الأخطاء الشائعة في البحث العلمي

Common Errors in Scientific Research

د. ضحى مصطفى النوري

أستاذ التغذية المساعد

كلية علوم الأغذية والزراعة

الأهداف

Objectives

- إلقاء الضوء على بعض الأخطاء الشائعة في البحث العلمي
- High light on some of the common errors in scientific research

- النصائح التي تساعد الباحثين تجنّب مثل هذه الأخطاء
- Tips that will help researchers avoid such errors

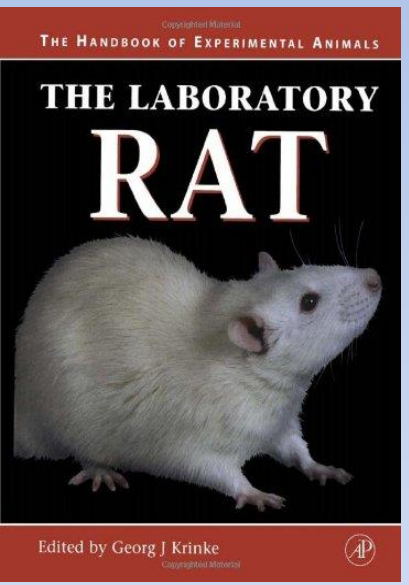
النقاط الرئيسة
Key Points

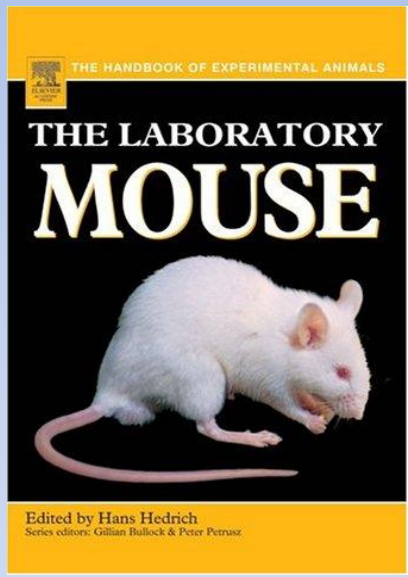
- الأخطاء الشائعة أثناء تصميم التجربة:
- Common errors during the experimental design
  - حيوانات التجربة Experimental animal
  - العينات Samples

- الأخطاء الشائعة أثناء إجراء التحاليل:
- Common errors during the experimental design
  - استخدام المحاليل السابقة التجهيز Kits
  - حساب النتائج Results calculation

اختيار حيوانات التجربة المناسبة

Choose the appropriate animal model





اختيار حيوانات التجربة المناسبة
Choose the appropriate animal model

- موضوع البحث (غذاء – دواء – مرض)
- Research topic (Food – Medicine – Disease)

- المستوى (تحت خلوي – خلية – نسيج – عضو – جهاز – الحيوان كله)
- The levels of organization: subcellular, cellular, tissue, organ, system, whole animal

اختيار حيوانات التجربة المناسبة
Choose the appropriate animal model

- قريب الصلة بالإنسان (التشريح – الميكانيكية الحيوية – علم وظائف الأعضاء – علم الأمراض – بيولوجيا الخلية – الكيمياء الحيوية)
- Relevance to human (anatomy, biomechanics, physiology, pathology, cell biology & biochemistry)

- معرفة الاختلافات بين الأجناس فيما يتعلق بموضوع البحث
- Knowledge of the species differences with respect to the subject investigated

اختيار حيوانات التجربة المناسبة
Choose the appropriate animal model

- Adipose tissue is the main site of fatty acid biosynthesis in pigs & ruminant animals, but adipose tissue & liver are equally important as sites in rats and rabbits.

- Chicks & rats convert β-carotene to vitamin A more efficiently than pigs

- Chicks, rats, & mice respond more rapidly to vitamin & mineral deficiencies than pigs or humans

اختيار حيوانات التجربة المناسبة
Choose the appropriate animal model

- القضايا العملية (السلوك – الغذاء – توافر التسهيلات – التكلفة)
- Practical issues regarding the model (behavior, dietary, availability of facilities, cost)

- القضايا الأخلاقية وقوانين الحكومة
- Ethical issues, government laws

اختيار حيوانات التجربة المناسبة
Choose the appropriate animal model

- تفاعلات العناصر الغذائية
- Nutrient-nutrient interactions

- التوافر الحيوي (الهضم – الامتصاص – الانتفاع)
- Bioavailability (Digestion, Absorption, & Utilization)

- المستويات العليا لتحمّل العنصر الغذائي
- Upper tolerance levels for nutrients

اختيار حيوانات التجربة المناسبة
Choose the appropriate animal model

- لا يمكن لأي نموذج حيوان أن يحاكي الإنسان تماما
- It is unlikely that any animal model will ever fully mimic the human

- كل نموذج له مزايا وقيود
- Each model has its advantages & limitations

توزيع المجموعات
Distribution of groups

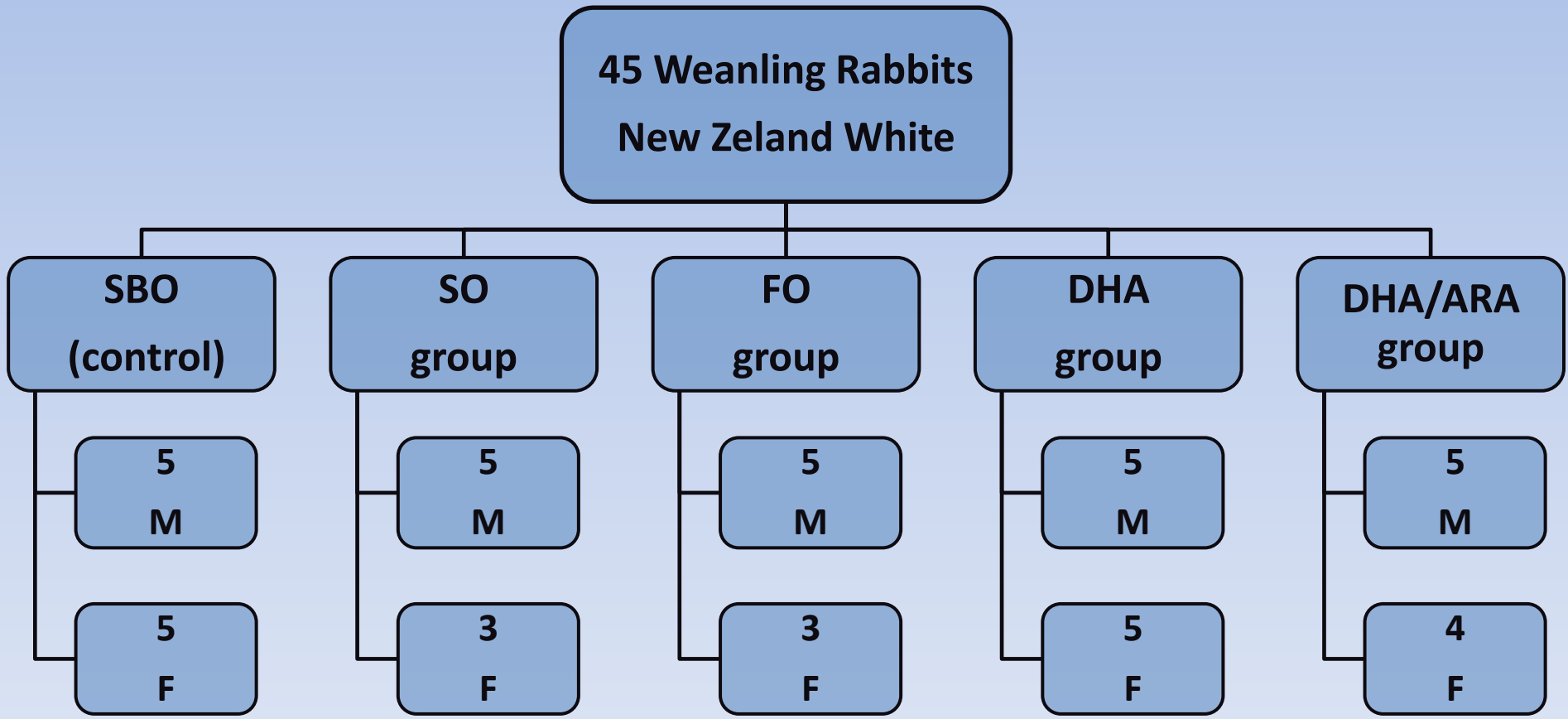
- العدد في المجموعة الواحدة 5-10
- Animals per group 5-10

- حسب الوزن (الفرق بين أفراد المجموعة ± 5 جم)

- ترميز المجموعات Coding

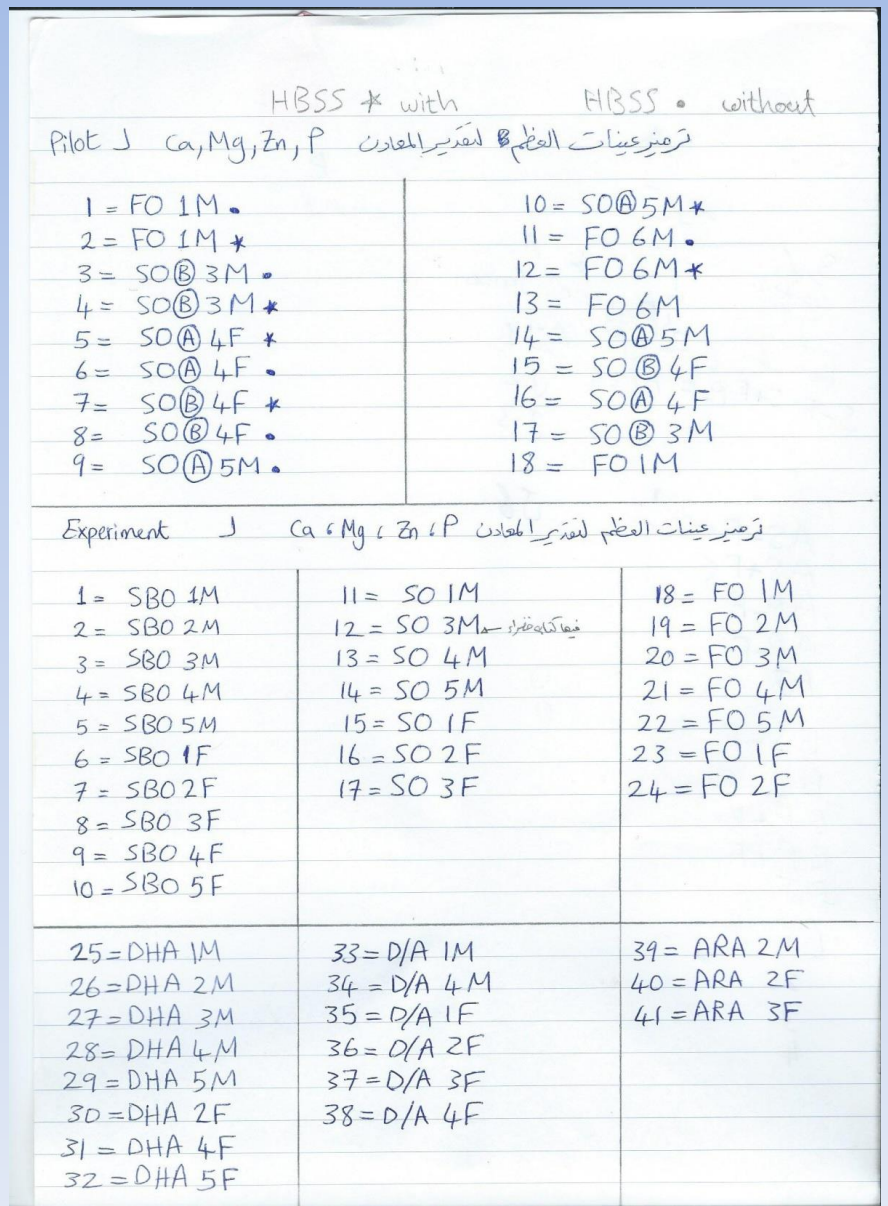
- تلوين المجموعات Coloring

تصميم التجربة
Experimental Design



ترميز المجموعات

Coding



HBSS * with HBSS • without

Pilot لـ Ca, Mg, Zn, P ترميز عينات العظم لتقدير المعادن

1 = FO 1M •	10 = SO Ⓐ 5M *
2 = FO 1M *	11 = FO 6M •
3 = SO Ⓑ 3M •	12 = FO 6M *
4 = SO Ⓑ 3M *	13 = FO 6M
5 = SO Ⓐ 4F *	14 = SO Ⓐ 5M
6 = SO Ⓐ 4F •	15 = SO Ⓑ 4F
7 = SO Ⓑ 4F *	16 = SO Ⓐ 4F
8 = SO Ⓑ 4F •	17 = SO Ⓑ 3M
9 = SO Ⓐ 5M •	18 = FO 1M

Experiment لـ Ca ، Mg ، Zn ، P ترميز عينات العظم لتقدير المعادن

1 = SBO 1M	11 = SO 1M	18 = FO 1M
2 = SBO 2M	12 = SO 3M — فيها كتابة خضراء	19 = FO 2M
3 = SBO 3M	13 = SO 4M	20 = FO 3M
4 = SBO 4M	14 = SO 5M	21 = FO 4M
5 = SBO 5M	15 = SO 1F	22 = FO 5M
6 = SBO 1F	16 = SO 2F	23 = FO 1F
7 = SBO 2F	17 = SO 3F	24 = FO 2F
8 = SBO 3F		
9 = SBO 4F		
10 = SBO 5F		
25 = DHA 1M	33 = D/A 1M	39 = ARA 2M
26 = DHA 2M	34 = D/A 4M	40 = ARA 2F
27 = DHA 3M	35 = D/A 1F	41 = ARA 3F
28 = DHA 4M	36 = D/A 2F	
29 = DHA 5M	37 = D/A 3F	
30 = DHA 2F	38 = D/A 4F	
31 = DHA 4F		
32 = DHA 5F		

تلوين المجموعات
Coloring

ملف إكسل Coloring & Coding

تجهيز علائق حيوانات التجربة
Preparation of Diets

- مكونات العليقة Diet Composition
  - كربوهيدرات Carbohydrate
  - بروتين Protein
  - فيتامينات Vitamins
  - مضادات أكسدة Antioxidants ؟
- خالية ؟
  - ألياف Fiber
  - دهون Fat
  - معادن Minerals

- الإضافات (جافة – سائلة مائية أو زيتية) Dry – Liquid

تجهيز علائق حيوانات التجربة
Preparation of Diets

- المعهد الأمريكي للتغذية
- American Institute of Nutrition (AIN)

  - مرحلة النمو – الحمل – الرضاعة
  - AIN-93G (Growth, pregnancy & lactation phases)

  - مرحلة البلوغ
  - AIN-93M (Maintenance phase)

تجهيز علائق حيوانات التجربة
Preparation of Diets

- فترة التأقلم Acclimation Period
- تجهيز أو طلب (اختلاف الدفعة)
- Avoid lot-to-lot variation in composition
- حساب كمية العليقة والإضافات الأخرى لفترة التأقلم و للتجربة كلها Amount Calculation

حساب كمية العليقة لفترة التأقلم

- 10 أرانب X 100 جم = 1 كجم / يوم (مجموعة واحدة)
- 50 أرنبا X 100 جم = 5 كجم / يوم (5 مجموعات)
- 5 كجم X 7 أيام = 35 كجم / أسبوع

- 7 % زيت المجموعة الضابطة
- 70 مل / كجم
- 70 x 35 = 1550 مل = 1.55 لترا/ أسبوع

حساب كمية العليقة لفترة التجربة

- 10 أرانب X 200 جم = 2 كجم / يوم (مجموعة واحدة)
- 50 أرنبا X 200 جم = 10 كجم / يوم (5 مجموعات)
- 10 كجم X 100 يوما = 1000 كجم = 1 طن

- 7 % زيت (الأنواع الخمسة)
- 70 مل / كجم
- 70 x 200 = 14000 مل = 14 لترا

تجهيز علائق حيوانات التجربة
Preparation of Diets

- طريقة الحفظ (الحاوية – درجة الحرارة – المدة)
- Store diet at 4 °C in plastic container with tight-fitting lids (no longer than 3 months)
- Frozen if stored for longer periods
- Diet should not be stored more than 6 months even under the best conditions

تحويل العليقة إلى حبيبات Pelleting

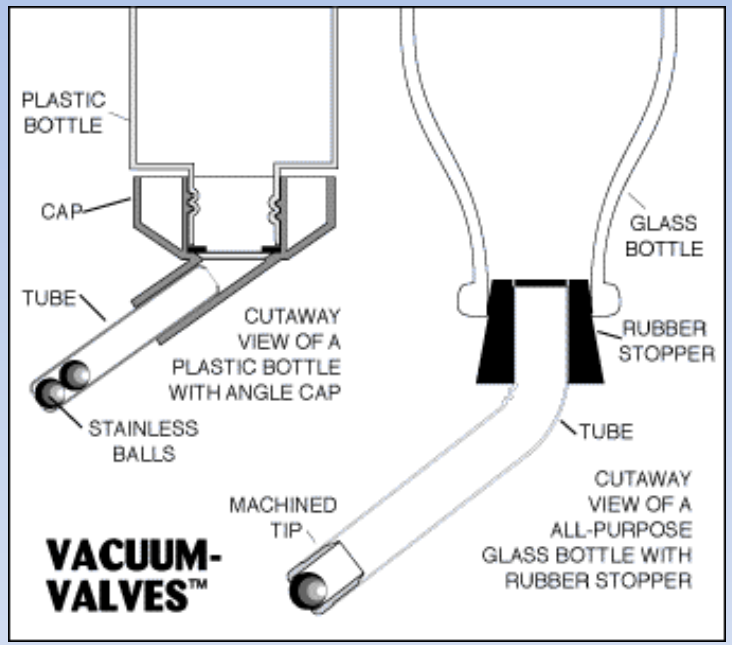
تجهيز المكان

Accommodation

تجهيز المكان

Accommodation

تجهيز المكان
Accommodation



تجهيز المكان
Accommodation

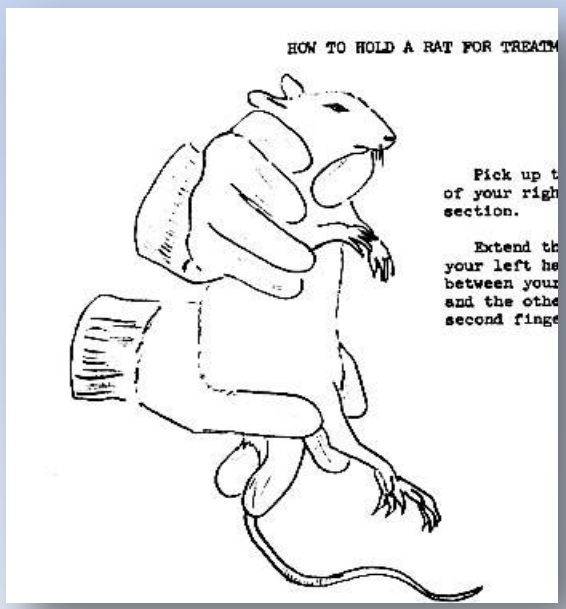
- دورة إضاءة / إظلام 12 ساعة
- 12/12 light/dark cycle
- الحرارة
- Temperature
- الرطوبة
- Humidity

المعاملة

Handling

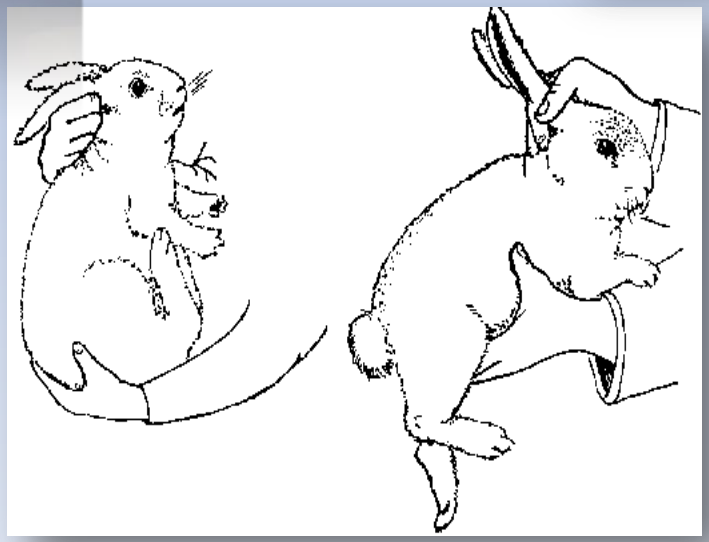
المعاملة

Handling



المعاملة

Handling



مؤشرات النمو
Growth Parameters

- الوزن بداية التجربة
- Initial body weight (g)
- الوزن نهاية التجربة
- Final body weight (g)
- كمية الغذاء المستهلك يوميا
- Daily Food Consumption DFC (g) = Food provided – Remaining
- كمية الغذاء المستهلك فترة التجربة
- Total Food Consumption TFC (g) = Σ DFC

مؤشرات النمو
Growth Parameters

- الزيادة في الوزن
- Weight Gain (g) = Final body wt – Initial body wt
- معدل النمو
- Growth Rate GR (g/day) = Wt gain ÷ Duration
- المتناول الغذائي
- Food Intake FI 1 (g/day) = TFC ÷ Duration
- Food Intake FI 2 (g/kg body wt) = TFC ÷ Wt gain
- الكفاءة الغذائية
- Food Efficiency FE = Wt gain ÷ TFC

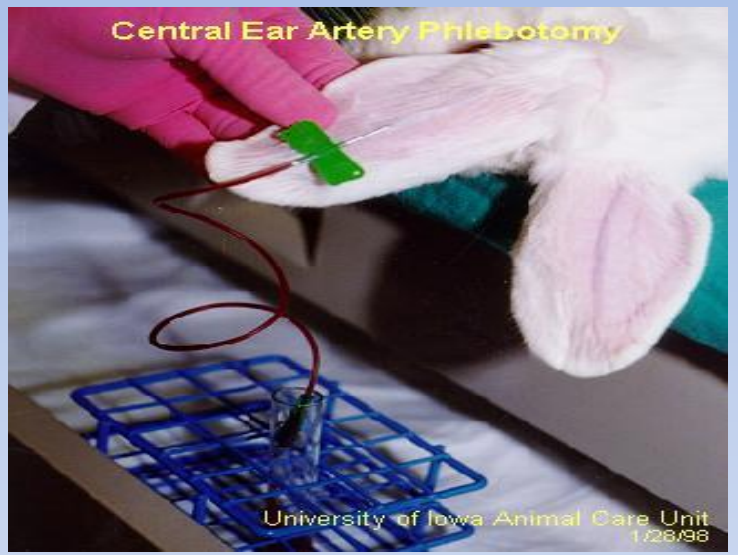
العينات
Samples

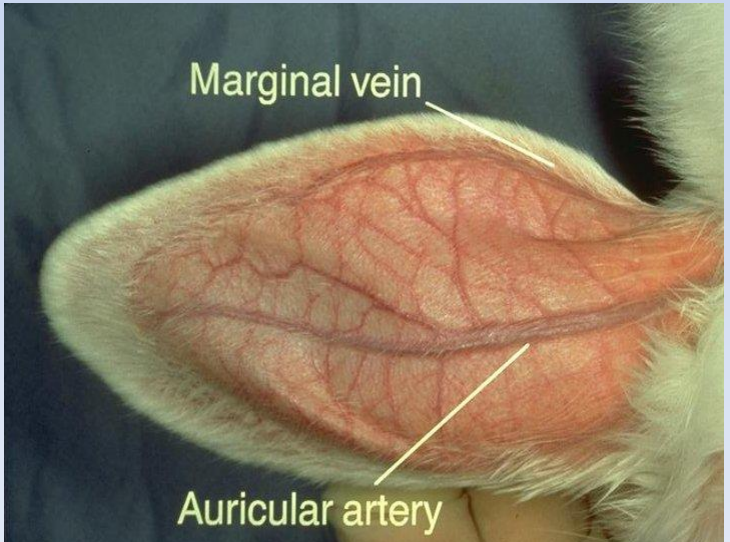
- Blood دم
- Urine بول
- Feces براز
- Organs أعضاء
- Bones عظام
- Glands غدد

أماكن سحب الدم
Blood Withdraw Site

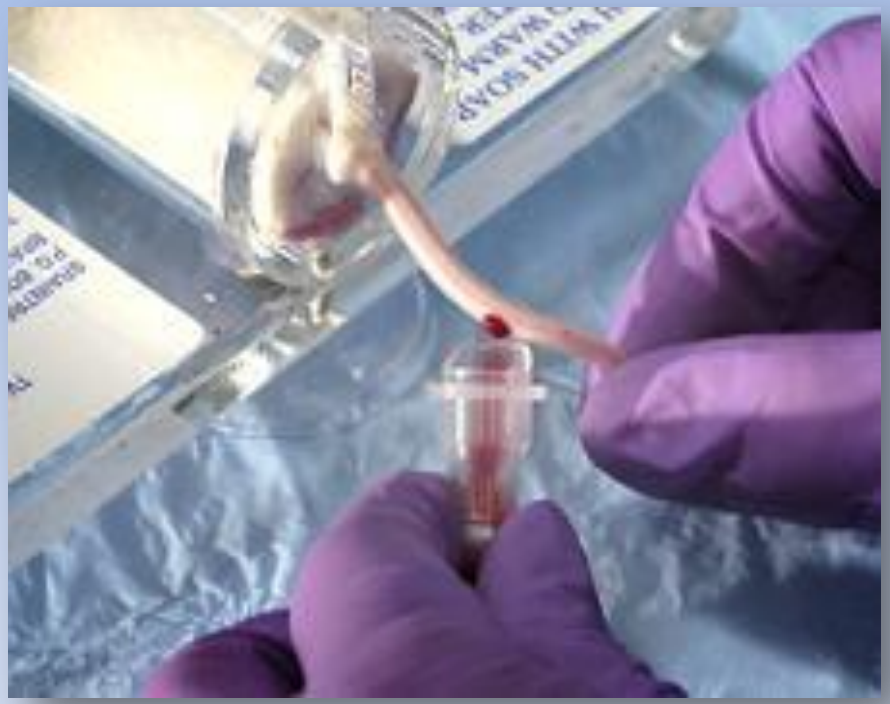
- الأذن Ear
- الذيل Tail
- القلب Heart (cardiac puncture)
- العين Orbital sinus
- الوريد الصافن Saphenous vein

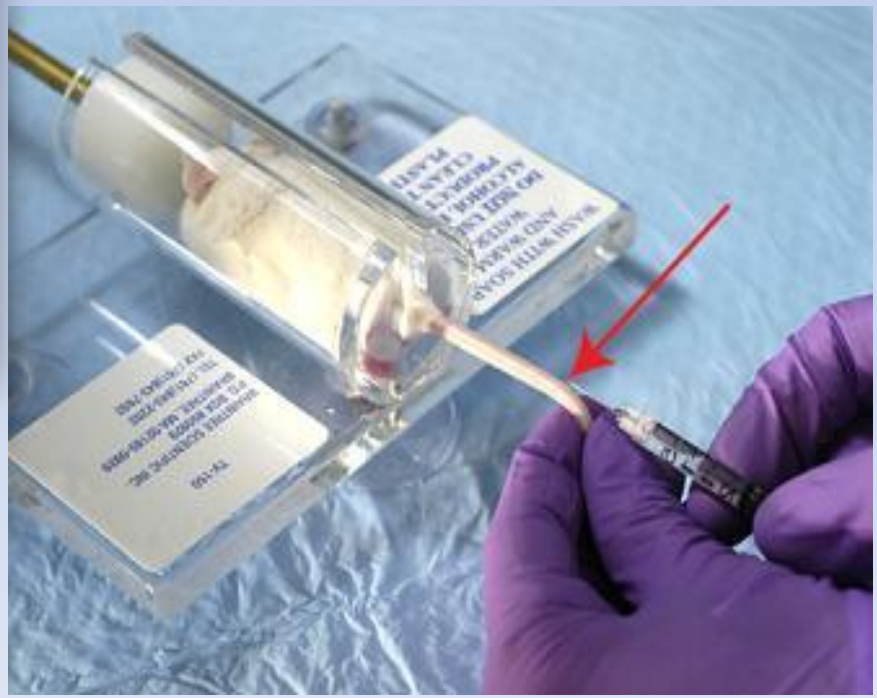
Ear


Central Ear Artery Phlebotomy
University of Iowa Animal Care Unit
1/28/98

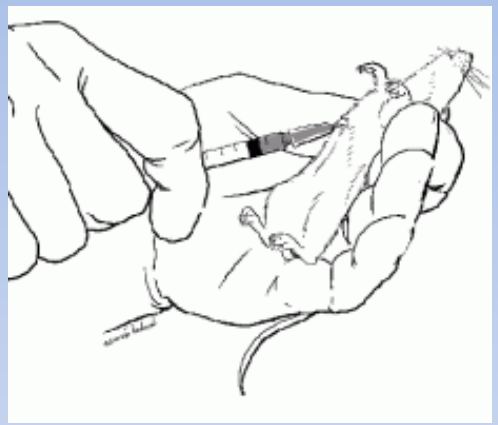

Marginal vein
Auricular artery

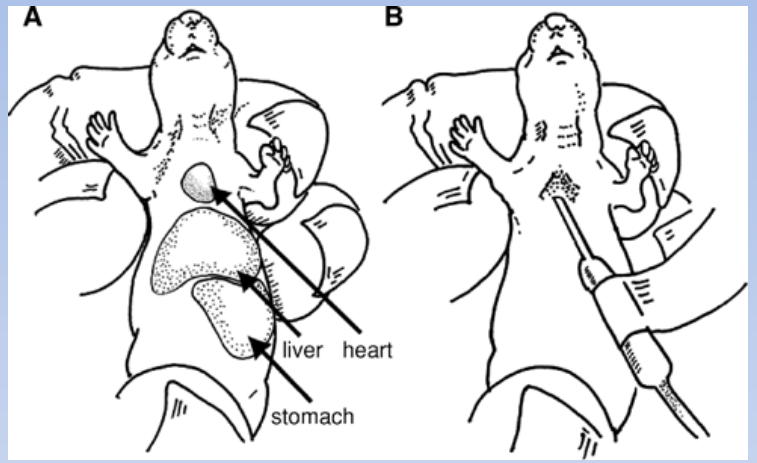
Tail

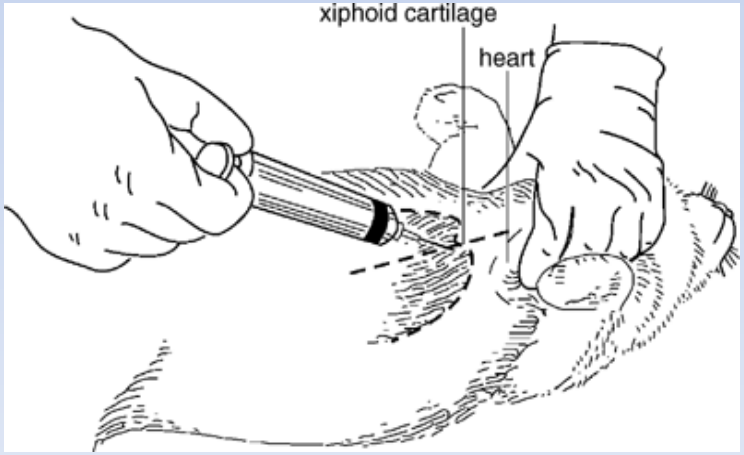




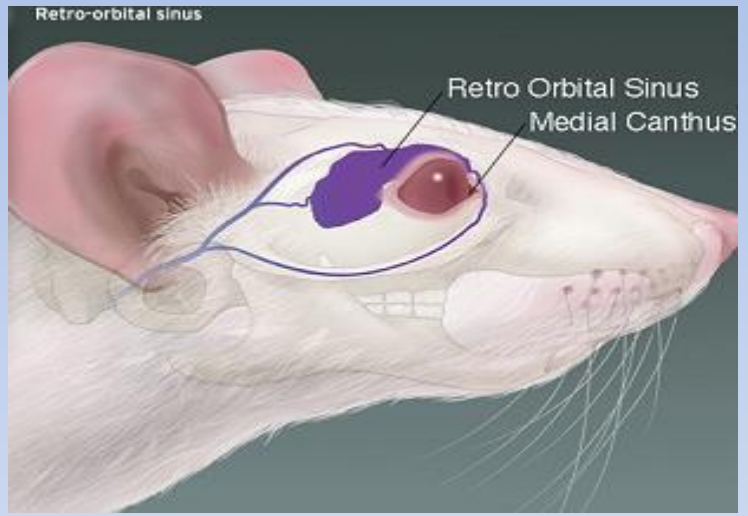
Heart (Cardiac Puncture)

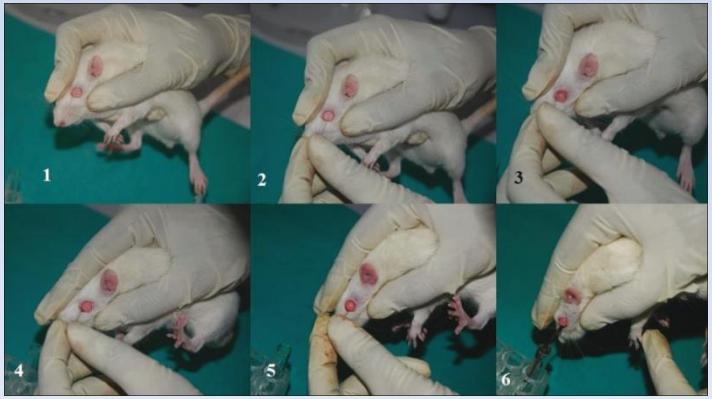




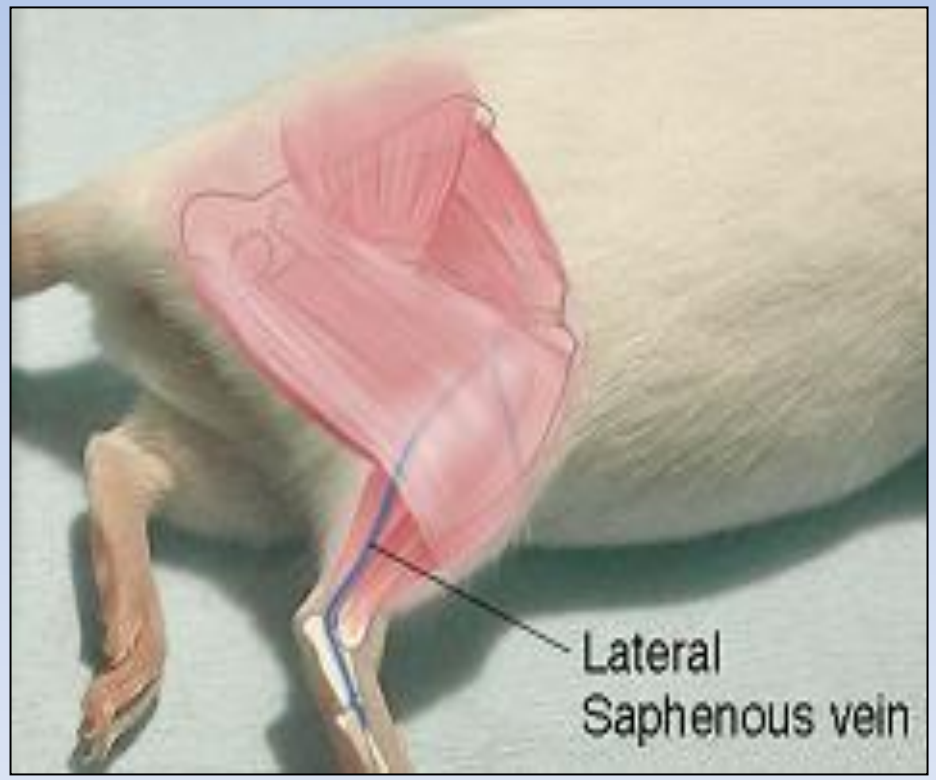


Orbital sinus





Saphenous vein



حجم الدم
Blood Volume

Animal	Site	Volume obtained	Needle gauges
Mouse	Heart, tail, orbital sinus	0.2 – 0.5 ml	5/8″ 25 ga 5/8″ 27 ga
Rat	Heart Tail Orbital sinus Saphenous vein	5ml 0.5 -1 ml 0.5 -1 ml 0.5 -1 ml	1″ 22 ga Hct tube 5/8″ 25 ga 5/8″ 25 ga
Hamster	Heart	1.5 -2.5 ml	5/8″ 25 ga
Guinea pig	Heart Saphenous vein	5ml 0.5 ml	1 - ½ ″ 22 ga 5/8″ 27 ga
Rabbit	Heart Marginal ear vein Central artery of ear	50 – 80 ml 1 - 3 ml 30 – 50 ml	1 - ½ ″ 18 ga 1″ 22 ga 1″ 23 ga

اعتبارات
Considerations

- إزالة الشعر والتعقيم
- Remove the hair & clean the area with alcohol

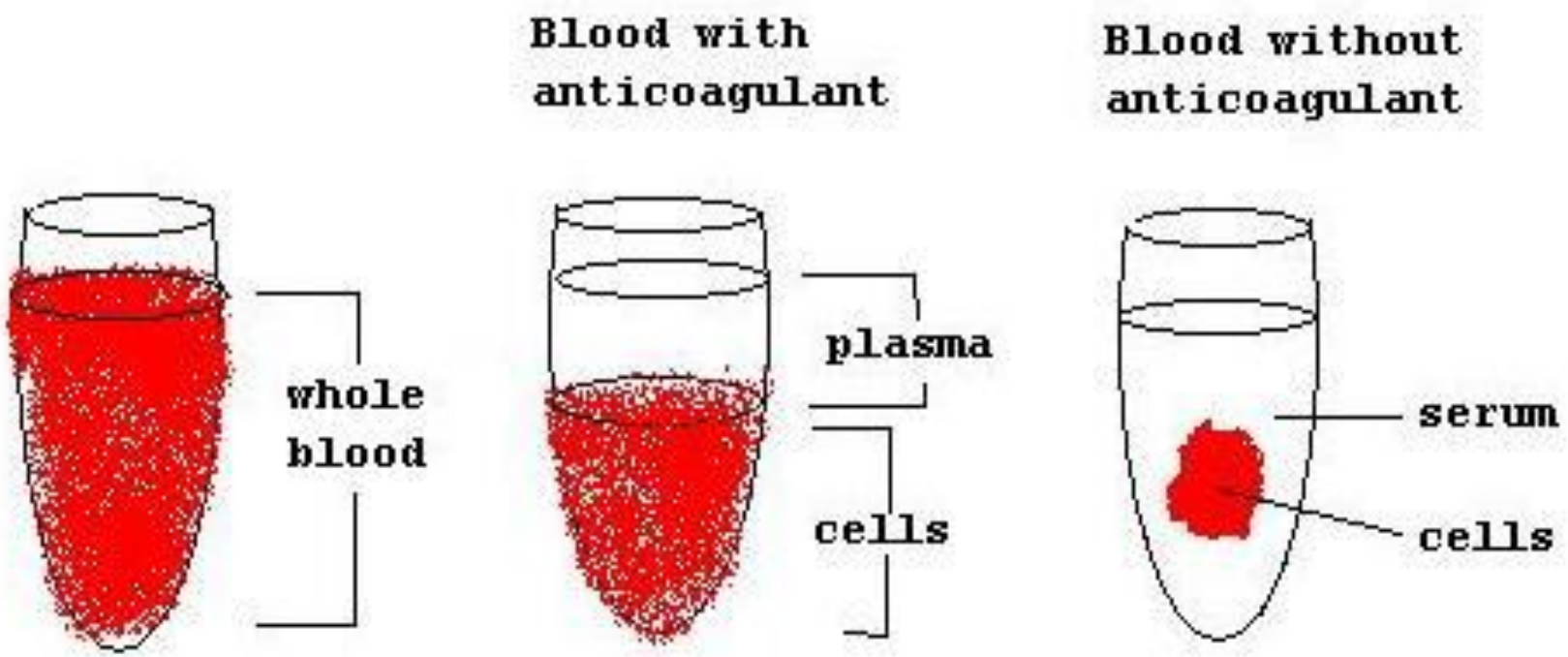
- تقليل الألم والضيق للحيوان قدر الإمكان
- Minimize pain & distress to the animals as much as possible

اعتبارات
Considerations

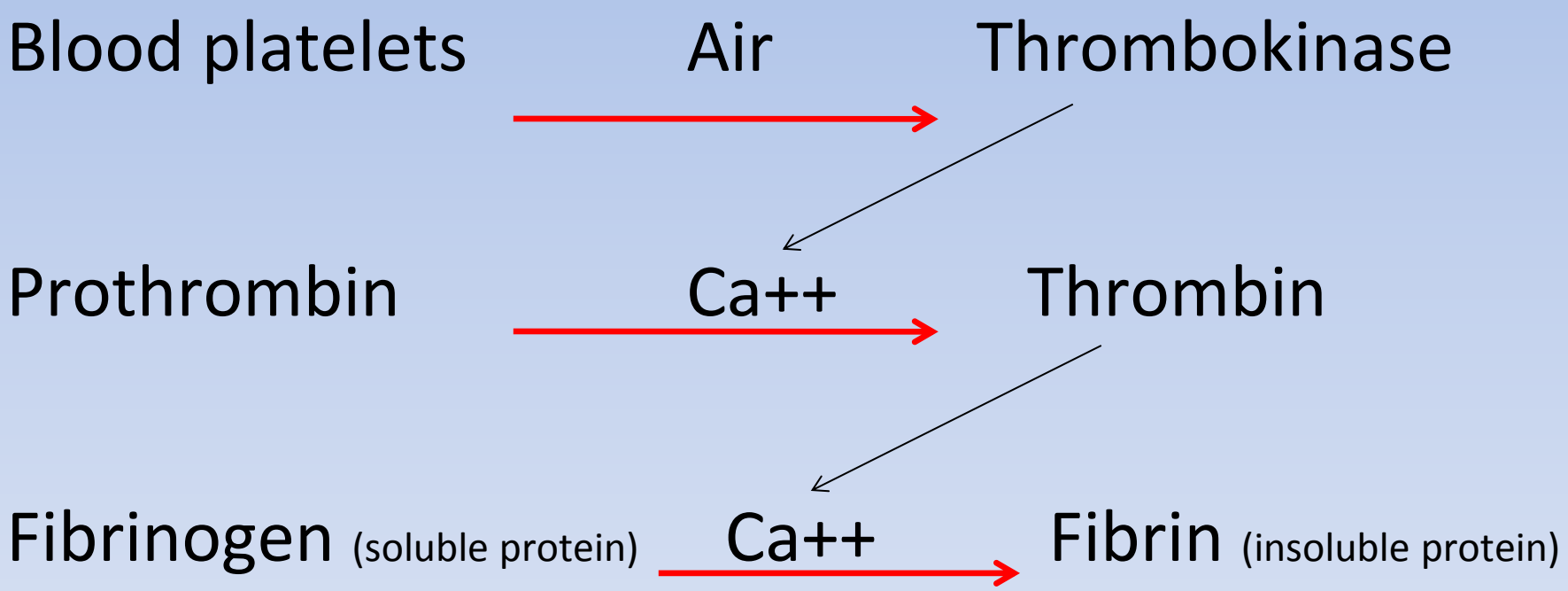
- سحب الدم (الوقت – الطريقة – المكان)
- Collected in the same manner (from the same site by the same way in the same time) from control & treatment groups

- صيام؟ تخدير؟
- Conditions of collection (fasting, anesthesia)

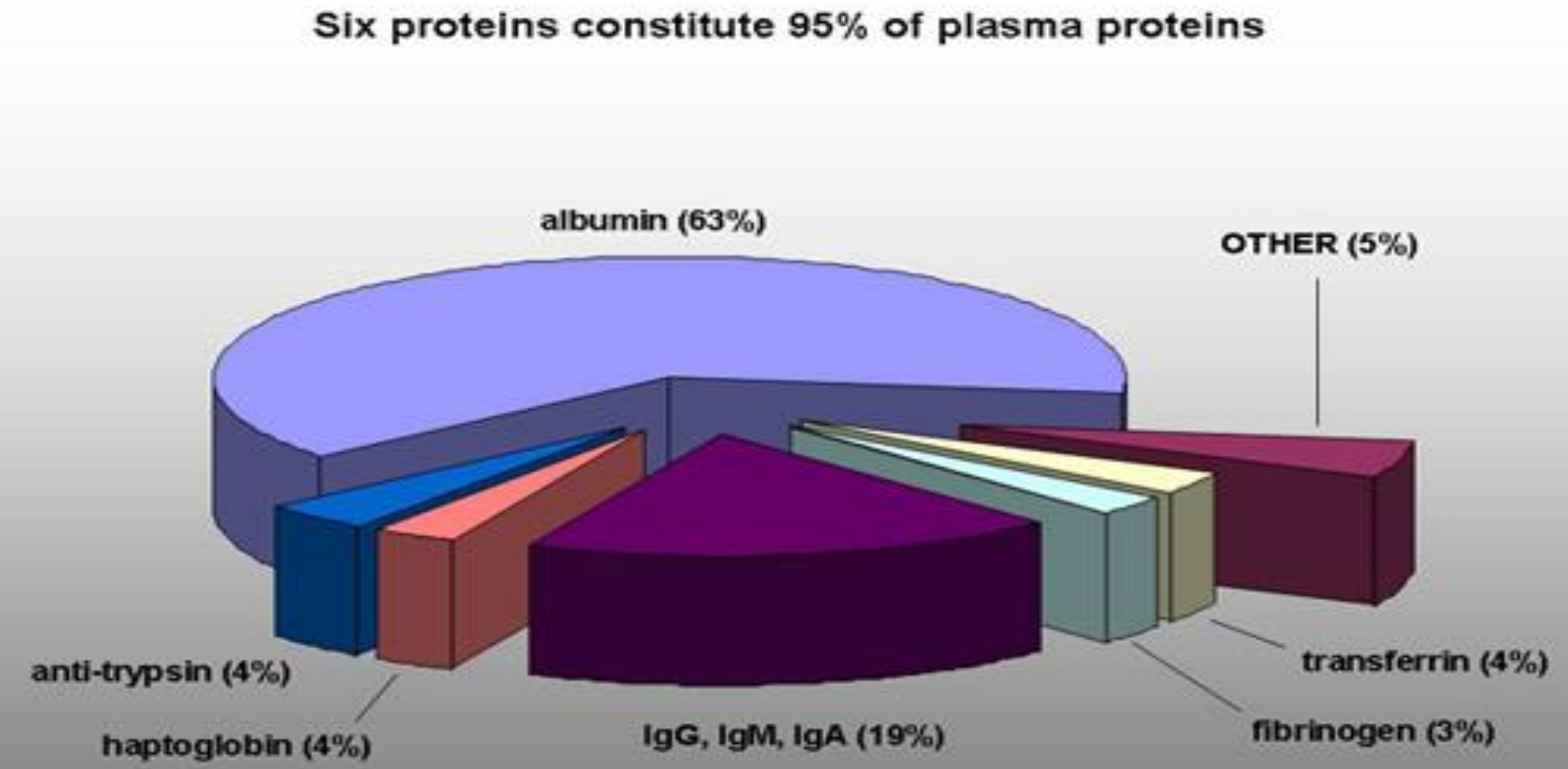
بلازما Plasma أو سيرم Serum



تخثّر الدم
Blood Clotting



بلازما
Plasma



أنابيب عينات الدم
Blood Tubes

Product Class	Cap Color		Additive	Investigations	Quantity of Blood	Centrifugation rpm/min	Specimen
Clot Activator Tube	Red		Clot activator	Serum bio-chemical, Immunology, etc.	4ml 5ml	3000rpm/10min	Serum
	Golden Yellow		Polymer gel + Clot activator	Serum bio-chemical, Immunology, etc.	3.5ml 5ml	3000rpm/10min	
Anticoagulation Tube	Green		Sodium heparin Lithium heparin	Emergency treatment bio-chemical, Plasma bio-chemical, etc.	2ml 4ml	3000rpm/10min	Plasma
	Blue		3.2% Sodium citrate 3.8% Sodium citrate	Blood coagulation testing	1.8ml 2.7ml	10000rpm/10min	
	Grey		Sodium fluoride + EDTA-2K	blood sugar testing	2ml	3000rpm/10min	
	Lavender		EDTA-2K EDTK-3K	[illegible] (Erythrocyte, Hb, Leucocytes, etc.)	2ml 4ml	–	Whole blood

maxwin.trustpass.alibaba.com

اعتبارات
Considerations

- البلازما (Heparin – EDTA) مثال: ALP
- رج البلازما – عدم رج السيرم
- فصل البلازما بجهاز الطرد المركزي

تحويل 1000 xg إلى rpm

TECH TIP # 40

Thermo SCIENTIFIC

Convert between times gravity (×g) and centrifuge rotor speed (RPM)

TR0040.1

Introduction

Certain procedures necessitate precise centrifugation conditions, which must be specified in terms of relative centrifugal force (RCF) expressed in units of gravity (times gravity or × g). Many microcentrifuges only have settings for speed (revolutions per minute, RPM), not relative centrifugal force. Consequently, a formula for conversion is required to ensure that the appropriate setting is used in an experiment. The relationship between RPM and RCF is as follows:

$$g = (1.118 \times 10^{-5})\ R\ S^2$$

Where g is the relative centrifugal force, R is the radius of the rotor in centimeters, and S is the speed of the centrifuge in revolutions per minute. Values of RCF in units of times gravity (× g) for common microcentrifuge rotor radii appear in the following conversion table. As an example, centrifugation of a sample at 5,000 RPM in a microcentrifuge that has a rotor with a radius of 7 cm will deliver a centrifugal force of 1,957 × g.

Centrifugation speed and time often are not critical factors in routine sample-handling procedures involving a benchtop microcentrifuge. Usually, as long as speed and time are sufficient to ensure that cells, debris or resin are pelleted effectively, it does not matter if the speed is faster or the time longer than necessary. For this reason, many protocols do not specify a particular centrifugal force to be applied but instead indicate some general guideline such as "centrifuge at high speed for 1 minute."

Conversion Table

Speed (RPM)	Rotor Radius (from center of rotor to sample) in centimeters											
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1000	45	56	67	78	89	101	112	123	134	145	157	168
1500	101	126	151	176	201	226	252	277	302	327	352	377
2000	179	224	268	313	358	402	447	492	537	581	626	671
2500	280	349	419	489	559	629	699	769	839	908	978	1048
3000	402	503	604	704	805	906	1006	1107	1207	1308	1409	1509
3500	548	685	822	959	1096	1233	1370	1507	1643	1780	1917	2054
4000	716	894	1073	1252	1431	1610	1789	1968	2147	2325	2504	2683
4500	906	1132	1358	1585	1811	2038	2264	2490	2717	2943	3170	3396
5000	1118	1398	1677	1957	2236	2516	2795	3075	3354	3634	3913	4193
5500	1353	1691	2029	2367	2706	3044	3382	3720	4058	4397	4735	5073
6000	1610	2012	2415	2817	3220	3622	4025	4427	4830	5232	5635	6037
6500	1889	2362	2834	3306	3779	4251	4724	5196	5668	6141	6613	7085
7000	2191	2739	3287	3835	4383	4930	5478	6026	6574	7122	7669	8217
7500	2516	3144	3773	4402	5031	5660	6289	6918	7547	8175	8804	9433
8000	2862	3578	4293	5009	5724	6440	7155	7871	8586	9302	10017	10733
8500	3231	4039	4847	5654	6462	7270	8078	8885	9693	10501	11309	12116
9000	3622	4528	5433	6339	7245	8150	9056	9961	10867	11773	12678	13584
9500	4036	5045	6054	7063	8072	9081	10090	11099	12108	13117	14126	15135
10000	4472	5590	6708	7826	8944	10062	11180	12298	13416	14534	15652	16770
10500	4930	6163	7396	8628	9861	11093	12326	13559	14791	16024	17256	18489
11000	5411	6764	8117	9469	10822	12175	13528	14881	16233	17586	18939	20292
11500	5914	7393	8871	10350	11828	13307	14786	16264	17743	19221	20700	22178
12000	6440	8050	9660	11269	12879	14489	16099	17709	19319	20929	22539	24149
13000	7558	9447	11337	13226	15115	17005	18894	20784	22673	24562	26452	28341
13500	8150	10188	12225	14263	16300	18338	20376	22413	24451	26488	28526	30563
14000	8765	10956	13148	15339	17530	19722	21913	24104	26295	28487	30678	32869

Current versions of product instructions are available at www.thermo.com/pierce. For a faxed copy, call 800-874-3723 or contact your local distributor.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Unless otherwise indicated, all trademarks are property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. Printed in the USA.

Pierce Biotechnology
3747 N. Meridian Road
PO Box 117
Rockford, IL 61105 USA
(815) 968-0747
(815) 968-7316 fax
www.thermo.com/pierce

اعتبارات
Considerations

- تقسيم العينة لكل حيوان في عدة أنابيب لتجنّب إعادة الذوبان والتجميد
- Divide sample for each animal & don’t repeat freeze-thaw cycles

- عدم خلط عينات المجموعة الواحدة
- Samples from multiple animals should not be pooled

اعتبارات
Considerations

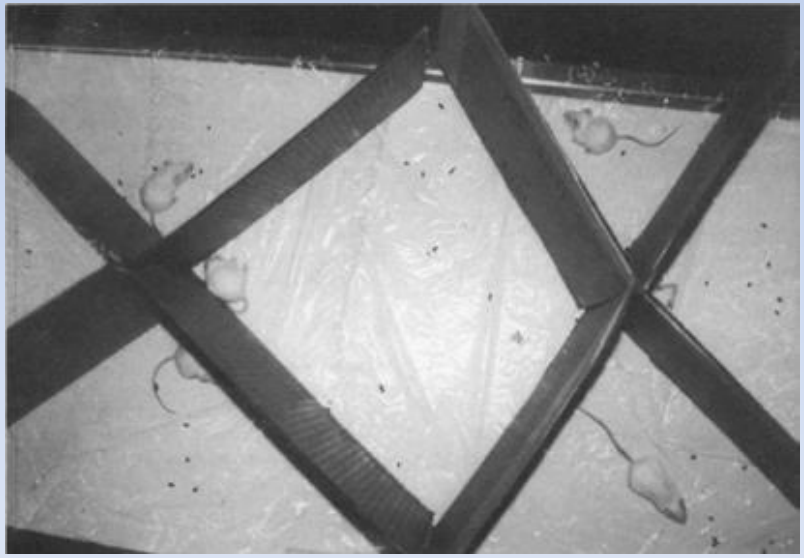
- إضافة محلول مثبّت قبل الحفظ Stabilizing Agent مثال إضافة acetate buffer

- ترميز الأنابيب قبل الحفظ (ملصق + شريط لاصق)

- الحفظ (درجة الحرارة – المدة)
- Storage (Temperature – Time)

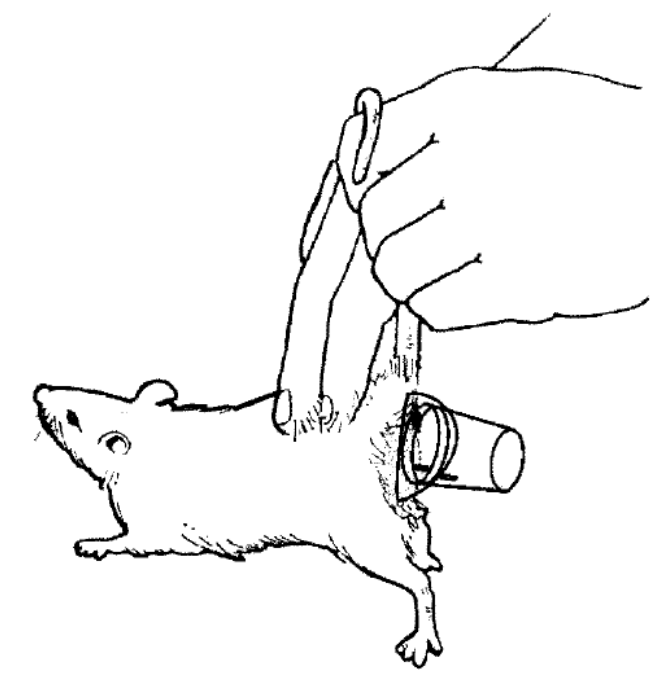
طرق جمع البول
Urine Collection

Using clear plastic wrap

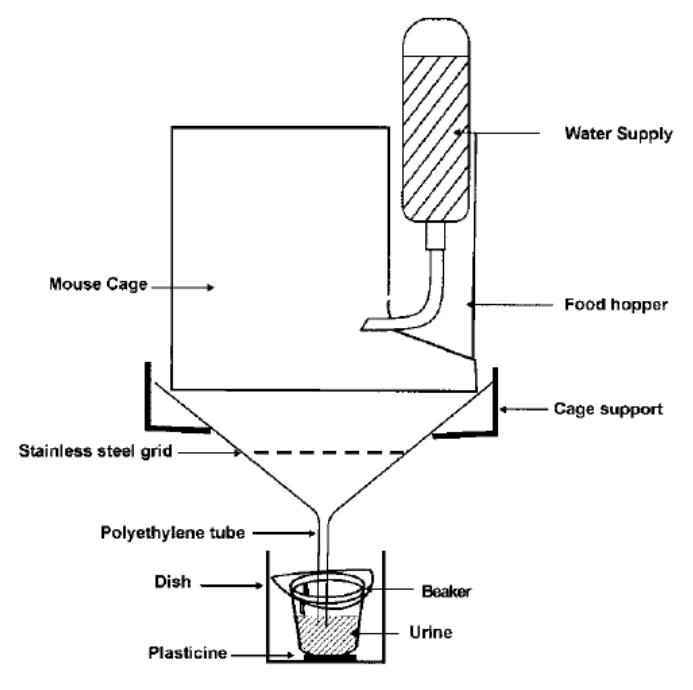


طرق جمع البول
Urine Collection

Spot urine collection using a polystyrene beaker

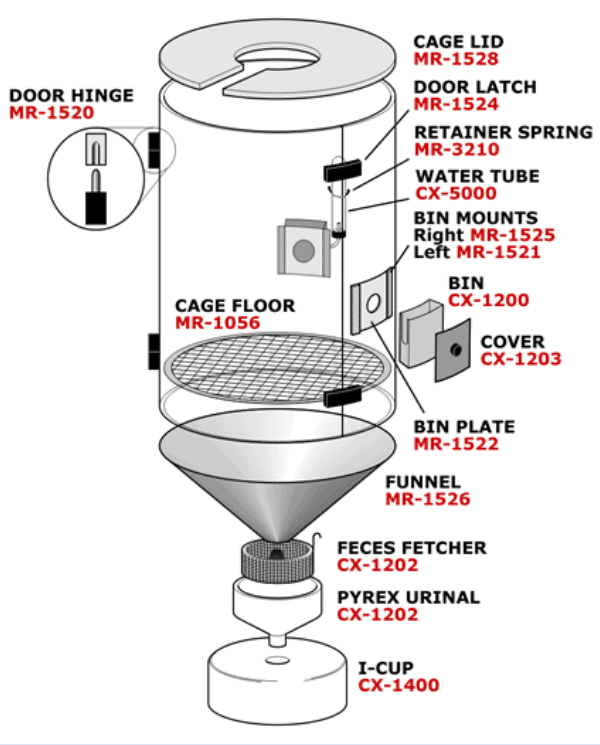


Polyethylene funnel method

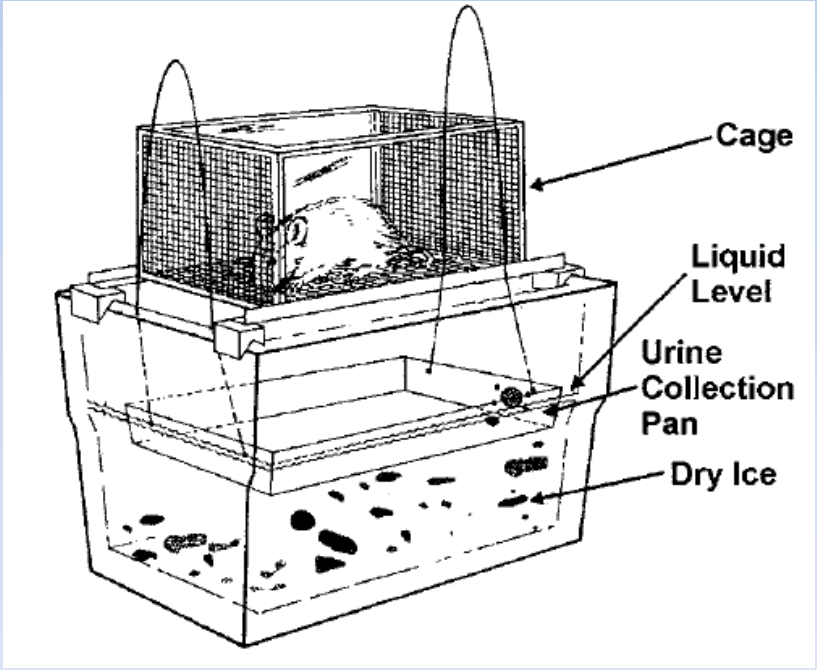


طرق جمع البول
Urine Collection

Metabolic cage



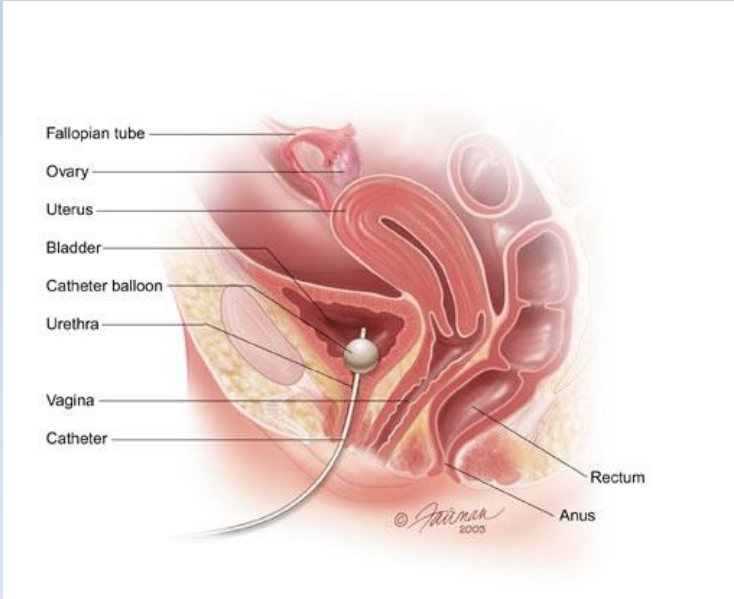
Low-temperature urine collection



طرق جمع البول
Urine Collection

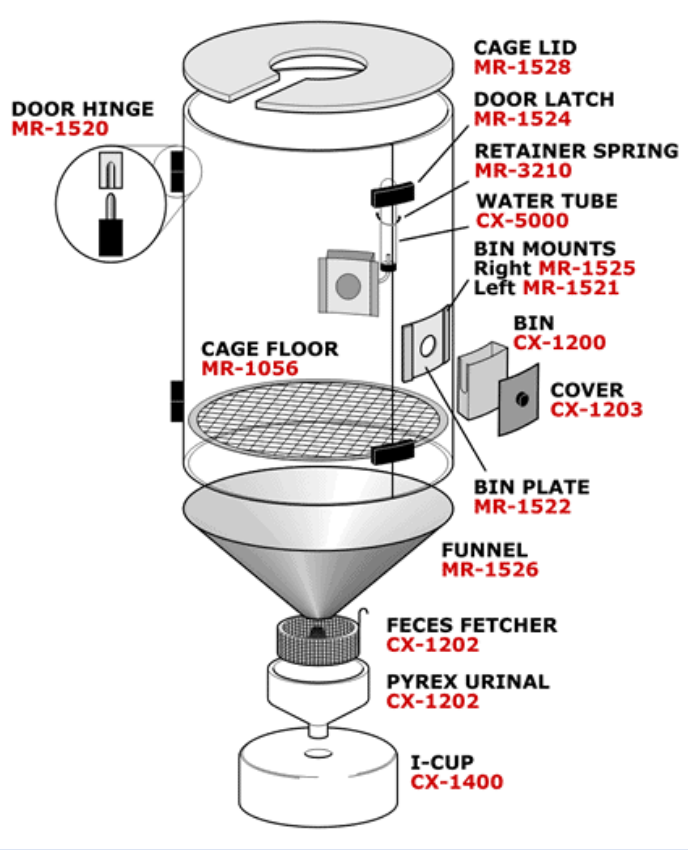
Cystocentesis

Catheterization



طريقة جمع البراز
Feces Collection

Metabolic cage



اعتبارات
Considerations

- جمع العينة (الوقت – الطريقة)
- Collected in the same manner (by the same way in the same time) from control & treatment groups

- تقليل الألم والضيق للحيوان قدر الإمكان
- Minimize pain & distress to the animals as much as possible

اعتبارات
Considerations

- الحفظ في درجة التجميد بعد الجمع مباشرة
- Frozen soon after collection so that oxidative, enzymatic & bacterial degradation can be minimized

- منع تلوث العينة بالغذاء أو الماء أو الدم أو القيء
- Prevent contamination of the sample with food, water, blood, vomit or feces

اعتبارات
Considerations

- تقسيم العينة لكل حيوان في عدة أنابيب لتجنّب إعادة الذوبان والتجميد
- Divide sample for each animal & don’t repeat freeze-thaw cycles

- عدم خلط عينات المجموعة الواحدة
- Samples from multiple animals should not be pooled

الأعضاء والعظام والغدد
Organs & Bones & Glands

- الأعضاء (كبد – كلى – رئة – قلب – مخ)
- Organs (Liver, kidney, lung, heart, brain)

- الغدد (درقية – نخامية – كظرية – بنكرياس)
- Glands (Thyroid, pituitary, adrenal, pancreas)

- العظام (عمود فقري – ساق – فخذ – عضد - ساعد)
- Bones (Vertebrae – tibia – femur – humerus – radius)

اعتبارات
Considerations

- التنظيف والتجفيف
- Clean & dry

- الحفظ (تجميد – فورمالين – نيتروجين)
- Storage (Frozen – formalin – Nitrogen)

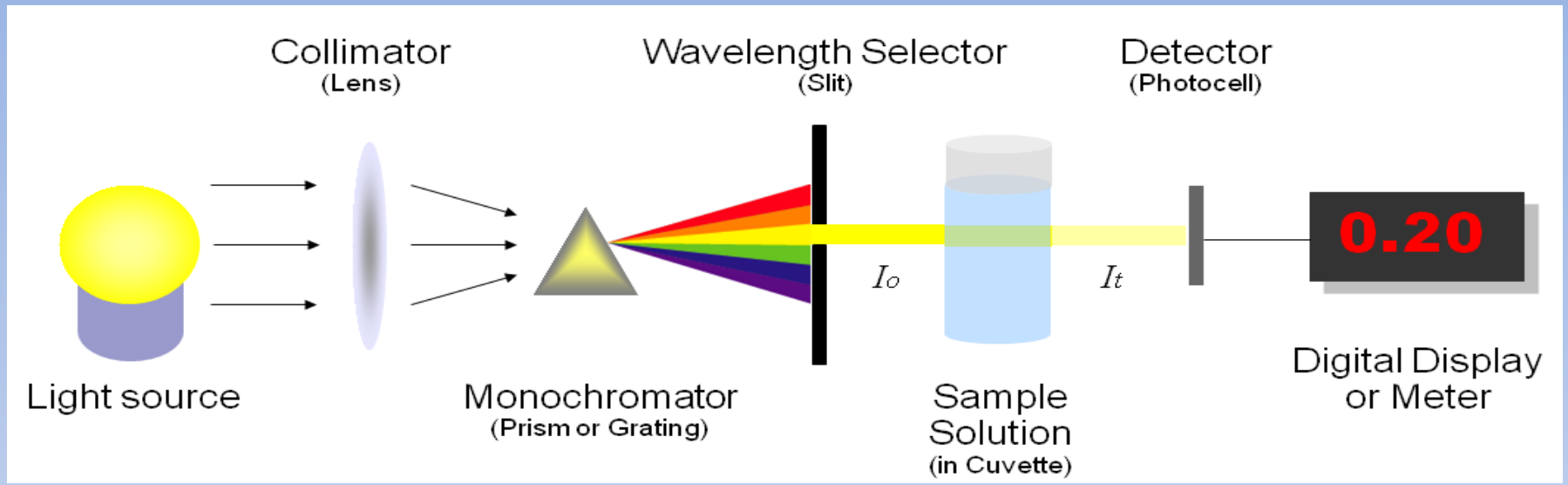
استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

- إنزيمات Enzymes
- هرمونات Hormones
- نواتج أيض Metabolites

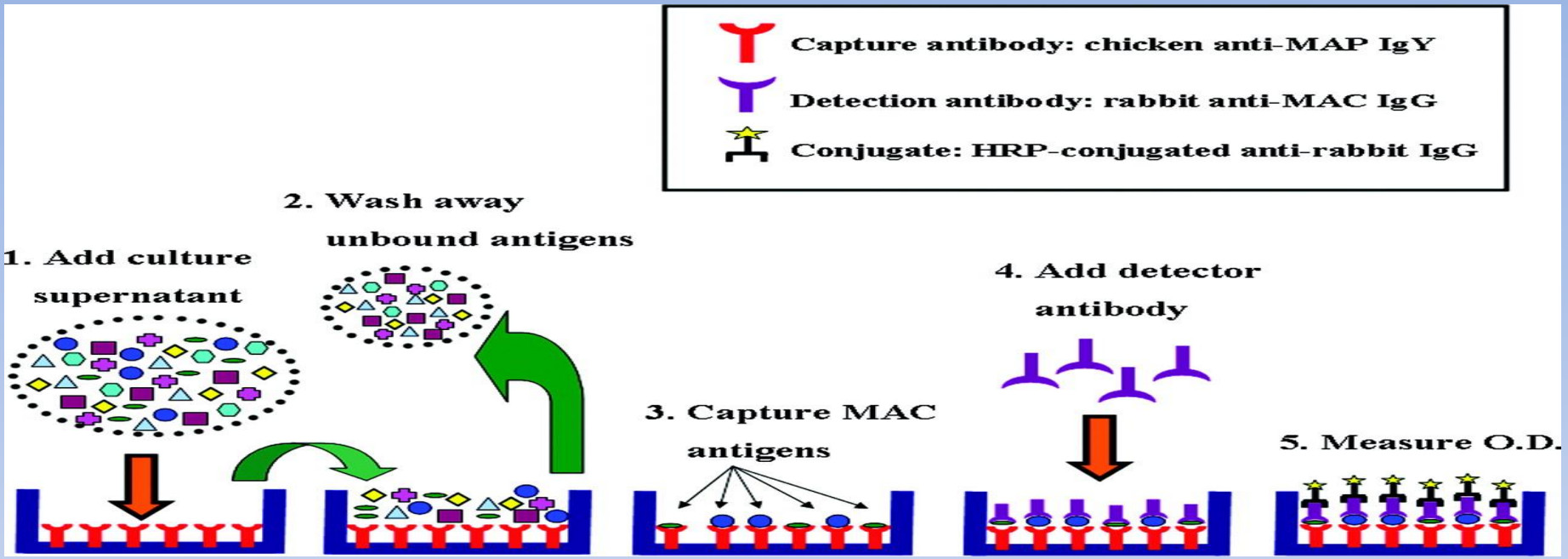
(بروستاجلاندين Prostaglandin – ليكوترين Leukotriene
– انترلوكين Interleukin – انترفيرون Interferon)

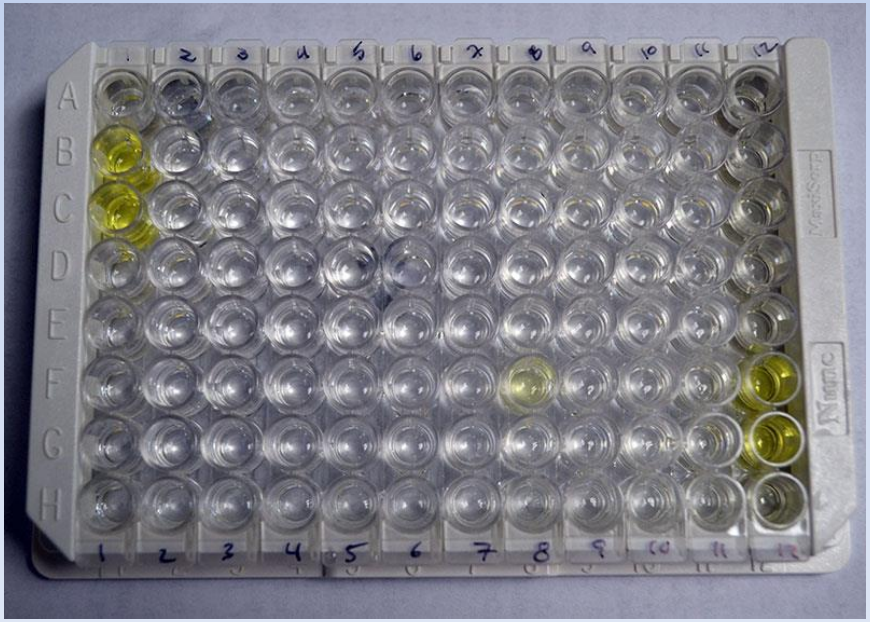
استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

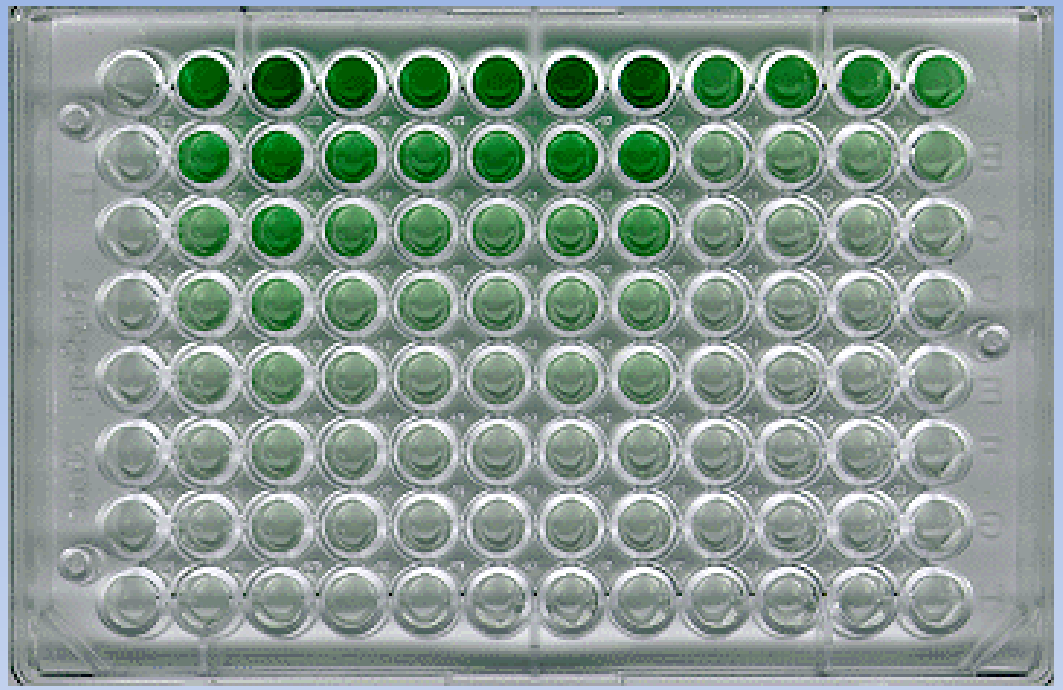
- الامتصاص الطيفي Spectrophotometer
- فحص الإنزيم المرتبط المناعي Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

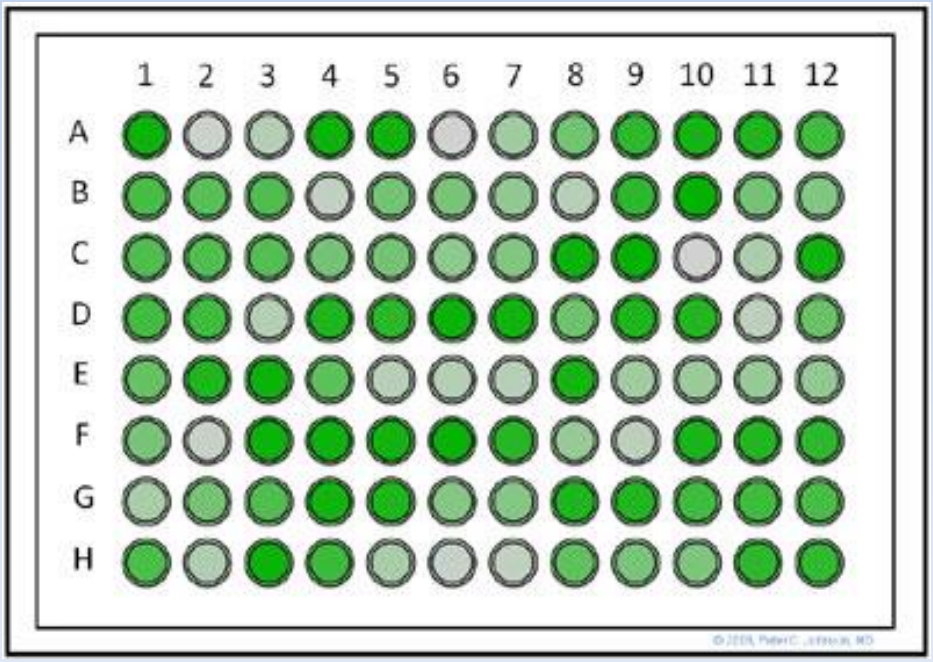

Collimator
(Lens)
Wavelength Selector
(Slit)
Detector
(Photocell)
0.20
Io
It
Light source
Monochromator
(Prism or Grating)
Sample
Solution
(in Cuvette)
Digital Display
or Meter

2800 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER
unico


Capture antibody: chicken anti-MAP IgY
Detection antibody: rabbit anti-MAC IgG
Conjugate: HRP-conjugated anti-rabbit IgG
1. Add culture supernatant
2. Wash away unbound antigens
3. Capture MAC antigens
4. Add detector antibody
5. Measure O.D.






1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
A
B
C
D
E
F
G
H

استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

- قراءة الكُتيّب Booklet
- فترة الصلاحية Expiration
- شخص واحد فقط يقوم بالعمل كله One person
- طلب (اختلاف الدفعة)

Avoid lot-to-lot variation in composition

عدم خلط الدفعات المختلفة Lot

استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

- إخراج المحاليل من المبرّد قبل الاستخدام بـ ½ ساعة
- Remove solutions from the ref ½ hour before use

- إخراج العينات من المجمّد وحفظها في المبرّد قبل بدء العمل بيوم
- Remove samples from the freezer & store in ref 1 day before use

تجهيز جميع الاحتياجات قبل البدء

أحتاج لتقدير PGs في العظمة المستنبتة

أجهزة	أدوات	كيماويات
Shaking water bath	أنابيب معقمة 15 مل / حامل أنابيب لتحضير HBSS Corning Flask 450mL ماصات معقمة 10 مل آلة الشفط للماصة	0.9% NaCl HBSS, Distilled H_2O معقم كحول إيثانول 70% للتعقيم
مجمد (−20°c) ELISA	أنابيب epindorf لتحضير القياسي standard 3 أنابيب زجاجية لتحضير B، C، D Plate Cover مخبار مدرج 1.8، 5.5، 20 مل ماصة تكرارية + إبرها ماصات 20، 50، 110، 150، 200، 300، 500، 800، 980 ميكرولتر	Deionized H_2O PG ELISA Kit

Blood CTX Determination

أحتاج لتقدير CTX و NTX في الدم

كيماويات	أدوات	أجهزة
* ELISA Kit *Deionized or Distilled H_2O	ورق ماص / مخبار مدرج 20 ، 100 ، 500 مل ماصات ميكرو 10 ، 990 ، 1000 ، 250 ، 200 100 ، 90 ، 50 ، 5 انابيب إبندورف / غطاء للصحن	Incubator 37°C ± 0.5°C ELISA

تحديد كمية المحاليل حسب عدد العينات والحجيرات Wells والتكرار (Triplicate – Duplicate)

استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

- تشغيل الجهاز وتجهيز الطول الموجي المطلوب
- عمل طرد مركزي للمحلول قبل استخدامه إذا لزم الأمر
- تحضير المحاليل

– الفارغ (Blank) محلول يوضع قبل القراءة مباشرة أو قد يكون خلية فارغة أو ماء مقطر

– القياسي (Standard) تجنّب تكوّن رغوة – تحضير قياسي جديد لكل مرة

– محلول الشطف (Wash Buffer) تجنّب تكوّن بلورات

استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

- تحضير القياسي 1000 ميكرولتر نأخذ 10 ميكرولتر من القياسي ونضيف عليها 990 ميكرولتر من محلول التخفيف

- تحضير محلول الشطف 500 مل نأخذ 20 مل من القياسي ونضيف عليها 480 مل من محلول التخفيف

- تخفيف العينات 1:50 نأخذ 1 ميكرولتر من العينة ونضيف عليها 49 ميكرولتر من محلول التخفيف

استخدام المحاليل السابقة التجهيز
Kits

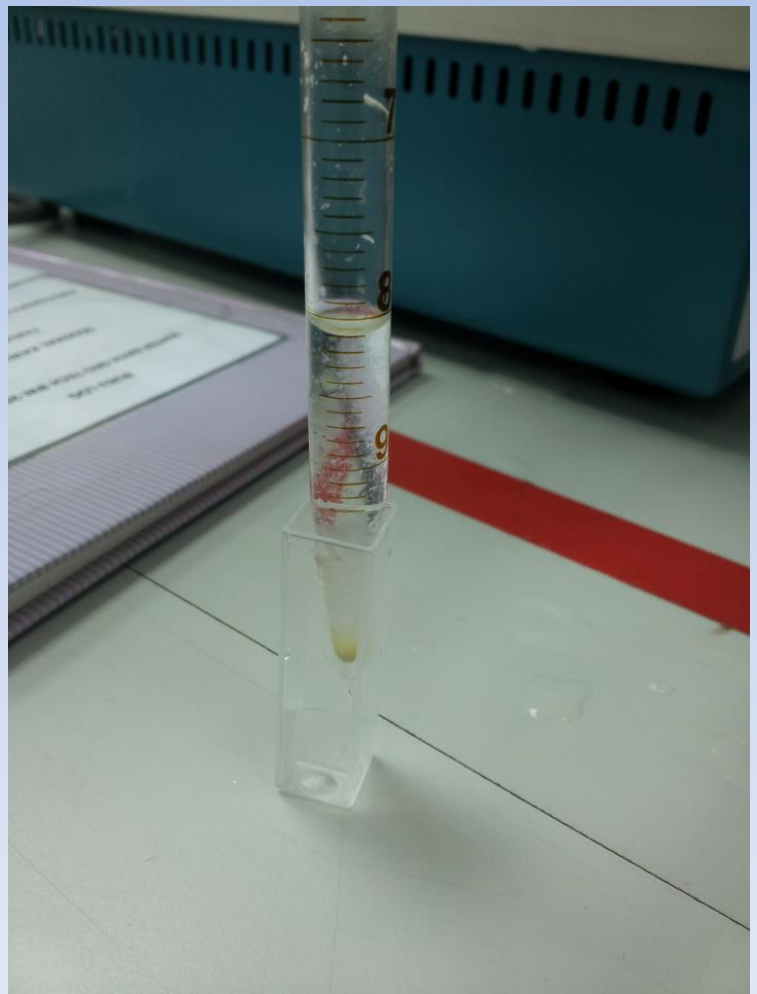
- لا يتم تخفيف العينات داخل الخلايا

- التخفيف بمحلول ملحي Normal Saline (9 %) أو محلول فسيولوجي Physiological Saline (0.85 %) أو محلول جاهز أو ماء مُقطّر أو ماء منزوع الأيونات

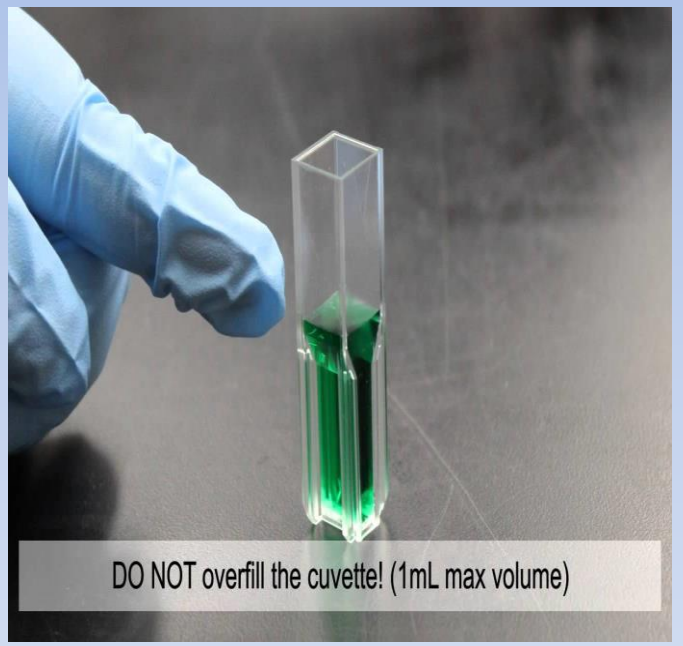
- عدم لمس الحاوية بدون قفاز

تعبئة الخلايا بالمحاليل يكون من الطرف وليس الوسط

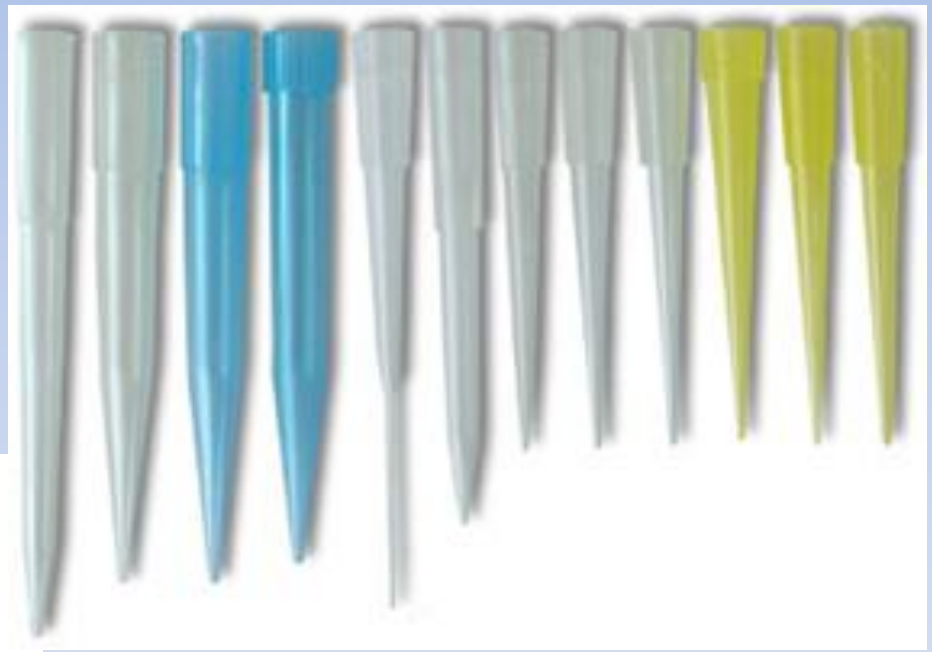
تعبئة الحاوية من الطرف لتجنب تكوّن الفقاقيع



Do not overfill عدم تعبئة الحاوية للنهاية



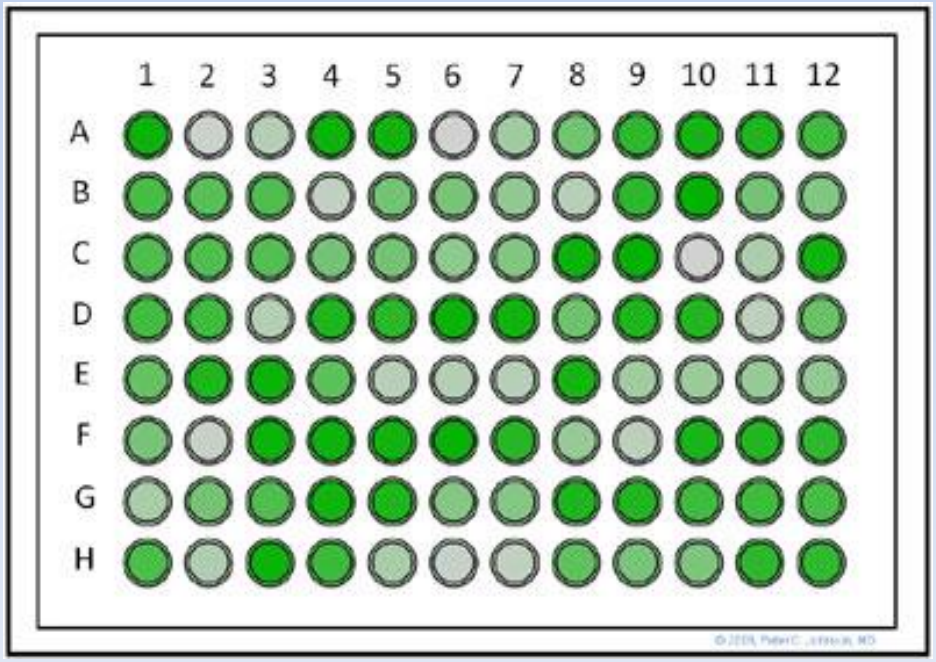
أنواع رؤوس الماصات



تغيير رؤوس الماصات في كل خطوة

قراءة الكُتيّب بعناية وبدقة وبإمعان وبحذر وبإهتمام

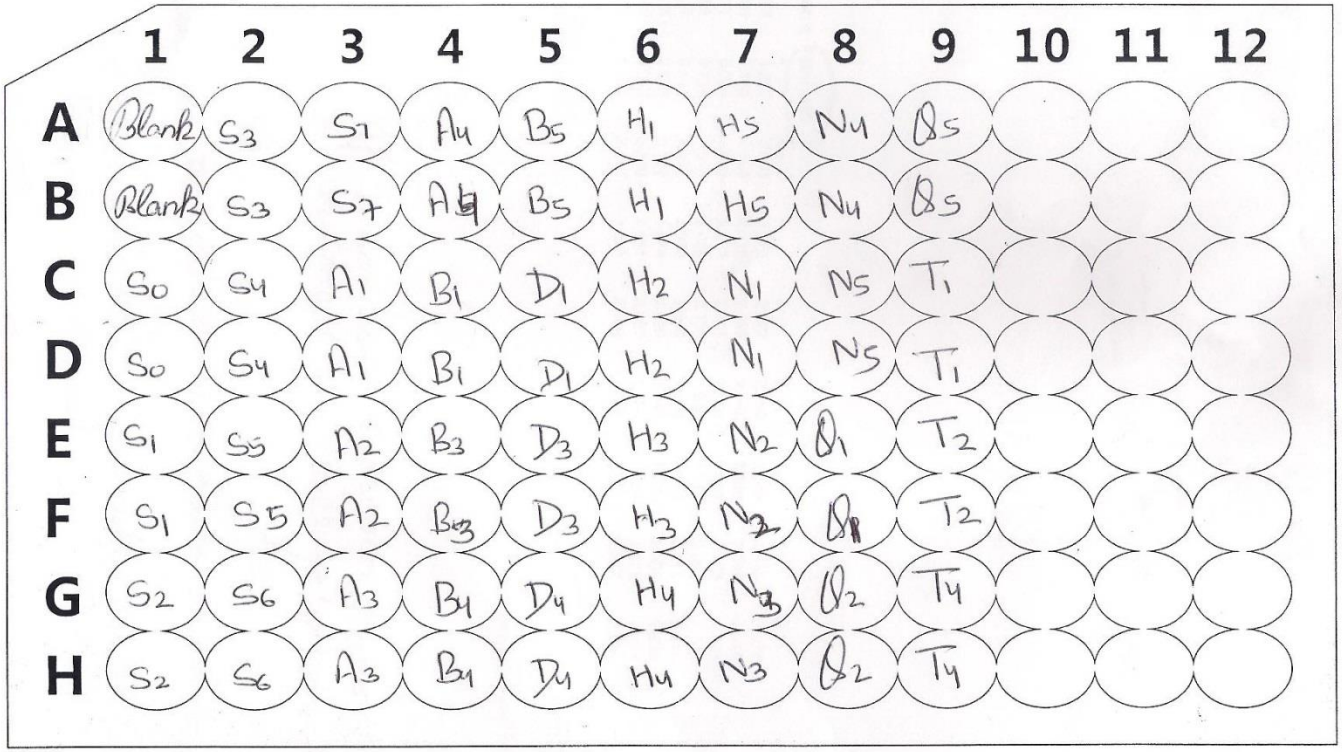
Read Booklet Carefully



CUSABIO®

Hydroxyproline

Dr. Doha



www.cusabio.com

CUSABIO®

Osteocalcin

Dr. Doha
Dept of Food & Nutrition Sciences

Biotin HRP
76 + 7425
µl µl
37.5 3712.5

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S0	S4 (10)	A1	B1	D1	H2	N1	N5	T1			
B	S0	S4	A1	B1	D1	H2	N1	N5	T1			
C	S1 (1.25)	S5 (20)	A2	B3	D3	H3	N2	Q1	T2			
D	S1	S5	A2	B3	D3	H3	N2	Q1	T2			
E	S2 (2.5)	S6 (40)	A3	B4	D4	H4	N3	Q2	T4			
F	S2	S6	A3	B4	D4	H4	N3	Q2	T4			
G	S3 (5)	S7 (80)	A4	B5	H1	H5	N4	Q5				
H	S3	S7	A4	B5	H1	H5	N4	Q5				

www.cusabio.com

11|37 – Note 8 A was put 30 min later

Scheme I: Sample Plate Layout

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S_0	S_0	U_1	U_1	U_9	U_9	U_{17}	U_{17}	U_{25}	U_{25}	U_{33}	U_{33}
B	S_1	S_1	U_2	U_2	U_{10}	U_{10}	U_{18}	U_{18}	U_{26}	U_{26}	U_{34}	U_{34}
C	S_2	S_2	U_3	U_3	U_{11}	U_{11}	U_{19}	U_{19}	U_{27}	U_{27}	U_{35}	U_{35}
D	S_3	S_3	U_4	U_4	U_{12}	U_{12}	U_{20}	U_{20}	U_{28}	U_{28}	U_{36}	U_{36}
E	S_4	S_4	U_5	U_5	U_{13}	U_{13}	U_{21}	U_{21}	U_{29}	U_{29}	U_{37}	U_{37}
F	S_5	S_5	U_6	U_6	U_{14}	U_{14}	U_{22}	U_{22}	U_{30}	U_{30}	U_{38}	U_{38}
G	S_6	S_6	U_7	U_7	U_{15}	U_{15}	U_{23}	U_{23}	U_{31}	U_{31}	U_{39}	U_{39}
H	S_7	S_7	U_8	U_8	U_{16}	U_{16}	U_{24}	U_{24}	U_{32}	U_{32}	BLK	BLK

حساب النتائج
Results Calculation

Result 1

oftware Hydroxyproline (Hyp) Curve Fit1 2/16/2014 1:25 PM

ession: NONAME.SEE
Instrument: MULTISKAN EX PRIMARY EIA V. 2.1-0
User name: 0
Started at: 2/16/2014 1:24:16PM
Actual temperature: Amb.temp.
Comment:

Layout map for calibrators Sheet: Measure1, Assay: Assay1 and for samples Sheet: Measure1, Assay: Assay1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Cal_4	Cal_8	A4	B5	H1	H5	N4	Q5			
B	Blank	Cal_4	Cal_8	A4	B5	H1	H5	N4	Q5			
C	Cal_1	Cal_5	A1	B1	D1	H2	N1	N5	T1			
D	Cal_1	Cal_5	A1	B1	D1	H2	N1	N5	T1			
E	Cal_2	Cal_6	A2	B3	D3	H3	N2	Q1	T2			
F	Cal_2	Cal_6	A2	B3	D3	H3	N2	Q1	T2			
G	Cal_3	Cal_7	A3	B4	D4	H4	N3	Q2	T4			
H	Cal_3	Cal_7	A3	B4	D4	H4	N3	Q2	T4			

Source data for calibrators Sheet: Measure1, Assay: Assay1 and for samples Sheet: Measure1, Assay: Assay1

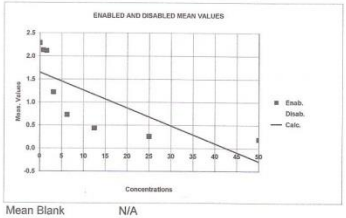
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.023	1.252	0.193	2.072	2.072	2.210	2.329	2.449	1.777			
B	0.024	1.183	0.180	2.125	2.089	2.242	2.099	2.397	2.259			
C	2.277	0.724	1.923	2.171	2.061	2.056	2.046	2.173	2.405			
D	2.296	0.739	1.913	2.088	2.136	1.940	2.153	2.067	2.372			
E	2.074	0.513	2.107	1.999	2.255	1.528	2.258	2.217	2.115			
F	2.179	0.359	2.192	1.974	2.260	1.745	2.375	2.308	2.425			
G	2.089	0.253	2.236	2.101	2.067	1.161	2.224	1.975	2.169			
H	2.140	0.259	2.410	2.298	2.109	1.271	2.268	2.087	2.194			

Sheet: Measure1, Assay: Assay1 (450)

Name	Meas.	Conc.
Cal_1	2.277	
	2.296	
mean	2.287	0
Cal_2	2.074	
	2.179	
	2.127	0.780
Cal_3	2.089	
	2.140	
	2.115	1.560
Cal_4	1.252	
	1.183	
	1.218	3.120
Cal_5	0.724	
	0.739	
	0.732	6.250
Cal_6	0.513	
	0.359	
	0.436	12.500
Cal_7	0.253	
	0.259	
	0.256	25.000
Cal_8	0.193	
	0.180	
	0.187	50.000

Calculated concentrations Sheet: Measure1, Assay: Assay1

	Conc.	Meas.	CalcConc.	Residual
Cal_1	0	2.287	-16.418	16.418
Cal_2	0.780	2.127	-12.290	13.070
Cal_3	1.560	2.115	-11.980	13.540
Cal_4	3.120	1.218	11.160	-8.040
Cal_5	6.250	0.732	23.697	-17.447
Cal_6	12.500	0.436	31.320	-18.820
Cal_7	25.000	0.256	35.964	-10.964
Cal_8	50.000	0.187	37.757	12.243



Mean Blank N/A
Status:
Remark:
Fit type: Linear regression (SVD): y = a+b*x
Meas. transformation: Linear
Conc. transformation: Linear
Parameters: a b
1.650 -0.039
Corr. coeff. R2: 0.320

Pages: 1/4

(3)

Result 2

Ascent Software   Measure1   2/16/2014 1:24 PM

Hydroxyproline (Hyp)

Excel sheet   (D-E)

A	B	C	D	E	F
450 reading	540 reading	A-B	mean every 2 readings	Mean of blank	reading - blank

Measurement count: 1 Filter: 450

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A (Blank)	0.023	1.252	0.193	2.072	2.072	2.210	2.329	2.449	1.777			
B (Blank)	0.024	1.183	0.180	2.125	2.089	2.242	2.099	2.397	2.259			
C	2.277	0.724	1.923	2.171	2.061	2.056	2.046	2.173	2.405			
D	2.296	0.739	1.913	2.088	2.136	1.940	2.153	2.067	2.372			
E	2.074	0.513	2.107	1.999	2.255	1.528	2.258	2.217	2.115			
F	2.179	0.359	2.192	1.974	2.260	1.745	2.375	2.308	2.425			
G	2.089	0.253	2.236	2.101	2.067	1.161	2.224	1.975	2.169			
H	2.140	0.259	2.410	2.298	2.109	1.271	2.268	2.087	2.194			

→ If I am using correction factor (450 - 540), then do I have to subtract the average from blank.

→ VALUE (Page 4)

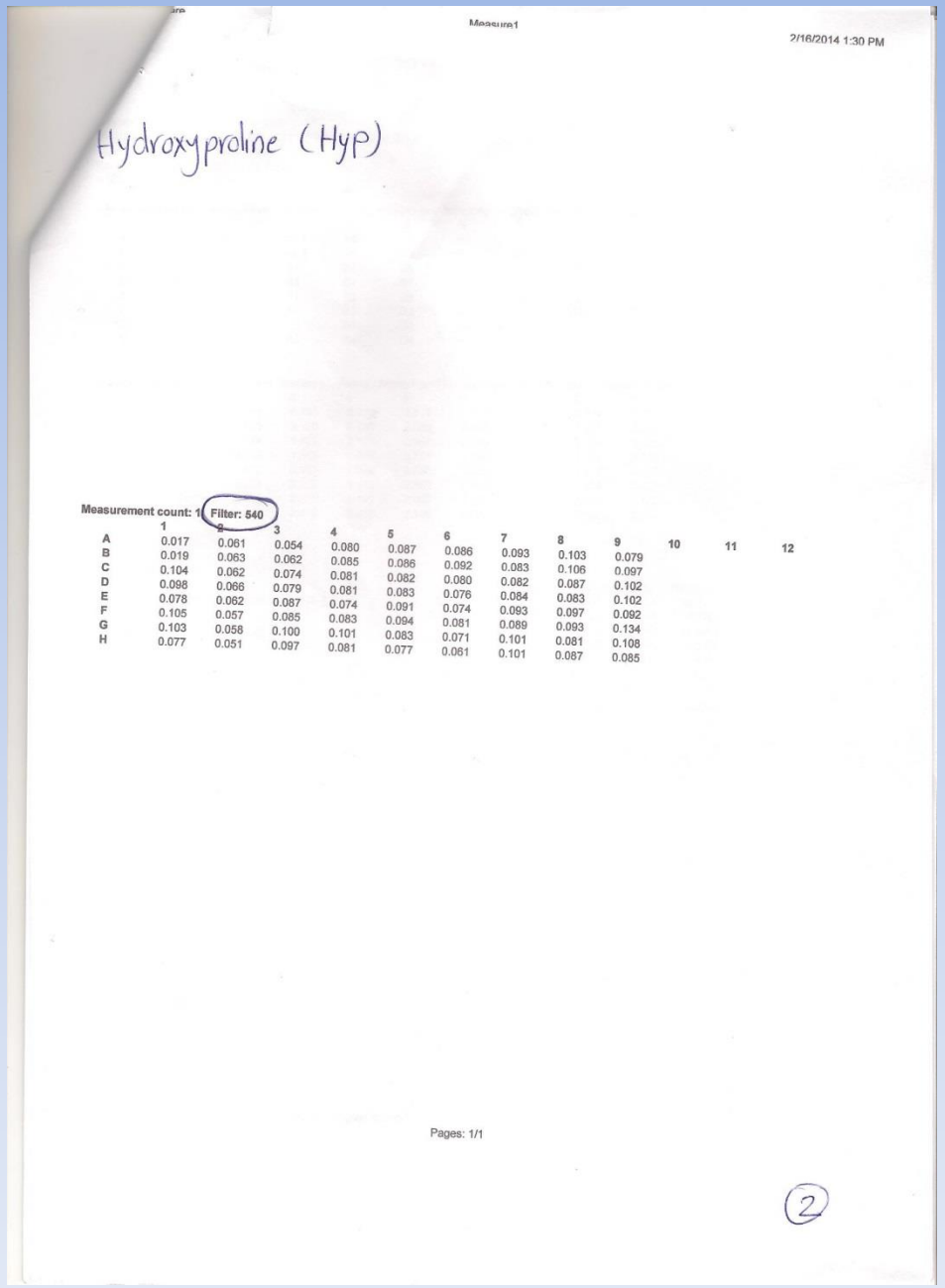
→ ~~How I will set concentration to make graph (Standard Curve)~~

→ How I set concentration to make graph (Standard Curve).

Pages: 1/1

①

Result 3



Measure1

2/16/2014 1:30 PM

Hydroxyproline (Hyp)

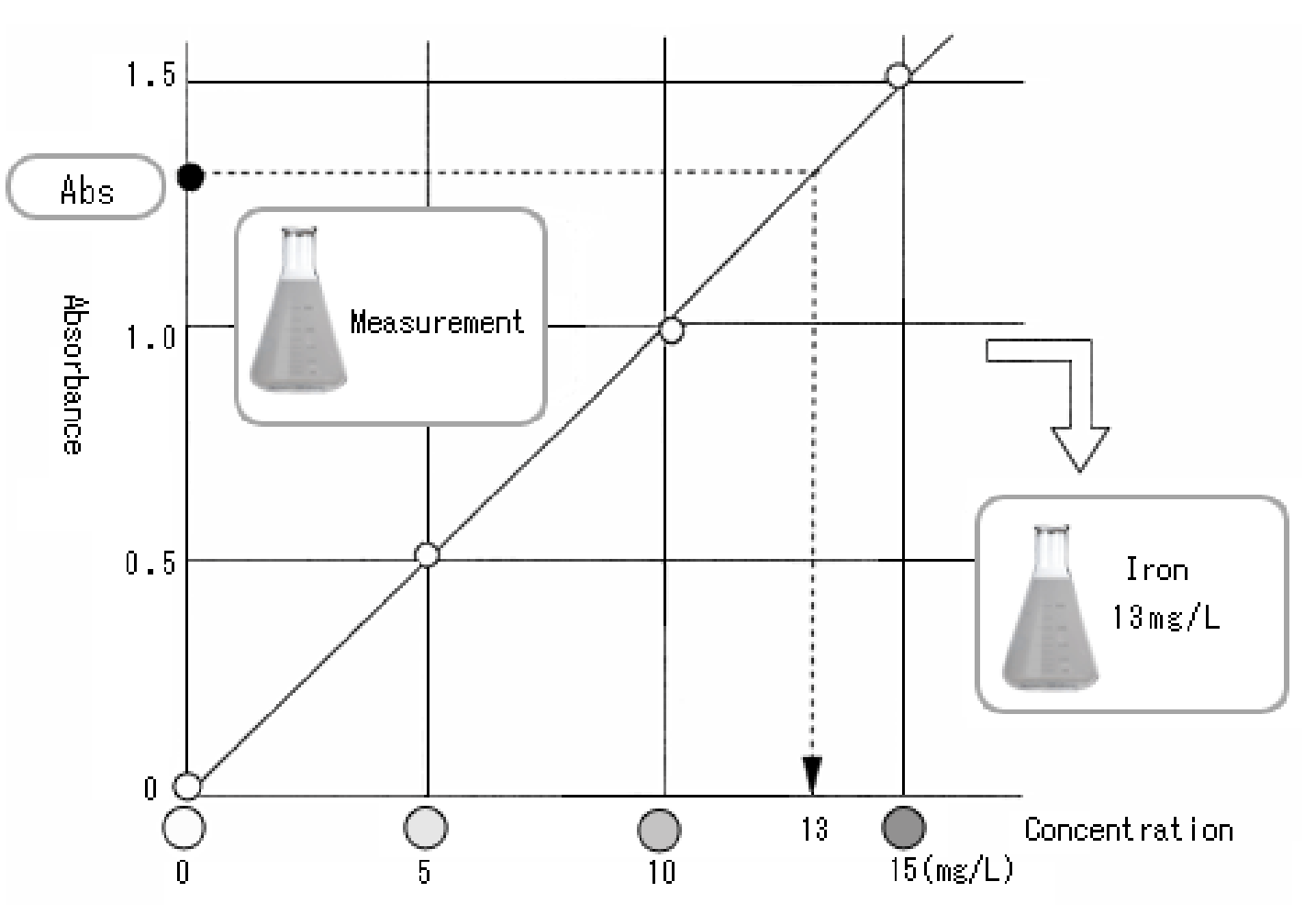
Measurement count: 1 Filter: 540

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.017	0.061	0.054	0.080	0.087	0.086	0.093	0.103	0.079			
B	0.019	0.063	0.062	0.085	0.086	0.092	0.083	0.106	0.097			
C	0.104	0.062	0.074	0.081	0.082	0.080	0.082	0.087	0.102			
D	0.098	0.066	0.079	0.081	0.083	0.076	0.084	0.083	0.102			
E	0.078	0.062	0.087	0.074	0.091	0.074	0.093	0.097	0.092			
F	0.105	0.057	0.085	0.083	0.094	0.081	0.089	0.093	0.134			
G	0.103	0.058	0.100	0.101	0.083	0.071	0.101	0.081	0.108			
H	0.077	0.051	0.097	0.081	0.077	0.061	0.101	0.087	0.085			

Pages: 1/1

(2)

المنحنى القياسي
Standard Curve



حساب النتائج
Results Calculation

- تصحيح القراءات باستخدام طول موجي آخر
  - تطرح قراءات 540 من 450
  - حساب المتوسط لكل قراءتين
  - حساب المتوسط لل Blank إن وجد
  - تُطرح قيم المتوسطات من Blank
  - يُرسم المنحنى القياسي
  - حساب تركيز العينات من المنحنى القياسي

حساب النتائج
Results Calculation

- لا يُؤخذ متوسط قراءات كل مجموعة من البداية ونضعها في المنحنى القياسي لمعرفة التركيز، بل توضع كل قراءة على حدى في المنحنى القياسي ومن ثمّ يُؤخذ متوسط تركيز كل مجموعة

حساب النتائج
Results Calculation

- حساب المتوسّط Average (مثال ALP)
- نضرب النتيجة النهاية في معامل التخفيف إن وُجد

نصائح عامة
General advices

- إجراء تجربة استطلاعية Pilot Study لتجربة كل شيء وتجنّب الأخطاء (إعطاء الزيت بالفم)

- كتابة الملاحظات مباشرة في كل خطوة (مرض حيوانات التجربة أو ظهور تغيّرات)