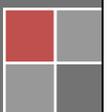


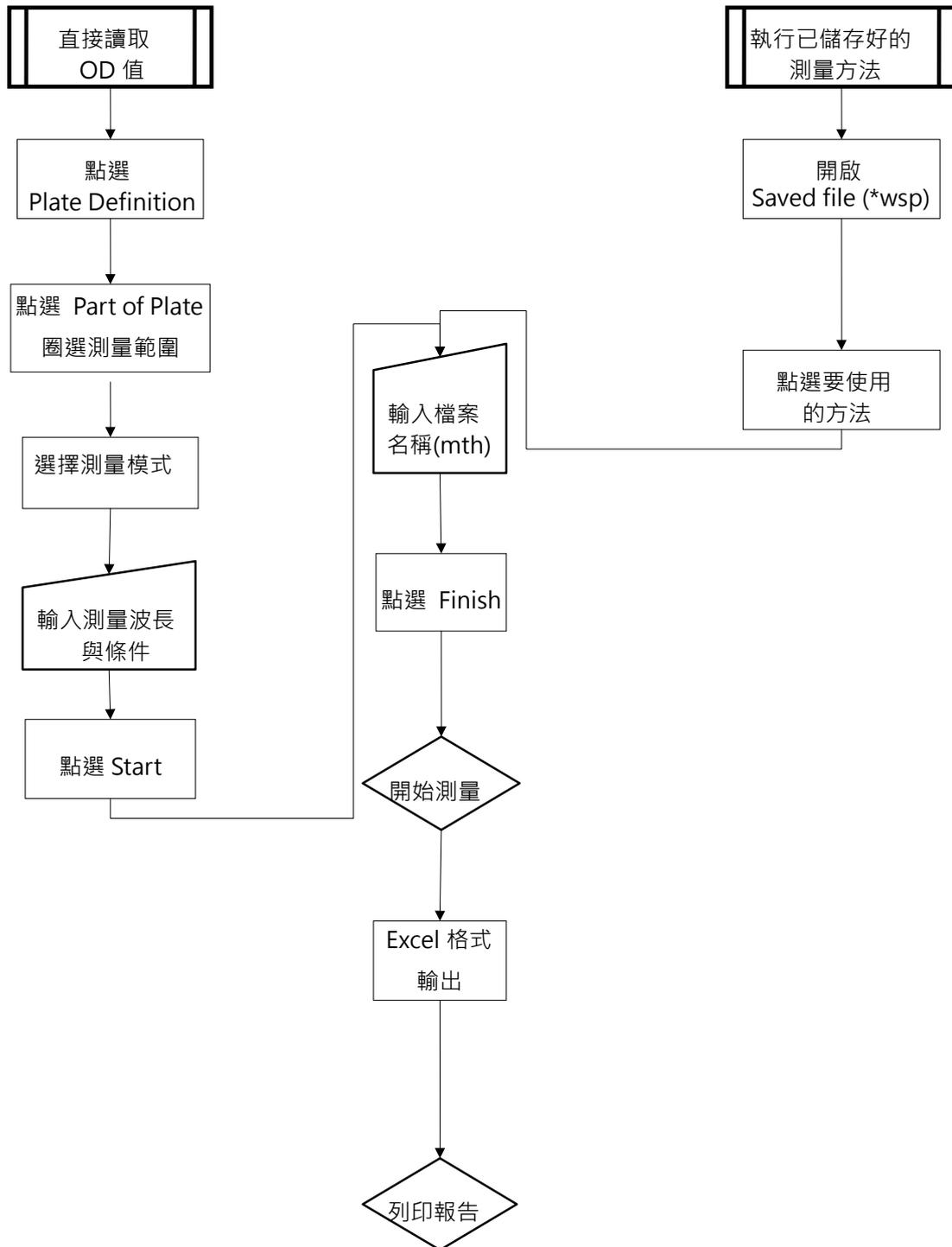
TECAN Magellan

2012 - 02

Clare Kuo
ADVANCE BIOTECHNOLOGY



TECAN 麥哲倫軟體 簡易操作步驟



一 前言

Magellan 麥哲倫，透過引導式執行軟體操作，可支援以下 TECAN 任一系列微孔盤分析儀

之數據運算操作工具

Instrument Types	Measurement Mode
DNA Expert	Fluorescence / Absorbance / Luminescence
GENios	Fluorescence / Absorbance / Luminescence
GENios FL	Fluorescence
GENios Plus	Fluorescence / Absorbance / Luminescence
GENios Pro	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization
SPECTRAFluor	Fluorescence / Absorbance
SPECTRAFluor Plus	Fluorescence / Absorbance / Luminescence
SAFIRE	Fluorescence / Absorbance
SAFIRE ²	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization
SUNRISE	Absorbance
ULTRA Evolution	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization / FLT
ULTRA	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization
ULTRA 384	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization
Infinite M200	Fluorescence / Absorbance / Luminescence
Infinite F200	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization
Infinite F500	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization
Infinite M1000	Fluorescence / Absorbance / Luminescence / Fluorescence Polarization

軟體安裝支電腦硬體規格如下：

Hardware	Minimum	Recommended	Advanced (FLT/Scanning)
Memory	256 MB	512 MB	1024 MB
CPU	Pentium II	Pentium III	Pentium IV
Resolution	1024 x 768	1280 x 1024	1280 x 1024
Serial/ USB ports	1 (USB 2.0 or higher)	2 (USB 2.0 or higher)	2 (USB 2.0 or higher)

Operating system

Microsoft Windows	Windows XP Professional/SP2
-------------------	-----------------------------

Additionally supported software: Microsoft Excel 2000

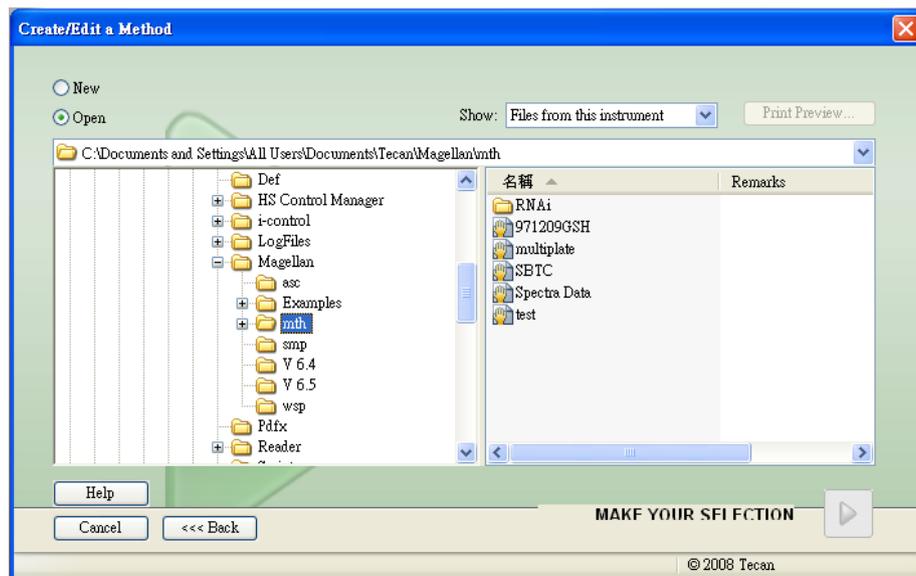
Microsoft Excel XP

Microsoft Excel 2003

二 軟體編輯操作

TECAN Magellan 麥哲倫軟體是一套以工作流程為導向的操作軟體，透過一步一步引導式執行，提供 TECAN 微孔盤分析儀使用者常規性的實驗設定。

軟體可讓使用者自行新增檔案放置位置，方便多位使用者自行管理檔案位置



麥哲倫軟體主要檔案型式標誌及縮寫如下：

-  Method 程式執行檔 mth
-  Workspace 結果數據檔 wsp
-  Standard curve 標準曲線 std
-  Sample ID list 樣品管理清單 smp

檔案型式說明如下：

Method 程式執行檔 mth

Method 可用來設定所有實驗相關的測量參數，例如：濾鏡波長、震盪時間及測量次數等、樣品擺放位置、數量和形式，細項設定、數據管理或報告輸出格式....等。其中細項設定也包

含數據讀值運算等。

用來定義所有參數來計算結果，設定方式可從軟體介面選擇 Create/Edit 選項來新增或修改實驗所需的程式執行檔。

Workspace 結果數據檔 wsp

Workspace 為麥哲倫軟體在每次偵測判讀後得到的結果數據檔，亦可用來開始測量，觀看和儲存結果，裡面除了有基本的結果數據亦包含實驗的程式執行檔。

Standard curve 標準曲線 std

麥哲倫軟體內建標準曲線設定，可方便使用者將配製好序列稀釋的標準品套用內建公式換算成濃度值。麥哲倫軟體也可支援，將預先將做好之一組標準曲線儲存，以方便其他實驗可套用以計算濃度使用，此功能可讓使用者無須每次實驗都重新配置標準品。

Sample ID list 樣品管理清單 smp

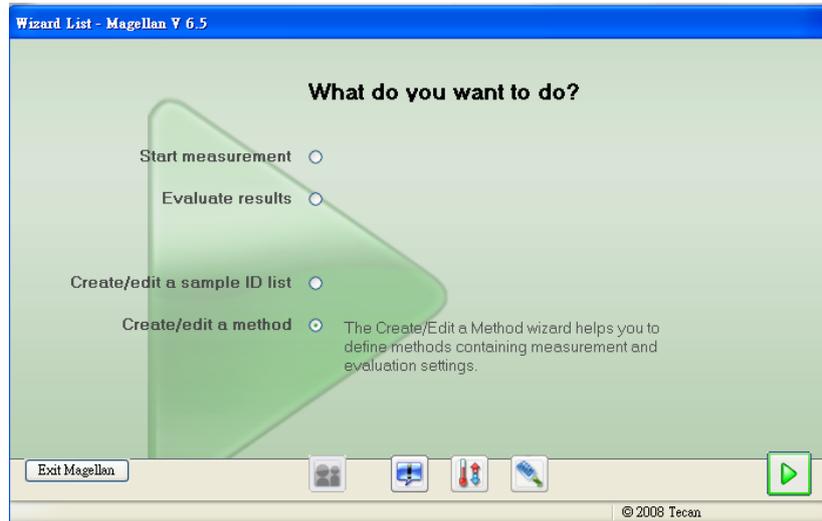
可從軟體介面選擇 Sample ID list 選項來管理樣品名稱清單，可自行以字母與數字符號等字串定義。歸納整理在 Tecan Magellan 麥哲倫軟體常出現的副檔名如下表：

Type of File	File Extension	Directory magellan
Workspace	.wsp	\magellan\wsp
Method	.mth	\magellan\mth
Sample ID List	.smp	\magellan\smp
Export Files	.asc	\magellan\asc
Standard Curve	.std	\magellan\wsp
Plate Definition	.pdf / pdfx	\Reader\pdf \Reader\pdfx

三 使用者操作介面

TECAN Magellan 麥哲倫軟體設計概念是一套以工作流程為導向之操作軟體，編輯概念類

似 Windows 系統。軟體開啟後即進入精靈歡迎介面，如下：



主畫面由以下操作清單所組成，可依據使用者想要執行的程式項目個別做選擇：

1. Start Measurement Wizard 開始測量模式

讓使用者簡便快速的執行測量參數，進行 Raw data 原始數據的判讀，也點選編輯好的程式執行檔(mth)來做判讀並進行數據運算。

2. Evaluate Result Wizard 評估結果數據

可讓使用者開啟結果數據檔(wsp)查看評估或修改，觀看所有原始資料或結果。

3. Attach Signature Wizard 附加簽名檔 (此功能只提供臨床單位使用)

可讓使用者針對工作文件附加簽名檔，此功能只提供在 Magellan Tracker 版本提供。

4. Create/Edit a Sample ID List Wizard 新增或編輯樣品清單

可讓針對樣品新建或編輯清單管理，適合有大量檢體來源的臨床單位。

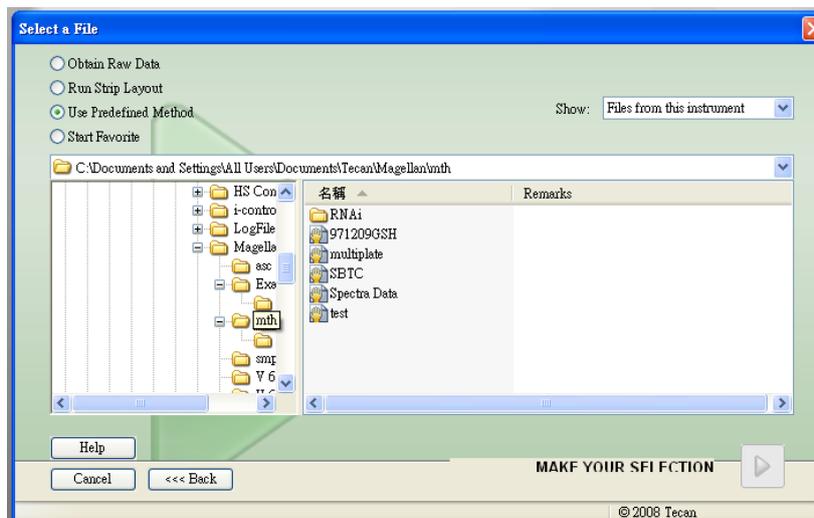
5. Create/Edit a Method Wizard 新增或編輯程式執行檔

可設定或編輯實驗測量參數以及數據運算方程式，並以程式執行檔(mth)副檔名來存檔。

細項說明如下：

1. Start Measurement Wizard 開始測量模式

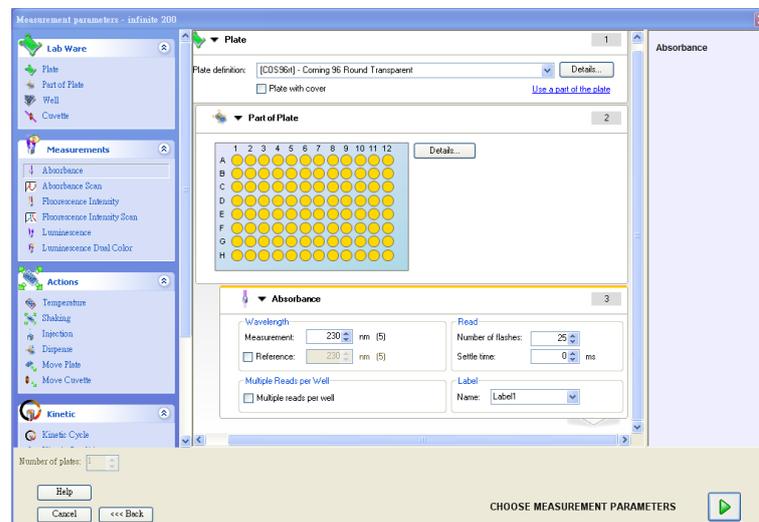
在主畫面點取 Start Measurement 即可進入開始測量模式之畫面如下



其中可出現以下之主要選項：

1.1 Obtain Raw Data 開始判讀，在此選項只須設定測量參數即可快速簡便的執行原始數

據之判讀，進入選項後會出現以下視窗：選擇之後可進入以下主畫面進行測量參數設定



左手邊主要為軟體的**控制列**，分成 5 個區塊，每個區塊都有工作相關選項，選擇接透過儀器的模組規格而定。可利用滑鼠左鍵或是移動選項控制以拖曳工作流程表，成為完整的工作區塊。

- Lab Ware 實驗物件選擇：內建多種實驗常用的微孔盤格式資料庫，可讓使用者依據所選用的微孔盤格式做選擇。(內建 6 至 1536 孔徑，以及各大廠牌的微孔盤格式)
- Measurements 測量模式：選擇實驗所需的偵測模式以及現有的機器模組配備。可支援的模式有吸光、螢光、全光譜掃描、冷光或是雙色冷光等。
- Actions 選項：內建有溫控、震盪、分注器等模組的設定。
- Kinetics 酵素動力學：設定酵素動力學之循環次數及條件
- Miscellaneous 其他設定：可依據需求加入註解，使用者需求，等待時間等細項設定。

詳細說明如下：

Plate 微盤

內建多種實驗常用的微孔盤格式資料庫，可利用下拉式選項選擇微盤格式。

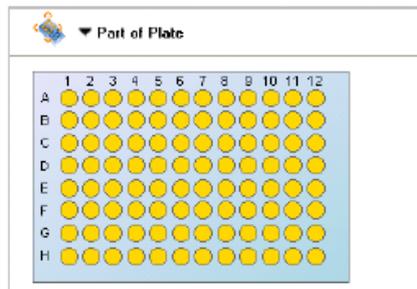
如果微盤有加裝上蓋，可以選擇 Plate with cover 選項來調整光學讀取頭高度

位置，確保微盤移動時不會太靠近儀器的光學系統。



Part of Plate 微盤位置

可利用滑鼠左鍵下拉圈拖曳選取待測的判讀區域，圈選起來的位置軟體會自動在為孔內以黃色標示。



Well 模式

Well 模式多是搭配分注器模式(injector)使用，可讓使用者分注單一孔位後立刻判讀



Absorbance 吸光



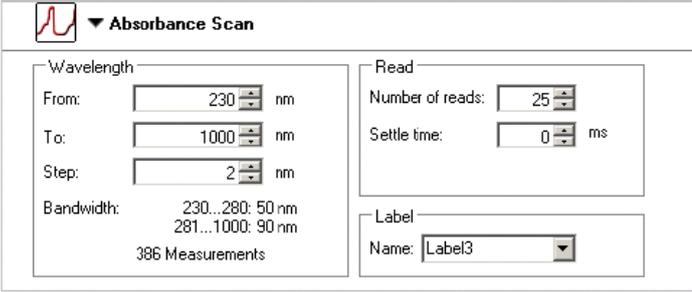
可藉由定義測量波長來進行吸光模式，利用數字鑑入或是下拉式選項選擇待測波長，也可依據酵素免疫分析實驗，勾選 Reference Wavelength 選項，以進行參考值波長 (Reference Wavelength)判讀的雙波長測量模式。

在濾鏡模組的儀器，則會依據機器內裝的吸光濾鏡組合，透過下拉式選項作為測量波長和參考值波長選擇。

測量參數如下：

- Wavelength 鍵入測量所需波長，可依據實驗需求輸入參考值波長
- Read Number of Read:儀器氙氣燈泡閃爍次數 (1~100)
Settle time:從微盤移動到開始測量的時間，可從 0~1000ms 設定。
- Label Name:實驗的標定名稱

Absorbance Scan 吸光光譜掃描



▼ Absorbance Scan

Wavelength

From: 230 nm

To: 1000 nm

Step: 2 nm

Bandwidth: 230...280: 50 nm
281...1000: 90 nm
386 Measurements

Read

Number of reads: 25

Settle time: 0 ms

Label

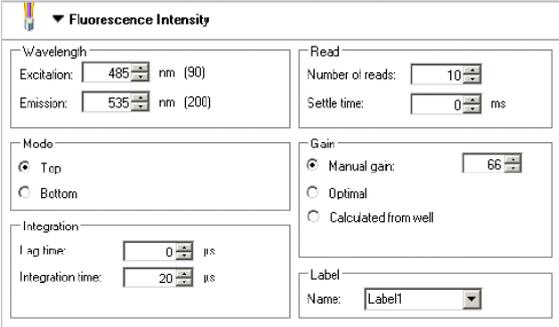
Name: Label3

吸光光譜掃描只適用於全波長模組。

測量參數如下：

- Wavelength From:開始測量的波長範圍
To: 終止測量的波長範圍
Step:輸入波長間隔
- Read Number of Read: 儀器氙氣燈泡閃爍次數 (1~100)
Settle time:從微盤移動到開始測量的時間，可從 0~1000ms 設定，建議在 96 微盤進行吸光實驗時使用。
- Label Name:實驗的標定名稱

Fluorescence Intensity 螢光



▼ Fluorescence Intensity

Wavelength

Excitation: 485 nm (90)

Emission: 535 nm (200)

Read

Number of reads: 10

Settle time: 0 ms

Mode

Top

Bottom

Gain

Manual gain: 66

Optimal

Calculated from well

Integration

Lag time: 0 μs

Integration time: 20 μs

Label

Name: Label1

螢光測量可用來測量螢光訊號值的強度。

螢光測量參數如下：

- Wavelength** 利用下拉式選項可設定特定的激發光和散射光波長。
- Read** 可設定特定的 Number of Read 和 Settle time
- Mode** 依據機器內建裝置，選擇上方或下方判讀
- Gain** 螢光訊號值放大倍數設定，可選擇 3 種模式：
Manual Gain:可在 1~255 數值間以數字鑑設定
Optimal:由軟體自行定義放大倍數，避免訊光雜訊值過高，建議初次使用者利用此選項來進行設定。
Calculated from well:可從特定 well 計算出最適合的整盤的放大倍數值。
- Integration time** 可設定 Lag time 和 Integration time，一般螢光設定值為 0(Lag time) · 40(Integration time)，此選項通常是應用於 TRF 實驗，時間可依據 kit 推薦再進一步設定。
Lag time:等待多少時間的訊號(通常微 0~2000 μ s) · TRF 實驗通常 $\geq 40 \mu$ s
Integration time:要接收多長時間的訊號 (通常微 20~2000 μ s)
- Label** Name:實驗的標定名稱

Fluorescence Intensity Scan 螢光光譜掃描

螢光光譜掃描只適用於全波長模組。

螢光光譜掃描參數如下：

- Scan Selection** 可選擇掃描激發光或掃描散射光兩種形式

Excitation Wavelength	輸入激發光波長進行散射光光譜掃描
Emission Wavelength	輸入散射光波長進行激發光光譜掃描
Mode	選擇上方或下方判讀
Integration time	可設定 Lag time 和 Integration time · 一般螢光設定值為 0(Lag time)·40(Integration time)·此選項通常是應用於 TRF 實驗 · 時間可依據 kit 推薦再進一步設定。 Lag time:等待多少時間的訊號(通常微 0~2000 μ s) · TRF 實驗通常 \geq 40 μ s Integration time:要接收多長時間的訊號 (通常微 20~2000 μ s)
Gain	螢光訊號值放大倍數設定 · 可選擇 3 種模式: Manual Gain:可在 1~255 數值間以數字鑑設定 Optimal:由軟體自行定義放大倍數 · 避免訊光雜訊值過高 · 建議初次使用者利用此選項來進行設定。 Calculated from well:可從特定 well 計算出最適合的整盤的放大倍數值。
Read Label	可設定特定的 Number of Read 和 Settle time Name:實驗的標定名稱

Luminescence 冷光

冷光模式可用來測量酵素標定物的冷光強度

冷光測量參數如下：

Attenuation	冷光強度太強可藉由低密度 filter 降低濃度 · 可由 OD1(可藉由 1 decade 的 dynamic range)或 None 選項來調整
Integration time	可設定訊號接收時間
Settle time	可輸入下次要開始測量的時間

Luminescence Dual Color 雙色冷光

雙色冷光可用來測量在同一時間內，提供 2 種不同光束的波長，選擇如下

Green (510~540nm, Chroma-Glo, BRET²)

Magenta (375~450/ 610~700nm, Chroma-Glo, BRET²)

Blue1 (370~480nm, BRET)

Green1 (520~570, BRET)

雙色冷光測量參數如下：

Parameter 選擇 Green 或 Magenta filter 並設定 Integration time，也可在測量前輸入 Settle time

Label 輸入實驗的標定名稱

Temperature 溫控

溫控設定可以依據實驗需求調整溫度參數，並且可以隨時顯示儀器的溫度變化。

溫控設定參數如下：

On/ Off 選擇 on 開始升溫至所要的溫度範圍

Temperature 可 key in 所需之溫度或利用下拉式選擇

Shaking 震盪功能

震動設定可以依據實驗需求調整震盪時間以及模式。

震動設定參數如下：

- Duration 可從 1~999 秒間選擇所需之震盪時間。
- Mode 利用下拉式選擇線性或是圓弧。
- Amplitude 可選擇所需之振幅，振幅越短頻率越大。

Injection 注射器

可利用分注器功能，搭配 well 模式，分注每一孔位後立刻判讀。

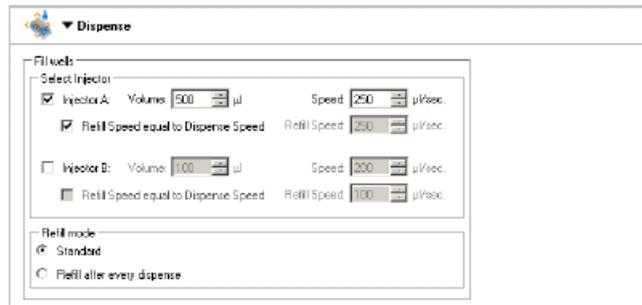
注射器設定參數如下：

- Select Injector 可選擇 A 或 B
- Volume:選擇要待測試劑所需分注之體積
- Speed:選擇分注流速
- Refill speed equal to injector speed:如果分注速度很慢，可利用此選項讓分注器補充速度變快。
- Refill mode 每次分注後可利用標準或再填滿裝置。
- Standard:依據分注器體積進行注射，等到分注器空了，才補充一次
- Refill:每次分注後都要將注射器填滿。

Dispense 分注器

分注整盤後接續其他動作，如振盪，等待或判讀

注射器設定參數如下：



Select Injector 可選擇 A 或 B

Volume:選擇要注射至單一個微孔內之體積

Speed:選擇液體注射之速度

Refill speed equal to injector speed:如果注射速度很慢，可利用此選項讓注射器補充速度變快。

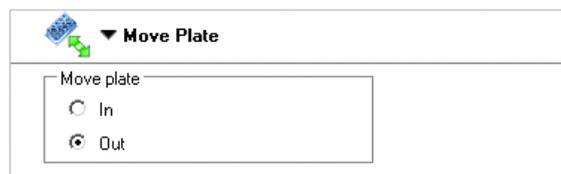
Refill mode 每次分注後可利用標準或再填滿裝置。

Standard:依據注射器體積進行注射，等到注射器空了，才再補充一次

Refill:每次注射後都要將注射器填滿。

Move Plate 移動微盤

如果是在工作流程中需要移動微盤，可插入微盤移動選項控制微盤進出儀器。



Kinetic Cycle 酵素動力循環

如果實驗設定需要長時間觀看酵素反應變化，選擇方式可依據循環的次數或是時間

點。



Kinetic Cycle

Cycles

Number of cycles

Duration: 00:01:00 (hh:mm:ss)

Kinetic Interval

Use kinetic interval

酵素動力循環設定參數如下：

Number of cycles key in 或下拉式選擇所需之循環次數

Duration 以小時分鐘或是秒數來設定設量的時間

Kinetic Interval 以小時分鐘或是秒數來輸入每次測量的間隔時間差

Kinetic Condition 酵素動力條件

可決定在酵素動力循環中要插入特定的實驗設定。

Comment 註解

可針對實驗測量寫一些文字註解。



Comment

Comment:

User Request 使用者需求設定

可讓使用者在實驗進行過程中的特定時間出現一些使用者需求設定，可當作一種提示訊號。

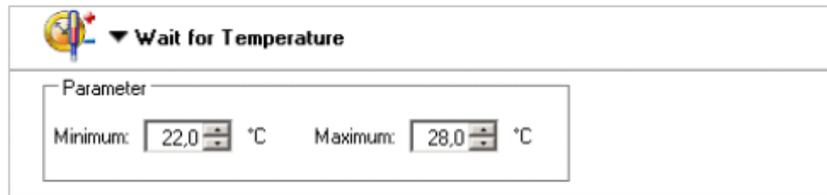


User Request

Text:

Wait for Temperature 等待溫度

可設定實驗判讀需等待機器升溫到特定溫度才開始判讀



The screenshot shows a software window titled "Wait for Temperature". It contains a "Parameter" section with two input fields: "Minimum: 22,0 °C" and "Maximum: 28,0 °C".

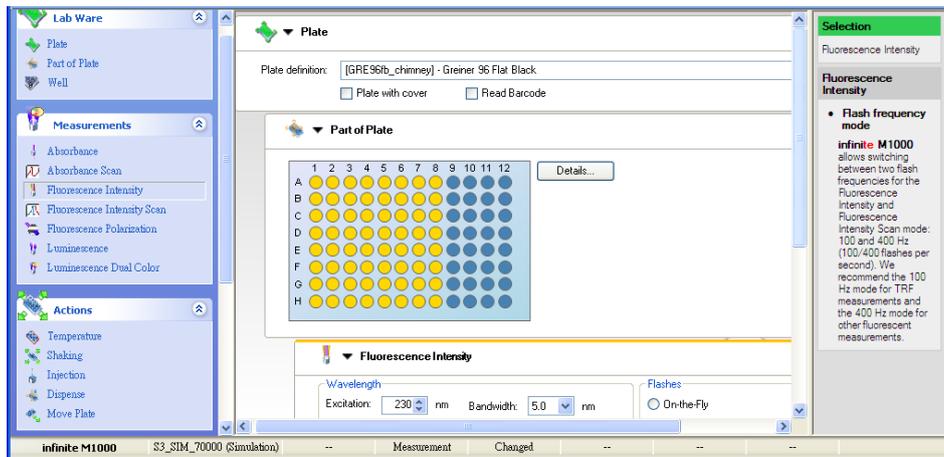
Wait for Timer 等待時間

可在進行下一步驟前，提醒顯示特殊時間點到達，可輸入所需之時間



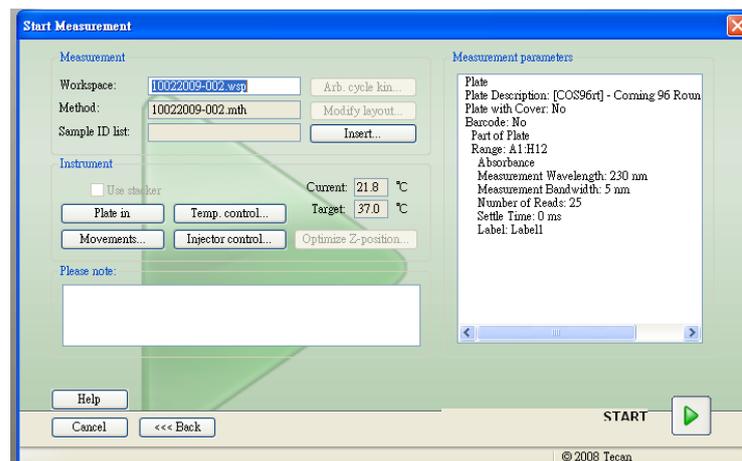
The screenshot shows a software window titled "Wait (Timer)". It contains a "Time" section with a "Wait time" input field set to "00:00:15 (hh:mm:ss)". To the right, there is an "Options" section with two checkboxes: "Wait for injection" (checked) and "Ignore wait at last kinetic cycle" (unchecked).

以上為在軟體畫面左邊的控制列介紹，畫面中間位置為**工作流程執行區塊**，



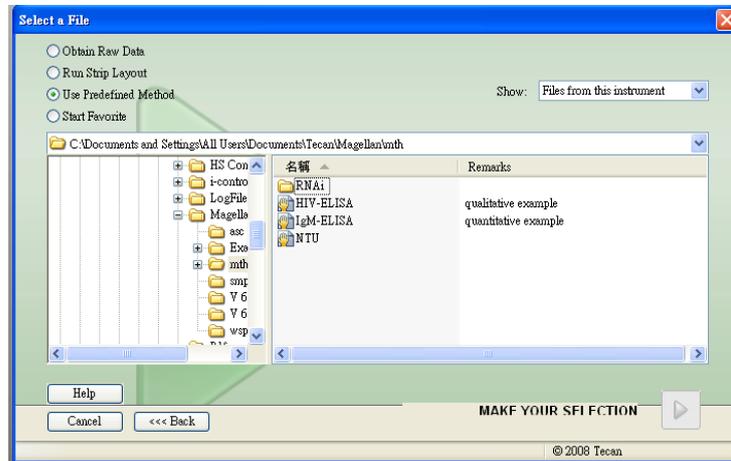
可從左手邊的控制列拉取所需要的測量參數，在要移動的選項連續按兩下按鍵即可自動放到工作流程的最底部；如果利用下拉式選項，即可移動至要放置的位置。所有的工作流程都是有次序的依序工作流程排列。如果工作流程順序有發生邏輯上的錯誤，在畫面右手邊的**Info pane** 就會出現警告提醒訊息，可以點選以得知詳細的錯誤訊息即無法進行測量。

完成後，按下 NEXT 鍵即可進入以下畫面開始執行原始數據之判讀。



1.2 Use Predefined Method 可讓操作者從已編輯好之程式執行檔選擇所需檔案名稱執行

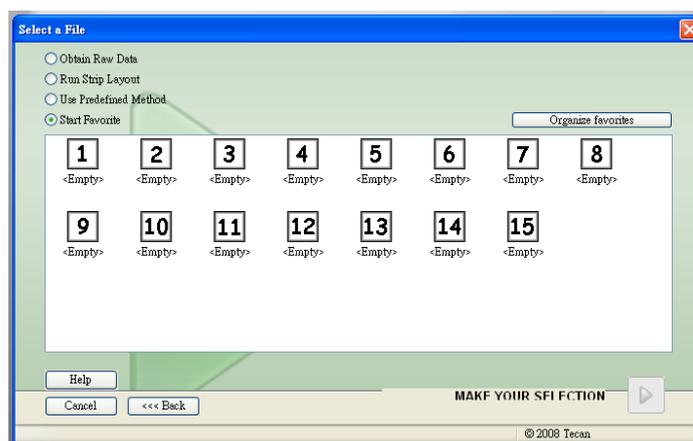
測量判讀，進入選項後會出現以下視窗：



可自行點選所需執行檔名稱，開始進行判讀。

1.3 Start Favorite 可讓使用者從已編輯好之程式執行檔建入 15 個常用的程式將之設定為

我的最愛來開啟，進入選項後會出現以下視窗：

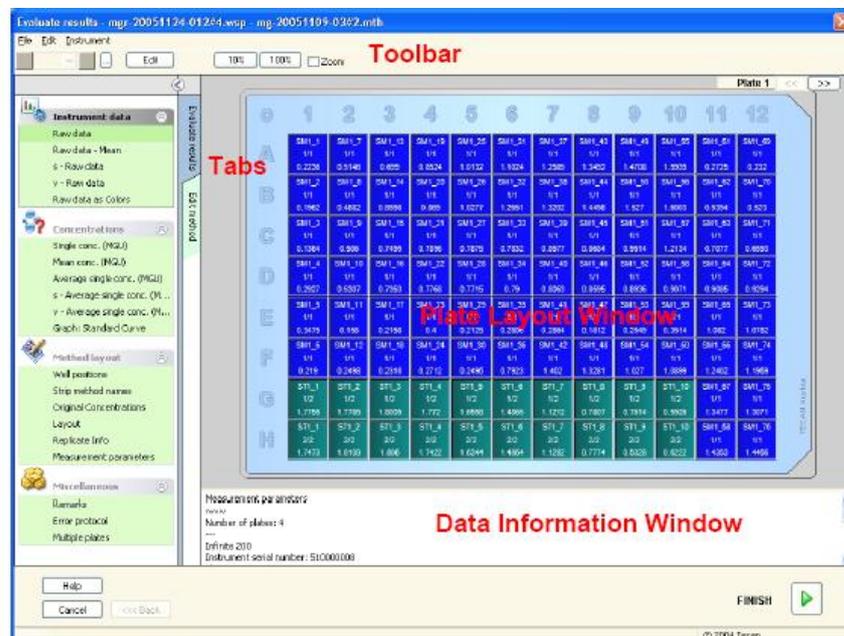


可自行點選所需執行檔名稱，開始進行判讀。

2. Evaluate Result Wizard 評估結果數據

若想要查看判讀後的數據結果，可在主畫面點取 Evaluate Result Wizard，點選要開啟的檔案名稱後(副檔名為 wsp)，即可針對數據進行評估或修改，此功能可方便讓使用者先利用機器得到原始數值後在進行運算編輯動作。

Wsp Workspace 進入主畫面瀏覽如下：



在評估數據的模式裡，可讓使用者針對以下幾點做修改：

左手邊的 **Control Bar** 包含所有可實驗相關修改的參數

Plate Layout Window 樣品擺放位置、數量和形式。

Toolbar 在畫面最上方顯示的選項為較常用的幾種功能，可用來編輯，放大或縮小，切換不同動力學次數間的數據。

Edit：可進入對結果數值進行修改

10 % : 可將視窗大小所放為 10 %

100 % : 可將視窗大小所放為 100 %

Zoom : 可利用滑鼠左鍵拖曳框取特定區域來放大顯示。

Data information 視窗顯示測量參數，統計分析等訊息。

Control Bar of Evaluate Results 螢幕左手邊顯示所有數據資料，選項取決於實驗測定類

型，其中包含以下資訊：

Instrument data 原始數據

吸光值，螢光值，冷光讀值。

雙波長測量

統計數據 (平均值，標準偏差，誤差值...等)

顏色深淺表式濃度

酵素動力曲線圖

掃描結果的波峰圖

Reduced data 運算後之數據

雙波長測量結果相減

螢光偏極光實驗運算

Transformed data 數據運算

可用來進行數據結果加減乘除之運算

可提供運算結果

運算統計

以顏色顯示

顯示酵素動力學圖示

Kinetic parameter 酵素動力學設定參數

平均斜率

適合度檢測

相關係數

最大斜率

時間最大斜率

Onset OD

最小及最大時間斜率

曲線下面積

Control Bar of Edit Method 可在重新設定或顯示載入之測量參數。

所有修改過的數據，按下 NEXT 鍵，即可線上即時修改數據結果。

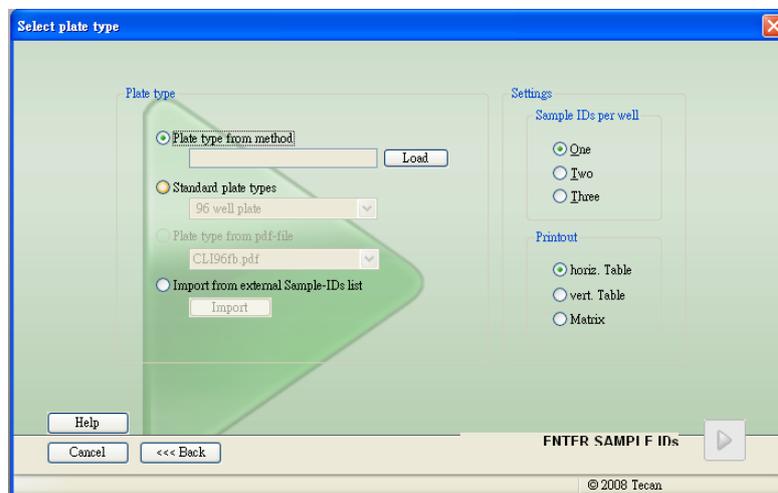
3. Attach Signature Wizard 附加簽名檔 (此功能只提供臨床單位使用)

可讓使用者針對工作文件附加簽名檔，此功能只提供在 Magellan Tracker 版本提供。

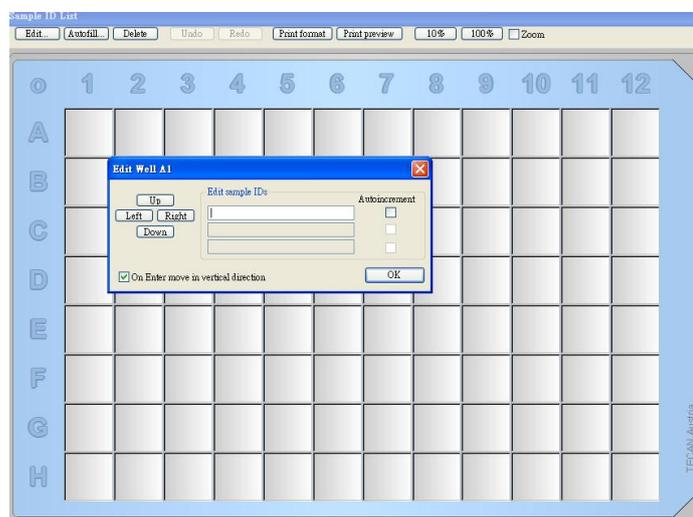
4 Create/Edit a Sample ID List Wizard 新增或編輯樣品清單

可利用此功能來針對各種樣品進行編輯管理，可選擇新建樣品清單列表或是編輯現存的清單列表做修改。

4.1 Create New Sample ID List · 建立新的樣品列表清單介面，利用下拉式選項，選擇實驗用的微孔盤格式。其他注意參數包含右手邊選項，選擇每個孔徑所需要的樣品列表資料數（一個樣品可 3 種分類編碼），表格形式（水平、垂直或是矩陣式）



4.2 Edit a Sample ID List 編輯樣品清單管理，一個樣品做多可給 3 種分類編碼；利用 Autofill 自動填滿選項，樣品清單會依序流水號以垂直或平行方向自動填滿。



4.3 Import a Sample ID List 軟體可允許檔案格式鍵入樣品清單管理，以下格式類型。

4.3.1 Easy-Files.esy

4.3.2 Tecan-files.tpl

4.3.3 DD1-Files.dd1

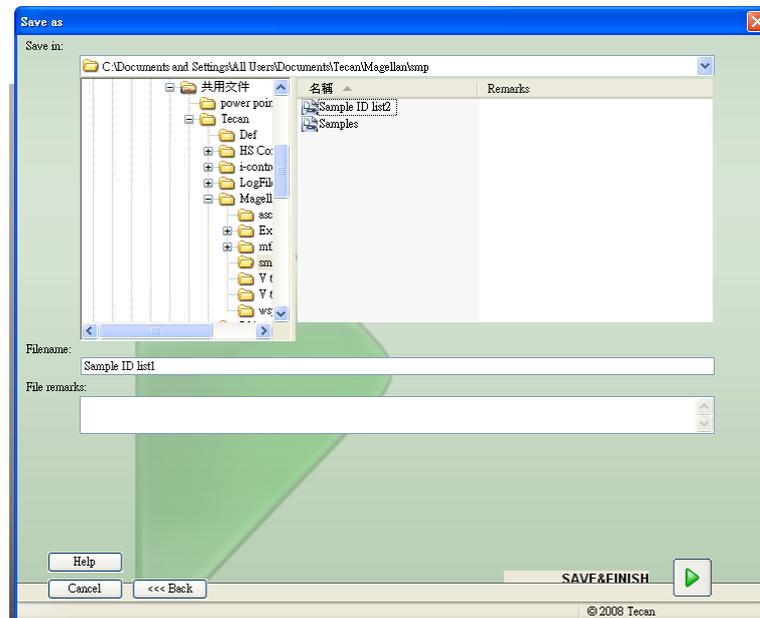
4.3.4 Hamilton-Files.pro

4.3.5 APL-Files.apl

4.3.6 Gemini-Files.apl

4.3.7 Custom Format Files.txt

4.4 Saving the Sample ID List 編輯好的樣品清單可儲存於適當的檔案夾，方便後續使用。



5 Create/Edit a Method Wizard 新增或編輯程式執行檔

可利用此功能選擇新增(New)或利用現有之程式執行檔做編輯修改(Open)。主要的工作

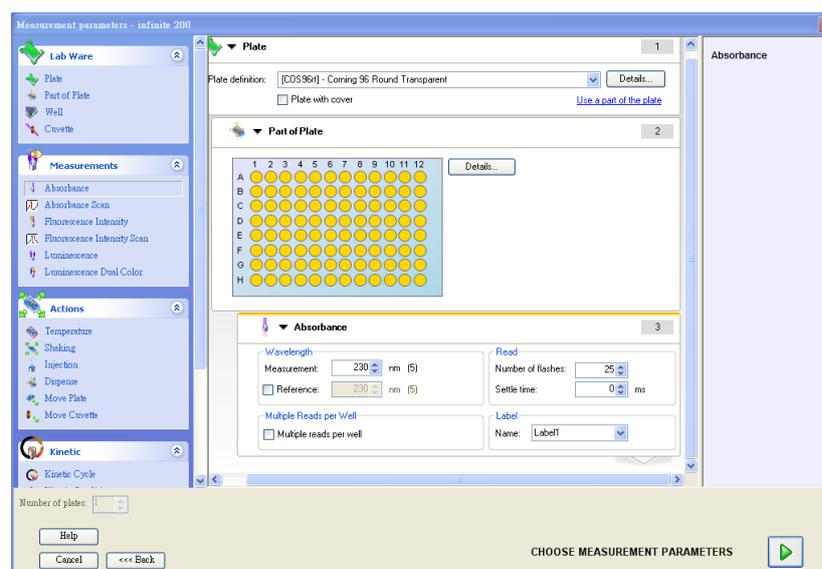
清單包含以下流程：

- 點選建立新程式(New)
- 設定測量參數
- 定義樣品擺放位置、數量和形式
- 選擇報告列印格式
- 設定自動資料處理，選擇每次測量完後資料會自動列印、儲存或輸出格式。

I. Define the Measurement Parameters 定義測量參數

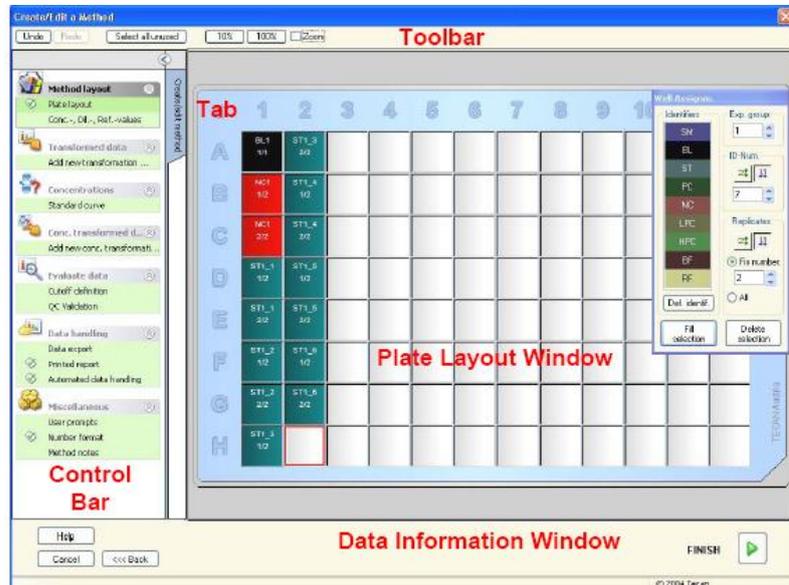
測量參數主要包含實驗所選應用的的微孔盤格式、濾鏡波長、螢光細項設定值。進入

以下畫面選擇測量種類：(設定請詳見第 8 頁)



II. Define Evaluation 定義計算結果所需參數

進入以下畫面即可針對需要計算公式之設定



設定依照螢幕左手邊的提示流程，包含以下順序及概念，步驟性的執行所有設定：

設立樣品擺放位置、數量和形式



定義濃度值或稀釋倍數



數據之加減乘除運算



標準曲線



定義臨界值



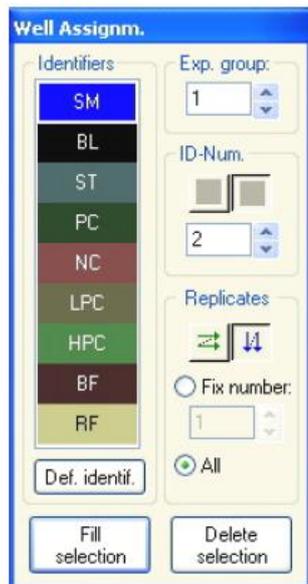
確認實驗標準



數據管理

Define a Plate Layout

在編輯程式執行檔第一步驟，針對每一孔洞內的樣品指定屬性，擺放位置，是否有重覆樣品等。在畫面右手邊會出現以下 Well Assignment，為微盤實驗常見的樣品屬性：



SM	Sample 樣品
BL	Blank 空白對照組
ST	Standard 標準品對照組
PC	Positive Control 陽性對照組
NC	Negative Control 陰性對照組
LPC	Low Positive Control 低陽性對照組
HPC	High Positive Control 高陽性對照組
BF	Polarization Reference Buffer
RF	Polarization Reference

Identifiers 定義樣品屬性：每一個孔洞內的樣品指定屬性。

Experimental Group 實驗群組：如果有超過 1 種測試樣品，就可使用此功能來區分不同的實驗群組。

ID Number 識別號碼：用來定義樣品啟始編號。

Replicates 重複方式：設定重複之依序為水平或垂直的排列組合方式。

Fix Number 重複數量：設定重複數量。

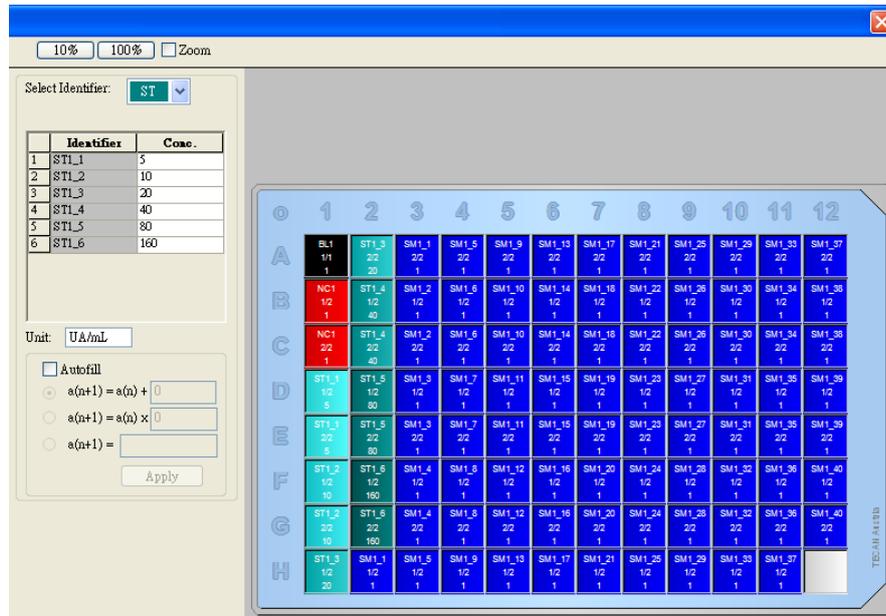
設定之範例如下：在辨識符號選擇所需符號，之後在重複選項中點選數量及排列順序，

利用滑鼠在視窗上選擇所要設定範圍或直接點選單獨位置，選取好之後，按下 Fill

Selection 按鍵及完成設定。

Define Conc., Dil. and Ref Values

確認樣品格式後，若實驗中有放置 ST 標準品對照組，則可進入此功能定義配置之已知濃度的標準品對照組。或是亦可用來定義樣品稀釋倍數值。



Identifiers 辨識符號：選擇所要設定之濃度之辨識符號。

Conc 濃度值：鍵入濃度值

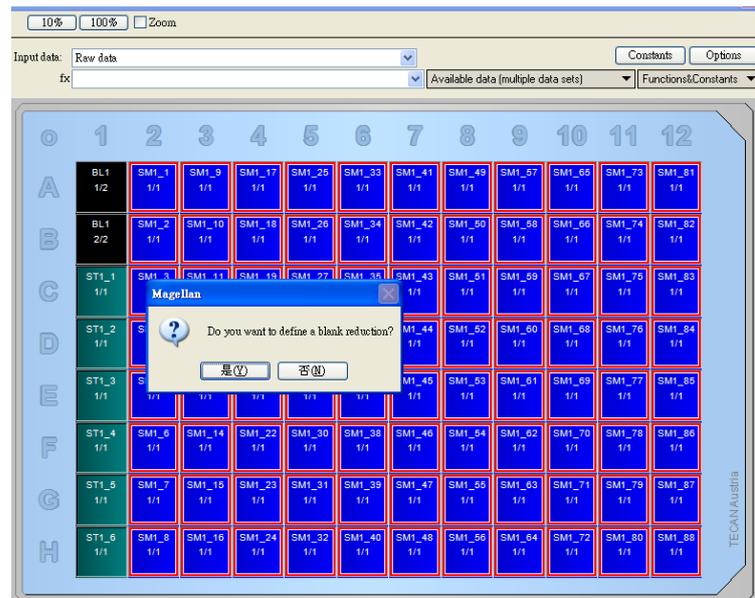
Unit 單位：鍵入濃度單位

Autofill 自動填入：可選擇等級差數或等比級數方式自動增加數值。選擇好之後，按下

Apply 按鍵及完成設定。

Transformation Data

可透過此功能進行樣品加減乘數等計算參數，若實驗中有放置 BL 空白對照組，則可進入此功能會自動顯示 **Do You Want To Definite a Blank Reduction** 選項，進行空白對照組之扣除。



如果針對數據還有其他加減乘除運算的話，可透過畫面上方的選項來進行運算。

Input Data 資料來源：透過下拉式功能選擇計算公式所需之資料種類

Fx 計算公式欄：類似 excel 編輯概念，包含公式所需之計算符號，函數及變數名稱。

設定之範例如下：按下 Transformation data 選項，在選擇 Input Data 選擇 Raw

data，在公式欄中輸入計算公式。例如 x-BL1 (x 代表所有選取的位置，BL1 代表空白

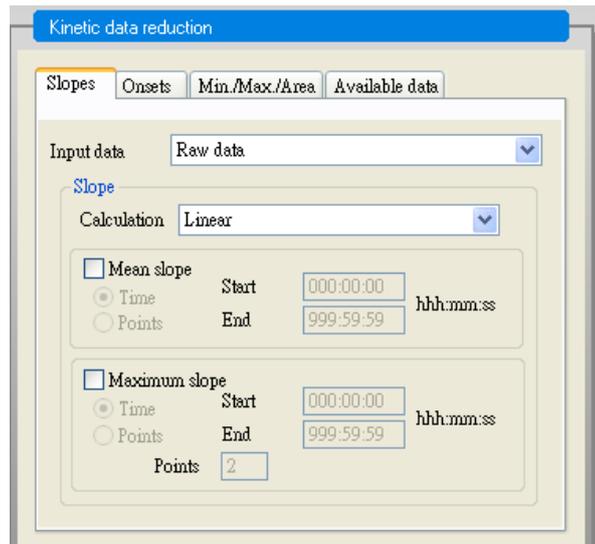
對照組第 1 支，表示所選取的位置減去空白對照組的讀值)，利用滑鼠在視窗上選擇所

要設定範圍或直接點選單獨位置，選取好之後即完成設定。

Transformation Data – Kinetic Data Reduction

如果實驗為酵素動力學相關的多點測定值，可透過 kinetic data reduction 參數，進行

斜率、最小/最大/區域...等模式設定，按下選項後出現以下視窗：



Slopes 斜率：提供兩種斜率計算公式(線性或是二次方程式 Linear/Quadratic)·設定在開始及結束時間內的循環次數·再套入計算公式所畫出來的斜線。

Onset OD: 設定計算 OD 值開始增加或減少的時間·並得知要達到某個 OD 值需時間。

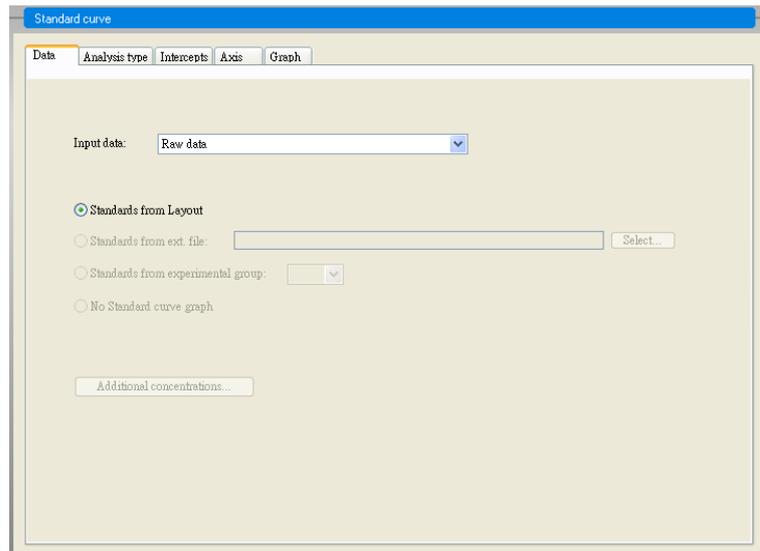
Min/Max 最小及最大表：依據所設定之點數數量得知最小及最大 OD 值。

Area Under Curve 曲線下面積：可計算從開始至結束循環反應的曲線下面積。

Available Data 可提供輸出資料：提供之前設定後可輸出之資料。

Standard Curve

用來定義於定量實驗時之標準線性相關參數·以方便將樣品的 OD 數值套入已知濃度的標準品轉換成濃度值·按下選項後出現以下視窗：



設定包含資料、分析形式、座標等選項

Data 資料：選擇線性資料來源，如果剛剛在 Transformation Data 有勾選扣除 BL 空白對照組，Input data 則要利用下拉式選項選取 Blank Reduction。

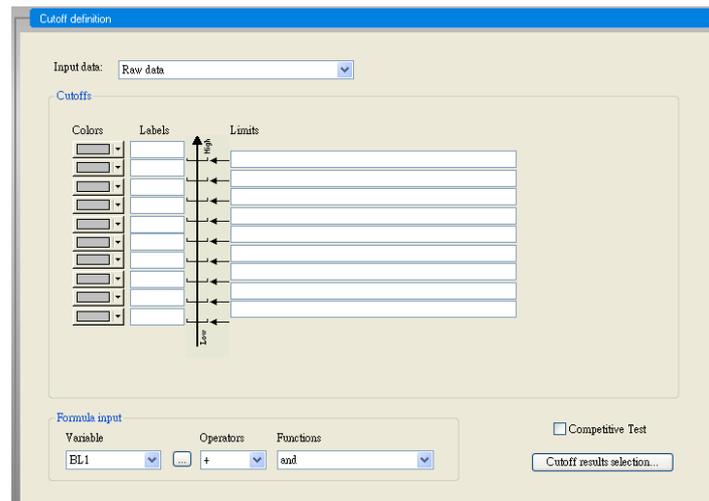
Analysis Type 分析形式：軟體可依據酵素免疫分析套組產品說明書，提供 10 種常用的線性計算方式以供選擇(詳見第 36 頁)。也可點選 Extrapolation 外插法增加計算範圍，以算出超出標準線性之樣品濃度值，鍵入 1 代表可增加 10%計算範圍。

Axis 坐標軸：可定義 X 軸及 Y 軸的名稱及刻度。

Graph 圖表名稱：定義圖表細項設定，例如圖表名稱，顏色及字型大小等。

Cutoff Definition

若用來定義於定性實驗時，實驗通常會配置幾組陽性或是陰性對照組，可藉由臨界值相關參數定義固定數值或公式，比較樣品與臨界值得知定性結果。按下選項後出現以下視窗：



Input Data 資料來源：選擇資料來源，如果剛剛在 Transformation Data 有勾選扣除

BL 空白對照組，Input data 則要利用下拉式選項選取 Blank Reduction 或是其他。

Color 顏色：可使用不同顏色來做臨界值區分，當樣品套入公式得到定性結果後，就可以顏色顯示。

Label：可自行定義臨界值的顯示名稱。

Limit 計算公式：定義臨界值的計算公式，可直接輸入常數或是公式。

Competitive 競爭型試驗：若實驗設定為競爭型試驗，就會將讀值較高的顯示為，陰性讀值較低的顯示為陽性。

QC Validation

可讓使用者定義檢查實驗操作是否正確，通常用來確認實驗操作的品質確校。按下選項

後出現以下視窗：

Input Data 資料來源：選擇資料來源，如果剛剛在 Transformation Data 有勾選扣除

BL 空白對照組，Input data 則要利用下拉式選項選取 Blank Reduction 或是其他。

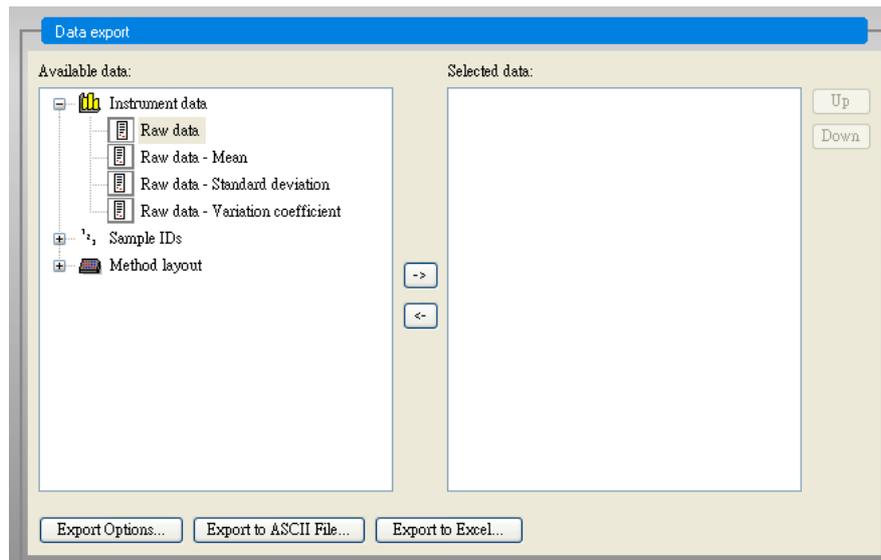
Validation Group 確認標準號碼群組：定義確認標準公式號碼，用以區分輸入資料來源之不同。

Validation Formula 確認標準公式：可設定多達 10 個公式，如果經計算後與確認標準不同，螢幕會以 TRUE 或 FALSE 顯示警告視窗。

Data Handling

可讓使用者自行定義報告輸出，列印或存檔格式

Data Export：可自行選擇輸出至 Excel 或 ASCII 檔案之格式及排列方式。將所需輸出之數據按雙右鍵從 Available data 欄位拖曳至 Selected data 欄位，輸出之格式可依據需求以平行 (Horizontal)或垂直 (Vertical)方向並以條列式 (Table)或矩陣式 (Matrix) 做排列。



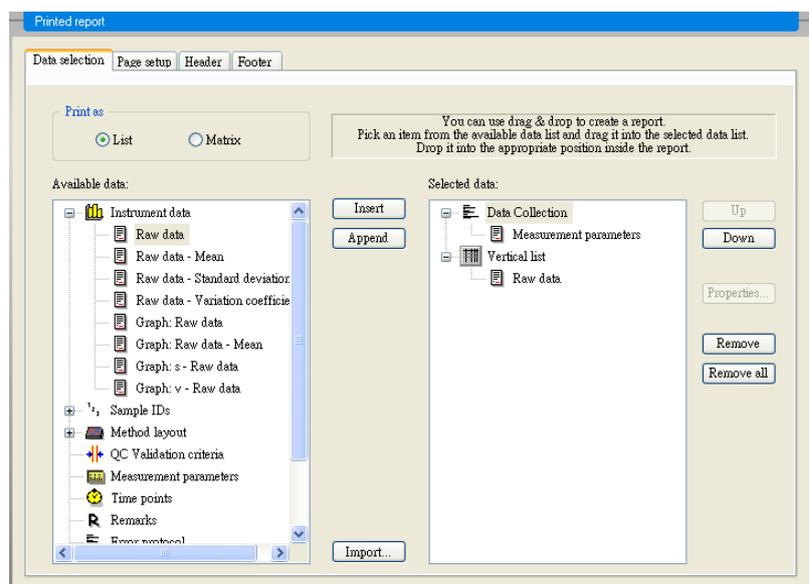
Printed Report : 可自行編輯報告列印格式

Data Selection : 設定報告設定資料表 · 先設定以條列式 (List)或矩陣式 (Matrix)做列

印排列 · 將所需輸出之數據從 Available data 欄位利用插入(Insert)或附加(Append)

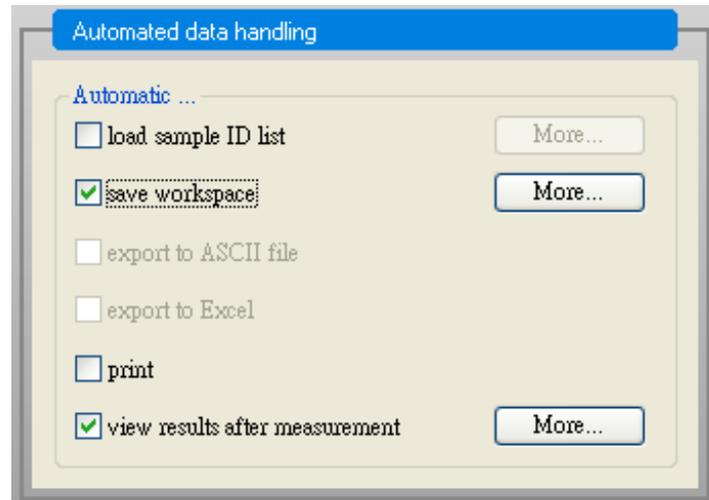
至 Selected data 欄位 ·

Page Set Up/Header/Footer : 設定報告設定的表頭/頁尾 · 間隔排序等細項設定 ·



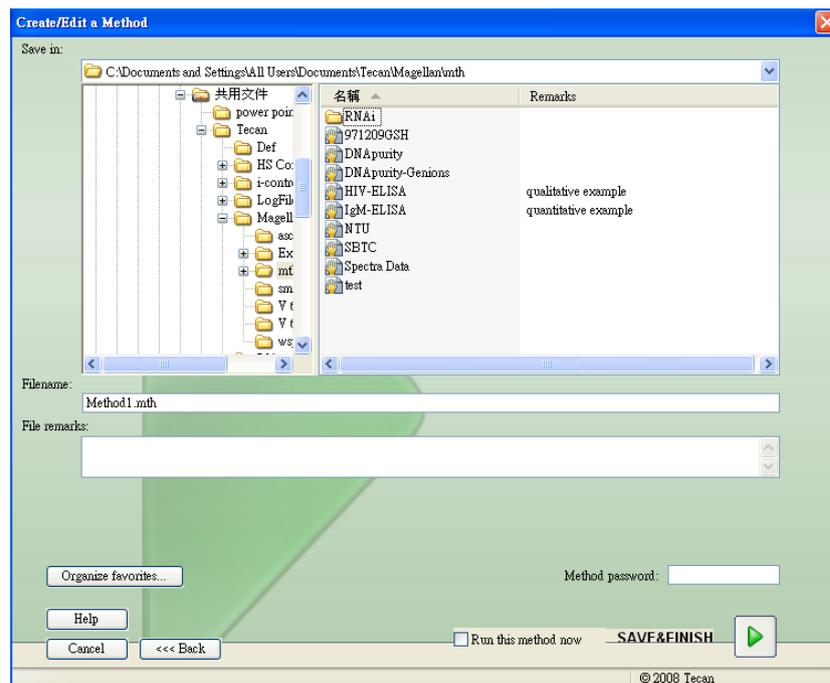
Automated Data Handling : 可設定自動資料處理 · 點選所需要自動處理的項目 · 測

量後可自動執行存檔、列印或輸出等。



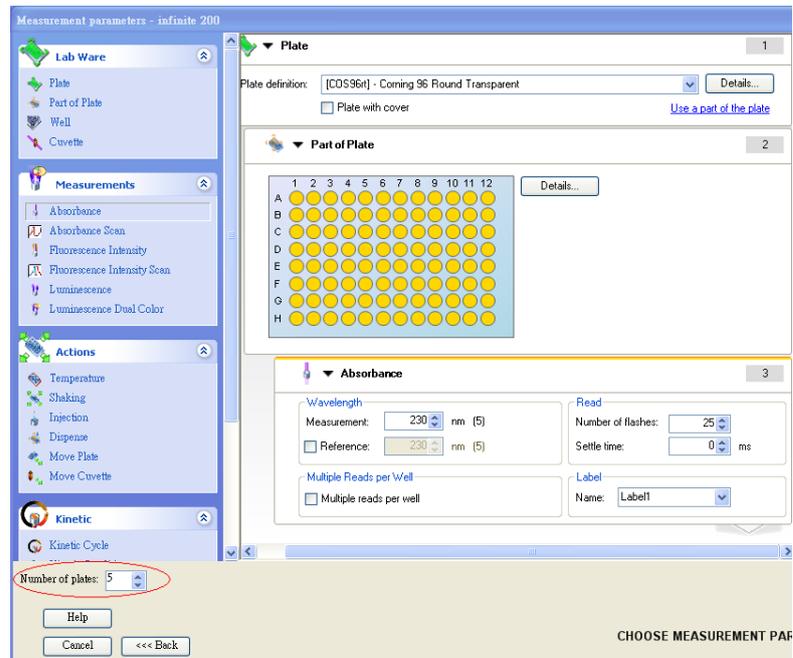
III. Saving the Method 檔案儲存

所有測量參數及計算公式都編輯完成後，即可按下 NEXT 鍵將方法執行檔進行存取動作。軟體可允許自行定義檔案放置位置及檔名，以方便不同使用者使用。下次只需從 Start Measurement Wizard 裡的 Use Predefined Method 裡開啟存檔過之方法執行檔即可進行判讀。

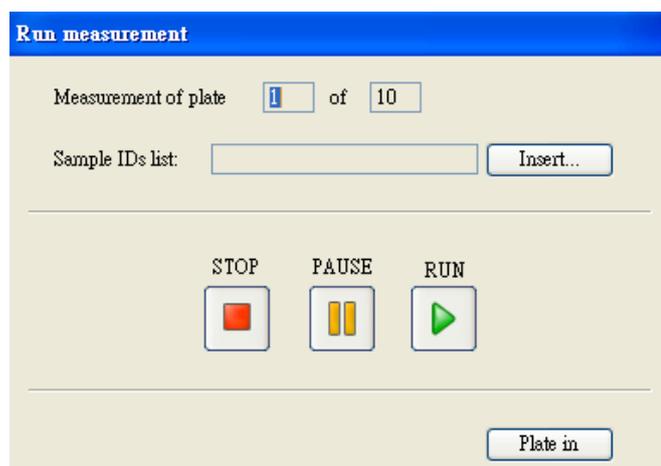


IV. Multiplate Methods 多盤測量模式

若 TECAN 判讀儀為 Infinite 系列或 Safire² 等級可支援多盤測量模式，選擇方式為編及參數的左下方，鍵入所需之待測微孔盤數量。



開始測量後會在每個微孔盤測定間隔跳出提醒裝置



四 常見之運算公式

Magellan 麥哲倫軟體為一套具有數據運算操作功能的軟體。此章節提供一些常見的運算公式以方便使用者撰寫相關程式。

Transformation 工具欄中有下列選項與功能：

Number 每一個計算公式都會有一個程式編號，再新增公式時，首先要給予它一個號碼。

爾後選擇公式只須從公式表中選擇其號碼即可。

Input data 從選單中選取要套用於此公式的值，它可以是測量出的值，平均值或是已定義的轉換程式(defined transformation)。

Output 代表此計算公式結果的名稱。

此選單包含在這個實驗中應用的公式。使用者可從選單中選擇所需的公式，或新增公式。已定義的變數也可在此使用。

Variable 所有可使用的變數表單。(x 代表目前 well 的值)

Operators 所有可使用的運算符號表單。

Functions 所有可套用的運算功能表單。

Set

將公式設定於選取的區域中。

Delete

將選取區域中的公式刪除。

1. 常用的公式運算符號如下：

加	+
減	-
乘	*
除	/
次方	^
小於	<
小於等於	<=
大於	>
大於等於	>=
相等	= =
不等於	!=
等於	=

例如：

If (x = = 0.000), then x = 1.000 · 如 x 的值是 0 時 · 則把 x 的數據設為 1

x^y 設x的次方為y · 例： 3^2 = 9

2. 標準曲線分析形式

軟體可依據酵素免疫分析套組產品說明書 · 提供10種常用的線性計算方式以供選擇。

細項公式如下：

2.1 Point to Point

$$f : [x_1, x_n] \rightarrow \mathcal{R}$$

$$x \mapsto y_i + \frac{y_{i+1} - y_i}{x_{i+1} - x_i} \cdot (x - x_i) \quad \text{if } x \in [x_i, x_{i+1}]$$

2.2 Linear Regression

$$f : [x_1, x_n] \rightarrow \mathcal{R}$$

$$x \mapsto A \cdot x + B$$

where A and B are determined by minimizing the error function

$$err(A, B) = \sum_{i=1}^n (f(x_i) - y_i)^2$$

The solution is unique if

$$rank \begin{pmatrix} x_1 & 1 \\ \vdots & \vdots \\ x_n & 1 \end{pmatrix} = n$$

, which is true if $x_i \neq x_j \forall i, j = 1, \dots, n$ (see general condition)

2.3 Non-Linear Regression

$$f : [x_1, x_n] \rightarrow (-b) \rightarrow \mathcal{R}$$

$$x \mapsto \frac{A \cdot x}{B + x}$$

where A and B are determined by solving the linear regression problem for the transformed base points

$$(x_1, \frac{x_1}{y_1}), \dots, (x_n, \frac{x_n}{y_n})$$

Linear regression:

$$g : [x_1, x_n] \rightarrow \mathcal{R}$$

$$x \mapsto k \cdot x + d$$

, minimizing

$$err(k, d) = \sum_{i=1}^n (g(x_i) - \frac{x_i}{y_i})^2$$

The parameters A and B are calculated from k and d by

$$A = \frac{1}{k} \quad \text{and} \quad B = \frac{d}{k}$$

This function f is not continuous at -B.

2.4 Polynomial

$$f : [x_1, x_n] \rightarrow \mathcal{R}$$

$$x \mapsto \sum_{i=0}^{order} a_i \cdot x^i$$

, order = 2 or 3

(n > order)

where a_{order}, \dots, a_0 are determined by minimizing the error function

$$err(a_{order}, \dots, a_0) = \sum_{i=1}^n (f(x_i) - y_i)^2$$

The solution is unique if

$$rank \begin{pmatrix} x_1^{order} & \dots & x_1 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ x_n^{order} & \dots & x_n & 1 \end{pmatrix} = order + 1$$

, which is true if $x_i \neq x_j \forall i, j = 1, \dots, n$

2.5 Cubic Spline

$$\int_{x_1}^{x_2} \left(\frac{d^2 f}{dx^2} \right)^2 dx$$

Minimizes the integral, which is a simplified term for the deformation energy of a spline.

Not-a-knot condition: at x_2 and x_{n-1} also the third derivation is continuous.

2.6 Akima

$q_i = \frac{y_i - y_{i-1}}{x_i - x_{i-1}}$ are the slopes of the linear interpolator between point i and point $i-1$, $i=2, \dots, n$

$$m_i = \frac{q_i |q_{i+2} - q_{i+1}| + q_{i+1} |q_i - q_{i-1}|}{|q_{i+2} - q_{i+1}| + |q_i - q_{i-1}|}, \quad i=3, \dots, n-2$$

Special cases:

Is $q_i = q_{i+1}$, set $p'(x_i) = q_i = q_{i+1}$.

Is $q_{i-1} = q_i$ and $q_{i+1} \neq q_{i+2}$, so is $y'_i = q_i$ (analog for $q_{i+1} = q_{i+2}$).

Is $q_{i-1} = q_i$ and $q_{i+1} = q_{i+2}$, set $m_i = \frac{q_i + q_{i+1}}{2}$.

For the indexes 1, 2, $n-1$, n the slopes cannot be estimated by this algorithm.

Now we have the following conditions for the 3rd order interpolation polynomial p_i , $i=1, \dots, n-1$

$$p_i(x_i) = y_i$$

$$p_i(x_{i+1}) = y_{i+1}$$

$$p'_i(x_i) = m_i$$

$$p'_i(x_{i+1}) = m_{i+1}$$

which are four conditions for each 3rd order interpolation polynomial p_i .

2.7 LogitLog

$$f: [x_1, x_n] \rightarrow \mathbb{R}$$

$$x \mapsto D + \frac{A-D}{1 + \left(\frac{x}{C}\right)^B}$$

for the description of sigmoid correlation of data.

The parameter can be interpreted as:

$$A = \lim_{x \rightarrow 0} f(x)$$

$$D = \lim_{x \rightarrow \infty} f(x)$$

$$f(C) = \frac{A+D}{2}$$

A, D are determined as the minimum respectively maximum (or vice versa if the function is decreasing).

Then the linear regression problem is solved for transformed base points.

$$X = \log_{10} x$$

$$Y = \ln \left(\frac{\frac{D-y}{D-A}}{1 - \frac{D-y}{D-A}} \right)$$

$$g: [X_i, Y_i] \rightarrow \mathbb{R}$$

$$x \mapsto k \cdot x + d, \text{ minimizing the error function}$$

$$err(k, d) = \sum_{i=1}^n (g(x_i) - Y_i)^2$$

The parameters B, C are determined from k, d:

$$B = -m \cdot \log_{10}(e)$$

$$C = e^{\frac{d}{k}}$$

2.8 Four Parameters

$$f: [x_1, x_n] \rightarrow \mathbb{R}$$

$$x \mapsto D + \frac{A-D}{1 + \left(\frac{x}{C}\right)^B}$$

2.9 Five Parameters

$$f: [x_1, x_n] \rightarrow \mathbb{R}$$

$$x \mapsto D + \frac{A-D}{\left(1 + \left(\frac{x}{C}\right)^B\right)^E}$$

五 常見之實驗範例

以下以一個常見的定量 ELISA 為範例：

測定參數如下：

樣品擺放位置、數量和形式如下：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	C3	S1									
B	NC	C4	S2									
C	NC	C4	S2									
D	C1	C5	S3									
E	C1	C5	S3									
F	C2	C6	...									
G	C2	C6	...									
H	C3	S1										

BLK = Blank, NC = Negative control, C1 – C6 = Calibrators (Standards),
S1 – S... = Samples

標準曲線配置如下：

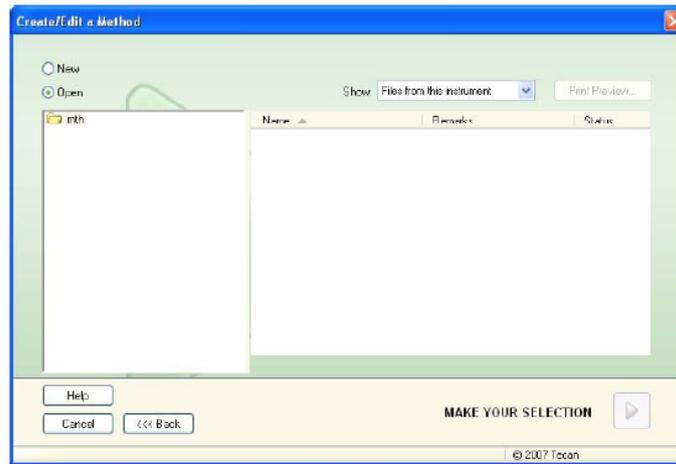
Calibrator 1	5 UA/mL
Calibrator 2	10 UA/mL
Calibrator 3	20 UA/mL
Calibrator 4	40 UA/mL
Calibrator 5	80 UA/mL
Calibrator 6	160 UA/mL

臨界值相關參數設定如下：

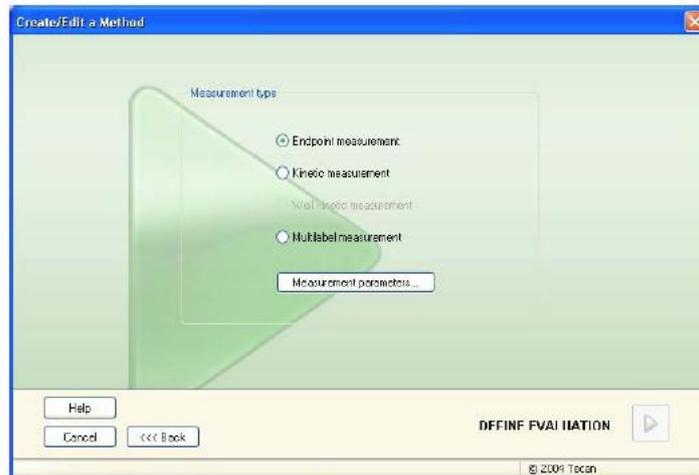
IgM < 18 UA/mL	Negative
18 UA/mL <= IgM < 22 UA/mL	Intermediate
IgM >= 22 UA/mL	Positive

細項的設定參數以圖像顯示如下：

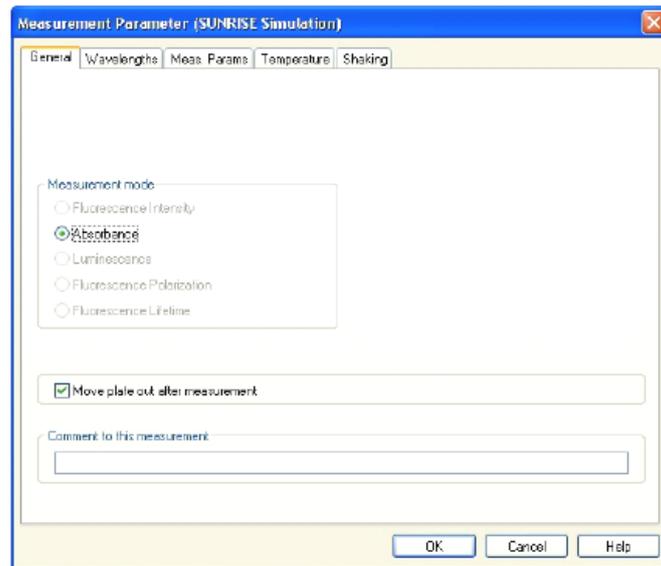
建立一個程式執行檔：



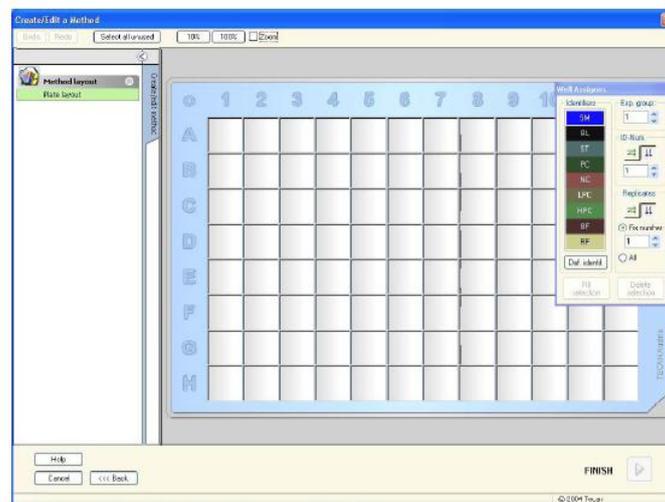
設定測量參數：



定義測量波長來進行吸光模式，也可選擇參考值波長扣除背景值進行雙波長測量模式。



設定樣品擺放位置、數量和形式。在辨識符號選擇所需符號，之後在重複選項中點選數量及排列順序，利用滑鼠在視窗上選擇所要設定範圍或直接點選單獨位置，選取好之後，按下 Fill Selection 按鍵及完成設定。



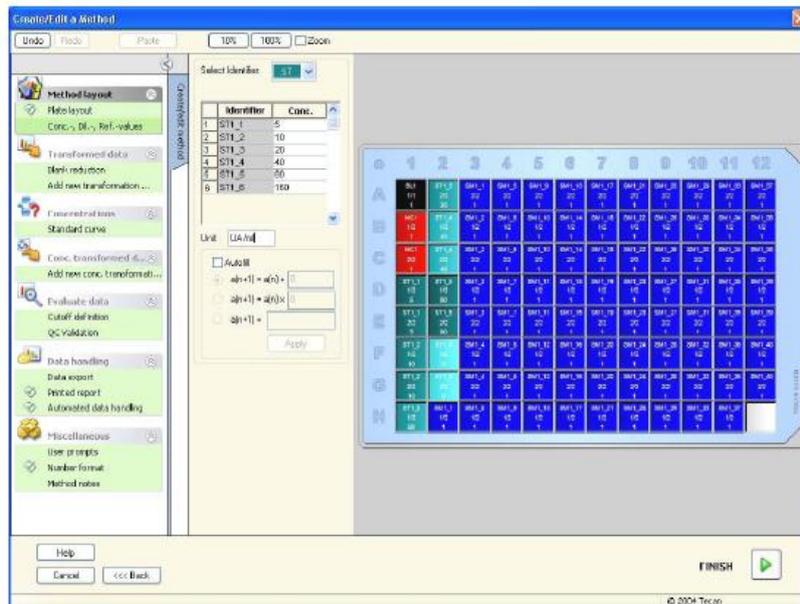
進行空白對照組之扣除，參數編輯為 x-BL1



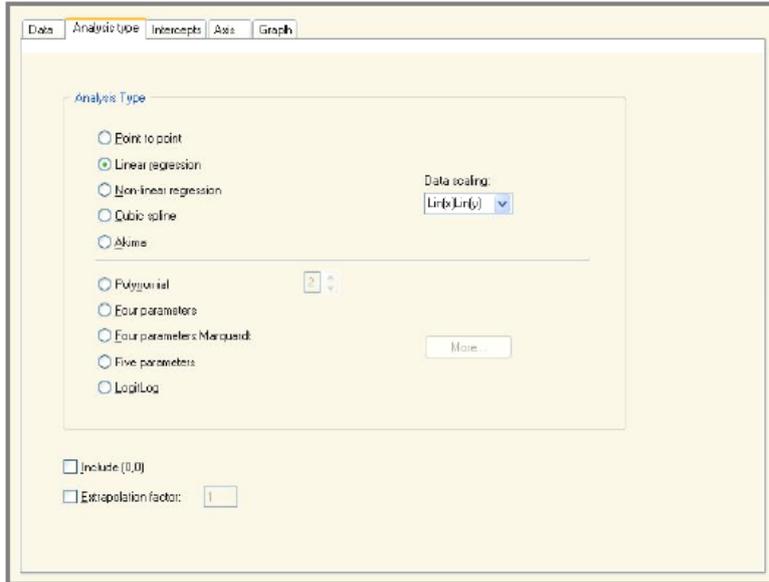
所有空格內都多了 x-BL1 的運算公式



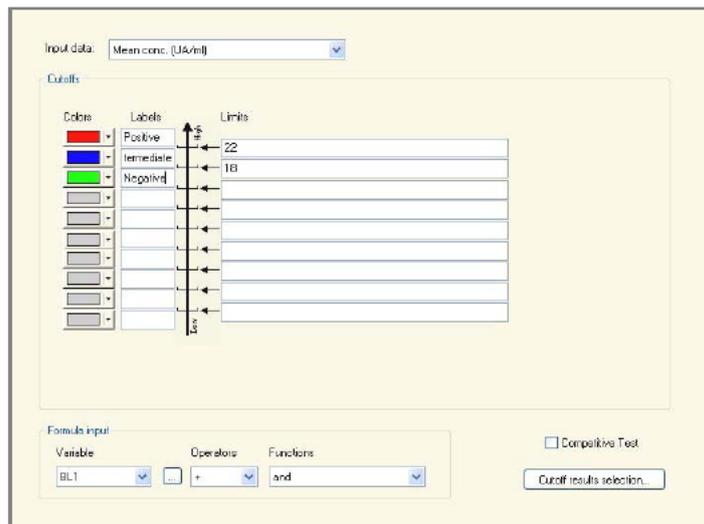
接著依序鍵入標準品對照組濃度



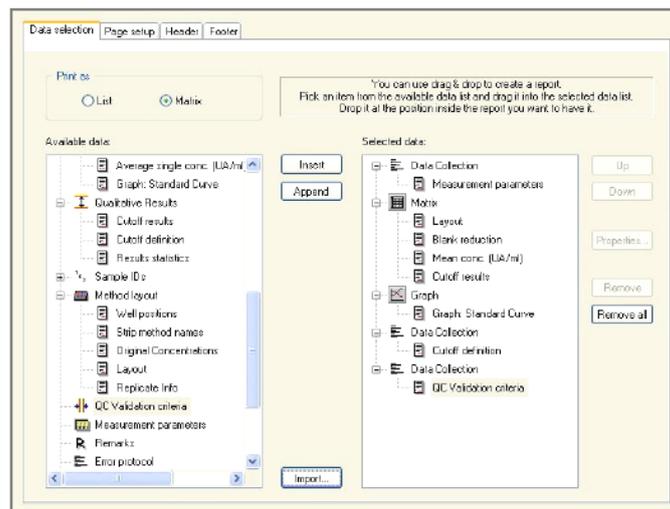
之後依據 kit 建議選擇標準曲線資料、分析形式、座標等選項



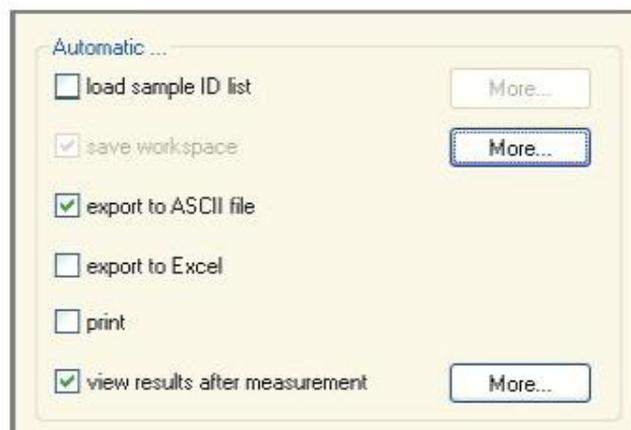
設定臨界值相關參數



自行選擇報告列印格式：



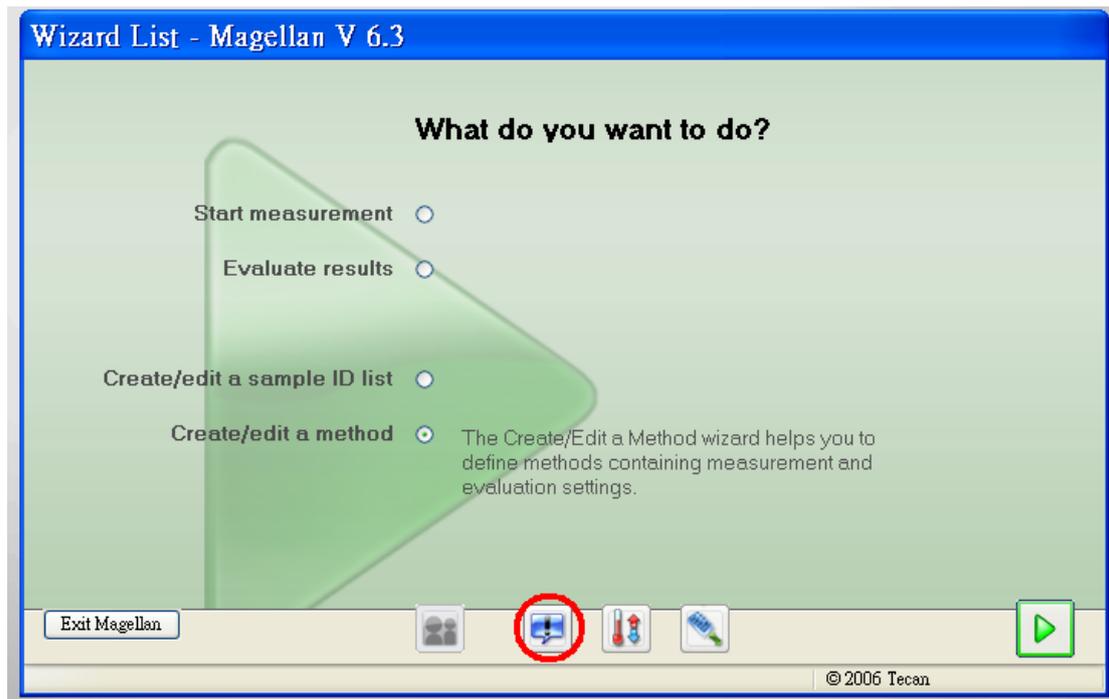
最後選擇設定自動資料處理，點選所需要自動處理的項目



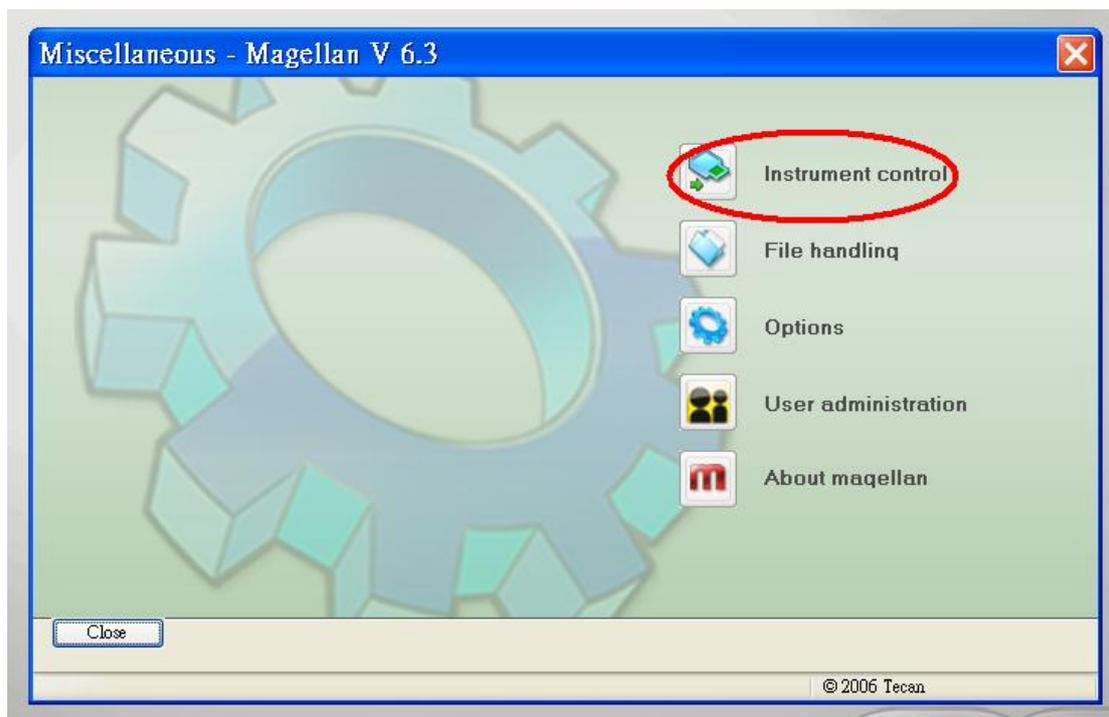
五 儀器電腦未連線

連線設定：

在 Magellan 主畫面，選擇 Miscellaneous (如下圖紅色圓圈)。



進入後，選擇 Instrument Control 選項



進入後，選擇 Change Instrument 選項

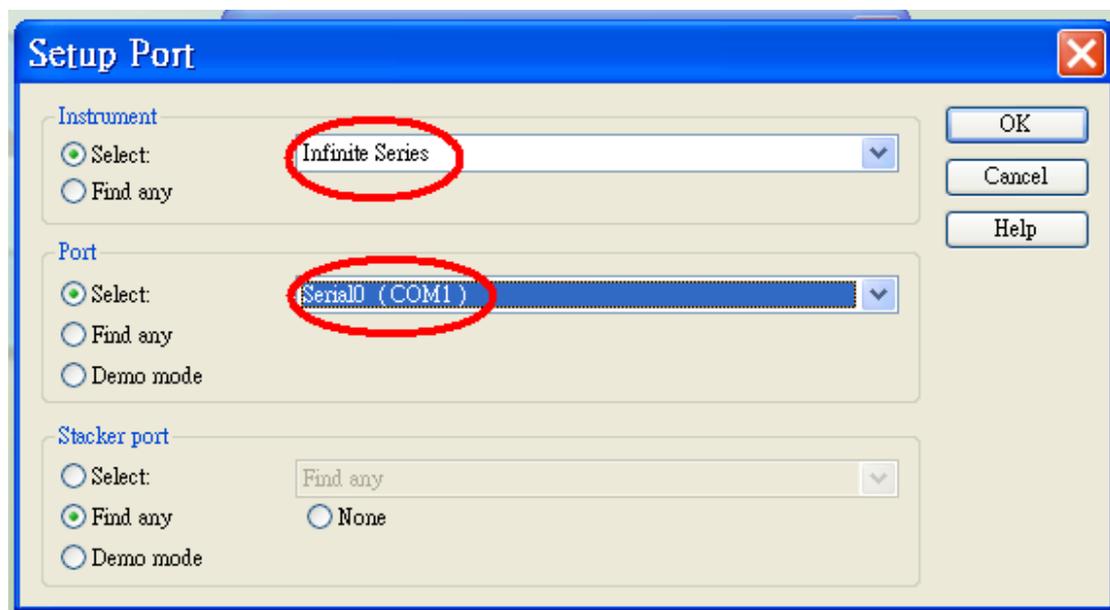


進入後，勾選以下選項：

Instrument 選擇 :Infinite Series

Port: Select: Serial0 (COM1)

按下 OK 會自動搜尋連線的儀器



會顯示出有儀器序號的對話框，點選後按下 OK 鍵及可完成連線動作。