

Sim-100

微量紫外可见分光光度计

MICRO-SAMPLE UV-VIS SPECTROPHOTOMETERS

用户手册

VER 4.6

杭州迅捷生物科技有限公司

电话: 0571-87381295

传真: 0571-87381297

网站: www.simgen.cn

邮箱: flygene@163.com

地址: 浙江省杭州市西湖科技经济园金蓬街 366#1 号楼东 4F



版权声明

杭州迅捷生物科技有限公司版权所有,保留一切权利 在没有得到本公司书面许可时,任何单位和个人不得擅自摘 抄、复制本手册(软件等)的一部分或全部,不得以任何形 式(包括资料和出版物)进行传播。

版权所有,侵权必究。内容如有改动,恕不另行通知。

实物展示





目录

版	权申明	月 2		
1.	概述			
	1. 1	产品介绍6		
	1. 2	测 量6		
	1. 3	仪器应用范围6		
2.	安装			
	2. 1	计算机配备要求······7		
	2. 2	软件安装7		
3.	基本操作			
	3. 1	样品体积(建议值)9		
	3. 2	基本测量步骤 ······9		
	3. 3	影响测量结果的因素 ······9		
4.	样品测量			
	4. 1	Nucleic Acid──核酸 ······10		
	4. 2	Protein A280——蛋白质11		
5.	疑难排除			
	5. 1	无法找到 USB 装置 ······12		
	5. 2	取样准确性和重复性的问题 ······12		
	5. 3	不寻常的吸收光谱12		
6.	维护	和保固		





	6. 1	清洁13
	6. 2	可能需要更换的零件 ······13
	6. 3	波张校正13
	6. 4	溶剂的适用性13
	6. 5	去除测量平台的生物污染 ······13
7.	附录	
	7. 1	仪器规格14
	7. 2	吸光值计算14
	7. 3	浓度计算14

1. 概述

1.1 产品介绍

Sim-100 微量分光光度计是一款新型全波长微量分光光度计,应用液体的表面张力特性,样品体积只需 0.5~2ul。在侦测台上,经上下臂的接触拉出固定的光径,达到快速、微量、高浓度检测,同时不需要石英管、毛细管等耗材的优点。高能量氙灯光源可提供 190~840nm 的全光谱侦测,无需暖机,随开随用。该仪器广泛应用于检测核酸、蛋白质、细胞溶液、微阵列样品以及常规全波长扫描等。

1.2 测量

只要将0.5~2μL样品滴到Sim-100的测量平台上,放下取样臂使其接触样品,在表面张力的作用下,样品会在上下光纤之间的空隙形成液柱。光纤两端的空隙被控制在1mm及0.2nm。Sim-100可在10秒内自动完成整个测量过程。

Sim-100以氙气闪光灯作为光源,以linear CCD array分析穿透样品后的光强度。利用计算机执行专用的软件即可控制整个仪器。

1.3 仪器应用范围

样品种类	最低检测下限	最高检测上限	精度
Nucleic Acids	2 ng/uL	≤1500	$2-100$ ng/uL ± 2 ng/uL
		ng/uL(dsDNA)	>100 ng/uL $\pm 2\%$
Protein A280	0.10 mg/mL	400 mg/mL	$0.10-10 \text{mg/uL} \pm 0.10 \text{mg/mL}$
			>10 mg/uL $\pm 2\%$
Protein & Labels	0.10 mg/mL	20 mg/mL	0.10-10 mg/uL ± 0.10 mg/mL
BCA	0.2 mg/mL	8.0 mg/mL	2% over entire range
	(20:1 reagent sample		
	volume)		
	0.1 mg/mL	0.20 mg/mL	0.01 mg/mL over entire range
	(1:1 reagent sample		
	volume)		
Modified Lowry	0.2 mg/mL	4.0 mg/mL	2% over entire range

2. 安装

2.1 计算机配备要求

- 操作系统: 微软 Windows 2000/XP/Vista; Office 2003 以上
- CPU: 400MHZ 以上
- 64MB RAM
- USB 连接线
- 显示分辨率: 1024×768

2.2 软件安装

必须先安装驱动程序与软件才能将机器连上计算机,产品附带的光盘中有Sim-100的驱动程序与软件。安装步骤如下:

2.2.1 安装. NET 环境文件

Win7以上的操作系统,跳过该步骤。Win7以下的系统,将Sim-100应用软件 光盘放入光驱,打开"FLA6000软件安装"文件夹,先安装"环境文件"内的 "dotNetFx35setup. exe"执行文件,根据提示对环境文件进行安装,安装过程 可能需要15分钟左右时间,待安装完成后,并可执行下一步操作;

2.2.2 安装 Sim-100 应用程序

双击"setup. exe"文件, 开始安装Sim-100应用软件, 安装过程如下列图示:



(图 2-2-2-1)



(图 2-2-2-2)





(图2-2-2-3)



(图 2-2-2-4)



地址: 浙江省杭州市西湖科技经济园金蓬街 366#1 号楼东 4F邮编: 310030 电话: 0571-87381295 传真: 0571-87381297

3. 基本操作

3.1 样品体积(建议值)

- 核酸样品: 1~2.5 µ 1
- 蛋白质样品: 1~2.5 µ 1
- 悬浮细胞样品: 1~2.5 µ 1
- 其它样品: 2.5 µ 1

3.2 基本测量步骤

检查计算机与仪器的接线是否连好并确认取样臂中闭合的状态,将机器后方的黑色按钮开关键打开,然后再打开Sim-100软件。主界面开启后,Sim-100会自动检测与仪器通讯是否正常,然后选择待测样品的种类。

3.2.1 获取暗背景

- ◆ 每一次打开主界面都必须先"获取暗背景"才能进行下一步操作。
- ◆ 打开取样臂,将黑板挡在取样臂和下方平台之间。
- ◆ 合上取样臂
- ◆ 点击软件中的"获取暗背景"按钮,自动记录暗背景数据。

3.2.2 获取基线

- ◆ 每一次从主界面选择样品种类后,必须先"获取基线"才能开始样品 检测。
- ◆ 打开取样臂,取1~2.5 μ1空白样品滴于测量平台上(所谓空白样品,就是样品的溶剂,一般核酸样品常溶于二次水或TE buffer)。
- ◆ 合上取样臂。
- ◆ 点击软件中的"获取基线"按钮,程序会测量1mm与0.2mm两种光径下的值,并自动记录基线值(如果样品的溶剂相同,只需测定一次基线)。
- ◆ 测量完成后,打开取样臂,以干净的无尘纸(例如: Kimwipe)擦去上下测量平台上的空白溶剂。

3.2.3 样品测量

- ◆ 打开取样臂,取1².5 μ1样品滴于测量平台上。
- ◆ 合上取样臂。
- ◆ 点击软件中的"开始测试"按钮,测量结果会在10秒内显示在屏幕上。
- ◆ 系统会自动记录测量结果。在主界面左下方,可看到历史记录,最多能记录1,000笔数据。
- ◆ 测量完成后,打开取样臂,以干净的无尘纸(例如: Kimwipe)擦去上下测量平台上的样品。
- ◆ 全部样品测量结束且记录数据后,点击"样品数据"下的"导出到 Excel",已记录的测量数据将出现在Excel表中。
- ◆ 右键单击样品曲线图,可打印样品曲线或将曲线图导出到PDF。

3.3 影像测量结果的因素

3.3.1 样品重迭

如果样品没有擦拭干净而残留在测量平台上,将造成测量样品的重迭,导致测量结果的偏差。因此,每个样品测量后,要立刻将上下测量平台上的样品擦拭干净,如果担心残留问题,可在测量高浓度样品后,以2.5 μ1二次水清洁测量平台。多次测量后,必须对上下测量平台进行彻底的清洁。

3.3.2 样品均匀度



地址: 浙江省杭州市西湖科技经济园金蓬街 366#1 号楼东 4F邮编: 310030 电话: 0571-87381295 传真: 0571-87381297

各种测量仪器包括传统的分光光度计,在测定混合不够均匀的样品(尤其当样品体积较小)时,容易产生较大的数据差异。因此取样前必须将样品分混合均匀。

3.3.3 蒸发效应

测量时样品的蒸发将导致样品浓度较真实值上升1~2%。高挥发性的溶剂,如hexane,很容易在测量完成前就蒸发了,最好使用低挥发性的溶剂,如DMSO或二次水,以避免测量失败。

4. 样品测量

4.1 Nucleic Acid——核酸

- 样品体积: 1~2.5 µ 1
- 测量范围: 0.1~75Abs
- 精准度: 0.1~5Abs. ±0.1
 - $5^{\sim}75 \mathrm{Abs.} \pm 2\%$
- 测量方法:

Sim-100 会以 1mm 及 0. 2mm 的光径测量每个样品,并根据样品浓度自动选择较适合的一个,转换成 10mm 光径的结果显示在屏幕上。



- ★ 样品编号:可任意输入样品编号(数字或英文字母)。
- ★ 种类:选择待测样品的类型,包括双链 DNA、单链 DNA、RNA(dsDNA, ssDNA, RNA)。
- ★ 注意: 自行选择的波长与吸光值并不影响浓度或任何比值的计算。
- ★ A260: 样品在波长 260nm 的吸光值,已转换成一般以 10mm 光径测得的值。
- ★ 注意: 这个值相当于以 1mm 光径测得值的 10 倍或者以 0. 2mm 的光径测得值的



地址: 浙江省杭州市西湖科技经济园金蓬街 366#1 号楼东 4F邮编: 310030 电话: 0571-87381295 传真: 0571-87381297

50 倍。

- ★ 260/280: 样品在波长 260nm 与 280nm 吸光值的比值。这个比值可用来推估 DNA 跟 RNA 的纯度。一般认为高纯度的 DNA 比值在 1.8 左右,而比值在 2.0 左右则可视为高纯度的 RNA。如果比值过低,表示样品中很可能有蛋白质、phenol 或被其它在波长 280nm 附近有吸收光谱的物质污染。
- ★ 260/230: 样品在波长 260nm 与 230nm 吸光值的比值。这是用来推估核酸纯度的第二个值。一般认为高纯度的核酸比值在 1.8~2.2 左右,而且通常比 260/280 的值高。如果比值过低,表示样品中很可能被其它物质污染。
- ★ 样品浓度: 待测样品的浓度的单位为 ng/ μ l。样品浓度计算公式如下:
 - -dsDNA concentration=260 nm Abs×50
 - -ssDNA concentration=260 nm Abs×33
 - -RNA concentration=260 nm Abs×40
 - -Other concentration=260 nm Abs×Constant
- ★ 打印:如需储存测量图,右键单击"打印",可打印出报告或存储为 PDF 格式的图片。
- ★ 导出到 Excel: 全部样品测量结束且记录数据后,点击样品数据下的 型 按 钥,已记录的测量数据将出现在 Excel 表中。

4.2 Protein A280——蛋白质

- 样品体积: 1~2.5 µ 1, 建议至少使用 2 µ 1
- 测量范围: 0.1~75Abs
- 精准度: 0.1~5Abs. ±0.1 5~75Abs. ±2%
- 测量方法:

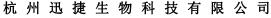
Sim-100 会以 1mm 及 0. 2mm 的光径测量每个样品,并根据样品浓度自动选择 较适合的一个,转换成 10mm 光径的结果显示在屏幕上。

- ★ 样品编号:可任意输入样品编号(数字或英文字母)。
- ★ 种类:选择待测样品的类型,包括 1Abs=1mg/ml、BSA、IgG、Lysozyme。样品类型的选择对最终测定的样品浓度具有较大影响,请正确选择。
- -1 Abs=1 mg/ml: 一个通用的浓度计算标准。在光径10mm时,0.1%(即10mg/ml)的BSA溶液在波长280nm吸光系数为6.7。

IgG: 以IgG作为浓度计算标准。在光径10mm时,1%(即10mg/ml)的IgG溶液在波长280m 死光系数为13.7。

-Lysozyme:以Lysozyme作为浓度计算标准。在光径 10mm 时,1%(即 10mg/m1)的 Lysozme 溶液在波长 280nm 吸光系数为 26.4。

- ★ A280: 样品在波长 280nm 的吸光值,已转换成一般以 10mm 光径测得的值。
- ★ A260: 样品在波长 260nm 的吸光值,已转换成一般以 10mm 光径测得的值。
- ★ A260/280: 样品在波长 260nm 与 280nm 吸光值的比值。
- ★ 样品浓度: 待测样品的浓度单位为 mg/ml。样品浓度计算公式如下:
 - Concentration (1Abs=1 mg/ml) = $A280 \times 10$
 - Concentration (BSA) = $A280 \times 10/6.7$
 - Concentration (IgG) = $A280 \times 10/13.7$
 - Concentration (Lysozyme) = $A280 \times 10/26.4$





★ 打印:如需储存测量图,右键单击"打印",可打印出报告或存储为 PDF 格式的图片。

★导出到 Excel:全部样品测量结束且记录数据后,点击样品数据下的 型 按钮,已记录的测量数据将出现在 Excel 表中。

5. 疑难排除

5.1 无法找到 USB 装置 (或提示"请检查光谱连接是否正常")

启动软件时若出现此错误信息,通常表示 USB 插头没有妥善连接,或者控制软件没有妥善运作。

- 确认 USB 插头与连接端口是否正常,并确实将 USB 插头插进计算机与 Sim-100 的 USB 连接。
- 确认 Sim-100 仪器的电源指示灯亮起。若灯没亮,表示没有通电,请将电源确实接好并插进电源插座。
- 驱动确认无误但仍提示错误请与我们联系。

5.2 取样准确性和重复性问题

若检测结果的重复性较差或与理论值差异较大,很可能是测量平台没有清干净,吸收样品时混合不够均匀,或由于取样量过小导致两平台间没有形成上下贯通的液柱所致。以下几种方法可以改善此种现象:

- 开始使用控制软件前,确保测量平台表面清洁,以免测量时得到错误的 吸光值(甚至可能是负值)和错误的讯号饱和度。因此,养成良好的测量习惯,完成最后一个样品的测量后,用离子水清除平台可能出现的污染物。
- 如果样品在测量时没能形成上下贯通的液柱,将得到异常的结果。足够的样品量(1~2.5ul)才能确保在两平台间形成上下贯通的液柱。一般而言,蛋白质溶液的表面张力较小,导致样品不易在两平台间形成上下贯通的液柱。如果发生这种情况,可以加一些去离子水在测量平台并合上取样臂。2~3分钟后,以干净的无尘纸擦干两个平台。然后,拿干燥的无尘纸对折数次以增加厚度,用力擦拭测量平台15~20次,以增加平台表面与液体样本间的表面张力,达到理想的测了效果。
- 测量前将 DNA 样品加热到 55℃,并在取样前彻底震荡混合。由于 FLA6000 只须非常少量体积的样品,样品的均匀度是非常重要的。由结果看来,较大分子的样品,如: Genomic DNA 或 LambdaDNA,尤其容易有此现象。

注意: 一般使用比色管的分光广度计,由于样品体积大,样品不均匀造成的影响不明显。

- 确认空白溶液(blank)与样品的溶剂是相同的东西,以免得到错误的吸光值。
- 样品浓度不可过低。浓度接近测量范围极限时,样品的吸光值容易出现显著的变异而影响浓度计算。请参考各章节,确认各种样品的测量范围。



地址: 浙江省杭州市西湖科技经济园金蓬街 366#1 号楼东 4F邮编: 310030 电话: 0571-87381295 传真: 0571-87381297

5.3 不寻常的吸收光谱

若吸收光谱呈现正常的外型而曲线中出现多个锯齿状的地方,此时锯齿处的测量值不可靠,但曲线光滑处的测量值仍然准确。这种现象可能是测量平台不干净所致,只需要擦净取样平台,并重新启动软件即可。

6. 维护和保固

6.1 清洁

对Sim-100分光光度计而言,最主要的保养要求是保持测量平台与取样臂表面洁净。每次测量后,尽快以干净的无尘纸将测量平台与取样臂擦净,避免样品残留堆积。完成最后一个样品的测量后,建议以去离子水将上下两个平台都彻底清洁擦拭一遍。

6.2 可能需要更换的零件

通常,唯一需要定期更换的零件是闪光灯。Sim-100使用的闪光灯理论上可以完成30万次的测量。闪光灯剩余寿命无法检测,当闪光灯寿命将尽时,光输出将变的非常不稳定或完全黑暗。此时,请联络当地代理商为您更换闪光灯。

6.3 波长校正

波长在每次启动控制软件时会进行自动校正。在正常使用的状况下,并不需要额外进行校正。若您有此需要,请联络当地代理商为您服务。

6.4 溶剂的适用性

生物实验室常用来溶解或稀释样品的溶剂,大部分皆可适用于Sim-100。然而,所有的Hydrofluoric Acid (HF)与强酸强碱都不适用,以免破坏光纤的石英表面。

6.5 去除测量平台的生物污染

若有需要去除生物污染,以现配的漂白水(例如: 5.25% Sodium Hypochlorite)擦拭测量平台,可以确保测量平台不会出现任何具生物活性的物质。机器的金属部分是以不锈钢制成,对一般实验室溶剂具耐受性。

7. 附录

7.1 仪器规格

1	样品体积要求	0.5~2μL
2	测试孔	1 个
3	光程	1mm(自动至 0.05mm)
4	光源	氙闪光灯
5	探测器	3864 单元线性硅 CCD 阵列
6	波长范围	200∼850nm
7	波长精度	1nm
8	波长分辨率	3nm (FWHM at Hg 546nm)
9	吸光率精确度	0.003 Abs
10	吸光率准确度	1% (0.76 吸光率在 350nm)
11	吸光率范围	0.02~75(等效于 10mm)
12	测试时间	10-15S
13	仪器外形尺寸	20cm×17cm×30cm
14	仪器重量	1.35kg
15	样品座的材料	石英光纤和不锈钢
16	电源适配器	24V DC
17	功耗	12~18W
18	静态功耗	5W
19	软件操作平台	Windows XP/Vista/Win7

7.2 吸光值计算

当Sim-100分光光度计只有样品溶液(Blank,空白)时,测定的吸收光谱与光强度会被当作参考值,并存在内存中。当测量样品时,穿透样品的光强度被记录下来。穿透样品溶液的光强度(I_{sample})和空白的光强度(I_{blank})可用于计算样品的吸光值(Abs)。公式如下:

Abs= -log
$$(I_{sample} / I_{blank})$$

由此可知,必须有样品与空白的光强度,才能计算出指定波长的吸光值。

7.3 浓度计算(Beer-Lambert Law)

从 Beer-Lambert 等式可以发现吸光值与浓度之间有一定的联系:

$$A=E*b*c$$

A 代表吸光值,单位以 A 来表示;

- E代表基于波长的摩尔吸光系数(或者说是吸光系数),单位是 liter/mol-cm;
- b代表光径长度,单位是cm;
- c 代表摩尔浓度,单位是 moles/liter 或 molarity (M)。