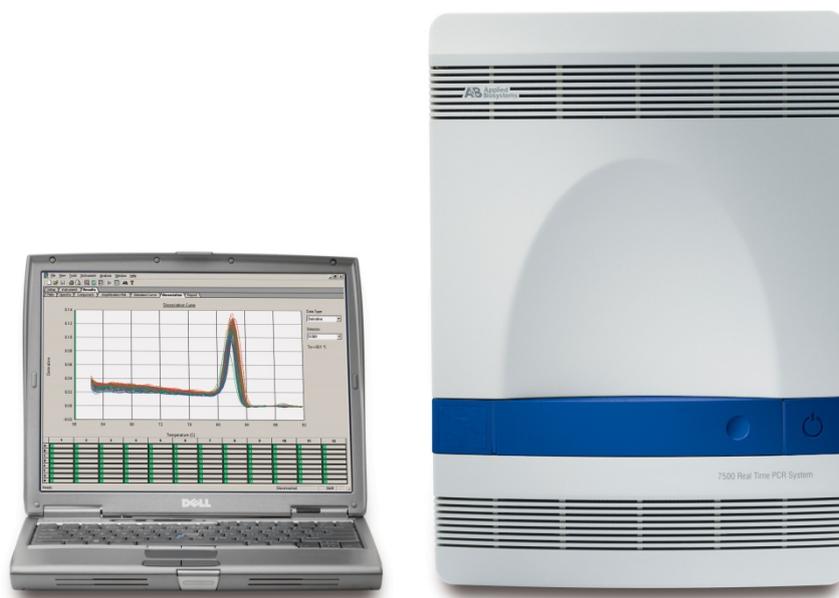


Applied Biosystems™ 7300/7500 系列 实时定量 PCR 仪

简明中文手册

第一部分：绝对定量
(Software v2.X)



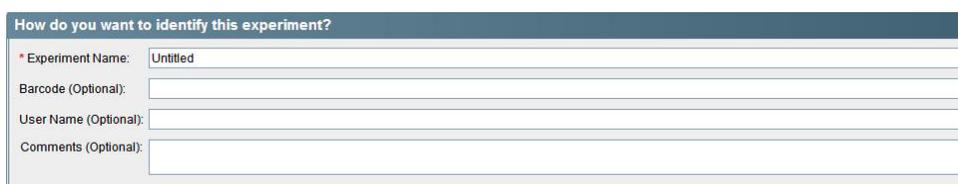
英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

Applied Biosystems™ 7300/7500 系列实时定量 PCR 仪

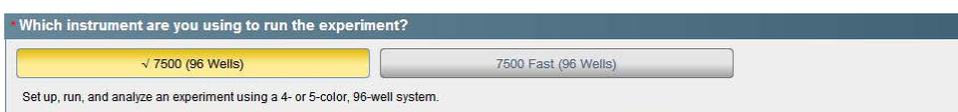
1. 双击桌面图标 ，或从 Start > All Programs > Applied Biosystems > 7500 Software > 7500 V2.0 开启软件。进入主界面后选择 Advanced Setup 。

2. 默认进入 Setup 下的 Experiment Properties 界面

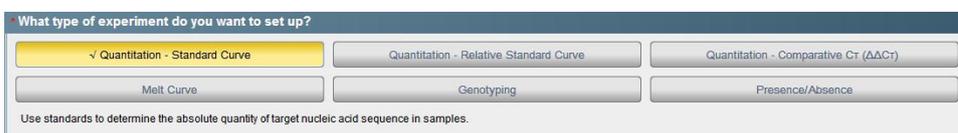
2.1 输入实验名称 (Experiment Name)



2.2 确认仪器型号



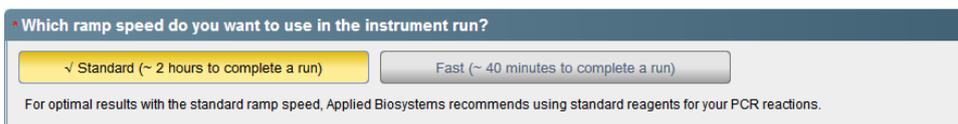
2.3 在实验类型中，选择 Quantitation-Standard Curve



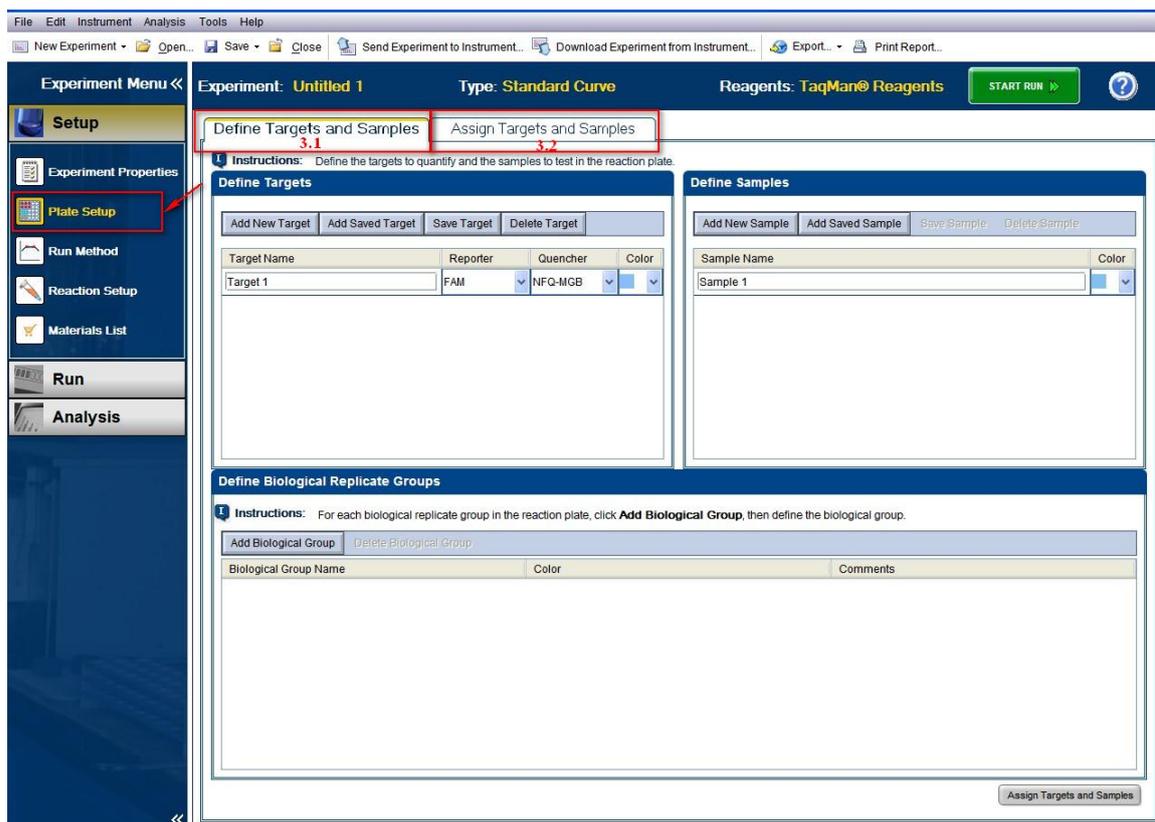
2.4 选择试剂种类



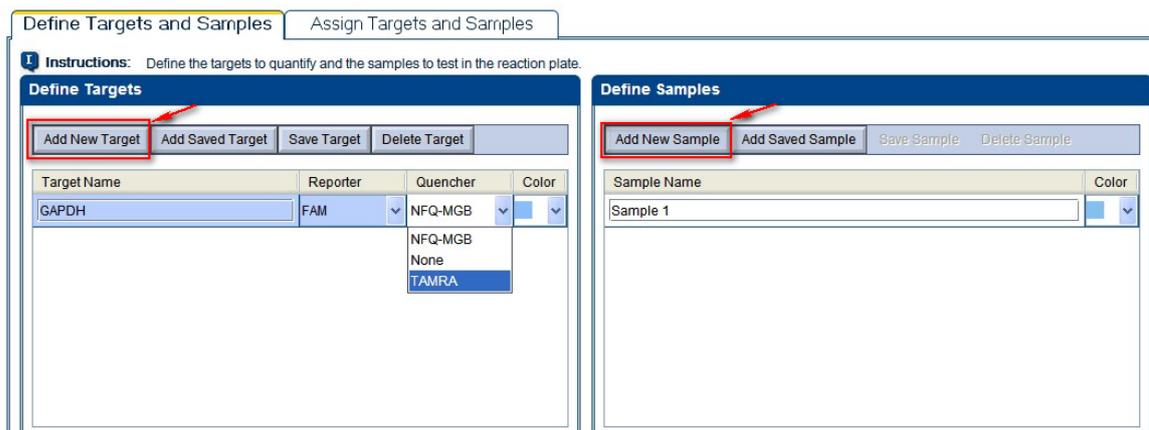
2.5 确认运行模式



3. 进入 Setup 下的 Plate Setup 界面，编辑基因 (Target) 及样本 (Sample):

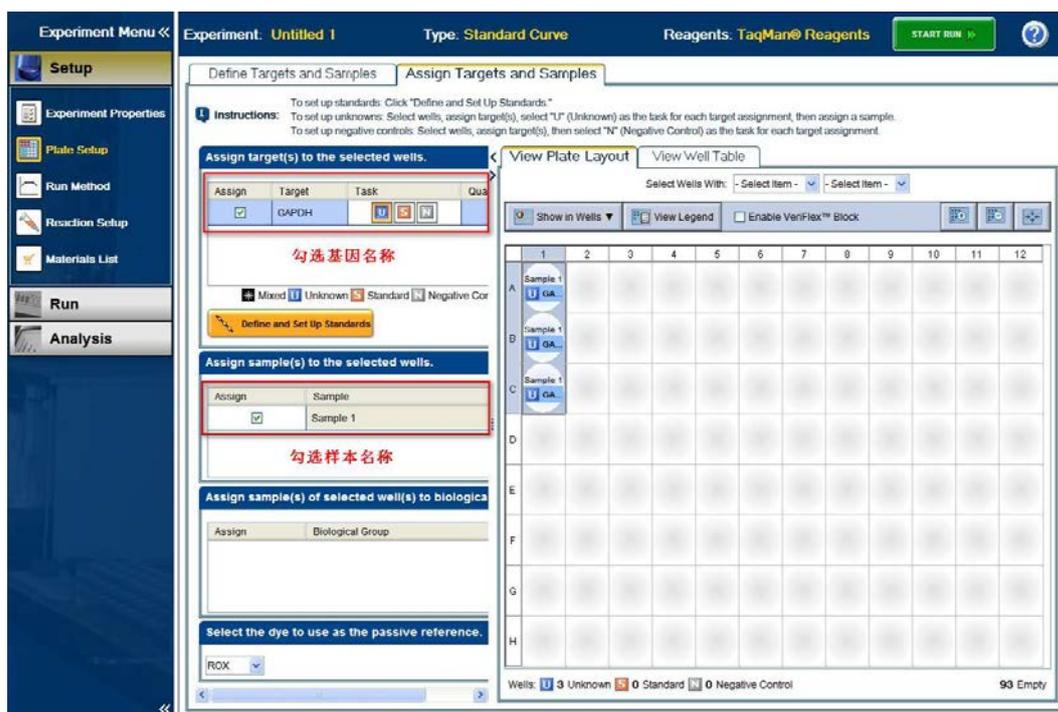


3.1 在 **Define Targets and Samples** 界面中设置基因及样品。利用 **Add New Target** 添加新的基因，并在 Target Name 中编辑基因名称，Reporter 和 Quencher 中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于 Quencher 的选择，如果是 MGB 探针，请选择 NFQ-MGB；如果是 TAMRA 探针，请选择 TAMRA；如果是其他形式的非荧光淬灭基团（如 BHQ），请选择 None。

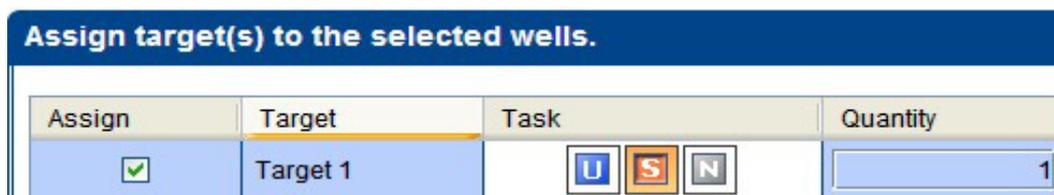


还可以利用其他按钮将之前已添加的基因进行保存（Save Target）或删除（Delete Target）。利用 **Add New Sample** 添加新的样本，并编辑样品名称。

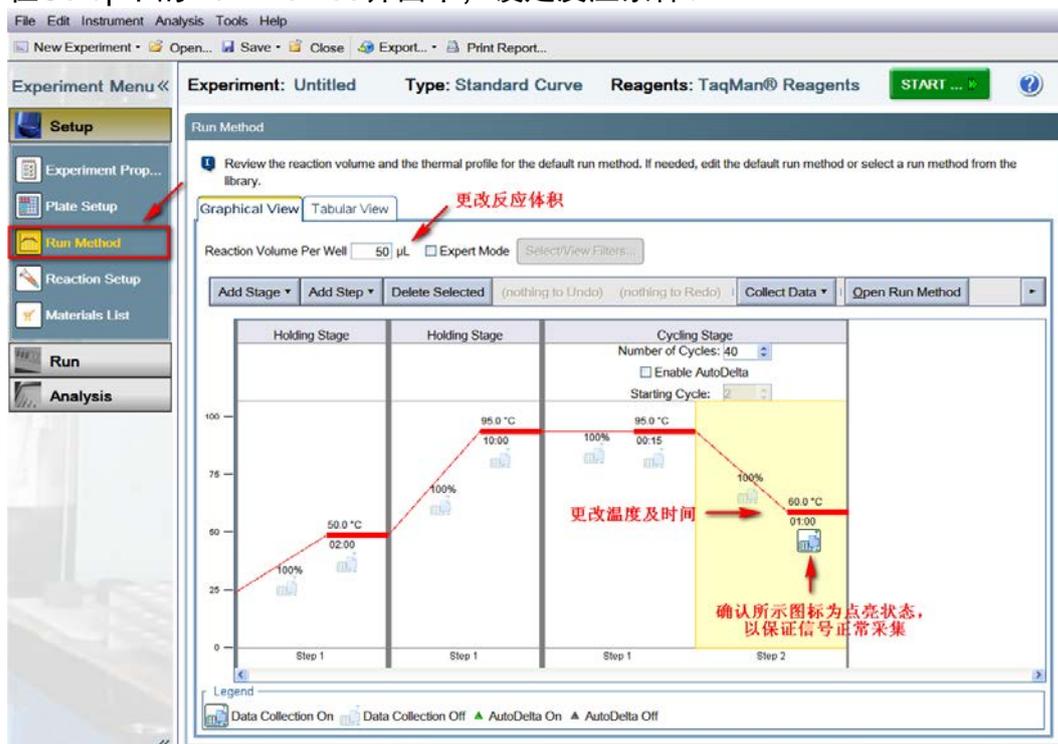
3.2 在 **Assign Targets and Samples** 界面中进行样品板的排布。利用鼠标单选或拖曳以选择反应孔，然后勾选左侧的基因及样本，同时在 Task 选项中指定该反应孔的类型（S 代表标准曲线数据点，U 代表未知样本，N 代表阴性对照）。



- 3.3 设置标准曲线：利用鼠标单选或拖曳以选择反应孔（一般情况下，每个梯度设置三个副孔），而后勾选左侧的基因，在Task选项中选择S，然后在Quantity中输入拷贝数。按照相同操作，完成标准曲线其他数据点的设置（建议设置5个梯度）。

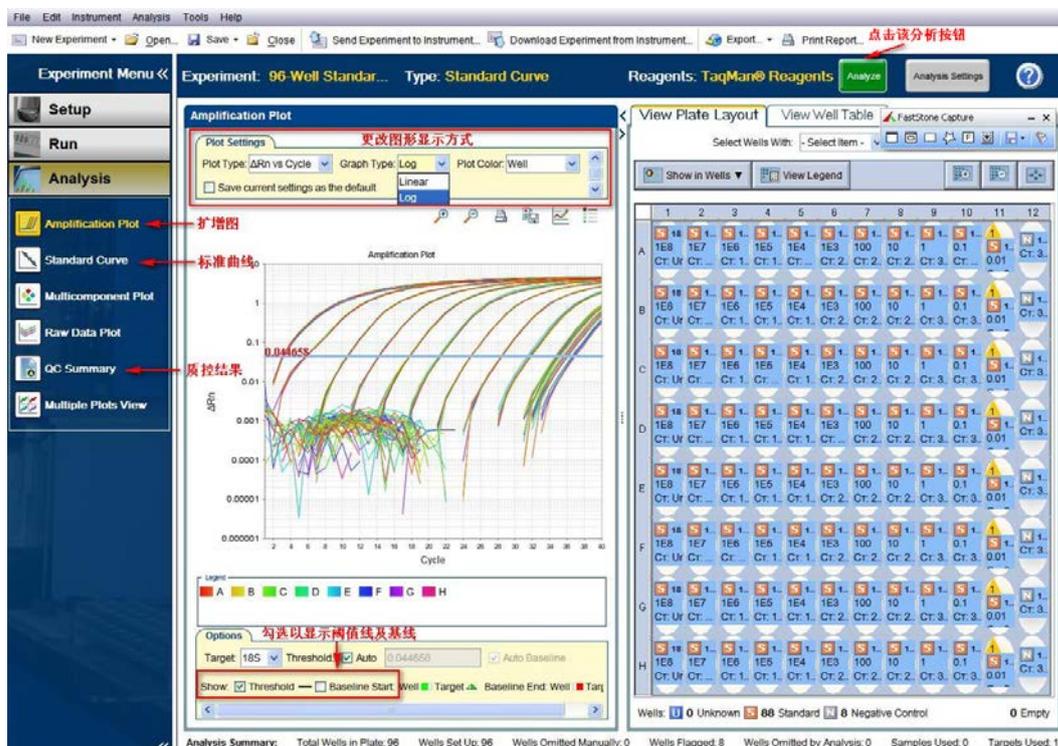


4. 在Setup下的Run Method界面中，设定反应条件。



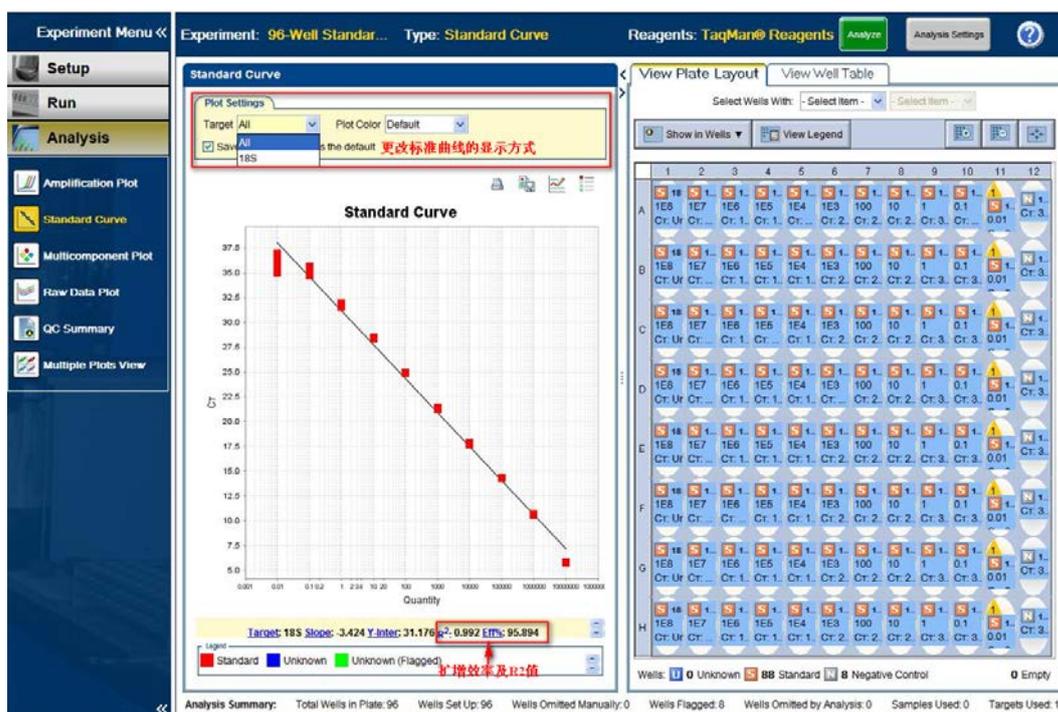
5. 点击  Save ，文件储存成Experiment Document Single Files (*.eds) 格式，然后按下  START RUN 按钮，反应即开始进行。

6. 实验结束后，点击右上角的Analyze按钮，软件将显示实验结果：

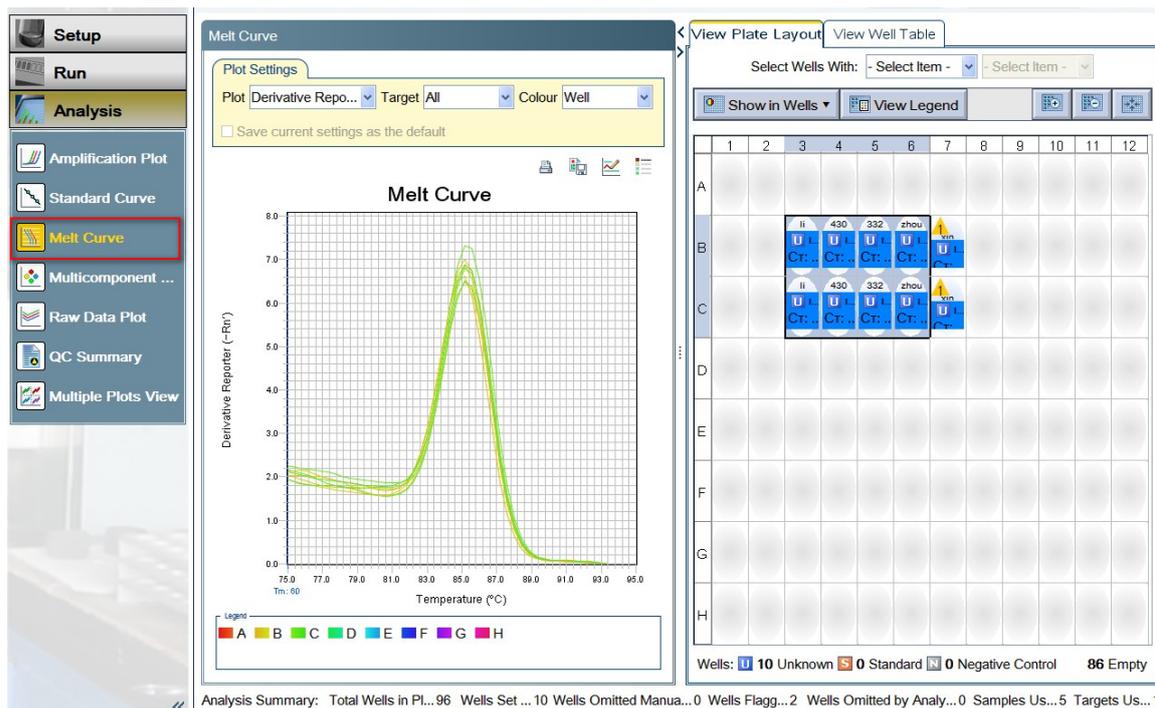


6.1 在扩增图中（见上图），可通过更改Plot Settings来改变扩增图的显示方式。如果想查看阈值线或基线，请将Threshold及Baseline打勾。

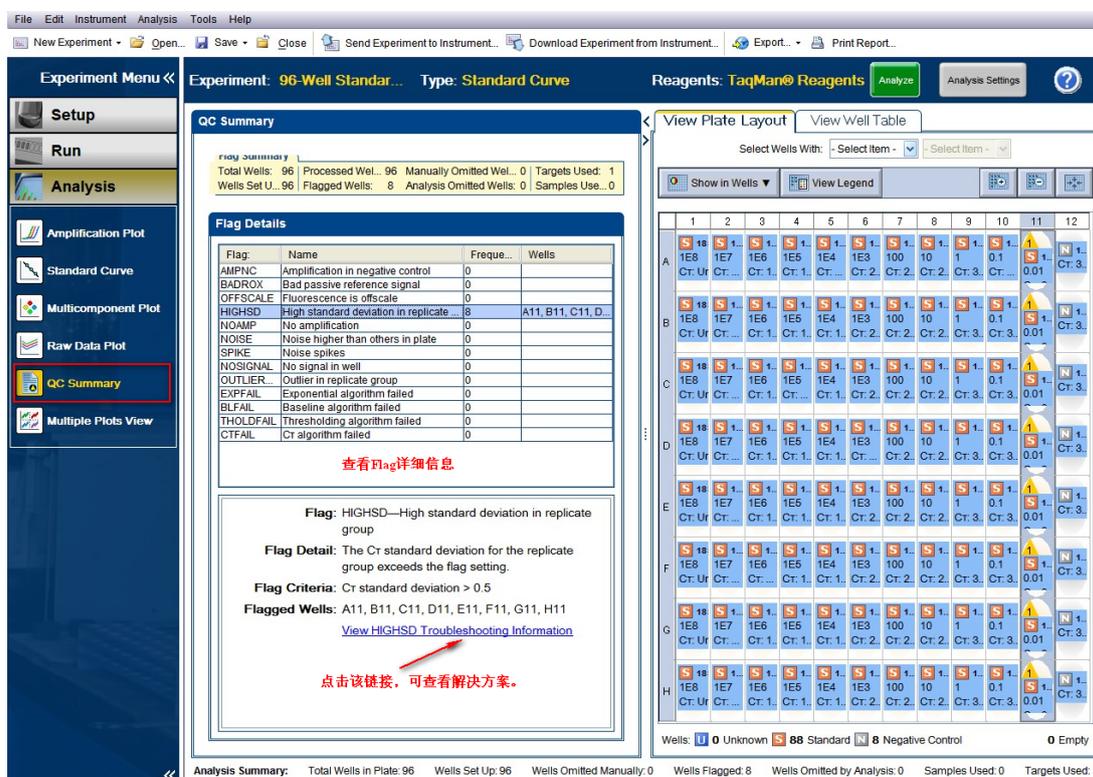
6.2 查看标准曲线时，可通过更改Plot Settings来改变标准曲线的显示方式。Eff%代表扩增效率。R2值代表标准曲线的的数据点与回归曲线的接近程度，建议在0.99以上。



6.3 对于SYBR Green法实验，可以在Melt Curve界面中查看熔解曲线。



6.4 检查 QC Summary 结果，可以快速查看实验中是否有反应孔存在异常情况。黄色三角中的数字 1 代表有一种异常情况，2 代表有两种异常情况，以此类推。详细信息及解决方案可以在 Flag Details 中查看。



7. 分析之后的结果，可以利用菜单中的File > Export功能，导出Excel格式的结果（左图）。若想存储图片结果，可直接在图片上单击鼠标右键，选择Save As，存成JPEG格式的图片（右图）。

Export Data

Select the type of data to export, select whether to export one file or separate files, then enter export file properties. (Optional) Click "Customize Export" to change the export format and to select fields to export. Click "Start Export" to export your data.

Export Properties | Customize Export

Sample Setup Results

Raw Data Multicomponent Data

1. Select data to export:

Amplification Data Melt Region Temperature Data

Melt Region Normalized Data Melt Region Derivative Data

2. Select one file or separate files: One File *Select to export all data in one file or in separate files for each data type.*

3. Enter export file properties:

Export File Name: 96-Well Standard Curve Example_data **更改文件名** File Type: (*.xls)

Export File Location: D:\Applied Biosystems\StepOne Software v2.2\experiments **更改文件存放位置** **Browse**

Open file(s) when export is complete

Save current settings as the default

Amplification Plot

Y-axis: ΔRn (log scale: 0.000001 to 10)

X-axis: Cycle (2 to 40)

Threshold line: 0.044658

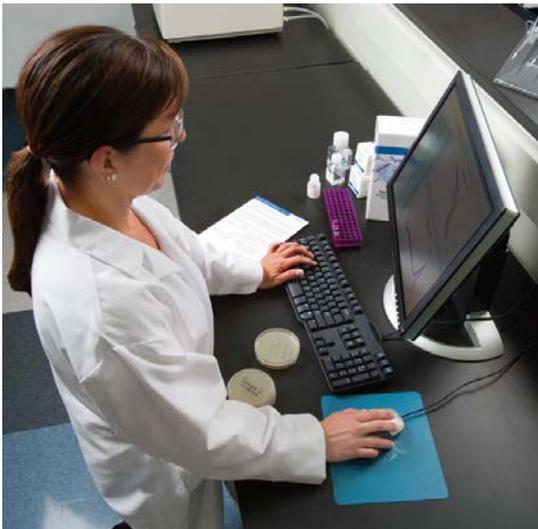
Legend:

- Zoom In
- Zoom Out
- Save As...
- Print...



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

