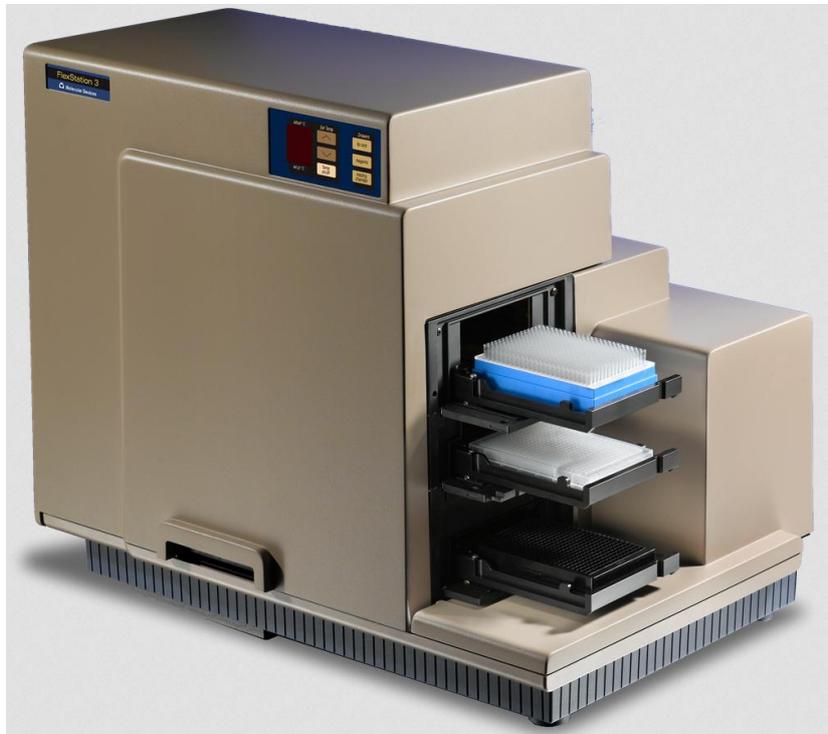


# Molecular Devices

## FlexStation3 操作简介

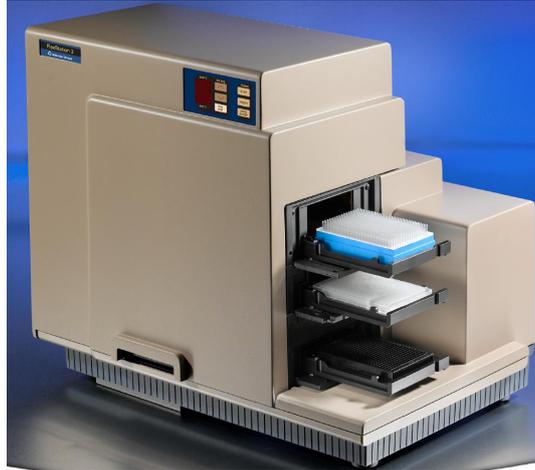
Version 2016.10



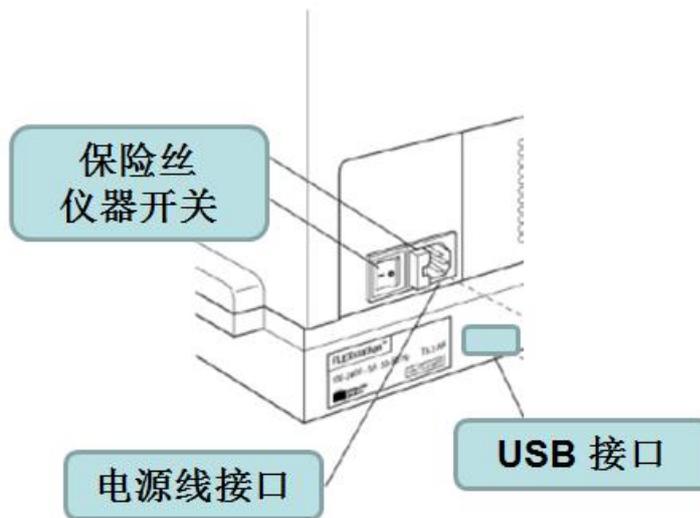
仪器和软件总体介绍.....	3
硬件操作步骤及注意事项.....	5
仪器安装连接.....	5
仪器保养注意.....	5
软件操作步骤.....	7
总体介绍.....	7
软件界面.....	12
1. 菜单栏.....	12
2. 图标栏.....	14
3. 文档区域.....	16
仪器检测参数设定.....	18
多种检测类别: .....	18
1. 终点法检测.....	21
2. 动力学法检测.....	26
3. 波长扫描检测.....	27
4. 单点多孔检测.....	28
5. Flex 快速动力学检测.....	29
检测样品分组设定.....	34
1. 设定本底参照(BLANK).....	35
2. 设定标准样品(Standards)及相应的标准曲线.....	36
3. 设定未知样品(Unknowns)并根据标准样品计算相应的浓度.....	45

## 仪器和软件总体介绍

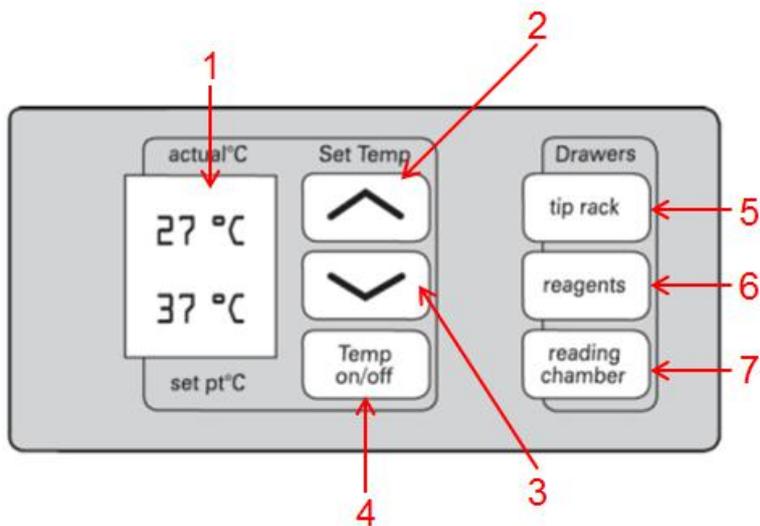
微孔板检测系统(酶标仪), 仪器正面右上角有型号名 FlexStation 3;



酶标仪背面各种端口连接示意图, 仪器配有 3 米长 USB 连接线与电脑连接

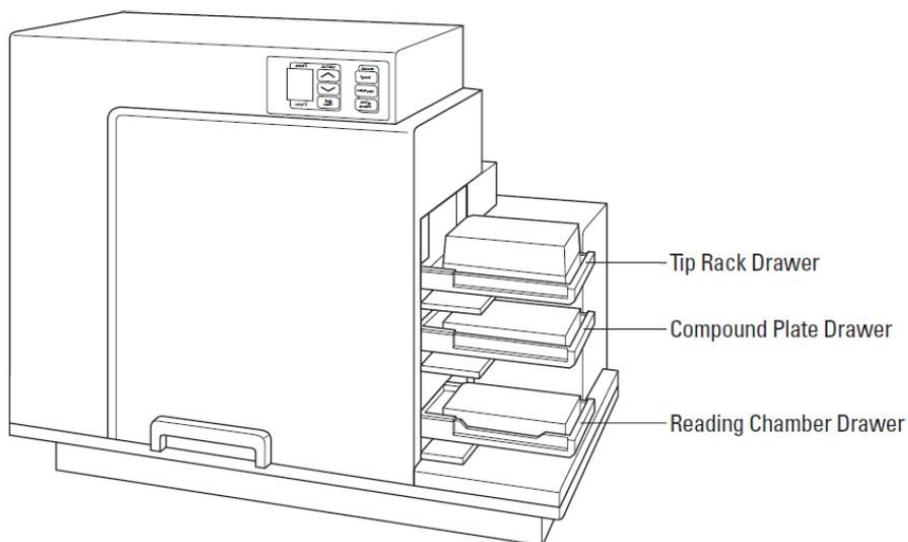


酶标仪前面板上方的 2X3 LCD 液晶面板，显示实际温度和预设温度，功能结构示意图，如下所示：



序号	功能描述
1	LCD 温度显示屏
2	升温按键
3	降温按键
4	温度设置按键
5	枪头舱门开关
6	试剂（化合物）舱门开关
7	检测板舱门快关

如下图所示，仪器托架舱门共三层，其中第一层用于放置枪头托架（注意枪头为 MD 公司专用于 FlexStation 3）；第二层用于放置试剂（化合物）托架；第三层为检测板托架，用于进行相应检测；



此外，仪器背部有风扇用于仪器散热，最佳距离后部墙壁或实验台背板距离为 20-30cm 之间。另外酶标仪对电源要求很高，我们要求的电源有接地，并通过不间断电源 UPS 来对仪器和

电脑接点，防止：1) 大电流的冲击，2) 电压不稳，3) 突然断电。推荐山特 (SANTAK) 公司出品的 C1K/800W 型号的 UPS 不间断电源，图片如下：



仪器的所用功能都可以通过专业软件 SoftMax Pro v7.X 来控制，在电脑中安装后在桌面上会



有此图标：

## 硬件操作步骤及注意事项

### 仪器安装连接

仪器与电脑连接完毕并连接上高质量的电源以后，按仪器背面电源线插口旁边的按钮可以直接启动仪器，经过约两分钟后的自检后就可以开始检测。一般仪器先开，再打开软件，仪器正常启动后液晶显示屏可显示实际温度

### 仪器保养注意

- 1) 有良好的电源。
- 2) 保持避光和干净的室内环境，维持一定的湿度(30%-80%)。
- 3) 维持室内比较恒定的温度，以 20-22 度为最适宜。
- 4) 适用 6-384 孔板。96 孔微孔板内每孔可检测 100-300ul 溶液，最佳检测体积为 200ul。
- 5) 384 孔微孔板内每孔可检测 50-100ul 溶液，最佳检测体积为 80ul。
- 6) 检测后的微孔板不要长期置于仪器托盘中，检测完后就从仪器中取出，避免溶液蒸发腐蚀或损坏仪器内部光路系统。如果为有腐蚀性或挥发性溶液，请带盖检测。
- 7) 对于可见光吸收检测，使用全透明微孔板；紫外光吸收检测，使用紫外可透全透明微孔板；荧光强度和荧光偏振，使用黑色不透明板，需要检测底读的用黑色底透微孔板；化学发光和时间分辨荧光，使用白色不透明微孔板。
- 8) FlexStation 3 随仪器有一块黑色的适配板，在所有用 96 孔板和 384 孔板检测的时候必须预先以下图方向置于微孔板托架上方，然后按图所示放入微孔板进行检测。



黑色适配板

强烈建议!!! 使用优质电源的情况下, 保持仪器使用环境洁净、干燥, 长期不使用的話, 截断电源后使用防尘罩保护。

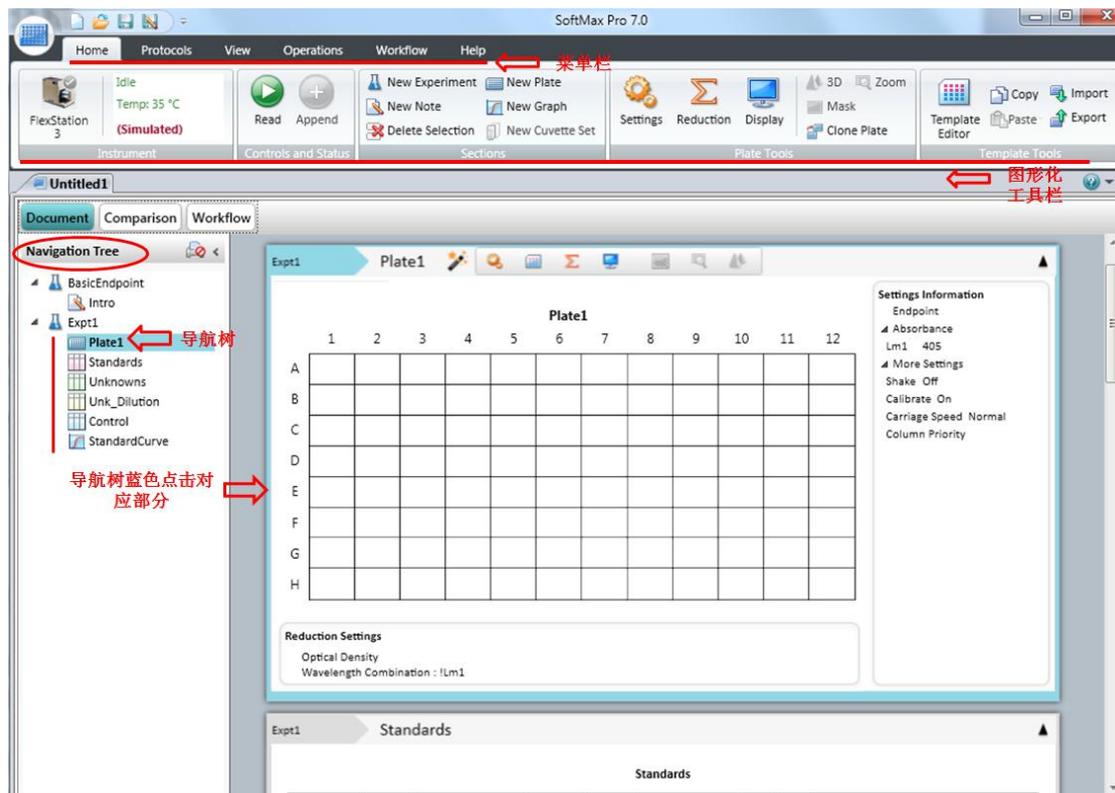
# 软件操作步骤

## 总体介绍

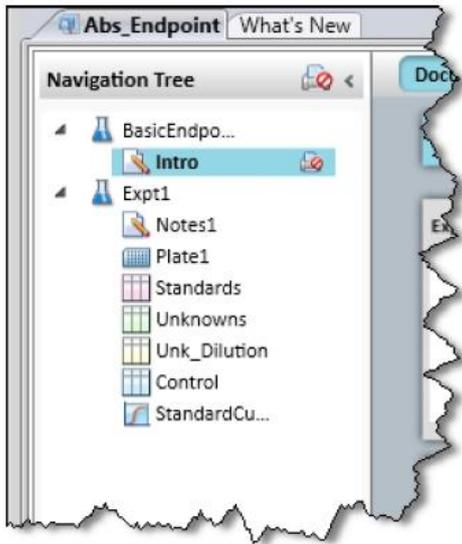
以 SoftMax Pro v7.x 做本次操作简介的蓝本。



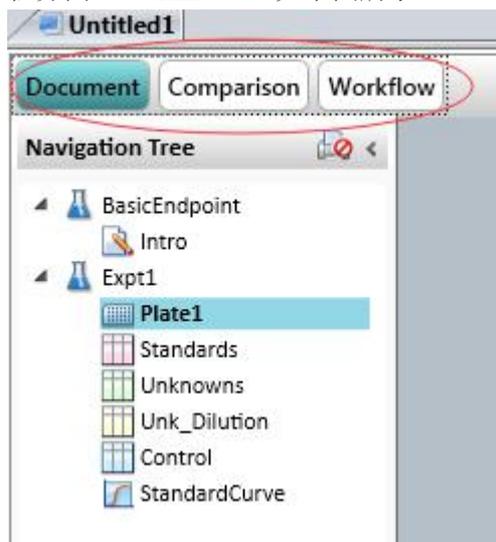
双击图标可以打开以下软件操作界面，如下图所示：



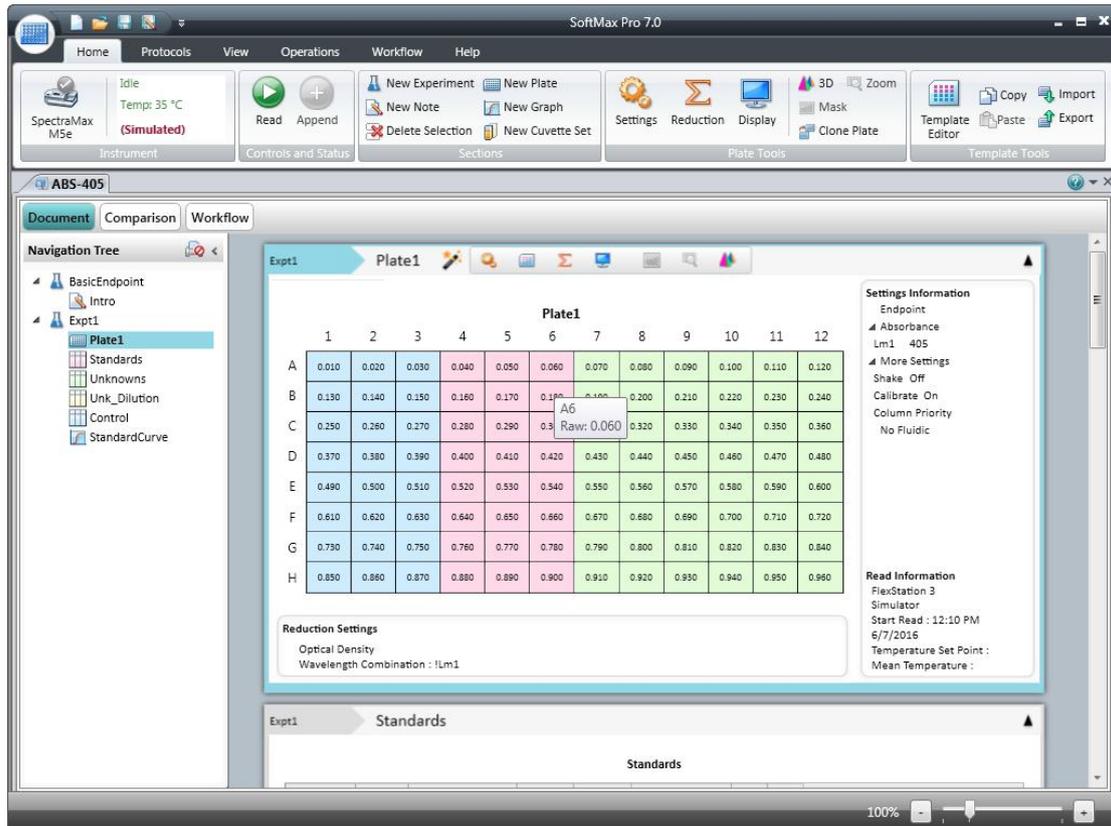
软件界面左侧下方为导航树(Navigation Tree)：导航树蓝色点击部分不同，所对用右侧工作区域位置会直接跳转，导航树部分包括实验 1 (Expt1)，且其下方包括了记事本 1 (Notes1)、微孔板 1 (微孔板 1)、标准品组 (Standards)、未知样品组 (Unknowns)、有稀释度未知样品组 (Unk\_Dilution)、质控组 (Control)、标准曲线组 (StandardCurver)，如下图所示：



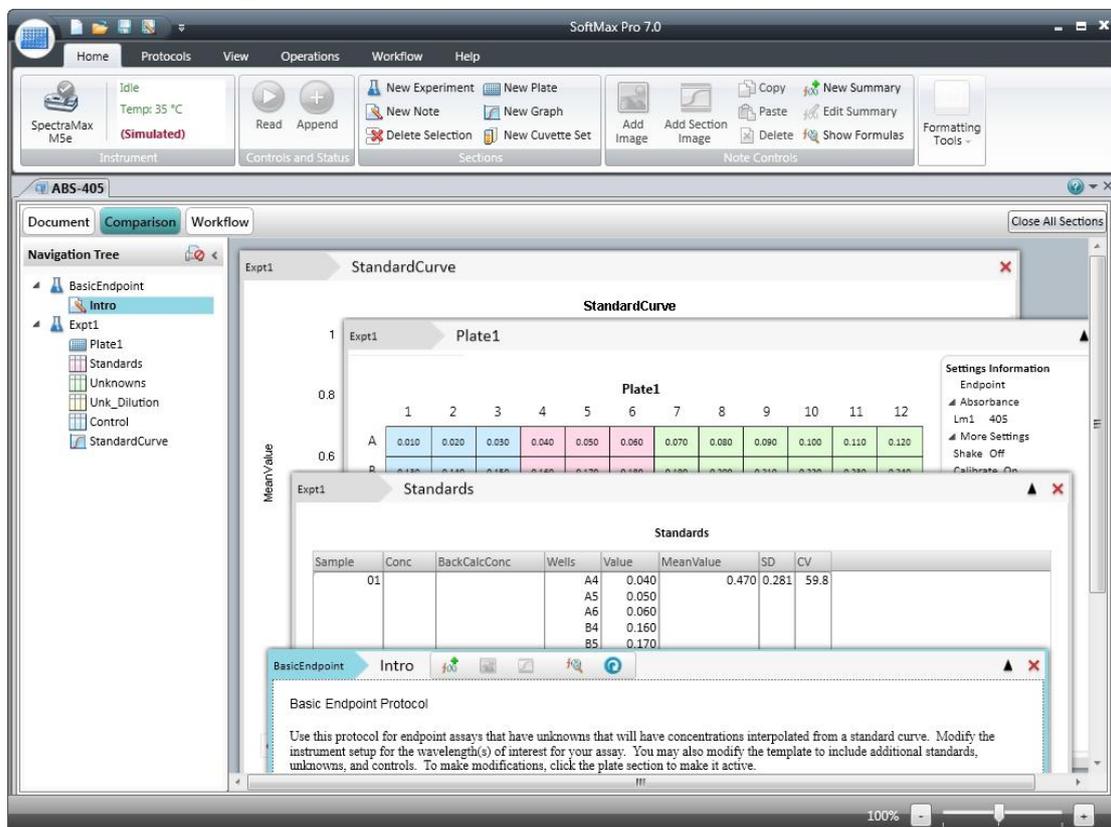
软件界面左侧导航树（Navigation Tree）上方为工作界面（Workspace View），包含以下三个主要组成部分，分别是文档数据界面（Document）、数据比较界面（Comparison）、多任务流程界面（Workflow），如下图所示：



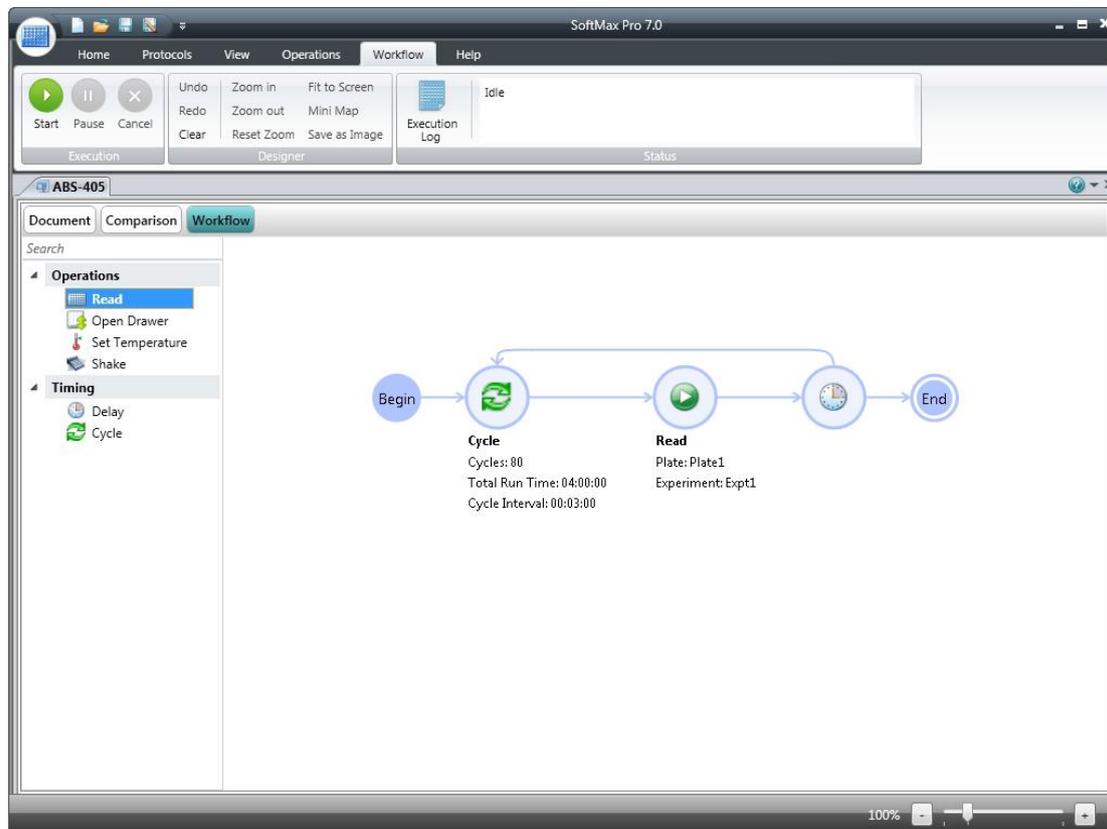
文档数据界面（Document）为打开软件默认的具有导航树和导航树右侧相对应显示区域部分，主要用于文档（数据和曲线）快速查看，如下图所示：



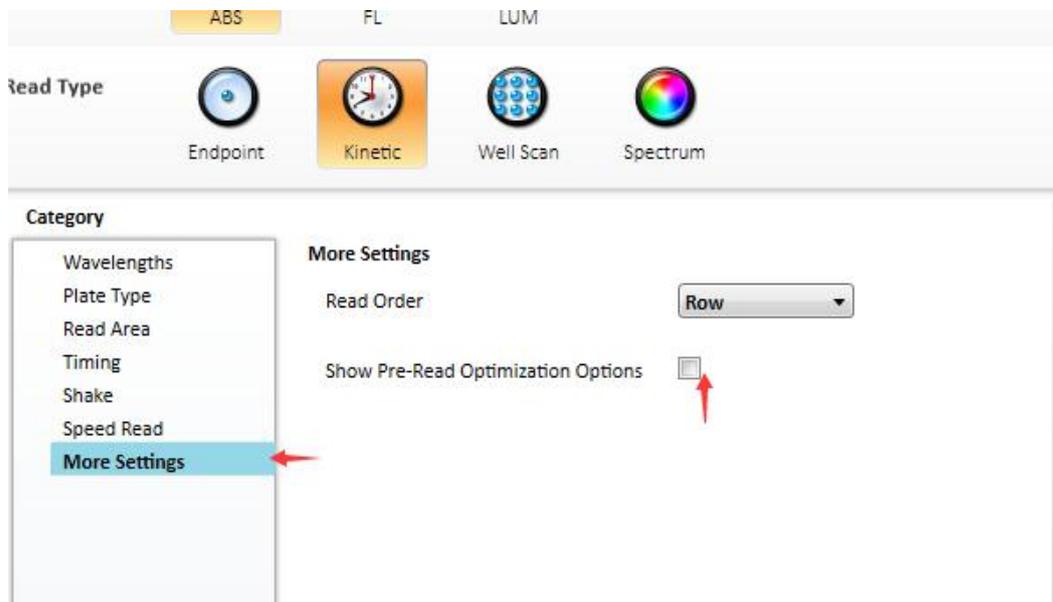
数据比较界面（Comparison），点击此按钮后可以将各个数据组信息拖拽至右侧的比较工作区域中，方便数据查看和比较，如下图所示：



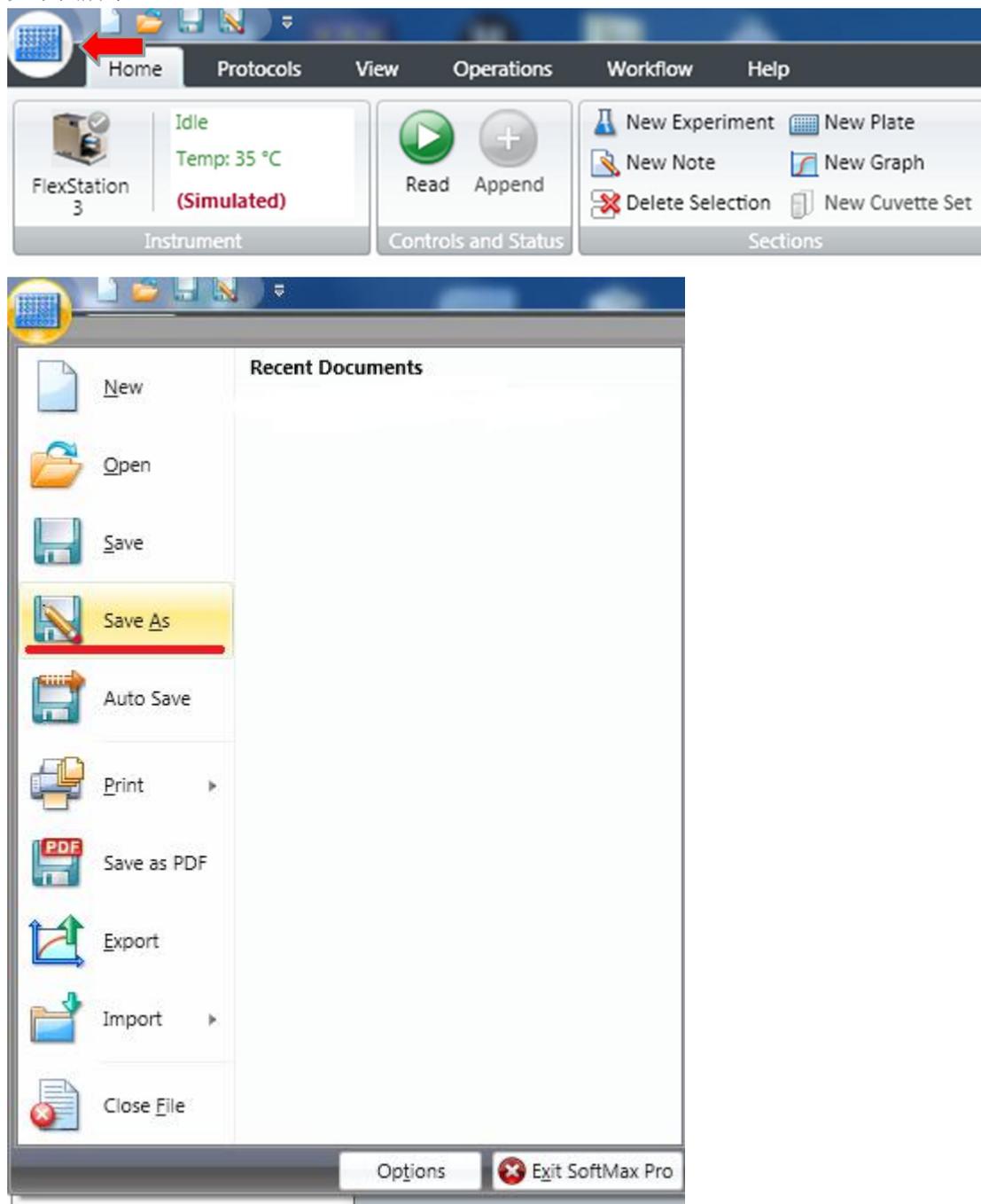
多任务流程界面 (Workflow)，点击此按钮后可以，你可在右侧流程界面下监视所有工作流程状态，方便设置多小时甚至多天的多任务或单任务的动态学检测。左侧导航树中可选的工作内容如循环、开关舱门、震荡、读取、温度设置等功能都可以通过鼠标点击后直接拖拽至右侧流程界面下，流程设置完毕后，仪器会按流程指示从左至右进行检测工作，如下图所示：



注意：如果采用多任务循环流程检测方式，如上图所示，循环检测时间长度 (Total Run Time) 4 小时，循环间隔时间长度 (Cycle Interval) 为 3 分钟一次，可以看到共循环检测 (Cycles) 80 次，循环中间的检测微孔板即 Plate，检测类型需为动态学检测，如非此方式后面数据将覆盖已经获得数据，如果仪器为 SpectraMax i3x、SpectraMax Paradigm 或 FilterMax 型号仪器，需在软件的设置选项 (Settings) 中关闭检测前优化设置 (Show Pre-Read Optimization Options)，如下图所示，其它仪器型号可忽略此选项。

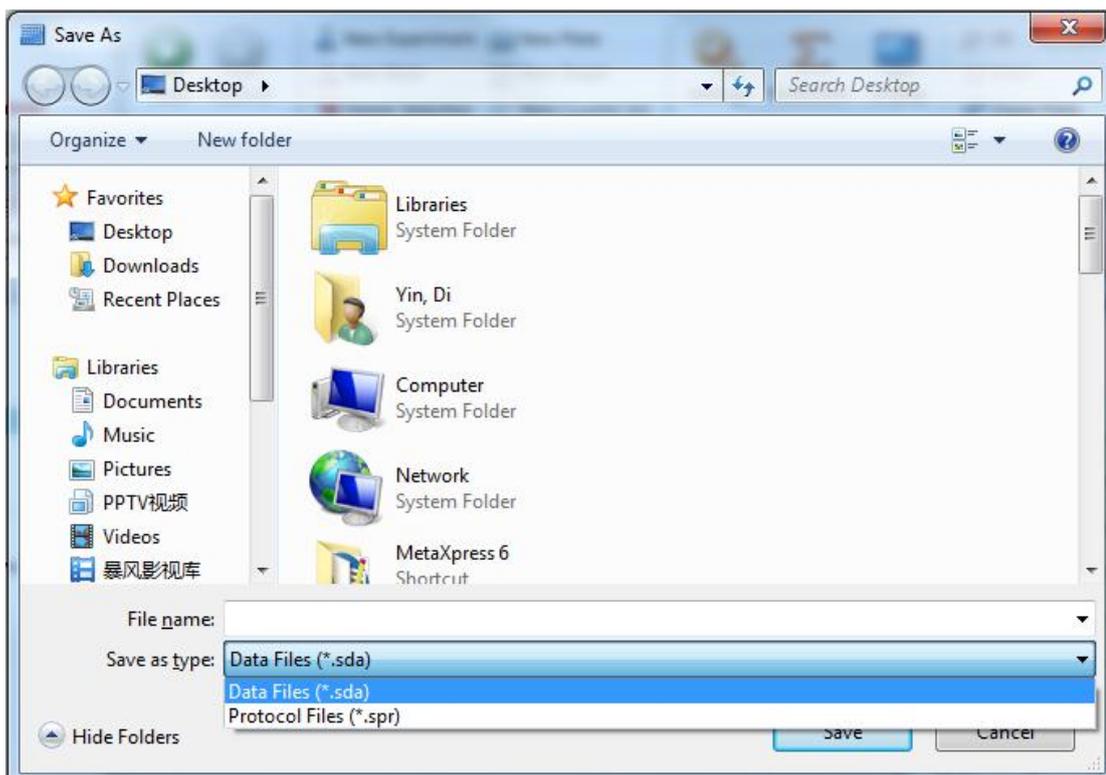


点击软件界面左上角微孔板图标，打开下拉菜单后，可选择保存 (Save) 或另存为 (Save As) 如下图所示：



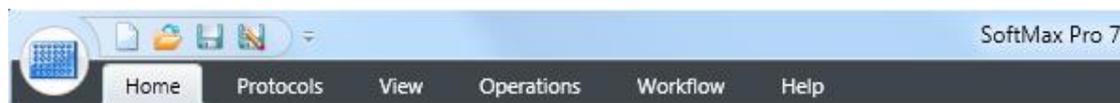
最后的实验结果，数据分析结果，文档可以保存或另存为两种格式，如下图所示：

- 1) **\*.sda** 格式，即数据格式。该文档含有包括参数设定，实验数据，结果分析等所有实验内容。
- 2) **\*.spr** 格式，即模版格式。该文档含有参数设定，分析公式等实验设定内容，可以应用于多次重复实验而使用统一模版。



## 软件界面

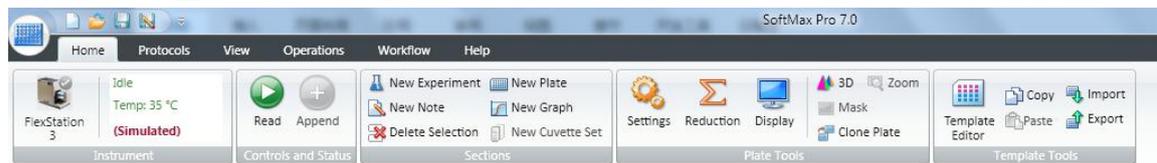
### 1. 菜单栏



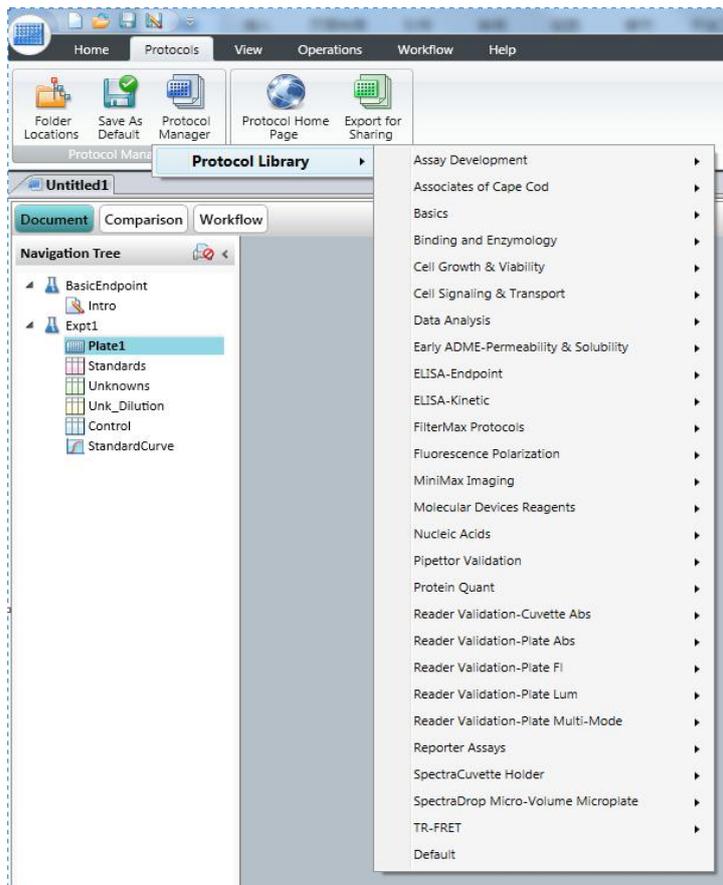
下拉菜单内含新建或打开一个数据文件，另存为，保存为，自动保存，输出文件格式，

数据输入（TXT 及 XML 格式），PDF 输出，打印等命令。

‘Home’菜单下包含，方向从左至右分别是，仪器状态（联机与否及温度显示），仪器控制（读取按键、暂停读取或恢复读取按键），实验部分（新建记事本、新建微孔板、新建曲线等），孔板检测（设置、显示、函数运算）和模板编辑（数据分组、输出、输入等），如下图所示：



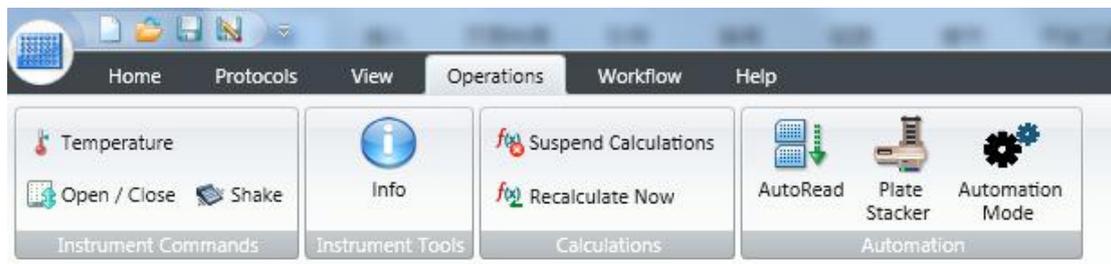
‘Protocols’菜单内含超过 140 种可以应用于各类生化 and 细胞实验的模版，如下图所示：



‘View’菜单包含页面不同显示方式的命令，如下图所示：



‘Operations’菜单包含温度设置、开关微孔板舱门、手动震荡微孔板、仪器信息显示等，如下图所示。



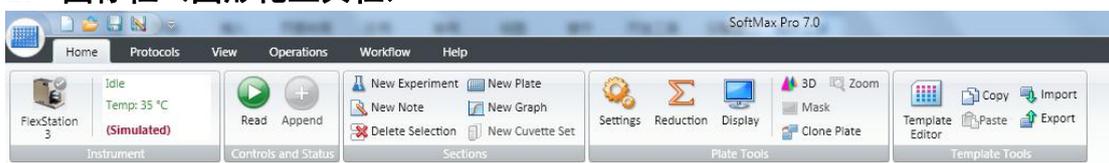
‘Workflow’ 菜单内含读取开始、暂停、取消以及操作信息追踪（Execution Log）等功能，以及循环，如下图所示：



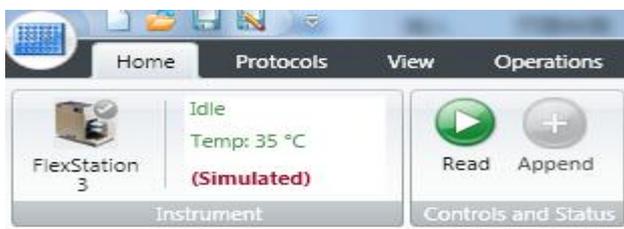
‘Help’ 菜单内含软件版本号，是否处于激活状态等，其中包括了 SoftMax Pro User Guide 和 Formula Reference Guide;



## 2. 图标栏（图形化工具栏）



如果仪器和电脑连接不正常的时候图标栏显示为：，这可能是因为 USB 数据线连接不好，仪器未开机，修改后重新连接正常后，仪器显示绿色对勾；



1) 单击  可进入如下图所示界面，然后软件会自动识别已连接所有 Molecular Devices 酶标仪，相对应仪器型号（如 USB-FlexStation 3 或其他型号仪器 SpectraMax M5 等）会依次显示于 Available Instruments 的下拉菜单中，选择需要使用的仪器，点击 OK 键，即可建立连接，此处以 SpectraMax M5 连接为例进行演示。



2) 该软件支持模拟操作模式，不同模式之间仪器图标显示如下图所示，如果想利用软件模拟练习仪器操作和数据管理，可以选择 Simulator On，在 Reader 选项中手动修改仪器型号，点击 OK 键，既可以进入模拟状态，这款软件几乎支持 Molecular Devices 目前在售所有类型（单功能和多功能）的酶标仪。

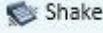
图标	仪器状态
	仪器与电脑正常连接
	仪器与电脑未连接
	仪器软件进入模拟状态

3) 实验检测参数都设定完毕后，把微孔板放入机器中的最下层的微孔板检测托架上，将微孔板 A1 孔位于正对仪器左上角。然后按可以启动仪器进行检测。

4) 仪器可以设定温度，均在室温以上加温，相应温度范围请查阅用户所使用仪器（FlexStation 3 温度控制范围室温+4℃-45℃），选择菜单栏中的‘Operations’按键，点击



Temperature 可以出现对话框选择开启温度控制或者关闭温度控制。当开启温度控制后需使仪器的微孔板托架置于关闭状态保持所设温度。

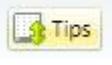
5) 如果需要手动震板，选择菜单栏中的‘Operations’按键，可以按住  Shake 不放，仪器会维持震板，至板内溶液均匀后可以放开该键，震板停止。

6) 如果需要仪器最下层的微孔板托架舱门打开和关闭，选择菜单栏中的‘Operations’按键，按



Open / Close 可以控制仪器微孔板检测托架舱门的开关。

7) 如果进行特殊自动加样检测实验室（钙流、闪光型化学发光检测等），需要通过软件打仪器最上层枪头托架舱门，将 MD 专用枪头放置于托架之上，选择菜单栏中的 ‘Operations’

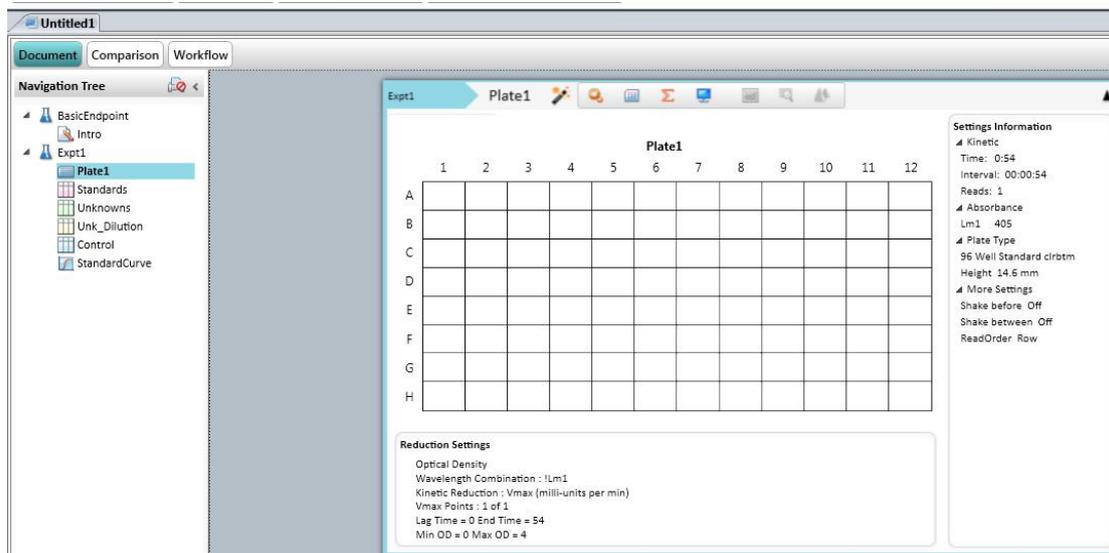
按键，按  可以控制仪器枪头托架舱门的开关。

8) 如果进行特殊自动加样检测实验室（钙流、闪光型化学发光检测等），同样也需要通过软件打仪器中间层试剂托架舱门，将需要加入试剂或配比好化合物放置于托架之上，选择菜

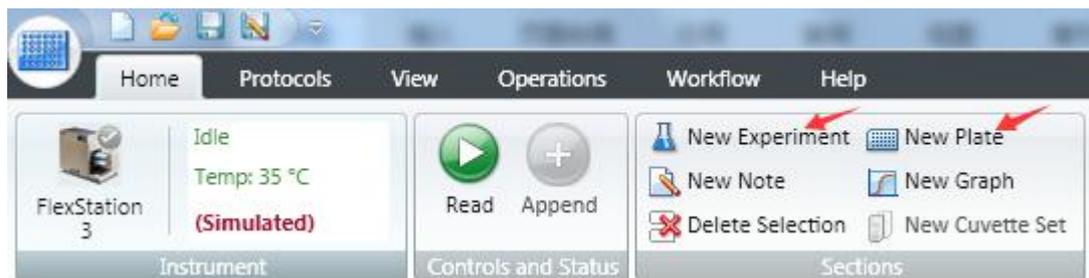
单栏中的 ‘Operations’ 按键，按  可以控制仪器试剂托架舱门的开关。

### 3. 文档区域

文档区默认为 1 个实验 Experiment，即如下图所示：

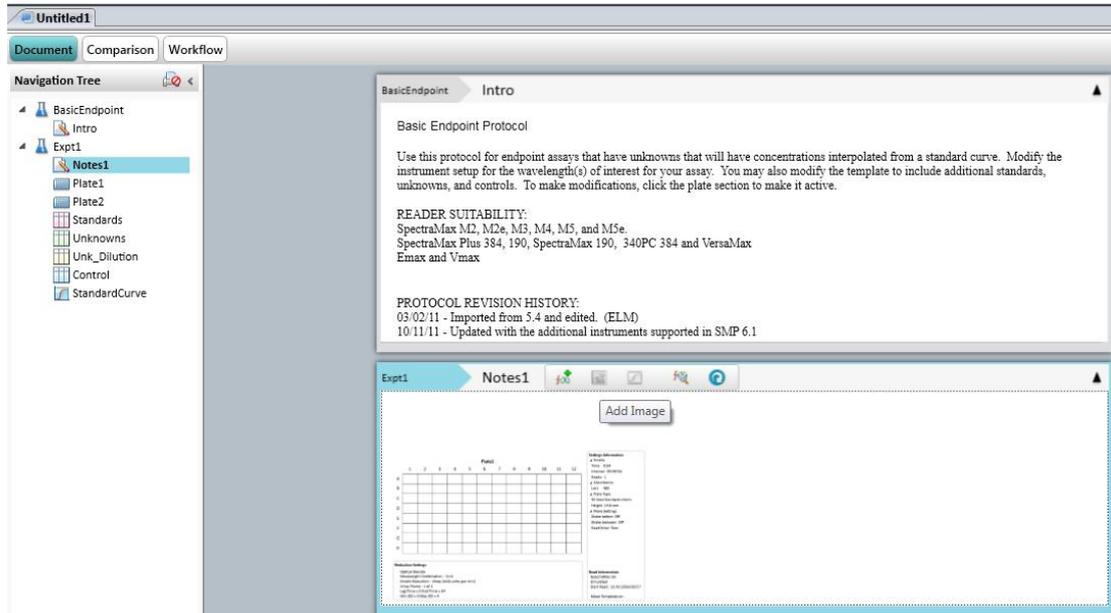


也可以根据需求，在菜单栏 ‘Home’ 下，图形化工具栏中实验部分新建实验或微孔板，如下图所示

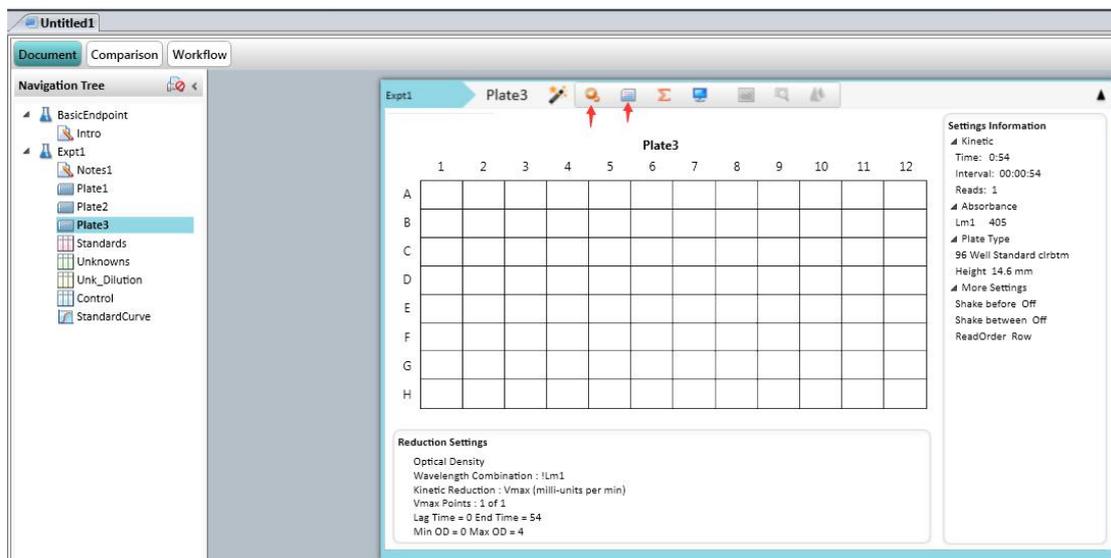


点击左侧导航树部分，每个实验主要分为三个部分：

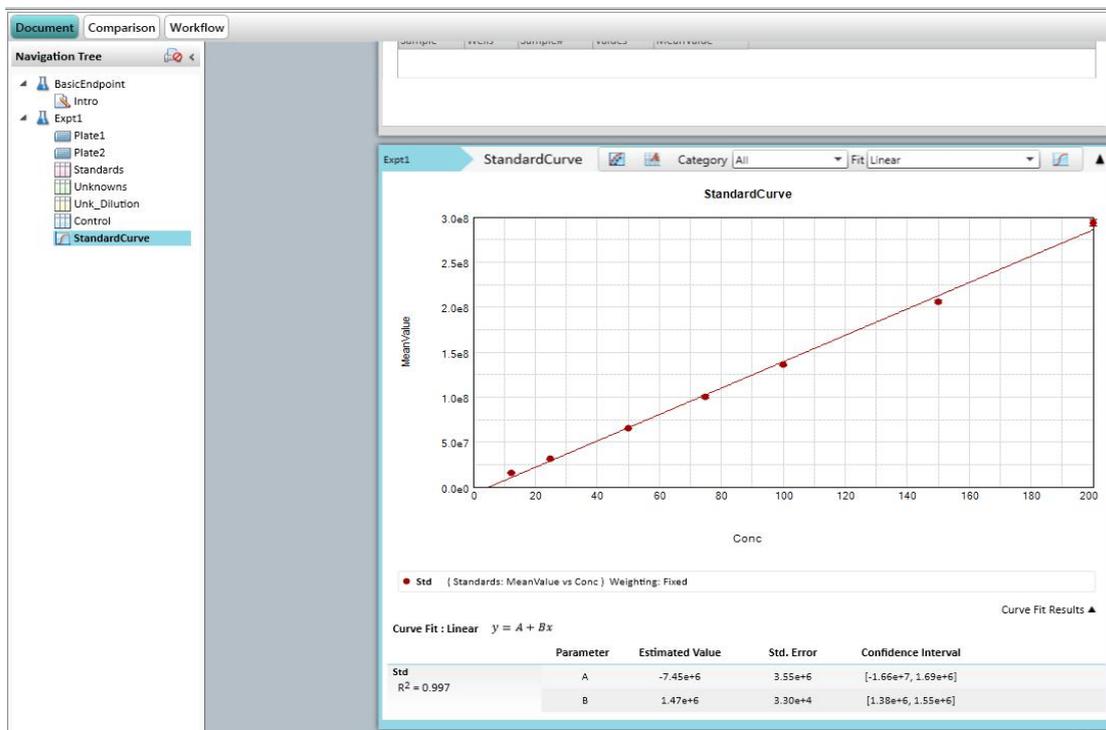
- 1) ‘Note’，在这个区域中可以写入实验记录，如实验名称、所用样品、实验时间、实验总结、图片、生成的微孔板数据和曲线图等。



- 2) ‘Plate’，在这个区域中可以编辑对微孔板进行检测设定 (Settings) 和对所检测样品的分组(Template Editor)。



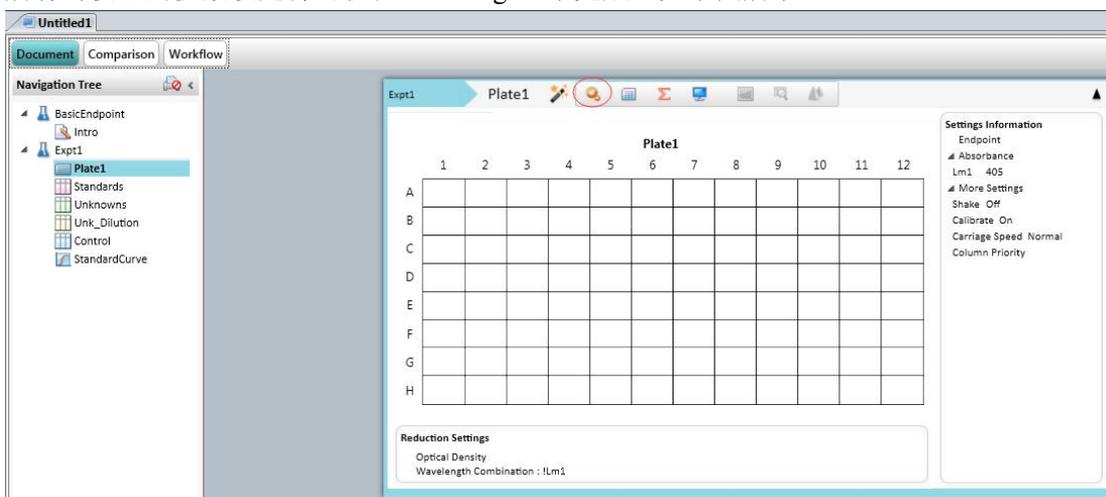
- 3) ‘Standard Curve’, 在这个区域中可以对‘Plate’中分好的标准品组进行曲线拟合方式选择, 软件支持 21 种曲线拟合方式, 可以再 Fit 下拉菜单中进行选择, 在右侧显示区域下方有  $R^2$  值等。



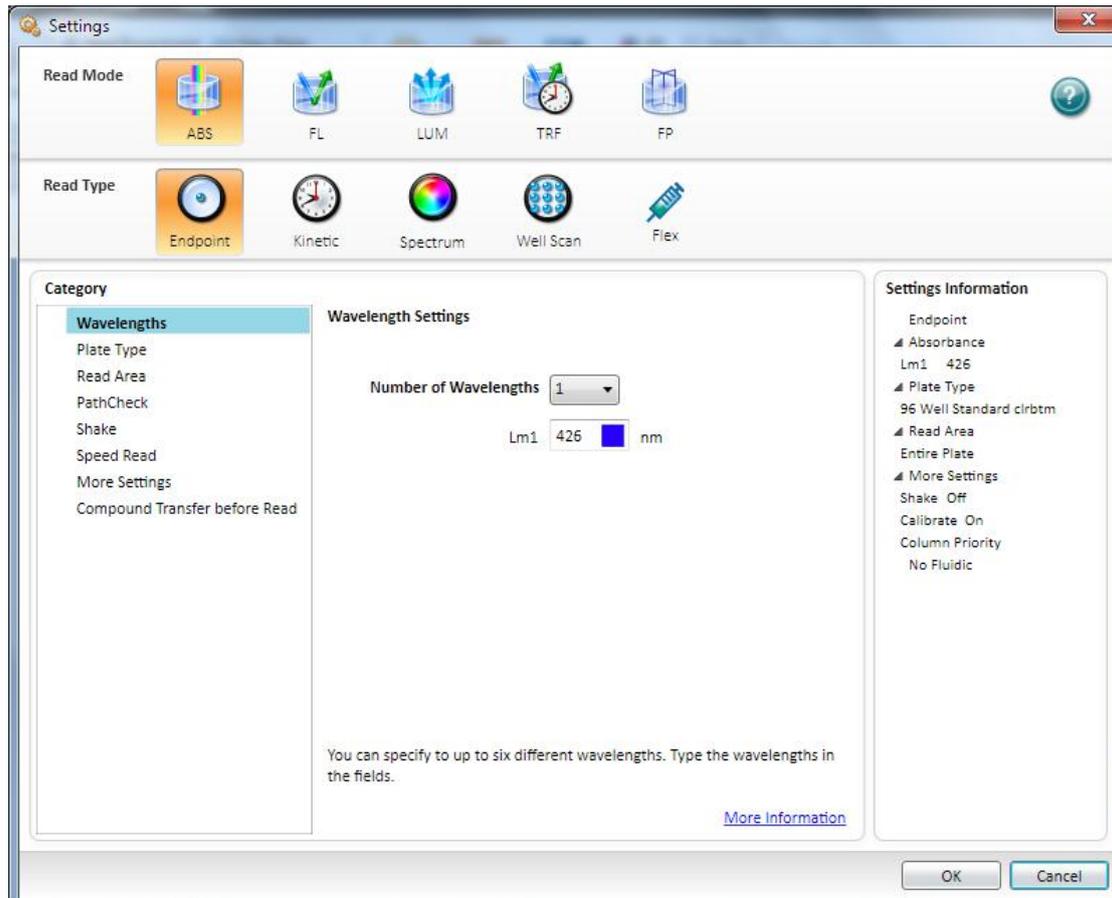
## 仪器检测参数设定

### 多种检测类别

所有对仪器的参数设定都可以在‘Settings’中完成, 如下图所示:



按 ‘Settings’ 键后出现如下对话框；



根据不同的仪器型号，读板模式（Read Modes）可包括光吸收(ABS)、荧光强度(FL)、化学发光(LUM)，时间分辨荧光（TRF），荧光偏振（FP）如下图所示：



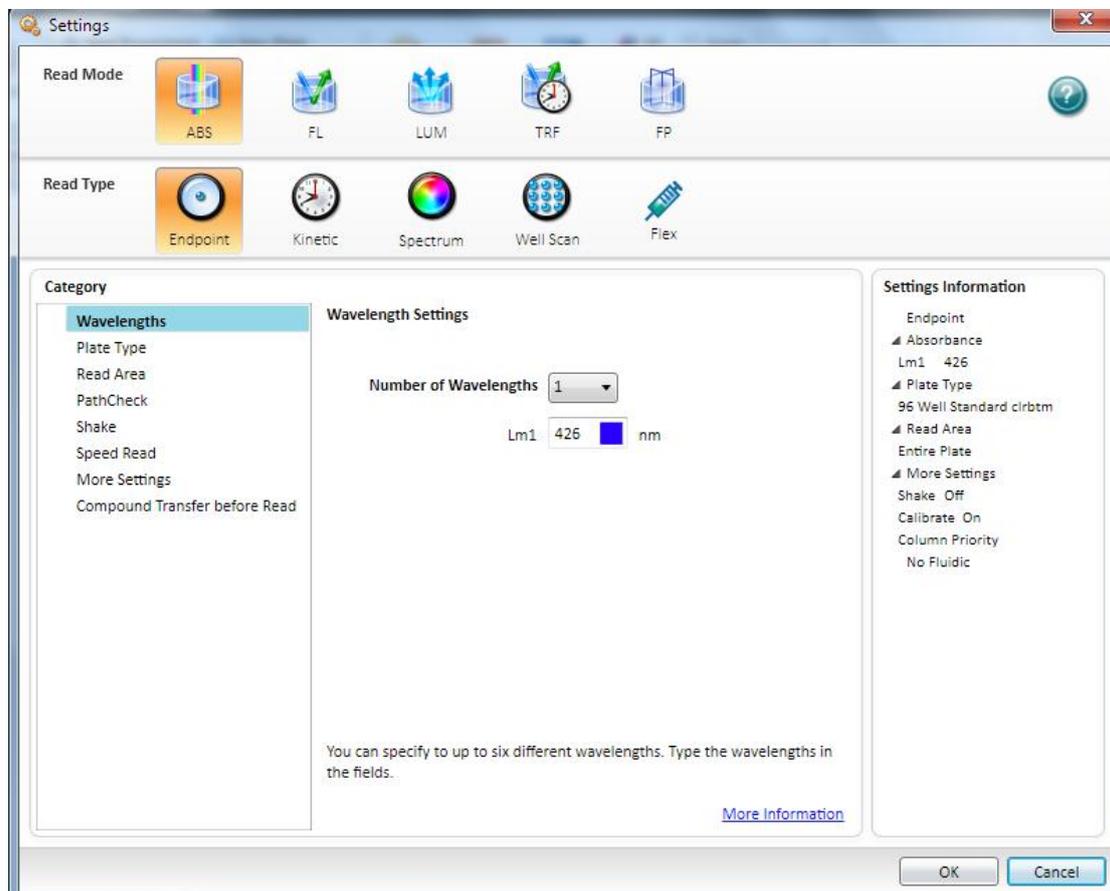
根据读板模式可选择不同的检测模式（Reader Type），即包括终点法（Endpoint）、动态学法 (Kinetic)、孔域扫描(Well Scan)、光谱扫描(Spectrum)、Flex 模式（Flex）：



在以下各图分别代表定义：

-  → **终点法检测**，即获得在单一时间点的样品检测值。
-  → **动力学法检测**，即获得在预先设定的时间段中样品在不同时间点的检测值。
-  → **波长扫描检测**，即获得样品在连续多个波长处的检测值。
-  → **单孔多点检测**，即获得每孔样品在多个位置进行检测并且平均后的检测值。
-  → **Flex 模式检测**，即在连续检测样品过程中实施加样，获得实时的快速动力学检测结果。

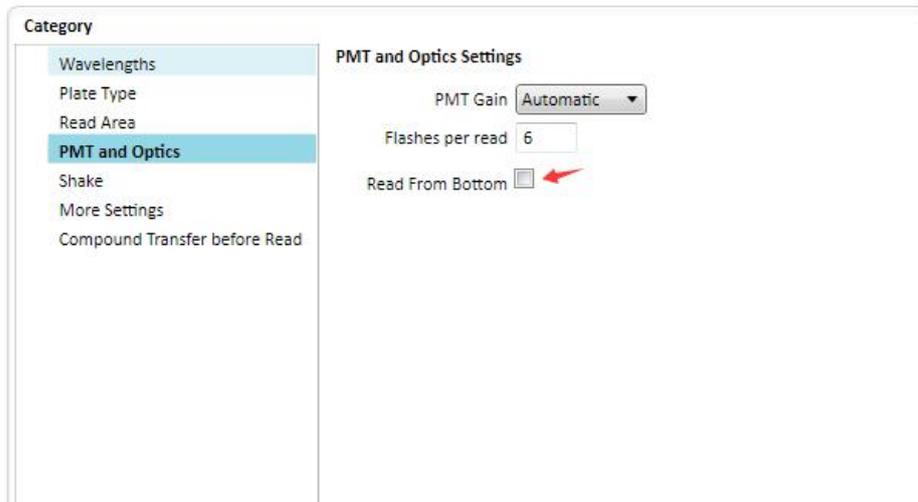
根据用户所需要获得的结果选择合适的检测类型(包括针对读板模式和检测模式的设置)，然后从左边的列表(如下图左侧)中，从上往下依次用鼠标点中选项，并在右栏(如下图右侧)中选择对应的参数进行设定。全部设定完成后按界面右下角的 **OK**，如果需要取消则按 **Cancel**。



## 1. 终点法检测

### 1) Read Mode

可选择 Fluorescence(荧光强度), Absorbance(光吸收), Luminescence(化学发光), Time Resolved(时间分辨荧光)或 Fluorescence Polarization(荧光偏振)等多种读板模式。如果是荧光强度和化学发光检测,可在‘PMT and Optics’选择‘Read From Bottom’来确定 Top read(顶读模式),适用于均相溶液和悬浮细胞的检测;还是 Bottom Read(底读模式),适用于贴壁细胞的检测,如下图所示:

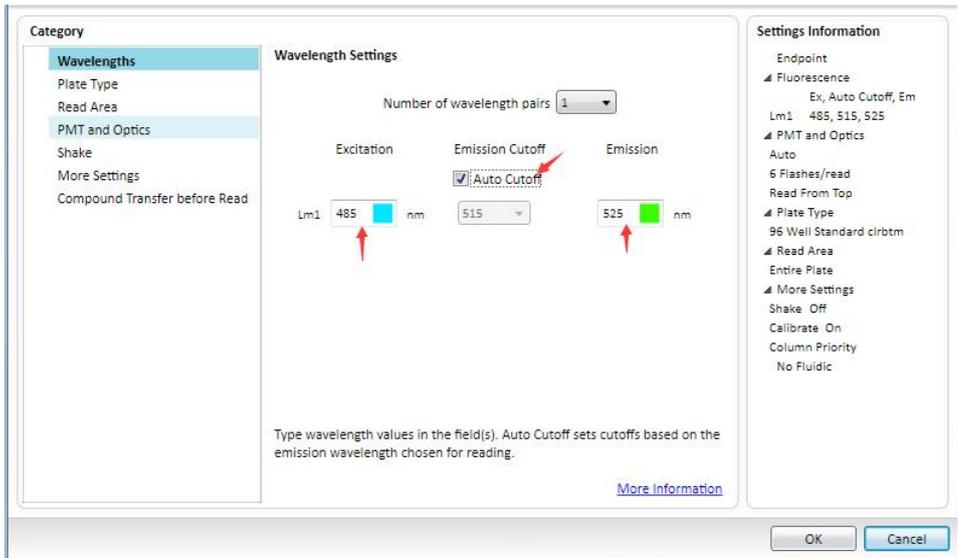


### 2) Wavelengths

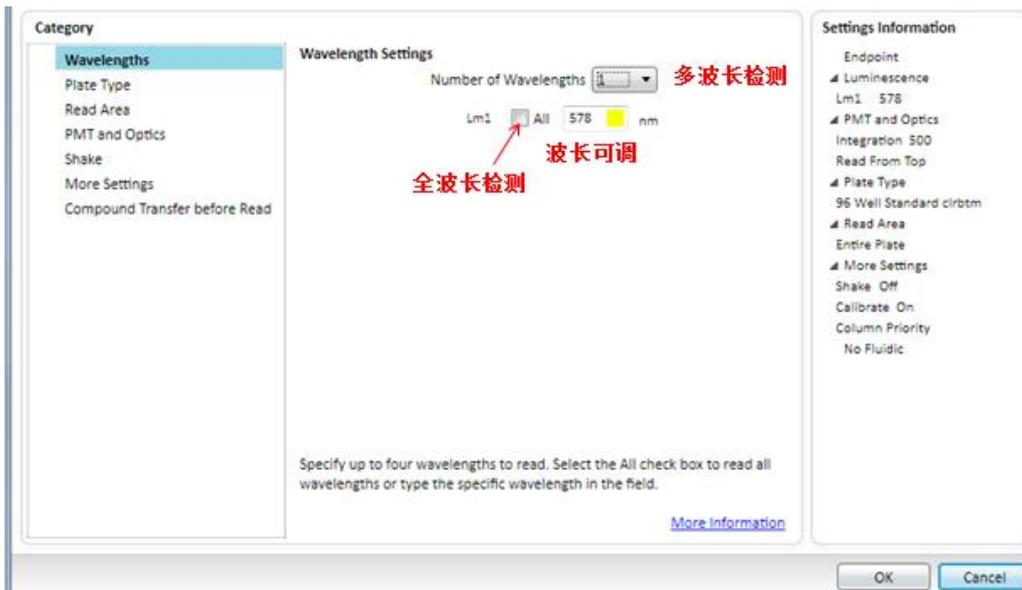


可以选择检测几种波长,光吸收模式最多为 6 种波长可选,其他模式为 4 种波长可选。

- a) 对于光吸收模式,可以在 Lm1 后面的框中填入检测所用波长。
- b) 对于荧光强度,时间分辨荧光和荧光偏振模式,可以在 2 个框中分别填入激发波长和发射波长。其中 Auto Cutoff 保持勾选状态,如下图所示:

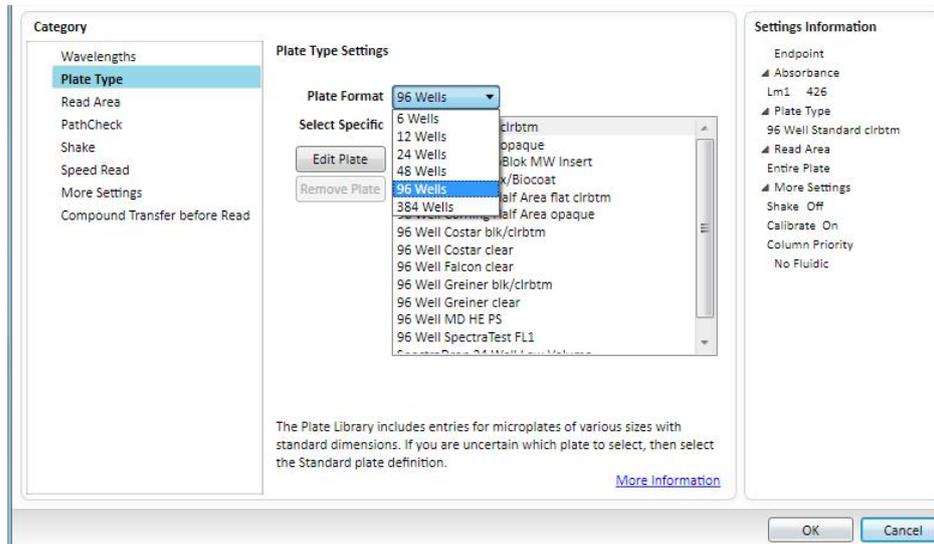


- c) 对于化学发光模式，一般使用‘All’。当同时检测不止一色化学发光的时候可填入相应的检测波长，如下图所示：



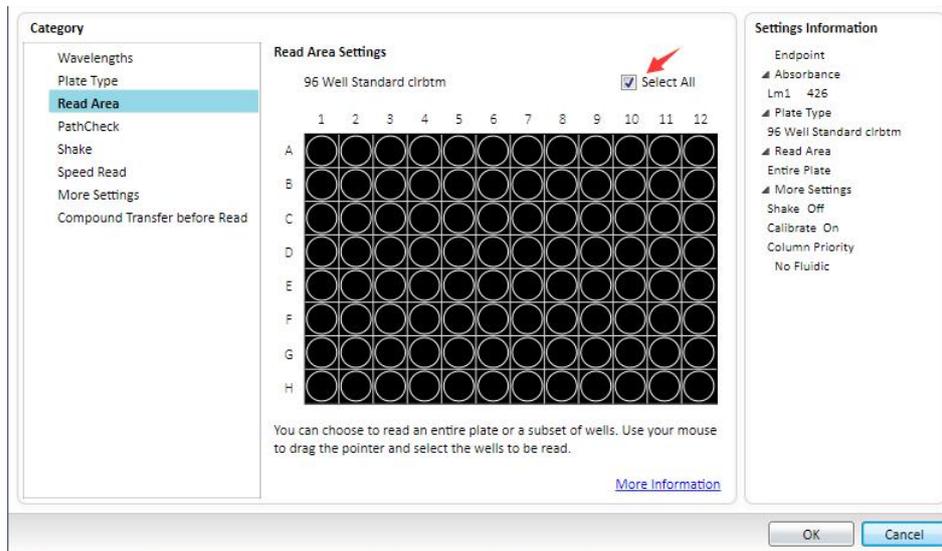
### 3) Plate Type

对于不同实验可以选择 6-384 孔板及其具体的板型，有些检测类型仅支持至 384 孔板，根据微孔板的厂家型号，在下拉表中做相应选择，如下图所示：



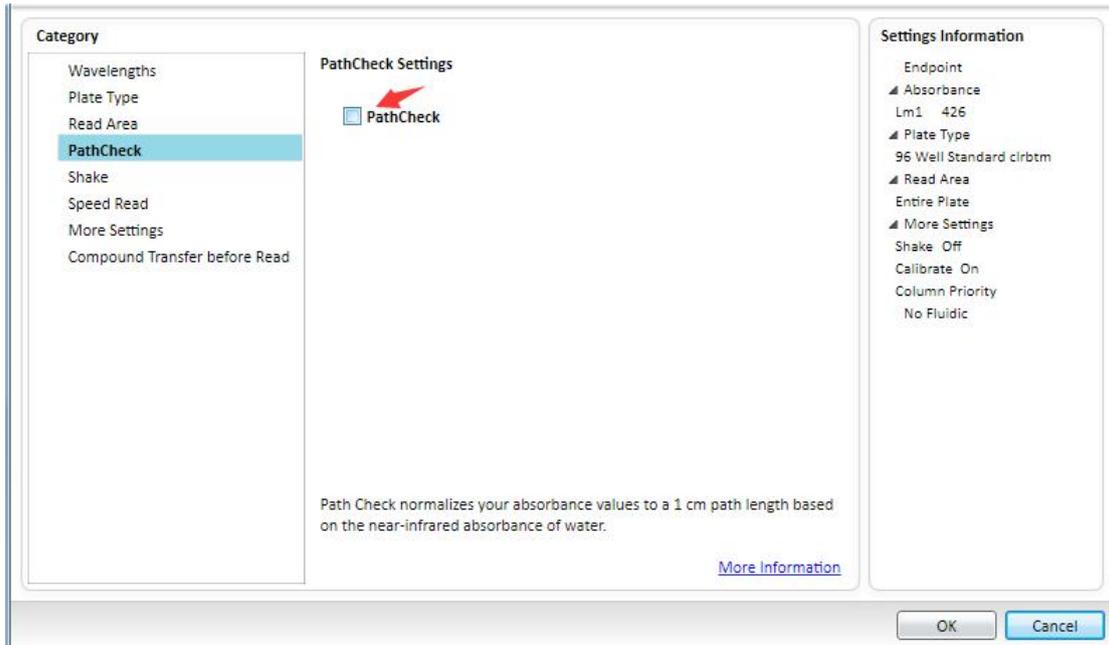
### 4) Read Area

可用鼠标先选中起始孔按住不放，进行拖曳选中微孔板上所有需要检测的孔，但不可跳选，如下图所示：



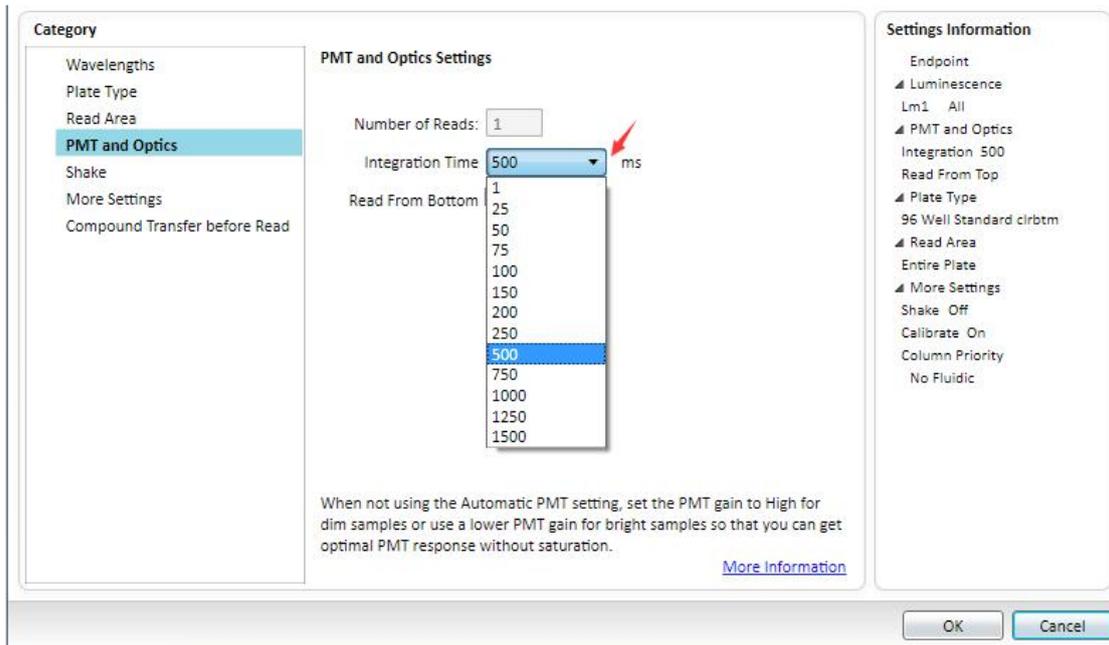
### 5) PathCheck

仅用于光吸收模式，即将微孔板检测得到的原始光吸收值通过参比较正到 1cm 光径长度时的光吸收值。



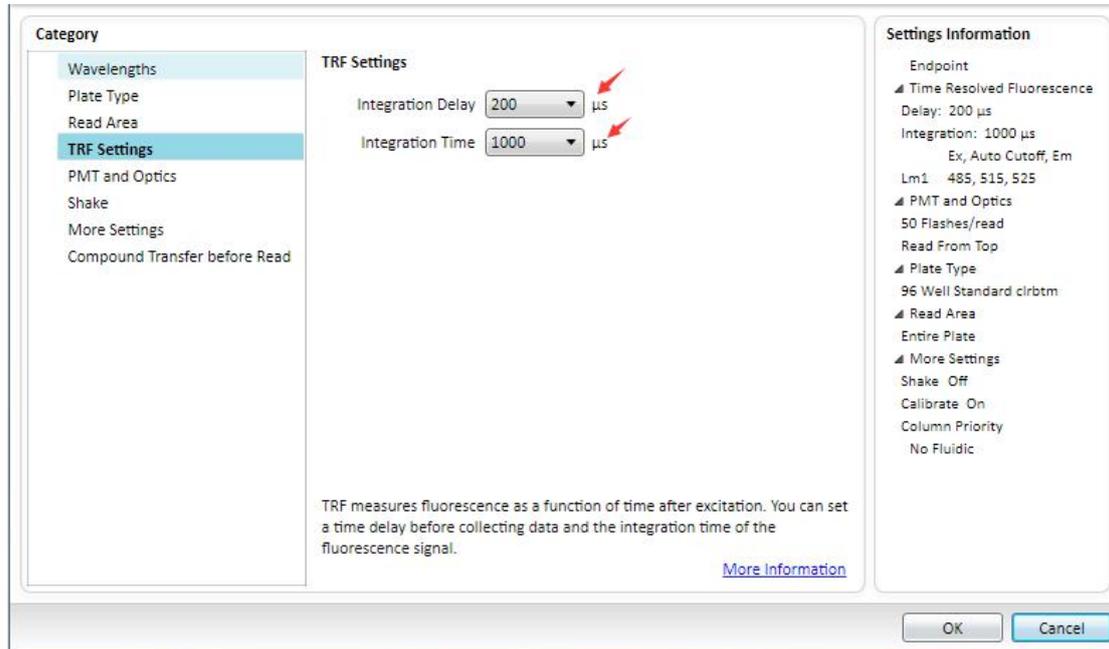
### 6) PMT and Optics

支持荧光强度(FI)、化学发光(LUM)、时间分辨荧光 (TRF) 和荧光偏振 (FP) 检测模式，如下图所示仅在化学发光模式下，‘Integration Time’ 为检测读头位于待检测微孔板孔上的曝光时间，范围在 1-1500ms 之间。



## 7) TRF Setting

仅在时间分辨荧光设置里，Integration Delay 输入检测延迟时间，在 Integration Time 输入检测时间；

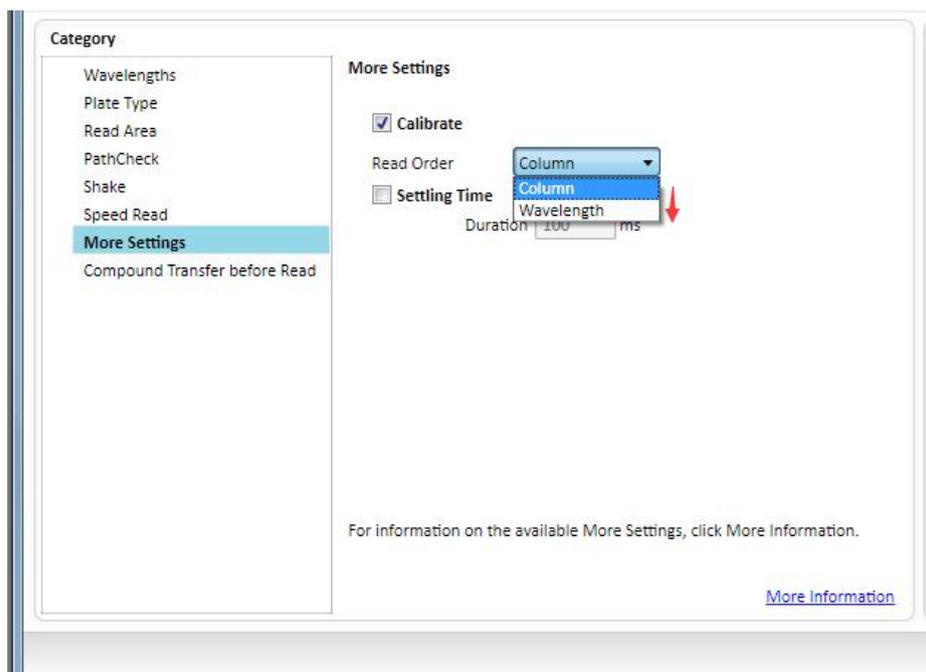


## 8) Shake

选中 Shake 后可以选择读板之前震板，可选择 0-999 秒。

## 9) More settings:

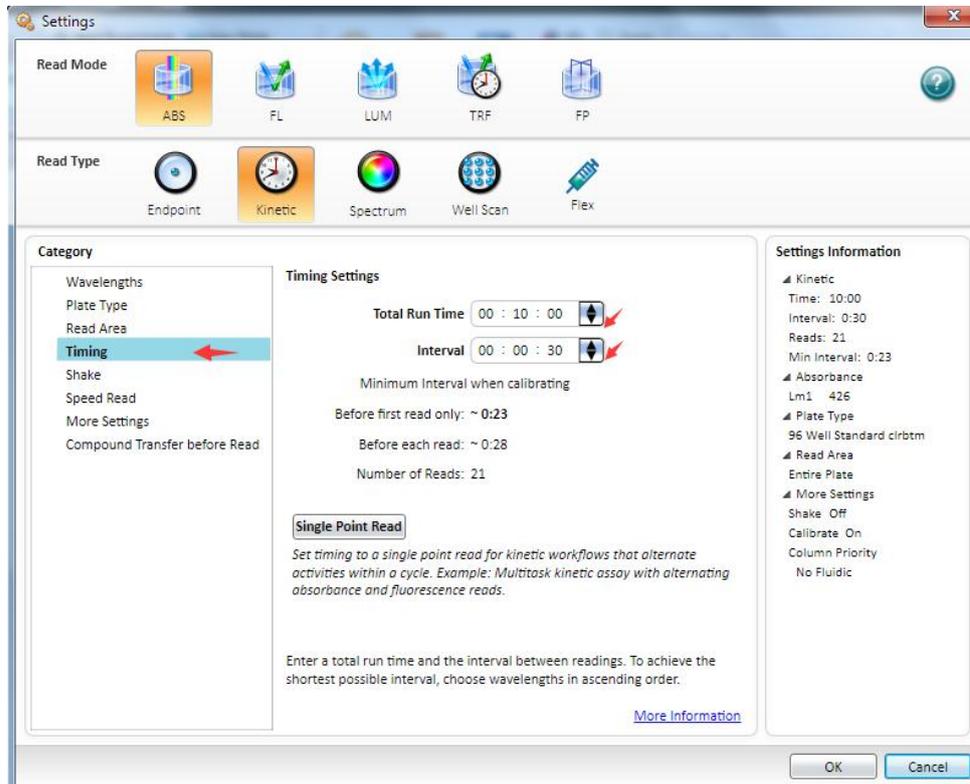
‘Read order’用于多个波长在同一实验检测中的优先方式。‘Column Priority’是指每孔(每列)检测完多个波长后再移到下一个进行检测。‘Wavelength Priority’是指一次实验中所选取的所有孔先一次检测完一个波长后再从第一个孔开始按下一个波长读完所有孔直到把所有波长都检测完。



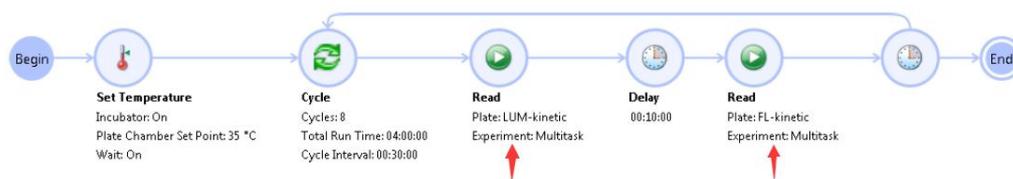
## 2. 动力学法检测

### 1) Timing

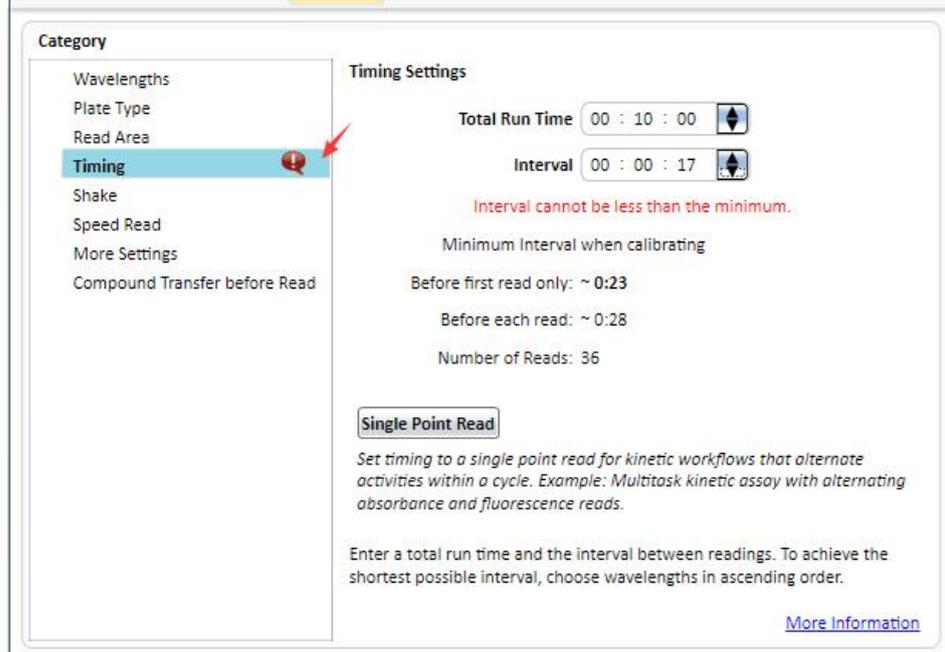
与终点法相比，动力学法的设定只是在下图左侧增加了时间的设定。选择‘Timing’后可以看到右侧参数设定中包含有‘Total Run time’即整个检测反应时间以及‘Interval’即各检测点之间的时间间隔，不同型号仪器最短和最长间隔时间不同，依据仪器类型决定，如下图所示：



如果进行循环式的多任务（不同检测方法之间切换）流程设置时，必须选择‘Single Point Read’，最小间隔时间进行一次检测，例如下图流程，这样就不会对多任务流程循环过程中对上次读板数据进行覆盖：



鼠标点击这两个相应的数字框后可以进行修改。如果时间间隔太短，会出现叹号警报。最小的间隔时间取决于微孔板检测类型和同时检测多少个孔。

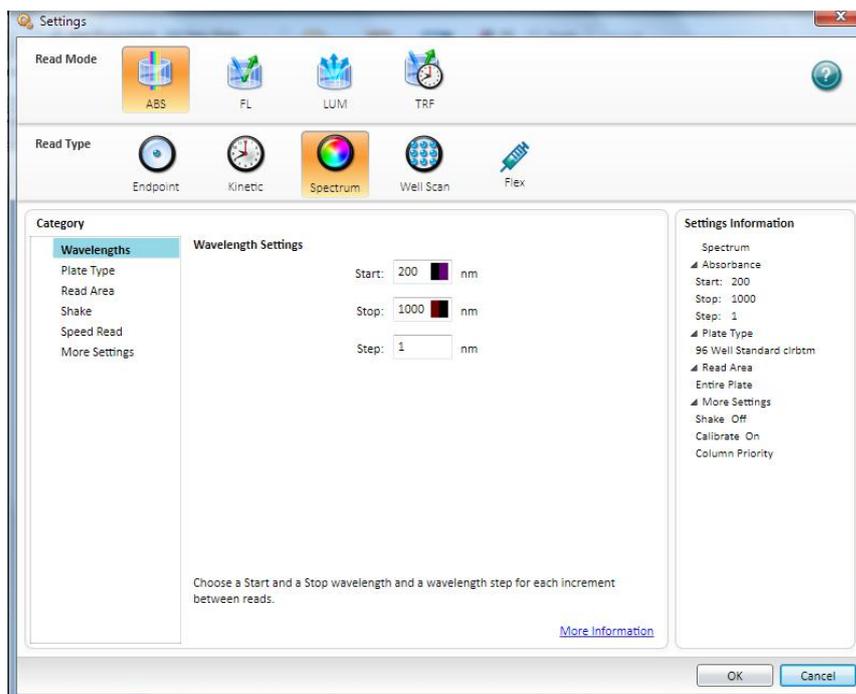


### 3. 波长扫描检测

与终点法相比，‘wavelength’的设定有所区别，无论是光吸收、荧光强度和化学发光检测，均可以对其进行相应设置。

#### 1) 光吸收检测和化学发光检测

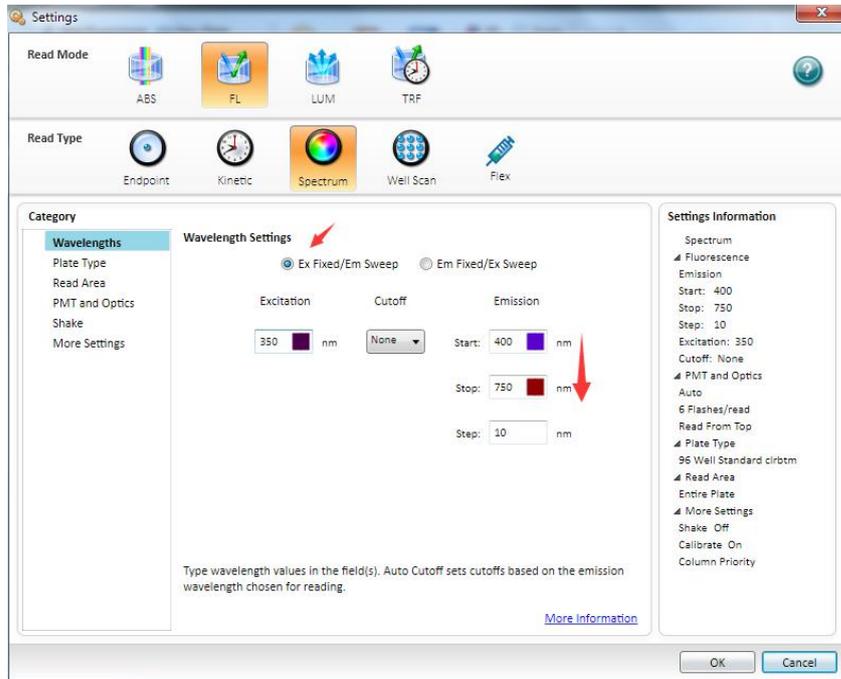
在‘start’和‘stop’的框中分别填入起始检测波长和终止检测波长。在‘step’的框中填入检测点之间的步径，最小为 1nm 步径，如下图以光吸收功能下全波长扫描为例：



## 2) 荧光强度检测

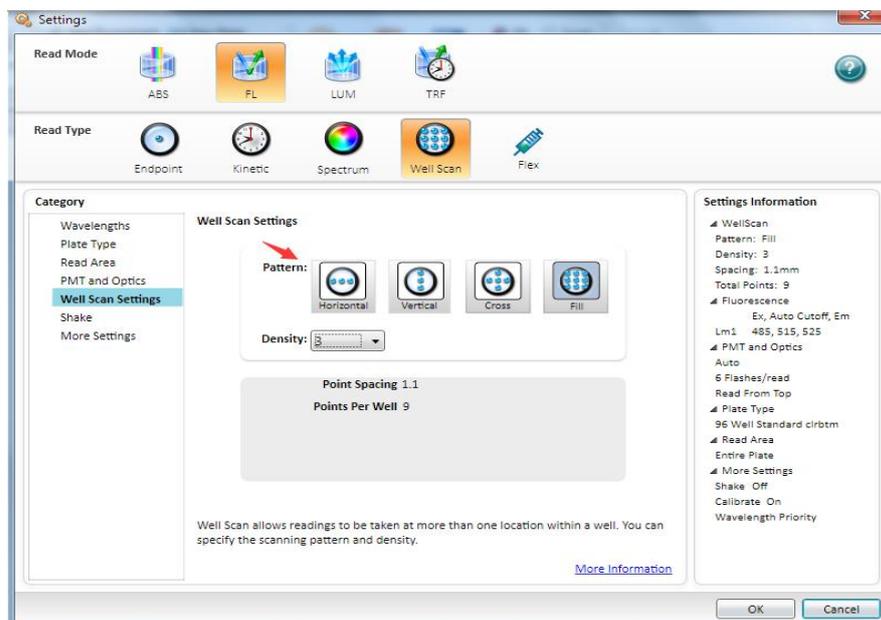
分为两种:

- a) 固定激发波长(Excitation)扫描发射波长(Emission)  
起始发射波长必须比固定激发波长要大。
- b) 固定发射波长(Emission)扫描激发波长(Excitation)  
终止激发波长必须比固定发射波长要小。



## 4. 单孔多点检测

与终点法检测相比，左侧多了‘Well Scan Setting’孔内检测密度的设定。选中后出现右栏，如下图所示：

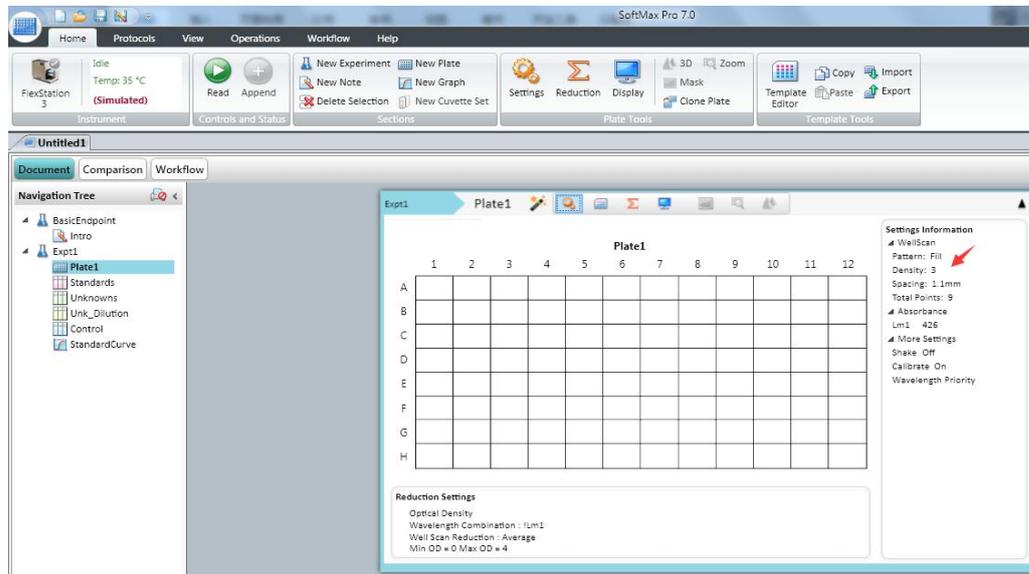


在‘Pattern’下，中根据实验需要选择每孔检测横向 3 个点，纵向 3 个点，5 个点和 9 个点。随着点数增加总检测时间增加。

全部设定完后按对话框右下角的‘OK’确认，回到文档界面。放入检测板，按图标栏的启动



Read 检测，如下图所示

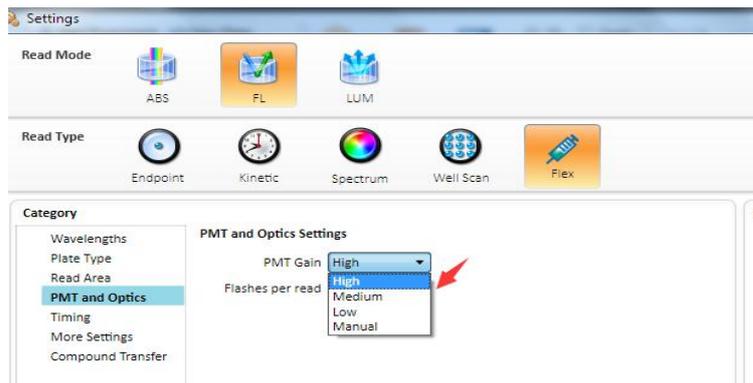


### 5. 快速动力学检测（Flex 模式）

在此检测类型中，可应用光吸收、荧光和化学发光检测，荧光偏振和时间分辨荧光不适用该模式，如下图所示：

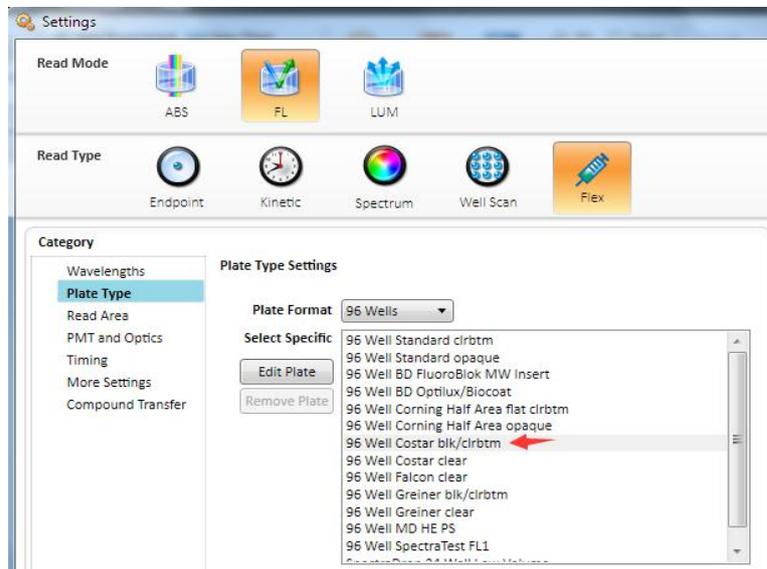


荧光检测中 PMT 的 sensitivity 可选择 High、Medium、Low、Manual，建议选择为 High。

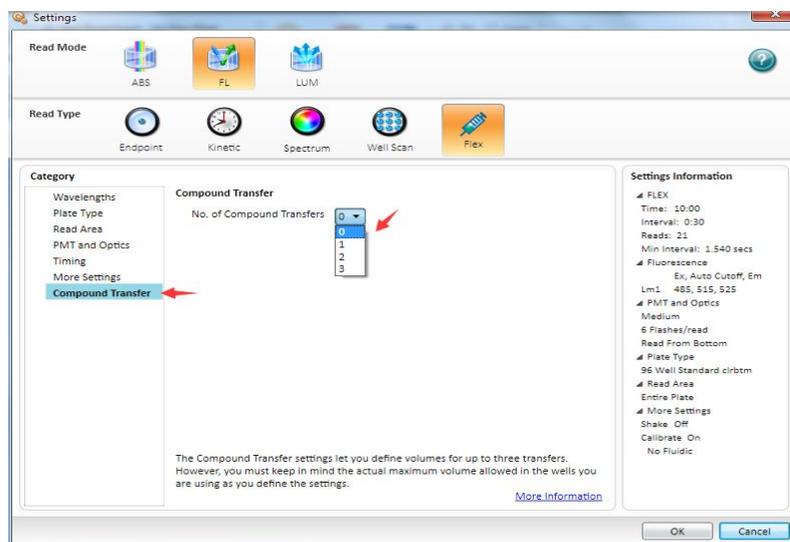


在 Flex 快速动力学检测模式中，检测以列(Column)为单位，即完全实时检测完第一列样品的数据后再进行第二列检测，依次类推完成整板检测。

由于快速动力学试验需要在检测过程中移液，因此 Flex 模式检测自动使用的是底读，在选择微孔板的类型时必须选择底透的类型(c1rbtm)。

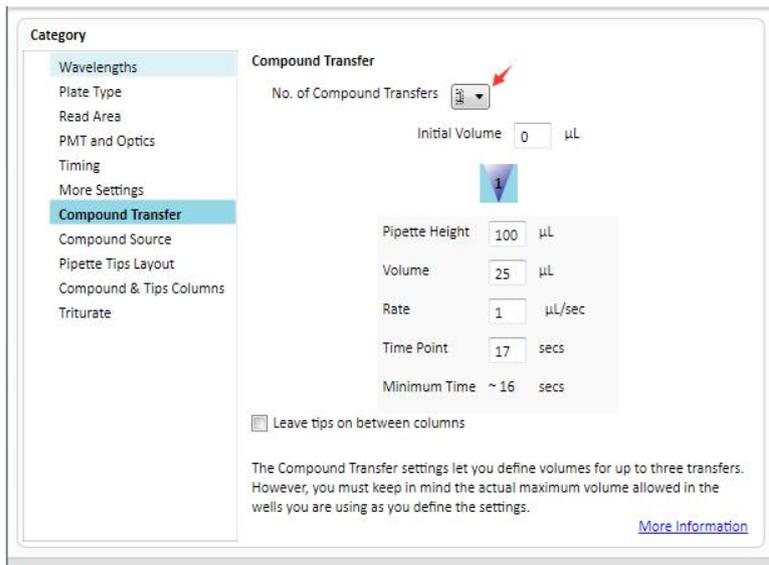


在 Category 区域中，如果需要移液操作，选择 Compound Transfer，选择移液次数（1-3 次）



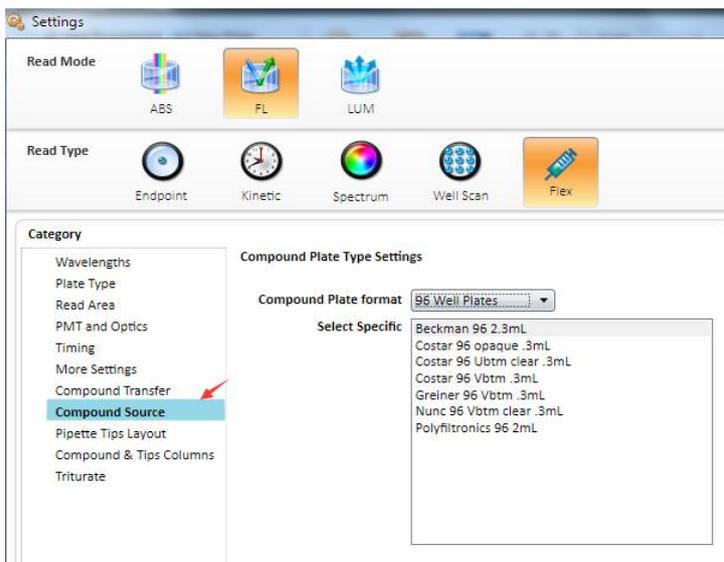
如果选择移液次数后，则会在 Category 中出现 Compound Source、Pipette Tips Layout、Compound&Tips Columns、Triturate 选项

**1) Compound Transfer** 其中分两个部分：首先需要填入 initial volume 即检测板每孔中原始样品（如细胞）的体积数，单位 ul。此数据用于计算微孔中总体积是否超过限定最大体积，溢出则系统会报错，提示修改体积。Pipette Height 处填入在加样至检测板孔时，移液器所插枪头（Tips）的枪尖离孔底的高度，一般数值可以为 initial volume 与 pipette volume 相加之和。Volume 处填入 pipette 移液的体积数。Rate 处填入加样的速度，‘1’表示加样速度约为 16ul/秒，‘2’表示加样速度约为 31ul/秒。Time Point 处填入加样的时间点。由于是在实时动力学检测样品的过程中加样，需要有一段时间进行提取枪头、吸液、移液的步骤，因此会有最小加样时间 minimum time。Time Point 处填入的时间必须大于等于此最小加样时间。



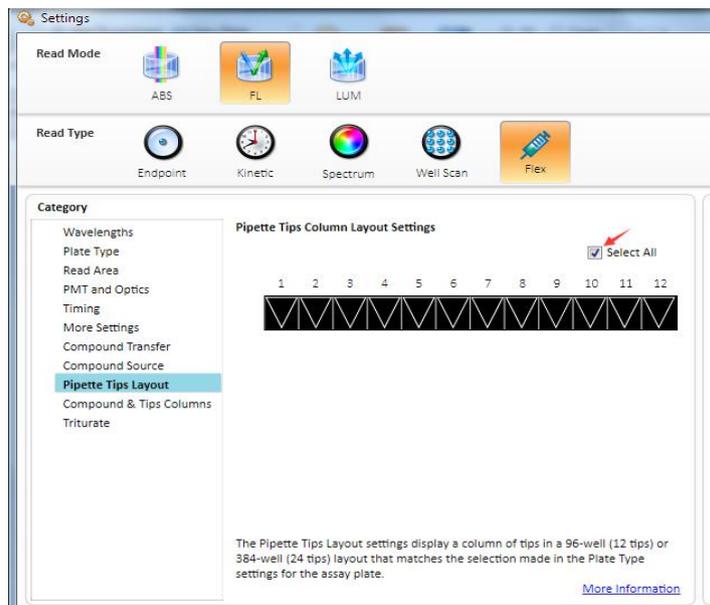
## 2) Compound source

此部分可以选择放置需要加样的化合物/药物的微孔板型，可选平底或 v 型底以及不同体积的板型。



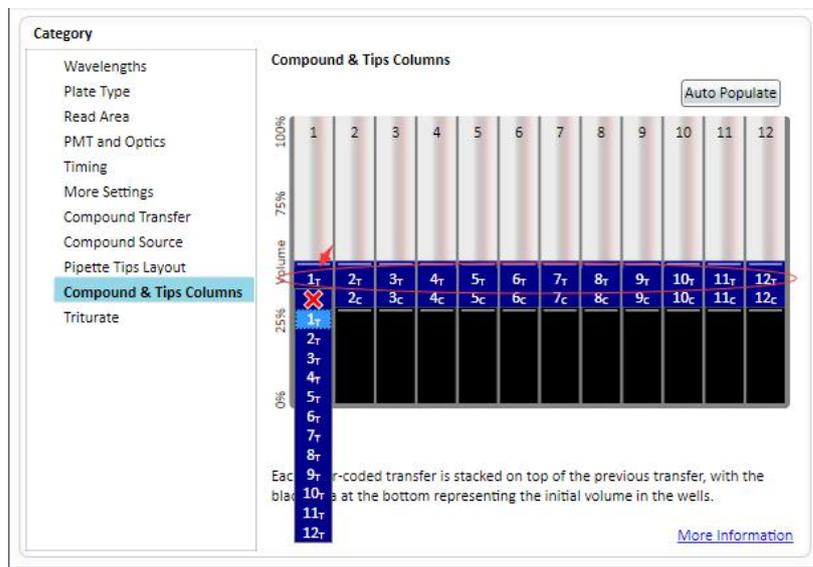
### 3) Pipette tips layout

此部分选择那些区域的枪头可以用于整个试验的移液，可用鼠标拖曳涂黑选中，一般全选。



### 4) Compound & tips columns

选择 T (Tips), 该部分用于分配枪头的使用以及分配如何加样，如第一列中，我们可选择第几列枪头使用，将试剂样品加入第一列检测微孔板 (Assay Plate) 中；检测微孔板顺序是不变的，数字位于最上方 1-12 列 (96 孔板)；枪头的位置，与其上方的检测板孔列相关联，可用鼠标先拖曳选中列数，有需求可以在 column 下拉菜单修改为所要选用的枪头列。



如下图所示，此行表示所用化合物的位置，与其最上方的检测板孔列相关联，可用鼠标先拖曳选中目的列数，然后在 compound column 下拉菜单修改为所要选用化学物，如下图所示，第一列枪头选择第一列化合物加入第一列的检测微孔板中，当然，也可以根据用户实际需求选择其它列化合物加入第一列检测微孔板中。

**Category**

- Wavelengths
- Plate Type
- Read Area
- PMT and Optics
- Timing
- More Settings
- Compound Transfer
- Compound Source
- Pipette Tips Layout
- Compound & Tips Columns
- Triturate

**Compound & Tips Columns**

[Auto Populate](#)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1 <sub>r</sub>	2 <sub>r</sub>	3 <sub>r</sub>	4 <sub>r</sub>	5 <sub>r</sub>	6 <sub>r</sub>	7 <sub>r</sub>	8 <sub>r</sub>	9 <sub>r</sub>	10 <sub>r</sub>	11 <sub>r</sub>	12 <sub>r</sub>
Volume	1 <sub>c</sub>	2 <sub>c</sub>	3 <sub>c</sub>	4 <sub>c</sub>	5 <sub>c</sub>	6 <sub>c</sub>	7 <sub>c</sub>	8 <sub>c</sub>	9 <sub>c</sub>	10 <sub>c</sub>	11 <sub>c</sub>	12 <sub>c</sub>
25%	1 <sub>c</sub>											
0%												

Each color-coded transfer is stacked on top of the previous transfer, with the black at the bottom representing the initial volume in the wells.

[More Information](#)

### 5) Triturate

Flex 检测中特有的混匀程序，通过加样系统对溶液进行吸液吹液来达到溶液混匀的目的。分成 compound source 和 assay plate 两部分，分别应用于化合物板和检测板的混匀。Volume 表示吸吹液的体积，cycles 表示吸吹液的次数，height 表示在检测板混匀时移液的枪尖离板底的位置。该程序使用必须特别小心，避免因吸吹液体而破坏细胞的贴壁效果从而影响检测结果，建议先做少量预试验确定是否需要混匀及其设定。

**Category**

- Wavelengths
- Plate Type
- Read Area
- PMT and Optics
- Timing
- More Settings
- Compound Transfer
- Compound Source
- Pipette Tips Layout
- Compound & Tips Columns
- Triturate

**Triturate**



Compound Source:  
 Volume:   $\mu\text{L}$   
 Cycles:

Assay Plate:  
 Volume:   $\mu\text{L}$   
 Cycles:   
 Height:   $\mu\text{L}$

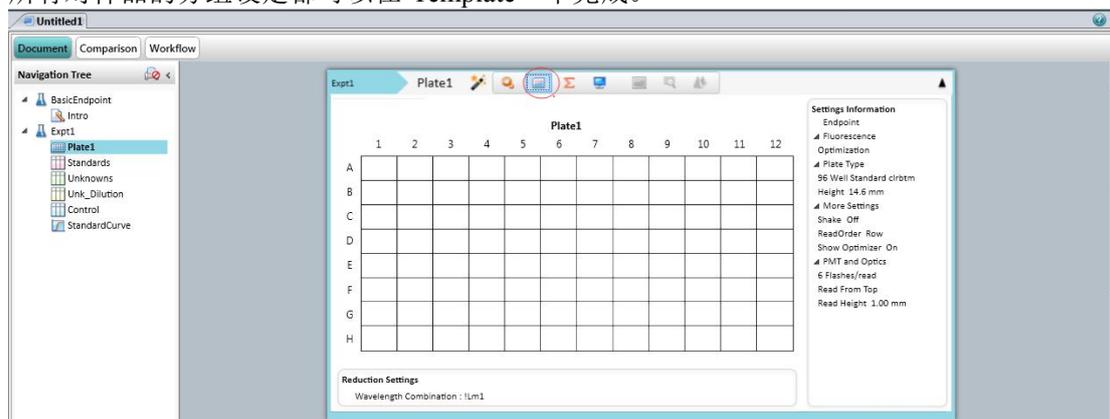
You can choose to triturate in either the compound source plate or the assay plate, or both.

[More Information](#)

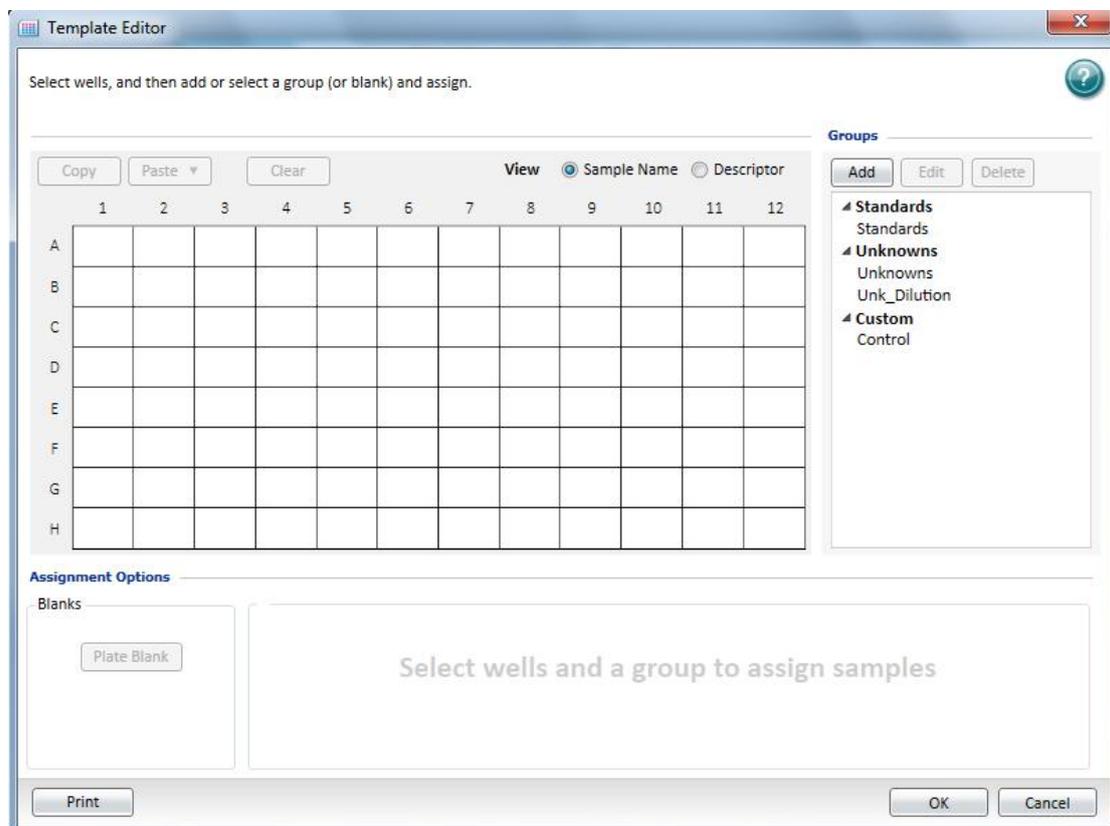
**注意！本操作简介中所有实验数据由模拟器获得，该结果与实际仪器检测结果无关，仅仅用于说明。**

## 检测样品分组设定

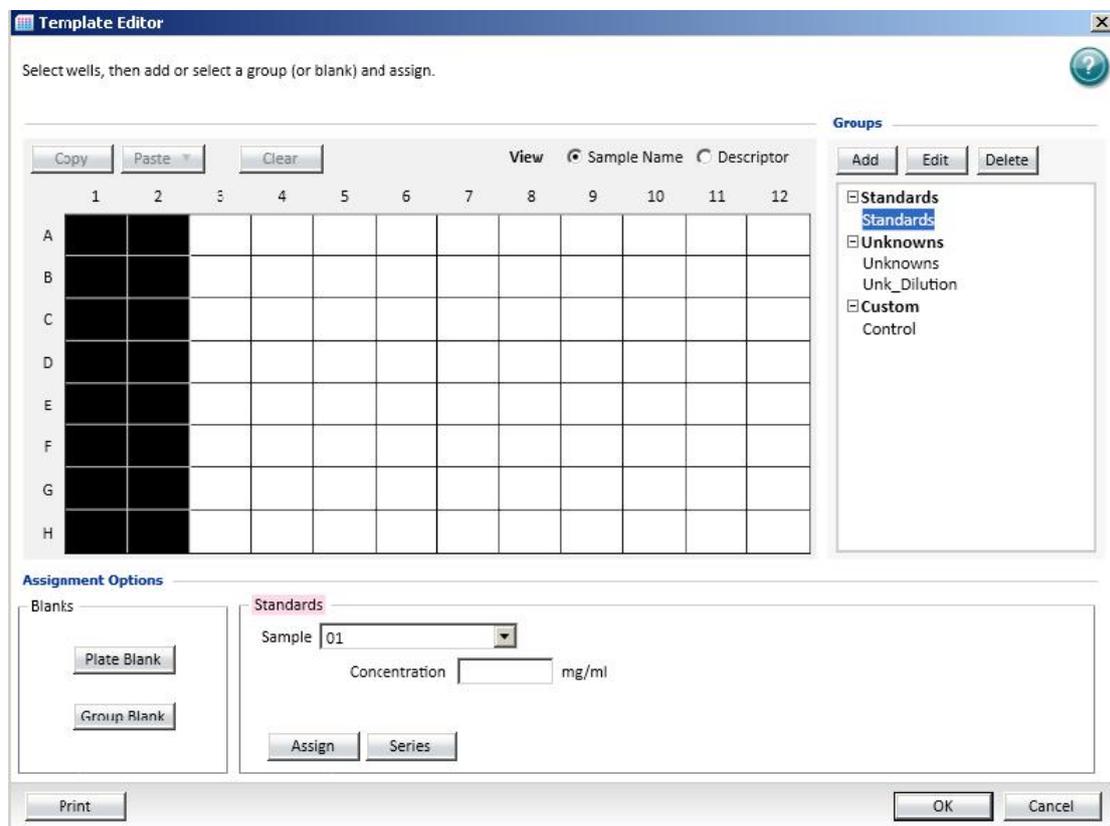
检测样品分组设定（可以先设置模板分组，也可以先读数再设置模板分组，设置样品分组，可以让软件对实验数据进行自动统计处理。保存为 .spr 格式后，设置的模板既可以保存，以后打开可以直接使用，不用再做过多设置。）所有对样品的分组设定都可以在‘Template’中完成。




 点击  键后出现如下对话框：



先用鼠标点中并拖曳，选中要进行编辑的孔，被选中的孔会变黑，然后点击 Groups 栏中的下拉菜单选择所要进行的分组，例如 标准品组 Standards，样品组 未知样品 Unknowns 和未知稀释样品 Unk\_Dilution，对照样品组 Control。

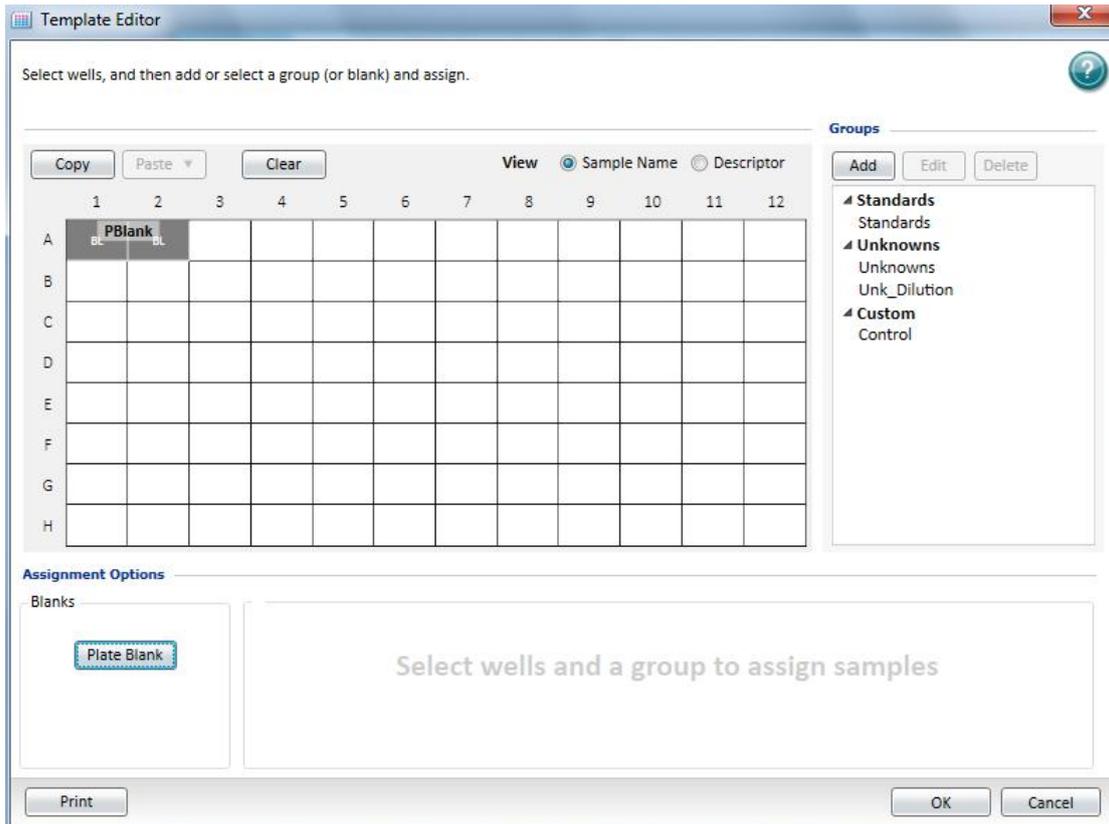


具体设定步骤如下例。

## 1. 设定本底参照(BLANK)

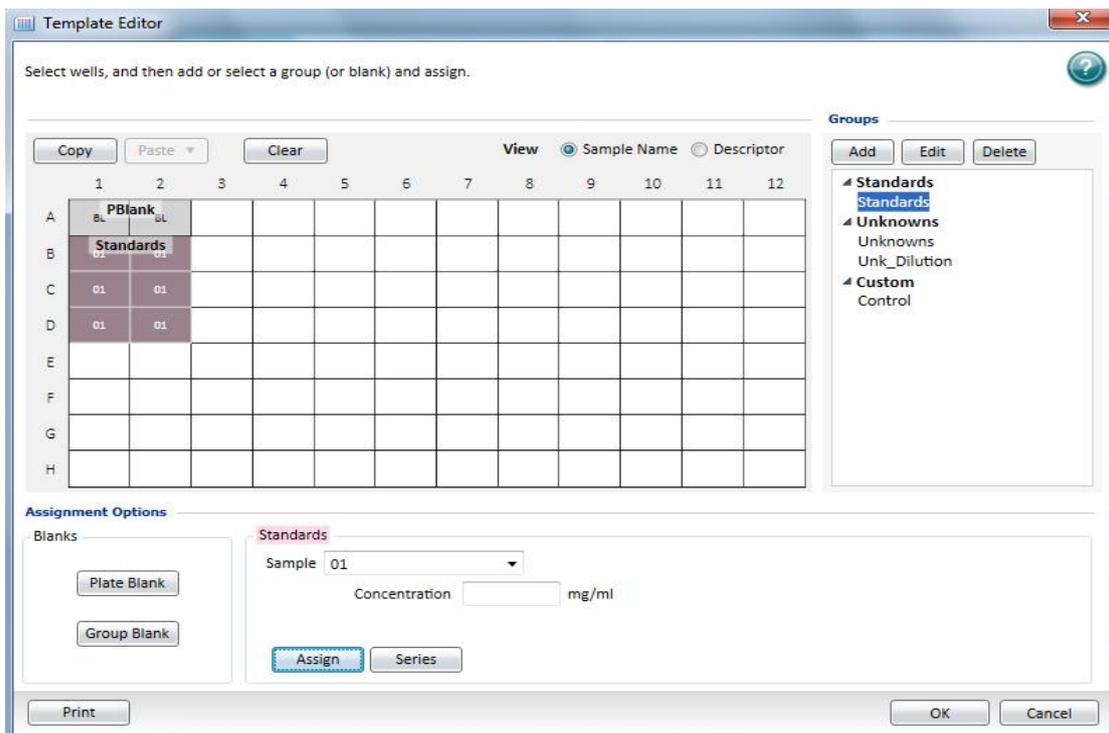


点击  进入上述界面，选中所用微孔 A1 & A2，点击 Blanks 栏中的 Plate blank 按钮设定 Blank 孔。结果如图则其他的数据结果均显示为扣除本底(A1&A2 平均值)的结果。

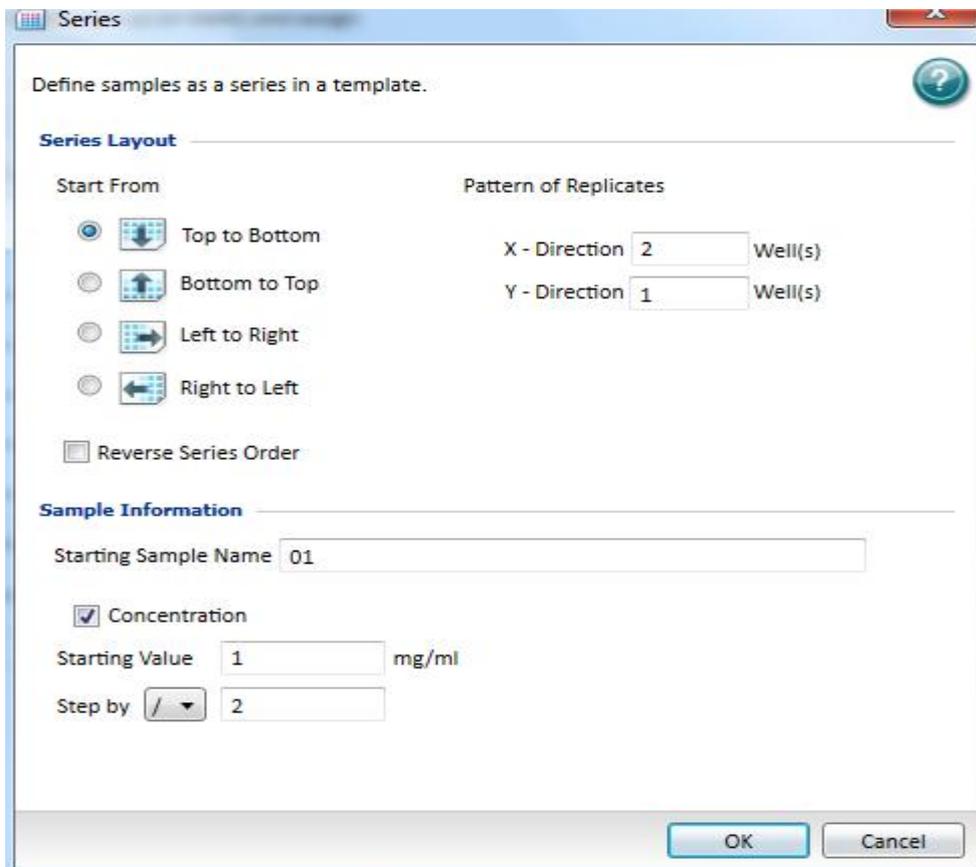


## 2. 设定标准样品(Standards)及相应的标准曲线

当有一系列已知浓度梯度的样品做为标准样品时，点击  进入编辑界面，选中微孔 B1/B2 至 D1/D2，点击 Groups 栏中的 Standards，点击 Assign



Standard 组分好后，然后点击对话框左下角的 **Series** ，进入如下图的对话框：

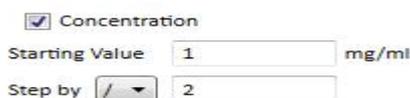


‘Start from’ 中 ‘Top to Bottom’ ， ‘Bottom to Top’ ， ‘Left to Right’ ， ‘Right to Left’ 表示该组内样品从那个方向起始排列。‘Pattern of Replicates’ 表示为 X 轴或 Y 轴复孔；本例中选 ‘Top to Bottom’ ， X 轴复孔 2 个。



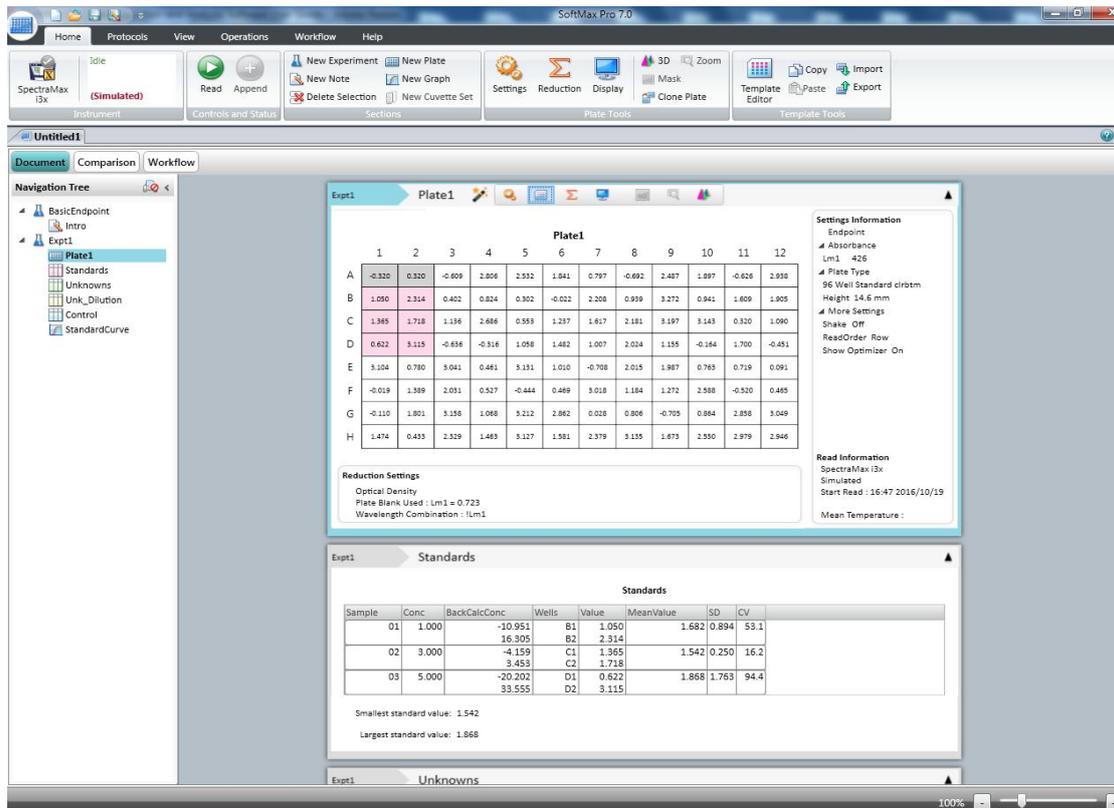
表示起始样品号为 Gr01，以后依次为 Gr02，

Gr03...



在 栏中输入适当浓度，‘Starting value’ 表示起始样品的浓度，可以在框内填入相应数值。‘Step by’ 表示以什么方式进行浓度梯度，前面下拉框可以选择 ‘+、-、\*、/’ ，后面框内可以填入计算的值，比如起始浓度是 1，增加 2，则选择+，输入 2。

对话框右下角‘OK’确认，回到文档栏如下图。‘Plate’栏中显示出‘Blank’和标准样品‘Standard’扣除了本底的检测光吸收值。



The screenshot displays the SoftMax Pro 7.0 software interface. The main window shows a data table for 'Plate1' with columns 1 through 12 and rows A through H. The 'Standards' table below it provides details for three standard samples (01, 02, 03) across multiple wells (B1, B2, C1, C2, D1, D2).

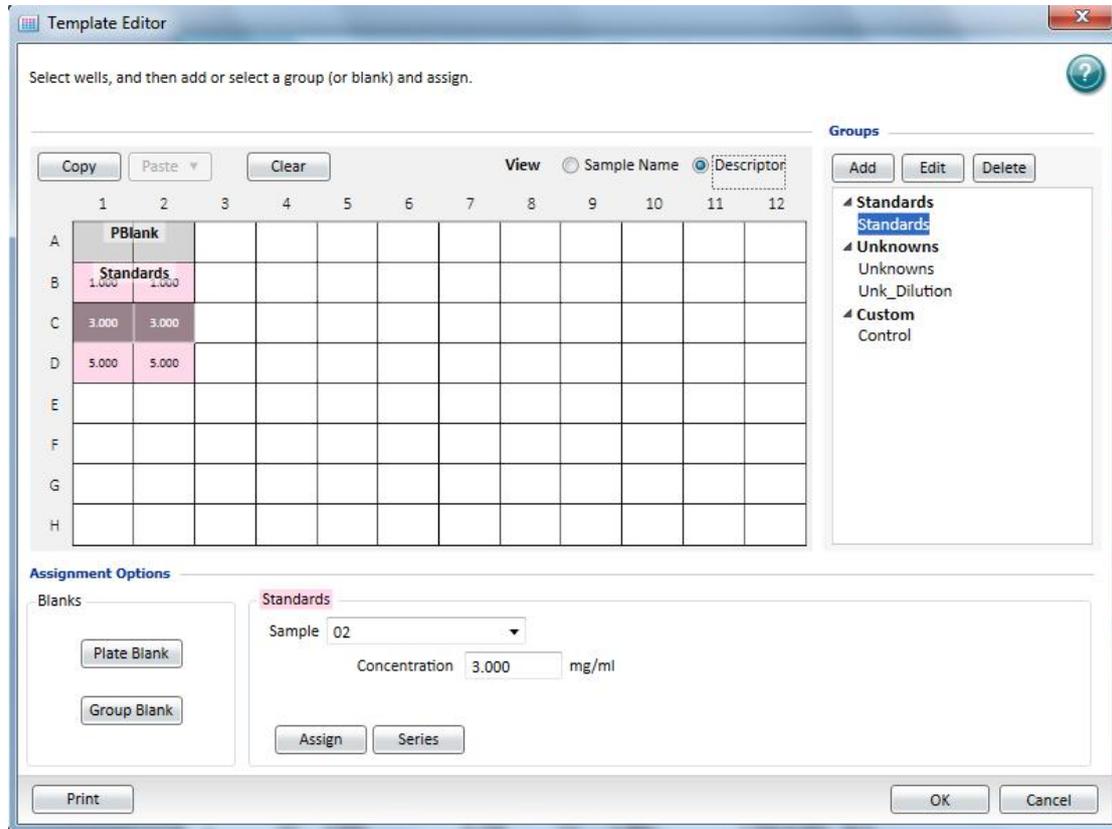
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-0.320	0.330	-0.609	2.806	2.532	1.941	0.797	-0.692	2.487	1.897	-0.626	2.938
B	1.050	2.314	0.402	0.824	0.352	-0.022	2.208	0.939	3.272	0.941	1.609	1.805
C	1.985	1.718	1.136	2.666	0.583	1.237	1.617	2.181	3.197	3.143	0.320	1.090
D	0.622	3.115	-0.636	-0.316	1.056	1.482	1.007	2.024	1.159	-0.164	1.700	-0.451
E	3.104	0.780	3.041	0.461	3.131	1.010	-0.708	2.015	1.987	0.763	0.719	0.091
F	-0.018	1.989	2.011	0.527	-0.444	0.469	3.018	1.104	1.272	2.588	-0.520	0.445
G	-0.110	1.801	3.158	1.068	3.212	2.862	0.028	0.806	-0.705	0.864	2.858	3.048
H	1.474	0.453	2.529	1.463	3.127	1.581	2.379	3.135	1.673	2.930	2.879	2.946

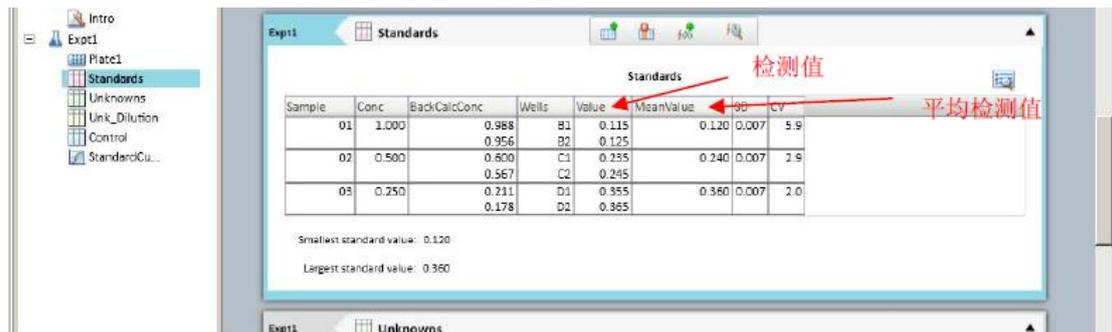
Sample	Conc	BackCalcConc	Wells	Value	MeanValue	SD	CV
01	1.000	-10.951	B1	1.050	1.682	0.894	53.1
			B2	2.314			
02	3.000	-4.159	C1	1.365	1.542	0.250	16.2
			C2	1.716			
03	5.000	-20.202	D1	0.622	1.868	1.763	94.4
			D2	3.115			

Smallest standard value: 1.542  
Largest standard value: 1.868

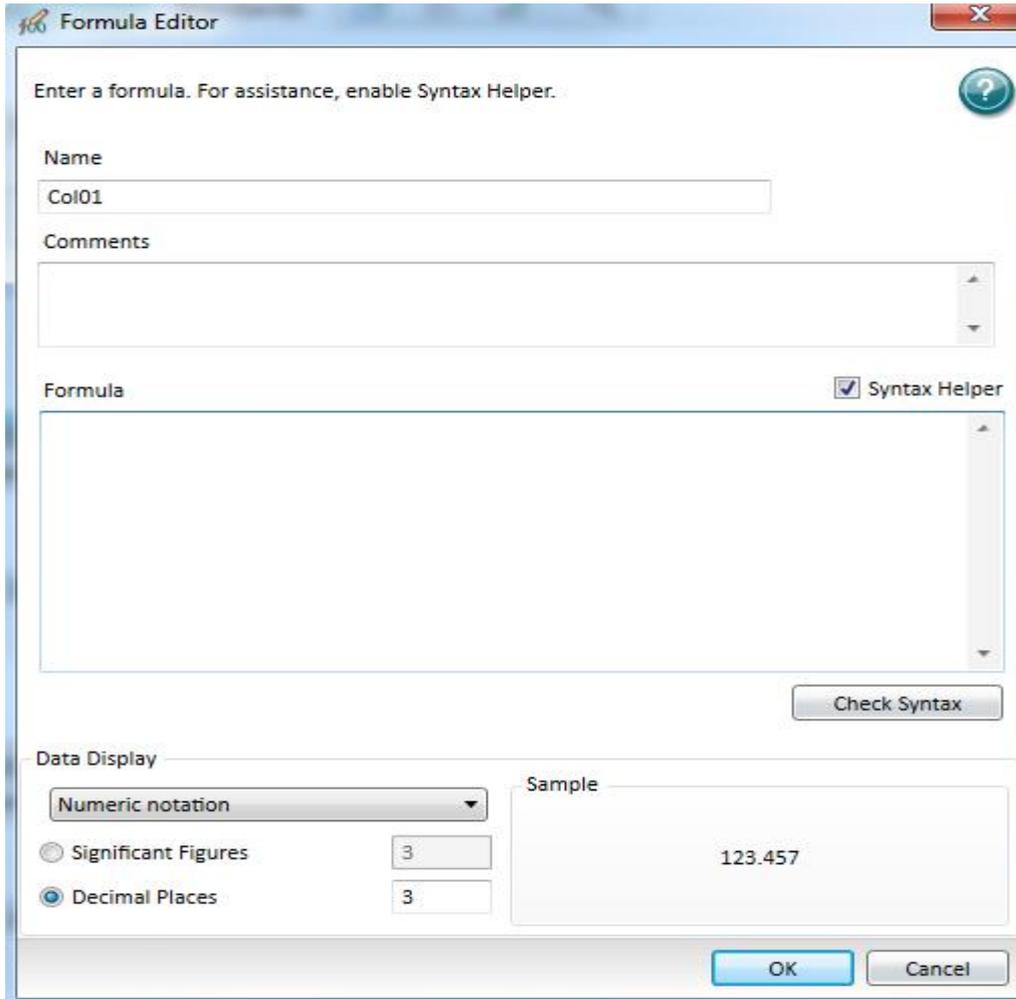
如标准品并无规律的梯度稀释关系，需要人为手动更改每个孔中的浓度，设置方法如下，在左上角首先选择‘Descriptor’，可以清楚看出稀释关系为，如果需要更改某个孔可直接鼠标拖住至黑色，这时在软件界面下方的‘Concentration’中手动更改浓度值；



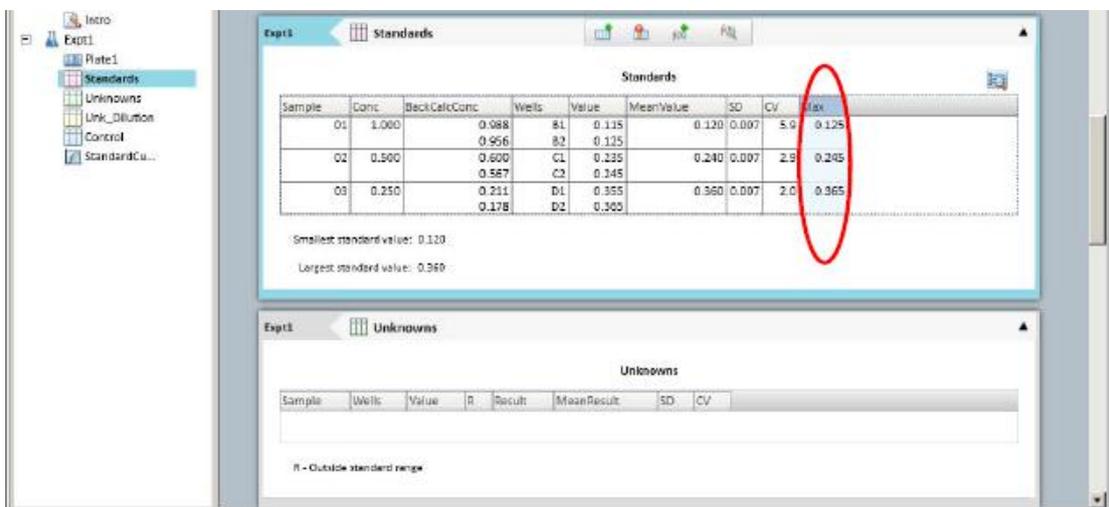
由于添加了标准品组，在左边导航树位置选择‘Standards’，右侧文档数据显示区域显示分组信息，那么在原有标准样品数据表格内就会出现标准品检测数据，‘Value’列是数据的检测数值，‘Mean Value’列是检测数据平均值。



在此栏 Standards 中，按 可以在表格中多加一列，对表格中每个样品进行计算。点击 进入如下界面：

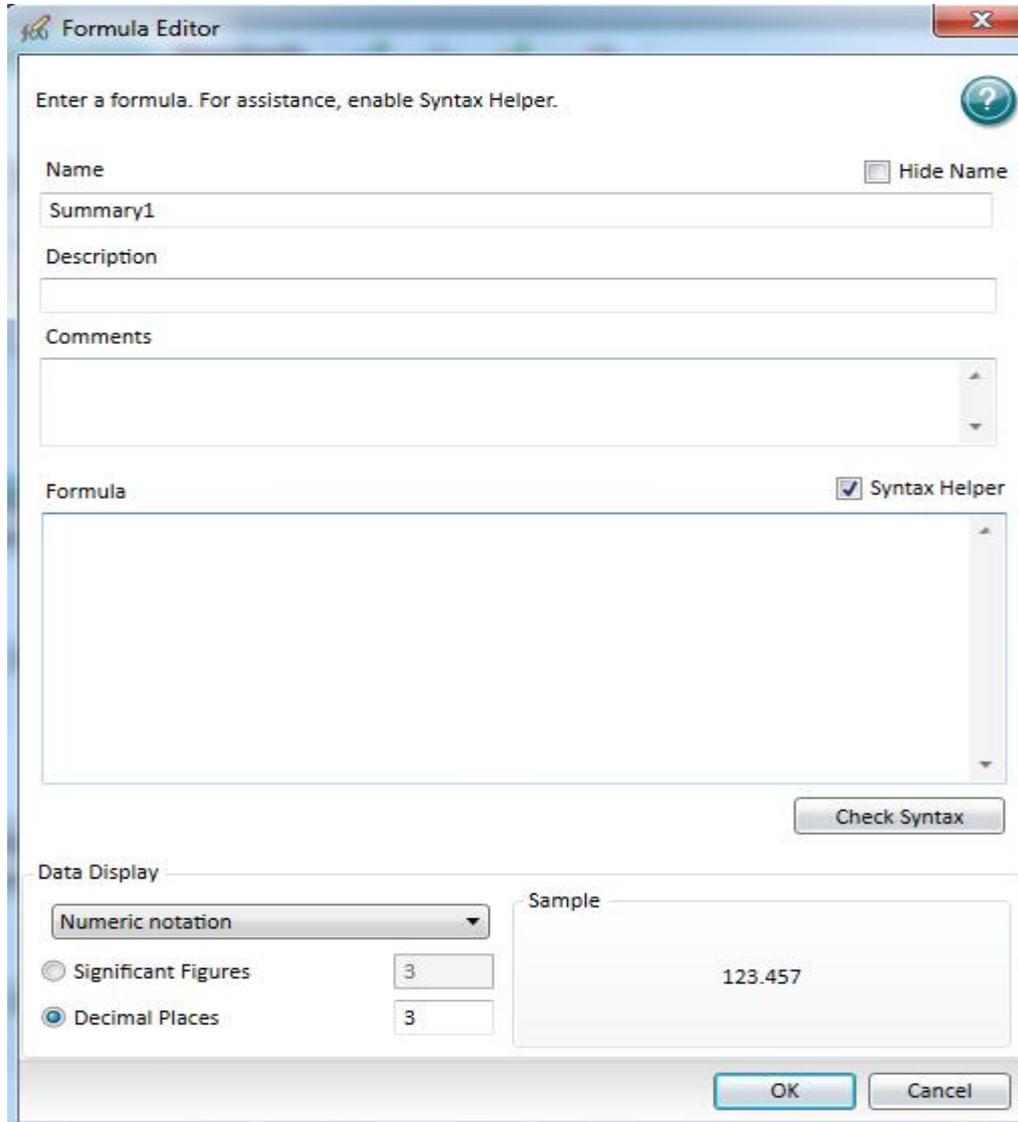


‘Name’ 中填入该列数据的名称，即计算中所引用的名字。‘Formula’ 中填入该列数据所应用的公式。比如要得到每个样品复孔里检测值中最大的那个，可以在 ‘Name’ 中填入 Max，‘Formula’ 中填入 Max(Values)。按对话框右下角 ‘OK’ 确认，回到 ‘Standard’ 栏，如下图所示：

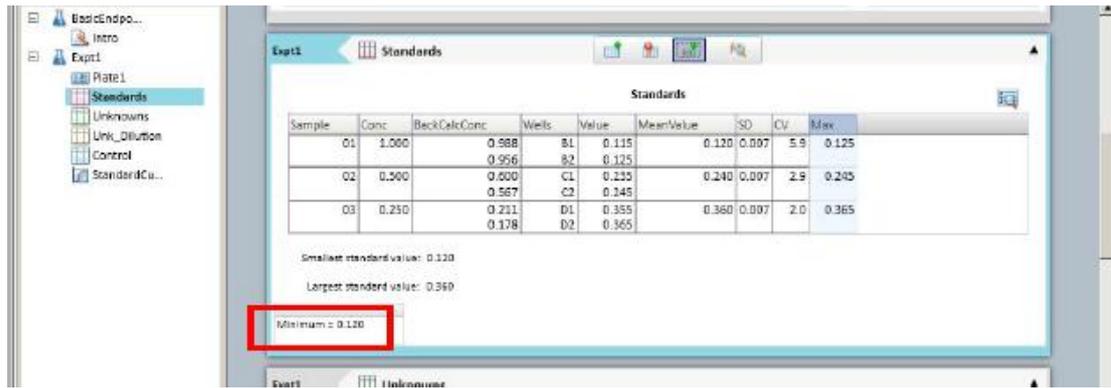


在此栏中，按  可以在表格底下多加一条分析结果，对表格中样品进行总结性的计算。点击

 进入如下界面：



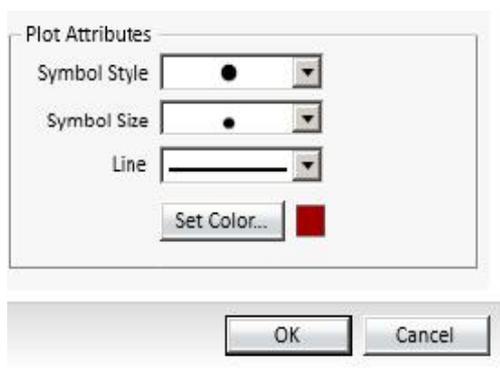
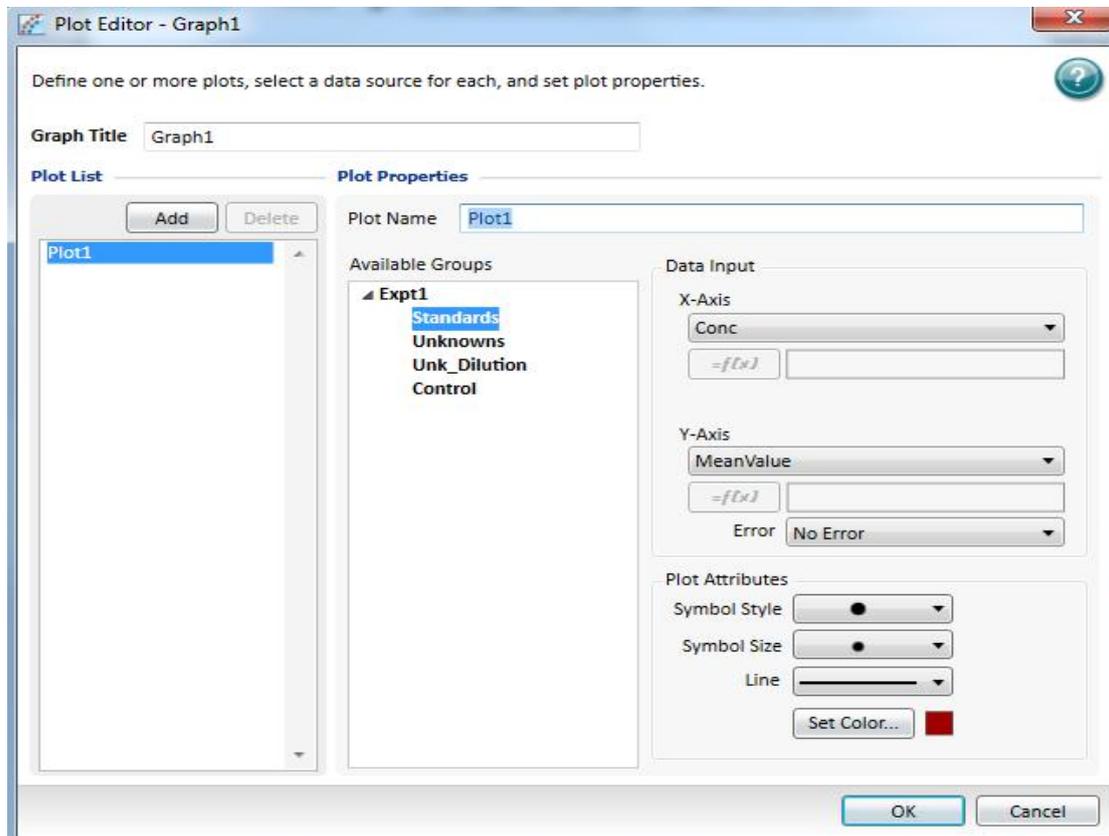
‘Name’中填入该总结的名称，即计算中所引用的名字。可以选择显示与否‘Hide Name’。‘Description’中填入对该总结的描述。‘Formula’中填入该总结所应用的公式。比如要得到该组数据中所有样品的平均检测值中最小的值，名称可填为‘Minimum’，‘Formula’写为  $\text{Min}(\text{MeanValue})$ ，对话框右下角‘OK’确认。转到如下栏：



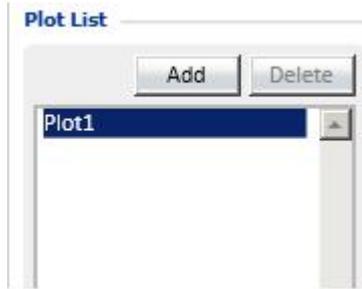
通过该方法可以对同一组数据进行数据计算和结果分析。  
如果需要对该标准品组数据作图拟合曲线的话，可在软件界面上方的图形工具栏的‘Sections’中点击‘New Graph’，如下图所示：



生成曲线拟合设置，X轴和Y轴，以及曲线数据来源，定义曲线名称和图表名称等功能，如下图所示：‘Graph Title’中填入该条图表的名称，一张图中可以有多个曲线。在该对话框中，‘Plot Name’中填入该条曲线的名称，即以后在数据计算中要引用的名字。‘Available Group’中选择所使用的原数据，该例中为Experiment 中的Standards在X-axis和Y-axis中可以通过下拉栏选择该曲线横坐标和纵坐标所用的数据，该例中选择Concentration 和MeanValue。

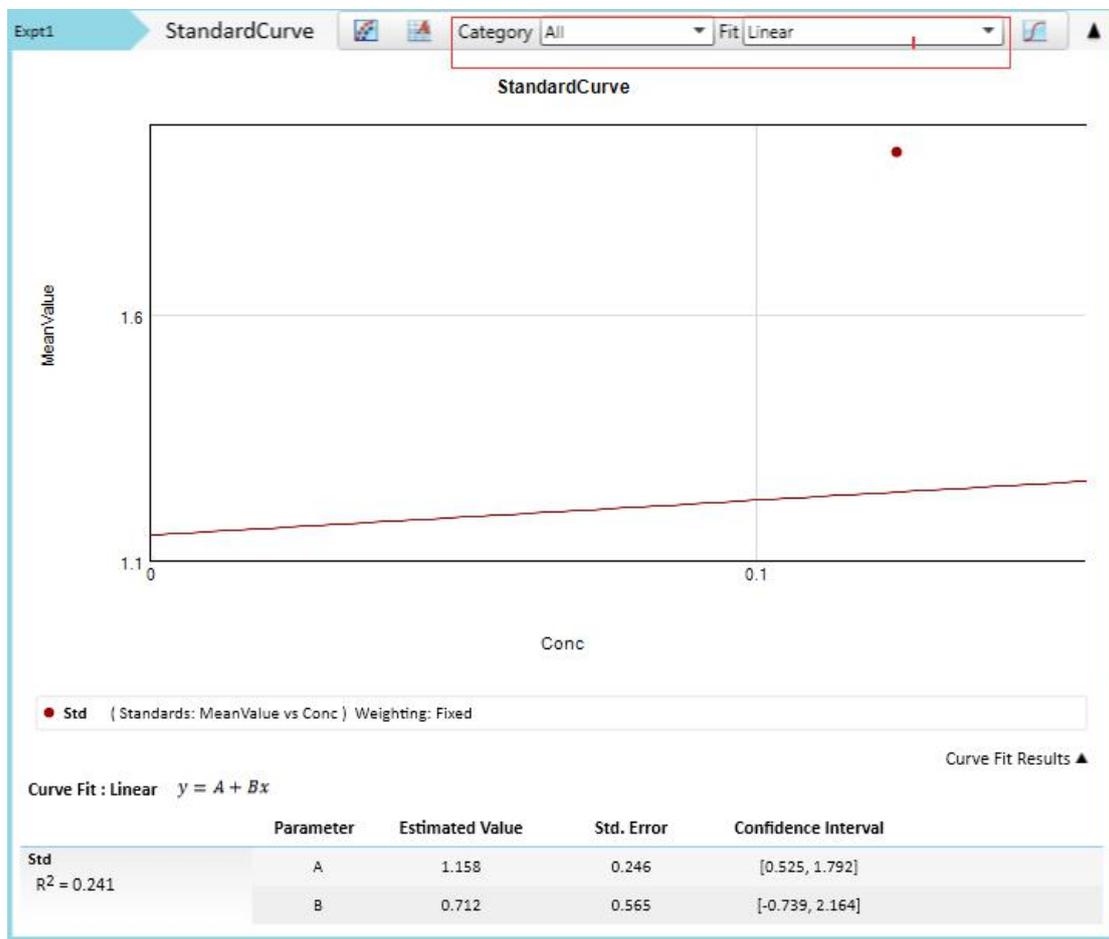


用于选择图中每个数据点的形状和颜色。



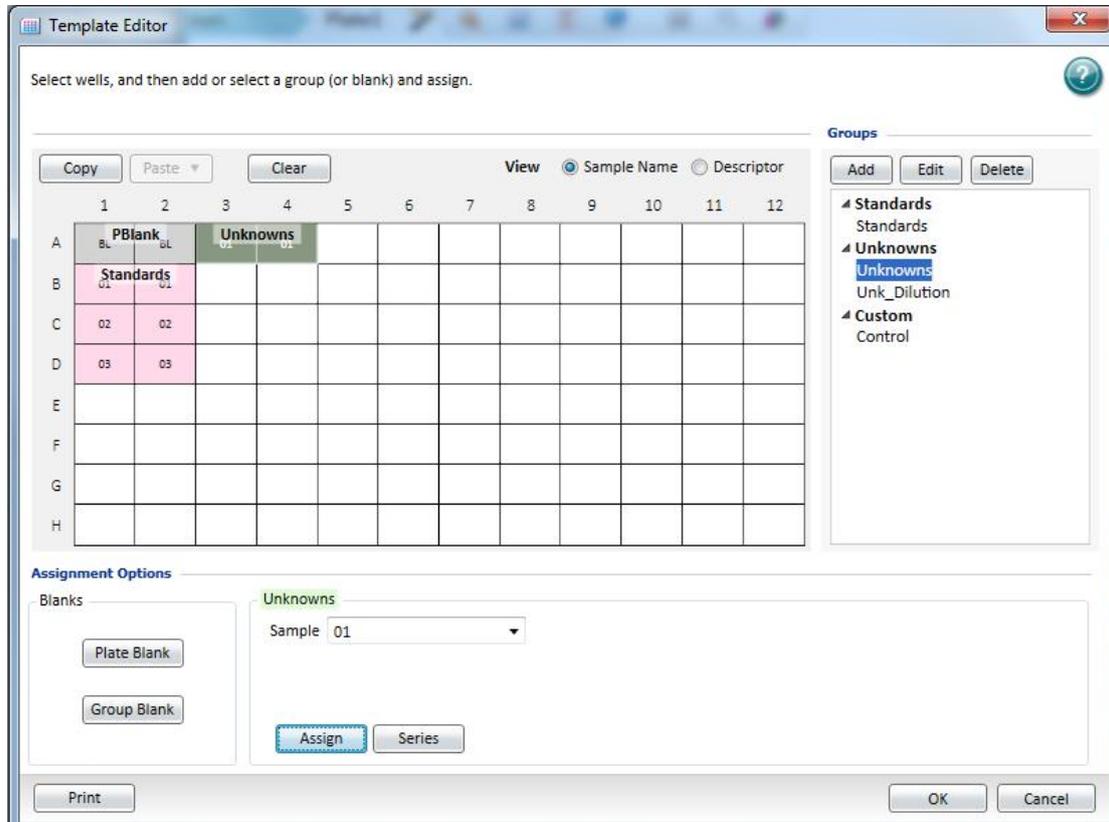
表示该图中有哪几条曲线，可以按 ‘Add...’在该图中增加曲线，按 ‘Delete’删除该曲线。本例中仅为一条曲线。对话框右下角 ‘OK’确认转入：

如下图点击红色方框处的下拉菜单可以选择适当的曲线拟合，如下图所示，本例使用 ‘Linear’ 拟合方式，软件自动根据所选用的拟合方式，做出曲线图以及相应的曲线拟合数学公式中的参数。

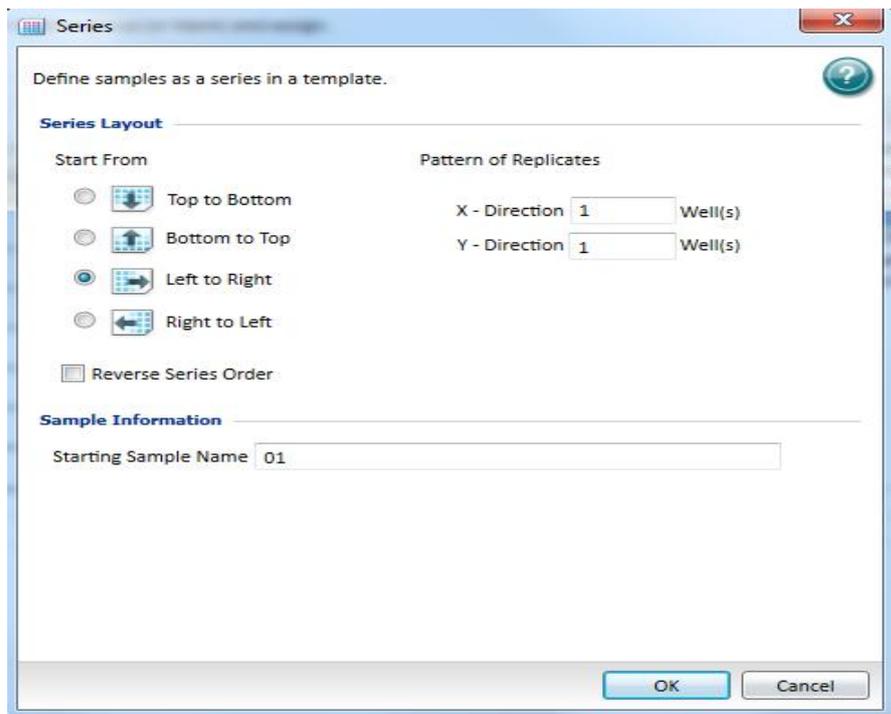


### 3. 设定未知样品(Unknowns)并根据标准样品计算相应的浓度

当有一系列未知浓度的样品在微孔板中被检测时，点击  进入编辑界面，选中微孔 A3 和 A4，点击 ‘Groups 栏中的菜单选中 ‘Unkonwns’，点击 ‘Assign’：



同样点击  ,可看到如下图所示：



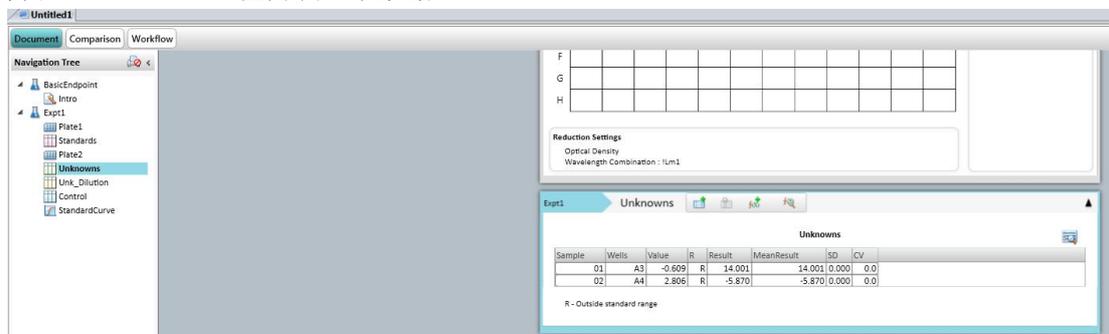
选择从左往右排列，‘Pattern of replicates’ 设置为 1，点击 OK，可看到



The screenshot shows the 'Plate1' data table with the following values:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-0.005	0.005	0.015	0.025	0.035	0.045	0.055	0.065	0.075	0.085	0.095	0.105
B	0.115	0.125	0.135	0.145	0.155	0.165	0.175	0.185	0.195	0.205	0.215	0.225
C	0.235	0.245	0.255	0.265	0.275	0.285	0.295	0.305	0.315	0.325	0.335	0.345
D	0.355	0.365	0.375	0.385	0.395	0.405	0.415	0.425	0.435	0.445	0.455	0.465
E	0.475	0.485	0.495	0.505	0.515	0.525	0.535	0.545	0.555	0.565	0.575	0.585
F	0.595	0.605	0.615	0.625	0.635	0.645	0.655	0.665	0.675	0.685	0.695	0.705
G	0.715	0.725	0.735	0.745	0.755	0.765	0.775	0.785	0.795	0.805	0.815	0.825
H	0.835	0.845	0.855	0.865	0.875	0.885	0.895	0.905	0.915	0.925	0.935	0.945

并在 ‘Unkowns’ 栏内填入了数据:



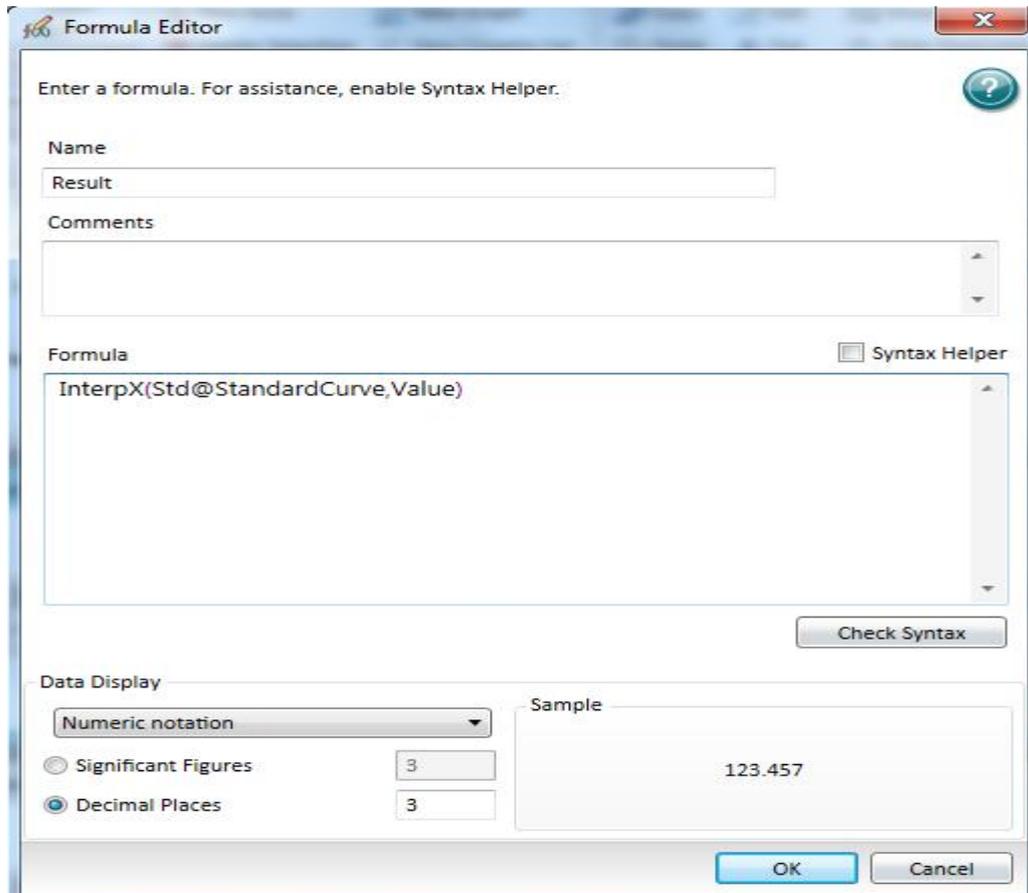
The screenshot shows the 'Unknowns' table with the following data:

Sample	Wells	Value	R	Result	MeanResult	SD	CV
01	A3	-0.609	R	14.001	14.001	0.000	0.0
02	A4	2.826	R	-5.870	-5.870	0.000	0.0

R - Outside standard range

在该表格中，‘Values’表示检测值，‘Result’表示根据标准曲线带入检测值所得到的浓度。出现 ‘Range?’表示超出范围。

如果引用的标准曲线名称不对，则计算结果也会出错。更改需要引用的曲线可以按下面步骤操作：双击‘unknown’组下面的‘Result’数据列，会出现下面对话框：



这个时候可以在‘Formula’下面编辑公式：interpx (Std@StandardCurve,Value)

公式的意思是：把‘Unknown’的‘Value’值带入‘StandardCurve’组下面的 Std 标准曲线里，计算 X 的值。这里需要修改的就是曲线的名字：如果曲线名字是 plot1，这个曲线位于 Graph1 下面。则相应的公式则是：interpx (plot1@Graph1,Value)

**所有的公式名称、引用方法请参见《Formula Reference Guide》。**