**SHENTEK**<sup>®</sup>

# 实时荧光 PCR 检测系统

# 型号: SHENTEK-96S

# 使用说明书

货号: 1610860

版本: A/3

仅供研究用

湖州申科生物技术股份有限公司

# 目录

第一章 安全须知	
1.1 符号的定义	1
1.2 操作使用要求	1
1.3 电气安全	2
1.4 电磁兼容	2
第二章 概述	
2.1 适用范围	
2.2 基本原理	
2.3 主要功能	
2.4 主要组成部分	3
2.5 主要结构	
2.6 应用领域	
2.7 仪器面板标识	4
2.8 系统性能参数	4
第三章 仪器安装	
3.1 运输和贮存	6
3.2 拆箱	6
3.3 物品清单	6
3.4 安装要求	6
3.4.1 仪器工作环境	
3.4.2 电脑配置要求	7
3.5 软件系统安装	7
3.6 软件系统检查	
3.7 试剂要求	9
3.8 软件系统质量控制	9
3.9 软件系统操作流程	9
第四章 软件功能详述——实验	
4.1 实验 Home	
4.2 实验向导概述	
4.2.1 实验向导界面	
4.2.2 反应孔选择器	
4.2.2.1 选择反应孔	
4.2.2.2 选择样品	
4.2.2.3 反应孔选择器的功能	
4.2.3 反应孔信息表	
4.3 创建并运行实验	
4.3.1 新建实验	

## SHENTEK®

4.3.2 输入实验信息	16
4.3.3 编辑反应孔	17
<b>4.3.4</b> 输入样品信息	
4.3.5 运行实验	
4.4 查看并分析实验	20
4.5 快捷实验	24
4.5.1 快捷实验管理	24
4.5.2 设置快捷实验	24
4.6 数据导出	25
4.6.1 导出实验数据	25
4.6.2 导出 RDML	
4.7 数据打印	25
4.7.1 打印质检报告	25
第五章 软件功能详述——项目	
5.1 项目管理器	28
5.2 创建项目	29
第六章 软件功能详述——工具	35
6.1 软件选项	35
6.1.1 常用选项	35
6.1.2 表格列选项	
第七章 软件应用	
7.1 定性/绝对定量分析	
7.1.1 定性/绝对定量分析概述	
7.1.2 定性/绝对定量实验流程	
7.1.2.1 创建定性/绝对定量项目	
7.1.2.2 创建定性/绝对定量实验	
7.1.2.3 定性/绝对定量实验分析	42
7.2 标准熔解曲线分析	44
7.2.1 熔解曲线分析概述	44
7.2.2 标准熔解曲线实验流程	44
7.2.2.1 创建标准熔解曲线项目	44
7.2.2.2 创建标准熔解曲线实验	46
7.2.2.3 标准熔解曲线分析	46
第八章 软件应用-PART 11 应用	48
8.1 Part 11 功能激活与应用	
第九章 仪器保养与维护	
9.1 仪器清洁	49
9.2 保护仪器	49

## SHENTEK®

9.3 更换保险丝	49
9.4 废物处理	49
9.5 过热保护	
附录一 系统基本算法	50
附录 从近空中开展	50
阳水— 灰門卅口	JZ

# 第一章 安全须知



# 1.1 符号的定义

下列符号将出现在《使用说明书》中。

符号	标题	描述
	警告	该符号用于表示以下信息:若不按规定的程序或指示操作,可能导致物理伤害或损坏仪器
	注意高温	该符号用于标识仪器表面潜在的热伤害
	生物危害	该符号用于表示以下信息: 与有潜在传染危险的物质接触时, 必须小心防范
	重要提示	有助于仪器正确使用的重要信息
	提示	有助于仪器正确使用的一般性提示或补充信息

#### 下列符号将出现在仪器上。

符号	标题	描述
	仔细阅读《使用说明书》	标识在仪器背面
	注意高温	标识在金属模块旁
	生物危害	标识在仪器背面及金属模块旁
	WEEE	标识在仪器背面,标有该符号的电子设备必须遵守欧洲的 WEEE 指令,该符号表示仪器不许丢入公共垃圾系统

# 1.2 操作使用要求

SHENTEK-96S 只能由通过培训并能熟练使用的人员来操作。



本仪器为机电设备,若不严格按《使用说明书》的规定来使用,可能会给用户带来电击或物理 伤害等潜在危险。

- ▶ 严格按照仪器上的安全提示进行操作;
- 用户可以按《使用说明书》指示的规程来更换保险丝。但用户不得擅自打开仪器或更换其它器件,由此带来的仪器损坏不被列入保修范围;
- ▶ 只有本仪器制造商的专业人员才能对仪器进行维修;
- ▶ 仪器运行时不得推开热盖;
- 仪器必须安装在洁净通风的室内,避免腐蚀性气体及强磁场干扰,避免阳光及强光源直射,并 在规定的温度及相对湿度条件下使用;
- ▶ 根据产品技术标准,仪器的工作条件为室内温度在 10 °C 到 30 °C 之间,相对湿度低于 85%。
- ▶ 处理有毒、有腐蚀性或有传染性的物质时,必须带安全防护镜和手套;
  - 尽管接触的是高度净化的核酸,但还是要小心防范所有生物物质的潜在危害。处理或丢弃这些 废物时必须遵守当地的有关安全规范。若不小心发生飞溅或泄漏,应马上用适当的消毒液进行 消毒,以防止实验室人员及设备的污染;
- ▶ 损坏的仪器必须被返回至生产商处维修;返修前,必须对仪器表面进行消毒。
- ▶ 仪器运行时及运行刚结束一段时间内,严禁触摸金属模块,以免烫伤。

▶ 1 类 LED 产品。仪器内部包含 1 类 LED 辐射器件,用户不得自行拆卸,只有受过培训的维修 人员才可以进行维修操作。维修时必须切断电源!

# 1.3 电气安全

- ▶ SHENTEK-96S 仪器的电气安全设计防护等级为 Class I (IEC);
- ▶ 为了防止电击危害,仪器必须接在符合安规标准的三芯接地插座上,电压为 220V~(50Hz);
- 在仪器连接电源线之前,必须确保交流电源的电压、频率与仪器所要求的相一致。在进行电源 线连接时,必须确保电源关闭;
- ▶ 在连接通信线时,必须确保整个系统(包括 SHENTEK-96S 主机和电脑)的电源是关闭的,以 避免仪器的意外损坏;
- ▶ 禁止用湿手触摸电源开关及电源线;
- 禁止在仪器未断电时拔除电源线;
- 禁止在仪器未断电时清洁仪器;
- ▶ 禁止在仪器未断电时更换保险丝;
- ▶ 仪器不在使用时请关闭电源。

# 1.4 电磁兼容



- ▶ 本仪器符合 GB\T 18268 的本部分规定的发射和抗扰度要求;
- ▶ 禁止在强辐射源(例如非屏蔽的射频源)旁使用本仪器,否则可能会干扰仪器正常工作;
- ▶ 建议在仪器使用之前评估电磁环境;
- ▶ 制造商有责任向顾客或用户提供仪器的电磁兼容信息;
- ▶ 用户有责任确保仪器的电磁兼容环境,使仪器能正常运行。

# 第二章 概述

## 2.1 适用范围

SHENTEK-96S 基于聚合酶链式反应原理(PCR)和实时荧光监测技术,与配套的检测试剂共同使用,用于对核酸样品(DNA/RNA)进行定性、定量检测或熔解曲线检测。

#### 2.2 基本原理

PCR 原理类似于 DNA 的天然复制过程,其特异性依赖于与靶序列两端互补的寡核苷酸引物。PCR 由变性 --退火--延伸三个基本反应步骤构成。重复循环变性--退火--延伸三过程,1-2 小时就能将待测目标基因扩增放 大几百万倍,因此具有极高的检测灵敏度。

实时荧光 PCR 的工作原理是在 PCR 反应系统中加入一个荧光标记探针,激发的荧光信号值与所扩增的目标基因数量成正比,通过对管内荧光值的实时监测,来实现模板的定量检测。相比普通 PCR 检测,实时荧光 PCR 检测除了能定量检测以外,还具有更高的特异性与灵敏度。

# 2.3 主要功能

SHENTEK-96S 是专门用于实时荧光 PCR 检测的仪器,它集 PCR 扩增、荧光检测、数据分析于一身,可以在 PCR 扩增的同时,实时监测每个管内荧光量的增长过程,在扩增结束后,软件自动处理实验数据,对样品进行定量/定性或熔解曲线分析,显示并打印样品的的起始浓度等实验结果。

#### 2.4 主要组成部分

本仪器主要由控制系统、电源系统、温控系统、检测系统、外壳部件和软件(版本号: V8.2.2)组成。

# 2.5 主要结构



# 2.6 应用领域

可广泛应用于各类型生物制品质量控制 qPCR 检测中。

#### 第3页共54页

2.7 仪器面板标识



# 2.8 系统性能参数

基本性能	
外形尺寸	386×520×250mm (宽 × 深 × 高)
重量	18 Kg
电源	220 V~ ( $\pm 10\%)$ 、 50 Hz ( $\pm 1\text{Hz})$
功率	< 850 VA
噪声水平	<55 dB (A)
防护等级	Ι
电磁辐射	CLASS B
通信接口	RS-232 串行口
使用环境参数	
操作环境温度	10 -30 °C
操作环境相对湿度	< 85%
运输及储存温度	-20-55°C
运输及储存相对湿度	< 85%
海拔高度	< 2000 米
PCR 系统性能	
样品容量	96 孔 × 0.2mL
样品容积	15 - 100μL
控温范围	4 - 99 °C
温度准确度	$\pm 0.10$ °C
温度均一性	± 0.10 °C
最大升降温速度	<b>4.0 °C</b> /秒

加热/制冷方法	半导体方式
控温模式	模块控温/试管控温
热盖	自动热盖
断电保护	有
高级编程模式	有
每个程序的程序段数	最多9个
每个程序段的步骤数	最多9个
每个程序段的循环数	最多 99 个
每个温度的保持时间	$00{:}01{-}~99{:}99~(mm:ss)$

## 荧光检测系统性能

检测通道配置

通道编号	1	2	3	4	5	6	
激发滤光片	470 nm	530 nm	585 nm	630 nm	厂商茹网	厂高茹の	
发射滤光片	510 nm	565 nm	620 nm	665 nm	/ 冏 [贝田	/ 冏 [川笛	
最大配置	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	
本机配置	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	×	×	
适用染料	FAM	HEX	ROX	CY5			
	SYBR-Green	JOE	Texas-Red		~	×	
		VIC			^	^	
		TET					

光源

通道交叉干扰 样品检测灵敏度 样品线性范围 样品线性度 样品检测重复性

# 免维护 LED

<1.00% 最小分辨率为1个拷贝 10<sup>0-10<sup>10</sup>个拷贝 |r|≥0.9990 CV<1.00%</sup>

#### 使用期限

使用期限 生产日期 7 年 见仪器铭牌



本产品使用期限是根据产品的主要部件寿命综合评估的方法确定的,在使用过程中,用户 应当按照产品说明书的要求对产品进行维护、保养和维修。在维护、保养和维修后,经确 认仍能保持基本安全性和有效性的产品,可以正常使用。

# 第三章 仪器安装

# 3.1 运输和贮存

产品运输按订货合同的要求进行,在运输中必须使用原始包装,以免损坏仪器。 产品在包装运输状态下,应贮存于环境温度为-20 ℃-55 ℃、相对湿度小于 85%,且空气中不能含有腐蚀性 气体。

# 3.2 拆箱

产品的外包装为纸板箱,内部填充避震泡沫。拆箱后先检查您收到的物品是否有缺失和损坏。

✓ 若产品在运输过程中发生明显损坏,请不要使用并及时联系销售商!

# 3.3 物品清单

项目	数量
SHENTEK-96S主机	1
电源线	1
通信线(9孔-9孔)	1
USB-TO-RS232转接线	1
《使用说明书》	1
软件安装U盘	1
保险丝(Φ5×20 mm, 10 A, 250 V)	2
防尘罩	1
合格证	1
保修卡	1
检测报告	1
装箱清单	1
密钥	Part 11模块备选
电脑	1
若有缺少与损坏,请立即与销售商联系。	

# 3.4 安装要求

#### 3.4.1 仪器工作环境

- ▶ SHENTEK-96S 主机必须放在稳固、水平的工作台面上,避免阳光直射,避免靠近加热设备;
- ▶ 不要将 SHENTEK-96S 主机安装在强电磁干扰或有高感应系数的仪器旁边,例如:电冰箱、高速离 心机、振荡器等;
- ▶ SHENTEK-96S主机的放置位置必须离周围物体或墙壁至少要有15 cm,以便主机的散热和通风,以 及方便用户开启和关闭仪器电源;

# ✓! 主机在运行时禁止覆盖任何东西。

- ▶ 仪器在环境温度 10-30℃,相对湿度<85%的室内使用;
- ▶ 为了防止电击危害, SHENTEK-96S 主机必须接在符合安规标准的三芯接地插座上, 电压为~220V (50 Hz);

#### 第6页共54页

SHENTEK-96S的用户必须经过制造商或经销商的专业技术人员培训后,才能安装及使用本系统。

#### 3.4.2 电脑配置要求

使用已提供电脑即可。如需安装在其他电脑上需要满足以下需求:

安装SHENTEK-96S配套软件的电脑必须达到以下配置:

- ▶ 硬件推荐配置: Intel或AMD双核 2.8GHz, 4G内存, 独立显卡, 显存2G;
- ▶ 操作系统: Windows XP/Vista/7/8/8.1/10,并安装Windows office Word/Excel 2007或以上版本;
- ▶ 屏幕分辨率: 1280\*768或以上。

# 3.5 软件系统安装

已提供电脑中已经安装好需要的软件。如果是自备电脑需要按照下列步骤进行安装程序。

- ▶ 从包装箱中取出SHENTEK-96S主机,按3.4.1仪器工作环境放置主机;
- ▶ 确保SHENTEK-96S主机处于断电状态,使用随机附带的电源线将SHENTEK-96S主机连接到电源插 座上;
- ▶ 将RS232通信线带磁环的一端插在SHENTEK-96S主机的COM1端口上,并拧紧螺丝; RS232通信线的 另一端则按以下提示连接:
  - 若电脑上有COM口,将通信线的另一端插在电脑的COM口上,并拧紧螺丝;
  - 若电脑上没有COM口,则将通信线的另一端插在USB-TO-RS232转接线的COM口上,并拧紧螺
     丝;注意此时不要将转接线上的USB端连接到到电脑上;
- ▶ 打开安装U盘;
- ▶ 点击**安装包运行**按钮进入程序安装向导,选择**安装 SHENTEK8.2.2 软件选项**并点击下一步;



#### 图: 3.1

▶ 根据安装向导的提示进行安装,具体安装步骤如下:



图: 3.2

#### 第7页共54页

▶ 备注: Part 11 版本软件需要安装在 C 盘目录下。

▶ 点击下一步按钮进入下一步操作:

☞ 安装 - SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2		_		×
选择一个附加任务 您想选择哪个附加任务?			L.	B
选择在安装SHENTEK PCR 分析系统 8.2	2.2时执行的附加任务, 然	后单击"下一步	<b>.</b>	
附加图标:				
☑ 创建桌面图标[d]				
			Min all	
	< 沤回[1]	一步[1] >	4038	



▶ 点击下一步按钮进入下一步操作:

安装 - SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2		-		>
准备开始安装 安装程序开始在您的电脑中安装SHEN	TEK PCR 分析系统 8.2.2.		0	
单击"安装"开始安装本软件,或者单击")	返回"修改安装设置。			
安装目标位置: c:\SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2			*	
附加任务: 附加图标: 创建桌面图标[d]				
4				
	< 近回[B] (井	- 装[1]	TOS書	

图: 3.4

- ▶ 若 SHENTEK-96S 系统连有 USB-TO-RS232 转接线,则用户必须安装 USB 转接线驱动程序;用户在 U 盘中的 USB 驱动包中进行安装,驱动程序安装完毕后,将 USB 线连接到电脑的 USB 端口中。
- ▶ 取出安装 U 盘,打开主机的电源,进行软件系统使用前的检查。

# 3.6 软件系统检查

请用户按以下步骤操作,以检查软件是否已成功安装:

- ▶ 打开主机的电源;
- ▶ 推开滑板,在A1、A6、A7、A12、H1、H6、H7、H12四个反应孔中分别放入空的 0.2 mL PCR 管;
- ▶ 打开系统软件,在**实验 Home** 界面的左上方点击**快捷实验"Check"**;
- ▶ 点击界面右上方的**开始**按钮开始实验。

程序开始运行后,用户注意观察并检查以下几点:

- ▶ 热盖能正常关闭,系统开始控温;
- ▶ 模块能正常升降温,观察屏幕显示的温度值是否与设置值一致;
- ▶ 系统能正常进行荧光检测,并实时显示所测的荧光值;
- ▶ 若程序能正常运行结束,表示 SHENTEK-96S 系统安装成功,用户可正常使用。

#### 第8页共54页

若仪器无法运行或运行出错,请及时与制造商或经销商联系!

# 3.7 试剂要求

 $\wedge$ 

本系统所用的试剂需在产品有效期内使用,才能保证检测的准确性。

# 3.8 软件系统质量控制

为了保证 SHENTEK-96S 的检测准确性,除了日常的维护保养外,用户还应做到以下几点:

▶ 每次定量检测必须做标准品及阴阳性对照,以监测实验质量及仪器性能;

▶ 定期购买权威部门的质控品,来验证试剂及仪器的性能。

# 3.9 软件系统操作流程



#### 第9页共54页

# 第四章 软件功能详述——实验

SHENTEK-96S 系统软件 Version 8.2.2 主要包含三个功能模块,即实验、项目和工具。本章详细描述了实验的主要功能。实验由实验 Home(主页)和实验向导组成,实验 Home为用户提供了创建和打开实验的快速入口,实验向导则以流程化的方式指导用户如何设置、运行并分析实验。用户在操作 SHENTEK-96S 系统前需仔细阅读本章以熟悉相关的软件操作。本章主要内容如下:

- ▶ 实验 Home(主页)
- ▶ 实验向导概述
- ▶ 如何创建并运行实验
- ▶ 如何查看并分析实验
- ▶ 快捷实验
- ▶ 数据导出&打印

#### 4.1 实验 Home

# 双击桌面上的 SHENTEK8.2.2 图标 或点击开始> 程序> SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2>

SHENTEK 8.2.2 菜单,进入用户界面。用户界面分为实验,项目和工具 3 个选项卡,点击实验选项卡进入实验 Home(主页)(图 4-1)。



#### 图 4-1

实验 Home 为用户提供了创建或分析实验的多种快捷入口,其具体内容如下:

- **实验向导**:按照实验向导的指导创建一个新实验;
- ▶ **运行上次实验**:新建一个实验,该实验的所有设置同用户上一次运行的实验一致;
- ▶ **孔板导入:**导入一个 csv 格式的实验设置文件,快速开始实验;
- ▶ **打开实验:**打开一个实验文件并分析;
- ▶ **运行快捷实验:** 点击快捷实验按钮, 一键运行实验;
- ▶ **最近打开的实验结果:**列表中显示了最近打开或运行的实验文件,点击文件名打开文件;

#### 第10页共54页



在**最近打开的实验/模板**文件区域右击,用户可选择打开当前文件所在的文件夹,将当前文件 从列表中删除,或者清空当前列表。

▶ **任务栏:**显示已打开或正在运行的实验,以及实验 Home。 用户最多可同时打开 10 个文件(含正在运行的文件)。点击文件名切换显示各个文件;点击 图标可关闭当前文件;点击 ▲ Home / 图标 切换至实验 Home,实验 Home 永远显示在任务栏左下角。

#### 4.2 实验向导概述

本节描述了实验向导的界面和工作流程,以及实验向导中最重要的元素,反应孔选择器和反应孔信息表的 基本功能。用户在创建实验前需阅读本节以了解基本操作。

#### 4.2.1 实验向导界面

**实验 Home** 界面提供了多种进入实验向导的入口,用户点击**实验向导**,或者**打开实验文件**按钮并选择一个 文件打开,都可进入实验向导。实验向导以流程化的方式指导用户完成实验设置、运行和分析,其界面(图 4-2)左侧为实验流程选项卡,上方为当前流程可用的菜单命令,中间是当前流程的功能区。不同的实验流程可 用的菜单和功能区不同。下图为绝对定量实验的实验分析选项卡。



点击菜单栏右侧的 🧖 图标,可隐藏菜单文字。隐藏菜单文字后,下拉菜单也会被隐藏。



下表描述了不同实验流程选项卡的主要功能:

实验流程	工作内容	参考
基本设置	显示实验的设备信息:编辑或显示实验的基本信息和仪器设置信息	0
孔板编辑	编辑和显示反应孔信息,包括调用项目和定义反应孔属性等	0
样品信息	输入样品的详细信息	0
实验运行 (运行前/中)	开始运行实验,并监测实时数据	0
实验运行 (运行后)	显示实验的温度曲线,运行信息等	0
实验分析	显示并分析实验数据,包括修改参数等	0

#### 第11页共54页

### 4.2.2 反应孔选择器

反应孔选择器(图 4-3)是**孔板编辑**和**实验分析**选项卡页面下方的一块虚拟孔板,用于选择、编辑和显示 样品。反应孔选择器具有 12\*8 个单元格,其单元格的位置一一对应于 SHENTEK-96S 的反应孔。反应孔选择 器中有颜色的反应孔表明该孔中放置了样品,不同的颜色标识不同的样品类型,孔板下方显示了所设置的样品 类型的图例。





#### 4.2.2.1 选择反应孔

- 在孔板选择器上点击1个或者多个单元格,即可选择反应孔。被选中的反应孔背景变成灰色,其信息显示在反应孔信息表以及曲线图表中;
- ▶ 选择一个反应孔后,按住 shift 不放,同时点击另一个反应孔,将选中这两个反应孔之间的连续区域;
- ▶ 按住 ctrl 键,同时点击多个反应孔,可选择不连续的多个反应孔;
- ▶ 点击孔板选择器左上角的空白区域选中整个孔板;
- ▶ 按箭头键上下左右移动;

#### 4.2.2.2 选择样品

- ▶ 单管实验中,点击一个反应孔,即为选中了一个样品;
- ▶ 多管实验中,用户在点击反应孔时,有2种选择方式:
  - 点击反应孔,将同时选中该反应孔关联的其他孔(即一个样品);
  - 按住 Ctrl 键,同时点击反应孔,将选择单个反应孔

#### 4.2.2.3 反应孔选择器的功能

- 修改孔板的显示信息:默认状态下,孔板上显示项目名。用户可修改孔板的显示内容,右击反应孔 选择器并选择反应孔信息显示菜单,可选择在孔板上显示项目名称、唯一标识、管名或者样品名称。 用户也可在点击菜单常用选项,在反应孔选择器选项的"孔板默认显示"中修改。
- ▶ **隐藏反应孔选择器**:在反应孔信息表区域右击并取消选择"显示孔板选择器"。
- ▶ 保存孔板图片: 右击孔板并选择"保存为图片",将当前孔板保存为图片;
- ▶ **标记坏孔**:当实验中样品数据异常时,软件会将异常的反应孔(比如无扩增的标准品)自动标记为

坏孔。被标记为坏孔 <sup>2005</sup>(显示白色的叉)的样品不显示曲线和数据。用户也可手动标记或移除 坏孔,在孔板的右键菜单中,勾选"**坏孔"**即把当前选中的孔标记为坏孔,如取消勾选"**坏孔"**将移除 坏孔标记。

▶ **批量修改曲线样式**:在孔板上选中多个孔,标记所选孔的曲线。

#### 第12页共54页

如用户希望点击反应孔时只选中单个反应孔,点击菜单**选项>常用选项**,在弹出框的**"多管实验反 应孔选择方式"**中,选中"按反应孔选择"。

# 4.2.3 反应孔信息表

**实验分析**界面中,反应孔选择器上所选中的样品的详细信息会显示在上方的反应孔信息表(图 4-4)中,包括孔号,项目名,目标名,计算结果等;用户可在反应孔信息表中对样品进行二次选择,选中的样品背景变成灰色,其曲线显示在右侧的曲线图中。

	反应孔 マ	项目 マ	管名 マ	通道 👕	目标 マ	颜色	类型 マ	标品赋值 ▽	Ct 🔽	Ct CV(%) V	浓度 マ	备注 マ	样本名称 🗤
1	D1	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.08	0.18	1.077E5		
2	B2	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.18	0.18	1.004E5		
з	G2	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.20	0.18	9.920E4		
4	A3	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.13	0.18	1.043E5		
5 1	D3	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.19	0.18	1.003E5		
6	F4	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.21	0.18	9.869E4		
7	B5	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.23	0.18	9.740E4		
8	H5	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.25	0.18	9.602E4		
9	D6	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.18	0.18	1.003E5		
10	E7	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.11	0.18	1.058E5		
11	H7	shuiyuan	管1	1	1		待测样品		31.07		1.499E4		
12	A8	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.26	0.18	9.554E4		
13	D8	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E6	24.70		1.001E6		
14	G8	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.22	0.18	9.786E4		
15	C9	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.20	0.18	9.965E4		
16	E10	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E7	21.20		9.996E6		
17	B11	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.17	0.18	1.012E5		
18	F11	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.23	0.18	9.759E4		
19	H12	shuiyuan	管1	1	1		标准品	1.000E5	28.21	0.18	9.876E4		

#### 4.2.3.1 表格数据显示和选择

隐藏/显示表格列:点击菜单栏上的表格选项按钮(图 4-5)。如需显示某列,勾选该字段;如需隐藏某列,取消勾选该字段。如需修改字段位置,选择该字段并点击上移或下移按钮。如需增加自定义字段,点击增加字段按钮,并在右边输入字段名称,并设置默认值。



- 多管样品的显示:默认状态下,多管样品之间以分割线 隔开;如需隐藏分隔线,在菜单常用设置菜单的界面中取消勾选"显示样品分隔线"。
- ▶ **数据选择:** 点击表格的单元格可选择样品数据,选中的数据变成灰色;右键菜单**数据选择方式**提供 了 4 种数据选择方式:
  - 目标:点击单元格时,选中该单元格所在的行,即选中检测目标;
  - 反应孔:点击单元格时,选择该单元格所属的反应孔;
  - 样品:点击单元格时,选择该单元格所属的样品;如样品为单管,则选择单个反应孔,如为多管,则选择一组样品的多个反应孔。
  - 单元格:点击选中单元格。

用户可在菜单常用选项>数据选择方式中修改表格多种显示方式。

#### 4.2.3.2 表格筛选和排序

- 样品排序:默认状态下,表格中的样品按照在反应孔选择器中从上往下的方式(竖排,A1,B1,...,G1,H1)进行排序。用户也可以点击反应孔列头的<sup>又</sup>图标,按下列方式排序:
  - 横排:样品按照从左往右的方式排列,即A1,A2,...A11,A12;
  - 横排且模块 A 优先:样品按照从左往右的方式排列,并且先排模块 A 的样品,再排模块 B 的样品,即 A1,...,A6,B1,...H6,A7,A8...H12;

#### 第 13 页 共 54 页

▶ 列排序:点击某一列(除反应孔)的列头的<sup>▼</sup>图标,再选择升序(图 4-6),可使表格的数据按照 该列升序排列,排序后列头显示<sup>▲</sup>排序标识;点击降序,表格的数据将按照该列降序排列;如需取 消排序,点击**不排序。** 



▶ 筛选:点击某一列(除反应孔)的列头的<sup>▼</sup>,勾选或取消勾选列表中的数据,可对该列的数据进行 筛选;点击自定义筛选可对该列进行高级筛选(图 4-7)。

	自定义筛选	×
显示行: 类型		
L T	 ○与 ④或	
	清除筛选 确定 日	取消



▶ **多重排序:** 在反应孔信息表区域右击,选择"多重排序"命令,弹出如下对话框,用户可在此界面上 对数据进行多重排序。比如,用户想对不同项目的不同目标的 Ct 值进行升序排列,分别在"主要关键字", "次要关键字","次要关键字"中选择"项目","目标","Ct"即可。

	多里	肺疗…	
主要关键字:			
项目	-	④ 升序	〇降序
欠要关 <mark>键字</mark> :			
	*	④ 升序	()降序
次要关键字:			
	-	④ 升序	○降序
		确定	取消

图 4-8

▶ **清除排序和筛选:**如需清除排序或者筛选条件,右键点击"清除筛选或排序"菜单。

#### 4.2.3.3 数据导出和打印

反应孔信息表的右键(图 4-9)提供多个菜单以方便用户处理数据:

- ▶ 复制所选数据:将选中的数据复制到剪贴板。
- ▶ 导出所选数据:将选中的数据导出到 excel。
- ▶ 打印所选数据:打印选中的数据。
- 点击"数据预览":确认数据无误后即可打印。

#### 第 14 页 共 54 页



如用户需要复制或导出表格的局部数据,可选择右键数据选择方式中的"单元格"模式,此时用户可随意选择数据,并导出或复制到剪贴板。



## 4.3 创建并运行实验

本节描述了如何用 Version8.2.2 软件创建并运行实验,以及各个界面的详细功能。对于不同的实验,部分 界面可能显示的内容有所不同,具体参见软件应用。

4.3.1 新建实验

将仪器的 USB 转接线或串口线连接到电脑上,并将仪器的电源打开。

2 双击桌面上的图标 或点击**开始>程序> SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2>SHENTEK 8.2.2** 菜单, 进入用户界面。点击界面最上方的**实验**选项卡进入**实验 Home**。

3 点击**实验 Home** 界面左上方的新建实验按钮,创建一个新实验。

用户也可以通过点击实验 Home 的其他按钮,或者通过实验向导的新建菜单创建实验。

▶ 点击新建实验后将进入实验向导,实验向导界面的仪器区域显示了当前所连接的仪器的型号和 编号(图 4-10)。



图 4-10

如当前没有仪器连接到电脑,点击新建实验后将弹出提示框如下(图 4-11),用户可重新连接 仪器,或者点击虚拟设备进入虚拟模式,虚拟模式下用户可对实验进行设置,但无法运行实验。

👺 联机出错		×
未检测到设备! 请将SHENTEK实时PCR仪器设	车接到电脑上并接通电源,	然后点击"重试"。
	虚拟模式	重试



# 4.3.2 输入实验信息

No.         No. <th></th>	
1.321	
Aggit Sectors-APP         Ggatt Sectors-APP         Ggatt Sectors-APP           Aggit Sectors-APP         Ggatt Sectors-APP         Ggatt Sectors-APP           Aggit Sectors-APP         Aggit Sectors-APP         Aggit Sectors-APP           Apple Sectors-APP         Aggit Sectors-APP         Aggit Sectors-APP	
PARE         REA         REAL	
All All         Yes         Mining         Mining <td></td>	
ARADE         QUEMINIZIA         # Bria         # Bria         # Bria         #           ARME         ARMER:         7.6688	
92:	
92	
1282 -	
34G合理社 快速设置	
2484 248 0480 2488	
	+
100 100 100 100 100 100 100 100 100 100	
раля дозжод	
Hattst         Address           Hattst	
5882-	

图 4-12

- 点击基本设置选项卡(图 4-12),在实验信息区域输入实验的基本信息:
  - ▶ 在**实验名称**字段中输入文件名,允许输入 1-50 个字符。如用户未输入文件名,则默认使用新建 实验的时间(格式为 YYYY-MM-DD\_HH-MM-SS)为文件名。
  - ▶ 在**实验类型**下拉菜单中选择合适的实验类型;
  - (可选)在保存路径字段中修改文件的保存路径;如不修改路径,文件将默认保存到软件安装 目录的 Experiment 文件夹中。
  - ▶ (可选)如有需要,输入操作者、审核者和备注信息。
- 2 在选择反应模块区域勾选反应模块。PCR 仪有 2 个独立运行的反应模块,用户可根据样品数量同时选择 2 个模块或者单独的模块。
- ③ 点击选择"使用热盖"。使用热盖是指在实验过程中,热盖温度将保持在105℃后,以防止试剂蒸发和冷凝水形成。

# 若用户选择不使用热盖,则试剂液面上必须覆盖石蜡油,否则将造成试剂溶液的蒸发及冷凝, 从而导致错误的实验结果。

4 在"控温方式"区域选择合适的控温方式。

模块控温:是指金属模块的测量温度到达设置温度值后,保持时间开始倒计时。对于大部分商业化试剂盒,使用模块控温方式一般都能获得较好的实验结果。

#### 第 16 页 共 54 页

- 试管控温:当试管内溶液的平均温度到达设置温度值后,保持时间开始倒计时。试管控温比模 块控温更精确,但实验的时间将会延长。
- 5 根据试剂的需求,设置通道扫描方式。推荐选择"**全通道扫描"**。
  - "仅扫描项目所选通道"是指仪器的光学系统按照实验项目设置的通道扫描。例如,项目文件的 检测目标使用了 FAM, VIC 和 HEX 通道,则仪器的扫描系统仅扫描这三个通道。
  - ▶ "全通道扫描"是指实验过程中光学系统扫描所有通道(4 通道)。
    - 如用户选择"仅扫描项目所选的通道"模式,实验开始运行后,如需新增加一个项目且该项目 的检测通道多于原来的通道,新增添的通道的数据将不存在。因此,如试剂对荧光不敏感, 建议选择"全通道扫描"。

#### 4.3.3 编辑反应孔

 点击**孔板编辑**选项卡,进入反应孔编辑界面(图 4-13)。在反应孔选择器上选中待编辑的孔。如为多 管样品,要同时选中至少大于多管数的反应孔。



图 4-13

2 在界面右上方的项目列表中,选择合适的项目。项目列表显示了用户预先保存在软件中的项目文件, 将鼠标悬停在项目名上,可预览项目的实验程序信息;点击项目名后面的<sup>3</sup>图标查看该项目的详细信息。



如用户在项目列表中未能找到所需项目文件,则需要先创建项目文件或联系试剂厂商。



用户可在同一个实验中运行多个实验程序相同的项目。用户在列表选中某项目后,与该项目 实验程序不相同的项目文件将变灰(不可用),而相同实验程序的项目仍可被选择(图 4-14)。

HPV2+12	o
KRAS	O
project1	O
project2	0
test	O
Y6-1- 2	O
Y6-1	0

图 4-14

#### 第 17 页 共 54 页

3 反应孔的默认类型为待测样品,在"步骤 3:定义反应孔"区域修改样品类型和属性:

▶ 在"选择样品类型"下拉菜单中选择合适的样品类型(图 4-15);

选择样	詳品类型: │ 待测村	和 🗾 周	±:	
¥本彳	3称:			
<b>殳为</b> 第		复馆	\$编号:	
	管名	通道	目标	属性
1	管1	1	V600E	
-	管1	2	*内控	

图 4-15

- 如有需要,在"属性"框中输入样品的属性信息。如不同的检测目标的属性信息不同,在检测目标后面的属性框中修改属性信息。
- ▶ 如需定义复管,选中"**设置复管**"勾选框,并输入复管编号。SHENTEK8.2.2 软件将计算复管的 SD, CV 等统计值。
- 如需清空已设置的反应孔,选中反应孔并点击删除菜单,或直接点右键"删除样品"。

一不同的实验模式下,样品类型和属性信息可能不同,具体请参考第七章 软件应用。

④ 反应孔编辑完成后,反应孔的详细信息显示在界面左上方的表格中。反应孔编辑可以在实验前、实验运行中或者实验结束后进行。当用户重新编辑反应孔后,需要重新分析实验以得到新的结果。

\_\_\_实验开始前,运行中或者实验结束后都允许用户编辑反应孔。

- 4.3.4 输入样品信息
  - 点击**孔板编辑**选项卡,进入孔板信息编辑界面(图 4-16),用户可根据实际需求输入样品的详细信息, 包括样品类型、标准品赋值、样品名称等。



图 4-16

2 唯一标示用于在连接 LIMS 系统时唯一标记样品。如需批量输入唯一标识,点击菜单唯一标识,在样品 范围下拉菜单中选择合适的范围,并输入合适的值。

样品范围	描述
所有样品	对所有待测样品编号
所选样品	对选中的样品编号(用户需预先在反应孔列中选择部分样品)
项目	对某一个项目的样品编号

3 如表格的列不符合用户需求,用户可以通过**表格选项**菜单(图 4-17)自定义新的列,或者配置单元格 下拉选项的默认值。



#### 图 4-17

4.3.5 运行实验

all 系验	项目	IA							SH	NTEK PCR 分析系统 8.2.2				2 1 -
, <del>1</del> 1म	关闭				e a		and a second		100 / 根要这项 常用这项		开始			HZSCBI
		交件				\$TED	2	H 0	进项	通道选择	实验活	ក		
	हिंद्रम	1004									141	工业程序 法常相结	(运行状态)	
基本设置		MB V	样本名称 ▽	管名 マ	<b>#3</b> 7	日辰マ	瀬奈	本편 マ	标品赋值 マ 唯一标订	7	*	程序段1	程序院2	
	6	picha	81	管1	1	FAM		标准品	3.000E2					
孔板編輯	7	picha	S2	121	1	FAM		标准品	3.000E1			95.0 °C	95.0 c	
	8	picha	\$3	第1	1	FAM	-	标准品	3.000E0			10:00	00 ; 15	
样品信息	9	picha	84	111	1	FAM		标准品	3.000E-1					
_	10	picha	85	管1	1	FAM	-	标准品	3.000E-2			/	00.0 0	
#161817	11	picha	\$1	官1	1	FAM		标准品	3.000E2			/		
	12	picha	82	官1	1	FAM		标准品	3.000E1			V		
	13	picha	83	管1	1	FAM		标准品	3.000E0					
	14	picha	S4	官1	1	FAM		标准品	3.000E-1		-			
	15 🕨	picha	85	1211	1	FAM		标准品	3.000E-2					
	16	picha	ST5	管1	1	FAM		待测样品				参销1	参骤1 参骤2	
	17	picha	ST5	管1	1	FAM		待测样品				循环数:1	(循环数:40	
	18	picha	ST5	官1	1	FAM		待别样品				17-40 third manufactor		
	19	picha	ST5	官1	1	FAM		待则样品				D AD MON THOSE MADE		
	20	picha	ST5	管1	1	FAM		待测样品				010.00		
	21	picha	ST5	管1	1	FAM	-	待别样品				910.00		
	21 15-14	12.53	OTE		•	FAM	-	64 MINT D		-		830.00		
	Te Mices	1	2	3	4		5	6	7 8	9 10 11	12	700.00		
	A	(cha	picha	picha	picha	-	- T	Ť		TTT		630.00		
	B	icha	picha	picha	picha		-+	-				500.00		
	c	icha	picha	picha	picha		-	-				400.00		
	D	icha	picha	picha	picha		-+	-+		$\rightarrow$		300.00		
	F		nicha	nicha	nich	-	-+	-+	$\rightarrow$	$\rightarrow$		200.00		
	F	-		-	nicha	-	-+	-+	$\rightarrow$	$\rightarrow$		100.00		
	G	-		nicha	nicha	-	-+	-	_	$\rightarrow$				
	н	-		picha	picha		-+	-+	$\rightarrow$	$\rightarrow$		0.00 1 3 5	7 9 11 13 15 17 19 21 23 25	27 29 31 33 35 3
	640	11 R 🛑	1:13				-				_	北海道分台 💌	1897al	
	- 12.00											Lines (16	- CA -	

图 4-18

- 点击**实验运行**选项卡进入运行界面(图 4-18),运行界面上显示了实验样品,项目等信息,将准备 好的样品管按孔板选择器的顺序放置至仪器的反应模块中,再点击菜单栏的**开始**按钮,开始运行实 验。
- 2 实时监测运行:实验运行界面的右上方显示了实时温度曲线和运行状态(图 4-19),右下方显示了 实时曲线。

实验程序 \温度曲线	运行状态			1
	运	行信息		
设备状态	关闭热盖			
运行时间	00:00:11	剩余时间	01:16:45	
	温	度信息		
当前循环	0	热盖温度	00.0°C	
设置温度	00.0°C	模块温度	00.00°C	
保持时间	00:00	试管温度	N/A	

图 4-19



如实验过程中出现异常情况导致实验中断(如突然断电等),重启软件后,将会弹出对话框询 问是否从断点处继续运行。如选择从断电处继续运行,实验将调出上次的中断的数据并继续 运行,该操作可能导致不理想的实验结果。

3 用户如需在实验运行过程中改 PCR 程序,在界面右上方的实验程序区域右击,"增加当前程序段循环数"可增加当前正在运行的程序段的循环数(图 4-20 左):"删除当前程序段"将跳过正在运行的程序段进入到下一个程序段(图 4-20 右)。



④ 实验结束后,仪器将对反应模块降温并自动打开热盖。软件将自动保存实验结果,并转跳至实验分 析界面。



用户可自定义设置热盖打开的等待时间,点击**工具**选项卡>**软件选项**,在"**其他"**区域的"热盖 设置"中修改等待时间。

# 4.4 查看并分析实验

- 点击**实验 Home** 界面的**打开实验**按钮,或者实验向导界面的**打开**菜单弹出打开文件对话框,选中实验文件点击打开;或者在实验 Home 最近打开的实验列表中点击文件名打开文件。
- 2 用户可通过切换实验向导选项卡,来查看或编辑实验的各种信息:
  - ▶ 基本设置:查看运行本实验的仪器编号和仪器设置,查看或修改文件名或保存路径等
  - 孔板编辑:查看或者重新编辑反应孔
  - ▶ 样品信息:查看或重新编辑样品信息
  - ▶ 实验运行:查看实验的运行信息,温度曲线,开始/结束时间等
  - 实验分析:查看实验结果信息,修改分析参数,导出数据等。
- 3 选择使用分析选项卡,实验分析界面(图 4-21)用于查看并分析实验结果。界面左侧分别为反应孔信息表,分析参数表,以及反应孔选择器;右侧为实验曲线,不同的实验分析类型显示的曲线类型不同。



#### 图 4-21

#### 查看数据:

- 在孔板选择器上选择样品,所选样品的详细信息显示在上方的反应孔信息表中,样品的曲线显示在右侧曲 线图中;如用户可以再次在表格中挑选样品,被选中的样品的曲线显示到右侧的曲线图中。
- ▶ 将鼠标悬停在某数据(孔板,曲线或者表格)上方,与该数据关联的所有信息将联动显示(数据加粗显示, 曲线黑色加粗显示)(图 4-22)。



- ▶ 对于多通道的实验,点击通道  **○ ○**按钮,可选择显示特定1个或多个通道的数据;
- ▶ 点击 ▲和 ▲按钮放大或缩小表格和图表;或者拖动图表的边框改变大小。

如需关闭联动功能,点击**常用选项**菜单,在弹出框的**其他**区域,不勾选**"界面联动,鼠标选中的信息高** 亮显示"。

用户可根据使用偏好定制通道选择习惯,点击常用选项菜单,弹出框的其他区域的"设置通道选择方式" 处修改,其中,"按 Ctrl+通道按钮选择多个通道"是指点击通道按钮时只选中该通道的数据,如需同时 选择多个通道,按住 Ctrl 键并同时点击多个通道按钮;"按通道按钮选择/取消"是指按住点击通道按钮 选择该通道,再次点击取消选择该通道。

更多关于反应孔信息表和反应孔选择器的功能,请参考 4.2.2 反应孔选择器以及 4.2.3 反应孔信息表。

#### 修改分析参数:

仪器在实验过程中采集实时荧光数据;实验结束后,软件自动按照项目的分析参数对原始荧光数据进行分 析处理。

#### 第 21 页 共 54 页

样品信息表下方的分析参数表(图 4-23)中显示了当前实验最常用的分析参数,用户可在此修改分析参

数,并点击**分析**按钮<sup>分析</sup>重新分析数据



图 4-23

- 点击实验分析下拉菜单中的参数设置菜单,参数设置界面上显示了所有的分析参数,修改分析参数后点击 分析按钮更新结果。
- 如需隐藏分析参数表,点击 图标。

不同的实验类型的分析参数不同,具体请参考第七章软件应用。

#### 曲线图表:

实验分析界面右侧显示了当前实验的各种曲线图,不同分析模式下显示的曲线图类型可能不一致。以下列 出了曲线图的主要功能:

**查看曲线**:将鼠标悬停在曲线上方,该曲线会黑色加粗显示,并出现信息提示框,显示该曲线的详细信息; 同时,该曲线所在的反应孔也会联动显示(图 4-24)。



图 4-24

- 如需关闭信息提示框,点击常用选项菜单,在曲线设置区域的通用设置区域中,不勾选"鼠标悬停时显 示曲线详细信息"。
- ▶ 坐标轴缩放:点击右键菜单坐标缩放,在弹出的窗口(图 4-25)中输入 X,Y 轴的最大最小值,点击应 用按钮后关闭窗口。如需还原坐标,点击默认按钮;或者点击右键菜单坐标还原。

	最小值	最大值	
×轴: [	40	 85	+
Y轴: [	-422.7	 12039.8	-
默认		应用	关闭

局部缩放: 在曲线图上按住鼠标往右下方拖动选择一块区域(图 4-26),该区域将自动放大。将鼠标 往左上方拖动时,数轴被还原。



#### 图 4-26

软件提供了多种 Y 轴显示的方式,用户可根据自己的根据使用习惯选择。点击常用选项菜单,在曲线 设置区域的"曲线图 Y 轴显示模式"中修改。

选项	描述
按所有孔最大 Y 轴显示	Y 轴最大值固定,为反应孔选择器中所有曲线的最大 Y 轴
按所选通道最大 Y 轴显示	Y 轴最大值随所选通道的不同而变化
按所选项目最大 Y 轴显示	Y 轴最大值按所选项目的不同而变化
按选中孔最大 Y 轴显示	Y 轴最大值按照所选曲线的最大 Y 值显示

- ▶ 保存曲线图:点击右键菜单"保存为图片..."将当前曲线图保存为 bmp、jpg 或者 png 格式的图片。
- ▶ **复制曲线图:**点击右键菜单"复制图片"将当前曲线图片保存到剪贴板中。
- ▶ **打印曲线图:**点击右键菜单"打印图片..."打印当前曲线图片。
- ▶ **导出曲线数据**:选择右键菜单"**导出数据…"**将曲线图上的曲线的数据导出到 Excel 文件中。
- 复制选中数据:将鼠标移至某曲线上方,该曲线变成黑色加粗,点击右键菜单"复制选中数据…"将该曲线的数据点保存到剪贴板中。
- 修改曲线样式:用户可自定义修改曲线的颜色和样式,比如在曲线上增加标记等。如需修改某特定曲线的样式,将鼠标移至该曲线上(曲线变黑并加粗),点右键菜单"修改曲线样式",在弹出的下列对话框中修改曲线的颜色或者增加标记(图 4-27)。



如用户需同时修改多个孔的曲线样式,首先,在孔板选择器上选择待设置的孔,并选择右键菜单"自定义曲线 样式",用户可在此窗口(图 4-28)选择修改选中的所有孔的曲线,或者选中的反应孔的某个目标的曲线。





以上功能为曲线图的通用功能,不同实验分析模式下曲线图功能有所不同,具体参考第七章软件应用。

#### 第 23 页 共 54 页

# 4.5 快捷实验

快捷实验是一类预存的实验模板,包含了实验类型、反应孔设置、分析参数等所有设置信息。实验 Home 界面右上方(图 4-29)显示了当前软件中包含的快捷实验列表。点击列表中的快捷实验按钮即进入运行实验 界面,再点击 <sup>794</sup>按钮开始运行实验。



图 4-29

#### 4.5.1 快捷实验管理

在快捷实验区域选择右键命令快捷实验管理器,进入如下界面(图 4-30)。





- ▶ **导入:**将快捷实验文件保存至软件指定文件夹;
- ▶ **导出:**将本地的快捷实验文件保存到其他地址;
- ▶ **重命名:** 重命名选中的快捷实验;
- ▶ **删除:** 删除选中的快捷实验;
- ▶ 显示: 勾选快捷实验按钮右下角的勾选框,将其显示到实验 Home 界面上;

如需在实验 Home 界面上隐藏快捷实验,在快捷实验按钮上右击并选择从列表中删除命令。

### 4.5.2 设置快捷实验

在实验向导界面中,点击**导出**菜单中的**快捷实验**菜单,在弹出框(图 4-31)中输入文件名并确定,即将当前的实验文件设置为**快捷实验**。用户也可在全称或备注框中输入实验的备注信息。

# 第 24 页 共 54 页

夕称 ·			
- upp			
全称:			
备注:			
	_		
		确定	 取消

# 图 4-31

# 4.6 数据导出

# 4.6.1 导出实验数据

点击**导出**菜单中的**实验数据**菜单,将当前的文件数据导出(图 4-32)。导出的文件格式为 PDF,Word, xlsx, csv 或者 txt。用户可将导出的数据连接到 LIMS 系统中。

	导出实验数据	
选择待导出的	的数据:	
✔ 基本信	息	
✔ 反应孔	信息表	
✓ 打增田	筑	
✔ 标准曲		
保存路径:	C:\Users\hongshi301\Documents\	浏览
《任治》	test	
导出格式:	bd. 👻	
	70.00	Trachile
	确定	规消
	图 4-32	

用户可自定义配置导出哪些数据,下表显示了可导出的内容,不同的分析类型可导出项可能不同。

可导出项	描述
基本信息	实验名,开始/结束时间,审核者/操作者/备注,仪器设置信息
反应孔信息表	反应孔信息表的所有信息
扩增曲线	所有样品的扩增曲线数据
原始曲线	所有样品的原始曲线数据
标准曲线	标准品和标准曲线信息(仅存在于绝对定量分析)

# 4.6.2 导出 RDML

点击导出的下拉菜单导出 RDML 将实验数据导出为 rdml 格式。

# 4.7 数据打印

# 4.7.1 打印质检报告

在反应孔选择器上选择待打印的样品,再点击数据预览菜单,将链接质检报告(图 4-33~4-37)。 点击**打印**按钮打印选中的所有报告,点击**打印**打印预览中的报告。

#### 第 25 页 共 54 页

材	K酸扩增荧光定量 PCR 检验报	告
文件名称: test	仪器编号: SN15032401	软件版本: 8.2.2.01
开始时间: 2015-03-26 15:59:04	结束时间: 2015-03-26 17:14:03	打印时间: 2022-06-13 12:38:12
操作人员:	保存路径: C:\Program Files 8.2.2\Experiment	(x86)\SHENTEK PCR 分析系统

反应体积: 30μL 反应程序:



检测信息:

样品名称	发光基团	淬灭基团	定量/定性	自动/手动阈值	阈值线	基线起点	基线终点
1	3	5	定量	自动	0.07	6	12

#### 图 4-33

检测结果:

样品名称	反应孔	样品类型	目标	Ct 值	平均 Ct	Ct SD	Ct CV (%)	浓度	平均浓度	<u>Çn</u> SD	<u>Cn</u> CV (%)	Rn	Tm
	A3	标准品	1	28.13	28.19	0.05	0.18	1.043E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.250	
	A8	标准品	1	28.26	28.19	0.05	0.18	9.554E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.248	
	B2	标准品	1	28.18	28.19	0.05	0.18	1.004E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.222	
	85	标准品	1	28.23	28.19	0.05	0.18	9.740E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.238	
	B11	标准品	1	28.17	28.19	0.05	0.18	1.012E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.252	
	C9	标准品	1	28.20	28.19	0.05	0.18	9.965E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.217	
	D1	标准品	1	28.08	28.19	0.05	0.18	1.077E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.260	
	D3	标准品	1	28.19	28.19	0.05	0.18	1.003E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.210	
	D6	标准品	1	28.18	28.19	0.05	0.18	1.003E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.228	
	D8	标准品	1	24.70				1.001E6				2.468	
	E7	标准品	1	28.11	28.19	0.05	0.18	1.058E5	1.000E5	3.369E3	3.37	2.261	
	E10	标准品	1	21.20				9.996E6				2.570	
	F4	标准品	1	28.21	28.19	0.05	0.18	9.869E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.223	
	F11	标准品	1	28.23	28.19	0.05	0.18	9.759E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.248	
	G2	标准品	1	28.20	28.19	0.05	0.18	9.920E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.233	
	G8	标准品	1	28.22	28.19	0.05	0.18	9.786E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.258	
	H5	标准品	1	28.25	28.19	0.05	0.18	9.602E4	1.000E5	3.369E3	3.37	2.251	

#### 图 4-34

标准品信息:

标曲名称	斜率	截距	R²	E	
1	-3.49335	45.65692	-0.99965	0.93312	

图 4-35







图 4-37



用户可自定义编辑报告样式或者联系生产商获取等多样式模板。

# 第五章 软件功能详述——项目

实验项目文件是 SHENTEK-96S 系统软件特有实验配置文件,它包含了除了反应孔设置之外的所有实验设置信息,即通道信息、PCR 扩增程序、分析参数、结果判定规则等。项目文件基于试剂说明书编制,它为用户提供了极大地便利,用户可以根据试剂说明书创建或编辑项目,也可以联系试剂厂商获取项目文件。本章主要包括以下内容:

- ▶ 项目管理器
- ▶ 如何创建项目

# 5.1 项目管理器

双击桌面上的 SHENTEK8.2.2 图标 或点击开始> 程序> SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2>SHENTEK 8.2.2 菜单,进入用户界面(图 5-1),点击项目选项卡进入项目管理器。项目管理器用于管理系统中的所有实验项目,如查看、编辑、复制项目或者将项目文件导入导出等。项目管理器界面内容如下:



- ▶ 功能按钮:
  - 创建项目:打开项目向导,新建一个项目文件;
  - 导入项目:将项目文件保存到项目文件夹中;
  - 导出项目:将项目文件夹中的项目文件保存到指定地址(图 5-2)。选择待导出的项目和合适的路径,点击导出按钮将该项目导出,点击全部导出可导出项目列表中的所有项目。

HBV-1		
HBV		
project1- cop project1- cop	r(2) f	
选择待导出文件	的保存路径	

第 28 页 共 54 页

- 项目列表:列表中显示了项目文件夹中的所有项目文件,按照实验类型分类。点击项目名后在界面右下方 预览项目的详细信息。
  - 编辑项目:编辑选中的项目文件。
  - 复制项目:复制选中的项目文件。
  - 粘贴项目: 黏贴已复制的项目。
  - 重命名:选择一个项目点击重命名按钮后,在弹出框内重命名文件。
  - 删除项目:删除已选中的项目。
- 项目信息预览:预览选中的项目的详细信息。

# 5.2 创建项目

点击项目管理器界面左侧的新建项目按钮,进入项目向导(图 5-3)。



## 🖢 实验运行过程中,无法编辑正在被实验引用的项目。

2 点击基本信息选项卡,在项目基本信息区域输入项目基本信息:

- ▶ 项目名称:输入项目名,允许的字符串长度为1-50。
- ▶ 项目类型:在实验类型下拉框中选择合适的实验类型。
- ▶ 反应体系:输入试剂反应体积,允许的反应体积为15-100μL,推荐体积为15-50μL。
- ▶ (可选)如有需要输入单位和备注信息。
- 3 在检测目标区域输入检测目标信息。检测目标是用户需要扩增并检测的一段核酸序列,通过与探针 或染料特异性结合而被分辨。下表列出了仪器支持的探针/染料。

检测通道	激发-发射波长	适用染料
通道1	470 nm-510 nm	FAM, SYBR-Green
通道 2	530 nm-565 nm	HEX, JOE, VIC, TET
通道 3	585 nm-620 nm	ROX, Texas-Red
通道 4	630 nm-665 nm	CY5

根据检测目标的数量,样品可分为单管和多管样品。单管样品是待测的核酸序列较少(比如1个或2个检测目标),在一个反应体系(PCR管)中即可完成的样品。而随着实时 PCR 技术的发展,

#### 第 29 页 共 54 页

越来越多的实验需要同时检测 10 个以上的目标基因,但由于受到染料光谱的限制,实时 PCR 仪的 检测通道是有限的,在这种情况下,用户需要将同一样品加到多个反应体系中同时进行检测,这种 样品称为多管样品。

编辑单管样品的检测目标:

- ▶ 用户需根据试剂所用的染料选择合适的检测通道,勾选检测通道下方的选择框 2;
- 输入检测目标名称,检测目标名不能重复;
- (可选)如需修改染料信息,点击探针/染料信息,在下拉菜单中选择合适的染料名称,用户也可自定义输入染料或探针名。
- ④ 点击实验程序选项卡,编辑实验程序(图 5-4)。通常 PCR 实验程序包含 2-3 个程序段,每个程序 段又包含几个步骤,有时还包含熔解曲线。



#### 图 5-4

下表列出了一个常见的 PCR 程序段涉及的具体内容。

字段名	描述	有效值
程序段	由1个或多个步骤组成的温度循环。	1-9 个
循环数	当前程序段需要重复的次数。	1-99个
步骤	由目标温度及其保持时间组成。	1-99 个
日标泪度	需要到达的目标温度。例如变性温度、延伸	4°C 00°C
日你価度	温度和退火温度	4 0-99 0
保持时间	温度到达目标温度后,需要维持的时间。	00:01 - 99:59
		一个程序段中仅
检测荧光	运行到该步骤时需要收集荧光信号	有一个步骤能选
		择检测荧光
熔級曲代印度印	是样品从一个温度值缓慢上升到另一个温度	1 个
府府田均住厅权	值,同时全程扫描荧光信号	1

#### 编辑实验程序:

插入程序段:点击菜单栏上插入程序段菜单按钮,在当前选中的程序段(红色)后面增加一个程序段。点击插入程序段下拉菜单,可选择将新程序段插入到当前选中的程序段之前,之后或者是所有程序段最后。



如需修改程序段名称,双击程序段名并修改。

- ▶ **修改循环数:**点击程序段下方的循环数框<sup>循环数:40</sup>,输入循环数。
- 插入步骤:点击选中一个步骤,再点击插入步骤菜单,将一个新步骤插入到当前选中的步骤之后。点击插入步骤下拉菜单,也可选择将新步骤插入到选中步骤之前,或者将新步骤插入到当前程序段的最后。也可通过右键菜单插入步骤。

- ▶ 修改目标温度:点击温度框<sup>95</sup>,输入温度值,或者拖动温度框下方的蓝线修改温度。
- ▶ 修改保持时间:点击时间框<sup>0010</sup>,并输入时间值;
- ▶ 设置检测荧光:如需对某一步骤检测荧光,点击其时间框下方的<sup>□□</sup>,图标变成蓝色<sup>□□</sup>即表示 将在当前步骤采集荧光。一个常见的实验程序显示如下(图 5-5)。

一个程序段中只能有一个步骤采集荧光。保持时间小于 15 秒的步骤无法采集荧光。

右击实验程序并选择**保存为图片**菜单,将当前实验程序保存为图片。



#### 高级编程

高级编程可用于对步骤设置降落 PCR 或者控制仪器的升降温速率。选中一个步骤,点击**高级编程** 菜单,可在弹出的高级编程框(图 5-6)对该步骤设置降落 PCR 或修改升降温速率。

°C.砂
The safe

▶ **设置降落 PCR**: 降落 PCR 可通过逐渐降低退火温度从而提高扩增的特异性。在降落 PCR 设置区 域输入合适的起始循环数,以及温度/时间变化值。

#### 第 31 页 共 54 页

如需修改程步骤名,双击步骤名称并修改。

- 起始循环:用于确定从第几个循环开始执行降落 PCR;起始循环不能超过当前程序的循环数。
- 时间变化:从起始循环开始,每次运行到当前的步骤时,都增加/减少一个时间量
- 温度变化:从起始循环开始,每次运行到当前的步骤时,目标温度都增加/降低一个温度值

用户在设置降落 PCR 时,必须保证每个循环的温度和时间值都在合理范围内(温度范围 4-99℃,时间范围 00:01-99:99)。

▶ 修改升降温速率:升降温速率是指反应模块从上一个温度点到达本温度点的升温或降温速率。勾选"修改升降温速率",并输入合适的值(升降温速率范围为0.1-4.0 °C/秒)。

示例说明如何编辑实验程序,实验程序如下:

程序段	温度	时间	循环
<b>把</b> 它仍 1	50 °C	2 分钟	1 1/2
推广校Ⅰ	95 ℃	10分钟	1 代
	95 °C	15秒	
程序段 2	65 ℃-56 ℃ 每个循环下降 1 ℃	15 秒	10次
	76 °C	20 秒	
	95 ℃	15 秒	
程序段3	55℃ 采集荧光	30秒	40 次
	76 °C	20 秒	

点击实验程序选项卡,可见软件默认程序段如下(图 5-7);点击程序段 1-步骤 2 的时间框



点击选中程序段 1,此时可见程序段 1 变红色;点击插入程序段菜单,可见在程序 1 后面新增了 程序段 2,点击下方的循环数框,输入"10"(图 5-8 左)。点击选中程序段 2-步骤 1,再点击 2 次插入步骤菜单,可见新增了 2 个步骤(图 5-8 右);



#### 第 32 页 共 54 页

- 点击程序段 2-步骤 1 的时间框,输入时间 15 s;点击程序段 2-步骤 2 的温度框和时间框,分别输入"65","00:15";同样的,点击程序段 2-步骤 3,输入温度值"76","00:20";
- ▶ 点击程序段 2-步骤 2,并点击菜单高级编程,勾选降落 PCR 设置;在起始循环框中输入"1",在

温度变化框中选择 , 并输入"1"; 确定后程序界面显示如下(图 5-9)。

 点击选中程序段 3-步骤 1,再点击插入步骤框,在新增的步骤 2 中输入温度"55",时间"00:30", 点击
 使之变蓝色;在步骤 3 中输入温度"76",时间"00:20"。编辑好的实验程序界面如下(图 5-10)。



#### 调用实验程序

用户可通过以下2种方式调用其他实验或项目的实验程序:

▶ 点击导入菜单,可导入其他项目的实验程序并在此基础上编辑实验程序(图 5-11)。





- 在软件中实验程序预览或编辑界面上右击,选择"设为项目的默认实验程序",可将该实验程序设 为默认程序。
- 5 (可选)点击实验参数选项卡,修改实验参数。分析参数界面上显示了当前项目所有检测目标的参数,不同的项目类型的参数可能不同。

#### 第 33 页 共 54 页

- 通常情况下,软件提供的默认参数适用于大部分商业化试剂盒。用户也可根据实验结果或者试 剂说明书修改分析参数。
- 如需复制和黏贴参数,点击参数单元格后,选择复制菜单;再选择待黏贴的单元格,点击**黏贴** 菜单。也可通过右键命令操作。
- ▶ 如需将当前参数恢复为默认值,点击**恢复默认参数**菜单。

关于不同项目类型的分析参数信息,请参考第七章 软件应用。



图 5-12

**6** (可选)如有需要,点击**结果判定**选项卡,输入结果判定规则或者调用相应的结果判定文件。

78	100	IA SHENTEK PCR 分析系统 8.22	
n %0	a xe		HZSCBIO
2000 C	REAR	ARAN'. Grezzen	
) XUON (IRAU		ACCENT ON A CONTRACT OF A	.T.X 104
	488	-9928-993 9256   1999   76   169   1995   169   76	.12.X 1933
	0.440	MAXXXXIII MAXXXXIII (1997) 1987 [1997] 1981 [197 ] 197 [197 ]	11X 103
0 80888 /	_ P3(627	/['sec'#]	

图 5-13

用户可联系试剂厂商获取相应项目的结果判定规则。

7 保存并关闭项目。用户创建或编辑好项目文件后必须先将其关闭,否则不能在实验中引用该项目。

# 第六章 软件功能详述——工具

SHENTEK-96S 系统软件的工具界面包含有三个功能,软件选项用于设置软件,包括按用户的使用习惯配置软件;数据查询用于在多个实验结果中查询特定数据;系统信息用于查看系统的 LOG 信息。本软件版本只开放软件选项功能,如需了解其他功能,请联系生产商。

# 6.1 软件选项

工具选项卡中的**软件选项**用于修改软件界面显示以及操作的默认方式,用户可根据自己的使用偏好设置反应孔信息表,反应孔选择器以及曲线等的操作和数据显示方式。软件选项功能对将来的实验文件生效,对正在运行或已存在的文件无效。



对已存在的文件或正在运行文件,用户可以在实验向导中的**常用选项(图 6-1)**和表格选项菜单界面中修改软件选项(仅对当前实验文件生效)。

英始 项目 工具	SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2	7 1 - ×
	<b>第四接须 表版列接领</b>	
	容品 <u>做意</u> 来创作	
	【品紙的方式 ● 57章 □ 審集 □ 審集 □ 審集 □ 審集 □ 第234時1-419-4	
6.77.859	✓ 法律道以科学计教法显示	
於探查询		
	<b>能找样式 ④ ④ ● ● ● № 取以約色分型</b>	
	Y输展示方式 ④ 按照有孔微大Y输展示 ① 按照话题编刷大Y输展示 ② 按照话题编刷大Y输展示	
系统管理	● 找选手孔最大学输出示 ● 封所造编线最大学输出示	
	✓ 開始場所可認力研究する情報	
	✓ It detures to state to an t	
	たた形は構成し、 - 金字を取られるなはなかせー、 (A) 体はするない、 い気が見合きない、 (A) かんなつからたまなながら	
	Anumental control of the state	
	✓ 界通上显示功衡数据表	
	□ 自生2.71.65入	
	实验党排制认保存指征。C:Program Files ()的GHENTEX POR 分析系统 3.2.2 Experiment. 1085	
	汉政教展示出	
		*
		依要默认祝罢

图 6-1

#### 6.1.1 常用选项

样品信息表选项

- 样品排序方式:设置样品在反应孔信息表中的排序方式,请参考 4.2.3 反应孔信息表。
  - 竖排:表格中的样品按照在反应孔选择器中从上往下的方式(A1,B1,...,G1,H1)进行排序。
  - 横排:样品按照从左往右的方式排列,即A1,A2,...A11,A12;
  - 横排&模块 A 优先: 样品按照从左往右的方式排列,并且先排模块 A 的样品,再排模块 B 的样品,
     即 A1,..., A6, B1,...H6, A7, A8...H12;
- ▶ 数据选择方式:设置用户在样品信息表中选择数据的方式,请参考 4.2.3 反应孔信息表。
  - **目标:**点击单元格时,选中该单元格所在的行,即选中检测目标;
  - **反应孔**:点击单元格时,选择该单元格所属的反应孔;
  - 样品:点击单元格时,选择该单元格所属的样品;如样品为单管,则选择单个反应孔,如为多管,则选择一组样品的多个反应孔。
  - **单元格**:点击选中单元格。
- ▶ **表格缩放:**设置反应孔信息表的字体大小。
- ▶ 显示样品间隔线:如果当前样品为多管样品,样品之间以间隔线隔开,请参考4.2.3 反应孔信息表。
- 浓度值以科学计数法显示:如反应孔信息表中有浓度值,比如浓度,平均浓度等,浓度值显示格式为科学计数法。

#### 第 35 页 共 54 页

#### 图表选项

- ▶ 曲线样式: 设置图表中曲线的粗细。
- ▶ 默认颜色设置:点击此按钮进入如下窗口,用户可在此窗口修改不同通道中曲线的显示颜色(图 6-2)。



- Y 轴缩放: 设置图表中 Y 轴最大值的显示方式,参考 4.4 查看并分析实验。
  - 按所有孔最大 Y 轴显示: Y 轴最大值固定,为反应孔选择器中所有曲线的最大 Y 轴
  - 按所选通道最大Y轴显示:Y轴最大值随所选通道的不同而变化
  - 按所选项目的最大 Y 轴显示: Y 轴最大值按所选项目的不同而变化
  - 按选中孔最大 Y 轴显示: Y 轴最大值按照所选曲线的最大 Y 值显示
- 鼠标悬停时显示曲线详细信息:将鼠标悬停在曲线上,将会显示该曲线的详细信息(如孔号,通道号等), 请参考 4.4 查看并分析实验。
- ▶ **扩增曲线算法:**修改软件扩增曲线的默认规格化算法。用户切换算法后,需重新设置阈值。
  - 相对荧光值法: 仪器采集到原始荧光数据后,将每个循环的原始数据除以基线荧光值,得到荧光值
     的相对增长量并作图,即为规格化扩增曲线。SHENTEK-96S分析系统默认使用相对荧光值法。
  - 绝对荧光值法: 仪器采集到原始荧光数据后,将每个循环的原始数据减去基线荧光值,得到荧光值的绝对增长值,将荧光绝对增长值作图得到规格化扩增曲线。市场上大部分荧光定量 PCR 仪器采用此算法。
- 选中的反应孔显示到标准曲线上:如用户在孔板选择器上选中的反应孔的 Ct 值在标准曲线范围内,将此反应孔(浓度和 Ct)显示到标准曲线图中,请参考 7.1.2.3 定性/绝对定量实验分析。
- ▶ 扩增曲线图中显示阈值线:将所有检测目标的阈值线显示到扩增曲线上,请参考 7.1.2.3 定性/绝对定量实验分析。

#### 反应孔选择器选项

- 多管实验反应孔选择方式:设置多管样品的反应孔选择方式,请参考4.2.2反应孔选择器。
  - 按样品选择:多管实验中,用户在孔板选择器上选择反应孔时以样品为最小选择单位,即点击反应 孔,将同时选中该反应孔关联的其他孔:允许按 Ctrl+反应孔选中单个反应孔是指如按住 Ctrl 键,同 时点击反应孔,将选择单个反应孔。
  - 按反应孔选择:多管实验中,用户在点击反应孔时只选中单个反应孔。
- 孔板默认显示:修改反应孔选择器的默认显示内容,请参考4.2.2反应孔选择器。
  - **项目名:**显示反应孔的项目名信息;
  - **姓名**:如反应孔为待测/重测样品,显示其姓名,其他样品类型显示属性值;
  - **样品唯一标识**:如反应孔为待测/重测样品,显示样品唯一标识;其他样品类型显示属性值。

#### 第 36 页 共 54 页

#### 其他

- ▶ **设置通道选择方式:** 可根据使用偏好定制通道选择习惯,请参考 4.4 查看并分析实验。
  - 按 Ctrl+通道按钮选择多个通道:点击通道按钮时只选中该通道的数据,如需同时选择多个通道,按 住 Ctrl 键并同时点击多个通道按钮;
  - 按通道按钮选择/取消:按住点击通道按钮选择该通道,再次点击取消选择该通道。
- 热盖设置:实验结束后,仪器将自动打开热盖,该功能用于设置热盖在自动打开前的等待时间,请参考 4.4 查看并分析实验。
- ▶ 数据联动显示,鼠标悬停时高亮相关信息:将鼠标悬停在某数据(孔板,曲线或者表格)上方,与该数据关联的所有信息将联动显示(数据加粗显示,曲线黑色加粗显示),请参考 4.4 查看并分析实验。
- 界面上显示分析参数表: 设置是否在分析界面上显示分析参数表, 请参考 4.4 查看并分析实验。

#### 6.1.2 表格列选项

表格列选项(图 6-3)用于设置反应孔信息表。通过表格列选项,用户可配置不同实验分析类型下需要显示或隐藏哪些信息,也可自定义新的列。

网络 我自 王具		SHEN	TEK PCR 分析系统	822	17 A 1990 D 36
	就用活动 素描列运动				
	其能类型: 全性48次全世				
		列表中与违律用字段		编辑的选手校	
	₩ Hes				
	2 24		学校名称:		
积件活动	✓ ñ.ñ		学校类型	文本	
	✓ B%		FRAMME		
218750	✓ Bits				
	🖌 militan				
	「東安成ち				
×10/EW	#B0				
	CI SD				
	✓ 318				
	- 平均丰度 - Co 10				
	Cn CV (%)				
	Rn olikte				
	ale ale				
	(₹) 唯一時限				
		TO MUSIE HISIDI			Course in Course

图 6-3

- 设置默认显示列: 在实验类型下拉列表中选择实验分析类型,并在列表中勾选合适的字段,如需恢复默认, 点击恢复默认选择按钮。
- ▶ 增加自定义列:如用户在列表中未能找到所需的列,可点击增加字段按钮新增一个列。

#### 第 37 页 共 54 页

# 第七章 软件应用

SHENTEK<sup>®</sup> PCR 分析系统支持多种实验分析模式,包括绝对定量/定性检测、终点法等位基因鉴定、熔解曲线分析、高分辨率熔解曲线分析等。当前软件版本只支持定性/绝对定量以及熔解曲线分析,如需运行其他 类型的实验,请联系生产商获取更高级的软件版本。用户在详细阅读并理解了前几部分内容后,可按本部分的 指导进行具体的实验操作。

# 7.1 定性/绝对定量分析

#### 7.1.1 定性/绝对定量分析概述

定性/绝对定量分析是 SHENTEK<sup>®</sup> PCR 分析系统最基本和常用的功能。定性分析用于检测待检样品中是否 含有目的基因,即对样品进行阴阳性判断。绝对定量分析用于检测未知样品中待测基因的绝对含量(比如每毫 升的拷贝数),临床上常用于体外诊断病毒含量。以下介绍了定性/绝对定量分析的理论基础,并解释了软件 中涉及的分析参数的涵义。

#### 关于实时定量 PCR 实验

PCR 反应的扩增起始阶段, 靶序列 DNA 片段呈指数方式增加, 但随着反应循环数的增加, 由于扩增产物增加、酶活力下降、焦磷酸盐分子聚集等因素的影响, 扩增效率下降,反应进入平台期。SHENTEK-96S 系统实时监测并记录了整个 PCR 反应过程,并绘制成扩增曲线。下图显示了典型的实时 PCR 扩增曲线(图 7-1)。



由上图可见,实时荧光 PCR 扩增曲线分为 3 个阶段:

基线期:基线期是指 PCR 扩增曲线最开始的一段平坦的区域,大致为扩增最初的 10~15 循环,被用于规格化荧光数据。在 PCR 扩增初期,由于扩增产物较少,产生的荧光信号很低,基本上被淹没在荧光背景中,因此基线期基本上反映了整个系统(包括仪器和试剂)的背景情况。

线性期:随着 PCR 反应的进行,扩增产物的荧光信号值不断增加,最终跃出荧光背景,进入线性期,在 扩增曲线图上表现为一段斜向上的区域,线性期的斜率能基本反映扩增效率。扩增效率是指一个循环后产物增 加量和这个循环的模板量的比值,范围为 0-1。

在线性期的初期,荧光值脱离背景线,达到一个阈值,称为荧光阈值,荧光阈值常常为基线荧光信号均值 加标准差的 10 倍。PCR 扩增达到荧光阈值时所对应的循环数称为 Ct 值, C 代表 Cycle, t 代表 threshold。Ct 与样品的原始模板量呈负相关,通过 Ct 值与原始模板的函数关系,可计算原始模板的数量。

平台期:随着反应循环数的增加,产生了大量的扩增产物、同时由于酶活力开始下降、焦磷酸盐分子聚集等不利反应因素,PCR 扩增效率开始下降,最终反应进入平台期。

#### 第 38 页 共 54 页

#### 关于绝对定量实验和标准曲线

实时荧光 PCR 中,每个模板的 Ct 值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系,起始拷贝数越多,Ct 值越小。

绝对定量分析是使用一组梯度稀释的已知浓度的标准品和临床待测样品同时进行测定,实验结束后得到标准品和待测样品的 Ct 值;再以标准品的浓度 LOG 值为 X 轴,以标准品 Ct 值为 Y 轴,在坐标图中绘制成标准曲线。待测样品通过实验测得 Ct 值后,利用标准曲线就能方便地计算出它的待测初始浓度。这种方法是假定所有的标准品和待测样品具有相近的扩增效率,梯度稀释标准品的浓度应包含临床样品的浓度范围,并在实时 PCR 仪和检测试剂方法的线性范围内。

#### 7.1.2 定性/绝对定量实验流程

### 7.1.2.1 创建定性/绝对定量项目

点击项目管理器界面左侧的新建项目按钮,创建一个新项目。

2 点击基本信息选项卡(图 7-2),在项目类型下拉菜单中选择"定性/绝对定量";如有需要,修改项目名称,反应体系等信息;





**3** 在**检测目标**区域输入检测目标信息。

④ 点击实验程序选项卡,编辑实验程序。

5 点击实验参数选项卡,按照试剂说明书修改实验参数。定性/绝对定量分析参数包括基本参数,定量 检测范围和交叉干扰,以下介绍了各类实验参数的功能。

	目标信息	通道	分析类型	基线起点	基线终点	基线优化	自动阈值	阈值	数字滤波
1	fam	1	定里	6	12	自动优化		0.02	不滤波
2	vic	2	定性	6	12	自动优化		0.02	不滤波

#### 基本参数:

上图为基本参数表界面(图 7-4)。由图可见,每个检测目标都有一套分析参数,包括:

- 分析类型:对当前目标设置定性或者定量分析。如选择"定量"分析,软件将通过内部或外部标准曲线计算当前目标的浓度值;选择"定性"分析时,软件通过计算 Ct 值来判断待测样品的阴阳性。
- 基线:确定当前目标的基线起点、基线终点以及基线优化方式。由于探针或其他因素的影响, 某些试剂在 PCR 扩增过程中,基线会出现略向上或向下倾斜,这种基线区非线性倾斜会影响用 户对结果的判断。基线优化用于对此类基线进行平坦优化处理,使实验结果恢复正常。

#### 第 39 页 共 54 页

- 基线的选择:基线要再曲线的基线期内选择比较平坦一段,基线起点应避开实验开始时荧光值不稳定的几个循环;基线终点应选在起始浓度最大的一条扩增曲线进入线性区的前几个循环。例如,假设扩增曲线进入线性区的循环为15(起始浓度最大的一条扩增曲线脱离背景线,开始"抬头"的循环值),基线应选第1-12循环,但由于在刚开始的几个循环,反应体系可能不稳定,测量的荧光值有时也不稳定,因此基线可选择第6-12循环。
- 基线优化:有3种选项,默认值自动优化是软件自动为每一条扩增曲线自动选择合适的基
   线起点和终点并分别进行优化,该模式适用于大部分商业试剂盒:手动优化指用户手动输
   入基线起点/终点,不优化是指不优化基线。
- 阈值:默认选择自动阈值,用户也可取消勾选自动阈值,并在手动阈值框内输入合适的阈值。
   SHENTEK-96S系统的荧光阈值设定值一般选在 0.01-0.20 之间,推荐初学者选择自动阈值或者 按照试剂说明书输入合适的阈值。阈值的设定原则如下:
  - 荧光阈值必须设在指数扩增区(线性区);
  - 荧光阈值设得太低,结果对检测误差敏感,易受误差影响;
  - 荧光阈值设得太高,管间差异对结果影响较大,并且有可能漏检弱阳性;
  - 荧光阈值一般的设置值为基线荧光值标准误差的 10 倍左右;
  - 荧光阈值的选择要使标准曲线的线性度最好。

基线与荧光阈值可重复调整,直到结果为最佳(标准曲线的线性度变为最好)。需要说明的是,参数的调整是为了降低结果对测量误差的敏感度以及减小计算误差,并不能改变实验的原始测量数据,也就是说,实验结果的好坏最终取决于测量所得的原始数据,参数的调整只是一个优化的过程。

更多关于分析参数的信息,请参考 7.1 定性/绝对定量分析。

数字滤波:对测量的荧光数据进行平滑滤波处理,消除测量过程中出现的抖动干扰误差。一般
 是在所测荧光信号值较小的情况下使用。

#### 定量检测范围:

定量检测范围用于设置试剂的最高/最低检测限。用户需根据厂商提供的试剂说明书输入定量检测线 性范围(图 7-4)。



#### 交叉干扰:

交叉干扰表用于校正多色实验(多通道实验)通道间可能存在的交叉干扰,用户可参考试剂厂商提供的说明书,并在表格中输入适当的交叉干扰修正值(图 7-5)。交叉干扰是指在多色实验中,由于 染料或探针产生的激发光的波段有轻微的重叠,导致通道之间的荧光信号存在轻微地相互干扰,不同 的试剂干扰的程度也不同,用户可通过设置各通道间的交叉干扰修正值(单位为%),从而消除通道之间的干扰,也称为颜色补偿校正。

交叉十打	π 🔪			
	通道1	通道2	通道3	通道4
通道1	0.00	0.00	0.00	0.00
通道2	0.00	0.00	0.00	0.00
通道3	0.00	0.00	0.00	0.00
通道4	0.00	0.00	0.00	0.00

图 7-5

如项目中有多个检测目标,且分析参数值都相同,用户可通过右键命令"复制"和"黏贴"来简化 输入。

⑤ 点击结果判定选项卡,输入结果判定规则或者调用相应的结果判定文件。如试剂的结果判定规则比 较简单,使用基本规则:基本规则(图 7-6)分为3项内容,实验质控用于输入实验合格的条件, 样品质控用于输入样品合格的条件;结果判定用于输入结果判断规则。如判断规则比较复杂,基本 规则无法满足,需使用高级规则,用户需联系试剂厂商获取相应项目的结果判定规则。以下举例说 明如何输入基本规则。

	宗社	项目	IA SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2	1 <del>-</del> x
## ##	(日本) (日本) (日本)	Ent Ent		HZS(BIO
() #1	住住	基本统网		
جو	U.F.	实验新的	###12681#800 20	3010 1988
(E) 75	27.8%		area real and the same the same	
Ø 118	利定			
		保品质的	1 2 2	
			■ 使性名無性無限 第2年4月 - 9月10日 - 9月11日 - 9月11日 - 9月11日 - 9月1日 - 9月10日 - 9月1000000000000000000000000000000000000	\$210 B08
		结果利益	2 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	3010 BHF8
			READ UNRE DE LOR DED ART DE C. PL	
<u>余</u> 項目	2.953 A	project1	l ■ / prijed2)a	

图 7-6

7 保存并关闭项目。

7.1.2.2 创建定性/绝对定量实验

- 在实验 Home 界面上点击实验向导按钮创建一个实验;
- 2 在基本设置选项卡的实验类型中选择"定性/绝对定量",输入实验基本信息,并按需求设置仪器。
- ③ 点击孔板编辑选项卡,在反应孔选择器上选择反应孔,并在右上方的项目列表中选择之前创建的项目,然后在右下方定义反应孔。

样本类型	描述	属性
标准品	已知 DNA 浓度的样本,用于生成标准曲线,定量 未知样本	输入浓度值
待测样本	待检测的未知样本	输入注释
阴性对照	阴性质控	输入注释:如-
阳性对照	阳性质控	输入注释,如+
质控品	已知浓度的阳性质控	输入浓度值
无模板对照	未加模板的反应体系	输入注释:如-

自动标准品:

定性/绝对定量实验中,可通过自动标准品菜单快速设置梯度稀释的一组标准品。选择合适数量的反应孔,点击选中项目文件,再点击菜单自动标准品。自动标准品编辑器界面中,复管个数表示同一个浓度的标准品需做几个复管,默认值1表示同一个浓度的标准品只有一个。在起始浓度和稀释梯度区域输入合适的值。如下图(图 7-7),设置了5个反应孔,浓度分别为"1000","10000",

#### 第 41 页 共 54 页

夏管个数:		1	
起始浓度:		1000	
稀释梯度:	递增	10	

- ④ 如有需要,点击样品信息选项卡,并输入详细信息。
- 5 点击实验运行选项卡,并点击菜单栏右侧的**开始**按钮,开始运行实验。
- 6 实验结束后,系统将弹出对话框提示实验已经结束,结果文件将自动保存到先前指定的文件夹中。 推开滑盖,将反应管取出,然后关闭滑板并盖上防尘罩。

#### 7.1.2.3 定性/绝对定量实验分析

- ① 运行结束后,软件自动分析实验结果并转跳至实验分析选项卡。在实验分析界面上查看实验数据, 界面左上方显示了反应孔信息表,如检测目标的分析类型为定性分析,表中显示检测目标的 Ct 值, 结论;如检测目标为定量分析,表格中将显示 Ct 值,浓度,结论信息。右侧显示曲线图包括扩增曲 线,原始曲线,实验程序以及标准曲线。
  - 扩增曲线:扩增曲线显示了所选样品的规格化后的扩增曲线及其阈值线,如需隐藏阈值线,点 击菜单常用选项,取消勾选图表选项的"扩增曲线图中显示阈值线"。如扩增曲线图中仅显示一 个检测目标的曲线,将鼠标移到阈值线上,可通过拖动阈值线修改阈值(图 7-8)。



▶ 原始曲线:原始曲线图(图 7-9 )显示了所选样品的原始荧光曲线,为仪器实测荧光信号。



在菜单**表格选项**中可选择显示/隐藏列。

2 如检测目标的分析类型为定量,软件将根据标准曲线计算其浓度值(图 7-10),并显示标准曲线图表。

#### 第 42 页 共 54 页

	反应孔 マ	管名 🔽	通道 🕇	目标 マ	颜色	类型 ▽	属性 マ	Ct 🔽	浓度 マ	结论 ▽
1)	A1		1	test-1		标准品	1.000E5	27.88	1.021E5	
2	H1		1	test-1		标准品	1.000E5	27.89	1.016E5	
3	E2		1	test-2		标准品	1.000E5	27.49		
4	D3		1	test-1		待测样品		27.96	9.645E4	
5	F3		1	test-2		标准品	1.000E5	27.66		
6	C4		1	test-1		待测样品		27.85	1.043E5	
7	D4		1	test-1		待测样品		NoCt	<5.000E2	
8	E4		1	test-1		待测样品		NoCt	<5.000E2	
9	G4		1	test-2		标准品	1.000E5	27.65		
10	B5		1	test-2		标准品	1.000E5	27.61		

根据标准曲线的来源不同,可分为内部标准曲线和外部标准曲线。内部标准曲线是指用户在反应 孔板上设置了标准品(至少2个以上且浓度不同),实验结束后,软件自动将标准品的Ct和属性值 (浓度值)绘制成标准曲线,并用此标准曲线定量待测样品。界面右上方显示了当前实验的所有分 析类型为定量的检测目标的标准曲线(图 7-11)。右击该区域并选择导出数据可将标准曲线信息导 出到 EXCEL。





用户选中的样品如在标准曲线的线性范围内,该样品将显示到标准曲线上。如需隐藏此功能, 点击菜单**常用选项**,取消勾选**图表选项**中的**"选中的样品显示到标准曲线上**"。

#### 保存标准曲线

如需保存标准曲线,点击**外部标准曲线**菜单的保存按钮,在待保存标准曲线的的项目名前打勾, 并输入合适的文件名和试剂批次信息,最后点击保存(图 7-12)。标准曲线以项目为单位保存。



图 7-12

#### 导入外部标准曲线

如实验中未设置标准品或者合格的标准品小于 2 个,软件将弹出下框(图 7-13 左)提醒用户调 用外部标准品。点击确定后将弹出调用外部标准曲线对话框(图 7-13 右),勾选项目名后面的"使 用外部标准曲线",并在文件名下拉菜单中选择合适的外部标准曲线,点击确定。

Q

如对本次实验的标准曲线不满意,用户调用外部标准曲线优化实验结果。

#### **SHENTEK**<sup>®</sup>

#### 版本: A/3

2	警	<u></u>	× •	l.	调用外部	3标准曲线	- 🗆 🗙
以下检测	目标的合格标准品不足2个,无	法进行定量分析!		项目 1 test-1	使用外部标准曲线	文件名	•
	来自项目	检测目标		2 test-2		test-2	
1	test-2	test-2					
是否调用	外部标准曲线?	确定 取消		i (初期次): 29 60 28 25 54 22 44 19 22 44 19 22 44 19 21 44 21 44 20 14 18 78 17 43 20	5.0 Log	6.9 7.9 Cone) 7.9	7976 6881 -0.99881 0.97641 8.0 8.0
		图 7-1	13				

#### 外部标准曲线管理

点击标准曲线下拉菜单的外部标准曲线管理器,打开如下窗口(图 7-14),列表中显示了软件中保存的所有标准曲线(std 文件夹)。点击导入按钮将其他标准曲线保存到此文件夹中;在列表中选中一个标准曲线并点击导出,可将该标准曲线保存到其他地址。



# 7.2 标准熔解曲线分析

#### 7.2.1 熔解曲线分析概述

熔解曲线(Melt Curve)是描绘随温度升高 DNA 的双螺旋结构降解程度的曲线。在对 PCR 扩增产物加热的过程中,随着温度的升高,DNA 双螺旋逐渐解链,当到达某一温度时,会出现大量的产物解链,同时荧光 急剧下降。总的 DNA 双螺旋结构降解一半的温度称为熔解温度(Tm),不同序列的 DNA,Tm 值不同。熔解 曲线分析通过利用不同模板的熔解表现的差异以及 Tm 值的不同,对 PCR 扩增产物进行特异性鉴定。熔解曲 线分析可用于检测扩增产物的特异性,也可通过 FRET 或者分子信标技术进行基因分型研究。

# 7.2.2 标准熔解曲线实验流程

#### 7.2.2.1 创建标准熔解曲线项目

- 点击项目管理器界面左侧的新建项目按钮,创建一个新项目。
- 2 点击基本信息选项卡(图 7-15),在项目类型下拉菜单中选择"标准熔解曲线";如有需要,修改项目名称,反应体系等信息;



- 3 在**检测目标**区域输入检测目标信息。
- ④ 点击实验程序选项卡,编辑实验程序。
  - 点击插入程序段下拉菜单并选择当前程序段之前,在默认的熔解程序段之前添加 PCR 扩增程序段,编辑 PCR 扩增程序。
  - ▶ 根据试剂说明书修改熔解程序段。软件提供了2种扫描模式,Continuous 扫描和 Step 扫描。

扫描类型	描述	参数	说明
Continuous	仪器的反应模块以一定的速率升温,同时 扫描系统持续不间断的扫描整个孔板	升温速率	反应模块的升温速率,输入范围 为 0.01-0.06℃/秒
Star	扫描系统每隔一定的温度扫描孔板,此时	扫描间隔	扫描系统的温度扫描间隔,输入 范围 0.1-1℃
Step	及应接达在该血度点体持恒温并持续一 段时间	恒温	反应模块在某个温度点的保持 时间 8-99 秒



图 7-16

5 点击实验参数选项卡,按照试剂说明书修改实验参数。如实验中进行 PCR 扩增,则需输入基本参数; 如实验为多色熔解曲线,有时需输入交叉干扰校正值。更多关于基本参数和交叉干扰校正的信息, 请参考 7.1.2 定性/绝对定量实验流程。

点击熔解曲线参数选项卡,按试剂说明书输入合适的参数值。以下介绍了标准熔解曲线的参数的功能:

- ▶ 最小温度:界定熔解曲线的最小温度,所有低于该温度的熔解峰被认为是无效峰;
- ▶ 最大温度:界定熔解曲线的最大温度,所有高于该温度的熔解峰被认为是无效峰;
- ▶ 噪声阈值:即峰高阈值,用以排除噪声和非特异性杂峰。

#### 第45页共54页



图 7-17

- 6 如有需要,点击结果判定选项卡,调用从试剂厂商处获取的高级规则文件。
- 7 保存并关闭项目。

#### 7.2.2.2 创建标准熔解曲线实验

- 在实验 Home 界面上点击实验向导按钮创建一个实验;
- 2 在基本设置选项卡的实验类型中选择"标准熔解曲线",输入实验基本信息,并按需求设置仪器。

314	明日 工具						SHENTEK PCR 分析系统 8.2.2			
# <b>E</b> . 177	7.00 gp		100 E	2000 00000	ETER RASS					HZS(BIO
	0228									
	0254	SHENTEK-05P				12849	IN15002401			
🛞 пали	TUSE					(RANKE)	C-Program Files (d6)/GHENTEK PCR SHE & 42	Experiment		M.
C Rear	FRAD	22104029			*	878			Fite Fite	8
(b) 2804	试剂批次					式#6 <b>8</b> 号:				
	*1									
	-2020									
		-			各样炎症爆発				No.	()重
			N an	A.		12 m	n		N HART	
					tran-			_		e.) #
				78		0.47	τĂ		· crawfauniten	Oatema
S Home / Ho	it us 7									
and the second second										

图 7-18

- ③ 点击孔板编辑选项卡,在反应孔选择器上选择反应孔,并在右上方的项目列表中选择之前创建的项目,然后在右下方定义反应孔。
- ④ 如有需要,点击样品信息选项卡,并输入患者的详细信息。
- 5 点击实验运行选项卡,并点击菜单栏右侧的**开始**按钮,开始运行实验。
- 6 实验结束后,系统将弹出对话框提示实验已经结束,结果文件将自动保存到先前指定的文件夹中。 推开滑盖,将反应管取出,然后关闭滑板并盖上防尘罩。

#### 7.2.2.3 标准熔解曲线分析

 运行结束后,软件自动分析实验结果并转跳至实验分析选项卡。在实验分析界面上查看实验数据, 界面左上方显示了反应孔信息表,显示了检测目标的Tm值和Rm值。

	反应孔 マ	项目 ▼	管名 ▽	通道 🔻	目标 マ	颜色	类型 ▽	属性 マ	Ct 🛛	Tm1 ▼	Rm1 ▼	Tm2 ♥	Rm2 V
1	A1	Del HBA-四通道	管1	1	A-FAM		待测样品		27.11	49.63	2.20	64.27	6.18
2				2	A-HEX		待测样品		23.17	65.88	25.85		
3				3	A-ROX		待测样品		21.90	66.54	16.20		
4 )				4	A-CY5		待测样品		25.42	59.67	60.18		
5	A2	Del HBA-四通道	管2	1	B-FAM		待测样品		21.22	67.45	13.59		
6				2	B-HEX		待测样品		22.36	44.89	0.70	67.05	10.54
7				3	B-ROX		待测样品		24.35	57.36	10.61	67.00	12.05
8				4	B-CY5		待测样品		21.28	67.05	114.69		
9	B1	Del HBA-四通道	管1	1	A-FAM		待测样品		26.51	49.89	2.22	64.26	6.29
10				2	A-HEX		待测样品		22.08	65.92	26.41		



在菜单表格选项中可选择显示/隐藏列。

- 2 右侧显示了曲线图包括熔解峰值曲线,规格化峰值曲线,原始熔解曲线,扩增曲线,原始曲线以及 实验程序。
  - ▶ 原始熔解曲线:原始熔解曲线显示了所选样品的实测温度 Vs 荧光值曲线。



熔解峰值曲线:即导数熔解曲线,图中显示了最大/最小温度阈值线。如当前图中仅显示一个目标的熔解曲线,将鼠标移至温度阈值线上可往左或往右拖动。





规格化峰值曲线:将原始熔解曲线扣除 PCR 扩增基线期的荧光背景,再求导获得规格化峰值曲线。



# 第八章 软件应用-Part 11 应用

早在 1997 年, FDA 就对电子记录和电子签名作出了规定,即 21 CFR Part11。这项法规适用于在美国开展 业务的制药公司、制药公司的供应商、制药相关分析仪器的制造商等。只有符合此法规,才可以正常销往美国 市场,并且遵照此法规而保留的数据才可以作为通过检验或者今后追溯的有效数据来源。此法规确保了电子数 据的有效性和可靠性。

可靠的电子签名,需具备与手写签名或者盖章同等法律效力。与纸质记录相比,电子记录的优点是节省了 成本,减少了人员管理和文件维护文件,提高了数据安全性以及准确性。但是同样的,如何保证电子记录的真 实性也是重中之重。

SHENTEK<sup>®</sup> PCR 分析系统增加可拓展模块 Part 11 模块,支持 21 CFR Part 11 相关的要求。主要包含对应的账号密码管理,不同的账户分级权限,电子签名管理,日志审计追踪,数据备份管理等符合 21 CFR Part 11 相关要求的功能及模块。

SHENTEK<sup>®</sup> PCR 分析系统对应的 Part 11 模块需要相应的密钥进行激活。使用 Part 11 模块进行的实验测 试数据会被保护,需要通过匹配密钥才能查询与修改,不可以使用不含对应模块的分析系统打开。

# 8.1 Part 11 功能激活与应用

按照步骤 3.5 中对 Part 11 相关的需求安装的软件搭配对应的密钥即可进行激活。 相关的 Part 11 模块的激活,具体应用及示例需要联系相关技术支持人员。

#### 第 48 页 共 54 页

# 第九章 仪器保养与维护

# 9.1 仪器清洁

#### 仪器表面清洁

仪器的表面应定期用软布加少量清水擦洗,清洗后将仪器擦干。若有试剂泄漏在仪器表面,应用软布加 70%酒 精擦拭干净。

#### 反应孔清洁

反应孔沾染灰尘或杂质后,会影响PCR扩增和荧光检测,因此要定期清洁,一般3个月一次,可用吹气球轻轻吹拭。

为了防止灰尘进入反应孔,仪器不使用时,必须关闭滑板,并套上防尘罩。

若有试剂进入样本孔内,应用无尘软布加70%酒精擦拭干净。



🔪 清洁仪器前必须关闭电源,并拔掉电源线。

不要将液体倾倒在反应模块中或者仪器内部。不能用强腐蚀性溶剂或者有机溶剂擦洗仪器,若采用非 制造商建议的消毒剂或清洗剂,应咨询制造商或其代理。

# 9.2 保护仪器

不要频繁开关仪器,两次开关间隔时间不得低于30秒。

实验结束后不要立即关闭电源,保持待机状态10分钟后(此时仪器内部风扇仍在持续工作),待模块温度降至 室温再关闭电源。

请使用原厂商提供的电源线和通讯线。

禁止在仪器上进行沸水浴或者低温保温(如4℃)。

非原厂维修人员禁止擅自拆开仪器。

9.3 更换保险丝

仪器装有两个 10A 保险丝,用以保护仪器。当保险丝发生损坏后,用户可按如下方法更换保险丝:切断主 机电源,并拔掉电源线;用一字螺丝刀逆时针拧开保险丝盒盖子,取出保险丝并更换新的保险丝(保险丝型号 为Φ5×20 mm-10 A、250 V);最后将保险丝盒盖子按顺时针方向拧,使之盖紧,最后插上电源线。

🚺 更换保险丝前必须关闭电源并拔掉电源线。

#### 9.4 废物处理

每次实验结束后,试管内有大量扩增产物,应按相关规定尽快处理,以免污染实验室及仪器。

💫 将试管从反应模块中取出后不要打开试管,否则其中高浓度核酸将污染实验室。

#### 9.5 过热保护

仪器的加热系统设有过热保护装置,当加热系统发生故障,温度值超过允许范围的上限时,保护装置会自动断开,并不可恢复,此时,加热系统无法继续正常升降温。



#### 第49页共54页

# 附录一 系统基本算法

#### 1、荧光定量基本算法

$F_1$	参考孔 1 在第 Ct1 个循环时的原始荧光信号强度
$F_2$	参考孔 2 在第 Ct2 个循环时的原始荧光信号强度
$\mathbf{f}_1$	参考孔 1 在第 Ctl 个循环时的规格化荧光信号强度
$\mathbf{f}_2$	参考孔 2 在第 Ct2 个循环时的规格化荧光信号强度
$K_0$	背景荧光系数
K	信号荧光系数
$I_1$	参考孔1激发光强度
$I_2$	参考孔 2 激发光强度
$C_1$	参考孔1的初始浓度值
$Ct_1$	参考孔1的Ct值
$C_2$	参考孔 2 的初始浓度值
Ct <sub>2</sub>	参考孔 2 的 Ct 值
Е	扩增效率

假设参考孔1、2的扩增效率相等,背景荧光系数相等,那么

$$F_{1} = K_{0}*I_{1} + K*I_{1}*C_{1}*(1+E) C^{t1}$$

$$F_{2} = K_{0}*I_{2} + K*I_{2}*C_{2}*(1+E) C^{t2}$$

$$F_2 = K_0 * I_2 + K * I_2 * C_2 * (1+E) C_1$$

其中 K0\*I 为基线荧光值,对 F1、F2 进行规格化后:

 $f_1 = LOG (F_1/(K_0*I_1)) = LOG (1+(K/K_0)*C_1*(1+E)^{Ct1})$ 

 $f_2 = LOG (F_2/(K_0*I_2)) = LOG (1+(K/K_0)*C_2*(1+E)^{Ct2})$ 

由于每个孔在第 Ct 个循环时的规格化荧光信号强度均相等, f<sub>1</sub> = f<sub>2</sub> = 荧光阈值,于是

 $LOG (1+ (K/K_0) *C_1* (1+E) Ct1) = LOG (1+ (K/K_0) *C_2* (1+E) Ct2)$ 

 $1+ (K/K_0) *C_1* (1+E) Ct1 = 1+ (K/K_0) *C_2* (1+E) Ct2$ 

 $C_1*(1+E)^{Ct1} = C_2*(1+E)^{Ct2}$ 

$$C_1/C_2 = (1+E)^{-Ct2-Ct1}$$

两边取 LOG 后,变为:

 $(LOG (C_1) - LOG (C_2)) / (Ct_1 - Ct_2) = -LOG (1+E)$ 

以上公式表明:待测样品初始浓度的 LOG 值与它的 Ct 值成线性反比;其斜率为-LOG(1+E)。

#### 2、相关系数计算方法

相关系数表示标准品点偏离标准曲线的程度,最佳值为-1,表示标准品点全部落在标准曲线上,相关系数 的可接受范围请参考试剂说明书,一般为-0.99--1。

相关系数计算公式如下:

$$r = \frac{\sum (X - \overline{X})(Y - \overline{Y})}{\sqrt{\sum (X - \overline{X})^2 \sum (Y - \overline{Y})^2}}$$

式中: r 相关系数;

- X 数据点 X 轴坐标值;
- X 所有数据点 X 轴坐标值的算术平均值;
- Y 数据点 Y 轴坐标值;
- $\overline{Y}$  所有数据点 Y 轴坐标值的算术平均值;
- n 数据点个数。

#### 第50页共54页

#### 3、变异系数计算方法

变异系数代表检测的重复性。一般设置n个初始浓度相等的试管,检测后,计算它们Ct值的变异系数,来 表示检测重复性的好坏。CV值的最佳值为0%。

变异系数 CV 值计算公式如下:

$$CV = \frac{\sqrt{\sum (X - \overline{X})^2 / (n - 1)}}{\overline{X}} \times 100\%$$

- 式中: CV 变异系数;
  - X 数据值;
  - X 所有数据值的算术平均值;
  - n 数据个数。

# 附录二 疑问解答

所遇问题		原因分析		解决方案
一、软件无法安装或安装后无法正常使用	1、	WINDOWS 系统有错	1、	重装 WINDOWS 系统;
		误或某些相关文件损	2、	更换更高配置的电脑;
		坏、丢失;		
	2、	PC 机的配置低于规定		
		要求;		
二、关闭热盖出错!	1、	仪器故障;	1、	联系经销商或生产商;
三、滑盖未到位!	1、	仪器的滑盖未关好	1、	将仪器滑盖推至合适位
				置.
四、热盖超温出错!	1、	仪器故障	1、	联系经销商或生产商;
五、未收到荧光信号	1、	PCR 程序中"荧光检	1、	使"荧光检测"步骤的保
		测"步骤的保持时间小		持时间大于20秒;
		于 20 秒;		
	2、	实验时,系统运行过多	2、	实验时,请关闭其它应
		的应用程序,导致资源		用程序;
		被占;		
六、实验时发生断电	1,	电网停电或电源线插	1.	重新通电后,打开软件,
		头松切;	开:	医提示选择从断点处继续 
	1	公明中海中村工	运	行; 
七、		仪畚电源木打开;	1,	打开仪畚电源;
	2.	KS232 甲口线或有	25	位宣迪讯连按;
		USB 转 KS232 庄按线 主ట正觉连接。		
小	1	小 彤 山 吊 足 按; 	1	打开位翌中海
八、以雷应旧山相;	1 \ 2	仅备电砺不11刀; PS222 电口线武者	1 \ 2	11.71 仅备电你; 检查通讯线.
	21	NS2.52 中口线或有 USB 转 R S737 连接线	21	位旦起机线;
		未能正常连接:		
九、热盖无法升温!	1,	仪器故障:	1,	联系经销商或生产商;
十、模块升降温出错!	1、	仪器故障;	1、	联系经销商或生产商;
十一、模块超温出错!	1、	仪器故障;	1、	联系经销商或生产商;
十二、标准曲线相关系数不佳	1、	试剂商提供的标准品	1、	取高浓度标准品自行稀
a		反复冻融后浓度值发		释;
3		生偏差;	2、	规范操作;
20	2、	操作误差;	3、	联系试剂厂商;
	3、	试剂质量问题;	4、	联系仪器或试剂厂商;
21	4、	试剂程序与仪器不匹	5、	输入正确浓度;
α		酉己;		
21	5、	标准品浓度输入错误;		
4 5 6 7 0 Lag(00)				
十三、实验开始几个循环扩增曲线不平	1、	石蜡油较高的热容量	SH	ENTEK 系统软件已对此
		造成;	作	过优化处理, 前几个循环

所遇问题	原因分析	解决方案
	<ol> <li>2、荧光探针问题;</li> <li>3、试管中含有气泡;</li> </ol>	的扩增曲线不平对实验结果 毫无影响,但用户应对试管 离心数秒,以排除内部的气 泡及挂壁试剂;
	<ol> <li>1、标本前处理不干净(如 融血、杂质等);</li> <li>2、吸取上清液时将蛋白、 沉淀等杂质吸入;</li> <li>3、没有按照试剂说明书 进行样品前处理;</li> </ol>	<ol> <li>1、标本处理前尽量去除杂 质,如取血清时避免吸 入红细胞,分泌物先低 速离心,将底部杂质去 除;</li> <li>2、吸取上清液时要小心;</li> <li>3、样品前处理要规范;</li> </ol>
<b>十五、全部扩增曲线轻微向上或向下倾斜</b>	1、试剂中的荧光探针问题;	1、选择"基线优化"参数后进 行数据分析,可消除影响;
	1、试管漏气造成;	1、选择"基线优化"参数后进 行数据分析,可消除影响;
十七、个别孔扩增曲线严重抖动	1、该孔荧光信号过低,可 能未放试管,或者放置了空 管,或者以水代替阴性对 照;	1、未放试剂的试管在模板中 不要去设置,或设置为"未 用";

所遇问题	原因分析	解决方案
	1、试剂的荧光信号偏低;	1、选择"数字滤波"参数后进 行数据分析,可使扩增曲线 光滑;

修订日期: 2023 年 10 月 18 日 生效日期: 2023 年 10 月 19 日

服务支持



湖州申科生物技术股份有限公司 www.shenkebio.com 地址:浙江省湖州市红丰路 1366 号 6 号楼 Email: Info@shenkebio.com 电话: 400-878-2189