

## 多功能酶标仪—软件操作

- (1) 开仪器电源，仪器指示灯由黄色变为绿色，即可开显示器和电脑主机
- (2) 双击仪器控制软件“SkanIt RE for Varioskan Flash 2.4.5”，进入“Log on To SkanIt Software”对话框，直接点击“ok”按钮
- (3) 进入仪器控制软件界面 SkanIt Software 2.4.5，点击“Open session”按钮打开已运行的实验
- (4) 点击“New session”按钮，新建实验，出现“Create New session”对话框，给即将开展的实验命名
- (5) 点击“Next”按钮，进入“Select plate template”对话框，根据实验时所使用的 96 孔或 384 孔板的型号进行选择
- (6) 点击“Next”按钮，进入实验方案、数据存储位置选择，可在 SkanIt software 目录下新建一个文件夹并命名，选中新建文件夹，点击“Finish”按钮
- (7) **进入“Plate Layout”界面**，对 96 孔板或 384 孔板进行编辑。“New”增加孔板数。“Delete”删除孔板数。“Wizard”对实验板上每个样品孔进行编辑说明。“Clear”在样品板上选中编辑错误的区域，点击该按钮进行清除。“Print”打印编辑好的孔板。“Description”对每个样品孔板进行描述说明。“Plate Layout”界面有 4 个图标（具体见软件界面）点击后可显示整个样品板、放大样品板、缩小样品板、最佳显示样品板
- (8) 点击“Wizard”按钮，进入“Fill Wizard”对话框，对孔板上每个孔中的样品进行编写说明。**Type:** 选择样品类型（5 种：Blank, Calibrator, Control, Empty, Unknown）。**Name:** 样品名称，人工手动输入。**Group:** 默认为 Assay。**No of ...:** 样品的数量。**Filling order,** 样品填充顺序，有上下左右四种。**No of replicates:** 设置样品重复测定次数。**Specific blanks,** 特定的空白对照，一般设置为默认值 None。**Current plate:** 当前孔板编号。**Dilution:** 样品稀释倍数，样品未稀释填写数值为 1。**Unit:** 样品的浓度单位。填写完成之后，点击“Add”按钮，进行其它样品孔的编写说明。编写过程中发现编写错误，可点击“Close”按钮，关闭当前界面，在“Plate Layout”界面，将填写错误的部分选中，点击“Clear”按钮即可清除

- (9) 标准品的样品孔的设置，例如蛋白质浓度测定时标准曲线的制作。Type 设置为 Calibrator，Name 设置为 Cal，Group 设置为 Assay 默认值，No of Calibrators 填写标准样品的数量，No of replicates 填写每个样品重复测定次数，Filling order 样品填充顺序。点击“Generate series”按钮，进入“Concentration”对话框。Unit: 标准品浓度单位。选中“Series”填写“Series”参数。Initial value: 填写起始标准品样品的浓度值。Operators 四种方案: Multiply 倍数，Add 增加，Divide 除数，Subtract 递减。Step by: 倍数值/除数值/增加量/递减量，填写具体的数值。设置好之后点击“ok”按钮，完成序列设置。
- (10) 待测样品的设置，待测样品设置为“Unknown”，同样需要设置样品的数量、每个样品的重复测定次数，填充顺序及起点、稀释倍数和浓度单位、孔板名称，设置好之后点击“Add”
- (11) **选中“Protocol”**，进入“Protocol Properties”
- ① 点击“Photometric measurement”，测定光吸收值，填写光波长 wavelength，点击“Save”按钮
  - ② 点击“Photometric Scanning”，波段扫描，需要设置 3 个参数，起始波长，结束波长，Step size 设置为默认值 2nm，点击“Save”按钮
  - ③ 点击“Fluorometric measurement”，测定样品的荧光值，需要对激发光和发射光波长进行设置，设置完成后点击“Save”按钮
  - ④ 点击“Fluorometric Scanning”，样品荧光扫描。(a) 固定激发光波长，扫描发射荧光；(b) 固定发射光波长，扫描激发光波长。需要设定参数：激发光和发射光波长，扫描波段及 Step size (默认值 2nm)
  - ⑤ 点击“Luminometric measurement”，样品自发荧光测定。Optics 可选择“Normal”、“Monochromator”和“Filter”三种，仪器未配备滤镜，一般不选择使用“Filter”，选择“Monochromator”，需要填写波长参数
  - ⑥ 点击“Luminometric scanning”，荧光波普扫描，波段和 Step size 需要进行设置
  - ⑦ 点击“TRF measurement”，时间分辨荧光检测，基本同荧光检测，不同的是要设置延迟时间 (TRF delay time) 和积分时间 (TRF integration time)
  - ⑧ 点击“TRF scanning”，时间分辨荧光光谱扫描，基本同荧光扫描，需要设置

延迟时间和积分时间

- ⑨ 点击“TRF decay”，时间分辨荧光延迟时间和积分时间扫描
- ⑩ 根据实验要求在实验步骤前后添加 action。Run plate in/Run plate out, 关门/开门。Incubate, 恒温孵育, 设置时间和温度。Pause, 暂时中止, 设置中止时间。Shake, 震动混匀, 设置震动时间。

### (12) 点击“Result”，进入结果分析设置

- ① Blank substration 减去空白, Blank type 选择 Average (必须在 Plate layout 里面设置 Blank)
- ② Basic statistics 基本统计, 包括 SD 标准差和 CV% 变异系数 (必须在 Plate layout 里面设置 Replicates)
- ③ Quantitative Curve Fit 曲线拟合, Fit type 中 Linear regression (LLS) 代表直线拟合, Four parameter logistic 代表四参数拟合 (必须在 Plate layout 里面设置 Calibrator 及其浓度)
- ④  $\Sigma$  User-defined equation 用户自定义公式, 可设置双波长扣减或扣除板子本底值等复杂的设置

(13) 完成上述工作后, 运行程序前保存所编辑的程序, 点击“Run plate out”出板, 放入孔板后, 点击“Run plate in”, 运行程序开始测定样品

(14) 结果导出-Report 模式

- ① 在 Result 中增加 Report。在参数面板中, 将需要保存的参数选中, 添加
- ② 点击 View Report 切换到 Report 面板, 对导出的结果进行浏览。按保存, 输入文件名称, 选择文件类型 (.xl 或.pdf 或.txt), 一般保存结果至 Excel 文件

(15) 结果导出-简单模式 (Quick Export)

- ① 选中某一结果, 例如 Photometric1。按右键, 点击 Quick Export, 或菜单 Calculations/Quick eport。选择 Matrix, 确定后保存结果至 TXT 文本文件
- ② 用记事本打开保存的文本文件。数据是按矩阵形式保存的, 与 Plate layout 对应
- ③ 保存的数据也可以用 Excel 打开