

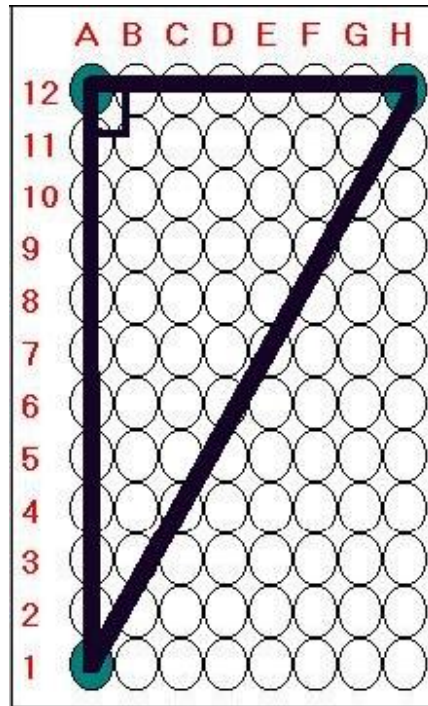
## 瓦里安Cary Eclipse荧光分光光度计 多孔板读数器测试数据的重复性

### 前言

应用荧光多孔板读数器测试数据，为了得到高精度的结果，孔到孔的数据重复性非常重要。传统仪器的重复性误差一般在5%左右，瓦里安Cary Eclipse荧光光度计的96孔板每个孔的重复性误差可以小于2%。下列因素有可能影响测试的重复性：

1. 孔与孔之间的体积误差
2. 孔与孔之间的形状误差
3. 多孔板的校准情况

采用正确的实验流程可以减小上述1和2造成的误差，第3项的误差大小直接与多孔板的校准情况有关。Cary Eclipse通过软件非常方便地控制精密设计的多孔板读数器，可以准确地校准其上的多孔板。校准是建立在这个假设的基础上：标准的多孔板任三个角的点成直角（如图一1所示）。如果制造的多孔板不符合这种标准，就将导致孔与孔之间的重复性偏差。



图一1 96孔板示意图（A1，A12和H12成直角）

## 方法和结果

将300  $\mu$  L 1  $\mu$  M的荧光素加入到Greiner 96孔板，用Cary Eclipse软件的校准功能自动校准，按照下表—1所示设定仪器参数。

表—1测试参数设置

仪器参数	设置
激发波长	490nm
发射波长	520nm
激发狭缝	10nm
发射狭缝	10nm
积分时间	0.1S
激发滤光片	自动
发射滤光片	自动
PMT检测器电压	400V

按照上述设置，测试得到的荧光强度如表—2所示

表—2 96孔板荧光强度测试结果

样品名称	强度	样品名称	强度	样品名称	强度	样品名称	强度
Sample A1	834.312	Sample C1	841.139	Sample E1	808.301	Sample G1	809.856
Sample A2	833.922	Sample C2	836.107	Sample E2	810.293	Sample G2	818.193
Sample A3	840.697	Sample C3	835.781	Sample E3	825.734	Sample G3	817.207
Sample A4	832.314	Sample C4	834.735	Sample E4	815.352	Sample G4	816.786
Sample A5	822.183	Sample C5	819.614	Sample E5	800.961	Sample G5	783.971
Sample A6	821.491	Sample C6	818.373	Sample E6	807.017	Sample G6	805.200
Sample A7	832.983	Sample C7	828.628	Sample E7	822.020	Sample G7	810.040
Sample A8	824.343	Sample C8	835.146	Sample E8	807.907	Sample G8	816.446
Sample A9	830.013	Sample C9	830.064	Sample E9	818.018	Sample G9	808.099
Sample A10	836.170	Sample C10	827.059	Sample E10	833.147	Sample G10	809.085
Sample A11	840.729	Sample C11	847.120	Sample E11	813.528	Sample G11	830.481
Sample A12	842.289	Sample C12	843.965	Sample E12	825.361	Sample G12	824.091
Sample B12	833.176	Sample D12	833.152	Sample F12	836.795	Sample H12	825.334
Sample B11	829.479	Sample D11	832.562	Sample F11	830.509	Sample H11	832.613
Sample B10	833.872	Sample D10	817.077	Sample F10	819.648	Sample H10	845.312
Sample B9	830.945	Sample D9	810.861	Sample F9	812.878	Sample H9	794.645
Sample B8	819.317	Sample D8	810.779	Sample F8	807.364	Sample H8	808.268
Sample B7	823.151	Sample D7	807.006	Sample F7	804.247	Sample H7	811.349
Sample B6	815.508	Sample D6	816.661	Sample F6	808.477	Sample H6	809.721

Sample B5	825.550	Sample D5	790.917	Sample F5	788.024	Sample H5	789.566
Sample B4	823.444	Sample D4	820.737	Sample F4	810.156	Sample H4	815.523
Sample B3	838.167	Sample D3	813.145	Sample F3	807.742	Sample H3	810.123
Sample B2	834.430	Sample D2	812.319	Sample F2	808.832	Sample H2	815.381
Sample B1	847.012	Sample D1	801.833	Sample F1	813.325	Sample H1	821.572
平均	820.571	标准偏差	13.724	%RSD	1.67%		

## 讨论

重复 6 次实验得到了类似的结果，6 次实验平均的 %RSD 是 1.75%，确保多孔板和每个孔中溶液的正确校准可以得到最佳的实验结果。（备注：每个孔的溶液量应该一样，孔里面不要有气泡）。

多孔板的校准可以通过软件非常简单地自动完成。孔中溶液的校准可能涉及到调节多孔板读数器上的水平方向和垂直方向的反射镜。如果每个多孔板中的溶液量都一样多，后者的调节进行一次就可以了，一般就可以获得小于 2% 的测试误差。如果不进行后者的调节，误差有可能会是 4%。仪器软件附带的帮助光盘有关于如何校准的视频。

## 总结

瓦里安 Cary Eclipse 荧光光度计多孔板附件由于其全反射的光学设计和精确的软件自动校准功能，是目前市面上精度最好的多孔板之一，在 96 孔板上孔与孔之间的重复性误差可以做到低于 2%。

**美国瓦里安中国技术中心**

北京市宣武门外大街 10 号  
庄胜广场中央办公楼南翼 1648 室  
邮编： 100052  
电话： 86-10-63108550  
传真： 86-10-63100140

上海市黄陂北路 227 号  
中区广场 1801 室  
邮编： 200003  
电话： 021-33184918  
传真： 021-63756848

沈阳市和平区南京北街 206 号  
沈阳城市广场第二座 1202 室  
邮编： 110001  
电话： 024-23341248 / 49 / 50  
传真： 024-23341095

广州市体育东路 122 号  
羊城国际商贸中心西塔 2508-11 室  
邮编： 510620  
电话： 020-38871477  
传真： 020-38871470

成都市锦里东路 2 号  
宏达大厦 8 楼 C-2 座  
邮编： 610041  
电话： 028-86123618/28/38  
传真： 028-86123658

**服务热线： 800-820-7755 800-820-5999**  
[www.varianinc.com.cn](http://www.varianinc.com.cn)

***Inspiring Excellence™***