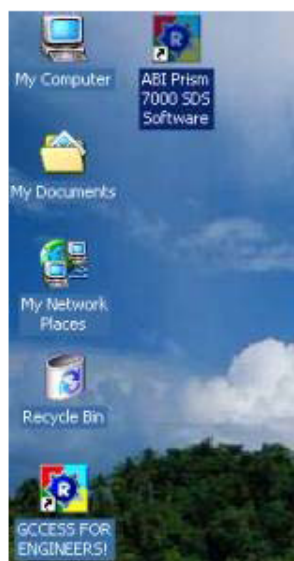


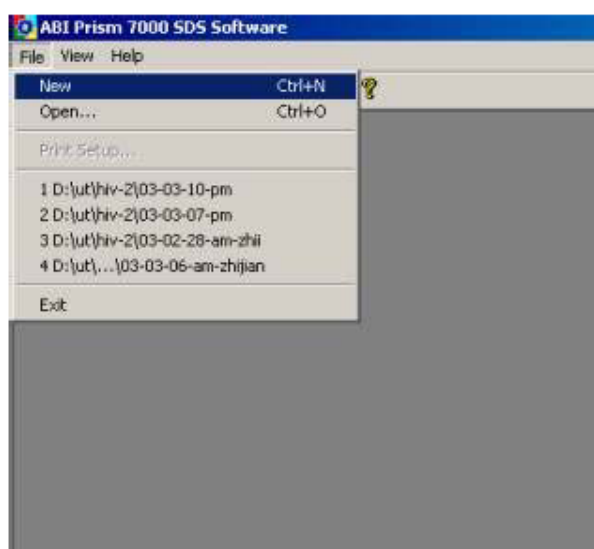
ABI Prism 7000 简要使用说明书

一、 建立文件

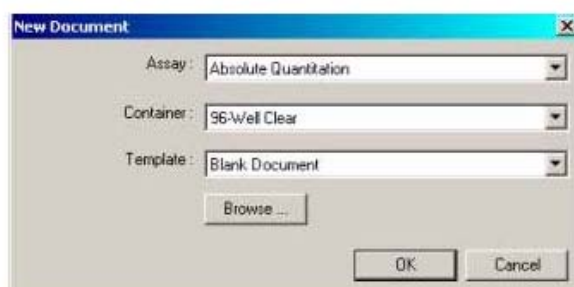
1. 双击桌面的 ABI Prism 7000 SDS Software



2. 选中 File 后，再选中 New，建立新的文档

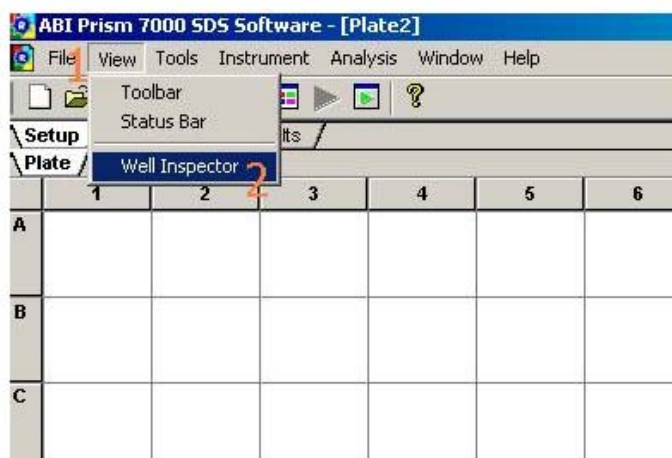


3. 选定相应的 Assay, Container, Template 后，点击 OK

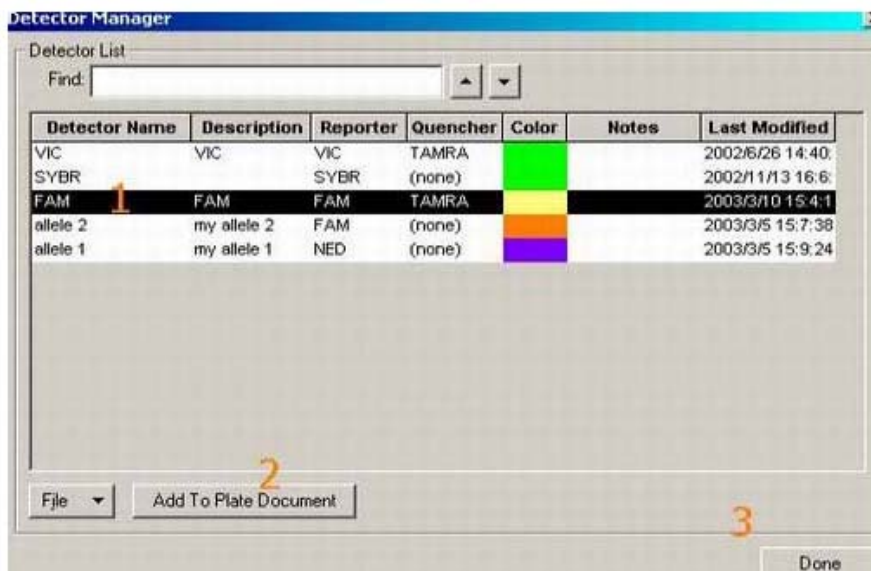


二、用检测管理器 (detector manager) 添加检测框(detector)到样品文档中

1.从工具栏，点击反应孔框 (well inspector) 或从 view 菜单下选择 well inspector



2.在反应孔框 (well inspector) 中，点击 Add Detector 按钮打开检测管理器 (detector manager)



3. 在检测管理器 (detector manager) 中，选中想使用的检测框(detector)，点中 Add to Plate Document

4. 点击 Done, 结束此步骤

三、选定文档样品类型和修正文档样品类型

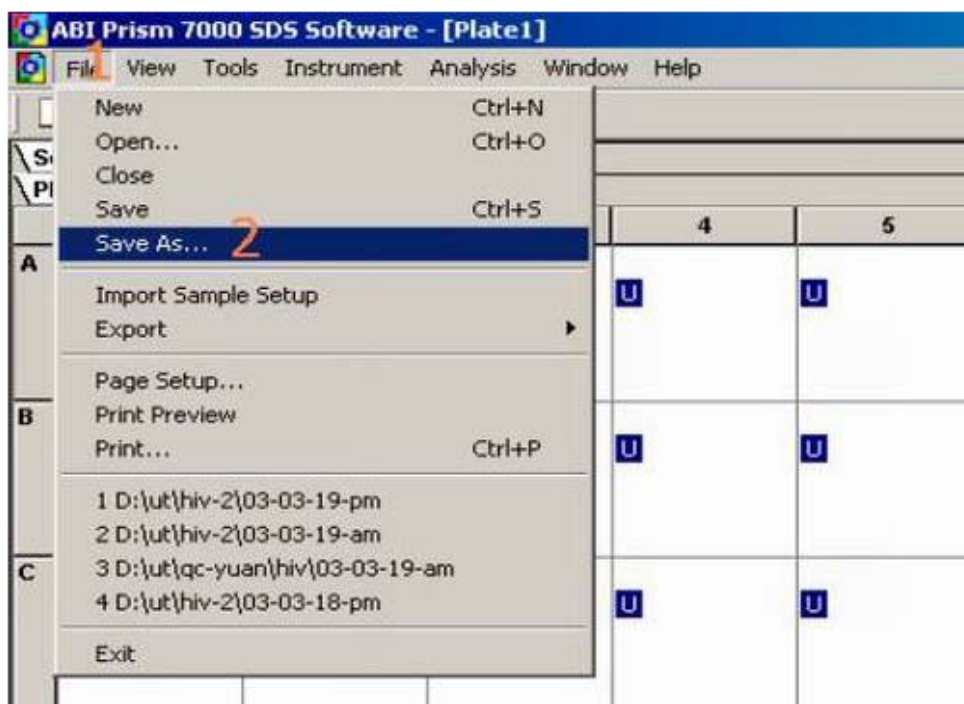
1. 样品文档设定窗口，选定想使用的样品方格
2. 反应孔框中，给样品方格选定 use 栏目下想使用的检测框(detector)，在 Task 栏目下，给样品方格设定相应的类型,检测样品为 Unknown, 并选择 Passive Reference 为 None.



3. 选定无模板样品对照孔,在 Task 栏目下，无模板对照品设为 NTC,同样 Passive Reference 选择为 None.



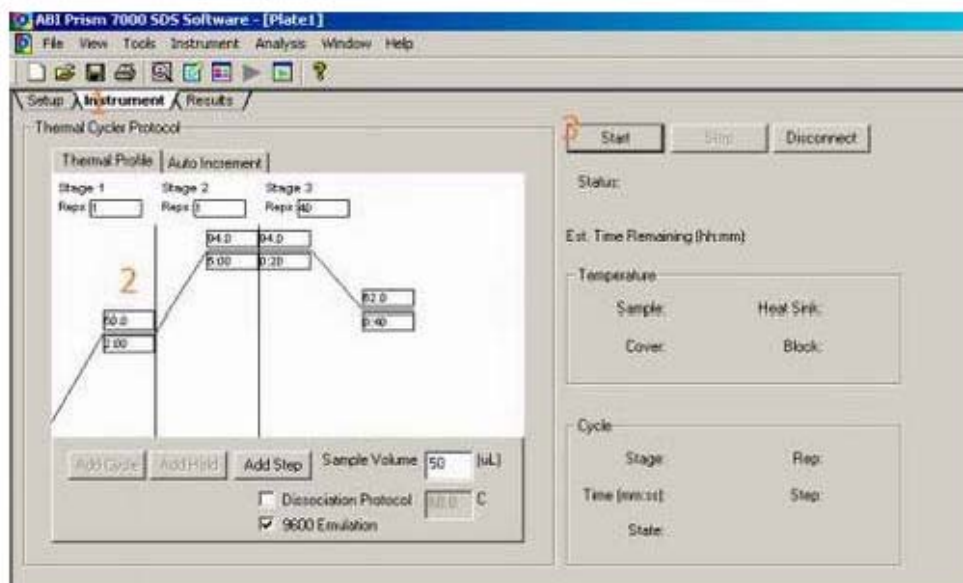
4. 在完成文档样品的设定后，点击中反应孔对话框（well inspector）右上角的×
5. 选择 File 菜单中的 Save as, 在 Save as type 中选择 SDS Document(*.sds), 并给文件取名



6. 点击 Save

四、运行文件

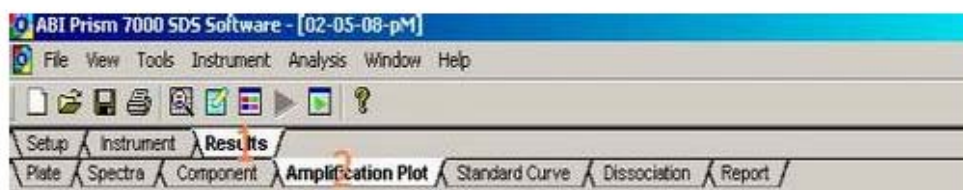
1. 在样品文档中，选择 Instrument 表



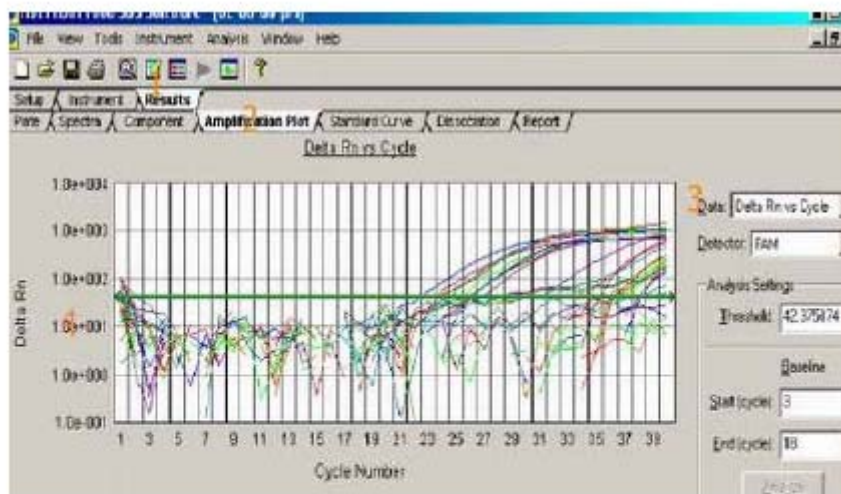
2. 给 PCR 反应设定相应的反应条件，50℃保温 2min，94℃变性 5min；（2）94 20s，63℃ 40s，40 循环，可以点击 Add hold，Add cycle，Add step 给 PCR 反添加保持步骤，添加循环和添加步骤
3. 保存样品文档
4. 点击 Start 按钮

五、实验结果

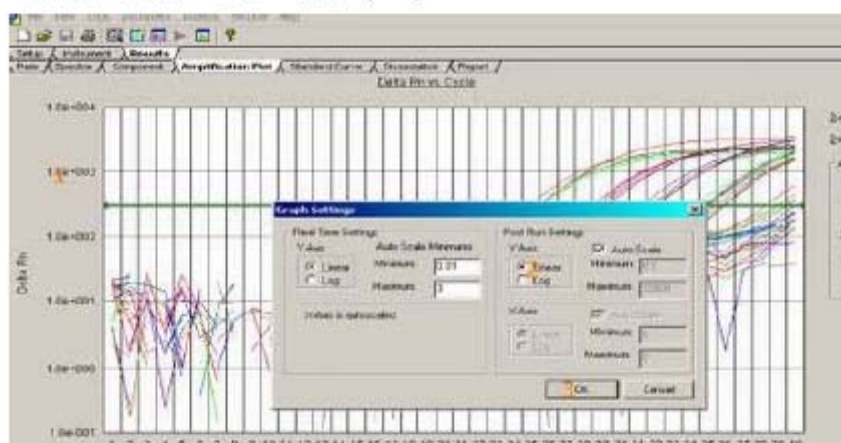
1. 程序结束后，点击 Disconnect
2. 选择 Results 表单，选择 Amplification Plot



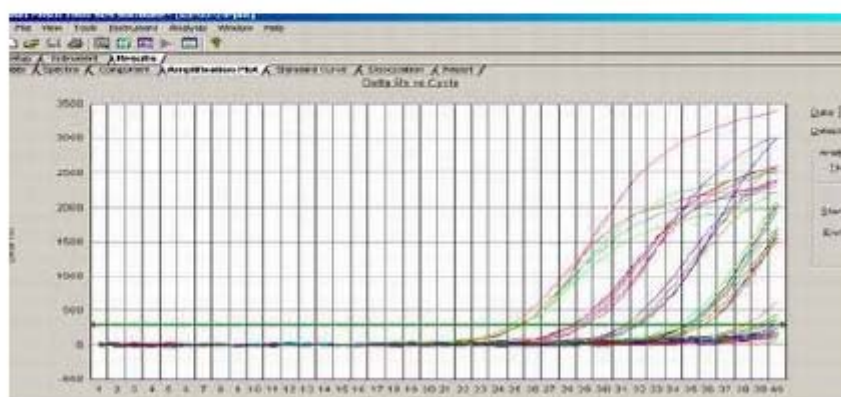
3. 选择样品文档中 A 上方格，看所有 96 孔样本的反应结果
4. 从 Data 菜单，选择 Delta Rn vs.Cycle



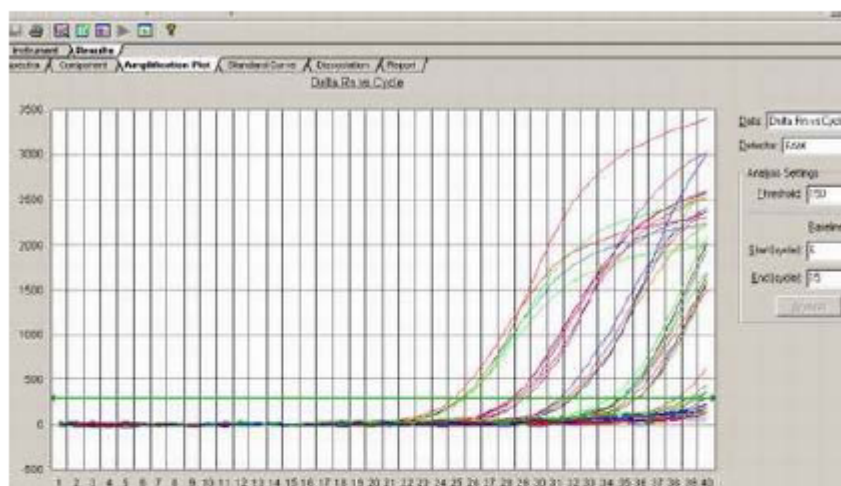
5.双击图左边数字，选择 Y 轴线性(Line)



6.点击 OK



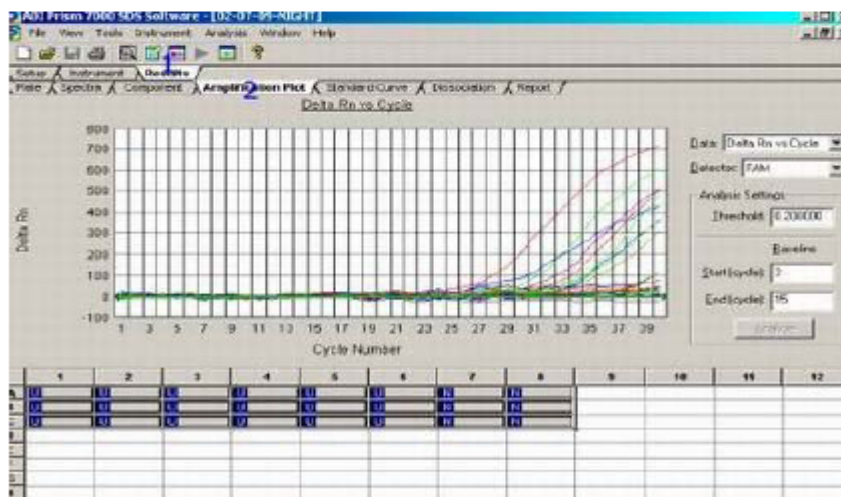
7. 修改图的基线 (baseline), 点击 **Analyze** 按钮, 观察结果
8. 选择样品文档所有孔, 移动基线条 (Threshold) 到 NTC 的最高 delta Rn 排除 NTC 对检测结果的影响或设定基线值 (Threshold) 为说明书给定的基线 点击 **Analyze** 按钮, 分析结果。分析完成后, 阈值条 (Threshold) 变绿



六、常见问题

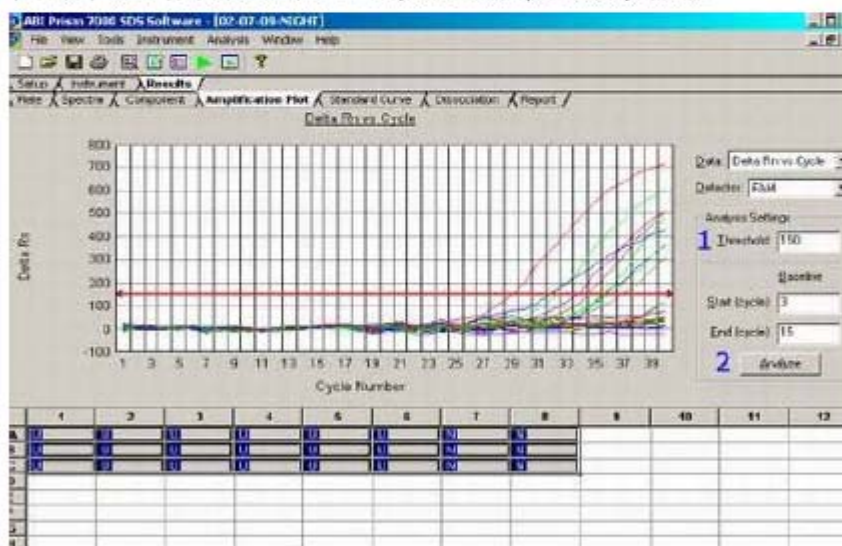
1、基底值设定

运行结束后, 点击 **Results** 表单下的 **Amplification Plot**, 如下表

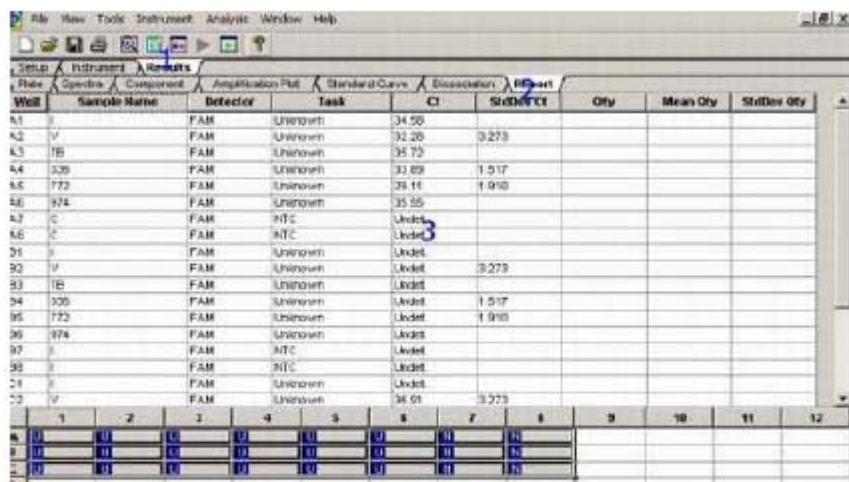


点击 **Results** 表单下的 **Report**, 样品 Ct 值可以从 **Report** 读出。

在上表中 NTC 样本的 Ct 值在 14 左右,调整基底值(Threshold)到 150.

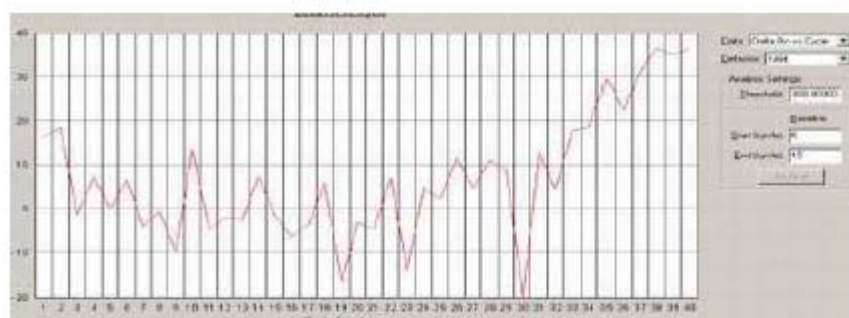


点击 **Analyze** 分析后, 点击 **Results** 表单下的 **Report**, 读出调整基底值后各个样品 **Ct** 值, **NTC** 样本的 **Ct** 值 **Undet**, 此时再读出待测样品的 **Ct** 值有效。



Well	Sample Name	Detector	Task	Ct	SubCt	Qty	Mean Qty	StdDev Qty
A1		FAM	Unknown	34.58				
A2	V	FAM	Unknown	32.28	3.273			
A3	IB	FAM	Unknown	35.72				
A4	329	FAM	Unknown	33.89	1.517			
A5	723	FAM	Unknown	38.14	1.918			
A6	974	FAM	Unknown	35.55				
A7	C	FAM	NTC	Under				
A8	C	FAM	NTC	Under				
D1		FAM	Unknown	Under				
D2	V	FAM	Unknown	Under	3.273			
D3	IB	FAM	Unknown	Under				
D4	329	FAM	Unknown	Under	1.517			
D5	723	FAM	Unknown	Under	1.918			
D6	974	FAM	Unknown	Under				
D7	C	FAM	NTC	Under				
D8	C	FAM	NTC	Under				
F1		FAM	Unknown	Under				
F2	V	FAM	Unknown	36.01	3.273			

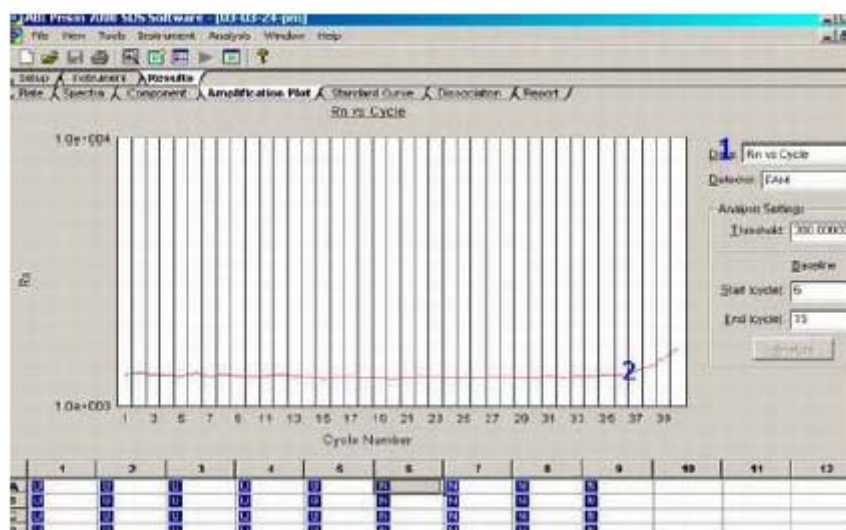
2、定点荧光方法判断是否扩增



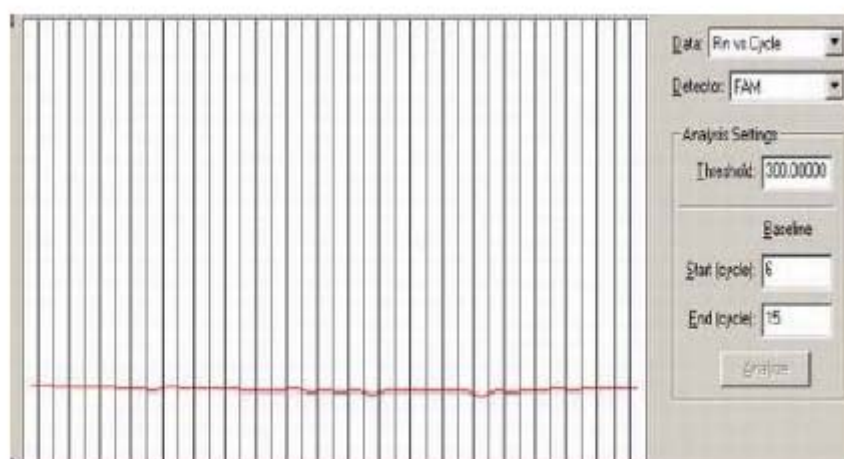
上图中，荧光 PCR 扩增曲线并不规则，比较难以判断 PCR 扩增成功与否，定点荧光分析手段可以判定 PCR 实验结果。

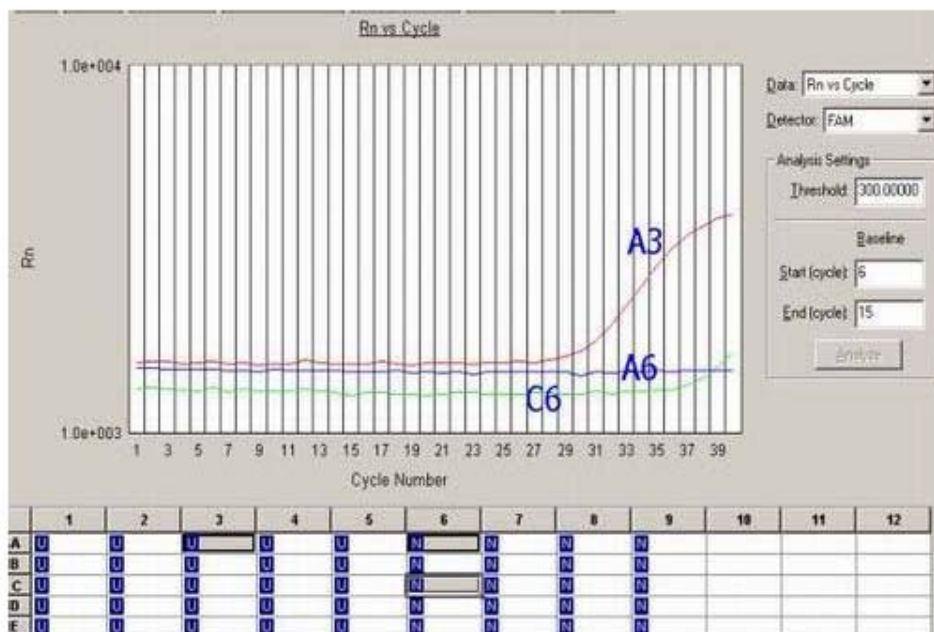
定点荧光分析

选定待分析样品孔，在 Data 下拉菜单中选择 Rn vs Cycle，上图中的实验经分析，结果如下。图中在约 37 个循环时荧光值上升，曲线上翘，可以定为样品有扩增。



相反下图中,曲线荧光值持平,没有明显的上升,判定样品没有扩增





上图显示了 A3, A6, C6 三个样品经定点荧光分析后的结果。

A3(红色)曲线和 C6(绿色)曲线：样本有扩增

A6(亮蓝色)曲线：样本没有发生扩增。



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市闵行区北桥镇吴河路328号A栋2楼

邮编：201109

联系：市场部

电话：54460832 800-988-1995

E-mail: master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn

