TECAN.

使用说明书 – 基本指南

SPARK



文档编号： 30246440

2026-07

文档版本： 2.5

30246440 03

警告：在操作设备之前，请仔细阅读本使用说明书并遵循指示。

注意

尽管为避免文本和图表出错尽了最大努力，但对于本说明书中可能出现的任何错误，奥地利 Tecan 有限公司概不负责。

新技术和新部件可用时，奥地利 Tecan 有限公司将改进产品，这是公司的政策。因此，奥地利 Tecan 有限公司保留在经检验和适当认准的前提下，随时改变产品规格的权利。

我们欢迎对本说明书提出任何批评建议。

制造商
Tecan Austria GmbH
Untersbergstr.1A
A-5082 Grödig
电话： +43 62 46 89 330
电邮： office.austria@tecan.com
www.tecan.com

版权信息

本说明书的内容为 Tecan 奥地利有限公司的财产，未经事先书面许可，禁止复制，再版或传送给他人。

Copyright © 奥地利 Tecan 有限公司
保留所有权利。
奥地利出版

CE 符合性声明

见使用说明书最后一页。

适用范围 – 用途

请参阅第 2.2 章 用途（硬件和软件）。

关于使用说明书

原始说明书。本文档介绍 SPARK 多功能微孔板酶标仪。本文档作为参考文件和使用说明书。本文档指示如何：

- 安装设备
- 操作设备
- 清洗和维护设备

屏幕截图说明

屏幕截图中显示的版本号可能不一定是最新版本。只有当与应用程序相关的内容发生变更时，才会更换屏幕截图。

商标

以下商标是瑞士梅内多夫 Tecan 集团有限公司在主要国家的商标或注册商标：

- Spark®
- Spark® Cyto
- SparkControl™
- Spark-Stack™
- Cell Chip™
- NanoQuant Plate™
- Image Analyzer™
- Te-Cool™
- Tecan®
- TECAN - Logo®

有关第三方的注册商标，请参见
https://www.tecan.com/intellectual_property/trademarks.

警告, 小心及注意

在本说明书中使用以下类型的注意通告，以突出重要信息或警告用户有潜在的危险情况：



注意：给出帮助信息。



小心：指示如果不按说明书进行操作，可能导致设备损坏或数据丢失。



警告：指示如果不按说明书进行操作，可能造成严重的人身伤害, 死亡或设备损坏。



警告：这一提示符号指示可能存在生物危害物质。必须遵守适当的实验室安全注意事项。



警告：这一提示符号指示可能存在易燃物质或有起火风险。必须遵守适当的实验室安全注意事项。



注意：废物处理不当可能对环境造成不良影响。

- 不要将电气和电子设备作为未分类的城市垃圾来处理
- 请将废弃电气和电子设备分开回收处理



警告：指示有激光。切勿盯着光束看！



仅针对加利福尼亚州居民：

警告：本产品可能会使您暴露于铅等化学物质中。加利福尼亚州认定铅会导致癌症、出生缺陷或其他生殖损害。更多信息，请访问：www.p65warnings.ca.gov/product。

符号

	CE 合格标志
	United Kingdom Conformity Assessed – 英国合格认定（UKCA） 标记表明带有此标记的产品符合英国的相关法规。
	制造日期
	制造商
	订购号
	请翻阅使用说明
	中国 RoHS 标记
	序列号
	仅限一次性使用
	TÜV SÜD MARK
	USB 标记
	使用日期
	WEEE 标记

目录

1 安全 13
1.1 引言 13
2 概述 15
2.1 仪器 15
2.2 用途（硬件和软件） 15
2.3 用户信息 15
2.3.1 专业用户 —— 管理员 15
2.3.2 最终用户或普通用户 15
2.3.3 维修工程师 15
2.4 多功能性 16
2.4.1 SPARK CYTO 配置 16
2.5 微孔板要求 17
2.5.1 加注量/平滑模式 18
2.5.2 带条码的微孔板 19
2.6 机身控制按钮 20
2.7 设备 LED 21
2.8 背面视图 22
3 设备安装 25
3.1 安装 SPARK 25
3.2 SPARK 安装要求 25
3.2.1 工作区要求 25
3.3 拆箱和检查 26
3.4 分包装 26
3.5 选件包装 27
3.6 升级 28
3.7 拆卸运输锁 29
3.7.1 载板架运输锁 29
3.8 电源要求 31
3.9 打开设备 31
3.10 关闭设备 32
3.11 设备运输准备 33
3.11.1 驻停程序 33
3.11.2 安装板传送器运输锁 34
4 微孔板控制 37
4.1 Z 位置 37
4.2 振荡 37
4.3 孵育/冷却位置 38
4.4 自动开盖器 38
4.5 固定 RoboFlask 细胞培养容器 39
5 SPARK 平台 41
5.1 可用模块和功能概览 41
6 设备规格 43
7 清洗与维护 45
7.1 引言 45
7.2 预防性维护 45
7.3 溢出液体 46
7.4 设备消毒 46
7.4.1 消毒溶液 46
7.4.2 消毒方法 47
7.4.3 安全证明 47
7.5 处置 48

7.5.1 包装材料的处置 48
7.5.2 工作材料的处置 48
7.5.3 设备处置 48
8 使用 SparkControl 软件操作 SPARK 49
8.1 适用范围 49
8.2 系统要求 49
8.3 软件安装 51
8.3.1 卸载/修复安装 51
8.3.2 IoT 客户端 52
8.4 启动 SparkControl 52
8.4.1 连接设备 52
8.5 Method Editor 53
8.5.1 结构 53
8.6 仪表板 55
8.6.1 结构 55
8.6.2 仪表板 57
8.7 启用方法 59
8.7.1 Method Editor 59
8.7.2 仪表板 59
8.7.3 Onboard Start（机身启动） 59
8.8 SparkControl 设置 60
8.8.1 结构 60
8.9 测定结果 61
9 化学发光 63
9.1 测定技术 63
9.2 化学发光规格 64
9.2.1 总体规格 64
9.2.2 性能规格 64
9.3 化学发光模块质量控制 65
9.3.1 定期质量对照试验 65
9.3.2 ATP 384 孔微孔板的检测限值 65
9.3.3 ATP 1536 孔微孔板的检测限值 67
10 Alpha 技术 69
10.1 基本原则 69
10.2 Alpha 模式 69
10.2.1 滤光片 69
10.2.2 光学器件 69
10.2.3 激光 70
10.2.4 检测 70
10.2.5 温度校正 70
10.3 定义 Alpha 测定 71
10.4 优化基于 Alpha 技术的测定 71
10.4.1 积分时间 71
10.4.2 激发时间 71
10.4.3 深色遮光罩 71
10.5 Alpha 规格 72
10.5.1 总体规格和性能规格 72
10.6 Alpha 模块质量控制 73
10.6.1 定期质量对照试验 73
10.6.2 AlphaScreen Omnibeads 384 孔微孔板的检测限值 73
10.6.3 AlphaScreen Omnibeads 384 孔微孔板的一致性 75
11 吸光度 77
11.1 吸光度测定技术 77
11.1.1 吸光度 77

11.1.2 吸光度扫描 77
11.2 比色杯模块 77
11.2.1 比色杯光学器件 77
11.3 测定设备 78
11.3.1 微孔板 78
11.3.2 比色杯载架 78
11.3.3 比色杯端口 79
11.4 定义吸光度测定 80
11.5 NanoQuant 应用 80
11.6 吸光度规格 81
11.6.1 总体规格 81
11.6.2 微孔板的性能规格 81
11.6.3 测定时间 81
11.6.4 使用比色杯时（比色杯端口）的性能规格 82
11.7 吸光度模块质量控制 82
11.7.1 定期质量对照试验 82
11.7.2 96 孔微孔板一致性 83
11.7.3 NanoQuant 微孔板质量控制 84
12 荧光 85
12.1 荧光强度模块 85
12.1.1 荧光底读模块选件 85
12.2 测定设备 85
12.2.1 滤光片 85
12.2.2 滤光片架 85
12.2.3 滤光片的安装和拆卸 87
12.2.4 插入滤光片架 87
12.2.5 定义滤光片 88
12.2.6 镜架 88
12.2.7 安装自定义二分镜 89
12.2.8 定义自定义二分镜 90
12.3 定义荧光测定 90
12.4 荧光偏振模块 91
12.5 优化荧光和荧光偏振测定 91
12.6 Inject and Read (注入和读取) 92
12.7 荧光规格 93
12.7.1 荧光强度总体规格（标准模块和增强型模块） 93
12.7.2 荧光偏振总体规格（标准模块和增强型模块） 96
12.7.3 荧光偏振性能规格 97
12.8 荧光模块质量控制 98
12.8.1 定期质量对照试验 98
12.8.2 96 孔微孔板的顶读/底读检测限值 98
12.8.3 96 孔微孔板顶读/底读的一致性 100
13 细胞模块 103
13.1 测定技术 103
13.1.1 细胞计数/细胞活性 103
13.1.2 细胞汇合度 103
13.2 明场成像 103
13.3 测定设备 103
13.3.1 细胞计数片 103
13.3.2 细胞计数片载架 103
13.3.3 细胞计数片载架的维护和清洁 104
13.4 定义细胞计数和汇合度测定 104
13.5 细胞计数应用 104
13.6 优化细胞计数测定 104
13.6.1 增加图像数量 104

13.7 优化细胞汇合度测定 105
13.7.1 使用 Well Border Detection（孔边缘检测） 105
13.7.2 Live Viewer 105
13.8 细胞模块规格 106
13.8.1 总体规格 106
13.8.2 细胞计数/活性规格 106
13.8.3 测定时间 106
13.9 细胞计数模块质量控制 107
13.9.1 定期质量对照试验 107
13.9.2 细胞计数准确度 107
14 荧光成像（细胞成像仪） 109
14.1 明场成像 109
14.1.1 光学系统 109
14.1.2 检测 109
14.1.3 明场更像应用 110
14.2 荧光成像 111
14.2.1 荧光通道及其激发和发射曲线 111
14.2.2 图像采集 111
14.3 细胞成像仪规格 112
14.3.1 概述 112
14.3.2 物镜 112
14.3.3 全波段滤光片组 112
14.3.4 测定时间 113
14.4 标准应用 113
14.5 定义明场和荧光成像测定 114
14.6 优化荧光成像测定 116
14.6.1 Live Viewer 116
14.6.2 ImageAnalyzer 117
14.6.3 分析插件 120
15 Spark-Stack 微孔板堆栈 121
15.1 操作前面板 121
15.1.1 机身控制按钮 122
15.1.2 敏感化验遮光/深色遮光罩 122
15.2 Spark-Stack 微孔板要求 123
15.2.1 向微孔板塔内加载多个微孔板 125
15.2.2 向微孔板塔内加载单个微孔板 127
15.2.3 将塔加载到 Spark-Stack 模块上 128
15.2.4 直接将微孔板插入到 SPARK 酶标仪 129
15.2.5 单独卸载已处理微孔板 130
15.2.6 卸载一组已处理微孔板 131
15.2.7 Spark-Stack 清洁和维护 131
15.3 软件 132
15.3.1 启动堆栈运行 133
15.3.2 栈多点测定 134
15.3.3 重新堆栈 134
16 进样器 135
16.1 进样器架 135
16.1.1 进样器模型 136
16.2 加注和冲洗 136
16.2.1 试剂反冲 137
16.3 进样器清洁与维护 137
16.4 进样器：试剂兼容性 138
16.5 使用进样器进行测定 139
16.6 加热器和磁力搅拌器 139
16.6.1 实验室烧瓶和磁性搅拌棒 139

16.7 进样器规格 140
16.7.1 进样器技术规格 140
16.7.2 进样器性能规格 140
16.7.3 加热器/搅拌器规格 140
16.8 进样器模块质量控制 141
16.8.1 定期质量对照试验 141
16.8.2 进样器准确度 141
17 环境控制 143
17.1 加热模块 143
17.1.1 温度控制软件设置 143
17.2 冷却系统 143
17.2.1 设置液体冷却系统 144
17.2.2 连接程序 145
17.2.3 打开外部液体冷却设备 147
17.2.4 操作集成冷却模块(Te-Cool) 147
17.2.5 冷却控制软件设置 148
17.2.6 警报功能/故障排除 148
17.2.7 维护 148
17.3 气体控制 149
17.3.1 气体安全 149
17.3.2 气体连接 149
17.3.3 CO_2 和 N_2 气罐（不随机提供） 151
17.3.4 气体控制软件设置 152
17.3.5 手动气体控制 153
17.3.6 通过 Method 进行气体控制 154
17.3.7 音响警报 155
17.4 湿度控制 155
17.4.1 标准湿度盒/ Cyto 156
17.4.2 操作程序 157
17.4.3 软件设置 158
17.5 环境控制规格 159
17.5.1 热量 159
17.5.2 冷却 159
17.5.3 气体控制 159
17.5.4 湿度控制 159
18 NanoQuant 应用 161
18.1 核酸定量应用程序 161
18.1.1 空白削减结果的验证程序 161
18.1.2 重复空白 162
18.1.3 开始测定 162
18.2 标记效率应用程序 162
18.3 蛋白质定量应用程序 163
18.3.1 空白检测结果的验证标准 163
18.3.2 重复空白 163
18.4 NanoQuant 维护 164
18.4.1 超声波水浴清洁程序 164
18.4.2 Kimwipe 擦拭纸清洁程序 164
19 细胞计数片中的细胞计数 165
20 比色杯应用 167
21 疑难排解 169
21.1 SparkControl 错误和警告 169
21.2 Spark Services Manager 177

索引 179
Tecan 客户支持 181

1 安全

1.1 引言

- 使用本产品时必须采取基本安全注意事项，以降低人身伤害, 失火或电击的危险。
- 阅读, 理解并遵守本文件中的所有说明，否则可导致产品损坏, 操作人员人身伤害或设备性能不良。
- 遵守本说明书中的所有警告和小心注意事项。
- 在未拔下电源插头的情况下不要打开设备。
- 不要使用蛮力将微孔板推入设备中。
- 遵守适当的实验室安全措施，如穿防护服（例如手套, 实验室外套和护目镜等）和遵守认可的实验室安全规程。



小心：为了保证 SPARK 可以达到理想的工作性能，每年一次的维护工作只能由 Tecan 服务工程师执行。



警告：认真遵守本说明书中的指示，以确保设备安全。程序执行不当可能会导致设备损坏。

设备操作员因为其职业经验，应当熟悉使用化学品和危险生物物质的必要安全注意事项。

遵守以下法律和规定：

- 国家工业保护法
- 事故预防规章
- 试剂生产商的安全数据单



警告：取决于应用，设备部件可能会接触到危险生物/传染性物质。确保由符合资格的人员来操作设备，如果需要维修或搬动或处理掉设备，务必按照说明书中的指示对设备消毒。



警告：切勿打开设备！只有 Tecan 授权维修人员才可以打开设备。撕除或损坏质保密封贴纸将导致保修失效。

2 概述

2.1 仪器

SPARK 是一款与机器人兼容的多功能微孔板酶标仪。

2.2 用途（硬件和软件）

SPARK 多模式微孔板酶标仪采用模块化设计，用于科研实验室。根据具体配置，仪器可以用于吸光度、荧光、时间分辨荧光、荧光偏振和生物或非生物源样品化学发光等数据的测定以及数据分析，还可以用于明场和荧光图像的采集和分析。

此外，本酶标仪还适合利用单波长或多波长进行终点测定和多点测定。SPARK 配备 SparkControl 软件，可以进行酶标仪控制和数据处理。

用户必须通过特定的性能检测对本设备以及随附的数据压缩包进行评估，以确保可以达到规定的检测性能要求。设备应用于性能检测时的性能特征尚未经过验证。

仅限将 SPARK 多模式酶标仪用于科研用途。



小心：需要由权威部门进行系统验证。权威部门负责确保 SPARK 使用设备进行的所有特定化验都已经经过验证。

2.3 用户信息

2.3.1 专业用户 —— 管理员

管理员是接受过恰当的技术培训，具备相应技能与经验的人员。在正常使用产品时，能够识别并避免危险。

管理员技术全面，能够指导最终用户或日常用户在进行实验化验程序时，正确使用 Tecan 产品，使其符合预期用途。

要求具备计算机应用技能与良好的英文沟通能力。

2.3.2 最终用户或普通用户

最终用户或普通用户是接受过恰当的技术培训，具备相应技能与经验的人员。在正常使用产品时，能够识别并避免危险。

要求具备计算机应用技能，通晓安装地本国语言及良好的英文沟通能力。

2.3.3 维修工程师

维修工程师是接受过恰当的技术培训，具备相应技能与经验的人员。如果产品需要修理或维护，他们能够识别并避免危险。

要求具备计算机应用技能与良好的英文沟通能力。



注意：培训日期，持续时间及间隔等信息可从客户支持中心获得。
地址及电话号码列于使用说明书及网站上：http://www.tecan.com/customersupport

2.4 多功能性

装备齐全的 SPARK 可以应用下述测量技术（具体信息，请参阅第 5 章 SPARK 平台）。

- 吸光
- 吸光扫描
- 吸光比色皿
- 吸光扫描比色皿
- 荧光强度顶部（FRET）
- 荧光强度底部
- 时间分辨荧光（TRF、TR- FRET）
- 荧光扫描
- 荧光极化
- 注入和读取（Inject and Read – 注入包括荧光强度底部）
- 发光（辉光型、闪光型和多色发光）
- 荧光扫描
- 阿尔法技术
- 亮场成像（细胞计数、细胞汇合）或
- 荧光成像（CYTO 配置）

本设备可以配备最多 2 个进样器, 1 个加热器/搅拌器和一个微孔板堆栈。特殊功能（例如细胞计数, 供气, 自动开盖, 温度控制, 加热和冷却以及湿度控制）特别适合支持基于细胞的研究。

2.4.1 SPARK CYTO配置

所有支持荧光成像功能的仪器都标记为 SPARK CYTO，并且可以提供四种不同的配置，可以满足从学术到生物制药等领域不同客户的需求：

SPARK CYTO 100	SPARK CYTO 300	SPARK CYTO 400	SPARK CYTO 500	SPARK CYTO 600
	吸光度（标准版）	吸光度（标准版）	吸光度（增强版）	吸光度（增强版）
	吸光度扫描	吸光度扫描	吸光度扫描	吸光度扫描
荧光成像	荧光强度顶读（标准版，滤光片）	荧光强度顶读（增强版，单色仪）	荧光强度顶读（增强版，滤光片）	荧光强度顶读（增强版，Fusion 光学系统）
	荧光强度底读（标准版，滤光片）	荧光强度底读（增强版，单色仪）	荧光强度底读（增强版，单色仪）（增强版，滤光片）	荧光强度底读（增强版，单色仪）（增强版，Fusion 光学系统）
		荧光强度扫描		荧光强度扫描
	TRF 和 TR-FRET（滤光片）	TRF 和 TR-FRET（单色仪）	TRF 和 TR-FRET（滤光片）	TRF 和 TR-FRET（增强版，Fusion 光学系统）
		荧光偏振	荧光偏振	荧光偏振
	荧光（标准版，多色发光）	荧光（标准版，多色发光）	荧光（增强型，多色发光）	荧光（增强型，多色发光）
	化学发光扫描	化学发光扫描	化学发光扫描	化学发光扫描
				Alpha 技术

上表中给出的模块选项的特征在第 5 章 SPARK 平台中说明。

所有 CYTO 配置都提供环境控制功能：

- 温度控制（不高于 42 ° C）
- CO_2 和 O_2 控制
- 一体式开盖器

此外，所有 CYTO 配置都支持下述可选功能：

- 进样器
- 堆栈
- 湿度盒



小心：SPARK CYTO 配备了一个内置 USB 驱动器，其中包含仪器专用的校准数据，用于优化荧光图像质量。该驱动器在文件资源管理器中可见，名称为 "USB DISK "或 "SPARK CYTO"。请勿弹出或修改该驱动器，以免可能导致 SparkControl 4.0 或更高版本的功能丧失。

2.5 微孔板要求

任何孔数在 1 到 384-/1536 之间并符合下述 ANSI/SBS 标准的普通微孔板都可以使用上述测定技术进行测定。

- ANSI/SBS 1-2004（足迹尺寸）
- ANSI/SBS 2-2004（高度尺寸）
- ANSI/SBS 3-2004（底部外缘尺寸）
- ANSI/SBS 4-2004（微孔位置）

SPARK 可以支持孔数多达 384 的微孔板；高级模块支持孔数多达 1536 的微孔板。

支持的微孔板高度在 10 mm（不含盖子）到 24.5 mm（含盖子）之间。从底读测量时，孔底部相对于支持的孔板边缘的高度不得超过 5.5 mm。

除了上述孔数的微孔板外，也可以使用放入载架中的比色杯, Tecan NanoQuant 微孔板, Tecan MultiCheck 微孔板, Tecan 细胞计数片载架，但是仅限指定测定技术。



小心：奥地利 Tecan 有限公司在编制随设备提供的微孔板定义文件(.pdfx)时非常仔细。

奥地利 Tecan 尽力保证微孔板高度和微孔深度与指定的微孔板类型一致。这些参数用于确定微孔板顶部和测定箱内部顶面之间的最小距离。此外，Tecan 还增加了非常小的安全间隙，以保证不会因为微孔板高度的变化给测定箱造成损坏。这不会影响设备的性能。

确保选择的微孔板定义文件对应当前使用的微孔板，以保证以计算正确的安全间隙，否则可能会导致设备受损。



注意：对于装备有 Spark-Stack 模块的设备，附加微孔板要求同样适用，请参阅第 15.2 章 Spark-Stack 微孔板要求。

2.5.1 加注量/平滑模式



小心：下述微孔板**只能**以后面的注入量进行处理：

- 1 孔微孔板 <= 15000 µl
- 4 孔微孔板 <= 4500 µl
- 6 孔微孔板 <= 2000 µl
- 12 孔微孔板 <= 1200 µl
- 24 孔微孔板 <= 1000 µl
- 48 孔微孔板 <= 400 µl
- 96 孔微孔板 <= 200 µl
- 384 孔微孔板 <= 100 µl
- 1536 孔微孔板 <= 10 µl

注入量过大会导致液体溢出，会造成交叉污染。此外，溢出还可能会损坏设备（例如污染光学元件和定心夹具）。

如果微孔板定义文件(pdfx)中列出的注入量小于上述量，则必须遵守较小的注入量，以免发生溢出（例如，康宁 384 孔微孔板的注入量仅为 80 µl）。

对于粘度低于水溶液的液体，应在方法验证过程中，额外对注入量进行优化。

平滑模式（Smooth mode）减缓板传送器运动。可以从**微孔板**条中选中对应的复选框，激活**平滑模式**。选择**平滑模式**时，注入量可以超过上面规定的值；每种微孔板和应用的最大注入量必须在方法验证过程中进行优化。



小心：如果选择**平滑模式**，必须针对每种微孔板和应用优化最大注入量。

如果在测量方法中选择的微孔板的孔数少于 96，则默认选择**平滑模式**。使用机身上的 **Retract/Eject** 按钮将微孔板向内/向外移动时，不能使用**平滑模式**。



小心：使用机身上的 **Retract/Eject** 按钮将微孔板向内/向外移动时，不能使用**平滑模式**。



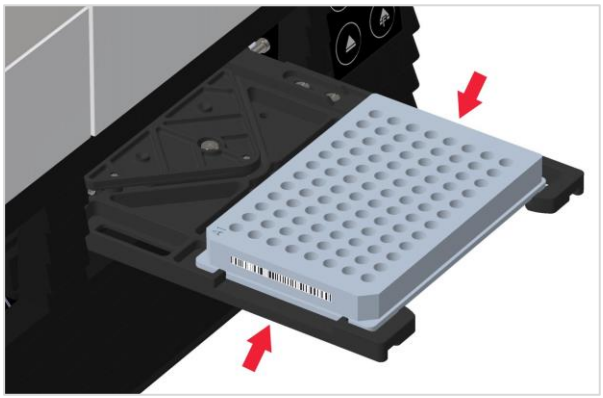
注意：上面列出的加注量/平滑模式参数也适用于可以与 Spark-Stack 模块配用的微孔板，例如孔数在 6 至 1536 之间的微孔板（请参阅第 15.2 章 Spark-Stack 微孔板要求）。

2.5.2 带条码的微孔板

SPARK 多模式酶标仪可以选配条码阅读器，安装到板传送器的左侧或右侧。例如，如果使用 96 孔微孔板，则可以将条码贴到微孔板的左侧(A)或右侧(H)（见下图），取决于条码阅读器安装在哪一侧。

条码的高度不低于 3 mm。在条码的开始和结束位置需要留 2 mm 的白色区域。条码的最大长度为 70 mm，包括两端的白色区域。条码必须安装在微孔板较短的一侧，到前端以及后边缘的距离不低于 15 mm，到微孔板较低的边缘的距离不低于 5 mm。

载板架上的微孔板：



可以将条码贴在微孔板右侧或左侧。

微孔板侧视图：



小心：切勿使用泛黄，弄脏，折叠，潮湿或损坏的条码标签。粘性标签必须平整，边角没有剥开。我们建议通过本地标准操作程序(SOP)确保条码标签的质量。

小心：条码被板盖遮挡时，无法读取。

指定的条码类型包括：

• CODE 39	• UPC A	• UPC E
• EAN 8	• EAN 13	• CODE 128
• CODE 2/5 Interleaved	• CODABAR	• CODE 93

2.6 机身控制按钮

SPARK 设有机身控制按钮，用于简化常用任务。



	仪器正面的 **ON/OFF（开/关）**按钮用于将仪器切换至待机 (STANDBY) 模式
	可以使用 **Onboard Start（机身启动）**按钮直接从设备中启动首选的 SparkControl 方法。这一按钮还可以用于停止测定，确认用户定义的用户干预操作，通过软件继续已经暂停的多点测定。
	使用 **Retract/Eject（缩回/弹出）**按钮可以将微孔板插入到设备中或从中取出，无需激活软件。
	**Eject Filter（弹出滤光片）**按钮用于移出滤光片架。滤光片架会在插入时自动进入。



注意：每日工作结束或全部测量完成后，如需整机断电，请使用仪器背部的主电源开关。



注意：关于机身控制按钮结合安装的微孔板堆栈模块时的功能，请参阅第 15 章 Spark-Stack 微孔板堆栈。

2.7 设备 LED

SPARK 配备彩色 LED，可以以光信号的形式指示设备的工作/活动状态。下表概况介绍了设备在何种状态下信号代表哪些功能（机身控制按钮）可以使用。

LED 状态	设备状态	机身控制按钮		
		Retract/Eject（缩回/弹出）	Eject Filter（弹出滤光片）	Onboard Start（机身启动）
-	关机	O	O	O
-	待机	O	O	O
蓝色	空闲（未连接 SparkControl）	X	X	X
品红色	空闲（已连接 SparkControl）	X	X	X
绿色	运行	O	O	X
红色闪烁	错误	O	O	O
黄色闪烁	用户干预	X	O	X
绿色闪烁	暂停	X	O	X
5x 蓝绿色闪烁	操作不能执行	O	O	O

LED 状态和功能表。
O = 功能不能使用。X = 功能可以使用。

2.8 背面视图

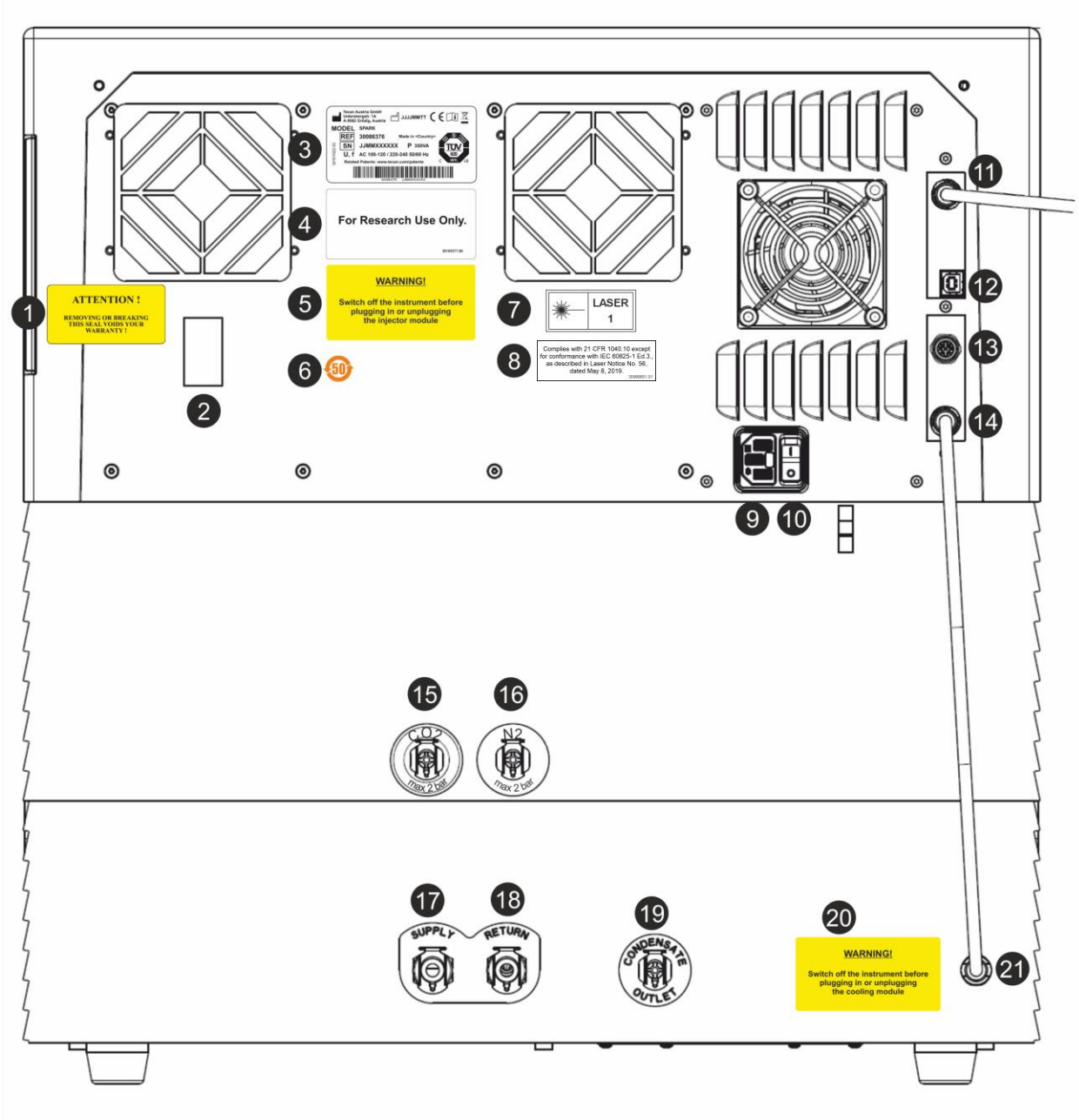
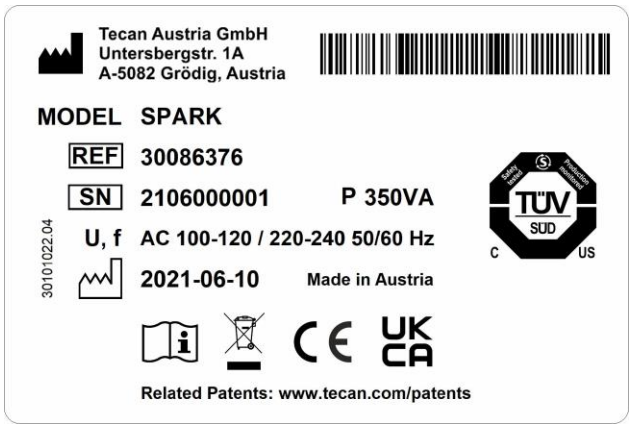


图 1: 设备背面视图

注意：本图仅供参考。设备上的标签取决于安装的选件以及设备的目标国家。

1	质保标签：注意！ 撕除或损坏质保密封贴纸将导致保修失效。 （设备底部也贴有这一标签）
2	温度传感器盖
3	铭牌（示例）
4	标签：仅限用于科研用途。
5	标签：警告！在插拔进样器模块前关闭设备。
6	标签：中国 RoHS 标记
7	标签：1 类激光器产品
8	标签： 符合 21 CFR 1040.10 标准，但 2019 年 5 月 8 日第 56 号激光通告中所述的 IEC 60825-1 Ed.3 标准除外。
9	主电源插座
10	主电源开关
11	USB 3.0 摄像头接口
12	USB 接口
13	进样器接口
14	集成冷却模块(Te-Cool)连接用 CAN 电缆
15	CO_2 连接(不超过 2 bar)
16	N_2 连接(不超过 2 bar)
17	供液：冷却液
18	回流：冷却液
19	冷凝物出口
20	标签：警告！在插拔冷却模块前关闭设备。
21	设备 CAN 电缆

铭牌示例



根据具体型号，铭牌上的内容可能会有所不同（例如型号和编号）。

3 设备安装

3.1 安装 SPARK

安装, 移动或连接设备时，请遵守本文档中的说明。对于因操作造成的人身伤害或设备损坏，Tecan 概不负责。

确保实验室满足本章描述的所有要求和条件。

3.2 SPARK 安装要求

3.2.1 工作区要求

选择一个摆放设备的位置。位置应当平坦, 无振动, 没有阳光直接照射, 并且没有灰尘, 溶剂和酸性蒸汽。设备背面距墙壁或其他设备至少 10 cm，距离左右的其他设备的距离至少为 5 cm。具体的环境规格，请参阅第 6 章设备规格。

Spark 细胞成像仪模块对于研究实验室的外部振动特别敏感，外部振动会直接影响细胞成像性能，导致图像模糊和/或自动聚焦错误。因此，应将设备安装在合适的位置，尽量减少外部振动，使用隔振试验台可以获得最佳的效果。

确保向外移出时，载板架和进样器架不会意外碰撞。关于进样器和加热器/搅拌器的安装程序，请参阅第 16 章 进样器。

关于冷却模块(Te-Cool)的安装程序，请参阅第 17.2 章 冷却系统。

注意：Spark-Stack 微孔板堆栈模块需要由服务工程师安装。

确保始终都可以接触到主开关和主电缆，而且不会有任何障碍。

小心：设备的安装位置应当平坦, 无振动, 没有阳光直接照射，并且没有灰尘, 溶剂和酸性蒸汽。确保向外移出时，载板架和进样器架不会意外碰撞。

小心：设备背面距墙壁或其他设备至少 10 cm，距离左右的其他设备的距离至少为 5 cm。设备工作过程中，不要将其罩上。

小心：不要在设备盖上放置重物。SPARK 盖的最大承重量为 20 kg。载荷必须均匀分散在盖子的整个表面。

小心：仅限使用随附的 USB 线。设备随附的 USB 线已经经过测试。如果使用其他 USB 线，Tecan 不保证设备可以正常工作。

3.3 拆箱和检查

1. 拆箱前目视检查包装箱是否损坏。
   如发现损坏，立即报告。
2. 选择一个摆放设备的位置。位置应当平坦，无振动，没有阳光直接照射，并且没有灰尘，溶剂和酸性蒸汽。设备背面距墙壁或其他设备至少 10 cm，距离左右的其他设备的距离至少为 5 cm。确保向外移出时，载板架和进样器架不会意外碰撞。确保始终都可以接触到主开关和主电缆，而且不会有任何障碍。
3. 把包装箱置于直立位置，然后将其拆开。
4. 将设备抬出纸箱并放在选择的位置。抬起设备时要小心，确保抓稳两侧。
5. 目视检查设备部件是否脱落，弯曲或折断。
   如发现损坏，立即报告。
6. 比较设备背面的序列号和装箱清单上的序列号。
   如发现不一致，立即报告。
7. 对比装箱清单检查分包装中的内容。
   如发现不一致，立即报告。
8. 保管好包装材料和运输锁，以备将来装运之用。



警告：SPARK 是一种精密仪器，装配齐全后的重量约为 50 kg。必须由至少两个人小心地将其从包装箱内取出。



小心：不要使载板架过载。板传送器的最大载荷为 275 g。载板架过载会导致设备损坏，并需要进行维修。

3.4 分包装



注意：对比装箱清单检查分包装中的内容。 如发现不一致，立即报告。

设备包装中包括下述项目：

- 电缆（USB 2.0 和主电缆）
- 软件(U 盘)
- 使用说明书（可选）
- OOB 质量报告
- CE 符合性声明
- 最终测试程序(COC)
- RoHS 声明
- 比色杯载架
- 运输锁安装/拆卸程序

根据安装的模块，还包括其他分包装：

- 滤光片架金属盒(荧光滤光片/Fusion 光学模块)
- 磁性垫（自动开盖器）
- 软管套件（气体控制）
- Tecan 细胞计数片载架（纸箱内包括 15 个细胞计数片（细胞计数器））
- 进样器模型(进样器/进样器就绪)

- RoboFlask 金属盒（定心夹具，包括紧定螺钉和备用螺钉）
- 装有用户二分镜的金属盒（包括安装用艾伦扳手）

3.5 选件包装



注意：对比装箱清单检查包装中的内容。如发现不一致，立即报告。

第一个进样器（基础模块）的进样器模块包装包括下述项目：

- 进样器纸箱
- 进样器架
- 瓶架
- PVC 卡扣
- 碳针
- 加注用烧杯(2 x 1 ml; 1 x 50 ml)
- 125 ml 瓶（遮光）
- 15 ml 瓶（遮光）

第二个进样器（扩展模块）的进样器模块包装包括下述项目：

- 进样器纸箱
- 瓶架
- PVC 卡扣
- 碳针
- 加注用烧杯(2 x 1 ml)
- 125 ml 瓶（遮光）
- 15 ml 瓶（遮光）

加热器/搅拌器选件包括下述项目：

- 加热器/搅拌器模块
- 主电缆（基础模块）
- 电源（基础模块）
- 玻璃烧杯 100 ml（基础模块和扩展模块）
- 磁性搅拌棒（基础模块和扩展模块）
- 艾伦扳手

NanoQuant 选件包括下述项目：

- NanoQuant 收纳盒（铝壳）
- NanoQuant 微孔板
- 加样辅助装置
- 安全证明

湿度盒的标准选件包括下述项目：

- 湿度盒（盒+盖子）
- 磁性垫

湿度盒细胞成像仪选件包括下述项目：

- 湿度盒细胞成像仪（盒+盖子）
- 磁性垫

Te-Cool 选件包括下述项目：

- 外部液体冷却设备
- 管组
- 冷凝管
- CAN 电缆
- 防冷凝塞
- 浓缩冷却液

Spark-Stack 微孔板堆栈包括下述项目（取决于订单项目）：

- 堆栈模块选件
- 短堆栈选件
  - 一套 2 个微孔板塔，每个测定循环可以堆栈 30 个微孔板
  - 深色遮光罩和盖子
- 长堆栈选件
  - 一套 2 个微孔板塔，每个测定循环可以堆栈 50 个微孔板
  - 深色遮光罩和盖子

细胞成像仪选件包括专用计算机。



注意：Spark-Stack 微孔板堆栈模块需要由服务工程师安装。



小心：随本设备提供的所有项目以及所有备件和设备的辅助用部件仅供本设备使用，不用于常规用途。

3.6 升级

设备包括多个模块，可以根据需要进行升级。更多信息，请联系当地 Tecan 代表。

3.7 拆卸运输锁

3.7.1 载板架运输锁



小心：操作设备前，请先拆卸运输锁。

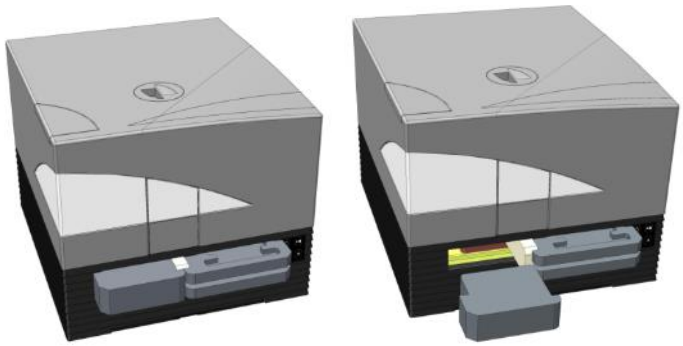
设备在交付时，载板架处于锁定位置，以免发生损坏。

使用设备前，必须按照以下程序拆卸运输锁（泡沫块）：

1. 确保已经拔下设备主电源插头。
2. 撕掉滤波片室门上的胶带。



3. 取下左侧载板架室内的泡沫块（见下图）。



4. 用手拉右侧载板架室内的泡沫块，将载板架取出（见下图）。



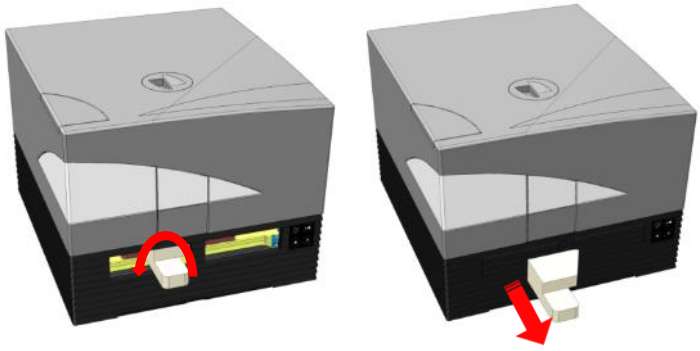
5. 首先取出顶部的泡沫块，接着取出底部的泡沫块（见下图）。



6. 用手小心移动载板架。必须推到足够远的位置，保证载板架室门可以关闭（见下图）。



7. 沿逆时针将剩余的泡沫块转动 90°，将其从设备中拉出（见下图）。





小心：保管好包装材料和运输锁（泡沫块），以备将来装运之用。运输设备时必须采用原始包装，并安装好运输锁。

3.8 电源要求

设备具有自动适应功能，因此，无需改变电压范围。检查设备背面的电压规格，确保设备的供电电压与其规格相符。

电压范围为 **100-120 V 和 220-240 V**。如果电压不正确，请联系经销商。

务必将设备连接带有保护接地的电源系统。



小心：如果电压设置有误，不得使用设备。在电压设置有误的情况下，打开设备会造成设备损坏。



小心：请勿使用额定值不当的线缆代替可拆卸主电源线。



注意：本设备已经按照 FCC 规则的第 15 部分和 CISPR 11/EN 55011 进行测试，并符合对 A 类数字设备限值的规定。这些限值的设计目的是确保设备在商业环境中运行时，能够提供合理的保护，减少有害干扰造成的伤害。如果不按照说明书进行安装，本身可能会产生并放射出可能会对无线电通信造成有害干扰的射频能量。在住宅区运行本设备可能会产生有害干扰，这种情况下，使用者需要自费纠正干扰。

3.9 打开设备



小心：在首次开启设备之前，应将其静置至少 3 小时，这样就不会因产生结露而造成短路。

1. 确保设备背面的主电源开关处于 OFF 位置。
2. 只能使用随机提供的 USB 接口电缆连接计算机和本设备。
3. 把电源线插在设备背面的主电源线插座（采用保护接地连接）上。
4. 使用细胞模块摄像头的 USB 电缆连接（通过设备背面走线）到计算机上的 USB 3.0 端口。



小心：电池模块相机或电池成像模块相机必须分别连接到计算机的 USB 3.0 端口，以避免性能损失。

5. 所有连接的设备都必须符合 IEC 60950-1 信息技术设备 - 安全或相当的本地标准。
6. 如有需要，连接进样器。
7. 如有需要，插入加热器/搅拌器。



小心：在插拔进样器模块前关闭设备。



小心：在插拔冷却模块前关闭设备。

8. 使用设备背面的主电源开关打开设备。
9. 启动配合设备工作的软件。对于通过软件控制的设备，请参阅第 8 章 使用 SparkControl 软件操作 SPARK。



警告：设备工作过程中，不要触碰设备。

3.10 关闭设备

1. 确保板传送器是空的。
2. 要将设备断开，请在 SparkControl 软件中的 Method Editor 中的 File 菜单中选择 Exit（更多信息，参阅参考指南）或通过 Dashboard 左侧的可扩展 Navigation 栏中的 Shut Down，将其断开。
3. 通过仪器背板上的主电源开关完全切断仪器电源。或者，使用仪器正面的机载控制按钮（开/关按钮）将仪器切换至待机 (STANDBY) 模式。



注意：每日工作结束或全部测量完成后，如需整机断电，请使用仪器背部的主电源开关。



小心：关闭设备后，在下一次打开设备前，等待至少 5 秒，否则设备可能会出现错误。

3.11 设备运输准备

如果要运输的设备包含集成冷却模块(Te-Cool)，在运输前，要先排出冷却系统中的冷却液。这一程序必须由维修人员执行。



小心：不要在设备安装有集成冷却模块的情况下进行运输！只有 Tecan 授权维修人员才可以执行运输准备工作。残留的冷却液可能会对设备造成损坏。

在运输带有微孔板堆栈模块(Spark-Stack)的设备前，应将堆栈从设备上拆下。这一程序必须由维修人员执行。



小心：不要在设备安装有集成堆栈模块的情况下进行运输！只有 Tecan 授权维修人员才可以因为设备或堆栈模块运输需要而拆卸堆栈模块。

在运输设备前，执行驻停程序，以避免对光学器件和板传送器造成损坏(参阅 3.11.1 章 驻停程序)。完成驻停程序后，必须安装板传送器运输锁(参阅 3.11.2 章 安装板传送器运输锁)。

运输前，设备（包括进样器, 加热器/搅拌器, 湿度盒, NanoQuant 微孔板以及其他外部可选部件）必须经过彻底消毒(参阅 7.4 章 设备消毒)。进样器维护，请参阅第 16.3 章 进样器清洁与维护)。



小心：在插拔进样器模块前关闭设备。



小心：在插拔冷却模块前关闭设备。

设备（包括进样器, 加热器/搅拌器, 湿度盒, NanoQuant 微孔板以及其他外部可选部件）必须采用原始包装进行运输。



警告：进样器和加热器/搅拌器必须单独搬运，因为这两种设备并没有连接到一起。一起搬运时，其中一台设备很容易掉落，并受损。

3.11.1 驻停程序

1. 确保板传送器是空的。
2. 确保进样器（模型）已经从进样器端口上取下。
3. 要将设备断开，请在 SparkControl 软件中的 Method Editor 中的 File 菜单中选择 **Exit**（更多信息，参阅参考指南）或通过 Dashboard 左侧的可扩展 Navigation 栏中的 Shut Down，将其断开。
4. 使用设备正面的机身控制按钮取下滤光片架。
5. 使用设备正面的机身控制按钮将板传送器移出。
6. 若要启动归位程序，请按下仪器正面的开/关按钮。启动归位程序可能需要几秒钟时间。
7. 使用设备背面的主电源开关关闭设备。
8. 安装板传送器运输锁(参阅 3.11.2 章 安装板传送器运输锁)。

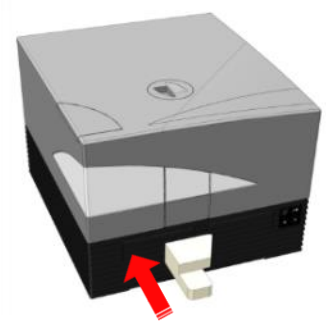


小心：运输前，需要执行驻停程序，而且必须安装运输锁。如果运输时没有采取这些安全措施，设备质保将作废。运输时要使用原始包装。

3.11.2 安装板传送器运输锁

设备运输时必须将载板架锁定到位，以免发生损坏。运输设备前，必须按照以下程序插入运输锁（泡沫块）：

1. 确保已经拔下设备主电源插头。
2. 向下按载板架室门，将白色泡沫块（如下所示）插入到左侧隔室中。



3. 插入泡沫块时，顺时针转动 90°，让尖端卡入到两个隔室开口之间的空间中。这一泡沫块会使隔室门保持打开。



4. 小心地用手将载板架向外移，直到从后面轻轻压向插入的白色泡沫块，并且不能进一步向外移动。



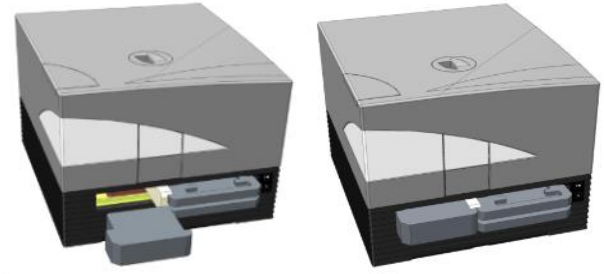
5. 首先插入底部的泡沫块，接着与顶部的泡沫块互锁（见下图）。



6. 用手推压载板架上的泡沫块，尽量将载板架推入到右侧隔室中。



7. 将泡沫块插入左侧载板架室（见下图）。



8. 用胶带封住关闭的滤波片室门（见下图）。



4 微孔板控制

板传送器可以水平（沿 x 和 y 方向）运动也可以垂直（沿 z 方向）移动，因此对于每种测定模式，例如顶读或底读，都可以达到理想的测定位置，无论使用哪种微孔板或加注量。移动速度根据微孔板类型和测定模式进行优化。

注意：关于操作带微孔板堆栈模块的设备的其他要求，请参阅第 15 章 Spark-Stack 微孔板堆栈。

小心：在开始测定之前，确保微孔板插入正确。孔 A1 的位置应在左上侧。

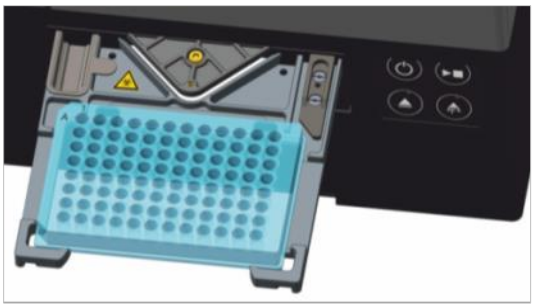


图 2: 微孔板在载板架上，其中 A1 孔在左上角

小心：奥地利 Tecan 有限公司在编制随设备提供的微孔板定义文件(.pdfx)时非常仔细。

我们尽力保证微孔板高度和微孔深度与指定的微孔板类型一致。这些参数用于确定微孔板顶部和测定箱内部顶面之间的最小距离。此外，Tecan 还增加了非常小的安全间隙，以保证不会因为微孔板高度的变化给测定箱造成损坏。这不会影响设备的性能。

确保选择的微孔板定义文件对应当前使用的微孔板，以保证以计算正确的安全间隙，否则可能会导致设备受损。

小心：在使用具有侵蚀性的溶液时，避免使微孔板在仪器内过夜。酸性、碱性或清洁溶液（漂白剂）会在酶标仪内蒸发，并造成腐蚀。这样会对仪器造成严重破坏，并会影响其正常运行。对于因为微孔板操作不当给酶标仪造成的任何损坏，Tecan 概不负责。

小心：用户应注意保证微孔板顶部不会发生潜在的荧光或化学发光污染，例如因为液滴污染，同时还要注意某些微孔板密封剂会留下粘性的残留物，应在测定前去除。

4.1 Z 位置

物镜在样本以上的高度可以使用 Z 位置功能进行调整。由于激发光会被样本液体反射，Z 调整可以帮助最大程度上提高信噪比。如需了解关于 Z 定位的详细信息，请参阅参考指南中的对应章节。

4.2 振荡

SPARK 可以在开始测定前或两次多点测定循环之间对微孔板进行振荡。有三种振荡模式可供选择：直线振荡, 单轨道振荡, 双轨道振荡。振荡幅度可以在 1 到 6 mm 之间，步进尺寸为 0.5 mm。振荡频率可以用振动幅度的函数来表示。振荡时间可以在 3-3600 秒之间选择。

4.3 孵育/冷却位置

SPARK 设有预定义的孵育/冷却位置，温度分布经过了优化处理。一个测定循环中有三个位置可以用于振荡或等待步骤。

4.4 自动开盖器

自动开盖器选件包括一个永磁体和一个磁性垫。磁性垫可以安装到常用类型的微孔板的盖子上，盖子高度不超过 11.5 mm。磁性机构由软件控制。

要安装磁性垫，剥离金属盘上的衬纸，将磁性垫贴到盖子中间位置。



小心：盖子高度不得超过 11.5 mm。



小心：在安装磁性垫前，使用 70%乙醇对盖子进行消毒。



小心：如果在方法中激活了**可拆卸盖子（Removable Lid）**或**湿度盒（Humidity Cassette）**，确保磁性垫安装在微孔板盖子上。



小心：将磁性垫安装在对应的微孔板盖子中间的位置，以保证可以达到理想的效果。

自动开盖器用于临时打开微孔板盖子，以在长时间试验的工作流程中执行注入或测定步骤，以避免样本蒸发。

在执行基于细胞的研究时，自动开盖器结合气体模块使用还开改善介质和周围环境之间的气体交换。通风步骤可以简单地插入到工作流程中，并进行相应地计时。

自动开盖器也可以结合 Tecan 的湿度盒（请参阅第 17 章 环境控制）使用。

4.5 固定 RoboFlask 细胞培养容器

需要使用定心夹具将 RoboFlask 细胞培养容器（康宁公司）固定到载板架上。定心夹具必须在开始使用 RoboFlask 细胞培养容器进行测定前由使用者完成安装。按照说明进行操作。

- 向外移动板传送器
- 将定心夹具放在下图中所示的微孔板固定装置上。
- 拧紧螺钉，注意避免载板架承受压力。

小心：在连接定心夹具时，不要在载板架上施加压力。
载板架弯曲会对仪器性能产生不利影响，需要进行维修。

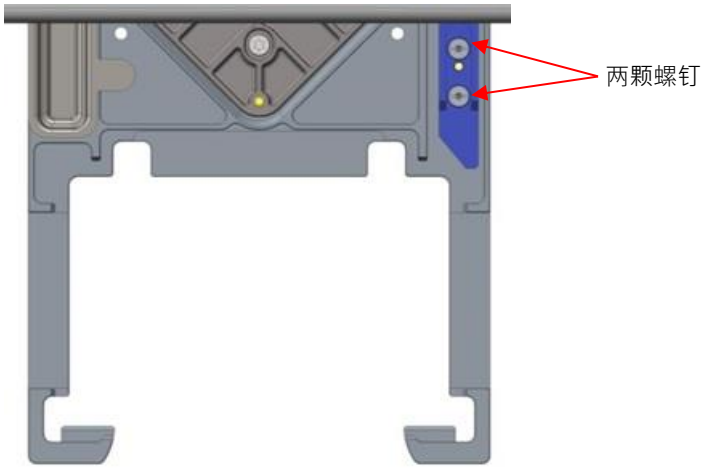


图 3: RoboFlask 细胞培养容器定心夹具

小心: 在没有定心夹具的情况下，不得使用 RoboFlask 细胞培养容器，
以免给设备造成损坏。

注意：增加使用 RoboFlask 进行测定时闪光的数量和/或稳定时间可以提高测定结果的准确性。

5 SPARK 平台

SPARK 是一款多模式酶标仪平台。每种具体的设备型号都可以装备大量模块和功能。下面的章节中将做简要介绍。

5.1 可用模块和功能概览

SPARK 兼容单孔到 384 孔的微孔板；增强型模块可以支持多达 1536 孔的微孔板。

模块/功能	规格
吸光度模块	吸光度测定（包括快速吸光度扫描）或增强型吸光度测定（多达 1536 孔）
NanoQuant 微孔板	用于少量核酸样本。有现成的应用程序可以进行核酸定量测量和标记检测。
比色杯模块	用于吸光度测定。有现成的应用可供使用。
标准化学发光测定模块	衰减功能(OD1 和 OD2)。 多达 384 个微孔。
增强型化学发光模块	衰减功能(OD1, OD2 和 OD3)。 波长区分。 包含化学发光扫描功能。 多达 1536 个微孔。
Alpha 技术	AlphaScreen, AlphaLISA 和 AlphaPlex。 增强型 Alpha（多达 1536 个微孔）
标准荧光顶读模块	仅滤光片, 仅单色仪或 Fusion Optics 系统可用。 多达 384 个微孔。
标准荧光底读模块	仅滤光片, 仅单色仪或 Fusion Optics 系统可用。 VIS 或 UV-VIS 光纤。 多达 384 个微孔。
标准荧光底读区扫描	高达 100x100 数据点/孔
标准荧光偏振模块	仅滤光片, 仅单色仪或 Fusion Optics 系统可用。 >300 nm 或>390 nm 光纤。 多达 384 个微孔。
增强型荧光顶读模块	仅滤光片, 仅单色仪或 Fusion Optics 系统可用。 比标准型灵敏度更高。 多达 1536 个微孔。
增强型荧光底读模块	仅滤光片, 仅单色仪或 Fusion Optics 系统可用。 配备 UV-VIS 光纤。 比标准型灵敏度更高。 1536 孔可选。
增强型荧光底读区扫描	高达 100x100 数据点/孔

模块/功能	规格
增强型荧光偏振模块	仅滤光片，仅单色仪或 Fusion Optics 系统可用。 配备>300 nm 光纤。 比标准型灵敏度更高。 多达 1536 个微孔。
细胞模块：细胞计数和细胞汇合度	细胞计数和 Tecan 细胞计数片中的活性（现成的应用）。 微孔板中的细胞汇合度。
细胞成像仪	在微孔板内进行明场成像和荧光成像。
Spark-Stack	内置微孔板堆栈，设计用于微孔板自动加载，卸载和重新堆栈。
进样器（1 个或 2 个进样器）	一个或 2 个进样器选件，包括不同尺寸的针筒。
进样器加热和搅拌功能	2 种进样器选件都可以配备加热器/搅拌器模块。
加热模块	比环境温度高 3 ° C 到 42 ° C
冷却(Te-Cool)模块	18 ° C 到 42 ° C
气体控制模块	仅 CO_2 或 CO_2 和 O_2
湿度控制模块	针对长期研究（通过细胞）为不同形式的微孔板提供蒸发保护
自动开盖器	在长期研究中进行交互（气体交换，注入）
条码阅读器	自动读取条形码。

标准荧光模块和增强型荧光模块选件可以一同安装到一个设备上。

6 设备规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

下表列出了基础设备的技术规格。

概述

参数	规格
测定	由软件控制
接口	USB 2.0 或 3.0 (SPARK); 3.0 (SPARK CYTO)
Fusion 光学系统	基于单色仪和滤光片（外部滤光片）
微孔板	从单孔到 1536 孔 SBS 微孔板
温度控制	从 18 ° C 到 42 ° C（取决于所安装的模块）
微孔板振荡	直线振荡, 单轨道振荡, 双轨道振荡。
光源	大功率氙气闪光灯
光学器件	石英透镜
荧光检测仪	低暗电流光电倍增管
化学发光检测仪	低暗计数光电倍增管
吸光度检测仪	硅光电二极管
电源	100-120 V 和 220-240 V，自动适应
功耗	工作: 350 VA, 待机: 25 VA

物理规格

参数	规格		
外部尺寸	宽度：	494 mm	(19.5 英寸)
	高度：	395 mm	(15.5 英寸)
	高度(含 Te-Cool):	512 mm	(20.2 英寸)
	高度(含细胞成像仪):	512 mm	(20.2 英寸)
	高度（包括进样器架）：	455 mm	(17.9 英寸)
	深度：	557 mm	(21.9 英寸)
	深度（载板架向外移出）：	699 mm	(27.5 英寸)
	深度(含 Spark-Stack)：	786 mm	(30.9 英寸)

重量

参数	规格	
设备	40 kg	(88 磅)
仪器（含 Te-Cool）	50 kg	(110 磅)
仪器（含细胞成像仪，用于 CYTO600，最重的配置）	最高 50 kg	（最高 110 磅）
进样器（2 通道）	4.0 kg	(8.8 磅)
加热器/搅拌器	2.7 kg	(6 磅)
Spark-Stack 模块		
堆栈	8.5 kg	(18.7 磅)
短堆栈 （2 个微孔板塔，包括深色遮光罩和深色盖子）	4.5 kg	(9.9 磅)
长堆栈 （2 个微孔板塔，包括深色遮光罩和深色盖子）（11 磅）	5 kg	(11 磅)

环境

参数	规格	
工作温度	+15 ° C 到+35 ° C	59 ° F 到 95 ° F
激活主动冷却时的工作温度	+15 ° C 到+30 ° C	59 ° F 到 86 ° F
运输温度	-30 ° C 到+60 ° C	-22 ° F 到+140 ° F
工作湿度	20 % - 90 %（无结露）	
激活主动冷却时的工作湿度	20 % - 80 %（无结露）	
运输湿度	20 % - 95 %（无结露）	
工作压力	700-1050 hPa	
运输压力	500-1100 hPa	
过电压分类	II	
污染程度	2	
用途	商用	
噪音水平	< 60 dBA	
处置方法	电子废物（感染性废物）	

7 清洗与维护

7.1 引言

- 有关 NanoQuant 维护方面的更多信息，请参阅 18.4 章 NanoQuant 维护 以及参考指南中的对应章节。
- 进样器维护，请参阅 16.3 章 进样器清洁与维护)。
- 细胞计数片载架维护，请参阅 13.3.3 章 细胞计数片载架的维护和清洁以及参考指南中的对应章节。
- 冷却模块维护，请参阅 17.2.7 章 维护。
- 关于 Spark-Stack 的维护，请参阅第 15.2.7 章 Spark-Stack 清洁和维护。

为了延长设备寿命并减少维修次数，清洁和维护程序很重要。

本节介绍下述内容：

- 预防性维护 (PM)
- 溢出液体
- 设备消毒
- 消毒方法
- 安全证明
- 处置



小心：保持板传送器清洁！特别注意固定微孔板的夹子装置。微孔板固定不牢会导致设备损坏。严重脏污时需要进行维修。

7.2 预防性维护

为保证并长期维持仪器最佳运行性能、减少设备损耗，强烈建议开展年度预防性维护 (PM)。

PM 程序包括（但不限于）：

- 设备功能与检测精度校验
- 滤片与风扇清洁
- 维护部件更换
- 机械组件校准



注意：此项维护仅可由经认证的 Tecan 服务代表执行。

7.3 溢出液体

1. 立即用吸收性材料擦拭溢出物。
2. 妥善处理污染的材料。
3. 用中性清洁剂清洁设备表面。
4. 对于存在生物危害性的溢出物，使用 B33（德国 Orochemie）清洁。
5. 擦干清洁后的区域。



警告：清除设备上的任何溢出物时，都需要先关闭设备。处理溢出物时，按照处理存在潜在感染风险物质的方式进行处置，以免感染。因此，始终要遵守相应的安全措施（包括戴防静电手套, 护目镜，穿防护服），以免沾染可能会引发传染病的污染物。

此外，清洁产生的废物应按照潜在传染物进行处理，处置程序必须遵守 7.5 章 处置中的说明。

7.4 设备消毒



警告：必须按照国家, 地区和本地法规进行消毒工作。



警告：所有与潜在传染物或危险材料接触的设备部件应被视为潜在传染区域。

建议在执行消毒程序时，遵守相应的安全措施（包括戴防静电手套, 护目镜，穿防护服），以免沾染可能会引发传染病的污染物。



警告：从实验室取走前或者维修前必须对本机进行彻底消毒。



警告：本章中所述的进样器消毒程序仅适用于进样器盒盖。针筒, 管和泵的清洁和维护，请参阅 16.3 章 进样器清洁与维护。



小心：微孔板做好运输准备前，确保微孔板已经从设备上取下。如果有微孔板留在设备中，荧光溶液可能会溢出到光学部件上，并造成设备损坏。

在将设备返给经销商或维修中心之前，必须对所有外表面和板传送器进行消毒，并由权威部门出具安全证明。如果未提供安全证明，经销商或维修中心不能接收设备，或者由维修中心或海关扣留设备。

7.4.1 消毒溶液

设备（正面, 盖子, 板传送器）应使用下述溶液进行消毒：

- B33 (德国 Orochemie)



小心：消毒工作必须由经过培训和授权的人员戴上一次性手套, 护目镜并穿上防护服在通风良好的房间内进行。



警告：进样器消毒程序仅适用于进样器盒盖。针筒的清洁和维护，请参阅 16.3 章 进样器清洁与维护。

7.4.2 消毒方法



小心：如果应用表面消毒剂或消毒剂意外进入设备内部，会影响设备性能。



小心：开始消毒前，确认微孔板已经从设备中取出。

如果实验室没有具体消毒规程，则应按如下方法对设备外表面进行消毒。

1. 戴上保护性手套，护目镜并穿上防护服。
2. 准备一个适当的容器用于在消毒过程中丢弃一次性物品。
3. 拔下设备主电源插头。
4. 将设备与所使用的外部部件断开。
5. 用在消毒液中浸泡过的无绒纸巾小心擦拭设备整个外表面。
6. 以相同的程序，对载板架进行消毒。
7. 对设备上使用的外部组件进行消毒。
8. 填写安全证明，并将其贴在包装箱外表面容易看到的位置。

关于安全证明的信息，请见下文。在将设备送返经销商或维修中心前，必须填写安全证明。



小心：只有当设备与主电源断开时，才能手动移动板传送器。

7.4.3 安全证明

必须向本地 Tecan 客户支持中心申请安全证明（联系信息，请参阅 http://www.tecan.com/）。

为确保人员的安全和健康，我们要求客户填写两份**安全证明**，并在设备运到维修中心进行维护或修理之前，将一份贴在返还设备容器的上部（从集装箱外部可见！），将另一份贴在装运文件上。

设备装运之前，必须在设备使用地消毒(参见 7.4.2 章 消毒方法)。

消毒工作必须在通风良好的房间内由经过培训和授权的人员戴上一次性无粉手套，护目镜并穿上防护服进行。

必须按照国家，地区和本地法规进行消毒工作。

如果未提供安全证明，维修中心不能接收设备。

7.5 处置

遵守有关生物危险废物处置的国家、地区和地方法规以及实验室规程。

本节说明如何合法地处置设备相关的废物。



小心：必须遵守所有国家、州和地方环境法规。



小心：关于废弃电气和电子设备(WEEE)的指令 2012/19/EC

废物处理不当可能对环境造成不良影响：

- 不要将电气和电子设备作为未分类的城市垃圾来处理
- 请将废弃电气和电子设备分开回收处理

7.5.1 包装材料的处置

根据关于包装及包装废物的指令 94/62/EC，制造商必须负责包装材料的处置。

交还包装材料

如果不打算保留包装材料供将来设备的运输或存储使用，则应通过现场维修工程师把产品包装，备件，模块交还给制造商。

7.5.2 工作材料的处置



警告：SPARK 处理产生的废弃物(即微孔板)可能存在生物危害性。

应按照实验室规程处理用过的微孔板，细胞计数片，其他一次性用品和用过的所有物质。

应咨询所在国家，州或地区的适用废物收集点和认可的处置方法。

7.5.3 设备处置

处置本机前请与当地的 Tecan 维修代表联系。



小心：处置前必须对本机进行消毒。

污染程度	2 (IEC/EN 61010-1)
处置方法	有污染废物



警告：取决于应用，设备部件可能会接触到存在生物危害性的材料。必须按照适用的安全标准和法规处理这种材料。

处置前必须对所有部件进行消毒。

8 使用 SparkControl 软件操作 SPARK

8.1 适用范围

SparkControl 软件是一款使用简单而且灵活的工具，用户可以通过这款软件控制 Tecan SPARK 多模式酶标仪。

注意：根据连接的设备和安装的模块，某些 SparkControl 功能可能会被禁用或不可见。

8.2 系统要求

注意：带有细胞成像仪模块的 SPARK 仪器在交付时始终配有专用的独立计算机，计算机的内存和显卡满足配置要求。计算机的操作系统语言设置为英语。

注意：SparkControl 软件不支持 32 位 Windows 操作系统。

小心：为防止系统被未经授权的用户使用或修改，Tecan 建议使用 Windows 用户管理系统。在安装病毒防护软件或与安全相关的操作系统更新时，请遵循当地 IT 部门的建议。

使用 SparkControl 软件，必须要满足下述硬件安全和操作系统要求：

	支持	**推荐**
PC	兼容 Windows 系统的 PC，兼容主频为 2 GHz（双核）的奔腾处理器	2.4 GHz（四核）
	细胞成像仪模块: > 3 GHz (8 核) 2 GB 显卡	
操作系统	Windows 10 (64-bit) Windows 11 (64-bit) 版本：专业版, 企业版 **不支持 Windows RT！**	
内存	8 GB RAM	16 GB RAM
	细胞成像仪模块: 64 GB RAM	
可用硬盘空间	6 GB 细胞计数测定：40 GB 在细胞汇合度测定中，需要 500 GB 可用硬盘空间。	10 GB 细胞计数测定：160 GB 在细胞汇合度测定中，建议保留至少 1000 GB 可用硬盘空间。
	细胞成像仪模块: 512 GB SSD (系统) + 8 TB HDD (存档)	
监控器	超级 VGA 图	**细胞成像仪模块:** 4 K 图

	支持	推荐
分辨率	1280 x 1024	1680 x 1050 1920 x 1080
色深	256	
鼠标	微软鼠标或兼容的指针设备	
通信	USB 2.0 USB 3.0	必须将细胞模块的专用电缆插入到 USB 3.0 端口中，以确保可以达到理想的性能，最好是在独立的主机控制器上。
	细胞成像仪模块: USB 2.0 (仪器) USB 3.0 (摄像头)	**细胞成像仪模块:** USB 3.0 (仪器) USB 3.0 (摄像头)
设备	DirectX 9 图形设备，驱动程序版本不低于 WDDM 1.0	
.NET	Microsoft.NET Framework 4.8 满足要求的.NET 版本会与现有版本一同自动安装。	
Microsoft Excel	2007, 2010, 2013, 2016, 2019, Excel 365 导出设备按照 Office Open XML 文件格式(.xlsx)写入文件	2019, Excel 365

8.3 软件安装

注意：安装软件，必须获得管理员权限。

注意：在将设备插入到计算机中前安装软件。

注意：升级 **SparkControl** 软件前，确保已经将仪器、摄像头和所有配件从计算机上拔下。

小心：一定要在开放多点测定循环完成后才可以卸载或升级软件，否则开放多点测定数据将会丢失。

SparkControl 软件的安装程序如下：

1. 插入安装 U 盘。
2. 打开 Windows Explorer，找到安装 U 盘上的文件夹 **Software/<article number>SparkControl Vx.y** 。双击 **SparkControl <version>_Setup.exe** 开始安装程序。
3. 软件的安装路径为 C:¥Program Files¥Tecan。可以根据自己的需要选择安装文件的目标地址。
4. 选择 **Install**，开始安装软件。

8.3.1 卸载/修复安装

如果因为某种原因需要重新安装当前版本的 SparkControl 软件，程序如下：

1. 插入安装 U 盘。
2. 打开 Windows Explorer，找到安装 U 盘上的文件夹 **Software**。
3. 双击 **SparkControl <version>_Setup.exe** 开始安装程序。
   - 选择 **Uninstall**，卸载当前的版本，或
   - 选择 **Repair**，修复安装并恢复原始的程序文件。

8.3.2 IoT客户端

SparkControl 支持通过 Tecan IoT 客户端提供的应用接口在 Tecan Connect 移动应用中远程监控已注册的已连接仪器（例如仪器/测定状态）。

如果选中了 SparkControl 设置中的'Install IoT Client 选项，IoT 客户端会自动安装。如果已经安装，SparkControl 将发送下述消息：

事件	消息
仪器状态	待机（就绪）、未连接等
测定状态	测定开始/暂停/恢复/停止
测定进度	当前的数据标签或进度消息 当前温度和/或气体浓度值 当前循环索引（仅多点测定循环） 当前板索引（仅堆栈循环） 关于所需的用户交互的通知
警告/错误	错误或警告消息



小心: 如果工作用 PC 可以访问互联网，则用户需要自行负责采取必要的系统保护措施，防止网络威胁。

8.4 启动 SparkControl

从 Windows 开始菜单中，选择 Tecan>SparkControl Dashboard 或 Method Editor 启动程序。

8.4.1 连接设备



小心：工作过程中，不要打开设备盖子。

每个连接的设备用仪表板中对应的方块表示（请参见第 8.6 章 仪表板 和 SparkControl 手册中的相应章节）。

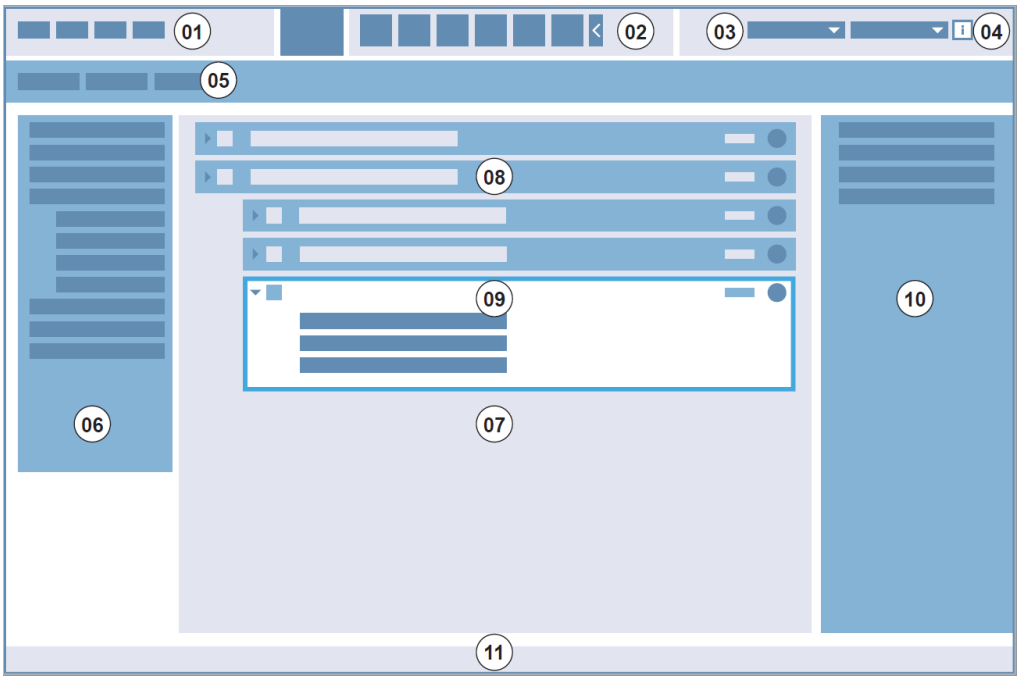


注意：SparkControl 支持的最大连接数为 4 台设备。

8.5 Method Editor

8.5.1 结构

Method Editor 用于设置工作流



01 菜单栏；02 工具栏；03 下拉菜单；04 打开信息窗格的按钮；05 方法定义选项卡;
06 控制栏；07 工作流程窗格；08 折叠条；09 展开条；10 信息窗格；11 状态栏

菜单栏	**01**	包括编辑器和酶标仪功能（例如文件, 编辑, 设置）的下拉菜单
工具栏	**02**	包括常用的编辑器功能的图标（例如新建, 保存）
下拉列表	**03**	选择并启动与相应的软件应用或连接的设备相关的功能（例如选择应用）
方法定义选项卡	**05**	使用可用分析工具定义方法的选项卡（例如荧光成像方法）
控制栏	**06**	包括定义工作流程的条目
工作流程窗格	**07**	在这一窗格中插入条目，定义工作流程。还可以在此处调节默认设置
信息窗格	**10**	显示关于工作流程的其他信息
状态栏	**11**	显示关于已连接设备的信息（例如名称, 温度）

可以根据应用，通过将处理步骤拖放到序列中来方便地创建工作流。之后用户就可在工作流程窗格中看到应用工作流程，并保存这些工作流程，供以后使用。

有关下列元素的详细说明，请参阅 SparkControl 手册：

- 控制栏
- 工作流程窗格
- Menu Bar（菜单栏）
- 工具栏
- 设备
- 部件和应用

注意：定义 1536 孔微孔板的面积时，使用微孔板左侧边缘的 **Fit to window** 控制选项。

小心：可拆卸盖子结合自动开盖器使用。请在使用前确保微孔板盖子上安装了磁性垫。

注意： 在操作 Tecan 比色杯载架时，从 Plate（微孔板）条中内选择对应的微孔板定义文件，并定义测定。

小心：在确定数值的小数位时，始终使用计算机操作系统区域和语言设置中定义的十进制符号。

注意：要启用选项 **Continuous shaking** 和 **Continuous waiting**，以 **Fixed** 间隔时间定义多点测定。

注意： 只有在 Well（孔）条内才可以执行相同检测模式中的测定步骤（例如不同波长的两个吸光度步骤）。例外规则：多波长多点测定取决于具体的孔（例如多点测定/孔/吸光度/荧光强度）。

注意：Well（孔）条内不允许出现操作条 **Move plate（移动微孔板）**和 **User intervention（用户干预）**。

注意：多点测定中不能使用荧光强度三维扫描。

注意：在多点测定循环中，不能出现操作条 **Temperature（温度）**和 **Gas（气体）**，除非是在多点测定条件下。

注意：建议用户在测定之前设置适当的方法，并对所有相似的多点测定使用相同的方法，以获得可比较的结果。

注意：为确保有最佳的结果可再现性，诸如振荡和注入等多点测定条件应当紧跟在多点测定循环程序项目后插入。

注意：功能 **Multiple Reads per Well** 不适用于逐孔测定。

注意：在结合 **Multiple Reads per Well** 使用时，不能选择 **Absorbance（吸光度）**条上的基准波长。

注意：建议一次闪光执行区域扫描测定。

8.6 仪表板

8.6.1 结构

SparkControl 软件的仪表板用于

- 与已连接设备通信
- 开始测定
- 监控测定流程

仪表板设计兼容，可以使用手指进行操控。

仪表板中含有下述结构元素：

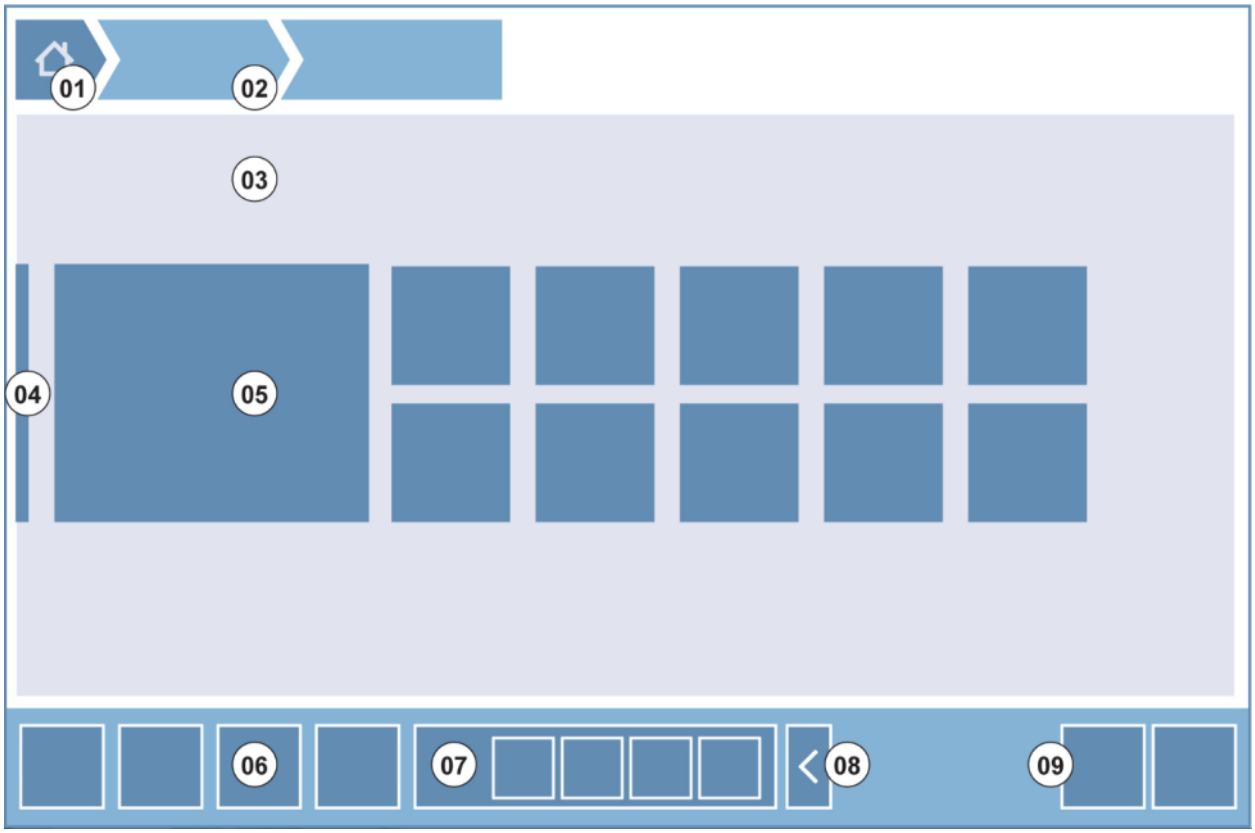


图 4: 仪表板的结构元素

01	主页按钮
02	面包屑导航
03	工作流程窗格
04	导航栏
05	方块
06	含有操作按钮的操作栏
07	可展开操作按钮
08	展开按钮（显示更多操作按钮）
09	操作按钮(OK, 取消, 停止)

方块

可以通过方块启动用户选择的流程步骤，例如可以使用 **Method tile（方法方块）**启动选择的方法。可以点击的表面始终是整个方块区域，不包括具有多个功能的方块。

对于多功能方块，可以点击的面始终比背景色更暗。示例：启动方块 (请参见第 8.7 章 启用方法 以及 SparkControl 手册中的相应章节)。

操作按钮

一组按钮用于

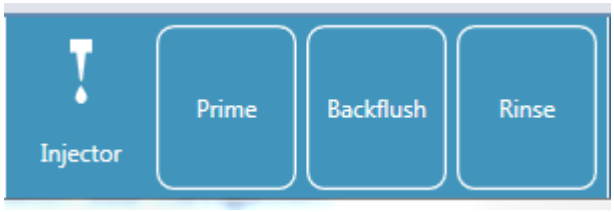
- 编辑方法和设备设置
- 确认/取消/停止工作流程步骤(OK/取消/停止按钮)
- 搜索/调整列出的元素

可展开操作按钮

可展开操作按钮是一组对特定器件（滤光片, 进样器）进行多种不同操控方式的按钮集合。

触摸可展开操作按钮，显示对应操作组的所有操作按钮。

示例：操作组 **Injector（进样器）**包括子操作按钮 **Prime, Backflush** 和 **Rinse**。



展开按钮

展开按钮用于展开/折叠分组的元素。

操作栏

操作栏是有操作按钮的仪表板区域。

导航栏

仪表板左侧的可展开导航栏用于切换到其他 SparkControl 组件（例如 Method Editor）。

面包屑导航/导航历史

面包屑导航用作不同应用层面内的导航，置于屏幕的顶端。可以查询之前窗口的导航历史，包括一个主页按钮。选择主页按钮，返回仪表板窗口。

示例：



即首先选择名为 ELISA 的方法，接着打开 Temperature Control 窗口，以在测定开始前更改/验证温度。

8.6.2 仪表板

仪表板窗口中包括下述方块：

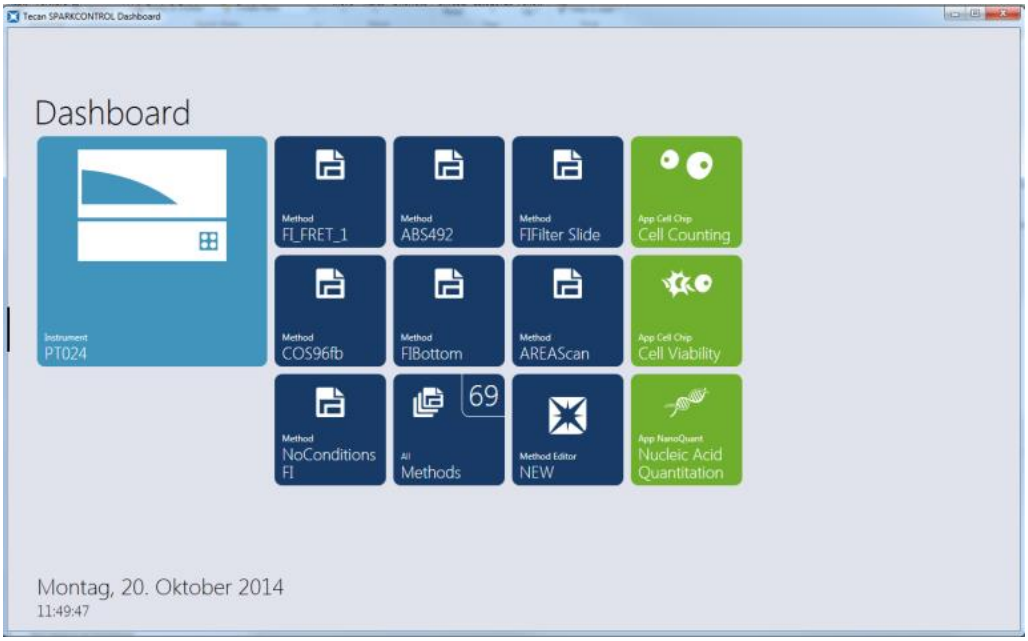


图 5: 仪表板中的 Instrument 方块, Method 方块和 App 方块

设备	淡蓝色的 **Instrument 方块**代表连接的设备。选择仪表板方块，以访问 Instrument Control 窗口。
方法	深蓝色的 **Method 方块**代表可以用于已连接设备的方法。选择方法方块以启动方法。 方法方块的最大数量为 8 个。如果有 8 个以上的方法，使用 **All methods** 方块打开所有方法的列表。 显示的方法方块组会根据下述规则进行动态组合： • 每个新定义的或修改的方法会自动显示在仪表板上，并置于操作组的最顶端。 • 每个执行的方法会自动显示在仪表板中，并置于操作组的最顶端。 • 所有其他方法方块会相应地移位。如果有 8 个以上的可用方法，则操作组中最后一个方法会自动从仪表板中移出。 选择 **NEW** 直接切换到 Method Editor，以定义新方法。
App	淡绿色的 **App 方块**代表 Tecan 提供的应用。选择 App 方块以启动对应的应用。
Open Workspaces	橄榄绿色的 **Open Workspace** 方块代表由于打开的多点测定循环而未完成的多点测定。选择一个 Open Workspace 方块，继续多点测定。 Open Workspace 方块的最大数量为 8 个。如果有 8 个以上的方法，使用 **All open workspaces** 方块打开所有方法的列表。

注意：要删除一个 open workspace 方块，在执行完成前停止打开的多点测定循环，选择 **All open workspaces** 方块，并将对应的工作区域标记为删除。

要切换到 **Method Editor**, **Settings** 或 **Screencasts**，使用可展开仪表板启动窗口左侧的导航栏。选择 **Shut down**，关闭 SparkControl 应用。

注意：操作按钮是否可以使用取决于设备的配置。

注意：SparkControl 支持最多连接 4 个设备。但是，不能同时工作。一次只能使用一个设备。

注意：可以从 **Dashboard** 启动窗口或通过 **All Methods** 方块从所有方法的列表中选择一个方法。

注意：在测定覆盖方法中定义的温度或气体设置前，更改温度或气体设置。

启动打开的多点测定

注意：以打开的多点测定的方式运行具有长间隔的多点测定。优化设备使用，并在测定之间执行短期测定。

注意：只有循环类型为 **Number of cycles** 多点测定才可以以打开的多点测定的形式运行。

注意：只有 **plate-wise** 多点测定可以以打开的多点测定的形式运行。例外规则：多波长多点测定取决于具体的孔（例如多点测定/孔/吸光度/荧光强度）。

注意：采用时间或数值触发气体和/或温度设置的多点测定不能以开放多点测定运行。

注意：开放多点测定循环只能通过 Dashboard 启动。

注意：从 Dashboard 中选择对应的 **Open Workspace**。开放空间处理的设备必须与第一次开放动态测定所使用的设备相同，否则不会在 Dashboard 中显示。

注意：更改开放多点测定循环所用的方法不会对已经开始的开放动态循环产生任何影响。原始的方法将与开放空间保存在一起，因此可以用于所有后续的开放多点测定循环。

小心：按下 **Stop** 按钮，中断开放多点测定循环，此时，不仅会中断当前的测定循环，还会中断全部开放多点测定循环。方法循环停止后，开放多点测定循环以后也不能继续。

小心：开放多点测定工作空间会在服务检修后失效，需要用户手动删除。

小心：更改工作区路径将会阻止开放工作区的进一步执行，直到恢复原先的工作区路径。

小心：在开放工作区完成前，请勿删除对应的开放工作区文件夹。工作区文件夹包括方法进一步执行所需的信息。

小心：一定要在开放多点测定循环完成后才可以卸载或升级软件，否则开放多点测定数据将会丢失。

8.7 启用方法

注意：按下**暂停**按钮并不能立即停止当前的测定循环。当前的多点测定循环完成前，测定不会暂停。同时请注意，间隔时间也是循环的一部分；因此，包含间隔时间的多点测定只有在间隔时间过后才会暂停。

8.7.1 Method Editor

可以通过单击 **Start** 按钮，直接从 Method Editor 中直接启动。启动方法后，软件将切换到仪表板视图。

8.7.2 仪表板

可以通过选择对应的 **Method** 方块从仪表板中直接启动方法。参见 SparkControl 手册中的相应章节。

8.7.3 Onboard Start（机身启动）

可以通过按下机身上的 **Onboard Start** 按钮直接启动方法。

按照如下流程定义一个 Onboard Start 方法：

- 定义方法并保存
- 通过 Method Editor 上的 File 菜单选择 **Onboard Start**

或

- 打开方法
- 通过 Method Editor 上的 File 菜单选择 **Onboard Start**

要查看通过 **Onboard Start** 按钮启动的测定的进程，打开仪表板，并选择正在工作的设备的 instrument 方块。

8.8 SparkControl 设置

8.8.1 结构

用户可以通过 **Settings** 组件自行定义系统默认设置。可以通过选择对应的程序的方块，修改这些设置，用于：

- 软件：定义默认微孔板类型和默认路径长度校正值。
- 设备：输入配备气体模块的设备的海拔高度



小心：在首次使用气体模块前，输入海拔高度。

- 数据处理：定义测定结果在 Excel 中的输出设置



注意：目标 **New worksheet** 和 **Existing workbook** 只能结合结果设置 **Open on completion with Excel**。



注意：在采用集成 Spark-Stack 执行堆栈运行时，目标设置将被忽略。系统会为每次堆栈运行在单独的工作表创建一个新的工作簿，每个工作表中含有对应微孔板的测定数据。



注意：在采用集成 Spark-Stack 执行堆栈运行时，目标设置将被忽略。系统会为每次堆栈运行在单独的工作表创建一个新的工作簿，每个工作表中含有对应微孔板的测定数据。

- 微孔板几何结构：为没有列出的微孔板创建微孔板定义文件，或编辑现有的微孔板定义文件



注意：用卡尺测量，最好使用微孔板设计图纸上生产厂家给出的数值。



小心：在手动测量微孔板高度时，要注意不包括微孔板生产过程中导致的偏差。



注意：注意数值的 µm 和 µl 值设置。

- 图片



注意：如果由于操作系统中禁用了用户账户控制(UAC)无法打开图像，启用 UAC 或选择其他默认程序，打开选择的图像文件格式。

- 目录



小心：严禁更改工作区子文件夹的名称。更改子文件夹名称，尤其是 **Images** 子文件夹会破坏与 ImageAnalyzer 的兼容性，因为图像与相应工作区文件不能有效关联。



注意：在指定用户定义路径时，始终确保 NETWORK SERVICE 账户具有全部权限或至少获得选择的文件夹的特殊许可。

Settings 组件经过优化，可以使用程序方块, 选项卡和按钮进行触控操作（请参见第 8.6 章 仪表板 和 SparkControl 手册中的相应章节）。

8.9 测定结果

导出设备按照 Office Open XML 文件格式(.xlsx)写入文件。

结果会自动保存，可在默认路径或用户定义的路径下找到。

默认路径：

SparkControl 版本 < 4.0： C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControl¥Workspaces

SparkControl 版本 ≥ 4.0： C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControlStore¥Workspaces

根据结果的表示设置（参见 SparkControl 手册中数据处理一章），结果可以在测定循环结束后在 Excel 中自动打开。

注意：数据导出运行（即软件关闭）或通过 **Onboard Start** 按钮启动方法时，如果没有出现 Method Editor 或 Dashboard，则选项 **Existing workbook** 将会被忽略，并会按照选项 **New workbook** 进行处理。

注意：在采用集成 Spark-Stack 执行堆栈运行时，目标设置将被忽略。系统会为每次堆栈运行在单独的工作表创建一个新的工作簿，每个工作表中含有对应微孔板的测定数据。

注意：在指定用户定义路径时，始终确保 NETWORK SERVICE 帐户具有全部权限或至少获得选择的文件夹的特殊许可。

9 化学发光

注意：化学发光经常用作一个涵盖性术语，适用于所有非热式发光，例如荧光, 磷光, 生物和化学发光灯。

但是，Tecan 仅将**化学发光**这一术语仅用于表示没有激发源的发光类型。

9.1 测定技术

SPARK 设备可以使用下述测定技术：

- 辉光型化学发光
- 闪光型化学发光
- 多色化学发光
- 化学发光扫描

标准化学发光模块允许集中测量化学发光信号，不区分发光波长。标准化学发光模块可以用于所有类型的微孔板，孔数不超过 384 个。

增强型化学发光模块可以执行所有可用的多色应用以及快速和高灵敏度化学发光扫描。此外，可以不区分波长测定化学发光信号，还可以像标准化学发光模块一样减弱强信号。增强型化学发光模块可以用于设备支持的所有类型的微孔板。

软件提供三种独立的条，可以定义测定参数：

- 化学发光
- 多色化学发光
- 化学发光扫描

条的可用性取决于所连接设备的配置。

具体内容，请参阅参考指南。

小心：请在打开设备 15 分钟后进行相关的化学发光测定，以确保达到稳定的测定条件。

注意：化学发光信号使用衰减滤光片 OD1, OD2 和 OD3 测定，并分别以 10, 100 和 1000 为系数进行自动校正。

注意：在使用带通滤光片时，会自动显示中心波长，其中的带宽从对应的滤光片设置中得出。

注意：化学发光扫描以化学发光滤波片组合的离散中心波长执行。波长范围由第一个和最后一个中心波长决定，分别代表扫描的起点和终点。所有其他测定点自动从范围设置中得出。

注意：化学发光测定的波长和步长是固定的，用户无法更改。

注意：如果由于测定信号过高，导致化学发光测定结果中有一个或多个孔的数值溢出，化学发光检测器需要一定时间返回到均衡的基准计数水平。

9.2 化学发光规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

9.2.1 总体规格

参数	标准化学发光模块	增强型化学发光模块
波长范围	370-700 nm	370-700 nm
化学发光扫描的波长范围	不适用	390-660 nm
波长区分和多色化学发光	不适用	通过滤光片设置
积分时间/孔	10 - 60000 ms	10 - 60000 ms
衰减	1 OD, 2 OD	1 OD, 2 OD, 3 OD
动态范围	10^7-10^9	10^7-10^{10}

9.2.2 性能规格

辉光型化学发光检测限值（标准和增强型模块）

微孔板类型/注入量	参数	标准
96 孔微孔板，白色，200 µl	积分时间/孔：1000 ms	ATP: < 50 pM (< 10 fmol/孔)
384 孔微孔板，白色，100 µl	积分时间/孔：1000 ms	ATP: < 10 pM (< 1 fmol/孔)
1536 孔微孔板，白色，10 µl	积分时间/孔：1000 ms	ATP: < 1 nM (< 10 fmol/孔)

闪光型化学发光检测限值（标准和增强型模块）

微孔板类型/注入量	参数	标准
96 孔微孔板，白色，200 µl	积分时间/孔：10000 ms	ATP: < 0.4 pM (< 80 amol/孔)
384 孔微孔板，白色，100 µl	积分时间/孔：10000 ms	ATP: < 0.8 pM (< 80 amol/孔)

9.3 化学发光模块质量控制

9.3.1 定期质量对照试验

根据使用情况和应用，我们建议定期由 Tecan 工厂对设备进行评估。

下述章节中所述的测试不能代替生产厂家或授权经销商的全面评估。但是，用户可以定期进行测试，以检查重要的设备性能。

加样误差和设备参数设置会对结果产生很大影响。因此，请认真按照说明操作。用户应根据设备的使用频率确定适当的测试间隔。



小心：在开始测定之前，确保微孔板插入正确。孔 A1 的位置应在左上侧。



警告：下面的说明将解释如何执行质量控制，以检查设备规格。如果这些对照试验的结果不符合本手册中给出的设备规格，请联系当地服务中心，寻求进一步建议。

9.3.2 ATP 384孔微孔板的检测限值

检测限值是指在规定的置信限度内，在数值上能够与空白溶液实现区分的最低样品物质的量。

在给微孔板加样前，先做好设备的测定准备工作，并在加样后立即开始测定。



小心：请在打开设备 15 分钟后进行相关的化学发光测定，以确保达到稳定的测定条件。

材料：

- ATP Kit SL (BioThema AB，件号：144-041)
- Greiner 384-孔微孔板，平底，白色
- 加样器+加样头

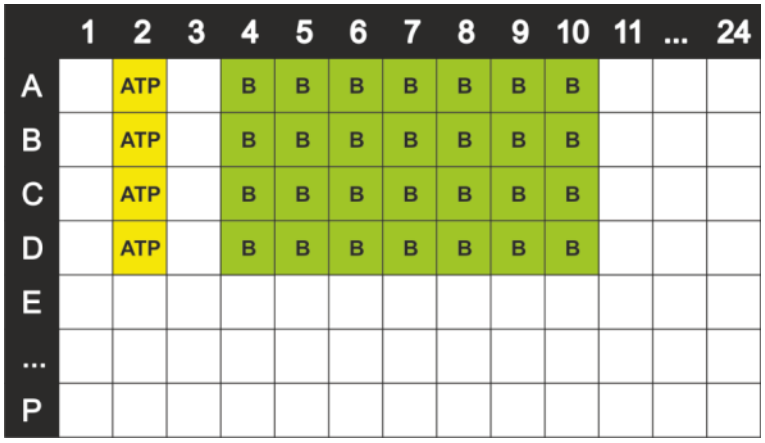
程序：

按照生产厂家的说明制备试剂。将 ATP 标准调节为 10^{-7} M。

滴定 100 µl 空白溶液到孔 A4 – D10 中。

滴定 20 µl ATP 标准溶液 10^{-7} M 到孔 A2 – D2 中，添加 80 µl ATP 试剂，并在孔中搅拌（**每个孔使用一个新加样头）；ATP 试剂不得被 ATP 标准溶液污染!**

板布局：



ATP: 100µl, 2*10-8 M ATP（孔中的最终浓度）
B: 100 µl 空白溶液

测定参数：

测定模式：	化学发光
积分时间：	1000 ms
微孔板定义文件：	GRE384fw

评估：

按照如下要求计算检测限值(DL)：

$$DL(fmol / well) = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * SD_B}{mean_{ATP} - mean_B} * 0.0001 * \frac{1}{1e^{-15}}$$

$2*10^{-8}$	ATP 标准溶液浓度[M]
SD_B	空白溶液标准偏差(B: A4 – D10)
$mean_{ATP}$	加注 ATP 标准溶液的孔的平均值
$mean_B$	添加空白溶液的孔的平均值(B: A4 – D10)
0.0001	转换为 mol/孔
$1/1e^{-15}$	转换为 fmol/孔

9.3.3 ATP 1536孔微孔板的检测限值

检测限值是指在规定的置信限度内，在数值上能够与空白溶液实现区分的最低样品物质的量。

在给微孔板加样前，先做好设备的测定准备工作，并在加样后立即开始测定。



小心：请在打开设备 15 分钟后进行相关的化学发光测定，以确保达到稳定的测定条件。

材料：

- ATP Kit SL (BioThema AB，件号：144-041)
- Greiner 1536-孔微孔板，平底，白色
- 加样器+加样头

程序：

按照生产厂家的说明制备试剂。将 ATP 标准调节为 10^{-7} M。

滴定 10 µl 空白溶液到孔 A4 – D10 中。

滴定 2 µl ATP 标准溶液 10^{-7} M 到孔 A2 – D2 中，添加 8 µl ATP 试剂，并在孔中搅拌（每个孔使用一个新加样头）；ATP 试剂不得被 ATP 标准溶液污染!

板布局：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	...	24
A		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
B		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
C		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
D		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
E													
...													
P													

ATP: 10 µl, 2*10-8 M ATP（孔中的最终浓度）
B: 10 µl 空白溶液

测定参数：

测定模式：	化学发光
积分时间：	1000 ms
微孔板定义文件：	GRE1536fw

评估：

按照如下要求计算检测限值(DL)：

$$DL(fmol/well) = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * SD_B}{mean_{ATP} - mean_B} * 0.00001 * \frac{1}{1e^{-15}}$$

$2*10^{-8}$	ATP 标准溶液浓度[M]
SD_B	空白溶液标准偏差(B: A4 – D10)
$mean_{ATP}$	加注 ATP 标准溶液的孔的平均值
$mean_B$	添加空白溶液的孔的平均值(B: A4 – D10)
0.0001	转换为 mol/孔
$1/1e^{-15}$	转换为 fmol/孔

10 Alpha 技术

10.1 基本原则

放大化学发光亲和均相检测(AlphaScreen 和 AlphaLISA)是基于微球的非放射性均相分析，灵敏度高，特别适合研究生物化学相互作用。受体微球和供体微球之间的相互作用会导致发光：在使用大功率光源照明时，供体微球中的光敏分子会产生大量的氧自由基。氧自由基迁移到受体微球，并触发级联反应，最终产生强烈的化学发光信号。

使用可以发出不同的波长的多个受体微球，可以检测一个孔(AlphaPlex)中的多种分析物。

10.2 Alpha 模式

Alpha 模式用于基于 Alpha 技术（AlphaScreen, AlphaLISA 和 AlphaPlex）的化验检测。Alpha 模块主要包括增强型化学发光模块和连接非接触式红外温度传感器的激光模块。

10.2.1 滤光片

可以提供基于应用的预定义 Alpha 滤光片。每个带通滤光片都是结合内置到增强型化学发光模块的滤光片轮内的长通和短通滤光片产生的。下表显示了预定义带通滤光片的波长特征：

Alpha 技术	滤光片选择	中心波长/带宽
AlphaScreen	长通滤光片：520 nm，短通滤光片：620 nm	570 nm/100 nm
AlphaLISA	长通滤光片：610 nm，短通滤光片：635 nm	622.5 nm/25 nm
AlphaPlex	长通滤光片：610 nm，短通滤光片：635 nm， 长通滤光片：535 nm，短通滤光片：560 nm	622.5 nm/25 nm 547.5 nm/25 nm

10.2.2 光学器件

基于 Alpha 的实验使用大功率激光器[1]作为激发光源。化学发光光纤[2]会引导光线通过滤光片轮[4]从样本到检测仪。长通和短通滤光片都安装在滤光片轮上。通过组合对应的滤光片可以得到专用的带通滤波片。光圈转轮[3]可以将光束直径调节到所使用的孔的尺寸。

Alpha 模块可以用于设备支持的所有类型的微孔板。

低光度也可以利用单光子计数检测装置[5]。

Alpha 模块结合红外温度传感器[6]，补偿每个微孔中的因为温度导致的信号差异。

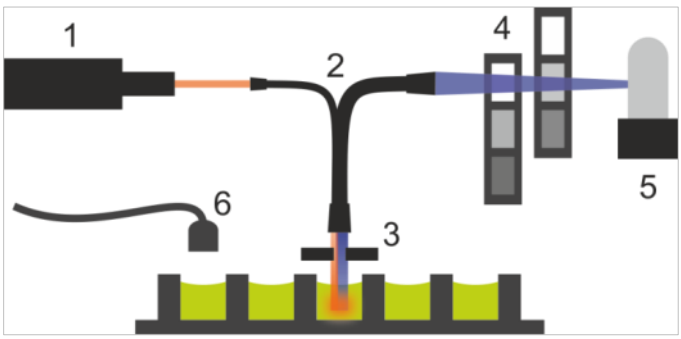
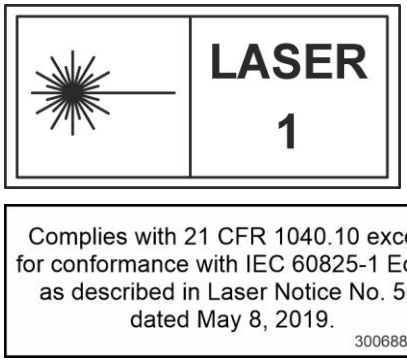


图 6: Alpha 模块中的光学系统：
[1]激光模块；[2]化学发光光纤；[3]光圈转轮；[4]滤光片轮；
[5] 检测装置；[6]红外温度传感器

10.2.3 激光

激光器模块使用大功率激光器(680 nm/750 mW)作为激发光源。SPARK 设备装备的 Alpha 模块是 LASER CLASS 1 产品。该仪器符合 FDA 辐射性能标准 21 CFR 1040.10，但符合 IEC 60825-1 Ed.3 的情况除外，详见 2019 年 5 月 8 日第 56 号激光通告。

设备背面贴有下述标签。





警告：设备内有 Class IV 激光发光产品，测定过程中，要关闭设备盖子。

10.2.4 检测



小心：请在打开设备 15 分钟后进行相关的测定，以确保达到稳定的测定条件。

化学发光和 Alpha 模块检测系统使用单光子计数测定技术。这项技术以适当的测定电路和专用化学发光检测装置为基础。这项技术具有很强的抗干扰能力，因此是在光强度非常低的情况下进行测定的首选方法。



小心：根据测定需要，使用 Alpha 技术技术时选择白色或灰色微孔板。不得使用黑色微孔板，也不得使用空的微孔板，以免因为激光放射导致损毁。

10.2.5 温度校正

基于 Alpha 的化验对温度非常敏感，为了补偿这一温度敏感的特性，Alpha 模块设有温度校正系统。

非接触式温度传感器可以测量孔内的温度，测得的计数率会自动按照 22.5 ° C 的温度进行标准化处理。温度和信号检测同时进行。由于温度传感器位置的原因，使用温度校正功能时，读取方向为从右到左(在 96 孔微孔板中为 A12 到 A1, B12 到 B1)。



注意：为了确保基于 Alpha 计数的化验可以得到最佳的性能，SPARK 应在控温的环境（温度范围为 20–25 ° C，变化不超过 ± 1 ° C）中进行。

10.3 定义 Alpha 测定

SparkControl 软件提供测定条：

- AlphaScreen
- AlphaLISA
- AlphaPlex
- 用户定义测定

Alpha 技术条仅限用于装备 Alpha 模块（包括增强型化学发光模块和激光器模块）的设备。选择条，以根据 Alpha 技术定义方法。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。

10.4 优化基于 Alpha 技术的测定

10.4.1 积分时间

由于信号集成过程中的不规则光子统计的原因，每孔的积分时间越长，得到的数值就越准确。虽然无法从技术角度减少光子噪声（散粒噪声），但是可以通过应用不同的积分时间，在预备测试实验中获得优化。



注意：相关的信（散粒）噪比可以通过延长每孔的集成时间来今天提升，延长积分时间也会相应提高整个微孔板的测定时间。

10.4.2 激发时间

激发时间决定激光器照射样本的时长。优化基于 Alpha 技术的化验的激发时间有助于最大程度上减少样本脱色，并改善信噪比。

10.4.3 深色遮光罩

装备有选装 Spark-Stack 微孔板堆栈模块的 SPARK 酶标仪可以配备一套深色遮光罩（微孔板盒前遮光罩和顶部遮光罩）。这些元件可以轻松插入，可以保护微孔板塔内装有光敏物质的微孔板，免受实验室内环境光线的影响。因此，我们建议使用深色遮光罩，从而在使用 Spark-Stack 微孔板堆栈模块进行测定时实现 Alpha 技术无人值守自动操作（请参阅第 15.1.2 章 敏感化验遮光/深色遮光罩）。

10.5 Alpha 规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

10.5.1 总体规格和性能规格

参数	规格
激发时间/孔	10 - 1000 ms
积分时间/孔	10 - 60000 ms
预定义滤光片	AlphaScreen, AlphaLISA, AlphaPlex
温度校正	可用
384 孔微孔板检测限值，低容量(Omnibeads)	< 12.5 ng/ml
384 孔微孔板的一致性，低容量(Omnibeads)	< 8 CV%

10.6 Alpha 模块质量控制

10.6.1 定期质量对照试验

根据使用情况和应用，我们建议定期由 Tecan 公司对设备进行评估。

下述章节中所述的测试不能代替生产厂家或授权经销商的全面评估。但是，用户可以定期进行测试，以检查重要的设备性能。

加样误差和设备参数设置会对结果产生很大影响。因此，请认真按照说明操作。用户应根据设备的使用频率确定适当的测试间隔。

我们建议根据实验室的主要应用调整这些测试和验收标准。理想情况下，这些测试必须使用实验室自备的微孔板，荧光团，缓冲溶液，容器和所有适当的设置（滤光片，闪光，延迟等）。



警告：在开始测定之前，确保微孔板位置 A1 插入正确。孔 A1 的位置应在左上侧。



警告：如果这些对照试验的结果不符合设备官方规格中给出的设备规格，请联系当地服务中心，寻求进一步建议。

10.6.2 AlphaScreen Omnibeads 384孔微孔板的检测限值

检测限值是指在规定的置信限度内，在数值上能够与空白溶液进行区分的最低样品物质的量。

在给微孔板加样前，先做好设备的测定准备工作，并在加样后立即开始测定。



小心：检测限值是指在规定的置信限度内，在数值上能够与空白溶液进行区分的最低样品物质的量。

材料：

- AlphaScreen Omnibeads
- Greiner 384-孔微孔板，平底，白色
- 磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)
- 加样器+加样头

程序：

向 1497 µl PBS 中加入 3 µl 原液(5 mg/ml)，将 Omnibeads 原液与 PBS 的比例稀释到 1:500，得到 10 µg/ml 溶液。从上一个稀释步骤得到的溶液取 750 µl，滴定到 750 µl PBS 中，按照步骤 1:2 继续制备 12 份稀释溶液。每个稀释步骤中使用一个新的加样头。

从稀释的溶液中各取 100 µl，按照板布局滴定到微孔板上的 5 个孔中。
将 100 µl PBS 滴定到空白溶液孔中。



小心：每种浓度溶液要分别使用新加样头，注意保证 Omnibeads 稀释液不会被空白溶液污染！

板布局：

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	...	24
A		10.00 µg/ml											
B		5.00 µg/ml											
C		2.50 µg/ml											
D		1.25 µg/ml											
E		0.62 µg/ml											
F		0.31 µg/ml											
G		0.15 µg/ml											
H		0.08 µg/ml											
I		0.04 µg/ml											
J		0.02 µg/ml											
K		0.01 µg/ml											
L		0.005 µg/ml											
M		0.0025 µg/ml											
N		PBS											
O													
P													

每种 Omnibeads 浓度的溶液各 100 µl（分别滴入 5 个孔中）
100 µl PBS = 空白溶液

测定参数：

测定模式：	AlphaScreen
激发时间：	100 ms
积分时间：	300 ms
温度校正：	已激活
微孔板定义文件：	GRE384fw

评估：

针对每种浓度的 Omnibeads 溶液计算平均偏差和标准偏差。执行空白削减，方法为：从每种浓度的 Omnibeads 溶液的平均信号中减去空白溶液孔中的平均信号。

在 XY 散布图中，按照最终 Omnibeads 浓度绘制平均空白溶液校正值。添加一个线性趋势的线，截距点设置为 0，使用空白溶液的三倍标准偏差作为 y，求解趋势线公式(y=kx)。

$$x = \frac{y}{k}$$

y = 3*空白溶液的标准偏差

使用空白溶液的三倍标准偏差作为 y，外推检测限值[ng/ml]。

10.6.3 AlphaScreen Omnibeads 384孔微孔板的一致性

一致性表示测定多孔微孔板时，不同的孔之间的差异。一致性以偏离平均值的百分比计算。

在给微孔板加样前，先做好设备的测定准备工作，并在加样后立即开始测定。



小心：请在打开设备 15 分钟后进行相关的测定，以确保达到稳定的测定条件。

材料：

- AlphaScreen Omnibeads
- Greiner 384-孔微孔板，平底，白色
- 磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)
- 加样器+加样头

程序：

向 5997 µl PBS 中加入 3 µl 原液(5 mg/ml)，将 Omnibeads 原液与 PBS 以 1：2000 进行稀释，得到 2.5ug/ml 溶液。

从稀释的 Omnibeads 溶液中各取 100 µl，按照板布局滴定到微孔板上的孔中。

板布局：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
B																								
C	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
D																								
E	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
F																								
G	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
H																								
I	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
J																								
K	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
L																								
M	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
N																								
O	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
P																								

O: 100 µl/孔 Omnibeads 稀释溶液(2.5 µg/ml)

测定参数：

测定模式：	AlphaScreen
激发时间：	100 ms
积分时间：	300 ms
温度校正：	已激活
微孔板定义文件：	GRE384fw

评估：

按照如下方式计算一致性：

$$\text{Uniformity} \quad (\text{CV}\%) = \frac{\text{SD}_{\text{O}} * 100}{\text{mean}_{\text{O}}}$$

SD_O	注入了 2.5 µg/ml Omnibeads 溶液的孔的标准偏差
$mean_O$	注入了 2.5 µg/ml Omnibeads 溶液的孔的平均值

11 吸光度

11.1 吸光度测定技术

11.1.1 吸光度

吸光度信号可以测定通过样本发射的单色光的衰减情况。

11.1.2 吸光度扫描

吸光度扫描可以测定选定的波长范围内待测化合物的吸光度表现。

11.2 比色杯模块

基于比色杯的应用可以在波长 200 到 1000 nm 中执行。比色杯模块的光路与吸光度标准模块的光路相似。光纤束将光束从单色仪引导到吸光度光学器件，并由该光学器件将光束聚焦到比色杯上。光电二极管可以检测到发射的光束。

11.2.1 比色杯光学器件

吸光度比色杯模块包括闪光灯, 单色仪, 吸光度光纤和光电二极管（图）。

氙气闪光灯[1]（光源）产生的光通过排序滤光片[2]，在聚光反射镜的作用下，聚焦到光栅单色仪[3]入口狭缝上。可以通过移动光栅来选择测定波长，并聚焦到单色仪的出口狭缝上。光从狭缝进入吸光度光纤[4]，引导光线照射到比色杯[5]内的样本。部分光线会反射到参考光电二极管。测定光电二极管[6]会探测到透射光线。吸光度比色杯光束的光斑直径的焦点约为 1 mm。

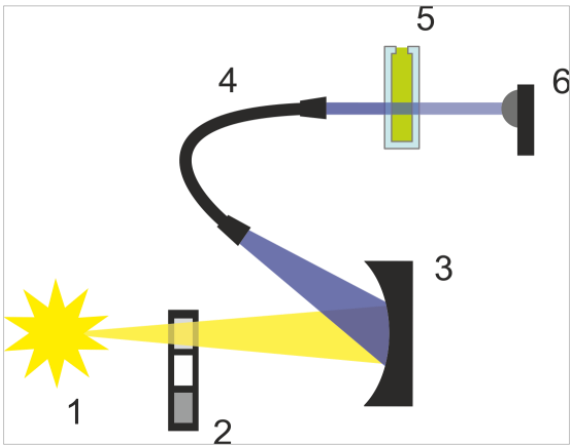


图 7: 吸光度比色杯模块的光学系统
氙气闪光灯[1]（光源）, 排序滤光片[2], 光栅[3], 吸光度光纤[4], 比色杯[5], 测定光电二极管[6]

检测

硅光电二极管用于测定透射光线，其在很大的波长范围内具有出色的灵敏度，光电二极管非常适合进行 4OD 以下的吸光度检测。

11.3 测定设备

11.3.1 微孔板

通常，在吸光度测定中会用到透光或紫外线透光微孔板。当 OD 值较高时，建议采用底部透明的黑色微孔板。通常情况下，为了获得准确的值，不建议进行超过 OD3 的测定，尤其是在使用 1536 孔微孔板时。稀释测定样本溶液可以得到更准确的数据。



小心：在紫外线波长范围内，应使用兼容紫外线的微孔板进行吸光度测定。



注意：在少量(2 µl)核酸吸光度测定中，使用 Tecan 的 NanoQuant 微孔板。使用这一设备可以一次测定 16 个不同的样本。



注意：为了获得更准确的测定数据，避免使用 OD 值大于 3 的样品。

11.3.2 比色杯载架

使用 Tecan 比色杯载架，可以一次测定四个比色杯。关于如何选择适当的比色杯尺寸，请参考下表。在使用比色杯载架时，比色杯需要水平插入；比色杯要密闭，以免发生漏液。此外，比色杯需要加注到最大加注体积，以防止在测定窗口形成气泡。

比色杯载架用于使用符合下述尺寸（表）的比色杯进行测定：

尺寸	参数
绝对高度（包括盖子）	35 - 55 mm
足迹尺寸（外部尺寸）	12.5 x 12.5 mm
光路	10 mm*

* 如果使用具有不同光路的比色杯，则定结果需要进行相应校正。



小心：使用比色杯载架进行测定时，始终要将比色杯加注到最大加注体积，以防止在测定窗口形成气泡。闭紧比色杯，以免漏液。

11.3.3 比色杯端口

除了使用微孔板测定外，还可以使用在插入到设备试管端口中的比色杯中测定吸光度。比色杯端口用于使用符合下述尺寸（表）的比色杯进行测定：

尺寸	参数
绝对高度（包括盖子）	35 - 55 mm
足迹尺寸（外部尺寸）	12.5 x 12.5 mm
光路	10 mm*
中间高度	15 mm
测定窗口	> 2 x 2 mm

* 如果使用具有不同光路的比色杯，则定结果需要进行相应校正。



小心：使用要使用有效的加注体积。确保比色杯中的液位要超过 20 mm（高度）。液位过低会导致测定结果错误。



小心：比色杯端口有一个 2 x 2 mm 的测定窗口，中间高度为 15 mm。



小心：比色杯需要插入到比色杯架中，比色杯的测定窗口才能与比色杯架的测定窗口对准。为了保证可以正确插入，请按照比色杯端口上的箭头操作。



小心：不使用时，要正确关闭比色杯端口。污染可能会导致测量结果错误。



小心：在开始比色杯测定前确保试管正确插入到比色杯端口。不对准可能会导致测量结果错误。



注意：要达到最高速度，吸光度扫描只使用一次闪光。预计速度可以成比例增长，步进尺寸为 4 nm。如果定义的步进尺寸较大，则提高测定速度不再与选择的步进尺寸成比例。更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



注意：提高每个孔的闪光次数，直到空白溶液孔的噪音不再提高，或直到每个孔的测定次数达到不可接受的水平。



注意：要获得准确的测定数据，孔数在 1 和 96 之间的微孔板应留有一定的稳定时间。

11.4 定义吸光度测定

SparkControl 软件提供两个独立的测定条：

- 吸光度
- 吸光度扫描

条的可用性取决于所连接设备的配置。

路径长度校正：

路径长度校正可以用于将测定的微孔板中的样本吸光度值校正到 1 cm 路径长度，以将测定结果与比色杯的读数进行对比或基于其消光系数对样本进行定量分析。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



注意：水的吸收量取决于温度。请确保测定工作在完全相同的温度下进行。



注意：吸光度在 900 和 1000 nm 之间的分析成分会干扰路径长度校正。



注意：请注意缓冲溶液（盐水溶液）、有机溶液、弯液面和微孔板特征都会影响路径长度校正测定。



小心：浑浊样本会产生光散射，从而会导致路径长度估算值出现错误。使用比色杯进行路径长度校正不能抵消这种效应。



注意：请确保手动校正系数与选择的水溶液样本的测试和参考波长一致，而且是采用对应的缓冲溶液样本确定的。

11.5 NanoQuant 应用

Tecan 提供现成的 NanoQuant 应用，可以用于：

- 核酸量化测定
- 核酸标记检测
- 定量蛋白质

使用该应用程序时，核酸、蛋白质和染料含量的计算以及纯度检查都是自动进行的。

详情请参阅 SparkControl 手册中的 NanoQuant 章节。

11.6 吸光度规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

11.6.1 总体规格

参数	规格
波长范围	200 - 1000 nm，以 1 nm 步进
波长准确度	≤ 0.8 nm
波长再现性	≤ 0.5 nm
带宽固定波长	3.5 nm
测量范围	0 - 4 OD

11.6.2 微孔板的性能规格

微孔板类型/注入量	参数	规格	标准
96 孔微孔板，透明，200 µl	闪光次数/孔：25	准确度 0–0.8 OD	+/- 0.008 OD
96 孔微孔板，透明，200 µl	闪光次数/孔：25	准确度 0.8-2.5 OD	< +/- 1.0%
96 孔微孔板，透明，200 µl	闪光次数/孔：25	准确度 2.5-3.0 OD	< +/- 1.5%
96 孔微孔板，透明，200 µl	闪光次数/孔：25	准确度 0–1.2 OD	< +/- 0.006 OD
96 孔微孔板，透明，200 µl	闪光次数/孔：25	准确度 1.2-3.0 OD	< +/- 0.5%
96 孔微孔板，紫外线透光，200 µl	闪光次数/孔：25	线性度 0–3 OD（260 nm）	R2 > 0.999
96 孔微孔板，透明，200 µl	闪光次数/孔：25	一致性（1 OD 条件下）	< 3 %

11.6.3 测定时间

参数	测定时间
96 孔一次闪光的测定时间	< 14 秒
384 孔一次闪光的测定时间	< 30 秒
快速扫描(200-1000 nm, 1 nm 步进)	< 5 秒

快速读取时间仅包括一次闪光，微孔板向内和向外运动的时间不包括在测定时间内。

11.6.4 使用比色杯时（比色杯端口）的性能规格

比色杯类型	参数	规格	标准
石英比色杯，光路 1 cm	闪光次数：25 波长：260 nm	检测限值(DNA)	< 0.2 ng/µl dsDNA
石英比色杯，光路 1 cm	闪光次数：25 波长：280 nm	检测限值(蛋白质：BSA, IgG, 溶解酵素)	< 0.1 mg/ml
石英比色杯，光路 1 cm	闪光次数：1	快速扫描(200-1000 nm, 1 nm 步进)	< 5 秒

11.7 吸光度模块质量控制

11.7.1 定期质量对照试验

根据使用情况和应用，我们建议定期由 Tecan 公司对设备进行评估。

下述章节中所述的测试不能代替生产厂家或授权经销商的全面评估。但是，用户可以定期进行测试，以检查重要的设备性能。

加样误差和设备参数设置会对结果产生很大影响。因此，请认真按照说明操作。用户应根据设备的使用频率确定适当的测试间隔。



小心：在开始测定之前，确保微孔板插入正确。孔 A1 的位置应在左上侧。



警告：如果这些对照试验的结果不符合本手册中给出的设备规格，请联系当地服务中心，寻求进一步建议。

11.7.2 96孔微孔板一致性

一致性表示测定多孔微孔板时，不同的孔之间的差异。一致性以偏离平均值的百分比计算。

材料：

- 橙黄 G [60 mg/l]，用蒸馏水稀释(Sigma-Aldrich, O3756)
- Greiner 96-孔微孔板，平底，透明
- 加样器+加样头

程序：

按照板布局，将 200µl 试剂滴定到 Greiner 96-孔微孔板（平底，透明）中。

板布局：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
B												
C	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
D												
E	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
F												
G	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
H												

OG: 橙黄 G [60 mg/l]

测定参数：

测定模式：	吸光度
测定波长：	492 nm
闪光次数：	25
稳定时间：	300 ms
微孔板定义文件：	GRE96ft

评估：

按照如下方式计算一致性(CV %)：

$$\text{Uniformity} \quad (\text{CV}\%) = \frac{SD_{OG} * 100}{\text{mean}_{OG}}$$

SD_{OG}	注入了 OG 溶液的孔的标准偏差
mean_{ATP}	注入了 OG 溶液的孔的平均值

11.7.3 NanoQuant微孔板质量控制

材料：

- Tris-EDTA 缓冲液(BioThema, no. 21-103)
- Tecan NanoQuant 微孔板
- 加样器+加样头

程序：

将 2 µl 试剂滴定到 NanoQuant 微孔板的所有位置。

测定参数：

启动 NanoQuant 应用，并对所有孔（16 个位置）执行平均空白削减程序。

评估：

如果 OD 260 条件下平均空白削减结果在 10 % (CV)范围内，则表示测试通过。如果超出这一范围，没有通过测试的孔将突出显示，表示这些孔由于棉绒, 指纹等原因污染。

12 荧光

12.1 荧光强度模块

荧光模块采用 Fusion 光学系统。 激发和发射的波长选择可以通过单色仪或滤光片选件来执行。单色仪和滤光片模式可以针对激发和发射独立组合，因此可以最大程度上提高检测系统的灵活性和信号输出。此外，荧光信号可以采用底读和顶读。

12.1.1 荧光底读模块选件

SPARK 可以装备标准荧光模块或增强型荧光模块。总体而言，增强型模块比标准模块的灵敏度更高。

标准荧光底读模块可以装备 VIS-或 UV-VIS 光纤。增强型荧光底读模块默认装备 UV-VIS 光纤。

关于标准荧光模块和增强型荧光模块之间的其他差异，请参阅参考指南中的荧光顶读模块一章。

12.2 测定设备

12.2.1 滤光片

滤光片（带通滤光片）安装在滤光片架内。荧光滤光片的光谱透射和带宽经过优化，以达到理想的灵敏度。

如果使用的滤光片并非随滤光片架提供的原装滤光片，请联系 Tecan。

12.2.2 滤光片架

有两个独立的滤光片架，一个用于激发，一个用于发射。在荧光测定中，用户可以使用这两个滤光片架操作六对独立的滤光片。插入的滤光片的信息保存在每个滤光片架内的微芯片上。



小心：滤光片有两种。需要保证光沿正确的方向通过滤光片。在插入新滤光片前，认真考虑滤光片的方向和通过滤光片架的光的方向。

对于一侧有箭头的滤光片，光的入射方向必须与箭头一致。



对于没有箭头的滤光片，盖子的一端应背朝光源：

滤光片有两个末端，一端有盖子，另外一端没有盖子。

有盖子的一端	没有盖子的一端
	

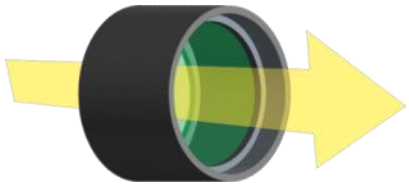
光通过滤光片的方向：


图 8: 光从没有盖子的一端射向有盖子的一端

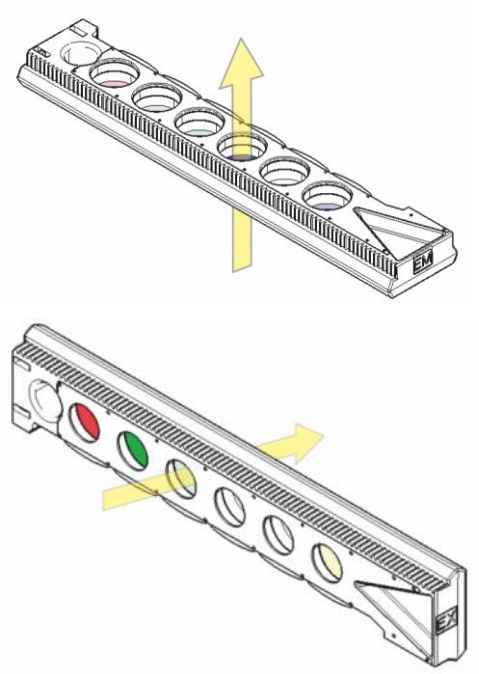


图 9: 光通过滤光片架的方向

12.2.3 滤光片的安装和拆卸

安装和拆卸激发和发射滤光片架上的滤光片时不需要任何特殊工具。

安装滤光片时，只需要按下靠近滤光片槽的按钮，插入滤光片，释放按钮，将滤光片固定到槽内即可。检查滤光片是否牢固定位到滤光片槽的底部。

注意：确保滤光片的插入方向正确。

小心：滤光片属于精密光学组件，应通过边缘进行操作，避免刮伤，或在抽屉中，朝下存放。滤光片安装到滤光片架内后，保护效果较好，但是在操作和储存时应多加小心。

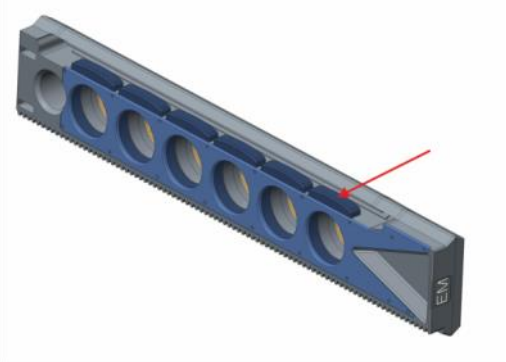


图 10: 拆卸滤光片时，推动靠近对应的滤光片槽的按钮，翻转滤光片架，滤光片将从槽中滑出

12.2.4 插入滤光片架

要插入滤光片架，用手打开活板门。为了便于区分激发和发射滤光片，滤光片架上贴有不同的标签。按照指示轻轻将滤光片架移动到对应的槽（计数片侧优先）内，继续推动，直到驱动机制使其自动收缩。

小心：当驱动机制开始使滤光片架收缩时，不要继续将滤光片架向设备内推。

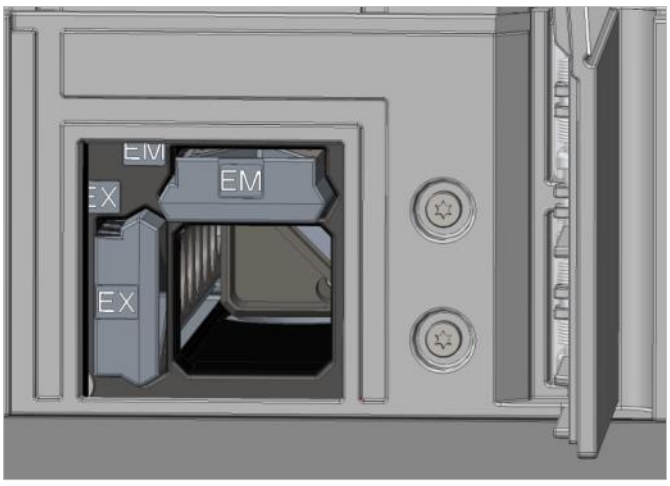


图 11: 插入滤光片架

通过软件或使用设备正面的机身控制按钮弹出滤光片架(参阅 12.7 章 荧光规格)。

12.2.5 定义滤光片

小心：对滤光片架内的滤光片做出的任何更改都必须由经过培训的专业人员执行！设备可以识别预定义的滤光片架，请不要尝试更改滤光片参数值。

但是，如果已经更改滤光片架内滤光片或要使用未定义的新滤光片架，则需要重新定义滤光片架。

自定义滤光片可以通过 Dashboard 或 Method Editor 中的 **Filter Definition 窗口**进行定义。

具体内容，请参阅参考指南。

注意：除了定义的特殊字符（包括空白, ?, $, %, ., /）外，还允许使用字母数字和拉丁字符。

小心：在更换滤光片前，建议手动记录最近的闪光次数。否则，信息会丢失。

12.2.6 镜架

所有荧光顶读测定中要使用镜子来将激发光反射到样本上。如果是标准荧光顶读模块，则镜架配备两种不同的镜子，如果是增强型荧光顶读模块，则可以有 5 个镜子位置（1 个自定义二分镜选件）。

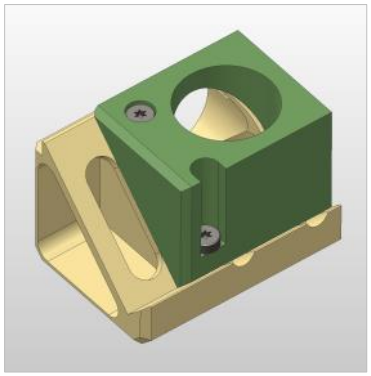
对于不同镜子的性能特征以及在标准或增强型模块中的可用性，请参阅下表：50%镜子可以用于荧光测定，与选择的波长无关。

镜子	**反射(激发)**	**透射（发射）**	**可用性**
50%镜子	230-900 nm	230-900 nm	标准和增强型 FI 顶读模块
510 二分镜 (例如荧光素, HTRF)	320 490 nm	515-750 nm	标准和增强型 FI 顶读模块
560 二分镜 (例如 Cy3)	510-545 nm	575-620 nm	增强型 FI 顶读模块
625 二分镜 (例如 Cy5)	565-610 nm	640-700 nm	增强型 FI 顶读模块
自定义二分镜 410	360-395 nm	425-470 nm	增强型 FI 顶读模块
自定义二分镜 430	380-415 nm	445-490 nm	增强型 FI 顶读模块
自定义二分镜 458	350-450 nm	470-900 nm	增强型 FI 顶读模块
自定义二分镜 593	350-585 nm	605-900 nm	增强型 FI 顶读模块
自定义二分镜 660	350-650 nm	670-900 nm	增强型 FI 顶读模块
定制二向色镜（点阵分光镜） 分光比：50% ± 5%	250-900 nm	250-900 nm	增强型上置荧光模块

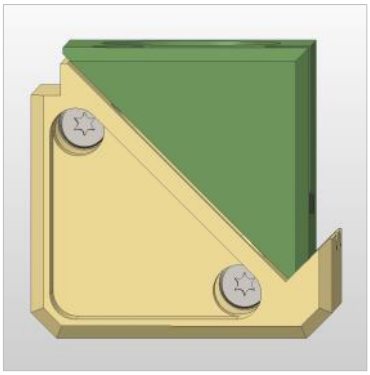
注意：二分镜需要与选择的荧光激发和发射波长匹配。

12.2.7 安装自定义二分镜

如果需要，还可以使用自定义型二分镜延伸镜架。自定义二分镜在分包装中单独交付，使用前，需要安装并定义。



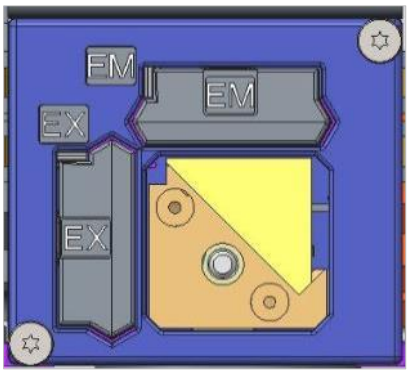
倾斜视图



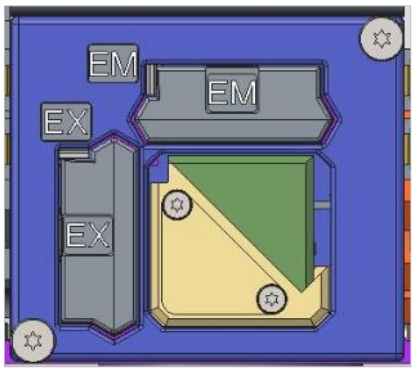
正面视图

安装自定义二分镜时，应遵守下述说明：

1. 从 Dashboard 或 Method Editor 中打开 Mirror Definition 窗口，并选择 **Mirror Out**。镜架会移动到加载位置。
2. 要安装自定义二分镜，用手打开活板门。按照下图所示，将自定义二分镜滑入到镜架中。安装固定螺钉，并小心拧紧。



安装位置



已安装的自定义二分镜



小心：拧紧镜架时，扭力不宜过大，以免造成损坏。

3. 小心释放活板门，并单击 **Mirror In**。镜架移动回设备中。
4. 此时可以开始定义自定义二分镜(请参阅 12.2.8 章 定义自定义二分镜)。

12.2.8 定义自定义二分镜

小心：如果要使用新的二分镜，需要在软件中进行定义。

自定义二分镜可以通过 Dashboard 或 Method Editor 中的 Mirror Definition 窗口进行定义。

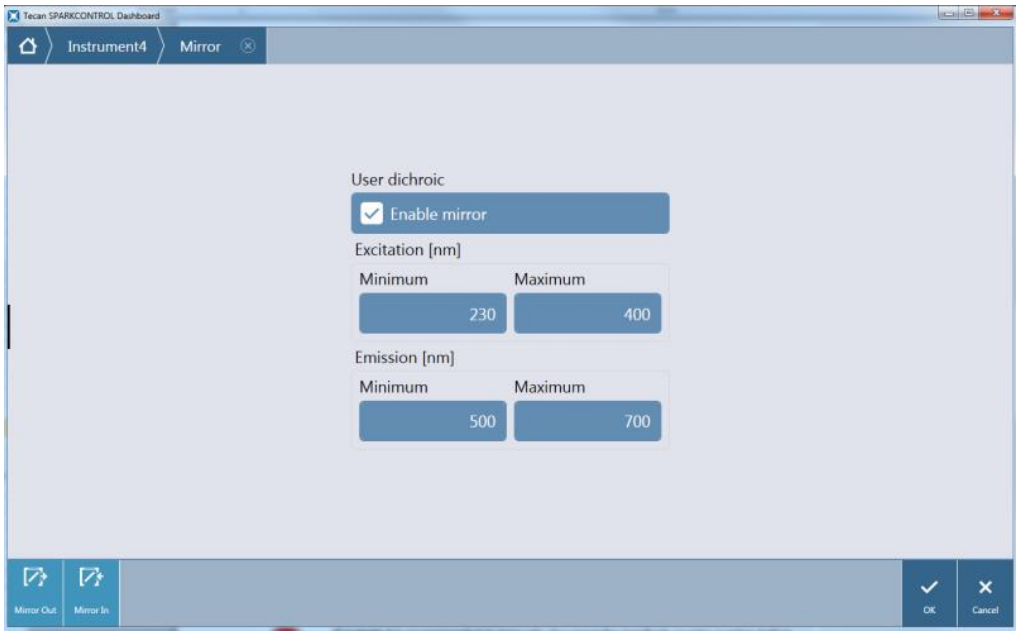


图 12: Mirror Definition 窗口

选择 **Enable mirror**，定义 **Excitation** 和 **Emission** 范围，方法是：在 **Minimum** 和 **Maximum** 中，填入二分镜激发和发射范围所对应的起始波长, 终止波长。

12.3 定义荧光测定

软件提供三种独立的条，可以定义测定参数：

- 荧光强度条
- 时间分辨荧光强度条
- 荧光强度扫描条

条的可用性取决于所连接设备的配置。

详见 SparkControl 手册。

注意：Tecan 提供各种市售荧光团，具有相应的吸收和发射光谱。荧光团不显示激发和发射的推荐波长组合。每个相应的荧光团的激发和发射波长需要由用户定义。

注意：尽管延迟时间是一项可选功能，但是积分时间是决定信号记录时长的必备参数。标准荧光强度测定的默认延迟时间为 0 μs，默认积分时间为 40 μs。时间分辨荧光测定通常需要一定的延迟时间，积分时间要更长，取决于具体应用。

12.4 荧光偏振模块

荧光偏振模块采用 Fusion 光学系统。激发和发射的波长选择可以通过单色仪或滤光片选件来执行。单色仪和滤光片模式可以针对激发和发射端独立组合，因此可以最大程度上提高检测系统的灵活性和信号输出。偏振选项只能用于顶读。

具体内容，请参阅参考指南。

注意：使用一个以上的孔，注入参考溶液和参考空白溶液，并计算平均值，这样得到的 G 系数校准结果将会更加准确。

注意：建议使用游离荧光团或具有低偏振值的荧光团进行 G 系数校准。

注意：Tecan 提供各种市售荧光团，仅具有相应的吸收和发射光谱。荧光团不显示激发和发射的推荐波长组合。每个相应的荧光团的激发和发射波长需要由用户定义。
具体内容，请参阅参考指南。

12.5 优化荧光和荧光偏振测定

详见 SparkControl 手册。

注意：如果测定的孔出现 **OVER**（超值），则可以手动降低增益值或选择自动增益选项（最佳增益, 孔增益）。

注意：提高每个孔的闪光次数，直到空白溶液孔的噪音不再提高，或直到每个孔的测定次数达到不可接受的水平。

扫描Z位置

注意：使用 **Max. S/B Ratio** 选项时，首先以最佳增益测定样本孔。相同的增益值会以空白溶液孔应用到第二次测定中。因此，信号和空白溶液曲线具有直接的可比性。

12.6 Inject and Read（注入和读取）

Inject and Read（注入和读取）测量模式旨在支持需要同时注入和荧光底部读取的应用，例如使用钙敏感非比率染料（如 Fluo-4）测量细胞内 Ca^{2+} 浓度。

有关详细说明，请参阅 SparkControl 手册。

注意：注入和读取测量模式与 Spark Cyto 不兼容，因此不能与细胞成像模块结合使用。

注意：Tecan 提供各种市售荧光团，仅具有相应的吸收和发射光谱。荧光团不显示激发和发射的推荐波长组合。每个相应的荧光团的激发和发射波长需要由用户定义。

注意：注入和读取条仅支持使用非比率荧光染料的工作流程。

注意：为了帮助快速荧光强度底部读取，闪光次数设置为 1，用户无法更改。此外，不支持每孔多次读取。

注意：每次注射前都会执行注射器的重新填充。

注意：注入和读取测量可以包含总共 1000 个测量点，即每孔的数据点。数据点的数量取决于为持续时间和间隔时间定义的值。如果超过 1000 点的值，请增加间隔时间和/或减少持续时间。

注意：根据 SPARK 的荧光底部模块，最小**间隔时间**值分别为 10 毫秒（增强荧光）和 20 毫秒（标准荧光）。

注意：如果任何感兴趣的孔被分配为 OVER（溢出），请降低增益。

12.7 荧光规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

12.7.1 荧光强度总体规格（标准模块和增强型模块）

如果没有特殊规定，规格适用于标准模块以及增强型模块。

荧光强度顶读：

参数	单色仪	滤光片
波长范围	激发：230 – 900 nm 发射： 280 – 900 nm 可选，以 1 nm 步进	激发：230 – 900 nm 发射： 230 – 900 nm
标准模块带宽	20 nm	取决于所使用的滤光片
增强型模块带宽	5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	取决于所使用的滤光片

荧光强度底读（单色仪和滤光片选项）：

参数	标准 **VIS** 底读光纤	**UV-VIS** 增强型底读光纤
波长范围	**单色仪和滤光片：** 390 – 900 nm 可选，以 1 nm 步进（仅单色仪）	**单色仪：** 激发：230 – 900 nm 发射： 280 – 900 nm 可选，以 1 nm 步进 **滤光片：** 激发：230 – 900 nm 发射： 230 – 900 nm
标准模块带宽 -单色仪	20 nm	
增强型模块带宽-单色仪	5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	
标准和增强型模块带宽 – 滤光片	取决于所使用的滤光片	

注意：UV-VIS 增强型底读光纤比标准 VIS 底读光纤的灵敏度更高。使用标准 VIS 光纤在低于 400 nm 的情况下进行化验可能会导致灵敏度降低。

增益选项

增益设置	值
手动	1 – 255
最佳	自动
从孔计算	自动
扩大的动态测定范围	自动
使用增益调节	自动

TRF参数

参数	规格
积分时间	20 µs – 2000 µs
延迟时间	0 µs – 2 ms

荧光强度性能规格:

标准荧光强度顶读模块性能规格

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
单色仪	96 孔微孔板，黑色，200 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 20 pM (1 nM 荧光素)
单色仪	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 20 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	96 孔微孔板，黑色，200 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 10 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 10 pM (1 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	96 孔微孔板，黑色，200 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 3 CV% (25 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 5 CV% (25 nM 荧光素)

增强型荧光强度顶读模块性能规格

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
单色仪	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 3 pM (1 nM 荧光素)
单色仪	1536 孔微孔板，黑色，10 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 10 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 2 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	1536 孔微孔板，黑色，10 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 7 pM (1 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 3 CV% (25 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	1536 孔微孔板，黑色，10 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 5 CV% (100 nM 荧光素)

标准荧光强度底读模块性能规格

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
单色仪	96 孔微孔板，黑色，底部透明，350 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 45 pM (1 nM 荧光素)
单色仪	384 孔微孔板，黑色，底部透明，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 45 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	96 孔微孔板，黑色，底部透明，350 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 35 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	384 孔微孔板，黑色，底部透明，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 35 pM (1 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	96 孔微孔板，黑色，底部透明，200 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 3 CV% (25 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	384 孔微孔板，黑色，底部透明，100 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 5 CV% (25 nM 荧光素)

增强型荧光强度底读模块性能规格

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
单色仪	96 孔微孔板，黑色，底部透明，350 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 30 pM (1 nM 荧光素)
单色仪	384 孔微孔板，黑色，底部透明，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 30 pM (1 nM 荧光素)
单色仪	1536 孔微孔板，黑色，底部透明，10 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 40 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	96 孔微孔板，黑色，底部透明，350 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 15 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	384 孔微孔板，黑色，底部透明，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 17 pM (1 nM 荧光素)
滤光片	1536 孔微孔板，黑色，底部透明，10 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 40 pM (1 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	384 孔微孔板，黑色，底部透明，100 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 3 CV% (25 nM 荧光素)
单色仪和滤光片	1536 孔微孔板，黑色，底部透明，10 µl	闪光次数/孔：30	一致性：< 5 CV% (100 nM 荧光素)

时间分辨荧光(TRF)标准模块性能规格

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
单色仪	96 孔微孔板，白色，200 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 5 pM (1 nM 铕)
单色仪	384 孔微孔板，白色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 5 pM (1 nM 铕)
滤光片	96 孔微孔板，白色，200 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 150 fM (1 nM 铕)
滤光片	384 孔微孔板，白色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 150 fM (1 nM 铕)

增强型时间分辨荧光(TRF)模块性能规格

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
单色仪	96 孔微孔板，白色，200 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 750 fM (1 nM 铕)
单色仪	384 孔微孔板，白色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 750 fM (1 nM 铕)
单色仪	1536 孔微孔板，白色，10 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 900 fM (1 nM 铕)
滤光片	96 孔微孔板，白色，200 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 75 fM (0.1 nM 铕)
滤光片	384 孔微孔板，白色，100 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 75 fM (0.1 nM 铕)
滤光片	1536 孔微孔板，白色，10 µl	闪光次数/孔：30	检测限值：< 100 fM (0.1 nM 铕)

12.7.2 荧光偏振总体规格（标准模块和增强型模块）

如果没有特殊规定，规格适用于**标准**模块以及**增强型**模块。

参数	>390 nm 光纤	>300 nm 偏振光纤
波长范围	**单色仪和滤光片：** 400 - 850 nm 可选， 以 1 nm 步进（仅单色仪）	**单色仪和滤光片：** 300 - 850 nm 可选， 以 1 nm 步进（仅单色仪）
标准偏振模块带宽 - 单色仪	20 nm	
增强型偏振模块带宽 - 单色仪	5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	
标准和增强型偏振模块带宽 - 滤光片	取决于所使用的滤光片	

12.7.3 荧光偏振性能规格

荧光偏振标准模块性能规格（>300 nm 和>390 nm）

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
滤光片	96 孔微孔板，黑色，200 µl	闪光次数/孔：30	精度：< 5 mP (1 nM 荧光素)
滤光片	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	精度：< 5 mP (1 nM 荧光素)

增强型荧光偏振模块性能规格（>300 nm 和>390 nm）

模块	微孔板类型/注入量	参数	标准
滤光片	96 孔微孔板，黑色，200 µl	闪光次数/孔：30	精度：< 3 mP (1 nM 荧光素)
滤光片	384 孔微孔板，黑色，100 µl	闪光次数/孔：30	精度：< 3 mP (1 nM 荧光素)
滤光片	1536 孔微孔板，黑色，10 µl	闪光次数/孔：30	精度：< 5 mP (1 nM 荧光素)

最短测定时间

最短测定时间仅包括一次闪光，同时设置为手动增益和手动 Z 位置。微孔板向内和向外运动的时间不包括在测定时间内。

标准模块

测定技术	测定时间	
微孔板类型	**96 孔**	**384 孔**
荧光强度顶读滤光片	≤ 13 秒	≤ 30 秒
荧光强度顶读单色仪	≤ 14 秒	≤ 32 秒
荧光强度底读单色仪	≤ 21 秒	≤ 35 秒

增强型模块

测定技术	测定时间		
微孔板类型	**96 孔**	**384 孔**	**1536 孔**
荧光强度顶读滤光片	≤ 13 秒	≤ 22 秒	≤ 34 秒
荧光强度顶读单色仪	≤ 14 秒	≤ 23 秒	≤ 36 秒
荧光强度底读单色仪	≤ 19 秒	≤ 24 秒	≤ 42 秒

12.8 荧光模块质量控制

12.8.1 定期质量对照试验

根据使用情况和应用，我们建议定期由 Tecan 公司对设备进行评估。

参考指南中所述的测试不能代替生产厂家或授权经销商的全面评估。但是，用户可以定期进行测试，以检查重要的设备性能。

加样误差和设备参数设置会对结果产生很大影响。因此，请认真按照说明操作。用户应根据设备的使用频率确定适当的测试间隔。

下面两章介绍 96 孔微孔板顶读/底读测定的检测限值和一致性。其他类型的微孔板的检测限值和一致性，请参阅参考指南。



小心：在开始测定之前，确保微孔板插入正确。孔 A1 的位置应在左上侧。



警告：关于不同类型微孔板的检测限值和一致性的具体说明，请参阅参考指南。这些说明将解释如何执行质量控制，以检查设备规格。如果这些对照试验的结果不符合本手册中给出的设备规格，请联系当地服务中心，寻求进一步建议。

12.8.2 96孔微孔板的顶读/底读检测限值

检测限值是指在规定的置信限度内可以区分空白溶液的物质的最低数量。

在给微孔板加样前，先做好设备的测定准备工作，并在加样后立即开始测定。

材料：

- 荧光素，1 nM in 10 mM NaOH（荧光素钠盐，Sigma）
- 10 mM NaOH =空白溶液(NaOH 球)
- Greiner 96-孔微孔板，平底，黑色（用于顶读）
- Greiner 96-孔微孔板，透明平底，黑色（用于底读）
- 加样器+加样头

程序：

按照板布局，将 1 nM 荧光素溶液或空白溶液(10 mM NaOH)滴定到相应的孔中，其中顶读测定的溶液量为 200 µl，底读测定的溶液量为 350 µl。

板布局：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
C	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
D	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
E	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
F	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
G	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B
H	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B

F: 200/350 µl 1 nM 荧光素
B: 200/350 µl 空白溶液(10 mM NaOH)

测定参数：

	单色仪	滤光片
测定模式	荧光顶读/底读	荧光顶读/底读
激发	485 nm	485 nm
激发带宽	20 nm	20 nm
发射	535 nm	535 nm
发射带宽	20 nm	25 nm
闪光次数：	30	30
增益	最佳	最佳
镜子	510 二分镜	510 二分镜
Z 位置	通过 A1 计算	通过 A1 计算
微孔板定义文件	GRE96fb	GRE96fb

评估：

按照如下要求计算检测限值(DL)：

$$DL(pM) = \frac{(3 * SD_B * 1000)}{(mean_F - mean_B)}$$

SD_B	加注空白溶液(10 mM NaOH)的孔的标准偏差
1000	荧光素浓度（单位为 pM）
$mean_F$	加注 1 nM 荧光素的孔的平均值
$mean_B$	加注空白溶液(10 mM NaOH)的孔的平均值

12.8.3 96孔微孔板顶读/底读的一致性

一致性表示测定多孔微孔板时，不同的孔之间的差异。一致性以偏离平均值的百分比计算。

在给微孔板加样前，先做好设备的测定准备工作，并在加样后立即开始测定。

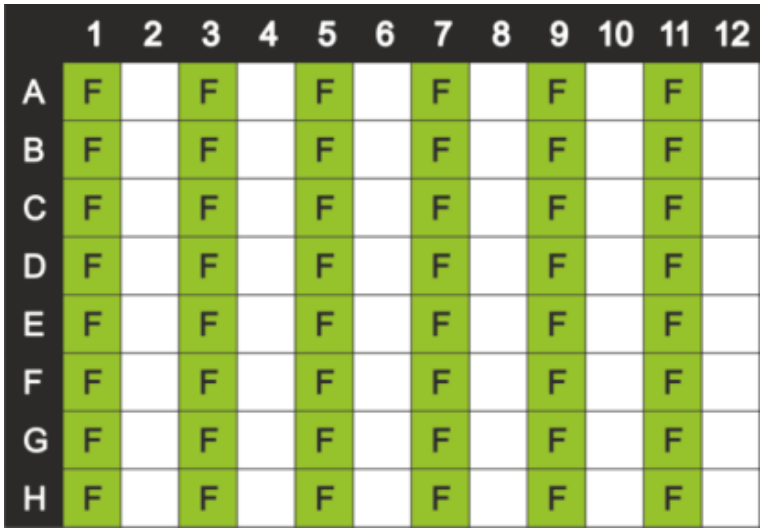
材料：

- 荧光素，25 nM in 10 mM NaOH（荧光素钠盐，Sigma）
- Greiner 96-孔微孔板，平底，黑色（用于顶读）
- Greiner 96-孔微孔板，透明平底，黑色（用于底读）
- 加样器+加样头

程序：

按照板布局，将 200 µl 荧光素溶液滴定到相应的孔中。

板布局：



F: 200 µl 荧光素溶液

测定参数：

	单色仪	滤光片
测定模式	荧光顶读/底读	荧光顶读/底读
激发	485 nm	485 nm
激发带宽	20 nm	20 nm
发射	535 nm	535 nm
发射带宽	20 nm	25 nm
闪光次数：	30	30
增益	最佳	最佳
镜子	510 二分镜	510 二分镜
Z 位置	通过 A1 计算	通过 A1 计算
微孔板定义文件	GRE96fb	GRE96fb

评估：

按照如下方式计算一致性：

$$\text{Uniformity } (CV\%) = \frac{SD_F * 100}{mean_F}$$

SD_F	加注 25 nM 荧光素的孔的标准偏差
$mean_F$	加注 25 nM 荧光素的孔的平均值

13 细胞模块

13.1 测定技术

13.1.1 细胞计数/细胞活性

Tecan 提供两款可以进行细胞计数和测定一次性细胞计数片中的细胞活性的应用。这两种应用方案可用于细胞培养效果的质量评估。

13.1.2 细胞汇合度

细胞汇合度表示粘附细胞覆盖的表面尺寸。细胞汇合度以测量面积的百分比表示。汇合度测定可以在细胞培养微孔板中执行，微孔板的孔数在 6 到 96 之间。

13.2 明场成像

细胞模块包括一个照明模块和一个摄像头模块。位于样品顶部的照明模块将样品照亮，通过位于样品底部的摄像模块进行图像采集。

具体内容，请参阅参考指南。

13.3 测定设备

13.3.1 细胞计数片

Tecan 提供相应的一次性细胞计数片，每片计数片包括两个样本室。每个样本室的加注量为 10 µl，可以使用适当的标准加样器进行加注。为了达到最佳性能，避免在加注过程中样本室形成气泡。



小心：只有使用 Tecan 细胞计数片进行细胞计数和细胞活性分析才能保证达到恰当的性能。在加注细胞计数片的样本室时，要避免形成气泡。



小心：使用细胞计数片前，检查计数片的有效期。如果超过有效期，则无法保证最佳性能。

13.3.2 细胞计数片载架

Tecan 的细胞计数片载架可以固定四片细胞计数片。细胞计数片设计了切角，以防止插入错误，从而避免数据采集错误。滤光片必须正确插入，载架才能正确关闭。盖子会在磁性机制的作用下自动固定。载架上的样本位置标记(例如 A1, A2)对应在软件中的位置。在开始测定之前，确保细胞计数片载架插入正确。开口必须在正面，样本室 A1 必须在左上侧。

载架可以使用 70 % 乙醇进行清洁。



注意：选购 SPARK 细胞检测模组（细胞计数 + 成像选配模块）时，设备标配 1 套细胞芯片适配器及 15 片细胞芯片。



小心：在开始测定之前，确保细胞计数片载架插入正确。开口必须在正面，样本室 A1 必须在左上侧。

13.3.3 细胞计数片载架的维护和清洁

细胞计数片载架可以按照下述程序进行清洁：

1. 戴上保护性手套, 护目镜并穿上防护服。
2. 清空细胞计数片，小心地取出安装在载架盖子内部的弹簧（具体信息，请参阅参考指南）。
3. 用在 70 %乙醇中浸泡过的无绒纸巾小心擦拭载架和弹簧的所有外表面。
4. 等待载架和弹簧干燥。
5. 使用载架前，重新安装弹簧。



小心：不要使用没有安装弹簧的细胞计数片载架。可能会出现测定错误。

13.4 定义细胞计数和汇合度测定

SparkControl 软件提供两个独立的测定条：

- 细胞计数
- 细胞汇合度

条的可用性取决于所连接设备的配置。

详见 SparkControl 手册。

自动细胞汇合度测定针对 96 孔组织培养微孔板进行了优化。根据某些微孔板的特征，空白溶液（即没有细胞的孔）中的细胞汇合度可能会导致汇合度信号大于 10%。这些孔的汇合度值取决于孔底部的成分。我们建议首选的组织培养微孔板和细胞类型组合的结果进行单独评估。



注意：汇合度值会在左上角的分析图像上显示。≤ 10%和≥ 90%的数值示为红色；其他数值显示为黄色。红色的数值可能不兼容线性增长曲线或使用其他方法采集的数据。



小心：针对没有细胞的孔的汇合度测定得出的汇合度值可能会> 10%。运营机构在执行系统验证时，需要负责考虑空白溶液孔中的汇合度信号。

13.5 细胞计数应用

Tecan 提供两种现成的细胞计数应用，可以用于：

- 细胞计数
- 细胞活性

使用这些应用时，细胞浓度, 细胞尺寸和细胞活性值的计算会自动完成。

13.6 优化细胞计数测定

13.6.1 增加图像数量

通常，细胞计数和细胞活性测定需要的体积非常小。细胞浓度低于 $1x10^5$ 细胞/ml 时，每张图像上的计数对象的数量较小，细胞通常会呈现不规则分布状态。为了提高计数速率以及细胞/ml 的绝对值，每个样本可以取一张以上的图像，并使用细胞计数和细胞活性应用进行分析。选择的数量为每个样本 4 张和 8 张图像。

13.7 优化细胞汇合度测定

13.7.1 使用Well Border Detection（孔边缘检测）

汇合度检测要求板传送器准确移动和定位。为了补偿微孔板尺寸变化，在软件中激活 Well Border Detection 功能。这一选项可以对粘附细胞到孔边缘进行准确的汇合度分析。如果不使用 Well Border Detection 功能，孔边缘的视场的对比度变化将会考虑到数据分析中，会导致汇合度数值错误。



小心：应注意使用 Well Border Detection 功能进行测定时，所花费的时间会延长。

13.7.2 Live Viewer

Live Viewer 可以从 Method Editor 的设备菜单中的细胞汇合度和细胞计数条中启动，也可以通过 Dashboard 中的 Check-and-Go 窗口启动，以在开始测定前检查自动聚焦设置。

此外，**Live Viewer** 还可以作为一个独立的应用，对微孔板中的细胞培养进行快速质量检查。

详见 SparkControl 手册。



小心：始终按照 Live Viewer 应用中的方法定义和微孔板形式选择使用微孔板；否则图像采集可能会出错。



注意：用于应用自动聚焦值的 **Apply** 按钮只在连接到方法定义/执行的 Live Viewer 中可用，而不是在 Live Viewer 应用中。



注意：如果 Check-and-Go/Live Viewer 屏幕中的聚焦补偿发生变化，这一新数值将仅应用到当前的测定循环，不会覆盖原始的方法定义。

13.8 细胞模块规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

13.8.1 总体规格

照明	LED
图像	明场
物镜	4 x
光学分辨率	> 3 µm
面积/图像	2.2 mm^2

13.8.2 细胞计数/活性规格

一次性	细胞计数片（Tecan 品牌）
细胞计数片	每个细胞计数片有 2 个样本室
细胞计数片载架	每个载架 4 个细胞计数片
每个样本多张图像	1, 4, 8
细胞尺寸	4-90 µm
细胞浓度	$1x10^4$-$1x10^7$ 细胞/ml
可再现性	< 10% (1 Σ)，HeLa 和 CHO 细胞系
准确度	± 10%,条件为 $1x10^6$ 细胞/ml，HeLa 和 CHO 细胞系

13.8.3 测定时间

微孔板向内和向外运动以及初始化阶段的时间不包括在测定时间内。

测定技术	测定时间
细胞计数/活性检测	< 30 秒/样本
汇合度，96 孔，整孔成像	< 45 分钟

13.9 细胞计数模块质量控制

13.9.1 定期质量对照试验

根据使用情况和应用，我们建议定期由 Tecan 工厂对设备进行评估。

下一章中所述的测试不能代替生产厂家或授权经销商的全面评估。但是，用户可以定期进行测试，以检查重要的设备性能。

加样误差和设备参数设置会对结果产生很大影响。因此，请认真按照说明操作。用户应根据设备的使用频率确定适当的测试间隔。



小心：在开始测定之前，确保 Tecan 细胞计数片载架插入正确。样本室 A1 的位置应在左上侧。



警告：下面的说明将解释如何执行质量控制，以检查设备规格。如果这些对照试验的结果不符合本手册中给出的设备规格，请联系当地服务中心，寻求进一步建议。

13.9.2 细胞计数准确度

准确度是指系统对接近真实值的反应能力。准确度以偏离真实值的百分比计算。

材料：

- 细胞悬液，约为 $1x10^6$ 细胞/ml
- Tecan 细胞计数片
- Tecan 细胞计数片载架
- 人工计数的细胞计数室（Neubauer 计数室）
- 加样器和加样头(10 µl)

程序：

将细胞悬液的浓度调节到约为 $1x10^6$ 细胞/ml。使用 Neubauer 计数室等设备进行人工细胞悬液计数。将 10 µl 细胞悬液滴定到 Tecan 细胞计数片的计数室（计数室 A 和 B）中，并将细胞计数片安装到载架上（位置 1）。启动细胞计数应用。

测定参数：

测定	细胞计数应用
位置	A1, B1（定义为副本）
细胞尺寸	取决于细胞系
图片	4

评估：

计算人工计数和自动计数得到的细胞浓度(细胞/ml)之间的差异，并计算精度，具体操作如下：

$$\text{Accuracy}\,(\%) = \frac{concentration_{manual} - concentration_{automated}}{(\text{concentration}_{\text{manual}}/100)}$$

准确度数据使用 HeLa 和 CHO 细胞系进行采集。细胞系的特征不同可能会导致数据准确度不一致。

14 荧光成像（细胞成像仪）

14.1 明场成像

细胞成像仪提供增强型明场照明系统，可以在一次采集的图像中捕获 96-孔微孔板的所有孔。

非标记细胞具有极低的光密度，基本上不可见，因此很难使用明场成像对非标记细胞进行检测。细胞成像仪提供数字相位成像，可以获得很高的对比度、细节表现力，并能进一步优化锐度。如果方法请求明场图像，则会自动生成相位图像，并且软件会计算数字相位对比度。此外，基于像散的新激光自动聚焦检测可以在更短的时间内提供更佳的效果。位于样品顶部的照明模块将样品照亮，通过位于样品底部的摄像模块进行图像采集。

14.1.1 光学系统

明场照明系统包括一个发光二极管(LED) (1)和两个镜头(2)。通过获取无限大图像，同时执行高动态范围成像，以补偿曲面效应，从而获得均匀照明。样品平面通过连接到旋转物镜转轮(3)的 2 倍、4 倍或 10 倍显微镜物镜进行横向，并通过镜筒透镜(4)进一步引导到摄像头(5)。

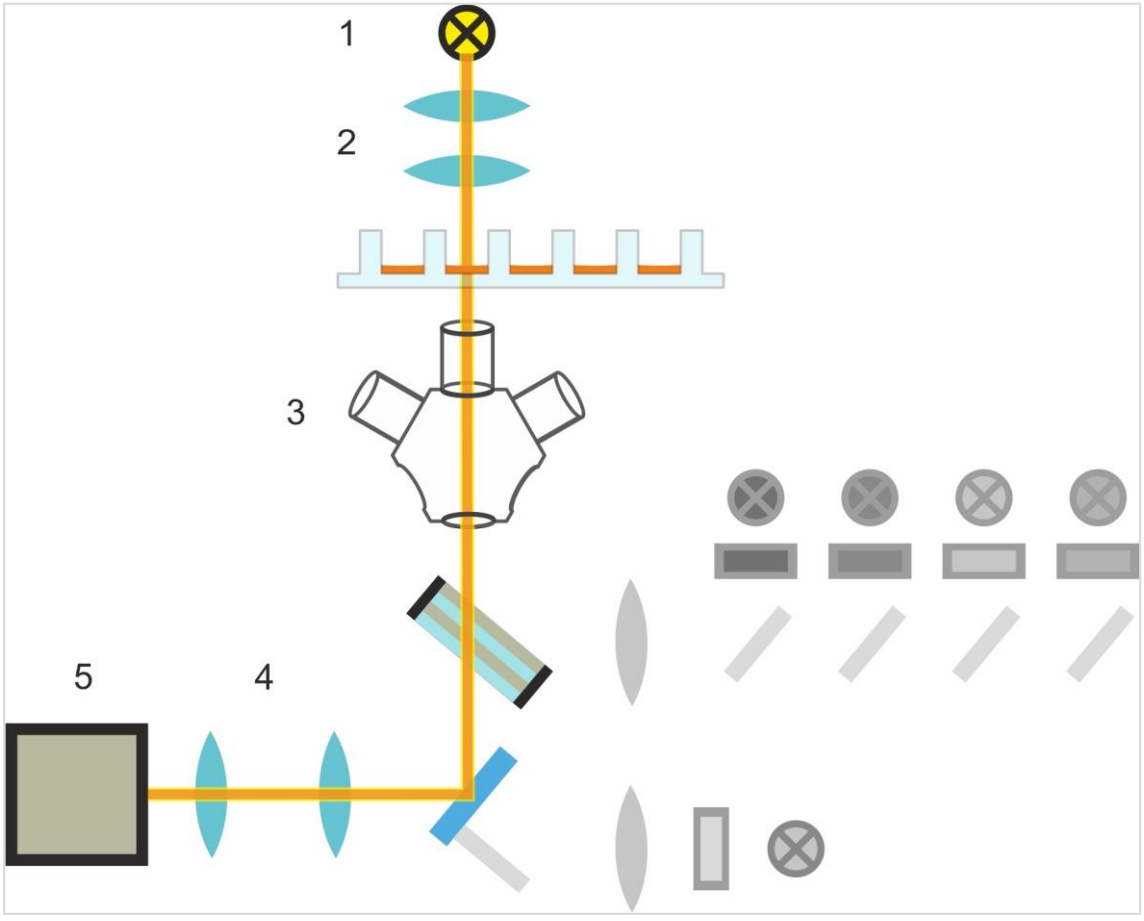


图 13: 明场成像系统示意图

14.1.2 检测

基于像散的改进型自动聚焦程序（自动聚焦系统示意图，参见下图）可以可靠、稳定、快速地对微孔板内的目标进行检测。

LED (1)会发光，光线会被引导到物镜(2)，并成像到样品(3)上。样品接口位置的部分反射自动聚焦光由相同的物镜进行成像，接着通过多波段双色向滤光片(4)，进一步通过镜筒透镜(5)传播到摄像头(6)。每次测定时，都会沿光轴执行一次扫描，以确定最理想的位置。

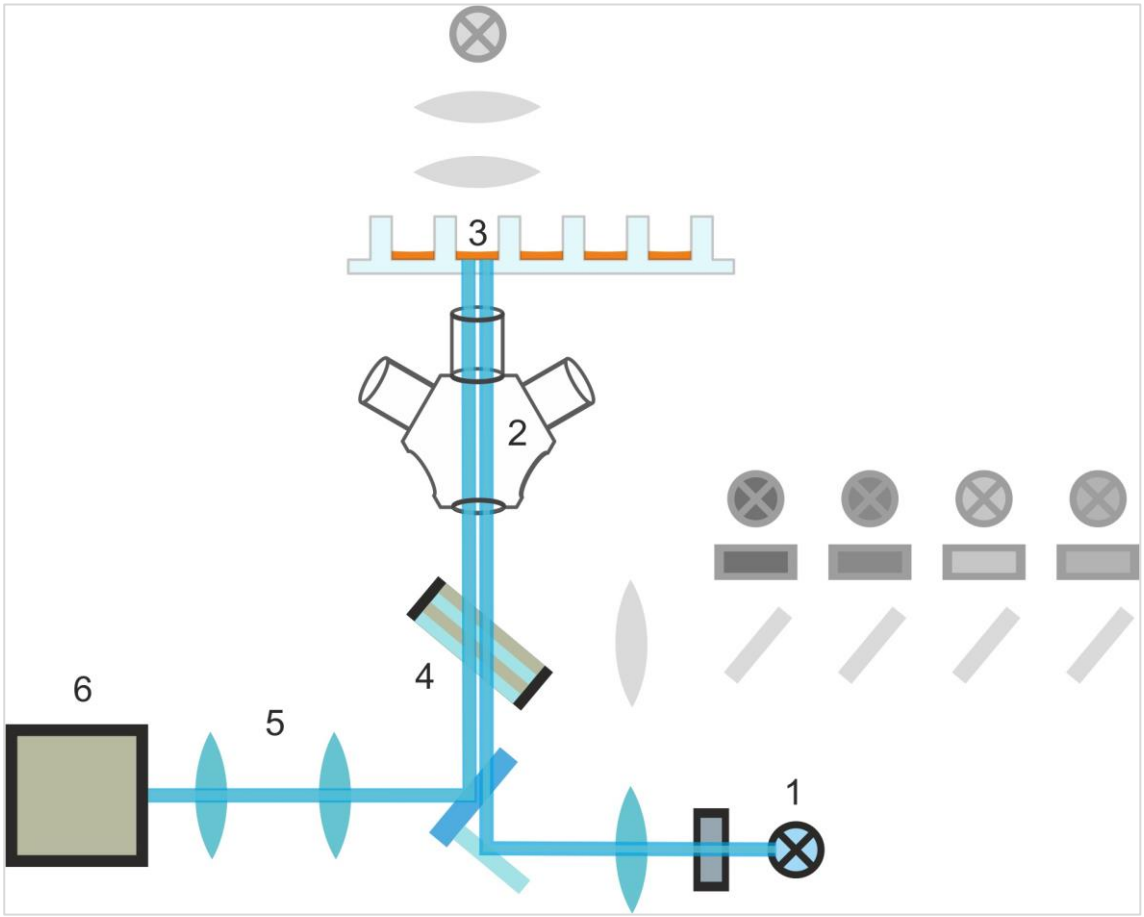


图 14: 自动聚焦系统示意图

14.1.3 明场更像应用

详见参考指南。

注意：粗糙度系数可以提供更多关于孔内细胞纹理的信息。用户可以自行解读粗糙度系数的变化。

14.2 荧光成像

荧光模块使用四个颜色通道，对应最常用的染色剂分类 DAPI/Hoechst、FITC、TIRTC 和 Cy5。

凭借细胞成像仪模块的创新型硬件架构，可以对样品进行分析，并且可以通过使用基于像散的自动聚焦系统、相同的物镜和相同的摄像头获得荧光和明场图像。但是，相对于明场模块，荧光样品可以从底部进行照明和检测。

14.2.1 荧光通道及其激发和发射曲线

可以在 SparkControl 中选择四个不同的 LED 和对应的激发滤光片。

下表提供了关于荧光模块提供的激发和发射波长的信息：

通道	λ_{ex}	λ_{em}
蓝色	381 - 400 nm	414 - 450 nm
绿色	461 - 487 nm	500 - 530 nm
红色	543 - 566 nm	580 - 611 nm
远红外	626 - 644 nm	661 - 800 nm

曝光时间和自动聚焦补偿可以利用 SparkControl 的显微镜模式 Live Viewer 进行优化。

14.2.2 图像采集

如果以适当的波长进行激发，样品(1)会发出荧光信号，荧光信号会通过多波段双色向滤光片(2)，进一步通过镜筒透镜(3)传播到摄像头(4)。

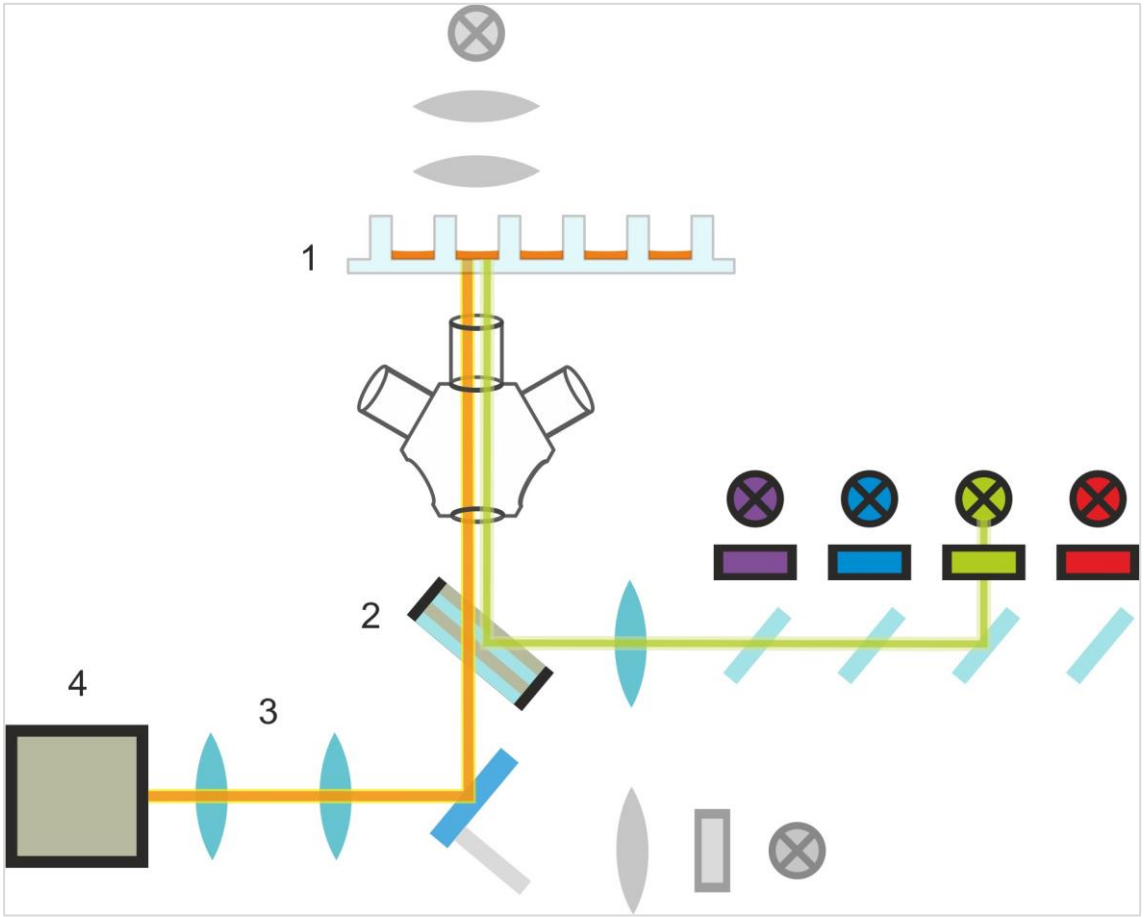


图 15: 荧光照明系统示意图

14.3 细胞成像仪规格

14.3.1 概述

摄像头	索尼 IMX264 CMOS 芯片、2456 x 2054 像素(=500 万像素), 像素尺寸 3.45 µm
照明	明场 LED, 用于荧光成像的四组(LED + 激发滤光片)不同激发和发射波长
图像	宽场明场数字相衬和宽场荧光
支持的微孔板形式	6、12、24、48、96 和 384 孔微孔板

14.3.2 物镜

下表汇总了各种可选奥林巴斯物镜的光学属性：

物镜	**2x**	**4x**	**10x**
数值孔径	0.08	0.13	0.30
像素分辨率	3.45 µm	1.72 µm	0.69 µm
光学分辨率	4.50 µm	2.77 µm	1.20 µm
视场	8.47 mm x 7.09 mm	4.24 mm x 3.54 mm	1.69 mm x 1.42 mm

14.3.3 全波段滤光片组

Semrock 全波段滤光片组包括全波段双色向滤光片(FF409/493/573/652-Di01)和特定的发射滤光片组(FF01-432/515/595/730-25)，非常适合搭配 Hoechst、FITC、GFP、TRITC 和 Cy5 使用。

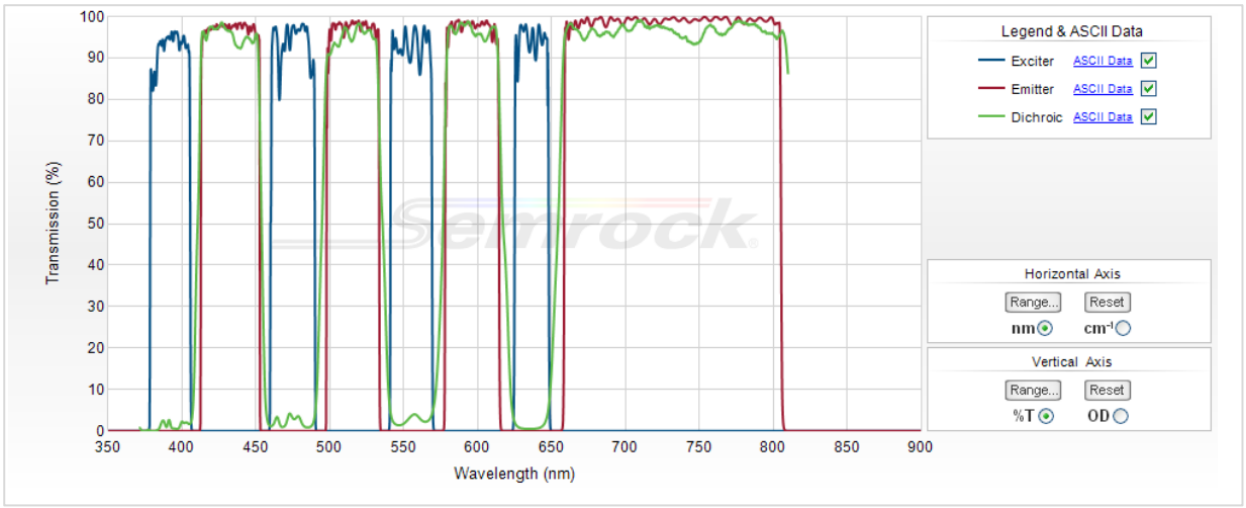


图 16: 全波段滤光片组的透射曲线，内置 T 图像
（图片来源：Semrock 网站 www.semrock.com）

14.3.4 测定时间

图像采集	指定测定时间
96 孔、全孔明场和数字相位成像、2 倍物镜	≤ 12 分钟
96 孔、中心、明场、数字相位和单荧光通道、10 倍物镜、默认曝光时间	≤ 15 分钟
标准应用的图像采集和分析	**指定测定时间**
汇合度、96 孔、全孔、2 倍物镜、样品在 60-80%汇合度范围内	≤ 20 分钟（包括分析）
核子计数、384 孔、全孔、4 倍物镜、样品在 60-80%汇合度范围内、优化采集和分析设置	≤ 45 分钟（包括分析）
细胞活性、24 孔、中心、10 倍物镜、样品在 60-80%汇合度范围内、优化采集和分析设置	≤ 10 分钟（包括分析）

14.4 标准应用

细胞成像仪支持基于成像的细胞仪领域的多种应用。更多信息，请参阅参考指南。有关定义图像分析的详情，请参阅分析插件说明。

注意：为了避免盖子起雾和影响测定结果，使用 SPARK 的温度控制功能，将微孔板的环境温度调节到预测定调节。

注意：给出的荧光染色剂工作浓度仅供参考，用户必须根据不同的细胞系进行优化。

注意：对于每种应用，为了保证处理的细胞可以产生理想的荧光信号，建议的浸渍时间为 30 分钟。此外，浸渍时间必须根据具体的细胞系进行优化。

注意：确保在黑暗环境中处理样品，因为荧光染色剂可能会发生光漂白。

注意：如果将 2 倍物镜结合 96 孔微孔板的汇合度应用中使用，建议的加注量 ≥ 200 µl，否则曲面可能会导致环形伪影。

注意：对于全孔汇合度分析，建议将补偿值增加到 150 µm。

注意：如果将 2 倍物镜与明视野图像中的细胞计数结合使用，可能会观察到孔边界区域的细胞检测减少，原因是该区域的细胞能见度降低。详见参考指南。

注意：未染色细胞对比度低是明视野细胞计数的主要障碍之一。使用专用成像板可获得更好的结果。

注意：实验条件，如培养基（成分、体积/孔）、自动对焦偏移值、板底伪影可能会影响明视野图像，从而影响细胞分割。为获得最佳效果，请使用最佳的实验和采集设置。

14.5 定义明场和荧光成像测定

对于配备了细胞成像仪模块的一起，SparkControl 软件提供单个检测条，可以用于基于明场和/或荧光成像进行检测。

检测条的可用性取决于所连接仪器的配置。更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



小心：避免同时使用 SparkControl 和 ImageAnalyzer，以确保 SparkControl 软件的最高性能。



小心：在荧光成像测定过程中，不要断开或重新连接任何 USB 设备（例如 U 盘、外部固态硬盘等）。



小心：必须要有正确的微孔板定义文件才能确保明场和荧光成像测定的质量。一定要使用与微孔板板条中选择的微孔板定义文件匹配的微孔板。如果成像微孔板并非随仪器提供的 Plate Definition Files (.pdfx)的一部分，请使用 Plate Geometry Editor 定义用户定义的 pdfx 文件或联系 Tecan。



注意：细胞成像模块不支持基于明场照明的细胞计数片中的细胞计数和细胞活性。



注意：边界盒是孔内的矩形区域，其中最多可以手动选择 25 个成像位置。选择范围可以根据选择的位置动态变化。要选择突出显示的选择范围以外的位置，必须首先取消选中部分已经选择的成像位置。



注意：如果类型**全孔**不能用于目前选择的目镜，请选择分辨率更低的物镜，从而增加每个图像的面积。



注意：不能在一个应用中结合使用远红外和红色通道。



注意：如果**曝光时间**或 **LED 强度**值设置得过高，则可能会存在样品发生光漂白的风险，图像可能会过亮或过暗。



小心：如果确定了聚焦补偿，则要始终通过 LiveViewer 检查数值。如果在测定过程中聚焦补偿不在有效的计算范围内，则对应的孔可能会被标记为自动聚焦错误。这种情况下，需要重新调节定义的聚焦补偿值。



注意：在 U 形板中进行 3D 成像时，自动对焦扫描范围（主要是 2 倍物镜）可能会超出仪器支持的范围。虽然可以获取图像，但图像质量可能会受到影响。在这种情况下，建议使用 4x 物镜。



注意：注意：图像采集包括实时数据分析会导致测量时间延长。如果测量时间有限，可随后使用 ImageAnalyzer 进行图像分析。



注意：为了保证系统发挥最佳性能，请使用 C 盘。由于容量较大，因此建议为长期荧光成像多点测定使用 DATADRIVE 盘。

注意：提高灵敏度设置会延长测量时间（请参阅分析插件说明）。

注意：在执行多点测定时，记录的时间戳之间的时间间隔可能略有偏差，这是因为数据库大小会逐渐增加和内存消耗也有所变化。可以通过以下方式最大程度上减少这种作用：

- 定义足够大的间隔时间
- 减少每个孔的图像数量
- 使用默认灵敏度设置
- 延迟执行数据分析
- 确保有足够的可用内存（即不要在执行测定的同时运行程序，确保在长期大量测定后重启计算机）。

注意：适用的情况下，直方图和热图会显示在生成的 PDF 报告中，不包含在对应的 Excel 文件中。

注意：二维成像的多标签测量最多可包含四个二维成像条。三维成像的多标签测量最多可包含一个三维成像条。在一种方法中不可能同时使用二维和三维成像。

注意：如果方法在一个成像条带中包含一个以上的选定成像通道，则相应的图像采集总是以顺序模式执行。

14.6 优化荧光成像测定

14.6.1 Live Viewer

Live Viewer 可以实时提供细胞图像。如果在方法定义时或在方法执行前使用 Live Viewer，则会针对对应的方法自动应用优化的图像采集设置。更多详情，请参阅 SparkControl 手册。

请注意，实时查看器包含一个增强单通道彩色图像对比度的选项。使用该选项（对比度+），软件会显示对比度增强的图像。该图像可能会显示信号较弱的物体，这些物体在原始图像中的对比度可能较低，但在图像分析过程中仍可识别。



小心：请务必根据实时查看器应用程序中的方法定义或板格式选择使用微孔板，否则可能会导致图像采集错误。



小心：如果确定了聚焦补偿，则要始终通过 LiveViewer 检查数值。如果在测定过程中聚焦补偿不在有效的计算范围内，则对应的孔可能会被标记为自动聚焦错误。这种情况下，需要重新调节定义的聚焦补偿值。



注意：增强对比度选项仅适用于实时查看器视图中的单通道图像。



注意：在 "处理设置 "中激活数字图像处理后，在 "采集设置 "模式下工作时，相应图像的显示可分别在数字处理图像和非数字处理图像之间切换。



注意：用于将修改的采集设置传输到方法采集设置的 **Apply** 按钮只在连接到方法定义/执行的 Live Viewer 中可用，而不是在 Live Viewer 应用中。



注意：如果 Check-and-Go/Live Viewer 屏幕中的采集设置发生变化，这些新数值将仅应用到当前的测定循环，不会覆盖原始的方法定义。



注意：使用多通道成像时，按照通道调节采集设置，然后执行串扰校正。



注意：如果有使用不止一个彩色通道，则强烈建议通过 Live Viewer 执行串扰校正。



注意：串扰校正需要使用只包含一个荧光团的对照孔。



注意：串扰校正很大程度上取决于 LED 强度和曝光时间。如果更改了 LED 强度和曝光时间设置，建议重复串扰校正。



注意：串扰校正只能用于激发串扰。具有宽激发光谱的染色剂应在所有下层通道中进行校正。例如，除了染色剂特定的红色通道外，碘化丙啶在蓝色和绿色通道中可能可见；因此，应选择一个仅被碘化丙啶染色的参考孔，在蓝色和绿色通道中进行串扰校正。



小心：校正值（%）过大可能会导致相应的通道校正过度。部分校正过度的图像会以白色显示。为了避免校正过度，应降低对应的校正值。

注意：感兴趣区（ROI）适用于所有测量通道，仅用于图像分析。ROI 不会影响相应 3D 成像条中定义的成像模式。

注意：定义底层荧光成像方法的数字图像处理设置时，请使用 "处理 "选项卡或 "图像处 理 "条中的相应设置。

打开或关闭图像图形区域中的数字图像处理图标对方法本身的数字图像处理设置没有任何影响。它们只是提供了快速视觉检查的可能性。

小心：在三维成像中，开启数字图像处理功能可能会导致扩展对象（如球体和有机体）的过度校正。

14.6.2 ImageAnalyzer

小心：避免同时使用 ImageAnalyzer 和 SparkControl，以确保 ImageAnalyzer 软件的最高性能。

ImageAnalyzer 软件用于打开图像、设置分析参数和在方法执行后评估内容。 ImageAnalyzer 可以使用成像测定中 SparkControl 创建的**工作区**。

工作区

打开 ImageAnalyzer 并选择要使用的**工作区**。如果预定义的默认路径 (C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControl¥Workspaces)中找不到工作区，则访问 **File/Directory** 并定义新的默认路径。

打开工作区后，软件会显示对应的图像和图像分析数据（如有）。这些数据始终与选定的孔、选定的通道关联，如果是多点测定，则会与选定的多点测定循环关联。

结构

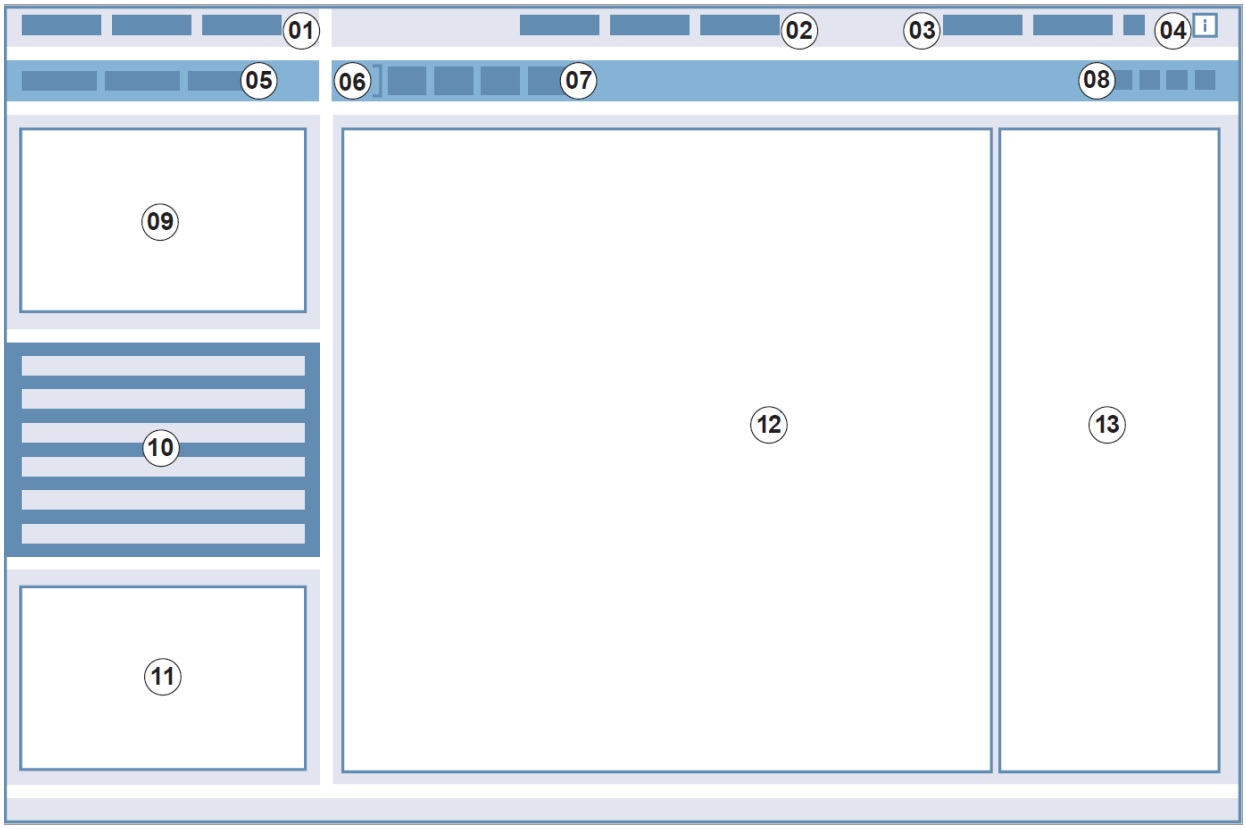


图 17: ImageAnalyzer 图形用户界面的结构元素
01 菜单栏; 02 方法定义选项卡; 03 工具栏; 04 按钮信息窗格; 05 下拉列表; 06 选定的孔; 07 动态图像合成; 08 上下文工具栏; 09 – 12 结果区; 13 分割屏幕

菜单栏	**01**	包括编辑器功能（文件、查看 和帮助）的下拉菜单
方法定义选项卡	**02**	切换至测量（查看模式）、处理和分析（编辑模式）图像和分析结果
工具栏	**03**	包括常用的编辑器功能的图标
按钮信息窗格	**04**	打开信息窗格，显示工作流相关信息
下拉列表	**05**	在结果区域中选择例如标签、子标签、动力学周期、板号进行显示
选定的孔	**06**	显示选定的孔，如果展开，显示关于方法设置的信息（摄像头和保存的分析设置）
动态图像合成	**07**	包括用于生成用户自定义合成图像的通道相关图标
上下文工具栏	**08**	包含用于图像调整和分析区域的图标（例如、感兴趣区域 (ROI)、延时视频、亮度和对比度、蒙版轮廓）
结果区	**09** **10** **11** **12**	包括每个选定的孔的**图像**以及**微孔板**、**列表**和**图形**视图中显示的分析结果。包含中央、放大区和三个最小化区。
分割屏幕	**13**	打开用于定义/修改处理/分析设置的屏幕

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。

注意：只有当修改应用到微孔板时，才会取消重新计算数据。取消后，已经重新计算的孔将包含经过重新计算的新数据，同时其余的孔的数据将保持不变。

注意：将感兴趣区 (ROI) 与预览功能结合使用时，计算出的预览结果仅显示所选井图像内所选 ROI 的结果。

注意：选择应用到孔/应用到微孔板/应用到所有微孔板后，重新计算的数据会自动保存。选择预览功能，则只会重新计算，但是不会保存数据。

注意：串扰校正会影响图像内容，应在更改分析和/或门限设置。

注意：串扰校正需要使用只包含一个荧光团的对照孔。

小心：校正值（%）过大可能会导致相应的通道校正过度。部分校正过度的图像会以白色显示。为了避免校正过度，应降低对应的校正值。

注意：ImageAnalyzer 中的门限可以有两个状态：无效（实线，没有门限）和有效（虚线，门限有效）。在为孔和/或板应用门限时，请考虑这两个状态。

注意：要导出和保存动态图像合成生成的图像，请使用保存图像功能。导出结果功能只导出分析结果。

14.6.3 分析插件

更多信息，请参阅相应的分析插件说明。



注意：使用亮场通道进行计数分析时，灵敏度、对象长度和宽度不可用。



注意：建议仅将超出默认设置的敏感度值用于弱荧光信号。算法取决于信号强度；如果敏感度值设置得过高，则背景噪音会提高，可能会导致检测到伪影。



注意：算法不会在预定义的范围内表现出线性行为。根据目标数、信号强度和对比度，可能需要在一个工作区内使用不同的灵敏度设置。



注意：提高灵敏度设置会导致测定和重新分析的时间相应地增加。如果工作区中的每个孔包含多个图像，则高于默认设置的敏感度值可能会对 ImageAnalyzer 中的重新计算时间产生很大影响。



注意：三维分析以深度学习算法为基础，对四个选定的细胞系（HeLa、A549、MCF-7 和 MDA-MB-231）进行了球形细胞教学。对有基质（Matrigel）和无基质（Matrigel）生长的单个球体和多个球体进行了训练，以获得这些细胞系和类似细胞系的最佳结果。对器官组织进行了教学，特别是结肠、肺和肝脏器官组织。



小心：SPARK CYTO 支持使用专门用于生成大量均匀球体/有机体的平板（如 AggreWell™ Microwell Plates STEMCELL technologies、Corning® Elplasia® Plates）进行 3D 成像。不过，使用这些平板进行三维成像时，分析结果的质量无法保证。

15 Spark-Stack 微孔板堆栈

Spark-Stack 是一款集成微孔板堆栈模块，可以作为 SPARK 多模式酶标仪的选件。该模块设计用于自动加载, 卸载和重新堆栈微孔板，每次最多可以实现 50 个无盖微孔板的无人值守自动操作。



图 18: 内置 Spark-Stack 微孔板堆栈，每次最多可以对 50 个微孔板进行自动加载, 卸载和重新堆栈操作。

内置微孔板堆栈模块使用微孔板塔（堆栈）作为储存容器。微孔板塔兼容 6 至 1536 孔无盖微孔板，并且提供了用于光敏化验的遮光罩。

位于 Spark-Stack 的输入（INPUT）位置的微孔板塔中的微孔板会依次加载到 SPARK 酶标仪内。在测定完成后，处理完毕的微孔板会收集在微孔板塔的输出（OUTPUT）位置。

如果发生电力故障，微孔板塔夹持器会在弹簧的作用下保持关闭，即使是没有电力供应，也可以保持微孔板在微孔板塔内的位置。

有两种不同高度的微孔板塔可供选择：

- 两个短堆栈，每次可以容纳 30 个微孔板（标准 96 孔微孔板）
- 两个长堆栈，每次可以容纳 50 个微孔板（标准 96 孔微孔板）

15.1 操作前面板

从堆栈模块上取下微孔板塔，操作员就可以正常操作 SPARK 多模式酶标仪的前面板，可以执行：

- 二分镜更换操作
- 滤光片架更换操作
- 手动将单个微孔板加载到 Spark 酶标仪的载板架上。
- 手动加载 SPARK MultiCheck-QC 微孔板，用于执行 IQ/OQ

15.1.1 机身控制按钮



如果 Spark-Stack 上没有安装微孔板塔，则所有机身控制按钮都会激活，更多信息，请参阅第 2.5.2 章 带条码的微孔板。

当 Spark-Stack 上安装了微孔板塔时，只有机身启动（Onboard-Start）按钮  上的停止功能仍然可以使用。所有其他机身控制按钮都处于禁用状态。当前操作完成后，在堆栈运行过程中按下机身启动（Onboard-Start）按钮将停止堆栈运行。



小心：如果使用机身启动（Onboard-Start）按钮中断堆栈运行，则可能**酶**标仪中仍然有微孔板。在开始下一个堆栈运行前，确保微孔板已经从**酶**标仪中取出。

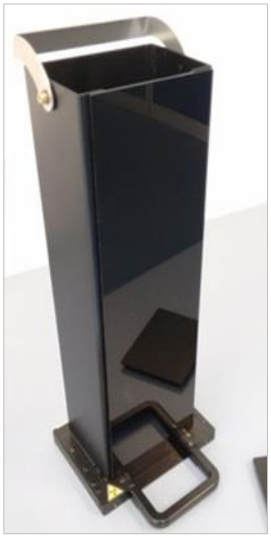


小心：如果发生电力故障，确保将微孔板从**酶**标仪中取出，并在开始下一次运行新堆栈前，从输出（OUTPUT）微孔板塔中取出所有已经处理的微孔板。

15.1.2 敏感化验遮光/深色遮光罩

Spark-Stack 微孔板堆栈中包括一套前遮光罩和顶部遮光罩，可以快速插入到微孔板塔中并定位。

这些元件可以用于避免含有光敏物质的微孔板遭到实验室内环境光线的照射，如 GFP 转染细胞，AlphaScreen, AlphaLISA, AlphaPlex 化验微孔板等。

		
1. 将前遮光罩放到微孔板塔的磁条上。	2. 将前遮光罩向下滑动到位。	3. 将顶部遮光罩放到微孔板塔上。

15.2 Spark-Stack 微孔板要求

任何符合 ANSI / SLAS 标准的普通微孔板（不带盖子，孔数在 6 至 1536 之间）都可以用于配合 Spark-Stack 模块执行堆栈运行：



警告：不要在 Spark-Stack 模块中使用带盖子的微孔板。



警告：不要在 Spark-Stack 模块中使用湿度盒。



小心：确保微孔板与方法中规定的微孔板匹配，以防止在堆栈运行过程中出现问题。始终要使用相同类型和颜色的微孔板。

Spark-Stack规格

参数	规格
微孔板（不带盖子）	孔数在 6 至 1536 之间，符合 ANSI / SLAS 标准
重新堆栈时间	15 秒/微孔板（96-孔微孔板，不包括平滑模式）

所需的微孔板尺寸

参数	规格
总体微孔板高度	10 mm 至 23 mm
足迹尺寸	长度= 127.76 mm ± 0.5 mm 宽度= 85.48 mm ± 0.5 mm
微孔板高度和裙边高度的最小差值	≥ 6.7 mm



警告：在堆栈运行过程中，不要触碰输入塔或输出塔内部。



警告：在堆栈运行过程中，不要手动插入或取出微孔板。

带条码的微孔板

带微孔板 ID 识别条码的微孔板在堆栈多点测定运行中特别有用。
读取条目需要采用配备选配集成条码阅读器模块的 SPARK 微孔板酶标仪。

更多信息，请参阅第 2.5.2 章带条码的微孔板。

使用Spark-Stack自动处理细胞计数片：

Spark-Stack 的微孔板塔兼容 SPARK 的细胞计数片载架。

因此，可以使用 Spark-Stack 微孔板堆栈模块将细胞计数片自动加载到细胞计数片载架中。

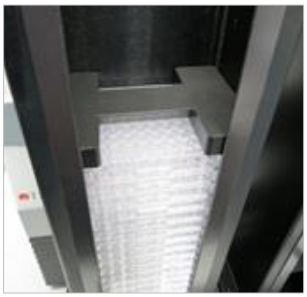
更多信息，请参阅第 19 章 细胞计数片中的细胞计数。

稳定器配重

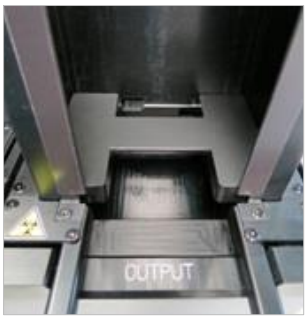
堆栈采用两个 H 型稳定配重元件（每个微孔板塔各一个）这些元件用于增加微孔板塔内微孔板的重量，保证堆栈稳定性。

注意：微孔板塔内的微孔板传感器可以识别稳定器配重，因此，稳定器配重不会加载到 SPARK 酶标仪中，因而在重新堆栈时不需要将其移出。确保稳定器配重始终在微孔板塔内的微孔板的顶部。

1. 在输入塔内的微孔板上放置一个稳定器配重（中间部分为楔形，楔形较宽的部分应朝上，以便夹持）。



2. 将稳定器配重放在输出塔的底部。



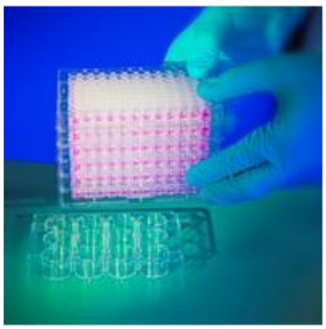
3. Spark-Stack 此时准备就绪。



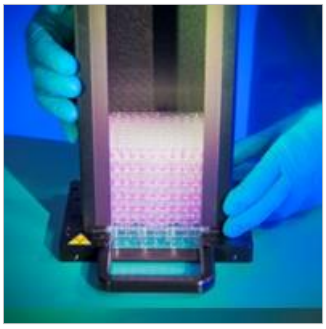
15.2.1 向微孔板塔内加载多个微孔板

可以使用标准 6 孔、12 孔或 24 孔微孔板、两个 96 孔微孔板或标准半深孔或深孔微孔板作为要加载到微孔板塔中的微孔板堆栈的平台，一次向 Spark-Stack 模块的微孔板塔内加载多个微孔板。

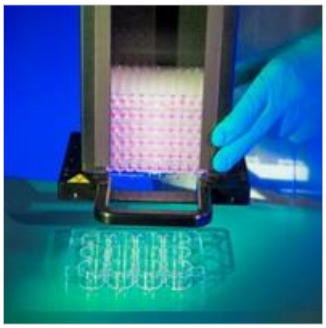
1. 为堆栈运行准备要加载到微孔板塔内的足量的微孔板。
2. 将部分微孔板放到平台板上。在本示例中，将标准 12 孔微孔板作为平台板。确保微孔板的类型和颜色相同，且孔 A1 在左上角位置置（最接近微孔板塔后侧左边角上的 **A1** 贴纸）。



3. 一路向下滑动在微孔板堆栈上滑动微孔板塔，直到微孔板塔接触试验台表面。



4. 向上抬起微孔板塔。微孔板堆栈已经加到微孔板塔上。平台板仍然在试验台上。



使用相同的程序加载剩余的微孔板。



小心：确保没有微孔板在插入时上下颠倒。



小心：确保所有微孔板都已经插入，保证标签‘A1’处于左上角位置。



小心：手动将微孔板插入到微孔板塔时，一定要佩戴手套。微孔板光学（底部）表面上如果出现指纹或污迹，可能会对酶标仪测定产生不利影响。



小心：仅限使用兼容的微孔板。不适合使用柔性且不平整的微孔板，例如 PCR 微孔板。



小心：不要使用出现任何损坏痕迹的微孔板。



小心：不要在 Spark-Stack 模块中使用带盖子的微孔板。



小心：如果在测定前已经撕掉微孔板上的密封膜或箔纸：确保微孔板顶部没有残留密封剂造成的粘性，否则微孔板可能会粘到一起，导致从微孔板塔中取出时遇到问题。

此外，确保在密封过程中微孔板保持水平，而且没有弯曲。



注意：为了尽量减少栈多点测定长时间运行期间的蒸发，将微孔板加载到微孔板塔内时，在第一个位置和最后一个位置（待测定微孔板堆栈的顶部和底部）使用空微孔板。



注意：考虑可能会影响测定质量。为了避免/尽量降低密封膜和/或板底部的冷凝效应。

- 在温度受控的房间工作
- 将板保持在室温
- 用密封膜对板进行离心处理
- 对各个板进行测定前，使用 SPARK 的加热选项，并使用板孵育来定义测定工作流。

15.2.2 向微孔板塔内加载单个微孔板

在将单个微孔板加载到微孔板塔中前，请确保：

- 微孔板上的孔 **A1** 最接近微孔板塔后侧左边角上的 **A1** 贴纸。
- 微孔板没有上下颠倒，其类型和颜色与方法中使用的微孔板定义一致，且
- 微孔板没有明显损坏迹象。



小心：手动将微孔板插入到微孔板塔时，一定要佩戴手套。微孔板光学（底部）表面上如果出现指纹或污迹，可能会对酶标仪测定产生不利影响。



1. 手动将微孔板插入到微孔板塔的顶部，并小心地朝堆栈底部向下放。



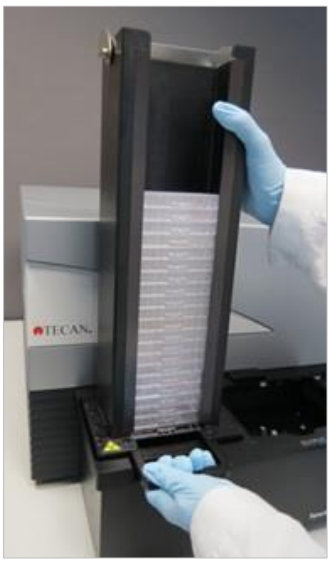
2. 轻轻释放微孔板塔底部的微孔板。

15.2.3 将塔加载到Spark-Stack模块上

使用底部的把手（如下图所示）提起微孔板塔。

将微孔板塔定位到 Spark-Stack 模块对应的位置的上方，并垂直向下推。

1. 将装有待处理的微孔板的微孔板塔加载到标记有输入（INPUT）的位置。
2. 牢牢向下按微孔板塔，直到卡入到位。



3. 将空的微孔板塔加载到标记有输出（OUTPUT）的位置。



小心：如果微孔板塔没有正确插入到 Spark-Stack 模块上，则启动堆栈（Start Stacker）按钮处于禁用状态。如果发生这种情况，向下按微孔板塔，直到卡入到位。接着重新启动堆栈运行。

小心：如果输出塔中有微孔板，则在开始堆栈运行时会出现错误消息。如果出现这种情况，清空输出塔中的微孔板，并在软件中重新启动堆栈运行。

小心：如果有微孔板遗忘在 SPARK 酶标仪内的载板架上，则在开始堆栈运行时会出现错误消息。如果发生这种情况，从 Spark-Stack 模块中取出微孔板塔。从 SPARK 酶标仪中取出载板架，并取出微孔板。接着，将空载板架放回到 SPARK 酶标仪中。重新将微孔板塔加载到 Spark-Stack 模块上，并重新启动堆栈运行。

小心：堆栈运行过程中，不要将附加的微孔板加载到输入塔内。

15.2.4 直接将微孔板插入到SPARK酶标仪

通过将两个微孔板塔从 Spark-Stack 模块中取出，可以使用标准微孔板, Spark MultiCheck 微孔板或 NanoQuant 微孔板执行单微孔板测定。

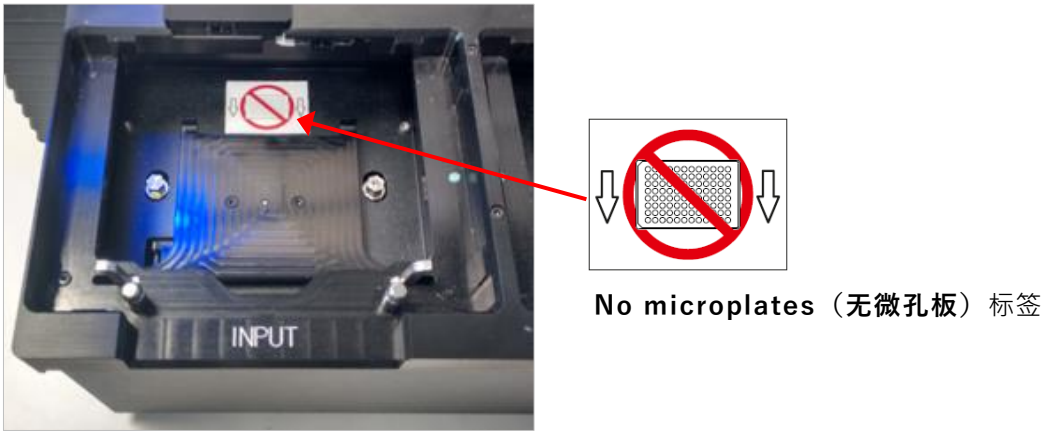
警告：在插入微孔板前，首先将板传送器移出。将微孔板直接放置到 SPARK 酶标仪的板传送器上。可以看到标签 **No microplates（无微孔板）**时，表示板传送器仍然在酶标仪内，此时，不要将微孔板放在堆栈的升降台上。否则会导致板传送器在从酶标仪内移出时与微孔板发生碰撞。

如果发生这种情况，按下机身上的启动/停止（Start/Stop）按钮 ，或按下软件内的停止按钮。

警告：按照相应的安全标准和法规处理存在生物危害性的材料。

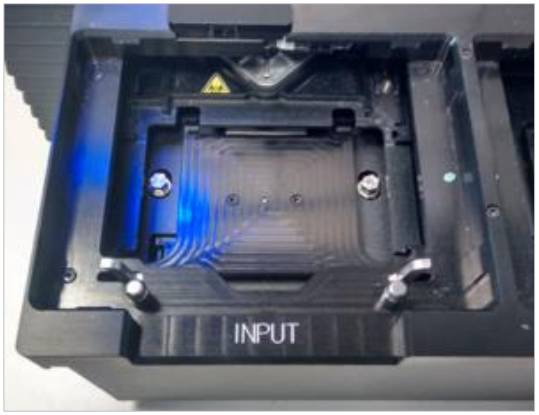
用手加载单个微孔板时：

1. 如果在尝试手动加载单个微孔板时可以看到标签 **No microplates（无微孔板）**，则这表示载板架仍然在酶标仪内。如果可以看到这一标签，不要插入微孔板。

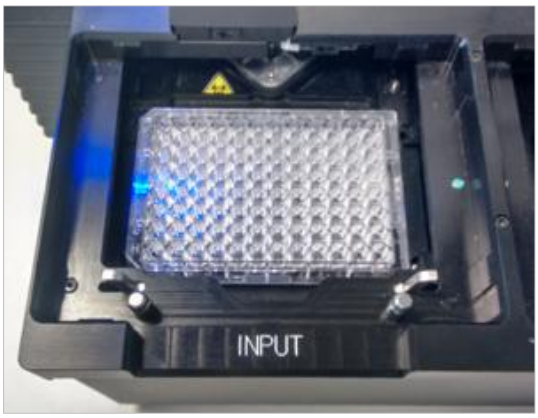


No microplates（无微孔板）标签

2. 在插入微孔板前，首先将板传送器移出。载板架移出时，看不到标签 **No microplates（无微孔板）**。



3. 将微孔板放到板传送器的中间。确保微孔板上的标签 **A1** 处于左上角。始终将微孔板放到板传送器上，严禁直接将其放到堆栈的升降台上。



15.2.5 单独卸载已处理微孔板



小心：手动从微孔板塔内卸载微孔板时，一定要佩戴手套。

1. 轻轻从 Spark-Stack 模块中取出微孔板塔。避免微孔板塔发生倾斜。将微孔板塔放在工作台上。



2. 小心握住微孔板塔内的微孔板堆栈顶部的微孔板。



3. 轻轻向微孔板塔顶部滑动微孔板，接着移出微孔板。避免溢出。

4. 按照实验室规程丢弃微孔板。

15.2.6 卸载一组已处理微孔板

小心：手动从微孔板塔内卸载微孔板时，一定要佩戴手套。

1. 轻轻从 Spark-Stack 模块中取出微孔板塔。避免微孔板塔发生倾斜。
2. 将微孔板塔放在工作台上。



3. 小心地将一只手放在微孔板塔底部的微孔板下方，另一只手扶稳要卸载的一组微孔板。



4. 轻轻向微孔板塔顶部滑动这一组微孔板，接着将其移出。避免溢出。

5. 按照实验室规程丢弃微孔板。

15.2.7 Spark-Stack清洁和维护

溢出液体

警告：清除微孔板堆栈上的任何溢出物时，都需要先关闭设备。处理溢出物时，按照处理存在潜在感染风险物质的方式进行处置，以免感染。因此，始终要遵守相应的安全措施（包括戴防静电手套, 护目镜，穿防护服），以免沾染可能会引发传染病的污染物。

此外，清洁产生的废物应按照潜在传染物进行处理，处置程序必须遵守 7 章 清洗与维护中的说明。

清洁和消毒程序（包括液体溢出物）

Spark-Stack 清洁和消毒程序包括微孔板塔内部或 Spark-Stack 模块内部液体溢出物的处理程序如下：

1. 戴上保护性手套, 护目镜并穿上防护服。
2. 准备一个适当的容器用于在消毒过程中丢弃一次性物品。
3. 关闭 SPARK 酶标仪，从而关闭设备和内置 Spark-Stack 模块。
4. 取出微孔板塔。
5. 从微孔板塔中取出微孔板或从 Spark-Stack 模块的升降台中取出微孔板。
6. 立即用吸收性材料擦拭溢出物。

7. 清洁微孔板塔和 Spark-Stack 模块的表面。
8. 对于危险生物溢出物，用在消毒液（B33 [德国 Orochemie]或 70%乙醇）中浸泡过的无绒纸巾小心擦拭设备整个外表面。
9. 擦干清洁后的区域。
10. 妥善处理污染的材料。

预防性维护

Spark-Stack 模块不需要特殊预防性维护。更多信息，请参阅第 7 章 清洗与维护。

15.3 软件

如果 Spark-Stack 连接到 SparkControl，则定义的 SparkControl 方法将应用于输入塔内的各个可用微孔板。



小心：不要使用 Spark-Stack 时使用带盖子的微孔板。



注意：使用安装了 Spark-Stack 模块的 SPARK 时，不支持湿度盒。如果化验适用，请选择“No humidity cassette（无湿度盒）”。



注意：使用 Spark-Stack 时，不支持开放多点测定。



注意：堆栈测定中不支持 Optimization of Z-Position via the Z-Position window（通过 Z 位置窗口优化 Z 位置）, Live Viewer 和 actions Gas（操作气体）, User Request（用户请求）和 Move Plate In/Out（微孔板移入/移出）。



注意：堆栈测定中不支持 Tecan 应用。



注意：在堆栈运行中执行时，多点测定不能暂停。



注意：堆栈运行不能通过机身启动（Onboard-Start）按钮启动。



注意：只有当微孔板在设备内但是不在输入/输出塔内时才可以保持温度设置。

15.3.1 启动堆栈运行

方法定义完成后，可以通过两种方法启动批处理，方法 1：从 Method Editor 中启动，即从工具栏中选择 **Start Stacker（启动堆栈） 按钮**；方法 2：从 Dashboard 中选择，即从 Dashboard 的 Check-and-Go 窗口中选择对应的 **Method** 块，**并**单击 **Start Stacker tile（启动堆栈块）**。必须在开始堆栈运行前清空 Spark-Stack 的输出塔。

注意：插入输入塔和输出塔时，Method Editor 中包括启用的 **Start Stacker** 按钮和禁用的 **Start** 按钮。取出输入塔和输出塔，从而在没有堆栈的情况下运行。

小心：确保微孔板与方法中规定的微孔板匹配，以防止在堆栈运行过程中出现问题。始终要使用相同类型和颜色的微孔板。

Stacker Operations（堆栈操作）窗口

在启动堆栈运行后，会出现 Stacker Operations 窗口：

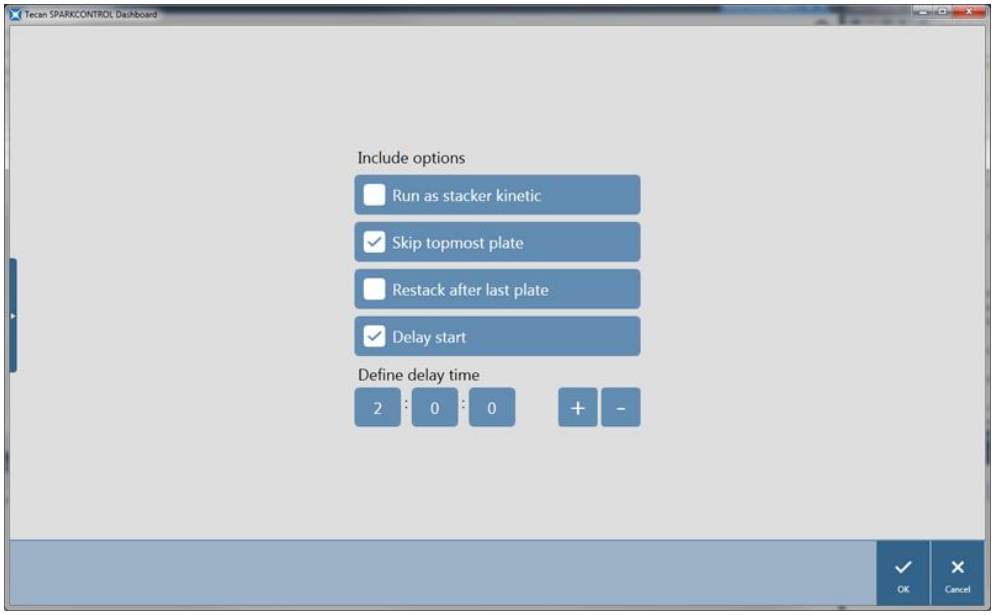


图 19: Stacker Operations（堆栈操作）窗口

运行堆栈多点测定	选择这一选项时，定义为多点测定的方法会执行堆栈运行。更多信息，请参阅第 15.3.2 章 栈多点测定。
跳过最顶端的微孔板	选择 **Skip topmost plate（跳过最顶端的微孔板）**不对最顶端的微孔板进行测定。最顶端的微孔板将不会接受测定，并被直接通过 SPARK 酶标仪移动到输出塔。
最后一个微孔板后重新堆栈	选择 **Restack after last plate（最后一个微孔板后重新堆栈）**，在处理后将所有微孔板以原始顺序返回输入塔。
延迟启动	定义堆栈运行启动的延迟时间。启动堆栈运行将会在定义的延迟时间内暂停。
板数量	要查看可用的磁盘空间，输入用于测定的板数量（仅明场和荧光成像）。

注意：堆栈运行延迟启动：这一功能可以用于在启动堆栈运行前针对微孔板塔内的微孔板执行室温孵育步骤。有一套用于微孔板塔的深色遮光罩和盖子可以用于在光敏化验中提供保护。

15.3.2 栈多点测定

与一个微孔板上的多点测定相比，堆栈多点测定可以分析多个微孔板，取决于所花费的时间。在循环 1 中测定完输入塔中的所有微孔板后，微孔板会以原先的顺序自动重新堆栈，并再次测定，直到已经针对所有微孔板完成用户定义的循环数。

为了便于数据评估，会为每个微孔板生成一个独立的结果表单，并按照微孔板数量或条码（如果安装并在方法中选择）进行命名。后续循环的结果会自动添加到对应的结果表单中。

堆栈多点测定可以配合任意基于微孔板的多点测定脚本使用，并且可以结合所有可用的多点测定条件。最大循环数为 300。

要执行堆栈多点测定，可以按照与普通多点测定相同的方式设定工作流/方法，并使用 **Start Stacker（启动堆叠）**按钮启动。**Stacker Operations（堆栈操作）**窗口打开，可以访问堆栈测定对应的其他功能。选择 **Run stacker kinetic（运行堆栈多点测定）**，脚本会自动作为堆栈动态测定执行。

注意：基于微孔板的多孔测定（一个多点测定条，不超过 300 个循环）可以作为堆栈多点测定执行。

注意：只有循环类型为 **Number of cycles（循环数）**多点测定才可以以堆栈多点测定的形式运行。

注意：等待（**Wait**）和振荡（**Shake**）操作可以用于堆栈多点测定，但是不支持连续等待（**Continuous Waiting**）和连续振荡（**Continuous Shaking**），因为在两个后续的多点测定循环中，一个多孔板不能一直保持在设备中。

注意：堆栈多点测定循环不支持荧光成像。

15.3.3 重新堆栈

使用 SparkControl 的重新堆栈功能，重新堆栈微孔板，但是不执行测定。重新堆栈可以在 Method Editor 的 Instrument 菜单中启动，或可以通过从 Dashboard 的 Instrument control 或 Check-and-Go 窗口中选择 **Stacker** 按钮启动。

在重新堆栈前，定义输出塔中的微孔板的形式。根据微孔板的形式和加注量使用 **Smooth mode（平滑模式）**（请参阅第 2.5.1 章 加注量/平滑模式）。在使用低重量微孔板（例如 1536 孔微孔板）时，建议采用 **Smooth mode（平滑模式）**。

16 进样器

进样器模块包括一个或两个针筒，针筒置于带有遮光罩的外部装置中。有不同的针筒体积可选，分别为 500 µl, 1000 µl 和 2500 µl。加样针用于向符合 SBS 标准的单孔到 384 孔微孔板（不包括小体积的 384 孔微孔板）注入液体。

小心：在插拔进样器模块前必须关闭设备。

16.1 进样器架

在执行进样器加注, 冲洗或进样速度优化等操作时，可以轻松（由客户）将进样器架从设备上取下。

在测定程序中使用进样器时，进样器架必须正确插入到设备中。取下进样器模型，将进样器架插入到进样器端口中。轻轻将进样器架按入到端口，将其锁定到位。

设备配备了一个进样器传感器，用于检查进样器架的位置。如果进样器没有正确插入到设备中，传感器将不会识别插入的进样器架，进样也会被禁用；但是，冲洗和加注等操作可以使用。使用错误插入的进样器架执行冲洗和加注程序会损坏设备。因此，始终要确保进样器架处于冲洗和加注的保养位置（见下图）。

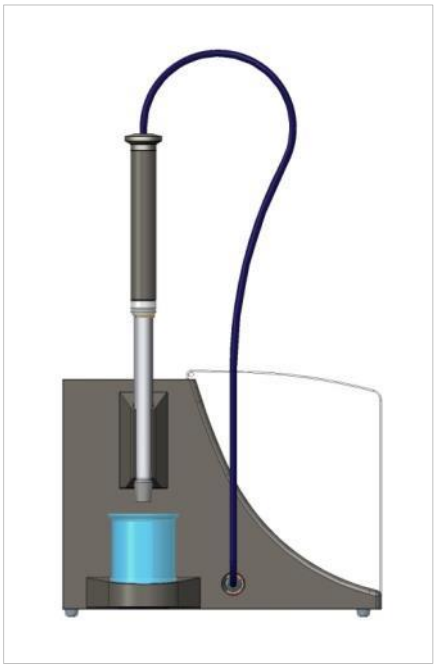


图 20: 进样器架处于保养位置

小心：操作过程中，严禁触碰针筒。

小心：冲洗和加注时，进样器架必须处于保养位置。如果进样器插入到设备中，不要执行冲洗或加注程序。使用错误插入的进样器架执行冲洗和加注程序会损坏设备。

小心：进样器架必须正确插入到进样器端口，否则，系统检测不到进样器，而且仍然可以启用加注和冲洗功能。使用错误插入的进样器架执行冲洗和加注程序会损坏设备。

可以通过软件调节进样速度。最佳的进样速度取决于化验的特征，例如微孔板形式和液体的粘度和测定活动。进样器架可拆卸，因此可以在设备外优化流程，并可以用肉眼轻松进行检查。

16.1.1 进样器模型

配有进样器端口的所有设备（配有进样器或准备为配备进样器而升级的设备）都随附进样器模型。不使用进样器时，要用模型代替进样器。这种情况下，进样器模型可以保证设备内的环境仍然保持稳定（温度，气体浓度）。

取出进样器架后，必须要重新将进样器模型插入到进样器端口中。轻轻将进样器架按入到端口，将其锁定到位，并盖上盖子。如果进样器模型正确定位到进样器端口内，进样器模型会激活进样器传感器。



小心：每次不使用进样器时，都要确保进样器模型插入到进样器端口中。



小心：注意，如果正确插入到进样器端口中，进样器模型也可以激活进样器传感器。插入进样器模型时也可以执行注入步骤，但是结果不能使用。

16.2 加注和冲洗



小心：冲洗和加注时，进样器架必须处于保养位置。进样器架在进样器端口中时，不能执行加注和冲洗操作。

进样器系统的初次加注步骤（加注）以及进样器系统的清洁步骤（冲洗）必须在进样器端口外执行。在执行这些程序时，要将进样器架从设备中取出，并放入进样器模块的保养位置。软件中提供了关于进样器系统的加注和冲洗步骤中的注入速度和分液量的默认设置。如果有需要，可以在软件的 Injector Control 窗口中调节加注参数。

加注量取决于管的长度。有两种进样器管可供选择：**短管** = 100 cm (39.37 英寸)和**长管** = 200 cm (78.74 英寸)。

短管进样器的最小加注量为 1000 µl，长管进样器的最小加注量为 1500 µl。



小心：加注量过少可能会导致系统加注不完整，从而对化验性能产生不利影响。



小心：不要触碰加样针！加样针很容易变弯或导致精度降低，可能会导致注入问题或造成设备损坏。



注意：通过选择选项 **Save as default**，可以将选择的加注设置保存到进样器盒的硬件按钮上。这一功能只能通过 Method Editor 使用。按下进样器盒上的 **Prime** 按钮，启动加注程序。

具体内容，请参阅参考指南。

16.2.1 试剂反冲

在清洁进样器系统前，可以通过试剂反冲将液体系统（加样针，针筒，阀门和管道）中遗留的试剂泵回到存储瓶中。这一程序可以最大程度上减少试剂消耗，是一种比较节约成本的清洁方案。进样系统的死体积约为 100 µl。

具体内容，请参阅参考指南。



警告: 执行此操作时，只能握住专门用于此用途的进样器架。



小心：执行**反冲**操作时，进样器必须处于保养位置。进样器在设备中时，不要执行**反冲**操作。



注意：通过选择选项 **Save as default**，可以将选择的冲洗设置保存到进样器盒的硬件按钮上。这一功能只能通过 Method Editor 使用。按下进样器盒上的 **Rinse** 按钮，启动冲洗程序。



小心： 执行**冲洗**操作时，进样器架必须处于保养位置。进样器在设备中时，不要执行**冲洗**操作。



小心：确保使用蒸馏水执行最后的冲洗程序。



小心：小心处理进样器！如果进样器受损，进样准确度会受到影响。或给设备造成损坏。

16.3 进样器清洁与维护

根据具体的应用，所需的维护可能会有所差异。建议将下述程序用于优化性能和最大程度上延长进样系统的寿命。



小心：为了避免试剂混合和交叉污染，在需要使用进样器的不同应用之间，要彻底冲洗整个进样器系统。

日常维护：

如果使用的套件的制造商没有明确规定，则必须每天执行下述操作：

- 检查针筒和管是否泄漏。
- 每次使用后和针筒不使用时，用蒸馏水或去离子水彻底冲洗整个系统。忽略此操作可能会导致试剂发生结晶。结晶体会破坏针筒密封件和阀塞，进而导致泄漏。



小心：不要让针筒在没有吸液的情况下多次运行。

每周/定期维护：

进样器系统（管, 针筒, 加样针）必须每周进行清洁，以清除沉淀物（例如盐），并避免细菌滋生。

按照这些步骤使用 70 % EtOH (乙醇)清洁针筒/进样器系统：

1. 根据用户的应用在使用 70 % EtOH 冲洗前，使用缓冲液或蒸馏水彻底冲洗系统。
2. 使用 70 % EtOH 对完全降下的针筒冲洗 30 分钟。
3. 30 分钟后，将针筒和管中的所有液体泵出到垃圾桶中。
4. 使用 70 % EtOH 冲洗针筒/进样器系统。
5. 使用蒸馏水或去离子水冲洗针筒/进样器系统。储存时，液体通道内要充满。
6. 用在 70 %乙醇或异丙醇中浸泡过的棉签清洁加样针的末端。



警告：火灾和爆炸危险！
乙醇为易燃品，操作不当会导致爆炸。必须遵守适当的实验室安全注意事项。



小心：针筒更换工作只能由维修人员执行, 否则 Tecan 无法保证设备性能。

16.4 进样器：试剂兼容性

进样器系统中使用了下述材质：

- PTFE, TFE, FEP: 管, 阀塞, 密封件
- PEEK: 针头, 连接管/进样器
- KelF: 阀体
- 聚对二甲苯涂层：加样针

试剂兼容性，请参阅下表。**A** 级表示与进样器系统可以很好地兼容。**D** 级化学品不得与进样器系统一同使用。否则会给进样器造成严重损坏。

A 级化学品	D 级化学品
醋酸< 60%	乙腈
二甲基甲酰胺	丁胺
酒精	氯仿
甲醇（木精）	四氯化碳（干）
去离子水	乙醚
蒸馏水	乙醇胺
淡水	乙二胺
氢氧化钾（苛性钾）	糠醛
次氯酸钾（水溶液）	己烷
氢氧化钠(< 60%，水溶液)	氢氟酸
次氯酸钠	单乙醇胺
	硫酸（稀释或浓缩）
	四氢呋喃



小心：进样器系统仅限使用 **A** 级试剂。D 级化学品不得与进样器系统一同使用。

本表中列出的信息由 Tecan Austria 按照掌握的材料兼容性信息创建，仅作为选择兼容试剂时的参考指南。



警告：批准的化学品必须恰当存储和操作。温度，压力和浓度等环境因素可能会导致异常的化学反应，进而造成设备损坏。



警告：注意，化学品操作不当可能会导致严重伤害。操作化学品时，请遵守实验室安全规程并穿着防护服。

16.5 使用进样器进行测定

进样器可以单独使用，也可以结合下述测定模式使用：荧光强度顶读和底读，时间分辨荧光，荧光偏振，吸光度，化学发光以及多色化学发光。但是，由于测定位置与注入位置不同，注入和读取之间会存在一个比较短的时间延迟（约< 0.5 s）。有关例外情况，请参见第 12.6 章 Inject and Read (注入和读取)。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



小心：确保选择的微孔板定义文件对应当前使用的微孔板，否则可能会导致设备受损。

16.6 加热器和磁力搅拌器

进样器模块可以另外配备加热器和磁力搅拌器选件。

具体内容，请参阅参考指南。



注意：选择的温度等于加热板表面的温度。容器中注入溶液的温度需要由用户进行控制。



小心：如果激活加热功能，则注意基础模块和扩展模块要进行同等调节。

16.6.1 实验室烧瓶和磁性搅拌棒

加热板用于加热 100 ml 的实验室烧瓶。加热器和磁力搅拌器模块标准套装包括一个 100 ml 实验室烧杯和对应的磁性搅拌棒。

16.7 进样器规格

注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

16.7.1 进样器技术规格

参数	规格
微孔板类型	1 至 384-孔微孔板
进样器针筒容积	500 µl, 1000 µl, 2500 µl

16.7.2 进样器性能规格

500 µl 针筒

进样量	准确度	精确度
10 µl	≤ 10 %	≤ 10 %
100 µl	≤ 1 %	≤ 1 %
450 µl	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %

1000 µl 针筒

进样量	准确度	精确度
20 µl	≤ 10 %	≤ 10 %
200 µl	≤ 1 %	≤ 1 %
900 µl	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %

2500 µl 针筒

进样量	准确度	精确度
50 µl	≤ 10 %	≤ 10 %
500 µl	≤ 1 %	≤ 1 %
2250 µl	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %

16.7.3 加热器/搅拌器规格

参数	规格
电源	24 V，不超过 60 W，外接
温度调节范围	20-42 ° C
搅拌速度调节范围	50-1000 rpm

16.8 进样器模块质量控制

16.8.1 定期质量对照试验

根据使用情况和应用，我们建议定期由 Tecan 公司对设备进行评估。

下述章节中所述的测试不能代替生产厂家或授权经销商的全面评估。但是，用户可以定期进行测试，以检查重要的设备性能。

加样误差和设备参数设置会对结果产生很大影响。因此，请认真按照说明操作。用户应根据设备的使用频率确定适当的测试间隔。



小心：在开始测定之前，确保微孔板插入正确；孔 A1 的位置应在左上侧。



警告：下面的说明将解释如何执行质量控制，以检查设备规格。如果这些对照试验的结果不符合本手册中给出的设备规格，请联系当地服务中心，寻求进一步建议。

16.8.2 进样器准确度

准确度是指系统对接近真实值的反应能力。准确度以偏离真实值的百分比计算。

材料：

- 蒸馏水
- Greiner 96-孔微孔板，平底，透明
- 准确度为 1 mg 时的天平

程序：

在进样器中加注蒸馏水。称量空微孔板，并记录重量。向 Greiner 96-孔微孔板（平底，透明）中的 20 个孔中注入 20 µl，立即再次称重（注意蒸发的影响）。在室温下进行(25 ° C)。

注入参数：

进样器	选择进样器 A 或 B
速度	200 µl/s
再次加注速度	与注入速度相同
再次加注模式	标准
再次加注体积	默认值
微孔板定义文件	GRE96ft
板的一部分	D2-E10

评估：

25 ° C 条件下 400 µl 蒸馏水(20 x 20 µl)的质量为 398.8 mg（水的质量密度为 0.997 mg/µl）。准确度(%)计算方式如下：

$$\text{Accuracy}\,(\%) = \frac{398.8 - measured}{(398.8/100\ )}$$

17 环境控制

Tecan SPARK 多模式酶标仪的加热，气体和湿度控制是一套优秀的系统，可以在测定循环中调节环境条件。

17.1 加热模块

加热模块的温度控制范围为环境温度以上 3 ° C 到 42 ° C。对测定室进行加热需要一定时间。请检查温度控制显示器。如果没有进行外部孵育，微孔板需要在测定开始前等待其达到平衡状态。



注意：为了保持温度一致，并为整个微孔板提供均匀的温度，振荡或等待过程中，微孔板必须置于孵育位置。如果在振荡过程中使用加热功能，则温度可能会略有变化。

17.1.1 温度控制软件设置

软件内的温度控制可以手动激活或在方法执行时激活。



注意：在启动采用温度控制的方法时，如果定义不匹配，方法设置将始终会拒绝手动设置。



小心：在确定数值的小数位时，始终使用计算机操作系统区域和语言设置中定义的十进制符号。



注意：启动方法时，设备也开始加热。如果选择 **Wait for temperature**，则在当前的设备温度达到规定范围时，才会开始测定。关于设备预热，请参阅 SparkControl 手册中的手动温度控制章节。

17.2 冷却系统

SPARK 多模式酶标仪的冷却系统可以将温度控制在 18 ° C 至环境温度的范围内。

设备冷却准备和测定室自身冷却需要一定时间。请遵守下述说明，并检查温度控制显示器。如果没有进行外部孵育，微孔板需要在测定开始前等待其达到平衡状态。

冷却系统包括两个主要组件：外部冷却设备和集成冷却模块(Te-Cool)。两个组件构成一个封闭的循环系统。

液体冷却设备是一个外部装置，可以将冷却后的液体泵入到集成冷却模块中，以给空气降温，被加热的液体返回外部液体冷却设备被再次冷却。

集成冷却模块安装在 SPARK 多模式酶标仪的底部。该模块可以冷却空气，并将空气吹到酶标仪的测定室内。温暖的空气回流到集成冷却模块中，被再次冷却。

Tecan 推荐使用以下液体冷却设备，并仅支持以下冷却器：**热电再循环 液体冷却器 MRC 150/300（德国 Laird Technologies GmbH）**。如果使用其他产品或液体冷解决方案，Tecan 不承担任何责任。在将 SPARK 酶标仪配合集成冷却模块和液体冷却设备使用时，阅读并遵守液体冷却设备制造商（Laird Technologies 的操作说明）提供的说明。



警告：如果使用的其他液体冷解决方案并非本文件中所述的解决方案，Tecan 不承担任何责任。



警告：请仔细阅读外部液体冷却设备操作手册并遵循其中的相关指示。



小心：为了保证冷却系统可以达到理想的工作性能，每年一次的维护工作只能由 Tecan 维修工程师执行。

17.2.1 设置液体冷却系统



小心：如果在存放或运输后使用外部液体冷却设备，应静置至少 3 小时，并使之进行温度调节。

在激活冷却控制选项前，确保指定的场所满足下述要求。选择一个摆放外部液体冷却设备的位置。位置应当平坦, 无振动, 没有阳光直接照射，并且没有灰尘, 溶剂和酸性蒸汽。设备背面要留有充足的空间，以便操作后面板。



注意：环境温度传感器位于设备后面板内部，可能会受到热源的影响。

外部液体冷却设备配有风冷系统。液体冷却设备的位置必须保证气流不会受阻。供应和回流连接必须可以轻松操作，而且所有管道在安装时不能有急弯。所有通风侧至少要保留 0.3 米的间隙，以保证通风顺畅。



小心：液体冷却设备和周围物体之间要预留足够的空间，到所有通风侧的距离不小于 0.3 米。通风不畅会导致制冷量减少，还可能导致压缩机故障。

冷却剂

只能使用蒸馏水丙二醇混合液作为冷却剂。丙二醇浓缩液可以向 Tecan 购买。使用前，必须使用 0.75L 蒸馏水对浓缩液(0.25L 浓缩液)进行稀释，以获得 1L 冷却液。严禁使用任何其他冷却剂或自来水，以免因为污染和腐蚀造成设备损坏。



小心：仅限在冷却系统中使用推荐的冷却液，否则可能会造成集成冷却模块或外部液体冷却设备损坏（水垢, 管道堵塞）。



小心：储罐中没有冷却液时，不得操作液体冷却设备！

17.2.2 连接程序

小心：仅限使用没有损坏迹象的冷却管道。

下面的内容将详细介绍连接程序：

- SPARK 酶标仪和外部液体冷却设备：确保已经拔下主电源线，而且主电源开关处于 OFF 位置。
- 将外部液体冷却设备的供液冷却剂出口（OUTLET）与集成冷却模块背面的设备供液（SUPPLY）端口连接。使用提供的管道。（见下图）。
- 将外部液体冷却设备的供液冷却剂入口（INLET）与冷却模块背面的设备回流（RETURN）端口连接。使用提供的管道。
- 使用提供的 CAN 电缆，将集成冷却模块与 SPARK 酶标仪的冷却端口连接。（见下图）。
- 将冷凝管连接到设备背面（集成冷却模块）的冷凝物出口（CONDENSATE OUTLET）。将冷凝物收集器放在管道的末端。冷凝物收集器不随设备提供。（见下图）。
- 取下盖子，打开外部液体冷却设备的冷却液储罐。（见下图）。
- 向冷却液储罐内加注约 2/3 罐冷却液。
- 再次盖上盖子，关闭外部液体冷却设备的冷却液储罐。（见下图）。

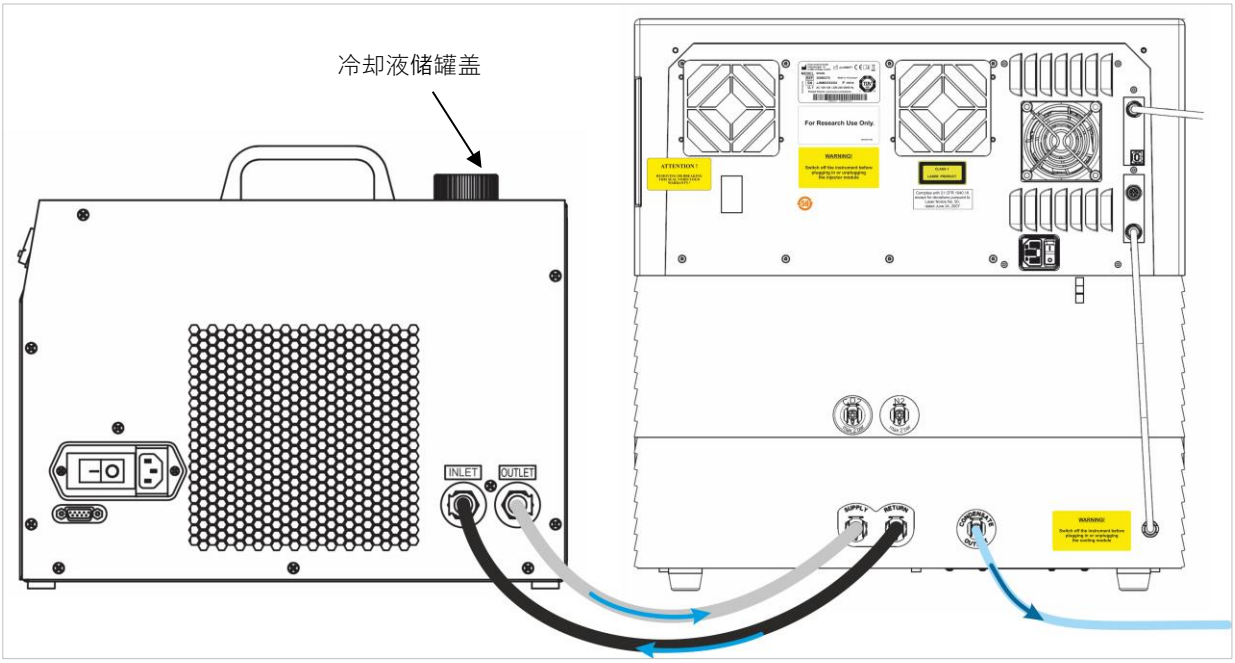


图 21: 将带集成冷却模块的 SPARK 连接到外部液体冷却设备

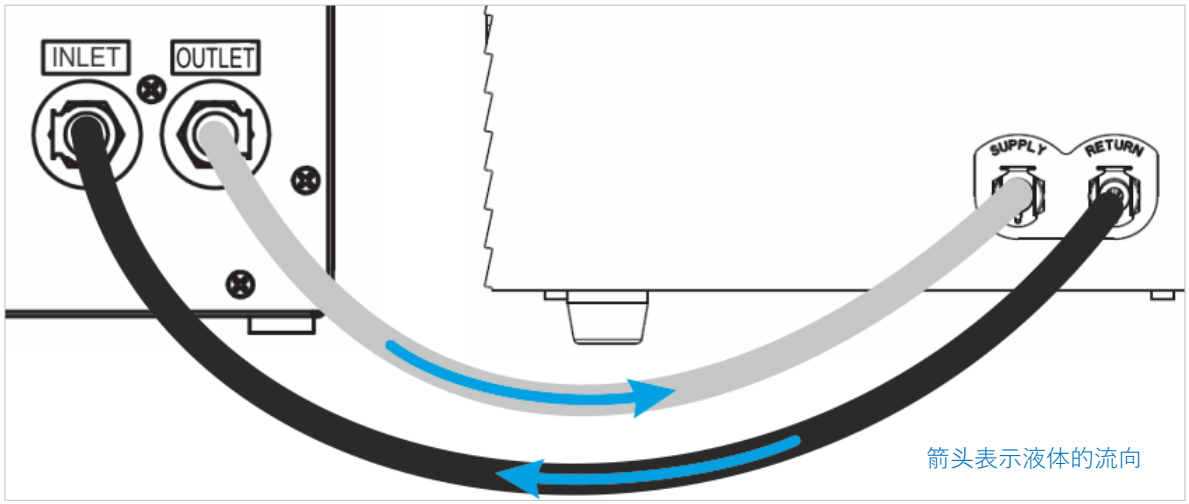


图 22: 集成冷却模块/外部液体冷却设备之间的连接

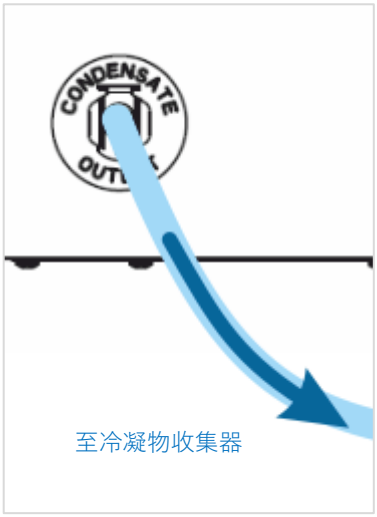


图 23: 冷凝物出口

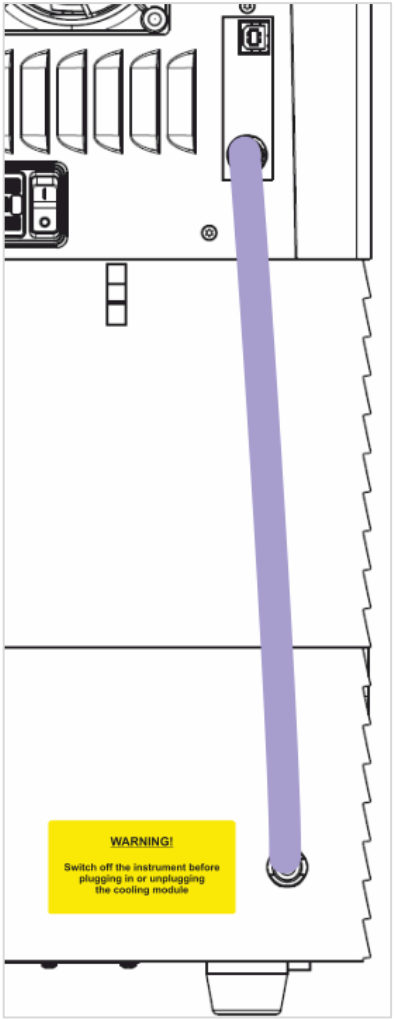


图 24: CAN 电缆

17.2.3 打开外部液体冷却设备

1. 确保冷却液储罐内的冷却液大概加满到 2/3 的位置。
2. 将液体冷却设备的主电源线连接到适当的交流电源。
3. 打开设备，使其运行约 10 分钟，以加注冷却系统，并排出其中的气体。在这一过程中，持续坚持加注液位。根据需要，添加冷却剂。
4. 检查是否符合工作参数（参阅液体冷却设备操作手册）。
5. 将数字控制器设置到 12 ° C（参阅水冷设备操作手册）。
6. 盖上冷却剂储罐盖。
7. 设备此时准备就绪。

注意：在日常启动中，使用前，要适当提前打开液体冷却设备，提前时间取决于实验室的环境温度。

小心：应将液体冷却设备设置在待冷却设备附近，从而保证管道尽量保持平直，不会弯曲或打结。

17.2.4 操作集成冷却模块(Te-Cool)

打开外部液体冷却设备主电源开关，并将目标温度设置为 12 ° C。温度设置的相关说明请参阅 Laird Technologies 公司的热电再循环液体冷却器 MRC 150/300 操作手册。

在开始测定前，使用 SparkControl 软件的冷却功能等待冷却液均衡。根据目标温度设置, 环境条件和测定室的当前温度，冷却液保持均衡需要 30 到 90 分钟。

设备随机配送两个防冷凝塞（见下图）。将其安装到集成冷却模块左侧和右侧的槽中。默认不会安装这两个塞子。如果安装了这两个塞子，冷却模块将会发热，可能达不到目标冷却温度。如果冷却功能满负荷工作（环境温度和目标温度的温差较大），必须安装这两个塞子，以防止发生冷凝。否则，可能会观察到积水现象。

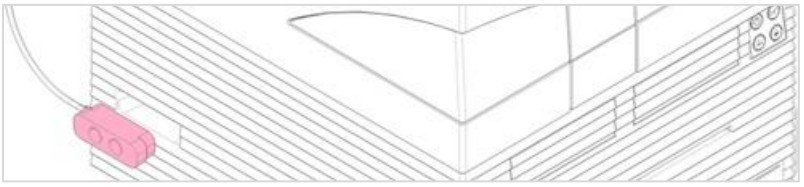


图 25: 防冷凝塞（设备的两侧）

注意：如果环境温度和目标温度的温差较大，用户必须安装防冷凝塞。

17.2.5 冷却控制软件设置

注意：使用温度控制功能时，始终要打开外部液体冷却设备。

软件设置，请参阅 17.1 章 加热模块。

环境冷却模式

环境冷却模块可以将环境温度设定为设备的目标温度。可以通过 Dashboard 或 Method Editor 中的 **Temperature Control** 窗口执行。

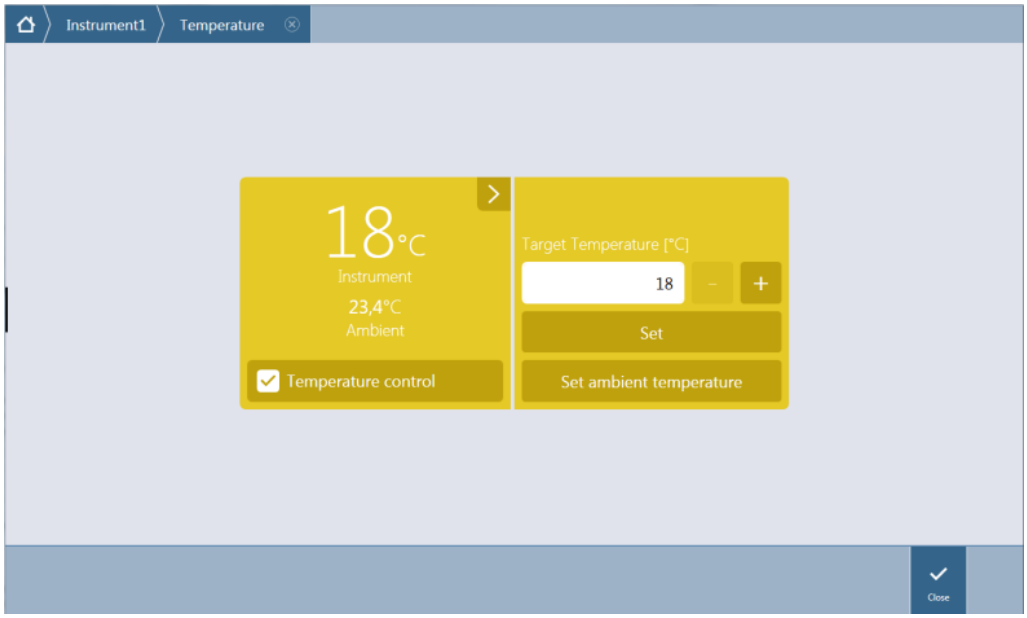


图 26: 带有冷却模块的设备的 Temperature Control 窗口

选择 **Temperature control** 并单击 **Set ambient temperature**。当前的环境温度将自动设置为目标温度。选择 Temperature Control 方块顶部右侧的展开按钮，查看设备内的当前温度。清空 **Temperature control** 复选框，停止冷却。

17.2.6 警报功能/故障排除

关于外部液体冷却设备警报功能和故障排除，请参阅热电再循环液体冷却器 MRC 150/300 操作手册(Laird Technologies GmbH)。

如需技术支持和服务，请联系当地 Tecan 客户支持机构。

17.2.7 维护

关于外部液体冷却设备的维护，请参阅热电再循环液体冷却器 MRC 150/300 操作手册(Laird Technologies GmbH)。

在日常维护中，检查管道是否有打结和泄漏现象，并确保所有管道正确连接。

检查外部液体冷却设备是否加满冷却液。检查冷凝物收集器的液位，必要时清空。

17.3 气体控制

气体控制模块为使用 SPARK 多模式酶标仪进行的各种细胞学应用提供了一套综合解决方案。有两个集成气体入口，可以控制 CO_2 和 O_2，以帮助维持稳定的培养条件，并促进细胞生长。二氧化碳的浓度通过流入的 CO_2 气体来调节，通过供送 N_2 气体来降低氧气含量。

在装备气体控制模块时，设备可以用于真核細胞系的体外研究和厌氧或兼性厌氧细菌的研究。

气体控制模块可以采用两种配置：

CO_2 配置	可以调节测定室内的 CO_2 浓度。
CO_2 和 O_2 配置	可以调节测定室内的 CO_2 和/或 O_2 浓度。

17.3.1 气体安全

遵守以下指南：

- 使用气体控制模块时必须采取基本安全预防措施，以降低人身伤害, 失火或电击的危险。
- 阅读并理解本章中的所有信息。没有认真阅读, 理解并遵守本章中的说明可能导致设备或气体控制模块损坏, 操作人员人身伤害或设备性能不良。
- 遵守本章中的所有警告和小心注意事项。确保与气体控制模块相关的所有员工都可以查看这些安全信息。
- 此外，设备操作人员应当具备相关职业操作经验 , 应当熟悉使用化学品和危险生物物质所需的必要安全注意事项。
- 在操作可能会导致传染的材料时，应采取预防措施。确保按照相应的安全标准和法规以及实验室规程处理存在生物危害性的材料。
- 当设备开启并需要使用外设的压缩气体时要佩戴护目镜。



警告：气体控制选件的设计用途仅限 CO_2（二氧化碳）和 N_2（氮气）。气体控制选件只能由经过培训的人员使用。
严禁使用易燃或低温的气源！



警告：必须为使用 CO_2 和 N_2 的房间提供适当通风。



警告：遵守压缩气体作业（运输, 存储, 搬运和使用）安全规程。
CO_2 和 N_2 气罐必须始终垂直并牢固固定到较大固定物体上。
要谨防压缩气罐的跌落或倾倒！压缩气罐掉落或损坏很容易致人死亡！

17.3.2 气体连接

在通风良好且可以很好地控制温度和湿度（空调）环境中操作气体控制模块。在激活气体控制选项前，确保指定的场所满足下述要求。

温度：15 ° C (59 ° F) – 35 ° C (86 ° F)

不要将设备置于或靠近阳光直射或热源的位置。
维持低尘环境。避免液体和蒸汽接近设备。
设备背面要留有充足的空间，以便操作后面板。确保所有气体管道都可以操作，而且不会发生堵塞。

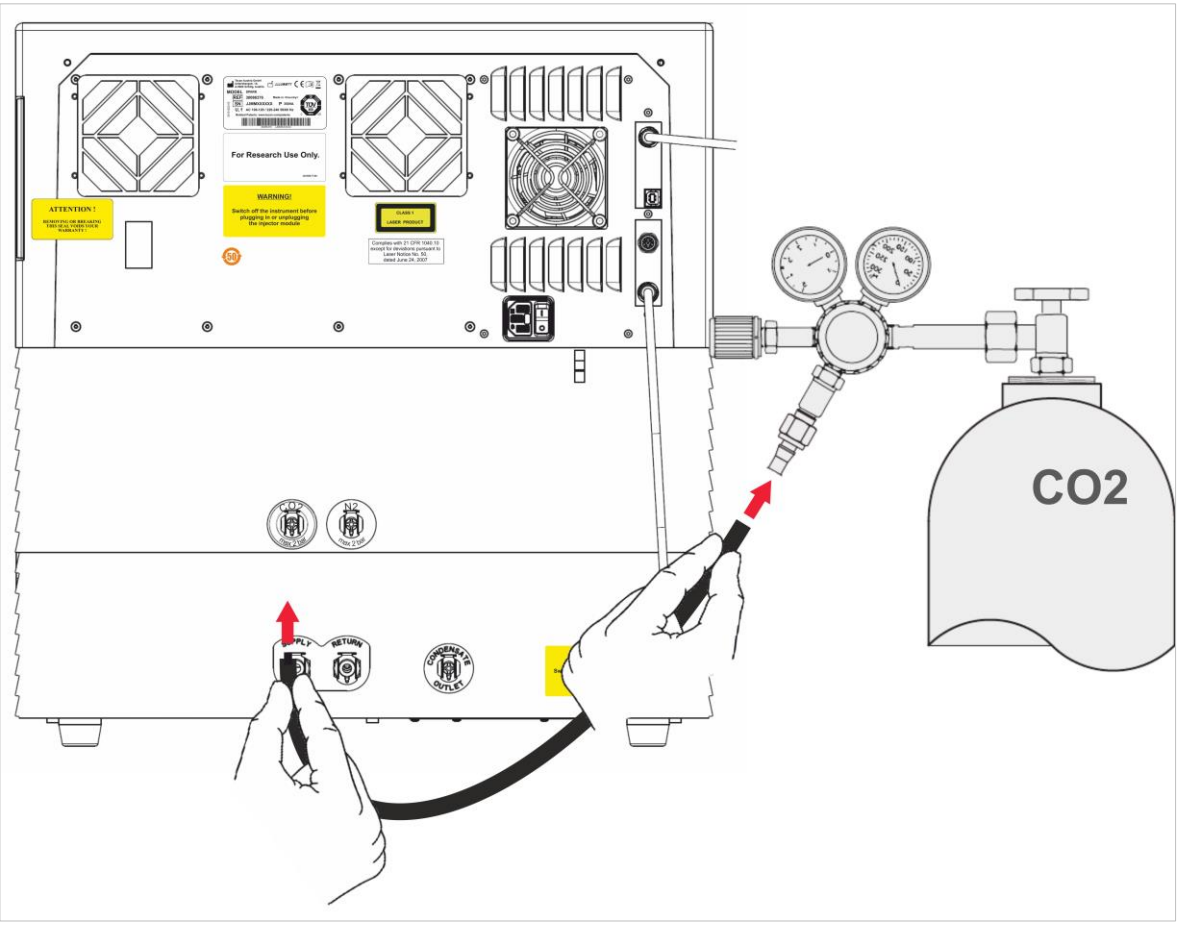


警告：安装 CO_2 和/或 N_2 气源时，要遵守适当的气体操作注意事项和安全规程。阅读制造商或供应商提供的所有标签信息以及材料安全数据表(MSDS)。

警告：始终使用获得批准可以用于特定气体的调节器，并要设有高压和低压表。

下面的内容将详细介绍气体连接程序：

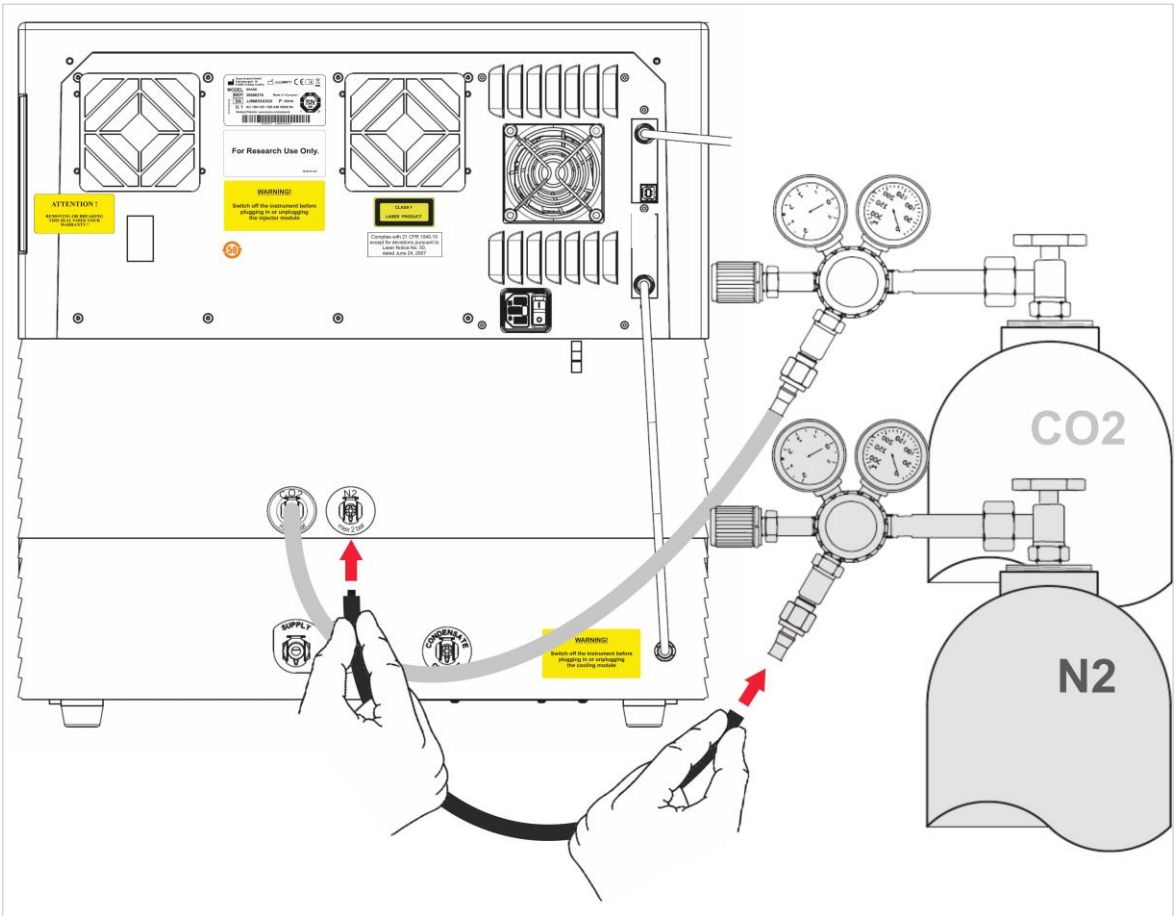
将 CO_2 气罐或实验室气体操作系统连接到背面的设备进气端口(**CO_2**)。使用提供的带快速接头的管道，将管道连接到带有塑料夹得气罐调节器，如下图所示。



启动 SparkControl 软件，并输入所在地点的海拔高度（更多信息，请参阅参考指南和 SparkControl 手册）。

注意：在开始使用气体模块前，必须通过 SparkControl 软件输入所在地点的海拔高度。

如果气体控制模块是针对 **CO_2 和 O_2** 进行配置的，则除了调节 CO_2 外，还可以使用氮气调节含氧量。将 N_2 气罐或中央气源连接到背面的设备进气端口(N_2)。使用提供的带快速接头的管道，将管道连接到带有塑料夹得气罐调节器，如下图所示。



17.3.3 CO_2和N_2气罐（不随机提供）

为了控制气体浓度，需要采用具有减压阀的气罐或实验室气体处理系统。

气体：二氧化碳(CO_2)，用于调节 CO_2 浓度；氮气(N_2)用于降低 O_2 浓度(例如 50 升气罐)。建议使用满足下述气体纯度要求的气体。

气体	气体纯度
CO_2	≥ 99.0 %
N_2	≥ 99.9 %

减压阀上必须配备两个压力表，一个显示气罐（高压表）内的压力，另一显示最高 2 bar 的降低压力（不超过 29 psi；低压表）。注意调节压力的显示屏的范围在 5 bar (72.5 psi)到 15 bar (217.5 psi)之间，调节幅度为 1 – 2 bar。确保压力调节阀设计用于生物应用（咨询制造商）。

气罐到减压阀的连接在不同的国家有所差异。**请与所在国家的气罐公司确认连接是否正确！**检查减压阀的连接件是否与设备气体管道的内径一致。这一管道的内径约为 6 mm。接头到减压阀之间的管道必须用塑料夹固定。固定时，需要用到一对老虎钳。

确保管道不会弯曲或打结。

根据需要可以将压力单位从 bar 转换为 psi: bar x 14.5 = psi (磅每平方英寸)，例如 2 bar = 29.0 psi。

为了防止气罐跌落，可以向气罐公司购买气罐架或桌台（带有固定链或固定带）或气罐支架，也可以从实验室产品目录中订购。

警告：在打开主阀门前，确保调节器和截止阀已经关闭。



警告：确保连接到设备的气体(CO_2和 N_2)的最高压力不超过 2 bar。



警告：在供气过程中，保持进样器端口关闭。进样器不使用时，要插入进样器模型。



警告：在使用气源运行方法前，检查气体管道和接头是否有漏气现象，确保管道和接头正确固定。

17.3.4 气体控制软件设置

气体控制功能可以手动激活也可以在方法执行过程中启动。



注意：在启动包括气体控制的方法时，如果定义不匹配，方法设置将会拒绝手动设置。



注意：在开始使用气体模块前，必须通过设备设置输入所在地点的海拔高度。

17.3.5 手动气体控制

可以通过 **Dashboard** 或 **Method Editor** 上的 **Gas Control** 手动打开气体控制。

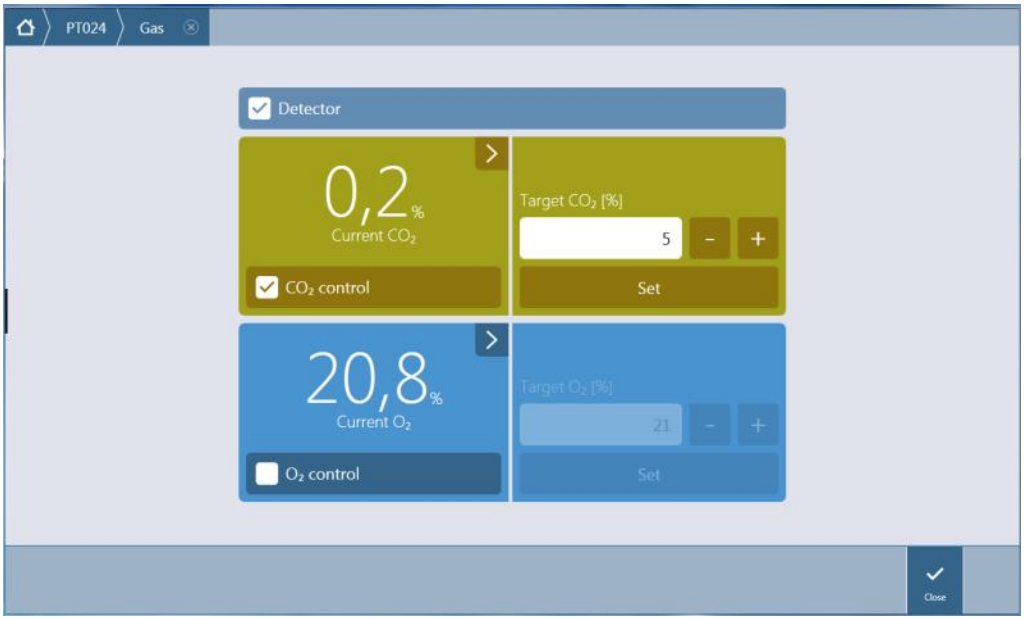


图 27: 气体控制窗口

选择 **Detector** 打开气体探测器。选择 **CO_2 control** 和/或 **O_2 control**。输入目标气体浓度 并单击 **Set**，开始气体调节。选择控制方块顶部右侧的展开按钮，查看设备内的当前气体浓度。清空气体控制复选框，停止气体调节。

小心：在确定数值的小数位时，始终使用计算机操作系统区域和语言设置中定义的十进制符号。

注意：打开气体探测器可能需要几分钟时间。

17.3.6 通过Method进行气体控制



注意：方法开始执行时，开始气体调节。如果选择 **Wait for gas**，则测定不能启动，直到当前的气体浓度在规定范围内。有关开始测定前调节气体设置的信息，请参阅 17.3.5 章 手动气体控制。



注意：打开气体探测器可能需要几分钟时间。在使用气体控制开始测定前，我们建议打开探测器。

气体条

气体条用于气体控制。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



小心：在确定数值的小数位时，始终使用计算机操作系统区域和语言设置中定义的十进制符号。



警告：确保在孵育过程中可以提供足够的 CO_2 或 N_2 气源。气体耗尽或气源故障可能会对细胞应用造成不利影响甚至造成损害。



警告：确保使用适当的透气粘接膜, 粘结带或盖子封住微孔板。密封微孔板可以促进培养环境中的气体交换（通风），同时还可以作为屏障减少供气过程中的蒸发。



注意：化验中始终包括适当的主动和/或被动控制，以反映孵育过程中细胞活性的影响。



警告：按照相应的安全标准和法规处理存在生物危害性的材料。

17.3.7 音响警报

如果在初次激活气体模块后 20 分钟内没有达到目标浓度，或在操作过程中浓度偏离超过 10 分钟，即出现偏差(> +/- 20 %)，就会发出音响警报。这样可以帮助用户辨别异常情况，例如气源耗尽（气罐用光）。显示的消息会说明哪种气体受到影响，并检查对应的气罐。单击 OK，停止音响警报，继续方法。

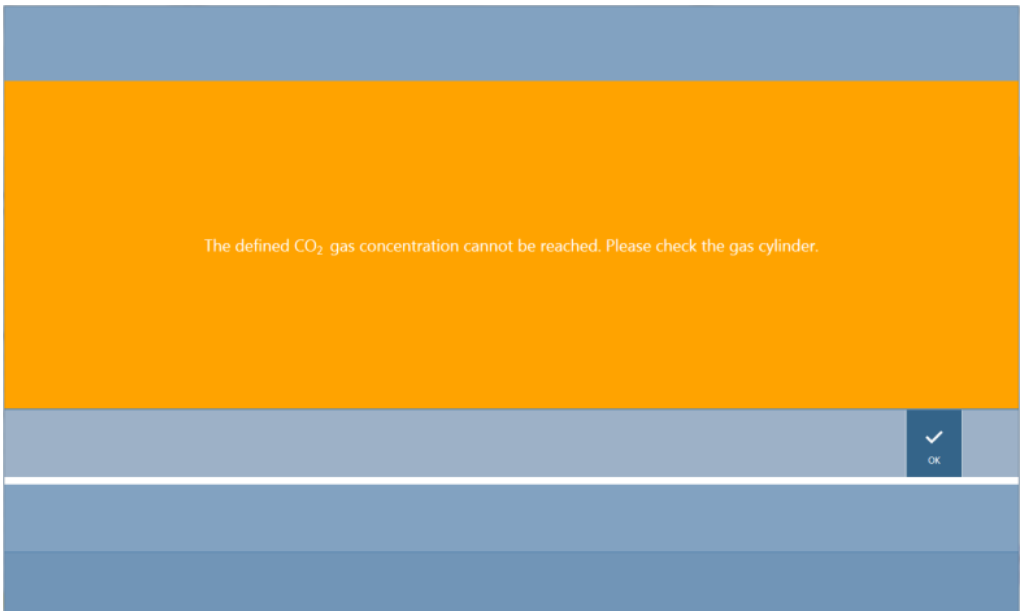


图 28: 停止气体警报

如果断电，气阀会自动关闭。

17.4 湿度控制

在进行长期研究（3 天或更长时间）时，蒸发最为明显。尤其是在执行长期活细胞实验时，可能会出现明显的蒸发现象，并造成一定影响，尤其是对于微孔板靠外的孔以及边角的孔。在水蒸发时，介质中的物质浓度会升高，影响细胞生长和表现，导致结果出现不一致或偏差。

湿度盒可以主动稳定湿度，并减少长时间孵育过程中的蒸发。湿度盒可以结合各种符合 SBS 标准的单孔到 384 孔微孔板使用。还可以在所有测定模式下执行孵育和信号检测。

气体交换, 信号检等步骤可以结合自动开盖器选件使用。振荡结合湿度盒仅限用于单轨道振荡, 双轨道振荡模式。

注意：湿度盒始终可以结合自动开盖器选件使用。

SPARK CYTO 配置需要使用具有更改的尺寸的特制湿度盒，包装标签上有 Cyto 字样。相较于标准湿度盒，这种湿度盒的储水槽的最大存水量有所不同。兼容所有形式的微孔板（6-孔到 384-孔），用户操作方式相同。

警告：使用 Cyto 湿度盒时始终要结合细胞成像仪模块，否则可能会对仪器造成损坏。

17.4.1 标准湿度盒/ Cyto

湿度盒包括储水槽和盖子，盖子上带有磁性箔，可以帮助自动开盖。盖子关闭，防止蒸发。为了进行气体交换，必须首先在软件中选择自动开盖器选件（通风）。

警告：湿度盒与 Spark-Stack 模块不兼容。



图 29: 湿度盒

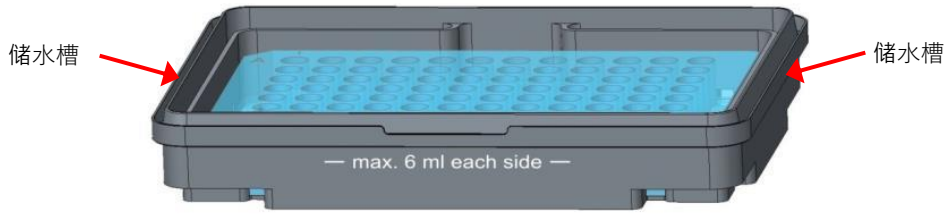


图 30: 湿度盒的基础部件，固定微孔板，包括储水槽

标准湿度盒

有两种不同的湿度盒，一种较大一种较小，可以用于不同类型的微孔板。

湿度盒 - 小号: 用于没有微孔板盖的 96 孔和 384 孔微孔板。最大高度为 16 mm。通过在软件中使用自动开盖器选件，所有检测模式都可以结合矮湿度盒使用。每个储水槽的最大存水量为 4 ml。

湿度盒 - 大号: 可以用于 6 孔到 384 孔微孔板，有无盖子均可，最大高度为 23 mm（包括盖子的高度）。通过在软件中使用自动开盖器选件，除化学发光检测外的所有检测模式都可以结合高湿度盒使用。每个储水槽的最大存水量为 6 ml。

Cyto湿度盒

随细胞成像仪模块提供的湿度盒的最大存水量与标准湿度盒不同。

湿度盒 – Cyto 小号: 可以使用 96 孔和 384 孔微孔板（不带微孔板盖）。最大高度为 16 mm。通过在软件中使用自动开盖器选件，所有检测模式都可以结合矮湿度盒使用。每个储水槽的最大存水量为 3 ml。

湿度盒 – Cyto 大号: 可以用于 6 孔到 384 孔微孔板，有无盖子均可，最大高度为 23 mm（包括盖子的高度）。通过在软件中使用自动开盖器选件，除化学发光检测外的所有检测模式都可以结合高湿度盒使用。每个储水槽的最大存水量为 5.2 ml。

警告：在软件中选择正确的湿度盒类型（小型或大型），以避免造成设备损坏。

17.4.2 操作程序

1. 使用加样器向每个储水槽中加入蒸馏水，其中小湿度盒的加注量为 3-4 ml，大湿度盒的加注量为 6 ml。
2. 将装有待检测样本的微孔板（有无盖子均可）插入到湿度盒的基础部件中。确认方向正确无误，且湿度盒贴有相应的标签。
3. 将盖子放在湿度盒上，正确闭紧，使微孔板的位置 A1 与盒盖的位置 A1 对准。
4. 将湿度盒放到载板架上。确保方向正确，孔 A1 的位置应在左上侧。

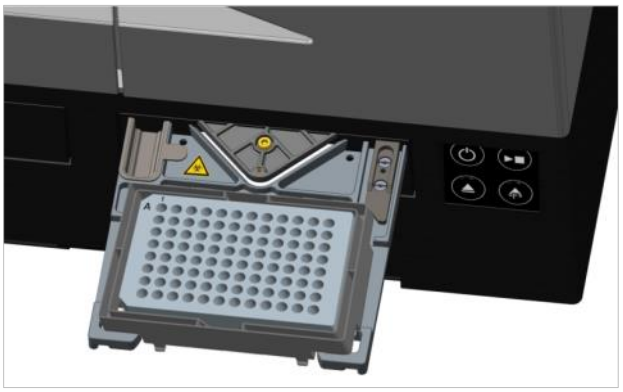


图 31: 微孔板在载板架上，其中 A1 孔在左上角

5. 启动方法。

小心：在使用湿度盒开始测定前，确保微孔板位置和湿度盒位置 A1 正确插入。孔 A1 的位置应在左上侧。

警告：储水槽的注水量不要超过推荐值，以免溢出。

警告：在将湿度盒放到板传送器上前，确保盒盖已经正确盖紧。

6. 测定循环结束，载板架移出后，装有样本微孔板的湿度盒可以轻松从载板架中取出。取下盒盖，将湿度盒内装有微孔板的下半部分放到卸载工具上，就可以轻松将微孔板从湿度盒中取出。

可以使用 70 %乙醇对湿度盒进行清洁，也可以在不超过 125 ° C 的温度条件下进行灭菌。

卸载工具在湿度盒的原始包装中，在湿度盒的下半部分下面。这是利用包装材料制成的工具，但是没有完全剪掉。将泡沫块推出，并将其取下。

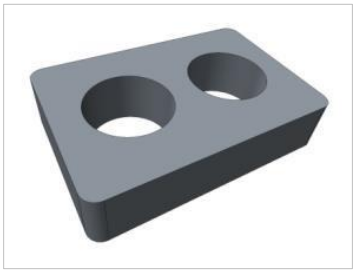


图 32: 卸载工具（包装材料的一部分）

17.4.3 软件设置

湿度盒可以从微孔板板条中选择。



注意：湿度盒用于结合自动开盖器使用。请在使用前确保湿度盒上安装了磁性垫。



注意：选项 **Removable Lid** 不能与湿度盒一起使用。如果使用板盖，在软件中选择选项 **Lid**。

通风

可以在 **Shake** 和 **Wait** 条中定义通风设置，即时长和间隔。

振荡

振荡结合湿度盒仅限用于单轨道振荡，双轨道振荡模式，以免液体溢出。

17.5 环境控制规格



注意：所有规格可能会发生变更，恕不另行通知。

17.5.1 热量

参数	规格
加热范围	比环境温度高+3 ° C 到+42 ° C
激活气体控制时的加热范围	比环境温度高+3 ° C 到+42 ° C
加热均匀度	< 0.5° C（在 30° C 和 37° C 之间，孵育位置）
环境工作条件	+15 ° C 到+35 ° C

17.5.2 冷却

参数	规格
冷却范围	+18° C 到+42° C
96 孔微孔板的冷却均匀性	< 1° C（微孔板温度在 18° C 和 37° C 之间）
环境工作条件	比环境温度高+18 ° C 到+32 ° C

17.5.3 气体控制

参数	规格
CO_2 浓度范围	0.04 %到 10 %体积百分比
CO_2 浓度准确度	< 1 %
O_2 浓度范围––	0.1 %到 21 %体积百分比（失准调节度低于 0.5 %，激活主动冷却时低于 0.8 %）
O_2 浓度准确度	< 0.5 %



注意：CO_2 传感器的测量准确度在气体浓度低于 0.1 %时会失准。

17.5.4 湿度控制

参数	规格
96 孔微孔板，带盖子，在+37 ° C 温度条件和 5 % CO_2 条件下孵育 4 天	蒸发< 10 %（不包括外侧孔，第一排和最后一排，第一行和最后一行）
运行状况	+18 ° C 到+42 ° C

18 NanoQuant 应用

NanoQuant 微孔板使用吸光度作为检测模式，对 2 µl 小体积溶液中的核酸和蛋白质进行量化测定。

Tecan 提供两款现成的应用，用于核酸的常规分析：NanoQuant Quantitation（量化测定）应用，用于对 260 nm 核酸进行量化测定，可以快速获得样本浓度和纯度方面的数据。Labeling Efficiency（核酸标记）应用额外提供标记程序中使用的标记物的浓度。

对于蛋白质的定量测定，Tecan 提供 NanoQuant 蛋白定量应用程序。蛋白质的定量是通过在 280 纳米波长下测量其特定吸光度来实现的。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。

18.1 核酸定量应用程序

注意：纯 DNA 样本的 260/280 在 1.8 和 1.9 之间，而纯 RNA 的样本之比约为 2.0。数值偏低可能表示存在蛋白质或其他污染物。这种情况下，建议增加提纯步骤。

注意：纯核酸的 260/230 比在 2.0 – 2.2 之间。如果这一比值明显低于预期值，可能表示存在盐或有机溶剂等物质。这种情况下，建议增加提纯步骤。

注意：单次空白削减需要对所有将要用于后续测定的所有孔都进行空白削减。样本空白校正使用 NanoQuant 微孔板上的对应孔的单个空白削减值来执行。在单次空白削减中，需要至少选择一个孔。

注意：平均空白削减：需要选择至少两个孔，与用于随后的样本测定的孔编号无关。对测定的空白值取平均值，接着，用计算得出的平均值用于校正样本测定值。

注意：空白削减结果会根据空白削减参数，波长设置和样本类型进行存储。如果其中有参数发生更改，需要重复进行空白削减程序。

18.1.1 空白削减结果的验证程序

注意：单独的空白削减不需要验证标准。

注意：平均空白削减：如果 260 nm 条件下的原始 OD 值的变动系数（CV）低于 10 %的阈值，则认为空白削减结果有效。如果达不到这一标准，则需要重复空白削减程序，而且需要不能继续进行样本测定。数值超过允许的 CV 阈值的孔将会突出显示。

18.1.2 重复空白

注意：如果空白削减测定值不正确或使用了新的空白削减样本，则重复空白削减。

小心：如果重复空白削减，则当前的空白削减结果将会被丢弃。

小心：打开和关闭 NanoQuant 应用不会造成空白削减结果丢失。断开设备或重启软件，当前的空白削减结果会被丢弃。

18.1.3 开始测定

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。

注意：所有结果数据会自动导出到 Microsoft Excel 中。

18.2 标记效率应用程序

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。

18.3 蛋白质定量应用程序

注意：使用默认样本时，将以 mol/L 为单位计算相应的蛋白质浓度。要获得以 mg/ml 为单位的浓度值，请参阅 SparkControl 手册中的 "编辑样本 "一章。

注意：单独空白需要对用于后续测量的所有孔进行空白处理。样品的空白校正通过使用 NanoQuant 板上相应孔的单一空白值来进行。对于单独空白，需要选择至少一个孔。

注意：空白检测结果将根据空白检测参数、波长设置和样品类型进行保存。如果更改其中一个参数，则必须重复空白处理程序。

18.3.1 空白检测结果的验证标准

注意：单独的空白削减不需要验证标准。

注意：如果超过了规定的阈值，系统会发出警告。可以继续进行样品测量。

18.3.2 重复空白

注意：如果空白削减测定值不正确或使用了新的空白削减样本，则重复空白削减。

小心：如果重复空白削减，则当前的空白削减结果将会被丢弃。

小心：打开和关闭 NanoQuant 应用不会造成空白削减结果丢失。断开设备或重启软件，当前的空白削减结果会被丢弃。

注意：所有结果数据会自动导出到 Microsoft Excel 中。

18.4 NanoQuant 维护

在获得了理想的测定结果后，需要对 NanoQuant 微孔板进行清洁，这是整个测定中最重要的一部分。有两种 NanoQuant 微孔板清洁程序：

18.4.1 超声波水浴清洁程序

1. 在超声波浴中加水，并将加有蒸馏水的烧杯放入超声波浴中。
2. 打开超声波，将 NanoQuant 微孔板盖子浸入烧杯中，搅动约 20 秒。注意不要将微孔板的铰链浸入烧杯中。
3. 针对 NanoQuant 微孔板的底部重复此程序。
4. 用干燥无油的压缩空气吹干 NanoQuant 微孔板，清除多余的水。

18.4.2 Kimwipe擦拭纸清洁程序

1. 用 70%乙醇浸湿实验室用 Kimwipe 擦拭纸，然后用擦拭纸清洁 NanoQuant 微孔板内外表面。
2. 用蒸馏水浸湿一片棉球或 Kimwipe 擦拭纸，并清洁 NanoQuant 微孔板的每个石英镜头的两侧。
3. 用干 Kimwipe 擦拭纸擦掉多余的液体。

清洁后，将微孔板存放在无尘无绒的地方。石英镜头上不得有任何绒毛, 灰尘或条痕。任何污染都可能会导致测定结果不准确。在一次测定多个不同的样本时，可以使用（湿）Kimwipe 擦拭纸清洁石英微孔。为了延长 NanoQuant 微孔板的寿命并减少维修次数，清洁和维护程序很重要。建议将经过清洁的 NanoQuant 微孔板存放在原始包装箱内。



小心：石英镜头上的绒毛, 灰尘或指纹可能会造成 OD 值发生很大变化。避免弄脏垫圈，因为可能会改变 NanoQuant 微孔板的光路长度，进而改变 OD 值。样本只能应用到清洁的石英镜头上。

19 细胞计数片中的细胞计数

有两款现成的软件可供使用：

- **细胞活性：**细胞计数和活性检测可以在一次测定中同时执行。要检查细胞活性，需要以 1:1 的比例将细胞悬液样本中加入台盼蓝。在计算结果时，会自动考虑这一稀释步骤。
- **细胞计数：**只进行细胞计数，不需要往细胞溶液中添加染色剂。



小心：注意台盼蓝溶液是均相的。避免使用染料颗粒，因为会影响数据分析。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



小心：细胞计数片是一次性用品，只能使用一次。不要在超过包装底部注明的“有效期”后使用。



小心：操作细胞计数片时，始终要佩戴手套。避免任何污染或刮痕，以保证可以获得最佳的性能。



小心：不要使用没有安装弹簧的细胞计数片载架。可能会出现测定错误。



小心：在开始测定前，确保细胞计数片载架正确插入，开口在正面，孔 A1 在左上方。



注意：细胞尺寸越小，影像分析时间越短。



注意：当细胞浓度较低时(低于 $5x10^5$ 细胞/ml)，每张图像上的计数细胞数量较小，建议取多张图像（至少 1 张），来补偿细胞分布不规则的情况，从而得到更准确的计数数据。



小心：重新计算的数据不会自动保存。在重新计算程序完成后，在操作条上选择 **Export**，以免数据丢失。

20 比色杯应用

比色杯应用用于在比色杯端口内的比色杯内执行的常规吸光度和吸光度扫描终点测定。

更多详情，请参阅 SparkControl 手册。



注意：每次使用新测定参数开始测定时，都需要执行 Prepare Instrument 测定。请确保比色杯端口是空的。



注意：选择 Edit 参数将关闭当前的测定会话。需要重复 Prepare Instrument 测定。

21 疑难排解

21.1 SparkControl 错误和警告

如果错误无法解决或经常反复出现，请联系当地 Tecan 服务代表。

还可查看此页以获得更多支持：
https://www.tecan.com/knowledge-portal/microplate-reader#spark-troubleshooting.

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
设备相关错误		
Initialization error for motor 'motor' 电机'motor'初始化错误	初始化过程中执行机构发生故障	向 Tecan 报告。 关闭仪器再打开，重新尝试。
Steploss error for motor 'motor' 电机'motor'失步错误。	执行机构故障；测定后进行检查	向 Tecan 报告（结果不可靠）。 关闭仪器再打开，重新尝试。
电机'motor'未初始化	执行机构故障；测定前进行检查	向 Tecan 报告。 关闭仪器再打开，重新尝试。
Movement position 'position' not found 未找到运动位置'position'	未找到逻辑位置；配置错误	向 Tecan 报告
Movement for motor 'motor' timed out! 电机'motor'运动超时！	执行机构故障	向 Tecan 报告
Error reading temperature sensor 温度传感器读数错误	温度传感器故障	向 Tecan 报告
Command 'command' is not valid 指令'command'无效	计算机内部错误 - 设备通信协议	向 Tecan 报告
Parameter 'parameter' is missing 参数'parameter'丢失	计算机内部错误 - 设备通信协议	向 Tecan 报告
Module 'module' with number 'number' had an error|'add. text' 含有数字'number'的模块'module'出现错误|更多文本'add. text'	设备错误（模块）	向 Tecan 报告
'module' had an error|'add. text' 子模块'module'出现错误||更多文本'add. text'	设备错误（子模块）	向 Tecan 报告
CAN Receive timeout from Module 'module' CAN 到模块'module'的接收超时	设备错误(CAN 总线超时)	向 Tecan 报告

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
CAN communication error CAN 通信错误	设备错误(CAN 总线)	向 Tecan 报告
SPI timeout SPI 超时	设备错误（SPI）	向 Tecan 报告
I2C timeout I2C 超时	设备错误（I2C）	向 Tecan 报告
SCI timeout, Submodule 'sub-module' SCI 超时，子模块'sub-module'	设备错误（SCI）	向 Tecan 报告
Injector timeout 进样器超时	与进样器模块通信超时	向 Tecan 报告。 关闭设备。检查进样器电缆。打开设备，重新尝试。
Injector communication error 进样器通信错误	设备通信错误 - 进样器模块	向 Tecan 报告。 关闭设备。检查进样器电缆。打开设备，重新尝试。
Answer 'answer' from internal Command 'command' wrong|'add. text' 内部指令'command'应答'command'错误|更多文本'add. text'	设备错误	向 Tecan 报告
Buffer 'buffer' is out of memory|'add. text' 缓存'buffer'空间不足|更多文本'add. text'	设备错误	向 Tecan 报告
Buffer 'buffer' is out of memory|'add. text' 缓存'buffer'空间不足|更多文本'add. text'	设备错误	向 Tecan 报告
Sending the data over USB failed ('number' retries) 通过 USB 发送数据失败(重试次数'number')	在通过 USB 信道向计算机发送数据时发生设备错误	向 Tecan 报告。 关闭设备。检查 USB 电缆。打开设备，重新尝试。如果错误时由于 USB 流量拥堵或计算机负荷过高，关闭应用可能会有所帮助。
通信相关错误（计算机与设备）		
Not able to connect to the communication service 无法连接通信服务	无法连接服务	关闭/打开设备。 用鼠标右键（右键菜单）单击托盘图标"SPARKCONTROL Agent"，并选择"Restart Services"，重启服务。

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
Lost connection to Instrument Server.Terminate application 与服务器连接中断。结束应用	设备连接中断	关闭应用（Dashboard 或 Method Editor） 关闭/打开设备。 用鼠标右键（右键菜单）单击托盘图标"SPARKCONTROL Agent", 并选择"Restart Services"，重启服务。
No instrument found 找不到设备	设备未出现	打开设备。
Instrument not free 设备被占用	设备被其他进程阻塞	确保没有其他程序在使用设备。 最后重启计算机。
Instrument could not be acquired 无法获取设备	设备被其他进程阻塞	确保没有其他程序在使用设备。 最后重启计算机。
Instrument is busy 设备正忙	设备正忙	等待设备空闲。
Error occurred: ‘command’ 发生错误：指令‘command’	设备报告指令'command’错误	向 Tecan 报告
Unexpected message received: ‘response’ 收到异常消息：应答 ‘response’	设备收到异常应答	向 Tecan 报告
Unexpected response format: ‘response’ 异常应答格式：应答 ‘response’	检测到异常应答格式	向 Tecan 报告
Checksum mismatch in received command 接收的指令中出现校验和错配	设备应答消息的校验和不正确	向 Tecan 报告
No configuration found 找不到配置	设备配置不正确	向 Tecan 报告
测定相关错误		
Instrument has no lid lifter defined 设备没有指定自动开盖器	设备配置不正确	向 Tecan 报告
Optimal Gain could not be found 找不到最佳增益	没有找到最佳增益	使用手动增益
Strongest well signal could not be found 找不到最强的孔信号	没有找到最佳增益	使用手动增益
Signal too low.Gain could not be calculated 信号强度过低。无法计算增益。	没有找到最佳增益	使用手动增益

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
Unable to find optimal Z-position after n retries n 次尝试后，没有找到最佳 Z 位置	没有找到最佳 Z 位置	使用手动 Z 位置
No reference blank selected 没有选择参考空白溶液	指定的 FP 测定没有参考空白溶液孔	选择参考空白溶液孔
Blank well 'Id' is not selected in the Plate strip 没有在微孔板条中选择空白溶液孔'Id’	指定的 FP 测定没有参考空白溶液孔	选择参考空白溶液孔
No reference well selected 没有选择选择参考孔	指定的 FP 测定没有参考孔	选择参考空孔
Signal well 'Id' is not selected in the Plate strip 没有在微孔板条中选择信号孔 'Id’	指定的 FP 测定没有信号孔	选择信号孔
Signal of reference well too low, choose another one 参考孔信号强度过低，请另外选择参考孔	参考孔信号强度过低	使用其他孔
Invalid G-Factor, signal of reference well is too low. G 系数无效，参考孔信号过低。	无法确定 G 系数	选择其他孔
Dark counts too high 暗计数过高	暗计数过高	向 Tecan 报告
Dark value too high: Darkvalue='value', Limit='limit’ 暗值过高，Darkvalue='value', Limit='limit’	暗计数过高	向 Tecan 报告
Lid Check error 盖子检查错误	盖子检查错误	设备进光量过大（来自直射阳光或样本）
The lid check had an error! Value='value', Limit='limit’ 盖子检查出现错误！Value='value', Limit='limit’	盖子检查错误	设备进光量过大（来自直射阳光或样本）
Low 'add.Text' signal error 低'add. Text’信号错误	亮度低错误（或信号强度过低）	向 Tecan 报告。 关闭仪器再打开，重新尝试。
'Add.Text' signal overflow error 'Add. Text’信号溢流错误	溢流错误	Too much signal; could be a device error.Or: too much signal from sample (reduce gain) 信号量过多；可能是设备错误。或：样本信号数量过多（降低增益）
Cancel of method failed 方法取消失败	无法停止测定	重试

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
Pause of method failed. 方法暂停失败。	无法暂停测定（多点测定）	重试；向 Tecan 报告。
Method can't be started because method 'method' is still pending on instrument 'device'. 方法无法启动，因为方法 'method'在设备'device'中仍然处于挂起状态。	在一个方法仍然处于挂起状态时，不能启动另一个方法。	等待设备进入空闲状态
Method can't be started because instrument 'device' is in use. 方法不能启动，因为设备 'device'正在占用。	无法启动方法，因为设备处于占用状态。	等待设备进入空闲状态
Error occurred executing method 'method' 执行方法'method'时出现错误	在执行方法过程中，出现不确定的错误	重试；向 Tecan 报告。
Lid already taken 盖子已经被控制	盖子已经由自动开盖器控制	向外移动微孔板，并再次向内移动
Autofocus Error: No peak found! 自动聚焦错误：没有找到峰值！	应用/设备错误	检查微孔板/向 Tecan 报告
一般错误		
Database doesn't exist! 数据库不存在！	无法打开数据库	重新安装程序
WCF call failed after 'n' retries 'n'次重试后 WCF 调用失败	Dashboard 或 Method Editor 向服务器发送消息时出现不确定的错误	关闭应用（Dashboard 或 Method Editor） 关闭/打开设备。 用鼠标右键（右键菜单）单击托盘图标"SPARKCONTROL Agent"，并选择"Restart Services"，重启服务。
Not able to find given printer 找不到指定打印机	找不到打印机	检查打印机设置
There is not enough memory available for image processing 图像处理可用内存不足	图像处理过程中出现内存分配错误	关闭其他应用。增加计算机内存
Memory allocation failed 内存分配失败	在图像采集或图像处理过程中出现内存分配错误	关闭其他应用。增加计算机内存

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
Imaging Server not found 找不到成像服务器	无法连接成像服务器	关闭应用（Dashboard 或 Method Editor） 关闭/打开设备。 用鼠标右键（右键菜单）单击托盘图标"SPARKCONTROL Agent"，并选择"Restart Services"，重启服务。
The PDFX directory: ‘directory' doesn't exist PDFX 目录：‘directory'不存在	板定义文件目录不存在（或无法访问）	重新安装程序
Camera initialization failed 摄像头初始化失败	无法初始化摄像头模块	关闭应用（Dashboard 或 Method Editor） 关闭/打开设备。 用鼠标右键（右键菜单）单击托盘图标"SPARKCONTROL Agent” 并选择"Restart Services"，重启服务。 如果问题仍然存在，请联系 Tecan。
Instrument 'device’ is defective. 设备'device’缺陷。	探测到设备缺陷。	向 Tecan 报告
进样器相关错误		
Injector carrier is inserted 进样器架已插入	已经插入进样器架 （但是，此时不应插入）	取出进样器架
Injector carrier is not inserted 进样器架未插入	进样器架未插入 （但是，此时应已经插入）	插入进样器架
Plate is not inserted 微孔板未插入	没有检测到微孔板	插入微孔板
The injection volume would be greater than the maximum capacity of the wells of the selected microplate.Injection aborted. 进样量将会大于所选微孔板孔的最大容量。进样暂停。	加注量过高。	减少加注量。
Injection is not possible with a plate cover. 带板盖情况下无法进样。	无法进样。	取下板盖（并在 Plate 条中调整设置）
Injector 'injector' is not primed.Please prime the injector. 进样器'injector’未取液。请给进样器取液。	进样器未取液。	在使用前给进样器取液

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
滤光片相关错误		
Filter ‘filter' - Maximum characters of filter description is 'n’ 滤光片‘filter' - 滤光片描述最大字符数为'n’	滤光片描述过长	删减文本
Maximum characters of filter slide description is 'n' 滤光片架描述最大字符数为'n’	滤光片描述过长	删减文本
Filter 'filter' - Bandwidth must be in the range of 5 - 100 nm 滤光片'filter' - 带宽必须在 5 - 100 nm 范围内	带宽超出范围	定义正确的带宽
Filter 'filter' - Wavelength must be in the range of 230 - 900 nm 滤光片'filter' - 波长必须在 230 - 900 nm 范围内	波长超出范围	定义正确的波长
Defined filter was not found. 没有找到定义的滤光片。	找不到请求的滤光片	在滤光片架上安装请求的滤光片
Filter not found 'filter’ 找不到滤光片'filter’	找不到请求的滤光片	在滤光片架上安装请求的滤光片
Filter 'filter' not inserted! 滤光片'filter’未插入！	请求的滤光片未插入	插入正确的滤光片
Defined mirror was not found. 没有找到定义的镜子。	找不到镜子。	向 Tecan 报道（如果用户定义了滤光片：安装并定义正确的镜子）
Spark-Stack 相关错误		
Input magazine is empty 输入塔为空	启动堆栈运行时，输入塔内没有微孔板。	启动堆栈运行前，向输入塔内插入微孔板。重新启动堆栈运行。
Output magazine is not empty 输出塔未清空	启动堆栈运行前，输出塔内有微孔板。	将微孔板从输出塔中取出。重新启动堆栈运行。
Plate carrier is not empty 载板架未清空	在启动堆栈运行前必须清空载板架。	将微孔板从载板架中取出。重新启动堆栈运行。
Start of method as stacker run not possible 无法启动堆栈运行方法	未加载微孔板塔或微孔板塔倾斜。	正确安装输入塔（有微孔板）和输出塔（无微孔板）。向下按微孔板塔，直到卡入到位。

错误	描述	可能的解决方案/变通方案
No plate detected during stacker run in input magazine or for restacking in output magazine. 在堆栈运行过程中，输入塔中没有检测到微孔板或输出塔中没有检测到用于重新堆栈的微孔板。 (Error:...Stacker get/stack magazine_Input/Output …)	堆栈升降台或板传送器上没有微孔板。	向 Tecan 报告。 关闭设备。 取出输入和输出塔。 如有必要，从堆栈升降台上取出微孔板。 从 SPARK 酶标仪中移出载板架，必要时取出微孔板，将空的载板架移动回 SPARK 酶标仪中。重新将微孔板塔加载到 Spark-Stack 上。 确保微孔板未损坏。 重新启动堆栈运行。
Initialization error 初始化错误 Steploss error 失步错误	堆栈初始化过程中执行机构发生故障。	向 Tecan 报告。 关闭设备。 取出输入和输出塔。 如有必要，从堆栈升降台上取出微孔板。 从 SPARK 酶标仪中移出载板架，必要时取出微孔板，将空的载板架移动回 SPARK 酶标仪中。重新将微孔板塔加载到 Spark-Stack 上。 重新启动堆栈运行。
Power Failure 电力故障	电源中断	向 Tecan 报告。 关闭设备。 取出输入和输出塔。 如有必要，从堆栈升降台上取出微孔板。 电力恢复后： 从 SPARK 酶标仪中移出载板架，必要时取出微孔板，将空的载板架移动回 SPARK 酶标仪中。重新将微孔板塔加载到 Spark-Stack 上。 重新启动堆栈运行。
Stacker communication error 堆栈通信错误	无法连接堆栈；与堆栈之间无法进行通信。	关闭应用（Dashboard 或 Method Editor）。关闭/打开设备。 重启服务。请参阅第 21.2 Spark Services Manager。

21.2 Spark Services Manager

Spark Services Manager (Spark 服务管理器)可以在 Microsoft Windows 的系统托盘中找到。系统托盘为用户提供对系统功能的快速访问，例如网络、音量、电池状态以及 Tecan Spark 服务管理器。

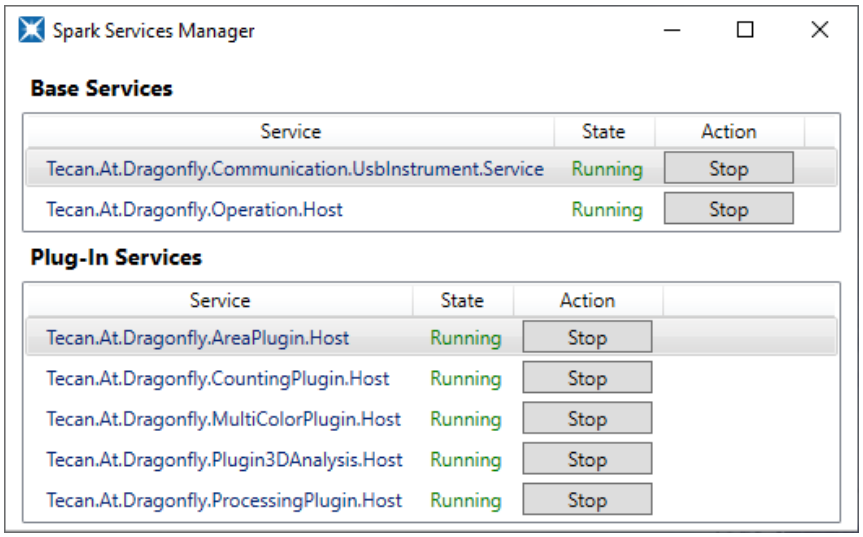
在 Windows 10 和 Windows 11 中，系统托盘（也称为通知区域）通常位于任务栏的右侧。



图 33: Spark 服务管理器示例

右键单击 SparkControl 图标以打开菜单，然后选择 Spark 服务管理器。





服务可以根据需要手动启动或停止。

索引

I

Image Analyzer....117
Inject and Read....92
IoT Client....52

L

Live Viewer....105

N

NanoQuant 应用....161

S

Spark Services Manager....177
SparkControl 设置....60
Spark-Stack....121, 131, 132, 133

Z

Z 位置....37

四划

比色杯应用....167
化学发光规格....64
化学发光模块/标准型....63
化学发光模块/增强型....63
分包装....26
分析插件....120
方块....56
方法
  启动....59

五划

打开设备....31
平滑模式....18
电压范围....31
电源要求....31
仪表板....55
仪器
  电源要求....31
  安装....26
  拆箱和检查....26
用户信息....15
处置
  工作材料....48
  设备....48
  封装材料....48
加热模块....143
加热器/搅拌器规格....140

六划

机身控制按钮....20
吸光度扫描....77
吸光度系统....77
自动开盖器....38
多功能性....16
安全证明....47
安全注意事项....13
设备
  打开....31
  安全证明....47
  运输准备....33
  消毒....46
  消毒方法....47
  消毒溶液....46
设备运输....33
设备规格....43
导航栏....56

七划

进样器规格....140
运输锁
  拆卸....29
系统要求....49
冷却模块(Te-Cool)....143

八划

拆箱和检查....26
软件
  安装....51
  系统要求....49
  启动....52
  卸载/修复....51
明场成像....109
质量控制
  化学发光....65
细胞 计数片....103
细胞计数片中的细胞计数应用....165
细胞汇合度....103
细胞成像仪....109
  规格....112

九划

封装材料
  处置....48
  交还....48
荧光 底部 模块....85
荧光 强度 模块....85
荧光成像....109, 111
  Image Analyzer....117
面包屑导航....56
背面视图....22
测定结果....61

十划

振荡....37
载板架
  运输锁....29
消毒
  安全证明....47
  设备....46
  程序....47

消毒溶液 46
展开按钮 56

十一划
清洗与维护 45
维护
  设备 45

十二划
湿度盒 156

十三划
摄像头 31
路径长度校正 80
微孔板控制 37
溢出物 46
溢出液体 46

十四划
孵育位置 38, 143, 159

十六划
操作按钮 56
操作栏 56

Tecan 客户支持

如果您对 Tecan 的产品有任何疑问或者需要技术支持，请与当地的 Tecan 客户支持中心联系。有关联系信息，请访问：http://www.tecan.com/customersupport 。

在联系 Tecan 获得支持之前，请准备好以下信息以便我们及时为您提供技术支持（见铭牌）：

- 产品型号
- 产品序列号（SN）
- 软件名称及版本（若适用）
- 问题描述和联系人
- 问题出现的日期和时间
- 已经采取的措施
- 联系信息（电话号码, 传真号码, 电子邮件等）

TECAN AUSTRIA GMBH, Untersbergstrasse 1a, A-5082 Grödig / Salzburg, Austria
T +43 62 46 89 33, F +43 62 46 72 770, office.austria@tecan.com, www.tecan.com

Declaration of Conformity

We, TECAN Austria GmbH herewith declare under our sole responsibility that the product identified as:

Product Type: **Microplate Reader**
Model Designation: **SPARK**

Article Numbers: **30086376**

Address: Tecan Austria GmbH
Untersbergstr. 1A
A-5082 Grödig, Austria

is in conformity with the provisions of the following European Directive(s) when installed in accordance with the installation instructions contained in the product documentation:

- **EMC Directive**
- **Machinery Directive**
- **RoHS Directive**

is in conformity with the relevant U.K. legislation for UKCA-marking when installed in accordance with the installation instructions contained in the product documentation:

- **Electromagnetic Compatibility (EMC) Regulations**
- **Supply of Machinery (Safety) Regulations**
- **The Restriction of the Use of Certain Hazardous Substances in Electrical and Electronic Equipment Regulations**

The current applicable versions of the directives and regulations as well as the list of applied standards which were taken in consideration can be found in separate CE & UK declarations of conformity.