

# 1. Login Screen

เมื่อ double click ที่ไอคอนของ control software แล้ว จะมี login screen ปรากฏออกมาเป็น อันดับแรก มีไว้เพื่อแบ่งแยกผู้ใช้งานออกจากกันในกรณีที่มีผู้ใช้งานหลาย ๆ คน ข้อมูล ผลการทดลอง โปรโตคอล หรือพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องจะถูกเก็บไว้คนละโฟลเดอร์ ไม่ปะปนกัน หากไม่ ต้องการให้หน้าต่างนี้ปรากฏขึ้นมาเราสามารถปิดได้โดยทำตามรายละเอียดใน chapter 1.3 Administrator Options

SPECTROstar Nano				x
		Login		
User	Password	User Path R	tun Only	
ADMIN	******	*******		
INSTALL	*****	*******		
TEST	******	*******		
THOMAS SEIDEL	*****	******		
том	*****	******		-
USER	*****	******		=
USER2	*****	******	✓	
				Ŧ
- didministrator		//oar		
				۱-
LINEW Delete Save		Properties Uptions Exit Password Keys	Help	

หากไม่ต้องการแบ่งแยกผู้เข้าใช้งาน สามารถเลือกที่ "User″ ได้เลย เพื่อเข้าสู่หน้าจอการใช้ งานถัดไป

# 2. Control Software Overview

### 2.1. Main Screen

หลังจากเข้าสู่ login screen มาแล้วจะเข้าสูหน้าจอการใช้งานถัดมาคือ main screen หรือ หน้าจอการใช้งานหลัก พร้อม ๆ กับมี ``information screen″ แสดงออกมาด้วยดังภาพ ให้คลิกเมาส์ 1 ครั้งเพื่อให้ information screen หายไป จากนั้นจึงเริ่มต้นการใช้งานได้

🔄 🖹 象 🖉 🔍 🚽 🥫	SPECTROstar Nano	
Microplate LVis Plate Cuvette Settings		6
	+ 😱 [° 28.8	
Blank Cuvette Start Cuvette Stop Measurement Measurement Batch	Mars Open Last Temperature Test Run	
Measure	Results Incubation	
Image: Solution of the solution	450m 620m SPECTROStar Mano Serial Number: 601-9304 Copyright 6 2016-2011 BM0 LABTECH	
User: USER Path: C:\Program Files (x86)	BMG\SPECTROstar Nano\User\Data	Ready

### 2.2. Menu Commands

หน้าจอการใช้งานจะแสดงแถบคำสั่งคำสั่ง (command) ดังแสดงในภาพด้านล่าง ผู้ใช้งาน สามารถซ่อนแถบคำสั่งได้โดยคลิกขวาที่แถบคำสั่งแล้วเลือกที่ "Minimize the Ribbon″ หรือ "double click″ หรือกด "[Ctrl] + [F1]″

	Quick Acce	ss Toolbar			Tabs				
ſ		<b>, ,</b>		SPECTROs	ar Nano				Help Buttor
	Micro	plate Cuvett	e Settings					0	
	1			+	Q	°c	23.8		Pibbop
	Blank Measurement	Cuvette Measurement	Start Cuvette Batch	Mars	Open Last Test Run	Temperature			
Tab Groups	•	Measure		• Re	esults	Incub	ation		J
									,
	User: USER	F	Path: C:\Progra	m Files (x86) (E	MG\SPECTROsta	ar Nano\User\Data	Ready		ի
	<b></b>						Status	Bar	-

หากต้องการใช้งานแถบคำสั่งผ่านคีย์บอร์ด ให้คลิกที่ [Alt] แล้วจะมีตัวเลขปรากฏ ออกมาที่แถบคำสั่งว่าคำสั่งใดถูกกำกับด้วยตัวเลขอะไร ดังภาพที่ 4

	Microplate LVis	Plate	Cuvette Settings C S Test duration	STOP
Plate Out	Start Measurement	Quick Start		Stop

### 2.2.1. Microplate Tab

เป็นแถบคำสั่งสำหรับการใช้งาน microplate ผู้ใช้งานสามารถเปิดดูผลการทดลอง ตั้งค่า อุณหภูมิ สร้างโปรโตคอลสำหรับการใช้งานได้จากแถบคำสั่งนี้



ที่แถบคำสั่งจะมีสัญลักษณ์และรายละเอียดการทำงาน ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ measure tab group และ results tab group ดังแสดงในตาราง

## ตารางที่ 1 รายละเอียดของ tab ต่าง ๆ ในหน้าจอการใช้งานไมโครเพลท

Microplate Tab Icon Function		Function	
	Command		
	Plate Out		เลื่อน plate carrier ออกมาจากตัวเครื่องเพื่อวาง plate
	Plate In		เลื่อน plate carrier เข้าสู่ตัวเครื่องเพื่อเริ่มต้นการอ่านค่า
group	Start Measurement		เริ่มต้นการอ่านค่าด้วย pre-defined test protocol โดย ก่อนที่เครื่องจะเริ่มอ่านค่าผู้ใช้งานสามารถเพิ่มรายละเอียด เกี่ยวกับ protocol นั้นลงไปเพิ่มเติมได้ เช่น plate ID, sample ID เป็นต้น
ure tab	Quick Start		อ่านค่าทันทีด้วย reading mode endpoint แบบ full plate สำหรับ 96-well plate ผู้ใช้งานจะสามารถกำหนดความยาว คลื่นได้เพียงอย่างเดียวเท่านั้น
Meas	Current State Graphics	M	แสดงสถานะการอ่านค่าในขณะนั้น ว่าดำเนินไปถึงไหนแล้ว ใช้เวลาไปเท่าไร และเหลือเวลาอีกเท่าไรจึงจะอ่านค่าเสร็จ
	Pause		หยุดการอ่านค่าแบบชั่วขณะแล้วอ่านค่าต่อภายใต้ protocol เดิม ฟังก์ชั่นนี้จะใช้งานได้กับการอ่านค่าแบบ endpoint และ kinetic เท่านั้น
	Stop Now	STOP	หยุดการอ่านค่าเพื่อกลับไปเริ่มต้นใหม่
	MARS	+	เปิดโปรแกรมวิเคราะห์ผล MARS
۵.	Open Last Test Run		เปิดผลการทดลองที่เพิ่งอ่านค่าเสร็จสิ้นลงด้วยโปรแกรม วิเคราะห์ผล MARS
groul	Temperature Control	Ĵ.c	สำหรับตั้งค่าการปรับอุณหภูมิภายในเครื่อง microplate reader
lts tab	Manage Protocols		สำหรับแก้ไข protocol เดิมที่มีอยู่แล้ว หรือสร้าง protocol ขึ้นใหม่
Resu	Re-Run <protocol Name&gt; Re-Run List <right down<="" td=""><td>ABS WELL V SCAN *</td><td>สำหรับสั่งงานเครื่องให้อ่านค่าด้วย protocol ที่เพิ่งใช้ไป ล่าสุด โดยแต่ละ protocol ที่ใช้งานไปล่าสุดจะถูกบันทึกไว้ ที่จุดนี้จำนวน 10 protocol</td></right></protocol 	ABS WELL V SCAN *	สำหรับสั่งงานเครื่องให้อ่านค่าด้วย protocol ที่เพิ่งใช้ไป ล่าสุด โดยแต่ละ protocol ที่ใช้งานไปล่าสุดจะถูกบันทึกไว้ ที่จุดนี้จำนวน 10 protocol
	<right down<br="">arrow&gt;</right>		

### 2.2.2. Cuvette Tab

เป็นแถบคำสั่งสำหรับใช้งานด้วยคิวเวท ซึ่งปุ่มสั่งงานส่วนใหญ่จะคล้ายกับของไมโคร เพลท ดังแสดงในภาพ



แถบคำสั่งจะมีสัญลักษณ์และรายละเอียดการทำงาน ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ measure tab group และ results tab group ดังแสดงในตาราง

### ตารางที่ 2 รายละเอียดของ tab ต่าง ๆ ในหน้าจอการใช้งานคิวเวท

C	Cuvette Tab Command	Icon	Function
dno	Blank Measurement		สั่งอ่านค่า blank สำหรับการอ่านค่าตัวอย่าง
tab gı	Cuvette Measurement		สั่งอ่านค่าตัวอย่าง
sure	Start Cuvette Batch		สั่งอ่านค่าตัวอย่างแบบเป็นกลุ่ม
Mea	Stop Cuvette Batch	500	สั่งหยุดการอ่านค่าตัวอย่างเมื่อคิวเวทสุดท้ายเสร็จสิ้นลง
de	MARS	+	เปิดเข้าสู่โปรแกรมวิเคราะห์ผล
ults tä Iroup	Open Last Test Run		เปิดผลการอ่ารค่าสุดที่เพิ่งเสร็จสิ้นไปด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ ผล
Res	Temperature Control	<b>∫</b> °c	สำหรับตั้งค่าการปรับอุณหภูมิภายในช่องใส่คิวเวท

### 2.2.3. Assay Specific Buttons

หน้าจอการใช้งานนี้จะมี predefined protocol อยู่ในรูปของ shortcut เรียกว่า assayspecific button สำหรับงาน assay ที่มีการใช้งานบ่อย โดยจะเป็น protocol ที่มีการตั้งค่ามาแล้วจาก โรงงานผลิต เมื่อต้องการใช้งานสามารถคลิกซ้ายเพื่อสั่งงานได้เลย หรือคลิกขวาเพื่อเข้าไปแก้ไข รายละเอียด ได้แก่ plate layout, plate ID แต่ละ button จะมีรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 3



\*\*\*สำหรับการอ่านค่าด้วยคิวเวท เครื่องจะอ่านค่าแบบ scan spectrum ตั้งแต่ 220-1000 นาโนเมตรด้วยความละเอียด 1 นาโนเมตร

\*\*\*สำหรับการอ่านค่าด้วยไมโครเพลท เครื่องจะอ่านทั้งเพลทด้วยความยาวคลื่นหรือ ช่วงความยาวคลื่นที่กำหนด ช่วยให้การอ่านค่ารวดเร็วขึ้น

ตารางที่ 3 ค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้สำหรับแต่ละ assay-specific button สำหรับการใช้งานด้วย ไมโครเพลทและคิวเวท

Assay- Specific	Icon	Default Settings for Microplate*
Buttons		
dsDNA		วัดค่าการดูดกลืนแสงของ double stranded DNA ที่ความยาวคลื่น 230,
	$\mathbf{X}$	260, 280 และ 340 นาโนเมตร  จากนั้นจะใช้ extinction coefficient
		คำนวณ corrected ratio, concentration ให้โดยอัตโนมัติ
ssDNA	a	วัดค่าการดูดกลืนแสงของ single stranded DNA ที่ความยาวคลื่น 230,
	E	260, 280 และ 340 นาโนเมตร  จากนั้นจะใช้ extinction coefficient
		คำนวณ corrected ratio, concentration ให้โดยอัตโนมัติ
RNA	23	วัดค่าการดูดกลืนแสงของ RNA ที่ความยาวคลื่น 230, 260, 280 และ
	X	340 นาโนเมตร จากนั้นจะใช้ extinction coefficient คำนวณ corrected
	<b>⇒ø• %</b> ⇒	ratio, concentration ให้โดยอัตโนมัติ
NADH		วัดค่าการดูดกลืนอันเนื่องมาจากการ oxidation-reduction ของ NADH
		ไปเป็น NAD+ ทีความยาวคลืน 260 และ 340 นาโมตร  แล้วคำนวณ
	368 340 am	ความเข้มข้นด้วย predefined standard curve
ELISA 405	<u>k</u>	วัดความเข้มข้นของ ABTS ด้วยการ scan wavelength ในช่วง 400 ถึง
	ЦЦ.	700 นาโนโนเมตรด้วยความละเอียด 5 นาโนเมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 405
	405nm	นาโนเมตร แล้วคำนวณคามเข้มข้นโดยอัตโนมัติด้วย predefined
		standard curve
ELISA 450		วัดความเข้มข้นของ ABTS ด้วยการ scan wavelength ในช่วง 400 ถึง
	ц <b>х</b>	700 นาโนโนเมตรด้วยความละเอียด 5 นาโนเมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 450
	450nm	นาโนเมตร แล้วคำนวณความเข้มข้นโดยอัตโนมัติด้วย predefined
		standard curve
ELISA 492		วัดความเข้มข้นของ ABTS ด้วยการ scan wavelength ในช่วง 400 ถึง
		/00 นาโนโนเมตรดวยความละเอียด 5 นาโนเมตร แลววัดอีกครั้งที่ 492
	492nm	นาโนเมตร์ แล้วคำนวณคามเข้มขั้นโดยอัตโนมัติด้วย predefined
<u> </u>		Standard curve
Protein	•	วัดความเขมขนของโปรติน (tryptophan) ที่ความยาวคลื่น 280 นาโน
		เมตร เดยการ scan wavelength ในช่วง 240 ถึง 400 นาโนเมตรที
	280nm	ความละเอียด 5 นาในเมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 280 นาในเมตร จากนั้นจะ
		คานวณความเขมขนดวย predefined standard curve

### ิตารางที่ 3 ค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้สำหรับแต่ละ assay-specific button สำหรับการใช้งานด้วย ไมโครเพลทและคิวเวท (ต่อ)

Assay- Specific Buttons	Icon	Default Settings for Microplate*
Bradford	595nm	วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่ย้อมด้วยสี coomassie blue โดยการ scan wavelength ในช่วง 400 ถึง 700 นาโนเมตรที่ความละเอียด 5 นาโน เมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 595 และ 465 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณความ เข้มข้นด้วย predefined standard curve
BCA	82 562nm	วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่ย้อมด้วย bicinchoninic acid โดยการ scan wavelength ในช่วง 400 ถึง 700 นาโนเมตรที่ความละเอียด 5 นาโน เมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 562 และ 750 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณความ เข้มข้นด้วย predefined standard curve
Lowry	82 750nm	วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่ย้อมด้วย bicinchoninic acid โดยการ scan wavelength ในช่วง 600 ถึง 900 นาโนเมตรที่ความละเอียด 5 นาโน เมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 750 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณความเข้มข้นด้วย predefined standard curve
Cell Growth		วัดความเข้มข้นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรทุก ๆ 5 นาที เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
MTT toxicity	5	วัดการตายของเซลล์โดยดูจากการสร้าง formazan จาก MTT โดยการ scan wavelength ในช่วง 400 ถึง 700 นาโมตรด้วยความละเอียด 5 นา โนเมตร แล้ววัดอีกครั้งที่ 570 และ 690 นาโนเมตร
Beta-gal	XXXX P	วัดปริมาณของ O-Nitrophenol ที่ความยาวคลื่น 420 นาโมตร และเทียบ กับ reference peak ที่ 550 และ 600 นาโนเมตร

# 3. Incubation

# 3.1. Temperature Control

เป็นพึงก์ชั่นสำหรับการปรับอุณหภูมิทั้ง microplate และ cuvette ในกรณีที่ต้องมีการปรับ อุณหภูมิเพื่อทำปฏิกิริยาก่อนการอ่านค่า โดยเครื่องจะสามารถทำอุณหภูมิได้ในช่วง 25-45 องศา เซลเซียส โดยสามารถกำหนดความละเอียดได้ 0.1 องศาเซลเซียส โดยใส่อุณหภูมิที่ต้องการลงไป แล้วเลือกที่คำว่า "incubator on" จากนั้นเครื่องจะเริ่มทำอุณหภูมิ สังเกตุได้จากตัวอักษรที่เป็นสีแดง และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึงจุด set point แล้วตัวอักษรจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว ดังรูป

	Temperature Control
	Iemperature (25.045.0 °C):
	Incubator on
	Temperature monitoring without incubation
J <sup>°C</sup> 36.8	
Temperature	Use above setting after power on
Incubation	Close Help

# 3.1.1. Temperature Monitoring Feature

ในกรณีที่ต้องการปรับอุณหภูมิของเครื่องให้เป็นอุณหภูมิห้อง หรือต้องการทราบ อุณหภูมิของเครื่องในขณะนั้น ให้เลือกที่คำว่า "temperature monitoring without incubation" เครื่องจะแสดงอุณหภูมิในขณะนั้นด้วยตัวอักษรสีฟ้า

### 3.1.2. Auto Power On Incubation

	ในกรณีที่ต้องการทำอุณหภูมิทันทีเมื่อเปิดเครื่อง	ให้เลือกที่คำว่า	"use above setting
after power or	1″		



# 4. Manage Protocol

### 4.1. Test Protocol Advanced Setup Window

เมื่อต้องการสร้าง protocol ใหม่หรือแก้ไข protocol เดิมให้คลิกที่สัญลักษณ์ " 🖼 ″ จากนั้นจะมี "test protocol dialogue window″ แสดงขึ้นมาดังภาพ

FIOLOCOLINAILLE	Method	Mode	Microplate	
dsDNA	Absorbance	Endpoint	SBS STANDARD 96	
BNA	Absorbance	Endpoint	SBS STANDARD 96	
TOM'S PROTOCOL	Absorbance	Endpoint	BMG LABTECH 96	
Bradford	Absorbance Spectra	Endpoint	SBS STANDARD 96	
SPECTRA QC SP	Absorbance Spectra	Endpoint	BMG LABTECH 96	

แต่ละคำสั่งใน test protocol dialogue window จะมีความหมายดังต่อไปนี้

- 1) New เพื่อสร้าง protocol ใหม่
- 2) Edit เพื่อดัดแปลง แก้ไข protocol ที่มีอยู่เดิม
- 3) Copy เพื่อคัดลอก protocol เดิมที่มี่อยู่แล้ว
- 4) Export เพื่อส่งออก protocol ที่มีอยู่ในโปรแกรมเข้าสู่ thumb drive โดย protocol ที่ส่งออกจะอยู่ในสกุลไฟล์ ".TSC″
- 5) İmport เป็นการนำเข้า protocol จากที่อื่นเข้าไว้ในโปรแกรม โดยไฟล์ protocol จะต้องอยู่ในสกุล ".TSC″ หรือ ".TST″ ดังแสดงในภาพที่ 9

Import Test Protocols			X
SP	ECTROstar Nano 🕨 Extern 👻 🍫 Se	arch Extern	Q
Organize 🔻 New folder		:≡ ▼ □	0
☆ Favorites	Name	Date modified	Туре
Downloads	SPECTRA QC SP.TSC	10/28/2010 12:24	TSC File
Program Files			
Recycle Bin			
🕞 Libraries			
Documents			
Pictures			
Videos			
🖳 Computer			
<b>.</b>	<		+
File nam	e: SPECTRA QC SP.TSC	t Protocols (*.TSC;*.TST)	<b>_</b>
		Open 🚽 Canc	el

### 4.2. Creating New Test Protocol

ในกรณีที่ผู้ใช้งานต้องการสร้าง protocol สำหรับการใช้งานขึ้นใหม่ ให้คลิกที่คำว่า "new″ ในภาพที่ 8 จะปรากฏ "Reading Mode Box″ แสดงออกมาดังภาพ

Measurement Mode
Reading Mode     Seading Mode     Endpoint
© <u>K</u> inetic
⊘ Well <u>s</u> canning
OK Cancel Help

จากภาพจะเป็น reading mode box ที่ผู้ใช้งานจะต้องเลือก เพื่อให้สอดคล้องกับการ ใช้งานมากที่สุด แต่ละคำใน reading mode box จะมีความหมายดังต่อไปนี้

- 1) Endpoint เป็นการอ่านค่าจากไมโครเพลทูเพียงครั้งเดียว
  - Kinetic เป็นการอ่านค่าจากไมโครเพลทซ้ำหลาย ๆ ครั้งภายในระยะเววลาที่ กำหนด
  - 3) Well Scanning เป็นการยิงลำแสงลงไปใน well แบบเป็นจุด ๆ โดยสามารถเลือก ความละเอียดในการยิงลำแสงได้สูงสุด 30 x 30 จุดต่อ well

### 4.2.1. Basic Parameter Tab-Endpoint Mode

ในกรณีที่เลือก reading mode แบบ endpoint จะมี setting window แสดงขึ้นมาดัง

ภาพ

Endpoint		×
Basic Parameters Layout Concentrations / Shaking		
Protocol name: ABS Endpoint <u>Microplate:</u> BMG LABTECH 96		Comment
Wavelength Settings <ul> <li>Discrete wavelengths</li> <li>Spectra</li> <li>No. of wavglengths</li> <li>(18): 1</li> </ul> Wavelength (2201000 nm):           450           Path Length Connection           Image: On Volume [µ1]: 100.0           Length [mm]: 2.94	Speed and Precision Bapid  Precise	
	<b>Pause before plate reading</b> for seconds	
Check timing Total measurement time: 21 s	Start measurement OK	Cancel Help

จากภาพจะมีสิ่งที่ต้องทราบดังต่อไปนี้

- 1) Protocol name ชื่อของ protocol ที่ใช้ในขณะนั้น
- 2) Microplate ชนิดของไมโครเพลทที่ใช้
- Wavelength Settings เป็นการตั้งค่าเกี่ยวกับ wavelength ที่ต้องการใช้งาน โดย จะมี 2 parameter ที่ต้องกำหนด
  - 3.1) Discrete wavelength คือการวัดด้วยความยาวคลื่นที่กำหนด ในช่วง 220-1000 นาโนเมตร สามารถวัดได้ 8 ความยาวคลื่น พร้อมกัน

Wavelength Settings	
💿 Discrete wavelengths 🛛 💿	Spectra
No. of wav <u>e</u> lengths	(18): 1
Wavelength range (2201000	) nm):
Start $\lambda$ : 350 End $\lambda$ : 6	50 Resolution: 2 🔻

- 3.2) Spectra คือการ scan spectrum สามารถกกำหนดความ ละเอียดในการ scan ได้ 1, 2, 5 และ 10 นาโนเมตร
- 3.3) Path Length Correction คือการวัดค่าแล้วนำค่าที่ได้ไป เทียบมาตรฐานกับคิวเวทที่มี path length 10 มิลลิเมตร โดย ระบุปริมาตรของตัวอย่างลงไปด้วย โดยเมื่อเลือกใช้ function นี้ทุก ๆ well จะต้องมีปริมาตรตัวอย่างเท่ากัน แนะนำให้ใช้ function นี้เมื่อวัดตัวอย่างปริมาตรน้อย ๆ อย่างเช่น DNA, RNA, ssDNA
- 3.4) Speed and Precision คือความเร็วและความละเอียดในการ อ่านค่า จะมี 3 แบบให้เลือกคือ rapid, optimal และ precise

E Speed and Precision		
⊚ <u>R</u> apid	Precise	

- 3.5) General Settings จะมี 2 parameter ให้กำหนดค่า ดังต่อไปนี้
- n) Positioning delay คือระยะเวลาการเคลื่อนด้วของ plate จาก ตำแหน่งหนึ่งไปยังอีกตำแหน่งหนึ่งเพื่อเริ่มการอ่านค่า ช่วยให้ ตัวอย่างมีความอยู่ด้วมากขึ้น ในกรณีที่ใช้ well ขนาดใหญ่จะต้อง ใช้ positioning delay ที่นานขึ้น
- ข) No. of flash per well คือจำนวน flash ที่ใช้ต่อ 1 well ซึ่ง ผู้ใช้งานสามารถกำหนดได้ถึง 200 flash ต่อ well เมื่อใช้จำนวน flash มากค่าที่ได้จากการอ่านจะมีความแม่นยำสูงมากตามไปด้วย แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มจำนวน flash ให้สูงขึ้นจะเพิ่มเวลาในการ อ่านค่าให้นานขึ้นด้วย

	No. of flashes		Positionin	g Delay(s)			
	per well	6 – 48 well plates	96 well plates	384 well plates	1536 well plates		
Rapid	5	0.5	0.1	0.1	0		
Precise	22	1	0.2	0.2	0		



 Pause before plate reading คือระยะเวลาเมื่อ plate เคลื่อนตัว มายังตำแหน่งที่จะใช้อ่านค่า แต่ยังไม่อ่านค่า ใช้ในกรณีที่เรา ต้องการปล่อย plate เอาไว้เฉย ๆ เพื่อการบ่มก่อนที่จะอ่านค่า



- Comment box เป็นกล่องสำหรับบันทึกรายละเอียดสั้น ๆ เกี่ยวกับ protocol ที่ใช้ สามารถใส่รายละเอียดลงไปได้ไม่เกิน 255 ตัวอักษร
- จ) Check timing button เพื่อดูเวลาที่ใช้ในการอ่านค่าสำหรับ protocol ที่กำลังจะเริ่มใช้งาน
- a) Printing the protocol เพื่อสั่งพิมพ์รายละเอียดของ protocol ที่ กำลังใช้งาน หรืออาจะใช้ปุ่มคำสั่ง [Shift]+[Ctrl]+[P]
- ช) Start measurement button เพื่อสั้งให้เครื่องเริ่มต้น้การอ่านค่า

### 4.2.2. Basic Parameters Tab-Kinetic Mode

ในการใช้งานส่วนนี้ parameter ส่วนใหญ่จะเหมือนกับการอ่านค่าแบบ endpoint เพียงแต่มี 1 parameter เพิ่มเข้ามาในส่วนของ kinetic setting คือ "No. of cycle″ และ "Cycle time″

Kinetic Settings		
N <u>o</u> . of cycles	(1250):	12
Cycle <u>t</u> ime	(110000 s):	15

ในส่วนของ kinetic setting จะมีสิ่งควรทราบและต้องกำหนดค่าดังต่อไปนี้

- 1) No. of cycle คือจำนว<sup>ั</sup>นครั้งที่ทั้ง plate จะถูกอ่านค่า ผู้ใช้งานสามารถกำหนดได้ ถึง 250 ครั้งหรือ 250 cycle
- Cycle time คือระยะเวลาระหว่างการอ่านค่าจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง ผู้ใช้งาน สามารถกำหนดได้นานถึง 10,000 วินาที ยกตัวอย่างเช่น ต้องการให้เครื่องอ่าน ค่าทุก ๆ 15 นาที เป็นเวลา 6 ชั่วโมงเพื่อวัดการเจริญของเซลล์ ดังนั้น No. of cycle = 24 (อ่านชั่วโมงละ 4 ครั้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง) และ cycle time = 900 วินาที (ได้จากเปลี่ยน 15 นาทีให้เป็นวินาที คือ 15x60 = 900 วินาที)

### 4.2.3. Basic Parameters Tab-Well Scan

เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยการยิงลำแสงลงไปใน well มากกว่า 1 จุด โดยจะยิง ลำแสงลงไปด้วยรูปแบบที่เรียกว่า scan matrix ซึ่งผู้ใช้งานสามารถกำหนดความละเอียดของ scan matrix ได้ตั้งแต่ 2x2 จนถึง 30x30 จุดต่อ well จากนั้นเครื่องจะเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่จากแต่ละจุด มาเฉลี่ยเป็นค่าค่าเดียวของ well นั้น ๆ

Well Scanning Basic Parameters Layout Concentrations / Shaking	X
Protocol <u>pame</u> : ABS Well Scan <u>M</u> icroplate: COSTAR 24	Comment
Opcrete wavelengths     (18): 1       Wavelength (2201000 nm):     450         Path Length Connection         On	Image: Scannagize     9x9     Diameter (115 mm): 15       Scan matrix     9x9     Diameter (115 mm): 15       7x7     8x8       9x3     10x10       15x15     20x20       25x25     30x30
Check timing Total measurement time: 42 s	Start measurement OK Cancel Help

Parameter ที่ต้องกำหนดค่าส่วนใหญ่จะเหมือนกับกาอ่านค่าแบบ endpoint และ kinetic ดังต่อไปนี้

 ก) Speed and Precision คือความละเอียดในการอ่านค่าซึ่งแปรไปตามจำนวน flash ที่ใช้ดังแสดงในตาราง

	No. of flashes	Positioning	Delay(s)
	per scan point	6 – 48 well plates	96 well plates
Rapid	5	0.1	0.0
Precise	10	0.3	0.1

 general Settings จะมี 2 parameter ให้เข้าไปกำหนดค่าคือ positioning delay และ No. of flash per scan point ซึ่งรายละเอียดของแต่ละ parameter จะ เหมือนกับการอ่านค่าแบบ endpoint

<i>General Settings</i> Positioning <u>d</u> elay	(0.01.0 s): 0.1
No. of <u>f</u> lashes per scan point	(1200): 5

 ค) Well scanning คือการกำหนด scan matrix ซึ่งผู้ใช้งานสามารถกำหนดความ ละเอียดได้ตั้งแต่ 2x2 ถึง 30x30 จุดต่อ well



### 4.2.4. Layout Definition

เป็นการกำหนด layout ลงไปบน microplate ว่าตำแหน่งใดมีตัวอย่างอะไรบ้าง เช่น samples, blanks, standards หรือ control

Endpoint																								15	x
Basic Parameters Layout Concentrations / Shaking																									
Content:	384	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Control Pos.Ctrl. Neg.Ctrl.	Α	в		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
Empty	В	В		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40		
Groups	C	1		41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60		
On V	D	2		61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80		
	E	3		81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100		
Index	F	4		101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120		
Start value: 6 🚔	G	5		121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140		
💿 Constant 💿 Increase	н			141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160		
- Radiastas	1			161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180		
Number 1	J			181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200		1
	ĸ			201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220		2
<u>●</u> Horizontal ○ Vertical         _	L			221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240		3
	м			241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260		4
Reading direction:	N			261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280		5
	0			281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300		В
<u>e</u> e	Р			301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320		В
											-														
Check timing											9	itart r	neas	urem	ent			)K			ance	el		Hel	ρ

การตั้งค่าในส่วนนี้จะมีรายละเอียดต่าง ๆ ที่ต้องกำหนดตามความเพมาะสม ดังนี้ 1) Content จะมีประเภทของตัวอย่างที่ให้ผู้ใช้งานกำหนดอย่างเหมาะสม ดัง รายละเอียดในตาราง

Sample	Х	ตัวอย่างที่ไม่ทราบความเข้มข้น
Blank	В	น้ำหรือบัฟเฟอร์เพื่อหาค่า background
Standard	S	ตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนสำหรับสร้าง standard
		curve
Negative	Ν	
Control		ตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน แต่ไม่นำมาสร้าง
Positive Control	Ρ	standard curve แต่นำไปใช้เพื่อการคำนวนอย่างอื่น
Control	С	
2) Index คือตัวเ	ลขที่เ	กำกับอยู่ในแต่ละ content ซึ่งมี 2 แบบคือ increase และ
constant ดังร	ายละเ	เอียดในตาราง
Increase ตัวเล	เขที่กํ	ากับในแต่ละ well ที่เรา layout ลงไปจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ
constant ตัวเล	เขที่กํ	ากับในแต่ละ well ที่เรา layout ลงไปจะเป็นตัวเลขที่คงที่

- 3) Replicates คือจำนวนซ้ำของตัวอย่างที่ใส่ลงใน well
- 4) Reading direction คือทิศทางการเคลื่อนที่ของ plate carrier ในแบบต่าง ๆ 16 รูปแบบเพื่อให้สอดคล้องกับทิศทางของการใส่ตัวอย่างลงใน well



### 4.2.5. Concentration/Shaking Tab

เป็นแถบคำสั่งเพื่อใช้สำหรับกำหนดความเข้มข้นของ standard และรูปแบบการเขย่า ก่อนการอ่านค่า โดยมีรายละเอียดต่าง ๆ ให้เข้าไปกำหนดค่าดังต่อไปนี้

Indpoint				×
Basic Parameters L	ayout Concentrations / Sh	naking		
🖂 Standard Concer	ntration		Shaking Options	
Start concentration	n:	1	Mode: O S	<u>O</u> rbital 💿 <u>D</u> ouble orbital 💿 <u>L</u> inear
💿 Factor 💿 Inc	rement 🔘 Decrement:	10	Shaking frequency:	500 rpm 💌
Concentration <u>u</u> nit	: (optional):	µg/ml		
			Sh <u>a</u> king:	No shaking 👻
Content	Concentration	*	Shaking <u>t</u> ime	(1300 s): 0
S1		1		
S2		10		
\$3		100		
S4		1000		
B				
XI				
×2 ×2				
~3 X4				
×5				
X6		-		
		*		
Check timing			Start measurement	OK Cancel Help

- n) Standard concentration ถ้าผู้ใช้งานได้กำหนด standard ไว้บน plate layout ก็จะสามารถ เข้ามากำหนดความเข้าขันได้ เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐานของ standard และคำนวณความ เข้มขันของ unknown จากโปรแกรมจะสามารถใส่หน่วย (unit) ของความเข้มขันได้ และจะมี ฟังก์ชัน "auto fill out" เพื่อให้ใส่ค่าความเข้มขันได้ง่ายขึ้น โดยการกำหนด "start value", "factor", "increment", "decrement" จากนั้นลากเมาส์เพื่อให้โปรแกรมใส่ตัวเลขให้โดย อัตโนมัติ
- ข) Shaking option จะมีรูปแบบการเขย่าให้เลือกทั้งหมด 3 แบบคือ
  - 1) Orbital เป็นการเขย่าในลักษณะเป็นวงกลม จะช่วยให้สารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน โดยเฉพาะบริเวณขอบ well
  - 2) Double orbital เป็นการเขย่าในลักษณะเลขแปด
  - 3) Linear เป็นการเขย่าในแนวนอนจากซ้ายไปขวา



สำหรับความแรงการเขย่าผู้ใช้งานสามารถประมาณการณ์ได้จากประเด็นต่อไปนี้

- Plate format ถ้าใช้ plate แบบ 6 หรือ 24 well ควรใช้ความแรงต่ำเพื่อป้องกัน ไม่ให้ด้วอย่างลันออกนอก plate แต่ถ้าใช้ plate ที่ well เล็กลงควรใช้ความแรงใน การเขย่าสูง ๆ เพื่อให้ด้วอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน
- Sample ถ้าตัวอย่างมีเซลล์เป็นองค์ประกอบควรใช้ความแรงต่ำ ๆ เพื่อลดแรง เครียด (stress) ที่จะเกิดขึ้นกับเซลล์ รวมทั้งตัวอย่างที่มีความหนืดก็ควรใช้ความ แรงต่ำ ๆ เช่นเดียวกัน
- 3) Volume ควรใช้ปริมาตรตัวอย่างน้อย ๆ ในกรณีที่ใช้ความเร็วสูง ๆ

สาหรับการอ่านค่าแบบ endpoint ควรมีการเขย่าก่อนการอ่านค่า สำหรับการอ่านค่า แบบ kinetic ควรมีการเขย่าก่อยการอ่านค่าในแต่ละครั้ง

# 5. การสั่งพิมพ์ผล

สามารถสั่งพิมพ์ออกมาในรูปของ report ได้ โดยเลือกที่คำว่า "Define Print Page″ หรือที่ สัญลักษณ์ <u>ண</u>ี่ จะมีหน้าต่างการใช้งานแสดงออกมาดามภาพด้านล่าง

Available Print Objects:       Selected Print Objects:         Microplate View       Image: Complete View         Table View       Image: Complete View         Table View       Image: Complete View         Protocol Information       Image: Complete View         21 CFR part 11       Image: Complete View         Signal Curve(s)       Image: Complete View         Std. Fit Result(s)       Image: Complete View         Comment       Image: Complete View         Detailed Information of:       Image: Complete View	Image: constraint of the second se
Layout Raw Data (545-10, 590 2) Spacing	Internet     Internet
Print each data row in a separate table	Preview Mode: High Quality Speed

้จากภาพให้ผู้ใช้งานเลือกกำหนดค่าต่าง ๆ สำหรับการสั่งพิมพ์ดังนี้

- Print Orientation คือ เลือกกำหนดลักษณะกระดาษว่าเป็นแนวนอน (landscape) หรือ แนวตั้ง (portrait)
- Print Destination คือ เลือกว่าจะกำหนดปลายทางให้ไฟล์ที่สั่งพิมพ์ไปเก็บไว้ที่ใด
- Printer Setup คือ เลือกกำหนดค่าต่าง ๆ ที่เป็นค่าเฉพาะเครื่องพิมพ์นั้น ๆ
- Print each data row in a separate table คือ แต่ละหัวข้อที่เป็นข้อมูลดิบ จะถูกพิมพ์ ออกมาแยกเป็นคนละหน้า
- Header/Footer คือ สามารถตั้งค่าหัวกระดาษและท้ายกระดาษได้
- Print Setting คือ ตั้งค่าเครื่องพิมพ์
- Page Setup คือ ตั้งค่าหน้ากระดาษ

จากนั้นให้เลือกร้ายการต่าง ๆ ที่จะสั่งพิมพ์ ซึ่งแสดงอยู่ในบริเวณ "Available Print Object" ยกตัวอย่างเช่น Microplate View, Table View, Protocol Information, Standard Fit Curve โดย การคลิกเมาส์ที่เครื่องหมายรูปสามเหลี่ยม จากนั้นรายการที่เราเลือกพิมพ์จะมาปรากฏอยู่ที่บริเวณ

"Selected Print Objects″ รายการที่ปรากฏในส่วนนี้จะเป็นข้อมูลที่จะถูกพิมพ์ออกมา เมื่อเลือกรายการ เสร็จแล้วให้เลือกที่คำว่า "Print″

# 6. การส่งข้อมูลไปยัง Excel

สามารถส่งข้อมูลการทดลองไปยัง excel ได้โดยเลือกที่สัญลักษณ์ 🕅 จากนั้นจะมีหน้าต่าง การใช้งานปรากฏขึ้นมาตามภาพด้านล่าง

แล้วเลือกที่คำว่า "Export Report to Excel″ ตามรูปด้านล่าง เพื่อส่งข้อมูลออกมายังโปรแกรม

Select Page for Export		
Microplate View		
Table View		
Fit Results		
Protocol Information		
Common Excel Export Settings		
Use one workbook for each page		
V Add test run information	Position: above data	•
Microplate View Excel Export Settings	\$	
Export all cycles intervals		
Export data for each cycle/intervalue	al in a separate excel sheet	
Export data for all cycles/interval	s in one excel sheet (one below the o	ther)
Export detailed well scan data		
Table View Export Settings		
·	( columno)	
Transpose tables (swap rows and	r columns)	
Transpose tables (swap rows and	r columns)	

excel

#### SPECTROstar Nano - Technical Specifications

Due to the modularity of BMG LABTECH's instruments, all or combinations of the features below can be installed at purchase or upgraded at any time. Please contact your local representative for more details or a quote.

Detection Modes	UV/Vis absorbance spectrum	
Measurement Modes	Endpoint and kinetic measurements Well scanning	
Microplate Formats	6- to 1536-well plates, user-definable	
Microplate Carrier	Robot compatible	
Cuvette Port	Cuvette port for cuvettes with 10 mm path length Micro cuvettes, Traycell compatible Beam height 8.5 mm	
Light Source	High-energy xenon flashlamp	
Detector	Spectrometer with CCD	
Spectral Range	220 - 1000 nm	
Sensitivity	Selectable spectral resolution: 1, 2, 5, 10 nm OD range: 0 to 4 OD Accuracy: < 1% at 2 OD Precision: < 0.5% at 1 OD and < 0.8% at 2 OD	
Read Times	Full spectrum from 220 to 1000 nm in less than 1 sec/well	
Shaking	Linear, orbital, and double orbital User-definable time and speed	
Incubation	+3°C above ambient up to 45°C for microplate and cuvette	
Gas Vent	System to inject an atmosphere or to pull a vacuum into the reader	
Software	Multi-user software package including Reader Control and MARS Data Analysis Software, FDA 21 CFR Part 11 compliant	
Computer Interface	USB 2.0 compatible to USB 1.1	
Dimensions	Width: 36 cm, depth: 50 cm, height: 16 cm Weight: 10 kg	
Accessories		
LVis Plate	Microplate designed to measure 16 low-volume (2 $\mu L)$ samples and standard cuvettes. Incorporates NIST-traceable filters and holmium oxide standards for instrument performance testing. Sensitivity: 2 ng/ $\mu L$ dsDNA	
Barcode Reader	External manual barcode reader	
THERMOstar	Microplate incubator and shaker	

Specifications are subject to change. Limit of detection (sensitivity) was calculated according to the IUPAC standard: 3x(SD<sub>kensi</sub>)/slope SPECTROstar is a registered trademark of BMG LABTECH GmbH. © 2014 All rights reserved. All logos and trademarks are the property of BMG LABTECH.



#### **Go Green Policy**

The SPECTROstar Nano power supply uses less than 0.5 watts of power when the instrument is in standards the Efficiency Level V). With EU RoHS construction standards this instrument complies with the EU Restriction of Hazardous Substances Directive (RoHS) and has the smallest impact on the environment.

Made in Germany

www.bmglabtech.com



Headquarters Germany BMG LABTECH GmbH Allmendgrün 8 77799 Ortenberg Tel. +49 781 96968 -0 germany@bmglabtech.com

Australia BMG LABTECH Pty. Ltd. 2/24 Carbine Way Mornington, Victoria, 3931 Tel. +61 3 5973 4744 australia@bmglabtech.com

France BMG LABTECH SARL 7, Rue Roland Martin 94500 Champigny s/Marne Tel. +33 1 48 86 20 20 france@bmglabtech.com

Japan BMG LABTECH JAPAN Ltd. 1-6-2, Shimo-cho Omiya-ku 330-0844 Saitama City Tel. +81 48 647 7217 japan@bmglabtech.com

UК BMG LABTECH Ltd. 5 Alton House Office Park Gatehouse Way Aylesbury HP19 8YB Tel. +44 1296 336650 uksales@bmglabtech.com

USA BMG LABTECH Inc. 13000 Weston Parkway Suite 109 Cary, NC 27513 Tel. +1 877 264 5227 usa@bmglabtech.com