



Applied Biosystems ViiA™ 7 实时荧光定量 PCR 仪 V1.X 绝对定量简易操作流程

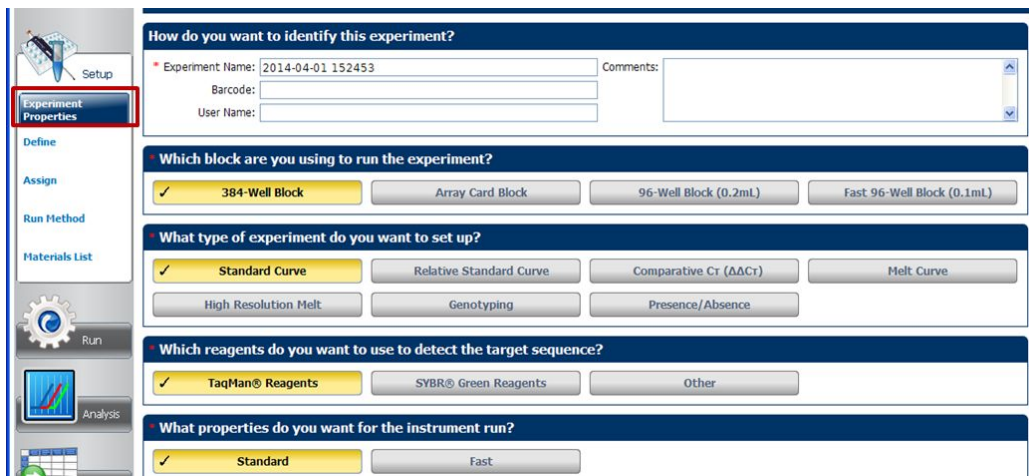


1. 双击桌面图标 ，或从 Start > All programs > Applied

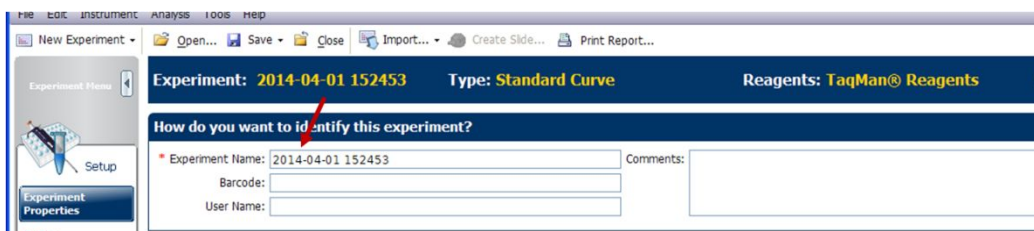
Biosystems > ViiA 7 Software > ViiA 7 Software v1.X 开启软件。进入主界面后选择“Experiment Setup”。



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。

Which block are you using to run the experiment?

384-Well Block Array Card Block 96-Well Block (0.2mL) Fast 96-Well Block (0.1mL)

2.3 选择绝对定量实验类型，“Standard Curve”。

What type of experiment do you want to set up?

Standard Curve Relative Standard Curve Comparative Ct ($\Delta\Delta Ct$) Melt Curve

High Resolution Melt Genotyping Presence/Absence

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”。

Which reagents do you want to use to detect the target sequence?

TaqMan® Reagents SYBR® Green Reagents Other

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

What properties do you want for the instrument run?

Standard Fast

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

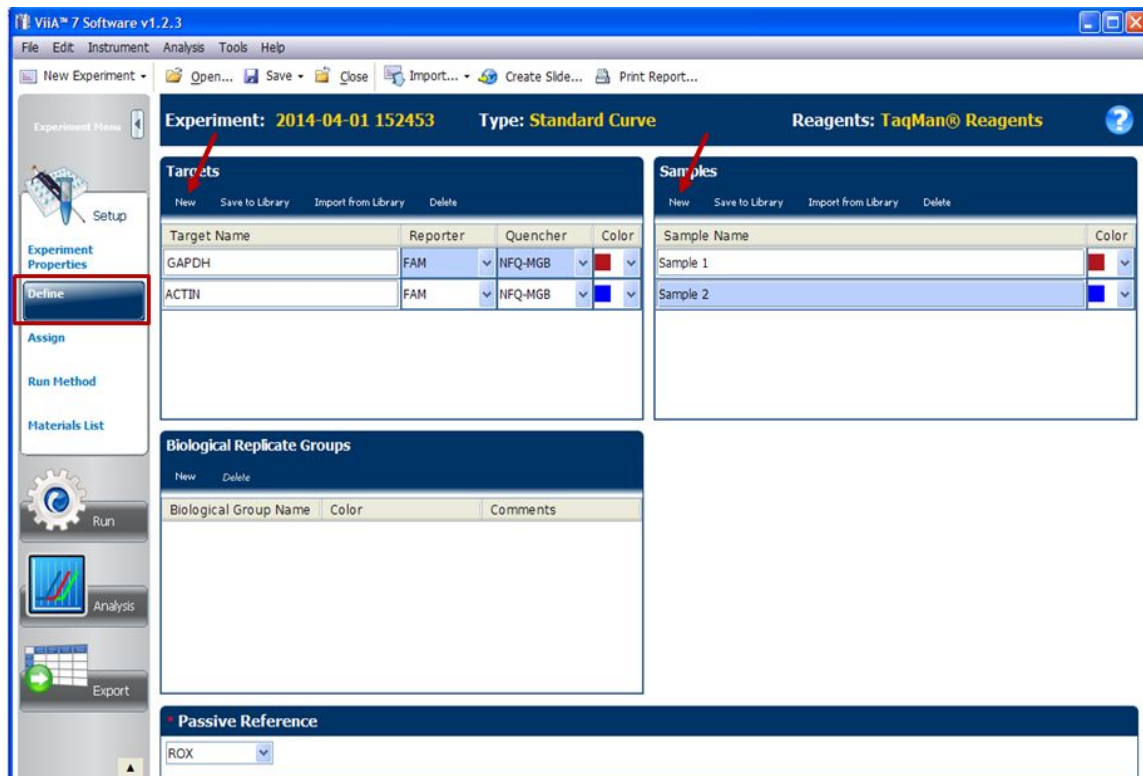
Experiment: 2014-04-01 152453 Type: Standard Curve Reagents: TaqMan® Reagents

Targets			
Target Name	Reporter	Quencher	Color
GAPDH	FAM	NFQ-MGB	Red
ACTIN	FAM	NFQ-MGB	Blue

Samples	
Sample Name	Color
Sample 1	Red
Sample 2	Blue

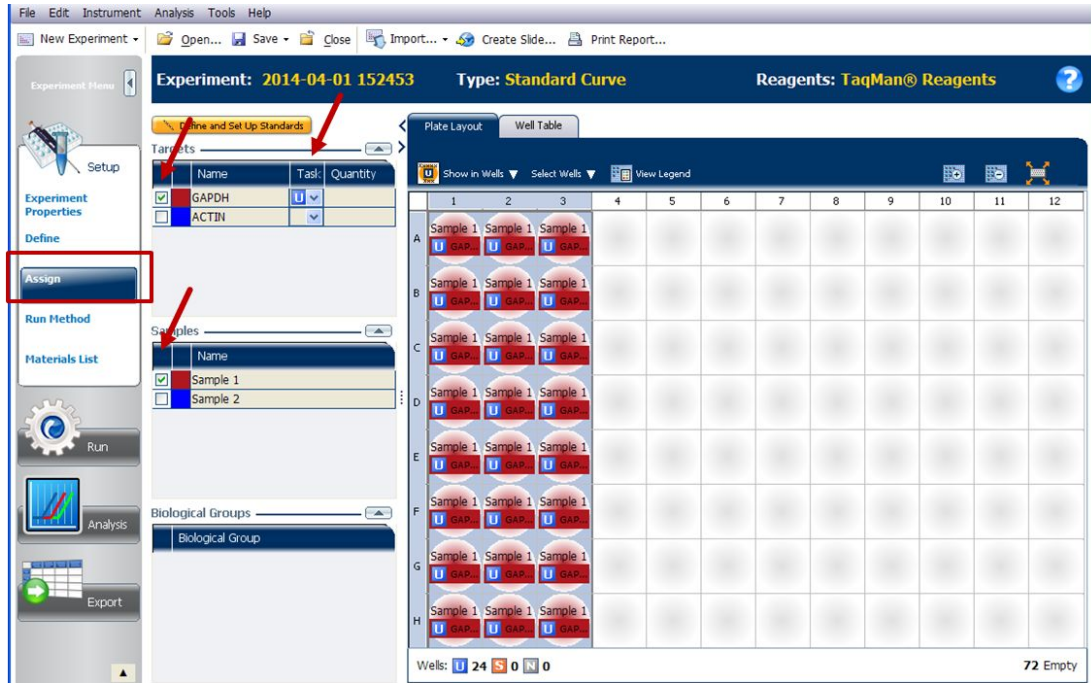
3.1 在“Targets”下点击“New”，添加待测基因。在“Target Name”中编辑基因名称；“Reporter”和“Quencher”中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于“Quencher”的选择，如果是 MGB 探针，请选择 NFQ-MGB；如果是 TAMRA 探针，请选择 TAMRA；如果是其他形式的非荧光淬灭基团则选择“None”。

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

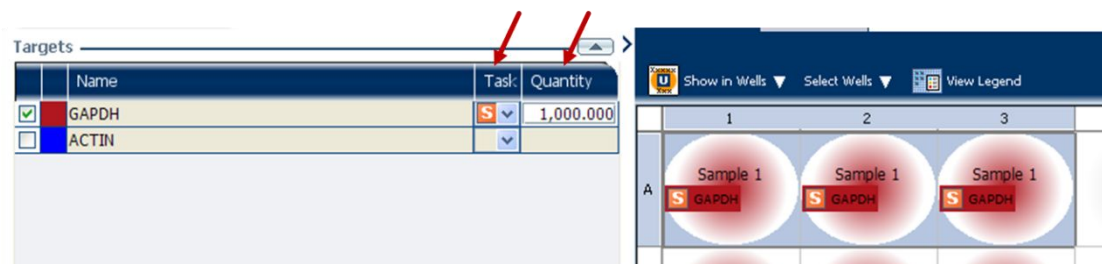


4. 选择“Setup”下的“Assign”界面，编辑样品板。

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)。



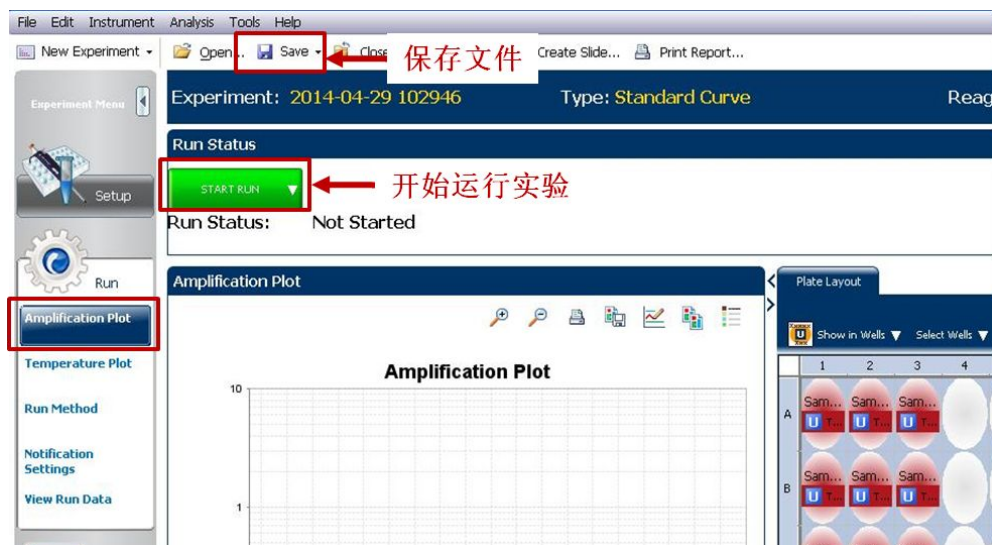
4.2 设置标准曲线：利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔 (一般情况下，每个梯度设置至少三个副孔)，而后勾选左侧的基因，在“Task”选项中选择 S，并在“Quantity”中输入标准品量。重复上述操作，完成标准曲线其他浓度点的设置 (建议设置至少 5 个梯度)。



5. 选择“Setup”下的“Run Method”界面，编辑运行条件。



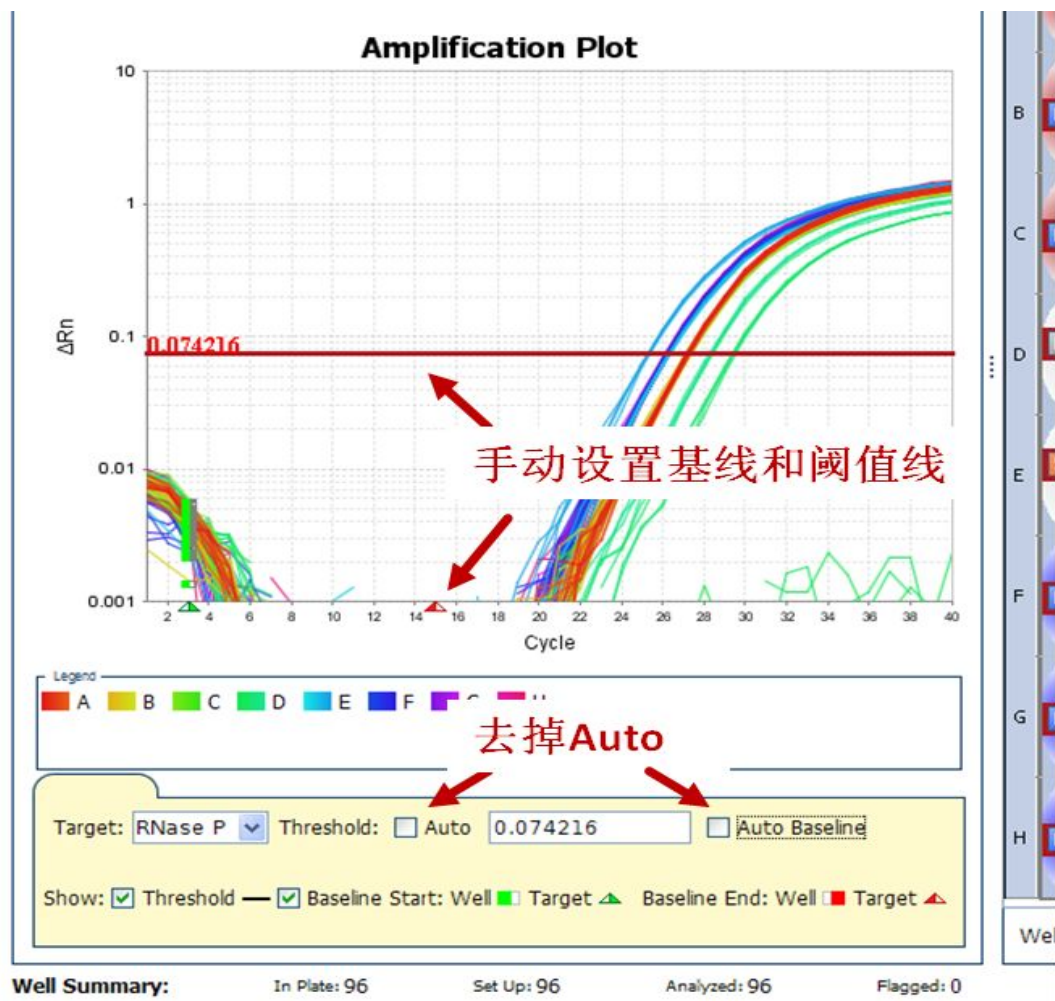
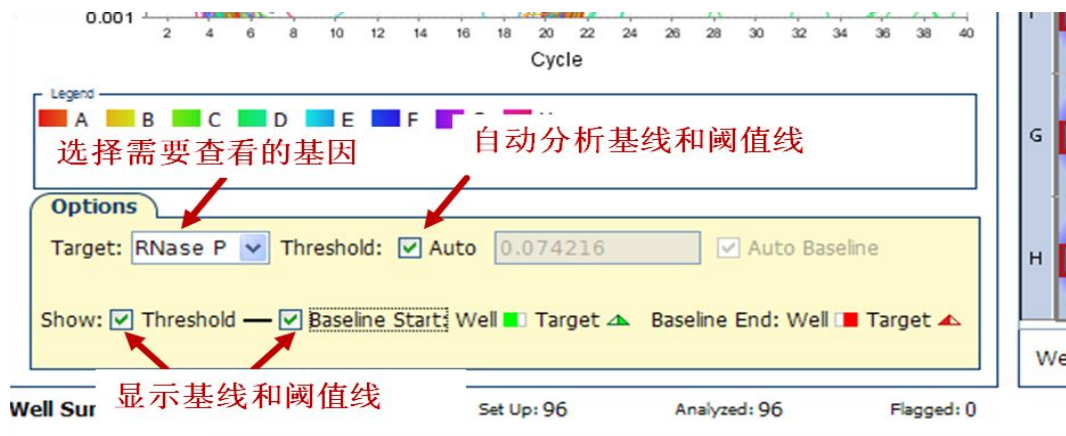
6. 选择“Run”下的“Amplification Plot”界面，点击“Save As”保存文件，点击“Start Run”开始运行。



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。

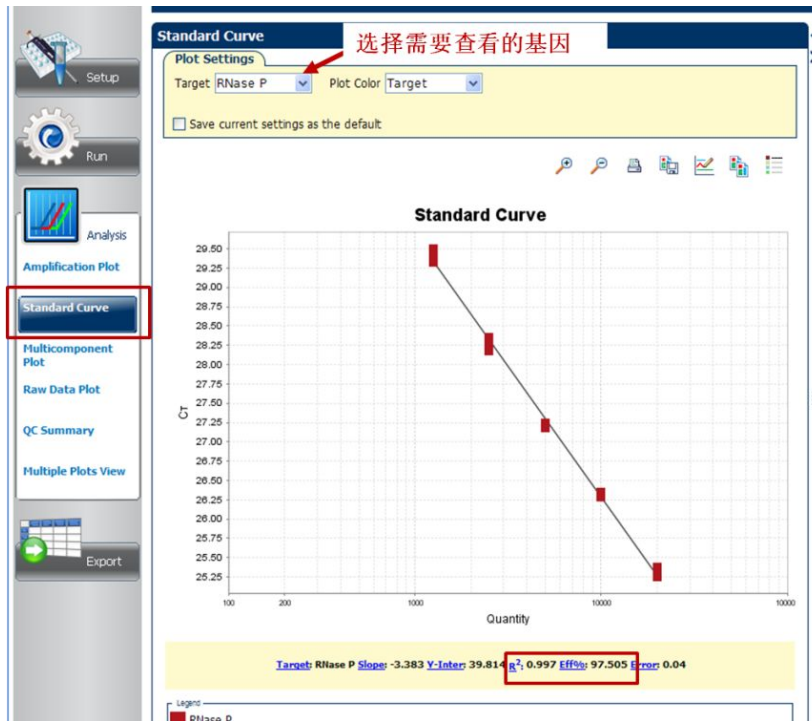


7.1 设置基线和阈值线：软件默认使用“Auto”功能自动设定基线和阈值线。查看阈值线或基线：选择需要查看的基因，将 show 后的“Threshold”及“Baseline”选择打勾。扩增曲线图上会出现相应的基线范围和阈值线。若需要手动设置基线和阈值线，则可去掉“Auto”的勾选，进行手动调节。

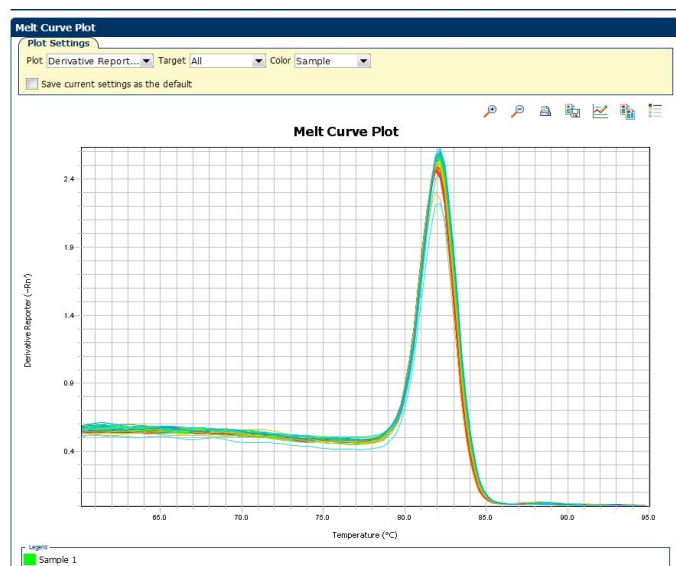


7.2 查看标准曲线：通过更改“Target”来选择查看的基因。Eff%代表扩

增效率。 R^2 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。

QC Summary

Flag	Description	Freq...	Wells
AMPHC	Amplification in negative control	3	H3, H6, H12
BADROX	Bad passive reference signal	0	
OFFSCALE	Fluorescence is offscale	0	
HIGHSD	High standard deviation in replicat...	12	A1, A2, A3, A...
NOAMP	No amplification	0	
NOISE	Noise higher than others in plate	1	H12
SPK	Noise spikes	1	H12
NOISIGNL	No signal in well	0	
OUTLIE...	Outlier in replicate group	0	
EXPFAIL	Exponential algorithm failed	0	
BLFAIL	Baseline algorithm failed	0	
THOLD...	Thresholding algorithm failed	48	A7, A8, A9, A...
CTFAIL	Cr algorithm failed	1	H9

Flag Details

Flag: NOISE—Noise higher than others in plate
Flag Detail: The well produced more noise in the amplification plot than ot
Flag Criteria: Relative noise > 4.0
Flagged Wells: H12
[View NOISE Troubleshooting Information](#)

Well Summary: In Plate: 96 Set Up: 96 Analyzed: 96 Flagged: 56

8. 数据导出：在 Export 界面下根据需要导出数据。

Export

Export File Location: D:\Applied Biosystems\ViA7 Softw
 Export File Name: ViA7 96-Well St

Sample Setup Raw Data Amplification Multicomponent Results

Select Content

Select	Well	Well Po...	Sample ...	Sample ...	Biogrou...	Biogrou...	Target ...
<input checked="" type="checkbox"/>	1	A1	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	2	A2	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	3	A3	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	4	A4	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	5	A5	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	6	A6	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	7	A7	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	8	A8	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	9	A9	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	10	A10	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	11	A11	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	12	A12	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	13	B1	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	14	B2	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	15	B3	5K	RGB(176,2...			RNase P
<input checked="" type="checkbox"/>	16	B4	5K	RGR(176,2...			RNase P

Start Export **Save Export Set As** **Load Export Set**

ThermoFisher
SCIENTIFIC



完善的技术支持服务

我们在60多个国家和地区设有办事处，拥有备受赞誉的技术支持团队及现场服务工程师，您也可以在我们的官方网站上订购产品、下载技术文件及寻找问题答案。

Life Sciences Solutions, Thermo Fisher Scientific

免费热线电话：8008208982/4008208982

技术支持邮箱：cntechsupport@lifetech.com

www.lifetechnologies.com

本手册谨供参考，请以英文原版说明书为准。

如有变化，恕不另行通知。

本手册最终解释权归Thermo Fisher所有。