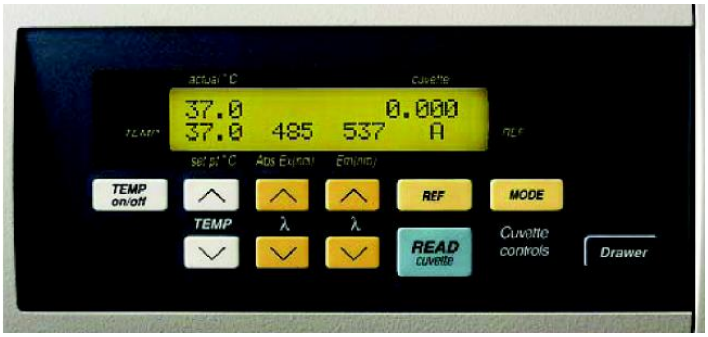
SpectraMax M5 多功能微量盤分光光譜儀

SpectraMax M5 Microplate Reader

中文操作手冊

1. 儀器簡介與操作

1.1 操控面板



Temp On/Off 與 TEMP

儀器可進行溫控，溫度範圍為室溫＋2℃到 60℃。按 TEMP on/off 後，LCD 上顯示儀器溫度與設定溫度，可按 ∧ 與 ∨ 設定實驗所需之溫度。(本儀器僅能進行升溫，溫度設定無法低於室溫。升溫設定後依增加之幅度需等待 3～20 分鐘。)

λ

可由主控面板調節波長，Abs EX(nm)表示吸收光或發射光，EM(nm)表是發射波長，短按可調整 1 nm，長按可調整 10 nm。

REF

利用 cuvette 量測 buffer、水或空氣，測得的值為，可做為 Absorbance 或 % Transmittance 的參考數值。若無利用 cuvette 先測參考 I_0 數值，儀器則以內建之 I_0 值做為參考數值。

Read Cuvette

利用 cuvette 量測樣品，將樣品放入後，按此鍵測得 sample 數值。

MODE

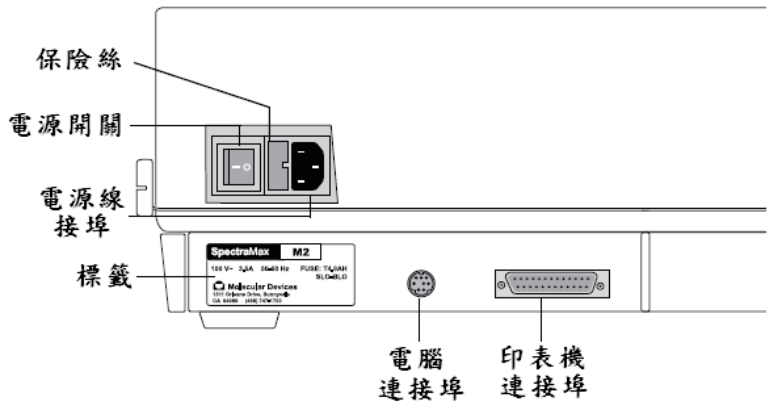
按此鍵可選擇 LCD 螢幕顯示數值為 transmittance (%T)、absorbance (A)、relative fluorescence units (RFU)或 relative luminescence units (RLU)。

Drawer

此按鍵可直接退出微量盤插槽。本儀器適用 6 孔、12 孔、24 孔、48 孔、96 孔與 384 孔微量盤。本儀器可進行頂部測讀與底部測讀，若要使用 96 孔與 384 孔微量盤進行頂部測讀，請在微量盤插槽放入紫色微量盤架。

注意！只有 96 孔與 384 孔微量盤進行**頂部測讀**時需要使用紫色微量盤架，若進行底部測讀則不需使用紫色微量盤架。若使用 6 ~ 48 孔微量盤，切勿放入紫色微量盤架。

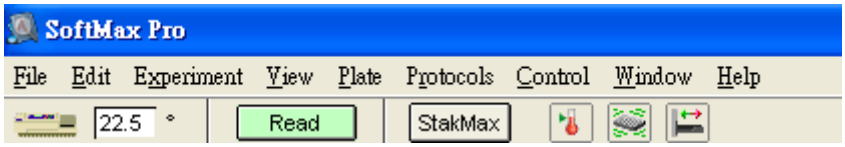
1.2 主機後面板



2. 軟體簡介與實驗操作

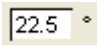
於桌面點選

2.1 軟體介面



File：進行儲存、另存、輸入/輸出、列印等指令。
Edit：進行剪下、複製、貼上、刪除、重新計算等指令。
Experiment：進行新實驗、新記錄、新微量盤、新圖的指令。
View：可切換至不同的實驗設定。
Protocols：內建 120 種針對生命科學研究、藥物研發和藥物篩選等的分析方法，且完整提供各實驗的說明與實驗設定。
Control：控制微量盤置放架的開關(Open Drawer)、微量盤的震盪(Shake Plate)與儀器溫度控制(Incubator)等。
Help：內含 SoftMax Pro User Guide 和 Formula Reference Guide。

儀器圖示：依照選擇的機型有不同的圖示。儀器與電腦連結後，軟體會自行偵測機型，亦可手動選取。



溫度顯示：顯示儀器溫度。

測讀鈕：實驗設定後即可按此鈕進行測讀。測讀時圖示會轉為

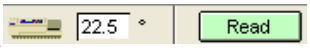
，使用者可隨時停止測讀。

溫度控制：可設定儀器溫度，溫度範圍為室溫以上＋2℃，最高至 60℃。

微量盤手動震盪：點選可使微量盤進行震盪。

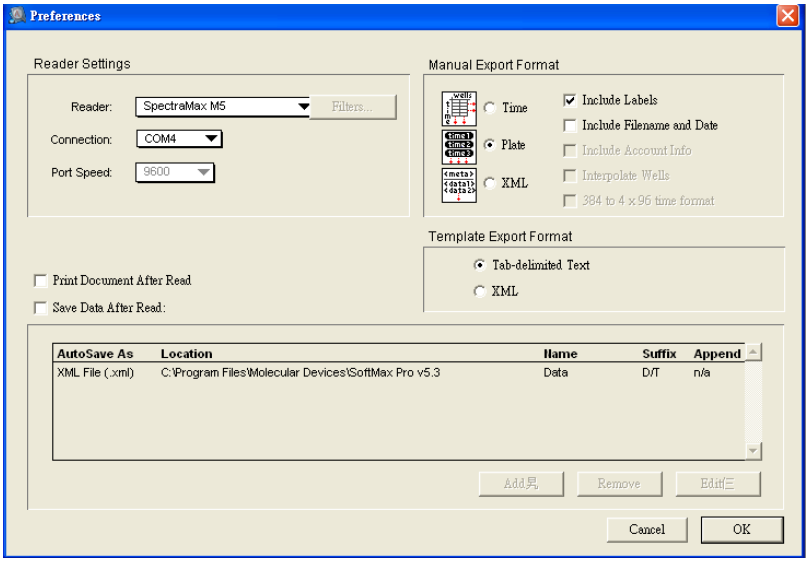
微量盤插槽鈕：點選可使微量盤插槽推出或收入。

如果儀器和電腦連接不正常時，圖示欄顯示

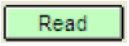
，這可能是因為儀器未開機，儀器型號設定不對或連接埠設定不對所引起，修改後重新連接正常後則顯 

。(建議先開啟儀器再打開軟體，可直接偵測到所使用的儀器)

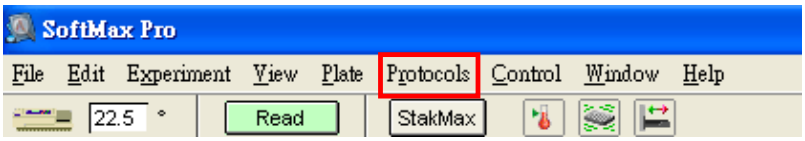
點選 後可進入 Preferences 進行設定，畫面如下：



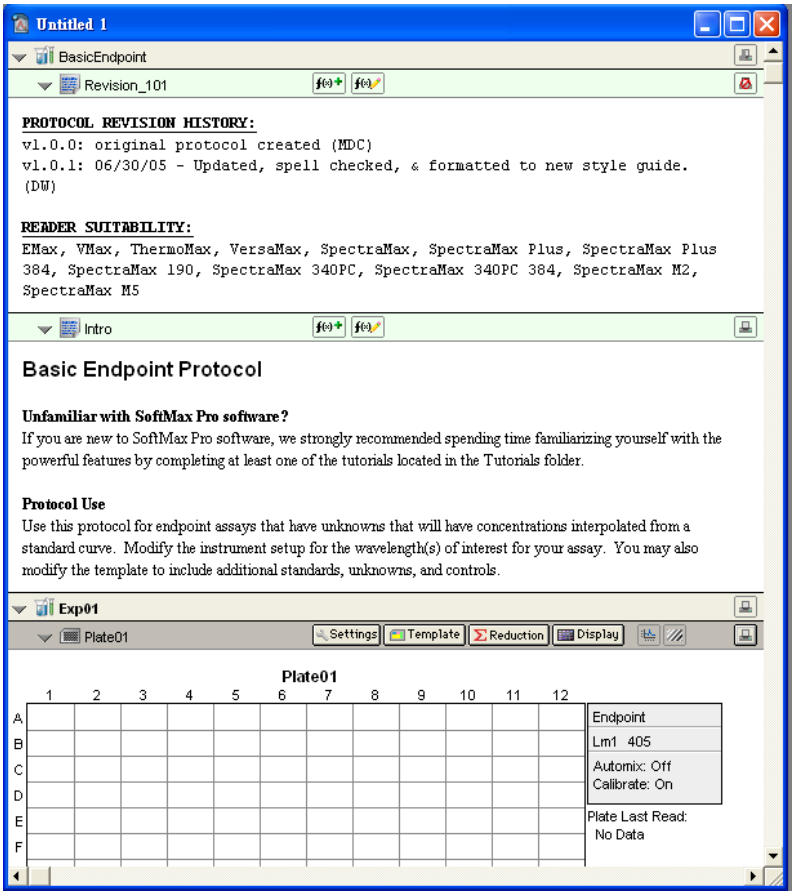
Reader：選擇儀器型號
Connection：選取連接埠
Save Data Read：勾選後可增加、移除或修改實驗結果儲存的位置

放置微量盤並完成實驗參數設定後點選  可進行實驗樣品之偵測。
儀器可設定溫度，只能室溫以上加溫，溫度範圍為室溫以上＋2℃，最高至 60℃。按 會出現開啟溫度控制或關閉溫度控制的對話方塊。當開啟溫度控制後需使儀器的微量盤插槽置於關閉狀態保持所設溫度，如果處於打開狀態，儀器會發出報警聲，然後自動關閉微量盤插槽。可長按 進行手動震盪，放開 則震動停止。按 可以控制儀器的微量盤插槽打開和關閉。

2.2 實驗設定



SoftMax Pro 內建超過 120 種 protocol，可由 Protocls 點選適用的 protocol 進行修改。(建議點選內建的 protocol，因已設定實驗參數與計算程式，可減少實驗設定及分析的時間。)



BasicEndpoint：顯示實驗名稱，可以點入此區進行更改實驗名稱。

與 ：展開與隱藏區塊內容。

Revision_101：READER SUITABILITY 顯示該實驗適用的儀器。

Intro：提供實驗試劑組之廠商與實驗操作步驟。內文也可直接進行修改。

Plate01：此區塊可設定與顯示實驗參數與樣品。點入此圖示可更改名稱。

Settings：實驗參數設定。

Template：實驗樣品設定。

Reduction：實驗數據與圖表設定。

Display：實驗數據表現。

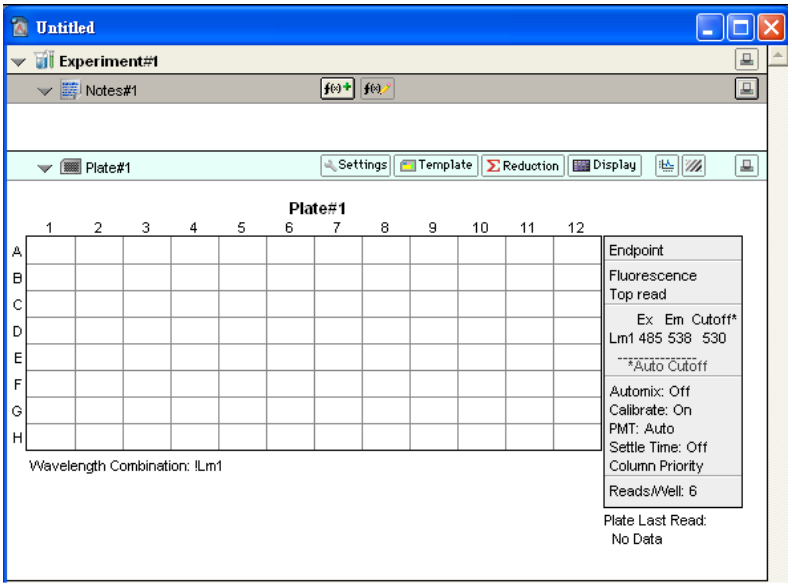
：圖表放大，當偵測 Kinetic assay 時，可點選此圖示，將數據表格中的各小圖放大顯示。

：將選取的實驗數據隱藏。

：列印鈕，若該區資料不需列印，則點選此圖，將圖示轉變為 。

：運算公式增加與修改。可參照 Help 內的 Formula Reference Guide 進行程式編寫。

也可從 Experiment 開啟或增加新的實驗設定，開啟後，連點 Experiment#1 則可更改實驗名稱。



可從 Experiment 開啟或增加新的實驗設定，開啟後，連點 Experiment#1 則可更改實驗名稱。

可在 Notes 下方空白處寫入實驗記錄，如實驗名稱、所用樣品、實驗時間、實驗總結等。

在 Plate 編輯檢測設定和對所檢測樣品的分組。按 Settings 進行實驗設定。

2.2.1 反應終點檢測(Endpoint)：在單一時間點的樣品檢測值。

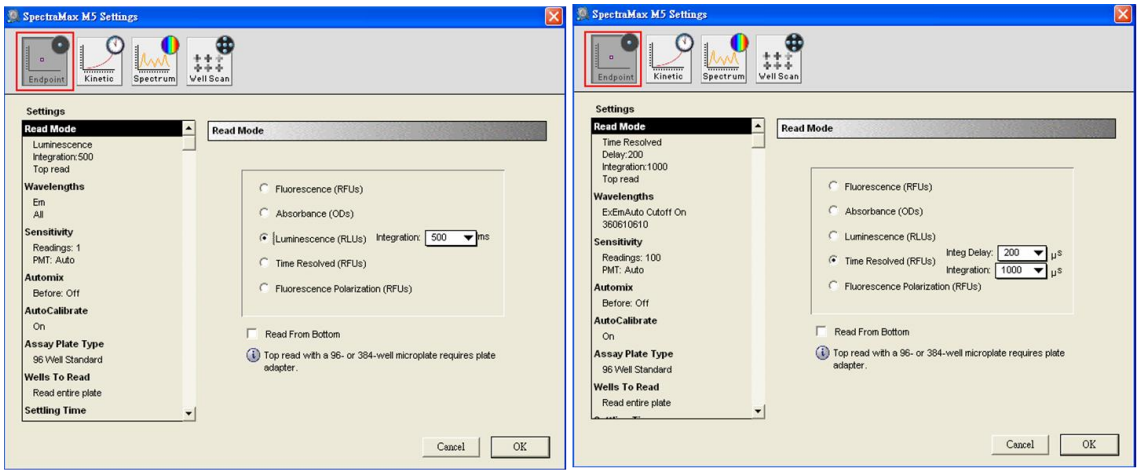
(1) 選擇量測模式：

可選擇 Fluorescence (螢光強度)、Absorbance (吸收光)、Luminescence (化學發光)、Time Resolved (時差式螢光)與 Florescence Polarization (偏極化螢光) 五種測讀模式，依實驗選擇其一。

若選擇 Luminescence，則可選擇 data 收取的時間間隔可設定不同的時間。

若選擇 Time Resolved，則可選擇 data 收取的起始延緩時間與時間間隔。

儀器測讀方式為 Top read (頂讀)，適用於均相溶液和懸浮細胞的檢測；Gemini EM 擁有螢光底讀功能，若在 Read From Bottom 選項前打勾，則儀器則改為 Bottom Read (底讀)測讀方式，適用於貼壁細胞的檢測。



(2) Wavelengths：

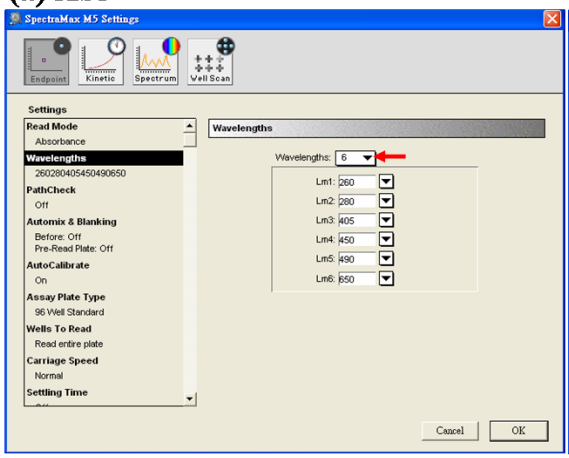
Absorbance 可以偵測 6 組 Wavelengths；Fluorescence、Luminescence、Time Resolved 與 Florescence Polarization 四種測讀模式均可選擇 4 組 Wavelengths。(Wavelenghts 也可依照實驗需求自行輸入數值)

(a) 對於 Absorbance 依實驗需求設定所需的波長。

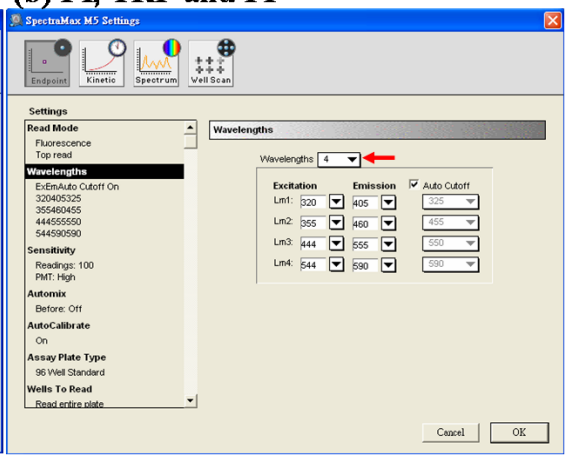
(b) 對於 Fluorescence、Time Resolved 與 Florescence Polarization，依實驗所需選擇激發波長和發射波長。Cutoff 一般選為自動(Auto)。

(c) 對於 Luminescence 模式，一般使用 All。當同時檢測不止一色化學發光的時候可填入相應的檢測波長。

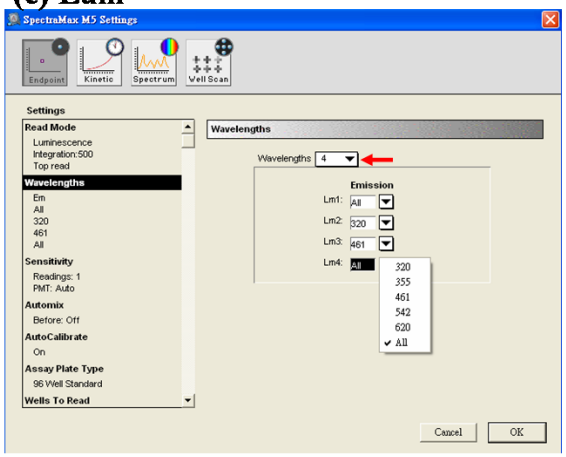
(a) Abs



(b) FI, TRF and FP



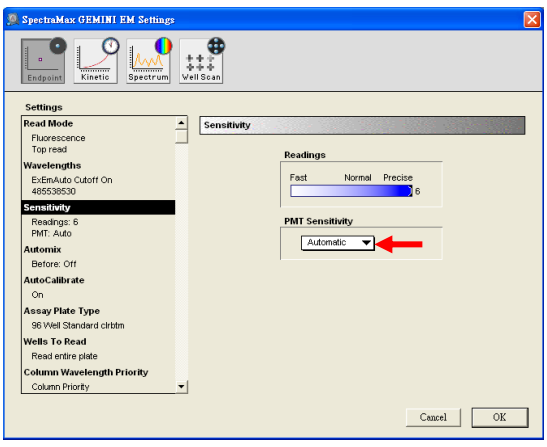
(c) Lum



(3) Sensitivity：

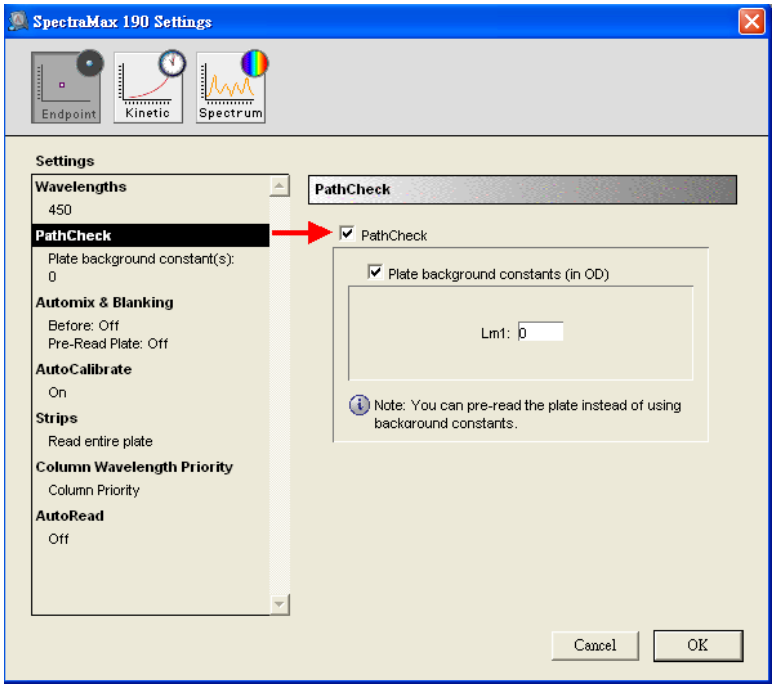
Readings 為每孔測讀次數，即為燈閃次數，一般設在 Normal (約為 6 次)，如需更精確，則可依需求向 Precise 拖曳。

PMT settings 為 AutoPMT，即利用軟體根據實際螢光強度自動調節電壓改變訊號增加倍數，然後通過回算過程按比例得到互相比較的相對螢光強度(RFUs)。一般使用 Automatic，可依實驗需求選擇 High、Medium、Low。



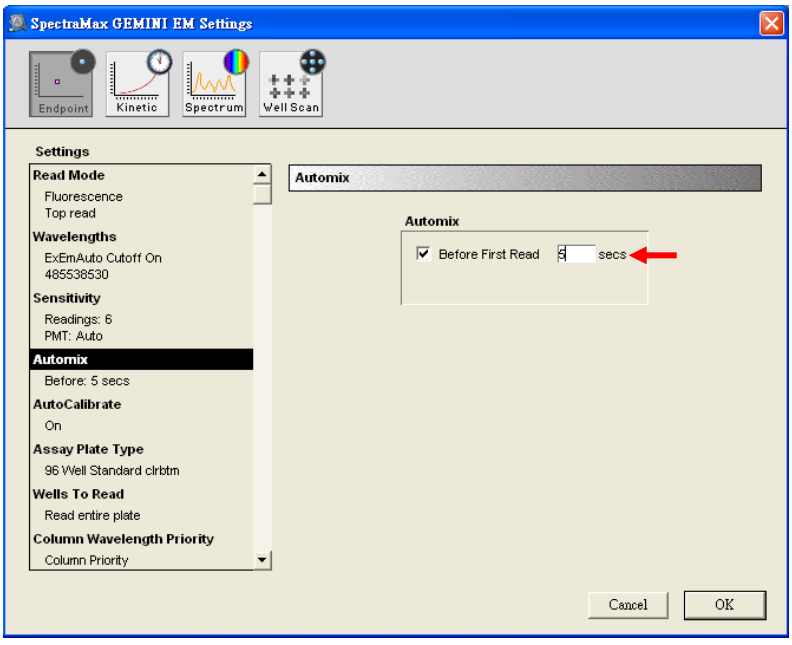
*PathCheck：

專利的光徑校正技術 PathCheck®，利用 900 與 998 nm 波長測量路徑長度，可自動將微量盤測讀的 OD 值轉換成 1 cm 比色管光徑的 OD 值，相當於比色管檢測，避免移液誤差。另外，尚可輸入微量盤的原始吸光值，使待測數值自動扣除背景值，以提高量測準確性。



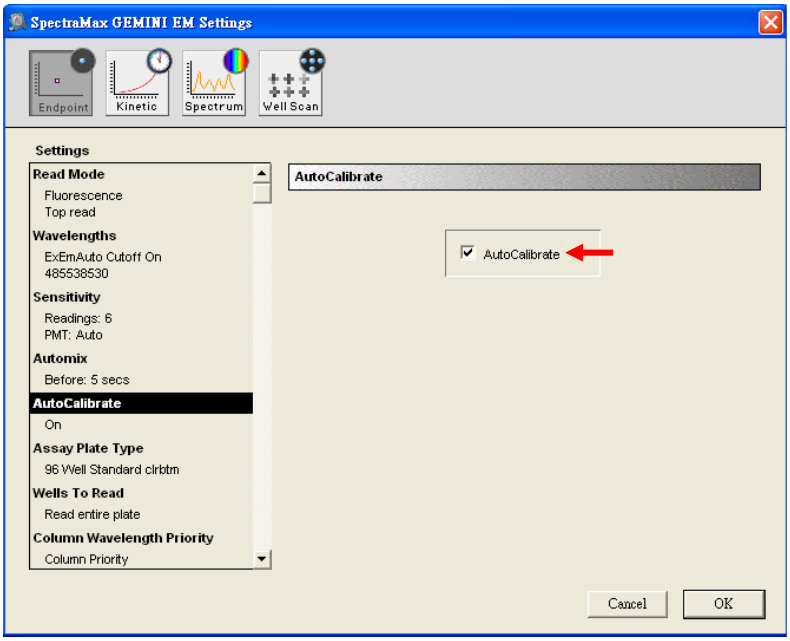
(4) Automix：

微量盤測讀前進行震盪，時間可選擇 0 - 999 秒。



(5) Autocalibrate：

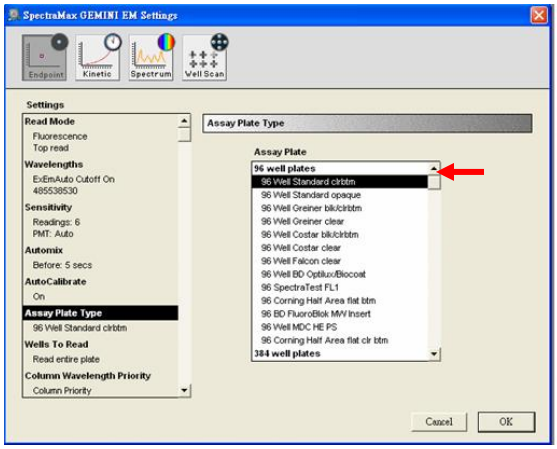
即每次測讀前自動校正光路。強烈推薦一直選用 On！



(6) Assay Plate Type：

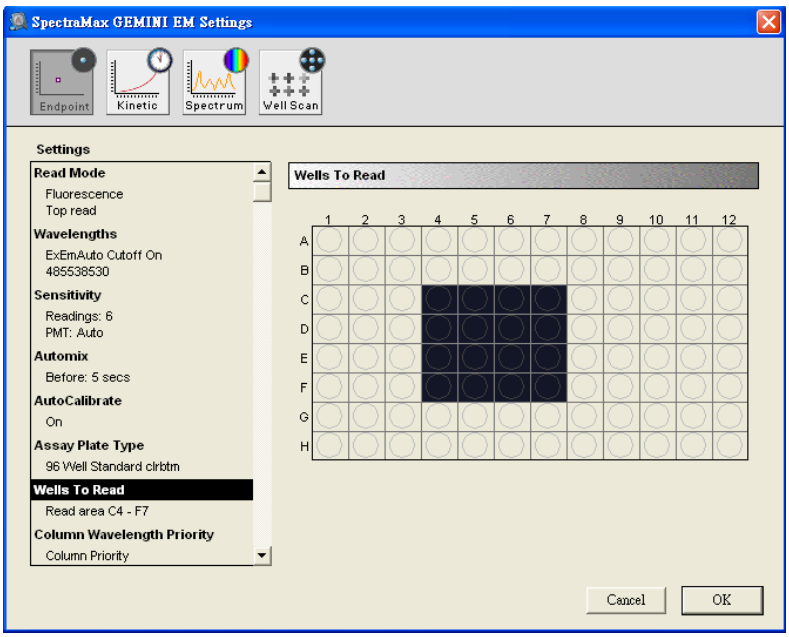
依實驗需求選擇 6 - 384 孔微量盤。(軟體內建不同廠牌和格式的微量盤供使用者選擇)

注意！只有 96 孔與 384 孔微量盤進行**頂部測讀**時需要使用紫色微量盤架。若使用 6～48 孔微量盤，切勿放入紫色微量盤架。



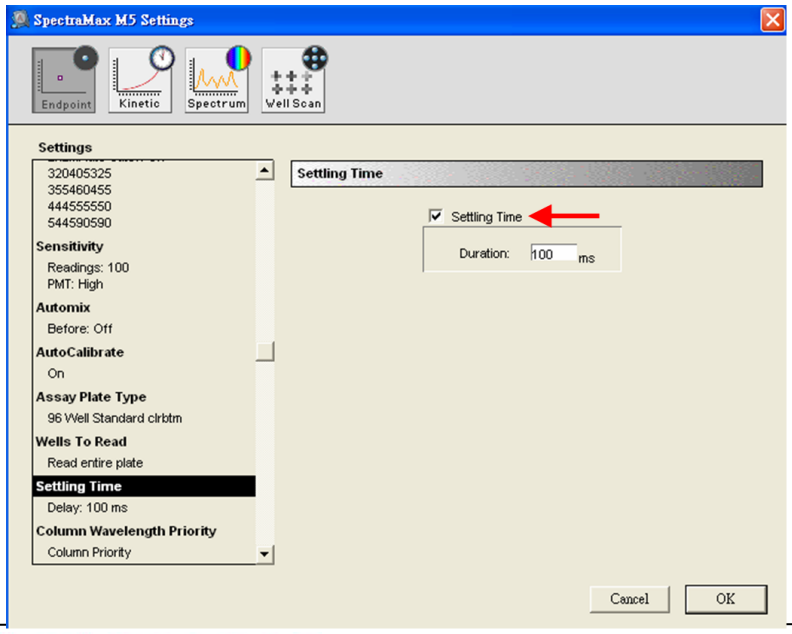
(7) Wells to Read：

選擇要測讀的微量孔，反黑則表示待測讀的樣品。可對照 Template 設定選擇預測微量盤孔，選擇範圍越小儀器讀取速度越快。



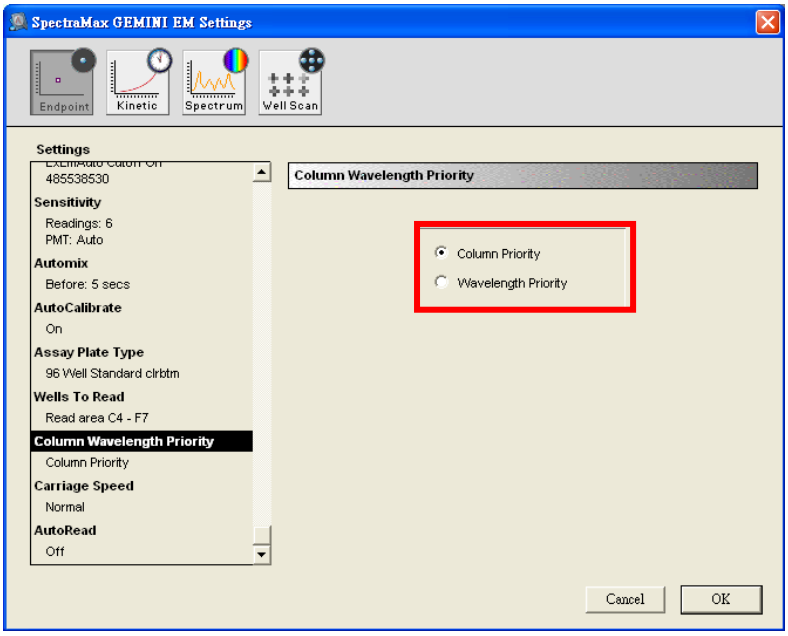
(8) Setting time

適用於 Florescence Polarization，設定 well 與 well 之間讀取時間的延緩，使 well 內的 sample 盡量減少晃動。



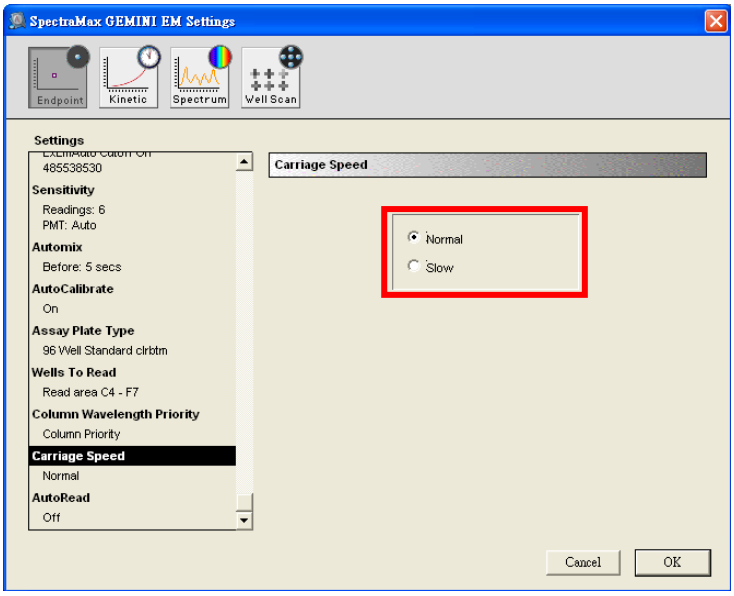
(9) Column Wavelength Priority：

用於多個波長在同一實驗測讀中的優先方式。Column Priority 是指每孔(每列)測讀完多個波長後再移到下一個進行測讀。Wavelength Priority 是指所有測讀孔先測讀同一個波長，再進行下個波長的測讀。



(10) Carriage Speed：

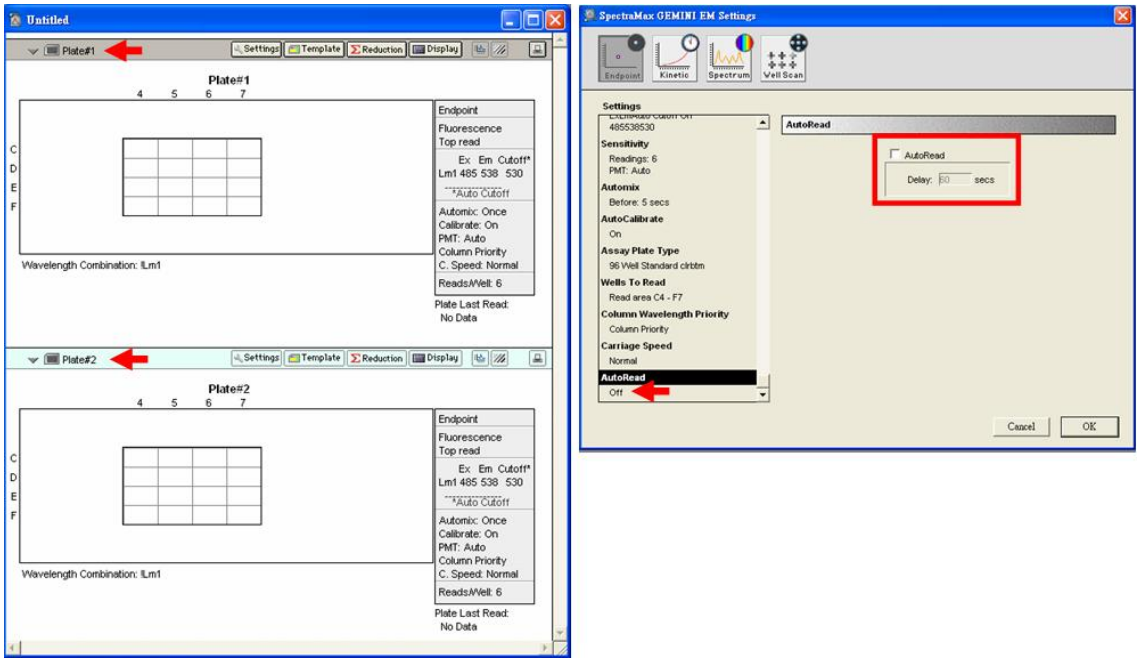
用於調節微量盤進入速度，一般都使用 normal。當需要做到一些對震動敏感比如凝集反應，則選擇 slow。



(11) AutoRead：

一般使用設定為 off，設定在 on 主要用於與機械臂/堆板機同時應用進行高通量測讀的時候，或同時設定多組 Experiment 時，同一個微量盤直接進行不同實驗的測讀。可依照需求設定盤間間隔時間。

注意！從 Experiment 點選 New Plate，可連續設定多組微量盤的檢測。



2.2.2 動力學檢測(Kinetic)：樣品在不同時間設定點進行測讀。

與反應終點檢測相比，動力學檢測的設定在左邊設定增加 Timing。選擇 Timing 後可以看到右側參數設定中包含有 Run time 即整個測讀反應時間以及 Interval 即各測讀點之間的時間間隔。滑鼠點中這兩個相應的空格後可以進行時間的修改。如果時間間隔太短，會出現 ⚠ Kinetic interval too short 或 ⚠ No calibration between reads 的警告。最小的間隔時間取決於一次微量板測讀同時測讀多少個孔。

2.2.3 波長掃描檢測(Spectrum)：樣品在連續多個波長進行測讀。

與反應終點檢測相比，Wavelengths 的設定有所區別。

(1) Absorbance 與 Luminescence：

在 start 和 stop 的空格中分別填入起始測讀波長和終止測讀波長。在 step 的空格中填入測讀點之間的步徑，最小為 1nm 步徑。

(2) Fluorescence 與 Time Resolved：

(a) 固定發射波長(Emission)掃描激發波長(Excitation)，終止激發波長必須小於固定發射波長。

(b)固定激發波長(Excitation)掃描發射波長(Emission)，起始發射波長必須大於固定激發波長。

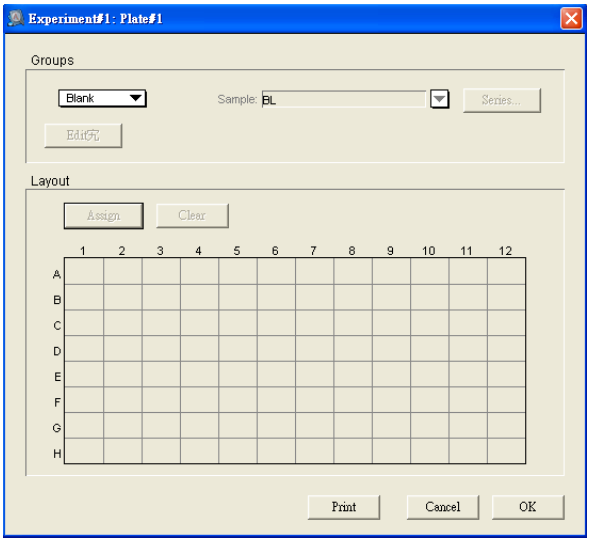
2.2.4 單孔多點檢測(Well Scan)：每孔樣品設定測讀多個位點，可在測讀後平均測讀數值。

與反應終點檢測相比，左欄增加 Well Scan Editor 的設定。選中後依需求選擇 Pattern 與 Density。隨著點數增加而總檢測時間增加。

注意！實驗步驟設定也可從 Protocols 內點選原廠內建之實驗設定，依需求進行實驗參數之修改，修改後可另存為***.ppr** 格式。

2.3 檢測樣品設定

在 Plate 內，按 Template 進行所有樣品的分組設定。

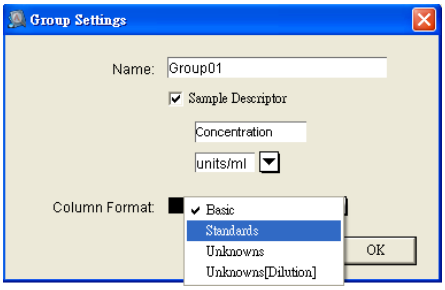


2.3.1 設定 Blank：

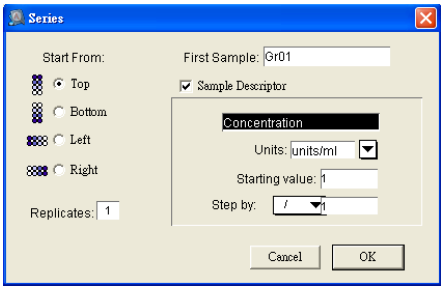
在 Layout 先選取欲編輯的微孔位置，再於 Groups 點選 Blank，或先於 Groups 點選 Blank，再點選欲編輯的微孔位置後按 Assign，編輯好的位置則會標示文字。Blank 設定多個，則其他的數據結果均顯示為扣除 Blank 平均值的結果。

2.3.2 設定標準品(Standards)及相應的標準曲線：

當有一系列已知濃度梯度的樣品做為標準品時，依標準品選取欲編輯的微孔位置，再於 Groups 點選 New…+後出現下面視窗。

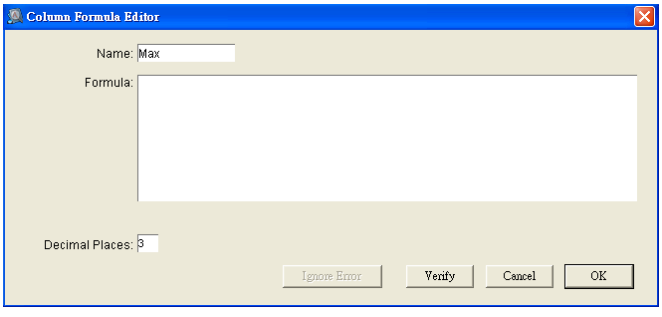


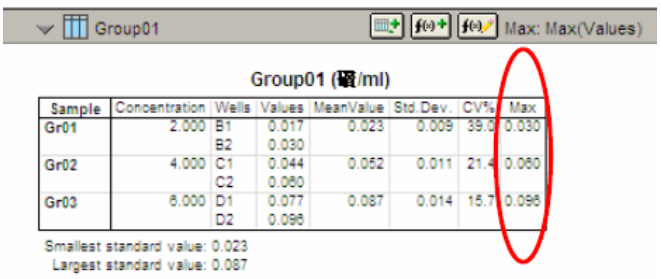
從 Name 編輯名稱，並由 Column Format 選取 Standards，選取後按 OK。
點選 Groups 內的 Series，出現下方視窗。



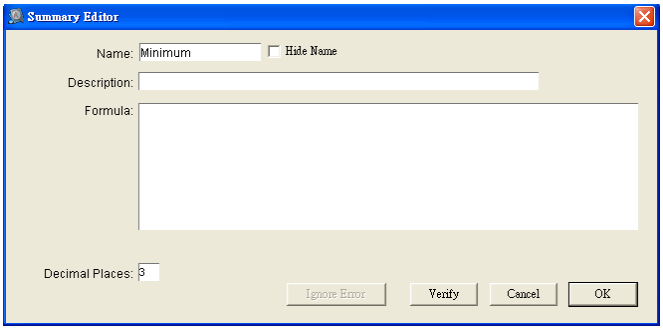
Start from 中 Top、Bottom、Left 與 Right 表示該組樣品從那個方向起始排列。
Replicates 表示樣品多少重複。

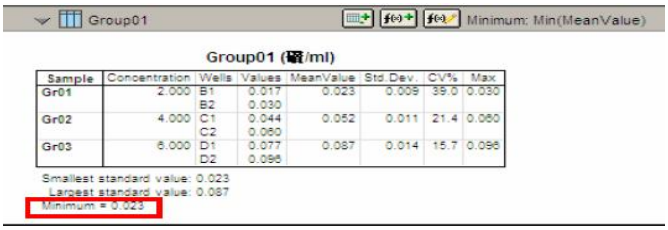
First Sample: Gr01 表示起始樣品號為 Gr01，以後依序為 Gr02、Gr03…。勾選 Sample Descriptor， 從 Units ▼選取適當的濃度單位。Starting value 表示起始樣品的濃度，可以在框內填入相應數值。Step by 表示以什麼方式進行濃度梯度，從▼選擇 ＋、－、＊、/，後面填入數值。
輸入完成後，Plate 內的 Standards 的數值自動扣除 Blank 的數值，同時下方也會出現 Group 欄，欄內有樣品資料表格，表格第一欄是每列資料的名稱，向右則依序表示為濃度、孔盤位置、偵測值、平均偵測值、標準偏差與變異係數百分比。點選 可增加表格，點選後出現下面視窗。





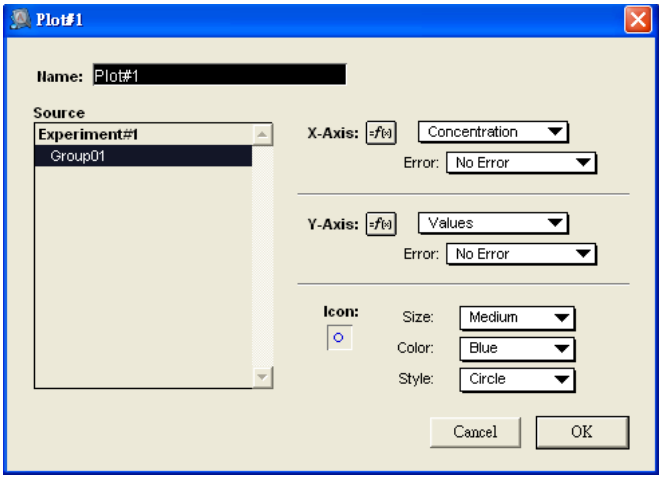
按 可以在表格底下多加一條分析結果，對表格中樣品進行總結性的計算。



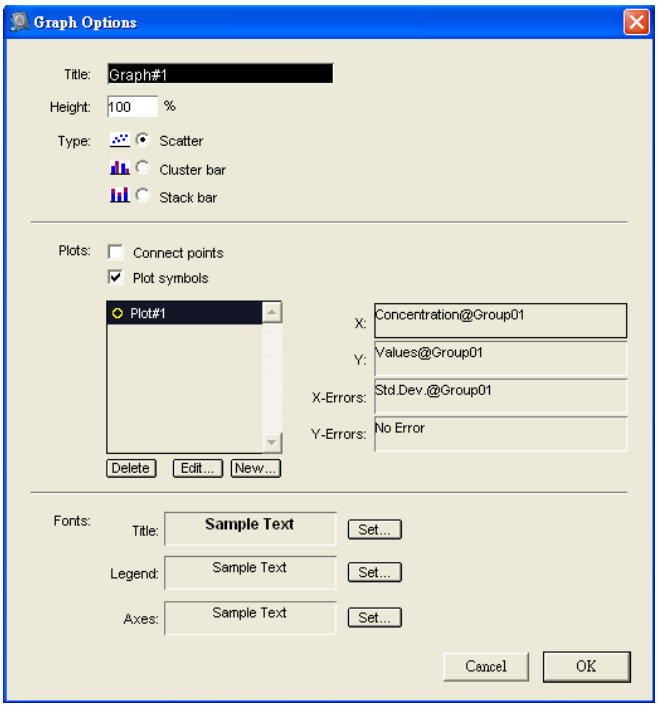


在 與 內的 Formula 的部分，請參照 Help 內的 Formula Reference Guide 進行程式編寫。

若要對該數據作圖，則從軟體上方之 Experiment 內選取 New Graph…，出現視窗如下。



在 Name 中填入該條曲線的名稱，即以後在資料計算中要引用的名字。Source 中選擇所使用的原資料。於 X-Axis 與 Y-Axis 後方▼選取橫橫坐標和縱坐標所用的數據。於 Icon 後方可選擇圖示的大小、顏色與形式。設定完成後按 OK，則再出現下方視窗。



Title內填入該圖的名稱，一張圖中可以有多條曲線。Type中選擇點散圖(Scatter)或柱狀圖 (Cluster/Stack bar)。

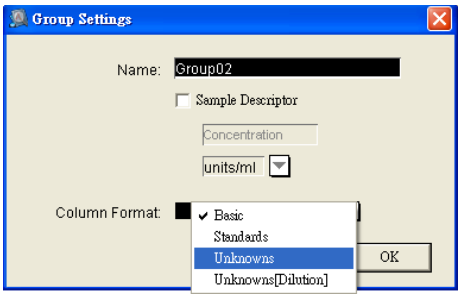
Plots 表示該圖中有哪幾條曲線，按 New…可在該圖中增加曲線，按 Edit 對該曲線進行修改，按 Delete 刪除該曲線。設定完成後按 OK 即可完成繪圖。

圖形上方之

，可以選擇適當的曲線組合，軟體自動根據所選用的組合方式做出曲線圖以及相應的曲線組合數學公式中的參數。

2.3.3 設定未知樣品(Unknowns)並根據標準樣品計算相應的濃度：

選取欲編輯的微孔位置，於 Groups 點選 New…+後出現下面視窗。



後續設定步驟請參考 **2.3.2 設定標準品(Standards)**。

Formula 的部分，請參照 Help 內的 Formula Reference Guide 進行程式編寫。

2.4 檔案儲存格式

實驗設定完成或偵測結束後，可進行檔案儲存，至 File 點選 Save 或 Save as。

(1) **Pro Data Files (*.pda)** 格式，即資料格式。該文檔含有包括參數設定，實驗資料，結果分析等所有實驗內容。

(2) **Pro Protocol Files (*.ppr)** 格式，即模版格式。該文檔含有參數設定，分析公式等實驗設定內容，可以應用於多次重複實驗而使用統一模版。

3. 儀器保養與維護

3.1 若要搬移儀器，請先移除微量盤插槽內的微量盤與紫色微量盤架，並將微量盤插槽關閉。

3.2 維持穩定的電源，若電源不穩定，請加裝穩壓器或不斷電系統。

3.3 儀器光源為氙氣閃光燈(Xenon flash lamp)，僅在偵測時才會耗損燈泡，無需偵測樣品後立即關機。若長時間無使用，則建議將儀器關閉。

3.4 儀器避免陽光照射並置於乾淨的室內環境，建議維持室內濕度 30%-80%，溫度 20-22℃。

3.5 適用 6 - 384 孔微量盤。96 孔微量盤內每孔可檢測 100 - 300 µl 溶液，最佳檢測體積為 200 µl。384 孔微量盤內每孔可檢測 50 - 100 µl 溶液，最佳檢測體積為 80 µl。

3.6 吸收光檢測需使用透明微量盤，檢測時盡量不要污染微量盤底部，以免影響量測值。

3.7 對於螢光檢測需使用黑色不透明微量盤，若使用底讀測讀則選擇黑盤透明底的微量盤。

3.8 對於冷光檢測需使用白色不透明微量盤，若使用底讀測讀則選擇白盤透明底的微量盤。

3.9 檢測後微量盤勿長期置於儀器插槽中，避免溶液蒸發腐蝕或損壞儀器內部光路系統。**如果為有腐蝕性或揮發性溶液，請帶蓋檢測。**

3.10儀器外部請用抹布或紙巾(略濕)擦拭，儀器內部請勿進行任何清潔動作，若有液體濺出或污染，請通知本公司，公司會派維修工程師前往處理。

4. 儀器維修、校正與保養聯絡專線

金萬林企業股份有限公司
聯絡電話：(02) 2790-2222
服務專線：0800-009695
網址：www.kimforest.com
E-mail：kimforest@gmail.com
聯絡地址：台北市內湖區新湖二路 128 號 4 樓之 1