Applied Biosystems™ QuantStudio™ 3 & 5 实时定量 PCR 仪

简明中文手册

第二部分：相对定量
(Software v1.X)

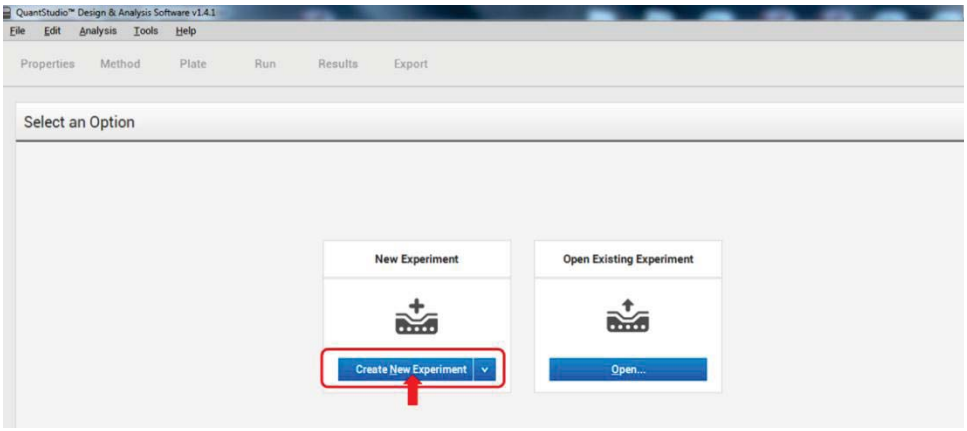
英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

Applied Biosystems™ QuantStudio™ 3 & 5实时定量PCR仪

1. 双击桌面图标 

，开启QuantStudio Design & Analysis Software，或从开始菜单 > All Programs > Applied Biosystems > QuantStudio Design & Analysis Software> QuantStudio Design & Analysis Software开启软件。

2. 进入主界面后，点击“Create New Experiment”。



3. 在“Properties”界面设置实验属性：

a. 输入实验的名称；

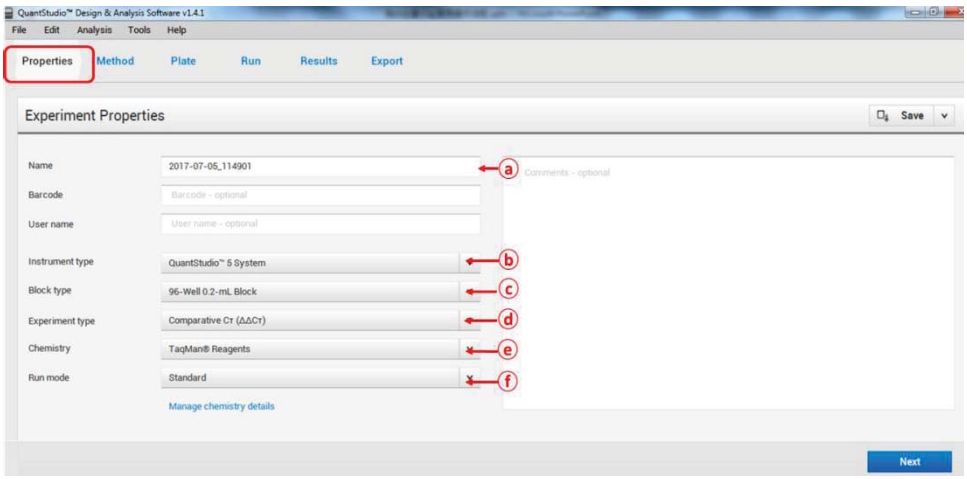
b. 选择仪器型号；

c. 选择仪器的 Block（加热模块）类型；

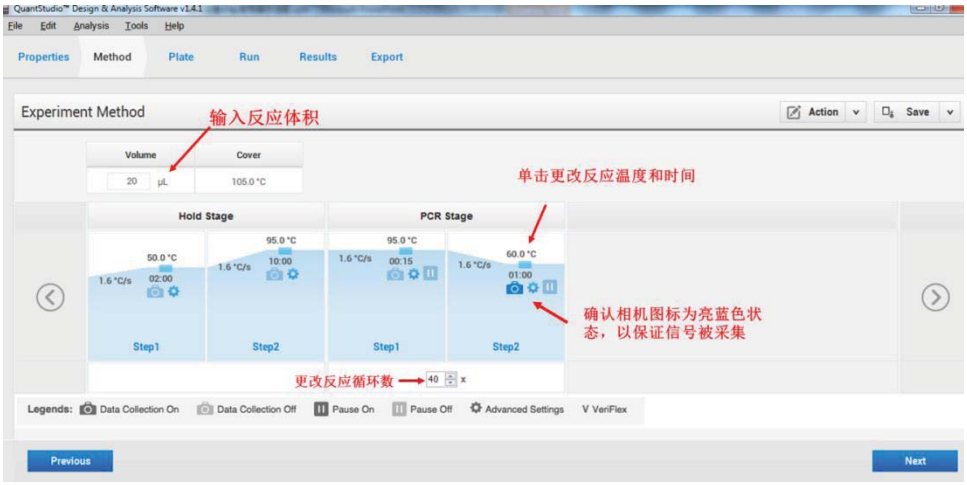
d. 选择实验类型：“Comparative CT（ΔΔCT）”；

e. 选择实验试剂类型：TaqMan 探针法选择“TaqMan Reagents”，SYBR 染料法选择“SYBR Green Reagents”，其他选择“Other”；

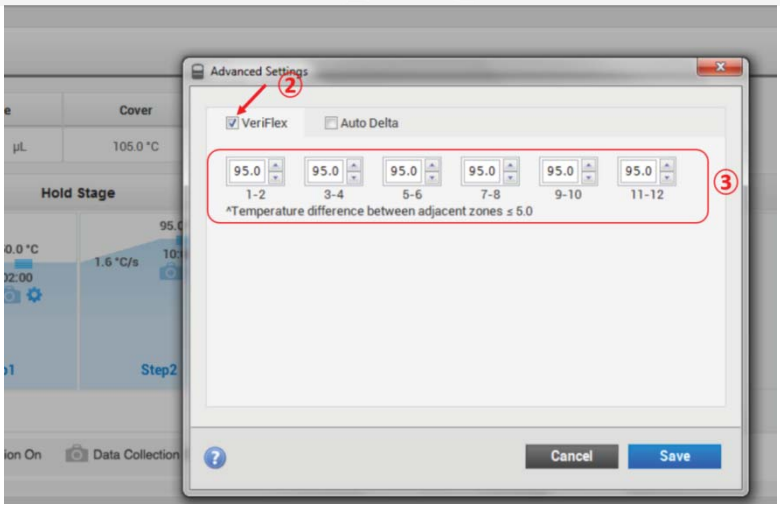
f. 选择运行模式（Run mode）：普通试剂选择“Standard”；快速试剂可选择“Fast”。



4. 点击“Next ”进入“Method”界面，设置实验的运行程序。



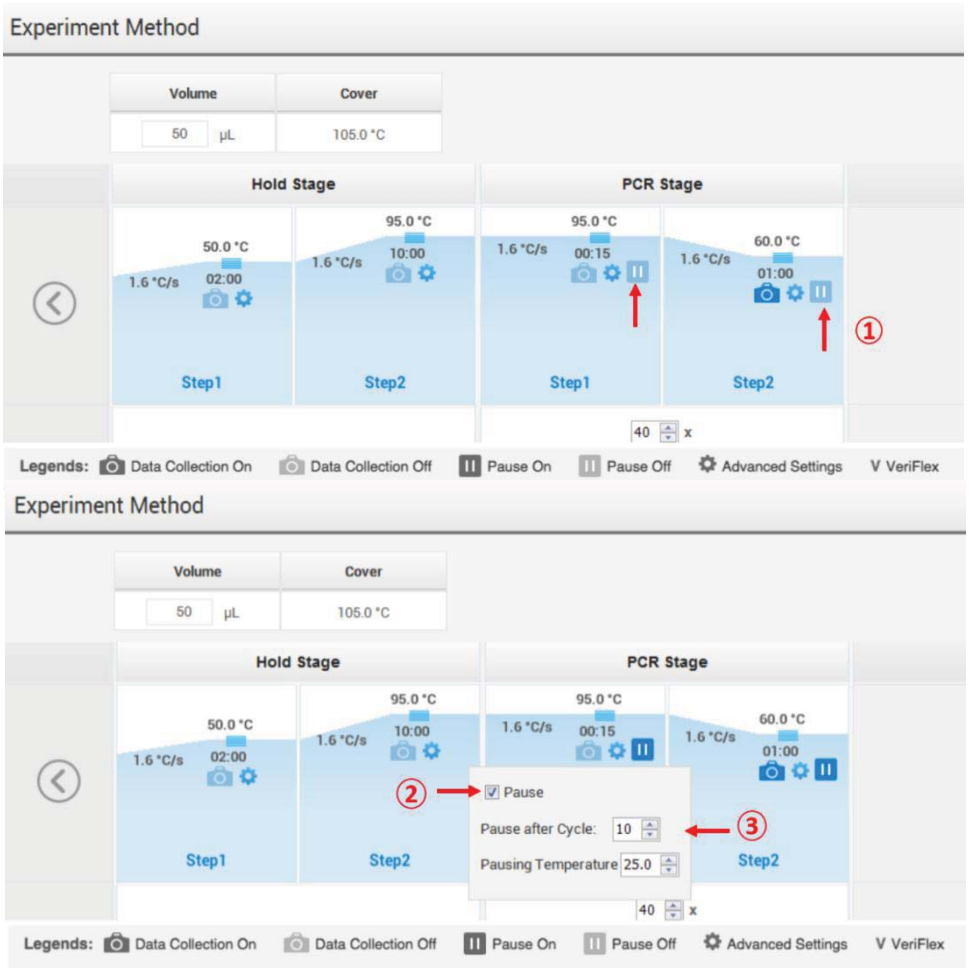
4.1 **（可选）**设置梯度反应温度：①单击 （Advanced Settings）；②勾选VeriFlex，③然后更改Block上相应区域的反应温度，相邻区域温度差异不能超过5℃。



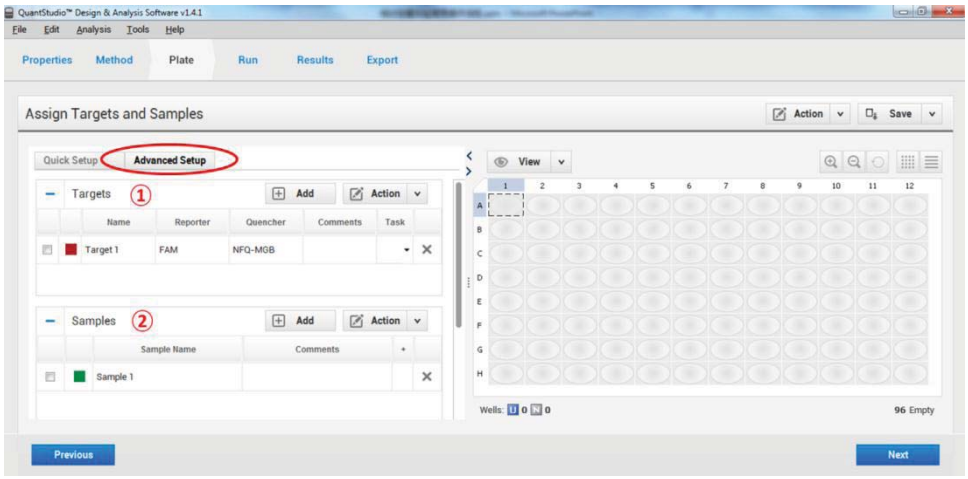
注：梯度反应温度设置仅限于96孔加热模块。QuantStudio 3 可设置3个梯度反应温度；上图为QuantStudio 5示例图，可设置6个梯度反应温度。

4.2 **（可选）**设置暂停程序：点击①图标，②勾选Pause，③设置暂停前的反应循

环数（Pause after cycles），以及暂停后的温度（Pausing Temperature，范围：4~99.9℃）。

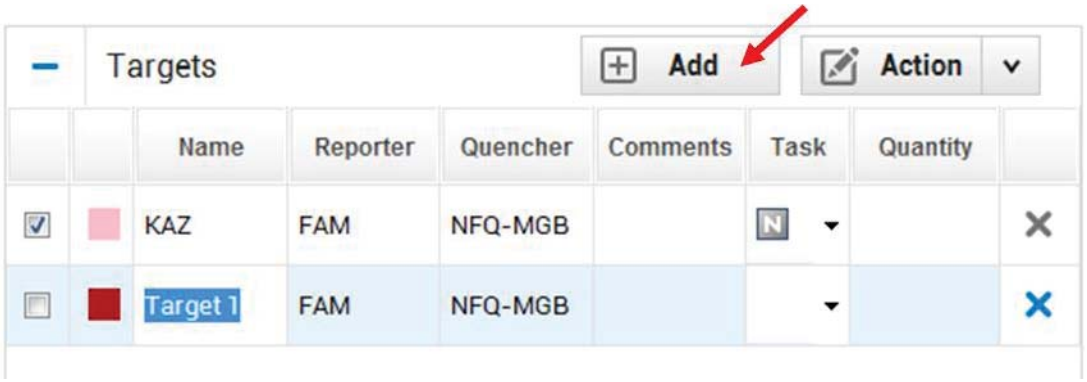


5. 进入“Plate”界面，点击“Advanced Setup”①设置待测基因名称（Target）；②设置样品名称（Sample）。

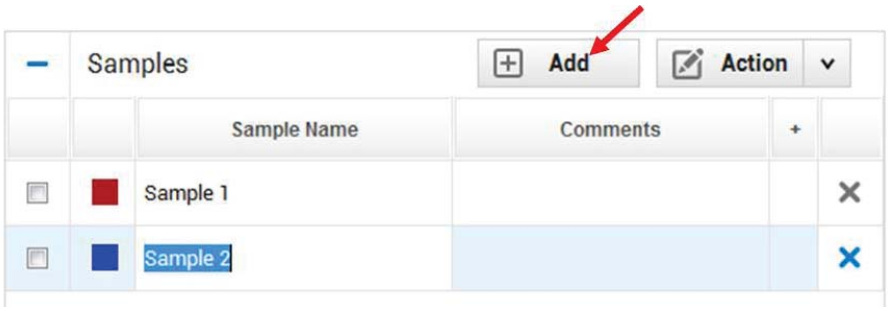


5.1 在“Targets”内点击“Add”，添加待测基因。在“Target Name”中编辑基因名称；“Reporter”和“Quencher”中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于

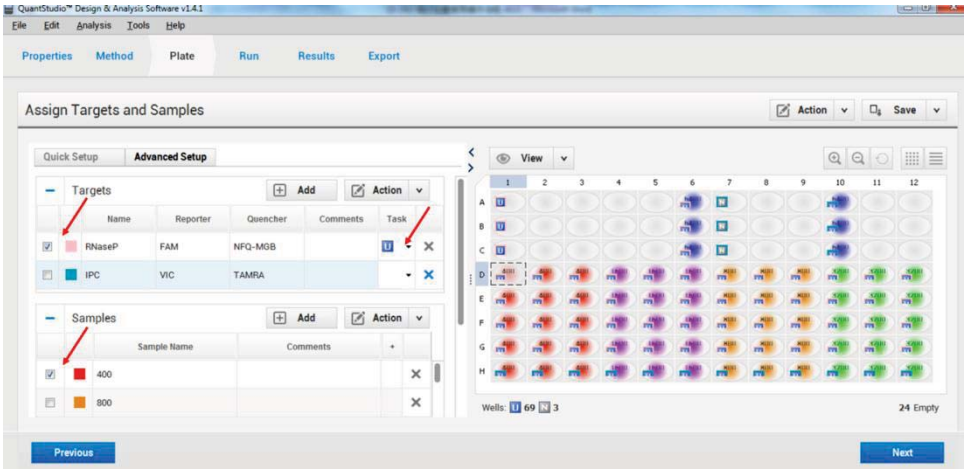
“Quencher”的选择，如果是MGB探针，请选择NFQ-MGB；如果是TAMRA探针，请选择TAMRA；如果是其他形式的无荧光淬灭基团则选择“None”。



5.2 在“Samples”内点击“Add”，添加待测样品。在“Sample Name”中编辑样品名称。

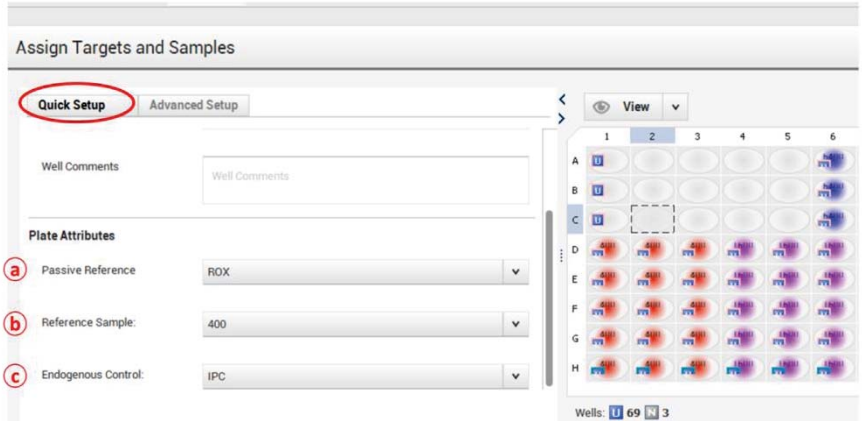


5.3 编辑反应样品板：利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔，然后勾选左侧的基因及样本，同时在“Task”选项中指定该反应孔的类型（U 代表未知样本，N 代表阴性对照）。

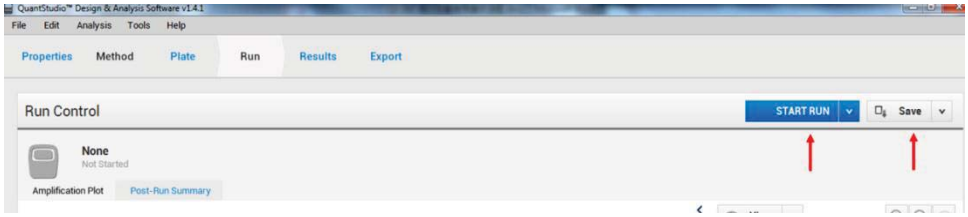


5.4 点击“Quick Setup”，ⓐ设置参比荧光，如果试剂中不含 ROX 参比荧光，则改为 None；ⓑ设置“Reference Sample”（对照样品），ⓒ设置“Endogenous

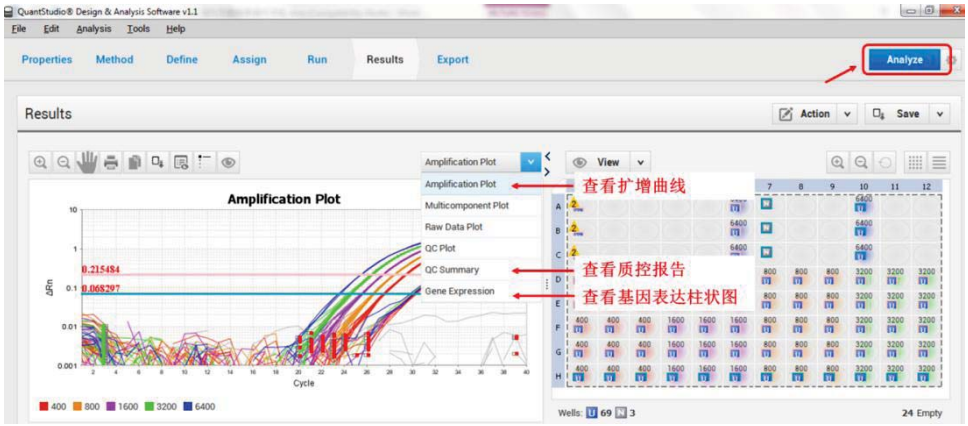
Control”（内参基因）。



6. 点击“Next”进入“Run”界面，点击“Save”保存文件，然后点击“START RUN”开始运行。

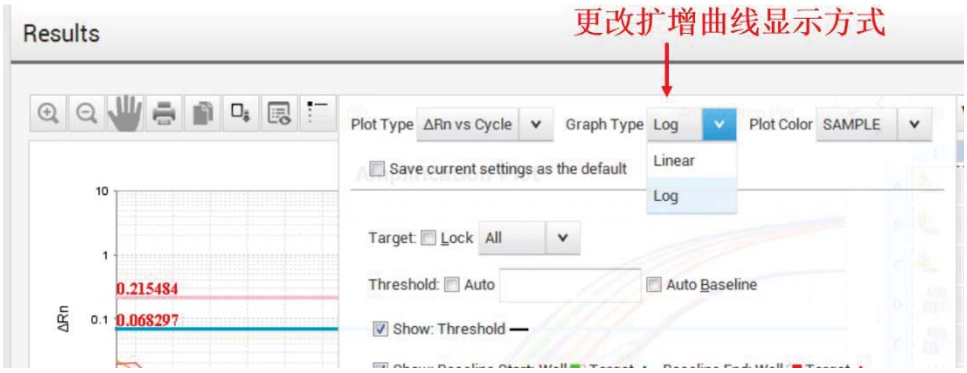


7. 实验运行结束后，进入“Results”界面，点击右上角的“Analyze”按钮分析数据并查看结果。



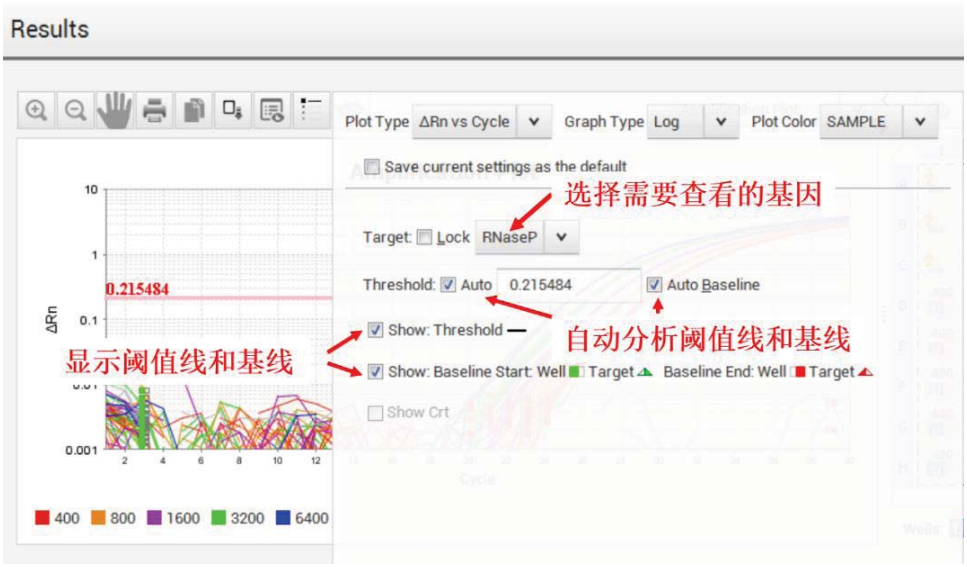
8. 结果分析

8.1 更改扩增曲线显示方式：单击（Show Plot Setting），在“Graph Type”中可更改扩增曲线的显示方式（Log 或 Linear 图）。

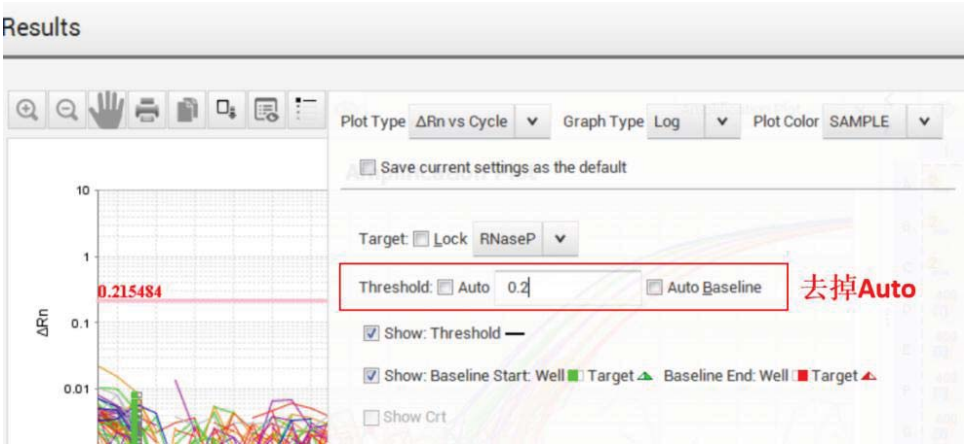


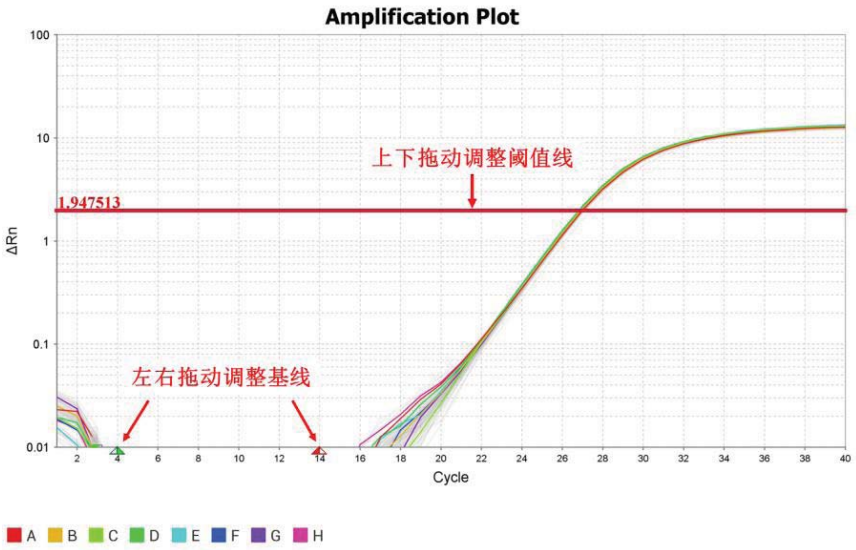
8.2 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和阈值线。

8.2.1 查看阈值线或基线：单击“Show Plot Setting”，选择需要查看的基因，“Show: Threshold”及“Show: Baseline”前的选项打勾。扩增曲线图上会出现相应的基线范围和阈值线。

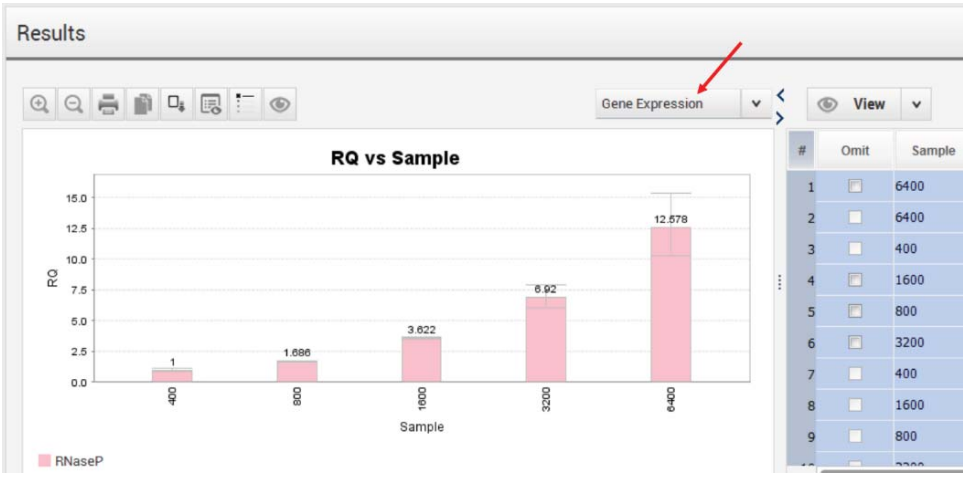


8.2.2 手动设置基线和阈值线：去掉“Auto”的勾选，然后输入阈值，或用鼠标拖动阈值线和基线进行手动调节。设置好后，点击“Analyze”分析结果。

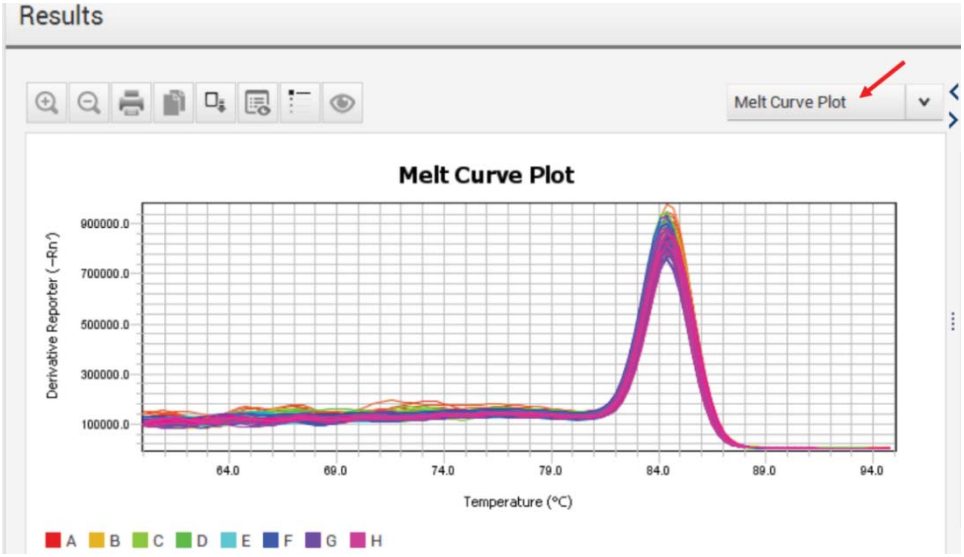




8.3 选择“Gene Expression”查看基因表达柱状图。

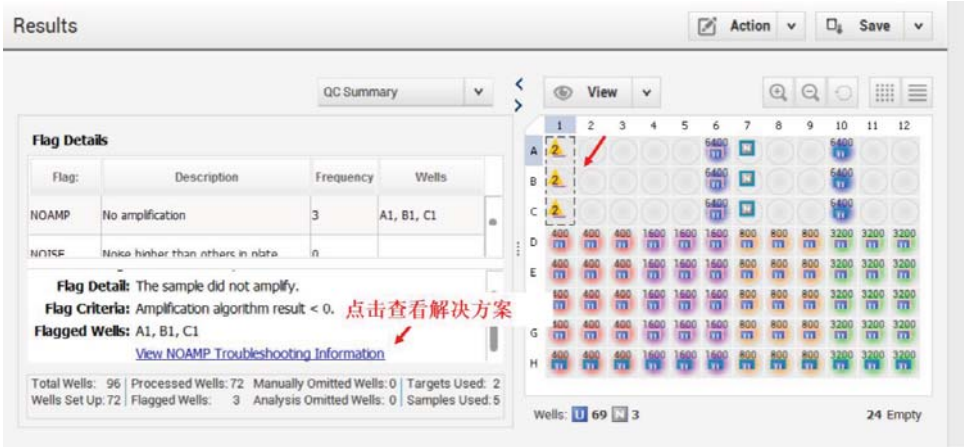


8.4 对于 SYBR Green 实验，可以选择“Melt Curve Plot”，查看熔解曲线。

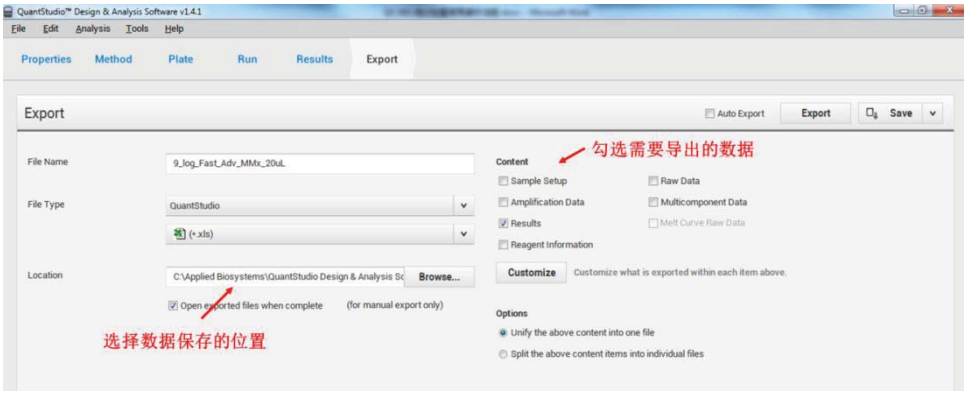


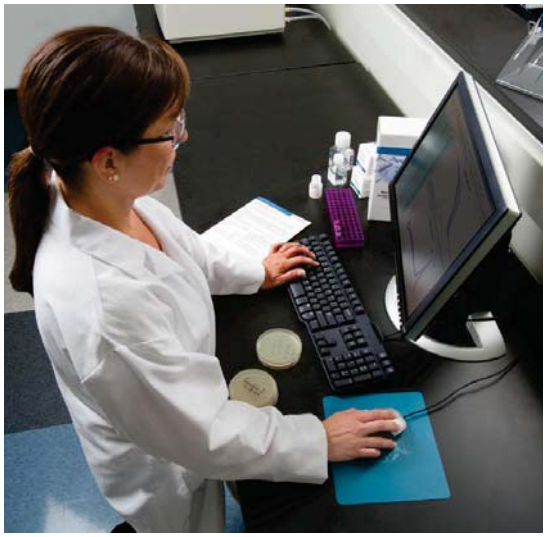
8.5 查看“QC Summary”结果：反应孔可能存在异常情况时，会出现黄色三角提示，

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。



9. 数据导出：在“Export”界面下根据需要导出数据。





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：赛默飞生命科学服务平台

ThermoFisher SCIENTIFIC