

# 多重螢光基因分析系統 LightCycler480 簡易操作說明

## 一、 儀器啓動：

1. 開啓儀器主機與電腦電源登入 Window XP 作業系統後，開啓桌面上之 LC480 圖示。
2. 輸入正確之使用者名稱及密碼後，系統登入主畫面。

## 二、 操作實驗

1. 等待機器初始化完成 (機器狀態指示燈(左)呈現綠色)，放入檢體盤 (檢體盤指示燈(右)呈現綠色)。
  2. 進入主畫面後，點選 “New Experiment” 設定以下參數：
    - a. 偵測模式 “Detection Format” (SYBR Green I, Mono Color Hydrolysis Probe, Multi Color Hydrolysis Probe, Mono Color HybProbe, Multi Color HybProbe)
    - b. 反應體積 “Reaction Volume” (10-100 uL for 96 MWP, 3-20 uL for 384 MWP, 20 uL recommended)
    - c. 設定子程式名稱 “Program Name”，熱循環數目 “Cycles”，分析模式 “Analysis Mode”
    - d. 設定各個子程式參數，包括溫度 “Target (°C)”，螢光偵測模式 “Acquisition Mode”，溫度停留時間 “Hold”，升降溫速度 “Ramp Rate (°C/s)”
- \* 最後一個子程式必須為 “Cooling”，溫度設定於 40°C，升降溫速度請設定成 1.5 °C/s。
- \* 以上步驟設定完成後可存於電腦中 (點選左下角 “Save As Template”)，可於下次實驗套用 (點選左下角 “Apply Template”)
3. 點選 “Start Run” 開始實驗，輸入實驗資料檔案名稱與儲存路徑。
  4. 實驗進行期間，可點選 “+10 Cycles” 增加熱循環次數，也可點選 “End Program” 結束子程式。

## 三、 樣品編輯

1. 點選左上操作鈕 “Subset Editor” 編輯樣品群組 (Subset)。
  2. 點選左上操作鈕 “Sample Editor” 編輯樣品名稱與樣品型態 (Sample Type)。
- \* 絕對定量實驗，請編輯 “Abs Quant” 分頁；相對定量實驗，請編輯 “Rel Quant” 分頁；分型實驗，請編輯 “Genotyping” 分頁。

## 四、 資料分析 (可點選右方輸出圖示 輸出資料，移至個人電腦分析或檢視結果)

1. 點選左上操作鈕 “Analysis”，選取欲操作之分析 (Abs Quant, Genotyping, Relative Quantification, Tm Calling)，並選擇要分析之群組樣品 (Subset)。
2. 依照分頁指示操作。
3. 點選 “Calculate” 即可得到所需計算結果 (包括 Cp value, Tm 等)。
4. 點選右方儲存圖示 ，儲存已得到的分析結果。