


LightCycler® 480 系统简明操作指南（绝对定量）

（仅供培训教育使用）



说明：

1. 开机前请注意确保室温在 15-32℃，仪器通风散热口不能有物品遮挡影响散热；
2. 请选用与罗氏原装耗材高度一致的96孔板或8联管；
3. 在操作过程中，切忌戴有粉末的乳胶手套或裸手接触光学透性封板膜或管盖。

一. **开机：**接通 LC480 与电脑电源，电脑帐号 operator、密码 LC480（或用户的自行设定），



点击 ，登录帐号 user，密码 Master01（或用户的自行设定）。



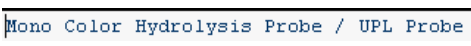
二. 开始实验：

1. 点击 ，在列表中选择对应的程序，如 H1N1 或 HBV，点击窗口右下角的 ，而后配制好反应体系，封好膜。

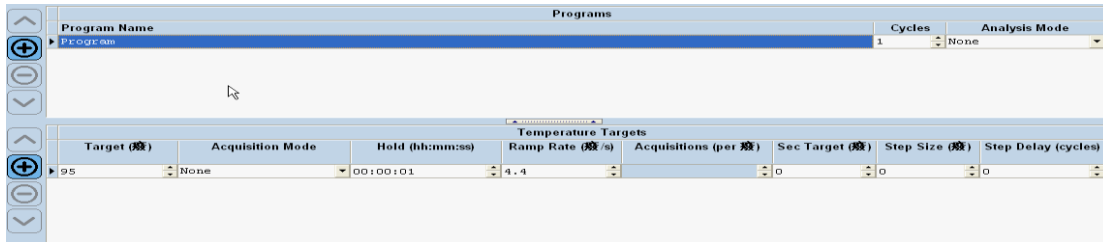
2. 按压仪器前面板上的多孔板托架弹出按钮，使多孔板托架弹出后放入 PCR 板，再次按压多孔板托架弹出按钮，使多孔板进入仪器。此时，按钮其左侧的两个警示灯都呈现绿色，即可开始运行实时定量 PCR 反应；



3. 点击软件界面右下角的 （只有放入板后 Start Run 才显示为蓝色），输入实验文件名保存，点击窗口右下角的  开始实验。

4. 对于以前未使用的试剂盒，设置新实验参数，进入 LC480 软件，点击  在  选择对应的实验模式，一般  根据所用试剂盒设置具体控温参数，如逆转录 15 分钟，PCR 循环 40 循环每循环 95 度 10 秒、60 度 30 秒，最后冷却至 40 度 30 秒（**请不要更改默认的升降温速率**），按如下设置：

(1) 点击上面窗口的第一个 program，在下面窗口的 Target 一列输入所需的逆转录温度，Hold 一列输入时间 00:15:00（如下图）；



(2) 回到上面的窗口，点击 添加新 program，在 cycles 一列输入 40，Analysis Mode 选择 **Quantification**，在下面的窗口点击一次 ，2 行分别设定：95 度 10 秒，60 度 30 秒（请不要更改默认的升降温速率），在 60 度的 **Acquisition Mode** 选择 single；

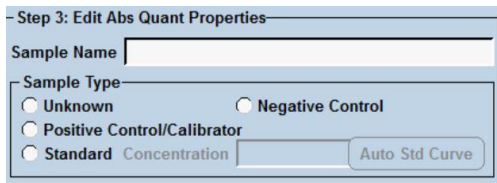
(3) 回到上面的窗口，点击 添加新 program，在下面的窗口内设置为 40 度 30 秒（请不要更改默认的升降温速率）；

(4) 完成后点击软件左下方的 **Apply Template** 下拉箭头，选择 **Save As Template**，输入该程序对应的公司-试剂盒-日期后点击窗口右下角的 ，以备以后调用模板。

三. **编辑子集**：点击软件左侧的 **Subset Editor**，点击左下角的 ，按 ctrl 键的同时鼠标选择本次实验的孔，最后点 **Apply** 应用。注：一次实验可以同时运行相同扩增参数的多组实验（如 H1N1、HIV 与 HCV），那么可以分别设置多个子集。

四. **设置样品**：点击软件左侧的 **Sample Editor**，先点击左上角的 ，

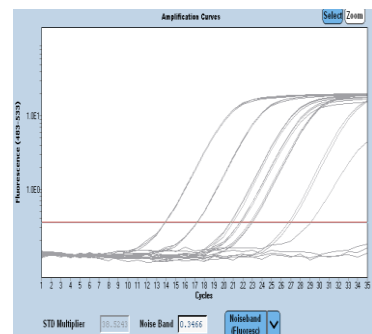
接着在 subset 中选择本次实验的子集 ，然后在



在 Sample Name 中输入样品名称，在 Sample Type 中选择样本类型，如待测样本、阳性对照/阴性对照、或者标准品及浓度。

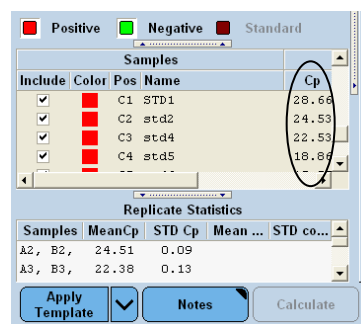
五. 数据分析：

1. 实验运行完后点击软件左侧的 **Analysis** 进入分析界面，选择 Abs Quant/Fit Point，在窗口中的 Subset（第二行）中选择本次实验的子集，点击窗口右下角的 。



*对 LightCycler® 480 的操作，请您详细阅读产品配套操作手册，为方便您阅读产品操作手册，您可参考本快速操作指南。


2. 点击软件界面中上方的 **Noise Band**，在 Noise Band 中调节 noise band 高度，使之处于对数增长期并高于所有噪声信号（右图），点击左下角的 **Calculate** 重新计算实验结果。

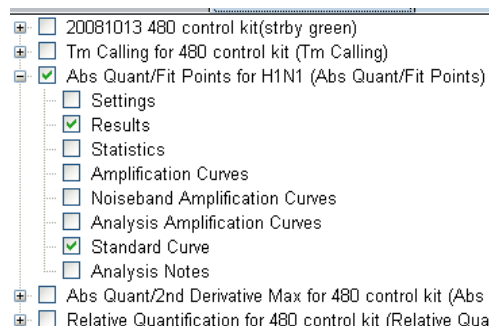


3. 再点击软件界面中上方的 **Noise Band** 右边的 **Analysis**，点击软件界面中间偏右的 **Threshold (Manual)** 自动设置阈值或手工调节阈值（鼠标左键按住拖动或在 **Threshold** 0.8122 输入阈值大小），再点击软件界面左下角的 **Calculate**，软件左下方出现每个样品的 **Cp 值或浓度值** 等以及平均值、标准误等信息，该部分可以鼠标拖动 **滑块** 或鼠标左右拖曳。

4. 如果是多重反应，注意通过点击屏幕右下方的 **Filter Comb 483-533** 切换通道来进行实验结果的查看。

六. 报告输出打印：点击软件右侧的  保存当前实验的分析结果，再点击软件左侧的 **Report** 点击软件中部左侧的 **detailed** **General** **Detailed**

选择需要输出的分析结果，如 H1N1，分析中建议选择 results 或 standard curve，点击软件界面左下方的 **Generate**，生成 PDF 报告，如装了打印机，直接点击软件中间上方的 ，或者点击 **PDF**，选择 pdf 文件保存位置后点击 save 保存。



七. 日常维护保养，参见《LightCycler 480维护保养指南》

八. 故障报修：仪器开机自检不通过，仪器前面第一个指示灯显示为红色，LC480软件下方信息栏显示报错信息和错误代码，请致电800-820-8864或者400-820-8864

九. 技术咨询：对软件的使用功能或者相关参数设置有任何问题，请致电800-820-0577，或者email至asc.support@roche.com，或者联系当地销售工程师及应用支持。

*对 LightCycler® 480 的操作，请您详细阅读产品配套操作手册，为方便您阅读产品操作手册，您可参考本快速操作指南。