


实时荧光定量 PCR 仪 QuantStudio 6 操作规程

- 1 双击桌面图标 ，或从 Start>Allprograms>Applied Biosystems>QuantStudio™Real-TimePCRSoftware>QuantStudio™Real-TimePCRSoftware 开启软件。

进入主界面后选择“ExperimentSetup”。
- 2 选择“Setup”下的“ExperimentProperties”界面。
 - 2.1 输入实验名称(ExperimentName)。
 - 2.2 选择仪器类型及 Block 类型
 - 2.3 选择相对定量实验类型，“ComparativeCT”。
 - 2.4 选择试剂种类。Taqman 探针法选择“TaqmanReagents”，SYBR 染料法选择“SYBRGreenReagents”。
 - 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“TargetName”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。
 - 3.3 在“AnalysisSettings”下选择合适的“ReferenceSample”（对照样品）和“EndogenousControl”（内参基因）。

- 4 选择“Setup”下的“Assign”界面编辑样品板。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(U 代表未知样本，N 代表阴性对照)。
- 5 选择“Setup”下的“RunMethod”界面，编辑运行条件。
- 6 选择“Run”下的“AmplificationPlot”界面，点击“SaveAs”保存文件，点击“StartRun”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。

7.2 点击“GeneExpression”查看基因表达柱状图。

7.3 对于 SYBRGreen 实验，在“MeltCurvePlot”界面中查看熔解曲线。

7.4 查看“QCSummary”结果：反应孔存在异常情况时，会出现黄三角，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“FlagDetails”中查看。

数据导出：在“Export”界面下导出需要的数据。