



CFX Real Time PCR system

CFX 即時定量 PCR

中文操作手冊



正茂生物科技股份有限公司
Genmall Biotechnology Co., Ltd.

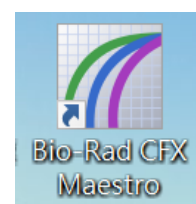
TEL: (02) 2796-0803 FAX: (02)2796-0833

免費諮詢服務及訂貨專線：0800-045-168

CFX Maestro 軟體操作指南

CFX 系列配合 CFX Maestro 軟體來操作

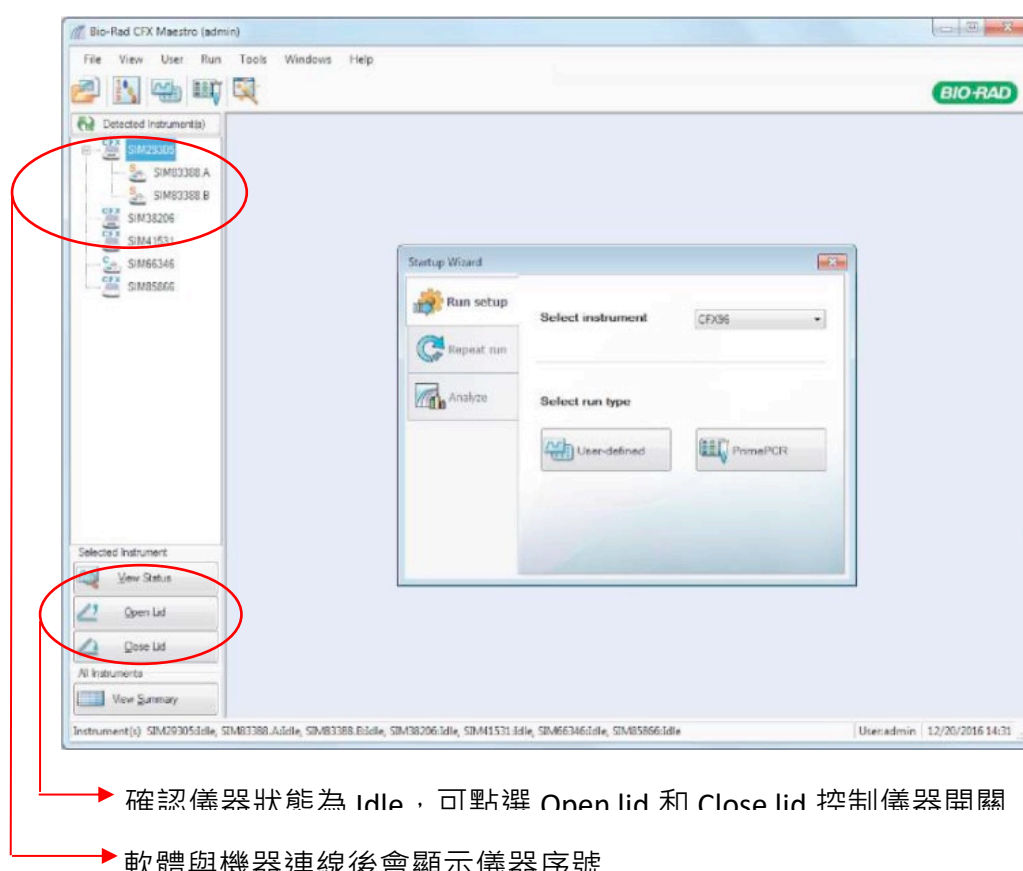
建議安裝在 Windows 10 (64-bit) 進行操作。



軟體操作上機

- ✓ 電腦接上機器後，先開啟電腦，再開啟機器，最後再開啟軟體；實驗結束後則以相反的順序進行關機
- ✓ 確認軟體連線
 1. 確認儀器是否有連線
 2. 儀器開關可以使用 open lid 以及 close lid 來操作(圖一)

圖一



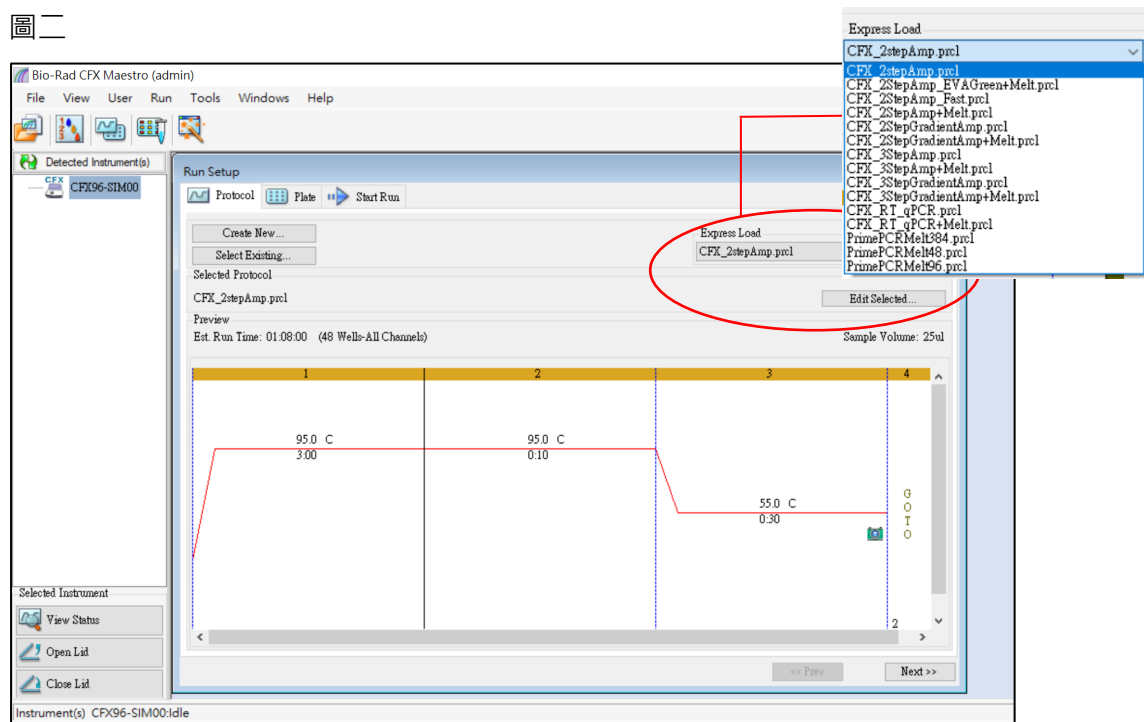
- ✓ 點選中間視窗 Startup Wizard 的 User-defined 進行實驗設定 (圖一)

設定三步驟 <Protocol→Plate→Start Run>

✓ 步驟一 :設定 protocol，依照實驗設計調整反應溫度與時間

1. 點選 Express Load，軟體有內建常使用的 Protocol (圖二)
2. 選取一個內建的 protocol 模板，再點選下方 Edit Selected 進行編輯修改(圖二)

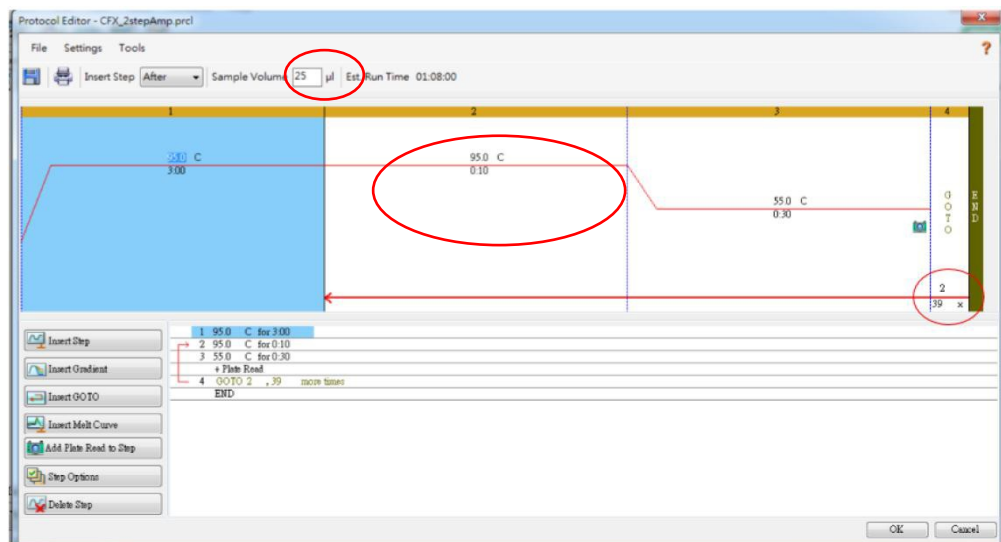
圖二



3. Protocol 編輯修改

- 反應溫度、反應時間與樣品體積可直接進行編輯修改 (圖三)
- Cycle 循環次數可在 GOTO 下方修改，為實際循環數字- 1。(圖三)
(Ex: 40 cycle 會輸入 39)

圖三



- Protocol 參數調節設定，左下方工具列選單 (圖四)

圖四



Insert Step: 在程式中增加一個溫度步驟

Insert Gradient: 插入溫度梯度

Insert GOTO: 插入循環步驟

Insert Melt Curve: 插入 Melting Curve 步驟

Add Plate Read to Step: 增加螢光訊號收光步驟 **

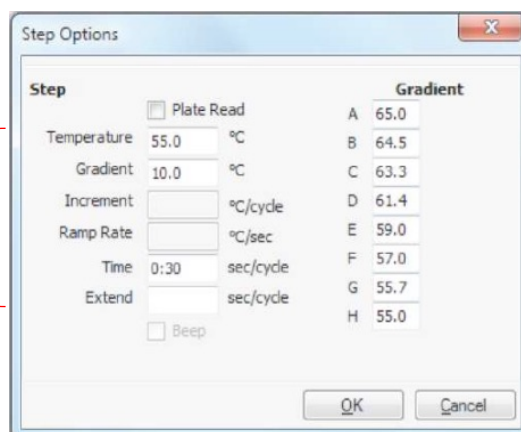
Step Options: 變更升降溫速率及梯度溫度設定 (圖五)

Delete Step: 在程式中刪減一個溫度步驟

** 若此步驟已進行讀板設置，此選項會變為 Remove Plate Read，若不想在此步驟獲取螢光訊號，則點選 Remove Plate Read

圖五

最低溫度
溫度梯度
每個 cycle 上升或下降幾度
每秒升降溫度

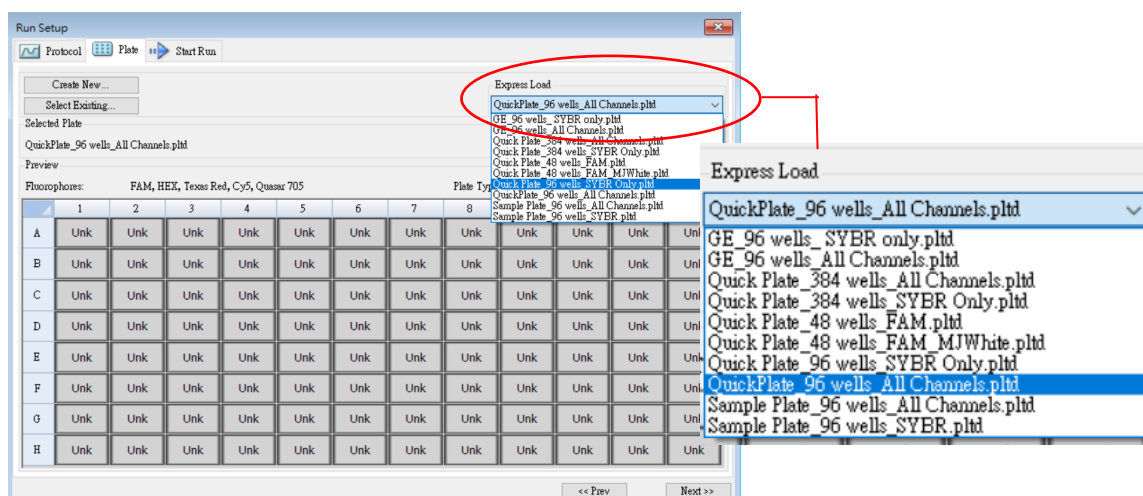


- 溫度時間步驟修改完成，進行存檔並點選 Next 到下一步驟

✓ 步驟二：選擇螢光通道模組

在 Plate 頁面中，點選 Express Load，軟體有內建常使用的 Protocol，選擇實驗相對應的螢光通道模組。(圖六)

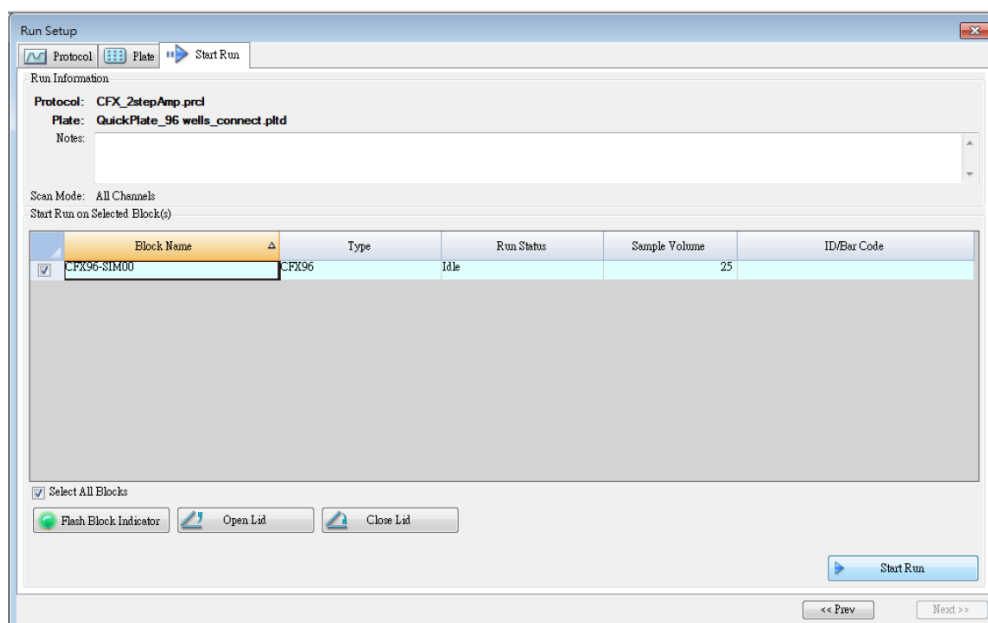
圖六



✓ 步驟三：上機

- 確認儀器序號、狀態、體積後可點選 Start Run 開始實驗(圖七)
- 存放實驗檔案於指定資料夾中，分析檔附檔名為 pcrd

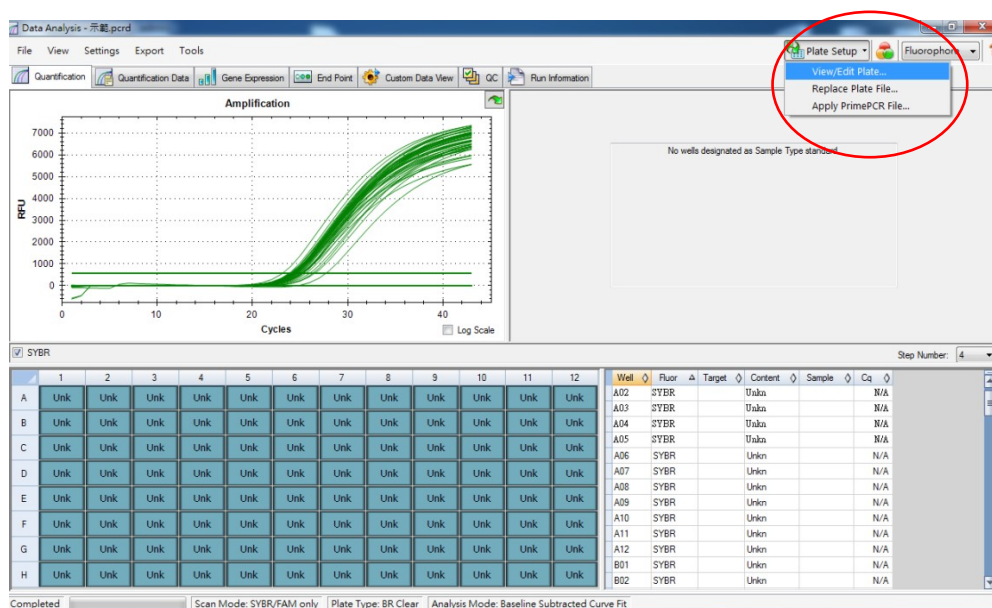
圖七



數據分析

- ✓ 畫盤：實驗結束後，在右上方頁面的 Plate Setup，點選 View Edit Plate(圖八)，進入 Plate Editor，劃盤的頁面先框選要輸入樣品的區域，再逐一從右邊的選項列中進行編輯命名(圖九)

圖八



圖九

The 'Plate Loading Guide' dialog box is shown with the following fields and annotations:

- Select Fluorophores...**: 選取實驗使用的螢光試劑
- Sample Type**: Unknown (dropdown) - 選取樣品種類(unknown, standard, NTC, PC, NC, NRT)
- Target Names**:
 - Load ☒ FAM <none> (dropdown) +
 - Load ☒ HEX <none> (dropdown) +
 - Load ☒ Texas <none> (dropdown) +
 - Load ☒ Cy5 <none> (dropdown) +
 - Load ☒ Quasar <none> (dropdown) +
 選取此次實驗所用的螢光試劑，並註記 target name 名稱
- Sample Names**: Load ☐ <none> (dropdown) + - 輸入樣品名稱
- Biological Group**: Load ☐ <none> (dropdown) + - 輸入組別名稱
- Replicate #**: Load ☐ 1 (dropdown) - 輸入重複性樣品設定(Horizontal 水平重複/Vertical 垂直重複)
- Technical Replicates**: Load ☐ 1 (dropdown) - 輸入重複性樣品設定(Horizontal 水平重複/Vertical 垂直重複)
- Experiment Settings...**: 設定 ref gene 與 control sample (圖十)
- Clear Replicate #**: 清除所選的重複
- Clear Wells**: 清除所選的輸入

圖十

選擇 Reference gene

選擇 Control Sample

The image shows two side-by-side screenshots of the 'Experiment Settings' dialog box. The left window is titled 'Experiment Settings' and has a 'Targets' tab selected. It contains a table with columns: Name, Full Name, Reference, and Select To Remove. The table has four rows: 1 (18s), 2 (actin), 3 (GAPDH), and 4 (tubulin). The 'Reference' column for row 3 is checked. Below the table are buttons for 'New', 'Add', and 'Remove checked item(s)', and checkboxes for 'Show Analysis Settings' and 'Exclude the following sample types from Gene Expression analysis: NTC, NRT, Negative Control, Positive Control, Standard'. The right window is also titled 'Experiment Settings' and has a 'Targets' tab selected. It contains a table with columns: Name, Full Name, Control, and Select To Remove. The table has four rows: 1 (1), 2 (2), 3 (3), and 4 (4). The 'Control' column for row 1 is checked. Below the table are buttons for 'New', 'Add', and 'Remove checked item(s)', and checkboxes for 'Show Analysis Settings' and 'Exclude the following sample types from Gene Expression analysis: NTC, NRT, Negative Control, Positive Control, Standard'.

** 樣品有添加已知濃度的標準品時,需輸入確切的反應濃度

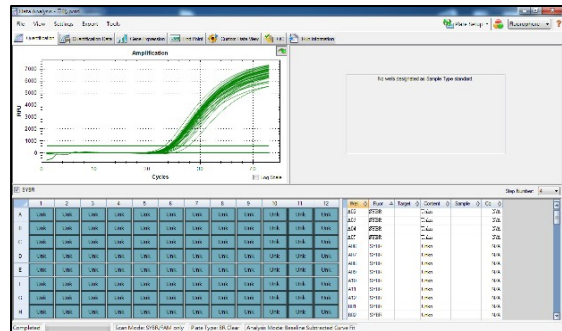
The image shows a 'Starting Concentration' dialog box. It has the following fields and controls: 'Starting Concentration' (1.00E+06), 'Replicates from' (1), 'to' (3), 'Dilution Factor' (10.000), and radio buttons for 'Increasing' and 'Decreasing' (selected). Below these are 'Cancel' and 'Apply' buttons. Red arrows point from Chinese labels to the fields: '標準品的起始濃度' points to 'Starting Concentration', '序列稀釋次數' points to 'Replicates from' and 'to', and '稀釋倍數' points to 'Dilution Factor'.

✓ 畫盤設定完後按 ok，進入數據分析頁面

✓ 數據分析應用工具

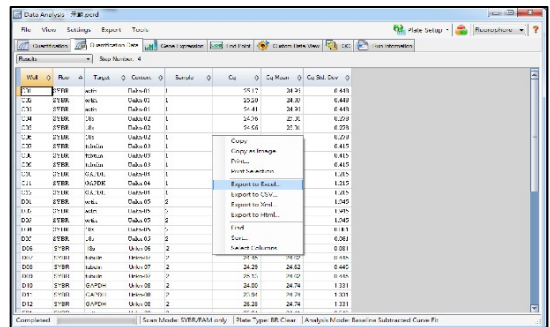
Quantification

可以觀察放大曲線以及其 Cq 值



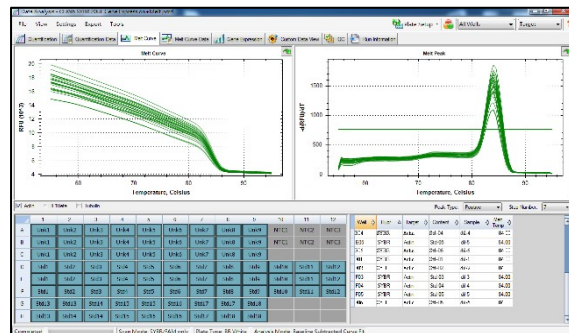
Quantification Data

呈列此次實驗的 raw data 資料，包括每個樣品的閾值和平均值以及複製的標準偏差。



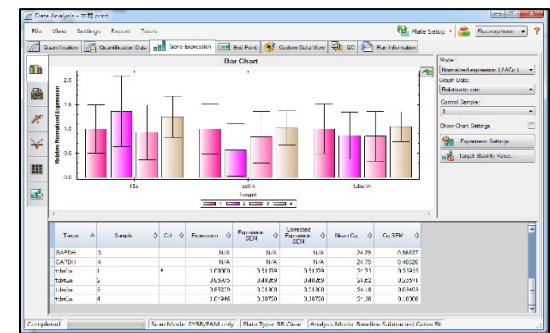
Melt Curve Data

觀察 melting curve 以及其 Tm 值



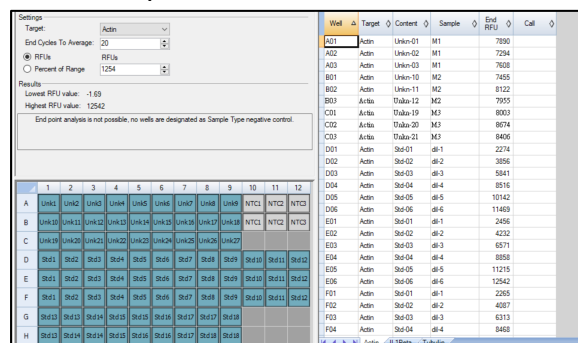
Gene Expression

觀察基因相對表現量



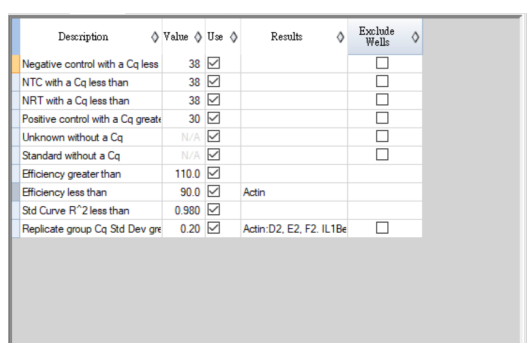
End Point Analysis

呈現 end point 的數據分析資料



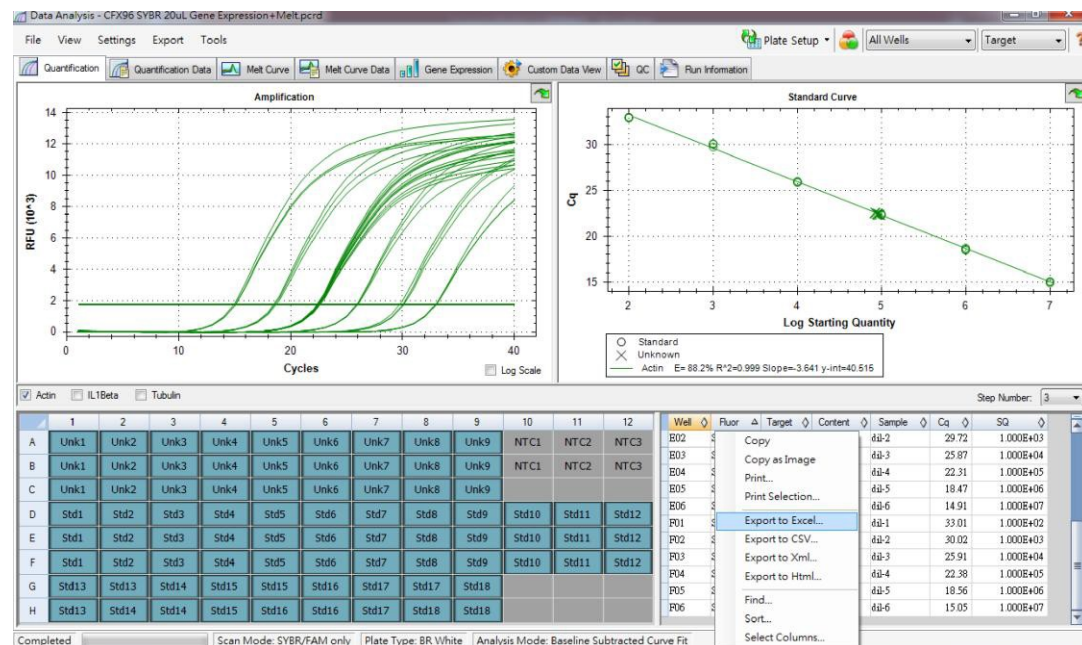
Quality Control

提供此次實驗的數據評估資料



存取檔案

存取 Excel 檔案，所有想要存取的資訊可在上方點選右鍵，選擇 Export to Excel。若是圖檔可以選擇 Save Image as，存成 JPG 檔案。



存取成 PDF 格式

選取上方的工具列 Tools 中的 Report，可客製化報告內容，存取成 PDF 檔案。

