





applied biosystems 7500荧光定量PCR仪

基因分型实验简易操作流程

SDS 2.0

7500定量PCR仪

基因分型实验简易操作流程

1. 双击桌面图标 ，或从 Start > All Programs > Applied Biosystems > 7500 Software > 7500 V2.0 开启软件。进入主界面后选择 Advanced Setup 。
2. 进入 Setup 下的 Experiment Properties 界面：

2.1 输入实验名称（Experiment Name）

How do you want to identify this experiment?

* Experiment Name:

Barcode (Optional):

User Name (Optional):

Comments (Optional):

2.2 确认仪器型号

Which instrument are you using to run the experiment?

☒ 7500 (96 Wells) ☐ 7500 Fast (96 Wells)

Set up, run, and analyze an experiment using a 4- or 5-color, 96-well system.

2.3 在实验类型中，选择 Genotyping

What type of experiment do you want to set up?

☐ Quantitation - Standard Curve ☐ Quantitation - Relative Standard Curve ☐ Quantitation - Comparative Ct ($\Delta\Delta C_t$)

☐ Melt Curve ☒ Genotyping ☐ Presence/Absence

Detect single nucleotide polymorphism variants of a target nucleic acid sequence in samples.

2.4 选择试剂种类

Which reagents do you want to use to detect the target sequence?

☒ TaqMan® Reagents ☐ SYBR® Green Reagents ☐ Other

The PCR reactions contain primers designed to amplify the target sequence and a TaqMan® probe designed to detect amplification of the target sequence.

2.5 确认升降温速率

Which ramp speed do you want to use in the instrument run?

☒ Standard (~ 2 hours to complete a run) ☐ Fast (~ 40 minutes to complete a run)

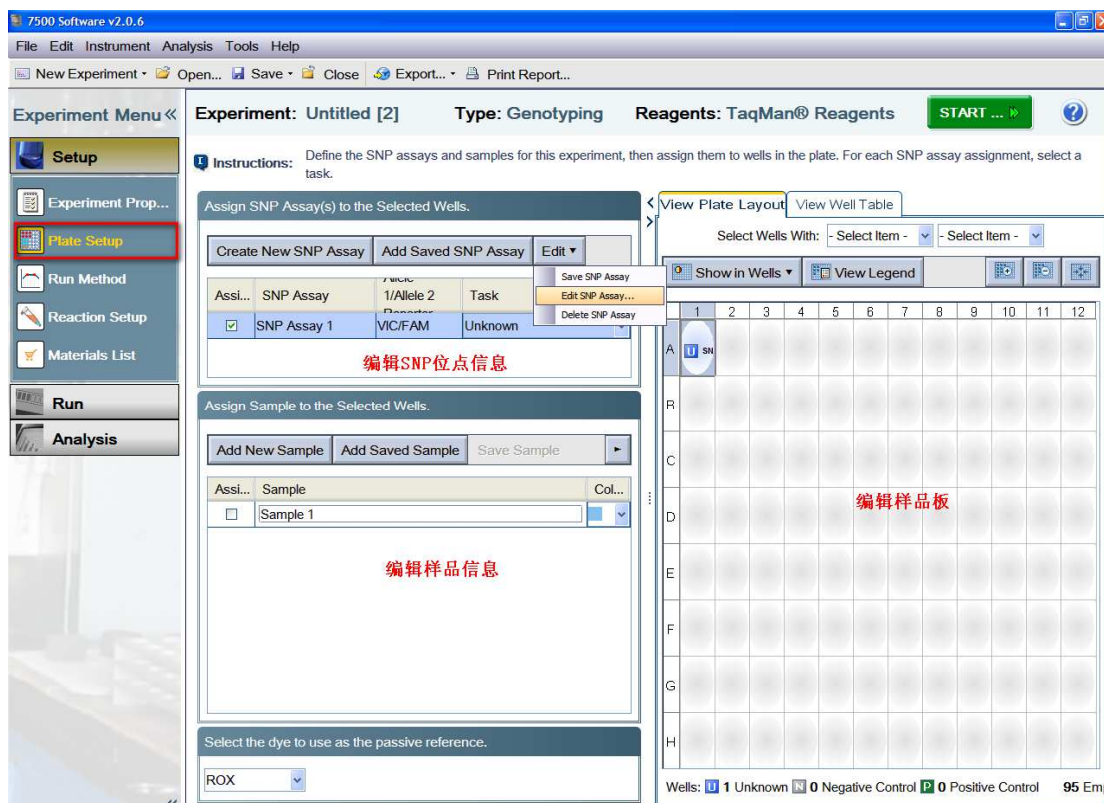
For optimal results with the standard ramp speed, Applied Biosystems recommends using standard reagents for your PCR reactions.

2.6 选择在定量仪器上进行预读板及扩增的过程

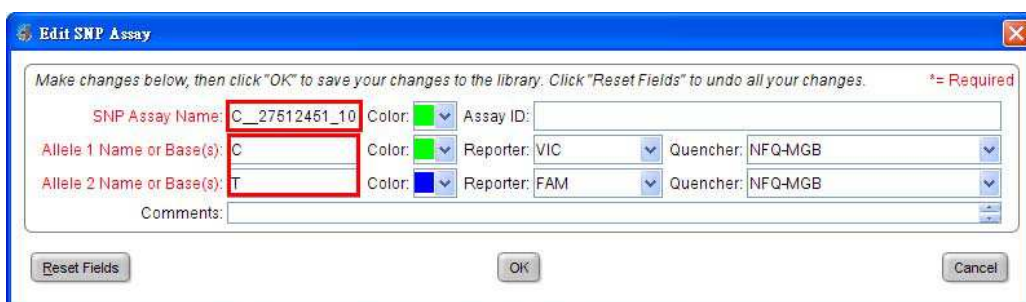
What do you want to include in the instrument run?

Include: ☒ Pre-PCR Read ☒ Amplification ☒ Post-PCR Read

3. 进入 Setup 下的 Plate Setup 界面，编辑 SNP assay 及样本：



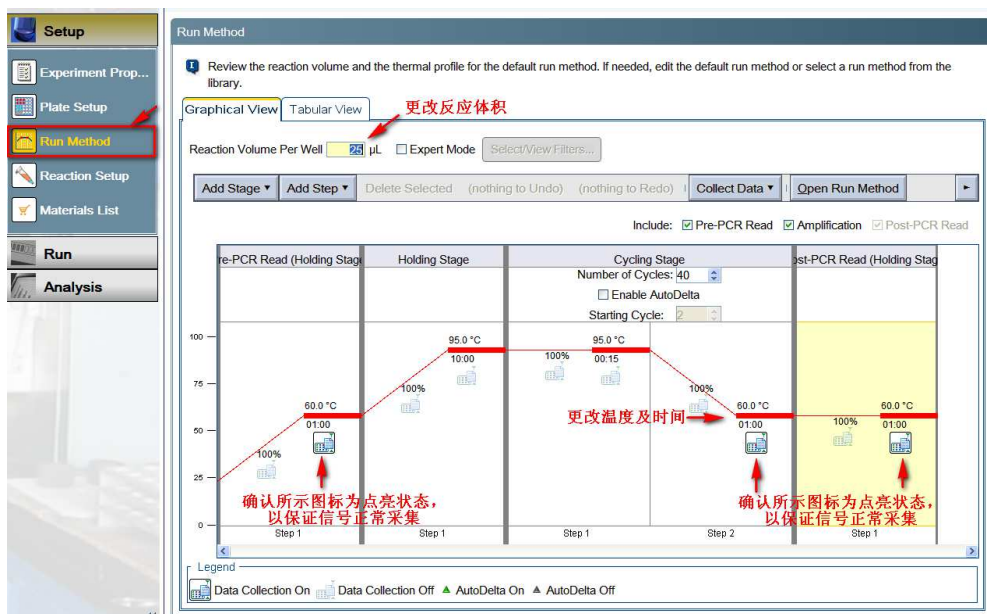
- 3.1 在 **Assign Sample to the Selected Wells.** 界面中设置需要检测的SNP位点。选择 **Edit ▼** 下的Edit SNP assay，编辑assay的名称及碱基种类，设置Report（报告基团）和quencher（淬灭基团）。若要添加其他SNP位点，点击 **Create New SNP Assay** 。





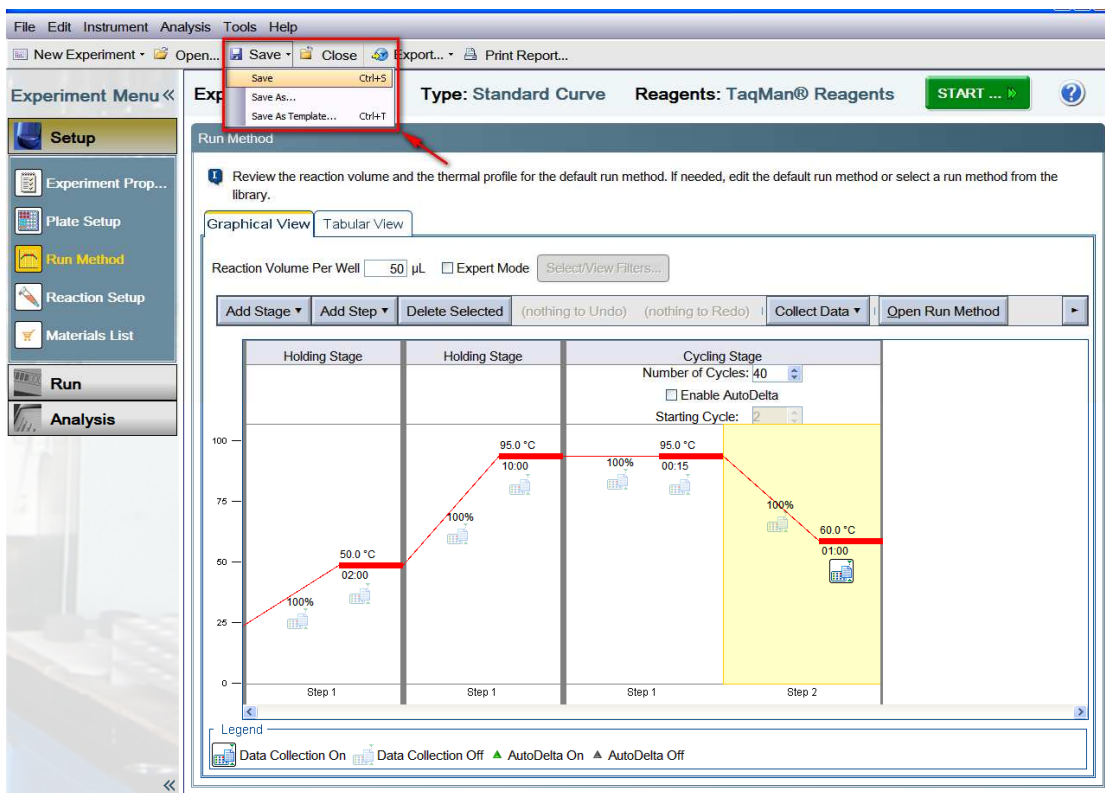
- 3.2 在 **Assign Sample to the Selected Wells.** 界面中编辑样本名称。

- 3.3 在右侧 **View Plate Layout** 界面中编辑样品板。利用鼠标单选或者

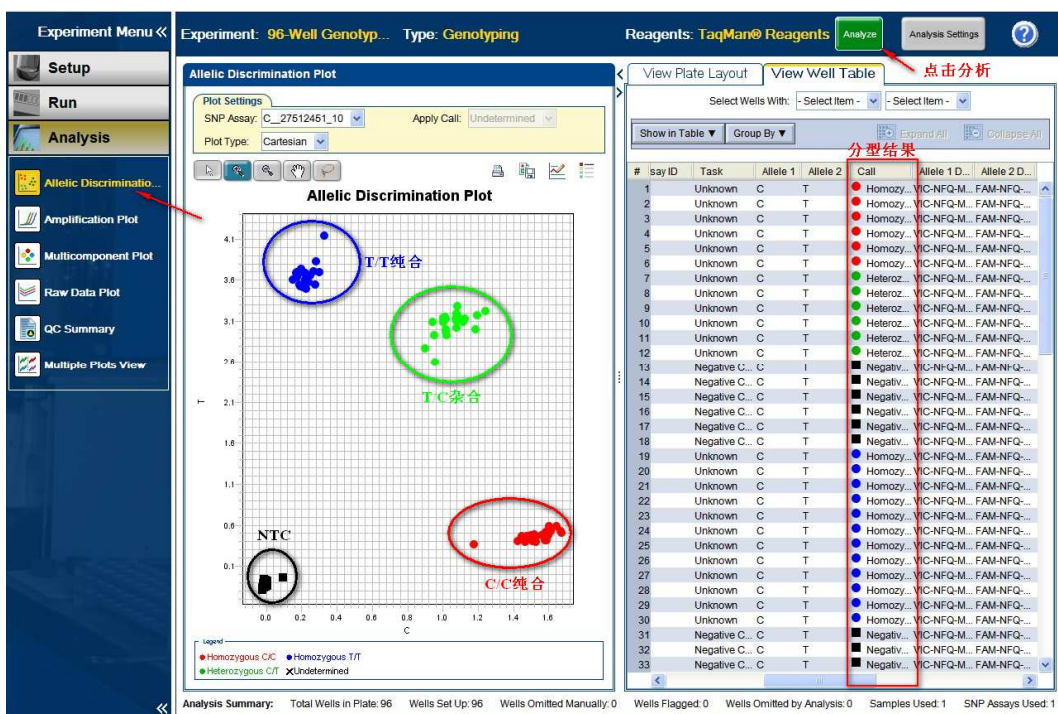
4. 进入 Run Method 界面，设定反应条件。



5. 点击  Save，将文件存储成 Experiment Document Single files (*.eds) 格式，按下  开始反应。



6. 实验结束后，先点击界面右上方的 Analyze 进行分析，然后进入 Analysis 下的 Allelic Discrimination Plot 观察分型结果。



7. 分析之后的结果，可以利用菜单中的 **File>Export** 功能，导出 Excel 格式的结果（左图）。若想存储图片结果，可直接在图片上单击鼠标右键，选择 **Save as**，存成 JPEG 格式的图片（右图）。

