

实时荧光定量 PCR 仪标准操作规程

一、概述：实时荧光定量 PCR 仪主要运用于分子生物学实验中 DNA 或 RNA 的绝对定量分析和基因表达差异分析。

二、操作规程：

1. 开始运行仪器，打开电脑，打开定量 PCR 仪底座开关，启动 Manager 软件。
2. 将 PCR 反应体系加入到 0.2ml 底缘八联管，盖上管盖；或加入底缘 96 孔板，用光学级封膜封好。注意，必须戴一次性塑料手套，不要让手指接触到反应管表面。将反应管按顺序放入仪器的加热孔中。
3. 定量 PCR 软件操作基本步骤为：**a.**设置热循环程序文件(**protocoltab**)
b.设置反应板文件 (**platetab**)。 **c.**点击“**startrun**”键，运行程序。
4. PCR 反应结束后，软件会自动计算标准曲线和 CT 值等，点击右上方的“**Report**”键，可输出结果报告单。
5. 实验结束后取出反应管，顺序关闭 Manager 软件、定量 PCR 仪电源，关闭电脑。

注：热循环程序文件(**protocol tab**)设置指南：点击 **edit**(编辑)或 **create new** (创建新程序)。反应板设置文件 (**plate tab**)设置指南：选择本次试验所需要使用的荧光染料种类；单机样品类型；如要某些反应孔第一荧光染料对应的样品类型为标准品 (**standard**)，点击“**dilution series**”键可设置其标准品浓度及稀释倍数。点击“**start run**”键。单击 **open lid**(打开热盖)或 **close lid** (关闭热盖)放置样品。

三、注意事项

仪器必须放置在平稳的实验台面，保持仪器周围区域清洁。