



## CFX Maestro Dx SE 软件

用户指南  
第 2.3 版

REF	12014330
	12014334
	12014335
	12014348
	12014349
	12016659
	12016687

手册修订: 2022 年 5 月  
软件版本: 2.3







# CFX Maestro Dx 软件, 安全版

## 用户指南

版本 2.3



## **Bio-Rad™ 技术支持**

美国 Bio-Rad 技术支持部门的工作时间为周一至周五的上午 5:00 至下午 5:00(太平洋时间)。

**电话:** 1-800-424-6723, 选项 2

**电子邮箱:** Support@bio-rad.com(仅限美国/加拿大)

如需在美国和加拿大以外获得技术协助, 请联系您当地的技术支持办事处或点击 [bio-rad.com](https://www.bio-rad.com) 上的“联系我们”链接。

## **注意**

本出版物的内容, 在未经 Bio-Rad Laboratories, Inc. 书面许可的情况下, 不可进行复制或者以任何形式进行传播, 包括电子版和印刷本, 不得进行影印、拍照或者任何其他形式的记录。

Bio-Rad 保留随时修改其产品和服务的权利。本指南如有更改, 恕不另行通知。尽管已采取措施确保准确, 但对于错误或遗漏, 或因应用或使用此信息而造成的任何损害, Bio-Rad 不承担任何责任。

BIO-RAD 是 Bio-Rad Laboratories, Inc. 的商标。

SYBR 是 Thermo Fisher Scientific Inc. 的商标。

EvaGreen 是 Biotium, Inc. 的商标。












本文使用的所有商标均为其各自所有者的财产。

版权所有© 2022 Bio-Rad Laboratories, Inc.。

## 预期用途

CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统™( 安装有 CFX Maestro Dx 软件, 安全版™) 旨在执行基于荧光的 PCR 以检测和定量核酸序列。该系统 and 软件旨在由经过培训的实验室技术人员进行体外诊断使用。该系统旨在与第三方诊断核酸测试一起使用, 这些测试已针对诊断目的完成制造和标记。

## 符号词典

 <p>制造商</p>	 <p>批号</p>
 <p>使用者</p>	 <p>用于体外诊断</p>
 <p>温度界限</p>	 <p>目录编号</p>
 <p>查阅使用说明</p>	 <p>测试次数</p>
 <p>适用仪器</p>	 <p>序列号</p>
<p><b>Rx Only</b></p> <p>仅处方使用</p>	 <p>包含乳胶</p>

<p>CE</p> <p>CE 标志 - 法规 (EU) 2017/746 IVDR</p>	
--	--

## 翻译

产品文档可以在电子媒体上以其他语言提供。

## 修订记录

文件	日期	变更说明
CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户指南, 2.0 (文件 ID #10000135541)	2020 年 12 月	A 版, 初版
CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户指南, 2.3 (文件 ID #10000135541)	2022 年 5 月	<ul style="list-style-type: none"><li>■ 更新以支持 CFX Opus Deepwell Dx</li><li>■ 更新符号词典表</li><li>■ 在简介中添加网络安全说明</li></ul>





# 目录

预期用途 .....	iii
符号词典 .....	iii
翻译 .....	iv
修订记录 .....	v
<b>安全与法规遵从性 .....</b>	<b>17</b>
安全警告标签 .....	17
安全与法规遵从性 .....	19
安全合规 .....	19
电磁兼容性 (EMC) .....	20
FCC 警告和备注 .....	20
环境要求 .....	21
危害 .....	22
生物危害 .....	22
化学危害 .....	23
爆炸或易燃危害 .....	23
电气危害 .....	23
运输 .....	24
电池 .....	24
处置 .....	24
保修 .....	24
<b>第 1 章简介 .....</b>	<b>25</b>
CFX Maestro Dx 软件, 安全版 的主要特点 .....	26
发现更多 .....	26
<b>第 2 章安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 .....</b>	<b>27</b>
系统要求 .....	28
正在安装 CFX Maestro Dx SE 软件 .....	29
检测已连接的仪器 .....	30
软件文件 .....	31

<b>第 3 章管理 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 用户帐号</b>	<b>33</b>
启动 CFX Maestro Dx 软件, 安全版	34
将 Microsoft Windows 用户添加到 CFX Maestro Dx 软件, 安全版计算机	35
添加和删除 CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户	37
管理 CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户角色	38
查看您的角色和权限	39
<b>第 4 章使用 CFX Maestro Dx 软件, 安全版</b>	<b>41</b>
安全文件	41
<b>第 5 章工作区</b>	<b>51</b>
主页窗口	52
启动向导	53
扩增程序编辑器窗口	54
“反应板编辑器”窗口	55
“数据分析”窗口	56
<b>第 6 章主页窗口</b>	<b>57</b>
主页窗口	58
文件菜单命令	58
视图菜单命令	59
用户菜单命令	59
运行菜单命令	60
工具菜单命令	60
帮助菜单命令	61
工具栏命令	62
启动向导	63
状态栏	63
“检测到的仪器”窗格	64
查看仪器的属性	67
在您开始之前	68
反应体系及预混液体积计算	68
校准新染料	70
设置用户首选项	73
<b>第 7 章创建扩增程序</b>	<b>89</b>
扩增程序 GoTo 步骤的参数和范围	90

扩增程序编辑器窗口 .....	92
文件菜单命令 .....	92
设置菜单命令 .....	93
工具菜单命令 .....	93
工具栏命令 .....	93
扩增程序编辑控件 .....	93
在“扩增程序编辑器”中创建一个扩增程序 .....	96
在“扩增程序编辑器”中打开新的扩增程序文件 .....	96
在“扩增程序编辑器”中打开现有扩增程序 .....	97
设置新的扩增程序 .....	98
在扩增程序中添加步骤 .....	100
插入一个梯度步骤 .....	101
插入一个跳转步骤 .....	102
插入熔解曲线 .....	102
添加或删除一个读板步骤 .....	104
更改步骤选项 .....	104
删除一个步骤 .....	104
复制、导出或打印一个扩增程序 .....	105
在“扩增程序自动编写器”中创建一个扩增程序 .....	106
使用退火温度计算器 .....	108
关于退火温度计算器 .....	108
<b>第 8 章准备反应板 .....</b>	<b>113</b>
“反应板编辑器”窗口 .....	114
文件菜单命令 .....	114
编辑菜单命令 .....	115
设置菜单命令 .....	115
编辑工具菜单命令 .....	115
工具栏命令 .....	116
使用“反应板编辑器”创建反应板文件 .....	117
在“反应板编辑器”中打开新反应板文件 .....	117
在“反应板编辑器”中打开现有的反应板文件 .....	119
设置新的反应板文件 .....	120
为反应板文件分配可选参数 .....	127
为反应孔设置靶标 .....	127

为反应孔分配样品名称 .....	129
为反应孔分配生物组 .....	130
为反应孔分配技术重复 # .....	132
为标准品样品类型分配稀释系列 .....	133
将反应孔信息复制到另一个反应孔中 .....	134
添加反应孔备注信息 .....	135
清除反应孔的所有内容 .....	135
更改实验设置 .....	137
创建反应孔编组 .....	139
更改示踪线样式 .....	141
以电子表格格式查看、导出和导入反应板 .....	142
使用反应板设置向导创建反应板布局 .....	144
使用反应板设置向导 .....	144
<b>第 9 章运行实验 .....</b>	<b>147</b>
运行设置窗口 .....	148
访问运行设置窗口 .....	149
“扩增程序”选项卡 .....	150
“反应板”选项卡 .....	152
“启动运行”选项卡 .....	154
运行实验 .....	155
“运行详细信息”对话框 .....	157
“运行状态”选项卡 .....	157
“实时状态”选项卡 .....	160
“时间状态”选项卡 .....	163
执行 PrimePCR 实验 .....	164
转移独立数据文件用作分析 .....	166
通过电子邮件传输数据 .....	166
从 CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统 传输数据 .....	166
通过 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 转移数据 .....	168
使用 USB 驱动器传输数据 .....	168
使用 CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统通过共享网络驱动器传输数据 .....	169
创建一个数据文件 .....	169
<b>第 10 章数据分析概述 .....</b>	<b>171</b>
数据分析窗口 .....	171

“数据分析”工具栏 .....	172
数据分析菜单栏 .....	173
选项卡详细信息 .....	176
步骤数选择器 .....	176
在数据分析中查看反应孔编组 .....	177
运行后更改反应孔信息 .....	177
数据分析设置 .....	178
调整阈值 .....	178
基线设置 .....	178
分析模式 .....	178
用于分析的循环 .....	179
反应孔选择器 .....	180
反应孔选择器右键单击菜单项 .....	181
从分析中暂时排除反应孔 .....	182
图表 .....	183
图表工具 .....	183
在图表中放大一个区域 .....	191
复制图表至 Microsoft 文件中 .....	191
图表的常用右键单击菜单项 .....	191
电子表格 .....	193
图表的常用右键单击菜单项 .....	193
导出 .....	195
导出所有数据表 .....	195
导出 RDML 文件 .....	196
创建自定义导出文件 .....	197
导出至 LIMS 文件夹 .....	198
导出 Seegene 格式化数据 .....	198
<b>第 11 章数据分析详细信息 .....</b>	<b>199</b>
“定量”选项卡 .....	200
荧光基团选项 .....	200
“示踪线样式”对话框 .....	201
对数坐标尺选项 .....	202
标准曲线图表 .....	203
扩增图表菜单选项 .....	204

定量选项卡电子表格 .....	204
定量数据选项卡 .....	206
结果电子表格 .....	206
“标准曲线结果”电子表格 .....	208
反应板电子表格 .....	209
RFU 电子表格 .....	210
熔解曲线选项卡 .....	211
调整熔解曲线数据 .....	213
熔解曲线数据选项卡 .....	214
熔解峰电子表格 .....	214
反应板电子表格 .....	215
RFU 电子表格 .....	216
-d(RFU)/dT 电子表格 .....	217
“终点”选项卡 .....	218
结果数据 .....	219
调整终点数据分析 .....	220
用于终点分析的 RFU 电子表格 .....	220
“等位基因分型”选项卡 .....	221
调整等位基因分型数据 .....	222
图表菜单选项 .....	223
等位基因分型电子表格 .....	223
“自定义数据视图”选项卡 .....	224
创建自定义数据视图 .....	225
质控选项卡 .....	226
改变质控标准 .....	226
排除不符合质控的反应孔 .....	226
运行信息选项卡 .....	228
数据分析报告 .....	229
数据分析报告类别 .....	230
创建数据分析报告 .....	233
创建反应孔编组报告 .....	234
<b>第 12 章基因表达分析 .....</b>	<b>235</b>
基因表达分析的反应板设置 .....	235
指引反应板设置 .....	236

基因表达图表 .....	237
绘制 .....	238
更改和注释图表视图 .....	239
调整基因表达数据 .....	245
实验设置 .....	247
右键单击菜单选项 .....	248
数据电子表格 .....	249
显示详细信息选项 .....	250
聚类图 .....	252
设置 .....	252
右键单击菜单选项 .....	252
数据电子表格 .....	252
散点图 .....	253
设置 .....	253
右键单击菜单选项 .....	253
数据电子表格 .....	253
结果电子表格 .....	254
基因研究 .....	255
批次间校准 .....	255
“基因研究”对话框 .....	255
研究设置选项卡 .....	256
准备基因研究 .....	256
“研究分析”选项卡 .....	257
基因研究报告类别 .....	258
创建基因研究报告 .....	260
<b>附录 A 数据分析计算 .....</b>	<b>261</b>
扩增效率 .....	261
相对定量 .....	261
选择对照样品时的相对量 .....	262
相对定量的标准偏差 .....	262
效率校正的 Cq (CqE) .....	263
平均效率校正的 Cq (MCqE) .....	263
均一化基因表达量 .....	264
生物组的表达和相对量 .....	265



选择对照样品时的均一化基因表达 .....	265
均一化基因表达的标准偏差 .....	266
缩放至最高表达水平的均一化基因表达 .....	267
缩放至最低表达水平的均一化基因表达 .....	267
缩放至平均表达水平的均一化基因表达 .....	267
缩放后均一化基因表达的标准偏差 .....	268
标准偏差误差 (lg) 和平均值的标准误差 (lg) .....	269
倍数变化 .....	270
校正公式 .....	271
生物组分析的置信区间计算 .....	272
箱形图计算 .....	272
<b>附录 B 审计跟踪</b> .....	<b>275</b>
查看审计跟踪 .....	275
可审计事件 .....	277
<b>附录 C LIMS 整合</b> .....	<b>281</b>
创建与 LIMS 兼容的数据文件 .....	281
设置 LIMS 文件夹和数据导出选项 .....	281
创建 LIMS 扩增程序 .....	283
创建 LIMS 文件 .....	283
开始 LIMS 运行 .....	287
将数据导出到 LIMS .....	287
<b>附录 D CFX Maestro Dx 软件, 安全版故障排除</b> .....	<b>289</b>
白名单 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 文件和文件夹 .....	289
应用程序日志 .....	290
检索应用程序和固件日志文件 .....	291
故障排除 .....	291
电源故障 .....	291
将文件传输到 CFX Maestro Dx SE 计算机 .....	291
手动安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 .....	292
重新安装驱动程序 .....	292
<b>附录 E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products</b> .....	<b>293</b>
Software Notices .....	294
ZedGraph .....	294

Standard Open License Text .....	294
LGPL-2.1 .....	294
附录 F 参考文献 .....	307

## 目录

# 安全与法规遵从性

在运行期间, CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 实时 PCR 系统(在本指南中被称为 CFX Opus Dx 系统) 加热冷却的速度非常快。为安全操作实时 PCR 系统, Bio-Rad 强烈建议您严格遵守本部分及整本手册中列出的安全规范。

## 安全警告标签

CFX Opus Dx 系统上粘贴的以及本手册中列出的警告标签旨在向您警示损伤或危害的来源。表 1 定义了每个安全警告标签。

表 1. 一般安全警告









图标	含义
	在阅读本手册之前操作 CFX Opus Dx 系统 可能造成人身伤害。以本手册或 Bio-Rad 未指定的方式使用本仪器可能会导致其保护功能受损或丧失。
	CFX Opus Dx 系统本身不存在生物危害或放射性危害。这些危害只有在通过测试样品引入系统时才成为问题。当处理生物危害性或放射性样品时, 请严格遵守注意事项和指南要求, 并谨遵您所在实验室及地区特定的建议预防措施和指南。这些指南应包括您正在使用的有害物质的清洗、监测和处置方法。
	
	
	此外, 如上所述, 样品容器存在爆炸、液体或蒸气排出的小风险。使用危险材料时, 排出的物质可能造成伤害, 而危险材料本身也可能散布在仪器内部和周围。用户应针对这种情况采取适当的预防措施。
	CFX Opus Dx 系统在足以导致严重灼伤的温度下运行。请等待样品反应模块回复至室温再打开盖子取走样本。即使在样品模块冷却后, 周围区域以及加热板也可能在相当长的时间内保持高温。如果没有足够的时间等待仪器冷却, 则建议使用防护设备, 例如隔热手套或“烤箱手套”。

表 1. 一般安全警告(续)

图标	含义
	<p>对于任何包含 CFX Opus Dx 系统的系统,其安全性和性能完全由系统组装人员负责。</p>
	<p>在正常运行过程中,CFX Opus Dx 系统达到的温度足以导致样品中的液体沸腾或蒸发,从而使样品容器承压。样品容器可能受损,导致泄漏、液体喷淋或爆炸性破裂,并将蒸汽或液体散发至仪器内部和周围。</p> <p>在操作过程中,用户应始终在关闭盖子的情况下操作仪器,或在操作过程中佩戴安全护目镜、隔热手套和其他个人防护设备,以免受伤。样品处于高温状态时(例如中断运行后)打开仪器可能导致加压容器泄漏、喷射或喷出液体。打开热盖之前,请务必等待样品冷却。</p> <p>热盖或密封件打开、松动、穿孔或损坏时,切勿运行反应,因为这会增加破裂或爆炸的可能性,从而导致危险。</p> <p>切勿使用挥发性试剂进行反应,因为这会增加破裂或爆炸的可能性,从而导致危险。</p>

## 安全与法规遵从性

### 安全合规

CFX Opus Dx 系统 已经过测试, 确认符合以下安全和电磁标准的所有适用要求:

- IEC 61010-1:2010 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 1 部分: 一般要求
- IEC 61010-2-010:2019 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-010 部分: 材料加热用实验室设备的特殊要求
- IEC 61010-2-081:2019 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-081 部分: 用于分析和其他用途的自动及半自动实验室设备的特殊要求
- IEC 61010-2-101:2018 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-101 部分: 体外诊断 (IVD) 用医疗设备的特殊要求
  
- CAN/CSA-C22.2 NO.61010-1-12:2018 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求, 第 1 部分: 一般要求
- CAN/CSA-C22.2 NO.61010-2-010:19 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求, 第 2-010 部分: 材料加热用实验室设备的特殊要求
- CAN/CSA-C22.2 NO.61010-2-081:19 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求, 第 2-081 部分: 用于分析和其他用途的自动及半自动实验室设备的特殊要求
- CSA-C22.2 NO.61010-2-101:19 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-101 部分: 体外诊断 (IVD) 用医疗设备的特殊要求
  
- EN 61010-1:2010 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求, 第 1 部分: 一般要求
- EN 61010-2-010:2014 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-010 部分: 材料加热用实验室设备的特殊要求
- EN 61010-2-081:2015 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-081 部分: 用于分析和其他用途的自动及半自动实验室设备的特殊要求
- EN 61010-2-101:2017 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-101 部分: 体外诊断 (IVD) 用医疗设备的特殊要求
  
- UL 61010-1:2012 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 1 部分: 一般要求

- UL 61010-2-010:2019 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-010 部分:材料加热用实验室设备的特殊要求
- UL 61010-2-081:2019 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-081 部分:用于分析和其他用途的自动及半自动实验室设备的特殊要求
- UL 61010-2-101:19 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 - 第 2-101 部分:体外诊断 (IVD) 用医疗设备的特殊要求

## 电磁兼容性 (EMC)

CFX Opus Dx 系统已经过测试, 确认符合以下安全和电磁标准的所有适用要求:

- IEC 61326-1:2012 测量、控制和实验室用电气设备 - EMC 要求 - 第 1 部分:一般要求。经测试为 A 类设备
- IEC 61326-2-6:2012 测量、控制和实验室用电气设备 - EMC 要求 - 第 2-6 部分:特殊要求 - 体外诊断 (IVD) 用医疗设备
- EN 61326-1:2013 测量、控制和实验室用电气设备 - EMC 要求 - 第 1 部分:一般要求。经测试为 A 类设备
- EN 61326-2-6:2013 测量、控制和实验室用电气设备 - EMC 要求 - 第 2-6 部分:特殊要求 - 体外诊断 (IVD) 用医疗设备
- FCC 第 15 部分 B 部分, 第 15.107 和 15.109 节。经测试为 A 类数字设备
- CAN ICES-003v6:2019 引起干扰的设备标准、信息技术设备(包括数字设备)-限值和测量方法。经测试达到 A 级限制

## FCC 警告和备注

- **警告:**在未经 Bio-Rad 明确批准的情况下对本设备进行更改或修改, 可能会导致用户丧失操作设备的权利。
- **注释:**经检测, 本设备符合 FCC 规定第 15 部分中有关 A 类数字装置的限制。这些限制旨在提供合理保护, 防止设备在商业环境中使用时产生有害干扰。本设备会产生、利用和辐射射频能量, 如果未依照说明手册安装和使用, 可能会对无线电通信造成有害干扰。在住宅区域中操作本设备可能会导致有害干扰, 在这种情况下用户需自费纠正干扰。
- **有关 FCC 合规性的备注:**尽管本仪器经检测符合 FCC 规定第 15 部分、分部分 B 中有关 A 类数字装置的规定, 但请注意该合规行为纯属自愿, 因为该仪器具有与所引用的 FCC 法规相关的 47 CFR 15.103(c) 中“豁免装置”的资格(生产时即生效)。
- **关于电缆的备注:**该仪器已使用随机提供的特殊设计 USB 电缆进行 EMC 兼容性测试。该仪器必须使用这些电缆或经 Bio-Rad 授权的替代品, 以确保持续符合 EMC 排放限制。

## 环境要求

CFX Opus Dx 系统设计可在下表所列的环境条件下安全运行。

**表 2. CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统环境要求**

参数	规格
环境	仅供室内使用
运行海拔	最高海拔 2,000 米
环境室温	15–31°C*
运输和储存温度	–20° 至 60°C** –4 至 140°F
相对湿度	20% 至 80%(非冷凝)***
运行功率	100 至 240 VAC ±10%, 50/60 Hz, 最大 850 W
市电电压波动	±10%
最大功耗	<850 瓦
保险丝	10 A, 250 V, 5 × 20 mm, 快速熔断(2 件)
过电压等级	II
污染程度	2

\*在此温度范围之外操作仪器可能不符合性能规格。5-40°C 之间的室温被认为是安全的。

\*\*在运输容器中储存和运输仪器以满足这些温度条件。

\*\*\*在这些条件下, 在 4°C 下操作仪器应限制为 18 小时。如果湿度低于 60%(非冷凝), 则可以在 4°C 下保持长达 72 小时。



## 危害

CFX Opus Dx 系统设计按照制造商规定的方式安全操作。如果以制造商未指定的方式使用系统或其任何相关组件，则仪器所提供的固有保护可能受损。对于因以未指定的方式使用本设备或因 Bio-Rad 或授权代理商以外的人员对仪器进行改装而造成的任何伤害或损坏，Bio-Rad 概不负责。CFX Opus Dx 系统的维修仅应由受过培训的 Bio-Rad 人员执行。

## 生物危害

CFX Opus Dx 系统是实验室产品。但是，如果存在生物危害性样品，请严格遵守以下准则和您所在实验室及地区特定的任何当地准则。

**注释：**生物危害物并不会在仪器正常使用过程中消耗减少。

### 一般预防措施

- 始终穿戴实验服、实验手套和带侧翼的防护眼镜或护目镜。
- 请勿以手触摸口、鼻和眼睛。
- 在处理可能具有传染性的材料前，请做好充分防护，避免割伤或擦伤。
- 在处理任何可能具有传染性的材料后以及离开实验室前，用肥皂和水彻底清洗双手。
- 在工作台执行操作前请取下手表和饰品。
- 将所有感染性或潜在感染性材料存储在不易破损的防漏容器中。
- 离开实验室前，请脱下防护服。
- 请勿戴着手套写字、接电话、开灯或接触其他人在未戴手套的情况下可能接触的任何东西。
- 请频繁更换手套。手套明显脏污时请立即更换。
- 请勿将不可消毒/杀菌的物品放置在具有潜在污染风险的物品周边。
- 在完成生物危害材料相关操作时，使用适当的消毒剂（例如稀释度为 1:10 的家用漂白剂）对工作区域进行净化。

## 表面清洁



**警告!** 为防止触电, 在进行清洁操作之前, 请务必关闭仪器并拔下电源插头。

可以用任何医院级杀菌剂、杀病毒剂或杀真菌剂清洁以下区域:

- 外盖及底座
- 内部样品模块表面和样品反应孔
- 控制面板及显示器

要准备并施用消毒剂, 请参阅产品制造商提供的说明。使用消毒剂后, 应始终用水清洁样品模块和样品模块反应孔数次。用水冲清洁后彻底干燥样品模块和样品模块反应孔。

**重要:** 请勿使用研磨性或腐蚀性洗涤剂或强碱性溶液。这些试剂会导致设备的表面磨损和样品模块损坏, 影响温控的准确性。

## 生物危害材料的处置

根据实验室当地、地区和国家法规处置以下可能受到污染的材料:

- 临床样品
- 试剂
- 用过的反应器皿或其他可能受污染的消耗品

## 化学危害

CFX Opus Dx 系统 不含具有潜在危险的化学材料。

## 爆炸或易燃危害

当按照 Bio-Rad Laboratories 规定的适当方式使用时, CFX Opus Dx 系统 不会引起与可燃性或爆炸有关的不正常危害。

## 电气危害

如果在没有硬件改动的情况下正确安装和操作, 并且连接到适当规格的电源, CFX Opus Dx 系统 对操作人员不会造成不正常的电气危害。

## 运输

在移动或运输 CFX Opus Dx 系统之前, 必须执行净化程序。在移动或运输过程中, 始终使用 Bio-Rad 随附的包装材料将系统分开包装, 以保护系统免受损坏。

如需了解运输系统的相关信息或需索要适当的包装材料, 请与您当地的 Bio-Rad 办事处联系。

## 电池

CFX Opus Dx 系统 使用一个 3 V 锂金属纽扣电池, 以在交流电源中断的情况下维持时间设置。如果在本装置关闭后时间未能保持, 则可能表示电池电量不足。



**警告!** 不要尝试更换电池。这些电池不是用户可维修的。请联系 Bio-Rad 技术支持部门以寻求帮助。

### 仅适用于美国加利福尼亚州

- 高氯酸盐材料 — 锂电池包含高氯酸盐材料; 可能需要特殊处理。参见 [www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate](http://www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate)。

## 处置

CFX Opus Dx 系统 含有电气材料; 其不应作为未分类的废物处理, 并且必须根据欧盟指令 2012/19/EU 电子废弃物 — WEEE 指令单独收集。在处置之前, 请联系您当地的 Bio-Rad 代表, 了解各国的具体说明。

## 保修

CFX Opus Dx 系统 及其相关配件享受标准 Bio-Rad 保修服务。有关保修的详细信息, 请联系您当地的 Bio-Rad 办事处。

# 第 1 章简介

Bio-Rad 的高性能 PCR 扩增系统采用最先进的技术,可为基因组实验提供更高的核酸扩增精度和重复性。

Bio-Rad 的 CFX Maestro Dx 软件,安全版与以下仪器兼容,并针对 Bio-Rad 的 PrimePCR 引物和探针分析优化了运行文件:

- CFX Opus 96 Dx 实时 PCR 系统(在本指南中称为 CFX Opus 96 Dx)
- CFX Opus 384 Dx 实时 PCR 系统(在本指南中称为 CFX Opus 384 Dx)
- CFX Opus Deepwell Dx 实时 PCR 系统(在本指南中称为 CFX Opus Deepwell Dx)

使用 CFX Maestro Dx 软件,安全版(在本指南中称为 CFX Maestro Dx SE),您可以诠释复杂数据,进行全面的基因分析研究。仅需几次点击,即可建立实验,并可通过 t-检验、单因素 ANOVA、PrimePCR 对照分析及参考基因筛选工具等完善基因表达研究。随后,您可借助 CFX Maestro Dx SE 强大的自定义数据可视化及注释工具,快速将用于出版和发表的结果准备妥当。

**注释:**CFX Maestro 中某些屏幕的显示可能与本用户指南中的显示有所不同。软件中显示正确,且功能相同。

**重要:**网络安全用于保护网络空间中的资产免受网络攻击。网络安全是指 Bio-Rad 在网络空间中保护其人员、信息、系统和声誉的能力。网络空间是一个永远在线、技术互联的世界;由人、组织、信息和技术组成。

快速做出反应对于网络安全问题至关重要!如果您怀疑您的仪器面临安全问题,或所在研究中心的网络安全遭到破坏,请联系您的 Bio-Rad 代表,以便获得技术支持。

## CFX Maestro Dx 软件, 安全版 的主要特点

使用 CFX Maestro Dx SE, 您可以执行以下操作:

- 使用柱形图、聚类图或散点图进行数据分析, 快速解读和分析您的实验结果。
- 自定义输出报告的内容以及导出用于出版的高分辨率图片。
- 使用 PrimePCR 分析对照物确定 RNA 质量并排除实验问题。
- 通过参考基因选择工具挑选合适的参考基因并分析其稳定性。
- 可进行统计学分析, 包括在基因表达分析中使用单因素 ANOVA。

本用户指南会对这些功能进行解释并说明其使用方法。

## 发现更多

安装 CFX Maestro Dx SE 和设置相关 Bio-Rad PCR 仪器后, 您可以从任意视图中的“帮助”菜单访问本指南以及详细的 CFX Maestro Dx SE 帮助主题。

**提示:** 点击任何 CFX Maestro Dx SE 窗口右上角的 Bio-Rad 徽标可打开 Bio-Rad 网站。该站点包含有关技术说明、手册、视频、产品信息和技术支持的链接。该站点还可提供丰富的技术资源, 内容涉及大量与 PCR、实时 PCR 和基因表达相关的不同方法和应用程序。

## 第 2 章 安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版

本章介绍如何安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版。有关设置 Bio Rad 所支持的实时 PCR 仪器的信息, 请参阅相应的指南。

需要使用 CFX Maestro Dx SE 来分析 CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 实时 PCR 系统的实时 PCR 数据。您也可以使用此软件在软件控制模式下控制上述设备。

CFX Opus Dx 系统随附件包附带一根 USB 电缆。使用 USB 缆线将运行 CFX Maestro Dx SE 的计算机连接到 CFX Opus Dx 系统。

拆下包装材料并保存好, 以备将来使用。如果物品丢失或损坏, 请与当地 Bio-Rad 办事处人员联系。

## 系统要求

表 3 列出了运行 CFX Maestro Dx SE 的计算机系统最低配置要求以及推荐的配置要求。

**表 3. CFX Maestro Dx SE 软件运行的计算机要求**

系统	最低配置要求	推荐配置
操作系统	Microsoft Windows 10(仅限 64 位), 版本 1511 或更高版本, 具有最新的安全更新。	Microsoft Windows 10(仅限 64 位), 版本 1511 或更高版本, 具有最新的安全更新。
<p><b>注释:</b> Windows 11 还支持 CFX Maestro Dx 软件, 安全版。</p> <p><b>重要:</b> 必须在运行的 CFX Maestro Dx SE 的计算机上禁用安全启动。应对运行 CFX Maestro Dx SE 的计算机进行配置, 以便在运行过程中若有系统或安全更新, 计算机不会自动重启。请咨询系统管理员以获取帮助。</p>		
接口	2 个 USB 2.0 高速端口	2 个 USB 2.0 高速端口
硬盘容量	128 GB	128 GB
处理器速度	2.4 GHz, 双核	2.4 GHz, 四核
内存	4 GB	8 GB
屏幕分辨率	1024 x 768, 真彩色模式	1280 x 1024, 真彩色模式
PDF Reader		Adobe PDF Reader 或符合以下 Microsoft Office 版本之一的 Windows PDF Reader: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2016</li> <li>■ 2019</li> </ul>
语言	支持英文、中文和俄文的 Microsoft Windows 64 位操作系统	支持英文、中文和俄文的 Microsoft Windows 64 位操作系统

**注释:** 如果计划在与 CFX Maestro Dx SE 相同的计算机上运行 CFX Automation Control 软件, 请使用真彩色模式将屏幕分辨率设置为 1280 x 1024。

## 正在安装 CFX Maestro Dx SE 软件

**重要:** 在安装或升级软件之前, 您必须断开所有与 CFX Maestro Dx SE 计算机连接的仪器。软件安装过程中无需关闭仪器。确保已保存所有运行, 并且没有任何运行中实验。

**注释:** 在开始安装过程之前, 请确保已禁用安全启动。确保已对计算机进行配置, 以便在运行过程中若有系统或安全更新, 计算机不会自动重启。请咨询系统管理员以获取帮助。

### 安装 CFX Maestro Dx SE 软件

1. 如有必要, 请从计算机上断开所有仪器连接。

在 CFX Maestro Dx SE 电脑上找到并断开仪器的 USB 线。插入 CFX Opus Dx 系统的一端可以留在原位。

2. 使用管理员权限登录到 CFX Maestro Dx SE 计算机。
3. 将 CFX Maestro Dx SE 软件的 USB 驱动器插入计算机的 USB 端口。
4. 在 Windows 资源管理器中, 导航至 CFX Maestro Dx SE 软件 USB 驱动器并打开。

USB 驱动器包含发行说明和以下文件夹:

- CFX
- 驱动程序
- 固件
- 快速启动

除其他文件外, CFX 文件夹还包含 CFX Maestro Dx SE 软件安装程序 (CFXMaestroDxSetup.exe)。

5. 打开 CFX 文件夹, 然后双击 CFXMaestroDxSetup.exe 以启动安装程序。
6. 按照屏幕上的说明完成安装。

完成后, Bio-RadCFX Maestro Dx 软件, 安全版图标出现在计算机桌面上。

**提示:** CFX Maestro 安装程序会自动安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户指南。要找到这些指南, 请导航至“帮助”菜单, 然后选择“打开用户指南”。

7. 安装完成后, 您可以安全弹出软件 USB 驱动器。



## 检测已连接的仪器

在安装过程中, CFX Maestro Dx SE 安装程序会自动将仪器驱动程序安装到 CFX Maestro Dx SE 计算机上。启动软件后, CFX Maestro Dx SE 可检测到连接的仪器。

### 检测已连接的仪器

1. 如果您尚未执行此操作, 请将随仪器附带的 B 型 USB 数据线的方形端(公头)插入位于仪器底座背面的 B 型 USB 端口。
2. 将另一(端口)端插入 CFX Maestro Dx SE 计算机的 USB 端口。
3. 如果仪器尚未运行, 请按仪器的电源开关将其打开。
4. 启动 CFX Maestro Dx SE。

软件自动检测连接的仪器, 并在主窗口的检测仪器窗格中显示其名称。

**注释:**如果仪器未出现在“检测到的仪器”窗格中, 请确认 USB 数据线是否正确安装。若要重新安装驱动程序, 请在 CFX Maestro Dx SE 的主窗口中选择“工具”>“重新安装仪器驱动程序”。

## 软件文件

表 4 列出了 CFX Maestro Dx SE 的文件类型。

**表 4. CFX Maestro Dx SE 文件类型**

文件类型	扩展名	描述
扩增程序	.prcl	包含用于执行 PCR 运行的扩增程序设置详细信息。
反应板	.pltd	包含用于执行 PCR 运行的反应板设置详细信息。
数据	.pcrd	包含实验运行和 PCR 分析的结果。
PrimePCR 运行	.csv	包含 PrimePCR 反应板的扩增程序和反应板布局。
基因研究	.mgxd	包含多重 PCR 运行和基因表达分析的结果。
独立预处理数据文件	.zpcr	包含转换为数据文件所需的在独立运行中采集的荧光信号读数。
LIMS	.plrn	包含进行 LIMS 兼容运行所需的反应板设置和扩增程序信息。
JSON	.json	这是一个仅由 CFX Opus Dx 系统生成的只读文件, 该文件包含选择运行文件后在“文件浏览器”的“详细信息”窗格中显示的运行文件数据。运行完成后将生成此文件。当“保存位置”是 USB 驱动器或共享网络文件夹时, 它与 .zpcr 文件一起导出并与数据文件一起保存。

## 第 2 章 安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版

## 第 3 章 管理 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 用户帐号

在 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 中, 用户使用 Windows 用户名和密码登录。安装 CFX Maestro Dx SE 的人员被自动分配为管理员, 可创建和管理用户帐号和角色。必须为所有其他用户分配用户帐号, 以便登录并使用该软件。

**重要:** 在分配用户帐号和角色之前, 每个用户都必须在 CFX Maestro Dx SE 计算机上具有 Windows 帐号和密码。用户可以是 Windows 用户组或 Windows 管理员组的成员。Windows 用户组的成员只能访问自己的 CFX Maestro Dx SE 文件和文件夹。Windows 管理员组的成员可以访问计算机上所有用户的文件和文件夹。

本章节介绍了如何创建 Microsoft Windows 用户以将这些用户添加到 CFX Maestro Dx SE。本部分还说明了如何添加 CFX Maestro Dx SE 用户并管理用户角色和权限。

## 启动 CFX Maestro Dx 软件, 安全版

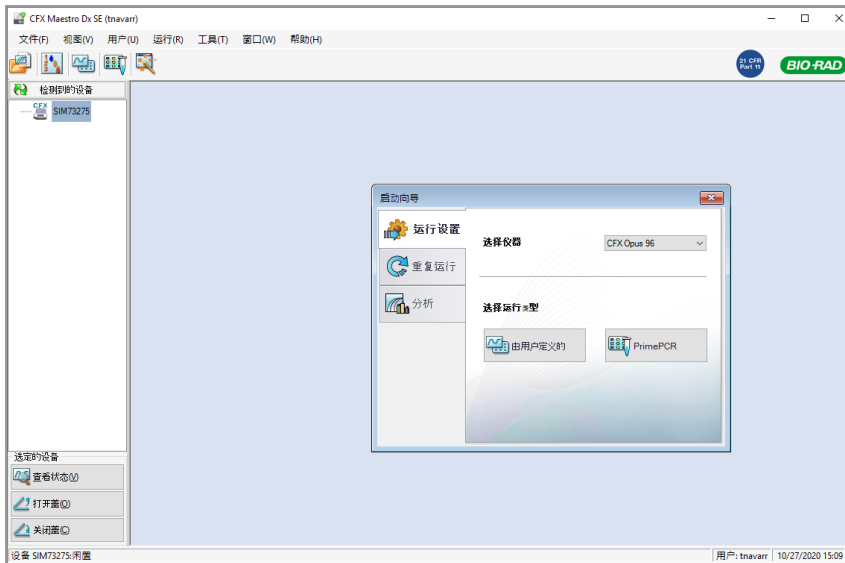
**注释:** 每个用户都必须使用其 Windows 用户名和密码登录。

### 启动 CFX Maestro Dx SE

1. 在 CFX Maestro Dx SE 计算机桌面上, 双击 CFX Maestro Dx SE 快捷方式图标以启动应用程序。
2. 在“登录”对话框中, 键入 Windows 密码, 然后单击“确定”。



CFX Maestro Dx SE 将打开主窗口。标题栏显示已登录用户的 Windows 用户名, 菜单栏显示蓝色标签, 指示软件符合 21 CFR 第 11 部分, 例如:



## 将 Microsoft Windows 用户添加到 CFX Maestro Dx 软件, 安全版计算机

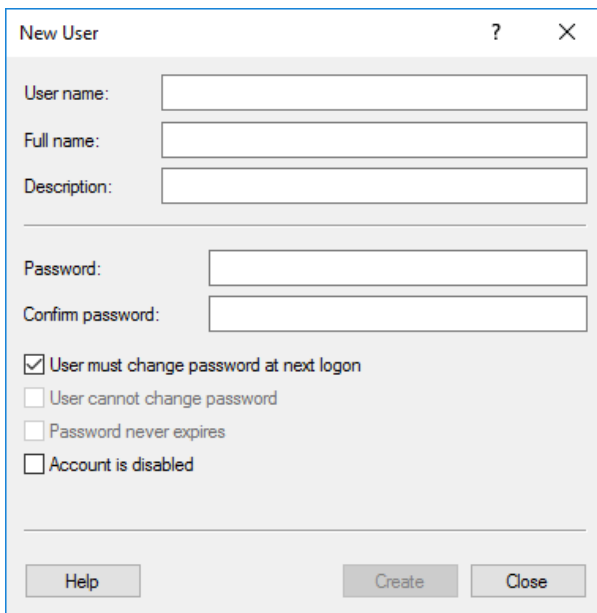
所有用户都必须以其 Window 用户名和密码登录到 CFX Maestro Dx SE 计算机。为了进行准确的审核跟踪, 不能通过“开始”>“设置”>“帐户”对话框添加 Windows 用户帐户。Windows 用户帐户**必须**通过计算机管理控制台进行添加。

**重要:** 创建关联的 CFX Maestro Dx SE 用户后, 对 Windows 用户属性(包括用户名和全名)所做的更改将使 CFX Maestro Dx SE 用户无效。在保存 Windows 用户并创建关联的 CFX Maestro Dx SE 用户前, 请确保信息正确无误。

**提示:** 在创建 Windows 帐户之前, 请查看 Microsoft Windows 管理文档, 并与 Windows 系统管理员联系以获取更多信息。

### 将 Windows 用户帐户添加到 CFX Maestro Dx SE 计算机

1. 以 Windows 管理员组成员身份登录到 CFX Maestro Dx SE 计算机。
2. 在桌面上, 右键单击“我的电脑”, 然后选择“管理”以打开计算机管理控制台。
3. 在计算机管理控制台中, 展开“本地用户和组”。
4. 右键单击“用户”文件夹, 然后选择“新用户”以打开“新用户”对话框。



5. 在“新用户”对话框中, 您必须填写以下字段:
  - 用户名

### 第 3 章管理 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 用户帐号

- 全名
- 密码
- 确认密码

6. 单击“创建”。

## 添加和删除 CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户

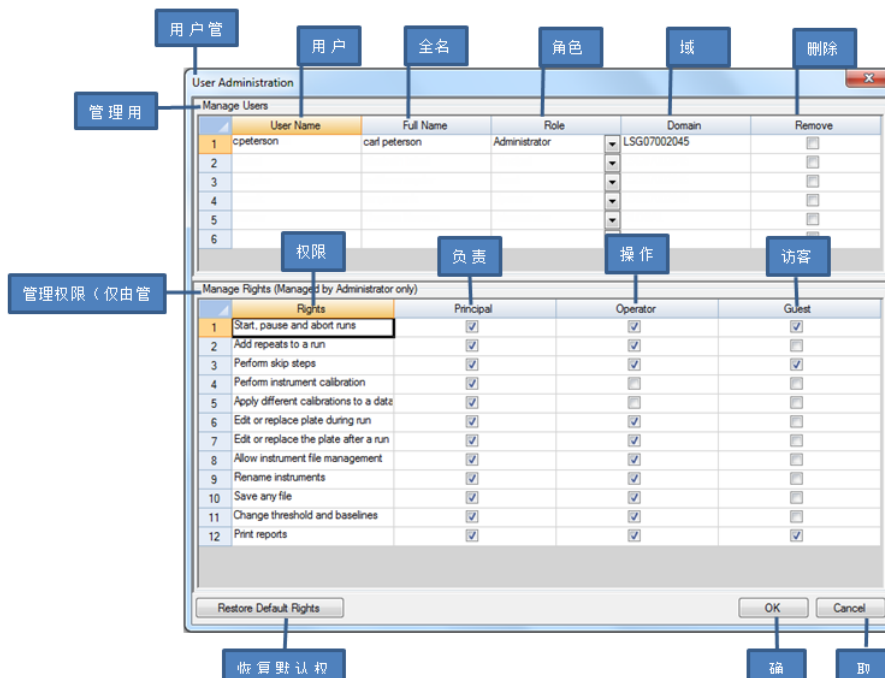
**提示:** 仅具有 CFX Maestro Dx SE 管理员权限的用户可以创建和删除 CFX Maestro Dx SE 用户帐户。CFX Maestro Dx SE 安装人员被自动分配为管理员权限, 该人员可将管理员权限分配给其他用户。

**注释:** 在 CFX Maestro Dx SE 中, 至少要为一个用户分配管理员权限。

### 添加 CFX Maestro Dx SE 用户帐号

1. 验证每个目标用户是 Windows 用户组或 Windows 管理员组的成员, 并且在 CFX Maestro Dx SE 计算机上具有 Windows 密码。
2. 启动 CFX Maestro Dx SE 并以管理员身份登录。
3. 在主窗口中, 选择“用户”>“用户管理”。

出现“用户管理”对话框。





4. 在“管理用户”部分, 为每个用户提供以下信息:

- **用户名** — 在 CFX Maestro Dx SE 中, 其**必须**是用户的 Windows 登录用户名。
- **全名** — 用户的全名。

其显示在审计跟踪的“完全用户”字段中。此名称必须与创建 Windows 用户时在“全名”字段中输入的名称相同。

- **角色** — 分配给用户的角色。

**注释:**您只能从下拉列表中选择一个角色。有关更多信息, 请参阅[管理 CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户角色](#)。

- **域** — 用户从中访问软件的 Windows 域。

有关更多信息, 请咨询 Windows 系统管理员。

5. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存更改并关闭“用户管理”对话框。

#### 删除 CFX Maestro Dx SE 用户帐号

1. 启动 CFX Maestro Dx SE 并以管理员身份登录。
2. 在主页窗口, 选择“用户”>“用户管理”以打开“用户管理”对话框。
3. 在“管理用户”窗格中, 针对您要删除的用户选择“删除”。
4. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存更改并关闭“用户管理”对话框。

## 管理 CFX Maestro Dx 软件, 安全版用户角色

**重要:**CFX Maestro Dx SE 要求至少为一个用户分配管理员权限。您可以将此角色分配给多个用户。

CFX Maestro Dx SE 有四个用户角色。为了访问软件, 必须为每个用户分配一个角色。虽然只能为用户分配一个角色, 但可随时更改用户角色。

CFX Maestro Dx SE 中的角色的默认权限除管理员权限外, 您可以更改分配给每个角色的权限。所有用户仅继承所分配角色的权限。

默认情况下, 每个角色的权限如下:

- **管理员** — 此角色具有所有权限; 您不能更改这些权限。
- **主用户** — 该角色具有除设置电子邮件以外的所有权限。
- **操作员** — 该角色具有除跳过循环和设置电子邮件以外的所有权限。
- **访客** — 此角色只能读取文件。

在 CFX Maestro Dx SE 中分配角色时, 请仔细确定每个用户的要求。例如, 如果没有保存权限, 则被分配访客角色的用户将无法签署文件。如果没有设置电子邮件帐户的权限, 所有角色在运行完成后都不会收到电子邮件。

### 修改角色权限

1. 启动 CFX Maestro Dx SE 并以管理员身份登录。
2. 在主页窗口, 选择“用户”>“用户管理”以打开“用户管理”对话框。
3. 在“管理权限”部分中, 根据需要清除或选中每个角色特定权限的复选框。
4. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存更改并关闭“用户管理”对话框。

## 查看您的角色和权限

**提示:** 已分配“负责人”、“操作员”或“访客”用户角色的用户只能查看自己的用户设置、权限和角色。已分配“管理员”角色的用户可以查看所有用户权限和角色。

### 查看您当前用户角色和权限

- ▶ 在“主页”窗口中, 选择“用户”>“用户管理”。

联系您的 CFX Maestro Dx SE 管理员来修改“用户管理”窗口中列出的用户设置、权限和角色。



## 第 4 章 使用 CFX Maestro Dx 软件, 安全版

**重要:** CFX Maestro Dx 软件, 安全版 使用 Microsoft Windows 用户身份验证来验证对安全 CFX 数据文件的访问。请与 Windows 管理员联系, 以创建符合 21 CFR 第 11 部分要求的环境。

使用 CFX Maestro Dx SE, 用户可以

- 签署数据和基因研究文件。
- 密码保护安全文件。
- 查看和打印审计跟踪。

本节详细介绍这些功能。

### 安全文件

默认情况下, CFX Maestro Dx SE 将安全文件保存到已登录用户的个人文件夹, 其位于

C:\Users\\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDX\My qPCR

您可以在该文件夹中保存和编辑 .pcrd 文件。此文件夹中包含至包含只读文件的其他文件夹(例如, “样品文件”文件夹)的链接。但是, 管理员可以删除该文件夹的内容。

**提示:** 或者, Windows 系统管理员可以创建一个共享文件夹, 而 CFX Maestro Dx SE 管理员可以对该软件进行编程, 以便将所有文件保存到该文件夹。

在 CFX Maestro Dx SE 中, 反应板、扩增程序、数据和基因研究文件在保存时被标记为安全。您可以在 CFX Maestro 软件或 CFX Maestro Dx SE 中创建这些文件。在 CFX Maestro Dx SE 中保存文件后, 只能在 CFX Maestro Dx SE 中打开。

CFX Maestro Dx SE 为所有安全数据和基因研究文件(分别为 .pcrd 和 .mgxd 文件)创建审计跟踪。软件将所有可审计的活动记录在文件审计跟踪中。有关更多信息, 请参阅第 275 页上的“[审计跟踪](#)”。

### 签署安全文件

将文件保存在 CFX Maestro Dx SE 中后, 用户可以添加电子签名。要签署文件, 用户角色必须具有保存文件的权限。例如, 默认情况下, 访客角色无权限保存文件, 因此分配该角色的用户无法签署文件。

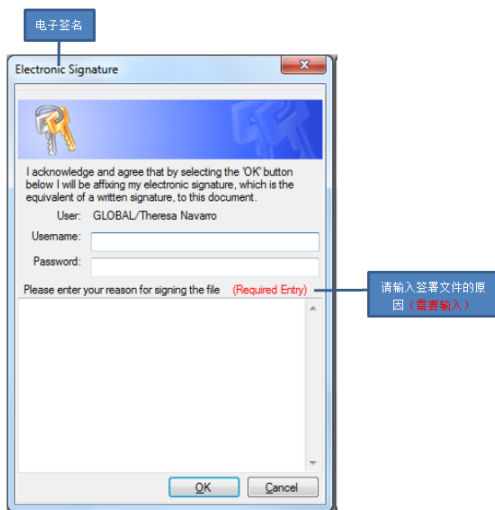
在 CFX Maestro Dx SE, 签名文件未设置为只读。其可被多次审核、修改和签名。所有更改和签名都记录在文件的审计跟踪中。您可以签署以下类型的文件：

- 数据文件 (.pcrd)
- 基因研究文件 (.mgxd)

**注释:**必须保存文件, 然后才能签名。如果您最近在 CFX Maestro Dx SE 中执行了运行, 请首先保存结果数据文件。

### 签署文件

1. 使用 Windows 登录凭据登录到 CFX Maestro Dx SE。
2. 打开需要签署的安全数据文件或基因研究文件。
3. 选择“文件”>“签名”。出现“电子签名”对话框。



4. 输入 Windows 用户名和密码以及签名原因。

用户名和签名原因包括在审计跟踪中(有关更多信息, 请参阅第 275 页上的“审计跟踪”)。

5. 单击“确定”提交签名并关闭对话框。

### 修改安全文件

在 CFX Maestro Dx SE 中, 用户可以修改安全文件, 包括签名和未签名的数据以及基因研究文件。当您保存修改后的安全数据或基因研究文件时, 软件会提示您提供更改原因。更改记录在文件的审计跟踪中。

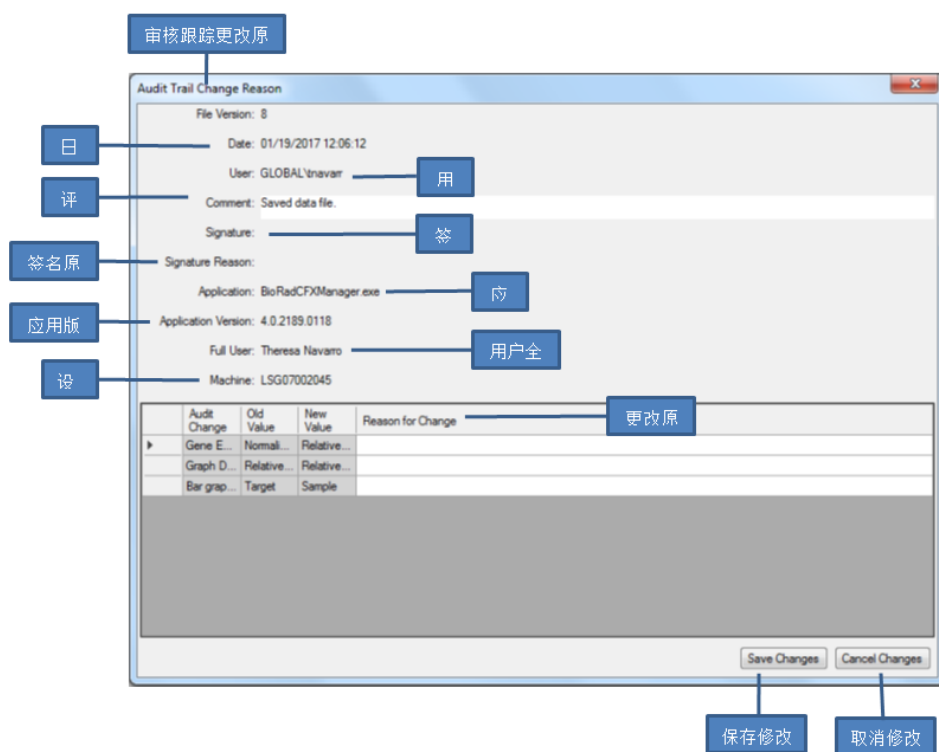
**提示:** 由于软件不会为反应板或扩增程序文件创建审计记录, 因此, 当您保存对这些文件的更改时, 不会提示您提供原因。

### 保存修改后的数据或基因研究文件

1. 使用 Windows 登录凭据登录到 CFX Maestro Dx SE。
2. 打开并修改安全数据文件或基因研究文件。

**提示:** 有关可审计活动的列表, 请参见第 277 页上的“可审计事件”。

3. 选择“文件>保存”。出现“审计跟踪变更原因”对话框。



此对话框显示以下信息, 这些信息在文件的审计跟踪标题中为每个修改事件所捕获:

- **日期** — 更改发生的日期。
- **用户** — 登录用户的 Windows 域和用户名。
- **评论** — 最后保存的评论。
- **签名** — 最后签署文件者的电子签名。
- **签名原因** — 签名的原因。

- **应用程序** — CFX Maestro Dx SE( 显示为 BioRadCFXManager.exe, 这是正确的)。
- **应用程序版本** — CFX Maestro Dx SE 的当前版本。
- **完全用户** — 登录用户的全名。  
**注释:**此名称显示在审计跟踪中。
- **机器** — 安装软件的计算机。

变更表显示了由于修改而发生的可审计变更。可能还会显示有关更改原因的简短说明。

**提示:**您可以在“变更原因”列中添加或编辑描述。

4. 查看变更列表。如有必要, 请提供详细的原因。
5. 执行以下操作之一:
  - 单击“保存更改”保存文件变更以及对表格所做的所有更改, 然后关闭对话框。  
文件变更以及更改原因将显示在文件的审计跟踪中。
  - 单击“取消变更”将文件还原到以前的状态, 然后关闭对话框。  
所做的更改不会保存到文件中, 审计跟踪也不会更新。

## 密码保护文件

作为附加的安全级别, CFX Maestro Dx SE 允许用户在所有安全文件上设置密码。在安全文件上设置密码时, 请考虑以下条件:

条件	操作
不需要密码。	所有用户都可以根据其权限打开、修改和保存安全文件。
文件需要保存密码。	所有用户都可以打开安全文件, 而知道保存密码的用户可以修改和保存安全文件。
文件需要打开密码。	只有知道密码的用户才能打开、修改和保存安全文件。
文件需要打开和保存密码。	一些用户可以打开安全文件, 他们中的一组用户可以修改和保存文件。

根据用户的角色, 只要满足以下任一条件, 任何用户都可以执行另存为以使用另一个名称创建新的安全文件, 或将同名文件保存到另一个位置:

- 安全文件不受密码保护。
- 用户拥有打开文件的密码。

**提示:**新文件在没有密码保护的情况下保存。原始文件保留其密码。

根据角色, 只要满足以下任一条件, 用户便可修改和保存原始文件:

- 该文件不受密码保护。
- 用户拥有打开文件的密码和保存文件的密码。

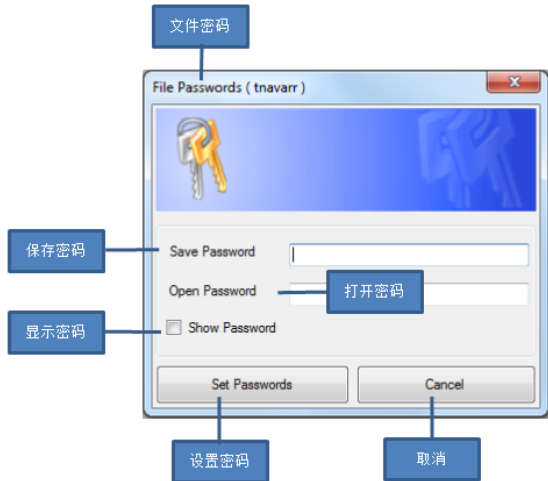
**注释:**用户的角色必须包括保存文件的权限才能设置密码。例如, 具有访客角色的用户无法保存文件, 因此无法设置文件密码。

**重要:**只有 CFX Maestro Dx SE 管理员可以重置或删除密码。



### 使用密码保护文件

1. 使用 Windows 凭据登录到 CFX Maestro Dx SE。
2. 打开安全文件。
3. 选择“文件”>“文件密码”。出现“文件密码”对话框。



4. 在“保存密码”和“打开密码”框中输入密码。

**提示:**默认情况下, 键入密码时显示星号字符。选择“显示密码”以在键入密码时显示密码。

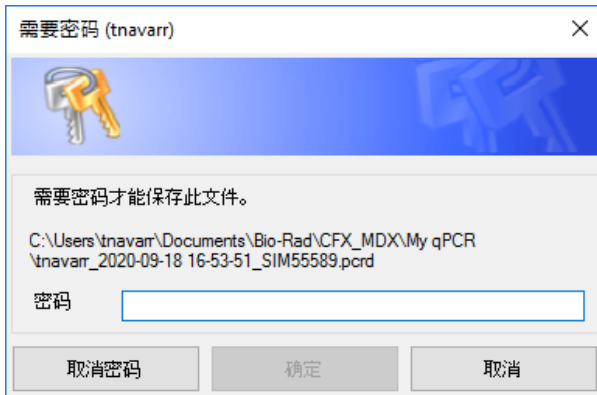
**重要:**密码区分大小写。CFX Maestro Dx SE 没有设置密码限制。为获得最佳实践, 请与系统管理员联系, 以获取您所在站点的密码要求。

5. 单击“设置密码”以设置密码并关闭对话框。
6. 选择“文件”>“保存”将更改保存到文件。

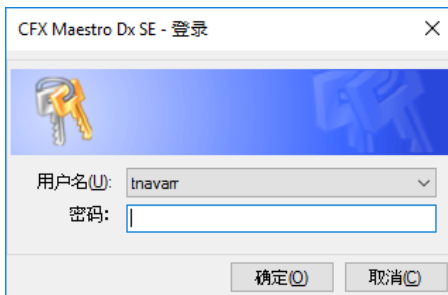
## 删除密码

**重要:** 只有 CFX Maestro Dx SE 管理员才能删除密码。

1. 在“需要密码”对话框中, 单击“删除密码”。



CFX Maestro Dx SE 登录对话框随即显示。



2. 为 CFX Maestro Dx SE 管理员提供 Windows 用户名和密码, 然后单击“确定”。

原始数据文件出现。

**重要:** 要删除密码, 您必须保存文件。

3. 选择“文件”>“保存”将更改保存到文件。

## 更改密码

**重要:** 只有 CFX Maestro Dx SE 管理员可以更改密码。

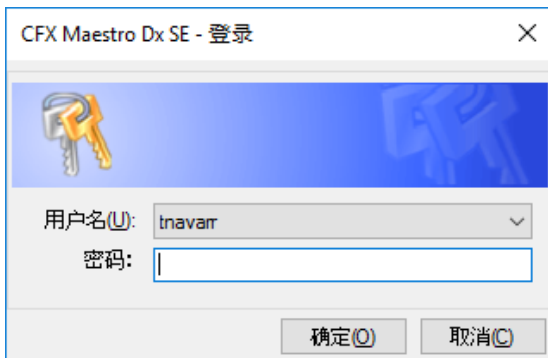
1. 打开安全文件。
2. 选择“文件”>“文件密码”。出现“文件密码”对话框。



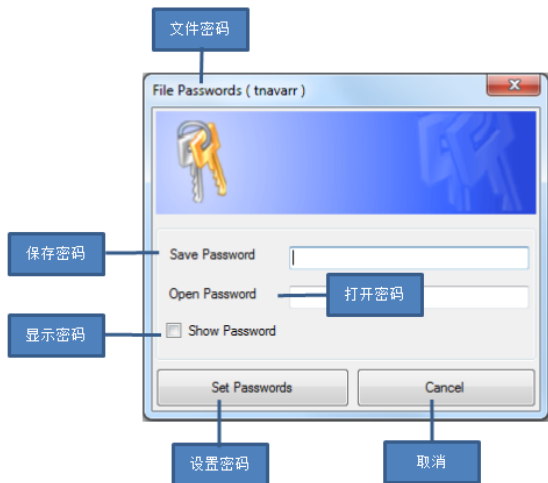
**提示:** “保存密码”、“打开密码”和“显示密码”被禁用。

3. 单击“重置密码”。

CFX Maestro Dx SE 登录对话框随即显示。



4. 为 CFX Maestro Dx SE 管理员提供 Windows 用户名和密码, 然后单击“确定”。  
出现“文件密码”对话框。



5. 执行以下操作之一：
- 要重置密码保护, 请在相应的密码框中键入新密码。
  - 要删除密码保护, 请清除密码框。
6. 单击“设置密码”以保存密码更改并退出对话框。



## 第 5 章 工作区

CFX Maestro Dx 软件, 安全版 为设置反应板、开发 PCR 扩增程序、在 CFX Opus Dx/Deepwell Dx 仪器上运行该程序以及分析 PCR 运行数据提供了界面。

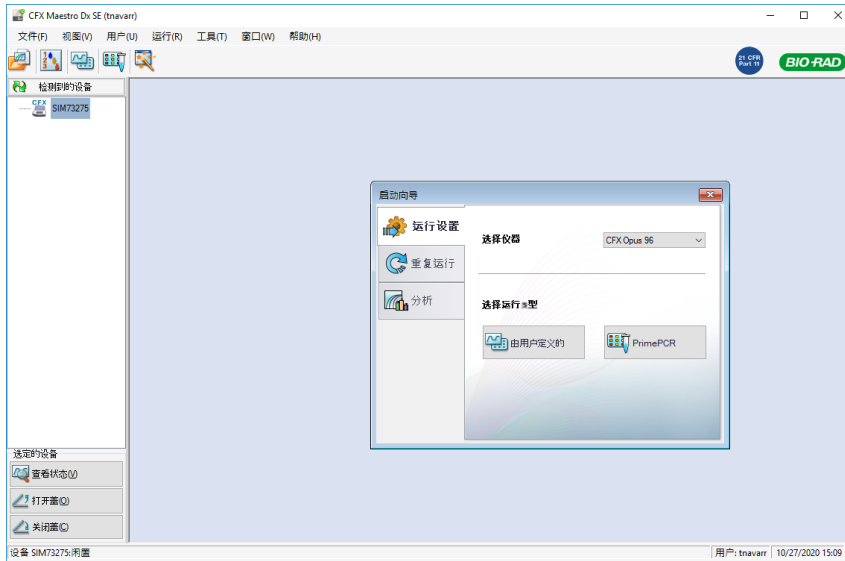
CFX Maestro Dx SE 提供了五个主要工作区：

- “主页”窗口
- 启动向导
- “扩增程序编辑器”窗口
- “反应板编辑器”窗口
- “数据分析”窗口

本章将显示并简要介绍每个功能模块。

## 主页窗口

打开 CFX Maestro Dx SE 且转到“主页”窗口，并显示“启动向导”，您可以从中设置实验、执行或重复运行或分析现有实验数据。在“主页”窗口，您还可以查看应用程序和仪器日志、创建和管理用户并访问多个实用工具。有关更多信息，请参阅第 6 章，[主页窗口](#)。



## 启动向导

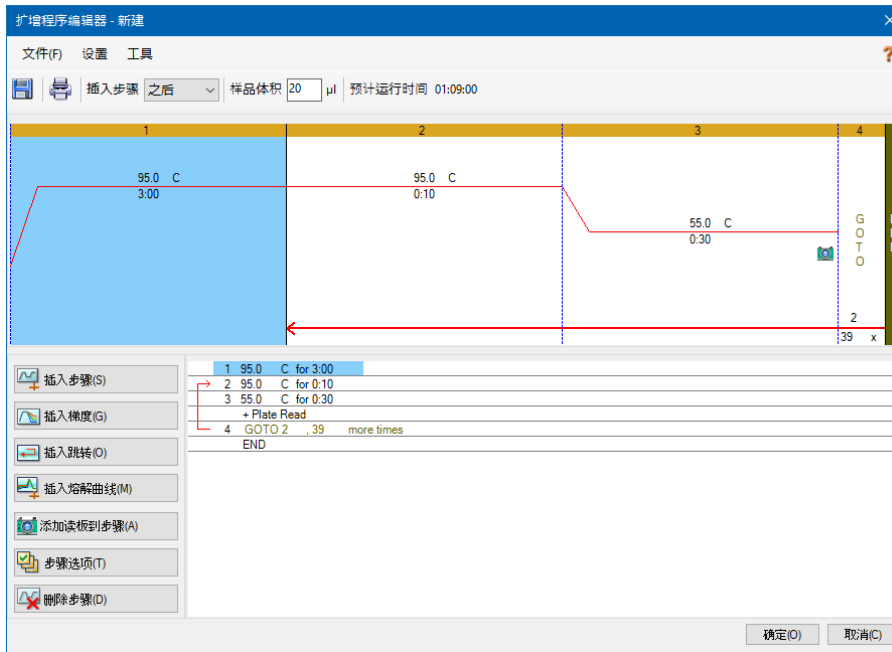
使用“启动向导”设置和运行用户定义的实验或选择并运行 PrimePCR 实验。您也可以使用此向导重复运行实验或分析实验数据。





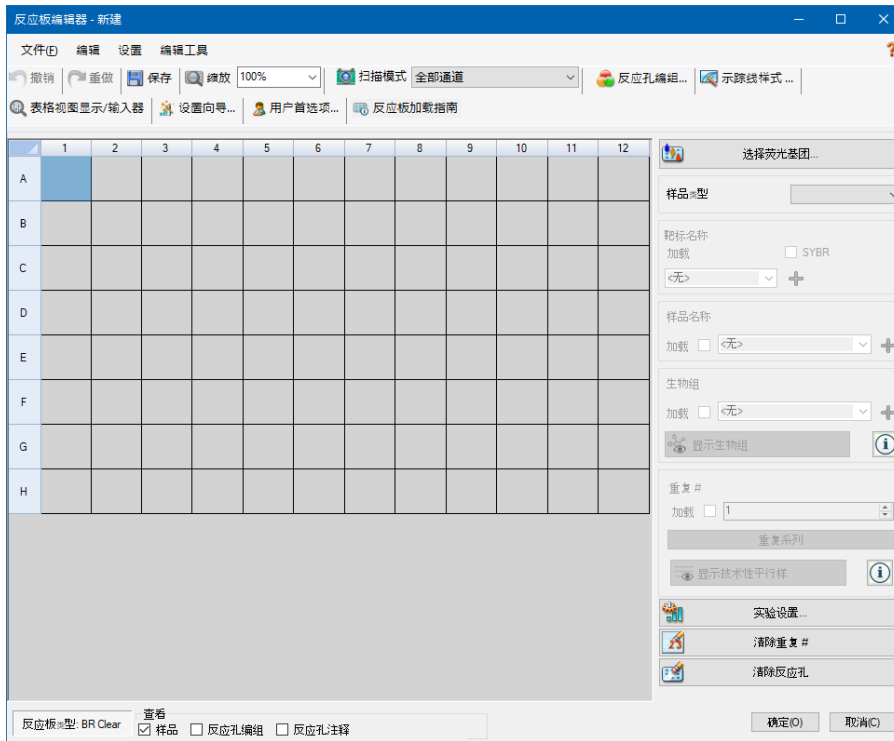
## 扩增程序编辑器窗口

在“扩增程序编辑器”中，您可以创建、打开、查看和编辑扩增程序。您还可以修改程序中的热盖温度。扩增程序编辑器功能详见第 7 章，[创建扩增程序](#)。



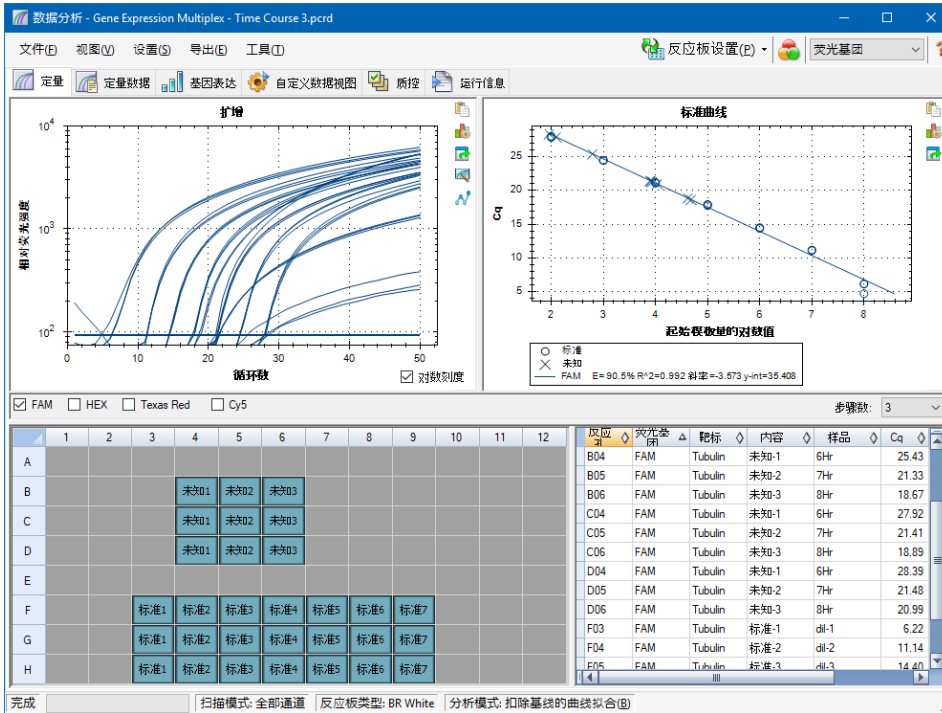
## “反应板编辑器”窗口

在反应板编辑器中，您可以创建、打开、查看和编辑反应板。“反应板编辑器”功能详见第 8 章，准备反应板。



## “数据分析”窗口

在“数据分析”窗口中，您可以查看和比较运行数据进行统计分析、导出数据及生成可直接发表的报告。“数据分析”功能详见第 10 章，数据分析概述和第 11 章，数据分析详细信息。



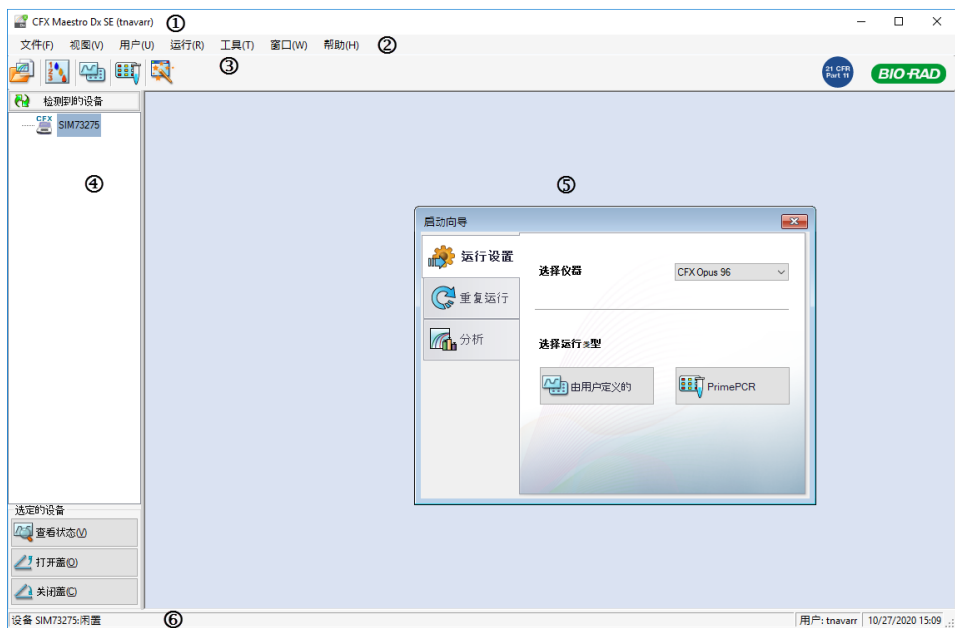
## 第 6 章 主页窗口

CFX Maestro Dx 软件, 安全版 为开发 PCR 扩增程序、在 CFX Dx 系统上运行该程序以及分析 PCR 运行数据提供了界面。

本章介绍了 CFX Maestro Dx SE, 并描述可从“主页”窗口访问的功能。

## 主页窗口

CFX Maestro Dx SE 打开“主页”窗口并显示“启动向导”，从中可以设置运行、执行或重复运行或分析现有实验数据。在“主页”窗口，您还可以查看应用程序和仪器日志、创建和管理用户并访问多个实用工具。



图例

1. 软件标题栏显示软件名称和已登录用户。
2. 菜单栏可以快速访问“文件”、“视图”、“用户”、“运行”、“工具”、“窗口”和“帮助”菜单命令。
3. 工具栏命令可以快速访问菜单选项。
4. 左窗格显示连接到 CFX Maestro Dx SE 计算机的仪器，并提供可用于操作热盖和查看仪器状态的按钮。
5. 主窗格显示工作窗口。“主页”屏幕上的默认工作窗口是“启动向导”。
6. 状态栏显示所连接仪器和登录用户的名称。

## 文件菜单命令

**新建** — 打开一个对话框，您可以从中选择创建新的扩增程序、反应板或基因研究。

**打开** — 打开一个对话框,您可以从中选择导航并打开现有扩增程序、反应板、数据文件、基因研究、LIMS文件、从单机仪器运行(独立运行)或 PrimePCR 运行文件。

**最近的数据文件** — 显示最近打开的 PCR 文件列表。

**重复运行** — 将 Windows 资源管理器打开到保存的 PCR 文件的位置,您可以在其中找到要重复的运行。

**退出** — 关闭 CFX Maestro Dx SE。

## 视图菜单命令

**应用程序日志** — 显示从初始安装到当天的软件使用日志。

**运行报告** — 显示运行报告的列表。

**启动向导** — 显示主窗格中的“启动向导”。

**运行安装程序** — 显示主窗格中的“运行设置”窗口。

**仪器摘要** — 显示主窗格中的“仪器摘要”窗口。

**检测到的仪器** — 在左窗格中切换显示或不显示已连接的仪器。默认情况下,软件在左窗格中显示已连接仪器。

**工具栏** — 切换屏幕顶部工具栏的显示和不显示状态。默认情况下,软件显示工具栏。

**状态栏** — 切换屏幕底部状态栏的显示和不显示状态。默认情况下,软件显示状态栏。

**显示** — 打开一个对话框,您可以

- 查看或阻止状态日志。
- 打开并查看 CFX Maestro Dx SE 数据文件夹。
- 打开并查看用户的数据文件夹。
- 打开并查看 LIMS 文件文件夹。
- 打开并查看 PrimePCR 文件夹。
- 查看运行记录。
- 查看所有已连接仪器的属性。

## 用户菜单命令

**选择用户** — 打开“登录”屏幕,您可在该屏幕上从“用户名”下拉列表中选择一个用户并登录到该应用程序。

**更改密码** — 打开“更改密码”对话框,用户可以在其中更改密码。

**注释:** 该选项在 CFX Maestro Dx SE 中被禁用。用户必须更改其 Windows 密码才能更改其 CFX Maestro Dx SE 密码。

**用户首选项** — 打开“用户首选项”对话框，用户可以在其中更改以下各项的默认设置：

- 运行完成后发送和接收电子邮件通知
- 保存数据文件
- 通过“扩增程序编辑器”或“扩增程序自动编写器”创建扩增程序
- 创建反应板
- 分析数据
- 执行基因表达分析
- 确定数据的质量
- 导出CFX仪器数据

**用户管理** — 打开“用户管理”对话框，管理员可以在其中创建用户、修改角色权限以及为用户分配角色。

**Bio-Rad 服务登录** — 仅供Bio-Rad技术服务人员使用。请勿选择此命令。

## 运行菜单命令

**用户自定义运行** — 打开“运行设置”窗口，您可以在其中设置用户自定义扩增程序和反应板，然后在所选仪器上运行 PCR 实验。

**PrimePCR 运行** — 在“运行设置”窗口中打开“启动运行”选项卡，并根据所选仪器加载默认的 PrimePCR 扩增程序和反应板布局。

**仅终点分析程序** — 在“运行设置”窗口中打开“启动运行”选项卡，并根据所选仪器加载默认的终点扩增程序和反应板布局。

**性能验证程序** — 在“运行设置”窗口中打开“启动运行”选项卡，为所选仪器加载默认 Bio-Rad 定性扩增程序和反应板布局。

## 工具菜单命令

**配置母液计算器** — 打开“配置母液计算器”，您可以在其中创建反应混合物并打印计算结果。

**扩增程序自动编写器** — 打开“扩增程序自动编写器”对话框，您可以在其中轻松创建新扩增程序。

**退火温度计算器** — 打开退火温度计算器，您可以在其中轻松计算引物的退火温度。

**染料校准向导** — 打开“染料校准”向导，您可以在其中为新荧光基团校准仪器。

**重新安装仪器驱动程序** — 重新安装控制与 Bio-Rad 的实时 PCR 系统通信的驱动程序。

**压缩数据和日志文件** — 打开一个对话框,您可以在其中选择要压缩的文件并保存在压缩文件中以进行存储或发送电子邮件。

**批量分析** — 打开“批量分析”对话框,您可以在其中设置用于一次分析多个数据文件的参数。

**选项** — 打开一个对话框,您可以在其中

- 配置您的电子邮件服务器设置
- 配置 LIMS、Seegene 和其他数据文件的导出设置。

**提示:**如果您选择以 Seegene 格式导出数据,还可以选择导出时自动启动 Seegene Viewer 选项。

- 更改用户界面显示的语言(英文、中文、俄文)

**重要:**您必须重新启动 CFX Maestro Dx SE 才能显示选择的语言。

**重要:**您的操作系统语言须与您希望在 CFX Maestro Dx SE 界面中显示的语言一致。

## 帮助菜单命令

**提示:**“帮助”菜单可出现在所有 CFX Maestro Dx SE 窗口的菜单栏上。

**内容** — 显示 CFX Maestro Dx SE“帮助”系统中的“内容”选项卡。

**索引** — 显示 CFX Maestro Dx SE“帮助”系统中的“索引”选项卡。

**搜索** — 显示 CFX Maestro Dx SE“帮助”系统中的“搜索”选项卡。

**打开用户指南** — 打开本指南的 PDF 文件。

**其他文档** — 提供对 CFX Opus Dx 实时 PCR 系统操作手册的访问。

**发行说明** — 打开已安装 CFX Maestro Dx SE 版本的发行说明文档。

**视频资源** — 打开存放 Bio-Rad 教学视频等视频资源的网站。

**qPCR 应用程序和技术网站** — 打开 Bio-Rad 的 qPCR 应用程序和技术网站,您可以从中了解有关实时 PCR (qPCR) 的更多信息。

**PCR 试剂网站** — 打开 Bio-Rad 的 PCR 和 qPCR 试剂网站,您可以从中订购 PCR 试剂、超混液、染料和试剂盒。

**PCR 塑料消耗品网站** — 打开 Bio-Rad 的 PCR 塑料和消耗品网站,您可以从中订购 PCR 反应板、反应板密封件、管和盖以及其他塑料附件。

**软件网站** — 打开 Bio-Rad 的 PCR 分析软件网站,您可以订购更新版本的 Bio-Rad CFX Maestro Dx SE。



关于 — 显示 CFX Maestro Dx SE 版权和版本信息。

## 工具栏命令



— 打开 Windows 资源管理器，您可以在其中导航到数据文件或基因研究文件并打开。



— 打开“配置母液计算器”。



— 打开“运行设置”窗口。



— 打开“运行设置”窗口，并根据所选仪器加载默认的 PrimePCR 扩增程序和反应板布局。



— 打开“启动向导”。

## 启动向导

当 CFX Maestro Dx SE 启动时, 工作窗格将显示启动向导。在“启动向导”中, 您可以

- 从检测到的仪器中选择一种仪器, 然后设置用户自定义或 PrimePCR 运行
- 打开并重复运行
- 打开数据文件以分析单次运行的结果, 或者打开基因研究文件以获取多个基因表达运行的结果



这些任务将在后面的章节中详细说明。

## 状态栏

主软件窗口底部状态栏的左侧显示检测到的仪器的当前状态。状态栏的右侧显示当前用户的名称以及日期和时间。

## “检测到的仪器”窗格

Detected Instruments (检测到的仪器) 窗格显示已连接到 CFX Maestro Dx SE 计算机的每台仪器。默认情况下, 每个仪器都显示为图标, 其序列号显示为其名称。

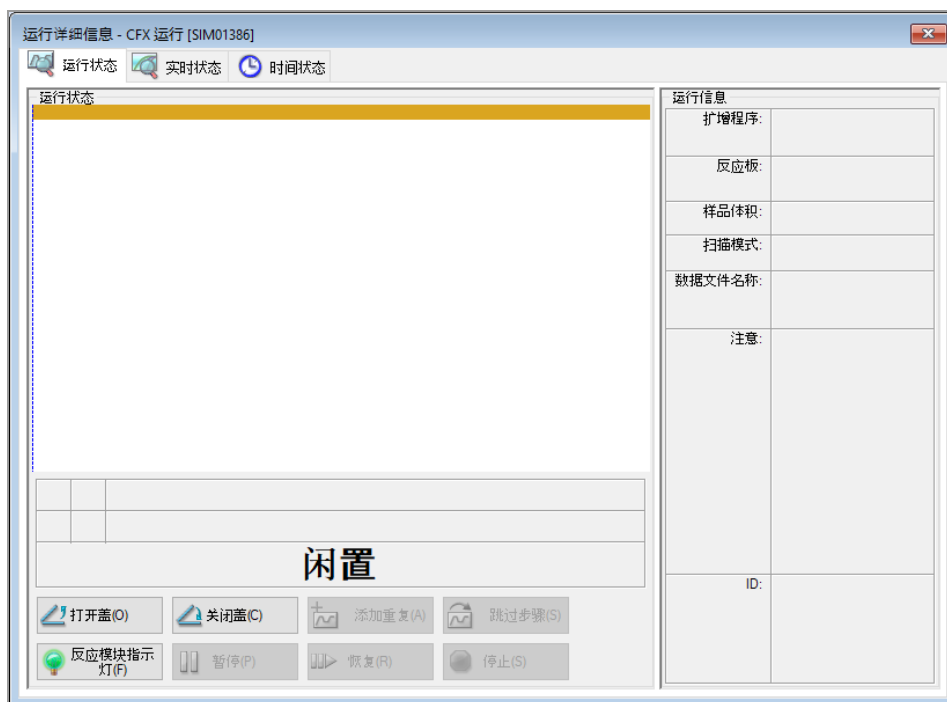
在此窗格中, 您可以

- 查看所选仪器的属性和校准的染料  
有关仪器属性的信息, 请参阅第 67 页上的“查看仪器的属性”。
- 查看已连接仪器的状态
- 打开选定仪器上的滑动热盖
- 关闭选定仪器上的滑动热盖
- 查看所有已连接仪器的状态

### 查看已连接仪器的状态

- ▶ 在“检测到的仪器”窗格中, 选择目标仪器并执行以下操作之一:
  - 单击“选定的仪器”部分中的“查看状态”。
  - 右键单击并在弹出的菜单中选择“查看状态”。

“运行详细信息”对话框出现, 显示“运行状态”选项卡。所选仪器的状态显示在运行状态窗格下方, 例如:



### 打开或关闭仪器热盖

- ▶ 在“检测到的仪器”窗格中，选择目标仪器并执行以下操作之一：
  - 单击“选定的仪器”部分中的“开盖”或“关盖”。
  - 右键单击并在弹出的菜单中选择适当的操作。
  - 打开“运行详细信息”对话框，选择“运行状态”选项卡，然后单击“开盖”或“关盖”。

### 查看所有已检测到的仪器的状态。

- ▶ 执行以下操作之一：
  - 在“检测到的仪器”窗格的“所有仪器”部分中，单击“查看摘要”。
  - 在菜单栏上，选择“查看”>“仪器摘要”。

“仪器摘要”对话框出现。

**提示：**如果系统仅检测到一个已连接仪器，则“所有仪器”部分不会出现在“检测到的仪器”窗格中。要查看单个仪器的仪器摘要，请选择“查看 > 仪器摘要”。

## “仪器摘要”工具栏控件

表 5 列出了仪器摘要工具栏中的控件和功能。

表 5. 仪器摘要工具栏控件

按钮	按钮名称	功能
	新建运行	通过打开“运行设置”窗口在所选模块上创建一个运行。
	停止	停止所选模块上的当前运行。
	暂停	暂停所选模块上的当前运行。
	恢复	恢复所选模块上的运行。
	模块指示灯闪烁	使所选模块热盖上的指示灯 LED 闪烁。
	开盖	打开所选模块的滑动热盖。
	关盖	关闭所选模块的滑动热盖。
	隐藏选定的反应模块	在仪器摘要列表中隐藏选定的反应模块
	显示所有反应模块	在仪器摘要表中显示选定的反应模块
	显示	选择要在列表中显示的反应模块。选择以下选项之一：显示所有检测到的反应模块、所有空闲反应模块、当前用户正在运行的所有反应模块或所有正在运行的反应模块

## 查看仪器的属性

在“检测到的仪器”窗格中，您可以查看所选仪器的详细信息，包括其属性、运输固定螺丝(仅限 CFX Connect 和 CFX Touch 仪器)的状态以及校准的染料(荧光基团)的列表。

### 查看仪器属性

- ▶ 在“检测到的仪器”窗格中，右键单击目标仪器，并在弹出的菜单中选择“属性”。

### “属性”选项卡

“属性”选项卡列出了所选仪器的技术详细信息，包括型号、组件序列号和固件版本。仪器的默认名称(序列号)显示于多个位置，包括“检测到的仪器”窗格和“仪器属性”对话框的标题栏中。您可以重命名仪器，以便增加识别度。

**注释：**您不能使用 CFX Maestro 更改 CFX Opus 仪器的名称。

### “校准的染料”选项卡

“校准的染料”选项卡显示所选仪器的已校准荧光基团和反应板。

要查看有关校准的详细信息，请在“详细信息”列中单击“信息”按钮。

## 在您开始之前

本节说明在使用 CFX Maestro Dx SE 前可能需要执行的任务。这包括

- 反应体系及预混液体积计算
- 校准新染料

## 反应体系及预混液体积计算

使用 CFX Maestro Dx SE 的“配置母液计算器”，您可以轻松计算出母液混合中各组分的所需体积。您可用默认打印机打印母液混合计算表，并将每个靶标的计算保存起来供以后使用。

### 使用“配置母液计算器”计算预混液体系

1. 要打开配置母液计算器，请执行以下任一操作：

- 选择“工具”>“配置母液计算器”。
- 单击工具栏上的“配置母液计算器”。

“配置母液计算器”弹出。

成分	每个反应体积(μl)	96 反应的总体积 + (5%)
*		

2. 在“反应”部分中选择检测方法：

- SYBR® Green/EvaGreen®

- 探针
3. 要创建新靶标,请在“靶标”部分中单击“新建”。新靶标名称出现在靶标下拉列表中。
  4. (可选)要更改默认靶标名称:
    - a. 在下拉靶标列表中突出显示靶标名称。
    - b. 在“靶标”框中输入新靶标名称。
    - c. 按 **Enter** 键。
  5. 调整正向引物和反向引物以及任何探针的起始浓度和最终浓度。
  6. 在“母液混合设置”部分中,调整以下值:
    - 需运行的反应数
    - 每个反应孔的反应体积
    - 每个反应孔的模板体积
    - 每个反应孔的超混合液浓度
    - 每个反应孔的超过反应体积
  7. (可选)根据需要为尽可能多的靶标执行步骤 2-6。
  8. 在“选择靶标以计算”部分中,选择要计算的靶标。

**提示:**您可以选择计算一个靶标,也可同时计算多个或所有靶标。

每个所选靶标所需组分的计算体积显示在母液混合表中。
  9. 单击“设置为默认值”,以将“靶标和母液混合设置”部分中输入的数量设置为新的默认值。
  10. 单击“确定”,以保存“配置母液计算器”对话框的内容。

### 打印母液混合计算表

- ▶ 要打印母液混合计算表,请单击“打印”。

计算表打印到您的默认打印机。

### 将母液混合计算表另存为 PDF

- ▶ 将默认打印机更改为 PDF 驱动程序,然后在“配置母液计算器”上单击“打印”。



## 删除靶标

- ▶ 要删除靶标，请在下拉靶标列表中选择靶标，然后单击“删除”。

**重要：**从靶标列表中删除某个靶标还会从使用它的任何母液混合计算中将其删除。删除靶标时请谨慎操作。

## 校准新染料

CFX Opus 96 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统针对白孔和透明孔反应板中的常用荧光基团进行了预先校准。CFX Opus 384 Dx 系统仅针对白孔反应板中常用的荧光基团进行了预先校准。表 6 列出了校准每个仪器时针对的荧光基团和通道。

**注释：**CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统还包含一个专用于 FRET 化学的通道。此通道无需针对特定染料进行校准。

**重要：**如果您对出厂已校准的染料进行用户定义校准，则仪器将使用用户自定义校准，而非工厂校准。

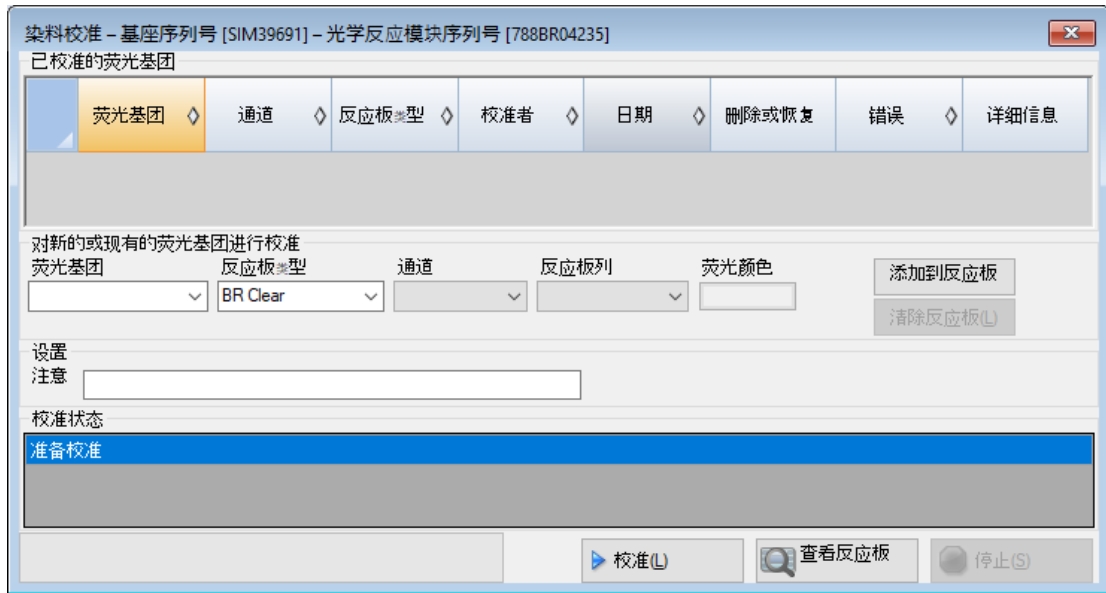
表 6. 经工厂校准的荧光基团、通道以及仪器和通道

荧光基团	通道	激发光, nm	检测, nm	仪器
FAM, SYBR® Green I	1	450–490	515–530	CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统
VIC、HEX、CAL Fluor Gold 540、Cal Fluor Orange 560	2	515–535	560–580	CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统
ROX、Texas Red、CAL Fluor Red 610、TEX 615	3	560–590	610–650	CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统

荧光基团	通道	激发光, nm	检测, nm	仪器
Cy5、Quasar 670	4	620–650	675–690	CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统
Quasar 705、Cy5.5	5	672–684	705–730	仅限 CFX Opus 96 Dx 系统
<b>FRET 化学(未经出厂校准)</b>				
非出厂校准颜色	FRET	450-490	560-580	CFX Opus 96 Dx、CFX Opus 384 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统

### 校准 CFX 系统的新染料

1. 在主窗口的“检测到的仪器”窗格中选择目标仪器。
2. 选择“工具 > 校准向导”，打开染料校准向导。



已针对目标仪器校准的荧光基团出现在“已校准的荧光基团”表中。

3. 在“对新的或现有的荧光基团进行校准”部分中，从下拉列表中选择要校准的荧光团。

如果荧光基团名称不在列表中，则在文本框中输入名称，以将其添加到列表。

**重要：**为自定义校准荧光基团命名时要注意。如果您使用与出厂校准的荧光基团相同的名称为荧光基团创建自定义染料校准，则自定义荧光基团(不是出厂校准的荧光基团)将是仪器运行过程中使用的荧光基团。

4. 选择荧光基团的反应板类型。

如果反应板名称未包含在列表中，请在文本框中输入其名称以将其添加到列表中。

5. 为荧光基团选择通道。
6. 为荧光基团选择反应板列。
7. (可选)键入与荧光基团关联的颜色。
8. 单击“添加到反应板”以添加荧光基团。
9. (可选)重复步骤 3-8，添加您计划针对反应板校准的每个荧光基团。
10. 完成添加荧光基团后，单击“查看反应板”以打开“单纯染料反应板显示”窗口。

可将此窗口用作指南，以便将染料加载到反应板中。

11. 准备 96 或 384 孔反应板以进行染料校准：
  - a. 按照“单纯染料反应板显示”中显示的模式将染料溶液吸移到每个反应孔中。
  - b. 对于每个荧光基团，使用 50  $\mu\text{l}$  (96-孔板或深孔反应板)，30  $\mu\text{l}$  (384 孔反应板) 的 300 nM 染料溶液填充四个反应孔。请注意，至少一半反应板包含空白反应孔。
  - c. 使用您将在实验中使用的密封方法来密封反应板。
12. 将校准反应板放在模块中并盖上盖子。
13. 在“染料校准”向导中单击“校准”，再单击“确定”确认反应板已在反应模块中。
14. CFX Maestro Dx 软件，安全版完成校准运行后，会出现一个对话框。单击“是”完成校准，并打开“染料校准查看器”。
15. 单击“确定”以关闭窗口。

## 设置用户首选项

**提示：**不需要执行这些任务即可使用 CFX Maestro Dx SE。您可以安全地跳过本节或随时执行这些任务。

在 CFX Maestro Dx SE 中，每个用户都可以自定义其工作环境。例如，在“用户”>“用户首选项”菜单中，您可以执行以下操作：

- 设置运行完成的电子邮件通知。
 

**注释：**此功能仅适用于已被授予此角色权限的用户。有关更多信息，请参阅第 38 页上的“管理 CFX Maestro Dx 软件，安全版用户角色”。
- 更改以下各项的默认设置：
  - 保存文件的位置
  - 运行设置文件
  - 文件命名前缀
- 设置创建新扩增程序和反应板时要使用的默认参数。
- 设置默认数据分析和基因表达参数。
- 自定义默认的质量控制参数。
- 自定义数据导出参数。

在“工具”菜单中，您可执行以下操作：

- 计算预混液体系。

- 为特定仪器校准染料。

**注释:**任何登录到该软件的用户都可以使用预混液体系计算和染料校准。

本节说明如何执行这些任务。

## 设置电子邮件通知

您可以将 CFX Maestro Dx SE 连接到您的传出电子邮件服务器，以将运行完成的电子邮件通知发送给一系列用户。您还可以选择将数据文件和分析报告附加到用户列表。要建立 CFX Maestro Dx SE 与您的 SMTP 服务器之间的连接，请参阅第 1 页上的第 75 页上的“将安全版连接至 SMTP 服务器”。

**注释:**用户访问电子邮件设置功能的能力取决于用户角色和管理员分配的权限。有关管理用户及其角色的详细信息，请参阅第 38 页上的“管理 CFX Maestro Dx 软件，安全版用户角色”。

### 设置电子邮件通知

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。

“用户首选项”对话框弹出，其中显示“电子邮件”选项卡。



**注释:**如果检测到尚未为 CFX Maestro Dx SE 设置有效的 SMTP 服务器，系统将会通知您。单击“配置传出电子邮件”以打开“选项”对话框并配置电子邮件 SMTP 服务器。有关更多信息，请参阅第 75 页上的“将安全版连接至 SMTP 服务器”。

2. 在“收件人”文本框中，键入您计划通知运行完成的每个人的电子邮件地址。运行完成后，所有收件人都将收到电子邮件。

**注释:**您必须在单独的行中输入每个电子邮件地址。在每个地址后按下 Enter 或 Return。

3. (可选) 在 cc 文本框中，键入您计划发送每份电子邮件通知副本的任何收件人的电子邮件地址。

4. (可选)默认情况下,所有收件人都以附件的形式接收数据文件的副本。如果您不想附加数据文件副本,请清除此复选框。
5. (可选)选择“附上分析报告”将分析报告的 PDF 附加到电子邮件中。
6. 单击“确定”保存更改并关闭“用户首选项”对话框。

**注释:**您或许能够将系统配置为向您的手机发送电子邮件通知,具体取决于您的服务提供商。请联系您的手机服务提供商,了解有关您手机电子邮件地址的具体信息。在“用户首选项”屏幕的“收件人”文本框中输入您手机的电子邮件地址(例如, 5552221234@your\_service\_provider\_EmailDomain.net)。

### 编辑收件人的电子邮件地址

- ▶ 根据需要修改电子邮件地址,然后单击“确定”。

### 要删除电子邮件收件人

1. 选择电子邮件收件人,然后按“删除”键。
2. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要:**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。

### 将安全版连接至 SMTP 服务器

**重要:**一些商业 Web 邮件服务提供商已经提高了电子邮件安全性。如果您使用这些帐户,则必须在帐户设置中启用 **允许使用安全性较低的应用程序** 设置, CFX Maestro Dx SE 才能发送电子邮件。有关更多信息,请参阅您的 Web 邮件服务提供商的安全信息。

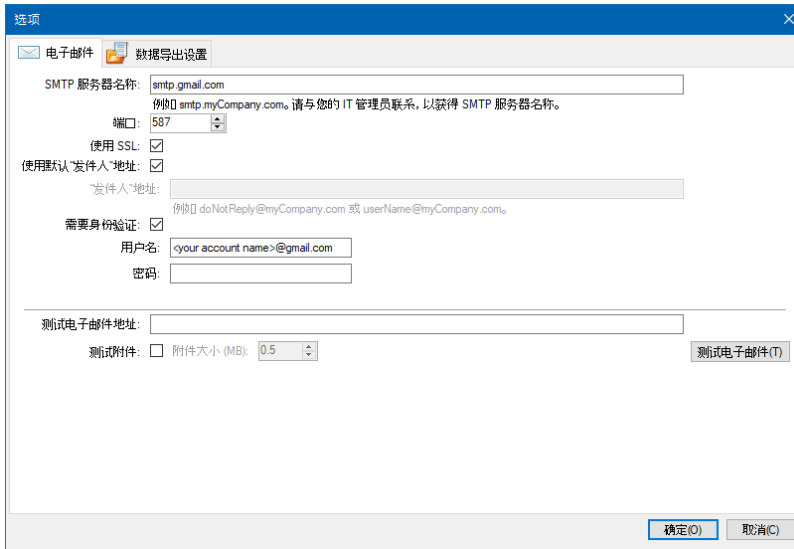
如果您使用 Google Gmail 或 Microsoft Office 365 SMTP 服务器发送电子邮件,则必须启用 2 因素验证并在您的 Gmail 或 Office365 帐户设置中生成“应用程序密码”。要在 Maestro 电子邮件设置对话框中进行身份验证,请将“应用程序密码”而非常规电子邮件密码复制并粘贴到密码字段中。

在软件可以发送电子邮件通知之前,您必须建立从 CFX Maestro Dx SE 到您的电子邮件服务器的连接。

### 将 CFX Maestro Dx SE 连接到电子邮件服务器

1. 执行以下操作之一:
  - 选择“用户”>“用户首选项”,然后在“电子邮件”选项卡上单击“配置传出电子邮件”。
  - 选择“工具”>“选项”。

“选项”对话框将显示“电子邮件”选项卡。



2. 为您的公司提供以下信息：

- **SMTP 服务器名称** — 公司的传出电子邮件服务器名称。
- **端口** — SMTP 服务器的端口号。该端口号通常为 25。
- **使用 SSL** — 安全套接字层 (SSL) 选项。某些 SMTP 服务器需要此设置。如果您的公司不需要, 请清除此复选框。
- **使用默认“发件人”地址** — 您公司的电子邮件服务器名称。有些 SMTP 服务器要求所有发送的电子邮件都要有一个来自某个域的“发件人”地址, 例如 name@YourCompany.com。如果出现这种情况, 请清除此复选框并提供有效的电子邮件地址。
- **需要身份验证** — 如果您的站点需要帐户身份验证, 请确认已选中此复选框。
- **用户名** — 身份验证帐户的名称。只有在选中“需要身份验证”的情况下才需要此项。

- **密码** — 身份验证帐户的密码。只有在选中“需要身份验证”的情况下才需要此项。

**重要:** 如果您使用 Google Gmail 或 Microsoft Office 365 SMTP 服务器发送电子邮件, 则必须启用 2 因素验证, 然后在您的 Gmail 或 Office365 帐户设置中生成“应用程序密码”。要在 Maestro 电子邮件设置对话框中进行身份验证, 请将“应用程序密码”而非常规电子邮件密码复制并粘贴到 CFX Maestro Dx SE 的密码字段中。

要验证 SMTP 服务器设置是否正确, 请在“测试电子邮件地址”文本框中输入有效的电子邮件地址, 然后单击“测试电子邮件”。

**注释:** 某些 SMTP 服务器不允许发送附件, 而有的服务器限制了附件大小。如果您打算使用 CFX Maestro Dx SE 通过电子邮件发送数据文件和/或报告, 请选择“测试附件”并将“附件大小”(单位 MB) 设置为 5 MB 或更大。

3. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

## 更改默认文件设置

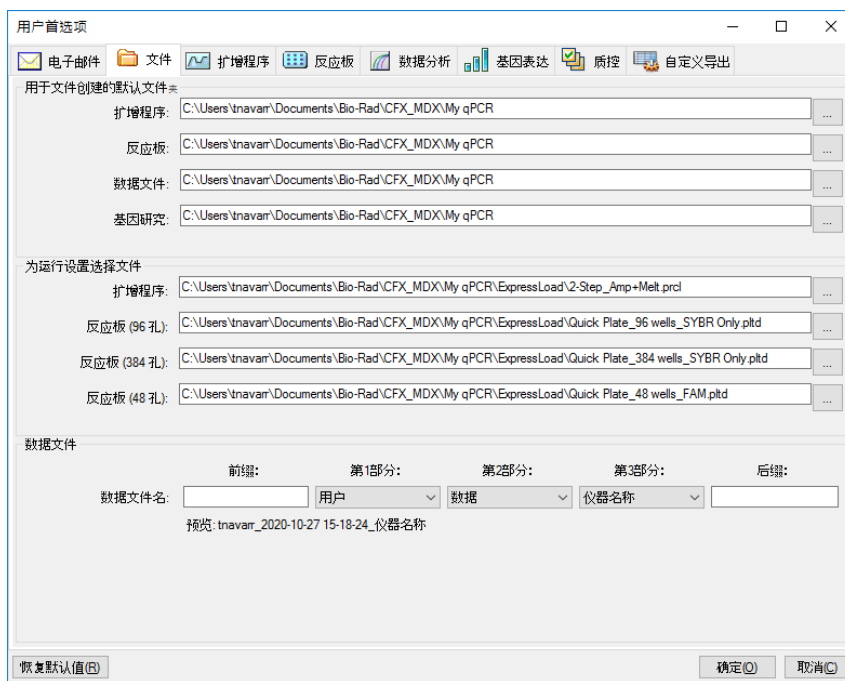
在“用户首选项”对话框的“文件”选项卡中, 可以更改

- 保存 CFX Maestro Dx SE 文件的默认位置
- 运行设置的默认文件
- 默认文件命名参数

## 更改默认文件设置

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中, 选择“文件”选项卡。





3. 在“用于文件创建的默认文件夹”部分中，导航到并选择要保存新文件的默认文件夹。您可以为每种文件类型选择不同的位置：

- 扩增程序
- 反应板
- 数据文件
- 基因研究

4. 在“为运行设置选择文件”部分中，导航到并选择打开“实验设置”窗口时显示的靶标扩增程序和反应板文件。

5. 在“数据文件”部分中，定义数据文件的前缀和/或后缀。对于任何部分，请从其下拉列表选择一个新值。您还可以在“前缀”和“后缀”文本框中提供自定义前缀和后缀值。

CFX Maestro Dx SE 在选择框下方显示文件名称预览。

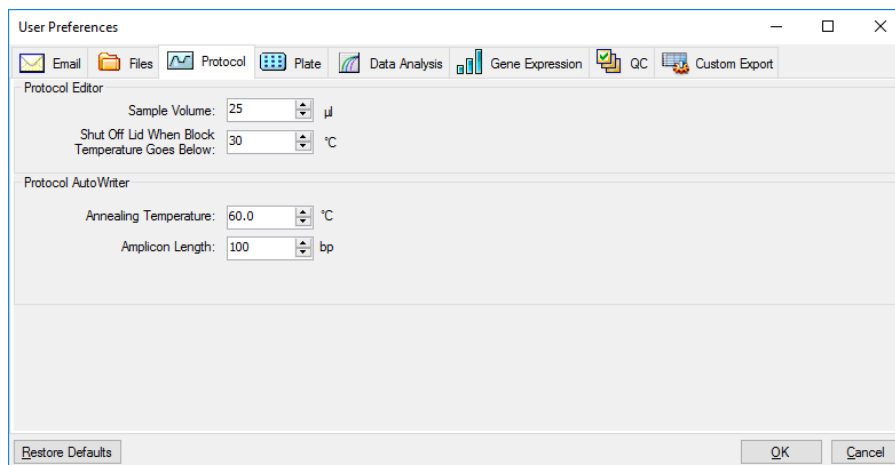
6. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要：**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。

## 设置默认扩增程序参数

### 为扩增程序编辑器和扩增程序自动编写器设置默认扩增程序参数

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中，选择“扩增程序”选项卡。



3. 在“扩增程序编辑器”部分中，为“扩增程序编辑器”中出现的以下设置指定值：
  - **样品体积** — 反应孔中的每种样品的体积。
  - **热盖停止加热温度** — 运行期间热盖加热器关闭的温度(以 °C 为单位)。
4. 在“扩增程序自动编写器”部分中，为“扩增程序自动编写器”中出现的以下设置指定值：
  - **退火温度** — 使用 iProof DNA 聚合酶、iTaq DNA 聚合酶或其他聚合酶的实验的温度(以 °C 为单位)。
  - **扩增子长度** — 扩增子的长度(以 bp 为单位)。
5. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要：**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。

## 设置默认反应板参数

您对“反应板”选项卡所做的更改可供软件的所有用户使用。在保存并关闭反应板文件后，您在反应板设置期间所做的更改可供用户使用。

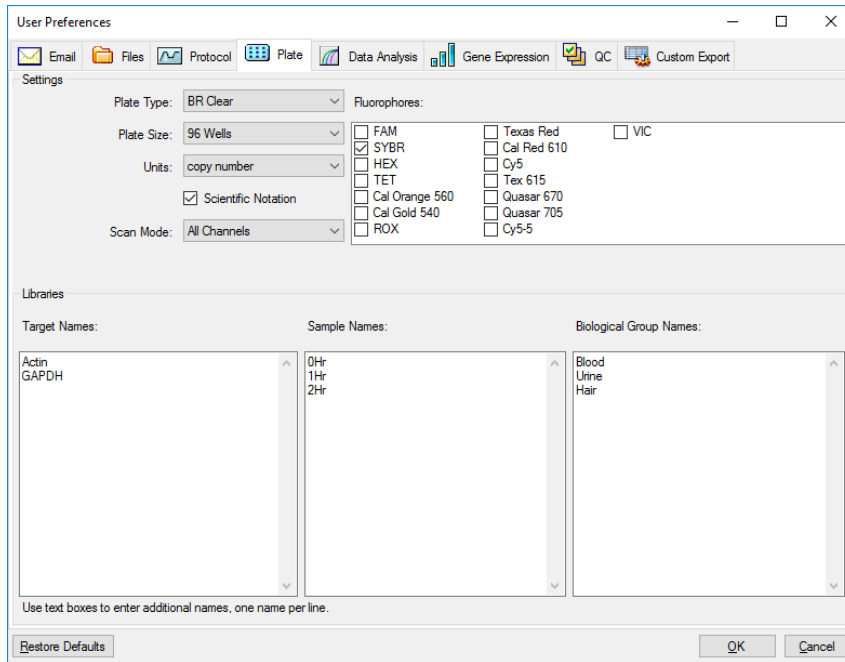
在“用户首选项”对话框中，您可以执行以下操作：

- 设置默认的反应板参数。

- 往各自的库添加新的靶标、样品和生物组名称。
- 从各自的库删除靶标、样品和生物组名称。

### 设置默认的反应板参数

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中，选择“反应板”选项卡。



3. 为新的反应板文件指定以下设置的值。这些值在“反应板编辑器”窗口中列出：

- **反应板类型**
- **反应板大小**
- **单位** — 包含标准的反应孔的起始模板浓度。  
CFX Maestro Dx SE 使用这些单位在“数据分析定量”选项卡中创建标准曲线。
- **科学记数法** — 选中时，CFX Maestro Dx SE 以科学记数法显示浓度单位。
- **扫描模式** — 运行期间要扫描的通道数量或类型。
- **荧光基团** — 在“反应板编辑器”的反应孔加载控件中显示的默认荧光基团。

- **库** — 通常在实验中使用的靶标、样品和生物组名称：
  - **靶标名称** — 靶基因和序列的名称。
  - **样品名称** — 实验样品的名称或样品的识别特征(例如 Mouse1、Mouse2、Mouse3)。
  - **生物组名称** — 具有相同处理状态或条件(例如 0Hr、1Hr、2Hr)的相似样品组名称。

4. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

#### **添加新的靶标、样品或生物组名称**

▶ 在适当的库框中，键入靶标、样品或生物组名称，然后单击“确定”。

#### **删除靶标、样品或生物组名称**

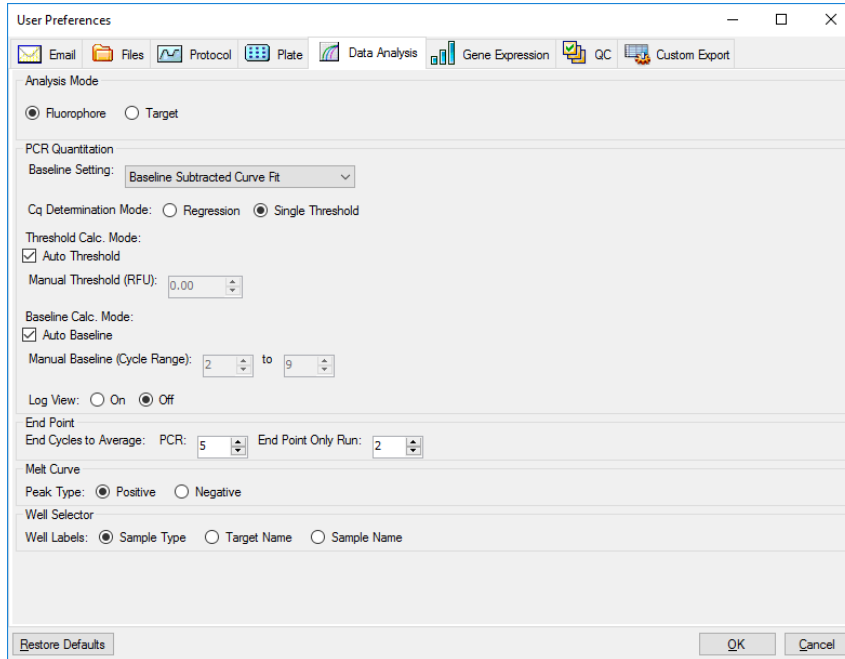
▶ 在适当的库框中，选择名称并按“删除”键，然后单击“确定”。

**重要：**从库中删除的名称将从软件中删除，用户无法再使用。要恢复默认 CFX Maestro Dx SE 名称，请单击“恢复默认值”。单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。在删除默认 CFX Maestro Dx SE 名称并单击此按钮时要小心。

## 设置默认数据分析参数

### 设置默认数据分析参数

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中，选择“数据分析”选项卡。



3. 在“分析模式”部分，选择分析数据的模式“荧光基因”或“靶标”。
4. 在“PCR 定量”部分中，为以下选项设置默认参数：

- **基线设置** — 用于分析模式的基线方法。
- **Cq 定义模式** — 计算每条荧光示踪线的 C<sub>q</sub> 值的模式(回归或单一阈值)。
- **Threshold Calc.模式** — 终点靶标量。

默认为“自动”。即，软件自动计算终点靶标。要设置具体阈值，请取消选中“自动”复选框并输入以相对荧光单位(或 RFU)计算的终点量。最大值是 65000.00 RFU。后续运行的数据文件将使用此阈值设置。

- **Baseline Calc.模式** — 所有示踪线的基线值。

默认为“自动”。即软件自动计算所有示踪线的基线值。要设置具体的基线值，请取消选中“自动”复选框并输入循环范围的最小值和最大值(1 至 9999)。后续运行的数据文件将使用此循环范围。

- **日志视图** — 确定软件如何显示扩增数据：
  - 开** — 扩增数据以半对数图显示。
  - 关** — (默认) 扩增数据以线性图显示。
- 5. 在“终点”部分, 选择在进行终点计算时要平均的终点循环数：
  - **PCR** — 定量数据的平均终点循环数(默认值为 5)。
  - **仅终点分析程序** — 终点数据的平均终点循环数(默认值为 2)。
- 6. 在 **Melt Curve**(熔解曲线) 部分中, 选择要检测的峰类型(正峰或负峰)。
- 7. 在“反应孔选择器”部分中, 请选择反应孔标签的显示方式(以样品类型、靶标名称或样品名称显示)。
- 8. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要:**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。

## 设置默认的基因表达数据文件参数

要设置新基因表达数据文件的默认参数：

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中, 选择“基因表达”选项卡。
3. 指定以下设置的值：
  - **相对于** — 绘制相对于对照(起始于 1)或相对于零点的基因表达数据：
    - 零** — 该软件将忽略对照。在“实验设置”窗口中未分配对照样品时, 这是默认设置。
    - 对照** — 该软件将计算相对于“实验设置”窗口中分配的对照样品的数据。
  - **X 坐标轴** — 在 x 坐标轴上绘制样品或靶标。
  - **Y 坐标轴** — 在 y 坐标轴上绘制线性、log<sub>2</sub> 或 log<sub>10</sub> 坐标尺。
  - **缩放** — 图形的缩放选项(默认选项为未缩放)：
    - 最高** — 该软件将图形缩放到最高数据点。
    - 最低** — 该软件将图形缩放到最低数据点。
    - 未缩放** — 该软件将在图中显示未缩放的数据。
  - **模式** — 分析模式, 相对定量 ( $D_{Cq}\Delta C_q$ ) 或均一化表达 ( $\Delta\Delta C_q$ )。
  - **误差线** — 数据可变性, 表现为标准偏差 (Std.Dev.) 或平均值的标准误差 (Std.Error Mean)。

- **误差线倍数** — 用于绘制误差线的标准偏差倍数(默认值为 1)。

您可以将倍数增加到 2 或 3。

- **要排除的样品类型** — 从分析中排除的样品类型。

您可以选择从分析中排除一个或多个样品。要排除所有样品类型,请取消选中所有所选样品类型的复选框。

4. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要:**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。

### 自定义质量控制规则

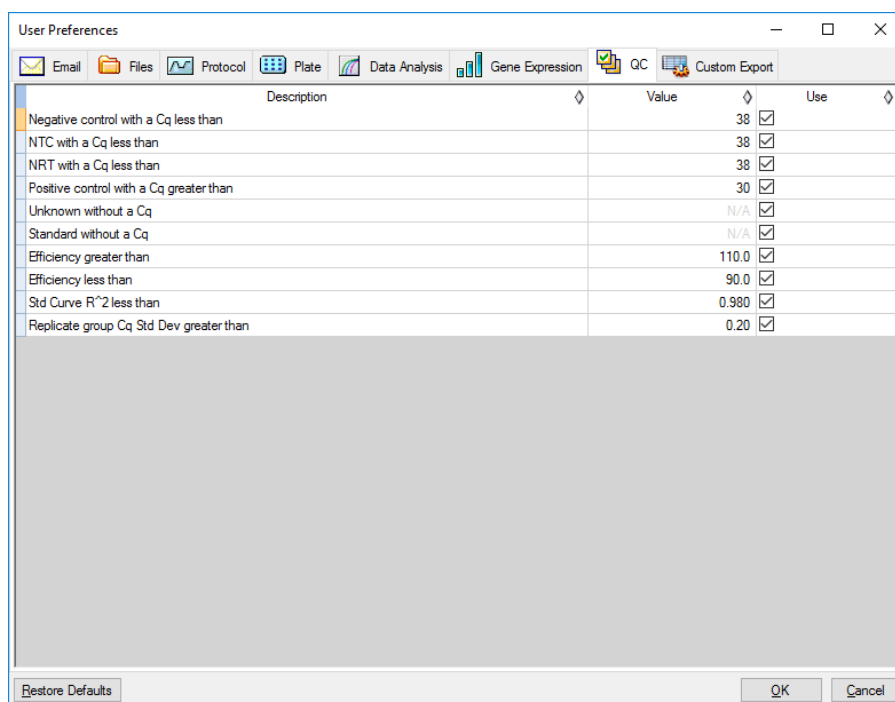
在 CFX Maestro Dx SE 中,您可以设置质量控制规则,这些规则应用于“数据分析”窗口中的数据。软件将根据您设置的规则验证数据。

**注释:**默认情况下,所有质量控制规则均已启用。

**提示:**在“数据分析”窗口的质控模块中,您可以轻松地排除质控参数不合格的反应孔。

### 自定义质量控制规则

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中,选择质控选项卡。



其中：

- **NTC** — 无模板对照
- **NRT** — 未经转录模板对照
- **效率** — 扩增效率
- **标准曲线 R<sup>2</sup>** — 标准曲线的 R 平方值
- **重复组 Cq 标准偏差** — 每个重复组计算出的标准偏差

3. 对于每个质控规则，请执行以下任一操作：

- 要使用其默认值，无需执行任何操作。
- 要更改其值，请单击“值”文本框，键入新值，然后按回车键。
- 要禁用该规则，请清除其“使用”复选框。

4. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要：**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。



## 自定义数据导出参数

您可以使用以下格式导出 CFX Maestro Dx SE 数据：

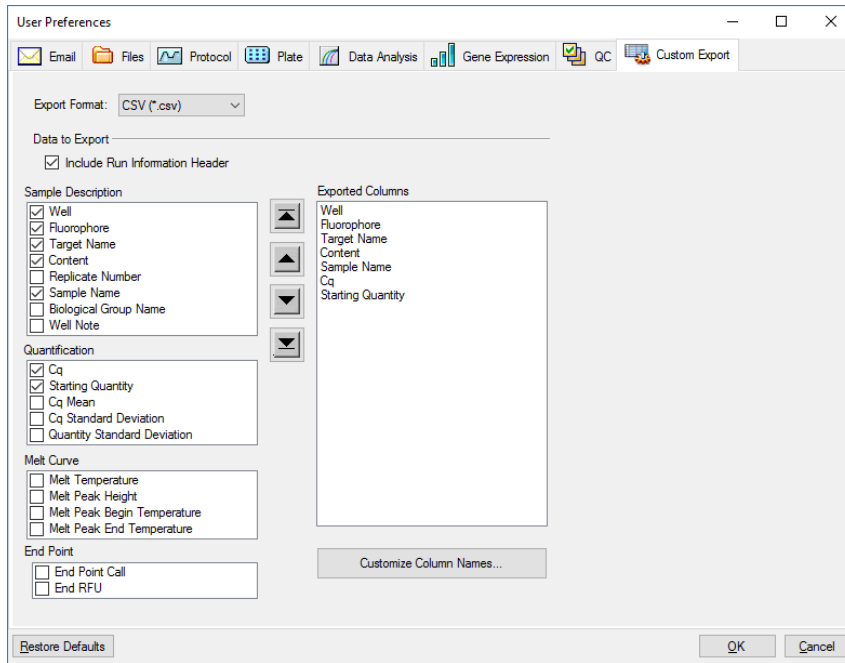
- 文本 (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

**重要：**您的计算机必须安装有 Microsoft Excel 才能将数据导出到 Microsoft Excel 电子表格。

您可以指定要导出的数据类型并自定义导出数据的输出。

### 自定义数据导出参数

1. 选择“用户”>“用户首选项”以打开“用户首选项”对话框。
2. 在“用户首选项”对话框中，选择“自定义导出”选项卡。



3. 在“导出格式”下拉列表中，选择要导出数据的格式。

4. 在“要导出的数据”部分中,选中或取消选中要导出的数据类型的复选框。所选项目出现在“导出的列”列表框中。

**注释:**默认情况下,运行信息包含在标题中。如果您不想包含运行信息,请取消选中此复选框。

5. 您可以更改所选项目的输出显示顺序。

在“导出的列”列表框中,突出显示该项目,然后单击列表左侧的箭头按钮将其向上或向下移动。

6. 您也可以更改所选项目的输出列名称:

- a. 单击“自定义列表名称”。

“列名称定制器”对话框弹出。

- b. 对于要更改的默认列名,请在其自定义名称字段中键入新名称。

- c. 执行以下操作之一:

- 单击“确定”保存更改并返回“自定义导出”选项卡。新名称将出现在“导出的列”列表框中默认列名旁的括号中。
- 单击“取消”以清除更改并返回“自定义导出”选项卡。

7. 单击“确定”保存更改并关闭对话框。

**重要:**单击“用户首选项”对话框中的“恢复默认值”可将所有选项卡上的所有首选项重置为原始出厂设置。单击此按钮时要小心。



## 第 7 章 创建扩增程序

一个扩增程序由一系列按照特定顺序执行的步骤所组成。在 CFX Maestro Dx 软件, 安全版中, 所有步骤均与仪器上的选项相关。例如, 这些步骤指示仪器控制模块和热盖的温度, 在加热模块的不同区间施加不同温度, 读取信号或进行熔解曲线分析。每个选项针对不同的反应板和运行类型有所不同。

CFX Maestro Dx SE 可通过两种不同的方式新建扩增程序: 扩增程序编辑器和扩增程序自动生成器。

扩增程序编辑器有以下特征:

- 标准程序控件, 可快速新建一个扩增程序。
- 能够快速计算所选行数的梯度
- 能够快速计算所选板类型的运行时间
- 对循环中的每个步骤进行编辑
- 保存现有的扩增程序
- 扩增程序联机打印

使用您提供的参数, 扩增程序自动编写器会自动生成自定义的 PCR 扩增程序, 包括热启动、预变性、退火和延伸步骤。然后您可查看系统建议的程序图表、运行程序或保存程序。

## 扩增程序 GoTo 步骤的参数和范围

使用表 7 的信息来修改扩增程序中 GoTo 步骤的默认设置。

### 转至某一温度

目标温度是 4.0 到 100.0°C 之间的值，单位设置为十分之一度。系统上升到该温度并在指定时间内（保持时间）保持该值。

### 转至温度梯度

梯度范围是温度梯度中较低温度和较高温度之间的差。允许的最大范围是 24°C。较低的温度是在 30.0 到 99.0°C 之间的值，单位设置为十分之一度。最高温度为 100°C。热循环仪的整个反应块逐渐上升到的目标温度梯度，并在指定的保持时间内保持该温度。

**重要：**仪器计算梯度值。在梯度计算器的顶部和底部字段中输入值时，软件将自动为其余字段计算并分配温度。在顶部和底部字段之间的任何字段中输入温度时，仪器会自动计算其余字段。您不能在每个字段中手动输入温度值。

表 7. 扩增程序 GoTo 步骤的参数和范围

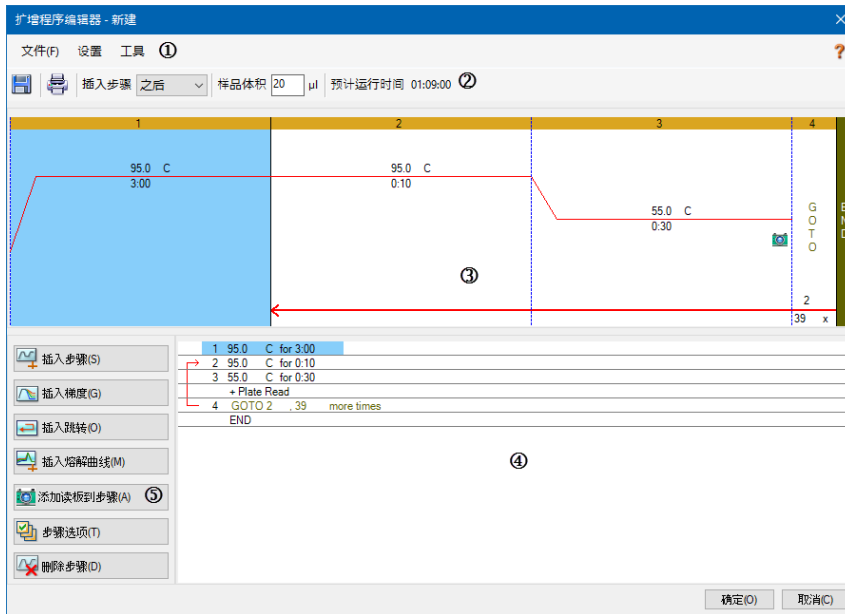
参数	范围	描述
升降温速率	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 对于 CFX Opus 96 Dx 系统： 每秒 0.1–5°C</li> <li>■ 对于 CFX Opus 384 Dx 系统： 每秒 0.1–2.5°C</li> <li>■ 对于 CFX Opus Deepwell Dx 系 统： 每秒 0.1–2.5°C</li> </ul>	<p>指示热循环仪在该步骤中以指定速率调整至目标温度。</p> <p>仅适用于温度步骤。</p>
增量	每个周期从 -10.0 至 10.0°C 的数值，以十分之一度为单位	<p>指示热循环仪在每个循环中更改步骤的目标温度，其中正数会增加温度，负数会降低温度。</p> <p>仅适用于温度步骤。</p>
延伸	每个周期从 -60 到 60 秒的时间	<p>指示热循环仪延长每个循环的保持时间。正数会增加保持时间，负数会减少保持时间。</p> <p>可用于温度和梯度步骤。</p>

表 7. 扩增程序GoTo步骤的参数和范围(续)

参数	范围	描述
提示音	(无参数)	指示热循环仪发出蜂鸣声,表示热循环仪已达到该步骤的目标温度。 仅适用于温度步骤。
读板	(无参数)	指示热循环仪将读板添加到所选步骤。 可用于温度和梯度步骤。

## 扩增程序编辑器窗口

使用“扩增程序编辑器”创建、打开、查看和编辑一个扩增程序。默认情况下，“扩增程序编辑器”显示一个 96 孔反应板的通用实时两步扩增程序。



图例

1. 菜单栏提供对“文件”，“设置”和“工具”菜单命令的快速访问。
2. 工具栏提供快速访问以保存和打印扩增程序、确定插入步骤的位置、设置样品体积以及查看预计扩增程序运行时间。
3. 主窗格显示扩增程序的图示。
4. 下窗格显示扩增程序大纲。
5. 左窗格显示您可以添加以自定义扩增程序的扩增程序控件。

## 文件菜单命令

**保存** — 保存当前的扩增程序。

**另存为** — 将当前的扩增程序另存为一个新的名称或新的存储位置。

**文件密码** — 使用户可以设置其文件保存和文件打开密码。

**提示:**有关更多信息, 请参阅第 45 页上的“密码保护文件”。

**关闭** — 关闭“扩增程序编辑器”。

## 设置菜单命令

**热盖设置** — 打开热盖设置对话框，您可以修改或设置热盖的温度。

## 工具菜单命令

**温度梯度计算器** — 打开一个对话框，您可以从中选择那些加热块进行温度梯度设置。默认为 96 孔板。

**运行时间计算器** — 打开一个对话框，在“运行设置”窗口中根据您所选择的反应板类型和扫描模式计算预计运行时间。所有通道默认为 96 孔板。

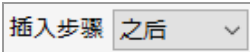
## 工具栏命令



— 保存当前的扩增程序文件。



— 打印选定窗口。

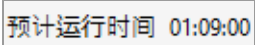


— 选择插入步骤相对于当前选定步骤的位置。



— 以  $\mu\text{l}$  为单位输入样品体积。样品体积范围因使用的模块不同而有差异：

- 对于 96 孔模块，范围为 0–50  $\mu\text{l}$ 。
- 对于 384 孔模块，范围为 0–30  $\mu\text{l}$ 。
- 对于 96 深孔模块，范围为 0–125 $\mu\text{l}$ 。



— 根据扩增程序步骤、升降温速率和所选模块的类型显示预计运行时间。



— 显示扩增程序的帮助信息。

## 扩增程序编辑控件

编辑器的左侧窗格包含可用于创建扩增程序的控件。



每个控件由一组代表扩增程序中一个步骤的参数组成。您可以修改每个参数并添加或删除它们来自定义您的扩增程序。本节介绍每个控件中的选项。



- **插入步骤** — 在所选步骤之前或之后插入一个步骤。您可以在主窗口中循环步骤的模拟线中修改温度和保温时间，也可以在窗口下方的扩增程序大纲中修改。
- **插入梯度** — 于在梯度计算器中选择的模块类型插入梯度步骤。您可以在插入梯度步骤时显示的“梯度”窗格中编辑梯度范围。
- **插入跳转** — 插入一个循环步骤，通知软件当程序进行到一个特定的循环数时，重复某个特定的步骤。重复在第一个循环完成后开始。例如，您可以通知软件在重复执行第 2-4 步 39 次。在最后一次重复之后，软件将执行步骤 2-4，共计 40 次。您可以在图形显示或扩增程序大纲中编辑返回(跳转)步骤和循环数。
- **插入熔解曲线** — 插入一步熔解曲线读取。
- **添加读板步骤** — 在指定的步骤处添加一个读板的指令。读板指令是指在每个循环的终点读取反应板的荧光强度值。读板步骤通常是跳转循环的最后一步。  
**提示:**将读板命令添加到步骤后，当选择该步骤时，按钮将更改为“删除读板”。
- **删除读板** — 从选定步骤中删除读板指令。  
**提示:**从步骤中删除板读取命令后，当您选择步骤时，按钮将更改为添加板读取步骤。
- **步骤选项** — 打开“步骤选项”对话框，并显示可用于所选步骤的选项。有关步骤选项的详细信息，请参阅第 95 页上的“步骤选项”。  
**提示:**您还可以通过右键单击图形显示中的步骤来访问步骤选项。
- **删除步骤** — 从循环程序中删除选定步骤。

## 步骤选项

打开“步骤选项”对话框，查看您可以添加、更改或从步骤中删除的选项。

- **读板** — 该选项选择后，在步骤中添加读板。
- **温度** — 设置选中步骤的目标温度。
- **梯度范围** — 设置步骤的梯度范围，梯度范围在 1–24°C。  
**注释:** 梯度变化方向为从 A 行向 H 行递减，即 A 行的温度最高，逐渐递减至 H 行最低温度 (如上图所示)。
- **升温** — 增加 (或降低) 所选步骤的温度值；该值在将每个循环添加到指定步骤中。范围： $\pm 0.1 \sim 10^\circ\text{C}$ 。  
**注释:** 要降低温度，在数值前面输入负号 (-) (例如  $-5^\circ\text{C}$ )。
- **变温速率** — 所选步骤的升降温速率，可设置范围依模块类型而定。
- **时间** — 所选步骤的保温时间。
- **延长** — 所选步骤温度保持增加或缩短的时间 (秒)；该选项可添加至每个循环；范围为  $\pm 1\text{--}60$  秒。
- **蜂鸣** — 选中时，在步骤结束时发出蜂鸣提示音。  
**提示:** 当输入的数字超出了软件的范围，软件会自动选择一个最接近范围的数字。

## 在“扩增程序编辑器”中创建一个扩增程序

利用扩增程序编辑器,您可以创建自定义程序文件。您还可以编辑和保存以前保存的扩增程序文件或 CFX Maestro Dx SE 附带的示例扩增程序文件。

要新建一个扩增程序文件,操作如下:

- 在扩增程序编辑器中打开一个程序文件。  
**提示:**您可以打开一个新的文件或者现有的文件。
- 设置新的扩增程序。
- 在程序界面中添加步骤。
- 编辑步骤属性。
- 保存扩增程序。

**提示:**要从先前保存的扩增程序文件或示例扩增程序文件中创建新的扩增程序,请参阅 [第 97 页上的“在“扩增程序编辑器”中打开现有扩增程序”](#)。

## 在“扩增程序编辑器”中打开新的扩增程序文件

CFX Maestro Dx SE 提供多种打开新扩增程序文件的方式:

- 从“主页”窗口的“文件”菜单
- 从“主页”窗口的“运行设置”对话框
- 从“主页”窗口的“启动向导”对话框

### 从“文件”菜单打开新的扩增程序文件

- ▶ 在“主页”窗口中,选择“文件”>“打开”>“扩增程序”。
- 打开“扩增程序编辑器”窗口,显示默认扩增程序文件。

**提示:**有关设置默认扩增程序的信息,请参阅 [第 77 页上的“更改默认文件设置”](#)。

### 从“运行设置”对话框中打开一个新的扩增程序

1. 在“主页”窗口中,可从以下方式进入“运行设置”对话框:
  - 选择“运行”>“用户自定义运行”。
  - 单击工具栏上的“用户定义的运行设置”。

“运行设置”对话框打开“扩增程序”选项卡,并显示默认扩增程序文件。
2. 单击“新建”。

打开“扩增程序编辑器”窗口，显示默认实时扩增程序。

### 从“启动向导”对话框中打开

1. 在“主页”窗口中，如果“启动向导”不在视图中，请执行以下操作之一：

- 选择“视图”>“启动向导”。
- 单击工具栏上的“启动向导”。

2. 必要时请从下拉列表中选择仪器类型。
3. 单击“用户定义”作为运行类型。

“运行设置”对话框打开“扩增程序”选项卡，并显示默认扩增程序文件。

4. 单击“新建”。

打开“扩增程序编辑器”窗口，显示默认实时扩增程序。

### 从“运行”菜单中打开新扩增程序

1. 在“主页”窗口中，可从以下方式进入“运行设置”对话框：

- 选择“运行”>“用户自定义运行”。
- 单击工具栏上的“用户定义的运行设置”。

“运行设置”对话框打开“扩增程序”选项卡，并显示默认扩增程序文件。

2. 单击“新建”。

打开“扩增程序编辑器”窗口，显示默认实时扩增程序。

## 在“扩增程序编辑器”中打开现有扩增程序

CFX Maestro Dx SE 提供了可编辑并保存为自定义新扩增程序的示例扩增程序文件。还可以从现有的自定义循环文件中创建新程序。

### 打开一个示例循环文件

1. 在“主页”窗口中，选择“文件”>“打开”>“扩增程序”。

默认情况下，Windows 资源管理器会打开 CFX Maestro Dx SE 的示例文件所在文件夹。

2. 打开示例文件夹。包含以下内容：

- **常规扩增程序** — 包含用于传统 PCR 分析的示例循环文件。
- **数据文件** — 包含示例数据文件，可用于浏览 CFX Maestro Dx SE 的功能。
- **熔解曲线校正** — 包含使用 Bio-Rad 的 Precision Melt Analysis 软件的示范扩增程序。

- **反应板** — 包含示例反应板文件。
  - **实时**扩增程序 — 包含可用于实时 PCR 分析的示例文件。
3. 打开计划执行的运行类型的文件夹, 即常规扩增程序或实时扩增程序。
  4. 选择所选扩增程序并单击“打开”。

示例扩增程序在“扩增程序编辑器”窗口中打开。
  5. 选择“文档”>“另存为”, 保存为新的文件名, 或保存到新的文件夹位置。

### 打开已有的扩增程序

1. 在“主页”窗口中, 执行以下任一操作:
  - 选择“文件”>“打开”>“扩增程序”导航至目标扩增程序并选定, 然后单击“打开”
  - 打开“启动向导”并按照下列选项之一操作:
    - 要编辑所显示的扩增程序, 请单击“编辑选定项”
    - 要编辑另一现有的扩增程序, 请单击“选择现有项”导航至目标文件。

该程序将在扩增程序编辑器中打开。
2. 选择“文档”>“另存为”, 保存为新的文件名, 或保存到新的文件夹位置。

## 设置新的扩增程序

**提示:**如果您的程序文件包含所需的参数(例如, 如果您正在编辑现有的版面文件), 则可以跳过此部分。前往第 100 页上的“在扩增程序中添加步骤”。

一个新的扩增程序需要包含以下参数:

- 加热模块类型
- 所选模块的扫描模式
- 热盖温度
- 样品体积

## 设置加热模块类型

CFX Maestro Dx SE 根据反应模块类型自动计算梯度步骤的温度增量。

**注释:**在扩增编辑器中,所设置的反应板类型必须与加热模块类型匹配。

### 设置加热模块类型

- ▶ 在扩增程序编辑器中,选择“工具”>“梯度计算器”,在下拉列表中选择合适的反应板类型。

## 为所选反应模块类型选择扫描模式

要确定扩增程序的运行时间,请选择目标反应模块类型和扫描模式。

### 选择加热模块类型和扫描模式

- ▶ 在扩增程序编辑器窗口中,选择“工具”>“运行时间计算器”,在下拉列表中选择合适的加热模块类型和扫描模式。

## 调节热盖温度

CFX Maestro Dx SE 设置默认的热盖温度如下:

- 96 孔和深孔仪器 — 105.0°C
- 384 孔仪器 — 95.0°C

您可以根据扩增程序更改默认设置或关闭热盖加热器。

### 调节热盖温度

1. 在反应板编辑器窗口中,选择“设置”>“热盖设置”。  
弹出热盖设置对话框。
2. 执行以下操作之一:
  - 选择“用户自定义”并在文本框中输入温度值。
  - 选择“关闭热盖加热器”。
3. 单击“确定”接受更改并关闭对话框。

## 设置样品体积

默认情况下, CFX Maestro Dx SE 将每个反应孔的样品体积设置为 25  $\mu\text{l}$ 。样品体积根据不同的模块类型有所差异, 例如:

- 96-孔模块: 0-50  $\mu\text{l}$
- 384 反应孔模块: 0-30  $\mu\text{l}$

仪器使用两种温度控制模式之一来确定样品在扩增中何时达到目标温度:

- **计算模式** — 当将样品体积设置为适合该模块的非零体积时, 仪器根据样品体积计算样品温度。这是标准模式。
- **模块模式** — 当样品体积设置为零 (0)  $\mu\text{l}$  时, 仪器将样品温度记录为与测量的模块温度相同。

### 为特定加热模块设置样品体积

- ▶ 在“反应板编辑器”窗口中, 在工具栏上的“样品体积”文本框中输入正确的数值。

**提示:**您可以在“用户首选项”对话框中更改默认的样品体积。有关设置默认反应板文件的信息, 请参阅第 77 页上的“更改默认文件设置”。

## 在扩增程序中添加步骤

### 要在扩增程序中添加一个步骤

1. 在“扩增程序编辑器”窗口中打开扩增程序。
2. 确定插入新步骤的位置。在工具栏上, 在“步骤”下拉列表中选择“之前”或“之后”插入。
3. 在图形上, 选择您打算在其之前或之后插入新步骤的步骤。
4. 在左侧窗格中, 单击“插入步骤”。
5. 要更改温度或孵育时间, 请单击图形或扩增程序大纲上的默认值, 然后键入一个新值。
6. (可选) 在左侧窗格中, 点击步骤选项显示该步骤的选项对话框, 修改所选步骤的可用选项。

**提示:**您可以在图形窗格或扩增程序大纲窗格中右键单击菜单上访问“步骤选项”对话框。

7. 单击确定, 然后单击“是”以保存对扩增程序的更改。

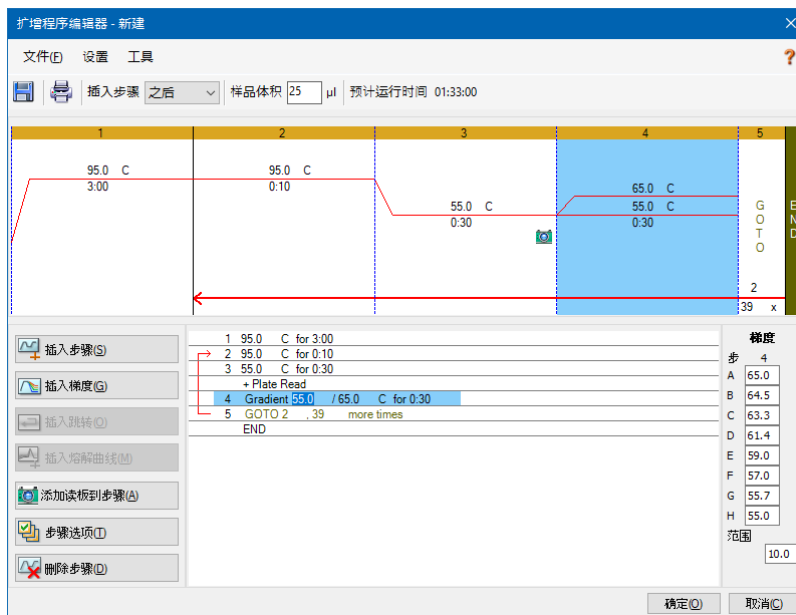
出现“另存为”对话框。

8. 在“另存为”对话框中, 输入新扩增程序文件名称, 然后单击“保存”。

## 插入一个梯度步骤

### 要插入一个梯度步骤

1. 验证温度梯度的反应板大小与仪器的反应模块类型(96孔、384孔或深孔)是否一致。
2. 若未进行验证,选择需要温度梯度实验的反应板大小:  
选择“工具”>“梯度计算器”,在下拉列表中选择合适的反应板类型。
3. 在工具栏上,从“插入步骤”下拉列表中选择“之前”或“之后”插入。
4. 在图形或大纲窗格上,选择您打算在其之前或之后插入梯度步骤的步骤。
5. 在左窗格中,单击“插入梯度”。在图形和大纲窗格中突出显示新梯度步骤,例如:



在右窗格梯度表中显示每行的温度梯度。

6. 若要编辑温度梯度的范围,您可以:
  - 在图形或步骤窗格中单击默认温度,然后输入新温度值。
  - 单击“步骤选项”以在“步骤选项”窗口中输入梯度范围。
  - 在梯度列表中改变梯度温度值。
7. 要编辑保温时间,请在图形或文本视图中单击默认时间并输入新的时间。
8. 单击“确定”,然后单击“是”以保存更改。



## 插入一个跳转步骤

**注释:**您不能在跳转集合中插入跳转步骤;您不能创建嵌套的跳转循环。

### 要插入一个跳转步骤

1. 在工具栏上,在“插入步骤”下拉列表中选择在“之前”还是“之后”插入。
2. 在图形上,选择您打算在其之前或之后插入跳转步骤的步骤。
3. 在左窗格中,单击“插入跳转”。
4. 要编辑跳转步骤编号或跳转重复次数,请在图形或大纲窗格中选择默认的数字并输入一个新数值。
5. 单击“确定”,然后单击“是”以保存更改。

## 插入熔解曲线

**提示:**在跳转循环内不能插入熔解曲线步骤。

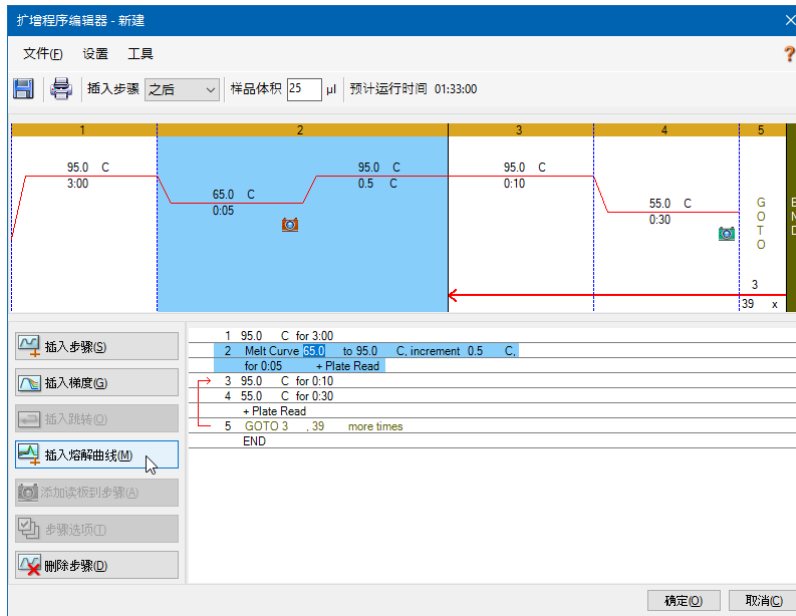
**注释:**熔解曲线步骤包括在步骤开始时 30 秒的保持时间,这在程序中未显示。

### 要插入一个熔解曲线步骤

1. 在工具栏上,在“插入步骤”下拉列表中选择在“之前”还是“之后”插入。
2. 在图形上,选择您打算在其之前或之后插入熔解曲线步骤的步骤。

在“扩增程序编辑器”中创建一个扩增程序

3. 在左侧窗格中, 单击“插入熔解曲线”。在图形和大纲窗格中突出显示新的熔解曲线步骤, 例如:



4. 要编辑熔解温控范围或增量时间, 请在图形或大纲窗格中选择默认数字并输入一个新值。
5. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存更改。

## 添加或删除一个读板步骤

**提示:** 将读板命令添加到步骤后, 当选择该步骤时, 按钮将更改为“删除读板”。

### 要添加一个读板步骤

1. 在工具栏上, 在“插入步骤”下拉列表中选择在“之前”还是“之后”插入。
2. 在图形上, 选择您打算在其之前或之后插入读板步骤的步骤。
3. 在右侧窗格中, 单击“添加读板到步骤”, 对所选中步骤添加读板指令。
4. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存更改。

### 从步骤中删除读板

- ▶ 在图形中, 选择一个包含读板的步骤, 在左窗格中单击“删除读板”。

## 更改步骤选项

### 要更改所选步骤的步骤选项

1. 在图形或大纲窗格中选择目标步骤。
2. 在左侧窗格中, 单击“步骤选项”打开选项对话框。  
或者, 右键单击任一窗格中的目标步骤, 然后在显示的菜单中选择“步骤选项”。
3. 要添加、修改或删除选项:
  - 在对应的文本框中输入一个数值。
  - 在特定的文本框中编辑数值。
  - 选择或清除一个复选框。
4. 单击“确定”保存更改并关闭“步骤选项”对话框。
5. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存扩增程序。

## 删除一个步骤

**重要:** 您无法撤销此功能。请谨慎选择删除步骤。

### 要在扩增程序中删除一个步骤

1. 在图形或大纲窗格中选择要删除的步骤。
2. 在左窗格中, 单击“删除步骤”以删除所选步骤。
3. 单击“确定”, 然后单击“是”以保存扩增程序。

## 复制、导出或打印一个扩增程序

### 复制一个扩增程序

- ▶ 右键单击扩增程序大纲并选择复制“复制扩增程序”。

您可以将大纲粘贴到 .txt、.xls、.doc 或 .ppt 文件中。

### 要导出一个扩增程序

1. 在扩增程序概况中点击右键，然后选择“导出扩增程序”。  
出现“另存为”对话框。
2. (可选)在 Windows 资源管理器中，导航到保存扩增程序文件所在文件夹。
3. 在“文件”名称中，输入所导出扩增程序文件的名称。
4. 单击“保存”。

### 打印一个扩增程序

- ▶ 右键单击扩增程序大纲，选择“打印”。

您可以将扩增程序大纲打印至默认打印机。

## 在“扩增程序自动编写器”中创建一个扩增程序

**重要:** Bio-Rad 不保证使用“扩增程序自动编写器”创建的扩增程序将始终获得 PCR 产物。

CFX Maestro Dx SE 扩增程序自动生成器基于以下参数生成扩增程序：

■ **扩增子长度** — 预期的 PCR 产物长度

■ **退火温度** — 所用引物的退火温度

若引物的  $T_a$  值未知，可根据引物序列使用退火温度计算器自动计算。

**注释:**  $T_a$  可按照引物熔解温度 ( $T_m$ ) 信息进行调整；引物熔解温度基于酶和扩增程序速度。

■ **酶类型** — DNA 聚合酶类型 (iTaq、iProof DNA 聚合酶或其他)。

若您使用的是 iTaq 或 iProof 之外的 DNA 聚合酶，您可以输入额外的信息，如温度梯度范围、热启动激活时间及最终延伸时间(秒)。

■ **运行速度** — 反应的模式(标准、快速或者超快)。

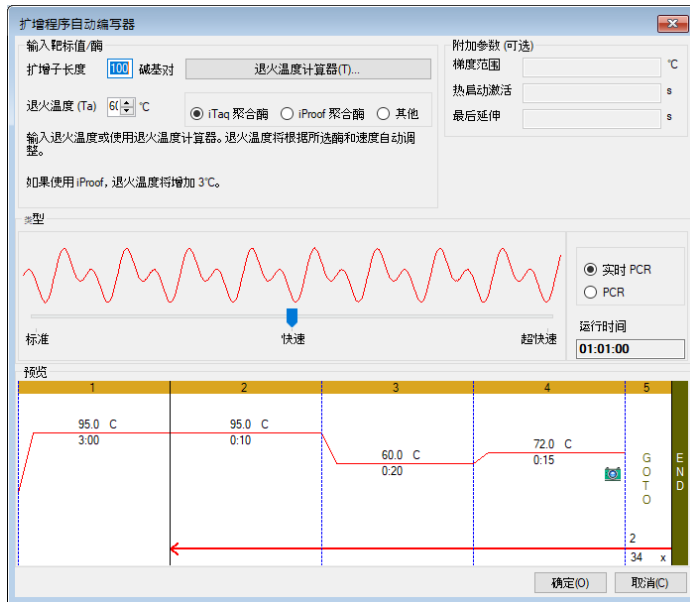
自动生成器将根据所选的运行速度来优化扩增程序。总运行时间根据步骤和循环的数量、每个步骤的孵育时间以及在目标温度下达到一致性所需的时间而定。

使用您输入的参数和标准 PCR 指南，扩增程序自动编写器会自动生成自定义的 PCR 扩增程序，包括热启动、预变性、退火和延伸步骤。然后您可查看系统建议的程序图表、运行程序或保存程序。

## 使用 CFX Maestro Dx SE 扩增程序自动编写器创建一个新的扩增程序

1. 在“主页”窗口中，选择“工具”>“扩增程序自动编写器”。

弹出“扩增程序自动编写器”对话框。



2. 在“输入靶标值/酶”部分中，可执行以下操作：

- 输入引物的退火温度(如果已知)。

**提示:**有关更多信息，请参阅第 108 页上的“使用退火温度计算器”。

**注释:**有关退火温度计算器中所用计算的信息，请参阅“Breslauer et al.1986”。

- 输入扩增子长度。
- 从列表选项中选择一种酶类型 (iTaQ DNA 聚合酶、iProof DNA 聚合酶或其他)。

**提示:**若您选择其他类型，附加参数(可选)部分中的参数变为可选。

3. 若您选择其他类型，您可以添加以下任何一个或全部参数到程序中：

- 温度梯度范围
- 热启动激活温度
- 最终延伸时间

4. 在“类型”部分中，移动滑动条以选择扩增程序速度(标准、快速或超快速)。CFX Maestro Dx SE 调整总运行时间。

5. 选择要执行的 PCR 类型(默认为实时荧光 PCR)。

使用实时荧光 PCR 时, CFX Maestro Dx SE 添加一个读板步骤来收集荧光数据。

6. 在“预览”部分, 可以查看扩增程序。您可以根据需要进行更改。

7. 执行以下操作之一:

- 单击“确定”保存新的扩增程序。保存后, 扩增程序在“启动向导”中打开。单击“编辑所选”可以对所选的程序进行编辑。例如, 您可以对程序中的反应体积、热盖温度等进行更改。
- 单击“取消”以关闭窗口而不保存程序。

## 使用退火温度计算器

当引物的退火温度未知时, 可以使用退火温度计算器计算该值。您可以使用扩增程序自动生成器或扩增编辑器新建一个扩增程序。

### 关于退火温度计算器

退火温度计算器计算每个引物的  $T_m$  值以及扩增程序标准速度下的  $T_a$  值。

扩增程序的  $T_a$  值是基于引物平均  $T_m$  值计算, 应用以下的规则:

- 若引物  $T_m$  值之间的差异  $>4^{\circ}\text{C}$ , 则  $T_a = (\text{两个引物 } T_m \text{ 值的较低值} + 2) - 4^{\circ}\text{C}$
- 若引物  $T_m$  值之间的差异  $\leq 4^{\circ}\text{C}$ , 则  $T_a = (\text{两个引物 } T_m \text{ 值的平均值}) - 4^{\circ}\text{C}$

### 碱基对计数方法

每对引物, 退火温度计算器对 14 个碱基对 (bp) 或更少的序列使用碱基对计数方法。

$$T_m = ((w * A + x * T) * 2) + ((y * G + z * C) * 4)$$

其中 w、x、y 和 z 分别代表碱基 A、T、G 和 C 在序列中的数量。

### 最近邻法

对于超过 14 bp 的序列, 使用最近邻法。在最近邻法中, 解链温度计算基于熵(寡核苷酸的秩序, 或者随机性的量度)、焓(寡核苷酸释放或吸收的热量)、自由能和温度之间的热力学关系。

$$\Delta H = \Delta G + T * \Delta S$$

其中:

- $\Delta H$  = 焓值, Cal/Mole\*K
- T = 温度, Kelvin
- $\Delta S$  = 熵值, Cal/Mole\*K

■  $\Delta G$  = 吉布斯自由能, Cal/Mole\*K

熵和焓的变化通过对表 8 中所示核苷酸对的值进行求和来计算 (Breslauer et al.1986)。

自由能与反应物和产物在平衡时的浓度之间的关系由以下公式计算：

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{\text{DNA} \cdot \text{引物}}{\text{DNA} + \text{引物}} \right)$$

其中 R 为气体常数 (1.986 Cal/Mole\*K)。

两个等式均减去 G, 然后求解 T, 结果为

$$T = \frac{\Delta H}{\Delta S + R \cdot \ln \left( \frac{\text{DNA} \cdot \text{引物}}{\text{DNA} + \text{引物}} \right)}$$

假设 DNA 的浓度和 DNA-引物复合物的浓度相等。

已测得 DNA 从单链形式转变为 B 型需要的自由能为 5 kcal 自由能 (3.4 kcal) (Sugimoto et al., 1996)。这大概是 DNA 螺旋结构形成的能量来源。最后, 计入盐浓度即可给出计算  $T_a$  的方程式：

$$T = \frac{(\Delta H - 5(\text{KCal/K} \cdot \text{摩尔}))}{(\Delta S + (R \cdot \ln(1/(\text{引物}))))} + 16.6 \log_{10}(\text{盐摩尔浓度})$$

无需盐离子浓度调整常数, 因为在 1M NaCl 下测定各种参数, 1 的  $\log_{10}$  为零。

热力学计算中假设退火发生在 pH 7.0。T<sub>m</sub> 计算假定序列不对称并且包含至少一个 G 或 C。

寡核苷酸序列至少要有 14 个碱基, 以获得合理的 T<sub>m</sub> 值。少于 14 个碱基的序列使用碱基对计数法 (参见下面的表 8)。

表 8. Breslauer 相互作用常数

Interaction		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
AA	TT	9.1	24	1.5
AT	TA	8.6	23.9	1.5
AC	TG	6.5	17.3	1.3
AG	TC	7.8	20.8	1.6
TA	AT	6	16.9	0.9
TT	AA	9.1	24	1.9
TC	AG	5.6	13.5	1.6
TG	AC	5.8	12.9	1.9
CA	GT	5.8	12.9	1.9



表 8. Breslauer 相互作用常数(续)

Interaction		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
CT	GA	7.8	20.8	1.6
CC	GG	11	26.6	3.1
CG	GC	11.9	27.8	3.6
GA	CT	5.6	13.5	1.6
GT	CA	6.5	17.3	1.3
GC	CG	11.1	26.7	3.1
GG	CC	11	26.6	3.1

## 使用退火温度计算器

### 使用退火温度计算器

1. 您可通过以下方法进入退火温度计算器：

- 如果您当前在“扩增程序自动编写器”界面中，请单击退火温度计算器。
- 在“主页”窗口中，选择“工具”>“退火温度计算器”。

退火温度计算器对话框出现。



退火温度计算器对话框的截图。对话框标题为“退火温度计算器”，右侧有一个关闭按钮（X）。对话框左侧有四个垂直排列的按钮，分别标有“A”、“T”、“G”和“C”。对话框主体包含以下输入区域：

- “正向引物”：5' 后面跟着一个文本输入框。
- “反向引物”：5' 后面跟着一个文本输入框。
- “正向 Tm”：一个文本输入框，后面跟着“°C”。
- “引物 Tm 的平均值”：一个文本输入框，后面跟着“°C”。
- “反向 Tm”：一个文本输入框，后面跟着“°C”。
- “标准速度的 Ta (Taq)”：一个文本输入框，后面跟着“°C”。

对话框底部有三个按钮：“计算(U)”、“确定(O)”和“取消(C)”。

2. 在前向引物文本框中，输入或粘贴您的引物序列。

**提示：**您同样可点击左侧 A、T、G、C 按钮来输入引物序列

3. 在反向引物文本框中，输入或粘贴反向引物序列。

4. 单击“计算”按钮。

退火温度计算器将计算每个引物的  $T_m$  值, 以及  $T_m$  和  $T_a$  的平均值, 例如:

Field	Value	Unit
正向引物 (Forward Primer)	CTG GAG CCT TCA GTT GCA G	
反向引物 (Reverse Primer)	GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC	
正向 $T_m$ (Forward $T_m$ )	59.7	°C
反向 $T_m$ (Reverse $T_m$ )	56.9	°C
引物 $T_m$ 的平均值 (Average Primer $T_m$ )	58.3	°C
标准速度的 $T_a$ (iTaq) (Standard $T_a$ (iTaq))	54.3	°C

若正向引物与反向引物的  $T_m$  值相差超过  $4^{\circ}\text{C}$ , 则软件将选择  $T_m$  值低的引物  $+2^{\circ}\text{C}$  作为  $T_a$  值计算的基础, 您可以通过更改酶和反应速度进一步修改。

退火温度计算器用 iTaq DNA 聚合酶产生标准速度的退火温度。当使用不同的酶时, 速度设置自动调整  $T_a$  值。

5. 执行以下操作之一:

- 如果您是从“扩增程序自动编写器”中打开退火温度计算器, 单击“确定”, 您将返回至“扩增程序自动编写器”界面。退火温度将自动调整。
- 如果您是从“工具”菜单中打开退火温度计算器, 单击“取消”关闭计算器。

## 第 8 章 准备反应板

一个反应板文件包含如扫描模式、荧光染料和反应孔布局等有关运行参数的信息。运行后，CFX Maestro Dx 软件，安全版 将反应孔信息链接到运行期间收集的荧光数据，并在“数据分析”窗口中应用适当的分析。例如，用标记为标准品的反应孔将用于生成标准曲线。

CFX Maestro Dx SE 提供了两种创建反应板的方式：“反应板编辑器”设置实时荧光 PCR 运行和“设置向导”设置均一化基因表达分析。

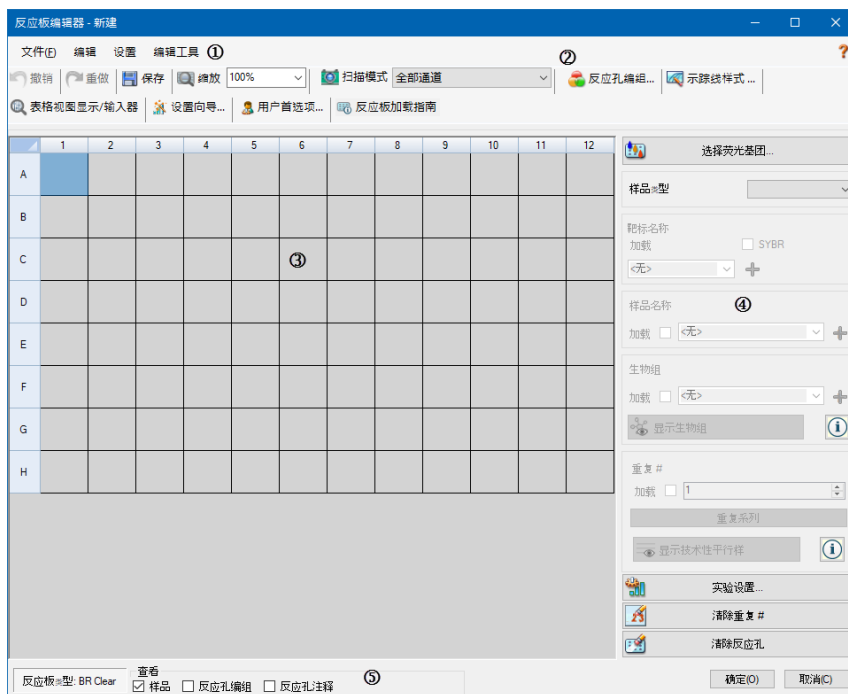
反应板编辑器有以下特征：

- 将标准荧光染料和样品类型指定给反应孔
- 设置参考靶标和对照样品进行基因表达分析
- 能够在运行之前、期间或之后编辑反应板设置
- 能够保存反应板文件以供重复使用
- 用默认打印机打印反应板文件

设置向导将指导您为均一化基因表达分析创建反应板布局。您可以在运行之前，期间或之后使用“设置向导”。

## “反应板编辑器”窗口

您可以使用“反应板编辑器”，创建自定义反应板或修改现有反应板。



图例

1. 菜单栏提供快速访问文件和设置菜单命令以及反应板编辑工具选项。
2. 通过该工具栏可快速访问重要的反应板加载功能。
3. 主窗格在您应用时会显示反应板轮廓和反应板选项。
4. 右窗格显示用于自定义反应板的选项。
5. 底部窗格显示反应板类型，并可通过其进行快速访问，查看选项。

## 文件菜单命令

**保存** — 将反应板数据文件保存在“用户首选项”对话框的“文件”选项卡中指定的位置。有关更多信息，请参阅第 77 页上的“更改默认文件设置”。此菜单项仅在创建新反应板文件时可用。

**另存为** — 将当前的反应板数据文件另存一个新的文件名。此菜单项仅在创建新反应板文件时可用。

**文件密码** — 使用户可以设置其文件保存和文件打开密码。

**提取反应板** — 打开一个对话框，您可以从中提取/保存反应板文件 (.pltd)。此菜单项仅在查看或编辑现有反应板文件时可用。

**打印** — 打印当前的反应板数据文件。

**关闭** — 关闭反应板编辑器。

## 编辑菜单命令

**撤销修改** — 撤销对反应板文件的更改直到保存反应板文件。

**取消撤销** — 取消最近的撤销操作直到保存反应板文件。

## 设置菜单命令

**反应板规格** — 打开一个对话框，从中可以选择运行的反应板尺寸。

**注释:**反应板的规格必须与所运行的仪器上的模块规格匹配。

**选择 96 孔用于:**

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

**选择 384 孔用于:**

- CFX Opus 384Dx

**反应板类型** — 打开一个对话框，您可以选择包含样品的反应板材质类型，包括 **BR White** 和 **BR Clear**。为了数据的准确，所选择的反应板类型必须与运行中使用的反应板类型相同。

**注释:**必须对新反应板类型进行校准。有关更多信息，请参阅第 70 页上的“校准新染料”。

**数字规范** — 您可以选择或取消选择以科学计数法显示单位的选项。默认值是以科学记数法显示单位。

**单位** — 您可以选择在执行未知样品与标准曲线的定量时在电子表格中显示的单位。

## 编辑工具菜单命令

**开始向导** — 打开开始向导，您可以在其中定义当前反应板的布局和分析参数。您可以在运行完成之前、期间或之后使用该向导。

**表格视图显示/输入器** — 打开“视图”对话框，以电子表格形式显示反应板布局模板。该对话框可用于导出或导入 .csv 格式的反应板模版。

**翻转** — 将反应板的布局翻转 180°。

## 工具栏命令



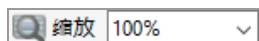
恢复对反应板的更改。CFX Maestro Dx SE 支持最多 10 次撤销修改操作



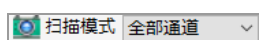
恢复最近的撤销操作。CFX Maestro Dx SE 最多支持 10 个重做操作。



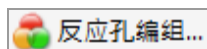
保存当前反应板文件。



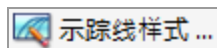
显示下拉列表，您可以从中增加或减少反应板视图的放大倍数。



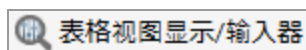
显示下拉列表，您可以从中选择扫描模式，指示仪器在运行期间从哪些通道收集荧光数据。



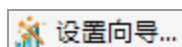
打开反应孔分组管理器，为当前的反应板进行反应孔分组设置。



显示一个对话框，您可以从中选择扩增示踪线的颜色和样式。



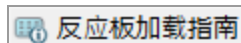
打开“视图”对话框，以电子表格形式显示的反应板布局。该对话框可用来导出或导入 .csv 格式的反应板模版。



打开“设置向导”，为当前反应板定义布局及分析参数。您可以在运行之前，期间或之后使用“设置向导”。



打开“用户首选项”对话框中的“反应板”选项卡，您可以在其中定义反应板布局参数并创建或删除靶标、样品和生物组名称。在下次打开“反应板编辑器”时，您在“反应板”选项卡中所做的更改可用。



显示反应板设置和孔加载过程中的必要步骤。

## 使用“反应板编辑器”创建反应板文件

使用反应板编辑器,您可以创建自定义反应板文件。您还可以编辑和保存以前保存的反应板文件或 CFX Opus Dx 系统附带的模板文件。

创建一个反应板文件,请执行以下操作:

- 在反应板编辑器中打开一个反应板文件。
- 选择对应的反应板类型。  
**注释:**此处的反应板类型必须与反应模块中的反应板类型一致。
- 选择扩增程序中的扫描模式。
- 选择反应板中使用的荧光染料。
- 选择样品类型、靶标和样品。
- 选择技术重复(如果适用)。
- 保存当前反应板的布局。

**提示:**要从先前保存的反应板文件或样品反应板文件创建新平板,请参阅第 119 页上的“在“反应板编辑器”中打开现有的反应板文件”。

## 在“反应板编辑器”中打开新反应板文件

CFX Maestro Dx SE 可从多处打开一个新的反应板文件:

- 从“主页”窗口中
- 从“启动向导”对话框中打开
- 从“运行设置”对话框中打开

**要从“主页”窗口中打开一个新反应板文件**

- ▶ 选择“文件”>“新建”>“反应板”。

打开“反应板编辑器”窗口,显示所选仪器的默认反应板文件。

**提示:**有关设置默认反应板文件的信息,请参阅第 77 页上的“更改默认文件设置”。

**从“启动向导”打开新的反应板文件**

1. 在“主页”窗口中,如果“启动向导”不在视图中,请执行以下操作之一:
  - 选择“视图”>“启动向导”。
  - 单击工具栏上的“启动向导”。



2. 必要时请从下拉列表中选择仪器类型。
3. 创建新的反应板文件, 请单击用户自定义作为运行类型。

打开“运行设置”对话框, 显示“扩增程序”选项卡。

4. 点击“反应板”选项卡, 点击“新建”。

打开“反应板编辑器”窗口, 显示所选仪器的默认反应板布局。

#### 从“运行设置”对话框中打开新的反应板文件

1. 在“主页”窗口中, 可从以下方式进入“运行设置”对话框:

- 选择“运行”>“用户自定义运行”。
- 单击工具栏上的“用户定义的运行设置”。

打开“运行设置”对话框, 显示“扩增程序”选项卡。

2. 创建新的反应板, 请单击“反应板”选项卡, 然后单击“新建”。

打开“反应板编辑器”窗口, 显示所选仪器的默认反应板布局。

## 在“反应板编辑器”中打开现有的反应板文件

CFX Maestro Dx SE 提供样品反应板文件，您可编辑并保存为新反应板。您也可以从已保存的反应板文件创建新的反应板文件。

### 打开一个模板文件

1. 在“主页”窗口中选择“文件”>“打开”>“反应板”。

Windows 资源管理器打开 CFX Opus Dx 系统“样品文件”文件夹的位置。

2. 打开“样品文件”文件夹，然后打开“反应板”文件夹。
3. 选择一个反应板文件，然后单击“打开”。

在“反应板编辑器”窗口中打开模板文件。

4. 选择“文件”>“另存为”，将反应板文件保存到新的文件夹或保存为新的文件名。

### 打开已保存的反应板文件

1. 在“主页”窗口中，执行以下任一操作：

- 选择“文件”>“打开”>“反应板”，导航至并选择目标反应板，然后单击“打开”。

- 打开“启动向导”并按照下列选项之一操作：

- 要编辑现有反应板文件，请单击“选择现有”并导航到目标文件。

- 要编辑显示的反应板文件，请单击“编辑选定项”。

在“反应板编辑器”窗口中打开靶标反应板。

2. 选择“文件”>“另存为”，将反应板文件保存到新的文件夹或保存为新的文件名。

## 设置新的反应板文件

**提示:**如果您的反应板文件包含所需的参数(例如,如果您正在编辑样品或现有反应板文件),则可以跳过此部分。转至第 127 页上的“为反应板文件分配可选参数”。

新的反应板文件需要设置以下参数:

- 反应板大小
- 反应板类型
- 扫描模式
- 一种荧光染料
- 一种样品类型

### 选择反应板尺寸和反应板类型

**重要:**在反应板设置期间必须选择反应板尺寸。在运行期间或之后,您不能更改反应板尺寸。

该软件在运行期间将反应板尺寸和类型应用于所有反应孔。确保所选的反应板尺寸与您在运行中使用的反应板尺寸相同。

Bio-Rad 的 CFX Opus Dx 系统在出厂时已针对许多荧光染料和反应板组合进行校准。校准需指定仪器、染料和反应板类型。确保您计划使用的荧光染料根据您选择的反应板类型进行校准。

**提示:**要对仪器上的染料和反应板类型的新组合进行校准,请选择“工具”>“染料校准向导”。有关校准染料和反应板类型的信息,请参见第 70 页上的“校准新染料”。

### 选择扫描模式

CFX Opus 96 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统在五个通道(加上 FRET)中激发和检测荧光基团。CFX Opus 384 Dx 系统在四个通道(加上 FRET)中激发和检测荧光基团。所有系统在运行期间使用多次数据采集扫描模式收集荧光数据。

CFX Maestro Dx SE 提供三种扫描模式:

- 全通道
  - 在 CFX Opus 96 Dx 和 CFX Opus Deepwell Dx 系统上扫描通道 1 到 5
  - 在 CFX Opus 384 Dx 系统上扫描通道 1 至 4
- SYBR®/FAM
  - 仅扫描通道 1
  - 提供快速扫描
- FRET
  - 仅扫描 FRET 通道

- 提供快速扫描

## 选择荧光基团

**重要:**在启动运行之前, CFX 系统会验证您在反应板上指定的荧光染料是否在该仪器上进行了校准。如果选择了尚未在该仪器上校准的荧光染料, 则不能运行该板。

您必须在运行前将至少一个荧光染料加载到反应板布局。您可以根据需要添加尽可能多的荧光染料, 但反应板必须包含至少一个荧光染料。在靶标名称中所选择的荧光染料用以表示所选的靶标。

您可以使用“选择荧光染料”对话框将荧光染料(或反应板染料)加载到反应板编辑器中。“选择荧光染料”对话框中显示的荧光染料取决于您选择的扫描模式:

- 全通道

显示所有可使用的荧光染料。

**提示:**您可以尽可能多的添加染料, 但在每个反应孔中每个通道仅能添加一个染料。

- SYBR®/FAM

仅显示通道 1 适用的荧光染料。

- FRET

仅显示通道 6 适用的荧光染料。

**提示:**仅当 FRET 为所选扫描模式时, 才会显示通道 6 适用的 FRET 荧光染料。它不适用于所有通道扫描模式。

**注释:**您不能直接从“选择荧光染料”对话框中添加或删除荧光染料。您必须使用染料校准向导在仪器上校准新的荧光染料。校准后, 新荧光基团自动添加到此列表中。有关更多信息, 请参阅第 70 页上的“校准新染料”。

## 选择样品类型

**重要:**在运行之前您必须为反应孔指定一种样品类型。

CFX Maestro Dx SE 提供五种样品类型可选:

- 未知
- 标准品
- NTC(无模板对照)
- 阳性对照
- 阴性对照

■ NRT(未经转录模板对照)

您可将样品类型分配到反应板反应孔。

## 设置新反应板

### 要设置新反应板

1. 在“反应板编辑器”窗口中打开一个新反应板文件。
2. 要设置反应板尺寸,选择“设置”>“反应板尺寸”,在下拉列表中选择合适的尺寸。
3. 要设置反应板类型,选择“设置”>“反应板类型”,在下拉列表中选择 **BR White** 或 **BR Clear**。
4. (可选)从设置菜单,您可以更改数字书写形式和显示单位:
  - 要更改数字书写形式,选择“设置”>“数字规范”,并选择“科学计数法”。

**提示:**默认选择的是科学计数法。在这种情况下,选择科学记数法将清除默认值,并将数字书写规范设置为标准形式。
  - 要更改显示单位,选择“设置”>“单位”,选择一个新的单位值。
5. 要设置扫描模式,请从“反应板编辑器”窗口工具栏的“扫描模式”下拉列表中选择适当的扫描模式。

## 6. 为反应板选择必要的荧光基团：

- a. 在右窗格中，单击“选择荧光基团”。

显示“选择荧光基团”对话框。您会看到可用于在 [步骤 5](#) 中选择的扫描模式类型的荧光基团，例如：



- b. 要选择荧光基团，请单击“选用”复选框。

**提示：**要从列表中删除荧光染料，请清除其选中的复选框。

- c. 要更改荧光基团的显示颜色，请单击其“颜色”框。

**注释：**您选择的颜色表示“反应板编辑器”窗口和“数据分析”图表中的荧光染料。

- d. 在“颜色”对话框中，选择所需的颜色，或者单击“定义自定义颜色”并创建一种新颜色来表示荧光基团。

- e. 单击“确定”保存更改，然后退出“选择荧光基团”对话框。

## 7. 您必须至少选择一个加载样品类型的反应孔。默认情况下，选择反应孔 A1。

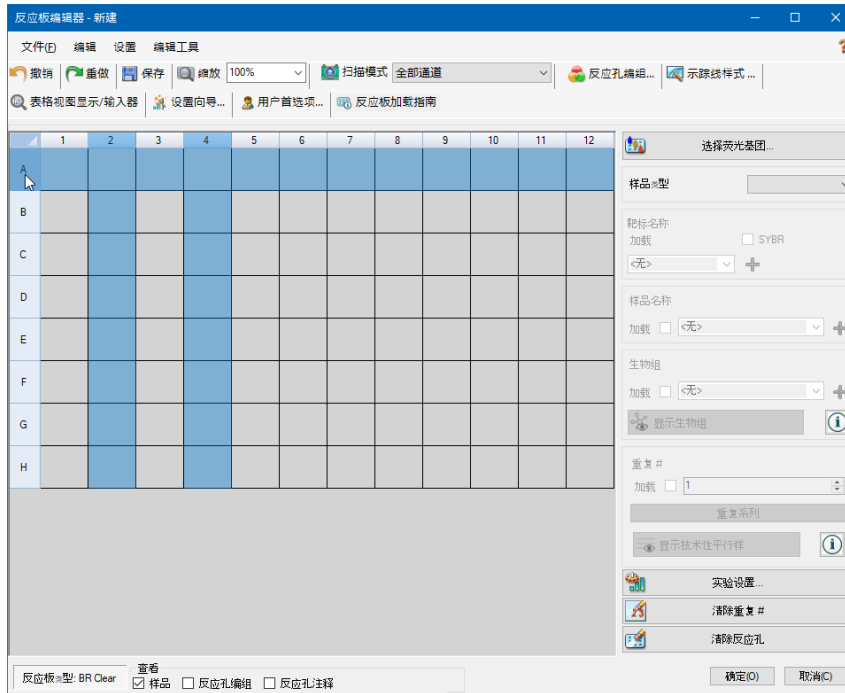
在反应板面板中，执行以下任一操作：

- 选择多个相邻反应孔，请选择一个反应孔长按鼠标左键并拖至最末一个反应孔。
- 选择多个不相邻的反应孔，按住 **Ctrl** 键并点击每个反应孔。

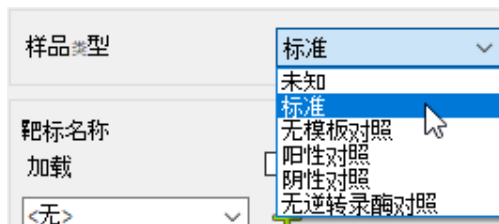
## 第 8 章 准备反应板

- 选择具有相同样品类型的整列反应孔，请点击列号。
- 选择整行反应孔，请点击行号。
- 选择全板，请点击反应板左上角的三角形。

例如：



8. 从“样品类型”下拉列表中将样品类型分配给选定的反应孔。

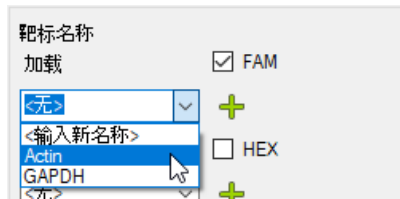


9. 为所有含有一种样品类型的所有反应孔配至少一种荧光基团。一个反应孔或者一组反应孔可以有多种荧光染料。

**注释:**每个通道只能分配一个荧光染料。不能将同一通道的多个荧光染料分配到同一个孔。

**提示:**您可以将靶标与荧光染料相关联,或者您可以在此时仅将荧光染料分配到反应孔中,并在运行实验后将靶标与荧光染料相关联。

- 要仅将荧光基团分配到选定的反应孔中,请在右窗格的“靶标名称”部分中为特定荧光基团选择“加载”复选框。
- 要将靶标与荧光基团相关联,请在“靶标名称”部分的下拉列表中为特定荧光基团选择一个靶标名称。软件自动选择其“加载”复选框。



10. 对于含有标准品样品类型的反应孔,您必须加载浓度。每个孔可以有不同浓度值。默认情况下,CFX Maestro Dx SE为样品类型为标准品的所有反应孔加载 1.00E+06 的浓度。必要时可以更改该值。
- a. 在反应板窗格,选择对应的标准孔。
  - b. 在浓度部分单击“加载”将值加载到所选反应孔中。
  - c. (可选)要加载另一浓度,请在“浓度”文本框中输入新值,然后按 **Enter** 键。
  - d. 重复此步应用到所有的标准孔中。

**提示:**要向所有标准孔加载相同的浓度,请确保<全部>出现在浓度值下方的下拉列表中。要向具有特定荧光染料的所有孔加载相同的浓度值,请单击下拉列表并选择荧光基团。

11. 单击“确定”保存新反应板。



## 反应板编辑器工具的右键单击菜单项

表 9 列出了当您右键单击工具中的任何一个反应孔时，反应板编辑器工具中可用的菜单项。此菜单也出现在电子表格视图/导入器中。

**表 9. 右键单击反应板表格视图显示/输入器工具中的菜单项**

项目	功能
复制	复制整个电子表格。
复制为图像	将电子表格复制为图像文件。
打印	打印电子表格。
打印选择	仅打印选定的单元格。
导出到 Excel	将文件导出到 Excel 电子表格。
导出为 CSV	将文件导出为 .csv 文件。
导出为 Xml	将文件导出为 .xml 文件。
导出为 Html	将文件导出为 .html 文件。
查找	搜索特定文本。
排序	在“排序”窗口中最多选择三列数据对电子表格进行排序。

## 为反应板文件分配可选参数

反应板文件包含有关运行样品的每个孔的内容信息。运行后, CFX Maestro Dx SE将反应孔信息与扩增程序期间收集的荧光数据关联起来,并在“数据分析”窗口中执行适当的分析。

在 CFX Maestro Dx SE 软件中,您可以在运行实验之前、期间或甚至之后为板中的每个孔设置参数。您可以将参数分配给现有的反应板文件或新的反应板文件。这些参数包括:

- **靶标名称** — 在每个加载的孔中的靶标(基因或序列)。
- **样品名称**— 每个加样孔的标志或者处理条件,如 mouse1、mouse2 或 mouse3。
- **生物组** — 每组反应孔的标志或者处理条件,如 0Hr、1Hr 或 2Hr。

**提示:**靶标名称、样品名称以及生物组在反应孔之间必须相同,才能比较“数据分析”窗口“基因表达”选项卡中的数据。每个名称的大小写、标点符号和间距必须相同。例如,“Actin”与“actin”不同,“2Hr”与“2 hr”不同,“Mouse 1”与“mouse1”不相。要确保命名一致性,请在“主页”窗口的“用户”>“用户首选项”>“反应板”下的“库”部分中输入名称。

- **技术重复样品**— 用于分析相同样品和靶标组合的每个反应孔;即重复样品 qPCR 反应。
- **稀释系列** — 在重复组中更改标准样品类型浓度以创建要分析的标准曲线数据的量。

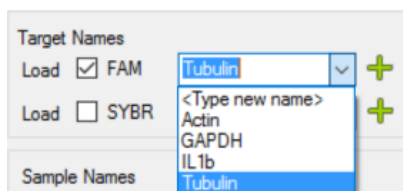
## 为反应孔设置靶标

**提示:**您可以给一个或多个反应孔设置相同的靶标。同样您也可以为同一个孔设置多个靶标。

**重要:**分配靶标后单击“确定”会保存更改并禁用“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”。单击“确定”时要谨慎。

### 要为反应孔或反应孔编组分配靶标

1. 在“反应板编辑器”中,确保已为反应孔或反应孔编组分配样品类型。  
有关为反应孔分配样品类型的信息,请参见第 121 页上的“选择样品类型”。
2. 在反应板窗格中,选择反应孔或反应孔编组:
  - 选择一个反应孔,请单击一个反应孔。
  - 若是选择多个相邻的反应孔,单击选择一个反应孔后拖动至最后一个所需选择的反应孔。
  - 若是选择多个不相邻的反应孔,单击选择一个反应孔后,按住 **Ctrl** 键选择所需的反应孔。
  - 选择具有相同样品类型的整列反应孔,请点击列号。
  - 选择整行反应孔,请点击行号。
3. 在右窗格中,从每个选定的荧光基团的“靶标名称”下拉列表选择一个名称。



4. 对必须为其分配靶标的每个反应孔或反应孔编组, 重复 [步骤 3](#)。

**提示:**您可以为每个选定的荧光染料分配相同或不同的靶标名称。

5. 单击“确定”, 接受更改并保存反应板。

**注释:**如果您错误地更改了反应板, 请单击“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”, 然后单击“确定”, 接受更改。

### 删除靶标名称

- ▶ 要从选定的反应孔或反应孔编组中删除靶标名称, 请清除其加载复选框。

**重要:**从反应孔中移除靶标名称也会移除其相关联的荧光染料。从反应孔中删除靶标名称时要谨慎。

### 将靶标名称添加到列表

- ▶ 要在下拉列表中添加靶标名称, 请执行以下任一操作:

- 在“靶标名称”下拉列表中键入名称, 然后按 **Enter** 键。

**提示:**添加到一个列表的靶标名称将显示在所有其他靶标列表中。

- 单击下拉列表右侧的绿色 + 符号, 然后键入靶标的名称, 再按 **Enter** 键。
- 单击工具栏上的“用户首选项”, 并将名称添加到“反应板”选项卡中的“靶标名称”库中。

**重要:**在下拉列表中添加的靶标名称仅适用于当前板, 且仅当您将其分配给反应孔并保存反应板布局时才可用。若您尚未对反应孔命名及保存反应板布局, 新添加的靶标名称将无法保存也无法后续使用。要永久添加靶标名称, 还可以使用“用户首选项”对话框将其添加到“靶标名称”库中。在您再次打开反应板编辑器后, 添加到库中的名称将可用。有关更多信息, 请参阅 [第 79 页上的“设置默认反应板参数”](#)。

### 从列表中删除靶标名称

1. 单击工具栏上的“用户首选项”。

出现“用户首选项”对话框, 显示“反应板”选项卡。

2. 在“反应板”选项卡的靶标名称库中, 选择要删除的名称, 然后单击“删除”键。
3. 单击“确定”保存更改并退出“用户首选项”对话框。

**重要:** 您不能删除与反应板文件一同保存的靶标名称。添加至列表中的自定义名称, 在不使用及未与反应板文件一同保存时将自动从列表中移除。从靶标名称库中删除的名称将永久从软件中删除, 并且不再供用户使用。删除靶标名称时请谨慎。

## 为反应孔分配样品名称

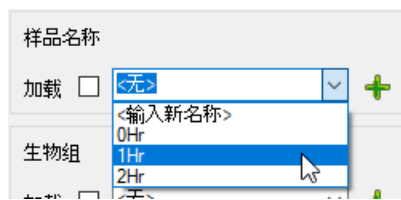
**注释:** 要指定样品名称, 您必须为所选反应孔至少分配一种荧光染料。如果所选孔未分配荧光染料, 则样品名称下拉列表禁用。有关分配荧光基团的信息, 请参阅第 127 页上的“[为反应孔设置靶标](#)”。

**提示:** 您只能为每个反应孔或反应孔编组分配一个样品名称。

### 要为反应孔或反应孔编组分配样品名称

1. 在反应板编辑器中, 确保为反应孔或反应孔编组分配了荧光染料。
2. 在反应板窗格中, 选择反应孔或反应孔编组。
3. 在右窗格中, 在“样品名称”下拉列表中选择名称。

软件自动选择其“加载”复选框。



4. 对必须为其分配样品名称的每个反应孔或反应孔编组, 重复步骤 3。
5. 单击“确定”, 接受更改并保存反应板。

**注释:** 如果您错误地更改了反应板, 请单击“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”, 然后单击“确定”, 接受更改。

### 删除样品名称

- ▶ 要从所选反应孔或反应孔编组中删除样品名称, 请清除其“加载”复选框。

### 将样品名称添加到列表

- ▶ 要向下拉列表中添加样品名称, 请执行以下任一操作:
  - 在“样品名称”下拉列表中键入名称, 然后按 **Enter** 键。
  - 单击下拉列表右侧的绿色 + 符号, 并输入样品名称。
  - 单击工具栏上的“用户首选项”, 并将名称添加到“反应板”选项卡中的“样品名称”库中。

**重要:**在下拉列表中添加的样品名称仅适用于当前板,且仅当您为反应孔分配名称并保存反应板布局时才可用。若您尚未对反应孔命名及保存反应板布局,新添加的靶标名称将无法保存也无法后续使用。要永久添加样品名称,还可以使用“用户首选项”对话框将其添加到“样品名称”库中。在您再次打开反应板编辑器后,添加到库中的名称将可用。有关更多信息,请参阅第 79 页上的“设置默认反应板参数”。

### 从列表中删除样品名称

1. 单击工具栏上的“用户首选项”。

出现“用户首选项”对话框,显示“反应板”选项卡。

2. 在“反应板”选项卡的“样品名称”库中,选择要删除的名称,然后单击“删除”键。
3. 单击“确定”保存更改并退出“用户首选项”对话框。

**重要:**您不能删除与反应板文件一同保存的样品名称。添加至列表中的自定义名称,在不使用及未与反应板文件一同保存时将自动从列表中移除。从样品名称库中删除的名称将永久从软件中删除,并且不再供用户使用。删除样品名称时请谨慎。

### 为反应孔分配生物组

**注释:**要分配生物组,您必须为所选的反应孔分配至少一种荧光基团。分配荧光基团可启用 Biological Groups(生物组)下拉列表。有关分配荧光基团的信息,请参阅第 127 页上的“为反应孔设置靶标”。

**提示:**您可以为每个反应孔或每个反应孔编组分配一个生物组。

#### 为反应孔或反应孔编组分配生物组

1. 在反应板编辑器中,确保为反应孔或反应孔编组分配了荧光染料。
2. 在反应板窗格中,选择反应孔或反应孔编组。
3. 在右窗格中,从 Biological Group(生物组生物)下拉列表中选择或输入新的生物集名称,然后按 Enter 键。

CFX Maestro Dx SE 自动选择其“加载”复选框。



4. 对必须为其分配生物组的每个反应孔或反应孔编组,重复步骤 3。

- 单击“确定”，接受更改并保存反应板。

**注释:**如果您错误地更改了反应板，请单击“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”，然后单击“确定”，接受更改。

### 删除生物组

- ▶ 要从所选反应孔或反应孔编组中删除生物组，请清除其加载复选框。

### 将生物组添加到列表中

- ▶ 要将生物组添加到下拉列表中，请执行以下任一操作：

- 在“生物组”下拉框中键入一个名称，然后按 **Enter** 键。
- 单击下拉列表右侧的绿色+符号，并输入生物组的名称。
- 单击工具栏上的“用户首选项”，并将名称添加到“反应板”选项卡中的“生物组名称”库中。

**重要:**在下拉列表中添加的生物组名称仅适用于当前板，且仅当您将名称分配给反应孔并保存反应板布局时才可用。若您尚未对反应孔命名及保存反应板布局，新添加的靶标名称将无法保存也无法后续使用。要永久添加生物组名称，还可使用“用户首选项”对话框将其添加到“生物组名称”库中。在您再次打开反应板编辑器后，添加到库中的名称将可用。有关更多信息，请参阅第 79 页上的“设置默认反应板参数”。

### 从列表中删除生物组名称

- 单击工具栏上的“用户首选项”。  
出现“用户首选项”对话框，显示“反应板”选项卡。
- 在“反应板”选项卡的“生物组名称”库中，选择要删除的名称并按“删除”键。
- 单击“确定”保存更改并退出“用户首选项”对话框。

**重要:**您不能删除与反应板文件一同保存的生物组名称。添加至列表中的自定义名称，在不使用及未与反应板文件一同保存时将自动从列表中移除。从生物组名称库中删除的名称将永久从软件中删除，并且不再供用户使用。删除生物组名称时请谨慎。

### 查看反应板上的所有生物组

- ▶ 单击显示生物组以查看板上的所有生物组。



每个组均使用特定的颜色标识,“显示生物组”按钮变为“隐藏生物组”。

单击“隐藏生物组”,清除反应孔的颜色。或者,您可以单击板中的任何孔以隐藏生物组。

## 为反应孔分配技术重复 #

**重要:**为了分配技术重复数量,所选择的孔必须包含相同的内容。即所选孔必须具有相同的样品类型和荧光染料。此外,还必须分配相同的靶标和样品名称以及相同的生物组(如果适用)。若这些内容不一样,CFX Maestro Dx SE 不启用此选项。

### 分配技术重复数至反应孔编组

1. 在“反应板编辑器”中,确保反应孔编组的内容相同。
2. 在反应板窗格中,选择靶标反应孔编组。
3. 要为所有选定的反应孔分配相同的重复数,请在右窗格的“重复样品 #”部分的框中键入重复数,并选择“加载”。



4. (可选)将一个重复系列应用于一组选定的孔:
  - a. 单击技术重复。“重复样品 #”部分更改为显示以下选项:



- **重复组大小** — 表示每组重复的反应孔数
- **起始重复 #** — 在重复系列中选定重复组的第一个数字编号

**注释:**默认情况下,CFX Maestro Dx SE 将起始重复 #显示为大于板中已分配的最后一个技术重复数的数字。例如,如果板中的最后一个技术重复数为 5,则下一个起始数为 6。用户可将起始号码更改为尚未分配的任何数字。

- **加载方向(水平或垂直)**

- b. 单击“应用”，将参数应用到系列并返回到“重复样品 #”显示。
5. 单击“确定”，接受更改并保存反应板。

**注释：**如果您错误地更改了反应板，请单击“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”，然后单击“确定”，接受更改。

### 从重复系列中删除孔

- ▶ 选择要移除的反应孔或反应孔编组，并清除“重复 #加载”复选框。

或者，您可以单击“清除重复样品 #”，从选定反应孔或反应孔编组中清除重复样品编号。

### 在反应板中查看所有技术重复

- ▶ 单击“显示技术重复样品”，查看反应板上的所有技术重复样品。

每个组均使用特定的颜色标识，“显示技术重复样品”钮变为“隐藏技术重复样品”。

单击“隐藏技术重复样品”，清除反应孔的颜色。或者，您可以单击反应板中的任何反应孔，以隐藏技术重复样品。

## 为标准品样品类型分配稀释系列

如前所述，样品类型为标准品的所有反应孔必须分得一个浓度值。您可为标准品孔分配稀释系列。

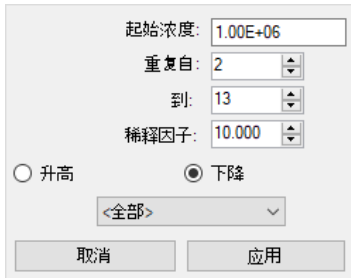
**注释：**要为反应孔编组分配稀释系列，必须将这些反应孔列入技术重复样品系列。有关为重复样品系列添加反应孔的信息，请参阅第 132 页上的“为反应孔分配技术重复 #”。

### 为一组标准品反应孔分配稀释系列

1. 在“反应板编辑器”中，确保满足以下要求：
  - 该反应孔编组的样品类型为标准品。
  - 组内的所有反应孔被分配至少一个荧光染料，并且它们都包含相同的荧光染料。
  - 该组中的所有反应孔均包含在相同技术重复样品系列中。

**注释：**CFX Maestro Dx SE 只有在所有选定的孔都符合这些标准时才启用稀释系列选项。
2. 在反应板窗格中，选择靶标反应孔编组。
3. 在右窗格的“浓度选项”中，单击“稀释系列”。浓度选项将展开以显示如下界面：





- **起始浓度** — 稀释系列的起始浓度值
- **重复自/至** — 稀释因子应用的重复系列范围
- **稀释因子** - 不同浓度组间的稀释倍数

4. 设置选项的值或使用默认值。
5. 默认情况下，稀释系列按稀释系数减少。选择“升高”，增加稀释系列。
6. (可选)默认情况下，稀释倍数适用于重复样品系列中的所有荧光基团。如果您的系列包含一种以上荧光基团，并且您希望将稀释液应用于单个荧光基团，请从下拉列表中选择。
7. 单击“应用”将稀释系列应用到所选反应孔，并返回到浓度视图。
8. 单击“确定”，接受更改并保存反应板。

## 将反应孔信息复制到另一个反应孔中

您可以复制一个反应孔的内容并将其粘贴到一个或多个反应孔中。但是，您只能复制单个反应孔的内容。您无法选择多个反应孔并复制其内容。

### 要将反应孔信息复制到另一个反应孔中

1. 在反应板窗格中，选择要复制的反应孔。
2. 鼠标右键点击反应孔并选择“复制反应孔”。
3. 选择一个或多个需要粘贴内容的反应孔：
  - 要选择单个反应孔，请单击该孔。
  - 若是选择多个相邻的反应孔，单击选择一个反应孔后拖动至最后一个所需选择的反应孔。
  - 若是选择多个不相邻的反应孔，单击选择一个反应孔后，按住 **Ctrl** 键选择所需的反应孔。
4. 选择靶标反应孔后，右键单击并选择“粘贴反应孔”。

CFX Maestro Dx SE 将第一个反应孔的内容粘贴到选定反应孔中。

## 添加反应孔备注信息

您可以给反应孔添加备注信息。您可在“数据分析”窗口下“定量”选项卡中查看所有反应孔的备注信息。

### 要添加反应孔备注信息

1. 在反应板窗格中，选择您计划添加备注信息的一个或多个反应孔。
2. 在底部窗格的“查看”菜单中选择“反应孔备注”。

在右侧窗格中弹出“反应孔备注”区域。



3. 在文本框中键入备注的内容，然后按 **Enter** 键。

文本显示在所选反应孔的底部。

**提示:**如果您之前已经添加了反应孔备注，您可以从下拉列表中选择它，并将其应用于选定的反应孔。

## 清除反应孔的所有内容

您可以清除单个反应孔、一组反应孔或整个反应板的所有内容。清除这些内容并不影响已经采集的荧光信号。

**重要:**重置反应孔会永久删除反应孔中的内容。如果在清除反应孔后单击“确定”并保存反应板，则无法撤销清除操作。重置反应孔时请谨慎。

### 要清除反应孔的所有设置

1. 在反应板编辑器中，在反应板窗格中选择所需重置的一个或多个反应孔：
  - 要选择单个反应孔，请单击该孔。
  - 若是选择多个相邻的反应孔，单击选择一个反应孔后拖动至最后一个所需选择的反应孔。
  - 若是选择多个不相邻的反应孔，单击选择一个反应孔后，按住 **Ctrl** 键选择所需的反应孔。
  - 选择具有相同样品类型的整列反应孔，请点击列号。
  - 选择整行反应孔，请点击行号。
2. 在右窗格中，单击“清除反应孔”。

CFX Maestro Dx SE 将清除所选反应孔的所有设置。

3. 执行以下操作之一：

- 如果您错误地清除了反应孔，请单击“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”，然后单击“确定”，接受更改。

**重要：**如果在单击“撤销”之前单击“确定”，则会保存更改并禁用“反应板编辑器”工具栏上的“撤销”。

- 单击“确定”，接受更改并保存反应板。

## 更改实验设置

使用“实验设置”对话框查看或更改靶标、样品或生物组列表，或者设置基因表达分析样品组，以分析是否将生物组分配到反应板的反应孔中。

在“实验设置”对话框中，“靶标”选项卡显示各 PCR 反应的靶标名称列表，例如靶标基因或相关基因序列。

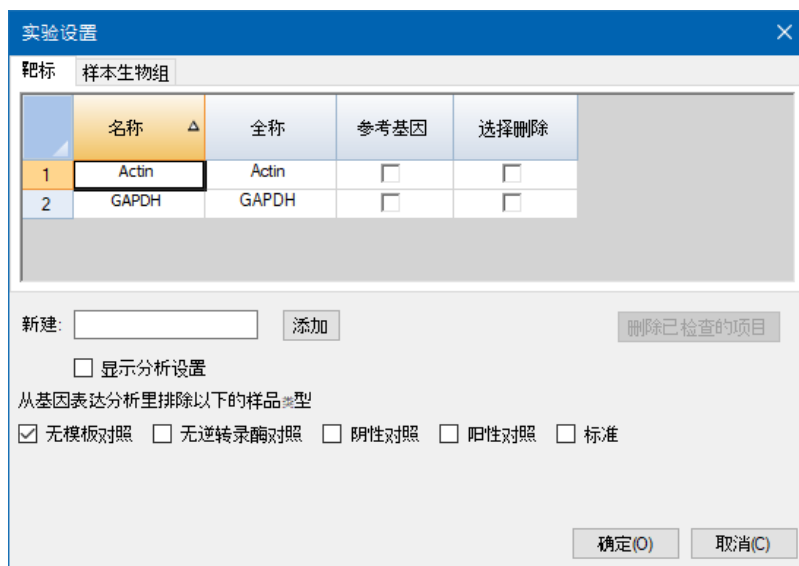
样品和生物组选项卡显示样品和生物组的名称列表，其表示靶标来源，如在 1 小时获取的样品 (1 hr)，或从某个特定个体获取的样品 (mouse1)。

### 使用“实验设置”对话框更改反应板设置

1. 要打开“实验设置”对话框，请执行以下任一操作：

- 在“反应板编辑器”的右窗格中，单击“实验设置”。
- 在“数据分析”窗口中的“基因表达”选项卡中，单击“实验设置”。

出现“实验设置”对话框，显示“靶标”选项卡的内容。



2. 要添加新的靶标、样品或生物组名称，请在相应的选项卡，在“新建”文本框中键入名称，然后单击“添加”。
3. 要从列表中删除一个或多个靶标、样品或生物组名称，请在相应的选项卡中选择“选择删除”列中的项目复选框，然后单击“删除已选项目”。
4. CFX Maestro Dx SE 从基因表达分析中排除了 NTC(无模板对照)样品类型。

要包含 NTC 样品类型,请在“排除以下样品类型”部分中清除其复选框。您可以选择通过选择相应的复选框来排除以下样品类型:

- NRT(未经转录模板对照)
- 阴性对照
- 阳性对照
- 标准品

5. 在“靶标”选项卡中:

- a. 要选择靶标作为基因表达数据分析的参比品,请在“参考基因”列中将其选定。
- b. 要隐藏将在“分析设置”窗口的“基因表达”选项卡中应用的分析设置,请清除“显示分析设置”。

软件可隐藏以下内容:

- 颜色
  - 显示图表
  - 自动扩增效率
  - 扩增效率
- c. 要在“基因表达”图表中绘制图形时更改靶标颜色,请在“颜色”列中单击其单元格,在出现的“颜色”对话框中选择一种新颜色,然后单击“确定”。
  - d. 要在“基因表达”图表中显示选定颜色的靶标,请在“显示图表”列中选其复选框。
  - e. 在默认情况下,若数据包含标准曲线,CFX Maestro Dx SE 自动计算靶标的相对扩增效率。

如果要应用之前实验确定的扩增效率,在扩增效率(%)数据列中输入对应的数值,并按 Enter 键确定输入。CFX Maestro Dx SE 将自动清除“自动扩增效率”复选框。

6. 在样品和生物组选项卡中:

- a. 若要选择某样品或生物组作为基因表达数据分析的对照,请在其对应的“对照”栏下选中对应的复选框。
- b. 要将质控品条件分配给要运行的样品或生物组,请在“对照”列中单击其复选框。
- c. 如果尚未选择,请单击“显示分析设置”以查看或更改将在“基因表达”选项卡中应用的分析参数。该软件会隐藏“颜色”和“显示图表”列。

7. 单击“确定”,保存“实验设置”对话框中的参数并返回到“反应板编辑器”窗口。

## 创建反应孔编组

反应孔编组将单个反应板划分为可在“数据分析”窗口中独立分析的反应孔子集。设置好反应孔编组后，在“数据分析”窗口中选择一个组，作为一个独立组进行数据分析。例如，通过设置反应孔编组可以分析在一个反应板中运行的多个实验，或使用不同的标准曲线分析每个反应孔编组。

**注释：**默认反应孔编组是“所有反应孔”。

### 要创建反应孔编组

1. 要打开“反应孔编组管理器”，请执行以下任一操作：

- 在“反应板编辑器”工具栏中，单击“反应孔编组”。
- 在“数据分析”窗口中，选择“管理反应孔分组”。

将显示“反应孔编组管理器”对话框。



2. 单击“添加”以创建一个新的分组。在下拉菜单中显示分组名，分组名从“第 1 组”开始显示。
3. 通过在反应孔编组中单击并拖动，在反应板视图中选择反应孔编组的相应反应孔。选中的孔将在管理器中显示为蓝色。

4. (可选)要更改组名称,请在下拉菜单中选择其名称并键入一个新名称。
5. (可选)若要删除一个分组,在下拉菜单中选中,点击右上角“删除”按钮。
6. 点击“确定”完成编辑,并退出窗口。或点击“取消”不保留更改,退出窗口。

### 右键单击反应孔编组管理器对话框的菜单项

表 10 列出了当您右键单击任一个反应孔时,“反应孔编组管理器”对话框中可用的菜单项。

表 10. 在“反应板编辑器反应孔选择器”对话框中右键单击菜单项

项目	功能
复制	复制反应孔信息,然后将其粘贴到其他反应孔中。
复制为图像	将反应孔选择器复制为图像。
打印	打印反应孔选择器视图。
打印选择	仅打印选定的单元格。
导出到 Excel	将数据导出至 Excel 电子表格。
导出为 CSV	将数据导出为逗号分隔符的文本文件。
导出为 Xml	将数据导出为 .xml 文件。
导出为 Html	将数据导出为 .html 文件。

## 更改示踪线样式

在反应板设置过程中和运行过程中，您可以修改扩增示踪线的颜色和样式。数据收集期间，您可以轻松查看实时状态窗口中的示踪线。

### 要更改示踪线样式

1. 在“反应板编辑器”工具栏下点击“示踪线样式”。

当前反应板的“示踪线样式”对话框显示如下：



2. 若要显示特定荧光染料的示踪线样式，请在荧光染料的下拉列表中选择对应的染料。
3. 更改示踪线的样式：
  - a. 从“反应孔”选项下拉菜单中选择示踪线类型。
  - b. 在“颜色”列中单击其颜色。
  - c. 在显示的“颜色”对话框中，选择另一种颜色作为跟踪，然后单击“确定”。
 

CFX Maestro Dx SE在网格中显示孔类型的颜色变化。
  - d. (可选)在“符号”下拉列表中选择一种符号来代表特定的示踪线。
4. 快速设置曲线颜色，可以选择“颜色快速设置”栏下的具体选项。
5. 在网格中显示反应孔选项卡，可在“反应孔选项卡”栏下选择一种选项卡类型。
6. 单击“确定”保存更改，或单击“取消”撤销更改。



## 以电子表格格式查看、导出和导入反应板

表格视图显示/输入器工具以电子表格格式显示反应板的内容。查看器提供了查看、导入和导出反应孔数据的选项，如下所述。

### 使用电子表格查看器导出和导入反应板数据

从电子表格查看器中，您可以将靶标名称、样品名称、生物组名称和反应孔注释作为制表符分隔格式的模板，导出到 Microsoft Excel 等应用程序。您还可以将该数据从以制表符分隔的应用程序导入到实验信息文件中的预定义反应板中。

#### 要使用表格视图显示/输入器工具

1. 创建并保存反应板文件(请参阅[使用“反应板编辑器”创建反应板文件](#))。
2. 在“反应板编辑器”工具栏下，单击“表格视图显示/输入器”选项卡以打开“电子表格视图”对话框。



3. (可选)单击“显示生物集名称”和“显示反应孔注释”方框，以在电子表格视图和导出的文件中显示这些列。
4. 单击“导出模板”按钮以在 Excel 文件(.csv 格式)中创建一个空白模板。导出的文件显示布局将与您的反应板布局相同。

**提示:**保存反应板文件时使用反应板文件名可轻松识别文件。

5. 使用您的反应孔信息填充 Excel 文件单元格。

**注释:**您可以对带有 \* 号的列(如\*靶标名称”、\*样品名称、\*生物组名称、\*反应孔注释)中的任意一格进行编辑。

**注释:**您不能向导出的 Excel 文件中的标准曲线和定量列添加值。要修改该数据,请返回到反应板编辑器,然后在菜单栏中选择“设置”>“单位”。反应板运行完成后,这些标准的数据显示在”数据分析“窗口“定量”选项卡下的“标准曲线”,并以所选择的单位显示。

6. 单击“导入”按钮将填充的 Excel 文件重新导入到反应板编辑器中。导入的反应板数据出现在“反应板电子表格视图”窗口中。

**重要:**如果您有多个荧光基团,您将需要使用反应板电子表格视图中的 **Flours List** 下拉菜单对每个荧光基团执行步骤 3-5。

7. 单击“确定”按钮。新反应板数据现在出现在反应板编辑器窗口中。

**提示:**当您右键单击工具中的任一个反应孔或反应板电子表格视图的任何表格标题时,您可以查看电子表格视图/导入器工具中可用的菜单项。

## 使用反应板设置向导创建反应板布局

您可以使用设置向导输入均一化基因表达分析所需的反应板布局, 包括:

- 靶标名称
- 样品名称
- 靶标及样品在反应板的位置
- 参考基因
- 对样品

您可以在运行之前, 期间或之后使用“设置向导”。

### 使用反应板设置向导

本节介绍如何使用反应板“设置向导”建立一个反应板布局。要更轻松地查看反应板中每个反应孔的内容, 请单击“设置向导”顶部的“缩放”面板。

**重要:** 在设置向导的任何其他选项卡上返回到“自动排列”选项卡将重置反应板布局。选择此选项卡时请谨慎。

**提示:** 您可以在“设置向导”下选择“工具”>“清除反应板”对反应板布局进行重置。

#### 使用反应板设置向导

1. 打开“反应板编辑器”。
2. 要打开“设置向导”, 请执行以下任一操作:
  - 选择“编辑工具”>“设置向导”。
  - 在“反应板编辑器”工具栏上选择“设置向导”。

出现“设置向导”, 显示“自动排列”选项卡。



3. 在“自动排列”选项卡中，您可进行以下操作：

- a. 单击网格中的一个反应孔并拖动画出需要加载样品的区域。
- b. 输入要加载的靶标和样品的数量。

**提示：**靶标和样品的数量必须等于所选单元格的数量。如果输入的数字与所选区域不符，请修改数字或反应板选择区域。反应板上的项目和分组可以指定方向。

- c. (可选)改变反应板方向。例如，您可以在列中设置靶标，在行中设置样品，或者按样品分组。
- d. 单击“下一步”转至“靶标名称”选项卡。

**注释：**如果反应板布局没有常规模式，请使用“靶标名称”选项卡手动定位靶标，也可使用“样品名称”选项卡手动将样品放置在反应板上。单击并拖动以选择多个反应孔。

4. 在“靶标名称”选项卡中，为靶标组定义靶标名称：

- a. 执行以下操作之一：
  - 要按组重命名靶标，请将“选择依据”设置为“靶标”。
  - 要按反应孔重命名靶标，请将“选择依据”设置为“反应孔”。
- b. 在网格中选择靶标组或反应孔，在“靶标名称”下拉列表中键入一个名称。

**提示:** 点击 **Tab** 键可向右选择下一组或孔。按 **Enter** 键可向下选择下一组或孔。或者, 在“靶标名称”和“样品名称”选项卡上, 按住 **Control** 键并单击某一反应孔以选择多个不相邻的反应孔。

c. 单击“下一步”转至“样品名称”选项卡。

5. 在“样品名称”选项卡中, 定义样品组的样品名称。
6. 单击“下一步”继续到“参考靶标”选项卡。
7. 在“参考靶标”选项卡中, 选择一个或多个靶标作为正常基因表达的参考, 然后单击“下一步”继续到“对照”样品选项卡。
8. 在“对照样品”选项卡中, 选择一个样品作为相对基因表达计算的对照。
9. 单击“确定”, 保存反应板布局并返回到“反应板编辑器”, 您可以在其中进一步定义反应板参数。有关更多信息, 请参阅第 127 页上的“为反应板文件分配可选参数”。

或者, 单击“上一步”返回到上一个选项卡进行任何更改。

**注释:** 返回到“自动排列”选项卡会自动重置该板。单击“上一步”时请谨慎。

## 第 9 章 运行实验

本章介绍如何使用 **CFX Maestro Dx** 软件,安全版 运行用户自定义或 **PrimePCR** 分析实验。

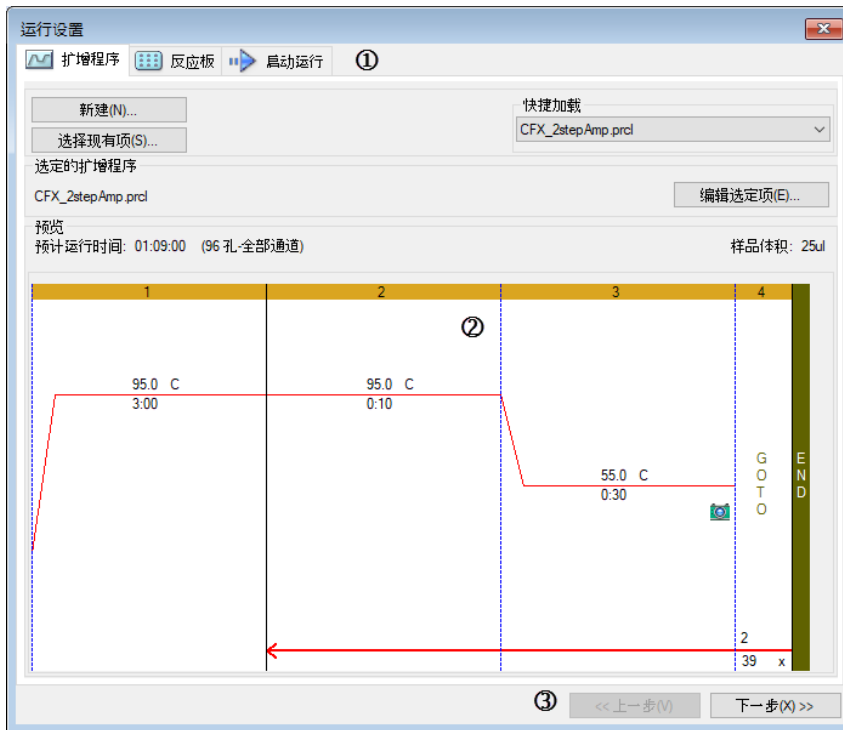
一个运行数据文件包含运行的程序和反应板信息。该文件还包含 **CFX Maestro Dx SE** 在运行完成后执行的数据分析。

**CFX Maestro Dx SE**可轻松设置和运行用户自定义或 **PrimePCR** 实验。“运行设置”窗口可引导您完成设置实验的常用步骤,引导您进入“启动运行”对话框,从而运行实验。

## 运行设置窗口

“运行设置”窗口提供对设置和运行实验所需的文件和设置的快速访问。您选择运行用户定义的实验时，“运行设置”窗口打开，显示“扩增程序”选项卡。当您选择运行 PrimePCR 实验时，将打开“运行设置”窗口，显示“启动运行”选项卡。

**提示：**有关 PrimePCR 的信息，请参阅第 164 页上的“执行 PrimePCR 实验”；有关“启动运行”选项卡的信息，请参阅第 154 页上的“启动运行”选项卡”。



## 图例

1. 选项卡可指导您设置和运行实验：
  - 扩增程序选项卡 — 选择一个现有的扩增程序运行或编辑，或在“扩增程序编辑器”中创建一个新的扩增程序。
  - “反应板”选项卡 — 选择一个现有的反应板运行或编辑，或在“反应板编辑器”中创建一个新的反应板。
  - “启动运行”选项卡 — 查看实验设置，选择一个或多个仪器模块，然后启动运行。

---

2. 主窗口在应用它们时显示每个选项卡的选项。

---

3. 导航按钮引导您到“启动运行”选项卡。

## 访问运行设置窗口

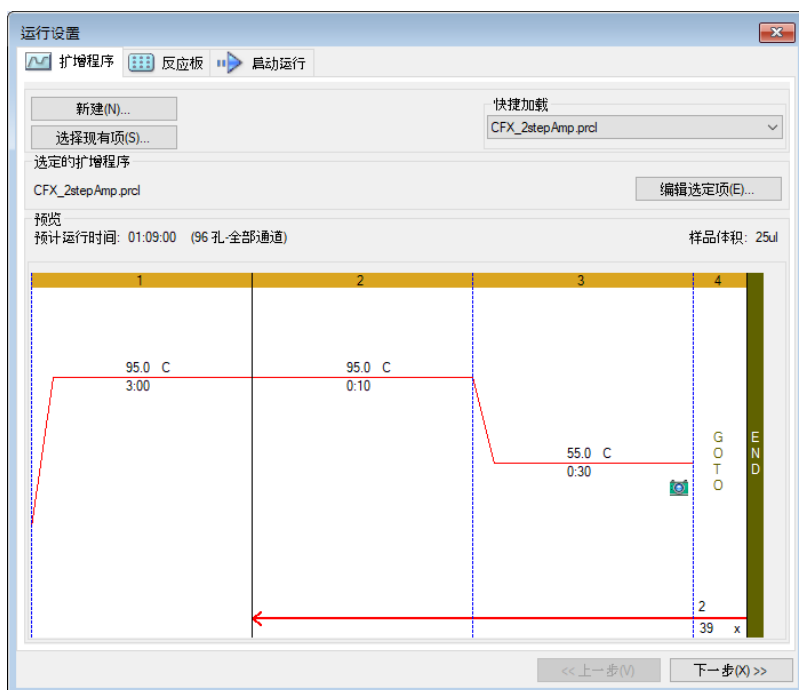
### 访问运行设置窗口

- ▶ 执行以下操作之一：
  - 在“启动向导”的“运行设置”选项卡中，单击“用户自定义”或“PrimePCR”。
  - 在“主页”中，单击工具栏上的“用户自定义运行设置”或“PrimePCR 运行设置”。
  - 在“主页”窗口中，选择“运行”>“用户定义的运行”或“运行”>“PrimePCR 运行”。



## “扩增程序”选项卡

“扩增程序”选项卡显示您计划运行的扩增程序文件的预览。扩增程序文件包含仪器温度步骤的说明以及控制升降温速率，样品体积和热盖温度的仪器选项。



默认情况下，软件显示在“用户”>“用户首选项”对话框的“文件”选项卡中的“为运行设置选择文件”部分中定义的扩增程序。您可以在“用户首选项”对话框中更改默认的扩增程序。有关更多信息，请参阅第 77 页上的“更改默认文件设置”。

在扩增程序选项卡中，您可以

- 新建一个扩增程序以运行
- 选择一个现有的扩增程序运行或者编辑

有关创建和修改扩增程序的更多信息，请参阅第 7 章，创建扩增程序。

### 新建一个扩增程序

1. 在“扩增程序”选项卡中，点击“新建”。  
弹出“扩增程序编辑器”。
2. 使用“扩增程序编辑器”创建一个新的扩增程序。
3. 单击“确定”保存程序并返回“运行设置”中的“扩增程序”选项卡。

4. 查看扩增程序的详细信息并执行以下任一操作：

- 如果详细信息正确，请单击“下一步”进入“反应板选项卡”。
- 如果详细信息不正确，请单击“编辑选定项”返回到“扩增程序编辑器”窗口。修改程序，保存更改，然后在“扩增程序”选项卡上单击“下一步”以进入“反应板”选项卡。

### 要选择一个现有的扩增程序

1. 在“扩增程序”选项卡中，执行以下任一操作：

- 单击“选择现有项”并导航到现有的扩增程序。
- 单击“快捷加载”并从扩增程序下拉列表选择一个扩增程序。

**提示：**您可以在“快捷加载”下拉列表中添加或删除扩增程序。有关更多信息，请参阅[添加和删除快捷加载扩增程序](#)。

2. 查看扩增程序的详细信息并执行以下任一操作：

- 如果详细信息正确，请单击“下一步”进入“反应板选项卡”。
- 如果详细信息不正确，请单击“编辑选定项”打开“扩增程序编辑器”。修改程序，保存更改，然后在“扩增程序”选项卡上单击“下一步”以进入“反应板”选项卡。

### 添加和删除快捷加载扩增程序

您可以修改“扩增程序编辑器”中显示的“快捷加载”下拉列表的内容。此列表中的程序保存在以下文件夹中：

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX\_MDX\Users\\ExpressLoad\

#### 修改扩增程序的快捷加载列表

1. 导航至并打开“快捷加载”文件夹。
2. 查看文件夹中的扩增程序文件 (.pctl)。
3. 请执行以下任一操作：
  - 从文件夹中删除扩增程序以从下拉列表中删除扩增程序。
  - 将扩增程序复制到文件夹中，以将其添加到下拉列表中。

## “反应板”选项卡

**注释:**如果在“扩增程序”选项卡中选择的扩增程序未包括用于实时 PCR 分析的读板步骤,则“反应板”选项卡将被隐藏。要查看“反应板”选项卡,请在扩增程序中至少添加一个读板步骤。

“反应板”选项卡显示您计划加载的反应板文件的预览。在实时 PCR 运行中,反应板文件包含了每个孔的信息,如荧光染料、扫描模式以及反应板类型等。CFX Maestro Dx SE 使用这些描述进行数据收集和分析。



默认情况下,软件显示的反应板在“用户”>“用户首选项”对话框的“文件”选项卡中的“为运行设置选择文件”部分中定义的反应板。您可以在“用户首选项”对话框中更改默认的反应板。有关更多信息,请参阅第 77 页上的“更改默认文件设置”。

在“反应板”选项卡中,您可以

- 创建一个新的加载反应板
- 选择一个现有的反应板以加载或编辑

有关创建和更改反应板的更多信息,请参阅第 8 章,准备反应板。

## 创建新的反应板

1. 在“反应板”选项卡上，单击“新建”。  
弹出“反应板编辑器”。
2. 使用“反应板编辑器”创建一个新的反应板。
3. 单击“确定”以保存反应板并返回“运行设置”中的“反应板”选项卡。
4. 查看反应板的详细信息，执行以下任一操作：
  - 如果详细信息正确，请单击“下一步”进入“启动运行”选项卡。
  - 如果详细信息不正确，请单击“编辑选定项”以返回到“反应板编辑器”。修改反应板文件，保存更改，然后在“反应板”选项卡上单击“下一步”进入“启动运行”选项卡。

## 要选择现有的反应板文件

1. 在“反应板”选项卡中，执行以下任一操作：
  - 单击“选择现有项”并导航到现有的反应板文件。
  - 单击“快捷加载”并从下拉列表中选择一個反应板文件。

**提示：**您可以在“快捷加载”下拉列表中添加或删除反应板。有关更多信息，请参阅[添加和删除快捷加载反应板文件](#)。
2. 查看反应板的详细信息，执行以下任一操作：
  - 如果详细信息正确，请单击“下一步”进入“启动运行”选项卡。
  - 如果详细信息不正确，请单击“编辑选定项”打开“反应板编辑器”窗口。修改反应板文件，保存更改，然后单击“下一步”进入“启动运行”选项卡。

## 添加和删除快捷加载反应板文件

您可以修改“反应板编辑器”中显示的“快捷加载”下拉列表的内容。出现在此列表中的反应板保存在以下文件夹中：

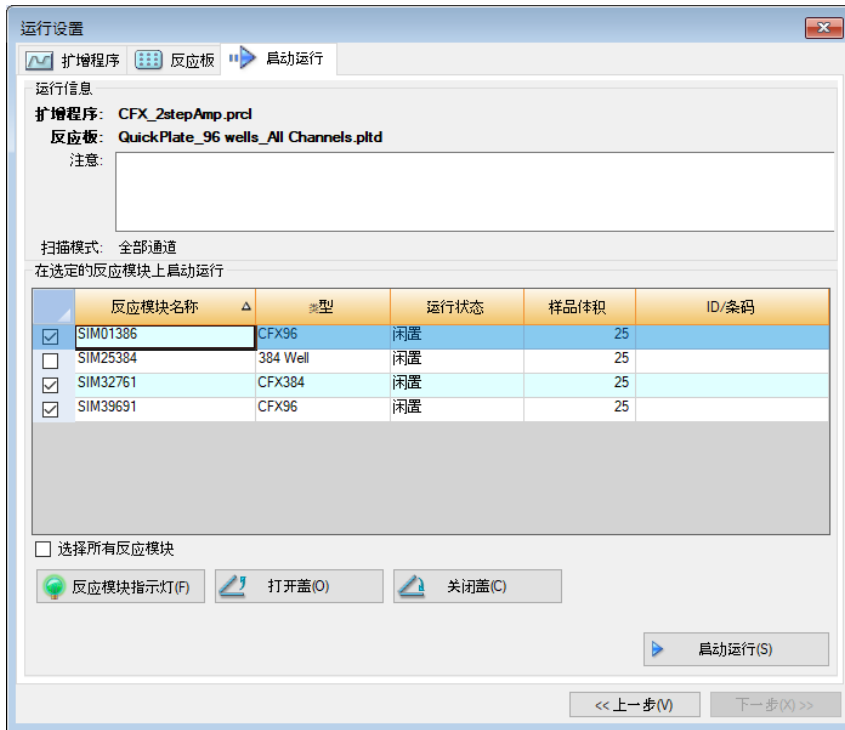
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx\Users\\ExpressLoad\

### 修改反应板文件的快捷加载列表

1. 导航至并打开“快捷加载”文件夹。
2. 查看文件夹中的反应板文件 (.pltd)。
3. 执行以下操作之一：
  - 在文件夹中删除的反应板文件也将在下拉列表中删除。
  - 复制到文件夹中的反应板文件也将被添加到下拉列表中。

## “启动运行”选项卡

“启动运行”选项卡显示与待运行实验有关的信息。它还显示可运行实验的一个或多个已连接仪器模块。



在“启动运行”选项卡中，您可以执行以下操作：

- 查看详细运行信息，包括选定的扩增程序文件、反应板文件和扫描模式。
- 添加有关运行的备注。
- 查看有关所有已连接仪器的详细信息，包括其运行状态（运行或空闲）、样品体积（以  $\mu\text{l}$  为单位）、热盖温度、仿真模式以及 ID 或条形码（若有）。

**注释：**您可以修改“启动运行”中所选模块表格中的条目栏。相关信息请参阅第 155 页上的“修改所选模块表格中的详细信息”。

- 选择一个或多个反应模块来运行实验。
- 远程打开或关闭所选仪器的热盖。
- 启动运行。

## 修改所选模块表格中的详细信息

您可以修改“启动运行”中所选模块表格中的条目栏，也可以修改表格中默认样品体积和热盖温度。设置更改会应用到运行的实验中。

### 在选定反应模块表格中添加条目栏

- ▶ 在表格上点击右键，在出现的菜单中勾选一个选项。

### 在选定反应模块表格中移除条目栏

- ▶ 在表格上点击右键，在出现的菜单中点击去掉已勾选的条目。

### 编辑反应模块的样品体积或热盖温度

- ▶ 选择目标反应模块的样品体积或热盖温度的输入框，输入新的数值。

### 为反应模块添加一个运行 ID 或条形码

- ▶ 选择目标反应模块的 ID 或条形码的输入框，输入一个 ID 或者用条码扫描仪扫描反应模块的条形码。

## 运行实验

**重要：**在运行实验之前，请确保计算机的防病毒软件在运行期间不会启动扫描。有关更多信息，请参阅第 29 页上的“正在安装 CFX Maestro Dx SE 软件”或咨询系统管理员。

### 运行实验

1. 在“启动运行”选项卡中，确认“运行信息”部分中的反应板和扩增程序详细信息。
2. (可选)在“备注”文本框内添加关于实验或运行的注释。
3. 选择要在其上执行运行的一个或多个模块的复选框。

**提示：**要在所有模块运行实验，请选择位于所选模块表格下方的“选择所有模块”。

4. (可选)单击模块指示灯闪烁可使所选仪器模块上的 LED 指示灯闪烁。
5. 在反应模块中放入实验反应板：
  - a. 单击“开盖”。选中的反应模块的滑动热盖会自动打开。
  - b. 在选中的反应模块上放入一块实验的反应板。
  - c. 单击“关盖”。

**提示：**在 CFX Opus Dx 系统的主屏幕上点击“开盖”或“关盖”。

6. 单击“开盖”和“关盖”来打开和关闭每个所选仪器模块的滑动热盖。
7. 检查实验运行的各项设置，然后执行以下任一操作：

- 如果详细信息正确, 请单击“启动运行”。
- 如果设置上不正确:
  - 更正所选模块表中的详细信息, 然后单击“启动运行”。
  - 返回到正确的选项卡并进行适当更改, 保存更改, 然后单击“下一步”回到“启动运行”选项卡并启动运行。

### 启动一个和之前设置完全一样的实验

► 执行以下操作之一:

- 选择软件主菜单栏中的“文件”>“重复一次运行”; 导航至并双击您想要重复的运行数据文件。
- 选择“启动向导”中的“重复运行”选项卡, 双击要重复运行的运行数据文件。  
或者, 在“重复运行”选项卡中点击“浏览”, 找到并双击要重复的运行数据文件。

## “运行详细信息”对话框

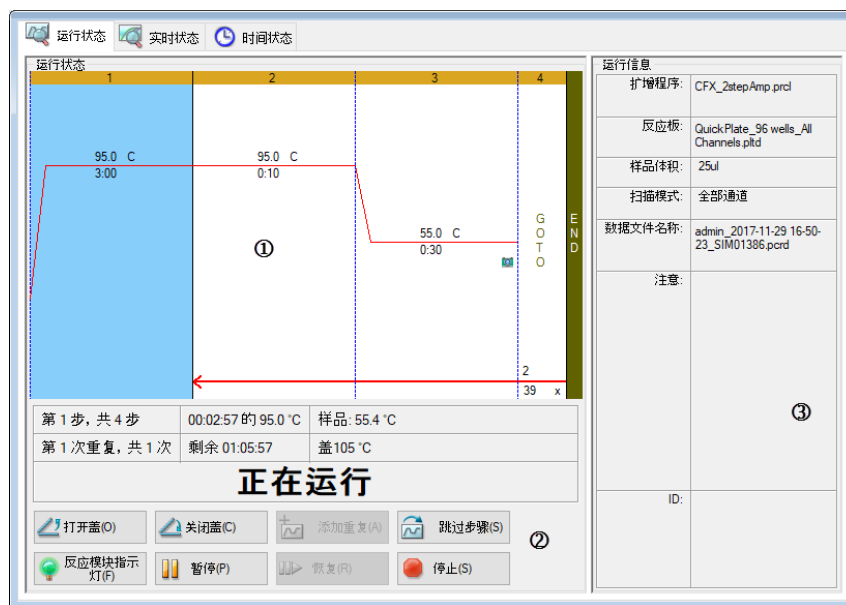
当您单击“启动运行”时，CFX Maestro Dx SE 将提示您保存数据文件 (.pcrd)，启动运行并打开“运行详细信息”对话框。“运行详细信息”对话框包含三个状态选项卡：

- **运行状态** — 该选项卡用于查看扩增程序的当前状态、打开或关闭热盖、暂停运行、添加重复、跳过步骤或停止运行。
- **实时状态** — 该选项卡用于查看所收集的实时 PCR 荧光数据。
- **时间状态** — 该选项卡可用于查看扩增程序的全屏倒计时器。

关于这些选项卡的说明见以下部分内容。

### “运行状态”选项卡

“运行状态”选项卡显示正在进行的运行的当前状态。在此界面下您还可控制热盖以及改变实验运行的进程。



图例

1. “运行状态”窗格 — 显示扩增程序的当前进度。
2. “运行状态”控制栏 — 允许您操控仪器或中断当前的程序。
3. “运行信息”窗格 — 显示运行详细信息。



## 运行菜单命令

使用“运行状态”选项卡中的命令通过软件操作仪器或更改正在进行的运行。

**注释:**在实验运行过程中对程序进行改动,例如添加循环的重复次数,不会对该次运行相关联的程序文件本身造成改变。这些操作都会被记录在运行日志中。



—打开所选仪器上的电动热盖。

**重要:**在运行期间打开热盖将会暂停当前步骤的运行,并可能会改变数据。[第 158 页上的“运行菜单命令”](#)。



—关闭选定仪器上的电动热盖。



添加重复(A)

—将更多重复添加到扩增程序中当前的跳转步骤。只有在运行跳转步骤时,该选项才可用。

**注释:**在扩增程序运行过程中,您可以在跳转循环中添加其他重复。然而,CFX Maestro Dx SE 可识别重复次数的最新变化。例如,如果您在跳转循环中添加 10 个额外重复,则软件会将总数更改为  $n + 10$ 。如果您随后在同一循环内再添加五 (5) 个重复,则 CFX Maestro 会将重复的总数更改为  $n + 5$ 。第一次更改 (10 次重复) 将被忽略。为确保软件执行目标重复次数,请输入总数(在本例中,重复次数为 15)。



—跳过扩增程序中的当前步骤。

**注释:**如果在跳转步骤中启动跳过,则系统将跳至跳转循环中的下一个循环。如果跳过时正在进行跳转步骤的最后一个循环,则系统将跳至下一步骤。



—使选中仪器上的 LED 闪烁,以标示选中的反应模块。



—暂停扩增程序

**注释:**此操作将记录在运行日志中。



—恢复暂停的扩增程序。

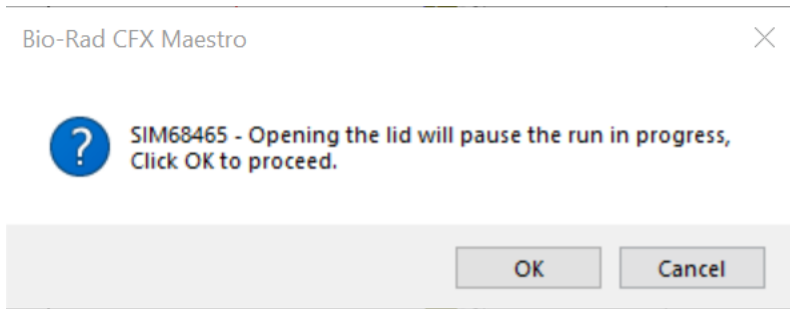


—在扩增程序结束前停止运行。

**注释:**在扩增程序结束前停止运行可能会更改数据。

## 在 PCR 运行期间打开仪器盖

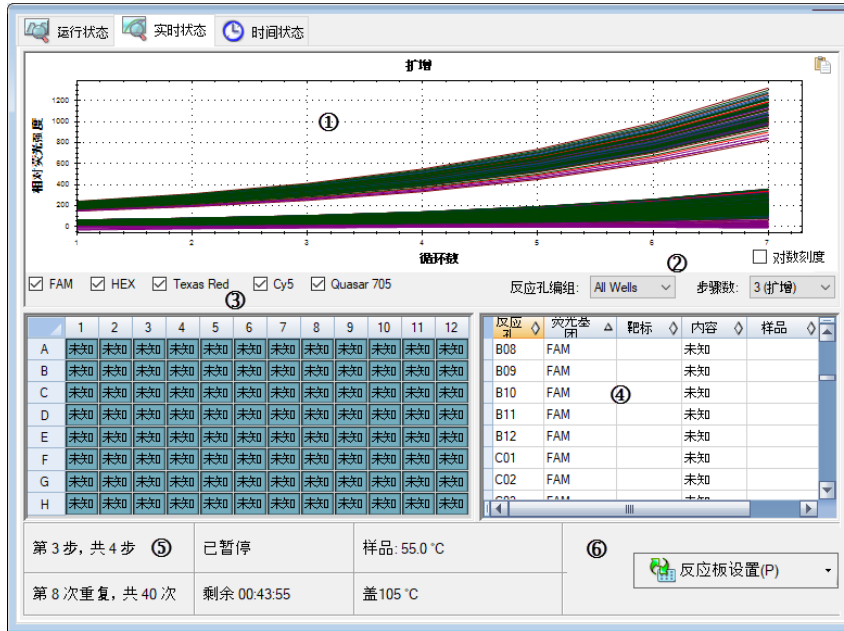
如果在 PCR 运行期间打开任何仪器的盖子, CFX Maestro Dx SE 将显示以下确认对话框:



当对话框出现时, 仪器继续运行扩增程序。按“确定”按钮暂停运行, 仪器盖松开并打开。按“取消”按钮关闭对话框并恢复运行。

## “实时状态”选项卡

“实时状态”选项卡显示前两次读板后运行期间每个循环收集的实时 PCR 数据。



图例

1. 扩增示踪线框 — 显示运行中的实时扩增数据。
2. 反应孔编组标识符 — 如果反应板设置中标示了反应孔编组, 用户可以选择一个特定的反应孔编组来查看其示踪线、反应孔和表格信息。  
步骤编号标识符 — 如果扩增程序在多个步骤中收集数据 (例如在扩增和熔解示踪线步骤), 用户可以选择特定步骤来查看在该步骤收集的示踪线。
3. 反应孔选择器窗格 — 显示反应板中的激活的、未激活的以及空白的反应孔。
4. 反应板设置表格窗格 — 以表格的形式显示反应板设置。

5. 运行信息框 — 显示运行的实时状态, 包括:
  - 当前步骤
  - 当前重复
  - 当前温度
  - 剩余时间
  - 样品温度
  - 热盖温度

---

6. 反应板设置 — 打开“反应板设置”对话框, 用户可以在该对话框中修改运行期间的当前反应板设置。

在“实时状态”选项卡中, 您可以

- 可在反应孔选择器窗格或反应板信息表中选择要显示或隐藏的实时示踪线
- 在“反应孔编组”下拉列表中选择查看一组或多组示踪线
- 编辑或替换反应板文件
- 应用一个 PrimePCR 文件到实验中。

### 显示或隐藏实时示踪线

默认情况下, 所有编辑有内容的反应孔均处于激活状态并出现在反应板设置表中。在反应孔选择器窗格中激活的反应孔显示为蓝色, 在反应孔选择器窗格中, 隐藏的反应孔显示为浅灰色, 未使用的孔显示为深灰色。

您可以在运行期间隐藏激活反应孔的示踪线。CFX Maestro Dx SE 继续收集所有反应孔的数据; 当您隐藏反应孔时, 其数据不会在反应板设置表中显示出来。

#### 隐藏实时示踪线

- ▶ 在反应孔选择器窗格中, 单击要隐藏的激活(蓝色)反应孔。

#### 显示实时示踪线

- ▶ 在反应孔选择器窗格中, 单击要显示的隐藏(浅灰色)反应孔。

有关反应孔选择器的更多信息, 请参阅第 180 页上的“反应孔选择器”。

## 编辑反应板设置

### 编辑反应板设置

- ▶ 单击反应板设置，然后选择“查看/编辑反应板”。

出现反应板编辑器窗口，即使在实验运行过程中您也可编辑反应板。有关编辑反应板的更多信息，请参阅第 8 章，准备反应板。

**注释：**您也可以从“反应板编辑器”窗口中编辑示踪线样式。所做更改会出现在“实时状态”选项卡下的扩增示踪线图中。

## 替换反应板文件

**提示：**如果使用 ExpressLoad 文件夹中的快速反应板文件启动运行，则替换反应板文件将尤其有用。

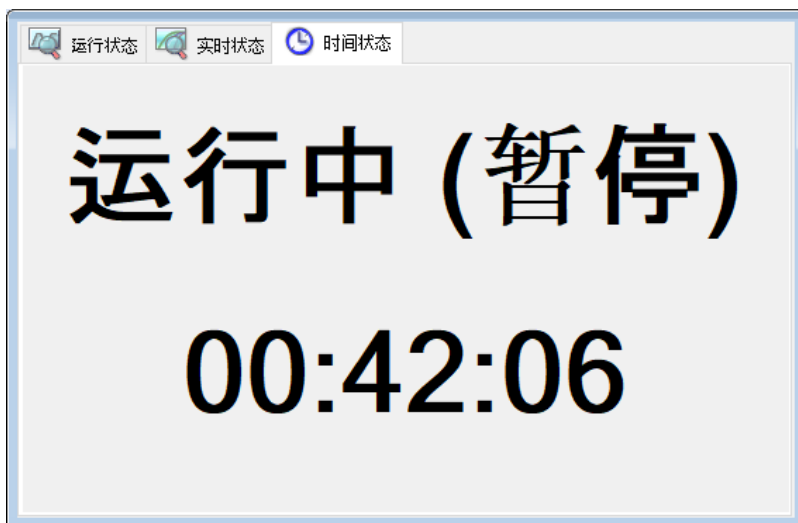
### 替换反应板文件

- ▶ 单击“反应板设置”并选择以下选项之一：
  - 替换反应板文件 — 从浏览器窗口的列表中选择新的反应板文件
  - 应用 PrimePCR 文件 — 用智能搜索寻找一个可从中获取反应板布局的运行文件，或者单击“浏览”寻找一个从 Bio-Rad 网站下载的不在 PrimePCR 文件夹中的文件

**注释：**CFX Maestro Dx SE 会检查此反应板文件的扫描模式和反应板大小。这些设置必须与启动运行时使用的运行设置一致。

## “时间状态”选项卡

“时间状态”选项卡显示完成当前运行所需的剩余时间。



## 执行 PrimePCR 实验

PrimePCR 实验中所用的和通路或特异性疾病相关的引物探针，已经经过 Bio-Rad 公司实验测试和优化，有以下几种类型存在：

- 预制 Panels 反应板 — 已含有某生物学通路或疾病特异性检测的反应板，其中含有 PrimePCR 实验对照和内参基因。
- 客户订制反应板 — 可以用户自定义建立板面布局的反应板，有选项可选择靶标检测，设置对照和内参基因。
- 单独检测试剂 — 含有用于实时反应的单个设计引物对的反应管。

要减少整体运行时间，您可以去掉程序中的熔解曲线步骤。Bio-Rad 强烈建议您不要对 PrimePCR 运行扩增程序进行任何其他修改。默认扩增程序是用于进行分析验证的，任何偏离可能会影响结果。扩增程序更改被记录在结果数据文件的“运行信息”选项卡以及创建的任何报告中。

### 开始 PrimePCR 运行

- ▶ 要开始 PrimePCR 运行，请执行以下任一操作：
  - 在启动向导中，在“运行设置”选项卡中选择 PrimePCR，然后选择合适的荧光化合物 (SYBER<sup>®</sup> 或探针)。
  - 在启动向导的“重复运行”选项卡上的“最近运行”列表中选择 一个 PrimePCR 运行。
  - 在“主页”窗口上选择“文件”>“打开”>“PrimePCR 文件”。
  - 将一个 PrimePCR 运行文件拖到“主页”窗口。

在您选择了一个 PrimePCR 运行之后，“运行设置”窗口打开并“启动运行”选项卡，基于所选仪器上加载默认的 PrimePCR 反应板布局。

### 在程序中移除熔解曲线步骤

- ▶ 在“扩增程序”选项卡中，单击勾除“包含熔解曲线步骤”旁边的复选框。

### 要将 PrimePCR 反应板的靶标信息导入反应板布局

1. 执行以下操作之一：

- 在“实时状态”选项卡的“运行详细信息”对话框中，选择“反应板设置”>“应用 PrimePCR 文件”。
- 在“数据分析”窗口，选择“反应板设置”>“应用 PrimePCR 文件”。

2. 在“PrimePCR 运行文件”对话框中，单击“浏览”) 搜寻适合的 PrimePCR 文件 (.csv)。

3. 选择目标 PrimePCR 文件，然后单击“打开”。

CFX Opus Dx 系统 将靶标信息导入您的反应板布局中。



## 转移独立数据文件用作分析

**重要:** 当您从 CFX Opus Dx 系统传输数据文件到 CFX Maestro Dx SE 时, 所有存储在系统上的文件均将被传输。请确保您有足够的硬盘空间以供数据安全转移。

当实验完成, CFX Maestro Dx SE 会分析荧光数据。如果运行以独立模式执行并保存在 CFX Opus Dx 系统自身, 则需要将数据传输到 CFX Maestro Dx SE 计算机中进行分析。

CFX Opus Dx 系统最多可以存储 100 个实时 PCR 运行。待实验完成后, 您可以通过电子邮件、USB 驱动器或软件本身将独立数据文件转移至 CFX Maestro Dx SE 电脑中。

本节将介绍如何将独立数据文件转移至 CFX Maestro Dx SE 电脑中。

### 通过电子邮件传输数据

要在运行结束时通过电子邮件发送数据文件

1. 在仪器上设置电子邮件通知。

请参阅第 74 页上的“设置电子邮件通知”或 CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统 操作手册。

2. 当您设置电子邮件通知时, 请确保选择了作为附件的数据文件。

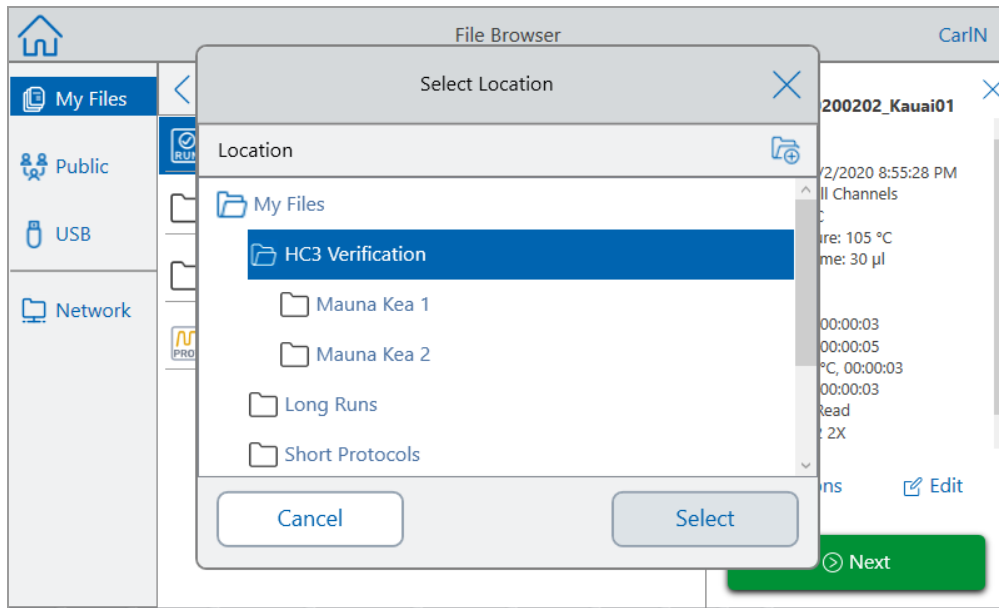
运行数据以 .pcrd 文件格式通过电子邮件发送。

### 从 CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统传输数据


使用 CFX Opus Dx 系统上的文件浏览器功能, 您可以将数据文件传输到连接的 USB 驱动器或共享网络文件夹。您也可以将 CFX Maestro Dx SE 协议文件从 USB 驱动器或共享网络驱动器转移到您的文件夹或 CFX Opus Dx 系统上的公共文件夹, 并在 CFX Opus Dx 系统上运行。

**提示:** 本节说明如何传输数据。有关设置以太网的信息, 请参阅 CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统操作手册; 其可从 CFX Maestro Dx SE 帮助菜单上的中获取。

1. 在 CFX Opus Dx 系统“主屏幕”上, 点击“文件”以查看“文件浏览器”屏幕。
2. 在“文件浏览器”屏幕上, 导航到要复制的文件, 然后点击该文件以查看“文件详细信息”窗格。
3. 在“文件详细信息”窗格中, 点击“选项”, 然后点击“复制”。



出现“选择位置”对话框。

4. 在“选择位置”对话框中, 执行下列操作之一:
  - 导航到现有文件夹。
  - 导航到该位置以创建用于保存文件的文件夹, 然后点击“创建文件夹”  
() 在该位置创建一个新文件夹。
5. 点击“选择”将文件复制到所选位置, 或点击“取消”返回“文件浏览器”屏幕。

**注释:** 如果所选位置存在同名文件, 则会出现一个消息框。点击“是”覆盖现有文件, 或者点击“否”返回“文件浏览器”屏幕。

成功复制文件后, CFX Opus Dx 系统 会显示一条确认消息。

## 通过 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 转移数据

### 通过 CFX Maestro Dx SE 转移数据

1. 在“主页”窗口的“检测到的仪器”窗格中, 右键单击目标仪器并选择“检索数据文件”。

CFX Maestro Dx SE 会显示“浏览文件夹”对话框。

2. 在“浏览文件夹”对话框中, 找到您计划保存数据文件的位置, 然后单击“确定”。

文件转移过程中会在目标位置产生名为“实时数据”的文件夹。运行数据会以单独的 .zpcr 文件保存在此实时数据文件夹中。

### 使用 USB 驱动器传输数据

如果您将一个 USB 驱动器插入仪器的 USB 端口, 数据文件将在运行完成后自动保存到 USB 驱动器的根目录下。您还可以找到以前保存的数据文件, 并将其保存到已连接 USB 驱动器中。

#### 将数据文件传输到 CFX Opus Dx 系统的 USB 驱动器上

- ▶ 在“选择位置”对话框中, 点击 USB 并导航到复制文件的目标文件夹, 或者单击“取消”返回文件浏览器屏幕。

**注释:** 如果所选位置存在同名文件, 则会出现一个对话框。点击“是”覆盖现有文件, 或者点击“否”返回“文件浏览器”屏幕。

成功复制文件后, CFX Opus Dx 系统 会显示一条确认消息。

## 使用 CFX Opus Dx 实时定量 PCR 系统通过共享网络驱动器传输数据

**提示:**您只能通过 CFX Opus Dx 系统与共享网络驱动器之间进行数据传输。

借助 CFX Opus Dx 系统,您可使用以太网连接到共享网络驱动器。成功建立连接后,您就可以在共享网络驱动器上的文件夹之间来回传输数据文件。

### 与共享网络驱动器之间进行数据传输

- ▶ 在“选择位置”对话框中,单击“网络”并导航到复制文件的目标文件夹,或者单击“取消”返回文件浏览器屏幕。

**注释:**如果所选位置存在同名文件,则会出现一个对话框。点击“是”覆盖现有文件,或者点击“否”返回“文件浏览器”屏幕。

成功复制文件后,CFX Opus Dx 系统会显示一条确认消息。

## 创建一个数据文件

要分析从仪器传输到 CFX Maestro Dx SE 计算机中的数据,压缩的数据文件(.zpcr 文件)必须要转换为数据文件(.pcrd 文件)。CFX Maestro Dx SE 将 .zpcr 文件转换为 .pcrd 文件,然后选择具有相同扫描模式和反应板大小的反应板文件,并将其应用于 .pcrd 文件。

### 由一个独立数据文件创建正常数据文件

1. 在 CFX Maestro Dx SE 中请执行以下任一操作:
  - 找到目标 .zpcr 文件并将其拖到 CFX Maestro Dx SE“主页”窗口上。
  - 选择“文件”>“打开”>“独立运行文件”,找到并选择目标文件。

CFX Maestro Dx SE 会显示“另存为”对话框。

2. 导航到您计划保存 .pcrd 文件的文件夹并单击“保存”。

保存 .pcrd 文件后,CFX Maestro Dx SE 会打开“数据分析”窗口并显示所得数据。

## 第 9 章 运行实验

## 第 10 章 数据分析概述

CFX Maestro Dx 软件, 安全版 在每次运行结束后会自动处理实时 PCR 数据, 并打开“数据分析”窗口以显示这些数据(.pcrd 文件)。

- 将一个数据文件(.pcrd 扩展名)拖入“主页”窗口并释放
- 在“主页”窗口选择“文件”>“打开”>“数据文件”, 找到目标 .pcrd 文件
- 在“主页”窗口选择“文件”>“最近的数据文件”, 在 10 个最近打开的数据文件列表中选择文件
- 在“启动向导”中选择“分析”选项卡, 在“最近文件”列表中选一个文件或者点击“浏览”定位一个数据文件

### 数据分析窗口

数据分析窗口显示多个选项卡, 每个选项卡显示用特定的分析方法分析的结果或特定于运行的信息。只有当运行中收集的数据可用于该类型的分析时, 才显示选项卡。



**提示:**要选择显示某些选项卡, 可在“数据分析”窗口的下拉菜单“视图”中勾选中它们。要返回原始选项卡布局, 请选择“设置”>“恢复默认窗口布局”。

## “数据分析”工具栏

“数据分析”窗口的工具栏提供了快速访问重要数据分析功能的途径。

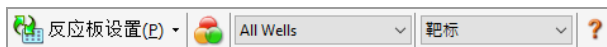
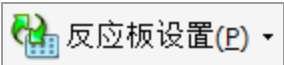

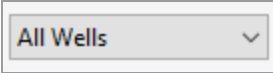
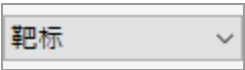



表 11 中列出了工具栏中各个按钮的功能。

表 11. 数据分析窗口中的工具栏

按钮	名称	功能
	反应板设置	查看/编辑反应板 — 打开反应板编辑器查看和编辑反应孔信息。 替换反应板 — 选择一个反应板文件替换反应板布局。 应用 PrimePCR 文件 — 选择一个运行文件以针对一个 PrimePCR 运行替换反应板布局。
	反应孔编组管理	打开“反应孔编组编辑器”窗口，可在其中创建、编辑和删除反应孔编组。
	反应孔编组	可在其下拉菜单中选择一个已有的反应孔编组名称。默认的选择是“全部反应孔”。只有当反应孔编组被创建才会出现此按钮。
	分析模式	有荧光或靶标基因两种模式可分析数据。
	帮助	打开软件帮助文档以寻求在线帮助和本手册的 Acrobat PDF 格式数字副本。

## 数据分析菜单栏

表 12 中列出了“数据分析”窗口中的菜单栏。

表 12. “数据分析”窗口菜单栏项目

菜单项	命令	功能
“文件”	保存	保存文件。
	另存为	以新的名称保存文件。
	文件密码	使用户可以设置文件保存和打开密码。
	签署	使用户可以签署数据文件。
	重复运行	从当前实验中提取扩增程序和反应板文件以重新运行。
	关闭	关闭“数据分析”窗口。
视图	运行日志	打开一个“运行日志”窗口以查看当前数据文件的运行日志。
	审计跟踪	打开文件的审计跟踪。
	定量, 熔解曲线, 基因表达, 终点分析, 用户数据视图, 质量管制, 运行信息	在“数据分析”窗口中显示选中的选项卡里的分析后数据。至少需要选中一个选项卡。



表 12. “数据分析”窗口菜单栏项目(续)

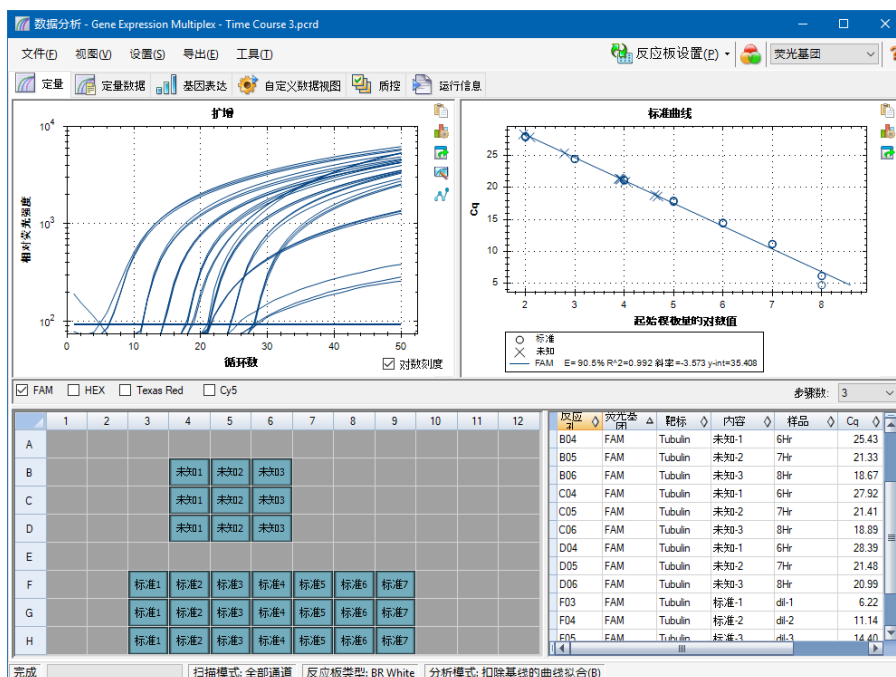
菜单项	命令	功能
设置	C <sub>q</sub> 定义模式	使您可以选择“回归”或“单一阈值”模式,以确定如何计算每条荧光示踪线的 C <sub>q</sub> 值。
	基线设置	使您可以为选中的反应孔编组选择“基线扣除”方法。
	分析模式	使您可以通过“荧光基团”或“靶标”来分析数据。
	用于分析的循环	使您可以选择要分析的循环。
	基线阈值	打开“基线阈值”窗口以调整基线或阈值。
	示踪线样式	打开“示踪线样式”窗口。
	反应板设置	打开“反应板编辑器”查看和编辑反应板;可使用用户自定义反应板文件或 PrimePCR 运行文件替换当前的反应板。
	包括所有排除的反应孔	将全部被排除的反应孔引入分析中。
	鼠标高亮显示	打开或关闭使用鼠标指针同步高亮显示数据的功能。 <b>提示:</b> 如果关闭“鼠标高亮显示”,则按住 <b>Ctrl</b> 键可暂时打开高亮显示功能。
	恢复默认窗口布局	恢复窗口排列的默认设置。

表 12. “数据分析”窗口菜单栏项目(续)

菜单项	命令	功能
导出	导出所有数据表	使您可以选择是否将所有电子表格视图从每个选项卡导出到 .csv、.txt 文件。Excel 或 .xml 文件。
	导出 RDML 文件	使您可以选择要在其中导出文件的 RDML 版本 1.1 或 1.0。
	自定义导出	打开“定制输出”窗口，可选择要输出的内容并指定输出文件格式。
	导出到 LIMS 文件夹	打开一个窗口，数据以预定好的格式保存在 LIMS 文件夹中。
	手册导出	打开一个窗口，确定将所有电子表格视图中的数据保存到专门供 Seegene, Inc. 和 Bio-Rad Laboratories 使用的 Excel 文件中的位置。 <b>提示：</b> 您也可以在导出时自动启动 Seegene Viewer。有关更多信息，请参阅第 60 页上的“工具菜单命令”。
工具	报告	打开此数据文件的报告。
	反应孔编组报告	打开“反应孔编组报告”窗口，为指定的反应孔编组生成报告。
	导入荧光校正	选择一个校正文件并应用至当前数据文件中。
	qbase+	如果 qbase+ v2.5 软件已安装，则可直接从当前的 .pcrd 文件启动该软件。
	生成 LIMS PLRN 文件	将数据文件另存为 LIMS 格式的 .plrn 文件。

## 选项卡详细信息

“数据分析”窗口的各个选项卡以图表和电子表格的形式显示特定分析方法的数据，同时包含了反应孔选择器以方便您选择需要显示的数据。“数据分析”窗口打开时会默认显示“定量”选项卡。您可以使用“定量”选项卡中的扩增图表数据为运行制定适当的分析设置。

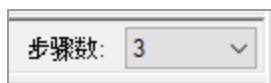


**注释:**软件会链接每个数据分析选项卡中各个窗格的数据。例如，如果在反应孔选择器视图中通过将鼠标指针放在某个反应孔上来高亮显示该反应孔，则会在所有其他窗格中高亮显示相应的数据。

## 步骤数选择器

CFX Opus Dx 系统可以在多个扩增程序步骤中获取荧光数据；该软件将独立维护在每个步骤中获取的数据。CFX Maestro Dx SE 在“定量”选项卡上标准曲线图表下方显示步骤数选择器。当扩增程序含有至少一个数据收集步骤，CFX Maestro Dx SE 会从第一个收集步骤显示数据。

如果扩增程序包含超过一个收集步骤，您可以在选择器的下拉菜单中选择其他步骤展示，例如：



当您选择某个步骤后，软件会将该选择应用于在“数据分析”窗口中显示的所有数据。

## 在数据分析中查看反应孔编组

反应板中的反应孔可以编组为多个子集，以便使用反应孔编组单独进行分析。当您创建了反应孔编组，组名称将显示在“数据分析”窗口工具栏的“反应孔编组”列表中。

如果您创建了反应孔编组，当您打开“数据分析”窗口时，软件默认显示的反应孔编组为“全部反应孔”，即所有包含内容的反应孔中的数据都会在图表和电子表格中显示。只有被选中的反应孔分组中的反应孔会在反应孔选择器中显示加载的内容，并且数据分析计算中也只包含这些反应孔的数据。

**提示：**要创建、编辑和删除反应孔编组，单击工具栏中的“反应孔编组管理”。

**注释：**如果未创建反应孔编组，则“反应孔编组”下拉列表不会在工具栏中出现。

## 运行后更改反应孔信息

在数据分析过程中，在“反应板编辑器”中更改反应孔信息以改变其数据显示的方式不会对在运行过程中收集的荧光数据造成改动。模块收集完荧光数据后，您不能删除那些数据，但可以选择在视图和分析中排除它们。

### 在实验运行后修改反应孔信息

- ▶ 在“数据分析”窗口，单击“反应板设置”并选择以下一个选项：
  - **编辑/查看反应板** — 打开“反应板编辑器”，可在其中手动修改布局。
  - **替换反应板文件** — 打开“选择反应板”浏览器，可在电脑中找到之前保存的反应板文件以替换当前反应板布局。
  - **应用 PrimePCR 文件** — “选择 PrimePCR”文件对话框，可在电脑中找到一个 PrimePCR 运行文件并将其应用到反应板布局中。

**提示：**您可以在 PCR 实验运行前、运行中或运行后添加或编辑反应孔信息。扫描模式和反应板大小必须在运行前设定好，这些参数无法在运行后更改。

## 数据分析设置

“定量”选项卡中的“扩增”图表数据可显示每个反应孔在每次循环中的相对荧光单位 (RFU)。图表中的每条示踪线表示某个反应孔中单个荧光基团的数据。您可使用这些数据测定单个荧光基团上每个反应孔的 C<sub>q</sub> 值。软件使用下列两种模式之一来测定 C<sub>q</sub> 值：

- **回归** — 该模式将多变量、非线性回归模型应用于单个反应孔示踪线，然后使用此模型计算最佳的 C<sub>q</sub> 值。
- **单一阈值** — 该模式使用单一阈值并根据各荧光示踪线的阈值交叉点来计算 C<sub>q</sub> 值。

选中“设置”>“C<sub>q</sub> 定义模式”来选择 C<sub>q</sub> 值的定义模式。

### 调整阈值

在单一阈值模式中可调整荧光阈值，方法是单击扩增图表中的阈值线，然后垂直移动鼠标指针。或者为选定的荧光基团指定确切的交叉点阈值。

### 基线设置

软件会为每个反应孔分别自动设置基线。基线设置决定所有荧光示踪线的基线扣除方法。软件共提供了三种基线扣除的选项：

- **未扣除基线** — 软件将数据显示为相对荧光示踪线。某些分析不能在此分析模式中进行，因此软件不显示“基因表达”、“终点分析”和“等位基因分型”选项卡。
- **基线扣除** — 软件针对反应孔中的每个荧光基团将数据显示为基线扣除示踪线。软件必须对数据进行基线扣除，以确定定量循环、建立标准曲线并确定未知样品的浓度。为了生成基线扣除示踪线，软件通过基线循环期间每个反应孔已记录的荧光来拟合最佳直线，然后从每个循环的扣除荧光背景后的数据中扣除最佳拟合基线值。
- **扣除基线的示踪线拟合** — 软件将数据显示为基线扣除示踪线，并使用中心均值过滤法使扣除基线的示踪线变得平滑。此过程的执行会使每个 C<sub>q</sub> 保持不变。

除以上这些选项之外，您也可选择“应用荧光漂移校正”。对于那些在运行的几个初始循环内出现异常 RFU 值漂移的反应孔，软件可以从成功产生水平基线的相邻反应孔中推算出基线。

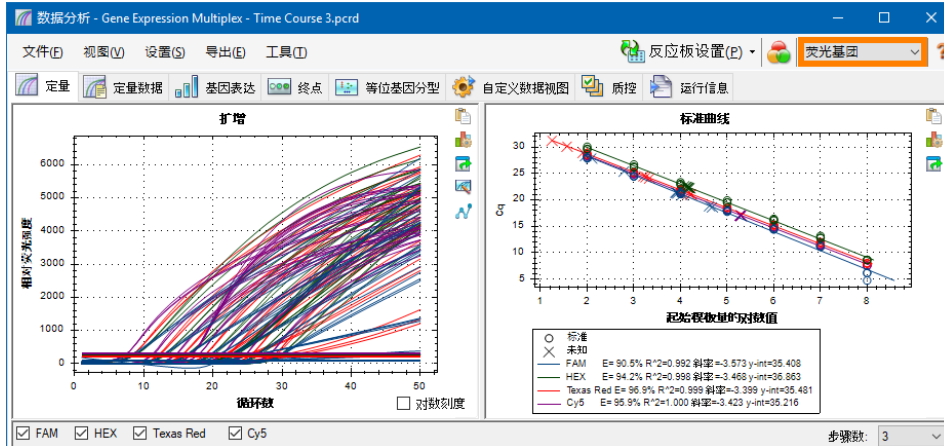
#### 更改基线扣除设置

- ▶ 选择“设置”>“基线设置”。

### 分析模式

可按荧光基团或靶标名称对数据进行分组和分析。按荧光基团分组时，按该运行的反应板设定的荧光基团显示数据示踪线。当“扩增”图表下方合适的荧光基团选择复选框被选中，这些荧光基团的数

据都会各自在“扩增”和“标准曲线”(如果有的话)图表中出现。



按靶标分组时, 根据输入该运行反应板设置中的靶标名称显示数据示踪线。

### 选择一个数据分析模式

► 执行以下操作之一:

- 选择“设置”>“分析模式”。
- 从工具栏的“分析模式”的下拉菜单中选择一个模式。

## 用于分析的循环

您可以限制要用于分析的循环数。也可从特定的一段循环分析数据。可供分析的最大循环数目为50。

**注释:**移除实验运行起始的循环会对基线设置造成较大影响。

### 在一定范围循环数内数据分析

1. 选择“设置”>“要分析的循环”。  
出现“要分析的循环”对话框。
2. 输入起始和结束的循环数值并单击“确定”。

单击“恢复默认要分析的循环”对话框以恢复最初设定的用于分析的循环。

## 反应孔选择器

使用反应孔选择器，可以在“数据分析”窗口的图表或电子表格中显示或隐藏反应孔数据。反应孔选择器中只能选择已加载样品的反应孔。软件会赋予反应孔不同的颜色：

- **蓝色** — 指示选定的反应孔。选定反应孔的数据将在“数据分析”窗口中显示。
- **浅灰色** — 指示未选定的反应孔。这些未选定的反应孔中的数据不会在“数据分析”窗口中显示。
- **深灰色** — 指示空反应孔。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				未知01	未知02	未知03						
C				未知01	未知02	未知03						
D				未知01	未知02	未知03						
E												
F			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			
G			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			
H			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			

### 显示或隐藏反应孔数据

- ▶ 在反应孔选择器中，执行以下任一操作：
  - 要隐藏某个反应孔，只需点击一下该孔。要显示该孔，只需再次点击一下。
  - 要隐藏多个反应孔，请将光标拖过您要选择的反应孔。要显示这些反应孔，请再次将光标拖过这些反应孔。
  - 单击反应板的左上角可隐藏所有反应孔。再次单击左上角可显示所有反应孔
  - 单击列或行的起点可隐藏该列或行的反应孔。再次单击该列或行的开始部分可显示该列或行的反应孔。

## 反应孔选择器右键单击菜单项

表 13 中列出了反应孔选择器视图中可用的右键单击选项。

**表 13. 反应孔选择器视图中的右键单击菜单项**

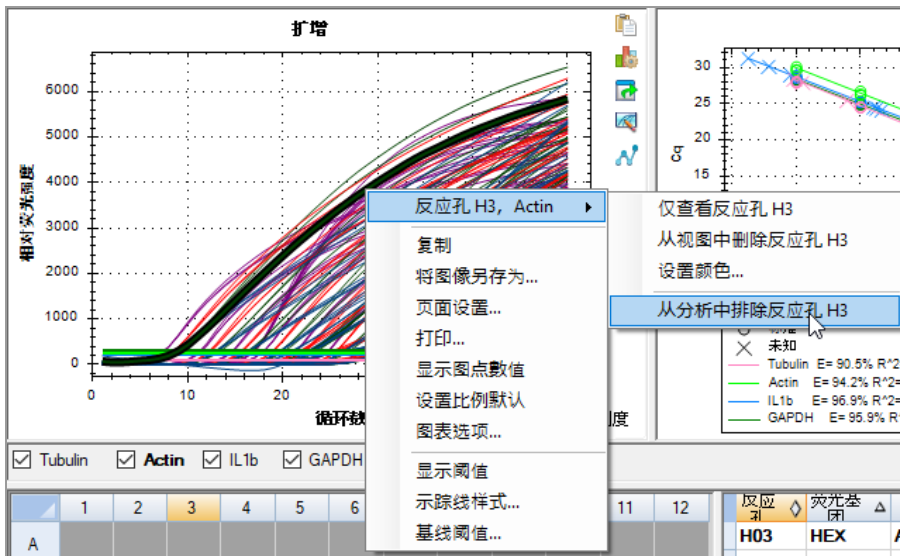
项目	功能
反应孔 XX	仅显示该反应孔、将其从视图中移除、为其设定颜色, 或者将其从分析中排除。
选择反应孔(右键单击并拖拽)	仅显示这些反应孔、将其从视图中移除、为其设定颜色, 或者将其从分析中排除。
复制	将反应孔信息复制到剪贴板, 包括样品类型和可选的重复数。
复制为图像	将反应孔选择器复制为图像。
打印	打印反应孔选择器视图。
打印选择	打印当前选择。
导出到 Excel	将数据导出至 Excel 电子表格。
导出为 CSV	将数据导出为 .csv 文档
导出为 Xml	将数据导出为 .xml 文件。
反应孔标签	将反应孔标签更改为“样品类型”、“靶标名称”或“样品名称”。



## 从分析中暂时排除反应孔

### 从数据分析中暂时排除反应孔

1. 在反应孔选择器中、荧光示踪线上或标准示踪线的某一点上右键单击反应孔。要排除多个反应孔，右键单击并拖动以高亮显示多个反应孔、示踪线或点。
2. 从右键菜单中，选择合适的选项：
  - 反应孔 > 排除反应孔
  - 选择的反应孔 > 从分析中排除
  - 选择的示踪线 > 将这些反应孔从分析中排除



或者，要从分析中永久移除反应孔，可通过单击“反应板编辑器”中的“清除反应孔”按钮以清除反应孔中的内容。

**重要：**您必须重新输入已清除的反应孔信息才能再次分析该孔。

### 重新纳入一个已被排除的反应孔

- ▶ 右键单击反应孔选择器中合适的反应孔，并选择“反应孔”>“在分析中包含反应孔”。

## 图表

“数据分析”窗口中的每个表格都以不同的图形样式显示数据，并包括用于调整和导出数据或图表图形的选项。

### 图表工具

表 14 中列出了在大多数图表中可用的右键单击选项。

**表 14. 大多数图表常用的右键单击菜单**

项目	功能
复制	将图表复制到剪贴板。
将图像另存为...	以图像文件保存图表。设置图像的分辨率和尺寸，然后选择文件类型 (PNG、GIF、JPG、TIF 或 BMP)。
页面设置...	选择页面打印设置。
打印...	打印图表。
将比例还原为默认设置	显示柱形图中的所有数据。如果在图表框架中显示的数据点/样品太多，则显示滚动条。
图表设置	打开“图表设置”对话框，可在其中更改图表的显示选项如下： <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 图表和坐标轴的标题</li> <li>■ 图表和坐标轴字体和大小</li> <li>■ 坐标轴刻度范围</li> <li>■ 图例的位置</li> </ul>

图表工具也出现在“数据分析”窗口的各个图表中。所有图表都显示这些工具：

**复制到剪切板** — 将图表视图内容复制到剪切板。

**图表设置** — 打开“图表设置”对话框，从中可以修改图表的显示选项。

**导出** — 打开“导出选项”对话框，从中可以修改图像的分辨率和大小，并且用以下一种文件类型保存到指定的位置：

- .bmp
- .jpg
- .png

## 柱形图工具

除了以上图表工具外,柱状图中还显示以下工具:

**排序** — 可按字母顺序或反字母顺对靶标和样品进行排序。

**颜色设置** — 打开“颜色设置”对话框,可对靶标和样品的颜色进行修改。

有关更多信息,请参见第 239 页上的“更改和注释图表视图”。

## 扩增图表工具

除了以上工具外,扩增图表中还显示以下工具:

**示踪线样式** — 打开“示踪线样式”对话框,从中可以修改扩增图表中的示踪线的外观。

**基线阈值** — 打开“基线阈值”对话框,从中可为所选反应孔修改默认设置的基线,或者在扩增图表中为每一条荧光曲线修改阈值。

## 将图表数据复制到剪切板

您可以复制图表视图内容并粘贴到任何支持位图格式图片文件的应用中。

### 要将图表数据复制到剪切板

1. 从图表工具中,选择“复制到剪切板”图标。
2. 打开一个接受位图图像的应用程序,例如 Microsoft Word。
3. 右键单击并选择“粘贴”,将剪切板中的位图图像粘贴到应用程序中。

## 修改图表显示设置

对当前显示的图表可使用“图表设置”对话框来修改标题、字体和大小、坐标轴范围以及图表说明位置。对该图表所做的设置改动仅被保存于此图表中。

### 要修改图表显示设置

1. 从图表工具中单击“图表设置”。  
出现“图表设置”对话框。



2. 选择“图表和坐标轴”选项卡, 您可以:

- 为图表输入一个标题。
- 为 X 坐标轴输入一个新的标题并将选项卡方向倾斜。
- 为 Y 坐标轴输入一个新的标题。

3. 选择“字体”选项卡以修改图表的字体和大小。

**提示:**文字大小默认会随着图表大小改变而自动调整。选择“改变字体大小”可为每个选项卡文字类型设定一个固定的大小。

4. 选择“坐标轴范围”选项卡, 您可以:

- 清除 X 轴和 Y 轴的自动范围设置并指定最小和最大范围刻度值。
- 选择在图形上显示网格线或小刻度。

5. 选择“图表说明”选项卡, 您可以:

- 选择隐藏该图表的说明。
- 改变默认的图表说明的位置。

**注释:**当图表说明被放置于图表的左边或右边,只会显示图表中的前 10 个荧光基团的结果。

6. 任何时候单击“应用”按钮可预览图表设置改动后的效果而不保存该改动。
7. 单击“确定”按钮以保存改动并回到图表界面中。

## 导出图表

使用此对话框可以修改图形的宽度,高度和分辨率以导出为下列文件格式中的一种:

- .bmp
- .jpg
- .png

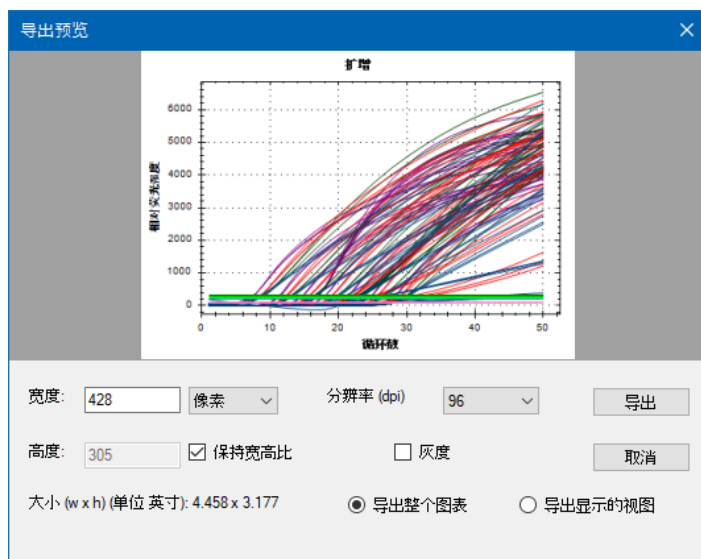
然后,您可以将导出的图片展示在海报、PPT 和专业杂志当中。

**注释:**当修改设置时需考虑以下几点:

- 最大和最小的宽度及高度限制
  - 在 72 dpi 分辨率时:0.1–83 英寸
  - 在 96 dpi 分辨率时:0.1–62 英寸
  - 在 150 dpi 分辨率时:0.1-40 英寸
  - 在 300 dpi 分辨率时:0.1-20 英寸
  - 在 600 dpi 分辨率时:0.1-10 英寸
  - 在所有分辨率下:2–6,000 像素
- 图片高宽比是基于宽度设定的。

## 要导出图表

1. 在图表工具中,单击“导出”。  
出现“导出预览”对话框。



2. 按需要修改显示设置。
3. 单击“导出”。
4. 在“导出”对话框中, 执行以下操作:
  - a. (可选) 导航到要保存图表文件的文件夹。
  - b. 输入文件名称并从下拉菜单中选择一个文件类型。
5. 单击“保存”按钮以保存该图表文件。

### 修改基线阈值设置

在单一阈值模式中可调整荧光阈值, 方法是单击扩增图表中的阈值线, 然后垂直移动鼠标指针。或者为选定的荧光基团指定确切的交叉点阈值。

**提示:** 您可在“数据分析”选项卡的“用户”>“用户首选项”中指定一个为所有数据文件确定基线的循环范围。

### 调整每个反应孔开始和结束基线循环

1. 在“定量”选项卡中, 选择扩增图表下方的单一荧光基团。
2. 从图表工具中, 选择“基线阈值”。

出现“基线阈值”对话框。

3. 在“基线循环”窗格中，做以下任一操作：
  - 要选择一个反应孔，点击其行号。
  - 若是选择多个相邻的反应孔，单击选择一个反应孔后拖动至最后一个所需选择的反应孔。
  - 要选择多个不相邻的反应孔，按住 **Ctrl** 键并单击各个靶标反应孔的行号。
  - 要选择所有反应孔，点击表格的左上角。
4. 为所有选中的反应孔调整基线起点循环和终点循环，或在电子表格的底部更改开始和结束循环数。

**提示：**要恢复到上一次保存的数值设置，单击“重设所有用户自定义值”按钮。
5. 单击“确定”按钮以保存改动并回到图表界面中。

#### 为所有数据文件指定一个循环范围

- ▶ 从“主页”窗口或“反应板编辑器”窗口，选择“用户”>“用户首选项”并选择“数据分析”选项卡。

#### 为靶标、样品和生物组数据进行排序

**注释：**此选项仅在基因表达图表中 useful。

靶标、样品和生物组列表默认按照字母顺序排列。使用“排序”对话框以倒序顺序对显示进行排序，或手动将某个条目移动到列表中的其他位置。

#### 对靶标、样品和生物组数据进行排序

1. 在图表工具中单击“排序”。

出现“基因表达图表排序”对话框。



2. 在对话框中，单击 **Z-A** 按倒序的顺序对其进行排序。
3. 要手动移动一个条目，选中它并单击图表中间合适的按钮：
  - 单击向上或向下箭头将所选条目移动一个位置。
  - 单击带横线的向上或向下箭头将所选条目移动到列表的顶部或底部。
4. 单击“确定”保存更改并返回到基因表达选项卡中。



## 更改靶标及样品颜色设置

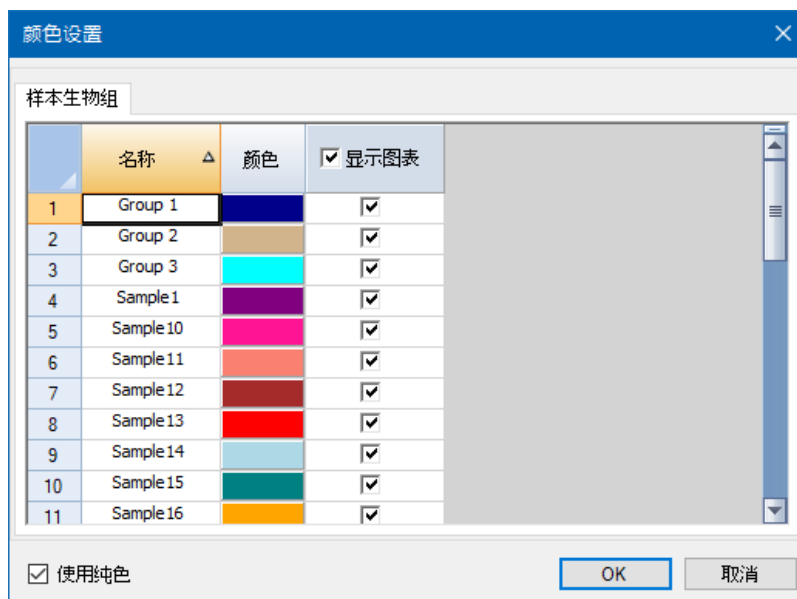
**注释:**此选项仅在基因表达图表中 useful。

使用“颜色设置”对话框来更改一个靶标或样品的颜色, 或者将其从图像中移除。

### 要更改颜色设置

1. 从图表工具中选择“颜色设置”。

出现“颜色设置”对话框。



2. 要更改靶标或样品显示的颜色, 单击其在“颜色”栏中的颜色。
3. 在出现的“颜色”对话框中, 选择一个新的颜色并单击“确定”。
4. 要从基因表达结果图中移除条目, 请取消选中“显示图表”栏中其相应的复选框。

**提示:**要从基因表达结果图中清除所有的条目, 请取消选中“显示图表”栏中表头处的复选框。

5. (可选)柱形图颜色默认以渐变色显示。要显示为纯色, 选中“使用纯色”即可。
6. 单击“确定”保存更改并返回到基因表达选项卡中。

## 在图表中放大一个区域

### 放大图表中的区域

- ▶ 在图表中单击并拖动一个区域，然后单击“缩放”。软件将调整图表大小，并使其在选定的区域中居中。

**注释：**柱形图工具不需要您单击“缩放”弹出命令。

### 将图表重置为全视图

- ▶ 右键单击图表，然后选择“将比例还原为默认设置”。

## 复制图表至 Microsoft 文件中

您可以将数据图表复制到 Microsoft Word、Excel 或者 PowerPoint 文档中。图片的分辨率与所获得该图片的屏幕分辨率一致。

### 复制图表至 Microsoft 文件中

1. 在“数据分析”窗口中，单击图表窗格右上角处的“复制到剪贴板”。
2. 打开一个空白的 Microsoft 文件并将剪贴板中的内容粘贴进来。

## 图表的常用右键单击菜单项

表 15 中列举了图表中可用的右键单击菜单项。某些项目存在于所有图表中，包括可用于更改数据的显示方式或轻松地从图表中导出数据的项目。

**表 15. 图表的右键单击菜单项**

项目	功能
复制	将图表复制到剪贴板。
将图像另存为	以选定的尺寸、分辨率和包括 PNG(默认)、JPG 和 BMP 在内的文件类型保存图像。
页面设置	显示打印设置选项。
打印	打印图表。
将比例还原为默认设置	放大图表后，将图表返回到默认视图。
图表选项	打开“图表选项”窗口以更改图表，包括其标题、选择 X 和 Y 坐标轴的限值，并显示网格线以及坐标轴中的次要刻度。

## 第 10 章 数据分析概述

**注释:**适用于特定图表的菜单项在 [第 11 章, 数据分析详细信息](#) 中予以说明。

## 电子表格

数据分析中显示的电子表格包含用于数据排序和传输的选项。可通过下列方法之一对列进行排序：

- 单击某列并将其拖到选定表中的新位置。
- 单击列标题，以升序或降序对数据排序。

### 要在“排序”窗口中对最多三列数据进行排序

1. 在电子表格上单击右键以打开菜单并选择“排序”。
2. 在“排序”窗口中，选择要排序的第一列的标题。以升序或降序对数据进行排序。
3. 选择第二列或第三列进行排序并选择升序或降序。
4. 单击“确定”对数据排序，或单击“取消”停止排序。

**提示：**通过在某个单元格上按住鼠标指针，可在关联的图表和反应孔选择器中高亮显示数据。单击一个单元格将其内容复制并粘贴到另一个软件程序中。

## 图表的常用右键单击菜单项

表 16 列出了所有电子表格视图可用的右键单击菜单项。

**表 16. 电子表格右键单击菜单项**

项目	功能
复制	将选中反应孔信息复制到剪贴板，然后将内容粘贴到电子表格(如 Excel)。
复制为图像	将电子表格视图复制为图像文件，并将其粘贴到可接纳图像文件的文件(如文本、图像或电子表格文件)中。
打印	打印当前视图。
打印选择	打印当前选择。
导出到 Excel	将数据导出至 Excel 电子表格。
导出为文本文件	将数据导出至文本编辑器。
导出为 CSV	将数据导出为 .csv 文件。
导出为 Xml	将数据导出为 xml 文件。

**表 16. 电子表格右键单击菜单项(续)**

项目	功能
导出为 Html	将数据导出为 .html 文件。
查找	搜索文本。
排序	对最多三列数据进行排序。
选择列	选择将在电子表格中显示的列。

## 导出

CFX Maestro Dx SE在“导出”下拉菜单中提供了四种导出选项：

- 导出所有数据表
- 导出 RDML 文件
- 自定义导出
- 导出到 LIMS 文件夹
- 手册导出

### 导出所有数据表

您可以从CFX Maestro Dx SE的每个选项卡中导出所有电子表格视图至单独的文件中。

#### 导出所有数据表

► 选择“导出”>“导出所有数据表”，然后选择所需的文件类型：

- CSV (\*.csv)
- 文本 (\*.txt)
- Excel 工作簿 (\*.xlsx)

导出的分析数据保存在多个 Excel 工作簿文件中，且每个文件带有一个分析数据工作表选项卡。当分析数据包含多个荧光基团时，每个荧光基团的数据将导出到单独的工作表选项卡。

- Excel 工作簿 - 组合 (\*.xlsx)

导出的分析数据将保存到一个 Excel 工作簿文件中，该文件包含多个工作表选项卡，每个分析数据集一个选项卡。

- Excel 97 - 2003 (\*.xls)

**重要：**您的计算机必须安装有 Microsoft Excel 才能将数据导出到 Microsoft Excel 电子表格。

- Xml (\*.xml)

## 导出 RDML 文件

RDML 是一个用来交换定量 PCR (qPCR) 数据的结构化通用数据标准。此数据标准的文件是可扩展标记语言 (.xml) 格式的文本文件。要了解更多有关 RDML 数据转化格式的信息, 请参考国际 RDML 协会网站 ([www.rdml.org](http://www.rdml.org))。

**重要:** 导出的 RDML 文件包括具有您应用于“数据分析”窗口的基线设置的分析数据。有关基线设置的更多信息, 请参阅 [第 178 页上的“基线设置”](#)。

**注释:** 如果您使用 2.3 或更高版本的 qbase+ 软件, 请保存 1.1 版本的 RDML 文件。

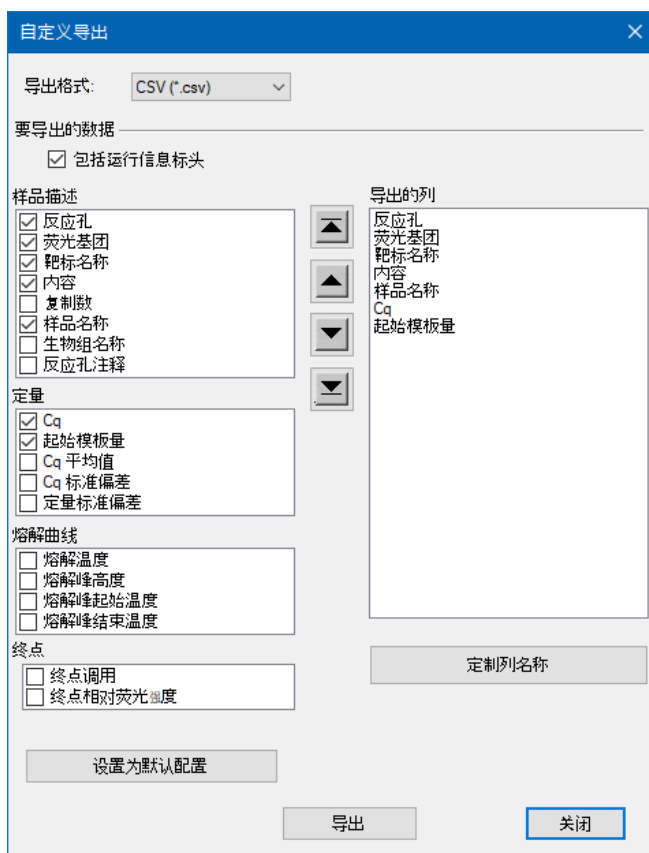
### 导出 RDML 文件

1. 选择“导出”>“导出 RDML 文件”, 在出现的列表中选“RDML v1.1”或“RDML v1.0”, 出现“另存为”对话框。
2. 在“另存为”对话框中, 指定一个文件名称和位置以保存该 RDML 文件。
3. 单击“确定”按钮以保存导出文件。

## 创建自定义导出文件

### 创建自定义导出文件

1. 选择“导出”>“自定义导出”。出现“自定义导出”对话框。



2. 从出现的下拉列表中选择导出格式。
3. 勾选对应复选框选择要导出的条目。
4. (可选)单击“自定义列名称”以更改列的名称。
5. 单击“导出”。出现“另存为”对话框。
6. 在“另存为”对话框中,指定一个文件名称和位置以保存导出的文件。
7. 单击“确定”按钮以保存导出文件。



## 导出至 LIMS 文件夹

您可以用一种 LIMS 兼容的文件格式来导出数据。要获得更多关于创建、管理和使用 LIMS 文件的信息,请参阅[附录 C, LIMS 整合](#)中的内容。

### 以 LIMS 格式导出数据

1. 选择“导出”>“导出至 LIMS 文件夹”。  
出现“另存为”对话框。
2. 在“另存为”对话框中,指定一个文件名称和位置以保存导出的文件。
3. 单击“确定”按钮以保存导出文件。

## 导出 Seegene 格式化数据

您可以将数据从所有电子表格视图保存到专门为 Seegene, Inc. 使用而构建的 Excel 文件中。

**提示:**您也可以在导出完成后自动启动 Seegene Viewer。有关更多信息,请参阅[第 60 页上的“工具菜单命令”](#)。

### 导出 Seegene 特定格式的数据

1. 选择“导出”>“手册导出”。  
出现“浏览文件夹”对话框。
2. 在“浏览文件夹”对话框中,指定一个文件夹位置以保存导出的 Seegene 格式化 Excel (.xlsx) 文件。  
将分析数据导出到多个 Excel 工作簿文件中,且每个文件带有一个分析数据工作表选项卡。
3. 单击“确定”按钮以保存导出文件。

## 第 11 章 数据分析详细信息

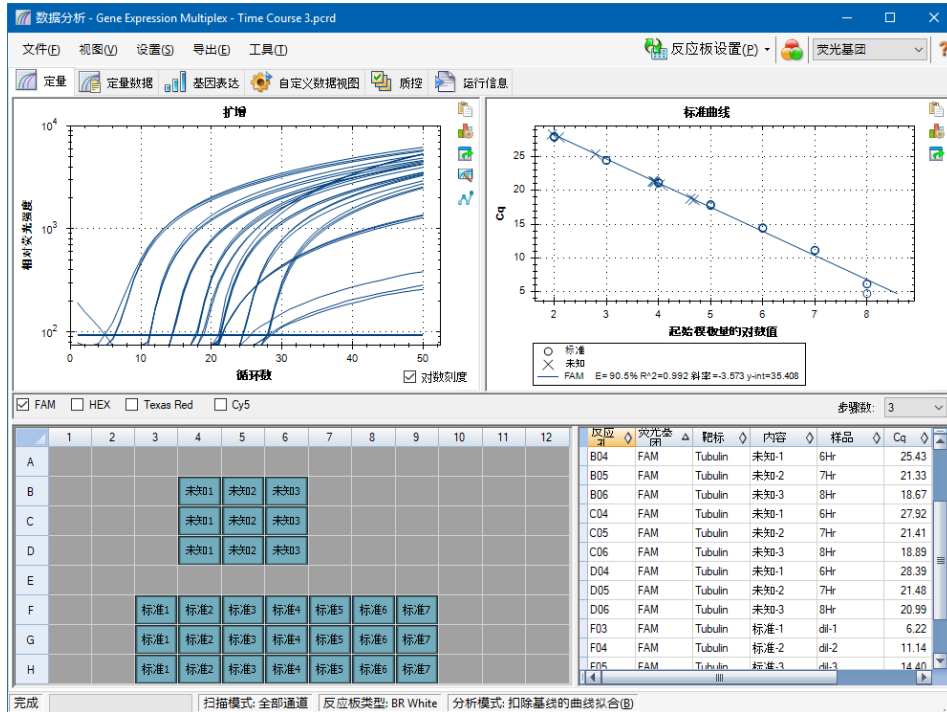
CFX Maestro Dx 软件, 安全版的“数据分析”窗口包含多个选项卡, 可从中查看数据。本章详细介绍了这些选项卡。

**提示:** 您可以使用“视图”菜单选择要在“数据分析”窗口中查看哪些选项卡。自定义布局与数据文件一起保存。

## “定量”选项卡

您可使用“定量”选项卡中的数据设置数据分析条件，包括各个反应孔的基线设置以及阈值设置。“定量”选项卡以下列四种视图显示数据：

- 扩增图表 — 显示每个反应孔在每次循环中的相对荧光单位 (RFU)。图表中的每条示踪线表示某个反应孔中单个荧光基团的数据。
- 标准曲线 — 只有当运行中包含指定为标准样品类型 (Std) 的反应孔时才显示。标准曲线中显示根据起始量的对数值进行绘制的阈值循环。图例显示具有标准样品类型的反应孔中每个荧光基团的扩增效率 (E)。
- 反应孔选择器 — 选择具有您要显示的荧光数据的反应孔。
- 电子表格 — 显示在选定的反应孔中收集的数据的电子表格。



## 荧光基团选项

要在“定量”选项卡的图表和电子表格中显示荧光基团数据，请选中“扩增”图表下方的目标荧光基团。要在数据分析窗口中隐藏荧光基团数据，只需清除其复选框即可。

## “示踪线样式”对话框

使用“示踪线样式”对话框，可调整“定量”和“熔解示踪线”选项卡中扩增和熔解示踪线图表上的示踪线的外观。在“示踪线样式”对话框的反应孔选择器中可预览所做的改动。

### 要调整示踪线样式

1. 在扩增图表下方仅选择一个荧光基团。
2. 要打开“示踪线样式”对话框，请执行以下任一操作：
  - 单击扩增图表中的“示踪线样式”。
  - 在“数据分析”菜单栏中选择“设置”>“示踪线样式”。
  - 右键单击示踪线，然后选择“示踪线样式”。

弹出“示踪线样式”对话框。

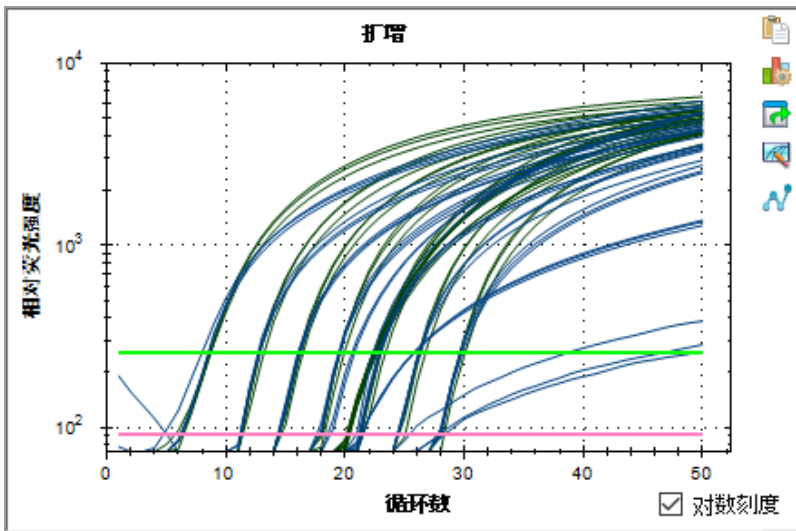


3. 在“示踪线样式”对话框中，使用底部窗格的反应孔选择器选择一组特定的反应孔。或者，在反应孔列的下拉菜单中，选择包含一个样品类型的反应孔。
4. 请执行以下任一操作：
  - 要为所选反应孔选择颜色，请单击“颜色”列中的框。
  - 要将符号分配给选定的反应孔，请从“符号”下拉列表选择一个符号。

- 要通过按钮标签快速为反应孔上色, 请单击适当的快速设置:
  - 随机, 按反应孔
  - 随机, 按重复
  - 使用荧光颜色
  - 使用靶标颜色
  - 使用样品颜色
- 要分配反应孔标签, 请选择“样品类型”、“靶标名称”、“样品名称”或“符号”。

## 对数坐标尺选项

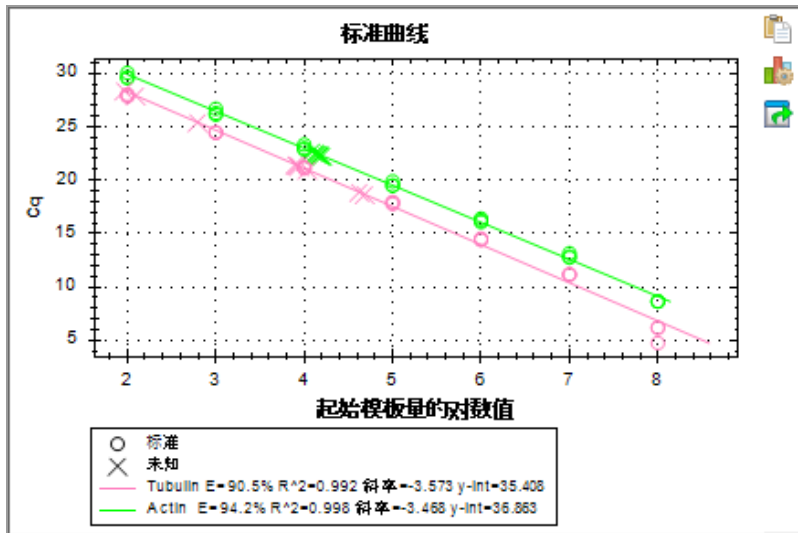
选择扩增图表下方的“对数坐标尺”, 以查看半对数坐标尺的荧光示踪线:



**提示:**要放大图表的任何区域, 请在目标区域上拖动。要返回完整视图, 请在图表上单击右键, 然后选择“将比例还原为默认设置”。

## 标准曲线图表

如果包括样本类型的数据至少有一个荧光基团定义为标准 (Std)，软件将在“定量”选项卡中创建“标准曲线”图。



标准曲线图表可显示下列信息：

- 每条曲线的名称(荧光基团或靶标)。
- 每个荧光基团或靶标的颜色。
- 扩增效率 (E)。可使用这些统计信息优化多重反应，并均化标准曲线的数据。

**注释：**扩增效率描述扩增程序的每次循环中产生多少靶标。效率为 100% 表示在每次循环中得到的是加倍的靶标。

- 相关系数,  $R^2$ (写作  $R^2$ )。此统计信息可用于确定线条描述数据的准确性(拟合度)。
- 斜率
- y-截距

## 扩增图表菜单选项

除了常见的图表右键单击菜单选项(参见第 191 页上的“图表的常用右键单击菜单项”),表 17 列出了仅在“扩增”图表上可用的菜单选项。

**表 17. 扩增图表右键和左键单击菜单项**

菜单选项	功能
反应孔 XX, 荧光靶标	仅显示该反应孔, 从视图中剔除这个反应孔, 为此反应孔的扩增示踪线设置颜色, 或者在分析时排除该反应孔。
选中的示踪线	仅显示这些反应孔, 从视图中剔除这些反应孔, 为这些示踪线设置颜色, 或者在分析时排除这些反应孔。
显示阈值	为图表中的每条扩增曲线显示阈值。
示踪线样式	打开“示踪线样式”窗口, 可调整显示在“定量”和“熔解示踪线”选项卡中的示踪线样式。
基线阈值	打开“基线阈值线”窗口, 可调整每种荧光基团的基线和阈值线(所做修改显示在“定量”选项卡视图的“扩增”图表中)。

## 定量选项卡电子表格

表 18 定义了“定量”选项卡中显示在电子表格中的数据。

**表 18. “定量”选项卡电子表格内容**

信息	说明
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光基团
靶标	在“反应板编辑器”反应孔中加载的靶标名称
内容	在“反应板编辑器”中加载的样品类型(必须)和重复数(可选)的组合
样品	在反应板编辑器的反应孔中加载的样品名称
C <sub>q</sub>	每条示踪线的定量循环

## 更改靶标、内容或样品数据

即使在运行实验后,也可以通过使用“反应板编辑器”编辑反应板文件来更改“靶标”、“内容”和“样品”列中的数据。

### 要更改“内容”、“靶标”和“样品”列中的数据

- ▶ 单击“反应板设置”,然后选择“查看/编辑反应板”以打开反应板编辑器。



## 定量数据选项卡

“定量数据”选项卡显示每个反应孔中收集的定量数据。CFX Maestro Dx SE 以四种不同的电子表格视图显示数据：

- 结果 — 显示数据电子表格。这是默认视图。
- 标准曲线结果 — 显示标准曲线数据的电子表格。
- 反应板 — 将每个反应孔中的数据显示为反应板图。
- RFU — 显示每次循环每个反应孔中的 RFU 数量。

从“定量数据”选项卡下显示的下拉列表中选择每个电子表格。

## 结果电子表格

结果电子表格显示反应板上每个反应孔的数据。

反应孔	荧光基团	靶标	内容	样品	Cq	Cq 平均值	Cq 标准偏差	起始模板量 (SQ)	起始模板量的对数值	SQ 平均值	SQ 标准偏差
B04	Cy5	GAPDH	未知-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281	1.91E+05	4.40E+02
B05	Cy5	GAPDH	未知-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300	1.97E+05	3.11E+03
B06	Cy5	GAPDH	未知-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297	1.98E+05	4.66E+03
C04	Cy5	GAPDH	未知-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283	1.91E+05	4.40E+02
C05	Cy5	GAPDH	未知-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287	1.97E+05	3.11E+03
C06	Cy5	GAPDH	未知-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285	1.98E+05	4.66E+03
D04	Cy5	GAPDH	未知-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281	1.91E+05	4.40E+02
D05	Cy5	GAPDH	未知-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298	1.97E+05	3.11E+03
D06	Cy5	GAPDH	未知-3	8Hr	17.05	17.08	0.035	2.023E+05	5.306	1.98E+05	4.66E+03
F03	Cy5	GAPDH	标准-1	4Hr	7.54	7.56	0.017	1.000E+08	8.000	1.00E+08	0.00E+00

**注释：**所有标准偏差(标准偏差)计算适用于在“反应板编辑器”窗口的反应孔中指定的重复组。计算将对重复组中每个反应孔的  $C_q$  值取平均值。

表 19 定义了结果电子表格中显示的数据。

表 19. 结果电子表格内容

信息	说明
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光基团

表 19. 结果电子表格内容(续)

信息	说明
靶标	扩增靶标名称(基因)
内容	样品类型和重复数
样品	样品描述
生物集名称	生物集的名称
$C_q$	定量循环
平均 $C_q$	重复组定量循环的平均值
$C_q$ Std.偏差	重复组的定量循环标准偏差
起始模板量 (SQ)	靶标序列的起始量
起始模板量的对数值	起始量的对数值
SQ 平均值	起始量的平均值
SQ Std.偏差	重复组的起始量标准偏差

## “标准曲线结果”电子表格

标准曲线结果电子表格显示计算出的标准曲线参数。

靶标	效率百分比	斜率	Y-截距	R <sup>2</sup>
Actin	94.24	-3.468	36.863	0.998
GAPDH	95.93	-3.423	35.216	1.000
IL1b	96.86	-3.399	35.481	0.999
Tubulin	90.49	-3.573	35.408	0.992

表 20 定义了标准曲线结果电子表格中显示的数据。

表 20. 标准曲线结果电子表格内容

信息	说明
荧光(或靶标)	检测到的荧光基因(或靶标)
效率百分比	扩增效率
斜率	标准曲线的斜率
Y-截距	标准曲线与 Y-轴的交点
R <sup>2</sup>	决定系数

## 反应板电子表格

“反应板”电子表格一次显示一个荧光基团数据的反应板图。

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	内容									
	样品									
	Cq									
	copy number									
B	内容				未知-1	未知-2	未知-3			
	样品				6hr	7hr	8hr			
	Cq				25.43	21.33	18.67			
	copy number				6.21e+02	8.73e+03	4.83e+04			
C	内容				未知-1	未知-2	未知-3			
	样品				6hr	7hr	8hr			
	Cq				27.92	21.41	18.89			
	copy number				1.24e+02	8.26e+03	4.19e+04			
内容				未知-1	未知-2	未知-3				

### 查看特定荧光基团的数据

- ▶ 单击电子表格底部的选项卡。

## RFU 电子表格

RFU 电子表格显示每个反应孔在运行过程中每一个循环的相对荧光单位 (RFU) 读数。反应孔位置编号显示在每一列顶部, 循环数显示在每一行左侧。

循环	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5	F6
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5	4
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2	1
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62	7
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95	5
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60	1
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53	-2
7	-9.01	-0.350	1.51	-0.970	4.06	3.31	-0.340	5.18	45.7	121	-8.35	-4.28	-5
8	-8.61	-1.35	-2.64	2.65	-0.896	-2.34	1.58	2.17	17.9	198	-7.20	-6.99	3
9	-8.98	1.89	-1.85	1.74	-2.87	-0.928	1.39	6.71	-1.55	324	-2.63	-7.14	-3
10	-9.34	-2.24	-3.72	-2.75	-2.10	-5.28	1.64	1.25	-23.7	463	24.4	-10.4	0
11	-9.52	-3.53	-7.72	0.678	-1.88	-8.00	1.08	3.11	-41.7	613	80.3	-11.3	-2
12	-10.0	-5.77	-3.75	-0.387	0.198	-11.6	0.990	3.49	-65.7	765	167	6.24	-1
13	-4.43	-4.96	-6.30	-3.41	-5.86	-10.5	-1.63	0.877	-84.5	915	285	21.9	-5
14	-8.68	-6.40	-9.45	-2.85	1.43	-10.0	-3.10	-2.99	-105	1062	422	62.5	-3
15	-6.54	-2.34	-2.59	-5.52	-5.71	-11.6	-0.0480	-6.86	-121	1209	559	137	6

## 熔解曲线选项卡

对于 DNA 结合染料和非水解杂交探针，当两个 DNA 链退火时，其荧光最亮。因此，随着温度上升至熔解温度 ( $T_m$ )，荧光将以恒速 (恒定坡度) 减弱。在  $T_m$  下，荧光会急剧减弱，坡度会发生明显的变化。通过绘制荧光对温度的一阶负导数 ( $-dRFU/dT$ )，可以确定此变化率。荧光中最大的变化率将产生可见峰，并表示双链 DNA 的  $T_m$ 。

CFX Maestro Dx SE 将在熔解曲线期间收集的 RFU 数据绘制为温度的函数。为分析熔解峰数据，软件将通过移动阈值线来为每个峰指定起始和结束温度。峰面积的底由熔解阈值线的位置决定。相对于阈值线和最高峰高度之间的距离，有效峰必须具有最低高度。

“熔解曲线”选项卡在四个视图中显示 PCR 扩增产物的  $T_m$  (熔解温度)：

- 熔解曲线 — 显示每个荧光基团的实时数据，将其作为每个反应孔在每一温度下的相对荧光单位 (RFU)。
- 熔解峰 — 显示每个反应孔在每一温度下的 RFU 数据的负导数。
- 反应孔选择器 — 显示用于显示或隐藏数据的反应孔。
- 峰电子表格 — 显示所选反应孔中收集的数据。

**注释：**该电子表格最多可为每个示踪线显示两个峰。要查看更多峰，请单击“熔解曲线数据”选项卡。

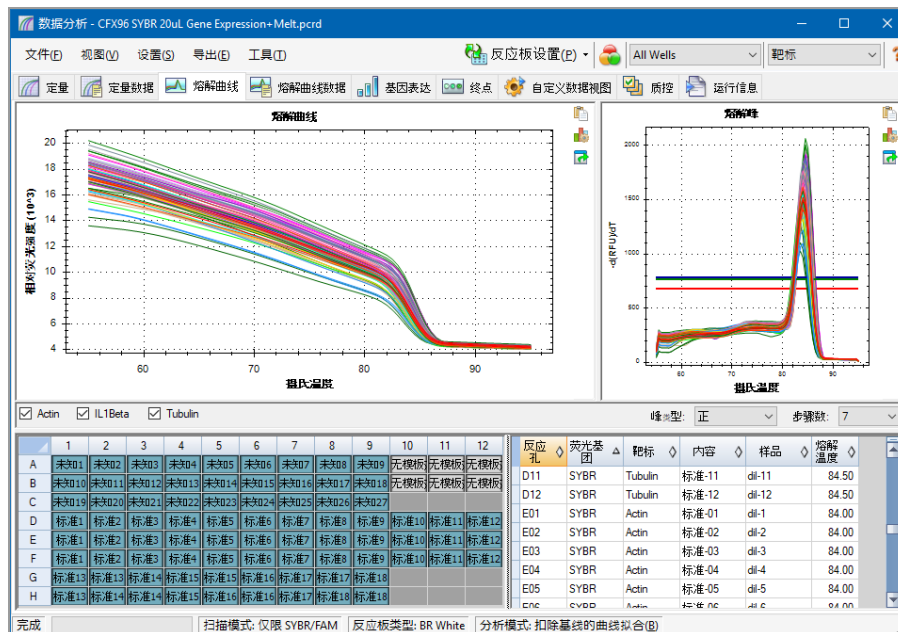


表 21 定义了出现在熔解曲线电子表格中的数据。

**表 21. 熔解曲线电子表格内容**

信息	说明
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光基团
内容	样品类型和重复数
样品	反应板编辑器上的样品名称
熔解温度	每个反应孔的熔解峰的温度 <b>注释:</b> 此电子表格中仅显示两个最高峰。

## 调整熔解曲线数据

### 调整熔解曲线数据

► 请执行以下任一操作：

- 在熔解峰图表中单击并拖动阈值线以在数据分析中包括或排除峰。
- 在“峰”下拉菜单中选择“正”，可在电子表格中显示“熔解阈值”线以上熔解峰的数据；或者选择“负”，可查看“熔解阈值”线以下的峰数据。
- 打开“示踪线样式”窗口，以更改熔解示踪线和熔解峰图表中示踪线的颜色。
- 在“步骤数”选择器中选择一个编号，以查看扩增程序的其他步骤中的熔解曲线数据。如果扩增程序在多个熔解曲线步骤中包含读板，则该列表将显示多个步骤。
- 选择反应孔选择器中的反应孔，可重点关注数据的子集。
- 选择反应孔编组，以查看并分析反应板中反应孔的子集。在工具栏的“反应孔编组”下拉菜单中按名称选择每个反应孔编组。



## 熔解曲线数据选项卡

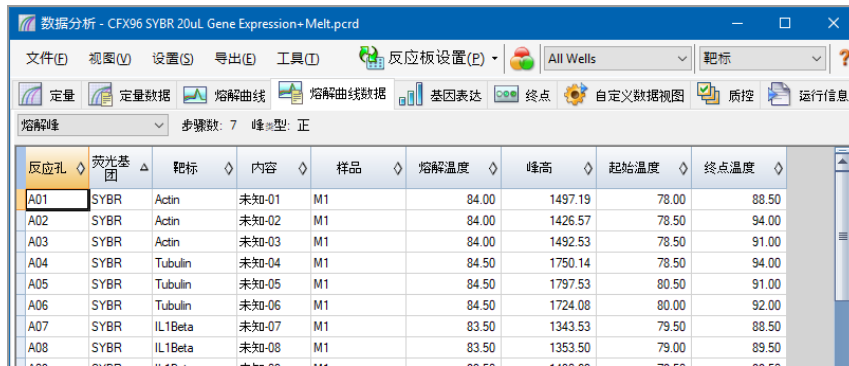
“熔解示踪线数据”选项卡可在多个电子表格中显示“熔解示踪线”选项卡中的数据，其中包括每个熔解示踪线的所有熔解峰。CFX Maestro Dx SE 提供四个电子表格选项，可在其中查看熔解示踪线数据：

- 熔解峰 — 显示所有数据，包括每条示踪线的所有熔解峰。这是默认视图。
- 反应板 — 显示反应板中每个反应孔的数据和内容的视图。
- RFU — 显示每个反应孔在每一温度下的 RFU 数量。
- $-d(\text{RFU})/dT$  — 显示 RFU 在温度 (T) 发生变化时的负变化率。这是反应板上每个反应孔的一阶回归曲线。

从“熔解曲线数据”选项卡下面的下拉列表中可选择每个电子表格。

## 熔解峰电子表格

熔解峰电子表格显示所有熔解曲线数据。



反应孔	荧光基团	靶标	内容	样品	熔解温度	峰高	起始温度	终点温度
A01	SYBR	Actin	未知-01	M1	84.00	1497.19	78.00	88.50
A02	SYBR	Actin	未知-02	M1	84.00	1426.57	78.50	94.00
A03	SYBR	Actin	未知-03	M1	84.00	1492.53	78.50	91.00
A04	SYBR	Tubulin	未知-04	M1	84.50	1750.14	78.50	94.00
A05	SYBR	Tubulin	未知-05	M1	84.50	1797.53	80.50	91.00
A06	SYBR	Tubulin	未知-06	M1	84.50	1724.08	80.00	92.00
A07	SYBR	IL1Beta	未知-07	M1	83.50	1343.53	79.50	88.50
A08	SYBR	IL1Beta	未知-08	M1	83.50	1353.50	79.00	89.50

第 215 页上的表 22 定义了“熔解峰”电子表格中显示的数据。

表 22. 熔解峰电子表格内容

信息	说明
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光基团
内容	“反应板编辑器”窗口中列出的样品类型
靶标	扩增靶标(基因)
样品	“反应板编辑器”窗口中列出的样品名称
熔解温度	每个产品的熔解温度, 在电子表格中以每行的一个峰(最高点)列出
峰高	峰的高度
起始温度	峰开始的温度
终点温度	峰终止的温度

## 反应板电子表格

反应板电子表格以反应板布局形式显示熔解曲线数据。



	1	2	3	4	5	6	7	8
A	未知-1	未知-2	未知-3					
内容	M1	M1	M1					
样品	84.00	84.00	84.00					
峰1	无	无	无					
峰2								
B	未知-10	未知-11	未知-12					
内容	M2	M2	M2					
样品	84.00	84.00	84.00					
峰1	无	无	无					
峰2								
C	未知-19	未知-20	未知-21					
内容	M3	M3	M3					
样品	84.00	84.00	84.00					
峰1	无	无	无					
峰2								
D	标准-1	标准-2	标准-3	标准-4	标准-5	标准-6		
内容	dil-1	dil-2	dil-3	dil-4	dil-5	dil-6		
样品	84.00	84.00	84.00	84.00	84.00	84.00		
峰1								

**注释:**要调整软件调用的峰, 请在“熔解曲线”选项卡中的熔解峰图表上调整阈值线。

第 216 页上的表 23 定义了“反应板”电子表格中显示的数据。

表 23. 反应板电子表格内容

信息	说明
内容	样品类型(必需)和重复 #(可选)的组合
样品	样品描述
峰 1	第一个熔解峰(最高点)
峰 2	第二个熔解峰(较低)

## RFU 电子表格

RFU 电子表格显示熔解曲线分析过程中每个反应孔每个循环的荧光信号。

温度	A1	A2	A3	A10	B1	B2	B3	B10	C1	C2	C3	D1	D2	D3
55.00	17243	16043	16541	5417	16440	17362	17038	5192	17387	18303	17813	14914	16441	1635
55.50	17138	15948	16440	5397	16340	17243	16923	5174	17280	18178	17693	14836	16337	1625
56.00	17033	15853	16339	5377	16241	17124	16808	5156	17173	18053	17574	14758	16233	1614
56.50	16929	15758	16238	5358	16141	17005	16693	5138	17067	17928	17454	14681	16130	1604
57.00	16824	15663	16136	5338	16042	16885	16579	5120	16960	17802	17334	14603	16026	1594
57.50	16719	15568	16035	5319	15942	16766	16464	5102	16853	17677	17214	14525	15922	1583
58.00	16614	15473	15934	5299	15843	16647	16349	5084	16746	17552	17094	14447	15819	1573
58.50	16505	15375	15831	5279	15740	16524	16232	5067	16637	17423	16971	14360	15707	1562
59.00	16393	15273	15724	5260	15634	16400	16112	5050	16525	17292	16845	14264	15591	1551

表 24 定义了 RFU 电子表格中显示的数据。

表 24. RFU 电子表格内容

信息	说明
反应孔编号 (A1、A2、A3、A4、A5)	反应板上的反应孔位置
温度	扩增靶标的熔解温度, 绘图规则为每行一个反应孔, 同一反应孔中如有多个扩增产物则有多行

## -d(RFU)/dT 电子表格

-d(RFU)/dT 电子表格显示 RFU 随温度 (T) 变化的负变化率

温度	A1	A2	A3	A10	B1	B2	B3	B10	C1	C2	C3	D1	D2	D3
55.00	105	95.0	101	19.6	99.5	119	115	17.9	107	125	120	77.8	104	10
55.50	227	206	219	42.4	215	258	249	38.9	231	271	260	169	225	22
56.00	210	190	202	39.2	199	238	230	35.9	214	250	240	156	207	20
56.50	210	190	202	39.2	199	238	230	35.9	214	250	240	156	207	20
57.00	210	190	202	39.2	199	238	230	35.9	214	250	240	156	207	20
57.50	209	189	202	39.2	198	238	229	35.9	213	250	239	154	206	20
58.00	214	193	204	39.2	202	242	232	35.5	215	253	243	164	214	21

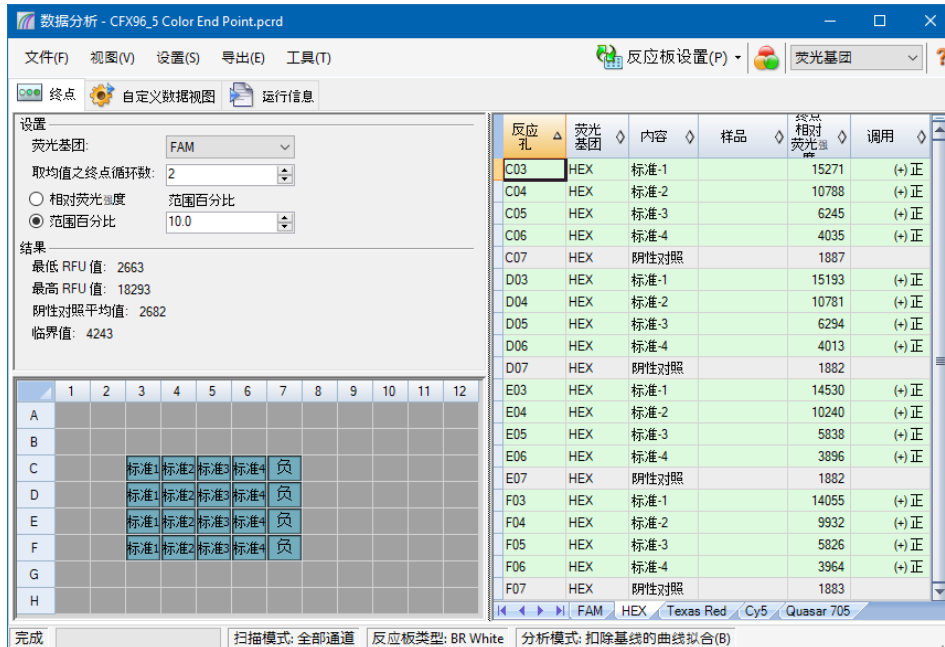
表 25 定义了 -d(RFU)/dT 电子表格中显示的数据。

表 25. -d(RFU)/dT 电子表格内容

信息	说明
反应孔编号 (A1、A2、A3、A4、A5)	反应板上的反应孔位置
温度 -d(RFU)/dT	RFU 随温度 (T) 变化的负变化率

## “终点”选项卡

打开“终点”选项卡可分析样品反应孔的最终相对荧光单位 (RFU)。软件将比较含有未知样品的反应孔的 RFU 水平与含有阴性对照品的反应孔的 RFU 水平，并“检出”未知阳性或阴性样品。阳性样品的 RFU 值大于阴性对照品的平均 RFU 值加上临界值。



要分析终点数据，反应板必须包含阴性对照，否则软件无法进行调用。

- 运行定量扩增程序 — 设置标准扩增程序。运行完成后，打开“数据分析”窗口，在“定量”选项卡中调整数据分析设置，然后单击“终点”选项卡以选择终点循环。
- 运行仅终点分析扩增程序 — 在“运行设置”窗口的“反应板”选项卡中加载“仅终点分析”扩增程序，选择或创建反应板，然后启动运行

“终点”选项卡显示平均 RFU 值，以确定靶标是否由最后一次(结束)循环扩增。可使用这些数据确定样品中是否存在特定靶标序列(阳性)。阳性靶标的 RFU 值比您自定义的临界值更高。

**提示:**要创建终点分析扩增程序，请打开“扩增程序”选项卡“运行设置”窗口)，然后选择“运行”>“仅终点运行”。

运行完成后，数据文件将打开到“终点”选项卡，包含以下部分：

- 设置 — 调整数据分析设置。
- 结果 — 调整设置后立即显示结果。

- 反应孔选择器 — 选择具有您要显示的终点数据的反应孔。
- RFU 电子表格 — 显示所选反应孔中收集的终点 RFU。

## 结果数据

结果部分显示以下数据：

- 最低 RFU 值 — 数据中的最低 RFU 值
- 最高 RFU 值 — 数据中的最高 RFU 值
- 阴性对照平均值：包含阴性对照的反应孔的平均 RFU
- 临界值 — 计算方法是公差（“设置”中列出的 RFU 或范围百分比）加上阴性对照的平均值。所包含的 RFU 大于临界值的样品被称为“阳性”。要调整临界值，可更改 RFU 或范围百分比

使用下列公式计算临界值：

$$\text{临界值} = \text{阴性对照品平均值} + \text{公差}$$

可通过下列方法之一选择公差：

- 默认 — 选择该方法可使用绝对 RFU 值计算公差。最小 RFU 容限值为 2。最大值是最高 RFU 值的绝对值减去最低 RFU 值的绝对值。默认 RFU 公差值是 RFU 总范围的 10%。
- 范围百分比 — 选择该方法可使用 RFU 的范围百分比来计算公差。最小范围百分比为 1%。最大范围百分比为 99%。默认范围百分比为 10%。

## 调整终点数据分析

### 调整“终点”选项卡中的数据

▶ 请执行以下任一操作：

- 从下拉列表中选择一个荧光基团。
- 选择结束循环到平均值，可设置用于计算平均终点 RFU 的循环数。
- 选择相对荧光强度可以相对荧光单位查看数据。
- 选择范围百分比可以 RFU 范围的百分比查看数据。
- 选择反应孔选择器中的反应孔，可重点关注数据的子集。
- 选择反应孔编组，以查看并分析反应板中反应孔的子集。在工具栏的“反应孔编组”下拉菜单中按名称选择每个反应孔编组。

## 用于终点分析的 RFU 电子表格

表 26 定义了“终点”选项卡的 RFU 电子表格中显示的数据。

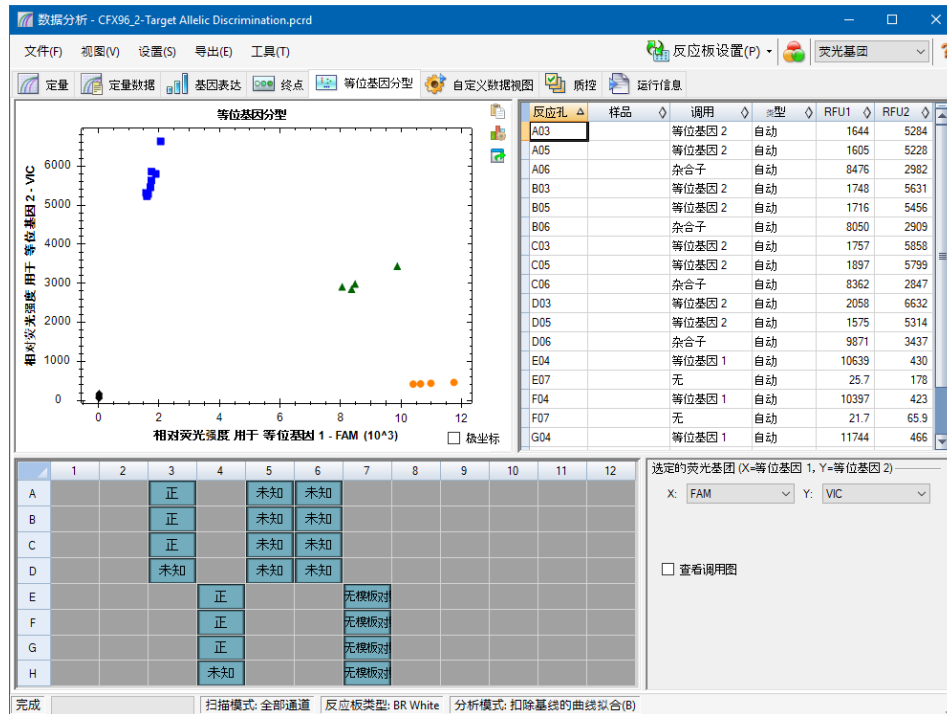
表 26. RFU 终点电子表格内容

信息	说明
反应孔	反应板中的反应孔位置
荧光	检测到的荧光基团
内容	样品类型和重复 # 的组合
终点相对荧光强度	结束循环的 RFU
检出	阳性或阴性，其中阳性样品的 RFU 值大于阴性对照品的平均 RFU 值加上临界值。
样品	在“反应板编辑器”中加载的样品名称

## “等位基因分型”选项卡

“等位基因分型”选项卡将基因型分配给未知样品的反应孔。使用这些数据来识别具有不同基因型的样品,包括等位基因 1、等位基因 2、杂合子,无判读(无扩增)或未能确定。

**注释:**用于等位基因分型的数据必须来自至少包含两个荧光基团的多重检测。每个荧光基团在所有样品中识别出一个等位基因。



等位基因分型分析最少要求具有下列反应孔信息：

- 每个反应孔含两种荧光基团
- 优化数据分析的 NTC(无模板对照) 样品

CFX Maestro Dx SE 提供四个选项以查看等位基因分型数据：

- 等位基因分型图表—将数据显示在等位基因 1/等位基因 2 的 RFU 图中。图中的每个点表示一个反应孔中两个荧光基团的数据。您可以通过选择并清除“极坐标”复选框来在笛卡尔坐标和极坐标之间切换。笛卡尔坐标在 x 轴上表示等位基因 1 的 RFU, 在 y 轴上表示等位基因 2 的 RFU。极坐标系统在 x 轴上表示角度, 在 y 轴上表示离开原点的 RFU 距离(所有 NTC 的中值)。
- 反应孔电子表格—显示反应板上每个反应孔的等位基因分型数据。



- 反应孔选择器 — 选择具有您要显示的等位基因数据的反应孔。
- 荧光基团选择面板 — 更改“等位基因分型”图表中的 x 轴和 y 轴、要分析的扩增循环数以及是否显示判读图。

## 调整等位基因分型数据

软件根据 NTC 的位置以及来自 NTC 的未知数据点的角度和距离自动将基因型分配给含未知样品的反应孔。

### 调整等位基因分型的数据

► 请执行以下任一操作：

- 要显示极坐标，请选中“等位基因分型”图表中的复选框。
- 要查看另一个荧光基团，请从“选定的荧光基团”面板的下拉列表中进行选择。
- 要更改调用，请拖动“等位基因分型”图中的数据点并在“选定的反应孔”列表中选择一项：
  - 等位基因 1
  - 等位基因 2
  - 杂合子
  - 未确定
  - 无调用
  - 自动调用

**提示：**选择“自动调用”以恢复为默认调用。

## 图表菜单选项

除了常见的图表右键单击菜单选项(参见第 191 页上的“图表的常用右键单击菜单项”)之外,表 27 列出了在等位基因分型图表上可用的菜单选项。

**表 27. 等位基因分型图表的右键、左键点击菜单选项**

菜单选项	功能
缩放	将图表视图聚焦所选区域(通过在图表中单击和拖动光标)。 <b>提示:</b> 要恢复缩放以显示所有数据点,请右键单击并选择“将比例还原为默认设置”。
反应孔	对于所选反应孔,选项如下:只显示该反应孔、从视图中移除该反应孔、设置该示踪线的颜色或者从分析中排除该反应孔。
选定的反应孔	对于所选反应孔(通过单击并拖动图表中的光标进行选择),选项为:仅显示这些反应孔、从视图中移除这些反应孔、设置这些示踪线的颜色或从分析中排除这些反应孔。

## 等位基因分型电子表格

表 28 定义了等位基因分型电子表格中显示的数据。

**表 28. 等位基因分型电子表格内容**

信息	说明
反应孔	反应板中的反应孔位置
样品	样品名称说明
检出	等位基因的同源性,包括自动等位基因 1、等位基因 2、杂合子、未检出或未确定
类型	“自动”或“手动”,描述如何进行检出。“自动”表示软件选择该检出。“手动”表示用户选择该检出。
RFU1	等位基因 1 的 RFU
RFU2	等位基因 2 的 RFU

## “自定义数据视图”选项卡

“自定义数据视图”选项卡同时显示可自定义格式的多个窗格。

“加载预设视图”下拉列表提供了一系列显示格式模板。显示的默认视图取决于正在分析的文件。例如，如果存在熔解曲线数据，则将显示“扩增+熔解”默认视图。

**定量摘要结果网格**

反应孔	荧光基团	靶标	内容	样品
B04	FAM	Tubulin	未知-1	6Hr
B05	FAM	Tubulin	未知-2	7Hr
B06	FAM	Tubulin	未知-3	8Hr
C04	FAM	Tubulin	未知-1	6Hr
C05	FAM	Tubulin	未知-2	7Hr

**基因表达结果 - 柱状图**

靶标	样品	对照	表达	表达 SEM
IL1b	7Hr		0.10626	0.00
IL1b	8Hr		0.00209	0.00
IL1b	di-1		2.93656	0.07

**反应孔选择器**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				未知01	未知02	未知03						
C				未知01	未知02	未知03						
D				未知01	未知02	未知03						
E												
F			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			
G			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			
H			标准1	标准2	标准3	标准4	标准5	标准6	标准7			

**柱状图设置面板**

模式: 均一化后的基因表达 ( $\Delta\Delta Cq$ )

图形数据: 相对于对照

分析使用: Samples Only

对照组样品: 6Hr

## 创建自定义数据视图

### 创建自定义数据视图

► 请执行以下任一操作：

- 从下拉列表中选择备用预设视图。
- 从位于每个独立窗口顶部的下拉列表中选择另一个图表视图。
- 更改选项卡中的行数和列数。
- 更改各个窗格的尺寸。拖动每个窗格边缘的条。

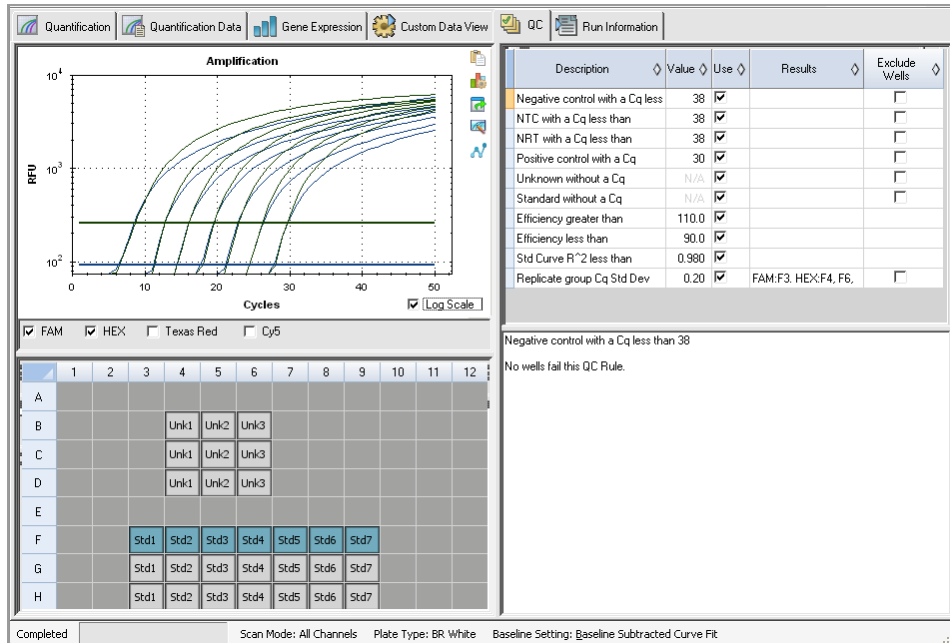
单击“另存为预设”将定制视图布局保存为预设模板。单击“管理预设”以删除，重命名或恢复现有的预设视图。

## 质控选项卡

使用“QC”选项卡可根据在“用户首选项”窗口的“QC”选项卡中定义的快速评估运行数据的质量。

CFX Maestro Dx SE 提供了四个用于查看质控数据的选项：

- **扩增图表** — 显示每个反应孔在每次循环中的相对荧光单位 (RFU)。图表中的每条示踪线表示某个反应孔中单个荧光基团的数据。
- **质控规则表** — 显示可用的质控规则以及用于定义每条规则的设置。应用的质控规则由选中标记指示。
- **反应孔选择器** — 选择具有您要显示的荧光数据的反应孔。
- **质控规则摘要窗口** — 显示选定的质控规则，并高亮显示没有达到标准的反应孔。



## 改变质控标准

### 更改质控标准

- ▶ 选择或清除规则的“使用”复选框以使质控包括或排除它。

## 排除不符合质控的反应孔

CFX Maestro Dx SE 在质控规则表和摘要窗格中的“结果”中显示不符合质控标准的反应孔。

### 排除不符合质控标准的反应孔

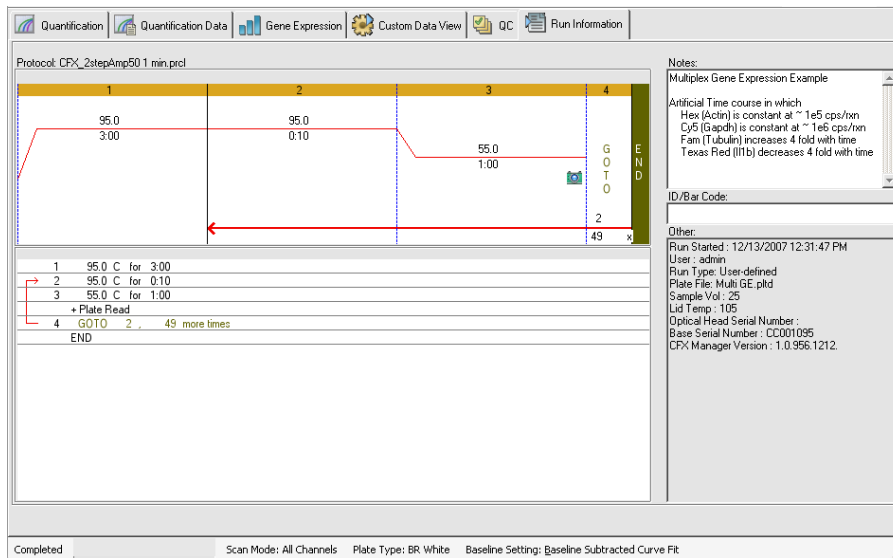
- ▶ 为每个要排除的反应孔选择“排除反应孔”。

## 运行信息选项卡

“运行信息”选项卡显示有关每次运行的扩增程序和其他信息。使用此选项卡执行下列操作：

- 查看扩增程序。
- 输入或编辑有关运行的备注。
- 输入或编辑运行的 ID 或条形码。
- 查看运行期间发生的事件。使用这些消息有助于排除运行故障。

**提示：**右键单击扩增程序可对其进行复制、导出或打印。右键单击“注释”、“ID/条码”或“其他”窗格可撤销、剪切、复制、粘贴、删除或选择文本。

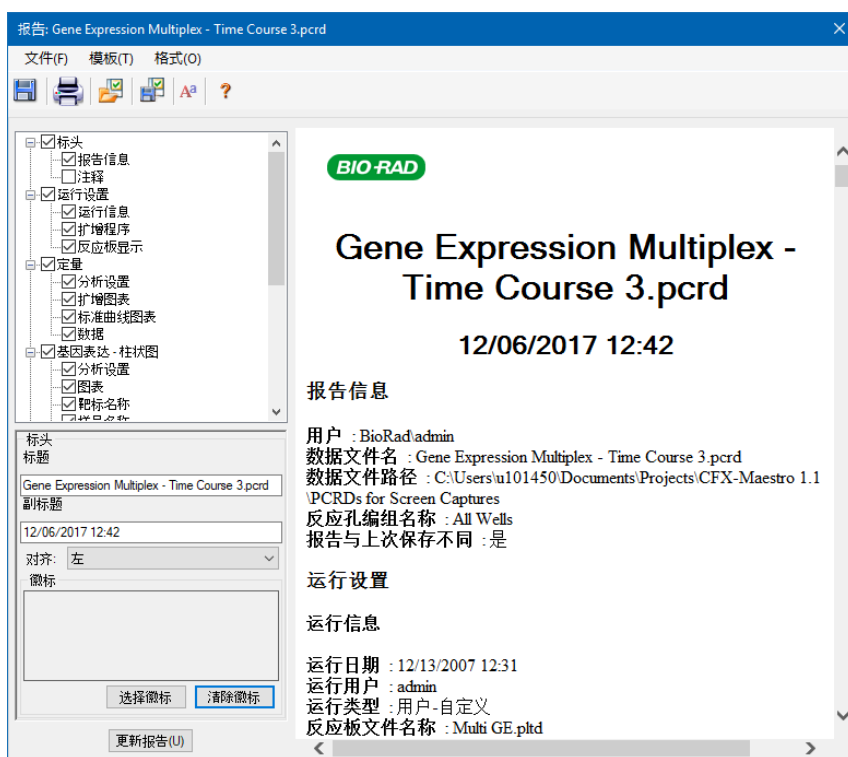


## 数据分析报告

“报告”对话框将在“数据分析”窗口中显示有关当前数据文件的信息。要打开报告，请选择“工具”>“报告”或点击工具栏上的“报告”。

“报告”对话框包含以下部分：

- 菜单和工具栏 — 提供针对报告或模板的格式设置、保存和打印等选项。
- 选项列表(对话框的左上角)— 提供要显示在报告中的选项。
- 选项窗格(对话框的左下方)— 显示文本框，您可以在其中输入有关所选选项的信息。
- 预览窗格(对话框的右侧)— 显示当前报告的预览。





## 数据分析报告类别

表 29 列出了可用于数据分析报告的所有选项，具体取决于“数据分析”窗口中的数据类型。

表 29. 选项列表中的数据分析报告类别

类别	选项	说明
<b>标题栏</b>		
		报告的标题、副标题和徽标
	报告信息	运行日期、用户名、数据文件名称、数据文件路径和所选反应孔编组
	审计信息	审计所需的补充信息，包括签名
	备注	数据报告的备注
<b>运行设置</b>		
	“运行信息”	运行日期、用户名、数据文件名称、数据文件路径和所选反应孔编组
	扩增程序	扩增程序步骤和选项的文本视图
	反应板显示	反应板中各反应孔信息的反应板视图
<b>定量</b>		
	分析设置	数据采集步骤编号、分析模式和基线差减法
	扩增图表	包含定量数据的运行的扩增图表
	标准曲线图表	标准曲线图表
	数据	列出各反应孔中数据的电子表格
<b>基因表达 — 柱状图</b>		
	分析设置	分析模式、图表数据、缩放选项和图表误差
	图表	柱形图的副本
	靶标名称	靶标名称图表

表 29. 选项列表中的数据分析报告类别(续)

类别	选项	说明
	样品名称	样品名称图表
	数据	列出各反应孔中数据的电子表格
	靶标稳定性	靶标稳定性值图表
	箱形图	箱形图
	点图	点图
<b>基因表达 — 聚类图和散点图</b>		
	分析设置	各图表类型设置
	图表	图表副本
	数据	列出各靶标中数据的电子表格
<b>基因表达 — ANOVA 数据</b>		
	ANOVA 设置	分析中使用的 P-值阈值
	ANOVA 结果	ANOVA 和 Tukey HSD 事后分析结果表
<b>熔解曲线</b>		
	分析设置	熔解步骤数和阈值线设置
	熔解曲线图表	熔解曲线图表
	熔解峰图表	熔解峰图表
	数据	列出各反应孔中数据的电子表格
<b>等位基因分型</b>		
	分析设置	显示荧光基团、周期并查看调用地图
	等位基因分型图表	等位基因分型图表的副本
	数据	列出各反应孔中数据的电子表格
<b>终点</b>		

表 29. 选项列表中的数据分析报告类别(续)

类别	选项	说明
	分析设置	荧光基团、要计算平均值的结束循环、模式、最低 RFU 值、最高 RFU 值和临界值
	数据	列出各反应孔中数据的电子表格
<b>质控参数</b>		
	数据	列出各质控规则参数的电子表格

## 创建数据分析报告

您可以将报告布局另存为模板，将其再次用于类似的报告。

### 创建数据分析报告

1. 在创建报告之前，在“数据分析”窗口中对反应孔信息物、所选反应孔、图表和电子表格进行最终调整。
2. 在“数据分析”菜单栏中选择“工具”>“报告”以打开“报告”对话框。
3. 选择要包含在报表中的选项。报告打开时，会显示所选的默认选项。选择或清除复选框可以更改类别中的整个类别或单个选项。

第 230 页上的表 29 列出了要显示的可用选项。

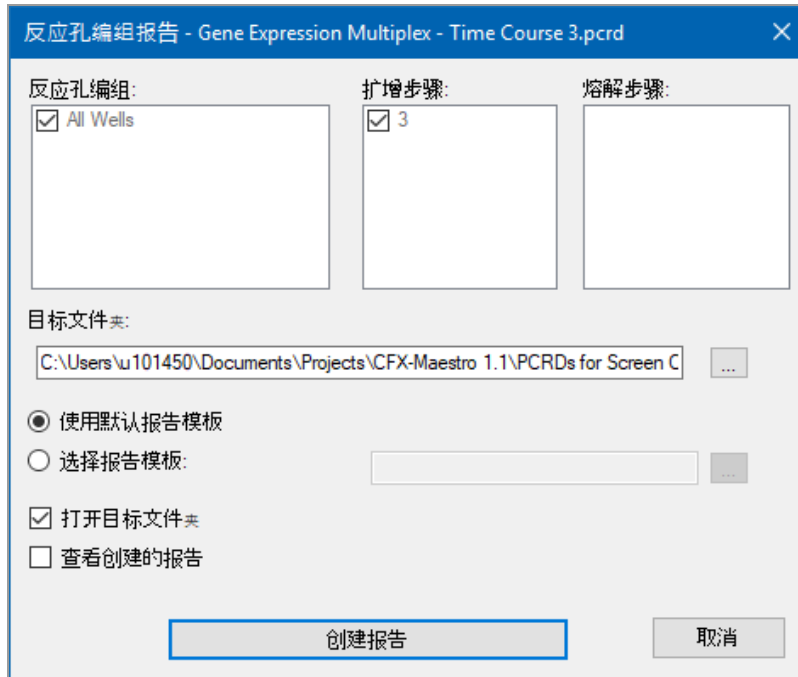
**注释：**报告中显示的数据取决于“数据分析”窗口的选项卡中的当前选择。例如，定量运行可能不包含标准曲线，因此这些数据不会显示在“数据分析”窗口或数据报告中。

4. 更改报告中类别和项目的顺序。将选项拖到相对位置。项目只能在它们所属的类别中重新排序。
5. (可选)在“报告选项”窗格中，输入与所选选项相关的信息：
  - 选择要显示在报告中的信息子集。
  - 为所选选项选择特定设置。
  - 将文本更改为显示所选选项。
6. 单击更新报告以更新包含任何更改的报告预览。
7. 打印或保存报告：
  - a. 单击工具栏中的“打印报告”按钮以打印当前报告。
  - b. 选择“文件”>“保存”将报告保存为 PDF(Adobe Acrobat Reader 文件)、MHT(Microsoft 文档)或 MHTML(Microsoft 文档)文件格式。
  - c. 选择要保存文件的位置。
  - d. 选择“文件”>“另存为”可使用新名称保存报告或将其保存在新位置。
8. (可选)使用所需的信息创建报告模板。要将当前报告设置保存在模板中，请选择“模板”>“保存”或“另存为”。然后，可在下次创建新报告时加载该报告模板。

## 创建反应孔编组报告

### 创建反应孔编组报告

1. 在“数据分析”窗口中选择“工具”>“反应孔编组报告”。



2. 在“反应孔编组报告”对话框中，选择要包括在报告中的反应孔编组、扩增步骤和熔解步骤。
3. 输入路径或导航到保存报告的目标文件夹。
4. (可选)选择“选择报告模板”并导航到模板文件文件夹。
5. (可选)选择“打开目标文件夹”以打开文件夹并在生成报告后查看报告。
6. 单击“创建报告”。

## 第 12 章 基因表达分析

通过在反应中使用严格定量的对照,您可以使用 CFX Maestro Dx 软件,安全版执行基因表达运行来对样品中靶标浓度中的相对差进行均一化。通常,使用一个或多个参考基因的表达水平来均一化靶标基因的表达量。参考基因考虑各样品中加载的差异或其他变化,并且其表达水平不应在所研究的生物系统中受影响。

在“数据分析”窗口中选择“基因表达”选项卡,以评估两个或更多反应孔中 PCR 反应之间的相对差异。例如,您可以评估 PCR 反应中病毒基因组的相对数量或转染序列的相对数量。基因表达研究的最常见应用是比较一个以上反应中的 cDNA 浓度,从而估计信使 RNA 的水平。

软件通过以下情景之一计算某个靶标基因的相对表达水平:

- 靶标序列(靶标 1)相对于另一个靶标(靶标 2)的相对表达水平。例如,在相同样品处理条件下,一个基因相对于另一个基因的相对数量。
- 某靶标序列在不同样品处理条件下的相对表达水平变化;例如,在不同的时间、地理和发育条件下,某个基因的表达水平变化。

### 基因表达分析的反应板设置

要执行基因表达分析,反应孔的内容必须包括以下项目:

- 两个或更多靶标 — 样品中两个代表不同扩增序列或基因的靶标。
- 一个或更多参考靶标 — 至少有一个靶标作为参考以计算均一化表达量。在“实验设置”窗口中分配所有参考靶标,从而以均一化基因表达模式( $\Delta\Delta C_q$ )分析数据。不含有参考基因的实验数据只能以相对表达量模式( $\Delta C_q$ )进行分析。
- 常规样品 — 您的实验必须包括至少 2 个及以上样品,才能在“基因表达”选项卡中查看所绘制的数据。这些样品应代表您的每个靶标序列的不同处理或条件。在“实验设置”窗口中定义对照样品(可选)。如果未选择对照,则软件使用最低  $C_q$  作为对照。

反应板编辑器中的基因表达设置要求取决于 PCR 反应是单重(反应中有一个荧光基团),还是多重(反应中有多个荧光基团)。

## 指引反应板设置

如果数据文件的反应板设置不含分析所需的信息,并且选择了“基因表达”选项卡,则柱形图通常占用的空间将包含有关如何输入此信息的说明。对于均一化基因表达,完成以下步骤:

1. 通过以下任何方式定义靶标名称和样品名称:
  - 反应板设置 — 打开“反应板编辑器”窗口。
  - 更换反应板文件 — 打开选择反应板浏览器,您可以导航到先前保存的反应板文件,用于替换当前的反应板的布局。
  - 替换 PrimePCR 文件 — 打开“选择 PrimePCR 文件”对话框,您可以导航到 PrimePCR 运行文件并将其应用于反应板布局。
2. 使用“实验设置”对话框选择定义一个或多个参考基因和对照样品。

如果反应板布局已经包含靶标和样品信息,则只需要执行第二步,并突出显示为橙色。在执行均一化基因表达分析之前必须完成此步骤。

**注释:**只有在基因表达分析设置下列出的所有均一化基因表达的要求被满足的情况下才会显示散点图和聚类图的数据。

## 基因表达图表

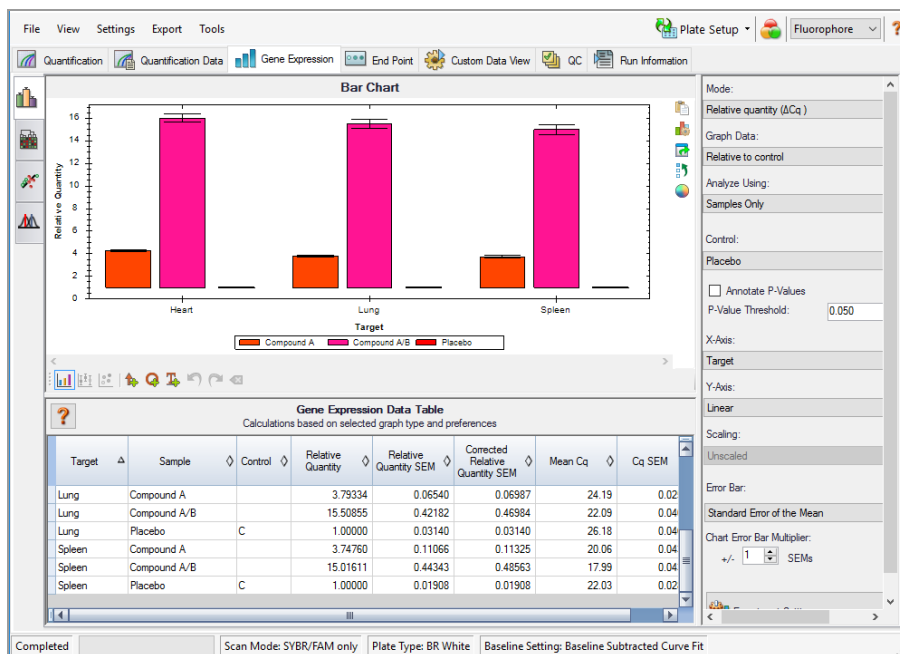
CFX Maestro Dx SE 在多种视图中显示基因表达数据。表 30 列出了软件中可用的图表选项。

表 30. 基因表达图表选项

按钮	名称	功能
	绘制	通过以下视图之一显示均一化基因表达数据： <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 柱状图(默认)</li> <li>■ 盒须图</li> <li>■ 点图</li> </ul>
	聚类图	根据不同靶标和样品的表达的相似度以层次结构显示均一化基因表达数据。
	散点图	显示对照与实验样品的靶标均一化基因表达。
	ANOVA	显示使用下列 R 工具包对基因表达数据执行的单因素 ANOVA 以及 Tukey 检验分析结果： <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 应用回归伴侣 (car)</li> <li>■ 最小二乘均数 (lsmeans)</li> </ul>
	参考基因选择工具	(可在“基因研究”窗口的“研究分析”选项卡上找到) 标识受检参考基因, 并根据稳定性将其分类为理想、可接受或不稳定。
	PrimePCR 对照分析	(可在“基因研究”窗口的“研究分析”选项卡上找到) 显示受检样品的结果。



## 绘制



靶标基因的相对表达呈现在以下两个视图中：

- 基因表达图表 — 将实时 PCR 数据显示为：

- $\Delta\Delta C_q$  — 使用对照样品和参考基因计算的均一化相对表达量。
- $\Delta C_q$  — 样品中靶基因相对于对照样品的相对含量。

有关查看数据的更多信息，请参阅第 239 页上的“更改和注释图表视图”。

- 电子表格 — 显示基因表达数据的电子表格。

**提示：**右键单击任何图表或电子表格以获取选项。从“反应板设置”下拉菜单中选择“查看/编辑反应板”，打开反应板编辑器并更改反应板中的内容。

**提示：**从右键单击菜单中选择排序以重新排列图表中靶标和样品名称的顺序。

### 均一化基因表达

要对数据进行均一化，可将一个或多个参考基因的度量的表达级别用作均一化因子。参考基因是不在所研究的生物系统中进行调节的靶标，如 *actin*、*GAPDH* 或 *tubulin*。

## 设置均一化后的基因表达 ( $\Delta\Delta C_q$ ) 分析

1. 打开数据文件(扩展名为 .pcrd)。
2. 在“数据分析”窗口的“定量”选项卡中查看数据。对数据进行调整,例如更改阈值和分析模式。
3. 选择“基因表达”选项卡。
4. 在“基因表达”选项卡中,单击“实验设置”。
5. 在“实验设置”对话框执行以下操作:
  - a. 选择“样品”选项卡,然后选择一个对照。如果指定了对照,CFX Maestro Dx SE 会将所有基因的相对定量均一化为对照定量,该值设置为 1。
  - b. 选择“靶标”选项卡,然后选择参考基因。基因表达分析需要样品靶标中的一个参考。
6. 如果未选中均一化后的基因表达 ( $\Delta\Delta C_q$ ),则选中它,然后在“基因表达”选项卡中查看表达级别。

**注释:**您也可以使用“设置向导”来设置反应板布局,以进行标准化的基因表达分析。

## 相对定量

根据定义,不会对相对量 ( $\Delta C_q$ ) 数据进行均一化。此方法用于对不包含任何参考基因(靶标)的样品进行定量。通常,研究人员在设置其运行时能满足以下考虑之一:

- 每个样品代表相同模板量,可能是每个孔中相同数量的 RNA 或 cDNA。
- 运行后,可通过软件之外的某些数据分析方法对已加载的生物样品数量的任何偏差进行均一化。例如,研究人员可以选择简单地将相对定量值除以均一化因子,可能是每个样品加载的核酸质量或分离核酸的孔的数目。

## 运行相对量 ( $\Delta C_q$ ) 分析

- ▶ 在“基因表达”选项卡中,从右窗格中的“模式”下拉列表中选择“相对量”( $\Delta C_q$ )。

**提示:**为了将结果与其他基因表达运行的数据进行比较,打开一个新的基因研究或向现有基因研究添加数据文件。

## 更改和注释图表视图

使用图表工具栏菜单命令和数据分析图表工具,您可以更改图表视图,注释每个图表并更改图表显示。图表工具栏出现在图表和屏幕底部的数据分析电子表格之间。

### 柱状图工具栏工具

**提示:**有关数据分析图表右侧出现的图表工具的信息,请参阅第 183 页上的“图表”。

柱状图下方的工具栏提供对注释工具的快速访问。



表 31 中列出了图表工具栏中各个按钮的功能。

表 31. 图表工具栏

按钮	名称	功能
	柱形图工具	显示靶标的相对表达。
	盒须图	将数据显示为四分位数范围(有关计算详细信息,请参阅第 272 页上的“箱形图计算”)。 <b>注释:</b> 仅对分析设置为生物组时可用。
	点图	显示各样品各靶标基因的数据点。 <b>注释:</b> 仅对分析设置为生物组时可用。
	添加箭头	在活动图表上绘制箭头。
	添加圆圈	在活动图表上绘制圆圈
	添加文本	在活动图表上插入一个文本框,从而可添加文本以识别图表中的相关项。
	撤销	删除或恢复在活动图表上执行的最后一个注释。
	重做	恢复在活动图表上执行的上一个撤销操作。
	全部清除	清除活动表上的所有注释。

## 为靶标、样品和生物组数据进行排序

**注释:**此选项仅在基因表达图表中 useful。

靶标、样品和生物组列表默认按照字母顺序排列。使用“排序”对话框以倒序顺序对显示进行排序,或手动将某个条目移动到列表中的其他位置。

### 对靶标、样品和生物组数据进行排序

1. 在图表工具中单击“排序”。

出现“基因表达图表排序”对话框。



2. 在对话框中，单击 **Z-A** 按倒序的顺序对其进行排序。
3. 要手动移动一个条目，选中它并单击图表中间合适的按钮：
  - 单击向上或向下箭头将所选条目移动一个位置。
  - 单击带横线的向上或向下箭头将所选条目移动到列表的顶部或底部。
4. 单击“确定”保存更改并返回到基因表达选项卡中。

## 更改靶标、样品和生物组颜色设置

使用“颜色设置”对话框更改靶标、样品或生物组的颜色，或从图形中删除项目。

### 要更改靶标颜色设置

1. 在“基因表达”对话框的右窗格中，验证样品是否出现在 X 轴下拉列表中。
2. 在“图表”工具中，选择“颜色设置”。  
出现“颜色设置”对话框。
3. 要更改靶标的显示颜色，请在“颜色”列中单击其颜色。
4. 在出现的“颜色”对话框中，选择一个新的颜色并单击“确定”。
5. 要从基因表达图表中移除靶标，请取消选择“显示图表”列中其相应的复选框。

**提示：**要清除所有靶标，请取消选择列标头中的“显示图表”。

6. (可选)默认情况下，柱以纯色显示。要以渐变颜色显示柱，请取消选择“使用纯色”。
7. 单击“确定”保存更改并返回到基因表达选项卡中。

### 要更改样品或生物组颜色设置

1. 在“基因表达”对话框的右窗格中，验证靶标是否出现在 X 轴下拉列表中。
2. 执行第 242 页上的“要更改靶标颜色设置”中的步骤。

## 更改图表视图

### 要更改当前图表视图

- ▶ 选择目标视图的工具栏菜单命令。

**注释：**Gene Expression (基因表达) 选项卡始终打开，以默认的柱状图工具视图显示数据。

## 排除异常数据点

在点图中，您可以轻松查看并排除分析中的异常值。

### 排除异常值数据点

- ▶ 在点图中，右键单击靶标离群值，然后从分析中选择排除孔。

从点图中删除数据点，并在“定量”选项卡的“孔选择器”中将孔更改为灰色。

### 重选已排除的异常值数据点

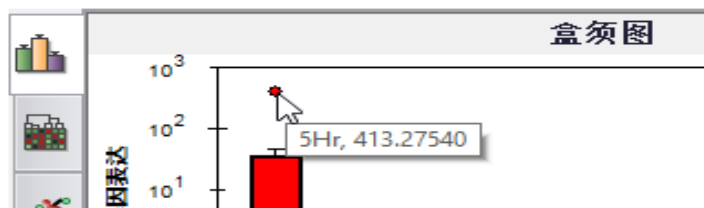
- ▶ 在“定量”选项卡中，右键选择“反应孔选择器”中的反应孔，然后选择“反应孔”>“包含在分析中”。

## 查看数据点详细信息

### 查看点图详情

► 在盒须图或点图中,将光标暂停在单个数据点上。

出现工具提示,显示样品名称及其表达(相对量或均一化基因表达,取决于所选模式)。



## 注释图表

您可以向每个柱形图视图添加箭头、圆圈和文本,以清晰地传递数据。注释与柱形图一起保存并出现在导出和打印的文件中。但是,对一个图表视图进行的注释不会添加到其他图表视图。

### 要在图表上绘制箭头或圆圈

1. 在柱形图工具栏中,单击特定的工具。
2. 在柱形图中单击并根据需要在图表上拖动光标。

### 要向图表添加文本

1. 在柱状图工具栏中,单击添加文本。
2. 在柱形图中单击。相应位置出现一个文本框。
3. 在文本框中添加文本。
4. 单击图表上的任意位置以退出文本框。

**提示:**按 Enter 键,在文本框中添加多行。

### 要移动注释

1. 将光标悬停在注释上。图标变为指向手指,并且注释边框突出显示。
2. 单击注释并将其拖到另一个位置。
3. 释放注释以固定其位置。

### 撤销注释

- ▶ 单击“撤销”。

将删除最近添加的注释。

**提示:**您可以逐个撤销十个最近的注释。

### 还原注释

- ▶ 单击“重做”。

将还原最近删除的注释。

**提示:**您可以逐个还原十个最近的注释。

### 删除注释

- ▶ 右键单击注释选择“删除”。

## 调整基因表达数据

选择分析模式, 即均一化后的基因表达 ( $\Delta\Delta Cq$ ) 或相对定量 ( $\Delta Cq$ ) 后, 通过更改右窗格中的设置选项来调整基因表达图表卡中查看的数据。

**提示:** 您可在“用户首选项”对话框中设置默认基因表达数据选项(参见第 83 页上的“设置默认的基因表达数据文件参数”)。

## 绘制数据

将 Y 轴值设置为线性标度以启用绘制数据选项。图形数据选项允许您在图形中显示其中一个选项:

- 相对于对照 — 图形数据, 轴的比例从 0 到 1。如果在运行中分配对照, 请选择此选项以快速显示靶标的上调和下调。
- 相对于零 — 绘制的数据原点为零。

## 分析使用

使用下拉菜单选择如何对数据进行分析 and 绘图。选项包括:

- 仅样品 — 在每个样品的基础上分析数据并绘制数据图形。
- 仅生物组 — 对生物组进行数据分析并绘制数据图形。生物组的表达量为该组中各样品表达量的几何平均数。
- 样品生物组 — 数据分析和图形绘制基于每个样品, 样品名称后加上所属生物组名称。P-值的计算基于生物组数据。
- 生物组样品 — 数据分析和图形绘制基于每个样品, 样品名称前预置所属生物组名称。P-值的计算基于生物组数据。

从下拉列表中选择一個样品, 用于均一化相对定量数据:

## 注释 P-值和 P-值阈值

当选择注释 P-值时, 如果 P-值低于所选阈值, 则软件在靶标上方的柱形图上显示星号 (\*)。该软件通过使用标准 t-检验比较样品的表达水平与所选对照样品的表达水平来自动计算 P-值。P-值阈值范围为 0.000 — 1.000。

## X 轴选项

x 轴选项允许您选择基因表达图表的 x 轴数据:

- 靶标 — 在 X-轴上显示靶标名称。
- 样品 — 在 X-轴上显示样品的名称。



## Y 轴选项

y 轴选项允许您以下三个尺度之一显示基因表达图表：

- 线性 — 选中该选项将显示线性尺度。

**提示：**将 y 轴设置为“线性”可以激活“图形数据”下拉列表，从中可以选择相对于对照或相对于零绘制图形数据。

- Log2 — 选择此选项以评估较大动态范围内的样品。
- Log10 — 选择此选项以评估非常大的动态范围内的样品。

## 缩放选项

选择均一化基因表达 ( $\Delta\Delta Cq$ )，并将选择其中一种缩放选项，以最适合您的实验设计的方式计算并直观展示数据：

- 未缩放 — 呈现未缩放的均一化基因表达量。
- 最高 — 每个样品的样品的表达除以所有样品中最高的表达量，来计算每个靶标归一化基因的表达。

该缩放选项使用缩放至最高的公式。

- 最低 — 每个样品的样品的表达除以所有样品中最低的表达量，来计算每个靶标归一化基因的表达。

该缩放选项使用缩放至最低的公式。

- 平均 — 每个样品的样品的表达除以所有样品的的几何平均数表达量，来计算每个靶标归一化基因的表达。

此定标选项使用定标至平均值公式。

为基因表达图表中的误差计算类型(误差线)选择一个选项：

## 图表误差线乘数

为基因表达图表中的误差条选择一个乘数。选择以下整数之一：

- +/- 1(默认)
- 2
- 3

倍增器的类型会随所选误差线类型而更改：

- SEMs 表示平均值的标准误差
- Std Devs 表示标准偏差

## 实验设置

**提示:**此对话框也可在“板编辑器”中使用。有关更多信息,请参阅第 137 页上的“更改实验设置”。

在“实验设置”对话框中,如果已向反应孔添加了生物组集名称,您可以查看或更改靶标、样品或生物组列表,选择参考基因,选择对照,或者设置要分析的基因表达分析组。

### 打开实验设置对话框

- ▶ 在“绘图”选项卡中,单击右窗格底部的“实验设置”。  
将出现“实验设置”对话框,显示“靶标”选项卡。

### 调整靶标设置

- ▶ 在“靶标”选项卡中,可执行以下任一操作:
  - 要选择靶标作为基因表达数据分析的参比品,请在“参考基因”列中选择其名称。
  - 要更改基因的代表颜色,请单击“颜色”列中的单元格,然后在弹出的“颜色”对话框中更改颜色。  
颜色变化将出现在基因表达图表中。
  - 要使用先前实验所测定的 PCR 扩增效值,请清除“自动效率”列中勾选的基因名称复选框,并输入靶标基因扩增效率的百分比数字。  
如果靶标基因的数据包括标准曲线,则软件将使用自动扩增效率计算靶标基因的相对扩增效率。

### 调整样品的设置

- ▶ 在样品选项卡中,可执行以下任一操作:
  - 要为基因表达数据分析选择一个样品作为对照,可在“对照”列中勾选该对样品的名称。
  - 要更改样品组的代表颜色,请单击“颜色”列中的单元格,然后在弹出的“颜色”对话框中更改颜色。  
颜色变化将出现在基因表达图表中。
  - 要在基因表达图表中显示样品,请在“显示图表列”中勾选该样品。
  - 要从基因表达图表中删除样品,请在“显示图表”列中将其清除。

**提示:**样品组数据保留在结果表中。

### 从分析计算中排除样品类型

- ▶ 在“实验设置”对话框底部勾选样品类型对应的复选框。

**注释:**可在基因表达分析中排除对照和/或标准品。

## 右键单击菜单选项

右键单击基因表达图表以选择表 32 中显示的项目。

**表 32. 基因表达右键单击菜单项**

项目	功能
复制	将图表复制到剪贴板。
将图像另存为	以图像文件保存图表。设置图像的分辨率和尺寸, 然后选择文件类型 (PNG、JPG 或 BMP)。
页面设置	选择页面打印设置。
打印	打印图表。
将比例还原为默认设置	全部显示显示柱状图中的所有数据。如果在图表框架中显示的样品太多, 则显示滚动条, 同时保持保持最小条宽。
图表设置	打开“图表设置”窗口可以调整图表。
排序	对图表 X 轴上出现的样品或靶标的顺序进行排序。
使用校正的标准偏差	使用修正的标准偏差公式计算误差线。
使用实心条颜色	在图表中显示实心条。
X-轴选项卡	水平或倾斜显示 X 轴标签。

## 数据电子表格

表 33 定义了基因表达数据表中显示的数据。

**注释:**表中的值根据图形类型和在右窗格中选择的首选项计算得出。

**表 33. 选项卡电子表格中的信息说明**

信息	说明
靶标	在“实验设置”窗口中选择的靶标名称(扩增基因)。
生物组 样品生物组 生物组样品	在“实验设置”窗口中选择的“样品”和/或“生物组”名称。
对照	在“实验设置”窗口中选择的对照名称。当 <b>Analyze Using</b> (分析使用) 设置为 <b>Samples Only</b> (仅样本) 时, 则 <b>Control</b> (对照) 是在 <b>Experiment Settings</b> (实验设置) 窗口中选择的样本。当选择仅生物组、样品生物组或生物组样品时, 对照为“实验设置”窗口中的选中的生物组。
相对定量或 表达量	相对量 ( $\Delta C_q$ ) 或均一化基因表达 ( $\Delta\Delta C_q$ ), 取决于所选模式。
相对定量或表达量 SEM(或 SD)	平均值的标准误差 (SEM) 或相对量或均一化基因表达的标准偏差 (SD), 取决于所选的选项。仅当 <b>Analyze Using</b> (分析使用) 设置为 <b>Samples Only</b> (仅样本)、 <b>Sample Biological Group</b> (样本生物组) 或 <b>Biological Group Samples</b> (生物组样本) 时可用。
校准的相对定量或表达量 SEM(或 SD)	使用校正值计算的相对定量或均一化表达量的 SEM 或 SD, 根据所选选项。仅当“分析使用”设置为“仅样品”、“样品生物组”或“生物组样品”时有效。
平均 $C_q$	定量循环的平均值(如果“分析使用”设置为仅生物组则不被显示)。
$C_q$ SEM(或 SD)	定量循环的 SEM 或 SD, 依赖所选选项(如果“分析使用”设置为仅生物组则不被显示)。

## 显示详细信息选项

表 34 定义了从柱形图电子表格的右键单击菜单中选择“显示详细信息”时显示的数据。

**表 34. 选择“显示详细信息”时柱形图电子表格中的信息**

信息	说明
数据集	数据文件中来自一个荧光基团的荧光数据
相对定量	计算得出的样品相对量
相对量 SD	相对量计算的标准偏差
校正相对量 SD	计算得出的校正相对量的标准偏差
相对量 SEM	相对量计算的平均值标准误差
校正相对量 SEM	计算得出的校正相对量的平均值标准误差
相对定量 (lg)	用于统计分析的相对量的 $\text{Log}_2$
SD RQ (lg)	相对量 ( $\text{log}_2$ ) 的标准偏差
SEM 表达 (lg)	表达 ( $\text{log}_2$ ) 的平均值标准误差
未缩放的表达	计算得出的未缩放表达
未缩放表达 SD	计算得出的未缩放表达的标准偏差
校正未缩放表达 SD	计算得出的校正未缩放表达的标准偏差
未缩放表达 SEM	计算得出的未缩放表达的平均值标准误差
校正未缩放表达 SEM	计算得出的校正未缩放表达的平均值标准误差
未缩放表达量 (lg)	未缩放表达的 $\text{Log}_2$
未缩放表达量 SD (lg)	未缩放表达 ( $\text{log}_2$ ) 的标准偏差
SEM 未缩放表达量 (lg)	未缩放表达 ( $\text{log}_2$ ) 的平均值标准误差
表达	均一化基因表达
校正的表达标准偏差	计算得出的校正表达量的标准偏差
表达 SEM	平均表达量的标准误差
校正的表达 SEM	计算得出的校正表达量的平均值标准误差

表 34. 选择“显示详细信息”时柱形图电子表格中的信息(续)

信息	说明
表达量 (lg)	用于统计分析的表达(均一化基因表达)的 $\text{Log}_2$
SD 表达量 (lg)	表达 ( $\text{log}_2$ ) 的标准偏差
SEM 表达 (lg)	表达 ( $\text{log}_2$ ) 的平均值标准误差
平均 $C_q$	平均定量循环数
$C_q$ 的 SD	定量循环数的标准偏差
$C_q$ 的 SEM	定量循环数的平均值标准误差

## 聚类图

基于表达量的相似度，聚类图以层次结构显示不同靶标基因和样品的数据。

**注释：**您必须选择一个参考靶标基因来显示任何数据色块，而不是柱状图中的相对表达水平。

聚类图像按照如下形式显示样品或靶标基因的相对表达：

- 上调(红色)—高表达
- 下调(绿色或蓝色)—低表达
- 未调控(黑色)
- 无计算结果(带白色 X 的黑色)

颜色越亮，表示相对表达差异越大。如果没有均一化  $C_q$  可以计算，则该方框会显示为黑色，且其中有白色 X。

数据图的外边缘是一个树形图，它表示聚类层次结构。具有相似表达模式的靶标或样品将具有相邻的分枝，而具有不同模式的靶标或样品之间的距离会较远。

## 设置

您可以设置以下选项：

- 聚类方式 — 从靶标基因、样品，两者或者无选择。
- 大小 — 调整图像尺寸，并更改图表放大的程度，以便于查看。
- 拆分重复 — 显示单个重复的数值。

**提示：**您可以从这些图表中的右键单击菜单中选择相关选项，将的颜色方案从默认的红/绿更改为红/蓝。。

## 右键单击菜单选项

聚类图的右键单击菜单选项与柱状图的菜单选项相同。请参见第 248 页上的表 32 了解可用选项。另外，您可以在颜色选择方案中将图表中下调表达的颜色从默认的红/绿改为红/蓝。

## 数据电子表格

电子表格显示靶标基因、生物组和均一化表达量。

## 散点图

散点图显示实验样品的靶标基因相对于对照的均一化表达量。图表中的线表示倍数变化阈值。两条斜线之间的数据点表示这些靶标(基因)在不同样品中的表达量水平类似。位于两条阈值线之外的数据点表示表达量差异较大。

图像显示基于倍数变化阈值,显示靶标表达的下列变化:

- 上调(红圈)—相对高表达
- 下调(绿圈或蓝圈)—相对低表达
- 不变(黑圈)

单击并拖动任一阈值线以调整倍数变化阈值。

## 设置

您可以设置以下选项:

- 对样品
- 实验样品
- 倍数变化阈值。当您增加或降低倍数变化值时,图表中的阈值线会相应移动。

## 右键单击菜单选项

散点图的右键单击菜单选项与柱状图的菜单选项相同。请参见[第 248 页上的表 32](#)了解可用选项。此外,选择“符号”将图上使用的符号从默认的圆圈更改为以下符号之一:

- 三角形
- 十字形
- 方形
- 菱形

## 数据电子表格

电子表格显示靶标值、对照与实验样品的均一化表达量。它还显示靶标相较于靶标调控上调还是下调。



## 结果电子表格

结果电子表格汇总了所有图表中的数据。表 35 定义了“结果”电子表格中显示的数据。

**表 35. “结果”选项卡中的信息**

信息	说明
靶标	靶标名称(扩增基因)
样品	样品名称
平均 $C_q$	定量循环平均值
平均效率校正 $C_q$	调整扩增效率后的定量循环平均值
均一化基因表达量	均一化为参考靶标的靶标表达 ( $\Delta\Delta C_q$ )
相对均一化表达	相对于对照样品的均一化基因表达;也叫倍数变化
调节	相对于对照样品的表达变化
已与调节阈值比较	根据阈值设置上调或下调实验样品

**注释:**复制数据只能在已选择“拆分重复”的“数据分析”选项卡电子表格中找到(即 Clustergram)。如果在柱形图上对照样品选择“无”,那么基因表达分析电子表格中的表达数据可能存在差异。

## 基因研究

创建基因研究，以比较来自一个或多个实时 PCR 实验的基因表达数据，使用批次间校准样品在实验之间进行均一化。通过将一个或多个数据文件 (.pcrd 扩展名) 的数据添加到基因研究中来创建基因研究。软件将它们合并成一个文件 (.mgxd 扩展名)。

**注释：**您在基因研究中可以分析的最大样品数量受计算机 RAM 和虚拟内存大小的限制。

### 批次间校准

软件在每个基因研究中尝试为每个靶标基因自动执行批次间校正，以使消除相同靶标基因在不同的实时 PCR 运行中测定结果的差异(即，从不同的反应板产生的不同的 .pcrd 文件)。

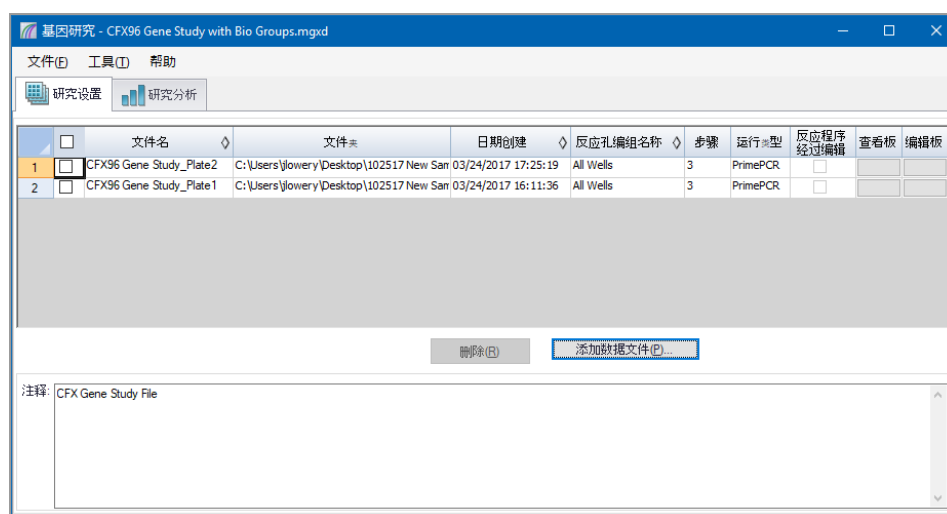
为了使软件将某样品识别为批次间校准样品(IRC 样品)，必须在正在比较的每个反应板中共享同样的靶标名称、样品名称和生物集名称(如果使用)。

**注释：**基因研究中必须存在至少一个批次间校准样品，以进行运行批次间校正。在基因研究中，没有适当批次间校准样品的靶标将在未校正地情况下进行处理(不推荐)。

批次间校准样品可以通过两种方式获得：

- 每个靶标基因 — 不同的 PCR 引物可具有不同的扩增效率。默认情况下，将批次间校准样品应用于具有相同靶标名称的同一板上的所有反应孔，例如用相同扩展反应生成的 Cq。
- 整个研究 — 用户选择一个批次间校正样品并应用于整个基因研究。

### “基因研究”对话框



“基因研究”对话框包括两个选项卡：

- “研究设置”选项卡 — 管理基因研究中的各次运行数据。

**重要:** 在基因研究中加入或删除数据不会改变原始文件中的数据。

- “研究分析”选项卡 — 显示合并各次运行文件的基因表达数据。

## 研究设置选项卡

表 36 定义了“研究设置”选项卡中显示的数据。

表 36. “基因研究”对话框中的“研究设置”选项卡

列标题	说明
文件名称	运行数据文件的名称(扩展名为 .pcrd)
文件夹	存储基因研究中每次运行的数据文件的目录
创建日期	收集运行数据的日期
反应孔编组名称	将文件添加到基因研究中时选择的反应空分组的名称 <b>提示:</b> 要分析基因研究中的某一反应孔编组, 必须在将数据文件导入基因研究之前, 在“数据分析”窗口中选择该反应孔编组。
步骤	包括读板的扩增程序步骤, 用于收集实时 PCR 数据
运行类型	用户自定义还是 PrimePCR 实验
编辑的扩增程序	如果选中, 表示用于 PrimePCR 运行的扩增程序已经过编辑
查看反应板	使用基因研究中包含的每个运行中的数据打开反应板的反应板图

## 准备基因研究

### 要准备基因研究

1. 在将数据导入基因研究之前, 请在“数据分析”窗口中执行以下操作:

- 验证包含相同内容的样品具有相同的名称。在基因研究中, 软件默认具有相同靶标或样品名称的反应孔包含相同的样品。
- “定量”选项卡中调整基线和阈值 ( $C_q$ ), 以优化每次运行中的数据。
- 选择要包括在基因研究中的反应孔编组。

为显示基因研究中一个反应孔编组的数据, 必须在导入数据文件之前选择该组。

“研究设置”选项卡显示基因研究中所有运行的列表。

2. 在基因研究对话框中选择“研究设置”选项卡。
3. 单击“添加数据文件”从浏览器窗口中选择一个文件。

**提示:**若要运行数据快速添加到基因研究中, 请将数据文件(.pcrd 扩展名)拖拽到“研究设置”对话框中。

4. CFX Maestro Dx SE在添加数据文件时自动执行基因研究分析。选择“研究分析”选项卡以查看结果。

### 从基因研究中删除数据文件

- ▶ 在列表中选择一个或多个文件, 点击删除。

### 在基因研究中添加注释

- ▶ 在注释文本框中输入有关文件和分析的注释。

## “研究分析”选项卡

“研究分析”选项卡显示基因研究中所有的实验数据。可用的基因表达数据分析选项与单个数据文件的相同, 但有以下例外:

- 对于柱状图, 当您单击批次间校准时, 会显示批次间校准值(如果已经计算)。

**注释:**在使用批次间校准时只能使用以下样品类型:

- 未知
- 标准品
- 阳性对照

阴性对照、无样品对照 (NTC) 以及未经转录模板对照 (NRT) 样品类型无法用于 IRC。

- 参考基因选择工具识别参评的待选参考基因, 并根据其稳定性将其分类为理想的, 可接受的或不稳定的三档:
  - 理想的参考基因是稳定的, 并且代表在测试样品间的最小变化。
  - 可接受的参考基因稳定性不理想, 并且表现在测试样品间的中等变化。如果没有更理想的参考基因, 在分析中使用这些参考基因。
  - 不稳定的参考基因表现在测试样品间的较大差异。建议将这些基因排除在参考基因备选之外。
- PrimePCR 分析对照工具在表中显示测试样品的结果:
  - 摘要选项卡显示所有测试样品的摘要。通过所有对照试验的样品呈绿色。未能通过一个或多个质控试验的样品呈黄色。

- PCR 选项卡显示阳性 PCR 质控检测 (PCR) 的结果。该测试检测影响基因表达的抑制或实验问题。
- RT 选项卡显示逆转录质控测定的结果。该测试定性评估 RT 反应的性能表现, 并找出 RT 表现不佳可能负影响基因表达分析的样品。
- gDNA 选项卡显示 gDNA 污染质控测定的结果。该测试可确定样品中是否存在基因组 DNA (gDNA), 其含量可能影响 qPCR 结果。
- RQ 选项卡显示 RNA 质量评测 (RQ1 和 RQ2) 的结果。这些试验定性评估 RNA 完整性是否可能对基因表达产生不利影响。

## 基因研究报告类别

使用“基因研究报告”对话框将基因研究数据包括在报告中。[表 37](#) 列出了可用于基因研究报告的所有选项。

**表 37. 基因研究报告的类别**

类别	选项	说明
<b>标题栏</b>		
		报告的标题、副标题和徽标
	报告信息	日期、用户名、数据文件名称、数据文件路径和所选反应孔编组
	基因研究文件列表	基因研究中所有数据文件的列表
	备注	数据报告的备注
<b>研究分析:柱状图</b>		
	分析设置	所选分析参数的列表
	图表	显示数据的基因表达柱形图
	靶标名称	基因研究中的靶标列表
	样品名称	基因研究中的样品列表
	数据	显示数据的电子表格
	靶标稳定性	靶标稳定性数据
	批次间校准	批次间校准数据

表 37. 基因研究报告的类别(续)

类别	选项	说明
	箱形图	基因表达盒须图
	点图	基因表达的点图
<b>研究分析: 聚类图和散点图</b>		
	分析设置	各图表类型设置
	图表	显示数据的基因表达图表
	数据	列出各靶标中数据的电子表格
<b>研究分析: ANOVA 数据</b>		
	ANOVA 设置	分析中使用的 P-值阈值
	ANOVA 结果	ANOVA 和 Tukey HSD 事后分析结果表
	Shapiro-Wilk 正态性检验	分析中各靶标的生物组、计数、P-值和任何误差
	ANOVA 误差	ANOVA 计算过程中发现的误差

## 创建基因研究报告

### 要创建基因研究报告

1. 在创建报告之前, 根据需要调整基因研究报告数据和图表。
2. 在“基因研究”菜单中选择“工具”>“报告”, 打开“报告”对话框。
3. 选择要包含在报表中的选项。报告打开时, 会显示所选的默认选项。选择或清除复选框可以更改类别中的整个类别或单个选项。

第 258 页上的“基因研究报告类别”列出了要显示的可用选项。

4. 更改报告中类别和项目的顺序。将选项拖到所需位置。项目只能在它们所属的类别中重新排序。
5. 单击更新报告以更新包含任何更改的报告预览。
6. 打印或保存报告。单击工具栏中的“打印报告”按钮以打印当前报告。选择“文件”>“保存”以 PDF 格式(Adobe Acrobat Reader 文件)格式保存报告, 并选择要保存文件的位置。选择“文件”>“另存为”可使用新名称保存报告或将其保存在新位置。
7. (可选)使用所需的信息创建报告模板。要将当前报告设置保存在模板中, 请选择“模板”>“保存”或“另存为”。然后, 可在下次创建新报告时加载该报告模板。

## 附录 A 数据分析计算

CFX Maestro Dx 软件, 安全版 可自动计算公式, 并在“数据分析”选项卡中显示结果。本附录详细说明了 CFX Maestro Dx SE 的各种计算公式。

### 扩增效率

有证据表明, 在分析基因表达数据时, 对每种引物和探针组使用准确的效率测量指标可为您提供更准确的结果。基因表达计算中使用的效率默认值为 100%。为了评估扩增效率, 在相关动态范围内使用连续稀释的代表性样品生成标准曲线, 然后记录后续基因表达分析的效率。如果您的运行包含标准曲线, 则当在“实验设置”窗口的“靶标”选项卡中选“自动效率”时, 软件将自动计算效率并将其显示在“定量”选项卡上的“标准曲线”下。

效率公式中的效率 (E) 是指 Pfaffl (2001) 和 Vandesompele 等人 (2002) 描述的“效率”。在这些出版物中, 效率为 2(每个循环完美倍增) 等于该软件中的 100% 效率。通过使用下列数学关系, 您可以选择将效率计算转换为在软件中使用的计算:

- $E = (\% \text{ 效率} * 0.01) + 1$
- $\% \text{ 效率} = (E - 1) * 100$

### 相对定量

任何样品 (GOI) 的相对定量 ( $\Delta Cq$ ) 都是通过此公式计算得出:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

**注释:** 当没有对照样品或生物组定义时, 该公式被用于计算相对定量。

其中:

- E = 引物和探针的扩增效率。该效率是通过公式  $(\% \text{ 效率} * 0.01) + 1$  计算得出的, 其中 100% 效率 = 2
- $Cq(\text{最小值})$  = GOI 的具有最低平均  $Cq$  的样品的平均  $Cq$
- $Cq(\text{样品})$  = 样品的平均  $Cq$  或生物组  $Cq$  均值的平均数
- GOI = 目的基因(一个靶标)



## 选择对照样品时的相对量

如果指定了对照样品或生物组，则将使用此公式计算具有目的基因的任何样品 (GOI) 的相对定量 (RQ):

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left( C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})} \right)$$

其中:

- E = 引物和探针的扩增效率。该效率是通过公式 (% 效率 \* 0.01) + 1 计算得出的, 其中 100% 效率 = 2
- $C_{q(\text{对照})}$  = 对照样品或生物组的平均  $C_q$
- $C_{q(\text{样品})}$  = 具有 GOI 的任何样品的平均  $C_q$
- GOI = 目的基因(一个靶标)

## 相对定量的标准偏差

**重要:** 该计算公式仅适用于当“分析使用”中设定为“仅样品”、“样品生物组”或“生物组样品”。

使用下列公式计算相对定量的标准偏差:

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

其中:

- SD 相对定量 = 相对定量的标准偏差
- $\text{SD } C_{q \text{ GOI}} \text{ 样品}$  = 样品 (GOI) 的  $C(t)$  的标准偏差
- 相对定量 = 样品的相对定量
- E = 引物和探针的扩增效率。该效率是通过公式 (% 效率 \* 0.01) + 1 计算得出的, 其中 100% 效率 = 2
- GOI = 目的基因(一个靶标)

## 效率校正的 C<sub>q</sub> (C<sub>qE</sub>)

使用下列公式计算效率校正的 C<sub>q</sub>:

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

其中:

- E = 扩增效率

## 平均效率校正的 C<sub>q</sub> (MC<sub>qE</sub>)

使用下列公式计算平均效率校正 C<sub>q</sub>:

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE}(\text{Rep 1}) + C_{qE}(\text{Rep 2}) + \dots + C_{qE}(\text{Rep n})}{n}$$

其中:

- C<sub>E</sub> = 效率校正后的 C<sub>q</sub>
- n = 重复的次数

## 均一化基因表达量

均一化基因表达 ( $\Delta\Delta C_q$ ) 是均一化至生物系统中参考靶标(基因或序列)量的靶标(基因)相对量。要选择参考靶标,请打开“实验设置”窗口,然后单击每个用作参考基因的靶标的参考列。

下列公式描述了均一化基因表达的计算,该公式使用了计算得出的相对定量 (RQ) 计算:

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{\left(\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}}\right)^{\frac{1}{n}}}$$

其中:

- RQ = 样品的相对定量
- Ref = 实验中的参考靶标,它包含每个样品中的一个或多个参考靶标
- GOI = 目的基因(一个靶标)

假设参考靶标不会改变其在您生物系统中的表达水平,则均一化基因表达计算将可以解释每个样品中表示的加载差异或细胞数量差异。

## 生物组的表达和相对量

当“分析使用”设置为“仅生物组”时，软件显示生物组内样品的平均表达(均一化基因表达或相对量，取决于模式选择)。因为表达通常呈对数正态分布，所以表达平均值为几何平均值：

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

其中：

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$  = 在生物组中样品的相对定量或是均一化表达量
- $n$  = 生物组中的样品数量

## 选择对照样品时的均一化基因表达

在“实验设置”窗口中选择对照样品时，软件将对照样品的表达水平设置为 1。在这种情况下，软件将所有靶标(基因)表达的相对定量都均一化为对照定量(值为 1)。此均一化基因表达等效于选择对照时未缩放的均一化基因表达分析。

**注释：**这也被称为相对均一化表达 (RNE) 和倍数变化。

## 均一化基因表达的标准偏差

根据您选择的定标选项, 通过使用均一化基因表达的标准偏差除以最高或最低个别表达水平的均一化基因表达值来完成对均一化基因表达值的重新定标。可使用下列公式计算均一化因子的标准偏差 (SD):

$$SD \text{ NF}_n = \text{NF}_n \times \sqrt{\left(\frac{SD \text{ RQ}_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD \text{ RQ}_{\text{sample (Ref 2 件)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2 件)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD \text{ RQ}_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

其中:

- RQ = 样品的相对定量
- SD = 标准偏差
- NF = 均一化因子
- Ref = 参考靶标
- n = 参考靶标数

如果指定了对照样品, 则不必在标准偏差上执行此重缩放功能, 如下列公式所示:

$$SD (\text{NE}_{\text{sample (GOI)}}) = (\text{NE}_{\text{sample (GOI)}}) \times \sqrt{\left(\frac{SD \text{ NF}_{\text{sample}}}{\text{NF}_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD \text{ RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

其中:

- NE = 均一化后的基因表达
- RQ = 样品的相对定量
- SD = 标准偏差
- GOI = 目的基因(一个靶标)

## 缩放至最高表达水平的均一化基因表达

当运行不包括对照样品时, 通过将每个样品的表达水平除以所有样品的最高表达水平来缩放每个靶标(基因)的均一化基因表达 (NE)。软件将最高表达水平设置为 1, 并重新调整所有样品表达水平。可使用下列公式计算最高缩放:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{highest sample (GOI)}}}$$

其中:

- GOI = 目的基因(靶标)

## 缩放至最低表达水平的均一化基因表达

当运行不包括对照样品时, 通过将每个样品的表达水平除以所有样品的最低表达水平来缩放每个靶标(基因)的均一化基因表达 (NE)。软件将最低表达水平设置为 1, 并重新调整所有样品表达水平。可使用下列公式计算最低缩放:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{lowest sample (GOI)}}}$$

其中:

- GOI = 目的基因(靶标)

## 缩放至平均表达水平的均一化基因表达

当运行不包括对照样品时, 通过将每个样品的表达水平除以所有样品的几何平均表达水平来缩放每个靶标(基因)的均一化基因表达 (NE)。软件将平均表达水平设置为 1, 并重新调整所有样品表达水平。可使用下列公式计算最低缩放:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

其中:

- GOI = 目的基因(靶标)
- GM = 所有样品均一化表达量的几何平均数

## 缩放后均一化基因表达的标准偏差

根据选择的缩放选项,可用均一化基因表达的标准偏差除以最高或最低单个表达水平的均一化基因表达值,这样便可以对均一化基因表达值进行重缩放。

**注释:**如果指定了对照样品,则不必在标准偏差上执行此重缩放功能。

如下列公式所示:

$$\text{SD Scaled (NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD (NE}_{\text{sample (GOI)}}}{(\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}})$$

其中:

- NE = 均一化后的基因表达
- SD = 标准偏差
- GOI = 目的基因(靶标)
- MAX = 最高表达水平
- MIN = 最低表达水平

## 标准偏差误差 (lg) 和平均值的标准误差 (lg)

除了使用置信区间外, 还可以根据表达  $\log_2$  的标准偏差或平均值的标准误差显示生物组的误差线。误差的计算公式为:

$$\text{RQ Lower Error Bar} = 2^{\text{RQ}(\lg) - \text{SD RQ}(\lg)} \text{ 或 } 2^{\text{RQ}(\lg) - \text{SEM RQ}(\lg)}$$

$$\text{RQ Upper Error Bar} = 2^{\text{RQ}(\lg) + \text{SD RQ}(\lg)} \text{ 或 } 2^{\text{RQ}(\lg) + \text{SEM RQ}(\lg)}$$

其中:

- $\text{RQ}(\lg)$  = 生物组相对定量的  $\log_2$
- $\text{SD RQ}(\lg)$  = 相对定量的标准偏差 ( $\log_2$ )
- $\text{SEM RQ}(\lg)$  = 相对定量计算的平均值标准误差 ( $\log_2$ )

$$\text{Exp. Lower Error Bar} = 2^{\text{Exp.}(\lg) - \text{SD Exp.}(\lg)} \text{ 或 } 2^{\text{Exp.}(\lg) - \text{SEM Exp.}(\lg)}$$

$$\text{Exp. Upper Error Bar} = 2^{\text{Exp.}(\lg) + \text{SD Exp.}(\lg)} \text{ 或 } 2^{\text{Exp.}(\lg) + \text{SEM Exp.}(\lg)}$$

其中:

- $\text{Exp.}(\lg)$  = 生物组表达量(均一化表达)的  $\log_2$
- $\text{SD RQ}(\lg)$  = 表达量的标准偏差 ( $\log_2$ )
- $\text{SEM RQ}(\lg)$  = 平均表达量的标准误差 ( $\log_2$ )



## 倍数变化

倍数变化是对实验对象和对照组样品或生物组的靶标表达增加或减少的一种测量方法, 计算公式如下:

若实验对象表达量 > 对照表达量:

$$\text{Fold Change} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

若实验对象表达量 < 对照表达量:

$$\text{Fold Change} = -1 / \left( \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

**注释:**对于绘图, 表达基于相对量或均一化基因表达, 具体取决于所选模式(参见第 238 页上的“绘制”)。然而, 对于散点图和聚类图倍数变化始终由均一化表达量计算得出。

## 校正公式

**重要:** 以下计算公式仅适用于当“分析使用”中设定为“仅样品”、“样品生物组”或“生物组样品”。

只有当标准曲线作为实时 PCR 运行的一部分被创建时, 才能看到校正后值与未校正值之间的差异。软件使用三个方程式来确定误差传播:

- 标准误差
- 均一化后的基因表达的标准误差
- 均一化目的基因(靶标)的标准误差

标准误差的公式如下所示:

$$\text{标准品误差} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

其中:

- $n$  = 参考靶标(基因)数
- $SD$  = 标准偏差

均一化基因表达中均一化因子的标准误差公式如下所示:

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2 件)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2 件)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

其中:

- $n$  = 参考靶标数
- $SE$  = 标准误差
- $NF$  = 均一化因子
- $RQ$  = 样品的相对定量

均一化目的基因 (GOI) 的标准误差公式如下所示:

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

其中:

- $SE$  = 标准误差
- $GOI$  = 目的基因(一个靶标)
- $NF$  = 均一化因子

- $n$  = 参考靶标数

## 生物组分析的置信区间计算

当进行生物组分析时(在“分析使用”中选择“仅生物组”),用相对定量和均一化表达进行置信区间计算。

使用以下公式基于  $t$  分布以对数标度计算置信区间:

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

其中:

- $\bar{X}$  = 生物组中样品的对数级表达水平的平均表达
- $SD$  = 生物组中样品对数缩放表达水平的标准偏差
- $n$  = 生物组中样品的数量
- $t$  = 从  $t$  分布得到的自由度和  $\alpha$  水平

**注释:**可使用“绘图”选项卡中的  $P$ -值阈值字段设置  $\alpha$  水平。

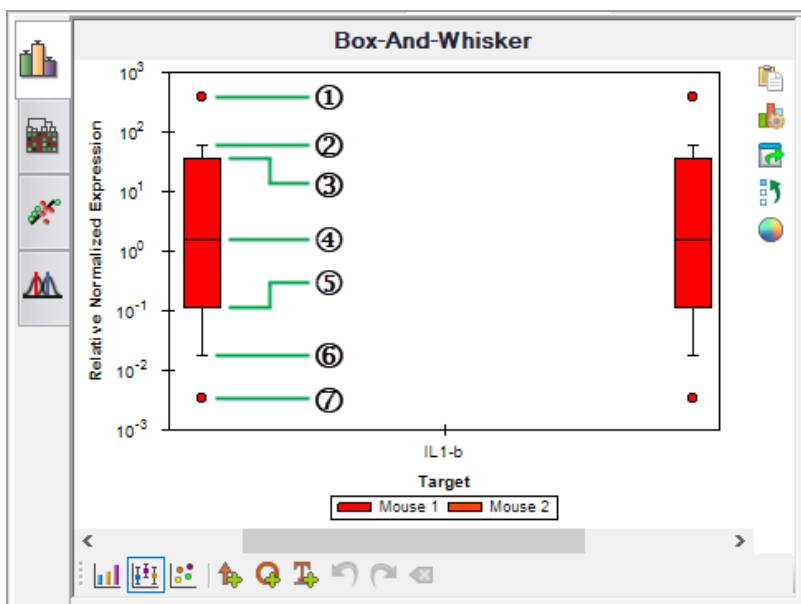
计算置信区间后,将其转换为线性标度并显示在“绘图”选项卡中的“基因表达数据表”和柱形图中。

## 箱形图计算

盒须图是通过将数据绘制为四分位数来显示生物组内表达值的分布。第一和第三四分位数分别用框的下边界和上边界表示。中值在箱形图上显示为实线。在数据集中,线表示最小和最大非离群值。离群值表示超过第 1 和第 3 位四分位数 1.5 倍四分位距的数值。

**注释:**如果在生物组中只有一个样品,它被显示为一个单独的圆,表示一个单一的数据点。

下图的盒须图展示了这些数据的表示方式。



图例

1. 离群。该离群值  $> Q3 + (1.5 \times [Q3 - Q1])$ 。

**注释：**将光标置于圆上，以查看显示示例名称的工具提示，以及根据选择的模式显示的相对数量或均一化表达信息。

2. 最大非离群界限
3. 上边界/第三四分位数 (Q3)。75% 的表达值低于 Q3。
4. 数值从小到大排序的中位线或中位数
5. 下边界/第一四分位数 (Q1)。25% 的表达值低于 Q1。
6. 最小非离群界限
7. 离群。该离群值  $< Q1 - (1.5 \times [Q3 - Q1])$ 。



## 附录 B 审计跟踪

CFX Maestro Dx 软件, 安全版 为数据和基因研究文件(分别为 .prcd 和 .mgxd 文件)创建审计跟踪。保存文件时, 对安全数据和基因研究文件所做的任何更改或操作都将记录在文件的审计跟踪中。CFX Maestro Dx SE 为每个文件创建单独的审计跟踪。

您可以选择“文件”>“另存为”, 然后将安全的签名或未签名数据和基因研究文件保存到另一个文件夹中或使用其他名称保存。新文件将继承原始文件的审计跟踪。新文件的审计跟踪还包括“另存为”活动。对新文件的更改或操作将记录在其自身的审计跟踪中。原始文件保留其审计跟踪, 在其中捕获进一步的活动。

第 277 页上的“可审计事件”列出了软件捕获的可审计事件。

### 查看审计跟踪

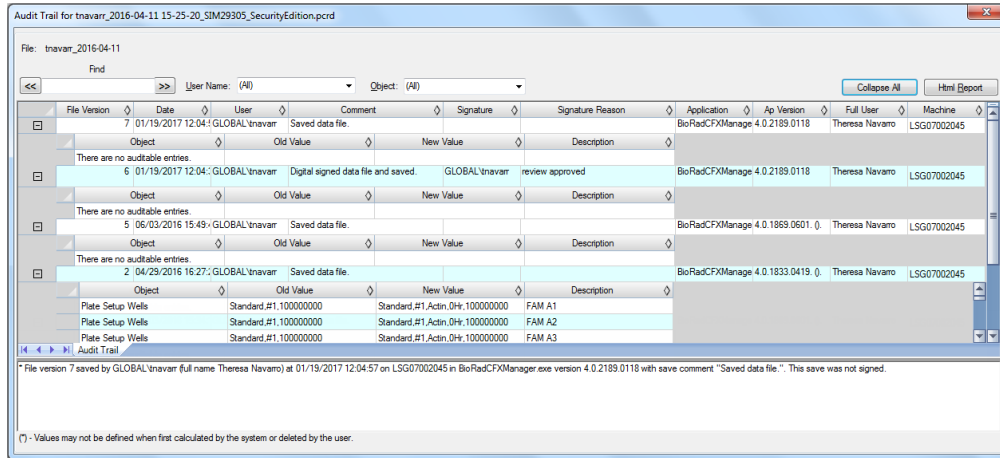
每个审计跟踪显示以下信息:

- 审计标题详细信息
  - 文件版本 — 文件的保存版本
  - 日期 — 当前可审计事件的日期
  - 用户名 — 登录用户的 Windows 域和用户名
  - 评论 — 最后保存的评论
  - 签名 — 最后签署文件者的电子签名
  - 签名原因 — 签名的原因
  - 应用程序 — CFX Maestro Dx SE
  - 应用版本 — CFX Maestro Dx SE 的当前版本。
  - 完全用户 — 登录用户的全名
  - 机器 — 安装 CFX Maestro Dx SE 的计算机
- 审计变化详细信息
  - 对象 — 更改的项目(已审计项目)
  - 旧值 — 先前值

- 新值 — 新的值
- 说明 — 更改说明

### 查看审计跟踪

- ▶ 在打开的数据或基因研究文件中，选择“视图”>“审计跟踪”。出现该文件的审核跟踪。



默认情况下，数据按日期和时间排序，所有事件均显示在展开的视图中。您可以按用户名和对象筛选视图，然后折叠展开的视图，以便按任何标题字段轻松排序。您还可以将审核跟踪查看为 **html** 报告。

### 按用户名排序

- ▶ 从“用户名”下拉列表中选择目标用户。

### 按对象排序

- ▶ 从“对象”下拉列表中选择目标。

### 隐藏事件的完整描述

- ▶ 单击“全部折叠”。

### 对变更明细表中的数据进行排序

- ▶ 单击数据列标题中的菱形符号以进行升序排序(从 **A** 到 **Z**, 从最小数到最大数, 或者从最早到最新)。

### 打印审计跟踪

1. 单击“HTML 报告”，以便在 **Web** 浏览器中显示审计跟踪。
2. 在浏览器窗口中，执行以下任一操作：

- 选择“文件”>“打印”。
- 右键单击报告，然后选择“打印”。

## 可审计事件

CFX Maestro Dx SE 在数据和基因研究文件中捕获以下可审计事件。

### 运行期间的可审计事件

- 运行起始时间
- 运行时间反应板编辑
- 运行时间扩增程序编辑
- 运行结束时间

### 创建数据文件时的可审计事件

- 已创建的数据文件
- 系统添加的插入的读板

### 保存数据文件时的可审计事件

- 常规
  - 名称
  - 签署
  - 反应板设置
  - 显示反应孔
  - 已分析的荧光基团
  - 反应板编辑
  - 分析模式
  - PCR 活动反应孔编组
- “定量”选项卡
  - 活动步骤
  - 设置 — C<sub>q</sub> 定义模式
  - 设置 — 基线设置



- 已应用漂移校正
- 设置 — 要分析的循环
- 设置 — 分析模式
- 设置 — 基准阈值
- “熔解曲线”选项卡
  - 活动步骤
  - 显示的峰类型
  - 峰分析阈值
- “终点”选项卡
  - 活动荧光基团/靶标
  - 终点循环到平均值
  - 公差计算方法
  - 范围百分比
- “等位基因分型”选项卡
  - X 和 Y 轴荧光基团
  - 选择循环数
  - 查看调用地图
- “基因表达”选项卡 — 所有图
  - 实验设置 — 靶标参考
  - 实验设置 — 样品对照
  - 实验设置 — 自动效率
  - 实验设置 — 效率
- “基因表达”选项卡 — 绘图
  - 分析模式
  - 图表数据
  - X 坐标轴
  - Y 坐标轴
  - 缩放选项

- 误差线
- 误差线倍增器
- p-值阈值
- “基因表达”选项卡 — 聚类图
  - 聚类方式
  - 拆分重复
- “基因表达”选项卡 — 散点图
  - 对照生物组
  - 实验生物组
  - 倍数变化阈值
- “基因表达”选项卡 — ANOVA
  - p-值阈值
- 反应板设置 — 查看/编辑反应板
  - 设置 — 反应板类型
  - 设置 — 单位
  - 编辑工具 — 翻转反应板
  - 反应孔编组
  - 反应板荧光基团
- 反应板设置 — 替换反应板并应用 PrimePCR 文件
  - 反应板设置导入

## 基因研究文件的审计变更

### 常规

- 名称
- “研究设置”选项卡
  - 添加/删除数据文件
- “研究分析”选项卡



## 附录 C LIMS 整合

可以对 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 进行配置, 以便与实验室信息管理系统 (LIMS) 配合使用。为进行 LIMS 整合, CFX Maestro Dx SE 需要由 LIMS 平台生成的反应板设置信息 (LIMS 文件, \*.plrn)、使用 CFX Maestro Dx SE 创建的扩增程序文件 (\*.prcl)、确定的数据导出位置和确定的导出格式。

运行完成后, CFX Maestro Dx SE 生成一个数据 (.pcrd) 文件并将其保存到定义的数据导出文件夹位置。CFX Maestro Dx SE 还可以创建 .csv 格式的 LIMS 兼容数据文件并将其保存到相同位置。

### 创建与 LIMS 兼容的数据文件

本附录说明了如何设置 CFX Maestro Dx SE 来创建、保存和导出 LIMS 兼容的数据文件。

#### 设置 LIMS 文件夹和数据导出选项

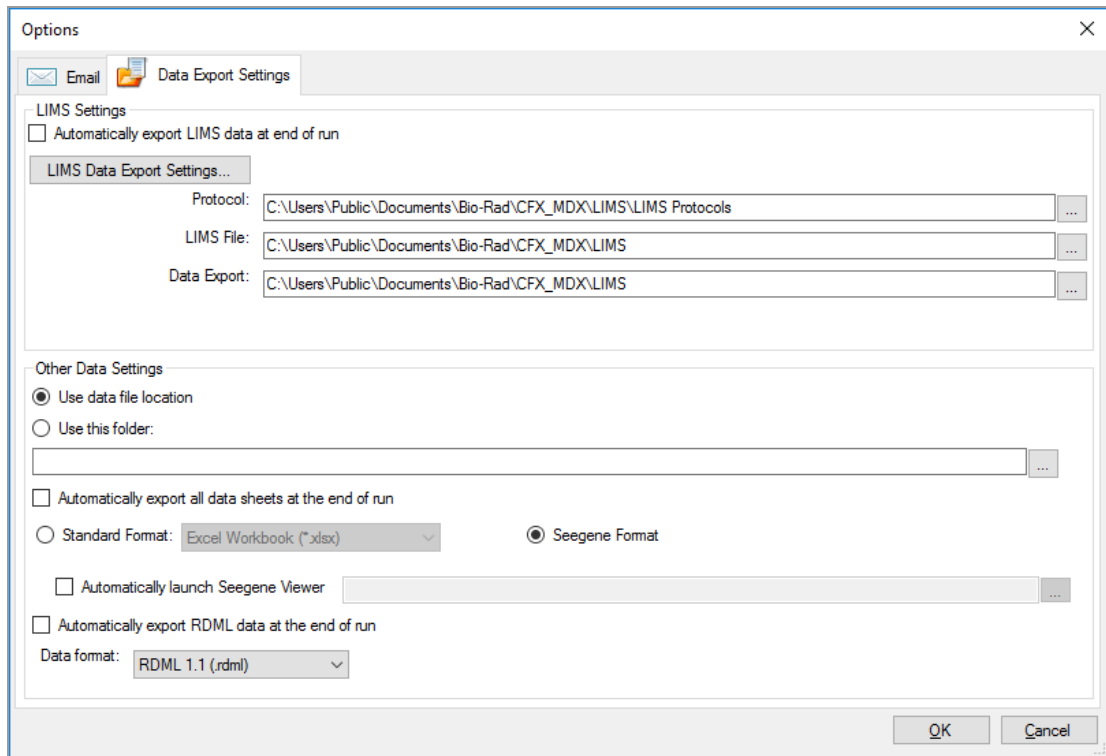
默认情况下, CFX Maestro Dx SE 将 LIMS 扩增程序、文件和数据导出文件保存到此文件夹:

```
C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS
```

您可以配置 CFX Maestro Dx SE 将文件保存到另一个文件夹, 并可以更改 LIMS 数据的导出选项。

#### 设置一个 LIMS 文件夹和数据导出选项

1. 在“主页”窗口中, 选择“工具”>“选项”。
2. 在“选项”对话框中, 选择“数据输出设置”。



3. (可选) 选择“在运行结束时自动导出 LIMS 数据”。  
软件会在每次运行后自动导出 LIMS 数据并将其保存到指定位置。
4. 要更改 LIMS 数据的默认导出选项, 请单击“LIMS 数据导出设置”。  
**重要:** 只有导出为 .csv 文件的 LIMS 数据可以导入回 CFX Maestro Dx SE。
5. 在“LIMS 数据导出格式设置”对话框中, 选择所需的导出选项, 然后单击“确定”。
6. 在“选项”对话框中, 导航到要保存 LIMS 数据文件的默认文件夹并选中。您可以为每种文件类型选择不同的位置:
  - 扩增程序
  - LIMS 文件
  - 数据导出
7. 单击“确定”保存更改并关闭“选项”对话框。

## 创建 LIMS 扩增程序

要启动 LIMS 运行, 请创建 CFX Maestro Dx SE 扩增程序文件 (\*.prcl) 并将其保存在指定的 LIMS 扩增程序文件夹位置。

有关更多信息, 请参阅第 7 章, 创建扩增程序。

## 创建 LIMS 文件

LIMS 文件 (\*.plrn) 包含反应板设置详细信息和扩增程序文件名称。该文件由您的内部 LIMS 生成。CFX Maestro Dx SE 使用 LIMS 文件创建一个与扩增程序文件联用的反应板文件。

CFX Maestro Dx SE 提供反应板导入模板文件, 您可以编辑它们以创建自定义的 LIMS 板文件。

**提示:** 该任务应由 LIMS 专家执行。

### 创建 LIMS 文件

1. 在“主页”窗口中, 选择“查看”>“显示”>“LIMS 文件文件夹”。
2. 打开 LIMS 模板文件夹并选择 .csv 文件以导入您的内部 LIMS。
3. 通过填写表 38 中所列的必填字段对模板文件进行编辑。
4. 执行以下操作之一:
  - 要保存更改以备将来使用, 请将文件另存为 .csv 文件。
  - 要保存更改并立即使用文件, 请将文件扩展名另存为 .plrn。
  - 将文件扩展名 .plrn 的模板保存到 LIMS 文件夹。

**重要:** CFX Maestro Dx SE 只能打开 .plrn 文件。您必须将 .csv 文件另存为 .plrn 才能启动 LIMS 运行。

表 38. LIMS .csv 文件内容的定义

列	行	说明	内容	目的
A	1	反应板标题栏	请勿编辑	预定义
A,B,C	2	字段/数据/说明	请勿编辑	预定义
B	3	版本	请勿编辑	预定义

表 38. LIMS .csv 文件内容的定义(续)

列	行	说明	内容	目的
B	4	反应板大小	请勿编辑	预定义
B	5	反应板类型	输入“BR White”、“BR Clear”或其他校准的反应板类型	必填
B	6	扫描模式	输入“仅限 SYBR/FAM:”、“所有道”或“FRET”	必填
B	7	单位	输入以下各项之一:“副本编号”、“稀释倍数”、“微摩尔”、“纳摩尔”、“皮摩尔”、“毫微微摩尔”、“微微微摩尔”、“毫克”、“微克”、“纳克”、“皮克”、“毫微微克”、“微微微克”或“百分比”	必填
B	8	运行 ID	输入标识本次运行的简短说明或条形码(最多 30 个字符,不允许使用逗号)	可选
B	9	运行注释	输入运行描述	可选
B	10	运行扩增程序	输入与列出的名称完全相同的扩增程序文件名。	必填
A	11	数据文件	输入数据文件名称	可选
A	12-15	待定/空	请勿编辑	预定义
A	16	反应板数据	请勿编辑	预定义
A	17-113	反应孔位置	请勿编辑	预定义

表 38. LIMS .csv 文件内容的定义(续)

列	行	说明	内容	目的
B-G		Ch1 染料、Ch2 染料、Ch3 染料、Ch4 染料、Ch5 染料、FRET	为所使用的每个通道输入一个经校准的染料名称(例如“FAM”)	必填
H		样品类型	输入以下样品类型之一:“未知”、“标准”、“阳性对照”、“阴性对照”、“NTC”或“NRT”	必填
I		样品名称	输入样品名称	可选
J-O		CH1 靶标、CH2 靶标、CH3 靶标、CH4 靶标、CH5 靶标、FRET 靶标	为每个使用的通道输入靶标名称	可选
P		收集名称	输入生物集名称	可选
Q		重复样品	为每一重复样品组输入一个正整数。该值不能为零。	可选



表 38. LIMS .csv 文件内容的定义(续)

列	行	说明	内容	目的
R-W		CH1 数量、CH2 数量、CH3 数量、CH4 数量、CH5 数量、FRET 数量	输入任何标准品的数量值。输入小数格式的浓度值。	对于所有标准品,均为必填字段
X		反应孔备注	输入反应孔备注(最多 20 个字符) <b>注释:</b> 虽然通过软件在反应孔备注中输入注释时,CFX Maestro Dx SE 有 20 个字符的限制,但如果是包含在导入的 .plm 文件中,则反应孔备注字段最多可包含 500 个字符。但是,CFX Maestro Dx SE 将仅显示前 20 个字符。导出的 .pcrd 文件将包含反应孔备注字段中的所有字符,而不会丢失任何数据。	可选
Y-AD		Ch1 反应孔颜色、Ch2 反应孔颜色、Ch3 反应孔颜色、Ch4 反应孔颜色、Ch5 反应孔颜色、FRET 反应孔颜色	以 32 位整型数 (argb) 的十进制数格式输入用户定义的任何示踪线样式颜色	可选

## 开始 LIMS 运行

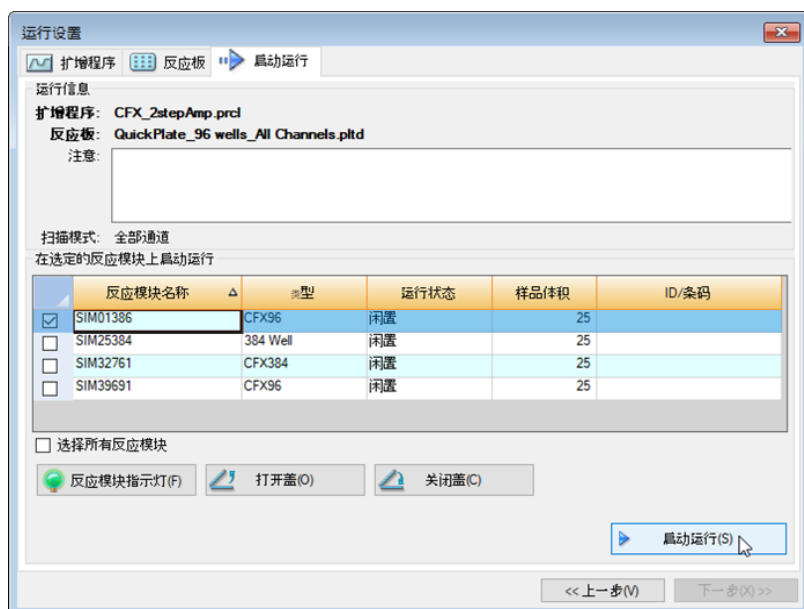
### 开始 LIMS 运行

1. 执行以下任一操作以打开 LIMS .plrn 文件：

- 在“主页”窗口选择“查看”>“显示”>“LIMS 文件夹”，然后打开目标 .plrn 文件。
- 在“主页”窗口选择“文件”>“打开”>“LIMS 文件”，然后打开目标 .plrn 文件。

该文件在“运行安装程序”向导的“启动运行”选项卡中打开。“启动运行”选项卡显示与待运行实验有关的信息。其还显示可运行实验的一个或多个已连接仪器模块。

2. 在“启动运行”选项卡中，选择仪器并单击“启动运行”。



## 将数据导出到 LIMS

运行完成后，CFX Maestro Dx SE 生成一个数据 (.pcrd) 文件并将其保存到预定义的文件夹位置。

### 导出数据到 LIMS

▶ 打开 .pcrd 文件，然后选择“导出”>“导出到 LIMS 文件夹”。

**提示：**如果您在 LIMS 选项中选择“运行后自动导出数据”CFX Maestro Dx SE 会创建一个 .csv 格式的 LIMS 兼容性数据文件并将其保存在同一文件夹中。



## 附录 D CFX Maestro Dx 软件, 安全版故障排除

本附录提供针对一些疑难问题的建议, 这些问题您在升级或运行 CFX Maestro Dx 软件, 安全版时可能会遇到。

### 白名单 CFX Maestro Dx 软件, 安全版 文件和文件夹

为了防御病毒和恶意软件, 您的 IT 部门可能已实施了非常严格的软件安全措施。这些措施可能会影响升级或运行 CFX Maestro Dx SE 的时间。

为了改善 CFX Maestro Dx SE 的性能, Bio-Rad 建议您的 IT 部门将以下文件和文件夹列入您防病毒软件(安装在 CFX Maestro Dx SE 计算机上)的防火墙设置中:

#### 文件夹

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX\_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx

#### 文件

- 位于文件夹 C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx 中的所有 .exe 文件
- R.exe 和 Rscript.exe( 位于文件夹 C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx\R\R-3.3.1\bin)

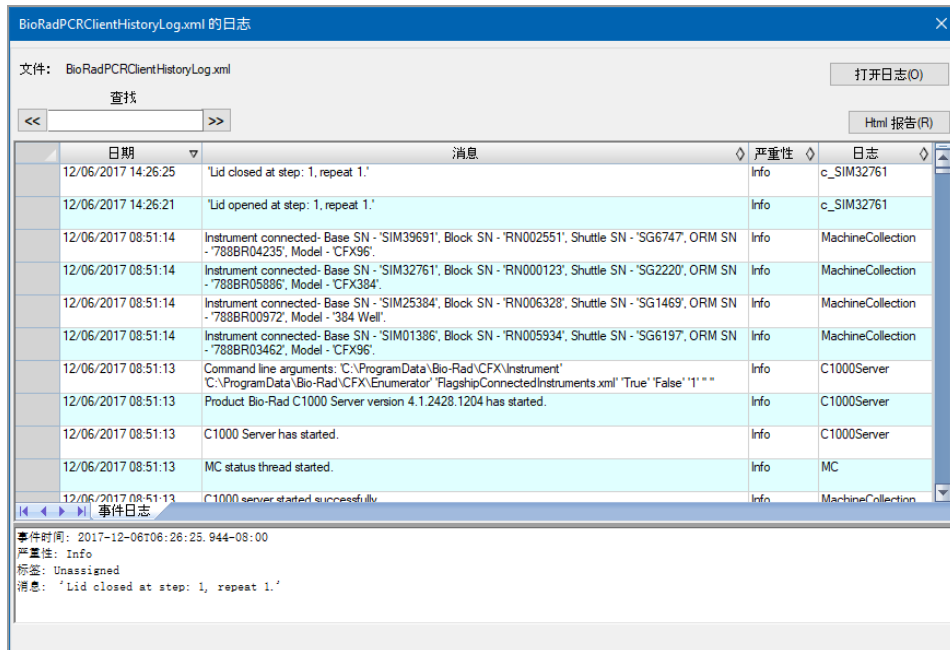
## 应用程序日志

在启动新运行之前, CFX Opus Dx 系统会启动自我诊断测试, 以验证它在规格范围内运行。软件将此测试的结果记录在运行日志和应用程序日志文件中。如果您在一个或多个实验中发现问题, 请打开运行和应用程序日志以了解问题何时开始。

CFX Maestro Dx SE Dx 软件在应用程序日志中运行期间跟踪有关仪器状态的信息。可使用这些日志来跟踪仪器和软件中出现的事件以及故障排除。

### 打开应用程序日志

- ▶ 在“主页”窗口中, 选择“查看”>“应用程序日志”。



要将应用程序日志作为 HTML 文件查看, 请单击“HTML 报告”按钮。

## 检索应用程序和固件日志文件

应用程序和固件日志包含详细说明在使用软件期间执行的操作和运行性能的信息。这些日志还记录在软件或仪器操作期间发生的任何软件或固件错误。

### 要访问应用程序和固件日志文件：

1. 在“检测到的仪器”窗格中右键单击该仪器。
2. 选择“检索日志文件”。
3. 在“浏览文件夹”对话框中，选择您要将日志文件保存到您网络或本地驱动器的目标文件夹。

**注释：**该文件夹命名为“日志”。

4. 单击“确定”以保存文件。

**重要：**使用与现有日志文件相同的文件名保存日志文件将覆盖现有日志文件。

## 故障排除

通常情况下，可以通过重新启动计算机和系统来解决软件和仪器通信问题。重新启动之前，请务必保存任何正在进行的工作。

**注释：**验证您的计算机是否有足够的 RAM 和可用的硬盘空间。最小 RAM 为 4 GB，最小硬盘空间为 128 GB。

## 电源故障

出现电源故障时，仪器和计算机都将关闭。如果电源故障时间短，仪器将在故障后恢复运行扩增程序，但应用程序日志将记录电源故障。根据计算机设置以及电源关闭的时间长短，仪器和软件将尝试根据扩增程序的步骤继续运行：

- 如果程序运行到没有读板的步骤中，则一旦仪器恢复供电，程序将继续运行。
- 如果程序运行到读板的步骤中，仪器将等待软件重新启动并恢复通信以收集数据。在这种情况下，仅当软件未被计算机关闭时，扩增程序才会继续。当计算机和软件再次启动时，运行程序继续。

## 将文件传输到 CFX Maestro Dx SE 计算机

您可以将仪器上的数据和日志文件传输到连接的 CFX Maestro Dx SE 计算机硬盘驱动器中。

**提示：**仪器上的实时数据文件夹中的所有文件都将被检索到计算机。

**注释：**从 CFX Opus Dx 仪器仅能传输日志文件。仪器上的所有日志文件都将传输到计算机。

### 从仪器检索文件

1. 在“主页”窗口的“检测到的仪器”窗格中, 右键单击目标仪器, 然后选择检索日志文件。
2. 选择要保存检索文件的文件夹位置。
3. 单击“确定”。

## 手动安装 CFX Maestro Dx 软件, 安全版

### 手动安装 CFX Maestro Dx SE

1. 如有必要, 请从计算机上断开所有仪器连接。  
在 CFX Maestro Dx SE 电脑上找到并断开仪器的 USB 线。仪器端的 USB 接头可保持插入。
2. 使用管理员权限登录到 CFX Maestro Dx SE 计算机。
3. 将 CFX Maestro Dx SE USB 驱动器插入计算机的 USB 端口。
4. 在 Windows 资源管理器中, 导航到并打开 CFX Maestro Dx SE USB 驱动器。
5. 打开 CFX 文件夹, 然后双击 CFXMaestro Dx Setup.exe 以安装 CFX Maestro Dx SE。
6. 按照屏幕上的指引安装软件。  
完成后, Bio-Rad CFX Maestro Dx 软件, 安全版 启动屏幕出现, 桌面出现 Bio-Rad CFX Maestro Dx 软件, 安全版 图标。
7. 安全弹出软件 USB 驱动器并启动 CFX Maestro Dx SE。

## 重新安装驱动程序

### 重新安装驱动程序

- ▶ 在“主页”窗口中, 选择“工具”>“重新安装仪器驱动程序”。

**注释:**如果在重新安装驱动程序并检查 USB 连接后与实时系统与软件的通信还有问题, 请联系 Bio-Rad 技术支持。

## 附录 E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the “MATERIALS”) included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an “OPEN LICENSE”) govern Bio-Rad’s distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.



## Software Notices

### ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

## Standard Open License Text

### LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]

## Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

#### GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

#### TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output

from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:



a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this

License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!



## 附录 F 参考文献

1. Sugimoto et al.(1996).Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes.Nucleic Acids Research 24, 4,501–4,505.
2. Breslauer KJ et al.(1986).Predicting DNA duplex stability from the base sequence.Proc Nat Acad Sci 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al.(2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data.Genome Biol 8, R19.
4. Livak JL et al.(1995).Towards fully automated genome-wide polymorphism screening.Nature Genetics 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001).A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR.Nucleic Acids Research 29, 2,002–2,007.
6. Vandesompele J et al. . Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes.Genome Biology 3, 1–12.
7. Fox J (2008).Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models.2nd ed (New York:SAGE Publications, Inc.).

### **Minpack 版权声明 (1999) 芝加哥大学版权所有**

允许使用源和二进制形式进行再分发和使用, 无论有无修改, 只要符合以下条件即可:

1. 源代码的再分发必须保留上述版权声明、此条件列表以及以下免责声明。
2. 以二进制形式再分发必须在发行版提供的文档和/或其他资料中复制上述版权声明、此条件列表以及以下免责声明。
3. 重新分发中包含的最终用户文档(如果有)必须包括以下确认信息:

“该产品包含由芝加哥大学开发的软件, 芝加哥大学为阿贡国家实验室的运营商。”





Bio-Rad Laboratories, Inc.  
4000 Alfred Nobel Drive  
Hercules, CA 94547



Bio-Rad  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette, France  
电话: +33 (0)1 47 95 60 00  
传真: +33 (0)1 47 41 91 33  
bio-rad.com



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399  
**Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23  
**France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050  
**Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670  
**The Netherlands** 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23  
**Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

