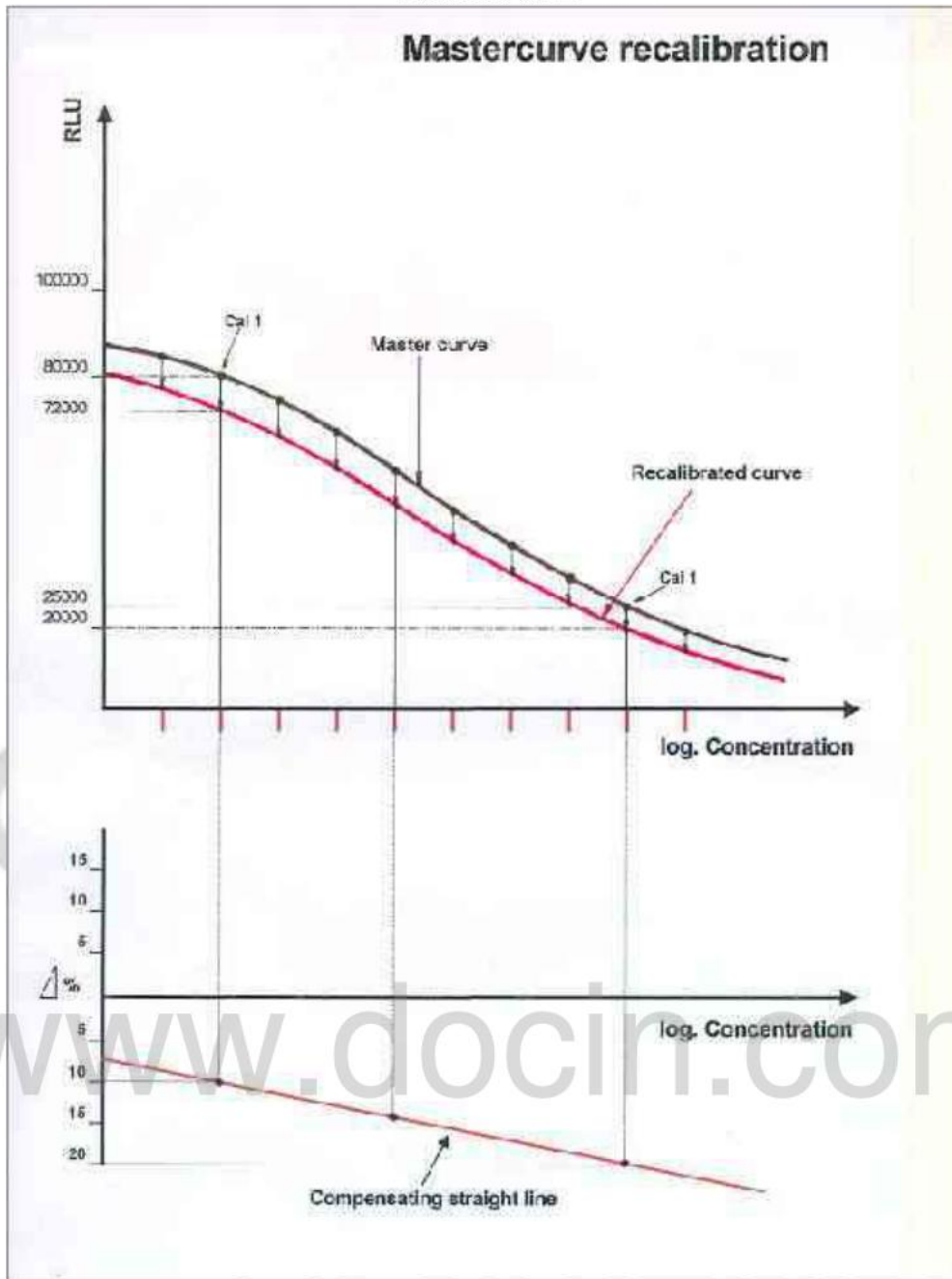


两点定标原理



两点定标原理简要描述:

- 通过 10 点定标点确定标准主曲线 (上图中的 Master Curve), 存储在电脑软件中;
- 通过两点定标检测两个定义浓度的校准点, 与主曲线上对应校准浓度的检测信号 (图中两个 Cal 点) 进行比较;
- 计算检测信号和主曲线上校准的检测信号的不同, 利用重新计算的检测信号轴 (Y 轴) 和浓度轴 (X 轴) 进行线性推断, 确定补偿曲线 (图中的 Compensating straight line); 计算方法: X 轴坐标值与主曲线对应, 即对应浓度的对数值, Y 轴坐标值 = (测量点 Y 轴值 - 主曲线上对应点的 Y 轴值) / 测量点 Y 轴值 (公式);
- 对于主曲线上的点, 借助补偿曲线计算其它的点, 拟合出一条新的工作曲线 (图中的 Recalibrated curve);
- 这条重新计算拟合的曲线是有效的工作曲线。

举例:

- 计算主曲线 I_1 : 假设现有一条主曲线的十个定标点浓度分别是 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ; 取对数的结果分别是 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9; 对应测出的 RLU 值分别是 100000, 90000, 80000, 70000, 60000, 50000, 40000, 30000, 20000, 10000, 那么在坐标图上, 对应的十个点的坐标分别是 (0, 100000)、(1, 90000)、(2, 80000)、(3, 70000)、(4, 60000)、(5, 50000)、(6, 40000)、(7, 30000)、(8, 20000)、(9, 10000); 根据这十个点拟合出一条标准主曲线, 假设记作 I_1 , 将其存入电脑软件中备用;
- 检测试剂盒里提供的两个定标点: 定标点的浓度事先已经给定, 假如分别是 A、B, 取对数分别是 $\lg A$ 、 $\lg B$; 这两个点在将要计算出的工作曲线上; 做两点定标时测出其对应的 RLU 值, 假如分别是 a、b; 那么这两个点的坐标分别是 ($\lg A$, a) 和 ($\lg B$, b); 而 X 轴坐标分别为 $\lg A$ 和 $\lg B$ 时在曲线 I_1 上也对应两个点, 这时可将 $\lg A$ 和 $\lg B$ 代入曲线 I_1 的方程, 将其 Y 轴的值分别计算出来, 假设记作 a' 、 b' , 那么这两个点坐标是 ($\lg A$, a') 和 ($\lg B$, b');
- 计算补偿曲线 I_2 : 首先确定补偿曲线上的两个点: 这两点与以上两点的 X 轴坐标对应不变, 即是 $\lg A$ 、 $\lg B$; 假设将其 Y 轴值分别记作 a'' 和 b'' , 则该两点的坐标是 ($\lg A$, a'') 和 ($\lg B$, b''); 根据公式, $a'' = (a' - a) / a$, $b'' = (b' - b) / b$; 因两点确定一条直线, 可根据这两点计算出一直线, 这条直线就是补偿曲线, 记作 I_2 ; 假设其曲线方程式 $Y = kX + m$;
- 拟合新的工作曲线:
 1. 以标准主曲线定标点的 X 坐标不变, 根据曲线方程在补偿曲线上找出其对应的点; 假设有一个主曲线定标点坐标为 ($\lg C$, c'), 那么补偿曲线上对应的点就是 ($\lg C$, $k \lg C + m$);
 2. 以 X 轴不变, 根据公式反推计算出工作曲线上对应的点, 原始公式是: 补偿曲线 Y 轴坐标值 = (测量点 Y 轴值 - 主曲线上对应点的 Y 轴值) / 主曲线 Y 轴值 (公式), 变换到这里就是补偿曲线 Y 轴坐标值 = (工作曲线 Y 轴值 - 主曲线上对应点的 Y 轴值) / 主曲线 Y 轴值, 反推出工作曲线 Y 轴值 = 补偿曲线 Y 轴坐标值 \times 主曲线 Y 轴值 + 主曲线 Y 轴值, 那么 X 坐标为 $\lg C$ 在工作曲线上对应的坐标点是 [$\lg C$, ($k \lg C + m$) $\times c' + c'$], 即 ($\lg C$, $kc' \lg C + mc' + c'$)
 3. 根据以上方法计算出工作曲线上对应的十个点的坐标, 再根据这十个点拟合出工作曲线;

根据以上方法, 假如两个定标点的浓度与主曲线十个定标点之中的两个点一样, 假设是第三点和第九个点, 即 $A=10^2$, $B=10^8$, 那么 $\lg A=2$, $\lg B=8$, $a'=80000$, $b'=20000$, 再假设两个定标点的 RLU 的测量值分别是 72000, 16000, 即 $a=72000$, $b=12000$, 那么 $a'' = -0.1$, $b'' = -0.4$, 则确定补偿曲线的两个点是 (2, -0.1) 和 (8, -0.4), 根据这两个点算出的补偿曲线方程是 $Y = -0.05X$; 那么工作曲线上对应的第十个点分别是 (0, 100000)、(1, 85500)、(2, 72000)、(3, 59500)、(4, 48000)、(5, 37500)、(6, 28000)、(7, 19500)、(8, 12000)、(9, 5500); 再根据这十个点拟合出一条新的曲线就是工作曲线了。