



Nanodrop 2000/2000C 分光光度计

V1.0 用户守则

基因有限公司仪器应用技术支持

亲爱的用户，您好！

非常感谢您选购我公司代理的仪器。我们将竭诚为您提供优质的售后服务及免费的专业应用培训。

为了更好地进行仪器的应用培训，我们根据您所选购的仪器特点，将需要您配合准备的工作敬告如下：

1. 应用培训内容：仪器操作培训和软件应用培训。仪器操作培训包括：仪器的操作、维护和仪器使用注意事项。软件应用培训包括：用户本次所购买的同仪器配套的所有软件的软件应用培训。
2. 培训时间：仪器正式安装调试后，本公司 2 周内派出专业技术人员进行应用培训。
3. 应用培训中所需准备的试剂、耗材和仪器均需由用户提供，并在系统培训开始前准备好。我公司将指派专业技术人员免费进行应用培训。
4. 用户签收售后服务工作报告后，基因公司正式的系统培训内容即完成。您以后在使用的过程中有任何疑问都可以向我们咨询，我们非常乐意为您们解决应用上遇到的问题。
5. 在仪器的使用过程中，无论遇到您认为多么微小或繁琐的问题，请您及时和我们联系，一个及时的通知能节约您的时间，也能帮助我们更好的了解仪器和软件。
6. 联系我们时请您提供：仪器型号、软件名称，版本、错误代码、实验目的、操作系统（98/2k/xp/NT）、维修历史等相关资料。

本守则提的信息仅供参考，本守则包含的所有信息应该是正确和完整的。如果对本守则中的描述有疑问，请参考厂家的英文操作说明。如果由于您的不正当使用而对仪器造成损坏或者导致仪器的性能损伤，本公司将不会对此负责。

1. 仪器介绍

仪器描述

Thermo Scientific NanoDrop 2000/2000C 分光光度计可以检测 0.5-2ul 的样本，而且检测是非常高的准确性和重复性。ND2000C 分光光度计不仅提供了 NanoDrop 样品保留专利技术的便利性，也可以使用传统的比色皿来进行样本检测。

样本保留系统应用了表面张力来把样本保留在两根检测光纤中间，这使得仪器可以检测较高浓度的样本而不用稀释。应用这个技术，全波长（190—840nm）NanoDrop 2000/2000C 分光光度计检测样本的最高浓度是标准比色皿的 200 倍。

仪器规格

NanoDrop 2000/2000C—基座模式

仪器类型:	分光光度计
最小样品量:	0.5ul
波长:	1mm（可以自动调整到0.05mm）
光源:	氙闪烁灯
检测器类型:	2048—像素线型硅CCD阵列
波长范围:	190—840nm
波长准确性:	±1 nm
光谱分辨率:	≤1.8nm（FWHM@Hg 253.7nm）
吸收光精确性:	0.002吸光值（1mm光程）
吸收光准确性:	±2%（257nm波长下，0.76个吸光值）
吸光值范围:	0.02—300（等同于10mm光程时）
检测极限:	2ng/ul dsDNA
最大检测浓度:	15,000ng/ul（dsDNA）
检测时间:	<5秒
仪器占地面积:	14cm×20cm
重量:	2kg
样本基座材料:	303不锈钢以及石英光纤
工作电压:	12V
工作功率:	12—18W（最大30W）
软件兼容性:	Windows XP 和Vista（32bit）

NanoDrop 2000C—比色皿模式

光束高度:	8.5mm
加热:	37±0.5℃
搅拌:	150—850RPM
光程:	10, 5, 2, 1mm
检测极限:	0.4ng/ul dsDNA
最大检测浓度:	750ng/ul dsDNA
检测时间:	<3秒
重量:	2.1 kg

样品保留基座检测

用移液器加1—2ul样品到检测基座上，对于高浓度的核酸和蛋白A280检测，最少可以使用0.5ul的样本。在基座上包埋一根光纤（接受光纤），把待检测样本加到检测基座上，第二根光纤（光源光纤）放下来与液体样本接触，在两根光纤末端形成液柱。由一个脉冲氙灯作为光源并且使用一个线性CCD阵列来检测通过液体的光信号。仪器由一个装由Nanodrop软件的电脑控制，所有试验数据都以workbook (*.twbk) 文件形式保存在电脑中。

基座检测需要的样本量

虽然基座检测时样本的量不是特别关键，但是必须保证两根光纤之间形成完整的液柱，这样才能保证两根光纤之间形成样本液桥。

决定液滴表面张力的主要因素是溶液中水分子的氢键结合力。通常情况下，溶液中所有的溶质（包括：蛋白，DNA，RNA，盐离子，去垢剂分子）都会降低表面张力，因为这些分子能够和水分子的氢键产生作用。虽然一般情况下1ul的样本就足可以检测了，但对于那些表面张力比较小的样本最好使用2ul样本来检测。

现场试验的经验表明下列样本的用量足够得到准确重复性高的检测结果：

核酸水溶液：1ul

纯蛋白：2ul

Bradford, BCA, Lowry或者蛋白Pierce 660nm试验：2ul

微生物细胞悬浮液：2ul

最好使用精确的移液器（0—2ul）和tip头来取样来保证取样的准确。低精确度的移液器（0—10ul或者更大的）很难准确的加1ul样本到检测基座上。如果用户对样本的特征或者移液器精确性不太确认，最好使用2ul样本来做检测。

基座基本使用

1. 抬起样品臂，把样品加到检测基座上。

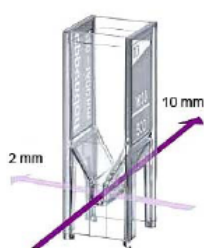


2. 放下样品臂，使用电脑上的软件开始吸光值检测。在上下两个光纤之间会自动拉出一个样品柱，然后进行检测。
3. 当检测完成后，抬起样品臂，并用干净的无尘纸把上下基座上的样品擦干净。这样擦拭样品就可以避免样品在基座上的残留。



比色皿检测

Nanodrop 2000C可以检测最高48mm的10mm光程的比色皿。当使用微量，半微量或者超微量的比色皿时，我们建议使用周边不透明的比色皿，不透明的比色皿保证了光穿过样本后全部到达检测器。而透明的比色皿会让那些没有透过样本的光也到达检测器，这样会导致检测特别是低浓度样品的检测不准确。



Un-masked Eppendorf Uvette®



Starna masked micro cuvette

当检测的波长为紫外区域时（ $<340\text{nm}$ ），要使用石英白色皿，这样才能透过紫外光。虽然有一些制造商提供紫外透过的一次性塑料比色皿，但是即使质量最好的塑料比色皿也不能让低于 220nm 以下波长的紫外光透过，而大部分玻璃和塑料比色皿是完全紫外非透过性的。

一般单光束的分光光度计都会推荐相配的比色皿，而许多比色皿生产厂家都有严格的质控来保证比色皿的性能而不用在换比色皿时需要校准，这些比色皿都可以用在Nanodrop 2000C上。

比色皿检测样品量

在样品检测时必须保证比色皿中的样品量足够，能够让光线完整穿过样品。2mm的光速从比色皿底部以上8.5mm的位置穿过，请参考比色皿生产厂家的建议来确定需要的样品体积。

比色皿检测基本操作

1. 把样品加到比色皿中，要保证加入的样品量足够，要盖过光束。
2. 抬起样品臂，把比色皿查入到仪器中，插入比色皿时要注意仪器上面的光路的指向的方向。



3. 在做比色皿检测时样品臂必须放下来。
4. 使用电脑上的软件对仪器进行初始话。
5. 当检测完成后，移出比色皿，倒出样品，清洗干净比色皿。

空白对照和吸收光计算

当Nanodrop 2000/2000C分光光度计做好空白对照后，仪器会自动记录空白参照液的光谱结果并保存起来作为波长的光强度参比值。当进行样品检测时，透过样品的光强度将被记录下来。样品的透过光强度和空白对照的透过光强度按下列公式来计算样品吸光值：

$$Absorbance = -\log \left[\frac{Intensity_{sample}}{Intensity_{blank}} \right]$$

这样，可以通过样本和空白对照的透过光强度来计算特定波长下的吸光值。通过Beer-Lambert定律来确定样品浓度和吸光值之间的关系：

$$A = \epsilon * b * c$$

A=吸光值 (A)

ϵ =波长依赖的摩尔消光系数 (单位 L/mol*cm)

b=光程 (单位 cm)

c=样品浓度 (单位 mol/L)

参比溶液，或者空白溶液，通常是那些融解靶向分子的溶剂，这个溶剂要和样品溶液具有相同的pH值和离子强度。

基座检测空白循环

我们建议把空白对照当成样品来检测，这样可以确认仪器性能完好并且基座上沒有样品残留，按下列操作来运行空白循环：

1. 软件中打开将进行的操作模式，把空白对照加到基座上，并把样品臂放下。
2. 点击Blank来进行空白对照检测并保存参比图谱。
3. 重新加空白对照到基座上，把它当成样品一样来检测，点击Measure来进行检测，结果应该是差不多为一水平线，吸光值变化应不超过0.04A (10mm光

程)

4. 擦去上下基座上的液体，重生进行上面的操作，直到检测光谱图的变化不超过0.04A（10mm光程）。

虽然不需要在每个样品之间进行空白校准，但我们建议在检测多个样品时，最好每30min进行一次空白校准。30min后，最后一次做空白检测的时间将显示在软件下面的状态栏上。

荧光染料

在进行Micro Array 和Protein & Labels检测时，软件使用Beer—Lambert定律来进行荧光染料计算。用户可以使用Dye/Chrom来编写新的新的染料。下表是软件中保存的染料的参数：

Dye list							
	Show	Dye	Unit	Coeff. (l/mole-cm)	Analysis Wavelength (nm)	260nm Correction	280nm Correction
	☒	None		0	0	0	0
	☒	Cy3	μM	1.5E+5	550	0.04	0.05
	☒	Cy5	μM	2.5E+5	650	0.00	0.05
	☒	Alexa Fluor 488	μM	7.1E+4	495	0.30	0.11
	☒	Alexa Fluor 546	μM	1.04E+5	556	0.21	0.12
	☒	Alexa Fluor 555	μM	1.5E+5	555	0.04	0.08
	☒	Alexa Fluor 594	μM	7.3E+4	590	0.43	0.56
	☒	Alexa Fluor 647	μM	2.39E+5	650	0.00	0.03
	☒	Alexa Fluor 660	μM	1.32E+5	663	0.00	0.10
	☒	Cy3.5	μM	1.5E+5	581	0.08	0.24
	☒	Cy5.5	μM	2.5E+5	675	0.05	0.18
*	☐						

2. 软件

电脑配置

- Microsoft Windows XP或者Vista（32bit）操作系统
- 1.5GHz或者更高速的处理器
- CD ROM光驱
- 1GB或者更高的内存（Vista系统需要2GB）
- 40MB硬盘空间
- 具有USB端口（仪器通过USB与电脑连接）

软件安装

系统软件必须在仪器连接到电脑上之前安装好，安装软件时必须使用管理员用户进入电脑。按下列步骤来正确的安装软件：

1. 关闭所有程序，并把USB线拔出。
2. 把软件光盘插入到驱动器中，软件的安装menu会自动显示，如果安装不能自动开始，点击Start并选择Run。在Run对话框，输入 x:\Set-up，这里的“x”代表电脑的光驱，点击OK。
3. 按照屏幕提示来进行操作来安装软件，然后连接USB线。如果出现“发现新硬件提示”，Windows XP SP2操作系统将询问是否需要通过Internet来寻找合适的软件，选择—No, not this time，然后自动进行软件安装。



Intro Page: Windows XP- SP2



Vista Operating system

这时NanoDrop 2000/2000c分光光度计就可以使用了。如果软件不能打开，参考“Diagnostics and Troubleshooting”来寻找解决办法。

可以在NanoDrop公司的网站上及时下载软件更新。

Thermo软件安装资质

Thermo软件的安装资质程序执行NanoDrop 2000/2000c软件的安装资质。安装资质检验安装的是否是正确的软件，并可用来检验这些文件在安装时是否被修改，删除或者覆盖。

运行Thermo软件安装资质程序：

1. 选择桌面Start打开Start menu。
2. 选择All programs>Thermo>Thermo Software IQ。
3. 按照操作提示来认证您系统软件的安装。
4. 使用Help菜单进入 Thermo IQ User Guide PDF。

线连接

在使用仪器进行样品检测前，需要使用USB连接线把仪器和电脑相连，把12V的电源线接到仪器背面的插口上，并连接电源。

当仪器不使用时，电源不用拔下，当仪器处于“待命”状态时，其功率为5W，这时闪烁氙灯处于关闭状态。在仪器背面的电源线插口上面有一个LED灯指示仪器正连接上12V电源。

注册您的仪器

请及时注册您的仪器，我们会在网上升级软件并且免费增加新的特性。我们会及时更新我们的用户名单，这样我们可以及时通知您这些软件的更新。所有提供的信息都是完全可信的，请在网上注册您的仪器。

软件特征

NanoDrop 2000/2000c软件被分为左右两块，状态栏和工作按键在左侧，而右侧显示主菜单和数据窗口。在NanoDrop 2000的用户守则中有一个“附件”中包括一页软件特征总则。

软件左侧部分

任务栏

任务栏选项包括以下几个选项：

- **Home**—显示特定用户群所能够操作的应用的主菜单，默认的用户群为Classic。
- **My Data**—管理数据的存档和恢复。样品数据保存在用户指定的文件夹中，请参考“数据和帐户管理”来查看详细内容。
- **Options**—包括4个控制键，请参考“数据和帐户管理”来查看详细内容。

任务工具栏选项可以打开特定的应用，包括：

- **Measure**（指定应用）—显示最近选择的应用。
- **Reports**—包括下列三个功能键：
 - ◆ **Report**—显示累积的样品数据结果表格，并显示选择样品的吸光图谱。
 - ◆ **Configuration**—选择一个报告栏显示，并选择报告栏显示的顺序。
 - ◆ **Print**—选择需要打印的相关信息，设定打印页面格式和报告中打印图标格式。
- **Oligo Calc**（仅应用于核酸和Micro Array）—计算特定核酸分子的分子量，激发效率，浓度因子和熔点。请参考“核酸”和“Micro Array”中的“Oligo Calc”来获取详细信息。
- **Dye/Chrom.Editor**（仅应用于Micro Array和Protein & Labels）—让用户进入并编写新的染料参数，参考Micro Array和Protein & Labels中的Dye/Chrom.Editor来获取详细信息。
- **Editor Options**（方法编辑栏内）—微编辑方法设定可用的选择。

功能键

当应用被打开时，下列的四个功能键被显示在左侧栏的顶部：

- **Measure**—开始进行样品检测，这个功能键在刚进入一个应用时是灰色的，当做好空白对照后才能使用。
- **Print Screen**—在默认打印机上打印样品的数据和相应的光谱图。
- **Blank**—使用溶解样品的缓冲液来做空白对照。在进行样品检测前必须先做空白对照。
- **Re-Blank**—使用溶解样品的缓冲液来再做个空白对照。**Re-Blank**功能会对最近的一个样品浓度重新计算，并在屏幕上显示修正后的光谱图。

当选择**Method Editor**或者**Kinetic Editor**时，会显示下列四个功能键：

- **New**—开始建立一个新的客户定制型方法。
- **Save**—在当前选择的组中保存编写的方法。
- **Measure**—打开新编写好的方法。
- **Delete**—删除一个方法。

左侧栏的其他特征选择

主工具栏选择

- **File**—主工具栏下拉菜单中包括下列选项：
 - ◆ **New Workbook**—打开一个新的工作本，而当前使用的工作本将被保存并自动关闭。
 - ◆ **Close Workbook and go Home**—关闭当前的工作本并回到主页面，当工作本被关闭时所有的数据都会自动保存。
 - ◆ **Close All Workbook and go Home**—关闭所有工作本（所有运用和方法）并回到主页面。
 - ◆ **Print Report**—在默认打印机上打印当前报告。
 - ◆ **Use current setting as default**—当一个新的应用工作本被打开时，把当前的应用参数如：样品类型，单位，基线校准波长和比色皿类型设定为默认。设定好后，当前报告格式也会被设定为默认。这个功能在每个应用和方法中设定特定用户选择时非常有用。
 - ◆ **E-mail current workbook**—把当前的工作本粘贴到一个新的Email中。当要把这些数据发到NanoDrop残破技术支持那里时，请使用My Date 任务栏来定位合适的自动保存文件。使用软件打开文件并发送给技术支持。

注意：虽然在打开自动保存的文件时所有报告内容不能显示，但是所有内容可以被技术支持恢复。

- **Help**—在任何界面下都有可以运用[Ctrl]-m，[Ctrl]-h或者F1键来进入帮助文件。

在帮助菜单下的上诉选项都市针对当前的软件版本和仪器型号的。

左栏仪器设定

- **Add to Report**—显示哪些样品数据被添加到当前的报告中。虽然所有数据被备份到自动保存工作本中并可以以后恢复。在日常使用中最好 把Add to Report选择上，这样使数据恢复更容易。在样品检测前选择添加到报告中来把结果保存到报告和工作本中。

- **Overlay spectra**—显示单个光谱图，一个交叉指针被显示并和最近检测的样品相关联。当覆盖光谱被选择，点击一个光谱来关联交叉指针。
 - 覆盖的样品编号显示在左侧突变的顶部，最后一个检测的样品显示在图的最上面并被标记为红色。在不同的图谱上点击可以把这个图谱显示为红色。
 - 在进行新样品检测时，去选择Overlay Spectra将清空所有光谱。
- **Small sample volume**—(仅仅适用于核酸和蛋白A280运用)—当样品在10mm光程的吸光值在3.0或者以上时，可以只使用0.5ul样品进行检测。
- **Use Cuvette** (仅仅适用于NanoDrop 2000c)—激活比色皿检测，客户使用比色皿检测时可进行的选择包括：
 - **Pathlength**—包括10, 5, 2, 和1mm
 - **Stir Speed**—速度设定范围是1—10，默认设定为关闭。
 - **Heat to 37°C**—把比色皿槽加入到37±5°C。选择上后，当前的温度将被显示在软件屏幕的底部。加热需要大约1—10min才能达到37°C。把样品加热到37°C需要的时间依赖于样品温度，在默认情况下，加热模块是关闭的。

注意：如果更改一个不同的应用，加入模块将被关闭。然而如果使用相同的运用但使用基座检测，加热模块将继续运行。

右侧栏

右侧栏包括下列主菜单：

- **Group drop-down box**—选择首选菜单显示和相应的应用，默认的选择是Classic NanoDrop。
- **Predefined application buttons**—额外的主菜单选择。
- **User-Defined list**—在用户定义方法或者动力学前是空的，当客户定义了方法或者动力学，定量方法左边有一个量标签，而动力学方法左边有一个时钟标签。

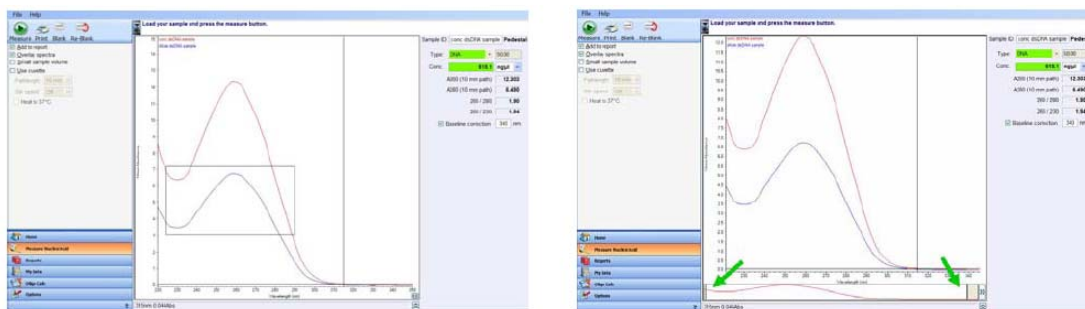
当一个应用被打开时，右边栏显示样品的光谱图以及相关运用的数据。在用户守则文件图标上部有基座检测或者比色皿检测的标签。

图像显示

图像面板显示最新检测的样品光谱图。当选择了附件图片的功能，就可以显示多个样品的数据结果。样品名称号显示在左侧栏的顶部。最近检测的样品显示在结果栏的最上面，其光谱图显示为红色。

注意：点击较早检测的样品名可以打开结果并让其图谱显示为红色。

虽然样品光谱图显示的数量没有限度，软件在全屏状态下只能在左边最多显示28个样品的名称。当达到显示最大数量时，样品列表就会出现一个下拉框。光谱图上的区域可以被放大，点击鼠标左键，在想放大的区域拉一个框，然后再点击一下框。



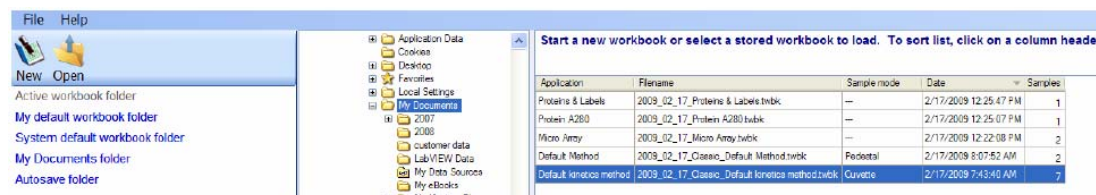
要把放大的区域缩小回去，鼠标右击显示多选择菜单：

- **Autoscale all sample**—为高浓度样品设定较高的Y-轴上限，为低浓度样品设定较低的上限，来保证样品吸收光谱完整显示。
- **Full Display all samples**—为所有样品重新设定X和Y轴值来显示全部光谱图。
- **Set Scale**—手动设定Y轴最大和最小值。
- **Sample labels**（仅适用于UV-Vis）—为最近的样品选择一个特定的吸收光波长，显示在光谱图中。
- **Sample legend**—确定是否要显示样品的名称

数据和帐户管理

我的数据

样品检测的结果被记录在工作簿中并保存在客户指定的文件夹。通过左侧栏我的数据任务栏来保存工作簿。使用查询框来找到保存的感兴趣的工作簿。



当我的数据任务栏被选择时在左边栏有两个有效的工具。选择New 打开一个新的工作簿在右侧突出其应用。选择Open打开选择的工作簿并开始相关的應用。额外的检测结果可以添加到打开的工作簿中。

在新建和打开按键下有五个快速链接可以进入存档的工作簿，然后显示在右侧栏中。双击一个工作簿打开文件，并可让其他的检测结果附加到工作簿中。

注意：如果要把一个样品的检测结果加到一个工作簿中，在进行样品检测前必须把“添加到报告”键选上。

Report

报告是用户定制型的显示样品结果的表格。一旦打开一个应用或者用户方法，就可以看到报告任务栏，可以通过点击任务栏来打开报告。

当选择了报告任务栏后，在右栏中显示下列三个设定：

- **Report**—在一个打开的工作簿中显示保存的样品数据。在页面底部的报告栏中可以显示选择的样品光谱图。如果没有选择样品，则报告栏显示表格中第

一个样品的光谱图。可以通过选择报告表格中的多个样品数据来显示多个光谱图。

- **Configuration**—选择报告栏显示的内容和顺序。只有那些选择的栏目的信息才会出现在导出的报告文件中。参考下列的导出报告内容获取 更多信息。
- **Print**—为报告添加标题和副标题。检测的方法信息和光谱图可以随报告表格一起打印。

注意：可以通过点击应用或者检测方法显示图下面的波浪图标签来显示一个仅仅查看的报告文件。

当选择了报告任务栏，在左侧栏的顶部可以显示三个图标：

- **Preview**—在打印报告前预览报告。应用选择工具栏或者打印图标来显示选择的页眉和页脚信息。参考“Date and Account Management”中的“Options”来获取详细信息。
- **Print**—开始打印一个报告。
- 把报告导出为.xml，.tsv，或者.tebk格式文件，特定的选项包括：
 - **Report, Excel XML Spreadsheet (*.xml)**—把报告保存为可以使用Excel表格打开的文件。这个保存格式只能把报告保存为表格。在保存报告前必须配置报告显示内容。
 - **Report, Tab Separated Values (*.xml)**—把报告保存为可以用记事本或者Excel文件打开的格式。这个保存格式只能把报告保存为表格。在保存报告前必须配置报告显示内容。
 - **Spectrum, Excel XML Spreadsheet (*.xml)**—保存选择样品的每个波长下的吸光值，可以在Excel表格中打开结果。如果选择了多个样品，则可以在Excel的多个工作表中保存每个波长下相应的吸光值。
 - **Spectrum, Tab Separated Value (*.tsv)**—保存选择样品的每个波长下的吸光值，可以在Excel表格或者记事本中打开结果。多个样品的结果可以分别保存在一个工作栏中。
 - **Spectra, New Workbook (*.twbk)**—把选择的样品数据保存为一个新的工作簿，可以在NanoDrop 2000/2000c软件中再打开。
 - **ND Legacy (*.tsv)**—保存相应波长下的每个吸光值，并在报告中保存调整好的特定区域。这个功能可以在一个工作簿中保存多个样品数据并可以使用记事本或者Excel打开。在导出前必须配置报告显示内容。

注意：Spectra, New Workbook (*.twbk)和ND Legacy (*.tsv)在动力学检测时不能使用。

如果电脑不能识别.xml文件为Excel，可以通过Excel打开这些文件。

向以前的工作簿中添加数据

如果在一个工作簿打开时关闭软件，会出现一个信息为你是否想把数据添加到工作簿中，这样下次打开这个应用时就可以显示这些信息。通过我的数据工具栏来打开工作簿，这样可以在软件关闭前把数据添加到关闭的工作簿中。

Question

The workbook: 2009_02_13_Protein BCA
uses a standard curve.

Would you like to:

- ☒ Start a new workbook
- ☐ Start a new workbook using the concentration values from this workbook
- ☐ Start a new workbook using the standard curve from this workbook
- ☐ Append new measurements to this workbook

OK

在做蛋白定量实验时，建议在添加新结果到工作簿之前，按照操作说明建立一个标准曲线。

重新处理

在某些应用模式下，在左侧栏的顶部有重新处理工具。这个工具可以基于不同的基线校准波长，浓度单位或者样品类型对样品重新进行浓度计算。这个功能不能用于重命名的样品。重新处理栏可以在报告内容配置栏上选取。

注意：重新处理的样品数据将作为一个新的数据出现在当前报告中，重新处理数据不会备份到自动保存的工作簿中。

重命名一个样品

任何时间都可以在报告中修改样品的名称。

注意：样品名称的修改不会反应到自动保存的文件中。

自动保存文件

除动力学检测结果，其他所有结果都自动存档为Autosave file (*.twbk)，存档位置依赖于电脑的操作系统。

Vista: C:\Users\Public\Public Documents\Thermo\Autosave\ (Software Application)

XP: C:\Documents and Settings\All Users\Shared Documents\Thermo\NanoDrop2000\Autosave\ (Software Application)

自动保存文件包括了24小时内检测的所有样品数据，这些数据按应用和方法自动分类。自动保存文件并不是用户可以修改的工作簿。由于数据可以附加到用户定制型的工作簿中，用户定制的工作簿通常和自动保存文件不匹配。

如果需要恢复用户定制的工作簿中没有保存的数据，使用NanoDrop 2000/2000c软件打开相关的自动保存文件，选择感兴趣的样品，导出结果为Spectra, New Workbook (*.twbk)，使用我的数据任务栏来查看新的工作簿。

如果自动保存的工作簿已经打开，在新的检测之前必须关闭工作簿。

选项

在选择任务栏下有丝个工具栏：

- **Application**—添加新的用户组和相关的應用方法设定。要添加一个新的组，输入组名并点击**Add**。可以把一个或者多个应用拉到空白键中来定制组的显示内容。

有两个方法可以显示客户定制方法而不是标准方法：

- 把客户定制的方法拉到一个特定的菜单按键中。
- 把方法列表包括到一个主菜单选项中。当前的方法不会显示在选项屏幕中，而回显示在对应组的主页中，由于文本框的大小限制，方法列表只能显示最上面的9个菜单按键。

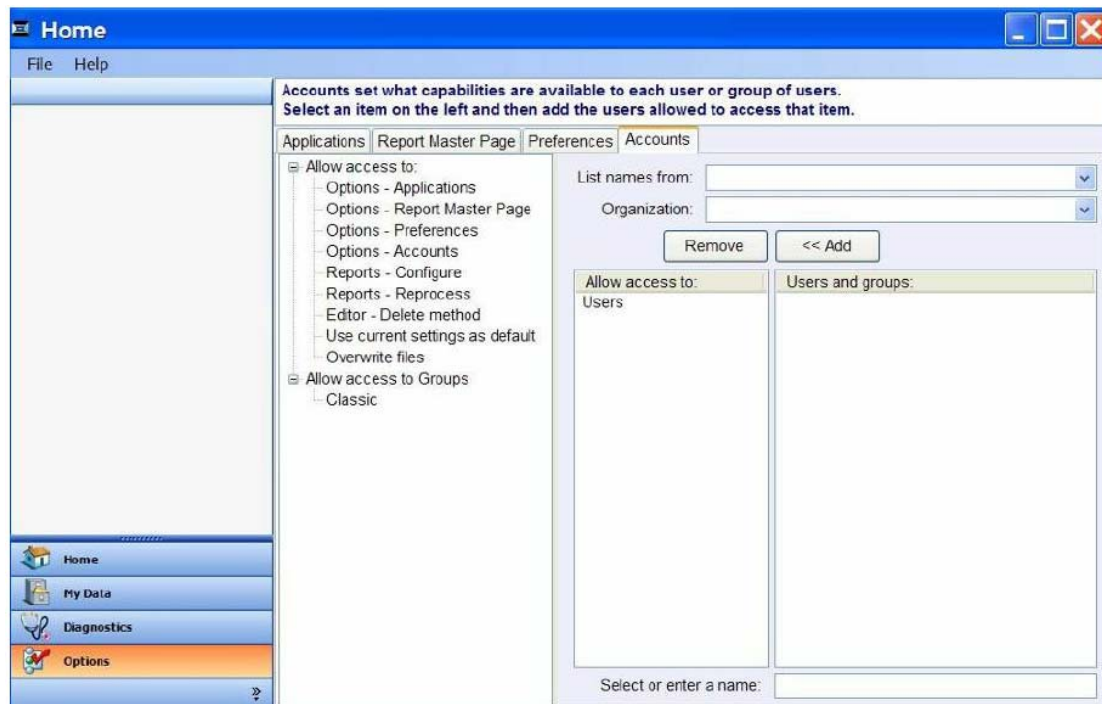
使用**Delete group**按键可以删除整个组，使用页面底部的**Clear App Buttons**来重新设定应用键。

- **Report Master Page**—编写打印报告的页眉和页脚的布局。使用这个功能，可以选择页眉是否包括单位名称，Logo，日期或者时间。页脚选项包括额外文本和页码。这些选项可以用来打印所有应用和用户定制方法的报告。页面设定按键可以显示页面大小和打印边框的窗口。
- **Preferences**—确认这些设定是对特定的用户可用还是对所有用户可用。选择**Support Dymo Label printer**来应用独立的程序来打印报告。在这个标签下，可以选择快捷键，请参考下表的快捷键。

Command	NanoDrop Classic	Standard
Exit	[Ctrl]-q	[Alt]-F4
Help	[Ctrl]-m, [Ctrl]-h	F1
Blank	F3	F3, [Ctrl]-b
Measure	F1	F5, [Ctrl]-m
Re-Blank	F2	F2, [Ctrl]-r
Print Screen	F4	F4, [Ctrl]-p
Print Report	F5, [Ctrl]-r	[Shift]-F4
Show Report	F7	F7
New Workbook	[Ctrl]-n	[Ctrl]-n
Reset (Calibration check)	-	F11
Home	-	[Ctrl]-h
Close Workbook	[Ctrl]-e	[Ctrl]-e
Close All Workbooks	-	[Ctrl]-q
Configure Report	[Ctrl]-f	[Ctrl]-f
Layout Report	[Ctrl]-l	[Ctrl]-l

在动力学方法中，**Re-Blank**功能键被**Stop**功能键所替代。

- **Account**—管理那些用户或者用户群有权限更改或者调整报告，定义默认设定和修改标准曲线。另外，覆盖文件或者改变文件保存路径也是由Account键控制。



帐户页的左侧显示一系列控制类别的路径。每个控制类别包括特定用户或者用户组的软件特征够可以进入。可以进入的类别包括：

- **Allow access to:**
 - **Options**—让用户或者组能够进入：应用，报告管理页面，参数选择和帐户。
 - **Reports**—能够让客户或者组能够在报告屏幕下可以进入配置标签和再生键。
 - **Editor**—让用户或组能够删除用户编写的方法，保存动力学方法。
 - **Use Current Settings as default**—把当前的应用参数设定卫为默认值。
 - **Overwrite files**—在已存的工作簿名下保存一个新的工作簿。
- **Allow access to Groups:**
 - 用户可以进入，添加，删除，修改组。

要进入上面描述的特定的路径：

1. 在左侧突出显示感兴趣的特征，对每个小类的路径都必须分别授权。
2. 使用**List names from** 和**Organization**的下拉菜单来选择特定的用户和组。
3. 点击Add把用户或者组移动到中间框中。只有那些在中间框中的名称才能进入左边栏的突出的软件特征。在默认情况下，对于每个应用用户组都要添加到允许的路径中。

下拉框和列表框：

- **List name from**—显示可以从中选择的区域列表。
- **Organization**—显示选择区域中的组织列表。（如果本地区域被选择了，就不选择这个列表了）
- **Allow access to**—授权给用户或者组可以使用前面描述的软件参数。
 - 要添加一个用户或组到用户或组列表中，在页面底部的**Select or enter a**

name区域输入一个有效的用户名或组名，再点击Add键。

- 名称必须包括区域名，如果一个名称是有效的，就可以出现再授权列表中。如果命名无效，将会出现一个警告信息提示您。
- **User and Groups**—一个选择的区域中的有效的用户列表。

3. 应用

总论

使用NanoDrop 2000/2000c分光光度计可以方便的使用微量样品进行紫外—可见分光检测。NanoDrop 2000/2000c可以应用于如下检测：

- 不用稀释可以检测浓度小于15000ng/ul (dsDNA) 的核酸浓度和纯度
- 普通的紫外—可见分光光度检测
- 纯蛋白浓度检测 (A280)
- Micro array和Protein & Labels应用中的荧光染料基团检测
- 扩展的光谱检测，定量应该标记蛋白，金属蛋白
- BCA蛋白定量分析
- Bradford蛋白定量分析
- Lowry法蛋白定量分析
- Pierce 660nm蛋白定量分析
- 微生物细胞培养检测
- 动力学检测
- 用户自己编辑检测方法

快速启动

1. 双击软件图标，并在右栏中选择感兴趣的软件应用。
 - 在进行检测前选择Add to report来把样品数据保存到一个工作簿中。
2. 使用合适的缓冲液来建立一个空白对照。
 - 基座模式：取1—2ul空白液加到底部基座上，放下检测臂并点击Bank。
 - 比色皿模式（仅仅2000c）：选择Use Cuvette，按仪器上指示箭头插入比色皿。检测光束（2mm）位置在比色皿底部以上8.5mm，参考比色皿生产厂家的建议来确定需要液体体积。

注意：使用比色皿检测时，也需要把检测臂放下。在使用基座检测时，建议把比色皿拿出以保证基座臂能放到合适的位置。

3. 使用干净无尘纸把基座上的空白液擦干净，在合适的位置输入样品名称，取1ul样品进行检测。

注意：每次检测的样品都必须是刚加入的。

检测后：

- 使用干净的无尘纸擦掉上下基座上的样品，即可用于下一个样品检测。
- 当使用比色皿检测时，拿出比色皿，在做下一个样品前清洗干净并凉干。

虽然没有必要在做每个样品之前都做空白对照，但建议在做一种样品检测30min后做一次空白对照。30min后，最后一次做的空白对照的时间会显示在底部状态栏上。

在NanoDrop 2000的用户指南的附件上有一个快速使用指南，其中有空白对照和样品检测的操作说明。建议把这个指南打印出来贴在仪器附近作为参考。

Sample Type	Lower Detection Limit	Approximate Upper Detection Limit	Typical Reproducibility (5 replicates, SD = ng/uL; CV = %)
Nucleic Acids	2 ng/ μ L (pedestal) 0.4 ng/ μ L (cuvette)	$\leq 15,000$ ng/ μ L (dsDNA)	2 - 100 ng/uL: ± 2 ng/uL >100 ng/uL: $\pm 2\%$
Microarray	2 ng/ μ L (pedestal) 0.4 ng/ μ L (cuvette)	750 ng/ μ L (dsDNA)	2 - 100 ng/uL: ± 2 ng/uL >100 ng/uL: $\pm 2\%$
Protein A280	0.10 mg/mL (purified BSA - pedestal) 0.010 mg/mL (purified BSA- cuvette)	400 mg/mL (purified BSA)	0.10 - 10 mg/mL: ± 0.10 mg/mL >10 mg/mL: $\pm 2\%$
Proteins & Labels	0.10 mg/mL (purified BSA - pedestal) 0.010 mg/mL (purified BSA- cuvette)	20 mg/mL (purified BSA)	0.10 - 10mg/mL: ± 0.10 mg/mL
BCA	0.2 mg/mL (20:1 reagent.sample volume) .01 mg/mL (1:1 reagent.sample volume)	8.0 mg/mL 0.20 mg/mL	2% over entire range 0.01 mg/mL over entire range
Modified Lowry	0.2 mg/mL	4.0 mg/mL	2% over entire range
Bradford	100 ug/mL (50:1 reagent.sample volume) 15 ug/mL (1:1 reagent.sample volume)	8000 ug/mL 100 ug/uL	100-500 ug/mL: ± 25 ug/mL 500-8000 ug/mL: $\pm 5\%$ 15 - 50 ug/mL: ± 4 ug/mL 50 - 125 ug/mL: $\pm 5\%$
Pierce 660 nm	50 ug/ml (15:1 reagent.sample volume) 25 ug/ml (7.5:1 reagent.sample volume)	50-125 ug/ml > 125 ug/ml 25-125 ug/ml > 125 ug/ml	50-125 ug/mL: ± 3 ug/ml >125 ug/mL: 2% 25-125 ug/mL: ± 3 ug/ml >125 ug/mL: 2%

Cy3, Cy3.5, Alexa Fluor 555 and Alexa Fluor 660	0.2	100	sample range 0.20-4.0 pmol/ul: ± 0.20 pmol/ul sample range >4.0 pmol/ul: $\pm 2\%$
Cy5, Cy5.5 and Alexa Fluor 647	0.12	60	sample range 0.12-2.4 pmol/ul: ± 0.12 pmol/ul sample range >2.4 pmol/ul: $\pm 2\%$
Alexa Fluor 488 and Alexa Fluor 594	0.4	215	sample range 0.40-8.0 pmol/ul: ± 0.40 pmol/ul sample range >8.0 pmol/ul: $\pm 2\%$
Alexa Fluor 546	0.3	145	sample range 0.30-6.0 pmol/ul: ± 0.30 pmol/ul sample range >6.0 pmol/ul: $\pm 2\%$

注意：上面说的染料的检测范围只针对玉基座检测。

核酸

总论

使用NanoDrop 2000/2000c可以很方便的检测核酸的浓度和质量。要检测核酸在主页面上选择Nucleic Acid功能。

核酸浓度计算

使用Beer—Lambert定律来进行核酸浓度计算：

$$c = (A * \epsilon) / b$$

C=核酸浓度，单位ng/ml

A=AU的吸光值

ϵ =消光系数，单位ng-cm/ml

b=光程，单位cm

通常情况下核酸的消光系数为：

- 双链DNA： 50ng-cm/ul
- 单链DNA： 33ng-cm/ul
- RNA： 40ng-cm/ul

当选择基座模式，NanoDrop 2000/2000c分光光度计使用1.0mm到0.05mm的短光程来进行检测，这样保证不用稀释就可以检测高浓度样品。

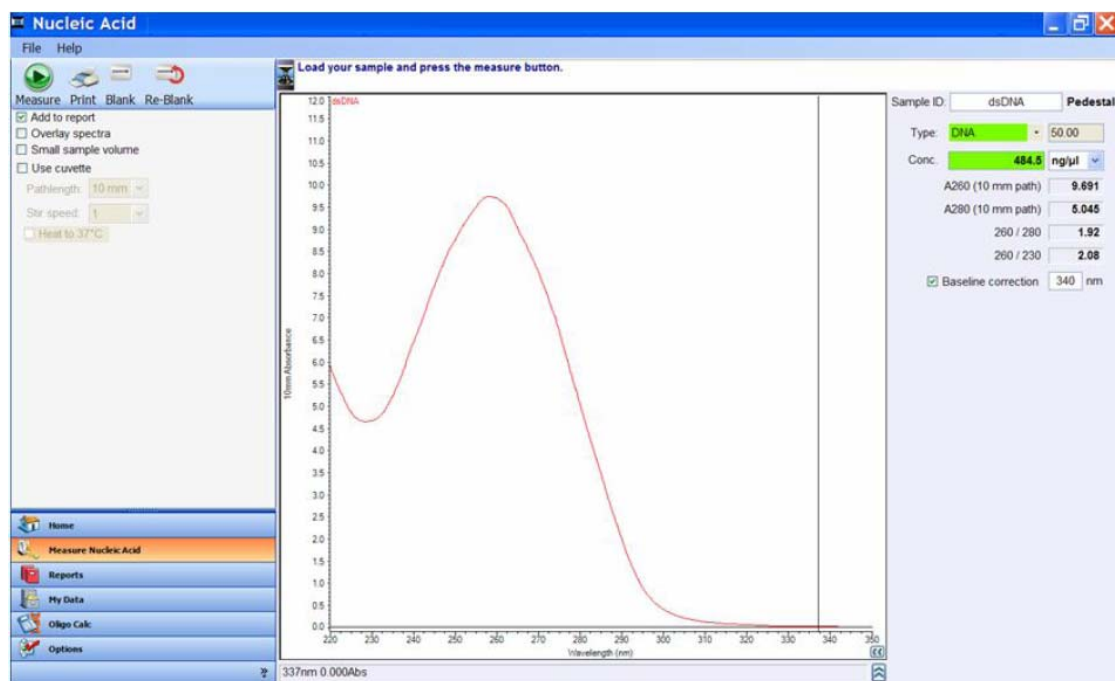
注意：报告中的吸光值可以象软件屏中显示的模式存档。不论基座检测还是比色皿检测，核酸检测的吸光值被一致化为1cm光程下的读数值。

NanoDrop 2000/2000c分光光度计可以准确检测 ≤ 15000 ng/ul的双链DNA而不用稀释。对每个样品，软件会自动选择最佳的检测光程进行检测。参考“Measurement Ranges”来获得详细信息。

当检测样品的吸光值 ≥ 3.0 时（1cm光程下），可以使用较少量的样品进行检测。

独特的屏幕显示

右侧栏显示核酸检测特定的配置，左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述



光谱图中显示的数据都是一致化为10mm光程下的读数。

光谱显示的右栏包括以下内容：

- **Sample ID**—输入样品名称，在进行样品检测时应输入样品的名称。
- **Type**—一个下列菜单来选择检测的核酸类型，选择DNA-50做dsDNA检测，RNA-40做RNA检测，ssDNA-33做单链DNA检测。其他选择包括，DNA寡核苷酸核RNA寡核苷酸，需要输入相应的吸光系数。可以输入的吸光系数范围时15—150。
- **Conc**—通过260nm处的吸光值和消光系数计算得到的浓度值，浓度单位可以在后面的下拉框中选择。参考“Nucleic Acid Calculations”中的详细信息。
- **A260**—显示10mm光程下的260nm处的吸光值。
- **A280**—显示10mm光程下的280nm处的吸光值。
- **260/280**—260nm和280nm处的吸光值的比值，这个值用来判定DNA和RNA的纯度。纯DNA的比值在1.8左右，纯RNA的比值在2.0左右。如果这个比值偏小，表明有蛋白，苯酚或者其他污染物存在，这些物质在280nm处有明显的光吸收。
- **260/230**—260nm和230nm处的吸光值的比值，这是一个次要的核酸浓度指示值。纯核酸的这个比值比260/280比值大，一般在1.8-2.2之间，如果比值偏低，表示核酸中有污染物。
- **Baseline correction**—如果选择了基线校准，默认的校准波长为340nm。用户可以根据试验需要输入不同的校准波长。在任何试验下，基线都是自动设定为选择波长下的吸光值。所有波长下的读数都要减去这个值。

注意：如果不选择基线校准，光谱值将会产生偏移，计算的浓度也会改变。

核酸浓度检测

1. 在主菜单中选择核酸模式，如果显示波长校准窗口，放下基座臂点击OK。
2. 选择检测的样品类型，默认の設定为DNA-50。
3. 选择浓度单位，默认的为ng/ul。

4. 默认的校准波长为340nm, 重新选择一个校准波长或者去选择Baseline来不选择校准波长。
5. 选择Add to Report自动把检测结果添加到当前报告中, 默认设置是把每个样品都添加到报告中。要把样品数据保存到工作簿中, 在检测前必须选上Add to report。
6. 选择Overlay spectra可以在同一时间显示多个光谱。
7. 使用合适的液体建立空白对照, 空白对照液体是溶解目标分子的液体。空白对照液体的pH值和离子浓度应和检测样品一样。
 - 基座模式: 取1-2ul空白对照加到基座上, 放下检测臂, 点击Blank键。
 - 比色皿模式 (仅ND2000c): 插入比色皿时注意仪器上箭头指示方向。光束 (2mm宽) 位置再比色皿底部以上8.5mm的位置, 请按照比色皿生产厂家的建议加入液体。

注意: 对于所有模式检测, 检测臂都必须放下。在做基座检测前, 要把比色皿拿出来了, 这样可以保证检测臂放到正确的位置。

8. 在指定的位置输入样品名称, 按上面检测空白对照的操作进行样品检测。

注意: 每次检测的样品都必须是新加的。

检测后

- 使用干净的无尘纸擦干净上下基座, 这样仪器就可以进行下一个样品检测了。
- 当使用比色皿时, 取出比色皿, 彻底清洗比色皿并晾干。

Oligo Calc

Oligo Calc 用来计算特定核酸序列的分子量, 消光系数, 浓度因子和熔点。选择这个任务栏将显示两个键:

- **Oligo Calc**—用来输入感兴趣的序列, 并选择合适的样品类型。
- **Melting Point**—显示DNA序列熔点的结算结果。这个功能键仅在DNA序列检测时出现。

要使用Oligo Calc:

1. 使用如下方法来输入一个碱基序列:
 - 使用碱基序列显示框下的按键。
 - 键盘 (仅仅能使用A, C, G, T, 和U来输入碱基)
 - 复制和粘贴一个序列到显示框 (仅仅能使用A, C, G, T, 和U来输入碱基)
 - 清除碱基序列框中的序列, 点击序列框右侧的Clear键, 单个可以手动来删除。
2. 选择磷酸化程度, 可以选择: DNA单磷酸化, RNA单磷酸化和三磷酸化。
3. 如果需要可以选择双链, 互补的双链序列能够包括在计算中。
4. 在下拉框中, 选择检测的核酸类型, 默认的为DNA。
5. 如果要添加序列选择Modification并输入相关的分子量。

Oligo Calc分析结果区域包括:

- **分子量**—显示碱基序列计算得到的分子量。

- **消光系数**—显示260nm波长依赖的消光系数，单位是ng-cm/ml。
- **浓度因子**—基于消光系数的常数，用来计算碱基序列的浓度。
- **碱基数**—显示输入多少个碱基。
- **%GC**—显示序列中的G/C含量。

要计算DNA序列的熔点：

1. 按上面说明输入序列，如果序列已经输入到Oligo Calc Tab中，序列框中将自动计算序列的熔点。
2. 按下列说明在框中输入合适的数值：
 - **Oligo Molarity**—输入样品序列的摩尔浓度，默认的值10um，但是可以根据不同的样品更改。
 - **Cation Molarity**—输入样品的阳离子浓度，默认的值50um，但是可以根据不同的样品更改。
 - **%Formamide**—输入样品中的氨基浓度，默认值为0，但是可以根据不同的样品更改。

熔点分析结果区域包括：

- **Salt Adjusted**—计算序列的熔点，不考虑盐对相邻碱基的相互作用影响。
- **Nearest Neighbor**—计算序列的熔点，考虑盐对相邻碱基的相互作用影响。

微阵列

总论

通过这个功能可以筛选有效的荧光标记杂交探针用于芯片试验，这样避免潜在的不好的探针，可以提高试验效率。NanoDrop 2000/2000c可以检测荧光染料的吸收光强度，最低可以检测0.2pmol/ul的荧光染料。软件可以自动应用相应的波长检测样品的吸光值。

检测浓度范围

NanoDrop 2000/2000c可以准确检测荧光染料标记的核酸浓度达：100pmol/ul的Cy3以及750ng/ul的DNA。

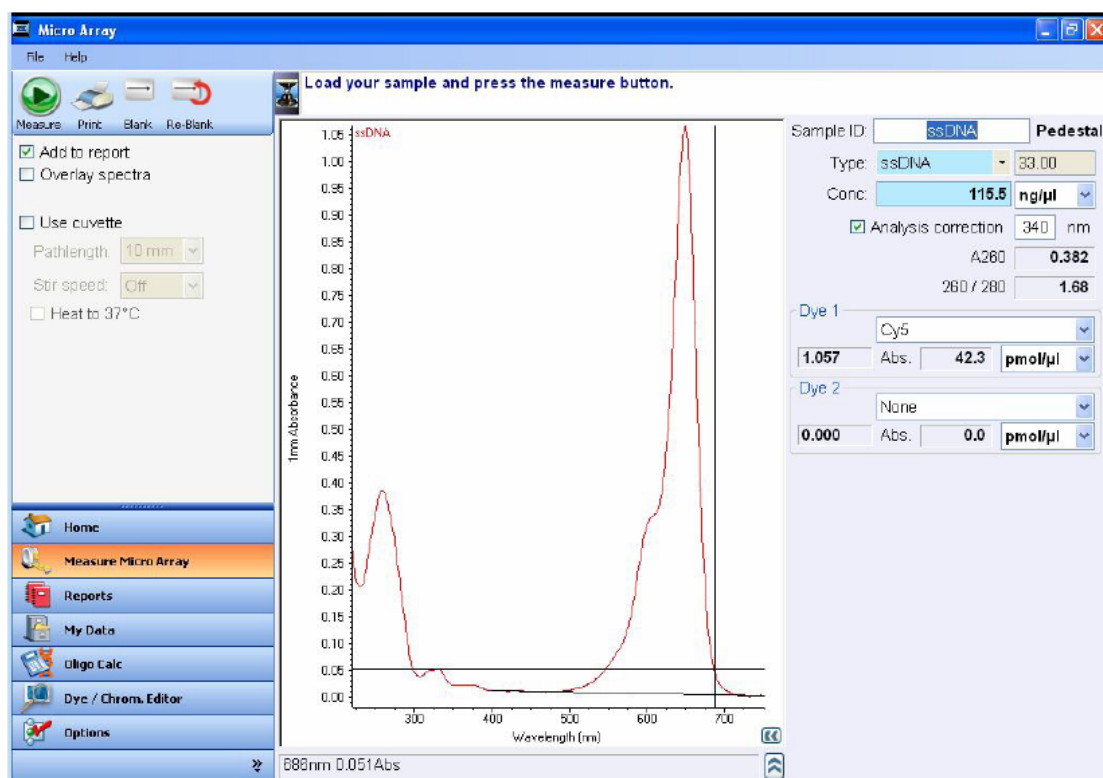
染料/发色团编辑

用户可以在NanoDrop 2000/2000c软件中选择预设好的染料，也可以使用染料/发色团编辑功能来添加新的染料。要添加一个新的染料，选择Show 栏（第一列），这将激活手动输入的区域，参照染料制造厂家的说明来填写合适的校准参数。当合适的染料被选择了，260nm的校准将被自动应用到核酸浓度计算中。当所有参数填写好后，保存这些信息。

要删除一个用户自定义的染料，点击左侧（+）键旁边的灰色框选择要删除的染料，然后点击键盘上的Delete键或者使用鼠标右键来删除。预编辑好的那些荧光染料，在编制栏是被锁定的，不能被删除。默认的设置是染料1是Cy3，染料2是Cy5。

独特的屏幕显示

右侧栏显示Micro Array应用独特的功能键，左侧任务栏上的功能键参考“Software Overview”的描述。



光谱显示了当前样本在1nm光程下的数据，光程信息显示在Y轴。

右侧的光谱显示栏包括下列部分：

- **Sample ID**—输入样品名称的区域。应在样品检测前输入样品名称。
- **Type**—用户可以在下拉菜单中选择检测的核酸类型。选项包括：DNA-50用于检测DNA，RNA-40用于检测RNA，ssDNA-33用于检测单链DNA，其他选项还有Oligo DNA和Oligo RNA，可以根据不同的序列使用合适的消光系数。**Custom**选项可以输入消光系数的范围是15—150。
- **Conc**—使用特定的消光系数和260nm波长下的吸光值来计算浓度。浓度单位可以在下拉框中选择。使用Beer定律来计算核酸浓度，可以参考“Nucleic Acid Calculations”。
- **A260**—显示校准到10mm光程下的260nm波长下的吸光值。

注意：显示的A260值并不同于样品在260nm下的吸光值（以750nm波长为参比波长）。A260值在计算核酸浓度时考虑到染料对吸光值的影响，采用染料校准因子对检测结果进行了校准，吸光值校准采用选择的校准波长和750nm基线。从而显示的A260值和用来计算的核酸浓度的吸光值不一样。

- **260/280**—260和280nm吸光值的比值。这个比值用来判定DNA和RNA的纯度。对于DNA来说比值为1.8时认为是纯的DNA，对于RNA来说比值为2.0时认为是纯的RNA。如果比值偏低，表明核酸中存在蛋白，酚或其他在280nm 处有吸光的杂质。
- **Dye1 (2)**：选择染料，默认的选择是：染料1（Cy3），染料2（Cy5）。
 - **Abs**—每个染料在1mm光程下的吸光值。
 - **pmol/ul**—基于每个荧光染料的消光系数计算出来的浓度，可以在下拉框中选择浓度单位。
- **Analysis correction**—在计算浓度前，减去参比波长下的吸光值。这仅仅影响报告的核酸浓度，默认的参比波长为340nm。

注意：对所有可见光检测，软件的校准波长为750nm，并自动以400nm和750nm吸光值为基线进行染料浓度计算。

进行微阵列检测

1. 在主菜单中选择**Micro Array**功能，如果显示了波长确认窗口，确保检测臂放下，并点击**OK**。
2. 选择检测样品的类型，默认的设定为ssDNA-33。
3. 在下列框中选择浓度单位，默认的单位是ng/ul。
4. 使用染料1或者染料2后面的下拉框来选择染料，默认的染料设定：染料1（Cy3），染料2（Cy5），如果仅标记了一个染料，在染料2类型上选择None。
5. 默认以340nm的吸光值为核酸校准值。通过取消选择**Analysis correction**框来选择或者不选择参比波长校准。
- ✓ 在文件下拉条中选择**Use current settings as default**，这是一个便捷的方法来限定每个工作薄的设定时间。
6. 选择**Add to report**来自动把当前检测的结果添加到报告中去。默认的设定是把所有的报告添加到报告中。为了把一个检测结果保存到工作簿中，必须在检测前把**Add to report**选择上。
7. 选择**Overlay spectra** 来同时显示多个光谱图。
8. 使用合适的**buffer**来检测空白对照：
 - ✓ 基座模式：取1—2ul空白溶液加到基座上，放下检测臂并点击**Blank**。
 - ✓ 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。

9. 输入样品名称，按做空白一样加入样品点击**Measure**开始检测。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Oligo Calc

Oligo Calc软件功能可以用来计算特定核酸序列的分子量，消光系数，浓度因子和熔点。选择这个任务栏：

- ✓ **Oligo Calc**—用来输入感兴趣的序列并选择合适的样品类型。
- ✓ **Melting Point**—显示了DNA链计算的熔点，这个功能只有在DNA序列上有效。

要使用**Oligo Calc**：

1. 使用下列的方法来输入碱基序列：

- ✓ 碱基序列显示框下面的按键。
 - ✓ 键盘（仅使用A，C，G，T和U来输入序列）
 - ✓ 复制和粘贴序列。
 - ✓ 要清楚碱基序列，点击显示框右边的Clear键。单个碱基可以使用手动来删除。
2. 选择磷酸化程度，可以选择：单磷酸化（DNA），单，双或者三磷酸化（RNA）。
 3. 可以选择双链，在计算时可以自动包含其互补的链序列。
 4. 在下列菜单中，选择分析的核酸类型，默认的为DNA。
 5. 对于额外的碱基序列，选择**Modification**并输入分子量。

Oligo Calc试验结果区域包括：

- 分子量—显示计算的碱基序列的分子量。
- 消光系数—显示260nm 处的消光系数，单位ng-cm/ul。
- 浓度因子—恒数，基于消光系数来计算检测序列的浓度。
- 碱基数—显示输入了多少个碱基。
- %GC—显示序列的GC含量。

要计算DNA序列的熔点：

1. 按上面描述的方法输入序列。

注意：如果一个碱基序列已经输入到Oligo Calc中，熔点框的碱基序列框将自动输入那个序列。

2. 在每个框中输入合适的的数据：
 - ✓ **Oligo Molarity**—输入样品的摩尔浓度，默认的值10uM，可以针对样品更改为更合适的数据。
 - ✓ **Cation Molarity**—输入样品的阳离子浓度，默认的值50mM，可以针对样品更改为更合适的数据。
 - ✓ **%Formamide**—输入样品中的甲酰胺浓度，默认的值0，可以针对样品更改为更合适的数据。

熔点分析结果包括：

- **Salt-Adjusted**—计算序列的熔点而不考虑相邻碱基序列的干扰。
- **Nearest-Neighbor**—显示序列的熔点同时考虑相邻碱基序列的干扰。

UV-VIS

总论

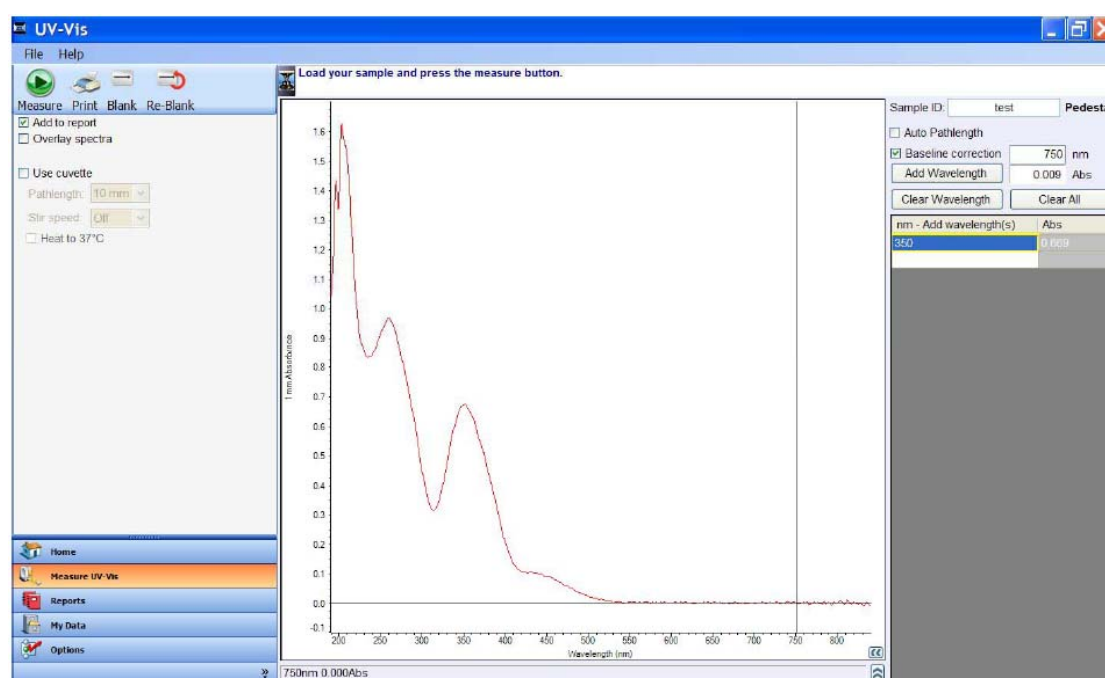
UV-VIS功能使NanoDrop 2000/2000c可以想普通的紫外-可见分光光度计一样行使功能。可以显示从190到840nm的样品的吸光值。最多可以同时指定检测40个波长下的吸光值并把数据显示在报告中。

检测浓度范围

在使用自动光程模式下，NanoDrop 2000/2000c能够检测相当于10mm光程下300A的吸光值。

独特的屏幕特征

右侧栏显示UV-VIS独有的特征，左侧任务栏的说明参见“Software Overview”。



光谱图显示了当前样品校准到1mm光程下的吸光值，光程信息显示在Y轴上。

光谱图的右侧，包括下列内容：

- **Sample ID**—输入样品名称区域，在检测样品前应输入样品名称。
- **Auto Pathlength**—在检测高浓度样品时自动调整合适的光程。如果选择了这个功能，在220nm到840nm间任何波长下的吸光值为1.25左右时，检测使用短的光程。对于波长在190nm到219nm范围内，1mm光程下的吸光值为1.0左右时改为短光程检测。
- ✓ 短光程对于高浓度样品检测是非常有用的。虽然这个功能对其他应用是自动进行的，在UV-VIS功能下，用户可以选择自动光程功能或者限定基座检测光程为1mm。在其他情况下，吸光值数据将显示为1mm光程下的数据。
- **基线校准**—自动设定基线，样品检测的数据以基线的数据为参考。默认的波长为750nm，如果不使用基线校准，光谱可能会发生基线偏移。
- **添加波长**—在版面上添加指示波长和指示吸光值。当一个样品被检测，把鼠标十字号指示移动到感兴趣的波长并点击添加波长，或者可以在选择区域输

入波长即可。

- **Clear Wavelength**—清除波长界面上的一个输入。
- **Clear All**—清除波长界面上的所有输入。

在其他应用中，在图谱显示中右击鼠标可以产生一个多选择的菜单框。在UV-VIS中，可以选择开启/关闭一个额外的样品标签。样品标签选择可以显示或者隐藏每个选择波长下的吸光值。右击一个标签可以编辑，改变颜色和字体，旋转和删除。

进行UV-VIS检测

1. 在主菜单中选择UV-VIS功能，如果出现波长确认窗口，确保检测臂放下，并点击OK。
2. 默认用750nm对重铬酸盐进行标准化。可以选择其他参考波长或者通过去选择Baseline correction来不选择光谱校准。
3. 在nm-Add wavelength(s)框中可以最多向屏幕中添加40个波长。选择第一排，输入波长并点击Enter。下一行就可以变亮，这样就可以添加额外的波长。另外，还可以通过在感兴趣波长的位置上点击鼠标右键并选择Add Wavelength来添加。还可以选择删除一个或者多个波长。
 - ✓ 在下拉选择中选择Use current setting as default，这样可以方便每个工作簿的设定时间。
4. 选择Add to report来把所有检测结果包括到当前的报告中。默认的设置是把所有样品都添加到报告中，要把样品数据保存到工作簿中，必须要在检测前把Add to report检测框选上。
5. 选择Overlay spectra 在同时 选择多个光谱图。
6. 使用合适的缓冲液建立一个空白对照。
 - ✓ 基座模式：取1—2ul空白溶液加到基座上，放下检测臂并点击Blank。
 - ✓ 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放置，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。
7. 输入样品名称，按做空白一样加入样品点击Measure开始检测。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Protein A280

总论

蛋白和核酸不一样，具有很强的多样性。Protein A280功能应用于检测那些含有Trp, Tyr残基或者含有Cys-Cys二硫键的纯蛋白，这些蛋白在280nm出有明显吸光值。这个方法不需要构建标准曲线而是检测吸光值后软件直接计算蛋白浓度。而象BCA, Pierce 660nm, Bradford和Lowry这些检测颜色的方法通常用来检测那些消光系数不确定的样品或者细胞裂解液。如果你经常使用颜色检测法来定量蛋白，建议使用软件中预编辑好的程序。

Protein A280显示紫外吸收光谱，检测280nm处的吸光值后计算浓度（mg/ml）。和核酸检测一样，Protein A280记录显示的是10mm光程下的数据。

检测浓度范围

NanoDrop 2000/2000c在基座模式下可以最多检测400mg/ml的BSA而不用稀释。

软件可以自动使用选择光程来检测每个样品的吸光值。

在样品的10mm吸光值>3.0 (>4.5mg/ml BSA) 时可以选择Small sample volume。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用2ul的样品来检测以保证形成液柱。

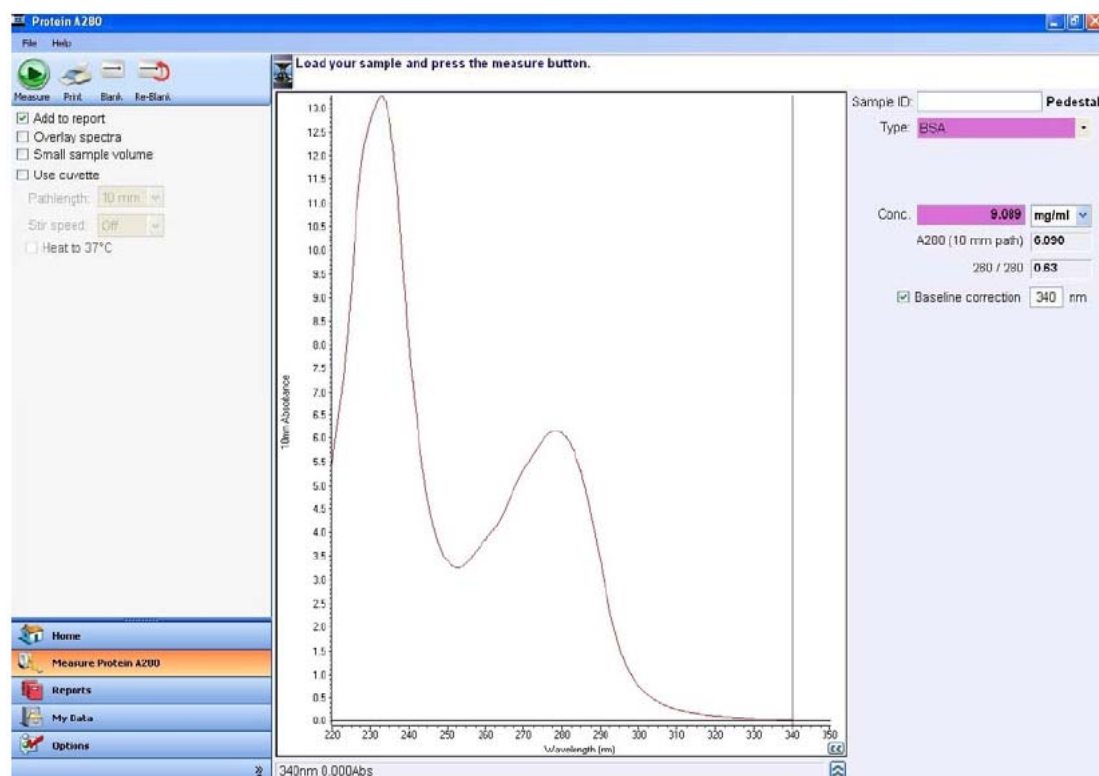
在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

基座再生

带有表面活性剂的溶液或者试剂会破坏检测基座上液柱的形成。在这种情况下，使用Nanodrop基座再生复合物来快速再生基座表面。关于PR-1的其他信息请参考网页。

独特的屏幕显示

右侧显示栏是蛋白A280检测 的栏目，左侧部门这里没有说明，请参考“软件总论”。



光谱图显示的数据是样品标准化到10mm光程下的结果。

在光谱图右侧包括下列内容：

- Sample ID—输入样品名称的位置，应在检测前输入样品名称。
- Type—六个预设样品可供选择来进行蛋白分析和浓度计算。可以在Type旁边的下拉框中进行这些选择。默认的是1Abs=1mg/ml。

1 Abs = 1 mg / mL	1mg/ml蛋白在280nm处的吸光值为1A。
BSA	小牛血清白蛋白参照，蛋白浓度计算的质量消光系数是：10mg/ml的蛋白在280nm处的质量消光系数为6.7。
IgG	IgG参考，蛋白浓度计算的质量消光系数是：10mg/ml的蛋白在280nm处的质量消光系数为13.7。
Lysozyme	溶菌酶参考，蛋白浓度计算的质量消光系数是：10mg/ml的蛋白在280nm处的质量消光系数为26.4。
Type: Other protein (E & MW) e / 1000 0.00 M.W. (kDa) 0.00	用户可以自己输入摩尔消光系数和分子量（KD），作为检测蛋白的参考
Type: Other protein (E 1%) Ext. Coeff, E 1% L/gm-cm 0.00	用户可以自己输入质量消光系数，作为10mg/ml蛋白的参考。

- Ext.Coeff, E1% L/gm-cm—当选择Other Protein（E1%）会出现这个项目，在

检测前应输入合适的消光系数。

- **Conc**—根据蛋白在280nm处的吸光值和选择的消光系数计算出来的浓度值。浓度单位可以从旁边的下拉框中选择。默认的单位是mg/ml。
- **A280(10mm光程)**—蛋白在280nm处的吸光值。显示的数据被标准化到10mm光程。
- **260/280**—260nm和280nm处吸光值的比值。
- **Baseline correction**—如果选择了这个功能，默认的重铬酸盐校准波长为340nm，用户可以自己手动随便输入重铬酸盐的校准波长。每次检测时，都会自动把选择波长处的吸光值作为检测的基线。所有波长下的吸光值都会减去这个基线值。如果不选择基线校准这个功能，光谱的基线会发生偏移，计算的蛋白浓度值会比真实值偏高。

进行蛋白A280检测

1. 从主菜单中选择**Protein A280**，如果波长确认窗口打开，确保检测臂放下并点击OK。
2. 从样品下拉框中选择检测样品的类型，默认の設定为1 Abs=1mg/ml。
3. 选择浓度单位，默认的单位是mg/ml。
4. 默认的重铬酸盐校准波长为340nm，可以选择其他的校准波长，或者去选择**Baseline correction**来不做光谱校准。
 - ✓ 选择文件下拉选择中的**Use current settings as default**来节约每个新的工作薄的设定时间。
5. 选择**Add to report**来自动把所有检测结果添加到当前报告中。默认的设置是把所有样本添加到报告。在进行样品检测前必须把**Add to report**框选上才能把样品结果数据保存到工作簿中。
6. 选择**Overlay spectra**来同时显示多个光谱图。
7. 使用合适的缓冲液做空白对照。
 - ✓ 基座模式：取1—2ul空白溶液加到基座上，放下检测臂并点击**Blank**。
 - ✓ 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。
8. 输入样品名称，按做空白一样加入样品点击**Measure**开始检测。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Protein & Labels

总论

Protein & Labels可以用来检测蛋白的浓度（A280nm）和荧光染料的浓度（蛋白芯片标记物）。它还可通过吸光值的比值来检测金属蛋白（如血色素）的纯度。

检测浓度范围

Nanodrop 2000/2000c能够准确检测100pmol/ul的荧光染料和20mg/ml的蛋白（BSA）而不用稀释。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用2ul的样品来检测以保证形成液柱。

在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

基座再生

带有表面活性剂的溶液或者试剂会破坏检测基座上液柱的形成。在这种情况下，使用Nanodrop基座再生复合物来快速再生基座表面。关于PR-1的其他信息请参考网页。

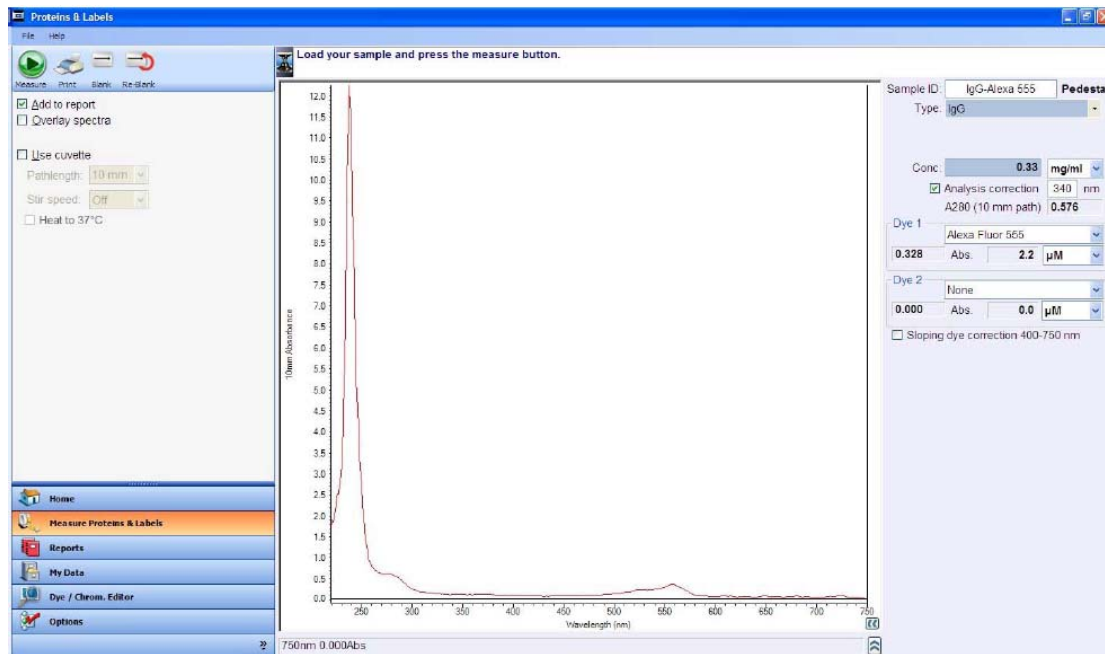
染料/荧光基团编辑

NanoDrop 2000/2000c软件既可以让用户选择设定好的染料也可以使用Dye Chromophore Editor来编写输入新的染料。要输入一个新的染料，选择显示栏框（最后一列），这就可以激活输入信息的区域了，参考染料生产厂家的说明来输入合适的校准因子。280nm的校准参数将会自动应用到蛋白浓度计算。当输入好后，这些信息就被保存了。

要删除一个用户定义的染料，选择这个染料，直接点击键盘上的删除键来删除，或者右击鼠标选择删除。预先编写好的染料在编辑器中被锁定的，是不能编辑和删除的。默认的设置是Dye1为Cy3，Dye2为Cy5。

独特的屏幕特征

右侧的显示是Protein & Labels特有的。左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述。



光谱图显示当前样品校准到10mm光程下的吸光值。

光谱显示右侧包括下拉参数 “

- **Sample ID**—输入样品名称的位置，应在检测前输入样品名称。
- **Type**—六个预设样品可供选择来进行蛋白分析和浓度计算。可以在Type旁边的下拉框中进行这些选择。默认的是1Abs=1mg/ml。
- **Ext.Coeff, E1% L/gm-cm**—当选择Other Protein (E1%) 会出现这个项目，在检测前应输入合适的消光系数。
- **ϵ /1000 and M.W. (KDa)**—当Other protein (E & MW) 被选择时可以显示，在检测前应输入合适的参数。
- **Conc**—根据蛋白在280nm处的吸光值和选择的消光系数计算出来的浓度值。浓度单位可以从旁边的下拉框中选择。默认的单位是mg/ml。
- **Dye1 (2)**：选择染料，默认的选择是：染料1 (Cy3)，染料2 (Cy5)。
 - ✓ **Abs**—每个染料在1mm光程下的吸光值。
 - ✓ **uM**—基于每个荧光染料的消光系数计算出来的浓度，可以在下拉框中选择浓度单位。
- **A280(10mm光程)**—蛋白在280nm处的吸光值。显示的数据被标准化到10mm光程。
 注意：显示的A280值并不同于样品在280nm下的吸光值（以750nm波长为参比波长）。A280值在计算蛋白浓度时考虑到染料对吸光值的影响，采用染料校准因子对检测结果进行了校准，吸光值校准采用选择的校准波长和750nm基线。从而显示的A280值和用来计算的蛋白浓度的吸光值不一样。
- **Analysis correction**—在进行浓度计算之前，分析波长下的吸光值要减去校准波长下的吸光值。这仅仅影响报告中的蛋白浓度。
- **Sloping Dye Correction**—选择这项时，染料检测波长下的吸光值要减去400nm到750nm校准波长下的 吸光值。这仅仅影响报告的染料的吸收峰和浓度。

进行Protein & Labels检测

1. 从主菜单中选择**Protein & Labels**，如果波长确认窗口打开，确保检测臂放下并点击OK。
 2. 从样品下拉框中选择检测样品的类型，默认の設定为1 Abs=1mg/ml。
 3. 选择浓度单位，默认的单位是mg/ml。
 4. 使用下拉菜单来选择染料，默认的染料1为Cy3，染料2为Cy5。如果蛋白仅标记一种染料，染料2选择为None。
 5. 默认的重铬酸盐校准波长为340nm，可以选择其他的校准波长，或者去选择Baseline correction来不做光谱校准。
 - ✓ 选择文件下拉选择中的Use current settings as default来节约每个新的工作薄的设定时间。
 6. 选择Add to report来自动把所有检测结果添加到当前报告中。默认的设置是把所有样本添加到报告。在进行样品检测前必须把Add to report框选上才能把样品结果数据保存到工作簿中。
 7. 选择Overlay spectra来同时显示多个光谱图。
 8. 使用合适的缓冲液做空白对照。
 - a) 基座模式：取1—2ul空白溶液加到基座上，放下检测臂并点击Blank。
 - b) 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。
- 注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。
9. 输入样品名称，按做空白一样加入样品点击Measure开始检测。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Protein BCA

总论

BCA是一种通过比色来检测非纯蛋白的浓度的方法，它通常用于稀释的蛋白浓度检测以及那些含有在紫外区域有光吸收的杂质的蛋白的浓度检测。不象Protein A280，BCA法需要在蛋白定量前构建一个标准曲线。

BCA法是检测 Cu^{+1} 离子的方法，在碱性环境下， Cu^{+2} 离子会被蛋白还原为 Cu^{+1} 离子。两个联喹啉二羧酸 BCA 分子和一个 Cu^{+1} 离子形成紫色的螯合物，这样在有蛋白存在情况下，Cu-BCA 形成的螯合物在 562nm 出有最大光吸收，并以 750nm 光系数为标准化。可以从 Thermo Fisher 购买 BCA 和 CuSO_4 试剂盒。

BCA 法检测范围

商业化的 BCA 试剂盒有两种蛋白检测范围：

- 常规检测使用试剂/蛋白样品的体积比为 20:1，这个试剂盒检测范围从 0.20mg/ml 到 8.0mg/ml（BSA）。当使用基座检测时，推荐使用 4ul 样品和 80ul BCA 试剂。
- 微量检测使用 1:1 试剂/样品，可以检测蛋白浓度范围从 0.01mg/ml 至 0.20mg/ml。要准备足够的样品来做基座检测，建议使用 10ul 样品和 10ul BCA 试剂（使用 PCR 管）。

按照试剂盒厂家建议的操作来构建标准曲线和样品准备。确保在所有检测过程中使用相同的时间和温度。

注意：如果试验操作温度高于 60 度，最好使用 2 倍的试验体积，这样避免挥发导致的样品浓缩。

在 BCA 试剂盒中同样包括用于构建标准曲线的标准品。由于 NanoDrop 2000/2000c 能够检测比常规比色皿检测更高的浓度，用户需要使用比厂家推荐的标准品更高的浓度。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul 的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用 2ul 的样品来检测以保证形成液柱。

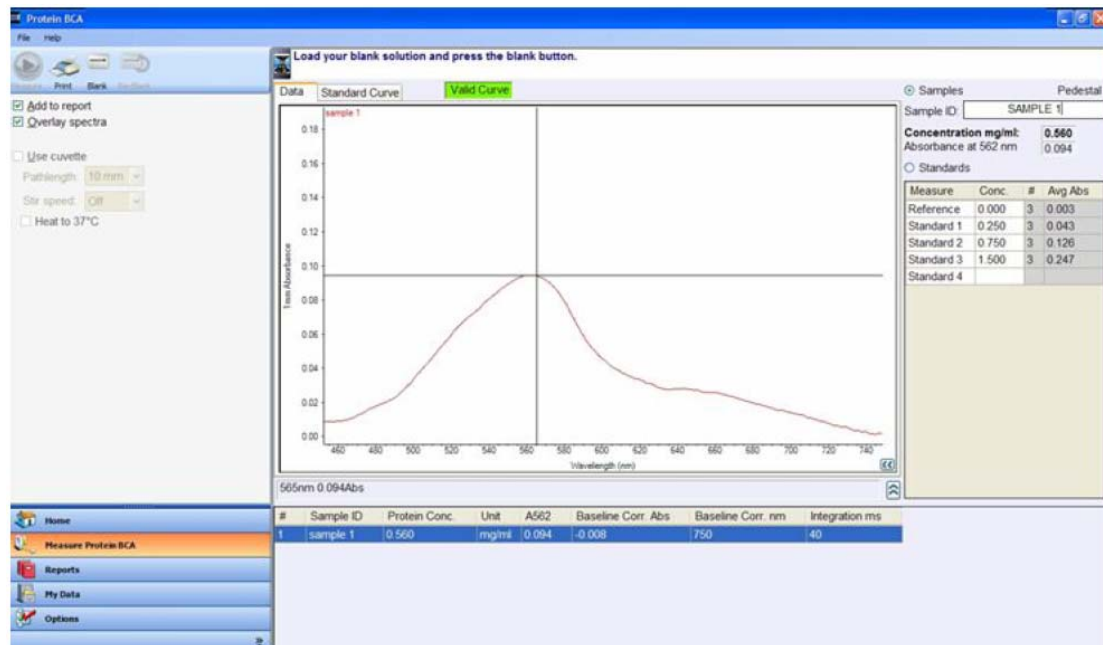
在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

基座再生

带有表面活性剂的溶液或者试剂会破坏检测基座上液柱的形成。在这种情况下，使用 Nanodrop 基座再生复合物来快速再生基座表面。关于 PR-1 的其他信息请参考网页。

独特的屏幕特征

右侧的显示是BCA特有的。左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述。



光谱显示口显示当前样品的数据，使用基座检测的结果是标准化到1mm光程下的数据，而使用比色皿检测时是选择的光程下的数据。光程的信息显示在Y轴上。

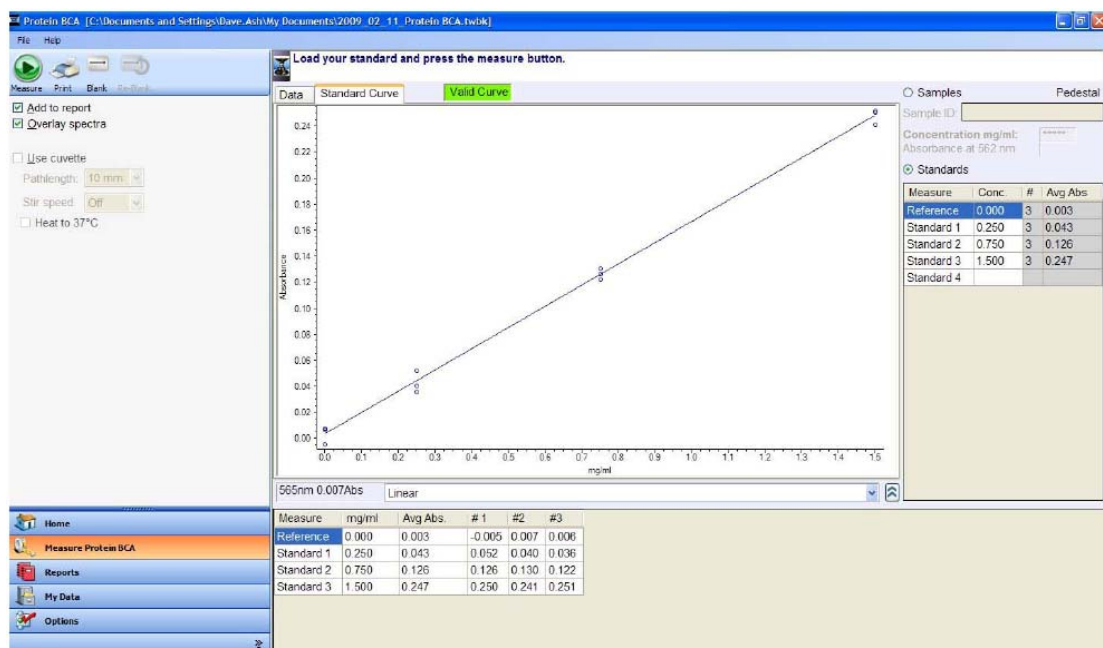
- **Data tab**—显示当前样品的数据
- **Standard Curve tab**—显示标准曲线，可以显示R2值和标准曲线。标准曲线类型包括多参数方程，线形，多级方程等，默认的选择是线形。
- **Valid/Invalid Curve**—显示是否有最小量的标准品已经被检测了。当满足要求时，标准曲线的状态将从无效的状态（红色）变成有效曲线（绿色）。

注意：这状态仅仅表示检测样品数已经满足标准曲线需要的最少样品点。标准曲线状态不指示标准曲线的拟合情况，要包括一个比较宽的检测浓度范围，需要更多的标准品点。

- **Sample radio button**—当构建的标准曲线满足要求时，样品ID位置将能够可以选择，在检测样品前应输入样品名称。
- **Standards radio button**—选择上后可以输入标准名称和浓度。
- **Concentration mg/ml**—当前样品的浓度单位。
- **Absorbance at 562nm**—Cu-BCA复合物在562nm处吸光值。

BCA标准曲线

BCA分析时需要标准曲线。



标准曲线例子：20:1 试剂/样品体积

- 一个最简单的标准曲线可以有两个点组成，包括两个标准品点或者一个参考点（仅仅有BCA试剂，没有蛋白）和一个标准品点。
- 最多可包括7个标准品点，检测各个标准品点没有顺序。
- 标准品点只能在样品检测时添加到标准曲线中，当开始检测第一个样品，就不能向标准曲线中添加标准品点了。
- 在样品检测前可以随机删除任何一个标准品点。右击结果表格可以删除一个标准品或者删除标准品结果表格。在重复孔数据上点击右键可以删除特定标准品的重复。
- 在第一个样品开始检测后，删除的标准品不能被添加或者重新检测。
- 要建立一个新的标准曲线，必须先建立一个新的工作簿。如果把样品添加到以前的工作簿中，可以使用以前构建好的标准曲线。建议在添加数据到工作簿之前要按照试剂生产厂家的说明来构建标准曲线。

注意：如果选择以前保存的工作簿，所有样品的浓度计算都是基于工作簿中的标准曲线进行的。每个工作簿只能保存一个标准曲线。

进行BCA检测

- 参考试剂生产厂家说明准备样品。
- 零点参考标准是与其他标准品和样品同样的样品/试剂比例进行操作，只是里面没有蛋白。
- 按照厂家操作说明准备标准品和样品。使用的空白对照要与标准品，样品的pH值和盐离子浓度一样。
- 标准品的浓度范围要覆盖全面样品的浓度范围。

操作过程：

1. 从主菜单中选择Protein BCA，如果出现波长确认窗口，确保检测臂放下并点击OK。
2. 在右侧表格中输入每个标准品的浓度，软件可以最多检测7个标准品。参考

和标准品可以检测多个重复。

注意：标准曲线最少需要2个标准品点或者一个0参考点和一个标准品点。推荐检测多个标准品，标准品的浓度范围要覆盖样品的浓度范围。

3. 选择Add to report把检测的结果自动保存到当前报告中。默认的设置是把所有样品添加到报告中。要把样品结果保存到工作簿中，必须在检测样品前把Add to report选上。
 - ✓ 选择文件下拉选择中的Use current settings as default来节约每个新的工作簿的设置时间。
 4. 选择Overlay spectra来同时显示多个光谱图。
 5. 使用合适的缓冲液做空白对照。通常使用纯水做为空白对照。
 - a) 基座模式：取1—2ul纯水加到基座上，放下检测臂并点击Blank。
 - b) 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。
- 注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。
6. 在标准品标签下，选择一个标准品，按上面做空白一样加样，点击Measure开始检测，要在所有标准品检测完成后再做样品检测。
 7. 在标准品检测完成后，点击Sample按键，输入样品名称，加2ul样品到检测基座上，点击Measure开始检测样品。在检测标准品和样品之间不需要再做空白对照。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Protein Lowry

总论

Lowry法蛋白定量是一个应用非常广泛的蛋白定量方法。与其他比色法一样，Lowry法进行蛋白定量前也需要构建一个 标准曲线。

Lowry法是蛋白与硫酸铜在碱性环境下反应形成铜-蛋白复合物。Folin—Ciocalteu试剂可以有效的还原铜复合物，产生与蛋白量成比例的蓝色产物，可以在650nm检测，405nm处校准。试验中使用的试剂可以从多个厂家购买。

Lowry法检测范围

要准确准备标准品，推荐使用20ul的蛋白样品和100ul Lowry试剂来做反应。在Nanodrop2000/2000c上可以检测的样品浓度范围是从0.20mg/ml到4mg/ml。

按照试剂盒生产厂家的说明来准备标准品和样品。在所有操作过程中要保持每个样品处理时间和环境温度一致。

可以同时从试剂盒生产厂家购买用于构建标准曲线的蛋白标准品（BSA）。由于NanoDrop2000/2000c基座检测的浓度范围比常规检测更大，在构建标准曲线时需要构建比厂家建议更宽的标准曲线范围。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用2ul的样品来检测以保证形成液柱。

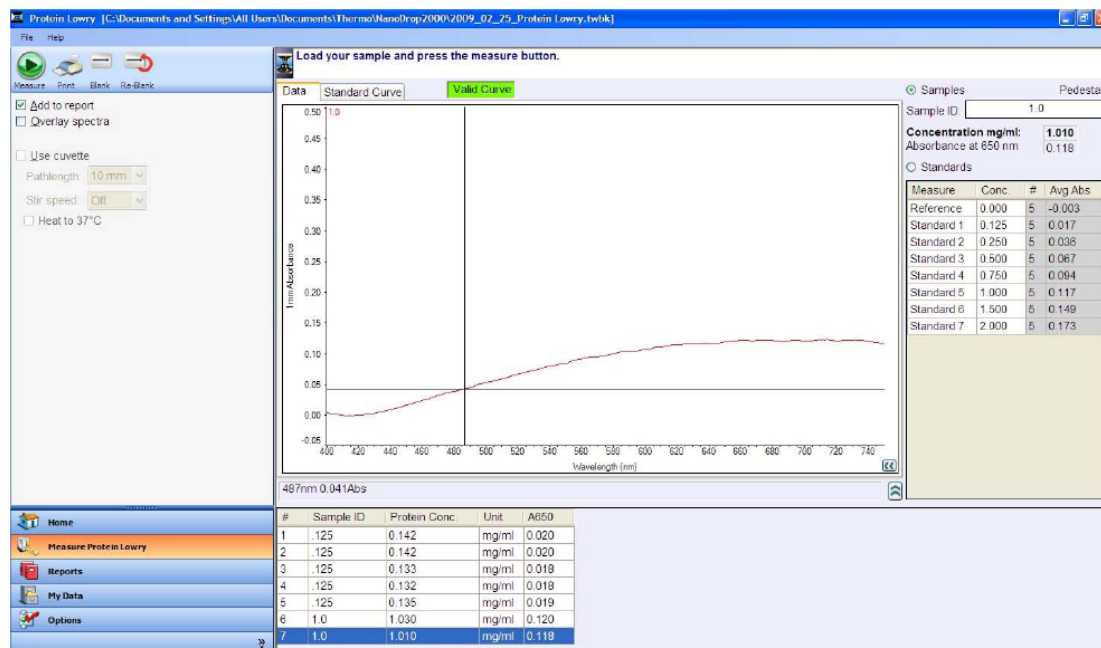
在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

基座再生

带有表面活性剂的溶液或者试剂会破坏检测基座上液柱的形成。在这种情况下，使用Nanodrop基座再生复合物来快速再生基座表面。关于PR-1的其他信息请参考网页。

独特的屏幕特征

右侧的显示是Protein Lowry特有的。左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述。



光谱显示口显示当前样品的数据,使用基座检测的结果是标准化到1mm光程下的数据,而使用比色皿检测时是选择的光程下的数据。光程的信息显示在Y轴上。

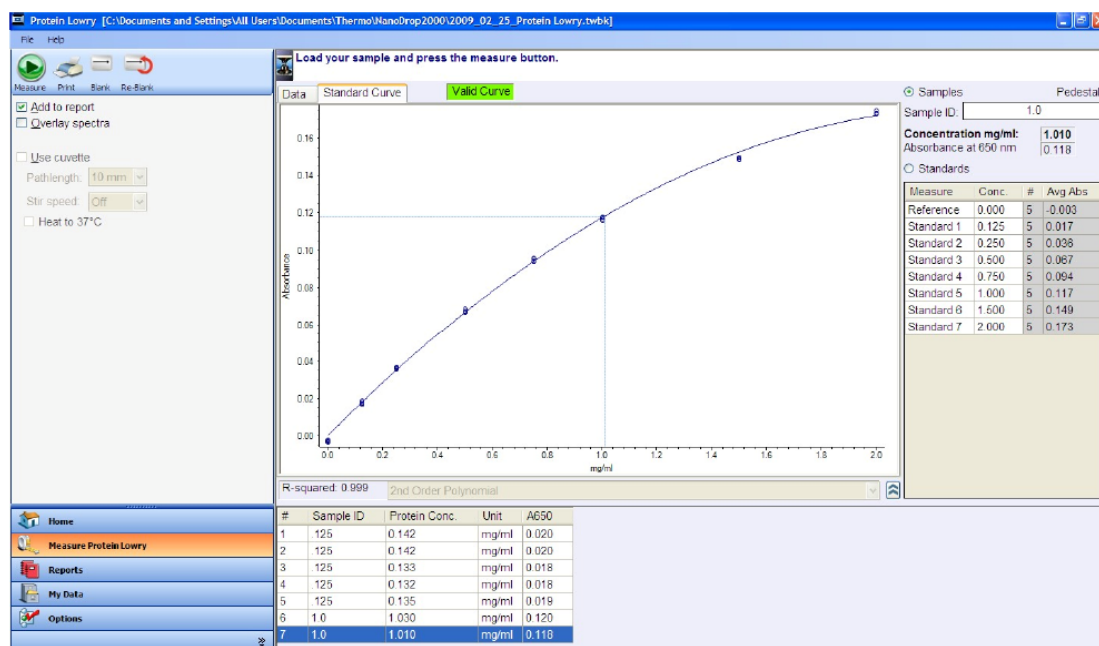
- **Data tab**—显示当前样品的数据
- **Standard Curve tab**—显示标准曲线,可以显示R2值和标准曲线。标准曲线类型包括多参数方程,线形,多级方程等,默认的选择是线形。
- **Valid/Invalid Curve**—显示是否有最小量的标准品已经被检测了。当满足要求时,标准曲线的状态将从无效的状态(红色)变成有效曲线(绿色)。

注意: 这状态仅仅代表检测样品数已经满足标准曲线需要的最少样品点。标准曲线状态不指示标准曲线的拟合情况,要包括一个比较宽的检测浓度范围,需要更多的标准品点。

- **Sample radio button**—当构建的标准曲线满足要求时,样品ID位置将能够可以选择,在检测样品前应输入样品名称。
- **Standards radio button**—选择上后可以输入标准名称和浓度。
- **Concentration mg/ml**—当前样品的浓度单位。
- **Absorbance at 650nm**—Cu-BCA复合物在650nm处吸光值。

Lowry标准曲线

Lowry法分析时需要标准曲线。



标准曲线例子：5:1 试剂/样品体积

- 一个最简单的标准曲线可以由两个点组成，包括两个标准品点或者一个参考点（仅仅有Lowry试剂，没有蛋白）和一个标准品点。
- 最多可包括7个标准品点，检测各个标准品点没有顺序。
- 标准品点只能在样品检测时添加到标准曲线中，当开始检测第一个样品，就不能向标准曲线中添加标准品点了。
- 在样品检测前可以随机删除任何一个标准品点。右击结果表格可以删除一个标准品或者删除标准品结果表格。在重复孔数据上点击右键可以删除特定标准品的重复。
- 在第一个样品开始检测后，删除的标准品不能被添加或者重新检测。
- 要建立一个新的标准曲线，必须先建立一个新的工作簿。如果把样品添加到以前的工作簿中，可以使用以前构建好的标准曲线。建议在添加数据到工作簿之前要按照试剂生产厂家的说明来构建标准曲线。

注意：如果选择以前保存的工作簿，所有样品的浓度计算都是基于工作簿中的标准曲线进行的。每个工作簿只能保存一个标准曲线。

进行Lowry检测

- 参考试剂生产厂家说明准备样品。
- 零点参考标准是与其他标准品和样品同样的样品/试剂比例进行操作，只是里面没有蛋白。
- 按照厂家操作说明准备标准品和样品。使用的空白对照要与标准品，样品的pH值和盐离子浓度一样。
- 标准品的浓度范围要覆盖全面样品的浓度范围。

操作过程：

1. 从主菜单中选择Lowry，如果出现波长确认窗口，确保检测臂放下并点击OK。
2. 在右侧表格中输入每个标准品的浓度，软件可以最多检测7个标准品。参考和标准品可以检测多个重复。

注意：标准曲线最少需要2个标准品点或者一个0参考点和一个标准品点。推荐检测多个标准品，标准品的浓度范围要覆盖样品的浓度范围。

3. 选择Add to report把检测的结果自动保存到当前报告中去。默认的设置是把所有样品添加到报告中。要把样品结果保存到工作簿中，必须在检测样品前把Add to report选上。
 - ✓ 选择文件下拉选择中的Use current settings as default来节约每个新的工作簿的设定时间。
4. 选择Overlay spectra来同时显示多个光谱图。
5. 使用合适的缓冲液做空白对照。通常使用纯水做为空白对照。
 - a) 基座模式：取1—2ul纯水加到基座上，放下检测臂并点击Blank。
 - b) 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。

6. 在标准品标签下，选择一个标准品，按上面做空白一样加样，点击Measure开始检测，要在所有标准品检测完成后再做样品检测。
7. 在标准品检测完成后，点击Sample按键，输入样品名称，加2ul样品到检测基座上，点击Measure开始检测样品。在检测标准品和样品之间不需要再做空白对照。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Protein Bradford

总论

Bradford是常用的蛋白定量的方法。它通常用于浓度比较低的蛋白的浓度检测。与其他比色法一样，Bradford法检测蛋白浓度时必须构建一个标准曲线。Bradford法是根据蛋白能够使考马斯亮蓝尝试吸收位移来检测蛋白浓度的，一般在595nm处检测吸光值。蛋白-染料复合物在595nm处检测并在750nm处做标准化。可以从多个厂家购买相应的试剂盒。

Bradford 法检测范围

商业化的 Bradford 试剂盒有两种蛋白检测范围：

- 常规检测使用试剂/蛋白样品的体积比为 50:1, 这个试剂盒检测范围从 0.10mg/ml 到 8.0mg/ml (BSA)。最佳线形范围在 0.01-1mg/ml。当使用基座检测时，推荐使用 4ul 样品和 200ul Bradford 试剂。
- 微量检测使用 1: 1 试剂/样品，可以检测蛋白浓度范围从 15ug/ml 至 125ug/ml。要准备足够的样品来做基座检测，建议使用 10ul 样品和 10ul BCA 试剂(使用 PCR 管)。

按照试剂盒厂家建议的操作来构建标准曲线和样品准备。确保在所有检测过程中使用相同的时间和温度。

注意：如果试验操作温度高于 60 度，最好使用 2 倍的试验体积，这样避免挥发导致的样品浓缩。

在Bradford试剂盒中同样包括用于构建标准曲线的标准品。由于NanoDrop 2000/2000c能够检测比常规比色皿检测更高的浓度，用户需要使用比厂家推荐的标准品更高的浓度。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用2ul的样品来检测以保证形成液柱。

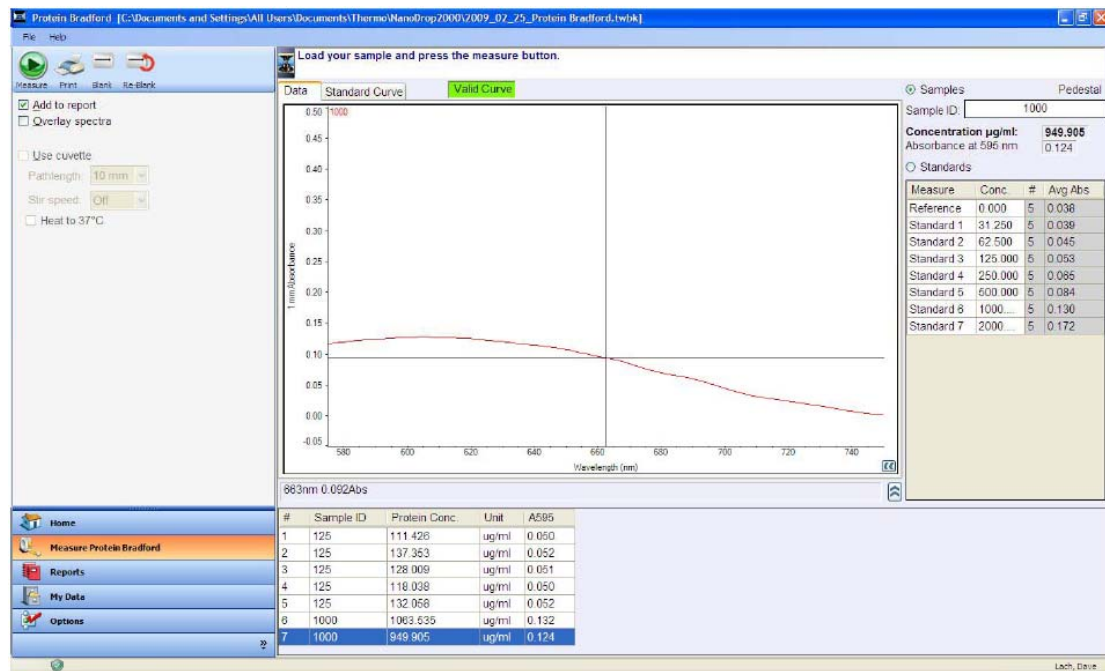
在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

基座再生

带有表面活性剂的溶液或者试剂会破坏检测基座上液柱的形成。在这种情况下，使用Nanodrop基座再生复合物来快速再生基座表面。关于PR-1的其他信息请参考网页。

独特的屏幕特征

右侧的显示是Bradford特有的。左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述。



光谱显示口显示当前样品的数据，使用基座检测的结果是标准化到1mm光程下的数据，而使用比色皿检测时是选择的光程下的数据。光程的信息显示在Y轴上。

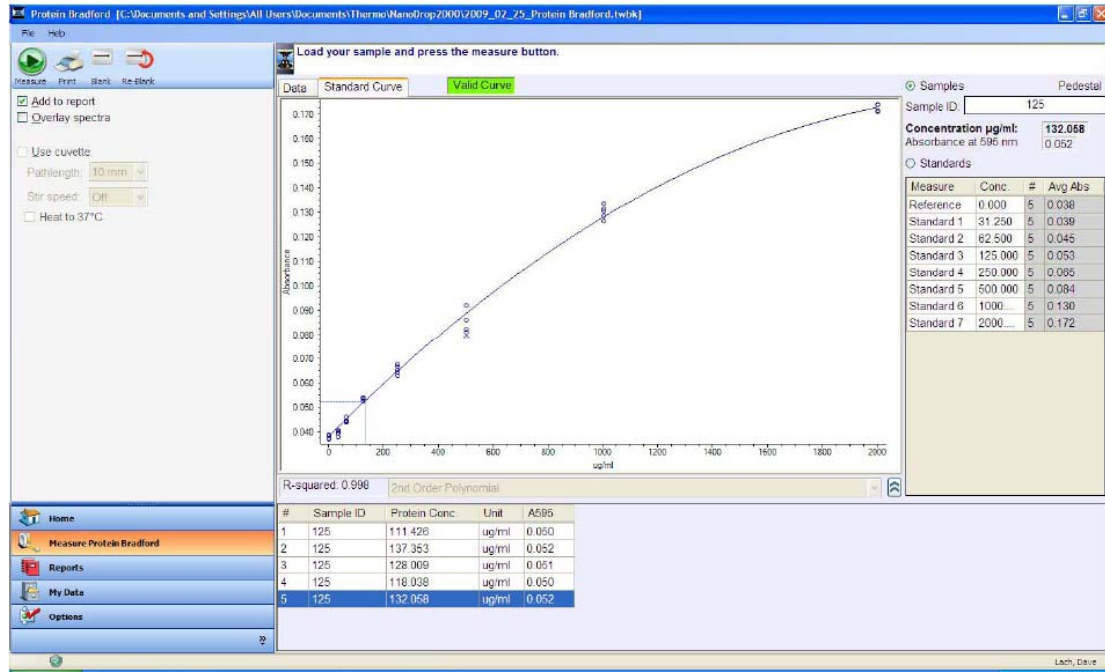
- **Data tab**—显示当前样品的数据
- **Standard Curve tab**—显示标准曲线，可以显示R2值和标准曲线。标准曲线类型包括多参数方程，线形，多级方程等，默认的选择是线形。
- **Valid/Invalid Curve**—显示是否有最小量的标准品已经被检测了。当满足要求时，标准曲线的状态将从无效的状态（红色）变成有效曲线（绿色）。

注意：这状态仅仅表示检测样品数已经满足标准曲线需要的最少样品点。标准曲线状态不指示标准曲线的拟合情况，要包括一个比较宽的检测浓度范围，需要更多的标准品点。

- **Sample radio button**—当构建的标准曲线满足要求时，样品ID位置将能够可以选择，在检测样品前应输入样品名称。
- **Standards radio button**—选择上后可以输入标准名称和浓度。
- **Concentration ug/ml**—当前样品的浓度单位。
- **Absorbance at 595nm**—考马斯亮蓝染料复合物在595nm处吸光值。

Bradford标准曲线

Bradford法分析时需要标准曲线。



标准曲线例子：50:1 试剂/样品体积

- 一个最简单的标准曲线可以有两个点组成，包括两个标准品点或者一个参考点（仅仅有Lowry试剂，没有蛋白）和一个标准品点。
- 最多可包括7个标准品点，检测各个标准品点没有顺序。
- 标准品点只能在样品检测时添加到标准曲线中，当开始检测第一个样品，就不能向标准曲线中添加标准品点了。
- 在样品检测前可以随机删除任何一个标准品点。右击结果表格可以删除一个标准品或者删除标准品结果表格。在重复孔数据上点击右键可以删除特定标准品的重复。
- 在第一个样品开始检测后，删除的标准品不能被添加或者重新检测。
- 要建立一个新的标准曲线，必须先建立一个新的工作簿。如果把样品添加到以前的工作簿中，可以使用以前构建好的标准曲线。建议在添加数据到工作簿之前要按照试剂生产厂家的说明来构建标准曲线。

注意：如果选择以前保存的工作簿，所有样品的浓度计算都是基于工作簿中的标准曲线进行的。每个工作簿只能保存一个标准曲线。

进行Bradford检测

- 参考试剂生产厂家说明准备样品。
- 零点参考标准是与其他标准品和样品同样的样品/试剂比例进行操作，只是里面没有蛋白。
- 按照厂家操作说明准备标准品和样品。使用的空白对照要与标准品，样品的pH值和盐离子浓度一样。
- 标准品的浓度范围要覆盖全面样品的浓度范围。

操作过程：

1. 从主菜单中选择Protein Bradford，如果出现波长确认窗口，确保检测臂放下并点击OK。

2. 在右侧表格中输入每个标准品的浓度，软件可以最多检测7个标准品。参考和标准品可以检测多个重复。

注意：标准曲线最少需要2个标准品点或者一个0参考点和一个标准品点。推荐检测多个标准品，标准品的浓度范围要覆盖样品的浓度范围。

3. 选择Add to report把检测的结果自动保存到当前报告中去。默认的设置是把所有样品添加到报告中。要把样品结果保存到工作簿中，必须在检测样品前把Add to report选上。

✓ 选择文件下拉选择中的Use current settings as default来节约每个新的工作簿的设置时间。

4. 选择Overlay spectra来同时显示多个光谱图。

5. 使用合适的缓冲液做空白对照。通常使用纯水做为空白对照。

a) 基座模式：取1—2ul纯水加到基座上，放下检测臂并点击Blank。

b) 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。

6. 在标准品标签下，选择一个标准品，按上面做空白一样加样，点击Measure开始检测，要在所有标准品检测完成后再做样品检测。

7. 在标准品检测完成后，点击Sample按键，输入样品名称，加2ul样品到检测基座上，点击Measure开始检测样品。在检测标准品和样品之间不需要再做空白对照。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。

✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Protein Pierce 660nm

总论

Thermo Scientific公司的Protein Pierce 660nm试剂是快速的准确定量蛋白。这方法主要用来定量那些含有还原剂或者去污剂的总蛋白浓度。

Protein Pierce 660nm试剂和方法

这个方法试剂15: 1的试剂/样品体积比例。当使用基座检测时，推荐使用4ul样品和60ul试剂。

按照试剂生产厂家推荐的方法来准备标准品和样品，确保所有样品和标准品在相同的时间和温度下进行。

试剂盒生产厂家同时可以提供蛋白标准品（BSA）。

Pierce 660nm分析检测范围

当使用4ul样品和60ul试剂时，Pierce 660nm可以检测的浓度范围从50ul/ml到125ug/ml。参考“Measure Ranges”获得更多信息。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用2ul的样品来检测以保证形成液柱。

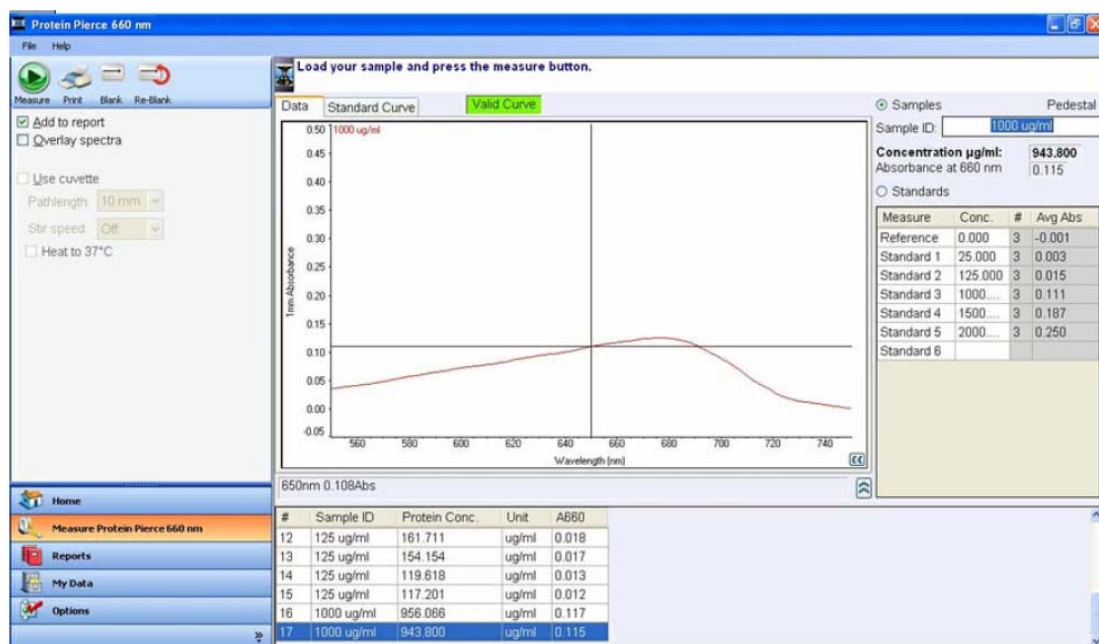
在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

基座再生

带有表面活性剂的溶液或者试剂会破坏检测基座上液柱的形成。在这种情况下，使用Nanodrop基座再生复合物来快速再生基座表面。关于PR-1的其他信息请参考网页。

独特的屏幕特征

右侧的显示是Protein Pierce 660nm特有的。左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述。



光谱显示口显示当前样品的数据,使用基座检测的结果是标准化到1mm光程下的数据,而使用比色皿检测时是选择的光程下的数据。光程的信息显示在Y轴上。

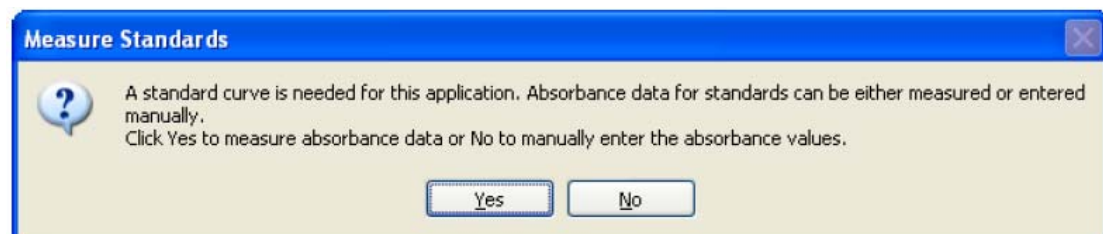
- **Data tab**—显示当前样品的数据。
- **Standard Curve tab**—显示标准曲线,可以显示R2值和标准曲线。标准曲线类型包括多参数方程,线形,多级方程等,默认的选择是线形。
- **Valid/Invalid Curve**—显示是否有最小量的标准品已经被检测了。当满足要求时,标准曲线的状态将从无效的状态(红色)变成有效曲线(绿色)。

注意: 这状态仅仅表示检测样品数已经满足标准曲线需要的最少样品点。标准曲线状态不指示标准曲线的拟合情况,要包括一个比较宽的检测浓度范围,需要更多的标准品点。

- **Sample radio button**—当构建的标准曲线满足要求时,样品ID位置将能够可以选择,在检测样品前应输入样品名称。
- **Standards radio button**—选择上后可以输入标准名称和浓度。
- **Concentration ug/ml**—当前样品的浓度单位。
- **Absorbance at 660nm**—考马斯亮蓝染料复合物在660nm处吸光值。

Protein Pierce 660nm试验工作簿

当从主菜单中选择蛋白Pierce 660nm时,会出现下列信息:

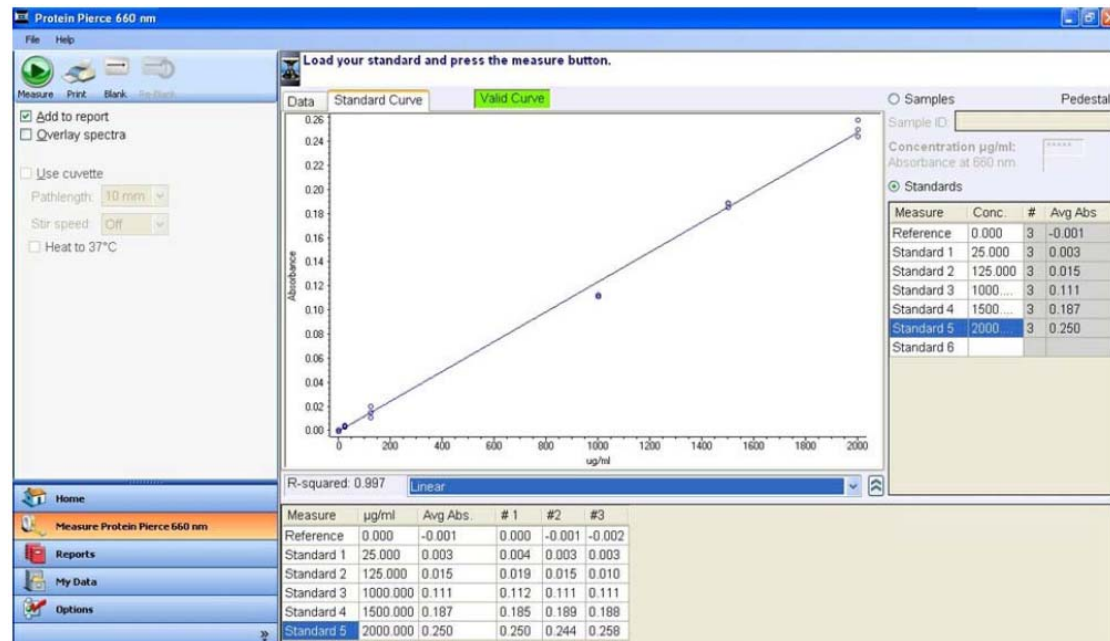


虽然标准曲线吸光值可以不通过检测而通过手动来输入,但最好还是按照试剂厂家的建议来对每次检测构建标准曲线。

要建立一个新的标准曲线。必须建立一个新的工作簿。如果要使用前面保存的工作簿,那所有新检测的样品将使用工作簿中已经保存的标准曲线。

注意：每个工作簿只能保存一个标准曲线。

标准曲线



标准曲线例子：15:1 试剂/样品体积

每次进行Protein Pierce 660nm检测时需要通过软件构建标准曲线。虽然标准曲线能够保存并通过软件再使用。建议用户按照试剂生产厂家的建议来构建标准曲线。

在标准曲线检测前必须检测一个标准曲线。建议使用染料而不加蛋白来做空白对照和零点参考样品。

注意：这和NanoDrop 2000/2000c做其他蛋白定量不一样，其他蛋白定量方法使用水做空白对照。

- 一个最简单的标准曲线可以有两个点组成，包括两个标准品点或者一个参考点（仅仅有Pierce试剂，没有蛋白）和一个标准品点。
- 最多可包括7个标准品点，检测各个标准品点没有顺序。
- 标准品点只能在样品检测时添加到标准曲线中，当开始检测第一个样品，就不能向标准曲线中添加标准品点了。
- 在样品检测前可以随机删除任何一个标准品点。右击结果表格可以删除一个标准品或者删除标准品结果表格。在重复孔数据上点击右键可以删除特定标准品的重复。
- 在第一个样品开始检测后，删除的标准品不能被添加或者重新检测。
- 要建立一个新的标准曲线，必须先建立一个新的工作簿。如果把样品添加到以前的工作簿中，可以使用以前构建好的标准曲线。建议在添加数据到工作簿之前要按照试剂生产厂家的说明来构建标准曲线。

注意：如果选择以前保存的工作簿，所有样品的浓度计算都是基于工作簿中的标准曲线进行的。每个工作簿只能保存一个标准曲线。

进行蛋白Pierce 660nm检测

- 参考试剂生产厂家说明准备样品。
- 零点参考标准是与其他标准品和样品同样的样品/试剂比例进行操作，只是里面没有蛋白。
- 按照厂家操作说明准备标准品和样品。使用的空白对照要与标准品，样品的pH值和盐离子浓度一样。
- 标准品的浓度范围要覆盖全面样品的浓度范围。

操作过程：

1. 从主菜单中选择Protein Pierce 660nm，如果出现波长确认窗口，确保检测臂放下并点击OK。
2. 在右侧表格中输入每个标准品的浓度，软件可以最多检测7个标准品。参考和标准品可以检测多个重复。

注意：标准曲线最少需要2个标准品点或者一个0参考点和一个标准品点。推荐检测多个标准品，标准品的浓度范围要覆盖样品的浓度范围。

3. 选择Add to report把检测的结果自动保存到当前报告中去。默认的设置是把所有样品添加到报告中。要把样品结果保存到工作簿中，必须在检测样品前把Add to report选上。
 - ✓ 选择文件下拉选择中的Use current settings as default来节约每个新的工作簿的设置时间。
4. 选择Overlay spectra来同时显示多个光谱图。
5. 使用合适的缓冲液做空白对照。通常使用纯水做为空白对照。
 - a) 基座模式：取1—2ul纯水加到基座上，放下检测臂并点击Blank。
 - b) 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。

6. 在标准品标签下，选择一个标准品，按上面做空白一样加样，点击Measure开始检测，要在所有标准品检测完成后再做样品检测。
7. 在标准品检测完成后，点击Sample按键，输入样品名称，加2ul样品到检测基座上，点击Measure开始检测样品。在检测标准品和样品之间不需要再做空白对照。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。

Cell Cultures

总论

使用分光光度计来检测细胞悬液的光散射在生物学实验室是非常常用的。而这个功能相对于其他分光光度计的应用，不同厂家在仪器设计上体现了更大的不同。对于NanoDrop 2000/2000c而言，基座检测和比色皿检测之间最大的不同是光程不一样（1mm vs 1cm），使用基座检测的数据会是比色皿检测的数据的1/10。细胞培养检测功能显示从250nm到700nm范围内的光谱结果。

检测需要的样品量

虽然检测的样品量不是很关键，但在使用基座检测时要确保形成液柱，这样在上下基座之间形成样品桥。

决定液体表面张力的主要因素是溶液中水分子之间的氢键。通常情况下，水中的物质，如：蛋白，盐离子，去污剂等都会通过破坏水分子之间的氢键来减小表面张力。虽然对于大部分样品来说，1ul的量就足够用于检测了，我们建议在做蛋白检测时由于表面张力下降做好使用2ul的样品来检测以保证形成液柱。

在使用比色皿检测时，要确保液面的高度高于光线通过比色皿的高度，参考比色皿生产厂家的说明来确定需要的液体量。

样品均一性

在检测前要确保样品的均一性，使用基座检测前要把样品混合均一在加到基座上检测，使用比色皿检测时可以使用震荡功能。

检测范围

由于采用了比较短的检测光程，NanoDrop 2000/2000c可以检测比较高浓度的细胞悬液。由于可以显示全光谱。比较稀的样品可以在较低的波长下检测，比如说可以在400nm处检测。用户还可以使用比色皿来检测比较稀的样品。

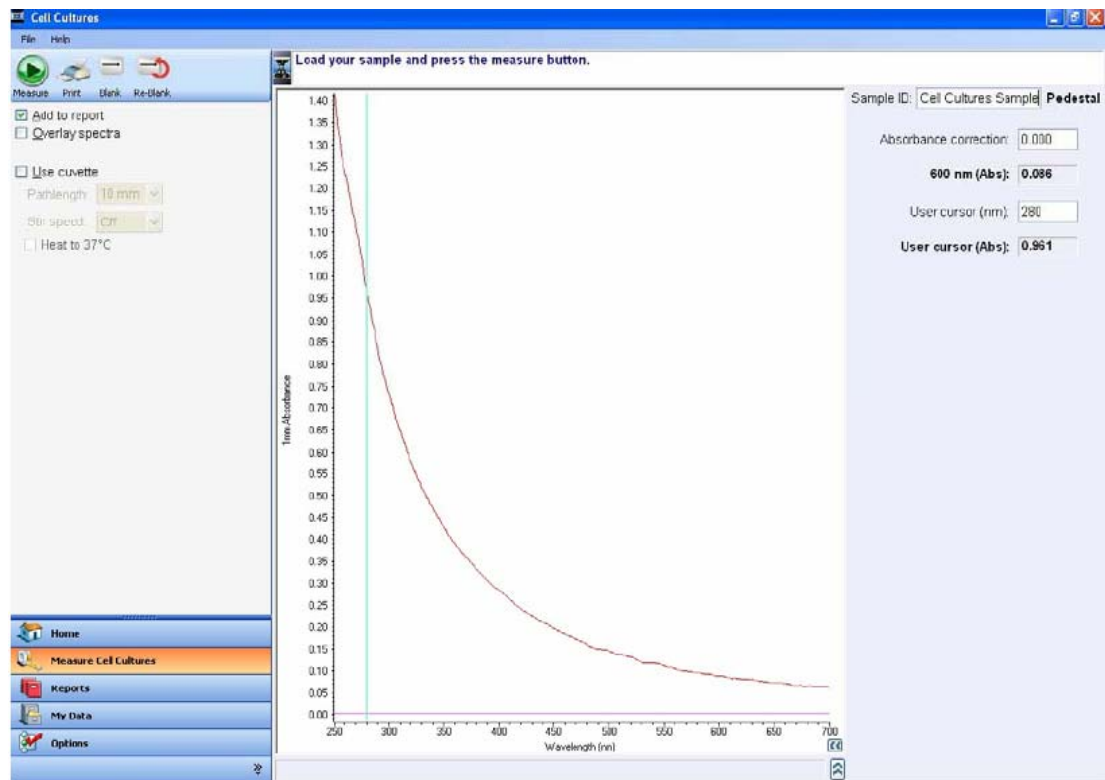
检测基座的消毒

如果需要消毒，使用消毒液，如可以使用0.5%的次氯酸钠来清洁基座，以保证基座上没有任何生物活性物质残留。

注意：不要使用喷壶来对着仪器喷消毒液，可以使用消毒液来湿润无尘纸来擦拭仪器上下基座和仪器外部，在用无尘纸沾纯水来清洁仪器，最后用干纸擦干净仪器。

独特的屏幕特征

右侧的显示是Cell Cultures特有的。左侧的任务栏在“Software Overview”中有详细描述。



如果用基座检测，光谱显示了校准到1mm光程下的样品的数据，如果使用比色皿检测，显示选择光程下的数据。光程信息显示在Y轴上。

- Absorbance correction—用户可以自定义基线值，基线可以通过选择指针然后上下移动来调整，也可以通过输入数据来调整。
- 600nm (Abs)—使用用户定义的基线，600nm处的吸光值。
- User cursor (nm)—用户定义的光标位置。用户可以移动光标的位置，也可以输入特定波长来改变光标位置。
- User cursor (Abs)—在用户定义的基线下，用户定义波长下的吸光值。

进行细胞浓度检测：

1. 从主菜单中选择Cell Cultures，如果出现波长确认窗口，确保检测臂放下并点击OK。
2. 选择Add to report把检测的结果自动保存到当前报告中去。默认的设置是把所有样品添加到报告中。要把样品结果保存到工作簿中，必须在检测样品前把Add to report选上。
3. 选择Overlay spectra来同时显示多个光谱图。
4. 使用合适的缓冲液做空白对照。通常使用纯水做为空白对照。
 - a) 基座模式：取2ul空白对照加到基座上，放下检测臂并点击Blank。
 - b) 比色皿模式（仅2000c）：按照比色皿生产厂家的建议加入适量的空白溶液，按照仪器上标记的光路放心，插入比色皿。

注意：用任何模式检测时检测臂都必须放下，在用基座检测时，建议把比色皿从仪器上取出，以保证检测臂放到合适的位置。
5. 在标准品检测完成后，点击Sample按键，输入样品名称，加2ul样品到检测基座上，点击Measure开始检测样品。在检测标准品和样品之间不需要再做空白对照。

注意：每次检测的样品必须是新鲜加入的！

检测完成以后：

- ✓ 用干净的无尘纸擦拭干净上下基座，这样仪器就可以进行下一个样品的检测了。
- ✓ 当使用比色皿模式时，取出比色皿，彻底清洗干净然后再进行下一个样品检测。