

Cytiva成像仪器培训

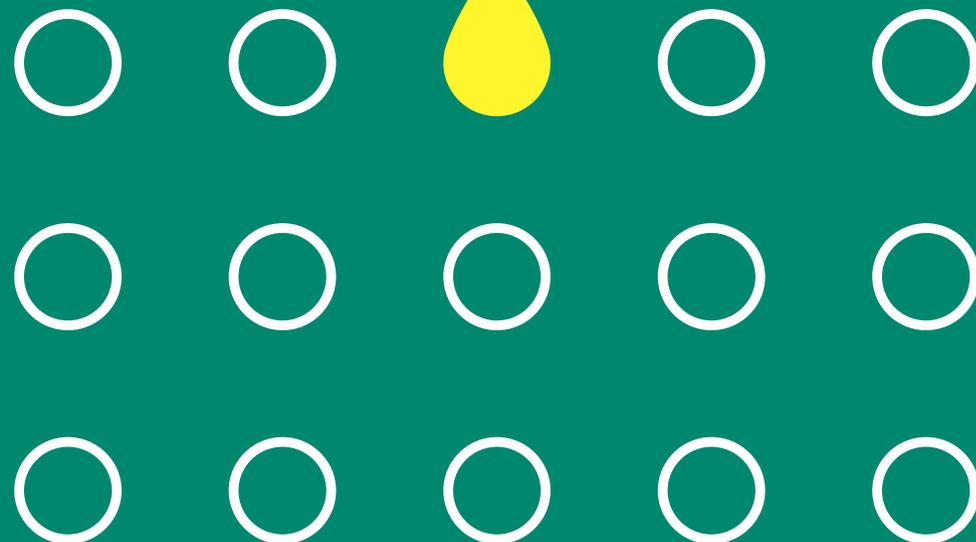
-Typhoon激光成像仪

LAS4000化学发光成像仪

31 March 2021

于海宽

Cytiva成像产品技术支持



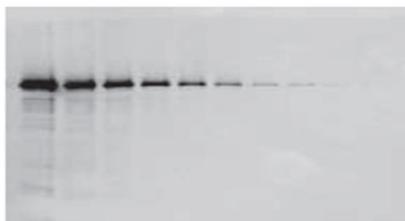
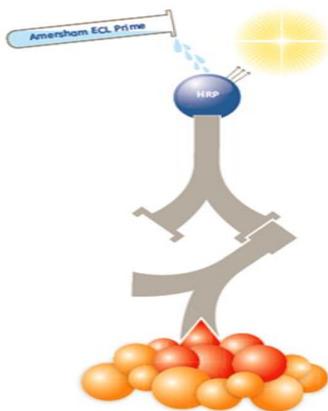
两种Western Blot检测方法



ECL
Species specific
Secondary antibody
HRP conjugate

Primary antibody

Antigen on
membrane



Cytiva

上样&跑胶

转印

封闭

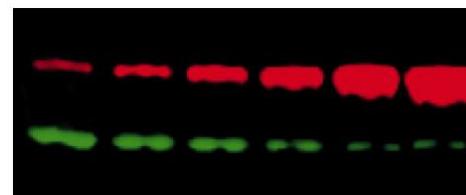
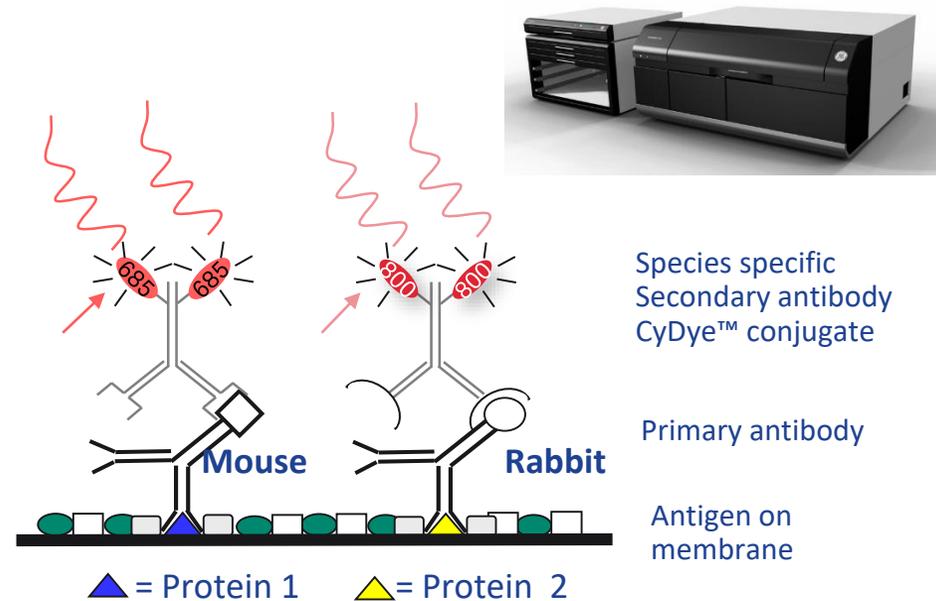
一抗孵育

二抗孵育

ECL检测

胶片曝光

荧光成像



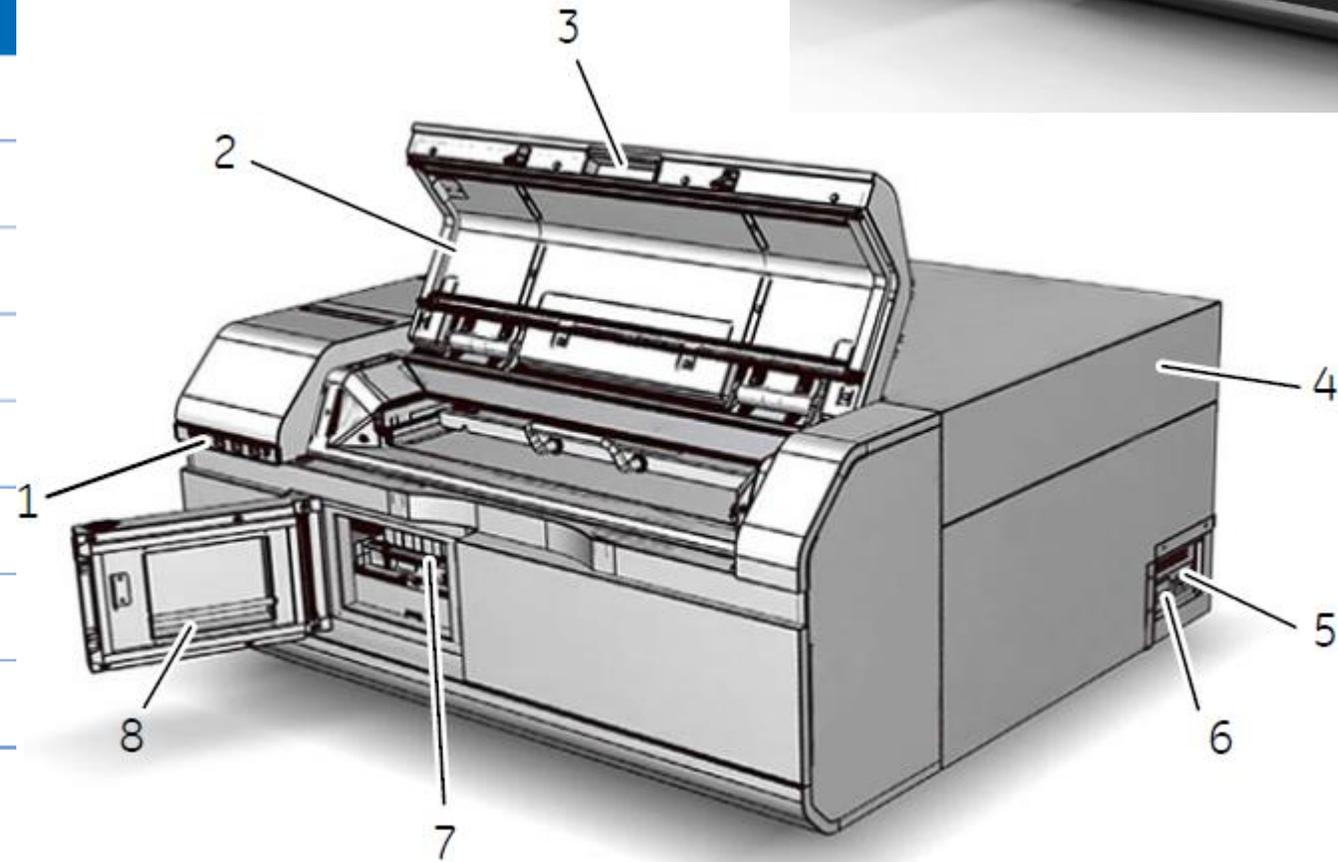


Typhoon激光成像仪

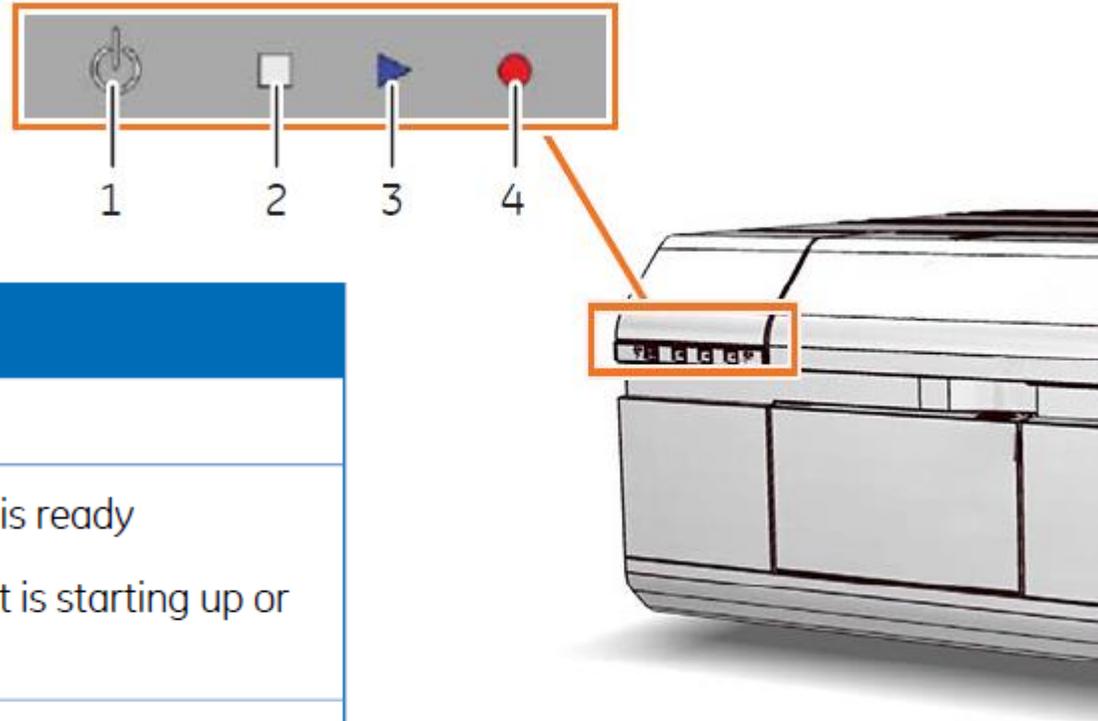
Amersham Typhoon



Part	Function
1	Instrument panel
2	Main scanner door
3	Scanner door handle
4	Instrument cover
5	Power cord connector
6	Power switch
7	Filter module
8	Filter door



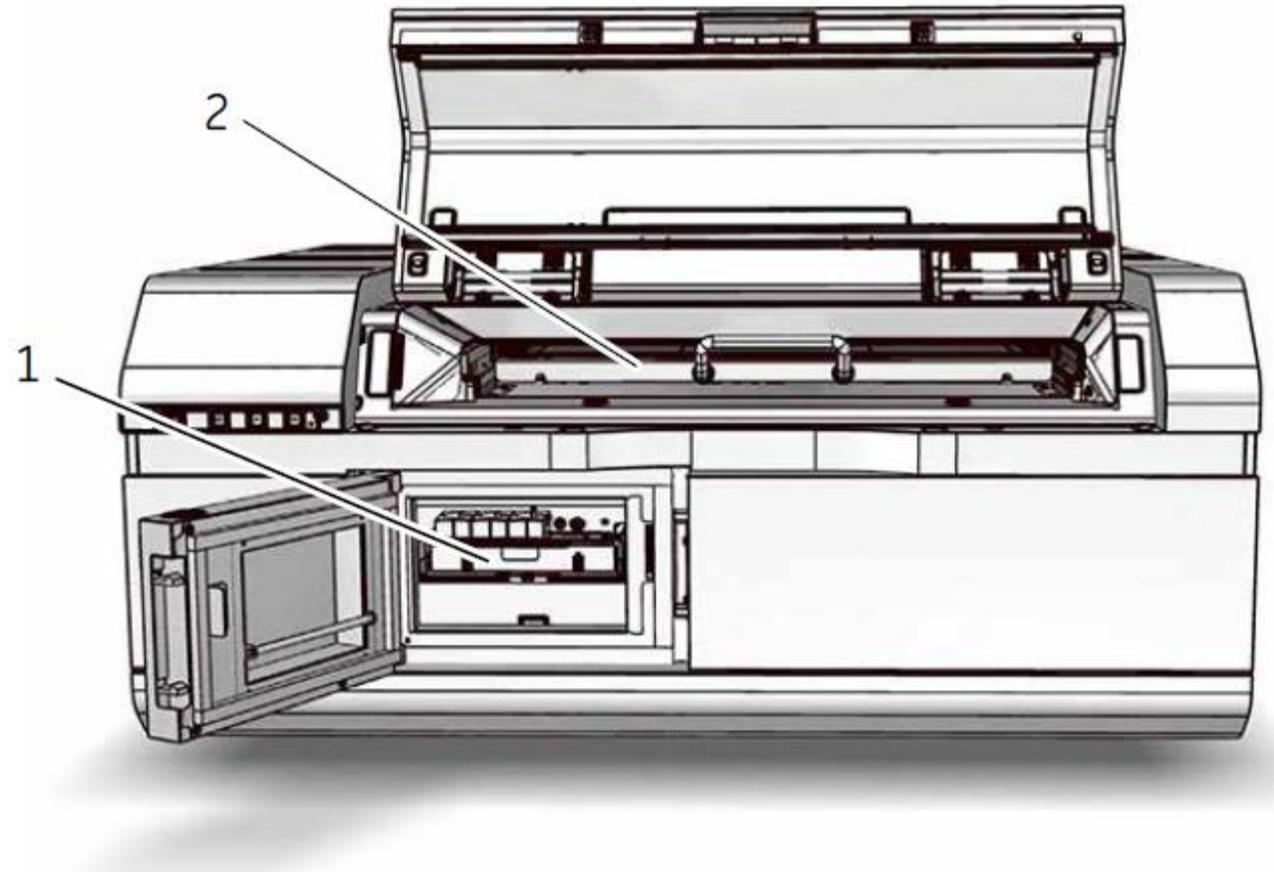
Amersham Typhoon



Part	Color	Function/status
1	White	On/Off button
2	White LED light	<ul style="list-style-type: none">• If steady: Instrument is ready• If flashing: Instrument is starting up or shutting down
3	Blue LED light	<ul style="list-style-type: none">• The instrument is scanning, or• The filters are being moved inside the scanner (after filter installation).
4	Red LED light	Error

Amersham Typhoon

Part	Function
1	Filter module
2	Stage



操作流程

开自检机/连接软件



放置样本/成像位置



选择光源/滤光片



设置保存位置



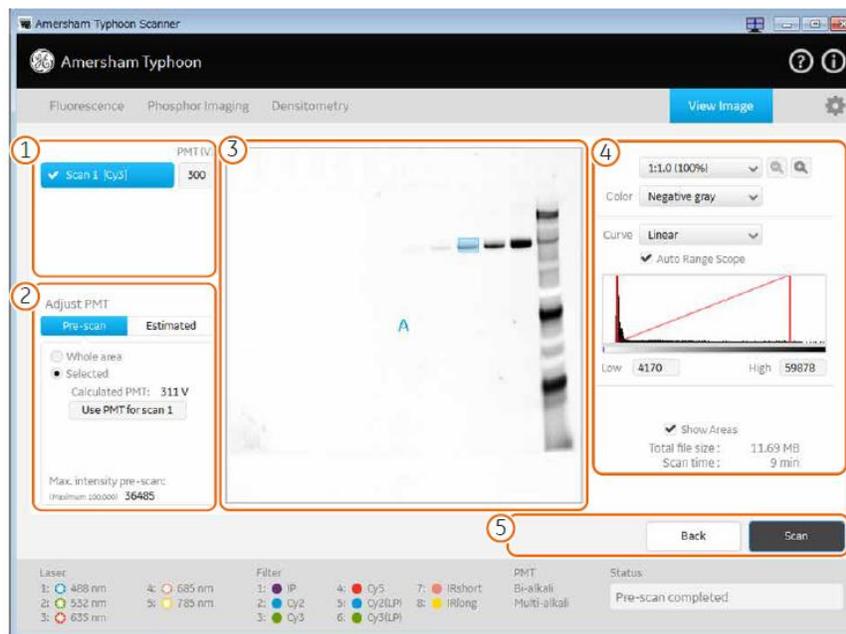
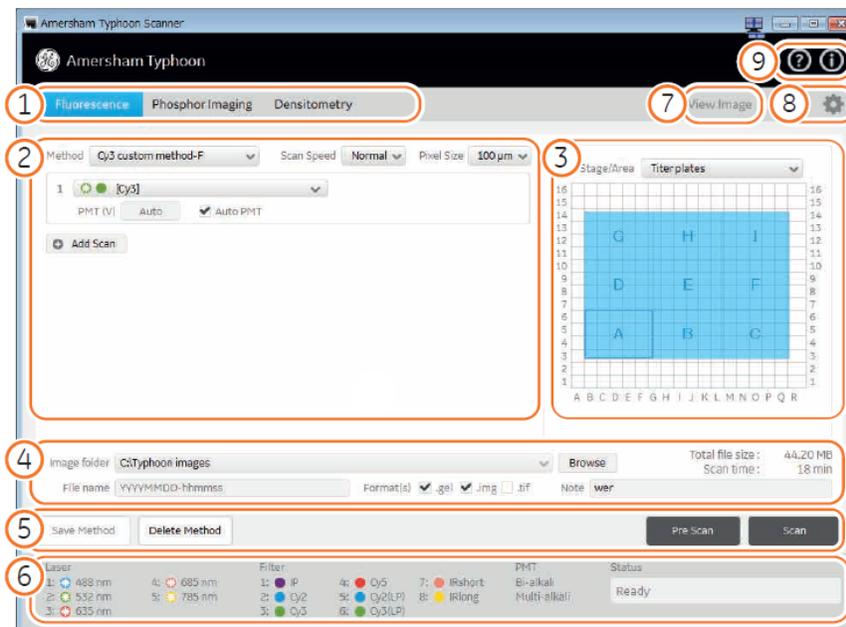
成像模式选择



全自动

预览半自动

手动重复



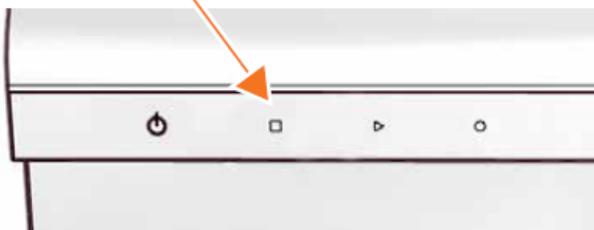
开机/关机

开机:

- 先打开主机右侧的总开关



- 哔声后, "Ready" 长亮



- 按前面电源开关, "Ready" 灯闪烁, 自检约5min

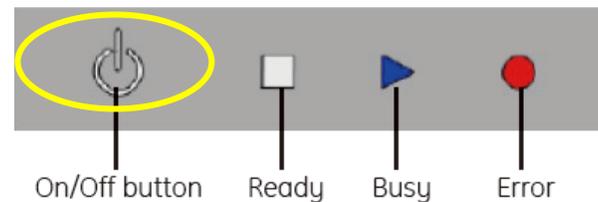


- 电脑上, 打开控制软件



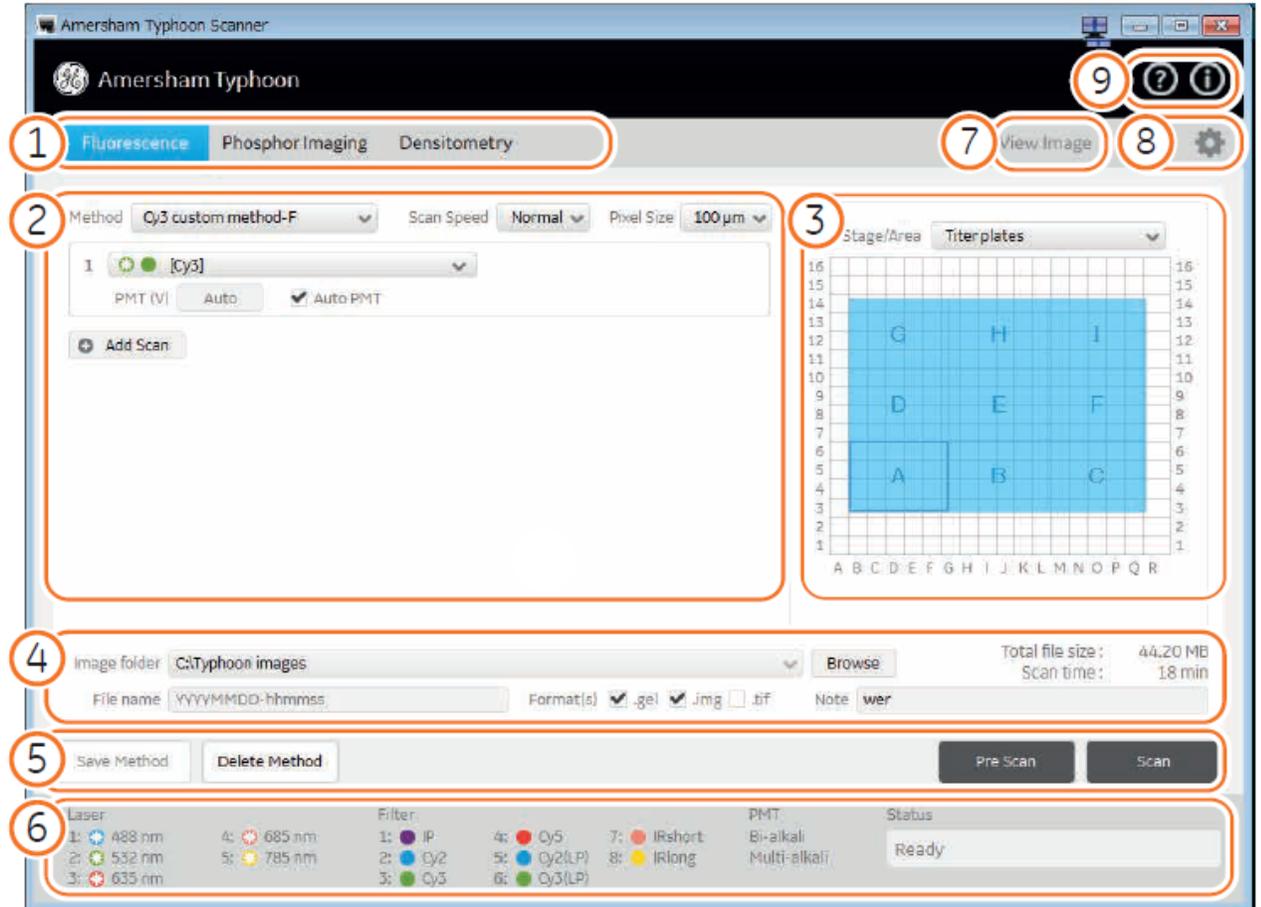
关机:

- 按住开关3秒, 指示灯闪烁后自动关闭。



设置界面说明-Start

- ① 选择功能
荧光成像、磷屏成像、光密度测定
- ② 编辑方法:
扫描速度 (常规/慢扫)
分辨率 (10、25、50、100、200um)
光源和滤光片
检测器电压 (自动/手动250-1000V)
扫描次数 (自动, ≤5次)
- ③ 样品位置和图像数量
- ④ 图像保存位置
图像大小和扫描时间
命名方式 (默认年月日)
图像类型 (.gel-GE专用/img-原始数据/tif-16位通用)
- ⑤ 预览/扫描



设置界面说明-Start

- 扫描速度 (常规/慢扫)
Slow: double time than Normal
- 分辨率 (10、25、50、100、200um)
- 光源和滤光片

Laser & Filter Auto correction Service

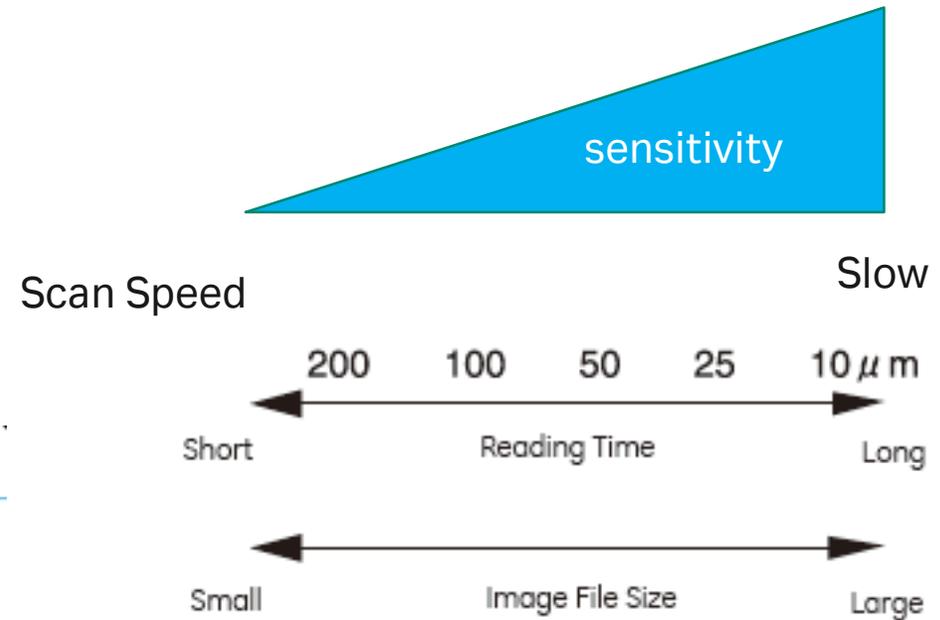
Laser & Filter ?

Name	Laser	Filter	PMT
[Cy2]	488 nm	Cy2 525BP20	Multi-alkali
[Cy3]	532 nm	Cy3 570BP20	Multi-alkali
[Cy5]	635 nm	Cy5 670BP30	Multi-alkali
[IRshort]	685 nm	IRshort 720BP20	Multi-alkali
[IRlong]	785 nm	IRlong 825BP30	Multi-alkali
[DarkScan]	--- none	--- Through	Bi-alkali
[DarkScan-M]	--- none	--- Through	Multi-alkali

Delete Edit Add

Cytiva

OK



Pixel Size 10um v

Quality 10um

Auto 25um

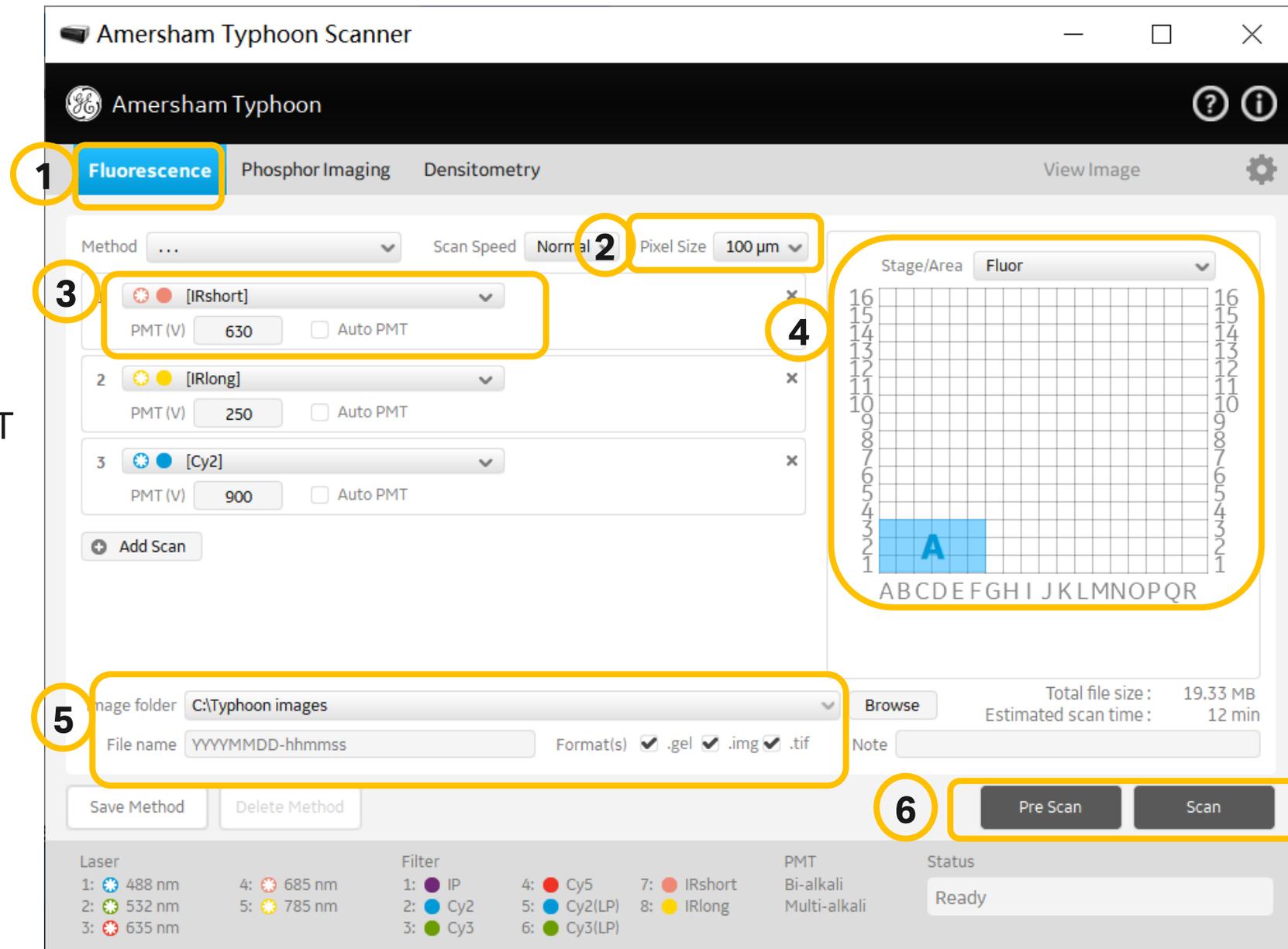
50um

100um

200um

操作流程

- ① 选择荧光功能
- ② 选择像素尺寸：10、25、50、100、200um
- ③ 选择灵敏度：手动选择PMT电压250-1000V或Auto自动
- ④ 放置样本，选择成像区域
- ⑤ 设置存储路径及文件格式：.gel、.img、.tif
- ⑥ Scan



Pre-Scan预扫模式

- ① 选择查看通道
- ② 选择Selected
- ③ 鼠标左键选择要参与PMT计算的区域，仪器自动给出Calculated PMT,将此PMT应用于Scan
- ④ 点击Scan

Amersham Typhoon Scanner

Amersham Typhoon

Fluorescence Phosphor Imaging Densitometry View Image

PMT (V)

✓ Scan 1 [IRshort]	630
✓ Scan 2 [IRlong]	250
✓ Scan 3 [Cy2]	900

Adjust PMT

Pre-scan Estimated

Whole area

Selected

Calculated PMT: 1000 V

Use PMT for scan 3

Max. intensity pre-scan:
(Maximum 100,000) 209

1:1.0 (100%)

Color Negative gray

Curve Linear

✓ Auto Range Scope

Low 174 High 430

✓ Show Areas

Total file size: 19.33 MB

Estimated scan time: 12 min

Back Scan

Laser

1: 488 nm	4: 685 nm
2: 532 nm	5: 785 nm
3: 635 nm	

Filter

1: IP	4: Cy5	7: IRshort
2: Cy2	5: Cy2(LP)	8: IRlong
3: Cy3	6: Cy3(LP)	

PMT

Bi-alkali

Multi-alkali

Status

Pre-scans completed

分析软件演示

Image Quant TL

- 培训资料:
- IQTL中文操作视频
- IQTL培训教材 P34



操作：打开图片---选择图形形状---自动圈定图像Autotrace---右键确定阈值Threshold
---左键圈定图像---Next---选择Histogram Peak扣除背景---添加备注Annotate---导出图像

荧光成像

- 胶
- 膜
- 多孔板
- “三明治”胶 (Max. 33*42cm)



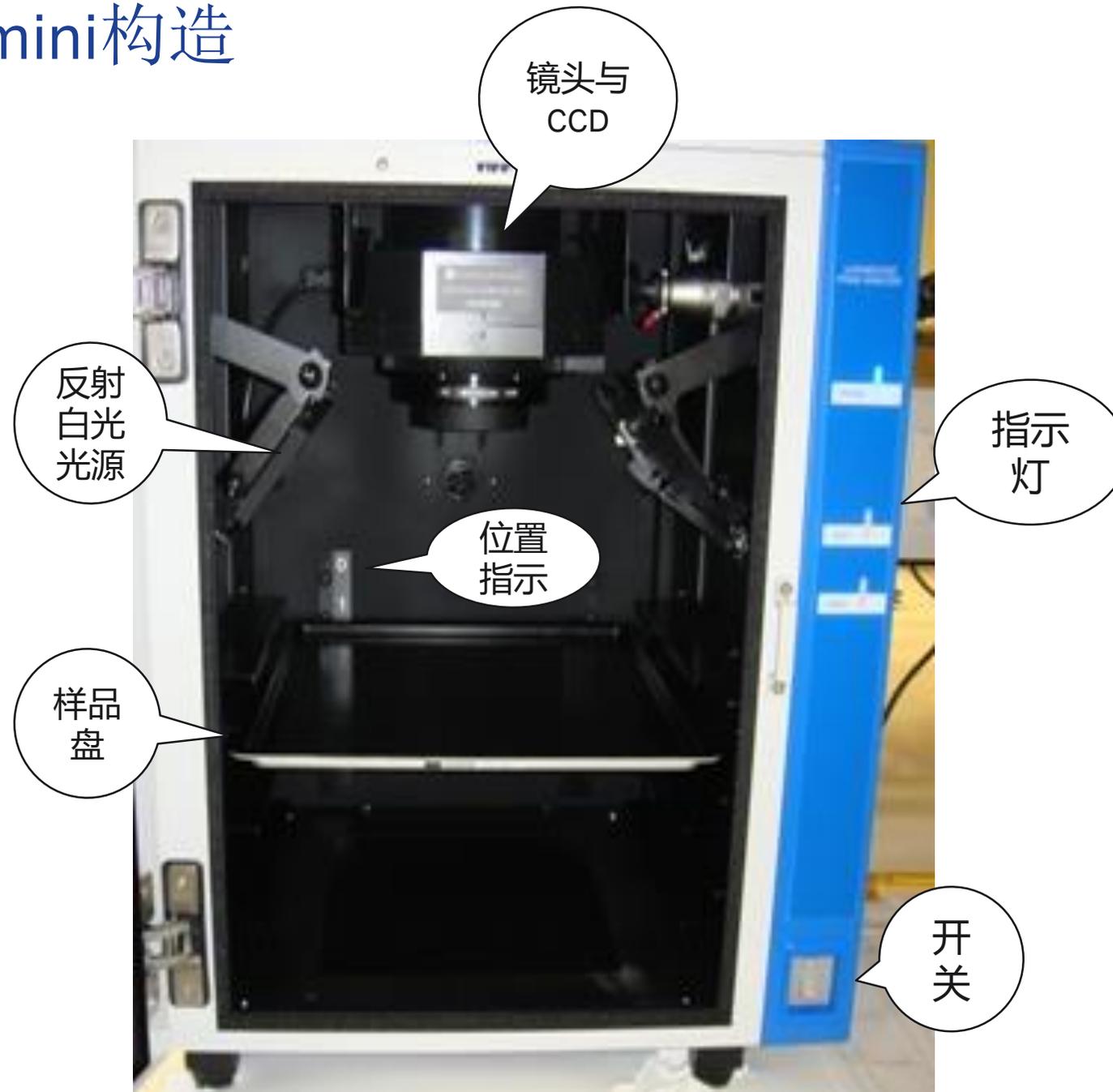
维护和使用注意

- 托盘使用后，用蒸馏水或75%乙醇清洁，晾干
- 实验室温度不宜高于28°C
- 实验室湿度不宜超过75%
- 设备不宜放置阳光下
- 开机：二级电源管理 先打开右侧面下方的总开关，再按前面板二级开关
- 关机：按一下前面板开关，再关闭总关

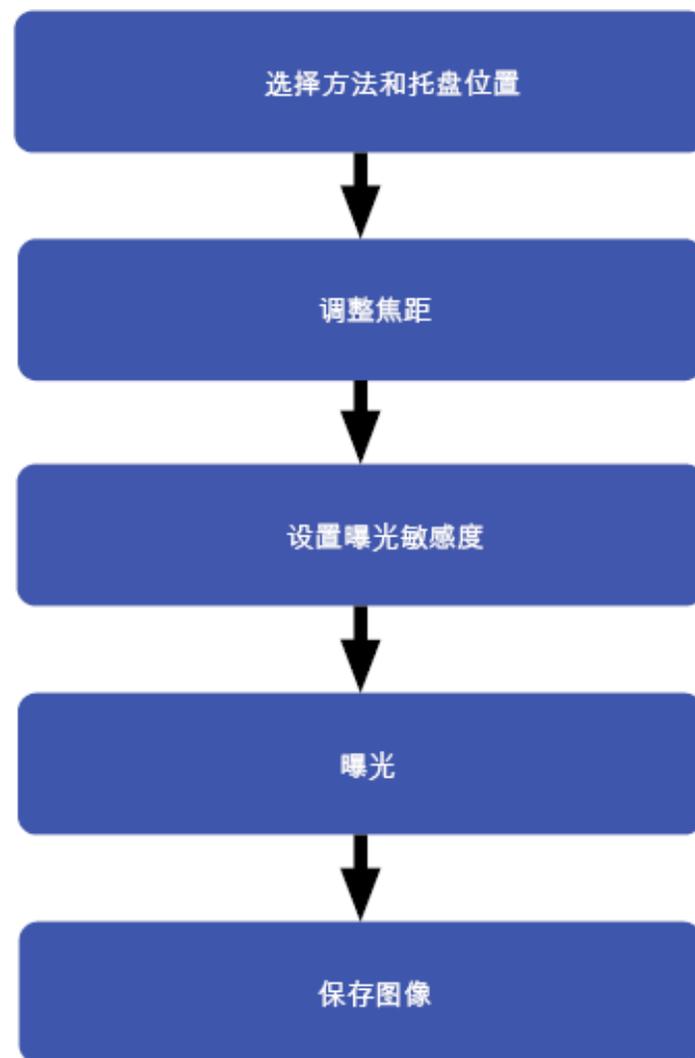


Las4000化学发光成像仪

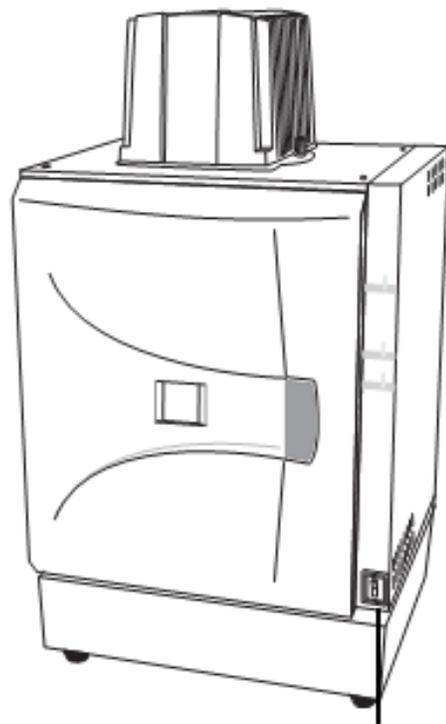
LAS4000 mini构造



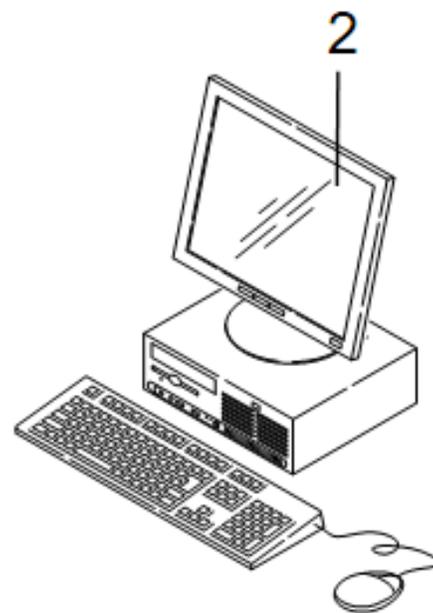
操作流程



先开机，后开控制软件



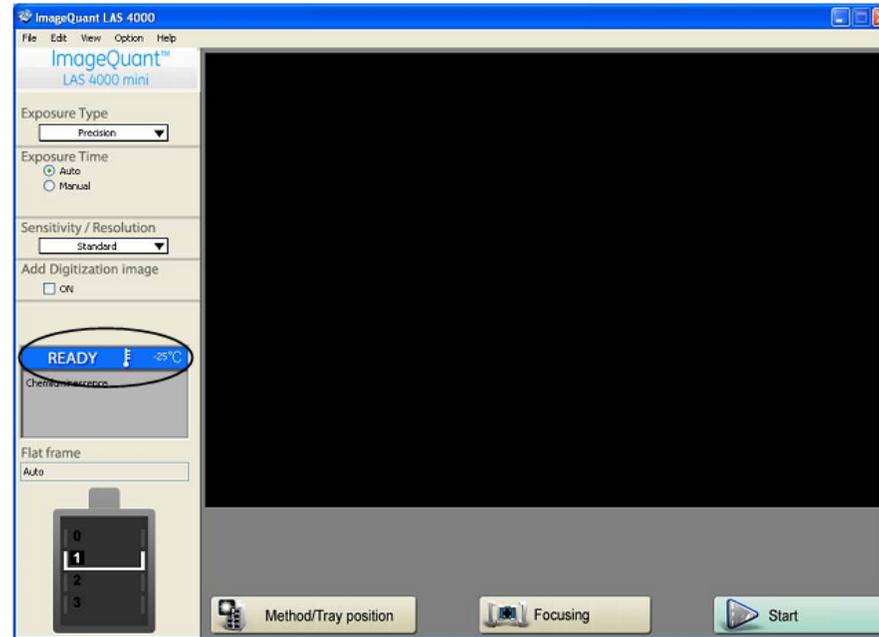
1



Analyzing PC

CCD温度预冷到-25°C,小于5分钟

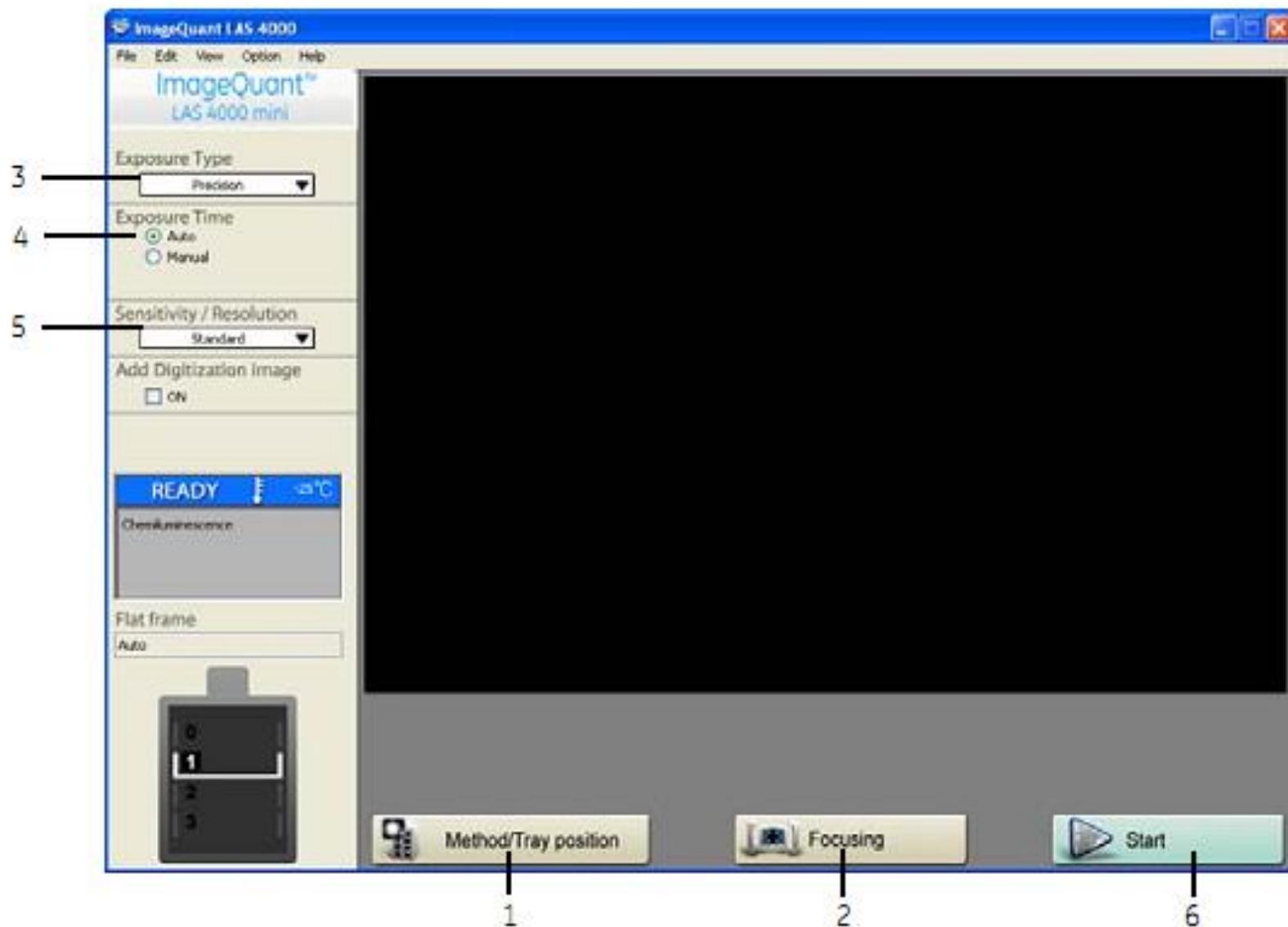
温度
指示



开机5min内制冷完成，待机



控制软件主界面



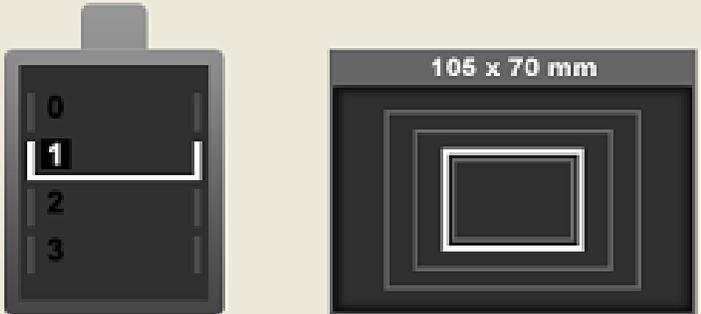
1. 方法与样品盘位置设定

Method / Tray position

Method	Light	Filter	Iris
<input checked="" type="radio"/> Chemiluminescence	None	Through	F0.85
<input type="radio"/> Fluorescence ---	---	---	---
<input type="radio"/> Digitization			
<input checked="" type="radio"/> Epi-illumination	White (Epi-illumination)	Through	F2.8
<input type="radio"/> Trans-illumination	White (Trans-illumination)	Through	F2.8

Tray position

0
 1
 2
 3 NP



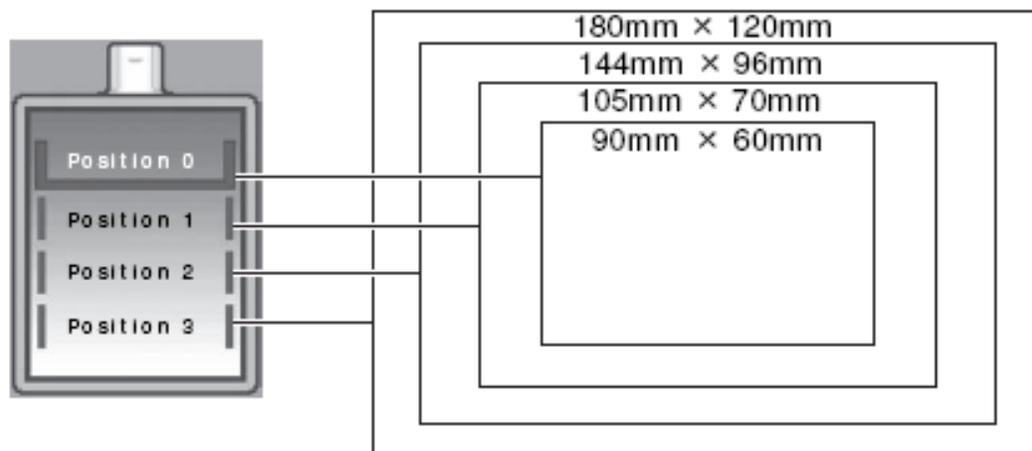
105 x 70 mm

OK Cancel

1. 方法与样品盘位置设定

若为 Epi 和 Trans 托盘

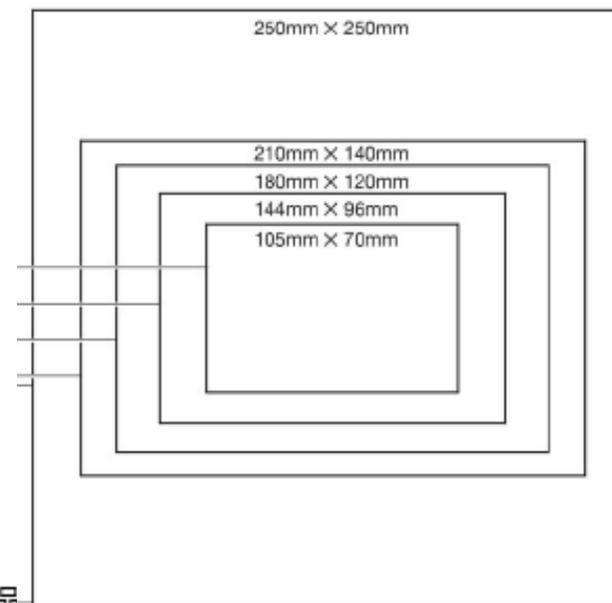
- 可读取的区域会因托盘位置而异。根据样品大小将其放在适当的位置。



提示 在 Epi 托盘上标有圆形凹点，用以定位样品。使用适当的凹点排列样品

若为 NP 托盘

- NP 托盘要在托盘位置 3 使用。



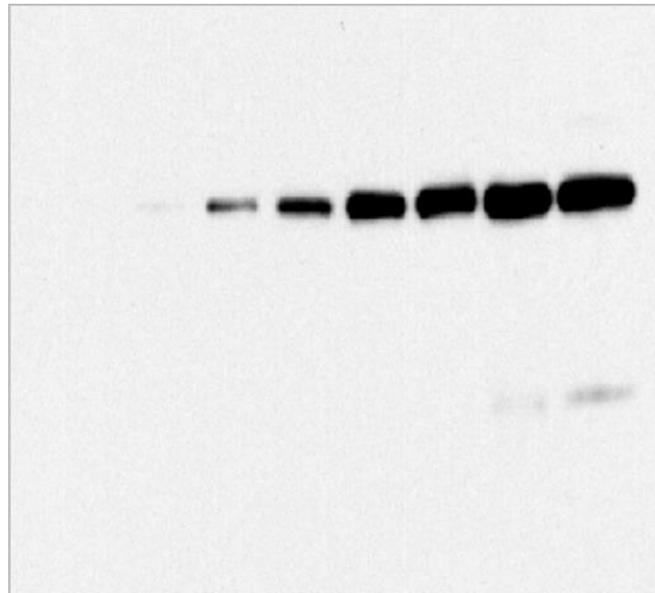
maximum capture size when a wide view lens is used

4000mini

4000/4010

化学发光

- 将样品膜置于EPI 样品盘内，根据样品大小，放入机箱合适位置，关闭机箱门。
- 点击控制软件Method/Tray position 按钮。
 - 在Method纵向栏中选择化学发光Chemiluminescence。
 - 根据样品盘实际位置选择Tray position。
 - 点击OK。



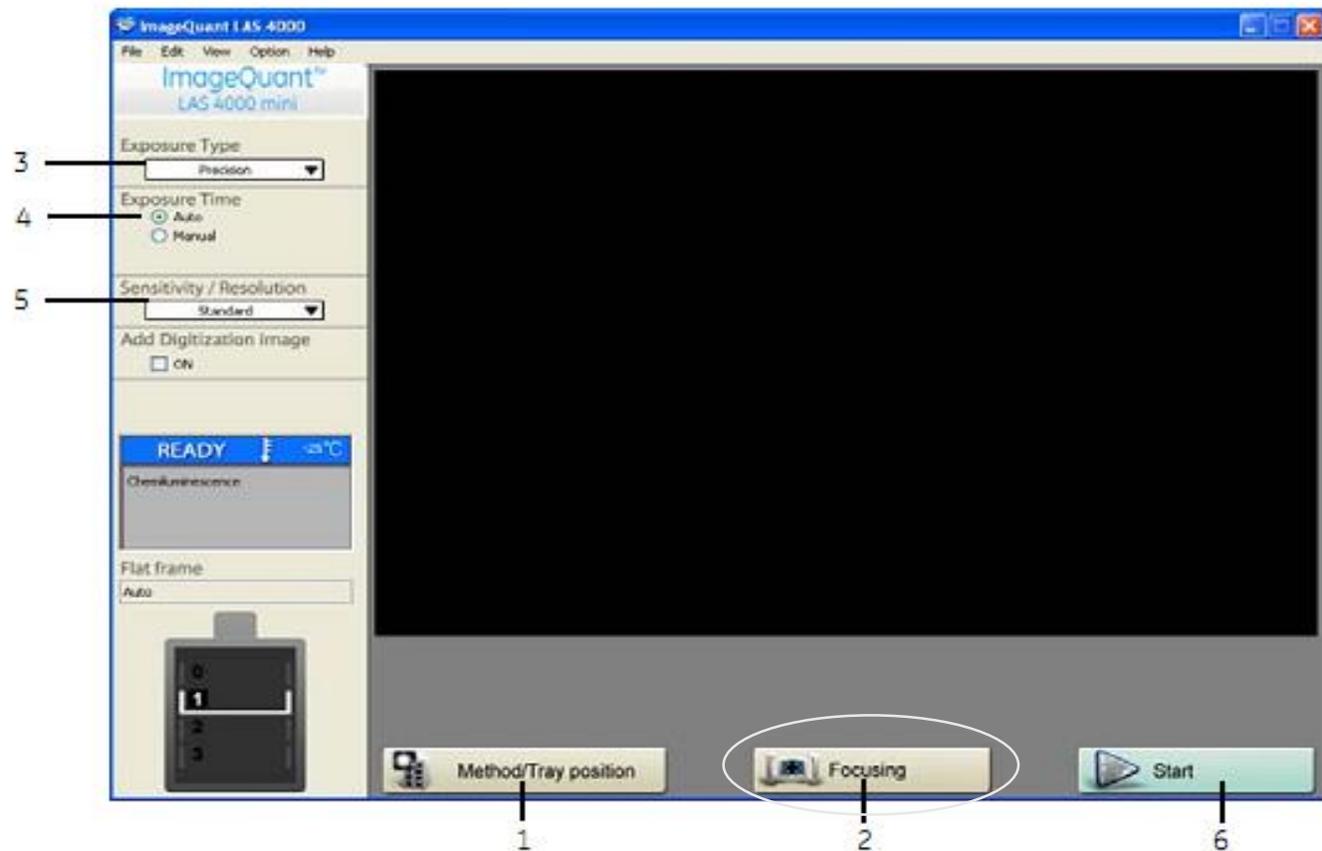
EB凝胶成像（312nm紫外透射）

- 将凝胶放在一张凝胶安全片（Gel sheet）上，置于UV-Trans透明样品盘内，放入机箱，关闭机箱门。
- 点击控制软件Method/Tray position 按钮。
 - (1) 在Method纵向栏中选择EB荧光发光Fluorescence: EtBr。
 - (2) 根据凝胶尺寸选择合适的样品盘位置 Tray position 。
 - (3) 点击OK。

数字成像（白光透射或反射）

- 将蛋白质凝胶或膜置于透射White-Trans样品盘或EPI样品盘内，放入机箱，关闭机箱门。
- 点击控制软件Method/Tray position 按钮。
 - (1) 在Method中选择白光透射Digitization:Trans-illumination(透明样品)或反射Epi-illumination(不透明样品)。
 - (2) 根据凝胶尺寸选择合适的样品盘位置 Tray position 。
 - (3) 点击OK。

2. 记忆聚焦位置



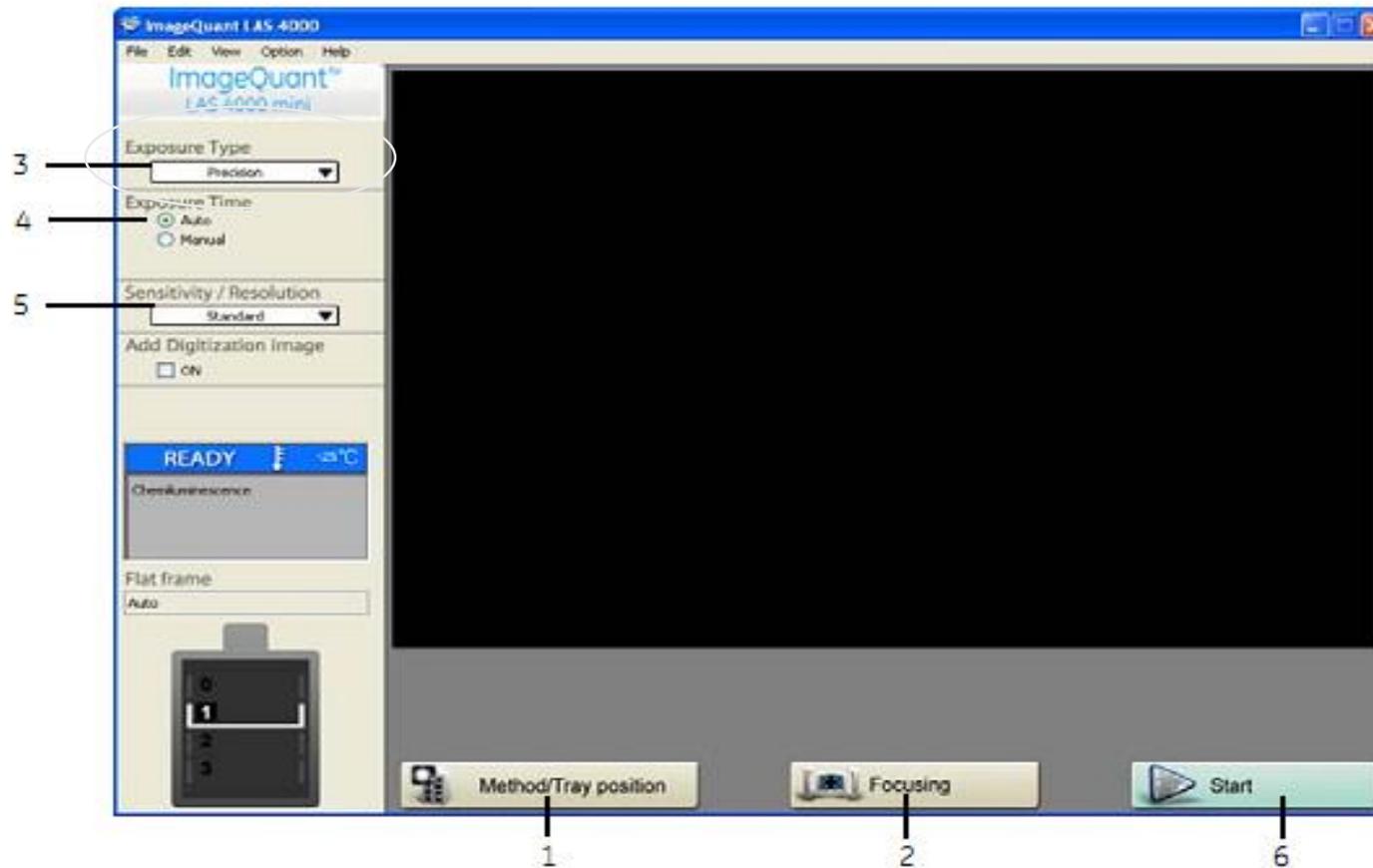
仪器初始，工程师校准每个位置对应的焦距，可以直接使用。

2. 记忆聚焦位置



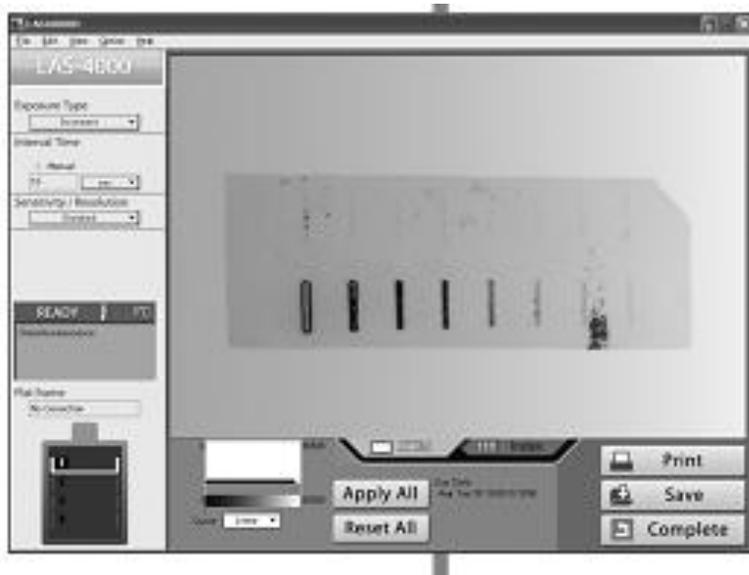
跟换不同厚度样品重新调节焦距：
不同样品位置的焦距一旦调整完毕，其位置被记录，样品厚度
不变无需再调整

3. 曝光类型

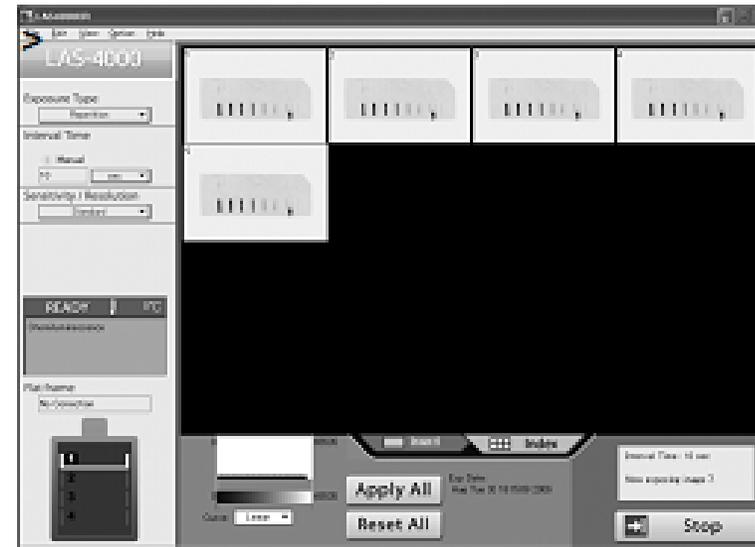


四种曝光类型对应不同要求
曝光时间10s~30h，可连续拍照100张

3. 曝光类型

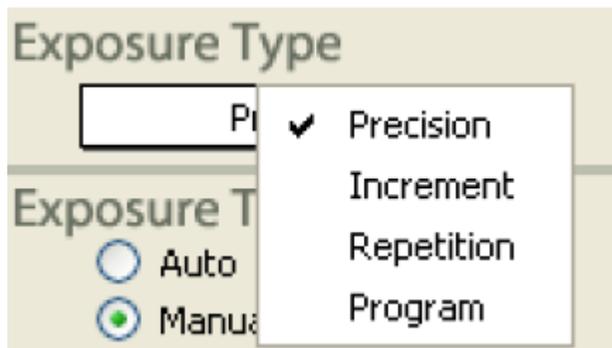


Precision: 仪器自动判断最佳信噪比时的曝光时间，得出清晰图片

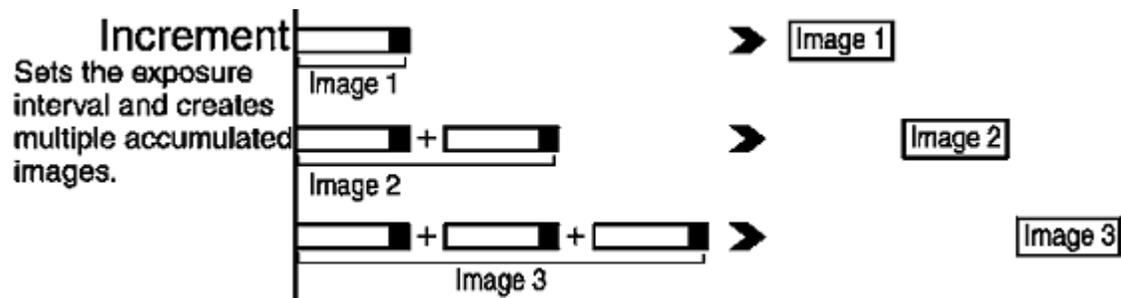


Increment/Repetition/Program:
根据不同模式进行自动多次拍摄，用户选择最佳图片

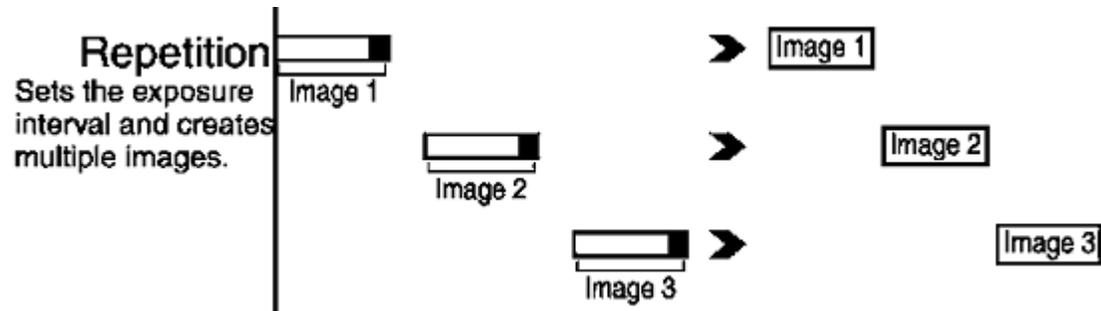
3. 曝光类型



精密
累加
重复
程序

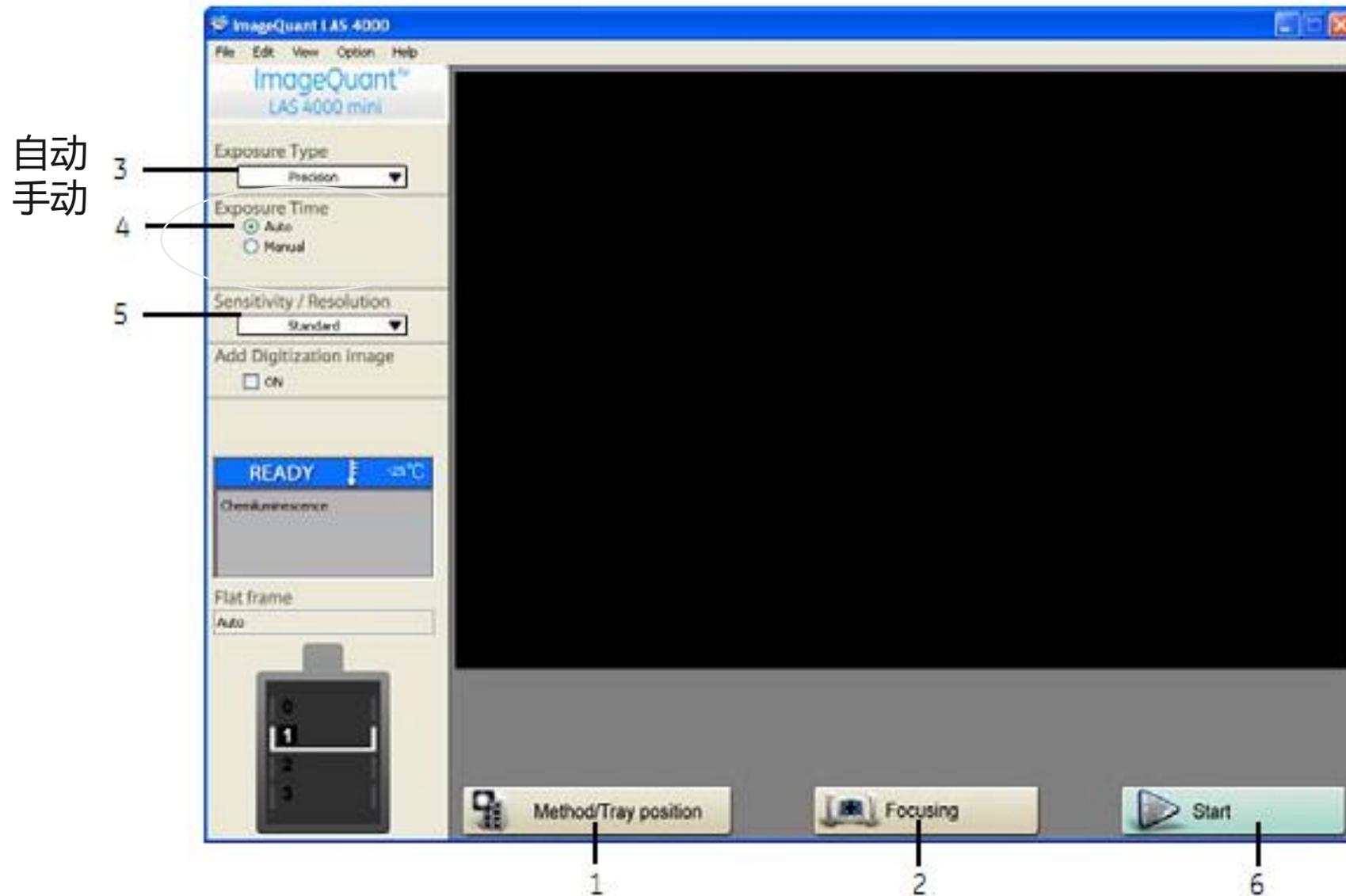


每张曝光10S，共拍照3张



每张曝光10S，共拍照3张

4. 曝光时间



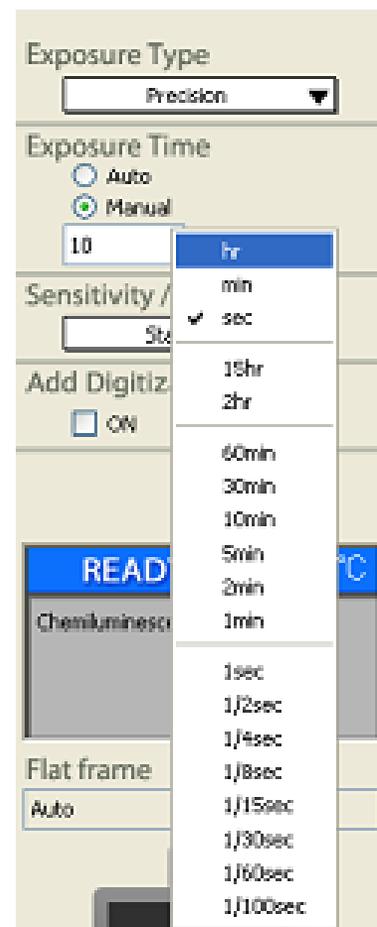
4. 曝光时间

Auto



只在precision模式下
自动判断

Manual



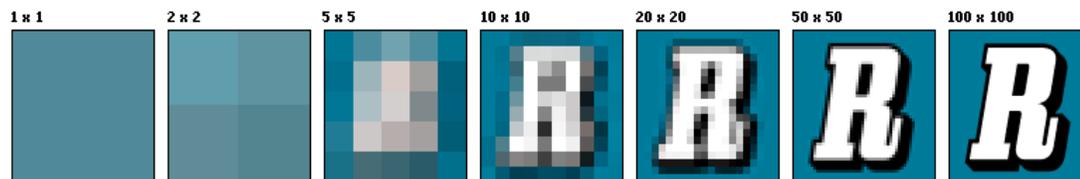
任何模式下
1/100 sec~30hr
Increment下最小10秒

5. 灵敏度与分辨率

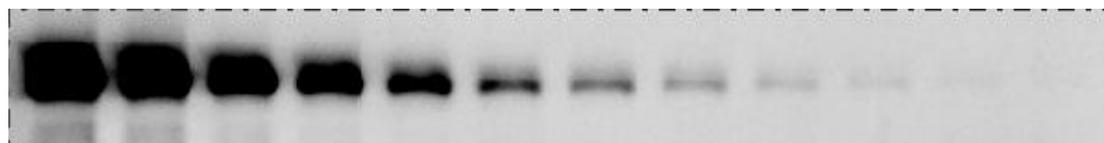
多种灵敏度/分辨率模式选择



5. 灵敏度与分辨率

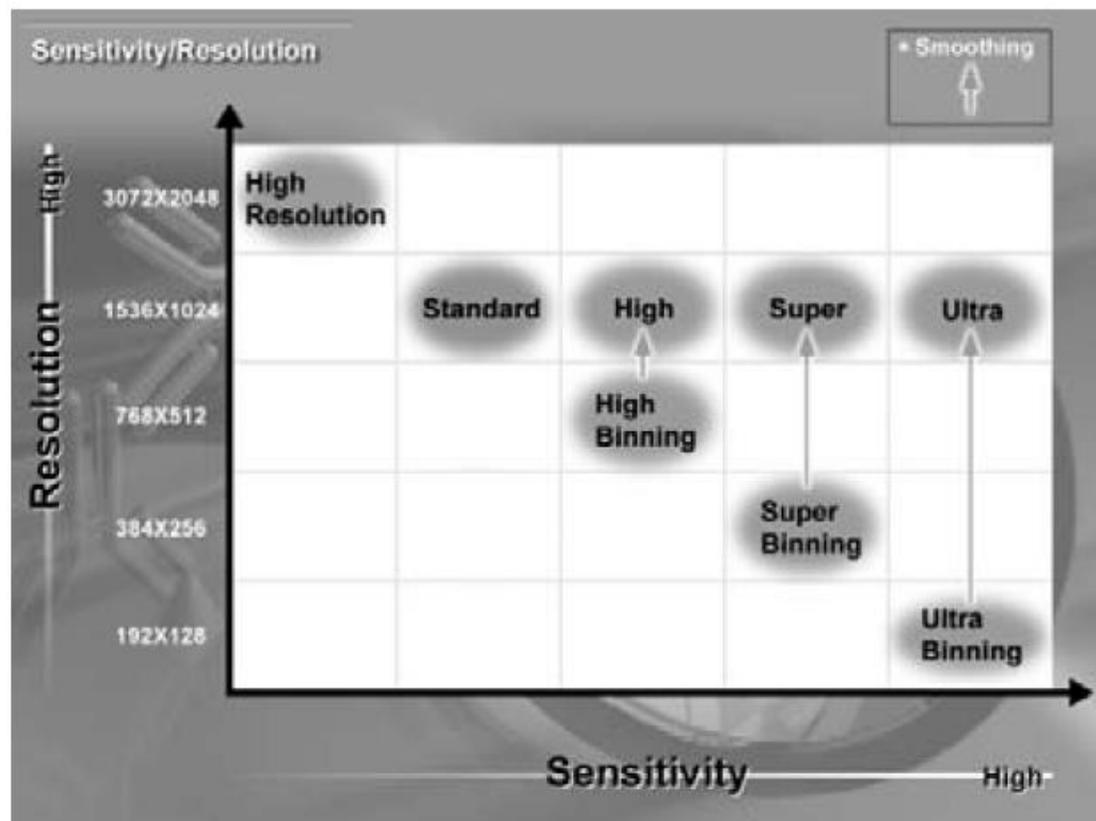


分辨率越高，越能看清楚更小的物体！



灵敏度越高，越能捕捉到微弱的信号！

5. 灵敏度与分辨率

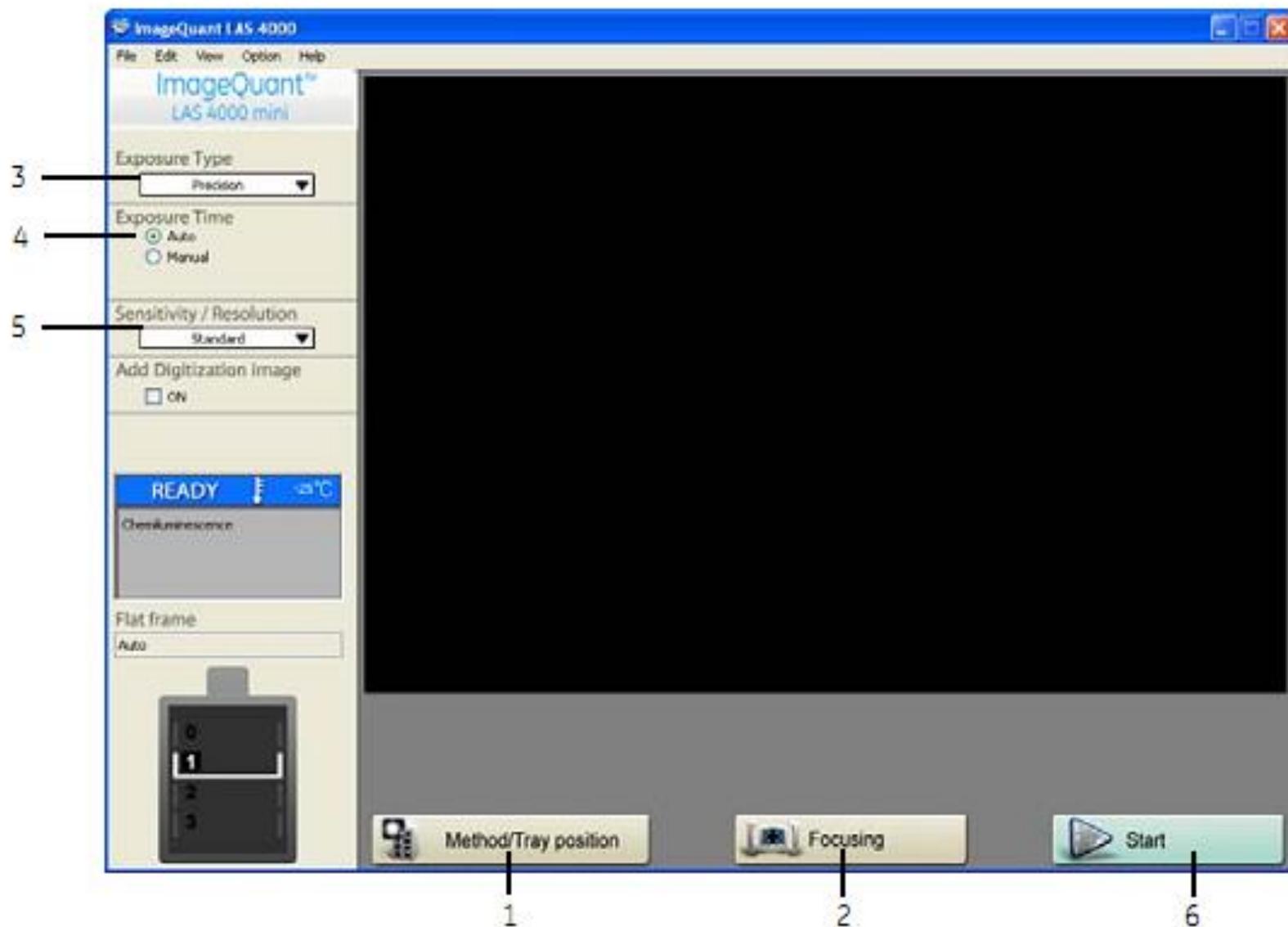


运用smoothing后，提高灵敏度的同时图片质量大幅提高

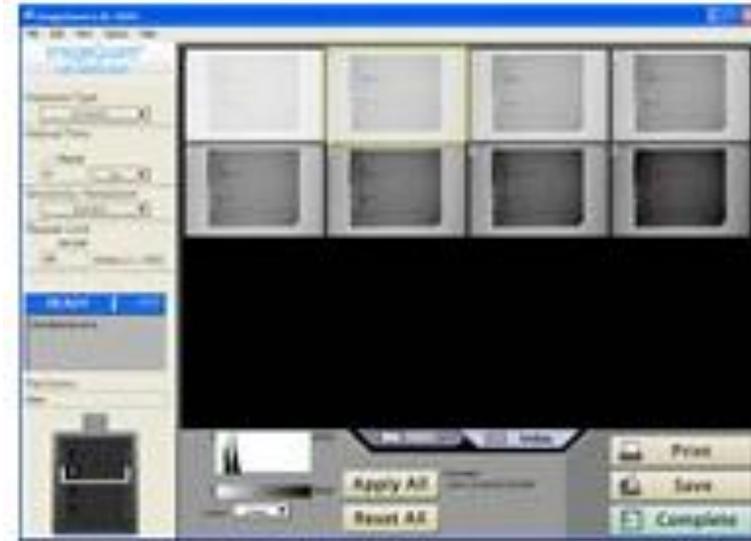
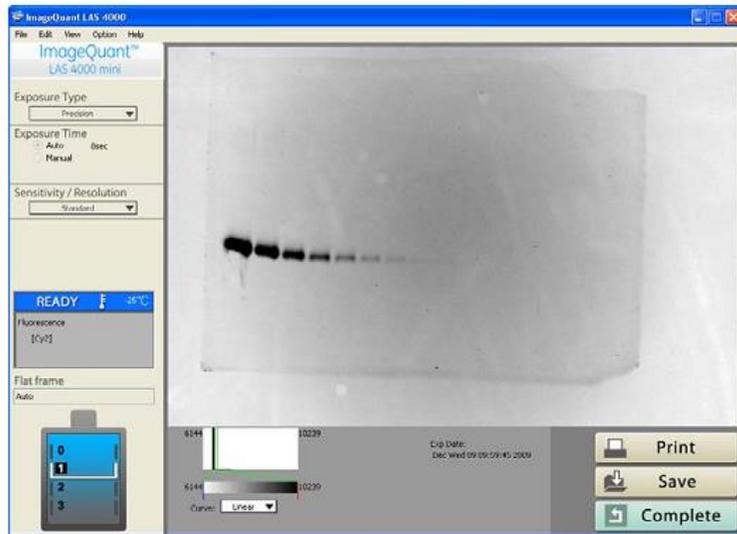
5. 灵敏度与分辨率 选择TIPS

- 当信号比较强的时候，选择Standard可以提高图片分辨率，增强画面细腻程度
- 当信号比较弱的时候，选择Ultra可以提高灵敏度，减少曝光时间
- 有些高质量的文章要求300万像素，放入最上端位置，并用standard
- 未知最佳曝光时间时，可以用increment累加模式摸索，选取最佳效果保存图片
- 拍摄化学发光时，可以选择Add digitization image,仪器会自动拍摄一张数字图片，方便用户将blot结果与marker 合并

控制软件主界面

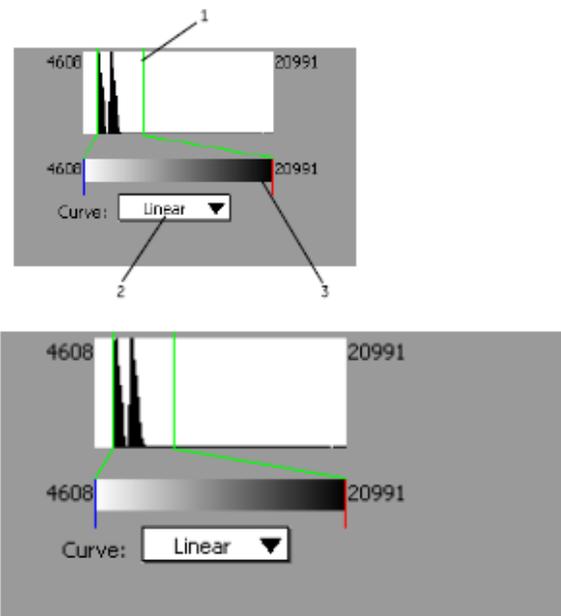


6. 开始和保存



6. 开始和保存

拍摄后可以修改图像饱和度和对比度
不改变真正的定量结果



部分	功能
1	用鼠标拖动限值以调整动态范围。
2	灰度转换曲线可以在 <i>Linear</i> (线形) 或 <i>Sigmoid</i> (S形) 之间进行切换。
3	可以通过拖动鼠标来更改灰度。

6. 开始和保存

.gel 格式:

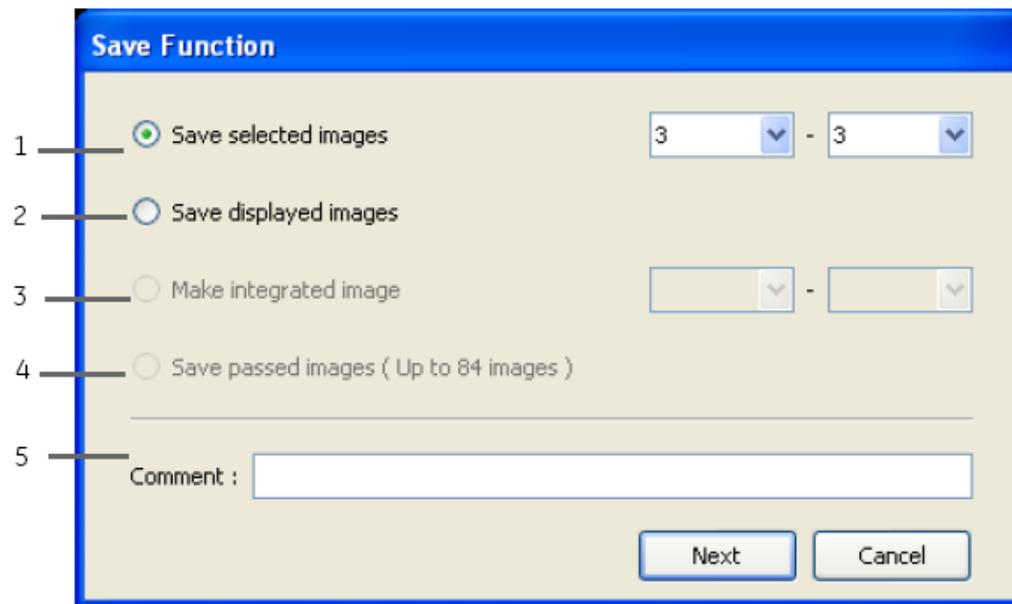
由 *GE Healthcare* 开发的一种文件格式。可以保留曝光详细信息。

.tiff 格式:

一种适于在外部软件中进行分析的 16 位或者8位 *TIFF* 格式。不保留曝光详细信息。

如果需要用IQTL软件进行定量分析，不能使用8位TIFF格式。

6. 开始和保存



- **Save selected images:** 保存单张或多张图像，最多保存16张，可以任意选择。
- **Save displayed images:** 保存呈现在Index窗口中的图像，最多保存16张。
- **Make integrated image:** 程序模式时使用，对多次曝光的结果图片进行整合和保存
- **Save passed images:** 拍摄图像超过16张时，保存倒数第16张以前的图像，最多保存84张。

7. 关机



关闭软件时会出现下列对话框。

正常关机：退出软件时，选择Stop the CCD cooling now，关闭机箱电源。

系统待机：退出软件时，选择Keep the CCD cooling after quit，同时保持机箱电源开启。

Thank you

于海宽

18117521170

Haikuan.yu@cytiva.com