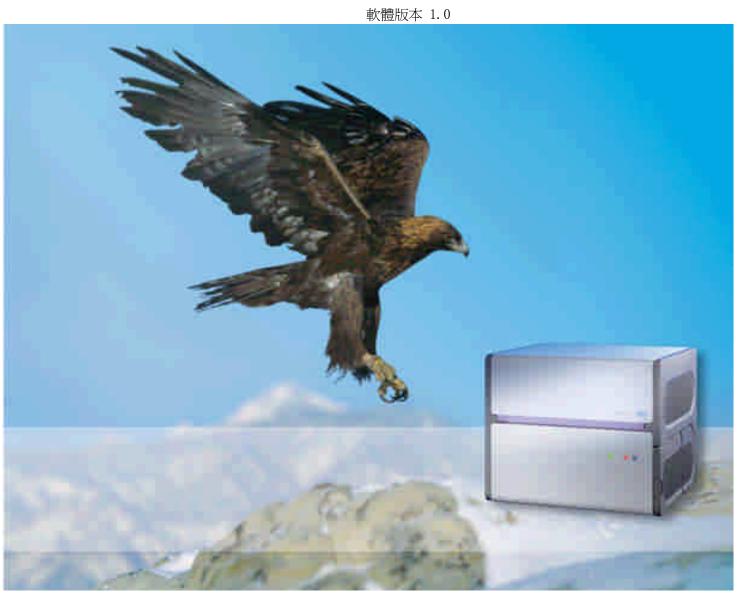


羅氏應用科學 LightCycler® 480 儀器操作手冊

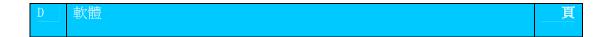


3

	前青	頁	
	かきて th		•
<u> </u>	修訂史		
一· 三.	聯繫地址		
	一致性申明		
四.	保證		
五.	商標 用途		
六.	用述····································		
七加	5 7 77		
八. 九.	軟體許可協定 導言		
ル・ 十・	号目・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・		
・ 十一.	本手冊中的約定		
	文字約定		
	符號		
十二.	*************************************		
1 —•	操作要求		
	一般預防		
	電氣安全		
十三.	儀器處理		
ı —·	RX 们们 200°年·		
			_
Α	概述	頁	
1.	介紹		
2.	LightCycler® 480規格		
2.1	一般規格		
2.2	環境參數		
2.3	介面		
2.4	樣本容量		
2.5	運輸		
2.6			
	數據站		
	數據站		
	檢測單位規格		
3. 3. 1	檢測單位規格 激發		
3. 1 3. 2	檢測單位規格 激發 探測器		
3. 1 3. 2 3. 3	檢測單位規格 激發 探測器 滤光器		
3. 1 3. 2	檢測單位規格 激發 探測器		

系統包裝	
安裝	
安裝要求	
空間和電源要求	

LightCycler® 480 儀器安裝	
系統描述	
熱迴圈器單元描述	
檢測單元描述	
檢測通道描述	
LightCycler® 480儀器耗材	
LightCycler® 480儀器PCR試劑	
所需的額外設備	
LightCycler® 480 儀器即時PCR檢測格式	
··· · · ·	
2 使用SYBR綠色I染料監控PCR	
3 使用水解探針監控PCR	
4 使用HybProbe探針監控PCR	
5 使用SimpleProbe探針基因分型	
	頁
	安裝 安裝要求. 空間和電源要求. 環境要求. LightCycler® 480 儀器安裝 系統描述. LightCycler® 480儀器描述. 熱迴圈器單元描述. 檢測單元描述. 檢測通道描述. LightCycler® 480儀器耗材. LightCycler® 480儀器PCR試劑 所需的額外設備. LightCycler® 480儀器即時PCR檢測格式 1 概述. 2 使用SYBR綠色I染料監控PCR 3 使用水解探針監控PCR 4 使用HybProbe探針監控PCR. 5 使用SimpleProbe探針基因分型.



修訂史																														
1.	Lig	ht	Су	с1	er@	9 4	8 () 🛓	甚税	き軟	【體	巾	E迸	<u>ì</u>		• • • • •	• • • •	•••	•••			• • • • •	•••			• • • • •	•••			8 1
1.1	L	igh	ıt(Сус	1 e	r®	4	8 0	基	键	軟	體	用	戶	介	面	通	則	•••			• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••			• • • • •		••••	• • • • •	8 1
1.2																														
1.3	L	igh	ıt(Сус	1 e	r®	4	8 0	基	碳	軟	體	主	視	窗	•••	•••	•••	•••	••••		• • • • •	•••		••••	• • • • •		•••	• • • •	8 5
1.4	i Z	選擇	與	流	覽作	寺 営	ŧ	• • • •	• • • •	• • • •	•••	•••	•••	• • • •	• • • •	• • •	• • • •	• • • • •	• • • • •	• • • •	•••	•••			•••		•••			90
1.	4.1																													
1.	4.2																													
	4.3																													
1.5	導出	」與	導	入 7	當與	貝物	7件		• • • •	•••	•••	•••									• • • •	•••	··· ·			• • • • •	•••		· 1	0 0
2.	討	觮	的	編和	呈與	運	行	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	··· ·		• • • • •	•••				•••		··· 1	0 9
2.1		的	編	程•		• • • •	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••		•• ••	• • • •	•••	··· ·			•••	•••	··· 1	10
2.	1.1																													
	1.2																				••••									
2.	1.3	定	制	線」	上資	料	顯	示	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••			••••	• • • • •	•••						··· 1	17
2.2																														
2.3																														
3.	討	驗	分	析机	死迹	<u>.</u>	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••				•••				•••	•••	··· 1	26
3.1																														
3.2																														
3.	2.1	選	擇:	濾う	ビ器	組	合	與	顏	色	補	賞	•••	•••	•••	•••	•••	•••			•• ••	• • • •					•••	•••	··· 1	3 0
	2.2	在	分	析口	卢處	理	樣	品	•••	•••		••	•••		•••	•••	•••	•••											··· 1	3 1
3.	2.3																													
3.	2.4	添	加	分札	斤注	解	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••				• • • •	•••				•••	•••	··· 1	3 2
3.	2.5	對	分	析並	生行	刪	除	或	重	新 1	命 :	名	•••		•••	•••	•••	•••											··· 1	3 3
4.	進	行	絕	對気	巨量	分	析	•••	•••	•••	••••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••				•••						··· 1	3 4
4.1	樣品	交	叉 !	點 ••			•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••								· · 1	3 5
4.2	關於	標	準	曲糸	泉的	作	用	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••			• • • •	•••				•••	•••	··· 1	3 6
4.3	提供	標	準	曲糸	泉 •••		•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••				•••						··· 1	3 8
4.4																														
5.	進	行	溶	解曲	由線	分	析	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•• ••	•••	•••				•••	•••	··· 1	44
5.1	使用	溶	解	曲網	禄特	徵	進	行	DN	I A	產	物	及	其	基	因	型	的	鑒	定:				•••	··· ·	•• ••	• • • • •	•••	··· 1	4 4
5.	1.1	定	義	溶角	军程	! 式	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••				• • • •	•••				•••	•••	··· 1	4 5
5.	1.2	溶	解	溫月	复分	析	的	內	容	•••		•••	•••		•••	•••	•••	•••											··· 1	4 5
5.	2 進	行	溶角	解 溫	且度	調	用:	分 7	折·				•••						· · · ·			•••	•••	··· ·			•••		··· 1	4 6
6.	進	行	顏	色剂	前償	分	析	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	••••	•• ••	•••	•••	··· ·		• • • • •	•••	•••	··· 1	5 2
6.1	進行	顏	色:	補作	話賞	驗	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••			• • • •	•••				•••	•••	··· 1	53
7.	使	用值	範々	太 與	巨	集·		•• •			• •••	• • •			• ••	• • • •		•••	•••	•••	•••		• • • • •	•••	••••		• • • • •	•••	··· 1	56
7.1	製作	: 與	使	用軍	危本	· · · ·	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••			• • • •	•••						··· 1	5 6
7.2	製作	: 與	使	用力	긏	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••	•••	•••	•••		•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••			• • • •	•••				•••	•••	··· 1	5 6
8.	使	用-	子耳	力能	表			••••			• • • •	• • •			• ••	• • • •		• • • •	•••	•••	•••		• • • • •	•••	··· ·		• • • • •	•••	··· 1	62
9.	使	用	置	表・	•• ••		•••	•••	•••	• • • •	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••	•••		••••	• • • •	•••				•••	•••	··· 1	6 4
9.1	列日] ,	導	出身	且複	製	昌	表	•••	•••		•••	•••	•••	• • • •	•••	•••	•••	•••			• • • •	•••				•••		··· 1	6 5
9.2		變 2	焦和	11 變	ŧ位	元	以 ₃	查 看	旨 置	引表	き詳	組	H P	习容	ř •••	• • • •			• • • • •					•••	··· ·			•••	··· 1	69

D	軟體	頁	
10.	生成報告	••••••	171

11.	使用選項工作	174
11 1	使用圖解選項・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	175
11	1.1 設定圖表表頭與標籤類型	176
11	1.2 設定螢光圖表內容	177
11.	1.3 設定標準曲線圖表的外觀	178
11.	1.4 設定溫度圖表的內容與外觀	170
11.	1.5 覆蓋默認的圖表選項	120
11.9	使用樣品選項	183
11.2	2.1 更改所有試驗的樣品選項····································	103
11.	2.2 重新設置默認的圖表選項	105
11.	生成一個單獨的選項專案並將其設爲默認	100
11. 3	設定用戶選項	101
12.	管理工具	100
19 1	管理用戶訪問	100
12.1	1.1 用戶帳戶·······	100
12.	1.1 用尸帐尸	101
12.	1.2 組····································	101
12.	1.4 高級用戶角色的特權	100
12.	1.5 本地管理員角色的特權····································	192
12.	1.6 用戶訪問物件	193
12.	1.7 管理用戶、組和角色····································	194
12.	1. 6 官理用户、組和用巴····································	197
	1.8 使用用巴···································	
	1.9 更改名晦····································	
12. 2	報告的設直····································	203
12.3	. 負料庫負訊	204
12.4	·	207
12.4	. 1	209
	檢測格式	
13. 言	診斷工具····································	213
14. L	ightCycler® 480 基礎軟體的安裝與維護····································	214
	初始啟動步驟	
14. 2	LightCycler® 480 基礎軟體的安裝	216
14.3	保存一個已有的資料庫和安裝附加資料庫	219
14.4	登錄到不同資料庫	223
	用一個資料庫檔替換一個已存在的同名資料庫	224
1 4		中
虫	整合一個恢復的資料庫檔使之成爲附加資料庫	225
14.7	刪除 LightCycler® 480 的基礎軟體······	228
14.8	FLE Xnet許可證管理員····································	229

修訂史

E	維護	頁
	常規維護. 儀器清潔操作指南 常規清潔. 預防性維護. 更換氙氣燈. 更換風道灰塵篩檢程式. 更換保險絲	
F	附錄 ————————————————————————————————————	頁
1. 2.	訂購資訊··············索引	···················251

一、修訂史

版本	時間
1.0	2005年9月

© 版權2005, Roche Diagnostics GmbH. 版權所有. 本手冊資訊可以在未經通知的情況下變更。未經羅氏診斷公司明確書面同意,本手冊所有內容不得以任何目的通過任何形式或任何方法(包括電子和機械手段)複製或傳播。

有關本手冊的問題和建議可以直接向以下位址或您的羅氏診斷公司代表提出。

Roche Diagnostics GmbH Roche Applied Science Customer Support Nonnenwald 2 82372 Penzberg, Germany

羅氏診斷已盡一切努力確保LightCycler 480儀器操作手冊付印時內容正確無誤。

然而,羅氏診斷仍有權未經通知即進行必要的修改,以順應其產品發展的需要。

二、聯繫地址

	製造商	Roche Instrument Center AG
444		Forrenstrasse
***		CH-6343Rotkreuz
		Switzerland
	銷售商	Roche Diagnostics GmbH
		Sandhofer Straße 116
		D-68305 Mannheim
		Germany
	美國銷售商	Roche Diagnostics
		9115 Hague Road
		PO Box 50457
		Indianapolis, IN 46250
		USA

三、一致性申明



本儀器符合歐盟關於"電磁相容性的"理事會指令89/336/EEC和關於"低電壓設備"的 理事會指令73/23/EEC中規定的要求。以下標準適用: IEC/EN 61326 (EMC) 及IEC/EN 61010-1 (安全性)



測量,控制和實驗室用UL 61010-1電氣設備;第一部分: 一般要求 CAN/CSA-C22.2 No. 61010-1 (第二版) 一測量,控制和實驗室用電氣設備的安全性要求

第一部分:一般要求

四、保證

有關保證條件的資訊會在銷售合同中詳細說明。欲知更多詳情,請與您的羅氏公司代表聯繫。

對本儀器任何未經授權的修改將導致擔保和維修合同無效。

五、商標

LIGHTCYCLER, LC, HYBPROBE和SIMPLEPROBE是羅氏公司的注冊商標。

PROBELIBRARY 是位於丹麥維比克 (Vedbaek) 市的Exiqon A/S公司注冊商標。通用探針庫 (Universal ProbeLibrary) 屬於Exiqon A/S公司擁有的美國和其他專利應用。

SYBR 是位於美國俄勒岡州Eugene市的Molecular Probes, Inc.公司的商標。

FAM和HEX都是位於美國康涅狄格州Norwark市的Applera Corp公司的商標。

其他品牌和產品名稱分別爲其各自持有者的商標。

六、 預定用途

LightCycler® 480儀器預定用於實施快速、準確的聚合酶鏈反應(PCR)以及即時、線上檢測從而可對靶核酸進行絕對或相對量化,同時還可通過分析溶解曲線對擴增的核酸進行後PCR分析。

LightCycler® 480儀器預定用於一般實驗室用途,而且必須由受過實驗室技術方面的培訓且學習過該儀器使用說明書的實驗室專業人士專門操作。LightCycler® 480儀器不能用於診斷過程。

七、LightCycler® 480儀器許可聲明

LightCycler® 480 即時PCR系統是獲得許可的溫度迴圈反應器。 其購買價格包含對豪夫邁. 羅氏有限公司("Roche")擁有的美國專利號46832024683195 及 4965188的非美國同類產品的許可證前期費用部分,該費用包括聚合酶反應(PCR)過程,因而可使用該儀器執行PCR過程進行內部研發。該許可證中需支付定期使用費的專利部分可以從Applied Biosystems公司(美國應用生物系統公司)購買,也可以通過購買經授權的試劑而獲得。該儀器還是一台經授權的溫度迴圈反應器,可用於經Applied Biosystems公司授予應用許可證的用途。其與經授權的試劑一同使用時,根據此類試劑所附帶的標籤上的權利,該儀器還提供限制性的PCR許可。

購買該產品本身並不賦予購買者實施PCR過程的全部許可或權利。

LightCycler® 480 即時PCR系統是經許可的溫度迴圈反應器,可用於美國專利號6814934及其非美國同類產品的相應申明,及美國專利號5038852、5656493、5333675中的其中一項或多項及其非美國同類產品的相應申明中提及的研究用途,這些專利均歸Applera公司所有。任何其他專利聲明中,如對設備、試劑、試劑盒以及如5'核酸酶法的研究方法的聲明,未進行任何明示、默示或禁止反悔形式的權利轉移。該儀器只能用於研究。欲瞭解有關購買使用許可證(體外診斷除外)的更多資訊,請聯繫Applied Biosystems公司的許可證發放主任,地址,850 Lincoln Centre Drive,Foster City,California 94404,USA。

LightCycler® 480 系統中使用的部分軟體經位於美國猶他州鹽湖城的IdahoTechnology公司許可。

The LightCycler® 480儀器和LightCycler® 480基礎軟體屬於美國專利5871908的組成部分並共同獲得 Evotec OAI AG公司的獨家許可。

八、軟體許可協定

在安裝LightCycler® 480軟體(後文中稱"軟體")之前,請仔細閱讀以下軟體許可協定中的條款和條件(稱"協議")。實施軟體安裝意味著對該協定中條款和條件的接受。一經接受本協定條款和條件,終端用戶("被許可人")將承擔因選擇該使用軟體實現既定目標及其安裝及後續使用所引發的所有全部責任和義務。如果被許可人不願意受本協議中條款和條件約束,其應立即將套裝軟體連同收據複印件歸還到羅氏公司("供應商"),並據此獲得該軟體退款。

1. 程式許可協定

被許可人將承擔因選擇使用該軟體完成既定目標及其安裝和後續使用所引發的所有責任和義務。軟體受版權保護。

2. 軟體許可的授予

如果被許可人同意持續遵守下文中的所有條款,供應商將授予被許可人根據本協定中條款及條件使用該軟體的非獨占及一次性使用許可。

被許可人可以:

- a. 一次在三個工作站上使用該軟體,此類工作站應以網路或其他配置形式由被許可人擁有、租借或以其他方式掌控。
- b. 通過向其他方轉讓本協定權利而轉讓該軟體,但其他方應書面同意接受本協議條款和條件。此外,被 許可人必須確保版權聲明保留在被轉讓的軟體中。

被許可人不得:

- a. 部分或全部使用該軟體,除非本協定有明文規定。
- b. 一次在三個以上工作站使用該軟體。
- c. 複製、銷售、或以其他方式向其他方轉讓該軟體或轉讓其在本協定中的權利的全部或部分,除非本協 定有明文規定。
- d. 租賃、分銷,許可或再許可該軟體。
- e. 根據該軟體編制衍生軟體。
- f. 修改、改編、轉換、反向工程、反向編譯或分解該軟體。

供應商保留此處未明文賦予的所有權利,包括但不限於直接或通過附屬公司、分銷商和/或第三方銷售該 軟體的權利

欲知更多詳情,請聯繫您所在地的羅氏應用科學支持機構。您可登錄以下網址查找聯繫資訊: www.roche-applied-science.com.

3. 有限保證

軟體以"現狀"提供,且無任何形式的明示或暗示保證,包括但不限於適銷性、特殊用途適宜性的暗示保證。如果軟體經證實存在缺陷,被許可人應承擔軟體質量和性能方面的全部風險。被許可人承擔軟體所有必要的維修、修理或修改費用。但是,供應商保證,在自您收據複印件上注明的交付日起90天的正常使用期限內,裝配該軟體的程式媒介在材料和工藝上無缺陷。供應商不作其他明示或暗示的擔保或保證。

4. 免責聲明

上段規定的保證將取代在執行、交易、商業使用或其他過程中由法律規定的所有其他明示或暗示的保證。供應商及控制供應商、被供應商("供應商附屬公司")控制或共同控制的任何實體特別聲明拒絕作出包括但不限於以下任何形式的任何明示或暗示保證,這些保證包括但不限於,適銷性、特定用途適宜性及非侵權性的暗示保證。供應商及供應商附屬公司不作有關該軟體或被許可人或任何第三方將從該軟體取得的成果方面的任何聲明或保證。被許可人承認除本協議特別明確規定的責任或保證外,其未曾要求供應商或供應商附屬公司作出任何聲明或保證。

5. 補救措施的限制

供應商的唯一責任及對被許可人的唯一補救措施應是:

- a. 將不符合供應商有限保證的程式媒介連同被許可人收據複印件退還供應商並更換該程式媒介。
- b. 如果供應商不能免費更換在材料和工藝上無缺陷的程式媒介,被許可人可將軟體及被許可人向供應商開具的收據複印件退還供應商從而終止本協議,而被許可人的付款將被退回。

在任何情況下,對於直接或間接因該軟體、本協定或本協定終止而引起或與此相關的被許可人或第三方可能發生或經歷的任何特殊、間接、偶然以及繼發性損失(包括但不限於虧損、資料或資訊丟失、軟體功能喪失、經營中斷、商業信譽或聲譽受損或停工期成本),供應商或其任何下屬機構(或其各自的官員、員工、顧問、律師或代理人)不承擔任何責任,即使供應商或其下屬機構已被告知此類損失的可能性且儘管出現了任何關鍵功能的運行故障。對於與本協定、或該軟體相關或由此引發的任何原因及任何行為形式造成的損失,供應商及其下屬機構(及其各自官員、員工、顧問、律師、及代理人)共同承擔的全部責任應限於,由供應商自行決定更換該軟體、或退還供應商或其附屬機構從被許可人處收到的與該軟體相關的款項。

6. 基本資訊

除非本協議明確規定,被許可人不得再許可、轉讓、或轉移部分或全部該許可或軟體。應避免再許可、轉讓或轉移本協議規定的任何權利、責任或義務的任何其他做法。

7. 知識產權

被許可人只擁有本協定第二部分中明確規定的對該軟體的權利。與該軟體相關的任何其他權利,包括但不限於所有權和專利權、版權、商標、商業秘密以及其他知識產權,應爲供應商獨家所有財產。被許可人不能從軟體中刪除提及版權、商標或其他所有權的任何內容、或覆蓋或改動提及此類資訊的任何內容。被許可人應採取一切合理措施以防止對該軟體任何未經授權的使用、複製、銷售或出版,或未經授權即爲取得該軟體提供渠道的任何做法。被許可人應補償並使供應商免於因被許可人、被許可人違反本協議或被許可人以未經本協定授權的方式使用該軟體而造成的任何與供應商侵權相關的任何損失、損害、索賠及開支(包括但不限於合理的法律費用)。

8. 期限和終止

本協議在終止之前始終有效。被許可人可隨時採取任何形式破壞該軟體和與該軟體相關的檔從而終止本協議。如被許可人未能遵守本協議任何條款和條件,則本協議將自動終止,供應商無需發出通知。被許可人同意,供應商一經終止協定,其應將軟體銷毀。無論本協定以何種方式終止,被許可人擁有的軟體全部使用權將隨之失效。

9. 軟體的輸入,輸出和使用

被許可人應全權負責確保遵守與其輸入、輸出或使用該軟體的權利相關的法規。

10. 其他事項

如本協議任何條款被具有司法管轄權的法院宣佈爲無效或不可執行,其餘條款仍將繼續具有完全的效力 和效應。

供應商未能行使本協議中的任何權利不應視爲對其權利的放棄,包括但不限於其對今後違反行爲的回應權。

只要打開並使用軟該件,被許可人即承認其已閱讀並理解本協議,並且同意遵守本協議條款和條件。被 許可人還同意本協議是被許可人和供應商之間完全、唯一的協議陳述,並取代被許可人及供應商之間有 關本協定主題事項的任何提議或以前達成的口頭或書面協議及任何其他通報。

本協定中幾個部分的標題只是爲了便於參考,不應成爲本協議的組成部分或者影響本協議的含義和解釋。

11. 適用法律及司法管轄地

本協議受美國印地安那州法律管轄,並按該州法律釋義,但不影響其任何法律原則的選擇。各方同意聯合國國際貨物買賣合同公約不適用於本協議。

九、前言

在實施LightCycler® 480儀器操作前,仔細通讀這本操作員手冊非常重要。違反本手冊中指示將可能產生安全風險。

十、LightCycler® 480儀器操作員手冊用法

本操作員手冊爲操作LightCycler® 480儀器提供指導。它包括以下章節:

章節A 概述包括LightCycler® 480儀器操作模式簡介以及對系統規格的說明。

章節B系統說明包括對LightCycler® 480儀器安裝的指導和該系統元件及耗材的說明。

章節C 操作說明LightCycler® 480儀器的操作程式。

章節D LightCycler® 480 基礎軟體包括LightCycler® 480儀器運行編程和資料分析方面的指導。

章節E 維護說明LightCycler® 480儀器所需的維護程式。

章節F 附錄包含索引和訂購資訊。

十一、本手冊習慣用法

文本習慣用法

爲保持傳輸的資訊一致並可存儲,本手冊使用下列文本習慣用法

編碼的列表	操作方法的步驟必須按照列出的順序實施
斜體,藍色	指明應參考這一特殊章節
斜體	描述運行 LightCycler® 480 基礎軟體過程中的處理 方法
星號(*)	表明羅氏應用科學提供此產品

符號

在本手冊中,符號作爲視覺信號用於指明重要事物。

符號	標題 警告	描述 此符號用於說明違反操作指導或程式可能導致驅體損傷甚至死 亡,還可能損害儀器。請參考本操作員手冊。
	表面高溫	此符號用於標明儀器表面可能存在的高溫。
	生物危害	此符號用於說明在使用可能傳染的物質時,應保持一定的警惕。
	重要提示	操作成功或產品使用的關鍵資訊
	資訊提示	有關當前主題或操作方法的附注

儀器上出現的下列符號

***	設備製造商	位於儀器類型板上。
CE	CE 標誌	位於儀器類型板上的 CE 標誌表明符合指導委員會的相關要求。
	cUL 標誌	位於儀器類型板上
<u> </u>	請參考操作手冊	位於儀器類型板上
	表面高溫	1. 位於多孔板載入器邊緣。 2. 位於熱迴圈器蓋表面。 3. 位於熱迴圈器單元表面。 4. 位於氙燈單元上。
	生物危害	位於多孔板載入器邊緣。

十二、警示和注意事項

LightCycler 480儀器只能由經過培訓、熟練掌握使用方法的人員使用。

必須仔細閱讀並遵守下列LightCycler*480儀器的安裝和操作所需的安全資訊。請保證每一位元使用 LightCycler*480儀器的人員能夠得到這些安全資訊。

操作要求



LightCycler*480儀器屬於機電產品。如果用戶不遵守本手冊中的使用說明使用儀器,有可能會發生觸電或人身傷害。

- ▶ 遵守分析儀上印有或隨付的各項安全指導。
- ▶ 遵守各項適用於電器設備的一般安全注意事項。
- ▶ LightCycler*480儀器連接電源時,禁止接觸任何帶電部件。
- ▶ 不得用濕手接觸開關和電源線。
- ▶ LightCycler*480儀器連接電源時,禁止打開外殼。
- ▶ 清洗儀器時,應關閉電源開關,斷開電源線。
- ▶ 用戶可按照本操作手冊描述的方法,更換保險絲和氙燈。不得進行任何電氣方面的改動, 否則儀器擔保無效。
- ▶ 只允許經授權的維修人員提供儀器所需的維修服務。



- ▶ 運行時,禁止打開迴圈阻斷器小室。
- ▶ 處理有毒、腐蝕性或傳染性材料時,應始終佩戴防護眼罩和手套。



- 儘管儀器所用的是高純度核酸,但出於自身安全考慮,應視所有生物材料爲有潛在傳染性的材料。應根據當地的安全指導方針處理和處置這些材料。應立即用適當的消毒液消毒溢出物,以避免對實驗室人員和設備造成污染。
- ▶ 清洗LightCycler 480儀器請參考維護章節中的指導說明。



▶ 儀器運行時,多孔板架、熱迴圈器、熱迴圈器蓋以及氙燈處於高溫狀態。

一般注意事項



LightCycler 480儀器上的個人電腦或其他運行LightCycler 480軟體的個人電腦並非爲線上使用而設計。連接網路會有感染病毒、蠕蟲以及成爲黑客攻擊目標的風險。羅氏對用戶連接到網路上所導致的任何損害不負責任。



微軟Office軟體和諾頓殺毒軟體經測試不會與LightCycler*480軟體和軟體模組相衝突。禁止在LightCycler*480儀器所用的個人電腦中安裝其他軟體。否則會有與LightCycler*480軟體和軟體模組發生衝突的風險,還可能影響結果的可靠性。



不提供殺毒軟體。因此,有必要採取預防措施確保LightCycler*480 儀器的個人電腦上所裝的其他軟體沒有病毒。



不允許將兩台LightCycler*480儀器連接到同一個資料站。



確保總開關隨時可供使用。



不正確的擺放會產生錯誤的結果,並且損傷儀器部件。請仔細遵循安裝指導操作。儀器移動 須有合格的羅氏維修人員實施。



電火花會產生爆炸的危險。請將潛在易燃或易爆性物質(如麻醉氣體)遠離儀器。液體噴灑到帶電部件上會產生短路,引起火災。儀器連接電源時,應將儀器蓋緊閉,不要在儀器周圍噴灑液體。滅火時,應將儀器與電源斷開。



切勿隨意撥弄儀器。

用電安全



LightCycler® 480 儀器的設計符合 I 級保護(IEC)。儀器的底板/外殼通過一條線連接安全保護地(PE)。為防止電擊的危險,儀器應直接連接合格的電源如 230 伏電線的三相接地插座。如果使用的是不能接地插座,應根據當地電氣規範讓合格的電工更換正確(PE)的接地插座。任何電接地通路中斷,不管是在儀器內部或外部,都會造成危險情況。任何情況下,用戶都不要試圖修改或故意破壞儀器安全裝置。如果電源線破裂、磨損或斷開,應立即更換羅氏診斷提供的相同部件。



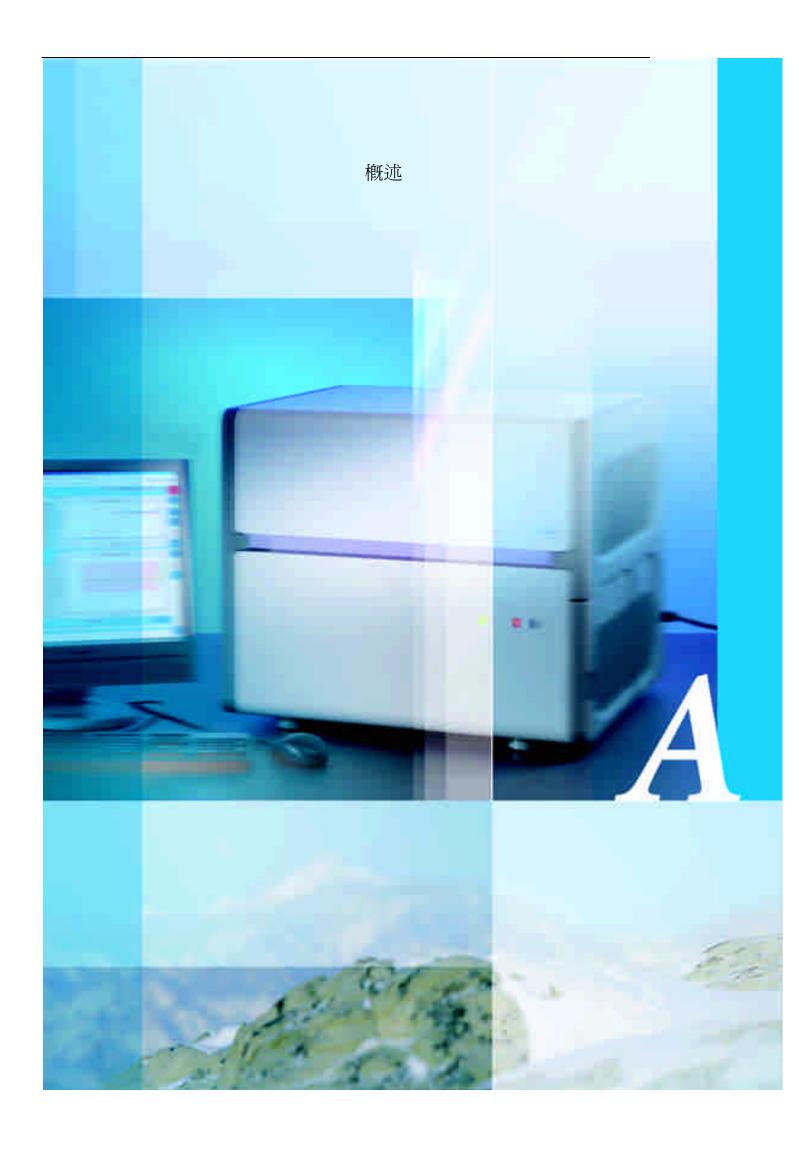
對於互動和非推薦功能,應注意警告。必須考慮到誤操作發生的可能範圍。應注意到可能發生的後果。

十三、儀器處理



該儀器應作爲被生物污染的危險廢棄物處理。在重新使用,回收再用或處置之前,需對儀器進行淨化(即一個綜合過程:包括清洗、消毒和/或殺菌)。

應根據當地規定和/或勞動法規處理該儀器。如需更多資訊,請與當地羅氏技術支援人員聯繫。



章節 A 概述

LightCycler® 480儀器操作模式簡介和系統規格描述

A	概述 ————————————————————————————————————	頁	
1.			25
2.	LightCycler® 480規格		26
2.1	一般規格		26
2.2	環境參數		26
2.3	71 E		
	樣本容量		
	運輸		
2.6	數據站		
3.	檢測單位規格		
3.1	MA 32.		
3.2	21.00 11		
3.3	1/3/2 Hi		
4.	溫度阻斷迴圈控制器規格		
5.	多孔板條碼掃描器規格		
6.	手提式條碼掃描器規格		32

概述

1. 介紹

LightCycler® 480系統能進行即時、線上的96或384個樣本快速迴圈擴增PCR 反應(依賴安裝的熱阻斷迴圈儀)。通過監測核酸擴增時的螢光,可對產生的結果定量檢測和同時進行分析。光學檢測系統利用不同的探針格式進行序列特異性檢測,可完成多元PCR應用(例如, HybProbe探針、SimpleProbe 探針、水解探針, 或其他探針格式;探針的螢光基團必須與LightCycler® 480儀器的激發和發射濾光片相匹配)。利用SYBR 綠色染料 I dye, 應用多元PCR可實施非序列依賴線上檢測。分析溶解曲線可進行基因分型(單核酸多態性檢測)(如果使用序列特異性螢光基團標記的探針,例如HybProbe 探針或SimpleProbe 探針)以及PCR產物鑒定(如果使用SYBR Green I dye染料)。有關方法和資料分析的詳細情況請參考 LightCycler® 480 基礎軟體章節。

概述 25

2. LightCycler® 480儀器規格

下文給出的是LightCycler® 480儀器規格概述



LightCycler® 480 儀器配有一個阻斷迴圈儀單元,可容納 96 孔或 384 孔格式的平板。

LightCycler®480 儀器,96-孔	Cat. No. 04 640 268 001
LightCycler®480 儀器,384-孔	Cat. No. 04 545 885 001

a)一般規格

體積	$57.4 \times 58.8 \times 49.7 \text{ cm} \text{ (W} \times D \times H)$
重量	55 kg
電力供應/消耗	200 - 240 Vac 50/60 Hz 1500 VA
雜訊級	< 60 dB (A)
防護級	I
安裝/超額電壓	II
電磁輻射	B級

b)環境參數

運輸/儲存/包裝允許的溫度	-25℃至 +60℃
運輸/儲存/包裝允許的相對濕度	10% 至 95%,未濃縮
運行時允許的溫度	+15℃至 +32℃
運行時允許的相對濕度	最高 80%,在 32℃,未濃縮
	最低 30%,15℃ 至 +32℃
運行時允許的高度/氣壓	海拔 0 - 2000 米
	1 80 - 106 kPa

概述 27

2.3 介面

LightCycler® 480 儀器提供以下外部介面:

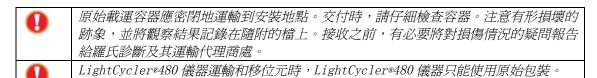
介面	設備
IEEE1394	CCD 相機介面(只用於維修)
PS/2	通過鍵盤插槽連接外置條碼掃描器
LAN 10/100 Base T	連接資料站,用於儀器控制和資料傳輸

2.4 樣本容量

每次運行樣本容量	96 或 384
樣本體積	▶ 96孔溫度阻斷迴圈儀: 10 - 100 µl
	▶孔溫度阻斷迴圈儀: 3 - 20 µl

2.5 運輸

LightCycler® 480 儀器應裝入紙板盒內的聚苯乙烯泡沫塑料容器中載運。



2.6 數據站

配備齊全的資料工作站隨 LightCycler® 480 儀器一起交付。



只有在羅氏診斷維修工程師在客戶處安裝系統時,才能將 LightCycler® 480 儀器基礎軟體安裝在資料工作站上。

資料站符合下列的歐盟指令要求。

- ▶ 低電壓設備73/23/EEC
- ▶ 電磁相容性 89/336/EEC

此外(美國用戶),就電安全性和機械安全性而言,資料站經過美國保險商實驗室公司(Underwriters Laboratories Inc.)檢驗。因此資料站標有 UL 和 CE 標誌。



通過特殊軟體(實驗室資訊管理系統,LIMS),可以通過遠端控制訪問資料站,還可以將資料站與其他系統結合,如自動化機器人平板載入系統。實現這些功能應安裝和啓動(先要獲得合法的軟體用戶許可) $LightCycler**480\ LIMS/條碼模組。如需更多資訊,請與羅氏公司代表聯繫。$

概述 29

3. 檢測單元規格

3.1 激發

型號	氙燈(Osram XBO R 100W/45 OFR)
波長	435 - 630 nm
發光強度	10 μW/mm²
瓦數	100 W
壽命	> 500 h

3.2 檢測器

型號	冷單色 CCD 照相機
解析度	1024 × 1344 圖元
波長	490 - 680 nm
積分時間	10 ms to 10 s
積分時間選擇	自動或手動
靈敏度	〈 0.4 nmol/1 螢光素,典型爲 0.1 nmol/1
	(20 µ1 反應容積)
重複性	CV ≤0.15% (50 nmol/1 螢光素)
孔對孔串擾	光學性< 0.2%
	軟體糾正率< 0.0

3.3濾光片

激發波長	帶通	半峰寬
(nm)		
	450 nm	30 nm
	483 nm	35 nm
	523 nm	20 nm
	558 nm	30 nm
	615 nm	30 nm
檢測波長	500 nm	20 nm
(nm)	533 nm	20 nm
	568 nm	20 nm
	610 nm	20 nm
	640 nm	20 nm
	670 nm	20 nm

4. 熱阻斷迴圈儀規格

溫度控制	利用珀耳帖效應加熱、冷卻
溫度範圍	37 - 95° C
加熱速率	4.8 ° C/s
冷卻速率	2.5 ° C/s

概述 31

5. 多孔板條碼掃描器規格



多孔板條碼掃描器是熱迴圈器單元的組成部分,用於 PCR 多孔板自動化鑒定和識別字 跟蹤。平板載入時掃描 Light Cycler® 480 多孔板上的線性條碼。



如使用多孔板條碼掃描器,應獲得具有合法用戶許可的 LightCycler ** 480LIMS/條碼模組。詳細資訊請聯繫當地羅氏公司代表。

所支援的條碼類型	▶條碼39 (250 - 500 μm;有校驗位的條碼, 最小條碼長度= 2)
	▶條碼 2 of 5 (250 - 500 μm; 有校驗位的條碼, 最小條碼長度 = 2)
	▶條碼 128 (250 - 500 艸; 最小條碼長度= 2)
標籤最大尺寸	68.0 × 6.5 mm

6. 手提式條碼掃描器規格

可購買手提式條碼掃描器作爲 LightCycler® 480 儀器的選擇性附件。

LightCycler® 480手提式條碼掃描器

Cat. No. 04 710 606 001

手提式條碼掃描器通過鍵盤與資料工作站連接。

利用手提式條碼掃描器可將條碼資訊掃描至 LightCycler® 480 基礎軟體的文本輸入區。



注意手提式條碼掃描器型號可更改而無需通知。下面列出的規格適用於印刷本手冊時 所能提供的掃描器型號。

介值

個人電腦 AT & PS/2 型鍵盤插槽

支援的條碼類型

- ▶ 條碼 39 (250 500 μm; 有校驗位的條碼,最小條碼長度 = 2)
- ▶ 條碼 5之2 (250 500 μm; 有校驗位的條碼, 最小條碼長度= 2)
- ▶ 條碼 128 (250 500 µm; 最小條碼長度= 2)

概述 33



В	系統描述	頁

1.	系統包裝35	
2.	安裝36	
2.1	安裝要求36	
2.2	空間和電源要求36	
2.3	環境要求38	
2.4	LightCycler® 480 儀器安裝39	
3.	系統描述 43	
3.1	LightCycler® 480儀器描述43	
3.2	熱迴圈器單元描述47	
3.3	檢測單元描述50	
3.4	檢測通道描述52	
3.5	LightCycler® 480儀器耗材53	
3.6	LightCycler® 480儀器PCR試劑55	
3.7	所需的額外設備56	
3.8	LightCycler® 480 儀器即時PCR檢測格式	
3.8	. 1 概述	
3.8	.2 使用SYBR綠色I染料監控PCR58	
3.8	.3 使用水解探針監控PCR60	
3.8	.4 使用HybProbe探針監控PCR62	
3.8	.5 使用SimpleProbe探針基因分型64	

系統描述

1. 系統包

下表列出的是LightCycler® 480系統包內所有的元件。使用此清單核對所有元件是否齊全。



打開後,請檢查運輸途中發生的損傷。將所有外觀損傷報告給當地的羅氏診斷代表。

1	LightCycler® 480 儀器, 96-孔
	或
	LightCycler® 480 儀器, 384-孔
1	LightCycler® 480 資料工作站(包括監視器)
1	LightCycler® 480 附件包
1	LightCycler® 480 操作員手冊
1	LightCycler® 480 基礎軟體 1.0 安裝光碟
10	LightCycler® 480 384 孔多孔板
10	LightCycler® 480 96 孔多孔板
1	電源線 (EU)
1	電源線(US)
1	LAN 網線 (3米)
1	
4	粉塵通風篩檢程式
1	封箔敷料器
1	透鏡防護帽
1	CCD 相機防護帽
1	光導管防護帽
10	保險絲 5×20 1.6AT 250V ULR/IEC
10	保險絲 5×20 3.15AT 250V ULR/IEC
10	保險絲 5×20 8AT 250V ULR
10	保險絲 5×20 T 10A H 250V ULR/IEC
10	保險絲 5×20 16AT 250V ULR

2. 安裝

2.1 安裝要求

•	LightCycler® 480儀器以直立位元安放在水平面上。
•	LightCycler® 480儀器周圍不能有產生震動,電磁干擾以及高感應性的設備(例如冰箱、離心機、調拌器等)。
•	連接LightCycler® 480儀器的週邊設備應符合IEC 950 (UL 1950) 標準
•	LightCycler® 480系統(儀器、資料站、監視器)使用的所有插座應是同相位的,這樣能避免其他儀器或電流本身產生的開關接通高峰電流和電子雜訊。
•	只能使用系統包內提供的電纜和LAN連接設備。
•	儀器不能直接暴露在陽光下,並且周圍不能有散熱器或加熱設備。



LightCycler® 480 基礎軟體由羅氏診斷服務工程師安裝。

2.2 空間和電力要求

安放LightCycler® 480儀器的場所應滿足下列要求:

體積	LightCycler® 480 儀器寬 57.4 cm, 長 58.8 cm ,高 49.7 cm。				
重量	LightCycler® 480 儀器重量在 55 kg 左右				
電力	▶ LightCycler® 480 儀器運行電壓爲 200 - 240 V 不能超過電源電流消耗能力。				
	▶ 儀器連接的電源爲單相或雙相電源。不能超過電源電流消耗能力。				
	對防護性接地沒有特殊規定。				
	M				
	在任何情況下不要試圖修改或故意毀壞該系統的安全裝置				
	▶ LightCycler® 480 儀器使用的最高電流是 1500 VA. 資料站額外消耗 500 VA 左右。				
	自於局部電源電接地性質,要求配備一個不間斷電源設備(UPS)。儀器不提供 UPS。 建議用戶與當地 UPS 供應商聯繫,購買與儀器用電要求規格一致的 UPS。儀器與 UPS 的 連接應符合"線上/直接模式(Online / Direct Mode)"要求。				

通風 除保證達到下列要求外,對通風沒有其他特殊要求:

- ▶ 不要堵塞電子格柵 (1) 通風入口。通風入口位於儀器背板左上角。通風入口與周圍的牆壁、 擋板或其他障礙物之間的水平間隔至少超過4釐米寬。
- ► 不要堵塞熱迴圈器通風出口(2)。通風出口位於儀器背板右下角。禁止在通風出口前面擺放 任何物品。



圖 1: 儀器背面的通風入口 (1) 和出口(2)。



圖 2: 儀器背面和左面的通風出口 (2) (左側面板已拆除)

不要堵塞熱迴圈器通風入口(3)和電源盒通風入口(4)。這些入口位於儀器的右下角。



圖 3: 儀器右下角的通風入口

通道

▶儀器背面和牆壁之間的間隔建議爲4cm寬,從而可以接觸到電源風扇篩檢程式和電子格柵。

▶儀器右側必須有最少40釐米寬的無物品區,從而可以接觸到阻斷迴圈單元和電子格柵風扇篩檢程式,以及保證多孔板安全地伸出和載入。

- ▶儀器左面與周圍須有20釐米寬的間距,從而可以接觸到儀器側面蓋。
- ▶儀器蓋板上面須有5釐米高的間距,從而可以提起蓋板。

2.3 環境要求

LightCycler® 480安全運行規格的設計符合CE和UL技術標準。此技術標準的環境條件爲:周圍空間溫度在 15°C和32°C之間,相對濕度在30%和80%之間(未壓縮),高度在海拔2000米(850 - 1050 hP)。大氣條件符合II級污染程度。



環境條件超過這些規格會導致故障或試驗結果不正確的



保持儀器環境乾燥。潮濕的環境會引起儀器故障。

2.4 LightCycler® 480 儀器的安裝

原運輸容器必須封閉地運到安裝地點。只能由經授權的羅氏診斷維修人員打開和安裝LightCycler® 480 儀器。在授權的羅氏診斷維修人員到達安裝地點之前,客戶無需採取任何舉動。如果無法由羅氏診斷公司安裝,請遵循下列步驟以成功安裝儀器:

•	打開儀器包裝:
0	仔細檢查容器有無損傷。在接收儀器之前,將可能的損傷報告給當地的羅氏診斷辦事處。
٨	儀器應直立地安放在工作臺上。
9	搬運儀器時,應將手放在儀器的底部。儀器底板有四個內凹的搬運把手方便搬運。

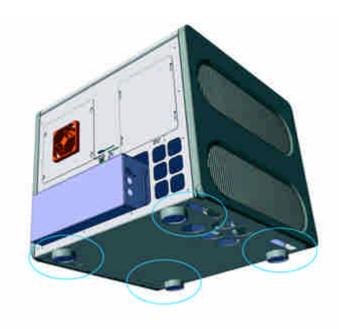


圖 4: 儀器底板搬運把手位置示意圖。

儀器的左、右以及背面應留有足夠的空間,以保證儀器電子元件能充分的冷卻。(有關細節參看空間和電源章節)。應保證LightCycler® 480儀器的底部以及背面絕對無物(如紙、塑膠薄膜等相關細節參看空間和電源章節。



如無適當的通風空間,會因過熱而導致儀器損傷。

取出運輸鎖緊裝置:

運輸鎖緊裝置是由泡沫材料製成的部件,插在多孔板載入器內,以防止多孔板載入器在運輸過程中意外活動。

1 安裝時,應在打開儀器開關之前取出運輸鎖緊裝置. 否則因爲傳動器的運動而導致熱迴圈器門卡住,並且多孔板載入器也會被鎖死。

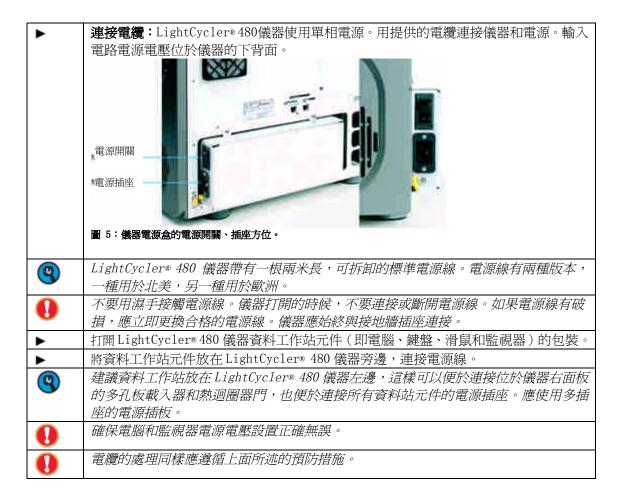
取出運輸鎖緊裝置時,應先打開熱迴圈器門然後用手拉出多孔板載入器。取出運輸鎖緊裝置後,再將多孔板載入器推回。



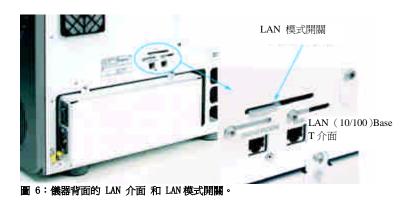
不要丟棄運輸鎖緊裝置。將運輸鎖緊裝置保存在附件箱內。

拉出熱迴圈器,取出安放在平板架上的多孔板。推回熱迴圈器,然後關上門。

2



連接網線: LAN (10/100 Base T) 介面和 LAN 模式開關位於儀器背板中間。 *應使用儀器提供的 LAN 網線。LAN 網線長度不能超過 3 米。*



LightCycler® 480儀器可通過兩種模式與資料工作站聯繫。通過設定LAN模式開關來確定所使用的模式:

LANL 連接模式	LAN 模式設定	所用的 LAN 介面
數據站 使用配備的 LAN 網線直接連接	左	左
LightCycler® 480 儀器和資料工作站 (對等)		
接線器 通過集線器間接連接LightCycler® 480儀器和資料工作站。	右	右

0	與LightCycler® 480 基礎軟體1.0版本共同使用時,只能使用資料站聯繫模式。
•	將網線插入相應的電腦背面的LAN (10/100 BT)介面
>	(可選擇的)連接手提式條碼掃描器: 用Y-介面線連接數碼掃描器和鍵盤。將紫色的鍵盤插頭與Y-介面線上成對連接器中的一個連接。另一個Y-介面線連接器與電腦背面紫色介面相連。
•	滑鼠、監視器和印表機(可選擇的)連接到電腦背面。連接器的形狀設計成能保證連接定位準確。有關印表機和電腦連接的更多資訊,請參考印表機附帶的手冊。連接器是顏色編碼的,方便配對(滑鼠=綠色,監視器=藍色,印表機=紫色)。保證連接器的顏色與插座的顏色配對。
9	LightCycler® 480 系統包中不含有印表機。

3. 系統描述

3.1 LightCycler® 480儀器描述

LightCycler® 480 儀器是一種具有即時線上檢測綜合能力的快速熱迴圈器。安裝後能實施單相 PCR,即同時擴增和檢測靶核酸。通過加入雙鏈DNA特異性螢光染料或螢光基團標記的序列特異性寡核苷酸探針檢測靶核酸。這兩種途徑都能在擴增時測量PCR產物,為定量PCR的基礎。通過分析溶解曲線的方式分析PCR後得到的產物可用於PCR產物鑒定或基因突變檢測(即單核苷酸多態性)。隨意的組合5個激發濾光片和6個發射濾光片可在多元PCR檢測中分析多種染色劑發出的信號。有關檢測格式的詳細資料參看LightCycler® 480系統即時PCR檢測章節。

下列是LightCycler® 480儀器的主要標準部件

- ▶ 熱迴圈器單元,包括可交換熱迴圈器以及熱迴圈器覆蓋物(兩種版本都配備:96-或 384 多孔 PCR 板),通風口,多孔板載入器,多孔板條碼掃描器
 ▶ 檢測單元含有下列:
 ▶ 燈單元,遮蓋氙激發燈。
 ▶ 光學單元,包括液態光導管,發射和檢測濾光片車輪,CCD 相機
- 所有元件裝配在儀器底板上,由儀器外罩防護。

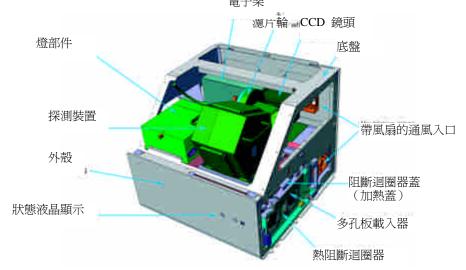


圖7:顯示LightCycler® 480儀器主要標準部件。

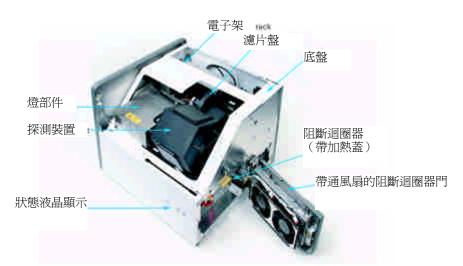


圖 8: LightCycler® 480儀器主要標準部件(儀器外蓋移去)

LightCycler® 480儀器前方有兩個LED指示燈,告知用戶硬體的狀態。多孔板載入器的開關按鈕緊靠發光二級管。儀器外蓋可提起,從前方移至右邊,這樣可以接觸儀器元件。例如,提起外蓋後可更換氙燈。(更換氙燈的細節,參看維護章節)

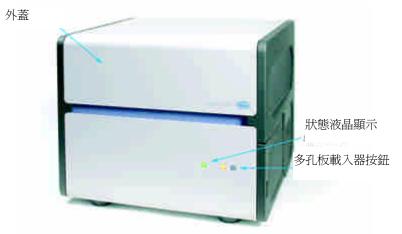


圖 9: LightCycler® 480儀器正視圖

儀器右側提供 PCR 多孔板載入機械裝置,還可在右側通過熱迴圈器門進入熱迴圈器。按壓儀器前面的按鈕可使多孔板載入器伸縮。(要瞭解更多有關多孔板載入的資訊,請參見 LightCycler® 儀器 480 運行準備和啟動章節)。如果同時使用兩種版本的熱迴圈器(即使用 96 孔 PCR 板迴圈器和 384 孔板的迴圈器),可打開熱迴圈器門更換熱迴圈器和匹配的可加熱熱迴圈器蓋。(要瞭解更多有關熱迴圈器更換的資訊,參見 Light-Cycler® 480 熱迴圈器更換章節)。



圖 10: 儀器右側視圖。



圖 11: 儀器多孔板載入器伸出視圖。



圖 12: 熱迴圈器門開啓,插入熱迴圈器和熱迴圈器蓋視圖。

儀器背面有電源盒,盒內是儀器電源、電源開關以及連接儀器與資料站所需的 LAN 介面。(儀器電源和 LAN 連接的更多細節,參看安裝章節)。通風入口((用於儀器電子格柵;配有一個粉塵濾光片)和通風出口(用於熱迴圈器和電源盒)位於儀器背面。



圖 13: LightCycler® 480 儀器背面視圖。

LightCycler® 480基礎軟體是系統的組成部分,控制PCR進程(包括檢測)和後繼的資料分析與資料輸出。(LightCycler® 480基礎軟體章節詳細描述了LightCycler® 480基礎軟體)

LightCycler® 480儀器的運行需加入特殊設計的PCR試劑盒。使用專用的LightCycler® 480試劑盒和 LightCycler® 480處理物可獲得儀器系統的最佳性能。

3.2 熱迴圈器單元描述

熱迴圈器單元包含以下主要元件:

•	熱迴圈器,含有多孔板架,珀耳帖效應元件,熱-基,冷卻元件(散熱片)和電子介
	面
•	熱迴圈器蓋 (可加熱蓋)
•	多孔板載入器
•	多孔板檢測器
•	多孔板條碼掃描器
•	帶風扇的熱迴圈器門

附有熱迴圈器門的熱迴圈器有兩種版本:

一種用於96孔多孔板,另一種用於384孔多孔板。

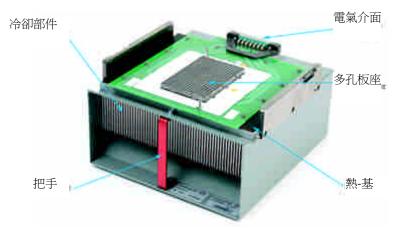


圖 14: LightCycler® 480儀器的熱迴圈器 (384孔多孔PCR板)

熱迴圈器每種版本都有匹配的熱迴圈器蓋. 迴圈器蓋上有96針孔或384針孔(針孔數取決於迴圈器版本)。迴圈擴增時,針孔可使檢測單元通過密閉的迴圈器蓋檢測螢光基團。迴圈擴增時,將熱迴圈器蓋壓在PCR多孔板上,加熱至100°C,這樣在溫度迴圈過程中使降低反應混合液蒸發最小化。因此無需用油或蠟封蓋反應混合液。

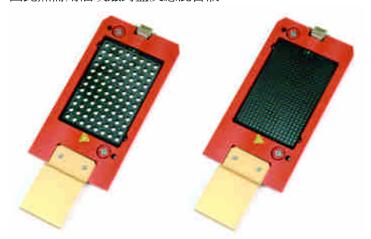


圖 15: 96孔熱迴圈器蓋(左)和384孔熱迴圈器蓋(右)俯視圖

熱迴圈器由六個珀耳帖效應元件驅動,結合熱傳導改良技術(熱-基),可使 PCR 反應在四十分鐘內完成(384 孔多孔板)。熱-基是一種熱等化器,可將積聚的熱負荷移動轉移至表面區域,其效應超出常規迴圈器數倍。因此能降低所有元件的溫度,保證熱傳導均勻。

通過儀器右側面板的熱迴圈器門,可以很容易地進入阻斷迴圈單元。存儲箱中存有包含阻斷迴圈蓋的熱迴圈器,並封閉在裝載設施內。裝載設施可便於更換熱迴圈器(有關更換熱迴圈器的詳細細節,參見LightCycler® 480 熱迴圈器更換章節)。使用該設施,可在數分鐘內完成熱迴圈器的更換。

儀器右側面板配有兩個高效風扇,可降低熱迴圈器運行時的溫度。氣流通過儀器引導,在右側的背面排出。

適當的熱迴圈器安裝成功後,用戶唯一的手動操作步驟是裝載和移去PCR多孔板。多孔板載入器裝載PCR多孔板後,將PCR多孔板移入熱迴圈器單元,安放在熱迴圈器的多孔板支架上。按壓儀器前面的按鈕可移入和移出載入器。內置平板檢測器檢查是否正確插入型號無誤的多孔板(96-孔或384孔)。(只有安裝和啓動LightCycler® 480 LIMS/條碼模組,才能實現選擇功能)。平板ID掃描後自動輸入LightCycler® 480基礎軟體中。PCR多孔板在熱迴圈器上校正方位,以確定反應孔恰好處在熱迴圈器蓋上的針孔之下。另外,檢測單元可使用迴圈器蓋上的螢光標誌優化多孔板與迴圈器蓋之間的相對位置。通過這種方法,檢測單元可有效地檢測螢光發射。

LightCycler® 480儀器也可經LightCycler® 480 LIMS/條碼模組連接到LIMS系統,然後由LIMS系統控制多孔板載入器的開啓和關閉,實現自動化載入。

兩種版本的熱迴圈器都可作爲單獨的附件使用(包括熱迴圈器蓋,儲存箱和裝塡站):

LightCycler® 480 96 孔熱迴圈器試劑盒	Cat. No. 04 643 640 001
LightCycler® 480 384孔熱迴圈器試劑盒	Cat. No. 04 643 631 001

3.3 檢測單元描述

檢測單元包含兩個主要元件:

- ▶ 燈單元 含有激發光源(氙反光燈)
- ▶ **光學單元** 含有帶有光管的液態光導管,發射濾光片輪,激發濾光片輪,帶有相機光學系統的 CCD相機

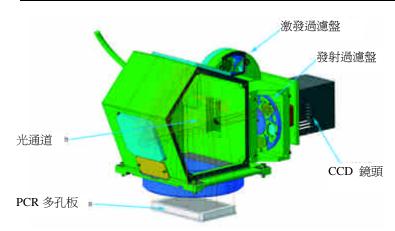


Figure 16: 圖 16: LightCycler® 480檢測單元圖示概貌

LightCycler® 480儀器使用氙反光燈作爲激發光源。氙反光燈發出的光的波長範圍在430至 630nm 之間,這樣可哥使用不同種類的螢光基團。氙反光燈在達到最大強度之前需要兩分鐘左右的預熱期。儀器處於休止狀態30分鐘後,氙燈會自動關閉。延遲自動關閉能保證初次運行後,短時間內的再次運行無需額外預熱。氙燈的壽命爲500小時左右。儀器能自動檢測光強度,當強度下降至低於最小強度限度時,儀器將會通知用戶,以保證足夠的激發效率。更換氙燈無須通過羅氏維修工程師進行。(更換氙燈的細節參看維護章節)。

氙燈發射的光通過液態光導管進入光學單元。液態光導管末端的光管能產生均勻的照明,並將照明由圓形轉換成矩形,以匹配PCR多孔板的形狀。激發螢光基團的實際波長在擴增反應中由所選擇的激發濾光片確定。激發濾光片位於旋轉式濾光片輪中,由附有六個濾光片交換機的步進馬達驅動。其中五個交換機配備激發濾光片(詳細內容,參看檢測單元規格章節),而第六個交換機用於提取暗圖。每次儀器重啟,都會提取這樣的暗圖,用於LightCycler® 480儀器運行時所提取圖片的糾正。

通過激發濾光片後,氙燈光經大場透鏡射到PCR多孔板上。大場透鏡也可以有效地聚集多孔板側孔來源的光線。光學模組調節光束,使之通過熱迴圈器蓋以相同精確的微角度(2°)照射PCR多孔板。以同樣的方式,擴增反應時,螢光基團激發後產生的螢光進入光學模組,這樣能保證(1)平板孔內無遮蔽效應,和(2)處在PCR多孔板邊緣的孔與中央孔相比,發出的信號絕對無變形或變異,這樣能使整個平板敏感度均勻。

PCR多孔板發射的螢光再次進入光學模組,然後由一個攜帶六個發射濾光片的次級濾光片引導(相關細節參看檢測單元規格章節)。最後,CCD相機檢測螢光信號。相機中心有一冷卻CCD晶片,解析度為1024 × 1344象素。晶片溫度控制在穩定的+10°C,可使產生的雜散電子最少。雜散電子有助於熱雜訊的產生。CCD相機採集時間可以通過儀器軟體手動和自動調節(即集成時間由信號動力調節,以保證信號強度達到最適比)。測量結果傳輸到LightCycler® 480資料站和軟體之前,應進一步的校正結果和簡化資料。

檢測PCR多孔板發射的螢光信號的同時,參考通道也被檢測。參考通道用於測量氙燈強度。氙燈強度 值補償可能發生的強度波動,而強度波動能影響螢光信號的強度。測量氙燈強度能保證檢測內和檢 測間發生變異的可能性最低。



因爲激發濾光片和發射濾光片安放在濾光片輪上,因此在多色測量中不能同時進行染色劑特異性螢光基團檢測,而是一個接一個地測量檢測"通道"。切換濾光片交換機所需時間少於0.65秒。LightCycler® 480即時PCR檢測中所用的染料激發濾光片和發射濾光片推薦組合在LightCycler® 480基礎軟體中預先定義爲"檢測格式"。只有針對所選擇的濾光片組合特異性的信號被檢測,因此應保證始終使用合適的檢測格式。

3.4 檢測通道描述

五個激發濾光片和六個發射濾光片隨意組合能使螢光基團得到最佳激發,並且螢光基團發射的信號 能得到精確地測量。下表顯示的是在即時 PCR 檢測不同格式中所使用的激發 - 發射濾光片推薦組合:

螢光基團	激發濾光片	發射濾光片	檢測格式
LightCycler® Cyan 500	450	500	水解探針(報告子)
SYBR Green I	483	533	SYBR Green I
Fluorescein (Fluos/FAM)	483	533	水解探針(報告子) HybProbe 探針(供體) SimpleProbe 探針
HEX (VIC)	523	568	水解探針(報告子) HybProbe 探針 (受 體)
LightCycler® Red 610	558	610	水解探針(報告子) HybProbe 探針 (受 體)
LightCycler® Red 640	558	640	水解探針(報告子) HybProbe 探針 (受 體)
Cy5	615	670	水解探針(報告子) HybProbe 探針 (受 體)

激發-發射濾光片配對可以一對一組合用在單色檢測中,也可連續組合用於多色檢測中。用戶可以在 LightCycler® 480 軟體中找到合適的預定義爲檢測格式的濾光片配對組合,用於單色或多色檢測。(例如,"多色 HybProbe" 檢測格式組合了 Red 610, Red 640 and Cy5 濾光片配對)。要瞭解相關細節,參見檢測格式章節。



LightCycler® 480 儀器能同時檢測兩種或更多染料發出的信號,這樣能在一個單反應中獲得更多的資訊。分析通道的選擇依賴試驗中所用的螢光染料。在一個多色反應中,染料發射信號的波長會重疊,這樣使得一個通道提取了多種染料發出的信號。這種所謂的串光能產生誤導性資料。因此需要"顏色補償"去糾正這種多色試驗中通道之間的滲色過度。有關如何在LightCycler® 480 儀器上顏色補償的詳細資訊參見顏色補償分析章節。



在多色水解探針檢測中,強力推薦使用暗猝滅劑染料。(即染料分子能有效地猝滅螢光諧振能量傳遞報告染料發出的非自身螢光。(相關細節參看利用水解探針監測PCR章節)

3.5 LightCycler® 480 Disposables

LightCycler® 480儀器有專門設計的96孔和384孔格式的PCR多孔板。這些平板優良構型和優化材質能保證最佳的熱傳導,良好的熱傳導是特殊PCR和快速迴圈率的必備條件。此外,這些平板產生的自發螢光非常微弱,這對於在檢測中獲得良好的信噪比有重要意義。多孔板都附有匹配的自粘性封箔。

- 只能使用本手冊推薦的PCR多孔板。LightCycler® 480儀器熱迴圈器單元有一內置的平板類型檢測器,它能檢測、鑒別LightCycler® 480多孔板。
- **Q** 兩種類型的多孔板在其長邊每側都有兩個凹口,可讓自動載入設備裝卸平板。
- **③** 多孔板 A 排長邊上攜有一條條碼標籤(編碼 128,8 個字元)。這些條碼標籤代表操作 平板 ID,能被多孔板條碼掃描器識別。



圖 17: LightCycler® 480 96 孔多孔板 (左) 和 384 孔多孔板 (右)

LightCycler® 480 96 孔多孔 板	帶50個封箔的50塊板	Cat.	No.	04	729	692	001
LightCycler® 480 384 孔多孔	帶 50 個封箔的 50 塊板	Cat.	No.	04	729	749	001
板							

- PCR多孔板裝載入LightCycler® 480儀器之前,必須用自粘性封箔正確地封口。平板封口對消除高溫時產生的蒸發很重要。只能使用推薦的封箔。封箔也可單獨獲得。
- **全** 封箔也可單獨獲得。



圖 18: LightCycler® 480 封箔

3.6 LightCycler® 480 PCR 試劑盒

LightCycler® 480 PCR試劑盒是專門設計的,具有最高的特異性和靈敏度。

LightCycler® 480 PCR試劑盒有以下特徵:

- 最小量的 PCR 優化
- ▶ 提高了重複性和可信度
- ▶ 提供熱啓動酶,有極好的靈敏度、特異性和耐用性▶ 酶啓動時間短,可很快的獲得結果
- ▶ 試劑隨時可用,提供極大的便利

試劑盒	應用	規格, 數量.
LightCycler® 480 SYBR Green	利用SYBR Green I檢測格式分	04 707 516 001
Ⅰ母液 1/四号4変/4 / 「	析溶解曲線,以鑒定qPCR和產	
1個試劑盒 (5 × 100次反應, 每次20 μ1)	物	
LightCycler® 480探針母液	使用水解探針格式和其他以探	04 707 494 001
1 個試劑盒(5×100 次反應,	針爲基礎的檢測格式進行qPCR	
每次20 μ1)		
LightCycler® 480基因分型母	通過分析溶解曲線進行qPCR和	04 707 524 001
液	基因分型	
1個試劑盒 (4× 96次反應,		
每次20 μ1)		

3.7 所需的額外設備

下列是 Light Cycler® 480 系統實施即時 PCR 檢測所需的額外設備:

- ▶ 標準懸籃式離心機,離心機轉子有多孔板相配的連接管。
- ▶ 核酸酶滅活,不生成氣溶膠的吸管頭
- ▶ 配有可丟棄、可更換吸管頭的移液管
- ▶ 移液器(Eppendorf),用於配製混合母液和稀釋液。

3.8 LightCycler® 480儀器即時PCR檢測格式

3.8.1 概述

LightCycler® 480儀器使用螢光染料線上、即時監測迴圈擴增階段PCR產物的產生以及利用螢光染料在PCR後溶解曲線分析中分析PCR產物溶解。迴圈擴增階段測量的螢光信號與PCR產物量相關,從而可以計算靶核酸的複製數量(可利用序列非依賴檢測格式和序列特異性格式)。PCR後溶解曲線分析階段,螢光測量可用於PCR產物鑒定(序列非依賴檢測格式)和基因分型(序列特異性格式)。LightCycler® 480儀器有很高的靈活性,支援多種螢光分析格式,可使用廣譜探針和染料:

▶ 序列非依賴檢測法

依靠能與所有雙鏈DNA分子結合的螢光基團,與序列無關;

例如 SYBR Green I.

▶ 序列特異性探針結合檢測法

依靠序列特異性寡核苷酸探針偶聯螢光基團,探針能與靶PCR產物內的互補序列相結合

	單標記探針(SimpleProbe化學)
•	雜交探針(HybProbe 化學)
•	水解探針(5´-核酸酶測定法)

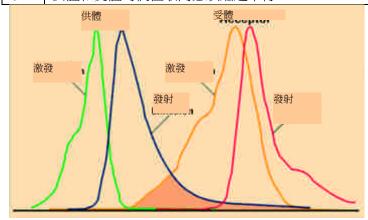


LightCycler® 480 儀器上的即時 PCR 檢測也可採用其他檢測格式。例如,可採用的探針格式包括雙標探針(iFRETProbes),分子信標和 Scorpions 探針。然而,分析中使用的所有螢光染料有必要與 LightCycler® 480 儀器的光學單元相容。

HybProbe 探針化學法和水解探針化學法利用的是螢光共振能量傳導 (FRET)原理,此原理的基礎是螢光基團 (供體)能量傳輸到另一個臨近的螢光基團 (受體)。

下列是FRET發生的主要條件:

	•	供體分子和受體分子之間必須相互靠近
	♥體的激發光譜與供體螢光發射光譜必須有重疊	
▶ 供體和受體的偶極取向必須臨沂平行		供體和受體的偶極取向必須臨沂平行



供體染料由LightCycler® 480儀器光源通過選擇匹配染料最大吸收波長的激發濾光片而激發(例如選擇483 nm波長激發濾光片用於激發螢光素)。此波長激發供體內一定數量的電子從基級躍入較高的能量級位。此能量由下列釋放:

- ▶ 發射出具有不同的、更長波長的螢光
- 傳輸能量傳輸至受體染料(如LightCycler® Red 640)。能量釋放時,電子恢復到基級水平。供體將能量傳輸至受體分子使自身螢光淬滅。

FRET法可以以不同的形式在PCR中用於產生序列特異性信號。水解探針化學法的基礎是淬滅供體染料的螢光(供體染料因此被稱爲猝滅劑),而HybProbe化學法利用受體染料發射螢光。

3.8.2 用SYBR Green I Dye 染料監測PCR

檢測PCR 產物的產生可以通過測量SYBR Green I螢光信號實現。SYBR Green I可嵌入雙鏈DNA螺旋環中。溶液中未結合的染料發射的螢光非常微弱;但是,一旦與DNA結合後,由於構象的改變,其螢光(530 nm測量)就會顯著增強。因此,在PCR的過程中,SYBR Green螢光的增加是與產生的雙鏈DNA呈正比。由於SYBR Green I dye染料非常穩定,因此可以選擇為測量總DNA數量的試劑。下列是在LightCycler® 480系統即時PCR中,使用SYBR Green I染料檢測DNA的基本步驟:

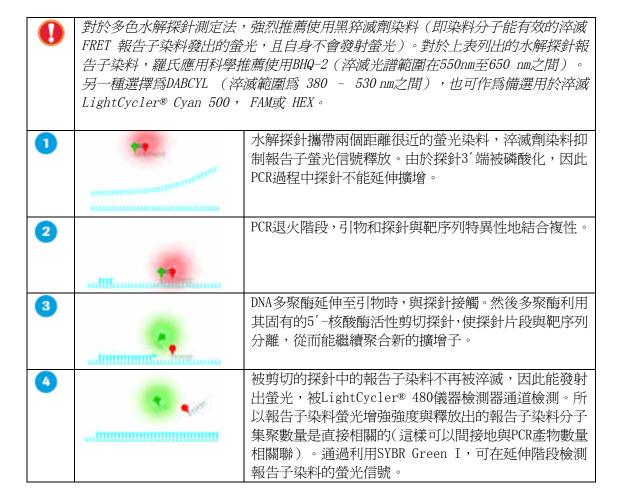
0	I I	退火時,PCR 引物與靶DAN雜交,在雙鏈DNA上形成一些 小的區域。SYBR Green I染料嵌入這些區域:螢光信號 輕度增強。
2		在延伸階段,形成更多的雙鏈DNA,並且更多的SYBR Green I染料與之嵌和:螢光信號增強。
		延伸階段末期,所有DNA變成雙鏈DNA,此時嵌入的SYBR Green I染料也達到最多。在每次延伸階段末期因測量螢 光(530 nm)。

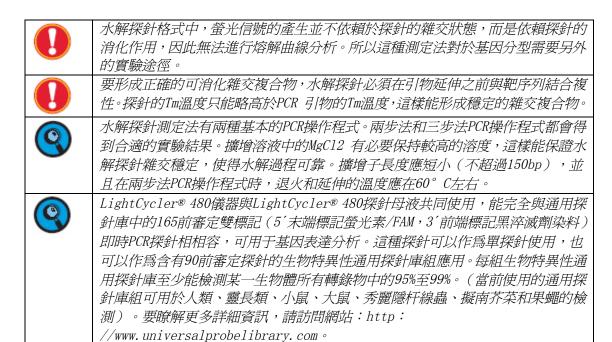
由於SYBR Green I染料能和所有的雙鏈DNA結合,因此SYBR Green I 檢測格式不能區分不同的雙鏈DNA種類。特異性產物、非特異性產物以及引物二聚體都能同樣地被檢測到。所有雙鏈PCR人工產物都會強化信號強度,導致靶序列濃度檢測過高。確定是否所需的PCR產物已經擴增可以在完成PCR後通過溶解曲線分析而實現。通過溶解曲線分析以鑒定PCR產物的基礎是每一種特殊的雙鏈DNA分子有其自身特徵性的溶解溫度 Tm,達到這個溫度時,一半的DNA為雙鏈,另一半為溶解狀態,即單鏈。確定雙鏈DNA熱穩定性最重要的因素是DNA分子的長度和GC含量。在分析溶解曲線時,反應混合物緩慢加熱至95°C,在這樣情況下達到混合物內PCR產物的Tm溫度時,能引起雙鏈DNA溶解以及相應的SYBR Green I螢光急劇減少。LightCycler® 480儀器持續地監測超過Tm溫度後的螢光轉變。使用LightCycler® 480基礎軟體分析溶解曲線時,這些資料以溶解曲線圖的方式顯示出來(螢光[F]對溫度[T])。從溶解曲線的回折點上能估計出反應中PCR產物的Tm溫度。但是使用LightCycler® 480基礎軟體Tm調集分析模式繪製出衍生溶解曲線(-dF/dT),能更爲容易地辨別出Tm溫度。衍生溶解曲線的溶解峰中心對應於回折點。如果PCR只產生一個擴增子,那麼溶解曲線分析將只能顯示一個溶解峰。如果存在引物二聚體或其他非特異性產物,他們以附加溶解峰的形式顯示出來。因此驗證PCR產物的Tm溫度可以與分析凝膠電泳產物的長度相比較。

3.8.3 使用水解探針監測PCR

單3´-非延伸性(由於磷酸化)探針用於檢測特異性靶DNA序列的增加,因此水解探針測定法技術上可描述為同源性5´-核酸酶測定法。單3´-非延伸性探針在擴增時可被剪切。這種單探針含有兩個指示染料,為一個螢光報告子和一個猝滅劑,這兩個指示物相互之間的距離很接近。探針完整無缺時,猝滅劑染料與報告子染料的距離很接近,能充分地抑制報告子螢光信號的發射(螢光猝滅通過FRET產生)。PCR過程中,聚合酶5´-核酸酶剪切水解探針,分開報告子和猝滅劑。被剪切的探針上的報告子不再被淬滅,激發後發射出螢光信號。

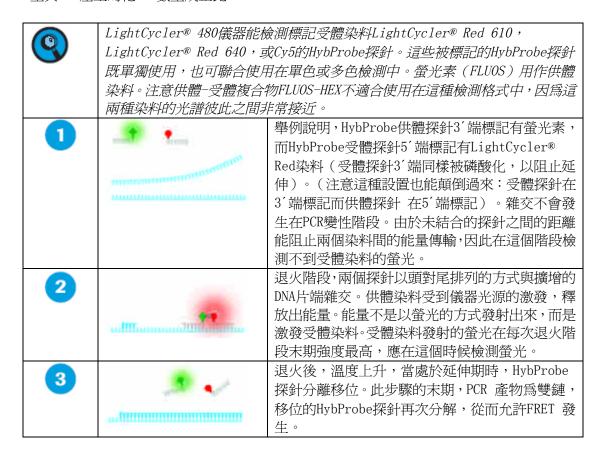
LightCycler® 480儀器能檢測出標記有報告染料的水解探針,如LightCycler® Cyan 500、FAM、HEX、LightCycler® Red 610、LightCycler®Red 640 或 Cy5。水解探針可單獨或聯合使用,這樣能進行單色或多色檢測。





3.8.4 使用HybProbe探針監測PCR

HybProbe 探針檢測格式中,有兩個專門設計、序列特異性的寡核苷酸探針以頭對尾排列的方式與擴增的DNA片段上的靶序列雜交。這兩種探針稱之爲供體和受體,都標有不同的螢光染料,從而使兩種不同的染料緊密接近。供體染料(如螢光素)由合適的激發濾光片(483 nm)激發。當兩種染料相互靠近時,供體染料釋放出的能量激發受體染料(如LightCycler® Red 640),受體染料此時附著於第二個HybProbe探針和寡核苷酸雜交複合物上。受體染料激發後發射出不同波長的螢光,其螢光量與PCR產生的靶DNA數量成正比。



HybProbe檢測格式適合於序列特異性qPCR檢測和基因分型(單核苷酸多態性檢測,SNP)。利用 HybProbe探針檢測SNP是以溶解曲線分析爲基礎的。溫度低於寡核苷酸的 Tm 溫度時,HybProbe探針 配對與互補範本結合,導致定錨探針與感應探針緊密靠近,產生FRET。隨著溫度上升,探針在其對 應的 Tms溫度時溶解,不再產生FRET。溶解與螢光信號強度下降同時發生。感應探針溶解的溫度依賴 探針的基本序列。因此,如果範本的感應探針結合區存在一個SNP,結合的複合物會不穩定,其溶解 溫度低於正確配對的複合物。

3.8.5 使用SimpleProbe探針基因分型

SimpleProbe探針是一類特殊類型的雜交探針。這些探針有一個重要方面不同於HybProbe探針。這種探針測定法無需聯合使用兩個探針,它只需要單個探針。這種單個探針可以和含有所尋找的SNP的靶序列特異性結合雜交。一旦雜交後,SimpleProbe探針發射出的螢光信號強度超過未雜交時所發射的螢光強度。因此,SimpleProbe探針的螢光變化只依賴於雜交狀態。SimpleProbe檢測格式的原理基礎不是FRET理論。

典型的SimpleProbe探針設計成可以和含有所尋找的SNP的靶序列特異性結合雜交。一旦和靶序列雜交後,SimpleProbe探針發射出的螢光信號強度超過未雜交時所發射的螢光強度。因此,SimpleProbe探針的螢光變化只依賴於雜交狀態。SimpleProbe探針檢測格式對於SNP基因分型和變異檢測是一種極好的工具,因爲這種檢測格式只使用一個短小的探針就可以很容易地鑒定野生體、變異體以及雜合體樣本。

SimpleProbe探針可以在其兩個末端或內部標記其他試劑(如標記SimpleProbe 519 Labeling Reagent試劑^{*})。如果溶液中的SimpleProbe未和其他物質結合,其報告子染料發射的螢光會被一個特殊的非螢光淬滅劑淬滅。當探針和靶序列雜交後,淬滅效應降低,報告子染料被LightCycler® 480 儀器通道啓動後,發射出螢光。但是,即使探針未雜交,仍可在530nm檢測到背景螢光,導致信噪比降低。

在SNP分析中,LightCycler® 480儀器監測SimpleProbe探針溶解行為。通過測量螢光,儀器能檢測到探針一靶序列雜交複合物隨著溫度的升高而溶解。SimpleProbe探針與靶序列之間的雜交作用越穩定,溶解溫度也就越高。變異,如SNP,會削弱SimpleProbe探針結合的穩定性。

0	THE THE PARTY OF T	變性階段不會發生雜交,因此在530 nm只檢測到微弱的螢光。
2		退火階段,探針與擴增的DNA片段結合雜交,不再被淬滅螢光。螢光素受到Light-Cycler® 480儀器光源激發後發射出綠色螢光。螢光應在每次退火末期達到最強,此時才能測量其強度。
3		接下來的延伸階段,SimpleProbe從靶序列上脫離 移位。
4		延伸階段末期,PCR產物爲雙鏈,SimpleProbe探針 呈脫離狀態。



С	操作	頁	
	A 177		0.=
1.	71 TH		
2.	系統的啓動	•••••	68
3.	準備和開始 LightCycler® 480 儀器的運轉		69
4.	更換LightCvcler® 480熱洄網器····································		79

操作

1. 介紹

在開始操作前,請先回顧*概述*和 LightCycler® 480 基礎軟體</u>這兩個章節,這樣可以確保您能識別和確認 LightCycler® 480 儀器的各個部件,並對軟體有一個基本的瞭解

操作 71

2.系統的啓動





主開關位於儀器後面的電源箱的左側,按 I 以啟動 LightCycler® 480 儀器。



在 Light Cycler® 480 儀器的前面有兩個狀態指示燈。

儀器運行過程中可能出現的指示燈顯示模式及其含義:

左側指示燈顏色	右側指示燈顏色	含義
橙色 (閃動)	橙色 (閃動)	儀器正在進行初始化。
綠色	橙色	儀器已經啓動,並處於 待機狀態,尚無多孔板 載入。
綠色	橙色(閃動)	正在載入多孔板。
綠色	綠色	儀器已經啓動,並處於 待機狀態,多孔板已經 載入。
綠色 (閃動)	綠色(閃動)	儀器正在運行中。

- 2 打開數據工作站。
- 8 啓動作業系統 Windows XP。
- 打開 LightCycler® 480 的基礎軟體。關於 LightCycler® 480 的基礎軟體的使用方法,請參考 *LightCycler® 480 的基礎軟體*一章。

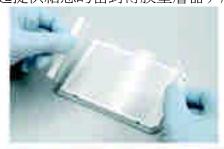
3·準備和開始 LightCycler® 480 儀器的運行

- 下文中所描述的爲典型的樣品的操作步驟。其他方法(例如:使用經含有DNA範本的通用試劑)也是可行的。
- 對試驗設計進行編程,定義樣品的數量、名稱等。 如需詳細的指導,請參考 "LightCycler® 480的基礎軟體"一章。
- 在一個1.5毫升或0.5毫升的反應管中加中除了DNA範本之外包含所有其他反應試劑的通用試劑。
 - → 請按照LightCycler® 480的使用指南中關於試劑盒的步驟進行操作。反應體 積務必與特定的多孔板型號保持一致。使用暗反應試管以防止環境光對反應 管中螢光染料產生漂白作用。
- 使用微量架器將反應混和體系加入到LightCycler® 480的多孔板的孔中。 當處理大批量的樣品時,使用機器微量加樣器或平行微量加樣器(8頭或16頭)會大 大提高您的工作效率。

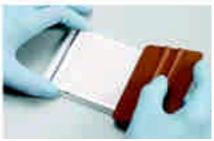




- 4 將DNA範本加入到各個孔中。
- 使用LightCycler® 480密封薄膜對板進行正確的密封。使用您的手或者刮器(例 切:與儀器一起提供給您的密封薄膜塗層器)將薄膜牢牢地壓在板的表面。







對板進行密封是非常重要的,因爲這樣可以避免高溫下反應液體的蒸發。

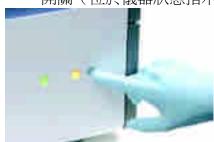
操作 73

6 將多孔板放入標準的懸籃離心機中,離心機中應安裝有配套轉接器的轉子。在板的對側施加合適的平衡力(例如:另一塊多孔板)。以1500xg的速度離心兩分鐘。檢查孔中是否有氣泡,如果需要的話可以再進行一次離心。





✓ ►為了將準備好的多孔板加載入LightCycler® 480儀器中,請按下儀器前面的按鈕 開關(位於儀器狀態指示燈的旁邊)。

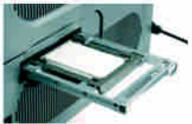


▶這時多孔板載入器會從儀器的右側彈出。



8 將多孔板放入載入器的載入框中,注意應使其平滑邊緣對著儀器的方向放入。(有 斜角的較短的板邊緣遠離儀器。)





- 事次按下多孔板載入按鈕開關,這時已經插入多孔板的載入器會彈回到儀器內。現在您就可以開始運行試驗了。
- ◎ 當運行結束後,再次打開多孔板載入器以取出PCR多孔板。

當運行剛剛結束時,多孔板載入器的溫度將非常高,足以引起急性燙傷。因此 請等待一定時間以使其可以冷卻下來。在您的LightCycler® 480儀器的RUN流程 中一定要包含有一個最終冷卻步驟。

操作 75

4・更換LightCycler® 480的熱迴圈器

LightCycler® 480儀器可使用兩種版本的熱迴圈器,一種是使用LightCycler® 480的96 孔多孔板的熱迴圈器,另一種則是使用LightCycler® 480的384孔多孔板,您可以同時購買兩種迴圈器作爲可替換零件(96孔或384孔的LightCycler® 480迴圈器)。如果您同時擁有兩種迴圈器,則您可以根據您的使用要求來手工更換熱迴圈器以使用之。下文中將爲您講解如何更換迴圈器。

❶ 當您準備進行迴圈器的更換時,請務必關閉LightCycler® 480儀器。

在更換迴圈器之前,您應該在LightCycler® 480運行結束之後等待一定時間(大約20分鐘)以使熱迴圈器以及熱迴圈器蓋有足夠的時間冷卻下來。在運行剛剛結束時,熱迴圈器以及迴圈器蓋的溫度相當高,足以導致燙傷。在您的LightCycler® 480儀器的操作流程中一定要包含有一個最終冷卻步驟。

LightCycler® 480的熱迴圈器存放在一儲存盒中提供給您,該盒可以在運輸過程中保護熱迴圈器使之免於損壞。儲存盒中有熱迴圈器以及置於熱迴圈器載入裝置中的熱迴圈器蓋。



LightCycler 480 儀器操作手冊 操作手冊 1.0 版

2 打開儲存盒蓋,握住熱迴圈器的手柄,將熱迴圈器與載入裝置一起從儲存盒中取出。



載入裝置包括兩個獨立的部分:在更換熱迴圈器時,上一半用來放置更換下來的熱迴圈器(見下圖),而下面一半則是一個固位器,它用來放置更換下來的熱迴圈器蓋。

- ③ 從儀器右側面板的部位打開熱迴圈器門。
- ▶將位於右面板的提鈕向上提起(1),然後按順時針方向扭動(2)。



- ▶保持提鈕處於提起後的位置,即可打開後面的熱迴圈器門。
 - ●僅可在儀器已關閉的狀態下打開此門。

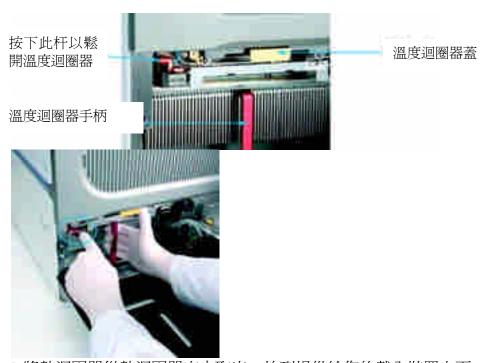


操作 77

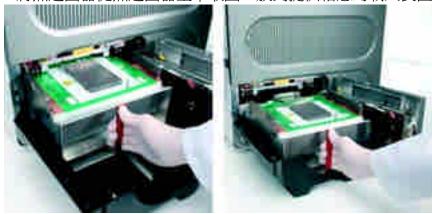
4·取下載入裝置的上面部分,並將其倒置過來,使其開放側正對著儀器,放置於已經 打開的熱迴圈器室的前方。



55 ▶按下熱迴圈器室左側上方紅色標記的杠杆,握住熱迴圈器的手柄。用拇指頂住儀器的機箱施加力量將熱迴圈器取出。



▶將熱迴圈器從熱迴圈器室中取出,放到提供給您的載入裝置上面。



▶將放入載入裝置的熱迴圈器放到一邊。

- 熱迴圈器取出後,熱迴圈器蓋也必須取出。
- ▶將位於熱迴圈器釋放杠杆和熱迴圈器蓋之間的小的金色杠杆向<u>左</u>推,握住熱迴圈器蓋的手柄,即可將熱迴圈器蓋鬆開。



熱迴圈器把手

▶熱迴圈器蓋被鬆開後,就可以很容易地將熱迴圈器蓋從室中取出。



▶將取下的熱迴圈器蓋放入提供給您的載入裝置的底部的固位元器中。

操作 79

- 使用與以上步驟相反的順序將新的熱迴圈器安裝到空的熱迴圈器室中。
- ▶插入熱迴圈器蓋:將位於熱迴圈器釋放杠杆與熱迴圈器蓋之間的小的金色杠杆推向<u>右</u>側,將熱迴圈器蓋推入位於熱迴圈器室上方的托架中。



- ▶插入熱迴圈器:按照與以上描述相反的順序進行步驟 5 與步驟 4 的操作即可插入熱迴 圈器。
- ▶最後,當您把熱迴圈器推入熱迴圈器室中後,請關上熱迴圈器門,按下門夾以確保其已嚴密關閉。



1. LightCycler® 480 基礎軟體概述 81 1.1 LightCycler® 480 基礎軟體用戶介面通則 81 1.2 LightCycler® 480 基礎軟體的啓動. 82 1.3 LightCycler® 480 基礎軟體主視窗 85 1.4 選擇與流覽特性 90 1.4.1 流覽器 90 1.4.2 查詢表 94 1.4.3 樣品選擇與樣品表 98 1.5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2.1 試驗的編程與運行 110 2.1.1 設定檢測格式 112 2.1.2 定義程式與溫度靶 113 2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試驗運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
1.1 LightCycler® 480 基礎軟體用戶介面通則 81 1.2 LightCycler® 480 基礎軟體的啓動 82 1.3 LightCycler® 480 基礎軟體主視窗 85 1.4 選擇與流覽特性 90 1.4.1 流覽器 90 1.4.2 查詢表 94 1.4.3 樣品選擇與樣品表 98 1.5 導出與導入檔與物件 100 2. 試験的編程與運行 109 2.1 試験的編程 110 2.1.1 設定檢測格式 112 2.1.2 定義程式與溫度靶 113 2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試験運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試験分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
1.1 LightCycler® 480 基礎軟體用戶介面通則 81 1.2 LightCycler® 480 基礎軟體的啓動 82 1.3 LightCycler® 480 基礎軟體主視窗 85 1.4 選擇與流覽特性 90 1.4.1 流覽器 90 1.4.2 查詢表 94 1.4.3 樣品選擇與樣品表 98 1.5 導出與導入檔與物件 100 2. 試験的編程與運行 109 2.1 試験的編程 110 2.1.1 設定檢測格式 112 2.1.2 定義程式與溫度靶 113 2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試験運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試験分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
1. 2 LightCycler® 480 基礎軟體的啓動. 82 1. 3 LightCycler® 480 基礎軟體主視窗 85 1. 4 選擇與流覽特性 90 1. 4. 1 流覽器 90 1. 4. 2 查詢表 94 1. 4. 3 樣品選擇與樣品表 98 1. 5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2. 1 試驗的編程 112 2. 1. 2 定義程式與溫度靶 113 2. 1. 3 定制線上資料顯示 117 2. 2 試驗運行 118 2. 3 輸入樣品資訊 120 3. 1 分析數縣概述 126 3. 1 分析步縣概述 127
1.3 LightCycler® 480 基礎軟體主視窗 85 1.4 選擇與流覽特性 90 1.4.1 流覽器 90 1.4.2 查詢表 94 1.4.3 樣品選擇與樣品表 98 1.5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2.1 試驗的編程 112 2.1.2 定義程式與溫度靶 113 2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試驗運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
1.4 選擇與流覽特性 90 1.4.1 流覽器 90 1.4.2 查詢表 94 1.4.3 樣品選擇與樣品表 98 1.5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2.1 試驗的編程 110 2.1.1 設定檢測格式 112 2.1.2 定義程式與溫度靶 113 2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試驗運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
1. 4. 1 流覽器 90 1. 4. 2 查詢表 94 1. 4. 3 樣品選擇與樣品表 98 1. 5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2. 1 試驗的編程 110 2. 1. 1 設定檢測格式 112 2. 1. 2 定義程式與溫度靶 113 2. 1. 3 定制線上資料顯示 117 2. 2 試驗運行 118 2. 3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3. 1 分析步驟概述 127
1. 4. 2 查詢表 94 1. 4. 3 樣品選擇與樣品表 98 1. 5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2. 1 試驗的編程 110 2. 1. 1 設定檢測格式 112 2. 1. 2 定義程式與溫度靶 113 2. 1. 3 定制線上資料顯示 117 2. 2 試驗運行 118 2. 3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3. 1 分析步驟概述 127
1. 4. 3 樣品選擇與樣品表 98 1. 5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2. 1. 1 設定檢測格式 112 2. 1. 2 定義程式與溫度靶 113 2. 1. 3 定制線上資料顯示 117 2. 2 試驗運行 118 2. 3 輸入樣品資訊 120 3. 試験分析概述 126 3. 1 分析步驟概述 127
1.5 導出與導入檔與物件 100 2. 試驗的編程與運行 109 2.1 試驗的編程 110 2.1.1 設定檢測格式 112 2.1.2 定義程式與溫度靶 113 2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試驗運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
2. 試驗的編程與運行 109 2. 1 試驗的編程 110 2. 1. 1 設定檢測格式 112 2. 1. 2 定義程式與溫度靶 113 2. 1. 3 定制線上資料顯示 117 2. 2 試驗運行 118 2. 3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3. 1 分析步驟概述 127
2.1 試驗的編程
2.1.1 設定檢測格式
2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試驗運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
2.1.3 定制線上資料顯示 117 2.2 試驗運行 118 2.3 輸入樣品資訊 120 3. 試驗分析概述 126 3.1 分析步驟概述 127
2.3 輸入樣品資訊····································
3. 試驗分析概述
3.1 分析步驟概述127
3.1 分析步驟概述127
3.2 使用分析視窗129
3.2.1 選擇濾光器組合與顏色補償130
3.2.2 在分析中處理樣品131
3.2.3 使用圖表132
3.2.4 添加分析注解132
3.2.5 對分析進行刪除或重新命名133
4. 進行絕對定量分析134
4.1 樣品交叉點135
4.2 關於標準曲線的作用136
4.3 提供標準曲線138
4.4 使用絕對定量方法
5. 進行溶解曲線分析
5.1 使用溶解曲線特徵進行 DNA 產物及其基因型的鑒定
5.1.1 定義溶解程式 5.1.2 溶解溫度分析的內容
5.1.2 俗解温度分析的内容
6. 進行顏色補償分析
6.1 進行顏色補償式物
7. 使用範本與巨集156
7.1 製作與使用範本
7.2 製作與使用宏156
8. 使用子功能表162
9. 使用圖表
9.1 列印,導出與複製圖表165
9.2 進行變焦和變位元以查看圖表詳細內容169
9.2 進行變焦和變位元以查看圖表詳細內容169

D		軟體 ····································	
10.			171
11.		使用選項工作	174
11	. 1	使用圖解選項	175
	11.	1.1 設定圖表表頭與標籤類型	176
	11.	1.2 設定螢光圖表內容	177
	11.	1.3 設定標準曲線圖表的外觀	178
	11.	1.4 設定溫度圖表的內容與外觀	179
	11.	1.5 覆蓋默認的圖表選項	180
11	. 2	使用樣品選項	183
	11.	2.1 更改所有試驗的樣品選項	183
	11.	2.2 重新設置默認的圖表選項	185
11	. 3	生成一個單獨的選項專案並將其設爲默認	187
11		設定用戶選項	
12.		管理工具	
		管理用戶訪問	
		1.1 用戶帳戶	
		. 1. 2 組	
		.3.3 角色	
		1.4 高級用戶角色的特權	
	12.	1.5 本地管理員角色的特權	193
	12.	1.6 用戶訪問物件	194
		1.7 管理用戶、組和角色	
		.1.8 使用角色	
		.1.9 更改密碼	
		報告的設置	
	2.3		
	2.4		
		. 1 定義儀器	
		診斷工具····································	
14.	L	ightCycler® 480 基礎軟體的安裝與維護····································	214
14	. 1	初始啓動步驟	215
14	. 2	LightCycler® 480 基礎軟體的安裝	216
		保存一個已有的資料庫和安裝附加資料庫	219
		登錄到不同資料庫	
		用一個資料庫檔替換一個已存在的同名資料庫	224
1		. 6 在 LightCycler® 480 基礎軟體	平
	型 工	整合一個恢復的資料庫檔使之成爲附加資料庫	225
14	1.7	開除 LightCycler® 480 的基礎軟體・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	228
14	₹. 8	FLE Xnet許可證管理員····································	229

目錄 85

軟體

1. LightCycler® 480 基礎軟體總述

LightCycler® 480 的基礎軟體根據您在試驗方案中提供的資訊來對 LightCycler® 480 儀器進行操作。 LightCycler® 480 的基礎軟體包括 LightCycler® 480 的基礎軟體應用程式、含有審計尾跡的資料庫、以及 一個資料庫物件伺服器(稱爲"Exor4"),它可以與資料庫進行資料交換。軟體應安裝在本地配置中。

在這一配置中,所有的軟體均安裝在已與 LightCycler® 480 儀器接通的 LightCycler® 480 資料站內。每種配置(儀器及其連接的電腦)均使用其自身的資料庫及其自己的特定用戶帳戶,並作爲一個獨立的系統進行工作。資料庫引擎及資料庫檔的位置及目標檔夾通常在安裝過程中就已經設定完畢。

LightCycler® 480 系統收集到的所有資料均保存在資料庫中以保證資料及資料完整性的安全。您無法對儲存好的資料進行操作,也不能對原始資料進行訪問。資料的分析和編輯只能通過 LightCycler® 480 的基礎軟體才能完成。 如果您想在 LightCycler® 480 的基礎軟體中查看試驗的相關資訊,則試驗檔必須首先儲存到 LightCycler® 480 的基礎軟體的資料庫中才行。

本節的內容爲您提供 LightCycler® 480 的基礎軟體的一個總體的介紹。同時,本節還描述了在軟體顯示幕幕中可能用到的所有的用戶介面元素軟體模組。本節中主要包括以下幾個主題:

- ▶啓動 LightCycler® 480 的基礎軟體
- ▶關於主窗口
- ▶用戶介面通則
- ▶導出與導入檔與物件

LightCycler® 480 基礎軟體的一般性用戶介面通則

1.1 LightCycler® 480 基礎軟體的一般性用戶介面通則

LightCycler® 480 基礎軟體的用戶介面使用了一些有特定功能的基本元素(例如:按鈕等),您幾乎可以在軟體的每一個螢幕顯示內容中看到和用到這些基本元素。

D 110	
按鈕	功能
Ø	對一次輸入或一個動作的確認。點擊此按鈕後軟體會向下進行到一個新屏顯,對話方塊或步驟。它的作用與按下〈Enter〉鍵是等同的。
\otimes	對一次輸入或一個動作的否認。點擊此按鈕後軟體將關閉當前的螢幕顯示內容或對話方塊。相當於按下〈Esc〉 鍵。
lacktriangle	增加一個專案或物件。
Θ	刪除一個專案或物件。
	編輯一個專案或物件。
1	退出 LightCycler® 480 基礎軟體。

另外,軟體的一般按鈕設計通則還在各個按鈕之後使用特定的按鈕指示符進行了定義。下面的表格中解釋了針對按鈕指示符的通則:

按鈕	標記	行爲
Char.	左下角有黑色三角。	完成動作並關閉窗口或對話方 塊。
Henr.	右上角的黑色三角。	打開下一級對話方塊。
Орен	無黑色三角。	在當前窗口中執行特定的動作。
Close	白色背景,周圈有點圍繞。	按鈕被選定。
Apply Template	按鈕與下拉箭頭一起出現。	表明這是一個多選按鈕。

祭滑鼠箭頭指到一個圖示或按鈕的上方時,軟體就會爲您顯示關於該圖示或按鈕功能的描述及其鍵盤快捷鍵(如果有快捷鍵的話)。

1.2 啓動 LightCycler® 480 的基礎軟體

按照以下的步驟步驟啟動和登錄到 LightCycler® 480 的基礎軟體

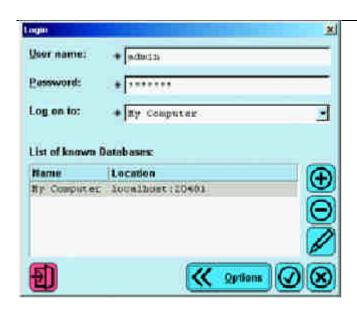
• 請使用具有 1280×1024 圖元或更高的分辯率的螢幕運行 LightCycler **®** 480 的基礎軟體。注意:軟體在 1024×768 的圖元下也可以運行,但是軟體的某些功能在這一低分辯率下會受到影響(例如:某些按鈕會重疊到一起)。

如何啓動 LightCycler® 480 的基礎軟體:

- 雙擊您桌面上的 LightCycler® 480 基礎軟體圖示畫。
- 在登錄對話方塊中,輸入您的用戶名用密碼。
- 用戶 admin 的初始密碼是 LightCycler480。



- 3 在"登錄到"這一選項中,上次所使用的資料庫會做為預設值顯示出來。
- 如果目前已有幾個資料庫並且您想登錄到與當前默認者不同的資料庫時,接下"選擇"接鍵即可進行更換。 這時登錄窗會彈出,並將您可以選擇的資料庫名稱全部列出。在列出的名單中選擇您所需要的資料庫。



每按下 按 按 按 会 提 有 会 是 会 是 会 是

這時,螢幕上將顯示出 Light Cycler® 480 的基礎軟體的總述視窗,其中包括有三個部分:位於左側的是 "任務和打開一個啓動的視窗",中間的是 "巨集"視窗,而位於右側的則是 "一般動作"窗口。從 "總述"視窗開始,您可以創建一個新的試驗,打開一個宏,或者跳轉到例如 "流覽器"和 "工具選擇"等的軟體模組中。



 區域
 功能

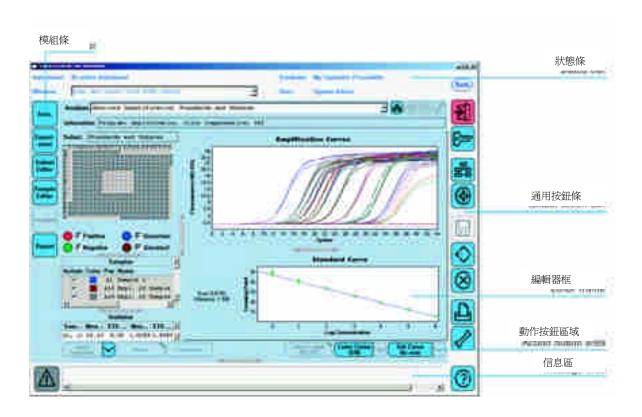
 任務
 點擊 "新的試驗"以打開 "運行"模組。如需關於

	"運行"模組的更多資訊,請參考"試驗編程"一節中相關內容。
打開一個啓動的視窗	通過點擊"打開一個啟動的視窗"您可以在打開的 視窗之間進行跳轉。當開始運行軟體時,這一區域是 空的。在操作的過程中啟動的軟體視窗的名稱會被加 入到該區域。
宏	從列表中選擇一個宏並啟動它,或者輸入一個測試識別字和/或批號識別字以找到與資料庫對應的巨集。
一般動作欄	"一般動作"欄中可供選擇的按鈕的多少取決於當 前已經打開的啟動的視窗。如需要更多資訊,請參考 "關於LightCycler® 480 基礎軟體的主視窗"一節。

1.3 關於LightCycler® 480的基礎軟體的主視窗

下面的圖片顯示出了 LightCycler® 480 基礎軟體的主視窗(作爲示例,爲您顯示了一個"絕對定量分析"視窗,但是下文中的描述對所有的視窗均有效) 主視窗中包含了以下幾個區域,這些區域在下文中進行介紹:

- ▶狀態條
- ▶模組條
- ▶一般動作條
- ▶編輯框
- ▶資訊區域



狀態條

這一區域顯示的是當前啓動的物件的相關資訊,您可以從當前打開的物件的列表中選擇一個物件進行查看。



區域	功能
儀器	顯示已連接的儀器的名稱和狀態。儀器的狀態可能是以下情況之一:未連接的,連接的,初始化中,待機
窗口	(多孔板已經載入),待機(無多孔板),運行中,錯 誤。顯示一個下拉功能表,其中列出了當前打開的視
資料庫	窗。使用這一功能表你就可以選擇所需的視窗。顯示 您所連接的資料庫的名稱和類型。顯示當前登錄到資
用戶	料庫的用戶名稱。

一般動作條

"一般動作條"位於螢幕的右側,此條中包含的按鈕對於一般的軟體功能均適用。該條中可選擇的項目決定於當前打開的啟動視窗(的數量和內容)。下面列出了與這些按鈕有關的功能:

按鈕	功能
到	<i>退出:</i> 點擊此按鈕以退出應用程式。
=	登出:點擊此按鈕您就可以退出當前資料庫,這樣就可以登錄到其他資料庫了。
22	點擊此按鈕可以跳轉到"總述"視窗
*	點擊此按鈕就可以顯示"流覽器"視窗。關於流覽器的 詳細資訊,請參考"選擇與流覽特性"一節。
	保存:點擊此按鈕可以保存對當前物件所做的修改。
♦	導出:點擊此按鈕可以將當前物件導出形成一個檔。關於導出的詳細資訊,請參考"導出與導入檔和物件"一節。
\otimes	關閉:點擊這一按鈕可以關閉所選擇的物件。
П	列印:點擊這一按鈕可列印出當前螢幕的顯示內容。
8	工具:點擊這一按鈕可以打開"工具"視窗,在該視窗中,您可以更改您的密碼,創建和編輯用戶、組和角色,編輯系統設置,查看資料庫狀態,管理儀器資訊,還可以定義您想選擇的濾光器組合。關於"工具"對話方塊
	的詳細資訊,請參考"管理工具"一節。

模組條

"模組條"顯示於螢幕的左側,含有六個固定按鈕 下表列出了這些按鈕相關的功能:

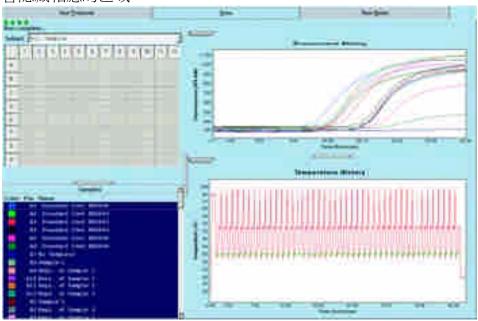
按鈕	功能
Som.	點擊這一視窗可以打開試驗的"總結"模組。該模組包含了與試驗有關的資訊(例如名稱,日期以及所有者和濾光器組合),並顯示更改日誌,您還可以通過它將一個試驗存儲爲一個巨集。
Especiment	點擊這一圖示打開"運行"模組,該模組包含了試驗方案的細節,試驗資料的圖表,以及由運行試驗的人員輸入的注解。關於如何編程和運行試驗的方法在"編程與運行試驗"一節中有詳細的解釋。
Subset Editor	點擊這一圖示打開"子功能表編輯器",通過該編輯器 您可以對樣品分組到各子功能表,從而對其進行分析及 報告。關於如何創建和編輯子功能表的內容在" <i>使用子</i> 功能表工作"一節中有詳細的解釋。
Sample Editor	點擊這一圖示打開"樣品編輯器",它可以對試驗所需要的樣品資訊進行定義。關於如何輸入和編輯樣品資訊的內容在"輸入樣品資訊"一節中有詳細的解釋。
Accelyptic	點擊這一圖示打開 "分析"模組。如果當前尙無分析被打開,則點擊後打開 "分析總述" 視窗。在這裏您可以創建一個新的分析,也可以打開一個已存在的分析。每一個爲試驗新創建的分析都會被加入到分析列表中,並且可以在分析模組中的相應下拉功能表中進行選擇。如果已經有一個分析被打開,則相應的分析視窗會成爲當前視窗,您就可以直接對其進行操作了。關於如何進行分析的內容,在 "試驗分析總述" , "進行絕對定量分析" , "進行溶解曲線分析" 以及 "進行顏色補償分析"等章節中有詳細的敍述。
Report	點擊這一圖示打開"報告"模組,此模組使您可以定義報告的內容,而且可以對報告進行查看和列印。 ② 您必須首先將一個試驗保存下來,這樣該按鈕才可以被啓動。

如何使用模組條:

點擊圖示打開相應的試驗模組,也可以使用與該圖示相應的鍵盤快捷鍵〈Ctrl-Shift-n〉,n 在這裏表示從上開始計數時圖示所在位置對應的數位。例如,在圖示列表中,"試驗"圖示總是位於圖示列表的第2位,因此打開"試驗"模組時對應的鍵盤快捷鍵就是〈Ctrl-Shift-2〉。(將滑鼠箭頭指向圖示時,在圖示旁邊就會顯示出關於該圖示功能的一個簡單敍述。)

編輯框

此框是模組顯示的中央區。編輯框通常包含幾個部分(請參考下面圖中的示例),這些部分可以單獨進行調整。您可以通過拖動兩個部分之間的、位於邊緣的分隔條來隱藏或顯示相應的部分。分隔條上的箭頭告訴您編輯框的哪一部分將會被調整。點擊分隔條將會隱藏相應的區域。



調整視窗區段的大小:

如何隱藏或顯示某一部分:

- ▶點擊邊上的分隔條
- ▶再次點擊分隔條重新顯示這一部分。

如何調整某一區域大小:

- ▶將滑鼠箭頭指向該區域的邊緣直到其箭頭變成一個雙箭頭。
- ▶點擊並拖動邊緣直到您所需要的位置爲止。



動作按鈕區域

動作按鈕區域為您顯示出了與當前活動的視窗相對應的可用按鈕,可用按鈕的數目和類型決定於您當前已經打開的活動視窗(例如:下圖所顯示的"動作按鈕"區域就是打開"資源管理器"視窗時情況)。



資訊區域

資訊區域為您顯示狀態資訊、出錯資訊或警告資訊等。



資訊區域包含以下部分:

位於左側的報警圖示

- ▶該圖示的顏色將根據*警報*的嚴重程度而發生變化:
 - ▶綠色=普通
 - ▶黄色=警告
 - ▶紅色=報警狀態
- ▶ 位於中央的文本區域: 文本區域顯示諸多資訊, 例如資訊的類型、日期和時間, 還顯示出資訊文本。雙擊一個資訊條目即可以顯示其詳細資訊。
- ▶ "打開關於框"按鈕️️️ 。點擊這一按鈕將打開程式的 "關於"框,該框中包含有在 LightCycler® 480 儀器操作指南的線上版本的鏈結,並顯示出軟體的版本號以及軟體的 版權資訊。



1.4 選擇與流覽屬性

這一部分描述的 LightCycler® 480 的基礎軟體的目標選擇,流覽以及查詢等元素。

- ▶流覽器
- ▶查詢
- ▶樣品選擇與樣品表

1.4.1 流覽器

流覽器主要是爲您提供到達存儲在 LightCycler® 480 資料庫中的各個專案的路徑:包括試驗,用戶帳戶、工具、宏等專案在內。您可以通過流覽器打開某個試驗及該試驗相關的項目(例如:選項、巨集、特殊資料等)。流覽器中的所有專案均以樹狀結構(與Windows 流覽器相似)組織在一起,並在其檔夾中按字母順序進行了分類。您可以打開或合上檔夾目錄,也可以選擇您需要的工作物件。另外,您可以使用"查詢"表中輸入需查找的參數,這樣就可以在資料庫中查找特定的 LightCycler® 480 軟體物件了。

流覽器視窗分爲四個區域:

- ▶樹狀窗格
- ▶對象總結窗格
- ▶流覽器控制窗格
- ▶查詢表



樹狀窗格

流覽器樹狀窗格顯示的是當前啓動的資料庫的一個等級樹狀結構。樹的最高一級物件稱 爲"根"。樹的使用方式與 Windows 流覽器的使用方式相似。

流覽器樹狀窗格中總是包含有以下默認的檔夾和物件:

- ▶用戶檔夾(包括系統管理員檔夾和爲各個用戶帳戶所設立的檔夾。每個用戶檔夾中還 包括一些默認的子檔夾,例如爲試驗設立的檔夾。
- ▶羅氏文件夾中存放的是來自羅氏的試驗、範本和巨集等,所有 LightCycler® 480 儀器的軟體用戶均可以訪問此檔夾。
 - **②**羅氏檔夾中包括了一些非常有用的標準物件:
- ▶在試驗檔中包含有三個演示試驗(使用 SYBR Green I 進行絕對定量,雙色水解探針, 使用 Hybprobe 探針進行溶解溫度調用);
- ▶在範本"子檔夾"中包含有四個演示運行範本;
- ▶在子功能表檔夾中包含有兩個預設的子功能表 (CHECKERBOARD 與 QUADRANT);
- ▶*一個顏色補償物件。*
- ▶如果您想對羅氏物件進行修改,那麼您必須首先將其拷貝到您自己的用戶檔夾內。 管理檔夾中包含的是對用戶組、用戶角色、用戶帳戶以及安全條例等物件。 如果您想顯示或隱藏一個檔夾,雙擊檔夾名稱或點擊檔夾旁邊的加號(+)或減號(-) 圖示即可。
 - 羅氏流覽器與您電腦上的 Windows 流覽器在各個方面上是相似的,但並非完全一樣。羅氏流覽器以一種資料庫的形式儲存資料,並不使用 Windows 流覽器那樣的檔系統。

總結窗格

如果當前選擇的物件是一試驗的話,那麼流覽器的 "總結窗格"顯示的將是試驗的總結 資料。

流覽器控制

通過配合使用樹狀窗格,您就可以通過使用流覽器對資料庫的物件進行工作,並可以將物件導入或導出。

Problem 點擊此按鈕後打開的是一個對話方塊,通過此框,您可以 reporting 將一個試驗物件與一個工具的事件日誌以及(可選的)用 戶關於此事件的描述性記錄一起保存成一個檔(檔案名爲 *. ipr)。您可以將該檔發送給羅氏應用科學的技術服務 部,從而尋求技術支援。如需更多資訊,請參考 "診斷工 具"一節。 點擊此按鈕打開的是一個標準的視窗檔流覽器,通過此流 Import 覽器,您可以導入所選擇的資料檔案類型以及將其導入到 指定的位置。以下檔類型均可導入: ▶ATF 文件: "ATF"是一套檔的縮寫,包括.abt (程式與 樣品資料)、.tem (溫度資料),以及.flo (螢光資料) 等檔。這三種檔是每一個試驗中都會用到。ATF 檔源於版本 爲 3.5.3 或更低的版本的 LightCycler® 480 軟體。 ▶物件檔:LightCycler® 480ML (可擴展標記語言,*.ixo) 物件檔。 點擊此按鈕打開一個標準視窗流覽器,通過該流覽器,您 Export 可以選擇選擇物件資料導出的位置及設定導出物件的名 稱。物件資料導出的檔通常是一個選定物件的以. ixo 爲副 檔名的檔(該檔中包括試驗及其相關資訊。 點擊此按鈕打開一個批量導入指導視窗,通過它您可以從 **Batch import**: 一個指定的目錄下把所有的試驗一次性地全部導入。如需 關於批量導入的更多資訊,請參考"導出與導入檔和物 件"一箭。 點擊此按鈕打開一個批量導出指導視窗,通過它您可以從 Datch support. 一個指定的目錄下把所有的試驗一次性地全部導出。如需 關於批量導出的更多資訊,請參考 "導出與導入檔和物 *件"一*節。

Here.

點擊此按鈕打開一個 "創建新物件"對話方塊,此對話方塊中包含有您有權創建的各種物件對應的圖示。 框中顯示的圖示的數量的多少取決於用戶的角色。



您可以雙擊一個圖示以創建該圖示對應的一個新的物件。 如果選定該圖示再單擊單擊之,也可以達到同樣效果。

●您可以通過羅氏文本格式檔對物件添加注解並在 LightCycler® 480資料庫中加以保存。

Have folder

點擊此按鈕將會在當前的檔夾樹狀結構中創建一個新的檔 夾物件。

Open

點擊此按鈕將會在編輯框中打開選定的物件。

Remirrie

點擊此按鈕將在目錄樹結構中啟動相應的檔案名,這樣你 就可以重新對其進行命名。

Delete

點擊此按鈕刪除選定的物件(即:將相應的物件從資料庫中刪除)。

●默認情況下,LightCycler® 480 的基礎軟體中安裝有帶審計尾跡的資料庫。您無法從審計尾跡資料庫中刪除試驗物件。

Copy

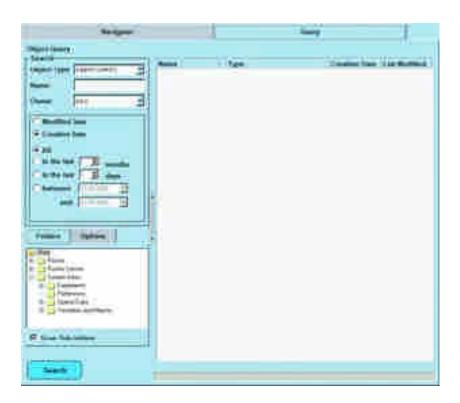
點擊此按鈕將對選定的物件進行複製從而對其創建一個拷 貝。您可以將其他用戶檔夾中的專案拷貝到您自己的檔夾 或子檔夾中。(然而,由於您自身的用戶角色限制,可能使 得您從其他用戶檔夾中拷貝過來的某些專案無法使用。) 一旦項目複製到您自己的檔夾,它就成爲您自己的一個專 案,在必要情況下您可以對其進行修改(可修改的項目也 取決於您的用戶角色。

●默認情況下,LightCycler® 480 的基礎軟體中安裝有帶有審計尾跡的資料庫。您無法從審計尾跡資料庫中複製試驗物件。

如何從其他用戶的檔夾中複製一個專案:1. 在流覽器中用右鍵單擊您希望複製的項目,然後選擇 "複製"。這時一個小的流覽器對話方塊會被打開。2. 選擇目標檔夾,輸入您希望使用的新名稱,然後點擊 OK。

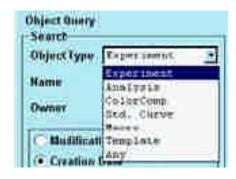
1.4.2 查詢表

LightCycler® 480 的基礎軟體中包含有查詢工具,您可以使用該工具找到 LightCycler® 480 的基礎軟體資料庫中存儲的試驗或其他物件。您可以通過流覽器的"查詢"表來使用查詢工具。



如何進行查詢的創建和執行:

- □在"流覽器"視窗中選擇"查詢"表。
- **②**在 "目標類型"選擇框中,選擇希望找到的物件類型:



- (可選)輸入準備查找的專案名稱,如果您知道專案的所有者的話,那麼也請同時輸入。
- ② 您可以使用通配符"*"來尋找任何字串。

4 選擇 "修改日期或創建日期"來指定您在查詢中想使用的日期。

② 修改日期和創建日期只能二選一(即:您可以在二者中選擇一個,但不能同時選中二者)。

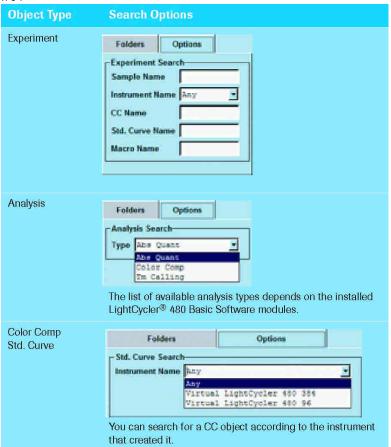
爲搜索選擇一個日期範圍。 您可以指定當前日期之前的月或日的數位,也可以選擇在 過去某時間中的起止時間。



5 對於任何可用的物件類型,你也可以從"檔夾"中選擇一個目標檔夾。選擇"掃描子檔夾",這樣軟體將搜索該目錄下的所有子檔夾。



6 對於某些物件類型,您可以從"選擇"表中選擇其他搜索選項(從而更好地進行查 詢):



→ 點擊 search 按鈕。查詢標準右邊的表單顯示結果。

搜索結果中包括以下項目:

- ▶對象名稱
- ▶對象類型
- ▶對象創建日期

Committee of the same

- ▶對象修改日期
- ▶您可以通過點擊相應顯示條目上方的條頭從而選擇以昇冪或降冪的方式對搜索結果重 新進行排列。
- ▶當您在列表中選擇一個物件後,在結果窗格底部的狀態條中將會顯示出該物件的完整 路徑。
- 如果有出錯資訊提示您查詢引擎需要升級的話,則您必須對資料庫進行升級(之後才能正常進行查詢)。如果您擁有本地管理員特權,請參考"管理工具"一節中"升級資料庫"的相應資訊,或者您也可以與系統管理員進行聯繫以諮詢相關內容。
- 3如果要打開一個物件,雙擊物件名稱即可。

1.4.3 樣品選擇器與樣品表

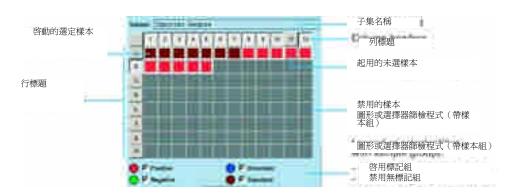
在 LightCycler® 480 的基礎軟體的很多視窗上均顯示有 "樣品選擇器與樣品表" (例如:在與分析有聯繫的很多視窗中),它的作用是選擇顯示在分析圖表中的樣品以及在分析中加入或去除某些樣品。

樣品選擇器

樣品選擇器可以使您輕鬆地選定在分析圖表中要顯示的單個樣品或樣品組。樣品選擇器中包括一個多孔板(MWP)圖像,圖像中的孔都是可選的,並且有一個圖例顯示可以選擇的樣品組。

您可以通過在圖例中選擇或去掉一個樣品組來決定多孔板圖像中的樣品的選定與否。不能使用的樣品以黑灰色顯示,並且當您點擊它時它也不會有反應。如果某樣品不屬於分析所選定的子功能表的多孔板,那麼它就被默認爲不能使用的而且用戶無法對其進行操作。圖例中的樣品組可用與否,取決於樣品分析的類型。

當樣品處於可用狀態時,您可以選擇該樣品,也可以不對其進行選擇。在螢幕上,一個選定的樣品是以一個按下的按鈕來顯示的,而未選定的樣品則以未按下的按鈕顯示。只有被選定的樣品才在相應的樣品圖表中顯示出來。



您可以通過以下方式在多孔板圖像中設置可選樣品的選擇狀態:

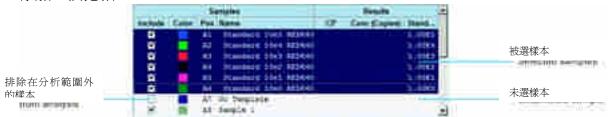
- ▶點擊相應樣品即可切換其選中狀態。
- ▶點擊和拖動選定的孔直至拖動區域的所有孔均變成未選狀態。相反地,點擊和拖動未 選定的孔直至拖動區域的所有孔均被選定。換句話說,這種操作中區域的選擇狀態取決 於您所點擊的第一個孔的狀態。
- ▶點擊相應的行或列的表頭以選擇或不選擇該行/列。
- ▶在圖示中有時會包含一個 "選擇器過濾工具" (取決於分析的類型),它可用來設定樣品的選擇狀態。在上面的例子中, "選擇器過濾工具"可以對絕對定量分析的結果調用 (陽性,陰性,標準,未定等)做出反應。

樣品表

樣品表顯示的是多孔板圖片中樣品相對應的孔的情況,分析圖表中樣品的顏色 (該顏色決定於您在樣品選項所做的定義)也同時顯示出來。您可以使用樣品表選擇在分析圖表中要顯示的樣品,或者在分析中加入/去除一個樣品。

樣品表中的樣品顏色與圖表或資料顯示中的顏色是一致的,而與多孔板圖片中的顏色無關。多孔板圖片中的顏色指的是否樣品選擇器圖例中樣品組的顏色。

只有樣品選擇器中可用的和被選定的樣品才會在樣品表中顯示出來。其他資訊(位於附加列中)也可以被加入到樣品表中,這取決於其所在的模組(例如:定量分析中的交叉點和濃度結果)。如果樣品數量過多以至於一個螢幕無法完全顯示出來時,系統會自動添加一個捲軸。



你可以在樣品表中選擇顯示出來的任意一個樣品使之在分析圖表中出現,但樣品資訊以 及樣品分類的順序是無法改變的。選定的樣品均會高亮顯示。

如果您想在樣品表中加入或去掉某些樣品,使用標準視窗的 shift-click 及 ctrl-click 操作即可。

另外,樣品也可以被加入到分析中,當然也可以從其中將某樣品去掉。如果想加入某樣品,選中表左側的"添加"框。*"添加"*框的狀態可通過雙擊或按空白鍵來進行切換。通過*"添加"*選項,您可以完成數種操作,例如您可以通過它設定在絕對定量分析過程中計算標準曲線所採用的標準。

① 當您改變了一個樣品的添加狀態後,您必須對該分析重新進行計算。

1.5 導出與導入檔和物件

如果您想在 LightCycler® 480 的基礎軟體中查看試驗的相關資訊,則必須首先將試驗 檔儲存到 LightCycler® 480 的基礎軟體的資料庫中。因此,如果試驗目前還存儲在硬碟上或者其他資料存儲介質上時,您必須將檔導入到 LightCycler® 480 的基礎軟體的資料庫中。

導入一個檔時,該檔的原始檔案並不會隨著導入操作而被刪除;它只是將檔複製到資料庫中,從而使您可以在 LightCycler® 480 的基礎軟體中看到檔中包含的資訊。例如,您需要在下面這些情況下導入檔:

- ▶如果您想把LightCycler® 480的基礎軟體中的一個試驗從一個資料庫移動到另一個資料庫中,你必須將檔從原來的資料庫導出到一個新的位置(例如您的硬碟),然後把檔導入到第二個資料庫中。
- ▶如果您想使用 LightCycler® 480 的軟體查看或者分析試驗檔。

使用導入流覽器的控制按鈕,您可以導入以下檔:

- ▶ATF: 是從 LightCycler® 480 軟體的 3.5.3 版本或更新的版本導入的試驗檔;您還可以使用下述的批量導入工具一次性地把某個檔夾內的全部 FLO 檔導入。(導入 FLO 檔自動地會將相應的 ABT 和 TEM 檔同時導入。)
 - 《 ATF 檔中導入的原始資料將自動和 "ATF" 檢測格式相關聯。這種格式將被映射成一個激發(470)和6個發射濾光器(分別稱為530,555,610,640,670和710)。如果導入的原始資料是使用連續模式環境生成的,則系統不會對其進行轉換。每攝氏度的採集數目將會被設置成一個"5"的固定值。其他模式環境將會被忽略。
- ▶ IXO: 是從 LightCycler® 480 軟體的 4.0/4.5 版本或 LightCycler® 480 的基礎軟體中導入的試驗檔;您可以使用下述的批量導入工具一次性地把某個檔夾內的全部 ILightCycler® 4800 檔導入。
- **●** 當您從 LightCycler® 480 軟體的 4.0 或 4.05 版本中導入 ILightCycler® 4800 檔時,只有原始資料會被導入到 LightCycler® 480 的資料庫中。其他任何包含於 ILightCycler® 4800 檔(例如:分析)的物件都不會被導入。
- 不具有校驗和的 ILightCycler® 4800 檔不能被導入,當您試圖進行這樣的操作時, 系統將會產生一個出錯資訊。
- 對於導入的試驗,通常會自動地有一個"導入樣品"子功能表被生成。

如果需要在 LightCycler® 480 的基礎軟體資料庫以外存儲試驗物件或範本,或者在資料庫之間移動物件,則您必須導出 LightCycler® 480 的基礎軟體的檔。導出檔時並不會移走資料庫中的物件,而是把檔複製成 LightCycler® 480ML 格式然後把它存儲在您指定的位置。導出的文件均以. ixo 爲文件副檔名。另外,您可以把 LightCycler® 480基礎軟體的圖表資料以原始資料格式進行存儲。

● LightCycler® 480 基礎軟體中導出的 ILightCycler® 4800 檔無法導入到 LightCycler® 480的 4.05 版本軟體中。

下文主要是幫助您理解如何進行單個地或成批的檔的導入和導出(即批導入或批導出)

LightCycler® 480 的文件。

導出單個的 LightCycler® 480 基礎軟體的物件:

從流覽器或者打開的 LightCycler® 480 基礎軟體的主視窗中均可進行單個的 LightCycler® 480 基礎軟體物件或資料的導出。

- ️️️下述的兩種方法都可以對 LightCycler® 480 的物件進行導出:
 - ▶在"流覽器"中進行選擇物件
 - ▶在主視窗中將其打開。
- ② ▶當使用流覽器進行工作時,點擊 按鈕。
 - ▶使用主視窗工作時,點擊○按鈕。
- 3 這時系統將爲您打開 Windows 檔選擇對話方塊。流覽以選擇一個檔導出位置。



4 從"存儲爲"下拉功能表中選擇您所希望導出的格式(可以用*.ixo 或者*.ltp 格式):

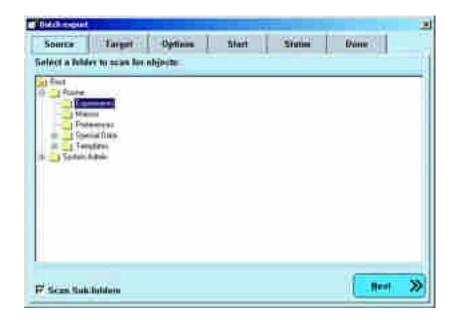


🏮 輸入一個檔案名,點擊 *"保存"。*

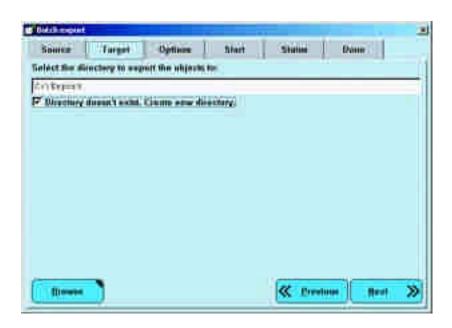
同時導出多個試驗檔

LightCycler® 480 的基礎軟體中包含有一個批量導出工具,通過此工具您可以將一個目錄下的所有試驗檔一次性全部導出。按照以下操作可將一個目錄下的所有試驗檔全部導出:

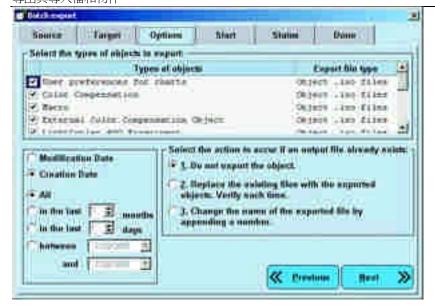
- ① 只有使用資源管理器才可以進行批量導出。
- **③** 系統使用一個嚮導幫助您完成批量導出。您可以點擊相應的按鈕從而自由選擇退回一步或向前一步進行操作。注意:只有當您完成當前選項卡要求的設定之後,才可以進行下一步。
- □點擊流覽器控制按鈕 。這時系統將為您打開批量導出大師視窗。在該視窗的 "原始檔案"表中,您可以從當前已經打開的資料庫選擇一個原始檔案夾。選中"掃描 子檔夾"選項,這樣選定路徑的所有子檔夾均會被掃描。



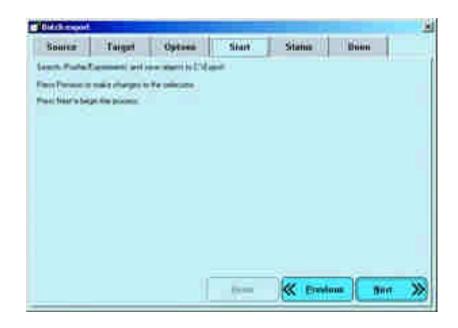
2 在"目標"表下,選擇一個目標目錄。點擊流覽按鈕選擇一個目標檔夾。或者您也可以在輸入區域中直接輸入目標目錄的路徑。如果指定的目錄並不存在,則請點擊輸入區域下方的框,系統將爲您創建之。



- → "選擇"表中,您可以設定不同的導出選擇。
- ▶選擇您從檔夾中導出的物件的類型(可以是一種或多種)。
- ▶使用指定的創建日期或修改日期,這樣可以對導出的物件加以選擇和限定。日期範圍的設定可以使用下列方式中的任何一種:
 - ▶所有的
- ▶在過去 n 個月裏
- ▶在過去 n 年裏
- ▶用戶自行設定一個起止日期
- ▶如果一個與將導出的物件同名的檔已經存在時,則系統將提供如下動作供您選擇:
- ▶不要導出
- ▶用戶確認的情況下,替換掉一個已經存在的檔
- ▶在檔案名後面加上一個數字並作爲一個新檔保存



- 在 "開始"表中,您可以查看您的設置並開始導出過程。
- "開始"表上的"重新設置"按鈕只有當一次導出完成後才會重新處於啟動狀態。點擊重新設置按鈕,這樣就可以對上一次導出的結果重新設置從而重複進行導出。



□ 在 "導出狀態"表中,您可以查看導出過程的狀態。當導出正在進行中時, "停止"按鈕是啓動的。您可以點擊 "停止"按鈕以中止導出過程。



6 系統將在 "完成"表中爲您顯示出批量輸出結果的總結·點擊 "完成"接鈕退出指導 大師。

導入單個文件

- 在資源管理器控制面板上選擇"導入",選擇您想導入的檔的類型:
 - ▶對於 FOL、ATB 和 TEM 文件,請選擇 "ATF 檔"。
- ▶對於 LightCycler® 480 或 LightCycler® 480 軟體的 4.0/4.05 版本的檔, 請選擇 "物件爲 ixo 檔"。
- ❷找到並選定您需要的檔,點擊"打開"。這時檔會被導入並在主視窗中打開
 - ¶ 如果您想選擇多個檔進行導入,則請點擊檔案名時同時按下鍵盤的〈Ctrl〉鍵。
 - ③ 如果將導入的檔做為 LightCycler® 480 的資料庫中的物件來保存,點擊 "保存"按鈕。在資料庫中流覽到您希望的位置並對物件進行保存,並鍵入一個新的物件名稱,然後點擊 OK。



②如果您要導入 LightCycler® 4804. 0/4. 05 軟體的試驗中包含有顏色補償資料,則您需要將相應檔的顏色補償試驗單獨導入並且生成一個新的顏色補償物件。

同時導入多個檔

LightCycler® 480 的基礎軟體中包含有一個批量導入工具,通過此工具您可以一次性地將一個目錄下的所有試驗檔全部導入。

- 在進行 FLO 檔的批量導入時,要求相應目錄下必須包含有與每個 FLO 檔相對應的 ABT 和 TEM 檔,否則無法此 FLO 檔是無法導入的。
- $oldsymbol{0}$ 只有使用資源管理器才可以進行批量導入。
- ② 系統使用指導大師幫助您完成批量導入。您可以點擊相應的按鈕從而自由選擇指導 大師退回一步或向前一步進行操作。注意:只有當您對當前表要求的設定完成之後,才 可以繼續進行下一步。

按照以下步驟進行操作,您就可以一次性地導入一個目錄下的全部試驗檔。如果需要的話,還可以多次對其進行多次導入。

動點擊資源流覽器控制按鈕 。這時系統將爲您打開"批量導入"大師。在導入大師的"原始檔案"表中選擇原始檔案夾。如果要將原始檔案夾加入到列表中,點擊"添加"按鈕。選中"掃描子檔夾"選擇框,這樣原始檔案夾中的所有子檔夾均會被加入到導入過程中。點擊"刪除",這樣可以從目錄檔列表中刪除目錄專案。



②在"目標"表中,使用位置選擇器從當前打開的資料庫中選擇一個目標目錄。



在 "開始"表中,您可以設定不同的導入選項並開始導入過程。



以下是您可以進行的選擇:

- ▶選擇是否從目錄下選擇導入 ATF 或 IXO 檔(或它們的任意組合)。
- ▶如果一個與將導出的物件同名的檔已經存在時,系統將執行由您指定的動作。

可供您選擇的動作包括:

- ▶ 不要導出
- ▶經用戶確認,替換掉一個已經存在的檔
- ▶在檔案名的後面加上一個數字從而將檔以一個新名稱進行保存

點擊 "下一步" 開始導入過程。

- ② 在"開始"表中上的"重新設置"按鈕只有當一次導入完成後才會重新處於啓動狀態。通過點擊"重新設置"按鈕,您就可以對上一次導入的結果重新設置從而重複進行導入。
- 4 在 "狀態"表中,您可以查看導入過程的狀態。當導入正在進行中時, "停止"按鈕 是啓動的。您可以點擊 "停止"按鈕從而中止導入過程。
- 5³導入完成後,"完成"表中將會顯示出批量導入結果的總結。點擊"完成"按鈕退出 指導大師。

2. 試驗的編程與運行

LightCycler® 480 的基礎軟體根據您在試驗方案中提供的資訊來對 LightCycler® 480 儀器進行操作。在一個試驗運行的過程中,試驗方案設定了儀器溫度、保持時間、執行 迴圈的次數以及其他參數。當試驗正在進行時,軟體可以從儀器中收集溫度及螢光資料 並將其顯示在"資料顯示"表中。試驗完成時,您可以保存試驗資料,並使用 LightCycler® 480 的基礎軟體的分析模組對結果進行分析。

本節主要闡述如何進行下述操作:

- ▶對試驗進行編程
- ▶運行試驗
- ▶定義檢測格式

2.1 試驗的編程

對試驗的編程主要包括以下內容:對儀器將執行的加熱和冷卻的迴圈次數進行定義,並提供一般性的方案資訊。如果您想建立一個試驗方案,則您的用戶帳戶必須具有高級用戶或本地管理員角色。如果您需要關於每種用戶所具有特權的更多資訊,請參考"管理用戶訪問"一節中相關內容。

◎ 只有當 LightCycler® 480 的基礎軟體中安裝了儀器之後,您才可以對試驗進行編程。LightCycler® 480 的基礎軟體提供兩種虛擬的 LightCycler® 480 儀器 (96 版本或 384 版本),通過它您可以在離線模式下進行編程。如果真實儀器並未連接而您又需要對一個試驗進行編程時,則應在儀器對話方塊中選擇兩種虛擬儀器中的一種並將其設爲默認儀器。當您對一個試驗進行編程時,可以不實際連接一個儀器(而使用虛擬儀器)。

請按照以下一般步驟對試驗進行編程。在每個一般操作步驟的後面均附有詳細的資訊。

如何對一個新試驗進行編程:

- 在總述視窗的任務區域中點擊 "新試驗",或轉到資源管理器視窗並點 "新的"。 選定 LightCycler® 480 儀器的新試驗的相應圖示並點擊❷。
- 望在 "編程"表的 "創建" 區域中設定以下創建新試驗所需的參數:



- ▶檢測格式
- ▶熱迴圈器類型(取決於啟動的儀器,只進行顯示而不能選擇)
- ▶板的識別字(可選)
- ▶反應體積
- 3 從下拉功能表中選擇檢測格式,您還可以通過使用 "定制"選擇框對所選的檢測格式進行修改。如需更多資訊,請參考 "設定檢測格式"一節。
- 46在 "多孔板識別字"區域中輸入一個 PCR 多孔板的識別字,您可以使用鍵盤輸入,也可以使用掌上型條碼掃描器進行輸入。如果您已經安裝並啟動了可選用的 LIMS/條碼模組(試驗室資訊管理系統),則在儀器載入多孔板時,板的識別字可以通過 LightCycler® 480 儀器內嵌的條碼掃描器自動獲取。
- ② 如果您已經用鍵盤輸入了一塊板的識別字到"多孔板識別字"區域,而國際條碼 掃描器讀出的多孔板條碼與您輸入的卻不一致,此時軟體會提醒您對輸入的識別字進行 替換(即以條碼爲准)。如果您選擇"否",則無法開始試驗。
- 5 選擇一個以微升爲單位的反應體積。反應體積的範圍決定於您所安裝的熱迴圈器的類型。
- ▶96 孔熱迴圈器: 10-100 微升 ▶384 孔熱迴圈器: 5-20 微升
- 您可以使用的最小反應體系的體積為3微升。但是,我們建議您不要使用這樣小的反應體積,因爲蒸發的原因,這種反應體積很容易導致試驗的失敗。如果您確實需要使用這麼小的反應體積,應注意確保試驗過程中反應體系避免蒸發(例如:使用礦物油進行覆蓋)。

⑥在 "編程"與溫度靶"區段中,點擊 "添加"按鈕⑩,這樣您可以隨意添加您試驗方案中所需要的其他程式或溫度靶(第一個程式往往以默認的方式提供)。在每一個程式列中指定了程式的名稱、迴圈次數、分析模式等(如需更多資訊,請參考 "設定程式與溫度靶"一節中的相關內容)。



- ②或者,您也可以通過以下方式使用試驗的範本:
 - a) 點擊 "使用範本" 以顯示 "使用範本" 對話方塊。
 - b) 從列表中選擇一個節本,然後點擊對號**②**。

這時該範本的設定內容就可以應用到新的試驗方案中了。如果需要,您還可以修改創建參數,試驗程式以及溫度靶等。

- 8 (可選)在 "模組"欄中,點擊 "子功能表編輯器"以定義樣品資訊。如需詳細資訊, 請參考 "樣品編輯器"一節中的相關內容。
- 9 (可選)在"模組"欄中,點擊"子功能表編輯器"以定義樣品子功能表。如需詳細資訊,請參考"使用子功能表工作"一節。
- ② 在運行之前,您無需對樣品和子功能表資訊進行定義。您可以根據自己的需要, 在運行過程之中或之後定義這些資訊。
- ⑩準備多孔板並將其載入到儀器之中(參考"操作"中的相關內容)。
- 贝有當多孔板已經被載入到儀器之中後, "開始運行"按鈕才會被啓動。
- 12³這時系統將為您打開 "保存試驗"對話方塊。為試驗輸入一個名稱,並選擇一個保存它的檔夾。

2.1.1 設定檢測格式

通過設定檢測格式,您可以選擇適合您試驗的濾光器組合方式。

當您點擊 "程式"表的 "創建"區域中的 "定制"按鈕後, "檢測格式"對話方塊就會顯示出來。通過該對話方塊,您可以對可用的檢測格式進行設置上的修改。您在此處進行的修改只會應用到當前試驗中。

● 當試驗已經開始運行後,您就無法改變或定制檢測格式了。如果在您的試驗中您使用了一種並不合適的檢測格式,則會因爲儀器無法收集到有用的資料導致最後運行失敗。

如何設定檢測格式:

- □在"創建"區域,從下拉功能表中選擇一種檢測格式。如需檢測格式設定方面的更多 資訊,請參考"管理工具"一節。
- 2³如果您想修改檢測格式的設定,請點擊 "定制"。這時系統將為您打開 "檢測格式"對話方塊。



- 3 選擇一種整合時間模式:
- ▶動態模式:不再需要任何輸入
- ② 在這種模式下,LightCycler® 480 的基礎軟體使用對"濾光器組合"中定義的 "溶解和定量因數"通過對開始反應中的初始值來自動計算最終的螢光強度。這個計算 出來的最終螢光強度將被用來設定最佳整合時間。(如需更多資訊,請參考"管理工具" 一節中的相關內容。)
- ▶手動方式:對每一種濾光器組合均需設定一個整合時間値。手動設置的整合時間使用 秒爲單位,時間範圍爲 0.01 至 10 秒。
- 無為選定的檢測格式選擇濾光器組合。默認情況下,所有的濾光器組合均被選定。如果需要的話,您可以清空相應選擇框以去掉某一濾光器組合。
- ◎ 例如,如果您選擇包括四種濾光器組合的"多色 Hybprobe 探針檢測格式",但是又只希望使用紅色 610-和紅色-640 標記的探針來運行試驗,那麼把"Fluos"和"Cy5"濾光器組合去掉即可。儘管使用默認設定對試驗本身不會有什麼不妥,但使用默認的濾光器組合時,因爲其中會有一些並不需要的檢測,因而會使得測量時間不必要地延長。
- ② 只有在進行顏色補償試驗時,才會用到多色 Hybprobe 探針檢測格式中的螢光濾光器組合。
- 點擊確認,這樣選定的濾光器組合方式就會應用到您的試驗當中了。

2.1.2 定義程式與溫度靶

每個試驗方案都由一個或多個程式組成。每個程式也可被多個迴圈所使用。每個程式中包含有一個或多個溫度靶。 溫度靶指定了試驗中所需達到的溫度值、溫度持續的時間、在多長時間內到達該溫度等參數。您可以在"程式"表中的"運行"模組中定義程式及其溫度靶。

下面的例子包括了四個程式:變性、PCR、溶解和冷卻。當在 "程式"表格中選擇了PCR程式(迴圈 45 次)後,在下麵的 "PCR溫度靶"表格中會自動顯示出溫度的各個參數。



如何定義程式與溫度靶:

- び在"程式"表中的"程式"區段中,點擊加號®添加一個新的程式。這時一個名稱為 "程式"的默認程式會被添加上去,該程式中包含有一個默認的溫度靶。
- **②** 您可以添加多達 99 個程式。

②對下列程式參數的預設值進行編輯,點擊鍵盤上的〈Tab〉鍵可以使當前編輯從一列跳轉到下一列。(如果您在此過程中錯誤地輸入了某值,點擊減號圖即可刪除這一程式, 然後重新開始即可。)

然反重初用知识的			
參數	描述/含義	有效値	
程式名稱	程式的名稱。點擊 "程式	任何數字字串。	
	名稱"框,爲程式輸入一		
	個新的名稱。		
迴圈	程式中將對程式進行重複	1-99次迴圈	
	運行的次數。您可以直接		
	輸入一個數值,也可以點		
	擊上翻下翻箭頭進行選		
	擇。		
分析模式	對該程式期望使用的分	無:不準備進行分析。	
	析。請您從下拉清單中選	定量:準備進行定量分	
	擇一種分析模式。	析。	
	◎ 分析模式確定了在溫	溶解曲線:準備進行溶	
	度靶中哪種參數可以被選	解曲線分析。	
	擇。(例如:如果您選擇	顏色補償: 準備進行顏	
	的定量分析模式,則您無	色補償分析。	
	法選用"連接採集"模式		
	法選用"連接採集"模式		

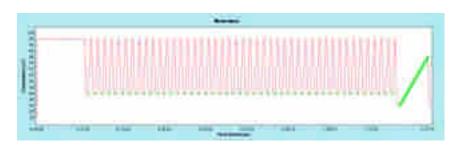
在 "溫度靶"區域中,對第一個溫度靶的以下幾個溫度參數預設值進行編輯。

參數	描述/含義	有效値
目標	目標溫度/溫度靶。	37°C至99°C,默認
	請輸入一溫度值。	情況下使用的溫度爲
		95° C °
採集模式	使用哪種模式對螢光資料	無:不進行螢光資料的
	進行採集。請在下拉清單	採集。
	中選擇一種採集模式。	單個:在每個迴圈中每
		一溫度結束時採集一
		次螢光資料,這種模式
		是定量分析時使用的
		典型設置。
		連續:連續採集螢光資
		料,這種模式是進行溶
		解曲線分析或顏色補
		償分析時使用的典型
		設置。
保持	目標溫度的保持時間(使	00:00:00 - 12:00:
	用"小時:分鐘:秒"的	00
	模式)。	
	請輸入一保持時間。	

⇔曲4	##**/公立	一大 松/声
參數	描述/含義	有效值
速率(攝氏度/秒)	儀器加熱或冷卻到目標溫	▶加熱速率:1.0 -
	度時的速率。請輸入一速	4.8 ° C/s °
	率値。	▶冷卻速率:1.0 -
	◎ 最大速率取決於您儀	2.5 ° C/s °
	器上所安裝的熱迴圈器的	◎ 如果您想將樣品
	類型。	冷卻到低於 50 攝低度
		的目標溫度時,請使用
		等於或低於 2.0° C/s
		的速率。
採集數(每攝氏度)	每攝氏度中測量資料的次	1至100,預設値爲5。
	數。僅在"連續"採集模	图 對於溶解曲線分
	式中才需進行此項設定。	析的每一次檢測而
		言,其最優採集頻率需
		要根據經驗進行設
		定,這一範圍通常是1
		次/℃5次/℃。
第二目標溫度(攝氏	第二目標溫度是程式的最	默認:0°C(即不設置
度)	後一個迴圈要達到的溫	第二目標溫度)。有效
	度。使用這一設置,您可	範 圍 : 37° C -
	以在擴增反應的過程中改	99° C °
	變某部分的目標溫度。請	
	輸入一溫度値。	
步進値(攝氏度)	欲達到第二目標溫度時,	默認:0°C(無步進,
	每一個迴圈要改變的溫度	用於不設置第二目標
	數。請輸入一步進值。	溫度的情況)。有效
		值:0.1°C-20°C。

步進延遲數(迴圈)	步進値第一次使用前將進	默認:0(第一個迴图
	行的迴圈次數。	即開始步進)。有效
		值:0 - 99

- ⁴點擊加號查在當前程式中添加另一個溫度靶,並輸入參數數值。在當前程式中重複設定您所需要的多個溫度靶。
- ② 您可以添加多達 99 個溫度靶。
- 5 重複進行步驟1到步驟4,您就可以添加多個程式以及它們各自的溫度靶。
- **②** 如果需要對程度和溫度靶重新排序,您可以點擊您想重排的項目,然後點擊上箭 頭▲或下箭頭 型即可在列表中調整項目的位置。
- ② 如果您想取消一個項目,選定這個項目,然後點擊減號符號◎即可。
- 65通過總述可查看試驗的圖解,您所設定的試驗方案可完整地在該圖中表示出來。通過查看這一圖形,您可以確認所設定的試驗方案是否滿足您所需要的時間以及溫度迴圈,並且可以直接在圖形中對程式和溫度靶進行修改。



③圖中省略了時間値。

び點擊"一般動作"條中的保存符號□以保存試驗方案。流覽並找到您所需要的保存試驗方案的位置,輸入方案名稱,然後點擊對號符號
「即可。

2.1.3 定制線上資料顯示

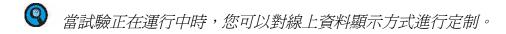
當試驗運行時,儀器所收集的資料將在"運行"模組中的"資料"表中以表格的形式顯示出來。可供使用的表格類型共有三種:

▶螢光史表:對特定樣品使用特定濾光器所獲得的螢光強度對時間變化所做的表

▶溫度史表:試驗運行過程中溫度和資料獲取點

▶暴露史表:以整合時間對採集次數所做的表。

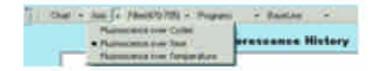
您可以改變當前表格的類型,還可以對其顯示方式進行調整。



如何定制線上資料顯示:

在"運行"模組中選擇"資料"表,並點擊您想修改的表格的上方的 **上**號。這時系統會爲您顯示表格的選擇工具,工具中含有一個表格功能表。 螢光表格中含有一些額外的選項可供您選擇。

- ②如果您要改變表格類型,則請從"表格"功能表中選擇一種新的表格類型:
- ▶螢光史表:以螢光對時間,迴圈或溫度的方式進行資料顯示
- ▶溫度史表:以溫度對時間的方式進行資料顯示
- ▶暴露史表:以整合時間對採集數的方式進行顯示
- 3 如何調整 "螢光史表"表格的顯示方式:
- ▶選擇軸類型(即資料以 X 軸進行表示的類型)、濾光器組合以及包含有您想查看的資料的程式。另外,您還可以選擇或去掉基線減除。



2.2 運行試驗

當您已經定義好了創建參數(程式以及溫度靶)以及線上資料顯示表格後,您就可以隨時開始運行LightCycler® 480儀器進行試驗了。

如何開始運行試驗:

- □按照 "操作"一章中的相關內容對 LightCycler® 480 儀器的試驗運行進行準備。
- ❷按照"操作"一章中的相關內容將多孔板載入到 LightCycler® 480 儀器中。
- ³³點擊 *"運行試驗方案"*表中的 *"開始運行"。*
- 只有當儀器已經正確連接時您才可以開始運行一個試驗。只有當多孔板已經被載入到儀器之中後, "開始運行"按鈕才會被啟動。
- 系統會提示您對試驗進行保存。為試驗輸入名稱後流覽到您所希望保存該試驗的位置。
- 如果您關閉了"保存"對話方塊(即未對試驗進行保存),則儀器無法開始運行試驗。
- 試驗開始運行後,系統將顯示一個狀態條,通過它您可以瞭解試驗運行的進程。

Running 4 program(s)...

6 在試驗運行的過程中,"資訊"區域會不斷地顯示諸如運行進程或在運行中出現的錯誤等資訊,而試驗中獲得的樣品資料也會顯示在"資料"表的表格中。

如果您想查看某特定的樣品,則請在樣品列表中選擇(一個或多個樣品),系統將會爲您顯示之。如果需要的話,您還可以在試驗運行的過程當中對顯示表格設定進行調整。如需更多資訊,請參考 "定制線上資料顯示"一節中的相關內容。

8f(可選)您可以在試驗運行結束之後再對物件加以顏色補償。使用"顏色補償"多選按鈕即可打開或關閉顏色補償,或者選擇您所希望的顏色補償物件。

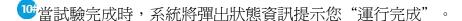
關閉顏色補償	未選定顏色補償分析物件。 如果您不希望使用顏色補償的話,請選擇此項。
在使用中	您可以通過該按鈕從"選擇的顏色補償"列表中選擇一個物件。 該列表中中顯示了所有選定的(即前面已經應用的)顏色補 償物件,在每個物件名稱後的括弧內均會列出經過補償的濾 光器組合。
在資料庫中	您可以通過"可用的顏色補償"列表中選擇一個物件,該列表中顯示出所有可用於顏色補償的物件。列表中包括了每一個物件的名稱、創建日期、所在路徑及可用於補償的濾光器組合。

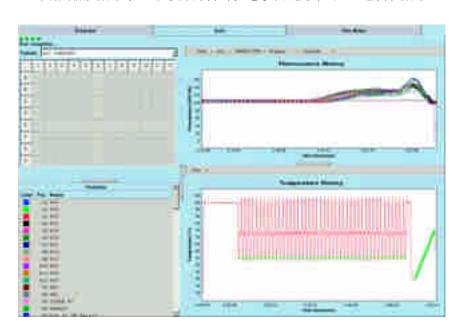
- 9 (可選)運行過程中如何調整或停止程式: 點擊 "結束程式"即可停止當前程式而繼續執行試驗方案中的下一步程式。
- ①進行了該操作,即意味著對資料完整性的確認,這樣就可以對其進行分析了。

點擊 "增加10個迴圈"即可以對當前程式增加10個迴圈。

點擊 "退出運行"即可結束該試驗的運行。(在試驗運行過程中,原 "開始運行 "接鈕 會被"退出運行"按鈕所代替。)

● 如果點擊了"退出運行"按鈕,則系統無法獲得完整的資料,進而也無法進行對其進行分析了。





如果需要的話,您可以從模組條中點擊 "樣品編輯器"按鈕打開樣品編輯器從而對樣品資訊加以補充。如需更多資訊,請參考 "輸入樣品資訊"一節中的相關內容。

② 在試驗開始前、進行中或者結束後的任意時間,您都可以對樣品資訊進行輸入或 修改。我們推薦您在試驗運行開始前就完整地輸入樣品的資訊。

图在運行過程中,當前試驗的一些臨時備份檔案會被存儲到用戶的檔系統中。如果運行過程結束且資料庫的資料均已被正常存儲,則這些臨時備份檔案將被(系統自動)刪除。如果應用程式與儀器的聯繫被暫時中斷,則軟體能自動地在連接恢復後從儀器中下載所需的資料。該連接臨時中斷時間的最大值為7分鐘。如果連接中斷時間超過了該最大值,則系統會認為試驗被中止並產生一個警告資訊。如果備份檔案和儀器資料仍存在,則在您下次登錄到系統或者開始一次新的運行時,軟體在找到相應的原試驗檔的情況下,仍然會對其資料進行自動恢復。如果軟體無法找到相應的試驗,則系統會提示您

確認對備份檔案和資料進行的刪除操作。

2.3 輸入樣品資訊

LightCycler® 480 基礎軟體使用樣品編輯器來記錄試驗中樣品的相關資訊。您可以在試驗開始前、進行中或完成後的任意時間裏輸入樣品資訊。

◎可編輯區域以白色顯示,而不可編輯區域則以淡藍色顯示。只有非複製條目才可以 被編輯。

 \bigcirc 每個樣品的複本會被自動命名爲 "Repl. of S ,"其中S 代表源樣品的名稱。樣品 複本中的所有資訊與源樣品的是一樣的。

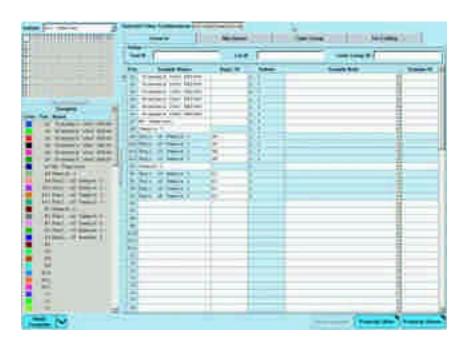
如何輸入樣品資訊:

①在"模組"條中,點擊"樣品編輯器",這時系統將為您打開樣品編輯器。

2 "樣品編輯器"的視窗中,位於左上方的是您的多孔板的圖像,在多孔板圖像下方的則是樣品的列表。樣品編輯器中還包含有四個表:其中一個表用來輸入樣品的一般資訊,而另外三個(絕對定量,顏色補償,溶解溫度調用)表則用來輸入與分析有關的一些樣品資訊。

3 在樣品選擇器的樣品表中選定一個或多個樣品後,系統就會在 "一般"表和 "分析"表中顯示出樣品列。如需詳細資訊,請參考 "樣品選擇器與樣品表"一節中相關內容。





5 在 "子功能表"選擇框中,可以選擇一個設定好的樣品子功能表顯示部分樣品,也可以選擇 "所有樣品"以顯示多孔板上的所有樣品。如需關於定義子功能表的更多資訊,請參考 "使用子功能表工作"一節中的相關內容。

6 在 "選擇的濾光器組合"區域,選擇您想用於試驗的濾光器組合。

了(可選)在"創建"區域,您可以設定在試驗中將使用到的羅氏測定用品的類別號碼及批號,並同時設定相應的顏色補償識別字。類別號碼和批號即可以通過掃描條碼來輸入,也可以直接用鍵盤將數碼進行手動輸入。

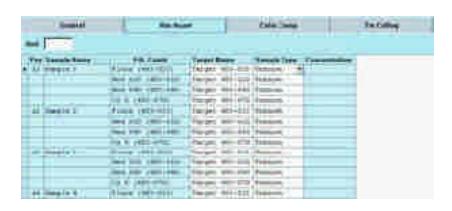
3 輸入每個樣品的以下資訊:

參數	描述	有效値
樣品名稱	樣品的名稱。	數位字元,空白鍵也可以使用(最大字
		元數爲 25)。
		●您可以使用 Windows 作業系統的
		<ctrl-c>/<ctrl-v>功能從 Excel 工作</ctrl-v></ctrl-c>
		表等文件中導入樣品列表。
某樣品的複本	當樣品是一複本時,該參數	另一個非複本樣品的位置數(您不能從
	顯示源樣品的位置數。	複本得到複本)。輸入位置數,例如
		"A5" ∘
子功能表	所屬子功能表的號碼。	僅顯示。
樣品注釋	樣品的任何附加資訊。	字元及數位。
樣品識別字	輸入樣品類型或樣品物質	字元和數位,您也可以空白鍵(最大字
	的識別字(它對於某些可選	元數爲 11)。
	的統計分析軟體模組是必要	
	的)。	

②如果您是從"一般"表中更改的樣品名稱,那麼您的修改只影響當前活動的試驗。

默認的樣品名稱決定於用戶在"樣品選項"的"樣品名稱"欄中所輸入的內容。

望在"絕對定量"表中,您可以輸入進行絕對定量分析時所需要的相關樣品資訊。



爲每一個樣品輸入如下資訊:

參數	描述	有效値
濾光器組合	顯示爲試驗運行時所選擇的	僅顯示。
	濾光器組合。	
目標名稱	輸入每個相應的濾光器組合	字元及數位
	將要檢測的目標名稱。	
樣品類型	在列表中選擇樣品類型:	
	▶未知樣品	
	▶標準樣品	
濃度	爲"標準樣品"輸入濃度。	字元及數位
	图濃度值的單位是在"樣	
	品"表上方的"單位"區域	
	<i>輸入的(例如:拷貝)。</i>	

在 "顏色補償"表中輸入進行顏色補償時所需要的相關資訊。



輸入每個樣品的以下資訊:

參數	描述	有效値
主要通道	爲相應孔中的染料選擇發射濾	可供選擇的濾光器組合取
	光器組合。 如果孔中使用的是	決於"顏色補償"方案中
	空白對照(即孔中不含有染	的設置。
	料),則應選擇"水"。	

⑪在 "溶解溫度調用"表中,您可以輸入進行溶解溫度調用時所需要的相關資訊。



輸入每個樣品的以下資訊:

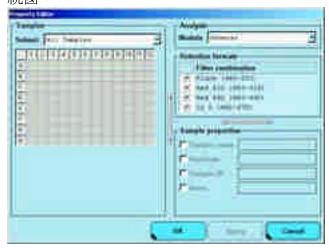
參數	描述	有效值
濾光器組合	顯示爲試驗運行時所 用的濾光器組合。	僅顯示
目標名稱	輸入每個相應的濾光 器組合將要檢測的目 標名稱	字元/數位

- 型如果您需要重新輸入,點擊"重新輸入樣品資訊"即可。系統會請您確認是否重新輸入這些資訊。如果選擇了重新設置資訊,則樣品的所有資訊都會恢復爲預設值,那些與分析相關的樣品資訊也同樣會被恢復爲預設值。
- 避完成後,點擊"一般動作"條中的圖按鈕,這樣樣品資訊就保存在試驗中了。
- **远**點擊 "一般動作"條中的 "列印"按鈕,即可以列印出您的樣品載入清單。

使用屬性編輯器

通過屬性編輯器,您可以同時爲一個樣品子功能表設定其一般屬性及分析相關屬性,而 無需單獨爲每個樣品設定這些資訊了。

型點擊 "樣品編輯器" 視窗中的 "屬性編輯器"。這時系統會爲您打開 "屬性編輯器" 視窗:



2 從 "樣品"區的子功能表列表中選擇一個子功能表,或者您也可以從多孔板圖像中對選定的孔進行屬性的修改。

3¹從"模組"區域的下拉功能表中選擇樣品編輯器的模組類型(與"樣品編輯器"視窗中的類型相對應)。



每無限



55屬性編輯器顯示出選定的分析模組類型的屬性區域。點擊您想修改的屬性並設定其屬性值,然後點擊"使用"。點擊"使用"按鈕後,您所做的設定就會被賦與指定的樣品,但是此時系統並不保存該設定。只有當試驗被保存時才會將這些屬性值也保存下來。

6 重複以上步驟1至步驟4對其他樣品的屬性進行──設定。

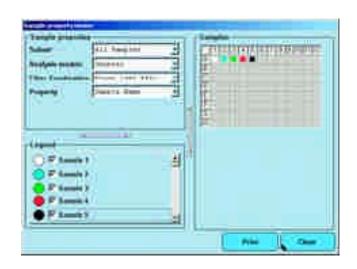
輸入樣品資訊

 \mathcal{O} 設定完成後,點擊 OK 或者 Cancel。如果您點擊的是 OK,則所有尚未使用的設定均會被保存下來,同時對話方塊也會被關閉。如果您點擊的是 Cancel,則對話方塊也會被關閉,但未使用的設定值不會被保存。

使用屬性查看器

通過使用*屬性查看器*,您可以查看某一特定子功能表中樣品的分析屬性。同時,您還可以使用它來指定一個分析屬性值並查看在多孔板中哪個孔被賦與了該屬性值。

□點擊 "樣品編輯器" 視窗中的 "屬性查看器",這時系統會爲您打開 "屬性查看器" 視窗:



- ② 選擇一個樣品子功能表,一個分析模組類型以及一種濾光器組合。這時選定的分析 模組類型的*屬性*會以一個下拉功能表的方式顯示給您。
- 選擇屬性: 圖例顯示出樣品子功能表中其顏色、選擇框以及設定的屬性值列表。
- 4 在*圖例*中,選擇一個或多個屬性的數值:多孔板中的顏色和圖示表示出哪些樣品被賦 與了此值。
- 5 這時點擊 *"列印"* 即可列印出 *"樣品屬性查看器"* 的視窗顯示內容。

3. 試驗性分析的總述

LightCycler® 480 基礎軟體中包含了多種分析模組,這些模組可以用來對試驗得到的結果以不同的方式進行分析。 為了分析試驗,您必須在試驗運行結束後為其添加一個或多個分析模組。

軟體中有如下幾種可用的分析模組:

- ▶絕對定量:
 - 根據標準樣品的濃度,計算未知樣品中的目標 DNA 濃度。
- ▶溶解溫度調用:
 - 計算溶解溫度以及目標 DNA 的溶解峰。
- ▶顏色補償:
 - 產生可用於多色試驗或用於分析螢光通道間的重疊補償分析所用的顏色補償資料。

③ 另外,將來我們還會推出其他的分析模組(例如:相對數量,帶內參照的絕對定量,量化分析以及基因型分析等)。請查閱 http://www.roche-applied-science.com/lightcycler480以獲取關於 LightCycler® 480 儀器的最新資訊。

本節主要是爲您闡述進行任一分析所需要採取的步驟,並提供給您使用分析視窗的一些方法。文中將對如何進行每種方式的分析進行詳細解釋。

3.1 分析步驟總述

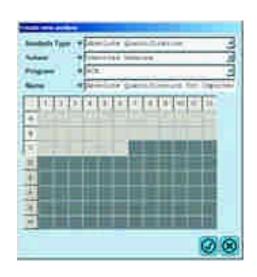
下面首先首先爲您闡述的是添加分析模組以及進行分析的一般性步驟。對於每種分析而言,這些一般性步驟都是一樣的。每種分析類型中還有一些參數設定時的特定步驟,這些步驟都在各種類型分析的相應章節中另外敍述。

如何進行分析:

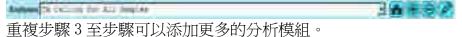
- ❶ 在 LightCycler® 480 基礎軟體的主視窗中打開您想分析的試驗。
- ②在"模組"條中,點擊"樣品編輯器。"如果您還沒有爲試驗輸入一般性樣品資訊, 請先選擇"一般"表,然後選擇試驗中所使用的濾光器組合並輸入確認樣品的資訊。
- 3 在"樣品編輯器"中選擇"特定分析"表,並輸入進行分析的樣品資訊。在"特定分析"表中,每種樣品的位置都包括一列相應的一種濾光器的相關資訊。例如,如果您選擇了三種濾光器組合,則在特定分析表中每個樣品的位置上都會有三列相關資訊。您可以在每列濾光器組合中爲其輸入樣品資訊。在每個特定分析表中,您可以輸入的資訊決定於分析的類型。如需更多資訊,請參考"輸入樣品資訊"一節中的相關內容。
- 4在 LightCycler® 480 基礎軟體的 "模組"條上點擊 "分析"。這時系統會爲您打開 "分析總述"視窗。分析總述視窗中顯示的有 "創建新分析"列表和 "打開已創建的分析"列表(如果已經有分析被創建的話)。



- " *" 創建新的分析"* 列表中選擇一種分析類型。這時系統爲您打開 *" 創建新的分析"* 對話方塊。在這裏,您可以再次對分析類型進行定義並選擇一個分析子功能表。如果您的試驗方案中包括有數個可用於所選分析類型的程式,則請在 *"程式"* 列表中選擇一個您需要的程式。您還可以根據需要改變分析的名稱(默認的名稱是 " *analysis type* for *subset name"* "子功能表的分析類型名稱")。點擊 *OK*。
- ② 當子功能表已經被用於創建分析後,您就不能再對分析子功能表進行修改了。



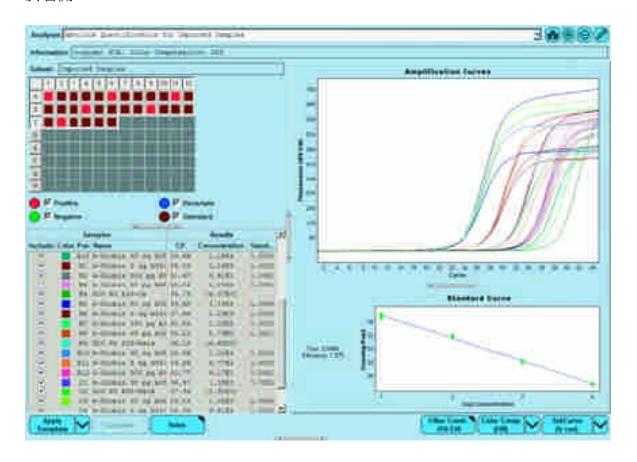
- 6 輸入或修改分析參數,然後點擊"計算"。如需更多資訊,請參考各種分析的相應 章節。
- 如果您在運行分析後改變了樣品編輯器中設定的(除樣品名稱、樣品注解或目標名稱之外)資訊,則必須使用樣品編輯器中的新值重新對分析進行計算。在這種情況下, "分析"按鈕會被重新啓動。
- 對於每個試驗,您可以添加一種或多種分析,包括對同一樣品分析類型的多次引用:在"分析"工具欄中點擊"加號"按鈕。



⁸⁵點擊 "一般動作"欄中的"保存",這樣分析結果就會做爲試驗的一部分而被保存下來。請閱讀下一節中關於分析視窗的一般性資訊。

3.2 使用分析視窗

下圖爲您顯示了一個典型的分析視窗(此處爲絕對定量分析的視窗)。分析工具條位於上方,而分析的"操作"按鈕則位於視窗下方,試驗樣品的列表位於左側,分析表則位於右側。

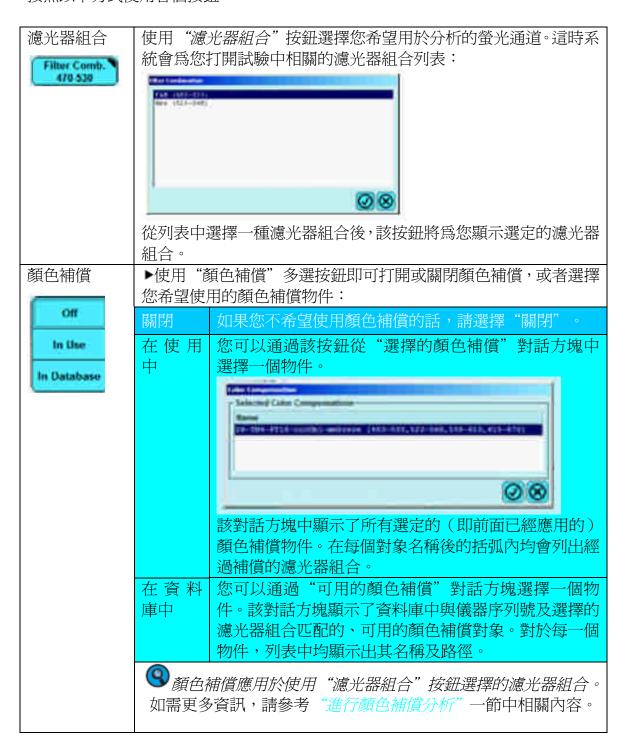


3.2.1 選擇濾光器組合與顏色補償

爲了對結果進行分析,您必須指定所需要的濾光器組合,如果需要的話還應使用顏色補 償。

使用如下所示分析的"動作按鈕"以做出必要的選擇。("溶解溫度調用"模組與顏色補償模組稍有不同,請參考這些模組的相關內容以獲取更多資訊。

按照以下方式使用各個按鈕:



曾當分析類型與上述典型類型不同時,視窗中還可能顯示其他按鈕。

3.2.2 對樣品進行分析

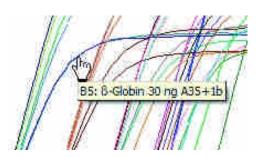
在分析模組視窗的左側通常會顯示一樣品列表。當分析運算結束後,樣品的分析結果將會顯示在樣品名稱右側的列中。分析模組中同時顯示樣品資料表格。如需詳細資訊,請參考"樣品選擇器與樣品表"一節中相關內容。

如何選擇樣品對其進行結果計算:

選擇樣品名稱後面的選擇框以顯示樣品的分析結果。默認情況下,所有的樣品在分析開始時均會被選中。雙擊某樣品的選擇框,這樣可以對其進行選定或不選定。如果您想同時選擇或不選擇一組樣品,則請選擇樣品範圍然後按下鍵盤上的空格〈Space〉鍵。這樣就可以同時在所有的選定樣品選擇框中進行選擇與不選擇的切換。

在表中選擇樣品進行查看:

各樣品均用一定的顏色進行表示。如果您想在圖表中找到某樣品,首先在樣品列表中找 到其顏色,然後在圖表中找到該顏色。或者,您也可以把滑鼠指標放到圖表中某條線上, 這時線上的旁邊會自動出現一個包含有該線表示的樣品的名稱的注解。



如果您在圖表選定了某樣品的名稱,則選定樣品的資料將會顯示在分析圖表中。默認情況下,當您打開一個分析視窗時,所有的樣品均是被選定的。

如何選擇樣品:

- ▶如果您想選擇某樣品,請在樣品列表中選擇該樣品名稱。
- ▶如果您想選擇多個樣品,當點擊樣品名稱時同時按下鍵盤的〈Ctrl〉鍵。
- ▶如果您要選擇的是相鄰的一組樣品,則請首先點擊第一個樣品的名稱,然後按住鍵盤的〈Shift〉鍵的同時再點擊最後一個樣品的名稱。
- ▶如果想同時選擇所有樣品,請在鍵盤上按下〈Ctrl-A〉。

這時分析結果圖表將重新進行顯示,顯示的內容中就只包含選定的樣品了。

複製樣品資訊

當分析結束後,您可以將分析視窗中的樣品名稱和結果複製下來並粘貼到其他軟體程式中。

如何複製樣品名與分析結果:

- ▶選擇您要複製的一個或多個樣品列,然後按下鍵盤上〈Ctrl-C〉。
- ▶打開您想將複製的文本進行粘貼的程式(例如:微軟的 Excel 程式),然後按下鍵盤 上的〈Ctrl-V〉。

3.2.3 使用圖表工作

如果您想調整分析圖表的大小,請將滑鼠指標指到圖表左上方您所需要的位置。點擊並 將滑鼠指標向右、向下拖動。這時滑鼠指標會拉出一個矩形。矩形的面積將被調整到與 視窗相適合。如果想將圖表恢復到原來大小,點擊並將滑鼠指標向上、向左拖動即可。 (僅執行一次上述動作即可恢復圖表的原大小。)如需詳細資訊,請參考 "使用圖表工作"一節。

3.2.4 添加分析注解

您可以對分析添加注解。

- ^U點擊 "*動作*"條中的 "注解"按鈕,即可打開 "分析注解"視窗。
- 24 輸入您對分析的注解。
- 點擊 "一般動作"欄中的 "保存"按鈕即可將注解保存於該試驗中。

3.2.5 對分析進行刪除或重新命名

如果您的用戶帳戶有高級用戶或本地管理員角色的話,您就可以從試驗中刪除一個分析或對分析進行重新命名。而且,您可以對存儲於其他用戶試驗中的分析進行刪除或重命名操作(這取決於您的用戶帳戶所具有的訪問特權)。關於訪問特權的更多資訊,請參考"管理用戶帳戶"一節。

如何從試驗中刪除一個分析:

- 🕕 從 "分析"欄中選擇一個分析。
- 2 點擊分析工具欄中的"刪除專案"按鈕。
- 3 這時系統會請您對此操作進行確認。
- 點擊 "Yes"即可刪除您選定的分析。 點擊 "保存"則會直接對試驗進行保存,而分析則被刪除了。

如何對分析進行重新命名:

您可以對試驗中的分析進行重新命名。如果您對一個試驗進行了多次相同類型的分析, 那麼對這些重新命名將幫助您(更容易地對其進行識別)。

- "分析"欄選擇一個分析。
- ②點擊分析工具欄中的 "對專案重新命名"按鈕❷。這時系統會爲您打 "編輯名稱" 對話方塊:



- 3 輸入一個新名稱,然後點擊 OK。
- ①您輸入的名稱在資料庫必須是唯一的。

4. 進行絕對定量分析

凡是具有擴增程式的任一試驗均可用於絕對定量分析。未知 DNA 樣品經擴增後,絕對定量分析將使用樣品"交叉點"來測定其濃度。如需關於交叉點的更多資訊,請參考下一節的相關內容。

對於數量資料的分析,絕對定量分析模組只考慮從 PCR 擴增過程中指數級增長期內所測得的螢光值。這一時期稱爲"對數-線性"期,因爲在此期內試驗曲線上的點經對數轉換後顯示爲一條線性曲線。

◎ 動態定量,僅可在即時 PCR 中才能使用,其 PCR 過程看上去與人口增長曲線相似,即:該曲線中剛開始爲一個初始滯後期,然後是一個對數級(對數-線性)期,最後是一個平臺期。初始滯後期或背景期一直持續到 PCR 產物的信號強度大於檢測系統的螢光背景強度時才結束。對數增長期則開始于大量產物積聚並且其強度強於背景,持續至反應進入平臺期前以及反應效率下降爲止。

對於絕對定量分析,通常使用一個已經濃度的系列稀釋外參照物來創建標準曲線。在每個孔內,標準稀釋物也要被擴增,但其位於同一個LightCycler® 480 儀器的運行內(外參照)。

對未知濃度樣品的測定是通過對交叉點值的測定來進行的。

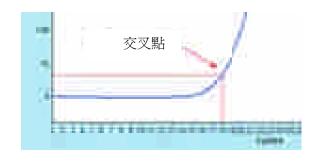
關於樣品交叉點

4.1 關於樣品交叉點

在一個擴增反應中,如果在某迴圈內樣品的螢光強度升高到大於背景螢光強度,則稱此迴圈為樣品的交叉點。在試驗的螢光圖表中,交叉點位於曲線的快速上升部位。交叉點可以理解為擴增的產物第一次被看到(或有資料產生)的點。如果想看到 PCR 產物,則產物分子的數量必須大於反應的可測範圍下限(對於交叉點而言,產物分子數量要達到10¹¹ 至 10¹²這樣一個水平)。

樣品的交叉點取決於樣品中 DNA 的初始濃度。如果目標 DNA 的初始濃度較低,則需要較多的擴增迴圈才能達到交叉點。反之,如果樣品中 DNA 初始濃度比較高,則需要較少的迴圈即可到達其交叉點。另外,隨著反應類型的不同,在定量分析中的交叉點數值也不同。

LightCycler® 480 基礎軟體使用一種自動的方法來識別某樣品的交叉點,即將樣品的螢光曲線突然急劇上升的那一點做為交叉點。這一轉變點與曲線的二階導數的最大值是一致的。因此,這一方法稱為"最大二階導數法"。使用這一方法的優點是它不需要用戶進行過多的輸入。您只需要指定試驗的標準曲線的類型(運行內或外部),軟體就會自動處理其他分析運算了。



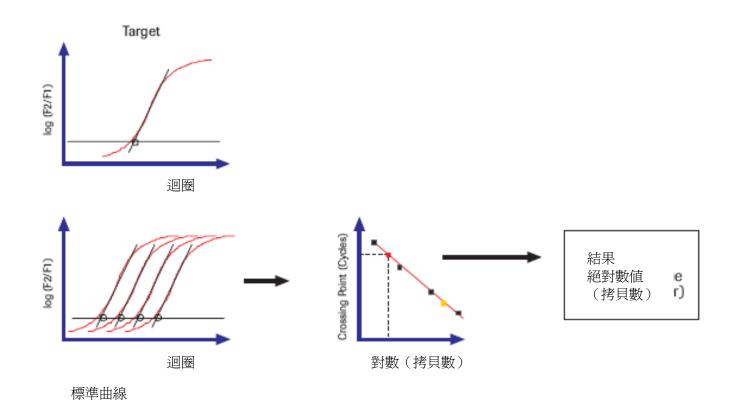
望 建立最大二階導數法的依據是處於反應對數期的螢光信號增長的速率是穩定增加的,而當反應進入平臺期後螢光信號的加速度就開始下降了。因此,二階導數位於其最大值時的迴圈應該很接近反應的對數-線性部分。

② 當使用最大二階導數法時,對於不同的樣品而言,其交叉點的螢光強度通常並不相同。與依據域值進行的計算方法(其樣品螢光強度是一樣的)不同,這種方法(最大二階導數法)中當樣品中的 DNA 濃度相同時,其樣品的螢光強度卻是不同的。相反地,這種方法中認爲擴增曲線的圖形更能說明 PCR 產物的濃度,而且認爲交叉點位於最大加速的位置,即使不同曲線的螢光強度並不相同。當使用最大二階導數法時,無需對螢光基線進行校正。

如果要處理複雜的螢光資料曲線,LightCycler® 480 基礎軟體會考慮到諸如曲線的對數-線性期中的波峰、雜訊平臺、以及曲線仍未到達平臺期等的效果及人工假像的影響。另外,除非當曲線已經到達相當強度的螢光值時,在有抑制緩慢增加或減少或雜訊背景等情況下,是不會有交叉點被顯示出來的。

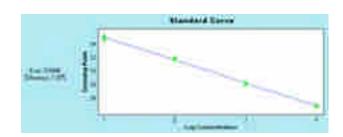
4.2 關於標準曲線

在絕對定量分析中,標準曲線用來測定樣品的濃度。在標準曲線中,使用標準樣品的濃度值對樣品的交叉點進行繪圖。其X軸代表初始目標濃度的對數值,而Y軸則表示迴圈中的交叉點。標準曲線就是通過這些資料點進行非線性(多項式的)回歸而得到的曲線。



標準曲線中所使用的濃度應該位於目標濃度的預期範圍之內。典型情況下至少需要五個樣品才能完成一條標準曲線的繪製,而且這五個樣品的濃度應該是系列稀釋的。

標準曲線的斜率表示隨著迴圈次數的增加,DNA 濃度將以多快的速度增加。標準曲線的斜率有時也稱爲擴增反應的"效率"。理想情況下,擴增反應的標準曲線的斜率應該爲 2,這是因爲目標 DNA 的數量在每個擴增迴圈後應增加一倍(根據公式 $T_n = T_0 \times 2^n$ 可以計算出此值,公式中 T 代表在第 T_0 個迴圈時被擴增的目標分子的數目, T_0 代表目標分子的初始數目, T_0 代表值增回圈的次數)。標準曲線的斜率使用以下公式可以很容易地換算出擴增效率: T_0 医 T_0 是 T_0 是 T_0 是 T_0 是 T_0 是 T_0 是 T_0 的 T_0 是 T_0



結果中給出的在標準曲線給出"誤差"値(用於擬合線性回歸時的單個資料點的平均方差)通常列於標準曲線的左側,它代表根據標準曲線進行的定量結果的準確性(可以接受的誤差値應小於 0.2)。

通過測定未知樣品的交叉點位於標準曲線的哪一位置,軟體就可以計算出樣品中目標 DNA 的初始濃度。

軟體使用標準情況得到的交叉點數據把未知樣品的交叉點數據轉換爲濃度值。只有當標準曲線的擴增效率及樣品的擴增效率完全相同時,這些轉換才是有效的。如果您使用了相同的標準曲線,那麼您就可以很容易地得到相同的擴增效率。在可能的情況下,PCR標準品應使用載有目標序列的線狀質粒 DNA 或使用純化的 PCR產物。請儘量使用高度純化的範本,儘量保證沒有污染物(如核酸、引物以及鹽等物質),因爲這些物質會干擾 PCR 的進行。

4.3 準備標準曲線

您可以選擇下述方法之一準備標準曲線:

- ▶在試驗中加入外參照:即在 LightCycler® 480 儀器運行過程中在多孔板的孔中加入標準稀釋樣品,使其一起被被擴增。外參照物用來計算"批間"標準曲線。
- ▶使用以前保存的標準曲線(稱爲外部標準曲線)。外部標準曲線可以被導入到尙無標準曲線的試驗中,從而使這些試驗能夠進行定量分析。當多次運行中要對同一參數進行分析時,用這種方法尤其合適。
- 在每個試驗中必須要使用一個已經濃度的樣品(或該樣品的複製品)。該樣品可以 稱爲標準品,而且其濃度應該位於導入的標準曲線範圍之內。在這種情況下,試驗的檢 測格式、分析類型、顏色補償資料等必須要與導入的標準曲線(製作時)所使用的條件 保持一致。
- 爲了使外部標準曲線能有效使用,PCR 擴增情況應容易重複,而且反應條件對所有的試驗必須保持連貫。應經常地進行測試以保證 PCR 效率的穩定性,使用複製樣品(尤其是低濃度的)來創建標準曲線。而且,在每次分析運行的過程中,應包含一個以前曾經定過量的樣品,以確認計算出的數值是可複現的。

如何保存標準曲線:

- 使用您需要的包括標準曲線的試驗進行擴增。或者,您也可以使用一包含您需要的標準曲線的試驗。
- 如果您要使用包含標準曲線的試驗,那麼請務必保證您使用此試驗的條件與標準 曲線製作時的條件是一致的,包括相同的檢測格式、濃度單位、分析模式以及顏色補償 資料(對於多色試驗而言)。
- ◎ 您可以從一個試驗中,通過每次您保存標準曲線時選擇不同的信號通道或分析模式,從而創建多個標準曲線檔。
- 為試驗添加一個"絕對定量"分析模組。
- 3⁵在樣品編輯器的"絕對定量"表中,選擇"標準"作爲每個標準樣品的樣品類型,並 指定標準濃度。
- 4在分析模組中,對分析進行計算。在選擇框中選擇您希望在標準曲線中使用的標準樣品。請參考下節中關於進行"絕對定量分析"的詳細資訊。
- ➡️從分析視窗的 "動作按鈕"區域,選擇 "作爲外(部)參照保存"。



6 流覽並找到您所需要的保存標準曲線的位置,輸入檔案名稱,然後點擊 OK 即可。

您可以將保存的外部標準曲線用於其他定量分析中,前提仍然是所進行的試驗與製作標

準曲線所用的試驗條件保持一致。

如何在試驗中使用外部標準曲線:

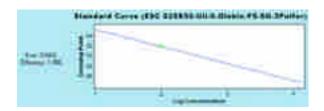
- 運行包含標準曲線的擴增試驗或使用包括標準曲線的試驗。
- 標準樣品的濃度應位於引入的標準曲線的範圍之內。
- ②為試驗添加一個絕對定量分析模組。
- 在樣品編輯器的 "絕對定量"表中,選擇 "標準"作爲每個標準樣品的樣品類型,並指定標準濃度。
- ●從分析視窗的"動作接鈕"區域,選擇"標準曲線(外部)"。



5 這時系統會為您打開"使用外部標準曲線"對話方塊,請從列表中選擇合適的外部標準曲線。



- 6 在分析模式中,在樣品列表中選擇標準樣品的選擇框,然後執行分析。點擊 "計算"。
- 7在標準曲線圖表中,只包含有在您試驗中的單一標準樣品的圖像。所使用的外部標準曲線的名稱顯示于圖表上方。



4.4 絕對定量法的使用與進行絕對定量分析:

- U使用 LightCycler® 480 標準軟體,創建和運行一個定量試驗,或者打開一個已有的試驗。
- 2⁵在"*樣品編輯器*"中,在"一般"表中輸入一般性樣品資訊,並選擇試驗中將使用的 濾光器組合。
- 3 在 "*樣品編輯器*"的 "絕對定量"表中,輸入如下樣品資訊:

參數	描述:
目標名稱	輸入每個相應的濾光器組合將要檢測的目標 名稱
樣品類型	在列表中選擇樣品類型。 ▶未知樣品 ▶標準樣品
濃度	爲"標準"類型的樣品輸入濃度。濃度值的 ②單位是在樣品表上方的"單位"區域輸入 的(例如:拷貝)。

- 學點擊模組欄上的"分析"。
- 5 從 "創建新的分析"列表中,選擇 "絕對定量"。在 "創建新的分析"對話方塊中,選擇要分析的樣品子功能表以及試驗中使用的定量程式(通常情況下只有一個默認的定量程式)。點擊 OK。
- 6⁵如果這是一個多元試驗,請應點擊 "*濾光器組合*"按鍵打開濾光器組合對話方塊。為您想進行分析的物件選擇一種濾光器組合。
 - →如果您在試驗中放入了標準樣品,則請在每個標準樣品後面的選擇框中選擇您希望用於標準曲線的標準樣品。(雙擊選擇框即可選擇或去掉相應選項。)在 "動作按鈕"區域中選擇"標準曲線(批問)"。
 - ▶如果您未在試驗中加入標準樣品,請選擇 "動作接鈕" 區域的 "標準曲線 (外部)。 找到並選定您希望用於試驗的標準曲線,然後點擊 OK。
- 您所選擇的標準曲線所在的試驗必須與要進行的試驗有相同檢測格式、濾光器組合以及顏色補償設置。外部標準曲線和當前曲線可以產生於不同類型的熱迴圈器中(96,384)。如果您想使用外部標準,則必須在新的試驗中加入一個標準濃度樣品以用做參考。軟體將根據樣品交叉點與標準曲線的關係來計算樣品列表中的每種樣品的濃度。
- ³默認情況下,所有的樣品均會被計算和分析;如果您不需要某個樣品的計算結果,請 雙擊樣品名稱後面的選擇框以清除之,或者按下鍵盤的空白鍵〈Space〉。點擊 "計算"。
- 9 如果您想查看一個或多個樣品的擴增曲線,在樣品列表中選擇樣品名稱即可。
- 如果想查看分析結果,點擊並將圖表區段的左邊界向右拖動,即可顯示所有的結果資料。結果中通常包括以下幾項:帶有選擇過慮器的樣品選擇器、樣品表、以及分析表(僅

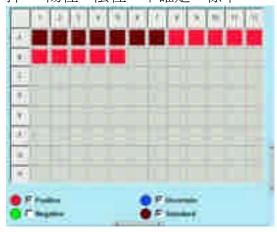
當試驗中有樣品複製時。)

● 超對定量分析的樣品表顯示如下結果:



結果	描述
交叉點	樣品的交叉點。
濃度(單位)	根據交叉點在標準曲線上的位置計算的樣品 濃度值,濃度單位則是由您在樣品編輯器的 "單位"區域的輸入內容所確定的(例如: 拷貝)。
標準	此值是在樣品編輯器的"絕對定量"表中設 定的。

樣品選擇器的圖例可以用做選擇篩檢程式,從而使您可以根據結果調用來進行樣品的選擇: 陽性、陰性、不確定、標準。

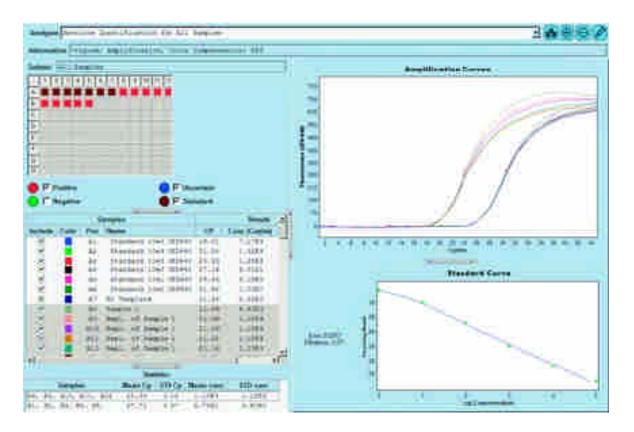


選擇陽性、陰性、不確定或標準選擇框以*選擇與樣品*編輯器相一致的結果類型,並在圖例中以特定顏色高亮顯示之。以下結果和分析資料也作爲附件顯示於*樣品*表(當試驗擁有樣品複製時):

分析	描述:
樣品	在複製組中的樣品數。
平均交叉點	該組樣品中交叉點的平均值。
交叉點標準差	交叉點的標準差。
平均濃度	該組樣品中濃度的平均值。
濃度値標準差	濃度値的標準差。

③統計計算過程中陰性樣品將被剔除。

③如果您在分析表中選擇了複本功能表,則功能表中的所有樣品的曲線都將在相關圖 表中進行顯示。 如下所示為一次絕對定量分析的結果:結果中對試驗中的 17 個樣品均進行了計算。圖 形中顯示的則是所選定的 10 個樣品的曲線。標準曲線使用的是試驗中的(標準)樣品 並且在*樣品編輯器*中標記為標準樣品的樣品濃度值經計算得到的。



5. 進行溶解曲線分析

本章節爲您闡述如何使用溶解曲線特徵對樣品進行 DNA 產物和基因型的鑒定。

5.1 使用溶解曲線特徵進行 DNA 產物和基因型的鑒定

DNA 雙鏈在受熱後將在一定的溫度下解鏈或溶解,隨著 DNA 鏈的序列不同、鏈長度不同以及鏈中 GC 的含量不同,這一溫度變化很大。例如,對於鏈長度相同但鏈中 GC/AT 比例不同的兩種 DNA 分子,或者鏈的長度及 GC 含量都相同,但 GC 在鏈中分佈不同的兩種 DNA 分子,這一溫度都是不同的。而且,兩種 DNA 分子中存在城基錯配時,也會導致溶解溫度的下降。這種效應對於短的 DNA 雜交體而言則更明顯,因此,也就成爲我們根據溶解溫度進行基因型分析的理論基礎。一個精確配對(例如野生型-特異性)的探針比與含有一個城基突變的目標序列配對的探針的溶解溫度要高一些。

溶解曲線分析的目的就是要測定目標 DNA 的特徵性溶解溫度,從而根據該溶解溫度來確認產物的基因型。

如果要分析樣品的溶解溫度特徵,則當 LightCycler® 480 儀器的熱迴圈器溫度穩定升高時必須對樣品的螢光進行監測。因爲溫度升高時,樣品的螢光強度將衰減。對於雙鏈 DNA 特異性染料 SYBR Green I 而言,這種降低主要是因爲 DNA 雙鏈的解聚導致了 SYBR Green I 染色分子從鏈上脫離而造成的。對於單鏈標記探針及雜交探針,這種降低主要是因爲目標-探針雜交體的解聚從而導致報告染料的淬火或者染料分子在空間上的分散。這兩種結果都會導致螢光強度的下降。

LightCycler® 480 儀器的溶解溫度調用分析軟體模組將對每種樣品的溶解溫度、溶解峰、高度、寬度以及溶解峰下面積等進行計算。使用溶解溫度調用分析確認 DNA 產物或目標-探針雜交體的特徵性溶解過程。

5.1.1 定義一溶解程式

在任何一個包含有溶解程式的試驗中均可進行溶解溫度分析。通常在目標 DNA 擴增結束 後再運行溶解程式。典型的溶解程式包括以下三個部分:

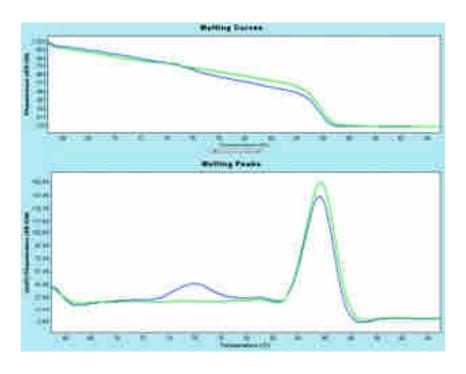
- ▶迅速對樣品進行加熱至一定溫度,該溫度應足以使所有 DNA 分析變性(即溶解)。。
- ▶樣品被冷卻到目標 DNA 複性溫度以下。
- ▶對樣品進行緩慢加熱,同時測量目標 DNA 溶解時樣品的螢光強度。

5.1.2 溶解溫度分析的內容

溶解溫度分析中使用溶解程式中獲得的螢光測量值來計算每種樣品的溶解溫度。樣品的溶解溫度(即 $T_{\text{\tiny m}}$)的定義是:DNA 分子中有一半已經解鏈或者一半的探針已經從其目標 DNA 上脫落下來。

該分析將爲您顯示出螢光強度對溫度的溶解曲線圖表。這些圖表中顯示出隨著樣品的溶解,樣品的螢光強度也在不斷地下降。同時該分析還將顯示出溶解峰圖表,其描繪的是樣品螢光曲線的第一個負導數。在此圖表中,每個樣品的溶解溫度均以一個峰的形式表示出來。 將溶解溫度以峰的形式表示出來,可以使您更容易的分辯出每種樣品的特徵性溶解過程以及各種樣品之間的區別。

下圖爲您展示了一個溶解溫度曲線圖表以及一個溶解峰圖表,它們是一個 SYBR Green I 試驗中的溶解溫度分析中的一部分,這裏將其作爲例子解釋溶解溫度分析如何用於 DNA 產物的鑒定。



所分析的兩個樣品均顯示出其DNA產物具有一明顯而尖峭的峰,其溶解溫度爲86°C,這個峰就代表所期望的PCR產物。藍色樣品還具有一個弱而寬的峰,該峰溶解溫度爲77°C,這說明該反應中含有諸如引物二聚體之類的非特異性副產物。

5.2 進行溶解溫度調用分析

您可以在任何一個包含有溶解程式的試驗中進行溶解調用分析。在溶解程式中,當溫度穩定升高以對 DNA 進行溶解或使探針從目標鏈上游離下來時,儀器始終會對樣品螢光強度的下降進行連續監測。

在溶解期間,螢光強度的下降在不同的檢測格式中其原因也是不同的:

- ▶對於 SYBR Green I 染料而言,其螢光強度的降低主要是因爲 DNA 雙鏈的解聚導致了 SYBR Green I 染色分子從鏈上脫離下來。這是因爲 SYBR Green I 只有在與雙鏈 DNA 結合後才會在 530 納米下產生螢光,隨著溶解的進行和 SYBR Green I 染料分子的脫離,在該波長下的螢光強度會相應地急劇下降。其溶解溫度(即 T_{m})的定義是 DNA 分子一半爲雙鏈,一半爲單鏈時的溫度點。
- ▶對於雜合探針,目標分子-探針雜合體的分離導致鐳射共振能量傳輸(FRET)配偶體在空間上的分離,從而導致在特定溫度下報告染料的螢光強度的下降。其溶解溫度(即 T₂)的定義是一半探針從其目標 DNA 分子上脫落下來時的溫度點。
- ▶對於單鏈標記探針而言,當探針與其目標序列雜交時報告染料才會發出螢光。當探針在溶液中自由漂浮時其螢光就湮滅了。其溶解溫度(即 T)的定義同樣是指一半探針從其目標 DNA 分子上脫落下來時的溫度點。
- 在水解性探針的 PCR 測定中,當擴增完成後,所有的探針都將被消化掉。因此,無法對其進行溶解曲線分析。

分析將顯示樣品的溶解曲線圖表,曲線中顯示螢光強度處於下降的趨勢。軟體還可以做 出溶解曲線的第一負導數,其中顯示出樣品達到溶解蜂時的溶解溫度。當樣品溶解溫度 以峰的形式顯示時,這時您可以更容易的分辯出各樣品溶解特徵中的細微差別。

分析結果資料包括每個樣品的溶解溫度及其峰下面積。

溶解溫度調用分析使用自動的運算法則計算出峰面積及溶解溫度。另外,您也可以用手工的方法計算出溶解溫度以及峰面積。

oxdot 自動溶解調用運算法則要求您啓動和結束溶解程式的溫度要比期望的溶解溫度要低 7° 和高 3° 。

如何進行自動溶解調用分析;

- ① 創建並運行一個試驗或者打開一個包含有溶解程式的已有試驗。
- ② 在樣品編輯器中的 "一般"表中輸入一般性樣品資訊,並選擇試驗中將使用的濾光器組合。
- ② 在 "樣品編輯器"的 "溶解溫度調用"表中,輸入如下樣品資訊:

參數	描述
目標名稱	爲每個使用濾光器組合進行檢測的目標輸入名稱。

- 🍑 點擊 *"模組"* 欄中的 *"分析"。*
- 5 從 "創建新的分析"列表中,選擇 "溶解溫度調用"。在 "創建新的分析"對話方塊中,選擇要分析的樣品子功能表以及試驗中使用的定量程式(通常情況下只有一個默認的程式)。點擊 OK。
- 6 如果這是一個多元試驗,則應點擊濾光器組合按鍵打開濾光器組合對話方塊。為您想進行分析的物件選擇一種濾光器組合。
- Max Peaks
 (2 or less)

 Max Peaks
 (6 or less)

設定您期望的溶解峰的最小數目。你可以從 "最多峰數(2個或更少)或 "最多峰數(6個或更少)二者中選擇一個。如果進行典型的基因型試驗,則請選擇 "2個或更少 "。如果曲線將有較多峰時,請選擇 "6個或更少"。在 "動作按鈕"欄中從兩種選擇中點擊其中一個 "最多峰數"按鈕。

- ❷ 當使用 SYBR Green I 格式時(見下一步),我們推薦您使用"最多峰數(2 個或 更少)。
- igotimes 如果想獲得理想的溶解,我們建議溶解峰的使用時溫度至少爲 $4 \, {\mathcal C}$ 。
- HybProbe Format SYBR Green I Format SimpleProbe Format

從 "格式" 多選按鈕中選擇您希望用於試驗的檢測格式。您可以從 "Hybprobe 探針格式", "SYBR Green I 格式",以及 "Simple Probe 探針" 三種格式中選擇(點擊下拉按鈕即可進行選擇)。

- **②** 各種格式之間所有的分析運算法則不同,具體根據系統進行檢測時所用生物化學 規則所需的要求不同而不同。
- ⁹默認情況下,所有的樣品均會被計算和分析;如果您不需要某個樣品的計算結果,請 雙擊樣品名稱後面的選擇框以清除之,或者按下鍵盤的空白鍵〈Space〉。
- [┅]點擊*"計算"*按鈕完成溶解溫度調用分析。
- 如果想查看分析結果,點擊並將圖表區段的左邊界向右拖動,即可顯示所有的結果資料。結果中將包"帶樣品篩檢程式的樣品選擇器"以及"樣品"表。

望使用*樣品*表上方的顯示區域的選擇框選擇您希望在表中顯示的結果類型:



溶解溫度調用分析的樣品表顯示如下結果:

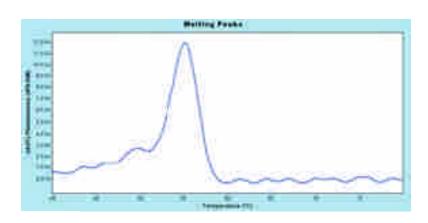


結果	描述:
溶解溫度1	樣品中第一個峰的溶解溫度。
面積1	第一個溶解峰下面的面積。
寬度 1	第一個溶解峰的寬度。
高度 1	第一個溶解峰的高度。
溶解溫度 2	樣品中第二個溶解峰的溶解溫度(當樣品有第二溶解峰時)。
面積2	第二個溶解峰下面的面積。
寬度 2	第二個溶解峰的寬度。
高度 2	第二個溶解峰的高度。

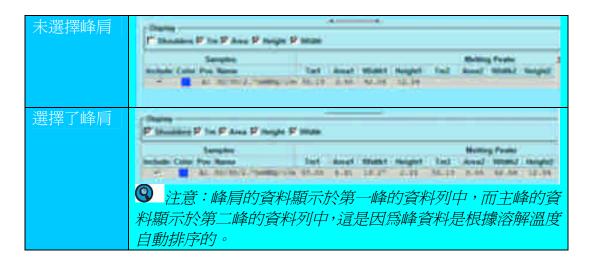
③ 如果結果中還有其他峰,而且您進行了相應的選擇,那麼結果中將以溶解溫度3, 面積3等對它們進行顯示(僅在最大峰數(6個或更少)模式下有此選擇)。

③ 有時會在峰的旁邊可以看到一個波肩。如果您想查看這些波肩峰的結果資料,請在"顯示"區域選擇"波肩"。如果不想在結果中顯示它們,則在選項中去掉"波肩"。

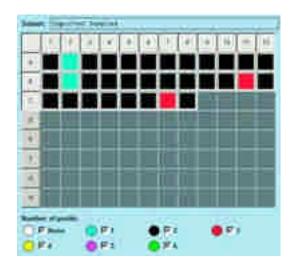
在下面的例子中,其波肩位於50℃的位置。



結果資料中只有當"波肩"選項被選定時波肩才會在結果中顯示。

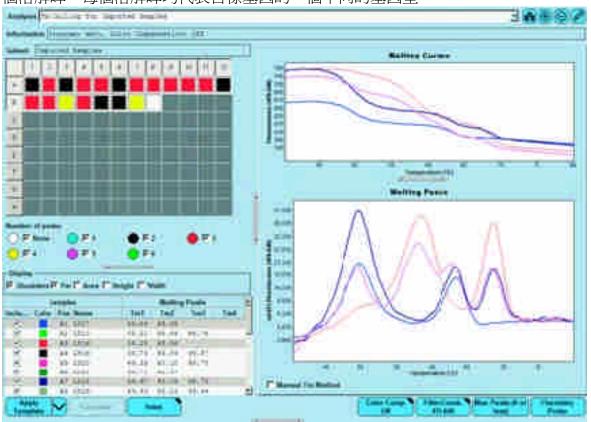


"樣品選擇器"的圖例可以用做"選擇篩檢程式",它可以根據結果調用(即發現的峰的數目)來選擇樣品。



選擇"峰的數目"選擇框以選擇與"樣品選擇器"中的匹配結果類型並以特定顏色對其高亮顯示。

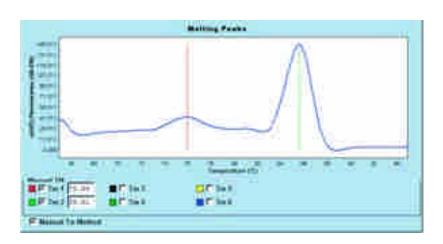
下圖爲您展示的是 Hybprobe 探針檢測的溶解溫度調用分析。結果中對試驗中的 20 個樣品均進行了計算。圖形中顯示的則是所選定的 4 個樣品的曲線。其中,兩個樣品(橙色,藍色)均有兩個溶解峰,一個樣品(藍黑色)有三個溶解峰,另一個樣品(紫色)有四個溶解峰。每個溶解峰均代表目標基因的一個不同的基因型。



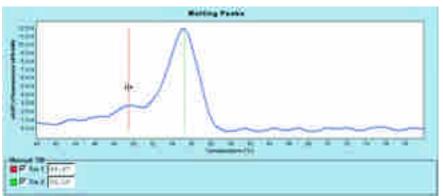
如何進行手動的溶解溫度調用分析;

- 1 創建和運行一個試驗或者打開一個包含有溶解程式的已有試驗,然後對其進行自動溶解溫度調用分析。
- ② 只有當溶解溫度調用分析已經被計算後,才能使用手動的溶解溫度分析方法。
- ②從樣品表中選擇一個或多個樣品以編輯其經計算得出的溶解峰。

③選擇 "*手動溶解溫度(分析)方法*"選擇框。 根據設定的 *"最大峰數*"的不同,在 *"溶解峰*"圖表下面可以有兩個或六個溶解溫度 (分析)方法選擇框。



- ⑤指示符位於自動計算的溶解溫度於數值旁。如果在樣品列表中選定了多個樣品,則顯示的是所選樣品列表中的第一個樣品的指示符。
- 學點擊 "溶解溫度"選擇框以顯示手動溶解溫度指示符及溶解溫度區域。指示符的顏色 與選定的溶解溫度選擇框的顏色是一致的。
- 55如果您想改變溶解溫度值,請將滑鼠指標置於直立的溶解溫度指示符上,這時滑鼠會變成雙箭頭,點擊並拖動線條直到您期望的溶解溫度數值為止。



溶解溫度顯示於溶解溫度選擇框右側的溶解溫度區域。系統將對相應溶解溫度的面積、高度和寬度進行計算,並將結果顯示於該樣品的樣品表內。

- ②在樣品表中,手動編輯的溶解溫度値前面使用星號進行標示。
- ◎您也可以選擇在同一個分析中(針對非同一個樣品)同時使用自動產生的和手動設定的溶解溫度值。
- ②在手動設置溶解溫度時,您無法對"顯示波肩"的顯示方式進行修改。
- ⁶如果您想恢復原來的(即自動產生的)溶解溫度值,可以去掉 "手動溶解溫度方法",點擊 "最大峰數"按鈕兩次,然後點擊 "計算"即可。

6.6 進行顏色補償分析

LightCycler® 480 系統能夠同時測定和分析每個反應中的多個螢光信號。通過這種方式,它可以在同一個反應中同時測定多個目標序列。因為染色之間的發射譜之間有重疊,一個濾光器組合會把某個用於其他通道的資訊也提取出來,這種現象稱為"串擾"。雖然在設計該儀器時,每個發射濾光器均已針對特定的最大發射進行了優化,但目前可用的所有螢光染料的發射譜均有長的"尾巴",從而導致了波譜間重疊現象的發生。螢光信號的雜散將導致獲得的資料無法進行解釋。我們採取了在資料分析前進行顏色補償的措施來糾正這種串擾。當顏色補償啟動時,LightCycler® 480 基礎軟體的使用從所謂的顏色補償物件中獲取的資料對螢光串擾進行補償。

● 顏色補償只能用於一種情況:即您在運行一個試驗時期望在一個反應中檢測兩個或
多個不同的染料(產生的螢光)。當試驗僅使用一種染料時,則沒有必要進行顏色補償。

這是因爲在單色檢測時,您可以通過校準儀器而很容易地校正其波譜重疊現象。在校正運行過程中,LightCycler® 480 儀器將測量每種染料的螢光強度並產生針對儀器的特異性顏色補償物件。以後,LightCycler® 480 基礎軟體會自動使用這一所謂的顏色補償物件對每個通道中相應的染料的螢光強度進行校正。最後得到的淨結果就是對每個通道中單一染料的檢測結果。

- 顏色補償物件只能在產生該補償的同一台LightCycler® 480 儀器上的試驗中使用。 如果您想使用顏色補償,則必須按以下步驟進行:
- ▶在您將進行多元試驗的儀器上運行一次顏色補償試驗。該顏色補償試驗將爲補償螢光 雜散而收集資料。從顏色補償試驗中,創建一個顏色補償物件。如需更多資訊,請參 考"進行顏色補償試驗"一節中相關內容。
- ▶在進行試驗或對試驗進行分析時使用顏色補償資訊。如需更多資訊,請參考 *"進行顏 色補償試驗"* 一節中相關內容。

6.1 進行顏色補償試驗

在顏色補償方案的溫度特徵中通常包括加熱、迴圈、溫度梯度及冷卻等程式。迴圈程式在包括資料收集在內等方面與典型的 PCR 很相似。如果不運行單色補償試驗,您也可以運行與您的試驗樣品平行的顏色補償反應。在這種情況下,使用適當的 PCR 試驗方案,但一定要在其中加入溫度梯度或者溶解曲線程式。

● 在水解探針顏色補償試驗運行中,必須進行一次真正的 PCR 過程,這是因爲只有在 迴圈中探針才會被 Taq DNA 多聚酶水解掉從而產生螢光信號。

Q 在使用如下所示染料組合進行的雙色水解探針試驗中,無需進行顏色補償。 這些染料組合是:

```
Cyan 500 (450-500) - Red 610 (558-610),

Cyan 500 (450-500) - Red 640 (558-640),

Cyan 500 (450-500) - Cy 5 (615-670),

FAM (483-533) -Red 610 (558-610),

FAM (483-533) -Red 640 (558-640),

FAM (483-533) -Cy5 (615-670),

HELightCycler® 480 / VIC (523-568) - Cy5 (615-670)。
```

進行顏色補償時所需要的資料是從溫度梯度程式中獲得的。 在這一程式中,在經過快速的變性 (95°C)後,樣品溫度會慢慢地從 40°C 上升到一個比測量螢光資訊所需的溫度大約高 5°C 的終末溫度。 在這個溫度梯度中,儀器將會對螢光信號以 1 次/°C 的頻率進行測量。如果您運行與試驗樣品平行的 Hybprobe 探針顏色補償反應,您也可以在以後的溶解溫度調用分析中使用溶解曲線程式。

對於每一個檢測而言,您需要根據經驗對溶解曲線分析(得到的螢光信號)的最優資料獲取頻率進行設定,這一頻率範圍通常是1次採集/°C──5次採集/°C

進行校準運行後,LightCycler® 480 基礎軟體將其產生的資料作爲一個普通的試驗檔進行保存。對於這些將用顏色補償的資料,您必須首先這種溫度梯度或溶解曲線程式的資料轉換成顏色補償物件,並將其單獨進行保存。

Y 對於 HybProbe 探針和水解探針而言,即使不考慮您試驗中所用的特定探針順序,它們也足以針對每種染料組合產生一個顏色補償物件。

如何運行顏色補償試驗:

- ①對於您將在試驗中進行補償的每種螢光染料,您需要在試驗中使用至少3至5個重複的顏色補償反應,另外還應包括一個空白反應(即:使用您將在試驗中使用的樣品進行單色反應,而非多色反應)。
- ►在 HybProbe 探針的顏色補償試驗中,請使用與您將在多色試驗反應中使用的相同的 螢光探針的稀釋液(即:請勿使用 HybProbe 探針對,而是使用單獨的探針寡聚核苷 酸)。螢光標記的 HybProbe 供體探針的終濃度應為 0.2 - 0.3 μM,HybProbe 受體探 針的終濃度應為 1 μM。
- ▶對於水解探針補償試驗,應根據您的試驗方案創建和運行完整的擴增反應。每個反應 (除空白外)應該包括您將用於多色水解探針檢測的水解探針中的一種。該探針的濃 度也應與您將在試驗中所有的濃度相同。
- ② 創建和運行使用水解探針的擴增反應要求對水解探針進行裂解從而將報告染料從猝滅劑中釋放出來。否則,顏色補償所需的螢光信號就無法產生。
- ◎對於空白對照(稱爲"水"的樣品),您可以使用水,但是最好能使用某種緩衝液(例如:50 mM Tris, pH 8.3,加入 0.25 mg/ml BSA),而且這種緩衝液最好也能用於稀釋和儲存引物及探針。
- 2打開 LightCycler® 480 基礎軟體,創建一包括如下區段的溫度梯度顏色補償試驗(程式設置應與您準備在多色試驗中使用的設置相同)。

區段 1: 以 4.8c/秒的速度將溫度升到 95c。

區段 2:以 4.8c/s 秒的速度將溫度調節到 40c 並持續 30 秒。

區段 3:以 1 次採集/°C 的頻率採集至,使用連續採集方式;其中,X 代表(試驗中的測量溫度+5°C。)

對於溫度梯度,在"分析模式"區域中選擇"顏色補償"。

- 图 在同一次運行過程中使用多孔板的平行孔進行溶解曲線分析時,在"分析模式"區域中選擇"溶解曲線"。您也可以從"溶解曲線程式"中進行顏色補償分析,但反之則不行,即您無法從顏色補償程式中運行溶解溫度調用分析。
- 3在 "樣品編輯器"的 "一般"表中輸入以下資訊(如果需要的話):

測試識別字:確認用於顏色補償試驗的探針組合的字串。

顏色補償識別字:確認顏色補償對象的字串。尤其是當使用 LightCycler® 480 的實驗室資訊管理系統/條碼模組時,這一識別字值對於與宏配合使用的顏色補償物件的確認非常方便。如果您使用"智慧選擇顏色補償"選項來對一巨集進行保存,則可以在開始通過實驗室資訊管理系統遠端啟動巨集時提交顏色補償物件的識別字而選擇適當的顏色補償物件。)

在樣品編輯器的"顏色補償"表中,輸入如下樣品資訊:

7 M4HHWW I- I HH 3	97101177	1/10 MARRIANA
列名稱	有效値	描述
主要通道	▶多色 Hybprobe 探 針	在該孔中使用的染料的通道。為每個孔選擇合適的濾光器組合。
	多色水解探針	

- 5 將反應體系加入到多孔板中。
- 6 當試驗完成後,點擊 "模組"欄中的 "分析"。
- 7從"創建新的分析"列表中,選擇"顏色補償"。在"創建新的分析"對話方塊中,選擇要分析的樣品子功能表以及試驗中使用的定量程式(通常情況下只有一個默認的程式)。點擊 OK。
- ³³點擊 "動作按鈕"區域的"計算",這樣就可以進行顏色補償分析了。
- ⁹點擊 "保存顏色分析物件"。默認情況下,該物件會保存在您 "特殊資料"檔夾中的 CCC 檔夾。

現在您就可以將顏色補償資料運用到其他試驗中了。如需更多資訊,請參下面的章節。 **如何使用顏色補償**:

首先,選擇您希望顯示的及用於補償的進光器組合。



2



- ▶如果您想在一個試驗運行過程中使用顏色補償,請點擊下拉按鈕,然後從"使用中"或"資料庫中"兩選項中進行選擇。
- ▶如果您想將某顏色補償應用於某分析,則應添加分析模組,然後點擊下拉按鈕。 從 "使用中"或"資料庫中"兩選項中進行選擇。
- 選擇您希望使用的顏色補償物件,然後點擊 OK。
- ② 當您爲某分析選定一個物件後,該物件的名稱就被加入到該試驗的所有分析模組的 顏色補償功能表中。
- 4 試驗或分析圖表將使用補償後的資料重新進行繪圖。注意現在顏色補償按鈕顯示的

爲"開"。

7. 使用範本和巨集工作

範本與巨集爲您提供創建新的試驗的便捷途徑,可以大大加快您的工作速度。

範本是以單個專案爲基礎的,例如一個試驗方案或者包含您需要使用資訊的樣品列表。

巨集則是範本的集合:每個巨集都針對試驗的一個部分,與程式(實際上也是巨集)一 起自動地使用範本並運行試驗。

本節爲您講述如何創建範本和巨集、如何使用範本和運行巨集、以及如何將巨集按鈕添加到主視窗中。

7.1 創建和使用範本

範本爲您提供創建和分析試驗的便捷途徑,從而大大加快您的工作速度。範本是以單個專案爲基礎的,例如已經定義好的子功能表或者包含您希望在試驗中使用的所有資訊的樣品表。例如,您無法重新運行某試驗方案,但您可以從已有的試驗中將試驗方案做爲範本保存下來,並將該範本應用到一個新的試驗中去。您可以用同樣的方式使用子功能表、樣品、報告以及分析的範本。通過使用範本功能,您可以將"編輯"框中所做的所有設置全部做爲範本物件保存於資料庫中,以後您就可以將這些設置應用於不同的但匹配的資料庫物件。這樣您就可以使用範本來保存和使用選項以替代當前的用戶選項。

使用 384 多孔板熱迴圈器類型創建的範本不能用於 96 孔熱迴圈器類型的試驗中。

下表中爲您列出了可以保存和使用範本的物件類型:

對象類型	範本中包括的參數	注意事項
運行	 ▶程式與溫度靶 ▶檢測格式 ▶選定的濾光器組合 (在定制窗口) 整合時間模式與整合時間(如果選擇了手動模式的話) ▶多孔板識別字 ▶反應體積 ▶阻斷類型 	②LightCycler® 480的基本軟體中帶有四個演示運行範本(安裝於範本/運行範本檔夾中的羅氏檔夾)。
子功能表	▼可用於分析的子功能表◆報告中可用的子集▶所選孔的列表▶子功能表識別字▶子功能表名稱▶阻斷類型	□ 當已經用於產生分析後,樣品範本即不能再使用。 □ LightCycler® 480 的基本軟體中帶有兩個演示子功能表範本(安裝於範本/子功能表範本檔來中的羅氏文件夾)。
樣品	樣品範本中包括阻斷類型、啓動的濾光器組合以及一個樣品列表。對於每個樣品而言,範本中包括如下所示的所有樣品屬性: ▶複本信息 ▶樣品注解 ▶樣品識別字 ▶用於絕對定量分析的啟動通道中的樣品類型和濃度 ▶主要通道顏色補償 ▶每一啟動通道的溶解溫度調用分析的目標名稱。	 如果您想使用某樣品範本,則範本中 的濾光器組合必須與試驗中的濾光器組合 相一致。
報告	報告範本中包括"一般"表中的區段選擇設置及 "細節"表中的次級區段的詳細要求。	不要在範本中加入任何可視元素的設置 (例如頁碼或當前放大倍數等)。
分析	 ▶注解 ▶濾光器組合 ▶顏色補償對象 ▶外部參照物曲線(僅對於定量模式) ▶格式設置(溶解溫度調用) ▶峰格式(溶解溫度調用) 	▶定量分析範本中不包括陽性/陰性濾光器狀態,也不包括樣品的選擇/未選狀態。 ▶溶解溫度調用分析範本中不包括峰數濾光器狀態,也不包括樣品的選擇/未選狀態。 ▶如果您從一含有顏色補償的分析中創建了一範本,則範本中將包含相應的顏色補償資料。 ▶顏色分析範本不能通過手動溶解溫度方法設置來保存和應用。

如果一個物件可以作爲範本使用或保存,那麼在 LightCycler® 480 基礎軟體中該物件是打開的,"範本"按鈕也是啓動的。



通過使用範本按鈕,您可以對當前打開的物件選擇和應用一個範本,從而將當前打開的物件也保存爲一個範本。

● 範本只能從軟體中打開並啓動的已有物件中創建。您無法從一個未打開及未啓動的物件中創建範本。

如何創建範本:

- 打開或者創建將被用作範本的物件。
- ²³點擊 *"作爲範本保存" 按鈕*打開 *"範本"*對話方塊。
- ᠍選擇保存範本的位置,並在"名稱"區域爲範本輸入一個名稱。
- 默認的範本名稱就是當前試驗的名稱,後面通常再加上樣品類型。所有範本的默認的保存位置是當前用戶的選項設置中範本與巨集的檔夾。



4點擊 "保存"。

結果:範本被保存下來,對話方塊被關閉。

當一個範本已經被保存到資料庫後,您可以(從資料管理器中)對範本進行編輯。但是編輯的內容僅限於範本名稱以及該範本的注解。

如何使用範本:

- 打開您希望使用範本的物件。
- 型點擊 "使用範本"以打開 "範本"對話方塊。在對話方塊中會顯示包括您能使用的所有範本的列表。
- 3 在列表中選擇您希望使用的範本,然後點擊 "打開"。這時對話方塊將關閉,而您選擇的範本就應用於已打開的物件了。
- 在使用任何範本的時候,一定要確保範本中的熱迴圈器類型與試驗中將使用的熱 迴圈器類型一致。
- 當一個範本已經應用於一個物件後,您仍然可以對該物件進行手動的修改。
- **⑨** 如果您用於分析的範本與分析本身的設置並不一樣,則系統會爲您自動打開一個 與類型相符的新的分析螢幕。如果使用的範本與分析本身類型相符,則系統將顯示一個 對話方塊詢問您希望將範本應用於當前分析或者創建一個新的分析:



7.2 創建和使用宏

範本是以單個專案爲基礎的,例如試驗方案或包括您希望在另一個試驗中使用的包括樣品全部資訊的樣品表,而巨集則是範本的集合。巨集使得包括設置試驗方案、輸入樣品資訊、運行試驗、進行分析以及產生報告等試驗運行的整個過程全部自動化。您可以創建一個試驗宏從而實現常用的試驗方案的自動化執行。

◎ 當您通過實驗室資訊管理系統的用戶端操作 LightCycler® 480 基礎軟體時需要巨集功能。實驗室資訊管理系統用戶端可以通過開啟巨集而遠端操縱 LightCycler® 480 儀器的運行。

本節將對下列主題進行詳細說明:

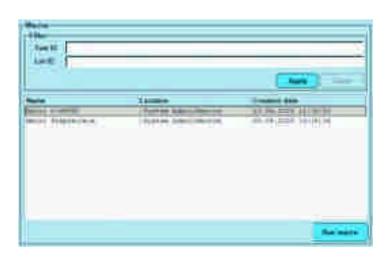
- ▶創建試驗宏
- ▶選擇與運行試驗宏

如何創建試驗宏:

- □打開您準備用於創建宏的試驗的"總結"框。
- ②在 "總結"框的 "動作"欄中點擊 "作為巨集保存",這時系統會為您打開 "保存 宏"對話方塊。
- ③ 爲宏輸入一個名稱並爲其選擇一個保存位置,然後點擊 OK。當然,你也可以爲該宏設定一個新的名稱及保存位置。)
- 一旦您已經對宏進行了保存,那麼您就只能通過資源管理器對保存的巨集物件的 名稱和注解進行修改了(即其他內容無法更改)。
- ② 如果您使用是帶有顏色補償的試驗來創建宏,那麼您可以選擇將顏色補償物件整合到巨集內或者使用智慧顏色補償。智慧顏色補償將從資料庫中可用的顏色補償物件中自動選擇一個顏色補償物件。選擇濾光器是:(1)使用相同儀器創建的顏色補償物件,(2)顏色補償物件的顏色補償識別字與宏的相同(如果顏色補償物件的識別字是唯一的話),以及(3)符合(1) + (2)標準的新近創建的顏色補償物件。只有當 LightCycler® 480 中已安裝了實驗室資訊管理系統/條碼模組並且已經使用購買的授權鑰匙軟體啟動後才可以使用此選擇項。

如何運行試驗宏:

- ①選擇 "總述" 視窗。在 "互集" 區域,系統爲您顯示出所有用戶可以執行的宏列表。 從列表中選擇一個宏,然後點擊 "運行宏"。
- $oxed{oxed}$ 只有當 LightCycler $oxed{oxed}$ 480 基礎軟體與儀器連接時,"運行巨集"接鈕才是啓動的。



- ② (可選)輸入一測試標識符號碼,點擊 "應用"來通過測試識別字對宏列表進行過濾,並選擇由軟體返回的巨集。
- ③ (可選)輸入一批號識別字的號碼,點擊 "應用"以通過批號識別字對宏列表進行過濾,並選擇由軟體返回的巨集。
- 4 這時系統將爲您打開 "保存試驗" 視窗。爲您的試驗輸入名稱並爲其選擇一個保存位置,然後點擊 OK。

巨集一旦被啓動,它將執行以下步驟:

- ▶將所有範本用於運行,包括運行試驗、樣品資訊和子功能表等。
- ▶開始運行
- ▶在運行結束時系統將自動對試驗進行保存。
- ●當運行結束後,巨集並不執行資料分析。只有當 LightCycler® 480 中已安裝了實驗 室資訊管理系統/條碼模組並且已經使用購買的授權鑰匙啟動後才可以使用此選擇項。

8. 使用子功能表工作

LightCycler® 480 基礎軟體的標準使用方式是同時對 PCR 多孔板上的所有樣品進行分析。但是,您也可以定義樣品子功能表,從而使軟體只對特定子功能表中的樣品進行分析。這一點非常有用,例如,通過使用子功能表,您就可以將多孔板的一部分用於目標基因的定量分析,而將同一個多孔板的另一部分針對一個不同的目標進行測試。

您也可以定義不同的樣品子功能表,這樣在結果(報告中就只顯示指定的子功能表中)樣品的資料了。報告也是基於選擇的子功能表進行的;同一個子功能表可以同時定義成分析子功能表和報告子功能表。在這種情況下,分析子功能表與報告子功能表中包括的就是相同的樣品了。當然,在報告中包括的樣品子功能表也可與用於分析的樣品子功能表不同。

例如,多孔板中的每一列可以用來分析不同的 SNP,而板中的每一行則可以代表不同的 樣品。在這種情況下,對於每一列而言可以使用一個分析子功能表,而每一行則可以使 用一個報告子功能表。

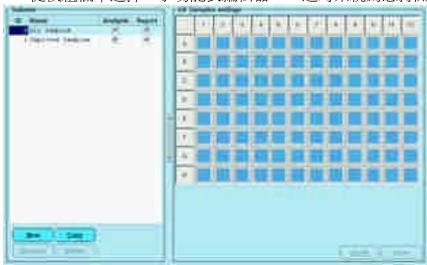
¶ 相同的樣品可以分配到兩種類型(分析或報告)的多個子菜單中。

您可以使用"子功能表編輯器"來創建,修改和刪除子功能表。您可以通過"資料"表、子功能表編輯器、分析模組及報告模組中的子功能表下拉清單來選擇子功能表。

如何創建子功能表:

15打開您希望定義子功能表的試驗(或者創建一個新的試驗)。





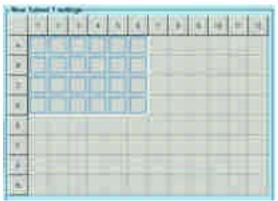
³⁵點擊 "新的"以啟動子功能表列表中的一個新行或者點擊 "複製"以對當前正在使用的子功能表進行複製。



這時系統將自動爲新行指定一個識別字。默認情況下,子功能表的類型爲 "分析"和

"報告"。"名稱"列是自動選擇的,標識符號碼則顯示在"樣品編輯器"中。

- 4 按如下方式對子功能表進行定義:
- ▶爲新的子功能表選擇子功能表類型(報告,分析,或二者皆選)。
- ▶爲該子功能表輸入名稱。
- **《**子功能表的名稱最多可使用 25 個字元。
 - ▶在多孔板圖像中,選擇您想將其包括在子功能表中的樣品。點擊單個孔的位置以將 其選入樣品(子功能表),或者點擊列或行按鈕以選擇某列或某行的全部樣品。 您還 可以將滑鼠指標拖動一定區域,這樣該區域包括的全部樣品就會被同時選入子功能表 了。在拖動滑鼠過程中,選定的孔將以藍黑色顯示。



- ▶點擊"應用"將選定的孔添加到子功能表中。
- ▶點擊"清除"以取消您剛才所做的選擇。
- 5 選擇完成後,點擊 "一般動作"區域的 "保存"按鈕對含有新的子功能表的試驗進行保存。
- ② 子功能表具有試驗特異性。通過使用範本功能,您可以將一個子功能表使用於不同的試驗中。

如何對子功能表進行修改或重新命名:

- 打開包含您希望修改的子功能表的試驗。
- ❷從模組欄中選擇 *"子功能表編輯器"。* 這時系統為您打開 *"子功能表"* 視窗。
- 在子功能表列表中,選擇您希望進行修改的子功能表。
- 🍑 按如下方式對子功能表進行修改:
- ▶如果需要的話,您可以將子功能表的類型進行選定或去除(報告,分析,或二者皆選)。
- ▶如果您需要修改子功能表名稱的話,請點 "重新命名"或直接點擊子功能表的名稱。
- ▶點擊多孔板中孔的位置並點擊"使用"以將其添加到子功能表中或從子功能表中去 掉(點擊後會將添加到子功能表或從

(子功能表中去掉取決於它們在此之前已經被選定或未被選定)。

- ▶點擊 "清除"可以將多孔板中所有的孔全部從子功能表中清除。
- ▶點擊 "刪除"則可以將一個子功能表刪除。
- **②** 如果一個子功能表已經運用於分析中,那麼您就無法再對其對進行修改,重新命名或刪除了。在樣品列表中,鎖定的子功能表以高高度進行顯示。



^⁵完成後,點擊 "一般動作"區域的 "保存"按鈕對含有修改過的子功能表的試驗進

行保存。

9. 使用圖表工作

在試驗運行期間或完成之後,LightCycler® 480 基礎軟體將產生多種圖表,它們是試驗分析的一部分。通過圖表,您可以查看下列類型的資訊:

- ▶程式時間、溫度迴圈以及資料獲取點。
- ▶從一個試驗中採集的資料。
- ▶按分析模組列出的圖表以顯示資訊與結果。

您可以列印圖表,也可以將其導出成各種圖形格式,以及對圖表圖像及資料進行複製和 粘貼等操作。圖表具有變焦與變位功能,因此您可以對圖表中的細節進行放大以便查 看,也可以將圖表左右移動。用滑鼠右鍵點擊圖表即可顯示部分或全部可用的圖表操作 功能表。一般情況地,該功能表提供下列選項:

選項	描述:
樣品選項	爲您打開圖表 選項編輯器。如需更多資
14 17 78 77	訊,請參考"覆蓋默認的圖表選項"一節
樣品選項	中相關內容。為您打開樣品選項編輯器。
載入樣品選項	如需更多資訊,請參考"覆蓋默認的圖表學方",經典和關內容。"打題答照答理
果/八水吅送切	選項"一節中相關內容。"打開資源管理 器,以便用戶可以選擇一種樣品選項。如
	需更多資訊,請參考"使用樣品選項"一
保存樣品選項	節中的相關內容。打開"保存"對話方
	塊,以便用戶可以將當前試驗中的樣品設
清除樣品選項	置作爲一個樣品選項物件進行保存。從當
	前默認的樣品選項物件中恢復樣品設置。
列印	打開"列印"對話方塊以便用戶可以列
導出	印圖表。打開"導出"對話方塊以便用戶
	可以將某圖表的圖形資料導出。將圖表資料複製到點點板。 在當前圖表中顯示圖
複製到粘貼板	科俊表到柏柏似。 住苗則國衣中顯小國 例。
顯示圖例	73

9.1 列印、導出與複製圖表

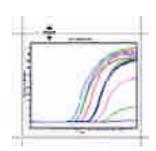
您可以列印 LightCycler® 480 基礎軟體中任何一個圖表。您也可以將圖表圖形或資料單獨導出或將圖形和資料單獨複製並粘貼到其他程式中。

如何列印圖表:

- 15顯示您希望列印的圖表。
- 全在圖表界限內點擊滑鼠右鍵,然後選擇 "列印"。這時系統會爲您打開 "創建" 視窗。

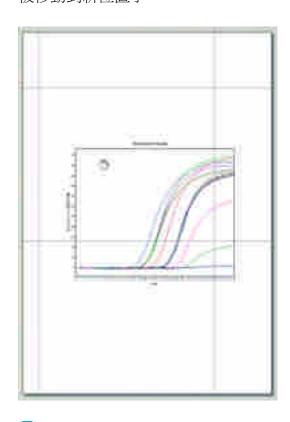


3如果您想更改圖形邊界從而改變其大小的話,請點擊圍繞圖形邊界的灰色邊線並拖動之。注意:這時滑鼠箭頭的形狀將發生改變以便提示您可以對邊線進行拖動操作了。



② 您可以調整對話方塊的大小以便更容易地調整圖形邊線。

4如果您想改變圖形在頁面上的位置,可以將滑鼠指標定位于圖形上方。這時滑鼠箭頭會變成一個手的形狀。點擊並將圖形邊線拖動到新的位置。鬆開滑鼠左鍵,這樣圖形就被移動到新位置了。



5 如果需要的話,您還可以從下拉清單中選擇一台印表機。該下拉清單顯示的內容取決 於在您連接到系統的印表機(的數量和型號)。默認情況下的印表機是 Windows 印表機。



如果您想改變印表機配置選項,請點擊 "創建"。這時系統爲您打開標準的印表機創建對話方塊。在對話方塊中輸入必要的資訊,然後點擊 OK。選擇打印紙定位(橫向或縱向),然後點擊 "列印"。

如何導出一幅圖表圖形:

- 類示您希望導出的圖表。
- ② 在圖表界限內點擊滑鼠右鍵,然後選擇"導出"。這時系統爲您打開"導出"對話方塊。



- **3** 在 "*圖*書"表的 "格式"下方,選擇您導出圖表所要用的圖形格式。
- 4如果在(右側)有"選項"表的話,您可以對這些選項進行適當選擇。如果有表顯示的話,其選項內容也會隨著您選擇的圖形格式的不同而有所變化。
- 5如果您想改變導出的圖形的大小,請點擊 "大小"表,然後輸入新的高度值和寬度值。如果您想保持圖表的比例的話,請選中 "保持外觀的比例"。



- ⑥點擊 ■按鈕(在檔案名稱右側),打開 "選擇輸出檔"對話方塊。流覽到您希望保存 導出的圖表圖形的位置,爲該圖形輸入名稱,然後點擊 "保存"。
- 型點擊"導出"以完成對圖表的導出。

如何導出圖表資料:

- 動示包括您希望進行資料導出的圖表。
- ② 在圖表界限內點擊滑鼠右鍵,然後選擇 "導出"。這時系統為您打開 "導出"對話方塊。
- 3 選擇 *"資料"*表。



4 "系列"對話方塊,選擇您希望導出的資料項目目,其中可供選擇的專案隨著圖表類型的不同而有相應變化。



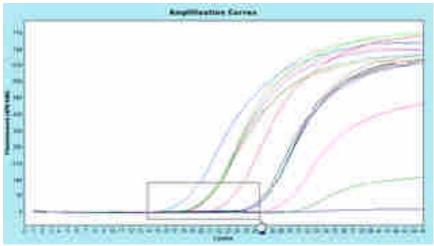
- **5**在 "包括"對話方塊中,選擇與資料一起導出的文本標籤。
- ⁶在"格式"框中,選擇您導出資料時所希望使用的格式。您可以選擇的格式包括:純文字檔案,LightCycler® 480ML 檔,以及 HTML 表。
- 7如果您選擇文本作爲導出格式,則應在"分隔符號"對話方塊中選擇一種分隔符號。 可供選擇的分隔符號有空格、跳位字元、逗號或者定制某種分隔符號。在"分隔符號" 對話方塊中輸入您定制的分隔符號。
- ❸ 點擊□按鈕(在檔案名稱右側),打開"選擇輸出檔"對話方塊。
- 一流覽到您希望保存導出的圖表資料的位置,為該資料檔案輸入名稱,然後點擊 "保存"。
- □ 點擊 "導出"以完成資料的導出。
 如何複製圖表圖形或圖表資料
- 類示您希望複製的圖表。
- ²³在圖表界限內點擊滑鼠右鍵,然後選擇 "複製到粘貼板"。這時圖表會以點圖保存, 而資料則以文本保存。
- 3 對圖表圖形進行粘貼時,應先打開圖片應用程式(例如*畫板*),然後按下鍵盤的⟨Ctrl-V⟩即可。
- 學對圖表資料進行粘貼時,應先打開一文本編輯程式(例如便箋程式),然後按下鍵盤的〈Ctrl-V〉即可。

9.2 變焦和變位元以查看圖表細節

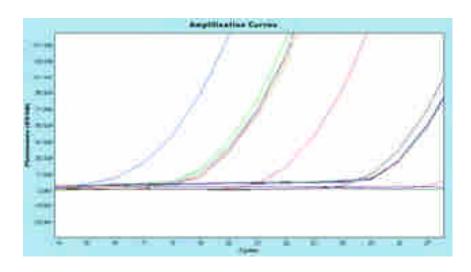
您可以對圖表的一部分進行任意倍數的放大,從而查看重要的細節資訊。如果您使用的 是三按鍵的滑鼠,則可以將圖表向任何方向移動從而查看那些位於視窗外的內容。請按 照如下步驟以對圖表細節進行放大(變焦)或者對圖表進行移動(變位元)。

如何調整大小(變焦):

- 將滑鼠指標放到您想放大的圖表區域的左上方。
- 2點擊並將滑鼠指標向右、向下拖動。(這時滑鼠指標變成矩形。)



當矩形框覆蓋了你想要放大的區域。鬆開滑鼠,矩形框裏的區域被放大填滿工作窗格。



- ③必要時重複步驟2,直到您將圖表細節放大到所希望的倍數爲止。
- 4 如果想將圖表恢復到原來大小,點擊並將滑鼠指標向上、向左拖動即可。(僅當您需要將圖表恢復成原大小時才需要執行這一操作。)

如何移動圖表位置(變位元):

如果您想查看目前沒有顯示在視窗內的圖表區域時,可以使用滑鼠的中間鍵對圖表進行操作。用其對圖表進行拖動,直到您想看的圖表區域顯示到視窗內爲止。

② 您可以對雙鍵滑鼠進行設置,例如設置成同時點擊兩個鍵時產生等同於點擊三鍵 滑鼠中間鍵的效果。進行這種設置時,請向系統管理員請教或者參考您滑鼠的儀器驅動 指南。

10. 生成報告

當您對試驗分析完畢後,系統可以產生爲您生成一份包括試驗一般資訊及分析結果的分析報告。您可以對下列內容進行選擇從而對報告進行定制:

- ▶試驗總結資訊(例如名稱和日期等)
- ▶試驗方案
- ▶樣品資訊
- ▶儀器資訊
- ▶修改史表
- ▶分析結果及其他分析項目,例如統計學項目與設置等(您實際可以選擇的項目取決於分析的類型)

您可以指定在報告中以及列印時這些專案的先後順序。

如何生成和列印一份報告:

- 打開包括一個或多個分析模組的試驗或者保存您當前打開的試驗。
- ²點擊 "模組"欄中的 "報告"按鈕。 這時系統將在工作框中爲您打開 "報告"視窗。視窗左側有 "報告設置"供您選擇。
- ② 您必須首先將一個試驗保存下來,這樣報告按鈕才可以被啓動。
- 3 首先從 "*子功能表*"列表中選擇報告子功能表:



② 您只能從報告子功能表中選擇子功能表,而不能從分析子功能表中進行選擇。

- 4 "一般"和"詳細"表中提供了可供選擇的報告專案列表,其中一些是默認情況下就 選定的。列表中這些專案的順序與報告中專案的順序是一致的。
 - "一般"表中報告部分的列表通常包括下列內容:
- ▶標記有試驗名稱的*一般*性資訊部分
- ▶選定子功能表中樣品中所做的各種類型分析的分析部分
- ② 在選定的報告子功能表中,必須至少有一個樣品已經進行過分析,否則在列表中不會有分析部分。

在"詳細"表中報告部分的列表通常包括下列內容:

- ▶標記有試驗名稱的一般性資訊
- ▶子功能表中的樣品已經做過的分析的分析部分;如果在這些樣品上已經多次進行同種類型的分析的話,則會有多個屬於同種類型的分析部分。



- 5 在列表中進行項目選擇,以在報告中包括之或去除之。如果您選擇了一個部分,則該部分下的所有分專案就自動地被全部選擇了。
- ② 注意:如果您在"一般"表中對設置進行了修改,則在"詳細"表中的相同部分或分專案就同時被修改了。
- 6 如果您想對某項目在報告中的位置進行調整,則在"詳細"表中對該專案點擊並將其 拖動到列表中新的位置即可。報告的項目及分項目均可以進行拖動。
- 您無法在"一般"表中對專案的順序進行更改。
- 系統不允許將一個專案拖動到與其無隸屬關係的類別中。例如,您無法將試驗結果從溶解溫度分析拖動到絕對定量分析中。
- 型點擊 "一般動作"欄中的 "保存"按鈕,從而將改變後的報告設置與試驗一起保存起來。這時系統會要求您輸入修改注解。下次當您生成報告時,使用的就是這些修改後的報告設置了。
- 8¹如果您保存了修改後的設置後又希望恢復其默認設置,則應點擊 "默認設置"。關閉 "報告"視窗並重新打開它。這樣默認設置就被恢復了。

🤒 點擊 "生成" 以查看報告:



- ② 您可以使用"工具"視窗中的"報告設置"表以在生成的報告中不顯示羅氏圖示。(如需詳細資訊,請參考"管理工具"一節中的相關內容。)
- ●如果想查看報告的其他頁,請使用頁碼前進或後退操作按鈕:

- 1 Tem 4-84.6 ... 7 (9)

⑪如果您想改變報告在視窗中顯示的尺寸,則請點擊以下按鈕之一:

- ▶第一個按鈕的功能是按照列印尺寸顯示報告。
- ▶第二個按鈕的功能是使整個報告頁面與視窗相適應。
- ▶第三個按鈕的功能是使報告頁面的寬度與視窗相適應。
- 如果需要列印報告,請點擊位於報告視窗最上方的印表機圖示

11. 使用選項工作

LightCycler® 480 基礎軟體爲您提供了如下的選項,通過這些選項您就可以對圖表和樣品等進行定制並設定不同的默認選項:

- ▶圖表選項決定了您的圖表的默認顯示方式與內容。
- ▶樣品選項決定在"樣品編輯器"中的默認樣品名稱以及圖表中樣品的默認顏色與線條類型。
- ▶用戶選項決定默認的導入與導出目錄及其他設置。

選項專案位於 LightCycler® 480 基礎軟體資料管理器的用戶檔夾的選項檔夾。當您打開一個選項專案時,系統將在主視窗中為您打開一個視窗,通過此視窗您就可以對選項進行設置了。

您可以對多個圖表及樣品各自進行不同的設置。您也可以指定將哪個項目做爲預設值。

③ 表單選項中包含的是關於上一螢幕設定的資訊,它是無法被編輯的。

如果一個特定類型(例如圖表)的全部選項專案都被刪除了,那麼下次您登錄時 LightCycler® 480 基礎軟體將爲其創建新的默認選項專案。

本節主要闡述如何進行下述操作:

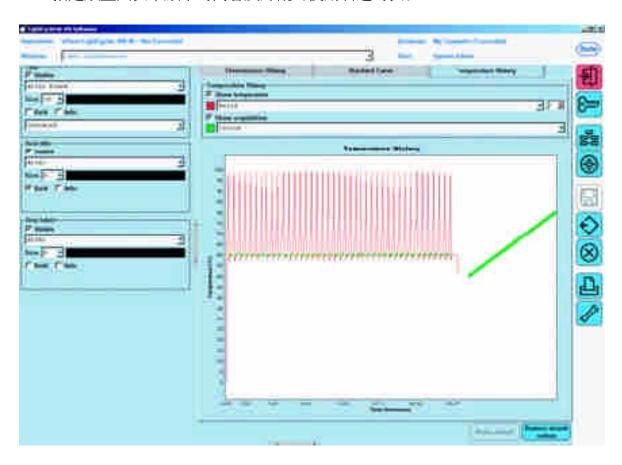
- ▶每種類型選項的使用
- ▶創建數個選項實例,並將其中一個設置為該選項類型的預設值

11.1 使用圖表選項

您的用戶帳戶包含有圖表選項專案,這些專案決定了您的圖表的默認顯示方式及內容。 如果需要,您可以修改圖表的默認設置。

您也可以將一個圖表選項專案修改後的版本使用新名稱加以保存,並將其作爲預設值使用。您可以隨意地創建不同的圖表選項專案,每個專案都可以爲您的圖表定義一種特定的外觀及感覺。如需更多資訊,請參考 "創建一個單獨的選項專案並將其設置爲默認"一節中相關內容。您可以覆蓋單獨的圖表、分析或者試驗當前圖表選項;如需更多資訊,請參考 "覆蓋默認的樣品選項"一節中相關內容。

- ② 當您想取消所做的修改並將其恢復爲初始值時,只需點擊"恢復預設值"即可。
- 如何打開圖表選項專案:
- び LightCycler® 480 基礎軟體的資料管理器中,打開您用戶檔夾下的"選項"子檔夾。
- 雙擊圖表選項。 這時系統在主視窗中為您打開 "圖表選項"視窗。
- 通過 "圖表選項"視窗,您可以定制圖表的如下設置:
 - ▶圖表表頭及標記類型(使用左邊的三個區段)。
 - ▶指定類型圖表中顯示的內容及外觀(使用右邊的表)。



♀ 暴露史表中沒有圖表選項.

11.1.1 設定圖表表頭及標籤類型

使用視窗中如下三個選擇框對圖表表頭及標籤進行修改:

標題設定圖表標題的外觀。

軸標題 設定圖表的 X 軸下方及 Y 軸左方文本外觀。

軸標籤 設定軸上測量値(例如螢光圖表中 X 軸上的時間點)的外觀。

除了標題部分中包括一個有關標題位置的選項外,這三個部分的其他格式選項是一樣的。

如何設定表頭與標籤類型:

選擇或去掉 "視覺化"選擇框以在圖表中包括或去掉這一類型的文本。

2 按如下方式設定文本外觀:

- ▶在第一個選擇框的下拉清單中選擇字體。
- ▶從"大小"選擇框的下拉清單中選擇字型大小,也可以直接輸入一字型大小數值。
- ▶如果您想改變文本顏色,請點擊"大小"選擇框右邊的顏色條以顯示顏色調色板。請從調色板中選擇您需要的顏色,然後點擊 OK。
- ▶如果想要粗體的或斜體的文本,請點擊 "粗體"或 "斜體"選擇框(或同時選擇二者)。
- ► (僅對於標題而言)如果您想對圖表標題進行定位,請在最後一個選擇框的下拉清單中爲其選擇一個位置(左,右或中間)。

3點擊 "一般動作"欄中的 "保存"按鈕以對您的設置進行保存。

11.1.2 設定螢光圖表的內容

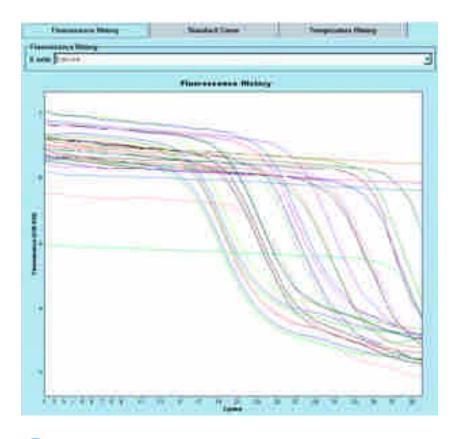
通過圖表視窗的*螢光*表,您可以控制在螢光史表中的*螢光*資料的默認顯示外觀。*螢光*史表顯示於試驗模組的資料表中。

- ▶ 螢光史表的默認軸資料是以螢光強度對時間、迴圈或溫度製圖。
- ▶ "當前*螢光*"欄中的默認通道圖表顯示每種樣品及每個通道在特定採集點的*螢光*強度

兩個圖表均顯示於"運行"模組的"線上資料顯示"表以及"總結"模組的"原始資料"表中。

如何設定螢光圖表資訊:

- ●選擇"螢光"表(如果尚未選擇的話)。
- ②在螢光史表選擇框中,從下拉清單中爲 X 軸選擇一數值。



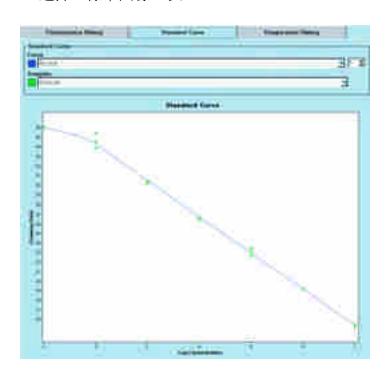
3點擊 "一般動作"欄中的 "保存"按鈕以對您的設置進行保存。

11.1.3 設定標準曲線圖表的外觀

用戶可以通過 "*圖表選項*" 視窗的 "*標準曲線*"表來調整定量分析時的標準曲線圖表的外觀。您可以指定曲線的外觀以及作曲線時所用的樣品點的外觀。

如何設定標準曲線與樣品點的外觀:

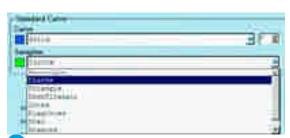
❶選擇"標準曲線"表。



- ❷您可以使用如下方式對曲線的外觀進行修改:
- ▶如要指定線條顏色,請點擊"曲線"下的"顏色選擇"框以顯示顏色調色板,從中選擇一種顏色,然後點擊 OK。
- ▶如要指定線條類型,請從下拉清單中選擇一種類型。
- ▶如要指定線條寬度,輸入或直接選擇線條寬度値。



- 您可以使用如下方式對樣品點的外觀進行修改:
- ▶如要指定點的顏色,請點擊 "樣品"下面的顏色框以顯示顏色調色板,從中選擇一種顏色,然後點擊 OK。
- ▶如要指定點的類型,請從下拉清單中選擇一種類型。



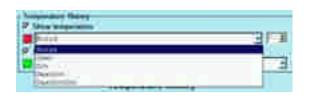
些點擊 "一般動作"欄中的 "保存"按鈕以對您的設置進行保存。

11.1.4 設定溫度圖表的內容與外觀

用戶可以通過 "圖表選項" 視窗中的 "溫度" 表來控制溫度史表(它主要顯示溫度讀數以及螢光採集點)的外觀。該圖表顯示於 "運行試驗方案"表(以 "總述" 為標記)以及 "資料"表中。

如何設定溫度圖表的內容與外觀:

- 選擇 "溫度"表。
- 如果要在其中顯示或/不顯示溫度讀數,選定或去掉 "顯示溫度"框即可。
- 3 該圖表中的溫度線的外觀可通過如下方式進行調整:
- ▶如要指定線條顏色,請點擊 "顯示溫度"下的顏色框以打開顏色調色板,從中選擇一種顏色,然後點擊 OK。
- ▶如要指定*線條類型*,請從下拉清單中選擇一種類型。
- ▶如要指定*線條寬度*,輸入或直接選擇線條寬度值。



- 如果要在其中顯示/不顯示螢光採集點,選定或去掉 "顯示採集點"框即可。
- 5 如何設定圖表中採集點的外觀:
- ▶如要指定點的顏色,請點擊 "*顯示採集點*"下的顏色框以打開顏色調色板,從中選擇一種顏色,然後點擊 *OK*。
 - ▶如要指定點的類型,請從下拉清單中選擇一種類型。



⑤ 點擊 "一般動作"欄中的"保存"按鈕以對您的設置進行保存。

11.1.5 覆蓋默認的圖表選項

某些情況下,您可能需要使用與您在圖表選項專案中設置的預設值不同的圖表、分析或 試驗。您可以在以下幾個層次上對默認設置進行覆蓋:

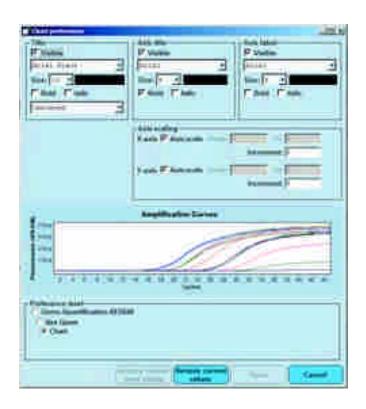
- ▶單個圖表
- ▶某分析中的所有圖表
- ▶某試驗中的所有圖表

當您在這三個層次中任何一個層次中設定了定制設置的話,那麼新的設置將覆蓋同一層次上的圖表的預設值。

如何覆蓋圖表選項:

打開試驗,右鍵點擊您希望修改的圖表。如果您要覆蓋一個分析內的或一個試驗內的 全部選項,可以在分析內或試驗內點擊任意一個圖表。

②選擇圖表選項 打開 "圖表選項"對話方塊,框中包括關於圖表的類型等選項(與上文討論的圖表選項相似)。但是,在此對話方塊中包括多一個關於設定圖表的 X 軸和 Y 軸刻度的選項。



使用選項工作 使用圖表選項

- 3 當進行準備進行任何修改時,您必須首先選定在哪一個層次上進行修改。 在"選項層次"區域,從如下選項中選擇:
 - ▶使用設置的試驗名稱以使當前試驗的所有圖表均使用新設置
- ▶ 使用分析的名稱以使當前分析中的所有圖表均使用新設置(當進行這種選擇時,您必須首先從分析圖表中打開了相應功能表)
 - ▶ 進行*圖表*設置,這時新的設置只用於當前圖表



- 每次只能對一個層次的設置進行保存。這就是說,當您在圖表層次對設置進行了修改,然後又選擇了分析層次做了更多修改然後點擊 "保存",最後將只有分析層次中所做的修改會被保存下來。在高一級層次所做的設置不會覆蓋保存在低一級層次的設置。例如,如果您在圖表層次將某標準曲線標題的顏色修改成了藍色並且保存了設置,然後您又在試驗層次將標題顏色修改成了綠色並保存了設置,這時標準曲線的顏色仍將爲藍色,它不會變成綠色。
- 4 如果需要的話,用戶也可以對圖表*標題*的、*坐標軸標題*的以及*坐標軸標籤*的文本的 顏色設置進行修改。如需更多資訊,請參考 "設定圖表表頭及標籤類型"一節中相關內容。
- 查 在"標題"區段下方的圖表-特異性設置選項框中進行修改。該選項隨著圖表的類型不同而有所不同。某些類型的圖表沒有圖表特異性設置。
- 6 在坐標軸尺度區域,設定 X 軸、Y 軸以及軸標度的增量大小。
- ▶如果您將增加量的值選擇爲 0,則系統將自動決定增加量的值。
- ▶如果您設置的增加幅度太小以至於標籤互相重疊,則系統將忽略您設置的增加幅度值 並自動對其進行設置。
 - 了當您想取消所做的修改並將其恢復爲初始值時,只需點擊 "恢復當前層次值"即可。
- ❸完成後,點擊 "保存"。

覆蓋圖表選項的例子:

- □從 "絕對定量分析"模組中以右鍵點擊擴增曲線圖表並選擇 "圖表選項"。
- ②默認情況下選擇的是圖表層次;去掉"自動→標度"選項,並將標度範圍設置為1至 50,然後對該設置進行保存。
- ③重新打開圖表選項,選擇絕對定量分析層次,去掉 "自動-標度"選項,並將標度範圍設置為 1 至 100,然後對該設置進行保存。結果:現在擴增曲線圖表的標度範圍是 1 至 50。分析模組中所有其他圖表(例如;標準曲線圖表)的標度範圍則為 1 至 100。
- 4重新打開圖表選項(默認情況下的選擇的爲圖表層次),點擊 "取消當前值",然後保存設置。結果:現在擴增曲線圖表的標度範圍是 1 至 100。對圖表層次所做的設置已經被取消,因此使用其上一個層次(分析層次)的設置值。
- 5重新打開圖表選項(默認情況下選擇的是*圖表*層次),並將標度範圍設置爲1至150, 點擊 "恢復當前層次值",然後關閉對話方塊。結果:擴增曲線圖表的標度範圍仍爲1至100,因爲剛才的操作中並未對1至150的設置進行保存。當您點擊 "恢復當前層次值"後,系統就將該值恢復爲您上一次所保存的設置(1至100)。

11.2 使用樣品選項

您可以使用兩種方法調整 LightCycler® 480 基礎軟體圖表中的樣品的線條及點的外觀:

- ▶對所有試驗中的樣品選項進行修改:您可以修改默認樣品選項專案或者創建多個默認項目的版本並且按自身需要隨意使用其中一種。
- ▶覆蓋當前試驗的樣品選項: 您可以覆蓋試驗中的多個樣品的或一個圖表中的單個樣品的選項。

11.2.1 更改所有試驗的樣品選項

您的用戶帳戶中包括有樣品選項專案,它們決定了 LightCycler® 480 基礎軟體圖表中的表示樣品的線條與點的默認名稱與外觀。您可以根據需要對樣品選項專案中的設置進行修改。而且,您還可以保存樣品選項專案的多個版本,並且按自身需要使用它們。

如何修改默認樣品選項:

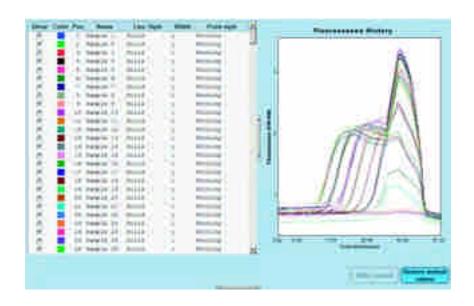
③ *當您按照下面的步驟 3-步驟 8 進行操作時,請記住您可以將一組相鄰的樣品的設置一次性地進行修改。*

如何修改一組樣品的設置:

- ▶ 從您想進行修改的樣品組中選擇第一個樣品並加以選定。
- ▶按住鍵盤的〈Shift〉鍵,然後選定同組中的最後一個樣品的同一選項。
- ▶按下<F2>鍵。
- ▶修改最後一個樣品的設置值,然後點擊〈Return〉鍵。

這樣您所做的修改就應用於所有選定的樣品了。

1 從 LightCycler® 480 基礎軟體的資料管理器中您的用戶文件夾中,打開 "選項"子檔夾,然後雙擊樣品選項。 這時系統將在工作框架為您打開 "樣品選項"視窗。



- 2³如果您想將某個樣品加入到圖表中或從中去除,請點擊 "*顯示*"選擇框中的相應樣品。
- 3如果您想改變某樣品的默認顏色,請點擊樣品列表中樣品名稱旁邊的顏色框以打開顏色調色板,在板中選擇一種顏色,然後點擊 OK。結果:您選擇的顏色將出現在LightCycler® 480 基礎軟體分析結果中樣品名稱的旁邊,而且圖表中的樣品線條與點均以此顏色進行表示了。
- 4 如果您想更改默認樣品名稱,請點擊樣品名稱,然後爲其輸入一個新名稱。這一默認樣品名稱將應用於新的試驗;已有試驗的默認樣品名稱並不因此而改變。
- 5如果您想修改樣品的線條類型,請點擊 "線條類型"列,然後從下拉清單中選擇一種 新的線條類型。

例如,您可以選擇"虛線"從而替換掉實線。



- 如果您想修改樣品線條寬度,請點擊 "寬度"列,並輸入一寬度值。
- 少如果您更喜歡用連續的測量值點來表示出樣品的線條,請點擊 "點模式"列,並從下 拉清單中選擇一種類型。(如果您更喜歡使用實線,則應將 "點模式"設置成 "Nothing"。)
- ⁸點擊 "一般動作"欄中的 "保存"按鈕以對您所做的設置進行保存。

② 當您想取消所做的修改並將其恢復爲初始値時,只需點擊"恢復預設値"即可。11.2.2 覆蓋默認樣品選項

有時您可能只想修改一個試驗或圖表中的樣品外觀,而不想修改所有試驗的默認設置。 或者您可能希望修改某圖表的設置並將其保存為樣品選項專案並且將來可以將其用於 其他試驗。

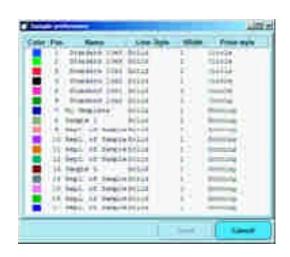
在試驗層次中您可以進下列選項進行選擇:

- ▶使用樣品選項編輯器改變試驗中多個樣品的顯示外觀
- ▶將已有的樣品選項應用到試驗中
- ▶改變單根樣品線條的外觀
- ▶將試驗設置作爲樣品選項專案保存
- ▶清除所作的修改並重新啓用默認樣品選項
- ① 在已有的試驗中,樣品名稱和位置是無法更改的。

如何使用樣品選項編輯器對多個樣品進行修改:

您所做的設置將應用到當前試驗的全部圖表,但這些設置不會影響其他試驗的或默認的 樣品選項設置。這些設置將隨當前試驗一起保存。

- 打開含有您希望修改的樣品的試驗。
- 以滑鼠右鍵點擊含有樣品資訊的試驗圖表。
- 3 選擇 "樣品選項"。
- ⁴⁴對設置進行修改後點擊 "保存"。



- 55 按照您修改默認樣品選項專案的方式對此處的設置進行修改。如需更多資訊,請參考 "修改所有試驗的樣品選項"一節中相關內容。
- 6完成後,點擊 "一般動作"區域的 "保存"按鈕對含有新設置的試驗進行保存。

如何將樣品選項應用於試驗:

樣品選項專案中的樣品選項可以用於單獨的試驗中。

- 打開含有您希望修改的樣品的試驗。
- 以滑鼠右鍵點擊任意一個含有樣品資訊的試驗圖表。
- 3 選擇 "載入樣品選項"。
- 4 從資源管理器中選擇樣品選項專案,然後點擊 "打開",這樣該設置就應用於試驗的 全部圖表了。
- 55完成後,點擊 "一*般動作*"區域的 "保存"按鈕對含有新設置的試驗進行保存。

如何修改單一樣品線條:

- 打開含有您希望修改的樣品的試驗。
- 此時應確保已打開含有您希望修改的線條的圖表。在分析模組中,從樣品列表中選擇樣品以顯示分析圖表中的相應線條。
- 3 將滑鼠指標移動線條上方直至其變成手的形狀後以滑鼠右鍵點擊該線條。這時系統會 爲您打開一含有線條設置選項的對話方塊。



- 4 如何修改線條顏色:
- ▶點擊顏色框後系統爲您打開顏色調色板。
- ▶選擇一種新的顏色,然後點擊 OK。
- 5 如果您想修改線條的類型、寬度及測量標記,請從下拉清單中選擇相應數值。點擊 "保存"。 這樣在當前試驗中所有圖表的相應線條就都被修改了。
- 5點擊 "保存",將含有新的設置的試驗保存下來。

11.3 生成一個單獨的選項專案並將其設爲默認

您可以創建多個圖表或樣品選項專案,並指定其中某專案作為預設值使用。您可以隨時修改默認設置。如果您刪除了所有的選項專案,例如所有圖表選項專案,則軟體會在您下次登錄時爲您創建一個新的默認項目。其設置均爲應用程式初始的默認選項值。

如何創建一個單獨的選項專案並將其設置爲預設值:

- 從 LightCycler® 480 基礎軟體的資料管理器中,打開您用戶檔夾下的"選項"子檔夾。
- ② 爲您需要的選項類型(樣品選項或圖表選項)選擇默認專案並進行複製:流覽到保存位置,爲新選項專案輸入名稱,然後點擊 "保存"。
- 打開選項專案並使用前述章節中的方法對其進行修改。
- 4 如果您想指定該樣品選項爲默認,則應點擊 "*選項編輯器*"框中的 "作爲默認"。
- **②** 您也可以通過用戶選項中的操作來指定默認選項專案。如需更多資訊,請參考"設定用戶選項"一節中的相關內容。

11.4 設定用戶選項

用戶選項主要設定下列內容:

- ▶導入和導出 LightCycler® 480 基礎軟體檔時的默認檔夾。
- ▶保存 LightCycler® 480 基礎軟體專案(例如:試驗、巨集和查詢等)的默認資料庫檔夾。
 - ▶當選項有多個版本可供使用時,請指定將哪一個圖表選項或樣品選項作爲默認。

如何設定用戶選項:

- 世從 LightCycler® 480 基礎軟體的資料管理器中您的用戶文件夾中,打開"選項"子檔夾,然後雙擊 "用戶選項"。
- ²如果需要指定導入/導出檔夾,則應選擇 "檔夾"表(如果當前尚未選定的話)。在資源管理器的在每個框中輸入相應檔夾位置的路徑或者直接點擊 按鈕並流覽到電腦或網路上的相應位置,然後點擊 OK



3 如果您要指定默認檔夾,請選擇 "檔夾"表。在資源管理器的每個框中輸入相應檔夾位置的路徑或者直接點擊 "流覽"按鈕並流覽到電腦或網路上的相應位置。選擇您需要的檔夾,然後點擊 OK。



⁴⁴如果您想指定某選項作爲默認,請選擇 "*選項*"表。

在每個框中,選擇選項專案並將其指定爲該選項類型的默認。



- 5。完成後,點擊 "一般動作"區域的 "保存"按鈕對含有新設置的試驗進行保存。
- ②當下一次您打開某試驗時,使用的就是這些新設置了。

12. 管理工具

您可以通過"工具"對話方塊使用管理工具。通過這些工具,您可以執行以下操作:

- ▶管理用戶訪問,包括管理用戶密碼、用戶與用戶組帳戶以及一般性系統設置。
- ▶對報告的設置進行定義
- ▶查看資料庫狀態及管理資料庫
- ▶管理與LightCycler® 480 儀器連接時的設置及查看操作日誌
- ▶定義檢測格式
- 對管理工具模組的訪問許可權決定於您的用戶角色。

點擊 Z 按鈕以打開 "工具"對話方塊。在工具對話方塊架的左側有一資源管理器,其中列出了可供選擇的操作,右側則為一編輯器。

12.1 管理用戶訪問

如果想使用 LightCycler® 480 基礎軟體,您必須在 LightCycler® 480 基礎軟體的資料庫中擁有一個用戶帳戶。不同的用戶帳戶所擁有的對軟體的訪問許可權是不同的,它決定于管理員所賦與某帳戶及其所屬用戶組的角色。

本節內容爲您解釋用戶帳戶,角色及組的功能,並爲您解釋如果使用 LightCycler® 480 基礎軟體的用戶管理工具對其進行管理。本節還將爲您解釋如果更改用戶密碼。如果您負責創建和修改用戶帳戶,或者您希望理解您帳戶所具有的特權時,請詳細閱讀本節內容。如果您需要更改密碼,請閱讀本節中關於密碼的內容。

如果要使用戶訪問工具,則您自己的用戶帳戶必須具有本地管理員角色。

12.1.1 關於用戶帳戶

只有當您擁有用戶帳戶時,您才可以訪問 LightCycler® 480 基礎軟體。用戶帳戶指定了用戶登錄時的用戶名和密碼,並定義用戶對軟體訪問時的許可權層次。

當您創建一個新的用戶帳戶時,您必須賦與它一定角色。角色決定了用戶使用該軟體時可以使用的操作。如需更多資訊,請參考"關於角色"一節中相關內容。您可以將同一個用戶帳戶加入到一個或多個用戶組中。同一組中的用戶可以訪問屬於該組成員的全部物件。如需更多資訊,請參考"關於角色"一節中相關內容。

每個用戶帳戶均在 LightCycler® 480 基礎軟體的資源管理器中擁有一個以用戶完整登錄名爲標記的默認檔夾,檔夾下通常還有幾個默認的子檔夾。

用戶的默認檔夾和子檔夾是無法被刪除、重新命名或改變位置的。但是,每個用戶可以在自己的默認檔夾下添加新的子檔夾。

當 LightCycler® 480 基礎軟體安裝時,系統會自動創建一個稱為"admin"(系統管理員)的用戶帳戶。 用戶 admin 擁有本地管理員角色,並可以用來創建其他用戶帳戶。 您無法對 admin 帳戶進行編輯或禁用之。當用戶帳戶被創建後,它就即不能被編輯,也不能被刪除了。但是本地管理員擁有是否將某用戶帳戶失活的許可權。失活的用戶不再擁有任何角色,也不能被分配到用戶組中。

12.1.2 關於網

組是多個用戶帳戶的集合。 同一個組中的成員可以訪問屬於該組任何成員的所有物件。例如,組中的成員可以打開同一組中另一位成員的任何一個試驗。

同一個用戶可以屬於一個或多個組。如果兩個用戶隸屬於同一個組(不管他們在其他組中關係如何),那麼其中一個用戶就可以訪問另一個用戶的物件。例如,如果用戶鮑勃屬於 A 組和 B 組,而用戶蘇珊屬於 B 組和 C 組,那麼因爲鮑勃和蘇珊都屬於 B 組,因而他們可以互相訪問對方的物件。一位元用戶能夠訪問另一位元物件的層次則決定于本地管理員賦與該用戶的角色。如需關於用戶角色的更多資訊,請參考下一節的相關內容。

12.1.3 關於角色

每個用戶帳戶均擁有且只擁有一種角色,而用戶的角色決定了用戶的特權。在LightCycler® 480基礎軟體中,一共有三類角色。

- ▶高級用戶
- ▶本地管理員

角色是無法創建或刪除的,但對於每種角色而言,其中的一些訪問特權可以進行啓用或者禁用。如需更多資訊,請參考"使用角色工作"一節中相關內容。

在LightCycler® 480基礎軟體中,可以擁有多位高級用戶和多位本地管理員。

12.1.4 高級用戶角色的特權

高級用戶可以進行如下操作:

- ▶修改他們的密碼
- ▶使用"運行編程模組"以創建和執行試驗(包括如下項目):
- ▶使用樣品編輯器,屬性編輯器,以及屬性查看器
- 使用子功能表編輯器
- 對某試驗添加分析並對所有分析的設置進行編輯
- 創建和使用範本
- ▶ 創建其他所有的物件及打開、複製、運行、修改及移動任何物件;對於試驗而言,這包括了修改樣品資訊、樣品計數(運行開始前)、爲試驗添加分析,向分析中添加或從分析中去除樣品,使用分析工具欄以改變分析設置中的任何項目
- ▶在擁有本地管理員授權的情況下,還可以刪除物件及非默認檔夾(僅當檔夾中不含任何物件時才可以進行此操作)
- ▶對非默認檔夾及對象進行重新命名
- ▶打開、複製和執行本地管理員的物件
- ▶打開、複製和執行同一組中高級用戶的物件
- ▶在羅氏檔夾中查看和複製專案
- ▶創建和執行查詢
- ▶修改選項設置
- ▶當擁有管理權授權是時,可管理檢測格式
- ▶訪問儀器工具及添加儀器

高級用戶無權進行如下操作:

- ▶對本地管理員或其他高級的物件進行創建、刪除、移動、修改或重新命名等
- ▶查看非同一組的高級用戶的檔夾或物件
- ▶對試驗物件(包括高級用戶自己的試驗物件)進行複製、刪除或重新命名
- ▶對默認檔夾(包括高級用戶自己的默認檔夾)進行刪除、移動、複製或重新命名

12.1.5 本地管理員的特權

本地管理員可以進行如下操作:

- ▶使用運行編程模組以創建和執行試驗
- ▶創建和使用已有的範本和巨集以執行試驗及分析結果
- ▶ 創建所有其他對象及打開、複製、執行、修改、刪除及移動他們的對象(修改權包括修改樣品資訊、爲試驗添加分析、使用分析工具欄以改變任何分析設置)
- ▶打開、執行和複製屬於其他本地管理員的專案
- ▶打開羅氏檔夾中的專案
- ▶ 創建系統檔夾,此類檔夾歸本地管理員所有,但所有的用戶均可閱讀其內容
- ▶創建、打開、複製、執行、修改、刪除或移動屬於高級用戶的檔夾中的物件
- ▶使用用戶訪問工具以管理用戶及組;如需更多資訊,請參考 "管理用戶、組和角色" 一節中相關內容。
- ▶維護資料庫(升級、重新索引和清空)
- ▶爲角色啓動下列訪問特權:
 - ▶對於羅氏用戶:使之有權訪問屬於本地管理員的物件
 - ▶ 爲高級用戶:使之有權刪除用戶的非可追蹤的物件及編輯檢測格式

本地管理員無權進行如下操作:

- ▶修改或移動羅氏檔夾中的物件
- ▶ 移動、刪除或修改其他本地管理員的物件;例如,一位元本地管理員無權將物件複製到另一位元本地管理員的檔夾中。
- ▶對默認檔夾(包括本地管理員自己的默認檔夾)進行刪除、移動、複製或重新命名

12.1.6 用戶訪問物件

對 LightCycler® 480 資料庫中的物件(試驗,檔夾,範本,選項)等的訪問許可權是由用戶角色所決定的。對每種物件的訪問都是由特定類型的允許權規定的。下表中列出了用戶對資料庫物件的訪問許可權:

對於試驗而言,總共有四種允許權:

- ▶閱讀─查看資源管理器中的試驗,打開試驗,將試驗導出爲文件
- ▶移動─將試驗從─個檔夾移動到另─個檔夾
- ▶修改一對試驗進行改動
- ▶運行--在儀器上運行試驗

所有者	用戶類型	許可權
本地管理員+ 高級用戶	試驗擁有者	閱讀,移動,修改,運行
本地管理員	同一組中的管理員	閱讀
	不同一組的管理員	閱讀
	同一組中的高級用戶	閱讀
	不在同一組中的高級用戶	閱讀
高級用戶	同一組中的管理員	閱讀,移動,修改,運行
	不同一組的管理員	閱讀,移動,修改,運行
	同一組中的高級用戶	閱讀
	不同組中的高級用戶	無

對於檔夾而言,總共有六種允許權:

- ▶閱讀—在資源管理器中查看檔夾及其內容
- ▶刪除─刪除空的檔夾
- ▶複製—從另一個位置中複製某檔夾(複製檔夾結構但並不複製其物件)
- ▶ 寫入—在檔夾中保存—個新的物件或者創建子檔夾
- ▶移動─將檔夾從─個位置移動到另─個位置
- ▶重新命名—改變檔夾的名稱

所有者	用戶類型	許可權
本地管理員+ 高級用戶	文件夾所有者	閱讀,刪除,複製,寫入,移動, 重新命名
本地管理員	同一組中的管理員	閱讀,刪除,複製
	不同一組的管理員	閱讀,刪除,複製
	同一組中的高級用戶	閱讀,複製
	不同組中的高級用戶	閱讀,複製
高級用戶	同一組中的管理員	閱讀,刪除,複製,寫入,移動, 重新命名
	不同組的管理員	閱讀,刪除,複製,寫入,移動, 重新命名
	同一組中的高級用戶	閱讀,複製
	不同組中的高級用戶	無

對於**範本**而言,總共有六種允許權:

- ▶閱讀─在資源管理器中查看和打開物件,運用到試驗,以及導出
- ▶編輯—只能打開和編輯注解及範本類型
- ▶刪除—刪除範本
- ▶複製一對範本進行複製並將其保存在指定位置
- ▶移動一將檔夾從一個位置移動到另一個位置
- ▶重新命名—改變檔夾的名稱

所有者	用戶類型	許可權
本地管理員+ 高級用戶	範本所有者	閱讀,編輯,刪除,複製,移動, 重新命名
本地管理員	同一組中的管理員	閱讀,刪除,複製
	不同一組的管理員	閱讀,刪除,複製
	同一組中的高級用戶	閱讀,複製
	不同組中的高級用戶	閱讀,複製
高級用戶	同一組中的管理員	閱讀,編輯,刪除,複製,移動, 重新命名
	不同組的管理員	閱讀,編輯,刪除,複製,移動, 重新命名
	同一組中的高級用戶	閱讀,複製

對於選項而言,總共有五種允許權:

- ▶ 閱讀—在資源管理器中進行查看
- ▶ 編輯一在資源管理器中打開和編輯
- ▶ 刪除─刪除選項
- ▶ 複製一對選項進行複製並將其保存在指定位置
- ▶ 移動一將選項從一個高一級檔夾中移動到另一個高一級檔夾

所有者	用戶類型	許可權
本地管理員+ 高級用戶	選項所有者	閱讀,編輯,刪除,複製,移動,
本地管理員	同一組中的管理員	閱讀,刪除,複製
	不同組的管理員	閱讀,刪除,複製
	同一組中的高級用戶	閱讀,複製
	不同組中的高級用戶	閱讀,複製
高級用戶	同一組中的管理員	閱讀,編輯,刪除,複製,移動,
	不同組的管理員	閱讀,編輯,刪除,複製,移動,
	同一組中的高級用戶	無
	不同組中的高級用戶	無

12.1.7 管理用戶、組和角色

通過用戶訪問工具,您可以執行以下操作:

- ▶對用戶帳戶進行創建,修改,啓用或禁用等操作
- ▶爲用戶帳戶賦權或改變其可用許可權(您無法創建、修改或刪除角色)
- ▶創建或刪除用戶組並將用戶分配到某組

如果要使用戶訪問工具,則您必須擁有本地管理員角色。

如何打開用戶訪問工具:

- ▶從 "工具" 資源管理器中,打開 "用戶訪問" 及 "用戶和組"。
- ▶ "用戶"表是按默認設置選定的。

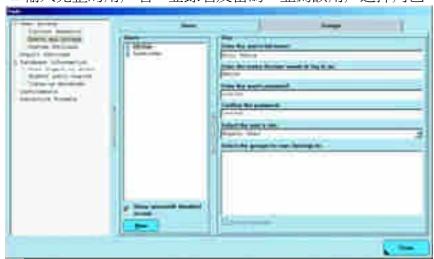
使用用戶工作

● 當您使用的是可追蹤的(即帶審計尾跡的)資料庫進行工作時,則用戶帳戶不能 被刪除,只能被禁用。另外,用戶的完整名稱,登錄名稱和角色也是無法改變的。

(1) 作爲上述步驟的替代方法,您可以直接在資源管理器中雙擊用戶物件以訪問用戶 視窗。

如何創建新的用戶帳戶:

- □在 "用戶訪問工具"中,點擊 "用戶和組"。選擇 "用戶"表(如果尚未選擇的話)。
- **2**點擊 "新建"。
- 動輸入完整的用戶名,登錄名及密碼,並爲該用戶選擇角色。

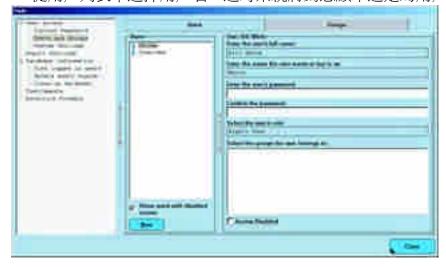


- 4 在已有的組中爲該用戶選擇一個組。如果尚未創建任何組,則您可以在創建組時再將 用戶加入到組中。
- 5點擊 "用戶"列表中的用戶名以確認您輸入的內容。

結果:在資源管理器中生成該新用戶的默認文件夾,而用戶名稱也加入到資源管理器的 \管理\用戶文件夾中的用戶列表裏。

如何編輯、啓用或禁用某用戶帳戶

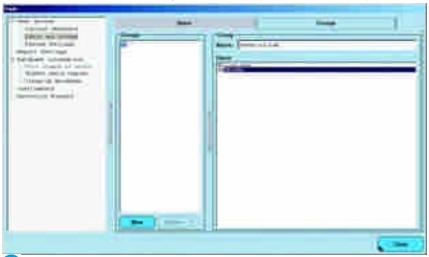
- ●在"用戶訪問工具"中,點擊"用戶和組"。選擇"用戶"表(如果尚未選擇的話)。
- 從用戶列表中選擇用戶名。這時系統將爲您顯示選定的用戶的資訊。



- ▶ 3 這些資訊中您可進行改變的內容僅限於用戶的密碼和組員資格。
- ► 4如果您想禁用該用戶帳戶,則應選擇 "禁止訪問"選擇框;如果想重新啟動某禁用的帳戶,將 "禁止訪問"選擇框去掉即可。 需要注意的是您無法禁用系統管理員帳戶。
- 5 完成後,點擊 "關閉"。

如何創建一個新的組:

- 當您使用的是可追蹤的(即帶審計尾跡的)資料庫進行工作時,則用戶帳戶不能被 刪除,只能被禁用。另外,用戶的完整名稱,登錄名稱和角色也是無法改變的。
- 作爲上述步驟的替代方法,您可以直接在資源管理器中雙擊組物件以訪問組的視窗。
- ①在"用戶訪問工具"中,點擊"用戶和組"。選擇"組"。(如果尚未選擇的話)。



- 2 點擊 "新建"。
- **3**在 "組的名稱"框中爲組輸入一個名稱。
- 如果要在組中添加用戶,首先點擊您希望添加的用戶。



- **③** 您也可以在創建組時不添加任何用戶。
- 5點擊 "組"列表中的空白組的圖示以確認您的操作。
- 69 如果您沒有在組中添加任何用戶,則系統會問您是否保存沒有用戶的組。點擊 Yes。



結果:系統將在資源管理器的"組"檔夾中添加這個組。

如何對組進行編輯:

- ①在"用戶訪問工具"中,點擊"用戶和組"。選擇"用戶"表(如果尚未選擇的話)。
- 2 從組的列表中選擇組名。
- **3** 更改組的名稱或將某些用戶加入組中或從組中去除。您也可以在編輯用戶帳戶時將用戶指定到某組中。如需更多資訊,請參考"管理用戶,組和角色"一節中相關內容。
- 在 "組"列表中點擊組名以確認您所做的修改。

如何對組進行刪除:

- ①在 "用戶訪問工具"中,點擊 "用戶和組"。選擇 "用戶"表(如果尚未選擇的話)。
- ②從組的列表中選擇組名。
- 3 點擊 "*刪除"。*
- 44 這時系統會出現提示資訊請您確認對該組的刪除。點擊 Yes。



結果:系統將在資源管理器的"組"檔夾中刪除這個組。

12.1.8 使用角色工作

您無法對角色進行創建或刪除,您也無法修改指定給一位用戶的角色。您可以修改與高級用戶及羅氏用戶角色相關聯的訪問許可權,也無法修改本地管理員角色的訪問許可權。您還可以設定用戶自動登出之前的無活動時間(即該用戶帳戶多長時間無活動後系統自動將其登出)以及用戶輸入錯誤密碼後其訪問被禁用之前的最大登錄嘗試次數。

如何設定訪問條件及修改用戶的訪問許可權:

□在 "用戶訪問工具"中,點擊 "系統設置"。這時系統將在編輯框中為您顯示可用的選項:



以下是供您選擇的項目:

27 1 在 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	
名稱	描述
允許自動登出	當選定該選項時,系統將在設定的無活 動時間到達後自動使該用戶登出。
無活動時間	無活動的時間値(1-100分鐘),當指定時間到達後,系統將會對用戶進行自動登出。
禁用訪問	當選定該項時,則用戶在進行最大次數 嘗試登錄並失敗後,該用戶帳戶將被 DISABLE。
最大登錄嘗試次數	設定最大登錄嘗試次數(1-5次),如果 某用戶使用該用戶名在進行最大次數 的嘗試後仍未能成功登錄,則會使該用 戶自動登出。
啓用密碼效期	當選定該選項時,則密碼會在指定的天 數後失效。
密碼效期	指定密碼失效的天數(可在1 - 100000 天之間選擇)。
羅氏用戶可以訪問 本地管理員的物件	當選定該項時,則羅氏用戶被授予訪問本地管理員的物件的許可權。
羅氏用戶可以訪問 高級用戶的物件	當選定該項時,則羅氏用戶被授予訪問高級用戶的物件的許可權。
高級用戶可以刪除 自己的項目	當選定該項時,則高級用戶有權刪除他們自己的對象。
高級用戶可以編輯 檢測格式	當選定該項時,則高級用戶有權編輯檢 測格式。

選擇或去掉某些可用的操作。

管理工具 管理用戶訪問

完成後,點擊 "關閉"。

12.1.9 修改您的密碼

當您被授予 LightCycler® 480 基礎軟體的用戶帳戶後,您將得到一個初始密碼,該密碼供您在第一次登錄 LightCycler® 480 基礎軟體時使用(當您第一次登錄到軟體後,系統將提示您修改您的初始密碼)。您可以在任何時候修改您的密碼。

如何修改您的密碼:

- ▶在 "用戶訪問" 工具中,選擇 "當前密碼"。
- ▶在"舊密碼"區域輸入您的當前密碼。
- ▶在 "新密碼" 區域輸入新的密碼,並在 "確認密碼" 區域再次輸入您的新密碼。
- ▶點擊 OK。
- ⑨ 當您在"新密碼"區域和"確認密碼"區域輸入的密碼不同時,則 OK 按鍵不會被 啟動。
- ☑ 密碼應包含至少六位元字元,其中至少一個字元必須是數位,另外至少一個字元必須是大寫的。密碼是區分大小寫的!請牢記密碼並將其記錄在一個安全的地方!請勿 與他人共用您的密碼!

12.2 報告的設置

您可以設定是否在報告上顯示羅氏的標識。

12.3 資料庫資訊

通過"資料庫資訊"視窗您可以進行以下操作:

- ▶顯示登錄當前資料庫的用戶
- ▶顯示資料庫引擎的狀態;如果引擎過期的話,則您可以對其進行升級
- ▶進行批量導出操作,並選擇性地刪除導出的物件

表	用途
查看登錄的 用戶	爲您顯示當前已經登錄到軟體的用戶的列表。
升級查詢引 擎	為您顯示資料庫查詢引擎的狀態。如果系統要求您 升級資料庫時,"升級"按鈕就會自動啓動。 當您將LightCycler® 480 基礎軟體升級到新版 本後,可能需要對資料庫進行升級。重新索引按鈕: 當資料庫的容量增加後,則您的訪問資料所需要的 時間也會有所增加。請使用重新索引功能以使您資 料庫中的資料保存最佳的組織方式,這樣可以儘量 減少您訪問資料時所需要等待的時間。
清空資料庫	爲您提供生成一個資料庫的空白拷貝的操作。當您需要創建一個與當前資料庫有相同的結構(即:用戶、組及檔夾等)及基本內容的新資料庫時,這一操作將非常有用。 ② 資料庫的清空操作與批量導出是相似的,二者的不同點在於在進行清空操作時,相應資料庫中的多個物件不僅被導出,而且將被刪除。

②儘管高級用戶和本地管理員都可以訪問已登錄用戶和查詢引擎,但只有本地管理員可以訪問"清空"操作。

如何清空資料庫:

U 關閉 LightCycler® 480 基礎軟體及 Exor4∘右鍵點擊 Windows 工具欄中的 Exor 圖示,然後點擊 "關閉",即可將 Exor 關閉。

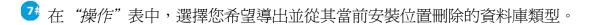


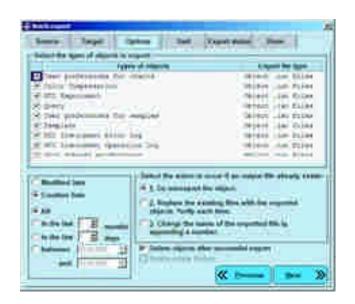
- ② 在 Windows 流覽器中,打開資料庫所在的目錄(C: \Program Files\Roche\Exor4\Data) 並複製LightCycler® 480DMS_T. IB file 文件。
- 郵 再次啟動 Exor4 和 LightCycler® 480 基礎軟體。
- 4 打開 "工具" 視窗,選擇 "資料庫資訊" 及 "清空" 選項。 結果:系統將爲您打開"清空" 嚮導。
- 5 首先選擇(將要清空的原始檔案夾)。如果您希望清空整個資料庫,清點擊 "根目錄"。點擊 "掃描子檔夾"選擇框,這樣所有的子檔夾都將全部將包括在操作內。



6 點擊您希望將資料庫物件導出的目標目錄。







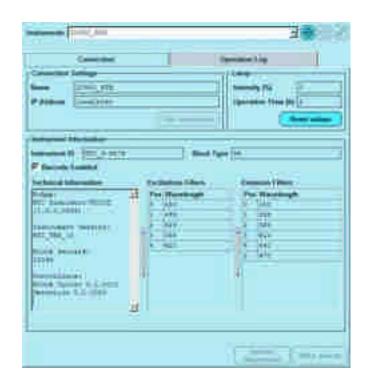
所有其他的操作與 "批量導出" 大師中的是一樣的。(如需詳細資訊,請參考位於 "導出與導入檔和物件"章節中 "同時導出多個試驗檔"一節中相關內容。

- 根據大師的提示繼續向下進行直到完成資料庫的清空。
- 🥯 再次關閉 LightCycler® 480 基礎軟體及 Exor4。
- ──使用 *"CompactIB"* 工具以壓縮資料庫並恢復磁碟空間。從 Windows 啓動功能表中的 羅氏程式組中選中該工具並啟動之。



12.4 儀器

通過 "儀器" 視窗您可以查看當前啟動的儀器並可以更換啟動的儀器。



"儀器" 視窗有如下控制元素及輸入區域:

▶ "連接"表

名稱	描述
儀器	選擇儀器以進行查看
設爲預設値	將選定的儀器設定爲活動的儀器
升級信息	閱讀儀器的資訊及對儀器升級的資訊
新建・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	新建一個儀器物件並且在連接設置區域進行 啓動。
刪除回	(非活動性)您無法刪除儀器物件。
編輯	(非活動性) 您無法對儀器物件進行編輯。
儀器資訊	顯示如下儀器資訊:
	儀器識別字與熱迴圈器類型
	版本資訊
	激發與發射濾光器

图默認情況下,在LightCycler® 480 基礎軟體中安裝有兩個虛擬的LightCycler® 480 儀器 (96 版本或 384 版本)。只有安裝虛擬的LightCycler® 480 儀器後,您才可以在LightCycler® 480 基礎軟體離線的情況下對其進行操作,因爲只有當LightCycler® 480 基礎軟體中安裝有儀器時您才可以對其進行編程。如果物理儀器並未連接,而您需要對一個試驗進行編程時,則應在儀器對話方塊中選擇兩種虛擬儀器中的一種並將其設爲默認儀器。如需相關細節,請參考以下"儀器"一節中的相關內容。

▶連接設置區域

名稱	描述
儀器名稱	當前選擇的儀器的名稱
地址	IP 位址或選定的儀器的名稱
測試連接	打開與選定的儀器已有的連接

▶儀器資訊區域

名稱	描述
儀器識別字	所連接的儀器的序列號
熱迴圈器類型	在已連接的儀器中安裝的熱迴圈器類型(96
	或 384)
可用條碼	允許使用內置的條碼掃描器以讀取多孔板的
	識別字。
	¶ 只有當儀器中已安裝了 LightCycler®
	480 的實驗室資訊管理系統/條碼模組並且已
	經使用購買的授權鑰匙啓動後才可以使用此
	選擇項。
技術資訊	當前儀器固件的版本
激發濾光器	在當前儀器中可供使用的激發濾光器的列表
發射濾光器	在當前儀器中可供使用的發射濾光器的列表

▶ 氚氣燈區域

名稱	描述
燈亮度	從儀器中讀出的以百分數表示的燈的亮度
操作時間	從儀器中讀出的氙氣燈已工作的總時間(以
	小時表示)
重新設置數值	將燈亮度設置爲其初始值,並將操作時間設
	置爲0。
	僅當您更換氙氣燈時才允許通過"重
	新設置計數器"按鈕將這些數值進行重新設
	定(如需詳細資訊,請參考"更換氙氣燈"
	一節中相關內容)。計數器經重新設置後,
	儀器將讀取和保存燈亮度作爲開始時亮度
	值。在操作過程中,儀器會將此值與實際燈
	亮度值進行比較以確認燈亮度丟失值。當燈
	亮度達到其開始時亮度的 50%時,儀器會將此
	資訊通知您。如果您沒有對儀器更換新燈而
	直接按下了"重新設置數值"按鈕,則可以
	會導致儀器保存一個錯誤的開始時亮度值。

▶操作日誌

如何查看操作日誌:

- □ 在 "工具" 視窗的 "儀器" 區段中從 "儀器" 列表中選擇儀器名稱。
- ❷選擇"操作日誌"表。
- 3 在 "操作日誌"中將爲您顯示該儀器中運行列表。日誌中將顯示每次運行的基本資訊,例如運行的名稱、用戶、日期以及樣品數量(96 或 384)。



12.4.1 定義儀器

如果您想對LightCycler® 480 儀器進行定義,請按照如下步驟進行操作:

- ❶ 點擊❷按鈕以打開"工具"對話方塊。
- ❷從 "工具"對話方塊的 "資源管理器"中選擇 "儀器"。
- ○
 当點擊儀器選項旁邊的加號
 ●
 。
- 🤩 爲 LightCycler® 480 儀器輸入一個名稱然後點擊 OK。
- ⁵在 *"連接"*表中輸入 IP 位址 *"192. 168. 95. 41" 。*
- 🏮 (可選) 點擊 *"測試連接"* 以對該 IP 位址進行測試。
- ▽點擊 "升級"信息。
- 點擊 "設為默認"以將該儀器設置為您的默認儀器。
- 野點擊 "關閉"。

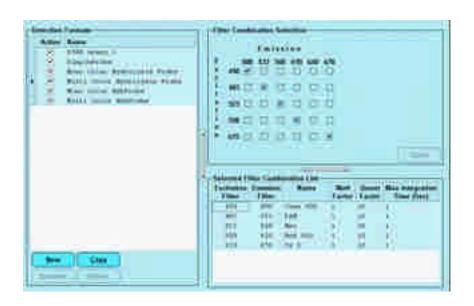
12.5 檢測格式

檢測格式定義一個或多個激發-發射濾光器組合。您可以通過 "檢測格式"表以定義檢測格式並且指定哪種檢測格式是啟動的(即:在試驗中可供選擇的)。當對一個新的試驗進行編程時,您可以從已經定義好的 "檢測格式"表中選擇運行中將使用的檢測格式。如果某檢測格式中包括一止不一種濾光器對,您可以使用 "定制"選項以決定在運行中運用哪種組合方式(如需詳細資訊,請參考 "試驗的編輯與運行"一節中相關內容。

以下是可用的默認檢測格式:

檢測格式	濾光器組合名稱	激 發 濾 光 器	發射濾光器
SYBR Green I	SYBR Green I	483	533
SimpleProbe 探針	SimpleProbe 探 針	483	533
單色水解探針	FAM	483	533
多色水解探針	Cyan 500	450	500
	FAM	483	533
	Hex	523	568
	Red 610	558	610
	Cy5	615	670
單色 HybProbe 探針	Red 640	483	640
多色 HybProbe 探針	Fluos	483	533
	Red 610	483	610
	Red 640	483	640
	Cy5	483	670

"檢測格式"表中包括"檢測格式"列表、"濾光器組合選擇"區域、以及"濾光器 組合列表"。



您可以通過"檢測格式"列表來管理檢測格式。它具有以下管理功能:

名稱	用途
啓動	選擇 "啓動"可以使用軟體中相應行中的檢測格 式處於可用的狀態。
名稱	點擊某檢測格式的名稱條目後您就可以對其名稱 進行修改。
新的	啓動 "檢測格式"列表下一個可用行以輸入新名稱和新的格式。
複製	複製選定的檢測格式。
重新命名	啓動當前選擇的檢測格式名稱以對其重新命名。
刪除	刪除當前選定的檢測格式。

② 在"檢測格式"列表中以陰影表示的檢測格式無法進行編輯(例如:所有羅氏的 默認檢測格式)。

對於"檢測格式列表"中被選定的檢測格式而言,"濾光器組合"選擇區域中將顯示發射和激發濾光器的名稱,在每一種可能的組合旁邊還有一選擇框。點擊發射-激發組合選擇框,以將其包括在當前選擇的檢測格式中。

③ 有效的(即可選擇的)濾光器組合指那些發射波長減去激發波長大於或等於 40 的組合。

關於選定的發射-激發濾光器組合的細節顯示於 "濾光器組合" 選擇區域下方的 "選定的濾光器組合列表"中:

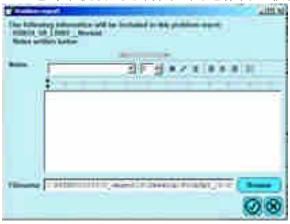
名稱	描述
激發濾光器	顯示激發濾光器值
發射濾光器	顯示發射濾光器值
名稱	爲濾光器對(即發射濾光器與激發濾光器)輸入一個名稱
溶解係數	用選定的濾光器對進行溶解分析時所使用的係數 (當在 "定制檢測格式"對話方塊中選擇的是動 態整合時間模式時)。
定量係數	當使用選定的濾光器對進行定量分析時所使用的係數。定量係數代表從初始背景螢光強度到平臺期的 FOLD SIGNAL STROKE (當在"定制檢測格式"對話方塊中選擇的是動態整合時間模式時)。
最大整合時間	當您在"定制檢測格式"對話方塊中選擇的是動態整合時間模式時可用於該選定的濾光器對的最大的整合時間。(如需更多資訊,請參考"運行試驗"一節中相關內容。

13. 診斷工具

LightCycler® 480 基礎軟體中使用 "儀器問題報告"作爲診斷工具,從而監控和報告 LightCycler® 480 儀器的運行情況。當儀器出現問題時,您可以導出一份 "儀器問題報告" (檔案名爲*.ipr) 並將其遞交給您的(技術)支援代表。 "儀器問題報告"中包含有一份錯誤日誌、一份操作日誌以及產生該試驗資料的源試驗的相關資訊。

如何導出儀器問題報告:

- び "資源管理器"視窗中選擇一試驗物件。
- ² 在 *"資源管理器"* 的 *"動作"* 欄中,點擊 *"問題報告"* 按鈕。
- [⋘] 這時系統將為您打開*"問題報告"*視窗。



- 4 在 "注解" 區域內輸入描述該問題的其他注解性文字。
- 5 在"檔案名稱"區域中會列出默認的檔保存位置及檔案名稱。如果您不想使用默認的檔保存位置或名稱,請點擊"流覽"。
- 6 輸入完畢(新的檔保存位置和檔案名稱)後,點擊 OK 按鈕並將問題報告保存爲*. ipr 文件。

14. LightCycler® 480 的基礎軟體的安裝與維護

LightCycler® 480 基礎軟體包括應用程式、一個資料庫以及一個資料庫物件伺服器(稱為"Exor4",它將在軟體使用過程中與資料庫進行通信)。請按照如下所示的步驟將LightCycler® 480 基礎軟體安裝到您的電腦中。

③ 在安裝完整的 LightCycler® 480 系統的過程中,通常由一個羅氏服務工程師爲您安裝 LightCycler® 480 基礎軟體。

本節將對下列主題進行詳細說明:

- ▶安裝 LightCycler® 480 的基礎軟體。
- ▶保存已有的資料庫並安裝新的資料庫。
- ▶刪除 LightCycler® 480 基礎軟體。
- ▶FLELightCycler® 480Net 授權文件管理工具的使用
- 如果要運行 LightCycler® 480 基礎軟體,則您必須首先從安裝的羅氏應用科學中獲取一個有效的軟體用戶授權檔。通常情況下,該授權檔是由羅氏專家在安裝完整的 LightCycler® 480 系統過程中爲您獲取的。如果當前情況下不能由羅氏專家爲您進行軟體的安裝,則請按照以下步驟執行以獲取授權檔。
- (1)確認您資料工作站的 MAC 位址(也可使用物理位址或乙太網位址)。
- ▶打開 Windows "開始" 功能表並選擇"運行"。
- ▶ 在 "打開" 區域輸入 "cmd"。 按下鍵盤的回車鍵 "Enter"。
- ▶這時系統爲您打開 "Windows 控制臺"視窗。請在提示符後輸入命令 "ipconfig /all",然後按下鍵盤的回車鍵 "Enter"。
- (2)將 MAC 號與您的軟體授權證書號碼(與軟體安裝盤一起發給您)一起遞交給當地 的羅氏辦公室。
- (3) 您本地的羅氏辦公室將會生成一個軟體授權檔並通過電子郵件郵寄給您。
- (4)打開您的電子郵件,將郵件以純文字檔案(只有文本的檔)的格式保存到以下位置: %programfiles%\Roche\Roche\Roche\M\files。為該檔指定一個有相應意義的名稱,名稱需以.lic 為副檔名。這是因爲只有以.lic 為副檔名的文件才能被授權檔管理工具軟體所識別!
- ② %programfiles%是 Windows XP 作業系統的環境變數,它代表該應用程式的默認安裝路徑的位置。該安裝路徑的實際名稱決定於您的 Windows XP Professional 作業系統安裝時所採用的語言版本。如果您想確認安裝路徑的名稱,請在"cmd"提示符後輸入"echo %programfiles%",之後系統便會爲您返回安裝路徑的位置(例如:對於英文版 Windows XP 作業系統,在標準安裝模式下,其返回的路徑應爲"C:\Program Files")。

14.1 初始啓動步驟

如果您第一次安裝 LightCycler® 480 基礎軟體時要將其安裝在一台與 LightCycler® 480 儀器一起提供給您的已經過認證的電腦,則請按以下步驟進行安裝:

- ❶ 按照 "安裝 LightCycler® 480 儀器"一章中的描述安裝 LightCycler® 480 儀器。
- 🤒 啟動您的電腦直到出現密碼視窗。
- 翰入登錄名與密碼;
- ▶登錄名:lcinstall ▶密碼: LCinstall

點擊 OK。

- 對作業系統進行的任何未經授權的改動都可能導致您無法正常使用我們對產品所做出的保證及服務。
- 毎 按照 "安裝 Light Cycler® 480 基礎軟體" 一節中的描述安裝 Light Cycler® 480 基礎軟體,然後登出。
- 5️ 以操作員的登錄名登錄 Windows XP 作業系統:
 - ▶登錄名: operator
 - ▶密碼: LC480
- 6 按照 "*Pam LightCycler® 480 基礎軟體*"一節中所描述的步驟啓動 LightCycler® 480 基礎軟體。

14.2 安裝 LightCycler® 480 的基礎軟體。

LightCycler® 480 儀器是通過 LightCycler® 480 基礎軟體來操縱的,該軟體被載入到與儀器相連接的資料庫工作站內。LightCycler® 480 的基本軟體根據您在試驗方案中提供的資訊來對 LightCycler® 480 儀器進行操作。軟體的安裝則是通過一自解壓安裝程式來進行的。請按照以下步驟將軟體安裝到您的本地工作站。如何安裝 LightCycler® 480 的基礎軟體:

T在電腦光碟機中插入 LightCycler® 480 基本軟體的安裝光碟。如果安裝沒有自動開始,則應雙擊 LightCycler480 檔夾中的 Software 子文件夾中的 Setup. exe 檔圖示。安裝過程中將對相關檔進行移動和解壓縮,並且爲您準備好安裝大師。之後系統將爲您打開"安裝大師歡迎您"的視窗,請點擊視窗中的"下一步"。



 22 系統提示您同意授權條款。點擊 Yes。



3 在 "資料庫引擎位置"視窗中,您可以使用默認設置安裝 Exor4 伺服器,也可以爲資料庫引擎流覽和選擇一個新的位置。設置完成後請點擊 "下一步"。



4 在 "資料庫檔位置" 視窗中,您可以使用默認設置安裝資料庫,也可以爲資料庫檔流覽和選擇一個新的位置。點擊 "下一步"。



- ② 安裝過程中將產生一個帶有審計尾跡的可追蹤的資料庫。審計尾跡是安全的、由電腦產生的時間戳,它獨立地記錄資料,時間和操作員名稱及條目和動作產生、修改或刪除的電子記錄。記錄的更改不應該影響以前記錄的資訊。
- 5 軟體提示您爲新資料庫進行命名。爲資料庫輸入一個名稱或者選擇使用默認名稱, 然後點擊 "下一步"。



6 您可以在安裝 LightCycler® 480 基礎軟體時使用默認設置,也可以選擇將軟體安裝到其他位置。點擊 "下一步"。



了為程式圖示選擇位置。您現在所指定的位置就是將來您可以啟動 LightCycler® 480 基礎軟體的位置(點擊這些圖示即可啟動該軟體)。去掉您不需要的圖示位置,並點擊 "下一步"。



⁸這時系統將顯示"安裝完畢"視窗,表明安裝已經完成了。您可以在安裝完成後即刻重新啟動電腦以建立與資料庫的連接,也可以選擇以後再重新啟動。點擊"完成"。

LightCycler® 480 的基礎軟體的安裝與維護 安裝 LightCycler® 480 的基礎軟體



14.3 保存一個已有的資料庫和安裝附加資料庫

您應當定期保存資料庫的拷貝(這樣做的目的是爲了備份)。在保存資料庫之前,就確認資料庫的大小應等於(或小於)700MB(這是 CD 光碟的最大容量)。請按如下步驟操作以確認資料庫的大小:

如何確認資料庫的大小:

- 1 在 Windows 流覽器中,選擇 C:\Program Files\Roche\Exor4\Data 中選擇您需要壓縮的資料庫(資料庫的位置隨您安裝時設置的不同而不同;它隨著您安裝資料庫檔時輸入的資料庫位置的不同而改變)。您可在 "安裝 LightCycler® 480 基礎軟體"一節中參考相關內容)。"
- 右鍵點擊您希望檢查的資料庫(檔案名爲*. IB)。從功能表中選擇 "屬性"並在相應功能表專案中找到資料庫的大小。
- 如果您需要對資料庫檔進行壓縮(例如:當資料庫檔已經超過 700MB 時),您可以使用工具。

如何壓縮資料庫檔:

- □ 右鍵點擊系統託盤中的 Exor4 圖示並選擇 "關閉",即可關閉所有正在運行的資料庫引擎。
- ②使用 Windows 流覽器在 C:\Program Files\Roche\Exor4\Data 中選擇您需要壓縮的資料庫(資料庫的位置隨您安裝時設置的不同而不同;它隨著您安裝資料庫檔時輸入的資料庫位置的不同而改變)。您可在 "安裝 LightCycler® 480 基礎軟體"一節中參考相關內容。
- ③以滑鼠右鍵點擊您希望進行壓縮的資料庫。在功能表中選擇 "屬性"和 "安全"表。檢查和確認 "允許"框中為 "完全控制"和 "修改"。點擊 OK。
- 4 在 "開始"功能表中,選擇 "Programs/Roche/CompactIB"。
- 5 這時系統將爲您打開 "壓縮 INTERBASE 資料庫檔" 視窗。在 "需要壓縮的資料庫檔" 框中,輸入資料庫的路徑或者點擊─並流覽到資料庫所在位置,然後點擊 "打開"。
- ⁶ 點擊 "壓縮"以啟動壓縮過程。

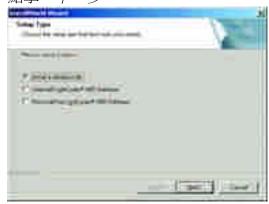
如何保存資料庫檔:

- ❶右鍵點擊系統託盤中的 Exor4 圖示並選擇 "關閉",即可關閉 Exor4。
- ❷通過您電腦中的 CD 刻錄軟體將該資料庫(其名稱爲*. IB)保存在 CD 光碟中。

如何安裝附加資料庫:

如果您的電腦中已經安裝了 LightCycler® 480 基礎軟體,您就可以使用 LightCycler® 480 基礎軟體的公用安裝程式進行其他資料庫的安裝:

- □右鍵點擊系統託盤中的 Exor4 圖示並選擇 "關閉"以關閉所有正在運行的資料庫引擎。
- 全在電腦光碟機中插入 LightCycler® 480 基本軟體的光碟。如果安裝過程沒有自動啟動,則應雙擊 LightCycler480 檔夾下的 Software 子文件夾中的 Setup. exe。
- 33 這時系統爲您打開的是 "安裝類型"視窗。使用"安裝資料庫檔"的默認設置,然後 點擊 "下一步"。



4 在 "資料庫引擎位置"視窗中,您可以使用默認設置安裝 Exor4 伺服器,也可以為資料庫引擎流覽和選擇一個新的位置。點擊"下一步"。



5 在 "資料庫檔位置"視窗中,您可以使用默認設置安裝資料庫,也可以爲資料庫檔流 覽和選擇一個新的位置。點擊 "下一步"。



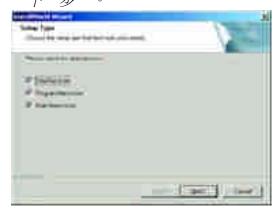
- ②安裝過程中將產生一個帶有審計尾跡的可追蹤的資料庫。審計尾跡是安全的、由電腦產生的時間戳,它獨立地記錄日期、時間和操作者名稱,以及條目和動作的創建、修改或刪除的電子記錄。記錄的更改不會影響以前記錄的資訊。
- ⑥ 軟體提示您爲新資料庫進行命名。輸入一個資料庫名稱,然後點擊 "下一步"。



▼ 軟體提示您為資料庫輸入一個埠號碼。 您可以選擇使用預設值,也可以輸入一個唯一的埠號碼,然後點擊 "下一步"。



3 爲程式圖示選擇位置。您現在所指定的位置就是將來您可以啟動 LightCycler® 480 基礎軟體的位置(點擊這些圖示即可啟動該軟體)。去掉您不需要的圖示位置,並點擊"不一生"。



⁹這時系統會給出資訊,指出維護已經完成了。點擊 *"完成"。*



②安裝過程中會在您的桌面上產生一個新的 Exor4 圖示。。在您可以登錄到新的資料庫之前,您必須啓動新安裝的 Exor4 服務。啓動方式可以選擇雙擊您桌面上的圖示,也可以選擇通過重新啓動作業系統來啟動之。

②在該新安裝資料庫中定義試驗之前,您應該首先爲其定義一個儀器。如需詳細資訊, 請參考"定義儀器"一節中相關內容。

LightCycler® 480 的基礎軟體的安裝與維護 保存一個已有的資料庫和安裝附加資料庫

14.4 登錄到不同的資料庫

您可以通過在"登錄到"下拉功能表中選擇新安裝的資料庫,從而登錄之。

- ❶雙擊 LightCycler® 480 基礎軟體圖示以啟動 LightCycler® 480 基礎軟體。
- ②這時系統將爲您打開"登錄"對話方塊。點擊"選擇"以顯示已知的物件伺服器列表。



- ③ 點擊加號圖示圖。這時系統將爲您打開"數據庫屬性"視窗。
- 4 爲資料庫輸入名稱及其位置。該位置通常由單詞 "localhost"與用於整合的資料庫的埠號碼一起組成,二者之間以逗號分隔。點擊 OK。



③ 如果您想確認某資料庫的埠號碼,則應將滑鼠指向系統託盤中的 Exor4 圖示,並 讀取物件伺服器屬性(如下所示)。



5 資料庫包含於 "已知資料庫列表"中,並且可以在 "登錄到"選擇框中進行選擇。新安裝資料庫的默認密碼是 LightCycler480。



6 在 "已知資料庫列表"中選擇一資料庫並點擊減號區以去掉它。點擊❷圖示以對資料庫進行重新命名或改變其位置。

14.5 用一個資料庫檔替換一個已存在的同名資料庫

您可以使用一個與已有的資料庫同名的資料庫對原資料庫進行替換(例如:在重新安裝 LightCycler® 480 基礎軟體後)。在執行此任務時,沒有必要再添加 Exor4 服務。

如何用一個資料庫檔替換一個已存在的同名資料庫:

- ∪退出 LightCycler® 480 基礎軟體。
- 2³右鍵點擊系統託盤中的 Exor4 圖示並選擇 "關閉"以關閉與將替換掉的資料庫相對應的資料庫引擎。
- 3f在 Windows 流覽器中,選擇 C: \Program Files\Roche\Exor4\Data 中選擇您將替換掉的資料庫(資料庫的位置隨您安裝時設置的不同而不同;它隨著您安裝資料庫檔時輸入的資料庫位置的不同而改變)。您可在 "安裝 LightCycler® 480 基礎軟體"一節中參考相關內容。
- 今以滑鼠右鍵點擊您希望進行替換的資料庫。在功能表中選擇 "屬性"和 "安全"表。檢查和確認 "允許"框中為 "完全控制"和 "修改"。現在您就可以刪除資料庫或將其以另一個名稱進行保存了。
- 5 複製您準備進行恢復(例如:從 CD 光碟中)的資料庫檔到資料庫所在的路徑。
- 資料庫的名稱必須與刪除的資料庫的名稱完全一致。必要情況下您可以對資料庫進行重新命名。
- 6 禁用資料庫的訪問許可權的 "完全控制"和 "修改"。如果您從 CD 光碟中恢復了資料庫,右鍵點擊資料庫檔並清除 "一般"表中的 "屬性"功能表中的 "唯讀"框。
- び雙擊您桌面上的 Exor4 圖示以啟動 Exor4 服務。
- ³⁵啓動 LightCycler® 480 的基礎軟體。
- 如果您想登錄到恢復的資料庫,則您必須輸入該資料庫的用戶名及密碼。

14.6 在 LightCycler® 480 基礎軟體中整合一個恢復的資料庫檔使其成爲附加資料庫

您可以在LightCycler® 480 基礎軟體中整合一個附加資料庫(例如:從CD光碟中恢復的資料庫)。在執行此任務時,系統中必須要有一個附加的Exor4服務。

如何在基礎軟體中整合一個附加的、恢復的資料庫檔:

- □ 在資料庫所在的路徑中複製資料庫(例如:從CD光碟中)。請確保資料庫名稱是唯一的。
- ②檢查和確認資料庫的訪問許可權中的"完全控制"和"修改"是被禁用的,並且按 照如上所述的方法去掉"一般"表中"屬性"功能表中的"唯讀"框。
- 3 右鍵點擊系統託盤中的 Exor4 圖示並選擇 "關閉" 以關閉所有正在運行的資料庫引擎。
- 查在電腦光碟機中插入 LightCycler® 480 基礎軟體的光碟。如果安裝過程沒有自動啓動,則請雙擊 LightCycler480 檔夾下 Software 子文件夾中的 Setup. exe 檔圖示。
- 5 這時系統爲您打開 "安裝類型" 視窗。使用 "安裝資料庫檔"的默認設置,然後點擊 "下一步"。



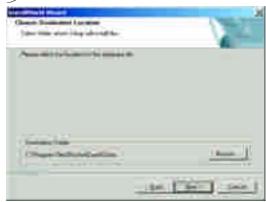
6 在 "資料庫引擎位置"視窗中,您可以使用默認設置安裝 Exor4 伺服器,也可以爲資料庫引擎流覽和選擇一個新的位置。點擊 "下一步"。



了在"*資料庫檔位置*"視窗中,您可以使用默認設置安裝資料庫,也可以爲資料庫檔流 覽和選擇一個新的位置。點擊"下一步"。



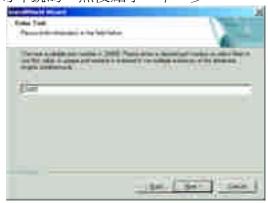
❸這時軟體提示您為該資料庫進行命名。輸入您想恢復的資料庫名稱,並點擊 "下一步"。



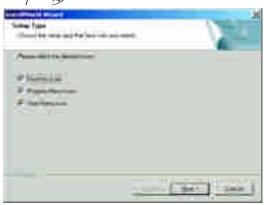
望選擇 "使用已有的資料庫檔",並點擊 "下一步"。



●軟體提示您爲資料庫輸入一個埠號碼。您可以選擇使用預設值,也可以輸入一個唯一的埠號碼,然後點擊 "下一步"。



11 爲程式圖示選擇位置。您現在所指定的位置就是將來您可以啟動 LightCycler® 480 基礎軟體的位置(點擊這些圖示即可啟動該軟體)。去掉您不需要的圖示位置,並點擊"下一步"。



☑這時系統會給出提示資訊告訴您維護已經完成了。點擊 "完成"。



- 雙擊您桌面上的 Exor4 圖示 以啟動 Exor4 服務並啟動 LightCycler® 480 基礎軟體。
- # "登錄到不同資料庫"一節中的方法將恢復的資料庫進行整合。
- 如果您想登錄到恢復的資料庫,則您必須輸入該資料庫的用戶名及密碼。

14.7 刪除 LightCycler® 480 的基礎軟體

請按照如下所示的步驟從您的電腦中刪除 Light Cycler® 480 基礎軟體。

如何刪除 LightCycler® 480 基礎軟體:

- □ 右鍵點擊系統託盤中的 Exor4 圖示並選擇 "關閉"以關閉所有正在運行的資料庫引擎。
- ②在電腦光碟機中插入 LightCycler® 480 基礎軟體的光碟。如果安裝過程沒有自動啟動,則請雙擊 LightCycler480 檔夾下 Software 子文件夾中的 Setup. exe 檔圖示。這時系統將爲您打開 "安裝類型" 視窗。選擇 "刪除 LightCycler® 480 基礎軟體"。



3系統提示您對刪除進行確認。點擊 OK。



這時系統會給出提示資訊告訴您維護已經完成了。點擊 "完成"。



FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具

軟體 253

14.8 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具

● FLELightCycler® 480net 屬於電子授權檔管理工具。只有當您已經安裝 FLELightCycler® 480net 並且從羅氏診斷獲得一有效的授權檔後,您才可以訪問 LightCycler® 480 基礎軟體。LightCycler® 480 基礎軟體的某些特殊部分,例如實驗 室資訊管理系統/條碼模組等附加軟體模組,需要進行特殊的授權(後您才能使用),不 屬於標準套裝軟體的內容。

如果您沒有從羅氏診斷獲得 LightCycler® 480 基礎軟體或其某軟體模組的授權檔,請 與您當地的銷售代表聯繫。

根據您的用戶許可權不同,您可能無法使用本節中所描述的所有操作。遇到這種情況時,您可以與您的系統管理員進行聯繫和諮詢。

FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具的安裝與使用

FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具在安裝 LightCycler® 480 系統時將自動安裝 於 LightCycler® 480 的資料工作站。標準安裝路徑是 LightCycler® 480 基礎軟體安裝路徑的 "RocheLM" 子路徑。LightCycler® 480 軟體安裝的標準路徑是 "C:\Program Files\Roche\Roche\RocheLM\" (當作業系統爲 Windows XP Professional 英文版時)。

以下內容中關於操作的描述都是建立在您將 LightCycler® 480 基礎軟體安裝在標準安裝路徑下這個前提之上的。如果您把 LightCycler® 480 基礎軟體安裝在另外一個路徑下或者您所使用的作業系統並不是英文版的 Windows XP Professional,則應切記在以下操作中使用您實際的安裝路徑。

Windows XP Professional 的默認安裝路徑的實際名稱取決於您安裝的 Windows XP Professional 作業系統的語言版本。如果您想確認安裝路徑的名稱,請在"cmd"提示符後輸入"echo %programfiles%"。該命令將爲您返回具體的實際安裝路徑。

檢查 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具的正確安裝

- 在 FLELightCycler® 480net 安裝路徑中(對於標準安裝而言,該路徑應爲 "C:\Program Files\Roche\RocheLM\bin"),檢查以下檔是否均存在:
 - -文件 1mgrd.exe,
 - -文件 1mtools.exe,
 - -文件 1mutil.exe
 - 以及檔 RASFLELightCycler® 480L. exe。如果該路徑下缺少這些檔中的一個或多個, 則說明 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具未能正確安裝。
- ②在 FLELightCycler® 480net 安裝路徑中(對於標準安裝而言,該路徑應為 "C:\Program Files\Roche\RocheLM\bin"),當您雙擊文件 LMTOOLS. ELightCycler® 480E時,系統會為您打開 LMTOOLS 應用程式以對授權檔管理工具進行安裝和檢查。



FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具

→ 野擊"配置服務"表。



如果在 LightCycler® 480 系統安裝過程中 FLELightCycler® 480net 已正確安裝,在如上顯示的螢幕中顯示的資訊應該是:

服務名稱:"RocheLM"

Path to the lmgrd.exe file: "C:\Program Files\Roche\RocheLM\bin\lmgrd.exe" Path to the license file: "C:\Program Files\Roche\RocheLM\files"

Path to the debug log file : " C : \Program Files\RocheLM\log\RocheLM.log" \circ

如果 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具已經正確安裝,則在上面的螢幕截圖中 "開機時啓動伺服器"和"使用服務"的選擇框應該是被選定的。

使用 Windows 流覽器檢查您從羅氏診斷收到的授權檔是否位於到達授權檔的正確路徑: "C:\Program Files\Roche\RocheLM\files"。)授權檔的名稱應爲 "Roche_license_yyyymmdd.lic",其中 yyyymmdd 代表授權檔生成的日期,例如 "Roche_license_20050818.lic"就是指生成於 2005 年 8 月 18 日的授權檔。

檢查 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具中可用的授權文件。

在檢查可用的授權文件之前,請確保 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具已正確安裝。

● FLELightCycler® 480net 安裝路徑中(對於標準安裝而言,該路徑應爲 "C: \Program Files\Roche\RocheLM\"),雙擊文件 LMT00LS. ELightCycler® 480E。這時系統會爲您打開 LMT00LS 應用程式以對授權檔管理工具進行安裝和檢查。

軟體 255

LightCycler® 480 的基礎軟體的安裝與維護 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具



FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具

點擊 "伺服器狀態"表。在所顯示的螢幕中,點擊 "進行狀態查詢"按鈕。



LMTOOLS應用程式將顯示您的FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具的"狀態"資訊以及可用於 LightCycler® 480 軟體的授權檔。視窗底部的文本框則爲您顯示出授權檔所在的路徑。FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具可以檢測和使用在該路徑下的所有授權檔。通常您只擁有一個授權檔,但如果您被授權使用 LightCycler® 480 基礎軟體的附加模組時(例如實驗室資訊管理系統/條碼模組),則您可以擁有多個授權檔。

在螢幕中間的"狀態"視窗將以以下格式顯示資訊:

Status

Flexible License Manager status on Thu 8/18/2005 23:12

[Detecting lmgrd processes...]

License server status: 27000@rpzmw010317

License file(s) on rpzmw010317: c:\Program Files\Roche\Roche\RocheLM\files\Roche_license_20050818.lic:

rpzmw010317: license server UP (MASTER) v10.0

Vendor daemon status (on rpzmw010317):

RASFLEXL: UP v10.0

Feature usage info:

Users of RUN: (Total of 1 license issued; Total of 0 licenses in use)

Users of TEMPLATE: (Total of 1 license issued; Total of 0 licenses in use)

Users of REPORT: (Total of 1 license issued; Total of 0 licenses in use)

Users of ABS-QUANT: (Total of 1 license issued; Total of 0 licenses in use)

Users of TM-CALLING: (Total of 1 license issued; Total of 0 licenses in use)

Users of COLOR-COMP: (Total of 1 license issued; Total of 0 licenses in use)

在狀態資訊視窗的上方將爲您顯示電腦名稱,其後則爲所使用的授權檔。在 "RASFLELightCycler® 480L: UP v10.0"這一行上列出了您電腦中可用的授權檔的詳細資訊。有上面的例子中,對於運行、範本、報告、絕對定量、溶解溫度調用和顏色補償等可用的模組而言,它們各有一個授權檔。這六個授權檔是 LightCycler® 480 基礎軟體的一部分,且對於軟體的運行而言它們均是必須的。

在上面的例子中,當前沒有使用任何一個授權檔("Total of 0 licenses in use"的意思是 "總共有0個授權檔處於使用中")。如果現在您啟動 LightCycler® 480 軟體,並再次按下 LMTOOLS 應用程式中的 "進行狀態查詢"按鈕時,顯示的資訊就變成了 "Total of 1 licenses in use" (即 "現在有1個授權檔處於使用中)。

FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具的故障排除資訊

如果您啓動 LightCycler® 480 軟體後收到錯誤資訊告知您當前沒有可用的授權檔時,您應該進行檢查以下項目:

15對 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具進行狀態查詢。如果軟體沒有找到可用的授權檔而是顯示了以下文本資訊,則說明 FLELightCycler® 480ne 當前沒有運行。

lmgrd is not running: Cannot connect to license server.
The server (lmgrd) has not been started yet, or
the wrong port@host or license file is being used, or the
port or hostname in the license file has been changed.

(該文本資訊的含義是: Imgrd 沒有運行:無法連接到授權檔伺服器。伺服器(Imgrd)沒有運行,或者主機埠錯誤,或者授權檔正在使用中,或者授權檔中的埠或主機名稱已經被修改了。)

回到"開始/停止/重新讀取"表中並按下"啓動伺服器"按鈕。

軟體 257

LightCycler® 480 的基礎軟體的安裝與維護 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具



如果 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具能夠正常啟動,則在視窗底部的文本框中顯示的資訊應該是"伺服器成功啟動"。這時您在"伺服器狀態"按鈕中點擊"進行狀態查詢"後,系統應該顯示不出任何可用的授權檔。

對 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具進行狀態查詢。如果軟體沒有顯示出可用的授權檔,而是顯示了下列文本,那就說明 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具無法找到您的授權文件。

Error getting status: Cannot find license file. The license files (or server network addresses) attempted are listed below. Use LM_LICENSE_FILE to use a different license file, or contact your software provider for a license file.

(該文本資訊的含義是:錯誤狀態:無法找到授權文件。已嘗試的授權檔(或伺服器網路位址)如下所示。請使用 LM_LICENSE_FILE 以使用另一個授權檔,或者與您的軟體提供商聯繫以獲取授權檔。)

檢查 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具是否已正確安裝。如果您能打到您的授權檔並且將其移動到了正確的目錄,請在"開始/停止/重新讀取"表中按下"重新讀取授權檔"按鈕。 回到"伺服器狀態"按鈕,按下"進行狀態查詢"按鈕並檢查現在是否能找到可用的授權檔。

對 FLELightCycler® 480net 授權檔管理工具進行狀態查詢。如果軟體沒有顯示出可用的授權檔,而是顯示了下列文本資訊,那就說明 FLELightCycler® 480net 授權文件管理工具所找到的授權檔與您的電腦識別字不匹配。

Vendor daemon status (on rpzmw010317):

RASFLEXL: The desired vendor daemon is down.

1) Check the lmgrd log file, or 2) Try lmreread

Feature: RUN

Vendor: Host: rpzmw009789

License path: 27000@rpzmw010317 FLEXnet Licensing error:-97,121

注意:您的授權檔中包含有您電腦的相關資訊,該授權檔必須是針對您的電腦生成的,而且與您的乙太網位址(也稱爲 MAC 位址)是相匹配的。按下"系統設置",則 LMT00LS 應用程式將顯示您電腦的相關資訊(如下所示)。



或者,使用文本編輯器(例如:微軟的便箋程式或 WORDPAD)打開您的授權檔 ("Roche_license_yyyymmdd.lic"):

軟體 259

```
The following license file enables a perpetual license of the LightCycler®
480 Basic Software on the computer with the host id mentioned in the license
file.
The license agreement for this software license can be found in the manual.
The LightCycler@ 480 Basic Software license comprises the following modules:
Rum, Template, Report, Absolute Quantification, Tm-Calling, Color Compensa-
tion and Macro.
SERVER: RPZMW009789 000d9d911714
VENDOR RASFLEXL
USE SERVER
INCREMENT RUN RASFLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID:000d9d911714 \
   DUP_GROUP-H NOTICE: 'Licensed to RAS Computer *' SIGN-'006F \
   BEAF 4520 1704 6067 367A 4F4B 3B00 8850 D0D4 E683 A247 8AA1 \
   156D 550R1
INCREMENT TEMPLATE RASFLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID=000d9d91714 \
   DUP_GROUP=H NOTICE='Licensed to RAS Computer *' SIGN='008B \
   16C6 4749 D782 71F0 2027 1557 4000 61A7 CCA6 DC47 792E 4CB7 \
   ESBA DLAS!
INCREMENT REPORT RASFLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID:000d9d911714 \
   DUP_GROUP-H NOTICE='Licensed to RAS Computer *' SIGN='002E \
   B2F5 36D7 8DBC B3B7 FCF8 9D3D 3600 534D 4ED1 03B2 6658 2370 \
   4DSF F5291
INCREMENT ABS-QUANT RASPLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID=000d9d911714 \
   DUP_GROUP-H NOTICE: 'Licensed to RAS Computer *' SIGN='00B4 \
   A496 C94C 3ADC EFB7 FD27 4C13 9700 13C3 A172 550C 67FE 6499 \
   B216 8BAD'
INCREMENT TM-CALLING RASFLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID=000d9d911714 \
   DUP_GROUP=H NOTICE='Licensed to RAS Computer *' SIGN='0083 \
   2AB9 207F 76E1 5147 B522 C1B0 3B00 A33D E8C3 E8C9 211A 0279 \
   DE98 5D2F'
INCREMENT COLOR-COMP RASFLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID=000d9d911714 \
   DUP_GROUP=H NOTICE='Licensed to RAS Computer *' SIGN='00A8 \
   4723 BC4B 8504 6EE4 8D74 21E2 FC00 EF85 A2F8 1A6F 6BB0 4412 \
   BD7D CB26'
INCREMENT MACRO RASFLEXL 1.0 31-dec-2005 1 HOSTID=000d9d911714 \
   DUP_GROUP-H NOTICE: 'Licensed to RAS Computer *' SIGN-'0048 \
   2A13 5252 E807 44B9 6623 9E96 A000 35C0 A0C4 708C E5BE D6B6 \
   D703 F7C31
```

現在請將 LMT00LS 視窗中顯示的 "乙太網位址" 與您授權檔的第一行未的 12 位代碼進行比較。

SERVER rpznw010317 001279bfbfa4

如果這兩個代碼不匹配,則說明您所使用的授權檔與您的電腦是不匹配的。

如果沒有或只顯示了一個假的乙太網位址(例如: "ffffffff"),則說明您的網卡存在問題。這時,您可以與您的系統管理員進行聯繫和諮詢。



Е	維護	頁
	常規維護	
2.	儀器清潔操作指南	237
	常規清潔	
	? 預防性維護	
	更換氙氣燈	
	更換風道灰塵篩檢程式	
5	更換保險絲	244

維護

1、常規維護

我們對LightCycler® 480儀器進行免費的常規維護。

2、儀器清潔操作指南



↑ 切勿在沒有切斷LightCycler® 480儀器電源時進行儀器清洗或拆卸儀器電纜。





← 在對任何有潛在性生物危害的樣品進行處理及操作時,都應採取普遍適用的安 全防護措施。如液體樣品溢出,則應迅速取用適當的消毒劑進行消毒,以避免 污染物散播至試驗室人員或污染儀器儀器。應當遵循當地的生物安全指導來完 成對污染材料的處理及處置。

2.1 常規清潔

用溫和的清潔劑清潔LightCycler® 480儀器的外殼、熱迴圈器以及熱迴圈器蓋。必要時 可用70%的乙醇對儀器的外殼、熱迴圈器以及熱迴圈器蓋進行消毒。

2.2 預防性維護

應定期檢查LightCycler® 480儀器周圍區域的情況,以確保儀器周圍空氣可自由流通, 並應確保其周圍沒有書本、紙張或其他物品妨礙空氣流通。詳細情參閱本手冊 "安裝" 一節。

3. 更換氚氣燈

對於即時定量PCR螢光信號的觀測及溶解曲線的分析來說,足夠亮的氙氣激發燈是得到最佳觀察效果的必需條件。因此,LightCycler® 480儀器自動且持續的檢測氙氣燈的亮度。如果燈的亮度低於初始亮度的50%,LightCycler® 480儀器的基礎軟體就會自動報警,提示需要調換氙氣燈。氙氣燈作爲可調換的零部件可直接從羅氏公司獲取,也可從零售商處購買。具體情況請聯繫當地羅氏公司代理。

- 使用的氙氣燈必須沿用以下型號:LightCycler® 480B0 R 100W/45 OFR 2×1
 (OSRAM)
- 切勿在未關閉儀器的電源及拆離電纜的情況下更換氙氣燈。否則會有觸電的危險,且氙氣燈強光源照射會引起眼睛損傷。
- 請務必在LightCycler® 480儀器運行後等待一段時間(大約20分鐘)再更換氙 氣燈,使得機器有足夠的時間冷卻。在儀器剛剛停止運轉時的氙氣燈非常熱, 能導致直接的灼傷。
- 不要將指紋、油脂、塗料或其他類似物留在燈泡上。在使用氙氣燈之前,用異 丙醇或乙醇或其他合適的無殘留製劑,將上述污痕去除乾淨。
- 由於氙氣燈不含有任何對周圍環境有害的物質,因此其不受特殊的廢棄物處理 規章制度的制約。舊的氙氣燈泡在處理掉之前,應將其儲存於不易被接觸到的 防護服或防護帽中。在有條件的地方,氙氣燈泡應該通過特殊的廢棄物處理公 司來進行處置。如果上述辦法不能實現,那麼應穿上防護服,將氙氣燈泡完全 包繞在皮革製品或厚的衣物中後使用合適的工具打碎燈泡,同時需要打碎放電 管,並除去燈泡碎片。

下面的圖表詳細講解了怎樣更換氙氣燈。

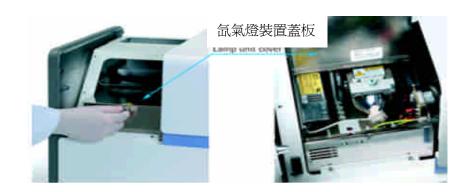
↑ 移開右側的嵌板。



2 現在你能夠很容易的將儀器的蓋子移到右邊,暴露出氙氣燈裝置。



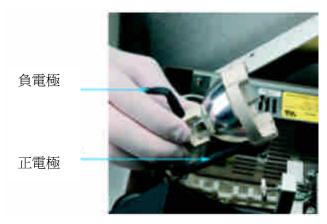
如果您想更換氙氣燈,則必須先去除氙氣燈的蓋子。蓋子被螺絲釘所固定。旋松螺絲,並打開蓋子。



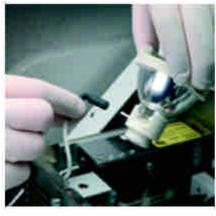
○ 氙氣燈被一個夾子所固定,這個夾子本身有一個螺絲釘起到固定的作用。放鬆並打開夾子。



6 將氙氣燈提起並使之脫離夾子,並將兩個導電極取出。



將新的氙氣燈裝上。首先連接上(-)電極,然後再連接上(+)電極。





終新的氙氣燈燈泡重新用夾子夾住後完成對其的安裝,並確認(一)極導體指向上方。按照以上4到1的相反步驟。



當您將氙氣燈更換完畢後,請一定將位於儀器視窗的LightCycler® 480儀器基礎軟體中工具框中(詳細請見管理工具部分)的氙氣燈計數器重置。儀器將進行讀數,並儲存燈泡的亮度值,將其作爲燈泡亮度的初始資料。在操作過程中,儀器將儲存的亮度初始資料與燈泡實際亮度相比較,並藉此測定燈泡亮度損失的數值。如果燈的亮度低於初始亮度的50%,LightCycler® 480儀器的基礎軟體就會自動報警,提示您需要調換氙氣燈。

4. 更換風道灰塵篩檢程式

LightCycler® 480儀器的電子支架是依靠通風冷卻的。兩個通風口位於儀器右側的右下方角落(恰好毗鄰於迴圈板間隔區),並處於儀器的背面。爲了避免儀器內部被灰塵顆粒污染,這些通風口都附帶有灰塵過濾裝置。

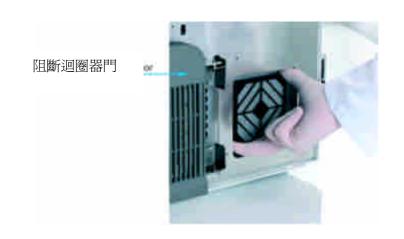
- 每年應定時更換灰塵篩檢程式。
- ←LightCycler® 480儀器包裝內附有4個可更換的灰塵篩檢程式。

下面的圖表詳細講解了怎樣更換通風用灰塵篩檢程式。

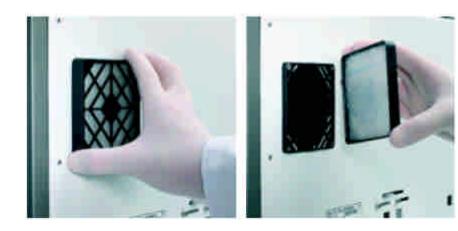
. 為了更換側面的通風口,請先移除儀器右側的嵌板。



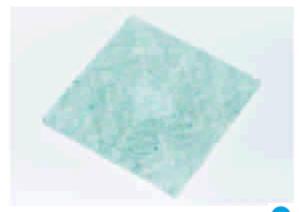
2 移開風道灰塵篩檢程式的支架。



3 用同樣的方式,從儀器背面的通風口處將灰塵篩檢程式的支架移開。



從每一個架子上將舊的灰塵篩檢程式取下來,並插入新的灰塵篩檢程式。



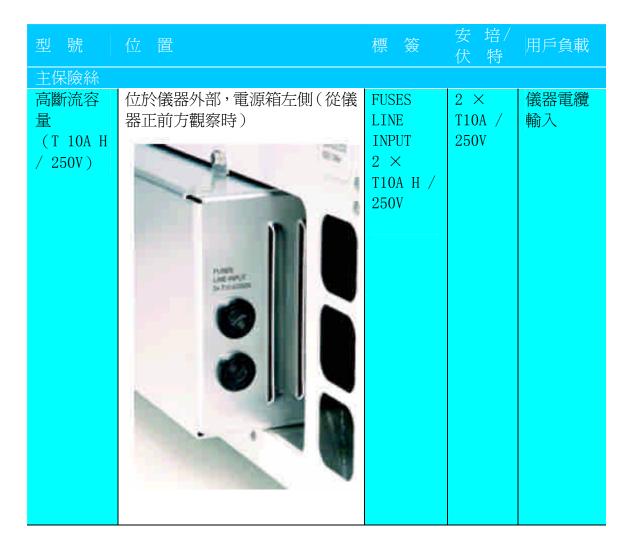
新放回到通風口處。並將儀器右側

將每一個灰塵篩檢程式的架子重 的嵌板重新安裝好。

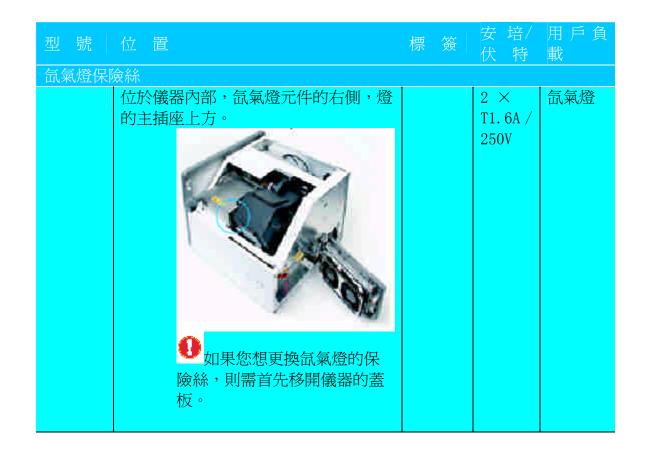
5・更換保險絲

LightCycler® 480儀器包括8種類型的保險絲。保險絲燒斷後用戶必需對其進行更換。 在LightCycler® 480儀器的包裝內,每一種類型的保險絲都附有10根相同的備用保險絲。

下面的列表對LightCycler® 480儀器中使用到的保險絲的類型及其所處的位置做了一個概述:



型號	位	置	標	簽	安培/伏 特	用戶負載
次保險絲 高或低 斷流容 量		《儀器內部,電源箱右側,必須將 <i>儀器右側嵌板移開才能接近次</i>	F1		T3. 15 A / 250V	檢測元件
—	保險	会 終	F2		T8 A / 250V	迴圈板組 件
			F3 ; F4 ; F5		T16A / 250V	熱迴圈器 元件- Peltier 元件
		图每一個F1-F5次保險絲都 有一個發光二級管,該二級發光 管可以作爲保險絲是否在正常 工作的判斷依據。如果保險絲熔 化,則發光二極體將熄滅。				



如何更換主保險絲及次保險絲:

用螺絲起子將保險絲孔蓋旋松:



將保險絲同保險絲蓋一起從保險絲孔中取出。



- 移屬的保險絲用後備保險絲替代後將其重新放置入保險絲孔中。
- 4 將保險絲蓋重新旋緊。

更換氙氣燈的保險絲:

- 1 移開儀器的蓋板。
- ② 氙氣燈的保險絲位於氙氣燈模組的主插座的上方。



3 用鉗子用力壓住保險絲內部固定器左右兩側的夾子即可將保險絲固定器從保 險絲孔中拉出。



- 將熔斷的保險絲用後備保險絲替代後將其重新放置入保險絲孔中
- 將儀器蓋板重新安裝到原位並蓋好。



第六章	附錄	頁碼
1.	訂購資訊	251
2.	索引	253

附錄

1. 訂購資訊

羅氏應用科學提供一系列的試劑和系統,用於生命科學研究。要全面瞭解相關產品和手冊,請訪問我們的主頁 http://www.roche-applied -science.com 以及以下網站:

- ► LightCycler® 480 系統 http://www.roche-applied-science.com/lightcycler480
- ► 用於自動核酸分離的MagNA Pure System 系列: http://www.maganapure.com
- ▶ DNA & RNA 製備 核酸淨化多功能工具: http://www.roche-applied-science.com/napure

儀器		
LightCycler® 480 儀器(96-孔)	一台儀器配一個資料工作	04 640 268 001
	站及相關附件	
LightCycler® 480 儀器(384-孔)	一台儀器配一個資料工作	04 545 885 001
	站及相關附件	
軟體		
LightCycler® 480 基礎軟體 1.0	1個套裝軟體	04 722 205 001
LightCycler® 480 LIMS/Bar-Code Module	1個套裝軟體	04 727 886 001
LightCycler® 480 基因分型軟體	1個套裝軟體	04 727 860 001
LightCycler® 480 相對量化軟體	1個套裝軟體	04 727 851 001
附件		
LightCycler® 480 Block Kit 96	96-孔熱迴圈器,含熱迴圈器蓋、存 儲盒和載入裝置 04 643 640 001	04 643 640 001
LightCycler® 480 Block Kit 384	384-孔熱迴圈器,含熱迴圈器蓋、存儲盒和載入裝置 04 643 631 001	04 643 631 001
LightCycler® 480 條形瑪掃描器	1 個條形瑪掃描器	04 710 606 001

附錄 277

丟棄件		
LightCycler® 480 多孔板 96	帶50片封箔的50塊板	04 729 692 001
LightCycler® 480 多孔板 384	帶50片封箔的50塊板	04 729 749 001
LightCycler® 480 封箔	5 x 10 箔片	04 729 757 001
PCR 試劑		
LightCycler® 480 SYBR Green I Master	1 盒 (5 x 100 反應,每個20 µl)	04 707 516 001
LightCycler® 480 Probes Master	1 盒 (5 x 100 反應,每個20 µl)	04 707 494 001
LightCycler® 480 Genotyping Master	1 盒 (4 x 96 反應,每個20 µl)	04 707 524 001
LightCycler® 480 Control Kit	3 次對照實驗	04 710 924 001
標籤試劑		
SimpleProbe 519標籤試劑	100 μmol	04 687 132 001
LightCycler® Fluorescein CPG	1 g 5 列	03 138 178 001 03 113 906 001
LightCycler® Red 640-N-hydroxysuccinimide ester	1 瓶	12 015 161 001
LightCycler® Red 610-N-hydroxysuccinimide ester	1 瓶	03 561 488 001

2. 索引

索引辭彙	頁
終止運行	119
絕對定量	122, 126, 134 – 143
採集 10	00, 117, 153, 154, 164, 177, 179
採集模式	114 - 115
採集數目 (每 °C)	115
分析注解	132, 157
軸	136, 177
軸標籤	176, 181
軸標度	180, 181
軸標題	176, 181
軸類型	117
背景	
基	線
基線減除	
基線螢光	
熱迴圈板蓋	43, 45, 47 - 48, 72, 75
帶熱迴圈板的門	45, 47 – 48
執 迴圈板單元	43. 47

索引

索引辭彙 CCD相機	頁 43
圖表	131, 132
圖表功能表	117
圖表選項	164, 174 – 182
圖表區段	
圖表設置	1
圖表類型	117
複製圖表	
螢光史表	
溶解曲線圖	145, 151
列印圖表	
溫度史表	
圖表局部放大	169
清洗	
顏色補償 105, 114, 118, 12	1 - 122, 126, 130, 138, 140, 152 - 156
交差點	134 - 135, 140 - 141, 142
定	制
定制圖表	174 – 175
定制檢測格式	
定制報告	171
Cy5	52
迴圈	114 - 117, 135 - 137, 164, 177
4 o NEL IEST	

索引辭彙
資料庫
檢驗資料庫大小21
清除資料庫
壓縮資料庫檔
資料庫資訊視窗
資料庫狀態
默認資料庫檔夾
LightCycler® 480基礎軟體內的復原資料庫檔整合爲附加資料庫225 - 22
登錄不同的資料庫
維護資料庫
用同一檔案名的資料庫檔替換現有資料庫檔22
保存資料庫檔
保存現有資料庫,並安裝附加資料庫219 - 22
可追蹤的資料庫
更新資料庫
數據工作站
描
LightCycler® 480儀器
檢測通道5
檢測格式210 - 21
檢測單元
診斷工具
雙色
粉塵篩檢程式

索引辭彙	頁
效率	134, 137, 138
發射濾光器	29, 51, 52
錯誤日誌	213
推出軟體	86
激發濾光器	29, 51, 52
導出	86
批導出	92, 102 - 104, 204, 206
導出儀器問題報告	
導出圖表	164, 167
導出圖表資料	168
導出目錄	188
導出文件	100
導出對象	92
導出單個LightCycler® 480基礎軟體物件	
FAM	52
文	件
ATF文件	
IXO文件	92, 100, 108
XML文件	
螢光素	52
Flous	52
螢光共振能量傳輸	
FRET (螢光共振能量傳輸)	57, 60, 62, 146
保險絲	244
基因分型	

索引辭彙	頁
手提式條碼掃描器	32, 42
熱蓋	47
HEX	52
雜交探針	52, 56, 62
水解探針	52, 56, 60
載入裝置	48
輸	入
批輸入	
輸入目錄	188
輸入檔	
輸入物件	92
安裝	36
安裝LightCycler® 480儀器	39
安裝LightCycler® 480基礎軟體	
安裝額外資料庫	220 - 222
儀	器
LightCycler® 480儀器	44, 239
儀器	
對儀器定義	09
儀器問題報告	213
虛擬儀器	110
燈裝置	43, 50
LAN通信模式	42
LightCycler® 480多孔板	53, 69
LightCycler® Cyan 500	52
LightCycler® Red 610	52
LightCycler® Red 640	52
LIMS/條碼模組	28, 31, 49, 154, 161, 208

索引辭彙	頁
宏	84, 154, 156
創建試驗宏	
宏域	
羅氏宏	
運行試驗宏	
電源開關	
維護	
溶解曲線分析	115, 153 - 154
定義解鏈程式	
溶解曲線	59
進行 Tm 調用分析	
突變	
多色	112, 126, 138, 154 – 154
多孔板載入器	45, 47, 49, 70
多孔板條碼掃描器	
網線	
運行日誌	
光學裝置	
密碼	190, 198, 199, 202, 224
改變密碼	
密碼效期設定	
密碼效期剩餘天數	
.峰	144, 145, 146, 148, 149, 150
選	項
圖示選項	
樣本選項	164, 174, 183 – 186
用戶選項	
選項檔夾	
程	式

附錄 285

索引辭彙	頁
查詢	90, 204
創建和實行查詢	94 – 97
查詢表	94
範 濃度範圍	圍 136
日期範圍	95 , 103
整合時間範圍	112
反應容量範圍	110
單位範圍(X軸和Y軸)	181
刪除LightCycler® 480基礎軟體	228
報告	57, 162 – 163
生成報告	171 – 173
報告設置	2 0 3
運 中斷運行	行 119
運行模組	84, 87, 177
啓動試驗運行	118 – 119
二階導數	135
封箔	53, 54, 69
SimpleProbe探針	52, 56, 64
斜面	137
標準曲線	40 - 141, 143
標準曲線圖外觀	178
外標準曲線	139 – 140
標準曲線圖	139
LED指示燈	44, 68
規格	26, 29 - 30
儲存箱	72
子功能表	125, 128, 171
使用子功能表	. 162 – 163
SYBR Green I	52, 56, 58
系統句	35

索引辭彙	頁
範本	
Tm 調用	91, 126, 146, 153 – 154
自動 Tm 調用分析	
手工 Tm 調用分析	
Tm調用標籤	
傳輸閉鎖裝置	
範本	91, 161
創建和使用範本	
熱迴圈器	30, 43, 45, 47, 49, 72
通用探針庫	61
用戶	86, 90
專家用戶角色	
本地管理員角色	
管理用戶訪問	190 – 191
理解團隊	
理解角色	
用戶物件訪問	194 – 196
用戶訪問工具	
用戶帳號	
用戶檔夾	91, 93
用戶介面通則	82
用戶名	
用戶選項	
密	碼
初始密碼	83
電源電纜	41
通風	37, 46, 242
氙燈	43 - 44, 50, 238, 246, 248





Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH Roche Applied Science 68298 Mannheim Germany

www.roche-applied-science.com