The world leader in serving science

appliedbiosystems invitrogen iontorrent

Applied Biosystems™ QuantStudio™ 6 & 7 Pro
实时定量 PCR 仪

简明中文手册

第一部分：绝对定量

Design and Analysis Software V2.3.0

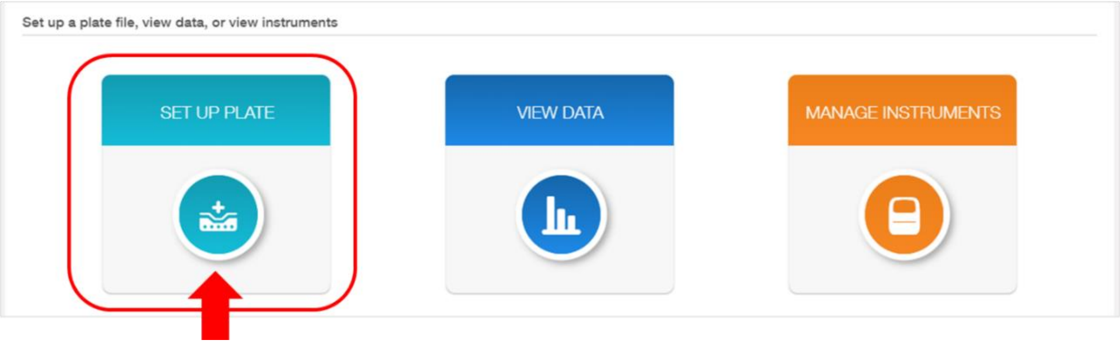
英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

Applied Biosystems™ QuantStudio™ 6 & 7 Pro 实时定量 PCR 仪

1. 双击桌面图标

开启 Design and Analysis Software v2。

2. 进入主界面以后，点击 “SET UP PLATE”。



3. 选择合适的模板：在左侧条框中选择以下过滤条件。

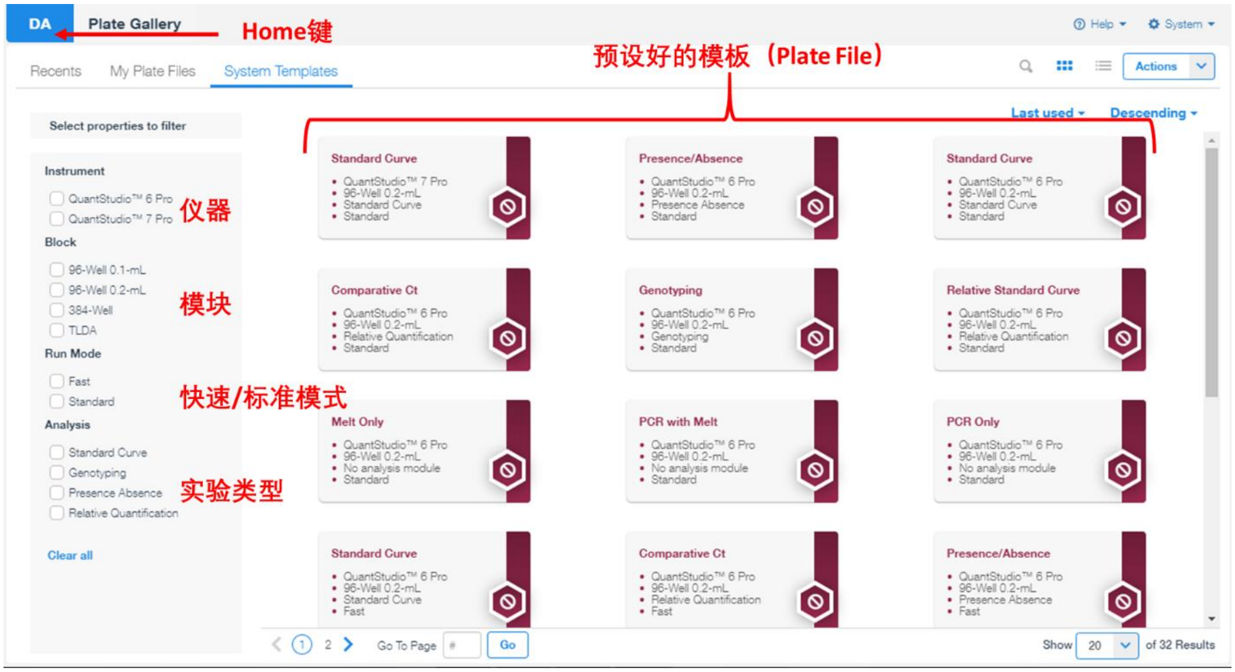
Instrument——使用的仪器

Block——加热模块的型号

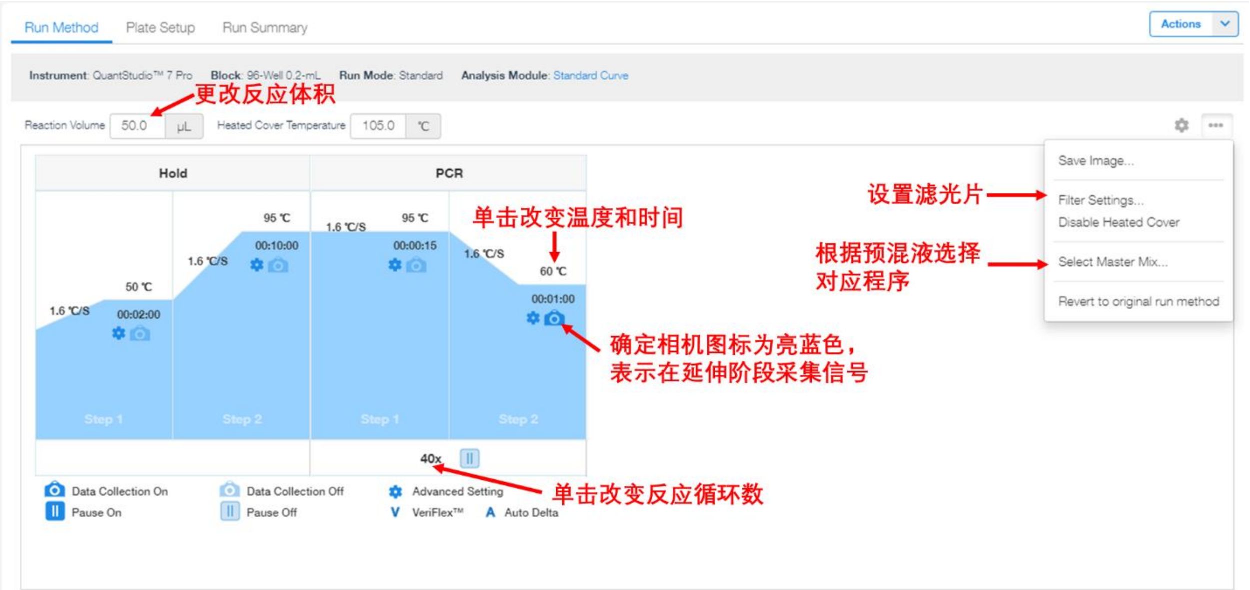
Run Mode——PCR 模式（快速或者标准）

Analysis——实验类型（标准曲线实验选择 Standard Curve）

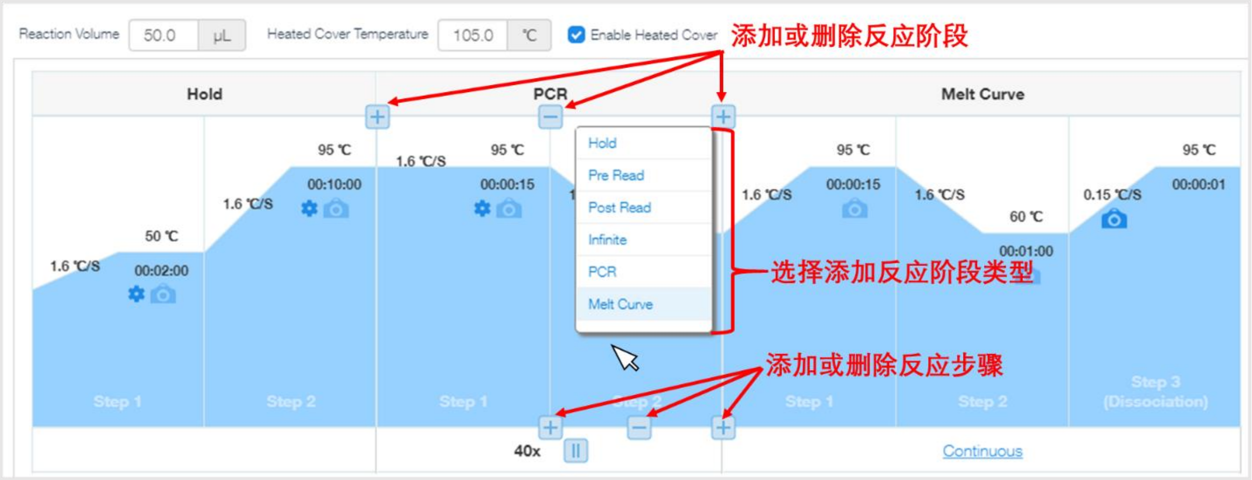
选择好后，会在右侧显示出对应模板，点击进入模板。如使用 SYBR Green 染料法，可选择“PCR with Melt”作为起始模板。



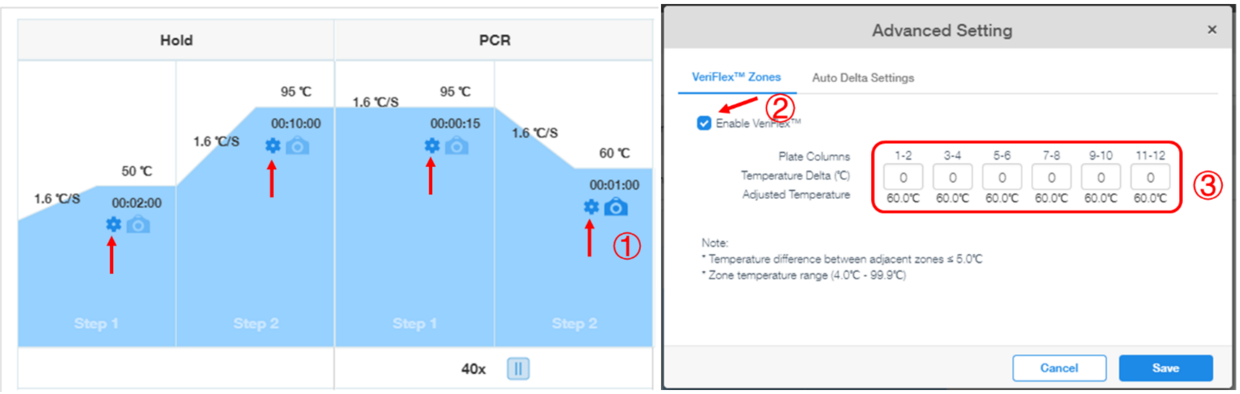
4. 进入 Run Method 界面，设定 PCR 条件：反应体积、退火温度、延伸时间和循环数等。



如需添加或删除反应阶段（Stage）和反应步骤（Step），可将鼠标放在对应位置，点击加减号进行更改。



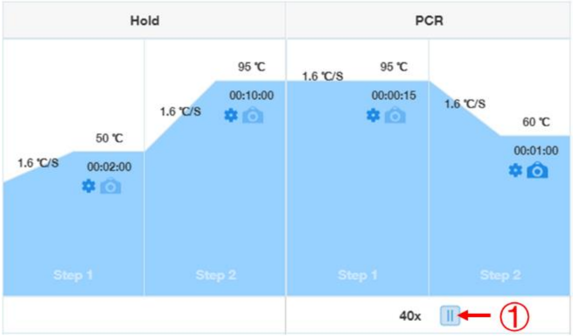
4.1 （可选）设置梯度反应温度：①单击小齿轮（Advanced Setting）；②勾选 Enable VeriFlex；③然后更改 Block 上相应区域的反应温度，相邻区域温度差异不能超过 5℃ 。

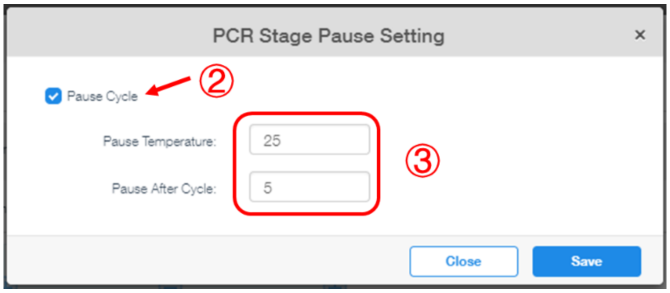


注：梯度反应温度设置仅限于96孔加热模块。上图为QuantStudio 7 Pro示意图，可设置6个梯度反应温度；QuantStudio 6 Pro 可设置3个梯度反应温度。

4.2 （可选）设置暂停程序：点击图标①，勾选②Pause Cycle，③设置暂停后的温度（Pausing Temperature，范围：4~99.9°C）和暂停前的反应循环数（Pause After Cycle）。

注意：反应板在反应过程中温度较高，为防止烫伤，建议将暂停后温度设定在室温，并等待反应板温度下降后将其取出。



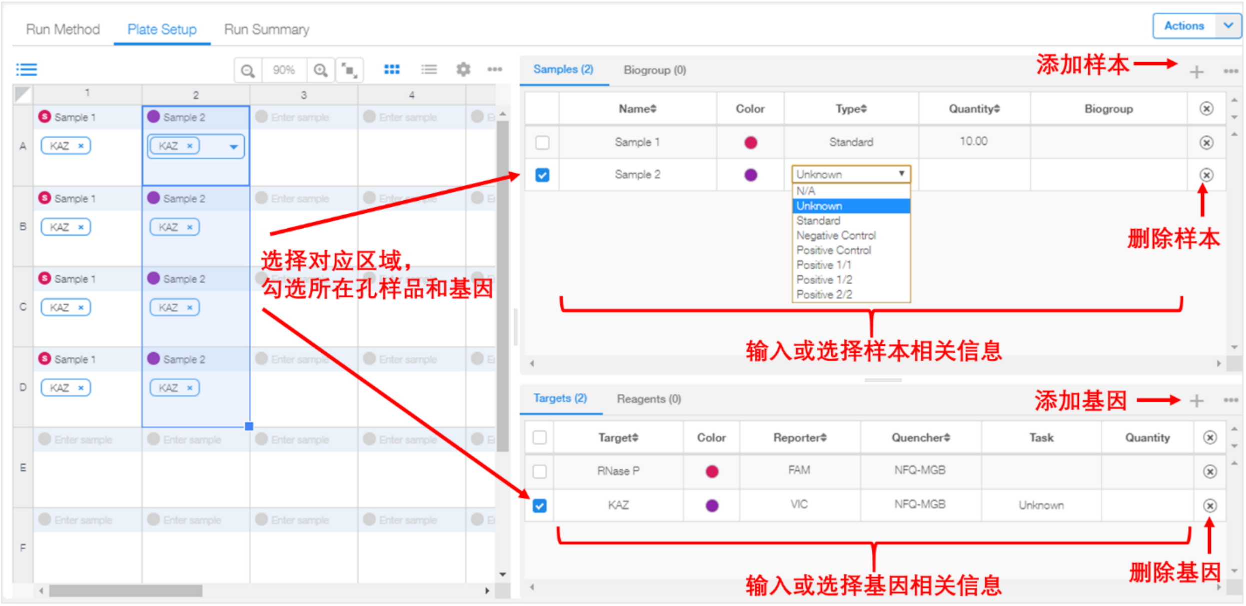


5. 进入 Plate Setup 界面，进行反应板设置。

5.1 输入样本名（Sample）和基因名（Target），有以下三种方式。

A. 添加&分配方法：

在右侧样本信息栏（Samples）内点击 + 添加新的样本：输入样本名称（Name）、样本扩增曲线的颜色（Color）、样本类型（Type）和生物学分组（Biological Group），如果是标准品，输入标准品浓度（Quantity）。未使用的样本点击 ⊗ 去除。标准曲线实验常用样本类型：Standard（标准品）、Unknown（待测的未知样本）和 Negative Control（阴性对照）。



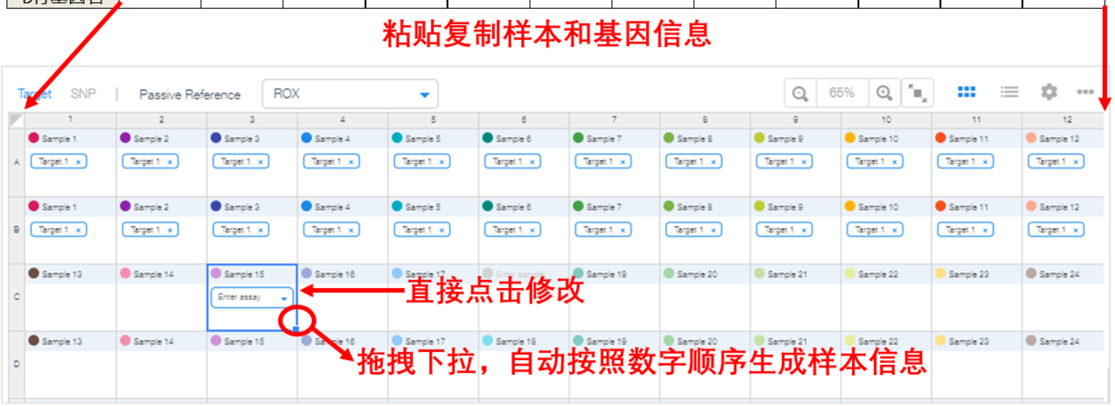
在右侧基因信息栏（Targets）内点击 + 添加新的基因：输入基因名称（Target）、该基因扩增曲线的颜色（Color）、该基因探针的报告荧光基团（Reporter）和淬灭基团（Quencher），如果使用的是 SYBR Green 染料，或者淬灭基团是其他形式的非荧光淬灭基团（如 BHQ）在 Quencher 处选择 None。

添加好后在左侧 96 孔板中进行样品板的排布。利用鼠标单选或拖拽以选择反应孔，然后勾选右侧的样本和基因前 ☑，完成所有反应孔的样本和基因信息排布。

B. Excel 形式输入样本和基因信息：

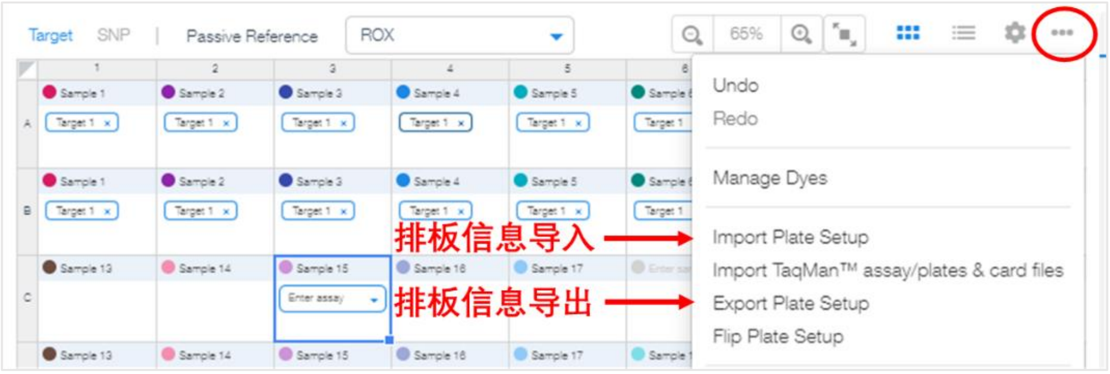
在 Excel 表格上对应 96 孔板的位置输入样本名和基因名，单数行为样本名，双数行为基因名。如果不输入基因名称，则空出双数行。然后将对应孔信息直接通过复制和粘贴方式拷贝到 DA2 软件的 96 孔板位置，完成设定。此外，也可直接点击修改 96 孔板上的样本名和基因信息。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A行样本名	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12
A行基因名	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1
B行样本名	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12
B行基因名	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1	Target 1
C行样本名	Sample 13	Sample 14	Sample 15	Sample 16	Sample 17	Sample 18	Sample 19	Sample 20	Sample 21	Sample 22	Sample 23	Sample 24
C行基因名												
D行样本名	Sample 13	Sample 14	Sample 15	Sample 16	Sample 17	Sample 18	Sample 19	Sample 20	Sample 21	Sample 22	Sample 23	Sample 24
D行基因名												



C. 通过 CSV/ TXT 文件导入样本和基因信息：

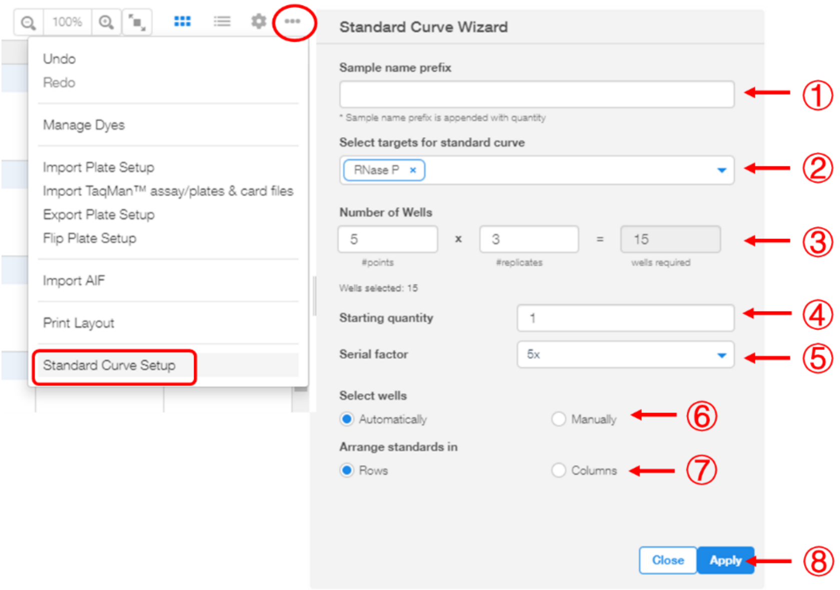
点击 96 孔板右上角 ••• 在下拉菜单中选择“Export Plate Setup”，将排版信息以 csv 或 txt 格式导出，将新的样本信息输入该 csv 或 txt 文件内，再通过“Import Plate Setup”直接导入样本和基因，完成快速设定。



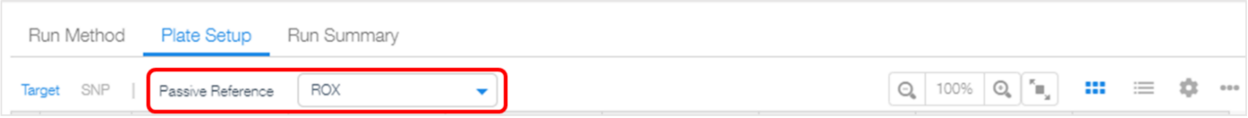
5.2 设置标准品梯度：

点击 96 孔板右上角 ••• ，在下拉菜单中选择“Standard Curve Setup”，进入右侧 Standard Curve Wizard 界面，输入或选择如下信息：

①标准品名称；②基因名；③标准品梯度稀释浓度个数（建议做五个梯度）和重复数（建议做三重复）；④起始标准品浓度（建议从低到高浓度加入标准品）；⑤梯度稀释倍数（如，浓度以 5 倍递增，选择 5 x）；⑥选择标准品在 96 孔板上的位置是自动生成（Automatically）还是自己手动选择（Manually，需要在 96 孔板上选择标准品所在孔）；⑦选择标准品是按照行（Rows）还是列（Columns）排布；⑧ 点击 Apply，完成标准品设定。



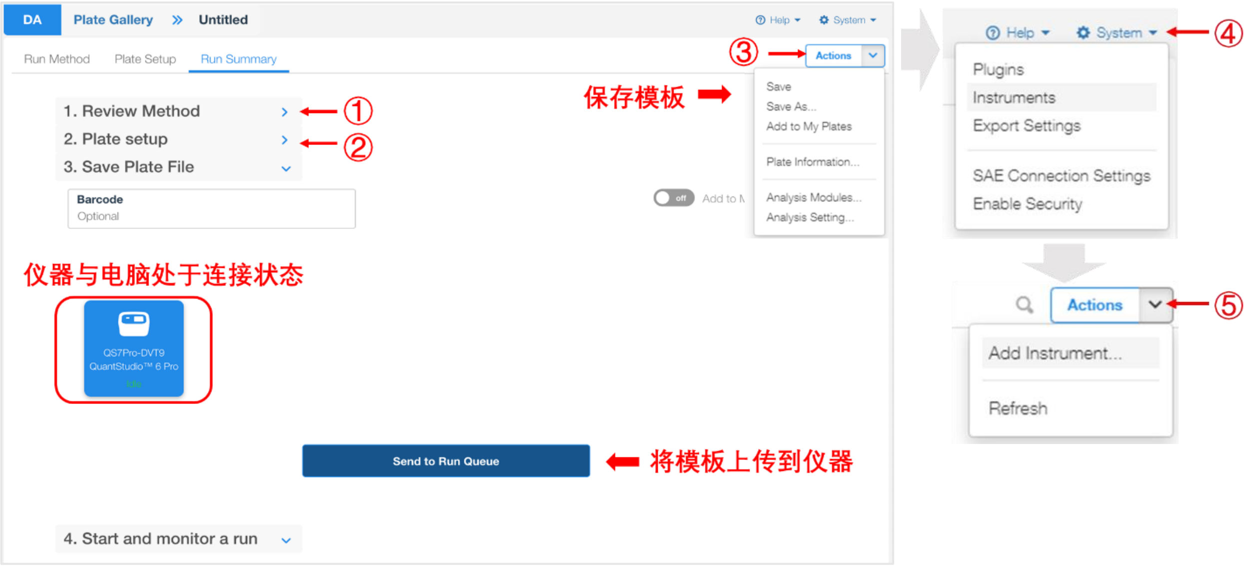
5.3 输入参比荧光（Passive Reference）信息：在 Plate Setup 界面左上角，软件默认选择为 ROX，如果试剂中不含有参比荧光，在下拉菜单中选择 None；如果使用的其他参比荧光，选择对应的荧光基团种类。



5.4 输入试剂信息（可选）：添加使用试剂信息，如试剂的名称（Name）、类型（Type）、货号（Part Number）、批次号（Lot Number）、过期日期（Expiration Date）。

6. 在 Run Summary 中查看设置：①PCR 程序（Review Method）和②96 孔板样本和基因排布（Plate setup）。确认无误后点击③右上角 Actions，进行保存（Save 或者 Save As），输入名称，设定好保存路径，保存模板。当仪器与电脑已经处于连接状态，软件上显示仪器信息，点击 Send to Run Queue，完成后点击 Done，完成模板上传。

如果显示“No Instrument is available”，检查仪器与电脑在是否已经连接，然后点击④右上角 System，进入 Instruments，再通过⑤右上角 Actions，添加仪器（Add Instrument）或进行刷新（Refresh）。

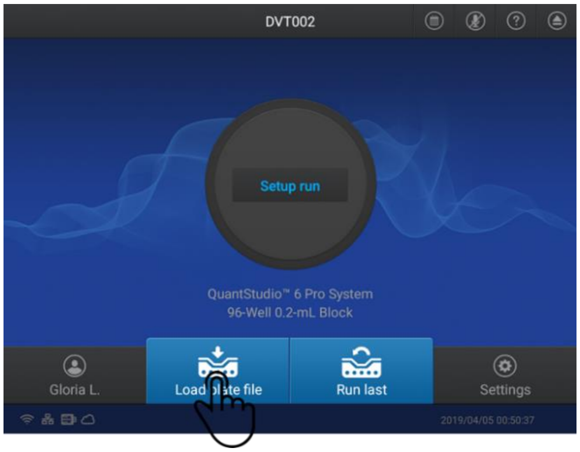


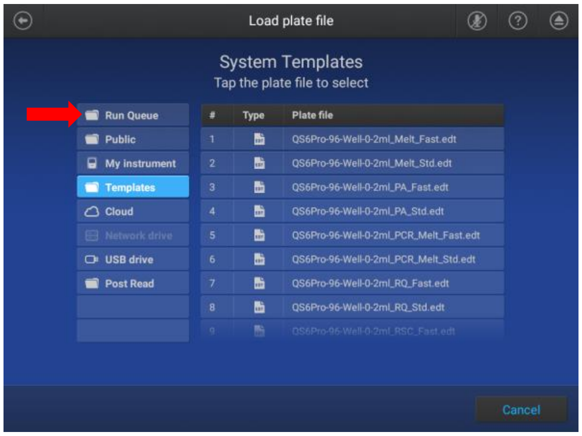
7. 开始实验：

到仪器端，将 96 孔板或者八连管按照设定的排布放入仪器。

7.1 在屏幕上点击“Load Plate File”（左下图所示）；

7.2 选择“Run Queue”文件夹（右下图所示），选择上传到仪器上的模板。



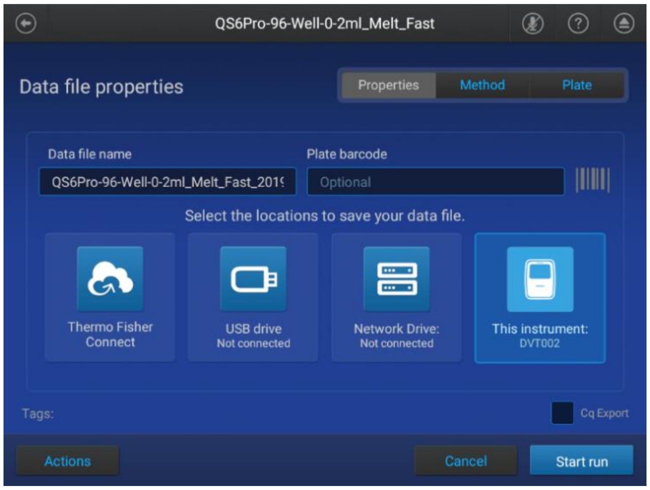


7.3 在 Properties 下选择保存路径，所有实验结果会自动保存在仪器上，其他可选：

A. Thermo Fisher Connect：通过网络传输到 ThermoFisher 云端（仪器需连接网络，并使用云端账户登录仪器）；

B. USB Drive：可将 U 盘插在仪器上，选择该选项，结果将同步保存在 U 盘；

C. Network Drive：需要提前在与仪器相连的电脑上设置共享文件夹，选择该选项，结果将传输到电脑的指定文件夹。



7.4 设置结束后，点击 Start run，开始实验。

8. 监控实验运行状况

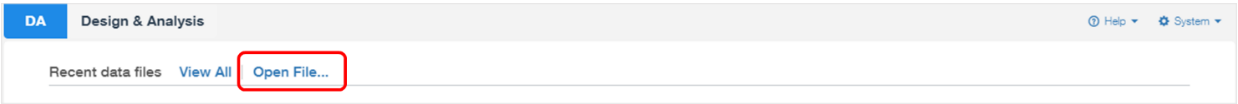
8.1 可通过仪器触屏监控实验运行情况，通过左右滑动，获取不同信息。

8.2 可在 DA2 软件上监控实验运行情况（暂时只能看到实验剩余时间，无法看到实时扩增曲线）。

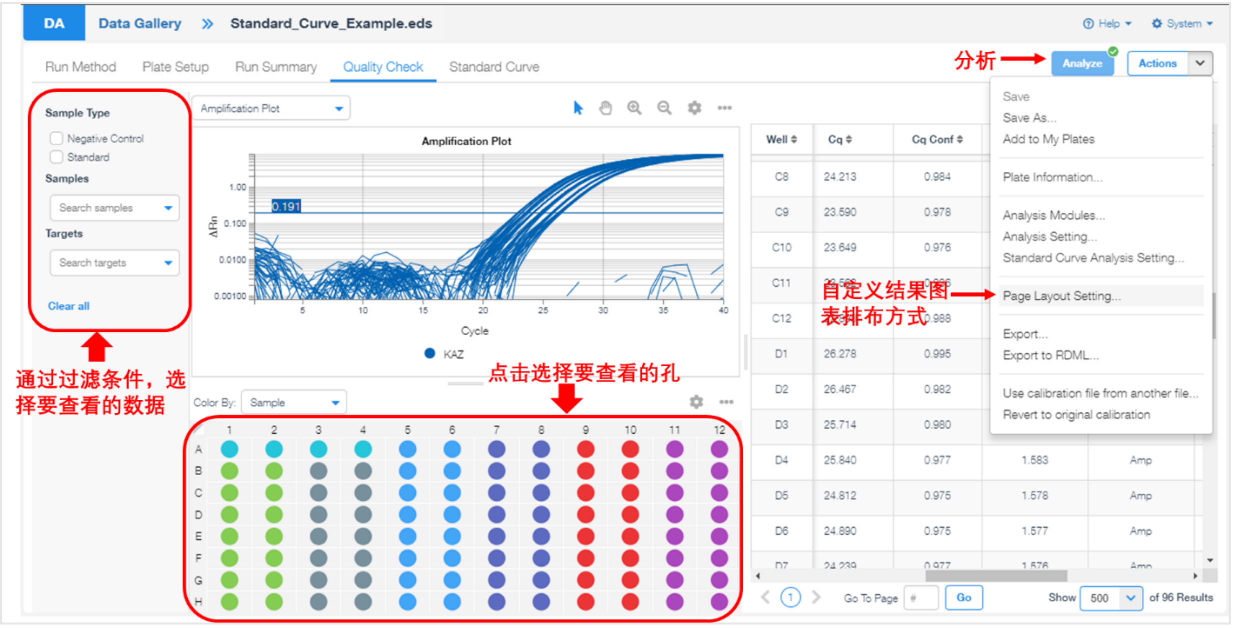
9. 数据传输和下载：

实验结束后屏幕上显示"Run Completed"和实验结果传输位置，点击 Done。如果需要下载之前实验的数据，可回到仪器主界面，点击 Settings→Run History，选择要导出的结果文件，进行导出。

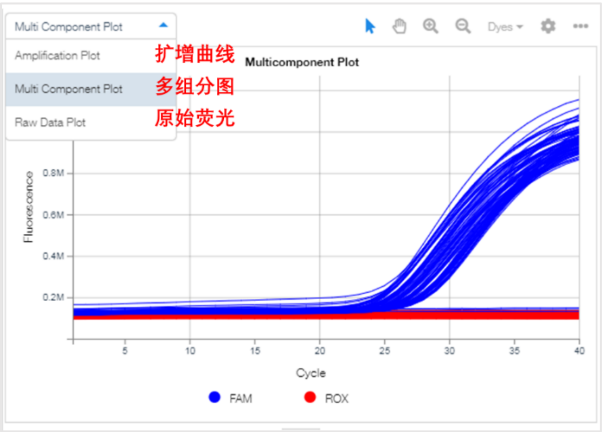
10. 在 DA2 软件上查看和分析结果，通过 Open File 打开待分析的.eds 文件。

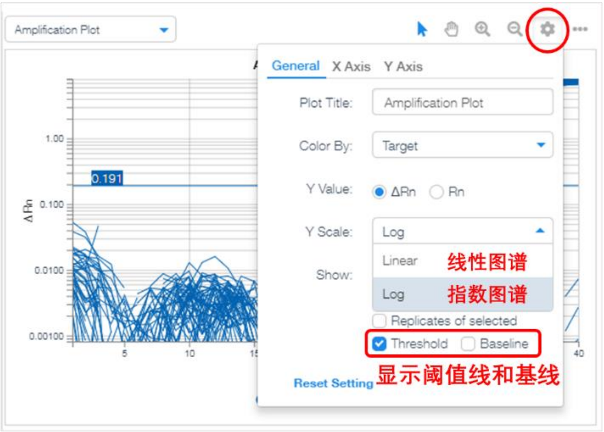


10.1 在 Quality Check 中查看数据，点击 Analyze 进行分析。可在左侧过滤条件中选择要查看的结果，或者直接在 96 孔板上选择特定样品孔。不同的图表排布方式可通过选择 Activities→Page Layout Setting 进行自定义。

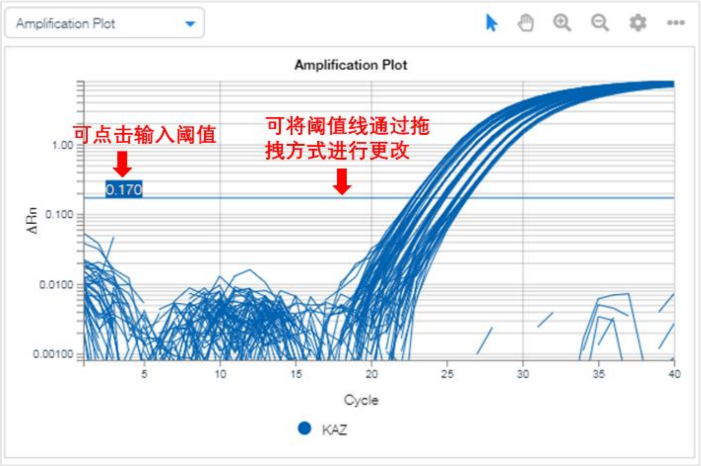


可选择不同扩增曲线图的展现方式：

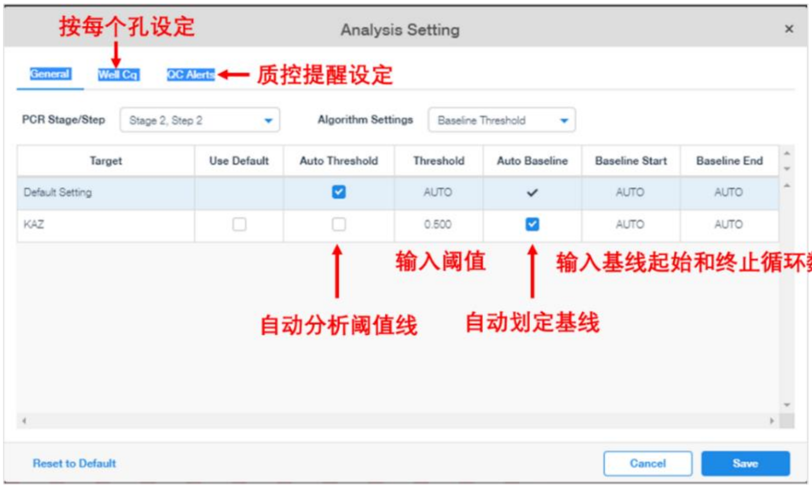




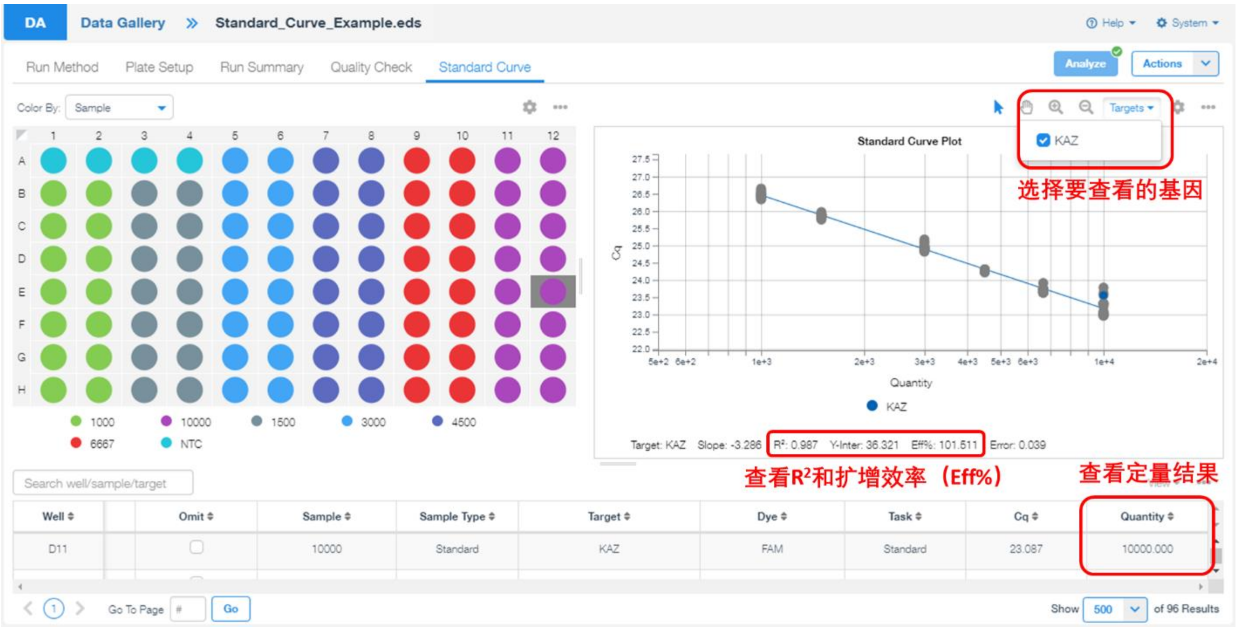
更改阈值：自动分析得到的阈值和阈值线展示在扩增曲线上，可通过输入数值或者拖拽阈值线的方式更改阈值，确保阈值线通过扩增曲线的指数增长期。



或通过右上角 Actions→Analysis Setting 进行阈值线的更改。建议对不同的基因进行分别设置。此外，可在 Well Cq 中对每条扩增曲线的基线起始和终止循环数进行单独设定。

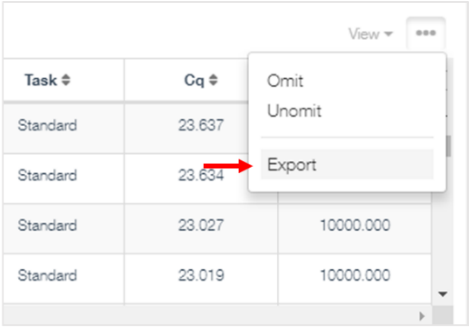


10.2 查看标准曲线结果：在 Standard Curve 中查看分析结果。

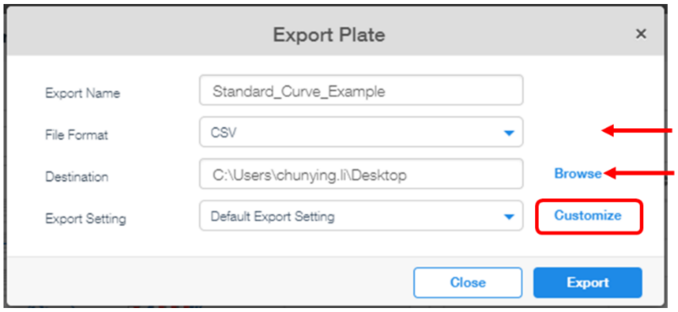


注意：Eff%代表扩增效率，建议在90%-110%之间； R^2 值代表标准曲线的数据点与回归曲线的接近程度，建议在0.99 以上。

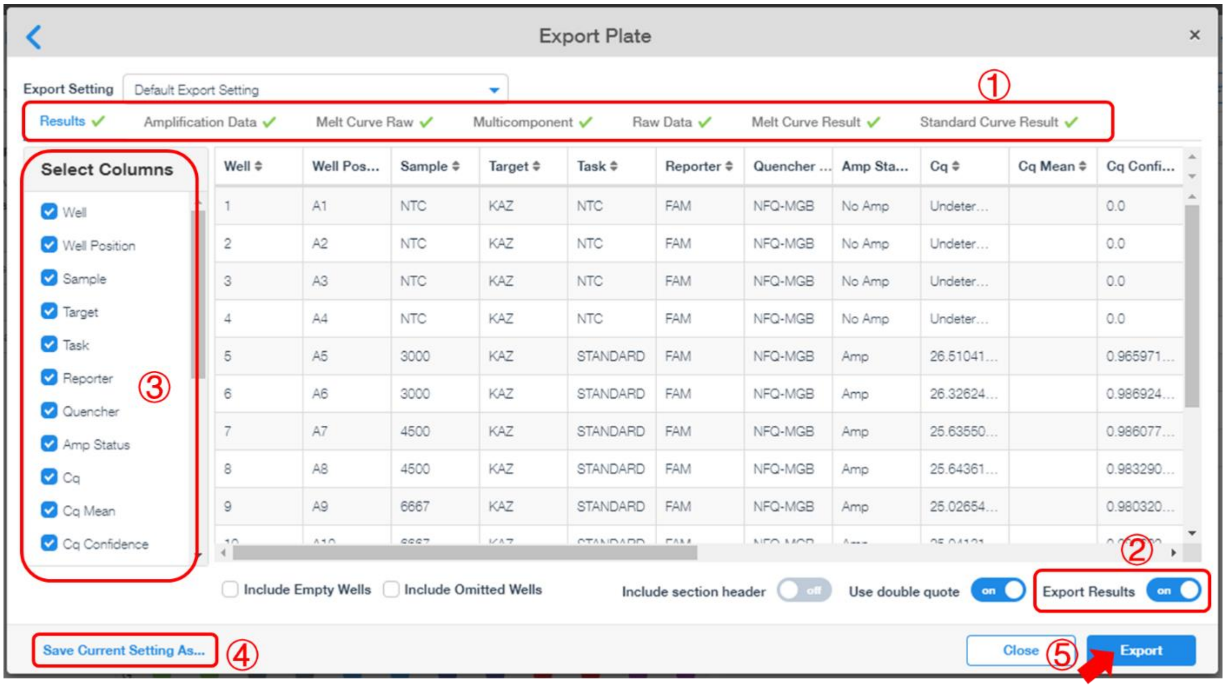
11. 结果导出：可将实验结果以图片和Excel表格的形式导出。在需要导出的部分，点击该图表右上角 ，选择“Save Image”或者“Export”进行结果导出。



也可将多个Excel表格同时导出。通过Actions进入到Export，点击Customize，设定参数。

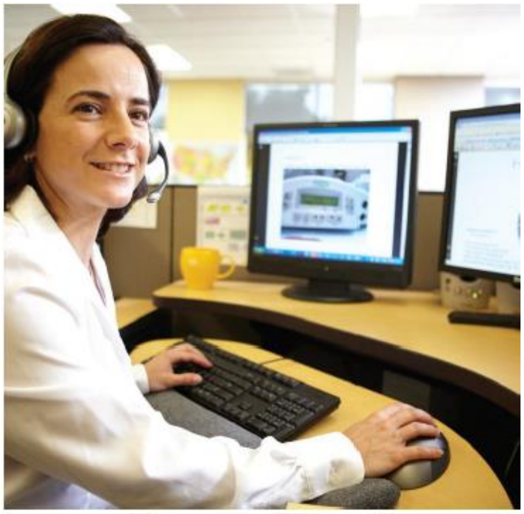


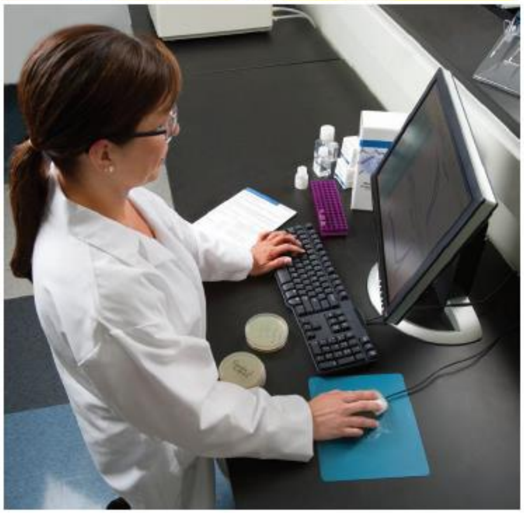
选择需要导出的数据①，如果不需要导出，则点击右下角②Export Results为Off状态。可在每一部分导出数据类型中对需要导出的具体信息进行筛选③，所有都设定好之后，可以将这种导出方式进行保存④Save Current Setting As。最后点击⑤Export，导出结果。



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：赛默飞生命科学服务平台

出版编号 MAN0019191　　修订版 A