

# SPARK多功能酶标仪使用交流

TECAN应用支持 202405



# TECAN SPARK多功能酶标仪的功能

## 光吸收 (Abs)

- 高速光栅，高扫描速度和波长准确性
- 应用于核酸蛋白紫外定量，ELISA，OD600，MTT实验等颜色或浊度变化的检测

## 荧光 (FI&FRET)

- 融合光路设计，Quad X4光栅+6\*6滤光片组，兼具波长灵活调整和高灵敏度
- 应用于荧光素或荧光蛋白标记的荧光信号检测

## 发光 (Lumi&BRET)

- 19\*2滤光片轮，增强型光子计数PMT，Z轴和狭缝可调，动态范围达9数量级，杜绝孔间干扰
- 应用于发光报告系统检测

## 荧光偏振FP

- 全波长荧光偏振
- 应用于大小分子相互作用检测、抗体检测（动物感染后）等定性检测

## TRF (HTRF)

- 全波长时间分辨荧光
- 应用于分子相互作用、标签蛋白定量等定性、定量检测

## Alpha

- 高能激光光源，温度探测，支持ALPHA所有应用且保证数据质量
- 应用于细胞因子检测等

## 辅助功能

- 长时间反应动力学：自动开盖+湿度盒+加样器+震荡+加热
- 细胞培养：气体、温度、湿度控制



# 光吸收检测原理-朗伯比尔定律 Lambert- Beer Law

朗伯比尔定律是分光光度法的基本定律，物质对特定波长垂直入射光的吸收的强弱与吸光物质的浓度及其液层厚度一定程度成线性相关。

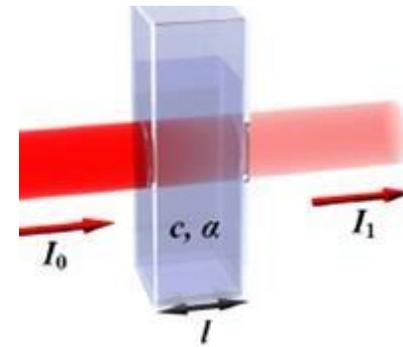
## 光吸收原理

基本公式

★  $T = I/I_0$

●  $A = -\log_{10} T = \log_{10} (1/T) = \log_{10} (I_0/I)$

★  $A_\lambda = \epsilon cL$  (朗伯比尔定律)



T透光率，I透射光强， $I_0$ 入射光强，A吸光度， $\lambda$ 波长， $\epsilon$ 物质的摩尔消光系数，c物质的摩尔浓度，L光程

# 酶标仪光吸收检测适用性

光吸收检测时吸光度值和透光率关系为，0吸光度代表100%透光，1吸光度代表10%透光，等比依次类推。OD为4代表万分之一透光，已经接近仪器和目前市面试剂盒的极限，也是市面上大部分光吸收酶标仪标注的最高值。

## 光吸收线性区间

Absorbance	Transmitted Light %	Absorbed Light %
0 OD	100	0
1 OD	10	90
2 OD	1	99
3 OD	0.1	99.9
4 OD	0.01	99.99

建议酶标仪线性定量区间一般在0.1-3.5之间，结合下面内容调整：

- 酶标仪仪器线性适用性，仪器说明书适用区间为0-4，TECAN 建议选择为0-3.5。
- 试剂盒线性适用性，此处波动较大，一般在0-2.5~4，建议具体试剂盒具体分析或联系试剂盒厂家。
- 耗材线性适用性，常见微孔板背景值一般在0.05左右，按照信噪比大于2-3才能说明是有效信号，需要检测信号大于0.1。

# 光程对光吸收值的影响

根据朗伯比尔定律 $A = \epsilon CL$ ，可知溶液浓度一定时，吸光度值 $A$ 和光程 $L$ ，也就是光透过液柱的厚度成线性相关，液体越厚 $A$ 值越大。常见比色皿和酶标板之间一般具有特定换算公式。

## 常见的光吸收容器



比色皿的光程一般固定为1cm



微孔板的光程和加入液体体积成线性相关，一般200微升约0.5cm，参考后续光程校准内容确定

## 酶标仪和分光光度计读值换算

$$OD = A/L * G + R$$

$A$ 为微孔板读值， $OD$ 为分光光度计（比色皿）读值， $L$ 为液体对应光程， $G$ 为校正因子， $R$ 为校正常数

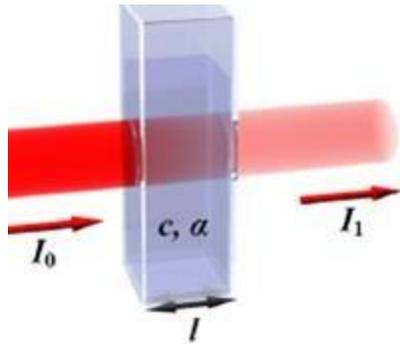
All measurements were performed on a microplate reader with a working volume of 200  $\mu$ L on 96-well plates with optically clear bottom. Cell growth was monitored by optical density at 600 nm wavelength ( $OD_{600}$ ). The correlation between the optical densities measured for 200  $\mu$ L in the plate reader and in a 10 mm pathlength cuvette in the spectrophotometer is:

$$OD_{600} = \frac{A_{600} + 0.0145}{0.4678}$$

where  $OD_{600}$  represents the spectrophotometer optical density at 600 nm, and  $A_{600}$  represents the plate reader optical density at 600 nm.

影响因子：7.263 PMID: 32371090

# 光吸收检测误差来源-使用原理相关



朗伯比尔定律

$$A_{\lambda} = \epsilon c L$$

## 1. 光线非垂直照射

典型误差来源：仪器非水平放置，板型为非平底板型，溶液由于表面张力（气泡等）非平面

## 2. L 值过低

由于液体体积较少或复孔加样不准确，导致L过低而检测信号误差较大

## 3. c 值过低或过高

待测物浓度过低时，导致检测信号误差过大（信噪比无法区分，一般要求2-3倍以上）；浓度过高时，超过试剂盒或酶标仪检测限导致读数准确性下降

## 4. $\epsilon$ 值不准确

常见为溶液杂质影响，如核酸检测时蛋白和盐的干扰

## 5. A 值不准确

常见为背景干扰，典型现象如溶液不均匀，板盖干扰，板底污染（板底杂质如油污、指纹等）

# 酶标仪检测设置内容

## 酶标仪光吸收功能介绍

▼ Absorbance 光吸收

Wavelength  
Measurement: 230 nm (5) 检测波长  
 Reference 参比波长

Multiple Reads per Well 多点读取  
 Multiple reads per well

Read  
Number of flashes: 25 闪光次数  
Settle time: 0 ms 稳定时间

Label  
Name: Label1 检测标记

Pathlength Correction  
 Pathlength correction 光程校准

注意：单波长检测时检测波长一般为待测物吸收峰波峰区间！

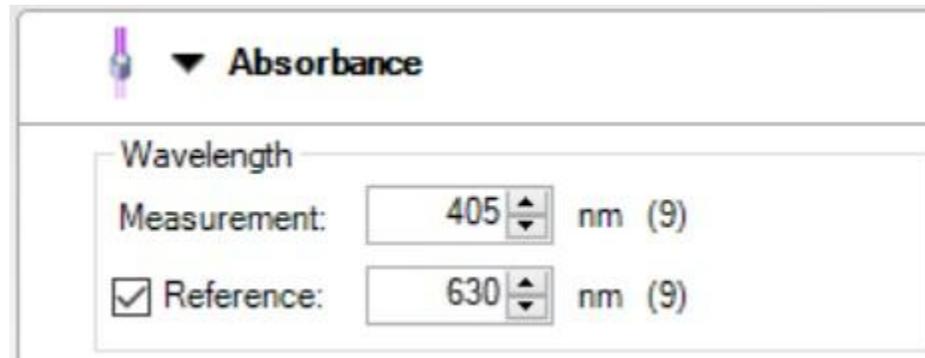
## 酶标仪关键设置介绍

- ① 检测波长：为根据实验内容确定的吸收波长，光栅型机器可自由输入数值，滤光片型需选择对应波长滤光片；
- ② 闪光次数：一般默认设置，如需检测准确度高则增加，检测速度快则减少；
- ③ 稳定时间：为单孔检测间隔的静置时间，一般96及以上孔板不需要设置；
- ④ 检测标记：如同时检测多组，建议标记实验名称加以区分；

注意：软件设置详细流程请参考说明书操作！

# 酶标仪检测设置详细介绍-双波长试剂盒检测

## 双波长检测示例和介绍



Wavelength

Measurement: 405 nm (9)

Reference: 630 nm (9)

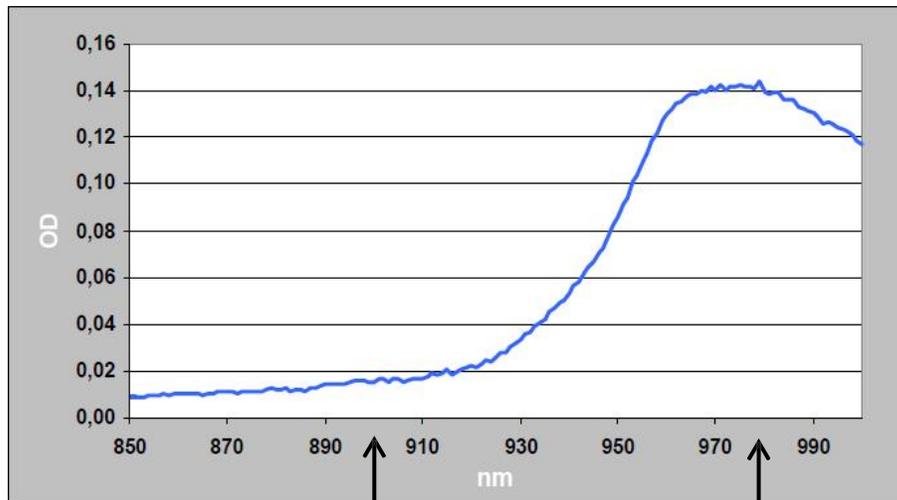
注意：双波长检测时，检测波长一般为待测物吸收峰波峰区间，参比波长一般需大于检测波长50nm，且一般为典型杂质吸收峰处！

- ① 部分试剂盒采用单波长检测，只需要设置检测波长，即检测波长信息对应样品的最终浓度信息；
- ② 部分试剂盒为了减少干扰因素对结果的影响，采取双波长检测，即同时检测检测波长和参比波长，参比波长一般为对应物质非吸收峰波长且干扰最大的因素对应波长；
- ③ 双波长检测数据处理时，标曲等计算需要采用数据为差值，即检测波长数值减去参比波长数值；

# 酶标仪检测设置详细介绍-光程校准

## 光程校准原理和介绍

水在比色皿中吸收光谱图



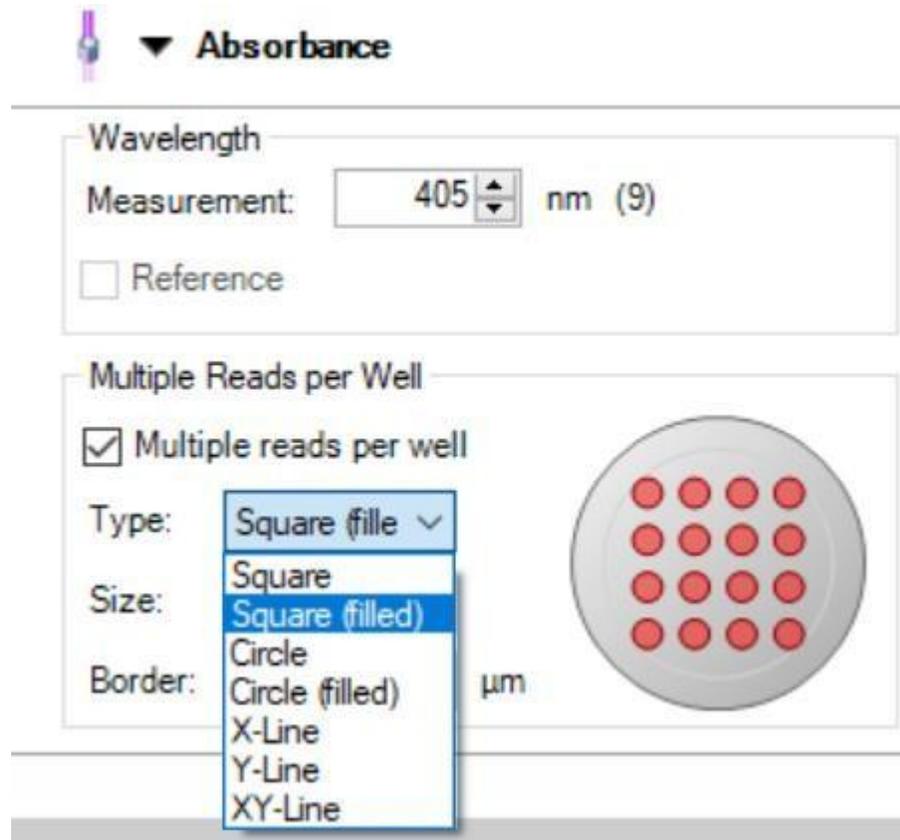
A900 为参比

A977 为吸收

- ① ELISA不需要进行光程校准，仅部分采用酶标板且无标准曲线的定量实验需要采用此功能；
- ② 光程校准为专利技术，原理为水的特征吸收峰图，并取水样或非水样品同体积水的液柱高度计算光程；

# 酶标仪检测设置详细介绍-多点读取

## 多点读取功能和介绍



- ① ELISA不需要进行多点读取，仅部分信号分布不均匀的实验需要此功能；
- ② 多点读取为选择孔底特定位置进行读值，最多支持15\*15，注意读值时间和闪光次数均会翻倍；

# 吸光度模块应用

ELISA



核酸定量



蛋白定量



内毒素检测



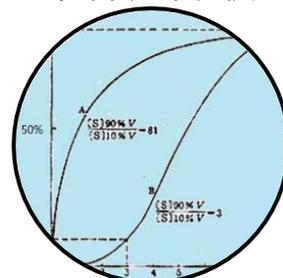
细胞活性分析



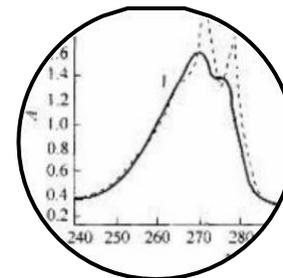
细菌生长分析



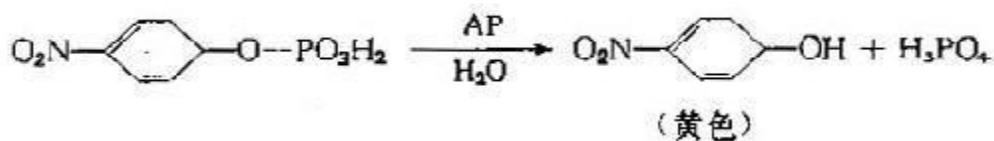
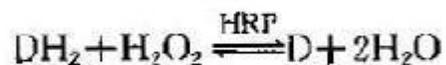
酶活性分析



光谱扫描分析

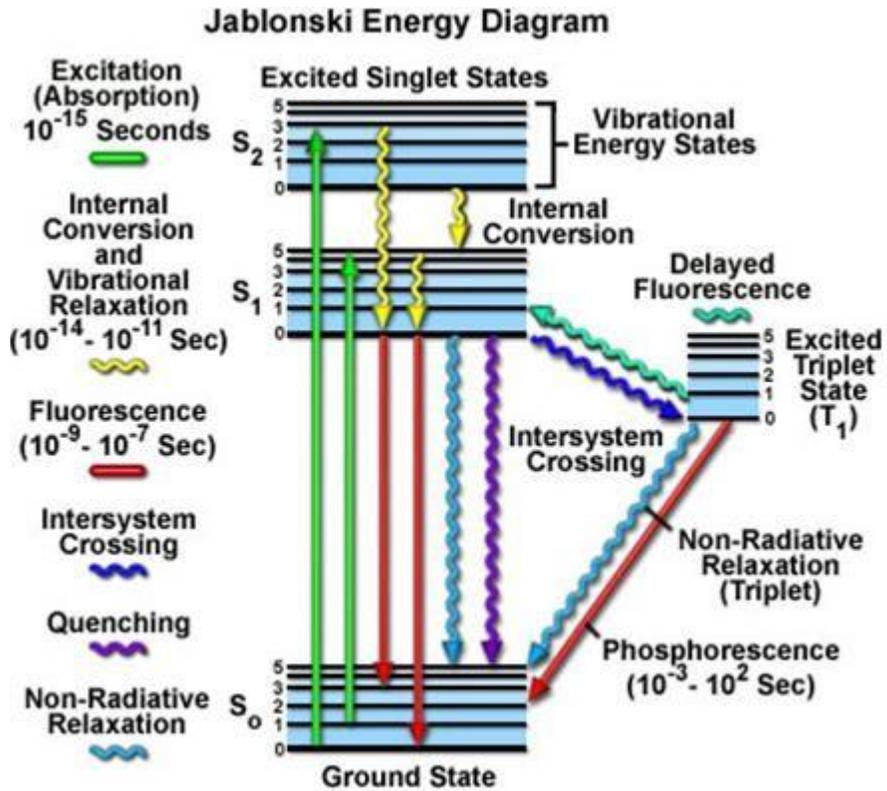


## 补充

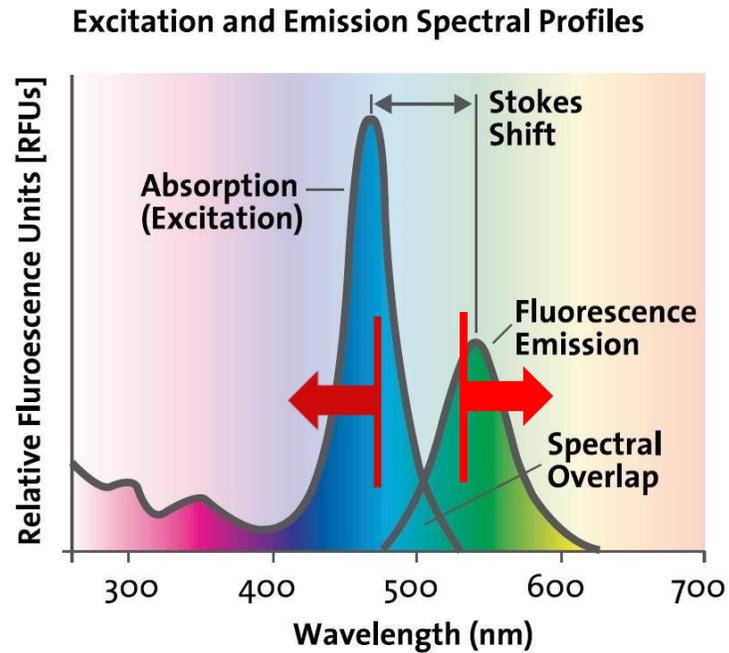


- ★ ELISA 中最常用的酶为 ① 辣根过氧化物酶 (HRP)，底物为邻苯二胺 (orthophenylenediamine, OPD)，检测波长492nm或四甲基联苯胺 (3, 3', 5, 5' - tetramethylbenzidine, TMB)，检测波长450nm；②从牛肠粘膜或大肠杆菌提取的碱性磷酸酶 (ALP/AP)，底物为对硝基苯磷酸酯 (p-nitrophenylphosphate, p-NPP)，检测波长405nm。
- ★ 大部分近似球形的细菌最大的吸收波长是600nm。酵母菌可以看成近似的球形，也可以采用600nm波长检测。丝状真菌不可以用OD表征。





雅布隆斯基分子能级图



激发和发射光谱

- 荧光物质吸收激发光后电子从基态发生电子跃迁，回到基态时释放能量产生 荧光（小于1微秒）
- 激发光和发射光光谱存在重叠
- 减小背景时，须将激发光检测波段左移，发射光检测波段右移



# 常见荧光物质

## 分类

有机小分子染料

纳米荧光探针

荧光蛋白和衍生物

## 特征

发射光紫外-红外  
斯托克位移小  
应用范围广

量子产率高，高  
亮基质纳米级，  
稳定发射光谱狭  
窄

生物来源，明亮  
发射光蓝色-近红外  
融合表达

## 详例

罗丹明Rhodamine  
荧光素Fluorescein  
香豆素Coumarin  
菁染料Cyanine  
苝类染料  
萘酰亚胺类  
噻嗪和噁嗪类  
稀土配合物  
四吡咯类亚基，卟  
啉和酞菁

半导体量子点  
上转换稀土材料  
金属纳米团簇探针  
碳点荧光探针  
石墨烯及类石墨烯  
量子点  
多功能纳米荧光探针

BFP  
CFP  
绿色荧光蛋白GFP  
EGFP/cpGFP  
YFP  
mDsRed  
tdTomato  
单体mRFP  
mCherry  
mPlum

发光条件：共轭双键( $\pi$ 键，如苯环，C=C双键，发色基团)；分子刚性和共平面

# 荧光参数设置

## ▼ D Fluorescence Intensity

Name

Mode  Top  Bottom

Fluorophore

Excitation wavelength [nm]

Emission wavelength [nm]

▼ Hide advanced settings

Flashes

Gain

Mirror

Z-Position [ $\mu\text{m}$ ]

Settle time [ms]

Multiple reads per well

▶ 顶底读模式：大部分采用顶读，顶读一般为荧光素均匀分布的样品，底读一般为贴壁细胞的荧光

▶ 检测波长：可选择光栅或者滤光片，光栅可自由选择波长，建议Ex和Em差值为45以上，滤光片下拉选择

▶ 闪光次数：推荐选择默认，或者减小以提高检测速度，或者增加提高检测准确性

▶ 增益值Gain：推荐选择optimal，对于荧光信号变化固定的实验检测选择Manual，强弱差别明显的选择从最高读值孔计算

▶ Z轴高度：推荐默认，对于实际使用和软件选择不一致的微孔板建议选择从孔计算。底读推荐修改为31000或进一步调整。

# 荧光模块应用

直接应用

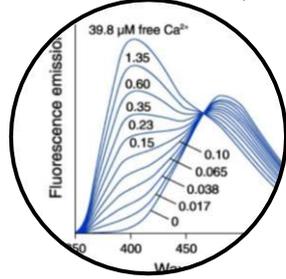
核酸定量



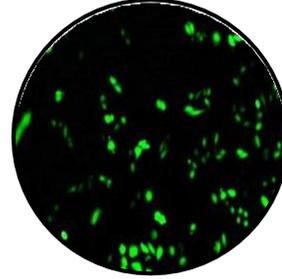
蛋白定量



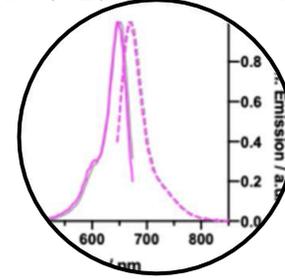
Ca<sup>2+</sup> 指示剂



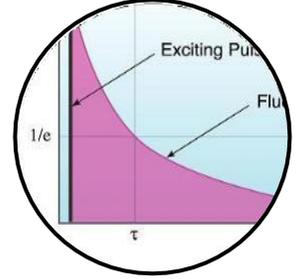
Cell-based assays



荧光光谱扫描

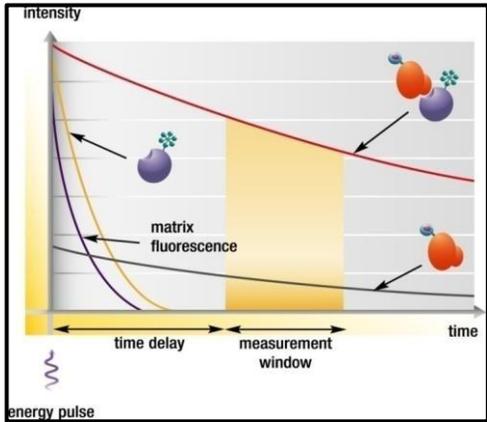


荧光寿命



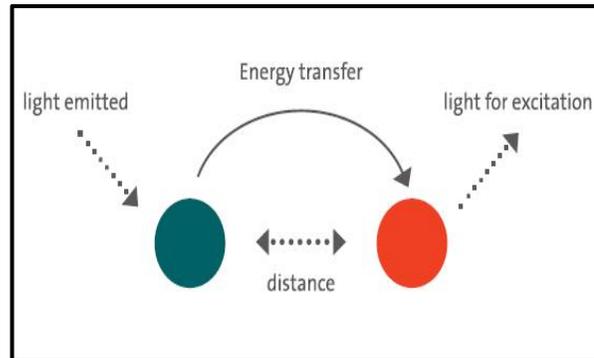
衍生应用

时间分辨荧光 (TRF)



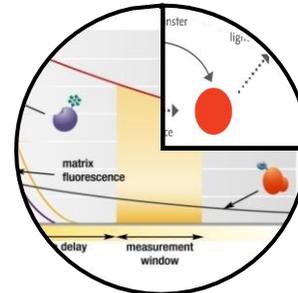
● (低背景) Elisa

荧光能量转移 (FRET)



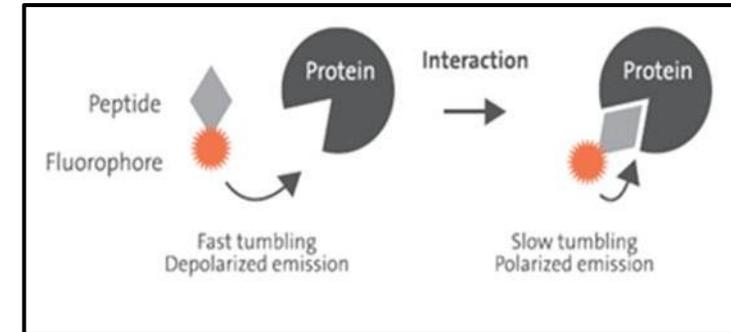
● 蛋白相互作用

时间分辨荧光能量转移 (TR-FRET/HTRF)



● 蛋白相互作用  
● 标签蛋白定量

荧光偏振 (FP)



● 大小分子相互作用

# 化学发光模块原理

发 光 生 物  
发 光 原 理

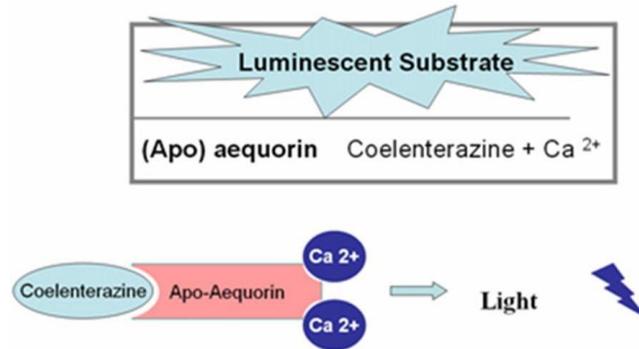
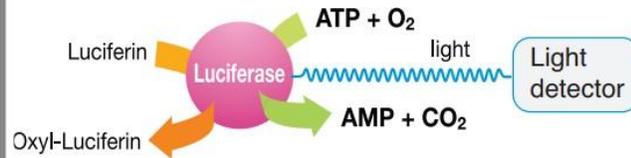
萤火虫



水母



- 由化学反应或生物化学反应产生的能量引起电子的跃迁产生的发光现象。
- 不需要类似荧光中的激发光，背景更低。
- 灵敏度比荧光高至少2个数量级  
(专用PMT检测器)



# 化学发光参数设置

▼ **D** Luminescence

Name

Attenuation

Integration time [ms]

▼ Hide advanced settings

Settle time [ms]

Output

▼ **D** Luminescence

Name

Attenuation

Integration time [ms]

- None
- None
- OD1
- OD2
- Auto

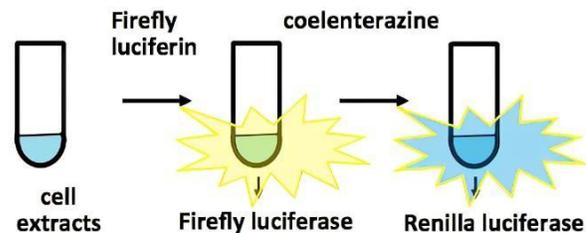
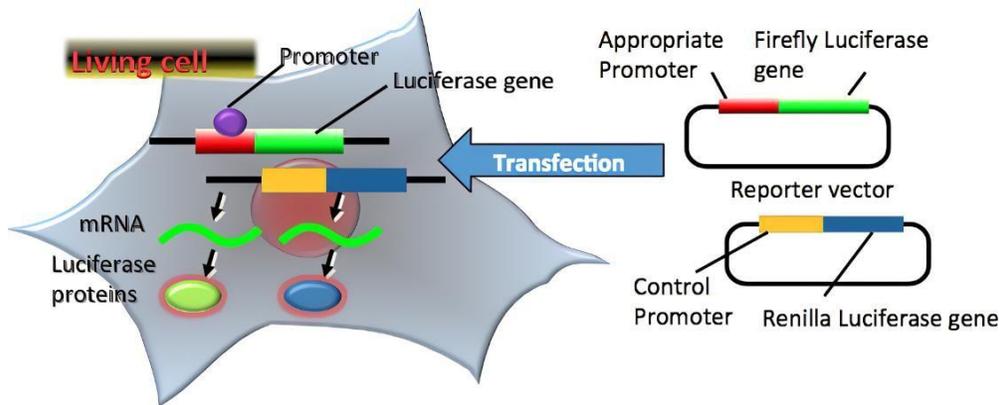
**衰减Attenuation:** 可选择OD滤光片或者自动（或者Filter滤光片，如有），对于较强的光可采用OD滤光片削弱10-1000倍（对应OD1-3），一般检测建议选择为Auto。

**输出单位:** 一般默认为Counts/s，如果是闪光型实验，可考虑输出选择下拉为Counts。



# 化学发光模块应用

## 报告基因实验



$$\text{Promoter activity} = \frac{\text{Firefly luciferase activity}}{\text{Renilla luciferase activity}}$$

- ★ 基因表达调控（转录因子，非编码RNA等）
- ★ 基因表达原件功能（启动子，UTR等）
- ★ 蛋白翻译后修饰
- ★ 蛋白降解

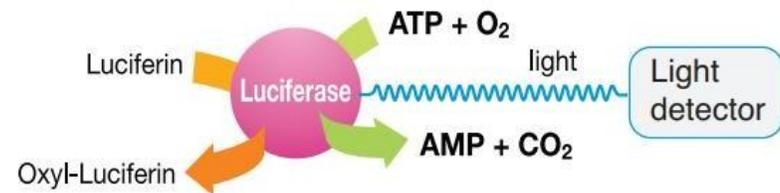
## 蛋白相互作用



## 免疫分析

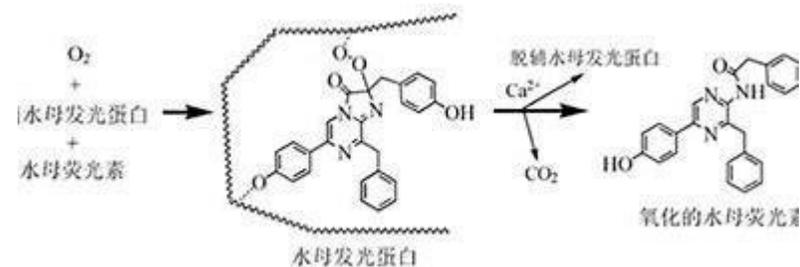


## 相关含量测定



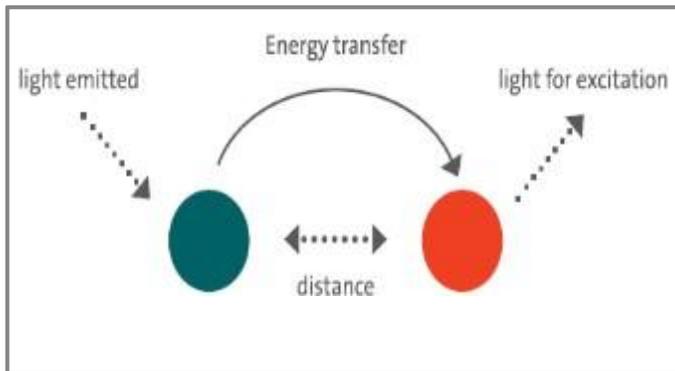
- ★ ATP含量测定（细胞活力）
- ★ 活性氧含量测定

## Ca<sup>2+</sup>检测



# 荧光共振能量转移检测分子互作原理

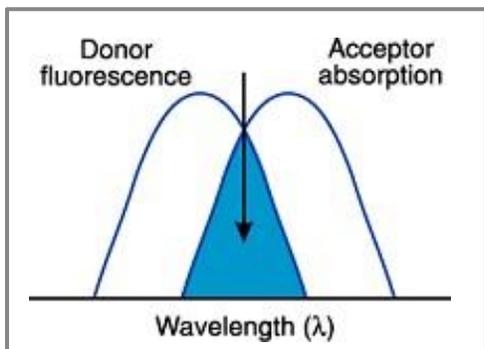
## FRET 原理



荧光共振能量转移（FRET）是两个荧光探针分子之间在特定的条件下产生一种非辐射的能量转移现象

- 供体分子发射光谱与受体分子的激发光谱有重叠
- 二者空间距离不超过 10nm
- 二者的偶极矩空间取向不能互相垂直

## 供受体光谱



## FRET 供体与受体举例

Donor	Acceptor
CFP	YFP
BFP	GFP
BFP	YFP
Fluorescein	TRITC
Europium	APC / DyLight 650
Terbium	RPE / DyLight 550
DyLight 488	DyLight 550
Cy3	Cy5

参考资料:

<http://www.fluorophores.tugraz.at/substance/>

# 荧光共振能量转移检测参数设置

The image shows two panels of the fluorescence intensity detection parameter settings interface. The top panel is for EBFP (ID 002) and the bottom panel is for EGFP (ID 003). Both panels have a 'Name' field, a 'Mode' selector (Top/Bottom), a 'Fluorophore' dropdown, and 'Excitation wavelength [nm]' and 'Emission wavelength [nm]' fields with 'Monochromator' dropdowns and numerical input boxes. Bandwidth is set to 20.0 for both. The EBFP panel has excitation at 383 nm and emission at 445 nm. The EGFP panel has excitation at 383 nm and emission at 535 nm. Both panels have a 'Show advanced settings' button.

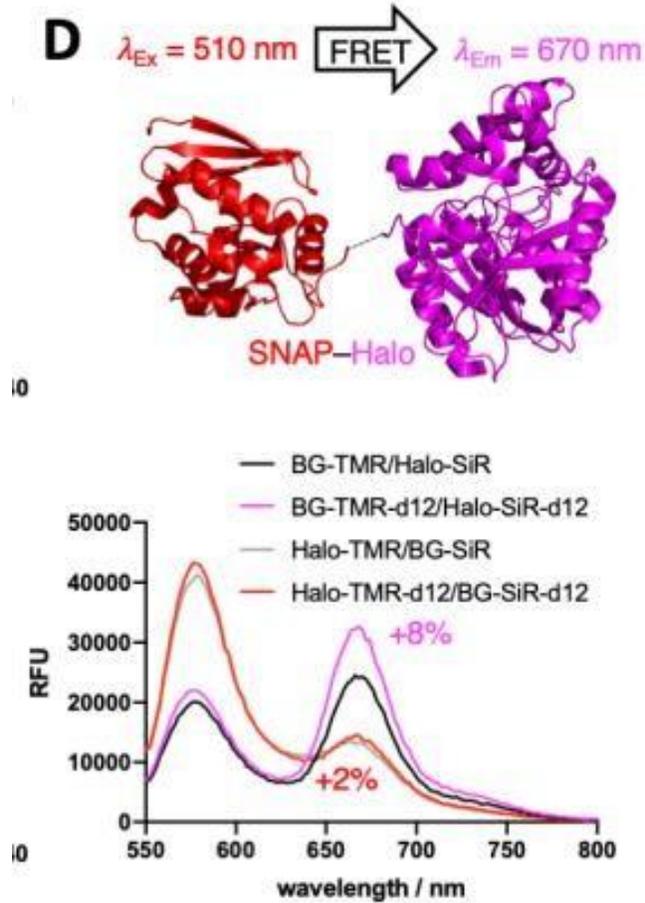
Parameter	EBFP (002)	EGFP (003)
Name	EBFP	EGFP
Mode	Top	Top
Fluorophore	Other	Other
Excitation wavelength [nm]	383	383
Emission wavelength [nm]	445	535
Bandwidth	20.0	20.0

- 需要检测两种荧光信号并采用比值计算FRET效率;
  - 每种荧光信号检测参数设置可参考荧光设置方案;
  - 需要将两种荧光信号的激发光设置为相同;
- 如BFP->GFP, BFP383/445, GFP485/535, 则需要设置为 383/445, 383/535



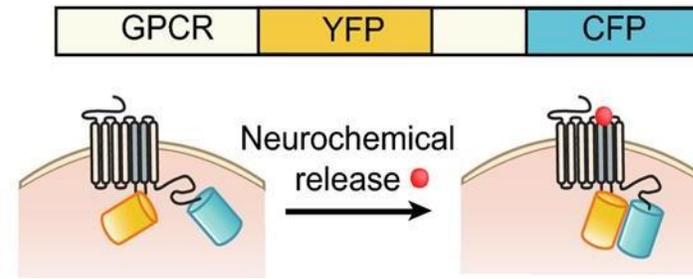
# 荧光共振能量转移检测常见应用

生物分子相互作用



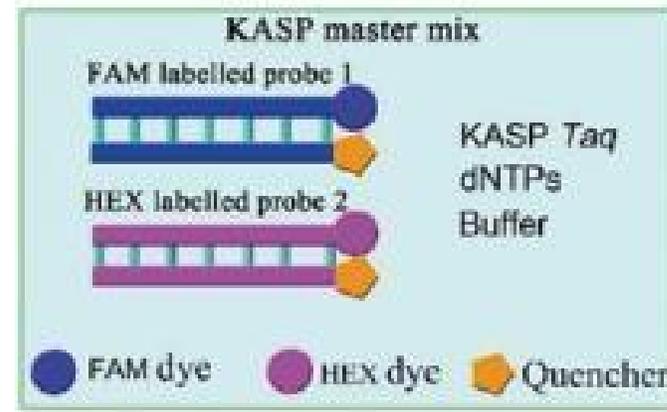
生物分子对：蛋白-核酸，蛋白-蛋白，蛋白-小分子，抗原抗体（免疫分析）等

(b) 活性蛋白结构改变



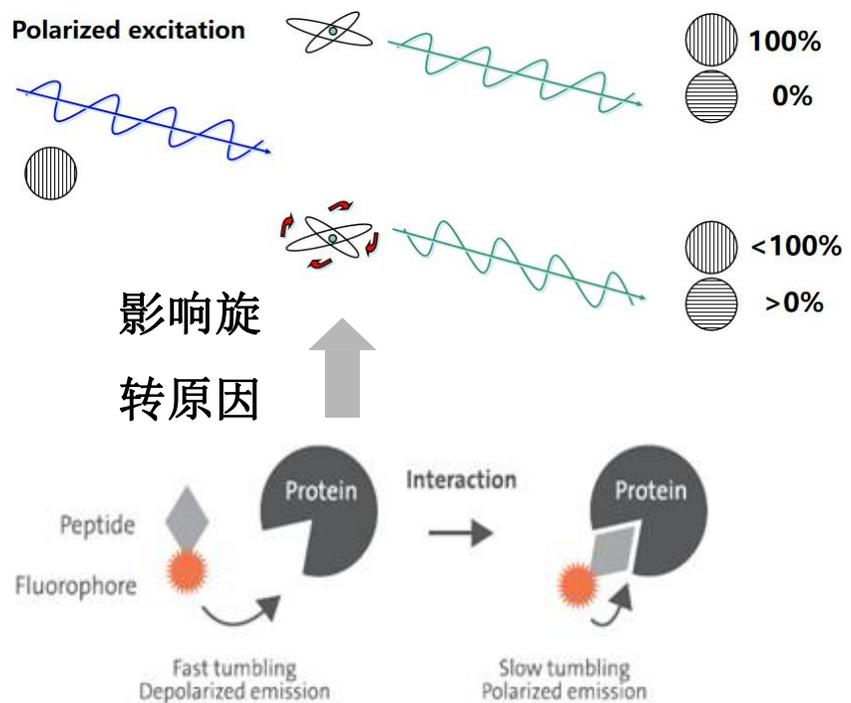
常见活性蛋白：  
GPCR、激酶等

核酸序列分析



一般为荧光探针和淬灭剂的FRET应用

# 荧光偏振检测分子互作原理



偏振光激发荧光分子时，将发射偏振光，

- 如果分子在受激发时期（荧光素约4ns）保持静止，发射光位于同样偏振面；

- 如果分子在此期间旋转或翻转导致偏离平面，发射光位于不同偏振面；

- 分子旋转速度受溶液的粘度、绝对温度、分子体积和气体常数影响；

相互作用检测时，小分子标记荧光素（体积/质量比大于10）；

- 检测限低，可达nmol范围；

- 均相的，允许实时检测（动力学检测）；

- 对浓度变化不敏感，可不洗涤。

# 荧光偏振检测参数设置

Fluorescence Polarization 002

Name: BL

Fluorophore: Other

Excitation wavelength [nm]: Filter 485 (20)

Emission wavelength [nm]: Filter 535 (25)

G-Factor: Manual 1.180 Uncalibrated G-Factor Reset

Blank: Not defined

Hide advanced settings

Flashes: 100

Gain: Manual 85

Mirror: AUTOMATIC

Z-Position [μm]: Manual 20000

Settle time [ms]: 0

荧光偏振主要设置和荧光完全一致；

G因子设置建议固定为1.15- 1.2；

G因子大小的调整会改变检测得到的偏振值mP，但是对于PC和NC的mP值的差值（Delta mP）没有影响。

# 荧光偏振数据处理

FP1 [mP]	1	2	3	4
A	169	174	172	201
B	185	186	194	176
C	174	178	175	179
D	172	171	172	171
E	179	172	175	259
F	177	174	171	168
G	170	174	169	172
H	173	169	167	194

Total Intensity	1	2	3	4
A	34716	37556	35397	39849
B	56864	49143	58673	35075
C	35737	34583	36123	34633
D	35468	35820	34502	35811
E	34804	36189	35491	33379
F	35013	36383	35488	39059
G	35581	34331	35743	34752
H	35153	34420	34601	48214

Intensity (perpendicular)	1	2	3	4
A	10188	10978	10363	11372
B	16466	14216	16853	10233
C	10444	10074	10551	10078
D	10386	10498	10098	10496
E	10129	10594	10361	9024
F	10210	10635	10404	11474
G	10436	10033	10492	10173
H	10286	10102	10171	13853

Rawdata (parallel)	1	2
A	12153	1322
B	20282	1755
C	12584	1223
D	12455	1256
E	12327	1271
F	12366	1280
G	12466	1208
H	12356	1204

Anisotropy	1	2	3	4
A	120	123	122	144
B	131	132	138	125
C	123	126	124	127
D	122	121	122	121
E	127	122	124	189
F	125	123	121	119
G	120	123	119	122
H	122	119	118	138

Intensity (parallel)	1	2	3	4
A	14341	15601	14670	17106
B	23933	20710	24967	14608
C	14849	14435	15022	14478
D	14697	14823	14307	14819
E	14546	15002	14769	15331
F	14592	15113	14681	16111
G	14710	14264	14759	14406
H	14580	14215	14258	20509

Rawdata (perpendicular)	1	2	3	4
A	10188	10978	10363	11372
B	16466	14216	16853	10233
C	10444	10074	10551	10078
D	10386	10498	10098	10496
E	10129	10594	10361	9024
F	10210	10635	10404	11474
G	10436	10033	10492	10173
H	10286	10102	10171	13853

科研上经常使用偏振值（mP，毫偏）和各向异性（anisotropy, r）表征荧光偏振的强度变化，具体公式如下

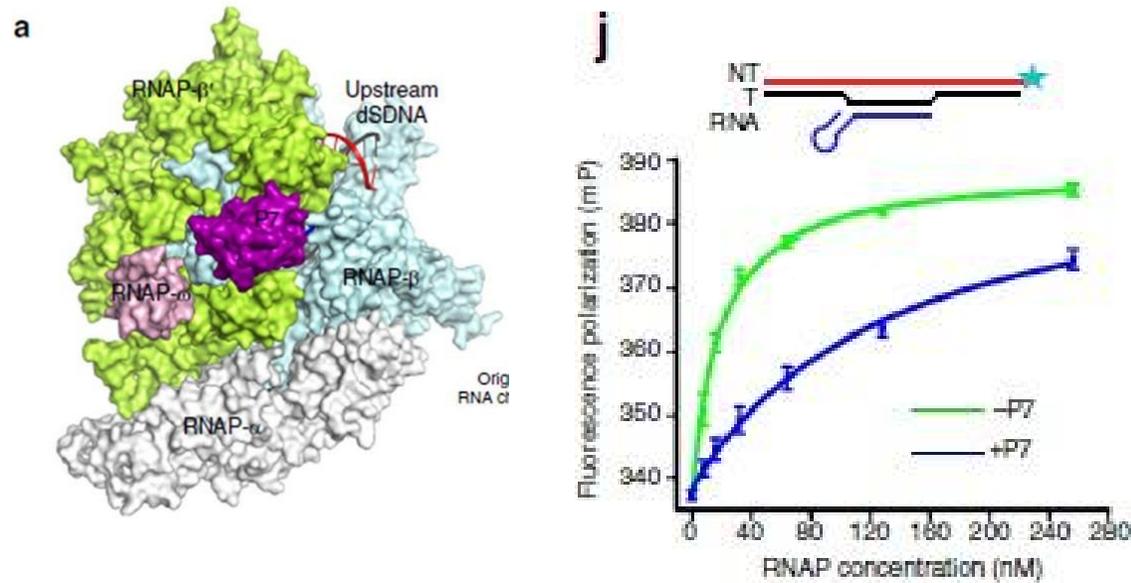
$$mP = [(G \cdot I_{\text{水平}} - I_{\text{垂直}}) / (G \cdot I_{\text{水平}} + I_{\text{垂直}})] \cdot 1000$$

$$r(t) = \frac{I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t)}{I_{\parallel}(t) + 2 \cdot I_{\perp}(t)}$$



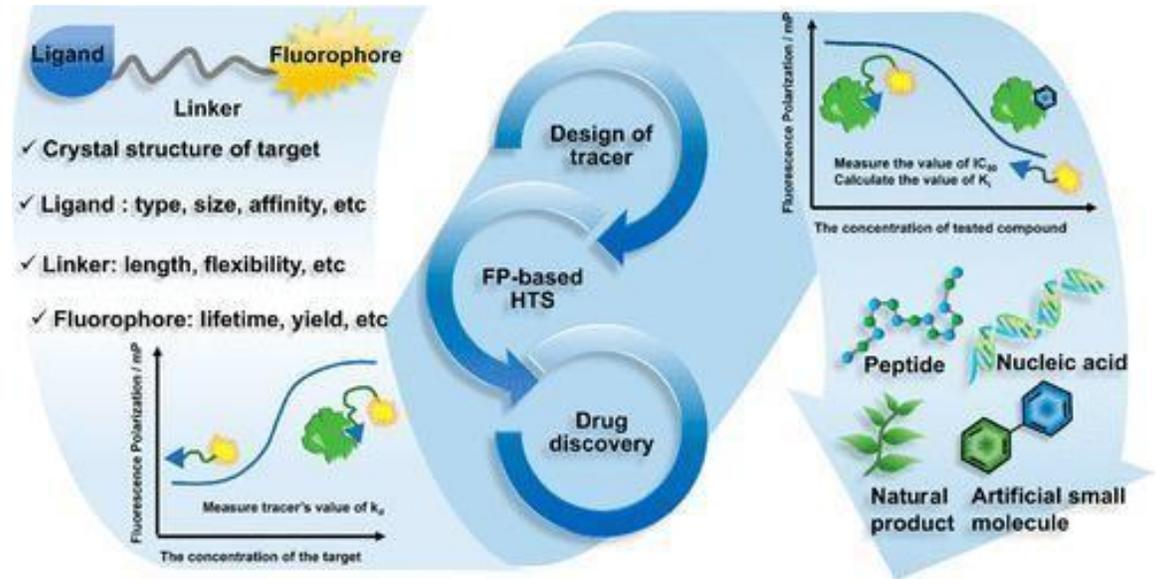
# 荧光偏振常见应用

## 生物分子相互作用



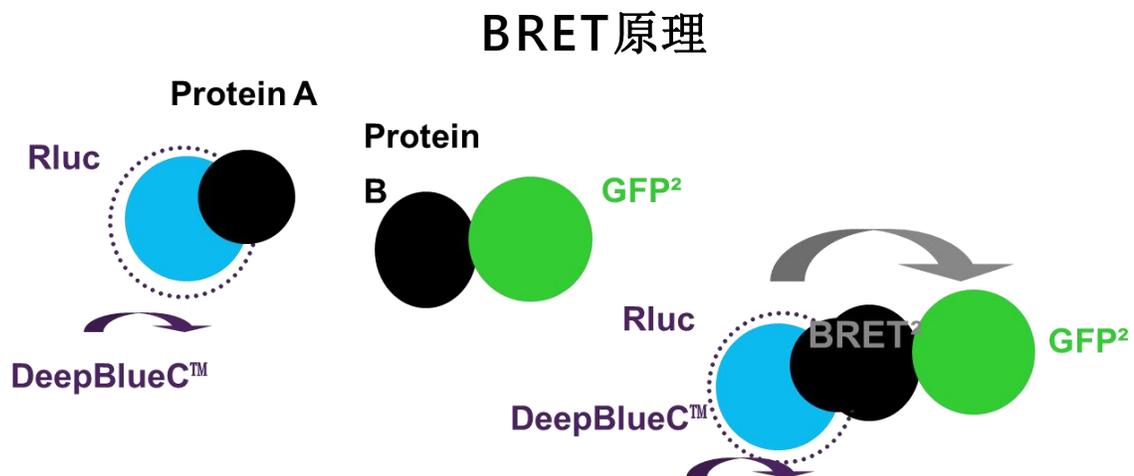
检测互作生物分子对：蛋白-核酸，蛋白-蛋白，  
蛋白-小分子，抗原抗体（免疫分析）等；  
应用于抗体产量检测，抗体定性检测等；

## 竞争性药物筛选



主要为针对已知结合位点特定小分子的竞争性筛选

# 生物发光共振能量转移检测蛋白互作原理



加入底物DeepBlueC™，Rluc发射蓝光(390 - 400 nm)，A蛋白和B蛋白结合，生物共振能量传递发生，GFP发射绿光(505 - 508 nm)。

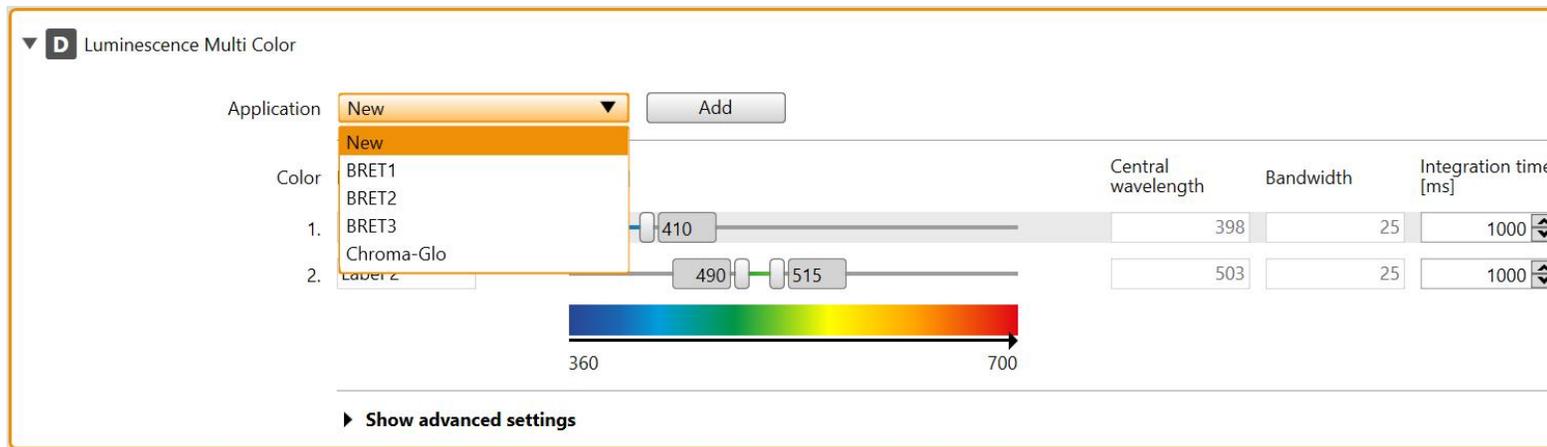
生物发光共振能量转移BRET技术，原理和FRET类似，区别在于供体发射光来源于荧光素酶催化发出的生物化学光。

- 供体分子发射光谱与受体分子的激发光谱有重叠
- 二者空间距离不超过 10nm

优势

- 背景信号低
- 检测线性范围更宽
- 实验操作流程固定
- 融合蛋白构建简单，有商品化质粒

# 生物发光共振能量转移检测参数设置

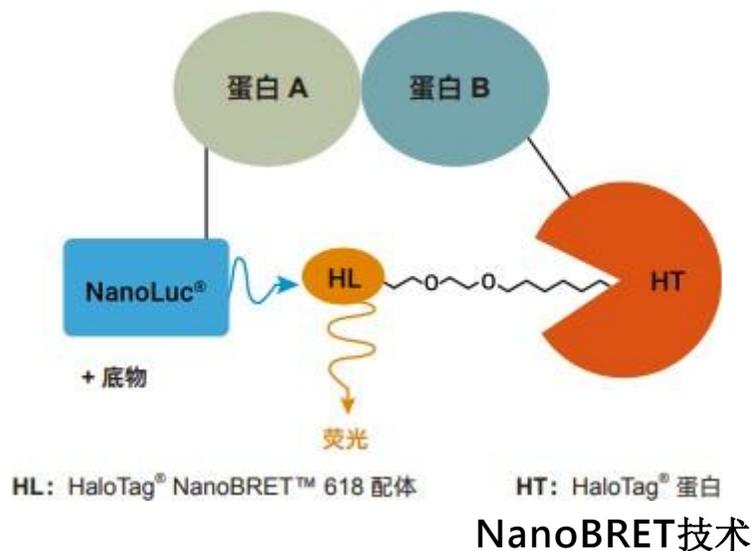
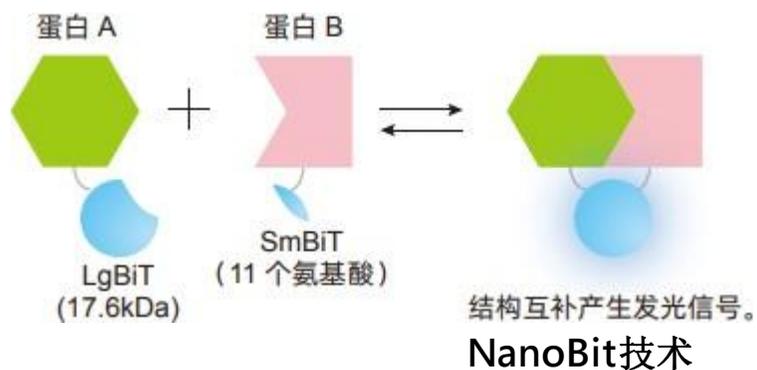


- 需要检测发光和荧光信号并采用比值计算BRET效率;
- 可在多色发光模块下, 直接选择对应的BRET名称或者选择New后手动选择BRET波长;  
(单个检测波长差需要大于15nm)

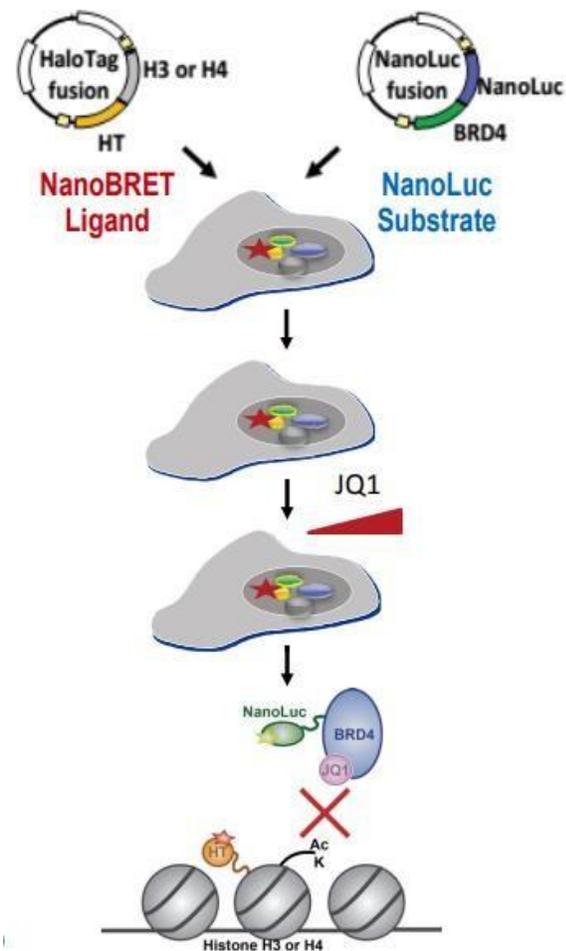
方法	供体	底物	供体发射波长[nm]	受体	受体发射
BRET 1	RLuc	Coelenterazine	480	eYFP	530
BRET 2	RLuc	Coelenterazine 400a (Deep Blue C™)	395	绿色荧光蛋白	510
eBRET 2	RLuc8	Coelenterazine 400a (Deep Blue C™)	395	绿色荧光蛋白	510
BRET 3	萤火虫	荧光素	565	DsRed	583
QD-BRET	RLuc/RLuc8	Coelenterazine	480	QDot	605
NanoBRET	NanoLuc®	Furimazine	460	HaloTag®配体	618

# 生物发光共振能量转移检测常见应用

## 重组蛋白相互作用

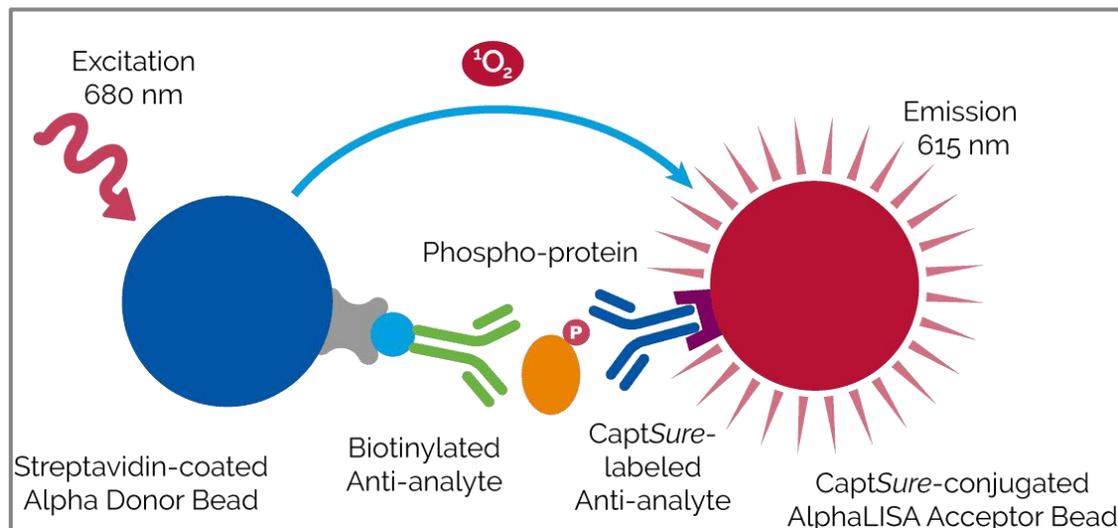


## 信号通路和药物筛选研究



# 放大临近均相检测应用互作原理

## ALPHA技术原理示意图



\*供受体磁珠的靠近依赖偶联蛋白的识别或相互作用，如抗体-抗原、酶（表观遗传、蛋白修饰）-底物等

供体磁珠被激发产生高能单线态活性氧，与受体磁珠发生化学冷光反应，激发荧光物质发出光信号。

（PerkinElmer公司专利技术）

- 优点：低背景，高灵敏度。检测作用距离高达200nm。无需分离和清洗。适合高通量应用。
- 注意：供体磁珠对光敏感，最佳检测温度23度，可接受22-25度（变化1度信号减少8%）。

## How ALPHA Advances Your Science.



NO WASHING REQUIRED



BROAD SAMPLE COMPATIBILITY



SMALL SAMPLE SIZE



WIDE DETECTABLE RANGE



SCALABLE

# Alpha检测参数设置

The screenshot displays the 'Alpha Technology' software interface. At the top left, there is a dropdown menu for 'Application' currently set to 'AlphaScreen', with a list of options including 'AlphaScreen', 'AlphaLISA', 'AlphaPlex', and 'New'. Below this is a 'Color' dropdown menu. The main parameter area features a horizontal wavelength scale from 360 to 700 nm. A yellow-green line indicates the selected excitation wavelength, with '520' and '620' marked on the scale. To the right of the scale, there are input fields for 'Central wavelength' (570), 'Bandwidth' (100), and 'Integration time [ms]' (300). Below the scale is an 'Excitation time [ms]' field set to 100. A 'Temperature correction' checkbox is checked. At the bottom, there is a 'Show advanced settings' button.

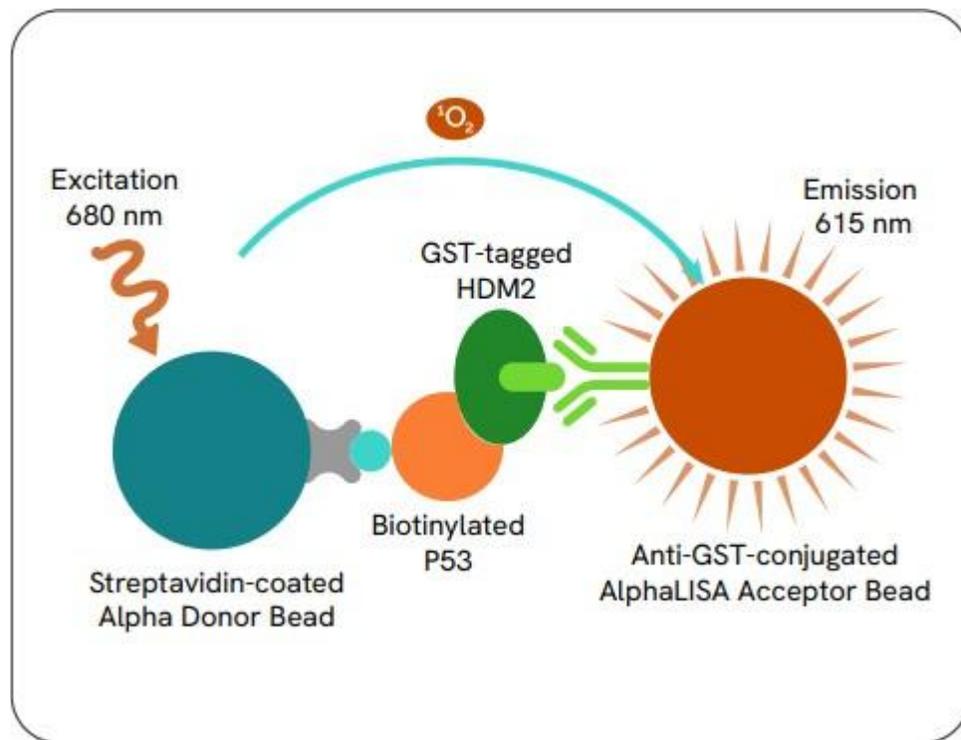
根据实际Alpha应用，如AlphaScreen、AlphaLISA、AlphaPlex，在软件中对应选择。

温度校准功能可以选择性设置，原理为把实际检测信号值换算为22°C下对应的信号值。



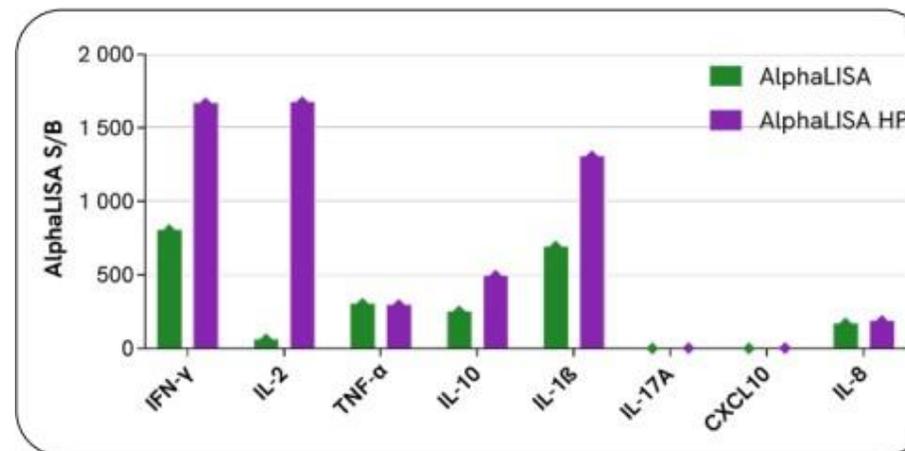
# Alpha常见应用

## 生物分子相互作用

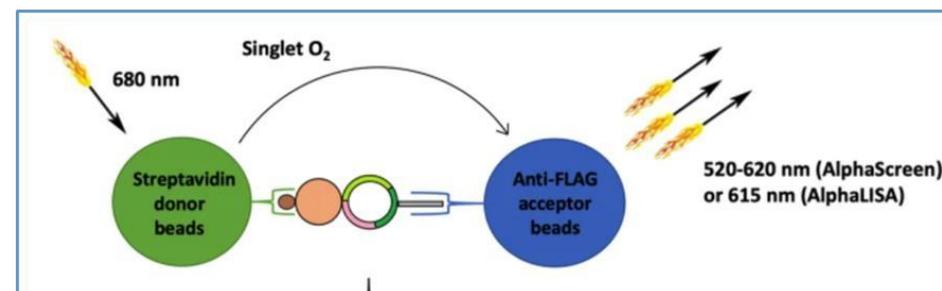


生物分子对：蛋白-核酸，蛋白-蛋白，  
激酶-底物等

## 生物标志物定量

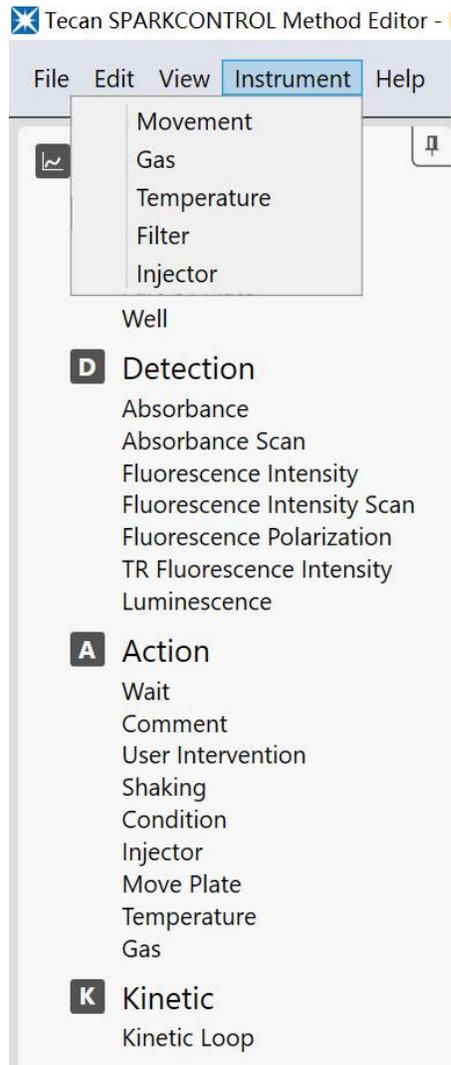


常见生物标志物：细胞因子、cAMP  
等蛋白表达、功能和命运研究



一般为表观遗传学，激酶和底物，蛋白磷酸化和泛素化研究中

# 辅助功能设置



可以系统性设置辅助功能：

- 进出板（Movement）：控制仪器载板架进出气体控制：设置气体含量
- 温度控制：设置预期温度
- 滤光片设置：设置滤光片信息，滤光片架进出
- 加样器设置：进行加样器Prime/Rinse/Backflush等操作

可以在检测程序中添加辅助命令功能：等待：

- 可以调整实验等待间隔
- 备注：当前操作的录入信息提示
- 用户介入：当前步骤执行完成后弹出信息提示框，需点击后程序才继续
- 震荡：微孔板震荡参数设置
- 条件：为后续步骤或实验结束等设置前置条件加样器：仪器加样器加样和其参数设置
- 进出板：检测程序中可实现自动进出板
- 气体控制：检测程序中，调整或保持气体参数温度控制：检测程序中，调整或保持温度参数

# 动力学程序设置

Measurement

No lid No humidity cassette

Plate layout

Kinetic Loop

Loop type Number of cycles 2

Interval type Not defined

Shaking Mode Linear Duration 5

Absorbance Name Label 1 Measurement wavelength 492

Kinetic Loop

Loop type Number of cycles 2

Interval type Number of cycles

Kinetic Loop

Loop type Number of cycles 2

Interval type Fixed [hh:mm:ss] 00:01:00

Shaking Mode Linear Duration 5

动力学程序参考PCR实验，采用嵌套循环逻辑；

循环条件可设置为循环数或循环总时长；

间隔类型可设置为固定间隔即在单个循环周期内完成后续操作空余时间处于静置状态，或无间隔即重复不停歇地完成循环内操作；

# TECAN SPARK多功能酶标仪的功能

## 光吸收 (Abs)

- 高速光栅，高扫描速度和波长准确性
- 应用于核酸蛋白紫外定量，ELISA，OD600，MTT实验等颜色或浊度变化的检测

## 荧光 (FI&FRET)

- 融合光路设计，Quad X4光栅+6\*6滤光片组，兼具波长灵活调整和高灵敏度
- 应用于荧光素或荧光蛋白标记的荧光信号检测

## 发光 (Lumi&BRET)

- 19\*2滤光片轮，增强型光子计数PMT，Z轴和狭缝可调，动态范围达9数量级，杜绝孔间干扰
- 应用于发光报告系统检测

## 荧光偏振FP

- 全波长荧光偏振
- 应用于大小分子相互作用检测、抗体检测（动物感染后）等定性检测

## TRF (HTRF)

- 全波长时间分辨荧光
- 应用于分子相互作用、标签蛋白定量等定性、定量检测

## Alpha

- 高能激光光源，温度探测，支持ALPHA所有应用且保证数据质量
- 应用于细胞因子检测等

## 辅助功能

- 长时间反应动力学：自动开盖+湿度盒+加样器+震荡+加热
- 细胞培养：气体、温度、湿度控制



# 仪器使用注意事项

注意事项

## 仪器使用注意事项

电源：电压稳定，建议选配UPS稳压电源

环境：洁净且避免阳光曝晒，远离水源

温度：最适范围为20-22℃

湿度：30%-80%

避免液体泼洒（注意微孔板适宜的**工作体积**，**非容积**）

对腐蚀或挥发性溶液带盖检测

日常保养：Spark机型仪器背后的防尘网

定期除尘，滤光片型机器滤光片槽的清洁。

## 仪器故障注意事项

技术应用相关问题：联系 400 821 3888，寻求应用工程师协助；

售后故障问题：联系 400 821 3888，寻求售后工程师协助；

注意第一时间告知：客户单位信息，仪器序列号SN，LogFiles；

● 仪器序列号位于仪器背后铭牌，全称为Serial Number；

● Logfiles文件路径在C盘-用户-公用-公用文档-Tecan-LogFiles，整个文件包压缩；



# 真实应用的耗材选择

检测模式	应用备注	颜色	材质	检测模式	代表图片
光吸收 (Half-area*)	340nm以上	透明	塑料		
	340nm以下		(石英底等) 透紫外		
荧光 (FI/FRET)	均匀溶液	全黑	塑料	顶读	
	贴壁细胞	黑壁透明底		顶读或底读	
化学发光/TRF		白色			
BRET					

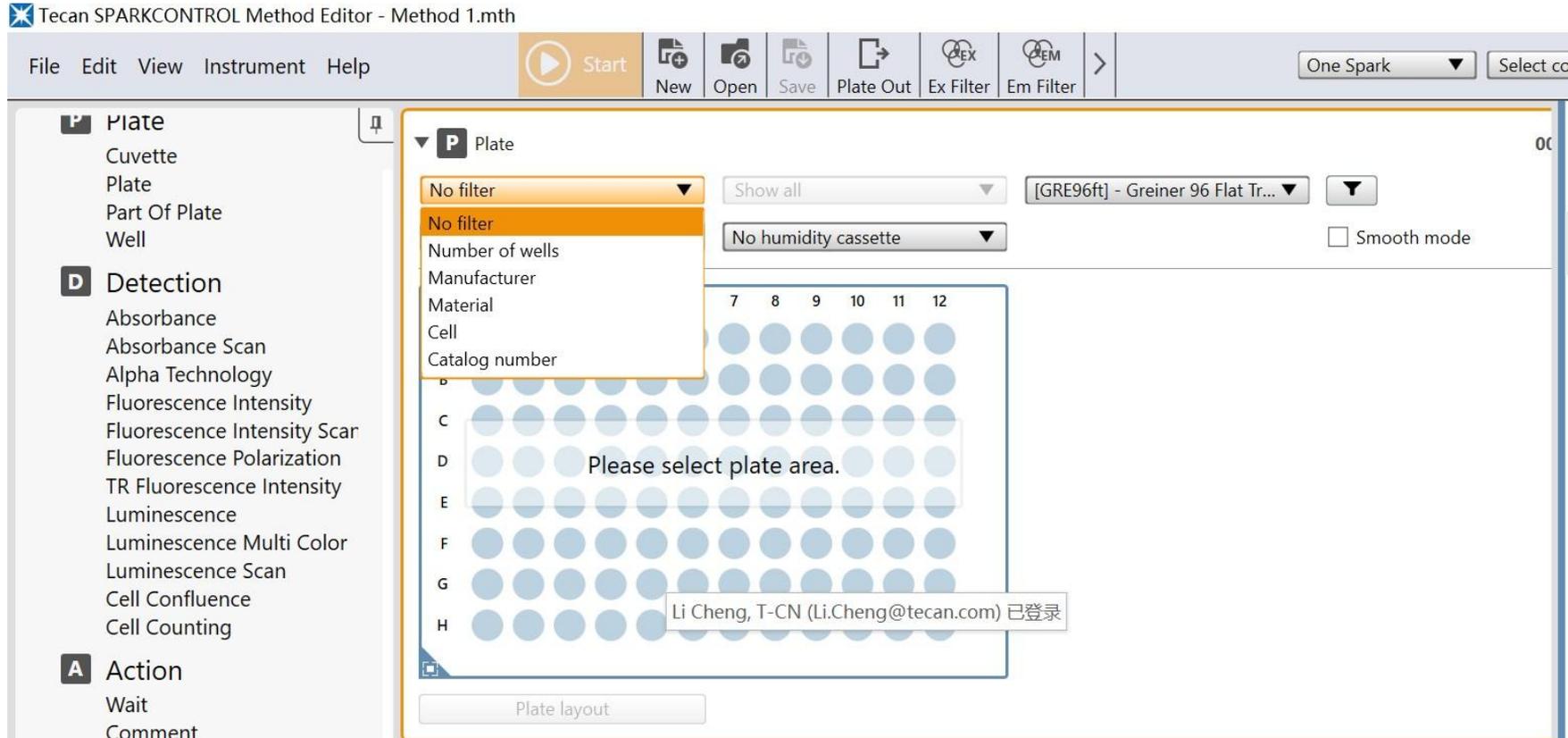
更多耗材需求请咨询

1. Tecan应用技术支持400 821 3888

2. 相关耗材网站资源, 如<https://www.corning.com/catalog/cls/documents/selection-guides/CLS-C-DL-MP-014.pdf>



# 软件设置的耗材选择



- 微孔板快捷筛选设置，通过Filter按钮，根据厂家/材质/板孔数量/厂家货号；
- 根据应用模块进行板型设置-光吸收不挑板型，可以随意选择板型；荧光和发光建议选择和应用一致板型，否则有可能导致检测信号不是真实信号趋势（荧光Z轴调整功能）；

# 仪器日常使用



仪器背后电源按键（电源线旁船型按键），出现硬件或软件故障时重启用（重启会自检），一般操作为关闭后等待3秒后再打开。日常使用可保持背后电源键常开。



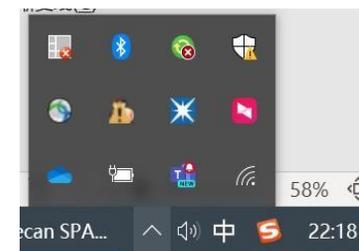
左上角按键：**开/关按钮**，建议使用频繁时早开晚关；

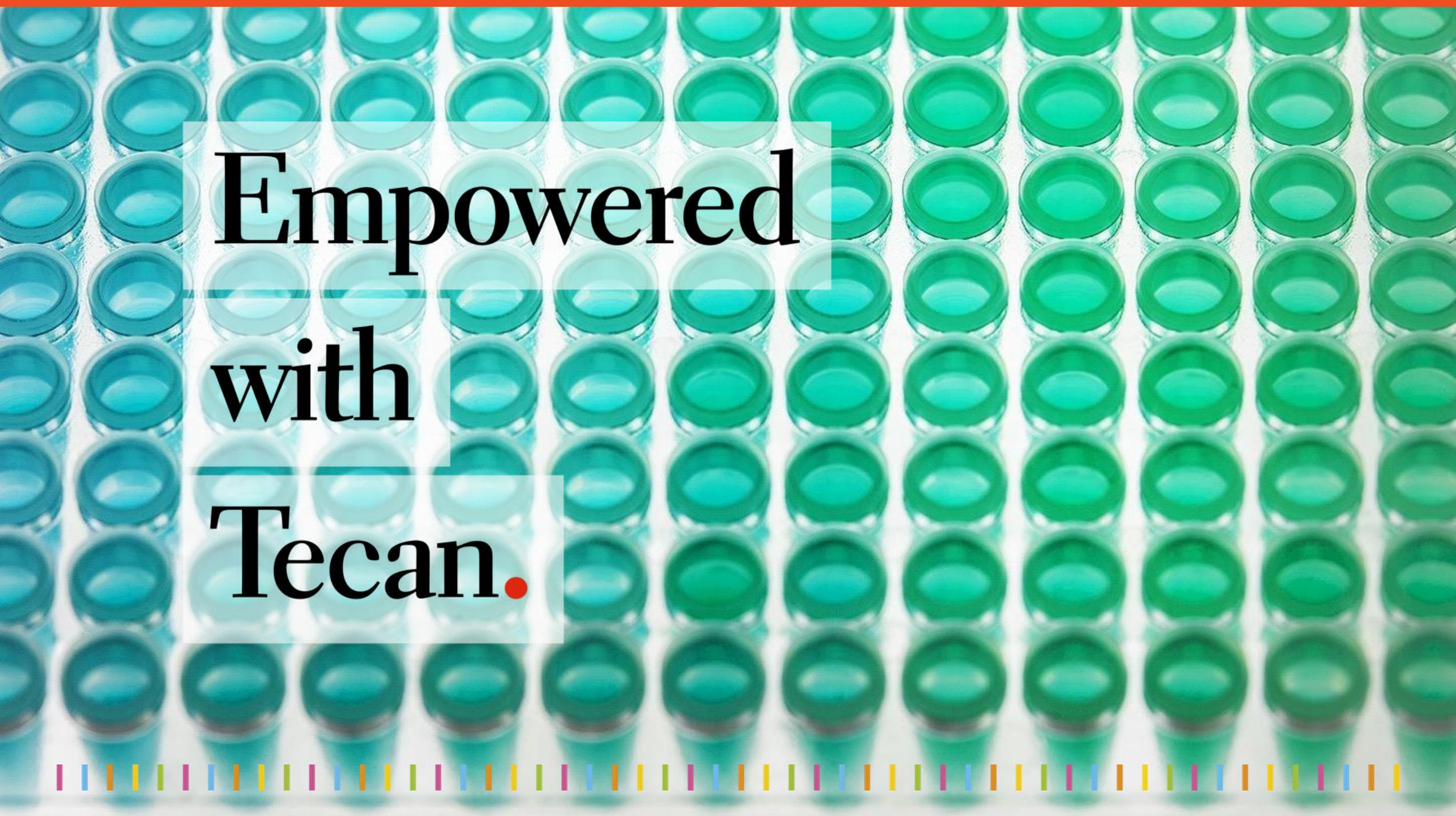
右上角按键：一般需要禁用；

左下角按键：**微孔板进出舱门按钮**；

右下角按键：**荧光滤光片托架弹出按钮**，一般需要禁用，误触请联系工程师，或将托架先抽出3-5cm，再轻轻推入，切不可直接暴力推入。

仪器常见故障：由于Windows系统配置不兼容导致的连接异常，表现为仪器指示灯为蓝色或者打开软件后并无正常界面显示，需要点击电脑右下角的型号图标，右键，选择 Restart services，等待约30秒至显示Restart success即可。





Empowered

with

Tecan.

