



applied biosystems 7500荧光定量PCR仪

相对定量实验简易操作流程

SDS 2.0

7500定量PCR仪

相对定量实验简易操作流程

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)

How do you want to identify this experiment?

* Experiment Name:

Barcode (Optional):

User Name (Optional):

Comments (Optional):

2.2 确认仪器型号

Which instrument are you using to run the experiment?

☒ 7500 (96 Wells) ☐ 7500 Fast (96 Wells)

Set up, run, and analyze an experiment using a 4- or 5-color, 96-well system.

2.3 在实验类型中，选择 Quantitation-Comparative C_T ($\Delta\Delta C_T$)

What type of experiment do you want to set up?

☐ Quantitation - Standard Curve ☐ Quantitation - Relative Standard Curve ☒ Quantitation - Comparative C_T ($\Delta\Delta C_T$)

☐ Melt Curve ☐ Genotyping ☐ Presence/Absence

Use a reference sample and an endogenous control to determine the relative quantity of target nucleic acid sequence in samples.

2.4 选择试剂种类

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

☒ TaqMan® Reagents ☐ SYBR® Green Reagents ☐ Other

The PCR reactions contain primers designed to amplify the target sequence and a TaqMan® probe designed to detect amplification of the target sequence.

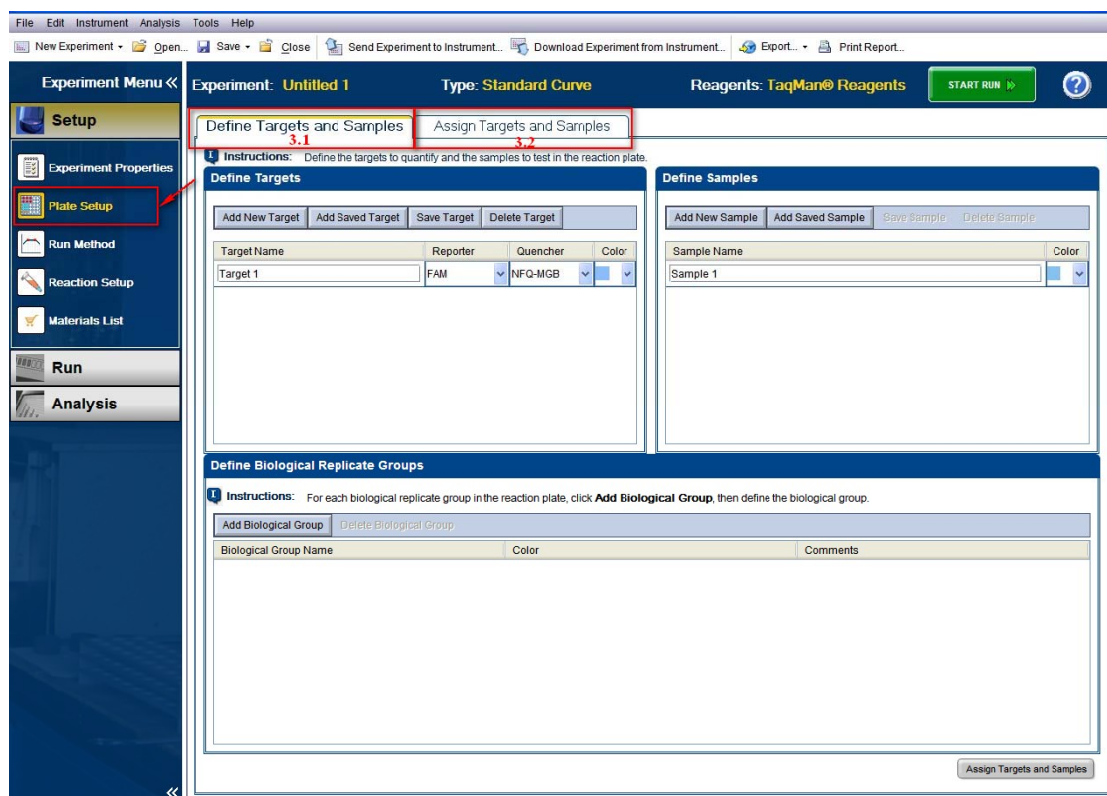
2.5 确认运行模式

Which ramp speed do you want to use in the instrument run?

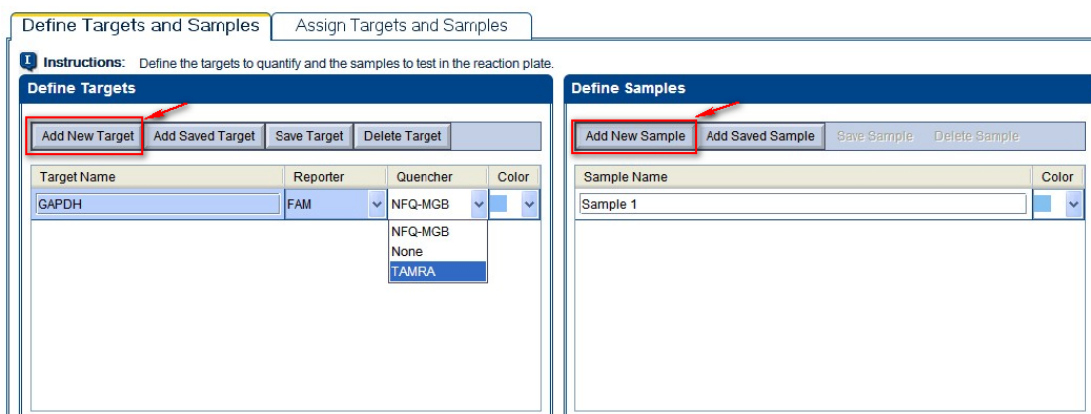
☒ Standard (~ 2 hours to complete a run) ☐ Fast (~ 40 minutes to complete a run)

For optimal results with the standard ramp speed, Applied Biosystems recommends using standard reagents for your PCR reactions.

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

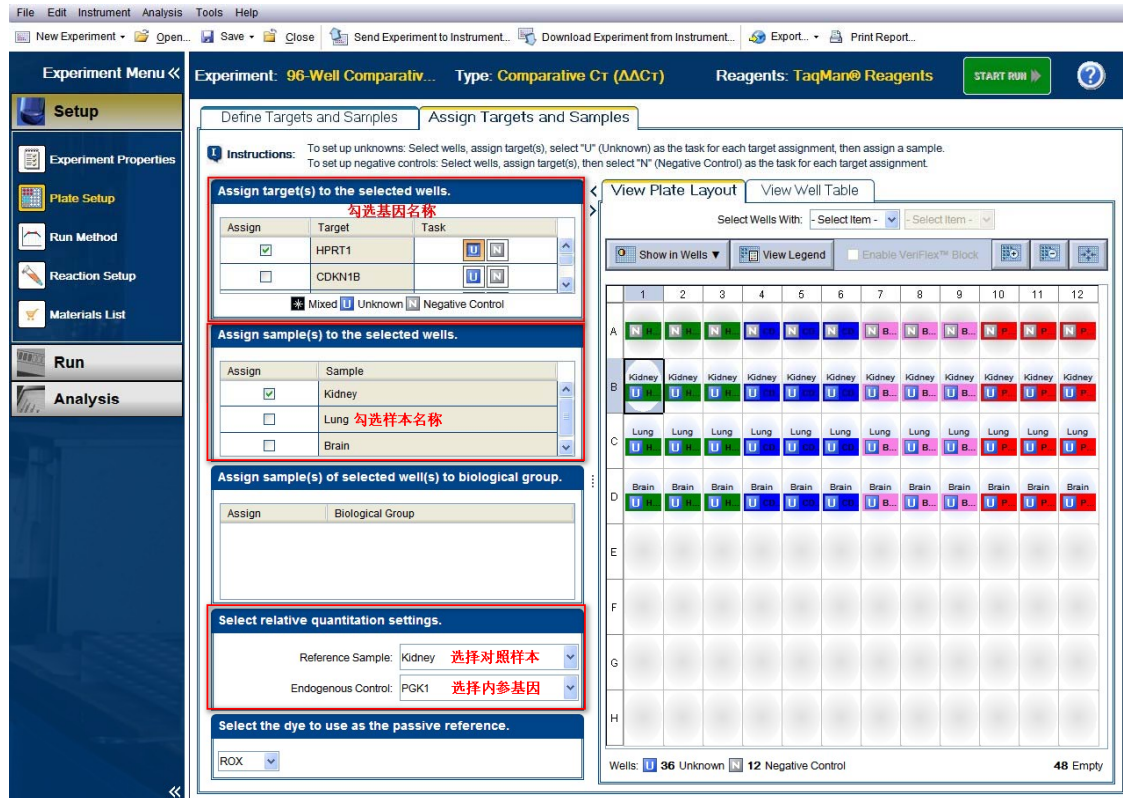


3.1 在 **Define Targets and Samples** 界面中设置基因及样品。利用 **Add New Target** 添加新的基因，并在 **Target Name** 中编辑基因名称，**Reporter** 和 **Quencher** 中选择所标记的荧光基团及淬灭基团。对于 **Quencher** 的选择，如果是 **MGB** 探针，请选择 **NFQ-MGB**；如果是 **TAMRA** 探针，请选择 **TAMRA**；如果是其他形式的非荧光淬灭基团（如 **BHQ**），请选择 **None**。



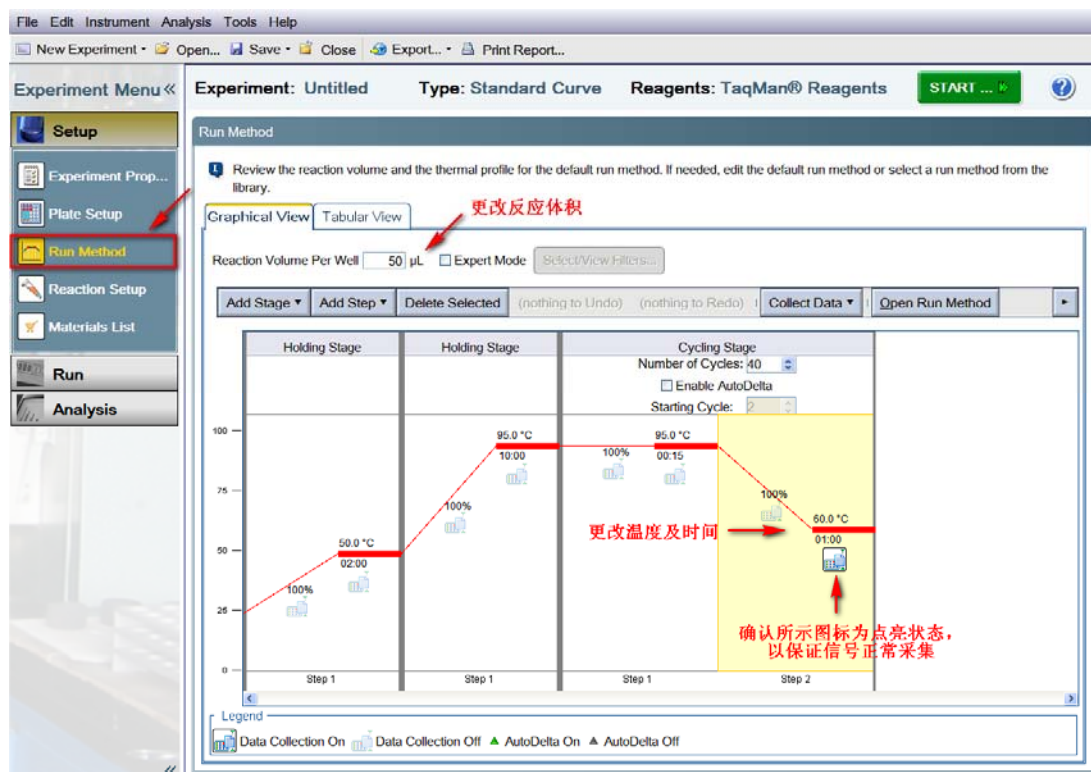
还可以利用其他按钮将之前已添加的基因进行保存 (**Save Target**) 或删除 (**Delete Target**)。利用 **Add New Sample** 添加新的样本，并编辑样品名称。

3.2 在 **Assign Targets and Samples** 中进行样品板的排布。利用鼠标单击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）。

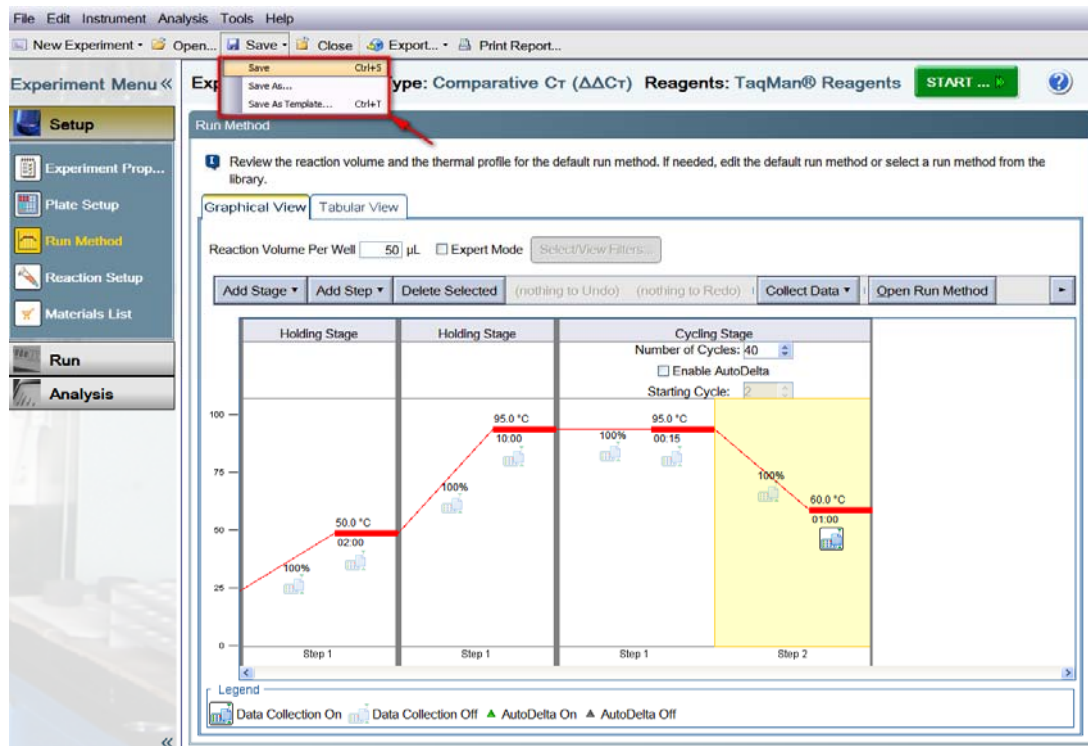


4. 在 “Select relative quantitation setting” 中设置内参基因及对照样本。

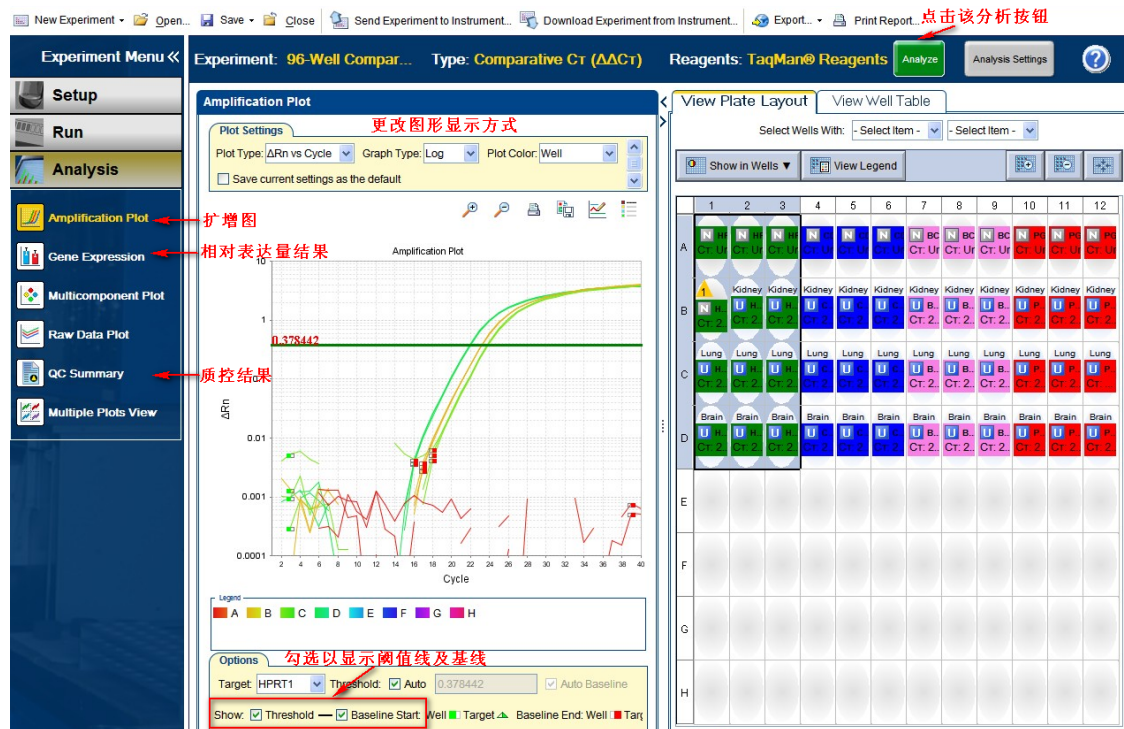
5. 进入 Run Method 界面，设定反应条件及反应体积。



6. 点击  Save, 文件储存成 Experiment Document Single Files (*.eds) 格式, 然后在 Run 界面按下  按钮, 反应即开始进行。

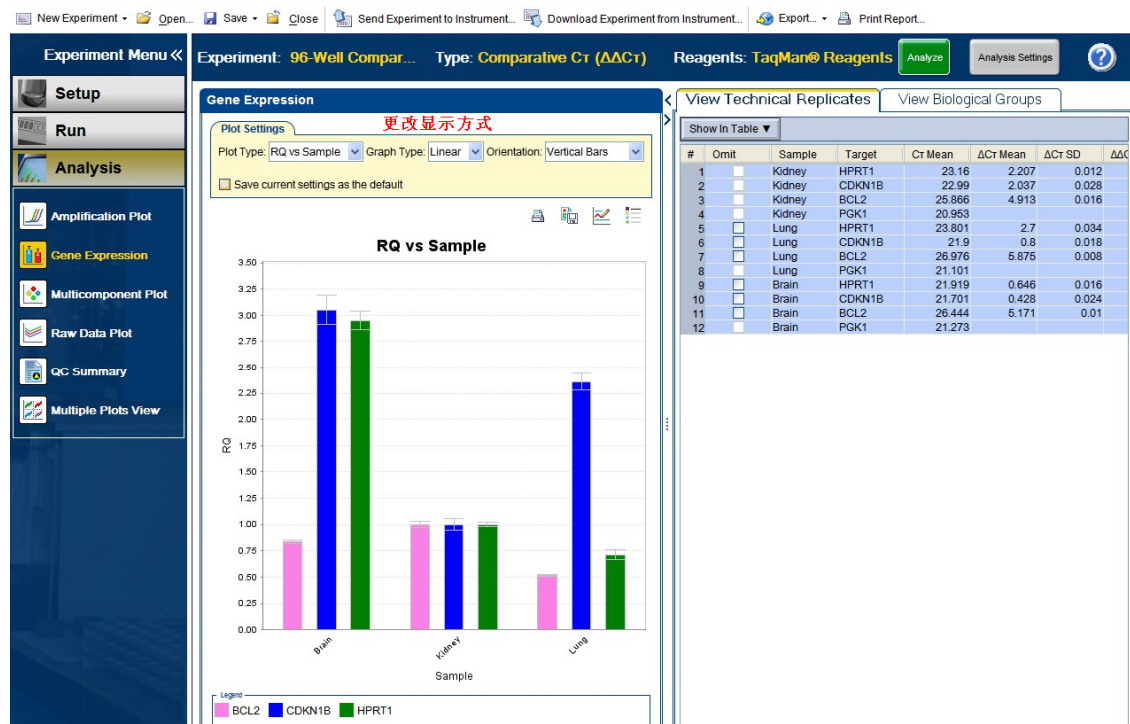


7. 实验结束后，点击界面右上角的 Analyze 按钮，软件将会显示实验结果：

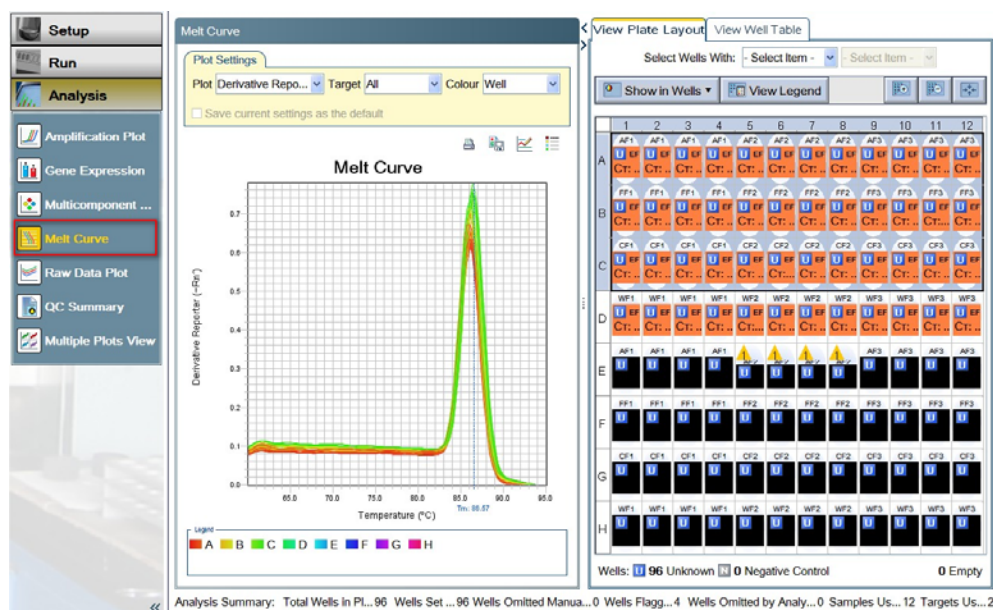


7.1 在扩增图中（见上图），可通过更改 Plot Settings 来改变扩增图的显示方式。如果想查看阈值线或基线，请将 Threshold 及 Baseline 打勾。

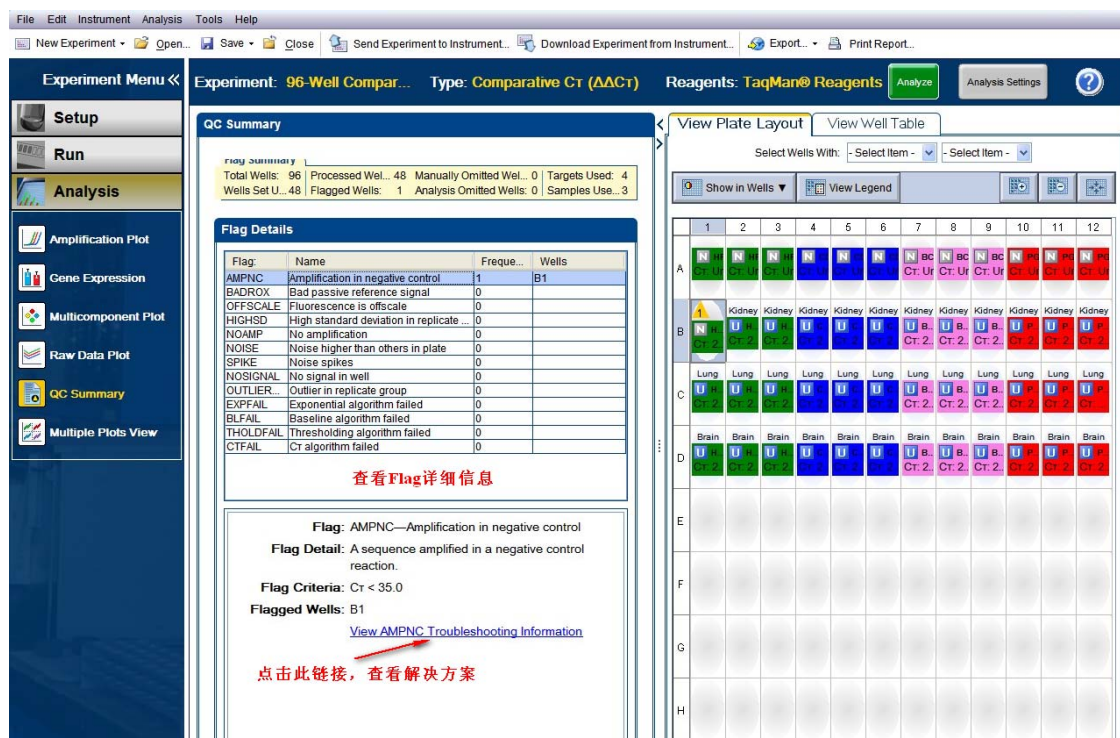
7.2 查看相对表达量结果时，利用 Plot Settings 选项，可以以不同方式显示相对表达量的结果。



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



7.4 检测 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。黄色三角形中的数字 1 代表有一种异常情况，2 代表有两种异常情况，以次类推。详细信息及解决方案可以在 Flag Details 中看到。



8. 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。

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。

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**

1. Select data to export:

- ☐ Sample Setup
- ☒ Results
- ☐ Raw Data
- ☐ Multicomponent Data
- ☐ 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:

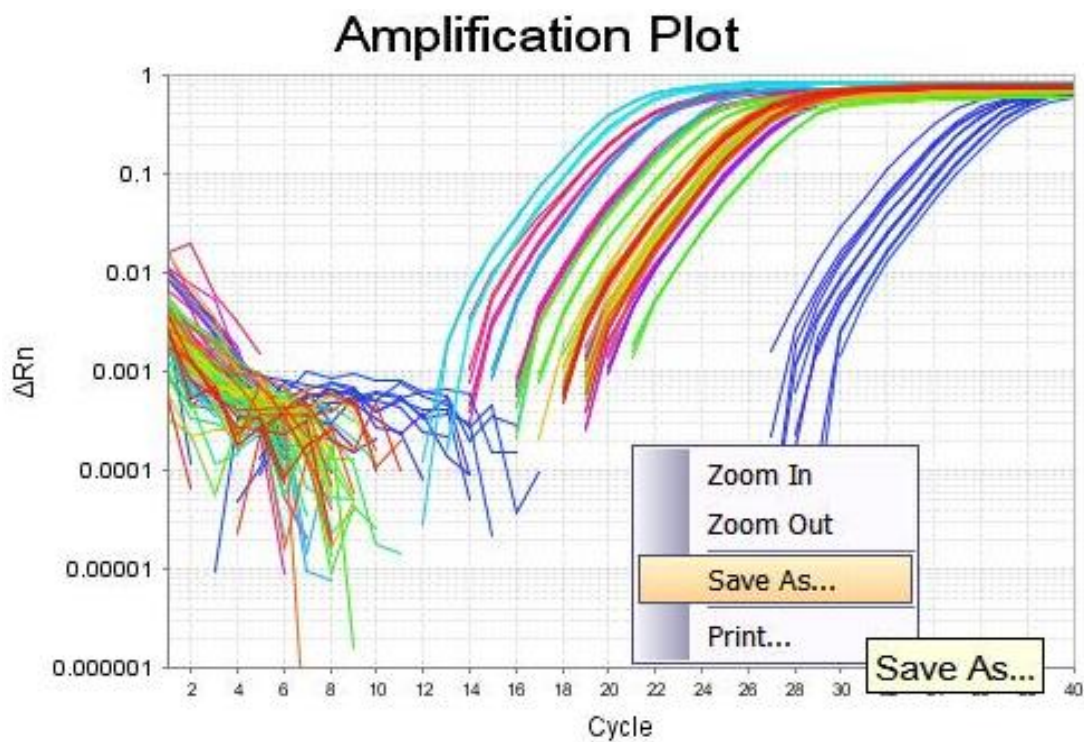
Export File Name: **96-Well Standard Curve Example_data** 更改文件名 File Type: **(* .xls)**

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

Start Export **Cancel**



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。