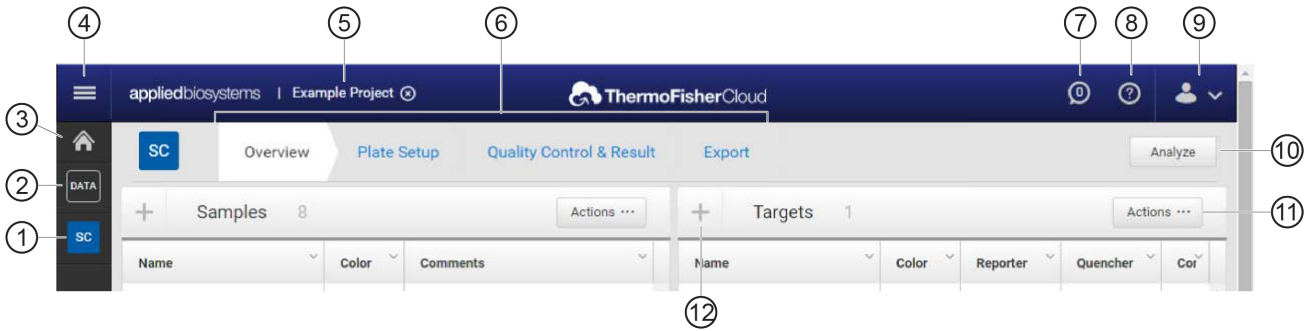


# 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



- 1. Analysis Modules (分析模块)** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
- 2. DATA (Data Manager (数据管理器))** — 单击以查看 Data Manager (数据管理器)，该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
- 3. Home (Project Manager (项目管理器))** — 单击以查看 Project Manager (项目管理器)，该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
- 4. Account Management Menu (帐户管理菜单)** — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
- 5. Project name (项目名称)** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击 关闭项目。
- 6. Project tabs (项目选项卡)** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
- 7. Notifications (通知)** — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信信息数量。
- 8. Help (帮助)** — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
- 9. Profile Menu (个人资料菜单)** — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
- 10. Analyze (分析)** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
- 11. Zoom (缩放)** — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击 (Close (关闭))，将曲线或表格折叠至原始尺寸。
- 12. Actions (操作)** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)

## 总览窗口

Applied Biosystems™ 分析软件的 Overview (总览) 窗口将采用实验 (已添加到项目) 中出现的样品和目标基因进行自动填充。此外，该窗口还可显示为分析数据而创建的所有分析组。用户可通过 Overview (总览) 窗口审查和编辑 (如果需要) 分析方法中使用的样品、目标基因和分析组。

要查看 Overview (总览) 窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Overview (总览)**。

**备注：**项目创建后，该软件将使用实验 (已添加至新项目) 的分析设置生成默认分析组。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 创建或编辑分析组</li> <li>• 创建或编辑分析组</li> <li>• 管理样品和检测</li> <li>• 管理样品和检测</li> <li>• 添加对照标识符</li> <li>• 通过 AIF 文件导入目标基因信息</li> <li>• 生成参考品文件</li> <li>• 导入和应用参考品文件</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 检测信息文件</li> </ul>

## 总览窗口使用提示

- 单击 Overview（总览）窗口中表格的列标题，对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。
- 单击任何表中的 + 均可放大视图。放大后，单击表中的 < 可将视图恢复至原始尺寸。
- Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。
- Applied Biosystems™ 软件可直接通过设计文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）导入样品信息。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 创建或编辑分析组

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验（已添加至项目）的分析设置生成默认分析组。如有需要，可创建附加分析组以探究其他分析设置配置（例如，手动与自动阈值设定、严格与宽松质量阈值等）。

1. 请在 Overview（总览）窗口的 Analysis Groups（分析组）表中执行以下操作之一：
  - 选择 **Actions（操作） > Add（添加）** 新建分析组。
  - 选择现有组，然后选择 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）**。转至步骤 4。
2. 在 Analysis Settings（分析设置）对话框中，输入以下信息，然后单击 **Next（下一步）**。
  - **Group Name（组名称）** — 为分析组输入名称（最多 50 个字符）。
  - （可选）**Description（描述）** — 为分析组输入描述（最多 256 个字符）。
  - **Samples（样品）** 或 **Experiments（实验）** — 选择以下选项，确定 Applied Biosystems™ 软件的分析组应用对象。

例如，如果选择 "Sample"（样品），则软件允许用户将分析组应用于项目中样品的子集。相反，如果选择的是 "Experiments"（实验），则软件仅允许用户将分析组应用于项目中所添加的部分实验或反应板。

3. 在分析组中：在 Content（内容）对话框中，选择将分析组的样品或实验，然后单击 **Next（下一步）**。

4. 在分析组中：在 Analysis Setting（分析设置）对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
内源对照	<p>选择 Applied Biosystems™ 软件将用于归一化数据和识别内源性对照（如果使用）的方法：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>选择以下选项，指定内源性对照： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Use specific endogenous control（使用特定内源性对照）</b> — 选择该选项，在目标基因列表中指定一个或多个内源性对照。</li> <li><b>Use global normalization（使用整体归一化）</b> — 选择该选项，Applied Biosystems™ 软件将对 <math>C_T</math> 得分采用归一化算法以计算相对表达量。</li> </ul> </li> <li>如果选择使用特定内源性对照，请在列表选择一个或多个目标基因作为选定分析组的内源性对照。</li> </ol>
RQ 设置	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Analysis Type（分析类型）</b> — Multiplex 或 Singleplex。在 Multiplex 分析中，目标基因与内源性对照基因在同一孔中；而在 Singleplex 分析中，目标基因与内源性对照基因在不同的孔中。进行 Multiplex 分析时，在孔水平下计算 <math>\Delta C_T</math>（或 <math>\Delta C_{RT}</math>）。</li> <li><b>Reference Sample（参比样品）和 Reference Biological Group（参比生物学组）</b> — 选择要作为参比的样品和/或生物学组。将样品或其他生物学组与该参比进行比较，以确定目标基因的相对表达量。</li> <li><b>Confidence level (exclude results below this level)（置信水平（排除低于该水平的结果））</b> — 选择该选项，计算选定置信水平下的 RQ 最小值和最大值。选择要使用的置信水平。（RQ 最小值/最大值根据标准误差确定）。</li> <li><b>Limit by standard deviations（受限于标准偏差）</b> — 选择该选项，根据选定的标准偏差数计算 RQ 最小值和最大值。选择要使用的标准偏差数。（RQ 最小值/最大值根据标准偏差确定）。</li> <li><b>Benjamin-Hochberg false discovery rate for p-values（p 值 Benjamin-Hochberg 错误发现率）</b> — 选择该选项，使用 Benjamin-Hochberg 统计学方法调整目标分析的 p 值。</li> <li><b>Maximum allowed CT（最大允许 CT）</b> — 输入最大允许 <math>C_T</math>（或 <math>C_{RT}</math>）值。任何大于该值的值都将向下取整至该值。</li> <li><b>Include maximum CT values in calculation（将 CT 最大值纳入计算公式）</b> — 选择是否将取整后的值纳入任何计算公式。</li> </ul>
效率	<p>如果目标基因的扩增效率不是 100%，请单击效率 (%) 列，然后输入介于 1% 与 150% 之间的百分比以修正扩增效率。</p>

组	设置
Cq 设置	<p>为 Applied Biosystems™ 软件选择方法 (C<sub>T</sub> 或 C<sub>RT</sub>)，用于计算目标分析组的 Cq (C<sub>T</sub>) 值：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>CT method (CT 法)</b> — 定义各目标基因是否采用自动阈值和/或基线设定。如果使用手动设置，请为相应目标基因输入人工阈值和基线值。</li> <li>• <b>CRT method (CRT 法)</b> — 指定循环数，软件将在定义 C<sub>RT</sub> 计算公式的相对阈值时使用该值作为最小参数。</li> </ul> <p><b>备注：</b>如果使用基线和阈值的全局标准化 C<sub>T</sub> 设置集，则可以通过 CT 设置文件应用全局设置。要生成文件，请在根据需求完成 Cq 设置后单击 <b>Export CT Settings (导出 CT 设置)</b>。导出的文件随后可用于设置后续项目，方法是将该文件导入。</p>
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 Use (使用) 列中，选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li> <li>2. 如果列出了标记的属性、条件和值，则可指定标记应用设置。  例如，采用无扩增标记 (NOAMP) 的默认设置时，扩增算法计算结果低于 0.1 的孔将被标记。  <b>备注：</b>如果选择调整标记应用设置，请在评估相应设置时进行微调。</li> <li>3. 在 Reject (拒绝) 列中，如果需要软件拒绝带标记的孔，请选中相应复选框。在数据分析时，已拒绝的孔将不纳入考虑。</li> </ol>
板内校准品设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件是否使用板内校准品执行分析。</p> <p>IPC 是一种 qPCR 阳性对照、模板以及可添加至项目中 qPCR 实验以作为归一化方法的检测方法。为聚类分析添加实验后，可通过比较板内校准品性能来解释仪器性能上的微小差异。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 确定目标基因和样品组合以将其用作板内校准品。  <b>重要信息！</b>项目内添加的所有实验的反应板中必须含有板内校准品。每个反应板必须包括至少三个技术重复以确保校准品的最佳性能。</li> <li>2. 单击 <b>Add Inter-plate Calibrator Settings (添加板内校准品设置)</b>，然后双击 Target (目标基因) 列和 Sample (样品) 列中的表单元格，选择用作板内校准品的目标基因和样品。</li> <li>3. 重复之前的步骤，向分析设置中添加其他板内校准品。</li> <li>4. 如有需要，请选择 <b>Allow calculation of delta Cq across all plates in the analysis group (允许在分析组中的所有板范围内计算 ΔCq)</b>，激活 ΔCq 值的跨板计算公式。</li> </ol> <p><b>备注：</b>要删除板内校准品设置，请在表格中选择相应行并单击 <b>Delete Inter-plate Calibrator Settings (删除板内校准品设置)</b>，然后单击 <b>OK (确定)</b>。</p>

组	设置
SC 设置	<p>如果使用相对标准曲线进行相对定量分析，请指定 Applied Biosystems™ 软件执行分析时所采用的标准曲线设置。</p> <p>相对标准曲线根据标准品稀释系列生成，此稀释系列可与未知样品出现在同一反应板中，也可在其他反应板中单独运行。在两种情况下，标准品的数据都将被归一化为内源性对照的扩增数据，然后用于生成定量标准曲线。要建立标准曲线，必须使用 SC 设置来指定标准品的位置，并在软件所检出的曲线中进行选择。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>选择标准曲线的位置： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>On Plate Standard Curve (板内标准曲线)</b> — 如果标准曲线反应与未知样品在同一反应板中进行，则选择该选项。 如需使用板内标准曲线对其他实验进行分析，请单击 <b>Export (导出)</b> 并保存文件。</li> <li><b>External Standard Curves (外部标准曲线)</b> — 如果标准曲线反应其他反应板上单独进行，则选择该选项。 <b>重要信息！</b> 必须先外部标准曲线从相关实验中导出，然后才能执行导入操作。</li> </ul> </li> <li>(仅限外部曲线) 单击 <b>Import (导入)</b>，然后选择要从中导入标准曲线数据的实验。</li> <li>在 Standard Curves (标准曲线) 表中选择要使用的标准曲线。</li> </ol> <p><b>备注：</b> 要从分析方法中删除外部标准曲线，请在 Standard Curves (标准曲线) 表中选中该曲线，单击 <b>Delete (删除)</b>，然后单击 <b>OK (确定)</b>。</p>

5. 分析方法设置完成后，单击 **Finish (完成)**。

6. 单击 **Analyze (分析)**，重新分析项目。

相关主题：

[设置项目](#)

## 添加对照标识符

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户手动识别已添加至项目的实验中所用的对照。对照标识符可以是适用于整个项目的标识符（影响项目中的所有检测）也可以是检测特定的标识符（仅适用于单个检测）。

- 在 Overview (总览) 窗口的 Assays (检测) 列表中，单击 **Actions (操作) > Control Identifiers (对照标识符)**。
- 在 Control Identifiers (对照标识符) 对话框中，选择 **Override Control Settings from Experiments (覆盖实验中的对照设置)**。

当该复选框处于：

- 选中状态** — 软件将使用您在 Control Identifiers (对照标识符) 选项卡 (下方步骤 3 和步骤 4) 中设置的对照标识符，并覆盖原始实验文件中的所有对照标识符 (任务) 设置。如果样品 ID 与对照标识符不符，则软件将假定该样品为 Unknown (未知)。
- 取消选中状态** — 软件将使用原始实验中设置的对照标识符 (任务)。

3. 在 **NTC**（无模板对照）和 **Negative Controls**（阴性对照）字段中，输入用于识别所有检测的相关对照的项目范围标识符。
4. 在 Assays（检测）表中，输入或选择用作各检测对照的样品。用户可在各字段中手动输入样品名称，或双击字段从列表中选择样品。

选项	输入或选择样品用作...
阴性对照	特定检测的阴性对照。
PC VIC/VIC	特定检测中 VIC™ 染料标记探针靶向序列的纯合子阳性对照。
PC VIC/FAM	特定检测的杂合子阳性对照。
PC FAM/FAM	特定检测中 FAM™ 染料标记探针靶向序列的纯合子阳性对照。

**备注：**默认情况下，Assays（检测）表中的设置与项目范围设置相同；但是，如果用户修改了检测设置，则所做更改仅适用于选定检测（覆盖选定检测的项目设置）。

**备注：**如果需要，请单击 Reset（重置）符号，将检测设置恢复至项目级设置。

5. 单击 **OK**（确定）保存所作更改。

相关主题：

[设置项目](#)



## 通过设计文件导入样品信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可通过从项目中导出的设计文件或使用文本编辑器或电子表格应用程序创建的设计文件直接导入样品信息。设计文件的格式可以为由制表符分隔的文本 (.txt) 或者由逗号分隔的文本 (.csv)。下图示出了所导出文件的结构。

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	样品名称	组						
B	脂肪 1	脂肪						
C	脂肪 2	脂肪						
D	膀胱 1	膀胱						
E	膀胱 2	膀胱						

使用以下准则编辑文件：

- **行 A** — 文件的第一行必须包含 **sample name**（样品名称）和 **group**（组）列标题。
- **列 1（样品名称）** — 在每行输入单个样品的名称（最多 100 个字符）。
- **列 2（组）** — 在每行输入您希望向其分配样品的生物学组的名称。

**备注：**如果您未使用生物学组，则将第二列留空。Applied Biosystems™ 软件无法导入空白条目。

- 如果设计文件中包含的样品出现在项目内的其他实验中，则文件中的名称必须与其他实验（包括案例）中的名称完全匹配，以便软件关联数据。

您可以执行 Overview（总览）窗口中的下列相关操作：

- **创建设计文件：**

如果您已为项目添加了实验，则可以下载模板文件，以此作为创建个人模板文件的起点。

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表中，单击 **Actions（操作） > Export Design File（导出设计文件）**。
- b. 在 Export Sample Settings（导出样品设置）对话框中，选择导出文件的格式（.txt 或 .csv），然后单击 **OK（确定）**。
- c. 使用文本编辑器或电子表格应用程序，打开样品设计文件并根据需要进行编辑。

- **导入设计文件：**

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表中，单击 **Actions（操作） > Import Design File（导入设计文件）**。
- b. 找到带有样品信息的样品设计文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则样品将填充至表格中的样品。如果项目中已存在同名的样品，则软件将使用样品设计文件中的信息进行覆盖。

**备注：**样品名称匹配不区分大小写。例如，如果项目中的样品为 "fly"，则样品设计文件中的 "fly" 和 "Fly" 将与之匹配。

---

相关主题：

[设置项目](#)

# 生成参考品文件

用户必须先在 Applied Biosystems™ 分析软件中生成参考品文件，然后才能将参考品文件导入项目中。

1. 打开包含要使用的数据点（用作参比样品）的项目。
2. 单击 **Analyze**（分析），使用默认分析设置分析项目。

如果需要，请单击 Analysis Groups（分析组）列表中的 **Actions**（操作）> **Add**（添加）新建分析组，以处理项目数据。

3. 打开已分配至样品（用作参比）的检测的散点图：
  - a. 单击 **Analysis**（分析方法）查看分析结果。
  - b. 单击已分配至样品（用作参比）的检测的散点图：

软件将以散点图的形式显示选定检测的数据点。

4. 选择要用作参比样品的样品：

- a. 在 Well Table（孔表）或散点图中，选择一个或多个样品用作参比样品。

- b. 执行下列操作之一：

- 在 Well Table（孔表）中，单击 **Actions**（操作）> **Well Level**（孔水平）> **Tag for Ref Panel**（标记参考品）。
- 在散点图中，单击 **Actions**（操作）> **Tag for Ref Panel**（标记参考品），将所选样品添加至参考品。

5. 如果需要，请单击 **Analyze**（分析），分析项目。

6. 导出参考品：

- a. 在 Analysis（分析方法）窗口中，单击 **Export**（导出）。

- b. 单击 **Export**（导出）查看 Export（导出）窗口，然后单击 。

- c. 在 Export Reference Panel（导出参考品）窗口中输入参考品名称，在列表中选择相应分析组，然后单击 **Start Export**（开始导出）。

- d. （可选）单击 Comments（注释）列中的条目，然后为已导出的参考品输入任何附加信息。

- e. 单击 **Download**（下载），选择参考品文件的目标存储位置，然后单击 **Save**（保存）。

**备注：**请参见[导入和应用参考品文件](#)，了解更多有关使用已导出参考品文件的信息。

---

相关主题：

[设置项目](#)



# 检测信息文件

检测信息文件由 TaqMan® 检测订单随附的信息光盘提供。每个检测信息文件均包含有关检测订单的参考信息，以及所交付的全部检测的详细技术信息。

用户可将检测信息文件导入 Applied Biosystems™ 分析软件，为项目增加补充性检测信息。现可提供三种格式的检测信息文件（.html、.txt 和 .xml），但 Applied Biosystems™ 分析软件仅支持 .txt 和 .xml 文件。

**重要信息！** 检测信息文件中必须包括所列出的各个检测的检测 ID（位于 Assay ID（检测 ID）列中）。软件将使用检测信息文件中的检测 ID 与项目中的现有检测 ID 进行匹配。

**重要信息！** 导入检测信息文件时，文件中的信息将填充至 Overview（总览）窗口的 Assays（检测）列表中的对应列。Overview（总览）窗口中的所有数据将被替换为在检测信息文件中识别的所有检测。如果检测信息文件中不包含某一检测的信息，则 Overview（总览）窗口中的现有数据不受影响。

---

相关主题：

[术语表](#)

## 创建或编辑分析组

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验（已添加至项目）的分析设置生成默认分析组。如有需要，可创建附加分析组以探究其他分析设置配置（例如，手动与自动阈值设定、严格与宽松质量阈值等）。

- 请在 Overview（总览）窗口的 Analysis Groups（分析组）表中执行以下操作之一：
  - 单击 **Actions（操作） > Add（添加）** 新建组。
  - 选择现有组，然后单击 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）** 编辑组设置。转至步骤 4。
- 在 General（常规）对话框中，输入以下信息，然后单击 **Next（下一步）**。
  - Name（名称）** — 输入分析组的名称（最多 50 个字符）。
  - Samples（样品）** 或 **Experiments（实验）** — 选择以下选项，确定 Applied Biosystems™ 软件的分析组应用对象。

例如，如果选择 "Sample"（样品），则软件允许用户将分析组应用于项目中样品的子集。相反，如果选择的是 "Experiments"（实验），则软件仅允许用户将分析组应用于项目中所添加的部分实验或反应板。
  - （可选）Description（描述）** — 为分析组输入描述（最多 256 个字符）。
- 在 Content（内容）对话框中，选择将分析组的样品或实验，然后单击 **Next（下一步）**。
- 在 Analysis Setting（分析设置）对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
识别设置	<p>指定需要 Applied Biosystems™ 软件在分析项目时采用的设置。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Call Method (识别方法)</b> — 确定软件将如何进行基因分型识别。如果选择： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Autocalling (自动识别)</b>，则将使用软件算法识别数据点。</li> <li>▪ <b>Classification Scheme (分类方案)</b>，则用户需定义在识别数据点时所用的聚类边界。</li> </ul> </li> <li>• <b>Analyze Data (分析数据)</b> — 确定软件执行识别操作所用的实验数据。 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Post-PCR Read (PCR 后读取)</b> — 选择该选项，软件将使用 PCR 后读取期间采集的数据执行识别操作。</li> <li>▪ <b>Pre-PCR and Post-PCR Read (PCR 前和 PCR 后读取)</b> — 选择该选项，软件将使用 PCR 前和 PCR 后读取期间采集的数据执行识别操作。</li> <li>▪ <b>Real-time Rn Data (实时 Rn 数据)</b> — 选择该选项，软件将使用整个 PCR 过程中采集的归一化报告染料荧光强度 (Rn) 数据执行识别操作。</li> </ul> </li> <li>• <b>Multiplate Analysis (多反应板分析)</b> — 选择该选项，软件将对所有反应板的数据进行归一化，从而实现反应板间的数据比较。</li> <li>• <b>Protect Manual Calls (保护手动识别结果) (保护列)</b> — 选择该选项，软件将保护所有手动识别结果。即，软件在分析数据时，不会修改任何通过手动识别得到的数据点。</li> <li>• <b>Use Reference Panels for Autocalling (使用参考品进行自动识别) (参比列)</b> — (仅限自动识别) 选择该选项，软件将使用参比样品数据 (从参考品文件中导入) 来确定未知数据点的识别结果偏差。</li> <li>• <b>Use Hardy-Weinberg for Analysis (将 Hardy-Weinberg 平衡用于分析) (H-W 列)</b> — (仅限自动识别) 选择该选项，软件将使用 Hardy-Weinberg 平衡统计数据来确定数据点识别结果的偏差。</li> </ul> <p><b>重要信息！</b> 使用 Hardy-Weinberg 平衡改变识别结果会导致错误的基因分型。仅当通过 Hardy-Weinberg 假设选择样品群体时，可启用该功能。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Use Positive Controls for Analysis (使用阳性对照进行分析)</b> — (仅限自动识别) 选择该选项，软件将使用阳性对照来确定未知数据点识别结果的偏差。</li> </ul> <p><b>备注：</b> 无法手动识别阳性对照。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Heterozygote (杂合子) (杂合子列)</b> — (仅限自动识别) 选择以下项之一： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Allow (允许)</b> — 自动识别工具将进行杂合子基因型识别。</li> <li>▪ <b>Disallow (禁止)</b> — 自动识别工具不会进行任何杂合子基因型识别。</li> <li>▪ <b>Disallow in Males (禁用雄性样品)</b> — 如果样品来自雄性，则自动识别工具不会进行任何杂合子基因型识别。</li> </ul> </li> </ul> <p><b>备注：</b> 为了使自动识别工具能够执行 Disallow in Males (禁用雄性) 功能，用户必须在 Samples (样品) 窗口的 Gender (性别) 列将样品标记为雄性或雌性。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Baseline for Real-time Data (实时数据基线) (基线列)</b> — (仅限实时 PCR) 选中该选项后，软件将从最终荧光信号中扣除前期 PCR 循环时的基线荧光信号。最终的荧光信号将按默认或用户选定的循环数生成 (请参见下方的“循环数”)。</li> </ul> <p><b>备注：</b> 如果项目中已包含通过当前设置导入的孔，则对于实时实验类型而言，该选项为禁用状态。</p>

组	设置
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Manual Baseline (手动基线设置)</b> (基线列) — (仅限实时 PCR) 您可以在 Start (开始) 和 End (结束) 字段中输入值来指定自定义循环范围 (而不是使用默认的循环范围), 从而计算具有实时数据的实验基线。Start (开始) 循环的值必须大于 End (结束) 循环的值。</li> <li>• <b>Cycle Number (循环数)</b> (循环数列) — (仅限实时 PCR) 默认情况下, 软件会从方案中的最终循环中提取荧光信号, 根据实时实验文件创建基因分型散点图。用户可更改软件采用的循环数。所输入的循环数必须介于循环数 20 和循环数 60 之间。如果留空, 软件将使用最终循环的数据。</li> </ul>
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 <b>Use (使用)</b> 列中, 选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li> <li>2. 如果列出了标记的 <b>Value (值)</b>、<b>Condition (条件)</b> 和 <b>Threshold (阈值)</b>, 则可指定应用标记所需的设置。</li> </ol> <p>例如, 采用基因分型质量较低质量标记的默认设置时, 质量指标低于 0.95 的孔将被标记。</p> <p><b>备注:</b> 如果选择调整标记应用设置, 请在评估相应设置时进行微调。</p>
参考品	<p>如果选择使用参考品文件来分析数据, 请在已导入的文件列表中选择相应的参考品。</p> <p><b>备注:</b> 参考品文件可以生成, 也可以通过 Overview (总览) 窗口导入。请参见<a href="#">生成参考品文件</a>或<a href="#">导入和应用参考品文件</a>, 了解有关创建或导入参考品的更多信息。</p>

5. 分析方法设置完成后, 单击 **Finish (完成)**。

6. 单击 **Analyze (分析)**, 重新分析项目。

相关主题:

[设置项目](#)

## 添加对照标识符

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户手动识别已添加至项目的实验中所用的对照。对照标识符可以是适用于整个项目的标识符 (影响项目中的所有检测) 也可以是检测特定的标识符 (仅适用于单个检测)。

1. 在 Overview (总览) 窗口的 Assays (检测) 列表中, 单击 **Actions (操作) > Control Identifiers (对照标识符)**。
2. 在 Control Identifiers (对照标识符) 对话框中, 选择 **Override Control Settings from Experiments (覆盖实验中的对照设置)**。

当该复选框处于:

- **选中状态** — 软件将使用您在 Control Identifiers (对照标识符) 选项卡 (下方步骤 3 和步骤 4) 中设置的对照标识符, 并覆盖原始实验文件中的所有对照标识符 (任务) 设置。如果样品 ID 与对照标识符不符, 则软件将假定该样品为 Unknown (未知)。
  - **取消选中状态** — 软件将使用原始实验中设置的对照标识符 (任务)。
3. 在 **NTC (无模板对照)** 和 **Negative Controls (阴性对照)** 字段中, 输入用于识别所有检测的相关对照的项目范围标识符。

4. 在 Assays（检测）表中，输入或选择用作各检测对照的样品。用户可在各字段中手动输入样品名称，或双击字段从列表中选择样品。

选项	输入或选择样品用作...
阴性对照	特定检测的阴性对照。
PC VIC/VIC	特定检测中 VIC™ 染料标记探针靶向序列的纯合子阳性对照。
PC VIC/FAM	特定检测的杂合子阳性对照。
PC FAM/FAM	特定检测中 FAM™ 染料标记探针靶向序列的纯合子阳性对照。

**备注：**默认情况下，Assays（检测）表中的设置与项目范围设置相同；但是，如果用户修改了检测设置，则所做更改仅适用于选定检测（覆盖选定检测的项目设置）。

**备注：**如果需要，请单击 Reset（重置）符号，将检测设置恢复至项目级设置。

5. 单击 **OK**（确定）保存所作更改。

相关主题：

[设置项目](#)

## 管理样品和目标基因

Applied Biosystems™ 分析软件采用实验（已添加到项目）中出现的样品和目标基因填充 Overview（总览）窗口。如有必要，用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除样品和目标基因。

- **Create（创建）** 新样品或目标基因：

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Add（添加）**。
- b. 在 New Sample/Target（新样品/目标基因）对话框中，输入新样品或目标基因的名称（最多 256 个字符），然后编辑新样品/目标基因的属性。
- c. 单击 **OK（确定）**。

- 通过直接编辑表中条目 **Update（更新）** 现有样品或目标基因。

**备注：**另外，还可以从表中选择样品或目标基因，然后选择 **Actions（操作） > Assign/Update（分配/更新）**。

- **Delete（删除）** 样品或目标基因：

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，选择目标样品或目标基因，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
- b. 在确认对话框中，单击 **OK（确定）**，删除样品或目标基因。

---

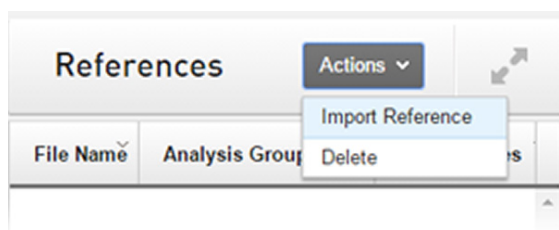
相关主题：

[设置项目](#)

## 导入和应用参考品文件

参考品文件创建完成后，用户可将其导入并用于分析项目。

1. 在 Overview（总览）窗口的 References（参考品）列表中，单击 **Actions（操作） > Import Reference（导入参考品）**。



2. 在 Open（打开）对话框中，选择目标参考品文件，然后单击 **Open（打开）**。

导入后，软件将按已导入文件中的信息自动填充 References（参考品）列表。

3. 在 Analysis Groups（分析组）列表中选择分析组，然后单击 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）**。

4. 在 Analysis Setting（分析设置）对话框中，单击 **Reference Panels（参考品）**，从已导入文件列表中选择相应的参考品，然后单击 **Finish（完成）**。

Include	Reference Panel File Name	Originating Project Name	Description	# of Reference Samples	Date Added	Created by	Created on
<input checked="" type="checkbox"/>	Example Reference Panel	GT Example		96	10/19/2014 4:49:14 PM	Example	10/19/2014 9:30:57 AM

5. 单击 **Analyze（分析）**，重新分析项目。

相关主题：

[设置项目](#)

## 管理样品和检测

Applied Biosystems™ 分析软件将采用实验（已添加到项目）中出现的样品和检测自动填充 Overview（总览）窗口。如有必要，用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除样品和检测。

### • **Create（创建）** 新样品或检测：

- 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Assays（检测）表中，单击 **Actions（操作） > Add（添加）**。
- 在 New Sample/Assay（新样品/检测）对话框中，输入新样品或检测的名称（最多 256 个字符），然后输入任何支持性数据。
- 单击 OK（确定）保存样品或检测。

### • **Update（更新）** 现有样品或检测：

- 在 Overview（总览）窗口中单击 **+** 展开 Samples（样品）表或 Assays（检测）表，然后直接在表中编辑条目。
- 在 Overview（总览）窗口的表中选择样品或检测并单击 **Actions（操作） > Update（更新）**，然后编辑检测或样品的数据。

### • **Delete（删除）** 样品或检测：

- 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Assays（检测）表中，选择目标样品或目标检测，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
- 在确认对话框中，单击 **OK（确定）**，删除样品或检测。

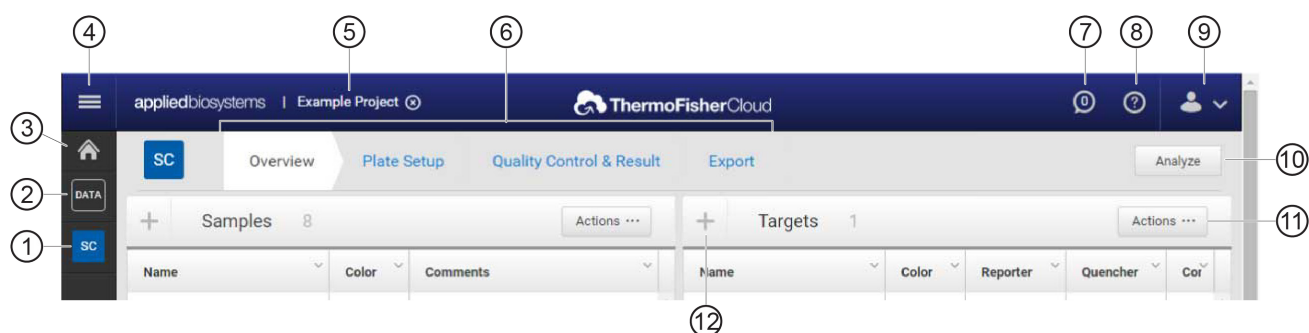
相关主题：

[设置项目](#)



## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



- 1. Analysis Modules (分析模块)** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
- 2. DATA (Data Manager (数据管理器))** — 单击以查看 Data Manager (数据管理器)，该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
- 3. Home (Project Manager (项目管理器))** — 单击以查看 Project Manager (项目管理器)，该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
- 4. Account Management Menu (帐户管理菜单)** — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
- 5. Project name (项目名称)** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击 ⊗ 关闭项目。
- 6. Project tabs (项目选项卡)** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
- 7. Notifications (通知)** — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
- 8. Help (帮助)** — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
- 9. Profile Menu (个人资料菜单)** — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
- 10. Analyze (分析)** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
- 11. Zoom (缩放)** — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击 < (Close (关闭))，将曲线或表格折叠至原始尺寸。
- 12. Actions (操作)** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)

## 反应板设置窗口




请使用 Plate Setup (反应板设置) 窗口更改已添加到项目中的实验的反应板设置。用户可通过该编辑器编辑样品、目标基因和任务分配，以修正缺失或错误设置。如有需要，用户可使用 Plate Setup (反应板设置) 窗口应用反应板设置配置，方法是创建并上传电子表格编辑器所创建的模板。

要查看 Plate Setup (反应板设置) 窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Plate Setup (反应板设置)**。

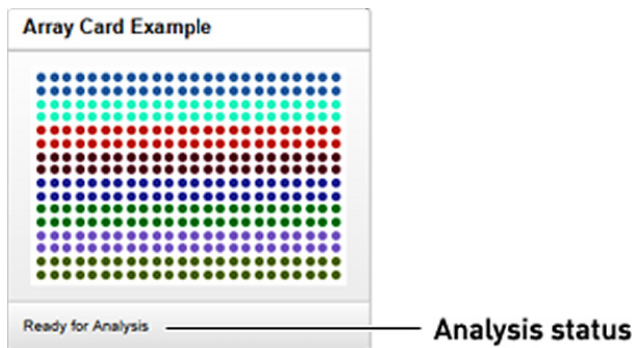
**重要信息！** 通过 Plate Editor (反应板编辑器) 对反应板配置所做的更改不会直接保存至相关实验 (.eds 或 .sds 文件) 中，而是保存至项目中。因此，用户在一个项目中对反应板设置所做的更改不会反映在其他项目中。


如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 审查和编辑反应板设置</li> <li>• 应用样品和检测</li> <li>• 应用样品和检测</li> <li>• 指定和分配任务</li> <li>• 通过模板文件应用反应板设置信息</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 荧光参比</li> <li>• 任务</li> <li>• 模板文件</li> </ul>

## 反应板设置窗口使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 请使用反应板视图 () 确定阻碍分析的反应板。

**备注：**该软件将在相关反应板的图像下方显示阻碍实验分析的反应板设置。



- 请使用数据视图 () 确定缺少数据分配的实验。Select a Plate (选择反应板) 表中的 Wells Defined (已定义孔) 列可指示具有样品、目标基因和任务设置的各个反应板记录中的孔数。

编辑反应板布局时：

- 请在应用样品、任务和检测分配时使用模板保存时间。
- 选择要更改样品或所分配任务的各个孔。
- 用户可先选择反应板中的孔，然后选择 **Actions (操作) > Clear Well Setup (清除孔设置)**，从而快速删除反应板中指定区域的所有样品、任务和检测分配。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

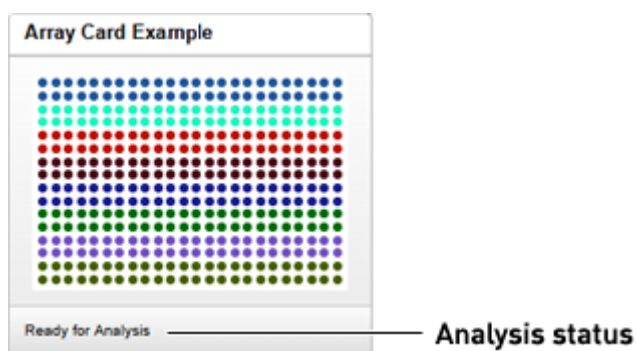
## 审查和编辑反应板设置

针对项目完成所有必要的样品、检测和参考品配置后，请使用 Plate Setup（反应板设置）窗口审查实验中是否存在会阻碍项目分析的问题。Applied Biosystems™ 分析软件将在相关实验的各图像下方边缘处显示会阻止分析的反应板配置错误。用户必须在分析项目前使用 Plate Setup（反应板设置）窗口解决上述问题。

要审查项目的反应板设置信息：

1. 请选择 **Plate Setup（反应板设置）** 以显示 Plate Setup（反应板设置）窗口。
2. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，审查实验记录中是否存在错误。
3. 如果存在错误，请单击目标实验记录并解决阻碍文件分析的问题。

**备注：**该软件将在相关反应板的图像下方显示阻碍实验分析的反应板设置。



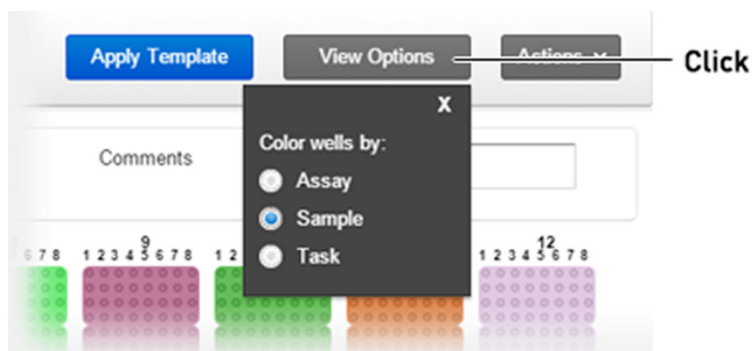
相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 应用样品和检测

如果一个或多个实验中的样品或检测分配出错或缺失，可以使用 Applied Biosystems™ 分析软件在执行分析前修正问题。

1. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验记录。
2. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **View Options（查看选项）**，然后选择 **Assay（检测）** 或 **Sample（样品）** 以根据要修改的元素对反应板设置进行着色。



3. 在反应板布局中选择包含要应用的样品或检测的孔。
4. 孔选择完成后，单击 **Sample**（样品）或 **Assay**（检测）字段，然后在列表中选择相应的项目。
5. 反应板布局修改完成后，单击 **Analyze**（分析），重新分析项目。

---


相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 指定和分配任务

如果一个或多个实验中的任务分配出错或缺失，可以使用 Applied Biosystems™ 分析软件在执行分析前修正问题。

**备注：**审查反应板布局时，请单击 **Actions**（操作）> **Clear Well Setup**（清除孔设置），移除反应板网格中选定孔的孔信息（样品、任务和目标分配）。

1. 在 **Plate Setup**（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验记录。
2. 在 **Edit Plate**（编辑反应板）窗口中，单击 **View**（审查），然后选择 **Task**（任务）以根据任务分配对反应板设置进行着色。
3. 在反应板布局中选择要作为任务应用对象的孔。
4. 孔选择完成后，单击 **Task**（任务）菜单，然后在列表中选择相应任务。

可选任务包括：

- **Unknown**（未知）— 该任务适用于其中样品带有未知基因型的孔。
  - **NTC**（无模板对照）— 该任务适用于以水或缓冲液代替样品模板的孔。阴性对照孔中不应发生目标基因扩增。该软件可自动将项目中样品 ID 为 NTC 的孔识别为无模板对照。我们强烈建议您在项目的每次检测中运行两个 NTC 孔。
  - **Negative Controls**（阴性对照）— 该任务适用于不含已知模板的孔；即，所述孔设置为不显示扩增信号。（例如，孔中可包含非目标基因模板、抑制剂等。）
  - **Positive Controls**（阳性对照）— 该任务适用于包含已知可在一个或两个检测中生成特定基因分型识别的模板的孔。在本软件中，根据扩增检测（存在对照）的报告基因染料对阳性对照进行分类。可能的组合包括 VIC/VIC、VIC/FAM 或 FAM/FAM。
5. 根据需要重复步骤 3 和 4。
  6. 反应板布局修改完成后，单击 **Analyze**（分析），重新分析项目。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 通过模板文件应用反应板设置信息

Applied Biosystems™ 软件可直接通过设计文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）导入反应板布局信息。

**备注：**有关模板文件结构的详细信息，请参见[模板文件](#)。

用户可在 Plate Setup（反应板设置）窗口中执行以下操作：

- 以模板文件的形式[下载](#)现有实验的反应板设置信息：
  - a. 打开包含目标反应板布局的实验的项目，然后选择 **Plate Setup（反应板设置）**。
  - b. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择包含目标反应板设置的实验记录。
  - c. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions（操作） > Apply Template（应用模板）**，然后将文件保存至目标位置。
- 通过模板文件[应用](#)反应板设置信息
  - a. 创建包含目标反应板设置信息的模板文件。

**备注：**请参见[模板文件](#)，了解有关创建模板文件的详细信息。
  - b. 打开包含目标实验（模板应用对象）的项目，然后单击 **Plate Setup（反应板设置）**。
  - c. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验记录。
  - d. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions（操作） > Download Template（下载模板）**。
  - e. 选择包含目标反应板设置信息的模板文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则样品、检测/目标基因和当前反应板布局的任务分配将被导入设置覆盖。

**重要信息！** 导入的反应板布局将覆盖现有反应板设置，并且导入完成后无法撤销。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 荧光参比

荧光参比是一种可产生荧光信号（与 PCR 扩增无关），并且以恒定浓度添加到各反应中的染料。由于所有孔的荧光参比信号应当一致，因此荧光参比用于对报告染料信号进行归一化，以解决少量孔间体积差异所导致的非 PCR 相关性荧光信号波动问题。按荧光参比信号进行归一化处理通常可显著提升技术重复的数据精度。

---

相关主题：

[术语表](#)




## 分析窗口

用户可以使用 Analysis（分析方法）窗口查看分析结果，并审查项目的基因分型结果和质量数据（如果可用）。该窗口能够以一系列散点图的形式显示基因分型分析结果，并且用户可以单独选择散点图来查看目标分析的详细信息。如果选择使用质量指标，Analysis（分析方法）窗口中的曲线还可以帮助您筛选项目中的不规则扩增和其他常见 PCR 问题的功能。


要查看 Analysis（分析方法）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Analysis（分析方法）**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• 使用自动识别功能分析数据</li><li>• 使用分类方案分析数据</li><li>• 按散点图审查分析后的数据</li><li>• 使用反应板视图审查分析后的数据</li><li>• 使用样品视图审查分析后的数据</li><li>• 修改特异性分析的分析数据</li><li>• 创建或编辑分析组</li><li>• 忽略分析中的孔</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 扩增曲线</li><li>• 多组分曲线</li><li>• 质量标记</li><li>• 孔表</li></ul>

### 分析窗口使用提示




- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 使用反应板视图 () 确定生成质量标记的实验，并选择需要进一步检查的实验。

**备注：**软件将在相关实验的图像下方显示由各个实验生成的质量标记的图标。

- 使用数据视图 () 确定生成质量标记的实验。

**备注：**Select an Experiment（选择实验表）中的 Flags（标记）列指示由每条记录所对应的孔生成的质量标记总数。

审查单个实验时：

- 单击单个曲线，审查相应分析的详细信息。放大后，单击  可返回总览。
- 单击 **Analysis Setting（分析设置）**，查看相应实验的分析设置。
- 单击曲线与表格之间的  或  展开视图。放大后，单击曲线或表格一侧的反向箭头可恢复视图。
- 使用表中的 "Group By"（分组方式）设置，按样品、反应板或任务对表中显示的数据进行分组。分组后，选择用于审查图中扩增数据子集的行，该操作在多个重复孔中检查扩增水平时非常有用。
- 使用标记对样品进行标注以跟踪和审查样品。

要应用标记，请在表格或曲线中选择样品，然后单击 **Set Bookmark（设置标记）**。应用后，标签将在所有上下文内容和曲线中标注样品（直至选中该样品并选择 **Clear Bookmark（清除标记）**）。



- 单击表中的列标题对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。
- 单击表中列标题处的 ▼，输入参数以便对内容进行筛选。完成表格筛选后，单击 **Clear**（清除），删除筛选条件。

---










相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 质量标记

Applied Biosystems™ 分析软件包括一组设置，该设置在激活后可使软件对已处理的实验数据的质量进行筛查，从而指示出可能存在的分析问题。根据各质量“标记”的配置，软件可以通知用户潜在的问题，也可以自动移除分析中的相关数据。用户可选择是否使用质量标记，并且可通过自定义质量标记来调整相关测试的灵敏度。

以下质量标记可在 Analysis Settings（分析设置）对话框中进行设置：

-  **%A** 检测识别率较低质量标记
-  **%E** 实验识别率较低质量标记
-  **%R** 实验低浓度 ROX 比率较高质量标记
-  **CTL** 对照失败质量标记
-  **GT** 基因分型质量较低质量标记
-  **ROX** LOWROX（低浓度 ROX 信号强度）质量标记
-  **NTC** NTC FAM 信号强度较高质量标记
-  **NTC** NTC VIC 信号强度较高质量标记
-  **REF** 参比样品不一致质量标记
-  **RPL** 重复样品不一致质量标记
-  **%S** 样品识别率较低质量标记

---

相关主题：

[检测识别率较低质量标记](#)

[对照失败质量标记](#)

[实验识别率较低质量标记](#)

[实验低浓度 ROX™ 比率较高质量标记](#)

[基因分型质量较低质量标记](#)

[LOWROX（低浓度 ROX™ 信号强度）质量标记](#)

[NTC FAM™ 信号强度较高质量标记](#)

[NTC VIC™ 信号强度较高质量标记](#)

[参比样品不一致质量标记](#)

[重复样品不一致质量标记](#)

[样品识别率较低质量标记](#)


## 使用反应板视图审查分析后的数据


分析完成后，可以使用 Plate（反应板）视图审查项目的基因分型结果（按反应板汇总）。Plate（反应板）视图中提供了多种数据查看方式，包括：

- **反应板预览** — 针对添加至项目的各个实验，软件可生成反应板缩略图并列出了各个 QC 设置（标记）的合格/不合格状态。在预览界面上，用户可通过单击相应记录来审查所有反应板的详细信息。
- **板布局** — 在板预览中选择缩略图后，将显示板布局。板布局显示了选定实验的反应板示意图。此图可以被配置成根据实验功能对孔进行着色。
- **结果表** — 在板预览中选择缩略图后，将显示结果表。结果表显示了有关选定实验中所有样品/分析的详细 QC 信息。

1. 单击 **Analyze（分析）** 重新分析项目，然后单击 **Analysis（分析方法）** 查看结果。

2. 在 Analysis（分析方法）窗口中选择 **View（查看） > Plates（反应板）**。

3. （可选）在 Plate（反应板）视图中，单击 ，查看与项目相关的反应板汇总，然后查找带有以下标记的所有实验：

- 低实验识别率质量标记（在列中显示为 ），位于 **%E（实验识别率）** 列或 **%R（低浓度 ROX 最大百分比）** 列中。
- 标记列中有值，其中该值指示带标记孔的数量。

4. 选择目标反应板以查看相关实验的详细信息。

5. 通过反应板布局审查数据：

a. 单击 **View Options（查看选项）**，然后选择 **Show Plate Legend（显示板图例）** 以显示板布局图例。

b. 每次选择一个目标选项，根据需要查看数据（单击 **View Options（查看选项）**，然后选择数据视图）：

- **Assay（检测）** — 显示各分析在反应板中所处的位置。在该视图中，每种颜色代表不同的分析，并且每个框内区域代表一种分析。
- **Sample（样品）** — 显示各样品在反应板中所处的位置。在该视图中，每种颜色代表不同的样品，并且每个框内区域代表一个样品组。
- **Task（任务）** — 显示已分配至反应板中各个孔的任务/对照标识符。在该视图中，每种颜色代表一个不同的任务/对照标识符，并且每个框内区域代表反应板中的一个孔。
- **Call（识别）** — 显示已分配至反应板中各个孔的基因分型识别。在该视图中，每种颜色代表一个不同的识别，并且每个框内区域代表反应板中的一个孔。
- **ROX Range（ROX 范围）** — 显示 ROX™ 染料在反应板中的信号水平。在该视图中，各颜色分别代表各参比荧光信号的强度，从低至极高。

6. 滚动至反应板布局下方，查看 Results（结果）表中的数据。

列	该列的作用
孔	查看样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
 (已忽略)	查看相关孔的忽略状态。
 (标记)	查看孔是否带有标记。
质量数据	查看由相关孔生成的任何质量标记。
识别结果	查看已分配至孔的基因分型识别。
样品 ID	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。等位基因 1 扩增分数
等位基因 1 扩增分数	查看相关孔的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 值计算结果。
等位基因 2 扩增分数	<b>备注：</b> $C_T$ 和 $C_{RT}$ 数据仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
等位基因 1 $C_T/C_{RT}$ 值	查看针对相关孔中的探针（靶向结合关联等位基因）计算所得的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 。
等位基因 2 $C_T/C_{RT}$ 值	<b>备注：</b> $C_T$ 和 $C_{RT}$ 仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
检测名称	查看已分配至孔的检测的唯一名称。
检测 ID	查看已分配至孔的检测的 ID 号。
任务	查看已分配至孔的任务。任务是样品所执行的功能： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 未知</li> <li>• 无模板对照 (NTC)（对照标识符）</li> <li>• VIC/VIC、FAM/FAM 或 VIC/FAM 的阳性对照（对照标识符）</li> <li>• 阴性对照（对照标识符）</li> </ul>
注释	查看用户针对孔给出的注释。

7.（可选）标记任何目标孔：

- 选择要标记的一个或多个孔。
- 单击 **Actions（操作） > Bookmark（标记）**。

该标记将始终位于 Results（结果）窗口中，因此用户可以轻松找到已标记的数据。

8.（可选）根据需要对孔进行注释：

- 选择要标注的一个或多个孔。
- 单击 **Actions（操作） > Comment（注释）**。
- 在 Input Comment（输入注释）对话框中将注释输入到 Comment（注释）字段中，然后单击 **OK（确定）**。

9.（可选）根据需要忽略孔：

- 选择要忽略的一个或多个孔。
- 单击 **Actions（操作） > Omit Well(s)（忽略孔）**。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

# 模板文件

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户通过模板文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）应用反应板布局信息（例如目标基因、样品和任务配置）。模板文件为逗号分隔值 (.csv) 文件，其中包含单个反应板的目标基因、样品和任务配置。您可以先通过电子表格应用程序或文本编辑器创建模板文件，然后使用 Applied Biosystems™ 软件导入模板文件，以将目标基因、样品和/或任务信息应用到已添加至项目的实验中。

如果已将实验添加至项目，则可以下载模板文件，将其用作创建个人模板文件的起点。下图示出了已导出文件的通用结构。

		A	B	C	D	E	F
<b>实验数据 (请勿编辑)：</b>	<b>1</b>	* 模块类型 = OpenArray 模块					
	<b>2</b>	* 实验类型 = 基因分型					
	<b>3</b>	* 仪器类型 = QuantStudio 12K Flex 实时 PCR 系统					
	<b>4</b>	* 孔数 = 3072					
<b>列标题 (请勿编辑)：</b>	<b>5</b>	* 设置孔分区信息					
	<b>6</b>	孔	孔位置	样品名称	检测名称	任务	注释
<b>反应板设置 内容（按任 意顺序添加 孔数据）：</b>	<b>7</b>	0	A1a1	Sample01	AH70YX8	UNKNOWN	
	<b>8</b>	1378	B10e3	Sample22	AHABB99	UNKNOWN	
	<b>9</b>	3008	D12a1	NTC	AH70YX8	NTC	
	...	...	...	...	...	...	...

编辑文件时请遵循以下指导原则：

- 行 1 至 6 包含用于描述实验的文件名称信息。通常情况下不应编辑该信息，因为该信息在用户使用的所有文件中均相同。如图所示准确输入标题（区分大小写）：
  - \* 模块类型 =
  - \* 实验类型 =
  - \* 仪器类型 =
  - \* 孔数 =
  - \* 设置孔分区信息 =
  - 孔
  - 孔位置

- 样品名称
  - Task（任务）
  - 检测名称
  - 注释
- 第 7 行及以下行包含实验的反应板设置信息，其中每一行包含有关反应板上单个孔的内容物信息。如以上示例所示，各行可以任意顺序排列，但位置信息（在第 1 列和第 2 列中）必须是准确的。

对于每个孔，文件包含以下信息：

- **A 列（Well（孔））** — 反应板上孔的数字位置，其中孔按照由左至右以及由上至下的顺序编号。例如，在 96 孔反应板中，A1 孔的数量为 "0"，并且 G12 孔的数量为 "95"。
  - **B 列（Well Position（孔位置））** — 反应板上孔的坐标。  
**备注：**对于 OpenArray™ 反应板，通过反应板上扇形坐标和扇形内的孔坐标的组合来识别孔。例如，位置 "b2d10" 是指反应板上扇形 B2 内位置 D10 处的通孔。
  - **C 列（Sample Name（样品名称））** — 孔内样品的名称（最多 256 个字符）。
  - **D 列（Task（任务））** — 孔内样品的任务，其中可接受值包括 **UNKNOWN（未知）、NTC、POSITIVE CONTROL VIC/VIC（阳性对照 VIC/VIC）、POSITIVE CONTROL FAM/VIC（阳性对照 FAM/VIC）、POSITIVE CONTROL FAM/FAM（阳性对照 FAM/FAM）和 NEGATIVE CONTROL（阴性对照）**。
  - **E 列（Assay Name（检测名称））** — 已添加至孔的检测的名称，或目标序列的标识（最多 256 个字符）。
  - **F 列（Comments（注释））** — 描述孔的附加注释。
- 如果包括在模板文件中的样品和/或目标基因存在于项目所包含的其他实验室中，则文件名称必须与其他实验中的文件名称精确匹配（包括大小写），以便软件将数据关联起来。
  - 当从模板文件中导入反应板设置信息时，Applied Biosystems™ 软件将使用文件中的信息覆盖全部现有设置。


相关主题：



[编辑实验属性](#)

## 使用样品视图审查分析后的数据

分析完成后，您可以使用 Samples（样品）视图审查项目的基因分型结果（按样品汇总）。Samples（样品）视图中提供了多种数据查看方式，包括：


- **样品表** — 针对项目中每个样品，各项 QC 设置（标记）状态（合格/不合格）的总览。
  - **结果表** — 显示有关选定样品中所有样品/分析的详细 QC 信息。
1. 单击 **Analyze（分析）** 重新分析项目，然后单击 **Analysis（分析方法）** 查看结果。
  2. 在 Analysis（分析方法）窗口中选择 **View（查看） > Sample（样品）**。

3. 审查 Samples（样品）表中的样品汇总。查找是否存在任何具有以下特征的样品：
  - 在任意 **Sample Call Rate（样品识别率）** 列中带有样品识别率较低标记（列中显示有 ）。
  - 标记列中有值，其中该数值指示带标记孔的数量。
4. 针对各目标样品，请在表中选中该样品，以在 Results（结果）表中查看详细数据。
5. 审查 Results（结果）表数据中的数据。

列	该列的作用
 （已忽略）	查看相关孔的忽略状态。
 （标记）	查看孔是否带有标记。
检测名称	查看已分配至孔的检测的唯一名称。
检测 ID	查看已分配至孔的检测的 ID 号。
质量数据	查看由相关孔生成的任何质量标记。
等位基因 1 扩增分数	查看相关孔的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 值计算结果。
等位基因 2 扩增分数	<b>备注：</b> $C_T$ 和 $C_{RT}$ 数据仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
等位基因 1 $C_T/C_{RT}$ 值	查看针对相关孔中的探针（靶向结合关联等位基因）计算所得的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 。
等位基因 2 $C_T/C_{RT}$ 值	<b>备注：</b> $C_T$ 和 $C_{RT}$ 数据仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
识别	查看已分配至孔的基因分型识别。
手动	确定是否手动识别样品。
孔	查看样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
实验名	查看与相关孔关联的实验。
任务	查看已分配至孔的任务。任务是样品所执行的功能： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 未知</li> <li>• 无模板对照 (NTC)（对照标识符）</li> <li>• VIC/VIC、FAM/FAM 或 VIC/FAM 的阳性对照（对照标识符）</li> <li>• 阴性对照（对照标识符）</li> </ul>
注释	查看用户针对孔给出的注释。



如果需要，可单击 **Group By（分组方式）**，选择如何对 Results（结果）表中的样品进行分组。例如，如果选择 **Experiment Name（实验名称）**，则软件将根据样品所属实验对样品进行分组。

**备注：**要折叠或展开组，请在 Results（结果）表中单击各组上方的箭头。

- 6.（可选）标记任何目标孔：
  - a. 选择要标记的一个或多个孔。
  - b. 单击  **Bookmark（标记）**，然后在下拉列表中选择 **Set Bookmark（设置标记）**。

该标记将始终位于 Results（结果）窗口中，因此用户可以轻松找到已标记的数据。



7. (可选) 根据需要对孔进行注释:
  - a. 选择要标注的一个或多个孔。
  - b. 单击  **Tag (标签)**，然后在下拉列表中选择 **Comment (注释)**。
  - c. 在 Input Comment (输入注释) 对话框中将注释输入到 Comment (注释) 字段中，然后单击 **OK (确定)**。
8. (可选) 根据需要对孔进行忽略:
  - a. 选择要忽略的一个或多个孔。
  - b. 单击  **Tag (标签)**，然后在下拉列表中选择 **Omit (忽略)**。



---

相关主题:

[审查质量数据和结果](#)

## 使用反应板视图审查分析后的数据

分析完成后，可以使用 Plate (反应板) 视图审查项目的基因分型结果 (按反应板汇总)。Plate (反应板) 视图中提供了多种数据查看方式，包括：

- **反应板预览** — 针对添加至项目的各个实验，软件可生成反应板缩略图并列出了各个 QC 设置 (标记) 的合格/不合格状态。在预览界面上，用户可通过单击相应记录来审查所有反应板的详细信息。
  - **板布局** — 在板预览中选择缩略图后，将显示板布局。板布局显示了选定实验的反应板示意图。此图可以被配置成根据实验功能对孔进行着色。
  - **结果表** — 在板预览中选择缩略图后，将显示结果表。结果表显示了有关选定实验中所有样品/分析的详细 QC 信息。
1. 单击 **Analyze (分析)** 重新分析项目，然后单击 **Analysis (分析方法)** 查看结果。
  2. 在 Analysis (分析方法) 窗口中选择 **View (查看) > Plates (反应板)**。
  3. (可选) 在 Plate (反应板) 视图中，单击 ，查看与项目相关的反应板汇总，然后查找带有以下标记的所有实验：
    - 低实验识别率质量标记 (在列中显示为 )，位于 **%E (实验识别率)** 列或 **%R (低浓度 ROX 最大百分比)** 列中。
    - 标记列中有值，其中该值指示带标记孔的数量。
  4. 选择目标反应板以查看相关实验的详细信息。

## 5. 通过反应板布局审查数据：

- a. 单击 **View Options (查看选项)**，然后选择 **Show Plate Legend (显示板图例)** 以显示板布局图例。
- b. 每次选择一个目标选项，根据需要查看数据（单击 **View Options (查看选项)**，然后选择数据视图）：
  - **Assay (检测)** — 显示各分析在反应板中所处的位置。在该视图中，每种颜色代表不同的分析，并且每个框内区域代表一种分析。
  - **Sample (样品)** — 显示各样品在反应板中所处的位置。在该视图中，每种颜色代表不同的样品，并且每个框内区域代表一个样品组。
  - **Task (任务)** — 显示已分配至反应板中各个孔的任务/对照标识符。在该视图中，每种颜色代表一个不同的任务/对照标识符，并且每个框内区域代表反应板中的一个孔。
  - **Call (识别)** — 显示已分配至反应板中各个孔的基因分型识别。在该视图中，每种颜色代表一个不同的识别，并且每个框内区域代表反应板中的一个孔。
  - **ROX Range (ROX 范围)** — 显示 ROX™ 染料在反应板中的信号水平。在该视图中，各颜色分别代表各参比荧光信号的强度，从低至极高。

## 6. 滚动至反应板布局下方，查看 Results (结果) 表中的数据。

列	该列的作用
孔	查看样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
 (已忽略)	查看相关孔的忽略状态。
 (标记)	查看孔是否带有标记。
质量数据	查看由相关孔生成的任何质量标记。
识别结果	查看已分配至孔的基因分型识别。
样品 ID	查看样品 ID (唯一的名称或编号)。等位基因 1 扩增分数
等位基因 1 扩增分数	查看相关孔的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 值计算结果。
等位基因 2 扩增分数	<b>备注：</b> $C_T$ 和 $C_{RT}$ 数据仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
等位基因 1 $C_T/C_{RT}$ 值	查看针对相关孔中的探针 (靶向结合关联等位基因) 计算所得的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 。
等位基因 2 $C_T/C_{RT}$ 值	<b>备注：</b> $C_T$ 和 $C_{RT}$ 仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
检测名称	查看已分配至孔的检测的唯一名称。
检测 ID	查看已分配至孔的检测的 ID 号。
任务	查看已分配至孔的任务。任务是样品所执行的功能： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 未知</li> <li>• 无模板对照 (NTC) (对照标识符)</li> <li>• VIC/VIC、FAM/FAM 或 VIC/FAM 的阳性对照 (对照标识符)</li> <li>• 阴性对照 (对照标识符)</li> </ul>
注释	查看用户针对孔给出的注释。

7. (可选) 标记任何目标孔:
  - a. 选择要标记的一个或多个孔。
  - b. 单击 **Actions (操作) > Bookmark (标记)**。

该标记将始终位于 Results (结果) 窗口中, 因此用户可以轻松找到已标记的数据。

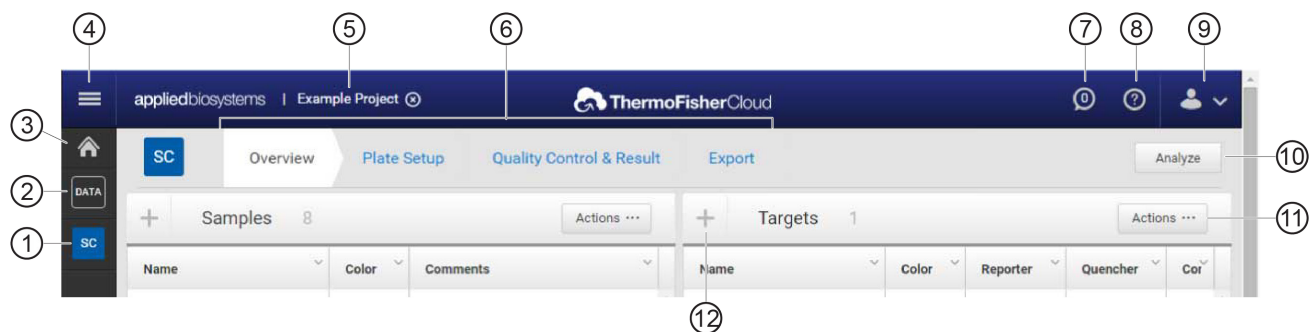
8. (可选) 根据需要对孔进行注释:
  - a. 选择要标注的一个或多个孔。
  - b. 单击 **Actions (操作) > Comment (注释)**。
  - c. 在 Input Comment (输入注释) 对话框中将注释输入到 Comment (注释) 字段中, 然后单击 **OK (确定)**。
9. (可选) 根据需要忽略孔:
  - a. 选择要忽略的一个或多个孔。
  - b. 单击 **Actions (操作) > Omit Well(s) (忽略孔)**。










相关主题:

[审查质量数据和结果](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据, 并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标:



1. **Analysis Modules (分析模块)** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2.  (Data Manager (数据管理器)) — 单击以查看 Data Manager (数据管理器)，该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3.  (Project Manager (项目管理器)) — 单击以查看 Project Manager (项目管理器)，该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4.  (Account Management Menu (帐户管理菜单)) — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name (项目名称)** — 当前项目的名称。  
**备注:** 单击  关闭项目。
6. **Project tabs (项目选项卡)** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7.  (Notifications (通知)) — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8.  (Help (帮助)) — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9.  (Profile Menu (个人资料菜单)) — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze (分析)** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11.  (Zoom (缩放)) — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意:** 展开后，单击  (Close (关闭))，将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions (操作)** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题:

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)




## 导出窗口

使用 Export (导出) 窗口生成报告并导出项目数据。分析完成后，该窗口可提供多个用于导出结果和分析后数据的选项，以便进行演示或进一步分析。每组分析后的数据生成后，将被添加到导出历史，用户可以随时从其中下载这些数据。

要查看 Export (导出) 窗口，请在查看项目时单击上方的 **Export (导出)**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <a href="#">从项目中导出分析后的数据</a></li> <li>• <a href="#">导出曲线以用于演示和发布</a></li> <li>• <a href="#">导出数据以用于其他项目</a></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <a href="#">孔表</a></li> <li>• <a href="#">质量标记</a></li> </ul>

## 导出窗口使用提示

- 单击  以生成导出数据集。
- 单击  以从当前项目生成参考品。
- 单击  以查看导出历史并下载先前的导出数据集。
- 在查看导出历史时，请单击 Export History (导出历史) 表的列标题以对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头 (▲ 或 ▼) 指示。
- 单击 Export History (导出历史) 表的列标题，对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头指示。

---

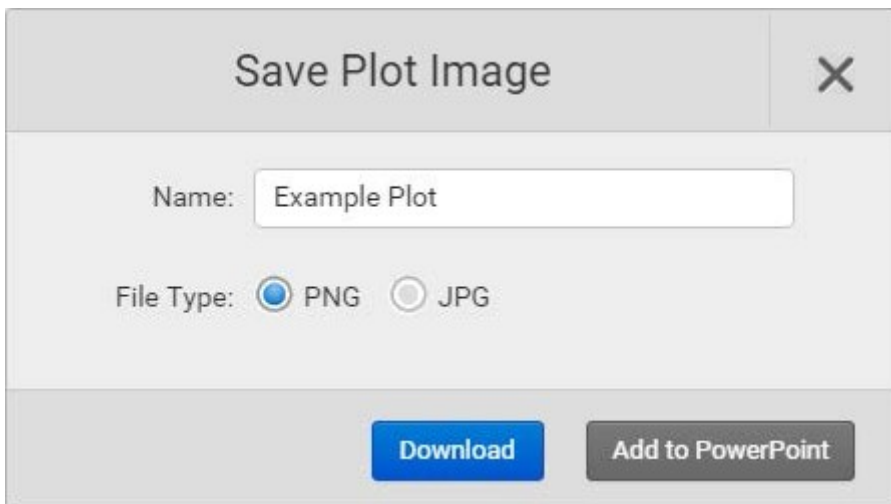
相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 导出曲线以用于演示和发布

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以便携式网络图像格式 (.png) 或联合图像专家组格式 (.jpg) 文件导出任意曲线，这些文件可以通过大部分电子表格和演示用桌面排版软件导入。

1. 在查看曲线时，单击 **Actions**（操作） > **Save Plot Image**（保存曲线图像）。
2. 保存图像。
  - a. 单击 File Name（文件名）字段，然后为导出的图像文件输入名称。
  - b. 选择适合的文件格式（.png 或 .jpg）。
  - c. 单击 **Download**（下载），下载曲线图像文件，或单击 **Add to PowerPoint**（添加至 PowerPoint），将曲线添加至 PowerPoint 演示文稿导出文件（请参见[以幻灯片演示格式导出项目数据](#)）。



3. 在 Save As（另存为）对话框中，选择导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save**（保存）。


---

相关主题：

[导出结果](#)

## 以幻灯片演示格式导出项目数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式导出项目数据。已导出文件中汇总了项目数据，并按通用模板保存已导出文件，因此用户可以通过导入 Microsoft™ PowerPoint® 模板文件进行覆盖。

1. 在项目（包含要导出数据）主菜单中，单击 **Export（导出）**。
2. 在 Export（导出）窗口，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入已导出报告的名称。  
**备注：**命名报告操作允许您重复导出（如果需要）。
  - b. 在 File type（文件类型）菜单中选择 **.pptx**。
3. 在 Export Details（导出详情）窗口中，选择要包括在导出文件中的数据表字段，然后单击 **Start Export（开始导出）**。

开始导出后，请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态（Status）列显示“Download（已下载）”时，即表示导出已完成。

数据导出文件生成后，Applied Biosystems™ 软件将在 Export History（导出历史记录）表中按行显示文件包。

4. （可选）单击 Comments（注释）列中的条目，然后为已导出报告输入附加信息。
5. 单击 **Download（下载）**，选择已导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save（保存）**。

数据导出文件包生成后，将始终保存在 Export History（导出历史记录）表中，或直至用户将其移除。要删除文件包，请在表中选择导出文件包，然后单击 **Actions（操作）** 并选择 **Delete File（删除文件）**。

用户可使用 Microsoft™ PowerPoint® 应用程序重新设置已导出幻灯片演示文件的格式。有关对演示文件应用主题或模板的详细信息，请参见 Microsoft™ PowerPoint® 帮助文件。

---

相关主题：

[导出结果](#)

## 从项目中导出分析后的数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户将项目数据以逗号分隔的文本或制表符分隔的文本形式导出，这类文本可通过大多数电子表格应用程序导入以供进一步分析。

1. 在包含待导出数据的项目的主菜单中，单击 **Export（导出）**。
2. 在 Export（导出）窗口中，输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入所导出报告的名称。  
**备注：**为报告命名将允许用户重复导出（如果需要再次导出）。
  - b. 选择要用于生成所导出数据的分析组。



c. 选择所导出数据的文件类型：

- **.txt** — 用于将数据导出至以制表符分隔的文本文件。
- **.csv** — 用于将数据导出到以逗号分隔的文本文件。
- **.pptx** — 用于将所有数据导出到 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片中。

d. 选中待导出数据的相关复选框。

- **Analysis Results (分析结果)** — 选择该选项以导出项目中每个孔的基因分型分析结果。选择 **Basic (基本)** 或 **Advanced (高级)**，确定所导出数据深度，其中 Basic (基本) 选项生成关于项目的简短信息，而 Advanced (高级) 选项生成详细信息。
- **Genotype Matrix (No preview) (基因型基质 (无预览))** — 选择该选项，导出由分析后的数据生成的基因型基质。
- **Analysis Settings (分析设置)** — 选择该选项，导出用于生成结果的分析设置汇总。
- **Populations (群体)** — 选择该选项，导出群体数据。
- **QC by Samples/Assays/Plates (样品/检测/反应板 QC)** — 选择相应选项，导出按样品、检测或反应板汇总的分析质量数据。

e. 输入想要用于 Undetermined (未确定)、No Amplification (无扩增)、Possible Rare Allele (可能存在的稀有等位基因) 或 Invalid (无效) 识别的标签。

f. 单击 **Preview (预览)**。

3. 在 Export:Details (导出:详细信息) 窗口中，从数据表中选择要包含在已导出文件中的字段，然后单击 **Start Export (开始导出)**。

等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成已导出报告。当已导出报告的状态 (Status) 列显示 "Download" (下载) 时，导出完成。

4. (可选) 单击 Comments (注释) 列中的条目，然后输入已导出报告的任何额外信息。

5. 单击 **Download (下载)**，选择导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save (保存)**。

---

相关主题：

[导出结果](#)

# 生成参考品文件

用户必须先在 Applied Biosystems™ 分析软件中生成参考品文件，然后才能将参考品文件导入项目中。

1. 打开包含要使用的数据点（用作参比样品）的项目。
2. 单击 **Analyze**（分析），使用默认分析设置分析项目。

如果需要，请单击 Analysis Groups（分析组）列表中的 **Actions**（操作） > **Add**（添加）新建分析组，以处理项目数据。

3. 打开已分配至样品（用作参比）的检测的散点图：


- a. 单击 **Analysis**（分析方法）查看分析结果。
- b. 单击已分配至样品（用作参比）的检测的散点图：  
软件将以散点图的形式显示选定检测的数据点。

4. 选择要用作参比样品的样品：

- a. 在 Well Table（孔表）或散点图中，选择一个或多个样品用作参比样品。
- b. 执行下列操作之一：
  - 在 Well Table（孔表）中，单击 **Actions**（操作） > **Well Level**（孔水平） > **Tag for Ref Panel**（标记参考品）。
  - 在散点图中，单击 **Actions**（操作） > **Tag for Ref Panel**（标记参考品），将所选样品添加至参考品。

5. 如果需要，请单击 **Analyze**（分析），分析项目。

6. 导出参考品：

- a. 在 Analysis（分析方法）窗口中，单击 **Export**（导出）。
- b. 单击 **Export**（导出）查看 Export（导出）窗口，然后单击 。
- c. 在 Export Reference Panel（导出参考品）窗口中输入参考品名称，在列表中选择相应分析组，然后单击 **Start Export**（开始导出）。
- d. （可选）单击 Comments（注释）列中的条目，然后为已导出的参考品输入任何附加信息。
- e. 单击 **Download**（下载），选择参考品文件的目标存储位置，然后单击 **Save**（保存）。

**备注：**请参见[导入和应用参考品文件](#)，了解更多有关使用已导出参考品文件的信息。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 总览窗口

使用 Overview（总览）窗口审查和编辑与项目相关联的样品、目标基因和对照品（必要时）。Samples（样品）、Targets（目标基因）和 Controls（对照品）表将采用实验（已添加到项目）中出现的样品、目标基因和对照品进行自动填充，并且可以直接在界面中进行编辑。

要查看 Overview（总览）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Overview（总览）**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• 管理样品和目标基因</li><li>• 管理 HRM 对照品</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• HRM 对照品</li><li>• 高分辨率熔解 (HRM) 染料</li></ul>

### 总览窗口使用提示

- 单击 Overview（总览）窗口中表格的列标题，对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。
- 单击任何表中的 + 均可放大视图。放大后，单击 < 可将视图恢复至原始尺寸。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 管理样品和目标基因

Applied Biosystems™ 分析软件采用实验（已添加到项目）中出现的样品和目标基因填充 Overview（总览）窗口。如有必要，用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除样品和目标基因。

- **Create（创建）** 新样品或目标基因：
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Add（添加）**。
  - b. 在 New Sample/Target（新样品/目标基因）对话框中，输入新样品或目标基因的名称（最多 256 个字符），然后编辑新样品/目标基因的属性。
  - c. 单击 **OK（确定）**。
- 通过直接编辑表中条目 **Update（更新）** 现有样品或目标基因。

**备注：**另外，还可以从表中选择样品或目标基因，然后选择 **Actions（操作） > Update（更新）**。

- **Delete（删除）** 样品或目标基因：
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，选择目标样品或目标基因，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
  - b. 在确认对话框中，单击 **OK（确定）**，删除样品或目标基因。

相关主题：

[设置项目](#)

# 设置项目

将一个或多个实验 (.eds 或 .sds 文件) 导入 HRM 项目后,使用 Overview (总览) 窗口设置项目。

开始



**创建项目并添加实验数据**

(可选) 添加并定义样品、目标基因和对照



**审查/编辑实验的反应板配置**



**审查分析结果并调整设置**



**发布项目数据**



结束

---

相关主题:

[管理样品和目标基因](#)

[管理 HRM 对照品](#)

[高分辨率熔解 \(HRM\) 染料](#)

[高分辨率熔解 \(HRM\) 试剂和对照品](#)

## 管理 HRM 对照品

Applied Biosystems™ 分析软件采用实验 (已添加到项目) 中出现的对照品填充 Overview (总览) 窗口。

如有必要,用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除对照品。

- **Create (创建)** 新对照品:

- a. 在 Overview (总览) 窗口的 Controls (对照品) 表中,单击 **Actions (操作) > Add (添加)**。

- b. 在 New Control (新对照品) 对话框中,为新对照品输入名称 (最多 256 个字符),然后编辑新对照品的属性。

- c. 单击 **OK (确定)**。

- 通过直接编辑表中的条目来 **Update (更新)** 现有对照品。

**备注:** 另外,还可以从表中选择对照品,然后选择 **Actions (操作) > Update (更新)**。

- **Delete (删除)** 对照品:

- a. 在 Controls (总览) 窗口的 Controls (对照品) 表中, 选择目标对照品, 然后单击 **Actions (操作) > Delete (删除)**。
- b. 在 Confirmation (确认) 对话框中, 单击 **OK (确定)** 删除对照品。

---

相关主题:


[HRM 对照品](#)

[设置项目](#)

## 应用样品和目标基因

如果一个或多个实验中的样品或目标基因分配出错或缺失, 可使用 Applied Biosystems™ 分析软件在执行分析前修正问题。

**备注:** 审查反应板布局时, 请单击 **Actions (操作) > Clear Well Setup (清除孔设置)**, 移除反应板网格中选定孔的孔信息 (样品、任务和目标分配)。

1. 在 Plate Setup (反应板设置) 窗口中, 选择要修改的实验。
2. (可选) 在 Edit Plate (编辑反应板) 窗口中, 单击 **View (查看)** , 然后选择 **Target (目标基因)** 和 **Sample (样品)** 以根据要修改的元素对反应板设置进行着色。
3. 在反应板布局中选择要作为目标基因或样品应用对象的孔。
4. 孔选择完成后, 单击反应板网格右侧的相应字段, 然后在列表中选择相应的项目。

**备注:** 如果尚未创建样品或目标基因, 请在相应字段中输入名称并按 **Enter** 以新建样品或目标基因。

5. 反应板布局修改完成后, 单击 **Analyze (分析)**, 重新分析项目。

---

相关主题:

[编辑实验属性](#)

## 通过外部文件导入 HRM 校准信息

用户可使用 Import Calibration File (导入校准文件) 功能更改 (覆盖) HRM 实验的 HRM 校准文件。该选项可更改 (覆盖) 选定 HRM 实验的 HRM 校准文件。

1. 在 Plate Setup (反应板设置) 窗口中, 选择要应用校准文件的实验。
2. (可选) 在 Edit Plate (编辑反应板) 窗口中, 单击 **Substitute (替换)**, 然后选择适合的 HRM 校准文件 (.eds 或 .sds 文件) 并单击 **Open (打开)**。

**重要信息！** HRM 校准文件必须满足以下条件：

- 在与运行文件相同的仪器上运行
- 在与运行文件相同类型的反应板中运行（384 孔、96 孔快速反应板或 96 孔标准反应板）
- 采用与运行文件相同的软件版本运行

3. 反应板布局修改完成后，单击 **Analyze（分析）**，重新分析项目。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

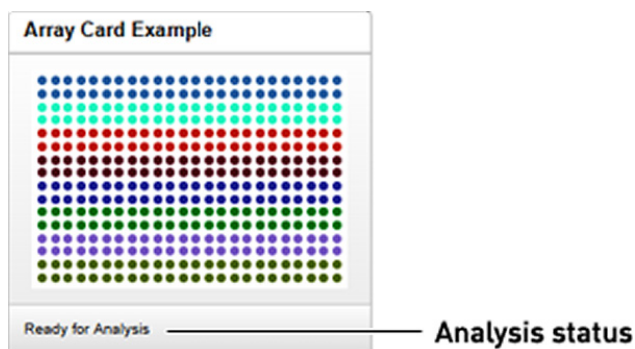
## 审查和编辑反应板设置

使用所有必需样品和目标基因配置项目后，使用 Plate Setup（反应板设置）窗口审查实验是否存在可能阻碍项目分析的问题。Applied Biosystems™ 分析软件将在相关实验的每个图像下方的页边距中显示可能阻碍分析的反应板配置错误。在分析项目之前，必须使用 Plate Setup（反应板设置）窗口对这些错误进行处理。

要审查项目的反应板设置信息：

1. 选择 **Plate Setup（反应板设置）**，显示 Plate Setup（反应板设置）窗口。
2. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，审查实验记录中的错误。
3. 如果存在错误，请单击目标实验记录，并处理阻碍文件分析的问题。

**备注：** 软件将显示会阻止相关反应板的图像下方实验中的分析的反应板配置问题。



---

相关主题：


[编辑实验属性](#)



# 指定和分配任务

如果一个或多个实验中的任务分配出错或缺失，可以使用 Applied Biosystems™ 分析软件在执行分析前修正问题。

**备注：**审查反应板布局时，请单击 **Actions（操作） > Clear Well Setup（清除孔设置）**，移除反应板网格中选定孔的孔信息（样品、任务和目标分配）。

1. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验记录。
2. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **View（审查）** ，然后选择 **Task（任务）** 以根据任务分配对反应板设置进行着色。
3. 在反应板布局中选择要作为任务应用对象的孔。
4. 孔选择完成后，单击 **Task（任务）** 菜单，然后在列表中选择相应任务。

可选任务包括：

- **Unknown（未知）** — 该任务适用于其中样品带有未知基因型、变异体内容物或百分比甲基化的孔。
- **NTC** — 该任务适用于以水或缓冲液代替样品的孔（无模板对照）。阴性对照孔中不应发生目标基因扩增。
- **Positive Controls（阳性对照）** — 含有以下各项中一种的孔：
  - 已知可生成一个或两个等位基因（**杂合子**或**纯合子**）的特定基因分型识别的模板。
  - 野生型对照（**野生型**）。
  - 甲基化 DNA 含量范围为 0% - 100% 的甲基化 DNA 链（添加自定义对照标记）。

**备注：**Task/Control（任务/对照）下拉列表可显示 Overview（总览）窗口的 Controls（对照）窗格中所含的对照。请参见[管理 HRM 对照](#)，了解有关添加和编辑对照的信息。

5. 根据需要重复步骤 3 和 4。
6. 反应板布局修改完成后，单击 **Analyze（分析）**，重新分析项目。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

# 模板文件

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户通过模板文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）应用反应板布局信息（例如目标基因、样品和任务配置）。模板文件为逗号分隔值 (.csv) 文件，其中包含单个反应板的目标基因、样品和任务配置。您可以先通过电子表格应用程序或文本编辑器创建模板文件，然后使用 Applied Biosystems™ 软件导入模板文件，以将目标基因、样品和/或任务信息应用到已添加至项目的实验中。

如果已将实验添加至项目，则可以下载模板文件，将其用作创建个人模板文件的起点。下图示出了已导出文件的通用结构。

		A	B	C	D	E	F	G
<b>实验数据 (请勿编辑)：</b>	<b>1</b>	* 模块类型 = 96 孔						
	<b>2</b>	* 实验类型 = 高分辨率熔解 实验						
	<b>3</b>	* 仪器 = StepOnePlus 系统						
	<b>4</b>	* 孔数 = 96						
	<b>5</b>	* 设置孔分区 信息 =						
<b>列标题 (请勿编辑)：</b>	<b>6</b>	孔	孔位置	样品名称	任务	目标基因 名称	报告基因	淬灭剂
<b>反应板设置内容 (按任意顺序添 加孔数据)：</b>	<b>7</b>	0	A1	样品 3	野生型	检测 1	SYBR	无
	<b>8</b>	1	A2	样品 3	UNKNOWN	检测 1	SYBR	无
	<b>9</b>	2	A3	样品 3	UNKNOWN	检测 1	SYBR	无
	...	...	...	...	...	...	...	...

编辑文件时请遵循以下指导原则：

- 行 1 至 6 包含用于描述实验的文件名称信息。通常情况下不应编辑该信息，因为该信息在用户使用的所有文件中均相同。如图所示准确输入标题（区分大小写）：
  - \* 模块类型 =
  - \* 实验类型 =
  - \* 仪器类型 =
  - \* 孔数 =
  - \* 设置孔分区信息 =
  - 孔
  - 孔位置
  - 样品名称
  - 任务
  - 目标基因名称

- 报告基因
- 淬灭剂
- 第 7 行及以下行包含实验的反应板设置信息，其中每一行包含有关反应板上单个孔的内容物信息。如以上示例所示，各行可以任意顺序排列，但位置信息（在第 1 列和第 2 列中）必须是准确的。

对于每个孔，文件包含以下信息：

- **A 列 (Well (孔))** — 反应板上孔的数字位置，其中孔按照由左至右以及由上至下的顺序编号。例如，在 96 孔反应板中，A1 孔的数量为 "0"，并且 G12 孔的数量为 "95"。
- **B 列 (Well Position (孔位置))** — 反应板上孔的坐标。
- **C 列 (Sample Name (样品名称))** — 孔内样品的名称（最多 256 个字符）。
- **D 列 (Task (任务))** — 孔内样品的任务，其中可接受值包括 **UNKNOWN (未知)**、**NTC** 和自定义的阳性对照。
- **E 列 (Target Name (目标基因名称))** — 已添加至孔的检测的名称，或目标序列的标识（最多 256 个字符）。
- **F 列 (Reporter (报告子))** — 孔内报告染料的名稱。
- **G 列 (Quencher (淬灭剂))** — 孔内淬灭染料的名稱。
- 如果包括在模板文件中的样品和/或目标基因存在于项目所包含的其他实验室中，则文件名称必须与其他实验中的文件名称精确匹配（包括大小写），以便软件将数据关联起来。
- 当从模板文件中导入反应板设置信息时，Applied Biosystems™ 软件将使用文件中的信息覆盖全部现有设置。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 通过模板文件应用反应板设置信息

Applied Biosystems™ 软件可直接通过设计文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）导入反应板布局信息。

**备注：**有关模板文件结构的详细信息，请参见[模板文件](#)。

用户可在 Plate Setup（反应板设置）窗口中执行以下操作：

- 以模板文件的形式[下载](#)现有实验的反应板设置信息：
  - a. 打开包含目标反应板布局的实验的项目，然后选择 **Plate Setup (反应板设置)**。
  - b. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择包含目标反应板设置的实验记录。
  - c. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions (操作) > Apply Template (应用模板)**，然后将文件保存至目标位置。
- 通过模板文件[应用](#)反应板设置信息。

- a. 创建包含目标反应板设置信息的模板文件。

**备注：**请参见[模板文件](#)，了解有关创建模板文件的详细信息。

- b. 打开包含目标实验（模板应用对象）的项目，然后单击 **Plate Setup**（反应板设置）。
- c. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验记录。
- d. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions**（操作） > **Download Template**（下载模板）。
- e. 选择包含目标反应板设置信息的模板文件，然后单击 **Open**（打开）。

如果导入成功，则样品、检测/目标基因和当前反应板布局的任务分配将被导入设置覆盖。

**重要信息！** 导入的反应板布局将覆盖现有反应板设置，并且导入完成后无法撤销。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)




## 质量控制与结果窗口

请使用 Quality Check & Results（质量检查与结果）窗口初步审查分析后的项目数据，并查看高分辨率熔解曲线分析的结果。该窗口的曲线图和功能可帮助用户审查项目中是否存在不规则扩增以及其他常见 qPCR 问题。审查后，用户可通过熔解曲线和表数据审查分析结果。

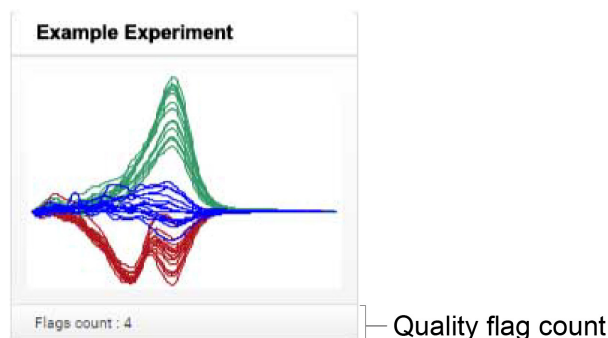
要查看 Quality Check & Results（质量检查与结果）窗口，请在查看项目时单击窗口顶部的 **Quality Check & Results**（质量检查与结果）。


如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">配置分析设置</a></li><li>• <a href="#">忽略分析中的孔</a></li><li>• <a href="#">审查 HRM 基因分型数据</a></li><li>• <a href="#">审查 HRM 甲基化数据</a></li><li>• <a href="#">审查 HRM 突变检测数据</a></li><li>• <a href="#">审查质量数据</a></li><li>• <a href="#">导出曲线以用于演示和发布</a></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">扩增曲线</a></li><li>• <a href="#">熔解曲线对齐图</a></li><li>• <a href="#">熔解曲线导数图</a></li><li>• <a href="#">熔解曲线差异图</a></li><li>• <a href="#">多组分曲线</a></li><li>• <a href="#">质量标记</a></li><li>• <a href="#">原始熔解曲线</a></li><li>• <a href="#">孔表</a></li></ul>

## 质量检查与结果使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 使用反应板视图 () 确定生成质量标记的实验，并选择需要进一步检查的实验。















**备注：**软件将在相关图像下方显示由各个实验生成的质量标记的数量。



- 使用数据视图 () 确定生成质量标记的实验。

**备注：**Select an Experiment (选择实验表) 中的 Flags (标记) 列指示由每条记录所对应的孔生成的质量标记总数。

审查单个实验时：

- 单击 **Analysis Setting (分析设置)**，查看相应实验的分析设置。
- 单击曲线与表格之间的  或  展开视图。放大后，单击曲线或表格一侧的反向箭头可恢复视图。
- 使用表中的 "Group By" (分组方式) 设置，按样品、目标基因或任务对表中显示的数据进行分组。分组后，选择用于审查图中扩增数据子集的行，该操作在多个重复孔中检查扩增水平时非常有用。
- 单击表格列标题以对内容进行 *排序* (或单击标题中的 ，然后选择  或 )。标题中的排序方向由箭头 ( 或 ) 指示。
- 单击列标题中的 ，然后单击  并选择要用于 *筛选* 内容的参数。完成表格筛选后，单击 **Clear (清除)**，删除筛选条件。
- 单击任意列标题中的 ，然后单击  并选择要 *显示* 或 *隐藏* 的列。
- 单击列标题中的 ，然后单击  (或 )，在表中将列水平位置 *锁定* (或 *解锁*)。在解锁列之后，您可以在表中通过单击并拖拽列标题的方式将该列重新定位。

相关主题：

[关于质量数据汇总](#)

[窗口与曲线](#)

## 关于质量数据概要

质量概要显示了分析中所含实验的表格，以及由相关数据生成的质量标记数。要检查触发标记的数据，请单击 Name（名称）列中的链接以查看相关反应板数据。

为了应对出现质量标记问题，请考虑以下解决方案：

- 更改分析设置中的质量设置：
  - 调节质量标记灵敏度以标记更多或更少的孔。
  - 停用由数据触发的质量标记。
- 忽略分析中的各个孔。

相关主题：

[质量控制与结果窗口](#)

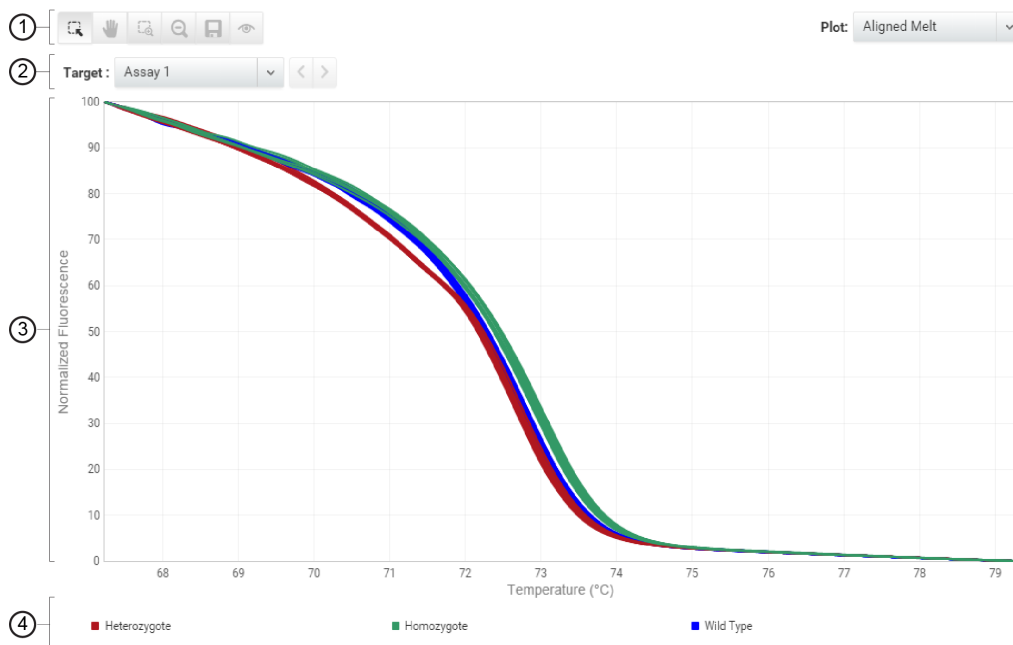
## 熔解曲线对齐图

熔解曲线对齐图可显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较归一化荧光强度百分比（0 - 100%）与温度的关系。软件利用在熔解前和熔解后区域采集的数据来确定荧光强度限值，其中将熔解后区域采集的信号定义为 0% 限值，而将熔解前区域采集的信号定义为 100% 限值。

在熔解曲线对齐图中，PCR 产物的熔解曲线图形状受自身 G-C（鸟嘌呤-胞嘧啶）含量、长度、序列和杂合度（如果执行基因分型）的影响。因此，熔解曲线的特征斜率可指示目标扩增中核酸含量的差异。

应用	说明
基因分型	<ul style="list-style-type: none"><li>• 与纯合子样品相比，杂合子样品的曲线形状具有不同特征。熔解曲线的形状可指示异源双链核酸分子的形成方式。</li><li>• 纯合子样品可根据 T<sub>m</sub> 值的差异彼此区分。</li></ul>
突变检测	与野生型样品不同的样品曲线表示可能存在突变。
甲基化研究	可将未知样品与甲基化标准品的熔解曲线位置进行比对，以估计样品的甲基化百分比。例如，如果未知样品的熔解曲线位于 5% 和 10% 甲基化标准品熔解曲线之间，则未知样品的甲基化核苷酸含量介于 5% - 10% 之间。





1. **工具栏** — 包含以下曲线控制工具：

- 在图中选择各数据点。
- 允许用户单击并手动移动
- 放大曲线至选定区域。
- 缩小曲线以显示所有数据点。
- 将曲线另存为图像 (.png 或 .jpg 格式)。
- 允许用户调整曲线的显示选项

- 2. **目标基因**下拉列表 — 从按照曲线图显示的目标基因数据中选择数据。
- 3. **归一化荧光强度** — 整个相关热循环方案期间所有孔的归一化荧光信号强度。
- 4. **Legend (图例)** — 分析数据中显示的荧光染料。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 配置分析设置

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验(已添加至项目)的默认设置处理项目数据。如有需要，可通过 Quality Control & Results (质量控制与结果) 窗口修改分析设置 (例如，手动与自动阈值设定，或严格与宽松质量阈值)。

1. 在 Quality Control & Results (质量控制与结果) 窗口中，选择目标实验。
2. 在 Review Result (审查结果) 窗口中，单击 **Analysis Settings (分析设置)**。
3. 在 Edit Analysis Setting (编辑分析设置) 对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
目标基因设置	<p>选择 Applied Biosystems™ 软件在计算熔解前后范围、分组和变异体移除时所用的方法（自动或手动）：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>定义是采用自动还是手动方式计算各目标基因的熔解前和熔解后范围： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Auto Set Melt Range（自动设置熔解范围）</b> — 如果使用的是自动设置，请选中该复选框，使软件计算特定目标基因的熔解前和熔解后范围。</li> <li><b>Pre-Melt Start/Stop（熔解前起/止点）</b> 和 <b>Post-Melt Start/Stop（熔解后起/止点）</b> — 如果使用的是手动设置，请为相应目标基因输入手动熔解前和熔解后范围值。</li> </ul> </li> <li>定义是采用自动还是手动方式确定各目标基因的基因型组： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Auto Determine # of Groups（自动确定组数）</b> — 如果使用的是自动设置，请选中该复选框，使软件计算特定目标基因的组数。</li> <li><b>Number of Groups（组数）</b> — 如果使用的是手动设置，请为相应目标基因输入组数。</li> </ul> </li> <li><b>Remove all Manual Variants on reanalysis（重新分析时删除所有手动识别变异体）</b> — 选择该选项，使软件忽略分析中被手动标记为变异体的所有孔。</li> </ul>
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>在 Use（使用）列中，选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li> <li>如果列出了标记的属性、条件和值，则可指定标记应用设置。 例如，采用无扩增标记 (NOAMP) 的默认设置时，扩增算法计算结果低于 0.1 的孔将被标记。 <b>备注：</b>如果选择调整标记应用设置，请在评估相应设置时进行微调。</li> <li>在 Reject Well（拒绝孔）列中，如果需要软件拒绝带标记的孔，请选中相应复选框。在数据分析时，已拒绝的孔将不纳入考虑。</li> </ol>

4. 分析设置修改完成后，单击 **Finish（完成）**。

相关主题：

[分析项目](#)

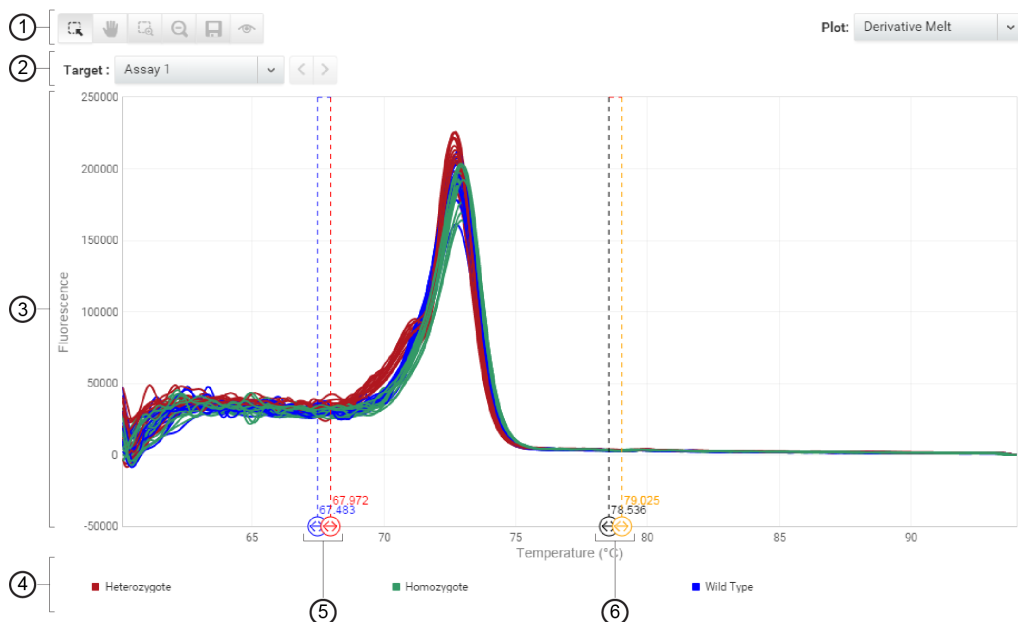
## 熔解曲线导数图

熔解曲线导数图可显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较各个孔的归一化荧光强度负导数 ( $-R_n'$ ) 与温度的关系。用户可通过熔解曲线导数图观察归一化荧光强度在整个温度梯度过程中的变化速率。图中各个峰对应于特定孔的荧光强度最大变化速率，并且软件将据此估计相关样品的  $T_m$  值。

用户可通过熔解曲线导数图中的竖线查看和调节熔解前和熔解后区域，从而优化分离和变异体识别。请参见[配置分析设置](#)，了解有关查看和调节熔解前和熔解后区域的更多信息。

对于所有实验，请注意以下内容：

- 异常峰可能指示存在污染、引物二聚体或非 - 特异性扩增。
- 因为高分辨率熔解曲线比标准熔解曲线采集的数据更多，因此可能存在数据噪声。



### 1. 工具栏 — 包含以下曲线控制工具：

- ① - 在图中选择各数据点。
- ② - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- ③ - 放大曲线图至选定区域。
- ④ - 缩小曲线以显示所有数据点。
- ⑤ - 将曲线另存为图像（.png 或 .jpg 格式）。
- ⑥ - 允许用户调整曲线的显示选项。

### 2. 目标基因下拉列表 — 从按照曲线图显示的目标基因数据中选择数据。

### 3. 荧光强度导数 — 所有孔的归一化荧光强度一阶导数的负导数（在整个温度梯度过程中）。

### 4. 图例 — 分析结果中展示的识别结果/基因型。

### 5. 熔解前区域 — 峰左侧一对竖线所限定的区域，用于指示熔解前的起止温度（各扩增均为双链扩增的情况下）。来自熔解前区域的荧光数据对应于熔解曲线对齐图中的 100% 荧光强度。

### 6. 熔解后区域 — 峰右侧一组竖线所限定的区域，用于指示熔解后的起止温度（各扩增均为单一链扩增的情况下）。来自熔解后区域的荧光强度数据对应于熔解曲线对齐图中的 0% 荧光强度。

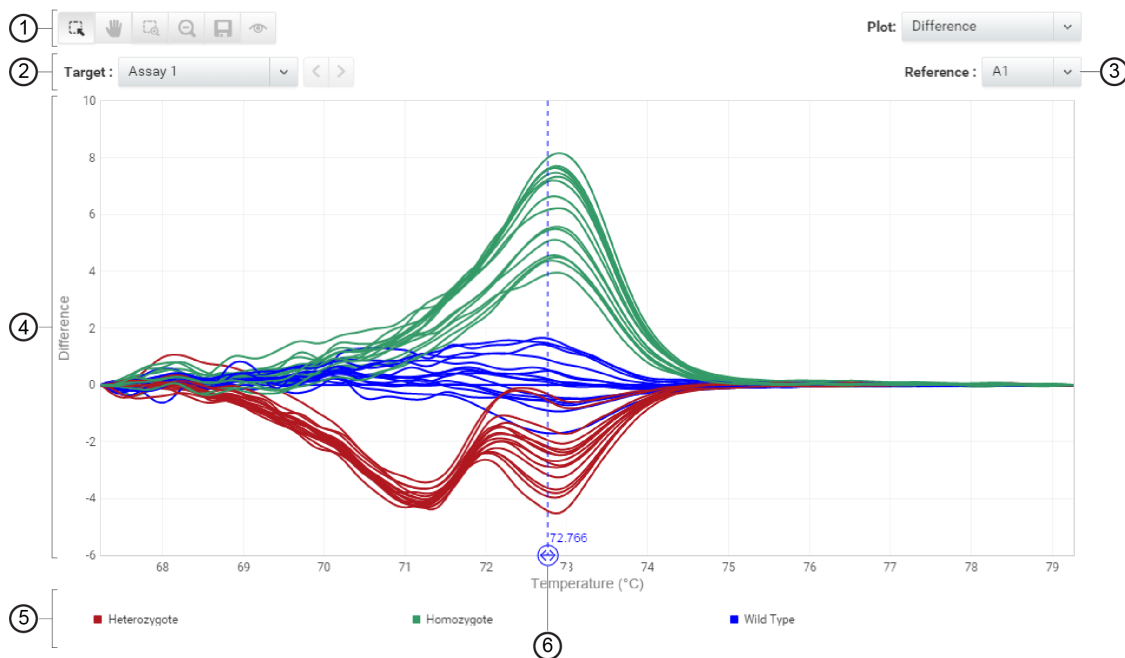
相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 熔解曲线差异图

熔解曲线差异图可显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较参比归一化荧光强度与温度的关系。为了生成熔解曲线差异数据，软件需要扣除在实验中各孔的 Reference（参比）下拉列表中指定的孔荧光强度。

Difference Plot（差异图）有助于用户更轻松地查看曲线之间的细微差别，并确定重复群体之间的离群值。该图可用于确认对照群体和技术重复的性能一致性。例如，各阳性对照孔的熔解曲线差异图应当类似。



#### 1. 工具栏 — 包含以下曲线控制工具：

- ① - 在图中选择各数据点。
- ② - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- ③ - 放大曲线图至选定区域。
- ④ - 缩小曲线以显示所有数据点。
- ⑤ - 将曲线另存为图像（.png 或 .jpg 格式）。
- ⑥ - 允许用户调整曲线的显示选项。

#### 2. 目标基因下拉列表 — 从按照曲线图显示的目标基因数据中选择数据。

#### 3. 参比下拉列表 — 选择软件用于归一化数据的孔。

#### 4. 归一化荧光强度 — 所有孔的归一化荧光信号，与 Reference（参比）下拉列表中选定的孔不同，（在整个温度梯度过程中）。

#### 5. 图例 — 分析结果中展示的识别结果/基因型。

#### 6. 温度滑块 — 显示图中划线处的温度。

相关主题：

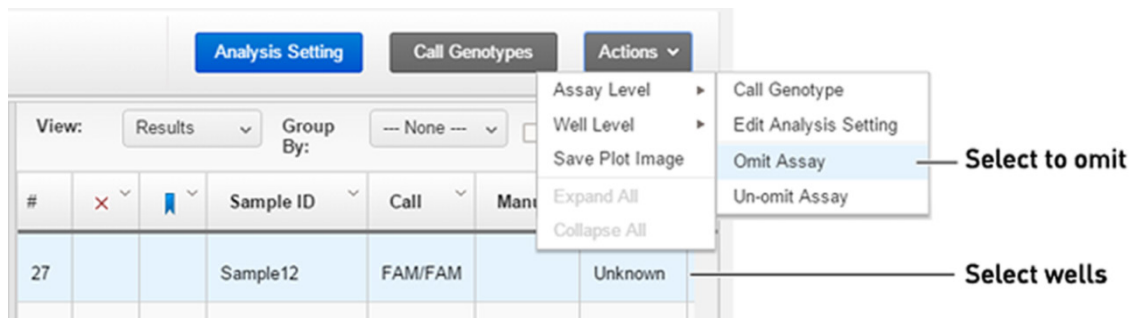
[窗口与曲线](#)

## 忽略分析中的孔

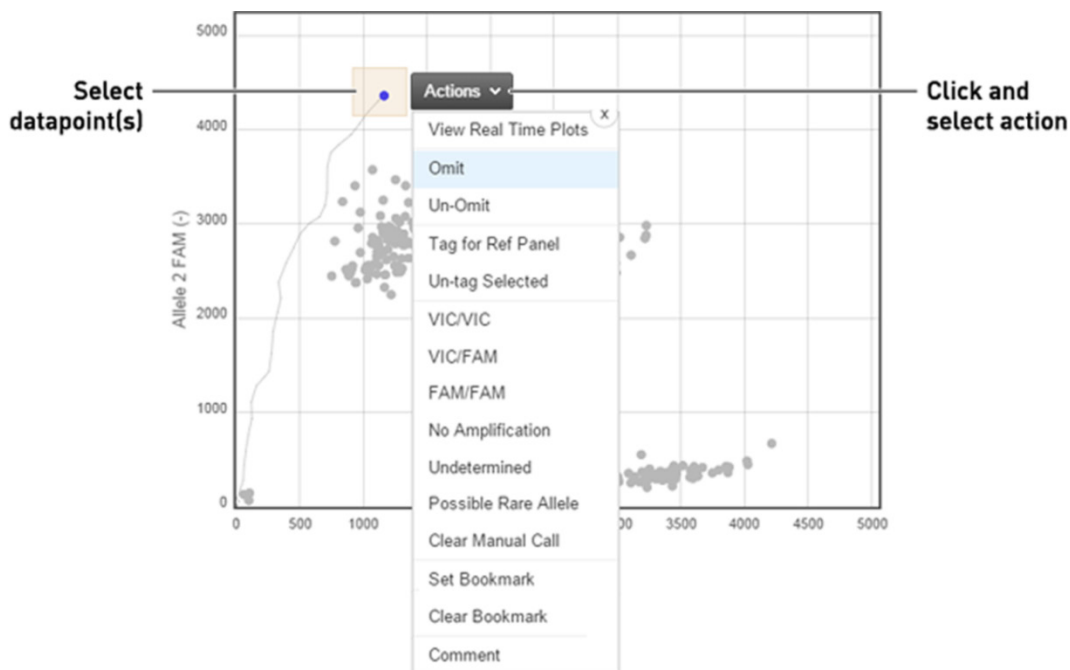
要忽略一个或多个不希望纳入分析的孔：

- 请在 **Sample（样品）** 视图下忽略一个或多个孔：
  - a. 在 Analysis（分析方法）窗口的 View（查看）下拉列表中选择 **Sample（样品）**。
  - b. 在样品布局中，选择一个或多个样品，然后单击 **Actions（操作） > Omit Sample（忽略样品）**。
  - c. 单击 **Analyze（分析）**，在不考虑已忽略孔的情况下重新分析项目。
- 通过 **Plate（反应板）** 布局忽略一个或多个孔：
  - a. 在 Analysis（分析方法）窗口的 View（查看）下拉列表中选择 **Plate（反应板）**。
  - b. 在 Plate（反应板）视图下，选择要修改的反应板。

- c. 在反应板布局中，选择一个或多个孔，然后单击 **Actions (操作) > Omit Well(s) (忽略孔)**。
  - d. 单击 **Analyze (分析)**，在不考虑已忽略孔的情况下重新分析项目。
- 通过 Well Table (孔表) 忽略一个或多个孔：
    - a. 在 Analysis (分析方法) 窗口的 View (查看) 下拉列表中选择 **Assay (检测)**。
    - b. 在 Assay (检测) 视图下，选择要修改的散点图。
    - c. 在 Well Table (孔表) 中，选择要忽略的孔所对应的行，然后
      - 选择 **Actions (操作) > Well Level (孔水平) > Omit (忽略)**，忽略相关孔。
      - 选择 **Actions (操作) > Assay Level (检测水平) > Omit Assay (忽略检测)**，忽略与相关检测相关联的所有数据。



- d. 单击 **Analyze (分析)**，在不考虑已忽略孔的情况下重新分析项目。
- 通过散点图忽略一个或多个孔：
    - a. 在 Analysis (分析方法) 窗口的 View (查看) 下拉列表中选择 **Assay (检测)** 或 **Sample (样品)**。
    - b. 在 Assay (检测) 或 Sample (样品) 视图下，选择要修改的散点图。
    - c. 在散点图中，选择一个或多个数据点，然后在浮动菜单中选择 **Omit (忽略)**。



- d. 单击 **Analyze (分析)**，在不考虑已忽略孔的情况下重新分析项目。

---

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

## 执行手动识别

要向变异体组手动分配样品时，请进行执行手动识别。

1. 在 Applied Biosystems™ 分析软件中，选择 **Quality Control & Results**（质量控制与结果）选项卡。
2. 在 Quality Control & Results（质量控制与结果）窗格中，选择目标实验。
3. 在 Review Result（审查结果）窗口中，通过 Melt Curve Plot（熔解曲线）、Plate Layout（反应板布局）或 Well Table（孔表）选择一个或多个孔。
4. 单击 **Actions**（操作），然后选择 **Manual Call**（手动识别）。
5. 用户可在 Manual Call（手动识别）对话框中将样品分配至：
  - **现有变异体识别** — 单击 **Select Existing**（选择现有），在 Group（组）下拉菜单中选择相应识别结果，然后单击 **OK**（确定）。
  - **新变异体识别** — 单击 **Create New**（新建），在 Group（组）字段中输入新识别的名称，然后单击 **OK**（确定）。

在 Plate Layout（反应板布局）选项卡中，样品孔右上角带有红色三角形标记。

在 Well Table（孔表）选项卡的 Method（方法）列中，Manual（手动）识别显示在选定样品旁边。

6. 重复上述步骤，分配其他手动识别。
7. 单击 **Analyze**（分析），使用手动识别重新分析数据。

---

相关主题：

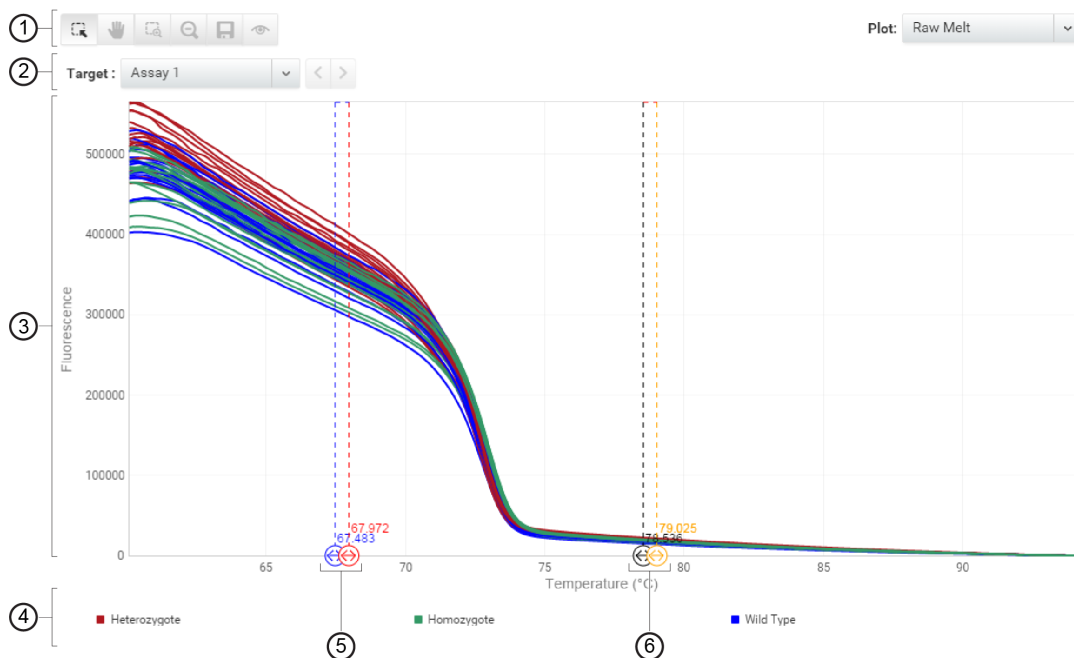
[分析项目](#)

## 原始熔解曲线

原始熔解曲线可显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较归一化荧光强度 (Rn) 与温度的关系。用户可通过原始熔解曲线图观察各孔归一化荧光强度在整个温度梯度过程中的下降情况。归一化报告染料荧光强度 (Rn)（显示在 y 轴中）根据参比荧光的荧光信号对报告染料的荧光信号进行归一化处理计算而来。

用户可通过原始熔解曲线图中的竖线查看和调节熔解前和熔解后区域，从而优化分离和变异体识别。请参见[配置分析设置](#)，了解有关查看和调节熔解前和熔解后区域的更多信息。





### 1. 工具栏 — 包含以下曲线控制工具：

- ① - 在图中选择各数据点。
- ② - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- ③ - 放大曲线图至选定区域。
- ④ - 缩小曲线以显示所有数据点。
- ⑤ - 将曲线另存为图像 (.png 或 .jpg 格式)。
- ⑥ - 允许用户调整曲线的显示选项。

### 2. 目标基因下拉列表 — 从按照曲线图显示的目标基因数据中选择数据。

### 3. 荧光强度 — 所有孔的荧光信号（在整个温度梯度过程中）。

### 4. 图例 — 分析结果中展示的识别结果/基因型。

### 5. 熔解前区域 — 峰左侧一对竖线所限定的区域，用于指示熔解 - 前的起止温度（各扩增均为双链扩增的情况下）。来自熔解前区域的荧光数据对应于熔解曲线对齐图中的 100% 荧光强度。

### 6. 熔解后区域 — 峰右侧一组竖线所限定的区域，用于指示熔解后的起止温度（各扩增均为单链扩增的情况下）。来自熔解后区域对应于熔解曲线对齐图中的 0% 荧光强度。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 审查和调整熔解前和熔解后区域

分析 HRM 实验时，软件会按默认设置计算熔解前和熔解后区域。您可以审查并调整熔解前和熔解后区域以优化分离和变异体识别。对于大部分实验，请将熔解前和熔解后区域设置为尽可能靠近熔解转变区域。

相关主题：

[关于熔解前和熔解后区域](#)

[审查和调整熔解前和熔解后区域](#)

[审查 HRM 基因分型数据](#)




## 导出窗口

使用 Export（导出）窗口生成报告并导出项目数据。分析完成后，该窗口可提供多个用于导出结果和分析后数据的选项，以便进行演示或进一步分析。每组分析后的数据生成后，将被添加到导出历史，用户可以随时从其中下载这些数据。

要查看 Export（导出）窗口，请在查看项目时单击上方的 **Export（导出）**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• 从项目中导出分析后的数据</li><li>• 导出曲线以用于演示和发布</li><li>• 导出数据以用于其他项目</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 孔表</li><li>• 质量标记</li></ul>

### 导出窗口使用提示

- 单击  以生成导出数据集。
- 单击  以从当前项目生成参考品。
- 单击  以查看导出历史并下载先前的导出数据集。
- 在查看导出历史时，请单击 Export History（导出历史）表的列标题以对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。
- 单击 Export History（导出历史）表的列标题，对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头指示。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 导出数据以用于其他项目

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户导出以下项目数据用于其他分析。

### 导出模板文件

模板文件包含布局信息（目标基因、样品和任务配置），使您能够轻松完成项目新增实验的设置。Applied Biosystems™ 软件允许用户从现有实验导出模板文件或通过文本编辑器/电子表格应用程序创建模板文件。


1. 打开包含目标实验的项目，然后选择 **Plate Setup（反应板设置）**。
2. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择包含目标反应板设置信息的实验记录。
3. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions（操作） > Download Template（下载模板）**，然后将文件保存至目标位置。

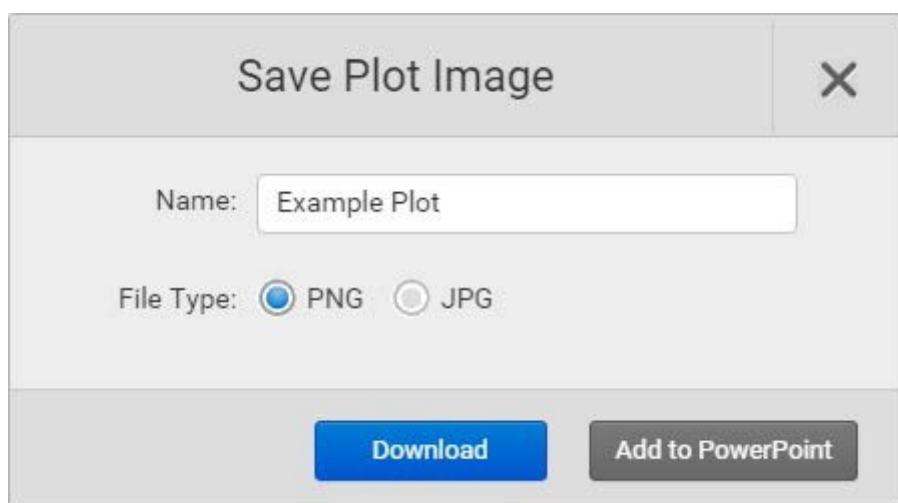
相关主题：

[导出结果](#)

## 导出曲线以用于演示和发布

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以便携式网络图像格式 (.png) 或联合图像专家组格式 (.jpg) 文件导出任意曲线，这些文件可以通过大部分电子表格和演示用桌面排版软件导入。

1. 查看曲线时，请单击 （以保存相关曲线）或选择 **Actions（操作） > Save Plate Image（保存反应板图像）**（以保存反应板网格图像）。
2. 保存图像。
  - a. 单击 File Name（文件名）字段，然后为导出的图像文件输入名称。
  - b. 选择适合的文件格式 (.png 或 .jpg)。
  - c. 单击 **Download（下载）**，下载曲线像文件，或单击 **Add to PowerPoint（添加至 PowerPoint）**，将曲线添加至 PowerPoint 演示文稿导出文件（请参见[以幻灯片演示格式导出项目数据](#)）。




3. 在 Save As（另存为）对话框中，选择导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save（保存）**。

相关主题：

[导出结果](#)

## 以幻灯片演示格式导出项目数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式导出项目数据。已导出文件中汇总了项目数据，并按通用模板保存已导出文件，因此用户可以通过导入 Microsoft™ PowerPoint® 模板文件进行覆盖。

1. 在项目（包含要导出数据）主菜单中，单击 **Export（导出）**。
2. 在 Export（导出）窗口，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入已导出报告的名称。  
**备注：**命名报告操作允许您重复导出（如果需要）。
  - b. 在 File type（文件类型）菜单中选择 **.pptx**。
3. 在 Export Details（导出详情）窗口中，选择要包括在导出文件中的数据表字段，然后单击 **Start Export（开始导出）**。

开始导出后，请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态（Status）列显示“Download（已下载）”时，即表示导出已完成。

数据导出文件生成后，Applied Biosystems™ 软件将在 Export History（导出历史记录）表中按行显示文件包。

4. （可选）单击 Comments（注释）列中的条目，然后为已导出报告输入附加信息。
5. 单击 **Download（下载）**，选择已导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save（保存）**。

数据导出文件包生成后，将始终保存在 Export History（导出历史记录）表中，或直至用户将其移除。要删除文件包，请在表中选择导出文件包，然后单击 **Actions（操作）** 并选择 **Delete File（删除文件）**。

用户可使用 Microsoft™ PowerPoint® 应用程序重新设置已导出幻灯片演示文件的格式。有关对演示文件应用主题或模板的详细信息，请参见 Microsoft™ PowerPoint® 帮助文件。


---

相关主题：

[导出结果](#)

## 从项目中导出分析后的数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式或逗号分隔/制表符分隔文本格式（可通过大部分电子表格应用程序导入）导出项目数据，用于进一步分析或演示。

1. 在项目（包含要导出数据）主菜单中，单击 **Export（导出）**。
2. 在 Export（导出）窗口，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入已导出报告的名称。  
**备注：**命名报告操作允许您重复导出（如果需要）。
  - b. 选择已导出数据的文件类型：
    - **.txt** — 将数据导出为制表符分隔的文本文件。
    - **.csv** — 将数据导出为逗号分隔的文本文件。
    - **.pptx** — 将所有数据导出到 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示文件中。

c. (仅适用于 CSV 和 TXT 导出) 选中要导出数据的复选框。

- **HRM Raw/HRM Difference/HRM Aligned (HRM 原始图/HRM 差异图/HRM 对齐图)** — 导出 HRM Raw (HRM 原始图)、HRM Difference (HRM 差异图) 和 HRM Aligned (HRM 对齐图) 的结果。
  - **Results Data (结果数据)** — 导出高分辨率熔解分析的结果 (包括 Tm 计算结果和识别数据)。
  - **Amplification Data (扩增数据)** — 导出项目中各孔的扩增结果, 例如循环数和 Rn 或  $\Delta Rn$  值。
  - **Experiment QC Summary (实验 QC 汇总)** — 导出由数据分析生成的质量指标 (标记) 汇总结果。
  - **Analysis Settings (分析设置)** — 用于生成分析数据的分析设置配置 (包括各 QC 标记的阈值设置)。
3. 如果要自定义导出操作以使其包含特定数据, 请单击 **Actions (操作) > Customize (自定义)**, 然后在各选定表中选择要作为导出来源的数据列。
  4. 在 Export Details (导出详情) 窗口中, 选择要包括在导出文件中的数据表字段, 然后单击 **Start Export (开始导出)**。

开始导出后, 请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态 (Status) 列显示 “Download (已下载)” 时, 即表示导出已完成。

数据导出文件生成后, Applied Biosystems™ 软件将在 Export History (导出历史记录) 表中按行显示文件包。

5. (可选) 单击 Comments (注释) 列中的条目, 然后为已导出报告输入附加信息。
6. 单击 **Download (下载)**, 选择已导出数据文件的目标存储位置, 然后单击 **Save (保存)**。

数据导出文件包生成后, 将始终保存在 Export History (导出历史记录) 表中, 或直至用户将其移除。要删除文件包, 请在表中选择导出文件包, 然后单击 **Actions (操作)** 并选择 **Delete File (删除文件)**。

---

相关主题:

[导出结果](#)

## 反应板设置窗口




请使用 Plate Setup (反应板设置) 窗口更改已添加到项目中的实验的反应板设置。用户可通过该编辑器编辑样品、目标基因和任务分配, 以修正缺失或错误设置。如有需要, 用户可使用 Plate Setup (反应板设置) 窗口应用反应板设置配置, 方法是创建并上传电子表格编辑器所创建的模板。

要查看 Plate Setup (反应板设置) 窗口, 请在查看项目时单击窗口上方的 **Plate Setup (反应板设置)**。

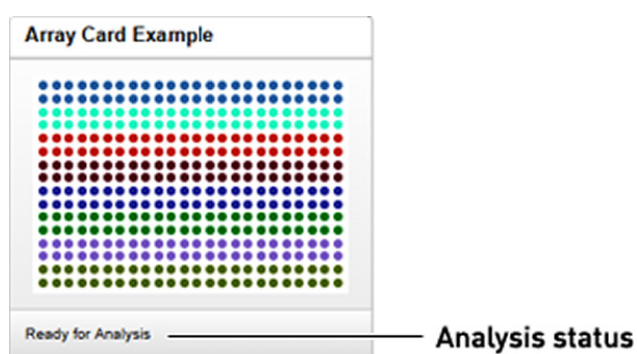
**重要信息!** 通过 Plate Editor (反应板编辑器) 对反应板配置所做的更改不会直接保存至相关实验 (.eds 或 .sds 文件) 中, 而是保存至项目中。因此, 用户在一个项目中对反应板设置所做的更改不会反映在其他项目中。


如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 审查和编辑反应板设置</li> <li>• 应用样品和检测</li> <li>• 应用样品和检测</li> <li>• 指定和分配任务</li> <li>• 通过模板文件应用反应板设置信息</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 荧光参比</li> <li>• 任务</li> <li>• 模板文件</li> </ul>

## 反应板设置窗口使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 请使用反应板视图 () 确定阻碍分析的反应板。

**备注：**该软件将在相关反应板的图像下方显示阻碍实验分析的反应板设置。



- 请使用数据视图 () 确定缺少数据分配的实验。Select a Plate (选择反应板) 表中的 Wells Defined (已定义孔) 列可指示具有样品、目标基因和任务设置的各个反应板记录中的孔数。

编辑反应板布局时：

- 请在应用样品、任务和检测分配时使用模板保存时间。
- 选择要更改样品或所分配任务的各个孔。
- 用户可先选择反应板中的孔，然后选择 **Actions (操作) > Clear Well Setup (清除孔设置)**，从而快速删除反应板中指定区域的所有样品、任务和检测分配。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

# 高分辨率熔解 (HRM) 染料

使用高分辨率熔解染料 (HRM 染料) 得到的 PCR 产物熔解曲线效果最好。HRM 染料属于双链 dsDNA 结合染料, 该染料与 dsDNA 结合后荧光信号强度高, 而处于未结合状态时荧光信号强度低。HRM 分析使用荧光强度优于之前所用染料的 dsDNA 结合染料, 并且在染料浓度较高时不会抑制 PCR。如果使用传统染料 (例如 SYBR™ Green I 染料), 则可以使用的染料浓度有限, 否则将抑制 PCR。

---

相关主题:

[自定义 HRM 染料](#)

[设置](#)

## HRM 对照品

对于所有类型的实验, Applied Biosystems™ 分析软件都会将未知样品的熔解曲线与阴性对照的熔解曲线进行比较, 以确定变异基团。

用作阴性对照的样品类型取决于实验类型:

- **突变筛查实验** — 将带有野生型序列的一个或多个样品作为对照。如果是未知样品, 则识别结果为“野生型” (如与对照品匹配) 或“变异体 X”。
- **甲基化研究** — 将甲基化 DNA 含量为 0% - 100% 的甲基化 DNA 标准品用作阳性对照。软件将通过与标准品的比较结果来确定变异体的甲基化百分比。
- **基因分型实验** — 将三个样品作为对照: 一个是等位基因 1 纯合子, 一个是等位基因 2 纯合子, 还有一个是两等位基因 (等位基因 1 和等位基因 2) 的杂合子。软件可鉴定未知变异体的基因型。

---

相关主题:

[管理 HRM 对照品](#)

## 自定义 HRM 染料

该入门指南介绍了校准仪器和使用 MeltDoctor™ HRM 染料执行 HRM 实验的步骤。如果选择使用其他 HRM 染料, 则必须准备自定义 HRM 校准板, 然后针对目标染料校准 Applied Biosystems™ qPCR 仪器。仪器校准完成后, 请按所提供的步骤操作, 只需替换为个人 MeltDoctor™ HRM 染料。

**备注:** 有关执行自定义 HRM 染料校准的说明, 请参阅 Applied Biosystems™ qPCR 仪器的 High-Resolution Melt Curve Getting Started Guide (《高分辨率熔解曲线入门指南》)。

**备注:** 针对所用 HRM 染料优化反应, 因为每种染料与所有其他反应成分的相互作用各有不同。

---

相关主题:

[高分辨率熔解 \(HRM\) 染料](#)



# 质量标记

Applied Biosystems™ 分析软件包括一组设置，该设置在激活后可使软件对已处理的实验数据的质量进行筛查，从而指示出可能存在的分析问题。根据各质量“标记”的配置，软件可以通知用户潜在的问题，也可以自动移除分析中的相关数据。用户可选择是否使用质量标记，并且可通过自定义质量标记来调整相关测试的灵敏度。

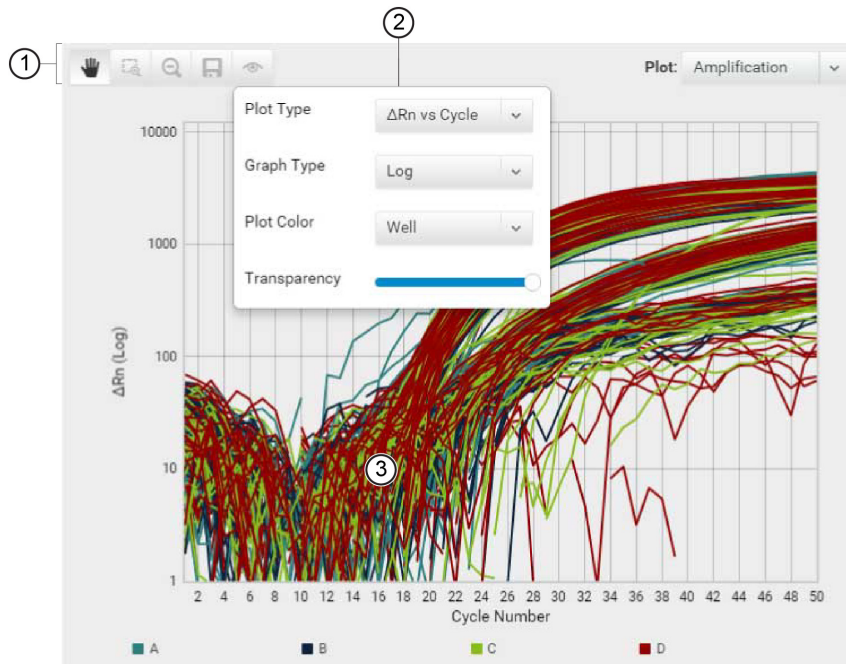
---

## 相关主题：

- AMPNC（阴性对照出现扩增）质量标记
- AMPSCORE（线性期信号较弱）质量标记
- BADROX（参比荧光信号较差）质量标记
- BLFAIL（基线算法失败）质量标记
- CQCONF（C<sub>q</sub> 值的置信度计算结果较低）质量标记
- CRTAMPLITUDE（C<sub>q</sub> 幅值较宽）质量标记
- CRTNOISE（C<sub>q</sub> 噪声）质量标记
- CTFAIL（C<sub>q</sub> 算法失败）质量标记
- DRNMIN（基线异常导致检出 DR<sub>n</sub> 最小值）质量标记
- EXPFAIL（指数算法失败）质量标记
- HIGHSD（重复组标准偏差较高）质量标记
- LOWROX（低浓度 ROX™ 信号强度）质量标记
- MAXCT（C<sub>q</sub> 超出最大值）质量标记
- MPOUTLIER（Multiplex 实验中存在  $\Delta C_q$  异常值）质量标记
- MTP（熔解曲线分析结果中出现多个峰）质量标记
- NOAMP（无扩增）质量标记
- NOISE（噪声水平高于其他板）质量标记
- NOSAMPLE（未向孔分配样品）质量标记
- NOSIGNAL（孔内无信号）质量标记
- OFFSCALE（荧光强度超出范围）质量标记
- OUTLIERRG（重复组中存在异常值）质量标记
- PRFDROP（C<sub>q</sub>/C<sub>t</sub> 附近参比荧光信号变化显著）质量标记
- PRFLOW（参比荧光信号平均值低于阈值）质量标记
- SPIKE（噪声尖峰）质量标记
- THOLDFAIL（阈值算法失败）质量标记

# 扩增曲线

Amplification Plot (扩增曲线) 窗口可显示每个实验 (已添加至项目) 中样品的运行后扩增结果。该图以循环数函数的形式比较  $\Delta Rn$ , 其中  $\Delta Rn$  是在 PCR 扩增期间的每个循环中由报告染料产生的归一化荧光信号强度大小。您可以使用该曲线来鉴定和检测不规则扩增, 并查看相应运行的阈值和基线值。



## 1. Toolbar (工具栏) — 包含以下曲线控制工具:

- 🖱️ - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- 🔍 - 放大曲线至选定区域。
- 🔍 - 缩小曲线以显示所有数据点。
- 💾 - 将曲线另存为图像 (.png 或 .jpg 格式)。
- 👁️ - 允许用户调整曲线的显示选项

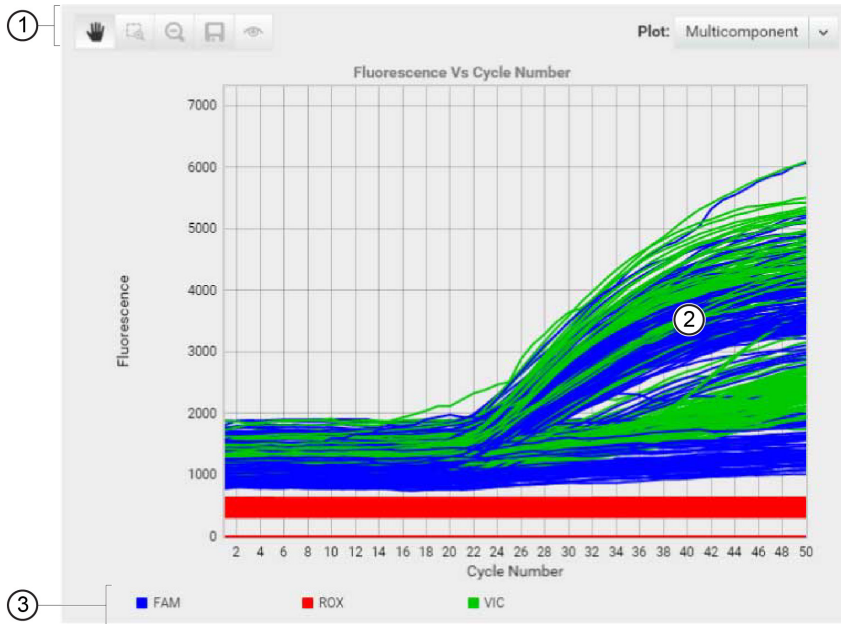
- ## 2. View Options (查看选项) — Amplification Plot (扩增曲线) 的查看选项。使用下拉列表显示软件中所显示的曲线的类型 ( $\Delta Rn$ 与循环数)、y 轴刻度 (log 或线性) 和曲线颜色方案。
- ## 3. 扩增曲线 — 整个热循环方案中各个孔的归一化荧光强度。

相关主题:

[窗口与曲线](#)

# 多组分曲线

Multicomponent Plot（多组分曲线）是在整个 PCR 运行过程中，由选定孔中的每种染料的信号图组成的完整谱图。



## 1. Toolbar（工具栏）— 包含以下曲线控制工具：

- 🖱️ - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- 🔍 - 放大曲线至选定区域。
- 🔍 - 缩小曲线以显示所有数据点。
- 💾 - 将曲线另存为图像（.png 或 .jpg 格式）。
- 👁️ - 允许用户调整曲线的显示选项

## 2. Target/Sample（目标基因/样品）下拉列表 — 从曲线上显示的目标基因或样品数据中选择数据。

## 3. Normalized fluorescence（归一化荧光强度）— 显示整个热循环方案期间所有孔的归一化荧光强度。

## 4. Legend（图例）— 分析数据中显示的荧光染料。

分析个人实验时，请确认以下事项：

- 在整个 PCR 过程中，参比荧光染料的荧光强度水平应保持相对恒定。
- 报告染料的荧光强度水平应显示与基线相应的平直区域，然后在扩增开始后迅速升高。
- 荧光信号不应存在尖峰、下降和/或突然变化。
- 阴性对照孔中不应出现任何扩增反应。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

# 波形图窗口

Traces（波形图）窗口将显示项目中所有波形图文件的列表，并提供每个文件的 QC 标记、碱基识别、运行和数据采集信息。

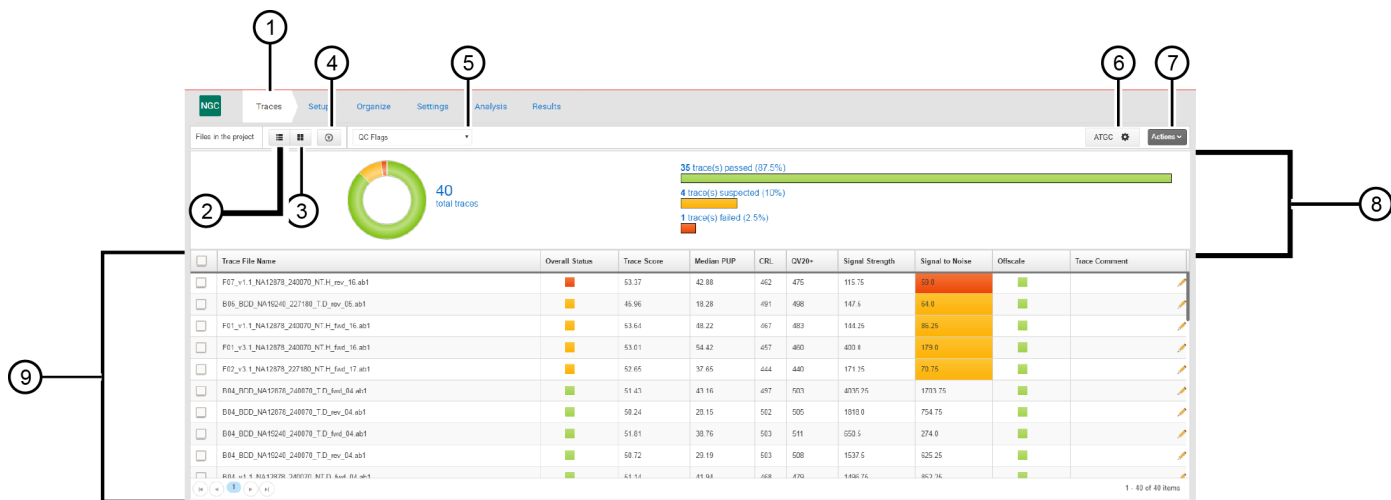


图 1 列表视图（默认视图）

1. workflow 栏 — 选择 Traces（波形图）窗口。
2. 列表视图 — 显示项目中所有波形图文件的列表。
3. 缩略视图 — 显示项目中所有波形图文件的缩略图像。
4. 显示/隐藏项目的质量指示器。
5. 选择要显示在 List（列表）视图中的信息（**QC Flags（QC 标记）**、**Basecall Information（碱基识别信息）**、**Run Information（运行信息）**或 **Data Collection Information（数据采集信息）**）。
6. **ATGC** — 打开 Edit Basecalling Settings（编辑碱基识别设置）对话框。
7. **Actions（操作）** — 看波形图详情，导出波形图，从项目中移除波形图或更改 QC 标记设置。
8. 质量指示器 — 查看项目中波形图文件的质量状态：绿色 = 波形图文件通过 QC 设置；黄色 = 波形图文件可疑（即，可能需要进一步检查）；红色 = 波形图文件未通过 QC 设置。  
用户可以单击质量指示器以过滤表格中显示的波形图文件。例如，单击圆形或条形指示器的绿色部分，仅显示通过 QC 设置的波形图文件。要在过滤后显示所有波形图文件，请单击圆形指示器旁边的 Total Traces（总波形图）数目。
9. 选择列表视图。

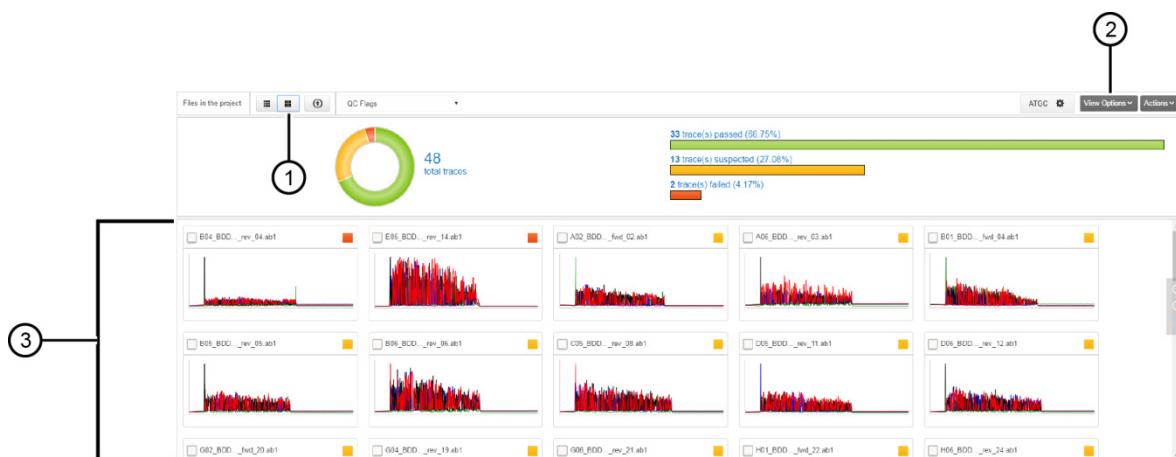


图 2 缩略图视图中的差异

1. 缩略视图 — 显示项目中所有波形图文件的缩略图像。
2. 查看选项 — 以等分标度或相对标度显示缩略图。
3. 选择缩略视图。

## 如何...

在波形图窗口中设置查看选项

查看 QC 标记

查看碱基识别信息

查看运行信息

查看数据采集信息

导出波形图文件

编辑碱基识别设置

移除波形图文件

调整质量设置

相关主题：

软件窗口描述

## 设置窗口

Setup（设置）窗口允许用户执行以下操作：

- 导入 NGS 变异体文件（在下一代测序仪上生成的 \*.vcf 文件）。如果项目中已包含变异体文件，那么可以根据需要导入一个新的变异体文件。
- 创建参比文件。如果项目中已包含参比文件，那么可以根据需要将其导出或新建一个参比文件。

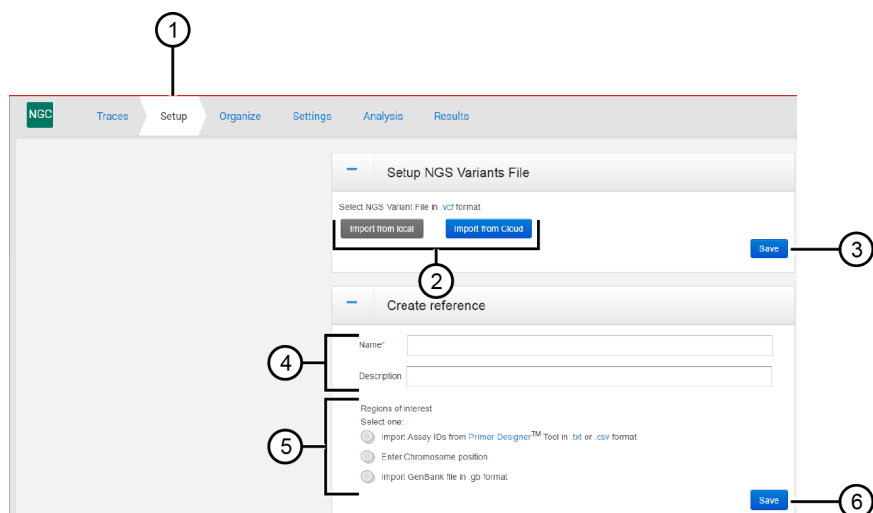


图 1 设置窗口：导入变异体文件或创建参比文件

1. 工作流栏 — 选择 Setup（设置）窗口。
2. 导入 NGS 变异体文件。
3. 保存新的 NGS 变异体文件。
4. 保存新的 NGS 变异体文件。
5. 目标区域 — 选择一个选项，然后输入所需信息。
6. 保存新的参比文件。

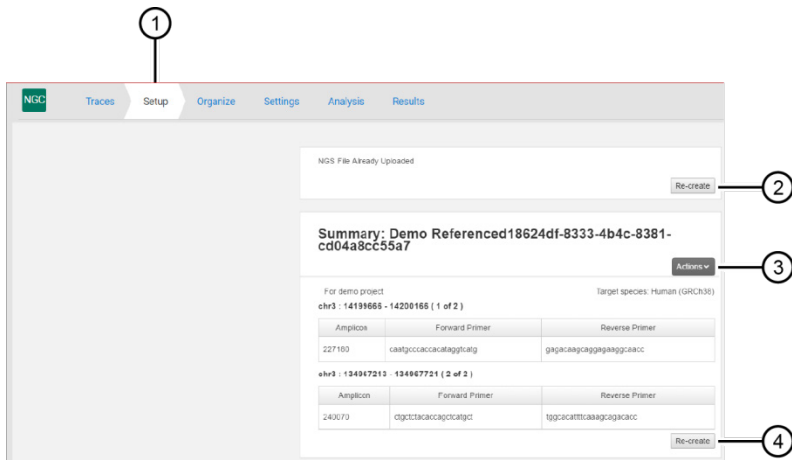


图 2 设置窗口：文件已存在

1. 工作流栏 — 选择 Setup（设置）窗口。
2. 使用现有 NGS 变异体文件，或单击 **Re-Create**（重新创建）。
3. **Actions**（操作）— 导出参比文件。
4. 使用现有参比文件，或单击 **Re-Create**（重新创建）。

### 如何...

[设置 NGS 变异体文件](#)

[创建参比](#)

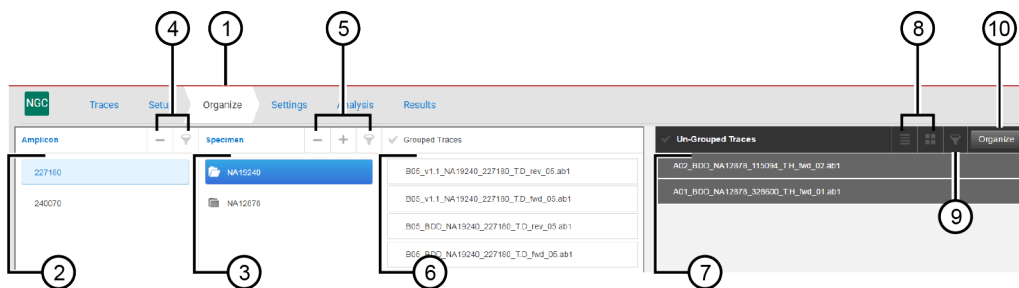
[导出参比文件](#)


相关主题：

[软件窗口描述](#)

## 组织窗口

Organize（组织）窗口将显示参比文件中指定的扩增子名称对应的文件夹。使用此窗口将与每个扩增子相关的波形图文件分组在一起。



1. 工作流栏 — 选择 Organize（组织）窗口。
2. 扩增子名称 — 从针对项目创建的参比文件自动填充。
3. 样本名称 — 在单击 **Organize（组织）** 时自动填充。用户还可以单击  以手动添加样本。
4. 删除并过滤扩增子。
5. 删除、添加和过滤样本。
6. 已被分组为所选扩增子的波形图文件。
7. 未被分组为扩增子的波形图文件。
8. 列表和网格视图 — 以列表或网格形式显示波形图文件。
9. 过滤未分组的波形图文件。
10. **Organize（组织）** — 单击以自动将波形图组织到指定的样本和扩增子中。列表中未遵循第一个所选波形图的命名规范的波形图未被分组。用户可以拖动波形图以手动对其进行分组。

## 如何...

[波形图自动分组](#)

[波形图文件手动分组](#)

[创建参比](#)

相关主题：

[软件窗口描述](#)

## 设置窗口

Settings（设置）窗口允许用户指定 Trim（剪切）、Filter（过滤）、Alignment Stringency（比对严格性）和 Variant Score Threshold（变异得分阈值）设置。用户可以启用或禁用这些设置，然后重新分析项目。

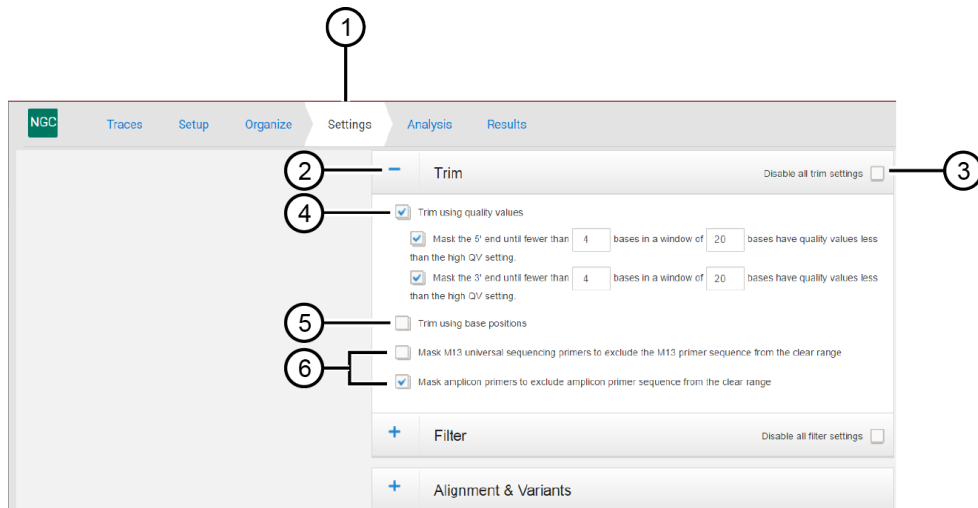


图 1 剪切窗格

1. 工作流栏 — 选择 Settings（设置）窗口。
2. 展开或折叠 Trim（剪切）窗格。
3. 选中此复选框，禁用所有剪切设置。
4. 选中此复选框，使用质量值进行剪切，然后选择适用选项和/设置。
5. 选中此复选框，使用碱基位置进行剪切，然后选择适用选项和/设置。
6. 选择要使用的屏蔽设置。



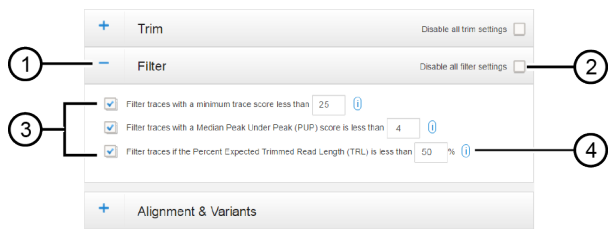


图 2 过滤窗格

1. 展开或折叠 Filter（过滤）窗格。
2. 选中此复选框，禁用所有过滤设置。
3. 选择要使用的过滤设置，然后输入适当的值。
4. 单击 , 获取每个设置的描述。

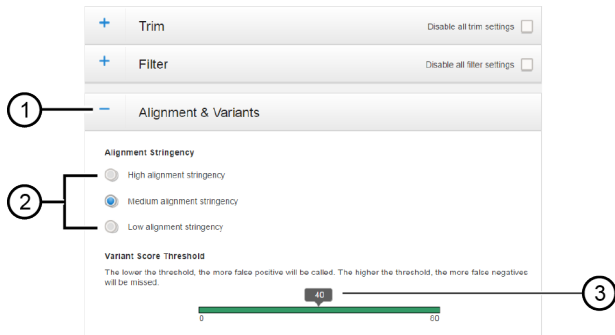


图 3 比与变对异窗格

1. 展开或折叠 Alignment & Variants（比对与变异）窗格。
2. 选择比对严格性。
3. 滑动以选择变异得分阈值。

#### 如何...

[指定剪切设置](#)

[指定过滤设置](#)

[指定比对与变异设置](#)

#### 了解详情...

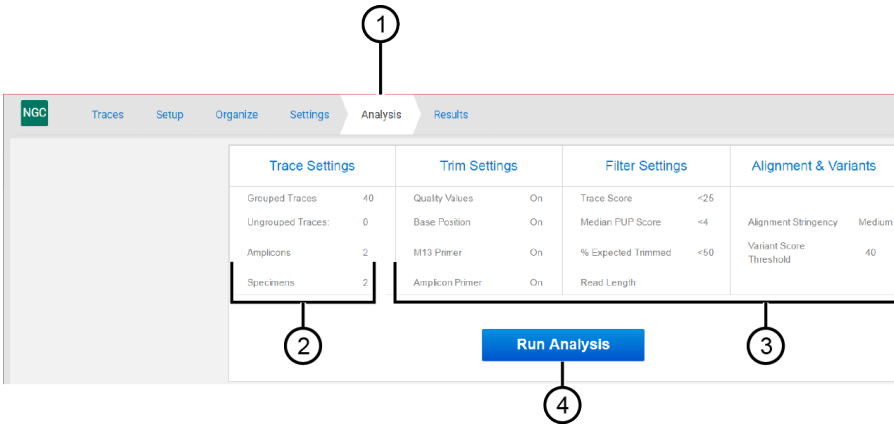
[关于比对与变异得分](#)

相关主题：

[软件窗口描述](#)

# 分析窗口

Analysis（分析）窗口将显示在 Settings（设置）和 Organize（组织）窗口中指定的分析设置。



1. workflow 栏 — 选择 Analysis（分析）窗口。
2. 查看 Trace Settings（波形图设置）。如果需要更改，请返回 Organize（组织）窗口或 Setup（设置）窗口。
3. 查看 Trim Settings（剪切设置）、Filter Settings（过滤设置）和 Alignment & Variants Settings（比对与变异设置）。如果需要更改，请返回 Settings（设置）窗口。
4. **Run Analysis（运行分析）** 或 **Re-Analyze（重新分析）** — 单击该选项，使用当前分析设置来分析项目。

## 如何...

- [查看分析设置和执行分析](#)
- [组织波形图](#)
- [指定分析设置](#)

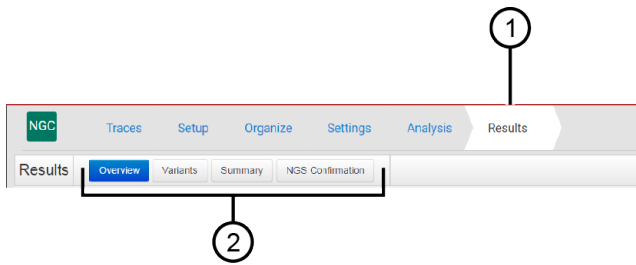
## 相关主题：

[软件窗口描述](#)

# 结果窗口

Results（结果）窗口提供以下四个视图：

- **Overview（总览）** 选项卡 — 显示比对范围和 SNP 分布。
- **Variants（变异体）** 选项卡 — 显示项目中所有扩增子的所有变异体。
- **Summary（概要）** 选项卡 — 显示项目中所有波形图文件的分析结果概要。
- **NGS Confirmation（NGS 确认）** tab — 显示确认的变异体。



1. workflow 栏 — 选择 Results（结果）窗口。

2. 选择目标选项卡。

相关主题：

[总览选项卡](#)

[变异体选项卡](#)

[概要选项卡](#)

[NGS 确认选项卡](#)

[软件窗口描述](#)

## 样品

用作目标基因检测对象的生物组织或样本。

相关主题：

[术语表](#)

## 总览窗口

使用 Overview（总览）窗口审查和编辑与项目相关联的样品和目标基因（必要时）。Samples（样品）和 Targets（目标基因）表将采用实验（已添加到项目）中出现的样品和目标基因进行自动填充，并且可以直接在界面中进行编辑。

要查看 Overview（总览）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Overview**（总览）。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <a href="#">管理样品和目标基因</a></li> <li>• <a href="#">通过 AIF 文件导入目标基因信息</a></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <a href="#">检测信息文件 样品</a></li> <li>• <a href="#">样品</a></li> <li>• <a href="#">目标基因</a></li> </ul>

## 总览窗口使用提示

- 单击 Overview（总览）窗口中表格的列标题，对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。
- 单击任何表中的 + 均可放大视图。放大后，单击 < 可将视图恢复至原始尺寸。
- Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。请参见[检测信息文件](#)了解更多信息。

---

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 通过设计文件导入样品信息

该 Applied Biosystems™ 软件分析模块不支持通过设计文件导入样品。要向项目中添加样品，请在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）列表中直接输入样品。有关样品信息录入的更多信息，请参见[管理样品和目标基因](#)。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件，位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Import AIF File（导入 AIF 文件）**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因，则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注：**检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

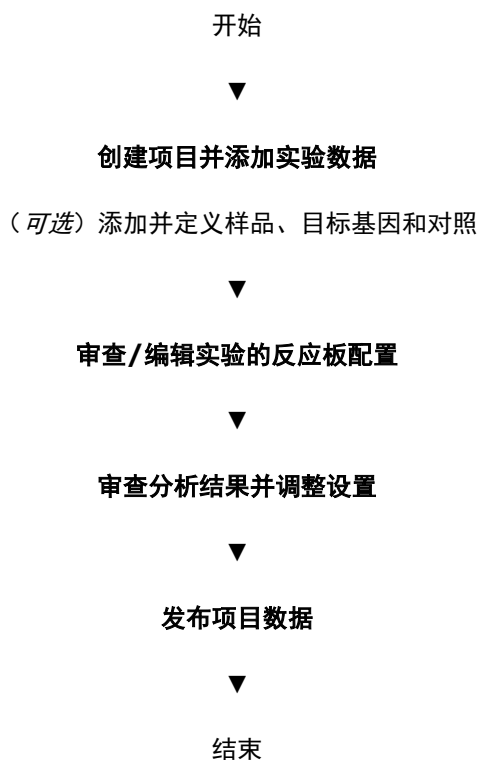
---

相关主题：

[设置项目](#)

# 设置项目

将一个或多个实验 (.eds 或 .sds 文件) 导入 HRM 项目后,使用 Overview (总览)窗口设置项目。



相关主题:

[管理样品和目标基因](#)

[通过 AIF 文件导入目标基因信息](#)

[通过设计文件导入样品信息](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见, Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件, 位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview (总览) 窗口的 Targets (目标基因) 表中, 单击 **Actions (操作) > Import AIF File (导入 AIF 文件)**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件, 然后单击 **Open (打开)**。

如果导入成功, 则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因, 则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注:** 检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

相关主题:

[设置项目](#)

## 管理样品和目标基因

Applied Biosystems™ 分析软件采用实验（已添加到项目）中出现的样品和目标基因填充 Overview（总览）窗口。如有必要，用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除样品和目标基因。

- **Create（创建）** 新样品或目标基因：

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Add（添加）**。
- b. 在 New Sample/Target（新样品/目标基因）对话框中，输入新样品或目标基因的名称（最多 256 个字符），然后编辑新样品/目标基因的属性。
- c. 单击 **OK（确定）**。

- 通过直接编辑表中条目 **Update（更新）** 现有样品或目标基因。

**备注：**另外，还可以从表中选择样品或目标基因，然后选择 **Actions（操作） > Update（更新）**。

- **Delete（删除）** 样品或目标基因：

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，选择目标样品或目标基因，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
- b. 在确认对话框中，单击 **OK（确定）**，删除样品或目标基因。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 反应板设置窗口




使用 Plate Setup（反应板设置）窗口，对已添加到项目的实验中的反应板设置进行更改。编辑器允许用户编辑样品、目标基因、任务和对照分配，以纠正缺失或不正确的设置。如果需要，可以通过创建并上传模板（使用电子表格应用程序创建），使用 Plate Setup（反应板设置）窗口应用反应板设置配置。

要查看 Plate Setup（反应板设置）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Plate Setup（反应板设置）**。

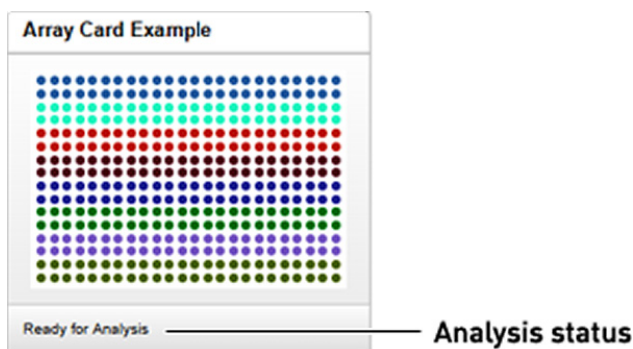
**重要信息！**使用 Plate Editor（反应板编辑器）对反应板配置所作的更改不会直接保存到相关实验（.eds 或 .sds），而是保存到项目。因此，在一个项目中对反应板设置所作的更改不会反映在其他项目中。


如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 审查并编辑反应板设置</li> <li>• 应用样品和目标基因</li> <li>• 指定并分配任务</li> <li>• 指定并分配对照</li> <li>• 使用模板文件应用反应板设置信息</li> <li>• 为实验分配参比荧光染料</li> <li>• 设置实验的 PCR 阶段</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 荧光参比</li> <li>• 任务</li> <li>• 模板文件</li> </ul>

## 反应板设置窗口使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 请使用反应板视图 () 确定阻碍分析的反应板。

**备注：**软件将显示会阻止相关反应板的图像下方实验中的分析的反应板配置问题。



- 使用数据视图 () 确定缺少数据分配的实验。Select a Plate (选择反应板) 表的 Wells Defined (已定义孔) 列指示每个反应板记录中具有样品、目标基因和任务设置的孔数目。

在编辑反应板布局时：

- 使用模板以在应用样品、任务、目标基因和对照分配时节省时间。
- 用户可以通过选择反应板的孔并选择 **Actions (操作) > Clear Well Setup (清除孔设置)**，从反应板的指定区域快速移除所有样品、任务、目标基因和对照分配。

相关主题：


[窗口与曲线](#)

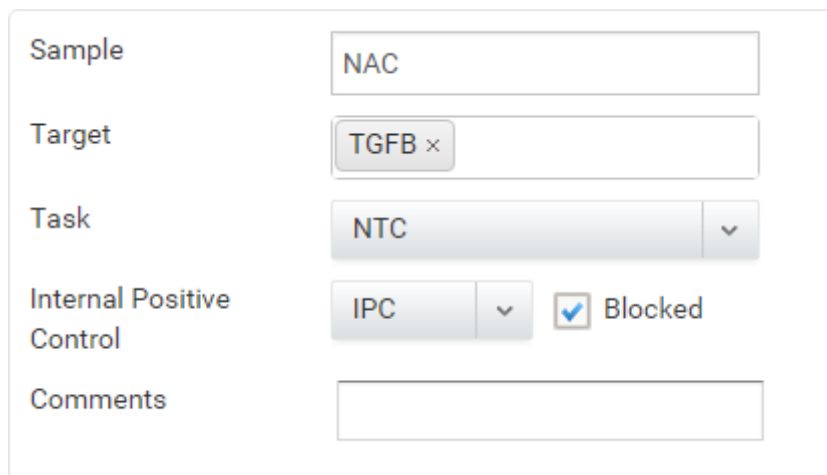
## 应用样品和目标基因

如果一个或多个实验的样品或目标基因分配包含错误或缺失，可以使用 Applied Biosystems™ 分析软件在分析前纠正问题。

**备注：**在审查反应板布局时，单击 **Actions (操作) > Clear Well Setup (清除孔设置)** 以删除反应板网格中所选孔的孔信息 (样品、任务和目标基因分配)。



1. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验。
2. （可选）在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **View（查看）** , 然后选择 **Target（目标基因）** 和 **Sample（样品）**，根据要修改的元素设置反应板颜色。
3. 选择反应板布局中要应用目标基因或样品的孔。
4. 选择孔后，单击反应板网格右侧的相应字段，然后从列表中选择相应项。



Sample	NAC
Target	TGFB ×
Task	NTC ▼
Internal Positive Control	IPC ▼ <input checked="" type="checkbox"/> Blocked
Comments	

**备注：**如果尚未创建样品或目标基因，请在相应字段中输入名称，并按下 **Enter**，以新建样品或目标基因。

5. 完成对反应板布局的更改后，单击 **Analyze（分析）** 以重新分析项目。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

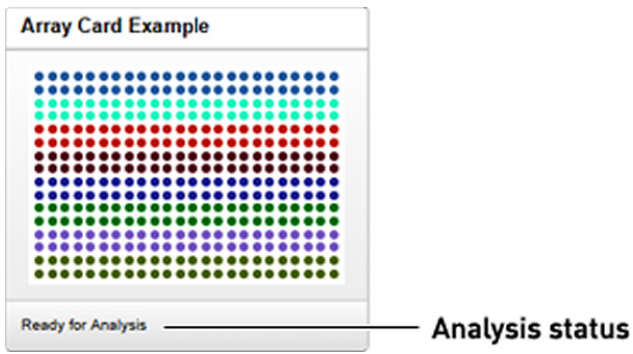
## 审查和编辑反应板设置

使用所有必需样品和目标基因配置项目后，使用 Plate Setup（反应板设置）窗口审查实验是否存在可能阻碍项目分析的问题。Applied Biosystems™ 分析软件将在相关实验的每个图像下方的页边距中显示可能阻碍分析的反应板配置错误。在分析项目之前，必须使用 Plate Setup（反应板设置）窗口对这些错误进行处理。

要审查项目的反应板设置信息：

1. 选择 **Plate Setup（反应板设置）**，显示 Plate Setup（反应板设置）窗口。
2. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，审查实验记录中的错误。
3. 如果存在错误，请单击目标实验记录，并处理阻碍文件分析的问题。

**备注：**软件将显示会阻止相关反应板的图像下方实验中的分析的反应板配置问题。



相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 指定并分配对照

如果一个或多个实验的对照分配包含错误或缺失，则可以使用 Applied Biosystems™ 分析软件在分析前纠正问题。

**备注：**在审查反应板布局时，单击 **Actions**（操作） > **Clear Well Setup**（清除孔设置）以删除反应板网格中所选孔的孔信息（样品、任务、目标基因和对照分配）。

1. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验。
2. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Views**（视图），然后选择 **IPC** 以根据对照分配设置反应板颜色。
3. 选择反应板布局中要应用对照的孔。
4. 选择孔后，从 Internal Positive Control（内部阳性对照）下拉列表中选择目标基因，将该孔指定为相关检测的对照。如果孔中包含阻断反应，则选择 **Blocked**（已阻断）。

Sample	<input type="text" value="NAC"/>
Target	<input type="text" value="TGFB"/> <span>×</span>
Task	<input type="text" value="NTC"/> <span>▼</span>
Internal Positive Control	<input type="text" value="IPC"/> <span>▼</span> <input checked="" type="checkbox"/> Blocked
Comments	<input type="text"/>

5. 完成对反应板布局的更改后，单击 **Analyze**（分析）以重新分析项目。

相关主题：

[存在/不存在对照](#)

[编辑实验属性](#)

## 模板文件

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户通过模板文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）应用反应板布局信息（例如目标基因、样品和任务配置）。模板文件为逗号分隔值 (.csv) 文件，其中包含单个反应板的目标基因、样品和任务配置。您可以先通过电子表格应用程序或文本编辑器创建模板文件，然后使用 Applied Biosystems™ 软件导入模板文件，以将目标基因、样品和/或任务信息应用到已添加至项目的实验中。

如果已将实验添加至项目，则可以下载模板文件，将其用作创建个人模板文件的起点。下图示出了已导出文件的通用结构。

		A	B	C	D	E	F	G
<b>实验数据 (请勿编辑)：</b>	<b>1</b>	* 模块类型 = 96 孔						
	<b>2</b>	* 实验类型 = 高分辨率熔解 实验						
	<b>3</b>	* 仪器 = StepOnePlus 系统						
	<b>4</b>	* 孔数 = 96						
	<b>5</b>	* 设置孔分 区信息 =						
<b>列标题 (请勿编辑)：</b>	<b>6</b>	孔	孔位置	样品名称	任务	目标基因 名称	报告基因	淬灭剂
<b>反应板设置内容 (按任意顺序添 加孔数据)：</b>	<b>7</b>	0	A1	样品 3	野生型	检测 1	SYBR	无
	<b>8</b>	1	A2	样品 3	UNKNOWN	检测 1	SYBR	无
	<b>9</b>	2	A3	样品 3	UNKNOWN	检测 1	SYBR	无
	...	...	...	...	...	...	...	...

编辑文件时请遵循以下指导原则：

- 行 1 至 6 包含用于描述实验的文件名称信息。通常情况下不应编辑该信息，因为该信息在用户使用的所有文件中均相同。如图所示准确输入标题（区分大小写）：
  - \* 模块类型 =
  - \* 实验类型 =
  - \* 仪器类型 =
  - \* 孔数 =
  - \* 设置孔分区信息 =
  - 孔
  - 孔位置
  - 样品名称
  - 任务
  - 目标基因名称

- 报告基因
- 淬灭剂
- 第 7 行及以下行包含实验的反应板设置信息，其中每一行包含有关反应板上单个孔的内容物信息。如以上示例所示，各行可以任意顺序排列，但位置信息（在第 1 列和第 2 列中）必须是准确的。

对于每个孔，文件包含以下信息：

- **A 列 (Well (孔))** — 反应板上孔的数字位置，其中孔按照由左至右以及由上至下的顺序编号。例如，在 96 孔反应板中，A1 孔的数量为 "0"，并且 G12 孔的数量为 "95"。
- **B 列 (Well Position (孔位置))** — 反应板上孔的坐标。
- **C 列 (Sample Name (样品名称))** — 孔内样品的名称（最多 256 个字符）。
- **D 列 (Task (任务))** — 孔内样品的任务，其中可接受值包括 **UNKNOWN (未知)**、**NTC** 和自定义的阳性对照。
- **E 列 (Target Name (目标基因名称))** — 已添加至孔的检测的名称，或目标序列的标识（最多 256 个字符）。
- **F 列 (Reporter (报告子))** — 孔内报告染料的名稱。
- **G 列 (Quencher (淬灭剂))** — 孔内淬灭染料的名稱。
- 如果包括在模板文件中的样品和/或目标基因存在于项目所包含的其他实验室中，则文件名称必须与其他实验中的文件名称精确匹配（包括大小写），以便软件将数据关联起来。
- 当从模板文件中导入反应板设置信息时，Applied Biosystems™ 软件将使用文件中的信息覆盖全部现有设置。

---

相关主题：

[编辑实验属性](#)

## 通过模板文件应用反应板设置信息

Applied Biosystems™ 软件可直接通过设计文件（可使用文本编辑器或电子表格应用程序创建）导入反应板布局信息。

**备注：**有关模板文件结构的详细信息，请参见[模板文件](#)。

用户可在 Plate Setup（反应板设置）窗口中执行以下操作：

- 以模板文件的形式[下载](#)现有实验的反应板设置信息：
  - a. 打开包含目标反应板布局的实验的项目，然后选择 **Plate Setup (反应板设置)**。
  - b. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择包含目标反应板设置的实验记录。
  - c. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions (操作) > Apply Template (应用模板)**，然后将文件保存至目标位置。
- 通过模板文件[应用](#)反应板设置信息。

- a. 创建包含目标反应板设置信息的模板文件。

**备注：**请参见[模板文件](#)，了解有关创建模板文件的详细信息。

- b. 打开包含目标实验（模板应用对象）的项目，然后单击 **Plate Setup**（反应板设置）。
- c. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择要修改的实验记录。
- d. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions**（操作） > **Download Template**（下载模板）。
- e. 选择包含目标反应板设置信息的模板文件，然后单击 **Open**（打开）。

如果导入成功，则样品、检测/目标基因和当前反应板布局的任务分配将被导入设置覆盖。

**重要信息！** 导入的反应板布局将覆盖现有反应板设置，并且导入完成后无法撤销。

相关主题：

[编辑实验属性](#)




## 质量检查与结果窗口

使用 Quality Check & Results（质量检查与结果）窗口初步审查分析后的项目数据，并查看存在/不存在分析的结果。该窗口中的曲线和功能可帮助用户审查项目中的不规则扩增和其他常见问题。在审查之后，PA Grid（PA 网格）、曲线和表数据允许用户审查分析结果。


要查看 Quality Check & Results（质量检查与结果）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Quality Check & Results**（质量检查与结果）。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">配置分析设置</a></li><li>• <a href="#">审查质量数据</a></li><li>• <a href="#">执行手动识别</a></li><li>• <a href="#">忽略分析中的孔</a></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">扩增曲线</a></li><li>• <a href="#">多组分曲线</a></li><li>• <a href="#">PA 网格</a></li><li>• <a href="#">PA 结果</a></li><li>• <a href="#">质量标记</a></li><li>• <a href="#">孔表</a></li></ul>

### 质量检查与结果使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 使用反应板视图 () 确定生成质量标记的实验，并选择需要进一步检查的实验。

**备注：**软件将在相关图像下方显示由各个实验生成的质量标记数量。

- 使用数据视图 () 确定生成质量标记的实验。

**备注：**Select an Experiment（选择实验表）中的 Flags（标记）列指示由每条记录所对应的孔生成的质量标记总数。

审查单个实验时：

- 单击 **Analysis Setting** (分析设置)，查看相应实验的分析设置。
- 单击曲线与表格之间的 ◀ 或 ▶ 展开视图。放大后，单击曲线或表格一侧的反向箭头可恢复视图。
- 使用表中的 "Group By" (分组方式) 设置，按样品、目标基因或任务对表中显示的数据进行分组。分组后，选择用于审查图中扩增数据子集的行，该操作在多个重复孔中检查扩增水平时非常有用。
- 单击表格列标题以对内容进行排序 (或单击标题中的 ▼，然后选择 📄 或 📄)。标题中的排序方向由箭头 (▲ 或 ▼) 指示。
- 单击列标题中的 ▼，然后单击 📄 并选择要用于筛选内容的参数。完成表格筛选后，单击 **Clear** (清除)，删除筛选条件。
- 单击任意列标题中的 ▼，然后单击 📄 并选择要显示或隐藏的列。
- 单击列标题中的 ▼，然后单击 🔒 (或 📄)，在表中将列水平位置锁定 (或解锁)。在解锁列之后，您可以在表中通过单击并拖拽列标题的方式将该列重新定位。

---

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 关于质量数据汇总

质量汇总将显示当前分析中包括的实验表格以及由相关数据生成的质量标记数量。要显示汇总，请在查看项目时单击窗口上方的 **Quality Check & Results** (质量检查与结果)，然后单击 📄。

**备注：**要检查触发质量标记的数据，请单击 Name (名称) 列中的链接，查看相关反应板的扩增数据。

为了响应质量标记的存在，请考虑以下解决方案：

- 更改分析设置中的质量设置：
  - 调整质量标记的灵敏度，使标记的孔更多或更少。
  - 禁任由数据触发的质量标记。
- 忽略分析中的各个孔。

---

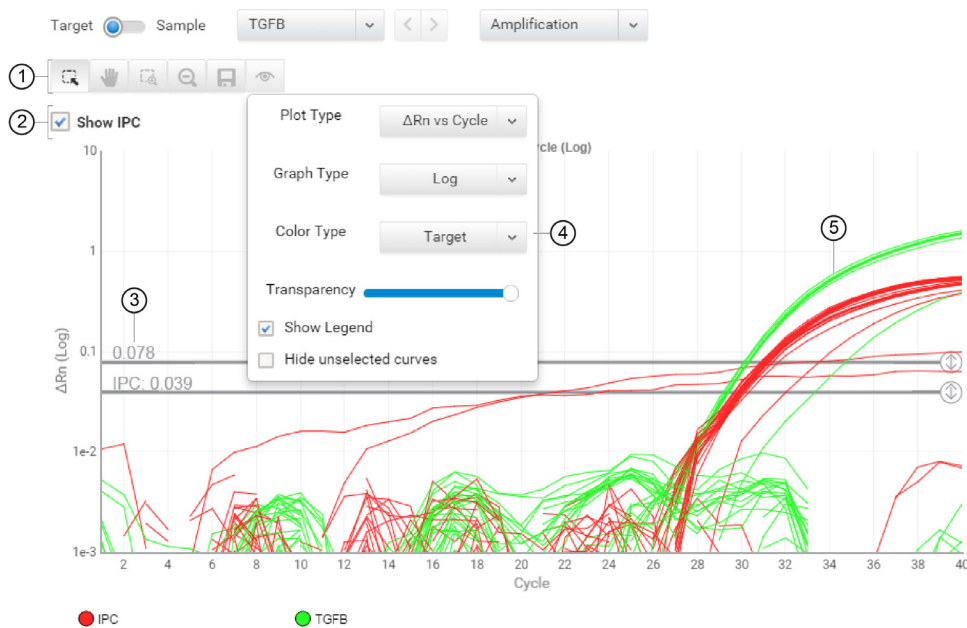
相关主题：

[审查质量数据](#)

# 扩增曲线

Amplification Plot (扩增曲线) 窗口可显示每个实验 (已添加至项目) 中样品的运行后扩增结果。提供以下三种曲线:

- **$\Delta Rn$ -循环曲线图** —  $\Delta Rn$  是在 PCR 扩增期间每个循环中由报告基因生成的归一化荧光信号的大小 ( $\Delta Rn = Rn - \text{基线}$ )。该曲线显示了  $\Delta Rn$  作为循环数的函数。您可以使用该曲线来鉴定和检测不规则扩增, 并查看相应运行的阈值和基线值。
- **$Rn$ -循环曲线图** —  $Rn$  是被归一化为参比荧光的荧光信号的报告染料荧光信号。该曲线显示了  $Rn$  作为循环数的函数。您可以使用该曲线鉴定和检测不规则扩增。
- **$C_T$ -孔曲线图** —  $C_T$  ( $C_q$ ) 是荧光达到扩增曲线中的阈值时的 PCR 循环数。该曲线显示了  $C_T$  作为孔位置的函数。您可以使用该曲线查找异常扩增 (离群值)。



## 1. Toolbar (工具栏) — 包含以下曲线控制工具:

- 🖱️ - 在从曲线中选择各个数据点。
- 👤 - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- 🔍 - 放大曲线至选定区域。
- 🔍 - 缩小曲线以显示所有数据点。
- 📄 - 将曲线另存为图像 (.png 或 .jpg)。
- 👁️ - 允许用户调整曲线的显示选项。

- 2. **Show IPC (显示 IPC)** 复选框 — 单击该选项, 切换曲线中内部阳性对照 (IPC) 数据的存在情况。
- 3. **Threshold (阈值)** — 当前应用于项目数据的阈值 (计算或手动)。
- 4. **View Options (查看选项)** — Amplification Plot (扩增曲线) 的查看选项。使用下拉列表显示软件中所显示的曲线的类型 ( **$\Delta Rn$ -循环曲线图**、 **$Rn$ -循环曲线图**或  **$C_T$ -孔曲线图**)、y 轴的刻度 (**对数**或**线性**) 以及曲线的颜色方案。
- 5. **Amplification curves (扩增曲线)** — 整个热循环方案中各个孔的归一化荧光强度。

相关主题:

[窗口与曲线](#)



## 配置分析设置

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验(已添加至项目)的默认设置处理项目数据。如有需要，可在 Quality Control & Results（质量控制与结果）窗口中修改分析设置（例如，手动与自动阈值设定、严格与宽松质量阈值）。

1. 在 Quality Control & Results（质量控制与结果）窗口中，选择目标实验。
2. 在 Review Result（审查结果）窗口中，单击 **Analysis Settings（分析设置）**。
3. 在 Edit Analysis Setting（编辑分析设置）对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
Cq 设置	<p>为 Applied Biosystems™ 软件选择方法 (<math>C_T</math> 或 <math>C_{RT}</math>)，用于计算目标分析的 Cq (<math>C_T</math>) 值：</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>CT method (CT 法)</b> — 定义各目标基因是否采用自动阈值和/或基线设定。如果使用手动设置，请为相应目标基因输入人工阈值和基线值。</li><li>• <b><math>C_{RT}</math> method (CRT 法)</b> — 指定循环数，软件将在定义 <math>C_{RT}</math> 计算公式的相对阈值时使用该值作为最小参数。</li></ul> <p><b>备注：</b> Applied Biosystems™ 软件允许用户从由另一项目导出的文件导入 Cq 设置（单击 <b>Import CT Settings（导入 CT 设置）</b> 以导入文件）。</p>
高级 $C_T$ 设置	<p>定义各个孔是否将使用自动基线设定。如果选择对一个或多个孔使用手动设置，请针对相应目标基因输入手动开始和结束基线值。</p>
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 在 Use（使用）列中，选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li><li>2. 如果列出了标记的属性、条件和值，则可指定标记应用设置。 例如，采用无扩增标记 (NOAMP) 的默认设置时，扩增算法计算结果低于 0.1 的孔将被标记。 <b>备注：</b> 如果选择调整标记应用设置，请在评估相应设置时进行微调。</li><li>3. 在 Reject（拒绝）列中，如果需要软件拒绝带标记的孔，请选中相应复选框。在数据分析时，已拒绝的孔将不纳入考虑。</li></ol>

组	设置
存在/不存在设置	<p>为 Applied Biosystems™ 软件选择方法，用于计算目标分析的存在/不存在识别 (<math>C_T/C_{RT}</math> 或 <math>Rn/dRn</math>)：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Use <math>C_T/C_{RT}</math> (使用 <math>C_T/C_{RT}</math>)</b> — 选择该选项以使用阈值循环 (<math>C_T</math>) 或相对阈值循环 (<math>C_{RT}</math>) 值，从而确定存在/不存在识别。如果选择该选项，请选择应用识别的规则： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 选择 <b>All target level calls are presence then well level call is presence (存在所有目标基因水平识别，因此存在孔水平识别)</b>，使软件仅将“存在”识别分配给以下孔：针对已分配至其的 <i>所有</i> 检测具有“存在”识别的孔。 例如，如果孔正在评估三个目标基因，那么软件将仅在孔实现目标基因 1、目标基因 2 和目标基因 3 的存在识别时，向孔应用“存在”识别。</li> <li>▪ 选择 <b>One target level call is presence then well level call is presence (存在一个目标基因水平识别，因此存在孔水平识别)</b>，使软件将“存在”识别分配给以下孔：针对分配至其的 <i>任何</i> 检测具有存在识别的孔。 例如，如果孔正在评估三个目标基因，那么软件将在孔实现目标基因 1、目标基因 2 或目标基因 3 的存在识别时，向孔应用“存在”识别。</li> <li>▪ 选择 <b>50% target level calls are presence then well level call is presence (存在 50% 的目标基因水平识别，因此存在孔水平识别)</b>，使软件将“存在”识别分配给以下孔：针对分配至其的 <math>\geq 50\%</math> 的检测具有“存在”识别的孔。 例如，如果孔正在评估三个目标基因，那么软件将仅在孔实现 2/3 的目标基因的存在识别时，向孔应用“存在”识别。</li> </ul> </li> </ul> <p>对于项目中存在的每个目标基因，使用 <b>Call Setting (识别设置)</b> 滑动条，设置将用于对目标基因进行存在/不存在识别的 <math>C_T</math> 阈值。</p> <p><b>备注：</b>如果需要，在 <b>Set default Ct (设置默认 Ct)</b> 字段中输入默认的 CT 值以统一所有目标基因的设置。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Use <math>Rn/dRn</math> (使用 <math>Rn/dRn</math>)</b> — 选择该选项以使用归一化荧光强度 (<math>Rn/dRn</math>) 值来确定存在/不存在识别。如果选择该选项，请选择应用识别的规则： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 选择 <b>Analyze Data from Post-PCR Read Only (仅从 PCR 后读取结果分析数据)</b>，仅使用来自 PCR 后读取结果的数据 (<math>Rn</math>) 来确定存在/不存在识别。</li> <li>▪ 如果实验中包含 PCR 前读取结果，并且您想要同时使用来自 PCR 前和 PCR 后读取结果的数据 (<math>dRn</math>) 来确定存在/不存在识别，请选择 <b>Analyze Data from Pre-PCR Read and Post-PCR Read (从 PCR 前读取结果和 PCR 后读取结果分析数据)</b>。</li> </ul> </li> </ul> <p>对于项目中存在的每个目标基因，使用 <b>Confidence (置信度)</b> 下拉列表设置将用于对目标基因进行存在/不存在识别的置信区间，其中当置信度值小于识别设置时，识别是“未确认的”。</p> <p><b>备注：</b>如果需要，在 <b>Set default confidence (设置默认置信度)</b> 字段中输入默认的置信度值，以对所有目标基因应用一致的设置。</p>

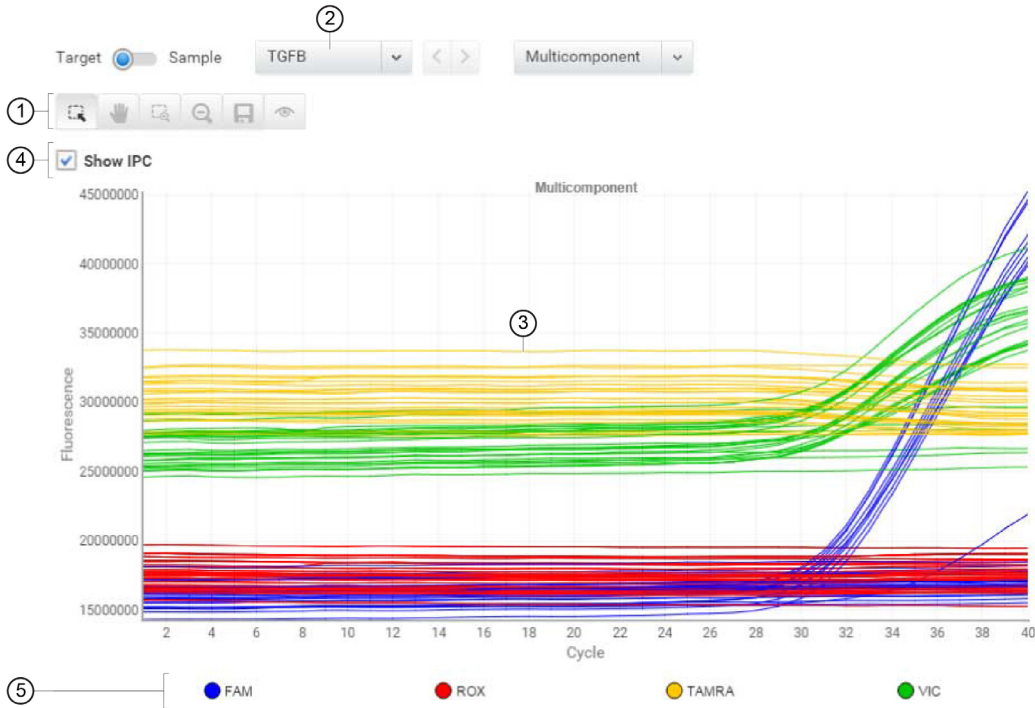
#### 4. 分析设置修改完成后，单击 **Finish (完成)**。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

# 多组分曲线

Multicomponent Plot（多组分曲线）是在整个 PCR 运行过程中，由选定孔中的每种染料的信号图组成的完整谱图。



## 1. Toolbar（工具栏）— 包含以下曲线控制工具：

- 🖱️ - 从曲线中选择各个数据点。
- 👤 - 允许用户单击并手动移动曲线位置。
- 🔍 - 放大曲线至选定区域。
- 🔍 - 缩小曲线以显示所有数据点。
- 📄 - 将曲线另存为图像（.png 或 .jpg）。
- 👁️ - 允许用户调整曲线的显示选项。

- 2. **Target/Sample（目标基因/样品）** 下拉列表 — 从曲线上显示的目标基因或样品数据中选择数据。
- 3. **Normalized fluorescence（归一化荧光强度）** — 显示整个热循环方案期间所有孔的归一化荧光强度。
- 4. **Show IPC（显示 IPC）** — 单击此选项，切换曲线中的内部阳性对照的存在情况。
- 5. **Legend（图例）** — 分析数据中显示的荧光染料。

分析个人实验时，请确认以下事项：

- 在整个 PCR 过程中，参比荧光染料的荧光强度水平应保持相对恒定。
- 报告染料的荧光强度水平应显示与基线相应的平直区域，然后在扩增开始后迅速升高。
- 荧光信号不应存在尖峰、下降和/或突然变化。
- 阴性对照孔中不应出现任何扩增反应。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

# 忽略分析中的孔

要忽略一个或多个不希望纳入分析的孔：

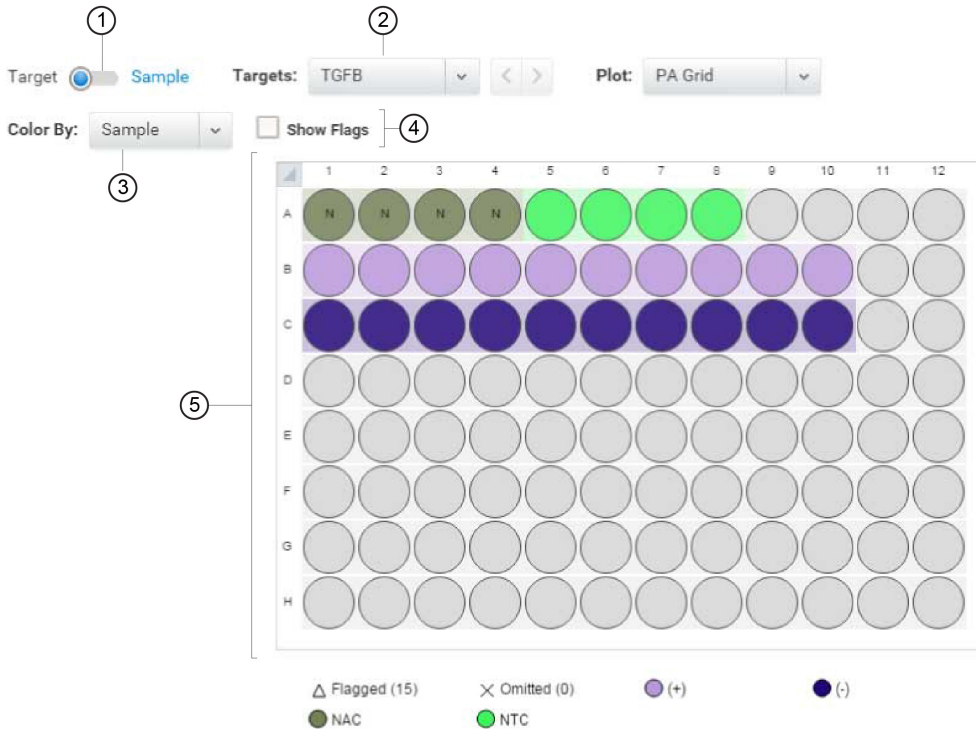
选择曲线或表格中的一个或多个孔，然后单击 **Actions (操作) > Omit (忽略)**。忽略孔后，单击 **Analyze (分析)**，在不考虑已忽略孔的情况下重新分析项目。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

## PA 网格

Presence/Absence (PA) Grid (存在/不存在 (PA) 网格) 以与反应板 (用于运行) 类型对应的孔格式显示检测特定的设置以及反应板文档的分析属性。PA Grid (PA 网格) 可以多种方式自定义，以便显示结果和质量数据的不同方面。下图显示了 PA Grid (PA 网格) 的默认视图。



1. **Target/Sample (目标基因/样品) 切换** — 选择一个选项，在目标基因与样品分配之间切换 PA Grid (PA 网格) 的数据视图。

2. **Target/Sample (目标基因/样品) 下拉列表** — 在使用 Target/Sample (目标基因/样品) 切换选择一个选项后，从列表中选择目标基因或样品以查看 PA Grid (PA 网格) 内的相关数据。

3. **查看下拉列表** — 根据所作选择调整 PA Grid (PA 网格) 的颜色方案：

**Well Call (孔识别)** — 选择该选项，根据在每孔基础上分配的识别设置 PA Grid (PA 网格) 孔颜色。

**Target Call (目标基因识别)** — 选择该选项，根据基于分析设置分配至孔的识别总计来设置 PA Grid (PA 网格) 孔颜色。

**$\Delta Rn/C_T/C_{RT}$  Range ( $\Delta Rn/C_T/C_{RT}$  范围)** — 选择该选项，根据计算的  $\Delta Rn$ 、 $C_T$  或  $C_{RT}$  来设置 PA Grid (PA 网格) 孔颜色。软件无法确定  $C_T$  (阴性对照 (NTC) 和不确定样品) 的孔以白色显示。

**Sample (样品)** — 选择该选项，根据 *样品* 分配方式设置 PA Grid (PA 网格) 颜色。

**Target (目标基因)** — 选择该选项，根据 *目标基因* 分配方式设置 PA Grid (PA 网格) 颜色。

**Task (任务)** — 选择该选项，根据 *任务* 分配方式设置 PA Grid (PA 网格) 孔颜色。

4. **Show Flags (显示标记) 复选框** — 选中此复选框，切换曲线中内部阳性对照 (IPC) 数据的存在情况。

5. **Plate grid (反应板网格)** — 用于运行反应的反应板的自上而下表示，其中每个圆圈对应于单个孔。

在查看 PA Grid (PA 网格) 时，Results (结果) 表将显示以下各项：

列	描述
Well (孔)	样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
Omit (忽略)	相关孔的忽略状态。
Target (目标基因)	添加至孔的分析试剂盒的目标核酸序列的 ID (唯一的名称或编号)。
Sample (样品)	样品 ID (唯一的名称或编号)。
$\Delta Rn/C_T/C_{RT}$	相关孔的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 计算结果。
Call (识别)	已分配至孔的存在/不存在识别。
Manual (手动)	指示样品是否为手动识别。
Target Call (目标识别)	(仅 $C_T/C_{RT}$ 分析) 为分配至孔的单个目标基因分配的存在/不存在识别。
Well Call (孔识别)	(仅 $C_T/C_{RT}$ 分析) 根据在分析设置中选择的规则分配至孔的存在/不存在识别。
Amp Status (扩增状态)	孔的扩增状态：扩增、无扩增、已审查和不确定。
Amp Score (扩增得分)	为孔计算的扩增得分。
Cq Conf (Cq 置信度)	为孔计算的 Cq 置信度得分。
Task (任务)	已分配至孔的任务。任务是样品所执行的功能： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 阻断内部阳性对照 (BLOCKED_IPC)</li> <li>• 内部阳性对照 (IPC)</li> <li>• 未知</li> <li>• 无模板对照 (NTC)</li> </ul>

列	描述
$\Delta Rn/Ct$ Mean ( $\Delta Rn/Ct$ 平均值)	针对孔的技术重复计算的 $\Delta Rn$ 、 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 值所生成的算术平均值。
$\Delta Rn/Ct$ SD ( $\Delta Rn/Ct$ 标准偏差)	针对孔的技术重复计算的 $\Delta Rn$ 、 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 值所生成的标准偏差。
Dye (染料)	与检测/目标基因相关的报告染料的名称。
$C_{RT}$ Start ( $C_{RT}$ 起始)	(仅 $C_{RT}$ 分析) 用于执行 $C_{RT}$ 分析的起始循环。
Flags (标记)	为孔生成的标记数。
Quality data (质量数据)	由相关孔生成的质量标记。

相关主题:

窗口与曲线




## 质量标记

Applied Biosystems™ 分析软件包括一组设置，该设置在激活后可使软件对已处理的实验数据的质量进行筛查，从而指示出可能存在的分析问题。根据各质量“标记”的配置，软件可以通知用户潜在的问题，也可以自动移除分析中的相关数据。用户可选择是否使用质量标记，并且可通过自定义质量标记来调整相关测试的灵敏度。

以下质量标记可在 Analysis Settings (分析设置) 对话框中进行设置:

-  AMPNC (阴性对照出现扩增) 质量标记
-  AMPSCORE (线性期信号较弱) 质量标记
-  BADROX (参比荧光信号较差) 质量标记
-  BLFAIL (基线算法失败) 质量标记
-  CQCONF (Cq 值的置信度计算结果较低) 质量标记
-  CTFAIL (Cq 算法失败) 质量标记
-  DRNMIN (基线异常导致检出 DRn 最小值) 质量标记
-  EXPFAIL (指数算法失败) 质量标记
-  HIGHSD (重复组标准偏差较高) 质量标记
-  IPCFAIL (内部阳性对照扩增异常) 质量标记
-  NOAMP (无扩增) 质量标记
-  NOISE (噪声水平高于其他板) 质量标记
-  NOSAMPLE (未向孔分配样品) 质量标记
-  NOSIGNAL (孔内无信号) 质量标记
-  OFFSCALE (荧光强度超出范围) 质量标记
-  OUTLIERRG (重复组中存在异常值) 质量标记



- PD PRFDROP (Cq/Ct 附近参比荧光信号变化显著) 质量标记
- PL PRFLOW (参比荧光信号平均值低于阈值) 质量标记
-  REPFAIL (孔具有相同的样品和目标基因, 但具有不同的最终识别) 质量标记
-  SPIKE (噪声尖峰) 质量标记
-  THOLDFAIL (阈值算法失败) 质量标记

---

相关主题:

AMPNC (阴性对照出现扩增) 质量标记

AMPSCORE (线性期信号较弱) 质量标记

BADROX (参比荧光信号较差) 质量标记

BLFAIL (基线算法失败) 质量标记

CQCONF (Cq 值的置信度计算结果较低) 质量标记

CTFAIL (Cq 算法失败) 质量标记

DRNMIN (基线异常导致检出 DRn 最小值) 质量标记

EXPFAIL (指数算法失败) 质量标记

HIGHSD (重复组标准偏差较高) 质量标记

IPCFAIL (内部阳性对照扩增异常) 质量标记

NOAMP (无扩增) 质量标记

NOISE (噪声水平高于其他板) 质量标记

NOSAMPLE (未向孔分配样品) 质量标记

NOSIGNAL (孔内无信号) 质量标记

OFFSCALE (荧光强度超出范围) 质量标记

OUTLIERRG (重复组中存在异常值) 质量标记

PRFDROP (Cq/Ct 附近参比荧光信号变化显著) 质量标记

PRFLOW (参比荧光信号平均值低于阈值) 质量标记

REPFAIL (孔具有相同的样品和目标基因, 但具有不同的最终识别) 质量标记

SPIKE (噪声尖峰) 质量标记

THOLDFAIL (阈值算法失败) 质量标记



## 审查质量数据

在 Applied Biosystems™ 分析软件处理项目之后，您可以使用 Quality Control & Results（质量控制与结果）窗口审查分析所生成的质量数据。软件将提供多种选项以审查质量数据；然而，采用的策略将取决于所执行的分析类型以及所评估的样品/目标基因。以下步骤介绍了数据审查的通用方法并概述了软件功能。

1. 如果尚未执行该操作，请单击 **Analyze（分析）**，分析个人项目。
2. 在 Applied Biosystems™ 软件中，单击 **Quality Control & Results（质量控制与结果）**，查看 Quality Control & Results（质量控制与结果）窗口。
3. 审查 PA Grids（PA 网格）的质量标记。

**备注：**Applied Biosystems™ 软件在相关 PA Grids（PA 网格）下方的页边距中显示为反应板生成的质量标记总数。用户可通过将鼠标悬停在目标 PA Grid（PA 网格）上，查看质量数据的特性。

4. 如果存在标记或不规则形，或者想要审查特定实验的存在/不存在情况，请单击目标 PA Grid（PA 网格）以缩放显示内容。
5. 查看并修改 Well（孔）表中的数据：

工具	该工具的作用
鼠标/光标	<p>选择孔。要选择：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 单个孔，请在 Well（孔）表中选择孔。</li> <li>• 要在 Well（孔）表中同时选择多个孔，请在选择孔时按 <b>Ctrl</b> 键或 <b>Shift</b> 键。</li> </ul> <p>在 Well（孔）表中选择孔后，曲线图或反应板网格中对应的数据点也将处于选中状态。</p>
操作菜单	<p><b>Omit/Un-Omit（忽略/取消忽略）</b> 分析中的孔。</p> <p>忽略/取消忽略孔后，请单击 <b>Analyze（分析）</b>，重新分析项目。</p> <p>对于已忽略的孔，软件将：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 不在 Well（孔）表中显示数据或任务（Task（任务）列为空/空白）。</li> <li>• 不将已忽略的孔纳入分析方法中。</li> </ul> <p>对于未忽略的孔，软件将根据 Analysis Settings（分析设置）对话框中的设置重新分配任务。</p>
◀ 或者 ▶	展开或折叠 Well（孔）表。

6. 审查 Well（孔）表中的数据。

列	描述
Well（孔）	样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
Omit（忽略）	相关孔的忽略状态。
Target（目标基因）	添加至孔的分析试剂盒的目标核酸序列的 ID（唯一的名称或编号）。
Sample（样品）	样品 ID（唯一的名称或编号）。
$\Delta Rn/C_T/C_{RT}$	相关孔的 $C_T$ 或 $C_{RT}$ 计算结果。
Call（识别）	已分配至孔的存在/不存在识别。
Manual（手动）	指示样品是否为手动识别。
Target Call（目标识别）	（仅 $C_T/C_{RT}$ 分析）为分配至孔的单个目标基因分配的存在/不存在识别。

列	描述
Well Call (孔识别)	(仅 C <sub>T</sub> /C <sub>RT</sub> 分析) 根据在分析设置中选择的规则分配至孔的存在/不存在识别。
Amp Status (扩增状态)	孔的扩增状态: 扩增、无扩增、已审查和不确定。
Amp Score (扩增得分)	为孔计算的扩增得分。
Cq Conf (Cq 置信度)	为孔计算的 Cq 置信度得分。
Task (任务)	已分配至孔的任务。任务是样品所执行的功能: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 阻断内部阳性对照 (BLOCKED_IPC)</li> <li>• 内部阳性对照 (IPC)</li> <li>• 未知</li> <li>• 无模板对照 (NTC)</li> </ul>
$\Delta Rn/Ct$ Mean ( $\Delta Rn/Ct$ 平均值)	针对孔的技术重复计算的 $\Delta Rn$ 、C <sub>T</sub> 或 C <sub>RT</sub> 值所生成的算术平均值。
$\Delta Rn/Ct$ SD ( $\Delta Rn/Ct$ 标准偏差)	针对孔的技术重复计算的 $\Delta Rn$ 、C <sub>T</sub> 或 C <sub>RT</sub> 值所生成的标准偏差。
Dye (染料)	与检测/目标基因相关的报告染料的名称。
C <sub>RT</sub> Start (C <sub>RT</sub> 起始)	(仅 C <sub>RT</sub> 分析) 用于执行 C <sub>RT</sub> 分析的起始循环。
Flags (标记)	为孔生成的标记数。
Quality data (质量数据)	由相关孔生成的质量标记。
Well (孔)	样品在反应板中所处的孔位置。例如, P18 表示样品位于行 P, 列 18。

7. 根据需要审查 PA Results Plot (PA 结果图) (有关详细信息, 请参阅 [PA 结果](#))。

8. 根据需要审查扩增曲线 (有关曲线和典型信号特征的详细信息, 请参阅 [扩增曲线](#))。

在审查扩增数据时, 请检查:

- 所有样品的规则特征性扩增。如果存在不规则的扩增, 请考虑忽略分析中的各个孔。
- 纠正基线和阈值。如果未纠正, 请考虑手动调整分析设置中的基线和/或阈值。

9. 准备好后, 单击 **Multicomponent (多组分)**, 根据需要审查多组分曲线 (有关曲线的详细信息, 请参阅 [多组分曲线](#))。

在审查多组分曲线时, 请检查:

- 参比荧光的一致荧光。在整个 PCR 过程中, 参比荧光染料的荧光强度水平应保持相对恒定。
- 报告染料的一致荧光。报告染料的荧光强度水平应显示与基线相应的平直区域, 然后在扩增开始后迅速升高。
- 不规则荧光不应存在尖峰、下降和/或突然变化。
- 阴性对照孔中无扩增。阴性对照孔中不应出现任何扩增反应。

10. 准备好后，单击 < 以返回至缩略视图。

为了响应质量标记的存在，请考虑以下解决方案：

- 更改分析设置中的质量设置：
  - 调整质量标记的灵敏度，使标记的孔更多或更少。
  - 禁用由数据触发的质量标记。
- 忽略分析中的各个孔。

---

相关主题：

[关于质量数据汇总](#)

[审查质量数据和结果](#)



## 导出窗口

使用 Export（导出）窗口生成报告并导出项目数据。分析完成后，该窗口可提供多个用于导出结果和分析后数据的选项，以便进行演示或进一步分析。每组分析后的数据生成后，将被添加到导出历史，用户可以随时从其中下载这些数据。

要查看 Export（导出）窗口，请在查看项目时单击上方的 **Export（导出）**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">从项目中导出分析后的数据</a></li><li>• <a href="#">导出曲线以用于演示和发布</a></li><li>• <a href="#">导出数据以用于其他项目</a></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">孔表</a></li><li>• <a href="#">质量标记</a></li></ul>

### 导出窗口使用提示

- 单击  以生成导出数据集。
- 单击  以查看导出历史并下载先前的导出数据集。
- 在查看导出历史时，请单击 Export History（导出历史）表的列标题以对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。

---

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 导出数据以用于其他项目

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户导出以下项目数据用于其他分析。

### 导出模板文件

模板文件包含布局信息（目标基因、样品和任务配置），使您能够轻松完成项目新增实验的设置。Applied Biosystems™ 软件允许用户从现有实验导出模板文件或通过文本编辑器/电子表格应用程序创建模板文件。


1. 打开包含目标实验的项目，然后选择 **Plate Setup**（反应板设置）。
2. 在 Plate Setup（反应板设置）窗口中，选择包含目标反应板设置信息的实验记录。
3. 在 Edit Plate（编辑反应板）窗口中，单击 **Actions**（操作） > **Download Template**（下载模板），然后将文件保存至目标位置。

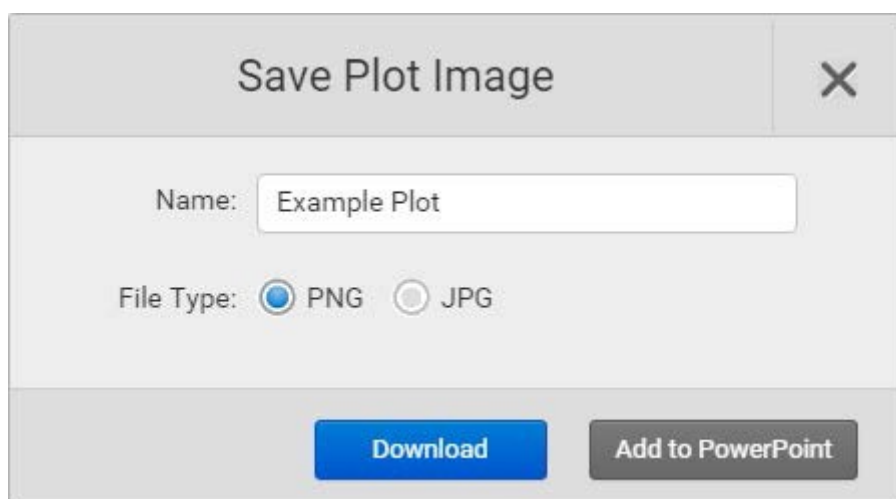
相关主题：

[导出结果](#)

## 导出曲线以用于演示和发布

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以便携式网络图像格式 (.png) 或联合图像专家组格式 (.jpg) 文件导出任意曲线，这些文件可以通过大部分电子表格和演示用桌面排版软件导入。

1. 查看曲线时，请单击 （以保存相关曲线）或选择 **Actions**（操作） > **Save Plate Image**（保存反应板图像）（以保存反应板网格图像）。
2. 保存图像。
  - a. 单击 File Name（文件名）字段，然后为导出的图像文件输入名称。
  - b. 选择适合的文件格式（.png 或 .jpg）。
  - c. 单击 **Download**（下载），下载曲线像文件，或单击 **Add to PowerPoint**（添加至 PowerPoint），将曲线添加至 PowerPoint 演示文稿导出文件（请参见[以幻灯片演示格式导出项目数据](#)）。



3. 在 Save As（另存为）对话框中，选择导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save（保存）**。


---

相关主题：

[导出结果](#)

## 以幻灯片演示格式导出项目数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式导出项目数据。已导出文件中汇总了项目数据，并按通用模板保存已导出文件，因此用户可以通过导入 Microsoft™ PowerPoint® 模板文件进行覆盖。

1. 在项目（包含要导出数据）主菜单中，单击 **Export（导出）**。
2. 在 Export（导出）窗口，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入已导出报告的名称。  
**备注：**命名报告操作允许您重复导出（如果需要）。
  - b. 在 File type（文件类型）菜单中选择 **.pptx**。
3. 在 Export Details（导出详情）窗口中，选择要包括在导出文件中的数据表字段，然后单击 **Start Export（开始导出）**。

开始导出后，请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态（Status）列显示“Download（已下载）”时，即表示导出已完成。

数据导出文件生成后，Applied Biosystems™ 软件将在 Export History（导出历史记录）表中按行显示文件包。

4. （可选）单击 Comments（注释）列中的条目，然后为已导出报告输入附加信息。
5. 单击 **Download（下载）**，选择已导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save（保存）**。

数据导出文件包生成后，将始终保存在 Export History（导出历史记录）表中，或直至用户将其移除。要删除文件包，请在表中选择导出文件包，然后单击 **Actions（操作）** 并选择 **Delete File（删除文件）**。

用户可使用 Microsoft™ PowerPoint® 应用程序重新设置已导出幻灯片演示文件的格式。有关对演示文件应用主题或模板的详细信息，请参见 Microsoft™ PowerPoint® 帮助文件。


---

相关主题：

[导出结果](#)

## 从项目中导出分析后的数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户将项目数据以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片或者逗号分隔的文本或制表符分隔的文本形式导出，这类文本可通过大多数电子表格应用程序导入以供进一步分析或演示。

1. 在包含待导出数据的项目的主菜单中，单击 **Export (导出)**。
2. 在 Export (导出) 窗口中，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name (名称) 字段中输入所导出报告的名称。  
**备注：**为报告命名将允许用户重复导出（如果需要再次导出）。
  - b. 选择所导出数据的文件类型：
    - **.txt** — 用于将数据导出至以制表符分隔的文本文件。
    - **.csv** — 用于将数据导出到以逗号分隔的文本文件。
    - **.pptx** — 用于将所有数据导出到 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片中。
  - c. (仅 CSV 和 TXT 导出) 选中要导出的数据的相应复选框。
    - **孔结果** — 导出分析中所用的每个反应板中各个孔的基因表达分析结果。
    - **扩增数据** — 导出项目中每个孔的扩增结果，例如循环数以及 Rn 或 ΔRn 值。
    - **识别结果** — 从包括所有识别数据在内的存在/不存在结果导出结果。
    - **分析设置** — 导出用于生成分析后数据的分析设置配置，包括各个 QC 标记的阈值设置。
    - **QC 汇总** — 导出由数据分析生成的质量指标 (标记) 汇总。
3. 如果想要自定义导出以包括特定数据，请单击 **Actions (操作) > Customize (自定义)**，然后选择想要从每个所选表格导出的数据列。
4. 在 Export Details (导出详细信息) 窗口中，从数据表中选择要包含在已导出文件中的字段，然后单击 **Start Export (开始导出)**。

开始导出后，等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。当已导出报告的状态 (Status) 列显示 "Download" (下载) 时，导出完成。

生成数据导出后，Applied Biosystems™ 软件将数据包显示为 Export History (导出历史) 表中的一行。

5. (可选) 单击 Comments (注释) 列中的条目，然后输入已导出报告的任何额外信息。
6. 单击 **Download (下载)**，选择导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save (保存)**。

生成后，数据导出包将无限期地保留在 Export History (导出历史) 中或直到将其移除。要删除数据包，请从表中选择导出包，然后单击 **Actions (操作)** 并选择 **Delete File(s) (删除文件)**。

---

相关主题：

[导出结果](#)

# 孔表

Well Table (孔表) 汇总了项目中单个实验的已分析数据。要查看 Well Table (孔表)，请在选择 **Quality Control & Results (质量控制与结果)** 后，选择目标实验，然后在 View By (查看方式) 下拉列表中选择 **Well Table (孔表)**。

用户可通过以下方式组织孔表内容：

- 使用表中的 "Group By" (分组方式) 设置，按样品、反应板或任务对表中显示的数据进行分组。分组后，选择用于评估图中扩增数据子集的行，该操作在多个重复孔中审查扩增水平时非常有用。
- 单击表格列标题以对内容进行排序 (或单击标题中的  $\nabla$ ，然后选择  $\equiv$  或  $\equiv$ )。列标题中的箭头 ( $\blacktriangle$  或  $\blacktriangledown$ ) 可指示排序顺序。
- 单击列标题中的  $\nabla$ ，然后单击  $\nabla$  并选择要用于筛选内容的参数筛选完成后，单击 **Clear (清除)**，将筛选条件从表中移除。
- 单击任意列标题中的  $\nabla$ ，然后单击  $\equiv$  并选择要显示或隐藏的列。
- 单击列标题中的  $\nabla$ ，然后单击  $\lock$  (或  $\unlock$ )，在表中将列水平位置锁定 (或解锁)。在解锁列之后，您可以在表中通过单击并拖拽列标题的方式将该列重新定位。

**表 1. 盒形图孔表**

列	定义
样品	样品 ID (唯一的名称或编号)。
生物学组	样品所属的生物学组 (唯一的名称或编号)。
平均值	技术重复 $C_T$ 值的算术平均值。
最小值	测试样品的最小技术重复 $C_T$ 值 (按分析设置中设定的置信水平计算)。
最大值	测试样品的最大技术重复 $C_T$ 值 (按分析设置中设定的置信水平计算)。
中位数	样品技术重复 $C_T$ 值的中位数。
Q1	样品重复组的第一个四分位数 ( $Q_1$ )，按技术重复 $C_T$ 值的最小值与中位数之间的中间数值计算。 <b>备注：</b> 第一个四分位数定义四分位距 (IQR) 的下限，即第三个四分位数与第一个四分位数之差。
Q3	样品重复组的第三个四分位数 ( $Q_3$ )，按技术重复 $C_T$ 值的中位数与最大值之间的中间数值计算。

**表 2. 相对定量图孔表**

列	定义
目标基因	分析试剂盒目标核酸序列的 ID (唯一的名称或编号)。
样品	样品 ID (唯一的名称或编号)。
生物学组	样品所属的生物学组 (唯一的名称或编号)。
最大 $C_T/C_{RT}$	最大 $C_q$ ，由 RQ Settings (RQ 设置) 分析方法中的“最大允许 CT”限值定义。
$C_T/C_{RT}$ 平均值	技术重复 $C_q$ 值的算术平均值。
调整后的 $C_T/C_{RT}$ 平均值	技术重复 $C_q$ 值 (已根据 RQ Settings (RQ 设置) 的分析方法设置中定义的“最大允许 CT”限值进行了调整) 的平均值。 <b>备注：</b> 对于 $C_q$ 值大于“最大允许 CT”值的孔，软件会将其调整至指定的 $C_q$ 限值。
$C_T/C_{RT}$ SE	样品重复组水平 $C_q$ 值的样品标准偏差。






列	定义
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值	<p>样品重复组的技术重复 <math>C_q</math> 值的算术平均值。</p> <p><b>备注：</b> <math>\Delta C_T/\Delta C_{RT}</math> 平均值在反应板水平下计算，并且代表了目标基因 <math>C_q</math> 值与板中该样品的所有技术重复的内源性对照 <math>C_q</math> 值之间的平均值之差。</p>
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE	<p>样品重复组水平 <math>C_q</math> 值的样品标准偏差。</p> <p><b>备注：</b> Multiplex 和 Singleplex 实验的 <math>\Delta C_T/\Delta C_{RT}</math> SE 值计算方法不同。如果是 Multiplex 实验，则计算是在孔水平上进行的。如果是 Singleplex 实验，则计算时还将结合板水平的目标基因与内源性对照之间 <math>C_q</math> 值差异。</p>
F-因子	<p>与参比样品相关的重复组的 F-因子计算结果。</p> <p>F-因子用于计算 <math>\Delta\Delta CT</math> 算法的 RQ 置信区间（在 RQ 图中以误差线的形式显示）。该值的计算方式各有不同，具体取决于项目分析设置中的 RQ Settings（RQ 设置）。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>如果指定了 <b>Confidence level（置信水平）</b> 设置，则 F-因子即 t 检验分布的 <i>t</i> 值，计算方法如下： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>自由度</b>，用于表征重复群体的分布。如果项目中没有生物学组，则根据 Technical Test Sample（技术测试样品）计算自由度，公式如下：  技术重复孔数<sub>目标基因</sub> + 技术重复孔数<sub>内源性对照</sub> - 2。</li> <li>或者，根据 Biological Test Sample（生物学测试样品）计算该值，公式如下：  技术重复组<sub>测试样品数</sub> - 1。</li> </ul> </li> <li>与双侧 t 检验分布相关的 <i>概率</i>（由项目分析设置中的 RQ Settings（RQ 设置）确定）。</li> <li>如果指定的了 <b>Limit by standard deviations（受限于标准偏差）</b> 设置，则 F-因子等于设定值（1、2 或 3）。</li> </ul>
$\Delta\Delta C_T/\Delta\Delta C_{RT}$	与参比样品相关的重复组的 $\Delta\Delta C_T$ 计算结果。
$\Delta\Delta C_T/\Delta\Delta C_{RT}$ ± F-标准偏差	$\Delta\Delta C_T$ 计算值加减 F-标准偏差（根据与参比样品相关的重复组计算）。
RQ	与测试样品相关的重复组的基因表达相对水平计算结果。
最小 RQ	<p>按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最小值。</p> <p><b>备注：</b> 该最小值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。</p>
最大 RQ	<p>按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最大值。</p> <p><b>备注：</b> 该最大值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。</p>

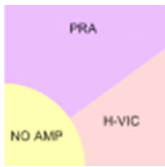
相关主题：

[窗口与曲线](#)


## 使用分类方案分析数据

1. 为基于分类方案的分析配置分析设置：
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Analysis Groups（分析组）表中选择现有分析组，然后单击 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）** 进行编辑。
  - b. 在 Analysis Setting（分析设置）对话框的 Call Method（识别方法）设置中选择 **Autocalling（自动识别）**。
  - c. 根据需要修改分析设置，然后单击 **Finish（完成）**。
2. 单击 **Analyze（分析）**，重新分析项目。
3. 分析完成后，单击 **Analysis（分析方法）** 查看结果。
4. 按散点图查看数据：
  - a. 在 Analysis（分析方法）窗口中，选择 **View（查看） > Assay（检测）**，然后选择目标检测。软件将以散点图的形式显示选定检测的数据点。
  - b. 在散点图中，单击 ，然后选择要在图中显示的项（**Flagged data points（带标记的数据点）**、**References（参比）**、**Omitted Wells（已忽略的孔）**、**Legend（图例）**、**Traces（波形图）** 和 **Classification Scheme（分类方案）**）。
5. 在散点图中，单击 （Select New Scheme（选择新方案）），选择适合的分方案，然后单击 **Analyze（分析）**，查看新结果。

方案	示意图	定义的区域
标准二倍体基因型		五个定义区域： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 纯合子 FAM/FAM</li> <li>• 杂合子 FAM/VIC</li> <li>• 纯合子 VIC/VIC</li> <li>• 无扩增</li> <li>• 不确定（白色的未标记区域）</li> </ul> <b>备注：</b> 软件将该方案分配为默认方案。
VIC 稀有等位基		五个定义区域： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 纯合子 FAM/FAM</li> <li>• 杂合子 FAM/VIC</li> <li>• 可能存在的稀有等位基因</li> <li>• 无扩增</li> <li>• 不确定（白色的未标记区域）</li> </ul>

方案	示意图	定义的区域
FAM 稀有等位基因		五个定义区域： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 可能存在的稀有等位基因 (PRA)</li> <li>• 杂合子 FAM/VIC</li> <li>• 纯合子 VIC/VIC</li> <li>• 无扩增</li> <li>• 不确定 (白色的未标记区域)</li> </ul>
极稀有 VIC 等位基因		三个定义区域： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 纯合子 FAM/FAM</li> <li>• 可能存在的稀有等位基因 (PRA)</li> <li>• 无扩增</li> </ul>
极稀有 FAM 等位基因		三个定义区域： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 可能存在的稀有等位基因 (PRA)</li> <li>• 纯合子 VIC/VIC</li> <li>• 无扩增</li> </ul>

## 6. 编辑分类边界以调整当前方案的分类区域：

- a. 单击  (编辑分类边界)。
- b. 单击并拖动所有要调整区域的边界线。

**备注：**边界线不应在“无扩增”区域(椭圆形)外相交。


- c. 单击 **Analyze** (分析)，查看新结果。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

## 按散点图审查分析后的数据

对 Allelic Discrimination Plot (等位基因鉴别图) 中的实验结果进行初步审查，该等位基因鉴别图可比较 SNP 分析中等位基因特异性探针的归一化报告染料荧光强度 (Rn)。

1. 单击 **Analyze** (分析) 分析项目，然后单击 **Analysis** (分析方法) 查看结果。
2. 按散点图查看数据：
  - a. 在 Analysis (分析方法) 窗口中，选择 **View** (查看) > **Assay** (检测)，然后选择目标检测。软件将以散点图的形式显示选定检测的数据点。
  - b. 在散点图中，单击  (View Options (查看选项))，然后选择要在图中显示的项 (**Flagged data points** (带标记的数据点)、**References** (参比)、**Omitted Wells** (已忽略的孔)、**Legend** (图例) 和 **Traces** (波形图))。

### 3. 审查散点图数据。

- 如果启用了 Autocaller（自动识别），则图中将针对为选定 SNP 评估的每个样品显示等位基因符号。

图中样品分组如下：

符号	分组位置	样品基因型
红色点	图中 X 轴	选定 SNP 分析的等位基因 1 纯合子。
蓝色点	图中 Y 轴	选定 SNP 分析的等位基因 2 纯合子。
绿色点	纯合子聚类中间位置	选定 SNP 分析（等位基因 1 和等位基因 2）中两个等位基因的杂合子。
黄色点	图中左下角	阴性对照。
黑色点	图中任意位置	不确定。

- 如果未启用 Autocaller（自动识别），则图中将在各样品处显示叉号（X – 不确定）。

### 4. 针对图中的各个聚类：

- a. 单击并拖动聚类附近的框，以便在反应板布局和孔表中选择相关的孔。
- b. 在孔表中确认目标孔是否已选中。

例如，如果选择了图中左下角的聚类，则仅选中阴性对照。阴性对照中存在未知样品可能表示样品扩增失败。

- c. 针对图中的所有其他聚类重复步骤 4a 和 4b。
5. 如果需要，可执行手动基因型识别，方法是先选择散点图中的一个或多个数据点，然后在菜单中选择相应的识别。
  6. 数据审查完成后，单击 < 返回 Analysis（分析方法）窗口。
  7. 针对所有目标分析重复步骤 2 - 6。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

## 修改特异性检测的分析数据

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验(已添加至项目)的默认设置处理项目数据。如有需要，您可以通过 Results（结果）窗口修改分析设置；但所做更改仅应用于所选检测。

1. 在 Analysis（分析方法）窗口的 View（查看）下拉列表中选择 **Assay（检测）**。
2. 在 Assay（检测）或 Sample（样品）视图下，选择要修改的散点图。
3. 在 Allelic Discrimination（等位基因鉴别）窗口中，单击 **Analysis Setting（分析设置）**，查看所选检测或样品的相关分析设置。

4. 在 Edit Analysis Setting（编辑分析设置）对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
识别设置	<p>指定需要 Applied Biosystems™ 软件在分析分析数据时采用的设置。</p> <p><b>重要信息！</b> 特殊说明，仅当项目中的实验具有实时数据时，才能够启用“仅限实时 PCR”标记设置。另外，仅当选择自动识别时，才能够启用“仅限自动识别”标记设置。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Call Method（识别方法）</b> — 确定软件将如何进行基因分型识别。如果选择： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Autocalling（自动识别）</b>，则将使用软件算法识别数据点。</li> <li>▪ <b>Classification Scheme（分类方案）</b>，则用户需定义在识别数据点时所用的聚类边界。</li> </ul> </li> <li>• <b>Protect Manual Calls（保护手动识别结果）</b> — 选择该选项，软件将保护所有手动识别结果。即，软件在分析数据时，不会修改任何通过手动识别得到的数据点。</li> <li>• <b>Use Reference Panels for Autocalling（使用参考品进行自动识别）</b> —（仅限自动识别）选择该选项，软件将使用参比样品数据（从参考品文件中导入）来确定未知数据点的识别结果偏差。</li> <li>• <b>Use Hardy-Weinberg for Analysis（将 Hardy-Weinberg 平衡用于分析）</b> —（仅限自动识别）选择该选项，软件将使用 Hardy-Weinberg 平衡统计数据来确定数据点识别结果的偏差。 <p><b>重要信息！</b> 使用 Hardy-Weinberg 平衡来改变识别结果会导致错误的基因分型。仅当所选样品群体符合 Hardy-Weinberg 假设时，才能启用该功能。</p> </li> <li>• <b>Use Positive Controls for Analysis（使用阳性对照进行分析）</b> —（仅限自动识别）选择该选项，软件将使用阳性对照来确定未知数据点识别结果的偏差。 <p><b>备注：</b> 无法手动识别阳性对照。</p> </li> <li>• <b>Heterozygote（杂合子）</b> —（仅限自动识别）选择以下项之一： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Allow（允许）</b> — 自动识别工具将进行杂合子基因型识别。</li> <li>▪ <b>Disallow（禁止）</b> — 自动识别工具不会进行任何杂合子基因型识别。</li> <li>▪ <b>Disallow in Males（禁用雄性样品）</b> — 如果样品来自雄性，则自动识别工具不会进行任何杂合子基因型识别。</li> </ul> <p><b>备注：</b> 为了使自动识别工具能够执行 Disallow in Males（禁用雄性）功能，用户必须在 Samples（样品）窗口的 Gender（性别）列将样品标记为雄性或雌性。</p> </li> <li>• <b>Baseline for Real-time Data（实时数据基线）</b> —（仅限实时 PCR）选中该选项后，软件将从最终荧光信号中扣除前期 PCR 循环时的基线荧光信号。最终的荧光信号将按默认或用户选定的循环数生成（请参见下方的“循环数”）。 <p><b>备注：</b> 如果项目中已包含通过当前设置导入的孔，则对于实时实验类型而言，该选项为禁用状态。</p> </li> <li>• <b>Normalize Cluster for Autocalling（归一化自动识别所需聚类数据）</b> —（仅限 OpenArray 项目的自动识别）选择该选项后，软件将在自动识别前先对聚类数据执行归一化计算。归一化选项可用作全局设置。如有需要，用户可单独启用或禁用特异性检测的聚类归一化操作，方法是在设置表的 Normalize Cluster（归一化聚类）列中选择相应条目。 <p><b>重要信息！</b> 聚类归一化选项假设作为归一化对象的各个检测或反应板间基因分型聚类中的数据点分布大致相似。</p> <p><b>重要信息！</b> 聚类归一化功能专为优化 OpenArray 实验分析而设计，该实验的基因分型聚类中通常包括大量样品。使用聚类归一化功能之前，请确认实验所生成的聚类由最大聚类中的至少 20 个样品组成。</p> </li> </ul>

组	设置
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Manual Baseline (手动基线设置)</b> — (仅限实时 PCR) 您可以在 Start (开始) 和 End (结束) 字段中输入值来指定自定义循环范围 (而不是使用默认的循环范围), 从而计算具有实时数据的实验基线。Start (开始) 循环的值必须大于 End (结束) 循环的值。</li> <li>• <b>Cycle Number (循环数)</b> — (仅限实时 PCR) 默认情况下, 软件会从方案中的最终循环中提取荧光信号, 根据实时实验文件创建基因分型散点图。用户可更改软件采用的循环数。所输入的循环数必须介于循环数 20 和循环数 60 之间。如果留空, 软件将使用最终循环的数据。</li> </ul> <p><b>重要信息!</b> 聚类归一化功能专为优化 OpenArray 实验分析而设计, 该实验的基因分型聚类中通常包括大量样品。使用聚类归一化功能之前, 请确认实验所生成的聚类由最大聚类中的至少 20 个样品组成。</p>
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 <b>Use (使用)</b> 列中, 选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li> <li>2. 如果列出了标记的 <b>Value (值)</b>、<b>Condition (条件)</b> 和 <b>Threshold (阈值)</b>, 则可指定应用标记所需的设置。</li> </ol> <p>例如, 采用基因分型质量较低质量标记的默认设置时, 质量指标低于 0.95 的孔将被标记。</p> <p><b>备注:</b> 如果选择调整标记应用设置, 请在评估相应设置时进行微调。</p>

5. 分析方法设置完成后, 单击 **Finish (完成)**。

6. 单击 **Analyze (分析)**, 重新分析项目。

相关主题:

[审查质量数据和结果](#)

## 使用自动识别功能分析数据

1. 为自动识别功能配置分析设置:


- a. 在 Overview(总览)窗口的 Analysis Groups (分析组) 表中选择现有组, 然后单击 **Actions (操作) > Edit Analysis Settings (编辑分析设置)** 进行编辑。
- b. 在 Analysis Setting (分析设置) 对话框的 Call Method (识别方法) 设置中选择 **Autocalling (自动识别)**。
- c. 根据需要修改分析设置, 然后单击 **Finish (完成)**。

2. 单击 **Analyze (分析)**, 分析项目。


3. 分析完成后, 请单击 **Analysis (分析方法)** 查看结果。



#### 4. 按散点图查看数据：

- a. 在 Analysis（分析方法）窗口中，选择 **View（查看） > Assay（检测）**，然后选择目标检测。软件将以散点图的形式显示选定检测的数据点。
- b. 在散点图中，单击 （View Options（查看选项）），然后选择要在图中显示的项（**Flagged data points（带标记的数据点）**、**References（参比）**、**Omitted Wells（已忽略的孔）**、**Legend（图例）**和**Traces（波形图）**）。

#### 5. 审查识别结果，如有必要，请执行人工识别：

- a. 查看散点图时，单击 （View Options（查看选项）），然后选择 **Show Legend（显示图例）**。图例将显示在散点图底部。
- b. 审查基因分型识别结果。
- c. 如果存在任何错误识别结果，请在 Results（结果）表或散点图中进行手动识别。

选项	操作
结果表	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 Results（结果）表中选择样品。</li> <li>2. 单击 <b>Actions（操作） &gt; Well Level（孔水平）</b>，然后选择相应的识别。</li> </ol>
散点图	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 单击并拖动一个或多个数据周围的框。</li> <li>2. 单击 <b>Actions（操作）</b>，然后选择相应的识别。个或多个数据周围的框。</li> </ol>

**备注：**要删除手动识别，请选择样品，然后单击 **Actions（操作）**，然后选择 **Clear Manual Call（清除手动识别）**。

- d. 单击 **Analyze（分析）**，查看新结果。

对于所有手动识别的孔/数据点，在 Results（结果）表中具有以下特征：

- 在 Manual（手动）列中显示选中标记
- 在 Quality（质量）列中显示 N/A



#### 6. 查看并修改 Results（结果）表中的数据：

工具	该工具的作用
鼠标/光标	<p>选择孔。要选择：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 单个孔，请在 Results（结果）表中选择孔。</li> <li>• 要在结果表中同时选择多个孔，请在选择孔时按 <b>Ctrl</b> 键或 <b>Shift</b> 键。</li> </ul> <p>在 Results（结果）表中选择孔后，散点图中对应的数据点也将处于选中状态。</p>
分组方式下拉菜单	<p>在 Results（结果）表中选择如何对样品进行分组。例如，如果选择 <b>Experiment（实验）</b>，则软件将根据样品所属的实验对样品进行分组。</p> <p>要折叠或展开组，请在 Results（结果）表中单击各组上方的箭头。</p>



工具	该工具的作用
操作（更改下拉菜单）	<b>View Real Time Plots（查看实时图）</b> ，用于审查孔的扩增水平和多组分数据。
	为项目中的孔 <b>Set/clear bookmark（设置/清除标记）</b> 。
	该标记将始终位于 Results（结果）窗口中，因此用户可以轻松找到已标记的孔。
	<b>Omit/Un-Omit（忽略/取消忽略）</b> 分析中的孔。
	忽略/取消忽略孔后，请单击 <b>Analyze（分析）</b> ，重新分析项目。
对于已忽略的孔，软件将： <ul style="list-style-type: none"> <li>不在 Results（结果）表中显示识别结果（Call（检测）结果列为空/空白）。</li> <li>不将已忽略的孔纳入分析方法中。</li> </ul>	
对于已取消忽略的孔，软件将： <ul style="list-style-type: none"> <li>根据 Analysis Settings（分析设置）对话框中的设置重新分配任务。</li> <li>（对于对照孔）将识别结果分配为 <b>N/A</b>。</li> <li>（对于非对照孔）将识别结果分配为 <b>Undetermined（不确定）</b>。</li> </ul>	
<b>Tag for Ref Panel/Un-tag selected（标记参考品/为选定样品取消标记）</b> 用作参比样品（用于生成参考品文件）。	
向孔添加 <b>注释</b> 。	
执行手动识别。	
◀ 或 ▶	展开或折叠 Results（结果）表。


## 7. 根据需要使用 Results（结果）表列：

列	该列的作用
 （忽略）	忽略/取消忽略分析中的孔。
 （标记）	确定孔是否带有标记。
样品 ID	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。
识别结果	查看已分配至孔的基因分型识别。
手动	确定是否手动识别样品。
任务	查看已分配至孔的任务。任务是样品所执行的功能： <ul style="list-style-type: none"> <li>未知</li> <li>无模板对照 (NTC)（对照标识符）</li> <li>VIC/VIC、FAM/FAM 或 VIC/FAM 的阳性对照（对照标识符）</li> <li>阴性对照（对照标识符）</li> </ul>
等位基因 1	查看与探针（用于检测等位基因）相关的染料的归一化荧光值。
等位基因 2	TaqMan® OpenArray™ 基因分型系统荧光值不通过 ROX™ 参比荧光染料进行归一化处理。
等位基因 1 扩增分数	查看相关孔的 C <sub>T</sub> 或 C <sub>RT</sub> 值计算结果。
等位基因 2 扩增分数	<b>备注：</b> C <sub>T</sub> 和 C <sub>RT</sub> 数据仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。
等位基因 1 CT/CRT 值	查看针对相关孔中的探针（靶向结合关联等位基因）计算所得的 C <sub>T</sub> 或 C <sub>RT</sub> 。
等位基因 2 CT/CRT 值	<b>备注：</b> C <sub>T</sub> 和 C <sub>RT</sub> 数据仅可用于含有实时 PCR 数据的实验。

列	该列的作用
参比荧光	查看参比荧光染料的荧光值。 FAM™ 和 VIC™ 染料的荧光值通过参比荧光染料（通常为 ROX™ 染料）进行归一化。 TaqMan® OpenArray™ 基因分型系统荧光值不通过 ROX™ 参比荧光染料进行归一化处理。
质量	查看由自动识别算法执行的识别的评估质量值。该算法可针对各数据点输出具有以下属性的质量值： <ul style="list-style-type: none"> <li>质量值是介于 0 和 1 之间的数值。</li> <li>对于无效数据点，质量值始终为 0。</li> <li>对于无扩增数据点，质量值始终为 1。</li> <li>对于 FAM/FAM、FAM/VIC 和 VIC/VIC 识别，如果质量值是识别结果中较高的值，则更有可能为正确结果，而如果质量值是识别结果中较低的值，则更有可能为错误结果。</li> </ul> 如果手动识别孔或者采用 Classification Scheme（分类方案）识别方法识别孔，亦或者该孔为对照，则质量值为 N/A。
孔	查看样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
实验文件名	查看孔所属实验文件的名称。
性别	查看已分配至样品的性别。
群体	查看已分配至项目中的样品的群体名称。默认情况下，未知样品的群体名称为“全部”。 用户可通过 Edit Sample（编辑样品）对话框来编辑项目中部分或所有样品的群体。所分配的每个群体名称都将显示在 Population Statistics（群体统计数据）选项卡中。
反应板条形码	查看运行实验的反应板的名称或条形码。
注释	查看为孔标注的所有注释。

8. （如有需要）单击 **Analyze（分析）**，重新分析并查看新结果。

9. 选择 **View（查看） > References（参比）**，然后查看 References Samples（参比样品）表中的数据。

列	描述
	指示样品是否属于参考品的一部分。
样品 ID	样品 ID（唯一的名称或编号）。
识别	已分配至孔的基因分型识别。
VIC™	VIC™ 和 FAM™ 染料的归一化荧光值。
FAM™	
孔	样品在反应板中所处的孔位置。例如，P18 表示样品位于行 P，列 18。
实验文件名	孔所属实验文件的名称。
参考品文件名称	包含参考品的文件的名称。
反应板条形码	运行实验的反应板的名称或条形码。
起始项目名称	作为参考品文件创建来源的项目的名称。

10. 选择 **View (查看) > Population (群体)**，然后查看 Population Statistics (群体统计数据) 表中的数据。

列	描述
群体	已分配至项目中的样品的群体名称。默认情况下，未知样品的群体名称为“全部”。 用户可通过 Edit Sample (编辑样品) 对话框来编辑项目中部分或所有样品的群体。所分配的每个群体名称都将显示在 Population Statistics (群体统计数据) 选项卡中。
等位基因 1 频率	针对项目中各群体所测定的等位基因 1 频率。
等位基因 2 频率	针对项目中各群体所测定的等位基因 2 频率。
1/1 频率	针对项目中各群体所测定的 1/1 基因型频率。
1/2 频率	针对项目中各群体所测定的 1/2 基因型频率。
2/2 频率	针对项目中各群体所测定的 2/2 基因型频率。
卡方	项目中各群体的卡方值结算结果。 卡方值计算结果用于根据实测和预期的基因分型识别数来确定实验数据是否符合 Hardy-Weinberg 平衡 (假设自由度为 1)。
p 值	查看项目中各群体的 p 值计算结果。 p 值计算结果是实测和预测基因分型识别结果存在差异的概率 (仅考虑概率)。 <b>备注:</b> 应用 P 值时, Life Technologies 建议用户回顾 Hardy-Weinberg 平衡基本原理。

相关主题:

[审查质量数据和结果](#)

## 窗口与曲线

Applied Biosystems™ 分析软件提供以下窗口和曲线，可用于对添加至项目的实验设置和结果进行编辑和可视化。

- **总览窗口** — 用于审查和编辑 (如有必要) 与项目相关的样品、目标基因和对照品 (请参见[总览窗口](#))。
- **板设置窗口** — 用于更改已添加至项目的实验的板设置 (请参见[板设置窗口](#))。
- **质量控制与结果窗口** — 用于初步审查分析后的项目数据，并查看高分辨率熔解曲线分析的结果 (请参见[质量控制与结果窗口](#))。
  - **熔解曲线对齐图** — 在图中显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较归一化荧光强度百分比 (0-100%) 与温度的关系 (请参见[熔解曲线对齐图](#))。
  - **熔解曲线导数图** — 在图中显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较各个孔的归一化荧光强度负导数 (-Rn') 与温度的关系 (请参见[熔解曲线导数图](#))。
  - **熔解曲线差异图** — 在图中显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较参比-归一化荧光强度与温度的关系 (请参见[熔解曲线差异图](#))。
  - **原始熔解曲线** — 在图中显示单个实验的熔解曲线数据，该图用于比较归一化荧光强度 (Rn) 与温度的关系。(请参见[原始熔解曲线](#))。

- **扩增曲线** — 显示已添加至项目的每个实验中样品的运行后扩增结果（请参见[扩增曲线](#)）。
- **多组分曲线** — 用于审查在整个 PCR 运行过程中反应板孔中的每种染料的信号图组成（请参见[多组分曲线](#)）。
- **导出窗口** — 用于生成报告并导出项目数据。分析完成后，该窗口可提供多个用于导出结果和分析后数据的选项，以便进行演示或进一步分析（请参见[导出窗口](#)）。

---

相关主题：

[熔解曲线对齐图](#)

[扩增曲线](#)

[熔解曲线导数图](#)

[熔解曲线差异图](#)

[导出窗口](#)

[多组分曲线](#)

[总览窗口](#)

[反应板设置窗口](#)

[质量控制与结果窗口](#)

[原始熔解曲线](#)

[孔表](#)

## 结果窗口

Results（结果）窗口提供以下两种视图：

- **QC Result（QC 结果）选项卡** — 显示项目中所有波形图文件的 QC 结果汇总。
- **Plate Report（反应板报告）选项卡** — 显示项目中所有波形图文件中的波形图。

---

相关主题：

[QC 结果选项卡](#)

[反应板报告选项卡](#)

[软件窗口描述](#)

## 波形图窗口

Traces（波形图）窗口可显示项目中所有波形图文件的列表，并提供各文件的 QC 标记、碱基识别、运行和数据采集信息。

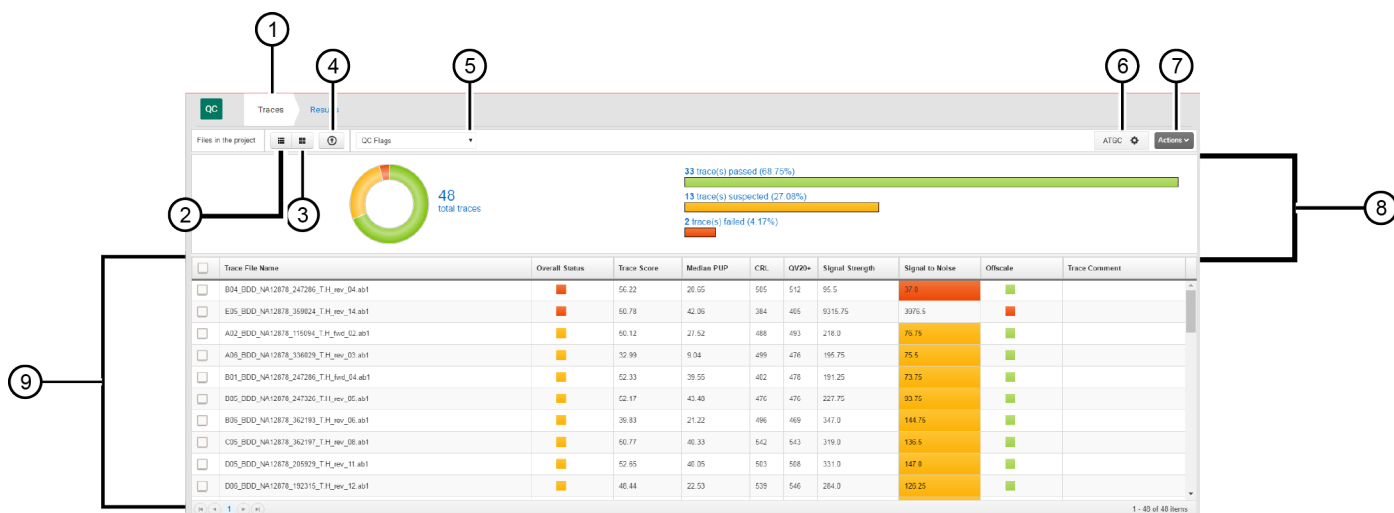


图 1 列表视图（默认视图）

1. Workflow（工作流）栏 — 选择 Traces（波形图）窗口。
2. List（列表）视图 — 显示项目中所有波形图文件。
3. Thumbnail（缩略图）视图 — 显示项目中所有波形图文件的缩略图。
4. 显示/隐藏项目的质量指示符。
5. 选择要在 List（列表）视图中显示的信息（**QC 标记、碱基识别信息、运行信息或数据采集信息**）。
6. **ATGC** — 打开 Edit Basecalling Settings（编辑碱基识别设置）对话框。
7. **操作** — 查看波形图详情、导出波形图、删除项目中的波形图或更改 QC 标记设置。
8. **Quality（质量）指示符** — 查看项目的质量状态。项目中的波形图文件：绿色 = 波形图文件符合 QC 设置要求；黄色 = 波形图文件待定（即可能需要进一步检查）。红色 = 波形图文件不符合 QC 设置要求。  
用户可单击 Quality（质量）指示符，对表中显示的波形图文件进行筛选。例如，单击圆形或条形指示符的绿色部分，仅显示符合 QC 设置要求的波形图文件。要在筛选后显示所有波形图文件，请单击圆形指示符旁边的波形图总数。
9. 选定的 List（列表）视图。

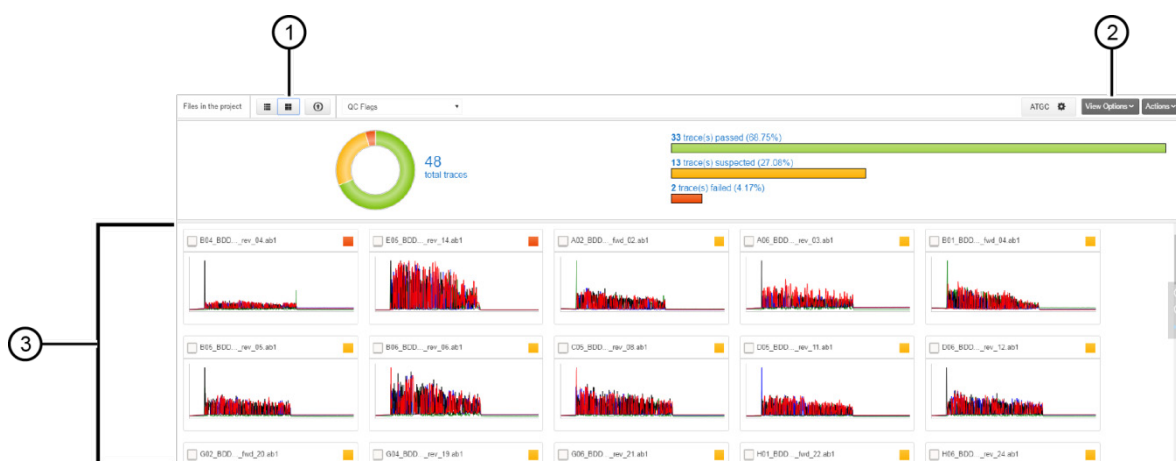


图 2 缩略图视图中的差异

1. Workflow（工作流）栏 — 选择 Traces（波形图）窗口。
2. **视图选项** — 以等分刻度或相对刻度显示缩略图。
3. 选定的 Thumbnail（缩略图）视图。

## 如何...

在 Traces (波形图) 窗口中设置查看选项

查看 QC 标记

查看碱基识别信息

查看运行信息

查看数据采集信息

查看缩略图

导出波形图文件

编辑碱基识别设置

删除波形图文件

调整质量设置

相关主题:

[查看波形图窗口中的数据](#)

## 总览窗口

Overview (总览) 窗口总结了实验 (已添加至项目) 中出现的实验、样品、目标基因和生物学组信息。此外, 该窗口还提供了可用于捕获不同分析配置结果的分析组的访问权。在该窗口中, 您可以添加、编辑或删除与项目相关联的实验、样品、目标基因、生物学组以及分析组。

要查看 Overview (总览) 窗口, 请在查看项目时单击窗口上方的 **Overview (总览)**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">管理样品和目标基因</a></li><li>• <a href="#">管理生物学组</a></li><li>• <a href="#">为分析定义内源性对照</a></li><li>• <a href="#">通过设计文件导入样品信息</a></li><li>• <a href="#">通过 AIF 文件导入目标基因信息</a></li><li>• <a href="#">配置分析设置</a></li><li>• <a href="#">创建或编辑分析组</a></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">检测信息文件</a></li></ul>

## 总览窗口使用提示

- 单击 Overview (总览) 窗口中表格的列标题, 对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头 (▲ 或 ▼) 指示。
- 单击任何表中的 + 均可放大视图。放大后, 单击 < 可返回初始视图。
- 您可以直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。
- 您可以使用文本编辑器或电子表格应用程序, 从创建的设计文件中直接导入样品信息。
- 您可以使用文本编辑器或电子表格应用程序, 从创建的板模板中直接导入板设置信息。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

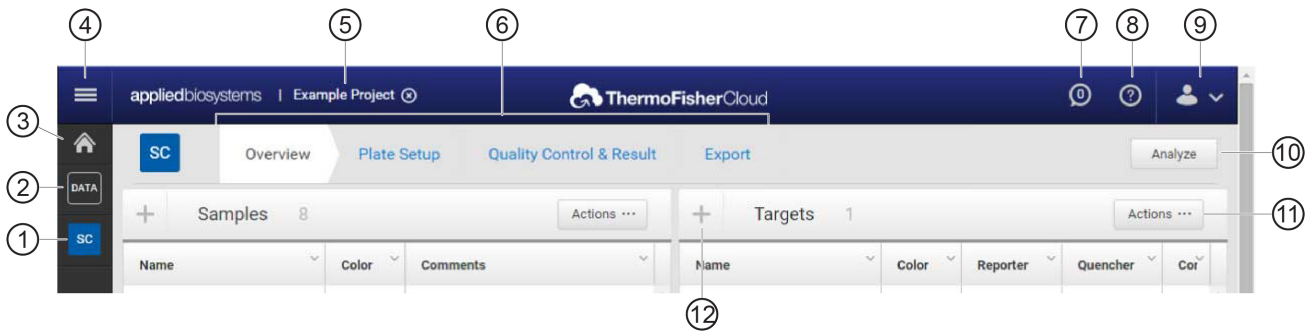
[报告](#)

[目标基因](#)

[目标基因颜色](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



1. **Analysis Modules (分析模块)** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2. **DATA (Data Manager (数据管理器))** — 单击以查看 Data Manager (数据管理器)，该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3. **Home (Project Manager (项目管理器))** — 单击以查看 Project Manager (项目管理器)，该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4. **Hamburger Menu (Account Management Menu (帐户管理菜单))** — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name (项目名称)** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击 关闭项目。
6. **Project tabs (项目选项卡)** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7. **Notifications (通知)** — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8. **Help (帮助)** — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9. **Profile Menu (个人资料菜单)** — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze (分析)** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11. **Zoom (缩放)** — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击 (Close (关闭))，将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions (操作)** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)



## 管理生物学组

如果您的项目使用了生物学重复组，则应将生物学重复组分配给样品以关联数据。生物学组的使用是可选的，并且当实验使用含有相同组分和体积的反应来评估相同生物源（例如，来自同一品种三只不同小鼠的样品，或者同一细胞系或组织样品的独立提取物）的独立样品时才适用。当实验使用项目中的生物学重复组时，实验结果的计算方法将结合各个独立生物学样品的结果，并且将该集合视为单一群体（即作为一个样品）。

您可使用 Applied Biosystems™ 分析软件执行以下操作：

- **创建新的生物学组：**
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Bio Groups（生物学组）表中，选择 **Actions（操作） > Add（添加）**。
  - b. 在 Add New Biological Group（添加新的生物学组）对话框中，输入新组的名称（最多 256 个字符），然后单击 **OK（确定）**。
  - c. 直接在 BioGroups（生物学组）表中编辑生物学组的属性，然后单击 **OK（确定）**。
    - （可选）在下拉菜单中选择颜色。（颜色显示在盒形图中。）
    - 在生物学组中输入的描述最多为 72 个字符。
- 通过直接编辑表格中的组来 **Update（更新）** 现有的生物学组。

**备注：**另外，还可以从表中选择生物学组，然后选择 **Actions（操作） > Update（更新）**。
- **将样品分配给生物学组：**
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表中，从列表选择一个或多个样品，然后选择 **Actions（操作） > Assign（分配）**。
  - b. 在 Update Sample（更新样品）对话框中，选择所需的生物学组，然后单击 **OK（确定）**。
- **删除生物学组：**
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Bio Groups（生物学组）表中，选择目标生物学组，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
  - b. 在 Confirmation（确认）对话框中，单击 **OK（确定）** 删除组。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 管理样品和目标基因

Applied Biosystems™ 分析软件采用实验（已添加到项目）中出现的样品和目标基因填充 Overview（总览）窗口。如有必要，用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除样品和目标基因。

- **Create（创建）** 新样品或目标基因：

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Add（添加）**。
- b. 在 New Sample/Target（新样品/目标基因）对话框中，输入新样品或目标基因的名称（最多 256 个字符），然后编辑新样品/目标基因的属性。
- c. 单击 **OK（确定）**。

- 通过直接编辑表中条目 **Update（更新）** 现有样品或目标基因。

**备注：**另外，还可以从表中选择样品或目标基因，然后选择 **Actions（操作） > Assign/Update（分配/更新）**。

- **Delete（删除）** 样品或目标基因：

- a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，选择目标样品或目标基因，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
- b. 在确认对话框中，单击 **OK（确定）**，删除样品或目标基因。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 为分析定义内源性对照

在 Applied Biosystems™ 分析软件中，内源性对照在每个分析组内分配，并且对于每个分析组是特定的。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Analysis Groups（分析组）表中选择现有组，然后选择 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）**。
2. 单击 **Endogenous Controls（内源性对照）** 以查看设置。
3. 选择以下选项，指定内源性对照：
  - **Use specific endogenous control（使用特定内源性对照）** — 选择该选项，在目标基因列表中指定特定的内源性对照。
  - **Use global normalization（使用整体归一化）** — 选择该选项，Applied Biosystems™ 软件将对  $C_T$  得分采用归一化算法以计算相对表达量。
4. 如果选择使用特定的内源性对照，请在列表中选择一个或多个目标基因作为选定分析组的对照。
5. 单击 **Finish（完成）**。

相关主题：

[设置项目](#)

## 通过设计文件导入样品信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可通过从项目中导出的设计文件或使用文本编辑器或电子表格应用程序创建的设计文件直接导入样品信息。设计文件的格式可以为由制表符分隔的文本 (.txt) 或者由逗号分隔的文本 (.csv)。下图示出了所导出文件的结构。

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	样品名称	组						
B	脂肪 1	脂肪						
C	脂肪 2	脂肪						
D	膀胱 1	膀胱						
E	膀胱 2	膀胱						

使用以下准则编辑文件：

- **行 A** — 文件的第一行必须包含 **sample name**（样品名称）和 **group**（组）列标题。
- **列 1（样品名称）** — 在每行输入单个样品的名称（最多 100 个字符）。
- **列 2（组）** — 在每行输入您希望向其分配样品的生物学组的名称。

**备注：**如果您未使用生物学组，则将第二列留空。Applied Biosystems™ 软件无法导入空白条目。

- 如果设计文件中包含的样品出现在项目内的其他实验中，则文件中的名称必须与其他实验（包括案例）中的名称完全匹配，以便软件关联数据。

您可以执行 Overview（总览）窗口中的下列相关操作：

- **创建设计文件：**

如果您已为项目添加了实验，则可以下载模板文件，以此作为创建个人模板文件的起点。

- 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表中，单击 **Actions**（操作） > **Export Design File**（导出设计文件）。
- 在 Export Sample Settings（导出样品设置）对话框中，选择导出文件的格式（.txt 或 .csv），然后单击 **OK**（确定）。
- 使用文本编辑器或电子表格应用程序，打开样品设计文件并根据需要进行编辑。

- **导入设计文件：**

- 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表中，单击 **Actions**（操作） > **Import Design File**（导入设计文件）。
- 找到带有样品信息的样品设计文件，然后单击 **Open**（打开）。

如果导入成功，则样品将填充至表格中的样品。如果项目中已存在同名的样品，则软件将使用样品设计文件中的信息进行覆盖。

**备注：**样品名称匹配不区分大小写。例如，如果项目中的样品为“fly”，则样品设计文件中的“fly”和“Fly”将与之匹配。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件，位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Import AIF File（导入 AIF 文件）**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因，则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注：**检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 配置分析设置

Applied Biosystems™ 分析软件通过使用分析组来应用分析设置。您可针对默认分析组编辑分析设置，或者创建其他组来捕获设置更改，以便后期进行比较。

查看[创建或编辑分析组](#)以获取更多信息。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 创建或编辑分析组

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验（已添加至项目）的分析设置生成默认分析组。如有需要，可创建附加分析组以探究其他分析设置配置（例如，手动与自动阈值设定、严格与宽松质量阈值等）。

- 请在 Overview（总览）窗口的 Analysis Groups（分析组）表中执行以下操作之一：
  - 选择 **Actions（操作） > Add（添加）** 新建分析组。
  - 选择现有组，然后选择 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）**。转至步骤 4。
- 在 Analysis Settings（分析设置）对话框中，输入以下信息，然后单击 **Next（下一步）**。
  - Group Name（组名称）** — 为分析组输入名称（最多 50 个字符）。
  - （可选）Description（描述）** — 为分析组输入描述（最多 256 个字符）。
  - Samples（样品）** 或 **Experiments（实验）** — 选择以下选项，确定 Applied Biosystems™ 软件的分析组应用对象。

例如，如果选择 "Sample"（样品），则软件允许用户将分析组应用于项目中样品的子集。相反，如果选择的是 "Experiments"（实验），则软件仅允许用户将分析组应用于项目中所添加的部分实验或反应板。
- 在分析组中：在 Content（内容）对话框中，选择将分析组的样品或实验，然后单击 **Next（下一步）**。
- 在分析组中：在 Analysis Setting（分析设置）对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
内源对照	<p>选择 Applied Biosystems™ 软件将用于归一化数据和识别内源性对照（如果使用）的方法：</p> <ol style="list-style-type: none"><li>选择以下选项，指定内源性对照：<ul style="list-style-type: none"><li><b>Use specific endogenous control（使用特定内源性对照）</b> — 选择该选项，在目标基因列表中指定一个或多个内源性对照。</li><li><b>Use global normalization（使用整体归一化）</b> — 选择该选项，Applied Biosystems™ 软件将对 <math>C_T</math> 得分采用归一化算法以计算相对表达量。</li></ul></li><li>如果选择使用特定内源性对照，请在列表中选择一个或多个目标基因作为选定分析组的内源性对照。</li></ol>

组	设置
RQ 设置	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Analysis Type (分析类型)</b> — Multiplex 或 Singleplex。在 Multiplex 分析中，目标基因与内源性对照基因在同一孔中；而在 Singleplex 分析中，目标基因与内源性对照基因在不同的孔中。进行 Multiplex 分析时，在孔水平下计算 <math>\Delta C_T</math> (或 <math>\Delta C_{RT}</math>)。</li> <li>• <b>Reference Sample (参比样品) 和 Reference Biological Group (参比生物学组)</b> — 选择要作为参比的样品和/或生物学组。将样品或其他生物学组与该参比进行比较，以确定目标基因的相对表达量。</li> <li>• <b>Confidence level (exclude results below this level) (置信水平 (排除低于该水平的结果))</b> — 选择该选项，计算选定置信水平下的 RQ 最小值和最大值。选择要使用的置信水平。(RQ 最小值/最大值根据标准误差确定)。</li> <li>• <b>Limit by standard deviations (受限于标准偏差)</b> — 选择该选项，根据选定的标准偏差数计算 RQ 最小值和最大值。选择要使用的标准偏差数。(RQ 最小值/最大值根据标准偏差确定)。</li> <li>• <b>Benjamin-Hochberg false discovery rate for p-values (p 值 Benjamin-Hochberg 错误发现率)</b> — 选择该选项，使用 Benjamin-Hochberg 统计学方法调整目标分析的 p 值。</li> <li>• <b>Maximum allowed CT (最大允许 CT)</b> — 输入最大允许 <math>C_T</math> (或 <math>C_{RT}</math>) 值。任何大于该值的值都将向下取整至该值。</li> <li>• <b>Include maximum CT values in calculation (将 CT 最大值纳入计算公式)</b> — 选择是否将取整后的值纳入任何计算公式。</li> </ul>
效率	<p>如果目标基因的扩增效率不是 100%，请单击效率 (%) 列，然后输入介于 1% 与 150% 之间的百分比以修正扩增效率。</p>
Cq 设置	<p>为 Applied Biosystems™ 软件选择方法 (<math>C_T</math> 或 <math>C_{RT}</math>)，用于计算目标分析组的 Cq (<math>C_T</math>) 值：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>CT method (CT 法)</b> — 定义各目标基因是否采用自动阈值和/或基线设定。如果使用手动设置，请为相应目标基因输入人工阈值和基线值。</li> <li>• <b>CRT method (CRT 法)</b> — 指定循环数，软件将在定义 <math>C_{RT}</math> 计算公式的相对阈值时使用该值作为最小参数。</li> </ul> <p><b>备注：</b>如果使用基线和阈值的全局标准化 <math>C_T</math> 设置集，则可以通过 CT 设置文件应用全局设置。要生成文件，请在根据需求完成 Cq 设置后单击 <b>Export CT Settings (导出 CT 设置)</b>。导出的文件随后可用于设置后续项目，方法是将该文件导入。</p>
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 Use (使用) 列中，选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li> <li>2. 如果列出了标记的属性、条件和值，则可指定标记应用设置。</li> </ol> <p>例如，采用无扩增标记 (NOAMP) 的默认设置时，扩增算法计算结果低于 0.1 的孔将被标记。</p> <p><b>备注：</b>如果选择调整标记应用设置，请在评估相应设置时进行微调。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. 在 Reject (拒绝) 列中，如果需要软件拒绝带标记的孔，请选中相应复选框。在数据分析时，已拒绝的孔将不纳入考虑。</li> </ol>

组	设置
板内校准品设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件是否使用板内校准品执行分析。</p> <p>IPC 是一种 qPCR 阳性对照、模板以及可添加至项目中 qPCR 实验以作为归一化方法的检测方法。为聚类分析添加实验后，可通过比较板内校准品性能来解释仪器性能上的微小差异。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 确定目标基因和样品组合以将其用作板内校准品。</li> </ol> <p><b>重要信息！</b> 项目内添加的所有实验的反应板中必须含有板内校准品。每个反应板必须包括至少三个技术重复以确保校准品的最佳性能。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 单击 <b>Add Inter-plate Calibrator Settings (添加板内校准品设置)</b>，然后双击 Target (目标基因) 列和 Sample (样品) 列中的表单元格，选择用作板内校准品的目标基因和样品。</li> <li>3. 重复之前的步骤，向分析设置中添加其他板内校准品。</li> <li>4. 如有需要，请选择 <b>Allow calculation of delta Cq across all plates in the analysis group (允许在分析组中的所有板范围内计算 <math>\Delta Cq</math>)</b>，激活 <math>\Delta Cq</math> 值的跨板计算公式。</li> </ol> <p><b>备注：</b> 要删除板内校准品设置，请在表格中选择相应行并单击 <b>Delete Inter-plate Calibrator Settings (删除板内校准品设置)</b>，但后单击 <b>OK (确定)</b>。</p>
SC 设置	<p>如果使用相对标准曲线进行相对定量分析，请指定 Applied Biosystems™ 软件执行分析时所采用的标准曲线设置。</p> <p>相对标准曲线根据标准品稀释系列生成，此稀释系列可与未知样品出现在同一反应板中，也可在其他反应板中单独运行。在两种情况下，标准品的数据都将被归一化为内源性对照的扩增数据，然后用于生成定量标准曲线。要建立标准曲线，必须使用 SC 设置来指定标准品的位置，并在软件所检出的曲线中进行选择。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 选择标准曲线的位置： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>On Plate Standard Curve (板内标准曲线)</b> — 如果标准曲线反应与未知样品在同一反应板中进行，则选择该选项。</li> </ul> <p>如需使用板内标准曲线对其他实验进行分析，请单击 <b>Export (导出)</b> 并保存文件。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>External Standard Curves (外部标准曲线)</b> — 如果标准曲线反应其他反应板上单独进行，则选择该选项。</li> </ul> <p><b>重要信息！</b> 必须先将外部标准曲线从相关实验中导出，然后才能执行导入操作。</p> </li> <li>2. (仅限外部曲线) 单击 <b>Import (导入)</b>，然后选择要从中导入标准曲线数据的实验。</li> <li>3. 在 Standard Curves (标准曲线) 表中选择要使用的标准曲线。</li> </ol> <p><b>备注：</b> 要从分析方法中删除外部标准曲线，请在 Standard Curves (标准曲线) 表中选中该曲线，单击 <b>Delete (删除)</b>，然后单击 <b>OK (确定)</b>。</p>

5. 分析方法设置完成后，单击 **Finish (完成)**。

6. 单击 **Analyze (分析)**，重新分析项目。

相关主题：

[设置项目](#)



# 检测信息文件

检测信息文件由 TaqMan<sup>®</sup> 检测订单随附的信息光盘提供。每个检测信息文件均包含有关检测订单的参考信息，以及所交付的全部检测的详细技术信息。

用户可将检测信息文件导入 Applied Biosystems™ 分析软件，为项目增加补充性检测信息。现可提供三种格式的检测信息文件（.html、.txt 和 .xml），但 Applied Biosystems™ 分析软件仅支持 .txt 和 .xml 文件。

**重要信息！** 检测信息文件中必须包括所列出的各个检测的检测 ID（位于 Assay ID（检测 ID）列中）。软件将使用检测信息文件中的检测 ID 与项目中的现有检测 ID 进行匹配。

**重要信息！** 导入检测信息文件时，文件中的信息将填充至 Overview（总览）窗口的 Assays（检测）列表中的对应列。Overview（总览）窗口中的所有数据将被替换为在检测信息文件中识别的所有检测。如果检测信息文件中不包含某一检测的信息，则 Overview（总览）窗口中的现有数据不受影响。

---

相关主题：

[术语表](#)

## 忽略孔和样品

如果不需要使用由孔生成的数据，您可以在分析中忽略孔。

1. 在分析中选择要忽略的一个或多个孔。
2. 忽略选定孔：
  - **Well Table（孔表）选项卡** — 选择孔，然后选择 **Actions（操作） > Omit（忽略）**。
  - **Plate Layout（板布局）选项卡** — 选择孔，然后单击 **Omit（忽略）**。
3. 单击 **Analyze（分析）**，在不考虑已忽略孔的情况下重新分析数据。

**重要信息！** 不能将属于生物学组或用作项目内源性对照的参比样品中的所有孔都忽略。

---

相关主题：

[审查分析后的数据](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件，位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Import AIF File（导入 AIF 文件）**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因，则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注：**检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件，位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Import AIF File（导入 AIF 文件）**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因，则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注：**检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

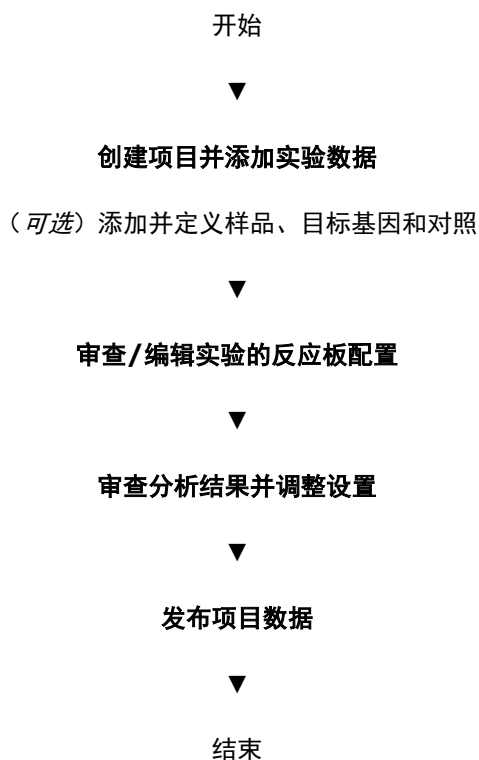
---

相关主题：

[设置项目](#)

## 设置项目

将一个或多个实验(.eds 或 .sds 文件)导入 HRM 项目后,使用 Overview (总览)窗口设置项目。



---

相关主题:

[管理样品和目标基因](#)

[通过 AIF 文件导入目标基因信息](#)

[通过设计文件导入样品信息](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见, Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件, 位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview (总览) 窗口的 Targets (目标基因) 表中, 单击 **Actions (操作) > Import AIF File (导入 AIF 文件)**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件, 然后单击 **Open (打开)**。

如果导入成功, 则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因, 则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注:** 检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

---

相关主题:

[设置项目](#)

# 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件，位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Import AIF File（导入 AIF 文件）**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因，则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

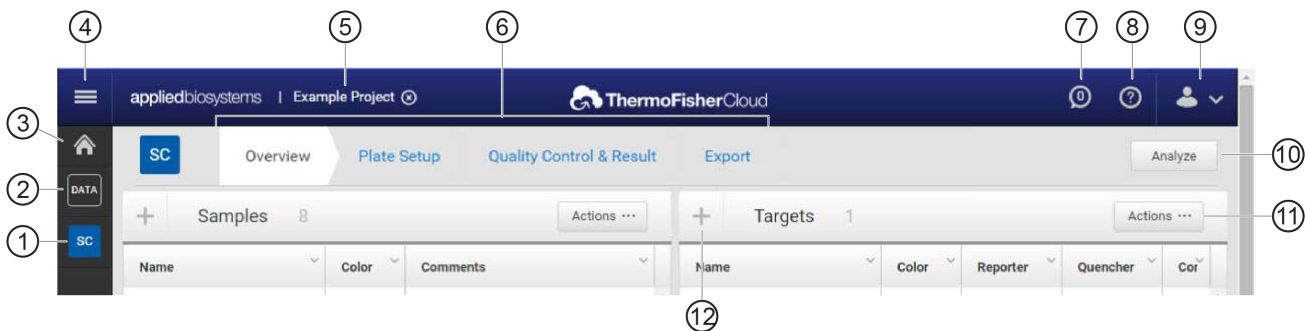
**备注：**检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

相关主题：

[设置项目](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



1. **Analysis Modules（分析模块）** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2. **DATA（Data Manager（数据管理器））** — 单击以查看 Data Manager（数据管理器），该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3. **🏠（Project Manager（项目管理器））** — 单击以查看 Project Manager（项目管理器），该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4. **☰（Account Management Menu（帐户管理菜单））** — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name（项目名称）** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击 ⊗ 关闭项目。
6. **Project tabs（项目选项卡）** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7. **🔔（Notifications（通知））** — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8. **🔗（Help（帮助））** — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9. **👤（Profile Menu（个人资料菜单））** — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze（分析）** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11. **+（Zoom（缩放））** — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击 <（Close（关闭）），将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions（操作）** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)

## 火山图

火山图可显示生物学组中各目标基因的 p 值与倍数变化之间的关系（相对于参比组）。绿点和红点代表了倍数变化超出（高于或低于）倍数变化边界值的目标基因。在火山图中根据统计学显著性水平（y 轴）比较倍数变化大小（x 轴）。

**备注：**必须先分配生物学组（以计算 p 值），然后才能够在火山图中查看数据。

**重要信息！** 如果将一个或多个分析效率设定为 <100%，则 Applied Biosystems™ 软件将使用等效  $C_q$  值执行基因表达计算，此时软件将按比例调整各目标基因的  $C_q$ ，以实现等效效率。针对受影响目标基因计算所得的等效  $C_q$  反映了以 100% 效率执行分析时的预期值。

图下方是 Results Details（结果详情）表，显示了以下信息：

列	该列的作用
生物学组	查看样品所属生物学组（唯一的名称或编号）。
目标基因	查看分析的目标核酸序列 ID（唯一的名称或编号）。
$C_T/C_{RT}$ 平均值	查看技术重复 $C_q$ 值的算术平均值。
调整后的 $C_T/C_{RT}$ 平均值	查看技术重复 $C_q$ 值（已根据 RQ Settings（RQ 设置）中定义的“最大允许 CT”限值进行了调整）的平均值。 <b>备注：</b> 对于 $C_q$ 值大于“最大允许 CT”值的孔，软件会将其调整至指定的 $C_q$ 限值。
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值	查看样品重复组的技术重复 $C_q$ 值的算术平均值。 <b>备注：</b> $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值在反应板水平下计算，并且代表了目标基因 $C_q$ 值与板中该样品的所有技术重复的内源性对照 $C_q$ 值之间的平均值之差。
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE	查看样品重复组水平 $C_q$ 值的样品标准偏差。 <b>备注：</b> Multiplex 和 Singleplex 实验的 $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE 值计算方法不同。如果是 Multiplex 实验，则计算是在孔水平上进行的。如果是 Singleplex 实验，则计算时还将结合目标基因与内源性对照之间的板水平 $C_q$ 值差异。
$\Delta\Delta C_T/\Delta\Delta C_{RT}$	查看与参比样品相关的重复组的 $\Delta\Delta C_T$ 计算结果。
RQ	查看与测试样品相关的重复组的基因表达相对水平计算结果。
最小 RQ	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最小值。 <b>备注：</b> 该最小值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。
最大 RQ	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最大值。 <b>备注：</b> 该最大值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。
P 值	查看重复组（与测试样品相关）中基因表达的实测 RQ（倍数变化）由于处理或条件而未发生差异表达的可能性（P 值）。
结果	查看与测试样品相关的重复组的赋值情况，其中可能的状态有：下调、上调、不显著或稳定。

相关主题：

[查看和修改火山图](#)

[审查分析后的数据](#)






## 分析窗口

用户可使用 Analysis（分析方法）窗口审查已分析项目的结果。该窗口提供各种曲线，帮助用户对分析所得的数据进行表征，并且使已评估的目标基因表达水平计算结果之间的关系更加直观。

要查看 Analysis（分析方法）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Analysis（分析方法）**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">审查分析后的数据和曲线</a></li><li>• <a href="#">忽略孔和样品</a></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <a href="#">盒形图</a></li><li>• <a href="#">关联图</a></li><li>• <a href="#">RQ 图</a></li><li>• <a href="#">热图</a></li><li>• <a href="#">火山图</a></li><li>• <a href="#">质量标记</a></li><li>• <a href="#">孔表</a></li></ul>

### 分析窗口使用提示

- 用户可使用 Analysis Groups（分析组）下拉菜单在分析组之间快速切换，以便能够轻松地比较分析设置与板设置之间的配置变化。
- 请使用以下曲线按钮在各分析曲线之间切换：
  -  基因表达图
  -  盒形图
  -  关联图
  -  热图
  -  火山图

针对各曲线：

- 单击 **Analysis Groups（查看选项）** 更改显示设置。设置将根据各曲线而变化。
- 单击 **Actions（操作） > Save as Image（另存为图像）**，将曲线保存为图像文件。
- 选择样品、目标基因或孔后单击 **View QC（查看 QC）**（或选择 **Actions（操作） > View QC（查看 QC）**），查看所选对象的质量信息。

在各图下方的数据表中：

- 单击表中的列标题对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。
- 单击表中列标题处的 ▾，输入参数以便对内容进行筛选。单击 **Clear（清除）**，从表中移除筛选条件。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

# 质量标记

Applied Biosystems™ 分析软件包括一组设置，该设置在激活后可使软件对已处理的实验数据的质量进行筛查，从而指示出可能存在的分析问题。根据各质量“标记”的配置，软件可以通知用户潜在的问题，也可以自动移除分析中的相关数据。用户可选择是否使用质量标记，并且可通过自定义质量标记来调整相关测试的灵敏度。

---

## 相关主题：

AMPNC（阴性对照出现扩增）质量标记

AMPSCORE（线性期信号较弱）质量标记

BADROX（参比荧光信号较差）质量标记

BLFAIL（基线算法失败）质量标记

CQCONF（C<sub>q</sub> 值的置信度计算结果较低）质量标记

CRTAMPLITUDE（C<sub>q</sub> 幅值较宽）质量标记

CRTNOISE（C<sub>q</sub> 噪声）质量标记

CTFAIL（C<sub>q</sub> 算法失败）质量标记

DRNMIN（基线异常导致检出 DR<sub>n</sub> 最小值）质量标记

EXPFAIL（指数算法失败）质量标记

HIGHSD（重复组标准偏差较高）质量标记

LOWROX（低浓度 ROX™ 信号强度）质量标记

MAXCT（C<sub>q</sub> 超出最大值）质量标记

MPOUTLIER（Multiplex 实验中存在  $\Delta C_q$  异常值）质量标记

MTP（熔解曲线分析结果中出现多个峰）质量标记

NOAMP（无扩增）质量标记

NOISE（噪声水平高于其他板）质量标记

NOSAMPLE（未向孔分配样品）质量标记

NOSIGNAL（孔内无信号）质量标记

OFFSCALE（荧光强度超出范围）质量标记

OUTLIERRG（重复组中存在异常值）质量标记

PRFDROP（C<sub>q</sub>/C<sub>t</sub> 附近参比荧光信号变化显著）质量标记

PRFLOW（参比荧光信号平均值低于阈值）质量标记

SPIKE（噪声尖峰）质量标记

THOLDFAIL（阈值算法失败）质量标记



## 创建或编辑分析组

项目创建后，Applied Biosystems™ 分析软件将根据实验（已添加至项目）的分析设置生成默认分析组。如有需要，可创建附加分析组以探究其他分析设置配置（例如，手动与自动阈值设定、严格与宽松质量阈值等）。

- 请在 Overview（总览）窗口的 Analysis Groups（分析组）表中执行以下操作之一：
  - 选择 **Actions（操作） > Add（添加）** 新建分析组。
  - 选择现有组，然后选择 **Actions（操作） > Edit Analysis Settings（编辑分析设置）**。转至步骤 4。
- 在 Analysis Settings（分析设置）对话框中，输入以下信息，然后单击 **Next（下一步）**。
  - Group Name（组名称）** — 为分析组输入名称（最多 50 个字符）。
  - （可选）Description（描述）** — 为分析组输入描述（最多 256 个字符）。
  - Samples（样品）** 或 **Experiments（实验）** — 选择以下选项，确定 Applied Biosystems™ 软件的分析组应用对象。

例如，如果选择 "Sample"（样品），则软件允许用户将分析组应用于项目中样品的子集。相反，如果选择的是 "Experiments"（实验），则软件仅允许用户将分析组应用于项目中所添加的部分实验或反应板。
- 在分析组中：在 Content（内容）对话框中，选择将分析组的样品或实验，然后单击 **Next（下一步）**。
- 在分析组中：在 Analysis Setting（分析设置）对话框中，根据需要修改分析设置。

组	设置
内源对照	<p>选择 Applied Biosystems™ 软件将用于归一化数据和识别内源性对照（如果使用）的方法：</p> <ol style="list-style-type: none"><li>选择以下选项，指定内源性对照：<ul style="list-style-type: none"><li><b>Use specific endogenous control（使用特定内源性对照）</b> — 选择该选项，在目标基因列表中指定一个或多个内源性对照。</li><li><b>Use global normalization（使用整体归一化）</b> — 选择该选项，Applied Biosystems™ 软件将对 <math>C_T</math> 得分采用归一化算法以计算相对表达量。<p>在分析不同的实验（其中不同样品之间的 RNA 输入量差异显著）时，全局归一化选项非常有用。当软件被配置用于全局归一化时，它首先会查找分析中每个样品常用的检测，然后根据每个样品，使用这些检测的中值 <math>C_T</math> 或 <math>C_{RT}</math> 作为归一化因子。</p><p><b>备注：</b>这种归一化可能仅在描述大量（384 个或更多）基因时有效（请参阅 Mestdagh P., Van Vlierberghe P., De Weer A., et al. 2009. A novel and universal method for microRNA RT-qPCR data normalization. <i>Genome Biology</i> 10, R64）。</p><p><b>备注：</b>对于 Multiplex 分析，不支持全局归一化。如果 <b>Analysis Type（分析类型）</b> 设置为 <b>Multiplex</b>（参见 Analysis Setting（分析设置）对话框的 <b>RQ Settings（RQ 设置）</b> 选项卡），软件将禁用该选项。</p><p><b>备注：</b>如果 singleplex 和 multiplex 文件均添加至项目，则默认归一化方法不会改变。</p></li></ul></li></ol>

组	设置
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Skip target normalization (跳过目标基因归一化)</b> — 选择该选项，通过忽略相对定量计算的中间目标基因归一化步骤，计算测试样品和校准品的直接 <math>\Delta C_T</math>。跳过归一化后，所分析数据中的归一化量将直接反映出两个样品之间的倍数变化。</li> </ul> <p><b>备注：</b> Thermo Fisher Scientific 建议对大部分分析进行目标基因归一化处理。</p> <p>2. 如果选择使用特定内源性对照，请在列表选择一个或多个目标基因作为选定分析组的内源性对照。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Endogenous Control (内源性对照)</b> — 所选目标基因用作相对定量计算中的内源性对照。</li> <li>▪ <b>Candidate Control (候选对照)</b> — 所选目标基因用作相对定量计算中的目标基因，并且不用于归一化，但软件会将目标基因当做对照一样来计算其<b>基因稳定性得分</b>。您可以指定一个或多个 <b>Candidate Control (候选对照)</b>，以审查作为分析中潜在对照的目的基因。</li> <li>▪ <b>Target (目标基因)</b> — 所选目标基因用作相对定量计算中的目标基因。</li> </ul>
RQ 设置	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Analysis Type (分析类型)</b> — Multiplex 或 Singleplex。在 Multiplex 分析中，目标基因与内源性对照基因在同一孔中；而在 Singleplex 分析中，目标基因与内源性对照基因在不同的孔中。进行 Multiplex 分析时，在孔水平下计算 <math>\Delta C_T</math> (或 <math>\Delta C_{RT}</math>)。</li> <li>• <b>Reference Sample (参比样品) 和 Reference Biological Group (参比生物学组)</b> — 选择要作为参比的样品和/或生物学组。将样品或其他生物学组与该参比进行比较，以确定目标基因的相对表达量。</li> <li>• <b>Confidence level (exclude results below this level) (置信水平 (排除低于该水平的结果))</b> — 选择该选项，计算选定置信水平下的 RQ 最小值和最大值。选择要使用的置信水平。(RQ 最小值/最大值根据标准误差确定)。</li> <li>• <b>Limit by standard deviations (受限于标准偏差)</b> — 选择该选项，根据选定的标准偏差数计算 RQ 最小值和最大值。选择要使用的标准偏差数。(RQ 最小值/最大值根据标准偏差确定)。</li> <li>• <b>Benjamin-Hochberg false discovery rate for p-values (p 值 Benjamin-Hochberg 错误发现率)</b> — 选择该选项，使用 Benjamin-Hochberg 统计学方法调整目标分析的 p 值。</li> <li>• <b>Maximum allowed CT (最大允许 CT)</b> — 输入最大允许 <math>C_T</math> (或 <math>C_{RT}</math>) 值。任何大于该值的值都将向下取整至该值。</li> <li>• <b>Include maximum CT values in calculation (将 CT 最大值纳入计算公式)</b> — 选择是否将取整后的值纳入任何计算公式。</li> </ul>
效率	如果目标基因的扩增效率不是 100%，请单击效率 (%) 列，然后输入介于 1% 与 150% 之间的百分比以修正扩增效率。
Cq 设置	<p>为 Applied Biosystems™ 软件选择方法 (<math>C_T</math> 或 <math>C_{RT}</math>)，用于计算目标分析组的 <math>C_q</math> (<math>C_T</math>) 值：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>CT method (CT 法)</b> — 定义各目标基因是否采用自动阈值和/或基线设定。如果使用手动设置，请为相应目标基因输入人工阈值和基线值。</li> <li>• <b>CRT method (CRT 法)</b> — 指定循环数，软件将在定义 <math>C_{RT}</math> 计算公式的相对阈值时使用该值作为最小参数。</li> </ul> <p><b>备注：</b> 如果使用基线和阈值的全局标准化 <math>C_T</math> 设置集，则可以通过 CT 设置文件应用全局设置。要生成文件，请在根据需求完成 Cq 设置后单击 <b>Export CT Settings (导出 CT 设置)</b>。导出的文件随后可用于设置后续项目，方法是将该文件导入。</p>

组	设置
标记设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件将在分析过程中计算的质量度量。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>在 Use（使用）列中，选中要在分析过程中应用的标记所对应的复选框。</li> <li>如果列出了标记的属性、条件和值，则可指定标记应用设置。  例如，采用无扩增标记 (NOAMP) 的默认设置时，扩增算法计算结果低于 0.1 的孔将被标记。  <b>备注：</b>如果选择调整标记应用设置，请在评估相应设置时进行微调。</li> <li>在 Reject（拒绝）列中，如果需要软件拒绝带标记的孔，请选中相应复选框。在数据分析时，已拒绝的孔将不纳入考虑。</li> </ol>
板内校准品设置	<p>指定 Applied Biosystems™ 软件是否使用板内校准品执行分析。</p> <p>IPC 是一种 qPCR 阳性对照、模板以及可添加至项目中 qPCR 实验以作为归一化方法的检测方法。为聚类分析添加实验后，可通过比较板内校准品性能来解释仪器性能上的微小差异。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>确定目标基因和样品组合以将其用作板内校准品。  <b>重要信息！</b>项目内添加的所有实验的反应板中必须含有板内校准品。每个反应板必须包括至少三个技术重复以确保校准品的最佳性能。</li> <li>单击 <b>Add Inter-plate Calibrator Settings（添加板内校准品设置）</b>，然后双击 Target（目标基因）列和 Sample（样品）列中的表单元格，选择用作板内校准品的目标基因和样品。</li> <li>重复之前的步骤，向分析设置中添加其他板内校准品。</li> <li>如有需要，请选择 <b>Allow calculation of delta Cq across all plates in the analysis group（允许在分析组中的所有板范围内计算 <math>\Delta Cq</math>）</b>，激活 <math>\Delta Cq</math> 值的跨板计算公式。</li> </ol> <p><b>备注：</b>要删除板内校准品设置，请在表格中选择相应行并单击 <b>Delete Inter-plate Calibrator Settings（删除板内校准品设置）</b>，然后单击 <b>OK（确定）</b>。</p>
SC 设置	<p>如果使用相对标准曲线进行相对定量分析，请指定 Applied Biosystems™ 软件执行分析时所采用的标准曲线设置。</p> <p>相对标准曲线根据标准品稀释系列生成，此稀释系列可与未知样品出现在同一反应板中，也可在其他反应板中单独运行。在两种情况下，标准品的数据都将被归一化为内源性对照的扩增数据，然后用于生成定量标准曲线。要建立标准曲线，必须使用 SC 设置来指定标准品的位置，并在软件所检出的曲线中进行选择。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>选择标准曲线的位置： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>On Plate Standard Curve（板内标准曲线）</b> — 如果标准曲线反应与未知样品在同一反应板中进行，则选择该选项。  如需使用板内标准曲线对其他实验进行分析，请单击 <b>Export（导出）</b> 并保存文件。</li> <li><b>External Standard Curves（外部标准曲线）</b> — 如果标准曲线反应其他反应板上单独进行，则选择该选项。</li> </ul> <p><b>重要信息！</b>必须先外部标准曲线从相关实验中导出，然后才能执行导入操作。</p> </li> <li>（仅限外部曲线）单击 <b>Import（导入）</b>，然后选择要从中导入标准曲线数据的实验。</li> <li>在 Standard Curves（标准曲线）表中选择要使用的标准曲线。</li> </ol> <p><b>备注：</b>要从分析方法中删除外部标准曲线，请在 Standard Curves（标准曲线）表中选中该曲线，单击 <b>Delete（删除）</b>，然后单击 <b>OK（确定）</b>。</p>

5. 分析方法设置完成后，单击 **Finish**（完成）。


6. 单击 **Analyze**（分析），重新分析项目。

相关主题：


[设置项目](#)

## 审查分析后的数据和曲线

项目质量数据审查完成后，请在 Analysis（分析方法）窗口查看分析结果。与质量检查一样，以下步骤介绍了数据审查的通用方法并概述了软件功能。

1. 如果尚未执行该操作，请单击 **Analyze**（分析），分析个人项目。
2. 在 Applied Biosystems™ 软件中，单击 **Analysis**（分析方法）查看 Analysis（分析方法）窗口。
3. 根据需要审查  Box Plot（盒形图）（请参见[盒形图](#)）。
  - a. 单击 **View Options**（查看选项），然后在 Plot Type（曲线类型）下拉列表中选择 **CT vs Sample**（CT 与样品）。
  - b. 单击放大倍数，确定曲线当前在窗口中的显示比例。
  - c. 向下滚动以审查 Well（孔）表数据。

列	该列的作用
样品	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。
生物学组	查看样品所属生物学组（唯一的名称或编号）。
平均值	查看技术重复 C <sub>T</sub> 值的算术平均数。
最小值	查看测试样品的最小技术重复 C <sub>T</sub> 值（按分析设置中设定的置信水平计算）。
最大值	查看测试样品的最大技术重复 C <sub>T</sub> 值（按分析设置中设定的置信水平计算）。
中位数	查看样品技术重复 C <sub>T</sub> 值的中位数。
Q1	查看样品重复组的第一个四分位数 (Q <sub>1</sub> )，按技术重复 C <sub>T</sub> 值的最小值与中位数之间的中间数值计算。 <b>备注：</b> 第一个四分位数定义四分位距 (IQR) 的下限，即第三个四分位数与第一个四分位数之差。
Q3	查看样品重复组的第三个四分位数 (Q <sub>3</sub> )，按技术重复 C <sub>T</sub> 值的中位数与最大值之间的中间数值计算。

**备注：**要筛选表格数据，请单击任意列标题中的 （筛选器），根据需求配置规则，然后单击 **Filter**（筛选）。


**备注：**如有需要，可通过选择曲线或表格中的元素并单击 **View QC**（查看 QC）来查看任何选定样品或孔的质量数据。

4. 就绪后，单击 ，根据需要审查 Correlation Plot（关联图）（请参见[关联图](#)）。
  - a. 如果使用生物学组并且当前所使用的分析组中存在 100 多个样品，请从下拉列表中选择组以查看对应数据。
  - b. 单击 **View Options（查看选项）**，然后选择要查看的数据排列方式（**Matrix View（矩阵视图）** 或 **Tabular View（表格视图）**）。
  - c. 选择要显示的曲线类型（**CT** 或 **ΔCT**）
5. 就绪后，单击 ，根据需要审查 Heatmap Plot（热图）（请参见[热图](#)）。
  - a. 单击 **View Options（查看选项）**，然后在 Distance Measure（距离测量）下拉菜单中选择距离测量（欧氏距离或皮尔逊相关系数）。
  - b. 在 Clustering Method（聚类方法）下拉菜单中选择聚类方法（平均距离法、最大距离法或最小距离法）。
  - c. 在 Map Type（图类型）菜单中更改曲线类型。在 Map Type（图类型）下拉菜单中选择数据显示项（全局 ( $\Delta C_T$ )、全局 ( $\Delta C_T$  Plus)、以样品为中心或以目标基因为中心）。
  - d. 在 Color Scheme（颜色方案）下拉列表中选择一种颜色方案（红蓝、红绿或绿橙）。
6. 就绪后，单击 ，根据需要审查 Relative Quantitation Plot（相对定量图）（请参见[RQ 图](#)）。
  - a. 在 Plot Type（曲线类型）下拉菜单中单击 **Plot Type（查看选项）**，然后选择数据显示项（RQ 与样品、RQ 与生物学组或 RQ 与目标基因）。
  - b. 用户可通过在 Graph Type（趋势图类型）下拉菜单中选择曲线刻度（线性、Log 10、Log 2 或 Ln）来更改趋势图类型。
  - c. 更改曲线选项：
    - 要查看显示最大 RQ 和最小 RQ 的误差线，请选择 **Show Error Bars（显示误差线）**。
    - 要查看趋势图标签，请选择相应的标签选项。
  - d. 单击放大倍数，确定曲线当前在窗口中的显示比例。
  - e. 向下滚动以审查 Well（孔）表数据。

列	该列的作用
目标基因	查看分析试剂盒目标核酸序列的 ID（唯一的名称或编号）。
样品	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。
生物学组	查看样品所属生物学组（唯一的名称或编号）。
最大 $C_T/C_{RT}$	查看由 RQ Settings（RQ 设置）分析方法中的“最大允许 CT”限值定义的最大 $C_q$ 。
$C_T/C_{RT}$ 平均值	$C_T/C_{RT}$ 平均值
调整后的 $C_T/C_{RT}$ 平均值	查看技术重复 $C_q$ 值（已根据 RQ Settings（RQ 设置）分析方法中定义的“最大允许 CT”限值进行了调整）的平均值。 <b>备注：</b> 对于 $C_q$ 值大于“最大允许 CT”值的孔，软件会将其调整至指定的 $C_q$ 限值。
$C_T/C_{RT}$ SE	查看样品重复组水平 $C_q$ 值的样品标准偏差。



列	该列的作用
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值	查看样品重复组的技术重复 $C_q$ 值的算术平均值。 <b>备注：</b> $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值在反应板水平下计算，并且代表了目标基因 $C_q$ 值与板中该样品的所有技术重复的内源性对照 $C_q$ 值之间的平均值之差。
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE	查看样品重复组水平 $C_q$ 值的样品标准偏差。 <b>备注：</b> Multiplex 和 Singleplex 实验的 $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE 值计算方法不同。如果是 Multiplex 实验，则计算是在孔水平上进行的。如果是 Singleplex 实验，则计算时还将结合板水平的目标基因与内源性对照之间 $C_q$ 值差异。
F-因子	查看与参比样品相关联的重复组的 F-因子计算结果。 F-因子用于计算 $\Delta\Delta C_T$ 计算结果的 RQ 置信区间（在 RQ 图中以误差线的形式显示）。该值的计算方式各有不同，具体取决于项目分析设置中的 RQ Settings（RQ 设置）。 <ul style="list-style-type: none"> <li>如果已指定 <b>Confidence level（置信水平）</b> 设置，则 F-因子即为 <i>t-t</i> 检验分布的 <i>值</i>，计算方法如下： <ul style="list-style-type: none"> <li><b>自由度</b>，用于表征重复群体的分布。如果项目中没有生物学组，则根据 Technical Test Sample（技术测试样品）计算自由度，公式如下： 技术重复孔数目标基因 + 技术重复孔数内源性对照 - 2。 或者，根据 Biological Test Sample（生物学测试样品）计算该值，公式如下： 技术重复组测试样品数 - 1。</li> <li>与双侧 <i>t</i> 检验分布相关的 <i>概率</i>（由项目分析设置中的 RQ Settings（RQ 设置）确定）。</li> </ul> </li> <li>如果指定的了 <b>Limit by standard deviations（受限于标准偏差）</b> 设置，则 F-因子等于设定值（1、2 或 3）。</li> </ul>
$\Delta\Delta C_T/\Delta\Delta C_{RT}$	查看与参比样品相关的重复组的 $\Delta\Delta C_T$ 计算结果。
$\Delta\Delta C_T/\Delta\Delta C_{RT} \pm$ F-标准偏差	查看 $\Delta\Delta C_T$ 计算值加减 F-标准偏差值（根据与参比样品相关的重复组计算）。
RQ	查看与测试样品相关的重复组的基因表达相对水平计算结果。
最小 RQ	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最小值。 <b>备注：</b> 该最小值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。
最大 RQ	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最大值。 <b>备注：</b> 该最大值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。

**备注：** 要筛选表格数据，请单击任意列标题中的 （筛选器），根据需求配置规则，然后单击 **Filter（筛选）**。

7. 就绪后，单击 ，根据需要审查 Volcano Plot（火山图）（请参见火山图）。

相关主题：

[审查分析后的数据](#)

## 盒形图

盒形图显示了各样品或各目标基因的  $C_q$  值分布，使用户可以轻松查看生物学组内值中的差异。

盒形图下方是 Results Details（结果详情）表，显示了以下信息：

列	该列的作用
样品	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。
生物学组	查看样品所属生物学组（唯一的名称或编号）。
平均值	查看技术重复 $C_q$ 值的算术平均值。
最小值	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的测试样品技术重复 $C_q$ 最小值。
最大值	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的测试样品技术重复 $C_q$ 最大值。
中位数	查看样品技术重复 $C_q$ 值的中位数。
Q1	查看样品重复组的第一个四分位数 ( $Q_1$ )，按技术重复 $C_q$ 值的最小值与中位数之间的中间数值计算。 <b>备注：</b> 第一个四分位数定义四分位距 (IQR) 的下限，即第三个四分位数与第一个四分位数之差。
Q3	查看样品重复组的第三个四分位数 ( $Q_3$ )，按技术重复 $C_q$ 值的中位数与最大值之间的中间数值计算。

相关主题：

[更改盒形图显示](#)

[审查分析后的数据](#)

## 关联图

关联图显示了一个或多个样品或生物学组中的目标基因之间的相关性。关联图分为两种：散点图和信号关联图。

- 散点图显示了一对样品或生物学组中的所有目标基因的  $C_q$  相关性。
- 信号关联图显示了项目中所有样品对或生物学组对的相关系数 ( $r$ )。软件将根据  $|r|$  ( $r$  的绝对值，用于指示相关性大小)，对关联图进行颜色编码：绿色表示高度相关（正相关或负相关），红色表示低相关性（正相关或负相关）。每个单元格代表一个不同的散点图。

相关主题：

[审查分析后的数据](#)



## RQ 图

RQ（相对定量）图显示了基因表达图谱中的相对定量计算结果。提供以下三种曲线：

- **RQ 与目标基因** — 按目标基因对相对定量 (RQ) 值进行分组。针对每个目标基因对各样品作图。用户可按以下统计图类型查看曲线：线性、log10、Ln、log2。
- **RQ 与样品**（当曲线按样品显示结果时可用）— 按样品对相对定量 (RQ) 值进行分组。针对每个样品对各目标基因作图。用户可按以下统计图类型查看曲线：线性、log10、Ln、log2。
- **RQ 与生物学组**（当曲线按生物学组显示结果时可用）— 按生物学重复组对相对定量 (RQ) 值进行分组。针对每个样品对各目标基因作图。用户可按以下统计图类型查看曲线：线性、log10、Ln、log2。

**重要信息！** 如果将一个或多个分析效率设定为低于 100%，则 Applied Biosystems™ 软件将使用等效 C<sub>q</sub> 值执行基因表达计算，此时软件将按比例调整各目标基因的 C<sub>q</sub>，以实现等效效率。针对受影响目标基因计算所得的等效 C<sub>q</sub> 反映了以 100% 效率执行分析时的预期值。

基因表达图下方是 Results Details（结果详情）表，显示了以下信息：

列	该列的作用
目标基因	查看分析的目标核酸序列 ID（唯一的名称或编号）。
样品	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。
生物学组	查看样品所属生物学组（唯一的名称或编号）。
最大 C <sub>T</sub> /C <sub>RT</sub>	查看由 RQ Settings（RQ 设置）分析方法中的“最大允许 CT”限值定义的最大 C <sub>q</sub> 。
C <sub>T</sub> /C <sub>RT</sub> 平均值	查看技术重复 C <sub>q</sub> 值的算术平均值。
调整后的 C <sub>T</sub> /C <sub>RT</sub> 平均值	查看技术重复 C <sub>q</sub> 值（已根据 RQ Settings（RQ 设置）中定义的“最大允许 CT”限值进行了调整）的平均值。 <b>备注：</b> 对于 C <sub>q</sub> 值大于“最大允许 CT”值的孔，软件会将其调整至指定的 C <sub>q</sub> 限值。
C <sub>T</sub> /C <sub>RT</sub> SE	查看样品重复组水平 C <sub>q</sub> 值的样品标准偏差。
ΔC <sub>T</sub> /ΔC <sub>RT</sub> 平均值	查看样品重复组的技术重复 C <sub>q</sub> 值的算术平均值。 <b>备注：</b> ΔC <sub>T</sub> /ΔC <sub>RT</sub> 平均值在反应板水平下计算，并且代表了目标基因 C <sub>q</sub> 值与板中该样品的所有技术重复的内源性对照 C <sub>q</sub> 值之间的平均值之差。
ΔC <sub>T</sub> /ΔC <sub>RT</sub> SE	查看样品重复组水平 C <sub>q</sub> 值的样品标准偏差。 <b>备注：</b> Multiplex 和 Singleplex 实验的 ΔC <sub>T</sub> /ΔC <sub>RT</sub> SE 值计算方法不同。如果是 Multiplex 实验，则计算是在孔水平上进行的。如果是 Singleplex 实验，则计算时将结合板水平的目标基因与内源性对照之间 C <sub>q</sub> 值差异。
F-因子	查看与参比样品相关联的重复组的 F-因子计算结果。
ΔΔC <sub>T</sub> /ΔΔC <sub>RT</sub>	查看与参比样品相关的重复组的 ΔΔC <sub>T</sub> 计算结果。
ΔΔC <sub>T</sub> /ΔΔC <sub>RT</sub> ± F-标准偏差	查看 ΔΔC <sub>T</sub> 计算值加减 F-标准偏差值（根据与参比样品相关的重复组计算）。
RQ	查看与测试样品相关的重复组的基因表达相对水平计算结果。
最小 RQ	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最小值。 <b>备注：</b> 该最小值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。
最大 RQ	查看按分析设置中设定的置信水平计算所得的基因相对表达水平最大值。 <b>备注：</b> 该最大值包括仅针对测试样品的内源性对照与目标基因相关的偏差。

相关主题：

审查分析后的数据


## 热图

热图（也称为聚类图）是研究中所有样品或生物学组的目标（基因）表达的非监督式层次聚类的图形表示。在图中，目标基因和样品根据其基因表达的相似性进行排列。软件使用皮尔逊相关系数或欧氏距离，根据样品和检测的  $\Delta C_T$  值计算层次聚类的样品与检测之间的距离。

在层次聚类计算中，每个样品/检测数据点表示为图中的节点，这种节点按照分支连续接合到与之最接近的节点，直到所有点组合成单个聚类。聚类之间的距离（聚类间距离）由距离法定义，软件可以三种不同方式进行计算（最短距离法、最长距离法或平均距离法）。有关层次聚类 and 距离法的详细信息，请参阅 *D'haeseleer P (2005) How does gene expression clustering work? Nat Biotechnol 23(12):1499-1501*。

**备注：**如果使用生物学组配置研究，软件将显示 **Biogroup/Sample**（生物学组/样品）切换，以便组织热图中的结果。显示后，选择 **Biogroup**（生物学组），按生物学组对结果进行分组，或者选择 **Sample**（样品）以单独比较样品。

## 视图设置

软件提供了用于配置热图以供审查的多个选项。要更改视图设置，请单击 **View**（视图），然后为热图选择相应的视图选项：

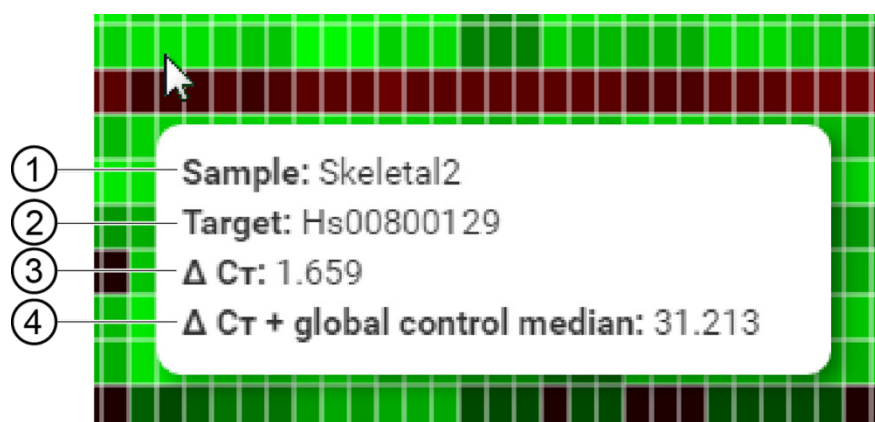
选项	设置
Distance measure (距离测量)	<p>选择用于层次聚类的样品-检测距离计算的方法：</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Pearson's Correlation</b>（皮尔逊相关系数）— 选择该选项，使用皮尔逊积矩相关系数 (Pearson's <math>r</math>) 执行距离计算。</li><li>• <b>Euclidean Distance</b>（欧氏距离）— 选择该选项，使用欧氏 (<math>L^2</math>) 距离执行距离计算。</li></ul> <p><b>备注：</b>欧氏距离计算方法容易受到缩放和平均表达水平差异的影响，而皮尔逊相关系数距离计算方法则不会受到影响。</p>
Clustering method (聚类方法)	<p>选择用于层次聚类计算的距离法：</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Single Linkage</b>（最短距离法）— 聚类之间的距离被计算为任意两个元素之间的最短距离。</li><li>• <b>Complete Linkage</b>（最长距离法）— 聚类之间的距离被计算为任意两个元素之间的最大距离。最大距离法对于大多数基因表达数据非常有用<sup>[1]</sup>。</li><li>• <b>Average Linkage</b>（平均距离法）（使用算术平均值的未加权对组方法；UPGMA）— 聚类之间的距离被计算为任意两个元素之间的平均距离。</li></ul>

<sup>1</sup> 请参阅 *D'haeseleer P (2005) How does gene expression clustering work? Nat Biotechnol 23(12):1499-1501*。

选项	设置
Map Type (图类型)	<p>选择希望软件显示层次聚类计算结果的热图类型。对于每种图类型，设置中性/中间表达水平（平均值或中值）的 <math>\Delta C_T</math> 值，使红色指示 <math>\Delta C_T</math> 值低于中间水平时的增加，而绿色指示 <math>\Delta C_T</math> 值高于中间水平时的降低。</p> <p><b>备注：</b>颜色指示符（默认情况下为红色/绿色）由 Color Scheme（颜色方案）设置确定。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Global (<math>C_T</math> or <math>C_T</math> Plus)</b>（全局 (<math>C_T</math> 或 <math>C_T</math> Plus)）— 默认情况下，中间表达水平被设置为研究中所有 <math>\Delta C_T</math> 值的中值。曲线中的任何数据点都可以与所有其他数据点进行比较。</li> <li>• <b>Assay-Centric (检测中心)</b> — 对于每个检测，中间表达水平被设置为该检测中所有样品的全部 <math>\Delta C_T</math> 值的中值。给定检测的数据点只能与该检测中的其他数据点进行比较。</li> <li>• <b>Sample-Centric (样品中心)</b> — 对于每个样品，中间表达水平被设置为该样品的所有检测的全部 <math>\Delta C_T</math> 值的中值。给定样品的数据点只能与该样品的其他数据点进行比较。</li> </ul>
Color Scheme (颜色方案)	选择一种颜色方案，以便软件显示层次聚类计算的结果。 <b>Red/Green (红色/绿色)</b> 、 <b>Red/Blue (红色/蓝色)</b> 或 <b>Green/Orange (绿色/橙色)</b> 颜色方案。

## 热图工具提示

将鼠标悬停在热图上时，软件将在工具提示窗口中显示给定样品/目标基因组合的  $\Delta C_T$  和  $\Delta C_T +$  全局对照平均值（或者如果在分析设置中选择全局归一化，则为全局中值）。*全局对照平均值*是研究中所有选定内源性对照的平均  $C_T$  值。*全局中值*是在使用全局归一化时所用的中值。将该值（全局对照平均值或全局中值）添加到  $\Delta C_T$ ，以更好地近似在归一化之前针对每个样品和给定检测计算的初始  $C_T$ （表达水平的粗略估值）。



1. 数据点的样品名称。

2. 数据点的目标基因（检测）名称。

3. 针对给定样品-目标基因组合计算的  $\Delta C_T$  值。

4. 针对给定样品-目标基因组合计算的  $\Delta C_T +$  全局对照平均值。

## 结果详情表

热图下方是 Results Details（结果详情）表，显示以下信息：

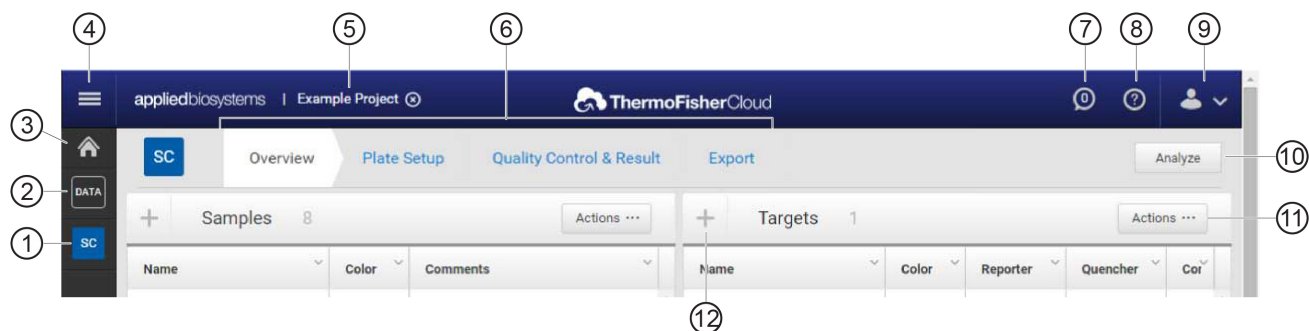
列	该列的作用
Sample（样品）	查看样品 ID（唯一的名称或编号）。
Biological Group（生物学组）	查看样品所属生物学组（唯一的名称或编号）。
Target（目标基因）	查看分析的目标核酸序列 ID（唯一的名称或编号）。
$C_T/C_{RT}$ Mean（ $C_T/C_{RT}$ 平均值）	查看技术重复 $C_q$ 值的算术平均值。
Adjusted $C_T/C_{RT}$ Mean（调整后的 $C_T/C_{RT}$ 平均值）	查看技术重复 $C_q$ 值（已根据 RQ Settings（RQ 设置）分析设置中定义的“最大允许 CT”限值进行了调整）的平均值。 <b>备注：</b> 对于 $C_q$ 得分大于“最大允许 CT”值的孔，软件会将其调整至指定的 $C_q$ 限值。
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ Mean（ $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值）	查看样品重复组的技术重复 $\Delta C_q$ 值的算术平均值。 <b>备注：</b> $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 平均值在反应板水平下计算，并且代表了目标基因 $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 值与板中该样品的所有技术重复的内源性对照 $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 值之间的平均值之差。
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE	查看样品重复组水平 $C_q$ 值的样品标准偏差。 <b>备注：</b> Multiplex 和 Singleplex 实验的 $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ SE 值计算方法不同。如果是 Multiplex 实验，则计算是在孔水平上进行的。如果是 Singleplex 实验，则计算时还将结合板水平的目标基因与内源性对照之间 $C_q$ 值差异。
$\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ + Control Median（ $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ + 对照中值）	查看样品重复组的技术重复 $\Delta C_T/\Delta C_{RT}$ 值的算术平均值（已添加至对照中值）。










相关主题：

[审查分析后的数据](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



1. **Analysis Modules (分析模块)** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2.  (Data Manager (数据管理器)) — 单击以查看 Data Manager (数据管理器)，该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3.  (Project Manager (项目管理器)) — 单击以查看 Project Manager (项目管理器)，该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4.  (Account Management Menu (帐户管理菜单)) — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name (项目名称)** — 当前项目的名称。  
**备注:** 单击  关闭项目。
6. **Project tabs (项目选项卡)** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7.  (Notifications (通知)) — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8.  (Help (帮助)) — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9.  (Profile Menu (个人资料菜单)) — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze (分析)** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11.  (Zoom (缩放)) — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意:** 展开后，单击  (Close (关闭))，将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions (操作)** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题:

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)





## 导出窗口

使用 Export (导出) 窗口生成报告并导出项目数据。分析完成后，该窗口可提供多个用于导出结果和分析后数据的选项，以便进行演示或进一步分析。每组分析后的数据生成后，将被添加到导出历史，用户可以随时从其中下载这些数据。

要查看 Export (导出) 窗口，请在查看项目时单击上方的 **Export (导出)**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 从项目中导出分析后的数据</li> <li>• 导出曲线以用于演示和发布</li> <li>• 导出数据以用于其他项目</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 孔表</li> <li>• 质量标记</li> </ul>

## 导出窗口使用提示


- 单击  以生成导出数据集。
- 单击  以查看导出历史并下载先前的导出数据集。
- 在查看导出历史时，请单击 Export History (导出历史) 表的列标题以对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头 ( 或 ) 指示。

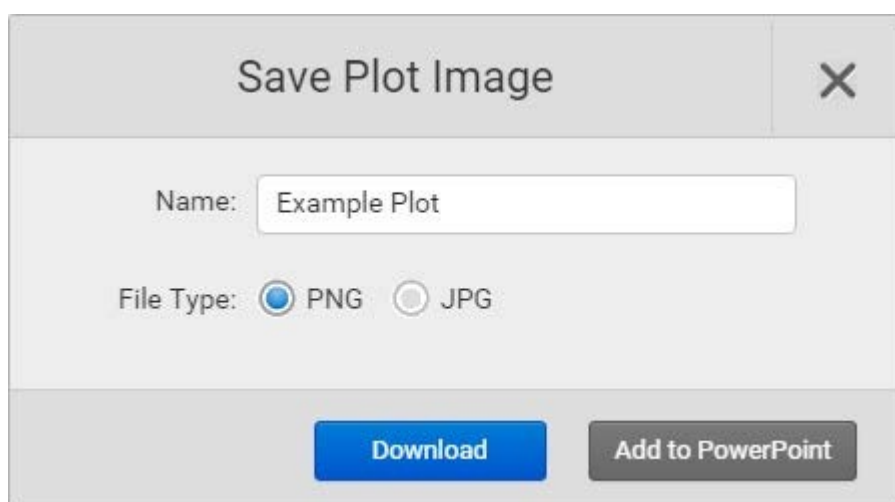
相关主题:

[窗口与曲线](#)

## 导出曲线以用于演示和发布

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以便携式网络图像格式 (.png) 或联合图像专家组格式 (.jpg) 文件导出任意曲线，这些文件可以通过大部分电子表格和演示用桌面排版软件导入。

1. 查看曲线时，单击  (Save as image (另存为图像)) 或选择 **Actions (操作) > Save as image (另存为图像)**。
2. 保存图像。
  - a. 单击 File Name (文件名) 字段，然后为导出的图像文件输入名称。
  - b. 选择适合的文件格式 (.png 或 .jpg)。
  - c. 单击 **Download (下载)**，下载曲线像文件，或单击 **Add to PowerPoint (添加至 PowerPoint)**，将曲线添加至 PowerPoint 演示文稿导出文件 (请参见[以幻灯片形式导出项目数据](#))。



3. 在 Save As (另存为) 对话框中，选择导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save (保存)**。

---

相关主题：


[导出结果](#)

## 以幻灯片演示格式导出项目数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式导出项目数据。已导出文件中汇总了项目数据，并按通用模板保存已导出文件，因此用户可以通过导入 Microsoft™ PowerPoint® 模板文件进行覆盖。

1. 在项目 (包含要导出数据) 主菜单中，单击 **Export (导出)**。



2. 在 Export（导出）窗口，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入已导出报告的名称。  
**备注：**命名报告操作允许您重复导出（如果需要）。
  - b. 在 File type（文件类型）菜单中选择 **.pptx**。
3. 在 Export Details（导出详情）窗口中，选择要包括在导出文件中的数据表字段，然后单击 **Start Export（开始导出）**。

开始导出后，请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态（Status）列显示“Download（已下载）”时，即表示导出已完成。

数据导出文件生成后，Applied Biosystems™ 软件将在 Export History（导出历史记录）表中按行显示文件包。

4. （可选）单击 Comments（注释）列中的条目，然后为已导出报告输入附加信息。
5. 单击 **Download（下载）**，选择已导出数据文件的目标存储位置，然后单击 **Save（保存）**。

数据导出文件包生成后，将始终保存在 Export History（导出历史记录）表中，或直至用户将其移除。要删除文件包，请在表中选择导出文件包，然后单击 **Actions（操作）** 并选择 **Delete File（删除文件）**。

用户可使用 Microsoft™ PowerPoint® 应用程序重新设置已导出幻灯片演示文件的格式。有关对演示文件应用主题或模板的详细信息，请参见 Microsoft™ PowerPoint® 帮助文件。


---

相关主题：

[导出结果](#)

## 从项目中导出分析后的数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式或逗号分隔/制表符分隔文本格式（可通过大部分电子表格应用程序导入）导出项目数据，用于进一步分析或演示。

1. 在项目（包含要导出数据）主菜单中，单击 **Export（导出）**。
2. 在 Export（导出）窗口，单击 ，然后输入以下信息：
  - a. 在 Name（名称）字段中输入已导出报告的名称。  
**备注：**命名报告操作允许您重复导出（如果需要）。
  - b. 选择已导出数据的文件类型：
    - **.txt** — 将数据导出为制表符分隔的文本文件。
    - **.csv** — 将数据导出为逗号分隔的文本文件。
    - **.pptx** — 将所有数据导出到 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示文件中。



c. (仅适用于 CSV 和 TXT 导出) 选中要导出数据的复选框。

- **HRM Raw/HRM Difference/HRM Aligned (HRM 原始图/HRM 差异图/HRM 对齐图)** — 导出 HRM Raw (HRM 原始图)、HRM Difference (HRM 差异图) 和 HRM Aligned (HRM 对齐图) 的结果。
  - **Results Data (结果数据)** — 导出高分辨率熔解分析的结果 (包括 Tm 计算结果和识别数据)。
  - **Amplification Data (扩增数据)** — 导出项目中各孔的扩增结果, 例如循环数和 Rn 或  $\Delta Rn$  值。
  - **Experiment QC Summary (实验 QC 汇总)** — 导出由数据分析生成的质量指标 (标记) 汇总结果。
  - **Analysis Settings (分析设置)** — 用于生成分析数据的分析设置配置 (包括各 QC 标记的阈值设置)。
3. 如果要自定义导出操作以使其包含特定数据, 请单击 **Actions (操作) > Customize (自定义)**, 然后在各选定表中选择要作为导出来源的数据列。
  4. 在 Export Details (导出详情) 窗口中, 选择要包括在导出文件中的数据表字段, 然后单击 **Start Export (开始导出)**。

开始导出后, 请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态 (Status) 列显示 “Download (已下载)” 时, 即表示导出已完成。

数据导出文件生成后, Applied Biosystems™ 软件将在 Export History (导出历史记录) 表中按行显示文件包。

5. (可选) 单击 Comments (注释) 列中的条目, 然后为已导出报告输入附加信息。
6. 单击 **Download (下载)**, 选择已导出数据文件的目标存储位置, 然后单击 **Save (保存)**。

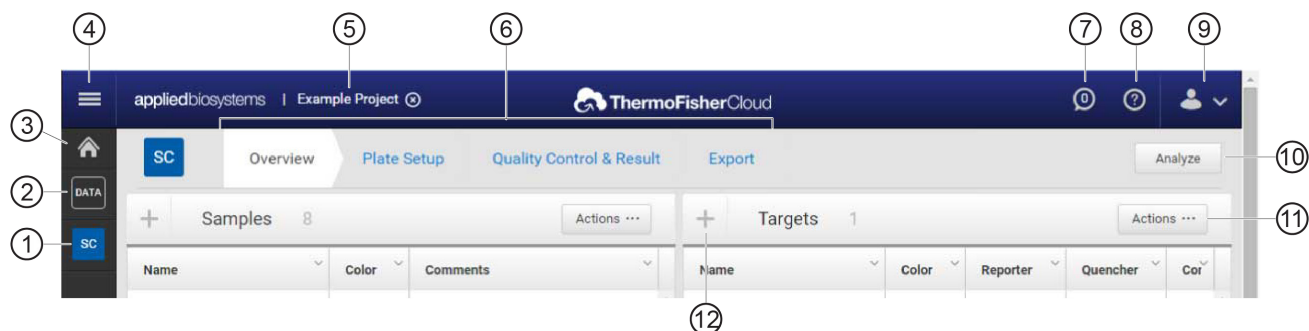
数据导出文件包生成后, 将始终保存在 Export History (导出历史记录) 表中, 或直至用户将其移除。要删除文件包, 请在表中选择导出文件包, 然后单击 **Actions (操作)** 并选择 **Delete File (删除文件)**。










相关主题:

[导出结果](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据, 并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标:



1. **Analysis Modules (分析模块)** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2.  (Data Manager (数据管理器)) — 单击以查看 Data Manager (数据管理器)，该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3.  (Project Manager (项目管理器)) — 单击以查看 Project Manager (项目管理器)，该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4.  (Account Management Menu (帐户管理菜单)) — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name (项目名称)** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击  关闭项目。
6. **Project tabs (项目选项卡)** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7.  (Notifications (通知)) — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8.  (Help (帮助)) — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9.  (Profile Menu (个人资料菜单)) — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze (分析)** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11.  (Zoom (缩放)) — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击  (Close (关闭))，将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions (操作)** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)





## 总览窗口

使用 Overview (总览) 窗口审查和编辑与项目相关联的样品和目标基因 (必要时)。Samples (样品) 和 Targets (目标基因) 表将采用实验 (已添加到项目) 中出现的样品和目标基因进行自动填充，并且可以直接在界面中进行编辑。

要查看 Overview (总览) 窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Overview (总览)**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <a href="#">管理样品和目标基因</a></li> <li>• <a href="#">通过 AIF 文件导入目标基因信息</a></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <a href="#">检测信息文件</a></li> </ul>

## 总览窗口使用提示

- 单击 Overview (总览) 窗口中表格的列标题，对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头 ( 或 ) 指示。
- 单击任何表中的  均可放大视图。放大后，单击  可将视图恢复至原始尺寸。
- Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。请参见[检测信息文件](#)了解更多信息。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 通过 AIF 文件导入目标基因信息

为了方便起见，Applied Biosystems™ 软件可直接从 Thermo Fisher Scientific 提供的检测信息文件 (.aif) 中导入目标基因信息。AIF 属于制表符分隔的数据文件，位于各检测订单随附的光盘中。文件名中包括板上的条形码编号。

1. 在 Overview（总览）窗口的 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Import AIF File（导入 AIF 文件）**。
2. 找到带有目标基因信息的 .aif 文件，然后单击 **Open（打开）**。

如果导入成功，则目标基因将填充至相应表格中。如果项目中已存在同名的目标基因，则软件将使用 AIF 中的信息进行覆盖。

**备注：**检测/目标基因名称匹配时不区分大小写。

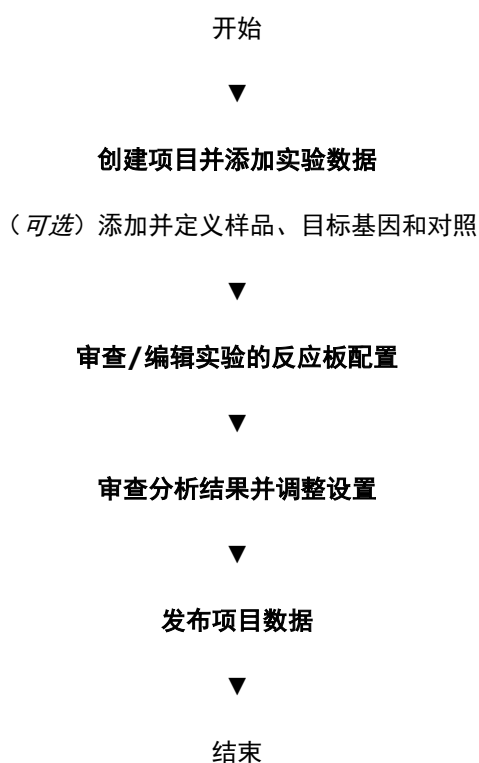
---

相关主题：

[设置项目](#)

## 设置项目

将一个或多个实验 (.eds 或 .sds 文件) 导入 HRM 项目后,使用 Overview (总览)窗口设置项目。



---

相关主题：

[管理样品和目标基因](#)

[通过 AIF 文件导入目标基因信息](#)

[通过设计文件导入样品信息](#)

## 通过设计文件导入样品信息

该 Applied Biosystems™ 软件分析模块不支持通过设计文件导入样品。要向项目中添加样品，请在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）列表中直接输入样品。有关样品信息录入的更多信息，请参见[管理样品和目标基因](#)。

---

相关主题：

[设置项目](#)

## 检测信息文件

检测信息文件由 TaqMan® 检测订单随附的信息光盘提供。每个检测信息文件均包含有关检测订单的参考信息，以及所交付的全部检测的详细技术信息。

用户可将检测信息文件导入 Applied Biosystems™ 分析软件，为项目增加补充性检测信息。现可提供三种格式的检测信息文件（.html、.txt 和 .xml），但 Applied Biosystems™ 分析软件仅支持 .txt 和 .xml 文件。

**重要信息！** 检测信息文件中必须包括所列出的各个检测的检测 ID（位于 Assay ID（检测 ID）列中）。软件将使用检测信息文件中的检测 ID 与项目中的现有检测 ID 进行匹配。

**重要信息！** 导入检测信息文件时，文件中的信息将填充至 Overview（总览）窗口的 Assays（检测）列表中的对应列。Overview（总览）窗口中的所有数据将被替换为在检测信息文件中识别的所有检测。如果检测信息文件中不包含某一检测的信息，则 Overview（总览）窗口中的现有数据不受影响。

---

相关主题：

[术语表](#)

## 管理样品和目标基因

Applied Biosystems™ 分析软件采用实验（已添加到项目）中出现的样品和目标基因填充 Overview（总览）窗口。如有必要，用户可在分析前根据需要添加、编辑或删除样品和目标基因。

- **Create（创建）** 新样品或目标基因：
  - a. 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，单击 **Actions（操作） > Add（添加）**。
  - b. 在 New Sample/Target（新样品/目标基因）对话框中，输入新样品或目标基因的名称（最多 256 个字符），然后编辑新样品/目标基因的属性。
  - c. 单击 **OK（确定）**。
- 通过直接编辑表中条目 **Update（更新）** 现有样品或目标基因。

**备注：**另外，还可以从表中选择样品或目标基因，然后选择 **Actions（操作） > Assign/Update（分配/更新）**。

## • Delete（删除）样品或目标基因：

- 在 Overview（总览）窗口的 Samples（样品）表或 Targets（目标基因）表中，选择目标样品或目标基因，然后单击 **Actions（操作） > Delete（删除）**。
- 在确认对话框中，单击 **OK（确定）**，删除样品或目标基因。

相关主题：

[设置项目](#)

## 反应板设置窗口




使用 Plate Setup（反应板设置）窗口，对已添加到项目的实验中的反应板设置进行更改。编辑器允许用户编辑样品、目标基因和任务分配，以纠正缺失或不正确的设置。如果需要，可以通过创建并上传模板（使用电子表格编辑器创建），使用 Plate Setup（反应板设置）窗口应用反应板设置配置。

要查看 Plate Setup（反应板设置）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Plate Setup（反应板设置）**。

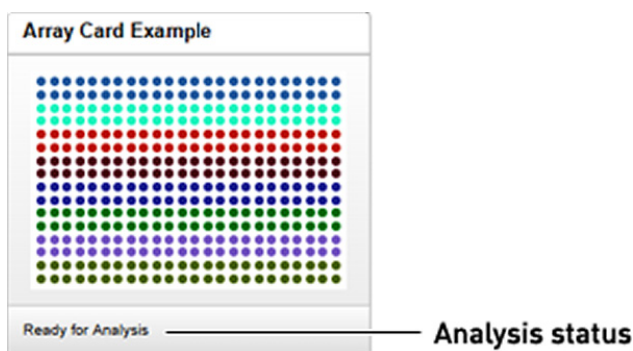
**重要信息！** 使用 Plate Editor（反应板编辑器）对反应板配置所作的更改不会直接保存到相关实验（.eds 或 .sds），而是保存到项目。因此，在一个项目中对反应板设置所作的更改不会反映在其他项目中。


如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• 审查并编辑反应板设置</li><li>• 应用样品和目标基因</li><li>• 指定并分配任务</li><li>• 使用模板文件应用反应板设置信息</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 参比荧光</li><li>• 任务</li><li>• 模板文件</li></ul>

## 反应板设置窗口使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 使用反应板视图 () 确定会阻止分析的反应板。

**备注：** 软件将显示会阻止相关反应板的图像下方实验中的分析的反应板配置问题。



- 使用数据视图 () 确定缺少数据分配的实验。Select a Plate（选择反应板）表的 Wells Defined（已定义的孔）列指示每个反应板记录中具有样品、目标基因和任务设置的孔数目。

在编辑反应板布局时：

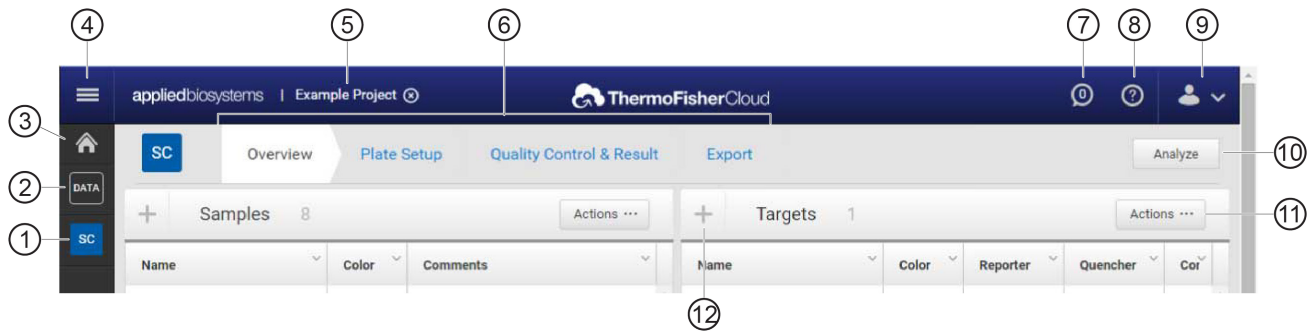
- 使用模板在应用样品、任务、目标基因和标准分配时节省时间。
- 选择各个孔以更改已分配至反应板中的标准品的数量或浓度。
- 用户可以通过选择反应板的孔并选择 **Actions（操作）** > **Clear Well Setup（清除孔设置）**，从反应板的指定区域快速移除所有样品、任务、目标基因和标准分配。

相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



1. **Analysis Modules（分析模块）** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2. **DATA（Data Manager（数据管理器））** — 单击以查看 Data Manager（数据管理器），该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3. **🏠（Project Manager（项目管理器））** — 单击以查看 Project Manager（项目管理器），该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4. **☰（Account Management Menu（帐户管理菜单））** — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name（项目名称）** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击 ⊗ 关闭项目。
6. **Project tabs（项目选项卡）** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7. **🔔（Notifications（通知））** — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8. **🔗（Help（帮助））** — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9. **👤（Profile Menu（个人资料菜单））** — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze（分析）** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11. **+（Zoom（缩放））** — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击 <（Close（关闭）），将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions（操作）** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)






## 质量检查与结果窗口

使用 Quality Check & Results（质量检查与结果）窗口初步审查分析后的项目数据，并查看标准曲线分析的结果。该窗口中的曲线和功能可帮助用户审查项目中的不规则扩增和其他常见 qPCR 问题。在审查之后，Standard Curve plot（标准曲线）和表数据允许用户审查分析结果。

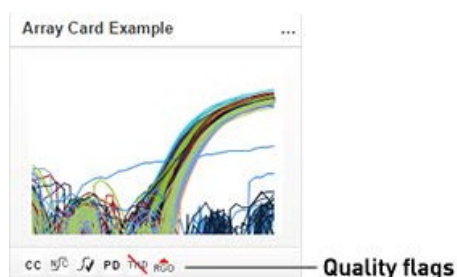
要查看 Quality Check & Results（质量检查与结果）窗口，请在查看项目时单击窗口上方的 **Quality Check & Results**（质量检查与结果）。


如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>配置分析设置</li><li>审查扩增和质量数据</li><li>忽略分析中的孔</li><li>导出曲线以用于演示和发布</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>扩增曲线</li><li>多组分曲线</li><li>质量标记</li><li>质量标记</li></ul>

### 质量检查与结果使用提示

- 单击  和 ，在反应板与列表数据视图之间切换。
- 使用反应板视图 () 确定生成质量标记的实验，并选择需要进一步检查的实验。






**备注：**软件将在相关实验的图像下方显示由各个实验生成的质量标记的图标。



- 使用数据视图 () 确定生成质量标记的实验。

**备注：**Select an Experiment（选择实验表）中的 Flags（标记）列指示由每条记录所对应的孔生成的质量标记总数。

审查单个实验时：

- 单击 **Analysis Setting**（分析设置），查看相应实验的分析设置。
- 单击曲线与表格之间的  或  展开视图。放大后，单击曲线或表格一侧的反向箭头可恢复视图。
- 使用表中的 "Group By"（分组方式）设置，按样品、反应板或任务对表中显示的数据进行分组。分组后，选择用于审查图中扩增数据子集的行，该操作在多个重复孔中检查扩增水平时非常有用。
- 单击表中的列标题对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头 ( 或 ) 指示。
- 单击表中列标题处的 ，输入参数以便对内容进行筛选。完成表格筛选后，单击 **Clear**（清除），删除筛选条件。



相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 指定主标准曲线和/或板间对照

如果要使用外部主标准曲线和/或板间对照，可以使用 Standard Curve Options（标准曲线选项）对话框对其进行配置以用于项目中。

Applied Biosystems™ 软件支持使用板间对照来识别多板标准曲线分析中外部标准曲线的性能变异/差异。对于各个对照，软件允许用户指定用于定义对照的可接受性能的容差参数。在分析期间，软件将使用这些设置提醒用户无法在定义范围内执行的对照。

**备注：**该板间对照为可选项。

如果使用主标准曲线以分析项目，可使用文本编辑器创建标准曲线数据文件，或者从项目中的现有实验导出数据。如果手动创建文件，请将标准曲线数据保存至以逗号分隔的值 (.csv) 文本文件，格式如下：

```
#Instrument:QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System
#Block:Array Card
Reporter,Target,Slope,Y-Intercept,R2,Efficiency (%),Quantities,Std Dev,Std Error
FAM,RNaseP,-4.6577,39.9765,0.5632,63.9450,"800.0, 1600.0, 3200.0",0.8608,0.2658
```

或者，可按照下列步骤从项目中的现有实验导出标准曲线数据文件：

1. 选择 **Quality Control & Result（质量控制与结果）** 选项卡，然后单击包含所需标准曲线数据的实验。
2. 在查看实验时，单击 **Analysis Options（分析选项）**，然后选择 **Standard Curve Settings（标准曲线设置）**。
3. 在 Standard Curve Settings（标准曲线设置）中，选择所需标准曲线，然后单击 **Export（导出）**，将数据保存至 .csv 文件。

要指定项目的主标准曲线和/或板间对照：

1. 在 Quality Control & Results（质量控制与结果）窗口中，单击 **Standard Curve Options（标准曲线选项）**。
2. 在 Standard Curve Options（标准曲线选项）对话框的 General（常规）选项卡中，选择相应选项，确定软件将如何使用已添加到项目的实验中存在的板间对照数据。

选项	设置
使用针对单独的反应板配置的标准曲线	选择该选项，将标准曲线用于各个反应板，从而分析项目数据。
对所有反应板共享任何板上标准曲线	<p>选择该选项，通过在项目中共享实验中存在的标准曲线数据来分析项目数据。如果选择该选项，软件将使用已添加至项目的反应板中存在的相关标准曲线计算未知样品的数量。</p> <p>要配置软件以共享板上标准曲线数据：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 Standard Curve Options (标准曲线选项) 对话框的 General (常规) 选项卡中，选择 <b>Share any on-plate standard curves for all plates (对所有反应板共享任何板上标准曲线)</b>。如果未使用板间对照，请跳到步骤 3。</li> <li>2. 选择 <b>Inter-plate Controls (板间对照)</b> 选项卡，查看对照设置。 <b>备注：</b>该板间对照为可选项。</li> <li>3. 如果未选择该选项，请选择 <b>Use Inter-plate Controls (使用板间对照)</b>。</li> <li>4. 选择软件将用于监视板间对照性能的方法 (标准偏差或计算数量)： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Use Standard Deviation (使用标准偏差)</b> — 如果选择该选项，软件将提醒用户，是否有任何反应板的板间对照的 Cq (Ct) 值标准偏差 (<math>\sigma_{Cq}</math>) 大于指定的 Cq 标准偏差阈值。  例如，如果板间对照的 Cq 标准偏差阈值设置为 0.5，那么软件将标记满足以下情况的任何反应板：板间对照生成 <math>\sigma_{Cq} &gt; 0.5</math> 的反应板。</li> <li>▪ <b>Use Quantity (使用数量)</b> — 如果选择该选项，软件将提醒用户，是否有任何反应板的指定板间对照的计算数量与指定的数量平均值相差指定的裕度。  例如，如果板间对照的数量平均值设置为 1000 个拷贝，并且裕度设置为 15%，那么软件将标记满足以下条件的任何反应板：板间对照的计算数量不介于 850 与 1150 个拷贝之间的反应板。</li> </ul> </li> <li>5. 添加板间对照以用于分析中。对于各个对照： <ol style="list-style-type: none"> <li>a. 单击 <b>Add (添加)</b>，添加板间对照。</li> <li>b. 选择用于识别所需样品的 <b>Target (目标基因)</b> 和 <b>Sample (样品)</b> 组合。</li> <li>c. 指定希望软件应用于分析中的板间对照的阈值： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 如果使用标准偏差，请指定用于定义限值的 <b>Cq Standard Deviation Threshold (Cq 标准偏差阈值)</b>，若超过该限值，软件将警告用户板间对照的性能。</li> <li>▪ 如果使用数量，请指定用于定义数量上限和下限的 <b>Quantity Mean (数量平均值)</b> 和 <b>Margin (%) (裕度 (%))</b>，若超过该数量上限和下限，软件将警告板间对照的性能。</li> </ul> </li> </ol> </li> </ol>

选项	设置
<p><b>对所有反应板使用主外部标准曲线</b></p>	<p>选择该选项，使用来自单个“主”标准曲线的数据来分析项目中的所有反应板。如果选择该选项，软件将使用已导入的主标准曲线数据来计算项目中所有未知样品的数量，根据板间对照对项目中的实验执行质量控制。</p> <p>要设置外部标准曲线：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在 Standard Curve Options（标准曲线选项）对话框的 General（常规）选项卡中，选择 <b>Use master external standard curves for all plates（对所有反应板使用主外部标准曲线）</b>。</li> <li>2. 选择 <b>Master External Curves（主外部曲线）</b> 以查看主曲线设置。</li> <li>3. 单击 <b>Import（导入）</b>，并选择以逗号分隔的文件，该文件包含所需的主标准曲线数据。  如果未使用板间对照，请跳到步骤 3。</li> <li>4. 选择 <b>Inter-plate Controls（板间对照）</b> 以查看板间校准设置。  <b>备注：</b>该板间对照为可选项。</li> <li>5. 选择软件将用于监视板间对照性能的方法（标准偏差或计算数量）： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Use Standard Deviation（使用标准偏差）</b> — 如果选择该选项，软件将提醒用户，是否有任何反应板的板间对照的 Cq (Ct) 值标准偏差 (<math>\sigma_{Cq}</math>) 大于指定的 Cq 标准偏差阈值。  例如，如果板间对照的 Cq 标准偏差阈值设置为 0.5，那么软件将标记满足以下情况的任何反应板：板间对照生成 <math>\sigma_{Cq} &gt; 0.5</math> 的反应板。</li> <li>▪ <b>Use Quantity（使用数量）</b> — 如果选择该选项，软件将提醒用户，是否有任何反应板的指定板间对照的计算数量与指定的数量平均值相差指定的裕度。  例如，如果板间对照的数量平均值设置为 1000 个拷贝，并且裕度设置为 15%，那么软件将标记满足以下条件的任何反应板：板间对照的计算数量不介于 850 与 1150 个拷贝之间的反应板。</li> </ul> </li> <li>6. 添加板间对照以用于分析中。对于各个对照： <ol style="list-style-type: none"> <li>a. 单击 <b>Add（添加）</b>，添加板间对照。</li> <li>b. 选择用于识别所需样品的 <b>Target（目标基因）</b> 和 <b>Sample（样品）</b> 组合。</li> <li>c. 指定希望软件应用于分析中的板间对照的阈值： <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 如果使用标准偏差，请指定用于定义限值的 <b>Cq Standard Deviation Threshold（Cq 标准偏差阈值）</b>，若超过该限值，软件将警告用户板间对照的性能。</li> <li>▪ 如果使用数量，请指定用于定义数量上限和下限的 <b>Quantity Mean（数量平均值）</b> 和 <b>Margin（%）（裕度（%））</b>，若超过该数量上限和下限，软件将警告板间对照的性能。</li> </ul> </li> </ol> </li> </ol>

3. 完成选项修改后，请单击 **Finish（完成）**。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

## 关于质量数据汇总

质量汇总将显示当前分析中包括的实验表格以及由相关数据生成的质量标记数量。要检查触发标记的数据，请单击 Name（名称）列中的链接，查看相关反应板的扩增数据。

为了响应质量标记的存在，请考虑以下解决方案：

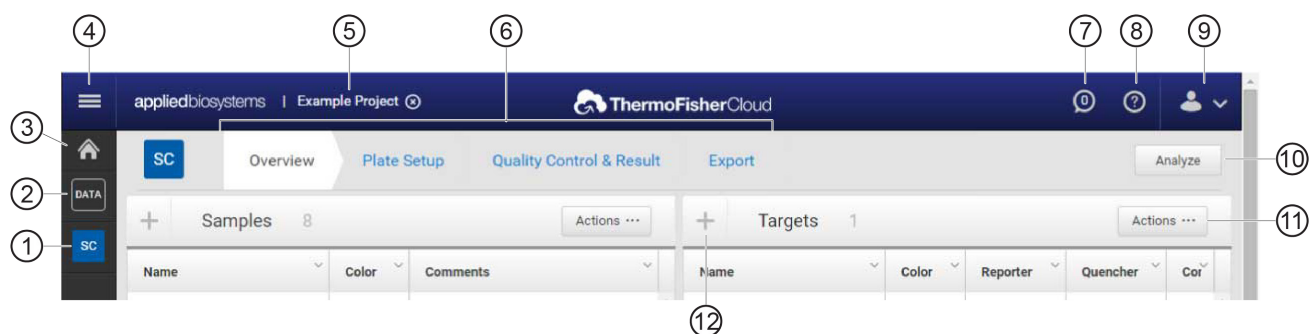
- 更改分析组中的质量设置：
  - 调整质量标记的灵敏度，使标记的孔更多或更少。
  - 禁任由数据触发的质量标记。
- 忽略分析中的各个孔。

相关主题：

[审查质量数据和结果](#)

## 关于软件界面

Applied Biosystems™ 软件采用简单的界面分析实验数据，并且许多窗口与曲线中均包括以下按钮/图标：



1. **Analysis Modules（分析模块）** — 单击以使用选定模块分析当前项目。
2. **DATA（Data Manager（数据管理器））** — 单击以查看 Data Manager（数据管理器），该工具可用于查看、添加或删除当前项目中的数据。
3. **🏠（Project Manager（项目管理器））** — 单击以查看 Project Manager（项目管理器），该工具可用于修改当前项目或打开其他项目。
4. **☰（Account Management Menu（帐户管理菜单））** — 单击以管理个人应用许可证或存储信息。
5. **Project name（项目名称）** — 当前项目的名称。  
**备注：**单击 ⊗ 关闭项目。
6. **Project tabs（项目选项卡）** — 单击此按钮，查看当前项目的设置、数据或曲线。
7. **🔔（Notifications（通知））** — 单击查看当前项目的重要信息和通知。图标内的数字用于指示通信息数量。
8. **🔗（Help（帮助））** — 单击以访问与当前所查看的设置、数据或曲线相关的帮助主题。
9. **👤（Profile Menu（个人资料菜单））** — 单击以更改个人资料设置或注销 Applied Biosystems™ 软件。
10. **Analyze（分析）** — 单击此按钮，在做出更改后分析项目。
11. **+（Zoom（缩放））** — 单击此按钮，放大相关表格或曲线使其充满屏幕。  
**注意：**展开后，单击 <（Close（关闭）），将曲线或表格折叠至原始尺寸。
12. **Actions（操作）** — 单击此按钮，在相关表格或曲线对应的操作列表中进行选择。

相关主题：

[Applied Biosystems™ 分析软件帮助](#)



# 导出窗口

使用 Export（导出）窗口生成报告并导出项目数据。分析完成后，该窗口可提供多个用于导出结果和分析后数据的选项，以便进行演示或进一步分析。每组分析后的数据生成后，将被添加到导出历史，用户可以随时从其中下载这些数据。

要查看 Export（导出）窗口，请在查看项目时单击上方的 **Export（导出）**。

如何...	了解详情...
<ul style="list-style-type: none"><li>• 从项目中导出分析后的数据</li><li>• 导出曲线以用于演示和发布</li><li>• 导出数据以用于其他项目</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 孔表</li><li>• 质量标记</li></ul>

## 导出窗口使用提示


- 单击  以生成导出数据集。
- 单击  以查看导出历史并下载先前的导出数据集。
- 在查看导出历史时，请单击 Export History（导出历史）表的列标题以对内容进行排序。排序方向由标题中的箭头（▲ 或 ▼）指示。

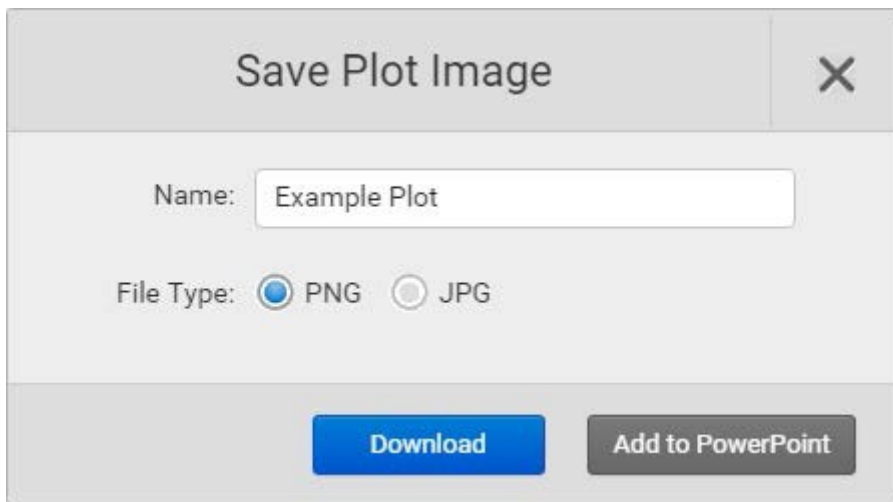
相关主题：

[窗口与曲线](#)

## 导出曲线以用于演示和发布

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以便携式网络图像格式 (.png) 或联合图像专家组格式 (.jpg) 文件导出任意曲线，这些文件可以通过大部分电子表格和演示用桌面排版软件导入。

1. 查看曲线时，单击 （另存为图像）或选择 **Actions（操作）> Save as Image（另存为图像）**。
2. 保存图像。
  - a. 单击 File Name（文件名）字段，然后为导出的图像文件输入名称。
  - b. 选择适合的文件格式 (.png 或 .jpg)。
  - c. 单击 **Download（下载）**，下载曲线图像文件，或单击 **Add to PowerPoint（添加至 PowerPoint）**，将曲线添加至 PowerPoint 演示文稿导出文件（请参见[以幻灯片演示格式导出项目数据](#)）。




3. 在 Save As (另存为) 对话框中, 选择导出数据文件的目标存储位置, 然后单击 **Save (保存)**。

相关主题:

[导出结果](#)

## 以幻灯片演示格式导出项目数据

Applied Biosystems™ 分析软件允许用户以 Microsoft™ PowerPoint® 幻灯片演示格式导出项目数据。已导出文件中汇总了项目数据, 并按通用模板保存已导出文件, 因此用户可以通过导入 Microsoft™ PowerPoint® 模板文件进行覆盖。

1. 在项目 (包含要导出数据) 主菜单中, 单击 **Export (导出)**。
2. 在 Export (导出) 窗口, 单击 , 然后输入以下信息:
  - a. 在 Name (名称) 字段中输入已导出报告的名称。  
**备注:** 命名报告操作允许您重复导出 (如果需要)。
  - b. 在 File type (文件类型) 菜单中选择 **.pptx**。
3. 在 Export Details (导出详情) 窗口中, 选择要包括在导出文件中的数据表字段, 然后单击 **Start Export (开始导出)**。

开始导出后, 请等待 Applied Biosystems™ 分析软件生成报告。已导出报告的状态 (Status) 列显示 “Download (已下载)” 时, 即表示导出已完成。

数据导出文件生成后, Applied Biosystems™ 软件将在 Export History (导出历史记录) 表中按行显示文件包。

4. (可选) 单击 Comments (注释) 列中的条目, 然后为已导出报告输入附加信息。
5. 单击 **Download (下载)**, 选择已导出数据文件的目标存储位置, 然后单击 **Save (保存)**。

数据导出文件包生成后，将始终保存在 Export History（导出历史记录）表中，或直至用户将其移除。要删除文件包，请在表中选择导出文件包，然后单击 **Actions**（操作）并选择 **Delete File**（删除文件）。

用户可使用 Microsoft™ PowerPoint® 应用程序重新设置已导出幻灯片演示文件的格式。有关对演示文件应用主题或模板的详细信息，请参见 Microsoft™ PowerPoint® 帮助文件。

相关主题：

[导出结果](#)

## 波形图窗口

Traces（波形图）窗口可显示项目中所有波形图文件的列表，并提供各文件的 QC 标记、碱基识别、运行和数据采集信息。

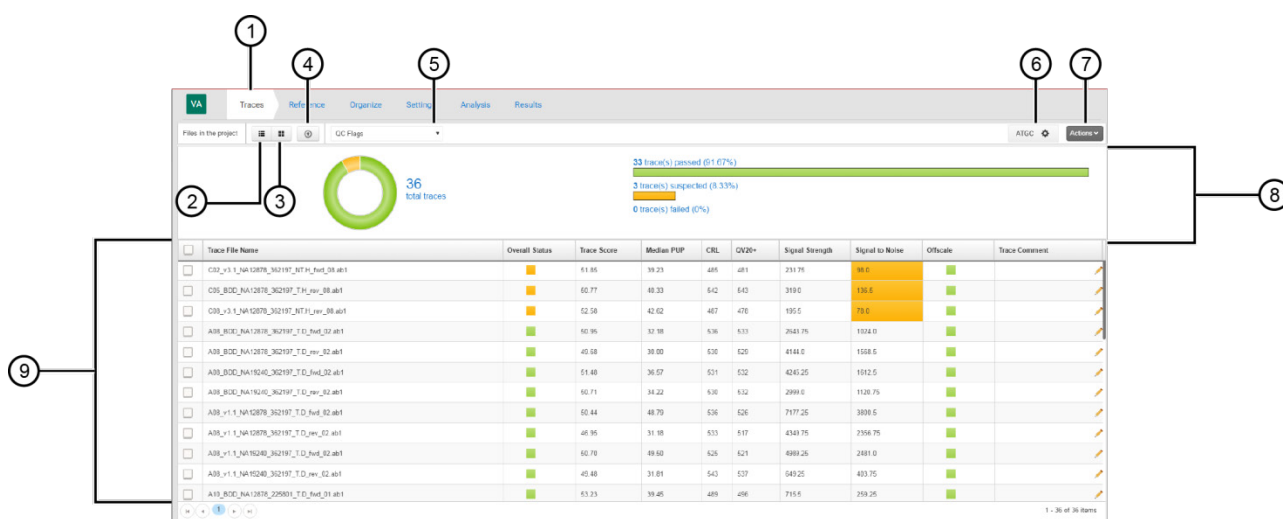


图 1 列表视图（默认视图）

1. workflow 栏 — 选择 Traces（波形图）窗口。
2. 列表视图 — 显示项目中所有波形图文件的列表。
3. 缩略视图 — 显示项目中所有波形图文件的缩略图像。
4. 显示/隐藏项目的质量指示器。
5. 选择要显示在 List（列表）视图中的信息（**QC Flags**（QC 标记）、**Basecall Information**（碱基识别信息）、**Run Information**（运行信息）或 **Data Collection Information**（数据采集信息））
6. **ATGC**— 打开 Edit Basecalling Settings（编辑碱基识别设置）对话框。
7. **Actions**（操作）— 看波形图详情，导出波形图，从项目中移除波形图或更改 QC 标记设置。
8. 质量指示器 — 查看项目中波形图文件的质量状态：绿色 = 波形图文件通过 QC 设置；黄色 = 波形图文件可疑（即，可能需要进一步检查）；红色 = 波形图文件未通过 QC 设置。  
  
用户可以单击质量指示器以过滤表格中显示的波形图文件。例如，单击圆形或条形指示器的绿色部分，仅显示通过 QC 设置的波形图文件。要在过滤后显示所有波形图文件，请单击圆形指示器旁边的 Total Traces（总波形图）数目。
9. 选择列表视图。



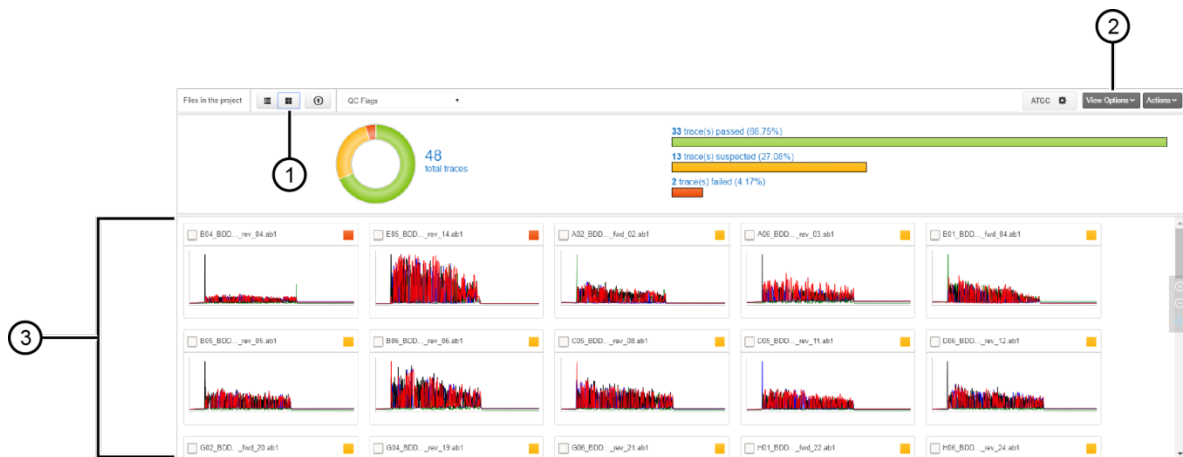


图 2 缩略图视图中的差异

1. 缩略视图 — 显示项目中所有波形图文件的缩略图像。
2. 查看选项 — 以等分标度或相对标度显示缩略图。
3. 选择缩略视图。

### 如何...

[在波形图窗口中设置查看选项](#)

[查看 QC 标记](#)

[查看碱基识别信息](#)

[查看运行信息](#)

[查看数据采集信息](#)

[导出波形图文件](#)

[编辑碱基识别设置](#)

[移除波形图文件](#)

[调整质量设置](#)

相关主题：

[软件窗口描述](#)

# 参比窗口

Reference（参比）窗口允许用户创建参比文件。如果项目中已包含参比文件，那么可以根据需要将其导出或新建一个参比文件。

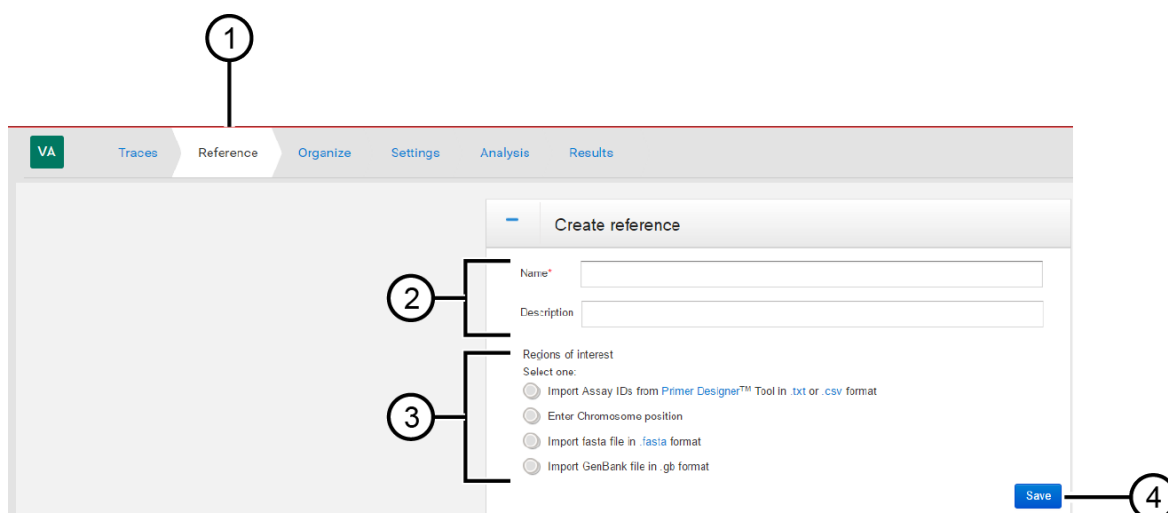


图 1 参比窗口：创建参比文件

1. 工作流栏 — 选择 Reference（参比）窗口。
2. 输入参比文件的名称和描述。
3. 目标区域 — 选择一个选项，然后输入所需信息。
4. 保存新的参比文件。

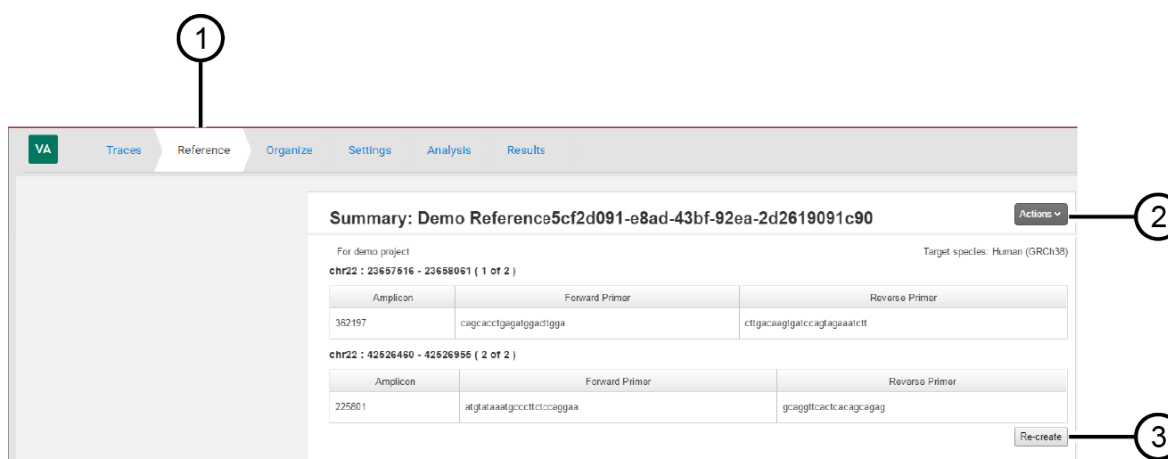


图 2 参比窗口：文件已存在

1. 工作流栏 — 选择 Reference（参比）窗口。
2. **Actions（操作）** — 导出参比文件。
3. 使用现有参比文件，或单击 **Re-Create（重新创建）**。

## 如何...

[创建参比](#)

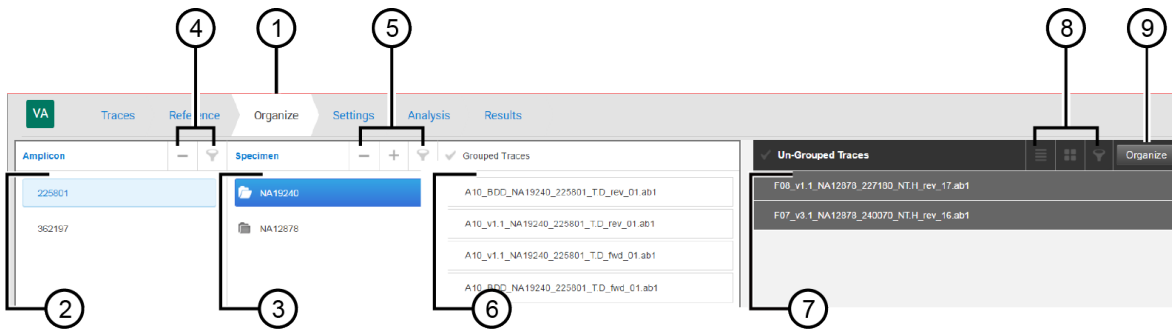
[导出参比文件](#)


相关主题：

[软件窗口描述](#)

# 组织窗口

Organize（组织）窗口将显示参比文件中指定的扩增子名称对应的文件夹。使用此窗口将与每个扩增子相关的波形图文件分组在一起。



1. workflow 栏 — 选择 Organize（组织）窗口。
2. 扩增子名称 — 从针对项目创建的参比文件自动填充。
3. 样本名称 — 在单击 **Organize（组织）** 时自动填充。用户还可以单击  以手动添加样本。
4. 删除并过滤扩增子。
5. 删除、添加和过滤样本。
6. 已被分组为所选扩增子的波形图文件。
7. 未被分组为扩增子的波形图文件。
8. 列表和网格视图 — 以列表或网格形式显示波形图文件。
9. 过滤未分组的波形图文件。
10. **Organize（组织）** — 单击以自动将波形图组织到指定的样本和扩增子中。列表中未遵循第一个所选波形图的命名规范的波形图未被分组。用户可以拖动波形图以手动对其进行分组。

## 如何...

[波形图自动分组](#)

[波形图文件手动分组](#)

[创建参比](#)

相关主题：

[软件窗口描述](#)

# 设置窗口

Settings (设置) 窗口允许用户指定 Trim (剪切)、Filter (过滤)、Alignment Stringency (比对严格性) 和 Variant Score Threshold (变异得分阈值) 设置。用户可以启用或禁用这些设置，然后重新分析项目。

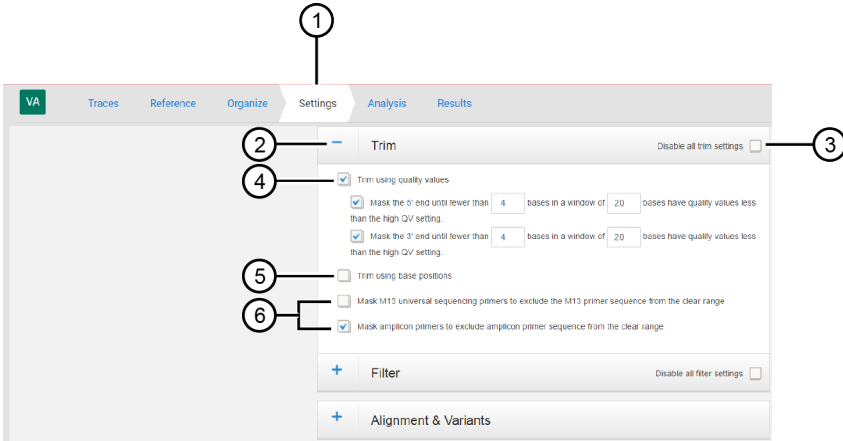


图 1 剪切窗格

1. workflow 栏 — 选择 Settings (设置) 窗口。
2. 展开或折叠 Trim (剪切) 窗格。
3. 选中此复选框，禁用所有剪切设置。

4. 选中此复选框，使用质量值进行剪切，然后选择适用选项和/设置。
5. 选中此复选框，使用碱基位置进行剪切，然后选择适用选项和/设置。
6. 选择要使用的屏蔽设置。

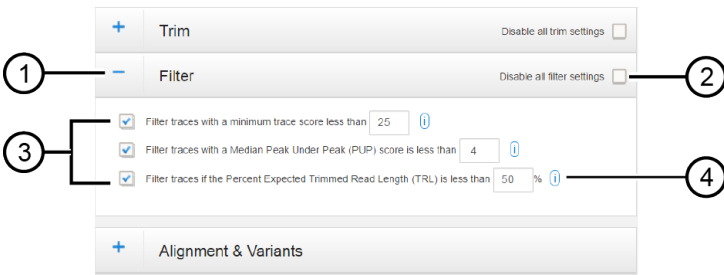
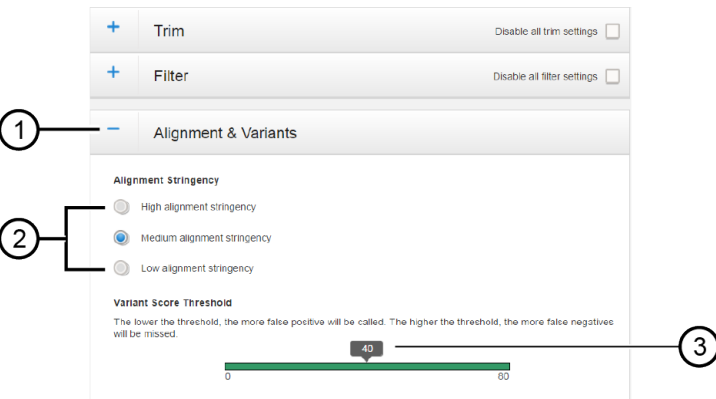


图 2 过滤窗格

1. 展开或折叠 Filter (过滤) 窗格。
2. 选中此复选框，禁用所有过滤设置。

3. 选择要使用的过滤设置，然后输入适当的值。
4. 单击 ⓘ，获取每个设置的描述。



### 图 3 比对与变异窗格

1. 展开或折叠 Alignment & Variants（比对与变异）窗格。
2. 选择比对严格性。
3. 滑动以选择变异得分阈值。

如何...	了解详情...
-------	---------

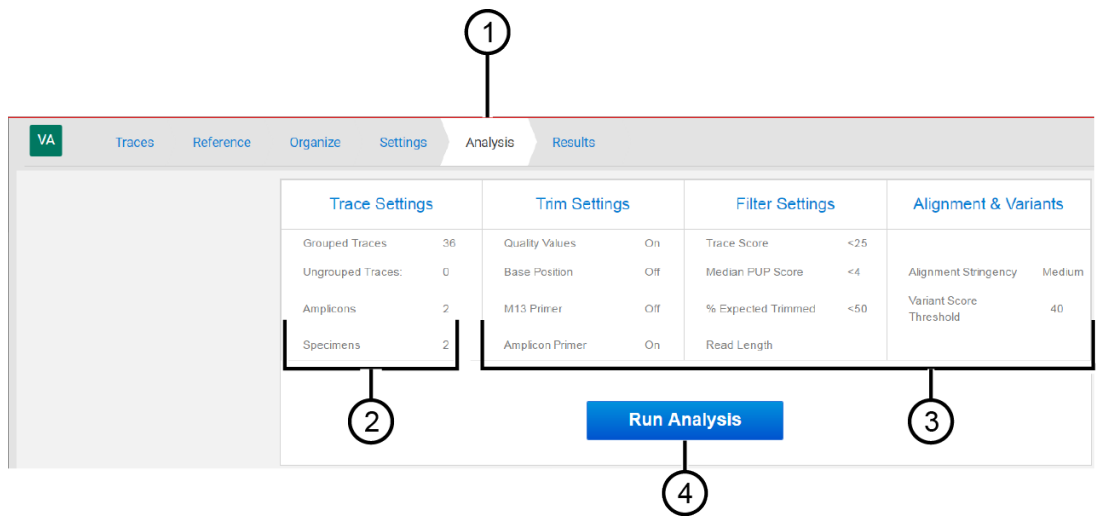
- |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| <a href="#">指定剪切设置</a>    | <a href="#">关于比对与变异得分</a> |
| <a href="#">指定过滤设置</a>    |                           |
| <a href="#">指定比对与变异设置</a> |                           |

相关主题：

[软件窗口描述](#)

## 分析窗口

Analysis（分析）窗口将显示在 Settings（设置）和 Organize（组织）窗口中指定的分析设置。



1. workflow 栏 — 选择 Analysis（分析）窗口。
2. 查看 Trace Settings（波形图设置）。如果需要更改，请返回 Organize（组织）窗口或 Reference（参比）。
3. 查看 Trim Settings（剪切设置）、Filter Settings（过滤设置）和 Alignment & Variants Settings（比对与变异设置）。如果需要更改，请返回 Settings（设置）窗口。
4. **Run Analysis（运行分析）** 或 **Re-Analyze（重新分析）** — 单击该选项，使用当前分析设置来分析项目。

如何...
-------

- |                             |
|-----------------------------|
| <a href="#">查看分析设置和执行分析</a> |
| <a href="#">组织波形图</a>       |
| <a href="#">指定分析设置</a>      |

---

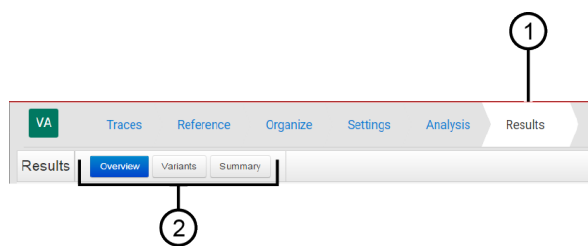
相关主题：

[软件窗口描述](#)

## 结果窗口

Results（结果）窗口提供以下三个视图：

- **Overview（总览）选项卡**— 显示比对范围和 SNP 分布。
- **Variants（变异体）选项卡**— 显示项目中所有扩增子的所有变异体。
- **Summary（概要）选项卡**— 显示项目中所有波形图文件的分析结果概要。



1. workflow 栏 — 选择 Results（结果）窗口。

2. 选择目标选项卡。

---

相关主题：

[总览选项卡](#)

[变异体选项卡](#)

[概要选项卡](#)

[软件窗口描述](#)