

CFX duet Real-Time PCR 检测系统快速操作指南



1. 确认系统数据线和电源线连接正常后，打开 CFX duet 仪器的电源开关，系统进入自检。

2. 自检完成后启动 CFX Maestro ，软件将自动搜索设备，完成连接后“Detected Instruments”列表出现设备名称，列表左下方出现“Open lid”和“Close lid”。

3. 点击“Experiment setup ”弹出实验设置选项。

4.  Protocol 标签下，“Create New”可新建热循环程序，“Select Existing”可调用已有热循环程序，“Express load”下拉菜单中可选择各种标准热循环程序，“Edit Selected”可对选中的热循环程序进行编辑。

4.1 新建或编辑热循环程序时，可在图形或文字区域输入各步骤设定温度、时间值。

- 4.2  Insert Step : 插入一个普通温控步骤；

- 4.3  Insert Gradient : 插入温度梯度步骤；

- 4.4  Insert GOTO : 插入热循环范围，须在插入后输入循环起始步骤和循环次数；

- 4.5  Insert Melt Curve : 插入熔解曲线分析步骤；

- 4.6  Add Plate Read to : 插入荧光采集步骤；

- 4.7  Step Options : 对当前温控步骤的变温速率及方式进行调节；

- 4.8  Delete Step : 删除当前温控步骤；

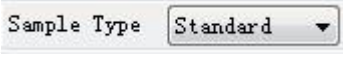
4.9  里应输入 PCR 反应液体积（此例为 25 微升）

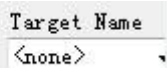
4.10 编辑好热循环程序后点击 OK 保存。

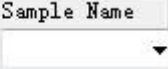
5. 确定热循环程序后点击“Next”或  Plate 标签进入样品位置及类型设定。“Create New”可新建样品设置，“Select”可调用已有样品设置，“Express load”下拉菜单可选择各种标准样品设置，“Edit Selected”可对选中的热循环程序进行编辑。新建和编辑按下面步骤进行：

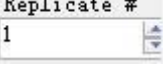
5.1 从  Scan Mode 里选择荧光扫描模式，“SYBR/FAM Only”为单通道快速扫描模式，适用于仅使用核酸染料或/和 FAM 标定探针的情况。“All Channels”为全通道扫描模式，适用于任何检测情况。“FRET”模式使用于特殊的 FRET 探针的情况。

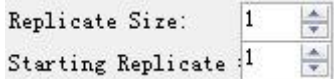
5.2 点击  Select Fluorophores ...，可在弹出的对话框里选择与检测方法一致的荧光素。注意“SYBR/FAM only”模式下只有 FAM/SYBR 可用。

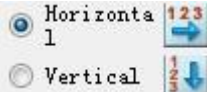
5.3 选择欲使用的样品孔位置后，在  Sample Type Standard 下拉菜单里指定样品类型，此例为 standard 标准品。

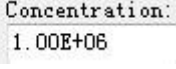
5.4 在  Load SYBR  Target Name <none> 打勾，为所选样品指定荧光类型（此例为 SYBR），根据实验需要，还可在后面的输入扩增基因名称。

5.5 根据需要可在  Load  Sample Name 为输入所选样品孔位的样品名称。

5.6 如果样品设置有重复，可在  Load  Replicate # 1 里逐一指定，或者点击

 Replicate Series 快速设置重复。  Replicate Size: 1 Starting Replicate: 1 中分别填入重复的数量

以及起始重复编号，  Horizontal 1 Vertical 1 可指定重复放置的方向，点击  Apply 即可。

5.7 如果设置了标准品，需要为标准品赋值，可在  Load  Concentration: 1.00E+06 中逐一输入，或者点击  Dilution Series 快速设定。

5.8  Experiment Settings... 可为相对定量数据分析时指定内参基因的名称。

5.9  Clear Replicate # 可解除所选样品的重复设置状态。

5.10  Clear Wells 可删除当前选定的样品孔设置。

5.11 有疑问可点击  Plate Loading Guide，参考在线帮助。

5.12 编辑好板位文件后，点 OK 保存。

6. 确定样品设置后点击“Next”或者  Start Run 准备运行系统。点击  Open Lid 设备自动打开样品槽，按照设置好的样品位置放置好样品，然后点击  Close Lid 关闭样品槽。热盖闭合后点击  Start Run，设备询问数据存放的位置，确定后开始运行。
7. 程序运行时可对 PCR 程序循环数、样品类型进行实施再编辑，也可编辑新的实验方案或者分析数据。
8. 关机：关掉电脑上的软件，关闭仪器后面的电源开关。

注意事项：

1. 设备长时间停用时请勿将样品槽打开闲置，以免灰尘在样品槽上长期积累，影响热传递。
2. 样品槽开闭时让设备自由运行，不得强行人为推动。
3. 需使用低位 PCR 管或 PCR 板，不可同时使用不同规格的耗材。
4. 避免意外断电，建议为设备配置在线式 UPS 系统。
5. 程序未结束前不得关闭系统电源，不得移动电脑上预存储的结果文件。
6. PCR 运行时不要搬动设备，若需要长途运输务必先将设备设置为运输状态，正确打包（请联系 BIO-RAD 工程师）
7. 系统电脑专人管理，制定仪器的合理管理制度严防电脑病毒感染，保证电脑系统的正常运行。