



CFX Real Time PCR system

CFX 即時定量 PCR

中文操作手冊



正茂生物科技有限公司

Genmall Biotechnology Co., Ltd.

TEL : (02) 2731-9969 FAX : (02) 2731-9590

免費諮詢服務及訂貨專線 : 0800-213-029

目錄

目錄	1
CFX Manager軟體操作指南	3
程式編輯器	3
程式編輯器 - 增加一個溫度梯度步驟	4
- 增加 Melt Curve	4
Plate 設置指南	5
- 實驗反應板, plate 設置	5
- 反應板編輯器, Plate edit	6
- 輸入樣品重複次數	6
- 創建一個標準曲線, standard curve	6
- 創建樣品的分群	6
數據分析	7
- 定量分析	7
- 資料瀏覽	7
- 資料分析選項	7
- 圖表選項	7
- 樣品的分群資料流覽	8
- 定量資料分析	8
- 顯示選項	8
基因表達分析	
- 基因表達分析設置	9
- 指定參照基因, Reference gene	9
- 指定對照樣本	9
- 基因表達分析	10
- 選擇分析模式	10

- 圖形選項.10
- 試算表選項.10
-創建報告.11
- 顯示選項.11
- 清潔保養.11
機器相關試劑耗材.12
CFX Manager 軟體進行疑難解答.14
- 通訊錯誤.14
- 查看運行和應用程式日誌.14
- 電源故障選項.14

CFX Manager 軟體操作指南

實驗操作程式設置

左圖顯示實驗設置視窗中一個預覽的程式。

點擊 **Create New**，打開程式編輯器
創建一個新的程式。

點擊 **Select Existing**，通過流覽器載
入一個程式或對其進行編輯。

使用 **Express Load** 下拉功能表直接
載入一個程式或對其進行編輯。

點擊 **Edit Selected**，打開程式編輯器編輯所選程式的各個步驟。

點擊 **Start Run** 開始運行當前載入的程式。



程式編輯器

程式編輯器可用來創建一個新程式或編輯一
個已存在的程式。

1. 在圖形或文本模式下選擇任何需要編輯的
一步（該步驟會用藍色高亮顯示），點擊溫
度或保持時間進行直接編輯。

2. 點擊 **Insert Step** 在程式中增加一個溫度步
驟。

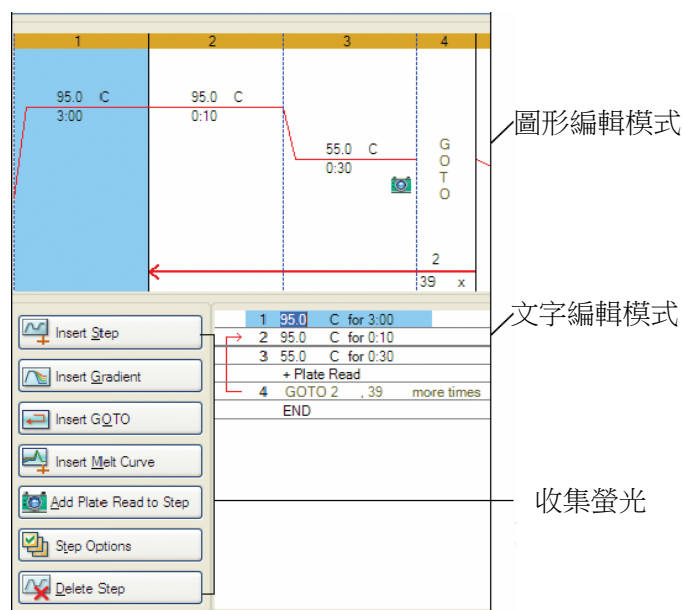
點擊 **Delete Step** 在程式中刪除選中的步
驟。

3. 點擊 **Add Plate Read to Step**，在程式中指

定獲取螢光資料的時間。如果當前的高亮顯示步驟已經進行了讀板設置，則這一選項變
為 **Remove Plate Read**。如果在這一步不想獲取資料，則點擊 **Remove Plate Read**。

4. 點擊 **GOTO** 步驟的重複次數，改變程式中的迴圈次數(第 4 步)。

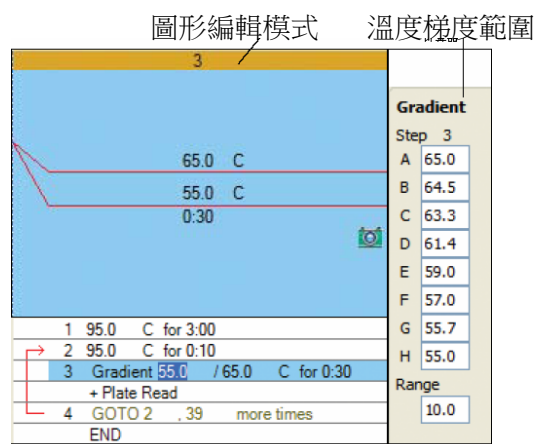
點擊 **GOTO** 步驟數可改變 **GOTO** 迴圈中所包含的步驟。



增加一個溫度梯度步驟

1. 在程式編輯控制視窗中，點擊 **Insert Gradient**。
2. 對梯度中最低和最高溫度值進行編輯，在圖形模式，文本模式下或出現在文本模式右側的溫度範圍計算器中直接點擊數值進行編輯。
3. 在溫度範圍計算器中，對任何一行都可以賦予一個指定的溫度。

每行的溫度都會調整為合適的溫度來滿足指定的溫度範圍。



增加 Melt Curve：

1. 在程式編輯控制視窗中，點擊 **Insert Melt Curve**。
2. 在圖形或文本顯示模式下，點擊溫度值來編輯融解曲線範圍的最低和最高溫度。
3. 點擊增量值來編輯資料獲取的溫度區間。
4. 點擊保持時間編輯每一個增量溫度的保持時間。

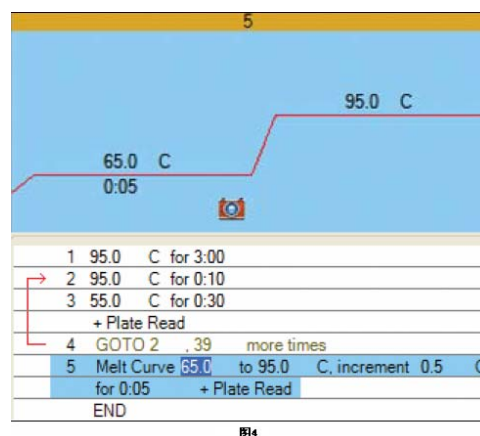
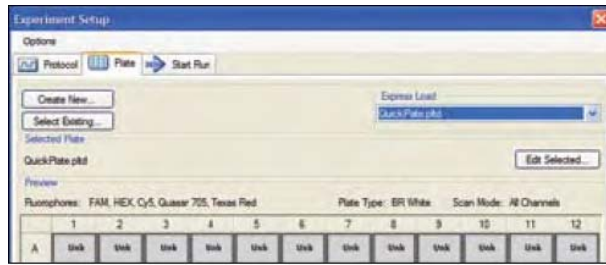


Plate 設置指南

實驗反應板, plate 設置

左圖顯示實驗設置視窗中一個預覽的反應板設置。

點擊 **Create New** 打開反應板編輯器創建一個新的反應板。



點擊 **Select Existing** 通過瀏覽器上載一個反應板檔以在實驗中使用或對其進行編輯。

使用 **Express Load** 下拉功能表直接上載一個反應板檔以在實驗中使用或對其進行編輯。

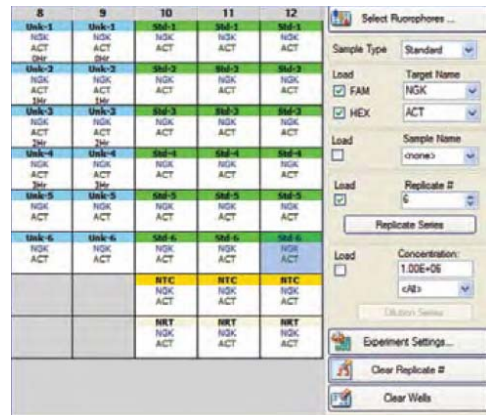
點擊 **Edit Selected** 打開反應板編輯器來編輯所選反應板的孔的內容。

點擊 **Start Run** 用當前上載的反應板開始運行實驗。

反應板編輯器, Plate edit

反應板編輯器可用來創建一個新的反應板或編輯一個已經存在的反應板。

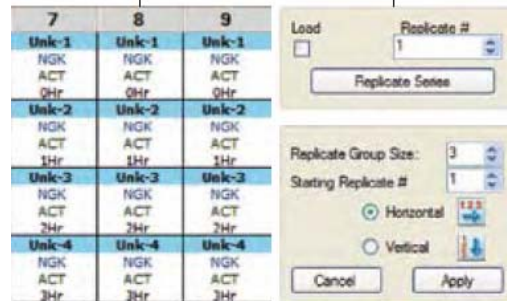
1. 使用 plate 編輯器工具欄 **Scan Mode** 下拉功能表來指定試驗中資料的獲取方式。
2. 點擊 **Select Fluorophores** 選擇在實驗中將使用的螢光。
3. 在反應板圖表中，選擇上樣的孔。
4. 從下拉功能表中選擇 **Sample Type**。
5. 點擊適當的檢查框來上載選定孔的螢光。
6. 對每個螢光輸入 **Target Name**（基因表達分析時需要）並點擊 **Enter**，或從下拉功能表中選擇。
7. 輸入 **Sample Name**（基因表達分析時需要）並點擊 **Enter**，或從下拉功能表中選擇。
8. 如果進行基因表達分析，點擊 **Experiment Settings** 來指定 **target** 和 **reference gene**。



輸入樣品重複次數

指定一系列的樣品重複，可以通過框選相應的樣品並輸入或在反應板編輯器的 Replicate#框中選擇相應的複製數目。另一種方法是通過對一些孔的子集指定複製數：

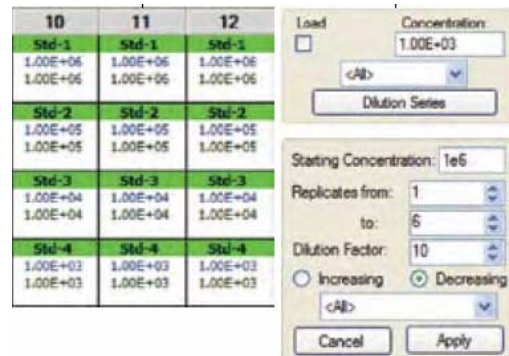
1. 在 plate 圖表中選擇需要設置的樣品，點擊 **Replicate Series**，打開 Replicate Series 編輯創視窗。
2. 輸入 Replicate Group Size 和 Starting Replicate#。
3. 選擇反應板是水平還是垂直的進行上樣。
4. 點擊 **Apply** 確定複製數目。



創建一個標準曲線, standard curve

輸入一個標準品的起始樣品濃度，選擇樣品的 Sample Type/Standard，在反應板編輯控制視窗 Concentration 中輸入數值，指定 All 或特定的螢光素，並點擊 **Load** 檢查窗。另一種方法是輸入整個標準曲線梯度的濃度：

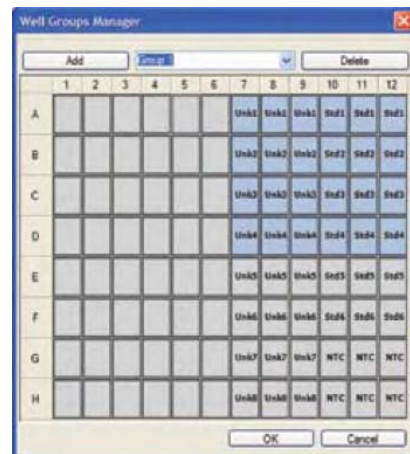
1. 選擇已經被指定複製數目的樣品並點擊 **Dilution Series**，打開稀釋梯度視窗。
2. 輸入梯度稀釋的 Starting Concentration。
3. 輸入稀釋梯度中最初和最後的複製數。
4. 輸入 Dilution Factor 並選擇稀釋是增加還是降低。
5. 點擊 **Apply** 運行稀釋梯度設定。



創建樣品的分群

創建樣品的分群來進行獨立分析。

1. 點擊反應板編輯工具欄中的 **Well Groups**，打開 Well Groups Manager 視窗，圖 5。
2. 點擊 **Add**，創建一個新的分群。
3. 在反應板圖表中，選擇將要組成一組的樣品。
4. 點擊 **OK** 返回 plate 編輯器視窗。



數據分析

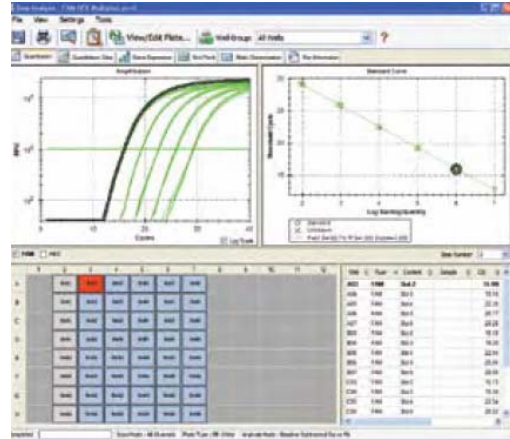
定量分析

資料瀏覽

擴增圖表可以顯示實驗中每個迴圈每個樣品收集的相對螢光信號曲線。

點擊位於擴增圖表下方的螢光檢查窗，選擇需要顯示的螢光資料。

在樣品選擇器中點擊樣品，行或列來顯示所選樣品的螢光資料。選中的孔是藍色的，未選中的樣品是亮灰色的。



若把遊標置於螢光信號曲線上，樣品選擇器中的樣品上，資料試算表的樣品上，或者標準曲線上均可以顯示出相應的資訊。

資料分析選項

CFX Manager 軟體可以自動的扣除從各個孔所得資料的基線。從功能表欄中選擇 **Settings**，選擇 **Baseline Threshold** 可以改變基線範圍。

軟體會自動計算基線的位置。可以點擊並拖動閾值線來手動定位。

點擊工具欄中 **View/Edit Plate** 按鈕來編輯樣品的內容，可以臨時創建新的分群，從分析中增加或刪掉一些孔。

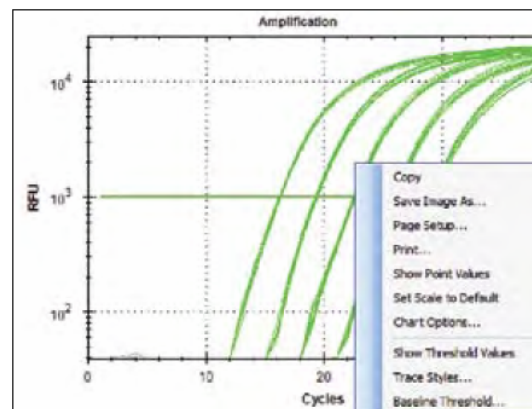


圖表選項

可用滑鼠右鍵點擊任何圖表來複製或保存圖像，或選擇 **Chart Options** 來改變軸範圍或刪除柵格。



點擊工具欄中 **Trace Styles** 按鈕，或滑鼠右鍵點擊任何圖表來設定制定孔的螢光信號曲線顏色。



滑鼠左鍵點擊任何圖表，向下和拖動遊標可以放大圖表。

樣品的分群資料流覽

使用工具欄中 **Select Well Group** 下拉功能表來流覽指定樣品的分群資料。軟體可以針對每個分群作為獨立的實驗來處理，每一個分群可針對自己的設置進行分析，如進行自身標準曲線的分析。



定量資料分析

顯示選項

點擊資料分析視窗中 **Quantitation Data**，流覽資料計算和統計，包括每個樣品的閾值 (C_T) 和平均值以及複製的標準偏差。

點擊任一列的標題進行基於列的行分類。滑鼠右鍵點擊試算表並選擇 **Sort** 可進行基於多個列的排序。

滑鼠左鍵點擊任一列的標題並向左或向右拖動可以重新排列試算表中列的順序。

Well	Fluor	Content	Target	Sample	Threshold Cycle (Ct)	Ct Mean	Ct Std. Dev
A02	FAIR	Std-1		Copy	12.62	12.89	0.091
B02	FAIR	Std-1		Copy as Image	13.62	12.89	0.091
C02	FAIR	Std-1		Paste...	12.85	12.89	0.091
D02	FAIR	Std-1		Print Selections...	12.85	12.89	0.091
A03	FAIR	Std-2		Export to Excel...	15.99	16.06	0.090
B03	FAIR	Std-2		Export to Text...	16.15	16.06	0.090
C03	FAIR	Std-2		Find...	16.13	16.06	0.090
D03	FAIR	Std-2		Sort...	15.99	16.06	0.090
A04	FAIR	Std-3			13.15	13.21	0.056
B04	FAIR	Std-3			14.21	14.21	0.056

滑鼠右鍵點擊試算表，選擇資料輸出格式如 text，XML 或 Excel 輸出資料。

從 **Quantitation Data** 下拉功能表中選擇 **Plate**，在反應板柵格模式下顯示所選螢光的樣品資料。

基因表達分析

您可以使用 CFX Manager 軟體來評估樣品之間目標濃度的相對差異。這種應用最常用的使用是評估 cDNA 樣品中目標基因的濃度來推斷其 mRNA 含量。通常，一個或多個參照基因的含量被用來衡量目標基因的相對應含量。參照基因用來校正上樣的差異或各樣品取樣的差異，因此於研究的條件中，參照基因的表達通常不發生變化。

基因表達分析設置

圖顯示各樣品含單一的螢光，四個複製類群，包含兩個不同目標名稱和兩個不同的樣品名稱。

	1	2	3	4
A	Unk-1 Target 1 Sample 1	Unk-2 Target 1 Sample 2	Unk-3 Target 2 Sample 1	Unk-4 Target 2 Sample 2
	Unk-1 Target 1 Sample 1	Unk-2 Target 1 Sample 2	Unk-3 Target 2 Sample 1	Unk-4 Target 2 Sample 2
B	Unk-1 Target 1 Sample 1	Unk-2 Target 1 Sample 2	Unk-3 Target 2 Sample 1	Unk-4 Target 2 Sample 2
	Unk-1 Target 1 Sample 1	Unk-2 Target 1 Sample 2	Unk-3 Target 2 Sample 1	Unk-4 Target 2 Sample 2
C	Unk-1 Target 1 Sample 1	Unk-2 Target 1 Sample 2	Unk-3 Target 2 Sample 1	Unk-4 Target 2 Sample 2
	Unk-1 Target 1 Sample 1	Unk-2 Target 1 Sample 2	Unk-3 Target 2 Sample 1	Unk-4 Target 2 Sample 2

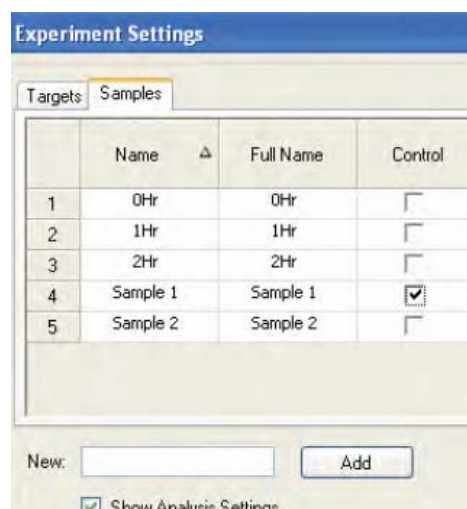
指定參照基因, Reference gene

1. 點擊反應板編輯器中 **Experiment Settings** 或 Gene Expression，打開實驗設置視窗。
2. 選擇 **Targets**。
3. 點擊合適的檢查窗選擇將被使用為 Reference gene
4. 點擊 **Show Analysis Settings** 檢查窗，為設置反應擴增效率。
5. Auto Efficiency 檢查窗被默認設定。如果實驗中運行一個標準曲線，從標準曲線中計算得到的擴增效率將在計算中被使用。或者對合適的目標輸入指定反應擴增效率值，則計算中將使用這一擴增效率值。



指定對照樣本

1. 在 **Experiment Settings** 視窗，選擇 **Samples** 標籤。
2. 點擊合適的檢查窗，選擇在計算中將被作為

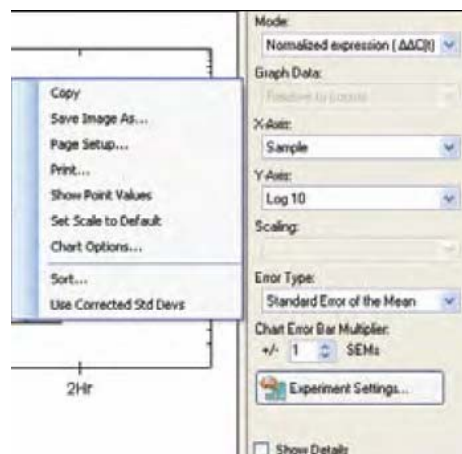


對照的樣本。對每個基因來說，對照樣本的值被指定為 1，同時所有其他樣本相對於對照樣本的值會被顯示出來。

基因表達分析

選擇分析模式

1. 從 **Mode** 下拉功能表中選擇分析模式：
 - a. **Normalized Expression** $\Delta\Delta C(t)$ -Target gene 目標基因的相對量可通過樣本的 Reference gene, 參考基因來進行相對量的計算。
 - b. 相對量 $\Delta C(t)$ -目標基因的相對量不被計算；結果顯示的是實驗中目標基因相對於其他樣品的基因濃度。



圖形選項

1. 從 **Graph Data** 下拉功能表中選擇對照相關或零相關的圖形資料。在表中，Graph Data 選項默認是對照相關。
2. 從 X 軸下拉功能表中選擇 X 軸以 **Sample** 顯示或 **Target** 顯示。
3. 從 Y 軸下拉功能表中選擇 **Linear**, **Log2** 或 **Log10** 作為 Y 軸刻度。
4. 需要時，可從 **Scaling Option** 下拉功能表中選擇 **Highest**, **Lowest** 或 **Unscaled**。
5. 從 **Error Type** 下拉功能表中選擇 **Standard Error of the Mean** 或 **Standard Deviation**。
6. 滑鼠右鍵點擊圖形功能表選擇 **Sort** 選項來指定 X 軸的顯示順序。
7. 滑鼠右鍵點擊圖形，複製或保存圖形。

試算表選項

1. 基因表達分析結果會在試算表中顯示出來。
2. 選擇任一列的標題，通過列值對資料進行分類。
3. 滑鼠右鍵點擊試算表，結果輸出為 **Microsoft Excel** 試算表或其他檔格式。

Sample	Target	Qty	Expression	Expression n SD	Corrected Expression SD
5hr	NGK		19238.01219	3350.47005	3350.47005
4hr	NGK		1820.27048	203.85365	203.85365
3hr	NGK		167.71787	23.28062	23.28062
2hr	NGK		18.82277	3.47474	3.47474
1hr	NGK		2.51919	0.46573	0.46573
0hr	NGK	*	1.00000	0.13934	0.13934

創建報告

顯示選項

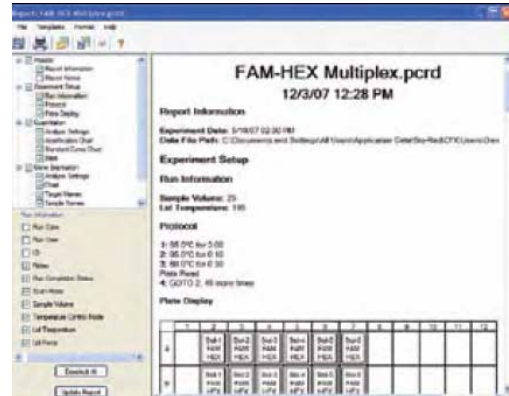
點擊資料分析視窗工具欄中



Report 按鈕，打開 Report 視窗。

點擊報告選項列表中的檢查窗，使制定資訊包含在報告中，這些資訊在預覽部分中會有所顯示。

點擊工具欄中 **File** 並選擇 **Save**，以 PDF 格式保存報告，或選擇 **Print** 列印報告。也可以保存報告為其他的檔格式。



清潔保養

每次使用結束後，可以使用二次水或 95%酒精及乾淨的布擦拭反應槽內部，避免液體殘留在反應槽中。

表. 1000 系列相關儀器、軟體、試劑和耗材

型號	敘述
Real-Time PCR 耗材	
八連排	
TCS-0803	Optical Flat 8-Cap Strips, 960 reactions
TLS-0851	Low-Profile 0.2 ml 8-Tube Strips without Caps, 960 reactions
TLS-0801	Low-Profile 0.2 ml 8-Tube Strips without Caps, 960 reactions
96 或 48 孔盤	
MSB-1001	Microseal 'B' Adhesive Seals, Pkg of 100
MLL-9651	Multiplate White Low-Profile 96-Well Unskirted PCR Plates, Pkg of 25
MLL-9601	Multiplate Low-Profile 96-Well Unskirted PCR Plates, Pkg of 25
HSP-9955	Hard-Shell Thin-Wall 96-Well Skirted PCR Plates, Pkg of 50
MLL-4851	Multiplate White Low-Profile 48-Well Unskirted PCR Plates, Pkg of 50
反轉錄相關試劑	
170-8890	iScript™ cDNA Synthesis Kit, 25 reactions
170-8891	iScript™ cDNA Synthesis Kit, 100 reactions
170-8896	iScript™ Select cDNA Synthesis Kit, 25 reactions
170-8897	iScript™ Select cDNA Synthesis Kit, 100 reactions
170-8892	iScript™ One-Step RT-PCR Kit With SYBR® Green, 50 reactions
170-8893	iScript™ One-Step RT-PCR Kit With SYBR® Green, 200 reactions
170-8894	iScript™ One-Step RT-PCR Kit for Probes, 50 reactions
170-8895	iScript™ One-Step RT-PCR Kit for Probes, 200 reactions
Real-Time PCR 混合液	
172-5848	iQTm Multiplex Powermix, 50 reactions
172-5849	iQTm Multiplex Powermix, 200 reactions
170-8860	iQTm Supermix, 100 reactions
170-8862	iQTm Supermix, 500 reactions
170-8864	iQTm Supermix, 1,000 reactions
170-8880	iQTm SYBR® Green Supermix, 100 reactions
170-8882	iQTm SYBR® Green Supermix, 500 reactions
170-8884	iQTm SYBR® Green Supermix, 1,000 reactions
170-8885	iQTm SYBR® Green Supermix, 2,000 reactions
172-5200	SsoFast™ EvaGreen® Supermix, 200 reactions
172-5201	SsoFast™ EvaGreen® Supermix, 500 reactions
172-5202	SsoFast™ EvaGreen® Supermix, 1,000 reactions
172-5203	SsoFast™ EvaGreen® Supermix, 2,000 reactions
172-5230	SsoFast Probes Supermix, 200 reactions
172-5231	SsoFast Probes Supermix, 500 reactions
172-5232	SsoFast Probes Supermix, 1,000 reactions

接上表

Real-Time PCR 混合液

172-5233 SsoFast Probes Supermix, 2,000 reactions

機器與反用模組

185-5096 CFX96 Real-Time PCR Detection System
185-5034 CFX384 Real-Time PCR Detection System
185-1096R C1000 Thermal Cycler With 96-Well Fast Reaction Module
185-1048R C1000 Thermal Cycler With Dual 48/48 Fast Reaction Module
185-1384R C1000 Thermal Cycler With 384-Well Reaction Module
185-2096R S1000 Thermal Cycler With 96-Well Fast Reaction Module
185-2048R S1000 Thermal Cycler With Dual 48/48 Fast Reaction Module
185-2384R S1000 Thermal Cycler With 384-Well Reaction Module

連線軟體及耗材

184-5000 CFX Manager Software
184-5001 CFX Manager Software, Security Edition, 1 user license
184-5005 CFX Manager Software, Security Edition, 5 user licenses
184-5010 CFX Manager Software, Security Edition, 10 user licenses
184-8000 USB Cable*

*在將設備連接到電腦或其他設備時，為避免資料丟失，請使用充分遮罩的 USB 纜線（型號 184-8000 ）

有任何疑問與意見，歡迎隨時來電詢問

正茂生物科技有限公司 全省免費諮詢專線：0800-213-029