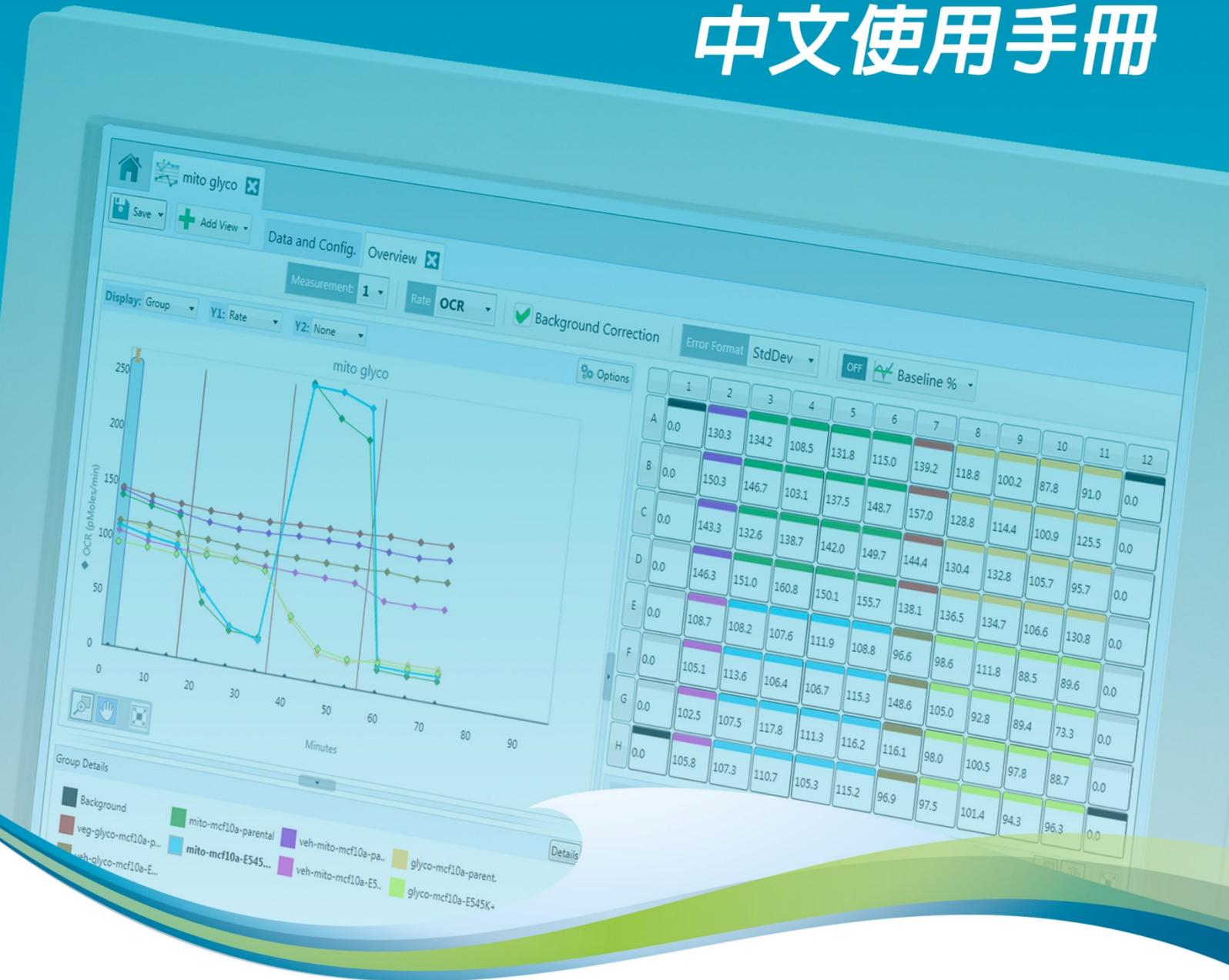


XF^e Wave

中文使用手冊



尚博生物科技有限公司

Seahorse Bioscience



目 錄

1) 前言.....	3
2) 設定組別和條件.....	4
3) 於盤子上標記組別.....	6
4) 設定 Protocol.....	7
5) 分析：功能列總覽.....	9
6) 分析：Data View 和 Summary.....	11
7) 分析：工具鈕.....	12
8) 整理您的檔案.....	14

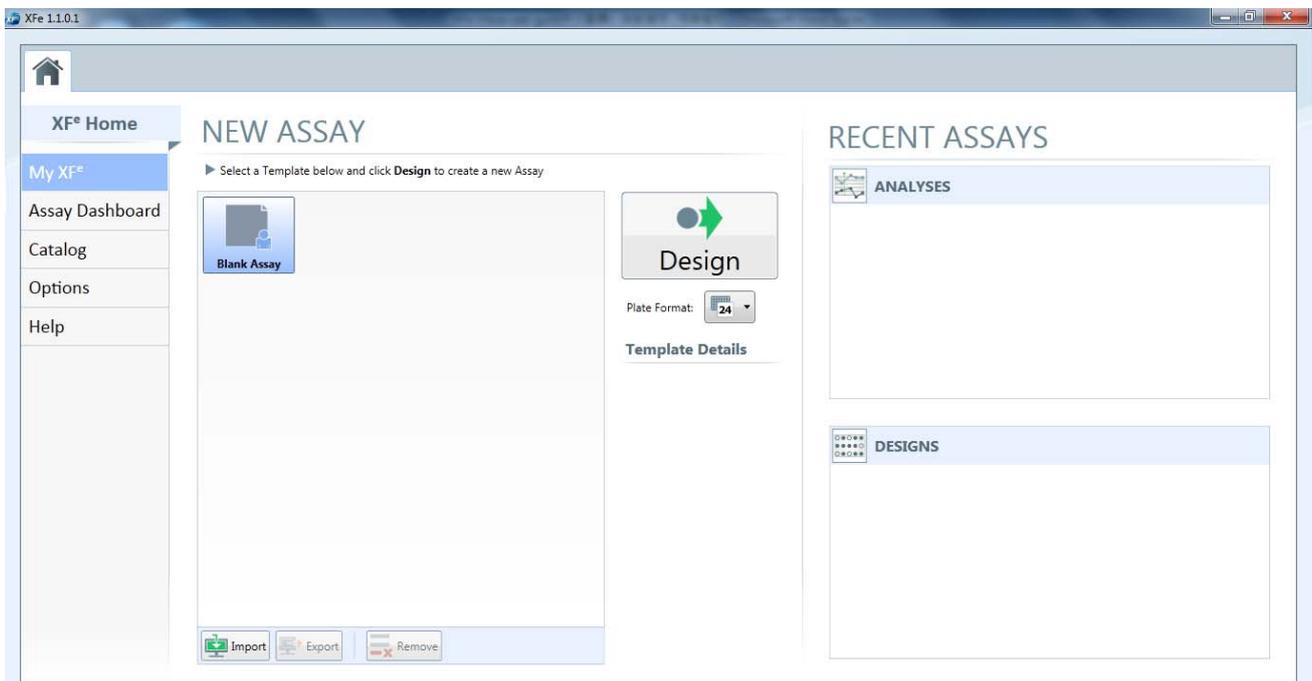
1) 前言

XFe^e Wave Software 是專為 XFe^e Extracellular Flux Analyzer 設計的軟體，此軟體將上機的設定與操作大幅的簡化。操作手冊將介紹軟體的功能，並提供使用者通用的實驗設計和資料分析的建議操作流程。

- 設定組別和條件
- 於盤子上標記組別
- 設定 Protocol
- 分析：功能列總覽
- 分析：Data View 和 Summary
- 分析：工具鈕
- 整理您的檔案

開始一個新的實驗

在電腦桌面點擊 XFe^e Wave 圖示開啟軟體。點擊 New Assay 內的 Blank assay，接著點擊右方的 Design 將會開啟新的視窗。您將處於 Getting Started 的分頁，輸入實驗的基本資訊後，便可點擊上方的 Group Definitions 前往下一個分頁。



2) 設定組別和條件

Group Definitions，包含 Assay Conditions 和 Plate maps 兩個部分。Assay Conditions 即使未填寫仍可進行實驗，但良好的紀錄可協助您分析和整理資料。可填寫紀錄的資訊共分為四個部分：Injections，Pretreatment，XF medium 和 Cell type。

Injection

記錄實驗過程中注入何種藥物，透過 A、B、C & D 四個注藥槽，可注入藥物四次。點擊 + Add injection strategy 開始記錄注入的藥物資訊。假如整盤的注藥設計皆相同，那只需輸入一種設定即可。

Pretreatments

Pretreatments 是紀錄上機前對樣本所做的處理，像是不同濃度的藥物處理，處理了多久。除了簡單紀錄 Pretreatments 的內容之外，也可以在右方的視窗紀錄進一步詳細的資訊。

XF medium

XF medium 是記錄於進行實驗時所使用的培養基資訊。內容包含基本的 medium 成分和相關添加物(ex: 有 pyruvate 或是沒有)都會記錄在這裡。

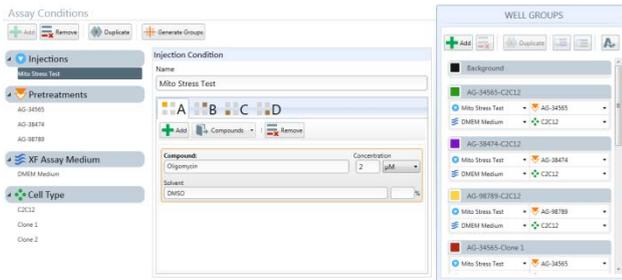
Cell Type

Cell type 是記錄實驗所使用的細胞資訊。內容包含何種細胞，細胞數，細胞代數等。

自動分組

XFe^e Wave 可根據您設定的實驗條件數量多寡幫您自動進行分組。若您只有一個條件，那整盤實驗便只會有一個組別；若您有一個以上的條件，軟體將會為自動您計算並為您分組。

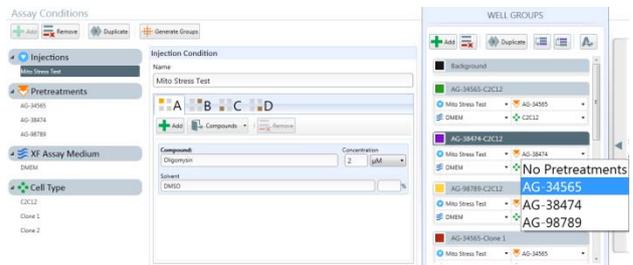
Example



上面這個例子，多個不同的條件已在 Pretreatments (AG-34565，AG-38474，AG-98789) 和 Cell type (C2C12，Clone 1 和 Clone 2) 設定完成，Assay medium 則只有一種。當點擊 Generate Groups 時，軟體就會自動幫您產生 9 (3 x 3 x 1) 個組別。

手動分組

假如自動分組的功能您並不滿意，可嘗試手動分組。您可創建新的組別，並自行設定該組別的 Injection，Pretreatment，Assay medium & Cell type 等資訊。



在這個例子，左方設定的條件資訊是相同的。但若實際實驗的條件少於 9 個組別，您可按 Add 鈕自行增加組別。按 3 次 Add 鈕就會增加 3 個組別，接著可點擊空白的視窗，將會下拉出左邊的設定條件供您選擇。

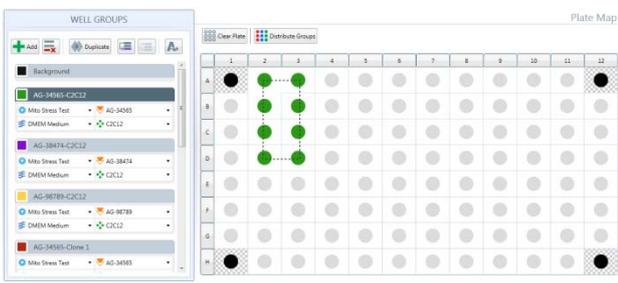
現在您已經完成組別的設定，可以準備在盤上進行標記了。

3) 於盤子上標記組別

使用 XFe[®] Wave 設計實驗時，最重要的部分之一就是記錄 Plate Map。這會紀錄各個 well 的實驗條件細節，且在實驗結束後協助資料分析的統計。

組別

軟體提供您多種方式來進行組別的圈選，您可點擊 Generate Groups 來自動標定組別，或是點擊左方的組別後，於右方 plate 進行圈選。在這我們將示範最簡便的分組方法如下。



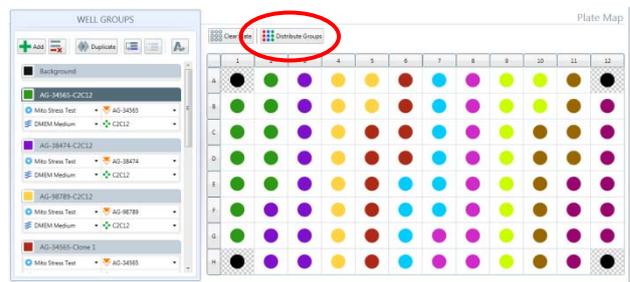
在左方 Well Groups 視窗點擊 Add 3 次來產生 3 個組別。您可點擊組別來設定各組別的詳細資訊 (ex：將 Group1 設定為 C2C12 & Compound A)。雙擊組別的名字，將可重新設定組別的名字。若你在之前的視窗已設定好實驗的條件，您可下拉空白的視窗設定相關資訊；或是讓視窗空白也沒關係。

要在盤子上標定組別的位置，請先點擊組別的名字，接著點擊盤子相對應的 wells 即可。你可以一個一個點選，或直接標定一整排或一整列，直接用拖曳的方式圈選也是可以的。

Distribute Groups

XFe[®] Wave 可以協助在盤子上自動標定組別。軟體會依組別數量計算可重複 Well 數的最大值，並平均分佈在整個盤子上。

Example :



當左方組別的設定已經完成，點擊右方的 Distribute Groups。這個指令會將您的盤子依組別數量平均地幫您標定。

Background Wells

軟體已內建 background wells 並設定好，不過使用者仍可更改此設定。先點擊 Background 組別的視窗，然後在右方 plate map 進行設定即可。



4) 設定 Protocol

當組別和條件設定完成，並標定好盤子上的位置後。現在該是於 Instrument Protocol 分頁設定 Protocol 的時候了。

Default Commands

The XFe always performs calibration to make sure measurements are accurate. It is configured in the Instrument Settings.

Equilibrate

Equilibration occurs after Calibration and is recommended (which is why it's checked). Uncheck this box if your Assay does not require equilibration.

3 Measurement Cycles			
Mix	Wait	Meas.	
03:00	00:00	03:00	

Edit Measurement Details			
Cycles	Mix	Wait	Measure
3	03:00	00:00	03:00

為了加速實驗的設定，當點擊 Instrument Protocol 分頁後，您會看到一開始的指令 (3 Measurement cycle; mix · wait · meas. ·) 已經設定好了。

每一次的實驗開始前都必須執行 Calibration，這也是每次實驗的第一個指令。接下來的指令是 Equilibrate，軟體內建是開啟的狀態 (框框內是打勾的)，我們建議執行此指令，可協助實驗時的樣本溫度更穩定。在少數的案例中，您並不需要執行 Equilibrate，這時您就可勾除此步驟。

第三個指令是內建的 measurement cycle，於第一次注藥前會先重複測量三次 (此部分的能量代謝稱為 basal metabolism)，若要更改 Protocol 可點擊 Edit measurement details，於此您可設定測量的次數與各指令的時間長短。

Mix，控制機器內的 Sensor Cartridge probes 上下移動，以確保樣本所處的環境不論加入藥物前或是加入藥物後都是很穩定的。

Measure，此指令會命令機器將探針下降至盤子底部並製造出半密閉的微小環境，接著透過探針持續觀察樣本消耗氧氣與產酸的效率。

Mix 和 Measure 執行的時間是可以調整的，mix 3 分鐘 measure 3 分鐘的設定適用於大部分的樣本，但若樣本情況特殊仍可進行調整來最佳化。

您也可設定 Wait (內建為 0 min)，可以延遲 mix 之後進入 measure 的時間。

Injection

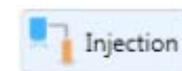
Select Ports: A, B, C, D

Measure after Injection

3 Measurement Cycles		
Mix	Wait	Meas.
03:00	00:00	03:00

Edit Measurement Details

點擊 Injection 鈕來增加 injection cycle 的指令到 protocol 內。



每當你點擊 Injection 鈕，就會有一個新的 injection cycle 加到 protocol 內。

軟體會自動選擇下一個未使用的加藥槽執行藥物注射，可點擊 A · B · C · D 來更改設定，但僅有未使用過的加藥槽可以點選。在 Injection 後，軟體已自動幫您設定 measurement cycle，同樣地，您可以調整時間與重覆次數，若於藥物注射後不需要進行測量，將 Measure after injection 勾除即可。

客製化指令



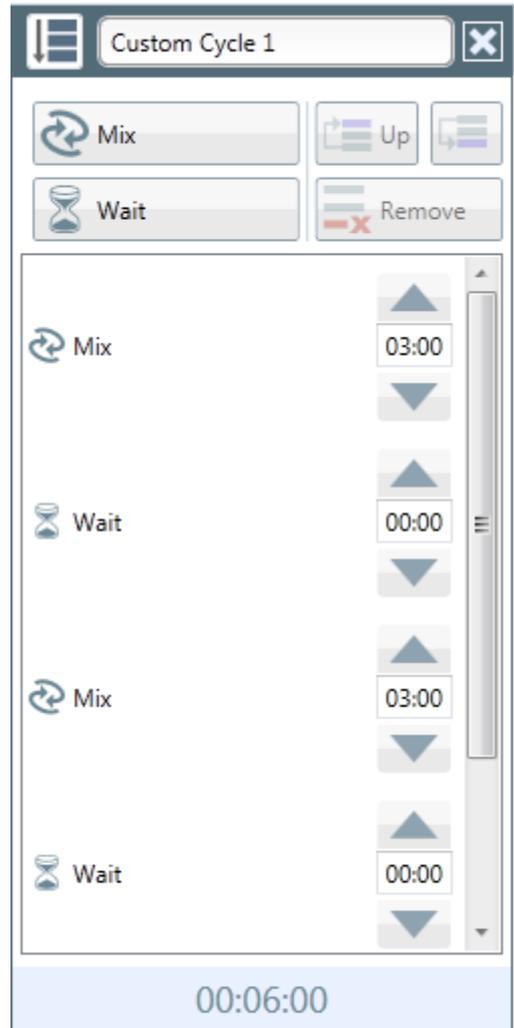
大部分的實驗，您僅會使用到 measurement & injection cycles；若您不需要 measure，軟體可協助您設計只有 mix & wait 的客製化指令。點擊 Sequence 鈕來設計您需要的 mix & wait 的時間與次數。

儲存您的 Protocol

一旦實驗設計完成，有兩種儲存的形式可供您選擇。

若此實驗設計並不會頻繁地重複使用，可直接點擊左上方的 Save，或是點擊下拉箭頭選擇 Save as 來儲存。接著按左上方的房子圖示會到主頁，此次實驗設計會儲存在右下方的 DESIGNS，於實驗結束時會自動變成右上方的 ANALYSES File。

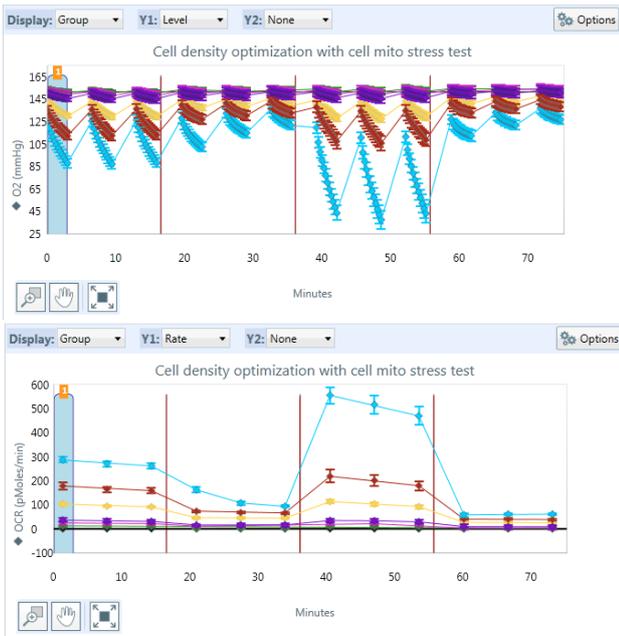
若未來會多次重複此實驗設計，點擊左上方 Save 的下拉箭頭選擇 Save as template，輸入要儲存的命名。此實驗設計將會儲存在主頁的 NEW ASSAY，未來要重複相同的實驗，直接點選此 Assay 執行即可。



5) 分析：功能列總覽

開啟位於 ANALYSES 的實驗結果，可在 Overview 分頁進行分析。Data 可隨時間呈現，您可剔除不一致的樣本，軟體還會自動計算組別的平均值和標準差；亦可點選左上方的 Add View 來增加 Overview 分頁，方便進行實驗分析和比較。

Kinetic Graph



Y1 Axis

Min: -100.00, Max: 600.00

Auto Scale

Interval: [], Thickness: []

Show Error Bars
 Show Zero Line
 Line Markers
 Point to Point

Y2 Axis

Min: [], Max: []

Auto Scale

Interval: [], Thickness: []

Show Error Bars
 Show Zero Line
 Line Markers
 Point to Point

Time Axis

Min: 0.00, Max: 75.20

Interval: [], Thickness: []

Show Rate Highlight

點擊圖表右上方的 Options 後，可設定 X 軸與 Y 軸的座標軸最大值，最小值，間隔與水平線的厚度。可勾選打開或關閉 Error Bars，Zero Line，Line Markers 和 Point to Point (Isolated mitochondria recommended)。

實驗開始隨時間進行注入藥物到實驗結束，以 X 軸為時間觀察整個實驗 OCR 與 ECAR 的變化是海馬實驗分析最常用的模式。



內建設定 X 軸為時間，Y 軸則為 Rate。可自由更改 Rate (OCR, ECAR)，點擊 Rate 的下拉式箭頭選單即可更改。



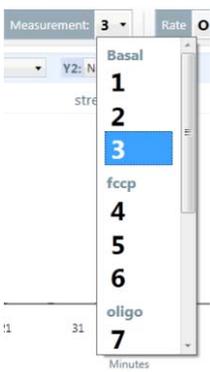
於 Y1，您可將 Rate 更改為 Level，觀察 OCR 與 ECAR 的原始值 O₂ mmHg 和 pH。

若想同時呈現 OCR 與 ECAR，點擊 Y2 並選擇要呈現的第二種數據即可。

Rate Details and Bar Graph

OCR (pMoles/min)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.00	9.63	28.99	26.70	39.35	39.92	109.15	100.65	179.59	215.37	314.08	0.00
B	14.66	17.32	32.60	23.51	47.88	38.29	109.51	99.43	170.54	169.78	286.28	287.93
C	14.66	14.35	24.03	20.66	38.48	47.03	110.31	104.72	175.64	194.30	281.41	294.66
D	13.03	6.99	23.57	17.62	37.20	34.15	110.12	102.25	174.45	180.71	292.58	297.12
E	13.75	17.79	20.46	22.49	33.00	40.77	111.69	102.74	189.76	186.82	267.76	295.28
F	10.95	14.11	43.71	17.29	19.26	37.92	109.76	92.89	178.64	175.77	290.80	274.88
G	11.20	6.81	23.19	21.24	29.09	35.53	106.10	95.23	167.75	160.77	278.71	267.95
H	0.00	17.12	31.04	18.85	32.92	33.07	98.70	96.07	179.61	160.56	288.47	0.00

在 Overview 分頁的右方，呈現的是每一個 well 的詳細資訊。



於此，您可觀察到每一個 well 於指定時間點的數值高低，時間點的變更請點擊左上方的 Measurement，然後下拉到指定的時間點。點擊指定的時間點後，就會正確地顯示此時間的數值，被選定的時間點則會被藍色的框框標示。在圖表上也會於此時間點以藍色框框標示來提醒您。

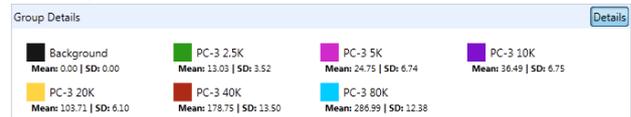
您可點擊 Plate map 差異較大的 well 將之剔除，剔除的 well 背景會變為灰色，並被黑色邊框標記，若圖表是以 well 呈現(點擊 Display 選擇 Well)，在圖表上將看不到此 well 的結果，若圖表是以 Group 呈現，軟體會重新計算平均值與標準差並直接更新呈現在圖表上。

您的結果亦會在右下角以柱狀圖的方式呈現，不論以單一 well 或是組別平均呈現都可以，只需點擊 Display 選擇 Group 或 Well 即可。Group 模式可協助您一眼就知道組別之間的差異，選擇 Well 模式則可簡單將表現不一致的 Well 剔除。



組別詳細資訊會被標示在左下方，當點擊 Details 時，各組別會呈現此時間點的平均值與標準差，將 Y 軸更改為 ECAR 時，數值也會隨之改變。於 Plate map 去除差異較大的 well 後，更新的平均值與標準差也會立刻更新。

Group Details



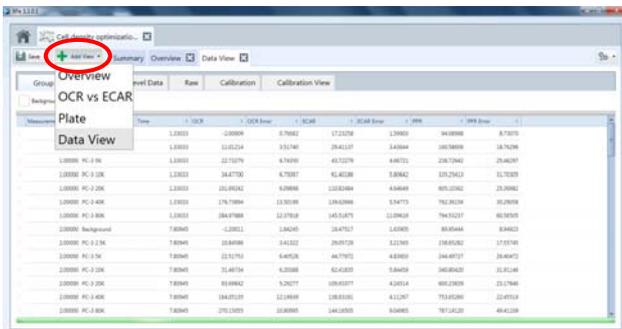
圖型上的組別顏色與 Group Details 表單的顏色是一致的，您可單點 Group Details 的組別，將會加粗圖表上的線條，將強調的組別獨立出來。若雙擊 Group Details 的組別，則會將此組別於圖表中去除，協助您只比較感興趣的組別。

6) 分析 : Data View 和 Summary

在 Data View 分頁與 Summary 分頁有許多有用的功能，像是 data export，實驗摘要及儀器設定資訊。

Data View

Data View 記錄了所有您實驗中的原始數據。點擊上方 Add View 選擇 Data View 開啟。原始數據以三種不同的方式呈現 1。Level data 2。Rate data 3。Group data。還有初步的螢光強度數據與校正數據。不論哪一種原始數據，僅需點擊上方的分頁即可切換。



每一種實驗數據都會以 well 和 Group 兩種類型進行分類。不論想以哪種方式排列數據，只需點擊欄位上的 Well 或 Group，數據就會以你選擇的方式排列。實驗數據還可輸出為 Excel file。只需在畫面中按滑鼠右鍵選擇 Export，命名檔案之後存檔即可。

Summary

此分頁會將您所設定的實驗細節皆紀錄於此，包含實驗的 Protocol，Plate map，注藥槽的順序與設定。Summary 分頁每當您開啟 Analysis File 就會自動開啟，內容詳細記錄實驗是如何進行的 (mix，wait，measure & injection)，並清楚標記各組是位於盤子上的哪個位置。

PROTOCOL SUMMARY

TOTAL TIME: 01:12:00

Basal	Injection 1	Injection 2	Injection 3
Mix: 00:03:00	Inject Port: A	Inject Port: B	Inject Port: C
Wait: 00:00:00	Mix: 00:03:00	Mix: 00:03:00	Mix: 00:03:00
Measure: 00:03:00	Wait: 00:00:00	Measure: 00:03:00	Wait: 00:00:00
Mix: 00:03:00	Measure: 00:03:00	Mix: 00:03:00	Measure: 00:03:00
Wait: 00:00:00	Mix: 00:03:00	Measure: 00:03:00	Mix: 00:03:00
Measure: 00:03:00	Wait: 00:00:00	Wait: 00:00:00	Wait: 00:00:00
Mix: 00:03:00	Measure: 00:03:00	Measure: 00:03:00	Measure: 00:03:00
Wait: 00:00:00	Mix: 00:03:00	Mix: 00:03:00	Mix: 00:03:00
Measure: 00:03:00	Wait: 00:00:00	Wait: 00:00:00	Wait: 00:00:00

GROUP Summary

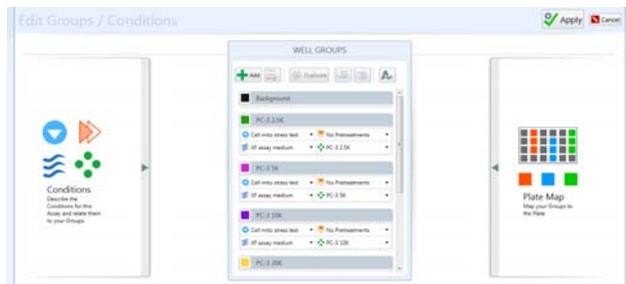
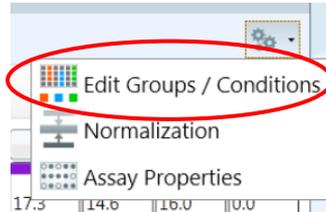


7) 分析：工具鈕

您可以選擇其它的工具來協助您分析，點擊右上方的工具鈕，可以選擇 Edit Groups / Conditions 來重新定義您的組別，可選擇 Normalization 來標準化您樣本之間的差異，或是選擇 Assay Properties 來更改實驗的資訊。

Edit Groups/Conditions

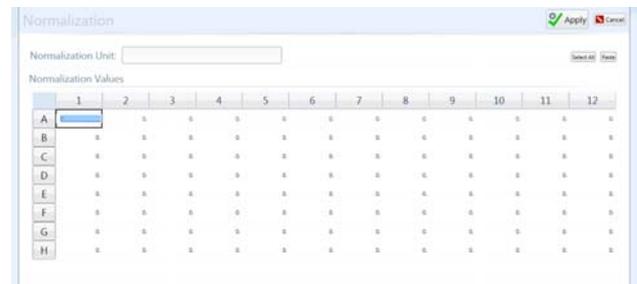
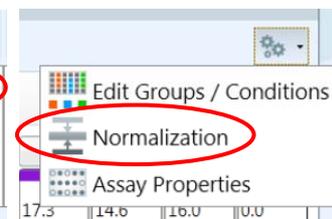
當選擇 Edit Groups / Conditions 後，將會出現下方的視窗。您可以重新設定您的 Conditions 和 Plate map。



即使實驗已經完成了，在此視窗您仍可以重新設定組別。您可以更正當初設定錯誤的組別，或是當初您趕著進行實驗而沒有設定組別，都可以在實驗完成後再做完整的設定。

關於詳細的設定請參考之前的章節“設定組別和條件”和“於盤子上標記組別”，當完成設定後，點選右上方的 Apply 就會套用此新的設定；若不想套用點選 Cancel 即可。

Normalization



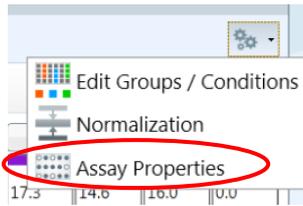
然後將以定量後的數據來進行校正。

有兩個方式可在此視窗輸入您要標準化的數據，最通用的做法是將定量後的結果輸入在 Excel 的平台後複製此數據，然後於 Normalization 視窗點擊 Select All 選擇所有的 well 後，再點擊 Paste 將數據貼上即可。您也可手動一個個 well 輸入定量後的數據。

Normalization Unit 視窗可輸入定量的單位。舉例來說，可以輸入 10000 Cells，之後所有 OCR 的單位都會從 pMoles/min 變為 pMoles/min/10000 Cells。完成所有的設定後，請點選右上方的 Apply 完成設定，若不想套用此設定，請點擊 Cancel。

當 Normalization 設定完成後，Overview 內右上方原本無法點選的 Normalization 就可以點選了，當您勾選後數據就會被標準化，勾除後即回復為沒有標準化之前的原始數據。

Assay Properties



點擊工具列中的 Assay Properties 來開啟此功能。

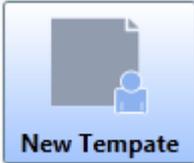


此視窗允許使用者在實驗結束後更改一些設定；於 Project Information 您可以更改當初設定的 Project Name · Project Number & PI 等資訊。進一步可點擊 Advance Settings · 重新設定藥物注入的體積 · 操作者姓名 · 操作日期與 Buffer Capacity。完成所有的設定後 · 請點選右上方的 Apply 完成設定 · 若不想套用此設定 · 請點擊 Cancel。

8) 整理您的檔案

在 XF^e Wave 軟體，您可以在主頁整理您的檔案。也就是軟體開啟後直接出現的畫面，你可以在此 Import · Export 或是 Delete 你的 Template · design files 和 analysis file。

Template



Template 是實驗設計的紀錄檔，您可以在此次套用上次的實驗記錄，快速開始實驗。所有的實驗設計都可以儲存為 template，內容全由使用者自行設定。Template 的內容包含注藥的順序，已設定好的 Protocol，組別設計與實驗條件的細節。

My XF^e



My XF^e 的主視窗，是您開啟操作 XF^e analyzer 的主介面。

Assay Design Files



Assay Design Files 與 Template 相同，內容包含了

所有你實驗的相關設定；不同的是 Template 會保存在 New assay 的視窗，未來要用隨時可存取，而 Assay Design File 則是一個暫時性的檔案，當使用 Assay Design File 進行實驗後，會自動轉變為 Analysis Files。

Analysis Files



Analysis Files 是包含了實驗結果的完整檔案，內容包

含了整個實驗過程中的各種數據，當然也包含了實驗設定的所有資訊。所以要開啟 Analysis Files 做為 Template 或 Design Files 進行實驗也是可以的。

開始一個新的實驗

要開始一個新的實驗，從 New assay 視窗選擇



Blank Assay 後點擊 Design，將會出現一個可進行實驗設計的新分頁。

New assay

所有您設計的 Template 都會

包存在此視窗，你可以選擇下方的 Import 輸入新的 Template，或是點擊 Export or Remove 對現存的 Template 做整理。

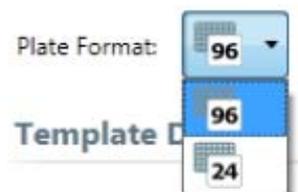
選擇 96 or 24 Well plates

XF^e96 & XF^e24 是使用同一套軟體操作，在實驗設計與上機前請確認切換到正確的選擇。

Recent Assays Window

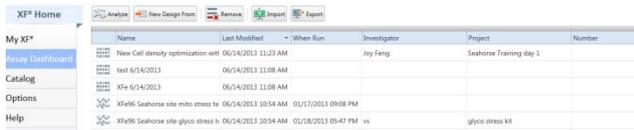
最近的 5 個 Analysis Files & 3 個 Design Files

會自動保存在視窗內，方便使用者操作與分析。



Assay Dashboard

點擊螢幕左方的工具列的 Assay Dashboard 執行



Name	Last Modified	When Run	Investigator	Project	Number
New Cell density optimization wtl	06/14/2013 11:23 AM		Joy Feng	Seahorse Training day 1	
test 6/14/2013	06/14/2013 11:08 AM				
XFe 6/14/2013	06/14/2013 11:08 AM				
XFe96 Seahorse site mito stress fe	06/14/2013 10:54 AM	01/27/2013 09:08 PM			
XFe96 Seahorse site glyco stress fe	06/14/2013 10:54 AM	01/28/2013 09:47 PM		glyco stress kit	

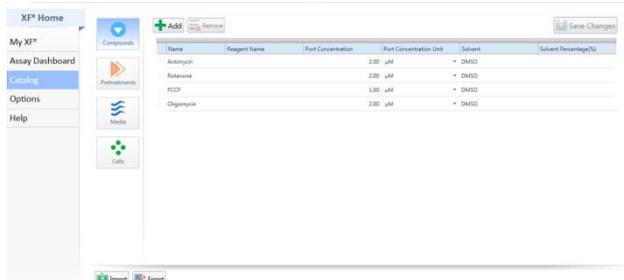
於此，所有的 Design Files & Analysis Files 將會排列於此，您可以執行 Import or Export 將資料上傳到網路上或存在 USB 隨身碟來移動檔案。您也可在此選擇 Design Files 並執行並做修改來開始實驗。

選擇 Analysis File 時您會有兩個選擇，點擊 Analysis 鈕將開啟實驗結果，你可以執行平常的數據分析；或是點擊上方工具列的 New Design From，軟體將會把 Analysis File 視為 Design File 開啟，您可以進一步調整與確認，然後開始新的實驗。



Catalog

Catalog 是您可以更改並儲存實驗條件設定的視窗。點擊左方工具列的 Catalog 開始執行。



Name	Reagent Name	Port Concentration	Well Concentration	Unit	Salient	Salient Percentage(%)
Adenosine		2.00	µM		DMEM	
Adenosine		2.00	µM		DMEM	
FCP		1.00	µM		DMEM	
Oligomycin		2.00	µM		DMEM	

在此您可以設定組別時會用到的資訊，內容包含了 Compounds · Pretreatments · Media & Cell type; 選擇你要設定的主題，按下 Add 鈕，將會開啟一空白列，您可將想記錄的資訊填寫於此，填寫完畢後將會自動儲存。之後在設計實驗時就可以於 Assay Condition 直接下拉選單選擇您記錄的實驗條件。

點選 Add & Remove 可對內容進行整理，您也可以選擇 Import & Export 將資料在不同的電腦傳輸。不過新的 Catalog 會將舊的檔案覆蓋過去，當輸入到新電腦時請注意這點。

Options

Options 的視窗內容包含了需多儀器的初始設定，更改此設定將會影響未來所有的實驗設計。

Protocol Defaults

可以更改實驗設計時一開始的原始值，內容包含 mix · wait & Measure 的時間。

Target Instrument

請確認您所使用的是 XFe⁹⁶ or XFe²⁴，並選擇正確的設定。您可以在此更改設定，也可以在初始的主畫面更改。

Login Settings

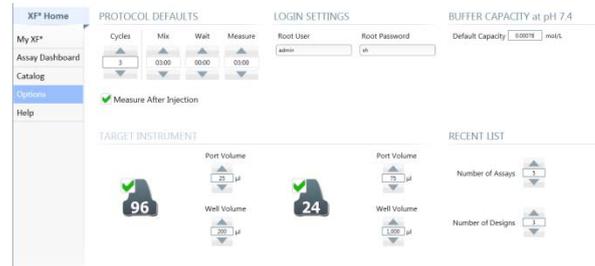
更改內建的 Root User 與 Root Password

Buffer Capacity at pH 7.4

輸入正確的 Buffer Capacity 數值，可協助軟體將 ECAR 正確的換算為 PPR。

Recent List

允許調整顯示最近開啟的 Analysis & Design Files 的數量。



Help

Help 視窗提供使用者詳細的資訊，以期有效的使用 XFe Wave 軟體；或是可以直接與 Seahorse Support 聯絡，來協助解決您的問題。

User Guides

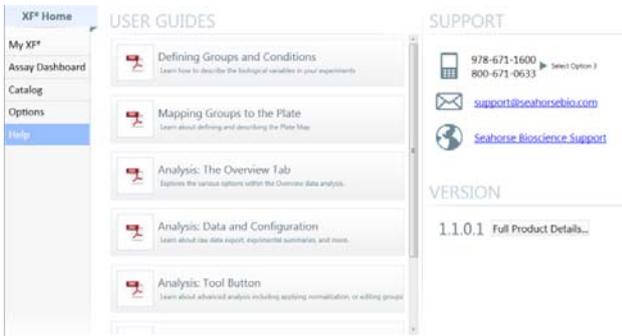
含有所有操作軟體細節的 PDF file。可針對需要幫助的內容點擊並開啟。

Support

提供連絡 Seahorse Support 的相關資訊。包含電話號碼、郵件信箱，並可直接連結到官方網頁。

Version

顯示您目前使用的 XFe Wave 軟體的版本



Corporate Headquarters

Seahorse Bioscience Inc.
16 Esquire Road
North Billerica, MA 01862 US
+1-978-671-1600 • 800-671-0633

www.seahorsebio.com

European Headquarters

Seahorse Bioscience Europe
Symbion Science Park, Boks 22
Fruebjergvej 3
2100 Copenhagen DK
+45 31 36 98 78

Asia-Pacific Headquarters

Seahorse Bioscience Asia
199 Guo Shou Jing Road
Suite 207
Pudong, Shanghai 201203 CN
0086 21 33901768



 *Seahorse Bioscience*

總代理 尚博生物科技有限公司



Tel 02-27855860
Fax 02-27857237
www.cell-bio.com.tw
contact.cellbio@gmail.com