

Applied Biosystems[™] QuantStudio[™] 6 and 7 Flex 实时定量 PCR 仪

简明中文手册

第二部分：相对定量




英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

Applied Biosystems™ QuantStudio™ 6 and 7 Flex 实时定量 PCR 仪

1.



双击桌面图标 ，或从 Start > All programs > Applied Biosystems > QuantStudio™ Real-Time PCR Software > QuantStudio™ Real-Time PCR Software 开启软件。进入主界面后选择 “Experiment Setup”。



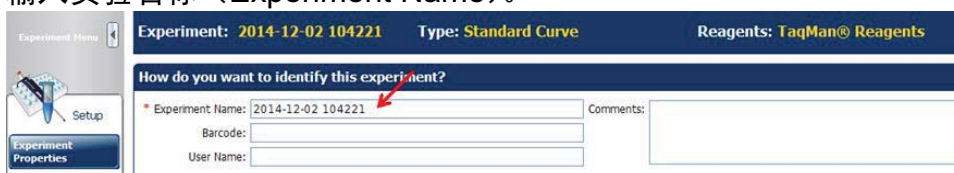
2.

选择 “Setup” 下的 “Experiment Properties” 界面。



2.1

输入实验名称 (Experiment Name)。



2.2 选择仪器类型及Block类型。



2.3 选择相对定量实验类型，“Comparative CT”。



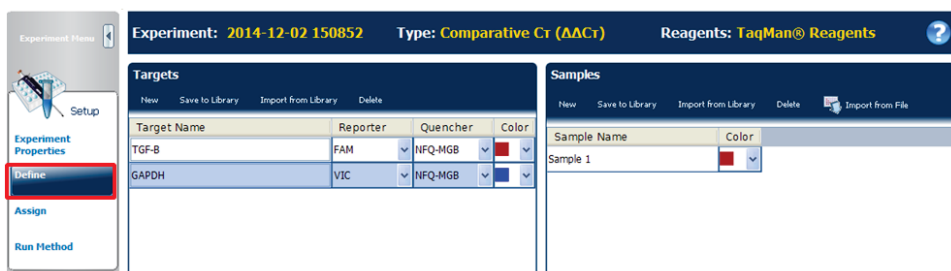
2.4 选择试剂种类。Taqman探针法选择“Taqman Reagents”，SYBR染料法选择“SYBR Green Reagents”。



2.5 选择运行模式。普通试剂选择“Standard”，快速试剂选择“Fast”。



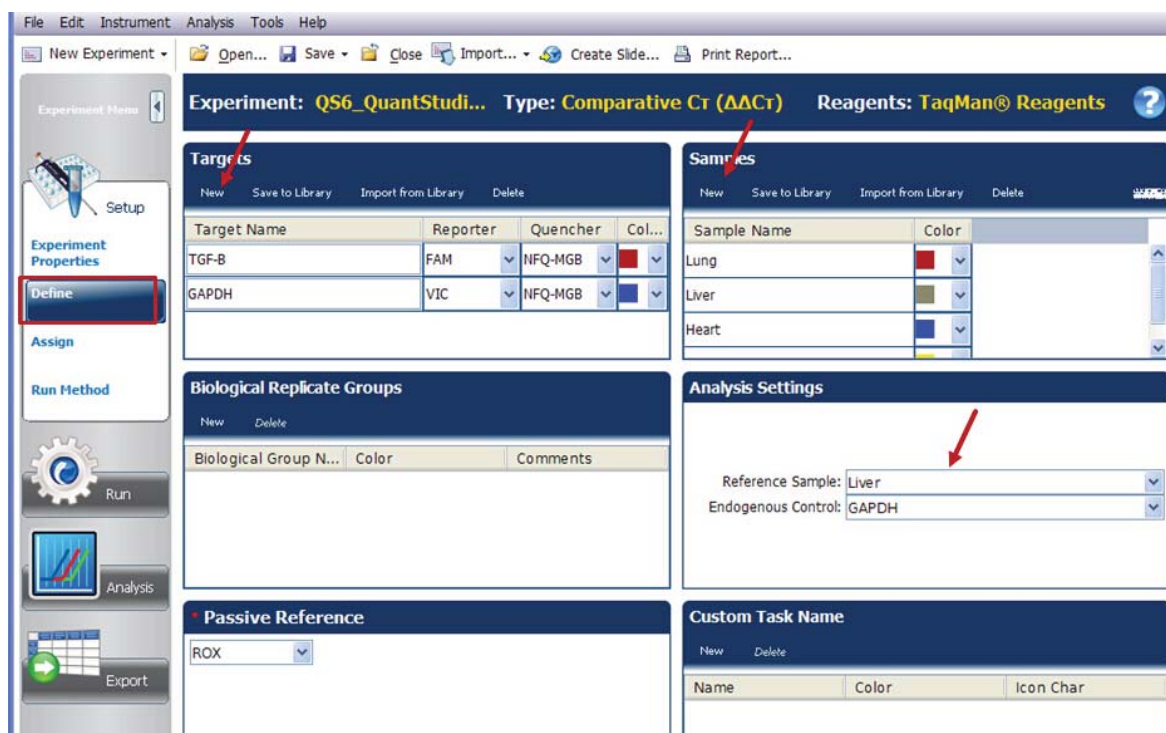
3. 选择“Setup”下的“Define”界面设置基因名称（Target）和样品名称（Sample）。



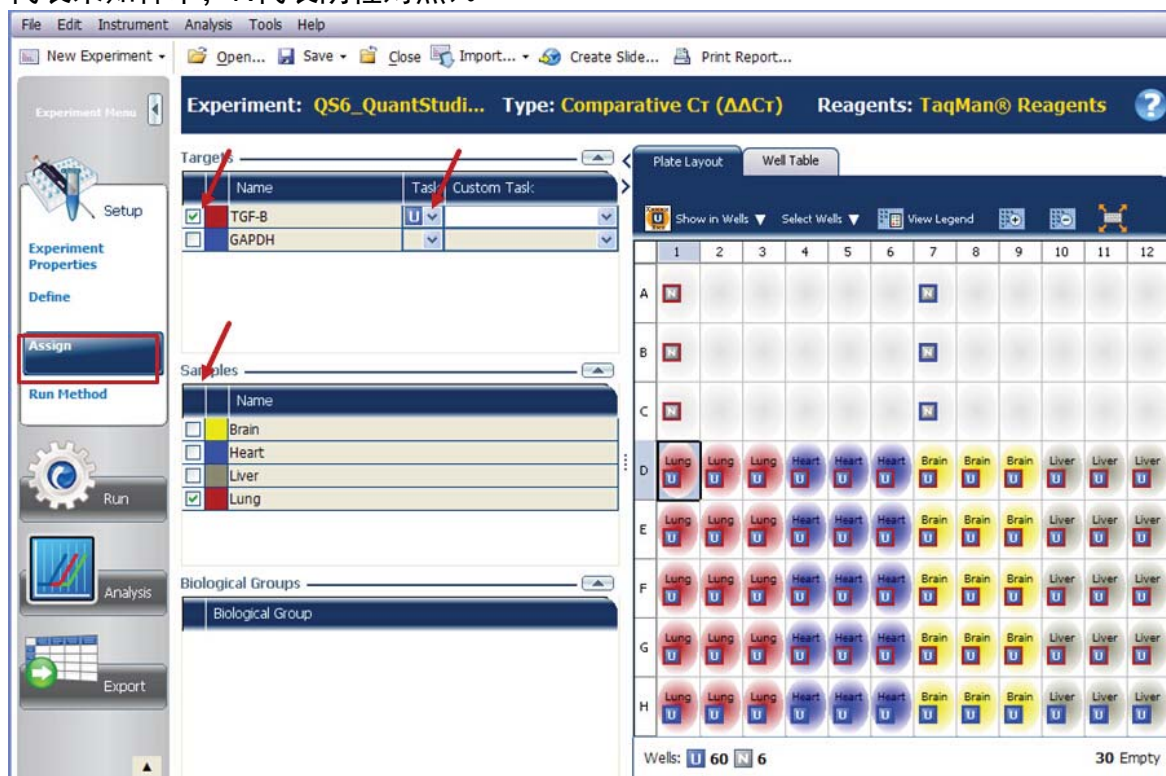
3.1 在“Targets”下点击“New”，添加待测基因。在“Target Name”中编辑基因名称，“Reporter”和“Quencher”中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于“Quencher”的选择，如果是MGB探针，请选择NFQ-MGB；如果是TAMRA探针，请选择TAMRA；如果是其他形式的非荧光淬灭基团则选择None。

3.2 在“Samples”下点击“New”，添加待测样品。在“Sample Name”中编辑样品名称。

3.3 在“Analysis Settings”下选择合适的“Reference Sample”（对照样品）和“Endogenous Control”（内参基因）。



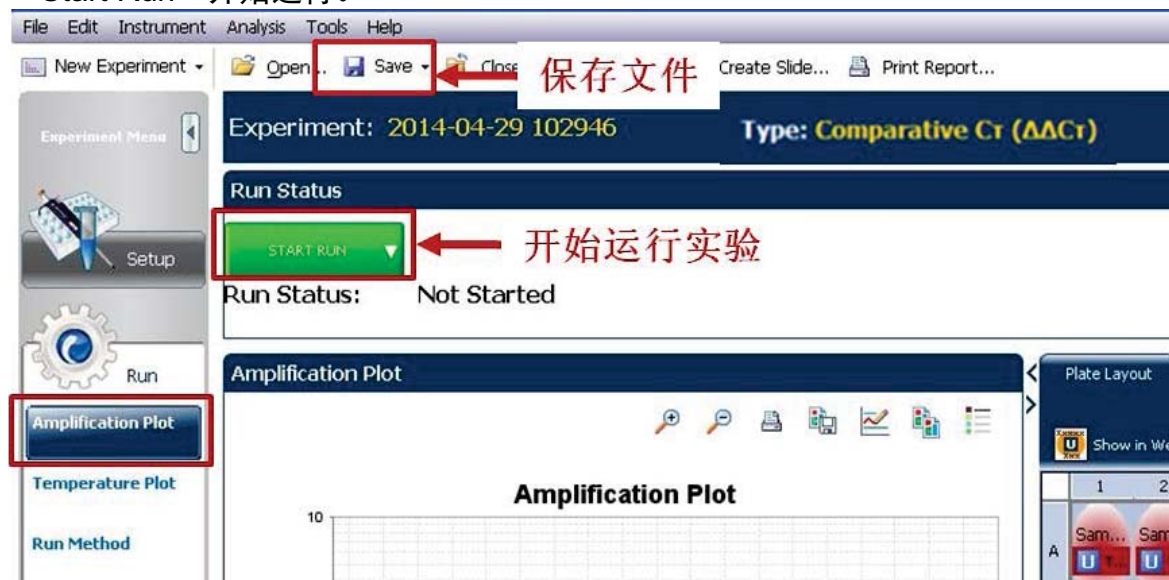
4. 选择“Setup”下的“Assign”界面编辑样品板。利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔，然后勾选左侧的基因及样本，同时在“Task”选项中指定该反应孔的类型（U代表未知样本，N代表阴性对照）。



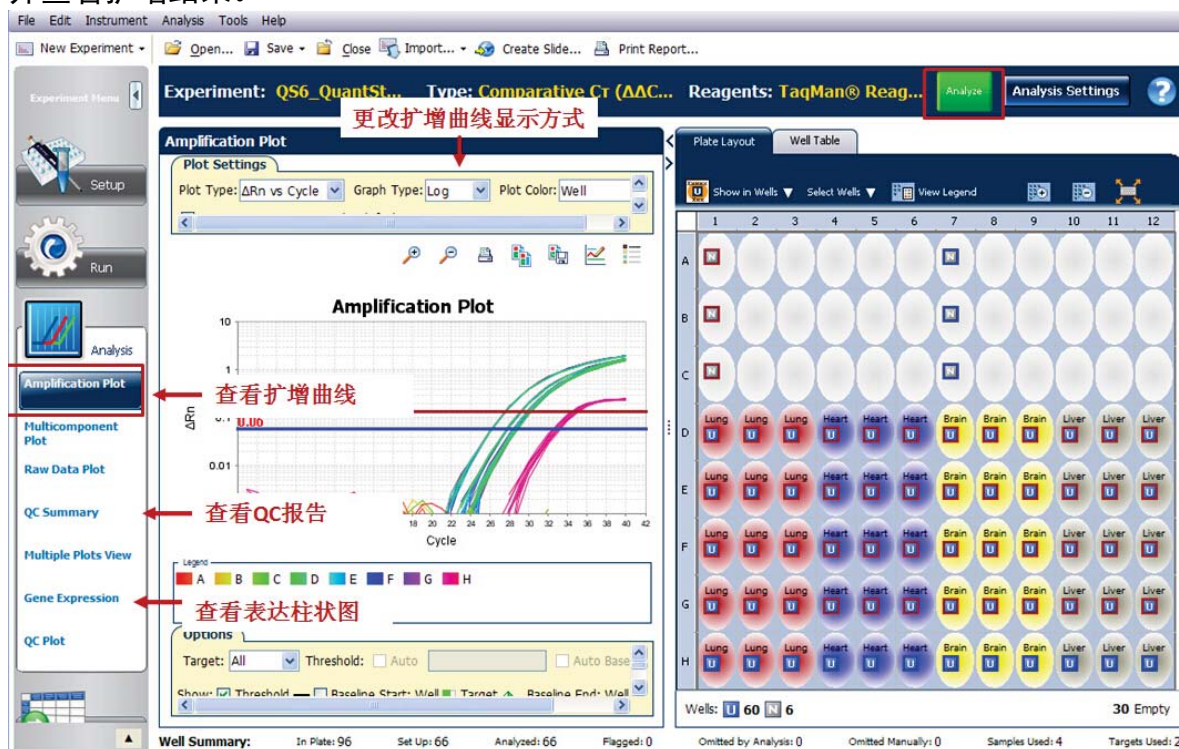
5. 选择“Setup”下的“Run Method”界面，编辑运行条件。



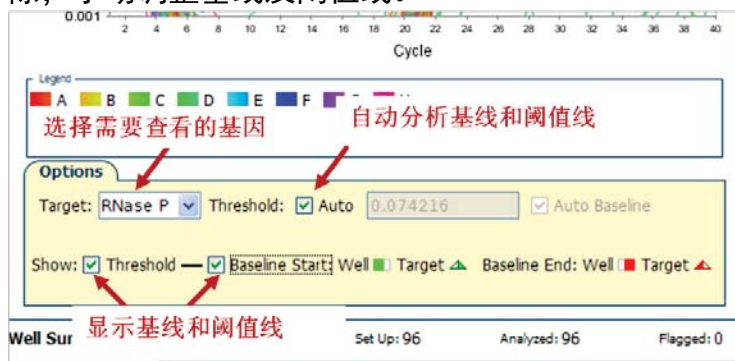
6. 选择“Run”下的“Amplification Plot”界面，点击“Save As”保存文件，点击“Start Run”开始运行。

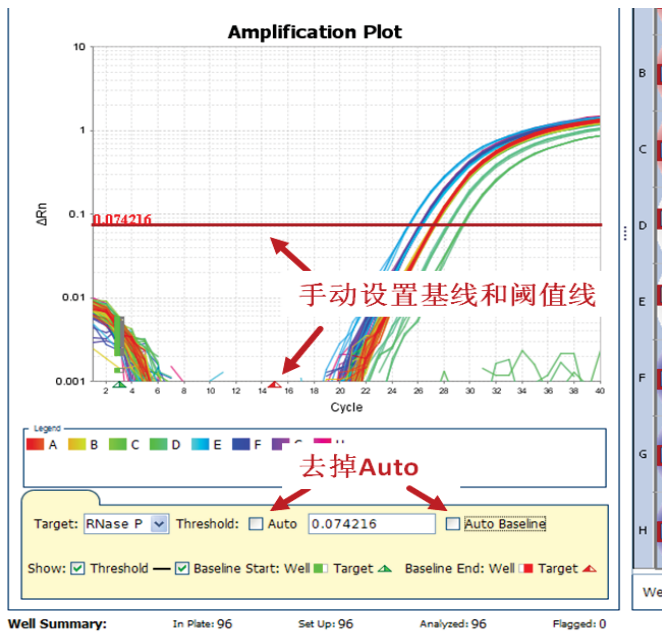


7. 实验运行结束后，进入“Analysis”界面，点击右上角的“Analyze”按钮分析数据并查看扩增结果。

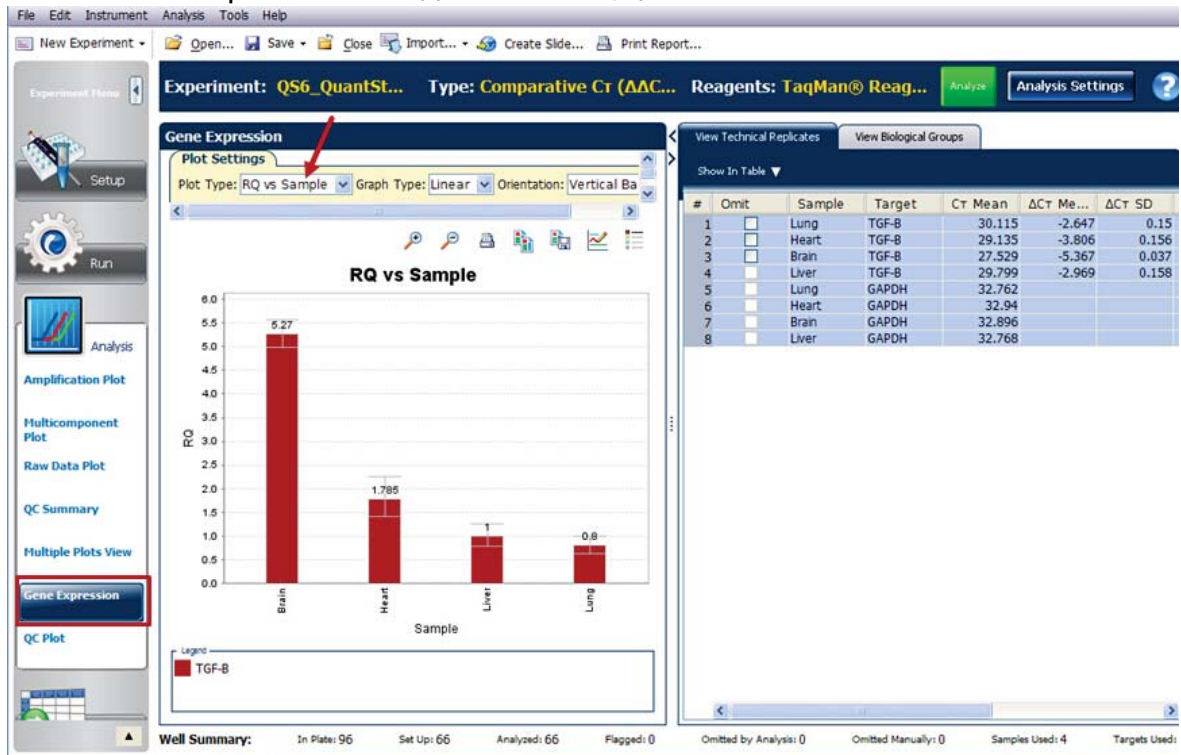


- 7.1 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和阈值线。查看阈值线或基线：选择需要查看的基因，将show后的“Threshold”及“Baseline”选择打勾。扩增曲线图上会出现相应的基线范围和阈值线。或将“Auto”前面的勾去除，手动调整基线及阈值线。

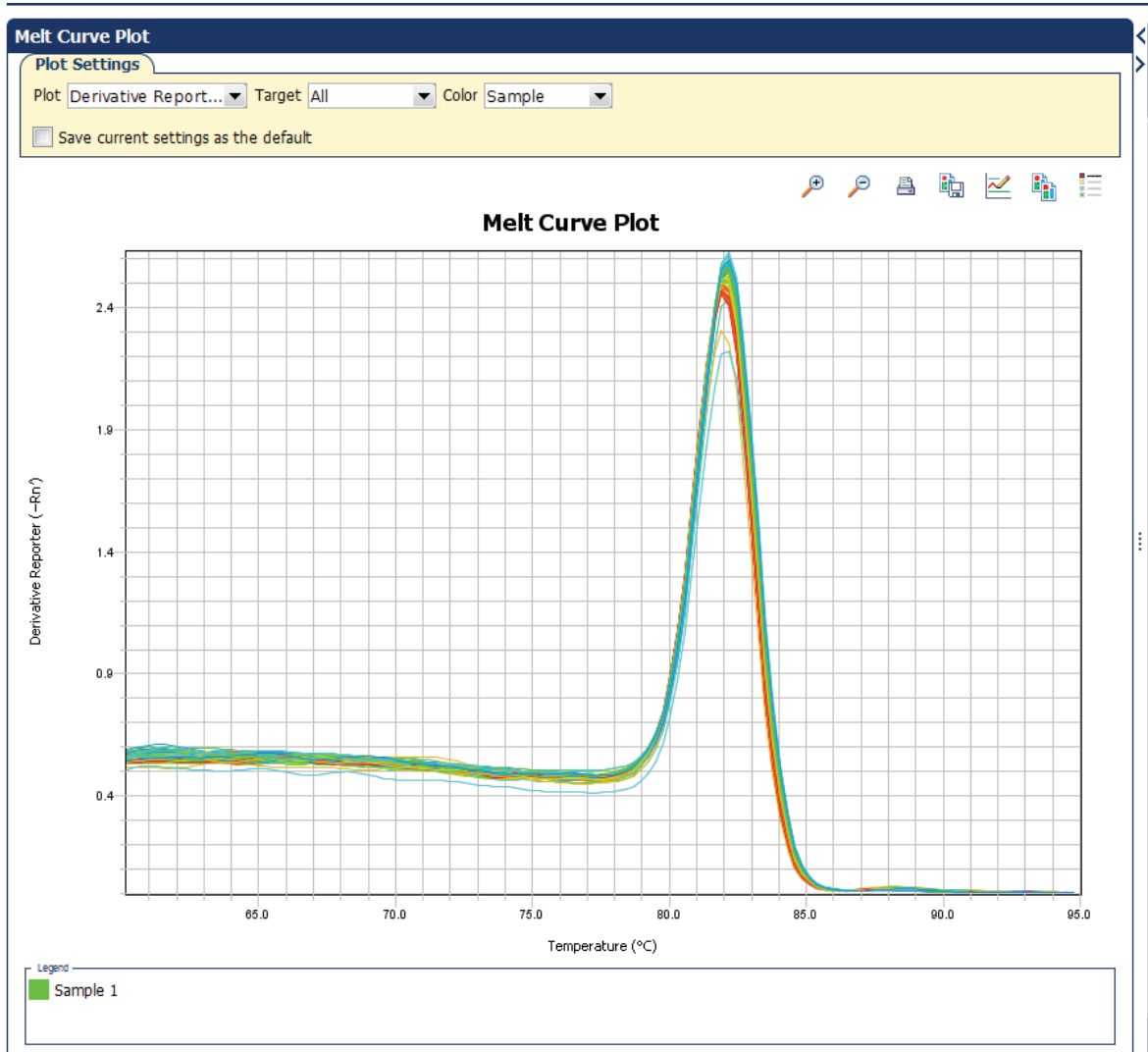




7.2 点击“Gene Expression”查看基因表达柱状图。



7.3 对于SYBR Green实验，在“Melt Curve Plot”界面中查看熔解曲线。



7.4 查看“QC Summary”结果：反应孔存在异常情况时，会出现黄三角，数字1代表有一种情况，2代表有两种情况，以此类推。详细信息及解决方案可以在“Flag Details”中查看。

File Edit Instrument Analysis Tools Help

New Experiment Open Save Close Import Create Slide Print Report

Experiment: **QS6_QuantSt...** Type: **Comparative Ct (ΔΔC...** Reagents: **TaqMan® Reag...** Analysis Analysis Settings

Flag	Description	Freq...	Wells
AMPNC	Amplification in negative control	1	D1
BADROX	Bad passive reference signal	0	
OFFSCALE	Fluorescence is offscale	0	
HIGHSD	High standard deviation in replicat...	0	
NOAMP	No amplification	0	
NOISE	Noise higher than others in plate	0	
SPIKE	Noise spikes	0	
NOSIGNAL	No signal in well	0	
OUTLIE...	Outlier in replicate group	0	
EXPFAIL	Exponential algorithm failed	0	
BLFAIL	Baseline algorithm failed	0	
THOLDF...	Thresholding algorithm failed	0	

Flag: AMPNC—Amplification in negativ
Flag Detail: A sequence amplified in a negativ
Flag Criteria: Ct < 35.0
Flagged Wells: D1
[View AMPNC Troubleshooting Information](#)

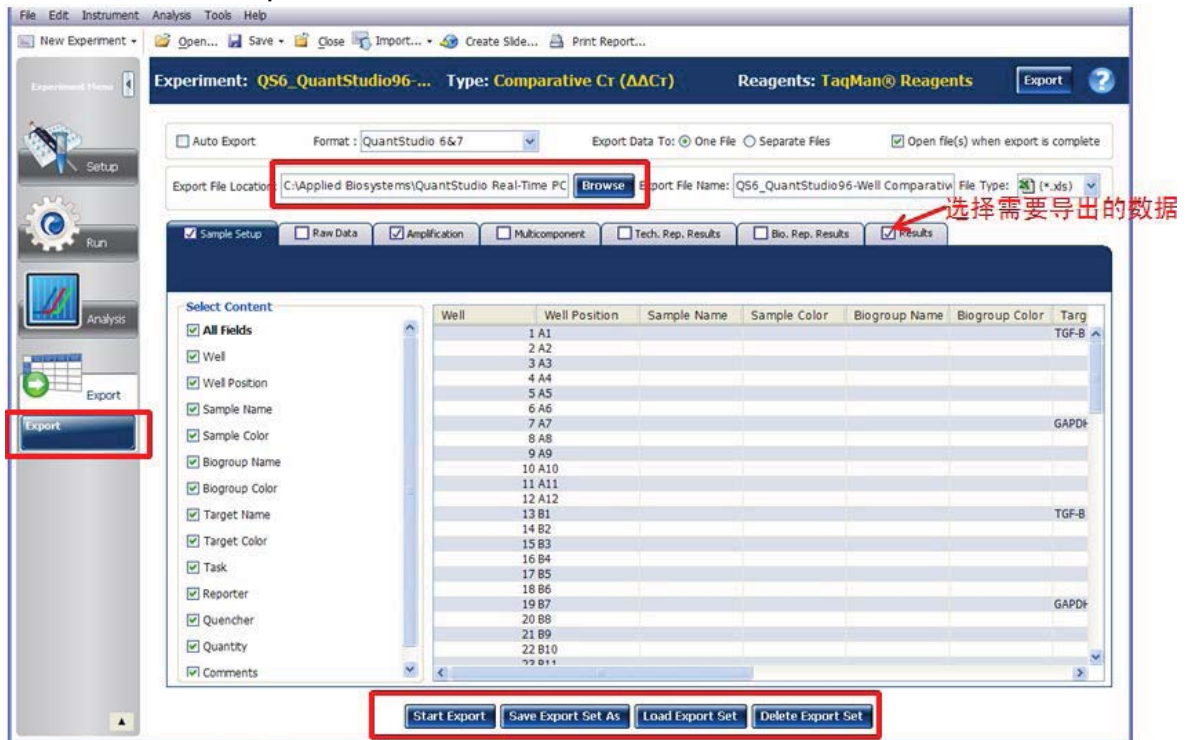
查看解决方案

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

Wells: **U 59 N 7** 30 Emp

Well Summary: In Plate: 96 Set Up: 66 Analyzed: 66 Flagged: 1 Omitted by Analysis: 0 Omitted Manually: 0 Samples Used: 4 Targets Us

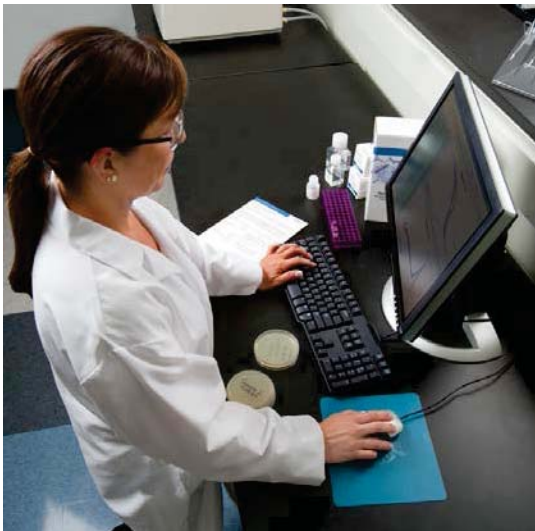
8. 数据导出：在” Export” 界面下导出需要的数据。





遍布全球的技术支持服务

我们在全球 60 多个国家和地区设立了办事处，拥有备受赞誉的技术支持团队以及现场服务工程师。您可以在我们的官方网站上订购产品、下载技术文件，以及寻找问题答案。也非常欢迎您通过电子邮件、电话、以及微信平台和我们联系获取信息。



Thermo Fisher Scientific

官方网站：<http://www.thermofisher.com>

免费热线电话：8008208982/4008208982

技术支持邮箱：cntechsupport@lifetech.com

微信公众号：赛默飞世尔科技生命科学服务部

