

Amersham Typhoon 标准操作规程

一、仪器配置介绍

Tphoon5 配置激光光源: 488nm,685nm,785nm

已配置滤光片(已在仪器内): Cy2 525BP20, IRshort 720BP20, IRlong 825BP30

注: BP 为带通滤光片, BP20 即目标波长 \pm 10nm;LP 为长通滤光片,即大于目标波长的光均可通过

二、操作顺序:

一级电源开关 \Rightarrow 仪器正面二级电源按钮 \Rightarrow 开电脑登录基理账号 \Rightarrow 打开软件进行连接 \Rightarrow 选择实验类型:

1. Fluorescence(荧光/近红外/暗室扫描模式)

2. Phosphor imaging (同位素检测模式)

3. Densitometry (可做光密度值 OD 检测或数字成像(银染/考染)模式)

\Rightarrow 选择合适托盘:

1. Fluor Stage 适用于膜的荧光成像和数字化成像(膜样品面朝下放置),

2. Multi Stage 适用于孔板和平皿成像

~~3. Phosphor stage 适用于同位素成像~~

\Rightarrow 设置参数 \Rightarrow 扫描 \Rightarrow 分析 \Rightarrow 关闭软件后再关二级电源。

三、参数设置: 按顺序操作①②③④⑤。

① 选择功能, 放置样品, A1-H1 方向摆放。

② 选择方法、扫描速度(常规和慢扫,慢扫图像效果更佳)、分辨率(10-200 μ m)、激光和滤光片、检测器 PMT 电压(自动或手动设置 250-1000V)、激光通道数量(最多可设置 5 次扫描通道)。

③ 可选荧光托盘、多功能托盘、IP 磷屏托盘,编辑样品位置和图片数量。

④ 自动保存图像的位置、命名方式(默认年月日)和文件类型(gel: GE 专用, tif: 16 位通用, img: 数据文件),文件大小和扫描时间提醒。

⑤ 保存方法、删除方法、预扫描(1000 μ m 预览)和开始扫描按钮。

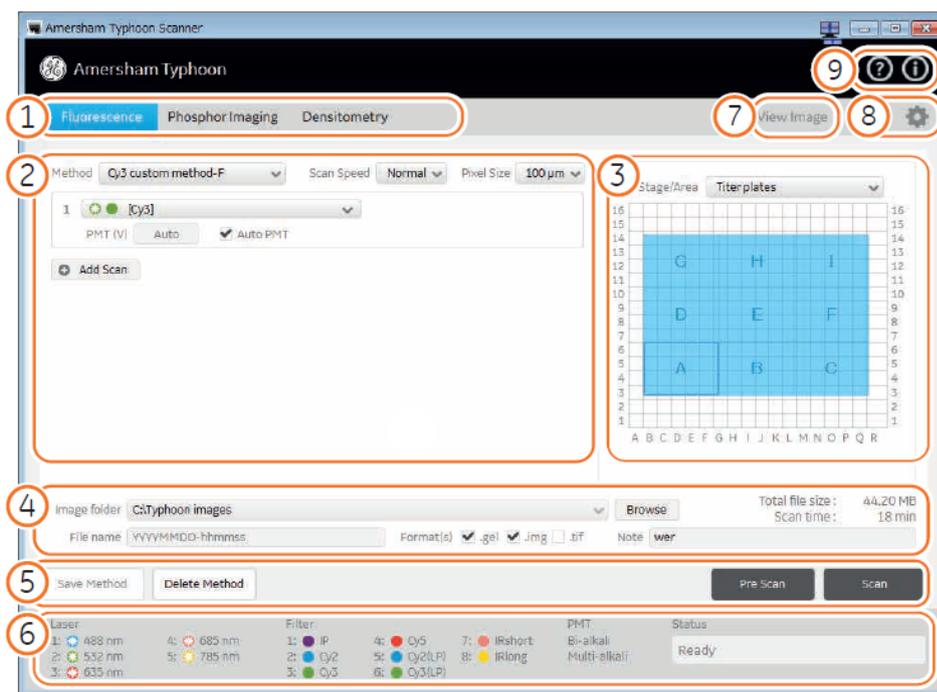
⑥ 仪器配置的激光、光源和检测器,仪器状态显示。

⑦ 查看图片。

⑧ 设置,创建扫描方法。

⑨ 帮助、答疑。

[在此处键入]

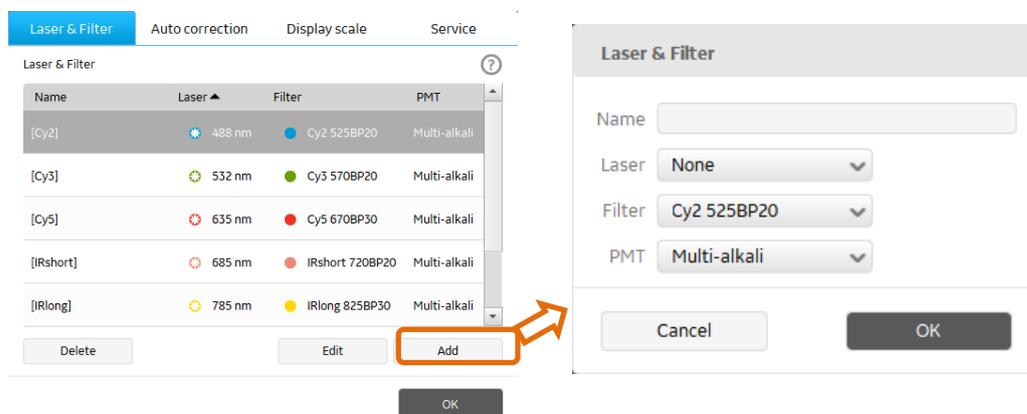


在设置中创建扫描方法如下图：

1. 选择 Add 添加方法

2. 方法名称，选择激发光源，滤光片及检测器 PMT

注：磷屏成像选择 Bi-alkali, 荧光成像选择 Multi-alkali.



推荐的扫描方式：（注：所有模式下，图像都自动保存指定位置）

(一) Pre Scan 模式：预测目的条带最佳 PMT 电压，适于信号容易淬灭、封闭不佳噪点高的样品。

具体操作：②中 PMT 处输入 400-600V ⇒ Pre Scan ⇒ 选中目的区域 ⇒ 提示最佳扫描电压 ⇒ Scan。

(二) Auto 模式：即“懒人”模式，放置样品后可无人值守，适于新人、表达量差异小于 10^5 倍。

具体操作：②中 PMT 电压勾选 Auto PMT ⇒ ③中样品位置 ⇒ Scan。

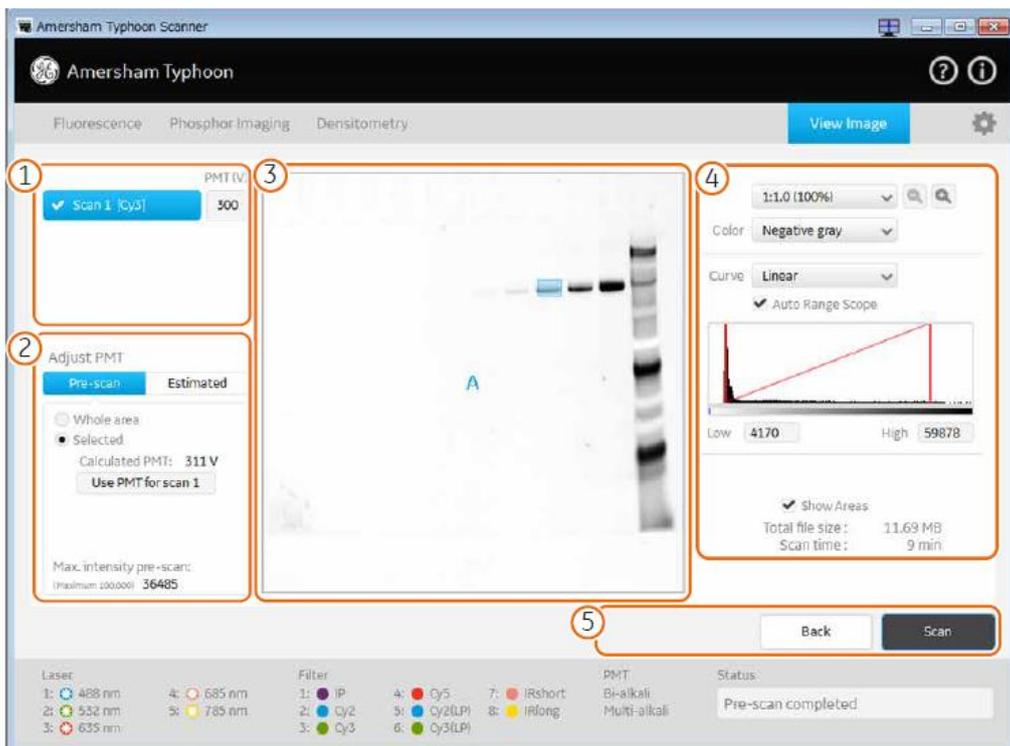
(三) 手动模式：适于荧光容易淬灭或者上样量、表达量、抗体浓度等长期一致，及有经验者。

具体操作：②中 PMT 输入电压 ⇒ ③中样品位置 ⇒ Scan。

[在此处键入]

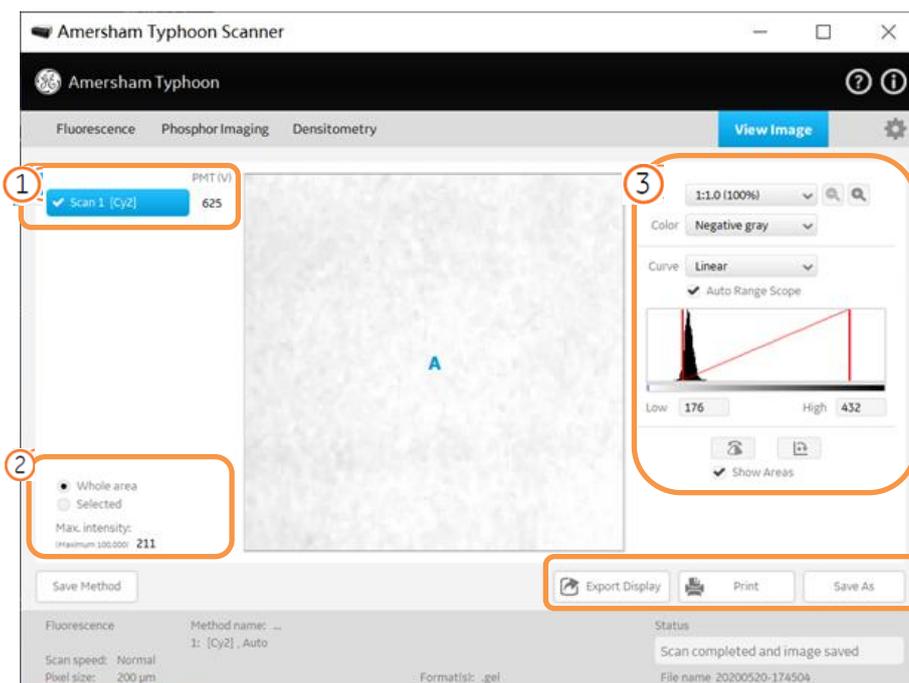
[在此处键入]

四、Pre Scan 预扫描后界面



- ① 查看各通道 PMT 电压。
- ② 显示选中区域的 PMT，将计算所得最佳 PMT 应用于各通道以备下一步扫描
- ③ 预扫描图片，鼠标点击选中感兴趣区域进行最佳 PMT 计算
- ④ 缩放图片，Color 项中增加保存多种样式（如：热图等）的 jpg 图片，调节对比度；显示图片预计大小和扫描时间。
- ⑤ 返回主界面，扫描

五、扫描完成后界面：



[在此处键入]

- ① 查看通道，显示当前通道 PMT。
- ② 显示图片最大灰度信息，可选查看区域和整张图片
- ③ 缩放图片，Color 项中增加保存多种样式（如：热图等）的 jpg 图片，调节对比度。

注：文件扫描完成后自动保存，无需另存为。

六、图片分析



ImageQuantTL 分析软件进行图像处理 and 定量分析，其视频资料 and 文字资料见电脑桌面电子文件。

操作流程为：



七、实验结束后，先关软件，再关闭仪器正面的二级电源。

八、注意事项

1. 点击二级电源开关后，仪器进入自检状态，自检完成仪器正面白色灯长亮，此时再进行控制软件连接；
2. 更换托盘时，以手托着托盘两边取出放置，请勿用手直接接触荧光平台玻璃面；
3. 每次使用完毕，请用去离子水擦洗放置样品位置，并用擦镜纸擦干。