

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

简明中文手册

第一部分：绝对定量



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.

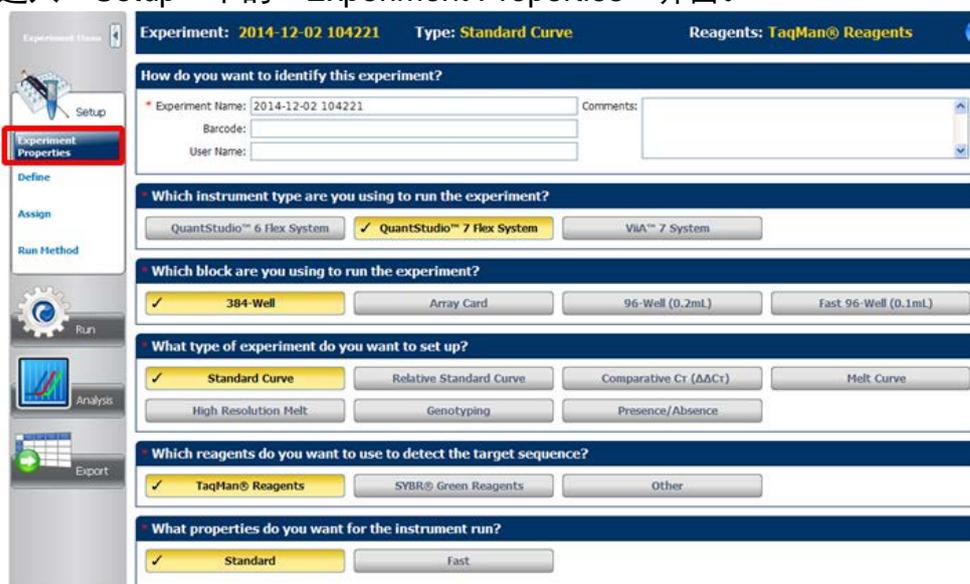


双击桌面图标 ，或从 Start > All programs > Applied Biosystems > QuantStudio™ Real-Time PCR Software > QuantStudio™ Real-Time PCR Software 开启软件。进入主界面后选择“Experiment Setup”。



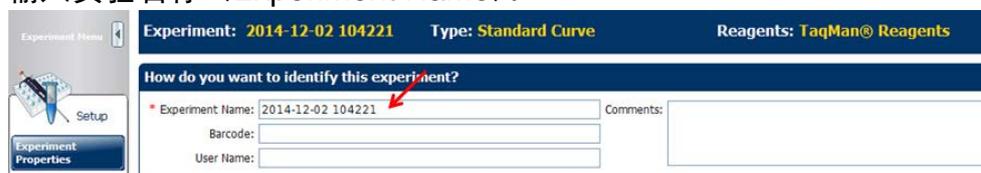
2.

进入“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 选择绝对定量实验类型，“Standard Curve”。



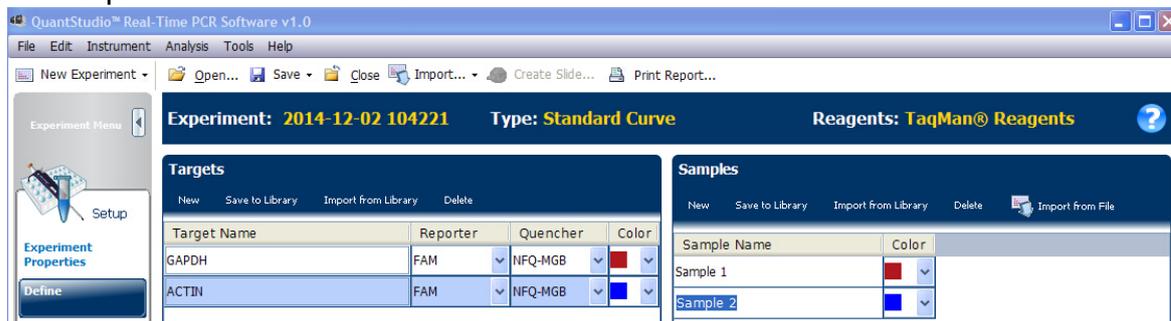
2.4 选择试剂种类。Taqman探针法选择“Taqman Reagents”，SYBR染料法选择“SYBR Green Reagents”。



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

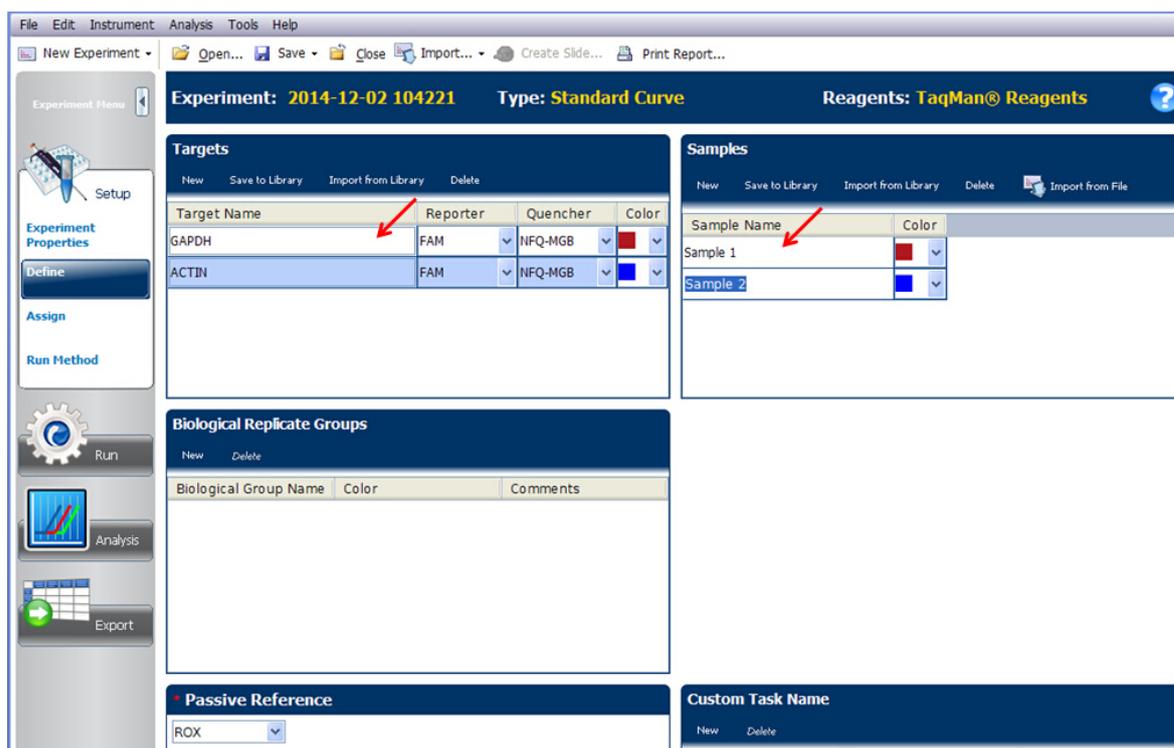


3. 选择“Setup”下的“Define”界面，设置基因名称（Target）和样品名称（Sample）。



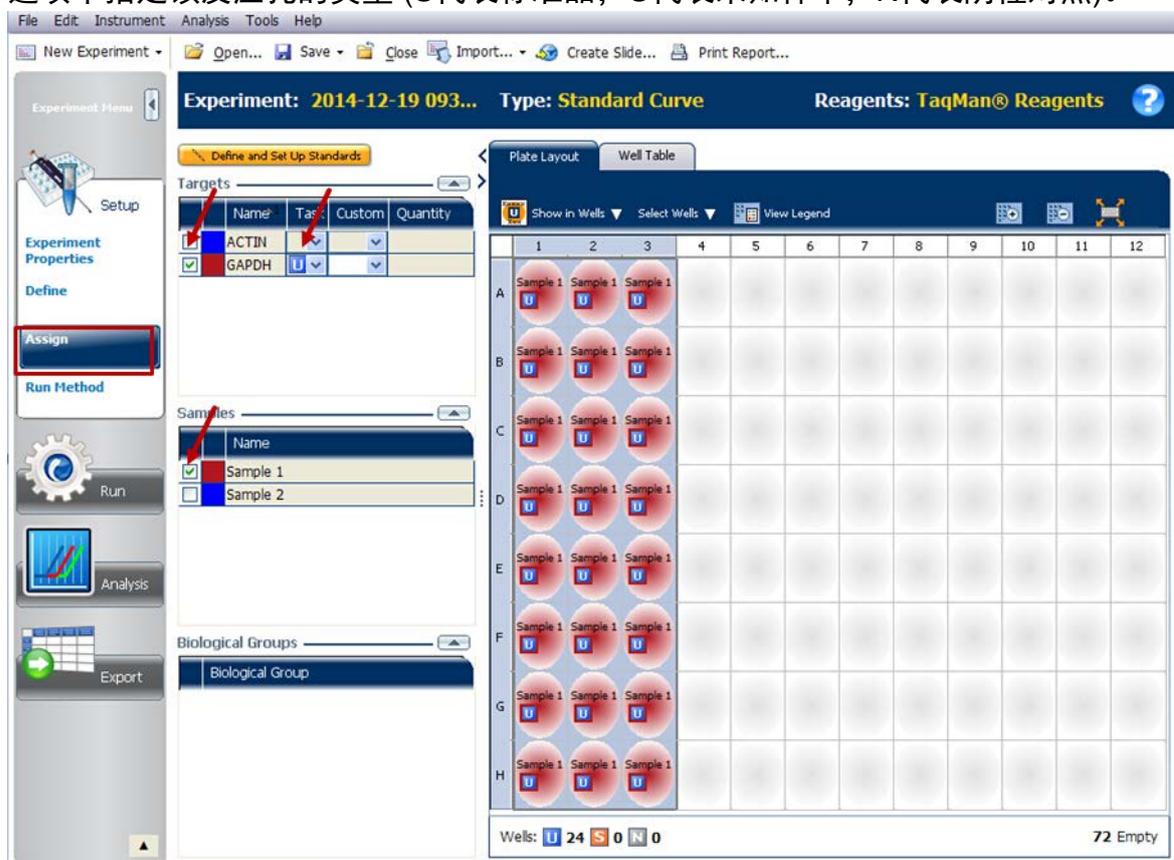
3.1 在“Targets”下点击“New”，添加待测基因。在“Target Name”中编辑基因名称；“Reporter”和“Quencher”中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于“Quencher”的选择，如果是MGB探针，请选择NFQ-MGB；如果是TAMRA探针，请选择TAMRA；如果是其他形式的非荧光淬灭基团则选择“None”。

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



4. 选择“Setup”下的“Assign”界面，编辑样品板。

4.1 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 (S代表标准品，U代表未知样本，N代表阴性对照)。



4.2 设置标准曲线：利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔 (一般情况下，每个梯度设置至少三个副孔)，而后勾选左侧的基因，在“Task”选项中选择S，并在“Quantity”

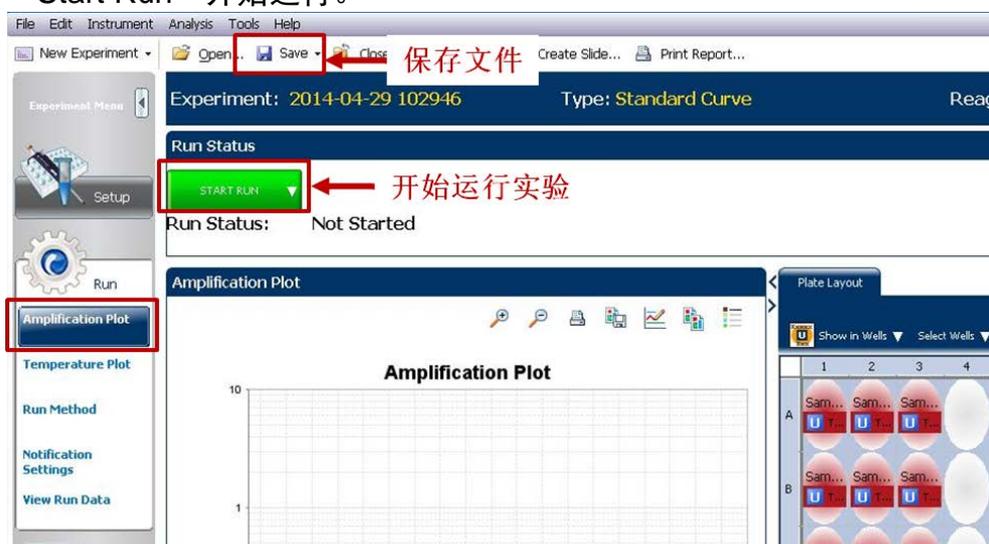
中输入标准品量。重复上述操作，完成标准曲线其他浓度点的设置 (建议设置至少5个梯度)。



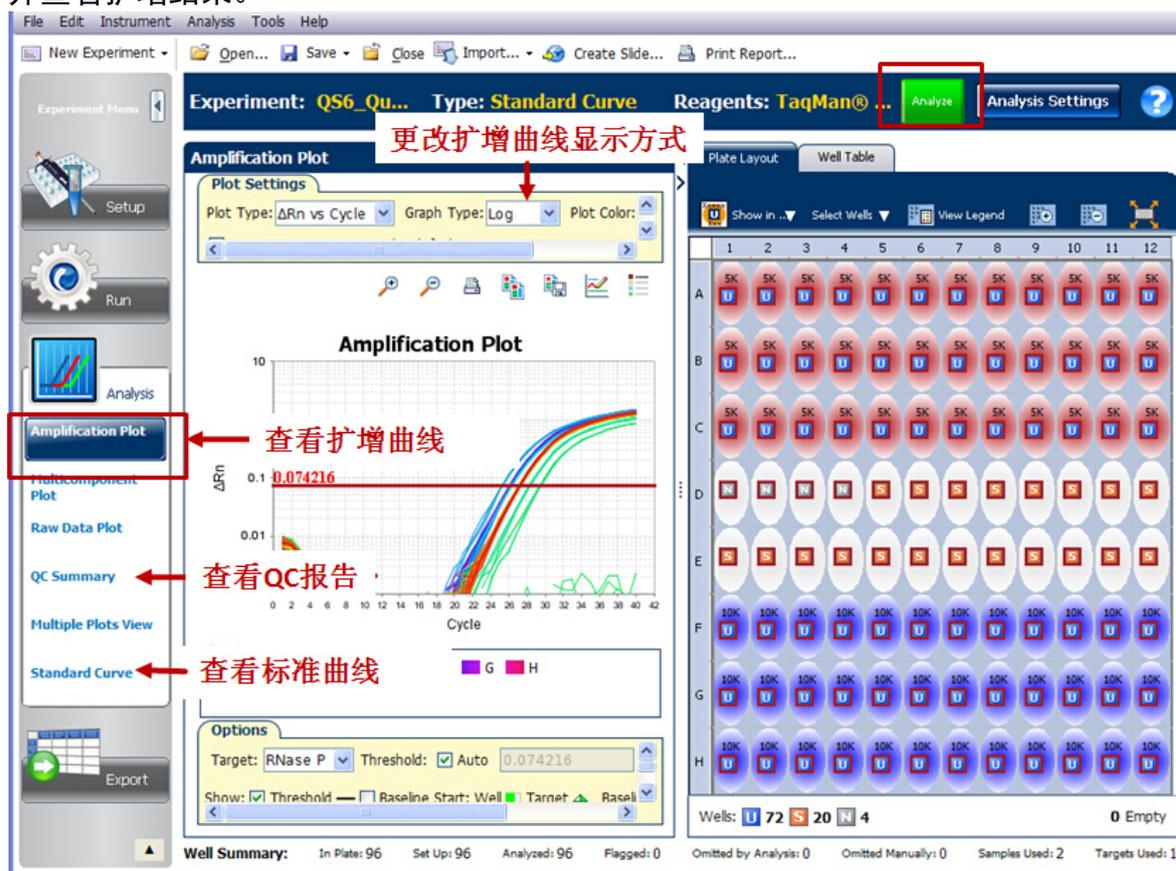
5. 选择“Setup”下的“Run Method”界面，编辑运行条件。



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。

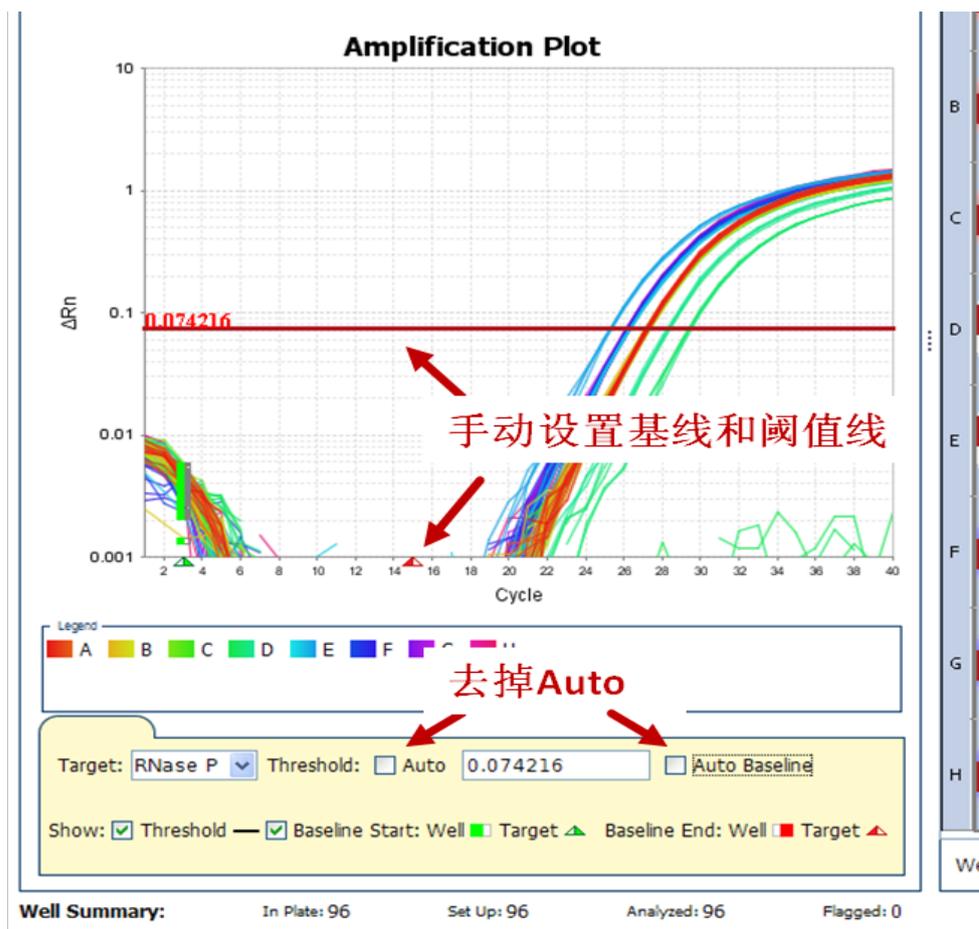


7. 实验运行结束后，进入“Analysis”界面，点击右上角的“Analyze”按钮分析数据并查看扩增结果。

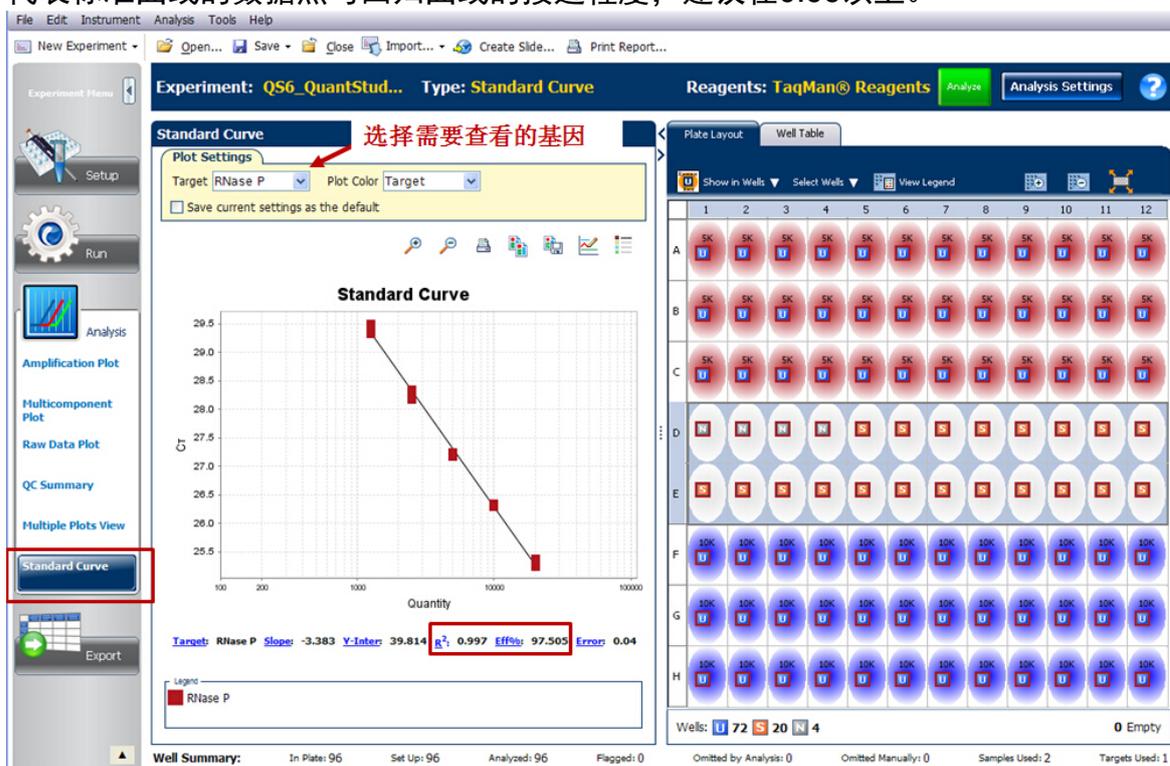


- 7.1 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和阈值线。查看阈值线或基线：选择需要查看的基因，将 show 后的“Threshold”及“Baseline”选择打勾。扩增曲线图上会出现相应的基线范围和阈值线。若需要手动设置基线和阈值线，则可去掉“Auto”的勾选，进行手动调节。

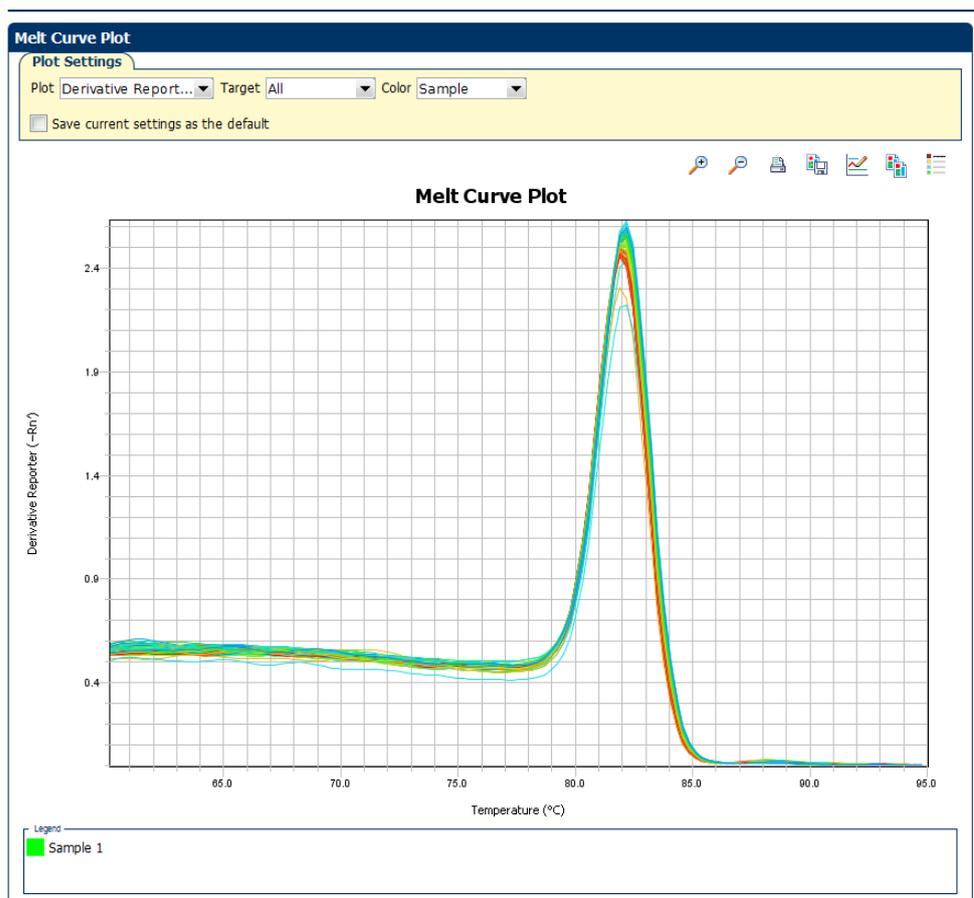




7.2 查看标准曲线：通过更改“Target”来选择查看的基因。Eff%代表扩增效率。R²值代表标准曲线的数据点与回归曲线的接近程度，建议在0.99以上。



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



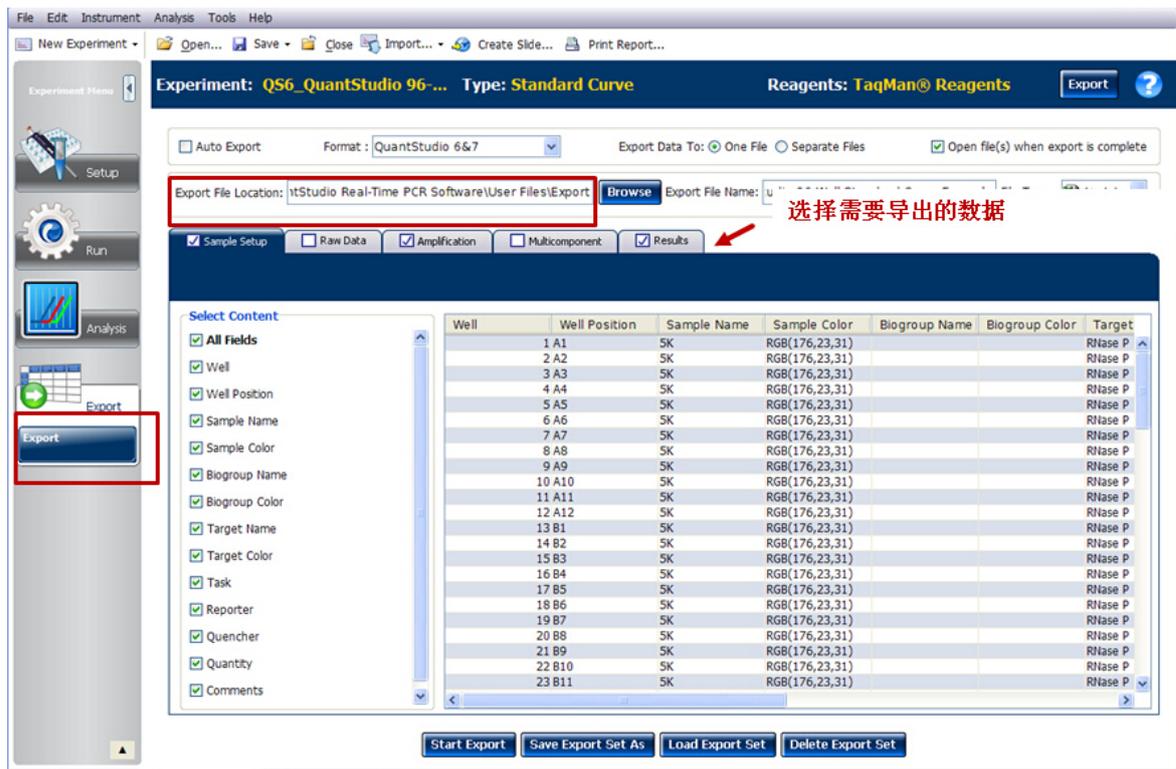
7.4 查看“QC Summary”结果：反应孔可能存在异常情况时，会出现黄色三角提示，数字1 代表有一种情况，2 代表有两种情况，以此类推。详细信息及解决方案可以在“Flag Details”中查看。

Flag	Description	Frequ...	Wells
AMPNC	Amplification in negative control	1	E1
BADROX	Bad passive reference signal	0	
OFFSCALE	Fluorescence is offscale	0	
HIGHSD	High standard deviation in replicate ...	0	
NOAMP	No amplification	0	
NOISE	Noise higher than others in plate	0	
SPIKE	Noise spikes	0	
NOSIGNAL	No signal in well	0	
OUTLIERG	Outlier in replicate group	0	
EXPFAIL	Exponential algorithm failed	0	
BLFAIL	Baseline algorithm failed	0	
THOLDFAIL	Thresholding algorithm failed	0	
CTFAIL	Cr algorithm failed	0	

Flag: AMPNC—Amplification in negative contr
Flag Detail: A sequence amplified in a negative cont reaction.
Flag Criteria: Ct < 35.0
Flagged Wells: E1
[View AMPNC Troubleshooting Information](#)

查看解决方案

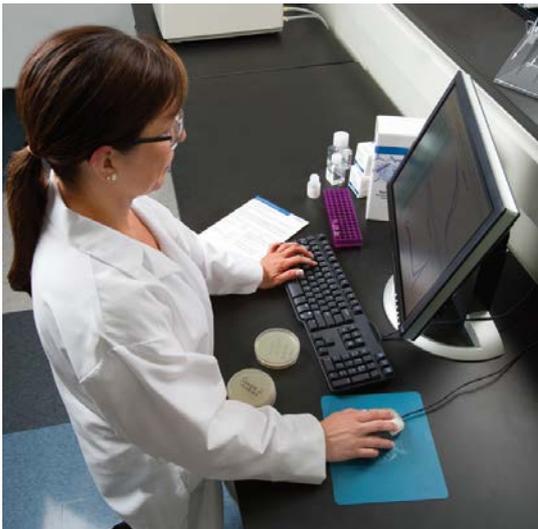
8. 数据导出：在Export界面下根据需要导出数据。





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：赛默飞世尔科技生命科学服务部

