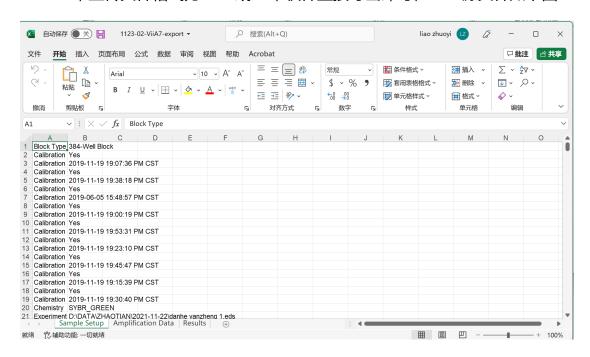
PCRv1.0 网页工具使用指南 (2022-04-19):

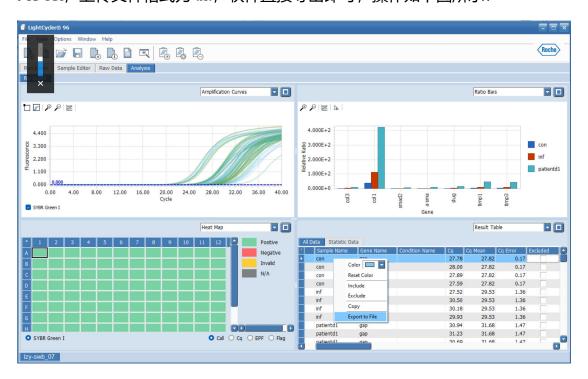
网址: PCR Calculator v1.0 (shinyapps.io)

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:

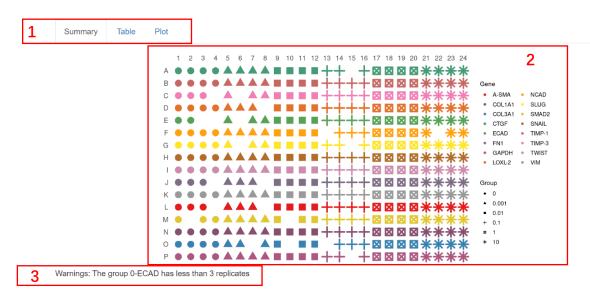


96PCR, 上传文件格式为 txt, 软件直接导出即可, 操作如下图所示:



- 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. 可选择预览的行数
- 6. 点击 "Analyse!" 即可进行自动化分析

以 384 文件为例:



工作区1:

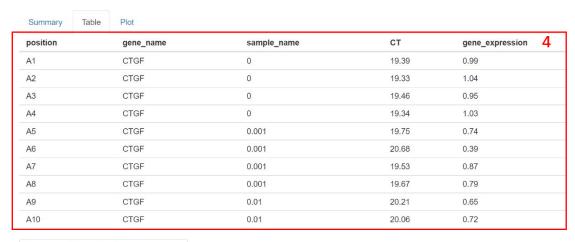
主要功能分区,分为孔板加样情况(Summary)、基因表达量换算表(Table)以及柱状图 (Plot)

工作区 2:

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。

工作区 3:

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(复孔间CT值差异>2),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。



▲ Download excel files for Graphpad prism

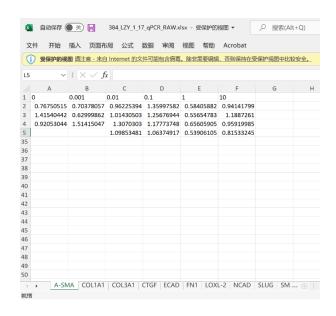
工作区 4:

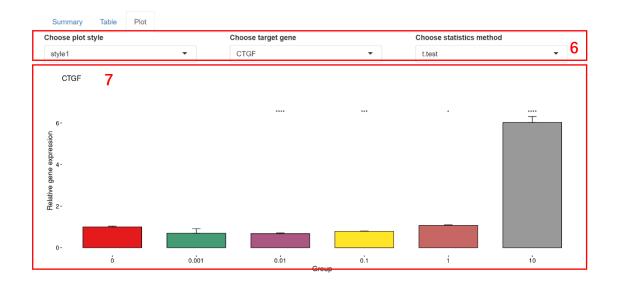
根据 $gene_expression = 2^{-\Delta\Delta CT}$ 的相对定量公式计算出相应的基因表达量。

工作区 5:

下载对应的 excel 文件,方便后续在 Graphpad Prism 中进行后续作图。

Excel 文件如图所示:





工作区 6:

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,观测者无须服从正态分布)

工作区 7:

PCR 柱状图区