

Infinite 200 Pro Microplate Reader



操作軟體 i-control 操作手冊

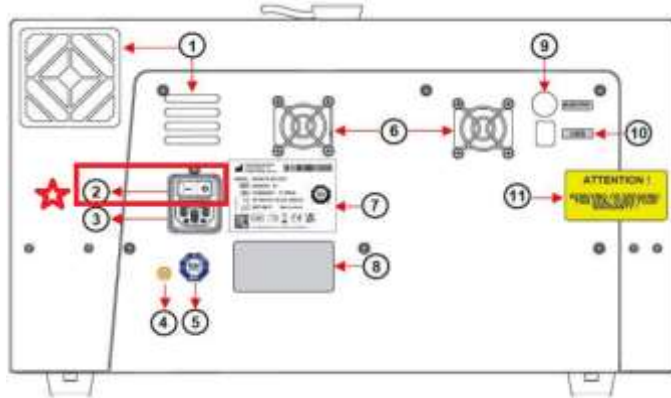
- 一、一般應用 第 1 頁~第 7 頁
- 二、特殊應用 第 7 頁~第 9 頁
- 三、分注器 第 10 頁~第 16 頁



尖端生物科技股份有限公司
Advance Biotechnology

Infinite 200 Pro 操作軟體 i-control 操作手冊

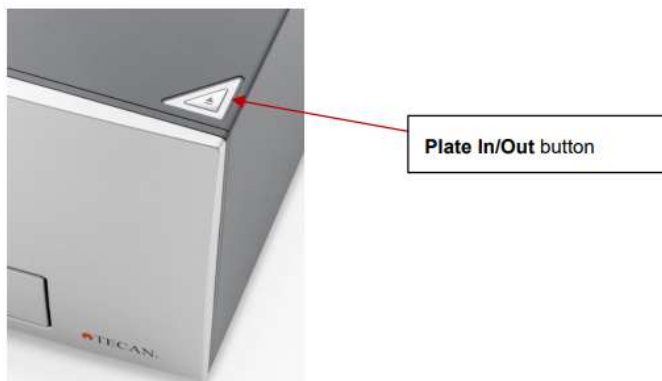
1.先開機器(星星處為開關鍵),再開電腦,並點入軟體 i-control 。



主機背面圖

2.開始進行編程。

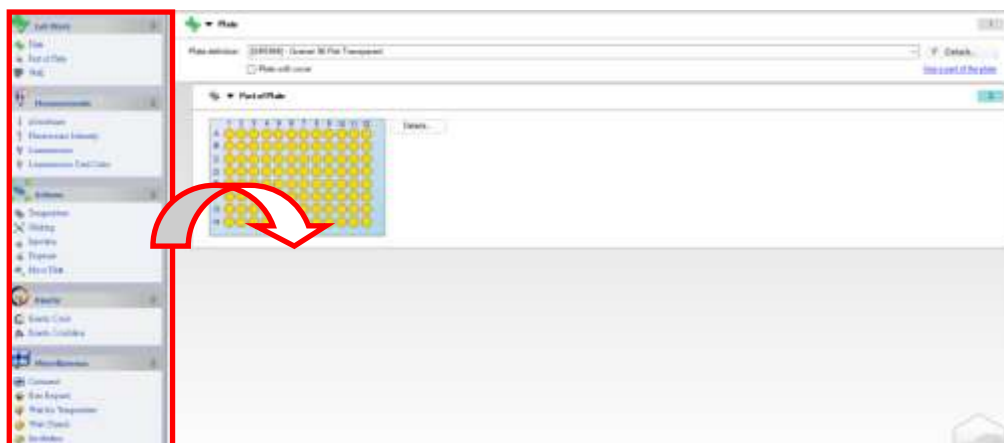
3.註:盤進盤出,可由機器 Plate In/Out button 或軟體 i-control 執行。



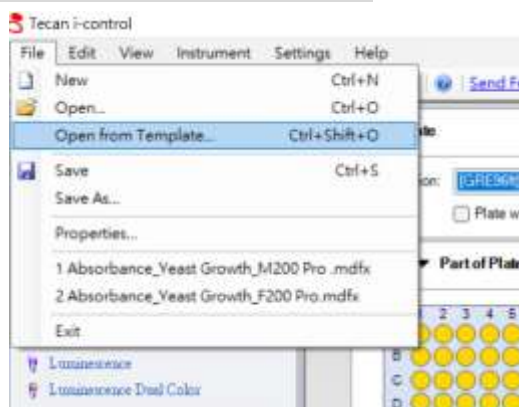
一、一般應用

1.兩種編程方式

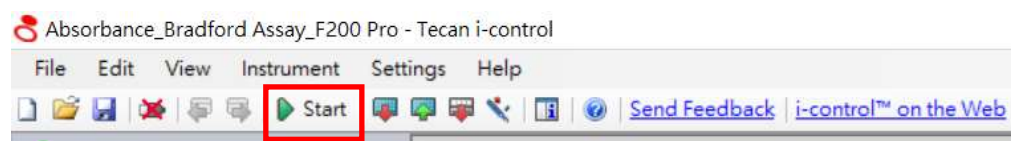
(1)自行編程:從左側點選長按滑鼠左鍵拖曳(或點二下)至右側編程,編程順序以拖曳作改變



(2)使用內建 template 作編程:選 File→Open from Template



2.編程完要開始量測,請按 start

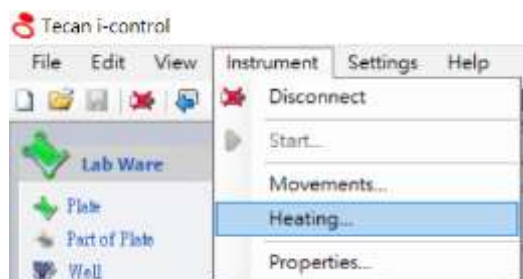


3.編程若有錯誤,右側 info pane 會顯示錯誤資訊,且無法按 start



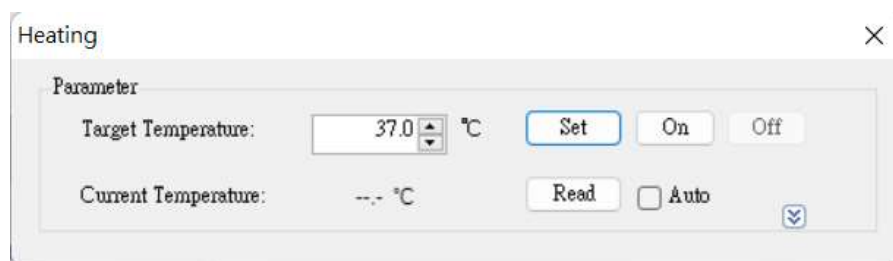
4. 需控溫的客戶,打開軟體後第一步:開啟加熱器作預熱

(1)選 Instrument→Heating



(2)輸入溫度→Set→On 打開加熱器

按 Read 即時讀取目前溫度,亦可勾 Auto 機器會自行更新目前溫度

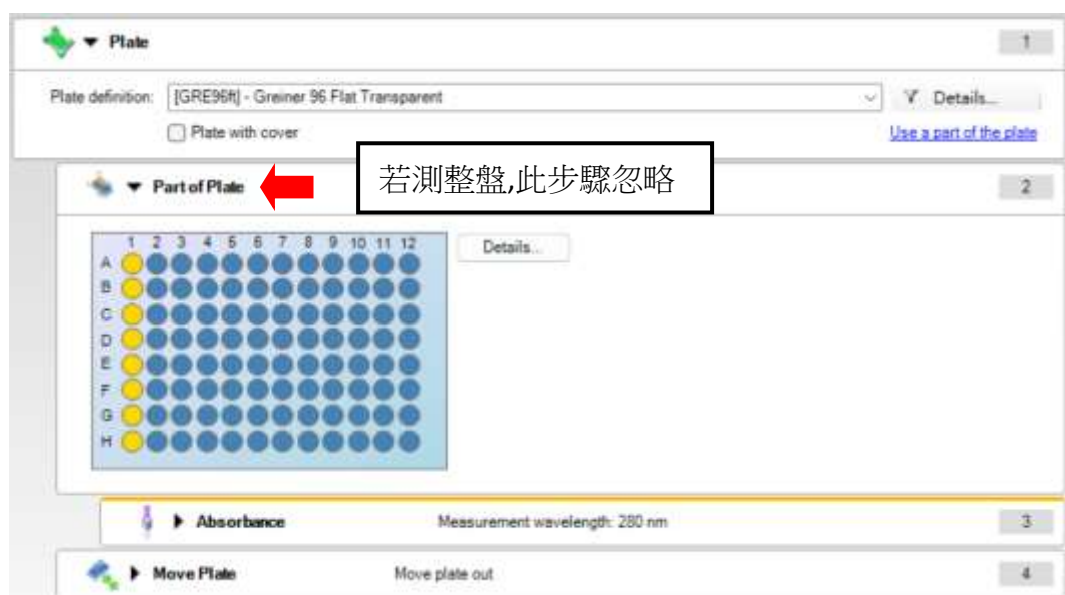


5.自行編程範例:

(1)End-point 測量 (不同樣品的反應時間固定)

編程順序:

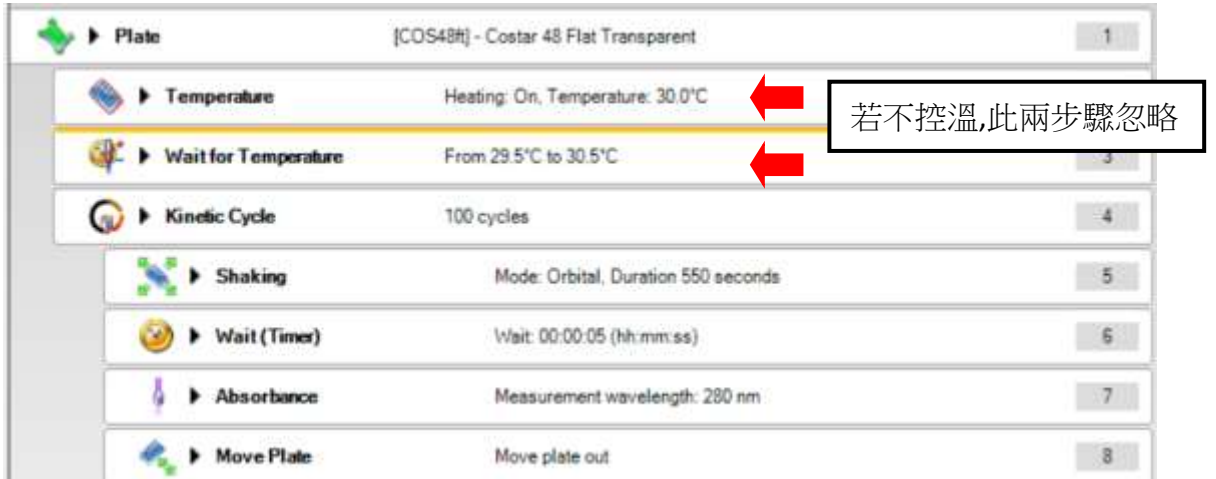
1. Plate:選樣品盤
2. Part of Plate: 選要測的 well,已選取會反黃。若測整盤,此步驟忽略
3. Absorbance:選測量模式(Measurements),最多可插入 10 種(吸收光,吸收光掃描,螢光,螢光掃描,冷光)
4. Move Plate:測完自動盤出



(2)Kinetic 測量(不同樣品每固定一段時間測一次)

編程順序:

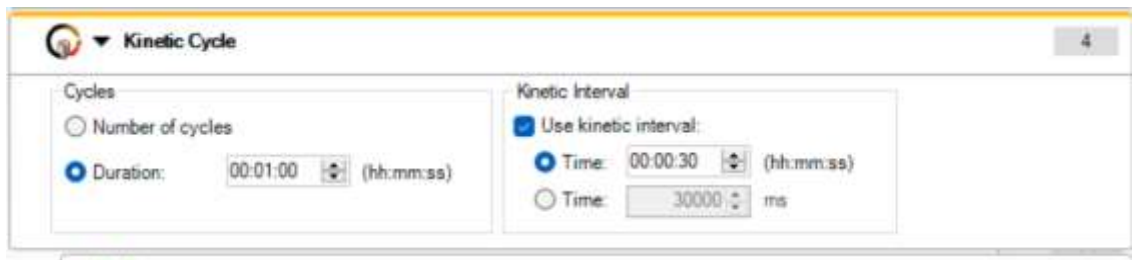
1. Plate:選樣品盤
2. Temperature: 設打開加熱器,並設加熱溫度,溫度一致性最低為正負 0.5°C
注意:此加熱器是按 start 才開始加熱,故需控溫的客戶,應開機即打開加熱器,請參考第二頁 4.需控溫的客戶...
3. Wait for temperature: 當溫度達 29.5°C~30.5°C時吸收光測量才會執行,若此步不設,未達此溫度範圍仍會開始測量
4. Kinetic Cycle:以最短的量測時間測 100 次
5. Shaking:設定振盪時間,模式,振幅(rpm 自動跳)
6. Wait(Timer):設測等待時間,常用於 shaking 或盤進為讓樣品液面穩定
7. Absorbance:選測量模式(Measurements),最多可插入 10 種(吸收光,吸收光掃描,螢光,螢光掃描,冷光)
8. Move Plate:測完自動盤出



補充:Kinetic cycle 設定

依客戶設定喜好 Number of cycles 與 Duration 二選一:

1. Number of cycles:設跑幾個間隔,設 use kinetic interval 決定間隔(cycle)多久測一次,若不設,儀器會以最短的量測時間測
2. Duration 設反應全程時間,設 use kinetic interval 決定間隔多久測一次,若不設表示測兩個時間點:零秒與全程終點(=2 cycles)



6.測量模式(Measuments)說明:

(1)測吸收光



(2)如何設多點讀取 註:作多點讀取時,無法作光徑校正,應用於樣品不均勻時。



(3)如何作光徑校正(作盤式的樣品絕對定量時,需計算正確光徑)

Pathlength Correction

Pathlength correction 若勾選,作OD值的光徑校正

Test wavelength: nm (9)

Reference wavelength: nm (9)

Correction factor: Manual: 水的校正係數0.186
 Cuvette 使用cuvette,實測樣品的測試波長與參考波長,去決定校正係數

(4)測螢光

Fluorescence Intensity

自設波長,EX波長>315nm,波寬固定9nm

Wavelength

Excitation: nm (9) EX波長=<315nm,波寬固定5nm

Emission: nm (20) 自設波長,EM波寬固定20nm

Mode

Top Bottom 讀well頂部或底部

Z-Position 設讀取頭到液面間的距離

Manual: μm

Calculated from well

Same as

Multiple Reads per Well 若勾選,設一個well內的多點讀取

Multiple reads per well

Read

Number of flashes: 設光閃幾次,25=每筆數據來自25筆數據平均

Settle time: ms 設盤子進去到閃第一次燈這段時間

Gain 設PMT管的放大因子factor 避免盤進晃動影響數據,default=0

Manual:

Optimal

Calculated from well

Extended dynamic range

Integration

Lag time: μs 閃第一次燈到開始收集數據這段時間

Integration time: μs 定義收集數據多久

Label

Name:

(5)最佳讀取距離 z-position 的調整

Z-Position 設讀取頭到液面間的距離

Manual: μm

Calculated from well

Same as

- Manual:自行定義偵測位置(單位 μm)
- Calculated from well:選擇整盤訊號最強的 well,作最佳偵測位置自動調整
- Same as: 應用於 multi-labeling measurements,選擇特定的 label 的最佳偵測位置作為偵測位置

(6)最適 gain 值的調整

Gain 設PMT管的放大因子factor

Manual:

Optimal

Calculated from well

Extended dynamic range

- Manual:自行定義 gain 值 1~255 (不建議使用<60)。
- Optimal:自動偵測整盤,找出最強訊號的 well,依此 well 的 gain 值作為整盤的 gain 值,所以不太會有 overflow,若出現 overflow 表示一盤中的最強與最弱的訊號落差太大。
- Calculated from well:選擇整盤訊號最強的 well 的 gain 值作為整盤的 gain 值。
- Extended dynamic range:應用於一盤中的最強與最弱的訊號落差大時。自動偵測整盤中最強與最弱的訊號,定義兩組 gain 值,得到兩組數據後,再找出兩組數據的相關性,最後顯示一組數據。

(7)如何找到最佳讀取位置與最適 gain 值

對於第一次測螢光的樣品:

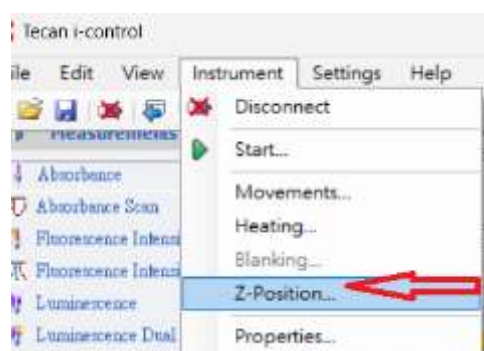
z-position 調整和 gain 調整: 選擇訊號最強的 well,設 calculated from well 於第一次量測結果可得到最佳 z-position 與 gain 值,後續再使用 manual(自行輸入)作不同筆數據的比對。

*注意:由於螢光數據是相對值,故不同筆數據間需使用相同 z-position 與 gain 值才能作數據間的比對。

Excitation Wavelength		434 nm		
Emission Wavelength		475 nm		
Excitation Bandwidth		9 nm		
Emission Bandwidth		20 nm		
Gain	<input type="text" value=""/>	104	Calculated From: A1 (100%)	
Number of Flashes		25		
Integration Time		20 μ s		
Lag Time		9 μ s		
Settle Time		0 ms		
Z-Position (Calculated From: A1)		21108 μ m		

(8)如果雜訊太高,可使用 z-position 找最佳訊雜比 S/B ratio

- 工具列 instrument→選 z-position



方法:

選擇二個 well,一個只加螢光染劑(signal),另一只加 buffer(blank),勾選 label1,選擇 signal 和 blank 的 well 位置→按下 Scan, 開始作這兩個 well 的 z-position。

得到 graphical plot,會顯示四個位置 a. signal 訊號最佳位置 b. blank 訊號最佳位置 c. 手動調整的位置 d. Max. S/B ratio 的位置。

Max. S/B ratio 是使用兩個幾乎一樣的 gain 值去測的,所以這兩個值可以直接被比較。按下 apply,接下來所有量測都可以使用此 z-position。

亦可手動調整讀取位置,按下 apply, 接下來所有量測都可以使用此 z-position。



(9)測冷光

Luminescence 冷光

Parameter: Attenuation: Automatic Integration time: 1000 ms Label Name: Label4
 None=不使用弱化濾鏡 Settle time: 0 ms
 Automatic=使用OD2強化濾鏡 盤進到開始收光這段時間

Luminescence Dual Color 雙色冷光

Parameter: Filter 1: Green Integration time: 1000 ms Labels Name 1: Label1
 Filter 2: Magenta Integration time: 1000 ms Name 2: Label2
 Settle time: 0 ms

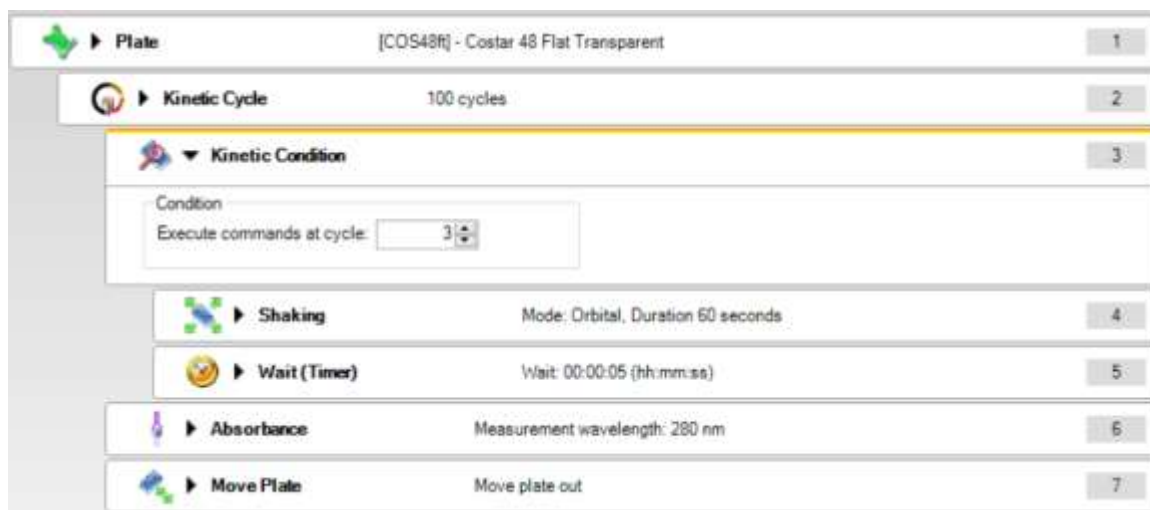
二、特殊應用:

1.如何設特定 cycle 作 shake(或搭配分注器 Injection/Dispense)

編程順序:

1. Plate:選樣品盤
2. Kinetic Cycle:以儀器最短的量測時間測 100 次

3. Kinetic Condition 指定第 3 個 cycle
4. Shaking:設定振盪時間,模式,振幅(rpm 自動跳) (若用於分注:可設 Injection /Dispense)
5. Wait(Timer):設測等待時間,常用於 shaking 或盤進為讓樣品液面穩定
6. Absorbance:選測量模式(Measurements),最多可插入 10 種(吸收光,吸收光掃描,螢光,螢光掃描,冷光)
- *注意:需與 kinetic condition 有一樣的縮排,才是整盤全測
7. Move Plate:測完自動盤出



2.如何設在特定的時間作 shake

編程順序:

1. Plate:選樣品盤

2. Incubation:決定測前的整段時間= Incubation time

Incubation time =Remaining Wait(Timer)+其它項目的時間

例.若要設測前 1 分鐘作(培養 35 秒→振盪 20 秒→靜置 5 秒)

(1) Incubation time 設 1 分鐘

(2) 利用  從 Available 選 Shaking 和 Wait(Timer) →到 Selected

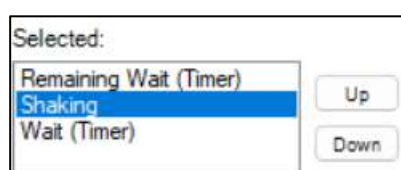
*其中(Remaining Wait(Timer)為必選

(3) 利用   作排列

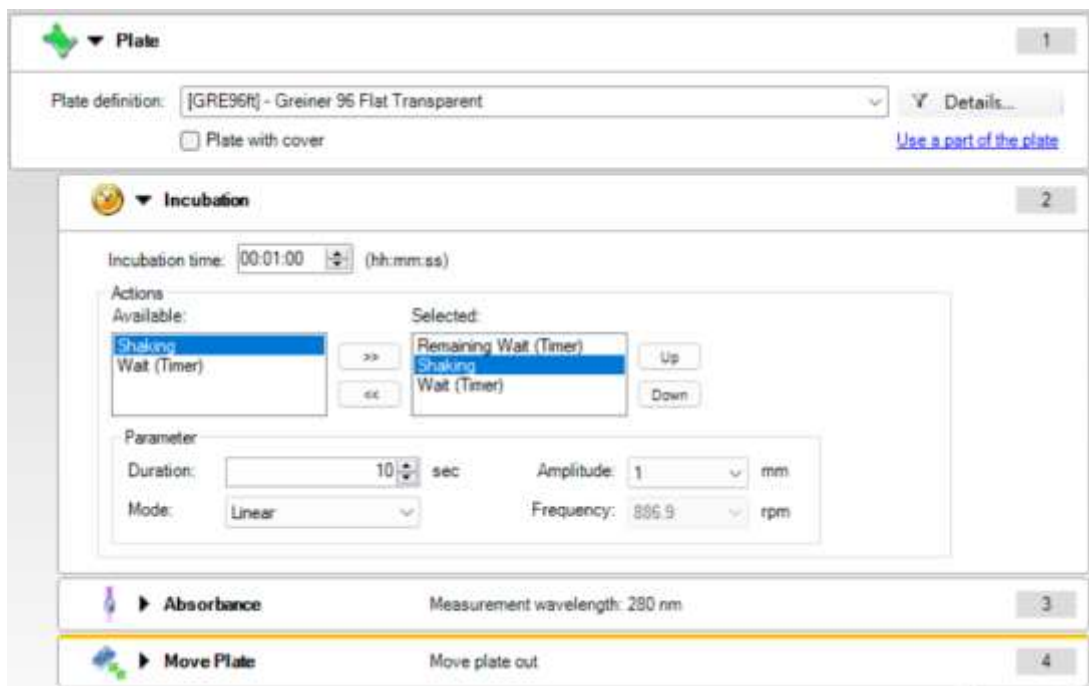
由上而下排列,表示發生時間先後

Shaking 設 20 秒

Wait(Timer)設 5 秒



3. Absorbance:選測量模式(Measurements),最多可插入 10 種(吸收光,吸收光掃描,螢光,螢光掃描,冷光)
4. Move Plate:測完自動盤出

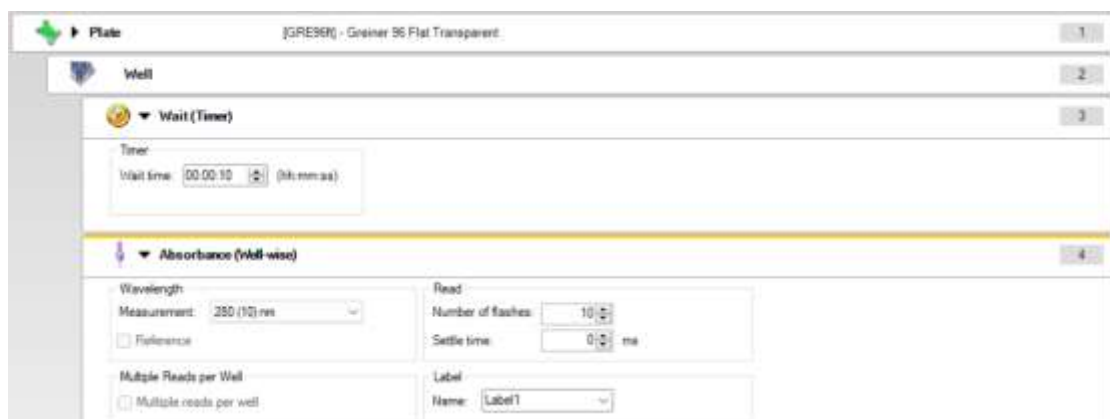


3.如何設定「針對所有選取的 well，每隔一段時間只測一個 well，直到所有選取的 well 都測完」

編程順序:

1. Plate:選樣品盤
2. Well:執行 well-wise(一個 well 測完再測下一個 well)
3. Wait(Timer):設每個 well 間隔多久測一次。每個 well 隔 10 秒測一次
4. Absorbance:選測量模式(Measurements),最多可插入 10 種(吸收光,吸收光掃描, 螢光,螢光掃描,冷光)

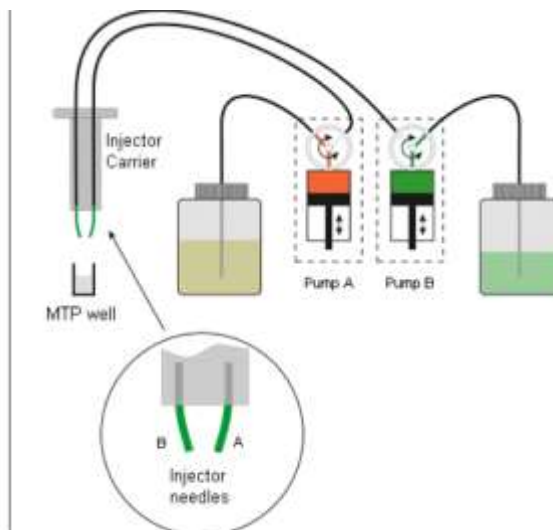
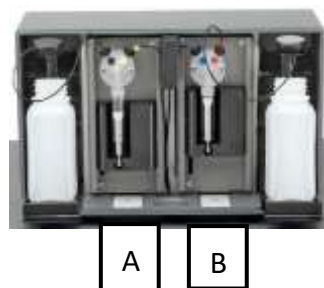
***注意: Well-wise 不能設 Move Plate:測完自動盤出**



三、分注器

注意事項:

- 1.使用前檢查管子是否乾淨及針是否無彎曲。
- 2.每次使用建議先以蒸餾水作 **wash**(因不確定是否有上次汙染),再作 **prime**(排除管路氣泡)
- 3.每次使用分注器測量完,務必再以蒸餾水(或先 70%酒精再蒸餾水)wash 一次。



Holder 可固定多種型式的瓶子

若 i-control 出現 **Waste Tub**(容量 1.5ml)清空警告,請執行清空 **Waste Tub** 廢液

*Waste Tub 為分注器作分注前會先分注 5ul 到 Waste Tub 目的是為確認分注到每個 well 的條件一致。

*分注設定中的 **Refill mode**(充填針筒模式)決定分注 5ul 動作次數。若選 **Standard**,則每次充填針筒都會注 5ul。若選 **Refill for every injection/dispense**,只會在測量前分注一次 5ul

1.進入 i-control→settings→injectors

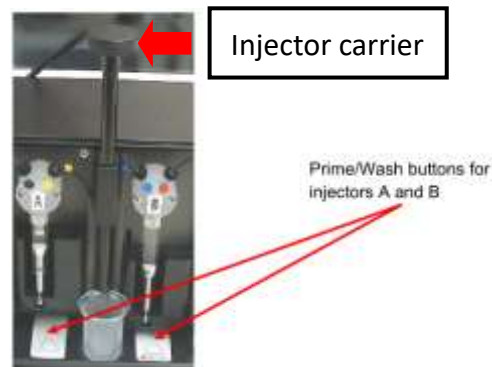
2.進入 Waste Tub 分頁→Empty Waste Tub,盤子會自動出來,清空 **Waste Tub** 廢液



Prime 流程:

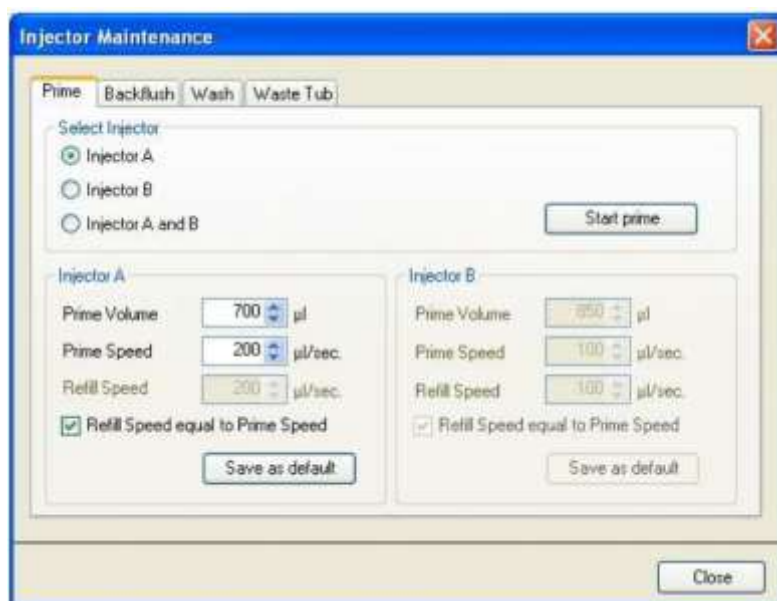
*使用前務必執行,才能開始量測:

- 1.將 inject carrier 放在 service position(如右圖)
- 2.將管子放入備好的蒸餾水瓶,固定在 holder 上
- 3.備好廢液瓶於 inject carrier 下方接廢液
- 4.進入 i-control→settings→injectors



- 5.進入 Prime 分頁,選擇 injector,設 prime 體積(850-600000ul),流速(100-300ul/sec), 充填針筒速度(100-300ul/sec),或勾選 Refill Speed equal to Prime Speed →Start prime

*按 Save as default,按分注器 prime/wash botton 少於 3 秒可執行 Prime

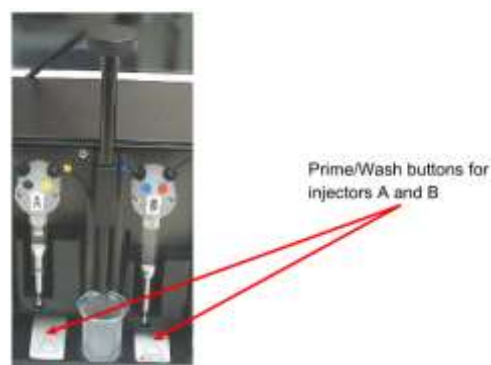


Wash 流程:

*建議於每次 prime 前

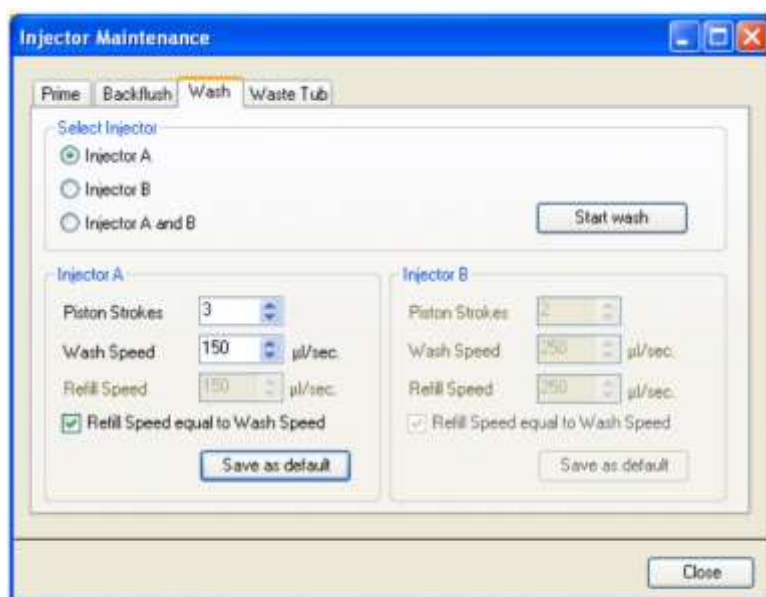
*務必執行於每次使用完後(Backflush)

- 1.將 inject carrier 放在 service position(如右圖)
- 2.將管子放入備好的蒸餾水瓶,固定在 holder 上
- 3.備好廢液瓶於 inject carrier 下方接廢液
- 4.進入 i-control→settings→injectors



- 5.進入 Wash 分頁,選擇 injector,設幫浦 strokes(1-60,1=1ml),Wash 流速(100-300ul/sec),充填針筒速度(100-300ul/sec),或勾選 Refill Speed equal to Wash Speed →Start wash

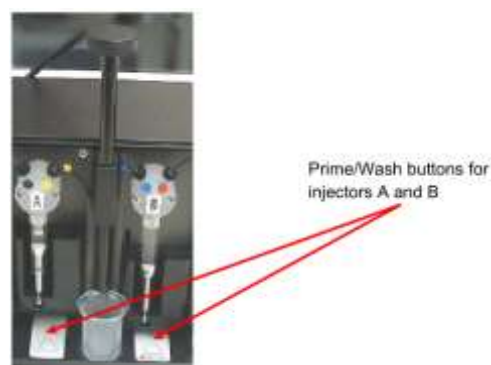
*按 Save as default,按分注器 prime/wash button 長於 3 秒可執行 Wash



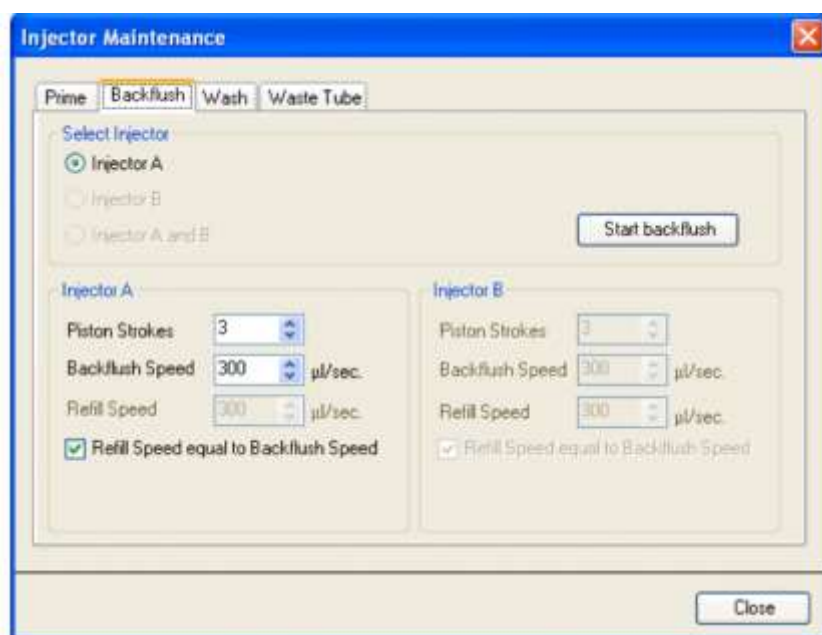
Backflush 流程:

*使用分注器量測完,回收管路、針筒、分注針、閥內的液體或減少 Wash 前的試劑殘留

- 1.將 inject carrier 放在 service position(如右圖)
- 2.確認管子放入備好的試劑瓶,固定在 holder 上
- 3.進入 i-control→settings→injectors



- 4.進入 Backflush 分頁,選擇 injector,設幫浦 strokes(1-60,1=1ml),Wash 流速(100-300ul/sec),充填針筒速度(100-300ul/sec),或勾選 Refill Speed equal to Backflush Speed →Start backflush

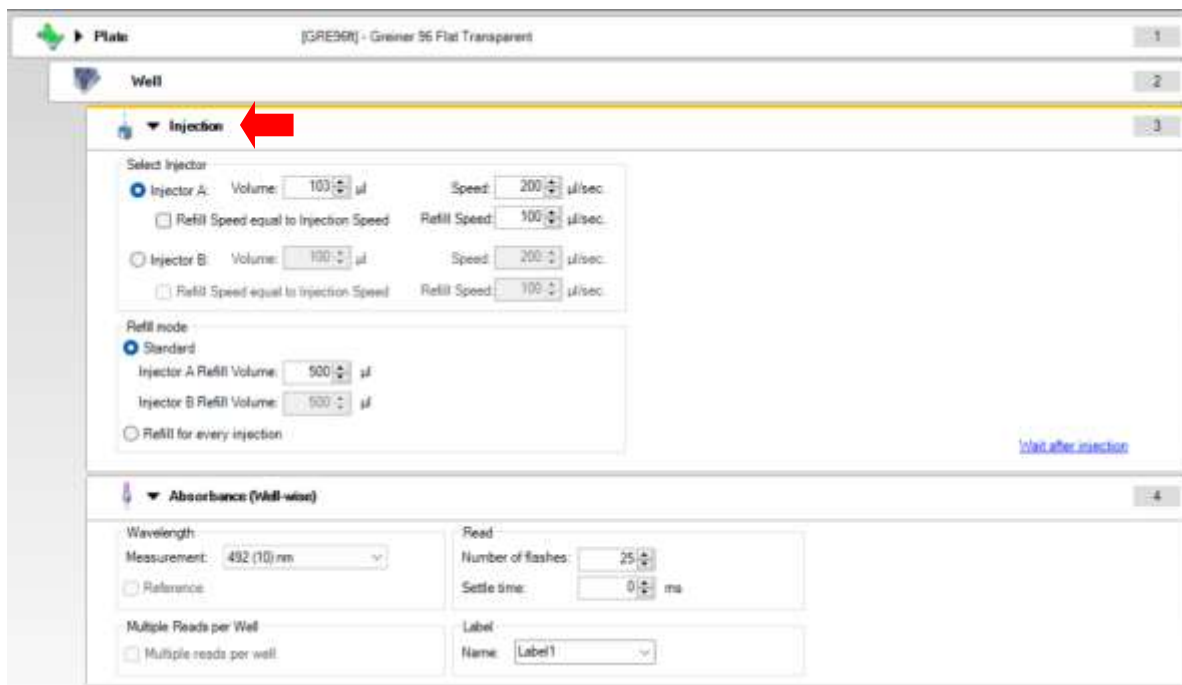


編程_選擇要使用的分注方式,有兩種:

1.注一個 well 測一個 well,接著再注第二個 well 測第二個 well(一注一測)

設 Injection:一定要用 well-wise

編程順序:



2.注完所有選取的 well,再開始測所有選取的 well (全注完再測)

設 Dispense:一定要用 plate-wise

編程順序:

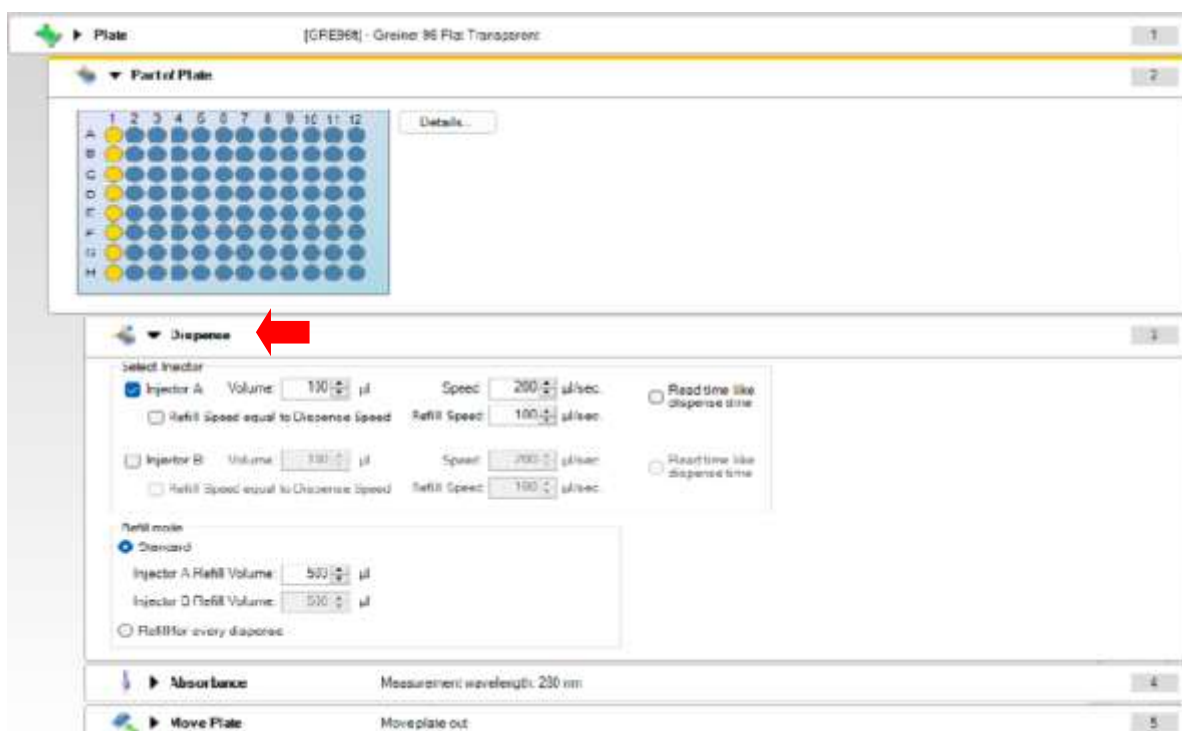


Plate-wise 和 Well-wise 定義

Plate-wise

所有選取的 well 一起執行吸收光量測 (*光纖只有一個,故一個一個測)

Well-wise

不可選取特定 well,應用於「整盤」中「每個 well 每隔一段時間測一次」或「注一個 well 測一個 well,接著再注第二個 well 測第二個 well(一注一測)」

*注意: Well-wise 不能搭配設盤子移出

Injection 設定:

1.選擇分注器 Injector

(1) Volume:設定每個 well 的分注量, Speed 設定分注流速

(2) Refill Speed:勾選「充填針筒的流速等於分注流速」或「自設流速」

2.選擇充填針筒模式 Refill mode

(1) Standard: 只會在針筒的液體不夠分注時作充填。自設充填量。

(2) Refill for every injection:每次分注完都會跟著作一次充填

The screenshot shows the 'Injection' settings window. It is divided into two main sections: 'Select Injector' and 'Refill mode'.
Under 'Select Injector', there are two options: 'Injector A' and 'Injector B'.
For 'Injector A':
- Volume: 100 µl
- Speed: 200 µl/sec.
- There is a checkbox for 'Refill Speed equal to Injection Speed' which is unchecked.
- Refill Speed: 100 µl/sec.
For 'Injector B':
- Volume: 100 µl
- Speed: 200 µl/sec.
- There is a checkbox for 'Refill Speed equal to Injection Speed' which is unchecked.
- Refill Speed: 100 µl/sec.
Under 'Refill mode':
- 'Standard' is selected.
- 'Injector A Refill Volume': 500 µl
- 'Injector B Refill Volume': 500 µl
- 'Refill for every injection' is unselected.
A link 'Wait after injection' is located at the bottom right of the window.

Dispense 設定:

1.選擇分注器 Dispense

(1) 多了 Read time like dispense time,其它同 Injection 設定

(2) Read time like dispense time:,測量會排除反應時間差影響,讓總分注時間=總量測時間(總分注時間除以總分注 well 數=每個 well 的 delay time, delay time 再平均分配給每個 well,去控制每個 well 的量測時間)。

2.選擇充填針筒模式 Refill mode: 同 Injection 設定

*注意:當勾選 Read time like dispense time,充填模式會自動選 Refill for every dispense

Dispense 3

Select Injector

Injector A: Volume: μl Speed: $\mu\text{l}/\text{sec}$ Read time like dispense time
 Refill Speed equal to Dispense Speed Refill Speed: $\mu\text{l}/\text{sec}$

Injector B: Volume: μl Speed: $\mu\text{l}/\text{sec}$ Read time like dispense time
 Refill Speed equal to Dispense Speed Refill Speed: $\mu\text{l}/\text{sec}$

Refill mode

Standard
Injector A Refill Volume: μl
Injector B Refill Volume: μl

Refill for every dispense