



Fluoroskan Ascent FL 中文操作說明



LIFE SCIENCE
TECHNOLOGIES

岑 祥 股 份 有 限 公 司

台北：02-27851156

台中：04-23723918

高雄：07-3431735

www.thco.com.tw

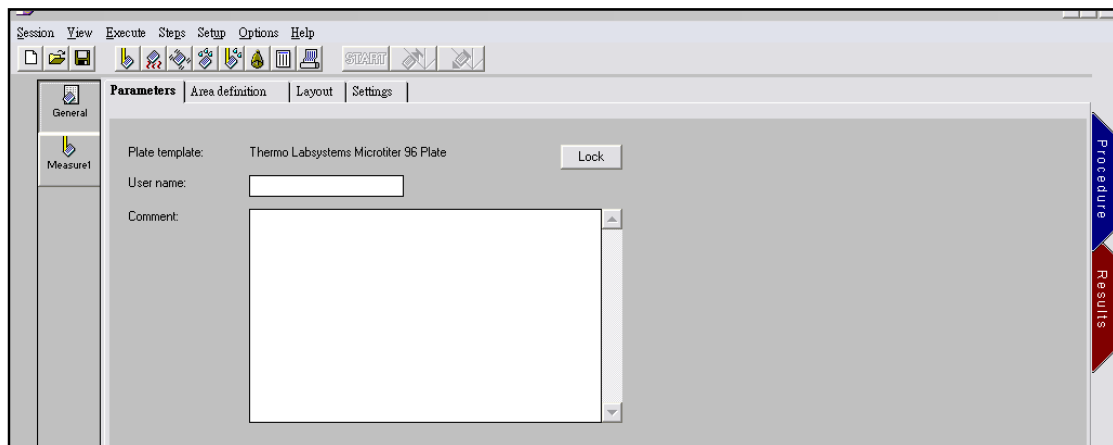
info@thco.com.tw

Ascent Software 2.6 for Fluoroskan Ascent FL

日常操作

A. 使用程式

1. 開啟儀器操作軟體 Ascent Software。
2. 於上方命令列左側，點選”Open”開啟資料夾，選擇已設定好之程式(如下圖)。
3. 執行程式”Start” (如下圖)。

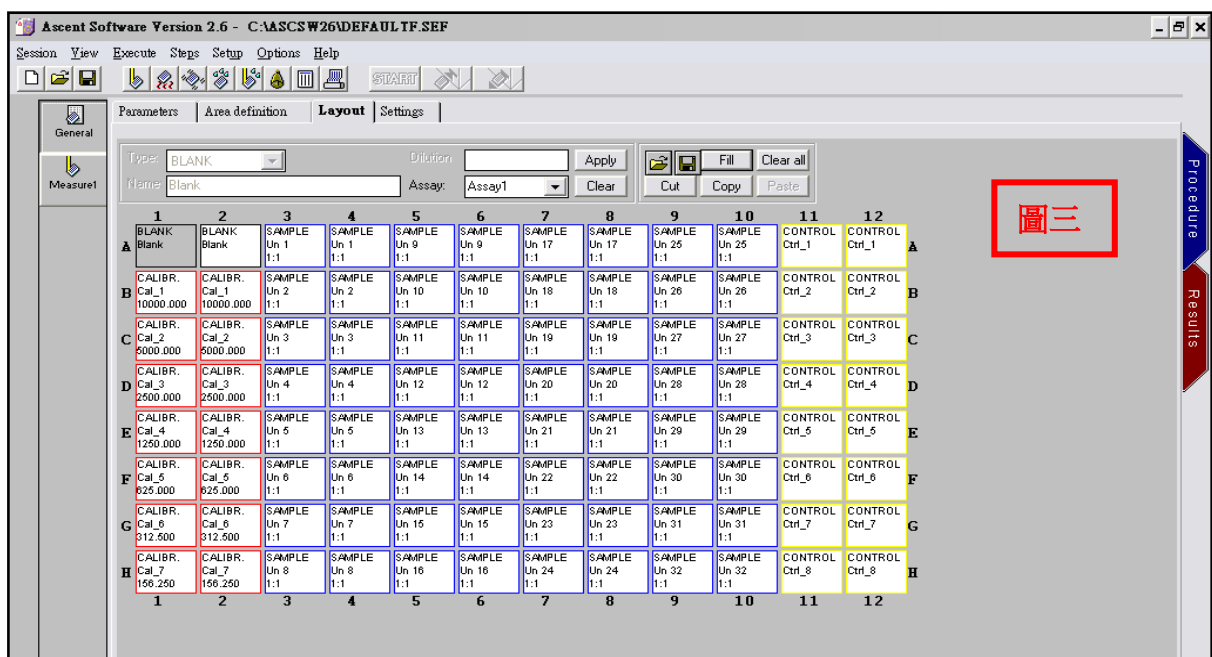
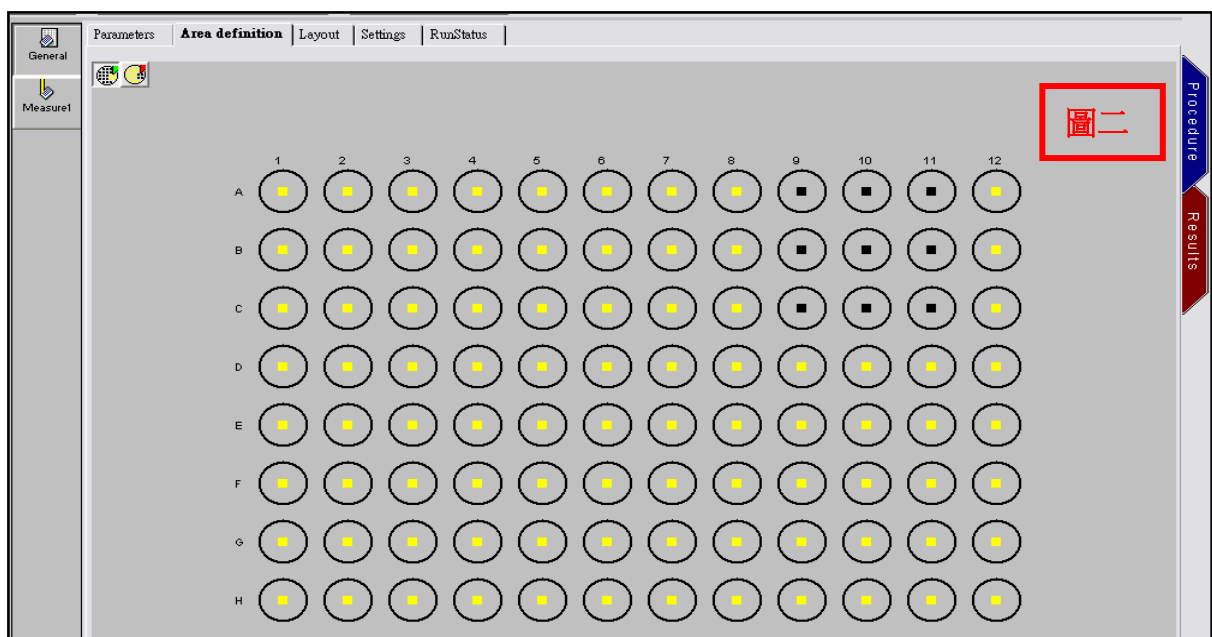
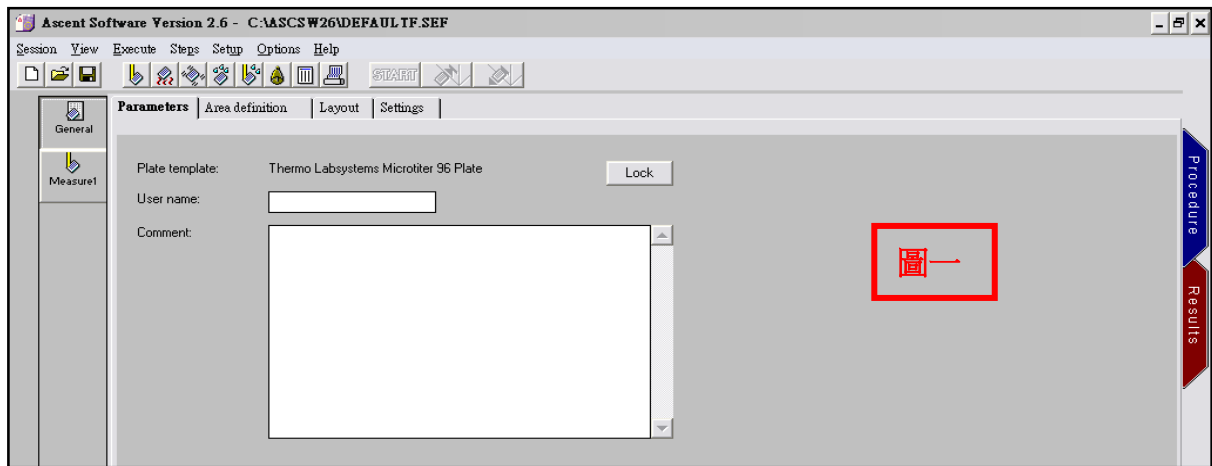


B. 設定程式流程

Procedure

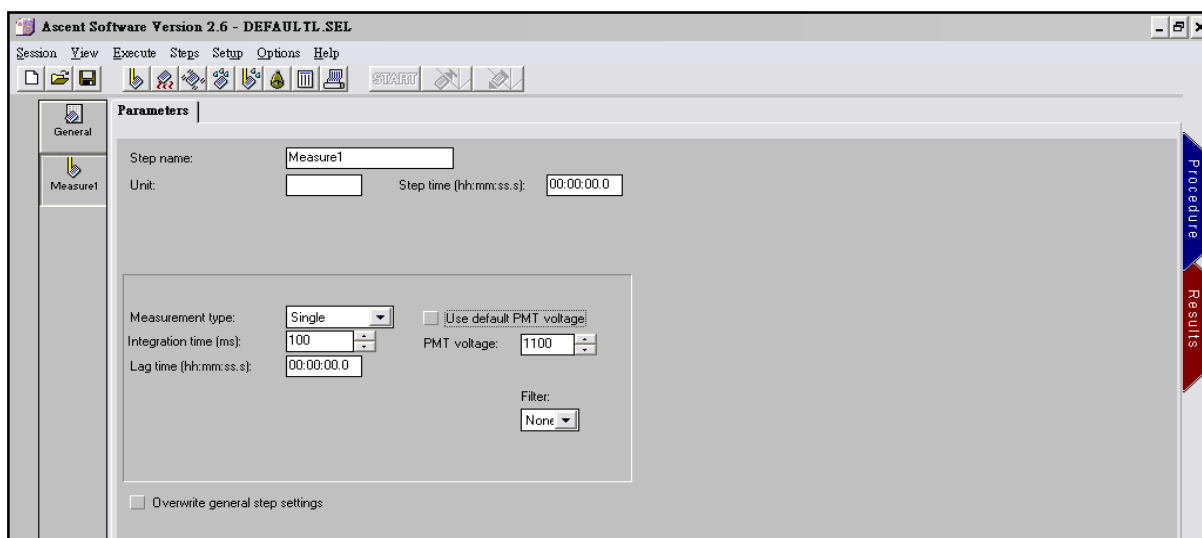
1. 開啟儀器操作軟體 Ascent Software。
2. 選擇左側”General”功能,內有四個頁面,分別為:
 - (1) Parameters:描述實驗(assay)內容(圖一)
 - (2) Area Definition:設定判讀區域(可節省判讀時間)(圖二)
 - (3) Layout:定義微量盤位置,包含 Blank, Calibrator, Control, Sample; 可利用”Fill”功能快速設定,鍵入重複次數(Replicates),重複方向(Fill Replicates and Blank),濃度(Concentration)(圖三)

(4) Settings:可設定判讀方向(1~8種選擇)



3. 選擇左側”Measurement”功能,設定內容如下:(如下圖)

- (1) Measurement Mode:可選擇”Fluorometric”螢光或”Luminetric”冷光
- (2) Measurement Type: Single(單一波長配對), Dual(雙波長配對), Kinetic(酵素動力實驗), Dual Kinetic(雙波長酵素動力實驗)
- (3) Integration Time:判讀時間設定,最小單位 20 msec
- (4) Lag Time:延遲判讀
- (5) Filter Pair:濾鏡組設定(Wavelength: Excitation < Emission)
- (6) PMT Voltage:300~1200 volt,建議實驗初期可使用”default”設定,依讀值再自行決定調高或調低判讀電壓,調高電壓即調高靈敏度,反之亦然
- (7) Beam:光束調整, Normal-適用 6~96 孔盤;Small-適用 384 孔盤

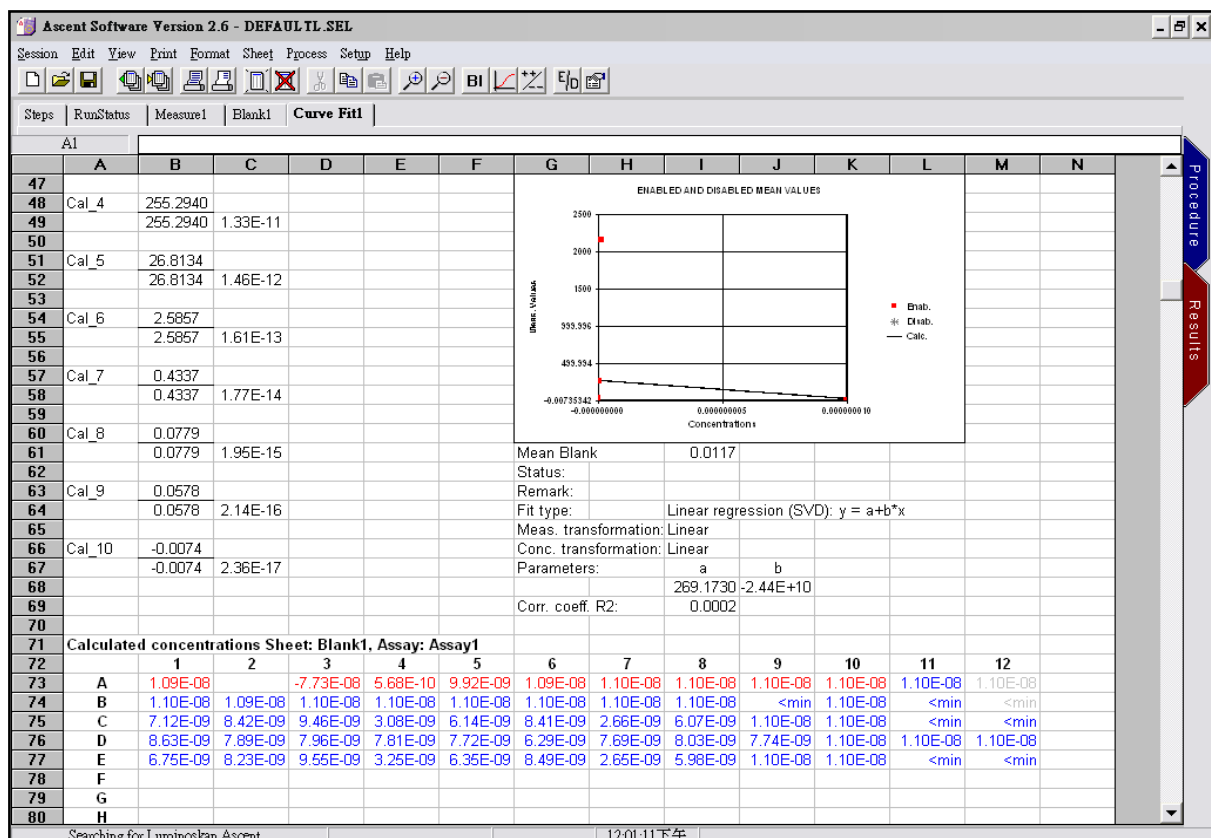


4. 上方命令列另有其他功能設定，如下所示：

- (1) Incubation:溫度控制,範圍從室溫至 45°C
- (2) Shake:震盪設定, Total Time 為總設定時間, On Time 為開啟震盪時間, Off Time 為關閉震盪時間, Diameter 為震盪幅度,以 mm 為單位, Speed 為震盪速度,以 rpm 為單位
- (3) Dispense:分注液體, Volume 為分注量,以 ul 為單位, Interval 為分注間隔時間, Prime tip 用於開始分注前捨棄分注器前端 5ul 液體, Dispenser 設定使用之分注器

Results (如下圖)

1. 選擇"Measure 1"分頁,點選上方命令列 **BI** 圖示(Blank Substraction),可扣除背景值
2. 選擇"Blank 1"分頁,點選命令列中"Curve Fit",可自動製作標準曲線,曲線程式設定如下,
Curve Fit Sheet Properties:選擇"Curve Fit"分頁,按下"Modify fit and graph", 點選"Fit Type"以選擇適當曲線方程式
3. 設定完成後,點選上方命令列中"Save"儲存程式
4. 存取 Excel 資料檔:點選上方命令列中"Save Sheet"圖示,先選擇欲儲存 Excel 格式(.vts/.xls/.txt)



結果分析

1. 實驗讀取完畢後，由操作方法及結果工作頁(黑色箭頭)選 Result 觀察結果。
2. 由 Process(白色箭頭)選擇要進行計算的項目，包括 Function、Graph、Organize、Multipoint、Blank Substraction、Precalculation、Kinetic Processors、Curve Fit 及 Cut-Off。依照計算順序一一進行。

Ascent Software Version 2.4.1 - CAASCENT\CTRL\PROL.SEF

Session Edit View Print Format Sheet Process Setup Help

Function...
Graph...
Organize...
Multipoint...
Blank Substraction...
Precalculation...
Kinetic Processors...
Curve Fit...
Cut-Off...

	A	B	C	F	G	H	I	J	K
1									
2	Measurement count: 1	Ex: 35							
3			1	2			3		
4		16.10	16.90	700.50	710.60				
5	A	16.40	17.30	697.80	706.20				
6		16.30	16.80	720.40	725.60				
7		16.30	16.80	713.60	724.50				
8	B	16.60	17.20	702.90	711.10				
9		16.40	16.80	721.30	725.80				
10		586.40	586.20	590.40	446.00	455.50	462.90		
11	C	599.20	583.90	588.40	457.50	448.40	451.30		
12		613.00	598.40	606.30	461.60	457.70	460.80		
13		593.30	598.20	602.70	441.00	451.60	459.80		
14	D	602.10	587.60	595.80	452.20	442.10	447.60		
15		612.60	602.10	612.20	458.10	451.90	454.60		
16		1316.80	1349.00	1355.90	308.40	310.70	312.00		
17	E	1350.30	1321.30	1337.70	317.70	309.10	310.80		
18		1373.70	1346.40	1370.30	322.80	319.70	321.50		
19		1302.80	1350.30	1354.40	311.00	314.90	315.70		
20	F	1345.00	1311.70	1334.30	315.40	308.10	310.90		
21		1367.70	1341.10	1366.10	320.20	313.90	318.70		

Steps Measure1 Multipoint1 Blank1 Report RunStatus 各種結果工作頁

Inserts the blank sheet into the workbook

圖一

Organize sheet properties

Source Source and calculation View

Source

Source data 原始資料
 Source data with times 原始資料依時間順序

排列方向
Arrange direction

By column 縱
 By row 橫

確定 取消 套用(A)

Organize --- 整理讀取資料，將之重整排序。適合用於動力學實驗將同一孔格之不同時間讀取的資料以時間排列之，使易於進行繪圖分析。

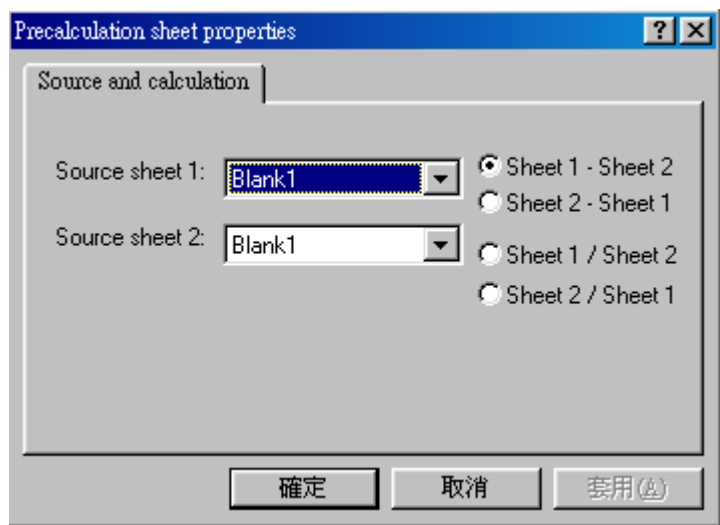
圖二



Multipoint --- 多點計算。(讀取 1~48 孔盤時)當一孔洞內讀取不只一點，可將同一孔內所有讀點做不同模式計算；Average 取平均值，Minimum 取最小值，Maximum 取最大值，Standard-deviation 計算偏差率。

圖三

Precalculation --- 前計算，將不同工作頁間同一孔格之資料作簡單運算；Sheet 1 - Sheet 2 頁一減頁二資料，Sheet 2- Sheet 1 頁二減頁一資料，Sheet 1 / Sheet 2 頁一除以頁二資料，Sheet 2 / Sheet 1 頁二除以頁一資料。



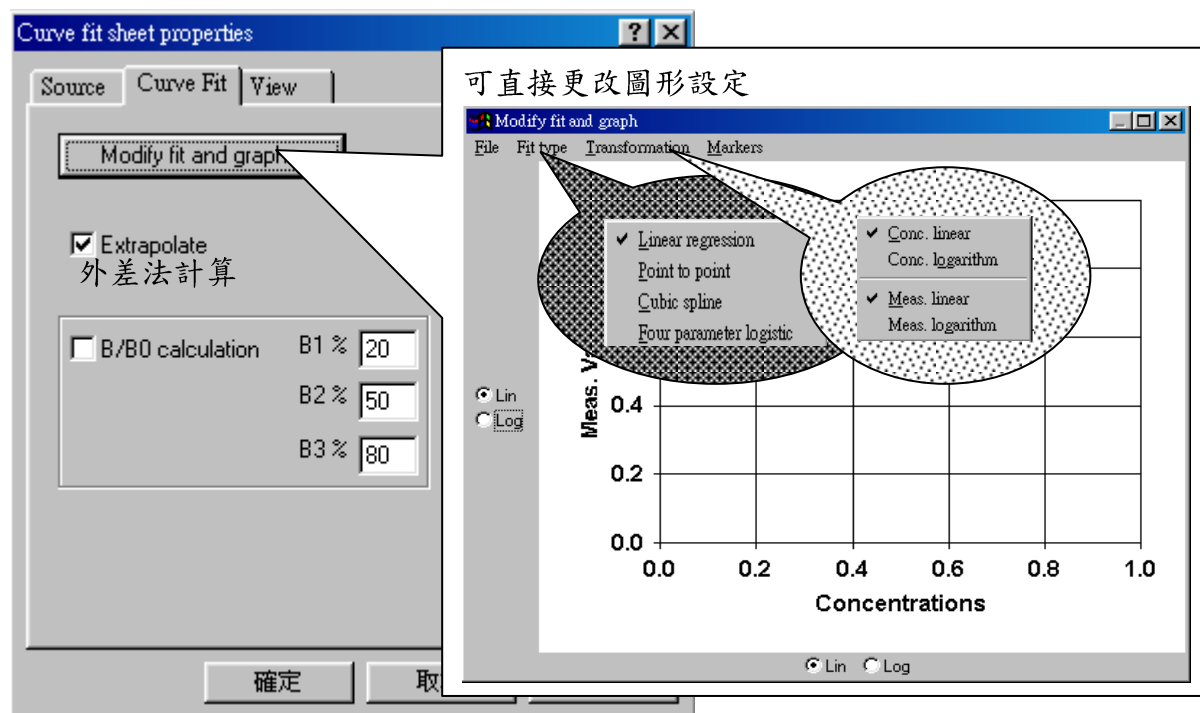
圖四



Kinetic Processors --- 動力學計算，將動力學實驗中不同時間下取得之讀值資料作分析計算；Average rate 計算平均速率，Maximum rate 最大速率，Time to maximum rate 至最大速率所需時間，Time to change 最大值與最小值之時間差，Maximum of well (Peak) 最大值，Maximum - Minimum (Change) 最大與最小值差，Time to maximum (Peak) 至最大值所需時間，Select reading，Integral。

圖五

Curve fit --- 標準曲線繪圖計算，依所設標準品之讀值與濃度作繪圖計算未知樣品。



圖六

Fit type --- 曲線種類，有四種常用曲線可供繪圖計算。

Transformation --- 讀值或濃度值是否先計算為 Log 值再供繪圖計算。

Cut off --- 判別計算，依據所設定之數值或方程式為臨界值，將資料判別分類。如：未知樣品若大於 0.5 則為陽性反應，未知樣品若小於 0.5 則為陰性反應。

操作注意事項暨錯誤訊息顯示及排除方法

1. 使用前，待儀器綠色指示燈亮後方可使用。
2. 設定震盪功能時，請注意樣品體積以不濺出為原則。
3. 系統發生錯誤訊息時，儀器指示燈會亮紅燈，此時請立即關閉電源，並電洽本公司技術人員或工程師。