

Applied BiosystemsTM QuantStudioTM 12K Flex 实时定量 PCR 仪

简明中文手册

第二部分：相对定量

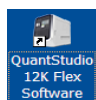


英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

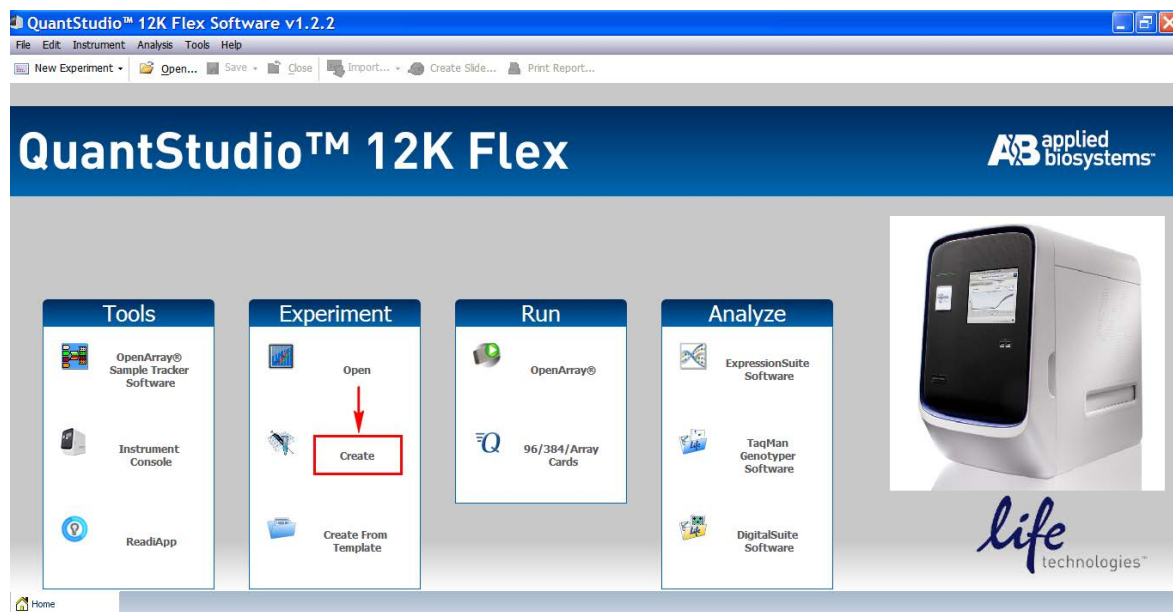
Applied Biosystems™ QuantStudio™ 12K Flex 实时定量 PCR 仪

1.

双击桌面图标

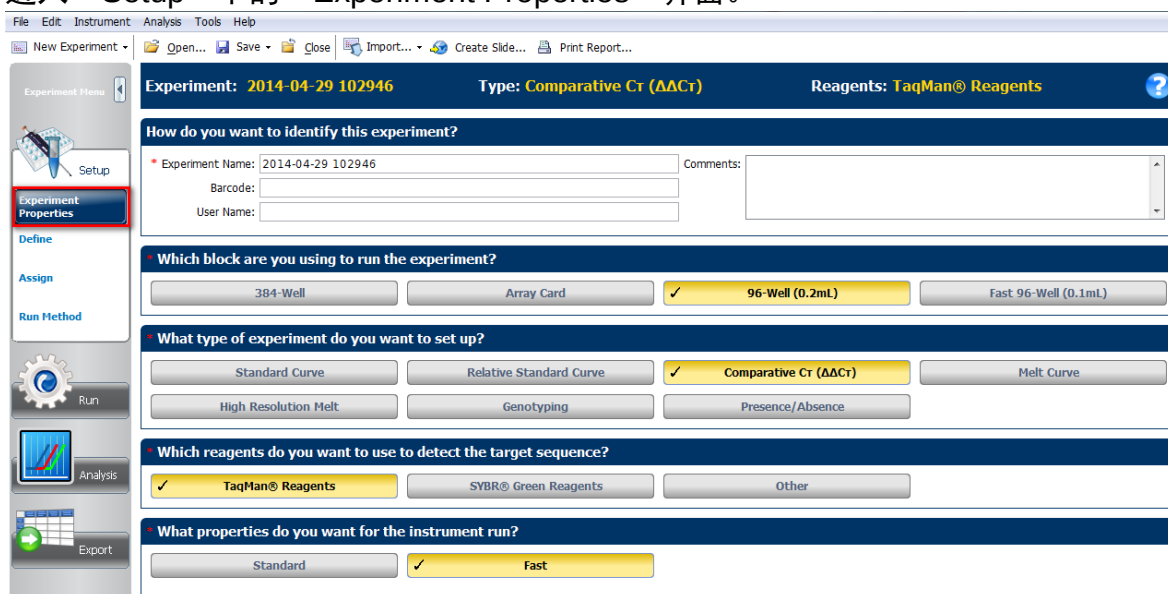


，或从Start > All programs > Applied Biosystems > QuantStudio 12K Flex > QuantStudio 12K Flex Software开启软件。进入主界面后选择“Experiment”下的“Create”。



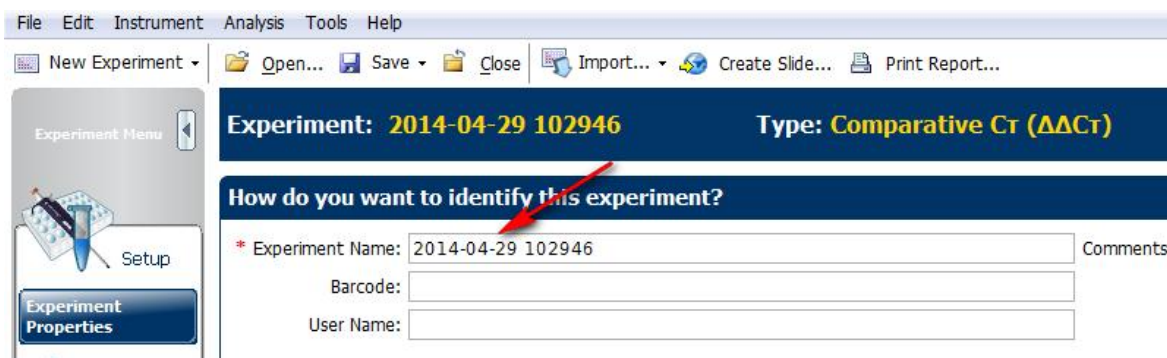
2.

进入“Setup”下的“Experiment Properties”界面。



2.1

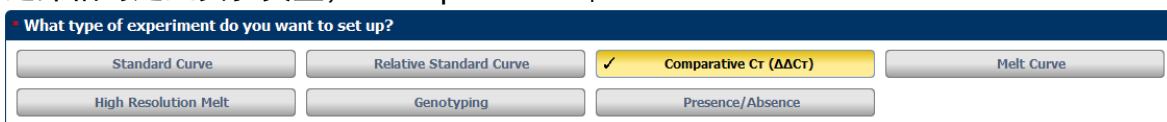
输入实验名称（Experiment Name）。



2.2 选择Block类型。



2.3 选择相对定量实验类型，“Comparative C_t ”。



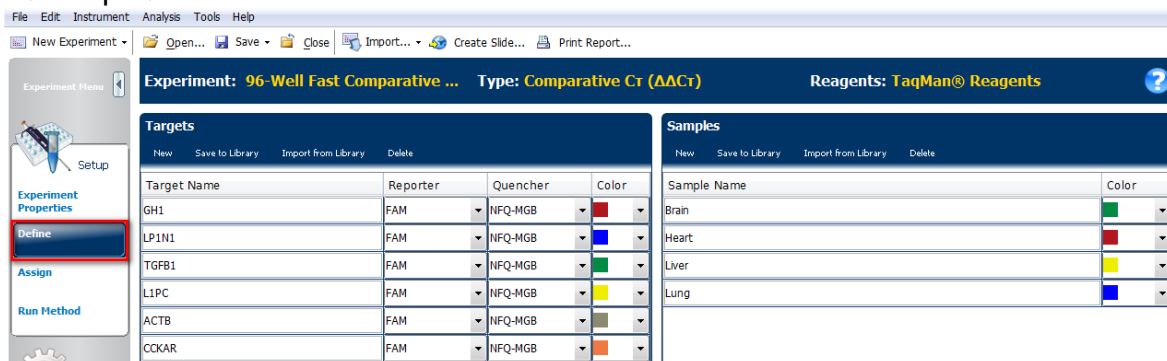
2.4 选择试剂种类。Taqman 探针法选择 “Taqman Reagents”，SYBR 染料法选择 “SYBR Green Reagents”。



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。

Targets			
New	Save to Library	Import from Library	Delete
Target Name	Reporter	Quencher	Color
GH1	FAM	NFQ-MGB	
LP1N1	FAM	NFQ-MGB	
TGFB1	FAM	NFQ-MGB	

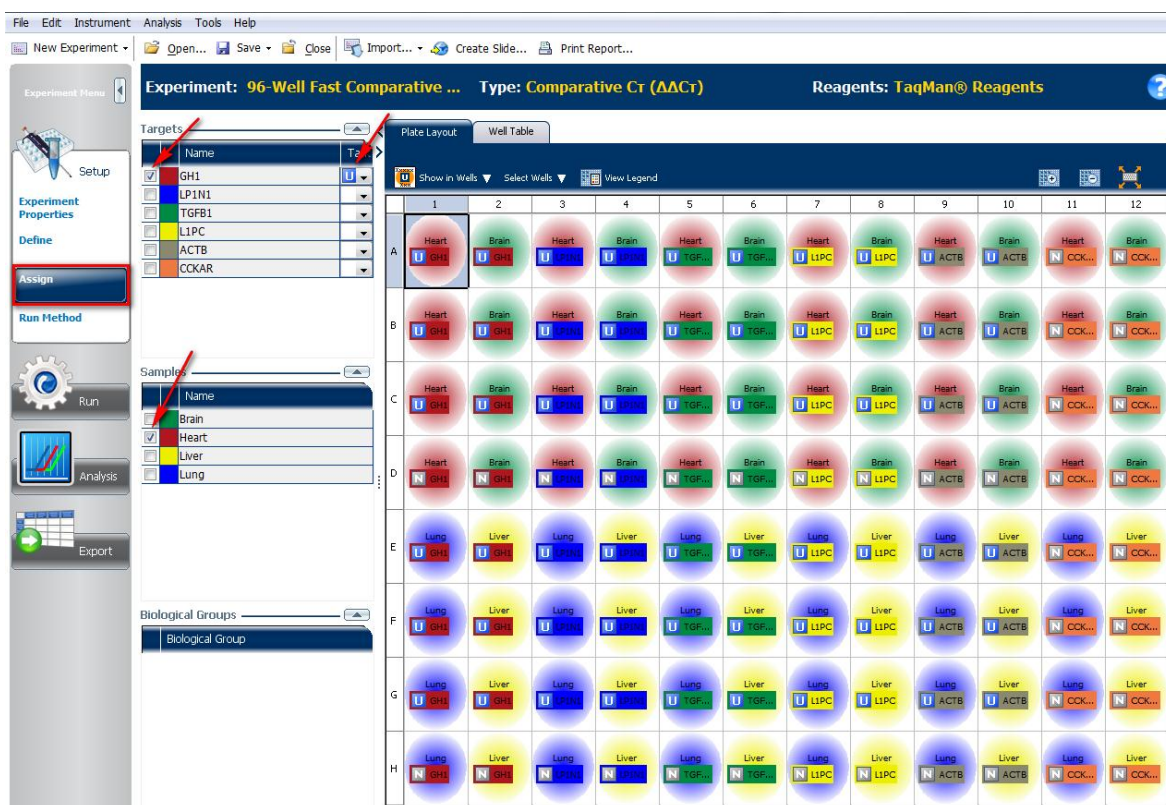
- 3.2 在“Samples”下点击“New”，添加待测样品。在“Sample Name”中编辑样品名称。

Samples	
New	Save to Library Import from Library Delete
Sample Name	Color
Brain	
Heart	
Liver	
Lung	

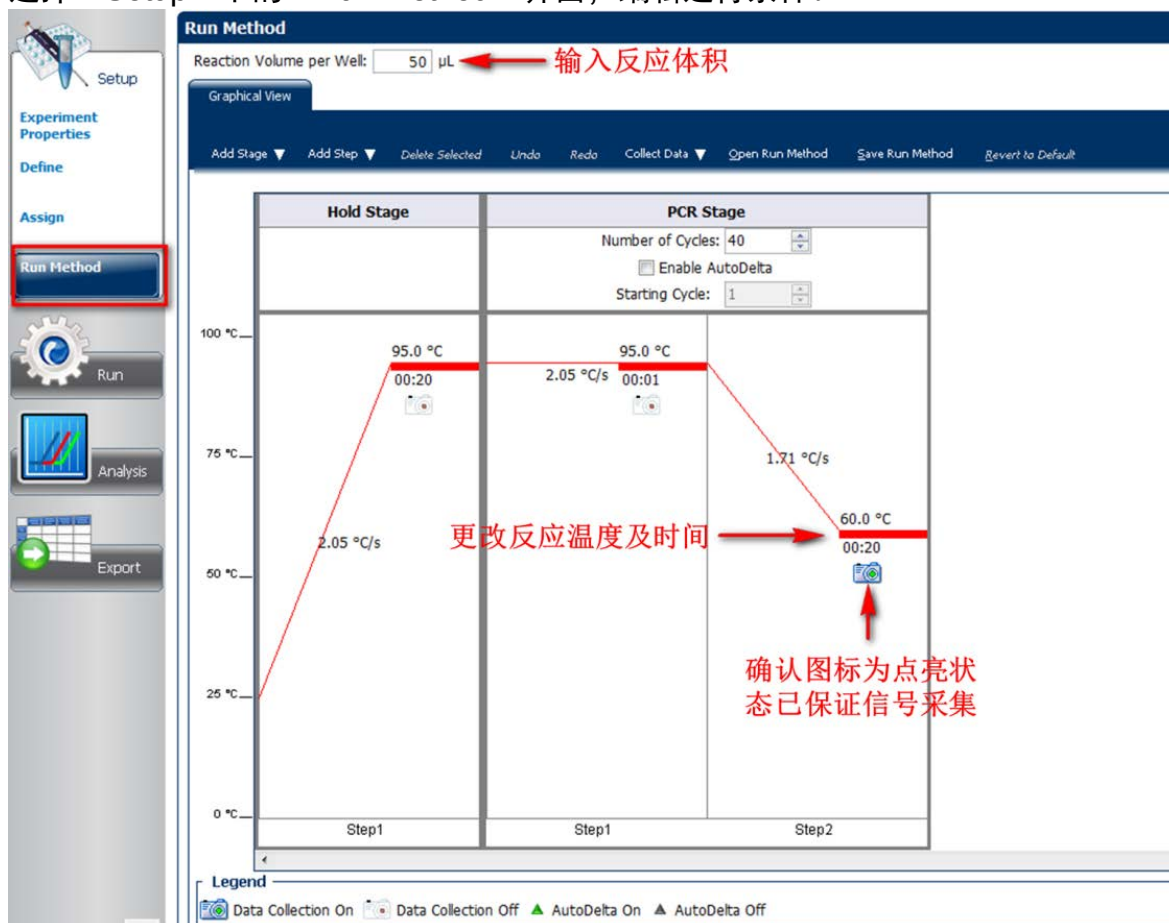
- 3.3 在“Analysis Settings”下选择合适的“Reference Sample”（对照样品）和“Endogenous Control”（内参基因）。

Analysis Settings	
Reference Sample:	Brain
Endogenous Control:	LP1N1

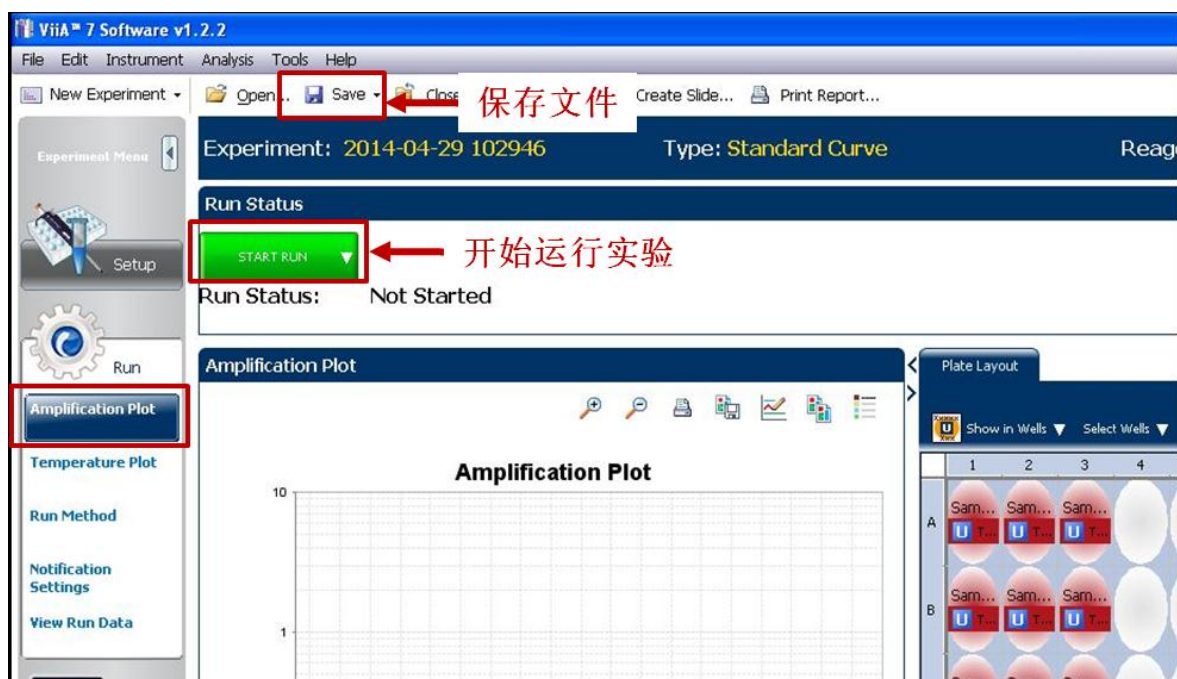
4. 选择“Setup”下的“Assign”界面编辑样品板。利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔，然后勾选左侧的基因及样本，同时在“Task”选项中指定该反应孔的类型（U代表未知样本，N代表阴性对照）。



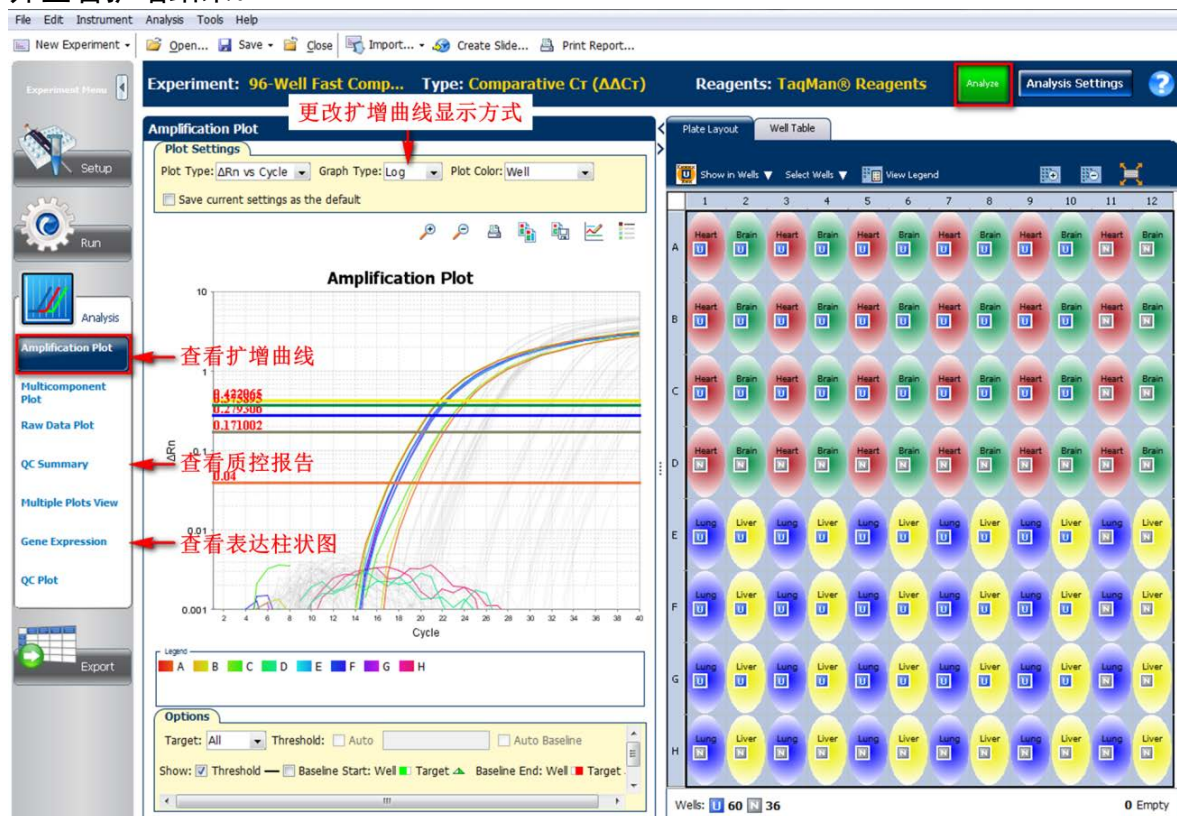
5. 选择“Setup”下的“Run Method”界面，编辑运行条件。



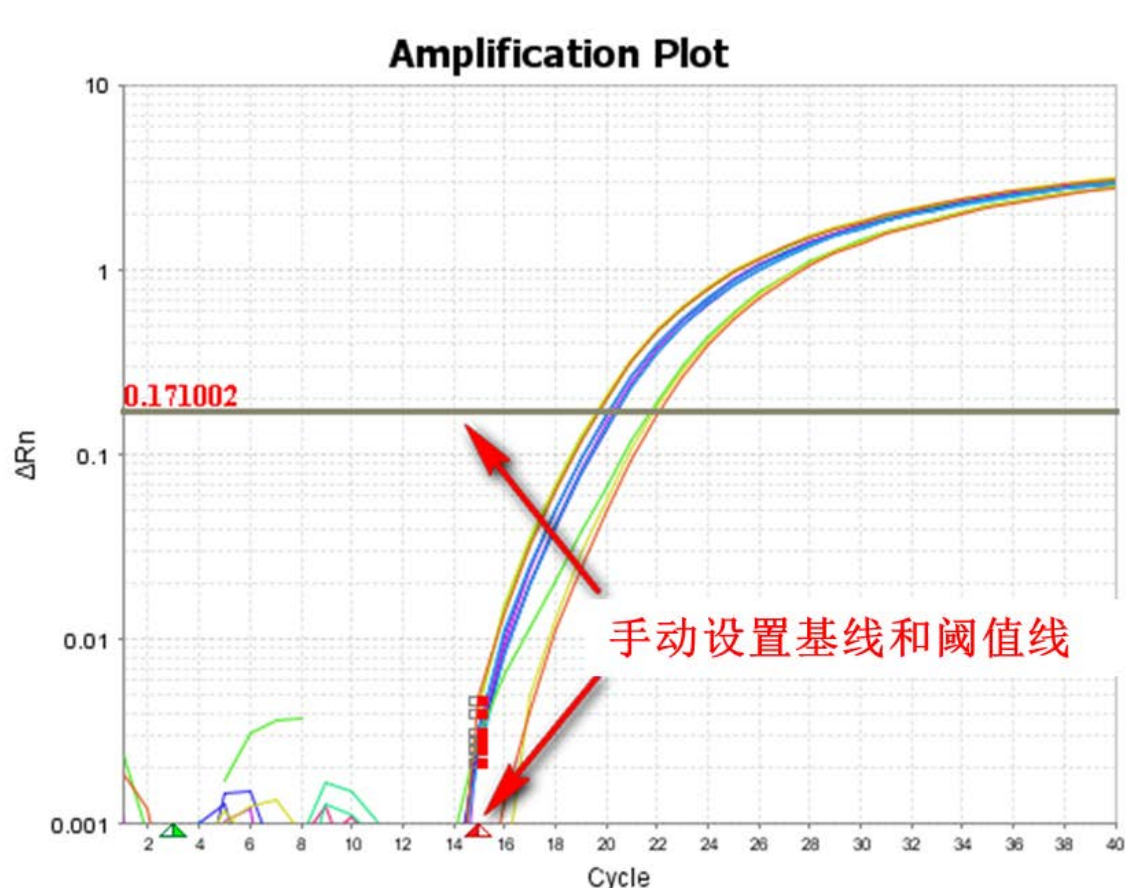
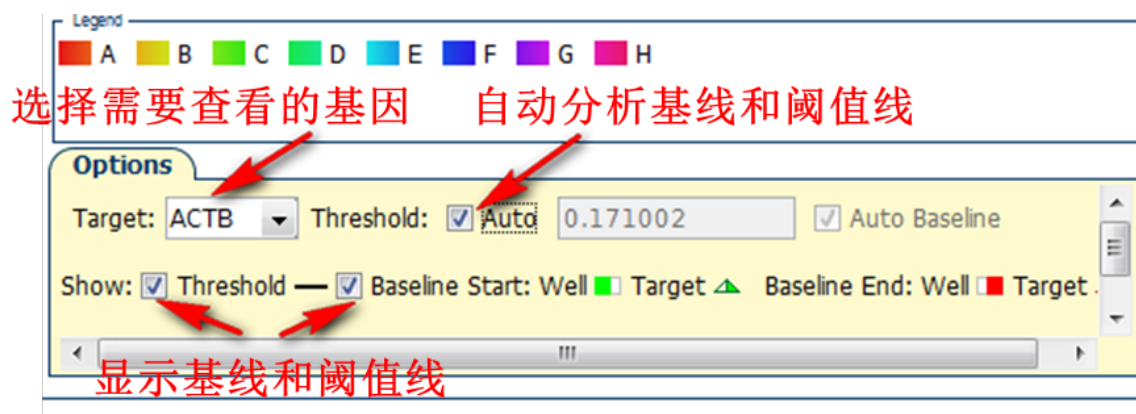
6. 选择“Run”下的“Amplification Plot”界面，点击“Save As”保存文件，然后点击“Start Run”开始运行。



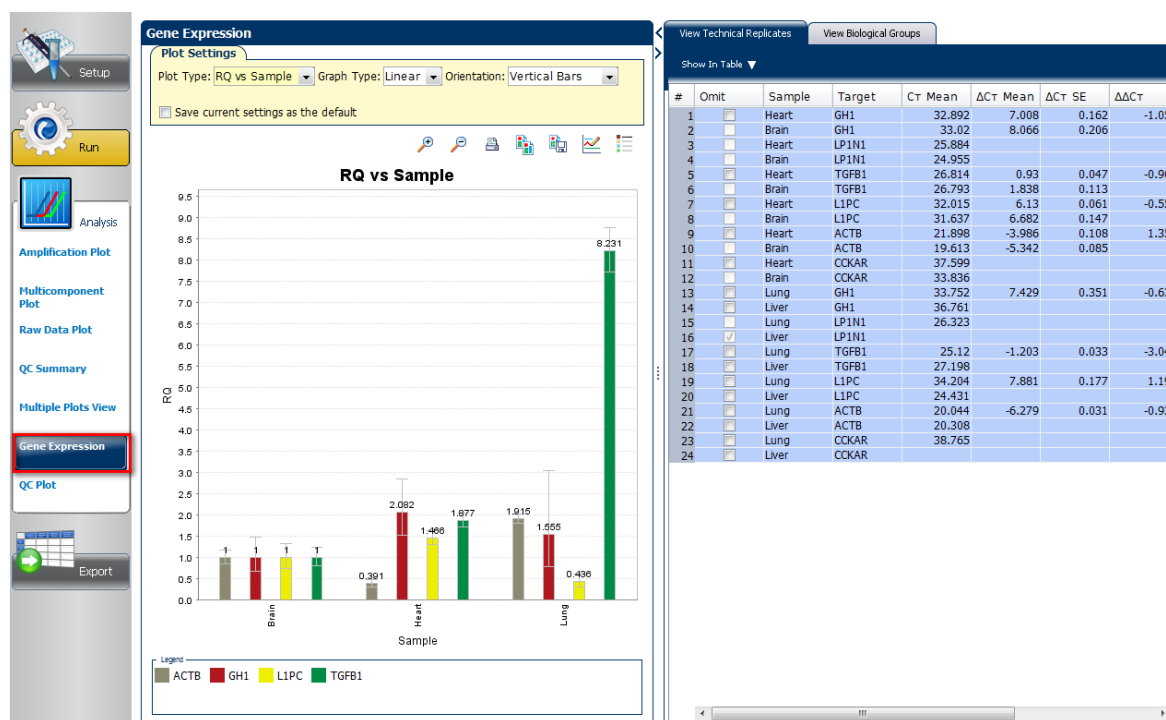
7. 实验运行结束后，进入“Analysis”界面，点击右上角的“Analyze”按钮分析数据并查看扩增结果。



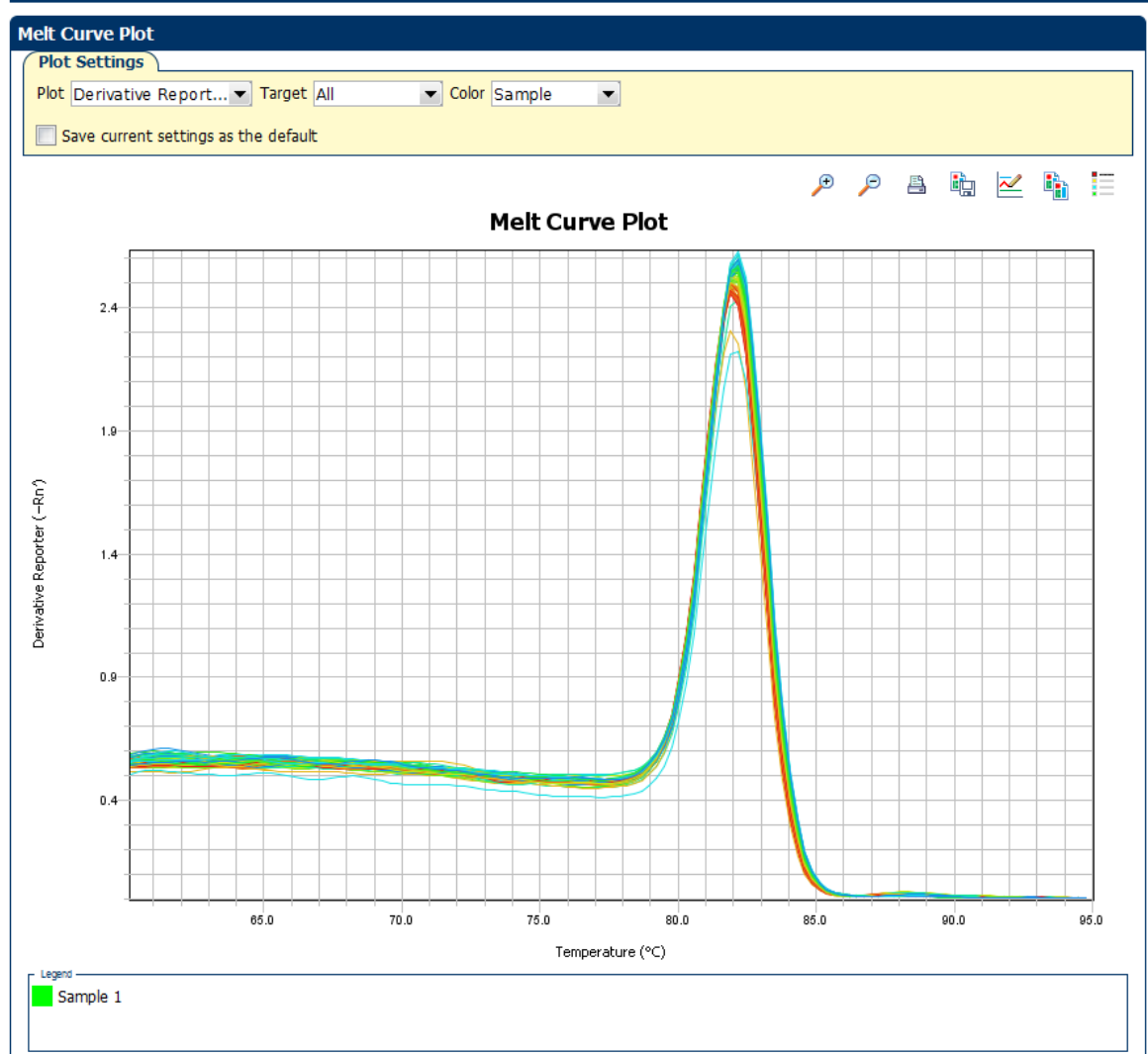
- 7.1 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和阈值线。查看阈值线或基线：选择需要查看的基因，将show后的“Threshold”及“Baseline”选择打勾。扩增曲线图上会出现相应的基线范围和阈值线。



7.2 点击“Gene Expression”查看基因表达柱状图。

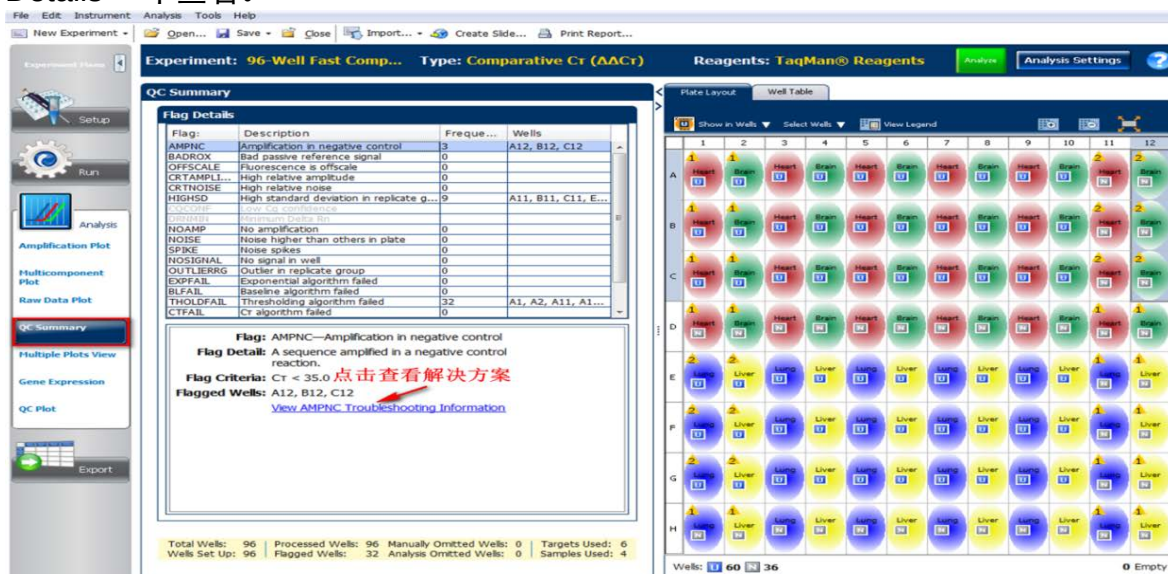


7.3 对于SYBR Green实验，在“Melt Curve Plot”界面中查看熔解曲线。

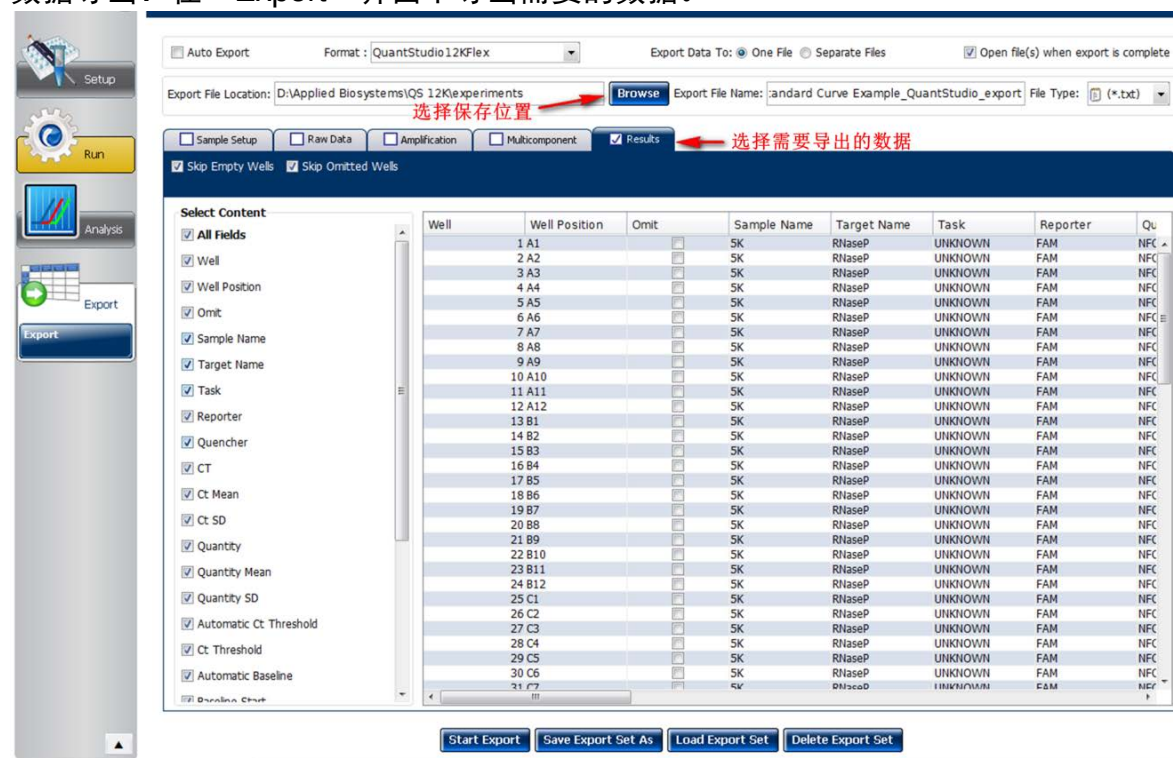


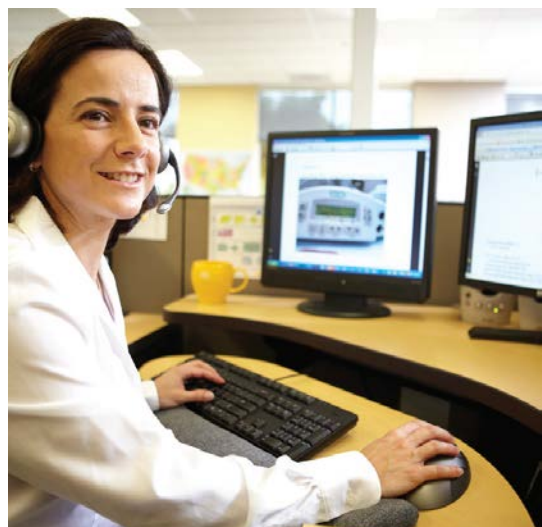
7.4 查看“QC Summary”结果：反应孔存在异常情况时，会出现黄色三角，数字1代

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。



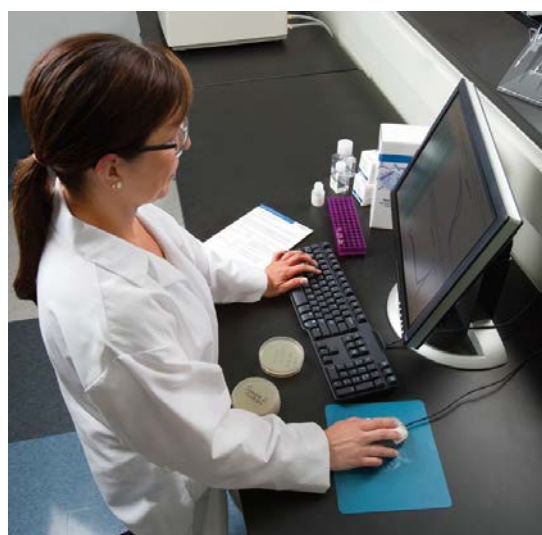
8. 数据导出：在“Export”界面下导出需要的数据。





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

