

Applied BiosystemsTM QuantStudioTM 12K Flex 实时定量 PCR 仪

简明中文手册

第一部分：绝对定量

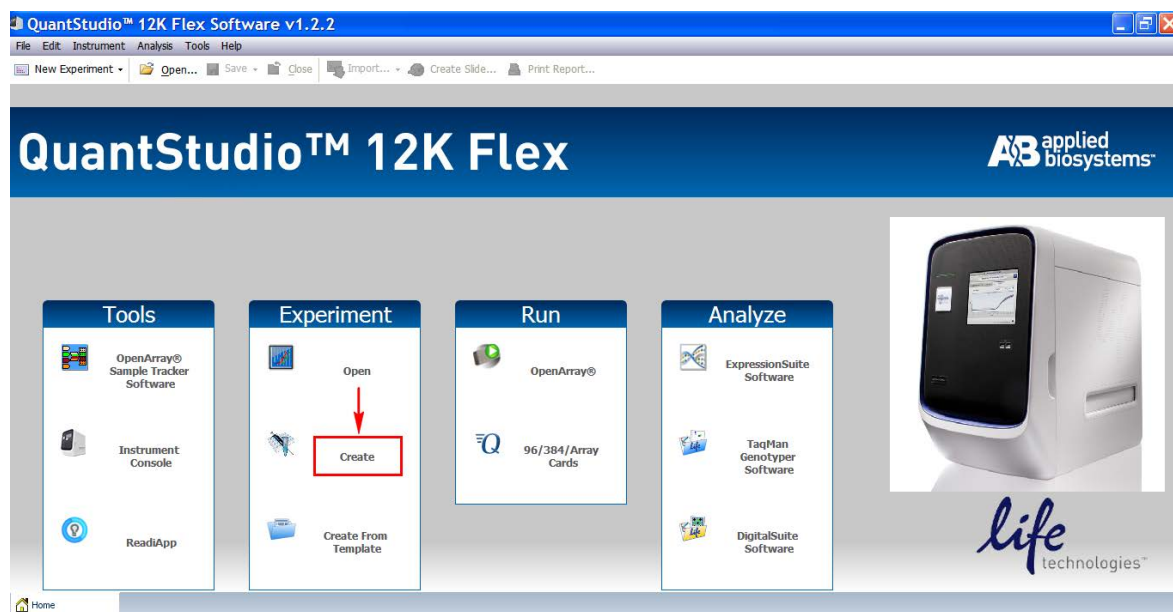


英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

Applied Biosystems™ QuantStudio™ 12K Flex 实时定量 PCR 仪

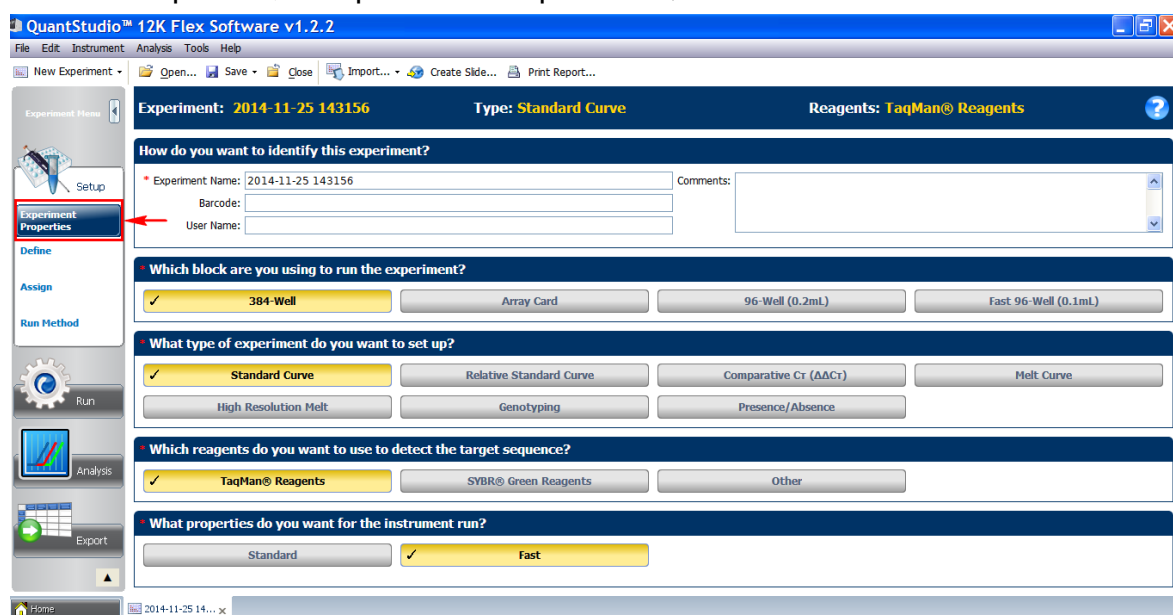
1.

双击桌面图标 ，或从 Start > All programs > Applied Biosystems > QuantStudio 12K Flex > QuantStudio 12K Flex Software 开启软件。进入主界面后选择 “Experiment” 下的 “Create”。



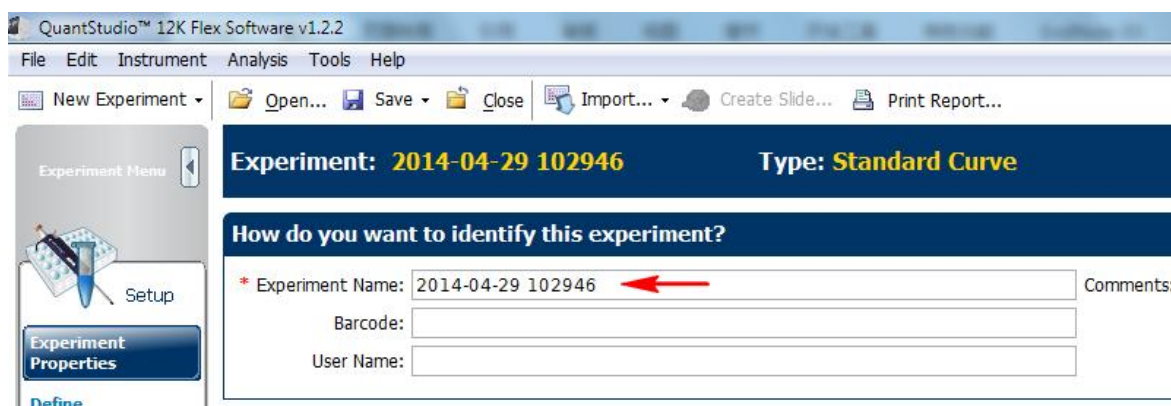
2.

进入 “Setup” 下的 “Experiment Properties” 界面。



2.1

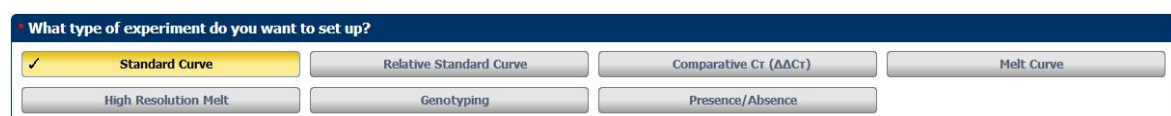
输入实验名称 (Experiment Name)。



2.2 选择Block类型。



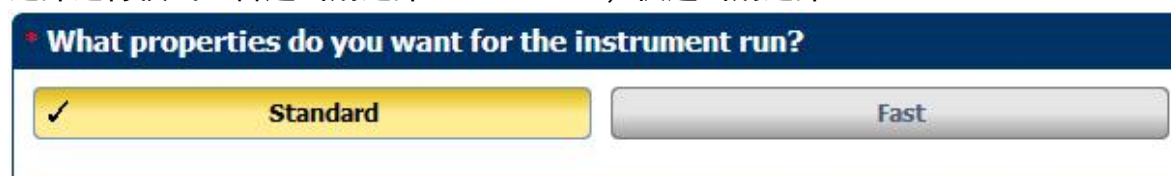
2.3 选择绝对定量实验类型，“Standard Curve”。



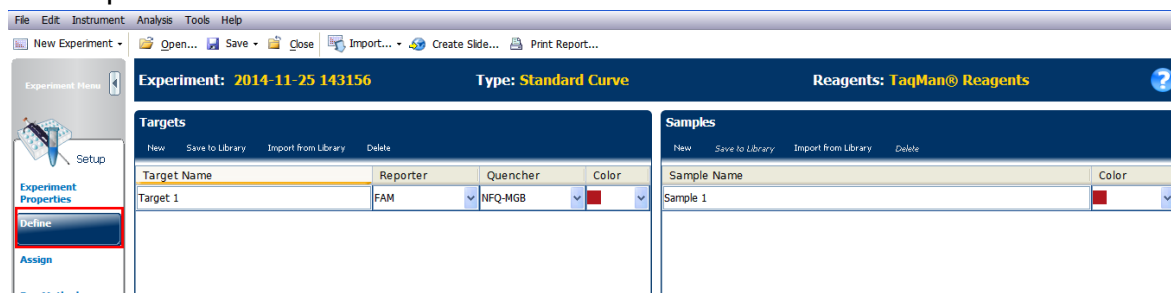
2.4 选择试剂种类。Taqman探针法选择“Taqman Reagents”，SYBR染料法选择“SYBR Green Reagents”。



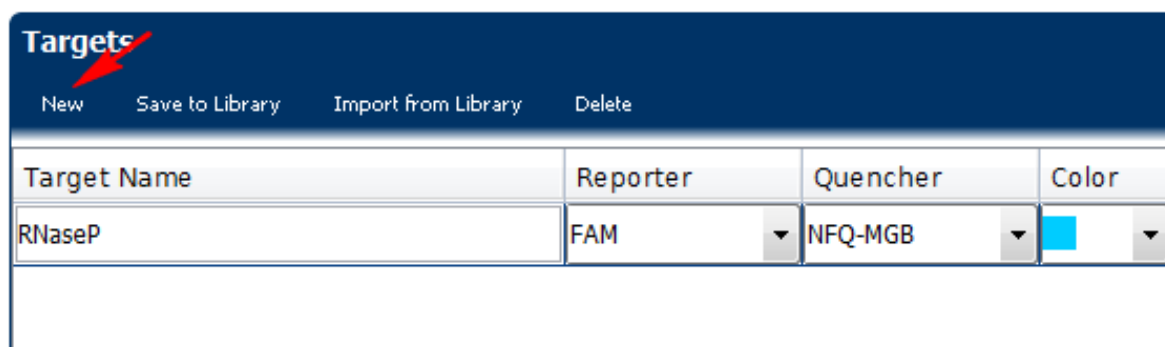
2.5 选择运行模式。普通试剂选择“Standard”；快速试剂选择“Fast”。



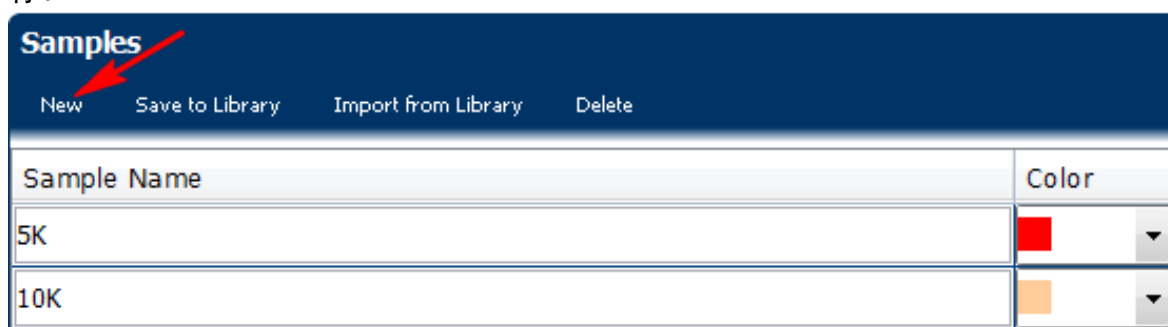
3. 选择“Setup”下的“Define”界面，设置基因名称（Target）和样品名称（Sample）。



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

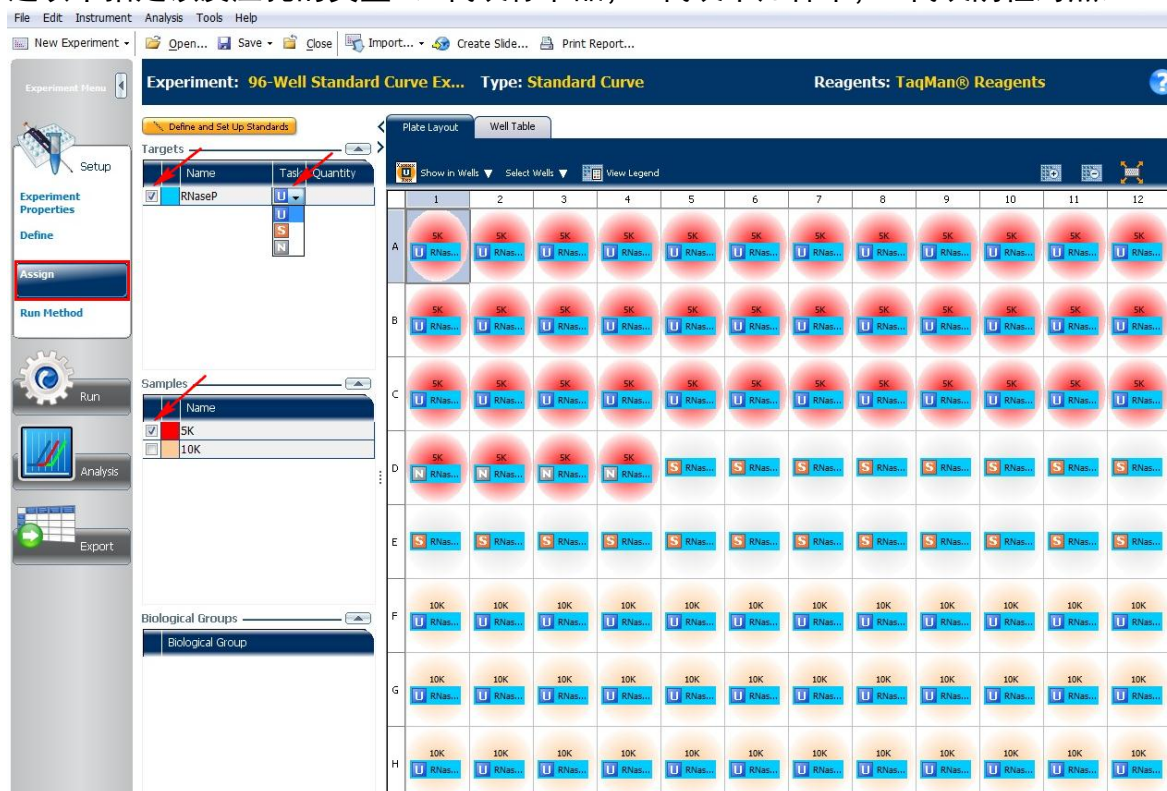


- 3.2 在“Samples”下点击“New”，添加待测样品。在“SampleName”中编辑样品名称。



4. 选择“Setup”下的“Assign”界面，编辑样品板。

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

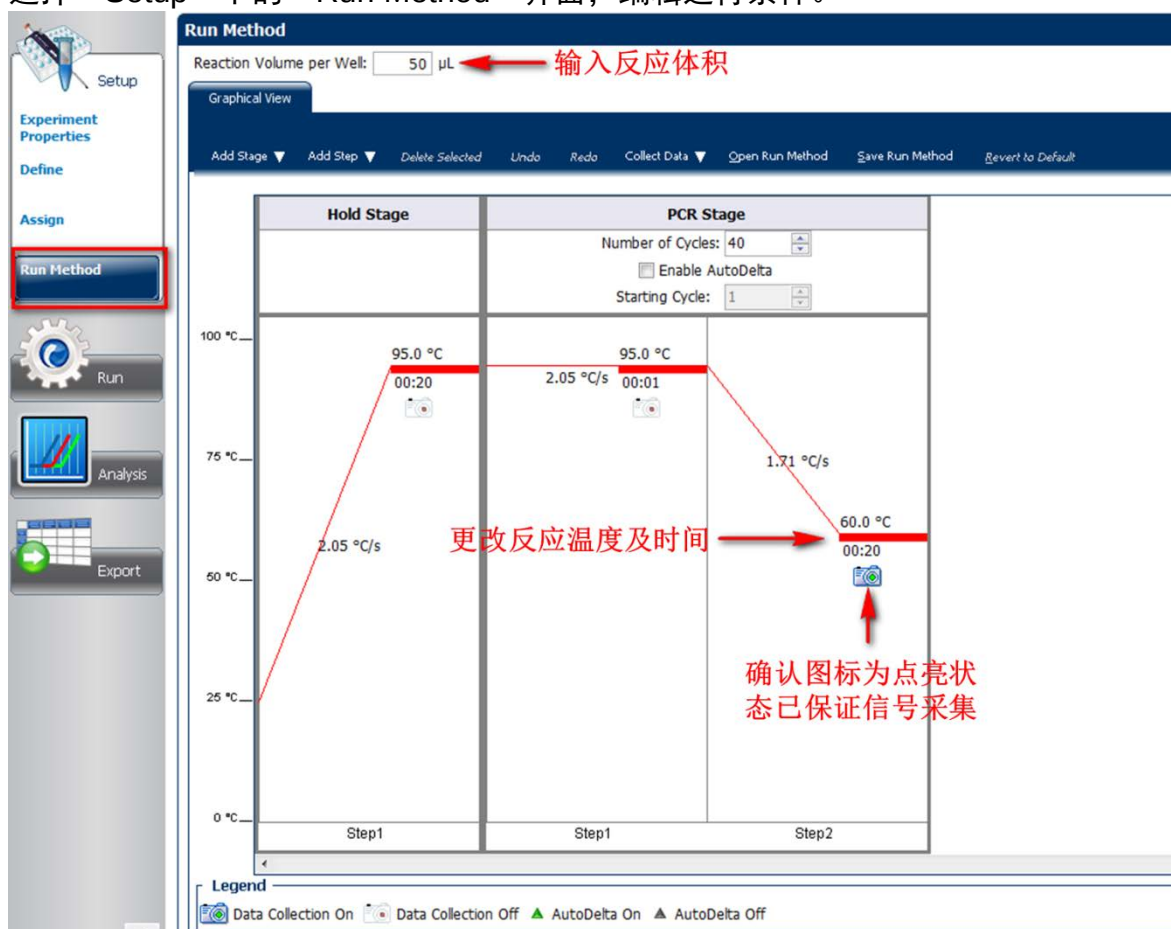


- 4.2 设置标准曲线：利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔（一般情况下，每个梯度设置至少三个副孔），而后勾选左侧的基因，在“Task”选项中选择S，并在“Quantity”中输入标准品量。重复上述操作，完成标准曲线其他浓度点的设置（建议设置至少5

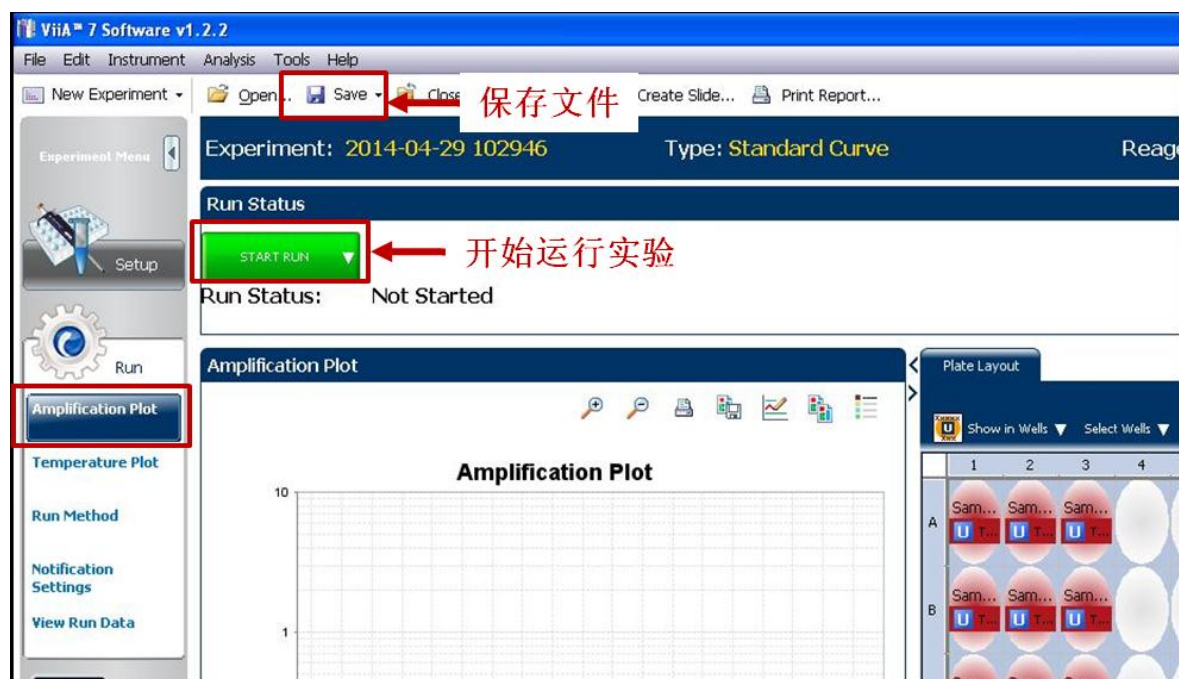
个梯度)。



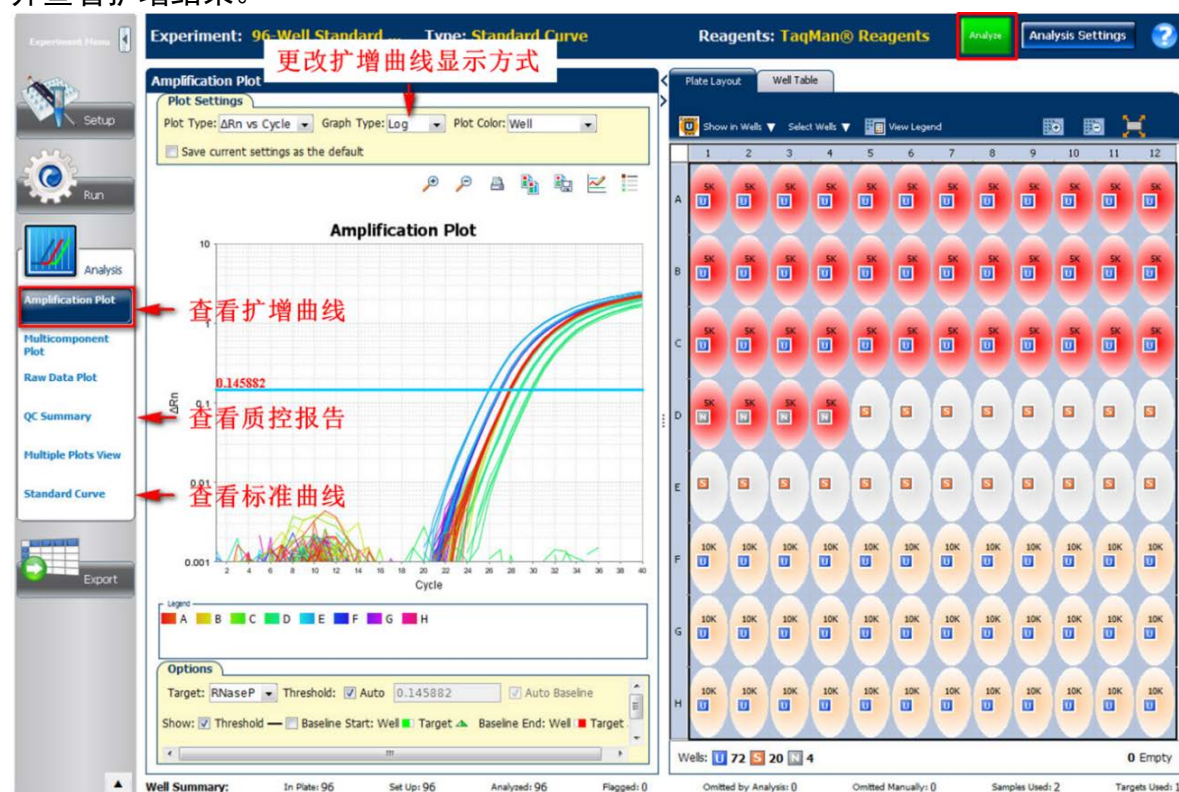
5. 选择“Setup”下的“Run Method”界面，编辑运行条件。



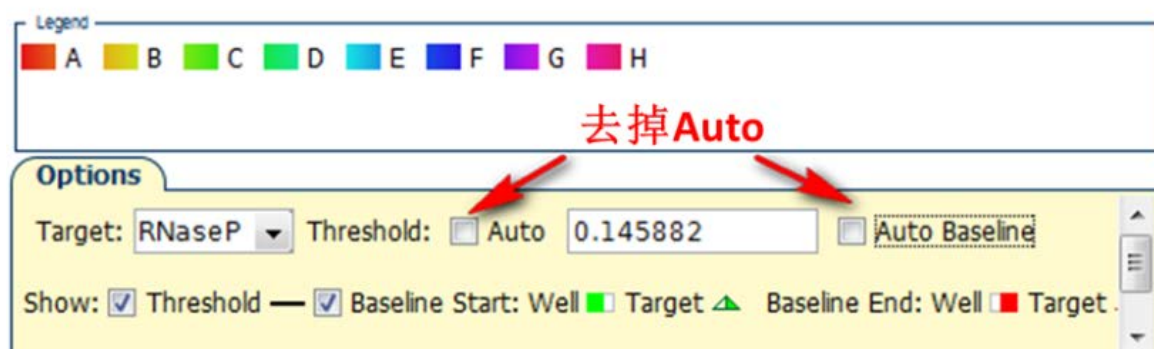
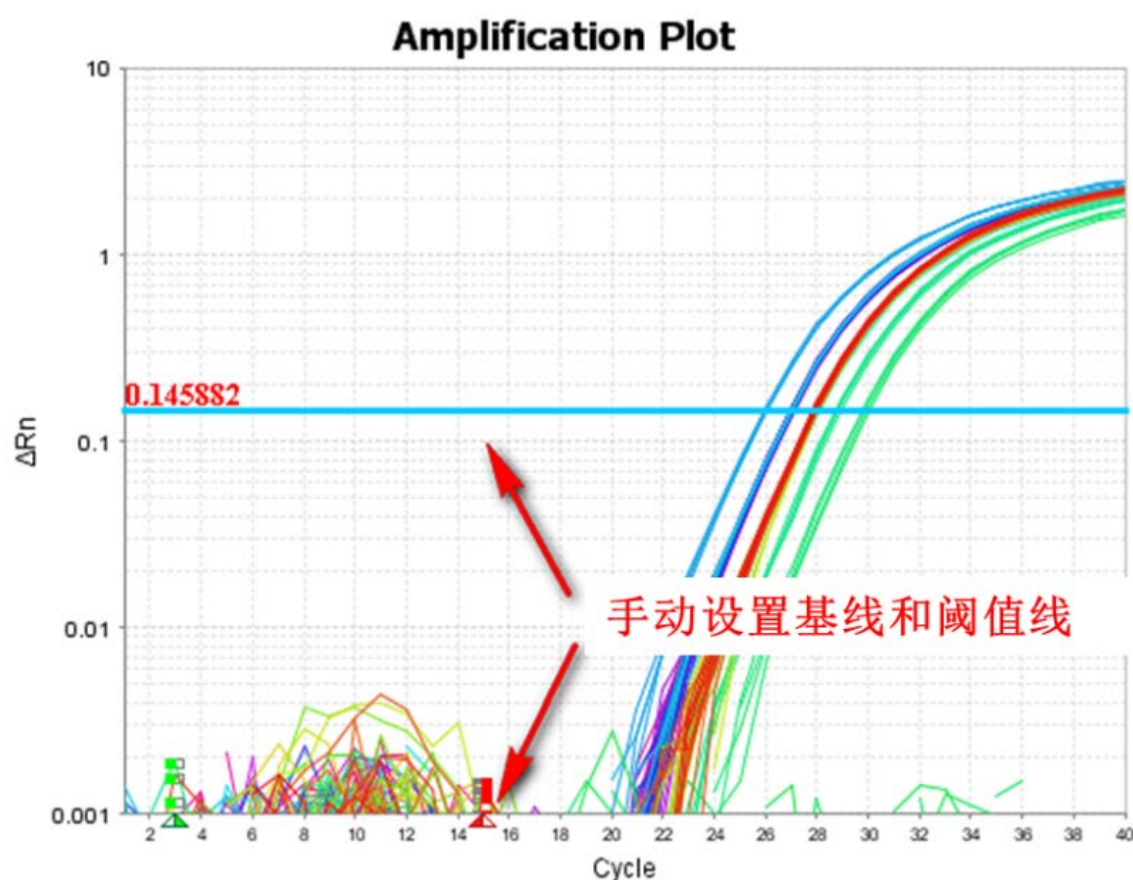
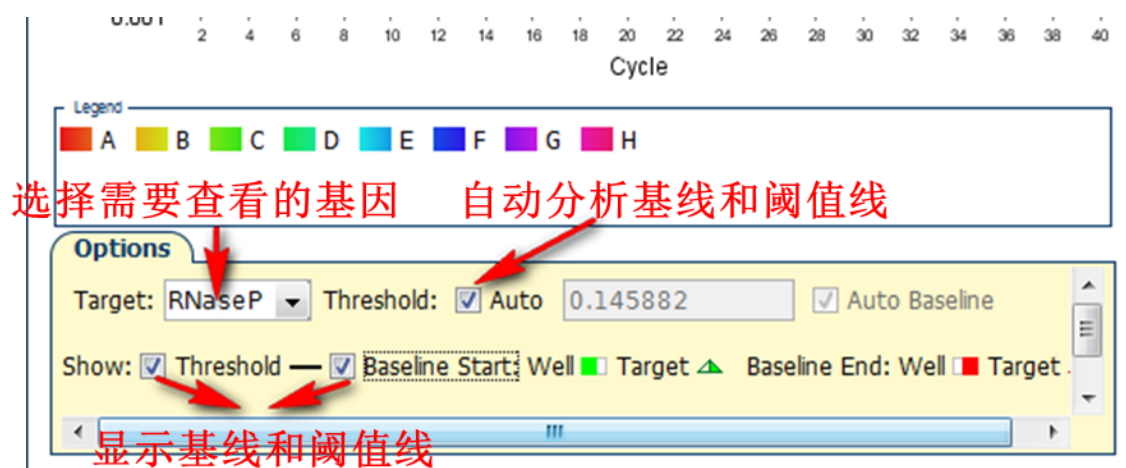
6. 选择“Run”下的“Amplification Plot”界面，点击“Save As”保存文件，然后点击“Start Run”开始运行。



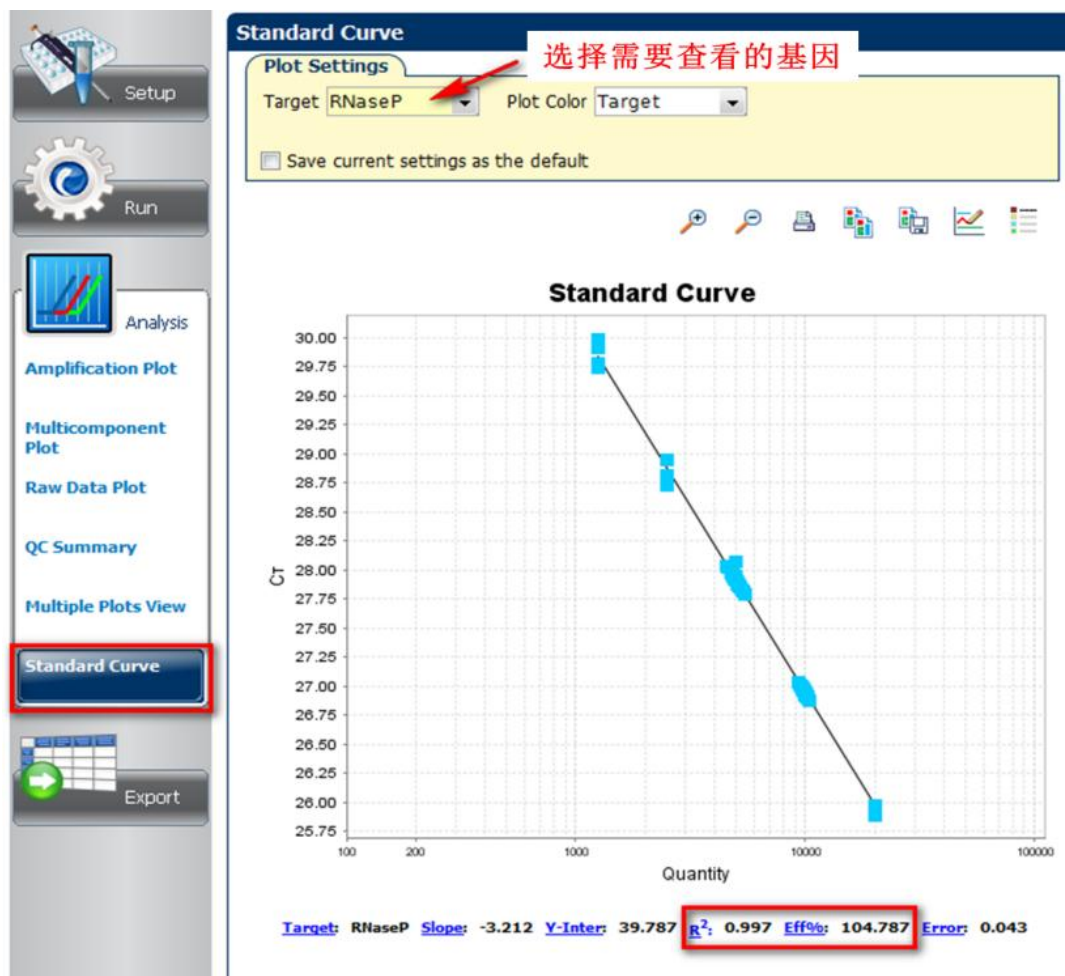
7. 实验运行结束后，进入“Analysis”界面，点击右上角的“Analyze”按钮分析数据并查看扩增结果。



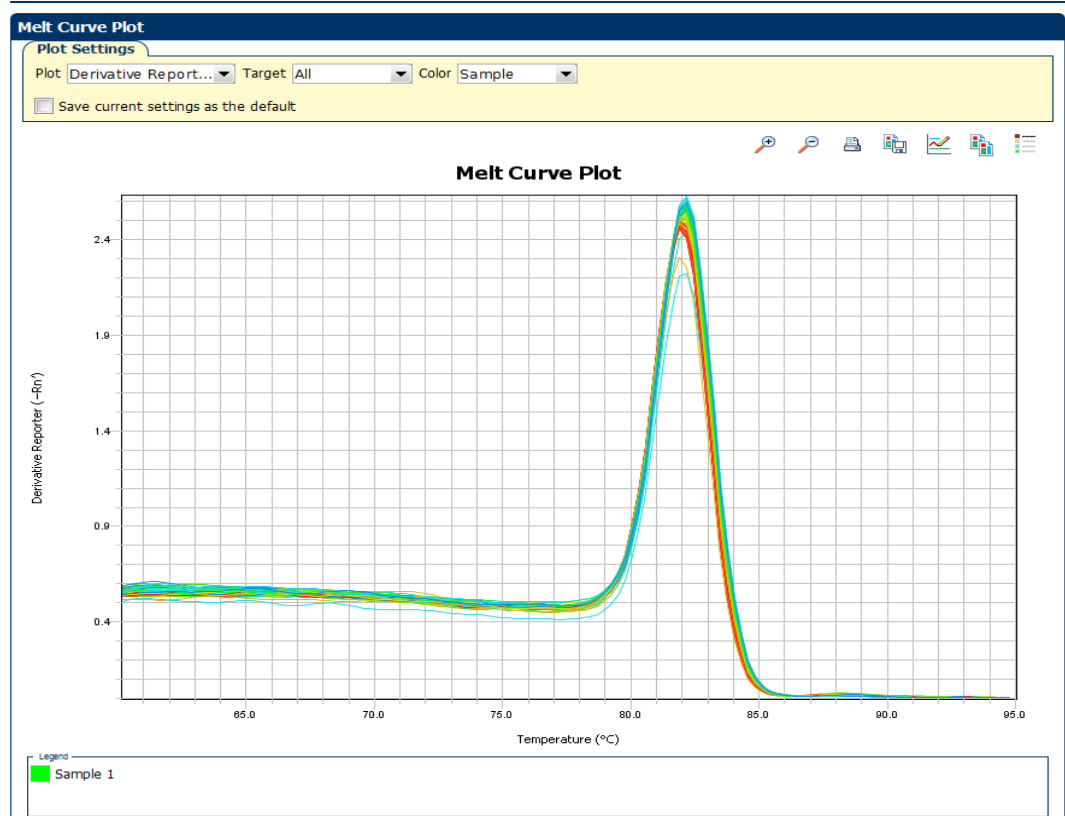
- 7.1 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和 阈值线。查看阈值线或基线：选择需要查看的基因，将show后“Threshold”及“Baseline”选择打勾。扩增曲线图上会出现相应的基线范围和阈值线。若需要手动设置基线和阈值线，则可去掉“Auto”的勾选，进行手动调节。



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



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



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

数字1 代表有一种情况，2 代表有两种情况，以此类推。详细信息及解决方案可以在“Flag Details”中查看。

Experiment: 96-Well Standard ... Type: Standard Curve Reagents: TaqMan® Reagents

QC Summary

Flag Details

Flag	Description	Frequ...	Wells
AMPNC	Amplification in negative control	1	C12
BADROX	Bad passive reference signal	0	
OFFSCALE	Fluorescence is offscale	0	
CRTAMPL...	High relative amplitude	0	
CRTNOISE	High relative noise	0	
HIGHSD	High standard deviation in replicate g...	0	
LOCONF	Low Cq confidence	0	
SDRMIN	Minimum Delta Rn	0	
NOAMP	No amplification	0	
NOISE	Noise higher than others in plate	0	
SPIKE	Noise spikes	0	
NOSIGNAL	No signal in well	0	
OUTLIERG	Outlier in replicate group	0	
EXPFAIL	Exponential algorithm failed	0	
BLFAIL	Baseline algorithm failed	0	
THOLDFAIL	Thresholding algorithm failed	0	
CTFAIL	Ct algorithm failed	0	

Flag: AMPNC—Amplification in negative control
Flag Detail: A sequence amplified in a negative control reaction.
Flag Criteria: Cr < 35.0 点击查看解决方案
Flagged Wells: C12
[View AMPNC Troubleshooting Information](#)

8. 数据导出：在“Export”界面下根据需要导出数据。

Auto Export Format: QuantStudio12KFlex Export Data To: One File Open file(s) when export is complete

Export File Location: D:\Applied Biosystems\12K\experiments Browse Export File Name: Standard Curve Example_QuantStudio_export File Type: (*.txt)

选择保存位置

选择需要导出的数据

Export

Sample Setup Raw Data Amplification Multicomponent Results

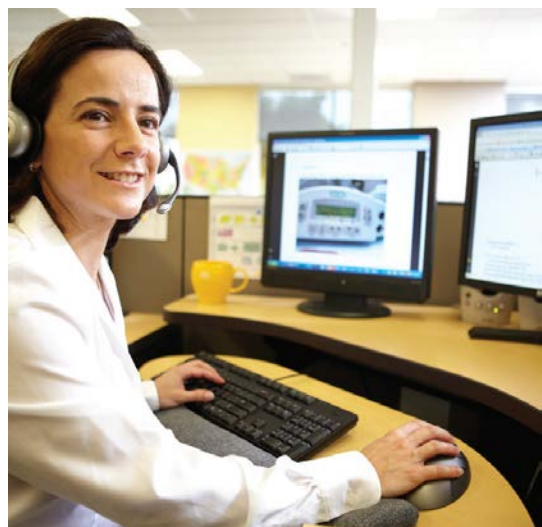
Skip Empty Wells Skip Omitted Wells

Select Content

- ☒ All Fields
- ☒ Well
- ☒ Well Position
- ☒ Omit
- ☒ Sample Name
- ☒ Target Name
- ☒ Task
- ☒ Reporter
- ☒ Quencher
- ☒ CT
- ☒ Ct Mean
- ☒ Ct SD
- ☒ Quantity
- ☒ Quantity Mean
- ☒ Quantity SD
- ☒ Automatic Ct Threshold
- ☒ Ct Threshold
- ☒ Automatic Baseline

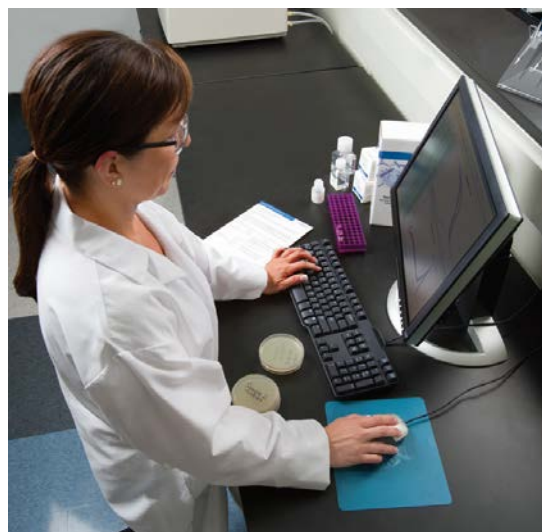
Well	Well Position	Omit	Sample Name	Target Name	Task	Reporter	Qu
1 A1			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
2 A2			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
3 A3			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
4 A4			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
5 A5			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
6 A6			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
7 A7			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
8 A8			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
9 A9			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
10 A10			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
11 A11			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
12 A12			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
13 B1			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
14 B2			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
15 B3			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
16 B4			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
17 B5			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
18 B6			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
19 B7			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
20 B8			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
21 B9			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
22 B10			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
23 B11			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
24 B12			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
25 C1			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
26 C2			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
27 C3			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
28 C4			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
29 C5			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
30 C6			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC
31 C7			SK	RNaseP	UNKNOWN	FAM	NFC

Start Export Save Export Set As Load Export Set Delete Export Set



遍布全球的技术支持服务

我们在全球 60 多个国家和地区设立了办事处，拥有备受赞誉的技术支持团队以及现场服务工程师。您可以在我们的官方网站上订购产品、下载技术文件，以及寻找问题答案。也非常欢迎您通过电子邮件、电话、以及微信平台和我们联系获取信息。



Thermo Fisher Scientific

官方网站: <http://www.thermofisher.com>

免费热线电话: 8008208982/4008208982

技术支持邮箱: cntechsupport@lifetech.com

微信公众号: 赛默飞世尔科技生命科学服务部

