

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам. генерального директора
ООО «Био-Рад Лаборатории»

Яшина Т.В.



1
«20» сентября 2011 г.

Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000

Руководство по эксплуатации

BIO-RAD

Содержание

1.	Введение	1
	Платформа Bio-Rad серии 1000	1
	Исполнения термоциклера серии 1000, их характеристики....	1
	Рабочие характеристики и свойства термоциклера 1000.....	2
	Ресурсы и справочная информация Bio-Rad.....	2
	Условные обозначения, используемые в данном руководстве	4
2.	Начало работы	6
	Установка термоциклера 1000.....	6
	Общее представление о термоциклере 1000.....	7
	Вид спереди без реакционного модуля	8
	Вид сверху с реакционным модулем.....	8
	Задняя панель базового блока термоциклера.....	9
	Панель управления и главное меню	9
	Функции клавиш панели управления	10
	Главное меню	11
	USB A-порт	11
	Библиотека файлов.....	11
	Регистрация в системе термоциклера 1000 и выход из системы.....	14
	Переименование термоциклера 1000	15
3.	Реакционные модули	17
	Сменные реакционные модули	17
	Вставка и извлечение реакционного модуля.....	18
	Вставка реакционного модуля	18
	Извлечение реакционного модуля	19
	Работа с регулируемой крышкой.....	20
	Открывание крышки	20
	Закрывание крышки и регулировка усилия зажима крышки	23
	Загрузка сосудов с пробями в блок.....	24

4.	Автоматический генератор протоколов	25
	Общее представление об автоматическом генераторе протоколов ...	25
	Создание протокола при помощи автоматического генератора протокола	26
	Автоматический генератор протоколов	
	дополнительная информация.....	31
	Калькулятор T_a – Дополнительная информация.....	32
5.	Выполнение протоколов	34
	Запуск протокола с помощью клавиши RUN (выполнить)	34
	Контроль выполнения протокола с помощью клавиш STATUS и VIEW	38
	Контроль с помощью клавиши VIEW	39
	Контроль нескольких блоков с помощью клавиши STATUS	39
	Приостановить и продолжить выполнение протокола с помощью кнопки Pause	43
	Пропустить этапы с помощью кнопки Skip Step	44
	Отмена выполнения с помощью кнопки Cancel Run.....	45
	Инкубация пробы с помощью клавиши INCUBATE.....	47
6.	Создание и редактирование протоколов.....	50
	Открытие нового или существующего протокола	50
	Изменение параметров на этапе температурного воздействия	51
	Изменение заданной температуры и времени выдержки	52
	Добавить и удалить температурный градиент.....	53
	Добавить и удалить температурное приращение	54
	Добавить и удалить скорость линейного нарастания.....	56
	Добавить и удалить время Extend (продления)	57
	Добавить и удалить звуковой сигнал.....	59
	Изменение параметров на этапе GOTO (перехода)	60
	Вставить и удалить этап	62
	Вставить этап протокола.....	62
	Удалить этап протокола	64
	Присвоение имени протоколу.....	65
	Присвоение имени новому протоколу.....	65
	Переименование существующего протокола.....	66
	Изменение объема пробы и температуры крышки	67
	Сохранение протокола	70
	Сохранить отредактированный протокол	71
	Выбор объема пробы и температуры крышки.....	72
	Режим терморегулирования.....	73
	Выбор температуры крышки	73
7.	Оптимизация ПЦР-анализа с помощью 1000™	74
	Оптимизация для ускорения протокола.....	74
	Оптимизация температуры на этапе гибридизации с помощью градиента	76
	Оптимизация режимов работы с малыми объемами проб.....	77
	Перенос протоколов с другого термоциклера	78
	Выявление и устранение проблем ПЦР-анализа.....	78
	Лабораторный инвентарь: микропланшеты, пробирки, уплотнители и колпачки	79

8	Папки и файлы протокола	82
	Содержание файла протокола	82
	Опции для этапов температурного воздействия и градиента	84
	Управление файлами и папками протокола	85
	Создание и копирование папок, переименование термоциклеров	86
	Создание папки	86
	Копирование всего содержимого	89
	Переименование термоциклера	90
	Копирование, перемещение, удаление и переименование папок	90
	Перемещение папки	91
	Копирование папки	92
	Удаление папки	92
	Переименование папки	92
	Копирование, перемещение, удаление и переименование протоколов	94
	Копирование протокола	94
	Перемещение протокола	96
	Удаление протокола	96
9	Техническое обслуживание и устранение неисправностей	96
	Очистка и содержание в исправном состоянии термоциклера 1000 ...	96
	Очистка основания термоциклера 1000	97
	Очистка модулей обратной связи	98
	Обеспечение достаточного воздушного потока	99
	Проведение испытаний относительно достаточного воздушного потока	99
	Установление недостаточного воздушного потока	100
	Замена плавких предохранителей	100
	Устранение неполадок при появлении сообщений об ошибках термоциклера	102
	Повторный запуск после отключения питания	102
	Сообщения об ошибках и предупреждения	102
10	Расширенные функции	107
	Меню сервисных программ и функции	107
	Функция калькулятора градиента	103
	Меню настроек администратора	103
11.	Термоциклер серии C1000 Touch™	114
12.	список принадлежностей с описанием	

1. Введение

Поздравляем вас с приобретением термоциклера 1000™, который является основным компонентом платформы термоциклирования Bio-Rad® серии 1000 для выполнения полимеразной цепной реакции (ПЦР, PCR) и ПЦР-анализа в режиме реального времени (real time PCR). Прибор отличается большой теплопроизводительностью в сочетании с непревзойденной гибкостью и способностью к расширению возможностей, поэтому он с успехом может использоваться как в маленьких, так и в больших лабораториях.

Данная глава включает в себя знакомство с термоциклером 1000 и т.д., в том числе:

- Знакомство с платформой термоциклеров серии 1000 (ниже)
- Знакомство с особенностями и рабочими характеристиками термоциклера 1000
- Ресурсы компании Bio-Rad Laboratories для поддержки ПЦР-анализа
- Условные обозначения, применяемые в данном руководстве

Платформа Bio-Rad серии 1000

Партия контрольно измерительных приборов для ПЦР серии 1000 представляет собой гибкую и модульную платформу, проявляющую лучшие в своем классе рабочие характеристики и свойства в простой и надежной в использовании комплектации. Платформа серии 1000 проектируется в соответствии с вашими рабочими условиями посредством последовательной интеграции ваших производственных операций с такими функциями, как температурная оптимизация, сочетаемость сосуда и уплотнителя, опции программирования, онлайн-поддержка и возможность подключения с помощью USB портов.

Исполнения термоциклера серии 1000, их характеристики

	C 1000	S 1000
Дисплей	ЖК, 12х9 см, цветн. с высоким разрешением	ЖК, черно-белый
Размеры	13х18х8 см	13х18х8 см
Вес	10,4 кг	10,4 кг
Модернизация (возможность работы с оптическим реакционным модулем)	Возможна за счет присоединения 6-канального CFX модуля	Не возможна
Количество образцов	96 для реакционного модуля 96х0.2мл, 384 для реакционного модуля 384х15мкл	96 для реакционного модуля 96х0.2мл, 384 для реакционного модуля 384х15мкл
Диапазон температур	0 - 100°C	0 - 100°C
Способ нагрева и охлаждения термоблока	Элементы Джоуля-Пельтье	Элементы Джоуля-Пельтье
Диапазон временных интервалов	00:01 – 99:59 мин	00:01 – 99:59 мин
Точность поддержания температуры (Через 30сек после установления 90 °C)	± 0.3°C	± 0.3°C
Неравномерность поддержания температуры по планшету (через 10сек после установления 90 °C)	± 0.4°C	± 0.4°C
Наличие градиента температур в термоблоке	Есть (1- 24 °C)	Есть (1- 24 °C)

Рабочие характеристики и свойства термоциклера 1000

Термоциклер 1000 является основополагающим элементом платформы серии 1000. Он отличается большой производительностью и интуитивной простотой использования в качестве автономного термоциклера, с применением новейших функций, таких как автоматический генератор протоколов (Protocol Autowriter).

Свойства термоциклера 1000:

- Надежные результаты с точным терморегулированием: постоянство температуры блоков с пробами $\pm 0.4^{\circ}\text{C}$ при 90°C после 10 секунд с погрешностью $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$; регулируемая температура крышек для дальнейшего регулирования температуры реакции и предотвращения выпаривания.
- Гибкие сосуды со сменными реакционными модулями: просто замените реакционный модуль, если вам необходимы блоки с 48, 96, или 384 лунками на базе того же термоциклера.
- Единообразное и повторяемое уплотнение микропланшетов при регулируемом усилии зажима крышки.
- Автоматическое создание заказных протоколов с помощью функции автоматический генератор протоколов (Protocol Autowriter): Создание протоколов на основании параметров, заданных пользователем.
- Легко модифицируется до 5-цветной, 6-канальной системы реального времени: с оптическим модулем реального времени CFX.
- Сокращенное время выполнения протоколов: Система 1000 обеспечена превосходной термодинамикой для сокращения времени выполнения и получения срочных результатов.
- Зашифрованные журналы регистрации и уведомления о достоверности информации: Простое соответствие надлежащей лабораторной практике (GLP) при каждом прогоне с автоматическим созданием синхронных протоколов, системных журналов и уведомлений о достоверности информации. Выборочный административный контроль во время пользовательского доступа.
- Предварительно установленные настраиваемые протоколы для использования в качестве образцов: Составление протокола быстрого действия посредством настраиваемых предварительно установленных протоколов.
- Готовность к высокой производительности: Управление термоциклерами в количестве до 32. Использование устройства считывания штрихового кода и опции подтверждения правильности температуры для контроля потока данных и качества.
- Температурные градиенты: Оптимизация проведения реакции с использованием температурных градиентов через блоки с пробами.
- Большой цветной экран: отображение и управление посредством интуитивно-понятного интерфейса пользователя, полноцветной графики и текста.

Ресурсы и справочная информация Bio-Rad

Компания Bio-Rad Laboratories предоставляет для ученых множество ресурсов.

Следующие веб-сайты содержат полезную информацию по проведению ПЦР-анализа:

- Gene Expression Gateway (межсетевой шлюз экспрессии генов) (www.bio-rad.com/genomics/)

Этот сайт предоставляет обширные технические ресурсы по широкому выбору методик и использованию, касающиеся ПЦР и ПЦР реального времени. Данный сайт, также отличается наличием инструментария, ссылок, технической поддержки и ресурсов по выявлению и устранению неисправностей.

- Веб-сайт Life Science Research (изучение науки о жизни) (discover.bio-rad.com)

Данный сайт включает в себя ссылки на технические комментарии, руководства, информацию о товарах и техническую поддержку.

Щелкните по следующим ссылкам для того, чтобы скачать или запросить копию данного руководства или другой литературы компании Bio-Rad Laboratories:

- Щелкните по иконке PDF для того, чтобы скачать копию формата PDF и открыть ее с помощью программы Adobe Acrobat Reader (www.adobe.com).
- Щелкните по иконке папки и закажите печатную копию.

- Щелкните по иконке FAX для заказа копии, присылаемой по факсу.
- Свяжитесь с вашим местным офисом компании Bio-Rad Laboratories по телефону для заказа печатной копии документа. Для Соединенных Штатов и Канады можно позвонить по тел. 1-800-424-6723 (бесплатный звонок), и выбрать материал по интересующему вас предмету.

Используйте следующие ресурсы для определения того, что вам необходимо:

Ресурс	Как связаться
Местные представители компании Bio-Rad Laboratories	Найдите местную информацию и контакты на веб-сайте компании Bio-Rad Laboratories, выбрав вашу страну на главной странице (www.bio-rad.com). Также, из международных офисов, перечисленных на обратной стороне данного руководства, установите ближайший.
Технические комментарии и литература	Зайдите на сайт Gene Expression Gateway (www.bio-rad.com/genomics/) и поместите поисковое окно в верхнем правом углу веб-станции. Впечатайте поисковый термин в этом окне для получения ссылок на продукцию, технические комментарии и руководства.
Специалисты по техническим вопросам	Компания Bio-Rad Laboratories предоставляет квалифицированную техническую поддержку. Сотрудники нашего отдела Технической поддержки – квалифицированные научные работники, предоставляющие нашим заказчикам практические и квалифицированные решения. Для того чтобы получить в веб-сети техническую поддержку, зайдите на сайт Gene Expression Gateway (www.bio-rad.com/genomics). Для того чтобы получить местную техническую поддержку, свяжитесь с ближайшим офисом компании Bio-Rad Laboratories. Для получения технической поддержки в США и Канаде, наберите 1-800-424-6723 (бесплатный звонок), и выберите вариант технической поддержки.

Условные обозначения, используемые в данном руководстве

В данном руководстве используются условные обозначения, представленные в таблице 6, для быстрого предоставления соответствующей информации.

Обозначение	Что означает
TIP (совет):	Предоставление полезных инструкций
NOTE (примечание):	Предоставление важной информации
WARNING (внимание)!	Разъясняет важную информацию по определенной теме, которая может привести к травмам, повреждению оборудования или потере данных.
Screen message (Экранное сообщение)	Указывает на одно или несколько слов на экране, которые должен выбрать пользователь.
NAME of control panel key (название клавиши панели управления)	Указывает клавишу на панели управления термоциклера. Например, данные клавиши имеют следующие названия: - Клавиша ENTER (ВВОД) -  - Клавиша RIGHT arrow (стрелка вправо) - 
Select x (выбрать x)	Выбрать x с помощью клавиш со стрелками или мышки. Например, "select NEW" означает "Использовать клавиши со стрелками или мышь для выделения <u>NEW</u> (новой) опции на экране"
Select x > y (выбрать x > y)	Из меню x выберите y. Например, "Select MAIN > RUN" означает "Выбрать опцию <u>RUN</u> (выполнение) в меню <u>MAIN</u> (главное)."
Press x (нажать x)	Нажмите клавишу x на панели управления. Например, "Press <u>ENTER</u> " означает "Нажать клавишу <u>ENTER</u> (ввод) на панели управления"

2. Начало работы

Термоциклер 1000™ прост в установке и в эксплуатации: вставьте реакционный модуль, включите в сеть термоциклер и начните ПЦР-анализ.

В этой главе рассказывается, как производить установку и эксплуатировать термоциклер 1000. Подробные инструкции представлены в следующих разделах:

- Установка термоциклера (ниже)
- Знакомство с базовым блоком прибора 1000 и сменными реакционными модулями (стр. 6)
- Описание передней панели (стр. 8)
- Выбор файлов и каталогов из библиотеки файлов (стр. 10)
- Вход в систему и завершения сеанса термоциклера (стр. 13)
- Присваивание имени вашему термоциклеру (стр. 14)

Установка термоциклера 1000

В данном разделе рассматриваются действия, необходимые для безопасной распаковки и установки базового блока термоциклера 1000 и реакционного модуля.

Для установки термоциклера и подготовки его к запуску протоколов ПЦР, выполните следующие действия:

1. Распакуйте базовый блок и реакционный модуль термоциклера 1000

Комплект базового блока 1000 включает в себя базовый блок термоциклера, шнур питания, флеш-карту USB с памятью 512Мбайт, краткое руководство и данное руководство. Сохраняйте все элементы упаковки для безопасной транспортировки данного прибора. Поместите базовый блок термоциклера в нужном месте.

Примечание: Для термоциклера требуется достаточный поток охлаждающего воздуха для точного выполнения операций. Для проверки достаточного воздушного потока перед запуском прибора см. Раздел «Поддержание достаточного воздушного потока» на стр. 95.

Сохраняйте все элементы упаковки для безопасной транспортировки данного прибора. Поместите базовый блок термоциклера в подходящем месте для запуска ПЦР-анализа (см. «Технические условия по эксплуатации прибора» на стр. 95).

2. Вставьте реакционный модуль в базовый блок термоциклера.

Реакционный модуль вставляют в базовый блок и фиксируют по месту для дальнейшей работы. Подробные инструкции по загрузке реакционного модуля см. «Вставка и извлечение реакционного модуля» на стр. 18.

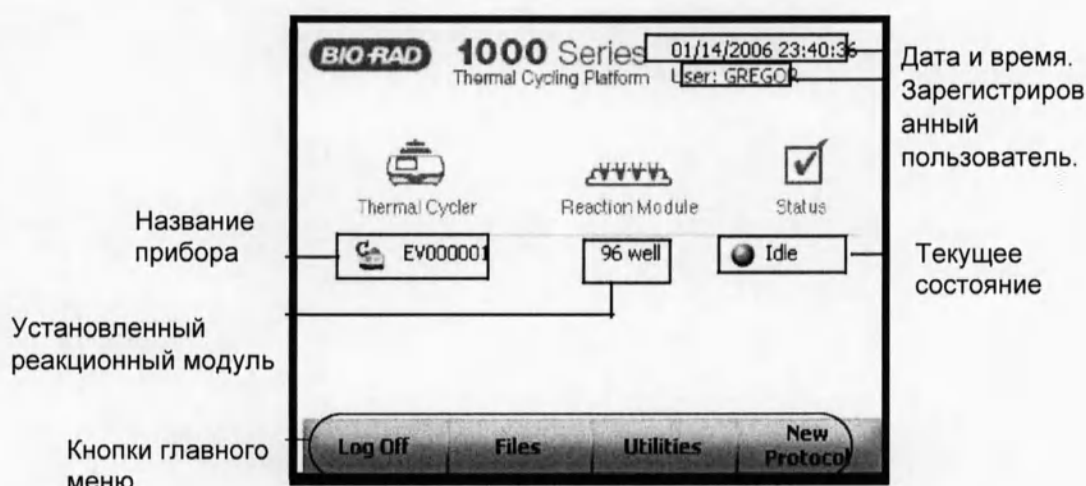
3. Подсоедините к сети шнур питания и включите термоциклер.

Используйте шнур питания, входящий в комплект поставки, для подключения базового блока термоциклера к подходящей электрической розетке («Технические условия по эксплуатации прибора» на стр. 95). Используйте выключатель на задней стороне базового блока термоциклера для выключения энергии (стр. 8).

Примечание: перед эксплуатацией термоциклера внимательно прочтите требования по технике безопасности («Соглашение о безопасности и управлении» на стр. 3) и требования по эксплуатации («Приложение В: технические условия по эксплуатации» на стр. 95).

В начале работы, термоциклер запускает самотестирование для проверки правильности работы, и затем отображает главное меню. Используйте главное меню для начала работы с термоциклером. Данное окно обеспечивает доступ ко всем операциям термоциклера, показывает состояние реакционного модуля и имя термоциклера.

Например, главное окно показывает дату и время, имя зарегистрированного пользователя (GREGOR), имя прибора (EV000001), реакционный модуль (96-луночный), текущее состояние (Idle), и кнопки основного меню (Main Menu):



Подробности по использованию панели управления и главного меню см. на стр. 8. Инструкции по выполнению протокола ПЦР см. в разделе «Выполнения протоколов» на стр. 33.

Совет: для того, чтобы быстро приступить к работе, термоциклер C1000 поставляется с шестью группами предварительно установленных протоколов ПЦР («Приложение А: Предварительно установленные протоколы» на стр. 109).

На данный термоциклер и принадлежности к нему распространяется стандартная гарантия Bio-Rad®. Свяжитесь с вашим местным офисом компании Bio-Rad Laboratories для получения информации по гарантийному обслуживанию. Дополнительная информация по контактам с вашим местным офисом компании Bio-Rad Laboratories представлена в разделе «Ресурсы и справочная информация Bio-Rad» на стр. 3.

Общее представление о термоциклере 1000

В следующих разделах описаны важные компоненты термоциклера и реакционного модуля:

- Базовый блок – вид спереди без реакционного модуля (рис. 7)
- Базовый блок – вид сверху с реакционным модулем (рис. 7)

- Задняя панель с портами данных (стр. 8)

. Размер и пределы реакционного модуля серии 1000

Кол-во лунок	Кол-во блоков	Рекомендуемый объем пробы (верхний предел)
Двойной-48	2	10 – 50 мкл (50 мкл предел)
96	1	10 – 50 мкл (50 мкл предел)
384	1	3 – 30 мкл
CFX 96 реальное время	1	10 – 50 мкл (50 мкл предел)
CFX 384 реальное время	1	3 – 30 мкл

Вид спереди без реакционного модуля

Передняя часть базового блока термоциклера включает в себя панель управления и отсек для реакционного модуля. Панель управления обеспечивает доступ ко всем функциям, необходимым для создания и выполнения протоколов ПЦР.

- Отсек реакционного модуля: Удерживает реакционный модуль
- Запорная полоса (замок) реакционного модуля: Фиксирует реакционный модуль по месту
- Панель управления: Обеспечивает доступ ко всем функциям, необходимым для создания и выполнения ПЦР протоколов (стр. 9)
- USB A-порт: для подсоединения флеш-карты, мышки или других устройств USB (стр. 10)
- Вентиляционные отверстия: Позволяет осуществлять быстрое охлаждение и нагрев термоциклера

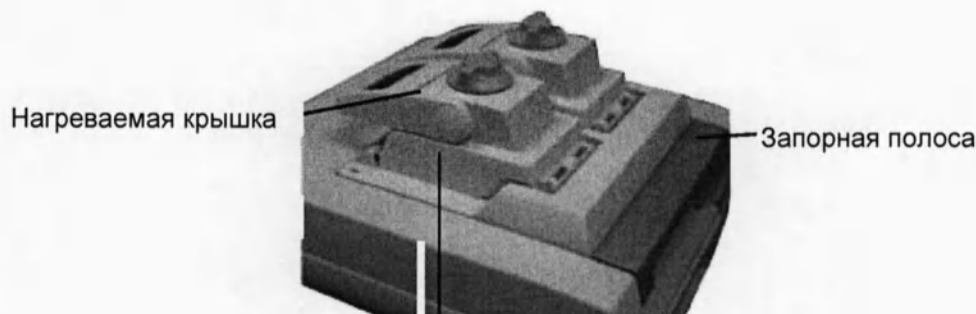


Вид сверху с реакционным модулем

На виде сверху показана задняя часть реакционного модуля, установленного в отсек базового блока термоциклера. Далее представлены элементы задней части реакционного модуля и базового блока термоциклера, в том числе:

- Нагреваемая крышка: Поддерживает температуру и усилие зажима крышки
- Светодиод состояния: загорается при запуске реакционного модуля
- Запорная полоса: Фиксирует реакционный модуль в базовом блоке термоциклера

Дополнительную информацию по реакционным модулям можно найти в разделе «Реакционные модули» на стр. 17.



Реакционный модуль (сбоку)

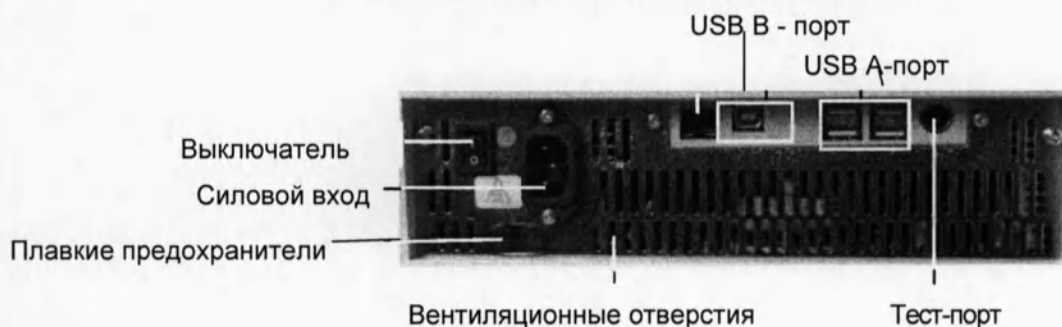
Задняя панель базового блока термоциклера

На задней панели находятся порты данных, через которые происходит передача данных в термоциклер и из него. На следующей фотографии показаны порты задней панели.

- USB B-порт: Для подсоединения термоциклера 1000 к компьютеру.
- USB A-порт: Для подсоединения термоциклера C1000 к одному или более термоциклеров S1000.

Данные порты могут также использоваться для подсоединения любых периферических USB-устройств, чаще всего это мышка, клавиатура, флеш-карта или устройство считывания штрих-кода.

- Тест порт: только для эксплуатационных испытаний.



Панель управления и главное меню

Панель управления термоциклера 1000 обеспечивает доступ ко всем функциям, необходимым для запуска термоциклера. Панель управления включает в себя следующие три компонента:

- Жидкокристаллический экран (LCD): Отображает главное меню и другие опции.
- Клавиши управления, функциональные, буквенно-цифровые клавиши и кнопку генератора протоколов: Ввод команд при помощи этих клавиш.
- USB A-порт: подсоединение флеш-карты, мышки, клавиатуры или устройства считывания штрих-кода (стр. 10).

Основной экран отображается после завершения загрузки. При запуске прибора отображаются 2 других экрана: черный загрузочный экран и экран самотестирования. Здесь показаны элементы панели управления:



Функции клавиш панели управления

Панель управления содержит пять наборов клавиш с перечисленными ниже функциями:

Функции клавиш панели управления

Клавиша	Функция	Дополнительные замечания
Клавиши управления		
Четыре клавиши, дающие указания термоциклиру начать процесс		
RUN (выполнить)	Выбор и выполнения протокола	
EDIT (редактировать)	Выбор и изменение протокола	
STATUS (состояние)	Отображение состояния одного или нескольких выполняемых протоколов на трех экранах	Нажатием этой клавиши осуществляется прокрутка главного меню, экрана протокола и списка состояний блока
VIEW (отображение)	Переключение между графическим и текстовым отображением протокола; также переключение с экрана на экран в Состоянии.	
Функциональные клавиши		
F1, F2, F3, или F4	Активизация опций четырех кнопок внизу каждого экрана с помощью функциональных клавиш	
Буквенно-цифровые клавиши		
От 1 до 9	Ввод цифр или букв алфавита	Нажмите каждую клавишу несколько раз для переключения между цифрой и привязанной к ней буквой
0, инкубировать	Вставьте ноль, знак бесконечности или начните немедленную инкубацию	
Генератор протоколов		

Функциональные клавиши панели управления

Клавиша	Функция	Дополнительные примечания
	Запуск автоматического генератора протоколов («Общее представление об автоматическом генераторе протоколов» на стр. 23)	

Навигационные клавиши

RIGHT стрелка вправо	Двигает курсор вправо	Развертывает каталоги в библиотеке файлов
LEFT стрелка влево	Двигает курсор влево	Сворачивает каталоги в библиотеке файлов
UP стрелка вверх	Двигает курсор вверх	
DOWN стрелка вниз	Двигает курсор вниз	
ENTER (ввод)	Подтверждает выбор	
BACK (назад)	Удаляет букву, цифру или слово; также возвращает на предыдущий экран	

Главное меню

Главное меню отображается на основном экране, обеспечивающем ссылки ко всем функциям C1000 и отображающем любые подсоединенные термоциклеры S1000.

Примечание: Название кнопок и их функции изменяются с каждым новым экраном.

Для знакомства с функциями главного меню нажмите соответствующие функциональные клавиши (F1 - F4) или щелкните по кнопке на панели управления с использованием мышки:

- New Protocol (новый протокол) (F4): Нажмите клавишу для создания нового протокола («Открыть новый протокол или существующий протокол» на стр. 47).
- Utilities (утилиты) (F3): Нажмите клавишу, чтобы открыть меню Utilities (утилиты)(стр. 101).
- Files (файлы) (F2): Нажмите клавишу, чтобы отобразить файлы и каталоги в библиотеке файлов («Содержание файла протокола» на стр. 79).
- Log In (регистрация в системе) (F1): Нажмите эту клавишу, чтобы зарегистрироваться в системе термоциклера 1000. Как только вы зарегистрировались в системе, название кнопки изменится на Log Off (выход из системы).

USB A-порт

Прибор 1000 имеет один USB A-порт, расположенный ниже панели управления. Данный передний USB A-порт облегчает передачу данных с использованием флеш-карты или подсоединение мышки.

Совет: Подсоединяйте флеш-карту, мышку или термоциклер S1000 к любому USB A-порту на передней или задней панели прибора C1000 («Использование портов данных» на стр. 104).

Библиотека файлов

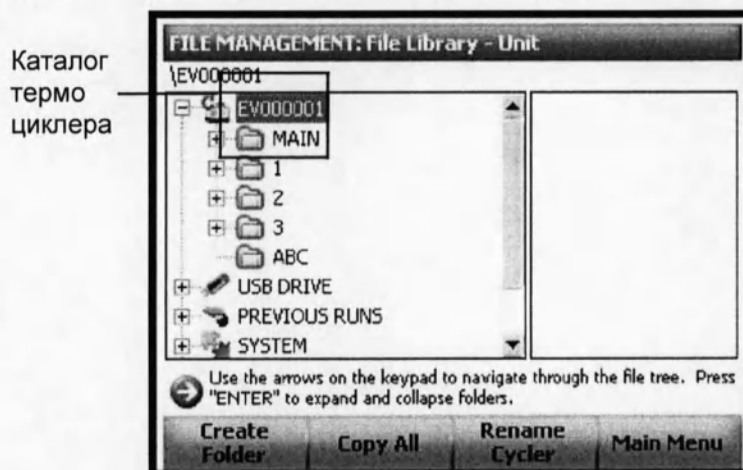
Библиотека файлов прибора 1000 обеспечивает легкий доступ к файлам протоколов, каталогам и системным журналам.

Для большинства функций сначала нужно выбрать протокол из библиотеки файлов. Например, перед выполнением или редактированием протокола, выберите нужный файл протокола в библиотеке файлов:

- Нажмите клавишу RUN для выполнения протокола
- Нажмите клавишу EDIT для редактирования протокола

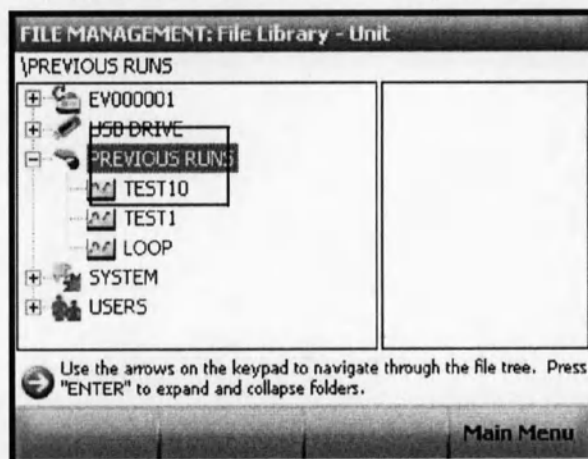
Для того, чтобы открыть библиотеку файлов выберите кнопку Files (файлы) в главном меню. Библиотека файлов обеспечивает доступ к следующим каталогам:

- Каталог протокола термоциклера: содержит протоколы, сохраненные в термоциклере, включая MAIN (главный) каталог, в котором хранятся предварительно установленные протоколы. Этому каталогу присваивается имя по серийному номеру термоциклера, если термоциклер не переименовывался:

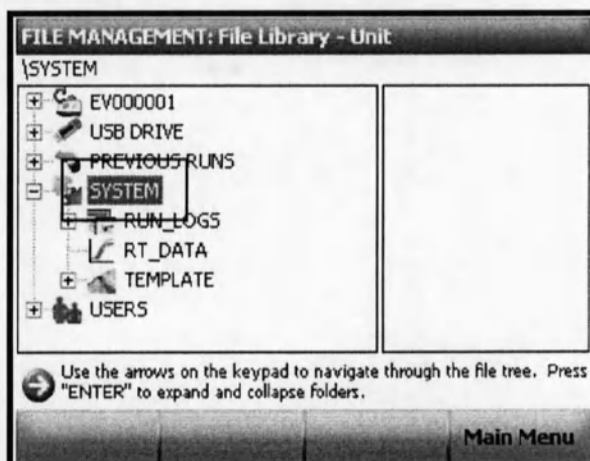


ПРИМЕЧАНИЕ: Когда вы подсоединяете термоциклер S1000 к термоциклеру C1000, то будет отображаться каталог присоединенного термоциклера. Имя каталога соответствует имени термоциклера. Имя термоциклера по умолчанию – серийный номер базового блока.

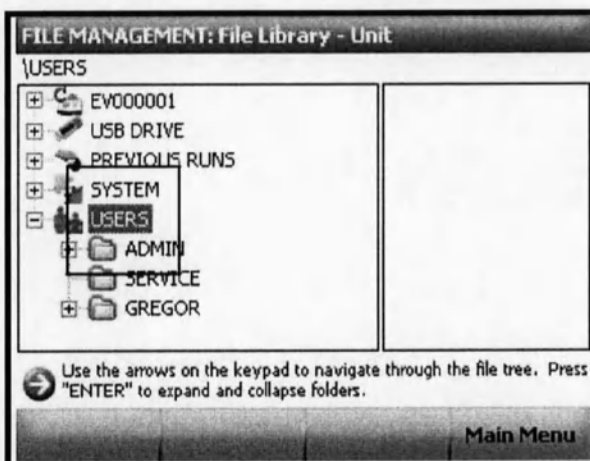
- Каталог PREVIOUS RUNS (предварительное выполнение): Содержит перечень всех предварительно выполненных протоколов.



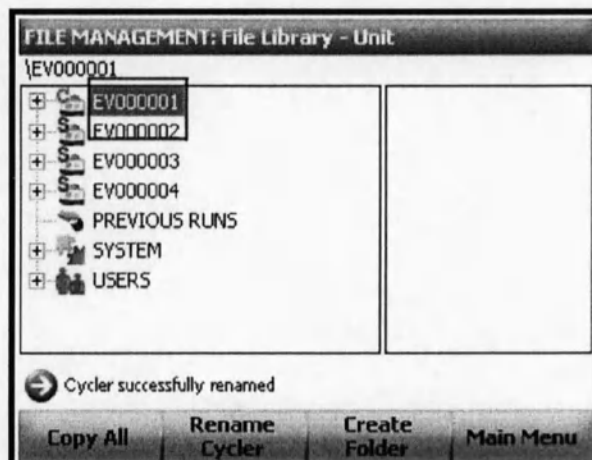
- Каталог SYSTEM (системный): Содержит журналы выполнений, данные реального времени и образцы:



- Каталог USERS (пользовательский): Содержит созданные пользователями подкаталоги для хранения персональных протоколов. Доступ к пользовательским каталогам может получить каждый, но только зарегистрированный пользователь может редактировать, удалять или сохранять данные в этих каталогах («Регистрация в системе термоциклера 1000 и выход из системы» на стр. 13).



- Присоединенные каталоги (дополнительные): Содержат данные по присоединенным флеш-картам или термоциклерам S1000 (стр. 105). В данном примере, три подсоединенных термоциклера S1000 отображаются на экране термоциклера C1000:



Регистрация в системе термоциклера 1000 и выход из системы

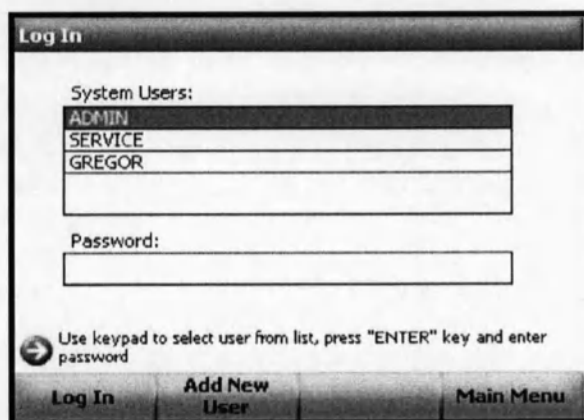
Регистрация в системе не является обязательной; вы все равно сможете запускать, редактировать и создавать каталоги и протоколы. Когда пользователь регистрируется, то автоматически создается соответствующая папка в каталоге USERS. Только зарегистрированный пользователь может сохранять, редактировать или удалять данные протоколы.

Однажды зарегистрированный, пользователь будет обладать следующими преимуществами:

- Запускать протокол из MAIN (главного) каталога или пользовательской папки
- Создавать и редактировать протоколы в соответствующей пользовательской папке
- Копировать любой протокол и сохранять его в пользовательской папке
- Копировать протокол и сохранять его в пользовательской папке под новым именем

Используйте главное меню для регистрации и завершения сеанса работы, выполняя нижеуказанные действия:

1. Выбрать Log In (зарегистрироваться) в главном меню для того, чтобы открылся экран Log In (регистрация):



2. Выберите ваше имя пользователя (использую стрелки UP (вверх) и DOWN (вниз)), введите ваш пароль, и затем нажмите F1 или щелкните кнопку Log In:

Примечание: пароль может содержать буквы и цифры.

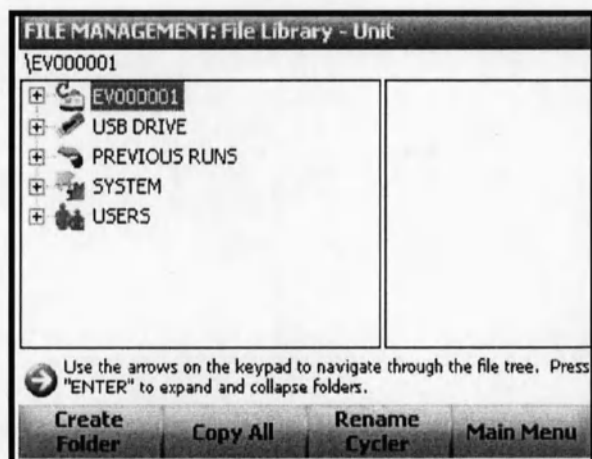
3. Выберите Main Menu (главное меню) для возвращения в главное меню.
4. Для выхода из системы термоциклера нажмите F1 или выберите кнопку Log Off (выход) в главном меню:

Выход из системы

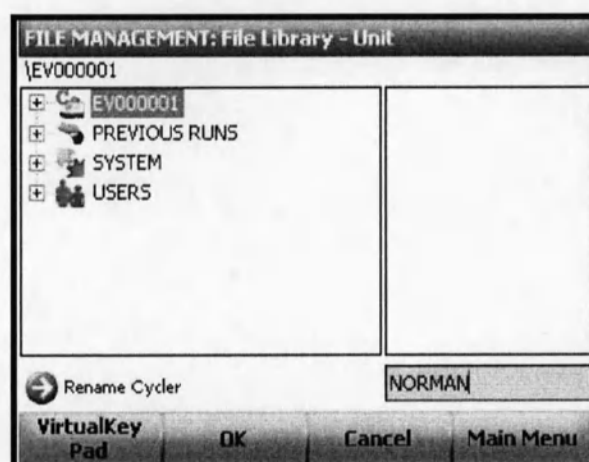
Переименование термоциклера 1000

Каждому термоциклеру 1000 первоначально присвоено имя в соответствии с серийным номером базового блока термоциклера. Зарегистрированный администратор может переименовать любой тремоциклер для более простой его идентификации. Для того чтобы переименовать термоциклер, выполните следующие действия:

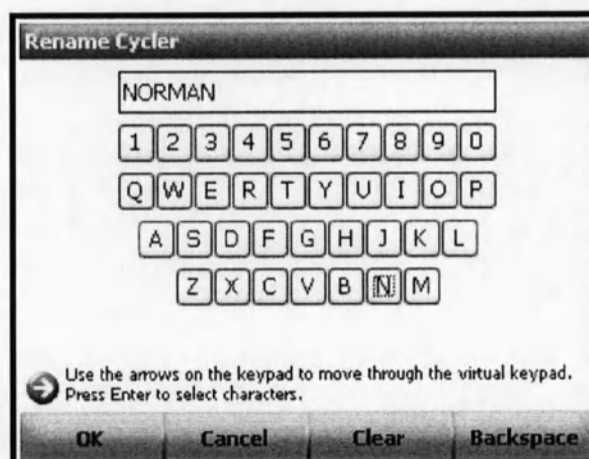
1. Выберите Files (файлы) для того, чтобы открыть библиотеку файлов, и затем выберите Rename Cycler (переименовать циклер)



2. Впечатайте новое имя для термоциклера



Либо, откройте Virtual Keypad (виртуальную клавиатуру) для того, чтобы впечатать имя, с использованием встроенной клавиатуры. Используйте клавиши со стрелками для передвижения по буквам и цифрам и нажмите ENTER (ввод) для выбора буквы или цифры:.



3.Нажмите ОК для подтверждения нового имени циклера

3. Реакционные модули

В термоциклере 1000™ используются сменные реакционные модули для того, чтобы упростить для пользователя процесс изменения формата блока. В данной главе рассказывается, как устанавливать и эксплуатировать реакционные модули.

Обращайтесь к следующим разделам для получения подробных инструкций:

- Общее представление о реакционных модулях (ниже)
- Вставка реакционного модуля (стр. 18)
- Управление крышкой (стр. 20)

Сменные реакционные модули

Термоциклер 1000 совместим с любыми реакционными модулями серии 1000. Каждый блок в реакционном модуле включает в себя полностью регулируемую нагреваемую крышку, которая может подходить для широкого диапазона реакционных сосудов. Блоки реакционных модулей бывают трех размеров:

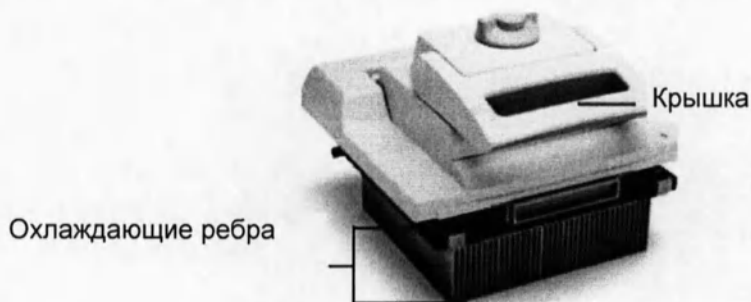
Таблица 9. Размеры и пределы реакционных модулей серии 1000

Кол-во лунок	Кол-во блоков	Рекомендованный объем пробы (верхний предел)
Двойной-48	2	10 – 50 мкл (50 мкл предел)
96	1	10 – 50 мкл (50 мкл предел)
384	1	3 – 30 мкл
CFX 96 реального времени	1	10 – 50 мкл (50 мкл предел)
CFX 384 реального времени	1	3 – 30 мкл

Далее представлен реакционный модуль с 96 лунками, обладающий следующими особенностями:

- Охлаждающие ребра: Ребра, обеспечивающие быстрый нагрев и охлаждение.

- Крышка: Регулируемая, нагреваемая крышка:

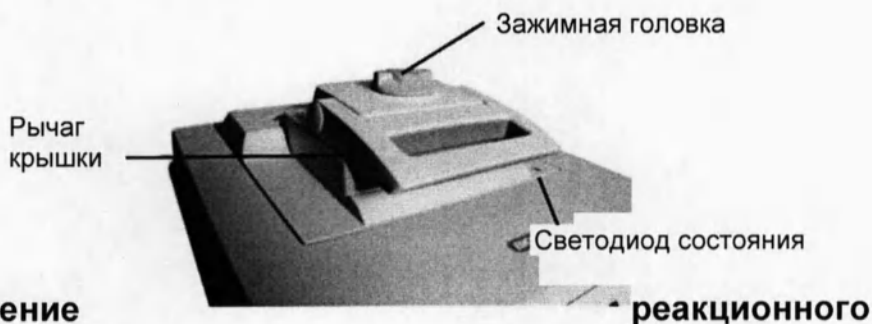


Внутренняя часть реакционного модуля включает в себя следующее:

- Нагреваемая внутренняя крышка: Увеличивает и уменьшает нагрев для предотвращения конденсации и выпаривания
- Блок для проб: в нем помещаются реакционные сосуды, в том числе пробирки и микропланшеты:

Верхняя часть крышки реакционного модуля состоит из:

- Рычаг крышки: Используйте рычаг для открывания и закрывания крышки.
- Зажимная головка: этой головкой регулируется сила зажима крышки и герметичность реакции.
- Светодиод состояния: свет включается для обозначения того, что блок выбран или запущен в работу.



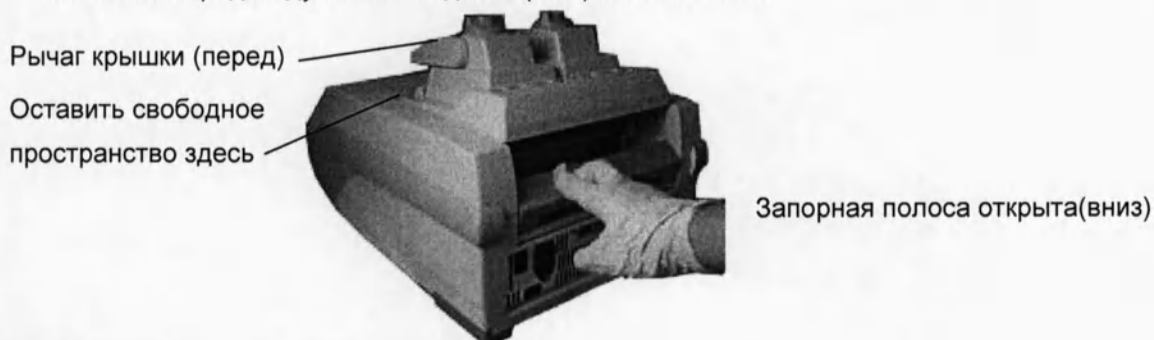
Вставка и извлечение модуля

Вставьте реакционный модуль и закрепите его в базовом блоке термоциклера для обеспечения безопасности при работе. Данный раздел содержит инструкции по вставке и извлечению реакционного модуля.

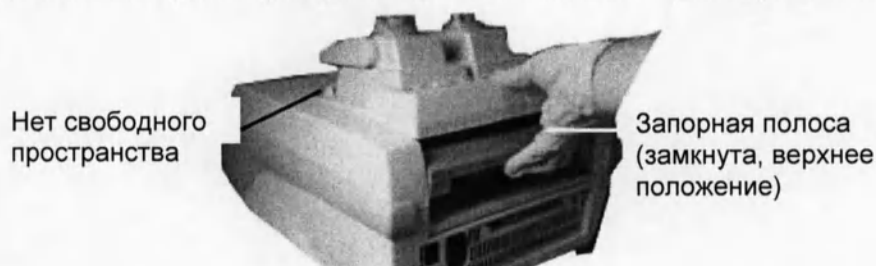
Вставка реакционного модуля

Вставка реакционного модуля занимает несколько секунд. Выполните следующие действия для вставки реакционного модуля:

1. Всегда выключайте базовый блок термоциклера перед вставкой или извлечением реакционного модуля
2. Обеспечить выравнивание положение реакционного модуля в отсеке
Приподнимите модуль и вставьте его в отсек, при этом рычаг крышки направлен вперед.
Оставьте перед модулем свободное пространство 1-2 см.



3. Зафиксируйте реакционный модуль по месту
Потяните запорную полосу вверх до замыкания модуля по месту. Заметьте, что перед модулем не остается свободного пространства, после того, как он фиксируется в базовом блоке.



Совет: Храните реакционный модуль в базовом блоке, когда он не используется.

Извлечение реакционного модуля

Выполните следующие действия для извлечения реакционного модуля из базового блока:

1. Всегда выключайте блок основания термоциклера перед извлечением реакционного модуля
2. Разомкните реакционный модуль
Надавите на запорную полосу для высвобождения модуля:

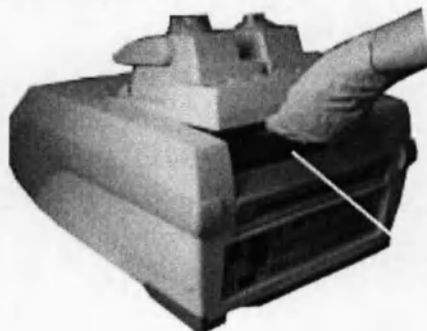


3. Приподнимите реакционный модуль и выньте его из отсека

Перед подъемом реакционного модуля убедитесь, что охлаждающие ребра не горячие, затем осторожно достаньте реакционный модуль.

Внимание! Охлаждающие ребра могут нагреться сразу после запуска протокола или инкубации.

Храните реакционный модуль на чистой, плоской поверхности, где он будет подвергаться ударам, царапаться или откуда не сможет упасть:



Охлаждающие ребра

ВНИМАНИЕ! Царапины на охлаждающих ребрах реакционного модуля или падение модуля на ребра может привести к потере способности модуля надлежащим образом нагреваться и охлаждаться.

Работа с регулируемой крышкой

Крышка реакционного модуля как нагревает, так и прикладывает усилие к крышкам реакционных сосудов (колпачки или лента) с помощью внутренней крышки. Нагрев и усилие помогают успешно и согласованно проводить реакции:

- Приложение усилия к крышке реакционного сосуда герметизирует реакцию для предотвращения выпаривания
- Дополнительный нагрев крышки реакционного сосуда предотвращает образование конденсата

В следующих пунктах рассказывается, как открывать и закрывать крышку и как регулировать усилие крышки.

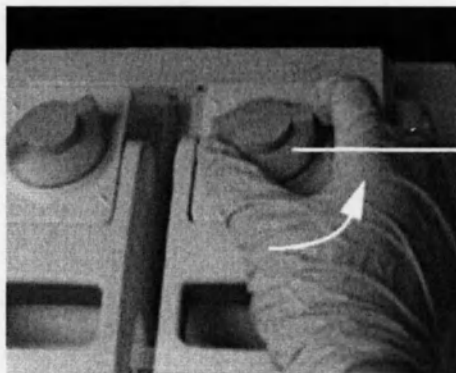
Внимание! После выполнения процесса нагреваемая крышка остается горячей. Будьте осторожны при открывании и закрывании крышки. Избегайте касания уплотняющей пластины или блока до их остывания.

Открывание крышки

Выполните следующие действия для того, чтобы открыть крышку:

1. Поверните зажимную головку для того, чтобы ослабить крышку

Для того, чтобы ослабить крышку откручивайте зажимную головку против часовой стрелки:

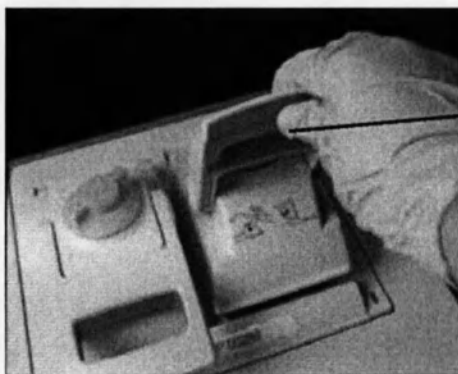


Зажимная головка

Поворачивайте головку против часовой стрелки, чтобы ослабить усилие зажима

2. Поднимите рычаг и оттолкните его назад

Для того, чтобы открыть крышку, оттолкните рычаг крышки назад и поднимите ее:



Рычаг крышки

3. Полностью откройте крышку

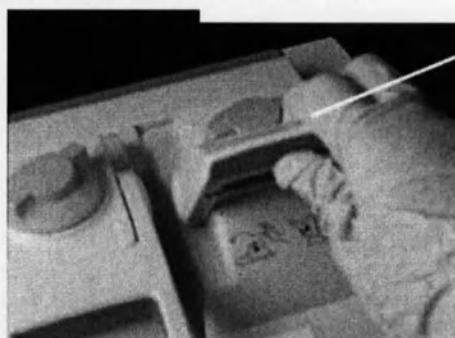
Поднимайте рычаг крышки до тех пор, пока крышка реакционного модуля не останется в открытом положении без посторонней помощи.

Закрывание крышки и регулировка усилия зажима крышки

Если вы закрываете крышку, выберите усилие зажима крышки, поворачивая зажимную головку. Выполните следующие действия для того чтобы закрыть крышку:

1. Закройте крышку

Опустите рычаг вниз и удостоверьтесь в том, что передняя часть крышки прочно вошла в корпус, и закройте рычаг по месту:



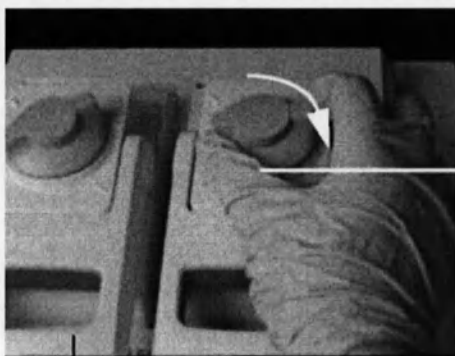
Рычаг крышки

2. Настройка усилия зажима крышки

Поворачивайте зажимную головку для настройки усилия зажима крышки:

- Для увеличения усилия зажима поверните головку на 1/4 оборота по часовой стрелке (вправо).
- Для уменьшения усилия зажима, поверните головку на 1/4 оборота против часовой стрелки (влево).

Настройка одной и той же силы зажима крышки каждый раз устанавливается путем поворота головки в одно и то же положение. Обратите внимание, позиционные отметки на крышке указывают 1/4 поворота.



Зажимная головка

Загрузка сосудов с пробками в блок

При использовании малого числа пробирок, они должны быть расположены в центре блока для обеспечения однородного термоциклирования всех проб. Также, поместите хотя бы по одной пустой пробирке в каждом углу блока для обеспечения того, чтобы крышка оказывала равномерное давление на пробирки с пробками.

Для обеспечения равномерного нагрева и охлаждения проб, должен обеспечиваться полный контакт сосудов с блоком. Соответствующий контакт будет гарантирован, если следующие условия всегда будут соблюдаться:

- Блок должен быть очищен перед загрузкой в него проб
- Плотно вставляйте отдельные пробирки или микропланшеты в лунки блока

Совет: При использовании всего одной или нескольких пробирок, используйте планшет для пробирок (номер по каталогу 184-7000) для обеспечения дополнительной поддержки.

4. Автоматический генератор протоколов

Термоциклер 1000™ оборудован автоматическим генератором протоколов. Автоматический генератор предоставляет альтернативный метод программирования, основанный на характеристиках ампликона и на праймерах, а так же на требуемой скорости реакции.

Прочитав данную главу, вы узнаете больше о следующих темах:

- Общее представление об автоматическом генераторе протоколов (ниже)
- Написание протокола с помощью автоматического генератора протоколов (стр. 24)
- Дополнительная информация по автоматическому генератору протоколов и калькулятору T_a (T_a Calculator) (стр. 29 и стр. 30, соответственно)

Общее представление об автоматическом генераторе протоколов

Автоматический генератор протоколов использует информацию по вашей реакции и автоматически пишет протокол. Введите следующую информацию по вашему ПЦР-анализу:

- **Праймеры:** Введите температуру гибридизации реакции (T_a) для используемых праймеров. Если температура гибридизации вами не установлена, введите последовательность праймеров в T_a Calculator (калькулятор T_a), и автоматический генератор рассчитает T_a .
Примечание: Температура T_a устанавливается исходя из информации праймера T_m , на основании выбранного фермента и выбранной скорости протокола.
 - **Длина ампликона:** введите ожидаемую длину продукта ПЦР-анализа.
 - **Тип фермента:** Введите фермент полимеразы ДНК (iTaQ™, iProof™, или другой). Если вы используете фермент отличный от полимеразы iTaq или iProof, введите дополнительную информацию, включающую период активации горячего запуска и время итогового удлинения.
1. **Скорость выполнения:** Выберите скорость реакции (Стандартная, Быстрая, Супербыстрая). Автоматический генератор протоколов оптимизирует протоколы в зависимости от выбранной вами скорости. Например, типовой протокол ПЦР включает три следующие серии этапов, полное время выполнения занимает от 1,5 до 2,0 часов:
 2. Денатурация исходной матрицы и активация фермента (95°C в течение 3–10 мин.).
 3. Циклы для трех данных этапов температурных воздействий (30–40 циклов):
 - Денатурация матрицы (94–95°C в течение 15–30 сек.)
 - Гибридизация праймеров (гибридизировать в течение 15–30 сек.)
 - Удлинение продукта (72°C в течение 15–60 сек.)
 4. Итоговое удлинение (72°C в течение 10 мин.).

Полное время определяется числом этапов и циклов, периодом инкубации на каждом этапе и временем, требуемым для получения однородности при достижении заданной температуры.

Для уменьшения общего времени выполнения, генератором протокола выполняются одно или несколько следующих изменений:

- Уменьшение общего количества этапов протокола (для высоких T_m праймеров, этапы гибридизации и удлинения могут быть объединены в один этап).
- Уменьшение количества циклов
- Сокращение времени выдержки на каждом этапе температурного воздействия
- Сокращение времени линейного изменения между этапами путем уменьшения температурного изменения от одного этапа к другому

Например, автоматический генератор протоколов может выполнить следующие изменения по укорачиванию протокола:

- Изменение условий этапа денатурации исходной матрицы и активации фермента с 95°C в течение 3 минут на 98°C в течение 30 секунд
- Изменение условий этапа денатурации для каждого цикла с 95°C в течение 30 секунд на 92°C в течение 1 секунды
- Объединить гибридизацию и удлинение в один этап при 70°C в течение 20 секунд.

Создание протокола при помощи автоматического генератора протокола

Выполняйте следующие действия для запуска генератора протоколов и создания нового протокола:

1. Нажмите клавишу генератора протокола



на запусчит генератор протокола в работу.

2. Введите температуру гибридизации в $^{\circ}\text{C}$ и длину ампликона в парах оснований
Если вам не известна температура гибридизации, подходящая для ваших праймеров, выберите кнопку T_a Calc (F1), введите последовательность праймеров, используя кнопки A, G, C, и T, затем нажмите Calculate (вычислить). Генератор рассчитает значения T_m праймеров и соответствующую температуру гибридизации (T_a). Нажмите OK (F4) для возвращения к главному экрану генератора.

Примечание: T_a Calculator (калькулятор T_a) определяет температуру гибридизации для стандартной скорости с полимеразой iTaq. Различные режимы скорости фермента автоматически отрегулируют T_a .

Дополнительную информацию о работе T_a calculator (калькулятора T_a) можно найти в разделе « T_a Calculator (калькулятор T_a) – исходные данные» на стр. 30.

3. Выберите нужный фермент нажатием клавиш со стрелками UP (вверх) и DOWN (вниз), затем нажмите ENTER (ввод)
4. В заключение выберите Next (следующий), чтобы перейти к экрану Run Time (период выполнения)
Используйте клавиши со стрелками RIGHT (вправо) и LEFT (влево) для выбора нужной скорости реакции на линейке с ползунком.

Примеры использования автоматического генератора:

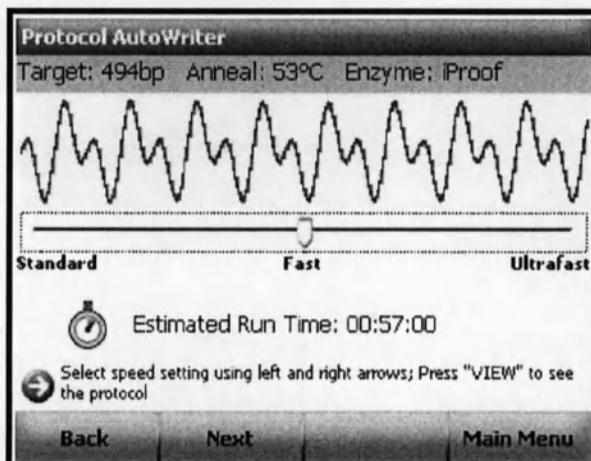
A. Температура гибридизации известна

- Исследуемый ампликон успешно амплифицирован при температуре гибридизации 52°C; его длина составляет 494 пар оснований
- На первом экране генератора протоколов [«Введите заданное значение/фермент (требуемый)»]
 - Введите 494 в окне Amplicon Length (длина ампликона), затем стрелка DOWN (вниз) или ENTER (ввод) для перехода к окну Annealing Temperature (температура гибридизации)
 - Введите 52 в окне Annealing Temperature (температура гибридизации); затем стрелка RIGHT (вправо) или ENTER (ввод) для перехода к опциям ферментов.
 - По умолчанию выбран "iTaQ". Если должен использоваться "iProof" – стрелка DOWN (вниз) к iProof

Примечание: при выборе iProof к температуре гибридизации автоматически добавляется 3°C.

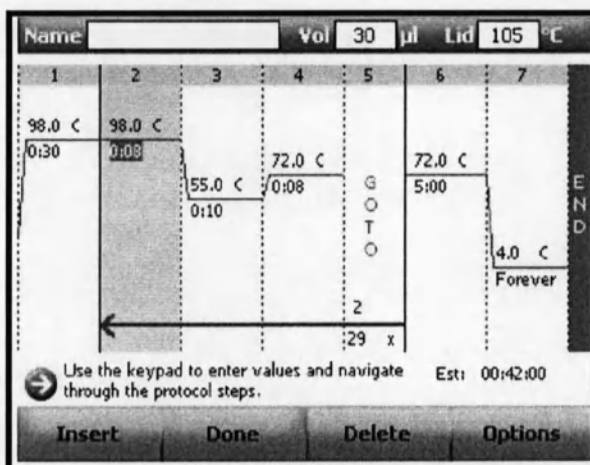
- При выборе "Other" (другой), появляются дополнительные опции, например период горячего запуска

- Нажмите F2 (Next - следующий), чтобы перейти к экрану скорости реакции. Заданный размер, температура гибридизации и выбранный фермент перечислены через всю верхнюю часть экрана.



• Выберите нужную скорость, используя клавиши со стрелками RIGHT (вправо) и LEFT (влево); обратите внимание на изменение температуры гибридизации и предполагаемого полного времени выполнения в зависимости от изменения скорости. Используемая в программе температура гибридизации будет на 4°C ниже средней температуры праймера T_m для режима Standard Speed (стандартная скорость), на 2°C ниже средней температуры праймера T_m для режима Fast (быстрый), а для режима UltraFast (супербыстрый) будет использоваться средняя температура праймера T_m без поправок. Эти периоды отображаются на экране выбора скорости так же, как и на дисплейных экранах последующих программ.

- Выберите F2 (Next - следующий)
- Протокол автоматического генератора теперь отображается в графическом формате



- При нажатии кнопки VIEW (вид) программа будет отображаться в текстовом формате

- Нажмите VIEW (вид) снова для возвращения к графическому отображению информации. Все аспекты программы могут быть отредактированы в том или другом формате просмотра путем перемещения к нужному этапу с помощью клавиш со стрелками, используя затем различные операционные клавиши

B. Температура гибридизации неизвестна

- Для того, чтобы генератор определил температуру гибридизации, нажмите клавишу калькулятора Ta (Ta Calc, F1) на главном экране генератора протоколов

- Введите последовательность праймеров в окнах последовательностей, используя четыре кнопки, расположенные вертикально с левой стороны экрана, соответствующие A, T, G и C. Например1:
- Прямой праймер: CTG GAG CCT TCA GTT GCA G
- Обратный праймер: GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC

Для корректировки ввода неверного основания: нажмите BACK или Backspace (назад) (F3) для немедленного удаления основания слева от курсора. При необходимости, используйте клавиши со стрелками LEFT (влево) и RIGHT (вправо) для перемещения курсора в пределах последовательности праймеров. RESET (сброс) удалит последовательность полностью.

- Затем нажмите F2 CALCULATE (вычислить). T_m каждого праймера, среднее для значений T_m и температура гибридизации (T_a) вычисляются и отображаются на экране

The screenshot shows the 'Protocol AutoWriter' interface. It has two input fields for primer sequences: 'Forward Primer' with the sequence 'CTG GAG CCT TCA GTT GCA G' and 'Reverse Primer' with the sequence 'GAA GAT GGT GAT GGG AAT TC'. Below these, it displays calculated values: 'Forward Tm: 59.7 °C', 'Average of primer Tm's: 58.3 °C', 'Reverse Tm: 56.9 °C', and 'Ta at Standard Speed(iTaq): 54.3 °C'. At the bottom, there is a button labeled 'Enter desired values' and a row of four buttons: 'Reset', 'Calculate', 'Backspace', and 'OK'.

- Обратите внимание, если отклонения значений T_m праймера больше 4°C, то генератор использует нижнее значение праймера $T_m + 2^\circ\text{C}$ в качестве основы для расчета T_a , которая может быть в дальнейшем изменена выбором фермента и скорости реакции
Примечание: Калькулятор T_a определяет температуру гибридизации для стандартной скорости с полимеразой iTaq. Различные режимы скорости фермента автоматически отрегулируют T_a .

- Нажмите OK для перехода к главному экрану автоматического генератора
- Значение T_a из предыдущего экрана автоматически переносится в окно температуры гибридизации (T_a)
- Продолжайте аналогично указанному выше в примере A.

Ампликон, используемый в данном примере, состоит из последовательности глицеральдегидфосфатдегидрогеназы генома человека (GenBank acc № J04038)

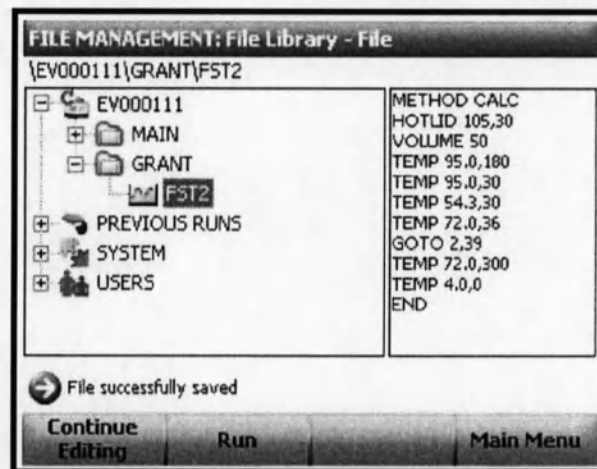
5. Анализ протокола и добавление опции

Просмотрите новый протокол в графическом виде. Для перехода к текстовому редактированию нажмите клавишу VIEW (вид). Для того, чтобы добавить опции к выбранному этапу протокола, нажмите кнопку Options (опции) (F4) или нажмите Delete (удалить) (F3) для удаления выделенного этапа, или Insert (вставить) (F1), чтобы вставить новый этап после выделенного этапа (стр. 48)

6. Сохранить новый протокол

Выберите Done (готово), чтобы сохранить новый протокол, затем с помощью клавиш со стрелками выберите каталог, в котором вы хотите сохранить протокол. Для того, чтобы свернуть каталог, нажмите клавишу со стрелкой LEFT (влево). Чтобы открыть каталог, нажмите клавишу со стрелкой RIGHT (вправо). Вы можете использовать Create Folder (создать каталог) для нового каталога. В конце, выберите Save (сохранить), чтобы сохранить новый протокол в выбранном каталоге.

В этом примере, протокол называется FST2, и он сохранен в каталоге GRANT:



7. Запустите выполнение протокола или вернитесь в главное меню

Выберите RUN (выполнить), чтобы запустить выполнение протокола или выберите Main Menu (главное меню) для возвращения в главное меню. Примечание: Если вы решили выполнить дальнейшие изменения в данном протоколе, выберите кнопку Continue Editing (продолжить редактирование).

Автоматический генератор протоколов – дополнительная информация

В программном обеспечении автоматического генератора протоколов используется стандарт нормативов ПЦР, который автоматически создает протоколы циклирования с денатурацией исходной матрицы и активацией фермента, после чего следуют циклы денатурации, гибридизации и удлинения, затем заключительные этапы удлинения. Протоколы основаны на введенных пользователем параметрах, включающих в себя заданную длину ампликона, тип фермента и температуру гибридизации или последовательность праймеров.

Протоколы, созданные автоматическим генератором протоколов при различных режимах скорости (Стандартная, Быстрая и Супербыстрая), могут приводить к различным выходным результатам. Это происходит потому, что создавая эти протоколы, автоматический генератор протоколов может регулировать температуру гибридизации, уменьшать общее число этапов протокола, уменьшать число повторений переходов (GOTO), укорачивать время выдержки или уменьшать перепад температур между этапами.

В автоматическом генераторе протоколов используются установленные стандарты ПЦР, которые базируются на таблицах данных при создании окончательных предлагаемых протоколов. Все протоколы являются или стандартными 2-этапными или 3-этапными с этапом итогового удлинения.

Автоматический генератор протоколов создает следующие этапы и диапазон значений:

1. Этап первоначальной активации горячего запуска/денатурации – в диапазоне 95-98°C в течение 30 или 180 сек., в зависимости от типа фермента и режима скорости.
2. Этап денатурации - 95 или 98°C в течение 5 - 30 сек., в зависимости от типа фермента и режима скорости.
3. Этап гибридизации – Автоматическим генератором протоколов используется или праймер T_a при «стандартной» скорости, в соответствии с расчетом калькулятора T_a , или значение, введенное пользователем.
 - Диапазон периода гибридизации от 10 до 30 секунд зависит от режима скорости. Двухэтапный протокол сочетает в себе этапы гибридизации и удлинения.
 - Температура гибридизации (T_a) рассчитывается на основании характеристик праймера и выбранной скорости реакции. В разделе «Калькулятор T_a - дополнительная информация» можно найти более подробную информацию о том, как действует калькулятор T_a . Если выбран фермент iProof, к T_a добавляются 3 градуса.

4. Этап удлинения (только трехэтапный протокол) полностью проводится при 72°C с периодами удлинения, основанными на расчете периодов из установленных периодов времени на кило-пар оснований/нуклеотидов (например, 60 сек./ кило-пар оснований/нуклеотидов) наибольшего ампликона в двоичном размере, часто с некоторыми изменениями при меньших размерах ампликона.
5. Число повторений - в диапазоне от 25 до 40 в зависимости от выбранной скорости
6. Этап итогового удлинения- 72°C в диапазоне от 1 до 5 минут в зависимости от режимов скорости.

Калькулятор T_a – Дополнительная информация

Калькулятор T_a рассчитывает значения T_m для каждого праймера, а также T_a для протокола при «стандартной» скорости.

Величина T_a для протокола базируется на среднем значении T_m праймера с применением следующих выражений:

- Если разница между значениями T_m праймера > 4 , то $T_a =$ (нижнее из двух значений праймеров $T_{ms} + 2$) - 4°C.
- Если разница между значениями $T_m <$ или $= 4$, то $T_a =$ (среднее для значений праймера T_m) - 4°C.

Для каждого праймера калькулятор T_a использует методику расчета пар оснований для последовательности из не более 14 пар.

$$T_m = ((w \cdot A + x \cdot T) \cdot 2) + ((y \cdot G + z \cdot C) \cdot 4)$$

где w,x,y,z количество оснований A,T,G,C в последовательности, соответственно.

Для последовательности, длина которой превышает 14 пар (bp), используется методика «ближайшего соседа»:

В методике «ближайшего соседа» расчет температуры плавления базируется на термодинамической связи между энтальпией и энтропией, свободной энергией и температурой, где:

$$\Delta H = \Delta G + T \cdot \Delta S \text{ где}$$

ΔH = значение энтальпии, кал/моль*К

T = температура, Кельвин.

ΔS = значение энтропии, кал/моль*К

ΔG = свободная энергия Гиббса в кал/моль*К

Изменение в энтропии (порядок или мера случайности олигонуклеотидов) и энтальпии (тепло, высвобожденное или поглощенное олигонуклеотидом) непосредственно рассчитывается путем суммирования значений для пар нуклеотидов, метод Breslaue и др., Proc. Nat. Acad. Sci. 83, 3746-50, 1986 (методика Национальной Академии Науки за номером 83, 3746-50, 1986).

Взаимосвязь между свободной энергией и концентрацией реагентов и продуктов в состоянии равновесия дана в следующем выражении:

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln ((\text{ДНК} \cdot \text{Праймер}) / (\text{ДНК} + \text{Праймер}))$$

где R – газовая постоянная (1,986 Ккал/моль*К)

Подставляя G в два уравнения и вычисляя T , получаем:

$$T = \Delta H / (S + R \cdot \ln((\text{ДНК} \cdot \text{Праймер}) / (\text{ДНК} + \text{Праймер})))$$

Принимаем, что концентрация ДНК и концентрация комплекса ДНК- праймера равны.

Эмпирически определено, что существует изменение свободной энергии, равное 5 (3,4 - Sugimoto и др.) ккал, в течение перехода от единичной цепи к ДНК В-формы.

Это предположительно энергия закладки спирали. В итоге, добавляя поправку на соль, получаем уравнение, используемое калькулятором T_a :

$$T = (\Delta H - 5(\text{ккал/К} \cdot \text{моль})) / (S + (R \cdot \ln(1 / (\text{праймер})))) + 16.6 \log_{10}(\text{молярность соли})$$

Не требуется никаких поправочных коэффициентов на соль, т.к. различные параметры были определены при 1 молярной соли NaCl, а учетная запись для 1 равняется нулю.

Допущения:

В термодинамических расчетах допускается, что гибридизация происходит при pH 7.0. При расчете температуры плавления (T_m) допускается, что последовательность не симметричная и содержит хотя бы один G или C.

Длина олигонуклеотидовой последовательности должна равняться, по крайней мере, 14 основаниям для обеспечения достаточных значений T_m . Если длина последовательности меньше 14 оснований, то используется метод подсчета пар оснований.

Константы взаимодействия Бреслера

Бреслер и др.

Взаимодействие		дельта(H)	дельта(S)	дельта(G)
AA	TT	9.1	24	1.9
AT	TA	8.6	23.9	1.5
AC	TG	6.5	17.3	1.3
AG	TC	7.8	20.8	1.6
TA	AT	6	16.9	0.9
TT	AA	9.1	24	1.9
TC	AG	5.6	13.5	1.6
TG	AC	5.8	12.9	1.9
CA	GT	5.8	12.9	1.9
CT	GA	7.8	20.8	1.6
CC	GG	11	26.6	3.1
CG	GC	11.9	27.8	3.6
GA	CT	5.6	13.5	1.6
GT	CA	6.5	17.3	1.3
GC	CG	11.1	26.7	3.1
GG	CC	11	26.6	3.1

5. Выполнение протоколов

Термоциклер 1000™ запускает выполнение протоколов для одного или более блоков реакционного модуля. До того, как запустить выполнение протокола у вас есть возможность отредактировать протокол (стр. 48). Для вашего удобства, термоциклер 1000 содержит комплект предварительно установленных, стандартных протоколов, которые вы можете использовать (стр. 109).

Для получения инструкций по выполнению протоколов прочитайте разделы данной главы о том, как:

- Запустить протокол с помощью клавиши RUN (выполнить) (ниже)
- Контролировать выполнение протокола с помощью клавиш STATUS (состояние) и VIEW (вид) (стр. 37)
- Приостановить и продолжить выполнение протокола с помощью кнопок Pause (пауза) и Resume (продолжить) (стр. 40)
- Пропустить этапы в процессе выполнения протокола с помощью кнопки Skip Step (пропустить этап) (стр. 41)
- Отменить выполнение протокола с помощью клавиши CANCEL (отмена) (стр. 42)
- Нажать клавишу INCUBATE (инкубировать) для незамедлительной инкубации проб при одинаковой температуре (стр. 44)

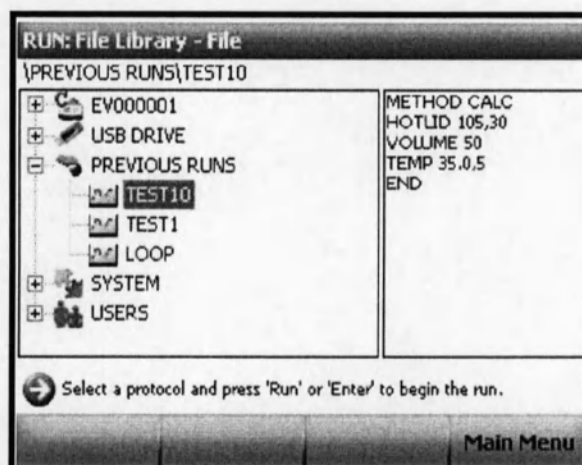
Запуск протокола с помощью клавиши RUN (выполнить)

Начните выполнение, используя один из следующих методов:

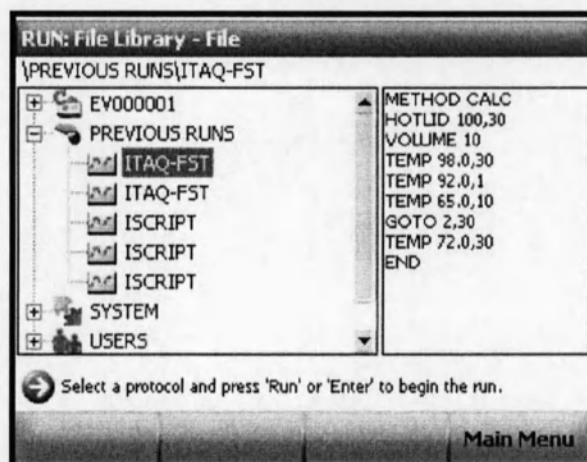
- Нажать клавишу RUN (выполнить): Нажмите RUN, и выберите протокол в библиотеке файлов. Нажмите RUN или ENTER (ввод) снова для начала последовательности выполнения.
- Выбрать протокол в каталоге PREVIOUS RUN (предварительное выполнение) и нажмите RUN: выберите каталог Previous Run для выбора протокола, который недавно выполнялся. Затем нажмите клавишу RUN или ENTER для повторного выполнения выбранного протокола.
- Открыть библиотеку файлов и выбрать протокол: Щелкните Files (файлы) в главном меню для того, чтобы открыть библиотеку файлов и выбрать протокол. Нажмите клавишу RUN или ENTER для выполнения выбранного протокола.
- Выполнить отредактированный протокол: после редактирования протокола нажмите клавишу RUN, чтобы начать выполнение данного протокола.
- Выполнить новый протокол: после создания нового протокола (стр. 47), нажмите клавишу RUN, чтобы начать выполнение этого протокола.

Чтобы запустить протокол нажатием клавиши RUN, выполните следующие действия:

1. Нажмите RUN и выберите каталог, в котором содержится протокол. Нажмите клавишу RUN из любого экрана для того, чтобы открыть библиотеку файлов и выбрать каталог:

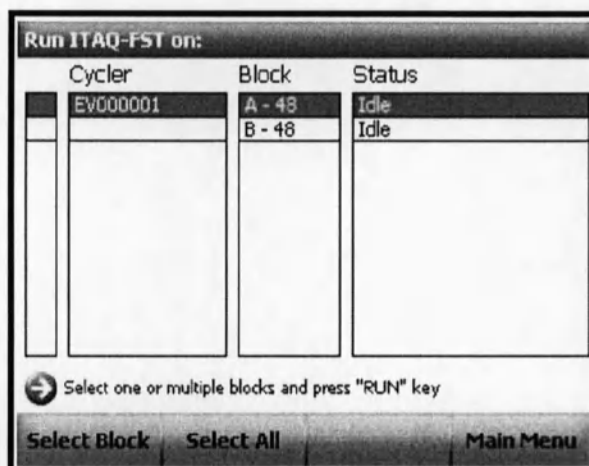


2. Выберите протокол и нажмите RUN, чтобы приступить к выполнению. Выберите протокол и нажмите клавишу RUN снова, чтобы начать выполнение выбранного протокола. В этом примере выбран протокол ITAQ-FST:



3. Выберите один или несколько блоков для запуска выполнения (необязательно)

Если с прибором 1000 соединено более одного блока, выберите блок, необходимый вам для выполнения протокола. В этом примере термоциклером запускается реакционный модуль Dual-48:



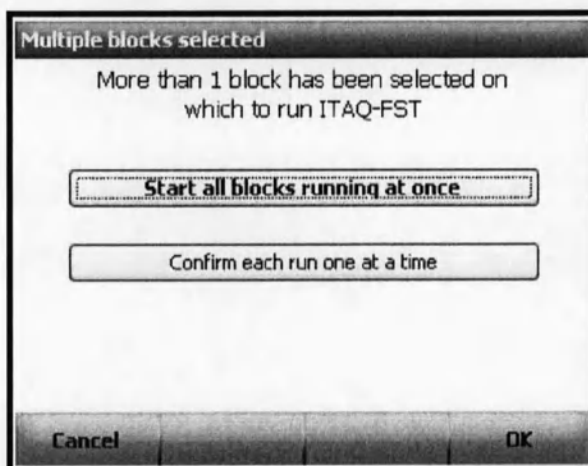
Совет: Для выбора более одного блока, сначала выберите один блок путем нажатия клавиш со стрелками и нажатия Select Block (выбрать блок). Затем, выберите следующий блок, снова нажимая клавиши со стрелками и снова нажимая Select Block.

4. Выберите метод запуска нескольких блоков (не обязательно)

Если вы хотите запустить выполнение протокола на более чем одном блоке, сначала выберите метод, а затем нажмите ОК, чтобы начать выполнение.

- Запустить все блоки одновременно: выбирайте данный метод для начала выполнения протокола на всех блоках в одно и то же время.
- Подтвердить выполнение по одному: выбирайте данный метод для начала выполнения протокола для каждого блока по отдельности.

В этом примере, протокол будет запущен одновременно для всех блоков:



5. Подтверждение параметров выполнения

Перед началом выполнения подтвердите или измените параметры выполнения. Параметры объема пробы и температуры крышки влияют на успешное проведение реакции. Дополнительная информация по выбору данных параметров представлена на стр. 64.

Совет: Ввод данных объема пробы определяет режим управления температурой. Введите значение Sample Volume (объема пробы) большее 0 (нуля) мл для управления расчетной температурой, при котором термоциклер использует объем пробы для расчета заданной температуры. Введите 0 (ноль) для использования управления температурой блока, при котором термоциклер принимает, что температура пробы равна температуре блока.

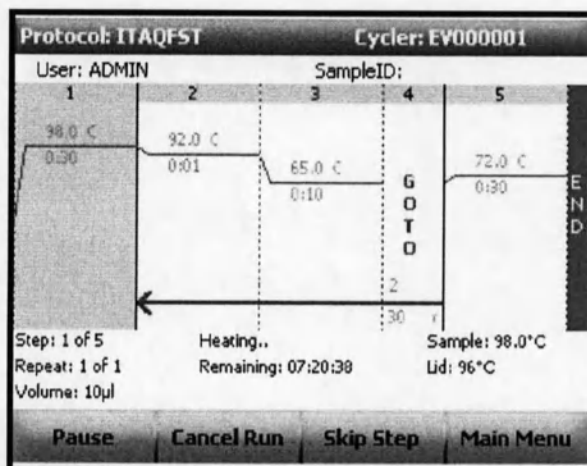
В этом примере параметры выполнения включают в себя имя пользователя EVA, объем пробы и температуру крышки 85°C: (Также можно пропустить данные поля и запустить выполнение протокола без введения параметров или идентификатора пробы (Sample ID) путем нажатия Run).

6. Запуск в режиме эмуляции (не обязательно)

Для выполнения протокола при той же линейной скорости, что и у термоциклера iCycler и механизма ДНК, выберите опцию эмуляции. Нажмите кнопку Options (опции), затем выберите Enable emulation mode (включить режим эмуляции) и задайте нужную линейную скорость:

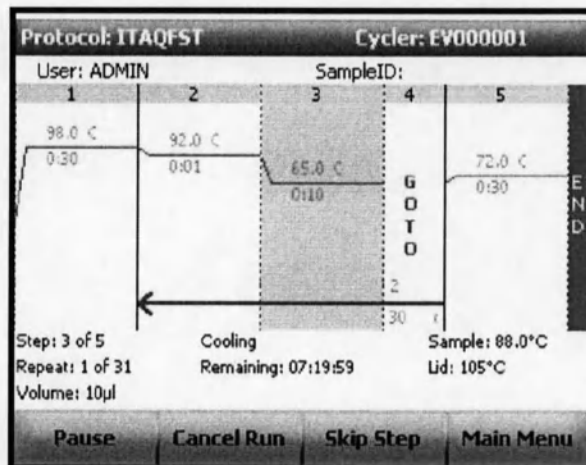
7. Начать выполнение

Чтобы начать выполнение, нажмите ОК. В этом примере выполнение протокола начинается на блоке A, а крышка предварительно подогревается:



8. Контроль выполнения протокола

Как только начинается выполнение протокола, на экране состояния отображаются подробности хода выполнения протокола. В этом примере проба охлаждается в термоциклере до заданной температуры 65.0°C:



Контроль выполнения протокола с помощью клавиш STATUS и VIEW

В процессе выполнения клавиши STATUS (статус) и VIEW (вид) обеспечивают быстрый способ контроля всех блоков:

- Клавиша VIEW (вид): Нажмите эту клавишу, чтобы отобразить оставшееся время на одном блоке.
- Клавиша STATUS (состояние): Нажмите эту клавишу для отображения состояния выполнения процесса на нескольких блоках.

Контроль с помощью клавиши VIEW

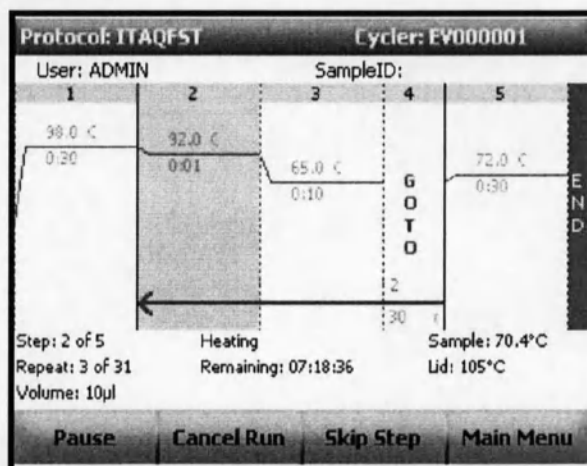
При запуске одного блока нажмите клавишу VIEW (вид) для переключения между экраном оставшегося времени и экраном с подробностями выполнения протокола. Для контроля выполнения протокола с использованием клавиши VIEW (вид), выполните следующие действия:

1. Нажмите VIEW для контроля оставшегося времени.

Нажмите клавишу VIEW для переключения с экрана выполнения протокола на экран оставшегося времени:



2. Нажмите VIEW снова для возвращения к экрану выполнения протокола. Нажмите клавишу VIEW снова для обратного переключения к экрану выполнения протокола:



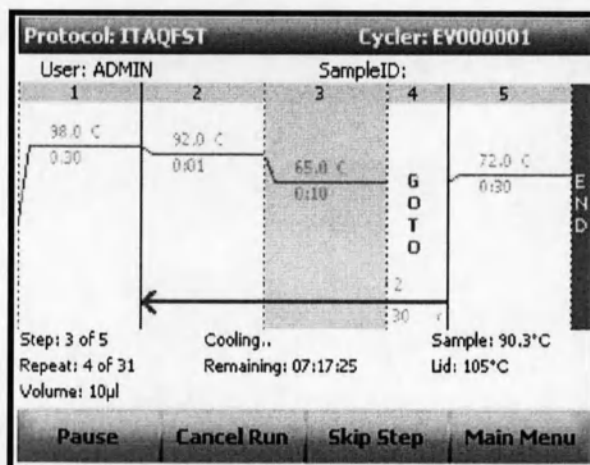
Совет: В главном меню также представлен перечень состояний всех блоков, подключенных к 1000.

Контроль нескольких блоков с помощью клавиши STATUS

Если вы осуществляете контроль выполнения на нескольких блоках, нажмите клавишу STATUS (состояние) для отображения всех блоков, подключенных к 1000, и просмотрите эти экраны путем прокрутки:

1. Контроль выполнения на одном блоке

Контролируйте подробности выполнения протокола на одном блоке на экране выполнения протокола. На этом экране отображаются подробности текущего процесса:



Выберите одну из этих кнопок для изменения текущего процесса:

- Нажмите **Pause** (пауза) для временной остановки текущего процесса.
- Нажмите **Skip Step** (пропустить этап), чтобы пропустить этап, который выполняется в данный момент.
- Нажмите **Cancel** (отмена), чтобы остановить текущее выполнение процесса.

2. Нажмите клавишу Main Menu (главное меню), чтобы отобразить все блоки на экране главного меню

Оцените состояние одного или нескольких блоков в главном меню. На этом экране отображается перечень всех подключенных блоков и их текущее состояние. В этом примере термоциклер 1000 запустил в работу один блок с 96 лунками:



3. Нажмите клавишу STATUS (состояние) для осуществления контроля нескольких блоков на экране перечня блоков (необязательно).

Экран перечня блоков отображается, если 1000 запустил в работу несколько блоков. Данный экран обеспечивает обзор состояния всех блоков, подсоединенных к 1000.

В этом примере 1000 запустил в работу реакционный модуль Dual-48 (сдвоенный), и на экране состояния отображаются два блока:

System Status		
Cycler	Block	Status
EV000001	A - 48	00:21:51 remaining
	B - 48	00:22:01 remaining

➔ Highlight block and press "STATUS" key for more info

Cancel All Cancel Run Main Menu

Совет: Нажмите клавишу STATUS снова для входа в экран выполнения протокола выбранного блока.

Приостановить и продолжить выполнение протокола с помощью кнопки Pause

Выберите кнопку Pause (пауза) для временной приостановки выполнения протокола. Во время паузы термоциклер продолжает нагрев или охлаждение до указанной температуры, и поддерживается температура крышки.

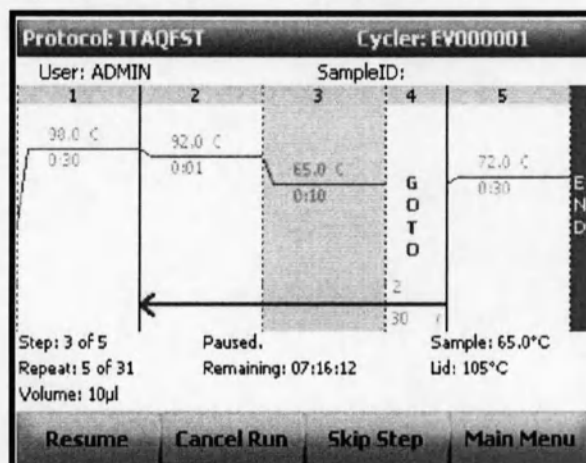
Совет: после перебоя в энергоснабжении термоциклер 1000 автоматически продолжит выполнение протокола, но при этом будет отображено предупреждающее сообщение.

Для приостановки и возобновления выполнения протокола выполните следующие действия:

1. Приостановить текущий этап протокола
Чтобы остановить протокол, нажмите кнопку Pause (пауза) из графического отображения выполняемого протокола.

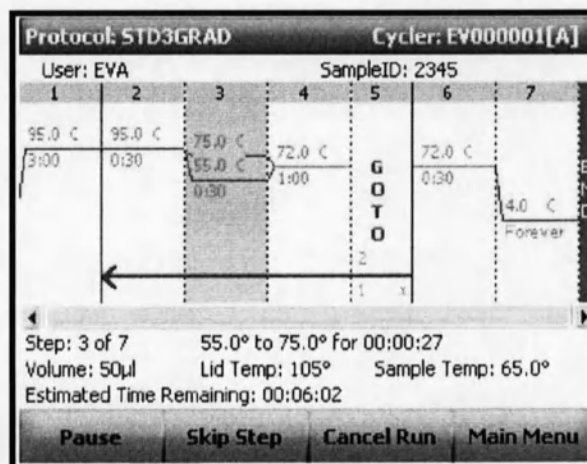
Внимание! Приостановка этапа может неблагоприятно повлиять на результаты ПЦР-анализа. Если вы приостанавливаете протокол на этапе температурного воздействия, то время выдержки ПЦР-реакции при заданной температуре будет больше, чем это требуется для выполнения этапа протокола.

В этом примере протокол приостановлен на этапе 3:



2. Возобновить выполнения протокола

Нажмите кнопку Resume (продолжить) чтобы запустить выполнение приостановленного этапа протокола. В этом примере продолжено выполнение этапа 3.



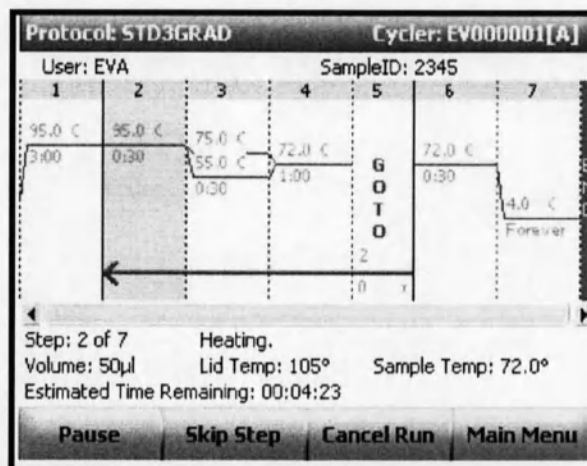
Пропустить этапы с помощью кнопки Skip Step

Пропустите этап, если необходимо укоротить протокол во время его выполнения. Посредством многократного пропуска этапов становится возможным пропустить несколько циклов GOTO (переходов) и укоротить выполняемый протокол.

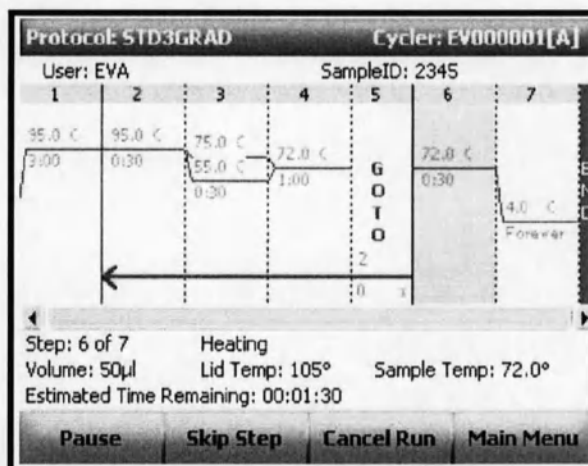
Чтобы пропустить текущий этап протокола, выполните следующие действия:

1. Оцените текущий этап

В этом примере выполняется этап 2, и выполняется повтор в протоколе последнего GOTO (0x):



2. Нажмите кнопку Skip Step (пропустить этап) чтобы пропустить текущий этап. Нажмите Skip Step несколько раз, чтобы пропустить более одного этапа. В этом примере кнопка Skip Step нажата дважды, пропущены этапы 3 и 4 в последнем цикле GOTO. Вследствие этого 1000 заканчивает повторы GOTO, и переходит к выполнению следующего этапа (6):



Отмена выполнения с помощью кнопки Cancel Run

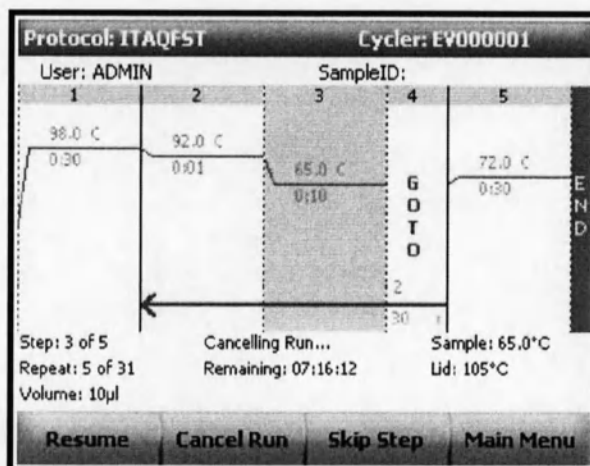
Если необходимо отменить выполнение протокола в любое время, нажмите кнопку Cancel Run (отмена выполнения) на экране протокола. Если протокол отменен, то немедленно прекратится изменение температуры блока. Для отмены протокола выберите один этих двух экранов:

- Экран протокола: Выберите этот экран для отмены протокола на одном блоке.
- Список состояний блоков: Выберите этот экран для отмены протокола на одном или более блоках.

Примечание: Не выключайте термоциклер сразу после отмены выполнения. Для охлаждения блока может потребоваться работа вентиляторов.

1. Откройте экран протокола или список состояний блока

Для отмены протокола на одном блоке откройте экран выполнения протокола и выберите Cancel Run (отменить выполнение). В этом примере работает один блок и открыт экран выполнения:

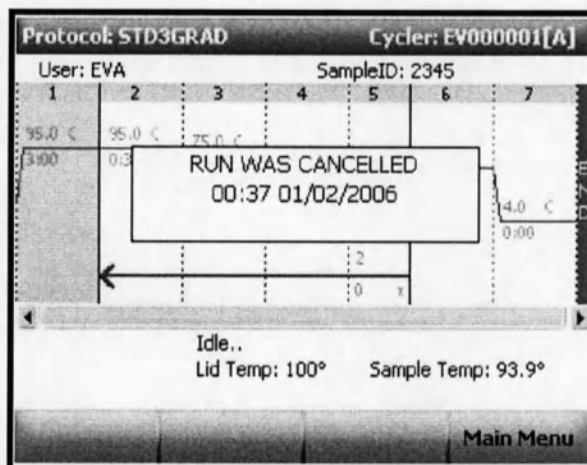


В этом примере работают несколько блоков и открыт экран состояния блоков:

System Status		
Cycler	Block	Status
EV000001	A - 48	00:10:43 remaining...
	B - 48	00:10:58 remaining...
Highlight block and press "STATUS" key for more info		
Cancel All	Cancel Run	Main Menu

2. Щелкните Cancel Run (отменить выполнение) или Cancel All (отменить все)

Щелкните кнопку Cancel Run (отменить выполнение), чтобы остановить работу одного блока. В этом примере открыт экран протокола и выполнение отменено:



В этом примере открыт экран состояния блока, и выполнение отменено:

System Status		
Cycler	Block	Status
EV000001	A - 48	Run Cancelled
	B - 48	Run Cancelled
Highlight block and press "STATUS" key for more info		
Cancel All		Main Menu

Совет: Чтобы отменить несколько циклов, но не все, выберите блоки и щелкните Cancel Run (отменить выполнение).

Инкубация пробы с помощью клавиши INCUBATE

Щелкните клавишу INCUBATE (инкубировать) (0) для поддержания постоянной температуры проб в течение любого количества времени. Инкубация будет продолжаться неограниченное количество времени. Чтобы завершить инкубацию, нажмите кнопку Cancel (отмена).

Внимание! Инкубация проб в течение длительного периода времени при температуре 4-10°C, особенно в местах с большой влажностью, может привести к чрезмерной конденсации влаги вокруг блока.

Выполните следующие действия для начала и завершения Инкубации проб при одной температуре:

1. Нажмите INCUBATE (инкубировать)

Загрузите свои пробы и нажмите клавишу INCUBATE (инкубировать) (0) для начала инкубации:

Instant Incubate

Target Temperature: 31 °C

Lid Temperature: 105 °C

☒ Use Heated Lid

Press "RUN" or "OK" to confirm settings and begin run

OK Main Menu

Совет: Установите температуру инкубации по умолчанию в меню Utilities (утилиты) (стр. 101).

Примечание: Если инкубация происходит при температуре ниже Cutoff (порога выключения), то температура крышки будет поддерживаться на отметке 31°C для предотвращения образования чрезмерного конденсата. Порог отключения (Cutoff) может быть изменен в меню Utilities (утилиты).

2. Введите параметры инкубации

Измените параметры Target Temperature (заданной температуры) и Lid Temperature (температуры крышки) при необходимости. В этом примере Target Temperature (заданная температура) изменена до 90°C:

Instant Incubate

Target Temperature: 90 °C

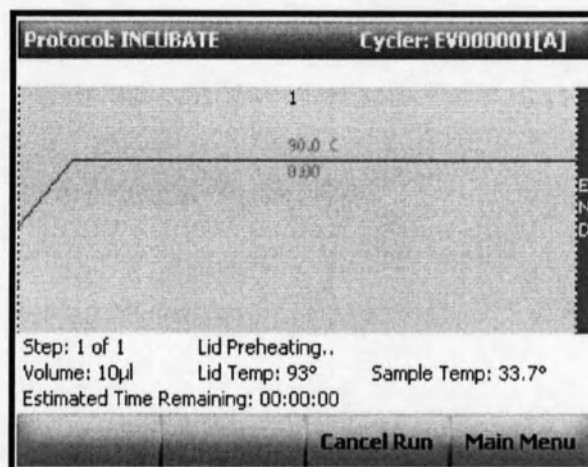
Lid Temperature: 105 °C

☒ Use Heated Lid

Press "RUN" or "OK" to confirm settings and begin run

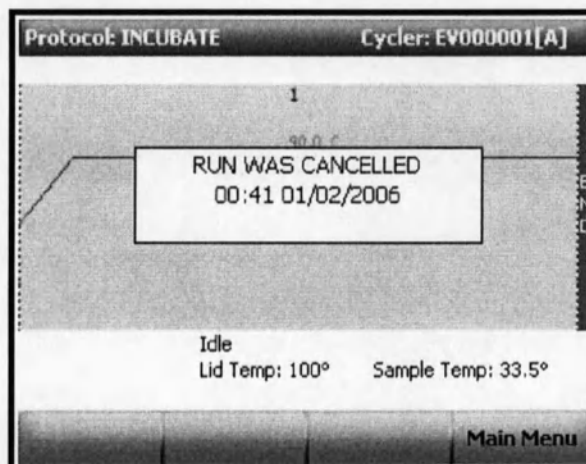
OK Main Menu

3. Нажмите ОК для начала инкубации
Для начала инкубации нажмите кнопку ОК дважды:



Примечание: Если подсоединено несколько блоков, то вы можете выбрать блоки, инкубацию которых вы хотите начать.

4. Нажмите Cancel Run (отменить выполнение) для завершения инкубации
Нажмите кнопку Cancel Run для завершения инкубации, при этом отобразится итоговый экран отмены ("Cancelled"):



6. Создание и редактирование протоколов

Процессы создания и редактирования протоколов просты и интуитивно понятны. Если новый протокол создается без помощи автоматического генератора протоколов, то термоциклер 1000™ предоставляет протокол-образец.

Совет: Для того, чтобы термоциклер 1000 создал протокол автоматически, нажмите клавишу автоматического генератора протокола («Создание протокола с помощью автоматического генератора протоколов» на стр. 24).

Данная глава содержит инструкции по созданию и редактированию протоколов. Процессы создания и редактирования протоколов включают как обязательные, так и не обязательные задачи; после осмысления этих простых действий, можно создавать протоколы, применяя данные задачи в любом порядке:

1. Открыть новый протокол или существующий протокол (ниже).
2. Изменить параметры этапа температурного воздействия или этапа градиента (необязательное действие, стр. 48).
3. Изменить параметры этапа GO TO (перехода) (необязательное действие, стр. 57).
4. Вставить или удалить этап (не обязательно, стр. 59).
5. Присвоение имени протоколу (обязательно, стр. 62).
6. Изменить объем пробы и температуру крышки (необязательное действие, стр. 64).
7. Сохранить протокол (обязательно, стр. 66).

Дополнительная информация об использовании панели управления и главного меню - на стр. 13. Дополнительная информация о содержании файлов протоколов - на стр. 79. Инструкции по выполнению протоколов - на стр. 33.

Открытие нового или существующего протокола

Следуйте данным инструкциям, чтобы создать или отредактировать протокол:

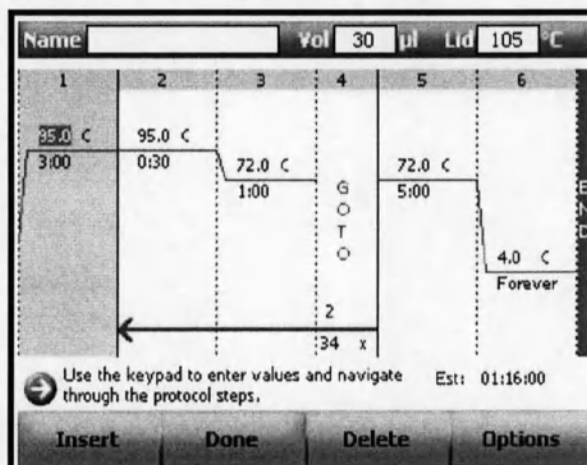
1. Выберите New Protocol (новый протокол), или нажмите клавишу EDIT (редактировать).

Чтобы создать новый протокол в главном меню, выберите New Protocol (новый протокол) чтобы открыть образец нового протокола. Для изменения существующего протокола нажмите клавишу EDIT (редактировать), чтобы открыть библиотеку файлов и выбрать протокол для редактирования.

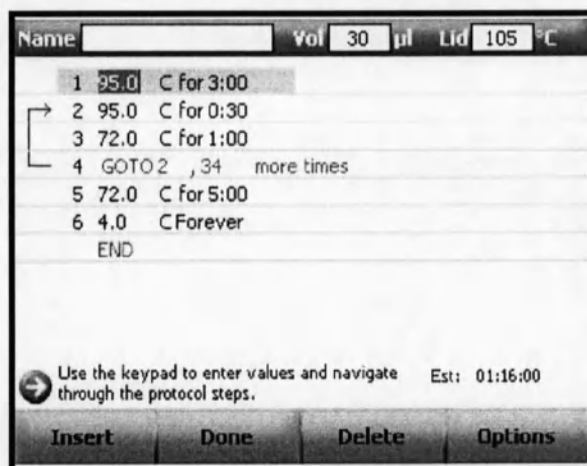
2. Переключение между графическим и текстовым режимами (необязательное действие).

Протокол открывает графический режим изображения. Нажмите клавишу VIEW (вид) для переключения между графическим и текстовым режимами изображения в любое время:

- Это образец нового протокола в графическом режиме изображения:



- Это образец протокола в текстовом режиме изображения:



Изменение параметров на этапе температурного воздействия

Этапы температурных воздействий являются самым общим видом типовых протоколов. Параметры этапа температурного воздействия включают в себя заданную температуру и время выдержки, и другие, требуемые для завершения этапа. Дополнительно вы можете добавить больше параметров к данному этапу, щелкнув по кнопке Options (опции).

Следующий список содержит все возможные параметры для этапов температурного воздействия. Многие из данных параметров могут быть объединены в один этап:

- Температура и время (обязательно): изменение заданной температуры и времени выдержки в течение этапа (ниже).

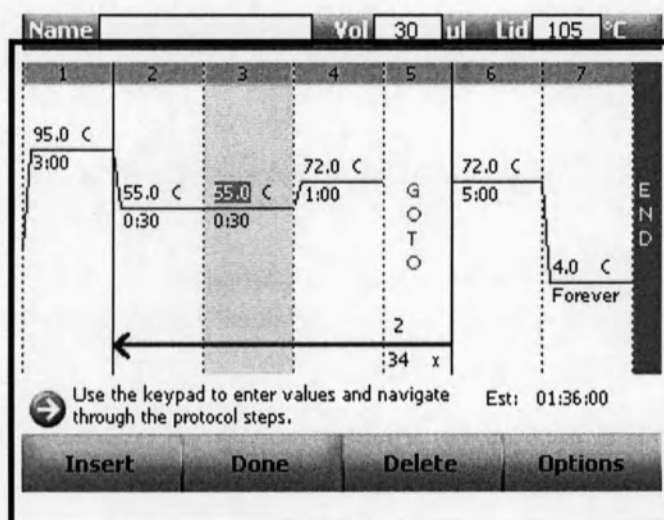
- Градиент: создать температурный градиент сквозь блок в течение этапа («Добавить и удалить температурный градиент» на стр. 50).
- Приращение: изменять заданную температуру с каждым циклом (стр. 51).
- Скорость линейного нарастания: изменить скорость линейного нарастания на этапе (стр. 53).
- Продлевать: увеличивать время выдержки на этапе с каждым циклом (стр. 54).
- Звуковой сигнал: добавить звуковой сигнал в конце этапа (стр. 56).

Изменение заданной температуры и времени выдержки

Для изменения заданной температуры и времени выдержки в течение этапа температурного воздействия, следуйте данным инструкциям:

1. Выбрать этап протокола

На этом примере представлен стандартный образец для нового протокола. Обратите внимание, что каждый этап температурного воздействия включает заданную температуру и время выдержки:

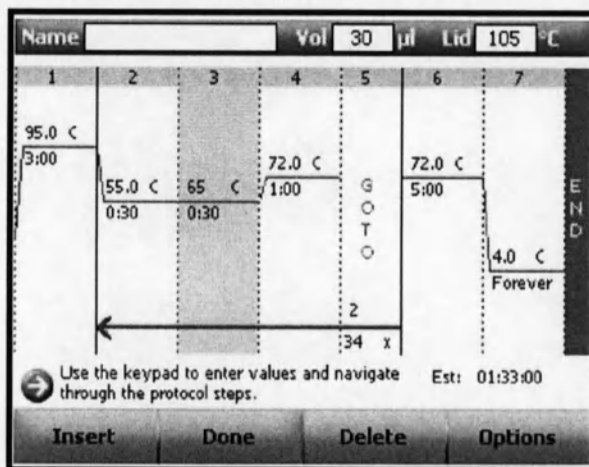


2. Введите требуемые параметры

Для выбора параметров нажимайте клавиши со стрелками. Используйте буквенно-цифровые клавиши для ввода нового числового значения для любого выделенного параметра.

Совет: Для перехода между режимами графического и текстового изображения нажмите клавишу VIEW (вид).

В этом примере заданная температура на этапе 3 изменяется до 65°C:



Добавить и удалить температурный градиент

Чтобы добавить температурный градиент к этапу температурного воздействия, выполните следующие инструкции: 1. Выберите этап протокола и выберите Options (опции), или нажмите Insert (вставить), затем Gradient (градиент). Выберите этап температурного воздействия и нажмите Options, чтобы открыть окно с опциями:

2. Введите диапазон градиента (Gradient Range)

Используйте буквенно-цифровые клавиши для ввода Gradient Range (диапазона градиента). Нажмите Done (готово) для продолжения.

Примечание: диапазон градиента должен быть от 1 до 24°C. Высшее значение температуры градиента равняется нижнему значению температуры плюс диапазон градиента.

В этом примере диапазон градиента равен 20.0°C, а нижняя температура равна 55°C. Таким образом, верхнее значение температуры равно 75°C. Как только диапазон градиента введен, на экране отображается градиент, распределенный по рядам лунок в блоке.

В этом примере показан градиент, распределенный сквозь блок с 96 лунками, начиная с задней части (ряд А, верхнее значение температуры) по направлению к передней (ряд Н, нижнее значение температуры):

Step Options		Step 3		Gradient	
Temperature	55.0 C			A	75.0
Gradient Range	20.0 C			B	73.6
Increment				C	71.0
Ramp Rate				D	67.4
Time	0:30			E	62.9
Extend				F	59.2
				G	56.5
				H	55.0
☐ Beep					
				Cancel Done	

Примечание: этап градиента также может включать в себя параметр удлинения (Extend), но не включает приращение, звуковой сигнал или скорость нарастания.

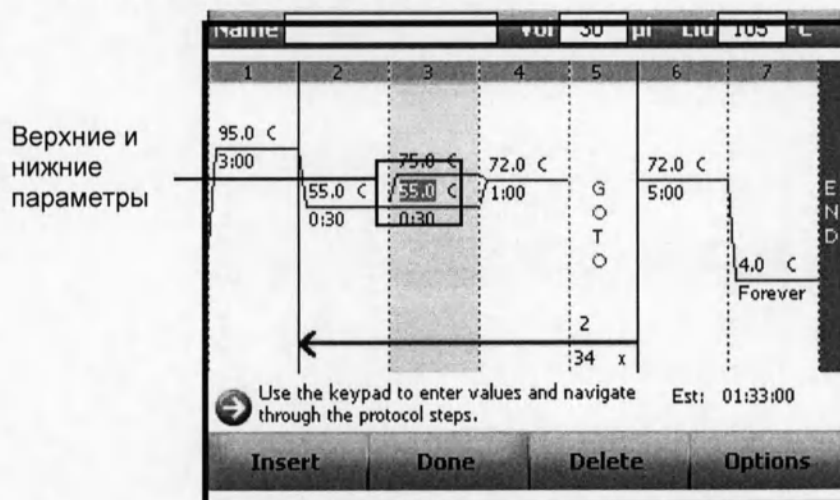
3.

Просмотрите градиент

Просмотрите протокол в предпочтительном для вас виде (текстовом или графическом). Это также дает дополнительную возможность для редактирования параметров градиента.

Совет: Как только на этапе появляется градиент, вы можете редактировать верхнюю и нижнюю температуры в графическом или текстовом формате изображения, не открывая экран с опциями

В этом примере градиент от 55 до 75°C:



4. Удалить температурный градиент

Выберите этап градиента и откройте окно Options (опции). Затем выберите Gradient Range (диапазон градиента) и удалите значение диапазона, нажав клавишу BACK (назад). Затем нажмите OK.

Добавить и удалить температурное приращение

Приращение увеличивает или уменьшает заданную температуру на этапе с каждым циклом. Чтобы добавить и удалить температурное приращение, выполните следующие инструкции:

1. Выберите этап протокола и щелкните Options (опции)
Выберите этап температурного воздействия и нажмите Options, чтобы открыть окно с опциями:

Step Options
Step 3

Temperature 55.0 C
Gradient Range C
Increment C/cycle
Ramp Rate C/sec
Time 0:30
Extend sec/cycle
☐ Beep

Cancel Done

2. Добавить приращение

Нажимайте клавиши со стрелками, чтобы выбрать окно Increment (приращение). Затем нажимайте буквенно-цифровые клавиши, чтобы ввести температуру приращения, и нажмите ОК для завершения:

Step Options
Step 3

Temperature 55.0 C
Gradient Range C
Increment 0.5 C/cycle
Ramp Rate C/sec
Time 0:30
Extend sec/cycle
☐ Beep

Cancel Done

3. Просмотрите приращение

Просмотрите приращение в текстовом формате изображения протокола. В этом примере на 3 этапе протокола есть приращение:

Name: [] Vol: 30 µl Lid: 105 °C

1	95.0	C for 3:00
2	55.0	C for 0:30
3	55.0	C for 0:30
Increment temperature by 0.5 C per cycle		
4	72.0	C for 1:00
5	GOTO 2, 34 more times	
6	72.0	C for 5:00
7	4.0	C Forever
END		

Use the keypad to enter values and navigate through the protocol steps. Est: 01:34:00

Insert Done Delete Options

4. Удалить приращение

Выберите этап протокола и откройте окно с опциями. Затем удалите значение температуры приращения (Increment), нажав клавишу BACK (назад). Затем нажмите OK.

Добавить и удалить скорость линейного нарастания

Измените скорость линейного нарастания этапа протокола, если требуется эмулировать термоциклер, работающий с более медленной скоростью линейного нарастания, чем термоциклер 1000.

Для изменения скорости нарастания для этапа температурного воздействия следуйте данным инструкциям:

1. Выберите этап протокола и выберите Options (опции)

Выберите этап температурного воздействия и нажмите Options, чтобы открыть окно с опциями:

Step Options

Step 3

Temperature: 55.0 C

Gradient Range: [] C

Increment: [] C/cycle

Ramp Rate: [] C/sec

Time: 0:30

Extend: [] sec/cycle

☐ Beep

Cancel Done

2. Добавить изменение скорости линейного нарастания

Используйте клавиши со стрелками для размещения курсора в окне Ramp Rate (скорость линейного нарастания). После этого, нажимайте буквенно-цифровые клавиши, чтобы ввести значение скорости нарастания, и нажмите OK, чтобы добавить указанную скорость нарастания:

Step Options
Step 3

Temperature 55.0 C

Gradient Range C

Increment C/cycle

Ramp Rate 2.0 C/sec

Time 0:30

Extend sec/cycle

☐ Beep

Cancel Done

3. Просмотрите скорость линейного нарастания

Скорость нарастания можно увидеть в текстовом формате отображения протокола. В этом примере на 3 этапе протокола есть изменение скорости линейного нарастания:

Name Vol 30 µl Lid 105 °C

1 95.0 C for 3:00

2 55.0 C for 0:30

3 72.0 C for 1:00
Slow Ramp Rate to 2.0 C per second

4 GOTO 2 , 34 more times

5 72.0 C for 5:00

6 4.0 C Forever

END

Use the keypad to enter values and navigate through the protocol steps. Est: 01:15:00

Insert Done Delete Options

4. Удалить изменение скорости линейного нарастания

Чтобы удалить скорость линейного нарастания, выберите этап и откройте окно с опциями. Затем выберите скорость линейного нарастания и удалите ее значение нажатием клавиши BACK (назад). Затем нажмите OK.

Добавить и удалить время Extend (продления)

Добавьте время продления к этапу протокола, если вы хотите, чтобы время выдержки увеличивалось или сокращалось с каждым циклом. Чтобы добавить или удалить время продления, следуйте данным инструкциям:

1. Выберите этап протокола и щелкните Options

Выберите этап температурного воздействия и нажмите Options, чтобы открыть окно с опциями:

Step Options
Step 3

Temperature C

Gradient Range C

Increment C/cycle

Ramp Rate C/sec

Time

Extend sec/cycle

☐ Beep

Cancel Done

2. Добавить время продления

Нажимайте клавиши со стрелками, чтобы поместить курсор в окно Extend (продление). Затем, с помощью буквенно-цифровых клавиш введите время продления и нажмите OK, чтобы добавить функцию:

Step Options
Step 3

Temperature C

Gradient Range C

Increment C/cycle

Ramp Rate C/sec

Time

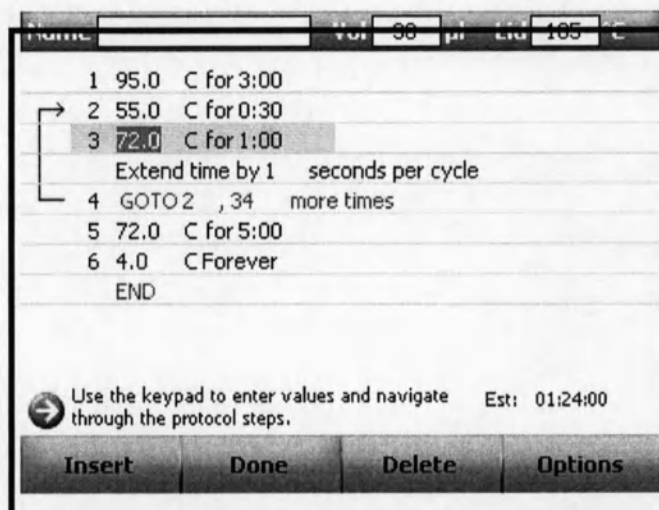
Extend sec/cycle

☐ Beep

Cancel Done

3. Просмотрите время продления

Время продления можно увидеть в текстовом формате отображения протокола. В этом примере на 3 этапе протокола есть время продления:



4. Удалить время продления

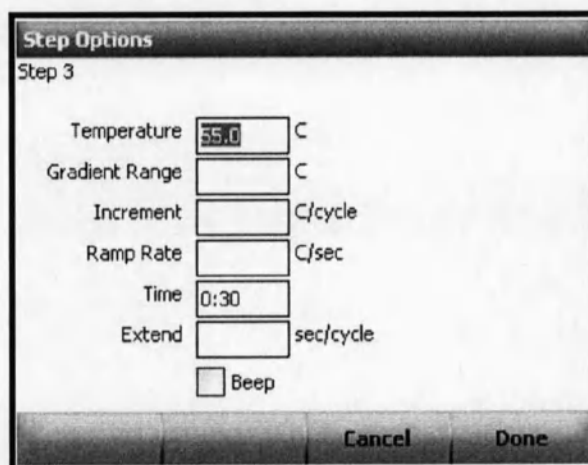
Чтобы удалить время продления, выберите этап и откройте окно с опциями. Затем, удалите значение времени продления нажатием клавиши **BACK**. Затем нажмите **OK**.

Добавить и удалить звуковой сигнал

Звуковой сигнал это звук, который термоциклер подает при достижении им этапа протокола. Чтобы добавить или удалить звуковой сигнал, выполните следующие инструкции:

1. Выберите этап протокола и нажмите **Options**

Выберите этап температурного воздействия и нажмите **Options**, чтобы открыть окно с опциями:



2. Добавить звуковой сигнал

Используйте клавиши со стрелками для выделения слова "Beep" (звуковой сигнал). Затем, нажмите ENTER (ввод), чтобы выбрать окно и нажмите OK для подтверждения:

Step Options
Step 3

Temperature C

Gradient Range C

Increment C/cycle

Ramp Rate C/sec

Time

Extend sec/cycle

☒ Beep

Cancel Done

3. Просмотр звукового сигнала

Просмотрите информацию о звуковом сигнале в текстовом формате отображения протокола. В этом примере, к 3 этапу протокола добавлен звуковой сигнал:

Name	Vol	30	µl	Lid	105	°C
1	95.0	C	for	3:00		
2	55.0	C	for	0:30		
						Beep at end of step
3	72.0	C	for	1:00		
4	GOTO 2		, 34			more times
5	72.0	C	for	5:00		
6	4.0	C	Forever			
						END

Use the keypad to enter values and navigate through the protocol steps. Est: 01:14:00

Insert Done Delete Options

4. Удалить звуковой сигнал

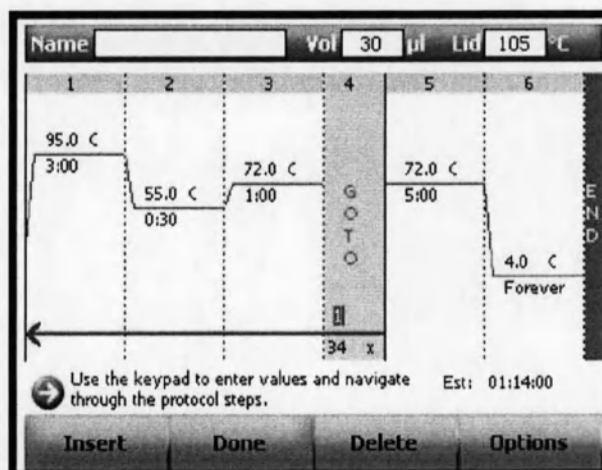
Чтобы удалить звуковой сигнал, выберите этап и откройте окно с опциями. Затем, выберите Beep (звуковой сигнал) и удалите его нажатием клавиши ENTER (ввод). Затем нажмите OK.

Изменение параметров на этапе GOTO (перехода)

Этап GOTO (перехода) дает указание термоциклеру повторить последовательность этапов в цикле. Этот этап создает цикл в процессе ПЦР-анализа. Для изменений параметров этапа GOTO, выполните следующие инструкции:

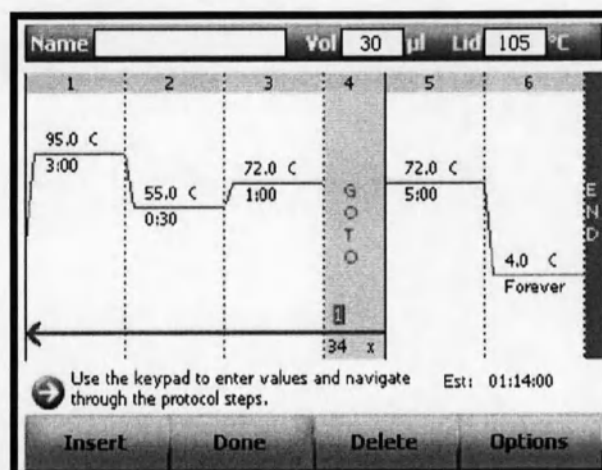
1. Выберите этап GOTO (перехода).

Выберите этап GOTO в графическом или текстовом формате отображения. В этом примере параметры этапа включают переход к 1этапу (GOTO step 1) и 34 дополнительные повторения. Обратите внимание, что стрелка GOTO указывает на 1этап:



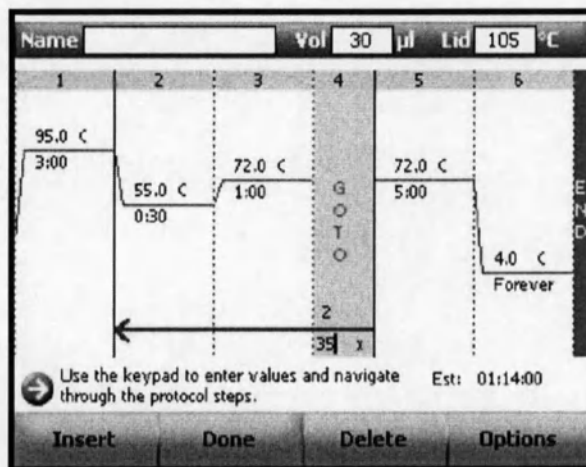
2. Измените номер этапа GOTO (перехода)

С помощью клавиш со стрелками выберите номер этапа в этапе GOTO. В том примере этап перехода (GOTO) меняется с 1 этапа на 2 этап. Обратите внимание, что стрелка GOTO движется к 2 этапу:



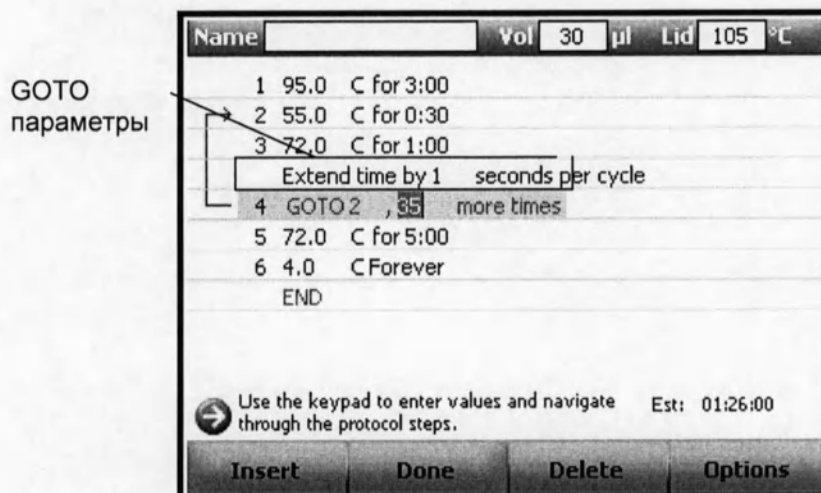
3. Изменение цикла GOTO (повторений)

Цикл GOTO представляет собой количество повторяемых последовательностей этапов в течение этапа GOTO. В этом примере количество циклов GOTO изменяется с 34х на 35х:



4. Просмотр параметров GOTO в тестовом формате

Просмотрите изменения в тестовом или графическом формате. В этом примере протокол отображен в текстовом формате:



Вставить и удалить этап

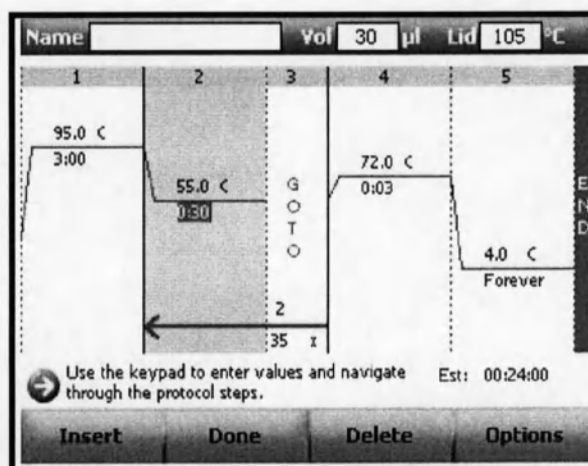
Вставьте этап протокола, если требуется новый этап температурного воздействия (Temp), этап GOTO (переход), или этап градиента. Сотрите этап, чтобы удалить его из протокола.

Вставить этап протокола

Следуйте данным инструкциям, чтобы вставить этап справа от уже существующего этапа протокола:

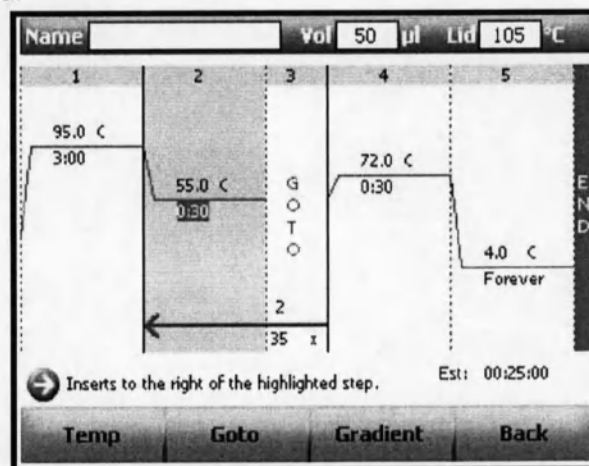
1. Выберите место вставки нового этапа и выберите Insert (вставить)

Выберите этап слева от того места, где вы хотите вставить этап. Затем, щелкните Insert (вставить) чтобы начать вставку этапа. В этом примере выбран 2 этап:



2. Выберите тип этапа для вставки

Выберите Temp, чтобы вставить этап температурного воздействия; GOTO, чтобы вставить этап GOTO (перехода); или Gradient, чтобы вставить этап градиента:

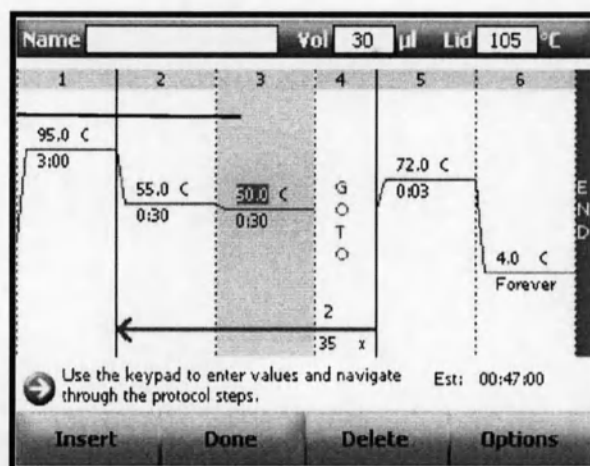


3. Редактировать параметры нового этапа

На новом этапе по умолчанию задана температура 50°C и время 30 секунд (0:30). Выберите и отредактируйте параметры нового этапа (2 этап на стр. 49).

В этом примере вставлен этап температурного воздействия. Обратите внимание, что этап вставлен внутри повторения GOTO:

Вставлен
новый этап

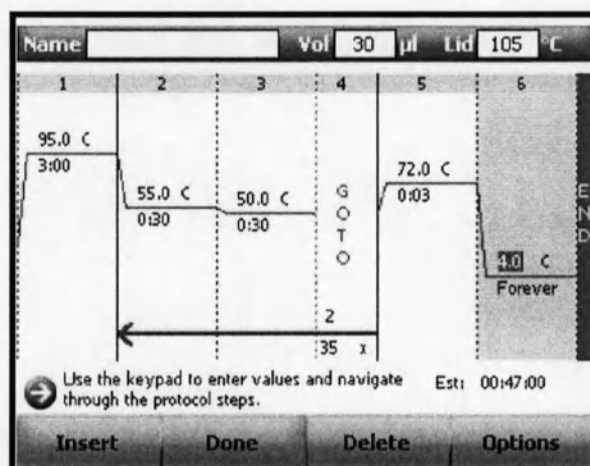


Удалить этап протокола

Чтобы окончательно удалить этап из протокола, выполняйте следующие инструкции:

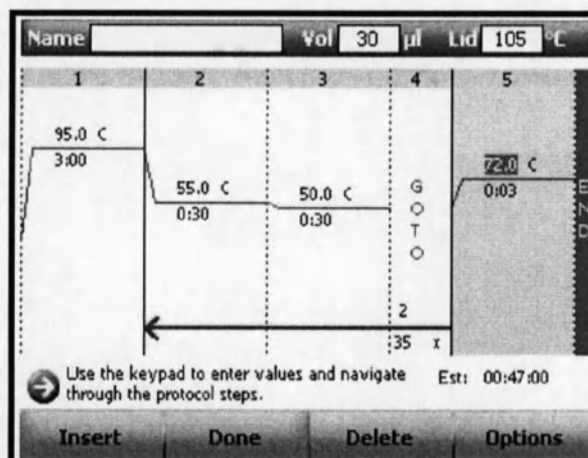
1. Выберите удаляемый этап

Выберите этап. В этом примере выбран 6 этап:



2. Нажмите Delete (удалить).

Нажмите Delete чтобы удалить выбранный этап. В этом примере 6 этап удален, и 5 этап теперь является завершающим этапом протокола:



Присвоение имени протоколу

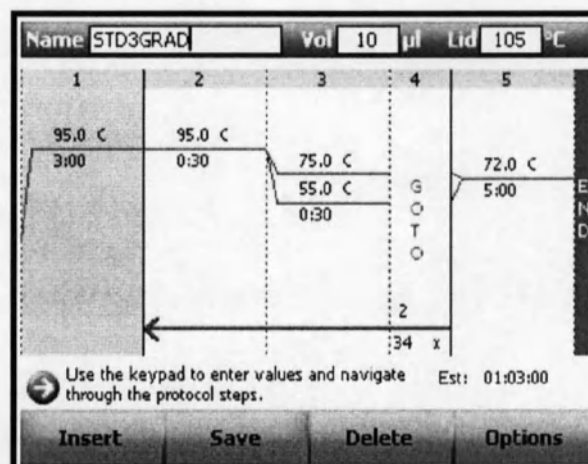
Новому протоколу нужно имя, которое может быть впоследствии изменено, если это потребуется при редактировании протокола.

Присвоение имени новому протоколу

Для присвоения имени протоколу выполните следующие действия:

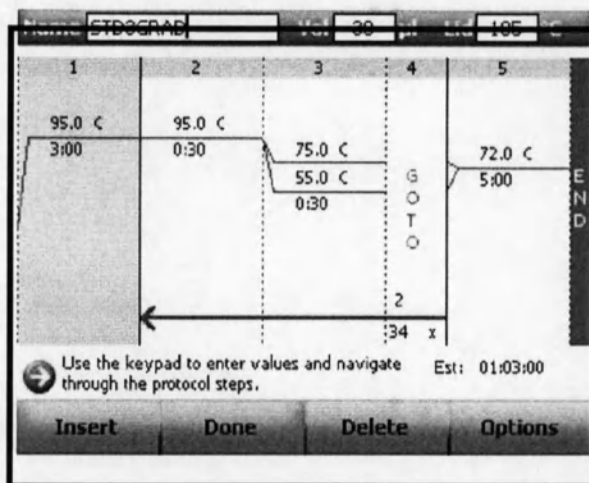
1. Выберите окно Name (имя).

Используйте клавиши со стрелками для перемещения курсора в окно Name (имя):



2. Введите имя

Впечатайте имя протокола в окне. Используйте буквенно-цифровые клавиши для ввода букв или цифр. Нажмите Done (готово) для подтверждения имени и перехода к библиотеке файлов. В этом примере имя нового протокола STD3GRAD:



Примечание: Имя протокола может включать до восьми букв и цифр. Оно не может повторяться в том же каталоге или содержать пробелы, точки или тире.

Переименование существующего протокола

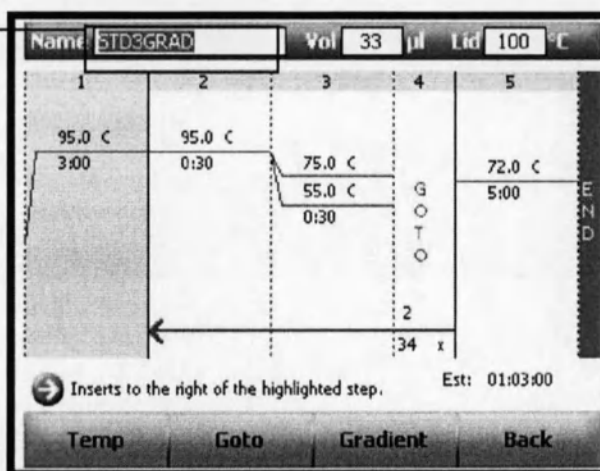
Когда вы редактируете существующий протокол, у вас есть возможность переименовать протокол. При переименовании протокола первоначальный протокол и его имя не будут удалены.

Чтобы переименовать протокол, выполните следующие действия:

1. Выберите имя в окне Name (имя)

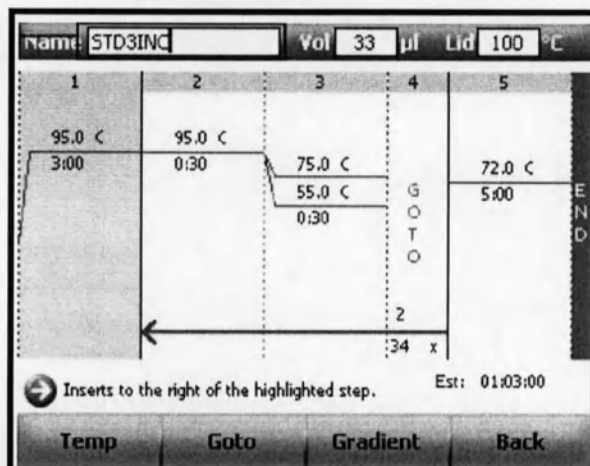
Используйте клавиши со стрелками, чтобы выбрать имя протокола в окне Name. В этом примере имя существующего протокола STD3GRAD:

Имя
существующего
протокола



2. Впечатайте новое имя протокола

Нажмите клавишу **BACK** (назад), чтобы удалить имя. Затем, впечатайте новое имя в окне **Name**. Используйте буквенно-цифровые клавиши для ввода буквы или цифры. Нажмите **ENTER** (ввод) для подтверждения имени. В этом примере новое имя **STD3GRAD**:



Новое имя протокола

Изменение объема пробы и температуры крышки

Параметры объема пробы и температуры крышки влияют на успешно течение протокола. Термоциклер 1000 предлагает три способа установки объема пробы и температуры крышки в протоколе:

- Установить параметры протокола, заданные по умолчанию, при создании и редактировании протокола (ниже).
- Изменить **DEFAULT** (стандартный) протокол в каталоге **SYSTEM/TEMPLATE** (система/образец).
- Установить данные параметры во время начала выполнения (стр. 33)

Изменение объема пробы

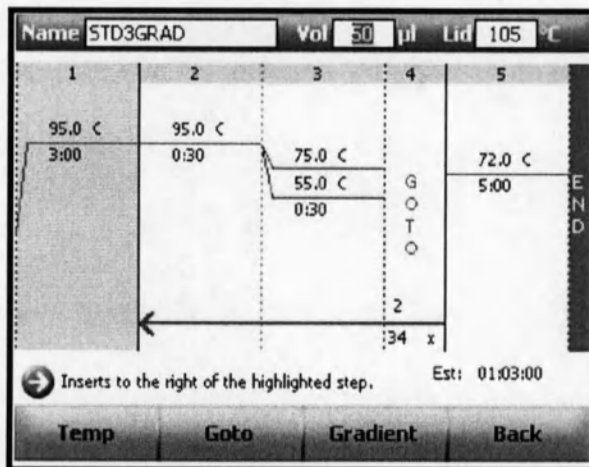
Введите объем ваших проб или ноль. Введенный вами объем пробы определяет режим терморегулирования в ходе процедуры («Режим терморегулирования» на стр. 70).

Выполните следующие действия, чтобы изменить объем пробы:

1. Выберите объем пробы

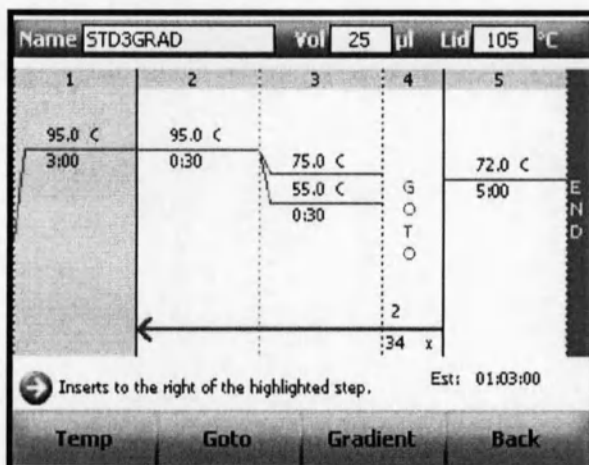
Чтобы изменить объем пробы, заданный по умолчанию для данного протокола, выберите окно ввода объема пробы (**Vol**).

В этом примере, объем пробы, заданный по умолчанию для нового протокола, равен 50 микролитров:



2. Введите объем пробы

Используйте буквенно-цифровые клавиши для ввода нового объема пробы. В этом примере, новый объем пробы составляет 25 микролитров:



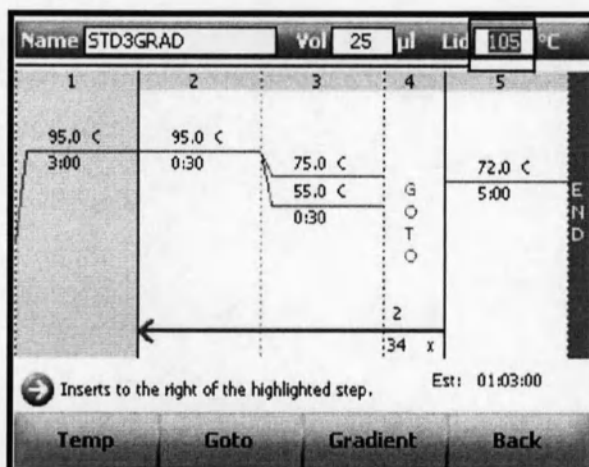
Совет: При вводе значений объема пробы в диапазоне от 1 до 50 устанавливается расчетный режим терморегулирования (Calculated temperature control mode), являющийся стандартным режимом. При вводе нулевого значения (0) устанавливается блочный режим (Block mode). Расчетный режим является рекомендованным, т.к. он наиболее точно показывает действительную температуру пробы.

3. Выберите температуру крышки

Чтобы изменить температуру крышки, установленную по умолчанию для данного протокола, выберите окно ввода температуры крышки (Lid) с помощью клавиш со стрелками.

Примечание: Нагрев крышки предотвращает образование конденсата в реакционных сосудах.

В этом примере по умолчанию задана температура крышки 105°C:



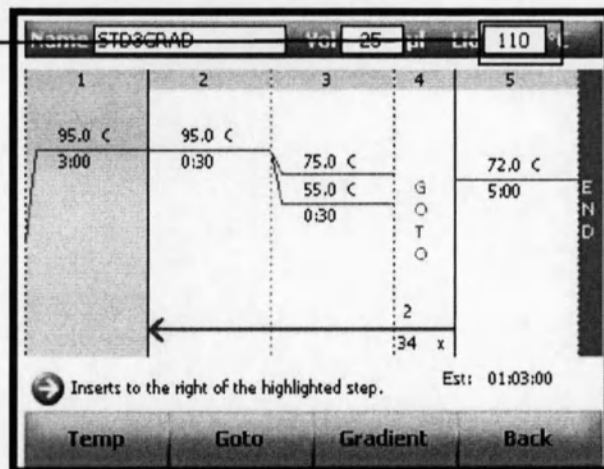
Температура крышки

4. Введите температуру крышки

Выбрав поле Lid, используйте буквенно-цифровые клавиши для ввода температуры крышки.

В этом примере новая температура крышки равна 110°C:

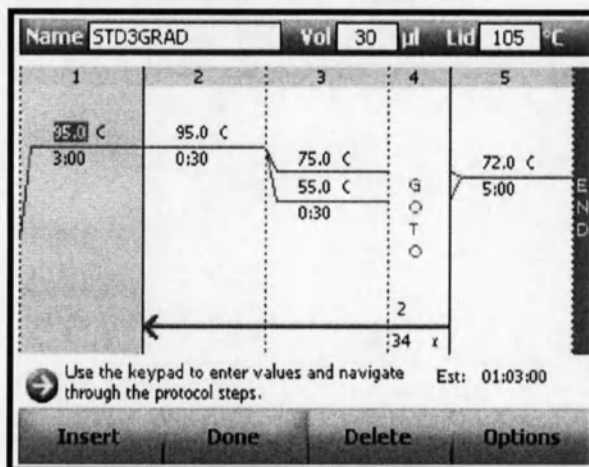
Новая температура крышки



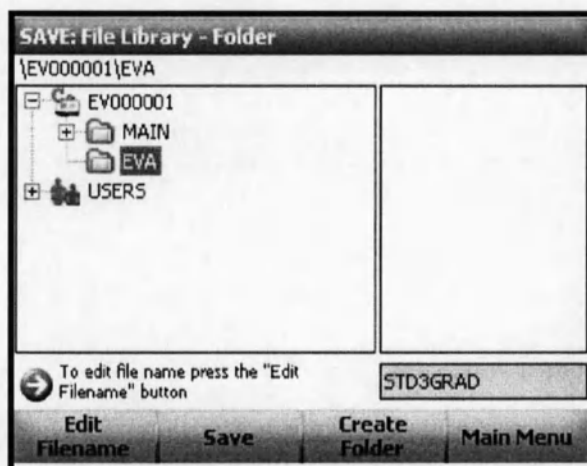
Сохранение протокола

Чтобы сохранить новый протокол, необходимо ввести имя (стр. 62). Как только протоколу будет присвоено имя, сохраните его в соответствии с данными инструкциями:

1. Выберите **Save** (сохранить) чтобы завершить редактирование протокола и сохранить его. При завершении протокола нажмите **Done** (готово):

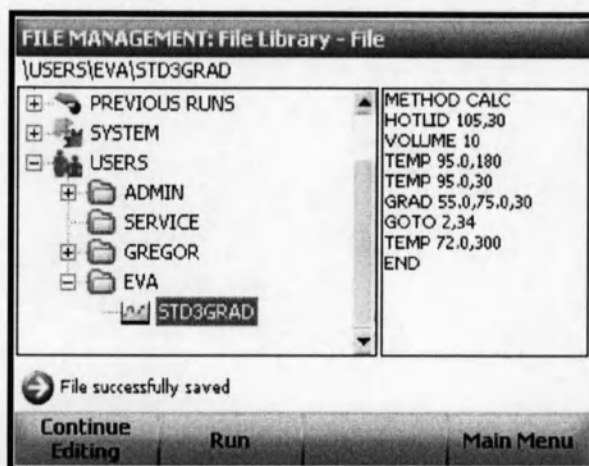


2. Выберите каталог и нажмите **Save** (сохранить). Используйте клавиши со стрелками для выбора каталога. В этом примере выбран каталог **EVA**:



Совет: Чтобы изменить имя протокола, щелкните **Edit Filename** (изменить имя) и введите новое имя. Если у вас еще нет каталога, щелкните **Create Folder** (создать каталог), чтобы создать новый каталог.

В этом примере файл STD3GRAD сохранен в каталоге EVA:



3. Выбрать новую функцию (не обязательно)

Как только протокол сохранен в каталоге, появляются три опции:

- Продолжить вносить изменения в протокол, щелкните **Continue Editing** (продолжить редактирование)
- Выполнить протокол, щелкните **Run** (выполнить) (стр. 33)
- Вернуться в главное меню, щелкните **Main Menu** (главное меню) (стр. 16)

Сохранить отредактированный протокол

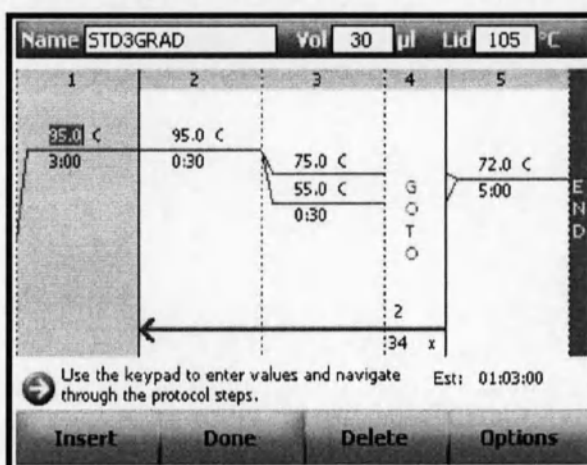
При редактировании существующего протокола есть два способа его сохранения:

- Замените исходный протокол, сохранив новый протокол под тем же именем
- Сохраните протокол под новым именем, при этом исходный протокол остается нетронутым

Чтобы сохранить существующий протокол, выполните следующие действия:

1. Нажмите **Save** (сохранить)

Нажмите кнопку **Save** (сохранить), чтобы начать процесс сохранения:



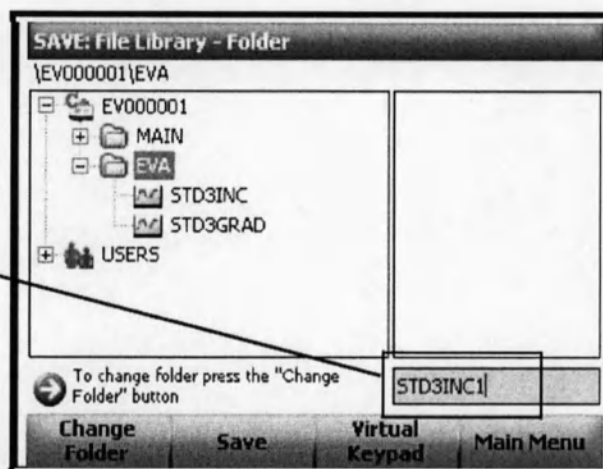
2. Введите новое имя (не обязательно)

Чтобы сохранить протокол под новым именем, выберите Edit Filename (изменить имя файла) и введите новое имя.

Примечание: при сохранении протокола под новым именем добавляется новый протокол, а исходный протокол или его имя не удаляются.

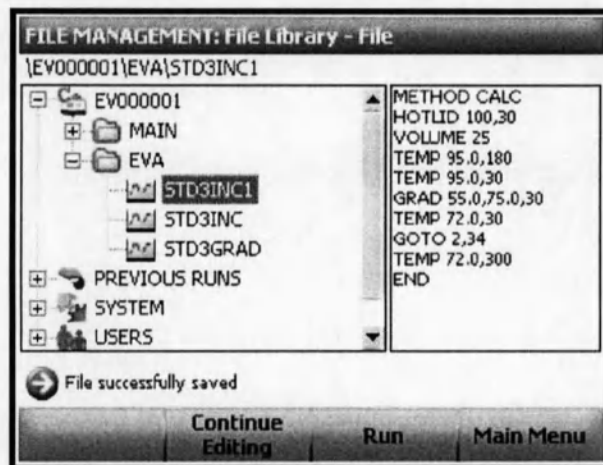
В этом примере новое имя STD3INC1:

Новое имя файла



3. Выберите каталог

Обратите внимание, что термоциклер 1000 откроет каталог, содержащий исходный протокол. В этом примере отредактированному файлу присвоено имя:



Совет: чтобы сохранить исходный файл, присвойте другое имя отредактированному файлу.

4. Выберите Save (сохранить) чтобы сохранить отредактированный протокол. Нажмите кнопку Save (сохранить) чтобы завершить сохранение отредактированного протокола и заменить исходный файл.

Выбор объема пробы и температуры крышки

Как объем пробы так и температура крышки влияют на результаты ПЦР-анализа:

- Объем пробы определяет режим терморегулирования, который влияет на время выдержки ваших проб при заданной температуре (ниже)
- Установочные параметры температуры крышки определяют температуру нагрева крышки и момент его отключения. Если температура слишком высока, то температура пробы может превысить заданную температуру (ниже)

В приборе 1000 предусмотрено три способа для ввода и регулирования этих основных параметров:

- Изменить стандартные настройки в протоколе
- Изменить стандартные настройки системы в Utilities (утилиты) (стр. 101)
- Изменить настройку при запуске протокола (стр. 33)

Режим терморегулирования

Термоциклер 1000 использует один из двух режимов терморегулирования для определения момента достижения пробой заданной температуры:

- Расчетный режим: если введенное значение объема пробы находится в пределах от 1 до 50 мкл (или 30 мкл для реакционных модулей с 384 лунками), то термоциклер рассчитает температуру пробы на основании объема пробы. Этот режим является рекомендованным режимом терморегулирования, т.к. он наиболее точно представляет действительную температуру пробы.
- Блочный режим: если вы вводите нулевое значение объема пробы (0 мкл), то термоциклер допускает, что температура пробы равна температуре, замеренной в блоке.

Выбор температуры крышки

Регулируемая нагреваемая крышка позволяет пользователю изменять температуру и усилие зажима крышки. Нагрев крышки предохраняет пробирки и планшеты от образования внутреннего конденсата.

В процессе выполнения анализа нагреваемая крышка прибора C1000 поддерживает температуру, указанную для выполняемого в этот момент протокола. Без нагреваемой крышки может произойти потеря воды из реактивов и образование конденсата, увеличивая тем самым концентрацию реактивов в пробирках и планшетах.

По умолчанию задана температура крышки термоциклера 105°C.

Примечание: если блок работает в режиме бесконечной выдержки при температуре ниже параметра Cutoff (порог выключения), то нагревателем крышки будет поддерживаться температура 31,0°C.

Стандартная настройка Cutoff (порог выключения) равна 30,0°C. Для изменения стандартной настройки Cutoff, выберите Utilities> Administrator Settings> Incubate Settings (утилиты – настройки администратора – настройки инкубации), зарегистрировавшись, как администратор.

7. Оптимизация ПЦР-анализа с помощью 1000™

Оптимизация ПЦР-анализа очень важна для успешного проведения реакций и их повторяемости. Оптимизация включает выбор лучших реактивов, а также выбор оптимальных температур и времени выдержки для каждого этапа протокола.

Совет: Используйте автоматический генератор протоколов для создания рекомендованного протокола ПЦР для запуска («Создание протокола с помощью автоматического генератора протокола» на стр. 24).

В этой главе рассказывается, как использовать свойства термоциклера C1000 для дальнейшей оптимизации протоколов ПЦР:

- Оптимизация для ускорения протокола ПЦР (ниже)
- Оптимизация температуры гибридизации путем введения температурного градиента (стр. 73)
- Оптимизация режимов работы с малыми объемами проб (стр. 74)
- Перенос выполненных протоколов на другой термоциклер (стр. 75)
- Выявление и устранение проблем ПЦР-анализа (стр. 75)
- Выбор совместимого инвентаря для ПЦР-анализа, в том числе микропланшеты, уплотнители, пробирки и колпачки (стр. 76)

Более полную информацию и пособия по оптимизации ПЦР-анализов можно получить на сайте Genomics (www.bio-rad.com/genomics). Этот сайт включает *Amplification Central* (амплификационный центр), где вы можете найти ссылки на множество ресурсов для проведения ПЦР-анализов, включая *Tutorials* (руководства), подсказки *Assay Design* (по составлению проб), *PCR Doctor* (диагностика ПЦР-анализа) для выявления и устранения неисправностей и технической поддержки. Чтобы открыть, зарегистрируйтесь на сайте Genomics (www.bio-rad.com/genomics), и выберите *Support > Amplification Central* (поддержка – амплификационный центр).

Оптимизация для ускорения протокола

Оптимизируя протокол для ускорения ПЦР-анализа, можно сократить общее время выполнения на одну треть. По сравнению с этим, выполнение того же протокола на термоциклере, у которого увеличена только скорость линейного нарастания, сократит общее время выполнения на минуты. Кроме того, оптимизация протокола ради улучшения показателей скорости может также улучшить результаты ПЦР-анализа.

Совет: автоматическое создание протокола, оптимизированного для улучшения показателей скорости, с помощью автоматического генератора протокола (стр. 23).

Полная оптимизация протокола включает подбор соответствующих реактивов, ферментов и праймеров, а также тестирование параметров протокола ПЦР. Более подробную информацию по оптимизации протоколов по ускорению ПЦР-анализа можно найти на сайтах, перечисленных здесь.

В этих статьях содержатся советы по оптимизации реактивов в дополнение к советам по оптимизации протокола ПЦР, представленных в данном разделе:

- Gene Expression Gateway (www.bio-rad.com/genomics): Зайдите на сайт и выберите *Application | Techniques > Quantification > Fast PCR*. (применение|технологии – определение количества – быстрый ПЦР-анализ)
- *BioRadiations Magazine* (журнал радиобиологии), подшивка 118 в PDF: зайдите на сайт discover.bio-rad.com и найдите *Literature (литература)* (стр. 3) касательно «быстрого ПЦР-анализа» ("Fast PCR").

Для оптимизации протокола ПЦР ради его ускорения с использованием свойств термоциклера, выполняйте следующие рекомендации:

- Укорачивание этапа денатурации в течение циклирования

Для начального этапа денатурации требуется более длительное время выдержки, чем для этапов денатурации в течение каждого цикла. Это отличие вызвано активацией полимеразы и большей длиной исходного образца (матрицы) ДНК. Как только объект ПЦР амплифицирован (многократно копирован), то ампликоны, затем, будут служить в качестве коротких образцов (матриц), которые проще денатурировать в ходе циклирования.

Для укорачивания этапа денатурации введите время выдержки 1 секунда для продуктов ПЦР, которые состоят из менее 500 пар оснований (bp). Затем протестируйте укороченное время выдержки, чтобы убедиться, что 1 секундная денатурация достаточна для продуцирования ампликонов. В качестве альтернативы, можно добавить приращение (стр.51) на этапе денатурации для определения наилучшего времени выдержки.

- Создание двухэтапного протокола путем объединения гибридизации и удлинения в один этап

Большинство полимераз остаются активными на протяжении всего диапазона температур гибридизации (от 55 до 70°C). Сократите общее время выполнения путем создания двух этапного протокола, в котором этапы гибридизации и удлинения объединены в один этап. Двухэтапный протокол может выдавать результаты, схожие с результатами трехэтапного протокола для заданной последовательности до 200 пар оснований.

Чтобы создать двухэтапный протокол, оставьте этап гибридизации с температурным воздействием и пропустите этап удлинения. Затем настройте время выдержки этапа гибридизации на основании длины вашего ампликона. Начните со времени выдержки, которое равняется 10 секунд на 100 пар оснований объекта.

В качестве альтернативы, оптимизируйте температуру гибридизации, используя температурный градиент через блок, и выберите итоговую температуру гибридизации из лучших результатов исследования градиента. В качестве примера см. «Оптимизация температуры на этапе гибридизации с помощью градиента» (на стр. 73). Оптимизация этапа гибридизации важна, т.к. она определяет специфичность реакции. Если температура гибридизации слишком высока, то праймеры не будут свободно гибридизировать, а, если температура гибридизации слишком низкая, то результатом реакции будет низкая продуктивность ПЦР, ошибочное спаривание праймеров и неспецифическая амплификация.

- Оптимизировать этапы температурного воздействия для минимизации линейного нарастания

Чем больше температурный перепад между двумя последовательными этапами протокола, тем больше времени требуется для достижения следующего заданного значения температуры. Сократите время выполнения путем минимизации перепада заданных температур между последовательными этапами.

Для минимизации температурных перепадов используйте температурный градиент, предварительно добавив его в протокол (стр.50). Начните с оптимизации разности температуры гибридизации и температуры удлинения. Используйте результаты эксперимента по введению градиента для определения максимально возможной температуры гибридизации без ущерба продуктивности ПЦР-анализа. В качестве примера см. «Оптимизация температуры на этапе гибридизации с помощью градиента» (на стр. 73). В заключение, выберите температуру гибридизации с самым маленьким температурным перепадом между ней и температурой удлинения.

- Минимизировать этап итогового удлинения

Этап итогового удлинения завершает синтез ампликонов. Оптимизируйте этап когда вам необходим высокий процент завершенных ампликонов к концу ПЦР-анализа. В течение каждого цикла этап удлинения обычно длится 30 секунд. Если 30 секундной амплификации достаточно в течение процесса циклирования, то более длительный этап итогового удлинения является излишним.

Для минимизации этапа итогового удлинения, выберите время выдержки в диапазоне от 30 секунд до 2 минут для объектов, состоящих из числа пар оснований в диапазоне от 100 до 1000 пар оснований. Затем протестируйте время выдержки, выбранное вами для соответствующей амплификации. В качестве альтернативы, добавьте приращение на этапе удлинения для проверки на лучшее время выдержки.

- Минимизировать число повторений на этапе GOTO (переход)

Минимизируйте повторы на этапе GOTO, чтобы свести к минимуму число циклов в протоколе. Перед тем как вы откорректируете число циклов, вы должны знать приблизительную концентрацию матрицы (образца) ПЦР.

Чтобы приблизительно оценить концентрацию неизвестной матрицы, начните первое выполнение вашего протокола с 30-45 циклов, затем выявите продукт ПЦР в геле с остатками бромистого этидия, и вычислите начальную концентрацию. Если концентрация достаточная, то сократите число циклов на 5 и запустите выполнение протокола еще раз. Как только станет известна концентрация заданной последовательности, минимизируйте число циклов в протоколе до тех пор, пока концентрация продукта ПЦР не станет слишком низкой. Выберите оптимальное число циклов GOTO по результатам этих реакций.

Оптимизация температуры на этапе гибридизации с помощью градиента

Оптимизация этапа гибридизации необходима для получения результативной реакции и чистого продукта. Используйте градиент для оптимизации температуры на этапе гибридизации. Дополнительно, вы можете использовать этап градиента для оптимизации температуры на других этапах.

Выполните следующие действия, представленные в качестве рекомендованного подхода по оптимизации температуры гибридизации:

1. Вычислите прогнозируемую температуру гибридизации, базирываясь на температуре плавления (T_m) праймеров и матрицы.
Используйте имеющийся в приборе C1000 калькулятор T_a для определения T_m для любых комбинаций праймеров и матрицы.
2. Создайте протокол ПЦР с этапом градиента на этапе гибридизации.
Выберите диапазон градиента, настолько широкий насколько это возможно, чтобы протестировать его на оптимальную температуру гибридизации, и интерполируйте расчетное значение T_a в диапазоне от 5 до 12°C ($\pm$). Например, если расчетная T_a равняется 55°C, то используйте градиент 24°C для интерполяции T_a . В этом примере, диапазон температуры градиента от 43 до 67°C.
Примечание: максимально возможная ширина диапазона градиента для прибора C1000 равняется 24°C.
3. Выберите высокую температуру гибридизации по результат выполнения ПЦР-анализа с градиентом.
Выбирая высокую температуру гибридизации, вы уменьшаете возможность неспецифического связывания праймеров. Выберите высокую температуру гибридизации по результатам ПЦР-анализа, проведенного с использованием градиента. См. 2 этап, выше, касательно подробностей создания градиента.

В этом примере градиент распространяется от 53 до 78°C. Установлено, что лучшая гибридизация проходит при температуре 68,5°C:



Для начала используйте наиболее высокую температуру гибридизации и вычтите из нее 1 или 2°C. Не используйте самую высокую температуру. При высоких температурах снижается продуктивность, что приводит к образованию слабых связей. Кроме того, при высоких температурах праймеры могут вести себя непоследовательно от ПЦР-анализа к ПЦР-анализу.

4. Уменьшить температурный градиент на этапе гибридизации (не обязательно).

Запустите суженный градиент температуры гибридизации, используя результаты первого широкого температурного градиента. Интерполируйте температуру гибридизации, которую вы выбрали на 3 этапе, со значением $\pm 5^\circ\text{C}$. Выберите итоговую температуру гибридизации из наиболее высоких благоприятных температур по результатам данного градиента.

Например, если самая высокая благоприятная температура гибридизации на 3 этапе равняется 60°C, интерполируйте эту температуру по более узкому градиенту ($\pm 5^\circ\text{C}$). В этом примере, узкий градиент от 55 до 65°C. Выберите итоговую температуру гибридизации из высокой благоприятной температуры в эксперименте по применению градиента (как указано на стр. 73 для 3 этапа).

Оптимизация режимов работы с малыми объемами проб

Выполнение протокола с малым объемом требует оптимизации для предотвращения выпаривания и образования конденсата. Следуйте данным советам по оптимизации ПЦР-анализа с объемом пробы меньше 10 мкл. Прочтите следующий перечень этапов по оптимизации реакций с малыми объемами проб:

- Регулируйте выпаривание с помощью уплотняющего материала
Уплотнитель такой марки, как Chill-Out®, является лучшим герметиком для уменьшения выпаривания. Дальнейшее уменьшение возможно при дополнительном использовании второго уплотнения, например колпачка или пленки, к восковому герметику.
- Оптимизируйте повторно температуру гибридизации для предотвращения неспецифического примирования и увеличения амплификации объекта
При выполнении установленного протокола с меньшими объемами проб (<10 мкл), вам может потребоваться повторная оптимизация температуры гибридизации. Если вами выявлено неправильное примирование или недостаточная амплификация, которые не являются результатом проблем с реактивами, то откорректируйте протокол путем оптимизации температуры на этапе гибридизации, используя градиент (стр. 73).
- Снизьте температуру крышки для уменьшения потерь проб в результате выпаривания
Нагреваемая крышка предохраняет пробирки и микропланшеты от конденсации, которая критична при малых объемах пробы. Однако использование той же температуры крышки при малых объемах проб может увеличить выпаривание при таком же нагреве крышки. Для предотвращения выпаривания снизьте температуру крышки и испытайте реакцию на конденсацию.

- Проведете реакцию в реакционном модуле с 384 лунками
Блок с 384 лунками оптимизирован для малых объемов проб, и, поэтому, является лучшим для использования в данных условиях.

Перенос протоколов с другого термоциклера

Для переноса протокола ПЦР с другого термоциклера на термоциклер 1000 и достижения тех же результатов, вам может потребоваться снижение линейного нарастания. Если идентичные реакции, проведенные на термоциклере с пониженной скоростью линейного нарастания, не приводят к аналогичным результатам, то следует изменить скорость линейного нарастания.

Следуйте данным рекомендациям при переносе протокола:

- Согласуйте скорость линейного нарастания другого термоциклера путем изменения скорости на каждом соответствующем этапе (стр. 53). В общем, скорость линейного нарастания для этапа гибридизации может быть понижена, если вы перемещаете протокол с термоциклера с низкой скоростью линейного нарастания на термоциклер 1000
- Увеличьте количество Mg^{++} (магния) в реактивах для облегчения гибридизации праймеров при изменении условий. Такое увеличение может привести к появлению некоторых вторичных продуктов ПЦР, но также должно увеличить первичный продукт
- Отрегулируйте температуру на каждом этапе для повторной оптимизации протокола и, более того, оптимизируйте повторно температуру гибридизации (стр. 73)

Выявление и устранение проблем ПЦР-анализа

Данный раздел представляет собой краткое руководство по возможностям устранения неисправностей при ПЦР-анализе. Для получения дополнительных подробностей и исчерпывающей информации по выявлению и устранению неисправностей откройте *PCR Doctor (доктор ПЦР)*. Чтобы найти PCR Doctor, зайдите на сайт Gene Expression Gateway (www.bio-rad.com/genomics) и выберите *Support > Amplification Central > PCR Doctor* (поддержка – амплификационный центр – доктор ПЦР).

Следуйте данным рекомендациям для повторной оптимизации неудавшейся реакции посредством настройки протокола:

- Неспецифические продукты ПЦР, в дополнение к итоговому продукту
Неспецифические продукты получаются в результате неправильного примирования. Если неправильное примирование не является результатом проблем с реактивами, то отрегулируйте температуру гибридизации.
Увеличьте температуру гибридизации для увеличения специфичности связывания праймеров. Для определения оптимальной температуры гибридизации используйте градиент.
- Неспецифические продукты ПЦР без итогового продукта
Неспецифические продукты без итоговых продуктов получаются в результате абсолютно неправильного примирования. Если неправильное примирование не является результатом проблем с реактивами, то отрегулируйте время выдержки.
Увеличьте время выдержки на этапах гибридизации и удлинения, чтобы увеличить специфичность связывания праймеров и обеспечить больше времени для полного удлинения.
- Низкая выработка итогового продукта ПЦР
Низкая продуктивность ПЦР бывает в результате неправильного примирования, слишком короткого времени выдержки при удлинении или слишком высокой температуры гибридизации. Если низкая продуктивность не является результатом проблем с реактивами, отрегулируйте протокол.
Запустите протокол контакта (touchdown) (стр. 110), чтобы увеличить амплификацию итогового продукта. В качестве альтернативы, снизьте температуру гибридизации или запустите градиент для оптимизации температуры гибридизации (стр. 73).

Лабораторный инвентарь: микропланшеты, пробирки, уплотнители и колпачки

Для термоциклеров серии 1000 применяется широкий ассортимент стандартного лабораторного инвентаря, например микропланшетов, пробирок, уплотнителей и колпачков. Инвентарь, перечисленный в данном разделе, является подгруппой лабораторного инвентаря, проверенного тестированием. Его назначение удовлетворяет техническим требованиям для термоциклеров серии 1000. Однако данные термоциклеры предназначены для надлежащей работы с широким ассортиментом стандартного инвентаря.

Совет: Состав и толщина данного инвентаря влияют на результат реакции. Всякий раз, когда вы значительно меняете состав инвентаря или его поставщика, будет лучше повторно оптимизировать протокол перед началом выполнения важного эксперимента.

Имеются в наличии микропланшеты, пробирки, уплотнители и колпачки, различные по составу и цвету. Компания Bio-Rad испытала стандартный лабораторный инвентарь, перечисленный в Таблице 10 на совместимость с термоциклерами серии 1000. Полный перечень имеющихся в наличии реактивов и инвентаря можно найти в каталоге изделий Life Science Research Product (научное исследование жизни), который можно получить в печатном экземпляре, обратившись в ваше местное отделение компании Bio-Rad Laboratories (стр. 3), или на сайт discover.bio-rad.com в режиме он-лайн.

Примечание: Уплотняющий материал, например жидкий воск марки Chill-out™ Liquid Wax специально рекомендован для уплотнения малых объемов проб менее 10 мкл. Воск отвердевает при комнатной температуре. Проколите твердый воск с помощью кончика микропипетки, чтобы изъять пробу. Дополнительную информацию по оптимизации протоколов для малых объемов проб ищите в разделе «Оптимизация режимов работы с малыми объемами проб» (стр. 74).

В Таблице 10 перечислены испытанные варианты уплотнений для микропланшетов и пробирок, предложенные компанией Bio-Rad. Однако, если у вас есть поставщик лабораторного инвентаря, имеющий соответствующие свидетельства, то термоциклер C1000 совместим с широким ассортиментом лабораторного инвентаря для ПЦР-анализа. Полный перечень комплектующих для ПЦР-анализа можно найти по следующим адресам:

- Каталог изделий Life Science Research: свяжитесь с компанией Bio-Rad для получения информации о том, как заказать его копию
- Страницы Life Science Research (discover.bio-rad.com): зайдите на сайт и выберите *Catalog Index > Amplification* (индекс каталога - амплификация).
- Зайдите на сайт Gene Expression Gateway (www.bio-rad.com/genomics): Зайдите на сайт и выберите *Products > Amplification* (изделия - амплификация).

Совместимые варианты уплотнения для микропланшетов и пробирок для ПЦР-анализа

Пробирки и микропланшеты		Колпачки и уплотнители	
Описание (префикс в каталоге*)	Объем и количество	Описание (Префикс в каталоге*)	
Пробирки			Колпачки (TCS*)
Индивидуальные пробирки с колпачками (TFI* и TWI*)	0,2 мл		(входят)
Плоские пробирки (TBS*)	0,2 мл, 8- и 12-пробирок		полоска
Плоские пробирки, низкий профиль (TLS*)	0,2 мл, 8-пробирок		полоска
Микропланшеты		Пленка (MS*)	Колпачки (TCS*)
Без расширения и в полную высоту (MLP*)	24-, 48-, и 96-лунок	A, B, F	полоска
Без расширения и с низким профилем (MLL*)	48- и 96-лунок	A, B, F, P	полоска

Пробирки и микропланшеты	Колпачки и уплотнители	
С расширением, в полную высоту (MSP*) 96- и 384-	A, B, F	полоска
С расширением, в полную высоту в твердом корпусе, 96- и 384-лунок (HSP*)	A, B, F	полоска

* Префикс для номера по каталогу для каждой серии комплектующих.

8 . Папки и файлы протокола

Необходимо прочитать данную главу, чтобы ознакомиться с компонентами протокола 1000 и методами управления файлами протокола:

- Опции и этапы протокола (ниже)
Управление папками и файлами протокола, включая копирование, переименование, удаление и перемещение файлов и папок (стр. 82)

Содержание файла протокола

Протокол ПЦР основан на этапах температурных воздействий, при которых пробу выдерживают при расчетной температуре в течение особого периода времени (называемого время выдержки). Кроме того, протокол ПЦР включает цикл, при котором этапы температурного воздействия повторяются много раз. Этапы градиентной температуры – специальные этапы, которые включают температурный градиент модуля.

В целом, протокол ПЦР включает следующие типы этапов:

1. Первоначальный этап температурного воздействия

Данный первоначальный этап температурного воздействия изменяет естественные свойства матрицы, а также активирует полимеразу.

Для того чтобы добавить исходный этап в файл протокола 1000, добавьте этап температурного воздействия в этап (стр. 48).

2. Цикл этапов для расширения изделия ПЦР

Данный ряд этапов температурного воздействия циклично повторяется и расширяет изделие ПЦР. Обычно цикл включает три этапа температурных воздействий, называемых этапами денатурации, гибридизации и удлинения. Данные этапы изменяют естественные свойства матрицы ДНК, обеспечивают гибридизацию праймера для матрицы и позволяют полимеразе растянуть комплементарную нить ДНК. Хотя при определенных условиях этапы гибридизации и удлинения сочетаются в более коротком двухэтапном цикле.

Для того чтобы добавить этапы денатурации, гибридизации или удлинения в файл протокола 1000, необходимо добавить этап температурного воздействия (стр. 59) или этап градиента (стр. 50). Чтобы периодически повторять данные этапы температурных воздействий, необходимо добавить этап GOTO непосредственно после последнего этапа, который вы хотели бы, чтобы повторился (стр. 57).

3. Заключительный этап температурного воздействия для расширения изделия ПЦР

Данный заключительный этап температурного воздействия предназначен для завершения усиления любого изделия ПЦР, которое было растянуто не полностью во время циклической работы.

Для того чтобы добавить заключительный этап удлинения в файл протокола 1000, необходимо добавить этап температурного воздействия.

Этап протокола 1000 отличается от типового этапа протокола ПЦР. Если вы пересылаете типовой протокол ПЦР на 1000, вы транслируете этапы на три типа этапов протокола:

- Температурное воздействие, которое идентично типовому этапу протокола ПЦР
- Градиент, который является этапом температурного воздействия, которое включает температурный градиент
- GOTO, который используется для добавления контуров и создания цикла в ПЦР

Параметры и этапы протокола Термоциклера 1000.

Наименование этапа	Параметры и диапазон	Описание
Температурное воздействие	Температура °C: Расчетная температура между 0,0 и 100,0 °C в десятых градуса	Послать команду на термоциклер для перехода на расчетную температуру, и выдержать данную температуру в течение определенного количества времени
	Время: Время выдержки между 1 секундой и 18 часами в формате часы: минуты: секунды. Чтобы ввести бесконечную выдержку, нажмите клавишу ∞ (бесконечное, 0)	
Градиент	Нижний: Нижняя температура в градиенте. Ввести число между 30,0 и 99,0°C в десятых градуса. Верхний: Верхняя температура в градиенте. Максимальная температура составляет 100°C. Ввести температуру в пределах 24,0°C нижней температуры. Диапазон: Диапазон градиента	Послать команду на термоциклер для перехода на расчетный температурный градиент по всему модулю, и выдержать данный температурный градиент в течение определенного количества времени
	Время: Время выдержки между 1 секундой и 18 часами в формате часы: минуты: секунды. Чтобы ввести бесконечную выдержку, нажмите клавишу ∞ (ноль, 0)	
GOTO	GOTO: Число первого этапа во время повтора ADDTNL REPEATS: Количество дополнительных раз, при которых этапы температурных воздействий повторяются	Этап протокола, который посылает команду на термоциклер для повтора ряда этапов в течение определенного периода времени ПРИМЕЧАНИЕ: Общее количество циклов в протоколе – число повторов GOTO плюс первый цикл

Опции для этапов температурного воздействия и градиента

Каждый этап температурного воздействия или градиента 1000 может включать дополнительные параметры. На экране Options (Опции) отображаются данные параметры. Далее изображен экран Options (Опции):

Step Options
Step 3

Temperature C

Gradient Range C

Increment C/cycle

Ramp Rate C/sec

Time

Extend sec/cycle

☐ Beep

Cancel Done

Каждый этап температурного воздействия может включать следующие параметры:

- Температура и Время (требуемое): Изменить расчетную температуру и время выдержки на этапе
- Градиент: Создать температурный градиент по всему модулю во время этапа
- Увеличение: Изменить расчетную температуру при каждом цикле
- Скорость перехода: Изменить скорость перехода в течение этапа
- Увеличение: Увеличить время выдержки во время этапа при каждом цикле
- Звуковой сигнал: Добавить звуковой сигнал в конце этапа

В Таблице представлены все дополнительные параметры для этапов температурного воздействия и градиента. Кроме того, в таблицу включены границы и диапазоны параметров:

Опции для этапов температурного воздействия и градиента

Опция	Параметры и диапазон	Описание
Увеличение	Температура от -10,0 до 10,0°C на цикл в десятых градуса	Применяется только для этапов температурного воздействия (стр. 48). Послать команду на термоциклер для увеличения (изменения) расчетной температуры этапа с каждым циклом, при котором положительное число увеличивает температуру, а отрицательное число уменьшает температуру
Скорость перехода	Число от 0,1 до 5°C/сек.	Применяется только для этапа температурного воздействия (стр. 48). Послать на термоциклер команду перехода на расчетную температуру при заданной скорости перехода во время этапа. Используется только для двойных 48 и 96 модулей быстрой обратной связи
Увеличение	Время от -60 до 60 секунд/цикл	Применяется как для этапов температурного воздействия, так и для этапов градиента. Послать на термоциклер команду увеличить время выдержки с каждым циклом, при котором положительное число увеличивает время выдержки, а отрицательное число - уменьшает
Звуковой сигнал	(Нет параметров)	Применяется только для этапов температурного воздействия (стр. 48). Послать на термоциклер команду подачи звукового сигнала по достижению термоциклером расчетной температуры данного этапа

Относительно более подробной информации касательно создания протокола с данными этапами см. стр. 47.

Управление файлами и папками протокола

Для управления файлами и папками протокола, нажать кнопку FILES (ФАЙЛЫ) в Main Menu (Главном меню), чтобы открыть библиотеку файлов. Меню клавиш в библиотеке файлов предусматривает опции для управления папками и файлами. Опции кнопки меню будут меняться в зависимости от выбора библиотеки файлов. Далее в таблице перечислены все функции в опции Files (Файлы):

Перечень функций в опции FILES (ФАЙЛЫ)

Функция	Описание
ПРОТОКОЛЫ:	
Копирование/перемещение протокола	Копирование или перемещение существующего протокола в другое местоположение папки
Удалить протокол	Удаление протокола
Переименование протокола	Переименовать протокол
ПАПКИ:	
Создание папки	Создать новую папку
Копировать ВСЕ	Копирование всех файлов из одного положения в другую папку существующего протокола
Копирование/перемещение папки	Копирование или перемещение существующей папки на другой термоциклер или флеш-память
Удаление папки	Удалить папку и все содержимое
Переименовать папку	Переименовать папку
Переименовать термоциклер	Переименовать термоциклер
Главное меню	Возврат в главное меню

ПРИМЕЧАНИЕ: Название файла может содержать до 8 символов

Создание и копирование папок, переименование термоциклеров

Библиотека файлов на единичном уровне отображает функции доступные для управления папками и переименования термоциклеров. В настоящем разделе представлены последовательные инструкции по использованию данных функций:

- Выбрать Create Folder (Создать папку) для создания новой папки на термоциклере C1000, и подключить S1000 или флеш-память.
- Выбрать Copy All (Копировать все), чтобы скопировать все файлы из одного источника в другой, подключив термоциклер или USB флеш-память.
- Выбрать Rename Cyclor (Переименовать датчик циклов) для переименования термоциклера
- Выбрать Main Menu (Главное меню) для возврата в Главное меню

Создание папки

Для того чтобы начать создание новой папки, необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, чтобы выбрать Create Folder (Создать папку).

При создании новой папки необходимо следовать данным инструкциям:

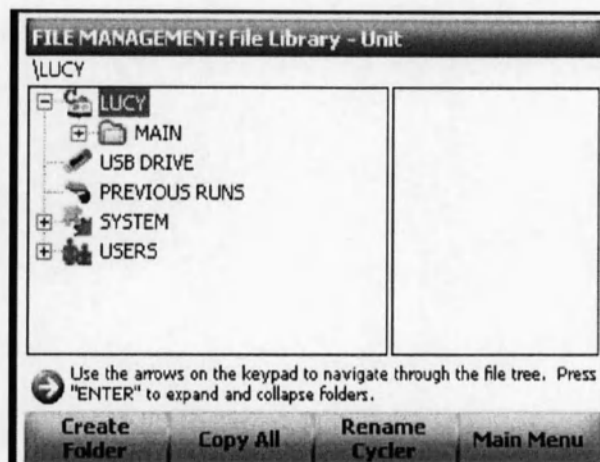
1. Выбрать термоциклер или флеш-память для создания новой папки

2. Выбрать Create Folder (Создать папку)

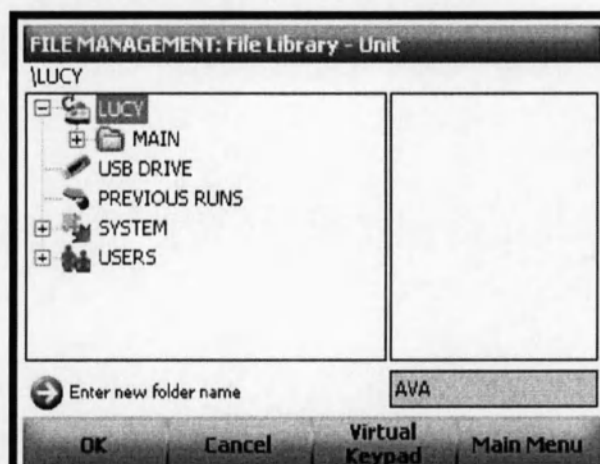
3. Ввести имя папки, нажать ENTER (ВВОД)

В данном примере выбран термоциклер LUCY и создана новая папка AVA:

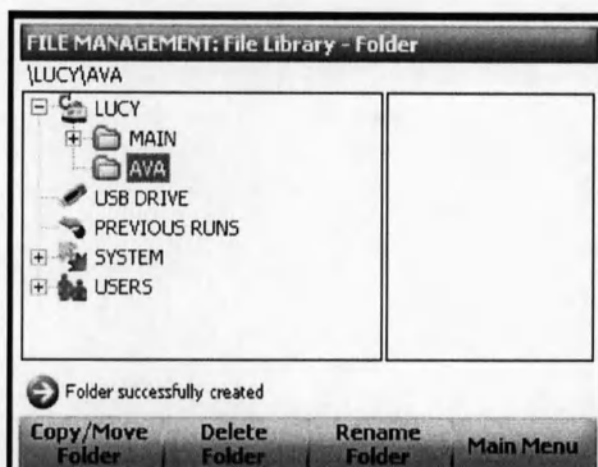
• Датчик циклов LUCY выбран, нажать Create Folder (Создать папку) (F1)



• Ввести имя папки в текстовое окно, нажать OK (ДА)



- Подтверждение, что папка была успешно создана



Копирование всего содержимого

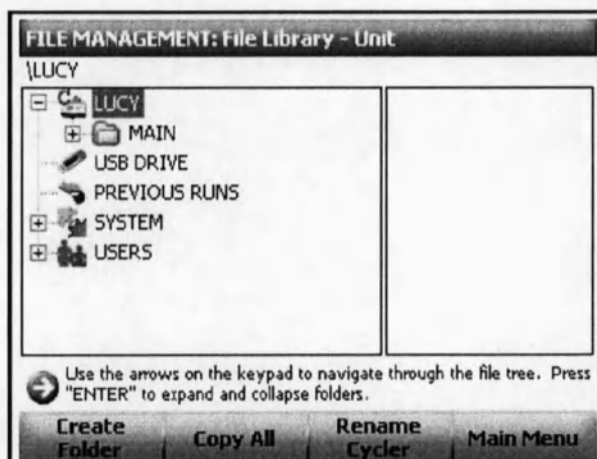
Для того чтобы скопировать все файлы из одного положения в другой, необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем выбрать Copy All (Скопировать все).

Для копирования всего необходимо следовать данным указаниям:

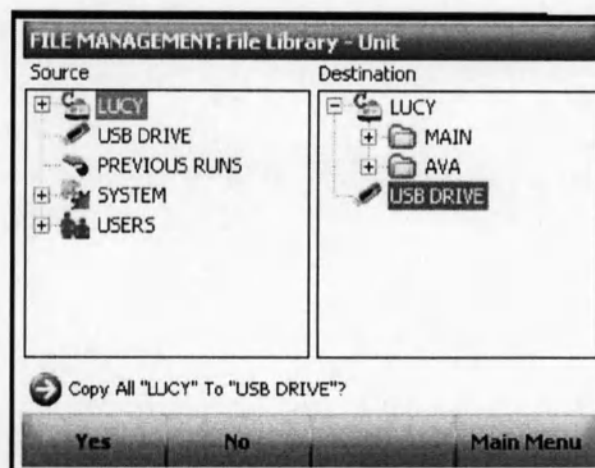
1. Выбрать термоциклер или флеш-память для копирования ВСЕГО
2. Выбрать Copy All (Копировать все), варианты адреса будут появляться в правой стороне окна
3. Посредством использования UP & DOWN ARROWS (СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ), необходимо выбрать положение для копирования, нажать ENTER (ВВОД)
4. Нажать YES (Да) для подтверждения

В данном примере все файлы LUCY будут копироваться на USB драйвер

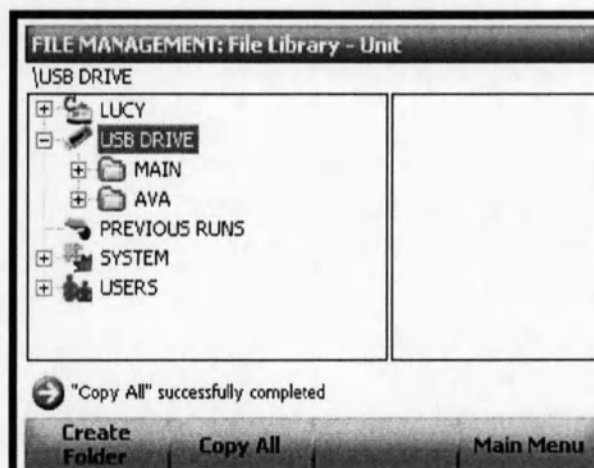
- Датчик циклов LUCY выбран, нажать Copy All (Копировать все) (F2)



- Выбрать место, куда будет копироваться все содержимое Lucy, нажать YES (ДА)



- Подтверждение, что все было скопировано успешно



Переименование термоциклера

Для того чтобы переименовать термоциклер, необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем выбрать Rename Cycler (Переименовать термоциклер).

ПРИМЕЧАНИЕ: Вы должны быть зарегистрированы в качестве Администратора, чтобы выполнять переименование термоциклера.

Для того чтобы переименовать термоциклер, необходимо следовать следующим указаниям:

1. Выбрать Rename Cycle (Переименовать термоциклер)
2. Изменить имя термоциклера в текстовом окне, нажать OK (Да)

ПРИМЕЧАНИЕ: Имя файла может включать до 8 символов максимум

Копирование, перемещение, удаление и переименование папок

В библиотеке файлов, уровень папки, отображаются функции доступные для управления папками. В данном разделе представлены последовательные инструкции по использованию данных функций:

- Выбрать Copy/Move Folder (Копировать/переместить папку), чтобы создать или переместить папку на термоциклер C1000, подключенный термоциклер или флеш-память
- Выбрать Delete Folder (Удалить папку), чтобы удалить папку для копирования всех файлов из одного термоциклера на подключенный термоциклер или USB флеш-память
- Выбрать Rename Folder (Переименовать папку), чтобы переименовать существующую папку
- Выбрать Main Menu (Главное меню) для возврата в Главное меню

Перемещение папки

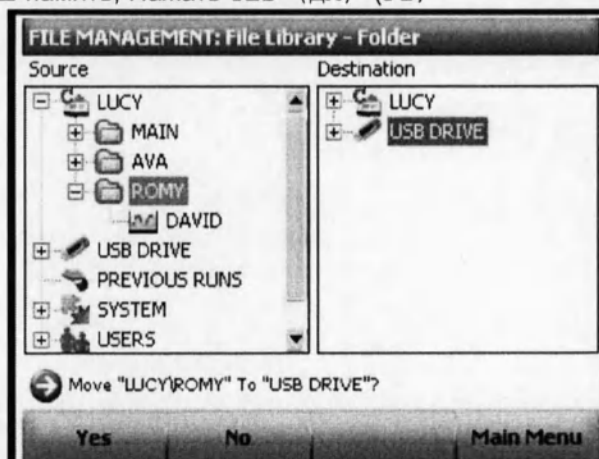
Для того чтобы начать копирование или перемещение папки, необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем использовать СТРЕЛКИ, чтобы выбрать папку, затем нажать Copy/Move Folder (Копировать/переместить папку).

Для того чтобы создать новую папку, необходимо следовать следующим инструкциям:

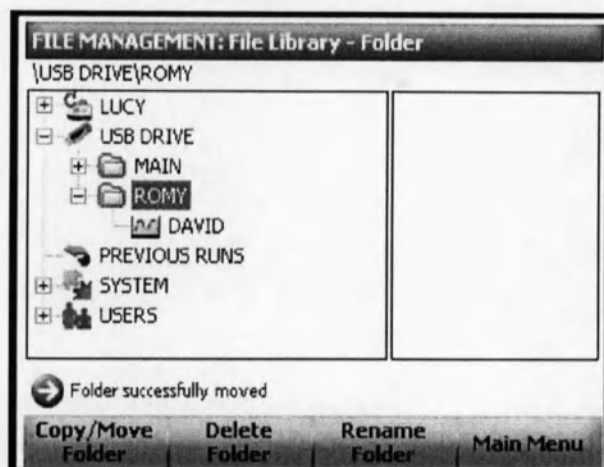
1. Выбрать Move Folder (Перемещение папки)
2. Посредством СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ выбрать новое положение папки
3. Нажать YES (ДА) для подтверждения ПРИМЕЧАНИЕ: Основная папка не может быть перемещена.

В данном примере папка ROMY перемещается из термоциклера LUCY на USB флеш-память

- Выбрать папку ROMY под термоциклером LUCY, нажать Copy/Move Folder (Копировать/переместить папку) (F1)
- В правом окне выбрать USB флеш-память для перемещения папки ROMY в USB флеш-память, Нажать YES (ДА) (F1)



- Подтверждение, что папка была успешно перемещена



Копирование папки

Для начала копирования папки следует выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем посредством СТРЕЛОК выбрать папку, далее нажать Copy/Move Folder (Скопировать/переместить папку).

Для того чтобы скопировать папку, необходимо следовать следующим инструкциям:

1. Выбрать Copy Folder (Копировать папку)
2. Посредством СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ выбрать новое положение папок
3. Нажать YES (ДА) для подтверждения

Удаление папки

Для начала удаления папки необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем посредством СТРЕЛОК выбрать папку, далее нажать Delete Folder (Удалить папку).

Чтобы удалить новую папку, необходимо следовать следующим инструкциям:

1. Посредством СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ необходимо выбрать папку для удаления
2. Выбрать Delete Folder (Удалить папку)
3. Нажать YES (ДА) для подтверждения

ПРИМЕЧАНИЕ: Основная папка не может быть удалена

Переименование папки

Для начала переименования папки необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем посредством СТРЕЛОК выбрать папку, далее нажать Rename Folder (Переименовать папку).

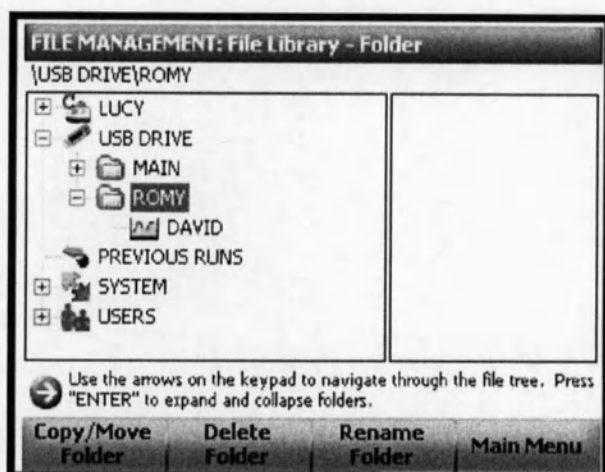
Для того чтобы переименовать папку, необходимо следовать следующим инструкциям:

1. Выбрать Rename Folder (переименовать папку)
2. Ввести новое имя в текстовом окне, нажать OK (ДА)

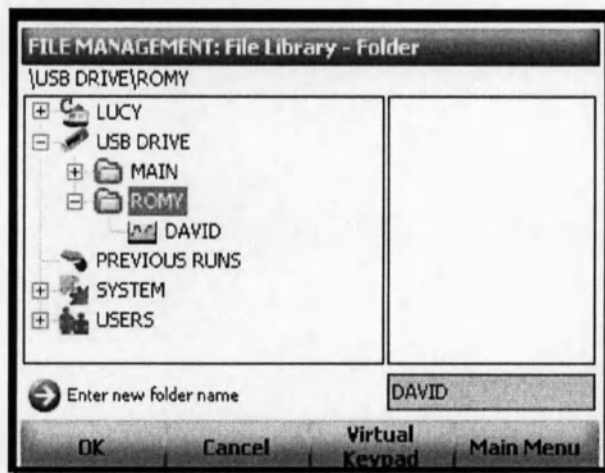
ПРИМЕЧАНИЕ: Основная папка не может быть переименована

В данном примере папка ROMY переименована на DAVID

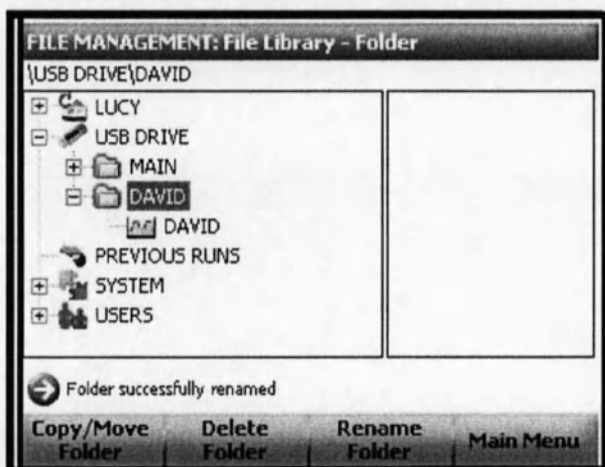
- Выделите папку для переименования



- Ввести новое имя папки



- Подтверждение, что переименование папки было выполнено успешно



Копирование, перемещение, удаление и переименование протоколов

В Библиотеке файла на уровне файла отображаются функции доступные для управления протоколами. В данном разделе представлены последовательные инструкции по использованию данных функций:

- Выбрать Copy/Move Protocol (Копировать/переместить протокол), чтобы скопировать или переместить протокол на термоциклер 1000, подключенный термоциклер или флеш-память.
- Выбрать Delete Protocol (Удалить протокол), чтобы удалить протокол для копирования всех файлов из одного термоциклера на подключенный термоциклер или USB флеш-память.
- Выбрать Rename Protocol (Переименовать протокол), чтобы переименовать существующий протокол
- Выбрать Main Menu (Главное меню) для возврата в Главное меню

Копирование протокола

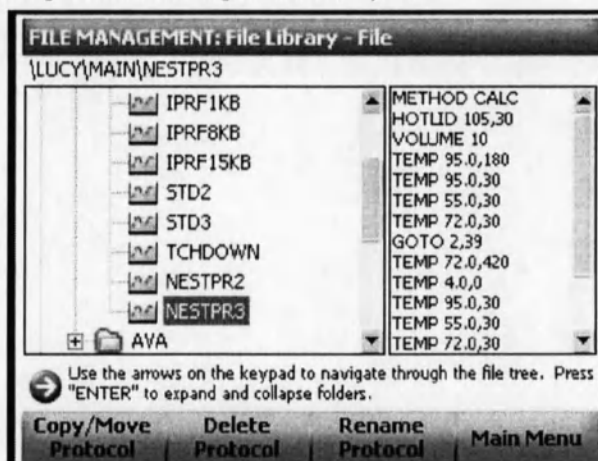
Для того чтобы начать копирование протокола, необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем посредством СТРЕЛОК выбрать протокол, далее нажать Copy/Move Protocol (Копирование/перемещение протокола)

Для того чтобы скопировать протокол, необходимо следовать следующим инструкциям:

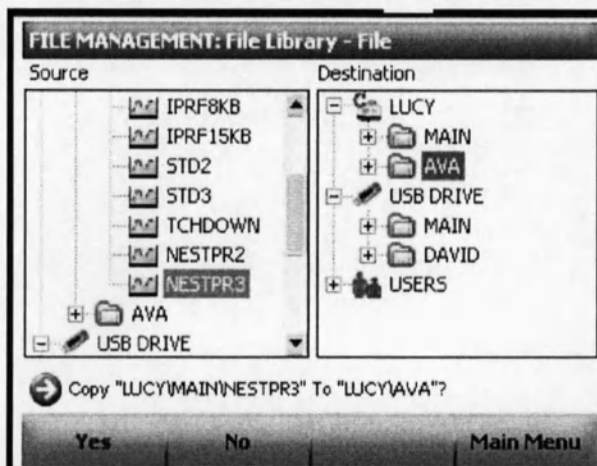
1. Выбрать Copy Protocol (Копировать протокол)
2. Посредством СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ выбрать положение папки
3. Нажать YES (ДА) для подтверждения

В данном примере протокол NESTPR3 копируется в папку AVA

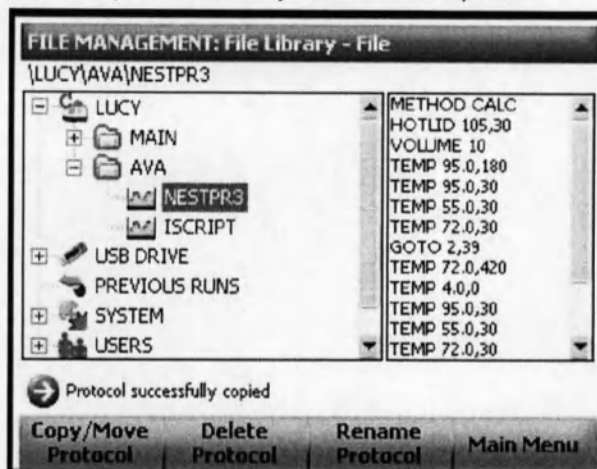
- Выбрать протокол для копирования, нажать Copy/Move Protocol (Копировать/переместить протокол) (F1)



- Выбрать папку, в которую будет копироваться протокол, нажать YES (ДА)



- Подтверждение, что протокол был успешно скопирован



Перемещение протокола

Для начала перемещения протокола необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем посредством СТРЕЛОК выбрать протокол, далее нажать Copy/Move Protocol (Копировать/переместить протокол)

Для перемещения протокола необходимо следовать следующим инструкциям:

1. Выбрать Move Protocol (Переместить протокол)
2. Посредством СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ выбрать новое положение папки
3. Нажать YES (ДА) для подтверждения

Удаление протокола

Для начала удаления протокола необходимо выбрать FILES (ФАЙЛЫ) в Главном меню, затем посредством СТРЕЛОК выбрать протокол, далее нажать Delete Protocol (Удалить протокол)

Для удаления протокола необходимо следовать следующим инструкциям:

1. Посредством СТРЕЛОК ВВЕРХ И ВНИЗ выбрать папку для удаления
2. Выбрать Delete Protocol (Удалить протокол)
3. Нажать Yes (ДА) для подтверждения

9. Техническое обслуживание и устранение неисправностей

В настоящей главе представлены предложения по техническому обслуживанию и устранению неполадок в термоциклере 1000™.

- Очистить и содержать в исправности термоциклер 1000 для оптимальной безопасности и эксплуатационных характеристик (далее)
- Поддерживать достаточный воздушный поток вокруг термоциклера для оптимизации температурного контроля во время эксплуатации ПЦР (стр. 95)
- Устранения неполадок при появлении сообщений об ошибках термоциклера, включая интерпретацию и реакцию на сообщения об ошибках (стр. 96)

Очистка и содержание в исправном состоянии термоциклера 1000

Для термоциклера 1000 требуется техническое обслуживание в небольшом объеме для поддержания надлежащей эксплуатации и точного температурного контроля. Однако при длительном и непрерывном использовании для термоциклеров будет

требоваться небольшая очистка и прочее техническое обслуживание:

- Очистка основания (далее)
- Очистка реакционного модуля (стр. 94)
- Замена плавких предохранителей (стр. 96)

ПРИМЕЧАНИЕ: Для роботизированной установки, при которой постоянно эксплуатируется большое количество инструментов, необходимо применять регулярную программу проверок на пыль, разлитые жидкости и грязь, которые могут препятствовать оптимальной работе инструментов.

Очистка основания термоциклера 1000

1000 должен проходить очистку регулярно по графику, чтобы удалить любой мусор или грязь, которые могут препятствовать надлежащей эксплуатации. Необходимо очистить основание, чтобы предотвратить повреждение воздухозаборника или отсека реакционного модуля. В целом, всегда следует использовать мягкую ткань и воду для быстрого вытирания разлитых растворов и отходов.

ПРИМЕЧАНИЕ: Относительно инструкций по транспортировке и очистке радиоактивных или биологически опасных материалов, проконсультируйтесь с указаниями по радиоактивной и биологической безопасности, представленными вашей организацией. Данные указания включают методы очистки, контроля и устранения опасных материалов.

Для того чтобы очистить основание, необходимо следовать следующим инструкциям, обратив особое внимание на предупреждения:

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Предотвращение поражения электрическим током. Всегда отключайте инструмент перед его очисткой.

- Очистка воздухоприемных отверстий: Удалить пыль мягкой щеткой, влажной тряпкой или пылесосом. Удалить любую крупную пыль, которая находится глубоко в отверстиях пылесосом. Очистка отверстий позволяет поступать достаточному воздушному потоку для точного температурного контроля во время эксплуатации. **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Предотвращение поражения электрическим током. Всегда отключайте инструмент перед его очисткой.
- Очистка воздухоприемных отверстий: Удалить пыль мягкой щеткой, влажной тряпкой или пылесосом. Удалить любую крупную пыль, которая находится глубоко в отверстиях пылесосом. Очистка отверстий позволяет поступать достаточному воздушному потоку для точного температурного контроля во время эксплуатации.
- Очистка панели управления: Удалить мусор с панели управления мягкой тканью и мягким мыльным раствором. Очистка данной панели предотвращает повреждение, которое скрывает дисплей.

ПРИМЕЧАНИЕ: Использование абразивных моющих средств или грубых материалов может стать причиной появления царапины на панели управления.

- Очистка отсека реакционного модуля: Очистку производить влажной мягкой тканью для удаления мусора и разлитых жидкостей. Очистка данного отсека допускает точный нагрев и охлаждение блока обратной связи.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Никогда не используйте растворы для очистки, которые являются едкими для алюминия. Избегайте царапания поверхности отсека. Царапины и повреждение данной поверхности препятствуют точному температурному контролю.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Никогда не проливайте воду или прочие растворы в отсек реакционного модуля. Влажные элементы могут стать причиной поражения электрическим током, если термоциклер включен.

- Очистка крышки внешнего основания: Использовать влажную ткань или бумажную салфетку для удаления разлитых жидкостей с внешнего корпуса. При необходимости использовать мягкий мыльный раствор. Очистка крышки предотвращает появление коррозии.

Очистка модулей обратной связи

Проводить очистку модули обратной связи 1000 регулярно по графику, чтобы предотвратить сбор реагентов и препятствовать способности блока быстро изменять температуру.

Для очистки реакционного модуля необходимо следовать следующим инструкциям, обращая особое внимание на предупреждения:

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Предотвращение поражения электрическим током. Всегда необходимо удалять модуль обратной связи из основания термоциклера перед его очисткой.

- Очистка охлаждающих вентиляторов: Удалить пыль посредством мягкой щетки или влажной тряпки. Удалить любую крупную пыль, которая находится глубоко в отверстиях посредством пылесоса. Использовать воду и мягкую тряпку для удаления мусора, который застрял в вентиляторах. Избегайте повреждения поверхности.

Никогда не используйте моющий раствор, который является едким для алюминия, такой как, отбеливатель или абразивное моющее средство. При необходимости следует использовать мягкий мыльный раствор и выполнять тщательную промывку, чтобы полностью удалить остатки. Очистка вентиляторов улучшает точный нагрев и охлаждение пробы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Очистка блока: использовать мягкую ткань и воду для удаления грязи с наружной поверхности блока. Никогда не используйте абразивные моющие средства, каустические растворы или грубый материал, который может поцарапать блок.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Никогда не чистите блок сильными щелочными растворами (сильный мыльный раствор, аммиак или сильно концентрированный отбеливатель). Никогда не используйте едкие или абразивные моющие растворы. Данные моющие агенты могут повредить блок и предотвратить точный температурный контроль.

- Очистка лунок блока: немедленно удалите пролитую жидкость, чтобы не допустить их высыхания. Использовать одноразовые пластиковые пипетки с водой (рекомендовано), 95% этиловым спиртом или раствором отбеливателя и воды 1:100. Всегда промывать лунки водой несколько раз, чтобы удалить все следы этилового спирта, отбеливателя или мыла.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Отбеливатель, этиловый спирт или мыло, которые остаются в блоках, могут разъедать блок и/или уничтожать трубки и микропланшеты во время эксплуатации. Всегда следует промывать лунку блока после очистки любым раствором отличным от воды.

Не рекомендуется использовать масло в лунках. Однако если используется масло, лунки должны часто и тщательно очищаться. Очистить масло, если оно обесцвечено или содержит грязь. Необходимо использовать 95% этиловый спирт для очистки масла. Нельзя допустить, чтобы масло накапливалось в блоке.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Никогда не нагревайте блок после добавления моющего раствора. Нагревание блока с моющим раствором повредит блок, крышку и основание термоциклера.

- Очистка внутренней крышки: Необходимо использовать мягкую ткань и воду для удаления грязи и растворов с поверхности внутренней крышки. Никогда не используйте абразивных моющих средств или грубого материала, который может поцарапать поверхность. Очистка внутренней крышки улучшает точность нагревания и охлаждения пробы.
- Очистка поверхности наружной крышки: Необходимо использовать влажную ткань или материю для удаления разлитых растворов с наружного корпуса. При необходимости следует использовать мягкий мыльный раствор, а затем протереть поверхность влажной тканью. Очистка крышки предотвратит коррозию.

Обеспечение достаточного воздушного потока

Термоциклер 1000 требует достаточного воздушного потока для точного нагрева и охлаждения. Если поток воздуха блокируется, температурный датчик цикла не может достичь надлежащей температуры в течение заданного времени. В данный раздел включены инструкции по проведению испытаний воздушного потока и предложения по установлению низкого или теплого воздушного потока.

Проведение испытаний относительно достаточного воздушного потока

Воздушный поток является достаточным, если термоциклер быстро нагревается и охлаждается до определенной заданной температуры. Если вы установили термоциклер 1000 в новое местоположение в первый раз, вы можете провести испытание относительно достаточного местного воздушного потока посредством следующих этапов:

1. Установить прибор в то место, в котором вы планируете его использовать, и включить питание. Относительно инструкций по установке термоциклера см. стр. 5.
2. Отрегулировать местную среду для типовых условий
Включить любое расположенное поблизости оборудование, такое как вентиляторы. Кроме того, открыть любые жалюзи для воспроизведения типовых условий во время эксплуатации. Если на участке находится более одного термоциклера, запустить протокол на всех термоциклерах одновременно.
3. Запустить типовой протокол ПЦР на 30 минут
Чтобы запустить протокол, вам не потребуется включать пробу, но обязательно необходимо включить пустой микропланшет или трубки. Крышка не будет нагреваться должным образом, если она соприкасается с горячим блоком модуля реакции обратной связи.
4. Измерение температуры воздуха на отверстиях воздухозаборника всех термоциклеров
Если температура воздухозаборника превышает 31°C, необходимо использовать следующую таблицу для обеспечения достаточного воздушного потока.

Установка недостаточного воздушного потока

Если температура воздуха возле температурного датчика цикла выше 31°C, выполните одно или более из следующих изменений, чтобы увеличить поток воздуха охладителя вокруг термоциклера:

- Отрегулировать кондиционирование воздуха до температуры ниже температуры окружающего воздуха
- Переместить термоциклер в другое положение
Обеспечить больше пространства вокруг термоциклера 1000 и между соседними приборами. Расположить приборы таким образом, чтобы теплый отработанный воздух из одного прибора не поступал в отверстия воздухозаборника другого.
- Защитить термоциклер от источников тепла, таких как радиаторы, прочих приборов, производящих тепло, и яркого солнечного света

Замена плавких предохранителей

Плавкие предохранители термоциклера 1000 предназначены для размыкания электрической цепи в случае резких скачков напряжения или других случаев электрического замыкания. Данный процесс защищает и пользователя, и прибор от чрезмерного электрического заряда. Данные плавкие предохранители необходимо заменять редко. Однако некоторые организации предпочитают производить замену плавких предохранителей регулярно для поддержания бесперебойной эксплуатации.

Если термоциклер не включен, сначала проверьте, чтобы сетевой шнур был подключен к рабочему источнику питания. Кроме того, проверьте, чтобы сетевой шнур и источник питания находились в пределах технических характеристик для данного прибора (стр. 115). Чтобы заменить сетевой шнур, подключить техническую поддержку Bio-Rad (стр. 3).

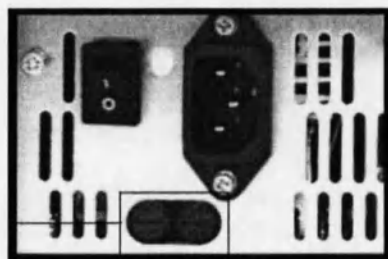
В конце проверить, чтобы плавкие предохранители не были повреждены. С1000 работает с двумя плавкими предохранителями, которые имеют технические характеристики, перечисленные на стр. 115. Чтобы удалить и проверить плавкие предохранители, необходимо выполнить следующее:

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Предотвращение повреждения электрическим током.

Всегда отключайте прибор от электрического выхода перед проверкой плавких предохранителей.

1. Использовать небольшую монетку для откручивания патрона предохранителя

Патрон плавкого предохранителя



2. Вытащить патрон плавкого предохранителя и удалить плавкие предохранители
3. Если плавкий предохранитель поврежден, заменить его исправным плавким предохранителем, и закрыть патрон. В неисправном плавком предохранителе видны обрывы и место перегоя на металле. Исправный плавкий предохранитель имеет неповрежденный металл

Устранение неполадок при появлении сообщений об ошибках термоциклера

В целом, если 1000 отображает сообщения об ошибках или предупреждениях, инструкции относительно устранения проблемы содержатся в сообщении. Например, сообщение о предупреждении, которое отображается в случае, если внешнее питание отключается во время эксплуатации (стр. 97). В данном сообщении об ошибке указывается, какой протокол был запущен, когда протокол остановился в результате отключения питания, и температуру блока, когда термоциклер возобновил работу.

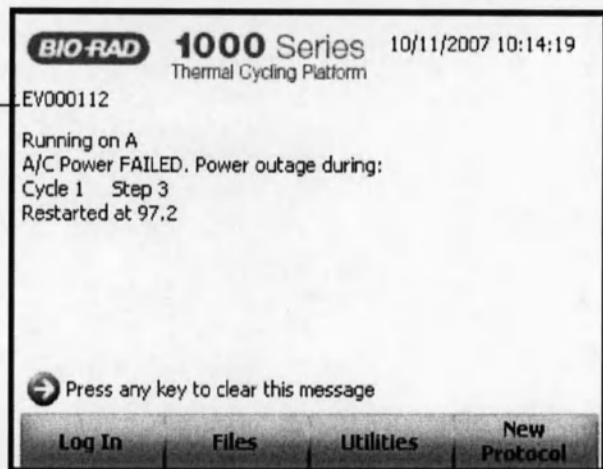
В настоящий раздел включены пояснения относительно следующих сообщений об ошибке и предупреждении

- Повторный запуск после отключения питания (далее)
- Сообщения об ошибке термоциклера 1000 (стр. 97)

Повторный запуск после отключения питания

Если внешнее питание отключается, в то время как термоциклер запускает протокол, 1000 возобновляет работу протокола, как только питание восстанавливается. В этом случае следующее сообщение об ошибке предупредит вас о том, что протокол был прерван:

Имя
протокола

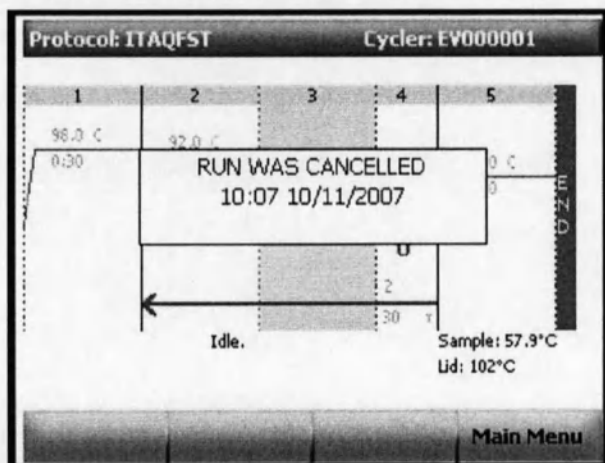


Отключение питания также записывается в Run Logs (Синхронных протоколах).
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Отключение питания может изменить итог работы ПЦР. Время выдержки для этапа, который был запущен в то время, когда питание отключилось, увеличивается, являясь причиной того, что проба отличается от заданной температуры до тех пор, пока питание не будет восстановлено.

Сообщения об ошибках и предупреждения

1000 отслеживает ошибки, которые происходят во время эксплуатации. После эксплуатации отображаются все сообщения. Например, если работа остановлена, отображается следующий экран **PROTOCOL CANCELLED** (ПРОТОКОЛ ОСТАНОВЛЕН):

Экран
отмены
работы
протокола



Нажать клавишу ENTER (ВВОД), чтобы прояснить ошибку или сообщение, и перейти к следующему экрану. Если все сообщения разъяснены, 1000 возвращается в Main menu (Главное меню).

Сообщения об ошибках регистрируются в Run Logs (Синхронных протоколах).

ПРИМЕЧАНИЕ: С1000 также отслеживает ошибки и системные сообщения по всему подключенному термоциклеру S1000.

Решения для сообщений об ошибках и предупреждений.

Сообщение	Причина
Запущен на А Отключено питание пер. тока Перебой в питании во время цикла X этапа Y Повторно запущен на Zz.z Нажмите любую клавишу для пояснения данного сообщения	Отображается, если машина, запускающая протокол, была выключена, либо намеренно, либо в результате нарушения электропитания, а затем снова включена.
Пожалуйста, перезапустите датчик цикла. Блок перегрет. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Модуль обратной связи превысил максимальную температуру 107,5°C, или датчик имеет неисправность и неточно измеряет температуру. Протокол завершен.
Пожалуйста, перезапустите датчик цикла. Teosinte перегрет. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Температура Teosinte превысила 75°C. Протокол завершен.
Пожалуйста, перезапустите датчик цикла. Система перегрета. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Температура усилителя 1 превысила 85°C. Протокол завершен.
Все датчики блока повреждены. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Все датчики блока повреждены (см. ниже относительно критерий повреждений). Протокол завершен.
Источник электропитания перегрет. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Температура источника питания превысила 85°C. Протокол завершен.
Нагретая крышка повреждена. Протокол остановлен. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик крышки поврежден во время предварительного нагревания крышки. Протокол завершен.
Внутренний вентилятор поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	<в настоящее время не используется>
Перегревание теплоотвода. Пожалуйста, проверьте воздушный поток. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Температура теплоотвода превысила 70°C. Система подает звуковой сигнал и отображает ошибку.
Пожалуйста, проверьте воздушный поток. Перегрев системы. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Температура усилителя превысила 80°C. Система подает звуковой сигнал и отображает ошибку.
Пожалуйста, проверьте воздушный поток. Перегрев источника электропитания. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Температура источника питания превышает 80°C. Система подает звуковой сигнал и отображает ошибку.
Медленная циклическая работа блока. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Блоку не удалось достичь цели в течение расчетного времени.
Медленная циклическая работа крышки. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Крышке не удалось достичь цели в течение расчетного времени.

Решения сообщений об ошибке и предупреждении.

Сообщение	Причина
Медленный градиент. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Не удалось достичь градиента в расчетное время.
Нагретая крышка повреждена. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	(только одиночные) Если каналы нагревателя правой и левой крышки отличаются друг от друга более чем на 5°C, крышка закрывается.
Датчик блока 0 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик блока 0 поврежден* и протокол был завершен.
Датчик блока 1 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик блока 1 поврежден* и протокол был завершен.
Датчик блока 2 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик блока 2 поврежден* и протокол был завершен.
Датчик блока 3 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик блока 3 поврежден* и протокол был завершен.
Датчик блока 4 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик блока 4 поврежден* и протокол был завершен.
Датчик блока 5 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик блока 5 поврежден* и протокол был завершен.
Датчик левой крышки поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик левой крышки поврежден*. Если двойной, протокол завершается. Если одинарный и ОБА датчика крышки повреждены, протокол завершается, а на блок передается 4°C.
Датчик правой крышки поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик правой крышки поврежден*. Если двойной, протокол завершается. Если одинарный и ОБА датчика крышки повреждены, протокол завершается, а на блок передается 4°C.
Датчик левого теплоотвода поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик левого теплоотвода поврежден*, система, использующая среднее температур усилителя, продолжает работать.
Датчик правого теплоотвода поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик правого теплоотвода поврежден*, система, использующая среднее температур усилителя, продолжает работать
Крышка перегрета и была закрыта. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	(только двойные) Крышка перегрета и закрыта, а протокол завершен.
Датчик температура усилителя 1 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик температуры усилителя 1 поврежден*.
Датчик источника питания поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик Источника питания поврежден*.
Питание блока повреждено. Протокол остановлен. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Питание для блока выходит за пределы диапазона.
Логическое питание повреждено. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик логического питания выходит за пределы диапазона.

Решения сообщения об ошибке и предупреждении.

Сообщение	Причина
Питание основания повреждено. Протокол отменен. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик питания основания выходит за пределы диапазона. Протокол отменен.
Датчик усилителя 2 поврежден. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Датчик температуры усилителя 2 поврежден*.
Обнаружена поврежденная память протокола. Протоколы могут быть потеряны. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Память протокола повреждена.
Невозможно прочитать заголовок реакционного модуля. Пожалуйста, перезапустите датчик цикла. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Невозможно прочитать информацию с реакционного модуля должным образом.
Пожалуйста, перезапустите датчик цикла. Неверная контрольная сумма. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Информация, считываемая с реакционного модуля, оказалась неверной.
Пожалуйста, перезапустите датчик цикла. Питание блока было отключено. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Была проблема с блоком, и питание было отключено
Один из датчиков блока в одиночном блоке поврежден. Система отменила протокол и передала на блок 4°C, чтобы предохранить пробы. Пожалуйста, свяжитесь с Bio-Rad относительно обслуживания.	Один из датчиков блока в одиночном блоке поврежден. Система отменила протокол на этапе x, цикл y и передала на блок 4°C, чтобы предохранить пробы.

В сообщении об ошибке может быть указано, чтобы вы связались с Bio-Rad. В этом случае свяжитесь с ближайшей командой технической поддержки Bio-Rad Laboratories (стр. 3).

*Повреждение датчика означает, что предполагается, что датчик может быть коротким, открытым или его температура изменилась более чем на 3°C в течение 50мс, и что данное условие присутствовало в течение 2 секунд.

Если два или более датчиков блока повреждены (или повреждены датчики обеих крышек), протокол завершается и на блок передается 4°C, чтобы предохранить пробы.

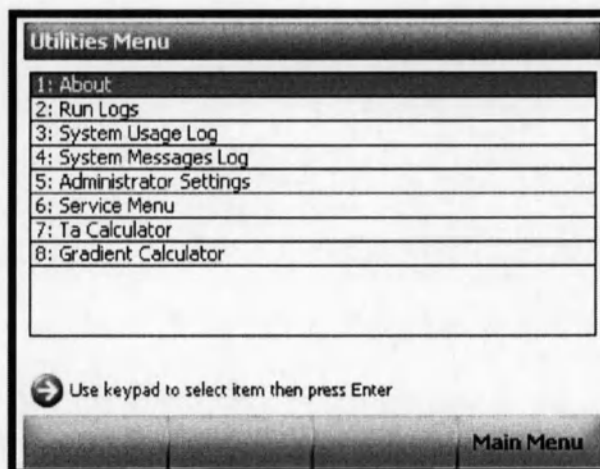
10. Расширенные функции

Термоциклер 1000™ обеспечивает открытый или ограниченный доступ к системе и административным функциям. В настоящей главе представлен обзор расширенных функций, включая меню Утилиты, меню Администратора, Папку системы и накопители данных.

- Меню утилиты и функции (далее)
- Функции администратора (стр. 102)
- Данные в папке СИСТЕМЫ (стр. 104)
Подключение приборов USB к С1000 посредством накопителей данных, чтобы подключить приборы, включая методы подключения USB привода, мышки или клавиатуры (стр. 104)
- Подключение составных термоциклеров S1000 к С1000 (стр. 105)
- Эксплуатация С1000 при роботизированном контроле в лаборатории с высокой производительностью (стр. 107)

Меню Utilities (утилиты) и Functions (функции)

Меню утилиты обеспечивает перечень функций, которые контролируют термоциклер 1000.



Меню утилиты и функции в сервисных программах предлагают следующие опции:

- About (О программе) : Обзор текущего встроенного ПО и серийных номеров.

- Run Logs (Синхронные протоколы): Обзор синхронного протокола каждый раз, когда запускается протокол. Протокол также может быть скопирован на USB флеш-память (для использования при обслуживании датчика цикла)
- System Usage Log (Протокол использования системы): Обзор протокола, который содержит перечень всех событий, которые произошли во время каждого запуска
- System Messages Log (Протокол сообщений системы): Обзор сообщений, которые появлялись во время всех запусков
- Administrator Settings (Настройки администратора): Открытие функций администратора (стр. 102)
ПРИМЕЧАНИЕ: Только зарегистрированный Администратор имеет доступ к настройкам Администратора.
- Service Menu (Сервисное меню): Функции, ограниченные для обслуживающего персонала из Bio-Rad Laboratories
- T_a Calculator (Калькулятор): Обзор и использование калькулятора T_a для расчета температуры таяния для пары праймеров
- Gradient Calculator (Калькулятор градиента): Расчет градиента температуры по всему блоку

Функция калькулятора градиента

На Gradient Calculator (калькуляторе градиента) отображается температурный градиент по всему блоку. Использовать данный калькулятор для обзора температуры в особой лунке или батареи.

Для того чтобы рассчитать и изучить температурный градиент на блоке, необходимо выполнить следующее:

1. Открыть меню Utilities (утилиты)
2. Выбрать Gradient Calculator (Калькулятор градиента)
3. Ввести нижнюю temperature (температуру) и Gradient Range (Диапазон градиента):

Gradient Calculator		Gradient	
Temperature	50.0 C	A	60.0
Gradient Range	10.0 C	B	59.4
		C	58.3
		D	56.3
		E	53.9
		F	52.0
		G	50.7
		H	50.0

Use Keypad to navigate between the rows.

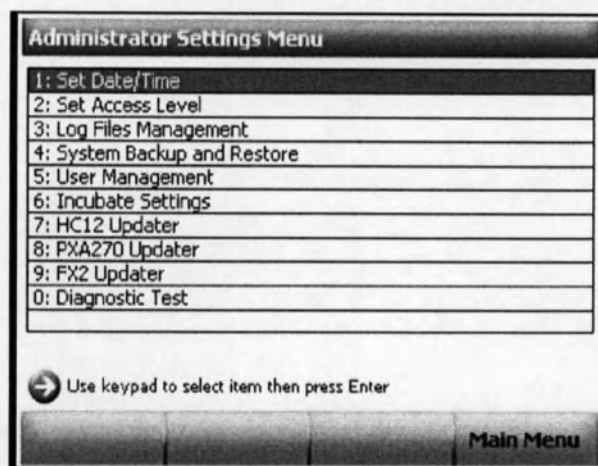
Main Menu

Меню настроек администратора

ПРИМЕЧАНИЕ: Только зарегистрированный Администратор может иметь доступ к меню Administrator Settings (Настройки администратора).

Меню Administrator Settings (Настройки администратора) содержит все функции, необходимые для настройки уровней доступа и значений, устанавливаемых системой по умолчанию для термоциклера 1000. Открыть данный перечень

выберите Настройки меню администратора в списке свойств и нажмите кнопку ВВОД. Изображение ниже показывает варианты настроек меню администратора:

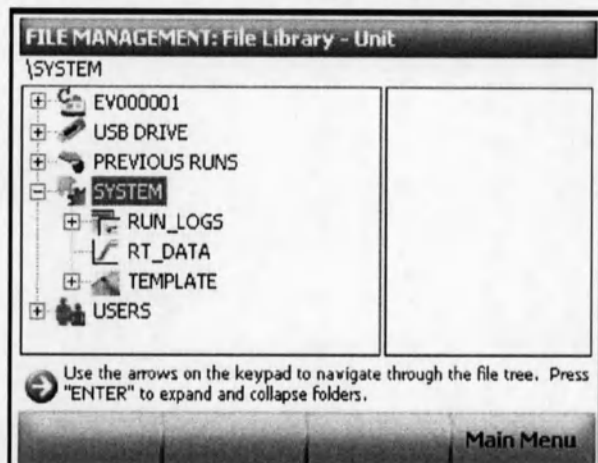


Меню настроек администратора включает следующие опции:

- Set Date/Time (Настроить дату/время): **Выбрать данную опцию для настройки даты и времени на термоциклере**
- Set Access Level (Установить уровень доступа): **Выбрать данную опцию для настройки уровней доступа пользователя как Open (Открыто) или Secured (Закрето)**
- Log Files Management (Управление журналами регистрации): **Выбрать данную опцию для очистки или настройки журналов регистрации**
- System Backup and Restore (Восстановление и резервное копирование системы): **Выбрать данную опцию для восстановления и резервной записи настроек системы из флэш-памяти**
- User Management (Управление пользователя): **Выбрать данную опцию для добавления или удаления пользователей и сброса паролей**
- System Settings (Настройки системы): **Выбрать данную опцию для установки параметров инкубации по умолчанию для температуры крышки, отсека крышки и температуры инкубации**
- HC12 Updater (Корректор HC12), PXA270 Updater (Корректор PXA270), FX2 Updater (Корректор FX2): **Выбрать данные опции для обновления встроенного программного обеспечения на термоциклере**
- Diagnostic Test (Диагностический тест): **Выбрать данную опцию для выполнения ряда или подмножества диагностических внутренних тестов на термоциклере (для использования при обслуживании термоциклера)**

Функции системной папки

Системная папка обеспечивает доступ к планшетам и данным в масштабе всей системы. Ниже на рисунке представлено содержимое Системной папки:



Каталоги в Системной папке обеспечивают доступ к следующим функциям:

- **RT DATA** (Данные реального времени) : Просмотр данных в реальном времени, которые были собраны посредством приборов обнаружения в реальном времени CFX96 или CFX384
- **RUN LOGS** (Журналы учета эксплуатации) : Просмотр или загрузка журналов из запуска
- **TEMPLATE** (Планшет) : Редактирование или создание файла протокола, используемого по умолчанию, для термоциклера

Использование порта данных

Термоциклер 1000 имеет несколько портов данных, которые могут быть использованы для передачи данных на термоциклер и от него:

- **USB порт A** ниже панели управления:
Использовать данный порт для передачи данных на флэш-память и из нее или для подключения клавиатуры или мыши USB.
- **USB порт B** на задней панели:
Использовать данный порт для подключения компьютера для запуска термоциклера S1000 и любого подсоединенного термоциклера S1000.
- **Четыре USB порта A**, расположенных на задней панели:
Использовать данные порты для подключения до четырех термоциклеров S1000, флэш-памяти, мыши или клавиатуры.
- **Контрольный порт** на задней панели

Подключение устройств USB B

Использовать USB порты B для подключения термоциклера 1000 к компьютеру.

Подключение устройств USB A

Через USB порт A может быть подключено любое из следующих устройств USB:

Подключить клавиатуру

Подключить флэш-память

Подключить устройство считывания штрихового кода

Подключить до трех термоциклеров S1000

Для подключения S1000 непосредственно к C1000 следуйте следующим инструкциям:

1. Подключите USB кабеля к S1000

Вставить высококачественный, экранированный USB кабель в USB порт B на задней панели S1000. Номера деталей USB кабеля см. на стр. 118.

2. Подключите USB кабеля к C1000

Вставить другой конец USB кабеля в USB порт B на задней панели C1000. C1000 обнаружит S1000.

3. Откройте основной экран или структурное меню инструментов на C1000

Откройте главное меню или структурное меню инструментов на C1000 или в программном обеспечении серии 1000, если C1000 подключен к компьютеру.

4. Выберите S1000

Выберите S1000 по серийному номеру или имени. Если S1000 имеет имя, то имя отобразится напротив серийного номера.

Подключение к контрольному порту

Последовательный порт используется для проверки термоциклера обслуживающим персоналом.

Контроль термоциклера S1000 посредством термоциклера C1000

Одновременно могут работать до трех термоциклеров S1000 под контролем термоциклера C1000. Термоциклер S1000 может подключаться к C1000 через USB разветвитель или в конфигурации “шлейфовое соединение”, в котором термоциклер S1000 последовательно соединен с термоциклером C1000.

Будучи подключенным к C1000 термоциклер S1000 может контролироваться:

- Панелью управления термоциклера C1000

Подключите термоциклер S1000 непосредственно или косвенно к термоциклеру C1000 через USB кабель, затем запрограммируйте и запустите протоколы посредством интерфейса пользователя термоциклера C1000.

- Программным обеспечением Manager серии 1000

Подключите термоциклер C1000 к компьютеру через его USB B порт, теперь термоциклер C1000 и все подсоединенные термоциклы S1000 контролируются с помощью Программного обеспечения серии 1000.

В следующих трех пунктах описаны методы подключения и эксплуатации термоциклера S1000 посредством термоциклера C1000:

- Подключите непосредственно к термоциклеру C1000 посредством USB B порта C1000 (ниже)
- Подключите косвенно к термоциклеру C1000 через USB A порт S1000 (стр. 106)
- Используйте термоциклер S1000 под контролем термоциклера C1000 (стр. 107)

Более подробные инструкции по запуску термоциклера S1000 при подключении к термоциклеру C1000 см. в руководстве для термоциклера C1000 или в интерактивной консультации по программному обеспечению серии 1000 или в руководстве по эксплуатации.

Подключение непосредственно к C1000 через C1000 USB порт A

Чтобы подключить термоциклер S1000 непосредственно к термоциклеру C1000, следуйте данным инструкциям:

1. Подключите USB кабель к S1000
Вставить высококачественный, экранированный USB кабель в USB порт B на задней панели S1000 (стр. 8). Номера деталей USB кабеля см. на стр. 118.
2. Подключите USB кабель к C1000
Вставить другой конец USB кабеля в USB порт A на задней панели C1000. C1000 обнаружит S1000.
3. Подключите дополнительные термоциклеры S1000 непосредственно к C1000
Повторить этапы 1 и 2, чтобы подключить до трех термоциклеров S1000 непосредственно к C1000.
4. Откройте основной экран или структурное меню инструментов на C1000
Открыть основной экран или структурное меню инструментов на C1000 или в программном обеспечении серии 1000, если C1000 подключен к компьютеру.
5. Выберите S1000
Выбрать S1000 по серийному номеру или имени. Если S1000 имеет имя, то имя отобразится напротив серийного номера.

Подключение опосредованно к термоциклеру C1000 через USB порт A S1000

Термоциклер S1000 может работать под контролем термоциклера C1000, даже если он подключен косвенно. Для осуществления этого следуйте данным инструкциям:

1. Подключите USB кабель к S1000
Вставить высококачественный, экранированный USB кабель в USB порт B на задней панели S1000 (стр. 8). Экранированный USB кабель может быть заказан непосредственно в компании Bio-Rad.
2. Подключите USB кабель к C1000
Вставить другой конец USB кабеля в USB порт A на задней панели C1000. C1000 обнаружит S1000.
3. Подключите другой термоциклер S1000 к предыдущему S1000 опосредованно
Вставить высококачественный, экранированный USB кабель в USB порт B на задней панели следующего термоциклера S1000. Вставить другой конец кабеля в USB порт A на предыдущем термоциклере S1000 (S1000, подключенном непосредственно к C1000).
4. Подключите дополнительный термоциклер S1000 к C1000 опосредованно
При повторении этапов 1-3 можно опосредованно подключить до трех термоциклеров S1000 к одному C1000.
5. Откройте меню инструментов
Открыть структурное меню инструментов на C1000 или в программном обеспечении серии 1000.
6. Выберите S1000
Выбрать S1000 по серийному номеру или имени. Если S1000 имеет имя, тогда имя отобразится напротив серийного номера.

Эксплуатация S1000 под контролем C1000

Если S1000 находится под контролем C1000, он находится в «режиме полублокировки».

В режиме полублокировки S1000 не будет реагировать при нажатии клавиш панели управления. Однако на панели управления работают следующие клавиши:

- Клавиша SCREEN (Экран): Нажать данную клавишу для перехода к экрану работы, графическому экрану и экрану оставшегося времени.
- Клавиша PAUSE (Пауза): Нажать данную клавишу для временной остановки протокола, который запущен на S1000
- Клавиша ENTER (Ввод): Нажать данную клавишу для начала запуска, команда о котором была дистанционно отправлена с C1000
- Клавиша ENTER (Ввод): Нажать данную клавишу для пропуска этапа
- Клавиша CANCEL (Отмена): Нажать данную клавишу для отмены протокола, который в текущее время запущен на S1000

Автоматический контроль для робототехнических систем

Серия 1000 способна реагировать на команды роботизированного контроля в мощном потоке работ. Для подключения C1000 к робототехнической системе используйте USB порт.

После подключения роботизированные команды автоматизируют основные операции C1000. Для получения информации о данных командах необходимо загрузить *Руководство по автоматизации* из Шлюза экспрессии генов (www.biogad.com/genomics). Данное руководство включает инструкции и команды для запуска C1000 под контролем робототехнической системы.

Приложение А: Предварительно устанавливаемые протоколы

Термоциклер 1000 поступает с предварительно устанавливаемым протоколом, который предоставляет планшет для запуска новых экспериментов ПЦР. Используйте данные протоколы в качестве шаблонов. В следующих разделах описаны предварительно устанавливаемые протоколы, и включены советы относительно того, когда их следует использовать:

- Стандартные 2- и 3-этапные протоколы (ниже).
- Протокол контакта (touchdown) ПЦР во избежание неспецифического связанного праймера (стр. 110).
- Протоколы iTaq оптимизированы для запуска с полимеразой запуска iTaq™ из горячего состояния (стр. 110).
- Протоколы iProof оптимизированы для запуска с полимеразой iProof™ высококачественного воспроизведения (стр. 111).
- Протоколы обратной транскрипции для расширения ДНК из планшета РНК (стр. 112)
- Протоколы вложенного праймера (nested primer) для расширения особой последовательности ДНК из большого комплексного планшета ДНК (стр. 112).

Стандартные протоколы

Два стандартных протокола, которые запускают двух- и трехэтапный ПЦР со стандартной полимеразой ДНК. Выбрать данные протоколы для начала запуска GWH с новыми праймерами и шаблоном ДНК или скопировать их для начала записи нового протокола. В таблице 14 перечислены параметры в каждом протоколе.

Таблица 14. Стандартный протокол*

	STD2		STD3	
	Запуск стандартного двухэтапного протокола		Запуск стандартного трехэтапного протокола	
Этап	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы
1	95	3:00	95	3:00
2	95*	0:30	95*	0:30
3	65	0:30	55	0:30
4	GOTO 2	29x	72	0:30
5	72	7:00	GOTO 2	29x

Таблица 14. Стандартный протокол*

6	4	Бесконечная выдержка ∞	72	1:00
	ОКОНЧАНИЕ		4	Бесконечная выдержка ∞
7			ОКОНЧАНИЕ	

Протокол контакта (touchdown)

Испытания протокола контакта (touchdown) на наилучшую температуру гибридизации для особой пары планшета праймера. Выбрать данный протокол для испытания нового комплекта праймеров и шаблона ДНК на оптимальную температуру гибридизации. В Таблице 15 перечислены параметры в каждом протоколе

Таблица 15. Протокол контакта (touchdown)*

TCHDOWN		
Для запуска протокола с этапом температуры приращения, который автоматически обнаруживает наиболее жесткие требования для связывания праймера		
Этап	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы
1	95	3:00
2	95*	0:30
3	60 (приращение при -0,5°C/цикл)	0:30
4	72	0:30
5	GOTO 2	29x
6	95	0:30
7	45	0:30
8	72	0:30
9	GOTO 6	29x
10	72	7:00
11	4	Бесконечная выдержка ∞
12	ОКОНЧАНИЕ	

Протоколы полимеразы iTaq

Полимераза ДНК iTaq - антителозависимая полимераз горячего пуска, которая подходит как для ПЦР, так и для реального времени. Протоколы iTaq запускают ПЦР посредством оптимальных параметров

для данной полимеразы и связанных буферов. Полимераза iTaq разработана для активации во время первого этапа при 98°C и увеличения небольших шаблонов до среднего размера.

Таблица 16. Протокол iTaq*

iTAQ-FST		
Запуск быстрого ПЦР		
Этап	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы
1	98	0:30
2	92*	0:01
3	70	0:10
4	GOTO 2	29x
5	72	0:30
6	ОКОНЧАНИЕ	

Протоколы полимеразы iProof

Полимераза ДНК iProof – полимеразы высококачественного воспроизведения, которая разработана для быстрой и точной амплификации длинных клеток-мишеней посредством проверочного считывания фермента, скомбинированного со связывающим белком ДНК. Данные протоколы iProof включают оптимальные параметры для данного фермента и соответствующих буферов, включая первоначальный этап при 95°C для активизирования фермента и заключительный этап длительного вытяжения. Каждый из этих протоколов настроен на отдельный диапазон заданных размеров. В Таблице 17 перечислены параметры в каждом протоколе.

Таблица 17. Протокол iProof*

	IPRF1KB		IPRF8KB		IPRF15KB	
	Амплификация до 1 кб или меньших значений		Амплификация до 8 кб или меньших значений		Амплификация до 15 кб или меньших значений	
Этап	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы
1	98	0:30	98	0:30	98	0:30
2	98*	0:05	98*	0:05	98*	0:05
3	60	0:10	60	0:10	60	0:10
4	72	0:30	72	4:00	72	7:30
5	GOTO 2	29x	GOTO 2	29x	GOTO 2	29x
6	72	5:00	72	5:00	72	5:00
	4	Бесконечная выдержка ∞	4	Бесконечная выдержка ∞	4	Бесконечная выдержка ∞

Таблица 17. Протокол iProof*

	ОКОНЧАНИЕ		ОКОНЧАНИЕ		ОКОНЧАНИЕ	
--	-----------	--	-----------	--	-----------	--

Протокол полимеразы IScript

Таблица 18. Протокол IScript

Этап	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы
1	25	5:00
2	42	30:00
3	85	5:00
4	4	Бесконечная выдержка ∞
5	ОКОНЧАНИЕ	

Протоколы вложенного праймера

Вложенные праймеры усиливают особую последовательность ДНК из большого комплексного планшета ДНК, такого как геномная ДНК. В Таблице 19 перечислены параметры в каждом протоколе.

Таблица 19. Протокол вложенного праймера*

Этап	NESTPR2		NESTPR3	
	Для запуска двухэтапного протокола посредством вложенных праймеров		Для запуска трехэтапного протокола посредством вложенных праймеров	
Этап	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы	Расчетная температура (°C) или этап GOTO (перехода)	Время (мин:сек) или повторы
1	95	4:00	95	0:30
2	95*	0:30	95*	0:30
3	65	0:30	55	0:30
4	GOTO 2	39x	72	0:30
5	72	7:00	GOTO 2	39x
6	4	Бесконечная выдержка ∞	72	7:00
7	95*	0:30	4	Бесконечная выдержка ∞
8	65	0:30	95	0:30
9	GOTO 7	39x	55	0:30
10	72	7:00	72	0:30

Таблица 19. Протокол вложенного праймера*

11	4	Бесконечная выдержка ∞	GOTO 8	39х
12	ОКОНЧАНИЕ		72	7:00
13			4	Бесконечная выдержка ∞
14			ОКОНЧАНИЕ	

1 Знакомство с термоциклером серии C1000 Touch™

Прочитайте этот раздел для получения информации о настройке термоциклера серии C1000 Touch.

- Краткий обзор системы (стр. 1)
- Модули для проведения реакций (стр. 2)
- Настройка термоциклера серии C1000 Touch (стр. 3)
- Управление крышкой модуля для проведения реакций (стр. 4)
- Главное меню (стр. 6)
- Изменение имени термоциклера серии C1000 Touch (стр. 7)
- Настройка уведомления по электронной почте (стр. 7)

Краткий обзор системы

Основной блок термоциклера серии C1000 Touch (Рис. 1) включает:

- **Отсек модуля для проведения реакций** – предназначен для установки модуля для проведения реакций.
- **Запорная планка модуля для проведения реакций** – предназначена для крепления модуля для проведения реакций на месте.
- **Сенсорный дисплей** – обеспечивает доступ ко всем функциям, необходимым для создания и выполнения протоколов PCR.
- **USB-порт А** – предназначен для подключения USB флеш-диска, мыши или клавиатуры.
- **Воздухоприёмные отверстия** – обеспечивают быстрый нагрев и охлаждение термоциклера



Рисунок 1. Вид термоциклера серии C1000 Touch спереди.

На задней панели термоциклера серии C1000 Touch установлены порты передачи данных (Рис. 2).

- **USB-порт В** — предназначен для подключения термоциклера серии C1000 Touch к компьютеру.
- **USB-порт А** — предназначен для подключения максимум трёх термоциклеров серии S1000 к термоциклеру серии C1000 Touch. К этим портам также можно подключать любой USB флеш-диск, мышь или клавиатуру.
- **Контрольный порт** — предназначен только для выполнения контрольной проверки.
- **Порт Ethernet** — предназначен для подключения термоциклера серии C1000 Touch к вашей сети.

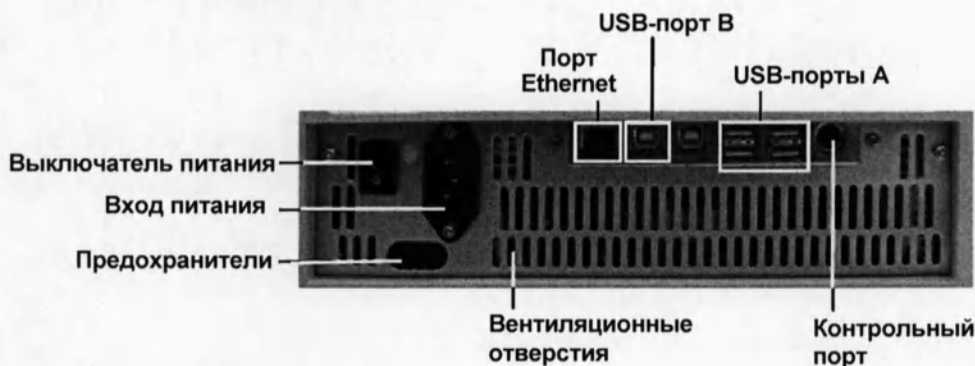


Рисунок 2. Задняя панель термоциклера серии C1000 Touch.

Модули для проведения реакций

Термоциклер серии C1000 Touch совместим с любыми модулями для проведения реакций серии 1000. Поставляются модули для проведения реакций 4-х размеров: модуль с 96 ячейками для быстрого перемешивания, модуль с 96 глубокими ячейками, двойной модуль с 48/48 ячейками для быстрого перемешивания и модуль с 384 ячейками. Каждый модуль для проведения реакций включает полностью регулируемую нагреваемую крышку, которая позволяет эффективно работать с различными резервуарами для проведения химической реакции.

Рекомендуемые объёмы образцов

При использовании термоциклера серии C1000 Touch максимальный объём образца определяется по типу используемого модуля для проведения реакций. В таблице 6 представлены объёмы, используемые с различными модулями для проведения реакции.

Таблица 6. Предельные размеры и объёмы образца для модулей для проведения реакций серии 1000.

Число ячеек	Число блоков	Рекомендуемый объём образца (максимум)
96 для быстрого перемешивания	1	10-50 мкл (максимум 50 мкл)
96 глубоких	1	10-125 мкл (максимум 125 мкл)
Двойной 48/48 для быстрого перемешивания	2	10-50 мкл (максимум 50 мкл)
384	1	3-30 мкл (максимум 30 мкл)

Каждый модуль для проведения реакции имеет охлаждающие пластины для быстрого нагревания и охлаждения, а также полностью регулируемую, нагреваемую крышку.

- **Нагреваемая внутренняя крышка** — предназначена для поддержания температуры крышки для предотвращения конденсации и испарения.
- **Блок для образца/проведения реакции** — предназначен для удержания резервуаров для проведения химической реакции, включая трубки и микроплашки.

В верхней части крышки модуля для проведения реакций установлена рукоятка крышки, рукоятка регулировки усилия крышки и индикатор статуса.

- **Рукоятка крышки** — предназначена для открывания и закрывания крышки.

- Рукоятка регулировки усилия крышки – предназначена для регулировки усилия крышки и герметизации блока при проведении реакции
- Индикатор статуса – загорается для индикации работы блока

На рисунке 3 показаны компоненты модуля для проведения реакций с 96 ячейками для быстрого смешивания.

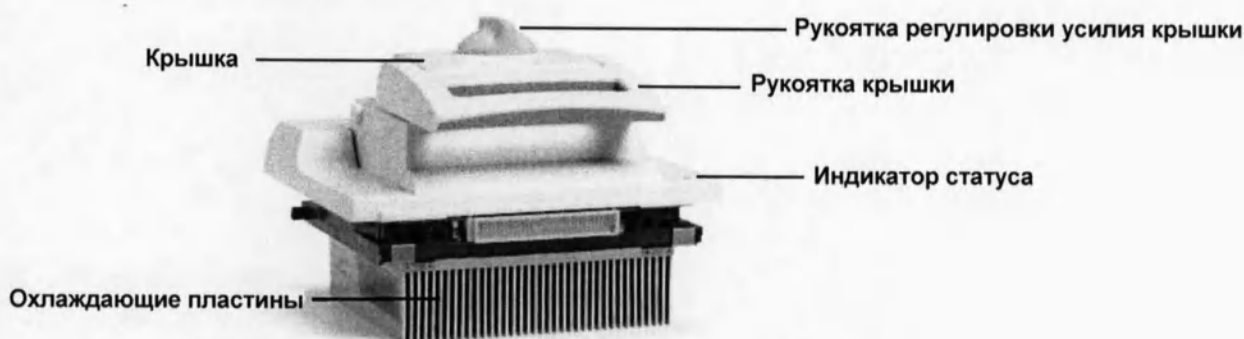


Рисунок 3. Компоненты модуля для проведения реакций.

Настройка термоциклера серии C1000 Touch

Комплект термоциклера серии C1000 Touch включает:

- Основной блок термоциклера серии C1000 Touch
- Сетевой шнур
- 1 USB флеш-диск
- Руководство по эксплуатации
- Краткое руководство по установке системы

Модули для проведения реакций, предназначенные для использования с термоциклером серии C1000 Touch, поставляются в отдельной упаковке. Удалите весь упаковочный материал и храните его для использования в будущем. Если какая-либо деталь отсутствует или повреждена, обратитесь в ваше региональное представительство компании Bio-Rad.

Установите основной блок термоциклера серии C1000 Touch на ровной, сухой поверхности с достаточным потоком холодного воздуха, обеспечивающим его нормальную работу.

Данный прибор может работать в двух режимах: автономный режим и режим работы под управлением программы CFX Manager™ версии 2.1 или следующих версий. При эксплуатации прибора в режиме управления с помощью программного обеспечения убедитесь в том, что во время настройки имеется достаточно места для компьютера.

Для установки модуля для проведения реакций в отсек для модулей основного блока термоциклера выполните следующие действия:

1. Переместите запорную планку в нижнее положение, установите рукоятку крышки так, чтобы она была направлена вперед, а затем вставьте модуль для проведения реакций в отсек для модуля (рис. 4). Оставьте 1-2 см пространства перед модулем.

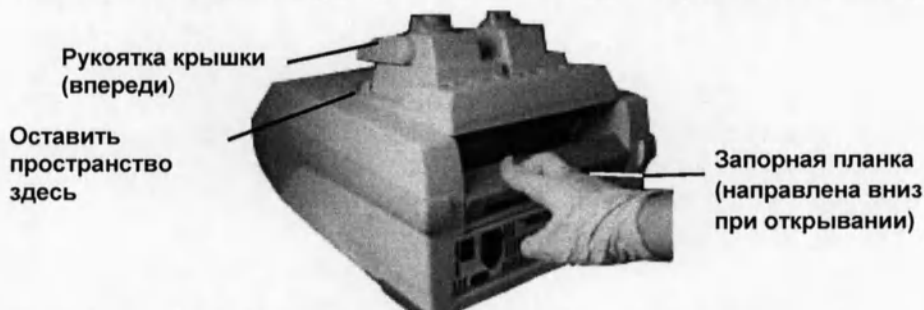


Рисунок 4. Установка модуля для проведения реакций в отсек.

2. Потяните запорную планку вверх для блокировки модуля для проведения реакций на месте (рис. 5). Перед модулем не должно остаться никакого пространства, когда он заблокирован в основном блоке термоциклера серии C1000 Touch.

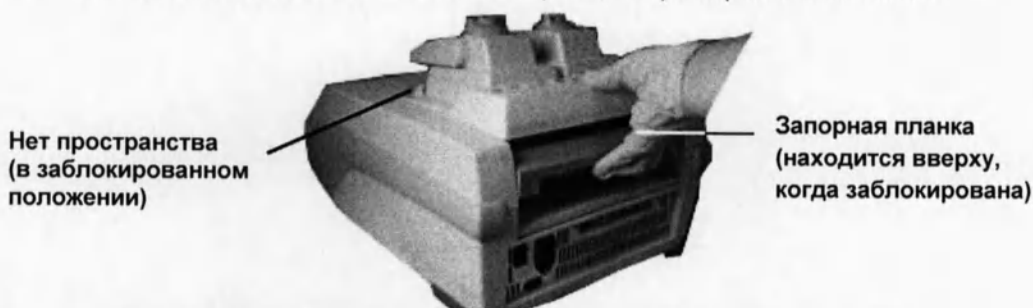


Рисунок 5. Блокировка модуля для проведения реакций на месте.

3. Подключите прилагаемый сетевой шнур к соответствующей электрической розетке.
4. Включите термоциклер с помощью выключателя питания на задней панели основного блока термоциклера.

ПРИМЕЧАНИЕ: перед началом эксплуатации термоциклера обязательно прочитайте правила техники безопасности (раздел "Соблюдение правил техники безопасности и установленных норм" на странице iii) и требования эксплуатации.

5. При включении термоциклера серии C1000 Touch выполняется автоматическая самодиагностика для проверки нормального функционирования, после чего на дисплее появляется главное меню. Используйте главное меню для начала работы с термоциклером.

Для извлечения модуля для проведения реакций из основного блока термоциклера выполните следующие действия:

1. **Выключите** термоциклер.
2. Разблокируйте и отсоедините модуль для проведения реакций нажатием запорной планки вниз.
3. Осторожно поднимите и извлеките модуль для проведения реакций из отсека.
ВНИМАНИЕ! Охлаждающие пластины могут быть горячими сразу же после выполнения протокола или процесса инкубации. Перед извлечением модуля для проведения реакций убедитесь в том, что пластины остыли.
4. После извлечения модуля для проведения реакций из термоциклера серии C1000 Touch храните его на чистой, ровной поверхности в месте, в котором он не будет подвергаться механическим воздействиям или может упасть.

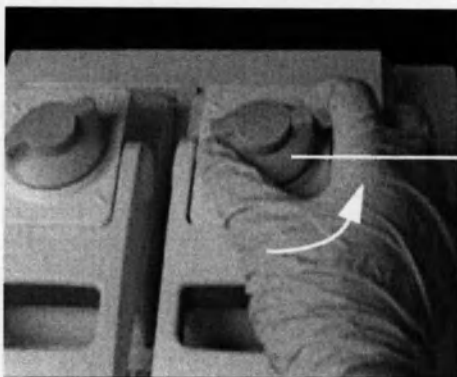
Управление крышкой модуля для проведения реакций

Внутренняя крышка модуля для проведения реакций нагревается и создаёт усилие, прилагаемое к крышкам резервуаров для проведения химической реакции (колпачки или пленка) для получения целостной и успешной реакции. Нагревание внутренней крышки позволяет избежать образования конденсата, при этом прилагаемое усилие обеспечивает герметичность основного блока, тем самым предотвращая испарение.

ВНИМАНИЕ! После выполнения операции нагреваемая внутренняя крышка может оставаться горячей. Соблюдайте осторожность при открывании и закрывании крышки.

Для открывания крышки выполните следующие действия:

1. Поверните рукоятку регулировки усилия крышки против часовой стрелки для открывания внутренней крышки (рис. 6).



Рукоятка регулировки
усилия крышки
(повернуть против
часовой стрелки для
открывания крышки)

Рисунок 6. Поверните рукоятку регулировки усилия крышки против часовой стрелки для открывания внутренней крышки.

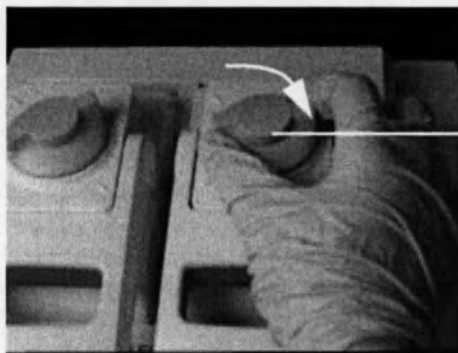
2. Для открывания крышки поднимите рукоятку крышки вверх.
3. Поднимите рукоятку крышки до конца, пока модуль для проведения реакций не будет полностью открыт без усилия.

Для закрывания крышки выполните следующие действия:

1. Толкните рукоятку крышки вниз, убедившись в том, что передняя часть крышки надёжно закреплена под корпусом.
2. Отрегулируйте усилие крышки, повернув рукоятку регулировки усилия крышки (рис. 7).
 - Поверните рукоятку по часовой стрелке для увеличения усилия крышки
 - Поверните рукоятку против часовой стрелки для уменьшения усилия крышки
3. Увеличивайте усилие крышки до тех пор, пока нагреваемая крышка не коснётся резервуара для проведения химической реакции. Продолжайте увеличивать усилие крышки на основании следующих рекомендаций.
 - При использовании трубок увеличьте усилие крышки на четверть оборота после того, как крышка коснётся трубок
 - При использовании плашек увеличьте усилие крышки на половину оборота после того, как крышка коснётся плашки

ПРИМЕЧАНИЕ: Метки положения на крышке указывают четверть оборота.

ВНИМАНИЕ! Если крышка затянута с превышением рекомендованного усилия, дальнейшее затягивание крышки приведёт к проскальзыванию рукоятки, при этом раздастся щёлкающий звук. Это используется в качестве предупреждения о том, что усилие крышки превысило рекомендованное значение, и это может привести к повреждению резервуаров для проведения химической реакции. В этом случае уменьшите усилие крышки, повернув рукоятку регулировки усилия крышки против часовой стрелки на один полный оборот. Повторно приложите требуемое усилие крышки, выполнив действия, указанные в пункте 3.



Рукоятка регулировки
усилия крышки
(поверните по часовой
стрелке для крепления
крышки)

Рисунок 7. Отрегулируйте усилие крышки, повернув рукоятку регулировки усилия крышки.

Загрузка резервуаров с образцами в блок для проведения реакций

Для обеспечения равномерного нагревания и охлаждения образцов резервуары должны находиться в полном контакте с блоком для проведения реакций. Соответствующий контакт достигается:

- Проверкой того, что блок находится в чистом состоянии перед загрузкой образцов.
- Плотным прижатием отдельных трубок или микроплашки к ячейкам блока.

СОВЕТ: при использовании одной или нескольких трубок используйте рамку для трубок (каталожный номер 184-9000 или 184-9001), либо вставьте как минимум одну пустую трубку в каждый угол блока для обеспечения того, что крышка создаёт равномерное давление на каждую трубку.

Главное меню

Главное меню обеспечивает доступ ко всем функциям термоциклера, а также отображает статус модуля для проведения реакций и название термоциклера. В примере внизу, показанном на рисунке 8, в главном меню отображается дата и время, имя пользователя, выполнившего вход в систему (**Pete**), название устройства (**CC006622**), текущий статус (**Idle**) и кнопки главного меню.



Рисунок 8. Главное меню термоциклера серии C1000 Touch.

Для включения функций в главном меню нажмите соответствующую кнопку. Ниже представлен перечень доступных функций:

- **New Protocol (Новый протокол)** — создание нового протокола (стр. 11).
- **Protocol AutoWriter (Программа Protocol AutoWriter)** — создание нового протокола путём ввода длины ампликона, температуры нагревания и требуемой скорости (стр. 27).
- **Saved Files (Сохранённые файлы)** — просмотр сохранённых файлов и папок в каталоге файлов (стр. 33).
- **Incubate (Инкубировать)** — открытие окна настройки инкубации (стр. 25).
- **Tools (Инструменты)** — открытие окна инструментов (стр. 40).
- **Log in (Вход в систему)** — вход в систему термоциклера серии C1000 Touch. После выполнения входа в систему название кнопки меняется на Log Off (Выход из системы) (стр. 39).
- **Status (Статус)** — открытие окна статуса для просмотра текущего статуса модуля для проведения реакций (стр. 23).

Изменение имени термоциклера серии C1000 Touch

Каждому термоциклеру серии C1000 Touch первоначально присвоено имя, состоящее из серийного номера основного блока термоциклера. Пользователи могут изменить имя термоциклера для простоты его идентификации.

Для изменения имени термоциклера серии C1000 Touch выполните следующие действия:

1. В главном меню нажмите кнопку **Tools** для открытия меню инструментов. Нажмите кнопку **About (О программе)**, затем нажмите кнопку **Name (Имя)** (рис. 9).
2. Введите новое имя с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия нового имени термоциклера.

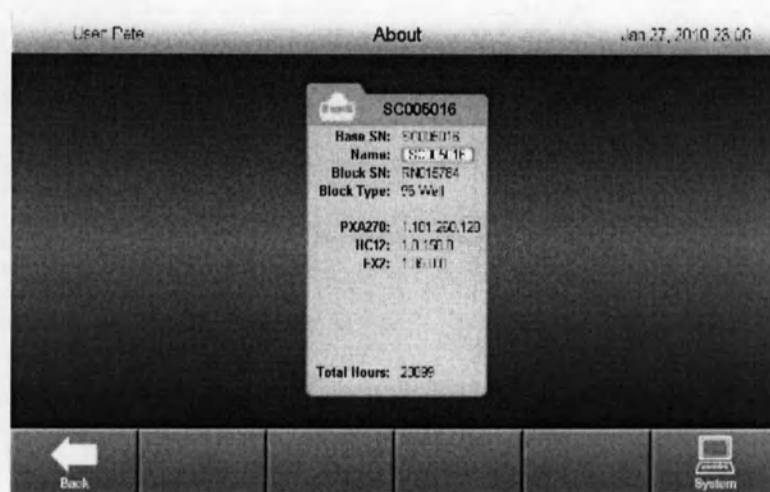


Рисунок 9. Нажмите кнопку Name для изменения имени устройства.

Настройка уведомления по электронной почте

Информация о подтверждении завершения выполнения протокола и отчет о выполнении протокола может быть отправлен по электронной почте напрямую на любой компьютер, имеющий доступ в Интернет. Для настройки исходящих почтовых сообщений, отправляемых с термоциклера серии C1000 Touch, выполните следующие действия:

1. Нажмите кнопку **Log In** в главном меню для входа в систему термоциклера в качестве Администратора.
ПРИМЕЧАНИЕ: имя пользователя, вошедшего в систему, появляется слева от кнопки **Log Out** при возврате в режим главного меню.
2. Нажмите кнопку **Tools** в главном меню для запуска меню инструментов.
3. Нажмите кнопку **Email Settings (Настройки электронной почты)** в меню Admin (Администратор).

Настройка сервера Gmail

ПРИМЕЧАНИЕ: перед настройкой сервера Gmail устройства должна быть создана учётная запись Gmail с именем пользователя и паролем.

1. Выберите сервер Gmail в ниспадающем списке **Mail Server**.
2. Введите имя пользователя и пароль учётной записи Gmail.

3. Поставьте флажок в пункте **Set as Default** (Установить по умолчанию) (рис. 10).



Рисунок 10. Сервер Gmail выбран, имя пользователя и пароль введены и сервер выбран в качестве сервера по умолчанию.

4. Нажмите кнопку **Save (Сохранить)** для сохранения текущих настроек сервера.
5. Нажмите кнопку **Test Email (Тестовая электронная почта)**.
6. Нажмите кнопку **Test Email Address (Тестовый адрес электронной почты)** и введите адрес электронной почты с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
7. Нажмите кнопку **Attachment Size in MB (Размер вложения в Мб)** и введите размер тестового вложения.

ПРИМЕЧАНИЕ: максимально допустимый размер вложения задан сервером вашего учреждения. Мы рекомендуем ввести размер вложения в диапазоне от 0,5 до 5 Мб. При вводе значения 0 будет отправлено тестовое электронное письмо без вложения.

8. Нажмите кнопку **Send Email (Отправить письмо по электронной почте)**.

Тестовое электронное письмо будет отправлено на тестовый адрес электронной почты.

9. Нажмите кнопку **Cancel (Отмена)** для возврата в меню настроек сервера.
10. Нажмите кнопку **Back (Назад)** для возврата в меню инструментов.

Настройка собственного сервера

1. Нажмите кнопку **New Server (Новый сервер)** (рис. 11).

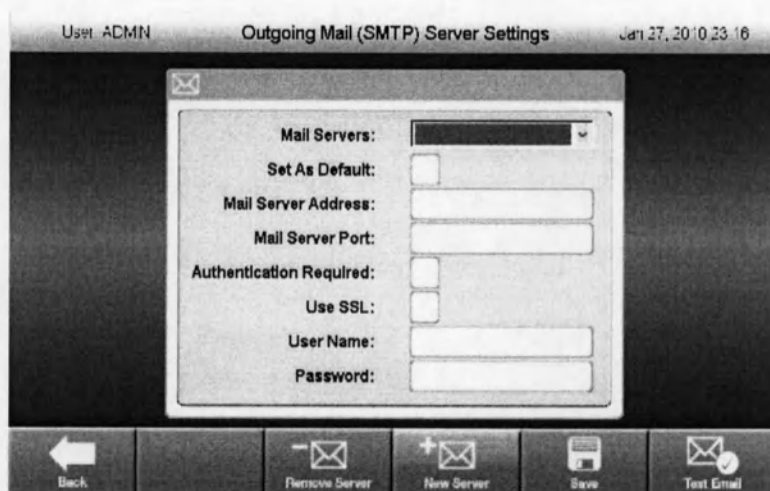


Рисунок 11. Кнопка New Server.

2. Нажмите кнопку **Mail Server Address (Адрес почтового сервера)** и введите адрес электронной почты с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку **Mail Server Port (Порт почтового сервера)** и введите адрес электронной почты с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
4. Поставьте флажок в пункте **Set As Default (Установить по умолчанию)**.
5. Введите дополнительную информацию (требуемая идентификация, использование SSL, имя пользователя и пароль) только в том случае, если это требуется сервером.

СОВЕТ: для уточнения требований сервера свяжитесь с вашим администратором сети.
6. Нажмите кнопку **Save (Сохранить)**. Новый сервер появится в ниспадающем списке **Mail Servers**.
7. Повторите действия, указанные в пунктах 5-10 в разделе "Настройка сервера Gmail" (стр. 7).

Удаление сервера

1. В ниспадающем списке **Mail Servers** выберите сервер, который необходимо удалить.
2. Нажмите кнопку **Remove Server (Удалить сервер)**.
3. Нажмите кнопку **Yes** для подтверждения выполняемого действия удаления выбранного сервера.

2 Создание, редактирование, присвоение имени и сохранение протоколов

Прочитайте данный раздел для получения информации о создании и редактировании протоколов.

- Создание нового протокола или редактирование существующего протокола (стр. 11)
- Объем образца и температура крышки (стр. 17)
- Присвоение имени протоколу (стр. 19)
- Сохранение протокола (стр. 19)

Создание нового протокола или редактирование существующего протокола

Для создания нового протокола:

1. Нажмите кнопку **New Protocol (Новый протокол)** в главном меню для открытия меню нового протокола.

Откроется шаблонный протокол (рис. 12).

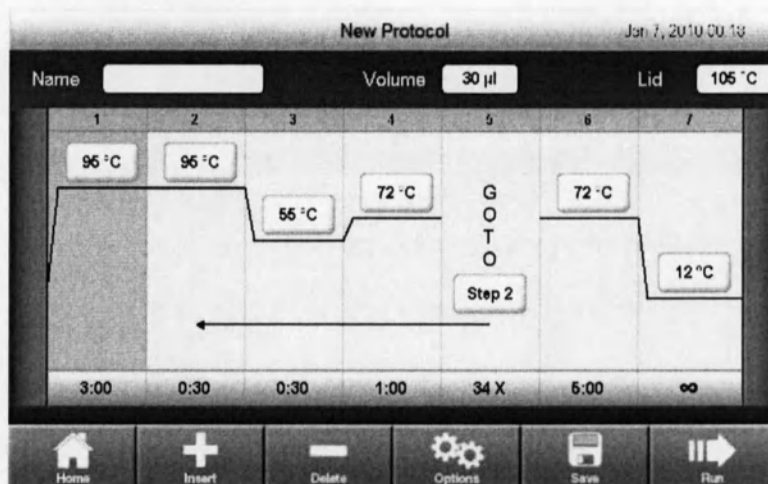


Рисунок 12. Шаблонный протокол.

Для редактирования существующего протокола:

1. Нажмите кнопку **Saved Files (Сохранённые файлы)** в главном меню для открытия окна сохранённых файлов.
2. Выберите файл для редактирования (стр. 13).

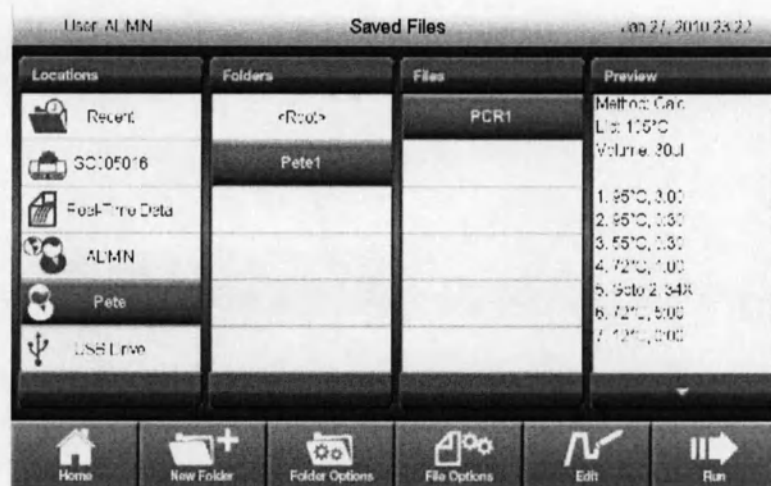


Рисунок 13. Выбранный файл для редактирования.

3. Нажмите кнопку **Edit (Редактировать)** для открытия окна редактирования протокола. Протокол будет отображен в графическом формате.
4. Выберите требуемый пункт путём нажатия в любом месте этого пункта.
5. Измените время или температуру путём нажатия на требуемую кнопку и ввода значения с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
6. Измените объём реакционной смеси или температуру крышки путём нажатия на требуемую кнопку и ввода значения с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
7. Измените имя протокола путём нажатия кнопки **Name (Имя)** и ввода имени протокола с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
8. Нажмите кнопку **Run (Выполнить)** для выполнения протокола без его сохранения. В качестве альтернативы нажмите кнопку **Save (Сохранить)** для выбора имени файла, положения и папки, в которой будет сохранён протокол.

Параметры протокола

В таблице 7 представлен перечень параметров температуры и этапы перепада температуры с предельными значениями этих параметров.

Таблица 7. Этапы и параметры протокола термоциклера серии C1000 Touch.

Название этапа	Параметры и диапазоны	Описание
Температура	Температура в °C: целевая температура от 0,0 до 100,0°C в десятых долях градуса	Подаёт команду на термоциклер о повышении температуры до целевого уровня и поддержании этой температуры в течение указанного времени
	Время выдержки: Время выдержки от 1 секунды до 18 часов в формате чч:мин:сек. Для ввода бесконечного времени выдержки нажмите кнопку ∞ (бесконечность).	
Диапазон перепада температуры	Небольшой: небольшой перепад температуры. Введите значение от 30,0 до 99,0°C в десятых долях градуса	Подаёт команду на термоциклер о повышении температуры до целевого уровня всего блока и поддержании этой температуры в течение указанного времени
	Максимум: большой перепад температуры. Максимальная температура составляет 100°C. Введите значение 24,0°C нижнего предела температуры	
	Время: Время выдержки от 1 секунды до 18 часов в формате чч:мин:сек. Для ввода бесконечного времени выдержки нажмите кнопку ∞ (бесконечность).	
Шаг	Температура от -10,0 до 10,0°C в цикле в десятых долях градуса	Применяется только к шагу температуры. Подаёт команду на термоциклер о приращении (изменении) целевой температуры этапа в каждом цикле, при котором положительное число повышает температуру, а отрицательное число снижает температуру.
Скорость изменения	Число от 0,1 до 5°C в секунду	Применяется только к этапу изменения температуры. Подаёт команду на термоциклер о повышении температуры до целевого уровня с указанной скоростью изменения в этом этапе
Увеличение времени	Время от -60 до 60 сек в цикле	Применяется, как к этапам изменения температуры, так и этапам перепада температуры. Подаёт команду на термоциклер об увеличении времени выдержки с каждым циклом. Положительное число увеличивает время выдержки, отрицательное число уменьшает время выдержки.
Звуковой сигнал	(Нет параметров)	Применяется только к этапу изменения температуры. Подаёт команду на термоциклер о подаче звукового сигнала о том, что термоциклер достиг целевой температуры для этого этапа.

Изменение значения целевой температуры и времени выдержки

Для изменения целевой температуры и времени выдержки на этапе изменения температуры выполните следующие действия:

1. Нажмите требуемую кнопку времени или температуры редактируемого этапа.
2. С помощью цифровой клавиатуры введите новое значение целевой температуры и времени выдержки.

Вставка этапа выполнения протокола

Вставьте этап выполнения протокола, если требуется новое значение температуры, параметра GOTO или этапа перепада температуры. Выполните следующие действия для вставки этапа в правой части существующего этапа выполнения протокола:

1. Поставьте курсор слева от этапа, перед которым необходимо вставить новый этап.
2. Нажмите кнопку **Insert (Вставить)**.
3. Выберите тип вставляемого этапа.
Нажмите кнопку **Temperature (Температура)** для вставки этапа изменения температуры, кнопку **Gradient (Перепад температуры)** для вставки этапа перепада температуры или кнопку **GOTO (Перейти к)** для вставки этапа GOTO.
4. Новый этап изменения температуры имеет целевую температуру по умолчанию **50°C** и время по умолчанию **30 сек (0:30)**. Нажмите кнопки времени или температуры для редактирования этих параметров в новом этапе.

Удаление этапа выполнения протокола

Для безвозвратного удаления любого этапа из протокола:

1. Выберите удаляемый этап.
2. Нажмите кнопку **Delete (Удалить)** для удаления выбранного этапа.

Добавление или удаление значения перепада температуры

Для добавления перепада температуры в этап изменения температуры:

1. Выберите этап в протоколе и нажмите кнопку **Options (Опции)**.

- В меню **Step Options (Опции этапа)** поставьте флажок в пункте **Gradient**. Флажок появится в пункте перепада температуры и появится диапазон значений перепада температуры (рис. 14).

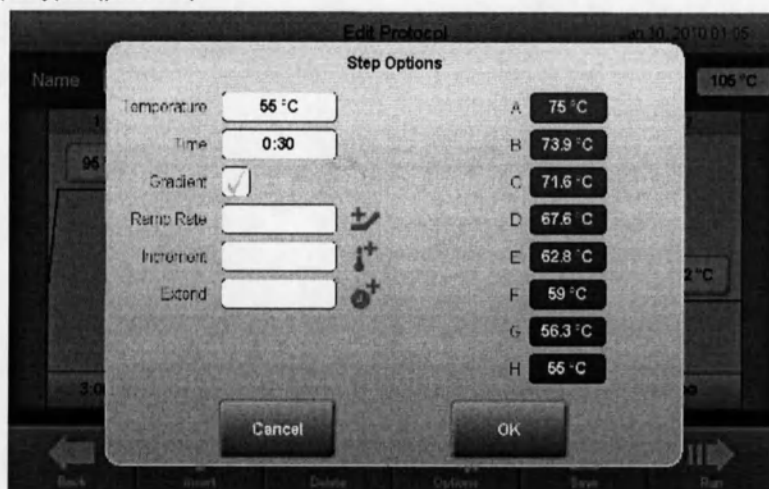


Рисунок 14. В меню Step Options отображается значение перепада температуры.

- Нажмите любое значение перепада температуры для изменения значения с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
ПРИМЕЧАНИЕ: значение перепада температуры должно находиться в пределах от 1 до 24°C.
ПРИМЕЧАНИЕ: этап перепада температуры может также включать параметр **Extend (Увеличить)**, но не может включать такие параметры, как **Increment (Приращение)**, **Beep (Звуковой сигнал)** или **Ramp Rate (Скорость изменения)**.
- Нажмите кнопку **OK** для продолжения.
- После того, как вы ввели значение перепада температуры в этапе, можно отредактировать максимальную и минимальную температуру, либо нажатием кнопок, либо с помощью меню **Gradient Editor (Редактор перепада температуры)** (рис. 15).

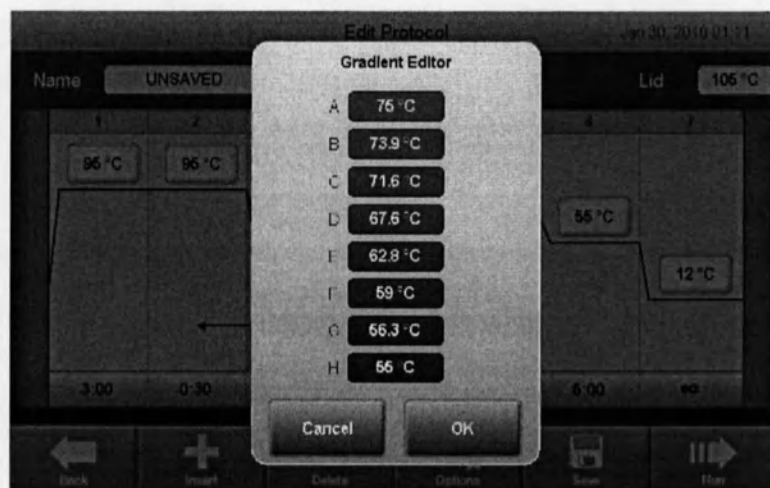


Рисунок 15. Окно Gradient Editor.

Для удаления значения перепада температуры:

- Выберите шаг перепада температуры, а затем нажмите кнопку **Options**. Появится меню **Step Options**.
- Нажмите пункт **Gradient** для снятия флажка.

Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Редактирование скорости изменения

Для имитации термоциклера, который работает с меньшей скоростью изменения по сравнению с термоциклером серии C1000 Touch, отредактируйте значение скорости изменения соответствующего этапа протокола. Для редактирования скорости изменения:

1. Выберите этап в протоколе и нажмите кнопку **Options**.
2. Нажмите кнопку **Ramp Rate**.
3. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
4. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.
5. Для удаления скорости измерения выберите этап в протоколе, а затем нажмите кнопку **Options**.
Появится меню **Step Options**. Нажмите кнопку **Ramp Rate** и используйте кнопку удаления символов на всплывающей цифровой клавиатуре для удаления символов.
6. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Добавление или удаления значения шага изменения температуры

Приращение увеличивает или уменьшает целевую температуру на один шаг в каждом цикле. Для добавления или удаления шага изменения температуры:

1. Выберите этап в протоколе и нажмите кнопку **Options**.
2. Нажмите кнопку **Increment**.
3. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
4. Нажмите кнопку **OK**.
5. Для удаления шага изменения температуры выберите этап в протоколе, а затем нажмите кнопку **Options**.
Появится меню **Step Options**. Нажмите кнопку **Increment** и используйте кнопку удаления символов на всплывающей цифровой клавиатуре для удаления символов.
6. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Добавление или удаление значения увеличения времени

Для увеличения или уменьшения времени выдержки в каждом цикле используйте функцию увеличения времени:

1. Выберите этап в протоколе и нажмите кнопку **Options**.
2. Нажмите кнопку **Extend**.
3. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
4. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.
5. Для удаления значения увеличения времени выберите этап в протоколе, а затем нажмите кнопку **Options**.
Появится меню **Step Options**. Нажмите кнопку **Extend** и используйте кнопку удаления символов на всплывающей цифровой клавиатуре для удаления символов.
6. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Добавление или удаление значения звукового сигнала

Звуковой сигнал является звуком, подаваемым термоциклером при достижении им целевой температуры этапа протокола. Для добавления или удаления звукового сигнала:

1. Выберите этап в протоколе и нажмите кнопку **Options**.
2. Нажмите пункт **Beep**. В пункте **Beep** поставьте флажок.
3. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.
4. Для удаления звукового сигнала выберите этап в протоколе, а затем нажмите кнопку **Options**.
Появится меню **Step Options**. Удалите звуковой сигнал, нажав на пункт **Beep** для снятия флажка.
5. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Изменение параметров в этапе GOTO

Этап **GOTO** подаёт команду на термоциклер о повторе набора шагов в цикле. Этот этап создаёт цикл в эксперименте PCR. На рисунке 16 показан пример, когда параметры этап включают шаг 1 **GOTO** и 34 дополнительных повтора.

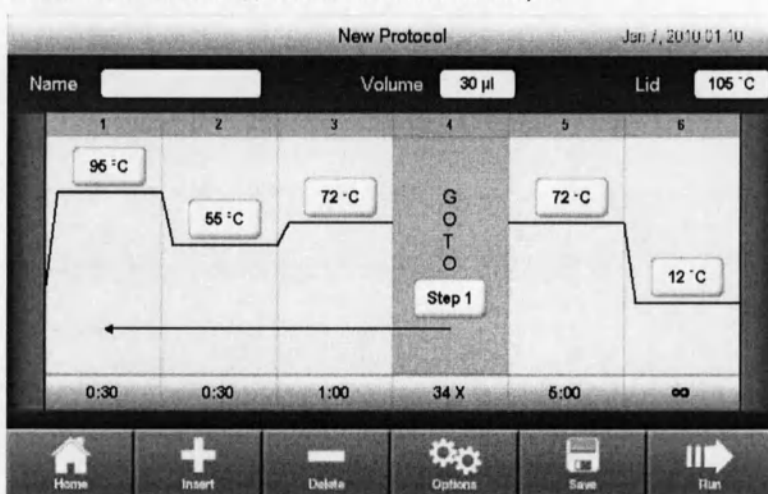


Рисунок 16. Протокол, включающий этап 1 GOTO и 34 дополнительных повтора.

Для изменения параметров в шаге **GOTO** выполните следующие действия:

1. Для изменения номера шага **GOTO** нажмите кнопку Step Number (Номер шага).
2. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку Repeat Times (Число повторов) для изменения числа повторяемых наборов шагов в цикле **GOTO**.
4. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
5. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Объём образца и температура крышки

- **Объём образца** — определяет режим контроля температуры

- **Температура крышки** – определяет температуру нагреваемой крышки. Если температура слишком высокая, температура образца может подняться выше целевого уровня.

Термоциклер серии C1000 Touch обеспечивает два способа управления и ввода настроек объёма образца и температуры крышки:

- Измените настройку при создании и редактировании протокола (стр. 18).
- Измените настройку при выполнении операции (стр. 21).

Режимы контроля температуры

Термоциклер серии C1000 Touch использует один из двух режимов контроля температуры для определения времени достижения образцом целевой температуры:

- **Режим вычислений** – если введено значение объёма образца больше 0, термоциклер рассчитывает температуру образца на основании объёма образца. Рекомендуется использовать режим вычислений, так как он более точно отображает фактическую температуру образца.
- **Режим блока** – при вводе значения объёма образца (0) мкл, термоциклер считает, что температура образца равна измеренной температуре блока.

Выбор температуры крышки

Регулируемая нагреваемая крышка термоциклера серии C1000 Touch позволяет пользователю контролировать температуру и усилие крышки. Нагревание крышки позволяет предотвратить образование конденсата внутри ячеек для проведения реакций. Во время работы термоциклера серии C1000 Touch нагреваемая крышка поддерживает температуру, указанную для выполняемого протокола. Без нагреваемой крышки вода из реагентов может перейти в состояние конденсата, создавая концентрацию реактивов в трубке или плашке.

Температура крышки термоциклера серии C1000 Touch по умолчанию составляет 105°C для блоков для проведения реакций с 96 ячейками или двойных блоков с 48 ячейками и 95°C для блоков с 384 ячейками.

ПРИМЕЧАНИЕ: если блок работает в течение неопределённого времени выдержки при температуре менее 30,0°C, температура нагревателя крышки составляет 31,0°C.

Изменение объёма образца

Для изменения объёма образца в меню нового протокола или в меню Protocol Editor:

1. Нажмите кнопку **Volume**.
2. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

ПРИМЕЧАНИЕ: при вводе значения больше нуля в кнопке **Volume (Объём)** происходит выбор режима **вычислений температуры**, который является стандартным режимом. При вводе значения **ноль (0)** в кнопке **Volume** происходит выбор **режима блока**. Рекомендуется использовать режим вычислений, так как он более точно отображает фактическую температуру образца.

Изменение температуры крышки

При использовании блока для проведения реакций с 96 ячейками или двойного блока с 48 ячейками рекомендованная температура крышки составляет 105°C. При использовании блока с 384 ячейками рекомендованная температура крышки составляет 95°C.

Для изменения температуры крышки в меню нового протокола или в меню Protocol Editor:

1. Нажмите кнопку **Lid (Крышка)**.

2. Введите значение с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку **ОК** для подтверждения выполняемого действия.

Присвоение имени протоколу

Для нового протокола необходимо указать имя, которое впоследствии при необходимости можно изменить: При редактировании существующего протокола пользователь имеет возможность переименовать протокол. При переименовании протокола исходный протокол не удаляется.

Для присвоения имени протоколу в меню нового протокола или меню Protocol Editor:

1. Нажмите кнопку **Name**.
2. Введите имя с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку **ОК** для подтверждения выполняемого действия.

ПРИМЕЧАНИЕ: имя протокола в термоциклере серии C1000 Touch может включать до двенадцати букв и цифр. Его нельзя скопировать в ту же папку.

Сохранение протокола

Для сохранения нового или изменённого протокола:

1. Нажмите кнопку **Save** после того, как протокол будет отредактирован и готов к сохранению.
При сохранении протокола под тем же именем происходит замена исходного протокола. При сохранении протокола под новым именем происходит добавление нового протокола, при этом старый протокол или его имя не удаляются.
2. Для сохранения протокола под новым именем нажмите кнопку **File Name (Имя файла)** и введите новое имя.
3. Выберите каталог и папку с помощью соответствующего ниспадающего списка.
На рисунке 17 выбрана папка **Adam**. Нажмите кнопку **New Folder (Новая папка)** для создания новой папки, если необходимо.

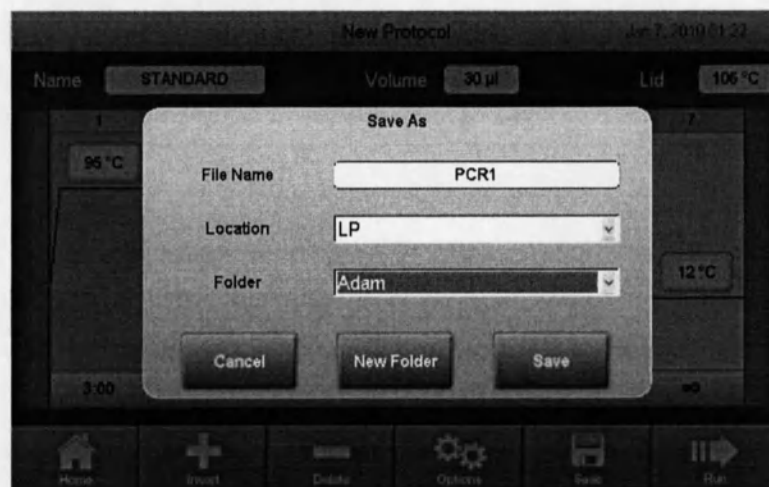


Рисунок 17. В этом примере выбрана папка Adam.

4. Нажмите кнопку **Save (Сохранить)**.

3 Выполнение протоколов

Прочитайте этот раздел для получения информации о выполнении протоколов.

- Подготовка к выполнению протокола (стр. 21)
- Контроль выполнения (стр. 23)
- Приостановка и возобновление выполнения (стр. 24)
- Пропуск этапов в протоколе (стр. 25)
- Отмена выполнения (стр. 25)
- Инкубирование образцов (стр. 25)

Подготовка к выполнению протокола

Для запуска протокола используйте один из следующих способов:

- Выберите протокол из директории Saved Files (Сохраниённые файлы), затем нажмите кнопку **Run (Выполнить)**.
 - Отредактируйте протокол в директории , затем нажмите кнопку **Run**.
 - Создайте новый протокол, затем нажмите кнопку **Run**.
1. Если к термоциклеру серии C1000 Touch™ подключено несколько блоков, откроется окно выбора блоков.
 2. Выберите блоки модуля для проведения реакций, в которых необходимо выполнить протокол путём установки флажка в пункте Next to the desired blocks (Перейти к требуемому блоку). В качестве альтернативы нажмите кнопку **Select All (Выбрать всё)** для выбора всех имеющихся блоков. В пункте появится флажок, указывая на то, что блок выбран.
 3. При выполнении протокола на нескольких блоках определите порядок запуска блоков: по отдельности или одновременно. Поставьте флажок в пункте **Confirm all blocks individually (Подтвердить все блоки индивидуально)** при запуске блоков в разное время.
 4. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

На рисунке 18 выполнение протокола на обоих блоках начнётся одновременно.



Рисунок 18. Несколько блоков выполняют один и тот же протокол одновременно.

5. Подтвердите или измените параметры выполнения перед началом выполнения.
СОВЕТ: значение, введенное в поле **Sample Volume**, определяет режим контроля температуры. Если введено значение образца больше 0 (ноль), прибор использует режим вычислений для расчёта целевой температуры. Если в поле **Sample Volume** введено значение 0 (ноль), используется режим блока, и в этом случае термоциклер предполагает, что температура образца совпадает с температурой блока.

На рисунке 19 параметры выполнения включают объём образца 10 мкл и температуру крышки 105°C. (Нажмите кнопку **OK** для отключения этих полей и выполнения протокола без ввода дополнительных параметров).

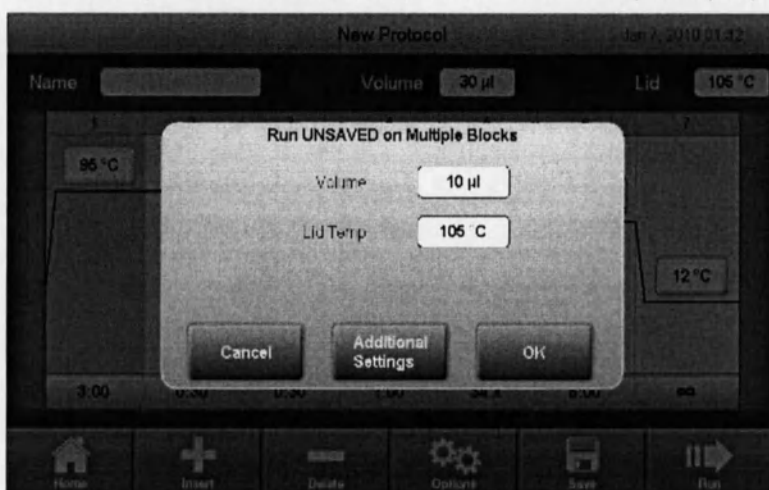


Рисунок 19. Параметры выполнения протокола.

6. Для добавления опциональных дополнительных настроек нажмите кнопку **Additional Settings (Дополнительные настройки)** для ввода имя пользователя, адреса электронной почты (для отправки уведомления по электронной почте о завершении выполнения протокола), идентификатор образца или для настройки скорости изменения для всех этапов протокола (рис. 20). Также выполните протокол в термоциклере серии C1000 Touch с той же скоростью изменения, что и скорость изменения термоциклера DNA Engine® путём установки флажка в пункте **DNA Engine Ramp**.



Рисунок 20. Включите дополнительные настройки в ваш протокол, включая выполнение протокола в режиме DNA Engine Ramp и отправку уведомления по электронной почте по завершению выполнения протокола.

7. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.
8. Начните выполнение протокола нажатием кнопки **OK** в окне подтверждения выполнения протокола.

Контроль выполнения протокола

Во время выполнения протокола кнопки статуса в главном меню (кнопки отображают иконку устройства и оставшееся время) обеспечивают возможность контроля всех блоков.

Для просмотра детального статуса выполнения протокола конкретного термоциклера нажмите кнопку Status (Статус) интересующего термоциклера.

ПРИМЕЧАНИЕ: если термоциклер имеет двойной модуль для проведения реакций с 48/48 ячейками, вы можете выбрать отдельные блоки для проведения реакций с маркировкой A и B для просмотра детального статуса выполнения операции каждого блока. Находясь в меню статуса, выберите для просмотра другие блоки для проведения реакций, выбрав их в ниспадающем списке.

9. Для постоянно работающего блока нажмите кнопку **View Clock (Отобразить часы)** для переключения меню, отображающих статус в графическом виде (рис. 21) и статус по оставшемуся времени (рис. 22).

Нажмите кнопку **View Status (Отобразить статус)** для возврата в меню статуса.

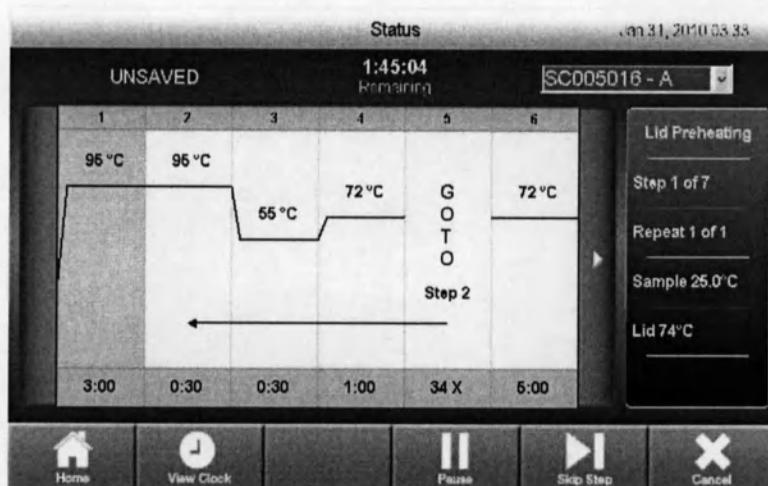


Рисунок 21. Меню Status.



Рисунок 22. Меню с отображением статуса по оставшемуся времени.

Приостановка и возобновление выполнения протокола

Выполняемый протокол может быть временно приостановлен в меню статуса протокола. Во время паузы термоциклер продолжает нагревание или охлаждение до целевой температуры, при этом температура крышки поддерживается на одном уровне.

СОВЕТ: после аварийного отключения питания термоциклер серии C1000 Touch автоматически возобновляет выполнение протокола, но также и отображает предупредительное сообщение.

Для приостановки и последующего возобновления выполнения протокола:

1. Нажмите кнопку **Pause (Пауза)** в меню Status.

ВНИМАНИЕ! Приостановка выполнения этапа может отрицательно повлиять на итоговые результаты реакции PCR. Если выполнение протокола приостанавливается на этапе изменения температуры, целевая температура реакции PCR будет поддерживаться в течение более продолжительного времени выдержки, чем это требуется этапом протокола.

2. Для возобновления выполнения протокола нажмите кнопку **Resume** (**Возобновить**).

Пропуск этапов выполнения протокола

При необходимости можно пропустить этап для уменьшения времени выполнения протокола в процессе его выполнения. Путём повторного пропуска этапов можно пропустить несколько циклов GOTO и уменьшить протокол.

1. Для пропуска текущего этапа протокола в меню Status нажмите кнопку **Skip** (**Пропустить**).
2. Нажмите кнопку Skip несколько раз для пропуска нескольких этапов.

Отмена выполнения операции

Протокол может быть отменен в процессе его выполнения. В случае отмены выполнения протокола блок немедленно прекращает изменять температуру.

ПРИМЕЧАНИЕ: не выключайте термоциклер сразу же после отмены выполнения протокола. Вентиляторы должны работать достаточно длительное время для охлаждения блока.

Для отмены протокола, выполняемого в одном блоке:

1. Откройте меню Status.
2. Нажмите кнопку **Cancel** для прекращения выполнения протокола в одном блоке.

ПРИМЕЧАНИЕ: для прекращения выполнения протоколов в нескольких блоках выберите каждый отдельный блок в ниспадающем списке и нажмите кнопку **Cancel**. Продолжайте выполнять это действие до тех пор, пока выполнение протокола не будет прекращено во всех блоках.

Инкубирование образцов

Вы можете держать образцы при постоянной температуре в течение любого времени.

ВНИМАНИЕ! Инкубирование образцов в течение продолжительного времени при температуре 4–10°C, в частности, на участках с повышенным уровнем влажности, может привести к излишней конденсации влаги вокруг блока.

Чтобы начать инкубирование образцов при постоянной температуре:

1. Нажмите кнопку **INCUBATE** (**Инкубировать**) в главном меню.

Открывается меню **Incubate** (рис. 23).

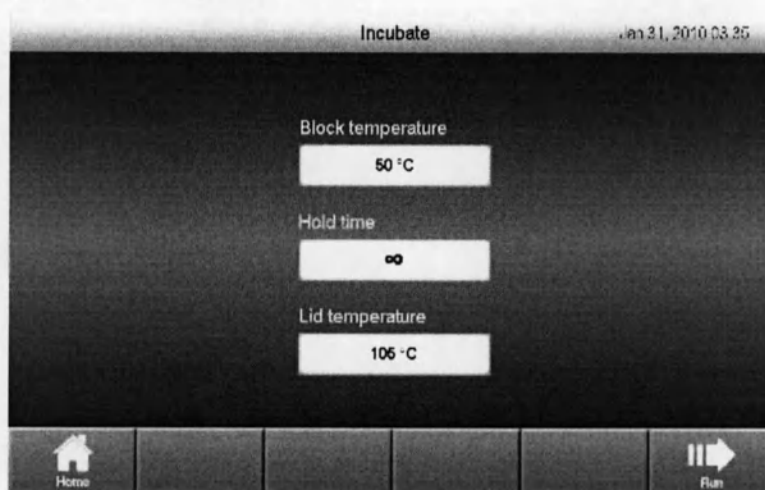


Рисунок 23. Меню Incubate.

ПРИМЕЧАНИЕ: Температура блока по умолчанию, время выдержки и температура крышки будут такими же, как и во время последней выполняемой операции инкубирования.

ПРИМЕЧАНИЕ: при выполнении инкубирования при температуре ниже 30°C температура крышки будет находиться на уровне 31°C для предотвращения излишнего образования конденсата.

2. Введите **температуру блока, время выдержки и температуру крышки** путём нажатия соответствующих кнопок и ввода значений с помощью всплывающей цифровой клавиатуры.
3. Нажмите кнопку **Run** для запуска процесса инкубирования.
ПРИМЕЧАНИЕ: если подключено несколько блоков, пользователь может выбрать соответствующие блоки для выполнения процесса инкубирования.
4. Для завершения процесса инкубирования и просмотра окончательного меню статуса нажмите кнопку **Cancel**.

4 Программа Protocol AutoWriter

Прочитайте данный раздел для получения информации об использовании программы Protocol AutoWriter.

- Создание протокола с помощью программы Protocol AutoWriter (стр. 27)
- Обзор программы Protocol AutoWriter (стр. 29)
- Калькулятор T_a (стр. 30)

Создание протокола с помощью программы Protocol AutoWriter

Выполните следующие действия, чтобы использовать программу Protocol AutoWriter для создания нового протокола:

1. Нажмите кнопку Protocol AutoWriter в главном меню.
2. Выберите энзим, который будет использоваться для проведения реакции.

Выбором по умолчанию для полимеразы является ДНК-полимераза типа **iTaq™**. Если используется ДНК-полимераза типа **iProof™**, нажмите кнопку с зависимой фиксацией iProof для выбора полимеразы типа iProof.

ПРИМЕЧАНИЕ: Если выбрана полимеразы типа iProof, протокол автоматически прибавляет 3°C к значению T_a . Если нажата кнопка с зависимой фиксацией **Other (Другое)**, появляются дополнительные опции, такие как Hot Start Activation (Включение режима пуска из горячего состояния) (рис. 24).

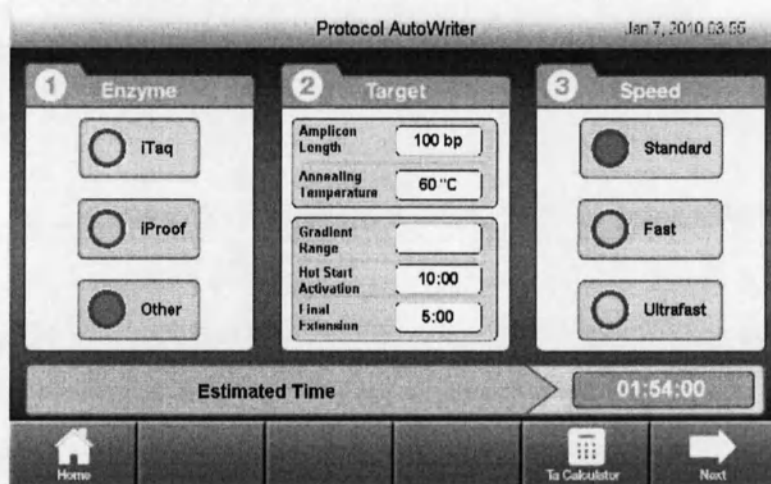


Рисунок 24. Если для энзима выбран пункт Other, появляются дополнительные опции.

3. Нажмите кнопку **Amplicon Length (Длина ампликона)** и введите длину ампликона в парах оснований (п.о.).

4. Нажмите кнопку **Annealing Temperature (Температура нагревания)** и введите значение T_a в °C.
5. Нажмите кнопку с зависимой фиксацией, соответствующую требуемой скорости реакции.

Температура нагревания и общее расчётное время выполнения протокола изменится в случае изменения скорости. Температура нагревания, используемая в программе, будет на 4°C ниже средней температуры T_m праймера для стандартной скорости и на 2°C ниже средней температуры T_m праймера для высокой скорости. Не отрегулированная средняя температура T_m праймера будет использоваться для сверхвысокой скорости.

6. Нажмите кнопку **Next** для просмотра нового протокола в меню Edit Protocol (Редактирование протокола). Порядок редактирования протокола смотри в разделе "Создание, редактирование, присвоение имени и сохранение протоколов" на странице 11.
7. Нажмите кнопку **Back** для возврата в меню Protocol Autowriter.
8. Нажмите кнопку **Save** для сохранения протокола или кнопку Run для выполнения протокола.

Создание протокола при неизвестном значении T_a

Если значение T_a неизвестно, выполните следующие действия для создания протокола с помощью программы Protocol AutoWriter.

1. Нажмите кнопку Protocol AutoWriter в главном меню.
2. Нажмите кнопку **T_a Calculator (Калькулятор T_a)**.
3. Нажмите кнопку **Forward Primer (Вводимый праймер)** и введите последовательность праймера с помощью кнопок **A, T, G, C**. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.
4. Нажмите кнопку **Reverse Primer (Итоговый праймер)** и введите последовательность праймера с помощью кнопок **A, T, G, C**. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Для исправления неверного основного ввода в всплывающем окне ввода последовательности нажмите кнопку **BACK (Назад)** и удалите ранее добавленное значение.

Для удаления всей последовательности праймера во всплывающем окне T_a Calculator (Калькулятор T_a) нажмите соответствующую кнопку удаления.

Программа Protocol AutoWriter рассчитывает и отображает на дисплее значение T_m каждого праймера, а также средние значения T_m и T_a (рис. 25).

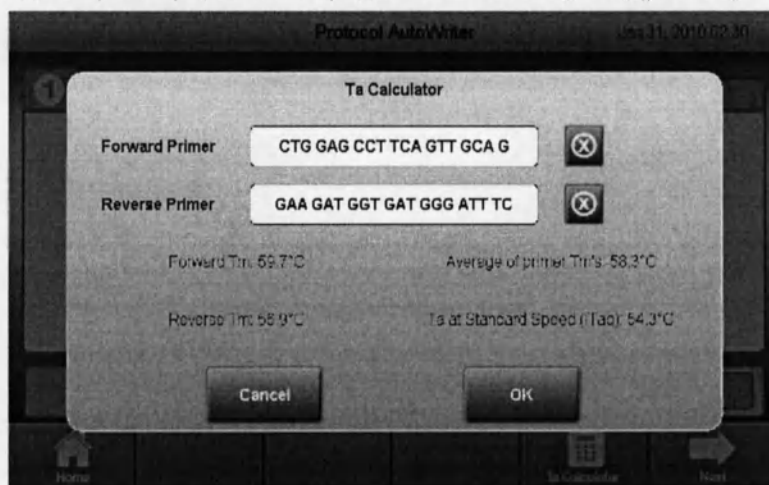


Рисунок 25. Рассчитывается значение T_m каждого праймера и средние значения T_m и T_a .

ПРИМЕЧАНИЕ: если значения T_m праймера больше 4°C, программа Protocol AutoWriter использует меньшее значение T_m праймера + 2°C в качестве основы для расчёта значения T_a , которое впоследствии может быть изменено путём выбора энзима и скорости реакции. **ПРИМЕЧАНИЕ:** калькулятор T_a рассчитывает температуру нагревания для стандартной скорости с ДНК-полимеразой типа iTaQ. При использовании другого энзима настройки скорости автоматически изменяют значение T_a .

5. Нажмите кнопку **OK** для возврата в меню Protocol Autowriter.

Обзор программы Protocol AutoWriter

Программа Protocol AutoWriter использует стандартные инструкции PCR, которые автоматически создают циклические протоколы с начальной денатурацией образца и активацией энзима с последующими циклами денатурации, нагревания, элонгации и этапами конечной элонгации. Протоколы основаны на таких параметрах, вводимых пользователем, как целевая длина ампликона, тип энзима и температура нагревания или последовательности праймера.

Протоколы, созданные программой Protocol AutoWriter при различных настройках скорости (**стандартная, высокая и сверхвысокая**), могут привести к получению различных продуктов, так как программа может регулировать температуру нагревания, уменьшать общее число этапов протокола или повторений GOTO, сокращать время выдержки или уменьшать перепады температур между этапами для создания этих протоколов.

В программе Protocol AutoWriter используются установленные стандарты PCR, которые содержат таблицы данных для создания конечных предполагаемых протоколов: Это либо стандартный двухэтапный протокол, либо трехэтапный протокол с этапом конечной элонгации.

Ниже представлены этапы и диапазон значений, создаваемые программой Protocol AutoWriter:

1. **Этап включения режима пуска из горячего состояния/денатурации** – этот этап выполняется при температуре 95–98°C в течение 30 или 180 секунд в зависимости от типа энзима и используемой настройки скорости.
2. **Этап денатурации** – этот этап выполняется при температуре либо 95, либо 98°C в течение 5-30 секунд в зависимости от типа энзима и используемой настройки скорости.
3. **Этап нагревания** – на данном этапе программа Protocol AutoWriter использует либо температуру нагревания (T_a) праймера на стандартной скорости, которая рассчитывается калькулятором T_a , либо значение, введённое пользователем.
 - **Продолжительность времени нагревания** – диапазон от 10 до 30 секунд в зависимости от настройки скорости. Двухэтапный протокол, включающий этапы нагревания и удлинения
 - **Температура нагревания (T_a)** – эта температура рассчитывается на основе характеристик праймера и выбранной скорости реакции. Если выбран энзим типа iProof, к значению T_a прибавляется 3°C
4. **Этап удлинения (только для трехэтапных протоколов)** – все этапы удлинения выполняются при температуре 72°C с продолжительностью, основанной на расчёте времени из заданного времени на т.п.н. (например, 60 сек/т.п.н.) самого большого ампликона в ёмкости, часто с некоторыми изменениями при меньших размерах ампликона.
5. **Число повторов** – этапы повторяются 25-40 раз в зависимости от выбранной скорости.
6. **Конечный этап удлинения** – этот этап выполняется при температуре 72°C в течение 1-5 минут в зависимости от выбранной скорости.

Программа Protocol AutoWriter использует информацию о реакции для автоматической записи протокола. Эта функция позволяет пользователю вводить следующую информацию об эксперименте с PCR:

- **Праймеры** – введите значение T_a реакции для используемых праймеров. Если значение T_a неизвестно, введите последовательность праймеров в калькуляторе T_a для того, чтобы программа Protocol AutoWriter рассчитал это значение

ПРИМЕЧАНИЕ: Значение T_a получено из информации о температуре плавления праймера (T_m), которая основана на выбранном энзиме и выбранной скорости протокола.

- **Длина ампликона** – введите предполагаемую длину продукта PCR
- **Тип энзима** – введите энзим ДНК-полимеразы (типа iTaq, iProof или **иной**)

Если должен использоваться энзим ДНК-полимеразы, не являющийся энзимом типа iTaq или iProof, введите дополнительную информацию, включая время включения режима пуска из горячего состояния и время конечного удлинения

- **Требуемая скорость проведения реакции** – выберите скорость проведения реакции (**стандартная, высокая или сверхвысокая**). Программа Protocol AutoWriter оптимизирует протокол в зависимости от выбранной настройки скорости.

Общее время проведения реакции определяется количеством этапов и циклов, временем инкубирования в каждом этапе и временем, необходимым для достижения однородности при целевой температуре.

Для уменьшения общего времени проведения реакции программа Protocol AutoWriter уменьшает одно или несколько следующих значений:

- Общее число этапов протокола (для праймеров с большими значениями T_m этапы нагревания и удлинения могут быть объединены в один этап)
- Число циклов
- Число выдержки в каждом этапе изменения температуры
- Время изменения между этапами (путём уменьшения изменения температуры при переходе от одного этапа к другому)

Например, программа Protocol AutoWriter может уменьшить протокол путём:

- Изменения исходной денатурации образца и этапа активации энзима с 95°C в течение времени выдержки 3 минут до 98°C в течение времени выдержки 30 секунд в каждом этапе изменения температуры
- Изменения этапа денатурации в каждом цикле с 95°C в течение 30 секунд до 92°C в течение 1 секунды
- Объединения этапов нагревания и удлинения в один этап при 70°C в течение 20 секунд

Калькулятор T_a

Калькулятор T_a рассчитывает значение T_m для каждого праймера, а также значение T_a для протокола на **стандартной** скорости.

Значение T_a для протокола основано на средних значениях T_m праймера с учётом следующих положений:

- Если разница между значениями T_m праймера $> 4^\circ\text{C}$, значение $T_a = (\text{меньше двух значений } T_m \text{ праймера} + 2) - 4^\circ\text{C}$
- Если разница между значениями T_m праймера $< \text{или} = 4^\circ\text{C}$, значение $T_a = (\text{среднее значение значений } T_m \text{ праймера}) - 4^\circ\text{C}$

Для каждого праймера калькулятор T_a использует метод расчёта пары оснований для последовательностей из 14 или менее пар.

$$T_m = ((w \cdot A + x \cdot T) \cdot 2) + ((y \cdot G + z \cdot C) \cdot 4)$$

где **w, x, y и z** являются номером оснований **A, T, G и C** в последовательности, соответственно.

Для последовательностей более 14 п.о. используется метод ближайших соседей:

В методе ближайших соседей расчёты температуры плавления основаны на термодинамическом соотношении между энтропией (порядок или единица измерения неупорядоченности олигонуклеотида), энтальпией (тепло, выделяемое или поглощаемое олигонуклеотидом), свободной энергией и температурой, где:

$$\Delta H = \Delta G + T \cdot \Delta S, \text{ где}$$

ΔH = величина энтальпии, Кал/моль*К

T = температура, градусы Кельвина.

ΔH = величина энтропии, Кал/моль*К

ΔG = свободная энергия Гиббса в Кал/моль*К

Изменение энтропии и энтальпии напрямую рассчитывается путём сложения значений для пар нуклеотидов, показанных на рисунке 26 (Бреслауер и др. 1986 г.).

Соотношение между свободной энергией и концентрацией реактивов и продуктов при равновесии определяется по формуле:

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln ((\text{ДНК} \cdot \text{праймер})/(\text{ДНК} + \text{праймер}))$$

где R – газовая постоянная (1.986 кал/моль*К)

Замена значения G в двух уравнениях и вычисление значения T даёт

$$T = \Delta H / (\Delta S + R \cdot \ln ((\text{ДНК} \cdot \text{праймер})/(\text{ДНК} + \text{праймер})))$$

Предполагается, что концентрация ДНК и концентрация комплекса ДНК-праймер равны.

Опытным путём было установлено, что происходит обмен свободной энергией 5 ккал (3,4 ккал (Сугимото и др., 1986 г.)) при переходе от одностаниковой ДНК к ДНК В-формы.

Предположительно это энергия образования спирали. В конечном счёте, добавление поправки к солям даёт уравнение, которое использует калькулятор T_a :

$$T = (\Delta H - 5(\text{ккал/К} \cdot \text{моль})) / (\Delta S + (R \cdot \ln(1/(\text{праймер})))) + 16,6 \log_{10}(\text{молярность соли})$$

Постоянная поправки для концентрации соли не требуется, так как различные параметры были определены при 1 М NaCl, а $\log_{10} 1$ равно нулю.

Термодинамические расчёты предполагают, что нагревание происходит при величине pH 7,0. Расчёты значения T_m предполагают, что последовательности не симметричны и содержат как минимум один **G** или **C**.

Последовательность олигонуклеотидов должна иметь длину как минимум 14 оснований для предоставления обоснованных значений T_m . При наличии менее 14 оснований используется метод расчёта пары оснований (рис. 26).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ		Дельта (H)	Дельта (S)	Дельта (G)
AA	TT	9.1	24	1.9
AT	TA	8.6	23.9	1.5
AC	TG	6.5	17.3	1.3
AG	TC	7.8	20.8	1.6
TA	AT	6	16.9	0.9
TT	AA	9.1	24	1.9
TC	AG	5.6	13.5	1.6
TG	AC	5.8	12.9	1.9
CA	GT	5.8	12.9	1.9
CT	GA	7.8	20.8	1.6
CC	GG	11	26.6	3.1
CG	GC	11.9	27.8	3.6
GA	CT	5.6	13.5	1.6
GT	CA	6.5	17.3	1.3
GC	CG	11.1	26.7	3.1
GG	CC	11	26.6	3.1

Рисунок 26. Константы взаимодействия Бреслауера.

5 Управление файлами и папками

Прочитайте данный раздел для получения информации об управлении файлами и папками протоколов.

- Окно Saved Files (Сохранённые файлы) (стр. 33)
- Управление файлами и папками (стр. 34)

Окно сохранённых файлов

Выполнение многих функций начинается с выбора протокола в окне Saved Files. Например, перед выполнением или редактированием любого протокола выберите файл требуемого протокола:

- Нажмите кнопку Run для выполнения требуемого протокола
- Нажмите кнопку Edit для редактирования требуемого протокола

Для открытия окна Saved Files нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню. Окно Saved Files обеспечивает доступ к различным директориям и папкам (рис. 27).



Рисунок 27. Окно Saved Files термоциклера серии C1000 Touch™.

- **Вкладка Location (Директория)** – содержит протоколы, сохранённые в термоциклере, включая папку **Bio-Rad PCR**, в которой хранятся предустановленные протоколы PCR. Если в базовом блоке установлен оптический модуль для проведения реакций серии CFX96™ или CFX384™, в этой директории также будет находиться папка **Bio-Rad qPCR**, в которой содержатся предустановленные протоколы qPCR.

- **Вкладка Recent (Недавние)** – содержит список всех ранее выполненных протоколов.
- **Вкладка Real-time data** – содержит последние 100 файлов данных PCR в режиме реального времени.
- **Вкладка User** – содержит папки, созданные пользователями для хранения персональных протоколов. Доступ к папкам пользователя имеет любой оператор, но редактирование, удаление или сохранение данных в папках пользователя может быть выполнено только пользователем, вошедшим в систему.
- **Вкладка Attached (Подключенное устройство)** (опция) – появляется при подключении к термоциклеру серии C1000 Touch внешнего устройства, например, USB флеш-дисков или термоциклеров серии S1000™.

Управление файлами и папками

Для управления файлами и папками нажмите кнопку Saved Files в главном меню для открытия окна Saved Files. Меню функций в окне Saved Files содержит опции для управления файлами и папками; изменения пунктов меню основаны на выборе пунктов. В таблице 8 представлены все функции папок и файлов, имеющиеся в окне Saved Files. Имя папки и файла может содержать максимум 12 символов при сохранении в термоциклере серии C1000 Touch. Имя папки и файла может содержать максимум 8 символов при сохранении в термоциклере серии S1000.

В таблице 8 представлены все функции папок и файлов, имеющиеся в окне Saved Files.

Функция	Описание
Folder options (Опции папки)	
Copy (Копировать)	Копирование имеющейся папки в другой термоциклер или USB флеш-диск
Delete (Удалить)	Удаление папки и всего её содержимого
Rename (Переименовать)	Переименование папки
File options (Опции файла)	
Copy (Копировать)	Копирование имеющийся файл в другую папку
Delete (Удалить)	Удаление файла
Rename (Переименовать)	Переименование файла
New Folder (Новая папка)	Создание новой папки в термоциклере серии C1000 Touch, подключенном термоциклере серии S1000 или USB флеш-диске
Home (Возврат в главное меню)	Возврат в главное меню

Создание новой папки

Для создания новой папки:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите **директорию**.

Как показано на рисунке 28, в директории термоциклера серии C1000 Touch будет создана новая папка (под названием SC005016).

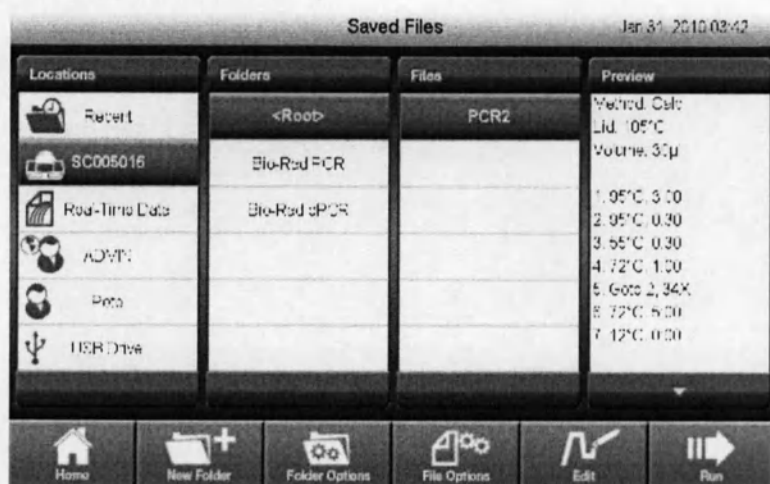


Рисунок 28. Выбор директории, в которой будет создана папка.

3. Нажмите кнопку **New Folder (Новая папка)** и введите имя папки с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры. Затем нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

Копирование папки

Для копирования папки в другую директорию:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите копируемую папку.
3. Нажмите кнопку **Folder Options (Опции папки)**.
4. Нажмите кнопку **Copy**.
5. Нажмите кнопку **Folder Name (Имя папки)**, если вы хотите изменить имя копируемой папки.
6. Выберите новую директорию в ниспадающем списке **Location (Директория)**, как показано на рисунке 29.



Рисунок 29. Новая директория для копируемой папки.

7. Нажмите кнопку **Save**.

Удаление папки

Для удаления папки и всего её содержимого:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите удаляемую папку.
3. Нажмите кнопку **Folder Options**.
4. Нажмите кнопку **Delete (Удалить)**.
5. Нажмите кнопку **Yes** для подтверждения выполняемого действия.

Переименование папки

Для переименования папки:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите переименовываемую папку.
3. Нажмите кнопку **Folder Options**.
4. Нажмите кнопку **Rename (Переименовать)**.
5. Введите новое имя папки с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
6. Нажмите кнопку **OK** и подтвердите, что папка была успешно переименована.

Копирование файла

Для копирования файла:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите копируемый файл.
3. Нажмите кнопку **File Options**.
4. Нажмите кнопку **Copy**.
5. Нажмите кнопку **File Name (Имя файла)**, если вы хотите изменить имя копируемого файла.
6. Используйте ниспадающие списки для выбора **директории** и **папки**, в которые будет скопирован файл, как показано на рисунке 30.



Рисунок 30. Выбор новой директории и папки.

ПРИМЕЧАНИЕ: При необходимости, нажмите кнопку **New Folder** для создания новой папки, в которую будет скопирован файл.

7. Нажмите кнопку **Save** и подтвердите, что файл был успешно скопирован.

Удаление файла

Для удаления файла:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите удаляемый протокол.
3. Нажмите кнопку **File Options**.
4. Нажмите кнопку **Delete (Удалить)**.
5. Нажмите кнопку **Yes** для подтверждения выполняемого действия.

Переименование файла

Для переименования файла:

1. Нажмите кнопку **Saved Files** в главном меню.
2. Выберите переименовываемый протокол.
3. Нажмите кнопку **File Options**.
4. Нажмите кнопку **Rename (Переименовать)**.
5. Введите новое имя с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
6. Нажмите кнопку **OK** для подтверждения выполняемого действия.

6 Расширенные функции

Прочитайте этот раздел для получения информации о расширенных функциях термоциклера серии C1000 Touch.

- Вход или выход из системы термоциклера серии C1000 Touch (стр. 39)
- Окно инструментов (стр. 40)
- Использование портов связи термоциклера серии C1000 Touch (стр. 41)
- Управление термоциклерами серии S1000™ с помощью термоциклера серии C1000 Touch (стр. 42)

Вход или выход из системы термоциклера серии C1000 Touch

Вход в систему термоциклера серии C1000 Touch выполняется опционально. Пользователь может выполнять и редактировать шаблоны протоколов, а также создавать папки и протоколы, не входя в систему. Если пользователь выберет опцию **New User (Новый пользователь)**, создаётся соответствующая учётная запись пользователя. Только пользователь, выполнивший вход в систему, может сохранять, редактировать или удалять протоколы в своих папках.

После входа в систему пользователь обладает следующими полномочиями:

- Выполнение протокола, имеющегося в основном блоке или в папке USERS
- Создание и редактирование протоколов в соответствующей папке USERS
- Копирование любого протокола и его сохранение в папке USERS
- Копирование протокола и его сохранение в папке USERS под новым именем

Выполните следующие действия для создания нового пользователя:

1. Нажмите кнопку **Log In** в главном меню для открытия окна входа пользователя в систему.
2. Нажмите кнопку **New User**.
3. Нажмите кнопку **User Name (Имя пользователя)** и введите имя пользователя с помощью всплывающей буквенно-цифровой клавиатуры.
4. Нажмите кнопку **Password (Пароль)** для ввода пароля пользователя (опционально).
5. Нажмите кнопку **Email Address (Адрес электронной почты)** для ввода адреса электронной почты пользователя (опционально). Если введён адрес электронной почты, сообщение по электронной почте будет отправлено по окончании выполнения протокола, если пользователь вошёл в систему при запуске выполнения протокола.
6. Нажмите кнопку **Create User (Создать пользователя)**.

Выполните следующие действия для входа или выхода из системы термоциклера серии C1000 Touch:

1. Нажмите кнопку **Log In** в главном меню и выберите пользователя.
2. Введите пароль с помощью буквенно-цифровой клавиатуры, а затем нажмите кнопку **OK**.
 ПРИМЕЧАНИЕ: Пароль может содержать комбинацию букв и цифр.
 ПРИМЕЧАНИЕ: Буквенно-цифровая клавиатура не будет отображаться на дисплее, если учётная запись пользователя не имеет пароля.
3. Выйдите из системы термоциклера, нажав кнопку **Log Out (Выход из системы)** в главном меню.

Окно инструментов

В меню User содержится перечень функций, имеющихся у оператора, который либо не вошёл в систему, либо вошёл в систему в качестве пользователя. Эти функции позволяют управлять термоциклером серии C1000 Touch, как показано на рисунке 31.

1. Нажмите кнопку в главном меню.



Рисунок 31. Меню User.

Функции в меню User предоставляют следующие опции:

- Пункт **About (О программе)** — предназначен для просмотра текущей версии и серийного номера программного обеспечения
- Пункт **System Logs (Журналы системы)** — предназначен для просмотра:
 - пункта **System Messages Log (Журнал сообщений системы)** — список сообщений, появляющихся при каждом выполнении протокола
 - пункта **System Usage Log (Журнал использования системы)** — список всех событий, происходящих при каждом выполнении протокола
- Пункт **Run Reports (Отчёты выполнения протокола)** — просмотр отчёта при каждом выполнении протокола. Отчёты также могут быть экспортированы на USB флеш-диск (для использования при обслуживании и ремонте термоциклера).
- Пункт **Gradient Calculator (Калькулятор перепада температуры)** — предназначен для расчёта перепада температуры в блоке.

Меню **Administrator (Администратор)** содержит перечень функций, имеющихся у оператора, вошедшего в систему в качестве администратора. Имеется два способа входа в систему в качестве администратора:

1. Нажмите кнопку **Log In** в главном меню. Выберите пункт **ADMIN (Администратор)**. Введите пароль администратора, если такое имя пользователя уже создано.
2. Нажмите кнопку **Tools** в главном меню. Нажмите кнопку **Admin**. Введите пароль администратора, если такое имя пользователя уже создано.

После входа пользователя в систему в качестве администратора меню **User** и **Admin** будут отображаться на дисплее. Администратор имеет доступ ко всем функциям в меню User и Admin.

На рисунке 32 показаны некоторые функции в меню **Admin**.



Рисунок 32. Меню Admin.

ПРИМЕЧАНИЕ: Только администратор, выполнивший вход в систему, может иметь доступ в меню **Admin**.

Функции в меню Admin предоставляют следующие опции:

- Пункт **System Settings (Настройки системы)** — предназначен для настройки уровней доступа пользователя для **открытия** требуемых пунктов меню или **входа в систему**. Также используется для настройки даты и времени термоциклера.
- Пункт **User Management (Управление пользователями)** — предназначен для добавления или удаления пользователей и сброса паролей.
- Пункт **Email Settings (Настройки электронной почты)** — предназначен для настройки информации сервера электронной почты.
- Пункт **Firmware Update (Обновление программного обеспечения)** — предназначен для обновления программного обеспечения термоциклера.
- Пункт **USB Thumb Key Test (Проверка совместимости с USB флеш-дискон)** — предназначен для проверки совместимости с USB флеш-дискон.
- Пункт **Touchscreen Calibration (Калибровка сенсорного экрана)** — предназначен для калибровки сенсорного экрана (используется при обслуживании и ремонте термоциклера).
- Пункт **System Backup/Restore (Резервное копирование/восстановление системы)** — предназначен для резервного копирования и восстановления настроек системы с USB флеш-диска.
- Пункт **Diagnostic Test (Диагностическая проверка)** — предназначен для выполнения серии или группы диагностических проверок термоциклера (используется при обслуживании и ремонте термоциклера).

Использование портов связи термоциклера серии C1000 Touch

Термоциклер серии C1000 Touch имеет несколько портов данных, которые могут использоваться для передачи данных в/из термоциклера:

- **USB порт A под передней панелью** — предназначен для передачи данных на USB флеш-диск и с него, либо для подключения USB мыши или клавиатуры.
- **USB порт B для компьютера на задней панели** — предназначен для подключения термоциклера серии C1000 Touch к компьютеру.
- **Четыре USB порта A, расположенные на задней панели** — предназначены для подключения до **трех** термоциклеров серии S1000; также могут использоваться для подключения USB флеш-диска, мыши или клавиатуры.
- **Последовательный контрольный порт на задней панели** — предназначен для проверки термоциклера ремонтным персоналом.

- **Порт Ethernet** — предназначен для подключения термоциклера сети.

Управление термоциклерами серии S1000 с помощью термоциклера серии C1000 Touch

Под управлением термоциклера серии C1000 Touch может работать до трёх термоциклеров серии S1000. Каждый термоциклер серии S1000 может быть подключен к термоциклеру серии C1000 Touch через USB порты A термоциклера серии C1000 Touch.

При подключении к термоциклеру серии C1000 Touch термоциклы серии S1000 могут контролироваться либо с помощью сенсорного экрана термоциклера серии C1000 Touch, либо с помощью ПК, подключенного к термоциклеру серии C1000 Touch, с установленной программой CFX Manager™ 2.1 (или следующей версии).

Подробное описание порядка работы термоциклера серии S1000 при подключении к термоциклеру серии C1000 Touch смотри в руководстве по эксплуатации термоциклера серии S1000.

Подключение термоциклеров серии S1000 напрямую к термоциклеру серии C1000

Для подключения до трёх термоциклеров серии S1000 напрямую к термоциклеру серии C1000 Touch выполните следующие действия:

1. Подключите высококачественный, экранированный USB кабель (например, USB кабель компании Bio-Rad, каталожный номер 184-8000) к USB порту B на задней панели термоциклера серии S1000.
2. Подключите другой конец USB кабеля к USB порту A на задней панели термоциклера серии C1000 Touch.

Термоциклер серии C1000 Touch обнаруживает подключенный термоциклер серии S1000 и отображает текущий статус в главном меню термоциклера серии C1000 Touch.

ПРИМЕЧАНИЕ: Если термоциклер серии S1000 имеет имя, то это имя отображается в кнопке статуса вместо серийного номера.

3. Повторите действия, указанные в пунктах 1 и 2, для подключения до трёх термоциклеров серии S1000 напрямую к этому же термоциклеру серии C1000 Touch.

Управление термоциклерами серии S1000, находящимися под контролем термоциклера серии C1000 Touch

Если термоциклер серии S1000 находится под контролем термоциклера серии C1000 Touch, то она работает в режиме полублокировки. В этом режиме термоциклер серии S1000 не реагирует при нажатии кнопок на панели управления. Однако на панели управления действуют следующие кнопки:

- **SCREEN (Экран)** — предназначена для доступа к окнам выполнения протокола, графического отображения и оставшегося времени.
- **PAUSE (Пауза)** — предназначена для временной приостановки протокола, выполняемого в термоциклере серии S1000. Эта функция активна при отображении окна отдельного протокола.
- **CANCEL (Отмена)** — предназначена для отмены протокола, выполняемого в термоциклере серии S1000. Эта функция активна при отображении окна отдельного протокола.
- **ENTER (Ввод)** — предназначена для начала выполнения протокола, который был отправлен дистанционно программой CFX Manager.
- **ENTER (Ввод)** — предназначена для пропуска этапа протокола. Эта функция активна при отображении окна отдельного протокола.

7 Техническое обслуживание, поиск и устранение неисправностей

Прочитайте этот раздел для получения информации о техническом обслуживании, а также поиске и устранении неисправностей термоциклера серии C1000 Touch™.

- Чистка и техническое обслуживание термоциклера серии C1000 Touch (стр. 43).
- Обеспечение достаточного потока воздуха (стр. 45).

Чистка и техническое обслуживание термоциклера серии C1000 Touch

Для правильной работы и точной регулировки температуры термоциклера серии C1000 требуется его незначительное техническое обслуживание. Тем не менее, при длительном и непрерывном использовании требуется чистка и прочее обслуживание термоциклера. В этом разделе содержится информация о порядке чистки основного блока и модуля для проведения реакций. Кроме того, здесь указаны инструкции по замене предохранителей.

Чистка термоциклера серии C1000 Touch

Чистка термоциклера серии C1000 Touch должна выполняться на регулярной основе для удаления любого мусора или грязи, которая попадет при правильном функционировании устройства. Очистите основной блок для предотвращения повреждения вентиляционных отверстий или отсека модуля для проведения реакций.

ПРИМЕЧАНИЕ: для получения инструкций по обращению и удалению радиоактивных и биологически опасных материалов изучите руководства по радиационной безопасности, принятые в вашем учреждении. Эти руководства включают методы очистки, контроля и утилизации опасных материалов.

Для чистки основного блока термоциклера выполните инструкции, указанные ниже; обратите особое внимание на предупреждения:

ВНИМАНИЕ! Для предотвращения удара электрическим током всегда выключайте и отключайте данное устройство от сети перед выполнением чистки.

- **Очищайте вентиляционные отверстия.** Удаляйте пыль мягкой щеткой, влажной тканью или пылесосом. Удаляйте любую тяжелую пыль, находящуюся глубоко в вентиляционных отверстиях, с помощью пылесоса. Чистка вентиляционных отверстий обеспечивает достаточный поток воздуха для точного контроля температуры во время работы.
- **Очищайте сенсорный экран.** Очищайте сенсорный экран с помощью любого средства для чистки сенсорного экрана, имеющегося в продаже. Используйте мягкую ткань для чистки сенсорного экрана.

ВНИМАНИЕ! Не распыляйте и не выливайте чистящее средство непосредственно на сенсорный экран.

ВНИМАНИЕ! Не используйте абразивные чистящие средства или грубый материал; он может поцарапать панель управления.

- **Очищайте отсек модуля для проведения реакций.** Очищайте влажной мягкой тканью для удаления мусора и разлитых жидкостей. Чистка отсека позволяет выполнять точное нагревание и охлаждение блока для проведения реакций.
ВНИМАНИЕ! Запрещается использовать очищающие растворы, коррозионные для алюминия. Избегайте царапания поверхности отсека; царапины на поверхности могут повлиять на точность контроля температуры.
ВНИМАНИЕ! Запрещается наливать воду или прочие растворы в отсек модуля для проведения реакций. Влажные компоненты могут привести к удару электрическим током при включении термоциклера в сеть.
- **Очищайте наружный корпус основного блока термоциклера.** Используйте влажную ткань или тонкую бумагу для удаления разливов с наружного корпуса. При необходимости используйте нейтральный мыльный раствор и полностью удаляйте остатки. Чистка наружного корпуса позволяет предотвратить коррозию.

Чистка модулей для проведения реакций

Регулярно очищайте модули для проведения реакций термоциклера серии C1000 Touch для предотвращения скопления и попадания реагентов внутрь устройства, при котором может произойти быстрое изменение температуры блока для проведения реакций.

Для чистки модуля для проведения реакций выполните следующие действия, уделив особое внимание предупреждениям:

- **ВНИМАНИЕ!** Для предотвращения удара электрическим током перед выполнением чистки всегда извлекайте модуль для проведения реакций из основного блока термоциклера.
- **Очищайте охлаждающие пластины.** Удаляйте пыль с охлаждающих пластин мягкой щёткой или влажной тканью. Удаляйте любую тяжёлую пыль, находящуюся глубоко в пластинах, с помощью пылесоса. Используйте воду и мягкую ткань для удаления мусора, застрявшего в пластинах. Избегайте царапания поверхности. Запрещается использовать очищающие растворы, коррозионные для алюминия, такие как отбеливающее вещество или абразивные чистящие средства. При необходимости используйте нейтральный мыльный раствор и полностью удаляйте остатки. Чистка пластин повышает точность нагревания и охлаждения образца.
- **Очищайте наружную крышку блока для проведения реакций.** Используйте мягкую ткань и воду для удаления мусора из наружного блока.
ВНИМАНИЕ! Запрещается чистить блок агрессивными щелочными растворами (агрессивное мыло, аммиак или высококонцентрированное отбеливающее средство). Запрещается использовать коррозионные или абразивные чистящие растворы. Такие чистящие средства могут повредить блок препятствовать точному контролю температуры.
- **Очищайте ячейки блока.** Немедленно удаляйте разливы для предотвращения их высыхания внутри ячеек. Используйте одноразовые пластиковые пипетки с водой (рекомендуется), 95% этиловым спиртом или раствором отбеливающего средства с водой с концентрацией 1:100. Всегда ополаскивайте ячейки водой несколько раз для удаления всех следов этилового спирта, отбеливающего средства или мыла.
ВНИМАНИЕ! Отбеливающее вещество, этиловый спирт или мыло, оставшееся в ячейках блока, может вызвать коррозию блока и/или разрушить трубки и микроплашки во время работы. Всегда ополаскивайте ячейки блока после каждой чистки, выполненной любым раствором, кроме воды.
- **При использовании масла следует выполнять тщательную и частую чистку ячеек.** Не рекомендуется использовать масло в ячейках. Очищайте масло, если оно изменило свой цвет или содержит грязь. Для удаления масла используйте 95% этиловый спирт. Не допускайте скопления масла в блоке.
ВНИМАНИЕ! Запрещается нагревать блок после добавления очищающего раствора. Нагревание блока с очищающим раствором приведёт к повреждению блока, крышки и основного блока термоциклера.
- **Очищайте внутреннюю крышку модуля для проведения реакций.** Используйте мягкую ткань и воду для удаления мусора и растворов с внутренней поверхности крышки. Не используйте абразивные чистящие средства или грубый материал, который может поцарапать поверхность. Чистка внутренней крышки повышает точность нагревания и охлаждения образца.

- **Очищайте внешнюю поверхность крышки модуля для проведения реакций.** Используйте влажную ткань или тонкую бумагу для удаления разливов с внешней поверхности корпуса. При необходимости используйте нейтральный мыльный раствор и очищайте поверхность влажной тканью. Чистка крышки предотвращает появление коррозии.

Обеспечение достаточного потока воздуха

Для термоциклера серии C1000 Touch требуется достаточный поток воздуха для нагревания и охлаждения в строгом соответствии с заданной целевой температурой. Если поток воздуха заблокирован, термоциклер не может достичь требуемой температуры в заданное время. В этом разделе содержатся инструкции для проверки потока воздуха и даются рекомендации о поддержании низкого или теплого потока воздуха.

Проверка на предмет достаточного потока воздуха

Поток воздуха достаточен, если термоциклер быстро нагревается и охлаждается до требуемой целевой температуры. При установке термоциклера серии C1000 Touch в новом месте выполните следующие действия для определения наличия достаточного потока воздуха:

1. Установите устройство в месте его предполагаемого использования, затем включите питание.
2. Создайте типовые условия окружающей среды.

Включите расположенное рядом оборудование, например, вентиляторы. Также откройте любые оконные шторы для создания типовых условий во время работы. Если в одном помещении установлено несколько термоциклеров, выполните протокол на всех термоциклерах одновременно.

3. Выполните типовой протокол PCR в течение 30 минут.

Для выполнения протокола образцы не требуются; однако должны быть установлена пустая микроплашка или трубки. Крышка не нагревается соответствующим образом, если она касается горячего блока модуля для проведения реакций.

4. Измерьте температуру воздуха в воздухоприёмных отверстиях всех термоциклеров. Если температура воздуха на входе превышает 31°C, смотри раздел "Решение проблемы недостаточного потока воздуха" для обеспечения достаточного потока воздуха.

Решение проблемы недостаточного потока воздуха

Если температура воздуха рядом с термоциклером превышает 31°C, выполните одно или несколько следующих изменений для увеличения потока охлаждающего воздуха вокруг термоциклера.

- Внесите изменения в условия окружающей среды для снижения температуры окружающего воздуха.
- Переставьте термоциклер в другое место.
- Обеспечьте больше места вокруг термоциклера серии C1000 Touch и между соседними приборами. Установите приборы таким образом, чтобы тёплый воздух, выходящий из одного прибора, не поступал в воздухоприёмные отверстия другого прибора.
- Отгородите термоциклер от других источников тепла, таких как радиаторы, тепловыделяющие приборы и яркий солнечный свет.

Замена предохранителей

Предохранители, установленные в термоциклере серии C1000 Touch, предназначены для сгорания в случае резких скачков напряжения или возникновения других причин короткого замыкания. Этот процесс защищает, как пользователя, так и устройства от избыточного электрического разряда. Предохранители, установленные в термоциклере серии C1000 Touch, практически не требуют замены. Однако в некоторых учреждениях предпочитают регулярно заменять предохранители для обеспечения бесперебойной работы.

Если термоциклер не включается, сначала следует проверить, что сетевой шнур подключен к работающему источнику питания. Также необходимо проверить, что сетевой шнур и источник питания отвечают техническим характеристикам, указанным для данного устройства. Для замены сетевого шнура обратитесь в службу технической поддержки компании Bio-Rad (для получения подробной информации смотри раздел "Источники информации компании Bio-Rad" на странице ii).

В конце проверьте, что предохранители исправны. В термоциклере серии C1000 Touch установлено два предохранителя (рис. 33). Для извлечения и проверки предохранителей выполните следующие действия:

ВНИМАНИЕ! Для предотвращения удара электрическим током всегда отключайте и выключайте прибор из сетевой розетки перед проверкой предохранителей.

1. Используйте небольшую монету для отворачивания винтов отсека для плавких предохранителей.

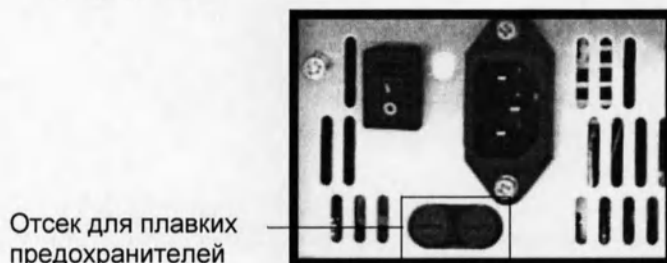


Рисунок 33. Отсек для плавких предохранителей на задней панели термоциклера серии C1000 Touch.

2. Откройте отсек для плавких предохранителей и извлеките каждый предохранитель.
3. Если предохранитель поврежден, замените его новым предохранителем и закройте отсек. Перегоревший предохранитель имеет разрыв или прогар в металле. Исправный предохранитель имеет целостную металлическую поверхность.

Приложение А: Список литературы

1. Бреслауер К.Дж. и др. (1986 г.) Определение устойчивости двухцепочечной ДНК по последовательности оснований, издательство Proc Nat Acad Sci 83, 3746–3750.
2. Сугимото Н. и др. (1996 г.). Улучшенные термодинамические параметры и фактор образования спирали для определения устойчивости двухцепочечной ДНК, издательство Nucleic Acids Res 24, 4501–4505.

A

- Добавление
 - Звуковой сигнал, 17
 - Увеличенное время, 16
 - Перепад температуры, 14
 - Шаг изменения температуры, 16
- Расширенные функции, 39
- Поток воздуха
 - проверка, 45
- Воздухоприёмные отверстия, 1
- Вентиляционные отверстия, 1
- Вкладываемые папки, 34

B

- Звуковой сигнал, 13, 17
- Компания Bio-Rad Laboratories
 - Контактная информация, ii
 - Источники информации, ii
 - Техническая поддержка, ii
 - Интернет-сайт, ii
- Бреслауер, 31, 32, 47
 - константы взаимодействия, 32

C

- Управляющее ПО термоциклера серии C1000, 42
- Термоциклер серии C1000
 - Поток воздуха, 45
 - Подключение к термоциклерам серии S1000, 42
 - Управление термоциклерами серии S1000, 39, 42
 - Недостаточный поток воздуха, 45
 - Вход в систему, 40
 - Выход из системы, 40
 - Эксплуатация термоциклеров серии S1000, 42
 - подключение, 4
 - Параметры протокола, 13
 - Изменение имени устройства, 7
 - автоматическая самодиагностика, 4
 - включение, 4
 - гарантия, ii
- Термоциклер серии C1000 Touch, i
 - Прекращение выполнения протокола, 25
 - Панель управления, 42
 - охлаждающие пластины, 2
 - копирование
 - всех файлов из папки, 35
 - папки, 35
 - протокола, 36
 - Создание новой папки, 34
 - Создание протокола, 11

- Программа Protocol AutoWriter, 27
- значение Ta не известно, 28

D

- Удаление
 - папки, 36
 - протокола, 37

E

- редактирование протокола, 14
 - Добавление времени удлинения, 16
 - В этапе GOTO, 17
 - Удаление звукового сигнала, 17
 - Удаление значения скорости изменения, 16
 - Удаление значения перепада температуры, 16
 - Удаление значения времени удлинения, 16
- Настройка уведомления по электронной почте в автономном режиме работы, 1, 7
- Сообщения об ошибках, 46
 - увеличить
 - Время выдержки, 13, 16
 - Удаление значения времени, 16

F

- Директория файлов
 - Вкладываемые папки, 34
 - Открытие файлов, 33
 - Папка PREVIOUS RUNS, 34
 - Папка протоколов, 33
 - Папка SYSTEM, 34
 - Папка USERS, 34
- папка
 - Копирование всех файлов, 35
 - Копирование или перемещение, 35
 - Создание новой, 34
 - удаление, 36
 - переименование, 36
 - предохранители, 46

G

- Перепад
 - добавление, 14
 - определение, 13
 - диапазон, 13
 - удаление, 15

Н

Время выдержки
изменение, 14

И

приращение
добавление, 16
определение, 13
Инкубирование образцов, 25
Завершение инкубирования, 26

L

Рукоятка крышки, 2
Температура крышки
изменение, 18
Роль в выходе PCR, 18
Вход в систему, 40
Выход из системы, 40

M

Техническое обслуживание
Модули для проведения
реакций, 44
Управление папками протоколов, 34
перемещение
папки, 35
протокола, 36

P

Приостановка выполнения, 24
Папка PREVIOUS RUNS, 34
протокол
Копирование или
перемещение, 36
папка, 33
управление папками, 34
контроль выполнения, 23
Присвоение имени, 19
Приостановка выполнения, 24
переименование, 37
Работа нескольких блоков, 21
Сохранение, 19
Пропуск этапов, 25
Программа Protocol AutoWriter
Создание протокола, 27, 28
Краткий обзор, 27
Настройки скорости
протокола, 29

Уменьшение общего времени

выполнения протокола, 30
Этапы протокола, 29
Калькулятор Ta, 30
Значение Ta не известно, 28

R

Скорость изменения, 13
изменение, 16
определение, 13
удаление, 16
Блок для проведения реакций
Загрузка образцов в, 6
резервуары для проведения
химической реакции, 2
Отсек модуля для
проведения реакций, 1
модули для проведения реакций
чистка, 44
охлаждающие пластины, 2
Крышка, 2
Рукоятка для регулировки усилия
крышки, 3
Рукоятка крышки, 2
Загрузка резервуаров с
образцами, 6
Загрузка образцов, 6
Техническое обслуживание, 44
Число блоков, 2
Блок для проведения реакций, 2
Рекомендованные объёмы
образца, 2
Блок для образцов, 2
Индикатор статуса, 3
Список литературы, 47
удаление
Перепад температуры, 14
Шаг изменения температуры, 16
переименование
папки, 36
протокола, 37
термоциклера, 7
Замена предохранителей, 46
возобновление выполнения, 25
выполнение
отмена, 25
методы, 21
контроль, 23
Несколько блоков, 21
Приостановка, 24
Возобновление протокола, 24
Рабочие журналы, 34
Выполнение
протокола, 21

S

Термоциклер серии S1000

Подключение к термоциклеру
серии C1000, 42

Работа с
термоциклером C1000, 42

Соблюдение

правил техники безопасности, iv

Предупреждающие этикетки, iii

Изменение объёма

образца, 18

Роль в выходе PCR, 17

Сохранение

протокола, 19

Контрольная проверка, 2

Пропуск этапов протокола, 25 спецификации

Для безопасного
использования, iv

Соблюдение
установленных норм, iv

Сугимото, 31, 47

Папка SYSTEM, 34

функции, 41

Предупреждающие сообщения, 46

гарантия, ii

Интернет-сайт, ii

Письменные условные

обозначения, используемые в

руководстве, ii

T

Калькулятор Ta

Краткий обзор, 30

Техническая поддержка

Контактная информация, ii

температура

Изменение времени
выдержки, 14

Изменение температуры
крышки, 18

Изменение параметра, 14

Время выдержки, 13
этап, 13

Режимы контроля температуры

Режим блока, 18

Режим вычислений, 18

Контрольный порт, 2, 41

U

USB-порт A, 1, 2, 41

USB-порт B, 2, 41

Папка USERS, 34, 39

W

предупреждение

Сообщения об ошибках, 46
этикетки, iii

Этикетки на устройстве, iv

СПИСОК ПРИНАДЛЕЖНОСТЕЙ с описанием

I. Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, исполнения C1000, S1000 и C1000 Touch в комплекте:

1. Шасси для термоциклера C1000/ S1000/C1000 Touch (Thermal Cycler Chassis C1000, S1000, C1000 Touch) – программируемый термостат, необходим для проведения полимеразной цепной реакции – позволяет задавать и выполнять нужное количество циклов с определенными временными и температурными параметрами для каждой процедуры цикла.
2. Сетевой кабель
3. Инструкция

II. Принадлежности:

1. Модуль реакционный быстрый двойной 48/48 (Fast Reaction Module Dual 48/48) - . реакционный блок в виде двух отдельных блоков на 48-лунок (для пробирок по 0.2мл), предназначен для размещения образцов в термоциклере, позволяет одновременно запускать два разных протокола реакции.
2. Модуль реакционный быстрый 96-луночный (96-Well Fast Reaction Module) – реакционный блок в виде планшета на 96-лунок (для 96 пробирок по 0.2мл) , предназначен для размещения образцов в термоциклере.
3. Модуль реакционный 384-луночный (384-Well Reaction Module) - реакционный блок в виде планшета на 384-луночки (для 384-луночного планшета), предназначен для размещения образцов в термоциклере.
4. Модуль реакционный 96-луночный глубокие ячейки (96-Deep Well Reaction Module) - реакционный блок в виде планшета на 96-лунок (для 96 пробирок по 0.2мл или 48 пробирок по 0,5мл), предназначен для размещения образцов в термоциклере.
5. Модуль реакционный оптический CFX96 (Optical Reaction Module CFX96) – оптическая система, позволяющая детектировать испускание флуоресценции в образцах (96-луночный формат реакционного блока).
6. Модуль реакционный оптический CFX384 (Optical Reaction Module CFX384) - оптическая система, позволяющая детектировать испускание флуоресценции в образцах (384-луночный формат реакционного блока).
7. Программа CFX менеджер (CFX Manager Software) – программное обеспечение, позволяет получать результаты в удобном для пользователя виде и проводить необходимый анализ.
8. Комплект для проведения плавления с высоким разрешением – программное обеспечение и калибровочный набор, позволяет проводить плавление нуклеиновых кислот с высоким разрешением.
9. Кабель USB (USB Cable) – кабель, который необходим для установки программного обеспечения.
10. Рамка для пробирок (Tube Frame) – пластиковая рамка, позволяет в зависимости от высоты пробирки плотно закрывать крышку реакционного блока, не повреждая пробирки.

III. Стартовый набор:

- пробирки стрипованные по 8 шт, 0,2 мл, с крышками - 1 упаковка (120 шт.);
- плашки ПЦР на 96 лунок, с герметизирующей пленкой – 1 упаковка (25 шт.);
- плашки ПЦР на 384 лунки, с герметизирующей пленкой – 1 упаковка (50 шт.);

- реагенты для тестовой постановки ПЦР – 1 комплект

BIO-RAD

Bio-Rad
Laboratories, Inc.



Life Science
Group

Web site www.bio-rad.com USA 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 01 877 89 01 Belgium 09 385 55 11 Brazil 55 31 3689 6600
Canada 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Czech Republic 420 241 430 532 Denmark 44 52 10 00 Finland 09 804 22 00
France 01 47 95 69 65 Germany 089 31 884 0 Greece 30 210 777 4396 Hong Kong 852 2789 3300 Hungary 36 1 459 6100 India 91 124 4029300
Israel 03 963 6050 Italy 39 02 216091 Japan 03 6361 7000 Korea 82 2 3473 4460 Malaysia 60 3 2117 5260 Mexico 52 555 488 7670
The Netherlands 0318 540666 New Zealand 64 9 415 2280 Norway 23 38 41 30 Poland 48 22 331 99 99 Portugal 351 21 472 7700
Russia 7 495 721 14 04 Singapore 65 6415 3170 South Africa 27 861 246 723 Spain 34 91 590 5200 Sweden 08 555 1270 0
Switzerland 061 717 95 55 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 6518311 United Kingdom 020 8328 2000 Vietnam 84 8 38131140

ВНИМАНИЕ! ВНИМАНИЕ! ВНИМАНИЕ!

ВНИМАНИЕ! ВНИМАНИЕ! ВНИМАНИЕ!

Синто 768 (до
исчерпания вето),
матов.

