

The LightCycler® 480 Software Version 1.5 及以上版本。

01

### 启动机器与软件

开机前请注意检查：电源连接正常、环境温度保持在 15°C - 32°C、湿度：30—80% 无冷凝水；样本加载模块周围无阻挡。

主机在启动过程中，位于前面板上的两个状态指示灯会随启动进程闪烁及改变状态，下图显示为仪器已经启动，并处于待机状态，尚无多孔板载入：

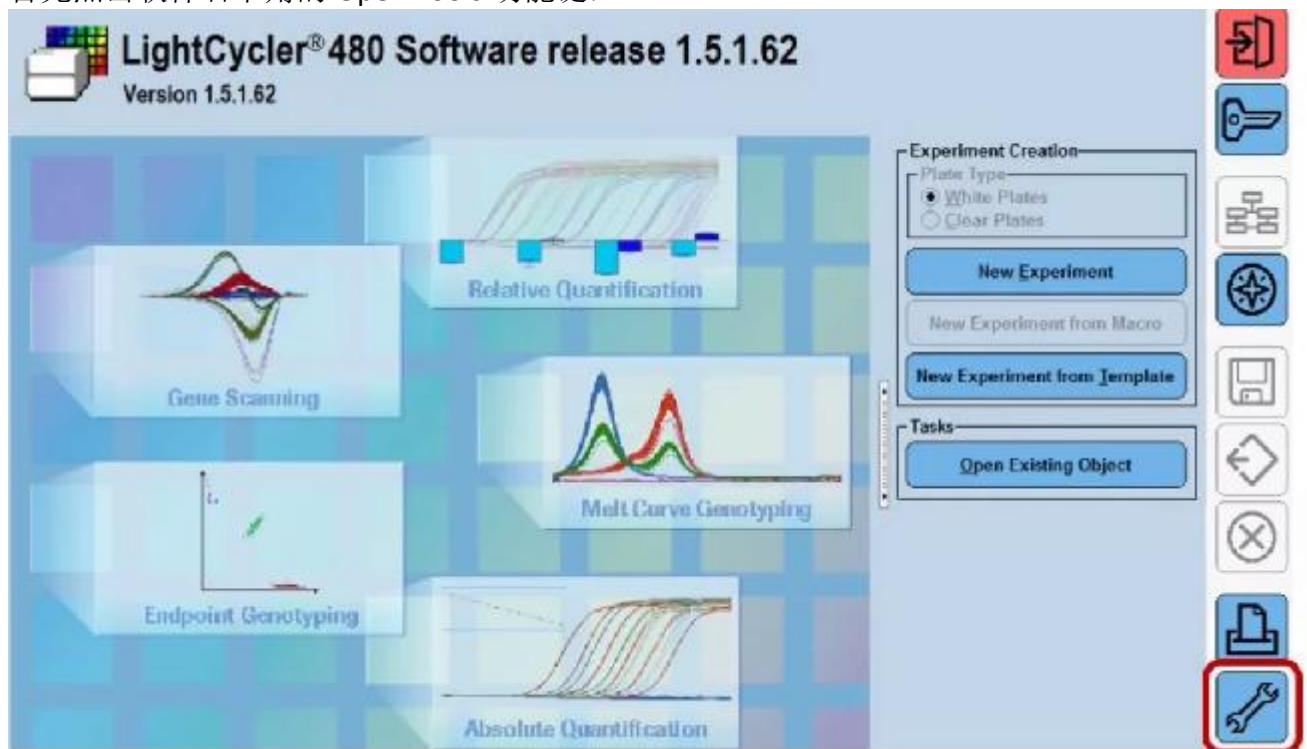


软件左上角的仪器状态将显示为：Standby (no MWP):

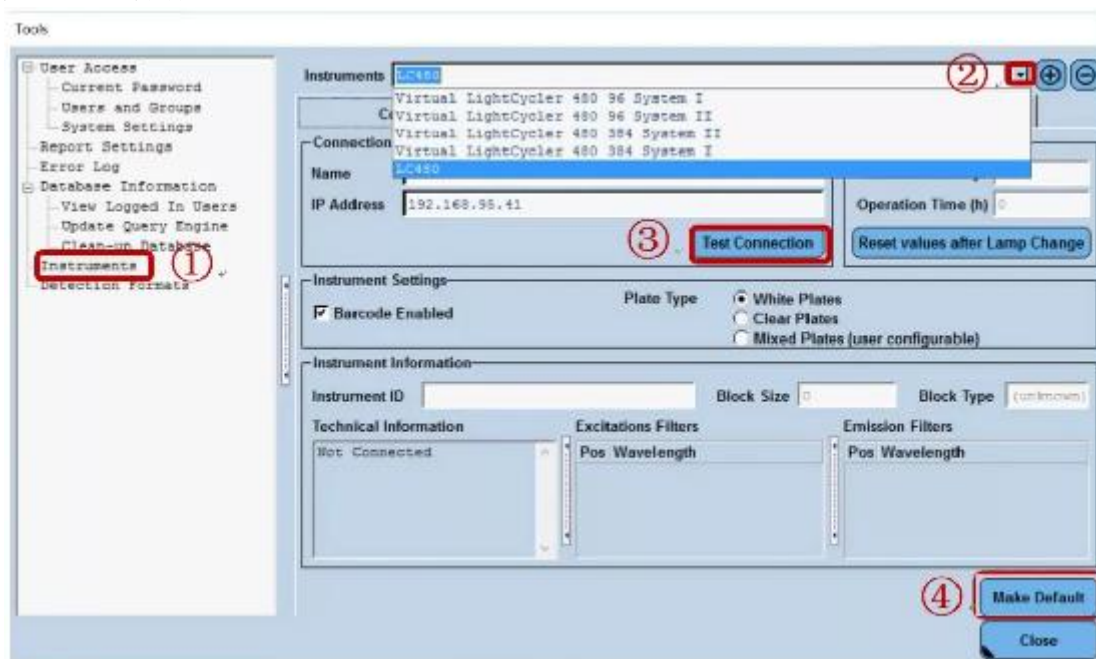


如果仪器和软件启动后，仪器前面板上的状态指示灯正常，但软件左上角的仪器状态显示为：Not Connected，说明仪器和电脑链接异常，可通过以下操作进行恢复。

首先点击软件右下角的 Open Tools 功能键：



在打开的窗口左侧选择 Instruments 选项；接着点击右侧界面仪器名称的下拉框，选中一台非虚拟（Virtual 开头）的仪器，如 LC480；再点击 Test Connection 进行仪器和软件的连接，连接成功后确认；最后选择界面右下方的 Make Default 按钮完成连接操作。



LightCycler® 480 提供配套 96 孔板和八连管耗材，使用八联管时请使用罗氏配套的适配器，建议对称放置八连管，如下图所示。



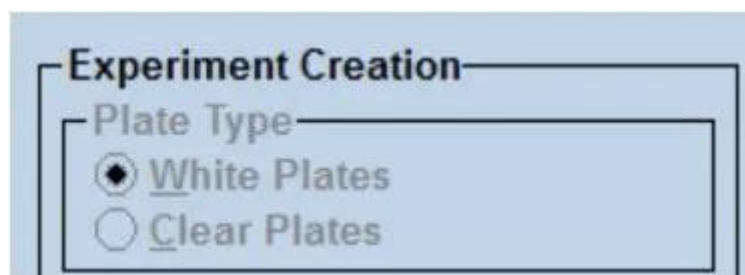
LightCycler® 480 使用 0.1ml 矮管耗材，在使用不合格的第三方耗材时，可能会由于材质以及和仪器加热模块的贴合性差异造成结果一致性的差异。

### 03

#### 实验程序设置

为了快速准确地进行实验程序的设置，建议采用以下步骤：

首先在软件的开始界面选择正确的耗材类型，白板/管选择 **White Plates**，透明板/管选择 **Clear Plates**。



接着选择“New Experiment from Template（从模板开始新的实验）”。

Experiment Creation

Plate Type

☒ White Plates  
☐ Clear Plates

New Experiment

New Experiment from Macro

New Experiment from Template

Tasks

Open Existing Object

在弹出的界面中选择模板并点击对号进行程序的加载,可以根据需要对加载后的程序进行修改。

Create Experiment from Template

Run Templates

| Name                                          | Path                                     | Creation Date           |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------|
| Dual Color Hydrolysis Probe - UPL Probe 96-II | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 16:33:50.613 |
| Endpoint Genotyping (PCR Read) 96-II          | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 17:08:36.713 |
| Endpoint Genotyping (Pre-Post Read) 96-II     | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 17:13:51.358 |
| Gene Scanning 96-II                           | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 16:44:38.871 |
| HydProbe 96-II                                | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.18.2007 15:44:17.211 |
| Dual Color Hydrolysis Probe - UPL Probe 96-II | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 16:32:53.576 |
| SampleProbe 96-II                             | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 17:07:27.950 |
| SYBR Green I 96-II                            | /Roche/Templates/Run Templates/System II | 07.20.2007 15:54:55.523 |

Subset Templates

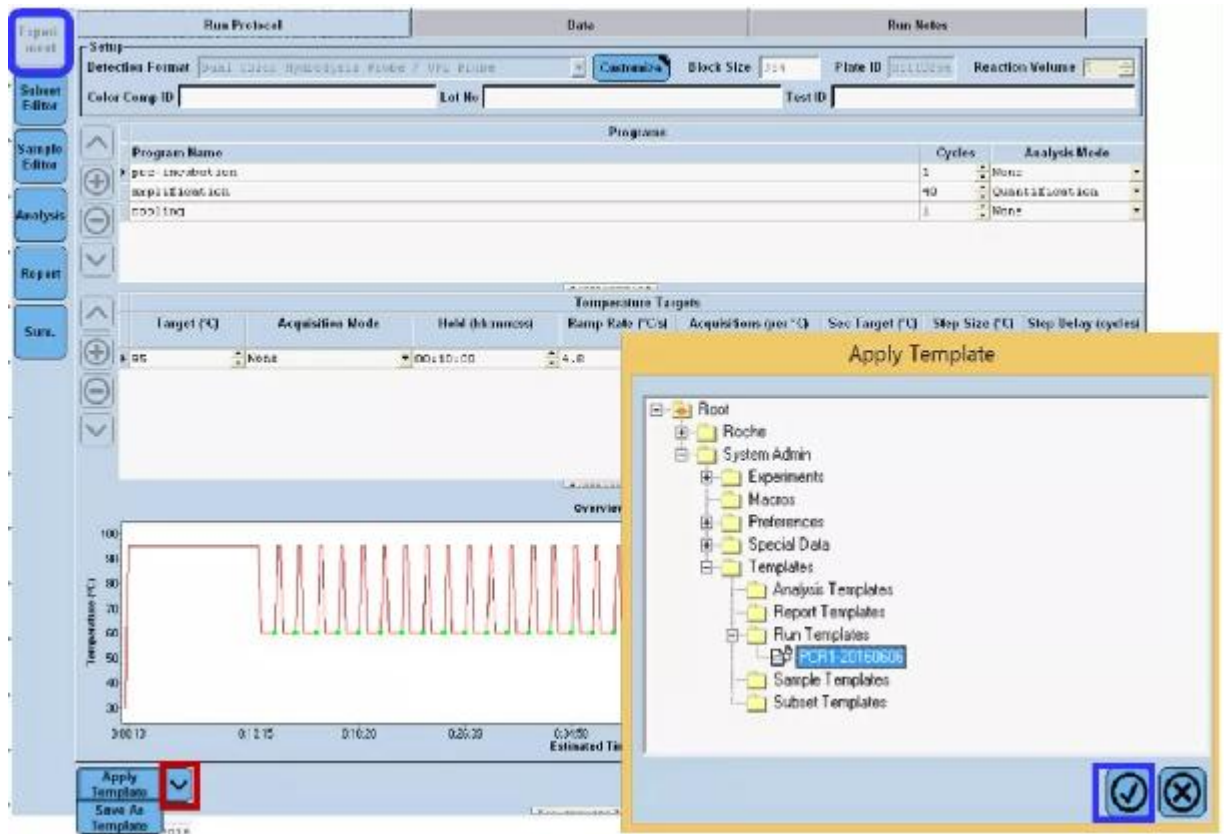
| Name                            | Path                               | Creation Date           |
|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Checkerboard Subset Information | /Expert/Templates/Subset Templates | 01.09.2008 17:11:02.466 |
| Quadrants Subset Information    | /Expert/Templates/Subset Templates | 01.09.2008 17:05:10.934 |

Sample Editor Templates

| Name                           | Path                               | Creation Date           |
|--------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| RelQuant xy Sample Information | /Expert/Templates/Sample Templates | 01.09.2008 17:05:55.624 |
| SYBR xy Sample Information     | /Expert/Templates/Sample Templates | 01.09.2008 17:09:30.967 |

☒ ☐

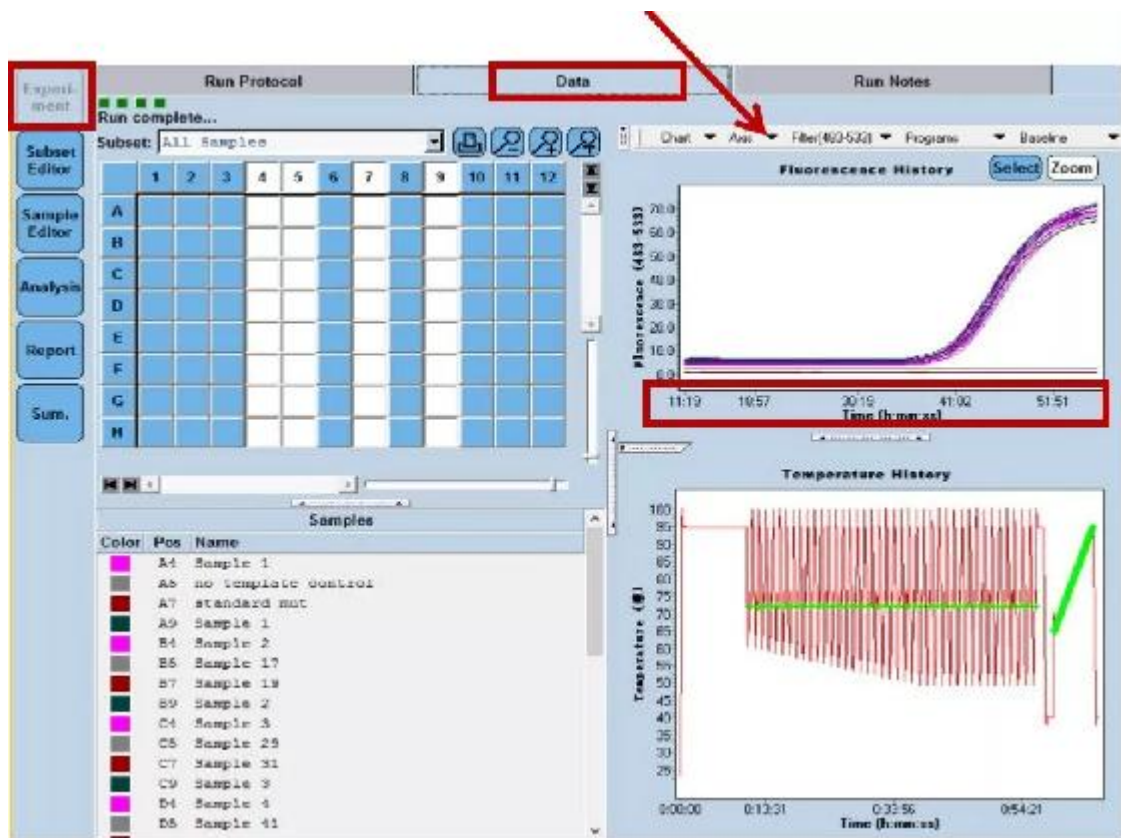
修改后的模板可以保存后供以后实验使用：在实验程序设置界面（下图所示），点击左下角 Apply Template 右侧的下拉框，选择 “Save As Template”，再选择保存路径（默认为 Templates 文件夹），编辑模板名称后点击打勾选项。



04

## 原始数据显示

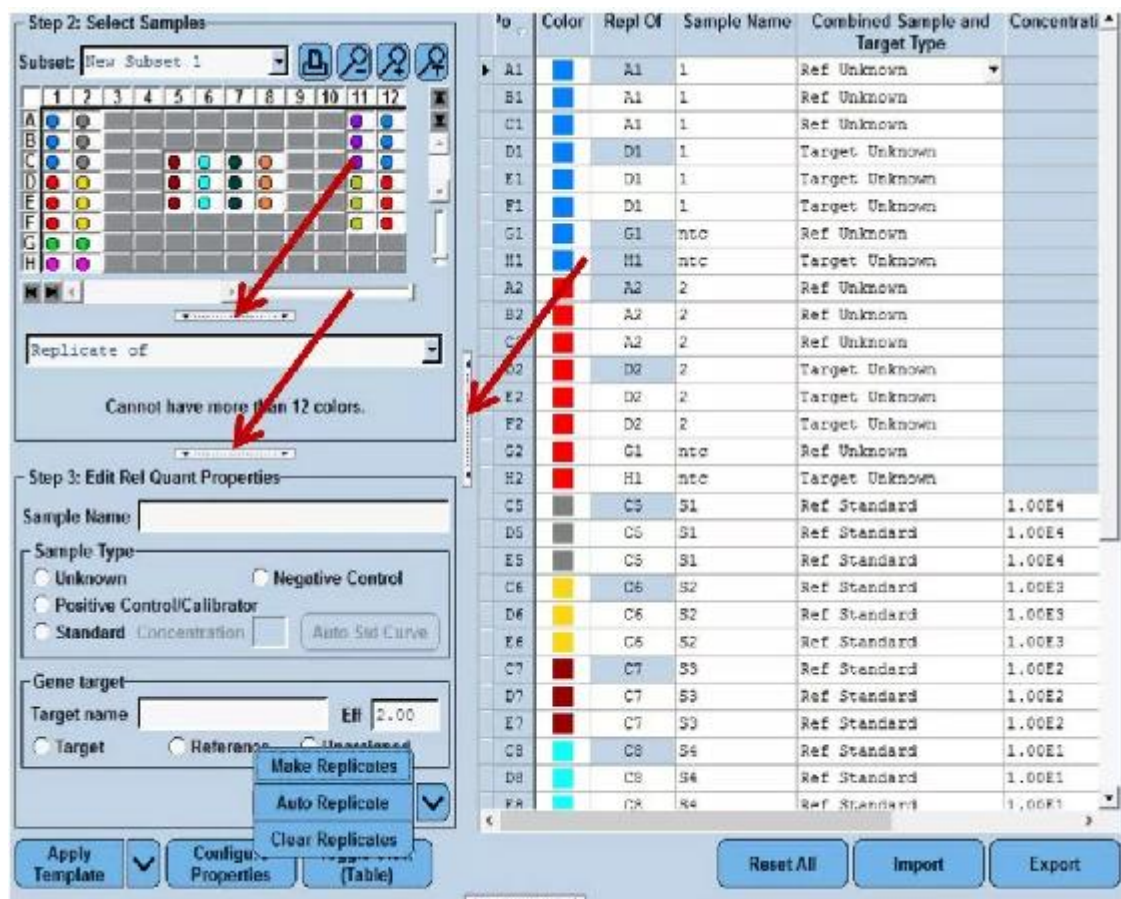
将扩增曲线图的横坐标单位从 Time 转换为 Cycles。点击图上方 Axis 右侧的下拉框，选择 **Fluorescence over Cycles** 即可。



05

### 实验结果分析

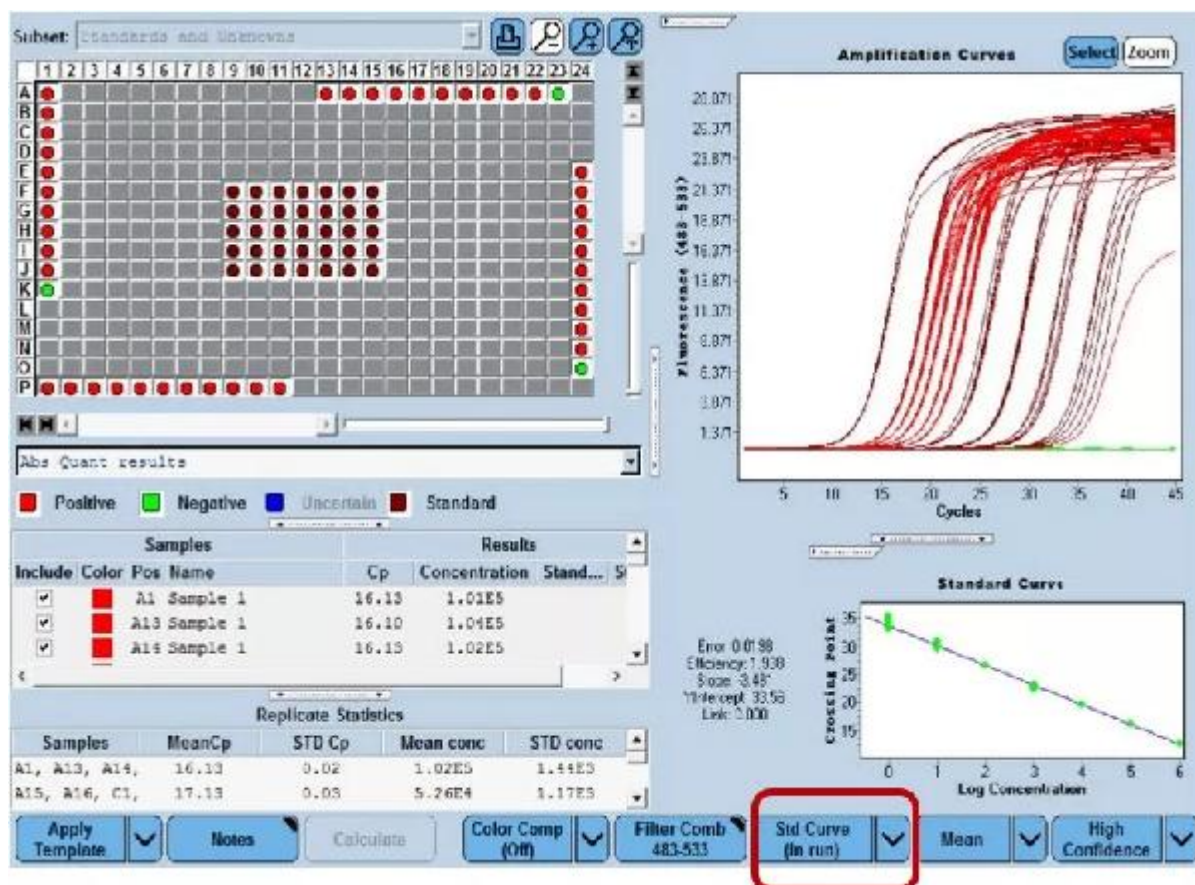
(1) 当个别分隔界面显示不全时, 可以通过点击并拖拉下图中箭头所指的图标来扩大和缩小相应界面; 也可以通过双击这个图标使界面最大化。



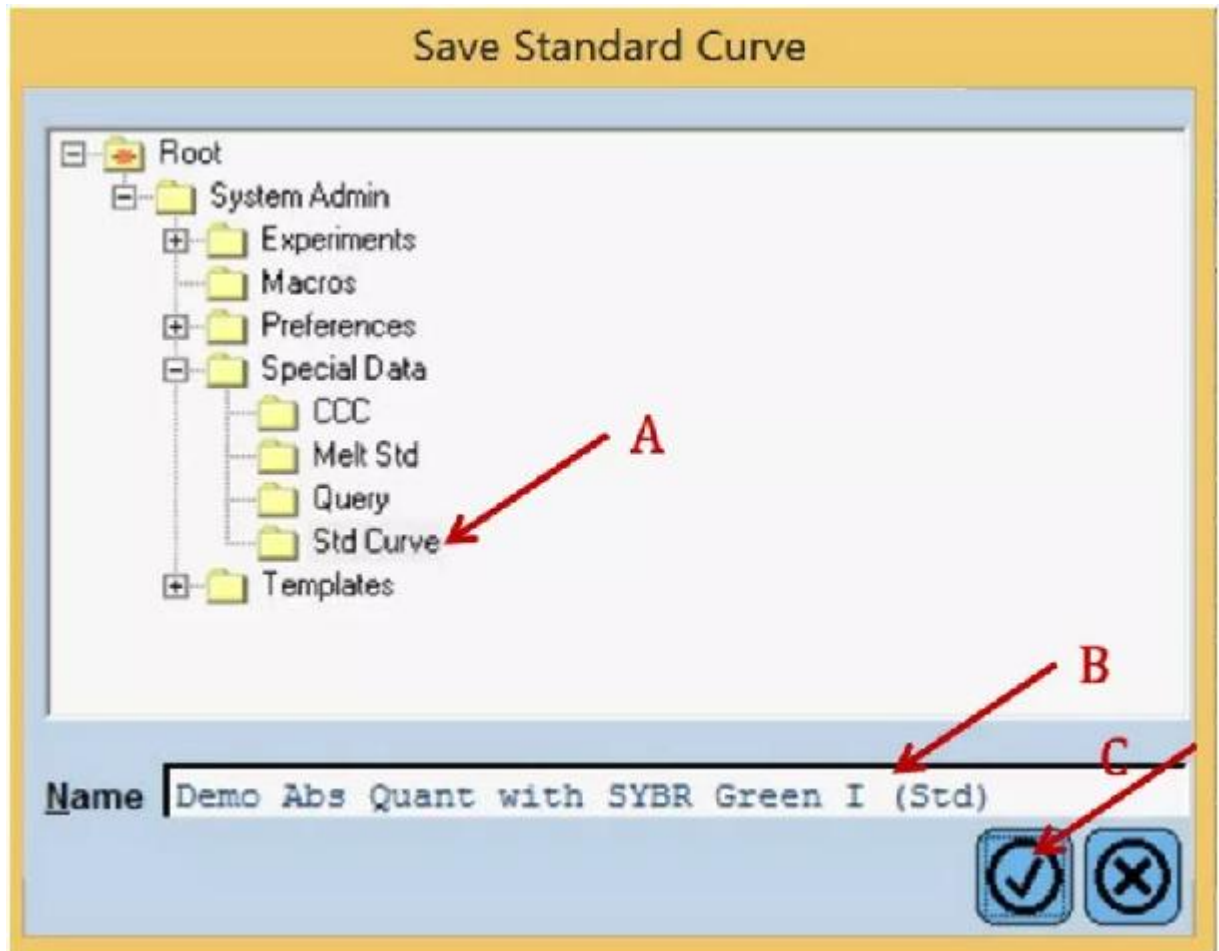
(2) 绝对定量中标准曲线的保存和调用：

【保存】：

在 Analysis 界面，点击 Srd Curve(In Run)右边的下拉框，选择 Save as external。

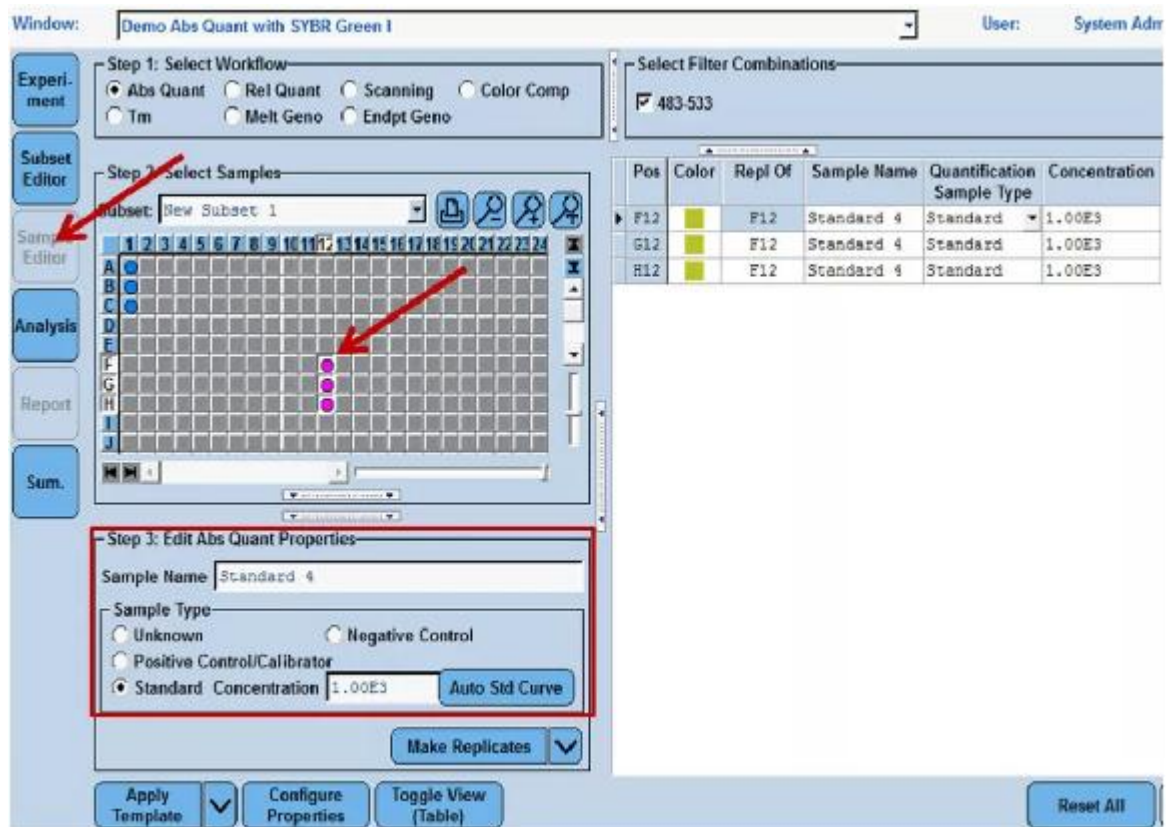


在弹出的窗口中依次选择文件夹 Special Data /Std Curve，进行标准曲线的命名，最后点击打勾选项保存。



**【调用】：**

检测待测样本目的基因浓度时，如果当次实验未制作该基因的标准曲线，需要调用之前保存的标准曲线，则需要当次实验中包括一个已知浓度的标准品，并进行正确命名，用于标准曲线的定标。如下图所示的标准品为浓度 103 Copy 的 3 个重复，紫红色显示 F12、G12、H12，待测样是蓝色所示 A1、B2、C1。

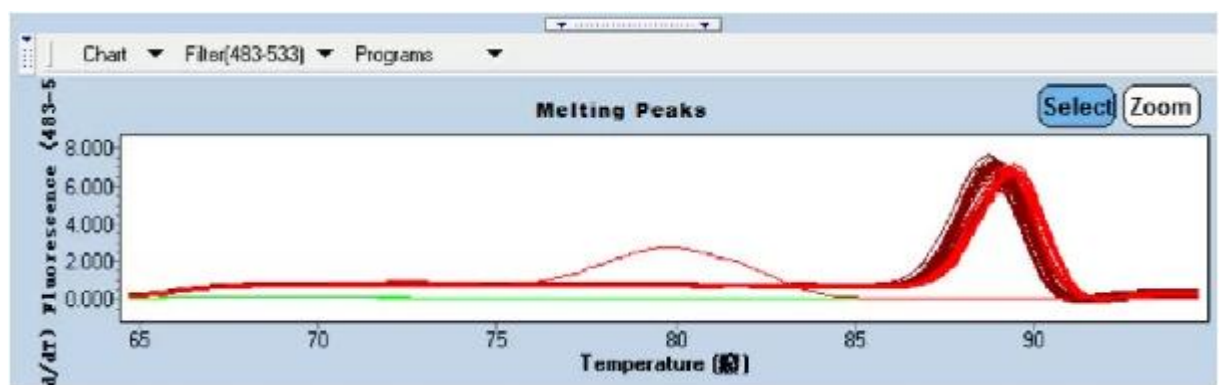
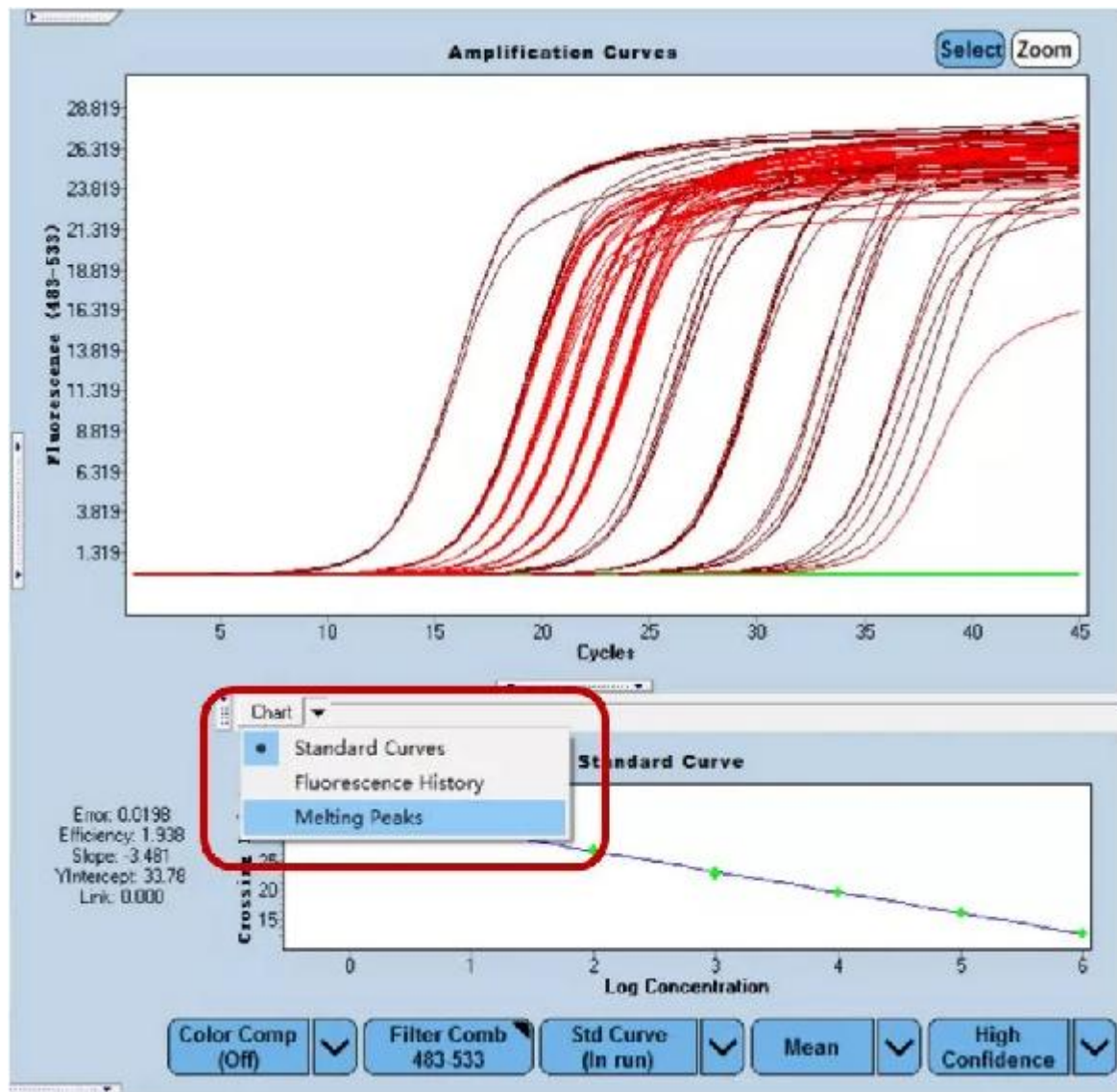


在 Analysis 界面，点击 Std Curve(In Run)右边的下拉框，选择 Std Curve(external)  
在弹出的窗口中选择之前保存的标准曲线即可。

06

## 数据处理

在 Analysis 界面同时显示扩增和熔解曲线：点击扩增曲线图的左下方的图标，再点击出现的 Chart 功能键右侧的下拉框，选择 Melting Peaks 即可将默认的 Standard Curves 图像更换为熔解曲线图。

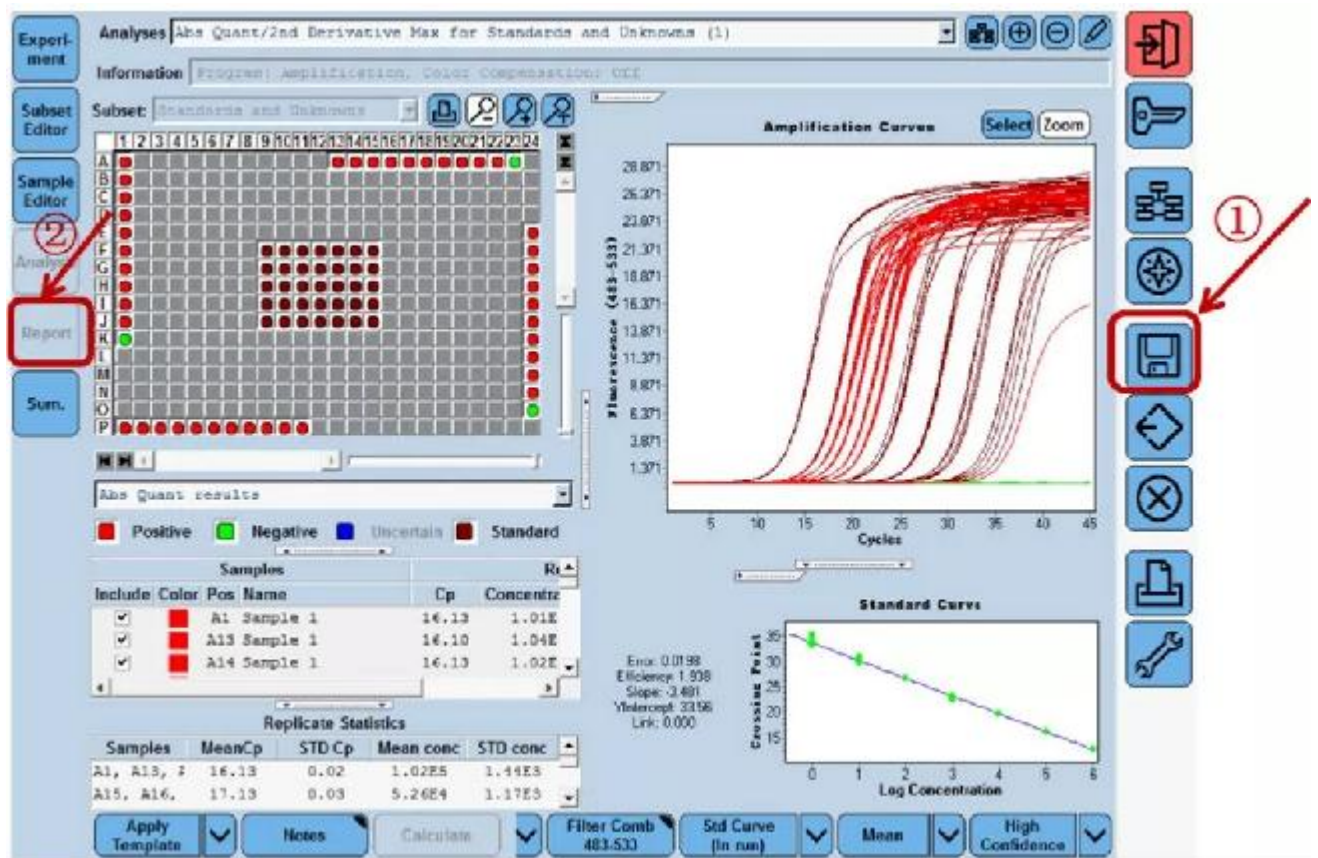


07

报告

(1) 生成报告:

在数据分析结束后，若需要将实验结果生成报告，需要首先点击分析界面右侧的保存键，报告键才可激活成蓝色，点击告键后进行报告的生成。



(2) 报告中扩增曲线颜色的更改。



# LightCycler® 480 Software

Report



## Demo Abs Quant with SYBR Green I

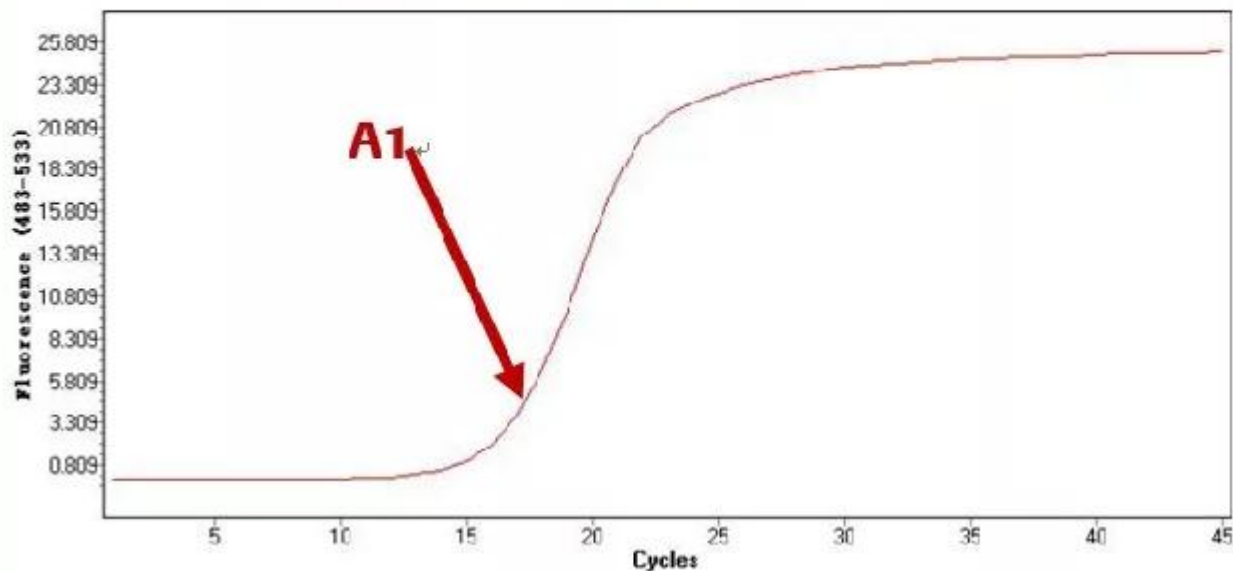
### Experiment

|               |                                                                                                                                                                                  |                    |                    |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Creation Date | 2017/11/30 20:10:29                                                                                                                                                              | Last Modified Date | 2018/1/17 16:45:18 |
| Operator      | Demo                                                                                                                                                                             | Owner              | System Admin       |
| Start Time    | 2005/6/9 11:24:49                                                                                                                                                                | End Time           | 2005/6/9 12:26:55  |
| Run State     | Completed                                                                                                                                                                        | Software Version   | HTC1 0.5.1.53      |
| Macro         |                                                                                                                                                                                  | Macro Owner        |                    |
| Macro Status  |                                                                                                                                                                                  |                    |                    |
| Templates     |                                                                                                                                                                                  | Plate ID           |                    |
| Test ID       |                                                                                                                                                                                  | Lot ID             |                    |
| Color Comp ID |                                                                                                                                                                                  |                    |                    |
| Run Notes     | Detection Format: SYBR Green I<br>Absolute Quantification with standard dilutions in the same run.<br>Melting Curve Analysis to distinguish specific product from primer dimers. |                    |                    |

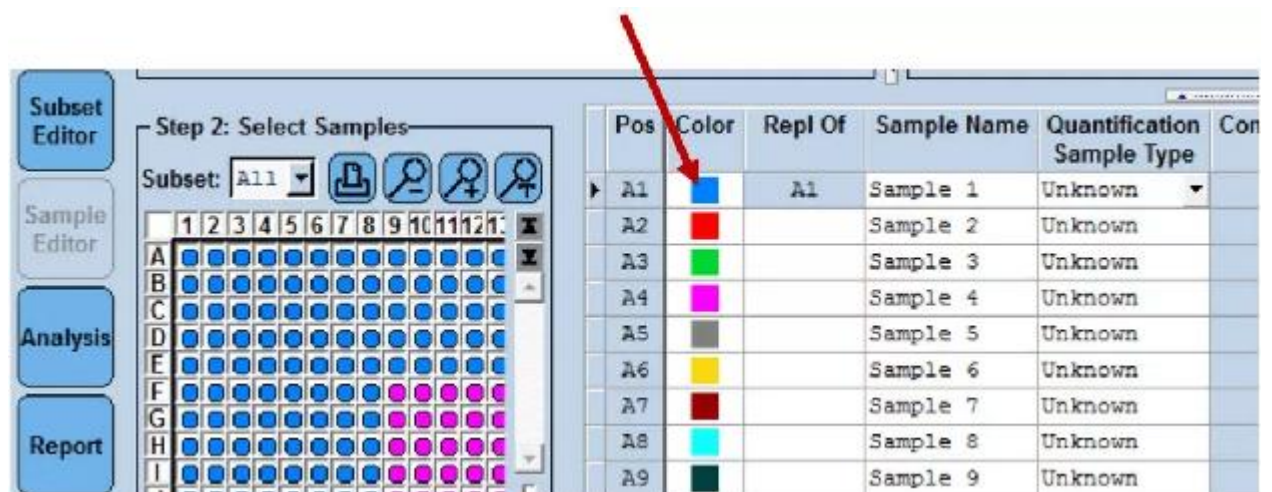
## Abs Quant/2nd Derivative Max for New Subset 1 (Abs Quant/2nd Derivative Max)

### Amplification Curves

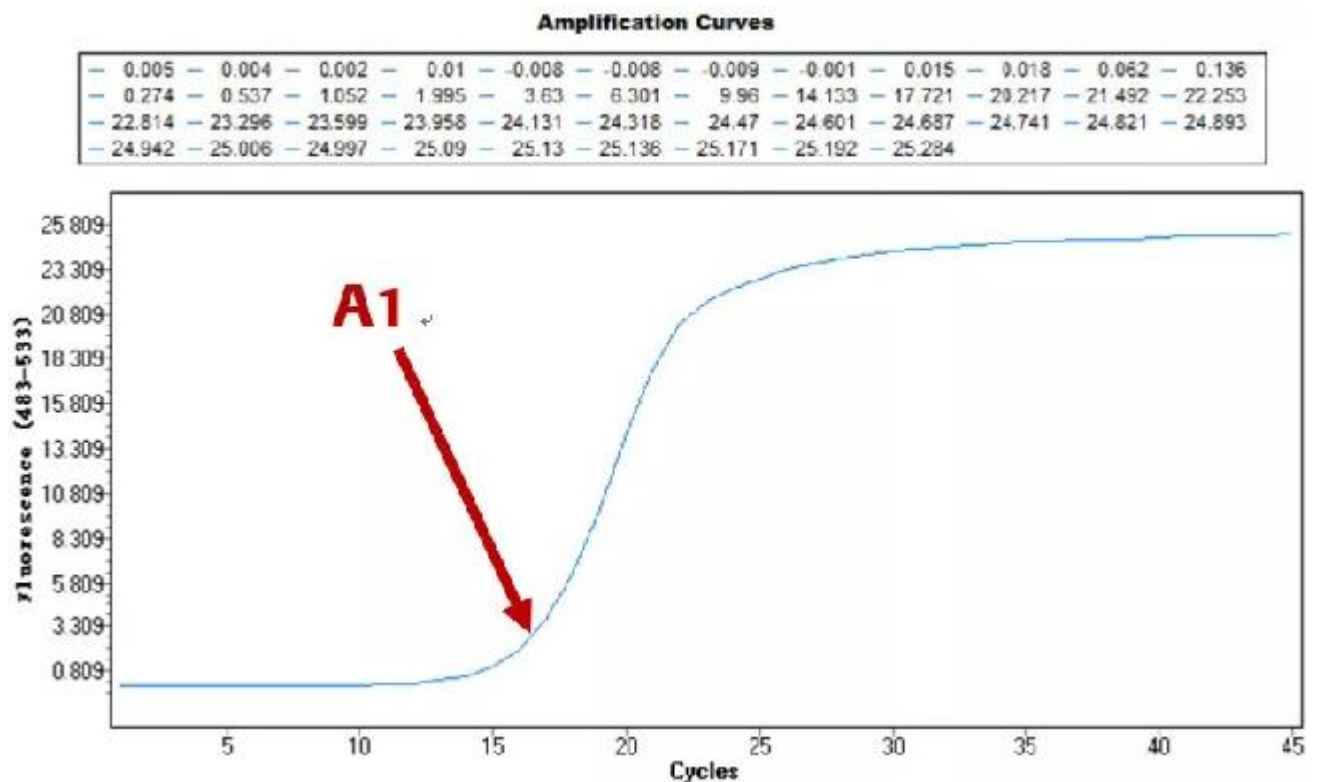
|          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| - 0.005  | - 0.004  | - 0.002  | - 0.01   | -0.008   | -0.008   | -0.009   | -0.001   | - 0.015  | - 0.018  | - 0.062  | - 0.136  |
| - 0.274  | - 0.537  | - 1.052  | - 1.995  | - 3.63   | - 6.301  | - 9.96   | - 14.133 | - 17.721 | - 20.217 | - 21.492 | - 22.253 |
| - 22.814 | - 23.296 | - 23.599 | - 23.958 | - 24.131 | - 24.318 | - 24.47  | - 24.601 | - 24.637 | - 24.741 | - 24.821 | - 24.893 |
| - 24.942 | - 25.006 | - 24.997 | - 25.09  | - 25.13  | - 25.136 | - 25.171 | - 25.192 | - 25.234 |          |          |          |



如上图的报告所示，扩增曲线图中的曲线 A1 为系统默认的颜色，如果需要将其更改成其它颜色，需要在 Sample Editor 界面中，用鼠标左键点击样本编辑表格中 A1 的颜色显示位置，即可对其进行颜色的编辑，如蓝色。



再次生成报告后，对应报告中的扩增曲线 A1 将出现相应的蓝色，如下图所示。



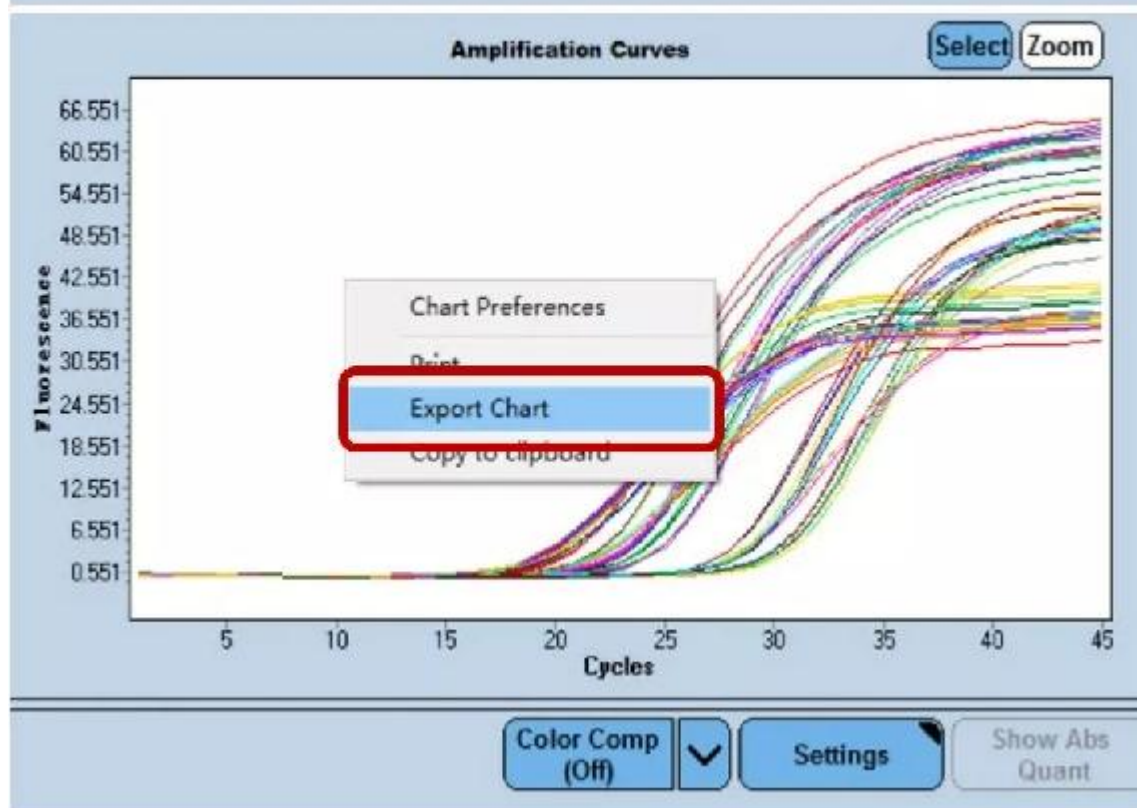
08

### 实验数据的导出方式

(1) 直接导出图或分析结果的数值，如 Cp、Ratios 等。

图形保存：

将鼠标放入图中，单击鼠标右键，选择 Export Chart。



数据保存：

将鼠标放入表格中，单击鼠标右键，选择 Export Chart。

LightCycler 480 Software release 1.5.1.62

Instrument: Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Connected

Window: Demo Rel Quant Mono Color

Analyses Basic Rel Quant

Information Subset: All Samples, Program: amplification

Results

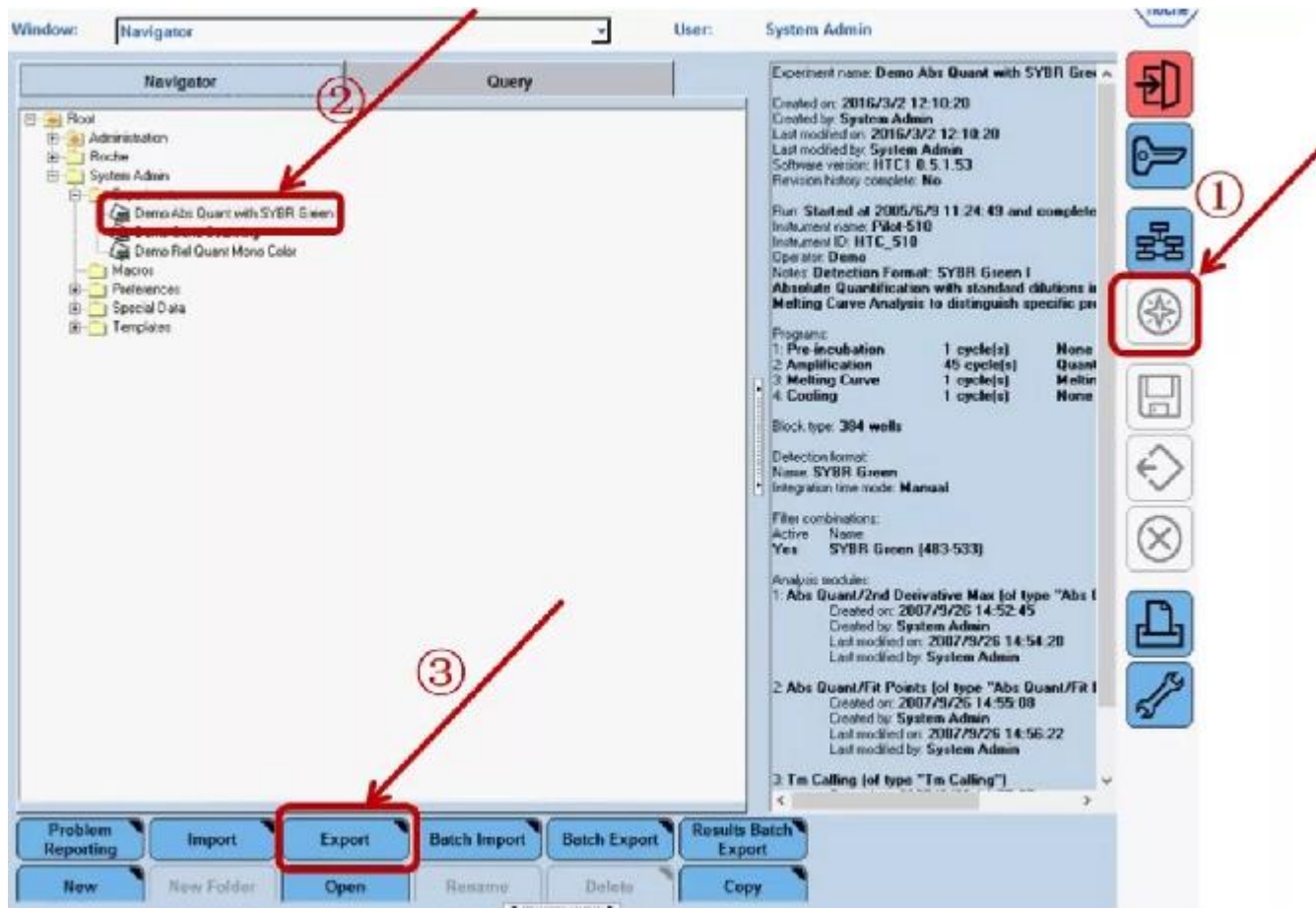
| Bar                                 | Chart | Pairing | Sample Name | Targets  |
|-------------------------------------|-------|---------|-------------|----------|
| <input checked="" type="checkbox"/> |       |         | calibrator  | Target 1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A1/D1   | sample 1    | Target 1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A2/D2   | sample 2    | Target 1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A3/D3   | sample 3    | Target 1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A4/D4   | sample 4    | Target 1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A5/D5   | sample 5    | Target 1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       |         | calibrator  | Target 2 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A7/D1   | sample 1    | Target 2 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A8/D2   | sample 2    | Target 2 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A9/D3   | sample 3    | Target 2 |
| <input checked="" type="checkbox"/> |       | A10/D4  | sample 4    | Target 2 |

Export Table

(2) 整个实验文件 (.ixo) 导出：

对于当前打开的数据文件，只需要选择软件界面右侧的导出键 Export the selected object to a file，选择保存路径，确认保存即可。

对于数据库中未打开的实验数据的保存，点击软件界面右侧 Navigator，在出现的数据库界面中选择所要导出的文件，再点击下方的 Export 键可将数据输出成 .ixo 文件。



09

## 仪器故障记录

在重新启动仪器以前，注意记录每一个出现的报警窗口及提示。

10

## 仪器维护

(1) 定期检查并备份数据库，以保证数据的安全。查找路径：对于 XP 系统

C:\Program Files\Roche\Exor4\Data；或 Win7 系统

C:\ProgramData\Roche\Exor4\Data。检查数据库 (\*.IB) 的大小，并进行备份：单个数据库大小不能超过存储器的容量：如保存于 CD，数据库大小不能大于 700 MB；如 DVD，不能大于 4.5GB。

(2) 进风口灰尘过滤器 (dust filter) 的更换：建议每三个月查看一次灰尘过滤器，步骤如下：

- 卸下仪器右侧的挡板，露出进风口；



- 卸下进风口处的通风防尘过滤器；



- 以相同的方式，从仪器后部进风口处取下防尘过滤器；



- 从每个防尘过滤器上取下使用过的滤网，插入新的滤网；



- 将更新后的防尘过滤器重新装回相应的进风口槽。