

Thermo Scientific

全波长扫描式多功能读数仪

Varioskan® Flash

简明用户手册



目录

目录.....	1
仪器总体介绍.....	2
硬件操作和注意事项.....	3
仪器安装连接.....	3
仪器使用注意.....	3
自动进样器的维护.....	5
软件安装和操作指南.....	6
软件安装.....	6
连接仪器.....	8
新建用户.....	9
数据库备份.....	10
数据管理.....	11
新建程序.....	12
结果导出.....	19
操作实例：BCA 法蛋白质浓度测定.....	21

仪器总体介绍

Varioskan Flash 全波长扫描式多功能读数仪（多功能酶标仪）

仪器正面：右下角有仪器名称 Varioskan Flash，左侧有 LED 灯（桔黄色—运行中，绿色—空闲，红色—出错）

仪器左面：电源开关

仪器背面：右侧有电源线插口，USB 线和串口线插口，类别标贴（REF 代表仪器型号，SN 代表序列号）



Varioskan Flash 和计算机相连的数据线可以选择 USB 线或串口线，推荐使用串口线连接计算机，因为串口线数据传输速度快且稳定，计算机要求配有 9 针串口，如果没有 9 针串口，则使用 USB 线连接计算机。



计算机上的串口形状

Varioskan Flash 运行时要求环境温度+10°C到+40°C，相对湿度不超过 80%，高温和潮湿都会影响仪器的性能和实验结果。此外，仪器对电源的要求也比较很高，我们要求的电源有接地且电压稳定，必要时请配备不间断电源 UPS 来保证仪器的性能和实验结果。

Varioskan Flash 通过专业的软件 SkanIt（最新版 2.4.3）来进行控制，软件安装（详见第 6 页）后会在桌面生成以下 2 个图标：



左为仪器控制软件，右为控制面板（主要用于用户管理）

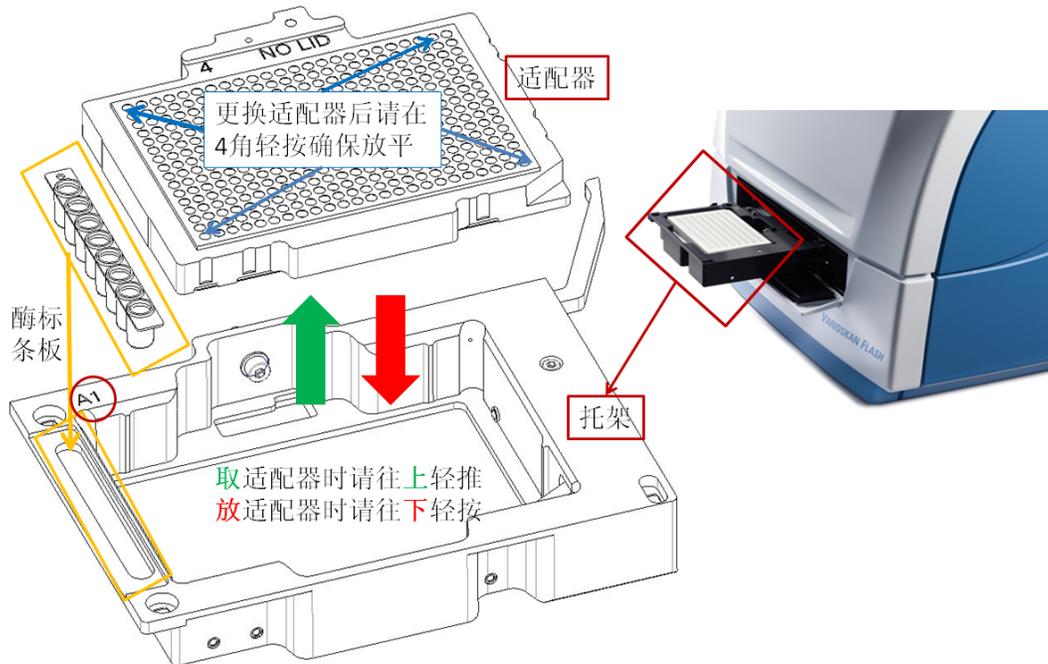
硬件操作和注意事项

仪器安装连接

仪器的电源线连接电源，数据线连接计算机后，按仪器左侧的按钮可以启动仪器，仪器启动后会有 2 分钟左右的全面自检，自检完成后 LED 灯转为绿色，可以点击计算机桌面上的  图标，启动软件，软件会自动连接到仪器。一般先开仪器，再开软件。

仪器使用注意

1. 请将仪器放置在整洁、干燥的环境中，务必远离水槽和风口。
2. 放板前，请确认适配器与所使用的微孔板类型相符，并确认适配器与微孔板放置正确（检查是否平齐）。如果是带盖板，请**将板盖去掉**。如果测量时需要带盖，请使用适合的带盖适配器（需选配）。微孔板的 A1 孔对准托架上 A1 孔的位置。



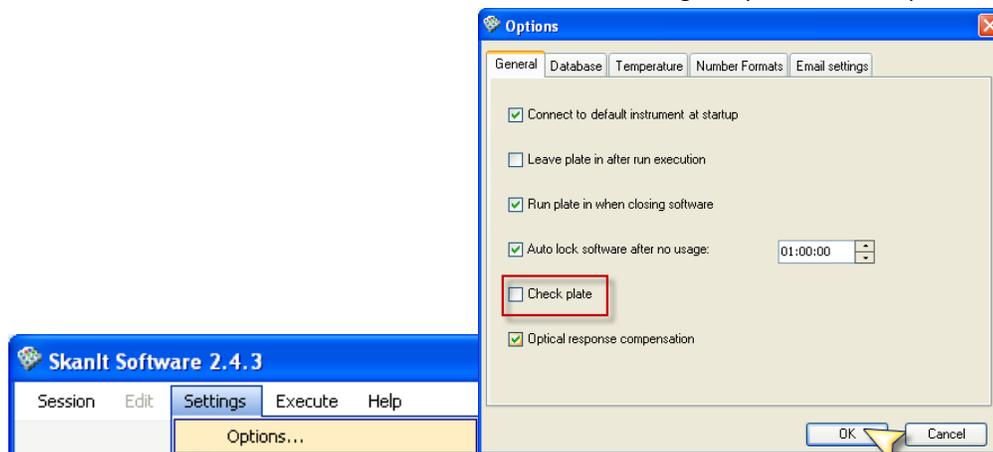
适配器的位置和取放



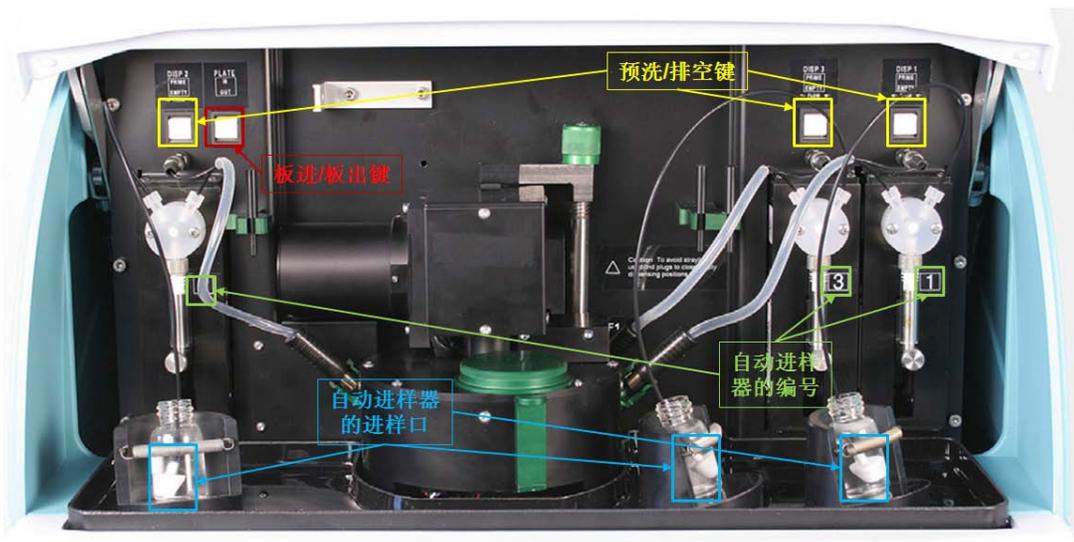


判断适配器是否可用带盖板的方法

3. **如发生卡板，请立即关闭电源**，手动把板取出。
4. 如果测量的是条板，请关闭仪器的自动板检测功能（软件主面板 Settings > Options > Check plate）。



5. 在仪器内对样品进行孵育时，请使用带盖的微孔板适配器（需选配）。
6. **禁止腐蚀性液体在仪器内进行孵育**，如含有 DMSO 的样品。
7. 测量后，请将微孔板取出。若软件已关闭，可通过板进/板出键取出微孔板。



8. 进样器的维护，进样器使用前需要 Prime ，使用后需要 Empty  和清洗（详见自动进样器的维护）。进样针用完需套上保护枪头 ，放置在进样器架上。



9. 注意 3 个黑色的插销要保存好，用完自动进样器后要插回原位，以防止外界的光进入检测系统。



10. 如使用微量检测板，请确保微量板已洗干净，检查是否挂液。

自动进样器的维护

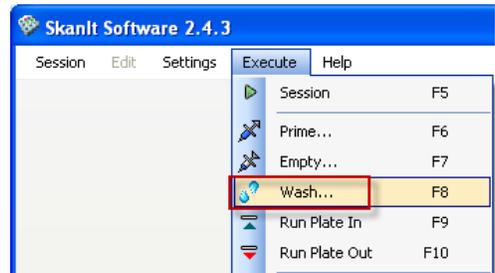
清洗的一般原则：去离子水 → 清洗剂（根据加样的液体不同可能有差异） → 去离子水。

以 Promega 公司的 DLR 双报告基因试剂盒为例，清洗方法如下：

1、自动加样器使用后应及时清洗，取下进样针（带保护枪头），手持于废液缸上方。

2、将进样器的进样口放入装有去离子水的洗瓶内，选择 Execute > Prime，或左下角的图标 ，或进样器上方的白色 Prime/Empty 键进行预洗，预洗后选择 Execute > Empty，或左下角的图标 ，或进样器上方的 Prime/Empty 键进行排空；

3、选择 Execute > Wash，选择需要清洗的进样器 ，设定冲洗次数 。在洗瓶内装上去离子水，点击 进行清洗；



4、再将洗瓶内的去离子水换成 70%乙醇，设定冲洗次数 ，点击 进行清洗；

5、再用 70%乙醇浸泡管路 15—30 分钟 minutes (1...60)；

6、浸泡后，用去离子水冲洗管路 3 次 。

7、一般进样器清洗完毕后排空保存即可，如使用频繁，为防止分液泵长时间空转可用去离子水充满保存。

软件安装和操作指南

软件安装

目前软件最新的版本是 SkanIt2.4.3，软件可以从光盘上安装，安装方法如下：

- 1、首先请检查您的计算机配置是否满足以下要求：

操作系统	Windows 2000, SP4 Windows XP专业版, SP2或以上 Windows 7, 32位 Windows 7, 64位, 请用XP模式运行软件
内存	1GB (推荐) 512MB也可以安装运行, 但安装速度比较慢
硬盘	5GB
计算机接口	9针串口 (推荐) USB口
显示器	XVGA, 分辨率1024 x 768
浏览器	IE6或以上

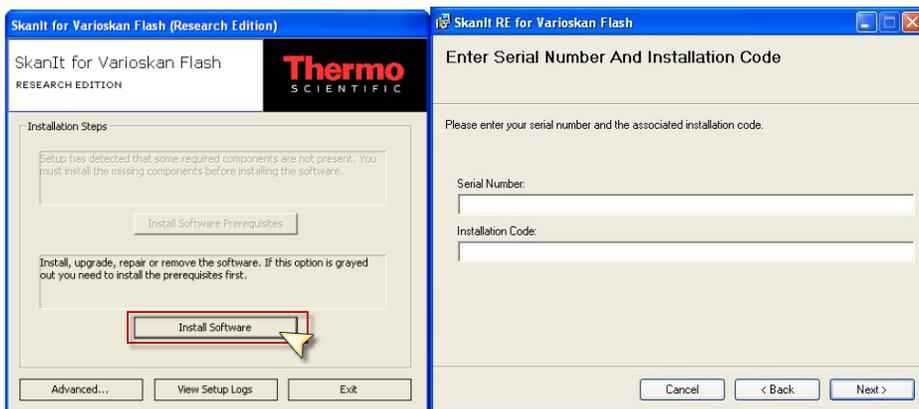


Setup.exe
SkanIt Software Setup
Thermo Fisher Scientific Oy

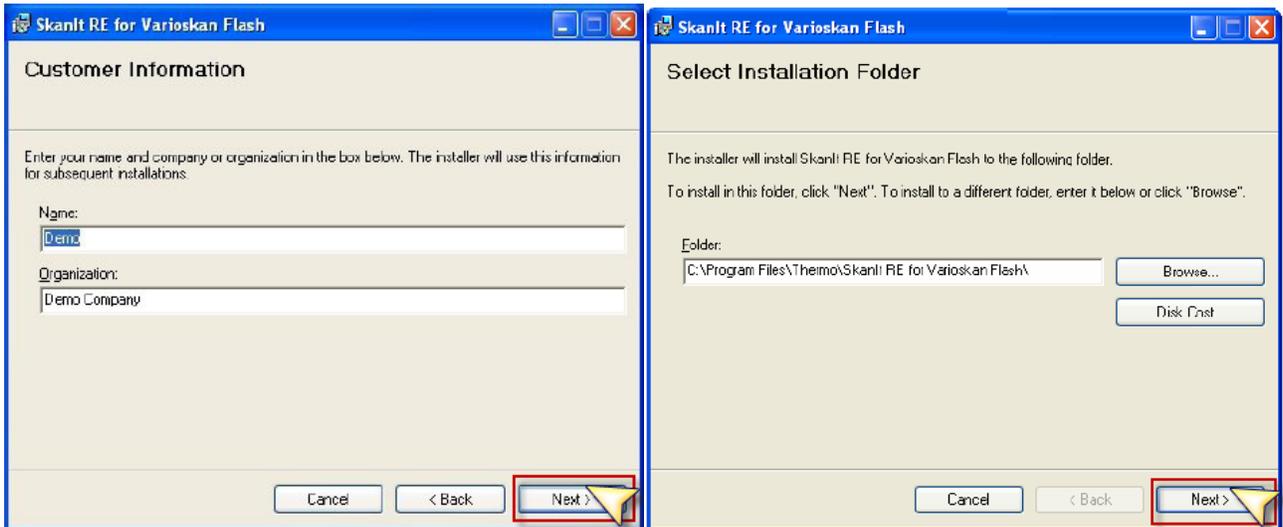
- 2、双击安装光盘内 **Setup.exe**，点击 **Next**，在新出现的对话框内点击 **Install Software Prerequisites**，输入 SQL 数据库的密码 “**Thermo1**” T 大写！；



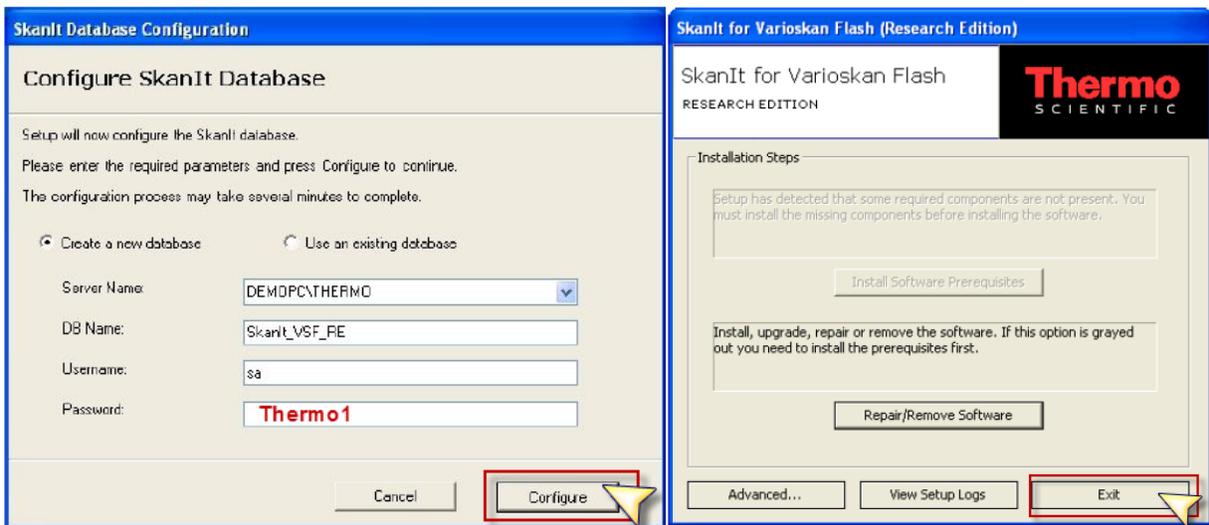
- 3、点击 **Next**，在出现的界面中点击 **Install Software**，在新出现的对话框中输入您安装光盘上背面的 **Serial Number** 和 **Installation Code**，如果您遗忘您的软件序列号和安装码，请咨询我们的技术支持人员；



4、一路点击 Next;



5、请输入“Thermo1”，T大写！点击 Configure 后耐心等待，安装完成后会出现下图右的界面，点击 Exit 退出。



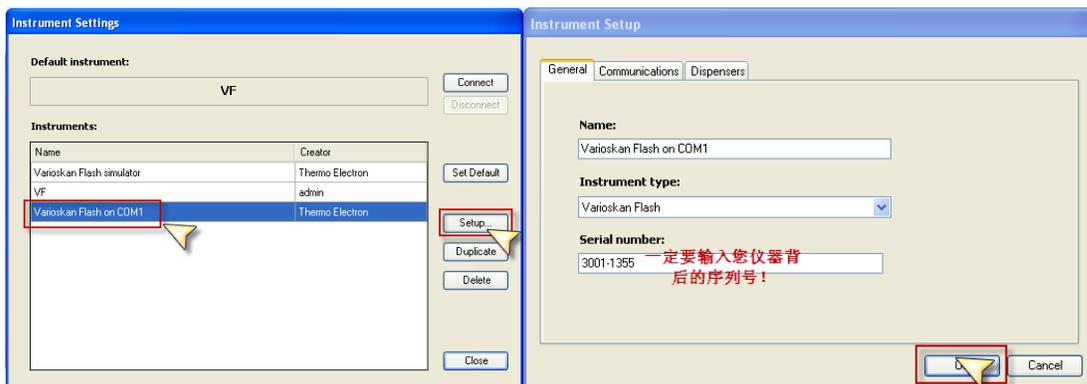
连接仪器



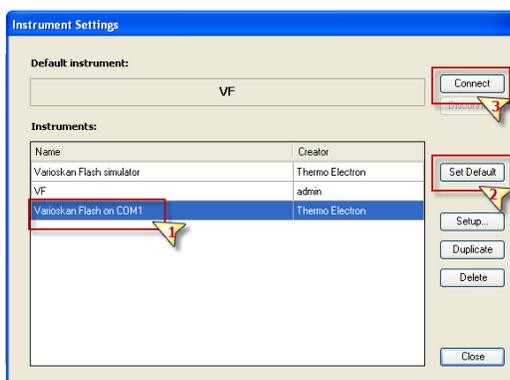
- 1、 双击 打开软件，输入默认用户名“admin”，无密码，点击“OK”进入软件，点击“Settings > Instrument”；



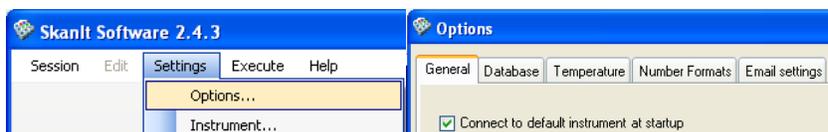
- 2、 如果您的仪器是通过串口连接到电脑上的，请选中“Varioskan Flash on COM1”（注意，千万不要选择“Varioskan Flash simulator”，那样您将没法用软件控制您的仪器！如果 simulator 已连接，请点击右侧的“Disconnected”断开与 simulator 的连接），点击 Setup，输入您仪器背面的序列号（下图中的序列号只是示例，不能真正使用！）点击 OK；



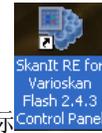
- 3、 按照下图顺序点击相应图标，最后点击“Close”关闭即可。



- 4、 为了让软件自动连接到仪器，勾选 Settings > Options > Connect to default instrument at startup，点击 OK 确定。



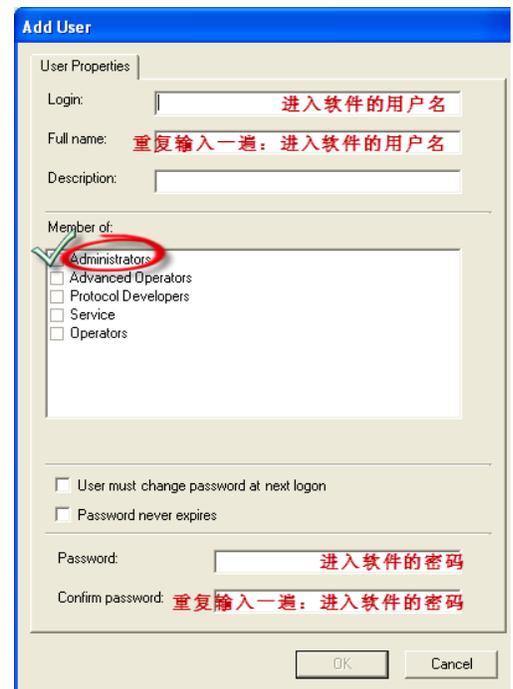
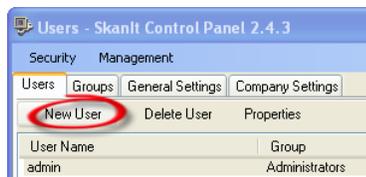
新建用户



- 1、如果您需要给不同用户设置不同操作权限，请新建用户。点击桌面的软件控制面板图标，出现对话框，默认的用户名是 **admin**，无密码。当然，您也可以不建新的用户名，直接以 **admin** 进入后面的程序。



- 2、在用户管理窗口，点击 **New User** ，出现 **Add User** 对话框，选择您想新建用户的名称，并给予权限和密码。一共有 4 种权限（一般建议给予 **Advanced Operators** 权限）：



- a) **Administrator**（管理员权限，可以进行一切操作）；
- b) **Advanced Operators**（高级用户权限，不能修改仪器设置，不能新建、删除、修改任何用户信息）；
- c) **Protocol Developers**（程序创建者，不能修改仪器设置，不能新建、删除、修改任何用户信息，不能修改模板程序）；
- d) **Services**（工程师权限，只能载入和运行程序、导出仪器运行报告和修改仪器设置）；
- e) **Operators**（一般用户权限，只能载入和运行程序、导出数据）。

- 3、点击 **OK** 键并退出控制面板。

数据库备份

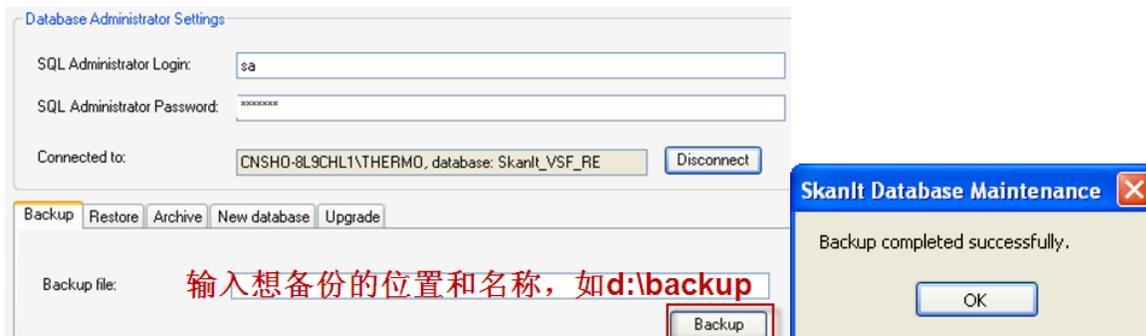
重装系统或 SkanIt 软件前，需要对数据库进行备份，在重装 SkanIt 软件时可以选择备份的数据库，方法如下：

1、开始 > 所有程序 > Thermo SkanIt Software > SkanIt RE for Varioskan Flash 2.4.3 Database Maintenance ;

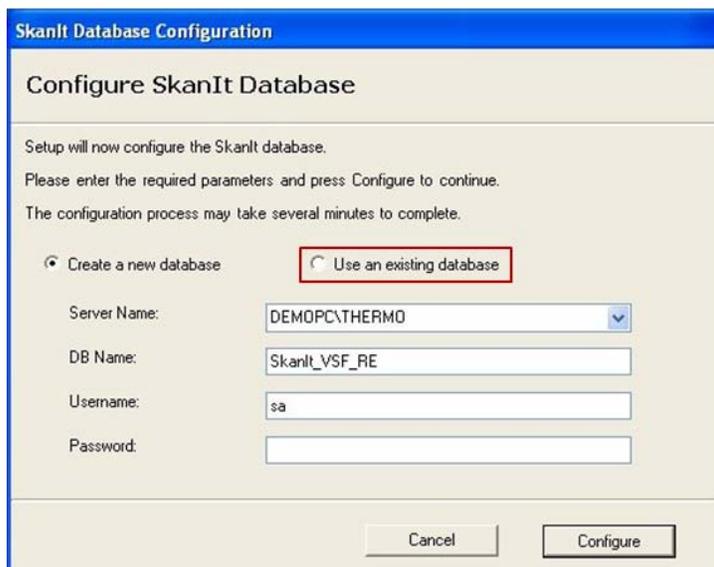
2、输入 SQL 数据库用户名和密码，点击 Connect；



3、SQL 数据库连接后，在 Backup file 内输入想要备份的位置和文件名称，如 d:\backup，则备份文件自动保存在 D 盘根目录下，生成一个 backup 文件，备份成功后点击 OK 键确定；

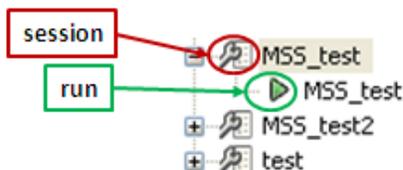


4、在重装软件时，选择 Use an existing database 并选择备份 SQL 数据库的位置即可。



数据管理

- 1、 SkanIt 软件的数据管理采用数据库方式，编写的实验方法称为 Session，每一个 Session 运行的结果称为 Run(s)；



- 2、 双击 打开软件，输入用户名“admin”，无密码；

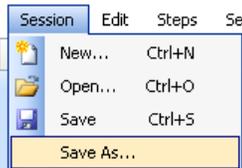


- 3、 点击 New Session 新建程序或点击 Open Session 打开已有程序；



- 4、 点击 后可以选择打开已有的程序（程序前面的图标为 ）或该程序已运行的结果（程序前面的图标为 ），通过左下角的 可以新建文件夹（不同的用户可以在数据库里面拥有不同的文件夹）， 可以重命名， 可以删除程序和运行的结果（删除文件夹前，必需把文件夹里面的程序全部删除）。

- 5、 注意 的程序只能修改孔板布局 ，不能修改实验方法和步骤 ，修改后必须通过



Save As... 给予新的程序名才能运行。

新建程序



1. 双击 打开软件，输入用户名“admin”，无密码，点击 新建程序；

2. 在新出现的对话框内给程序命名 **Session name:** ，点击 Next；

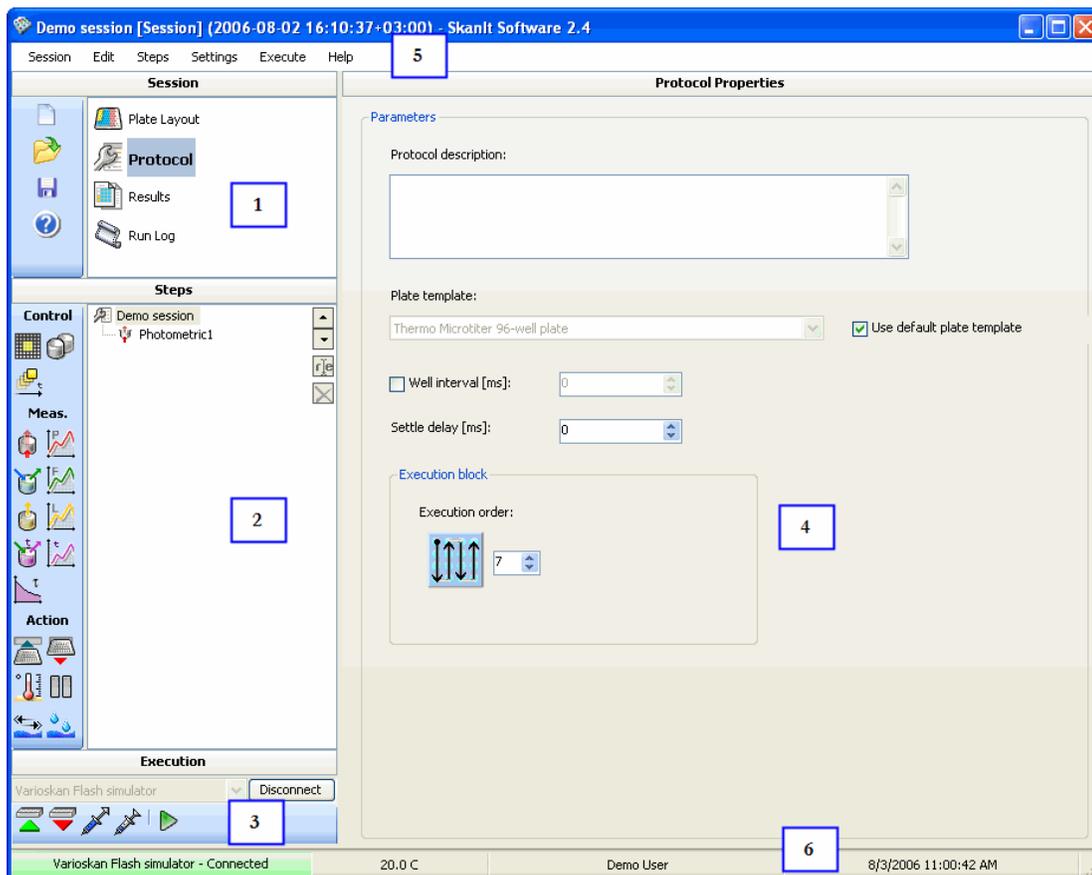
3. 在新出现的对话框内选择您所用的微孔板，如果您所用的版型是 96 孔平底板，您可以选择默认版型



Select plate template: Use default，否则请选择相应的版型，选定后点击 Next；

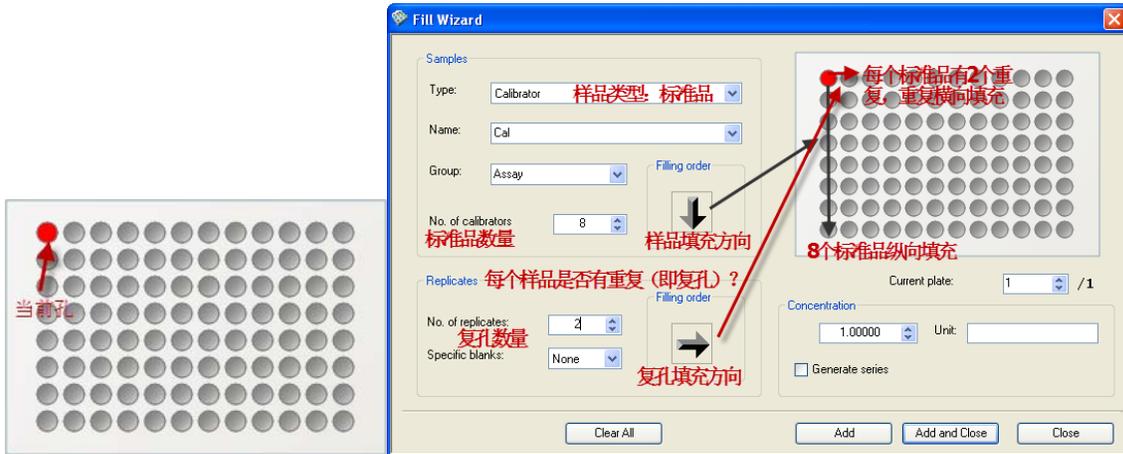
4. 在新出现的对话框内选择程序保存的位置，您可以通过 新建属于您的文件夹，把新建的程序保存在您专属的文件夹内，保存的位置确定后点击 Finish 进入程序编辑的主界面；

5. 主界面分为 6 栏。1 是程序结构栏，是组成一个程序的基本组成部分，包括 Plate Layout（孔板布局），Protocol（实验方法和步骤），Result（结果分析）和 Run Log（运行记录，这个没什么用）；2 是第 1 栏中各组成部分的具体步骤或内容；3 是仪器控制键，包括进板 ，出板 ，预洗自动进样器 ，排空自动进样器 ；4 是第 2 栏的各步骤的具体参数或结果；5 是主面板，包括仪器和程序的所有设置都在这里可以找到；6 是仪器状态栏，从左到右依次为当前仪器，仪器温度，当前用户和时间。

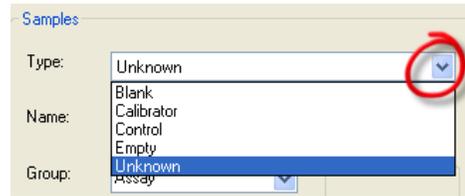


6. 点击 **Plate Layout** 可以设置具体检测的孔。选择右上角 **Wizard** 进入填充向导。

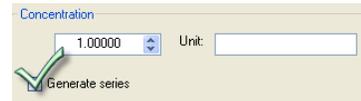
a) 红色代表当前孔，您所设置的样品类型都会以当前孔为起点进行填充，你可以用鼠标选择当前孔的位置；



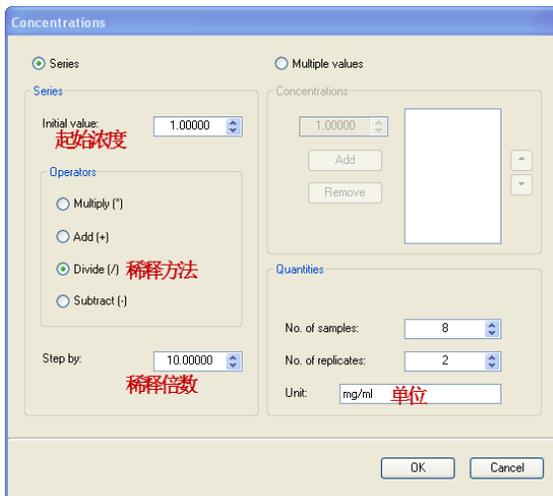
b) 样品类型有以下几种：Blank（空白），Calibrator（标准品），Control（质控品），Empty（空孔），Unknown（待测样品），可以通过下拉菜单进行选择；



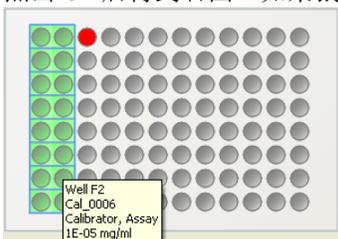
c) 如果您选择 Calibrator，则需要设定标准品的浓度梯度，Concentration 就是起始样品的浓度，Unit 是单位，如 mg/mL 或 mM，再勾选 Generate series，进入 Concentration 对话框；



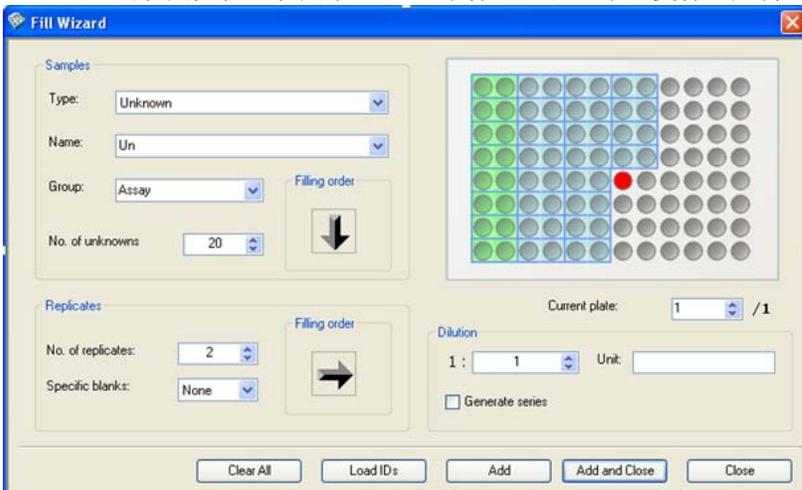
d) 如图，起始浓度 1.0，每次稀释 10 倍（每次除以 10），共 8 个样品，每个样品重复 2 次。当然除了除法，也可以用 +、-、* 等。还可以输入任意值，选 Multiple values，依次输入浓度后点击 Add 添加即可；



e) 点击 OK 后得到右图。如果鼠标落在定义好的孔上，会显示孔的类型，及标准品浓度：



f) Unknown 的设定类似，设定数量（20 个样品）和 2 个重复样品后得到下图：

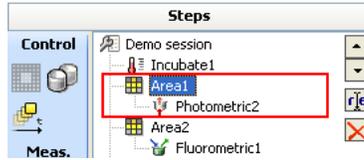


g) Blank 最简单，设定一下数量即可，得到下图：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Cal_0001 Assay 1 mg/ml	Cal_0001 Assay 1 mg/ml	Un_0001 Assay 1:1	Un_0001 Assay 1:1	Un_0009 Assay 1:1	Un_0009 Assay 1:1	Un_0017 Assay 1:1	Un_0017 Assay 1:1				
B	Cal_0002 Assay 0.1 mg/ml	Cal_0002 Assay 0.1 mg/ml	Un_0002 Assay 1:1	Un_0002 Assay 1:1	Un_0010 Assay 1:1	Un_0010 Assay 1:1	Un_0018 Assay 1:1	Un_0018 Assay 1:1				
C	Cal_0003 Assay 0.01 mg/ml	Cal_0003 Assay 0.01 mg/ml	Un_0003 Assay 1:1	Un_0003 Assay 1:1	Un_0011 Assay 1:1	Un_0011 Assay 1:1	Un_0019 Assay 1:1	Un_0019 Assay 1:1				
D	Cal_0004 Assay 0.001 mg/ml	Cal_0004 Assay 0.001 mg/ml	Un_0004 Assay 1:1	Un_0004 Assay 1:1	Un_0012 Assay 1:1	Un_0012 Assay 1:1	Un_0020 Assay 1:1	Un_0020 Assay 1:1				
E	Cal_0005 Assay 0.0001 mg	Cal_0005 Assay 0.0001 mg	Un_0005 Assay 1:1	Un_0005 Assay 1:1	Un_0013 Assay 1:1	Un_0013 Assay 1:1	Blank_Ass Assay	Blank_Ass Assay				
F	Cal_0006 Assay 1E-05 mg/ml	Cal_0006 Assay 1E-05 mg/ml	Un_0006 Assay 1:1	Un_0006 Assay 1:1	Un_0014 Assay 1:1	Un_0014 Assay 1:1						
G	Cal_0007 Assay 1E-06 mg/ml	Cal_0007 Assay 1E-06 mg/ml	Un_0007 Assay 1:1	Un_0007 Assay 1:1	Un_0015 Assay 1:1	Un_0015 Assay 1:1						
H	Cal_0008 Assay 1E-07 mg/ml	Cal_0008 Assay 1E-07 mg/ml	Un_0008 Assay 1:1	Un_0008 Assay 1:1	Un_0016 Assay 1:1	Un_0016 Assay 1:1						

7. 点击 Protocol 后可以在 Steps 中添加实验方法和步骤。具体方法是按鼠标右键调用步骤清单，或直接点击左边相应的图标：

- a) **Area Definition** 自定义区域：当您一块板上有两种样品，每种用不同的检测方法，如一种做光吸收，另一种做荧光检测，您可以通过区域选项把两种样品分别设成 2 个区域，再把不同的检测方法分别设到这 2 个区域的下级菜单内：



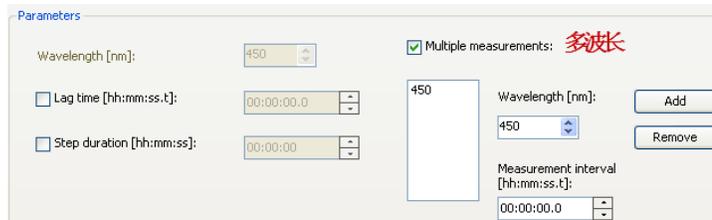
- b) **Well Loop** 孔循环：如果您配置了自动进样器，您可以通过孔循环设置加一个孔检测一个孔：



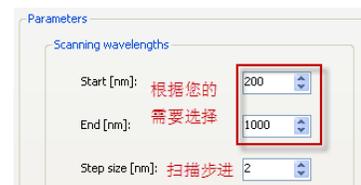
- c) **Kinetic loop** 动力学检测：如果您想每隔一段时间检测一次的话，请设置动力学检测，注意 00:00:00 时记为第 1 次，因此如果您想读 5min 的话，Readings 应设置为 6（如下图所示）：



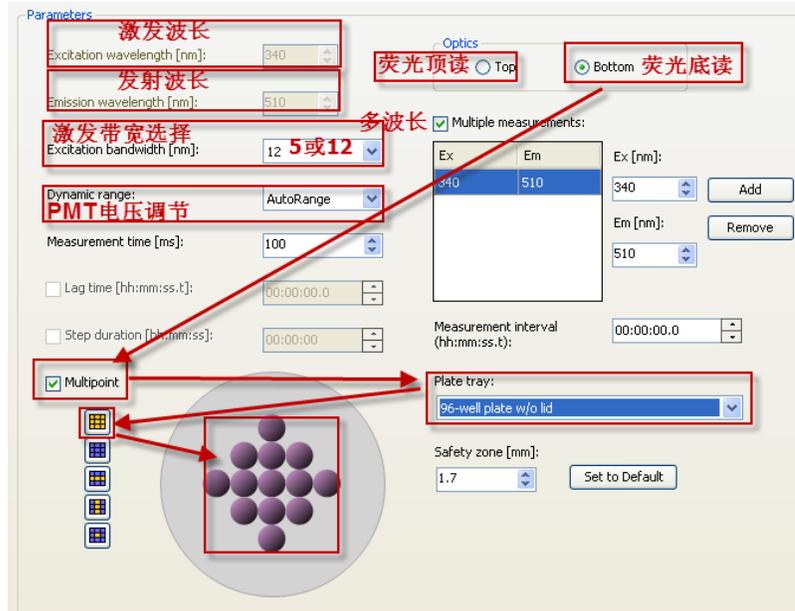
- d) **Photometric Measurement** 光吸收检测，可以设测量的波长（单波长），也可以设多波长检测：



- e) **Photometric Scanning** 光吸收光谱扫描：如果您不知道您的最佳比色波长时，可以先进行光吸收光谱扫描，仪器将从您设定的起始（Start）波长，每次递进（Step size）扫描到结束（End）波长。注意普通的酶标板对于 300nm 以前的紫外光有很强的吸收，如果您的检测物质（如核酸）的最大吸收峰在 300nm 以前，请选购紫外板或石英板。



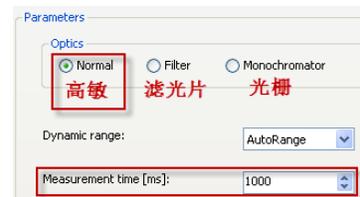
- f) **Fluorometric Measurement** 荧光检测：如果您选择荧光顶读（Top），只需设定您的激发波长和发射波长即可，多波长检测只需勾选 **Multiple measurements**。荧光底读（Bottom）功能只有在仪器型号具有底读模块时才能选择，荧光底读针对的是贴壁培养的细胞内荧光染料的检测，细胞生长一般不均匀，您可能需要选择多点检测（Multipoint），然后选择您所用的板架（Plate tray）类型，标配的是不带盖的托架（如 96-well plate w/o lid），最后通过在孔内的多点，黄色表示选中，紫色表示未选。



- g) **Fluorometric Scanning** 荧光光谱扫描：当您不知道您的荧光染料最佳激发和发射波长时，您可以进行荧光光谱扫描，一共要进行 2 次扫描，第一次发射波长，第二次扫描激发波长，具体方法：首先点击 ，固定激发波长（Excitation），扫描发射波长（Emission）。注意激发和发射波长之间的差值，如右图选择 5nm 激发带宽（Excitation bandwidth），那激发波长（450nm）和发射波长（490nm）之间的差值必须大于 19nm，如果选择 12nm 激发带宽，那激发波长和发射波长之间的差值必须大于 26nm。再点击 ，固定发射波长，扫描激发波长。注意，激发光波长 < 发射波长，否则会出现 提示。



- h) **Luminometric Measurement** 化学发光检测：一般选择高敏模式（Normal），从 Measurement time 设定单孔的检测时间，从 10ms 到 10000ms。



- i) **Luminometric Scanning** 化学发光光谱扫描。

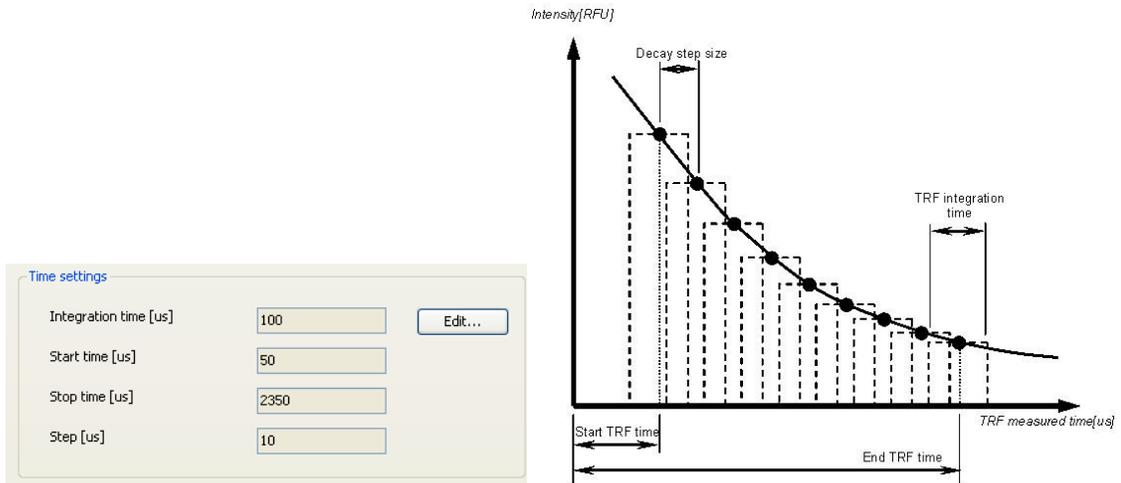
- j) TRF Measurement 时间分辨荧光检测：基本同荧光检测，不同的是要设置延迟时间（TRF delay time）和积分时间（TRF integration time）。

TRF delay time [us]:

TRF integration time [us]:

- k) TRF Scanning 时间分辨荧光光谱扫描：基本同荧光光谱扫描。

- l) TRF decay 时间分辨荧光延迟时间和积分时间扫描：



- m) Shake 振荡：可以设置 On time 振板时间，OFF time 停顿时间和 Duration 总时间。例如，先振板 20s，然后停顿 10s，再振 20s 停 10s，2 个循环共 1min。Speed 指振荡的速度，Diameter 指振荡的幅度，这两个参数之间相互限制，如果某一个调的特别大，则另一个参数会自动变小，以防止液体溅出。一般对于 96 孔板内小于 200 μ l 的液量，推荐默认设置 600rpm，1mm。Background 模式一般用于动力学检测时，2 次检测间隔时间内的振板，只需设置 On time 即可。

Parameters

Duration [hh:mm:ss]:

ON time [hh:mm:ss.t]:

OFF time [hh:mm:ss.t]:

Speed [spm]:

Diameter [mm]:

Shaking mode

Start with ON time

End with ON time

Background

- n) Incubate 孵育：可以设置孵育时间和温度。注意，孵育时间的选择，有两种设置。另，仪器的当前温度见主程序界面的底部。



Parameters

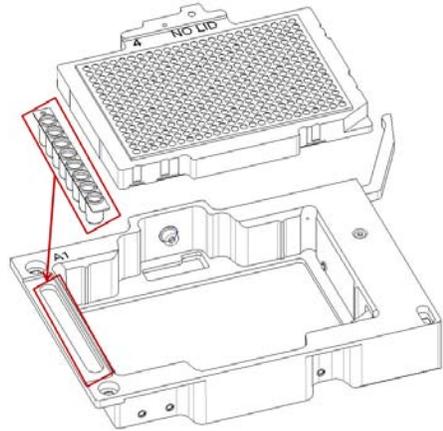
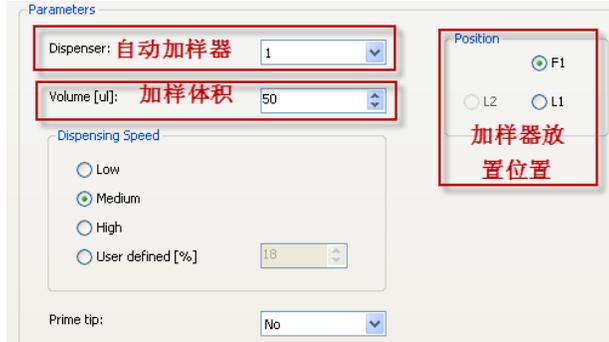
Incubation time [hh:mm:ss]:

Temperature [C]:

Wait until the instrument has reached the target temperature

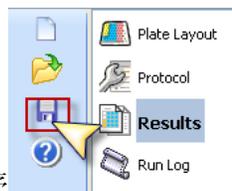
The graph below shows 'temperature' on the y-axis and 'time' on the x-axis. It illustrates a ramp-up phase followed by a horizontal hold phase at the target temperature.

- o) Dispense 自动加样：如果您的仪器配有自动进样器，您可以选择自动进样。选择准备用的自动进样器和加样体积，如果加样体积 > 20 μl ，则 Prime tip 选择 No，反之则选择 Automatic，注意，如果选择 Automatic 的话，则需要在板架的左边放上一列条板（选配 Robotic Tray 的用户，条板位置在前面）。



8. 点击 **Results** 进入结果分析的设置。在 **Result** 中可以添加以下常用数据处理方式：

- BlankSubtration** 减去空白，Blank type 选择 Average（必须在 **Plate Layout** 里设置 Blank）；
- Basic Statistics** 基本统计，包括 SD 标准差和 CV% 变异系数（必须在 **Plate Layout** 里设置 Replicates）
- 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** 里设置 Calibrator 及其浓度梯度）；
- User-Defined Equation** 用户自定义公式，可设置双波长扣减或扣去板子本底值等复杂的设置；



9. 完成以上工作后，在运行程序前保存所编辑的程序



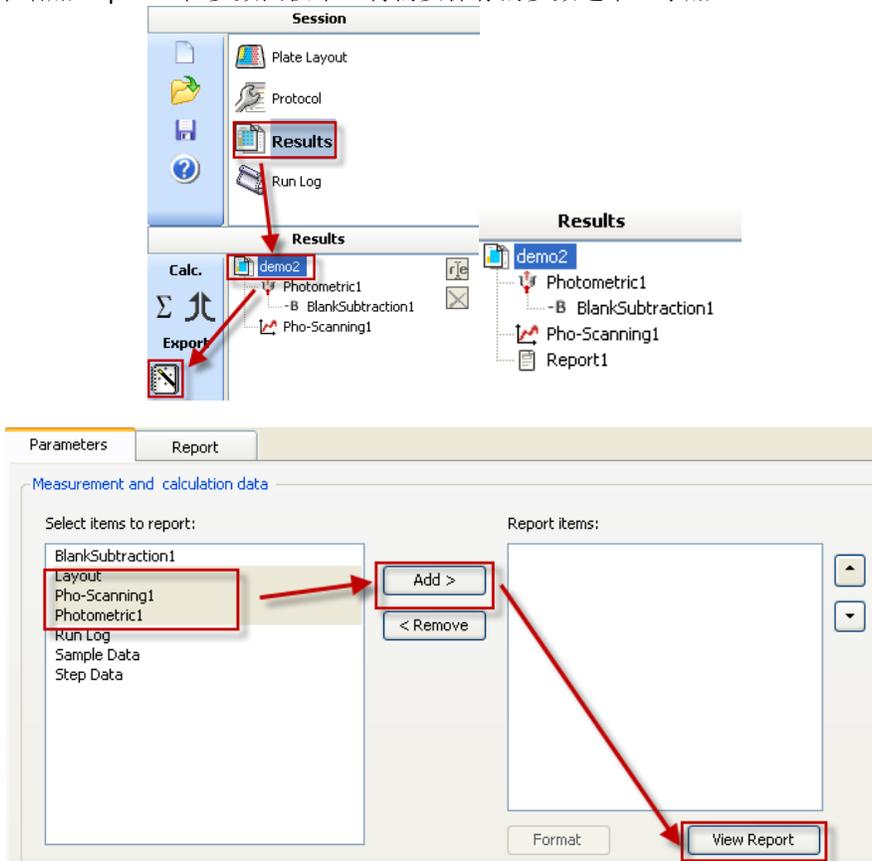
运行程序。

，点击 出板，放入微孔板后点击

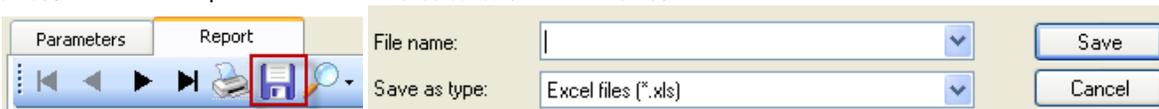
结果导出

1. Report 模式

a) 在 Result 中增加 Report。在参数面板中，将需要保存的参数选中，添加。



b) 点击 View Report 切换到 Report 面板，对导出结果进行浏览。按保存，填入文件名称（File name），选择文件类型（.xls 或.pdf 或.txt），一般保存结果至 Excel 文件。



2. 简单模式（Quick Export）

a) 选中某一结果，如 Photometric1。按右键，点击 Quick Export，或菜单 Calculations / Quick export。选择 Matrix，确定后保存结果至 TXT 文本文件。



b) 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。

```
Results of Photometric1↓
↓
Plate:1 - Wavelength:450↓
↓
0.301 0.280 0.261 0.293 0.272 0.279 0.314
0.259 0.237 0.333 ↓ 0.325 0.312 0.293 0.292 0.273
0.277 0.302 0.324 ↓ 0.271 0.274 0.331 0.303 0.266
0.305 0.314 0.297 ↓ 0.347 0.292 0.265 0.285 0.298
0.290 0.253 0.321 ↓ 0.261 0.306 0.292
0.289 0.239 0.334 0.280 0.260 0.289
0.270 ↓ 0.315 0.296 0.283
0.248 0.342 0.291 0.322
0.265 ↓
```

c) 当然，也可以用 Excel 打开。一路确定后，得到下图。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Results of Photometric1										
2											
3	Plate:1 - Wavelength:450										
4											
5		0.301	0.28		0.261	0.293	0.272	0.279	0.314	0.259	
6		0.237	0.333		0.325	0.312	0.293	0.292	0.273	0.277	
7		0.302	0.324		0.271	0.274	0.331	0.303	0.266	0.305	
8		0.314	0.297		0.347	0.292	0.265	0.285	0.298	0.29	
9		0.253	0.321		0.261	0.306	0.292	0.289			
10					0.239	0.334	0.28	0.26		0.289	0.27
11					0.315	0.296	0.283	0.248			
12					0.342	0.291	0.322	0.265			
13											
14	Plate:1 - Wavelength:500										
15											
16		0.298	0.253		0.289	0.318	0.29	0.244	0.287	0.263	
17		0.318	0.282		0.298	0.324	0.353	0.314	0.276	0.308	
18		0.297	0.292		0.287	0.298	0.324	0.255	0.313	0.28	
19		0.31	0.291		0.262	0.277	0.322	0.289	0.277	0.264	
20		0.283	0.258		0.303	0.286	0.274	0.299			
21					0.285	0.293	0.321	0.259		0.271	0.338
22					0.301	0.334	0.333	0.308			
23					0.271	0.316	0.251	0.309			
24											

操作实例：BCA 法蛋白质浓度测定

试剂盒：Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay Kit (#23225)，包含 BSA 标准品（2 μg/μL），试剂 A 和试剂 B

标准曲线（反应体系 20 μL）：

标准品编号	BSA 标准品 (μL)	样品稀释液 (μL)	BSA 标准品终浓度 (μg/mL)
1	0	20	0
2	1	19	100
3	2	18	200
4	4	16	400
5	6	14	600
6	8	12	800
7	10	10	1000
8	12	8	1200

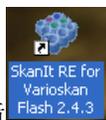
样品稀释度（反应体系 20 μL）：

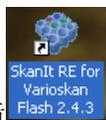
样品编号	样品 (μL)	样品稀释液 (μL)	稀释倍数
1	10	10	1:2
	5	15	1:4
	2	18	1:10
2	10	10	1:2
	5	15	1:4
	2	18	1:10

每个标准品稀释度和样品稀释度重复 3 次。

测定 562nm 吸光值。

软件操作：

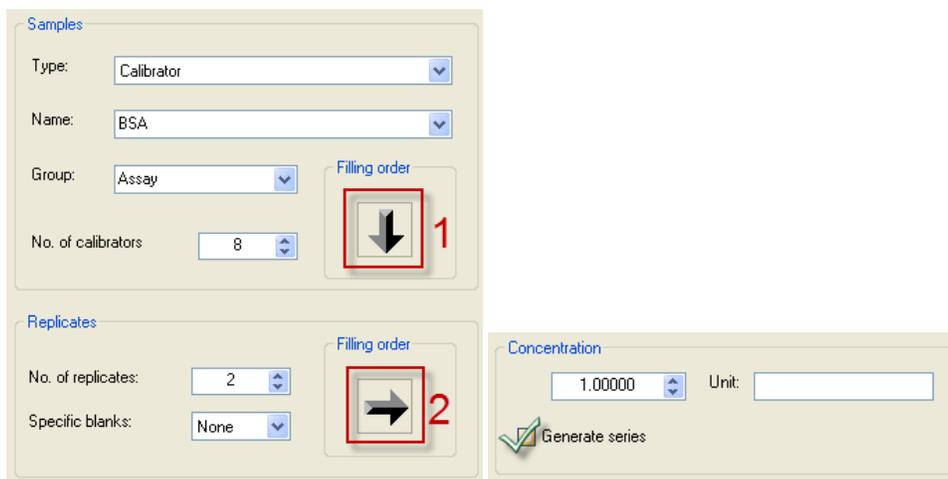


1. 双击  打开软件，点击 OK，在新出现的对话框内点击  新建程序；
2. 在新出现的对话框内给程序命名 Session name 处输入 Pierce_BCA，点击 Next；
3. 在新出现的对话框内选择您所用的微孔板，如果您所用的版型是 96 孔平底板，您可以选择默认版型 Use default，点击 Next；

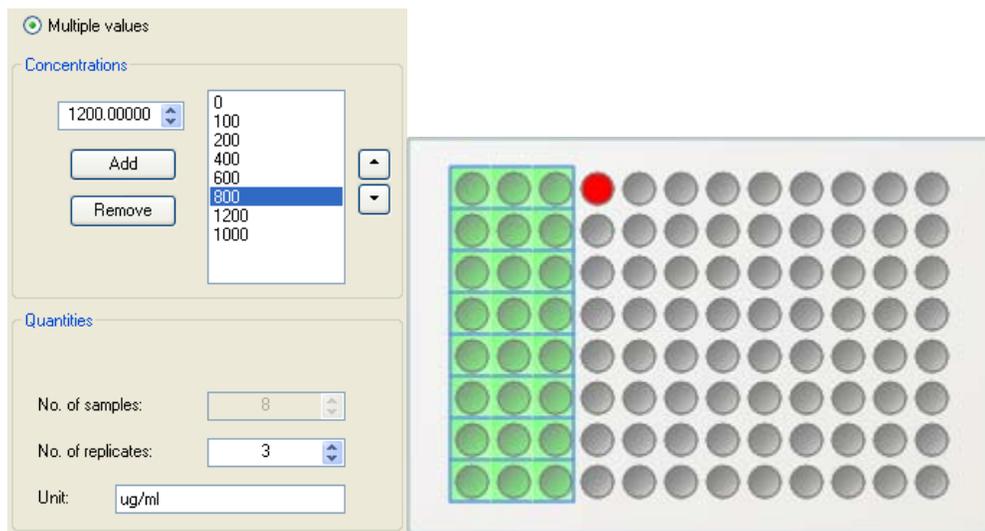
4. 点击 Finish 进行程序编辑界面。

5. 选中 **Plate Layout**，点击右上角 **Wizard** 进入填充向导界面， 显示的当前点，你将从当前点的位置开始设置填充的样品类型。

6. **Type** 选择 **Calibrator**，**Name** 输入 **BSA**（不改也可以），**BSA** 标准品一共有 8 个稀释度，所以 **No. of calibrators** 输入 **8**，标准品不同稀释的填充方向向下（图中标 1），每个稀释度 3 个重复，所以 **No. of replicates** 输入 **3**，复孔的方向与稀释梯度的方向垂直，所以填充方向向右（图中标 2）。点击箭头可以改变填充方向。



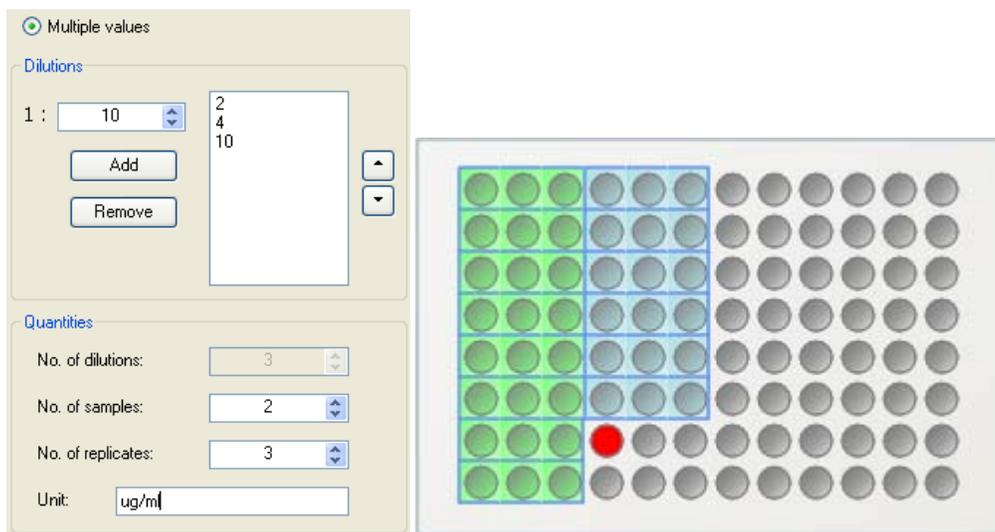
7. 接下来点击 **Generate series**，在新出现的对话框中点击右侧的 **Multiple values**，在 **Concentrations** 内依次输入浓度后点击 **Add** 添加到右侧的框中，最后在 **Unit** 里面输入单位 $\mu\text{g/mL}$ ，点击 **OK**，标准品的浓度梯度已经填充好了， 当前点图标自动移动到 **A4** 孔。接下来我们要填充待测样品了。



8. **Type** 选择 **Unknown**，**Name** 请输入您的样品名（不改也可以），待测样品一共有 2 个，所以 **No. of unknowns** 输入 **2**，待测样品的填充方向向下，每个稀释度 3 个重复，所以 **No. of replicates** 输入 **3**，复孔的方向与稀释梯度的方向垂直，所以填充方向向右（图中标 2）。点击箭头可以改变填充方向。因为我们每个样品都有 3 个稀释度，所以需要设置稀释度。

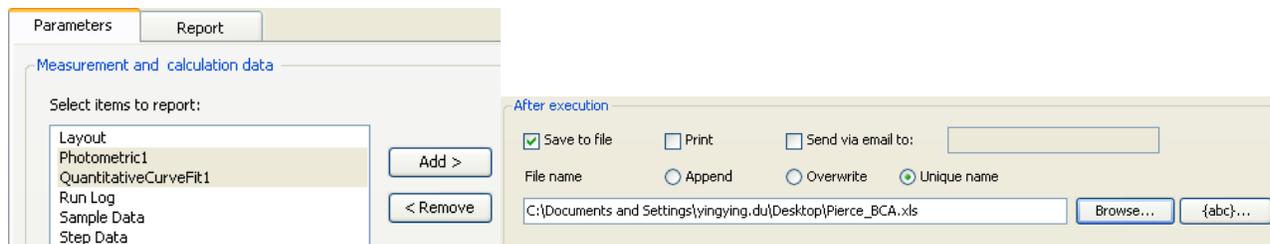


9. 点击 **Generate series** 在新出现的对话框中点击右侧的 **Multiple values**，在 **Dilutions** 内依次输入稀释倍数后点击 **Add** 添加到右侧的框中，最后在 **Unit** 里面输入单位 $\mu\text{g/mL}$ ，点击 **OK**，待测样品也填充好了，点击右下角的 **Close** 关闭填充向导界面。

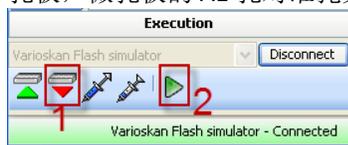


10. 选中 **Protocol**，点击 图标，在右侧的参数栏内把波长改为 562nm 。

11. 选中 **Results**，选中 **Photometric1** ，先点击 图标，再点击 图标，按住您键盘上的 **Ctrl** 键，选择要导出的数据，如 **Photometric1**（原始值）和 **QuantitativeCurveFit1**（标准曲线拟合值），点击 **Add**。选中 **Save to file**，**File name** 选中 **Unique name**（导出的结果文件名称后会添加年月日以防止重复），点击 **Browse**，在出现的窗口中选择您结果文件保存的位置，点击 **OK** 确认（默认保存为 **Excel** 文件）。

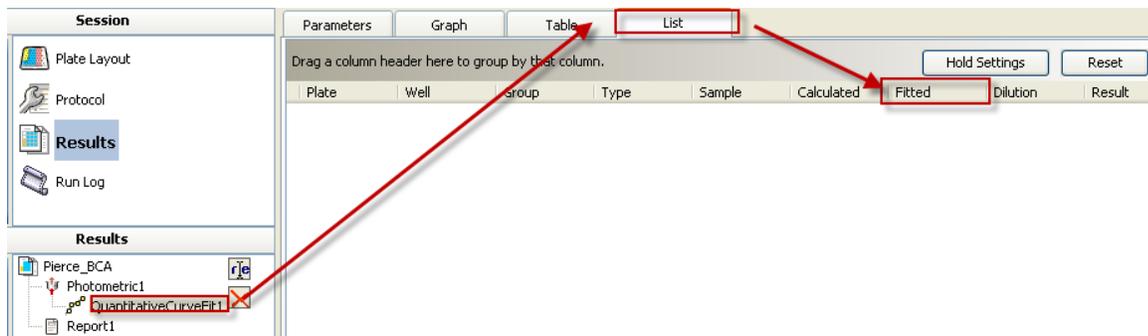


12. 全部设置完成后点击左上的存盘键保存程序，点击板出键（图中标 1），待仪器自动移出托架后放入微孔板，微孔板的 A1 孔对准托架左上角 A1 位置，点击运行键（图中标 2），仪器自动移入托架开始检测。



此图中连接的是模拟器（simulator），并不是真正的仪器，请注意！

13. 程序运行结束后，待测样品浓度直接回显示在 Fitted（拟合值）这一列中。



仪器的详细介绍参见《Thermo Scientific Varioskan® Flash User Manual》

软件的详细介绍参见《Thermo Scientific SkanIt® Software for Varioskan® Flash version 2.4.3 User Manual》