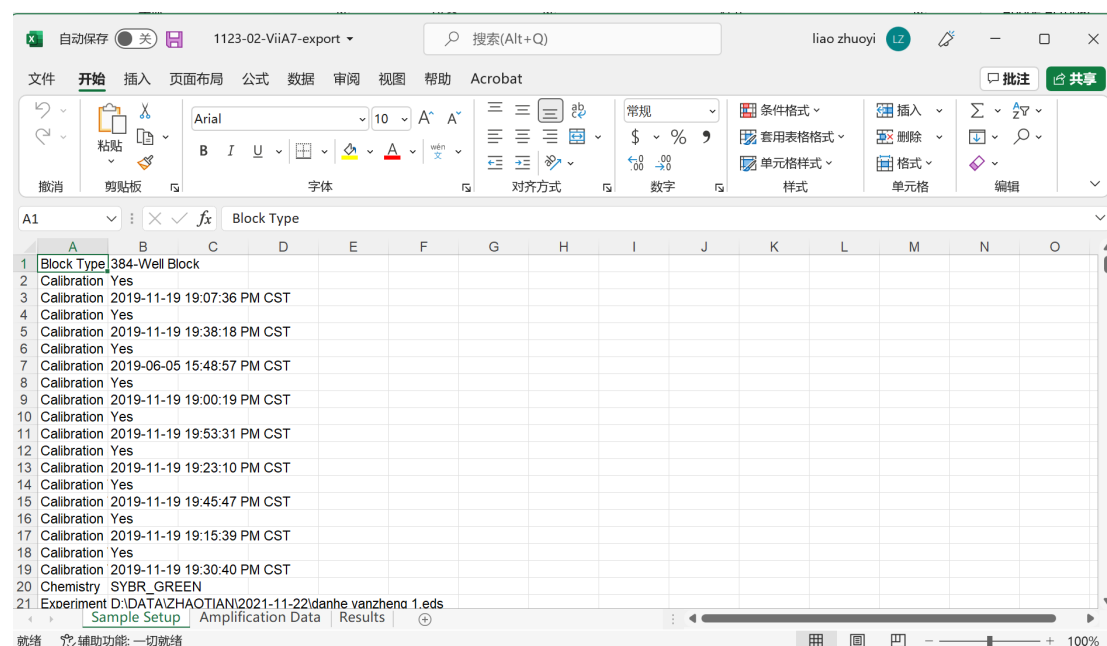


PCRv1.5 网页工具使用指南 (2022-04-25):

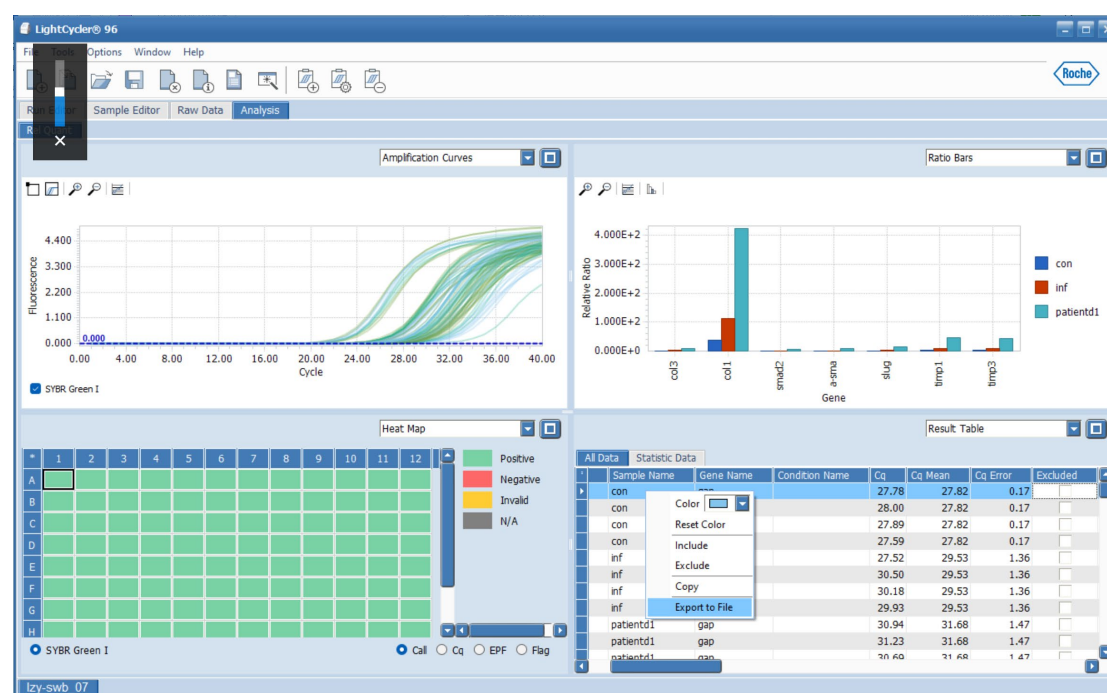
网址: [PCR Calculator v1.5 \(shinyapps.io\)](http://PCR-Calculator.v1.5(shinyapps.io))

1. 上传文件

384 PCR, 上传文件格式为 **xlsx** 或 **xls**, 软件直接导出即可, excel 源文件如下图:



96PCR, 上传文件格式为 **txt**, 软件直接导出即可, 操作如下图所示:



2. 选择对应的 PCR 类型
3. 输入内参基因（忽略大小写，暂不支持多个内参基因）
4. 输入对照组名称（忽略大小写）
5. 点击 “Analyse!” 即可进行自动化分析

以 384 文件为例：

The image shows a web interface for PCR analysis. It is divided into three main sections, each highlighted with a red box and a number:

- Section 1 (Data):** Contains an "Upload..." button, a file name "2022.4.23 DPSC.xls", and an "Upload complete" button. A red arrow points from this section to the text "上传 excel (384) 或 txt 文件 (96)".
- Section 2 (PCR type):** Contains a dropdown menu with "384" selected. Below it are input fields for "Reference gene" (containing "gapdh") and "Reference group" (containing "sy1"). Red arrows point from these fields to the text "输入内参基因" and "输入对照组名称" respectively.
- Section 3 (Download tutorial):** Contains a "Download tutorial" link with a download icon. A red arrow points from this section to the text "下载说明书".

At the bottom of the interface is a large green button labeled "Analyse!".

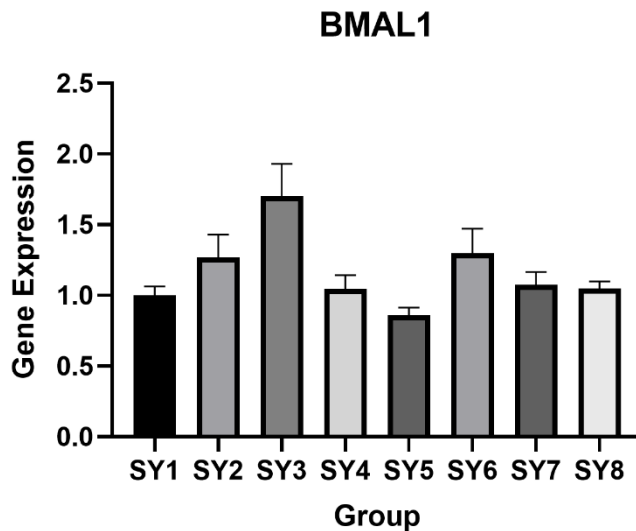
分为孔板加样情况 (Summary)、基因表达量换算表 (Table) 以及柱状图 (Plot)

孔板加样情况, 各样本分组以不同形状表示, 各基因以不同颜色表示, 空白处为无法检测到 CT 值的孔。

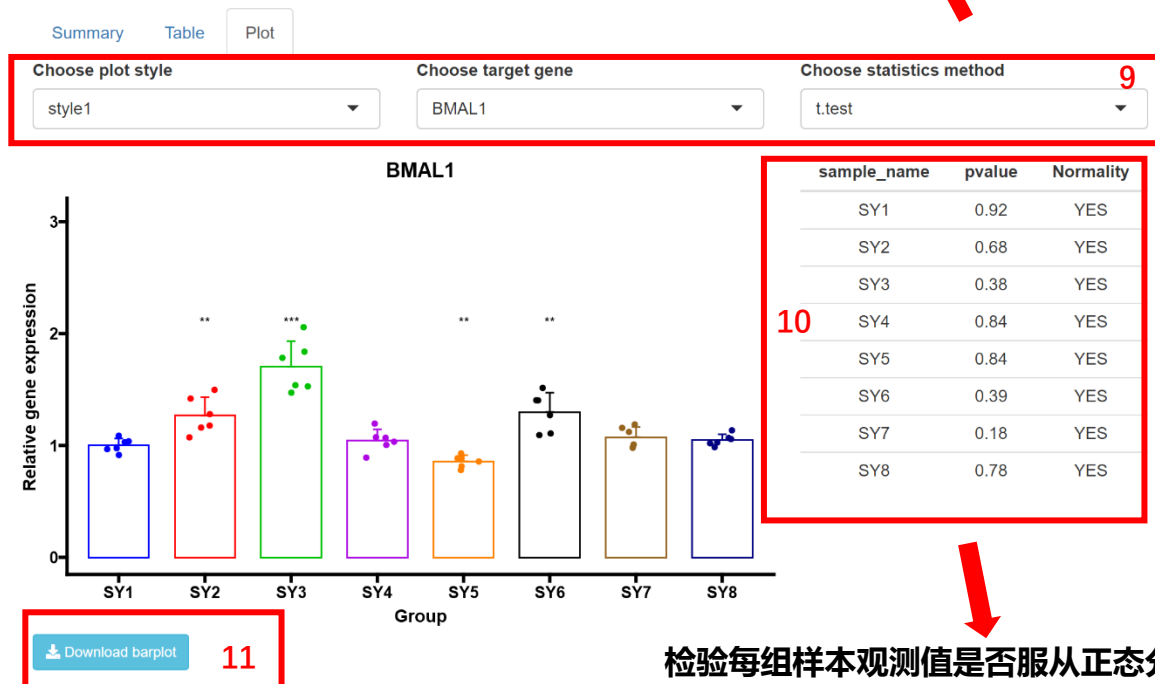


异常情况提示, 若有某基因-样本组少于 3 个复孔, 则会给出提示;
另外, 若复孔中存在明显异常值 (复孔的 CT 值距离平均值 >2 个标准差, 即 $p<0.05$), 也会给出提示。若要去除异常值重新分析, 可以根据提示在原文件 (txt 或者 excel 文件) 中将对应孔的 CT 值改为 “-”, 重新上传文件即可

点击 Graph，就可以生成柱状图



柱状图参数，可选择作图 style，目标基因和统计方法 (t.test 是参数检验方法，观测值需服从正态分布，wilcox.test 是非参数检验方法，观测值无须服从正态分布)



ns: $p > 0.05$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$; ****: $p \leq 0.0001$

下载柱状图

检验每组样本观测值是否服从正态分布，

若有任何一组不服从正态分布。应考虑使用

非参数检验方法 (t.test 对应的非参方法为

Wilcox.test, one-way anova 对应的非参方

法为 Kruskal-Wallis 检验)