

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)

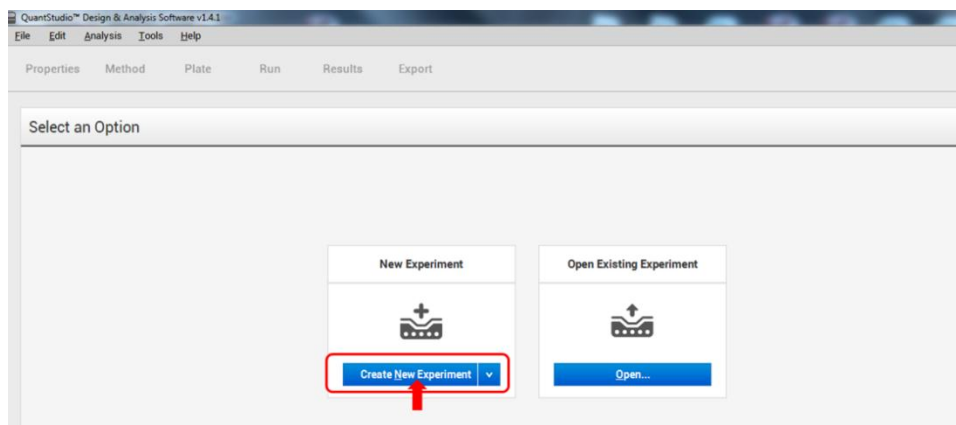


英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

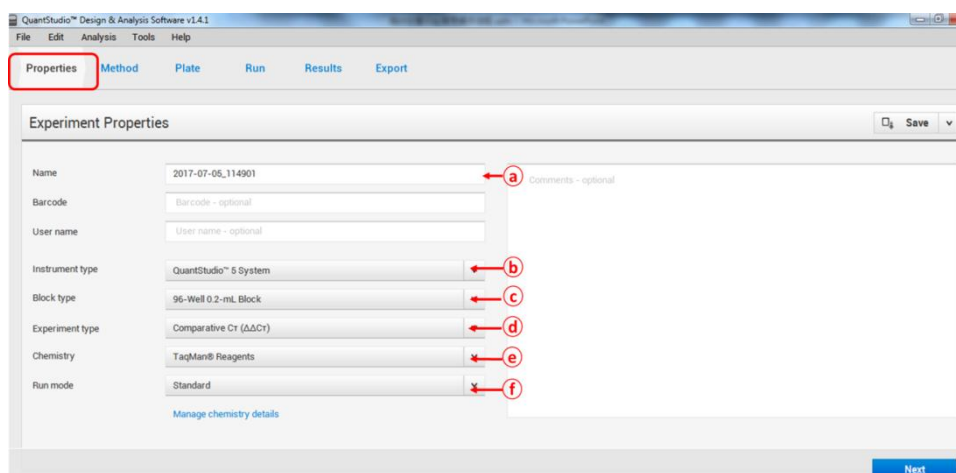
Applied Biosystems™ QuantStudio™ 3 & 5实时定量PCR仪

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。

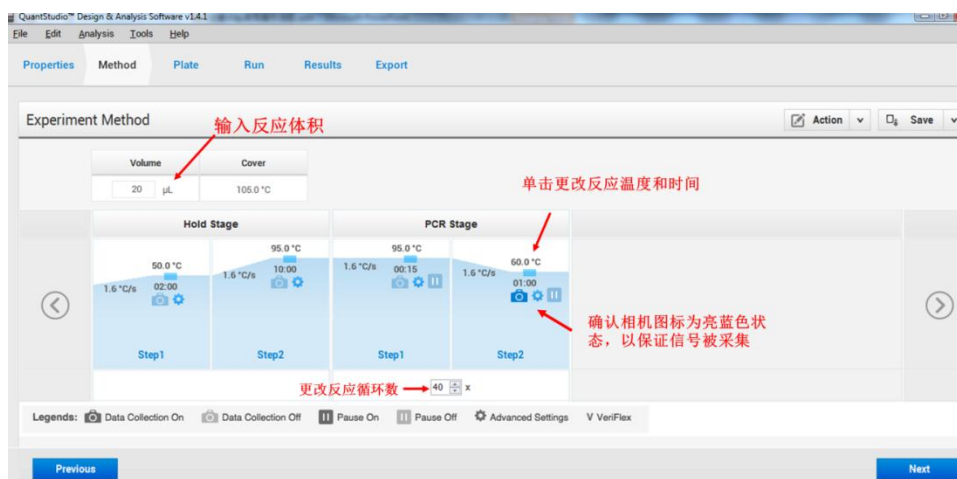
2. 进入主界面后，点击“Create New Experiment”。



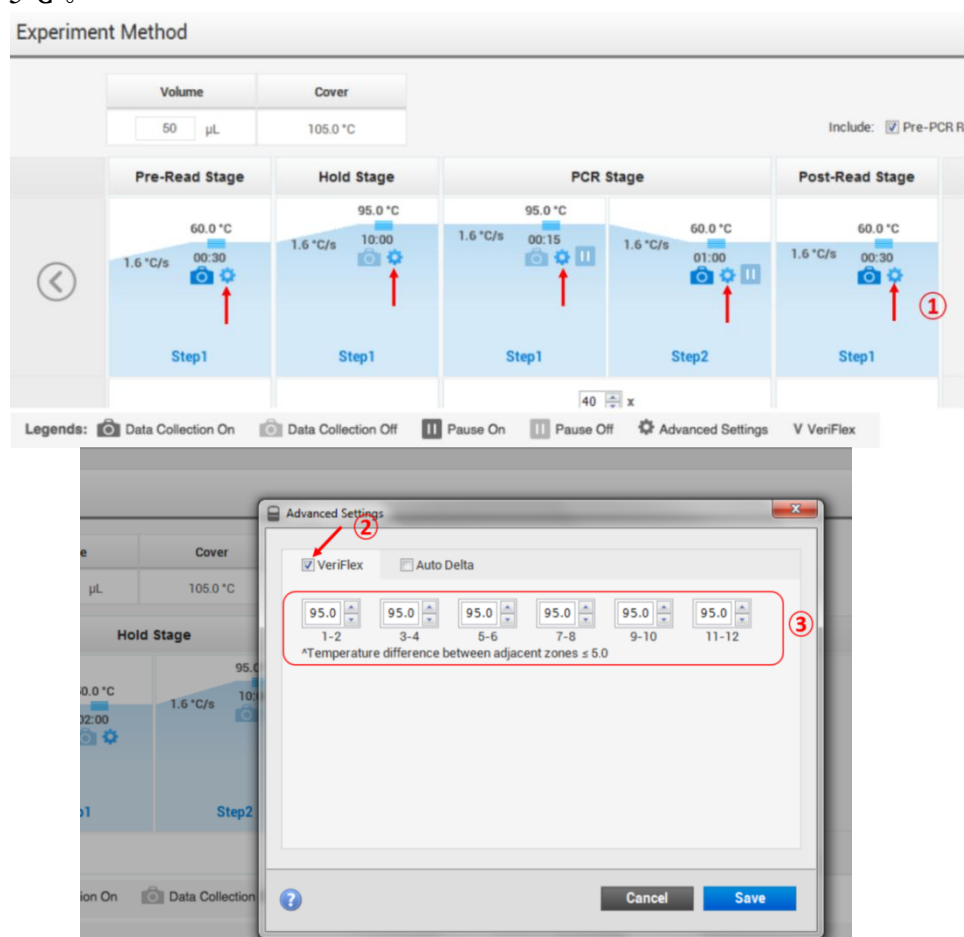
3. 在“Properties”界面设置实验属性：
 - a. 输入实验的名称；
 - b. 选择仪器型号；
 - c. 选择仪器的 Block（加热模块）类型；
 - d. 选择实验类型：“Comparative CT ($\Delta\Delta CT$)”；
 - e. 选择实验试剂类型：TaqMan 探针法选择“TaqMan Reagents”，SYBR 染料法选择“SYBR Green Reagents”，其他选择“Other”；
 - f. 选择运行模式（Run mode）：普通试剂选择“Standard”；快速试剂可选择“Fast”。



4. 点击“Next”进入“Method”界面，设置实验的运行程序。



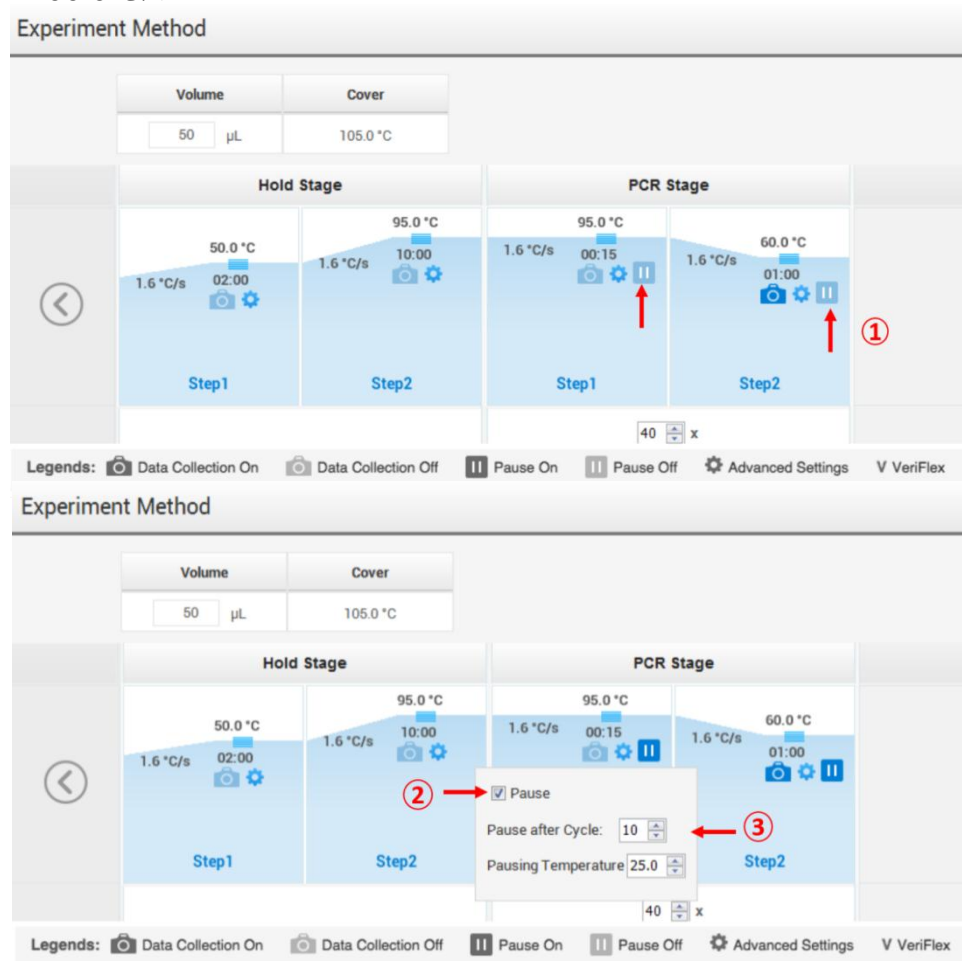
4.1 (可选) 设置梯度反应温度：① 单击 (Advanced Settings)；② 勾选 VeriFlex，③ 然后更改Block上相应区域的反应温度，相邻区域温度差异不能超过 5°C。



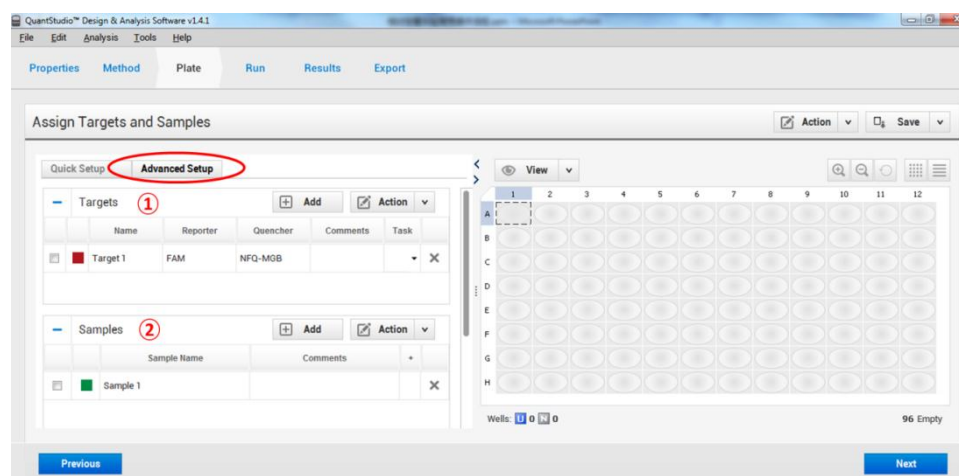
注：梯度反应温度设置仅限于96孔加热模块。QuantStudio 3 可设置3个梯度反应温度；上图为QuantStudio 5示例图，可设置6个梯度反应温度。

4.2 (可选) 设置暂停程序：单击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℃）。

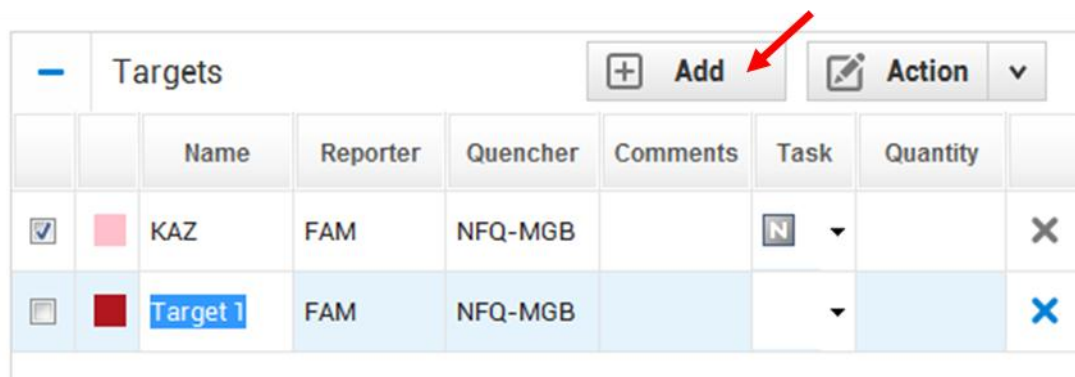


5. 进入“Plate”界面，点击“Advanced Setup” ① 设置待测基因名称（Target）；
② 设置样品名称（Sample）。

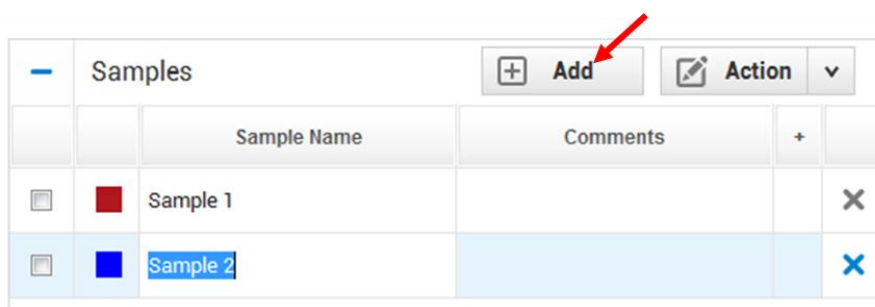


- 5.1 在“Targets”内点击“Add”，添加待测基因。在“Target Name”中编辑基因名称；“Reporter”和“Quencher”中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于

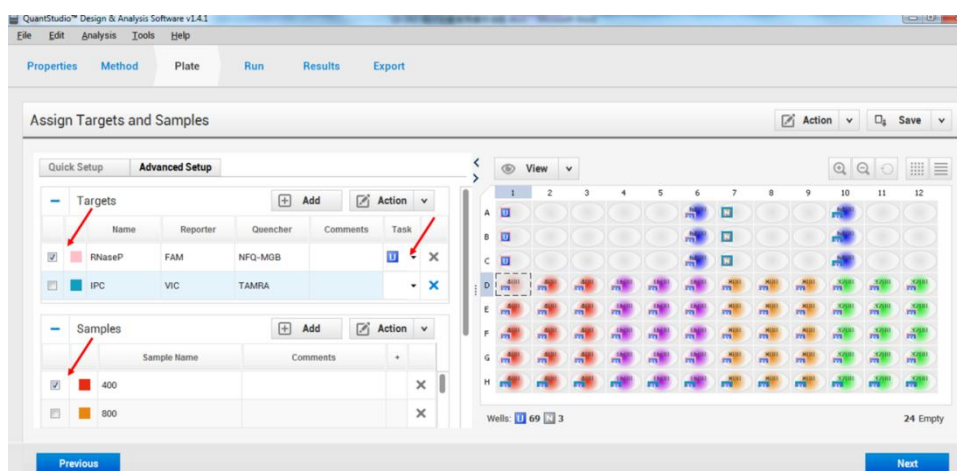
“Quencher” 的选择，如果是MGB探针，请选择NFQ-MGB；如果是TAMRA探针，请选择TAMRA；如果是其他形式的无荧光淬灭基团则选择 “None”。



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

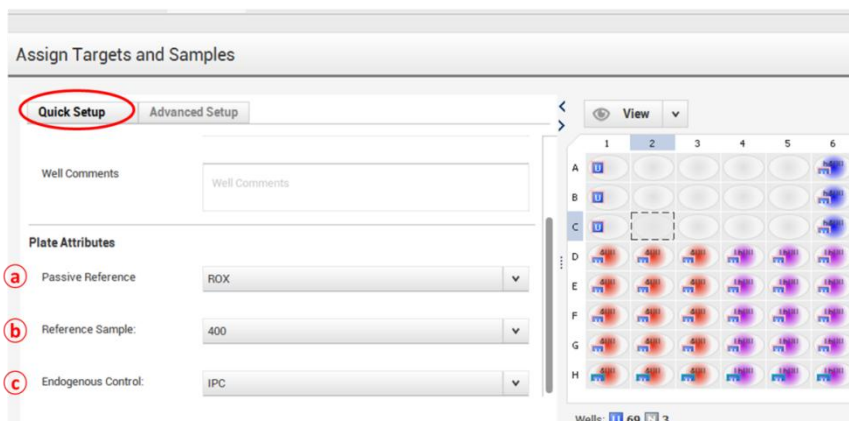


5.3 编辑反应样品板：利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔，然后勾选左侧的基因及样本，同时在 “Task” 选项中指定该反应孔的类型（U 代表未知样本，N 代表阴性对照）。

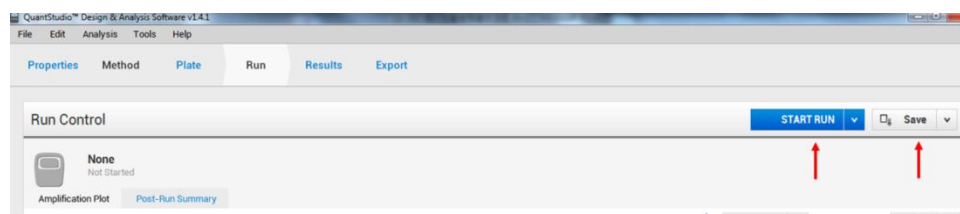


5.4 点击 “Quick Setup”，[Ⓐ] 设置参比荧光，如果试剂中不含 ROX 参比荧光，则改为 None；[Ⓑ] 设置 “Reference Sample”（对照样品），[Ⓒ] 设置 “Endogenous

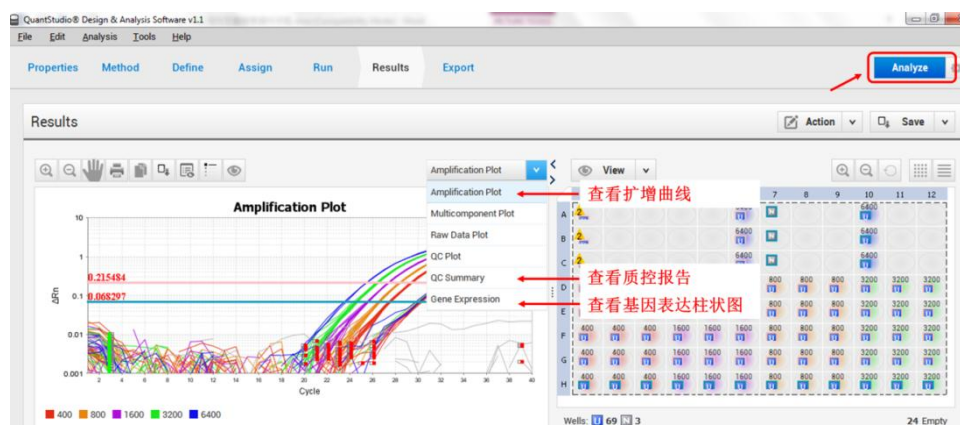
Control”（内参基因）。



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。

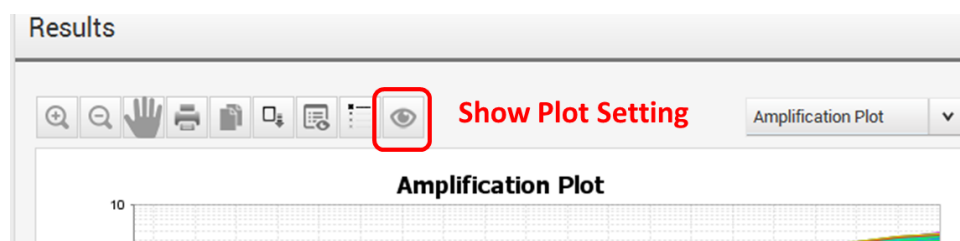


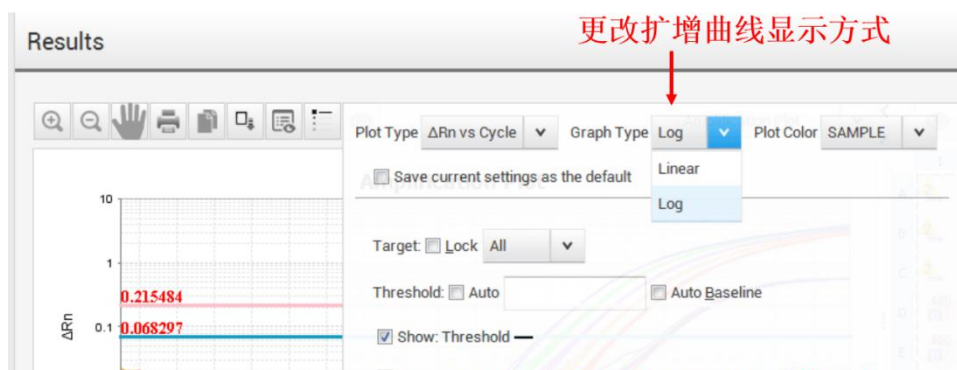
7. 实验运行结束后，进入“Results”界面，点击右上角的“Analyze”按钮分析数据并查看结果。



8. 结果分析

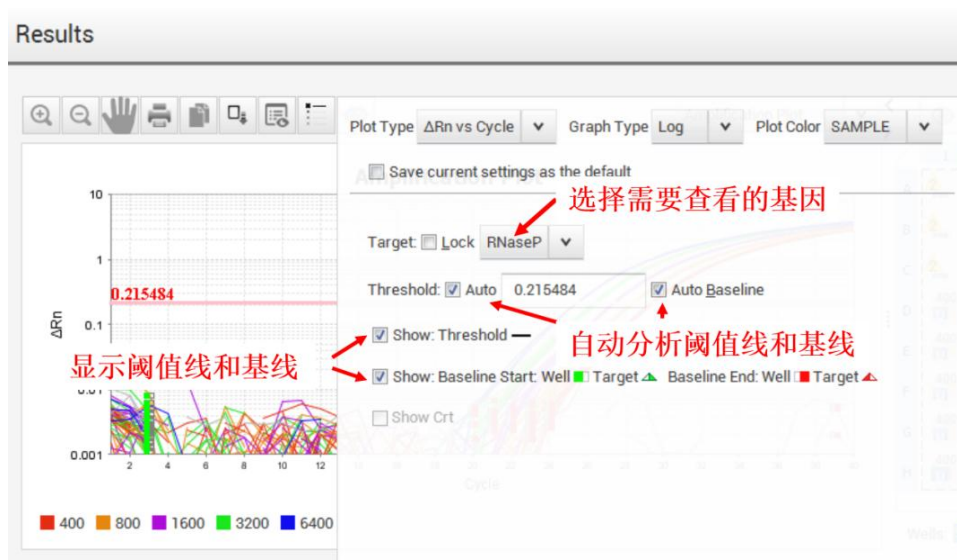
- 8.1 更改扩增曲线显示方式：单击（Show Plot Setting），在“Graph Type”中可更改扩增曲线的显示方式（Log 或 Linear 图）。



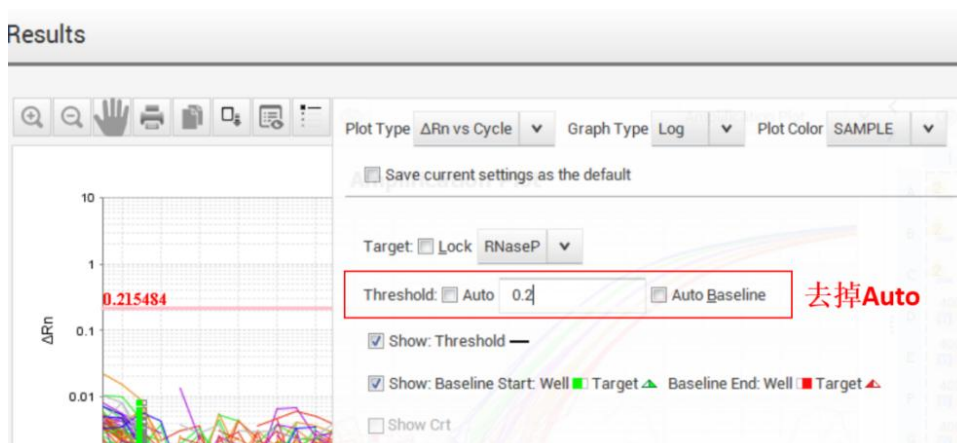


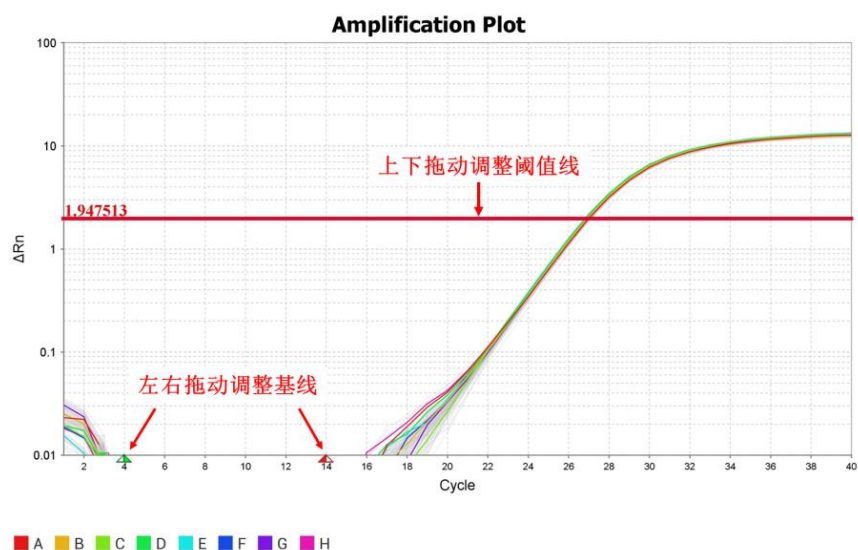
8.2 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和阈值线。

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。

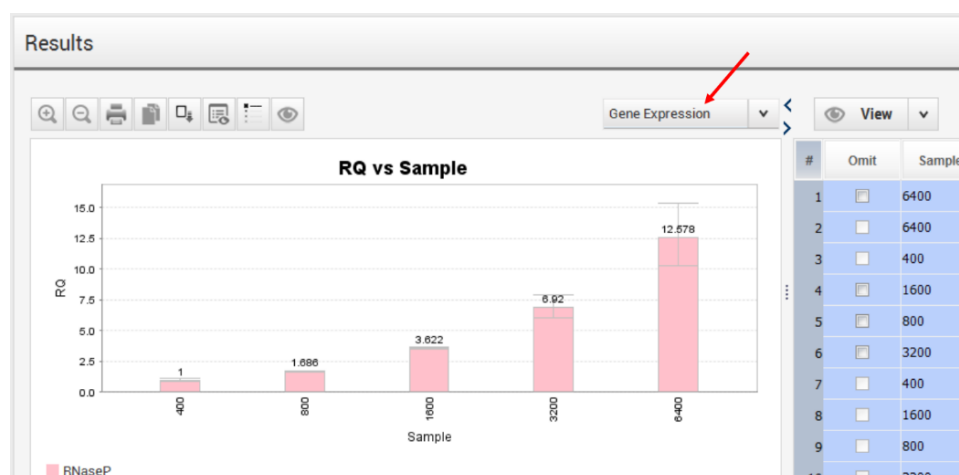


8.2.2 手动设置基线和阈值线：去掉“Auto”的勾选，然后输入阈值，或用鼠标拖动阈值线和基线进行手动调节。设置好后，点击“Analyze”分析结果。

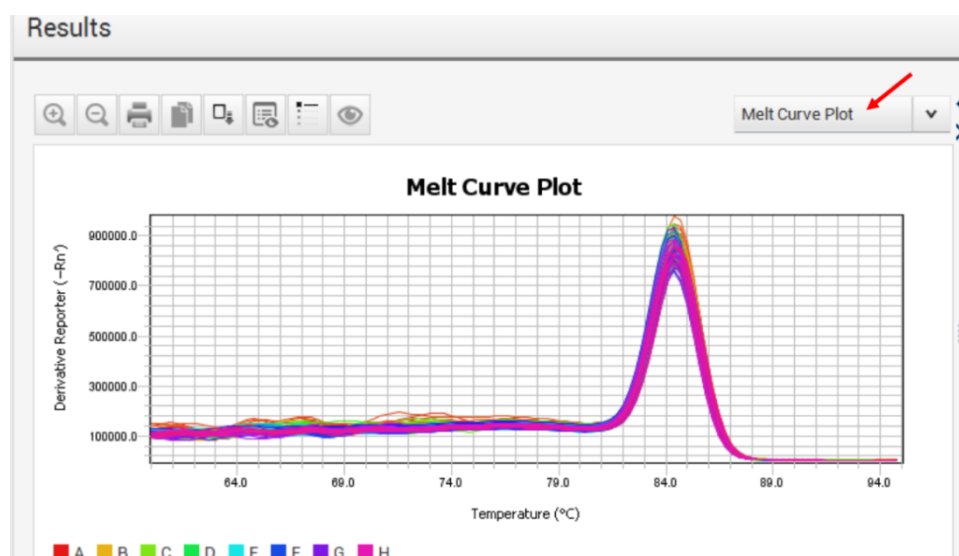




8.3 选择“Gene Expression”查看基因表达柱状图。

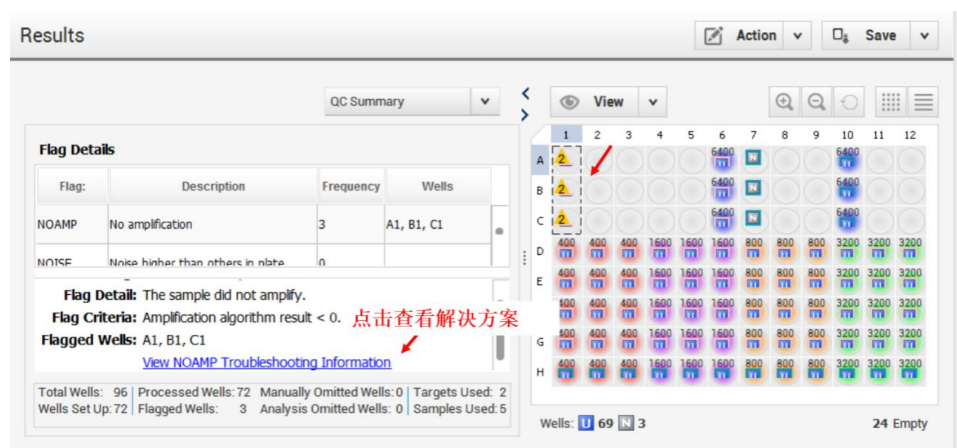


8.4 对于 SYBR Green 实验，可以选择“Melt Curve Plot”，查看熔解曲线。

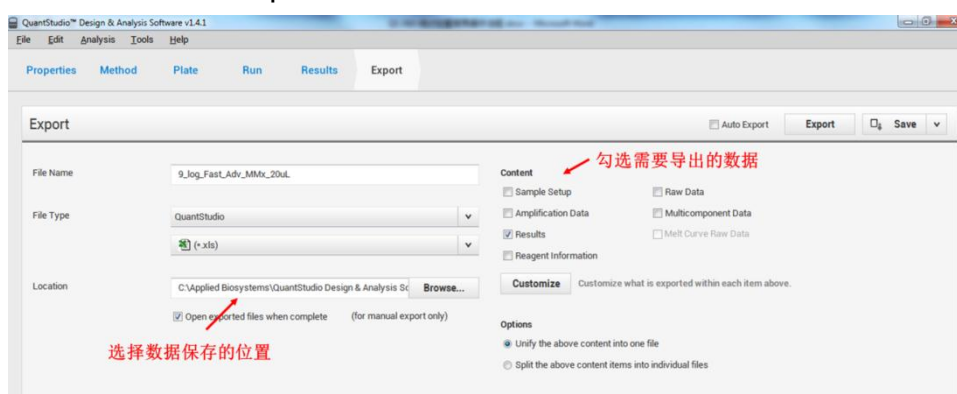


8.5 查看“QC Summary”结果：反应孔可能存在异常情况时，会出现黄色三角提示，

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

