
CFX96 Touch™ 和 CFX384 Touch™ 实时 PCR 检测系统

说明手册

目录	# 184-5384
	# 185-5484
	# 184-5096
	# 185-5196



BIO-RAD

版权所有 ©2011 Bio-Rad Laboratories, Inc. 未经 Bio-Rad Laboratories, Inc 书面允许, 禁止以任何形式 (无论电子或打印方式) 进行复制。

Adobe Acrobat 和 Reader 是 Adobe Systems Incorporated 的商标。Cy 是 GE Healthcare 集团公司的商标。CAL Fluor 和 Quasar 是 Biosearch Technologies, Inc. 的商标, SYBR[®] 和 Texas Red 是 Invitrogen Corporation 的商标。Excel、Microsoft、PowerPoint、Windows 和 Windows Vista 是 Microsoft Corporation 的商标。EvaGreen 是 Biotium, Inc. 的商标。Biotium, Inc. 授予 Bio-Rad Laboratories, Inc. 对包含用于实时 PCR 的 EvaGreen 染料在内的试剂的销售许可, 但仅能用于研究之目的。FAM、HEX、ROX 和 VIC 是 Applied Biosystems Corporation 的商标。qbasePLUS 是 Biogazelle 的商标。Invitrogen Corporation 授予 Bio-Rad Laboratories, Inc. 对包含用于实时 PCR 的 SYBR[®] Green I 在内的试剂的销售许可, 但仅能用于研究之目的。

对购买者的许可声明

Bio-Rad 实时热循环仪 CFX96 Touch[™] 和 CFX384 Touch[™] 是根据 Applied Biosystems 的美国专利号 6,814,934 B1 授予许可的实时热循环仪, 适用于研究、人类体外诊断, 以及除兽类诊断之外的其他所有领域。

CFX96 或 CFX384 检测模块在与 C1000[™] 或 C1000 Touch[™] 热循环仪 (其适用的实时热循环仪版税已支付) 结合使用时, 将组成一种实时热循环仪, 该热循环仪已根据美国专利号 6,814,934 和由 Applied Biosystems Corporation 拥有的任何加拿大同等专利中的相应声明授予许可, 只能在研究、人类体外诊断, 以及兽类体外诊断之外的所有适用领域中使用。只有在此检测模块与 Bio-Rad 热循环仪 (其适用的实时热循环仪版税已支付) 而不是任何其他热循环仪结合使用时, 这些许可权限才有效。不得以明示、暗示或禁止否认等方式将权限转让给有关实时方法的任何专利, 包括但不限于 5 核酸酶化, 或转让给对试剂或试剂盒主张权利的任何专利。有关购买许可权限的更多信息, 请联系许可证签发官, 地址是 Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, USA。

本产品受以下 Eppendorf AG 所拥有的一个或多个美国专利、其外国同等专利或审查中的外国专利的保护: 美国专利号 6,767,512 和 7,074,367。

Hard-Shell[®] 反应板受以下 Eppendorf AG 所拥有的一个或多个美国专利或其外国同等专利的保护: 美国专利号 7,347,977、6,340,589 和 6,528,302。

Bio-Rad 资源

表 1 列出了 Bio-Rad 资源以及查找所需资源的方式。

表 1. Bio-Rad 资源

资源	联系方法
当地 Bio-Rad Laboratories 代表	请通过在 Bio-Rad 网站的主页 (www.bio-rad.com) 选择国家 / 地区来查找当地信息和联系方式。在本手册的背面查找最近的国际办事处
技术说明和文献	转到 Bio-Rad 网站 (www.bio-rad.com)。在“搜索”框中输入搜索术语, 然后选择 文献 来查找技术说明、手册以及其他文献的链接。
技术专家	Bio-Rad 的技术支持部门由经验丰富的专家组成, 他们能够向客户提供实用且专业的解决方案。要通过电话查找当地的技术支持, 请与最近的 Bio-Rad 办事处联系。要在美国和加拿大寻求技术支持, 请拨打 800-424-6723 (免费热线) 并选择技术支持选项。

本手册采用的编写规范

本手册采用表 2 中列出的编写规范。

表 2. 本手册采用的规范

规范	含义
提示:	提供有用的信息和说明, 其中的某些信息将在本手册中的其他部分作进一步的详细说明
注意:	提供重要信息, 其中的某些信息将在本手册中的其他部分作进一步的详细说明
警告!	说明可能会伤害研究人员、毁坏设备或导致数据丢失等情况的重要信息
X > Y	从工具栏、菜单或软件窗口中选择 X, 然后选择 Y

有关本手册中使用的安全标记以及 CFX96 Touch 系统 或 CFX384 Touch 系统的信息, 请参阅“安全和法规遵从” (第 iii 页)。

安全和法规遵从

为安全操作 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统，我们强烈建议您严格遵守本部分及整本手册中列出的安全规范。

安全警示标志

设备上粘贴的以及本手册中列出的警示标志旨在向您警示损伤或危害的来源。有关每个安全警示标志的含义，请参见表 3。

表 3. 安全警示标志的含义

	小心：生物危害！ 此标志用以标识可能受到危险生物材料污染的组件
	小心：危险！ 此标志用以标识在处理不当的情况下可能会导致人身伤害或设备损坏的组件。无论此标志出现在何处，请务必先查询本手册了解详细信息，然后再继续操作
	小心：表面高温！ 此标志用以标识在处理不当的情况下可能会由于过热而导致人身伤害的组件

设备安全警告

表 4 中显示的警示标志还会显示在设备上，其直接涉及 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统的安全使用。

表 4. 设备安全警示标志

图标	含义
	损害人身或设备的危险警告。 在未阅读本手册的情况下操作 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 实时 PCR 检测系统可能造成人身伤害。为安全起见，请不要采取本手册未指定的任何方式操作此设备。只有在电气设备的安全使用方面接受过培训的合格实验室人员才能操作此设备。请始终小心取放本系统的所有组件，并确保双手清洁干燥
	有关处理危险生物材料的警告。 处理危险生物样品时，请遵循建议的预防措施和指导原则，并遵守特定于所在实验室和地点的本地指导原则
	灼伤危险警告。 热循环仪生成的热量足以导致严重灼伤。操作期间请始终佩戴安全护目镜或其他护眼装备。在打开盖并取出样品前，请始终先等待样品反应模块恢复到闲置时的温度。请始终与设备保持最大距离，以避免皮肤意外灼伤
	爆炸危险警告。 样品反应模块在正常操作过程中会变得很热，足以导致液体沸腾和爆炸

注意：有关 C1000™ 热循环仪的信息，请参阅 C1000 热循环仪说明手册。

安全使用规范与法规符合性

表 5 列出了 CFX96 Touch 系统和 CFX384 Touch 系统的安全使用规范。本设备必须使用屏蔽电缆（已提供），以确保符合 Class A FCC 的限制。

表 5. 安全使用规范

安全使用要求		规范
温度	室内使用	环境温度 15 - 31°C。最大相对湿度 80%（非冷凝）
高度		最高海拔 2,000 米

法规符合性

本设备经测试证实符合以下安全和电磁标准的所有适用要求：

- IEC 61010-1:2001（第二版），EN61010-1:2001（第二版）。《测量、控制和实验室用电气设备的安全要求》（第 1 部分：通用要求）
- IEC 61010-2-010:2005，EN61010-2-010:2003。《测量、控制和实验室用电气设备的安全要求》。（第 2-010 部分：材料加热用实验室设备的特殊要求）
- IEC 61010-2-081:2001+A1，EN61010-2-081:2002+A1。《测量、控制和实验室用电气设备的安全要求》（第 2-081 部分：用于分析和其他用途的自动及半自动实验室设备的特殊要求（包括修订版 1））
- EN 61326-1:2006 (Class A)。《测量、控制和实验室用电气设备的安全要求》。（EMC 要求，第 1 部分：通用要求）

本设备将生成、使用并辐射无线电射频能量，如果不遵照本说明手册安装和使用，可能会对无线电通信造成有害干扰。在居民区内操作本设备很可能导致有害干扰。在这种情况下，用户需自行承担费用来校正干扰。

危险

CFX96 Touch 和 CFX384 Touch 实时 PCR 检测系统设计精良，按照制造商规定的方式使用时可以安全操作。如果没有采用制造商指定的方式使用 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统或其任何关联的组件，则设备提供的内在保护可能会被削弱。Bio-Rad Laboratories, Inc. 对以非指定方式使用此设备或由非 Bio-Rad 人员或授权代理商执行的设备修改而导致的任何伤害或损害概不负责。CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统的维修只应由 Bio-Rad 人员执行。

生物危害！

CFX96 Touch 和 CFX384 Touch 系统是实验室产品。但是，如果存在危险生物样品，请遵循以下指导原则，并遵守特定于所在实验室和地点的本地指导原则。

一般预防措施

- 应始终戴上实验室专用的手套，穿上专用的衣服，佩戴带有侧面屏蔽镜或护目镜的眼镜
- 手要始终远离嘴、鼻子和眼睛
- 使用具有潜在感染性的材料之前，应妥善保护身体上有割伤或擦伤的部位，确保完全不会被感染
- 在使用具有潜在感染性的材料之后，应该用肥皂和清水彻底洗手，之后再离开实验室
- 在工作台上工作之前，应摘下手表和首饰
- 应将所有具有感染性或潜在感染性的材料存放在不易破碎的防漏容器中
- 离开实验室之前，应脱下防护服

- 请勿戴着手套写字、接电话、开启电源开关，或触摸其他人可能不戴手套触摸的物品
- 应经常更换手套。看到手套上有污染痕迹时，应立即摘下手套
- 请勿将不能妥善消毒的材料暴露给具有潜在感染性的材料
- 完成涉及危险生物材料的操作后，应使用适当的消毒剂（例如，1:10 的家用漂白粉稀释液）对工作区域进行消毒
- 正常操作此设备期间，不会排放危险生物物质

表面消毒

警告！ 为了避免遭受电击，请在执行消毒步骤之前，始终先关闭设备，并拔出设备电源。

以下区域可以使用医用杀菌剂、杀病毒剂或杀真菌剂进行清洁：

- 外盖和机箱
- 内反应模块表面和反应模块孔
- 控制面板和显示屏

要准备并施用消毒剂，请参阅产品制造商提供的说明。施用消毒剂后，请始终用水多次冲洗反应模块和反应模块孔。用水冲洗后，应彻底烘干反应模块和反应模块孔。

警告！ 请勿使用磨擦性或腐蚀性清洁剂或强碱性溶液。这些溶剂会刮伤表面并损坏反应模块，最终会导致失去精确的热量控制。

危险生物材料的处理

CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统不包含具有潜在危险性的化学材料。处理以下可能会造成污染的材料时，应遵循适合于实验室的本地、地区和国家法规：

- 临床样品
- 试剂
- 用过的反应容器或其他可能已被污染的耗材

化学危险

CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统不包含具有潜在危险性的化学材料。

爆炸或易燃危险

按照 Bio-Rad Laboratories 指定的正确方式使用时，CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统不会造成与易燃物或爆炸物有关的罕见危险。

电击危险

如果正确安装和操作而没有进行任何物理修改并且正确连接到适当规格的电源，则 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统不会对操作人员造成罕见的电击危险。

运输

移动或运送 C1000 Touch™ 热循环仪以及 CFX96 或 CFX384 光学反应模块之前，必须执行消毒步骤。移动或运送 C1000 Touch 热循环仪机箱以及 CFX96 或 CFX384 光学反应模块时，应始终将其放置在单独的容器中，用提供的包装材料包好，以防止设备损坏。如果找不到适当的容器，请联系当地 Bio-Rad 办事处。

存储

CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统可以在以下条件下存储：

- 温度范围：-20 到 60°C
- 相对湿度：最大 80%

处理

CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 实时 PCR 检测系统包含电气材料或电子材料；应将其作为未分类的废物进行处理，并且必须按照《有关废物和电子设备的欧盟指令 2002/96/CE》（WEEE 指令）单独收集。处理之前，请联系当地的 Bio-Rad 代表，以获取国家 / 地区特定的说明。

目录

Bio-Rad 资源	ii
本手册采用的编写规范	ii
安全和法规遵从	iii
危险	iv
目录	vii
第 1 章 系统安装	1
解包光学反应模块	1
系统要求	1
系统概述	2
设置系统	4
安装 CFX Manager 软件	6
软件文件	7
运行实验	8
第 2 章 CFX Manager™ 软件	11
软件主窗口	12
启动向导	15
“检测到的设备”窗格	16
状态栏	17
“设备属性”窗口	17
母液混合计算器	20
任务日程表	21
第 3 章 执行运行	25
“运行设置”窗口	25
“扩增程序”选项卡	26
“反应板”选项卡	27
“启动运行”选项卡	27
“运行详细信息”窗口	28
“设备摘要”窗口	31
第 4 章 扩增程序	33
“扩增程序编辑器”窗口	33
扩增程序编辑器控件	35
温度控制模式	38
扩增程序自动编写器	39

第5章 反应板	41
“反应板编辑器”窗口	41
“选择荧光基团”窗口	44
反应孔加载控件	45
“实验设置”窗口	48
反应孔选择器右键单击菜单项	49
“反应孔编组管理器”窗口	49
“反应板电子表格视图”窗口	51
第6章 独立运行	53
主屏幕	53
运行设置	54
导出用于分析的数据	59
创建数据文件	60
设置电子邮件	60
第7章 数据分析概述	63
“数据分析”窗口	63
“定量”选项卡	66
数据分析设置	67
反应孔选择器	70
图表	73
电子表格	73
导出 (E)	74
第8章 “数据分析”窗口	77
“定量”选项卡	77
“定量数据”选项卡	81
“熔解曲线”选项卡	83
“熔解曲线数据”选项卡	85
“终点”选项卡	87
“等位基因分型”选项卡	89
“自定义数据视图”选项卡	91
“QC”选项卡	92
“运行信息”选项卡	93
数据文件报告	94
反应孔编组报告	97

第9章 基因表达分析	99
基因表达	99
基因表达分析的反应板设置	100
“基因表达”选项卡	100
“实验设置”窗口	105
基因研究	106
“基因研究报告”窗口	111
基因表达计算	112
第10章 用户和首选项	117
登录或选择用户	117
“用户首选项”窗口	118
“电子邮件”选项卡	119
“文件”选项卡	120
“扩增程序”选项卡	121
“反应板”选项卡	122
“数据分析”选项卡	123
“基因表达”选项卡	124
“QC”选项卡	125
“自定义导出”选项卡	126
用户管理	127
第11章 资源	129
自动软件和设备更新	129
检索热循环仪基座中的数据文件	130
LIMS 集成	130
校准向导	136
设备维护	137
应用程序日志	139
故障排除	139
参考书目	142
索引	143

1 系统安装

本章提供有关设置 CFX96 Touch™ 或 CFX384 Touch™ 系统的信息：

- 解包光学反应模块（第 1 页）
- 系统要求（第 1 页）
- 系统概述（第 2 页）
- 设置系统（第 4 页）
- 安装 CFX Manager™ 软件（第 6 页）
- 软件文件（第 7 页）
- 运行实验（第 8 页）

解包光学反应模块

交付的 CFX96 或 CFX384 光学反应模块包含以下组件：

- 光学反应模块
- USB 电缆
- CFX Manager 软件安装 CD
- 说明手册
- 关于系统安装、扩增程序、反应板、数据分析、基因表达分析和 qbase^{PLUS} 软件设置的 CFX Manager 软件快速指南
- CFX Manager 软件视频教程

拆下所有包装材料并保存好，以备将来使用。如果缺少部件或有部件损坏，请联系当地的 Bio-Rad 办事处。

系统要求

要操作 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统，请使用以下电源和缆线：

- **输入电源。** 100 - 240 VAC, 50 - 60 Hz
- **室内使用。** 环境温度 15 - 31°C。最大相对湿度 80%（非冷凝）。

- **USB 电缆。**如果要使用 USB 电缆由计算机来控制系统，可以使用 Bio-Rad 提供的经过充分屏蔽的电缆。

注意：有关本设备安全及符合性要求的完整陈述，请参阅“安全和法规遵从”（第 iii 页）。

系统概述

CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统包含以下两个组件：

- **光学反应模块。**该模块包含一个收集荧光数据的光学系统和一个热循环仪反应模块
注意：CFX96 或 CFX384 光学反应模块的序列号标注在背面。
- **C1000™ Touch 热循环仪基座。**C1000 Touch 基座包括一个以独立模式运行时控制系统的用户界面，还包括电源按钮和连接计算机的端口（两者都位于背面板）



图 1. CFX96 Touch 系统的正面视图。

开启时，将看到 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统包含图 2 中显示的组件。



图 2. CFX96 Touch 系统的内部视图。



警告！ 请勿触摸内盖或反应模块：这些表面可能很热。

- **带加热器板的内盖。** 加热器盖用于保持耗材顶部的温度，以防止样品蒸发。避免触摸或污染加热器板。请勿用任何物体刺穿加热板孔；否则可能会损坏光学传送器系统
- **反应模块。** 运行前在此反应模块中加载样品
- **关闭按钮。** 在盖内侧按此按钮可关闭电动盖

警告！ 防止溢出液体污染设备，且不要在样品盖敞开或泄漏时运行反应。有关设备的一般清洁和维护的信息，请参阅“设备维护”（第 137 页）。

C1000 Touch 机箱的背面板包含下列组件（图 3）：

- **电源开关。** 按此电源开关即可打开系统电源
- **电源输入。** 在此插入电源线
- **以太网端口。** 连接以太网缆线后，可以通过电子邮件发送运行日志和独立数据文件
- **USB 连接。** 使用这些端口可以将 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统连接到计算机或连接 S1000™ 热循环仪

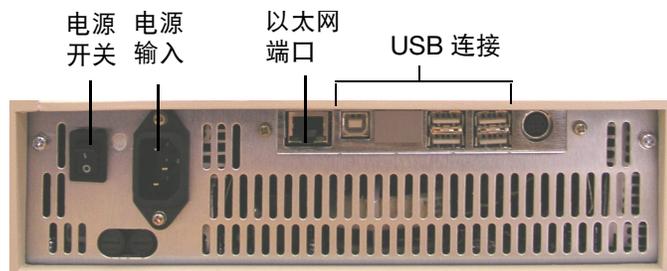


图 3. C1000 Touch 热循环仪的背面板。



警告！请勿在操作期间接触 C1000 Touch 循环仪的背面板。

设置系统

CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 实时 PCR 检测系统应安装在清洁、干燥的平面，而且通风要好，以保证其正常运行。CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统可以在两种模式下运行：独立模式和软件控制模式。如果要在软件控制模式下运行系统，请确保计算机在安装期间有足够的空间。

要将光学反应模块插入 C1000 Touch 热循环仪机箱的反应模块基座中，请按照以下说明操作：

1. 将 C1000 Touch 热循环仪机箱放置在适当的位置，并拉下锁定条。卸下以前安装的任何反应模块。
2. 使用侧通风孔上方的手柄凹槽提起光学反应模块（图 4）。

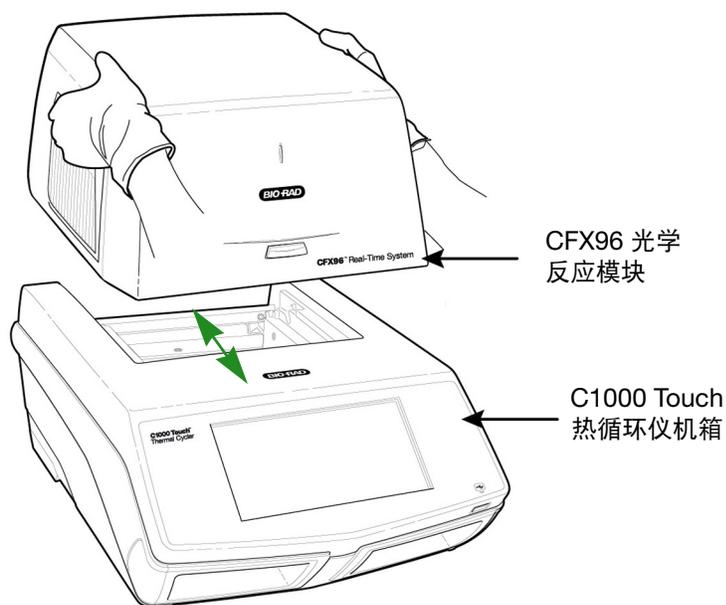


图 4. 提起光学反应模块，将其插入 C1000 Touch 机箱。

3. 将模块放入 C1000 Touch 热循环仪机箱的反应模块基座中，在前面保留约 2 厘米的空隙。位于机箱基座中时，光学模块应覆盖 C1000 Touch 机箱基座前面的 Bio-Rad 徽标。

4. 抓住 C1000 Touch 的锁定条并向上拉，直到它与模块基座两侧齐平。此操作将向前推入模块，并将其锁定到位（图 5）。

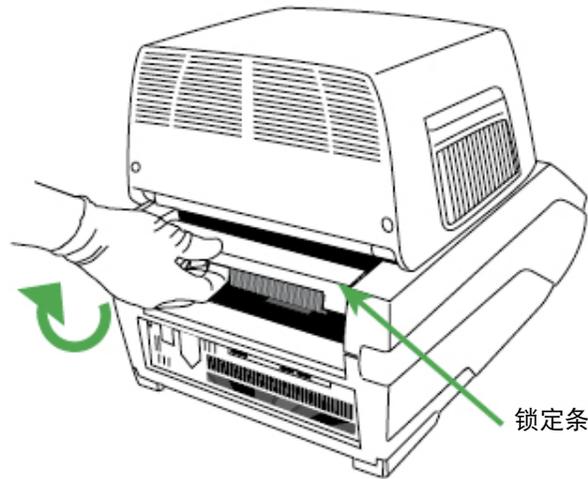


图 5. 将光学模块锁定到位。

5. 检查是否将模块完全且均衡地装入 C1000 Touch 基座中。检查模块底部周边的空隙。模块和基座之间不应留有过多空隙；且空隙应均衡。
6. 将电源线插入 C1000 Touch 基座的背面（图 3），另一端插入适用的三相电源插座。
7. 按 C1000 Touch 热循环仪背面板上的电源开关以启动系统。
8. 按照 C1000 Touch 前面板上的说明卸下内加热器盖上的红色运输固定螺丝。
 - 通过按下 Bio-Rad 徽标下方的按钮，打开光学模块盖。
 - 逆时针旋转螺丝，以将其从加热的内盖（对于 CFX96，与反应孔 A1 对应；对于 CFX384，与 B1 左侧相邻的反应孔对应）的螺丝孔中取出。
9. 从热循环仪反应模块上取下运输板。
10. 通过按下位于反应模块前面的按钮，打开光学模块盖。
11. 按下“拆除螺丝”按钮以确认运输固定螺丝已拆除。

注意：如果未在本步骤卸下运输固定螺丝，则 CFX Manager 软件将会检测到该螺丝。请按照其中的说明卸下螺丝（第 18 页）。

提示：运输模块时，必须安装好运输固定螺丝。请将此螺丝存放在安全的地方，以备将来运输之用。

安装 CFX Manager 软件

CFX Manager 软件可以在装有 Windows XP、Windows Vista 或 Windows 7 操作系统的个人计算机 (PC) 上运行, 需要使用该软件分析来自 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统的实时 PCR 数据。该软件还可用于在软件控制模式下控制 CFX96 系统或 CFX384 系统。表 6 列出了软件的计算机系统要求。

表 6. CFX Manager 软件的计算机要求

系统	最低	推荐
操作系统	Windows XP Professional SP2 以及更高版本、Windows Vista Home Premium 或 Windows 7 Home Premium 以及更高版本。	Windows XP Professional SP2 以及更高版本或 Windows 7。
驱动器	CD-ROM 驱动器	CD-RW 驱动器
硬盘驱动器	10 GB	20 GB
处理器速度	2.0 GHz	2.0 GHz
RAM	1 GB RAM (对于 Windows Vista 为 2 GB)	2 GB RAM
屏幕分辨率	1024 x 768 真彩色模式	1280 x 1024 真彩色模式
USB	USB 2.0 高速端口	USB 2.0 高速端口

安装 CFX Manager 软件：

1. 该软件必须由具有管理员权限的用户安装在计算机上。请确保使用管理员权限登录。
2. 将 CFX Manager 软件 CD 放入计算机的 CD 驱动器中。
3. 将自动显示软件启动页面。双击软件启动页面上的**安装软件** (图 6)。
提示：单击**文档**按钮可以查找设备手册和其他文档的可搜索 PDF 副本。
4. 按照屏幕上的说明完成安装。完成后, 计算机桌面上将出现 Bio-Rad CFX Manager 软件图标。
5. 如果启动页面没有自动显示, 请双击 **(CD 驱动器) : \Bio-Rad CFX**, 然后打开 Readme.txt 文件并按照其中的说明操作。请参阅“手动安装软件” (第 140 页)。

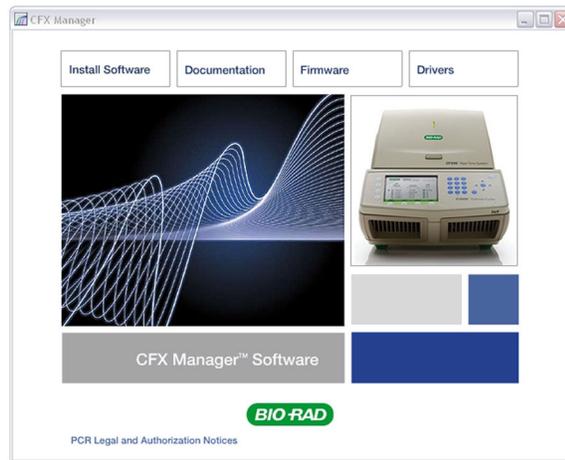


图 6. 软件安装屏幕。

安装驱动程序

如果在**软件控制模式**下运行 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统，则必须在计算机上安装驱动程序。仅使用所提供的已进行充分屏蔽的 USB 缆线，这些缆线可以防止数据丢失。

安装系统驱动程序：

1. 将 C1000 Touch 热循环仪机箱连接到计算机，方法是将 USB 缆线插入位于机箱背面的 USB 2.0 A 端口（图 3），然后将缆线的另一端连接到计算机上的 USB 2.0 B 端口。
2. 如果系统尚未启动，请使用 C1000 Touch 热循环仪机箱背面的电源开关启动系统。计算机第一次检测到设备时，会显示**找到新的硬件向导**，请按照其中的说明进行操作。
3. 在第一个屏幕上，选择**是，仅这一次**，指示 Windows 操作系统连接 Windows Update 以搜索软件。单击**下一步**。
4. 指示向导“**自动安装软件**”。单击**下一步**继续安装驱动程序。
5. 驱动程序安装完毕后，请在软件安装完成屏幕中单击**完成**。

软件文件

CFX Manager 软件将有关运行的信息存储在特定文件中（表 7）：

表 7. 使用 CFX Manager 软件打开这些类型的文件

文件类型	扩展名	如何查看和编辑文件
扩增程序	.prcl	在“运行设置”中选择，在“扩增程序编辑器”中编辑
反应板	.pltd	在“运行设置”中选择，在“反应板编辑器”中编辑
数据	.pcrd	在“数据分析”窗口中查看和分析
基因研究	.mgxd	在“基因研究”窗口中查看和分析
独立数据文件	.zpcr	包含转换到一个数据文件中的独立运行的荧光读数
LIMS	.plrn	包含执行 LIMS 兼容运行所需的反应板设置和扩增程序信息

运行实验

推荐的塑料耗材

为获得最佳结果，Bio-Rad 建议在 CFX384 Touch 系统中使用下列耗材（目录号以粗体显示）：

- **HSP-3805**。薄型 384 孔 Hard-Shell[®] 板，透明外壳，白色反应孔
- **HSP-3866**。薄型 384 孔 Hard-Shell 板，黑色外壳，白色反应孔
- **MSB-1001**。Microseal 'B' 粘接密封，光学透明

CFX96 Touch 系统接受薄型 0.2 ml 板和联管。为获得最佳结果，Bio-Rad 建议使用下列耗材：

- **MLL-9601**。薄型 96 孔不带裙边板，透明反应孔
- **MLL-9651**。薄型 96 孔不带裙边板，白色反应孔
- **HSP-9601**。Hard-Shell 96 孔带裙边板，白色外壳，透明反应孔
- **HSP-9655**。Hard-Shell 96 孔带裙边板，白色外壳，白色反应孔
- **TLS-0801**。薄型 0.2 ml 8 个联管，无盖，透明反应孔
- **TLS-0851**。薄型 0.2 ml 8 个联管，无盖，白色反应孔
- **TCS-0803**。光学平面 8 个联管，用于 0.2 ml 联管和反应板
- **MSB-1001**。Microseal 'B' 粘接密封，光学透明

加载反应模块

要在反应模块中加载反应，请按照以下建议操作：

- 单击位于软件“启动运行”选项卡（参阅““启动运行”选项卡”（第 27 页））上的**打开盖**按钮，或按系统前面的盖按钮（图 1），以打开电动盖。
- 将密封盖的 0.2 ml 微孔板或联管放入反应模块中。检查联管是否完全密封，以防泄漏。为获得最佳结果，请为 CFX96 Touch 系统加载 10–25 μ l 的样品体积，为 CFX384 Touch 系统加载 5–20 μ l 的样品体积。

注意：为进行准确的数据分析，请检查反应模块中的反应方向是否与软件“反应板”选项卡（请参阅““反应板”选项卡”（第 27 页））中的反应孔内容方向完全一致。如果需要，可以在运行之前、期间或之后编辑反应孔内容。

警告！ 运行 CFX96 Touch 系统时，请始终平衡反应孔中的联管或切割微孔板（图 7）。例如，如果在反应模块左侧运行了一个联管，则应在反应模块的右侧运行一个空联管（有盖），以平衡加热盖施加的压力。

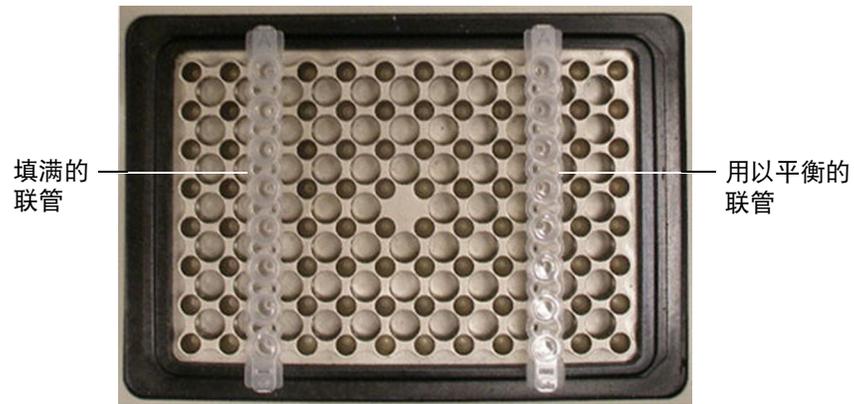


图 7. 平衡反应模块中的联管或切割微孔板。

警告！ 请确保在盖关闭时没有任何阻碍。尽管系统的安全机制可以防止盖在感应到障碍物时关闭，但还是请您避免任何物体阻碍盖关闭。

关闭系统

要关闭 CFX96 Touch 系统，请按照以下建议操作：

- 运行之后，请单击 CFX96 Touch 系统前面的“打开盖”按钮，以访问在热循环仪反应模块中加载的样品。
- 从反应模块中取出样品，并单击“关闭盖”按钮，以关闭 CFX96 Touch 系统的盖。

按 C1000 Touch 热循环仪背面板上的电源开关以关闭系统电源。

2 CFX Manager™ 软件

本章提供有关 CFX Manager 软件入门的信息。

- 软件主窗口 (第 12 页)
- 启动向导 (第 15 页)
- “检测到的设备”窗格 (第 16 页)
- 状态栏 (第 17 页)
- “设备属性”窗口 (第 17 页)
- 母液混合计算器 (第 20 页)
- 任务日程表 (第 21 页)
- 提示与窍门 (第 24 页)

软件主窗口

图 8 提供了软件主窗口中的可用功能

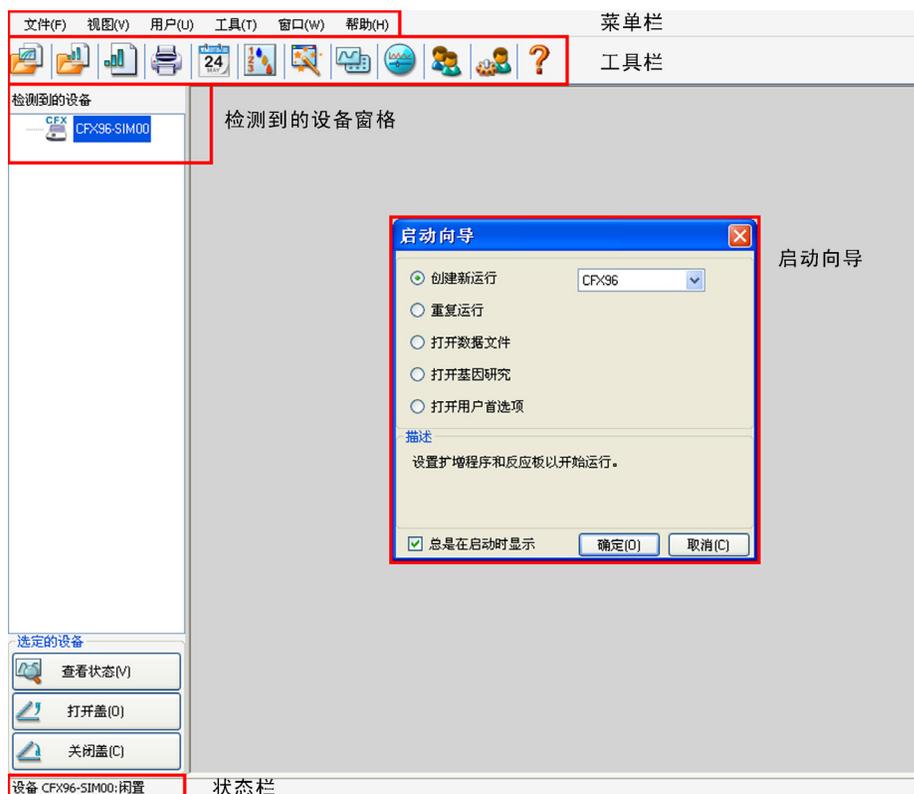


图 8. 软件主窗口。

菜单栏

软件主窗口的菜单栏提供表 8 中列出的项目。

表 8. 软件主窗口中的菜单栏项。

菜单项	命令	功能
文件	新建	创建新的扩增程序、反应板、运行或基因研究。
	打开	打开现有文件，包括扩增程序 (.prcl)、反应板 (.pltd)、数据 (.pcrd)、基因研究 (.mgxd) 文件以及独立运行文件 (.zpcr)。
	最近的数据文件	查看最近查看过的十个数据文件的列表，并选择其中一个文件在“数据分析”窗口中打开。
	重复运行	使用已完成运行中的扩增程序和反应板打开“运行设置”窗口，以快速重复该运行。
	退出	退出软件程序。

表 8. 软件主窗口中的菜单栏项。(续)

菜单项	命令	功能
查看	应用程序日志	显示软件的应用程序日志。
	运行报告	从列表中选择要查看的运行报告。
	启动向导	打开“启动向导”。
	运行设置	打开“运行设置”窗口。
	设备摘要	打开“设备摘要”窗口。
	检测到的设备	显示或隐藏“检测到的设备”窗格。
	工具栏	显示或隐藏软件主窗口的工具栏。
	状态栏	显示或隐藏软件主窗口的状态栏。
用户	选择用户	打开“选择用户”窗口以更改软件用户。
	更改密码	更改用户密码。
	用户首选项	打开“用户首选项”窗口。
	用户管理	在“用户管理”窗口中管理用户。
工具	染料校准向导	打开“染料校准”窗口校准设备，以便用于新荧光基团。
	扩增程序自动编写器	打开“扩增程序自动编写器”窗口以创建新扩增程序。
	Ta 计算器	打开“Ta 计算器”窗口，以计算引物的退火温度。
	任务日程表	打开“任务日程表”以安排设备使用预订。
	母液混合计算器	打开“母液混合准备”计算器。
	查看反应模块状态日志	查看热循环仪反应模块的日志。
	应用程序数据文件夹	打开“应用程序数据”文件夹以查看软件文件。
	用户数据文件夹	打开“数据”文件夹以查看扩增程序、反应板和数据文件。
	LIMS 文件夹	打开 LIMS 文件夹。
	运行历史记录	显示“运行历史记录”文件夹中的所有数据文件。
	所有设备属性	查看所有检测到的设备的属性，包括序列号。
	压缩数据和日志文件	选择文件并将选定的文件压缩为压缩文件以便进行存储或通过电子邮件发送。
	选项	配置软件电子邮件和 LIMS 设置。
	窗口	层叠
垂直平铺		从上到下排列软件窗口。
水平平铺		从右到左排列软件窗口。
全部关闭		关闭所有打开的软件窗口。

表 8. 软件主窗口中的菜单栏项。(续)

菜单项	命令	功能
帮助	内容	打开软件帮助, 以获取关于运行 PCR 和实时 PCR 的详细信息。
	索引	查看软件帮助中的索引。
	搜索	搜索软件帮助。
	Gene Expression Gateway 网站	打开网站, 以查找有关运行 PCR 和实时 PCR 运行的信息。
	PCR 试剂网站	查看列出 Bio-Rad PCR 和实时 PCR 试剂的网站。
	PCR 塑料耗材网站	查看列出用于 PCR 和实时 PCR 运行的 Bio-Rad 耗材的网站。
	软件网站	查看列出 Bio-Rad PCR 和实时 PCR 扩增软件的网站。
	检查更新	检查软件更新或设备更新。
	关于	打开一个窗口, 以查看软件版本。

工具栏按钮

单击软件主窗口的工具栏中的按钮 (表 9) 可快速访问常用软件命令。

表 9. 软件主窗口中的工具栏按钮。

按钮	按钮名称	功能
	打开数据文件	打开浏览器窗口以查找数据文件 (扩展名为 *.pcrd), 并在“数据分析”窗口中打开它。
	打开基因研究	打开浏览器窗口以查找基因研究文件 (扩展名为 .mgxd), 并在“基因研究”窗口中打开它。
	新建基因研究	打开“基因研究”窗口, 以添加文件并创建新研究。
	打印	打印当前的软件窗口。
	任务日程表	打开“任务日程表”以预订 PCR 设备。
	母液混合计算器	打开“母液混合计算器”窗口以设置反应混合液。
	启动向导	打开“启动向导”, 可链接到常用软件功能。

表 9. 软件主窗口中的工具栏按钮。(续)

按钮	按钮名称	功能
	运行设置	打开“运行设置”窗口以设置运行。
	扩增程序自动编写器	打开“扩增程序自动编写器”窗口以创建新扩增程序。
	选择用户	打开“选择用户”窗口以更改软件用户。
	用户首选项	打开“用户首选项”窗口。
	帮助	打开软件“帮助”窗口，以获取关于运行 PCR 和实时 PCR 的详细信息。

启动向导

第一次打开 CFX Manager 软件时，“启动向导”会自动显示。如果未显示，请在软件主窗口的工具栏中单击启动向导按钮。

“启动向导”中包括下列选项：

- **创建新运行 (第 25 页)**。设置扩增程序和反应板以开始新的运行。
注意：请在下拉列表中选择合适的设备，以确保默认反应板设置与要用于运行的设备相匹配。
- **重复运行**。使用已完成运行中的扩增程序和反应板设置运行。如果需要，可以在启动之前编辑运行
- **打开数据文件 (第 63 页)**。打开数据文件以分析结果
- **打开基因研究 (第 106 页)**。打开一个多文件的基因表达研究，以便对来自多个基因表达运行的结果进行分析
- **打开用户首选项 (第 118 页)**。打开“用户首选项”窗口以自定义软件设置

“检测到的设备”窗格

已连接的设备会显示在“检测到的设备”窗格（图9）中。该列表将每个设备显示为图标，并使用序号对其命名（默认）。该设备列表还显示 C1000™ 或 S1000™ 热循环仪上安装的每个双模块反应模块的单个模块（模块 A 和模块 B）。

图9 显示所检测到的四台设备：

- 一台具有双 48/48 孔反应模块的 C1000 热循环仪 (C48FSIM00)
- 一台具有 96 孔反应模块的 S1000 热循环仪 (S96FEM01)，它连接到名为 C48FSIM00 的 C1000 热循环仪上
- 一个 CFX384 系统 (CFX384SIM03)
- 一个 CFX96 系统 (CFX96SIM02)



图9. “检测到的设备”窗格中所列出的设备。

右键单击设备图标或模块可选择下列选项之一：

- **查看状态。** 打开“运行详细信息”窗口，以检查选定设备反应模块的状态
- **反应模块指示灯。** 使设备上的指示灯 LED 闪烁
- **打开盖。** 打开选定设备反应模块上的电动盖
- **关闭盖。** 关闭选定设备反应模块上的电动盖
- **重命名。** 更改设备的名称
- **属性。** 打开“设备属性”窗口
- **全部折叠。** 在“检测到的设备”窗格中折叠设备列表
- **全部展开。** 在“检测到的设备”窗格中展开设备列表

还可以通过以下方法控制反应模块：在“检测到的设备”窗格中单击设备反应模块图标，然后在“选定的设备”窗格中单击按钮（图 10）。



图 10. “检测到的设备”窗格底部的按钮。

- 单击**查看状态**可打开“运行详细信息”窗口，以检查选定设备反应模块的状态
- 单击**打开盖**可打开选定设备上的电动盖
- 单击**关闭盖**可关闭选定设备上的电动盖
- 单击**查看摘要**可打开“设备摘要”窗口

如果仅检测到一个设备，则不会显示**查看摘要**按钮。要查看单个设备的“设备摘要”窗口，请选择**查看 > 设备摘要**。

状态栏

软件主窗口底部状态栏的左侧显示设备的当前状态。查看状态栏的右侧可了解当前的用户名、日期和时间。单击并拖动状态栏的右下角可调整主窗口大小。

“设备属性”窗口

要打开“设备属性”窗口以查看设备信息，请在“检测到的设备”窗格中右键单击设备图标（图 9）。该窗口包含三个选项卡（图 11）：

- **属性**。查看序列号和 C1000 Touch 热循环仪名称
- **运输固定螺丝**。卸下运输固定螺丝以运行设备或在需要运输设备时安装运输固定螺丝

- **已校准染料。** 查看已校准的荧光基团的列表



图 11. “设备属性”窗口。

“属性”选项卡

设备的默认名称为 C1000 Touch 热循环仪的序列号，该序列号在多个位置显示，包括“检测到的设备”窗格（图 9）。

要重命名设备以便进行标识，请按照以下说明操作：

- 在“设备属性”窗口中，在“属性”选项卡顶部的**重命名**框中输入一个名称，然后单击**重命名**按钮以保存新名称

“属性”选项卡显示已连接设备的重要序列号，其中包括热循环仪和反应模块。另外，还显示固件版本。

“运输固定螺丝”选项卡

“运输固定螺丝”选项卡包括用于安装或卸下红色运输固定螺丝的说明。为避免损坏光学反应模块，在任何时候运输 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统时，都应该安装运输固定螺丝。

注意：如果软件检测到运输固定螺丝，“设备属性”窗口会自动打开，“运输固定螺丝”选项卡显示在前面。请按照其中的说明卸下螺丝。

该选项卡中的信息根据运输固定螺丝是否已安装或已拆除而有所不同。例如，要安装运输固定螺丝，请单击**安装运输固定螺丝**按钮，然后按照说明操作（图 12）。



图 12. 安装运输固定螺丝的说明。

“已校准染料”选项卡

打开“已校准染料”选项卡（图 13）可查看选定设备的已校准荧光基团和反应板。单击**信息**按钮可以查看有关校准的详细信息。

The screenshot shows the '校准的染料' (Calibrated Dyes) tab in the '设备属性 - [CFX96-SIM00]' window. It displays a table with the following data:

	荧光基团	通道	反应板类型	校准者	日期	错误	详细信息
1	SYBR	1	BR Clear	工厂	2008-1-8 10:29:11	<input type="checkbox"/>	信息
2	SYBR	1	BR Clear	用户	2008-1-8 11:25:00	<input type="checkbox"/>	信息
3	SYBR	1	BR White	工厂	2008-1-8 10:38:30	<input type="checkbox"/>	信息
4	ROX	3	BR White	工厂	2008-1-8 10:38:30	<input type="checkbox"/>	信息
5	Quasar 705	5	BR Clear	用户	2008-1-8 11:25:00	<input type="checkbox"/>	信息
6	Quasar 705	5	BR White	工厂	2008-1-8 10:38:30	<input type="checkbox"/>	信息
7	ROX	3	BR Clear	工厂	2008-1-8 10:29:11	<input type="checkbox"/>	信息
8	TET	2	BR Clear	工厂	2008-1-8 10:29:11	<input type="checkbox"/>	信息
9	VIC	2	BR Clear	工厂	2008-1-8 10:29:11	<input type="checkbox"/>	信息
10	VIC	2	BR Clear	用户	2008-1-8 11:25:00	<input type="checkbox"/>	信息
11	VIC	2	BR White	工厂	2008-1-8 10:38:30	<input type="checkbox"/>	信息
12	Texas Red	3	BR White	工厂	2008-1-8 10:38:30	<input type="checkbox"/>	信息
13	TET	2	BR White	工厂	2008-1-8 10:38:30	<input type="checkbox"/>	信息
14	Texas Red	3	BR Clear	工厂	2008-1-8 10:29:11	<input type="checkbox"/>	信息
15	Texas Red	3	BR Clear	用户	2008-1-8 11:25:00	<input type="checkbox"/>	信息

图 13. “设备属性”窗口中的“已校准染料”选项卡。

母液混合计算器

要打开母液混合计算器，请单击工具栏中的“母液混合计算器”按钮（表9）或从主窗口中选择工具 > 母液混合计算器。

母液混合计算器

反应
检测方法: SYBR Green/EvaGreen 探针

目标
新建 SYBR_target_1 删除 全部删除

起始浓度 最终浓度

正向引物: 10 pmol/µl (µM) 200 nM
反向引物: 10 pmol/µl (µM) 200 nM
探针: 10 pmol/µl (µM) 200 nM

母液混合设置

反应数: 96
每个反应孔的反应体积: 20 µl
模板体积: 1.0 µl
超混合液浓度: 2.0 ×
超过反应体积: 5 %

选择要计算的目标
 SYBR_target_1

成分	每个反应体积(µl)	96 反应的总体积 + (5)%
▶ 超混合液 (2 x)	10.000	1008.0
10 µM 正向引物(SYBR_target_1)	0.400	40.3
10 µM 反向引物(SYBR_target_1)	0.400	40.3
模板	(1.00)	(100.8)
水	8.200	826.6
总体积(不包括模板)	19.000	1915.2
*		

打印 设置为默认值 恢复默认值 正常 取消

图 14. “母液混合计算器”窗口。

要设置反应母液混合，请执行以下操作：

1. 选择 SYBR[®] Green/EvaGreen 检测方法或探针检测方法。
2. 通过以下方法编辑默认目标名称：高亮显示目标下拉列表中的目标名称，在目标框中输入新的目标名称，然后按键盘上的 Enter 键。
3. 输入正向引物和反向引物以及任何探针的起始浓度和最终浓度。
4. 通过单击新建按钮，可以添加其他目标。要删除目标，请使用目标下拉列表选择目标，并单击删除。

警告！ 从目标列表中删除某个目标还会从使用它的任何母液混合计算中将其删除。

5. 调整超混合液浓度、每个反应孔的反应体积、超过反应体积、将添加到每个反应孔的模板体积，以及将运行的反应数。
6. 选中一个目标（对于每个 SYBR[®] Green/EvaGreen 母液混合，只能选择一个目标）或多个目标（适用于探针多重反应）旁边的复选框。系统会列出计算出的母液混合所需成分的体积。
7. 要打印母液混合计算表，请单击**打印**。
8. 单击**设置为默认值**按钮，以将在“目标”和“母液混合设置”部分中输入的定量设置为新的默认值。
9. 要保存“母液混合计算器”窗口中的内容，请单击**确定**。

任务日程表

使用“任务日程表”预订设备使用。要访问“任务日程表”，请单击工具栏中的“任务日程表”按钮（表9）或从主窗口中选择**工具 > 任务日程表**。

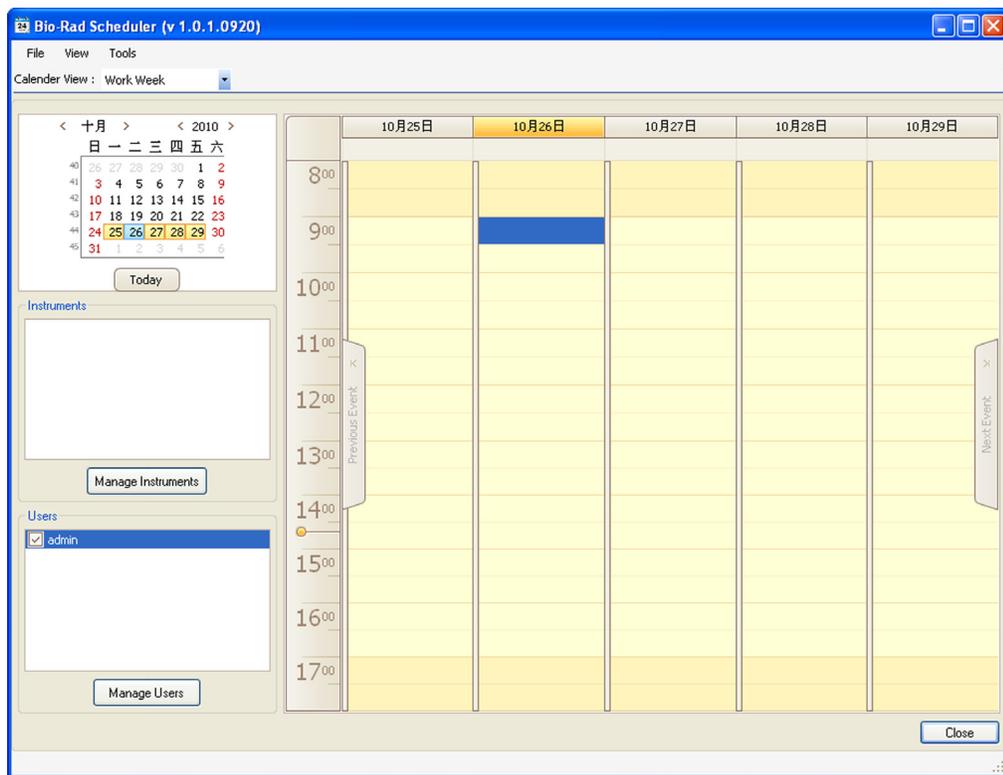


图 15. 任务日程表主窗口。

设置任务日程表

1. 首次打开“任务日程表”时，系统会从 CFX Manager 软件中导入所有的用户、设备和 SMTP 电子邮件设置。
2. 要添加新设备，请选择**查看 > 设备详细信息**或在任务日程表主窗口中单击“设备”列表（图 15）下方的**管理设备**按钮。在“设备详细信息”窗口的“名称”列中，输入设备名称。从下拉列表中选择一种型号，或将其保留为空以安排未列出的设备类型。可以选择输入基座序列号和光学头序列号。
3. 要添加新用户，请选择**查看 > 用户详细信息**或单击“用户”列表下的**管理用户**按钮。在“用户详细信息”窗口（图 16）的“名称”列中，输入新的用户名。可以输入电子邮件地址，这样便可发送可选电子通知。
注意：为了启用电子通知，需要设置 SMTP 服务器。

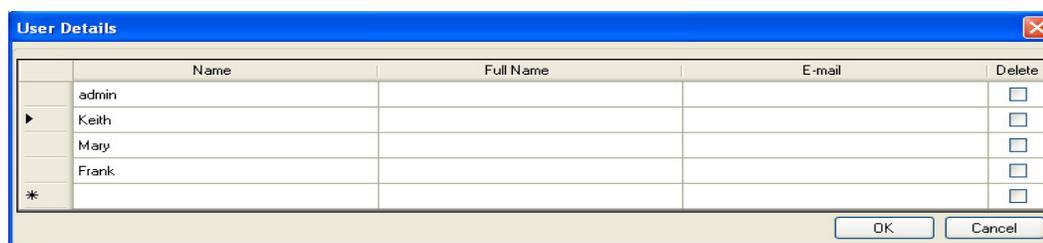


图 16. 任务日程表的“用户详细信息”窗口。

4. 要删除设备或用户，请打开相应的详细信息窗口，并选中“删除”列中对应的框。
警告！ 与此设备或用户关联的所有事件都将从日历中被删除。

任务日程表的菜单栏

任务日程表的菜单栏内容列在表 10 中。

表 10. 任务日程表中的菜单栏项。

菜单项	命令	功能
文件	打印预览	打开打印预览窗口，以调整打印设置。
	打印	按照日历在屏幕上出现的样式对其进行打印。
	退出	退出任务日程表。
查看	设备详细信息	打开“设备详细信息”窗口，可查看、编辑、添加或删除名称、型号、基座序列号或光学头序列号。
	用户详细信息	打开“用户详细信息”窗口，可查看、编辑、添加或删除任务日程表用户。
	日志文件	查看任务日程表活动日志。
工具	从 CFX Manager 中导入	从 CFX Manager 软件中导入设备、用户或 SMTP 电子邮件设置。
	清除事件	从日历中删除选项窗口中指定时间段之前的事件。
	选项	打开一个窗口，以指定默认日历设置、创建桌面图标、选择在启动时运行任务日程表，或定义清除参数。

输入任务日程表事件

要调度事件，请执行以下操作：

1. 双击日历中相应的单元格，或单击鼠标右键并选择**新事件**。
2. 从下拉列表中选择设备和用户（图 17）。
3. 调整起始和结束时间。一旦事件出现在日历视图中，即可通过单击相应条目并将其拖动到日历中的新位置，而将其移动到另一个时间段。
4. 为此事件分配颜色（可选）。
5. 为了包括将在事件开始之前的指定时间段内出现的电子邮件提醒或弹出式提醒，请选中**提醒**复选框，并从下拉列表中选择提前通知时间段。

警告！ 任务日程表必须处于运行状态，才能激活提醒。最小化“任务日程表”窗口会使弹出式提醒和电子邮件提醒在安排的时间出现。选择关闭将退出“任务日程表”。

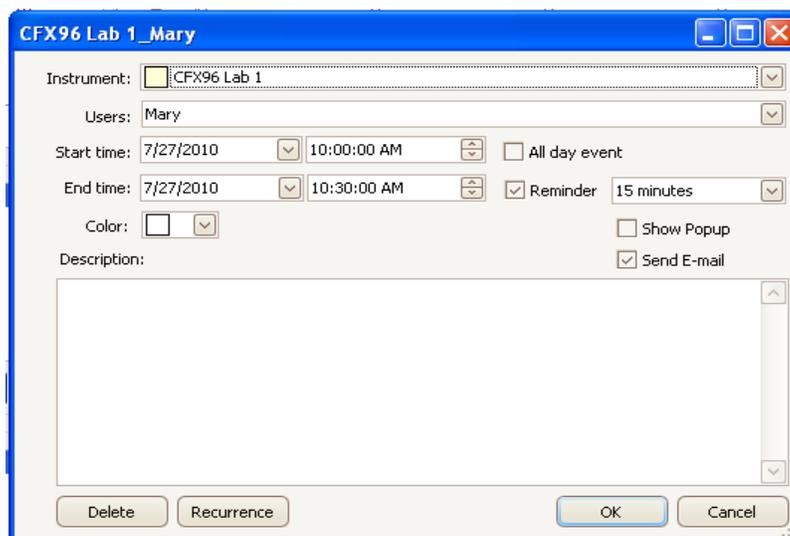


图 17. 任务日程表的“新事件”窗口。

清除事件

选择工具 > 清除事件，可从日历中删除在任务日程表“选项”窗口中指定的时间段之前的事件（如下所示）。

警告！ 早于指定日期的所有事件都将被删除。

任务日程表选项

选择工具 > 选项，可定义任务日程表的显示、清除和启动设置。单击恢复默认值可恢复任务日程表的默认设置。

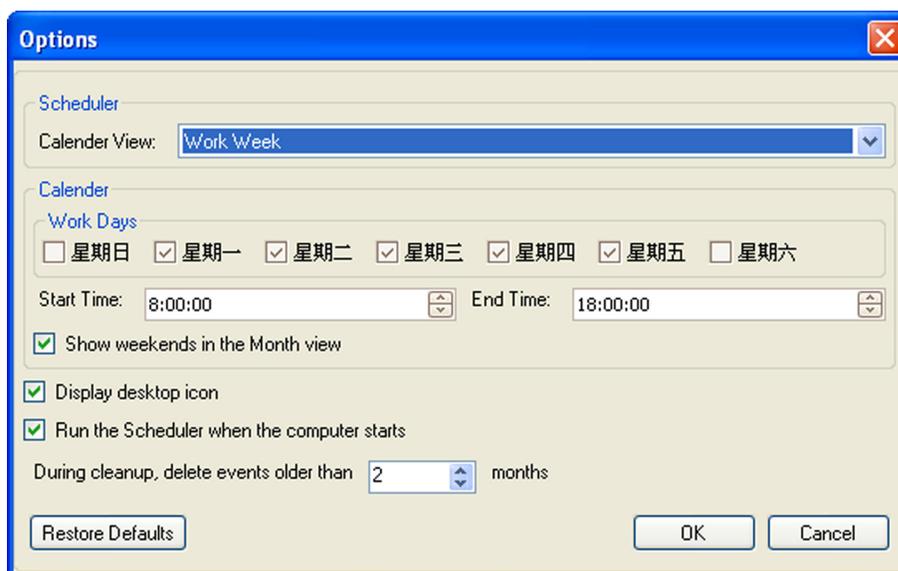


图 18. 任务日程表的“选项”窗口。

3 执行运行

本章提供有关使用 CFX Manager™ 软件执行运行的信息：

- “运行设置”窗口（第 25 页）
- “扩增程序”选项卡（第 26 页）
- 终点唯一运行（第 26 页）
- “反应板”选项卡（第 27 页）
- “启动运行”选项卡（第 27 页）
- “运行详细信息”窗口（第 28 页）
- “设备摘要”窗口（第 31 页）

“运行设置”窗口

“运行设置”窗口提供对设置和启动运行所需的文件和设置的快速访问。要打开“运行设置”窗口，请执行下列选项之一：

- 单击“启动向导”中的**创建新运行**选项（第 15 页）
- 单击软件主工具栏中的**运行设置**按钮（第 14 页）
- 在软件主菜单栏中选择**文件 > 新建 > 运行**（第 12 页）

“运行设置”窗口包含下列三个选项卡：

- **扩增程序**。单击“扩增程序”选项卡可选择要运行或编辑的现有扩增程序，或在“扩增程序编辑器”窗口中创建新的扩增程序（第 33 页）
- **反应板**。单击“反应板”选项卡可选择要运行或编辑的现有反应板，或在“反应板编辑器”窗口中创建新的反应板（第 41 页）
- **启动运行**。单击“启动运行”选项卡（第 27 页）可检查运行设置，选择一个或多个设备反应模块，并开始运行

注意：如果当前在“扩增程序”选项卡中选定的扩增程序不包含具有用于实时 PCR 分析的读板的步骤，则会隐藏“反应板”选项卡。要查看“反应板”选项卡，请至少在扩增程序的一个步骤中添加“读板”（第 35 页）。

注意：通过在软件主菜单栏中选择**文件 > 重复运行**，可从以前的运行启动新运行。为要重复的运行选择数据文件 (.pcrd)。

“运行设置”窗口将打开，其中“扩增程序”选项卡显示在前面（图 19）。要打开其他选项卡，请单击相应选项卡或单击窗口底部的上一步或下一步按钮。

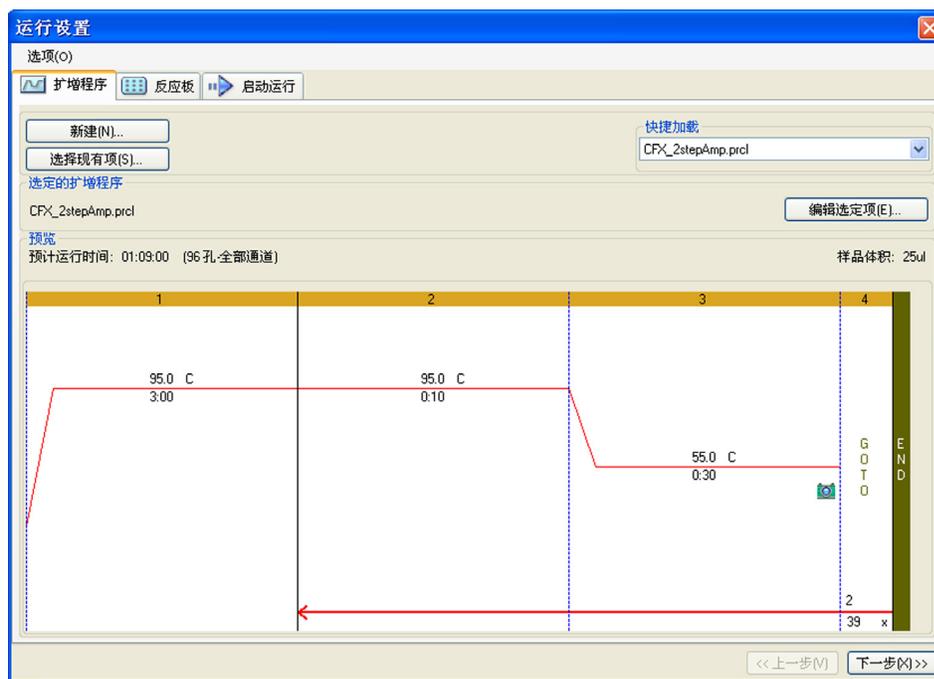


图 19. “运行设置”窗口，包含“扩增程序”、“反应板”和“启动运行”选项卡。

“扩增程序”选项卡

“扩增程序”选项卡可显示“运行设置”中加载的选定扩增程序文件的预览（图 19）。扩增程序文件包含设备温度步骤的说明，以及控制变温速率和盖温度的设备选项。

通过选择下列选项之一，可以选择现有的扩增程序、创建新的扩增程序或编辑当前选定的扩增程序：

- “新建”按钮。打开“扩增程序编辑器”以创建新扩增程序
- “选择现有项”按钮。打开一个浏览器窗口，以选择现有的扩增程序文件（扩展名为 .prcl）并将其加载到“扩增程序”选项卡中
- “快速载入”下拉菜单。快速选择一个扩增程序，以将其加载到“扩增程序”选项卡中。

提示：要添加或删除快速载入菜单中的扩增程序，请在 **ExpressLoad** 文件夹中添加或删除文件（扩展名为 .prcl）。要查找此文件夹，请选择软件主窗口菜单栏中的 **工具 > 用户数据文件夹**

- “编辑选定项”按钮。在“扩增程序编辑器”中打开当前选定的扩增程序

终点唯一运行

要运行仅包含一个终点数据获取步骤的扩增程序，请从“运行设置”窗口菜单栏的选项中选择 **选项 > 终点唯一运行**。默认终点扩增程序将被加载到“扩增程序”选项卡中，该程序包含 30 秒达到 60.0°C 的两个循环。

要更改终点唯一运行的步骤温度或样品体积，请单击 **启动运行** 选项卡，并编辑 **步骤温度** 或 **样品体积**。

“反应板”选项卡

“反应板”选项卡可显示“运行设置”中加载的选定反应板文件的预览（图 20）。在实时 PCR 运行中，反应板文件包含对每个反应孔的内容、扫描模式和反应板类型的说明。CFX Manager 软件将这些说明用于数据收集和分析。

通过选择下列选项之一，可以选择现有的反应板、创建新的反应板或编辑当前选定的反应板：

- “新建”按钮。打开“反应板编辑器”以创建新反应板
- “选择现有项”按钮。打开一个浏览器窗口，以选择现有的反应板文件（扩展名为 .pltd）并将其加载到“反应板”选项卡中
- “快速载入”下拉菜单。快速选择一个反应板，以将其加载到“反应板”选项卡中

提示：要添加或删除快速载入菜单中的反应板，请在 **ExpressLoad** 文件夹中添加或删除文件（扩展名为 .pltd）。要查找此文件夹，请选择软件主窗口菜单栏中的 **工具 > 用户数据文件夹**

- “编辑选定项”按钮。在“反应板编辑器”中打开当前选定的反应板



图 20. “反应板”选项卡窗口。

“启动运行”选项卡

“启动运行”选项卡（图 21）包括检查即将启动的运行的相关信息的部分（其中包括选定的扩增程序和反应板文件），以及选择设备反应模块的部分。

- “运行信息”窗格。查看选定的扩增程序文件、反应板文件和数据获取“扫描模式”设置。在注释框中输入有关运行的可选注释

- “在选定的反应模块上启动运行”窗格。选择一个或多个反应模块，编辑运行参数（如有必要），然后单击启动运行按钮以开始运行

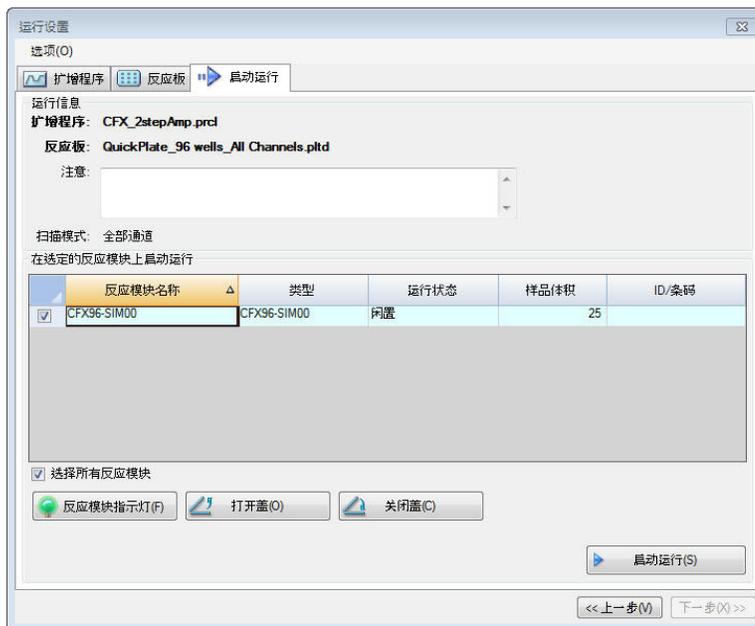


图 21. “启动运行”选项卡。

注意：通过在电子表格单元格中选择体积并输入新体积，可覆盖扩增程序文件中加载的样品体积。

注意：可以为每个反应模块输入运行 ID，方法是选择单元格并输入 ID，或选择单元格并使用条码阅读器进行扫描。

要在在选定的反应模块上启动运行窗格的电子表格中添加或删除运行参数，请右键单击列表，然后从菜单中选择要显示的选项。通过单击并选中单元格中的文本来选择要更改的值，然后通过输入，或者从下拉菜单中选择一个新参数来进行更改。可编辑参数包括：

- **盖温度**。查看盖的温度。可通过选择文本并输入新温度的方式来覆盖盖温度

用于控制设备的按钮

单击“启动运行”选项卡中的下列按钮可远程操作选定的设备：

- **启动运行**。在选定的设备反应模块上启动运行
- **反应模块指示灯**。使选定的设备反应模块上的指示灯 LED 闪烁
- **打开盖**。打开选定设备反应模块上的电动盖
- **关闭盖**。关闭选定设备反应模块上的电动盖

“运行详细信息”窗口

单击启动运行按钮时，CFX Manager 软件将提示您保存数据文件的名称，然后将打开“运行详细信息”窗口。通过查看此窗口中的信息可监控运行进度。

- **“运行状态”选项卡**。检查扩增程序的当前状态、打开盖、暂停运行、添加重复、跳过步骤或停止运行

- “实时状态”选项卡。查看所收集的实时 PCR 荧光数据
- “时间状态”选项卡。查看扩增程序的全屏倒计时计时器

图 22 显示了“运行详细信息”窗口的功能。

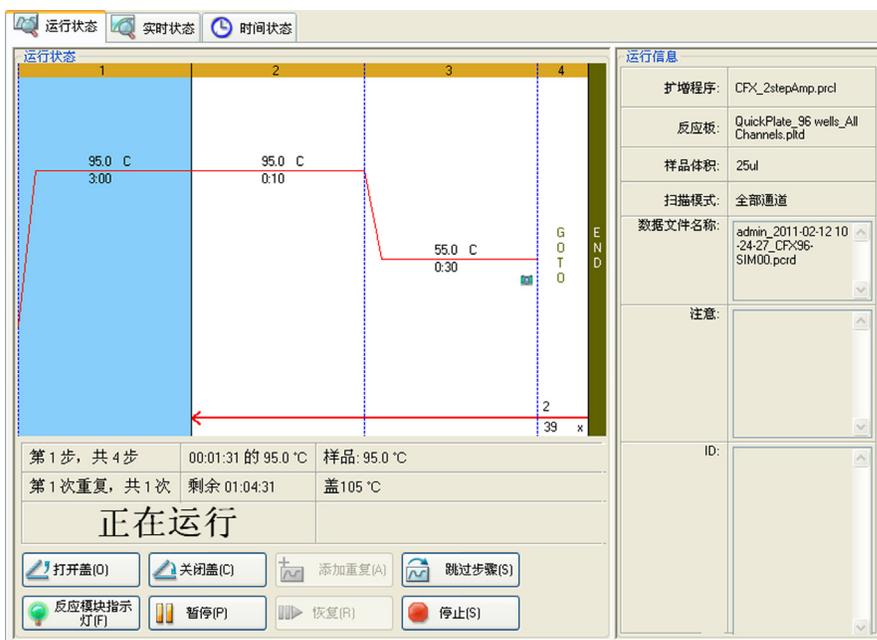


图 22. 显示“运行状态”选项卡的“运行详细信息”窗口。

“运行状态”选项卡

“运行详细信息”窗口中的“运行状态”选项卡（图 22）可显示正在进行的运行的当前状态，并提供控制盖和更改正在进行的运行的按钮（如下所示）。

- “运行状态”窗格。显示扩增程序的当前进度
- “运行状态”按钮。单击其中一个按钮可远程操作设备，或中断当前扩增程序
- “运行信息”窗格。显示运行详细信息

“运行状态”选项卡按钮

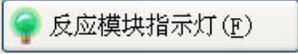
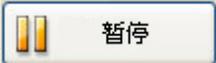
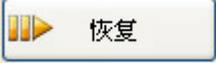
单击表 11 中列出的一个按钮可从软件操作设备或更改正在进行的运行。

注意：在运行期间更改扩增程序（例如添加重复）不会更改与运行关联的扩增程序文件。这些操作将记录在运行日志中。

表 11. “运行状态”按钮及其功能。

按钮	功能
 打开盖(O)	打开选定设备上的电动盖。 警告！ 在运行期间打开盖将会暂停当前步骤的运行，并可能会改变数据。
 关闭盖(C)	关闭选定设备上的电动盖。

表 11. “运行状态”按钮及其功能。(续)

按钮	功能
 添加重复	将更多重复添加到扩增程序中当前的跳转步骤。只有在运行跳转步骤时，该按钮才可用。
 跳过步骤	跳过扩增程序中的当前步骤。如果跳过跳转步骤，软件将验证您是否要跳过整个跳转循环，并继续进行扩增程序中的下一个步骤。
 反应模块指示灯 (F)	使选定设备上的 LED 闪烁，以标识选定的反应模块。
 暂停	暂停扩增程序。 注意：此操作将记录在运行日志中。
 恢复	恢复已暂停的扩增程序。
 停止	在扩增程序结束前停止运行，此操作可能会更改数据。

“实时状态”选项卡

“实时状态”选项卡 (图 23) 显示前两个反应板读取后在扩增程序中的每个循环收集的实时 PCR 数据。
提示：单击查看 / 编辑反应板按钮可打开“反应板编辑器”窗口。在运行期间，可以输入有关反应板中每个反应孔的内容的详细信息。

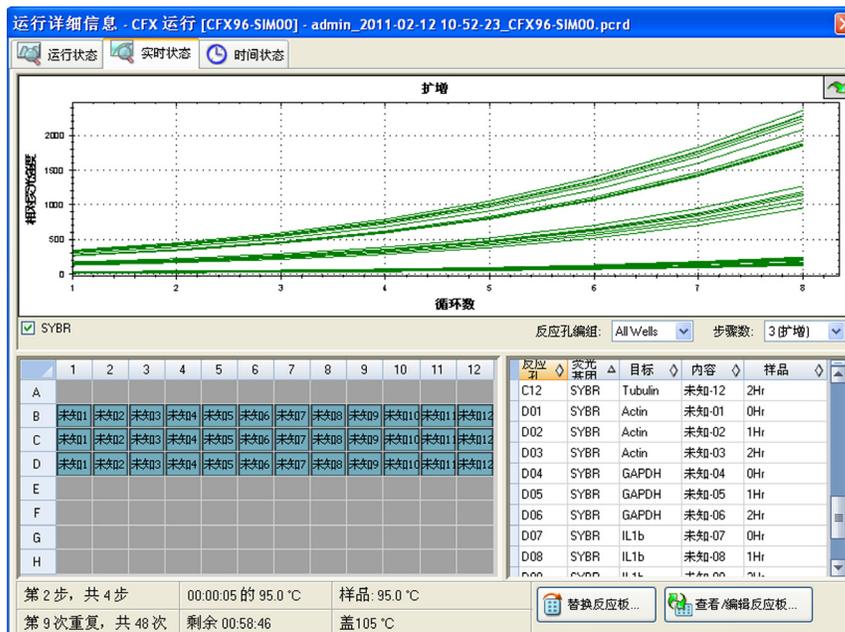


图 23. “实时状态”选项卡可显示运行期间的数据。

替换反应板文件

运行期间，可以通过单击“实时状态”选项卡中的**替换反应板**按钮（图 23）来替换反应板文件。从窗口浏览器中的列表选择新的反应板文件 (.pltd)。

注意：CFX Manager 软件将检查反应板文件的扫描模式和反应板大小，这些设置必须与运行期间启动的运行设置一致。

提示：如果使用 ExpressLoad 文件夹中的快速反应板文件启动运行，则替换反应板文件将尤其有用。

编辑反应板设置

通过选择“实时状态”选项卡中的**查看 / 编辑反应板**按钮，可以在运行正在进行的同时查看和编辑反应板设置。随后将显示“反应板编辑器”窗口，您可以按照第 5 章（“反应板”）中概括的内容进行编辑。

注意：还可以从“反应板编辑器”窗口中编辑示踪线样式，所做的更改将显示在“实时状态”选项卡的扩增示踪线图中。

“时间状态”选项卡

“时间状态”选项卡可显示当前运行的倒计时计时器。

“设备摘要”窗口

“设备摘要”窗口显示检测到的设备及其状态的列表。通过单击“检测到的设备”窗格中的**查看摘要**按钮（第 17 页的图 10）即可打开“设备摘要”。在“设备摘要”窗口中右键单击可更改显示的选项列表。

图 24 显示了“设备摘要”窗口，其中包括“反应模块名称”列表和所有检测到的设备的当前状态。选择一个或多个反应模块，然后单击工具栏中的按钮，可更改每个设备的状态。

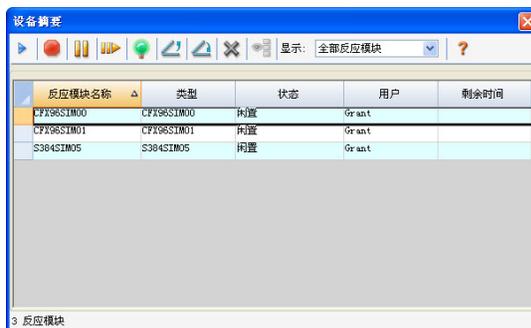
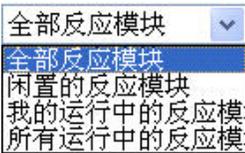


图 24. “设备摘要”窗口。

“设备摘要”工具栏

“设备摘要”工具栏包含表 12 中列出的按钮和功能。

表 12. “设备摘要”窗口中的工具栏按钮。

按钮	按钮名称	功能
	设置运行	打开“运行设置”窗口，在选定的反应模块上设置运行。
	停止	停止选定反应模块上的当前运行。
	暂停	暂停选定反应模块上的当前运行。
	恢复	恢复选定反应模块上的运行。
	反应模块指示灯	使选定反应模块盖子上的指示灯 LED 闪烁。
	打开盖	打开选定反应模块的电动盖。
	关闭盖	关闭选定反应模块的电动盖。
	隐藏选定的反应模块	在“设备摘要”列表中隐藏选定的反应模块。
	显示所有反应模块	在“设备摘要”列表中显示选定的反应模块。
	显示	选择在列表中显示哪些反应模块。选择其中的一个选项，可显示所有检测到的反应模块、所有闲置的反应模块、当前用户运行的所有反应模块或所有正在运行的反应模块。

4 扩增程序

本章提供有关创建和编辑扩增程序文件的信息：

- “扩增程序编辑器”窗口（第 33 页）
- 扩增程序编辑器控件（第 35 页）
- 温度控制模式（第 38 页）
- 扩增程序自动编写器（第 39 页）

“扩增程序编辑器”窗口

扩增程序用于指示设备控制温度步骤、盖温度和其他设备选项。打开“扩增程序编辑器”窗口可创建新扩增程序，或编辑当前在“扩增程序”选项卡中选定的扩增程序。在扩增程序编辑器中创建或编辑扩增程序后，单击**确定**即可将该扩增程序文件加载到“运行设置”窗口中并运行它。

打开“扩增程序编辑器”

要打开“扩增程序编辑器”，请选择下列选项之一：

- 要创建新扩增程序，请选择**文件 > 新建 > 扩增程序**，或单击“扩增程序”选项卡（第 26 页）中的**新建**按钮
- 要打开现有的扩增程序，请选择**文件 > 打开 > 扩增程序**，或单击“扩增程序”选项卡（第 26 页）中的**打开现有项**按钮
- 要在“扩增程序”选项卡中编辑当前的扩增程序，请单击“扩增程序”选项卡（第 26 页）中的**编辑选定项**按钮

提示：要更改“扩增程序编辑器”窗口中的默认设置，请在“用户首选项”窗口（第 121 页）的“扩增程序”选项卡中输入更改内容。

“扩增程序编辑器”窗口

“扩增程序编辑器”窗口（图 25）包含下列功能：

- **菜单栏**。选择扩增程序的设置
- **工具栏**。选择用于编辑扩增程序的选项

- **扩增程序。**以图形（顶部）和文本（底部）视图查看选定的扩增程序。在任何步骤的图形或文本视图中单击温度或停滞时间均可输入新值
- **“扩增程序编辑器”按钮。**通过单击文本视图左侧的按钮之一可以编辑扩增程序

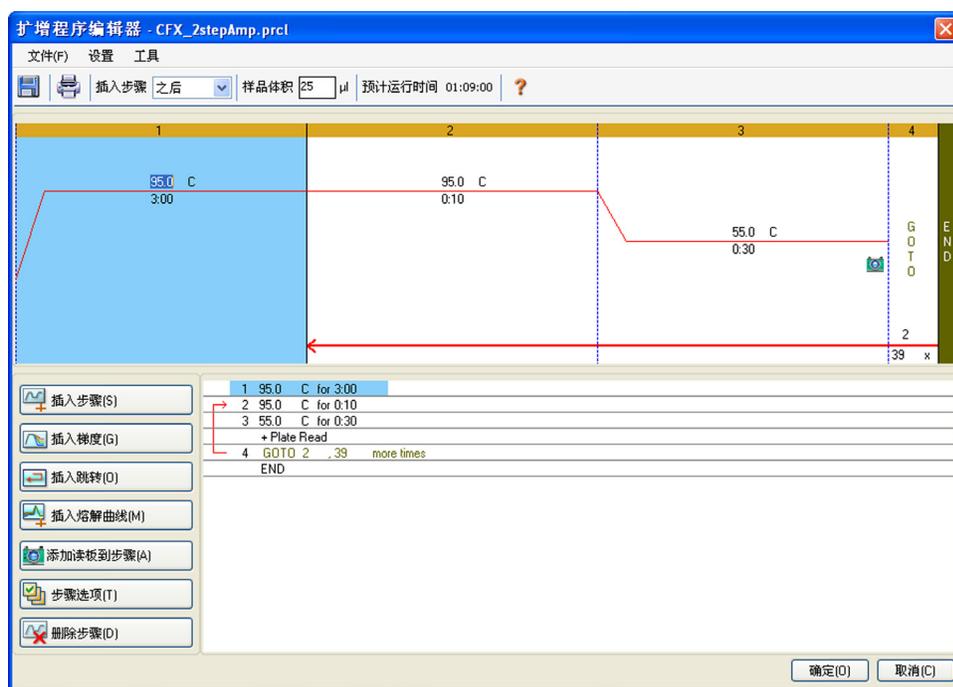


图 25. 带有用于编辑扩增程序的按钮的“扩增程序编辑器”窗口。

“扩增程序编辑器”菜单栏

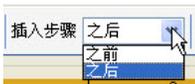
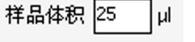
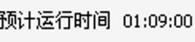
“扩增程序编辑器”窗口中的菜单栏可提供表 13 中所示的菜单项。

表 13. “扩增程序编辑器”菜单栏。

菜单项	命令	功能
文件	保存	保存当前扩增程序。
	另存为	使用新名称保存当前扩增程序，或将其保存到新位置。
	关闭	关闭扩增程序编辑器。
设置	盖设置	打开“盖设置”窗口以更改或设置“盖温度”。
工具	梯度计算器	选择梯度步骤的反应模块类型。可选择 96 个反应孔或 384 个反应孔。
	运行时间计算器	选择设备和扫描模式，用以计算“运行设置”窗口中的预计运行时间。

表 14 列出了“扩增程序编辑器”工具栏按钮的功能。

表 14. “扩增程序编辑器”工具栏按钮。

工具栏按钮和菜单	名称	功能
	保存	保存当前的扩增程序文件。
	打印	打印选定的窗口。
	插入步骤	选择之后或之前，可在当前高亮显示的步骤的相对位置插入步骤。
	样品体积	输入 0 和 50 之间 (96 孔反应模块) 或 0 和 30 之间 (384 孔反应模块) 的样品体积 (以 μl 为单位)。样品体积将决定温度控制模式 (第 38 页)。输入零 (0) 可选择“反应模块”模式。
	运行时间	查看根据扩增程序步骤和变温速率估计的运行时间。
	帮助	打开软件“帮助”，以获取有关扩增程序的详细信息。

扩增程序编辑器控件

“扩增程序编辑器”窗口包括用于编辑扩增程序的按钮。首先，通过用鼠标左键单击来选定并高亮显示扩增程序中的某个步骤。然后，单击“扩增程序编辑器”窗口左下方的“扩增程序编辑器”按钮之一来更改扩增程序。插入新步骤的位置（在当前选定的步骤“之前”或“之后”）取决于工具栏中的“插入步骤”框的状态。

“插入步骤”按钮

在当前选定的步骤之前或之后插入温度步骤：

1. 单击**插入步骤**按钮。
2. 通过在图形或文本视图中单击默认值并输入新值，可编辑温度或保持时间。
3. (可选) 单击**步骤选项**按钮，可向步骤中输入增加量或延长选项 (第 38 页)。

添加或删除读板

将读板添加到步骤或从步骤删除读板：

1. 通过在图形或文本视图中单击步骤来选择该步骤。
2. 单击**将读板添加到步骤**按钮，将读板添加到选定的步骤。如果该步骤已包含读板，则按钮上的文本将发生更改，因此同一按钮上将显示**删除读板**。单击即可从选定的步骤中删除读板。

“插入梯度”按钮

在当前选定的步骤之前或之后插入梯度步骤：

1. 通过单击**插入梯度**按钮插入温度梯度步骤。
2. 请确保梯度的反应板大小与设备的反应模块类型（96 孔或 384 孔）相匹配。通过选择“扩增程序编辑器”菜单栏中的**工具 > 梯度计算器**，可选择梯度的反应板大小。
3. 通过在图形或文本视图中单击默认温度，并输入新温度，可编辑梯度温度范围。或者，可以单击**步骤选项**按钮，在“步骤选项”窗口（第 38 页）中输入梯度范围。
4. 通过在图形或文本视图中单击默认时间并输入新时间，可编辑保持时间。

图 26 显示插入的梯度步骤。在窗口右侧输入的梯度中的每行温度将反映到图表中。

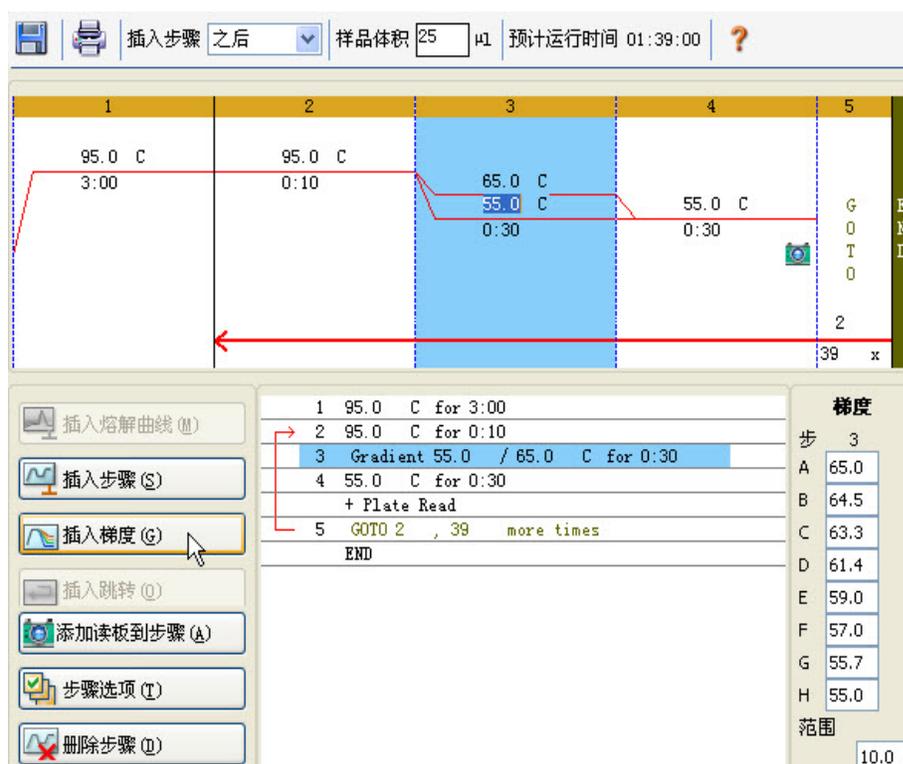


图 26. 带有插入的梯度步骤的扩增程序。

“插入跳转”按钮

在选定步骤之前或之后插入跳转步骤：

1. 单击**插入跳转**按钮。
2. 通过在图形或文本视图中单击默认数字并输入新值，可编辑跳转步骤数或跳转重复次数。

图 26 显示在扩增程序末端插入的跳转步骤。请注意，此跳转循环包括步骤 2-4。

“插入熔解曲线”按钮

在选定步骤之前或之后插入熔解曲线步骤：

1. 单击**插入熔解曲线**按钮。
2. 通过在图形或文本视图中单击默认数字并输入新值，可编辑熔解温度范围或升温时间。或者，可以单击**步骤选项**按钮，在“步骤选项”窗口（第 38 页）中输入梯度范围。

注意：不能在跳转循环中插入熔解曲线步骤。

注意：熔解曲线步骤在扩增程序中未显示的步骤开端包括一个 30 秒的保持。

图 27 显示在步骤 6 之后添加的熔解曲线步骤。

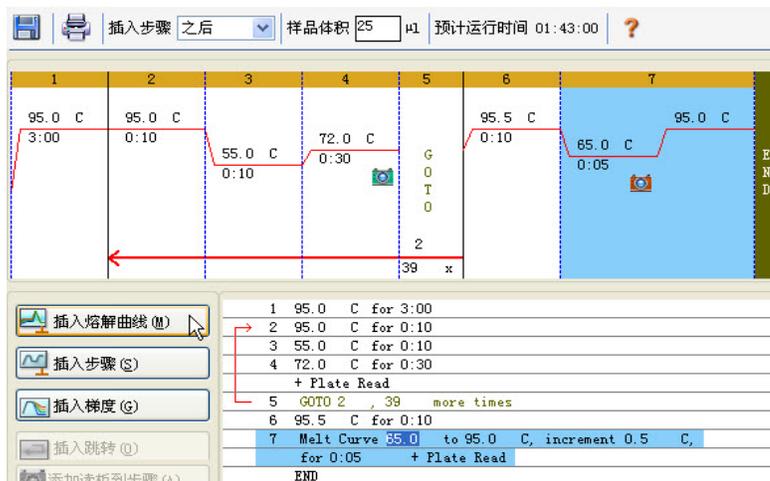


图 27. 带有插入的熔解曲线步骤的扩增程序。

步骤选项

更改选定步骤的步骤选项：

1. 通过在图形或文本视图中单击步骤来选择该步骤。
2. 单击**步骤选项**按钮，打开“步骤选项”窗口。
3. 通过输入数字、编辑数字或单击复选框来添加或删除选项。

提示：要永久保持某个步骤（无限保持），请将时间输入为零 (0.00)。

图 28 显示选定步骤的梯度范围是 10°C。请注意，某些选项在梯度步骤中不可用。梯度步骤不能包含升温或变温速率变化。



图 28. 梯度的步骤选项。

注意：梯度运行范围介于反应模块前端（行 H）的最低温度和反应模块后端（行 A）的最高温度之间。

步骤选项窗口列出以下选项，可以在步骤中添加或删除：

- **读板。**选中该框以包括读板
- **温度。**输入选定步骤的目标温度
- **梯度范围。**输入步骤的梯度范围
- **升温。**输入要对选定步骤提升的温度；升温量将添加到每个循环的目标温度上
- **变温速率。**输入选定步骤的变温速率；其范围取决于反应模块大小
- **时间。**输入选定步骤的保持时间
- **延长。**输入选定步骤的延长时间。延长量将添加到每次循环的保持时间上
- **蜂鸣。**选中该框可在步骤结束时发出蜂鸣声

提示：如果输入的数字在选项范围之外，软件会将该数字更改为范围内最接近的项。

“删除步骤”按钮

要删除扩增程序中的步骤，请执行下列操作：

1. 在图形或文本视图中选择步骤。
2. 单击**删除步骤**按钮以删除选定的步骤。

警告！此功能无法撤销。

温度控制模式

设备使用两种温度控制模式之一来确定样品何时达到扩增程序中的目标温度。

提示：在运行之前，可以通过编辑“启动运行”选项卡中的“样品体积”参数来更改样品体积（请参阅““启动运行”选项卡”（第 27 页））。

在扩增程序编辑器中输入样品体积，可选择温度控制模式：

- **计算模式。**如果输入 1 和 50 μl 之间 (96 孔反应模块) 或 1 和 30 μl 之间 (384 孔反应模块) 的样品体积，热循环仪将根据样品体积计算样品温度。这是标准模式
- **反应模块模式。**如果输入的样品体积为零 (0) μl ，热循环仪会将样品温度记录为与测量的反应模块温度相同。

扩增程序自动编写器

打开“扩增程序自动编写器”可快速编写用于 PCR 和实时 PCR 运行的扩增程序。要打开“扩增程序自动编写器”，请选择下列选项之一：

- 在软件主窗口的工具栏中单击**扩增程序自动编写器**按钮
- 从软件主窗口的菜单栏中选择**工具 > 扩增程序自动编写器**

图 29 显示由扩增程序自动编写器编写的扩增程序 (窗口底部)。

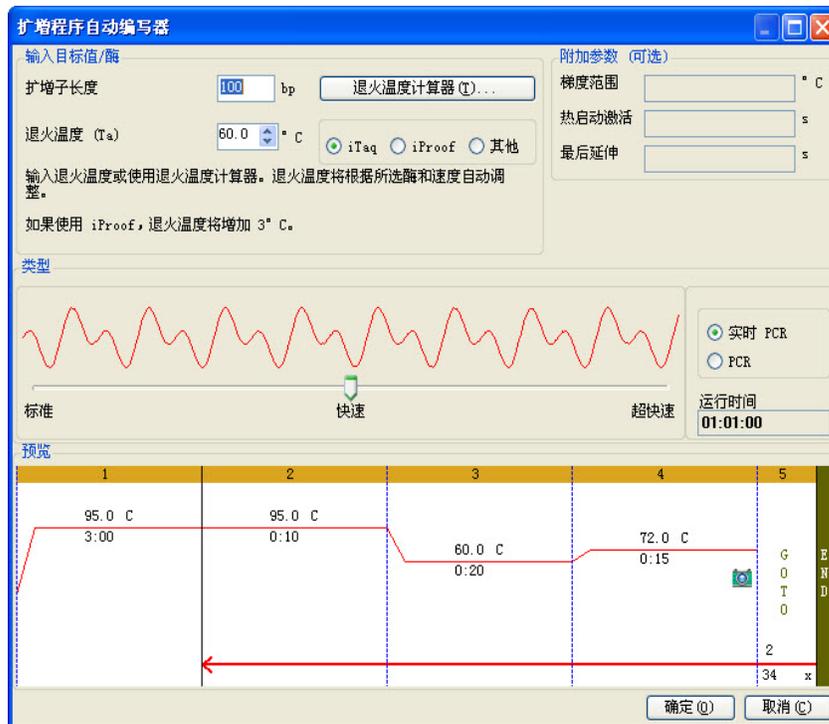


图 29. 包含新扩增程序的“扩增程序自动编写器”窗口。

使用扩增程序自动编写器创建扩增程序

使用扩增程序自动编写器创建新扩增程序时，请遵照下列步骤：

1. 单击工具栏上的**扩增程序自动编写器**按钮，打开“扩增程序自动编写器”窗口。
2. 在“输入目标值 / 酶”窗格的框中输入**退火温度 (Ta)** 和**扩增子长度**。如果引物的退火温度未知，请单击**退火温度计算器**按钮，输入引物序列并计算退火温度。有关退火温度计算器中所用计算的信息，请参阅 Breslauer et al. 1986。
3. 从选项列表 (iTaTM、iProofTM 或其他) 中选择酶类型。

4. 如果要在扩增程序中添加“梯度范围”、“热启动激活温度”或“最后延伸时间”，请在**附加参数 (可选)** 窗格中添加参数。
5. 通过在“类型”窗格中移动滑动条，可选择扩增程序速度（标准、快速或超快速）。在移动滑动条时，软件将调整总运行时间。选择**实时 PCR** 以指示软件收集荧光数据。
6. 查看“预览”窗格中的扩增程序和总运行时间。根据需要进行更改。

提示：在每次运行之前，可以通过编辑“启动运行”选项卡中的参数来输入盖温度和样品体积（请参阅““启动运行”选项卡”（第 27 页））。

7. 单击**确定**保存新扩增程序，或单击**取消**关闭窗口而不保存扩增程序。

提示：要编辑使用扩增程序自动编写器编写的扩增程序，请在“扩增程序编辑器”窗口（第 33 页）中打开扩增程序文件（扩展名为 .prcl）。

注意：Bio-Rad Laboratories 不保证运行在“扩增程序自动编写器”窗口中编写的扩增程序一定能够生成 PCR 产品。

5 反应板

本章提供有关创建和编辑反应板文件的信息：

- “反应板编辑器”窗口 (第 41 页)
- 反应板大小和类型 (第 44 页)
- 扫描模式 (第 44 页)
- “选择荧光基团”窗口 (第 44 页)
- 反应孔加载控件 (第 45 页)
- “反应孔编组管理器”窗口 (第 49 页)
- “反应板电子表格视图”窗口 (第 51 页)

“反应板编辑器”窗口

反应板文件包含运行参数 (如扫描模式、荧光基团和反应孔内容)，并可指示设备如何分析数据。打开“反应板编辑器”窗口可创建新反应板，或编辑当前在“反应板”选项卡中选定的反应板。在反应板编辑器中创建或编辑反应板后，单击**确定**即可将该反应板文件加载到“运行设置”窗口中并运行它。

要执行实时 PCR 运行，必须在反应板编辑器中加载必需的最少信息：至少必须有一个反应孔包含已加载的样品类型和荧光基团。

提示：可以在运行之前、期间和完成之后更改反应孔内容。然而，不能在运行期间或之后更改扫描模式和反应板大小。

打开反应板编辑器

要打开“反应板编辑器”窗口 (图 30)，请执行下列选项之一：

- 要创建新反应板，请选择**文件 > 新建 > 反应板**，或单击“反应板”选项卡 (第 27 页) 中的**新建按钮**
- 要打开现有的反应板，请选择**文件 > 打开 > 反应板**，或单击“反应板”选项卡 (第 27 页) 中的**打开现有项按钮**
- 要在“反应板”选项卡中编辑当前反应板，请单击“反应板”选项卡 (第 27 页) 中的**编辑选定项按钮**

- 要打开与某数据文件关联的反应板，请单击“数据分析”窗口（第 63 页）的工具栏上的**查看 / 编辑反应板**



图 30. “反应板编辑器”窗口。

“反应板编辑器”菜单栏

“反应板编辑器”窗口中的菜单栏提供表 15 中所示的菜单项。

表 15. “反应板编辑器”菜单栏。

菜单项	命令	功能
文件	保存	保存反应板文件。
	另存为	使用新文件名保存反应板文件。
	关闭	关闭反应板编辑器。
设置	反应板大小	选择反映设备反应模块中的反应孔数的反应板大小。对于 CFX384，选择 384 孔 ；对于 CFX96，选择 96 孔 。注意：反应板大小必须与继续运行时所在设备中的反应模块大小相同。
	反应板类型	选择包含样品的反应板中反应孔的类型，包括“BR 白”和“BR 透明”。要进行准确的数据分析，反应板类型必须与用于运行的反应孔类型相同。注意：必须对新反应板类型进行校准（第 136 页）。
	数字范例	选择或取消选择科学计数法。

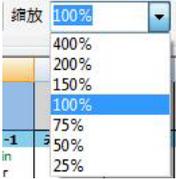
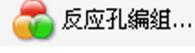
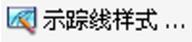
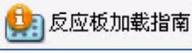
表 15. “反应板编辑器”菜单栏。(续)

菜单项	命令	功能
	单位	选择在对标准曲线执行未知定量时显示在电子表格中的单位。
工具	显示电子表格视图	以电子表格视图显示反应板信息，以便导出或打印。
	反应板加载指南	显示有关如何设置反应板并加载反应孔的指南。
	显示反应孔注释	选择该选项以在反应孔加载控件中显示此窗格。输入有关一个或多个反应孔的注释。
	显示生物集名称	选择该选项以在反应孔加载控件中显示此窗格。选择该选项以输入一个或多个反应孔的生物集名称。
	翻转反应板	反应板内容翻转 180°。

“反应板编辑器”工具栏

“反应板编辑器”中的工具栏可提供对重要的反应板加载功能的快速访问。表 16 列出了“反应板编辑器”工具栏中的可用功能。

表 16. “反应板编辑器”工具栏按钮。

工具栏按钮和菜单	名称	功能
	保存	保存当前反应板文件。
	打印	打印选定的窗口。
	缩放	增大或减小反应板视图中的放大率。
	扫描模式	选择一种扫描模式，以指示设备在运行期间从哪些通道收集荧光数据。选择 全通道 （默认值）、 仅限 SYBR/FAM 或 FRET 。
	反应孔编组	打开“反应孔编组管理器”窗口并设置当前反应板的反应孔编组。
	示踪线样式	选择用于扩增示踪线的颜色和符号。
	帮助	打开软件“帮助”，以获取有关反应板的信息。
	反应板加载指南	显示有关如何设置反应板并加载反应孔的快速指南。

反应板大小和类型

软件将下列反应板设置应用于运行期间的所有反应孔：

- **反应板大小。**选择表示设备的反应模块大小的反应板大小。从“启动向导”的下拉菜单选项中选择设备类型（CFX96 或 CFX384）将更改“运行设置”窗口的“反应板”选项卡中加载的默认反应板大小。在“反应板编辑器”中，可以从“设置”菜单选择反应板大小（表 15）。反应板大小无法在运行期间或之后进行更改
- **反应板类型。**从“设置”菜单选择透明或白色反应孔。请确保针对选定的反应板类型对运行中使用的荧光基团进行校准

注意：CFX96 和 CFX384 设备针对许多荧光染料和反应板组合进行了预先校准。校准需指定设备、染料和反应板类型。要对设备上的染料和反应板类型的新组合进行校准，请选择 **工具 > 校准向导**（参阅“校准向导”（第 136 页））

扫描模式

CFX96 Touch 系统可在 6 个通道中激发和检测荧光基团。CFX384 Touch 系统可在 5 个通道中激发和检测荧光基团。两个系统都使用多源数据采集扫描模式在运行期间收集荧光数据。

从“反应板编辑器”窗口的工具栏中选择下列一种扫描模式：

- **全通道。**包括 CFX96 Touch 系统上的通道 1-5 或 CFX384 Touch 系统上的通道 1-4
- **仅限 SYBR/FAM。**仅包括通道 1，并提供快速扫描
- **FRET。**仅包括 FRET 通道，并提供快速扫描

示踪线样式

在反应板设置期间以及正在运行时，可以修改扩增示踪线的颜色。这些颜色将在数据收集过程中显示，您可以在“实时状态”窗口中查看这些示踪线。有关示踪线样式的详细信息，请参阅第 78 页。

“选择荧光基团”窗口

“选择荧光基团”窗口列出了可以选择加载到“反应板编辑器”的反应孔加载控件中的荧光基团。要打开“选择荧光基团”窗口，请单击“反应板编辑器”右侧的**选择荧光基团**按钮。

注意：列出的荧光基团取决于扫描模式；当选择“仅限 SYBR/FAM”时，“选择荧光基团”窗口中仅显示通道 1 的荧光基团。

注意：只有在“校准向导”（第 136 页）中对设备上的新荧光基团进行校准后，才能在此列表中添加或删除荧光基团。校准后，新荧光基团将被添加到“选择荧光基团”窗口中。

单击荧光基团名称旁边的**选用**复选框，可在“反应板编辑器”窗口右侧的列表中添加或删除荧光基团。

此示例从可用荧光基团列表中选择了 SYBR® (图 31)。



图 31. “选择荧光基团”窗口。

- 可单击荧光基团名称旁边的颜色框并选择一种新颜色，以表示“反应板编辑器”窗口和“数据分析”图表中的每个荧光基团

注意：在开始运行之前，软件将验证您在反应板中指定的荧光基团是否在该设备上进行了校准。如果反应板包含没有在该设备上进行了校准的荧光基团，则无法运行。

反应孔加载控件

反应板文件包含有关使用运行样品加载的每个反应孔内容的信息。运行后，软件将反应孔内容链接到扩增程序期间收集的荧光数据，并在“数据分析”窗口中应用相应的分析。例如，使用标准样品类型加载的反应孔可用于生成标准曲线。

在设置基因表达运行时，请遵守以下关于反应孔内容的原则：

- **目标名称。**每个加载的反应孔中的一个或多个相关目标（基因或序列）。将每个目标指定到一个荧光基团
- **样品名称。**每个加载的反应孔中与样品对应的某个标识符或条件，如“0 hr”、“1 hr”或“2 hr”
提示：各反应孔的目标名称和样品名称必须一致，这样才能对“数据分析”窗口的“基因表达”选项卡中的数据进行比较。每个名称必须包含相同的标点和间距。例如，“Actin”与“actin”不同，“2hr”与“2 hr”不同。为确保名称的一致性，可以在“用户首选项”窗口（第 122 页）的“反应板”选项卡的目标和样品名称库中输入名称。
- **生物集名称。**选择工具 > 显示生物集名称，以在反应孔加载控件中显示此窗格，然后输入一个或多个反应孔的生物集名称

在反应板视图中左键单击即可选择要向其中加载内容的反应孔。按住鼠标按键并拖动可以选择多个反应孔。反应板视图右侧的按钮和列表包括加载反应孔所需的所有选项（表 17）。

表 17. 用于在“反应板编辑器”中加载反应板和反应孔的选项。

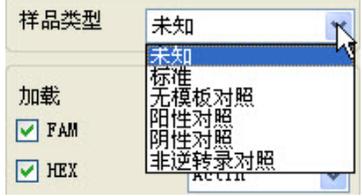
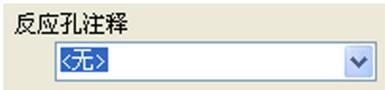
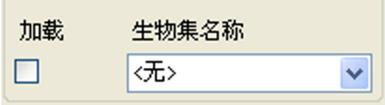
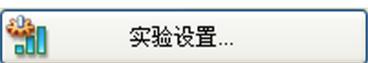
选项	功能
	<p>选择反应孔后，必须首先加载样品类型。从下拉菜单中选择样品类型以将其加载到所选的反应孔中，样品类型包括“未知”、“标准”、“NTC”（无模板对照）、“阳性对照”、“阴性对照”和“NRT”（无逆转录酶对照）。</p>
	<p>单击加载框可将荧光基团添加到选定的反应孔，每个荧光基团对应一个目标名称。要将荧光基团添加到“加载”列表，请在选择荧光基团窗口中进行选择。</p> <p>要进行基因表达分析或区分多个目标，请从目标名称下拉菜单中选择一个名称，然后按 Enter 键将该目标名称加载到反应孔中。要删除目标名称，请选中它，然后按 Delete 键，再按 Enter 键。</p> <p>提示：要仅将新目标名称添加到当前反应板的下拉菜单中，请在下拉框中输入名称，然后按 Enter 键。</p>
	<p>要进行基因表达分析或区分多个样品，请从下拉菜单中选择样品名称，以在选定的反应孔中加载该样品名称。要删除样品名称，请从菜单中选中它，然后按 Delete 键，再按 Enter。</p> <p>提示：要将新样品名称添加到当前反应板的下拉菜单中，请在下拉框中输入新名称，然后按 Enter 键。</p>
	<p>要加载重复编号，选定的反应孔必须包含相同的反应孔内容。否则，软件将禁用此加载控件。</p> <p>单击加载框可将“重复 #”添加到选定的反应孔。单击清除重复 #按钮可从选定的单元格清除重复编号。</p> <p>提示：要将多个重复编号加载到一系列反应孔中，请单击重复系列按钮。</p>
	<p>在重复系列窗格中，可将重复系列应用于一组选定的反应孔。通过选择一个数字来表示每组重复编号中的样品（反应孔）数，可输入重复组大小。选择起始重复 #可添加重复编号。</p> <p>注意：加载重复组时，可以选择从左到右（水平）的顺序排列重复编号，或按从上到下（垂直）的顺序排列。</p>

表 17. 用于在“反应板编辑器”中加载反应板和反应孔的选项。(续)

选项	功能
	<p>通过在浓度框中编辑或输入一个数字，可输入具有标准样品类型的选定反应孔的浓度。要将浓度应用于反应孔中的荧光基团，请从“浓度”框下方的下拉菜单(<全部>)中选择一个荧光基团。要删除浓度，请选中它，按键盘上的退格键，然后按Enter。</p> <p>选择具有标准样品类型的多个反应孔可激活稀释系列按钮。</p>
	<p>单击稀释系列按钮可以为标准样品的浓度输入稀释系列并加载标准曲线。</p> <p>输入稀释系列的起始浓度、重复自(起始重复编号)和至(结束重复编号)、稀释因子(改变每个重复组的浓度的量)。选择升高(增加的稀释系列)或下降(减少的稀释系列)。最后，从下拉菜单中选择用于稀释系列的荧光基团，并单击应用。</p>
	<p>选择工具 > 显示反应孔注释可显示此窗格。通过选择反应孔并在下拉菜单中输入注释，可输入有关一个或多个反应孔的注释。您添加的任何注释都将显示在“定量数据”选项卡上的电子表格中。</p>
	<p>选择工具 > 显示生物集名称可显示此窗格。通过选择反应孔并在下拉菜单中输入生物集名称，可输入有关一个或多个反应孔的生物集信息。输入生物集名称信息后，即可使用由生物集分析选项定义的四种配置之一执行样品分析。</p>
	<p>单击实验设置按钮可打开“实验设置”窗口来管理目标和样品列表，并设置基因表达运行。</p>
	<p>单击清除重复 #按钮可清除选定反应孔中的重复编号。</p>
	<p>单击清除反应孔按钮可永久删除选定反应孔中的所有内容。</p>

注意：还可以将反应孔内容复制并粘贴到其他反应孔中。为此，请高亮显示要复制的反应孔(一次只能复制一个反应孔)、右键单击并选择**复制反应孔**。高亮显示要将内容复制到其中的反应孔，并选择**粘贴反应孔**。按住 Ctrl 键可选择要将内容复制到其中的非相邻反应孔。

“实验设置”窗口

要打开“实验设置”窗口，请执行下列选项之一：

- 在反应板编辑器中，单击**实验设置**按钮
- 在“数据分析”窗口中分析数据时，单击**基因表达**选项卡中的**实验设置**按钮

如果已将**生物集名称**添加到反应孔，则打开“实验设置”窗口便可查看或更改“目标”和“样品”列表（图 32），或设置要分析的基因表达分析样品组。

- **目标**。用于每个 PCR 反应的目标名称列表，如目的基因或序列。单击“参考”列可以指定运行中的参考基因
- **样品**。表示目标来源的样品名称列表，如在 1 小时获取的样品 (1 hr)，或从某特定个体获取的样品 (“Mouse1”)。单击**对照**列可以指定运行的对照条件

图 32 是显示分析设置的“目标”选项卡。



图 32. “实验设置”窗口中的“目标”选项卡。

图 33 是显示了分析设置的“样品”选项卡。



图 33. “实验设置”窗口中的“样品”选项卡。

要调整这些选项卡中的列表，请使用下列功能：

- 添加目标或样品名称，方法是在**新建框**中输入一个名称，然后单击**添加**
- 从列表中删除目标或样品名称，方法是单击行中的**选择删除框**，然后单击**删除选定的项按钮**
- 选择目标作为基因表达数据分析的参考，方法是单击该目标的名称旁边**参考列**中的框
- 选择样品作为基因表达数据分析的对照样品，方法是单击该样品的名称旁边**对照列**中的框

通过单击“实验设置”窗口中的**显示分析设置框**，可以查看或更改“基因表达”选项卡中应用的分析参数。

调整目标参数：

- 在**颜色列**中单击一个单元格，可更改在基因表达图表中绘制的目标的颜色
- 输入目标的效率数。如果目标的数据包含标准曲线，软件将使用**自动效率**来计算目标的相对效率。或者，可输入以前确定的效率

在“样品”选项卡中调整样品的设置：

- 在**颜色列**中单击一种颜色，可更改在基因表达图表中绘制的样品的颜色
- 单击**显示图表列**中的框，可使用在**颜色列**中选定的颜色显示基因表达图表中的样品

反应孔选择器右键单击菜单项

右键单击任何反应孔均可选择下表中列出的项。

表 18. 反应板编辑器的“反应孔选择器”窗口中的右键单击菜单项。

项目	功能
复制反应孔	复制反应孔内容，随后便可将这些内容粘贴到另外的一个或多个反应孔中
粘贴反应孔	将已复制反应孔中的内容粘贴到另外的一个或多个反应孔中
复制到剪贴板	将反应孔中的文本复制到剪贴板，然后即可将该文本粘贴到文档中
复制为图像	将反应孔选择器视图复制为图像
打印...	打印反应孔选择器视图
打印选择...	打印当前选择
导出到 Excel...	将数据导出到 Excel 电子表格
导出为文本文件...	将数据导出为文本文档
导出为 Xml...	将数据导出为 .xml 文档
导出为 Html...	将数据导出为 .html 文档
查找	搜索特定文本
将反应孔信息导出到 Excel	将反应孔文本信息导出为 .xml 文档

“反应孔编组管理器”窗口

反应孔编组将单个反应板分为多个反应孔子集，每个子集都可以在“数据分析”窗口中进行单独分析。设置了反应孔编组后，可在“数据分析”窗口中选择其中一个反应孔编组，以便将数据作为独立的组进行分析。例如，通过设置反应孔编组可以分析在一个反应板中运行的多个实验，或使用不同的标准曲线分析每个反应孔编组。

注意：默认反应孔编组为**所有反应孔**。

创建反应孔编组

要在“反应孔编组管理器”窗口中创建反应孔编组，请按照以下说明操作：

1. 单击“反应板编辑器”工具栏中的**反应孔编组**按钮，或单击“数据分析”窗口的工具栏中的**管理反应孔编组**按钮。
2. 单击**添加**以创建新组。下拉菜单将第一组的组名显示为**组 1**。
3. 通过单击和拖动该组中的反应孔来选择将在反应板视图中组成反应孔编组的反应孔。已选定反应孔的颜色将变为蓝色（图 34）。
4. （可选）通过在下拉菜单中选择组名称或输入新名称来更改组名称。
5. （可选）通过重复步骤 1 和 2 创建更多反应孔编组。
6. （可选）通过在下拉列表中选择组名称并单击**删除**按钮来删除反应孔编组。
7. 单击**确定**完成操作并关闭窗口，或单击**取消**关闭窗口而不进行更改。



图 34. “反应孔编组管理器”窗口中的反应孔颜色。

“反应板电子表格视图”窗口

反应板编辑器中的“反应板电子表格视图”窗口可显示反应板的内容。通过选择“反应板编辑器”菜单栏中的工具 > 显示电子表格视图即可打开“反应板电子表格视图”窗口（图 35）。

行	列	样品类型	重复 #	目标名称	样品名称	数量	单位
B	4	未知		Tubulin	0Hr	N/A	拷贝数
B	5	未知		Tubulin	1Hr	N/A	拷贝数
B	6	未知		Tubulin	2Hr	N/A	拷贝数
C	4	未知		Tubulin	0Hr	N/A	拷贝数
C	5	未知		Tubulin	1Hr	N/A	拷贝数
C	6	未知		Tubulin	2Hr	N/A	拷贝数
D	4	未知		Tubulin	0Hr	N/A	拷贝数
D	5	未知		Tubulin	1Hr	N/A	拷贝数
D	6	未知		Tubulin	2Hr	N/A	拷贝数
F	3	标准	1			1.000E+008	拷贝数
F	4	标准	2			1.000E+007	拷贝数
F	5	标准	3			1.000E+006	拷贝数
F	6	标准	4			1.000E+005	拷贝数
F	7	标准	5			1.000E+004	拷贝数
F	8	标准	6			1.000E+003	拷贝数
F	9	标准	7			1.000E+002	拷贝数
G	3	标准	1			1.000E+008	拷贝数

图 35. “反应板电子表格视图”窗口。

打开电子表格视图后，可以按照 Excel 或其他制表符分隔的格式导入或导出反应孔内容。

- 单击**导入**，可从逗号分隔的文件导入反应孔内容
- 单击**导出**可将反应板电子表格模板导出到 Excel 文件 (.csv 格式)。可以编辑此模板，并且可以将其用于导入反应孔内容信息
- 通过选择列并使用下列方法，可对列进行排序或编辑：
 - 通过单击列名称旁边的菱形图标，可根据该列中的数据对电子表格排序
 - 通过单击每个反应孔并在其中输入内容，可编辑顶部带有星号 (*) 的列的内容

注意：通过打开“反应板编辑器”并在菜单栏中选择**设置 > 单位**，可在“数量”列中选择标准曲线数据的单位。在反应板运行后，这些标准的数据将以您选择的单位显示在“定量”选项卡（“数据分析”窗口）的标准曲线图表中。

在电子表格上单击右键，可从右击菜单中选择下列选项之一：

- **复制**。复制整个电子表格
- **复制为图像**。将电子表格复制为图像文件
- **打印**。打印电子表格
- **打印选择**。仅打印选定的单元格
- **导出到 Excel**。将文件导出到 Excel 电子表格
- **导出为文本文件**。将文件导出为文本文件
- **导出为 Xml**。将文件导出为 .xml 文件
- **导出为 Html**。将文件导出为 .html 文件
- **查找**。在电子表格中查找文本
- **排序**。通过在“排序”窗口中最多选择三列数据来对电子表格进行排序

反应板

6 独立运行

本章提供有关以独立模式运行 CFX96 Touch™ 系统或 CFX384 Touch™ 系统的信息：

- 主屏幕（第 53 页）
- 运行设置（第 54 页）
- 导出用于分析的数据（第 59 页）
- 创建数据文件（第 60 页）
- 设置电子邮件（第 60 页）

注意：果您使用的是 C1000 基座，请联系技术支持，为您的系统获取 pdf 版本的手册。

主屏幕

CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统启动后，会先运行自检，以确保一切功能正常，然后才会显示主屏幕。接下来，您就可以使用主屏幕开始操作设备了。主屏幕中可访问所有系统操作，并可显示日期和时间、已登录用户的名称、系统状态、热循环仪名称（默认为序列号），以及任何已连接的 S1000™ 热循环仪（图 36）。

注意：要重命名热循环仪，请碰触工具 > 关于 > 重命名“序列号”。



图 36. C1000 Touch 主屏幕。

要启动主屏幕上的功能，请触碰下面的关联按钮：

- **新建扩增程序。**创建新扩增程序。
- **扩增程序自动编写器。**使用“自动编写器”工具和 Ta 计算器创建扩增程序。
- **已保存的文件。**复制、重命名、编辑和导出文件。
- **保温。**将样品保持在定义的温度。
- **工具。**功能包括对系统信息、电子邮件设置和固件更新的访问。根据登录状态，可以使用不同的工具。

注意：使用触摸屏时可以戴上手套，也可以不戴手套，而且不需要触针。通过触碰对应的列并在其中向上或向下拖动，或者通过触碰箭头按钮，可以滚动查看列表中无法在窗口中全部显示的多个项。

运行设置

CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统可以在不使用计算机的情况下执行实时 PCR 运行。如果将 C1000 Touch™ 基座连接到 Internet，则可以使用 USB 闪存驱动器导出在运行期间获取的荧光数据，或选择通过电子邮件发送这些数据（请参阅“使用电子邮件导出数据”（第 59 页））。需要使用 CFX Manager™ 软件对数据进行分析。

要创建新的扩增程序，请执行以下操作：

1. 选择主屏幕上的**新建扩增程序**，以打开新的扩增程序模板（图 37）。

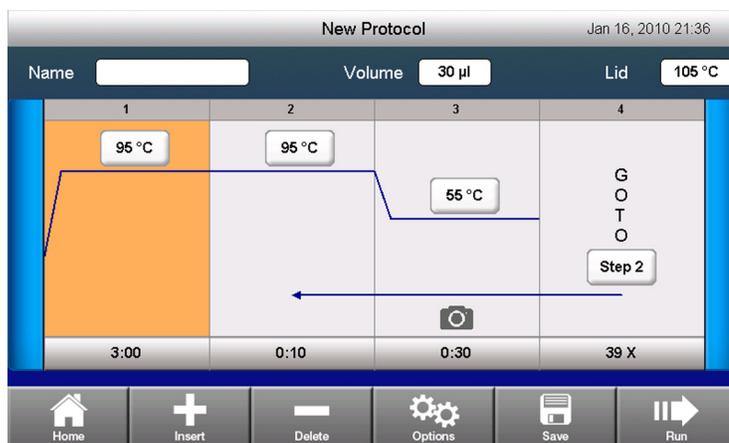


图 37. 默认的实时 PCR 扩增程序。

注意：默认情况下，将 CFX96 或 CFX384 光学反应模块插入 C1000 Touch 热循环仪机箱中时，扩增程序模板会包含一个读板步骤。

2. 要在温度步骤更改目标温度和保持时间，请触碰相应的按钮。使用显示的键盘输入新值。触碰**确定**接受输入的值。

提示：作为备用导航方法，可以通过 C1000 Touch 热循环仪机箱上的 USB 端口连接光电鼠标。

3. （可选）要插入新步骤，请选择要插入的步骤之前的步骤，并触碰**插入**按钮。可以输入的步骤为“温度”、“梯度”、“跳转”、“读板”和“熔解曲线”。要删除步骤，请触碰**删除**按钮（图 37）。

4. (可选) 要更改步骤选项, 请选择对应的步骤并触碰**选项**按钮 (图 37)。在**步骤选项**窗口中, 可以更改的步骤参数包括温度、时间、梯度、变温速率、增加量、延长以及添加 / 删除读板 (图 38)。

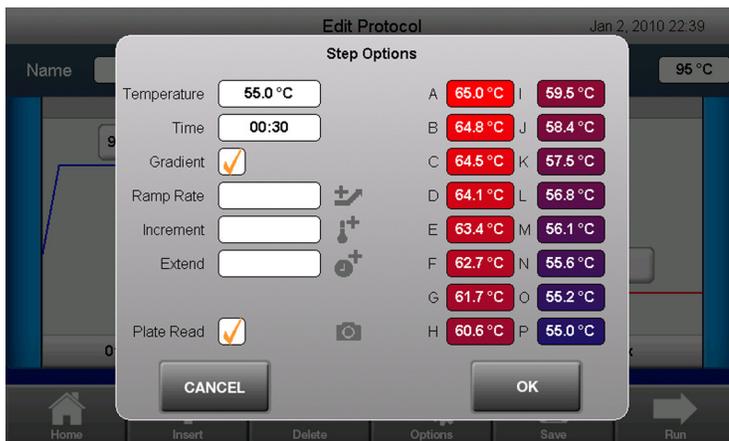


图 38. “步骤选项”窗口。

注意: 可以输入范围从 1 到 24°C 的梯度。步骤具备了梯度后, 即可通过在图形视图中选择高温和低温按钮来编辑梯度温度, 而无需打开步骤选项屏幕。

5. **跳转**步骤指示热循环仪重复一组循环步骤, 以在 PCR 运行中创建循环。选择**跳转**步骤并触碰相应的按钮, 即可更改步骤或重复次数。

更改运行参数

- 要更改样品体积, 请触碰“体积”字段 (图 37)。输入新样品体积 (以微升为单位)。所输入的样品体积决定了运行期间将使用的温度控制模式。

提示: 输入 1 - 50 (对于 CFX384 为 30) 的样品体积, 可选择温度控制模式为标准模式。输入零 (0) 可选择“反应模块”模式。推荐使用温度模式, 因为温度模式确定出的实际样品温度精确度最高。

- 要更改盖温度, 请触碰盖字段并输入新的温度 (图 37)。CFX96 和 CFX384 的默认盖温度分别为 105°C 和 95°C。

保存扩增程序

- 创建扩增程序后, 您可以选择将其保存。触碰**保存**按钮后, 将显示**另存为**窗口, 您可以在该窗口中输入名称, 并指定位置和文件夹 (图 39)。触碰**确定**进行保存。



图 39. “另存为”窗口

运行扩增程序

1. 要运行扩增程序，请触碰“编辑扩增程序”窗口中的运行按钮（图 37）。
2. 验证将用于运行的盖温度（盖温度）、样品体积（体积）和文件名（文件名（.zpcr））（图 40）。运行前会创建默认的数据文件名称。



图 40. “运行确认”屏幕。

3. 选择一种扫描模式，以指示设备在运行期间从哪些通道收集荧光数据。各扫描模式分别在下列通道中检测已校准的荧光基团：
 - **SYBR/FAM**。仅从通道 1 收集数据，并提供快速扫描
 - **全通道**。从 CFX96 Touch 系统上的通道 1-5 或 CFX384 Touch 系统上的通道 1-4 中收集数据
 - **FRET**。仅从 FRET 通道收集数据，并提供快速扫描
4. （可选）其他设置窗口允许输入用户名、电子邮件地址、样品 ID、变温速率，并显示使用 **DNA Engine** 热循环仪的变温速率运行的选项。
5. 触碰**确定**可启动运行。

运行以前保存的扩增程序

- 要运行现有扩增程序，请从主屏幕中选择已保存的文件。选择位置、文件夹和文件后，请触碰运行按钮（图 41）。



图 41. 选择要运行的已保存扩增程序。

- 要更改现有扩增程序的循环参数，请选择该协议，然后触碰编辑按钮。通过触碰运行按钮，可立即运行扩增程序，而不保存更改；通过触碰保存按钮，可保存扩增程序。

监控运行

运行开始后，将显示状态窗口。通过查看此窗口中的信息可监控运行进度。

- 状态。**“状态”屏幕显示正在执行的运行，并显示用于查看时钟、查看曲线、暂停、跳过或取消运行的选项。（图 42）

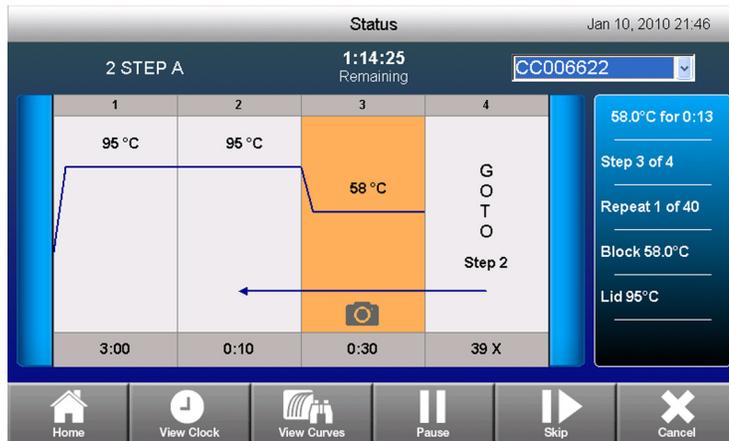


图 42. 在“状态”屏幕中监控运行。

- 查看时钟。**按查看时钟按钮可查看扩增程序的全屏倒计时器。触碰查看状态可返回到“状态”屏幕；触碰“查看曲线”可查看扩增曲线屏幕。

- **查看曲线。** 触碰**查看曲线**按钮可显示实时数据示踪线（图 43）。如果正在从多个通道收集数据，请使用通道按钮选择要显示的通道。屏幕上一次只能显示来自一个通道的数据。如果扩增程序包括多个数据收集步骤，则可以从步骤下拉菜单中选择各个步骤来显示其数据。



图 43. 在“曲线”屏幕上查看实时数据示踪线。

要显示具有特殊吸引力的反应孔的示踪线，请触碰**选择反应孔**按钮。选定的反应孔由实心圆指示。默认设置为选定所有反应孔。要选择或取消选择反应孔，请触碰“反应孔选择器”网格上的相应反应孔（图 44）。要选择或取消选择整个行或列，请触碰列标头或行标头。通过触碰“反应孔选择器”网格顶角的星号 (*)，可以选择或取消选择反应板中的所有反应孔。

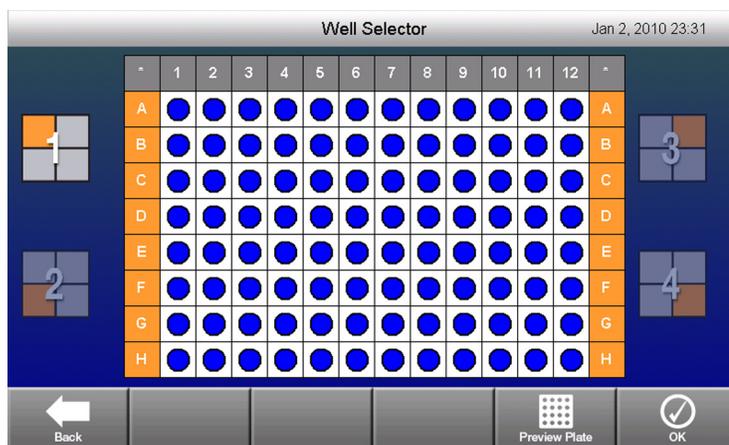


图 44. “反应孔选择器”窗口。

使用 CFX96 Touch 时，将显示单个 96 孔的“反应孔选择器”网格。使用 CFX384 Touch 时，显示的反应板一次出现一个 96 反应孔的象限（图 44）。通过碰触“反应孔选择器”网格两侧具有相应编号的框，可以选择各个象限。通过触碰**预览反应板**按钮，可以预览包含所有四个象限的整个 384 孔板的视图。

注意：y 轴上的相对荧光坐标尺最初的刻度范围为 0 到 1500。当荧光强度超过上限后，系统将针对其余的运行自动缩放数据。

导出用于分析的数据

运行完成后，需将荧光数据传输到运行 CFX Manager 软件的计算机进行分析。独立数据文件 (.zpcrd) 将自动保存到“实时数据”文件夹中，您可以在“已保存的文件”窗口的“位置”列中找到该文件夹。

注意：C1000 Touch 热循环仪最多可以存储 100 个实时 PCR 运行。

使用 USB 闪存驱动器导出数据

如果已将 USB 闪存驱动器置于 C1000 Touch 热循环仪上的 USB 闪存驱动器端口中，则完成运行后系统会将数据 (.zpcr) 自动保存到 USB 闪存驱动器的根目录。

如果运行结束时热循环仪中未插入 USB 闪存驱动器，请按照以下说明操作：

1. 触碰主屏幕上的已保存的文件，可访问文件夹（图 45）。
2. 从位置列中，选择实时数据。
3. 在文件列中选择要导出的文件。有关已选择的文件的信息将显示在“预览”窗格中。
4. 要执行导出，请触碰文件选项按钮。
5. 触碰确定按钮，可将文件保存到连接的 USB 闪存驱动器。



图 45. 选择要导出到 USB 闪存驱动器的实时数据文件。

使用电子邮件导出数据

通过配置电子邮件设置，您可以选择在运行完成后通过电子邮件从 C1000 Touch 热循环仪直接发送数据（请参阅“设置电子邮件”（第 60 页））。

要在运行结束时发送包含附加数据 (.zpcr) 的电子邮件，请在启动运行之前在“其他设置”窗口中输入电子邮件地址。

创建数据文件

独立运行数据 (.zpcr) 需要使用 CFX Manager 软件转换为一个数据文件 (.pcrd), 以便进行分析。请按照以下说明创建独立运行的数据文件:

1. 在软件主窗口中单击并拖动 USB 闪存驱动器目录下的 .zpcr 文件, 或从软件主窗口菜单项中选择 **文件 > 打开 > 独立运行**, 以选择文件名称。
2. 在 **运行文件处理器** 窗口中单击 **选择反应板** 按钮, 导入软件将使用的反应板文件的名称以创建数据文件 (图 46)。

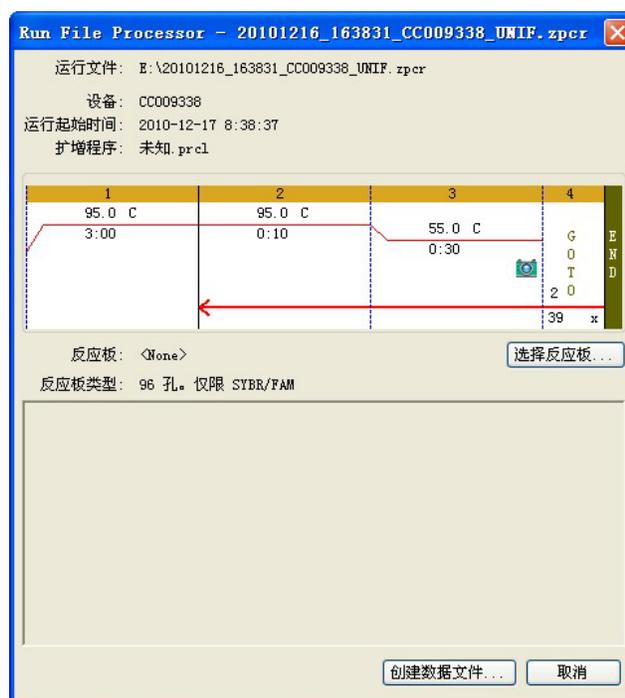


图 46. 指定反应板文件。

注意: CFX Manager 软件将检查反应板文件的扫描模式和反应板大小, 这些设置必须与运行期间启动的当前运行设置一致。

提示: 通过加载快速反应板文件, 可以快速访问所有反应孔的数据。

设置电子邮件

运行完成之后, 可以将确认消息、日志报告和 / 数据 (.zpcr) 文件发送电子邮件, 以便其他与 Internet 连接的计算机进行访问。要配置 C1000 Touch 热循环仪的传出电子邮件, 请按照以下说明进行操作:

1. 将以太网缆线连接到 C1000 Touch 热循环仪机箱背部的端口。
2. 触碰主屏幕上的 **登录** 按钮, 以管理员身份登录到热循环仪。
注意: 在您返回到主屏幕时, 登录用户名会显示在退出按钮左侧。
3. 触碰主屏幕上的 **工具** 按钮, 启动工具菜单。
4. 触碰管理员菜单中的 **电子邮件设置**。

设置 Gmail 服务器

注意：Gmail 帐户必须使用之前设置设备 Gmail 服务器时所用的用户名和密码。

1. 从**邮件服务器**下拉列表中选择 Gmail 服务器。
2. 输入 Gmail 帐户用户名和密码。
3. 触摸**设置为默认值**复选框（图 47）。



图 47. 已选择 Gmail 服务器，已输入用户名和密码，并且此服务器已选择为电子邮件通信的默认服务器。

4. 触摸**保存**按钮，保存当前服务器设置。
5. 触摸**测试电子邮件**按钮。
6. 触摸**测试电子邮件地址**字段，然后使用弹出的字母数字键盘输入电子邮件地址。
7. 触摸**附件大小 (MB)** 字段，输入测试附件大小。

注意：附件大小的限制取决于您研究所服务器的大小。我们建议测试附件大小最好介于 0.5 和 5 MB 之间。

8. 触摸**发送电子邮件**按钮。测试电子邮件即会发送到测试电子邮件地址。
9. 触摸**取消**按钮，返回到服务器设置屏幕。
10. 触摸**后退**按钮，返回到工具菜单。

设置自定义服务器

1. 触摸**新建服务器**按钮（图 47）。
2. 触摸**邮件服务器地址**按钮，然后使用弹出的字母数字键盘输入一个地址。
3. 触摸**邮件服务器端口**按钮，然后使用弹出的数字键盘输入一个值。
4. 触摸**设置为默认值**复选框。
5. 输入其他信息（需要身份验证、使用 SSL、用户名和密码）（仅在服务器要求时）

提示：要获取服务器要求信息，请联系网络管理员。

独立运行

6. 触碰**保存**按钮。新服务器即会出现在**邮件服务器**下拉列表中。
7. 在“设置 Gmail 服务器”（第 61 页）中重复步骤 5-10。

删除服务器

1. 从**邮件服务器**下拉列表中选择要删除的服务器。
2. 触碰**删除服务器**按钮。
3. 触碰**是**按钮，确认删除所选服务器。

7 数据分析概述

本章提供有关数据分析的信息：

- “数据分析”窗口 (第 63 页)
- “定量”选项卡 (第 66 页)
- 反应孔编组 (第 67 页)
- 数据分析设置 (第 67 页)
- 反应孔选择器 (第 70 页)
- 图表 (第 73 页)
- 电子表格 (第 73 页)
- 导出 (第 74 页)

“数据分析”窗口

在数据分析过程中，通过在“反应板编辑器”中更改反应孔内容来更改数据的显示方式，这样不会更改运行期间从每个反应孔收集的荧光数据。一旦模块收集到荧光数据，您将无法删除这些数据，但可以选择删除查看和分析的数据。

要在运行后更改反应孔的内容，请单击“数据分析”窗口顶部的**编辑 / 查看反应板**按钮，以打开“反应板编辑器”。

提示：您可以在实时 PCR 运行完成之前、期间或之后添加或编辑有关反应孔内容的信息。

在运行之前必须指定扫描模式和反应板大小，运行后则将无法更改这些参数。

CFX Manager™ 软件将在每次运行结束时自动处理实时 PCR 数据，并打开“数据分析”窗口以显示这些数据。请选择下列方法之一，在“数据分析”窗口中打开现有的数据文件：

- 将数据文件（扩展名为 .pcrd）拖到软件主窗口上方，然后将其释放
- 在软件主窗口中选择**文件 > 打开 > 数据文件**，然后在窗口浏览器中选择文件
- 在软件主窗口的工具栏中单击**数据分析**按钮，然后在窗口浏览器中选择文件
- 选择**文件 > 最近的数据文件**，从最近打开的 10 个数据文件中选择文件

“数据分析”窗口显示多个选项卡(图 48)，每个选项卡都显示用某种特定分析方法分析的数据或运行特定信息。只有当运行中收集的数据可用于该类型的分析时，才显示选项卡。



图 48. “数据分析”窗口中的选项卡。

“数据分析”工具栏

“数据分析”窗口中的工具栏(图 49)提供对重要的数据分析功能的快速访问。



图 49. “数据分析”窗口中的工具栏。

表 19 列出了此工具栏中按钮的功能。“数据分析”菜单栏

表 19. “数据分析”窗口中的工具栏。

按钮	名称	功能
	保存	保存当前的数据文件。
	打印	打印选定的窗口。
	示踪线样式	打开“示踪线样式”窗口。
	报告	打开当前数据文件的报告。
	自定义导出	打开“自定义导出”窗口以指定数据导出的设置。
	管理反应孔编组	打开“反应孔编组管理器”窗口以创建、编辑和删除反应孔编组。
 反应孔编组:	反应孔编组	从下拉菜单中选择一个现有反应孔编组名称。默认选择是“所有反应孔”。
 分析模式:	分析模式	选择采用“荧光基因”模式还是“目标”模式分析数据。

表 19. “数据分析”窗口中的工具栏。(续)

按钮	名称	功能
 查看/编辑反应板	查看 / 编辑反应板	打开“反应板编辑器”以查看和编辑反应孔内容。
	帮助	打开软件“帮助”，以获得有关数据分析的更多信息。

“数据分析”菜单栏

“数据分析”窗口中的菜单栏提供下列菜单项。

表 20 列出了此菜单栏中各菜单项的功能。

表 20. “数据分析”窗口中的菜单栏项。

菜单项	命令	功能
文件	保存	保存文件。
	另存为	使用新名称保存文件。
	重复运行	从当前运行中提取扩增程序和反应板文件以重新运行它。
	退出	退出“数据分析”窗口。
查看	运行日志	打开“运行日志”窗口以查看当前数据文件的运行日志。
设置	Cq 测定模式	选择“回归”或“单一阈值”模式，以确定如何计算每条荧光示踪线的 Cq 值。
	基线设置	为选定的反应孔编组选择“基线扣除”方法。
	分析模式	选择通过“荧光基团”模式还是“目标”模式分析数据。
	要分析的循环	选择要分析的循环。
	基线阈值	打开“基线阈值”窗口以调整基线或阈值。
	示踪线样式	打开“示踪线样式”窗口。
	查看 / 编辑反应板	打开“反应板编辑器”以查看和编辑反应板。
	包括所有排除的反应孔	所有排除的反应孔都将包括在分析中。
鼠标高亮显示	鼠标高亮显示	打开或关闭使用鼠标指针同步高亮显示数据的功能。 提示：如果关闭“鼠标高亮显示”，则按住 Ctrl 键可暂时打开高亮显示功能。
	恢复默认窗口布局	将窗口排列方式恢复为默认设置。
导出	将所有数据表导出到 Excel	将每个选项卡中的所有电子表格视图导出到单独的 Excel 文件。
	导出 RDML 文件	打开“另存为”窗口以指定 RDML 文件名和位置。

表 20. “数据分析”窗口中的菜单栏项。(续)

菜单项	命令	功能
	自定义导出 ...	打开“自定义导出”窗口,可以在该窗口指定要导出的字段和文件格式。
	导出到 LIMS 文件夹 ...	打开一个窗口,以采用预先确定的格式将数据保存到 LIMS 文件夹。
工具	报告 ...	打开该数据文件的报告。
	反应孔编组报告 ...	打开“反应孔编组报告”窗口,为指定的反应孔编组生成报告。
	导入荧光基团校准 ...	选择校准文件以应用于当前数据文件。
	替换反应板 ...	替换数据分析中的当前反应板文件。

“定量”选项卡

“数据分析”窗口中的每个选项卡均以某种特定分析方法的图表和电子表格显示数据,并包括一个反应孔选择器供您选择要显示的数据。“数据分析”窗口打开时,“定量”选项卡(图 50)将显示在前面。此选项卡中的**扩增**图表数据应该用于确定运行的适当分析设置。

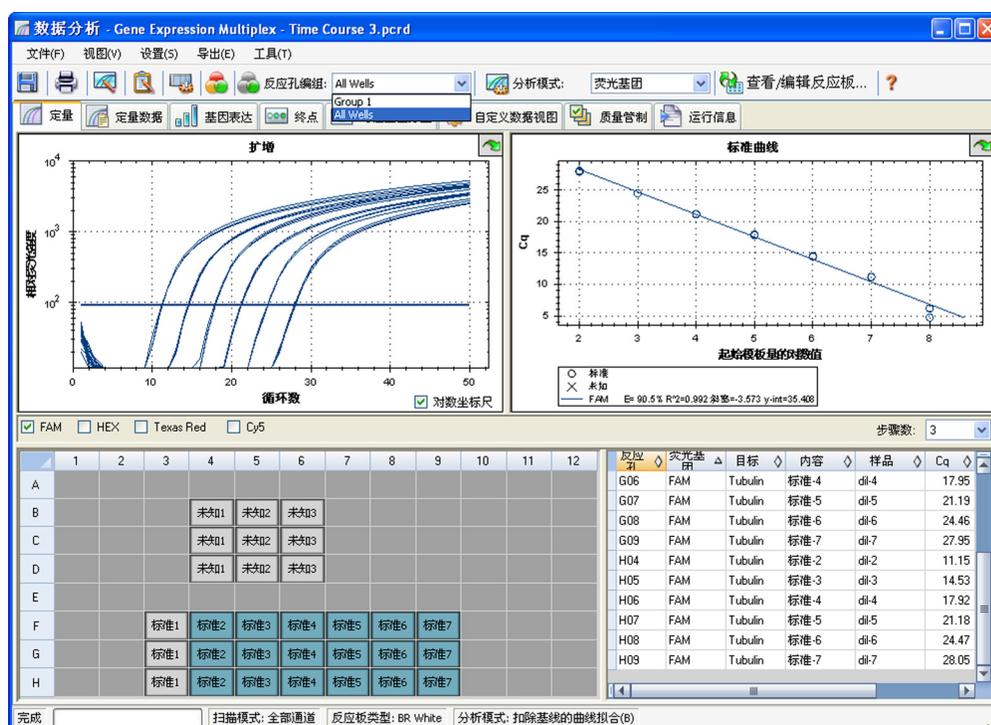


图 50. 选定“组 1”的“数据分析”窗口中的“定量”选项卡。

注意: 软件会链接每个“数据分析”选项卡的各个窗格中的数据。例如,如果在反应孔选择器视图中通过将鼠标指针放在某个反应孔上来高亮显示该反应孔,则会在所有其他窗格中高亮显示相应的数据。

步骤数选择器

CFX96™ 系统或 CFX384™ 系统可以在多个扩增程序步骤中获取荧光数据；软件将分别保留各步骤获取的数据。只要扩增程序包含一个以上的数据收集步骤，软件就会在“定量”选项卡上的标准曲线图表下方显示**步骤数**选择器。选择某个步骤后，软件会将该选择应用于在“数据分析”窗口中显示的所有数据。图 51 显示所有数据的数据收集步骤数为**3**。



图 51. “数据分析”窗口中的“步骤数”选择。

在数据分析中查看反应孔编组

反应板中的反应孔可以编组为多个子集，以便使用反应孔编组单独进行分析。在**反应孔编组管理器**窗口（第 49 页）中创建反应孔编组时，组名称将显示在“数据分析”窗口工具栏的“反应孔编组”下拉列表中。

提示：要编辑、创建和删除反应孔编组，请单击工具栏中的**管理反应孔编组**按钮。

如果首先打开“数据分析”窗口，则默认选定的反应孔编组为**所有反应孔**，所有包含内容的反应孔中的数据都会在图表和电子表格中显示。

图 50 显示在“反应孔编组”菜单中选定了“组 1”。只有该反应孔编组中的反应孔会在反应孔选择器中显示加载的内容，并且数据分析计算中只包含这些反应孔的数据。

数据分析设置

“定量”选项卡中的**扩增**图表数据可显示每个反应孔在每次循环中的相对荧光 (RFU)。图表中的每条示踪线表示某个反应孔中单个荧光基团的数据。可使用这些数据测定单个荧光基团上每个反应孔的 C_q 值。软件使用下列两种模式之一来测定 C_q 值：

- **回归**。该模式将多变量、非线性回归模型应用于单个反应孔示踪线，然后使用此模型计算最佳的 C_q 值
- **单一阈值**。该模式使用单一阈值根据单个荧光示踪线的阈值越线点来计算 C_q 值

选择**设置 > C_q 测定模式**，以选择 C_q 测定模式。

调整阈值

在单一阈值模式中可调整荧光基团的阈值，方法是单击扩增图表中的阈值线，然后垂直移动鼠标指针。或者，按照下列说明为选定的荧光基团指定确切的交叉阈值：

1. 在“定量”选项卡（图 50）的荧光基团选择器中选择一个荧光基团，方法是单击扩增图表下方荧光基团名称旁边的框。
2. 在菜单栏中选择**设置 > 基线阈值**，以打开“基线阈值”窗口。

3. 通过单击用户定义的并输入一个阈值数来调整荧光基团的交叉阈值 (图 52)。



图 52. “基线阈值”窗口。

4. 单击确定确认更改并关闭窗口。

基线设置

软件将为每个反应孔分别自动设置基线。选择“基线设置”，以确定所有荧光示踪线的基线扣除方法。选择设置 > 基线设置，以选择下列三个选项之一：

- **未扣除基线。** 软件将数据显示为相对荧光示踪线。某些分析不能在此分析模式中进行，因此软件不显示“基因表达”、“终点”和“等位基因分型”选项卡
- **基线扣除。** 软件针对反应孔中的每个荧光基团将数据显示为基线扣除示踪线。软件必须对数据进行基线扣除，以确定定量循环、建立标准曲线并确定未知样品的浓度。要生成基线扣除示踪线，软件将在基线循环期间通过每个反应孔的已记录荧光来拟合最佳直线，然后在每次循环时从背景扣除的数据扣除最佳拟合数据
- **扣除基线的曲线拟合。** 软件将数据显示为基线扣除示踪线，并使用中心均值滤光片使扣除基线的曲线变平滑。此过程的执行目的是使每个 C_q 保持不变

选择上述后两个选项时，还可以一同选择下列选项：

- **应用荧光基团漂移校正。** 对于在最初几次运行循环期间具有异常漂移 RFU 值的反应孔，软件将从已成功生成水平基线的相邻反应孔来派生估计的基线

调整基线

选择要分析的反应孔之后，请检查这些孔中的基线设置。打开“基线阈值”窗口 (图 52) 可以更改选定反应孔的默认基线。要打开此窗口，请执行以下操作：

1. 在“定量”选项卡 (图50) 中选择单个荧光基团，方法是单击扩增图表下方荧光基团名称旁边的框。

2. 选择**设置 > 基线阈值**以打开“基线阈值”窗口。

调整每个反应孔的开始和结束基线循环：

1. 在“基线循环”窗格中，通过单击行号选择一个或多个反应孔，单击左上角可选择全部反应孔，按住 Ctrl 键可选择多个单独的反应孔，而按住 Shift 键则可选择多个连续的反应孔。
2. 为所有选定的反应孔调整**基线起点循环**和**基线终点循环**，或在电子表格（图52）底部更改**开始**和**结束**循环数。
3. 要将设置恢复回上次保存的值，请单击**重置所有用户定义的值**。
4. 单击**确定**确认所有更改并关闭窗口。

分析模式

可以采用按荧光基团名称或目标名称编组的方式分析和显示数据。要选择数据分析模式，请选择**设置 > 分析模式**或从工具栏中的**分析模式**下拉菜单中进行选择。

选择**荧光基团**时，数据示踪线按照在该运行的反应板设置中指示的荧光基团显示。通过选中位于扩增图表下方的相应荧光基团选择器复选框，可以在扩增图表和标准曲线图表（如果可用）中显示各个荧光基团数据。

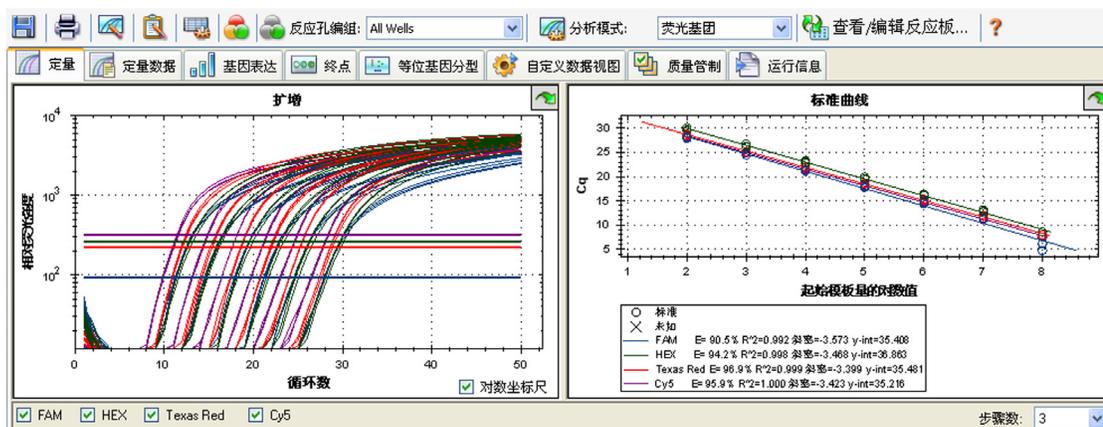


图 53. 选择了荧光基团分析模式。

选择目标时，数据示踪线按照在反应板设置中输入的目标名称显示。

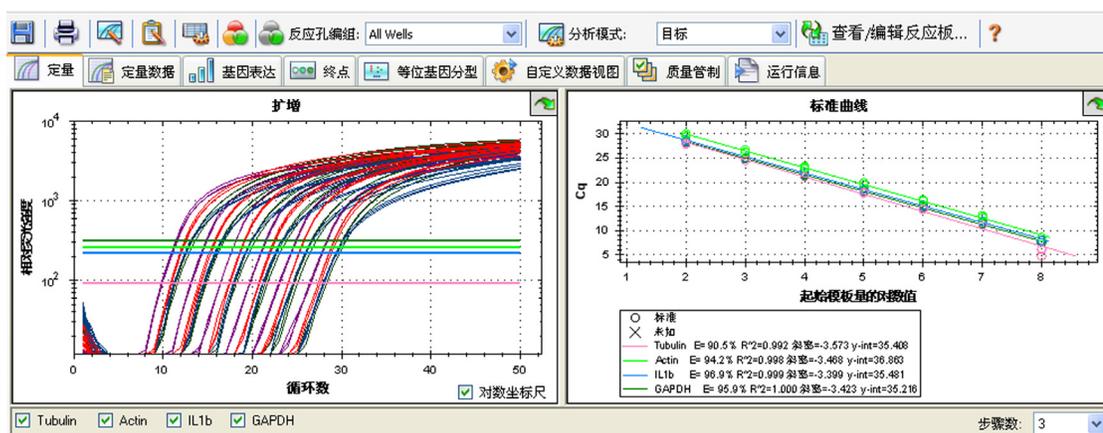


图 54. 选择了目标分析模式。

要分析的循环

要将数据分析限制到指定的循环范围，请选择设置 > 循环到分析。使用箭头按钮或通过键入所需的值并按 Enter，选择起始循环和结束循环。单击恢复默认值按钮以返回到最初用于分析的循环。

注意：删除运行过程开头的几个循环会对基线确定产生显著影响。

反应孔选择器

通过单击反应孔选择器中的反应孔，可以在“数据分析”窗口的图表或电子表格中显示或隐藏相应数据：

- 要隐藏某个反应孔，请高亮显示并单击单个反应孔。要显示该反应孔，请再次高亮显示并单击该反应孔
- 要隐藏多个反应孔，请单击并将光标拖过您要选择的反应孔。要显示这些反应孔，请再次单击并将光标拖过这些反应孔
- 单击反应板的左上角可隐藏所有反应孔。再次单击左上角可显示所有反应孔
- 单击列或行的起点可隐藏该列或行的反应孔。再次单击该列或行的起点可显示该列或行的反应孔

反应孔选择器中只能选择已加载内容的反应孔（在“反应板编辑器”中输入），选定通过颜色变化来显示。如图 55 中所示，反应孔选择器显示下列三种类型的反应孔：

- **选定的已加载的反应孔（蓝色）**。这些反应孔包含已加载的未知样品类型。这些反应孔的数据将在“数据分析”窗口中显示
- **未选定的已加载的反应孔（浅灰色）**。这些反应孔包含已加载的标准和阳性样品类型。这些未选定的反应孔中的数据不会在“数据分析”窗口中显示。

- **空反应孔 (深灰色)**。这些反应孔未在“反应板编辑器”窗口中加载

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				未知1	未知2	未知3						
C				未知1	未知2	未知3						
D				未知1	未知2	未知3						
E												
F			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			
G			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			
H			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			

图 55. 反应孔选择器中显示的三种反应孔颜色。

反应孔选择器右键单击菜单项

右键单击反应孔选择器视图中的反应孔可选择表 21 中列出的选项。

表 21. 反应孔选择器中的右键单击菜单项。

项目	功能
反应孔 XX	仅查看此反应孔、从视图中删除此反应孔、为此反应孔设置颜色, 或从分析中排除此反应孔
选定的反应孔 (右键单击并拖动)	仅查看这些反应孔、从视图中删除这些反应孔、为这些反应孔设置颜色, 或从分析中排除这些反应孔
复制	将反应孔的内容复制到剪贴板, 包括样品类型和可选的重复编号
复制为图像	将反应孔选择器视图复制为图像
打印 ...	打印反应孔选择器视图
打印选择 ...	打印当前选择
导出到 Excel...	将数据导出到 Excel 电子表格
导出为文本文件 ...	将数据导出为文本文档
导出为 Xml...	将数据导出为 .xml 文档
反应孔标签	将反应孔标签更改为“样品类型”、“目标名称”或“样品名称”

从分析中暂时排除反应孔

要从数据分析中暂时排除任何反应孔, 请执行以下操作:

使用右键单击功能

1. 在反应孔选择器中、荧光示踪线上或标准曲线的某一点上右键单击反应孔。要排除多个反应孔, 请右键单击并拖动以高亮显示多个反应孔、示踪线或点。

2. 从右键单击菜单中选择相应的选项：
反应孔 > 排除反应孔
选定的反应孔 > 从分析中排除
选定的示踪线 > 从分析中排除这些反应孔

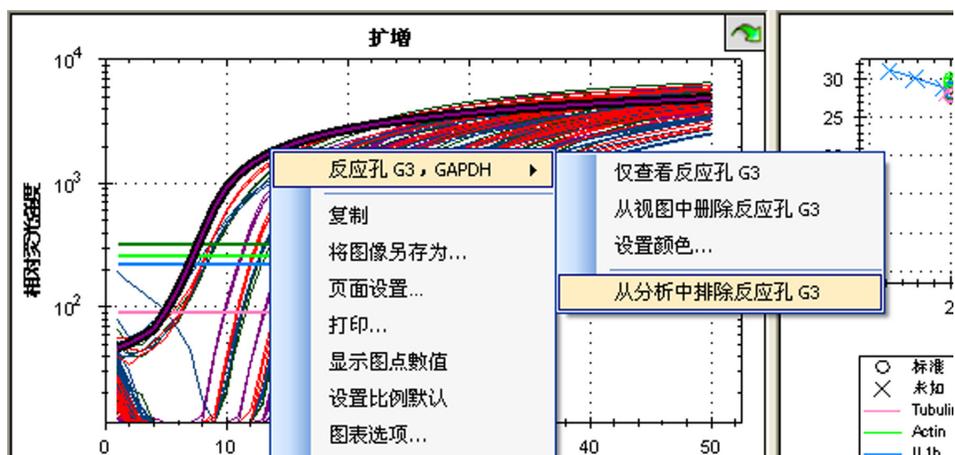


图 56. 右键单击以从分析中排除反应孔。

注意：要重新包括已排除的反应孔，请单击反应孔选择器中相应的反应孔，单击鼠标右键并选择在分析中包括反应孔 XX。

使用反应板编辑器

1. 单击“数据分析”窗口工具栏上的**查看 / 编辑反应板**按钮。
2. 在反应孔选择器视图中选择一个或多个反应孔。
3. 单击**在分析中排除反应孔** (图 57)，可排除选定的反应孔。此复选框位于窗口右侧“反应板编辑器”控件的底部。



图 57. 窗格底部的“在分析中排除反应孔”复选框。

4. 已排除的反应孔在“反应板编辑器”窗口中带有星号 (*) 标记。
 或者，要从分析中永久删除反应孔，请通过单击反应板编辑器中的**清除反应孔**按钮清除反应孔中的内容。

警告！ 必须重新输入已清除的反应孔内容。

图表

“数据分析”窗口中的每个图表都在不同的图中显示数据，并且包括调整数据的选项。要放大图表的某个区域，可通过单击并拖动鼠标来选择该区域。软件将调整图表大小，并使其在选定的区域中居中。

提示：要使图表返回完整视图，可在图表上单击右键，然后从右键单击菜单中选择**将坐标尺设置为默认值**。

图表的常用右键单击菜单项

所有图表上均可使用右键单击菜单项。某些可用项在所有图表上显示，这些选项可用于更改数据的显示方式或轻松地从图表导出数据（表 22）。

表 22. 图表的右键单击菜单项。

项目	功能
复制	将图表复制到剪贴板
将图像另存为 ...	以选定的图像文件类型保存图表图像。可选择下列格式： PNG （默认）、 GIF 、 JPG 、 TIF 或 BMP
页面设置 ...	预览并选择页面设置以进行打印
打印 ...	打印图表
显示点值	当鼠标移至图表中某个点的上方时显示点值。
将坐标尺设置为默认值	在放大图表后返回到默认图表视图
图表选项 ...	打开“图表选项”窗口以更改图表，包括更改标题、选择 X 和 Y 坐标轴的限值、显示网格线以及显示坐标轴中的次要刻度

注意：适用于特定图表的菜单项将在下一章““数据分析”窗口”（第 77 页）予以说明。

电子表格

“数据分析”中显示的电子表格包括用于对数据进行排序和传输的选项。可通过下列方法之一对列排序：

- 单击某列并将其拖到选定表中的新位置
- 单击列标题，以升序或降序对数据排序

要在“排序”窗口中对最多三列数据进行排序，请按照以下步骤操作：

1. 在电子表格上单击右键以打开菜单并选择**排序**。
2. 在“排序”窗口中，选择要排序的第一列的标题。以升序或降序对数据排序。
3. 通过在下拉菜单中选择标题来选择多个列标题。选择**升序**或**降序**，以按该顺序对列排序。
4. 单击**确定**对数据排序，或单击**取消**停止排序。

通过在某个单元格上按住鼠标指针，可在关联的图表和反应孔选择器中高亮显示数据。如果单击单元格，则可复制其中的内容并将其粘贴到其他软件程序中。

电子表格的常用右键单击菜单项

右键单击任何电子表格视图均可选择表 23 中显示的选项。

表 23. 电子表格的右键单击菜单项。

项目	功能
复制	将选定反应孔的内容复制到剪贴板，然后将这些内容粘贴到电子表格（如 Excel）中
复制为图像	将电子表格视图复制为图像文件，并将其粘贴到接受图像文件的文件（如文本、图像或电子表格文件）中
打印 ...	打印当前视图
打印选择 ...	打印当前选择
导出到 Excel...	将数据导出到 Excel 电子表格
导出为文本文件 ...	将数据导出到文本编辑器
导出为 Xml...	将数据导出到 Xml 文件
导出为 Html...	将数据导出到 Html 文件
查找 ...	搜索文本
排序 ...	对最多三列中的数据排序
选择列 ...	选择将在电子表格中显示的列

导出 (E)

可以从导出下拉菜单中访问四个导出选项。

将所有数据表导出到 Excel

选择**导出 > 将所有数据表导出到 Excel**，可从 CFX Manager 软件的每个选项卡将所有电子表格视图导出到各个 Excel 文件中。

导出 RDML 文件

选择**导出 > 导出 RDML 文件**，可打开“另存为”窗口并指定实时 PCR 数据标记语言 (RDML) 格式文件的文件名和位置。RDML 是用于交换定量 PCR (qPCR) 数据的结构化通用数据标准。该数据标准是文本文件，采用可扩展标记语言 (.xml) 格式。有关 RDML 数据交换格式的其他信息，请参阅国际 RDML 联合会网站 (www.rdml.org)。

自定义导出

选择**导出 > 自定义导出**可打开一个窗口，在该窗口中您可以自定义要导出的字段和文件格式（图 58）。



图 58. “自定义导出”窗口。

1. 从下列文件导出格式 (文本 *.txt、CSV *.csv、Excel 2007 *.xlsx、Excel 2003 *.xls、XML *.xml 和 HTML *.html) 中选择相应的导出格式。
2. 通过选中相应的复选框，选择要导出的项。
3. 单击“导出”按钮打开“另存为”窗口，以指定已导出文件的文件名和位置。

导出到 LIMS 文件夹

选择导出 > 导出到 **LIMS 文件夹**可打开“另存为”窗口，指定将在预定义的 **LIMS 文件夹**位置中保存的 LIMS 兼容文件格式的文件名。有关创建、管理和使用 LIMS 文件的详细信息，请参阅“LIMS 集成”部分 (第 130 页)。

8 “数据分析”窗口

本章提供有关“数据分析”窗口中的选项卡的详细信息：

- “定量”选项卡 (第 77 页)
- “定量数据”选项卡 (第 81 页)
- “熔解曲线”选项卡 (第 83 页)
- “熔解曲线数据”选项卡 (第 85 页)
- “终点”选项卡 (第 87 页)
- “等位基因分型”选项卡 (第 89 页)
- “自定义数据视图”选项卡 (第 91 页)
- “QC”选项卡 (第 92 页)
- “运行信息”选项卡 (第 93 页)
- 数据文件报告 (第 94 页)
- 反应孔编组报告 (第 97 页)

“定量”选项卡

可使用“定量”选项卡 (图 59) 中的数据设置数据分析条件, 包括各个反应孔的基线设置以及阈值设置。“定量”选项卡以下列四种视图显示数据：

- **扩增图表。**显示每个反应孔在每次循环中的相对荧光单位 (RFU)。图表中的每条示踪线表示某个反应孔中单个荧光基团的数据
- **标准曲线。**只有当运行中包含指定为“标准”样品类型的反应孔时, 才显示此图表。它可显示标准曲线, 其中包含根据起始模板量的对数值进行绘制的阈值循环。图例显示具有标准样品类型的反应孔中每个荧光基团的反应效率 (E)
- **反应孔选择器。**选择具有您要显示的荧光数据的反应孔

“数据分析”窗口

- **电子表格**。显示在选定的反应孔中收集的数据的电子表格

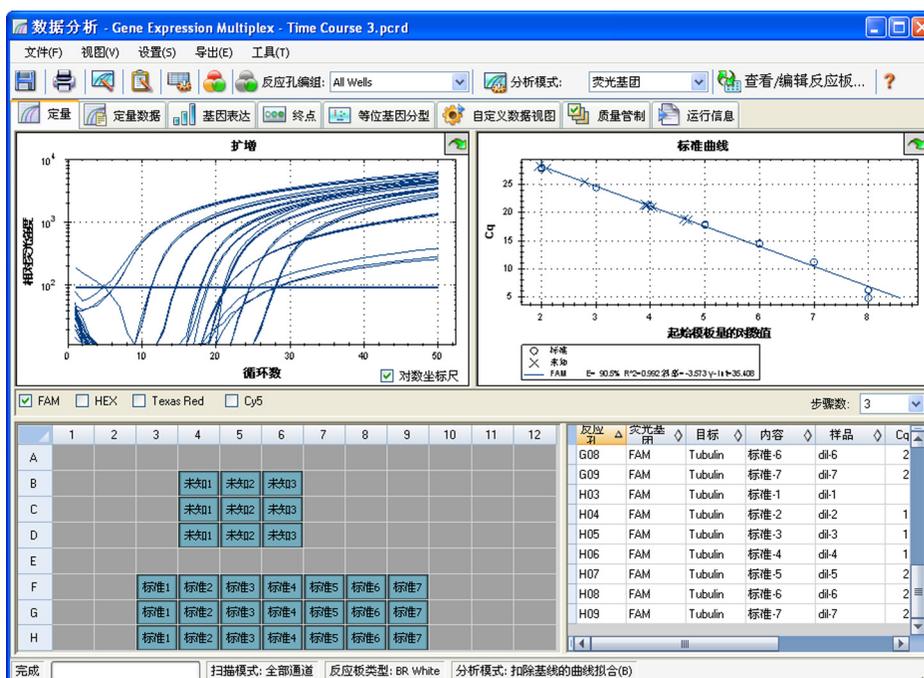


图 59. “数据分析”窗口中的“定量”选项卡布局。

荧光基团选择器

要选择要在“定量”选项卡的图表和电子表格中显示的荧光基团数据，请单击扩增图表下方的荧光基团选择器。单击荧光基团名称旁边的框，可在“数据分析”窗口中显示或隐藏该荧光基团的数据。

“示踪线样式”窗口

打开“示踪线样式”窗口（图 60），可调整“定量”和“熔解曲线”选项卡中扩增和熔解曲线图表上的示踪线的外观。

要打开此窗口，请按照以下步骤操作：

1. 从扩增图表下方的荧光基团选择框（第 69 页的图 53）中仅选择一个荧光基团。
2. 单击“数据分析”工具栏中的**示踪线样式**按钮、选择“数据分析”菜单栏中的**设置 > 示踪线样式**，或右键单击一条示踪线并选择示踪线样式。



图 60. “示踪线”样式窗口。

使用“示踪线样式”窗口中的工具调整示踪线的外观，并在窗口底部的反应孔选择器中预览所做的更改。

- 使用反应孔选择器选择一组特定的反应孔。或者，在**反应孔**列的下拉菜单中，选择包含一个样品类型的反应孔
- 单击“颜色”列中的框可为反应孔选择颜色
- 从“符号”列的下拉菜单中选择一个符号
- 可以选择**颜色快速设置**，采用以下按钮标签指示的方式为反应孔上色：“随机，按反应孔”、“随机，按重复”、“使用荧光颜色”、“使用目标颜色”或“使用样品颜色”
- 通过单击“样品类型”、“目标名称”、“样品名称”或“符号”，选择**反应孔标签**

对数坐标尺选项

单击扩增图表底部的**对数坐标尺**框，可查看半对数坐标尺的荧光示踪线，如图 61 中所示。

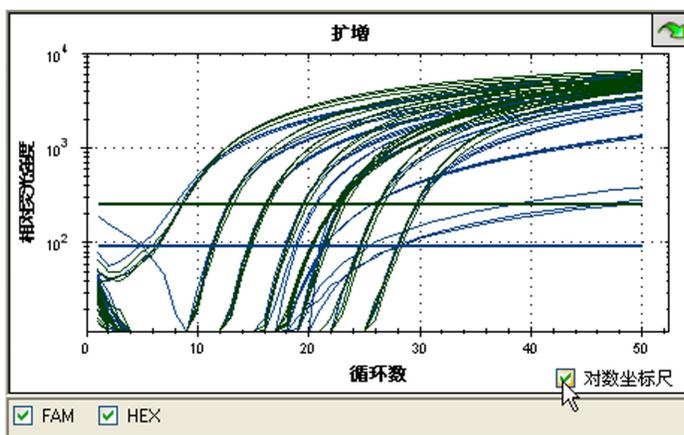


图 61. 扩增图表中选定的“对数坐标尺”选项。

提示：要放大图表中的任意区域，请单击鼠标并将其拖过该区域。要返回完整视图，请单击鼠标右键并从菜单中选择**设置默认比例**。

标准曲线图表

如果数据包含在运行中针对某个荧光基团定义为标准 (Std) 的样品类型，软件将在“定量”选项卡中创建标准曲线图表 (图 62)。

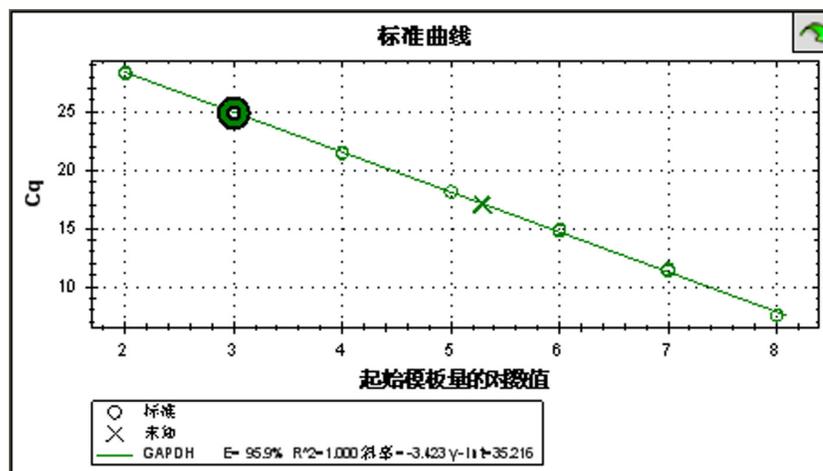


图 62. 标准曲线图表。

标准曲线图表可显示下列信息：

- 每条曲线的名称 (荧光基团或目标)
- 每个荧光基团或目标的颜色
- 反应效率 (E)。可使用这些统计信息优化多重反应，并均化标准曲线的数据

注意：反应效率描述扩增程序的每次循环中产生多少目标。效率为 100% 表示在每次循环中得到的是加倍的目标。

- 测定系数，R² (写作 R²)。此统计信息可用于确定线条描述数据的准确性 (拟合度)
- 斜率
- y - 截距

图表右键单击菜单选项

除了用于复制、打印和导出图表的常用右键单击菜单选项外，表 24 列出了仅在扩增图表中可用的菜单选项。

表 24. 扩增图表特有的右键单击菜单选项。

菜单选项	功能
反应孔 XX, 荧光 / 目标	仅查看此反应孔、从视图中删除此反应孔、为此示踪线设置颜色，或从分析中排除此反应孔
选定的示踪线	仅查看这些反应孔、从视图中删除这些反应孔、为这些示踪线设置颜色，或从分析中排除这些反应孔
显示阈值	显示图表中每条扩增曲线的阈值
示踪线样式 ...	打开“示踪线样式”窗口，以更改在“定量”和“熔解曲线”选项卡中显示的示踪线样式
基线阈值 ...	打开“基线阈值”窗口，以更改每个荧光基团的基线或阈值 (更改结果在“定量”选项卡的扩增图表中显示)

“定量”选项卡中的电子表格

表 25 列出了在“定量”选项卡右下方的电子表格中显示的数据类型。

表 25. “定量”选项卡中的电子表格内容。

信息	描述
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光
目标	在反应板编辑器的反应孔中加载的目标名称
内容	在反应板编辑器中加载的样品类型（必需）和重复编号（可选）的组合
样品	在反应板编辑器的反应孔中加载的样品名称
C _q	每条示踪线的定量循环

提示：要对“内容”、“目标”和“样品”进行更改，请通过单击查看 / 编辑反应板按钮来打开“反应板编辑器”。

“定量数据”选项卡

“定量数据”选项卡可显示电子表格，描述在每个反应孔中收集的定量数据。可选择下列四个选项之一，以不同的格式显示数据：

- **结果**。显示数据的电子表格视图
- **标准曲线结果**。显示标准曲线数据的电子表格视图
- **反应板**。将每个反应孔中的数据的视图显示为反应板图
- **RFU**。选择该电子表格以显示每次循环中每个反应孔中的 RFU 数量

提示：右键单击任何电子表格均可选择选项，包括排序选项。

结果电子表格

选择结果电子表格（图 63）可查看反应板中每个反应孔的数据。

反应孔	荧光基团	目标	内容	样品	C _q	C _q 平均值	C _q 标准偏差	起始模板量 (SQ)	起始模板量的对数值
B04	Cy5	GAPDH	未知-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	未知-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	未知-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	未知-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	未知-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287

图 63. 选定结果电子表格的“定量数据”选项卡。

注意：所有标准偏差 (Std. Dev) 计算适用于在“反应板编辑器”窗口的反应孔中指定的重复组。计算将对重复组中每个反应孔的 C_q 值取平均值。

结果电子表格包含表 26 中列出的信息类型。

表 26. 结果电子表格内容。

信息	描述
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光
目标	扩增目标名称 (基因)
内容	样品类型和重复编号
样品	样品描述
生物集名称	生物集的名称
C_q	定量循环
C_q 平均值	重复组定量循环的平均值
C_q 标准偏差	重复组定量循环的标准偏差
起始模板量 (SQ)	目标的起始模板量的估计值
起始模板量的对数值	起始模板量的对数值
SQ 平均值	起始模板量的平均值
SQ 标准偏差	起始模板量的标准偏差
设定点	某个梯度步骤的反应孔中的样品温度
样品说明	一轮变性、退火和延长, 或扩增程序中的一轮退火和延长步骤

标准曲线结果电子表格

选择标准曲线结果电子表格 (图 64) 可查看计算出的标准曲线参数。

荧光基团	效率百分比	斜率	Y-截距	R ²
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	90.49	-3.573	35.408	0.992
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

图 64. “定量数据”选项卡中的“标准曲线结果”电子表格。

通过右键单击并选择复制, 可以将这些值复制并粘贴到文档中, 或者可以通过选择某个导出选项来创建文件。

表 27. 标准曲线结果电子表格内容。

信息	描述
荧光 (或目标)	检测到的荧光基团 (或目标)
效率百分比	反应效率
斜率	标准曲线的斜率
y - 截距	曲线与 y 轴相交的点
R ²	测定系数

反应板电子表格

选择反应板电子表格可一次查看一个荧光基团的数据的反应板图。通过单击电子表格底部的选项卡，可选择每个荧光基团。图 65 显示了反应板图形式的反应板电子表格。

		1	2	3	4	5	6	7
A	内容							
	样品							
	Cq							
	copy number							
B	内容				未知-1	未知-2	未知-3	
	样品				6Hr	7Hr	8Hr	
	Cq				25.43	21.33	18.67	
	copy number				6.21e+02	8.73e+03	4.83e+04	
C	内容				未知-1	未知-2	未知-3	
	样品				6Hr	7Hr	8Hr	
	Cq				27.92	21.41	18.89	
	copy number				1.24e+02	8.26e+03	4.19e+04	

图 65. “定量数据”选项卡中的反应板电子表格。

RFU 电子表格

选择 RFU 电子表格可查看在运行的每次循环中获取的每个反应孔的相对荧光单位 (RFU) 读数。通过单击电子表格底部的选项卡，可选择各个荧光基团。反应孔编号显示在每列顶部，循环数显示在每行左侧 (图 66)。

循环	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5	F6	F7
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5	41.2	40.2
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2	18.0	24.9
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62	7.36	12.4
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95	5.61	10.9
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60	1.72	6.62
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53	-2.32	2.20

图 66. “定量数据”选项卡中的 RFU 电子表格。

“熔解曲线”选项卡

对于 DNA 结合染料和非裂解杂交探针，当两个 DNA 链退火时，其荧光最亮。因此，随着温度上升至熔解温度 (T_m)，荧光将以恒速 (恒定坡度) 减弱。在 T_m 下，荧光会急剧减弱，坡度会发生明显的变化。通过绘制荧光对温度的一阶回归的负数 ($-dRFU/dT$)，可以确定此变化率。荧光中最大的变化率将产生可见峰，并表示双链 DNA 复合体的 T_m 。

软件将在熔解曲线期间收集的 RFU 数据绘制为温度的函数。为分析熔解峰数据，软件将通过移动阈值条来为每个峰指定起始和结束温度。峰区域的低限由熔解阈值条的位置指定。相对于阈值条和最高峰高度之间的距离，有效峰必须具有最低高度。

打开“熔解曲线”选项卡(图67)可确定扩增 PCR 产品的 T_m。该选项卡以下列四种视图显示熔解曲线数据:

- **熔解曲线。**查看每个荧光基团的实时数据,将其作为每个反应孔在每一温度下的相对荧光单位(RFU)
- **熔解峰。**查看每个反应孔在每一温度下的 RFU 数据的负回归。
- **反应孔选择器。**选择反应孔可显示或隐藏数据
- **峰电子表格。**查看在选定的反应孔中收集的数据的电子表格

注意:对于每条示踪线,此电子表格最多仅显示两个峰。要查看更多峰,请单击**熔解曲线数据**选项卡(第 85 页)。

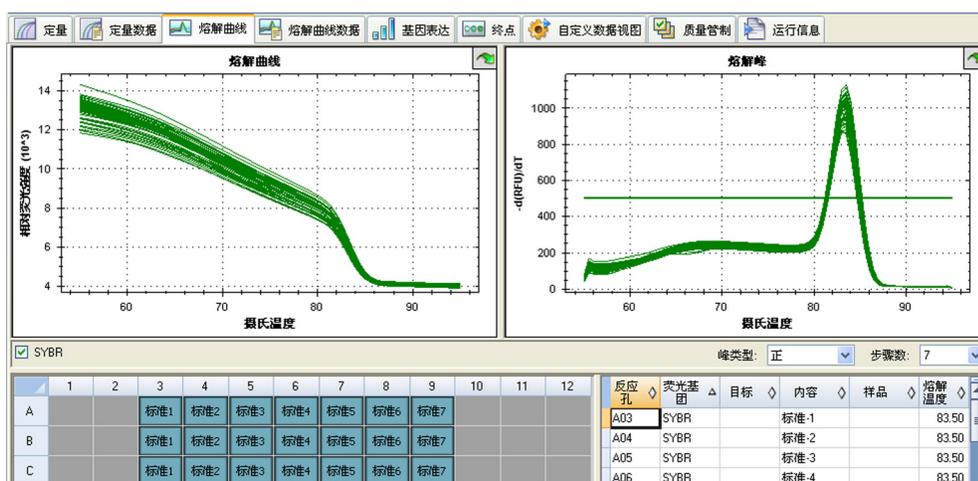


图 67. “数据分析”窗口中的“熔解曲线”选项卡布局。

可通过下列任意方法调整熔解曲线数据:

- 在熔解峰图表中单击并拖动阈值条以在数据分析中包括或排除峰
- 在“峰”下拉菜单中选择**正**,可显示在熔解阈值线以上的峰的电子表格数据;选择**负**,可查看在熔解阈值线以下的峰的电子表格数据
- 打开“示踪线样式”窗口,以更改熔解曲线和熔解峰图表中示踪线的颜色。
- 在“步骤数”选择器(第 67 页)中选择一个编号,以查看扩增程序的其他步骤中的熔解曲线数据。如果扩增程序在两个或更多熔解曲线步骤中包括读板(照相机图标),则该列表将显示多个步骤
- 在反应孔选择器中选择反应孔,以重点关注数据的子集
- 选择反应孔编组(第 67 页),以查看并分析反应板中的反应孔子集。可以在工具栏的“反应孔编组”下拉菜单中按照名称选择每个反应孔编组

“熔解曲线数据”选项卡

“熔解曲线数据”选项卡在多个电子表格中显示来自“熔解曲线”选项卡的数据，包括每条示踪线的所有熔解峰。可选择下列四个选项之一，以在不同的电子表格中显示熔解曲线数据：

- **熔解峰**。列出所有数据，包括每条示踪线的所有熔解峰
- **反应板**。列出反应板中每个反应孔的数据和内容的视图
- **RFU**。列出每个反应孔在每一温度下的 RFU 数量
- **-d(RFU)/dT**。列出 RFU 在温度 (T) 发生变化时的负变化率。这是反应板中每个反应孔的一阶回归图

熔解峰电子表格

选择**熔解峰**电子表格 (图 68) 可查看熔解曲线数据。

反应孔	荧光基团	目标	内容	样品	熔解温度	峰高	起始温度	终点温度
A03	SYBR		标准-1		83.50	978.08	77.50	90.00
A04	SYBR		标准-2		83.50	949.97	77.00	90.50
A05	SYBR		标准-3		83.50	1000.35	77.50	89.50
A06	SYBR		标准-4		83.50	955.27	77.50	89.50
A07	SYBR		标准-5		83.50	881.44	77.00	90.00
A08	SYBR		标准-6		83.50	915.72	77.50	90.50
A09	SYBR		标准-7		83.00	863.82	78.00	88.50

图 68. “熔解曲线数据”选项卡中的熔解峰电子表格。

熔解峰电子表格 (图 68) 包含表 28 中显示的信息类型。

表 28. 熔解峰电子表格内容。

信息	描述
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光
内容	在“反应板编辑器”窗口中列出的样品类型
目标	扩增目标 (基因)
样品	在“反应板编辑器”窗口中列出的样品名称
熔解温度	每个产品的熔解温度，在电子表格中以每行的一个峰 (最高点) 列出
峰高	峰的高度
起始温度	峰起点处的温度
结束温度	峰终点处的温度

反应板电子表格

选择反应板电子表格（图 69）可查看以反应板格式显示的熔解曲线数据。

		1	2	3	4	5	6	7
A	内容			标准-1	标准-2	标准-3	标准-4	标准-5
	样品							
	峰 1			83.50	83.50	83.50	83.50	83.50
	峰 2			无	无	无	无	无
B	内容			标准-1	标准-2	标准-3	标准-4	标准-5
	样品							
	峰 1			83.50	83.50	83.50	83.50	83.50
	峰 2			无	无	无	无	无
C	内容			标准-1	标准-2	标准-3	标准-4	标准-5
	样品							
	峰 1			83.50	83.50	83.50	83.50	83.50

图 69. “熔解曲线数据”选项卡中的反应板电子表格。

注意：要调整软件调用的峰，请在“熔解曲线”选项卡中的熔解峰图上调整阈值线。

反应板电子表格包含表 29 中显示的信息类型。

表 29. 反应板电子表格内容。

信息	描述
内容	样品类型（必需）和重复编号（可选）的组合
样品	样品描述
峰 1	第一个熔解峰（最高点）
峰 2	第二个熔解峰（较低）

RFU 电子表格

选择 RFU 电子表格可查看在熔解曲线期间获取的每次循环中每个反应孔的荧光（图 70）。

温度	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
55.00	12614	12384	13016	12565	11968	12428	11844
55.50	12551	12322	12950	12508	11917	12373	11803
56.00	12487	12260	12884	12451	11866	12318	11761
56.50	12424	12199	12818	12394	11816	12263	11719
57.00	12361	12137	12752	12337	11765	12207	11677
57.50	12297	12075	12685	12280	11714	12152	11635
58.00	12234	12013	12619	12224	11664	12097	11594

图 70. “熔解曲线数据”选项卡中的 RFU 电子表格。

表 30 列出了 RFU 电子表格中显示的信息类型。

表 30. RFU 电子表格内容。

信息	描述
反应孔编号 (A1、A2、A3、A4、A5...)	反应板中已加载的反应孔的反应孔位置
温度	扩增目标的熔解温度。绘制为每行一个反应孔，针对同一反应孔中的多个产品绘制为多个反应孔

-d(RFU)/dT 电子表格

选择 -d(RFU)/dT 电子表格可查看图 71 中显示的数据类型。



温度	A3	A4	A5	A6	A7	A8
55.00	63.4	61.9	66.2	56.9	50.7	55.2
55.50	137	134	143	123	110	120
56.00	127	124	132	114	101	110
56.50	127	124	132	114	101	110
57.00	127	124	132	114	101	110
57.50	126	123	132	113	101	110
58.00	129	126	135	117	105	114

图 71. “熔解曲线数据”选项卡中的 -d(RFU)/dT 电子表格。

表 31 列出了 -d(RFU)/dT 电子表格中显示的信息类型。

表 31. -d(RFU)/dT 电子表格内容。

信息	描述
反应孔编号 (A1、A2、A3、A4、A5...)	反应板中已加载的反应孔的反应孔位置
-d(RFU)/dT	RFU 在温度 (T) 发生变化时的负变化率

“终点”选项卡

打开“终点”选项卡可分析样品反应孔的最终相对荧光单位 (RFU)。软件将具有未知样品的反应孔的 RFU 级别与具有阴性对照的反应孔的 RFU 级别进行比较，并将未知样品作为阳性或阴性进行“调用”。阳性样品的 RFU 值大于阴性对照的平均 RFU 值加上截止值。

要分析终点数据，反应板必须包含阴性对照，否则软件无法进行调用。运行下列两种类型的扩增程序之一：

- **运行定量扩增程序。** 设置标准扩增程序。在运行完成后，打开“数据分析”窗口，在“定量”选项卡中调整数据分析设置，然后单击“终点”选项卡以选择终点循环
- **运行“终点唯一”扩增程序。** 在“运行设置”窗口的“反应板”选项卡中加载“终点唯一”扩增程序，选择或创建反应板，然后启动运行

“终点”选项卡显示平均 RFU 值，以确定目标是否由最后一次（结束）循环扩增。可使用这些数据确定样品中是否存在特定目标序列（阳性）。阳性目标的 RFU 值比您定义的截止级别高。

提示：要创建终点扩增程序，请打开“扩增程序”选项卡（“运行设置”窗口中），然后选择选项 > 终点唯一运行。

软件将在“终点”选项卡中显示下列数据：

- **设置。**调整数据分析设置
- **结果。**在调整设置后立即显示结果
- **反应孔选择器。**选择具有您要显示的终点数据的反应孔
- **反应孔电子表格。**显示在选定的反应孔中收集的终点 RFU 的电子表格

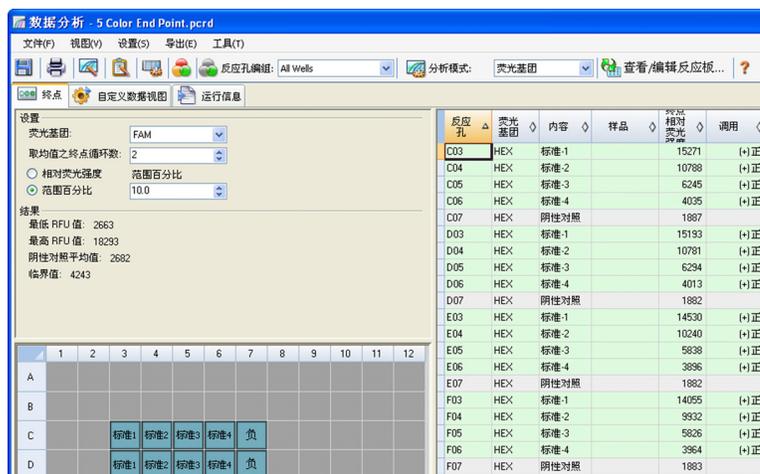


图 72. “终点”分析选项卡的布局。

“结果”列表包括下列信息：

- **最低 RFU 值。**数据中的最低 RFU 值
- **最高 RFU 值。**数据中的最高 RFU 值
- **阴性对照平均值。**包含阴性对照的反应孔的平均 RFU
- **截止值。**计算方法是容差（“设置”中列出的 RFU 或范围百分比）加上阴性对照的平均值。包含的 RFU 大于截止值的样品将作为“阳性”进行调用。要调整截止值，可更改 RFU 或范围百分比

使用下列公式计算截止值：

$$\text{Cut Off Value} = \text{Negative Control Average} + \text{Tolerance}$$

可通过下列方法之一选择容差：

- **RFU (默认)。**选择该方法可使用绝对 RFU 值计算容差。最小 RFU 容差值是 2。最大值等于最高 RFU 值的绝对值减去最低 RFU 值的绝对值。默认 RFU 容差值是 RFU 总范围的 10%
- **范围百分比。**选择该方法可使用 RFU 的范围百分比来计算容差。最小范围百分比是 1%。最大范围百分比是 99%。默认范围百分比是 10%

调整终点数据分析

可使用下列方法调整“终点”选项卡中显示的信息：

- 从下拉列表中选择一个**荧光基因**可查看数据
- 选择**终点循环到平均值**，可设置软件用于计算平均终点 RFU 的循环数
- 选择**相对荧光强度**可以相对荧光单位查看数据
- 选择**范围百分比**可以 RFU 范围的百分比查看数据
- 在反应孔选择器中选择反应孔，以重点关注数据的子集
- 选择反应孔编组（第 67 页），以查看并分析反应板中的反应孔子集。可以在工具栏的“反应孔编组”下拉菜单中按照名称选择每个反应孔编组

终点分析的数据描述

表 32 列出了“终点”选项卡的电子表格中显示的信息类型。

表 32. 终点电子表格内容。

信息	描述
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光
内容	样品类型和重复编号的组合
终点相对荧光强度	终点循环中的相对荧光强度
调用	作为阳性或阴性进行调用，其中阳性样品的 RFU 值大于阴性对照的平均 RFU 值加上截止值
样品	在反应板编辑器中加载的样品名称

“等位基因分型”选项卡

“等位基因分型”选项卡使用阳性对照样品的 RFU 或 Cq 将基因型分配给具有未知样品的反应孔。使用此数据可标识具有不同基因型的样品，包括等位基因 1、等位基因 2、杂合子、未知、对照 1 或对照 2。

注意：用于等位基因分型的数据必须来自至少包含两个荧光基因的多重运行。每个荧光基因标识所有样品中的一个等位基因。

等位基因分型分析最少要求具有下列反应孔内容：

- 除包含阳性对照的反应孔只能包含一个荧光基因外，每个反应孔中包含两个荧光基因
- 反应孔编组中的所有反应孔具有一个公用的荧光基因
- 如果要对数据进行均一化，还要包含 NTC（无模板对照）样品

软件以下列布局显示等位基因分型数据：

- **RFU 或 Cq 图表**。在等位基因 1/ 等位基因 2 的 RFU 或 Cq 图表中查看数据。图表中的每个点表示某个反应孔中单个荧光基因的数据
- **反应孔电子表格**。显示一个电子表格，列出在反应板的每个反应孔中收集的等位基因分型数据
- **反应孔选择器**。选择具有您要显示的终点数据的反应孔

- **反应孔电子表格。**显示一个电子表格，列出在选定的反应孔中收集的等位基因分型数据

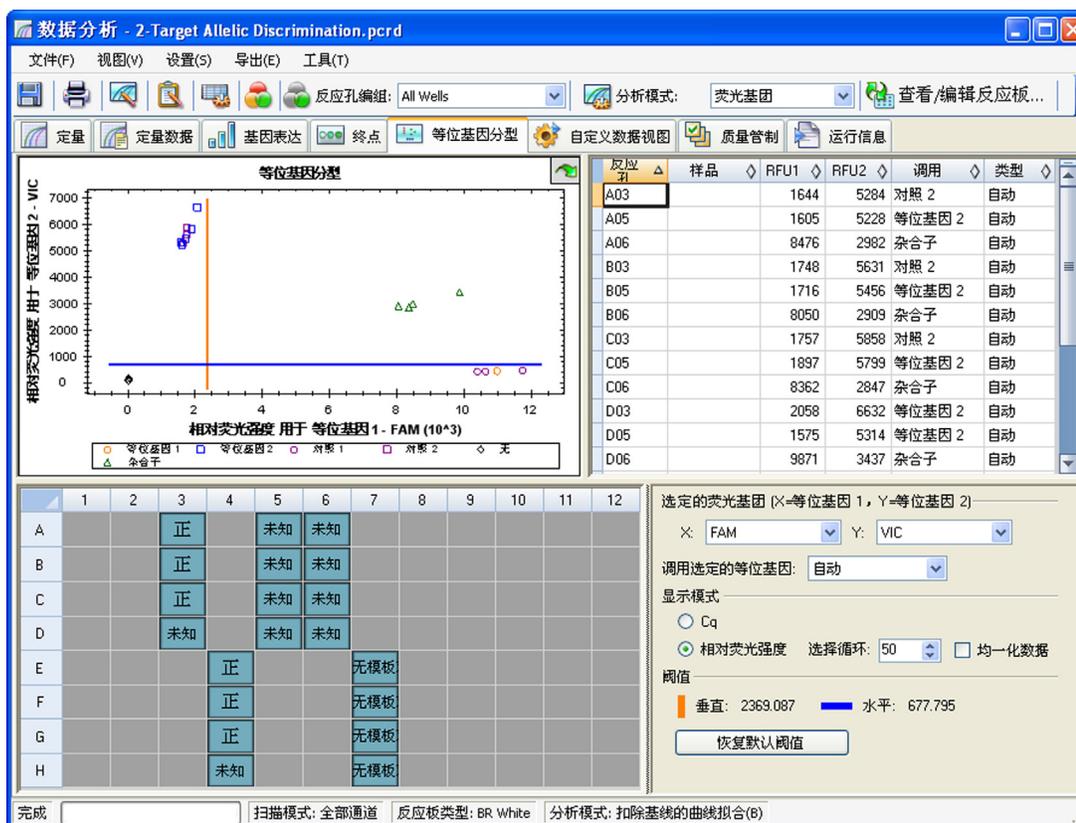


图 73. “数据分析”窗口中的“等位基因分型”选项卡布局。

调整等位基因分型的数据

软件将根据垂直和水平阈值条的位置将基因型自动分配给具有未知样品的反应孔，然后在电子表格视图中列出基因型调用。为自动调用基因型，软件将使用阳性对照（如果可用）或估计阈值。软件将采用阳性对照的平均 C_q 或 RFU 来自动设置阈值线，以便对等位基因进行分型。

可通过单击并拖动阈值条来调整其位置；软件将自动调整计算，以进行新的基因型分配：

- 如果运行在反应板中包含三个对照，则阈值条的位置将取决于对照的 RFU 或 C_q 的平均值和标准偏差
- 如果对照的数量少于三个，则阈值条的位置将由选定荧光基团中的 RFU 范围或阈值循环值决定

可使用下列任意方法调整等位基因分型数据：

- 单击并拖动等位基因分型图表中的阈值条以在电子表格中调整调用
- 在窗口右下方的设置选项中为图表中的每个坐标轴 (**X:** 和 **Y:**) 选择一个荧光基团
- 手动更改调用，方法是在电子表格中高亮显示行，然后在“调用选定的等位基因”列表选择一个选项（包括“等位基因 1”、“等位基因 2”、“杂合子”、“无”、“未知”、“对照 1”或“对照 2”）
- 单击**恢复默认阈值**按钮，将垂直和水平条恢复到其原始位置，该位置由条旁边的编号表示

- 选择 **C_q 显示模式** 可查看阈值级别的数据。选择 **RFU 显示模式**，可在选定的循环中以相对荧光单位查看数据
- 选择 **均一化数据**，可对图表和电子表格中显示的 RFU 数据进行均一化

均一化可将图表两个坐标轴上的数据更改为从 0 到 1 的范围。要对数据进行均一化，反应板所包含的反应孔的等位基因 1 和等位基因 2 都必须为“无模板对照”(NTC) 样品类型。对于该图，RFU 数据将作为特定于等位基因 1 和等位基因 2 的 RFU 的线性组合均一化为 NTC 值。该图是表示 RFU 数据的有效方法。

均一化后的 RFU 的计算使用 Livak et al. 中介绍的公式。(1995).

$$\text{Normalized } A_1 = \frac{A_1}{A_1 + A_2 + \bar{x}(\text{NTC}_{A1 + A2})}$$

其中：

- A₁ 表示等位基因 1 的 RFU
- A₂ 表示等位基因 2 的 RFU
- \bar{x} 表示 RFU 平均值

NTC_{A1 + A2} 表示等位基因 1 和等位基因 2 的 NTC 样品的 RFU 总和

等位基因分型电子表格

“等位基因分型”选项卡右上方的等位基因分型电子表格可显示表 33 中显示的信息。

表 33. 等位基因分型电子表格内容。

信息	描述
反应孔	反应板中的反应孔位置
RFU1 或 C _q 1	等位基因 1 的 RFU 或 C _q
RFU2 或 C _q 2	等位基因 2 的 RFU 或 C _q
调用	等位基因的标识，包括自动的等位基因 1、等位基因 2、杂合子、无、未知、对照 1、对照 2
类型	自动或手动。描述进行调用的方式。“自动”表示由软件选择调用。“手动”表示由用户选择调用

“自定义数据视图”选项卡

“自定义数据视图”选项卡显示可自定义格式的多个窗格（图 74）。

加载预设视图 下拉列表提供了可选择的显示格式模板。显示的默认视图取决于正在分析的文件。例如，如果存在溶解曲线数据，则将显示 Amp+Melt（扩增+熔解）默认视图。

可以通过执行下列操作进一步自定义数据视图：

- 从下拉列表中选择备用预设视图
- 使用位于各个窗格顶部的下拉菜单
- 使用“行”和“列”下拉选择选项
- 通过单击并拖动每个窗格周围的条，更改各个窗格的尺寸

“数据分析”窗口

通过单击**保存为预设**，可将自定义的视图另存为新的预设模板。可以删除或重命名现有预设，也可以使用**管理预设**恢复默认预设视图。

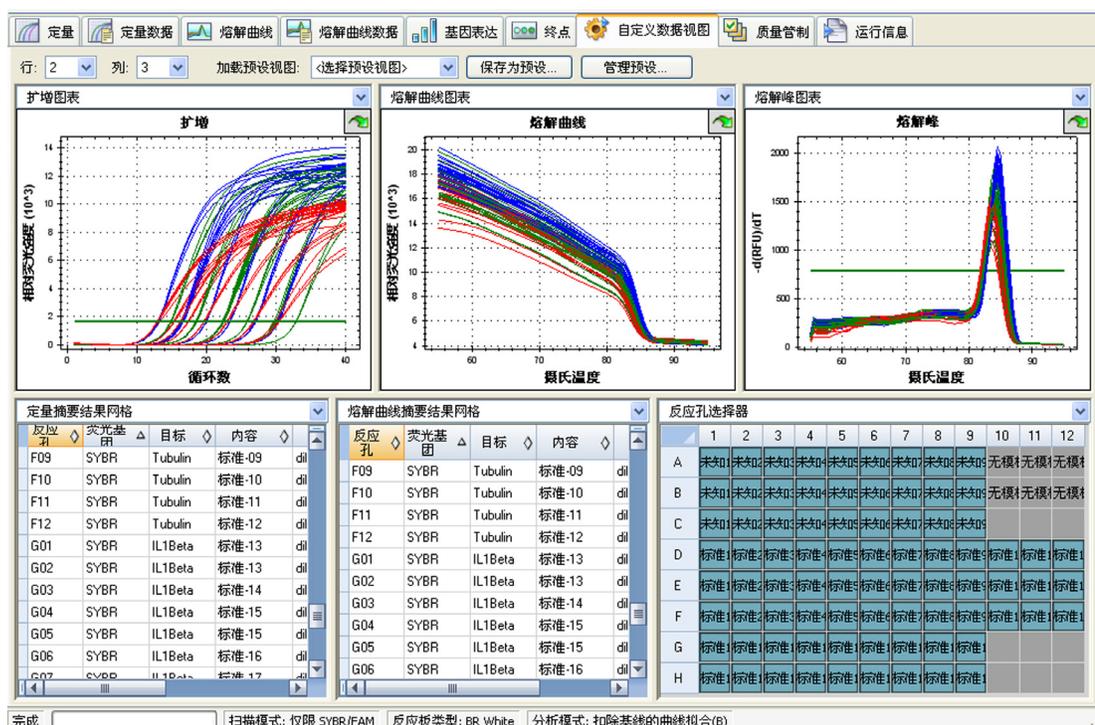


图 74. “自定义数据视图”选项卡。

“QC”选项卡

打开 QC 选项卡可根据在“用户首选项”窗口的 QC 选项卡中定义的规则快速评估运行数据的质量（有关详细信息，请参阅“QC”选项卡”（第 125 页））。

QC 选项卡分为四个区域（图 75）：

- **扩增图表**。显示每个反应孔在每次循环中的 RFU。图表中的每条示踪线表示某个反应孔中单个荧光基团的数据
- **QC 规则表**。显示可用的 QC 规则以及用于定义每条规则的设置。应用的 QC 规则由选中标记指示。通过取消选中“使用”框，可以删除 QC 规则
- **反应孔选择器**。选择具有您要显示的荧光数据的反应孔

- **QC 规则摘要。**显示选定的 QC 规则，并高亮显示不符合规则的反应孔

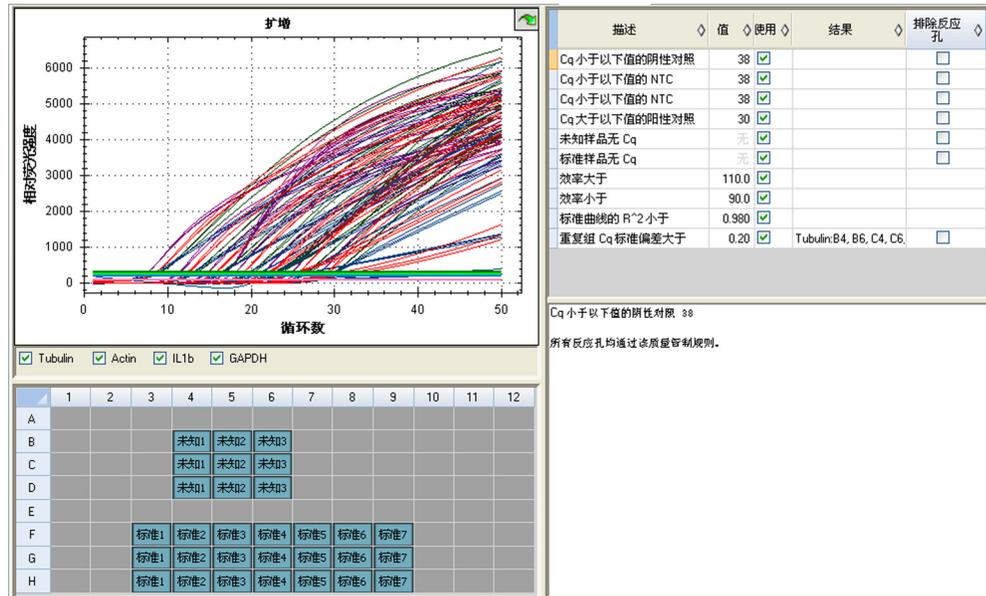


图 75. QC 选项卡布局。

排除不符合 QC 的反应孔

不符合 QC 标准的反应孔列在 QC 规则表的结果列中以及摘要窗格中。通过选中或取消选中相应的“排除反应孔”复选框，可以在分析中排除或包括这些反应孔。

“运行信息”选项卡

“运行信息”选项卡（图 76）显示扩增程序以及有关每次运行的其他信息。打开该选项卡可选择下列选项：

- 查看扩增程序
- 输入和编辑注释。通过在“注释”框中输入，可输入或编辑有关运行的注释
- 通过在“ID”框中输入，可输入和编辑运行的数据 ID
- 查看其他部分以了解在运行期间可能会发生的事件，如错误消息。查看这些消息有助于针对运行进行疑难解答

提示：右键单击扩增程序可对其进行复制、导出或打印。右键单击“注释”、“ID”或“其他”窗格可撤销、剪切、复制、粘贴、删除或选择文本。

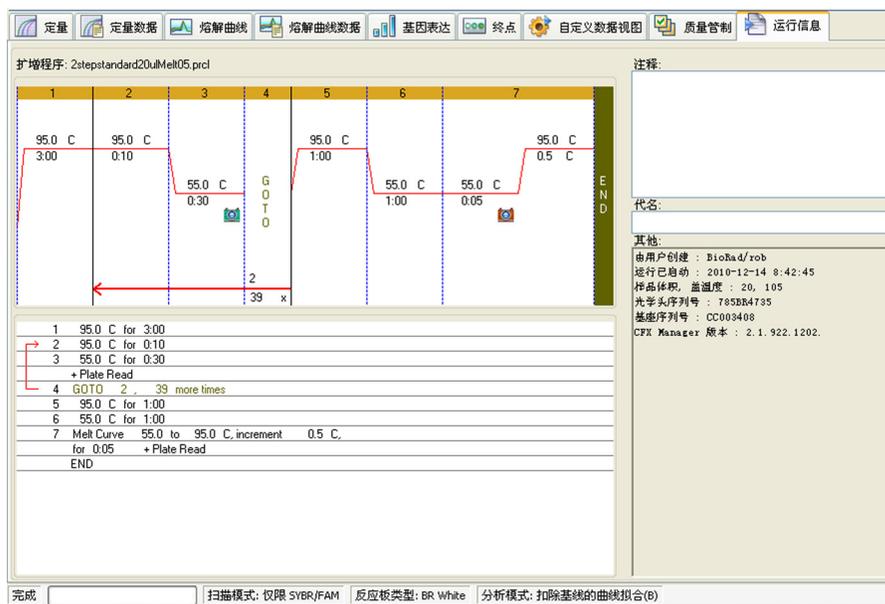


图 76. “运行信息”选项卡布局。

数据文件报告

“报告”窗口 (图 77) 可显示“数据分析”窗口中的当前数据文件的相关信息。要打开报告, 请选择工具 > 报告, 或单击“数据分析”窗口中工具栏上的报告按钮。

“报告”窗口显示以下三部分:

- 菜单和工具栏。可选择针对报告或模板的格式设置、保存和打印等选项
- 选项列表 (窗口左上方)。可选择要在报告中显示的选项
- 选项窗格 (窗口左下方)。可输入有关选定选项的信息
- 预览窗格 (窗口右侧)。在预览中查看当前报告



图 77. 数据文件的“报告”窗口示例。

提示：如果将报告保存为模板，则该报告的布局可用于定义在该报告中显示的信息类型。选择**模板 > 保存或另存为**，可将当前报告的布局保存为模板。

创建数据分析报告

要在“数据分析”窗口中创建报告，请按照以下步骤操作：

1. 创建报告之前，在“数据分析”窗口中对反应孔内容、选定的反应孔、图表和电子表格进行最终调整。
2. 单击“数据分析”工具栏中的**报告**按钮以打开“报告”窗口。
3. 更改要包括在报告中的选项。报告在打开时将包含选定的默认选项。通过单击报告选项列表中的复选框来更改整个类别或某个类别中的单个选项。

注意：报告中显示的数据取决于“数据分析”窗口的选项卡中的当前选择。例如，定量运行可能不包含标准曲线，因此这些数据不会在“数据分析”窗口或数据报告中显示。

4. 通过单击类别和项并将它们拖动到所需的相对位置，可以更改这些类别和项在报告中的排列顺序。项只能在它们所属的类别之内重新排序。
5. 单击**更新报告**按钮以将所有更改更新到报告预览。
6. 打印或保存报告。单击工具栏中的**打印报告**按钮可打印当前报告。选择**文件 > 保存**可将报告保存为 PDF (Adobe Acrobat Reader 文件)、MHT (Microsoft 文档) 或 MHTML (Microsoft 文档) 格式的文件，并选择一个位置以存储该文件。选择**文件 > 另存为**可使用新名称保存报告或将其保存在新位置。
7. (可选) 使用所需的信息创建报告模板。要将当前报告设置保存在模板中，请选择**模板 > 保存或另存为**。然后，可在下次创建新报告时加载该报告模板。

数据分析报告类别

报告可包含表 34 中描述的每个类别中的任意选项，具体取决于“数据分析”窗口中的数据类型。

表 34. 选项列表中的数据分析报告类别。

类别	选项	描述
标头		
	报告信息	运行日期、用户名、数据文件名称、数据文件路径和选定的反应孔编组
	审计信息	审计所需的补充信息，包括签名
	注释	有关数据报告的注释
运行设置		
	运行信息	包括运行日期、用户、数据文件名称、数据文件路径和选定的反应孔编组
	扩增程序	扩增程序步骤和选项的文本视图
	反应板显示	显示反应板的每个反应孔中信息的反应板视图
定量		
	分析设置	包括收集数据时的步骤数、分析模式和基线扣除方法
	扩增图表	用于包括定量数据的运行的扩增图表副本
	标准曲线图表	标准曲线图表的副本
	数据	列出每个反应孔中的数据的电子表格
基因表达		
	分析设置	包括分析模式、图表数据、缩放选项和图表误差
	图表	基因表达图表的副本
	目标名称	名称的图表
	样品名称	名称的图表
	数据	列出每个反应孔中的数据的电子表格
	目标稳定性	目标稳定性值的图表
熔解曲线		
	分析设置	包括熔解步骤数和阈值条设置
	熔解曲线图表	熔解曲线图表的副本
	熔解峰图表	熔解峰图表的副本
	数据	列出每个反应孔中的数据的电子表格
等位基因分型		
	分析设置	包括显示模式、荧光基团、循环、阈值和均一化的数据
	等位基因分型图表	等位基因分型图表的副本
	数据	列出每个反应孔中的数据的电子表格
终点		
	分析设置	包括荧光基团、终点循环到平均值、模式、最低 RFU 值、最高 RFU 值和截止值
	数据	列出每个反应孔中的数据的电子表格

表 34. 选项列表中的数据分析报告类别。(续)

类别	选项	描述
QC 参数		
	数据	列出每个 QC 规则的参数的电子表格

反应孔编组报告

要为特定反应孔编组创建报告，请执行以下操作：

1. 在“数据分析”窗口中选择 **工具 > 反应孔编组报告**。

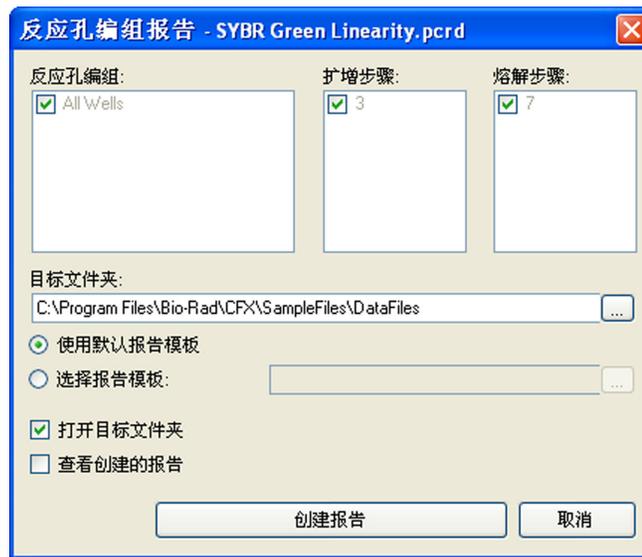


图 78. “反应孔编组报告”窗口。

2. 通过在**反应孔编组报告**窗口（图 78）中选中相应的框，可以指定要在报告中包括的“反应孔编组”、“扩增步骤”和“熔解步骤”。
3. 通过单击 ... 按钮，可以将目标文件夹更改到其他位置。
4. 选择**选择报告模板**，可选择默认模板以外的其他模板。单击 ... 按钮，可浏览模板文件。
5. 生成报告后，可以打开目标文件夹，并通过选中相应的框来查看这些报告。
6. 单击**创建报告**，可按指定方式创建报告。

“数据分析”窗口

9 基因表达分析

本章提供有关执行基因表达分析的信息：

- 基因表达 (第 99 页)
- 基因表达分析的反应板设置 (第 100 页)
- “基因表达”选项卡 (第 100 页)
- “实验设置”窗口 (第 105 页)
- 基因研究 (第 106 页)
- “基因研究报告”窗口 (第 111 页)
- 基因表达计算 (第 112 页)

基因表达

通过在反应中使用严格定量的对照，您可以执行基因表达运行来对样品中目标浓度中的相对差进行均一化。通常，可使用一个或多个参考基因的信息级别来对目的基因的表达级别进行均一化。参考基因会考虑加载在每个样品中表现出来的差异或其他变异，并且不能在研究的生物系统中调节它们。

打开“基因表达”选项卡，可对两个或更多反应孔中的 PCR 反应之间的相对差求值。例如，您可以对病毒基因组的相对数或 PCR 反应中转染序列的相对数求值。基因表达研究最常见的应用是比较多个反应中的 cDNA 浓度，以估计稳态信使 RNA 的级别。

软件将使用下列方案之一来计算目标的相对表达级别：

- 某个目标序列 (目标 1) 相对于另一个目标 (目标 2) 的相对表达级别。例如，在相同的样品处理下，一个基因相对于另一个基因的数量
- 在不同样品处理下，某个样品中的一个目标序列与相同目标相比较的相对表达级别。例如，在不同的时间、地理或发展条件下，某个基因相对于其自身的相对数量

基因表达分析的反应板设置

要执行基因表达分析，反应孔必须包含以下内容：

- **两个或更多目标。**这两个目标表示样品中不同的扩增基因或序列
- **一个或多个参考目标。**至少有一个目标必须为参考目标，这样才能对表达进行均一化。在“实验设置”窗口（第 48 页）中指定所有参考目标，以便以均一化后的表达模式 ($\Delta\Delta C_q$) 分析数据。必须使用相对表达模式 (ΔC_q) 对不包含参考的运行进行分析
- **公用样品。**反应必须包含公用样品（至少需要两个），以便在“基因表达”选项卡中查看所绘制的的数据。这些样品表示每个目标序列的不同处理或条件。在“实验设置”窗口（第 48 页）中指定对照样品（可选）

对反应板编辑器中基因表达设置的要求取决于反应内容是**单一 PCR**（反应中仅包含一个荧光基因），还是**多重 PCR**（反应中包含多个荧光基因）。

图 79 显示用于单一基因表达运行的反应孔的最少内容示例。

未加	未加
目标 1	目标 1
样本 1	样本 2
未加	未加
目标 2	目标 2
样本 1	样本 2

图 79. 单一基因表达运行中的反应孔内容示例。

图 80 显示用于多重基因表达运行的反应孔的最少内容示例。

未加	未加
目标 1	目标 1
目标 2	目标 2
样本 1	样本 2

图 80. 多重基因表达运行中的反应孔内容示例。

“基因表达”选项卡

“数据分析”窗口中的“基因表达”选项卡（图 81）可在下列两种视图中显示目标的相对表达：

- **基因表达图表。**将实时 PCR 数据显示为均一化后的表达 ($\Delta\Delta C_q$) 或相对定量 (ΔC_q)
- **电子表格。**显示基因表达数据的电子表格

提示：右键单击任何图表或电子表格可选择选项。单击**查看 / 编辑反应板**按钮可打开反应板编辑器，并可更改反应板中的反应孔内容。



图 81. “数据分析”窗口中的“基因表达”选项卡布局。

提示：在图表上单击右键可选择右键单击菜单选项。从此菜单中选择排序，可重新排列表中目标和样品名称的顺序。

均一化后的基因表达

要对数据进行均一化，可将一个或多个参考基因（目标）的度量的表达级别用作均一化因子。参考基因是不在所研究的生物系统中进行调节的目标，如肌动蛋白、GAPDH 或组蛋白 H3。

要设置均一化后的基因表达 ($\Delta\Delta C_q$) 分析，请按照以下步骤操作：

1. 打开数据文件（扩展名为 .pcrd）。
2. 在“数据分析”窗口的“定量”选项卡中检查数据。对数据进行调整，如更改阈值和分析模式。
3. 单击**基因表达**选项卡。
4. 在“实验设置”窗口的**样品**选项卡中选择一个对照。如果指定了对照，软件会将所有基因的相对定量均一化为对照定量，该值设置为 1。
5. 在“实验设置”窗口中的“目标”选项卡上选择此运行的参考基因。基因表达分析需要样品目标中的一个参考。
6. 如果尚未选中**均一化后的表达 ($\Delta\Delta C_q$)**，则选中它，然后在“基因表达”选项卡中查看表达级别。

相对定量

根据定义，相对定量 (ΔC_q) 数据不会进行均一化。此方法用于对不包含任何参考基因（目标）的样品进行定量。通常情况下，研究人员在设置其运行时考虑下列注意事项之一：

- 每个样品都代表每个生物样品中相同数量的模板，也可能代表每个反应孔中相同质量的 RNA 或 cDNA
- 运行后，可通过软件之外的某些数据分析方法对已加载的生物样品数量的任何偏差进行均一化。例如，研究人员可能仅选择用相对定量值除以均一化因子，该因子可能是为每个样品加载的核酸质量或从其中分离出核酸的细胞数量

从“基因表达”选项卡的图表控件的下拉菜单中选择**相对定量 (ΔC_q)** 即可运行相对定量 (ΔC_q) 分析。

提示：要将结果与其他基因表达运行的数据进行比较，请打开一个新的基因研究（第 109 页），或将数据文件添加到现有的基因研究。

调整基因表达数据

选择分析方法后，可以通过更改图表右侧的设置选项来调整在“基因表达”选项卡中查看的数据。

图表数据

通过图表数据选项可以从下列两个选项中任选其一来说明图表中的数据：

- **相对于对照。**使用刻度从 0 到 1 的坐标轴对数据进行绘图。如果在运行中指定了对照，选择该选项可快速查看目标的上调和下调结果。
- **相对于零点。**以零点为原点对数据绘图

X 坐标轴选项

通过 X 坐标轴选项可以选择基因表达图表的 X 坐标轴数据：

- **目标。**选择该选项可对 x 坐标轴上的目标名称绘图
- **样品。**选择该选项可对 x 坐标轴上的样品名称绘图

Y 坐标轴选项

使用 Y 坐标轴选项可以按照下列三种刻度之一显示基因表达图表：

- **线性。**选择该选项可显示线性刻度
- **日志 2。**选择该选项可对大动态范围中的样品求值
- **日志 10。**选择该选项可对非常大的动态范围中的样品求值

缩放选项

选择**均一化后的基因表达 ($\Delta\Delta C_q$)** 可激活基因表达图表中的缩放选项。选择下列缩放选项之一可通过最适合于您的运行设计的方式来计算并显示数据：

- **未缩放的表达。**该选项显示未缩放的均一化后的基因表达
- **最高表达。**将每个目标的均一化后的基因表达缩放到最高级别，方法是用每个样品的表达级别除以所有样品中的最高表达级别。此缩放选项使用缩放到最高级别的公式
- **最低级别表达。**重新计算每个目标的均一化后的基因表达，方法是用每个样品的表达级别除以所有样品中的最低表达级别。此缩放选项使用缩放到最低级别的公式

误差类型

为基因表达图表中的误差计算类型（误差条）选择一个选项：

- 平均值标准误差（默认为 SEM）
- 标准偏差 (Std Devs)

图表误差条倍增器

为基因表达图表中的误差条选择一个倍增器。选择下列整数之一：+/- 1（默认值）、2 或 3。倍增器的类型会随所选误差类型而更改：

- SEM 表示平均值标准误差
- Std Devs 表示标准偏差

目标稳定性值

无论何时使用多个参考基因，都可计算目标稳定性值。软件将计算参考基因的两个质量参数：

- 均一化后参考基因的相对定量的**变异系数 (CV)**。CV 值越低表示稳定性越高
- **M 值**。参考基因表达稳定性的测量值：

表 35. 参考基因稳定表达的可接受值。(Hellemans et al. 2007)

样品	CV	M
同质的	< 0.25	< 0.5
异质的	< 0.5	< 1

基因表达图表的右键单击菜单选项

右键单击基因表达图表可以选择表 36 中所示的项目。

表 36. 右键单击菜单项。

项目	功能
复制	将图表复制到剪贴板
另存为图像	将图表视图中的图表另存为图像文件。默认图像类型是 PNG。其他可选图像文件类型包括 GIF、JPG、TIF 和 BMP 等
页面设置 ...	选择页面设置以进行打印
打印 ...	打印图表视图
显示点值	在将光标放在图表中的每个点上时，显示该点的相对定量
将坐标尺设置为默认值	在放大图表视图后，将其设置回默认设置
图表选项 ...	打开“图表选项”窗口可以调整图表
排序	对图表 x 坐标轴上显示的样品或目标排序
用户校正的标准偏差	使用校正的标准偏差公式计算误差条
使用实心条颜色	在图表中显示实心条
X 坐标轴标签	选择该选项可水平或按一定角度显示 x 坐标轴标签

基因表达电子表格

表 37 是对“基因表达”电子表格中显示的信息所进行的描述。

表 37. 对“基因表达”选项卡上电子表格中显示的信息的描述。

信息	描述
目标	在“实验设置”窗口中选择的目标名称(扩增基因)
样品	在“实验设置”窗口中选择的样品名称
对照	对照样品,在“实验设置”窗口中选择对照样品名称时
表达	均一化后的基因表达 ($\Delta\Delta C_q$) 或相对定量 (ΔC_q), 具体取决于选定的模式
表达 SEM (或标准偏差)	平均值标准误差或标准偏差, 具体取决于选定的选项
校正的表达 SEM (或标准偏差)	相对表达的平均值标准误差 (SEM) 或标准偏差 (SD) 的校正值计算, 具体取决于选定的选项
平均值 C_q	定量循环的平均值
C_q SEM (或 SD)	定量循环的平均值标准误差或标准偏差, 具体取决于选定的选项

显示详细信息选项

从基因表达电子表格的右键单击菜单中选择“显示详细信息”时, 电子表格将显示表 38 中列出的信息。

表 38. 选中“显示详细信息”时基因表达电子表格中的信息。

信息	描述
数据集	数据文件中来自一个荧光基团的荧光数据
相对定量	计算得出的样品相对定量
相对定量标准偏差	相对定量计算的标准偏差
校正的相对定量标准偏差	计算得出的校正相对定量的标准偏差
相对定量 SEM	相对定量计算的平均值标准误差
校正的相对定量 SEM	计算得出的校正相对定量的平均值标准误差
未缩放的表达	计算得出的未缩放的表达
未缩放的表达标准偏差	计算得出的未缩放表达的标准偏差
校正的未缩放表达的标准偏差	计算得出的未缩放表达的标准偏差
未缩放表达 SEM	计算得出的未缩放表达的平均值标准误差
校正的未缩放的表达 SEM	计算得出的未缩放表达的平均值标准误差
表达	相对表达级别
反应孔	反应板中的反应孔编号

“实验设置”窗口

单击“基因表达”选项卡中的**实验设置**按钮，以打开“实验设置”窗口。如果已将生物集名称添加到反应孔(图 82)，则可以在此窗口中查看或更改“目标”和“样品”列表、选择参考基因、选择对照样品或设置要分析的基因表达分析样品组。



图 82. 已选定“目标”选项卡的“实验设置”窗口。

要调整这些选项卡中的列表，请使用下列功能：

- 添加目标或样品名称，方法是在**新建**框中输入一个名称，然后单击**添加**
- 从列表中删除目标名称或样品名称，方法是单击行中的**删除名称**框，然后单击**删除选定的项**按钮
- 选择目标作为基因表达数据分析的参考，方法是单击该目标名称旁边**参考**列中的框
- 选择样品作为基因表达数据分析的对照样品，方法是单击该样品的名称旁边**对照**列中的框

生物集分析选项

在反应孔中载入生物集名称后，即可采用四种配置之一对样品进行分析。要从“基因表达”选项卡中访问这些选项，请单击**实验设置**按钮，并从“生物集分析选项”的下拉列表中选择分析配置。

- **目标与样品**。基因表达计算中仅使用反应孔样品名称
- **目标与生物集**。计算中仅使用生物集名称
- **目标与样品 _ 生物集**。样品名称和生物集名称组合成一个名称用于计算
- **目标与生物集 _ 样品**。生物集名称和样品名称组合成一个名称用于计算

在“实验设置”中显示分析设置

通过单击“实验设置”窗口中的**显示分析设置**框，可以查看或更改“基因表达”选项卡中应用的分析参数：

- 在**颜色**列中单击一个单元格，可更改在基因表达图表中绘制的目标的颜色
- 输入目标的效率数。如果目标的数据包含标准曲线，软件将使用**自动效率**来计算目标的相对效率。或者，可输入以前确定的效率

图 83 显示的是所有目标的效率，会在选定**自动效率**时显示出来。



图 83. “实验设置”窗口中的“目标”选项卡，已选定“分析设置”。

在“样品”选项卡中调整样品的设置：

- 在**颜色**列中单击一种颜色，可更改在基因表达图表中绘制的样品的颜色
- 单击**显示图表**列中的框，可使用在“颜色”列中选定的颜色来显示基因表达图表中的样品

图 84 显示已选定**显示图表**选项的样品。



图 84. “实验设置”窗口中的“样品”选项卡，已选定“分析设置”。

基因研究

创建基因研究，可使用运行间校准器对来自一个或多个实时 PCR 实验的基因表达数据进行比较，以便在实验之间进行均一化。可通过将一个或多个数据文件（扩展名为 .pcrd）中的数据添加到基因研究的方式来创建基因研究；软件会将其编组为单个文件（扩展名为 .mgxd）。

注意：可在基因研究中分析的最多样品数量受计算机的 RAM 和虚拟内存的大小限制。

基因研究运行间校准

系统会在每个目标的每次基因研究中自动尝试运行间校准，以便对不同实时 PCR 运行（即，不同的 .pcrd 文件）中化验的目标之间的运行间变异进行均一化。

为了使软件将样品识别为反应板间校准器，软件必须在正在比较的每个反应板中共享匹配的目标名称、样品名称和生物集名称（如果使用）。

注意：基因研究中必须至少存在一个运行间校准器样品，才能发生运行间校准。不含适当的运行间校准器样品的目标在基因研究中处理时不进行校正（不建议这样做）。

在运行间校准期间，使用某种算法来计算可作为运行间校准器的所有样品的 C_q 值 (ΔC_q) 之间的配对差异。基因研究中的所有数据都通过运行间校准器进行均一化，以便计算最小平均 ΔC_q 值。如果基因研究中的数据文件包含多个运行间校准器，那么具有最小平均 ΔC_q 值的校准器将成为支配运行间校准器。此支配校准器将用于调整基因研究中的所有 C_q 值。

为了找到支配运行间校准器，软件将计算给定目标的所有运行间校准器的 ΔC_q 平均值，然后使用多层算法在所有数据中确定支配运行间校准器。用于查找支配运行间校准器的算法包括下列层次结构：

1. 将支配校准器设置到在给定配对比较中具有最大数量的公用重复组的目标。
2. 如果任何目标具有相同数量的公用重复组，则可将支配校准器设置到在配对比较中具有最小 ΔC_q 范围的目标。可通过对给定目标的运行间校准器最大和最小 ΔC_q 值之差的绝对值进行比较来检查范围。
3. 如果任何目标的 ΔC_q 值范围都相同，则可将支配校准器设置到具有平均 ΔC_q 绝对值最小的合格运行间校准器样品的目标。
4. 如果任何目标具有相同的平均 ΔC_q 绝对值，则可将支配校准器设置到具有最小 ΔC_q 的重复组。

注意：导入基因研究的第一个数据文件在运行间校准期间将始终作为配对数据比较的“集线器”文件。

“基因研究”窗口

“基因研究”窗口包括两个选项卡：

- “研究设置”选项卡。单击该选项卡可在基因研究中管理运行。在基因研究中添加或删除数据文件不会更改该文件中的原始数据
- “研究分析”选项卡。单击该选项卡可查看用于组合运行的基因表达数据

图 85 显示“基因研究”窗口，其中包括“研究设置”和“研究分析”选项卡。

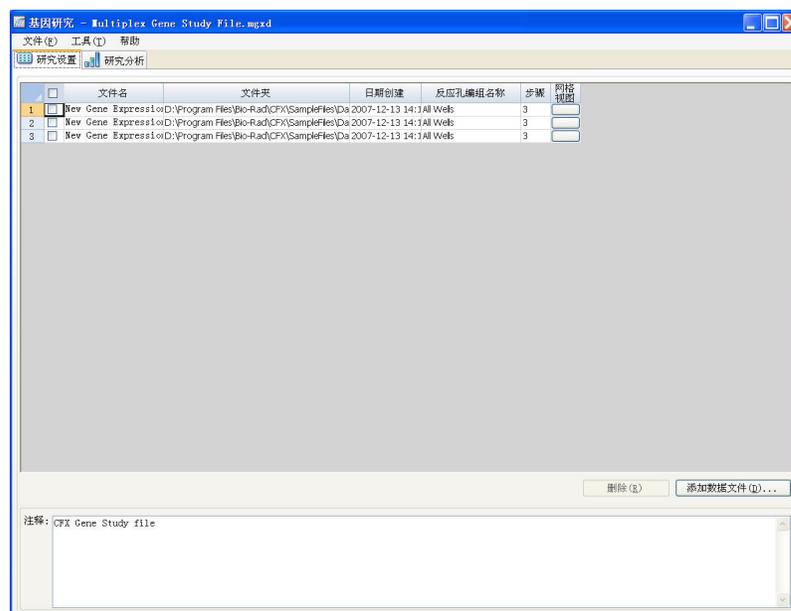


图 85. “基因研究”窗口中的“研究设置”选项卡。

“研究设置”选项卡

在将数据导入基因研究之前，请在“数据分析”窗口中执行下列操作：

- 检查以确定包含相同内容的样品的名称都是相同的。在基因研究中，软件假定具有相同目标或样品名称的反应孔包含相同的样品
- 通过在“定量”选项卡中调整基线和阈值 (C_q)，可先优化每个运行中的数据，然后再将其添加到基因研究
- 选择要包括在基因研究中的反应孔编组

“研究设置”选项卡 (图 85) 可显示基因研究中所有运行的列表。

- **添加运行。** 单击**添加数据文件**按钮可从浏览器窗口中选择文件。要将运行快速添加到基因研究，可将数据文件 (扩展名为 .pcrd) 拖到“基因研究”窗口中
提示：要显示基因研究中某个反应孔编组的数据，必须在导入数据文件之前选中该组。
- **从该基因研究中删除运行。** 在列表中选择一个或多个文件，然后单击**删除**。
- **添加有关基因研究的注释。** 在“注释”框中输入文本，可添加有关此基因研究中的文件和分析的注释

“研究设置”选项卡会列出基因研究中的数据文件，如表 39 所述。

表 39. “基因研究”窗口中的“研究设置”选项卡。

列标题	描述
文件名	运行数据文件的名称 (扩展名为 .pcrd)
文件夹	存储基因研究中每个运行的数据文件的目录
创建日期	收集运行数据的日期

表 39. “基因研究”窗口中的“研究设置”选项卡。(续)

列标题	描述
反应孔编组名称	将文件添加到基因研究时选定的反应孔编组的名称 提示：要分析基因研究中的某个反应孔编组，必须在将数据文件导入基因研究之前在“数据分析”窗口中选定该反应孔编组
步骤	包括读板以便收集实时 PCR 数据的扩增程序步骤
网格视图	打开一个反应板的反应板图，其数据位于基因研究中包含的每个运行中

“研究分析”选项卡

“研究分析”选项卡可显示添加到基因研究中的所有运行的数据。打开该选项卡可分析数据，并可选择“基因表达”图表中的下列选项：

- **模式。**选择均一化后的表达 ($\Delta\Delta C_q$) 或相对定量 (ΔC_q)
- **图表数据。**选择图表中的相对于正常或相对于对照
- **X 坐标轴选项。**选择图表的 x 坐标轴上的标签，包括“样品”或“目标”
- **Y 坐标轴选项。**将图表的 y 坐标轴上的标签更改为“线性”、“日志 2”或“日志 10”
- **缩放选项。**选择最高值、最低值或保留数据的未缩放状态。只有在样品不包含对照时才能使用该选项
- **图表误差。**为图表中的标准偏差条选择倍增器，包括 ± 1 、2 或 3
- **“实验设置”按钮。**在“实验设置”窗口中选择用于目标和样品的显示选项
- **“显示详细信息”复选框。**单击显示详细信息，以便在图表中添加多列数据

高亮显示基因表达图表中的样品会在图表下方的电子表格中高亮显示相应的单元格(图 86)。



图 86. “基因研究”窗口中的“研究分析”选项卡。

基因研究数据电子表格

“基因研究”窗口中的数据电子表格会列出基因研究中每个目标和样品的相关信息(图 86)。

表 40 是对“基因研究”电子表格中显示的信息所进行的描述。

表 40. “研究分析”选项卡上的电子表格中的信息。

信息	描述
目标	在“实验设置”窗口中选择的目標名称(扩增基因)
样品	在“实验设置”窗口中选择的样品名称
对照	对照样品,在“实验设置”窗口中选择对照样品名称时
表达	均一化后的基因表达($\Delta\Delta C_q$)或相对定量(ΔC_q),具体取决于选定的模式
表达 SEM(或标准偏差)	平均值标准误差或标准偏差,具体取决于选定的选项
校正的表达 SEM(或标准偏差)	相对表达的平均值标准误差(SEM)或标准偏差(SD)的校正值计算,具体取决于选定的选项
平均值 C_q	定量循环的平均值
C_q SEM(或 SD)	定量循环的平均值标准误差或标准偏差,具体取决于选定的选项

显示详细信息数据

单击“显示详细信息”复选框可以显示其他信息（图 87）。

数据集	目标	样品	对照	相对定量	相对定量标准偏差	校正的相对定量标准偏差	相对定量 SEM	校正的相对定量 SEM	未缩放的表达	未缩放的表达标准偏差	校正的未缩放的表达标准偏差
1-HEX	Actin	0Hr	*	1.00000	0.02336	0.02336	0.01349	0.01349	无	无	无
1-HEX	Actin	1Hr		1.10010	0.05310	0.05310	0.03066	0.03066	无	无	无

图 87. 在“基因研究”选项卡中显示详细信息数据。

电子表格将在列中添加表 41 中列出的信息。

表 41. 选中“显示详细信息”时添加到电子表格的信息。

信息	描述
数据集	数据文件中来自一个荧光基团的荧光数据
相对定量	计算得出的样品相对定量
相对定量标准偏差	相对定量计算的标准偏差
校正的相对定量标准偏差	计算得出的校正相对定量的标准偏差
未缩放的表达	计算得出的未缩放的表达
未缩放的表达标准偏差	计算得出的未缩放表达的标准偏差
校正的未缩放表达的标准偏差	校正的未缩放表达的标准偏差
表达	相对表达
反应孔	反应板中的反应孔编号

“基因研究报告”窗口

打开“基因研究报告”窗口可将基因研究数据排列到报告中。要创建基因研究报告，请按照以下步骤操作：

1. 在创建报告之前，根据需要调整基因研究报告数据和图表。
2. 选择工具 > 报告以打开“基因研究报告”窗口。
3. 通过单击报告选项列表中的复选框来选择和删除选项，可选择要显示的数据。选择表 42 中显示的选项。

表 42. 基因研究报告的类别。

类别	选项	描述
标头		报告的标题、副标题和徽标
	报告信息	日期、用户名、数据文件名称、数据文件路径和选定的反应孔编组
	基因研究文件列表	基因研究中所有数据文件的列表
	注释	有关数据报告的注释
分析参数		选定的分析参数列表
图表		显示数据的基因表达图表
目标名称		基因研究中的目标列表
样品名称		基因研究中的样品列表
数据		显示数据的电子表格
运行间校准		运行间校准数据

4. 通过在选项窗格中输入文本和图像，可填充报告的文本（图 88）。

图 88. 基因研究报告中的“标题”和“徽标”选项示例

5. 单击**更新报告**按钮可更新报告预览窗格。报告预览窗口显示报告的视图。
6. 打印或保存报告。单击工具栏中的**打印**按钮可打印当前报告。选择**文件 > 保存**可将报告保存为 PDF (Adobe Acrobat Reader 文件)、MHT (Microsoft 文档) 或 MHTML (Microsoft 文档) 格式的文件，并选择一个位置以存储该文件。选择**文件 > 另存为**可使用新名称保存报告或将其保存在新位置。
7. 在使用要包括在所有报告中的内容创建了报告后，即可创建报告模板。要创建模板，请选择**模板 > 保存或另存为**，以将当前报告保存为模板。

基因表达计算

CFX Manager™ 软件可自动计算公式，并在“数据分析”选项卡中显示结果信息。

反应效率

证据表明，在分析基因表达数据时，对每个引物和探针集使用效率的准确度量能产生更精确的结果。在基因表达计算中使用的默认效率值是 100%。要对反应效率求值，可在相关动态范围中使用有代表性的样品的序列稀释来生成标准曲线，然后记录后续基因表达分析的效率。如果运行包含标准曲线，当在“实验设置”窗口的“目标”选项卡中选中“自动效率”时，软件将会自动计算效率并在“定量”选项卡中的标准曲线下显示它。

效率公式中的效率 (E) 是指如 Pfaffl (2001) 和 Vandesompele et al. 所描述的“效率” (2002)。在这些出版物中，效率为 2 (每次循环都完全加倍)，它相当于该软件中的 100% 效率。通过使用下列数学关系，您可以选择将效率计算转换为在软件中使用的计算：

- $E = (\% \text{ 效率} * 0.01) + 1$
- $\% \text{ 效率} = (E - 1) * 100$

相对定量

任何样品 (GOI) 的相对定量 (ΔC_q) 都是通过此公式计算得出的:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{MIN})} - C_{q(\text{sample})})}$$

其中:

- E = 引物和探针集的效率。该效率是通过公式 (% 效率 * 0.01) + 1 计算得出的, 其中 100% 效率 = 2
- $C_{q(\text{最小值})}$ = GOI 的具有最低平均 C_q 的样品的平均 C_q
- $C_{q(\text{样品})}$ = 样品的平均 C_q
- GOI = 目的基因 (一个目标)

选定对照时的相对定量

如果指定了对照样品 (对照), 则将使用此公式计算具有目的基因的任何样品 (GOI) 的相对定量 (RQ):

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})})}$$

其中:

- E = 引物和探针集的效率。该效率是通过公式 (% 效率 * 0.01) + 1 计算得出的, 其中 100% 效率 = 2
- $C_{q(\text{对照})}$ = 对照样品的平均 C_q
- $C_{q(\text{样品})}$ = 具有 GOI 的任何样品的平均 C_q
- GOI = 目的基因 (一个目标)

相对定量的标准偏差

可使用下列公式计算相对定量的标准偏差:

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{Sample X}} \times \text{Ln}(E_{\text{GOI}})$$

其中:

- SD 相对定量 = 相对定量的标准偏差
- SD C_q 样品 = 样品 (GOI) 的 C_q 的标准偏差
- 相对定量 = 样品的相对定量
- E = 引物和探针集的效率。该效率是通过公式 (% 效率 * 0.01) + 1 计算得出的, 其中 100% 效率 = 2
- GOI = 目的基因 (一个目标)

均一化因子

均一化后的基因表达方程式的分母称为均一化因子。均一化因子是指定样品的所有参考目标 (基因) 相对定量的几何平均数, 如下列公式所述:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

其中：

- RQ = 相对定量
- n = 参考目标数
- GOI = 目的基因（一个目标）

均一化后的基因表达

均一化后的基因表达 ($\Delta\Delta C_q$) 是目标（基因）的相对定量，它被均一化为生物系统中参考目标（基因或序列）的定量。要选择参考目标，请打开“实验设置”窗口，然后单击用作参考基因的每个目标的参考列。

下列公式描述了均一化后的基因表达的计算，该公式使用了计算得出的相对定量 (RQ) 计算：

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{(\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

其中：

- RQ = 样品的相对定量
- Ref = 运行中的参考目标，它包含每个样品中的一个或多个参考目标
- GOI = 目的基因（一个目标）

如果参考目标没有更改其在生物系统中的表达级别，那么均一化后的基因表达的计算将考虑加载在每个样品中表示的细胞数的差异或变异。

选择对照时均一化后的基因表达

在“实验设置”窗口中选择对照样品时，软件将对照样品的表达级别设置为 1。在这种情况下，软件将所有目标（基因）表达的相对定量都均一化为对照定量（值为 1）。此均一化后的基因表达等效于选择对照时未缩放的均一化后的基因表达分析。

均一化后的基因表达的标准偏差

根据选择的缩放选项，可用均一化后的基因表达的标准偏差除以最高或最低单个表达级别的均一化后的基因表达值，这样便可以对均一化后的基因表达值进行重缩放。可使用下列公式计算均一化因子的标准偏差 (SD)：

$$\text{SD NF}_n = \text{NF}_n \times \sqrt{\left(\frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

其中：

- RQ = 样品的相对定量
- SD = 标准偏差
- NF = 均一化因子
- Ref = 参考目标
- n = 参考目标数

如果指定了对照样品，则不必在标准偏差上执行此重缩放功能，如下列公式所示：

$$SD NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

其中：

- NE = 均一化后的基因表达
- RQ = 样品的相对定量
- SD = 标准偏差
- GOI = 目的基因（一个目标）

缩放到最高表达级别的均一化后的基因表达

如果运行不包含对照，则可通过用每个样品的表达级别除以所有样品中的最高表达级别来对每个目标（基因）的均一化后的基因表达 (NE) 进行缩放。软件将表达的最高级别值设置为 1，并对所有样品表达级别进行重缩放。可使用下列公式计算最高缩放：

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

其中：

- GOI = 目的基因（目标）

缩放到最低表达级别的均一化后的基因表达

如果运行不包含对照，则可通过用每个样品的表达级别除以所有样品中的最低表达级别来对每个目标（基因）的均一化后的基因表达 (NE) 进行缩放。软件将表达的最低级别值设置为 1，并对所有样品表达级别进行重缩放。可使用下列公式计算最低缩放：

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

其中：

- GOI = 目的基因（目标）

缩放的均一化后的基因表达的标准偏差

根据选择的缩放选项，可用均一化后的基因表达的标准偏差 (SD) 除以最高 (MAX) 或最低 (MIN) 表达级别的均一化后的基因表达值，这样便可以对缩放的均一化后的基因表达 (NE) 值进行重缩放。

注意：如果指定了对照样品，则不必在标准偏差上执行此重缩放功能。

此计算的公式如下所示：

$$SD \text{ Scaled } NE_{\text{sample (GOI)}} = \frac{SD NE_{\text{sample (GOI)}}}{NE_{\text{MAX or MIN (GOI)}}}$$

其中：

- NE = 均一化后的基因表达
- SD = 标准偏差
- GOI = 目的基因 (目标)
- MAX = 最高表达级别
- MIN = 最低表达级别

更正的值公式

只有在将标准曲线作为实时 PCR 运行的一部分进行创建时，才能看到更正的值和未更正的值之间的差异。软件使用三个方程式来确定误差传播：

- 标准误差
- 均一化后的基因表达的标准误差
- 均一化后的目的基因 (目标) 的标准误差

标准误差的公式如下所示：

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

其中

- n = 参考目标 (基因) 数
- SD = 标准偏差

均一化后的基因表达中均一化因子的标准误差公式如下所示：

$$SE_{NF_n} = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE_{RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}}{n \times SE_{RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}}\right)^2 + \left(\frac{SE_{RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}}{n \times SE_{RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE_{RQ_{\text{sample (Ref n)}}}}{n \times SE_{RQ_{\text{sample (Ref n)}}}}\right)^2}$$

其中：

- n = 参考目标数
- SE = 标准误差
- NF = 均一化后的基因表达
- RQ = 相对定量

均一化后的目的基因 (GOI) 的标准误差公式如下所示：

$$SE_{GOI_n} = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE_{NF_n}}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE_{GOI}}{GOI}\right)^2}$$

其中：

- SE = 标准误差
- GOI = 目的基因 (一个目标)
- NF = 均一化因子
- n = 参考目标数

10 用户和首选项

本章提供有关管理软件用户及其首选项的更多信息：

- 登录或选择用户（第 117 页）
- “用户首选项”窗口（第 118 页）
- 配置电子邮件通知（第 119 页）
- 用户管理（第 127 页）

登录或选择用户

CFX Manager™ 软件可以管理多个用户及其首选项。软件主窗口顶部可显示当前登录软件的用户。

CFX Manager 软件通过“登录”对话框管理登录软件的用户（图 89）。启动软件时，如果在“用户管理”窗口中列出了两个或更多用户，则会自动打开“登录”对话框。



图 89. “登录”对话框。

按照以下步骤操作，登录软件或切换用户：

1. 如果“登录”对话框尚未打开，请通过单击工具栏中的**选择用户**按钮，或选择菜单栏中的**用户 > 选择用户**打开该对话框。
2. 从**用户名**下拉列表选择一个名称。默认用户名是“Admin”（管理员）。
3. 在**密码**框中输入密码。
4. 单击**确定**关闭“登录”对话框并打开软件。
5. 要添加新用户名和密码，请与软件管理员联系。

更改密码

按照以下步骤操作以更改密码：

1. 从软件主窗口菜单中选择**用户 > 更改密码**，以打开“更改密码”对话框（图 90）。
2. 在“旧密码”框中输入旧密码。
3. 在“新密码”和“确认新密码”框中分别输入新密码。
4. 单击**确定**确认更改。



图 90. “更改密码”对话框。

“用户首选项”窗口

CFX Manager 软件可以跟踪登录软件的每个用户的首选项。要更改用户首选项，请使用下列方法之一打开“用户首选项”窗口：

- 在软件主窗口的工具栏中单击**用户首选项**按钮
- 在软件主窗口的菜单栏中选择**用户 > 用户首选项**
- 单击选项卡（图 91）之一可查看或更改首选项

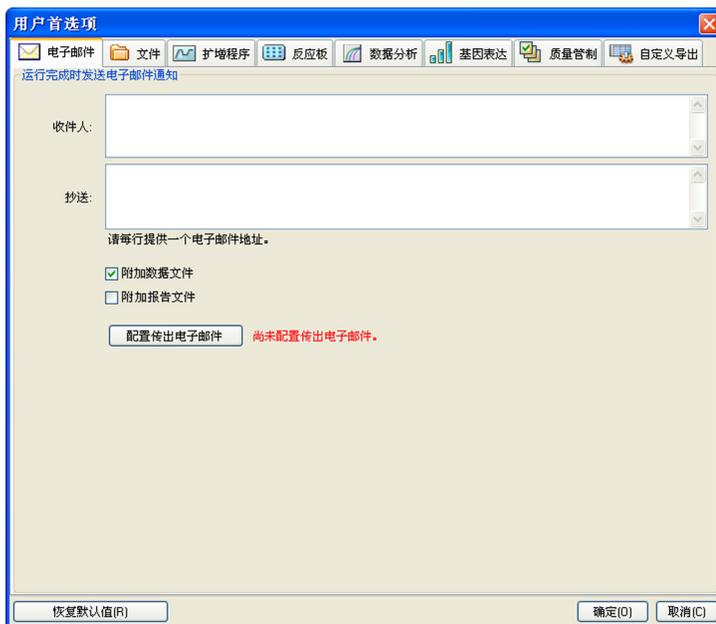


图 91. 具有选项卡的“用户首选项”窗口。

提示：单击**恢复默认值**按钮可将图像中显示的所有设置恢复为默认设置。然后，单击**确定**保存设置并关闭窗口。

“电子邮件”选项卡

选择**电子邮件**选项卡（图 91），可输入电子邮件地址，用以接收运行完成的确认消息。如果选中相应选项旁边的复选框，软件可以随电子邮件发送附加的数据文件或报告文件。

配置电子邮件通知

单击**配置传出电子邮件**按钮以打开“选项”窗口（图 92），可配置 SMTP 服务器并从计算机发送测试电子邮件。请输入下列信息：

- **SMTP 服务器名称。**由 ISP 提供的 SMTP 服务器的名称
- **端口。**由 ISP 提供的 SMTP 服务器的端口号；通常为 25
- **使用 SSL。**是否使用安全套接字层。有些 SMTP 服务器要求使用 SSL；有些服务器则要求不使用
- **使用默认“发件人”地址。**通常可保留该选项的默认选中状态。但是，有些 SMTP 服务器要求所有发送的电子邮件都要有一个来自某个域的“发件人”地址，例如 <名称>@YourCompany.com。如果出现这种情况，则必须取消选中该复选框，并要在标有“‘发件人’地址”的框中输入有效的“发件人”电子邮件地址。
- **需要身份验证。**许多 SMTP 服务器都需要身份验证。在这种情况下，必须选中此复选框，并提供“用户名”和“密码”

- **测试电子邮件。**要测试电子邮件设置，请在**测试电子邮件地址**文本框中输入一个或多个电子邮件地址。可使用逗号分隔多个电子邮件地址。然后，单击**测试电子邮件**按钮

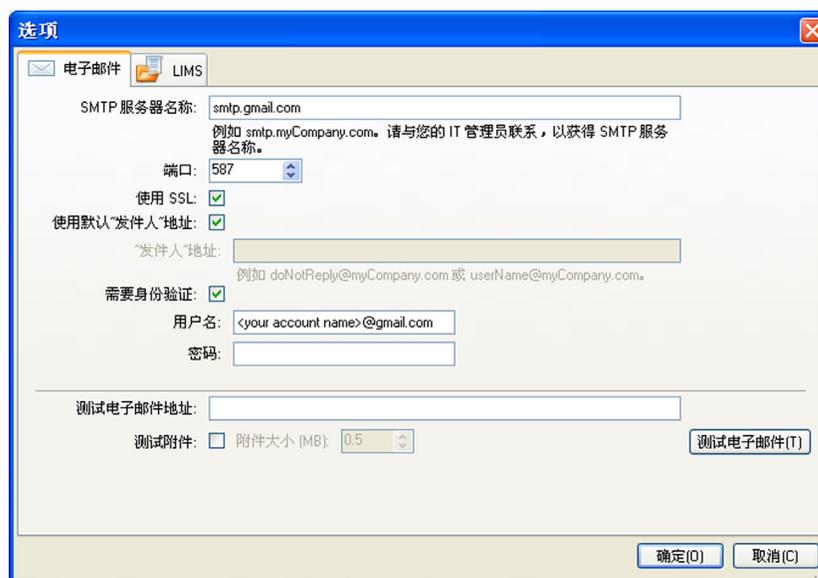


图 92. 用于配置电子邮件的选项。

注意：某些 SMTP 服务器不允许发送附件，其他服务器则只允许发送大小有限的附件。如果要使用 CFX Manager 软件通过电子邮件发送数据文件和 / 或报告，则可能需要测试服务器发送电子邮件附件的功能，方法是选中“测试附件”框，然后将“附件大小 (MB)”设置为最大 5 兆 (MB) 或更大。

“文件”选项卡

选择**文件**选项卡（图 93），可列出用于打开文件和保存文件的默认位置。

- **用于文件创建的默认文件夹。**选择要保存新文件的默认文件夹。为每个文件类型（扩增程序、反应板、数据或基因研究文件）选择一个位置
- **为运行设置选择文件。**选择在打开“实验设置”窗口时显示的默认扩增程序和反应板文件

- **数据文件前缀。**定义数据文件的文件名的开始文本。默认设置指示软件创建以下列名称开始的文件名：用户（当前登录软件的用户的用户名）、日期（文件创建日期）和设备名称（设备的序列号或名称）

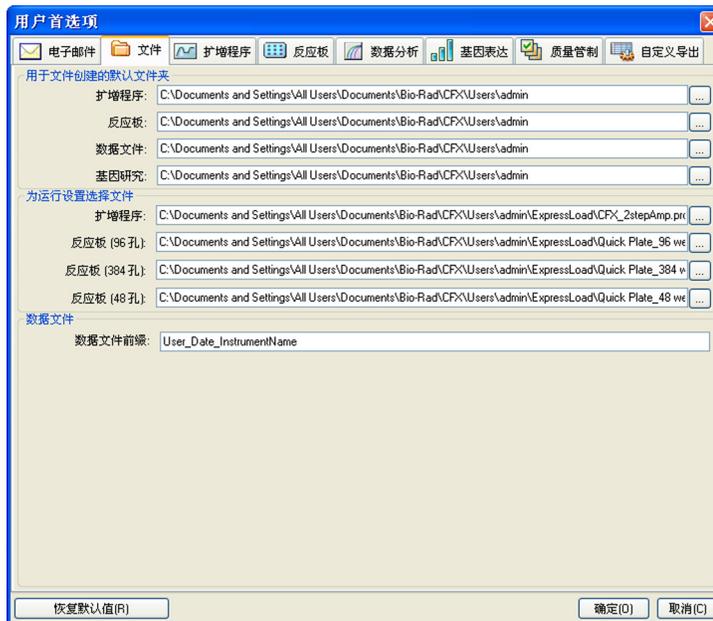


图 93. “用户首选项”窗口中的“文件”选项卡。

提示：单击每个框右侧的“...”按钮可打开浏览器窗口并查找文件夹。

“扩增程序”选项卡

选择“用户首选项”窗口中的**扩增程序**选项卡（图94），可以指定“扩增程序编辑器”窗口中的新扩增程序文件的默认设置：

- **扩增程序编辑器。**设置显示在“扩增程序编辑器”中的默认设置。选择默认“样品体积”可以描述反应孔中每个样品的体积（以 μl 为单位），选择“盖关闭温度”可以设置在运行期间盖加热器关闭的温度。

- **扩增程序自动编写器。**选择在扩增程序自动编写器中显示的默认设置，包括使用 iProof™、iTag™ 或其他聚合酶的实验的默认“退火温度”和默认的扩增子长度



图 94. “用户首选项”窗口中的“扩增程序”选项卡。

“反应板”选项卡

选择“用户首选项”窗口中的**反应板**选项卡（图 95），可以为“反应板编辑器”窗口中的新反应板文件指定下列默认设置：

- **反应板类型。**从列表中选择默认反应板类型
- **反应板大小。**从列表中选择默认反应板大小
- **单位。**选择用于描述包含标准的反应孔起始模板浓度的单位。软件将使用这些单位在“数据分析”的“定量”选项卡中创建标准曲线
- **科学计数法。**选择科学计数法，以该计数法查看浓度单位
- **扫描模式。**选择默认扫描模式，以设置在运行期间扫描的通道数
- **荧光基团。**通过单击复选框，选择在“反应板编辑器”的反应孔加载控件中显示的默认荧光基团
- **库。**输入通常在实验中使用的目标和样品名称。输入目标名称以列出基因和序列，输入样品名称以列出实验样品的条件。这些名称将显示在“实验设置”窗口的“目标”和“样品”选项卡的列表中

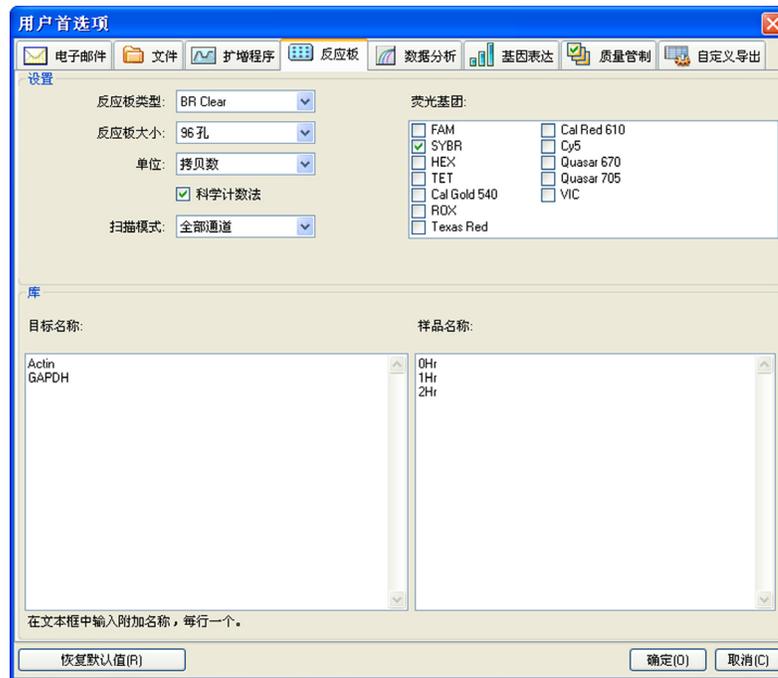


图 95. “用户首选项”窗口中的“反应板”选项卡。

“数据分析”选项卡

选择“用户首选项”窗口中的**数据分析**选项卡（图96），可以更改“数据分析”窗口中显示的数据的默认设置。



图 96. “用户首选项”窗口中的“数据分析”选项卡。

对于分析模式，请选择采用“荧光基团”模式还是“目标”模式分析数据。

对于定量数据，请选择以下设置：

- **基线设置。**选择用于分析模式的默认建立基线方法。选择“扣除基线的曲线拟合”、“未扣除基线”或“基线扣除”
- **C_q 测定模式。**选择“回归”模式或“单一阈值”模式，以确定如何计算每条荧光示踪线的 C_q 值
- **日志视图。**选择**打开**可显示扩增数据的半对数图表。选择**关闭**可显示线性图表

对于等位基因分型数据，请选择以下设置：

- **显示模式。**选择 **RFU** 可将数据显示为 RFU 图表，或选择 **C_q** 可显示定量循环图表
- **均一化数据。**只有在选择了 RFU 时，该选项才可用。选择**否**可显示未均一化的数据。选择**是**可按照对照样品均一化数据

对于终点数据，请选择以下设置。选择在进行终点计算时要平均的终点循环数：

- **PCR。**输入 PCR 的循环数，以计算定量数据的平均终点循环数（默认值为 5）
- **终点唯一运行。**输入“终点唯一运行”的循环数，以计算终点数据的平均终点循环数（默认值为 2）

对于熔解曲线数据，请选择检测正峰值或负峰值。

对于反应孔选择器窗格，请选择用样品类型、目标名称或样品名称标记反应孔。

“基因表达”选项卡

选择“用户首选项”窗口中的**基因表达**选项卡（图 97），可指定新基因表达数据文件的默认设置。



图 97. “用户首选项”窗口中的“基因表达”选项卡。

指定新基因表达数据文件的默认设置：

- **相对于**。选择对照或零。要对在 1（相对于对照）位置处开始的基因表达数据绘图，请选择**对照**。如果在“实验设置”窗口中指定了对照样品，软件将自动默认为计算相对于该对照的数据。选择**相对于零**可指示软件忽略对照，如果未在“实验设置”窗口中指定对照样品，则此为默认选项
- **X 坐标轴**。在 x 坐标轴上对“目标”或“样品”绘图
- **Y 坐标轴**。在 y 坐标轴上绘制“线性”、“日志 2”或“日志 10”坐标尺
- **缩放比例**。选择图表的缩放选项。可将图表保持未缩放状态。或者，选择缩放选项将其缩放到“最高”值或“最低”值
- **方法**。设置默认分析模式，包括均一化后的基因表达 ($\Delta\Delta C_q$) 或相对表达 (ΔC_q)
- **错误条**。选择“标准偏差” (Std Dev 或 Std)。“错误平均值”表示“标准错误平均值”
- **误差条倍增器**。选择标准偏差乘数，以便绘制错误条。默认乘数为 1，可以更改为 2 或 3

“QC”选项卡

选择“用户首选项”窗口中的 **QC** 选项卡 (图 98)，可指定要应用于数据分析模块中的数据的 QC 规则。软件将针对已启用的测试和指定的值来验证数据。

注意：在“数据分析”窗口的“QC”模块中使用右键单击菜单选项，可通过分析轻松排除导致 QC 参数失败的反应孔。

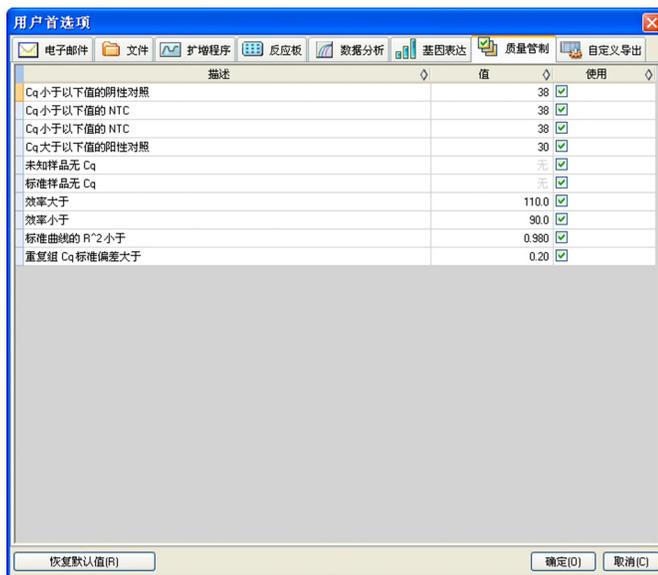


图 98. “用户首选项”窗口中的“QC”选项卡。

指定添加截止值并启用下列 QC 规则：

- C_q 小于 xx 的阴性对照。输入 C_q 截止值
- C_q 小于 xx 的 NTC (无模板对照)。输入 C_q 截止值
- C_q 小于 xx 的 NRT (无逆转录酶对照)。输入 C_q 截止值
- C_q 大于 XX 的阳性对照。输入 C_q 截止值
- 未知，不含 C_q

- 标准, 不含 C_q
- 效率大于 xx。输入为标准曲线计算出的反应效率截止值
- 效率小于 xx。输入为标准曲线计算出的反应效率截止值
- 标准曲线的 R^2 小于 xx。为标准曲线输入截止 R^2 值
- 重复组 C_q 标准偏差大于 xx。输入为每个重复组计算出的截止标准偏差

“自定义导出”选项卡

选择“自定义导出”选项卡（图99），可定义将导出的字段的默认设置及其导出格式（如果选择了“自定义导出”选项）。



图 99. “用户首选项”窗口中的“自定义导出”选项卡。

文件导出格式包括文本 (*.txt)、CSV (*.csv)、Excel 2007 (*.xlsx)、Excel 2003 (*.xls)、XML (*.xml) 和 HTML (*.html)。

可以选择导出以下各项：

- **样品描述。** 反应孔、荧光基团、目标名称、内容、重复 #、样品名称、生物集名称和反应孔注释
- **定量。** C_q 、起始模板量、 C_q 标准偏差和定量标准偏差
- **熔解曲线。** 熔解温度、峰高、熔解峰起始温度和熔解峰结束温度
- **终点。** 终点调用和终点相对荧光强度

通过高亮显示选定的项，然后使用“导出的列”列表左侧的箭头按钮向上或向下移动这些项，可以更改这些项的排列顺序。

注意：通过从任何“用户首选项”选项卡中选择“恢复默认值”可以恢复所有用户首选项选项的默认出厂设置。

用户管理

在软件主窗口中打开“用户管理”窗口：

- 选择**用户 > 用户管理**
- 单击菜单栏中的**用户管理**按钮

如果以管理员身份登录，可打开“用户管理”窗口管理用户和用户权限：

- **管理用户**。添加或删除用户，并为每个用户分配一个角色
- **管理权限**。更改用户角色的权限（负责人、操作员或来宾）

注意：只有具有管理员身份的用户才能编辑此窗口。其他用户只能查看它。

要为每个用户分配角色，请从“用户管理”窗口的角色列表中选择（图 100）。在此示例中，为“来宾”用户添加了保存文件的权限。



图 100. 包含三个用户的“用户管理”窗口。

添加和删除软件用户

只有软件管理员才能添加和删除用户。要在“管理用户”窗格中添加软件用户，请按照以下步骤操作：

1. 为新软件用户输入一个用户名。
2. 选择一个用户角色。这些角色将对每个用户的权限进行限制。默认角色为负责人。
3. （可选）为新软件用户输入“全称”和“密码”。
4. 单击**确定**打开对话框，并确认要关闭此窗口。
5. 单击**是**关闭对话框和窗口。

要删除软件用户，请按照以下步骤操作：

1. 在“管理用户”窗格中，针对要删除的每个软件用户，单击“删除”列表中的框。
2. 单击**确定**打开对话框，并确认要关闭此窗口。
3. 单击**是**关闭对话框和窗口。

注意：软件用户列表必须始终包含一个管理员。

为用户角色分配权限

可通过“用户管理”窗口访问用户角色和权限。软件包括下列四个角色：

- **管理员（必需）**。每个管理员均拥有全部权限，您不能更改这些权限。管理员还可以添加和删除软件用户，并可更改每个角色的权限
- **负责人**。默认情况下，每个负责人均拥有全部权限
- **操作员**。默认情况下，每个操作员均拥有除跳过循环和创建基因研究以外的全部权限
- **来宾**。默认情况下，每个来宾只能读取文件，没有其他权限

要为每个角色指定权限，请按照以下步骤操作。只有软件管理员才能更改任何角色的权限：

1. 在“管理权限”窗格中，单击角色名称下方的框，可添加或删除相应权限。可单击列表中的一个或多个权限。要将所有角色的所有权限更改为默认列表，请单击**恢复默认权限**。
2. 单击**确定**打开对话框，并确认要关闭此窗口。
3. 单击**是**关闭对话框和窗口。

要查看您当前的用户角色和权限，请选择**用户 > 用户管理**。要修改“用户管理”窗口中列出的用户设置、权限和角色，请与软件管理员联系。负责人、操作员或来宾用户只能查看其各自的用户设置、权限和角色。

11 资源

本章提供有关 CFX96 Touch™ 系统或 CFX384 Touch™ 系统资源的更多信息：

- 自动软件和设备更新 (第 129 页)
- LIMS 集成 (第 130 页)
- 校准向导 (第 136 页)
- 设备维护 (第 137 页)
- 应用程序日志 (第 139 页)
- 疑难解答 (第 139 页)
- 参考书目 (第 142 页)

自动软件和设备更新

可以使用 CFX Manager 软件自动更新软件和设备。

可通过下列三种方法确定有无更新可用：

1. 每次启动 CFX Manager 软件以及每当在软件运行中将新设备连接到计算机的情况下，软件都会自动检查更新。
2. CFX Manager 软件主窗口的底部会显示一条消息，指示有更新可用。单击此消息时，将显示“更新”窗口。
3. 选择**帮助 > 检查更新**。

当有更新可用时，“更新”窗口中会显示以下选项：

- 如果只有软件更新可用，可选择“更新”。
- 如果软件更新和设备更新都可用，则默认情况下将同时选中这两种更新。更新软件时，还需要对连接的设备进行设备更新，以确保正常通讯。
- 通过取消选中软件更新复选框，可以更新设备，而不更新软件。

如果同时选择了软件更新和设备更新，则软件将更新、重新启动，随后将开始设备更新。完成设备更新后，需要重新启动设备。

要下载最新更新，运行 CFX Manager 软件的计算机必须与 Internet 连接。更新软件之前必须先关闭所有的数据分析窗口，且所有的设备必须处于闲置状态。

在设备连接到计算机后，CFX Manager 软件将检查所安装的 CFX Manager 软件版本的兼容性。如果设备软件不兼容，将会自动更新此软件。此操作不需要 Internet 连接。

为了防止每当出现新的可用更新时都显示更新窗口，请取消选中“更新”窗口中的**在有更新可用时进行通知框**。要重新启用“更新”窗口弹出菜单，请从软件主菜单栏中选择**帮助 > 检查更新**并选中**在有更新可用时进行通知框**。

注意：使用 CFX Manager 软件无法更新 MiniOpticon 设备。

检索热循环仪基座中的数据文件

热循环仪基座中的数据文件可以检索到所连接计算机的硬盘驱动器上。要检索文件，请遵循以下步骤：

1. 在软件主窗口的中，从检测到的设备窗格中选择设备。
2. 右键单击并选择**检索数据文件...**
3. 选择要保存检索文件的文件夹位置。
4. 单击**确定**。

热循环仪基座上实时数据文件夹中的全部文件都将检索到计算机。

LIMS 集成

可以对 CFX Manager 软件进行配置，以便与实验室信息管理系统 (LIMS) 配合使用。为了实现 LIMS 集成，CFX Manager 软件需要由 LIMS 平台生成的反应板设置信息 (LIMS 文件，*.plrn)、使用 CFX Manager 软件创建的扩增程序文件 (*.prcl)、定义的数据导出位置，以及定义的导出格式。

设置 LIMS 文件夹和数据导出选项

1. 从软件主菜单栏中选择**工具 > 选项**，然后选择 **LIMS** 选项卡 (图 101) 以定义将包含 LIMS 扩增程序 (*.prcl)、LIMS 文件 (*.plrn) 和已导出数据的文件夹位置。

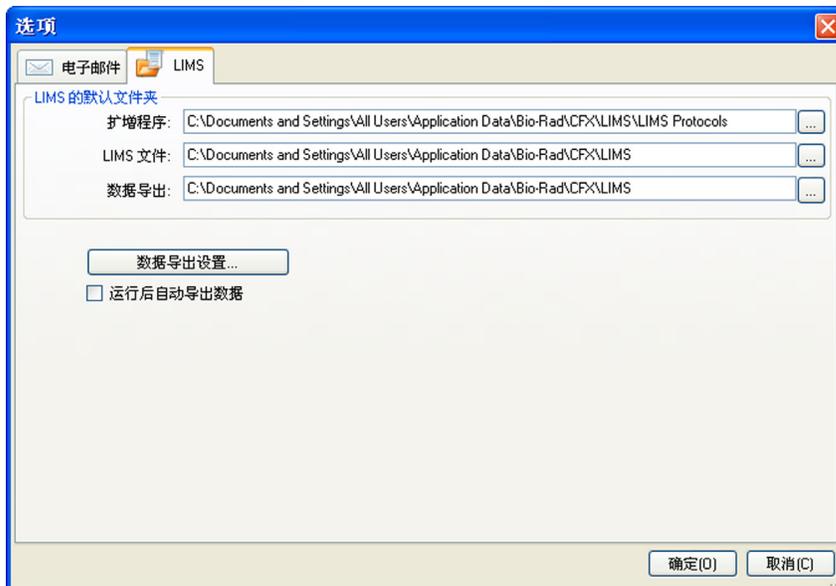


图 101. 显示 LIMS 设置选项卡的“选项”窗口。

- 运行完成时，除了自动生成 CFX Manager 软件 *.pcrd 数据文件以外，还会自动生成 LIMS 数据导出文件。选中**运行后自动导出数据**（图 101）框，可在完成运行后自动导出数据。
- 单击**数据导出设置**按钮，可指定要用于已导出数据的文件格式以及将导出的信息字段（图 102）。

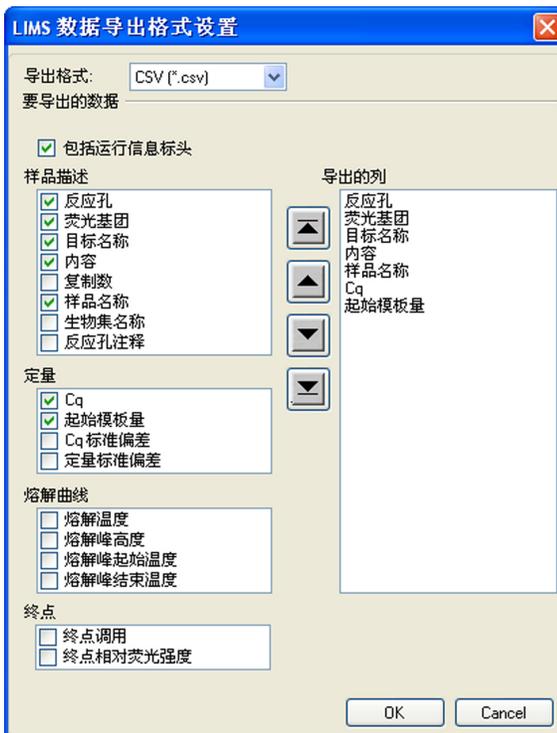


图 102. “LIMS 数据导出格式设置”窗口。

创建 LIMS 协议

为了启动 LIMS 运行，必须创建 CFX Manager 软件扩增程序文件 (*.prcl)，并将其保存在“选项”窗口的“LIMS”选项卡中指定的 LIMS 扩增程序文件夹位置。

创建 LIMS 文件

LIMS 文件 (*.plrn) 包含反应板设置详细信息和扩增程序文件名称。此文件是由内部 LIMS 生成的。CFX Manager 软件将使用 LIMS 文件创建一个反应板文件，该文件将与已命名的扩增程序文件结合使用来启动运行并生成数据。

以下步骤应由 LIMS 专家执行。

1. 从软件主菜单栏中选择 **工具 > 用户数据文件夹 > 样品文件 > 模板**。
2. 选择 **CFX96 Plate Import Template.csv** 或 **CFX384 Plate Import Template.csv** 并将其导入内部 LIMS 中 (图 103)。

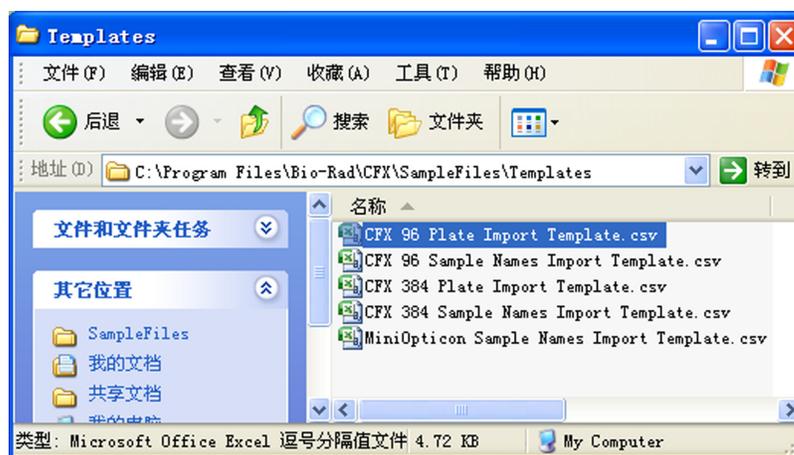


图 103. 打开 LIMS CFX96 反应板导入模板

3. 使用 LIMS，通过填写表 43 中列出的必需字段来完成模板。
4. 使用文件扩展名 .plrn 将模板直接保存到指定的 LIMS 文件夹位置。

警告！ 需要将文件扩展名从 .csv 更改为 .plrn，CFX Manager 软件才能识别该文件并启动 LIMS 运行。

提示：要快速查看指定的 LIMS 文件夹位置，请从软件主窗口的菜单栏中选择 **工具 > LIMS 文件夹**。

表 43. LIMS .csv 文件内容的定义。

列	行	描述	内容	目的
A	1	反应板标头	请勿编辑。	预定义。
A、B、C	2	字段 / 数据 / 说明	请勿编辑。	预定义。
B	3	版本	请勿编辑。	预定义。
B	4	反应板大小	请勿编辑。	预定义。
B	5	反应板类型	输入“BR 白色”、“BR 透明”或其他校准的反应板类型。	必需。
B	6	扫描模式	输入“仅限 SYBR/FAM:”、“全通道”或“FRET”。	必需。
B	7	单位	输入以下各项之一：“副本编号”、“稀释倍数”、“微摩尔”、“纳摩尔”、“皮摩尔”、“毫微微摩尔”、“微微微摩尔”、“毫克”、“微克”、“纳克”、“皮克”、“毫微微克”、“微微微克”或“百分比”。	必需。
B	8	运行 ID	输入标识此运行的简短描述或条码。	可选。
B	9	运行注释	输入运行描述。	可选。
B	10	运行扩增程序	输入与列出的名称完全相同的扩增程序文件名。	必需。
A	11-15	TBD/ 空	请勿编辑。	预定义。
A	16	反应板数据	请勿编辑。	预定义。

表 43. LIMS .csv 文件内容的定义。

列	行	描述	内容	目的
A	14-110	反应孔位置	请勿编辑。	预定义。
B-G		Ch1 染料、 Ch2 染料、 Ch3 染料、 Ch4 染料、 Ch5 染料、 FRET	为正在使用的每个通道输入一个校准的染料名称（例如，“FAM”）。	必需。
H		样品类型	输入以下样品类型之一：“未知”、“标准”、“阳性对照”、“阴性对照”、“NTC”或“NRT”。	必需。
I		样品名称	输入样品名称。	可选。
J-O		CH1 目标、 CH2 目标、 CH3 目标、 CH4 目标、 CH5 目标、 FRET 目标。	为每个使用的通道输入目标名称。	可选。
P		收集名称	输入收集名称。	可选。
Q		重复	为每组重复样品输入正整数。该值不能为零。	可选。
R-W		CH1 定量、 CH2 定量、 CH3 定量、 CH4 定量、 CH5 定量、 FRET 定量	输入任何标准的定量值。采用小数形式输入浓度。	所有标准都需要。
X		反应孔注释	输入反应孔注释。	可选。
Y-AD		14-110	Ch1 反应孔颜色、Ch2 反应孔颜色、Ch3 反应孔颜色、Ch4 反应孔颜色、Ch5 反应孔颜色、FRET 反应孔颜色	采用 32 位整数 (argb) 十进制格式输入任何用户定义的示踪线样式颜色。

启动 LIMS 运行

要启动 LIMS 运行, 请执行以下操作:

1. 使用以下方法之一打开 LIMS 文件:
 - 将 .plrn 文件拖放到 CFX Manager 软件窗口或桌面图标上
 - 从软件主窗口的菜单栏中选择 **工具 > LIMS 文件夹**。双击所需的 .plrn 文件以打开运行
 - 从软件主窗口的菜单栏中选择 **文件 > 打开 > LIMS 文件**。从 LIMS 文件夹中选择 .plrn 文件并单击 **打开**
2. 要对选定的 LIMS 文件启动运行, 请选择设备并单击 **启动运行** (图 104)。LIMS 文件和链接的扩增程序文件的内容将用于完成扩增程序和反应板选项卡。

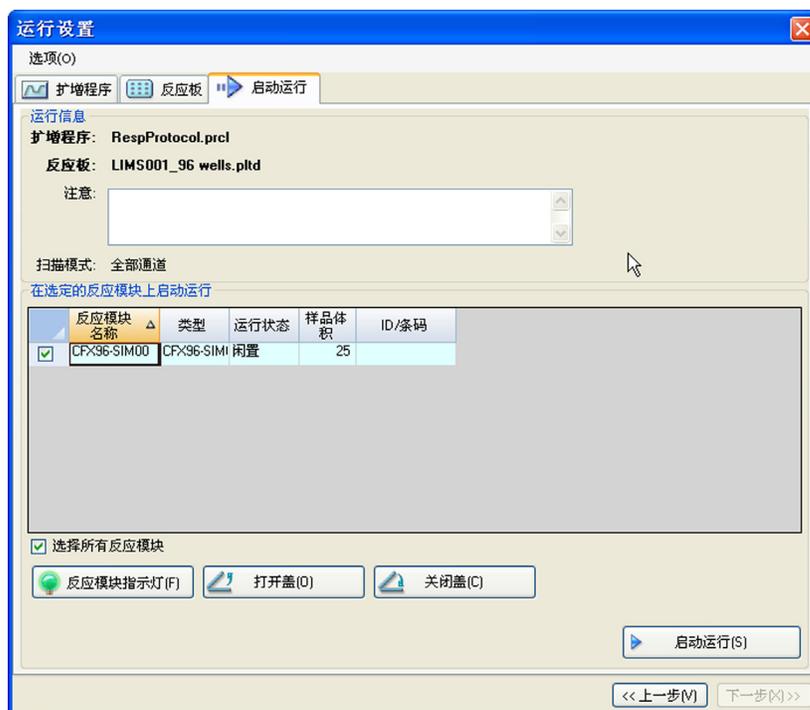


图 104. 已准备好启动 LIMS 运行的“运行设置”窗口。

将数据导出到 LIMS

运行完成时, 将生成 CFX Manager 软件数据 (.pcrd) 文件, 并将其保存到定义的数据导出文件夹位置 (图 101)。

在“LIMS 选项”中选择 **运行后自动导出数据**时, 与 LIMS 数据检索兼容的第二个数据文件将被保存到相同的位置。该文件格式和内容是使用 LIMS 数据导出格式设置定义的。要手动导出此数据, 请从软件主窗口的菜单栏中选择 **导出 > 导出到 LIMS 文件夹**。

校准向导

CFX96 Touch 系统针对白孔和透明孔反应板中的常用荧光基团进行了预先校准。CFX384 Touch 系统仅针对白孔反应板中相同的荧光基团进行了预先校准（表 44）。

表 44. 预先校准的荧光基团、通道和设备。

荧光基团	通道	设备
FAM、SYBR [®] Green I	1	CFX96 和 CFX384
VIC、HEX、TET、CAL Fluor Gold 540	2	CFX96 和 CFX384
ROX、Texas Red、CAL Fluor Red 610	3	CFX96 和 CFX384
CY5、Quasar 670	4	CFX96 和 CFX384
Quasar 705	5	仅限 CFX96

CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统还包含一个专用于 FRET 化学的通道，此通道无需针对特定染料进行校准。

要打开“校准向导”以校准 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 实时 PCR 系统，请执行下列操作：

1. 在“检测到的设备”窗格中选择设备。
2. 选择 **工具 > 校准向导** 以打开窗口，校准新的染料和反应板组合（图 105）。

图 105 显示“染料校准”窗口的示例。

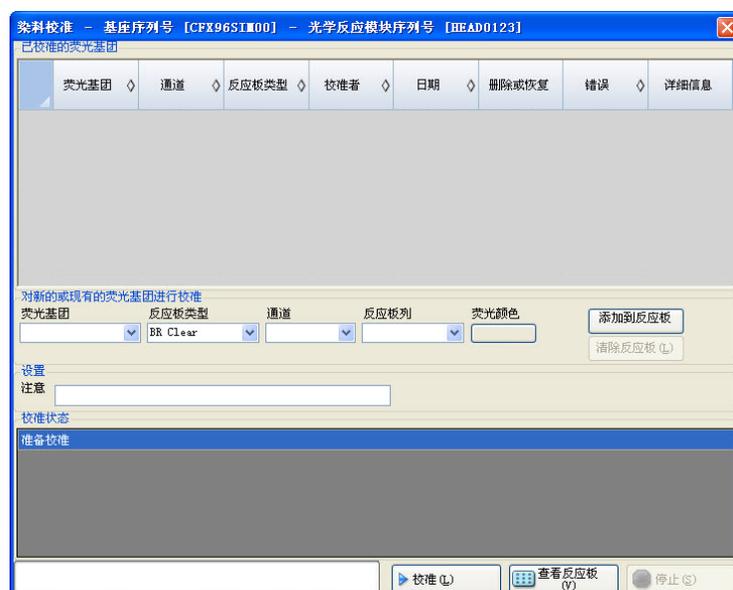


图 105. “染料校准”窗口。

校准 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统

要在“染料校准”窗口中校准 CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统，请执行以下操作：

1. 在对新的或现有的荧光基团进行校准窗格中，从下拉列表中选择要校准的荧光基团。如果荧光基团名称不在列表中，则在框中输入名称，以将其添加到列表。
2. 选择“反应板类型”。如果反应板类型不在列表中，则在框中输入名称，以将其添加到列表。
3. 为荧光基团选择一个“通道”。
4. 单击**添加到列表**按钮以添加荧光基团。要清除反应板，请单击**清除列表**以删除所有荧光基团。

5. (可选) 重复步骤 1-6, 添加您计划为反应板进行校准的每个荧光基团。
6. 完成添加荧光基团后, 单击**查看反应板**以打开“单纯染料反应板显示”。可将此窗口用作指南, 以便将染料加载到反应板中。
7. 开始准备 96 或 384 孔板以进行染料校准, 方法是按照“单纯染料反应板显示”中显示的模式将染料溶液吸移到每个反应孔中。对于每个荧光基团, 使用 50 μl (96 孔板) 或 30 μl (384 孔板) 的 300 nM 染料溶液填充 4 个反应孔。请注意, 至少一半反应板包含空白反应孔。
8. 使用您将在实验中使用的密封方法来密封反应板。
9. 将校准反应板放在反应模块中, 并关上盖子。然后, 单击**校准**, 再单击**确定**确认反应板已在反应模块中。
10. 当 CFX Manager 软件完成校准运行后, 将显示一个对话框。单击**是**完成校准, 并打开染料校准查看器。
11. 单击**确定**关闭窗口。

设备维护

CFX96 Touch 系统或 CFX384 Touch 系统包含一个敏感光学传送器系统, 它可在数据收集期间快速移动; 还包含一个样品反应模块, 它必须能够非常快速地加热和冷却。如果这些组件受到污染, 则可能会影响热循环和数据收集。

警告! 请勿在样品盖敞开或泄漏时运行反应。试剂可能会溢出并覆盖反应模块、内盖和传送器系统中的光学头。过脏可能会导致信号模糊, 而荧光受到污染则可能生成过度的背景信号。传送器系统仅能由经过培训的 Bio-Rad 服务工程师进行清洁。

要避免污染 CFX96 Touch 或 CFX384 Touch 系统, 请按照以下建议操作:

- 在将任何容器置于反应模块中之前始终清洁其表面
- 请勿在运行反应时使用敞开、松动、刺穿或损坏的封盖, 因为这样可能会污染反应模块、内盖和光学系统
- 请勿使用挥发性试剂运行 PCR 或 实时 PCR 反应, 这样的试剂可能会爆炸并污染反应模块、内盖和光学系统
- 定期清洁反应模块和内盖, 以防积累污垢、危险生物材料或荧光溶液 (请参阅第 137 页上的“清洁光学反应模块”)
- 请勿清洁或触摸内盖中加热器板孔后面的光学系统 (图 106)
- 定期清洁外盖和 C1000 Touch 基座 (有关详细信息, 请参阅 C1000 热循环仪说明手册)

清洁光学反应模块

应定期清洁光学反应模块和 C1000™ 热循环仪基座, 以除去会影响其正常工作的碎屑和污垢。一旦发现碎屑和溢出的液体, 应立即使用浸湿的无毛软布清除。通过清洁设备, 可以确保设备功能的精确程度。有关清洁 C1000 Touch 基座的详细信息, 请参阅 C1000 热循环仪说明手册。

警告! 请勿使用对铝具有腐蚀性的清洁溶液。应避免刮伤 C1000 反应模块基座的表面。如果刮伤和损坏此表面, 则会影响热量控制的精度。

警告! 请勿向 C1000 反应模块基座中倒入水或其他溶液。插入热循环仪时, 潮湿的组件会引发电击。

一旦在反应模块中或内盖上发现碎屑、灰尘或污染，请立即清洁 CFX96 或 CFX384 光学反应模块。任何污垢都可能影响反应模块快速调节温度和收集准确荧光数据的能力。要清洁反应模块，请遵循以下指南。请按照第 145 页上的建议进行清洁。

警告！ 为了避免遭受电击，请在清洁设备之前，始终先从热循环仪基座卸除反应模块或拔出基座。

警告！ 请勿触摸或使用溶液接触内盖中加热板孔后面的光学系统（图 106）。

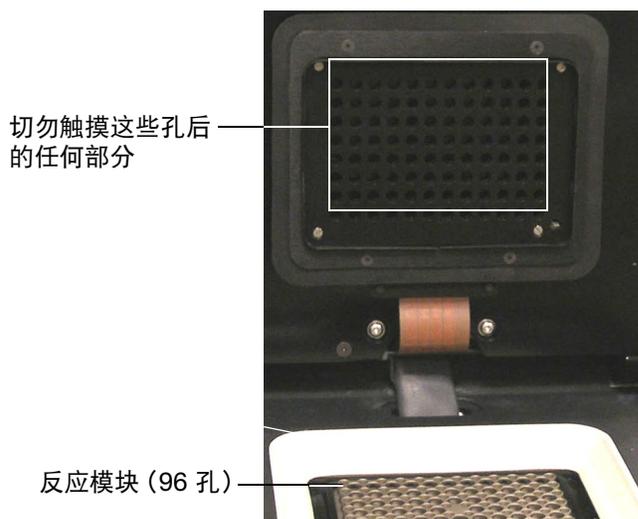


图 106. 内盖中的加热板孔。

提示：有关处理和清洁放射性材料或危险生物材料的说明，请参阅相关机构提供的放射性物安全性和生物安全性指南。这些指南包含清洁、监控和处理危险材料的方法。

- **清洁外表面。** 使用湿布或纸巾清除溢出外壁的液体。如果需要，使用低浓度肥皂溶液，然后用湿布冲洗表面。清洁表面可以防止腐蚀
 - **清洁散热片。** 使用软毛刷子或湿布清除灰尘。如果通风孔内堆积了厚厚的灰尘，请使用真空吸尘器清除干净。使用水和无毛软布清除粘在散热片上的碎屑。请避免刮伤表面。如果需要，请使用低浓度肥皂溶液冲洗孔，以彻底清除残留物。清洁散热片可以提高样品加热和冷却的精度
- 注意：请勿使用对铝具有腐蚀作用的清洁溶液，例如漂白剂或磨擦性清洁剂。
- **建议不要使用油性物质清洁反应模块孔。** 如果使用的是油性物质，则必须经常对反应模块孔进行全面清洗。当油性物质开始变色或沾有灰尘时，请将其清除。请使用浓度为 95% 的乙醇溶液清除油性物质。请不要让油性物质堆积在反应模块上
 - **清洁反应模块孔。** 及时清除溢出液体以避免其风干。请使用吸有水（推荐）、浓度为 95% 的乙醇或 1:100 漂白粉稀释水溶液的一次性塑料吸管。还要用无毛软布或纸巾蘸水来清洁反应模块。请始终用水冲洗反应模块孔多次，以清除所有残留的清洁试剂

警告！ 请勿使用强碱性溶液（高浓度肥皂水、氨水或高浓度漂白剂）清洁反应模块。请勿使用腐蚀性或磨擦性清洁溶液。这些清洁试剂不但会损伤反应模块，而且还会影响热量控制的精度。

警告！ 如果有漂白粉、乙醇或肥皂残留在反应模块中，则将腐蚀反应模块并在运行过程中破坏耗材。清洁后请始终用水彻底冲洗反应模块孔，以清除所有残留的清洁试剂。

警告！ 请勿在添加清洁溶液后加热反应模块。加热装有清洁溶液的反应模块会损坏反应模块和热循环仪基座。

- **清洁内盖。** 使用无毛软布和水清除内盖表面的碎屑和溶液。请勿使用会刮伤内盖表面的磨擦性清洁剂或粗糙材料。清洁内盖可以提高样品加热和冷却的精度。

应用程序日志

在启动新运行之前，CFX96 或 CFX384 设备会启动自我诊断测试，以验证其在规格范围内运行。软件将此测试的结果记录在运行日志和应用程序日志文件中。如果在一个或多个实验中发现问题，则可打开运行日志和应用程序日志，以查明问题开始出现的时间。

CFX Manager 软件可对**应用程序日志**（图 107）中的设备相关状态信息进行跟踪。可使用这些日志跟踪在设备和软件中发生的事件，以便进行疑难解答。

要在软件主窗口中打开应用程序日志，请选择**查看 > 应用程序日志**。

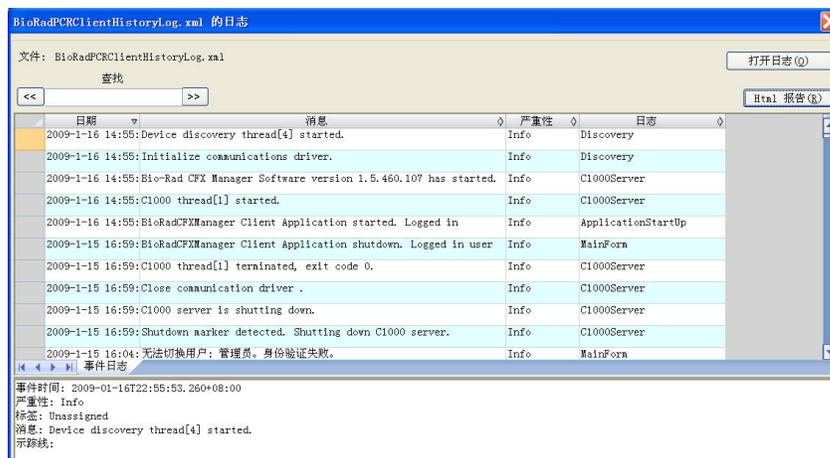


图 107. 事件日志文件示例。

故障排除

恢复数据文件

按照下列步骤操作，可以恢复独立运行的数据文件：

1. 将 USB 闪存驱动器插入热循环仪基座的 USB 端口。
2. 触摸**工具**按钮。
3. 选择**运行报告**。
4. 从列表中选择要恢复的文件。
5. 触摸**恢复数据**按钮。将创建新的数据文件 (.zpcr) 并将导出到 USB 闪存驱动器。

注意：仅可恢复最近运行的 5 个文件。

通常，可通过重新启动计算机和系统来解决软件和设备通讯问题。确保在重新启动之前保存任何正在进行的工作。

注意：检查以确保计算机具备足够的 RAM 和可用硬盘驱动器空间。最小 RAM 为 2 GB，最小硬盘驱动器空间为 20 GB。

手动安装软件

如果需要，请按照以下说明手动安装软件：

1. 插入软件 CD。
2. 右键单击软件 CD 图标并选择**资源管理器**以打开 CD 窗口。
3. 双击 **CFX_Manager** 文件夹以打开该文件夹，然后双击 **setup.exe** 以启动软件安装向导。
4. 按照向导上的说明安装软件，然后单击**完成**。

手动安装驱动程序

如果需要，请遵照以下说明手动安装驱动程序：

1. 插入软件 CD。如果无可用的 CD，请在硬盘驱动器的 C:\Program Files\Bio-Rad\Drivers 文件路径下查找驱动程序文件夹。
2. 单击**驱动程序**按钮可打开软件安装屏幕（图 109）。
3. 单击 **BaseUnit** 文件夹以将其打开。



图 108. BaseUnit 文件夹。

4. 对于装有 Windows XP 的计算机，请双击 **BioRadC1000DriverInstall.exe** 启动安装窗口。对于装有 Windows Vista 的计算机，请右键单击 **BioRadC1000DriverInstall.exe** 并选择**以管理员身份运行**，以启动安装窗口。

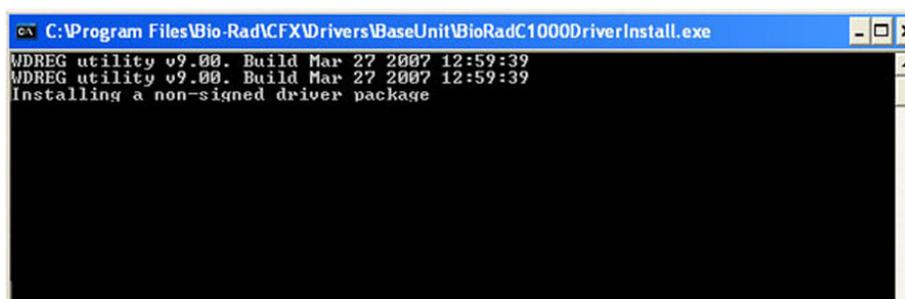


图 109. 驱动程序安装窗口。

安装完成后，安装窗口将关闭。

注意：如果无法手动安装驱动程序，请联系当地 Bio-Rad 办事处的技术支持小组。

电源故障选项

在发生电源故障时，设备和计算机将关闭。如果电源故障时间很短，设备将继续运行扩增程序，但应用程序日志将记录电源故障。根据计算机设置以及电源关闭的时间长短，设备和软件将尝试根据扩增程序步骤继续运行：

- 如果扩增程序在没有读板的步骤中，则只要设备重新通电，扩增程序就会继续运行
- 如果扩增程序在具有读板的步骤中，则设备将等待软件重新启动并恢复通信，然后才能收集数据。这种情况下，只有在计算机未将软件关闭的前提下，扩增程序才能继续。再次启动计算机和软件后，扩增程序将继续进行

如果要在电源故障时打开反应模块上锁定的电动盖以取出样品，请按照以下步骤取出锁定板：

1. 通过向下推动 C1000 的锁定条，从 C1000 机箱取出反应模块。
2. 将模块放在桌子前端，使模块的前端伸出桌子边缘 2 英寸，如图 110 所示。



图 110. 放置光学模块以取出锁定板。

3. 使用六角扳手卸下反应模块前部边缘下的两个大螺丝（位于开盖按钮的下方）。不要卸下位于模块前部边缘的两个小螺丝。您将听到从模块内部发出门锁打开的声音。图 111 显示了应卸下的两个大螺丝。



图 111. 卸下这两个螺丝以解除锁定光学模块。

4. 推动反应模块盖以将其打开。请注意，门锁（黑色塑料）此时已不再连接。从模块中取出样品。

5. 通过重新装回门锁并使用大螺丝固定, 即可重新安装盖子保持为打开状态的反应模块。图 112 显示了装好的门锁。

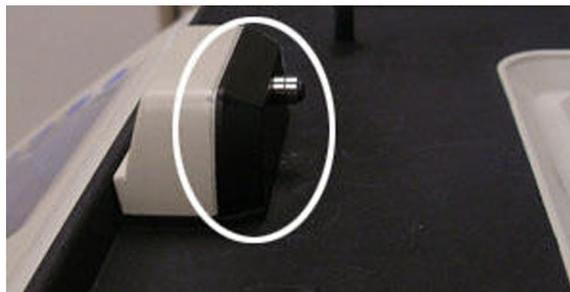


图 112. 光学模块门锁。

参考书目

- Breslauer KJ, et al.(1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. Proc Nat Acad Sci 83, 3746–50.
- Hellemans J, et al.(2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data, Genome Biol, 8, R19.
- Livak JL, et al.(1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. Nature Genetics 9, 341–342 .
- Pfaffl MW.(2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research 29(9), 2002–2007.
- Vandesompele J, et al.(2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biology 3(7), 1–12.

Minpack 版权声明 (1999) University of Chicago. 保留所有权利

如果符合下列条件, 则允许在修改或不修改的情况下, 以源文件和二进制形式进行再分发和使用:

1. 再分发的源代码必须保留上述版权声明、此条件列表以及下列免责声明。
2. 以二进制形式进行的再分发必须在分发附带的文档和 / 或其他材料中复制上述版权声明、此条件列表以及下列免责声明。
3. 再分发包含的最终用户文档 (如果有) 必须包含下列致谢信息:
“此产品包含由 University of Chicago 作为 Argonne National Laboratory 的运营者而开发的软件。”

索引

A

- 按钮, 30
 - 打开盖, 29
 - 反应模块指示灯, 30
 - 关闭盖, 3, 29
 - 恢复, 30
 - 清除反应孔, 47
 - 清除重复 #, 47
 - 删除步骤, 38
 - 实验设置, 47, 48
 - 实验协议编辑器, 35
 - 实验协议自动编写器, 39
 - 跳过步骤, 30
 - 显示分析设置, 49, 105
 - 暂停, 30
 - 安全
 - 警告, ii, iii, v
 - 警示标志, iii
 - 设备, iii
 - 安全使用规范, iv
- ## B
- Bio-Rad Laboratories
 - 联系, ii
 - 报告
 - 基因研究, 111
 - 数据文件, 94
 - 背面板, 3
 - 变温速率, 38
 - 编写规范, ii
 - 变异系数, 103
 - 标准偏差
 - 均一化后的基因表达, 114, 115
 - 均一化后的基因表达公式, 115
 - 相对定量, 113
 - 标准曲线
 - 反应孔编组, 49
 - 标准误差, 116
 - 公式, 116
 - 均一化后的基因表达公式, 116

- 布局
 - “定量”选项卡, 66, 78
- 步骤
 - 温度, 35

C

- C1000 Touch 的电子邮件设置, 60
- CFX Manager
 - 文件, 7
- CFX Manager 中的电子邮件设置, 119
- CFX96 系统, 2
 - 概述, 2
- CFX96 系统概述, 2
- 菜单栏
 - 反应板编辑器, 42
 - 软件主窗口, 12
 - 实验协议编辑器, 34
 - 数据分析, 65
- 操作要求, 1
- 创建
 - 反应孔编组, 50
 - 实验协议, 39
 - 数据报告, 95
- 窗口
 - 反应孔编组管理器, 43
 - 基线, 68
 - 基因研究, 106
 - 实验协议编辑器, 33
 - 实验协议自动编写器, 39
 - 阈值, 68
 - 运行详细信息, 28

D

- d(RFU)/dT
 - 电子表格, 87
- 打开
 - 盖, 29
 - 实验协议编辑器, 33
 - 实验协议自动编写器, 39

- “熔解曲线”选项卡, 84
- “打开盖”按钮, 29
- 单位, 43
- 单一阈值模式, 67
- 导出 RDML 文件, 74
- 导出到 LIMS 文件夹, 75
- 导出独立数据, 59
- 导出模板, 51
- 导入模板, 51
- 等位基因分型, 89
 - 电子表格, 91
 - 调整数据, 90
 - RFU, 89, 92
- 电源
 - 开关, 3
 - 输入, 3
- 电子表格
 - 等位基因分型, 91
 - 反应板编辑器, 43
 - 基因表达, 104
 - 熔解峰, 85
 - 熔解曲线的 $-d(\text{RFU})/dT$, 87
 - 熔解曲线的 RFU, 86
 - 熔解曲线的扩增数据, 86
 - 熔解曲线数据中的反应板, 86
 - 终点, 89
- “电子邮件”选项卡, 119
- 调整
 - 等位基因分型数据, 90
 - 基因表达数据, 102
 - 熔解曲线数据, 84
 - 示踪线颜色, 78
 - 示踪线样式, 78
 - 数据分析图表, 73
 - 阈值, 67
 - 终点数据, 89
- 调整阈值, 70
- 定量
 - 描述, 66
 - 选项卡, 66
 - 选项卡布局, 66, 78
- 对照
 - 相对定量, 113
- 多个设备
 - 查看, 17

F

- 法规符合性, iv
- FRET, 44, 56
- 反应板
 - 大小, 反应板编辑器中, 42
 - 电子表格, 51, 86
 - 反应孔内容, 45
 - 类型, 42
 - 熔解曲线数据, 86
 - 文件, 7
- 反应板编辑器
 - 菜单栏, 42
 - 单位, 43
 - 导出反应板电子表格, 51
 - 导入反应板电子表格, 51
 - 电子表格, 43, 51
 - 反应板大小, 42
 - 反应板类型, 42
 - 反应孔编组管理器, 43
 - 反应孔注释, 47
 - 放大率, 43
 - 工具栏, 43
 - 科学计数法, 42
 - 目标名称, 46
 - 浓度, 47
 - 排除反应孔, 71
 - 清除反应孔, 72
 - 清除重复 #, 47
 - 扫描模式, 43, 44
 - 实验设置, 47
 - 稀释系列, 47
 - 选择荧光基团, 44
 - 样品类型, 46
 - 样品名称, 46
 - 重复 #, 46
 - 重复系列, 46
 - 重复组, 46
 - “清除反应孔”按钮, 47
- “反应板编辑器”中的放大率, 43
- 反应孔
 - 编组, 43
 - 目标名称, 45
 - 内容, 45
 - 浓度, 46
 - 样品类型, 45
 - 样品名称, 45

- 荧光基团, 45
- 注释, 46, 47
- 反应孔编组, 49
 - 标准曲线, 49
 - 创建, 50
 - 数据分析, 49
- 反应孔编组报告, 97
- 反应孔编组管理器, 43
- 反应孔选择器
 - 数据分析, 70
- 反应孔注释, 47
- 反应模块, 3
 - 模式, 39
- “反应模块指示灯”按钮, 30
- 反应效率 (E)
 - 公式, 80
 - 目标, 80
- 分析模式, 69
- 蜂鸣, 38

G

GOI

- 均一化后的基因表达, 114, 115
- 均一化因子, 113
- SD, 均一化后的基因表达, 115
- 相对定量, 113

盖

- 打开, 29

- 盖的关闭按钮, 3

更改

- 基线, 68
- 样品体积, 26, 35
- 阈值, 68

工具栏

- 反应板编辑器, 43
- 软件主窗口, 14
- 数据分析, 64

公式, 113

- 标准误差, 116
- 标准误差, 均一化后的基因表达, 116
- E (参见“反应效率”), 80
- 反应效率 (E), 80
- 均一化后的基因表达, 114, 115
- 均一化后的基因表达, 缩放, 115
- SD, 均一化后的基因表达, 115

- 数据分析, 112
- 相对定量, 113
- 关闭盖, 29
- “关闭盖”按钮, 29
- 规范
 - 安全使用, iv
 - 法规符合性, iv

H

- “恢复”按钮, 30
- 恢复运行, 30
- 回归模式, 67

J

- 计算模式, 39

基线

- 窗口, 68

- “基线扣除”模式, 68

- “基线扣除的

- 曲线拟合”模式, 68

- 基线设置, 68

- “基线阈值”窗口, 68

基因表达

- 电子表格, 104

- 调整数据, 102

- 均一化数据, 101

- 数据分析, 99

- 缩放选项, 102

- 图表数据, 102

- 相对定量, 102

- 选项卡, 100

- 右键单击图表, 103

- 基因表达中的缩放选项, 102

基因研究, 106

- 报告, 111

- 文件, 7

- 显示详细信息, 111

- 运行间校准, 107

- 准备数据, 108

- “研究分析”选项卡, 107, 109

- “研究设置”选项卡, 108

技术

- 注释, ii

- 专家, ii
- 加热板, 3
- 检测到的设备, 12
- 将数据导出到 LIMS, 135
- 将所有数据表导出到 Excel, 65, 74
- 交付组件, 1
- 解包设备, 1
- 仅限 SYBR/FAM, 44, 56
- 警告
 - 安全, iii
 - 爆炸危险, iii
 - 标志, iii
 - 标志, 安全, iii
 - 设备, iii
 - 损害危险, iii
 - 在手册中列出, ii, v
 - 灼伤危险, iii
- 均一化
 - 基因表达, 101
- 均一化后的 GOI 公式, 116
- 均一化后的基因表达
 - 标准偏差 (SD), 115
 - 标准偏差公式, 114
 - GOI 公式, 116
 - 公式, 114
 - 缩放 to 最低, 115
 - 缩放 to 最高, 115
- 均一化因子
 - 相对定量, 113

K

- 科学计数法, 42
- 库, 45
- 快速载入
 - 实验协议, 26, 27
- 扩增子长度, 39

L

- LED on lid, 2
- Lid
 - Green LED, 2
- LIMS, 130
- LIMS 集成, 130

- LIMS 数据导出格式设置, 131
- LIMS 文件 (*.plrn), 132
- 联系 Bio-Rad Laboratories, ii

M

- M 值, 103
- 酶类型, 39, 40
- 模式
 - “基线扣除的”, 68
 - 扣除基线的曲线拟合, 68
 - 未扣除基线, 68
 - 温度控制, 38
- 目标
 - 反应效率 (E), 80
 - 实验设置, 48, 105
- 目标分析模式, 70
- 目标名称, 45, 46
- 母液混合计算器, 20

N

- 内盖, 3
- 浓度, 46, 47

P

- 排除反应孔
 - 反应板编辑器, 71
- 平衡
 - 联管, 8
 - 切割微孔板, 8
 - 如何, 8

Q

- QC 选项卡, 92
- 启动向导, 15
- 清除反应板编辑器中的反应孔, 72
- “清除反应孔”按钮, 47
- 清除事件, 24
- 清除重复 #, 47
- 取消运行, 30
- 全通道扫描模式, 44, 56

R

RFU

- 等位基因分型, 89, 92
- “熔解曲线”选项卡, 83
- “终点”选项卡, 87, 88

任务日程表, 21

熔解峰

- 电子表格, 85

熔解峰电子表格, 85

熔解曲线

- 插入, 37
- 打开选项卡, 84
- 调整数据, 84

RFU 数据, 83

数据分析, 83

熔解曲线数据, 86

反应板, 86

扩增数据 (RFU), 86

选项卡, 85

S

扫描模式

- FRET, 44, 56
- 反应板编辑器, 43, 44
- 仅限 SYBR/FAM, 44, 56
- 全通道, 44, 56

删除步骤, 38

“删除步骤”按钮, 38

设备

- 安全, iii
- 警示标志, iii

设置 LIMS 集成, 130

升温, 38

“时间状态”选项卡, 31

实时状态, 30

实验设置, 47

- 按钮, 48
- 显示图表, 49, 106
- 颜色, 49, 106
- 自动效率, 49, 105
- “目标”选项卡, 48, 105
- “显示分析设置”按钮, 49, 105

实验协议

步骤, 温度, 33

反应模块模式, 39

计算模式, 39

快速载入, 26, 27

文件, 7

终点, 26

实验协议编辑器

- 按钮, 35
- 菜单栏, 34
- 插入熔解曲线, 37
- 插入梯度, 36
- 插入跳转, 36
- 窗口, 33
- 删除步骤, 38

实验协议自动编写器, 39

- 按钮, 39
- 创建实验协议, 39
- 扩增子长度, 39, 40
- 退火温度, 39

使用 LIMS 启动运行, 135

示踪线

- 调整, 78
- 颜色, 78
- 样式, 78

数据

文件, 7

数据报告

创建, 95

数据分析

- 菜单栏, 65
- 调整, 63
- 反应板内容, 63
- 反应孔编组, 49
- 反应孔内容, 63
- 反应孔选择器, 70
- 工具栏, 64
- 公式, 112
- 关于, 63
- 基因表达, 99
- 排除反应孔, 71
- 清除反应孔, 72
- 熔解曲线, 83
- 数据分析, 89
- 图表, 调整, 73
- 终点, 87

数据文件

报告, 94

塑料耗材, 8

T

梯度

步骤, 36

插入, 36

梯度计算器, 34

替换反应板文件, 31

添加

变温速率, 38

蜂鸣, 38

升温, 38

延长, 38

运行中的重复, 30

添加重复, 30

跳过步骤, 30

“跳过步骤”按钮, 30

跳转

插入, 36

添加重复, 30

“停止”按钮, 30

停止运行, 30

图表

数据分析, 73

退火温度

实验协议自动编写器, 39

U

USB

连接, 3

USB 闪存驱动器端口, 59

W

“未扣除基线”模式, 68

温度

步骤, 35

温度控制

反应模块模式, 39

模式, 38, 39

文件

反应板, 7

基因研究, 7

软件, 7

实验协议, 7

数据, 7

X

稀释系列, 47

显示分析设置, 49, 105

显示图表, 49, 106

显示详细信息

基因研究, 111

相对定量

标准偏差公式, 113

GOI, 113

公式, 113

均一化后的基因表达, 114

均一化因子, 113

已描述, 102

已选择对照样品, 113

校准

基因研究中的运行间, 107

选项卡

定量, 64, 66

基因表达, 100

基因研究中的研究分析, 107, 109

基因研究中的研究设置, 108

熔解曲线数据, 85

时间状态, 31

实时状态, 30

运行信息, 93

终点, 88

选择

反应板中的荧光基团, 44

选择荧光基团

颜色, 45

“选用”复选框, 44

Y

延长, 38

“研究分析”选项卡, 107, 109

“研究设置”选项卡, 107, 108

颜色, 45, 49, 106

样品

类型, 45, 46

- 名称, 45, 46
- 样品体积
 - 更改, 35
 - 更改终点, 26
- 要分析的循环, 70
- 要求
 - 操作, 1
- 荧光基团, 45
- 荧光基团分析模式, 69
- 应用荧光基团漂移校正, 68
- 右键单击
 - 基因表达图表, 103
- 阈值
 - 窗口, 68
 - 调整, 67
- 运输固定
 - 列表, 1
 - 螺丝, 5
- 运行
 - 反应模块, 30
 - 取消, 30
 - 添加重复, 30
 - 跳过步骤, 30
 - 停止, 30
 - 暂停, 30
- 运行间校准, 107
- 运行详细信息
 - 窗口, 28
 - 运行状态, 29
 - “时间状态”选项卡, 31
 - “实时状态”选项卡, 30
- 运行信息
 - 选项卡, 93
- 运行状态
 - 选项卡, 29

Z

- 暂停
 - 按钮, 30
 - 运行, 30
- 正面视图, 2
- 支持
 - Bio-Rad 代表, ii
 - 技术, ii
 - 技术说明, ii

- 终点
 - 电子表格, 89
 - 调整数据, 89
 - 更改实验协议中的样品体积, 26
 - RFU 数据分析, 87
 - 选项卡, 88
- 终点唯一运行实验协议, 26
- 重复 #, 46
- 重复系列, 46
- 重复组, 46
- 注释
 - 反应孔, 46
- 状态栏, 17
- 自定义导出, 74
- 自定义数据视图, 91
- 自动效率, 49, 105



Bio-Rad
Laboratories, Inc.

生命科学团体

网站 www.bio-rad.com USA 800 424 6723 澳大利亚 61 2 9914 2800 奥地利 01 877 89 01 比利时 09 385 55 11 巴西 55 31 3689 6600
加拿大 905 364 3435 中国 86 21 6169 8500 捷克 420 241 430 532 丹麦 44 52 10 00 芬兰 09 804 22 00 法国 01 47 95 69 65 德国 089 31 884 0
希腊 30 210 777 4396 香港地区 852 2789 3300 匈牙利 36 1 459 6100 印度 91 124 4029300 以色列 03 963 6050 意大利 39 02 216091
日本 03 6361 7000 韩国 82 2 3473 4460 马来西亚 60 3 2117 5260 墨西哥 52 555 488 7670 荷兰 0318 540666 新西兰 64 9 415 2280
挪威 23 38 41 30 波兰 48 22 331 99 99 葡萄牙 351 21 472 7700 俄罗斯 7 495 721 14 04 新加坡 65 6415 3170 南非 27 861 246 723
西班牙 34 91 590 5200 瑞典 08 555 12700 瑞士 061 717 95 55 台湾地区 886 2 2578 7189 泰国 66 2 6518311 联合国 020 8328 2000
越南 84 8 38131140