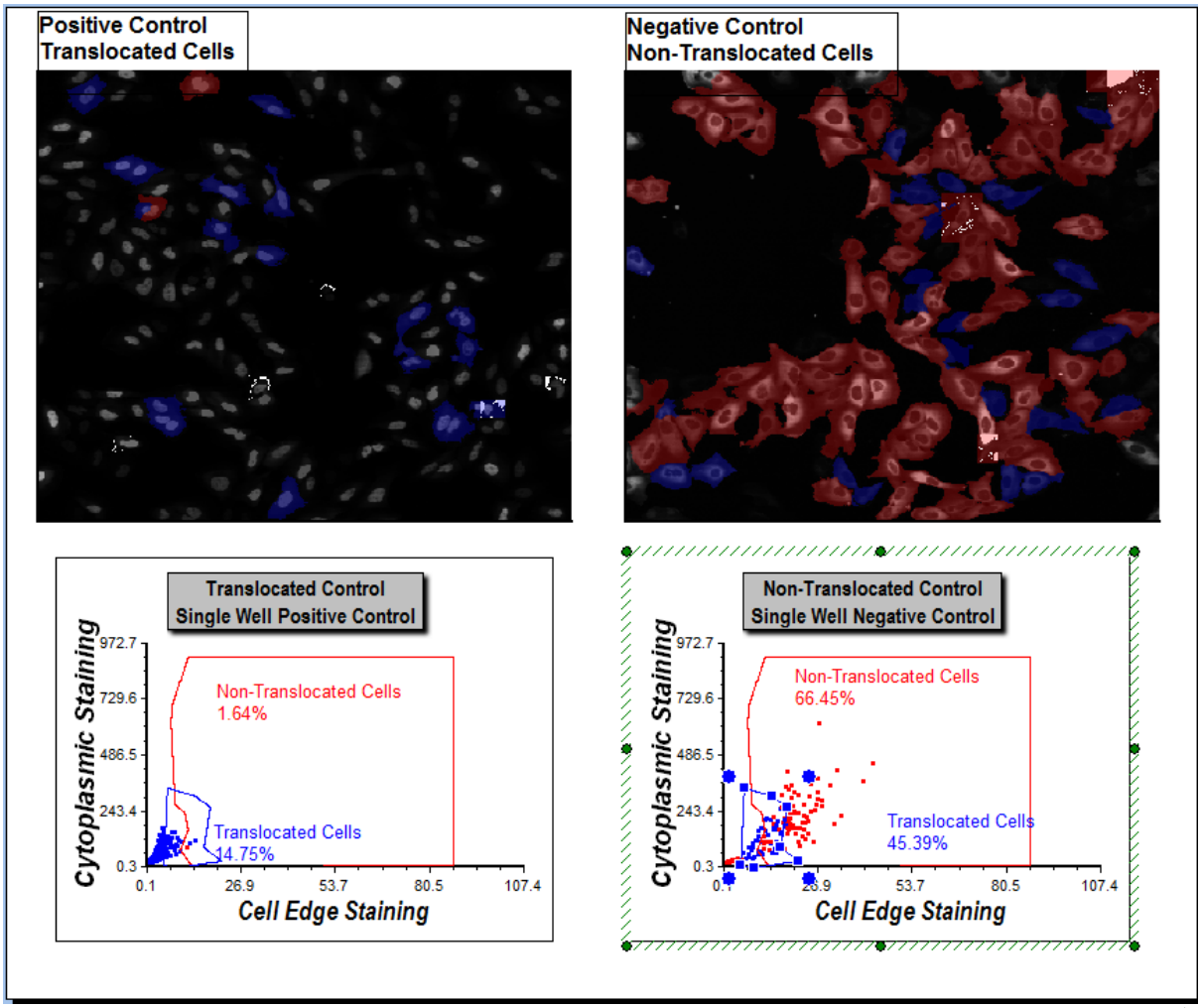
21.按住鼠标不放，请把门稍微向右移动一点(图T28.43)。

22.当把门移动到一个选定的新位置后，请松开鼠标键。



图T28.43 Moving the Translocated Cells Gate (**移动发生了核易位的细胞门**)

注意到后置门已经进行了调整，根据门的新位置来显示细胞的颜色(图T28.44)。没有在任何门中的细胞不会有任何颜色。注意到所有绘图以及针对门的统计都进行了更新。注意: 你的版面也许看起来不完全像图T28.44，因为你可能没有把**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**门完全按照本例移动。



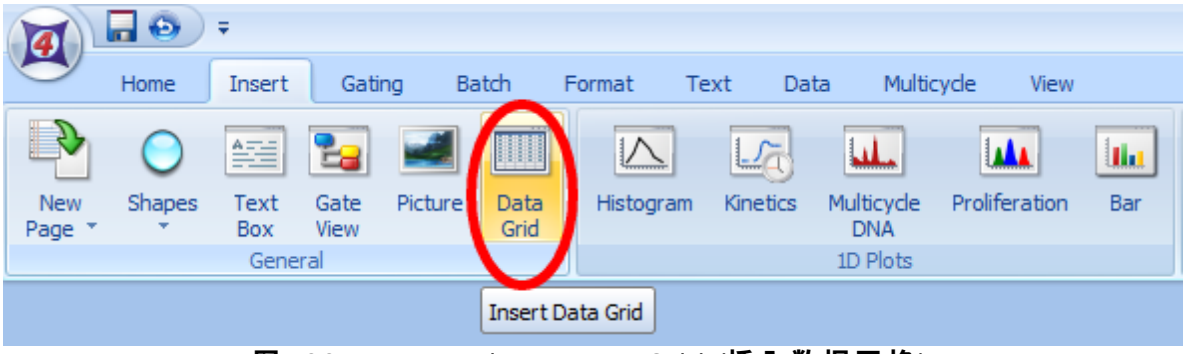
图T28.44 All Plots Update Following Repositioning of Translocated Cells Gate (**所有绘图根据发生了核易位的细胞门的移动而进行了更新**)

23.请按下CTRL+ Z，取消对门的移动。

第2部分：使用数据网格来创建细胞列表视图

24.请选择**Insert Tab(插入标签卡)→General(常规)→Data Grid(数据网格)** (图T28.45)。

25.请把**Data Grid(数据网格)**插入版面中的空白处。

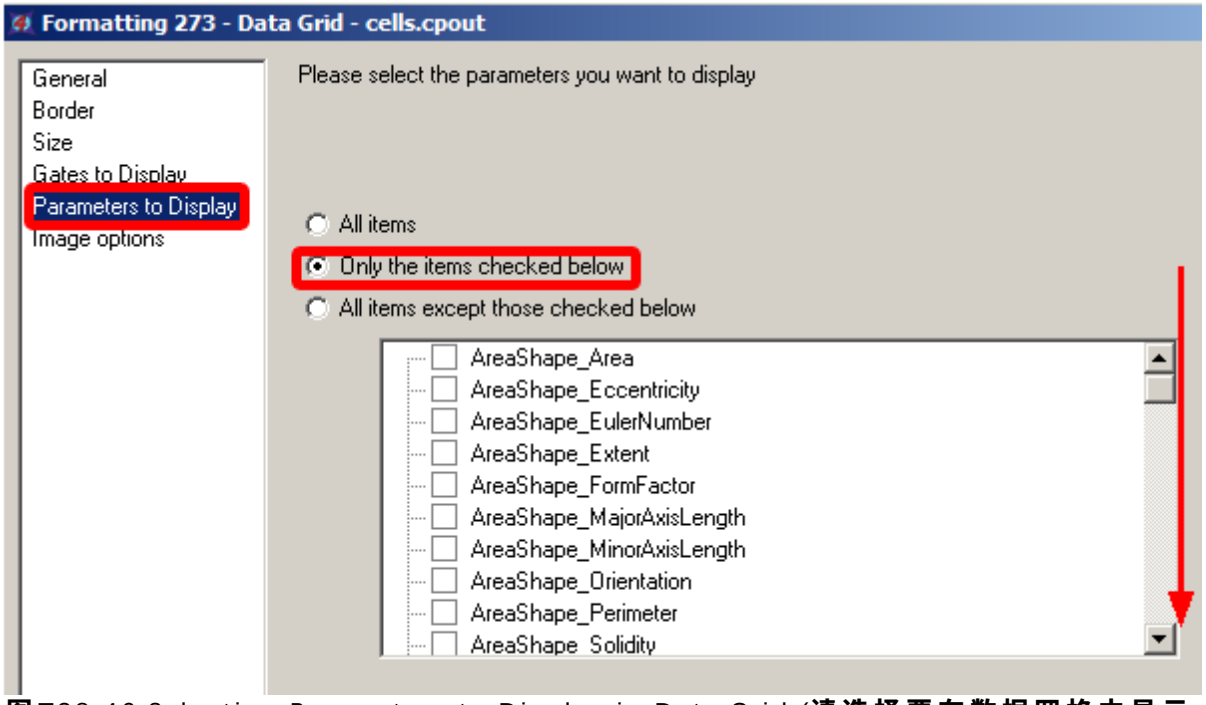


图T28.45 Inserting a Data Grid (**插入数据网格**)

26.请右键点击**Data Grid(数据网格)**。

27.请选择**Format(格式)**。这时会出现**Formatting(格式化)**对话框(图T28.46)。

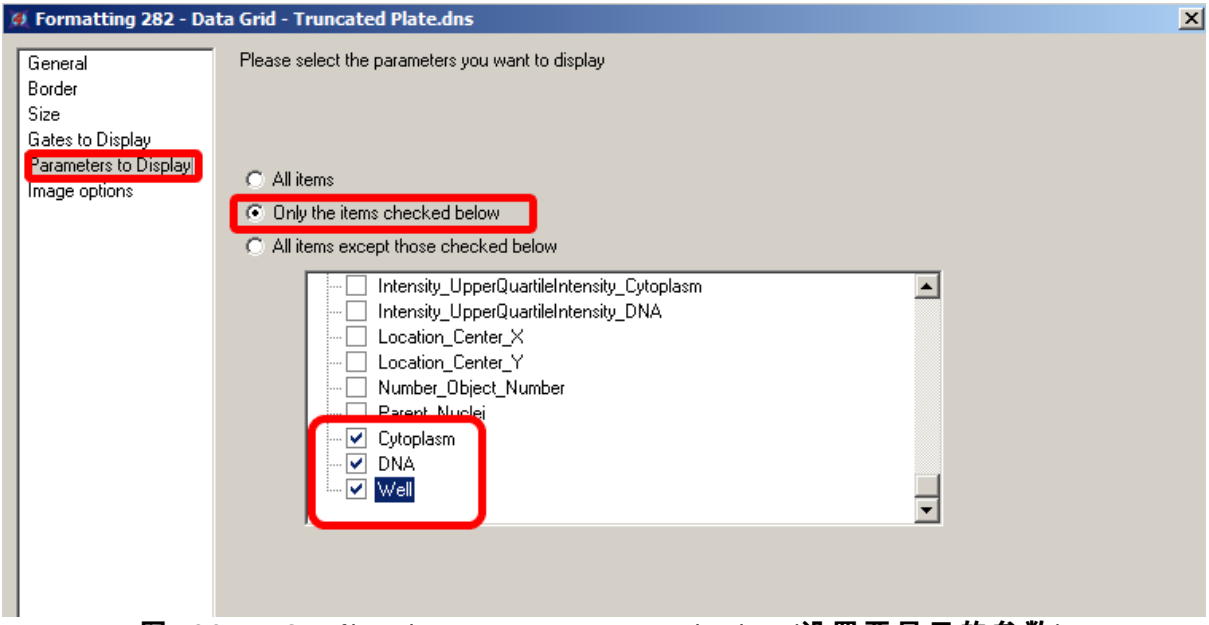
28.请选择**Parameters to Display(要显示的参数)**类别选项。



图T28.46 Selecting Parameters to Display in Data Grid (**请选择要在数据网格中显示的参数**)

29.请选择单选按钮来显示"**Only the items checked below(仅限在下方选中的项目)**"。

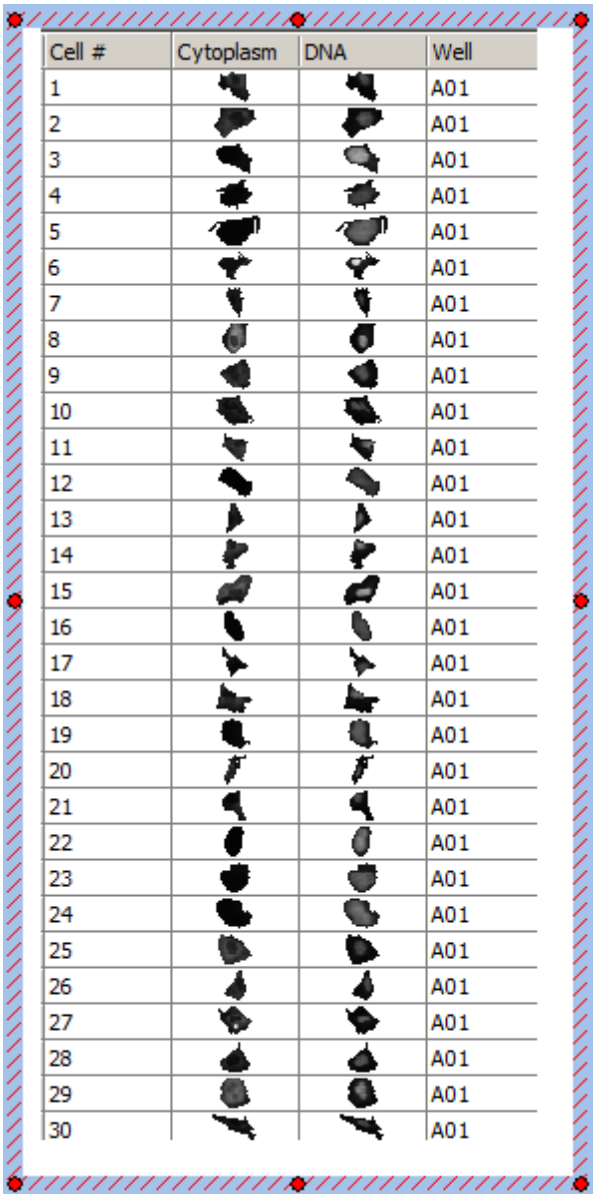
30.向下翻动到列表底部，勾选以下项目旁边的复选框: **Cytoplasm(细胞质)、DNA和Well(细胞孔)** (图T28.47)。



图T28.47 Configuring Parameters to Display (**设置要显示的参数**)

31.请点击**OK**。

你现在将会看到一个数据网格，显示细胞的图像以及它们的参数信息。我们将把这一关于数据网格的设置称为包括一个"Cell Gallery(细胞列表)"显示(见图T28.48)。



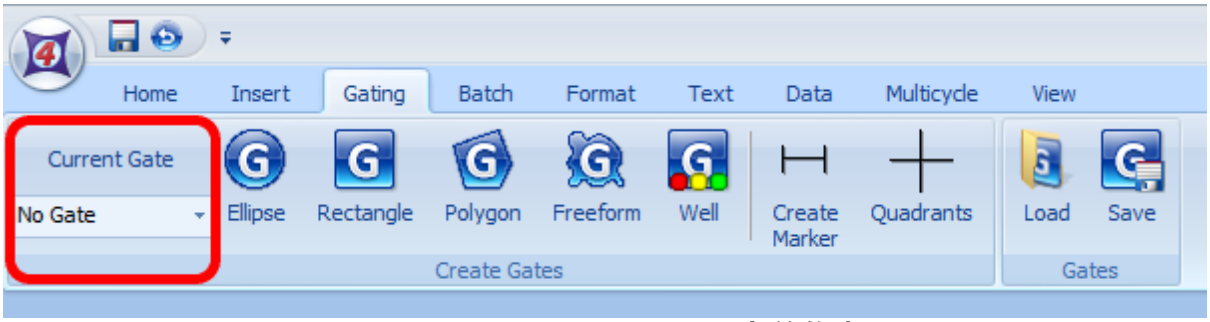
Cell #	Cytoplasm	DNA	Well
1			A01
2			A01
3			A01
4			A01
5			A01
6			A01
7			A01
8			A01
9			A01
10			A01
11			A01
12			A01
13			A01
14			A01
15			A01
16			A01
17			A01
18			A01
19			A01
20			A01
21			A01
22			A01
23			A01
24			A01
25			A01
26			A01
27			A01
28			A01
29			A01
30			A01

图T28.48 Data Grid Configured to Display Cell Images in a Cell Gallery (**数据网格被设置为在细胞列表中显示细胞图像**)

32.请点击显示细胞列表的数据网格的边缘，确保将其选中。这时会出现一个红色的边框，表示列表被选中。

33.请选中**Gating(门操作)**标签卡。请观察左边的**Current Gate(当前门)**字段，它现在显

示为"**No Gate(没有门)**" (图T28.49)。这表明所有8个细胞孔中的细胞都在数据网格中显示出来，没有事件被划到任何的门中。



图T28.49 Current Gate Display (**当前的门显示**)

34.请在**Current Gate(当前门)**菜单中选中**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**门。请观察有细胞列表的数据网格进行了更新来显示那些发生了核易位的细胞。

35.请在**Current Gate(当前门)**菜单中选择**Non- Translocated Cells(未发生核易位的细胞)**门。请观察有细胞列表的数据网格进行了更新来显示那些未发生核易位的细胞。

36.请把**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**门从任何一个点状图上拖到有细胞列表的数据网格上。请注意观察这一操作只修改了**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**门中的细胞，结果中显示出的细胞的外形明显不同。

37.或者，你可以针对发生了核易位或未发生核易位的细胞从点状图上把门拖到有细胞列表的数据网格上。你将看到数据网格会以相同的方式进行更新。

38.请关闭版面，**请不要**保存修改。

第3部分: 使用高涵量模块来查看实验

39.请打开教程样本数据库510中的**IntroToImage3.fey**版面。

40.请点击"**Overall Review(整体查看)**"页面。

注: 该标签卡是整个实验的一个总结。左边的热图显示了细胞板以及我们为其导入的8个细胞孔(图T28.50)。

该页上也有一个显示**A- 01孔**对应的结果的点状图，图中有**Translocated Cells(发生了核易位的细胞)**以及**Non- Translocated Cells(未发生核易位的细胞)**门。页面上还有同一个细胞孔对应的图像绘图以及一个带有细胞列表和参数数据的数据网格，数据网格显示细胞孔中所有细胞的情况。最后，页面上还有一个Gate View(门视图)189，显示所有在模板中使用的保存了的门。注意: 有一些在门视图189中的门没有在本教程的例子中使用到。我们将使用这一页来对实验进行整体查看，总体看一下每个细胞孔的情况。

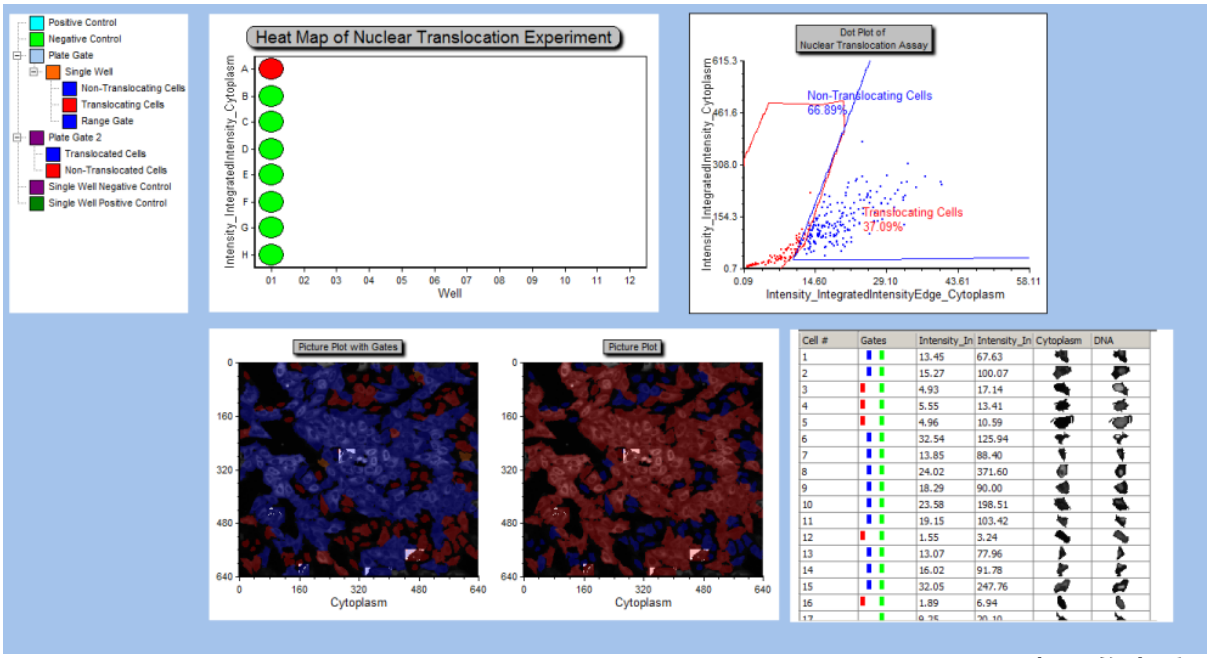


图 T28.50 Review Page of IntroToImage3.fey layout (IntroToImage3.fey**版面的查看页**)

41.请右键点击热图。

42.请选中**Edit Gate(编辑门)→Single Well(单细胞孔)**，正如我们以前在教程中做过的那样。

A- 01孔将显示为红色，因为**A- 01孔**是 **"Single well(单细胞孔)"**门中唯一的一个孔。你现在可以点击任何一个细胞孔，所有绘图都会做相应的更新。注: 如果你点击了任何其它绘图，你将需要重复编辑门过程来修改门显示。

43.请从**A- 01孔**开始，向下点击其它的细胞孔，直到**H- 01孔**为止。请观察绘图的变化。

当选中一个细胞孔时，请给版面足够的时间以便所有绘图都进行了相应更新。你将发现**A- 01孔**到**D- 01孔**是阴性对照，它们有较高比例的未发生核易位的细胞。注意: 在图像中，绝大多

数的细胞呈现红色，说明它们未发生核易位。在点状图中你会看到一个较宽的分布，细胞分布在两个门中。在带有细胞列表的数据网格中，你会看到每个细胞在哪个门中，它们的外形与它们是否发生了核易位相互对应。

44.请点击**E- 01孔**到**H- 01孔**并观察每个细胞孔对应的点状图以及图像绘图。这些是阳性对照细胞孔。

注意到主要的变化是图像中的细胞核染色为蓝色，点状图显示占主导的细胞群在阳性对照门中。带有细胞列表的数据网格显示了染色主要集中在细胞核，细胞呈现出发生了核易位的形态。在数据网格中的门显示了所有细胞基本都在阳性对照门中。用这种在一个版面页中查看整个细胞板中的数据非常方便 ;你可以在一个页面上看到分析结果、图像以及其它相关信息！

45.请关闭版面，**请不要**保存修改。

下一节 1258

36.28.3 *针对图像数据的批处理以及生成报表操作*

在这一节中，我们将学习如何:

- 打开一个版面，然后为一个96孔的细胞板上的几个细胞孔设置一个批处理过程
- 设置**Batch Processing Actions(批操作)**来把批处理结果导出为报表
- 在批处理的循环间暂停以确保批处理的当前循环正在被正确地分析
- 重新设置批处理以便以自动的方式运行批处理
- 从版面导出一个高分辨率的、可供发表的图像
- 把版面导出为一个**PowerPoint**文件
- 把版面导出到**PDF**文件

我们将使用位于教程样本数据库 510中**IntroToImage4.fey**的版面。该版面文件包含一个

详细的、预先格式化好的对图像数据进行批处理以及生成报表的方式。

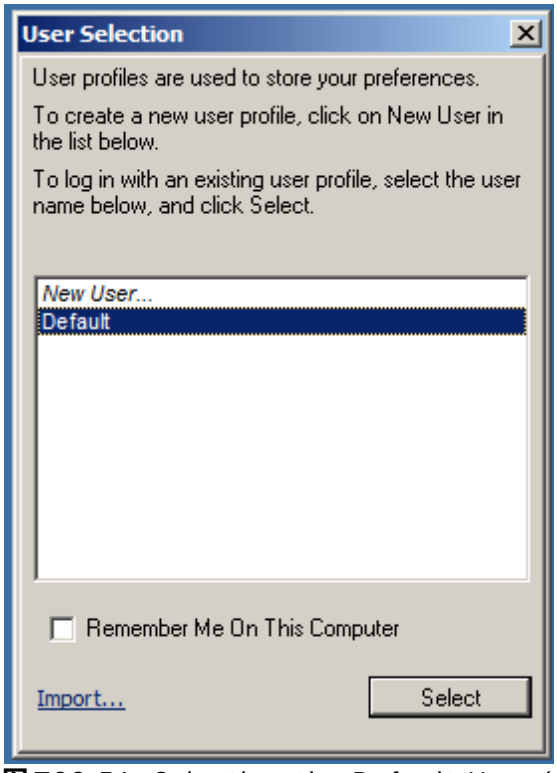
在本节教程中，我们将使用Molecular Devices ImageXpress Velos系统生成的数据。该系统以前称为"IsoCyte"。我们将首先打开FCS Express 4来查看一下设置，将其关闭；然后再打开**IntroToImage4.fey**版面，学习如何导入数据并将其放入数据列表中。

ImageXpress Velos System是一个高速细胞仪，它对整个细胞板进行整体细胞成像。每个细胞基本上只有10- 20像素大小，在整个图像中看起来似乎只有很小的一点。该系统只需3分钟便可对细胞板进行扫描，因此它允许进行高速、大量基于图像的细胞分析。这特别适用于对那些在悬浮液中、无法被流式细胞分析技术区分开的紧挨着的细胞进行分析。

ImageXpress Velos数据现在和FCS Express 4 Image Cytometry完全兼容。就像我们在本教程中稍后提到的那样，我们可以把选项设置为从ImageXpress Velos中立即导入数据并在FCS Express中打开。你将看到一个在96孔板上进行的活细胞- 死细胞实验对应的图像以及绘图。我们将使用一个预先定义好的版面来查看这个实验中的细胞板上的一行数据。这一行细胞孔包括一组浓度稀释实验，对应的细胞从全部存活到全部死亡。活细胞被在软件中定义为"IMEAN- 1"的染色剂染色；而死细胞被"IMEAN- 3"染色。

第1部分：查看设置选项以及为批处理分析做准备

1. 请从微软的**Start Menu(开始菜单)**打开**FCS Express 4**，或者使用**FCS Express 4桌面图标**来打开一个空白版面。
2. 请在用户选择菜单中选择**Default(默认)**(图T28.51)。
3. 请点击**OK**。

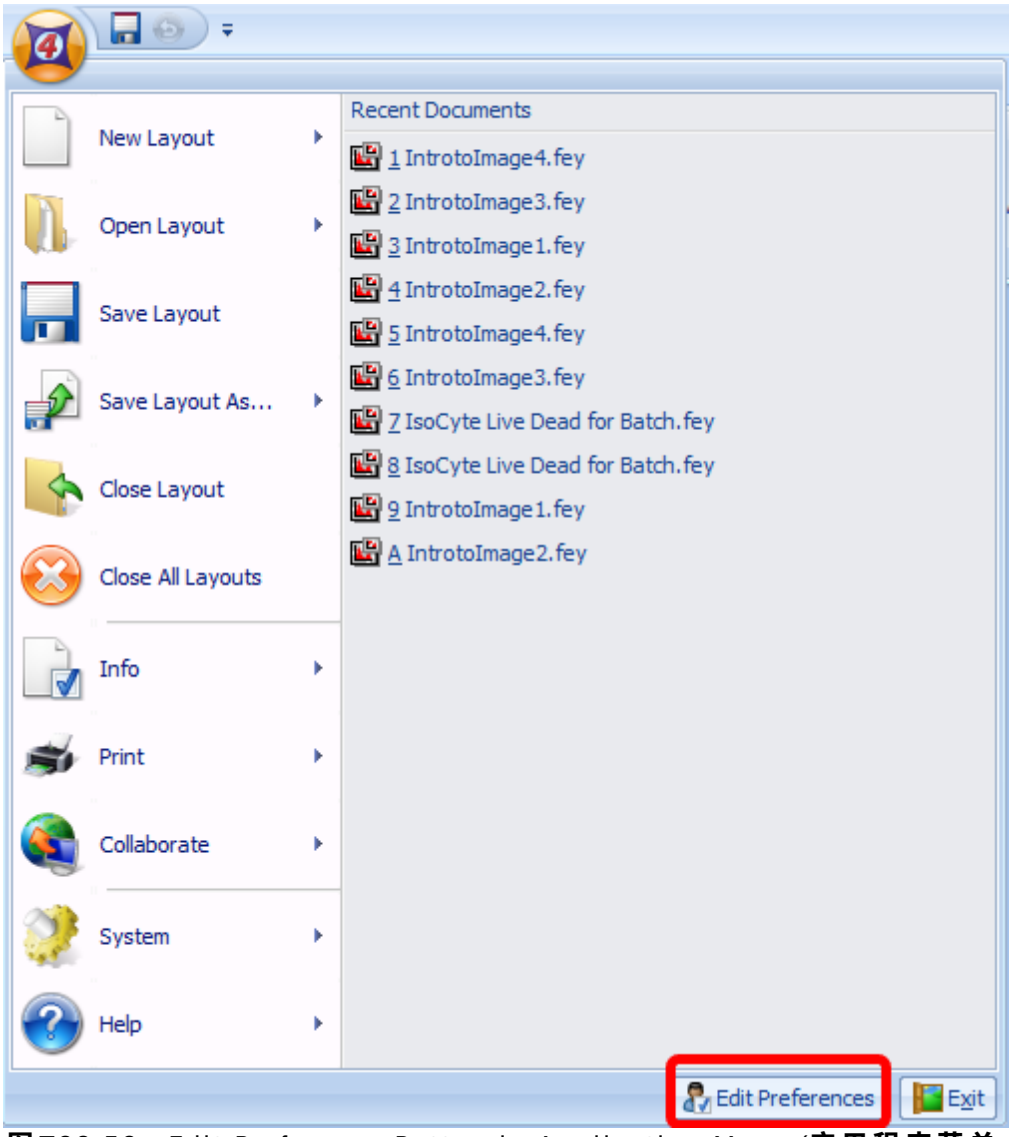


图T28.51 Selecting the Default User (**选择默认用户**)

FCS Express 4将打开一个空白页面，**Home(首页)**标签卡处于选中状态。我们现在要确认数据导入选项设置正确。

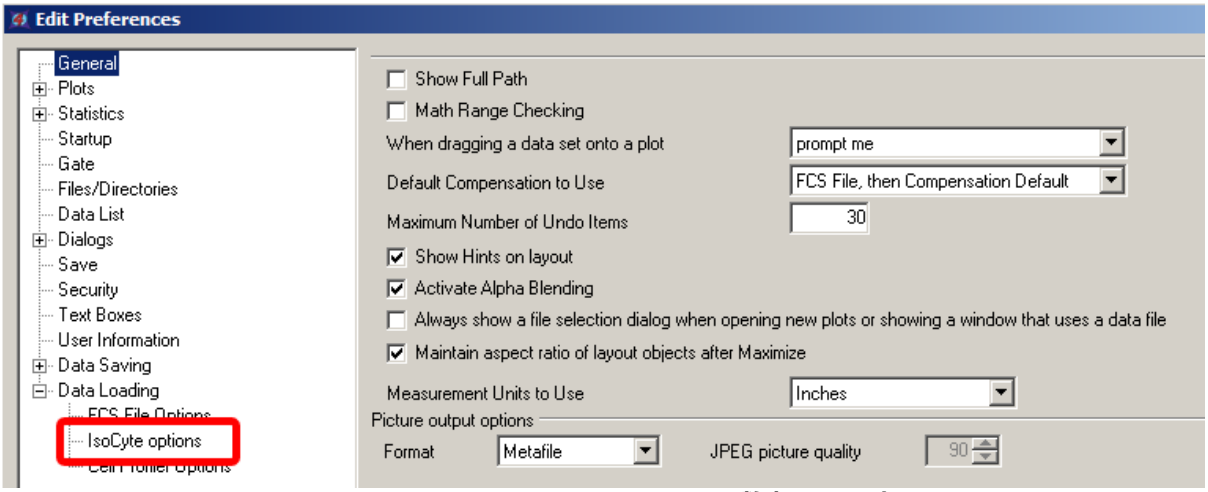
4. 请左键点击**Application Button(应用程序按钮)**  。

5. 请在出现的菜单的右下角点击**Edit Preferences(编辑选项)**按钮(图T28.52)。



图T28.52 Edit Preference Button in Application Menu (**应用程序菜单上的编辑选项按钮**)

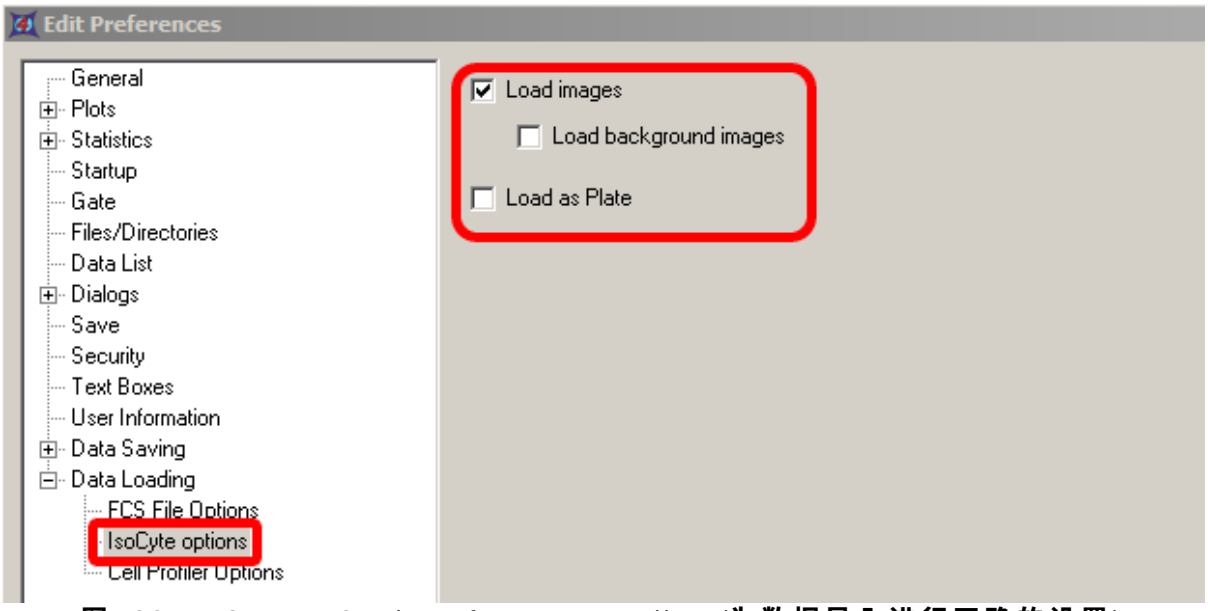
5. 请在菜单左下角**Data Loading(数据导入)**列表选项旁边点选"**+** "标记，这时会打开一个子目录(图T28.53)。



图T28.53 Data Loading Options (**数据导入选项**)

6. 请点击**IsoCyte options(IsoCyte选项)**来查看修改选项(IsoCyte是ImageXpress Velos以前的名字)。如果这个选项显示ImageXpress Velos，而非IsoCyte，这也应该是正确的选项。IsoCyte选项将出现在右侧(图T28.54)。

7. 请确保"**Load cell images(导入细胞图像)**"是唯一被选中的复选框。只有当使用高涵量模块[432]时才需要把数据作为细胞板导入。在计划进行批处理分析时，请不要把数据作为细胞板导入，除非你想要通过细胞板来进行批处理；除非你需要背景图像，否则请不要导入它们。在本例中我们不需要背景图像，它们会占用大量CPU以及内存资源。

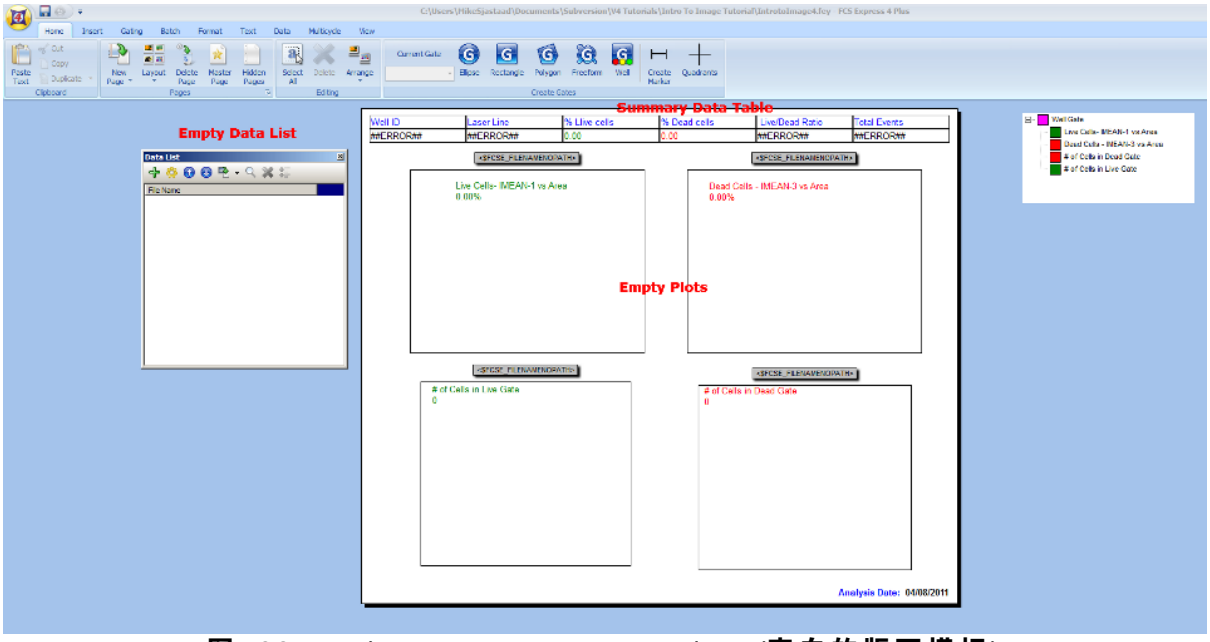


图T28.54 Correct Settings for Data Loading (**为数据导入进行正确的设置**)

8. 请点击**OK**。

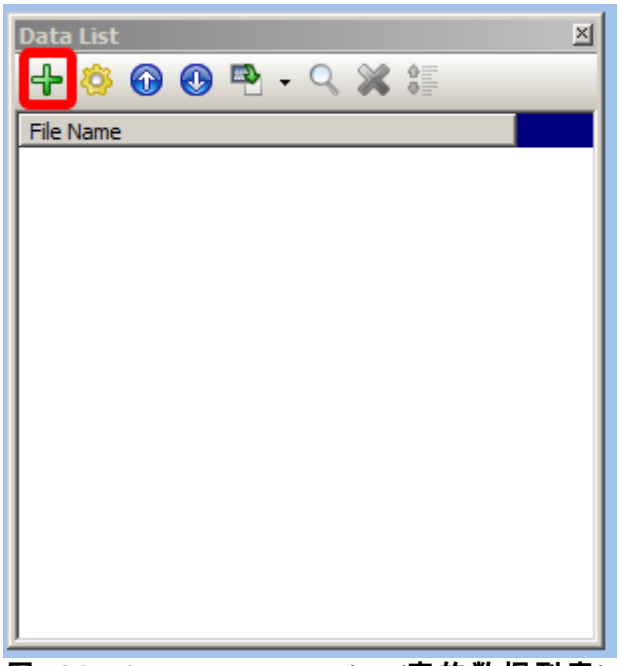
9. 请从教程样本数据库510中导入**IntroToImage4.fey**版面。

你将看到一个预先为分析和制作报表定义好的模板，它们将被应用到在IsoCyte/ Image Express Velos中运行的活细胞/ 死细胞实验中。版面上的**Batch Setup(批处理设置)**页面有一个空的Data List(数据列表)、4个没有内容的绘图、在上方的空白数据表格以及一个Gate View(门视图)189(图T28.55)。我们现在来从教程样本数据库510中导入数据。



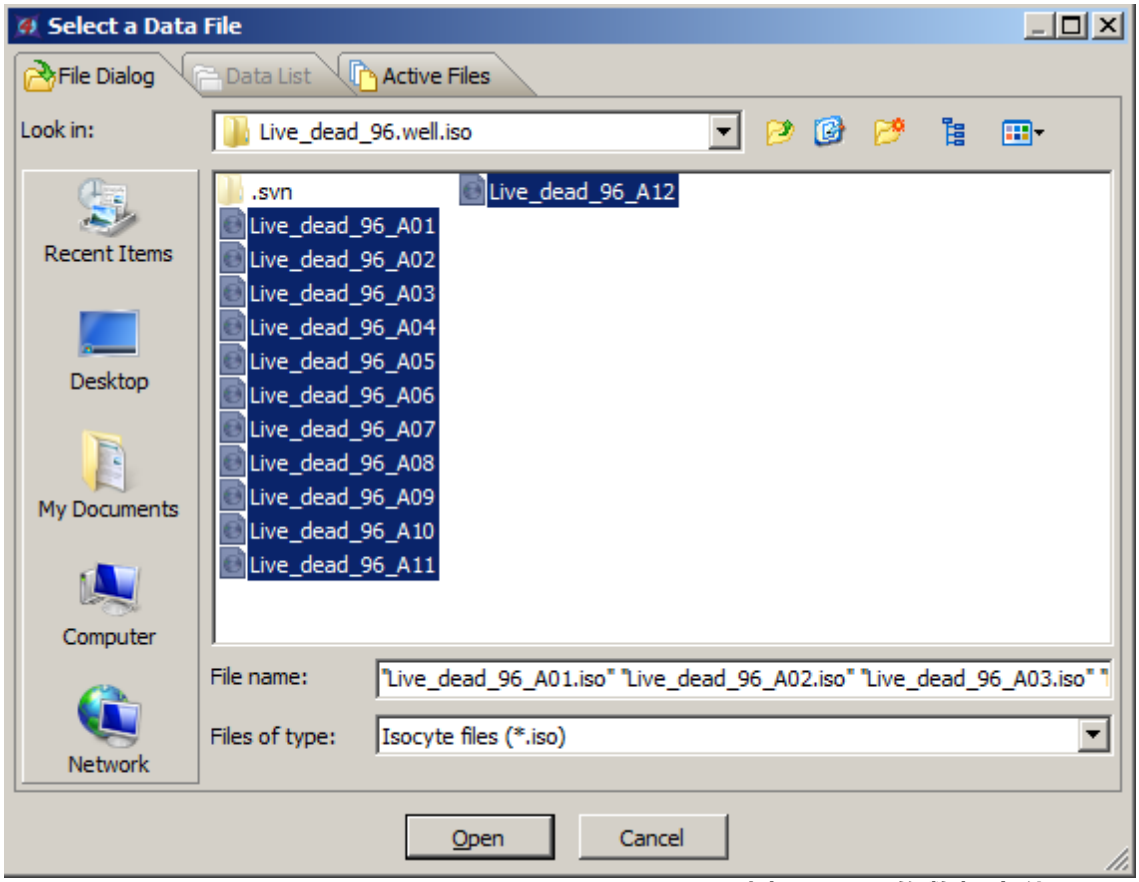
图T28.55 The Empty Layout Template (**空白的版面模板**)

10. 请点击空白数据列表上的绿色"**+** "，把数据添加到模板中(图T28.56)。



图T28.56 Empty Data List (空的数据列表)

11.请来到 Sample Data(样本数据)> IsoCyte With Images(带有图像的IsoCyte)> Live_dead_96.well.iso文件夹 (图T28.57)。

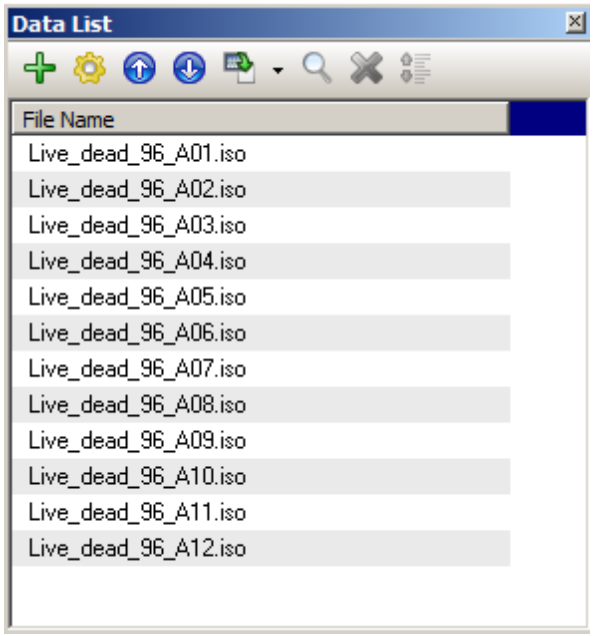


图T28.57 Selecting the Data Files to Import (**选择要导入的数据文件**)

12.请选中所有的**Live_dead_96...**文件。

13. 请点击**Open(打开)**。

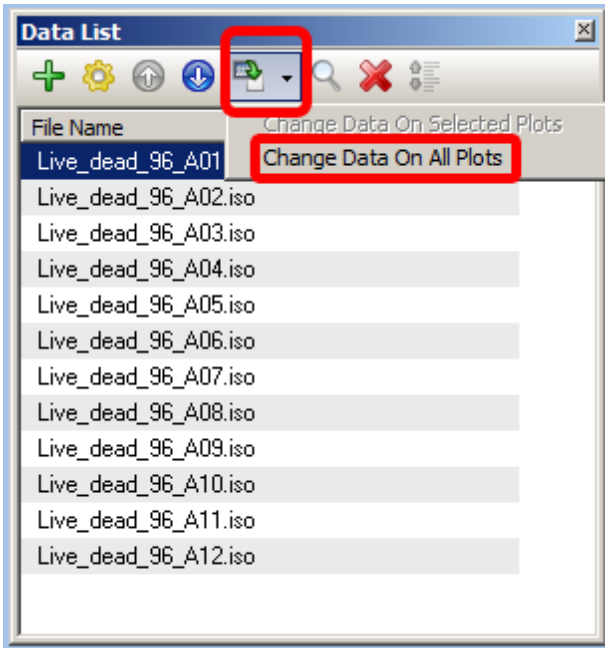
Data List(数据列表)现在应该显示活细胞- 死细胞数据组中的12个孔的数据(A01- A12)(图T28.58)。



图T28.58 Data List showing Data Files (**显示数据文件的数据列表**)

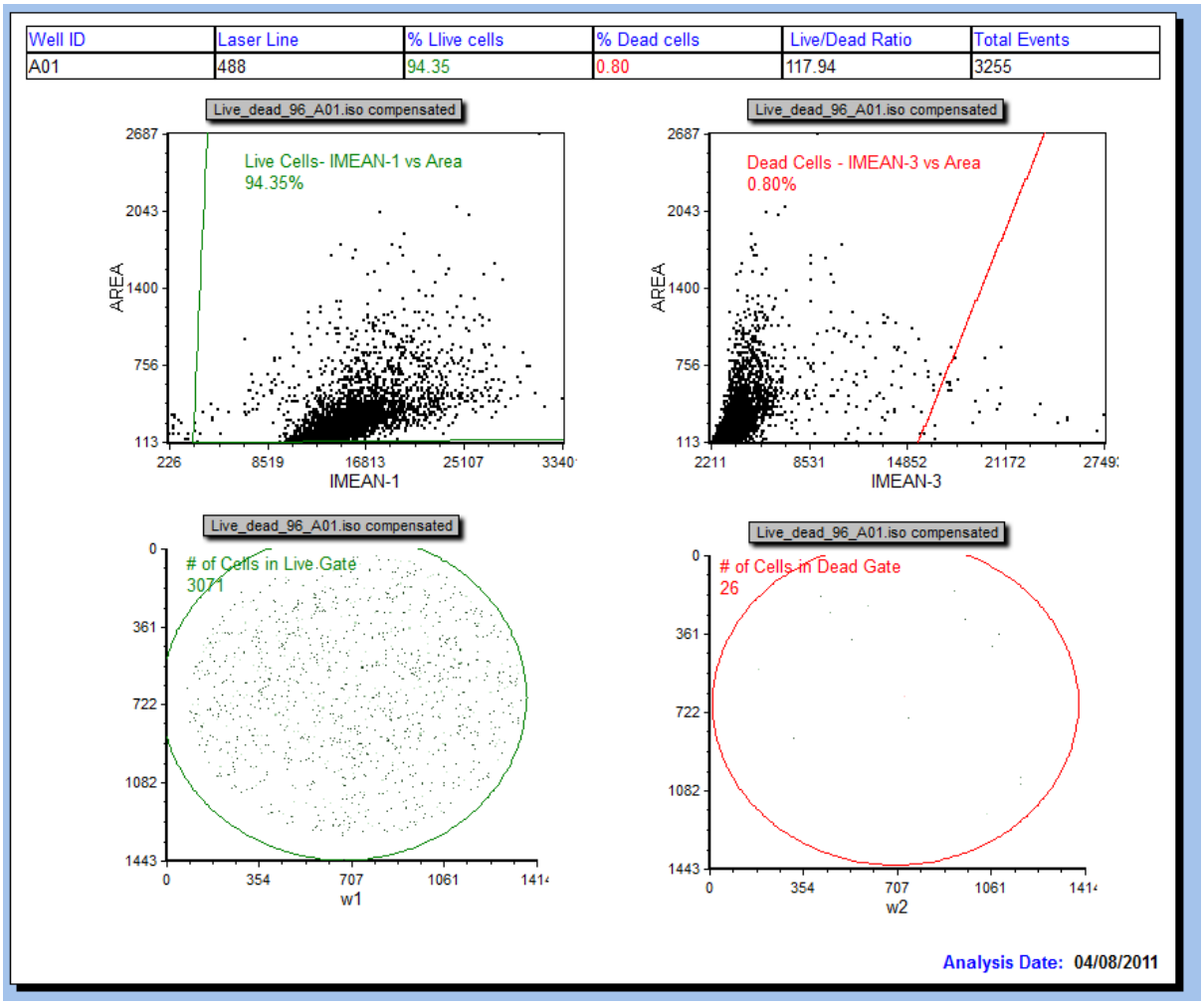
14.请点击第一个活细胞- 死细胞文件(它将高亮显示为深蓝色)(请见下方的图T28.59)。

15.请点击数据列表菜单上的**Change data(修改数据)**图标，在下拉列表中请选择 **Change Data on All Plots(修改所有绘图上的数据)**(图T28.59)。



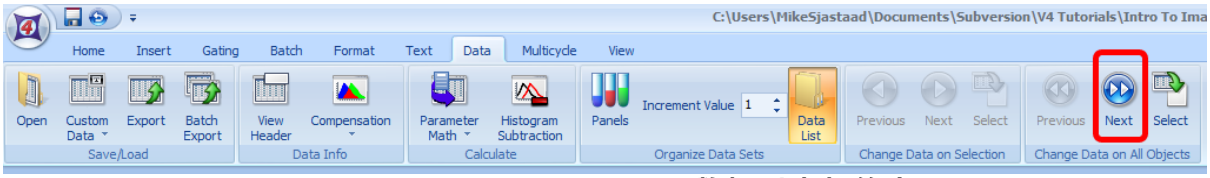
图T28.59 Selecting the Data File to Load Into Layout (**选择要导入版面中的数据文件**)

所有版面中的绘图和表格都将显示**A01孔**数据(图T28.60)。



图T28.60 Batch Setup Page of IntroToImage4.fey Showing Data from Well A01 (IntroToImage4.fey**版面中的批处理设置页面显示**A01**孔中的数据**)

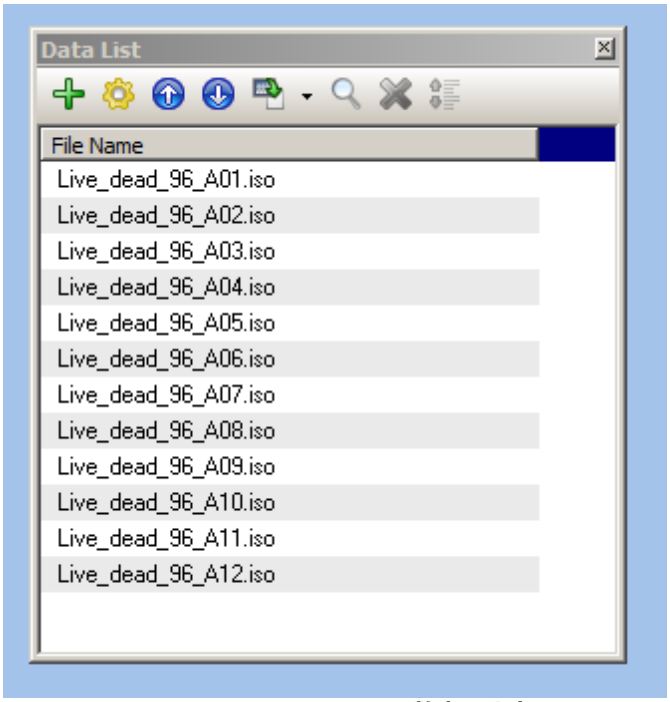
16. 请点击Ribbon条上的**Data List(数据列表)**标签卡(图T28.61)。



图T28.61 The Data List Tab (**数据列表标签卡**)

注: 通过点击**Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)**菜单上的**Next(下一个)**按钮，你可以查看后面的细胞孔(图T28.61)。一旦你来到列表上后面的部分，你也可以通过**Previous(前一个)**按钮翻动到前一个细胞孔。如果你已经移动到了其它的细胞孔，请再次回到**A01细胞孔**。

17.请观察版面中的**Data list(数据列表)**(图T28.62)。注意到列表中的数据是从**A- 01孔**到**A- 12孔**。

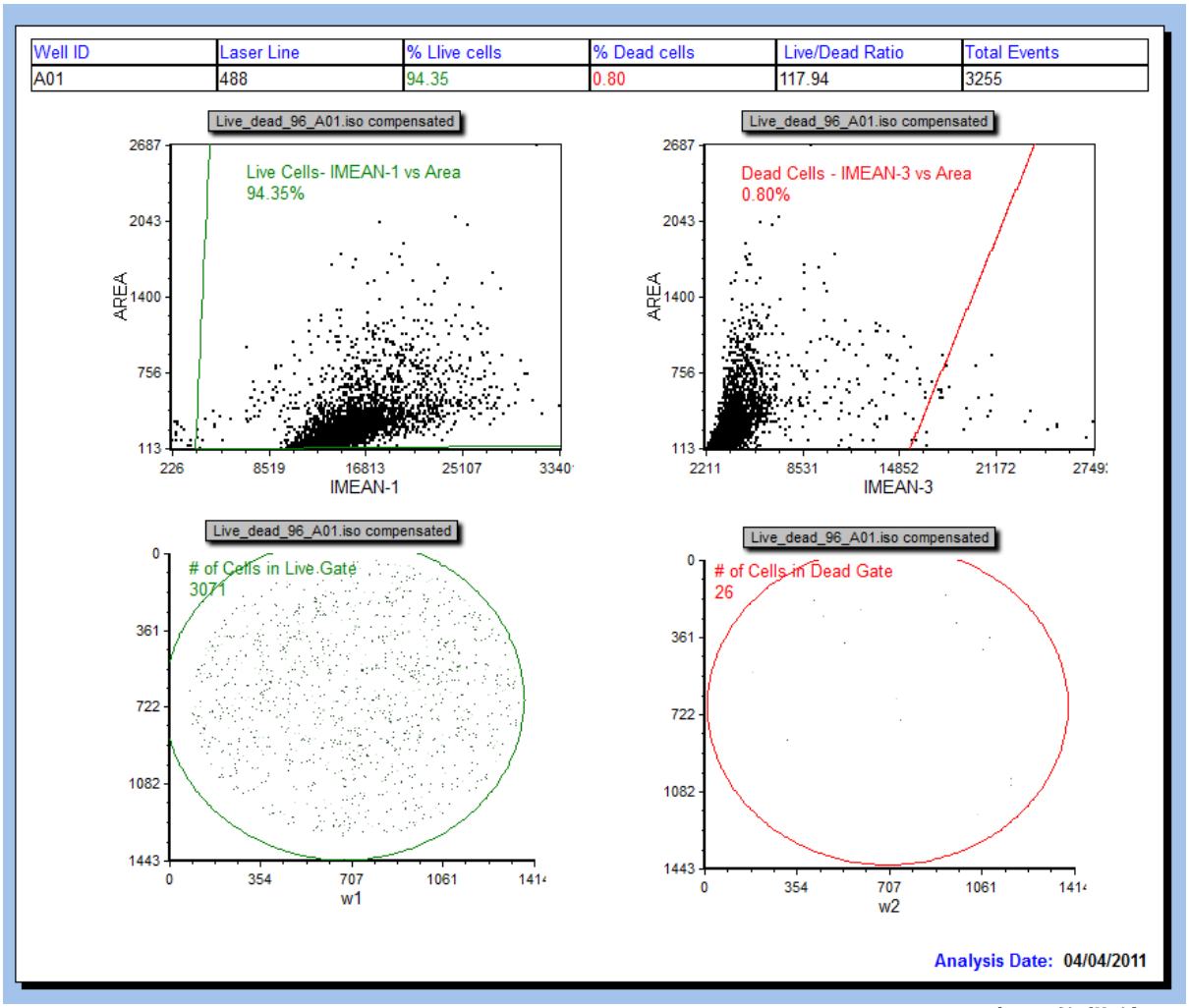


图T28.62 Data List (**数据列表**)

18.请点击数据列表窗口右上角的**"x"**，关闭**Data List(数据列表)**。

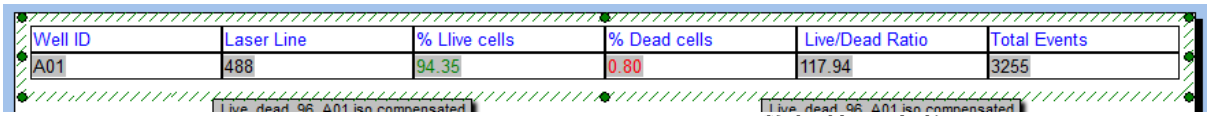
19.请在Ribbon条上点击**Data Tab(数据标签卡)→Organize Data Set(组织数据集)→Data List(数据列表)**图标，重新打开**Data List(数据列表)**。我们刚刚就演示了如何打开一个数据列表。

请再次查看一下**IntroToImage4.fey**版面中的**Batch Setup(批处理设置)**页面。注意到页面顶端上有一个摘要表格和四个绘图(图T28.63)。上面的两个点状图332分别代表指定细胞孔中的活细胞和死细胞通道。页面底部的图像绘图71分别是活细胞和死细胞的图像。 **Live Cells(活细胞)**和**Dead Cells(死细胞)**门已经被事先设置好了。 点状图中的Tokens(标记)287计算活细胞和死细胞的百分比。其它的门(**# Cells in Live/ Dead(活/ 死细胞数目)**)对每个荧光通道中的事件数进行计数。



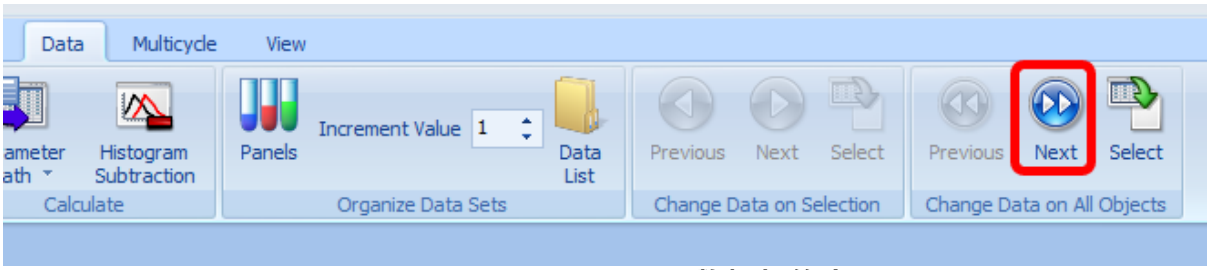
图T28.63 Batch Setup Page of IntroToImage4.fey (IntroToImage4.fey**版面的批处理设置页面**)

请观察页面顶端的数据表格，我们正在查看的是**A- 01孔**中的数据，如表格中最左上方的单元格所标示的那样(图T28.64)。



图T28.64 The Data Summary Table (**数据摘要表格**)

21.请点击**Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)**菜单上的**Data Tab (数据标签卡)→Next(下一个)**按钮。注意到所有四个绘图都进行了更新来显示**A- 02孔**中的图像和数据(图T28.65)。



图T28.65 The Data Tab (**数据标签卡**)

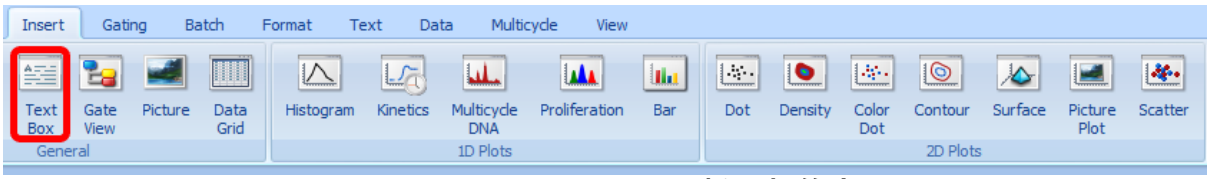
22.请使用**Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)**菜单上的**Next(下一个)**按钮来查看一下所有细胞孔。请注意观察，在逐步向下移动过程中，图像绘图以及点状图从一开始的活细胞占大多数变为死细胞占大多数。请注意观察摘要表格中的数据也随着细胞孔的变化而变化。

23.请通过不断地点击**Change Data on All Objects(修改所有对象上的数据)**菜单上的**Previous(前一个)**按钮回到**A- 01细胞孔**上。

修改摘要表格

24.请在Ribbon条上点击**Insert tab(插入标签卡)→General(常规)→Text Box(文本框)**。

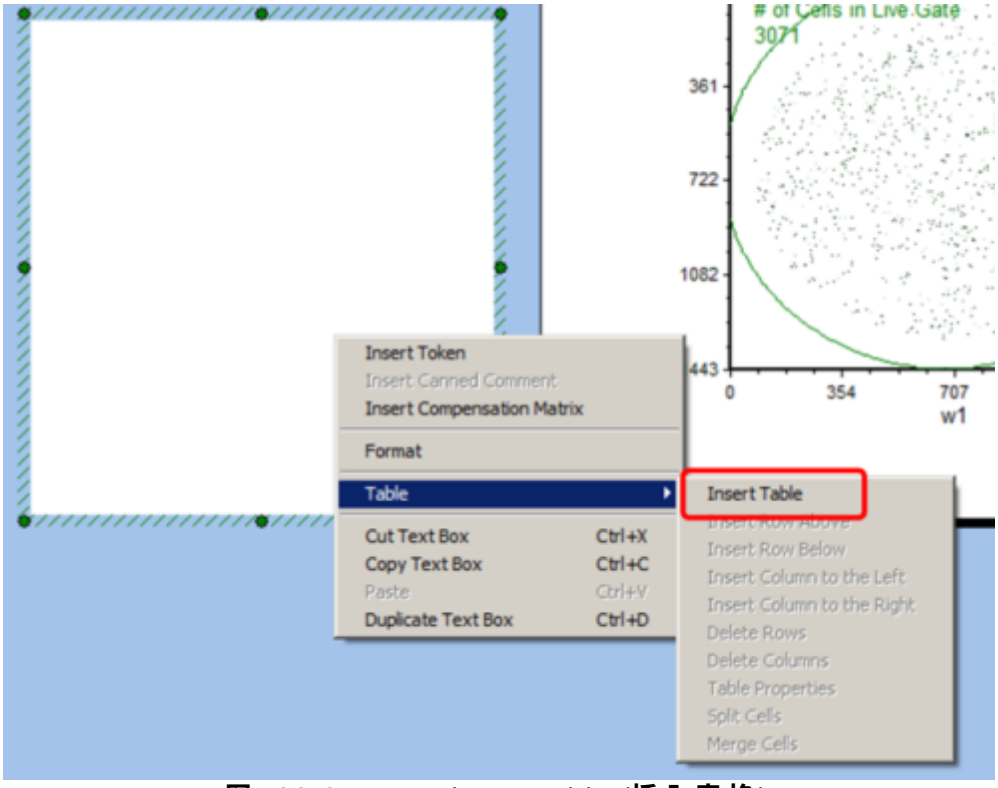
25.请把新的文本框插入到版面上的任何位置(图T28.66)。



图T28.66 The Insert Tab (**插入标签卡**)

26.请右键点击文本框，调出弹出菜单。

27.请选择**Table(表格)→Insert Table(插入表格)**子选项(图T28.67)。

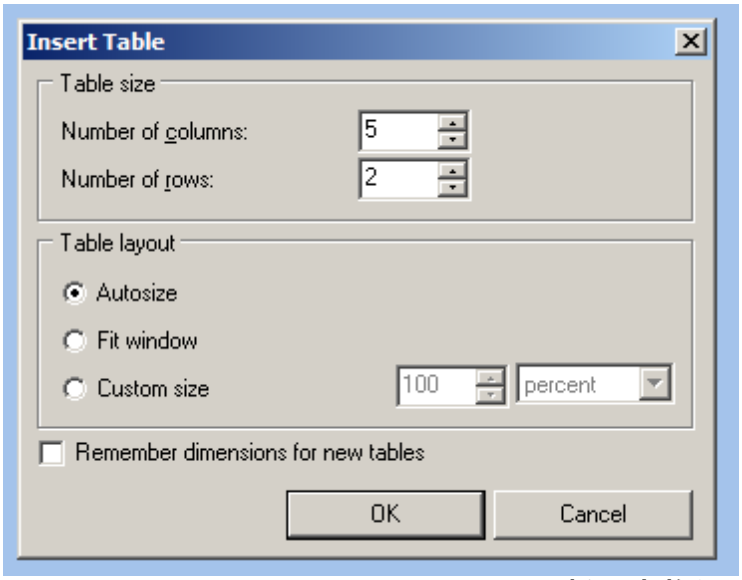


图T28.67 Inserting a Table (**插入表格**)

这时会出现一个新的窗口，允许你选择创建一个任意行列数的表格(图T28.68)。

28.请把**Number of columns(列数)**文本框改为"**5**"。

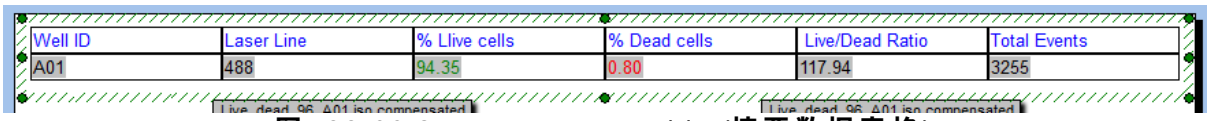
以上步骤演示了版面中已经有的摘要表格是怎么创建的。而我们只想编辑本教程中已有的表格，而非创建一个新的表格。所以请点击**Cancel(取消)**，不要创建一个新的表格。



图T28.68 Insert Table Configuration (**插入表格设置**)

29.请左键点击文本框，将其选中，然后右键点击文本框，从弹出菜单上选择**Cut Text Box (剪切文本框)**。另外一种方法是，选中文本框，按下**delete(删除)**键。

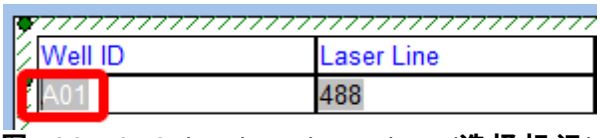
30.请点击摘要表格左上方的单元格中的文本"**Well ID(单元格编号)**"(图T28.69)。



图T28.69 Summary Data Table (**摘要数据表格**)

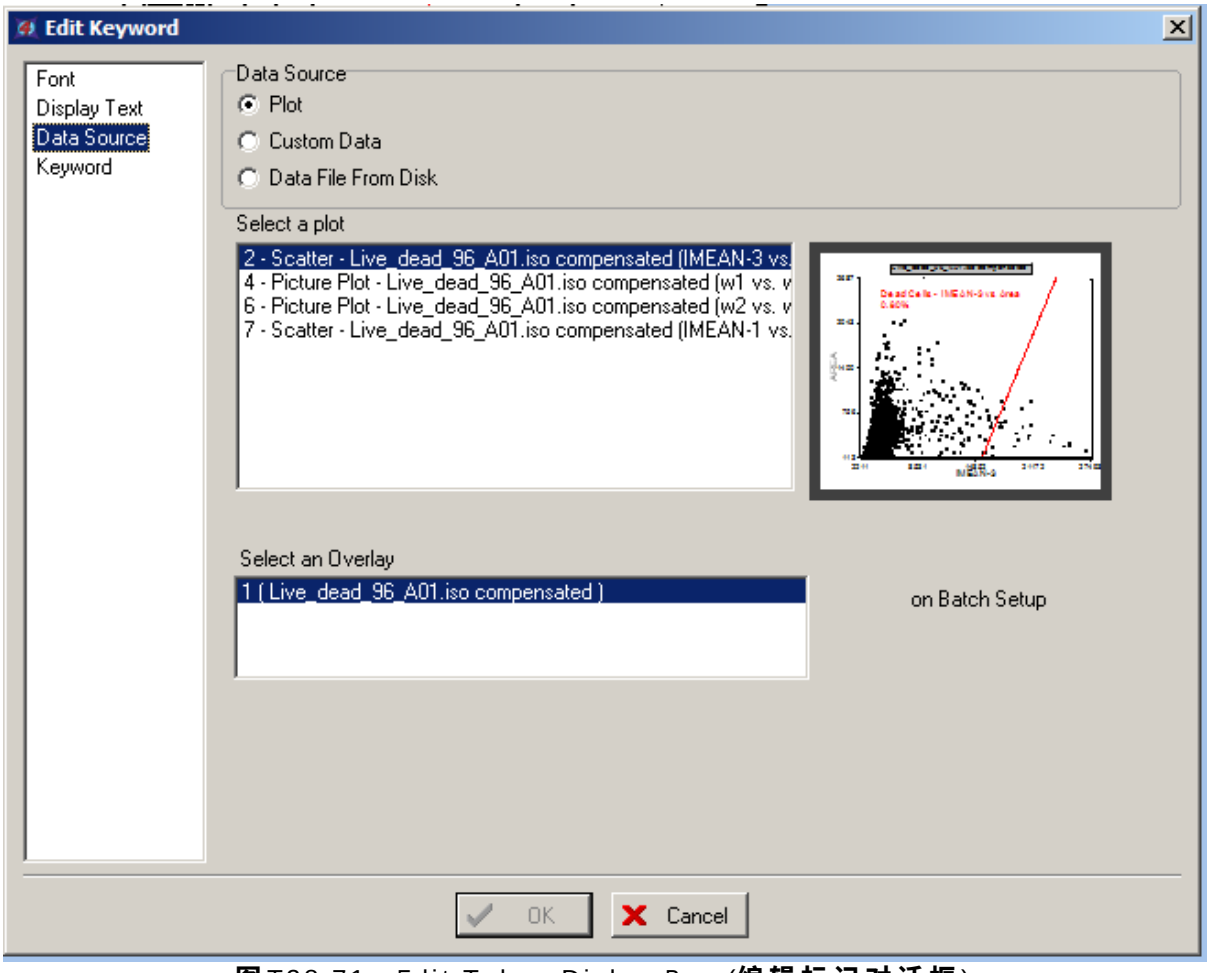
31. 请像你在Word、Excel或者PowperPoint中那样编辑"**Well ID(细胞孔编号)**"文本。请使用CTRL+ Z命令撤销所做的操作。

32. 请使用标准的Windows选择方法(在A01的右侧按下鼠标不放，向左拖动鼠标选中整个文本 ;当选中文本后请松开鼠标)，选中摘要数据表格中的**A01**文本。A01的背景颜色为灰色，表明该文本为一个标记[607]。注意到文本在选中后变成了白色(图T28.70)。



图T28.70 Selecting the Token (选择标记)

33. 请双击A01标记[607]。这时会出现一个格式化窗口，让用户可以选择和编辑标记(图T28.71)。



图T28.71 Edit Token Dialog Box (编辑标记对话框)

34.请选择**Keyword(关键字)**类别选项，选择一个显示关键字的标记(图T28.72)。

35.请点击省略号(...)。

36.请从**Please select a keyword(请选择关键字)**对话框选中**Well Name(细胞孔名称)**。

37.请点击OK。你刚刚把Well ID替换成了Well Name。

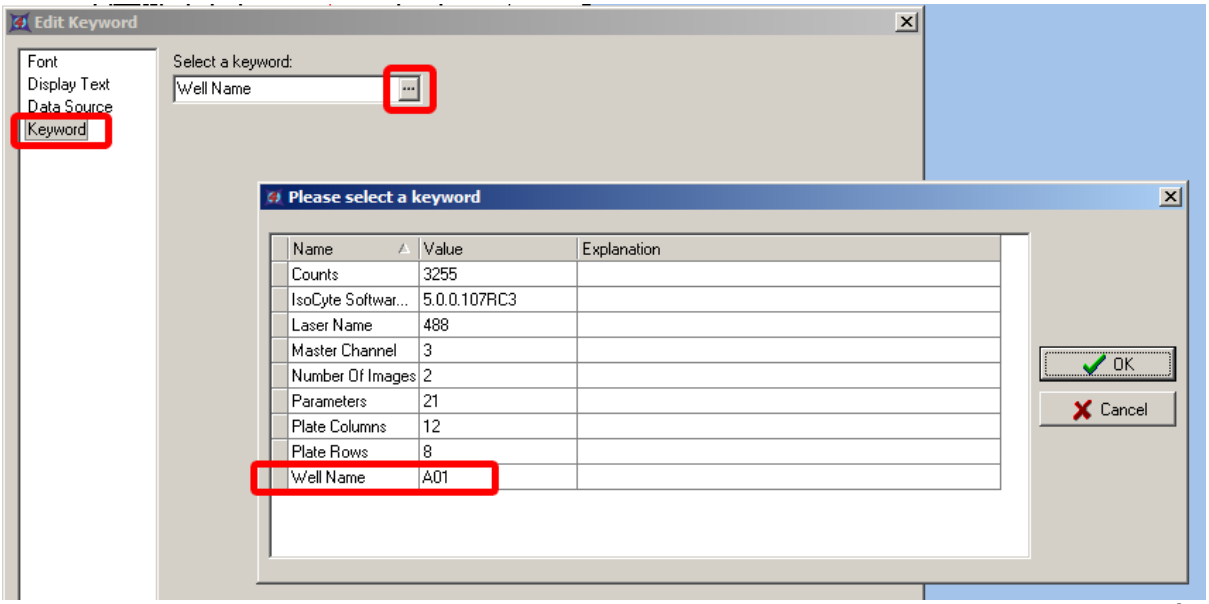


图 T28.72 Selecting a Token To Display Well Name in the Summary Data Table (**选择一个标记来在摘要数据表格中显示细胞孔名称**)

选做: 你可以重复第31- 37步，把摘要数据表格中的表头文本"**Laser Line(激光线)**"替换为"**Master Channel(主通道)**" ,然后选择Master **Channel(主通道)**作为标记[607]来显示。这将让你在插入关键字标记[607]方面进一步练习。如果你做了这个改动，请撤消所做的修改。

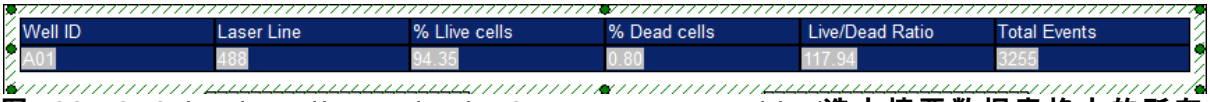
在这个报表部分，摘要数据表格中表头以下的数据行均为标记[607]，它们可以在表格中显示动态数据。我们已经把从IsoCyte/ ImageXpress Velos获得的关键字**Well Name(细胞孔名称)**以及**Laser Name(激光名称)**插入到了前两个单元格中。

注: 我们可以随意设置摘要数据表头的格式，因为它们只是一般文本。它们的名称为"**Well ID (细胞孔编号)**"以及"**Laser Line(激光线)**"，要比设备给出的默认名称(Well Name(细胞孔名称)以及Laser Name(激光名称))要更清楚。表中的其它数值均为标记，表示从特定门计算出来的数值。

例如，**%Live cells(活细胞百分比)**以及**% Dead cells(死细胞百分比)**是两个标记[607]，它们分别显示在**Live Cells(活细胞门)**以及**Dead Cells(死细胞门)**中细胞的比率。**Live/ Dead Ratio(活细胞与死细胞比率)**标记[607]是一个"自定义标记"[308]，我们在FCS Express 4中可以使用自定义标记来创建由两个从门中计算出来的数值的比率(活细胞百分比/ 死细胞

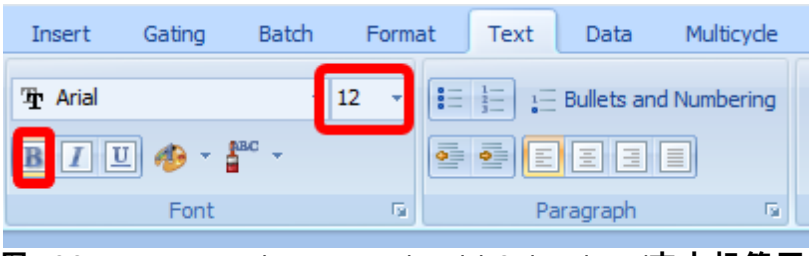
百分比)。我们不会在此详细讨论自定义标记308。要想更详细地了解如何使用标记607，请查看"文本框和标记287"或者查看手册中"使用标记286"一节。 我们不会对表格中的标记做任何的修改。

38. 请通过在整个表格上点击和拖动来选中摘要数据表格中的所有文本。或者，请点击表格中的任意一个单元格，按下CTRL+ A来选中表格中的所有文本(图T28.73)。



图T28.73 Selecting all Text in the Summary Data Table (**选中摘要数据表格中的所有文本**)

39.请选中**Text(文本)**标签页，如图T28.74所示。

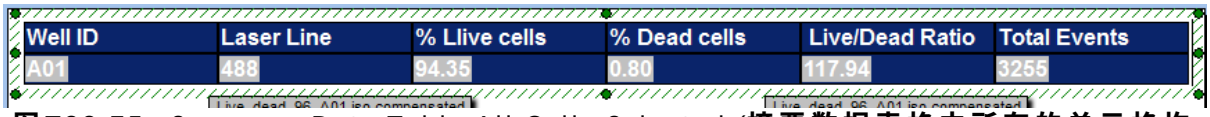


图T28.74 Text Tab Font and Bold Selection (**文本标签页字体和加粗选择**)

40.请把表格中文本的大小从**10pt**改为**12pt**，如图T28.74所示。

41.请点击"**B**"按钮，把所有文本改为**Bold(粗体)**，如图T28.74所示。

注: 在版面页上编辑文本的方式和在微软产品中编辑文本方式相同。这让版面可以按照你的要求制作出自定义报表。摘要数据表格现在将看起来如图T28.75a以及图T28.75b所示。



图T28.75a Summary Data Table All Cells Selected (**摘要数据表格中所有的单元格均被选中**)

42.请点击摘要数据表格中任何一个地方来取消高亮显示以便来查看所做的改变。

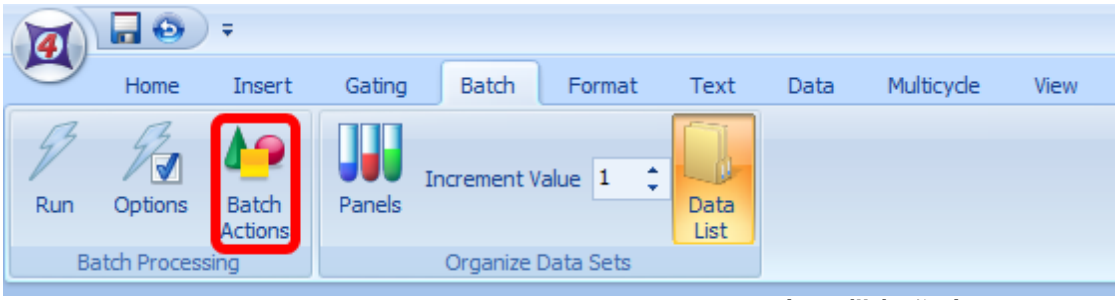
Well ID	Laser Line	% Llive cells	% Dead cells	Live/Dead Ratio	Total Events
A01	488	94.35	0.80	117.94	3255

图T28.75b Summary Data Table All Cells Modifed to Bold and 12pt Font (**摘要数据表格所有的单元格被修改为粗体和**12pt**字体**)

第2部分: 为图像数据设置批处理分析

我们将设置一个批处理分析并运行该分析，以便创建一个报表来从FCS Express 4中导出数据。在本例中，批处理的设置已经预先做好了；我们仅在这里查看一下它们，然后运行几次批处理。请查看批处理326教程来更详细地学习如何设置高级批处理和报表功能。

43.请点击**Batch tab(批处理标签卡)→Batch Processing(批处理)→Batch Actions (批操作)**(图T28.76)。批操作窗口将如图T28.77所示。

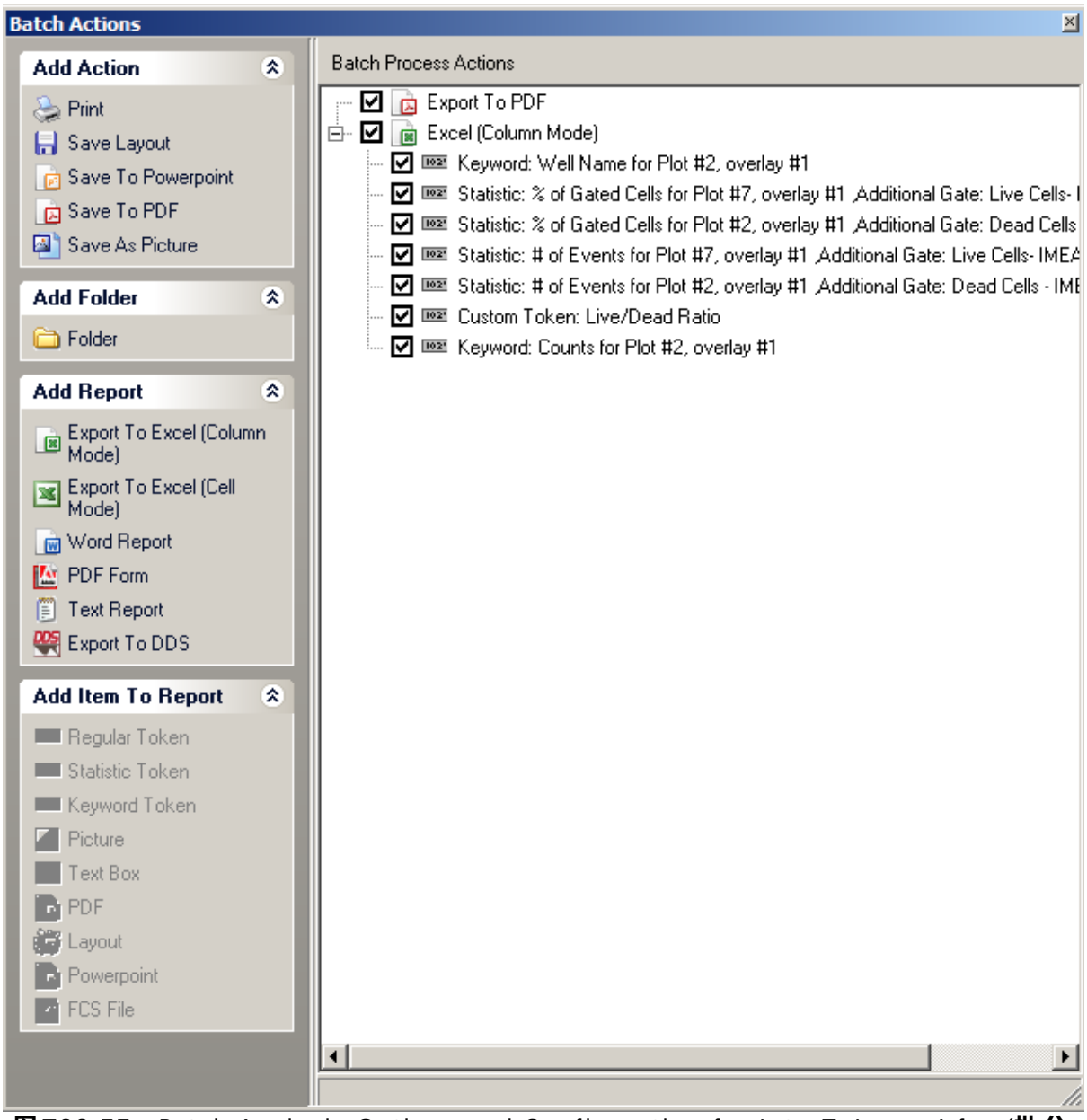


图T28.76 Opening the Batch Actions Window (**打开批操作窗口**)

注意到在**Batch Actions(批操作)**菜单上有很多的选项用来设置一个批处理分析以及报表(图T28.77)。请熟悉一下这些选项。我们不会在本教程中介绍如何一步一步从头设置。一旦设置好了，对数据的批处理分析以及生成报表可以同时进行，数据可以导出为Excel、PowerPoint或PDF格式。要想更多地了解如何生成报表，请参考批处理326教程。

注意到在**Batch Process Actions(批操作)**窗口中已经为数据列表中的每个细胞孔提前设

置好了批分析过程，结果数据将被导出到PDF文件和Excel电子表格。PDF文件将显示我们在Batch Setup Page(批设置页面)看到的内容，Excel文件被设置为在运行批处理过程中自动把某些值记录到电子表格中。要导出到Excel中的项目都被列了出来。

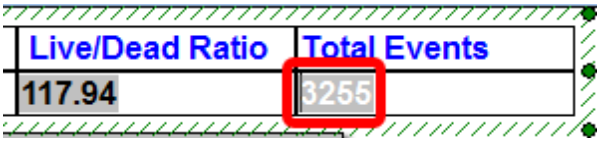


图T28.77 Batch Analysis Options and Configuration for IntroToImage4.fey (**批分析选项以及针对**IntroToImage4.fey**的设置**)

为了演示设置批处理输出如何简单，我们将使用标记的拖放功能来把另外的一个变量添加到

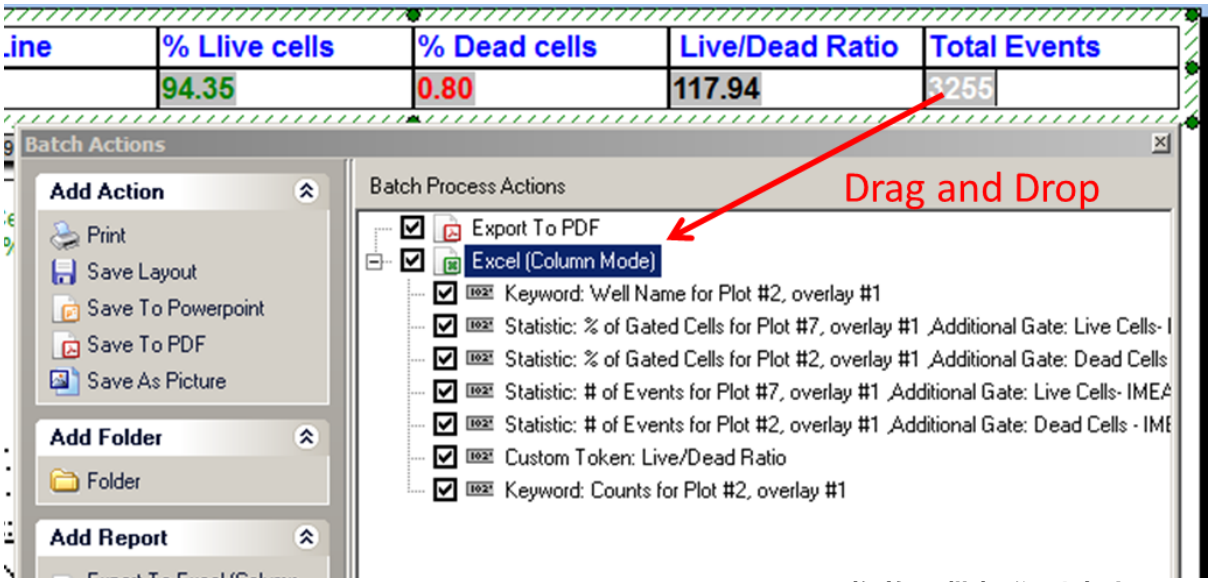
要输出的Excel电子表格中。

44.请在版面的**Batch Setup(批设置)**页面中的摘要数据表格中选中**Total Events(所有事件)**标记。当标记被正确选中后，它会显示为白色(图T28.78)。



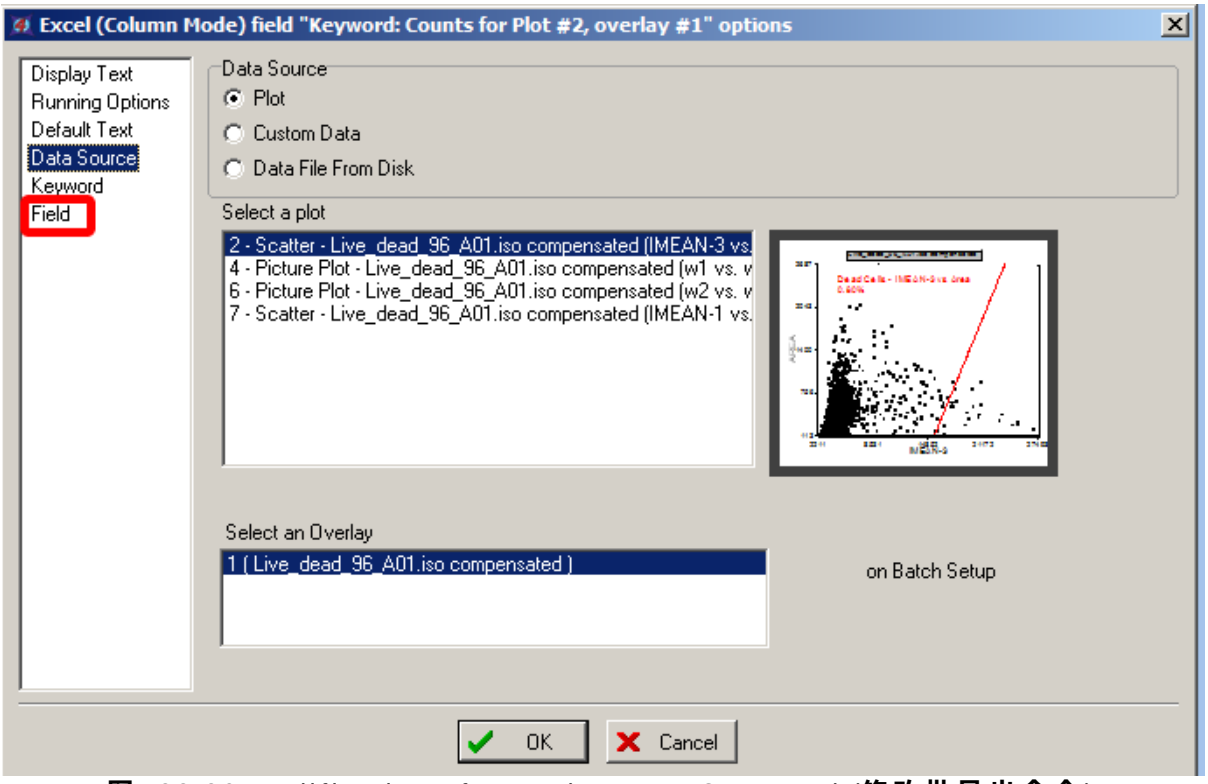
图T28.78 Selecting the Token for Total Events (**选中所有事件标记**)

45.请点击高亮显示的标记 按住鼠标左键不放，把它拖到**Batch Process Actions(批操作)**窗口中的Excel (Column Mode(列模式))图标上。看到 **"+ "** 标记后，请松开鼠标。如下图T28.79所示。



图T28.79 Drag and Drop Onto the Batch Actions List (**拖放到批操作列表上**)

46. 请双击列表上的最后一项**Keyword: Counts for Plot #2, overlay #1**。这时会出现一个新的窗口(图T28.80)。



图T28.80 Modification of a Batch Export Command (**修改批导出命令**)

47.请选择**Field(字段)**类别选项。**Column Name(列名称)**编辑框是空的，我们要对其进行编辑。请参见下图T28.81。

48.在**Column Name(列名称)**框中输入"**Total Events(所有事件)**"。



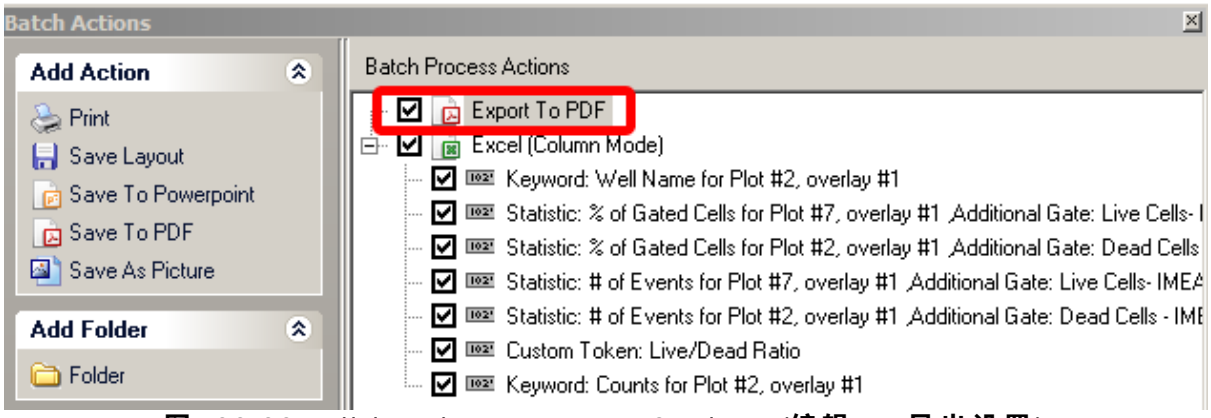
图T28.81 Editing the Column Name Box (**编辑列名称框**)

49.请点击"**OK**"。这样你就为Excel文件中记录所有事件数的一列起好了名称。

这一标记现在已经被加到了Excel导出报表中。每个细胞孔的实际值将被记入到一个Excel表格中，我们已经对该列表头进行了编辑，它在报表中将显示为"Total Events(所有事件)"。通过取消对**Batch Process Actions(批操作)**窗口列表上任何批操作旁边的复选框的选择，你可以关闭该批操作。我们在本节概述性的教程中不会讨论设置批分析的细节。要更多地了解批处理，请参考批处理683教程。在用户手册中也有一部分是关于批处理326的。

我们现在要把桌面作为批处理过程中保存PDF以及Excel报表的路径。

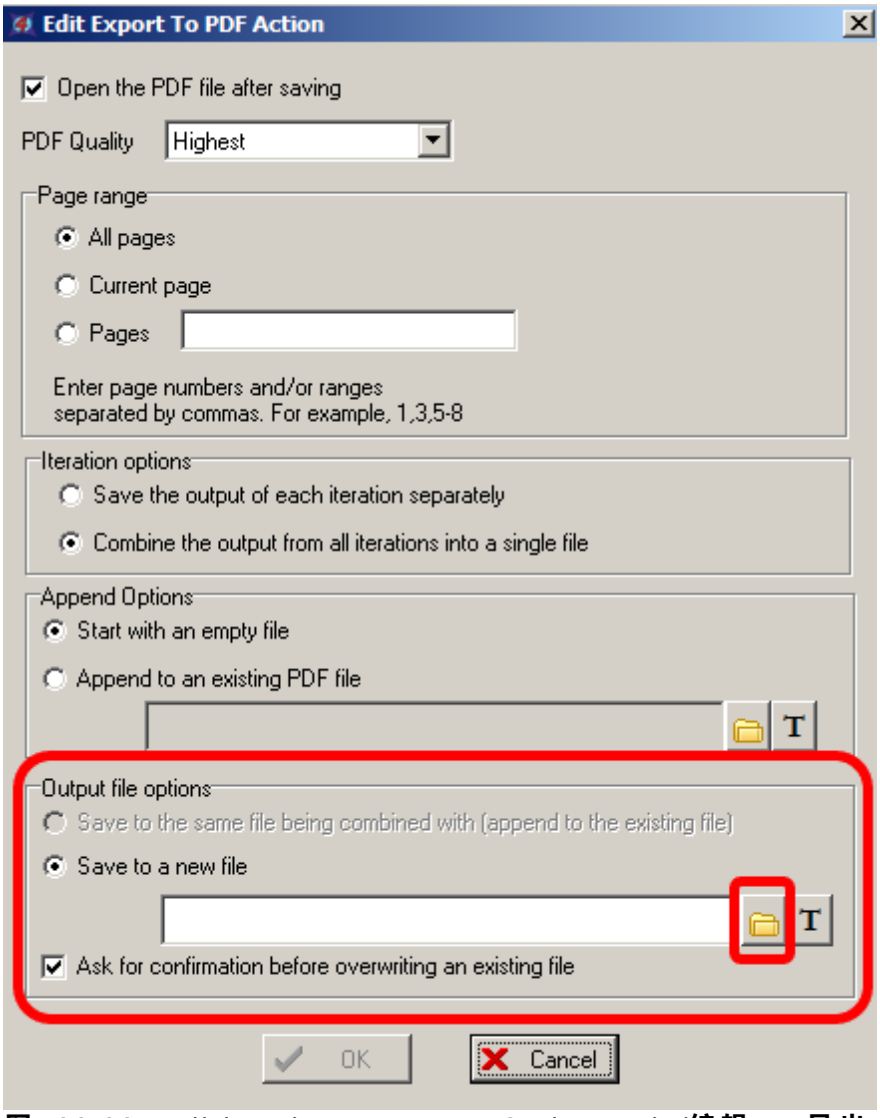
50.请在**Batch Actions(批操作)**窗口上双击Export to PDF(导出到PDF)(图T28.82)。



图T28.82 Editing the PDF Export Settings (**编辑**PDF**导出设置**)

这会打开一个菜单，显示导出文件设置选项(图T28.83)。

51. 在**Output file options(输出文件选项)**部分，请点击文件夹图标，选择保存位置。这时会打开一个文件对话框。



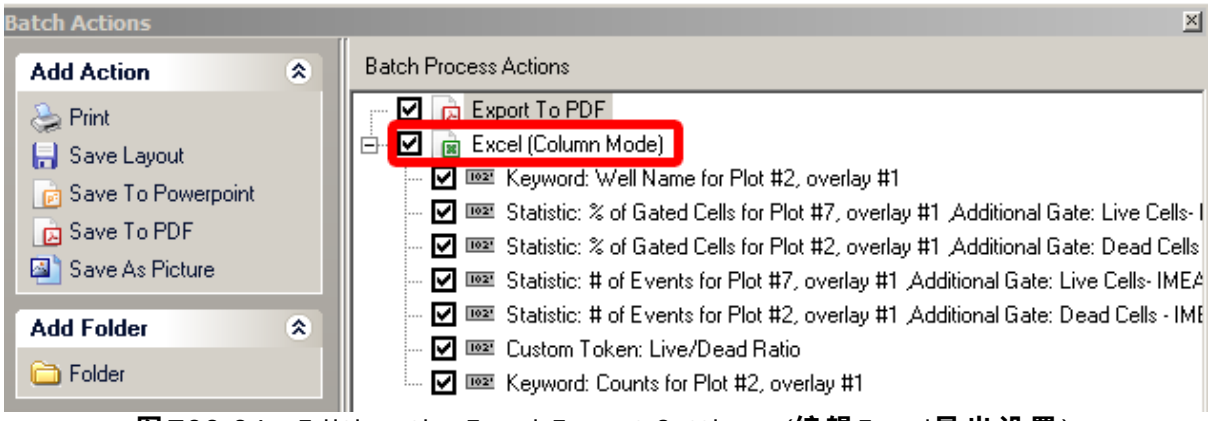
图T28.83 Editing the PDF Export Saving Path (**编辑**PDF**导出保存路径**)

52.请选择桌面并把PDF文件命名为"**MyBatchReport**"。

53.请点击**Save(保存)**，路径名出现在空白的输出文件选项窗口。

54.请点击**OK**。

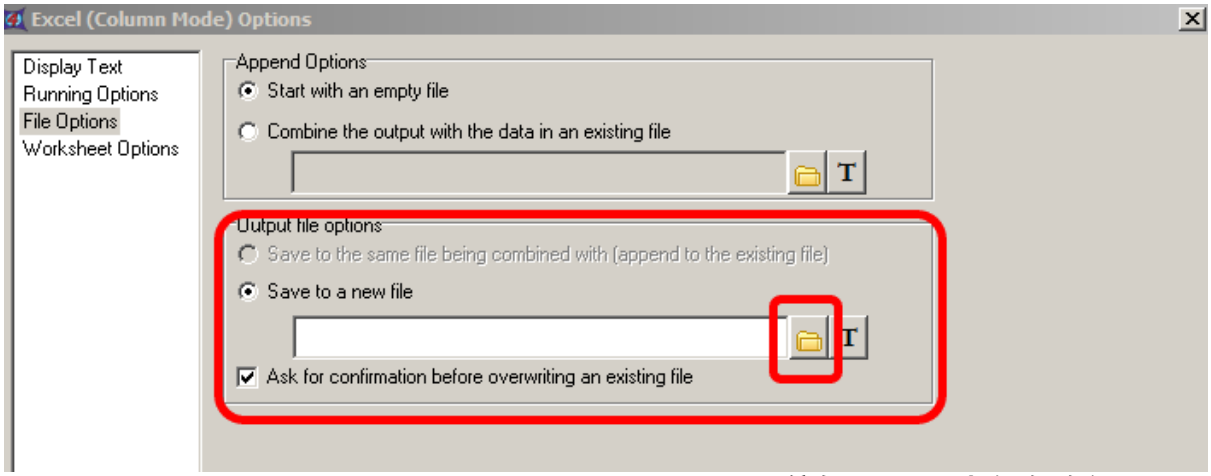
55.请双击**Batch Actions(批操作)**窗口中的**Excel (Column Mode(列模式))** (图T28.84)。



图T28.84 Editing the Excel Export Settings (**编辑**Excel**导出设置**)

这将打开一个菜单，显示导出文件设置选项(图T28.85)。

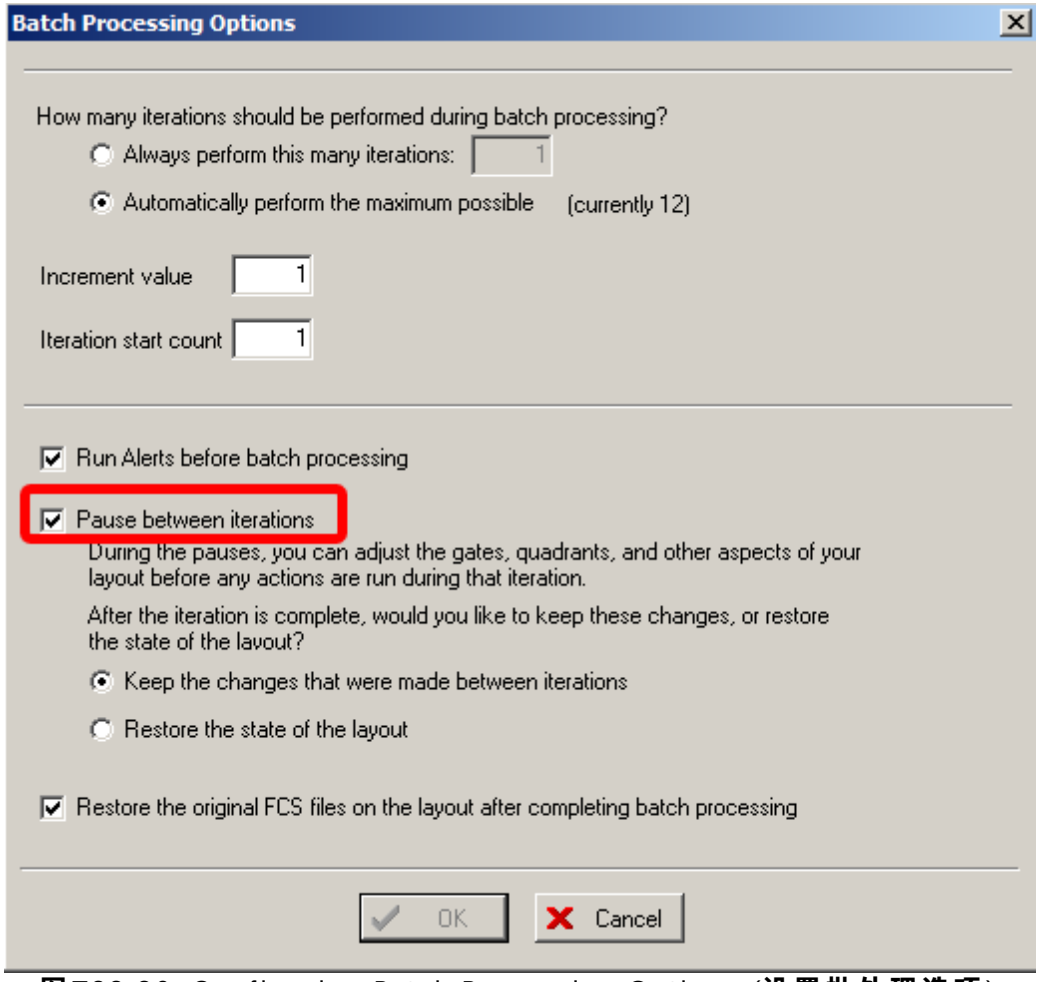
56.就像你刚才对PDF文件所做的那样，请把桌面设置为你的Excel报表的路径并把你的文件命名为"**MyBatchReport**"。(见图T28.85)。



图T28.85 Editing the Excel Export Saving Path (**编辑**Excel**导出保存路径**)

第3部分: 运行批处理以及查看报表

57.请点击 **Batch tab(批处理标签卡)→Batch Processing(批处理)→Options(选项)**。这时会出现一个设置窗口(图T28.86)。



图T28.86 Configuring Batch Processing Options (**设置批处理选项**)

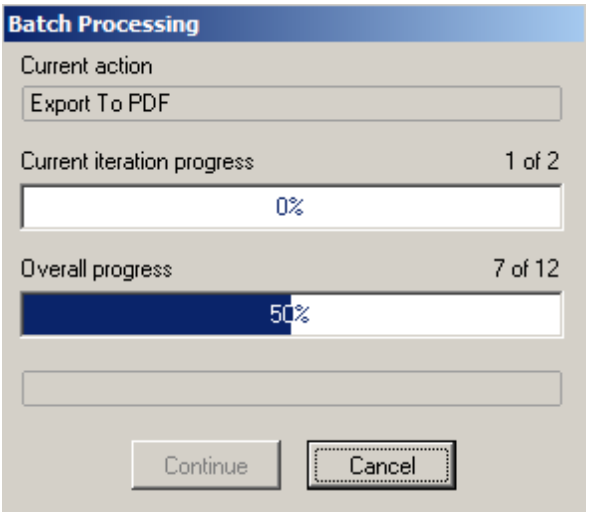
注意到在设置批处理过程中你有很多选项。请不要修改任何已有的设置。但请注意到我们已经选中了复选框**Pause between iterations(在循环之间暂停)**。这样我们在对批处理进行测试时便不需要为所有细胞孔运行批处理。在本例中，我们只有12细胞孔，我们将让批处理一次运行完。在循环之间暂停是一个很好的测试批处理运行的方法，你可以查看一下批处理步骤但不需要花时间运行整个批处理过程。

58.请取消对复选框**Pause between iterations(在循环之间暂停)**的选择。

59.请点击**OK**。

60.请点击**Batch tab(批处理标签)→Batch Processing(批处理)→Run(运行)**。

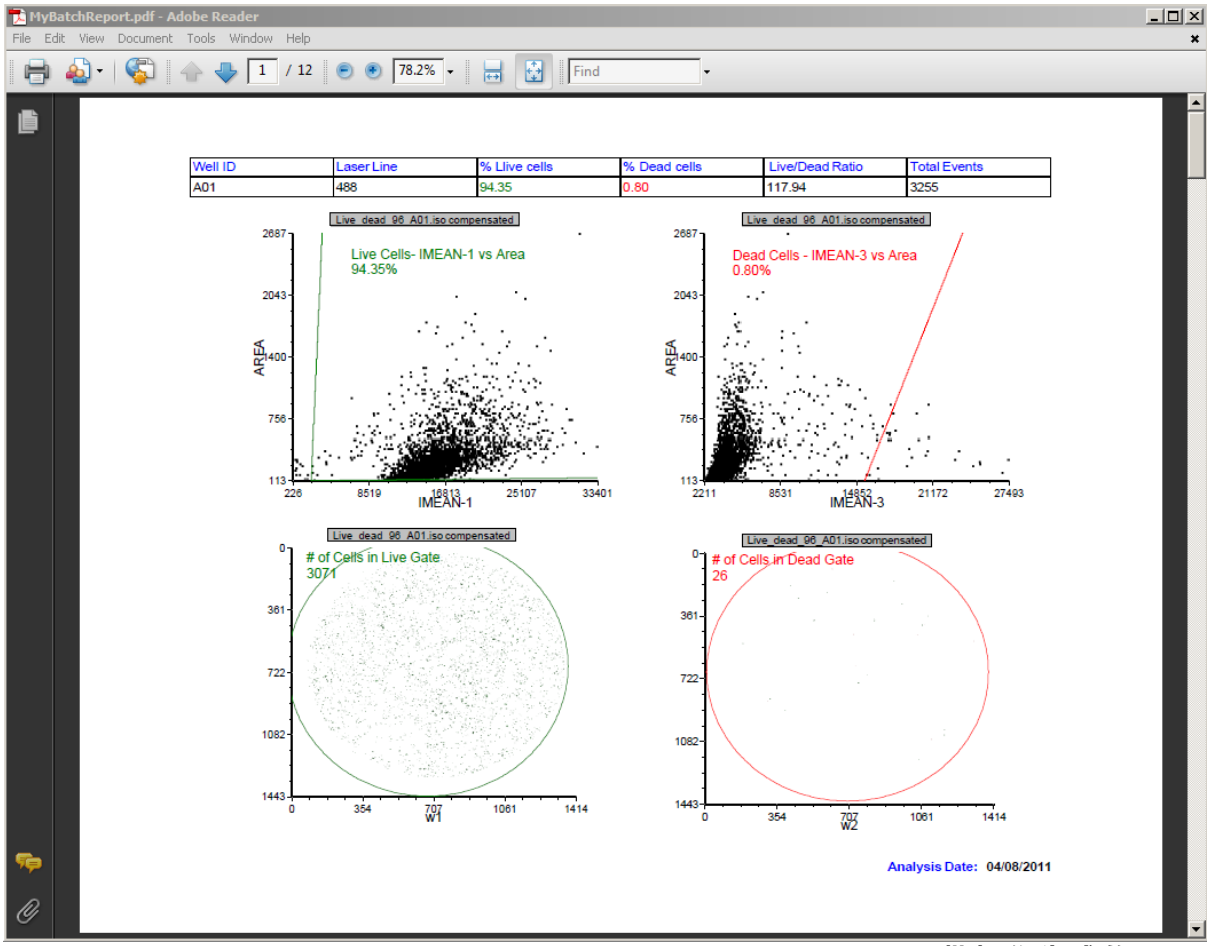
批处理大概会运行一分钟。在批处理过程中会出现一个状态窗口，显示批处理进行到了哪里(图T28.87)。



图T28.87 Batch Processing Status Window (**批处理状态窗口**)

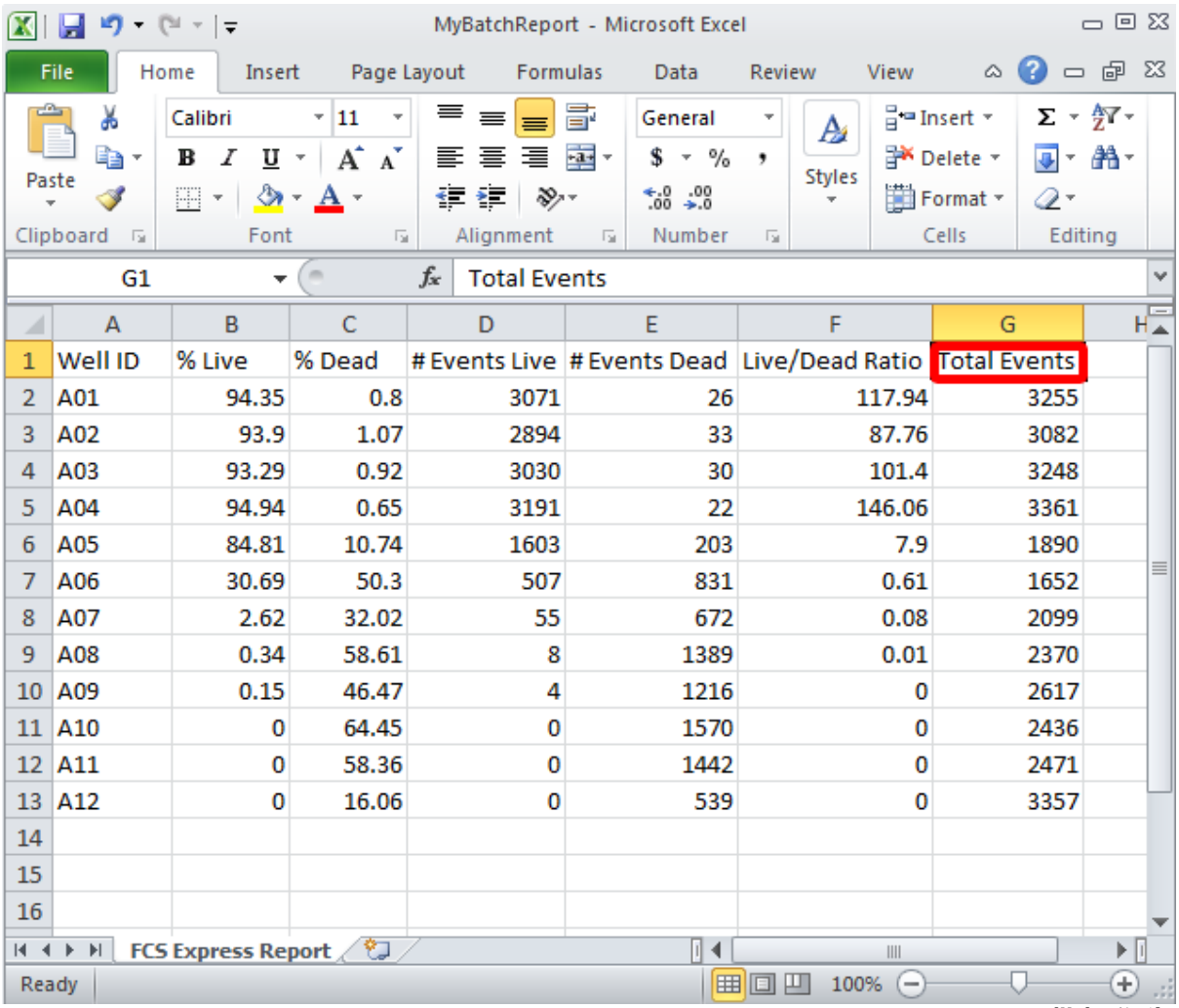
批处理完成后，一个名为**MyBatchReport.pdf**的PDF文件会自动打开。类似地，一个名为**MyBatchReport.xls**的文件也会打开。(图T28.88)。

61.请查看一下该PDF文件，确认该文件有12页，每页对应一个细胞孔(图T28.88)。



图T28.88 "MyBatchReport" PDF Report from Batch Actions (**批操作生成的** "MyBatchReport"PDF**报表**)

让我们看一下Excel文件(图T28.89)。该Excel电子表格有12行数据，这些数据都显示在指定的列名下。注意到**Total Events(所有事件)**一列现在有着恰当的名称。



	A	B	C	D	E	F	G
1	Well ID	% Live	% Dead	# Events Live	# Events Dead	Live/Dead Ratio	Total Events
2	A01	94.35	0.8	3071	26	117.94	3255
3	A02	93.9	1.07	2894	33	87.76	3082
4	A03	93.29	0.92	3030	30	101.4	3248
5	A04	94.94	0.65	3191	22	146.06	3361
6	A05	84.81	10.74	1603	203	7.9	1890
7	A06	30.69	50.3	507	831	0.61	1652
8	A07	2.62	32.02	55	672	0.08	2099
9	A08	0.34	58.61	8	1389	0.01	2370
10	A09	0.15	46.47	4	1216	0	2617
11	A10	0	64.45	0	1570	0	2436
12	A11	0	58.36	0	1442	0	2471
13	A12	0	16.06	0	539	0	3357
14							
15							
16							

图T28.89 "MyBatchReport" Excel Spread Sheet Report from Batch Actions (**批操作生成的**"MyBatchReport"Excel**电子表格报表**)

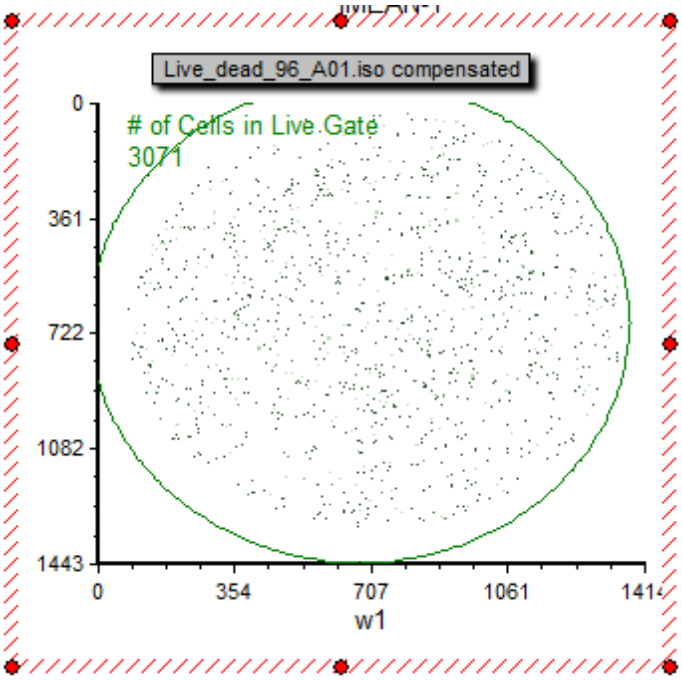
62.请关闭批操作窗口以及所有的PDF和Excel文件。你无需保存报表。

从FCS Express导出高分辨率图像

你可以把版面页中的任何组件保存为一个高分辨率图像或有发表质量的图片。

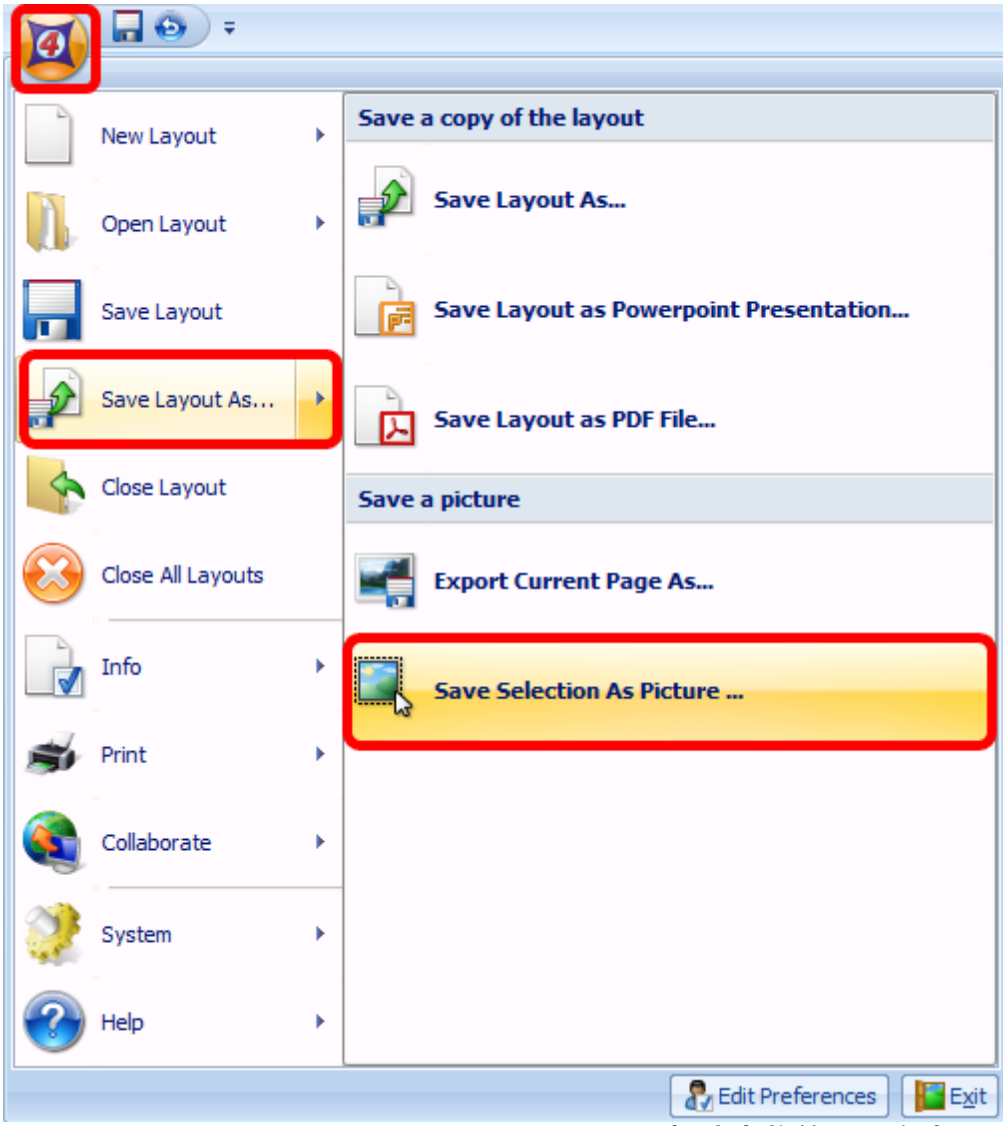
63.请选择活细胞**Live_dead_96_A01.iso**图像绘图，如图T28.90所示。

注: 如果点选绘图的中心，绘图将会有一个绿色的边框。如果点选绘图的边缘或一个绿色边框，绘图将有一个红色的边框。对于导出图像来说，两种状态都可以。



图T28.90 The Live_dead_96_A01.iso compensated" Picture plot
(Live_dead_96_A01.iso**补偿过的图像绘图**)

64.请点击**Application button(应用程序按钮)**  **→Save Layout As(版面另存为)→ Save selection As Picture(把选中的对象保存为图片)。**(图T28.91)



图T28.91 Saving a Selected Plot as a Picture (**把选中的绘图另存为图片**)

65. 请选择桌面作为目标路径并将文件命名为"**MyExportedImage**"。

66. 请选择**.TIF**格式来把图像保存为.tif格式。

67. 请点击**Save(保存)**

68. 请在桌面上点击查看该.tiff图像。注意到这是一个高分辨率图像。你可以在FCS Express中设置具体的分辨率。

69. 请关闭版面，**请不要**保存修改。

祝贺你！你已经完成了**FCS Express 4 Image Cytometry**介绍教程的学习。

Index

- 1 -

1D Plot Preferences 114

- 2 -

2D Plot Preferences 115
2D Plot Statistics 201

- A -

About the Manual 18
Accuri CFlow Files 392, 394
Accuri CFlow文件 392
  Importing 392
  Tips for Importing 394
  导入 392
  导入技巧提示 394
Activate Gate 438, 440
Adding a Text Box to a Plot 98
Adding Custom Data 214
Adding Signatures 489
Adding Tokens 101
Advanced Publishing 503
Alerts 380, 382
Aligning Objects 79
Analysis of FCS Data 180
Application Button 29
Applying Compensation Definitions 267
Applying Gates to Plots 191
Auto Recovery Files 62
Axis Options 114
Axis Scalings 203, 204, 205, 208

- B -

Back-gating 440
Batch Actions 338, 339, 342, 344, 346, 348
Batch Process 367, 368
Batch Processes 334
Batch Processing 326, 352, 361, 362, 363
Batch Processing Actions 338
Batch Processing Reports 349, 365
Batch Processing Tokens 305
Batch Tab 36

- C -

Calculating a Single Concentration 246
Calculating Compensation 266
Canned Comments 448
Cell Number Gates 283
Changing FCS Files 106
Changing Parameters on Plot Axes 177
Channel Calibration 256, 259
Channel Calibration Tool 256
Channel Calibration Window 260
Closing Layouts 55
Collaboration Meetings 457
Collaboration Sessions 452
Collaboration Tool 452
Compensation Definitions 263, 264, 267, 268, 270
Compensation Files 270
Compensation Tokens 305
Compensation Tool 262
Concentration Calculator 246, 248
Copying 78
Creating a New Channel Calibration 256
Creating a New Layout 50
Creating a User 477
Creating Alerts 380
Creating Custom Tokens 308
Creating Gates 181
Creating Gates from Quadrants 199
Creating Markers 194
Creating Security Groups 481
Current FCS File 105
Custom Data 214, 215, 218, 219, 220, 221
Custom Token Formulas 316
Custom Tokens 308, 310, 312, 313, 314, 317, 319, 320, 321, 322
Customizing Default Preferences 110
Customizing the Ribbon 45
Cutting 78

- D -

Data Grids 280, 283
Data List 328, 330, 332, 334

Data Loading 137, 138, 139
Data Navigator 74
Data Saving 135
Data Tab 40
Default Files/Directories 127
Default Preferences 110
Defining Custom Data 214
Deleting 78
Deleting a User 478
Deleting Custom Data 221
Deleting Custom Tokens 321
Deleting Gates 188
Deleting Markers 195
Deleting Security Groups 483
Deleting Signatures 491
Display Types 104
Displaying Plots 104
DNA Analysis 398
DNA Histograms 399
DNA Position Markers 405
DNA Preferences 116
DNA Statistics 408
DNA-Specific Tokens 410
DNA分析 398
DNA统计 408
DNA统计特有标记 410
DNA位置标识 405
DNA选项 116
DNA柱状图
  Formatting 399
  Inserting 399
  插入 399
  格式化 399
Dockable Windows 64, 65, 71, 72
Docking 63
Docking a Window 65
Duplicating 78
Duplicating Security Groups 483

- E -

Editing a Compensation Definition 264
Editing a User 478
Editing Keyword Tokens 300
Editing Layout Tokens 302
Editing Security Groups 482
Editing Statistic Tokens 296
Editing Tokens 296
Electronic Signatures 488
Email Support 23
Exporting FCS File Data 274
Exporting Layouts 60, 61
Extra Hosting Plans 508
Extra Keywords 273

- F -

FACSDiva Files 386, 391
FACSDiva文件 386
  Importing 386
  Tips for Importing 391
  导入 386
  导入技巧提示 391
FCS 106
FCS Data 280
FCS Data Files 272
FCS Express Reader 507
FCS Express快速导览 26
FCS Express阅读器 507
  Limitations 507
  Obtaining 507
  Upgrading to FCS Express 507
  功能局限 507
  获取 507
  升级到FCS Express 507
FCS File Data 274, 276
FCS File Headers 272
FCS File Options 137
FCS Files 105
FCS Version 4 18
FCS第4版 18
FCS数据
  Viewing 280
  查看 280
FCS数据分析 180
FCS数据文件 272
FCS文件
  Current 105
  当前的 105
FCS文件数据
  Batch Export 276
  Exporting Single Files 274
  导出单个文件 274
  批量导出 276
FCS文件头
  Viewing and Changing 272

FCS文件头
查看和修改 272
FCS文件选项 137
Format Tab 38
Formatting 140, 141, 142, 144, 145, 146, 148, 150, 151, 157, 160, 162, 164, 165, 167, 170, 172, 173
Formatting DNA Histograms 400, 401, 402
Formatting Objects 110
Formatting Pictures 86
Formatting Proliferation Histograms 415, 417
Formatting Statistics 203
Formatting Tables 94
Formatting Text Boxes 100

- G -

Gate Navigator 75
Gate Preferences 126
Gate Tokens 302
Gate View Object 189
Gates 180, 181, 188, 189, 190, 191
Gating Tab 36
General Preferences 111
Getting Started 26
Graphing Custom Data 221
Grouping Items on a Page 78

- H -

Heat Maps 432, 434, 436, 438
Help 23
Hiding Gates 189
Hiding Quadrants 198
Hierarchical Gating 193
Histogram Statistics 200
Histogram Subtraction Tool 252
Home Tab 33

- I -

Importing External Documents 386
Insert Tab 35
Inserting Items on a Page 75
Inserting Pictures 86
Inserting Plots 105
Inserting Tables 93
Inserting Tokens 287
Installing 19
Introduction to the Layout 50

- K -

Keyword Dialog Preferences 128
Kinetics Analysis 424
Kinetics Histograms 424, 425
Kinetics Statistics 427
Kinetics-Specific Tokens 428

- L -

Layout Navigator 72
Layout Security Groups 483
Layout-based Security 475
Layouts 50, 51, 53, 55, 56, 59, 60, 61, 62, 63, 75, 491, 492, 496, 500
Learning FCS Express 22
Linking Gates 191
Linking Markers to Gates 195
Linking Quadrants to Gates 199
Linking Quadrants to Quadrants 198
Loading Compensation Definitions 270

- M -

Magnify 153
Maintaining Signatures 489
Managing Password Configurations 479
Managing the Databases 484
Manual 18, 23
Markers 194, 195
Master Page 83
Modifying Signatures 490
Moving Gates 188
Moving Markers 194
Moving Objects 79
Moving Quadrants 198
Multicycle Functions 403
Multicycle Tab 43

- N -

Navigating through a Layout 61
Navigators 72

New Features 466, 467, 468, 469, 470, 471

- O -

Objects 79, 80, 110
Obtaining and Installing Multicycle 398
Obtaining the Proliferation Add-on 414
Online Forum 23
Ordering Objects 80

- P -

Page Layout 81
Pages 75, 76, 78
Panels 372
Parameter Label Sets 210
Parameter Math 240, 242, 244
Picture Plots 432, 440
Pictures 86
  Inserting 90
  插入 90
Pinning a Window 71
Plot Preferences 113
Plot Statistic Preferences 119
Plots 104, 105, 153
Preferences 111, 113, 114, 115, 119, 121, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 129, 131
  Startup 125
  启动 125
Proliferation Analysis 414
Proliferation Fit Parameters 415
Proliferation Fit Statistic Preferences 123
Proliferation Histograms 414, 415
Proliferation Population Statistic Preferences 124
Proliferation Postion Markers 417
Proliferation Statistics 418
Proliferation-Specific Tokens 420
Publishing 500, 503, 505
Purchasing 19

- Q -

Quadrants 196, 197, 198, 199
Quick Access Toolbar 32
Quick Tour of FCS Express 26

- R -

Regression Analysis 226
Renaming Custom Data 220
Resizing Gates 188
Resizing Markers 194
Resizing Objects 79
Resizing Text Boxes 98
Ribbon 45
Ribbon Interface 28, 29, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 43, 44
Ribbon条 28
  Application Button 29
  Batch Tab 36
  Customizing 45
  Data Tab 40
  Format Tab 38
  Gating Tab 36
  Home Tab 33
  Insert Tab 35
  Multicycle Tab 43
  Quick Access Toolbar 32
  Text Tab 39
  View Tab 44
  插入标签卡 35
  多周期标签卡 43
  格式标签卡 38
  快捷工具条 32
  门操作标签卡 36
  批处理标签卡 36
  视图标签卡 44
  数据标签卡 40
  文本标签卡 39
  应用程序按钮 29
  主页标签卡 33
  自定义 45
Running Alerts 382

- S -

Save Preferences 129
Saving a Layout 51
Saving and Loading Gates 190
Saving Compensation Definitions 270
Security 474, 475, 476
Security Groups 479, 481, 482, 483

Security Preferences 131
Selecting Items on a Page 76
Selecting Quadrants 197
Selecting the Default Compensation 268
Setting DNA Preferences 402
Setting Up Compensation Definitions 263
Sharing Published Layouts 506
Showing Quadrants 197
Signatures 489, 490, 491
Signatures签名
  Maintaining 489
  管理 489
Signing Layouts 491
Software Compensation Caveats 262
Stacked Overlay Data 162
Startup Preferences 125
Statistic Classifier Tokens 306
Statistic Preferences 119
Statistic Tokens 296, 299
Statistics 199, 200, 201, 202, 203
Support 23
System Requirements 18
System Tokens 305

- T -

Tables 93, 94, 95
Text Box Preferences 131
Text Boxes 90, 98, 100, 101
Text Tab 39
Token Properties 289, 292
Tokens 101, 286, 287, 296, 300, 302, 305, 306, 308
Top File 244
Tutorial 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 523, 525, 528, 531, 533, 537, 538, 543, 549, 554, 556, 558, 561, 564, 566, 573, 575, 577, 578, 582, 583, 586, 591, 594, 596, 603, 607, 616, 628, 639, 646, 649, 656, 662, 669, 683, 694, 713, 724, 733, 742, 748, 754, 758, 768, 769, 770, 775, 791, 805, 806, 811, 829, 831, 835, 845, 854, 867, 868, 877, 890, 909, 919, 930, 943, 958, 963, 969, 981, 991, 999, 1004, 1005, 1014, 1025, 1030, 1031, 1039, 1042, 1047, 1049, 1054, 1057, 1059, 1061, 1068, 1073, 1077, 1081, 1083, 1085, 1087, 1096, 1103, 1111, 1117, 1121, 1126, 1131, 1136, 1143, 1144, 1150, 1156, 1164, 1177, 1183, 1190, 1197, 1201
Tutorials 22
Tutorial教程
  Gate Navigator Features门导航器功能 797
  Quadrants象限 639
  Saving and Loading Panels保存和导入面板 747

- U -

Undoing Changes 81
UnMagnify 153
Unsigning Layouts 492
Upgrading from Version 3 466
User 477, 478
User Information 132
User-Based Security 474
Using Gates 180
Using Markers 194
Using Panels 372
Using Quadrants 196
Using Templates 378
Using the Master Page 83
Using Tokens 286

- V -

View Tab 44
Viewing the Raw Data 280

- W -

Well Gates 438
Working with Custom Data 215
Working with Heat Maps 432
Working with Layouts 50
Working with Multiple Layouts 63
Working with Panels 372
Working with Pictures 86
Working with Text Boxes 90
Working with the Data List 327

- Z -

Zooming a Layout 62
安全设置 131, 474
  Layout-based 475
  User-Based 474, 476
  基于版面的 475
  基于用户的 474, 476

安全组 479
Creating 481
Deleting 483
Duplicating 483
Editing 482
编辑 482
创建 481
删除 483
做副本 483
安装 19
把象限链接到门 199
把象限链接到象限 198
版面
Closing 55
Exporting a Page to PowerPoint 60
Exporting as a PDF 61
Exporting Page as a Picture 60
History 496
Introduction 50
Navigating 61
New 50
Open 53
Page Features 75
Printing Pages 59
Properties 63
Publishing 500
Saving 51
Signing 491
Unsigning 492
Viewing Pages 62
Working with 50
Zooming 62
把版面导出为PowerPoint 60
把页面导出为图片 60
保存 51
打开 53
打印页面 59
导出为PDF 61
导航定位 61
发布 500
概述 50
关闭 55
历史 496
签名 491
取消签名 492
使用 50
属性 63
缩放 62
新 50
页功能 75
页面查看 62
版面安全组 483
版面导出
Picture 60
图片 60
版面导航器 72
版面概述 50
版面签名 491
版面缩放 62
帮助
Integrated Help System 23
完整的帮助系统 23
保存版面 51
保存补偿定义 270
保存和导入门 190
保存设置 129
编辑安全组 482
编辑版面标记 302
编辑标记 296
编辑补偿定义 264
编辑关键字标记 300
编辑统计标记 296
编辑用户 478
标记 101
Batch Processing 305
Compensation 305
Custom 308
Editing 296
Gate 302
Inserting 287
Inserting a Page Layout Token 286
Keyword 300
Layout 302
Statistic 296
Statistic Classifier 306
System 305
Using 286
版面 302
编辑 296
补偿 305
插入 287
插入一页面版式标记 286
关键字 300
门 302
批处理 305
使用 286

标记 101
统计 296
统计分类器 306
系统 305
自定义 308
标记属性
Common 289
Data Source 292
Display Text 289
数据源 292
通用 289
显示文本 289
标识
Clipboard 195
Creating 194
Deleting 195
Moving 194
Resizing 194
Using 194
创建 194
改变大小 194
剪切板 195
删除 195
使用 194
移动 194
表格
Formatting 94
Inserting 93
Properties 95
插入 93
格式化 94
属性 95
补偿标记 305
补偿定义
Adjusting from a 2D Plot 268
Applying 267
Editing 264
Loading 270
Saving 270
Setting Up 263
保存 270
编辑 264
从二维绘图调整 268
导入 270
设置 263
应用 267
补偿工具 262
补偿文件
Working with 270
使用 270
参数标签组 210
参数数学 240
Creating a Calculation 240
Creating a Sequence 242
Running a Sequence 244
创建计算 240
创建序列 242
运行序列 244
插入标记 287
插入标签卡 35
插入表格 93
插入绘图 105
插入图片 86
查看原始数据 280
撤销修改 81
窗口停靠 65
创建安全组 481
创建标识 194
创建警告 380
创建门 181
创建新版面 50
创建新的通道校正 256
创建用户 477
创建自定义标记 308
从第3版升级 466
从象限创建门 199
当前的FCS文件 105
导出FCS文件数据 274
导出版面
PDF 61
PowerPoint 60
导航器 72
导入补偿定义 270
导入外部文档 386
电子签名 488
电子邮件支持 23
叠放起来的叠加图层 162
钉住窗口 71
定义自定义数据 214
动力学分析 424
动力学特有标记 428
动力学统计 427
动力学柱状图
Formatting 425
Inserting 424
插入 424

动力学柱状图
格式化 425
对象
Aligning 79
Formatting 110
Moving 79
Ordering 80
Resizing 79
叠放次序 80
对齐 79
改变大小 79
格式化 110
移动 79
对象叠放次序 80
对象对齐 79
对象格式化 110
多周期标签卡 43
多周期函数 403
额外的关键字 273
额外网络托管方案 508
二维绘图 115
二维绘图统计 201
发布
Advanced 503
De Novo Software Site 500
De Novo Software网站 500
Default Options 505
Maintaining Layouts 505
高级 503
管理版面 505
默认选项 505
放大 153
分裂细胞群统计选项 124
封装注释 448
复制 78
副本复制 78
改变标识大小 194
改变对象大小 79
改变门的大小 188
改变文本框大小 98
高级发布 503
高级发布设置 133
格式标签卡 38
格式化
2D Plot Overlays 165
2D Plot Specific Options 173
2D Plots 164
3D Display Options 151
Axes 150
Background 141
Border and Size 142
Color Levels 170
Gate Display 172
General 140
Histogram Markers 160
Histogram Overlays 157
Histogram Specific Options 162
Histograms 157
Legend 148
Options Shared by All Objects 140
Options Shared by All Plots 144
Quadrants 167
Resolution Options 145
Title 146
背景 141
边框和尺寸 142
标题 146
二维绘图 164
二维绘图叠加图层 165
二维绘图特定选项 173
分辨率选项 145
三维显示选项 151
所有对象共享的选项 140
所有绘图共享的选项 144
图例 148
显示门 172
象限 167
颜色层次 170
一般设置 140
柱状图 157
柱状图标识 160
柱状图叠加图层 157
柱状图特定选项 162
坐标轴 150
格式化DNA柱状图
Background Options 402
Cycle Options 401
General Options 400
背景选项 402
一般设置 400
周期选项 401
格式化表格 94
格式化统计 203
格式化图片 86
格式化文本框 100
格式化细胞分裂柱状图

格式化细胞分裂柱状图
Fit Parameters 415
Position Markers 417
拟合参数 415
位置标识 417
共享发布了的版面 506
购买 19
关闭版面 55
关键字对话框设置 128
关于本用户手册 18
管理数据库 484
合作工具 452
合作会议 457
Joining 452
Opening 452
Reserving 452
打开 452
加入 452
预约 452
后置门 440
回归分析 226
绘图
Displaying 104
Inserting 105
Magnifying 153
Types 104
插入 105
放大 153
类型 104
显示 104
绘图设置 113
绘图统计选项 119
获取和安装多周期计算包 398
获取细胞分裂附加模块 414
基于版面的安全设置 475
基于用户的安全设置 474
激活门 438, 440
计算补偿 266
计算单一浓度 246
剪切 78
将标识链接到门 195
将门应用于绘图 191
教程 510
Aligning Objects 519
Always Display Selection Dialog 533
Analysis of 3-Cycle Data 999
Analyzing Data in Heat Maps 943
Apply Regression to an FCS File 1197
Applying Gates 586
Applying Gating and Statistics 1039
Autofit Selection (1-Cycle Analysis) 969
Automatic Compensation 669
Bar and Scatter Plots 867
Batch Processing 683
Cell Concentration 1054
CellProfiler Export 1087
CellProfiler数据导出 1087
Changing Histogram Overlays 561
Channel Calibration 1073
Channel Calibration Defaults 1085
Channel Calibration Demonstration 1081
Channel Calibration Tool Setup 1077
Compensation 662
Complete a Custom Data Grid 1177
Concentration Calculator (Time/Flow Rate) 1059
Concentration Calculator Using Beads 1057
Copying Objects 516
Create 1D Gate on 2D Plot 573
Create a Gate from a Marker 575
Create a Linear Regression Overlay 1190
Create a Linear Regression Token 1183
Create Bar and Scaterr Plots 868
Create Custom Tokens 845
Create Token Classifiers 854
Creating a Classifier Token 616
Creating a Custom Data Table 909
Creating a Custom Token 628
Creating a Gate from a Quadrant 577
Creating Combination Gates 578
Creating Custom Data 835
Creating Gates 566
Creating the Layout 733
Cutom Data 829
Data Navigator 769
Data Navigator Features 775
Define Custom Tokens 890
Defining the Target Population 1005
Deleting an Objec 513
Deleting Gates 586
DNA Analysis 969
DNA分析 969
Docking 748
Docking Features (Multiple Windows) 758
Duplicating Objects 514
Excel Report (Cell Mode) 694

教程 510
Excel Report (Column Mode) 713
Excel报表(单元格模式) 694
Excel报表(列模式) 713
Expanded Analysis with Autofit 981
Export an IsoCyte Experiment 1136
Export IsoCyte Data in Numeric Form 1143
Exporting 96 Well Format Images 1087
Exporting from IsoCyte 1136
Exporting Numeric Data (96 Well) 1117
Exporting Plots to PowerPoint 683
Exporting Single Image Numeric Data 1126
Exporting Single Images 1103
Features of a Docked Window 754
Fitting Proliferating T-cells 1014
Format to Change Resolution 1049
Formatting 3D Options 564
Formatting a DNA Histogram 991
Formatting a Proliferation Histogram 1025
Formatting Bar and Scatter Plots 877
Formatting Legend 558
Formatting Multiple Plots 543
Formatting Plot Axes 554
Formatting Plot Background 556
Formatting Plot Titles 549
Formatting Plots 538
Formatting Text Box Properties 596
Formatting Text in a Text Box 594
Formatting using the Pop-up Menu 538
Gate Navigator 791
Gating 566
Gating with Picture Plots 1156
Grouping Objects 518
High Content Flow 930
Import and Analyze 96 Well Images 1096
Import IsoCyte Numeric Form Data 1144
Import Single Image Data 1111
Import Single Image Numeric Data 1131
Importing Numeric Data 96 Well 1121
Insert a Scatter Plot 919
Insert and Format Picture Plots 1150
Insert Plots from Windows Explorer 537
Inserting 531
Inserting a 2D Plot 525
Inserting a Data Grid 831
Inserting a Histogram 528
Inserting an Object 511
Inserting and Modifying a Table 603
Inserting and Modifying a Token 607
Inserting Plots 525
Inserting Text Boxes 591
Kinetics 1030
Layout Navigator 805
Layout Navigator Features 811
Load Layout for Custom Data 829
Load, Insert, and Format Heat Maps 930
Manual Compensation 662
Marker to Gate Linking 656
Moving an Object 513
Moving Gates 582
Open/Dock Data Navigator 770
Open/Dock Gate Navigator 791
Open/Dock Layout Navigator 806
Ordering Objects 523
Overlay and Format Kinetics Plots 1047
Pasting Objects 517
Percentile Quadrants 646
Picture Plots 1150
Plotting Values 1042
Proliferation 1004
Quadrant to Gate Linking 649
Quadrant/Marker to Gate Linking 649
Resizing an Object 512
Resizing Gates 583
Save a Regression 1201
Saving/Loading Channel Calibrations 1083
Selecting and Deselecting Objects 512
Selecting Multiple Objects 515
Setting Bead Gates and Markers 1073
Setting Up a Panel 724
Setting up Bead Gates 1054
Showing Concentration (Statistics Window) 1061
Showing the Concentration as a Token 1068
Text Boxes and Tokens 591
Titration 890
t删除对象 513
Undocking a Window 768
Undoing Changes 514
Using Batch Analysis 958
Using Data Grids for Analysis 1164
Using Objects 511
Using Panels 724
Using Parameter Math 1031
Using the Panel 742
Using the Z-Prime Function 963
Video 22

教程 510
Written 22
把标记链接到门 656
把回归应用到一个FCS文件上 1197
把绘图导出至PowerPoint 683
把浓度作为标记来显示 1068
把象限或标识链接到门 649
把象限链接到门 649
百分比象限 646
版面导航器 805
版面导航器功能 811
保存/ 导入通道校正 1083
保存回归分析 1201
补偿 662
插入 531
插入并且格式化图像绘图 1150
插入对象 511
插入二维绘图 525
插入和修改标记 607
插入和修改表格 603
插入绘图 525
插入散点图 919
插入数据网格 831
插入文本框 591
插入柱状图 528
撤销所做修改 514
创建版面 733
创建标记分类器 854
创建分类器标识 616
创建门 566
创建条形图和散点图 868
创建线性回归标记 1183
创建线性回归叠加图层 1190
创建自定义标记 628, 845
创建自定义数据 835
创建自定义数据表格 909
创建组合门 578
从IsoCyte导出数据 1136
从标识创建门 575
从象限创建门 577
从资源管理器中插入绘图 537
打开/ 停靠数据导航器 770
打开和停靠版面导航器 806
打开和停靠门导航器 791
导出96孔格式图片 1087
导出IsoCyte实验数据 1136
导出单个图片 1103
导出单个图片数值数据 1126
导出数值数据(96孔) 1117
导入、插入以及格式化热图 930
导入IsoCyte数值格式数据 1144
导入单个图片数据 1111
导入单个图片数值数据 1131
导入和分析96孔图片 1096
导入数值数据(96孔) 1121
滴定实验 890
叠加图层以及格式化动力学绘图 1047
定义目标细胞群 1005
定义自定义标记 890
动力学 1030
对进行分裂的T- 细胞进行拟合 1014
对图像绘图进行门操作 1156
对象叠放次序 523
对象对齐 519
对象组合 518
分析3- 周期数据 999
分析热图中的数据 943
复制对象 516
改变门大小 583
高涵量流 930
格式化DNA柱状图 991
格式化多个绘图 543
格式化绘图 538
格式化绘图背景 556
格式化绘图标题 549
格式化绘图坐标轴 554
格式化三维选项 564
格式化条形图和散点图 877
格式化图例 558
格式化文本框属性 596
格式化文本框中的文本 594
格式化细胞分裂柱状图 1025
绘图数值 1042
门操作 566
门导航器 791
浓度计算器(时间/ 流速) 1059
批处理 683
取消窗口停靠 768
删除门 586
设置面板 724
设置通道校正工具 1077
设置通道校正默认值 1085
设置微珠门 1054
设置微珠门和标记 1073
使用Z- 函数功能 963
使用参数数学 1031

教程 510
使用弹出菜单格式化绘图 538
使用对象 511
使用面板 724, 742
使用批量分析 958
使用数据网格来进行分析 1164
使用微珠的浓度计数器 1057
视频 22
手动补偿 662
书面 22
数据导航器 769
数据导航器功能 775
条形图和散点图 867
停靠 748
停靠窗口的功能 754
停靠功能(多个窗口) 758
通道校正 1073
通道校正演示 1081
图像绘图 1150
完成一个自定义数据网格 1177
为对象做副本 514
为自定义数据导入版面 829
文本框和标记 591
细胞分裂 1004
细胞浓度 1054
显示浓度(统计窗口) 1061
修改对象大小 512
修改分辨率的格式 1049
修改柱状图叠加图层 561
选择多个对象 515
选择自动拟合(单周期分析) 969
选中对象和取消选中对象 512
移动对象 513
移动门 582
以数值格式导出IsoCyte数据 1143
应用门 586
应用门操作以及统计 1039
在二维绘图上创建一维门 573
粘贴对象 517
自定义数据 829
自动补偿 669
自动拟合的扩展分析 981
总是显示文件选择对话框 533
警告 380
Creating 380
Running 382
创建 380
运行 382
开始使用 26
可停靠窗口
Closing 72
Docking 65
Opening 64
Pinning 71
Undocking 72
打开 64
钉住 71
关闭 72
解除停靠 72
停靠 65
快捷工具条 32
链接门 191
门
Applying to Plots 191
Clipboard 190
Creating 181
Deleting 188
Hiding 189
Linking 191
Moving 188
Resizing 188
Saving and Loading 190
Using 180
保存和导入 190
创建 181
改变大小 188
剪切板 190
链接 191
删除 188
使用 180
移动 188
隐藏 189
应用于绘图 191
门标记 302
门操作标签卡 36
门导航器 75
门视图对象 189
门选项 126
密码管理配置 479
面板
Using 372
Working with 372
使用 372
默认文件/路径 127
默认选项
Customizing 110

默认选项
自定义 110
母版页
Changing Background 83
Using 83
改变背景 83
使用 83
浓度计算器 246
Single Concentration 246
Statistics Page 248
单一浓度 246
统计页 248
批操作
Folders 348
Save As Picture 346
保存为图片 346
文件夹 348
批处理 326
Adding 334
Adding Items to Reports 361
Adding Pictures to Reports 363
Creating Templates for Reports 361
Options 367
Print 338
Report Item Specific Properties 362
Running 368
Save Layout 339
Save to PDF 344
Save to PowerPoint 342
Working with Reports 352
保存版面 339
保存至PDF文件 344
保存至PowerPoint文稿 342
插入报表中的项目的特定属性 362
创建报表模板 361
打印 338
使用报表 352
添加 334
向报表中添加项目 361
选项 367
运行 368
在报表中添加图片 363
批处理报表 349
Reordering and Copying Items 365
改变对象顺序和复制对象 365
批处理标记 305
批处理标签卡 36
批处理使用 338
启动选项 125
签名
Adding 489
Deleting 491
Modifying 490
删除 491
添加 489
修改 490
签名管理 489
取消版面签名 492
取消放大 153
热图 432
Color Scheme 436
Setting Parameters 434
Well Gates 438
Working with 432
配色方案 436
设置参数 434
使用 432
微孔门 438
软件补偿缺点 262
删除 78
删除安全组 483
删除标识 195
删除门 188
删除签名 491
删除用户 478
删除自定义标记 321
删除自定义数据 221
设置
Axis 114
Files/ Directories 127
General 111
Keyword Dialog 128
Plot 113
Save 129
Security 131
安全 131
保存 129
关键字对话框 128
绘图 113
文件/路径 127
一般 111
坐标轴 114
设置DNA属性 402
设置补偿定义 263
使用版面 50
使用标记 286

使用标识 194
使用多个版面 63
使用门 180
使用面板 372
使用模板 378
使用母版页 83
使用热图 432
使用数据列表 327
使用图片 86
使用文本框 90
使用象限 196
使用自定义数据 215
视图标签卡 44
手册
About 18
关于 18
数据保存 135
数据标签卡 40
数据导航器 74
数据导入 137
Cell Profiler Options 139
Cell Profiler选项 139
IsoCyte Options 138
IsoCyte选项 138
数据列表
Adding Data Sets 328
Change File Button 334
Changing Data Sets 332
Drag and Drop 332
Next/ Previous 332
Sorting 330
排序 330
添加数据组 328
拖放 332
下一项/ 前一项 332
修改数据组 332
修改文件按钮 334
数据网格 280
Fomatting 283
Parameters to Display 283
Using Gates 283
格式化 283
使用门 283
要显示的参数 283
添加标记 101
添加签名 489
添加自定义数据 214
停靠 63
通道校正
Creating 256
Using 259
创建 256
使用 259
通道校正窗口 260
通道校正工具 256
统计 199
2D Plot 201
Clipboard 202
Formatting 203
Histogram 200
二维绘图 201
格式化 203
剪切板 202
柱状图 200
统计标记
2D Plot Options 296
Histogram Options 299
二维绘图选项 296
柱状图选项 299
统计分类器标记 306
统计选项 119
图片
Formatting 86
Inserting 86
插入 86
格式化 86
图像绘图 432
Back- gating 440
Working with 440
后置门操作 440
使用 440
微孔门 438
为安全组做副本 483
为自定义数据重命名 220
文本标签卡 39
文本框 90
Adding Tokens 101
Entering Text 90
Formatting 100
Formatting Text 90
Inserting 90
Resizing 98
插入 90
改变大小 98
格式化 100
格式化文本 90

文本框 90
输入文本 90
添加标记 101
文本框设置 131
文件
Changing 106
修改 106
文件自动恢复 62
系统标记 305
系统要求 18
细胞编号门 283
细胞分裂分析 414
细胞分裂拟合参数 415
细胞分裂拟合统计选项 123
细胞分裂特有标记 420
细胞分裂统计 418
细胞分裂位置标识 417
细胞分裂柱状图
Formatting 415
Inserting 414
插入 414
格式化 415
显示绘图 104
显示类型 104
显示象限 197
象限
Clipboard 199
Creating Gates from 199
Hiding 198
Linking Gates to 199
Moving 198
Rectangular and Floating Quadrants 639
Selecting 197
Showing 197
Using 196
从...创建门 199
剪切板 199
矩形和浮动象限 639
链接门到 199
使用 196
显示 197
选择 197
移动 198
隐藏 198
新功能 466
Alerts 469
Batch Processing 468
Canned Comments 469
Channel Calibration 470
Compensation 470
Custom Data 470
Custom Tokens 468
Data Grid 469
Data List 470
Data Loading and Saving 466
DNA Analysis 466
DNA分析 466
Gating 468
Image Cytometry 470
Licensing Options 470
Navigators 469
Parameter Math 469
Plot Types 467
Security System 471
User Interface 467
安全系统 471
补偿 470
参数数学 469
导航器 469
封装注释 469
绘图类型 467
警告 469
门操作 468
批处理 468
软件使用许可选项 470
数据导入和保存 466
数据列表 470
数据网格 469
通道校正 470
细胞图像分析 470
用户界面 467
自定义标记 468
自定义数据 470
修改FCS文件 106
修改绘图坐标轴上的参数 177
修改签名 490
选项 125
1D Plots 114
2D Plots 115
DNA Cycle Statistics 121
DNA Experiment Statistics 122
DNA Model Statistics 121
DNA模型统计 121
DNA实验统计 122
DNA周期统计 121
Gates 126

选项 125
Plot Statistics 119
Poliferation Population Statistics 124
Proliferation Fit Statistics 123
Statistics 119
二维绘图 115
分裂细胞群统计 124
绘图统计 119
门 126
统计 119
细胞分裂拟合统计 123
一维绘图 114
选择缺省补偿 268
选择象限 197
学习FCS Express 22
页面
Grouping Items 78
Inserting and Deleting Pages 56
Inserting Items 75
Renaming Pages 56
Selecting Items 76
插入对象 75
插入和删除页面 56
为页面重命名 56
选择对象 76
组合对象 78
页面版式 81
一般设置 111
一维绘图选项 114
移动标识 194
移动对象 79
移动门 188
移动象限 198
隐藏门 189
隐藏象限 198
应用补偿定义 267
应用程序按钮 29
用户
Creating 477
Deleting 478
Editing 478
编辑 478
创建 477
删除 478
用户手册 23
用户信息 132
用图像显示自定义数据 221
有层次的门操作 193
运行警告 382
在版面上导航定位 61
在绘图中加入文本框 98
在线论坛 23
在页面上插入对象 75
在页面上选择对象 76
在页面上组合对象 78
支持
Email 23
电子邮件 23
置顶的文件 244
主页标签卡 33
柱状图减法工具 252
柱状图统计 200
自定义Ribbon条 45
自定义标记 308
Boolean Values 320
Creating 308
Deleting 321
Editing 317
Examples 310, 312, 313, 314
Formatting 319
Formula Reference 322
Using Array Formulas 321
编辑 317
创建 308
格式化 319
公式参考 322
逻辑值 320
删除 321
实例 310, 312, 313, 314
使用数组公式 321
自定义标记公式
Inserting Functions 316
插入函数 316
自定义默认选项 110
自定义数据 214
Adding Rows or Columns 218
Adding/Defining 214
Deleting 221
Deleting Rows or Columns 219
Graphing 221
Renaming 220
Working with 215
删除 221
删除行或列 219
使用 215
添加/定义 214

自定义数据 214
添加行或列 218
用图像显示 221
重命名 220
坐标系 203
Data Display 204
Gating 205
Quadrants 208
门操作 205
数据显示 204
象限 208
坐标轴选项 114