



实时荧光定量 PCR 仪

使用说明书

(适用于CG-02/05 型)

目录

前言

P3 如何使用本说明书

安全和仪器使用规范信息

P4 使用仪器注意事项

第一章 仪器的安装

P6 仪器放置

P8 仪器安装

P9 仪器连接示意图

第二章 仪器外观及各部件介绍

P10 整机浏览

P11 结构功能介绍

第三章 仪器说明及性能指标

P14 仪器说明

P15 仪器性能指标

P16 仪器工作环境及贮存条件

第四章 软件的使用与安装

P17 安装须知

P20 设置电脑

P21 开始安装

P22 界面介绍

第五章 实验的简介与说明

P28 软件连接仪器

P29 新建温控程序

P33 具体实验步骤

P40 实验注意事项

第六章 其他功能介绍

P42 梯度计算查询功能

P43 TM 值辅助计算工具

P44 日志自动记录及查询

P45 其余程序内部操作性功能

如何使用本说明书

关于本说明书 本说明书旨在解决您在安装、使用、维护 CG-02/05 型实时荧光定量 PCR 仪过程中出现的任何疑问及技术问题。按照本说明书一步步操作，可为使用者安装、使用、维护本仪器提供正确的指引。

安全警示内容 安装、使用、维护前请先参照本指南的警示、注意条目，以保证仪器的正常工作和使用者的人身财产安全。

使用仪器注意事项

操作安全

- 仪器的输入电源线必须可靠接地。本仪器使用三芯接地插头其中第三脚为接地脚，应配合接地型电源插座使用。在连接电源之前，要确保电源的电压与仪器所要求的电压一致。并确保电源插座的额定负载不小于仪器的要求。
- 如果发现电源线破损，必须立刻更换相同型号、规格的电源线。电源线上严禁放置任何东西，且不要将其摆放在人员经常活动的范围内。插拔电源线时一定要握紧插头，禁止直接拉扯电源线。
- 仪器在运行过程中，金属模块和热盖都会产生高温，所以严禁身体的任何部位在仪器运行时直接接触金属模块，以免烫伤。
- 仪器在运行中，为保证其能顺利散热，周边 30cm 内，禁止摆放其他物品。

保养安全

- 仪器需要定期清理模块，以保证试验的精密性。建议清理选用干净软布沾适量无水酒精轻轻擦洗。禁止使用带腐蚀性的清洗剂或将清洗剂

滴入锥孔内，以免损坏仪器。

- 若出现以下情况，应立即切断电源，停止试验，并及时与供应商或专

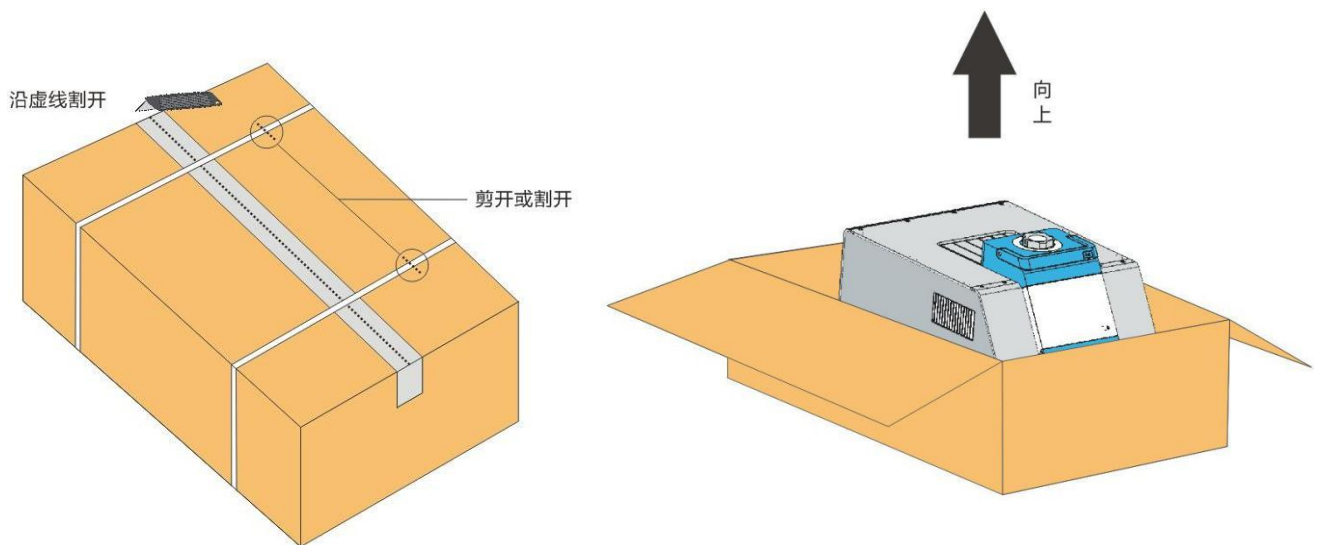
业维修人员取得联系：

- ①有试剂、水或其他液体进入仪器内部
- ②仪器从高处掉落或外壳损伤
- ③仪器工作时产生不正常噪音及刺激性气味
- ④仪器功能明显变化。如无法正常开关机、正常操作等

第一章 仪器的安装

仪器放置

- 在检查完包装以后，需要安装CG-02/05型实时荧光定量PCR仪。
- 将包装箱向上水平放置，剪开包装箱周边的打包带，并沿着箱子的密封口割开透明胶带。
- 拿走放置在箱内的附件，妥善放置在安全处，备用。
- 掀开盖在仪器上的EPE泡沫，两人合力托住CG-02/05型实时荧光定量PCR仪底部，用力向上抬起，抬放到合适的实验桌上。过程小心轻放。
- 妥善储存仪器包装盒，以备后续盛装。





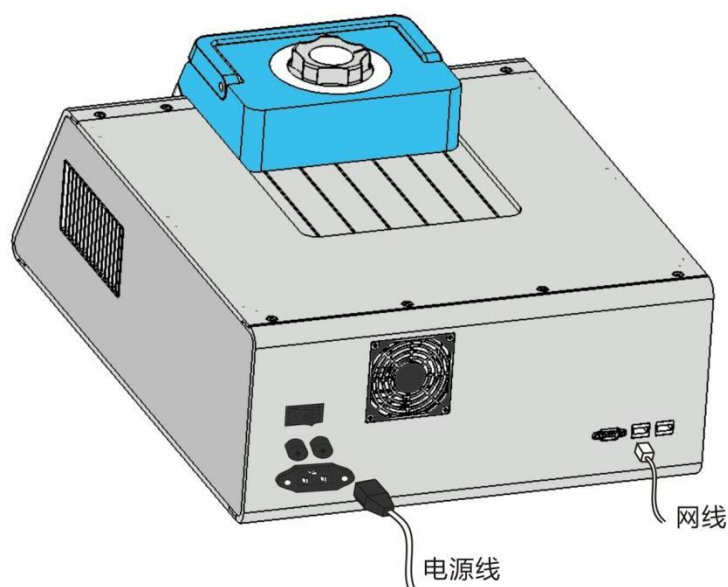
危险 人身伤害危险。除非您已接受过相关培训，否则，切勿尝试抬起仪器或任何其它重型部件。若以不当方式抬起包装箱，可能导致疼痛和永久性脊背损伤，或者仪器滑落摔坏等。抬起或移动仪器时，应使用适当的搬移器具并采用正确的抬移方法。抬起CG-02/05型实时荧光定量PCR仪必须由2个人协作完成。



危险 CG-02/05 型实时荧光定量PCR 仪要以直立位安放在水平面上，仪器周围不能有产生震动，电磁干扰以及高感应性的设备（例如冰箱、离心机、搅拌器等）。

仪器安装

将CG-02/05型实时荧光定量PCR仪放置在实验平台上，取出随机标配的电源线。将电源线一端的插头插入到仪器背面的电源插座内。随后将电源线另一端的插头插入到带接地保护的插座内，完成通电。

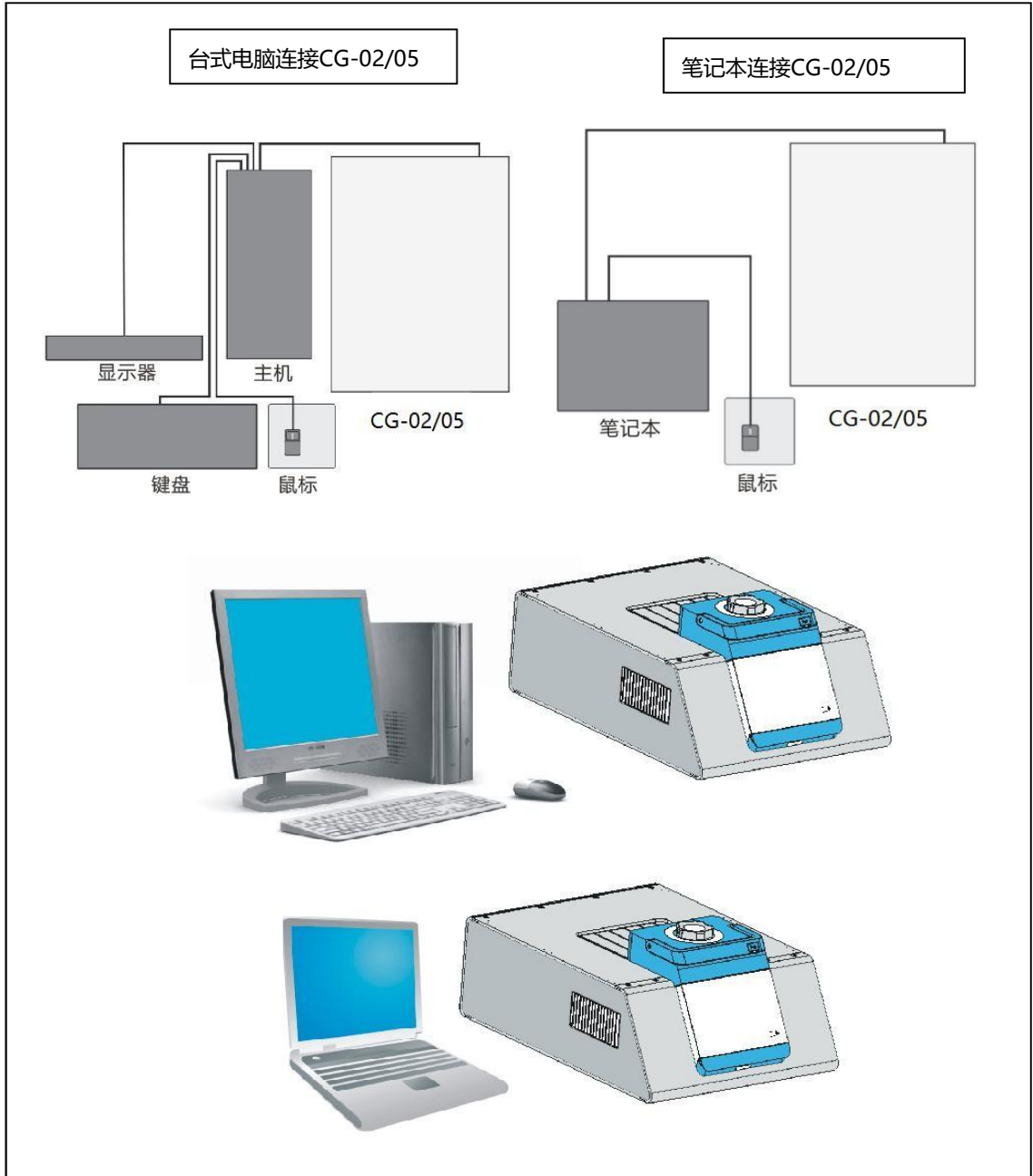


危险 禁止用湿手接触电源线。仪器打开的时候，不要连接或断开电源线。如果电源线有破损，应立即更换合格的电源线。仪器应始终与接地的插座连接。随后切断电源，将随机标配的网络线的一端插入到仪器背面的LAN网络插口内，另一端插入到电脑PC端的网络插口内。



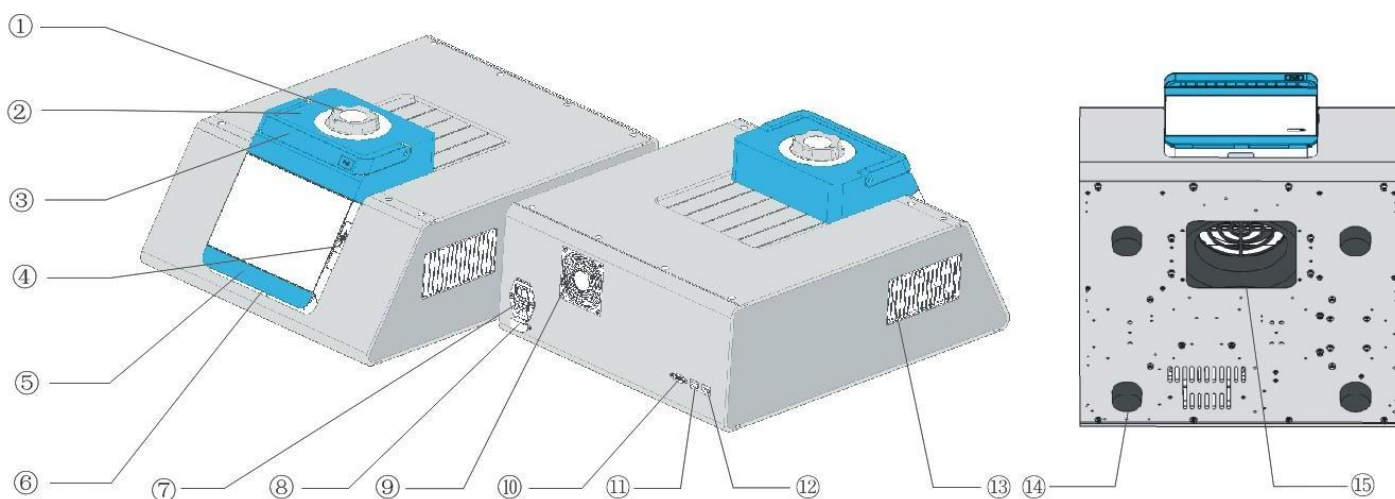
危险 在CG-02/05型实时荧光定量PCR仪与PC用网线连接之时，切勿接通电源。

仪器连接示意图



第二章 仪器外观及各部件介绍

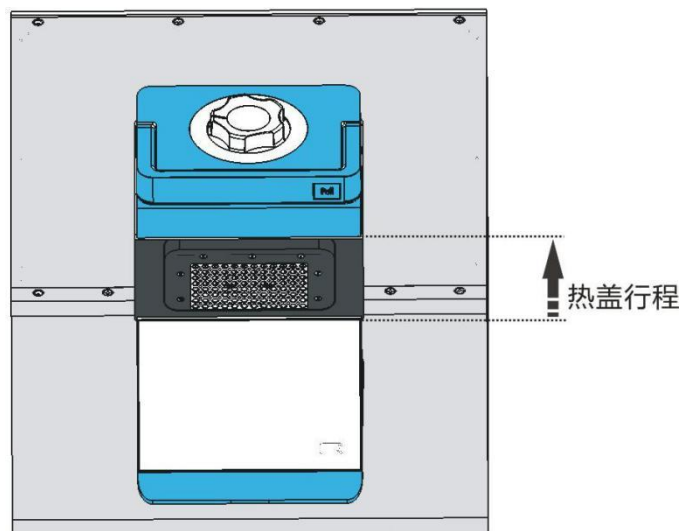
整机浏览



- | | | | | |
|--------|-------|-----------|--------|--------|
| ①旋钮 | ②热盖 | ③拉手 | ④USB端口 | ⑤PAD托盘 |
| ⑥工作指示灯 | ⑦电源开关 | ⑧电源插座及保险丝 | ⑨出风口 | ⑩232接口 |
| ⑪LAN口 | ⑫WAN口 | ⑬出风口 | ⑭脚垫 | ⑮进风口 |

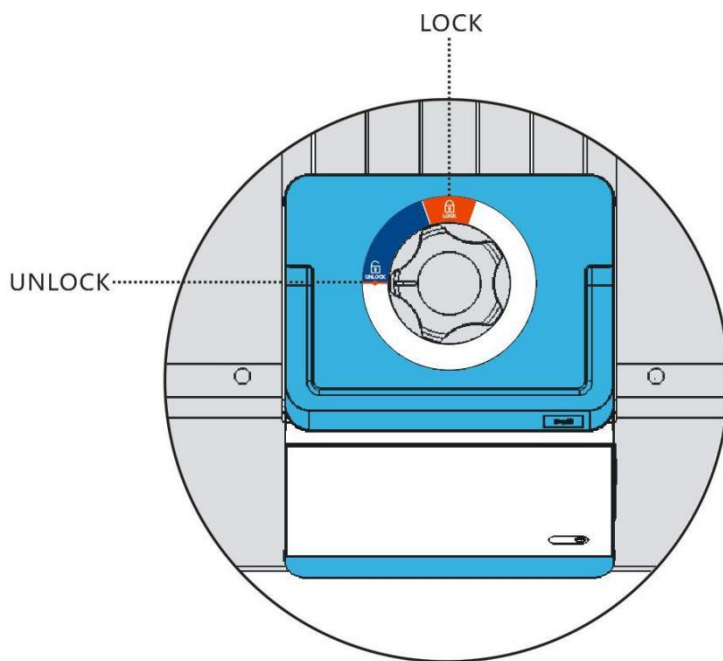
结构功能介绍

本款仪器热盖通过导轨滑动来实现开合，热盖开合行程可根据用户需要自行调节。如右图所示，当您将旋钮刻度指示对准UNLOCK点时，向后滑动热盖，即可将试管放入仪器模块，再将热盖向前滑动关闭，将旋钮旋至合适位置，即可运行程序进行试验。



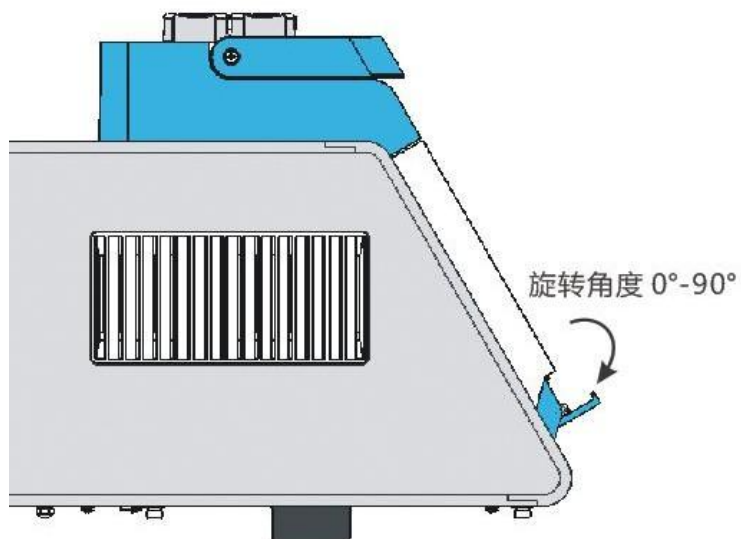
警告 本产品的提手主要起推拉作用，请勿将提手用力向上提或向下压，以免破坏热盖结构。

当旋钮刻度对准UNLOCK点时，热盖可以前后自由滑动，实现放置，取出试管。试管放置完成后，将热盖合上，然后顺时针旋转旋钮，旋钮旋转到合适位置，可运行程序进行试验。建议旋钮刻度对准LOCK区域。



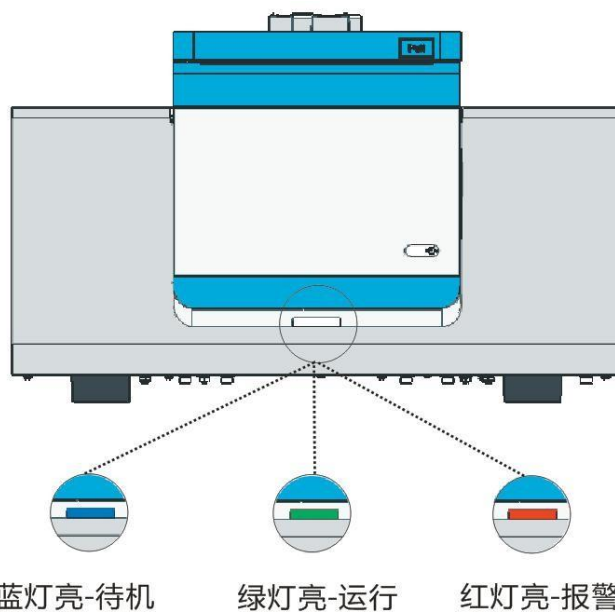
警告 请勿当旋钮刻度对准LOCK区域时，前后滑动热盖组件，以免破坏热盖组件。

将Pad托盘顺时针向下翻转至与壳体夹角为90°位置，开启Pad托盘。此时可在托盘上放置Pad。

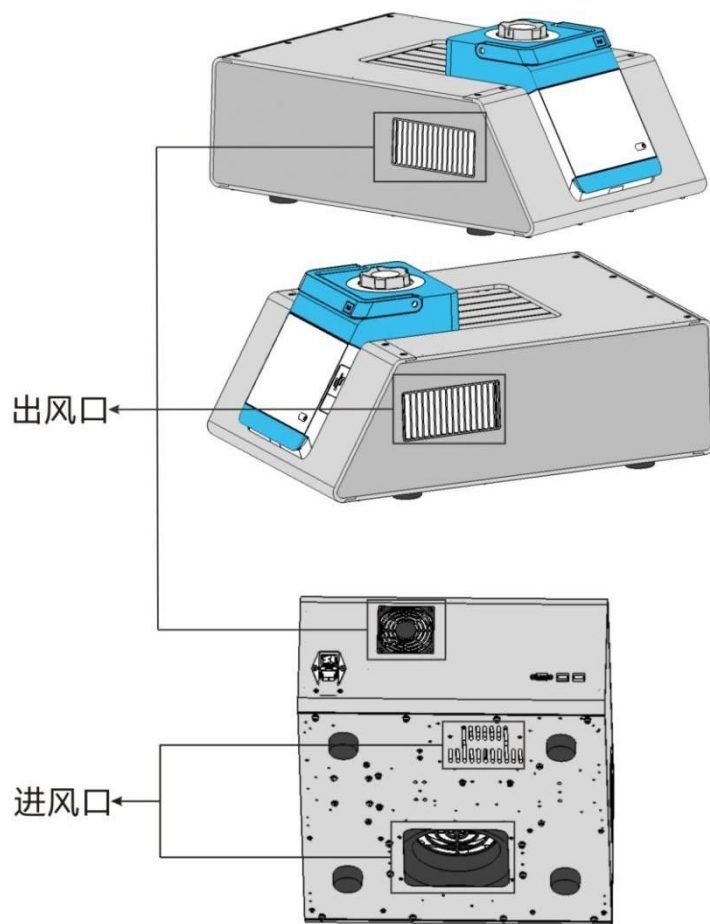


警告 根据仪器特点，Pad 托盘翻下后与壳体的夹角范围为 0°~90°，请不要超越它的角度范围，以免损坏仪器。

仪器前面板下部有一个状态指示灯，亮灯的颜色有蓝、绿、红三种，分别代表待机、运行、报警。



为保证实验安全顺利的进行，
请将本仪器放置平整的台面上，并
且在前后左右至少有30CM空隙的位
置，以保证本仪器能够正常的散热
进出风。



警告 禁止在仪器底部进风口处
摆放任何纸张、塑料膜及杂物，防
止异物吸入对风扇、散热器造成永
久性损伤，以及通风不畅导致模块部件的过热造成仪器损坏。



警告 禁止在仪器左右、背部出风口摆放任何遮挡物件，由此引起的通风不畅
可能致使仪器过热造成永久性损坏。



注意 请不要在仪器四周出风口附近放置易燃易爆、对热敏感的物件，以防
止仪器吹出的热风对物件的损伤或造成重大事故。

第三章 仪器说明及性能指标

仪器说明

【产品名称】

实时荧光定量PCR 仪。

【产品型号】

CG-02 型

CG-05 型

【结构组成】

产品由电源模块、控制模块、驱动模块、热盖模块、样品座模块、相机模块、光源模块、光纤模块组成。

【适用范围】

用于聚合酶链式反应。

仪器性能指标

产品名称:	实时荧光定量PCR仪	
产品型号:	CG-02	CG-05
支持系统:	Windows XP/VISTA/Windows 7等	
位数:	32/64	32/64
最低配置内存:	512M	512M
显卡:	256MB	256MB
CPU:	Pentium IV 1.6GHZ及以上	
外形尺寸:	590mm(L)*442mm(W)*285mm(H)	
重量:	28.5kg	28.7kg
接口方式:	LAN WIFI	LAN WIFI
输入电源:	AC220V 50HZ/60HZ	
输入功率:	1000VA	1000VA
熔断器:	AC250V 10A	AC250V 10A
样本容量:	96孔x 0.2ml	96孔x 0.2ml
光源:	超强亮度单色LED	超强亮度单色LED
检测器:	高灵敏度冷冻CCD	高灵敏度冷冻CCD
检测动态范围:	10^0-10^{10}	10^0-10^{10}
最小检测模板:	单个拷贝	单个拷贝
反应容积:	15 μ l-100 μ l	15 μ l-100 μ l
荧光激发波长:	470nm-525nm	470nm-612nm
荧光检测波长:	525nm-571nm	525nm-678nm
检测的荧光素及染料:	通道1: FAM、SYBR 通道2: VIC、HEX、JOE、TET、TAMRA	通道1: FAM、SYBR 通道2: VIC、HEX、JOE、TET、TAMRA 通道3: ROX、TEXRAD 通道4: CY5 通道5: 为用户预留
温度范围:	0 $^{\circ}$ C—100 $^{\circ}$ C	0 $^{\circ}$ C—100 $^{\circ}$ C
升温速率:	$\geq 5^{\circ}$ C/s (45 $^{\circ}$ C—99 $^{\circ}$ C)	$\geq 5^{\circ}$ C/s (45 $^{\circ}$ C—99 $^{\circ}$ C)

降温速率:	≥5°C/s (45°C—99°C)	≥5°C/s (45°C—99°C)
温控均匀性:	95°C恒定10s:±0.4°C 55°C恒定10s:±0.2°C	95°C恒定10s:±0.4°C 55°C恒定10s:±0.2°C
温度精确度:	≤±0.1°C (45°C≤T≤95°C)	≤±0.1°C (45°C≤T≤95°C)
梯度温度宽度:	1°C—30°C	1°C—30°C
梯度温度范围:	30°C—100°C	30°C—100°C
热盖温度范围:	(Rt +2°C) —110°C	(Rt +2°C) —110°C
温控方式:	半导体热电模块	半导体热电模块
温控编程:	最大支持999个循环数	最大支持999个循环数
特色功能:	阈值分析 熔解曲线分析 梯度 用户自定义参数等	

仪器工作环境及贮存条件

仪器工作环境	环境温度	10°C—30°C
	相对湿度	< 70%
仪器贮存条件	环境温度	-20°C—55°C
	相对湿度	< 80%



注意 为了确保仪器的正常使用及试验结果的精确性，请务必在规定的工作条件及贮存条件下运行或保存仪器。否则有可能损坏仪器甚至对操作者造成人身伤害。

第四章 软件的使用与安装

安装须知

安装准备

准备项目：仪器、电脑、各类连接线等

安装环境

注意：请选用正版windows XP/VISTA/7/10；否则将会出现兼容性的错误；在安装时请关闭电脑中的各类杀毒软件，防止其出现误报（若出现误报请忽略）；请关闭电脑自带的防火墙。

安装注意

注意：为避免安装过程中出现错误导致安装失败，也为了使安装更加方便简洁，请根据以下步骤进行安装。

开始之前


注意：在开始安装本软件之前，请先正确设置电脑，否则将会导致实验运行时中断，使数据丢失。

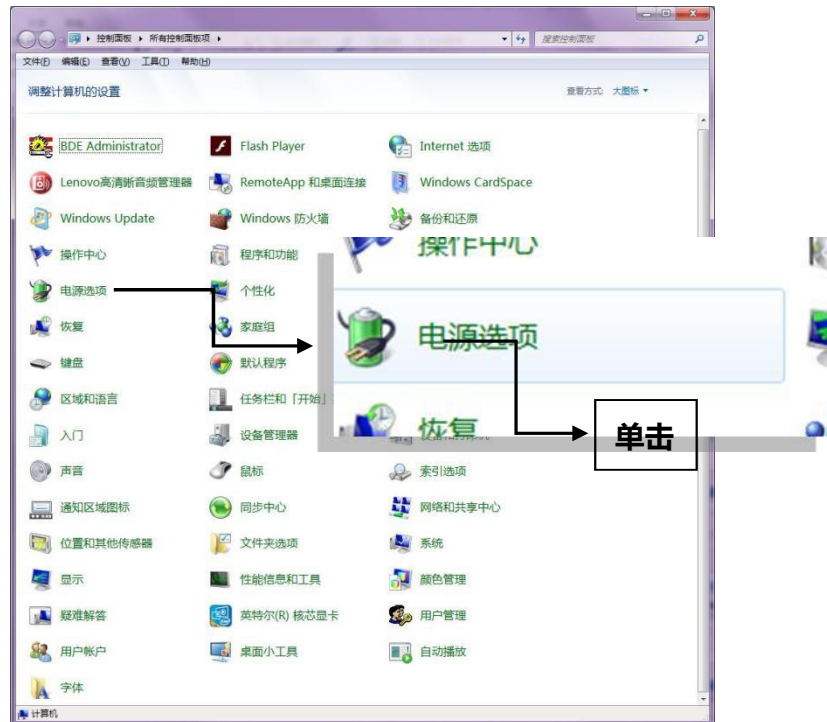
注意：请将本软件安装在非系统盘。

注意：计算机与仪器的连接方式，只能选择有线或者无线的一种。

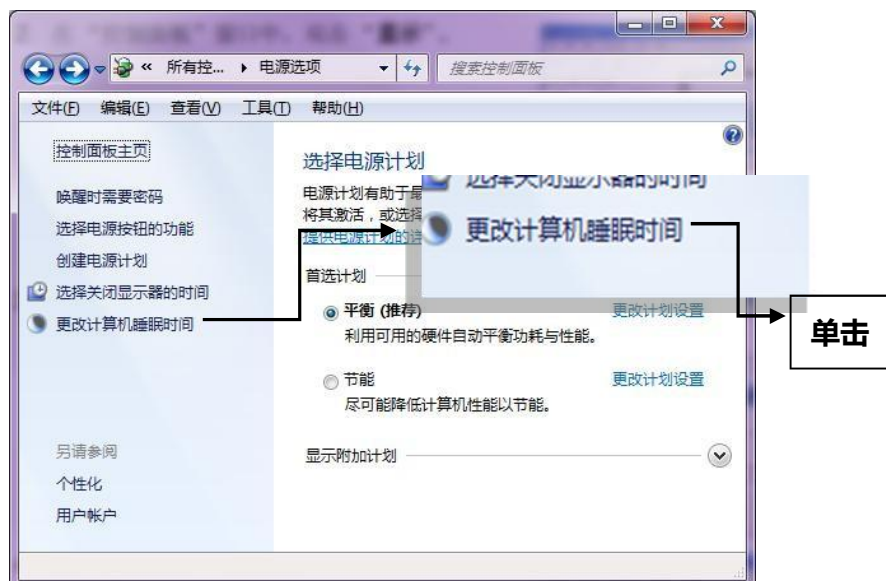
设置电脑(Win 7 为例)

设置显示设置:

- 1 选择  (开始按钮) 中的 “控制面板”
- 2.在打开的控制面板中选择 “电源选项”

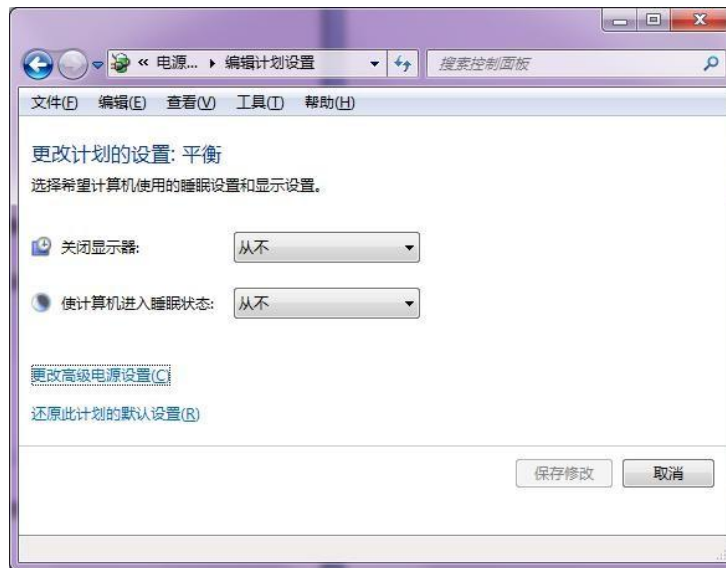


- 3.在打开的对话框中选择 “更改计算机睡眠时间”



4.弹出对话框中“关闭显示器”选择“从不”

“使计算机进入睡眠状态”选择“从不”



5.返回“3”所在对话框，点击“个性化按钮”



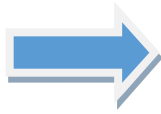
6. 点击右下角的“屏幕保护程序”



7. 弹出如下对话框，把下拉框中的选项设置为“无”



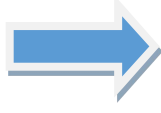
开始安装



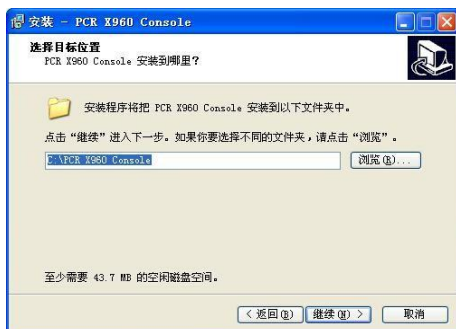
步骤 1: 从随机的U 盘获取此文件;



步骤 2: 双击该安装软件, 并选择合适的安装语言。



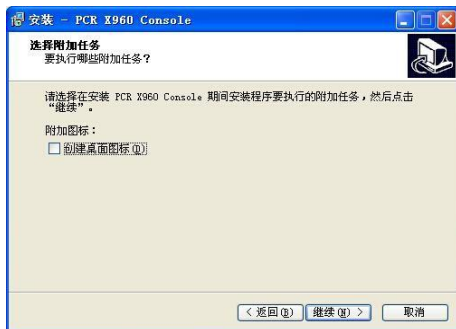
步骤 3: 阅读安装前的提示



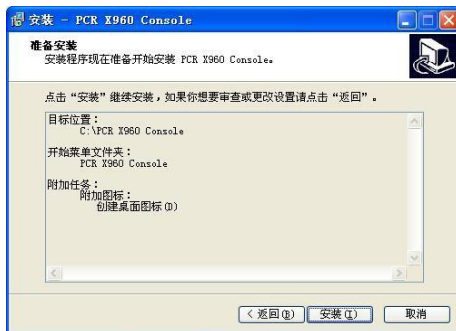
步骤 4: 选择安装的位置



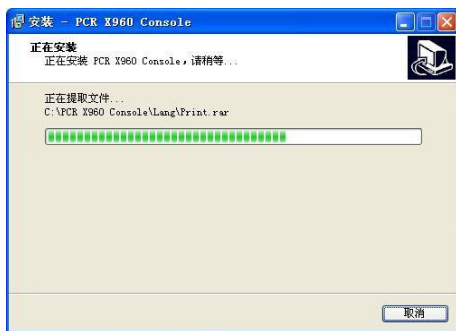
步骤 5: 选择开始菜单创建的文件夹名称。



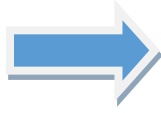
步骤 6: 选择是否创建桌面图标。



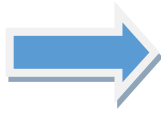
步骤 7: 确定安装前的选择信息



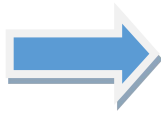
步骤 8: 安装软件



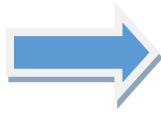
步骤 9: 完成安装向导, 确认是否运行X960 软件, 此处选择勾选, 并点击完成



步骤 10: 打开X960 界面



步骤 11: 点击是, 自动连接;



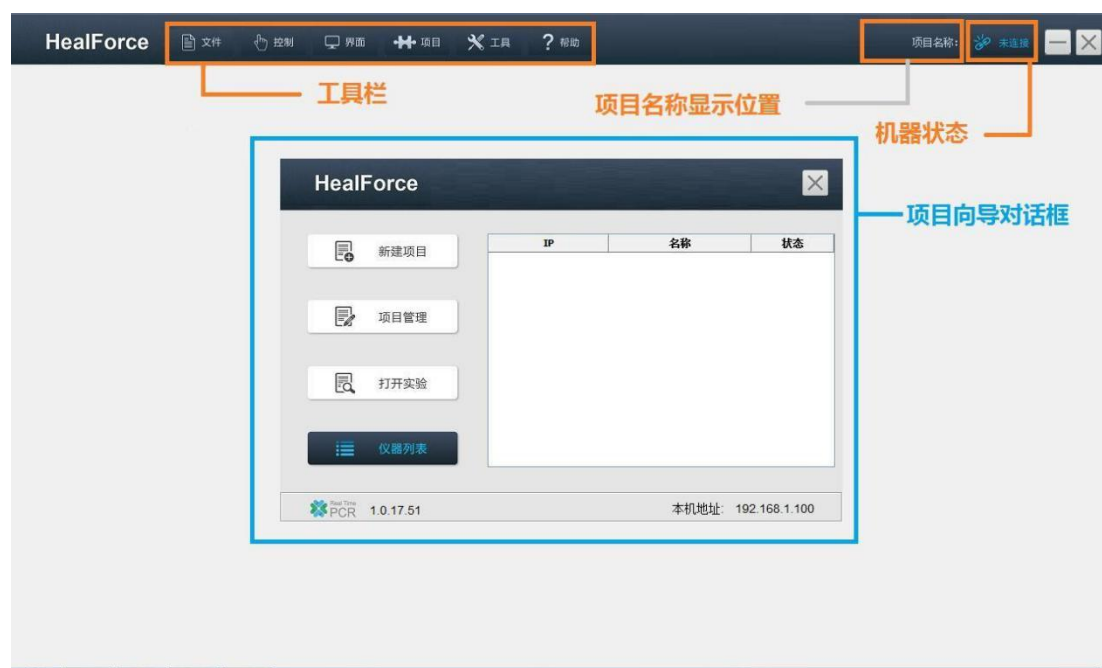
步骤 12: 如果出现没有机器可连接, 确定机器是否开启, 网络是否通畅, 是否有其他电脑连接机器等情况。



注意 若不能正常连接, 请检查电脑与仪器之间的连接是否畅通, 若畅通请关闭杀毒软件重新上电仪器, 在“滴”声之后, 尝试连接, 若还是无法连接, 请联系经销商解决。

界面介绍

界面预览：



工具栏--文件：

实验加载：加载已经完成的实验文件用于显示和分析

实验导出：导出已经完成的实验用于数据留存

项目加载：加载已经编辑完成的项目文件用于开始实验

项目导出：保存软件已经加载的项目文件用于数据留存

导入标准曲线：导入相同情况的标准曲线用于分析

运行日志：显示软件已经运行的项目

打印：打印一些用户需要的信息

患者信息：输入患者信息，用于打印和数据分析。

工具栏--控制:

断开: 断开软件与机器的连接

连接: 手动将软件和机器连接在一起, 需要手动输入机器IP 地址, 一般默认为 “192.168.1.6”

暂停: 将正在运行的项目暂停, 只能暂停 5 分钟

停止: 将正在运行的项目停止。

运行: 1、如果机器处于暂停状态, 重新恢复运行被暂停的项目

2、如果机器处于空闲状态, 选择需要的项目运行

工具栏--界面:

监控: 将软件切换到实时监控界面

分析: 将软件切换到后续分析界面, 注意, 只有当加载了实验文件后, 切换到分析界面才有意义

工具栏--项目:

修改参数: 当软件加载一个实验后, 当该实验文件的设置不符合心理预期的结果时, 可以在该选项对项目设置进行修改。当项目修改完成后, 实时生效。只有软件已经加载实验后, 修改参数才有意义

项目向导: 呼出项目向导对话框

工具栏--工具:

TM 计算器: 呼出TM 计算器

梯度计算器: 呼出梯度计算器

中英文切换: 切换中英文显示

工具栏--帮助:

说明书: 在软件内部打开说明书。

项目向导界面：



新建项目： 用于新建一个用于实验的项目文件

项目管理： 打开项目文件列表，管理已经存在项目文件，用于直接运行或者修改

打开实验： 打开实验文件列表，管理已经存在实验文件，用于直接加载或者删除

仪器列表： 打开仪器列表，对已经由软件搜索到的仪器进行，用户直接连接或修改名称 软

件版本号： 显示当前软件版本号

本机地址： 显示电脑的IP 地址

新建项目--基本设置



项目设置-基本设置

项目名称 2018-03-28-13-23-52-qPCR

创建人 审核人

密码 确认密码

实验结果路径 C:\PCR X960 Console\Data

项目文件路径 C:\PCR X960 Console\Data

实验类型: 绝对定量 / 相对定量 + 熔解曲线

FAM HEX ROX CY5 ORDER

交叉干扰 通用设置 → 下一步 × 取消

项目名称：用于该项目保存的名称

创建人：用于输入该项目的创建人，按回车键可将该创建人保存，此项可为空

审核人：用于输入该项目的审核人，按回车键可将该审核人保存，此项可为空

密码：用于操作该项目的密码

确认密码：与密码配合使用，对密码的再一次确认

实验结果路径：用于设置实验结果自动保存的路径

项目文件路径：用于设置项目文件保存的路径

实验类型：选择本次实验的实验类型

通道选择：选择本次实验需要的通道，至少选择一个通道

交叉干扰：呼出交叉干扰设置界面，用于多通道实验的相互之间的干扰的补偿

项目名称 2018-03-28-13-23-52-qPCR

创建人 [] 审核人 []

密码 [] 确认密码 []

实验结果路径 C:\PCR X960 Console\Data

项目文件路径 C:\PCR X960 Console\Data

实验类型: 绝对定量 / 相对定量 + 熔解曲线

FAM HEX ROX CY5 ORDER

	FAM	HEX	ROX	CY5	ORDER
FAM	0	0	0	0	0
HEX	0	0	0	0	0
ROX	0	0	0	0	0
CY5	0	0	0	0	0
ORDER	0	0	0	0	0

交叉干扰 通用设置 下一步 取消

通用设置：呼出通用设置设置界面，设置一些最基本的设置。

项目名称 2018-03-28-13-23-52-qPCR

创建人 [] 审核人 []

密码 [] 确认密码 []

实验结果路径 C:\PCR X960 Console\Data

项目文件路径 C:\PCR X960 Console\Data

实验类型: 绝对定量 / 相对定量 + 熔解曲线

FAM HEX ROX CY5 ORDER

热盖方式

- 热盖关闭
- 开机时启动热盖
- 热盖与程序同步启动
- 热盖达到设定值后启动程序

热盖(°C): 105 (20-110)

温控方式

- 样品座温控方式
- 模拟管温控方式

提示音

- 报警提示音
- 程序结束提示音
- 温度到达时提示音

交叉干扰 通用设置 下一步 取消



导入：导入已经保存的样本设置信息

导出：导出本次已经编辑好的样本信息，用于下一次的实验

标准：已知浓度的样本类型，将某孔位标定为标准类型后，需要配合样本浓度一起使用

阴性：阴性对照类型

阳性：阳性对照类型

未知：未知浓度的样品类型

空白：空白对照类型，一般使用水作为对照

未用：该孔位未放置样本

样本浓度：对标准品设置样本浓度

浓度倍数，递增，递减：用于一行或一系列的标准样品呈梯度排列时，快速的对孔位进

新建项目--样本设置

基因名称：用于标识该孔位的项目名称

样本名称：用于标识该孔位的样本名称

管家基因：标识本次试验的管家基因

标准样本：标识本次实验的对照组的标准样本

项目分组：用于区分不同的项目组



导入：导入已经保存的程序设置文件

导出：导出本次编辑的程序设置文件

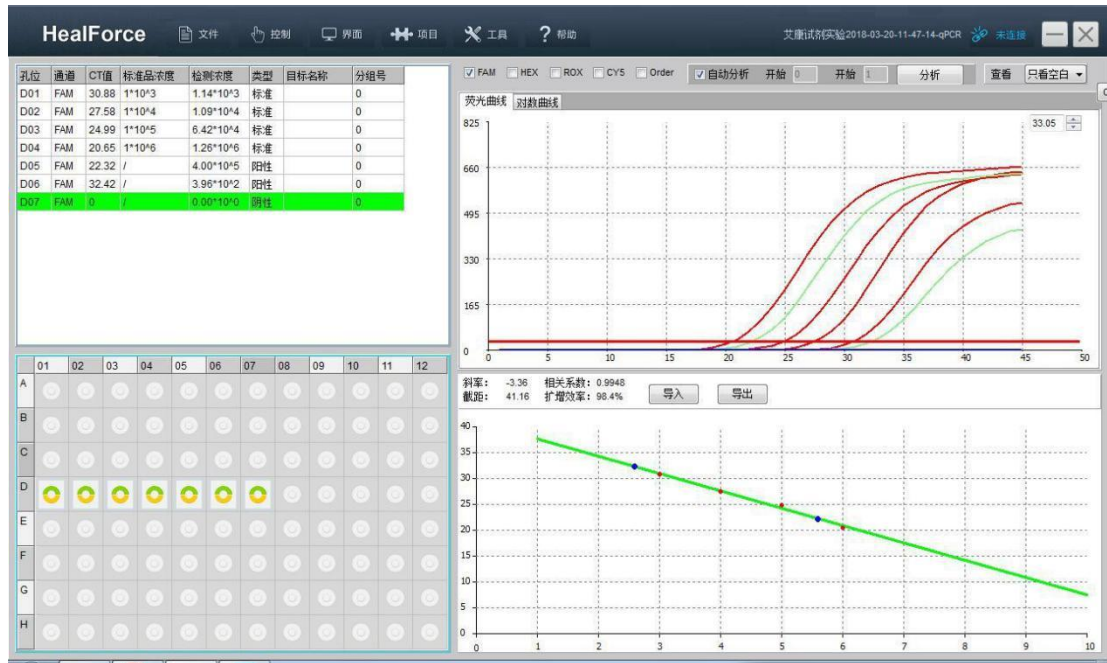
低温保存：用于实验结束后的低温保存

熔解曲线：用于开启熔解曲线功能

保存：设置结束后，需要对项目文件进行保存

运行：如果已经连接了机器，并且机器处于空闲状态，那么在保存好后，可以直接运行

分析界面 新建项目--样本设置



简要说明

实验结束后，用于对实验结果进行分析，包括“基线设置”、“阈值分析”、“分析结果”、“熔解度曲线”、“定量分析”等。

第五章 实验的简介与说明

软件连接仪器



步骤一：将机器通电，并使用有线或无线的方式使电脑和机器连接，当听到“滴”的一声后，打开软件，将看到以下的提示信息，如果不是，请在仪器列表右键刷新



步骤二：点击“是”按钮直接连接，或者在工具栏中手动连接



注意 为了使您更加方便地使用本软件，您可查看以上全局说明图中红色箭头指示

新建项目文件



在打开的项目向导对话框中，
点击新建项目



进入基本设置编辑栏。选择并
输入好本次项目的基本设置
后，点击下一步。



项目设置-样本设置

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												



根据实验要求，对需要用到
的孔位进行选择并进行标
定，现在孔位选择部分标定
需要标定的孔位，每一种实
验类型都需要标定



导入 导出

标准	阴性	阳性
未知	空白	未用

样本浓度 1.0 * 10¹

浓度倍数 10.0 递增 递减

目标名称



如果是绝对定量实验，必须
对孔位进行标识，否则做不
出标准曲线，至少有三个以
上成梯度的标准品。可导入
已存在的孔位设置文件。浓
度倍数，递增，递减可帮助
快速标定同行或同列多个呈
梯度的标准品



孔位标记

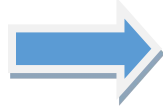
基因名称

样本名称

项目分组

项目组一 项目组三 项目组五

项目组二 项目组四 项目组六



如果是相对定量实验，需要将每个需要用的孔位的基因名称和样本名称标识。并且标定整个实验的管家基因和参照样本。



如果需要，可标定不同项目组以示区别

标定完成后，点击下一步



孔位标记

基因名称

样本名称

项目分组

项目组一 项目组三 项目组五

项目组二 项目组四 项目组六



项目设置-程序设置

导入 导出

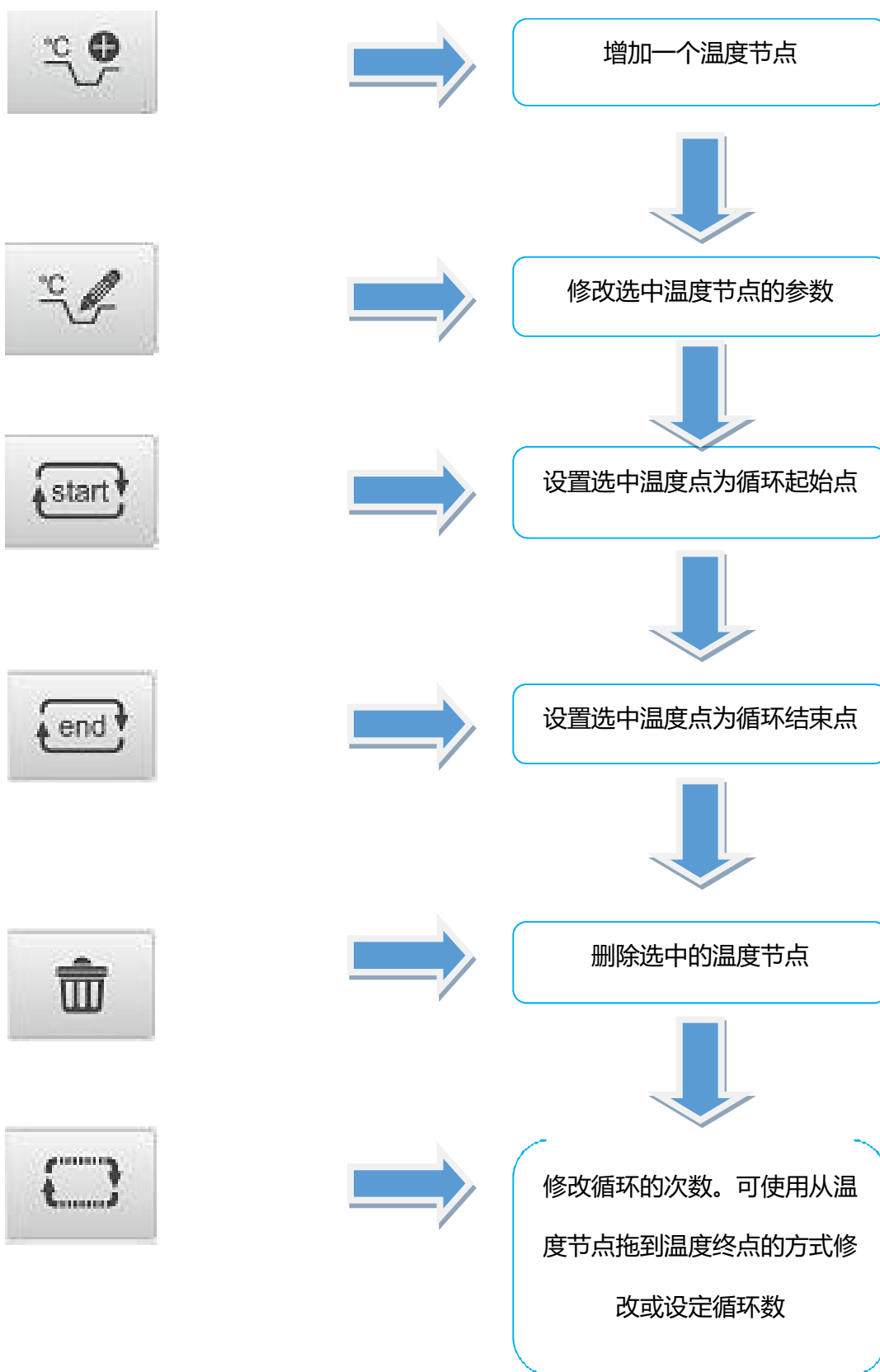
低温保存
 禁用 启用
 保存温度 °C

熔解曲线实验
 默认 自定义

开始温度 °C 时间 S
 结束温度 °C 时间 S
 保存温度 °C 时间 S
 拍照频率 °C

← 上一步 保存 取消 运行

各按钮功能简介:



温度编辑

温度(°C):	<input type="text" value="55"/>	(0~99.9°C)
时间(S):	<input type="text" value="45"/>	
温度变化(°C):	<input type="text" value="0"/>	(-9.9~9.9°C)
梯度宽度(°C): ±	<input type="text" value="0"/>	(0~15°C) 
时间变化(S):	<input type="text" value="0"/>	
升温速率(°C/S):	<input type="text" value="0"/>	0: 最大速率
降温速率(°C/S):	<input type="text" value="0"/>	0: 最大速率

采集荧光 结尾添加

温度：温度节点的设置温度

时间：温度节点的持续时间

温度变化：可增加每个循环的温度变化情况，温度变化将在每个循环对该温度节点体现

梯度宽度：可使用模块梯度，整个模块温度以梯度的形式散布。

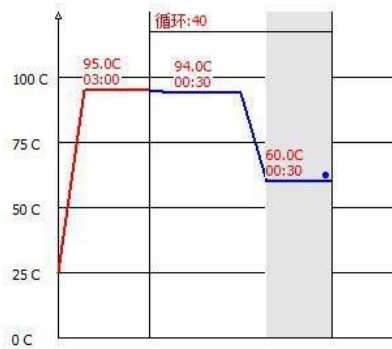
时间变化：可增加每个循环的时间变化情况，时间变化将在每个循环对该温度节点体现

升温速率：可修改升温速率，默认最快速

降温速率：可修改降温速率，默认最快速

采集荧光：标记在该温度点采集荧光，一次实验只能有一个温度节点采集荧光，请配合试剂说明书设置

结尾添加：勾选后，该温度节点将会增加在整个程序的最后面



创建或修改好的温控程序。小蓝点表示在该温度节点最后获取试剂中的荧光强度



导入已有的温控程序或导出已经编译好的温控程序

低温保存

禁用 启用

保存温度 °C

设置是否进行低温保存以及低温保存的温度，默认禁用

熔解曲线实验

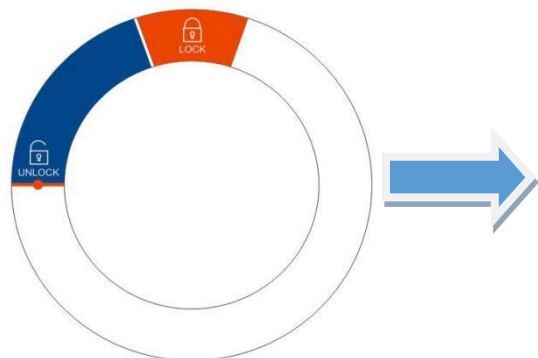
默认 自定义

开始温度	<input type="text" value="65"/> °C	时间	<input type="text" value="30"/> S
结束温度	<input type="text" value="95"/> °C	时间	<input type="text" value="30"/> S
保存温度	<input type="text" value="40"/> °C	时间	<input type="text" value="30"/> S
拍照频率	<input type="text" value="0.5"/> °C		

熔解度设置：推荐使用默认参数，可以打开或关闭熔解度实验的选项，在自定义的状态下可对熔解度实验进行设置。保

具体实验步骤

放置试剂

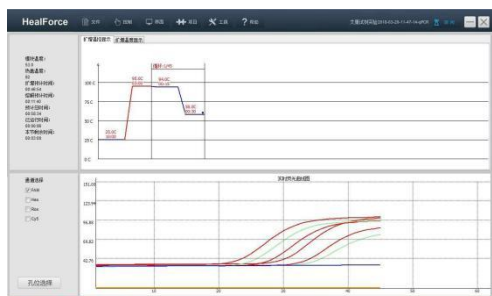


首先将旋钮刻度指示对准UNLOCK点时，向后滑动热盖，把待检测样本试剂放入96孔仪器模块中，再将热盖向前滑动关闭，然后顺时针旋转旋钮，旋钮旋转到合适位置，可运行程序进行试验。建议旋钮刻度对准LOCK区域。

实时荧光定量PCR 的特点

- ✦ 特异：荧光定量 PCR 具有引物和探针的双重特异性，故与传统的 PCR 相比，特异性大为提高。
- ✦ 敏感：荧光定量 PCR 的敏感度通常达 10^2 拷贝 / ml，对数期分析，线性范围很宽，为 $0-10^{11}$ 拷贝 / ml。一般来讲临床标本中病原体的数目为 $0-10^{10}$ / 拷贝，在此范围内荧光定量 PCR 定量较为准确，标本不需稀释。
- ✦ 重复：荧光定量 PCR 结果相当稳定。因为阈值设置在指数扩增期。在此阶段，各反应组分浓度相对稳定，没有副作用，CT 与荧光信号的对数呈线性关系。与终点法相比 CT 值能更稳定，更精确地反映起始模板的拷贝数。
- ✦ 安全：无 PCR 后续操作步骤，降低产物污染的风险性。

运行程序



模块温度:
30.7
热盖温度:
40
扩增预计时间:
00:46:54
熔解预计时间:
00:11:40
预计总时间:
00:58:34
已运行时间:
00:00:00
本节剩余时间:
00:03:00



运行项目文件有两种方式:

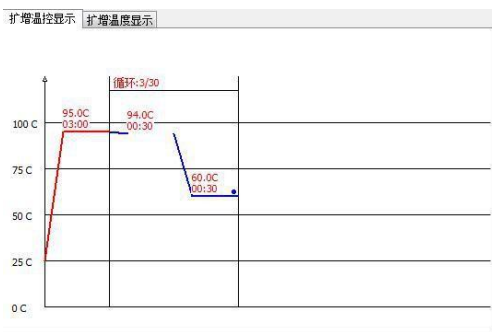
- 1、点击控制--运行，运行保存在文件夹中的项目文件。
- 2、在项目向导中，选中项目管理，再选中要运行的程序，右键点击，选择运行。



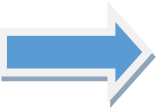
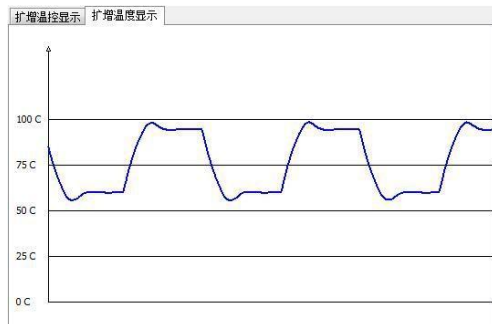
开始运行后，该软件模块会显示模块的信息，热盖的信息及预计的时间

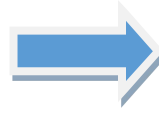
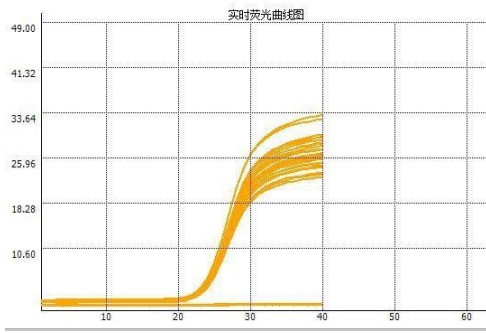


开始运行后，该软件模块会显示正在扩增的项目的温度运行情况



开始运行后，该软件模块会显示正在扩增的项目的温度运行曲线

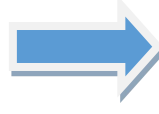
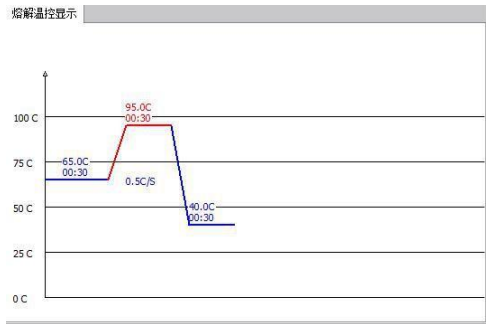




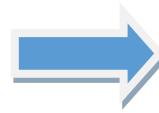
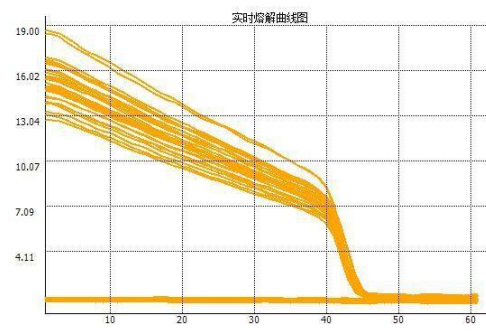
开始运行后，该软件模块会显示正在扩增的项目的荧光变化



当项目中包含溶解曲线的功能使，该软件模块会显示正在溶解的温度变化



当项目中包含溶解曲线的功能时，该软件模块会显示正在溶解的荧光变化



根据需要，可以对通道和孔位进行选择性的查看

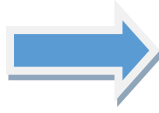
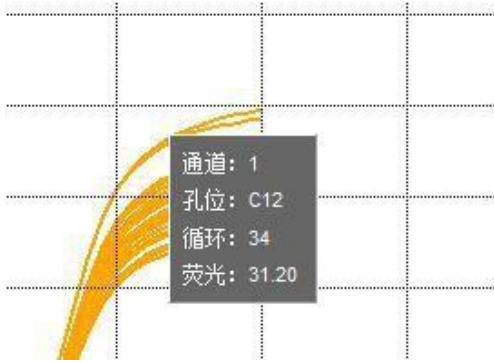


通道选择

- FAM
- Hex
- Rox
- Cy5

孔位选择

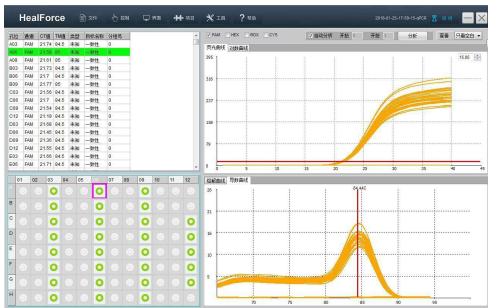




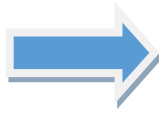
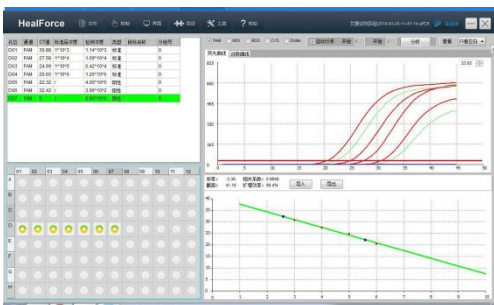
若要观察详细的荧光点的输出数据，可以把光标移至曲线上的点，会弹出详细参数框。



当实验结束后，实验文件会自动保存到项目设置的实验文件保存目录。



实验结果分为普通的只有CT值的实验结果，带标准曲线的绝对定量结果，带柱状图的相对定量结果，带三堆法图的SNP 实验结果，带差分图的HRM 实验结果等



实验分析操作

❖ 荧光定量 PCR 技术的原理和应用

实时荧光定量PCR 技术(Real-Time Quantitative PCR)是指在PCR 反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个PCR 进程，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。



点击 项目—修改参数，选择所放试剂位置，进行标识



在操作过程中，孔位分布图右侧为“试剂参数设置”，根据试剂属性，用户进行手动设置。包括：试剂属性，样本浓度，浓度倍数，通道，基因名称标定，样本名称标定，管家基因设置，标准样本设置等设置。

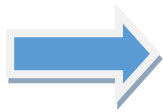
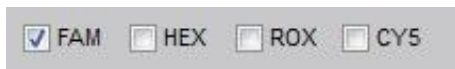


在分析界面对数曲线中，有对数曲线画图，可调整基线的位置，以达到更合适的CT 值



✘ 基线(Baseline)

是指在PCR 扩增反应的最初数个循环里，荧光信号变化不大，接近一条直线，这样的直线即是基线。



在分析界面，可以对不同的通道进行选择；可以有手动设置基线的方式分析，也可以单独查看某一类型的曲线



孔位	通道	CT值	TM值	类型	目标名称	分组号
D03	FAM	21.68	84.5	未知	一致性	0
D06	FAM	21.45	84.5	未知	一致性	0
D09	FAM	21.36	84.5	未知	一致性	0
D12	FAM	21.55	84.5	未知	一致性	0
E03	FAM	21.66	84.5	未知	一致性	0
E06	FAM	21.71	84.5	未知	一致性	0
E09	FAM	21.44	84.5	未知	一致性	0
E12	FAM	21.65	84.5	未知	一致性	0
F03	FAM	21.41	84.5	未知	一致性	0
F06	FAM	21.5	84.5	未知	一致性	0
F09	FAM	21.55	84.5	未知	一致性	0
F12	FAM	21.42	84.5	未知	一致性	0
G03	FAM	21.95	84.5	未知	一致性	0
G06	FAM	21.83	84.5	未知	一致性	0
G09	FAM	21.59	84.5	未知	一致性	0
G12	FAM	0	0	未知	一致性	0

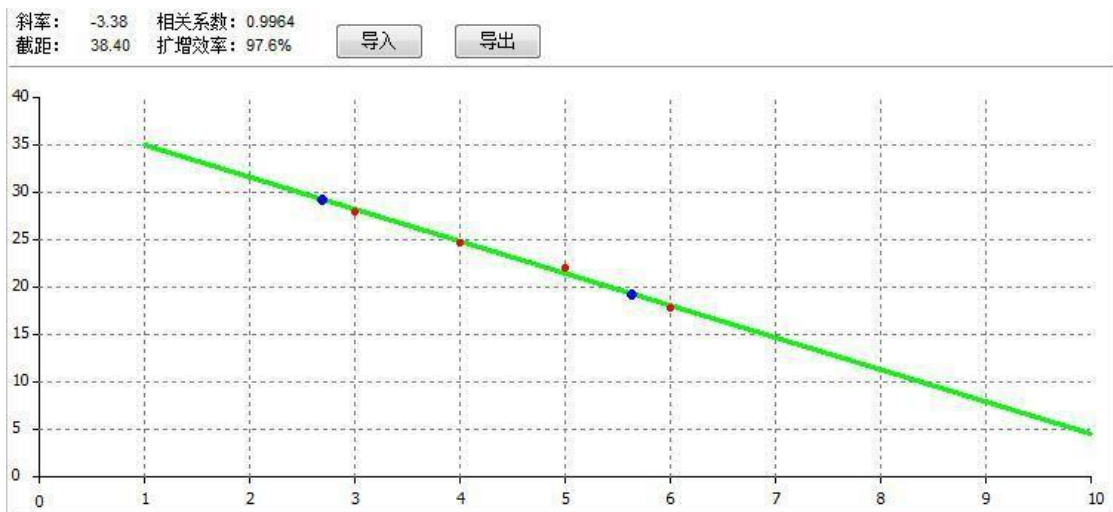
在该表格中可查看某一曲线的
CT 值, TM 值等实验
结果信息

✦ CT 值

表示每个PCR 反应管内荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数。研究表明, 各模板的CT 值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系, 起始拷贝数越多。CT 值越小, 反之亦然。利用已知起始拷贝数的标准品可作出标准曲线。其中横坐标代表起始拷贝数的对数, 纵坐标代表CT 值。因此, 只要获得未知样品的CT 值, 即可从标准曲线上计算出该样品的起始拷贝数。

✦ 荧光域值(Threshold)的设置

一般将PCR 反应前 15 个循环的荧光信号作为荧光本底信号, 荧光域值是PCR 3-15 个循环荧光信号标准差的 10 倍, 荧光域值设定在PCR 扩增的指数期。



绝对定量分析--标准曲线：当实验分析中存在标准品，并为这些标准品设置了正确的浓度，并且浓度存在三个或以上梯度时，可以做绝对定量分析。

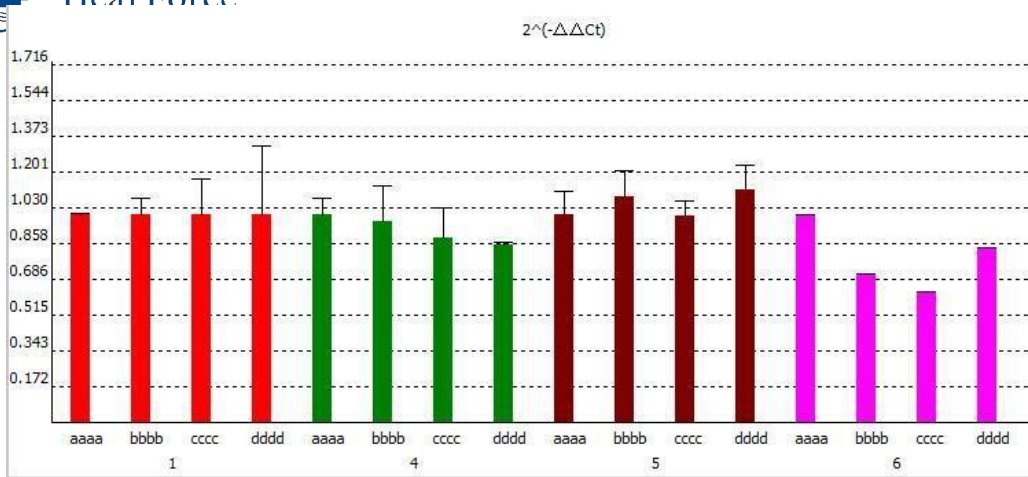
可在该界面对标准曲线进行导入导出操作。

与标准曲线相关的参数

- ✦ 实时荧光定量 PCR 实验中绝对定量实验需要标准样品。生成标准曲线的样品可以是质粒。

- ✦ 标准样品分子量的确定：DNA 样品 OD260 值为 1 时浓度为 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ，质粒样品浓度的计算如下：

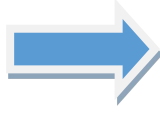
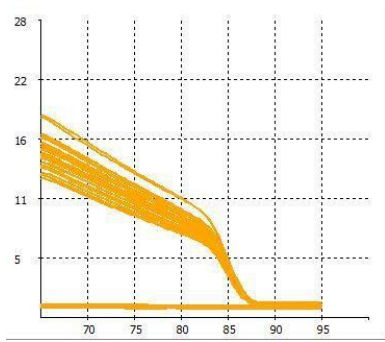
质粒样品浓度($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)= OD260 值 \times 核酸稀释倍数 \times 50/1000。



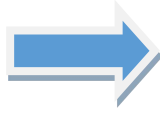
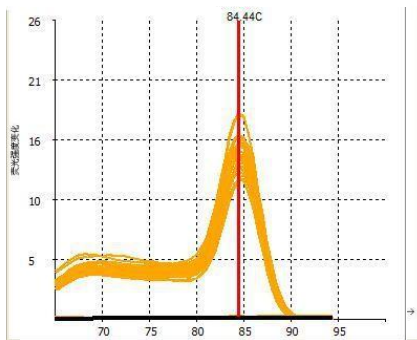
相对定量分析-- $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 分析法：做为最经典的相对定量分析方法，多用于实验报告或实验结果的发布。当实验分析中设置了基因名称和样本名称，并设置了管家基因和标准样本时，可以做相对定量分析

对相对定量实验的说明

- ✦ 实时荧光定量 PCR 实验中相对定量实验时需要标定基因的名称和样本的名称，并需要标注管家基因和标准样本。在实验室实验中，多采用此方法进行最后的实验分析。
- ✦ 如果需要做误差分析，那么在上面的基础上，需要对每个基因和样本做重复实验。

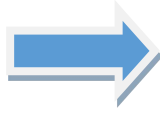


熔解度分析绝对光强：当该次实验存在熔解度实验时，软件会画出本次熔解度实验的绝对光强，实验人员可以直观的看到在实验过程荧光强度的变化



熔解度分析相对光强：由以上的绝对光强计算所得，可以一目了然的看到在熔解度实验的过程中，荧光值变化的趋势。图中红线方便实验人员定位荧光强度变化最剧烈的温度点

孔位	通道	CT值	TM值	类型	目标名称	分组号
D03	FAM	21.58	84.5	未知	一致性	0
D06	FAM	21.45	84.5	未知	一致性	0
D09	FAM	21.36	84.5	未知	一致性	0
D12	FAM	21.55	84.5	未知	一致性	0
E03	FAM	21.66	84.5	未知	一致性	0
E06	FAM	21.71	84.5	未知	一致性	0
E09	FAM	21.44	84.5	未知	一致性	0
E12	FAM	21.65	84.5	未知	一致性	0
F03	FAM	21.41	84.5	未知	一致性	0
F06	FAM	21.5	84.5	未知	一致性	0
F09	FAM	21.55	84.5	未知	一致性	0
F12	FAM	21.42	84.5	未知	一致性	0
G03	FAM	21.95	84.5	未知	一致性	0
G06	FAM	21.83	84.5	未知	一致性	0
G09	FAM	21.59	84.5	未知	一致性	0
G12	FAM	0	0	未知	一致性	0



对熔解度实验的信息显示，实验人员可以在此表格中，快速的搜寻每一个孔位对应的具体的TM值。

对熔解度实验的说明

- ✦ 当使用染料法做 QPCR 实验时，一般需要做熔解度实验。概因染料法实验的特异性较差，需做熔解度实验来验证实验中有没有产生引物二聚体等非实验关心的结果。

关于扩增曲线须知

判断扩增曲线是否良好的指标主要有几方面：

- ✦ 曲线拐点清楚，特别是低浓度样本指数期明显。扩增曲线整体平行性好，基线平而无上扬现象，低浓度样本扩增曲线指数期明显。
- ✦ 曲线指数期斜率与扩增效率成正比，斜率越大扩增效率越高。
- ✦ 标准的基线平直或略微下降，无明显的上扬趋势。
- ✦ 各管的扩增曲线平行性好，表明各反应管的扩增效率相近。

实验注意事项

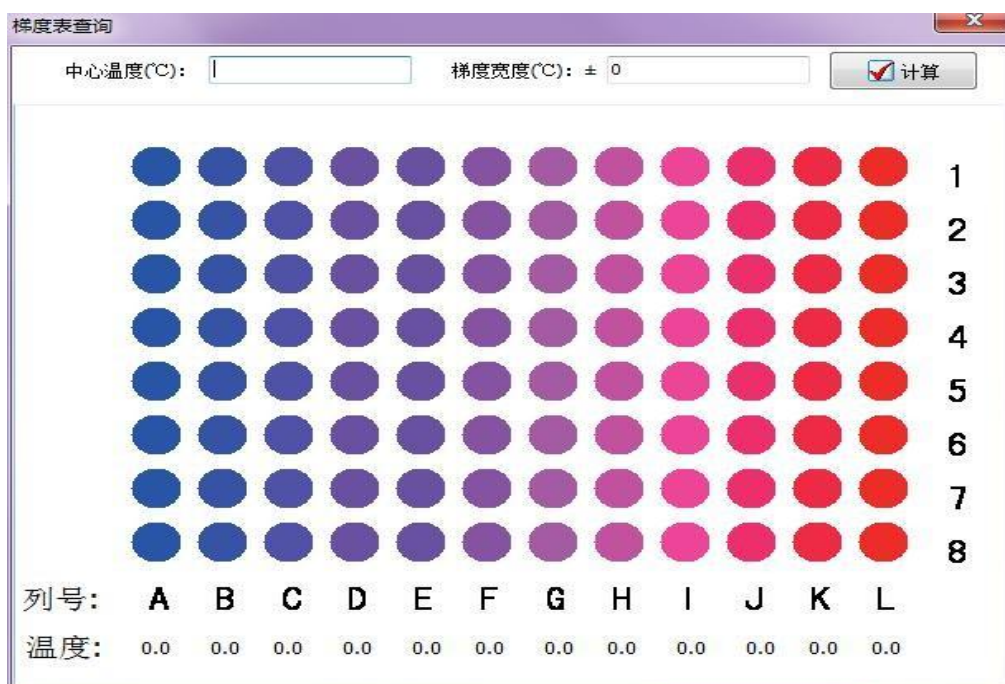
- 有关实验室管理规范请严格按照行业行政主管部门颁布的有关基因扩增检验实验室的管理规范执行。
- 使用不含荧光物质的一次性手套，一次性专用离心管，自卸式移液枪和带滤芯吸头。
- 反应液分装是应尽量避免产生气泡，上机前注意检查各反应管是否盖紧，以免荧光物质泄漏污染仪器。
- 加样时应使样品完全加入反应液中，不应有样品粘附于管壁上，加样后应尽快盖紧管盖。
- 扩增完毕请立即取出反应管，密闭在专用塑料袋中，放于指定地点，等待

统一处理。

- 实验中用过的吸头请直接打入盛有 1%的次氯酸钠的废物缸内，并与其他废弃物品一同灭菌后丢弃。
- 工作台及各实验用品应定期用 1%的次氯酸钠、75%酒精或紫外灯进行消毒。
- PCR 反应混合液应避光低温保存。
- 为避免污染，每次实验完后立即清洁工作台。

第六章 其他功能介绍

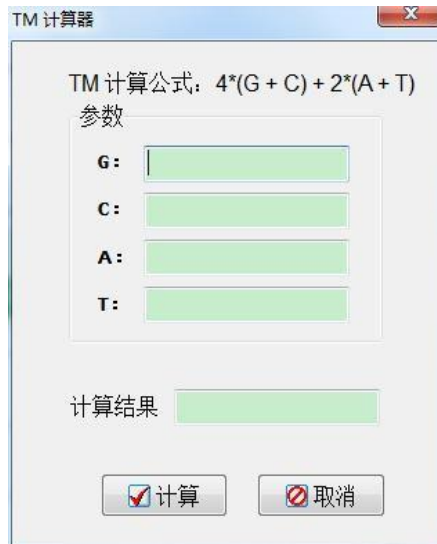
梯度计算查询功能



✦ 关于梯度功能

在“主菜单”界面里点击“梯度”，可进入“梯度查看”界面。为了方便用户，软件提供了梯度表供用户查询，分别输入中心温度和梯度宽度，软件会自动计算每列的具体温度值，为实验的准确完成提供了帮助

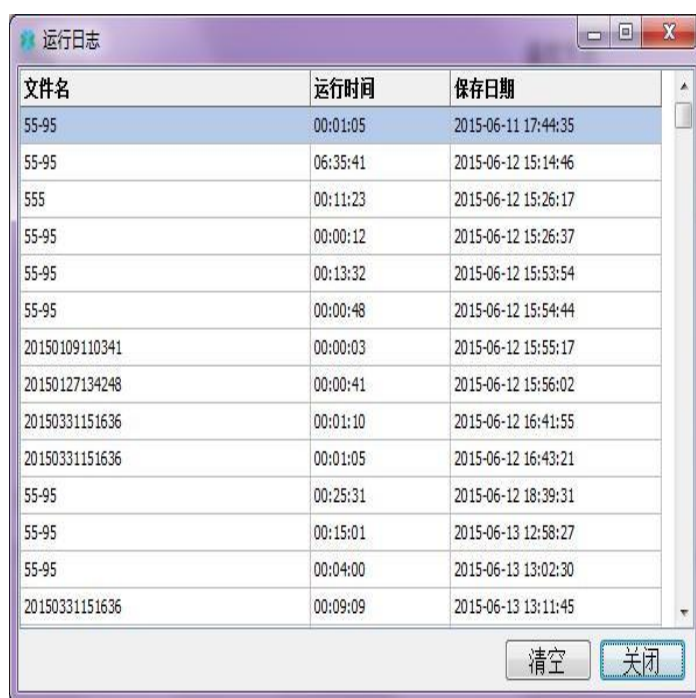
TM 值辅助计算工具



关于TM 值计算功能

- ✦ 在“主菜单”界面里点击“TM”，进入“TM 计算”界面。输入相应的数值点击计算即可出现结果
- ✦ 程序内嵌了 TM 值计算器，在用户需要用到时根据以上操作能较为方便的提供给用户

日志自动记录及查询



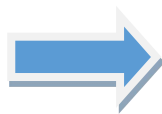
文件名	运行时间	保存日期
55-95	00:01:05	2015-06-11 17:44:35
55-95	06:35:41	2015-06-12 15:14:46
555	00:11:23	2015-06-12 15:26:17
55-95	00:00:12	2015-06-12 15:26:37
55-95	00:13:32	2015-06-12 15:53:54
55-95	00:00:48	2015-06-12 15:54:44
20150109110341	00:00:03	2015-06-12 15:55:17
20150127134248	00:00:41	2015-06-12 15:56:02
20150331151636	00:01:10	2015-06-12 16:41:55
20150331151636	00:01:05	2015-06-12 16:43:21
55-95	00:25:31	2015-06-12 18:39:31
55-95	00:15:01	2015-06-13 12:58:27
55-95	00:04:00	2015-06-13 13:02:30
20150331151636	00:09:09	2015-06-13 13:11:45

关于日志功能

- ✦ 在“主菜单”界面里点击“日志”，进入“日志”界面。可查询实验的历史运行记录
- ✦ 方便用户管理实验运行历史记录，也提供给用户查询之前是否做过此实验等

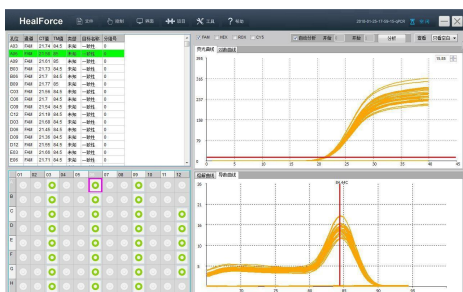
其余程序内部操作性功能

中-英文切换按钮



点击工具--“中文”或
“English”，进行相应的语言
切换，红色箭头所指区域

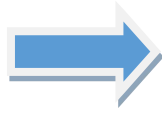
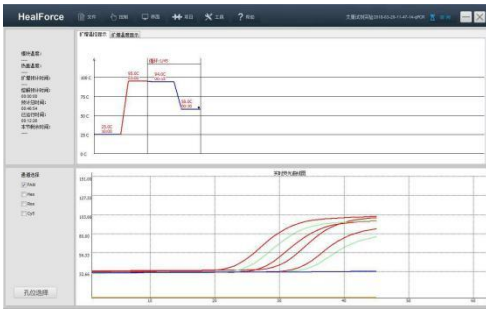
加载实验数据



在“主菜单”界面里点击
“文件-实验加载”



此时弹出对话框，选择之前
保存数据进行加载，格式后
缀一般为jgtest文件



加载完成，此时可对加载数据
进行相关实验分析

实时修改运行参数



在程序运行时，可双击温度
段，弹出对话框“温度编
辑”，然后修改需要变换的
参数



只能双击没有在运行的温
度段的时候，才能进行更
改，否则将会被告知“正
在运行的节点不允许修
改！”

制造商：力康集团—杭州晶格科学

仪器有限公司

地址：浙江省杭州市西湖区西园八

路11号1幢四层401室

电话：(0571)89905515

传真：(0571)89905515 转 802

邮编：310000

Email:shanghai@healforce.com

Web:www.healforce.com