視窗進行快



StepOne & StepOnePlus 快速上機可由兩種方式來進行

A. 由 StepOne Software Quick Start 進行上機

B. 由 StepOne 或 StepOnePlus 機器面板直接觸控上機之設定

A. 由 StepOne Software Quick Start 進行上機

1. 開啟 StepOne Software v2.0 進入主畫面後點選 Quick Start

速上機設定

- 2. 進入 Experiment Properties 後輸入:
 - Experiment Name 及檔案儲存位置

Enter Experiment Name and Location		
• Enter Experiment AB Location Name:	D:\Applied Biosystems\StepOne System\experiments\AB.eds	Browse

(對於單機客戶而言可將 Experiment 存至 USB 中,樣品上機前再將檔案 Import 到 StepOne 或 StepOnePlus 機器上來進行上機

● 選擇 Experiment Type

Select Experiment Type		
Quantitation - Standard Curve	Quantitation - Relative Standard Curve	✓ Quantitation - Comparative Cτ (∆∆Cτ)
Melt Curve	Genotyping	Presence/Absence

選擇	睪使用萤光系统		
elect Reagent	ts		
4	TaqMan® Reagents	SYBR® Green Reagents (No Melt Curve)	SYBR® Green Reagents (With Melt Curve)
	Other		

Select Ramp Speed		
✓ Standard (~ 2 hours to complete a run)	Fast (~ 40 minutes to complete a run)	

選擇實驗樣品種類

Select Template	
RNA (1-Step RT-PCR)	✓ cDNA (2-Step RT-PCR) or gDNA



點選 Run Method 確定 PCR 反應條件是否需要修改後,按下 START RUN ▷

Roastion Volume	Bor Well 20					
Add Stage	Add Step Y	Delete Selected	(antifica to ((ada)	(ootbing to Reda)	Collect Data V	
7 log chage	7 dd Otep	Delete October	(normal to orman)	(record to receiv)	Concertound	
Hold	ling Stage		Cycling Stage			
		Numbe	er of Cycles: 40 🗘			
			Enable Auto ∆			
		Star	ting Cycle: 2 0			
- 00	95.0°C	95.0	*C			
	00:20	100% 00:	21			
75 -	- mil	m) m				
			1003	60.0°C		
no100/	%			00:20		
				mi)		
23-						
o –	N	011				
1	uoep 1	Step 1	Step	12		
Legend						
-						

3. 如欲使用 StepOnePlus 機器上 VeriFlexTM Block 的功能,請由左方 Setup 功能列

上點 Plate Stepup 視窗 視窗下, 勾選 Enable VeriFlexTM Block 選項,此時 Block 即被分成六個區塊(如下 圖)。(此功能僅限 StepOnePlus 機型)

Vie	ew Pla	te La	yout	View V	Vell Ta	ble						
		Se	elect W	ells Wi	th: - S	elect Ite	em - 🔹	- Se	lect Ite	m - 👻		
	• Sho	w in		. View	v Lege	nd	V Enab	le Veri	Flex™	Block	•	Be
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
А												
в												
С												
D												
Е												
F												
G												
н												
W	ells: U	0 Unk	nown	5 0 St	andard	0 🛛	Vegativ	e Conti	rol		96	Empty

4. 接著點選 Run Method,在 run program 上點一下欲調整的溫度步驟,選擇

Review the libra	r the reaction volume ar	nd the thermal profile for	r the default run met	nod. If needed	l, edit the d	efault run method o	r select a run method from
Faphical	View Tabular View						
Reaction V	olume Per Well 20	μ					
Add S	Stage • Add Step •	Delete Selected	(nothing to Undo)	(nothing to	Redo) I	Collect Data •	Open Run Method
		E Er	nable AutoDelta				
		Startin	g Cycle: 2 0				
- 00	95.0 °C	95.0 *0	2				
	00:20	100% 00:01					
78 -	<u>,</u>	00.1 mil	100%	60.0 %			
∞ –	100%			00:20		1	
	m.!			m. Zone	1.60 0		
				Zone	2: 60 °C		
•	Stan 1	Stan 1	Ctar	Zone	3: 60 °C		
0	and i	otep 1	ore	Zone	4: 60 °C		3
Legend -				Zone	5: 60 °C		



Browse / New

Set different temperatures for one or more zones 並設定每個區塊的溫度,請

注意兩相鄰區塊溫度差異不可以超過5度,第一和第六區塊最多可差異25度。

Set Temperatur	es				X
Select wheth one or more Note: With m	ner to set one ter zones in the Ven nelt curve steps,	mperature for al riFlex™ sample all zones need i	l zones or to set block. Then, se to be set to the s	different tempe t the temperatur ame temperatu	ratures for re(s). ıre.
O Set one tem	perature for all z	ones			
60.0 😂					
Set different	temperatures fo	r one or more z	ones		
Zone 1	Zone 2	Zone 3	Zone 4	Zone 5	Zone 6
60.0 🗢	60.0 😂	60.0 😂	60.0 🗘	60.0 😂	60.0 😂
		ОКС	ancel		

5. 如果 StepOne 或 StepOnePlus 是單機狀態 (也就是機器並未與電腦連線) 則會出

現無法與機器連結的錯誤訊息,此時從畫面左上方按下 Save 下的 Save As 將此 Experiment 存至 USB Device。

<u>O</u> per	🛃 <u>S</u> ave • 🗎	<u>C</u> lose	ն Send Experin	nent to Instrument	😼 Download E	xperiment from I	nstrument	纋 E <u>×</u> port ▪	🐣 Print Report
E:	xperiment: l	Jntitled	т ו	ype: Standard	Curve	Reagents:	TaqMan ®	Reagents	0
R	lun Status								
	START ▷						Instrur	nent Status: 🏅	Context Contex
F	Run Status:	Not Sta	ted					📑 🗆 Enat	ole Notifications

6. 將已儲存實驗的 USB Device 插入 StepOne 或 StepOnePlus 機器的 USB 插孔, 觸

控機器面板使畫面顯示後,點選主畫面的 Browse/New Experiments , 並觸控螢幕右上方的檔案夾 選擇 USB folder ,並選擇所要進行的 實驗名稱,之後按下 Start Run 。再次確認實驗名稱及樣品體積後則可按下 Start Run Now 進行 data 收集。

反應結束後,則會回到 "Main Menu"畫面,觸控 Collect Result USB Device 將 data 存出。

注意: StepOne 或 StepOnePlus 機器本身只能暫存一個檔案,每次反應結

束後必須隨即將檔案以隨身硬碟輸出,以避免被下一個實驗結果覆蓋。

0

B. StepOne 或 StepOnePlus 機器面板直接觸控上機設定

ems

- 1. 開啟電源後,進入主畫面。由觸控式螢幕來進行 StepOne 或 StepOnePlus 的設定。
- 2. 如果要進行的實驗反應, Primer or Probe 是利用 AB 網站所選擇、AB 代客設計的 TaqMan Gene Expression Assay 或由 Primer Express 所設計的 SYBR Green 使用

的 primer ,則可先由 Main menu 上的捷徑鍵選擇 TaqMan cDNA ^(standard) 或 SYBR Green (standard) SYBR Green 快速上機。

- 也可從 Browse/ New Experiments 選擇所需的實驗反應條件:例如標準模式下的 Gene Expression Quantification (GENEX_STD*)、快速模式下的 SYBR Green 實驗 (SYBR_GREEN_FST)、解離曲線 Melting Curve (MELT_Curve*) or SNP Genotyping (GTYPE-STD*)等.....上機設定。
- 4. 按下 TaqMan cDNA (Standard)進入 PCR Thermal Cycle Program,可利用下面工



具列再重新编輯反應條件,如果條件相同則直接按下 sav

5. 如欲使用 StepOnePlus 機型上 VeriFlex[™] Block 的功能,請點選 Options 下的 VeriFlex step 並設定每個區塊溫度,請注意兩相鄰區塊溫度差異不可以超過5度 以上,第一和第六區塊最多可差異25度。(此功能僅限 StepOnePlus 機型)



	Edit Ru	n Method	: NewMet	thod			×			
	Stage 1	Stage 2 × 35 95.0 0:15 Step 1 Step 1 Add age or a ster ature to edit reture to edit	50.0 0:15 Step 2 Step 2 De p to insert a t it. Touch O o show ramp 0x490 16bpp	72.0 0:30 Step 3 Step 3 lete stage or s rates or to pisplay at	Stage 3 % \bigcirc Ramp Rate/Tir AutoDelta VeriFlex ster UVERIFLEX ster Pause \Rightarrow 0 \Rightarrow 0 Options step. Touch a to conche a pause o add a pause	ne 4 Ste	0 P 2 Save ?			
Pause Pause										
	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0				
	1 – 2 *Tempera	3 – 4 Iture differer	5 – 6 nce between	7 – 8 adjacent z	9 – 10 cones <= 5.0	11 - 12	Apply selected to All			
	1	2 7	3	4	5	Canc	el Done			

6. 觸控需要更改之處則會跳出觸控式鍵盤,重新給予實驗名稱、選擇檔案儲存的

Folder、	並更改實際反應樣品體積	,捋	F Save	& Exit	Save &	exit o	
Run Experiment:	TaqMan_Std		2007040	on-IIIM	Y Y		
R Folder:	Default		1 2 q w a s		5 6 7 t y 1 1 h j	8 9 0 u i o p k l Caps	
Reaction Volume:	20	_	Z X Clear	ÛÛ	Ê Â	n + Symbols () Done	
		_					

然後在 Browse Last Accessed Experiments 下選擇剛設定好的實驗,按下 Start Run。此時

Applied Biosystems



8. 反應結束後,則會回到 "Main Menu"畫面, 觸控 Collect Results 以 USB

Device 將 data 存出後,再回到 StepOne Software 進行實驗盤建立及分析。

Eile View Help Main Mer	าน		
Browse / New Experiments	Settings Menu	Tools Menu	Collect Results
TaqMan cDNA (Fast)	TaqMan cDNA (Standard)	SYBR Green (Standard) –includes Melt Curve	RNaseP Wizard
Shortcut 5	Shortcut 6	Shortcut 7	Shortcut 8
	?		

注意: StepOne 或 StepOnePlus 機器本身只能暫存一個檔案,每次反應結

束後必須隨即將檔案以隨身硬碟輸出,以避免被下一個實驗結果覆蓋。