





1. StepOne 實驗盤設定可由 StepOne Software v2.0 主畫面的 Design Wizard  或者是 Advanced Setup  將實驗方法編輯好以進行上機。

2. 如選擇 Design Wizard 來建立實驗盤時，只要選擇你所需要的選項依照實驗編輯精靈的帶領，將實驗盤設定完成。

3. 如選擇 Advanced Setup 來進行設定：



a. 在 Experiment Properties 介面先建立實驗名稱、確認實驗機型、選擇實驗設計與結果計算方式、螢光試劑的選擇、PCR 反應速度。



b. 在 Plate Setup 介面建立實驗盤中所加入的基因及樣品。

✓ 在左邊的 **Define Targets and Sample** 視窗中選擇此次實驗所要的基因及

樣品，利用 **Add New Target** 加入新的基因，並編輯基因名稱及所標定的螢

Target Name	Reporter	Quencher	Colour
GAPDH	FAM	NFQ-MGB	

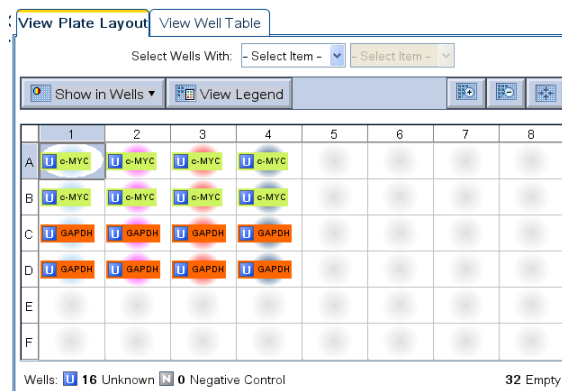
光種類 並可利用其他按鍵將之前已儲存的 Target gene 加入、儲存或刪除。樣品則可用

Add New Sample 加入這次實驗所要上機的樣品數，並編輯樣品名稱。

✓ 在右邊的 **Assign Targets and Sample** 視窗中可開始編輯樣品置放的位置，

利用滑鼠拖曳選擇 Well 並勾選右邊畫面適當的 Target gene 及

Sample。並可點選 **Show in Wells** 來編輯 Well 所要顯示的資訊如樣品名稱、基因名稱。

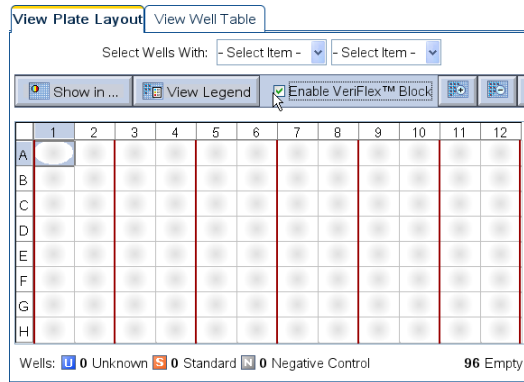


✓ 如欲使用 StepOnePlus 機器上 VeriFlex™ Block 的功能，請在


Assign Targets and Samples


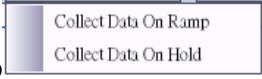
視窗下，勾選 Enable VeriFlex™ Block

選項，此時 Block 即被分成六個區塊。（此功能僅限 StepOnePlus 機型）

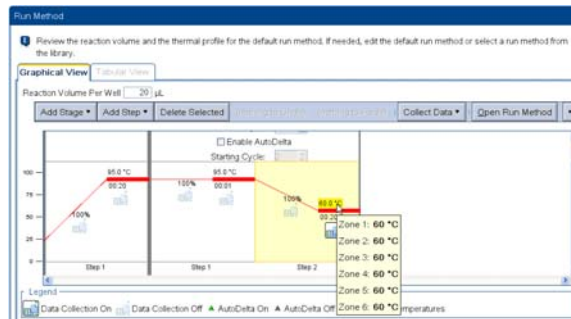



c.  在 Run Method 介面編輯 PCR 反應條件，利用溫度上方工具列來增加或刪

除溫度，可在螢光被激發的溫度位置按下  確認螢光的收集步驟，選擇

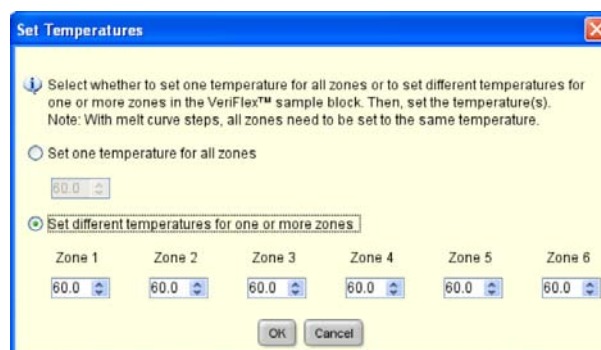
 下拉式選項決定收光時間在 Hold/ Ramp 。若要


使用 StepOnePlus 機器上 VeriFlex™ Block 的功能，直接在點一下欲調整的



溫度步驟，選擇  **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。



- d.  在 Reaction Setup 介面是協助實驗操作者將所需試劑及樣品量試算好。

在 **Reaction Mix Calculations** 將 Primer/ Probe 的起始濃度及每個反應所需最終的 Primer/ Probe 濃度輸入，也可多預估試劑混合的比例


Excess Reaction Volume: %，軟體可直接將反應所需試劑及 primer/ probe 的量計算出來。並可從 preview 看到每個基因所須製備的試劑混合物的比例，如下表所示

Reaction Component	Single Well	Unknown [6 Replicates each]	NTC [0 Replicates]
Master Mix	10.00	66.00	0.00
Forward Primer	0.20	1.32	0.00
Reverse Primer	0.20	1.32	0.00
Sample	2.00	13.20	0.00
H2O	7.60	50.16	0.00
Total Volume	20.00	132.00	0.00

在 **Sample Dilution Calculation** 中可將樣品起始濃度及最後每個反應管所需的濃度輸入，軟體則會將樣品稀釋的方式顯示在表格中。

Reaction Mix Calculations		Sample Dilution Calculations		
Diluted Sample Concentration (10x for Reaction Mix):		<input type="text" value="50.0"/>	ng/ μ L	<input type="button" value="Print Reaction Setup"/>
Sample Name	Stock Concentration (ng/ μ L)	Sample Volume (μ L)	Diluent Volume (μ L)	Total Volume of Diluted Sample ...
1	<input type="text" value="100.0"/>	14.0	14.0	28.0
2	<input type="text" value="100.0"/>	14.0	14.0	28.0

按下右方的 **Print Reaction Setup** 將反應配置表印出進行實驗製備。

- e.  **Material List** 介面則是會依據實驗設計的選擇，顯示實驗中所需耗材、試劑的產品編號，以協助實驗操作者訂購正確及所需的產品。

4. 實驗盤設定好則可進入 **Run** 介面，按下 **START ...** 即可進行實驗反應。