

CFX Manager 软件基因表达分析快速指南

通过严谨的质量控制，您可以使用 Gene Expression Module of CFX Manager 软件来评估样品之间靶标浓度的相对差异。这种应用最常用的使用是评估 cDNA 样品中靶标的浓度来推断其 mRNA 水平。通常，一个或多个参照基因的含量被用来衡量目标基因的水平。参照基因用来校正上样的差异或各样品取样的差异。通过生物学条件的研究，参照基因的表达水平通常不发生变化。

基因表达分析设置

图 1 显示各样品孔含单一的荧光，四个复制类群，包含两个不同靶标名称和两个不同的样品名称。

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

图1

指定参照基因

1. 点击反应板编辑器中 **Experiment Settings** 或 Gene Expression Module，打开实验设置窗口，图 2。
2. 选择 **Targets**。
3. 点击合适的检查窗选择将被使用为参照基因的靶标。
4. 点击 **Show Analysis Settings** 检查窗，为靶标设置反应扩增效率。
5. Auto Efficiency 检查窗被默认设定。如果实验中运行一个标准曲线，从标准曲线中计算得到的扩增效率将在计算中被使用。或者对合适的靶标输入指定反应扩增效率值，则计算中将使用这一扩增效率值。

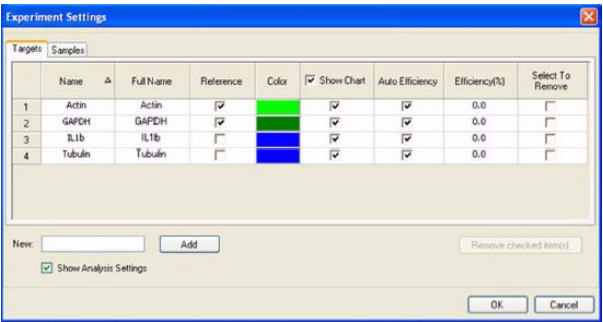


图2

指定对照样本

1. 在 **Experiment Settings** 窗口，选择 **Samples** 标签。



图3

2. 点击合适的检查窗，选择在计算中将被作为对照的样本，图 3。对每个基因来说，对照样本的值被指定为 1，同时所有其他样本相对于对照样本的值会被显示出来。

基因表达分析

选择分析模式

1. 从 Mode 下拉菜单中选择分析模式，图 4：
 - a. Normalized Expression $\Delta\Delta C(t)$ - 靶标基因的相对量可通过样本的参照基因来进行相对量的衡量。
 - b. 相对量 $\Delta C(t)$ - 靶标基因的相对量不能被衡量；结果显示的是实验中靶标基因相对于其他样品的基因浓度。

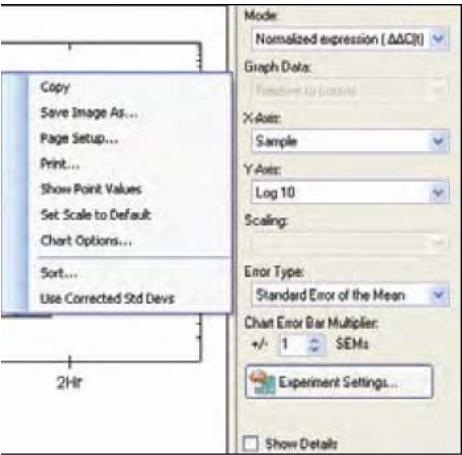


图4

图形选项

1. 从 **Graph Data** 下拉菜单中选择对照相关或零相关的图形数据。在表中，Graph Data 选项默认是对照相关。
2. 从 X 轴下拉菜单中选择 X 轴以 **Sample** 显示或 **Target** 显示。
3. 从 Y 轴下拉菜单中选择 **Linear**, **Log2** 或 **Log10** 作为 Y 轴刻度。
4. 需要时，可从 **Scaling Option** 下拉菜单中选择 **Highest**, **Lowest** 或 **Unscaled**。
5. 从 **Error Type** 下拉菜单中选择 **Standard Error of the Mean** 或 **Standard Deviation**。
6. 鼠标右键点击图形菜单选择 **Sort** 选项来指定 X 轴的显示顺序。
7. 鼠标右键点击图形，复制和粘贴图形或保存图形。

电子表格选项

1. 基因表达分析结果会在电子表格中显示出来，图 5。
2. 选择任一列的标题，通过列值对数据进行分类。
3. 鼠标右键点击电子表格，结果输出为 Microsoft Excel 电子表格或其他文件格式。

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

图5