

ABI PRISM[®] 7300 Sequence Detection System

(With RQ Study)

簡易上機操作步驟

1. 先開電腦，待開機後再將ABI PRISM 7300 的電源打開。
2. 開啟 ABI Prism 7300 SDS 軟體: 按兩下電腦螢幕上 7300 軟體的 icon。
3. 當軟體開啟之後會出現視窗，視窗下方為狀態顯示列。此時右下顯示 Disconnected，左下顯示 Ready。
4. File 下選New之後，即出現New Document Wizard，可依實驗設計選擇 Assay:

Assay	Applications	When to use this
Absolute Quantification (Standard Curve)	絕對定量	建立標準曲線以得知樣品之基因表現量。For data collection and data analysis。
Relative Quantification (CT) Plate	相對定量	以 Ct 差異代表基因表現量相差之倍數。(上機 for data collection)
Relative Quantification (CT) study	相對定量	以 Ct 差異代表基因表現量相差之倍數。(For data analysis: Analyze data from Relative Quantification Plate)
Dissociation	SYBR 之解離曲線	單獨 run SYBR 之解離曲線
Allelic Discrimination	SNP genotyping	For Post read PCR signal and SNP genotyping analysis

Template: 若有已設定好的模版，可直接點選；若無，則選擇“Blank Document”即可。

設定完成後按下Next 開始選擇或設定Detector。

5. 開始設定 Detectors (Detectors 代表樣品的螢光種類)，選擇此次所需的 Detector，並按下 Add 將 Detector 加入 Plate Document 後則可按下 Next。如要設定新的Detector，則按下New Detector 選項以設定新的Detector

Name: 可輸入基因名稱。

Reporter Dye: 依實際所使用的螢光種類選擇。

Quencher Dye: 若為一般的TaqMan Probe 選TAMRA。

若為MGB Probe 選none。

若為SYBR 選none。

Color: 代表此Detector 的樣品在Plate Document 中之顏色。

若要繼續設定其他的Detectors, 點選, Create Another, 並輸入正確的資訊。

6. 選定 Plate Document 中有放樣品的 Wells, 選定適當的 Detector, 然後點選 Detector 列中 Use 的框框, 並在 Task 欄中選擇其種類為 Unknown, NTC 或 Standard (唯有 Standard 的樣品才能輸入樣品量)。選定完成後按下"Finish"。
7. 一設定過的Plate document 顯示,同時右下方的 Status 顯示 "Connected"。
8. 如要輸入樣品名稱, 可從工具列中選擇 Well Inspector 可在此視窗編輯樣品名稱 (相同名稱者, 軟體即視為重複樣品, 會自動計算平均值及標準偏差)。
9. 若此 Plate Document 常用, 可將其存成, Template。File menu 下選 Save As, 輸入檔案名稱並存成, SDS Templates (*.sdt)的格式。
10. 若不存成 Template, 請先將此Plate Document 存下來。File 下選 Save As, 並將檔案種類存成, SDS Document (*.sds)。
11. 此時可檢查 PCR 條件, 並準備開始收集, data (若尚未將樣品盤放入機器中請先放入)。在 Plate Document 上點選 Instrument, 即進入 PCR 設定之視窗。可直接更改溫度及時間, 亦可利用, Add Cycle, Add Hold 或 Add Step 改變 PCR 的條件。
12. 再存一次後按下 Start 即開始進行 PCR 及訊號之收集。
13. 在機器running的過程中, 若想增加cycle數, 每個run可點選1次**Extend**來增加1~20個cycle (必須在最後3個cycle完成之前)。點選Extend後, 在出現的對話視窗中鍵入欲增加的cycle數, 並可在Additional Comment Text 中註明延長原因。

注意事項:

1. 可定期以棉花棒沾二次水清潔 7300 上的加熱孔避免產生背景值過高的現象。
2. 在 7300 上可使用 96 well optical plate、八連排(8 tubes/strip) optical tubes 或單一的 optical tube, 配合適當的 precision plate holder 直接上機。
3. 技術支援請電洽客戶服務專線: 0800251326