

ОКП 94 4300

УТВЕРЖДАЮ

Глава Московского
Представительства
Корпорации «Аптека»
Интермедик Инк

« А.В. Хижняк
2009 г.

**Руководство по эксплуатации
изделия медицинского назначения**

**Система регистрации полимеразной цепной реакции в режиме
реального времени StepOne, с принадлежностями**

Соответствует требованиям национальных стандартов:

ГОСТ Р 50444-92, ГОСТ Р 51350-99,

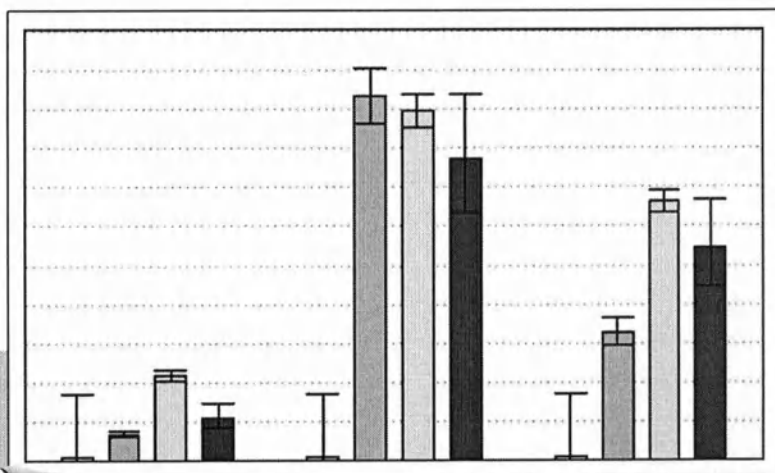
ГОСТ Р МЭК 61010-2-010-99,

ГОСТ Р 51522-99

и технической документации изготовителя

Applied Biosystems StepOne™ и StepOnePlus™

Системы проведения ПЦР в реальном времени
Сравнительная калибровочная кривая и
Эксперименты сравнения Ст



Applied Biosystems StepOne™ и StepOnePlus™

Системы проведения ПЦР
в реальном времени

Сравнительная калибровочная кривая и
Эксперименты сравнения Ст

Начало работы

1

Разработка дизайна
эксперимента по
построению
сравнительной
калибровочной кривой

2

Подготовка реакций
для построения
сравнительной
калибровочной
кривой

3

Проведение
эксперимента по
построению
сравнительной
калибровочной кривой

4

Анализ эксперимента по
построению
сравнительной
калибровочной кривой

5

Дизайн
эксперимента
сравнения Ст

6

Подготовка
реакций для
сравнения Ст

7

Проведение
эксперимента
сравнения Ст

8

Анализ
эксперимента
сравнения Ст

9

Разработка и анализ
исследования

10

© Copyright 2008, Applied Biosystems. Все права защищены.

Информация в этом документе может быть изменена без предупреждения. Компания "Applied Biosystems" не несет ответственности за ошибки, которые могут появиться в данном документе.

КОМПАНИЯ "APPLIED BIOSYSTEMS" НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕТ ГАРАНТИЙ КАСАТЕЛЬНО СОДЕРЖАНИЯ ДАННОГО ДОКУМЕНТА, КАК ПРЯМОГО, ТАК И ПОДРАЗУМЕВАЕМОГО, В ТОМ ЧИСЛЕ И КАСАТЕЛЬНО ПРИГОДНОСТИ ДАННОГО ТОВАРА ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ИЛИ КАКОЙ-ЛИБО ОПРЕДЕЛЕННОЙ ЦЕЛИ. НИ ПРИ КАКИХ ОБСТОЯТЕЛЬСТВАХ КОМПАНИЯ "APPLIED BIOSYSTEMS" НЕ ОТВЕЧАЕТ НИ ПО КОНТРАКТУ, НИ ПО ГАРАНТИИ ИЛИ КАКОМУ-ЛИБО ДРУГОМУ ЗАКОННОМУ АКТУ ИЛИ ОСНОВАНИЮ ЗА НАМЕРЕННЫЙ, СЛУЧАЙНЫЙ, НЕПРЯМОЙ, ШТРАФНОЙ, МНОЖЕСТВЕННЫЙ ИЛИ РЕЗУЛЬТИРУЮЩИЙ УЩЕРБ, СВЯЗАННЫЙ С ДАННЫМ ДОКУМЕНТОМ ИЛИ ИСХОДЯЩИЙ ОТ НЕГО, ВКЛЮЧАЯ И НЕ ПЕРЕЧИСЛЕННЫЕ ЗДЕСЬ РАЗНОВИДНОСТИ УЩЕРБА.

Только для использования в исследовательских целях. Не для использования в диагностических процедурах.

ВНИМАНИЮ ПОКУПАТЕЛЯ: Лицензия на этикетке

Системы проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ защищены следующими патентами США и соответствующими заявками на выдачу патента за пределами США. 5,475,610, 5,602,756, 6,703,236, 6,814,934, 7,238,517, 7,423,750. Никакое право не передается ни напрямую, ни как подразумеваемое, ни через лишение права возражения под любым другим патентным притязанием, будь то притязания на аппарат, реагенты, набор или метод, как например, 5'-нуклеазные методы. Дополнительная информация о покупке лицензий может быть получена от Директора по лицензированию: Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

ТОРГОВЫЕ МАРКИ:

Applied Biosystems, AB (Дизайн), MicroAmp, Primer Express, and VIC – зарегистрированные товарные марки; FAM, JOE, ROX, StepOne, StepOnePlus, TAMRA и VeriFlex – торговые марки компании Applied Biosystems Inc. И ее дочерних предприятий в США и/или соответствующих странах.

AmpErase, AmpliTaq Gold и TaqMan – зарегистрированные торговые марки компании Roche Molecular Systems, Inc.

Ambion, RNAlater, RNAqueous, RnaseZap и Silencer – зарегистрированные торговые марки; DNAZap, Pre-miR, RiboPure и TURBO DNA-free – торговые марки компании Ambion, Inc.

SYBR – зарегистрированная торговая марка компании Molecular Probes, Inc. Macintosh – зарегистрированная торговая марка компании Apple Computer, Inc.

Macintosh является зарегистрированной торговой маркой Apple Computer, Inc.

Microsoft и Windows – зарегистрированные торговые марки компании Microsoft Corporation. Все другие торговые знаки являются собственностью их владельцев.

Инвентарный номер 4376785 Ревизия E

12/2008

Содержание

	Предисловие	vii
	Как использовать это руководство	vii
	Как получить больше информации	ix
	Техническая поддержка	xiii
	Понятия о технике безопасности, встречающиеся в тексте	xiv
	Символы на приборах	xv
	Надписи на приборах, предупреждающие об опасности	xvii
	Техника безопасности при работе с инструментами.....	xviii
	Техника безопасности при работе с химикатами	xix
	Техника безопасности при работе с химическими отходами	xx
	Техника безопасности при работе с электричеством	xxi
	Техника безопасности при работе светоизлучающих диодов	xxii
	Техника безопасности при работе с биологическим материалом	xxii
	Техника безопасности на рабочем месте.....	xxiii
	Стандарты безопасности и электромагнитной совместимости (ЭМС)	xxiii
Глава 1	Начало работы	1
	О системах StepOne™ и StepOnePlus™	2
	Поддерживаемые расходные материалы	4
	О сравнительной калибровочной кривой и экспериментах сравнения Ст.....	6
	Как пользоваться данным руководством.....	11
	Примеры экспериментов	12
	Пример процесса эксперимента	18
Глава 2	Дизайн эксперимента с построением сравнительной калибровочной кривой	21
	Обзор главы	22
	Создание нового эксперимента	23
	Определение свойств эксперимента	27
	Определение методов и материалов.....	30
	Настройки целевой последовательности	32
	Настройка стандартных образцов.....	35
	Установка образцов.....	37
	Настройки относительного количественного анализа.....	39
	Установка метода прогона	41
	Просмотр настройки реакции	43

	Заказ материалов для эксперимента	50
	Завершение работы Design Wizard	54
Глава 3	Подготовка реакций для построения сравнительной калибровочной кривой	57
	Обзор главы	58
	Подготовка шаблона	59
	Подготовка разведений образцов	62
	Подготовка серий стандартных разведений	63
	Подготовка реакционной смеси	66
	Подготовка реакционной планшеты	69
Глава 4	Проведение эксперимента по построению сравнительной калибровочной кривой	75
	Обзор главы	76
	Подготовка прогона	77
	(Опционально) Включение службы уведомлений	79
	Начало прогона	82
	Наблюдение за ходом прогона	86
	Выгрузка инструмента и передача данных	93
Глава 5	Анализ эксперимента по построению сравнительной калибровочной кривой	97
	Обзор главы	98
	Раздел 5.1 Просмотр результатов	99
	Анализ эксперимента	100
	Просмотр калибровочной кривой	106
	Просмотр графика амплификации	109
	Просмотр графика экспрессии генов и таблицы лунок	116
	Публикация данных	119
	Раздел 5.2 Устранение неполадок (опционально)	121
	Просмотр настроек анализа	122
	Просмотр сводки КК	124
	Исключение лунок из анализа	126
	Просмотр многокомпонентного графика	128
	Просмотр графика необработанных данных	130
Глава 6	Дизайн эксперимента сравнения Ст	133
	Обзор главы	134
	Определение методов и материалов	141
	Настройки целевой последовательности	144

	Установка образцов	146
	Настройки относительного количественного анализа	149
	Установка метода прогона	150
	Просмотр настройки реакции	152
	Заказ материалов для эксперимента	157
	Завершение работы Design Wizard	161
Глава 7	Подготовка реакций сравнения Ст	165
	Обзор главы	166
	Подготовка шаблона	167
	Подготовка разведений образцов	170
	Подготовка реакционной смеси	171
	Подготовка реакционной планшеты	174
Глава 8	Проведение эксперимента сравнения Ст	179
	Обзор главы	180
	Подготовка к прогону	181
	Ход эксперимента	182
Глава 9	Анализ эксперимента сравнения Ст	183
	Обзор главы	184
	Раздел 9.1 Просмотр результатов	185
	Анализ эксперимента	186
	Просмотр графика экспрессии генов и таблицы лунок	192
	Просмотр графика амплификации	195
	Публикация данных	202
	Раздел 9.2 Устранение неполадок (опционально)	203
	Просмотр настроек анализа	204
	Просмотр сводки КК	206
	Исключение лунок из анализа	208
	Просмотр многокомпонентного графика	209
	Просмотр графика необработанных данных	212
Глава 10	Дизайн и анализ исследования	215
	Обзор главы	216
	Дизайн исследования	218
	Создание исследования	218
	Определение свойств исследования	222
	Определение репликации	225
	Анализ исследования	229
	Просмотр настроек анализа	235

Просмотр графика амплификации	237
Просмотр графика экспрессии гена	240
Просмотр данных репликации и результатов реакций в лунках	243
Просмотр многокомпонентного графика	248
Просмотр сводки КК.....	250
Сравнение настроек анализа	252
(Опционально) Исключение лунок из анализа	257
Публикация данных	257

Приложение А

Альтернативные методики проведения эксперимента	259
Расширенные настройки	260
Методика QuickStart.....	261
Методика работы с шаблонами	263
Методика экспорта/импорта	265
Библиография.....	269
Глоссарий.....	271
Указатель	287

Предисловие

Как использовать это руководство

О документации по системам

Нижеперечисленные руководства поставляются с системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems (системы StepOne™ и StepOnePlus™).

Руководство	Назначение и целевая аудитория	Номер
<i>Руководство по началу работы с системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems для проведения экспериментов по генотипированию</i>	Описывает проведение экспериментов на системах StepOne и StepOnePlus. Каждое руководство по началу работы может использоваться как	4376786
<i>Руководство по началу работы с системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems для экспериментов по выявлению последовательности</i>	Учебное пособие, использующее в качестве примера экспериментальные данные, предоставляемые с программным обеспечением для проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ компании Applied Biosystems (программное обеспечение StepOne™).	4376787
<i>Руководство по началу работы с системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems для экспериментов по построению сравнительной калибровочной кривой и сравнению Ct</i>	Руководство по проведению ваших собственных экспериментов. Предназначены для персонала лаборатории и основных исследователей, проводящих исследования с помощью систем StepOne или StepOnePlus.	4376785
<i>Руководство по началу работы с системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems для экспериментов по построению стандартной кривой</i>		4376784
<i>Краткий справочник по работе с системами проведения ПЦР в реальном времени 7500/по выявлению, StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems для экспериментов и исследований по сравнению Ct</i>		4411937
<i>Руководство по установке, работе в сети и обслуживанию систем проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems</i>	Описывает установку и обслуживание систем StepOne и StepOnePlus. Предназначены для персонала лаборатории, ответственного за установку и обслуживание систем StepOne или StepOnePlus	4376782
<i>Краткий справочник по установке систем для проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems</i>		4376783

Руководство	Назначение и целевая аудитория	Номер
<i>Руководство по работе с реагентами систем для проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems</i>	Содержит информацию о реагентах, которые можно использовать при работе с системами StepOne и StepOnePlus, включая: - Вводная информация по работе с реагентами TaqMan® и SYBR® Green - Описания и Рекомендации по дизайну для следующих типов экспериментов: - Количественные эксперименты - Эксперименты по генотипированию - Эксперименты по выявлению последовательности Предназначены для персонала лаборатории и основных исследователей, проводящих исследования с помощью систем StepOne или StepOnePlus	4379704
<i>Руководство по подготовке рабочего места при работе с системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems</i>	Объясняет, как подготовить рабочее место для установки систем StepOne и StepOnePlus. Предназначено для персонала планируют, распределяют и выполняют работу по подготовке рабочего места для установки систем StepOne или StepOnePlus.	4376768
<i>Справка по программному обеспечению системы проведения ПЦР StepOne™ компании Applied Biosystems</i>	Объясняет, как пользоваться программным обеспечением StepOne для: - Установки, осуществления и анализа экспериментов с помощью систем StepOne и StepOnePlus. - Отслеживания сетевых инструментов систем StepOne и StepOnePlus. - Калибровки инструментов StepOne и StepOnePlus. - Проверки работы инструментов StepOne и StepOnePlus с РНКазой Р. Предназначено: - Предназначены для персонала лаборатории и основных исследователей, проводящих исследования с помощью систем StepOne или StepOnePlus. - Предназначены для персонала лаборатории, ответственного за установку и обслуживание систем StepOne или StepOnePlus.	NA

Условия

Это руководство предполагает, что вы:

- Знакомы с операционной системой Microsoft Windows® XP.
- Знакомы с Интернетом и браузерами Интернета.
- Знаете, как обращаться с образцами ДНК и/или РНК и готовить их к ПЦР.
- Понимаете принципы хранения данных, передачи файлов, копирования и вставки.
- Имеете опыт работы в сети, если планируете включить системы StepOne или StepOnePlus в существующую систему обмена данными вашей лаборатории.

Условные обозначения в тексте

В настоящем руководстве используют следующие условные обозначения:

- Жирный шрифт** обозначает действия пользователя. Например:
Введите 0, затем нажмите клавишу **Enter** (Ввод) для каждого из оставшихся полей.
- Курсивом* выделяются новые или важные слова, а также курсив используется для расстановки смысловых акцентов. Например:
Перед выполнением анализа, *всегда* создавайте новый стандартный файл.
- Символ "стрелка вправо" (→) разделяет следующие друг за другом команды, выбираемые из выпадающего или локального меню. Например:
Выберите опцию **File** (Файл) → **Open** (Открыть).

**Слова для
привлечения
внимания
пользователя**

В пользовательской документации компании "Applied Biosystems" для привлечения внимания пользователя употребляются два вида пометок. Каждая пометка призывает к вниманию или действию, как описано ниже:

Замечание: - указывает на информацию, которая может быть интересной или полезной, но не обладает критичной важностью для использования продукта.

ВАЖНО! – указывает на информацию, которая необходима для корректной работы приборов, правильного использования набора химических веществ или для безопасного использования химиката.

Примеры использования таких пометок представлены ниже:

Замечание: Функция Calibrate (Калибровать) доступна также в Control Console (Пульт управления).

**Предупреждающие
надписи**

ВАЖНО! Для проверки подключения программы клиента к базе данных необходим действующий ID пользователя.

В тексте так же встречаются предупреждающие надписи. Прочитать об этом можно в разделе "Предупреждающие надписи" на стр. xiv.

Как получить больше информации

**Сопутствующая
документация**

Другая документация к системам StepOne и StepOnePlus

Документы, перечисленные ниже, не поставляются с инструментами StepOne или StepOnePlus.

Документ	Номер
Верификационный протокол по установке систем проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems	4376791
Протокол навыков установки - навыков управления системами проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ Real-Time PCR компании Applied Biosystems	4376790
Протокол планового обслуживания систем проведения ПЦР в реальном времени StepOne™ и StepOnePlus™ компании Applied Biosystems	4376788

Документы, относящиеся к экспериментам по генотипированию

Документ	Номер
Краткий справочник по исключению аллелей с помощью готовых оценочных реагентов TaqMan®	4312212
Протокол заказных геномных проб TaqMan®	4367671
Протокол заказных генотипирующих проб TaqMan® SNP	4334431
Краткий справочник по заказу генотипирующих проб TaqMan® SNP	4374204
Краткий справочник по осуществлению генотипирующих проб на 96-луночной планшете с помощью TaqMan® SNP	4371394
Краткий справочник по осуществлению генотипирующих проб на предмет метаболизма препаратов на 96-луночной планшете	4367636
Протокол по исключению аллелей с помощью готовых оценочных реагентов TaqMan®	4312214
Протокол оценки метаболизма препаратов методом генотипирования TaqMan®	4362038
Протокол по SNP-генотипированию TaqMan®	4332856

Документы, относящиеся к экспериментам наличия/отсутствия

Документ	Номер
Протокол по выделению ДНК из свежей и замороженной крови, клеток тканевых культур и щечного соскоба.	4343586
Реактивы NucPrep®: протокол по выделению геномной ткани из тканей животных растений	4333959
Протокол реактивов для подготовки ультра образцов PrepMan®	4318925

Документы, относящиеся к экспериментам по построению сравнительной калибровочной кривой и сравнению Ст

Документ	Номер
Комментарий о проведении оценки эффективности ампликации с помощью TaqMan® Gene Expression	127AP05
Протокол по работе с наборами обратной транскрипции с помощью высокопроизводительной комплементарной ДНК	4375575
Протокол по работе с набором высокопроизводительной РНК-комплементарной ДНК	4387951
Протокол для специалистов по смешиванию высокопроизводительной РНК-комплементарной ДНК	4377474
Протокол по оценке экспрессии генов готовым средством TaqMan®	4334429
Руководство по началу работы с программным обеспечением Primer Express® Software Version 3.0	4362460
Протокол оценки экспрессии генов TaqMan®	4333458
Бюллетень пользователя #2: относительный количественный анализ экспрессии генов	4303859

Документы, относящиеся к экспериментам по построению сравнительной калибровочной кривой

Документ	Номер
Комментарий о проведении оценки эффективности ампликации с помощью TaqMan® Gene Expression	127AP05
Протокол по оценке экспрессии генов готовым средством TaqMan®	4334429
Руководство по началу работы с программным обеспечением Primer Express® Software Version 3.0	4362460
Протокол оценки экспрессии генов TaqMan®	4333458
Бюллетень пользователя #2: относительный количественный анализ экспрессии генов	4303859

Документы, относящиеся к руководству по работе с реактивами

Документ	PN
Протокол по работе с наборами обратной транскрипции с помощью высокопроизводительной комплементарной ДНК	4375575
Протокол по оценке экспрессии генов готовым средством TaqMan®	4334429
Руководство по представлению протоколов геномной оценки TaqMan®	4367671
Протокол оценки генотипированием TaqMan® SNP	4334431
Протокол Power Green PCR Master Mix и ПЦР в реальном времени SYBR®	4367218
Протокол оценки исключения аллелей готовым реагентом TaqMan®	4312214
Руководство по началу работы с программным обеспечением Primer Express® Software Version 3.0	4362460
Протокол работы с реагентами Green PCR и ПЦР в реальном времени SYBR®	4304965
Протокол работы с реагентами Green PCR Master Mix и ПЦР в реальном времени SYBR®	4310251
Протокол оценки генотипированием метаболизма препаратов TaqMan®	4362038
Протокол по работе с реагентами экзогенного внутреннего положительного контроля TaqMan®	4308335
Протокол по работе с быстрой универсальной смесью для ПЦР TaqMan® Master Mix (2X)	4351891
Протокол оценки экспрессии генов TaqMan®	4333458
Протокол экспрессии генов TaqMan® Master Mix	4371135
Протокол по генотипированию TaqMan® Master	4371131
Протокол по оценке генотипирования TaqMan® SNP	4332856
Протокол по работе с универсальной смесью для ПЦР TaqMan® Master Mix	4304449
Бюллетень пользователя #2: относительный количественный анализ	4303859
Руководство по использованию эндогенной контрольной оценки TaqMan® при выборе эндогенного контроля для экспериментальных исследований	127AP08

Замечание: Остальная документация перечислена в главе "Техническая поддержка" на стр. xiii.

**Работа с разделом
Справка**

Раздел Справка программного обеспечения StepOne объясняет, каким образом пользоваться каждой из функций пользовательского интерфейса. Окно Help (Справка) можно вызвать из программы одним из следующих способов:

- Нажмите F1.
- Щелкните на символ  на панели инструментов.
- Выберите Help (Справка) ► StepOne Software Help (Справка по программному обеспечению StepOne).

Чтобы найти интересующие Вас темы в разделе Справка:

- Ознакомьтесь с таблицей содержания.
- Ищите определенную тему.
- Осуществляйте поиск при помощи алфавитного указателя.

**Ждём ваших
комментариев**

Компания "Applied Biosystems" будет рада получить комментарии и предложения для улучшения пользовательской документации. Комментарии можно выслать по электронной почте на следующий адрес:
techpubs@appliedbiosystems.com

ВАЖНО! Вышеуказанный адрес электронной почты используется только для комментариев и предложений. Чтобы заказать документы, загрузить PDF-файлы или получить техническую помощь, введите в Интернет-браузере адрес <http://www.appliedbiosystems.com>, затем щелкните по кнопке Support (Поддержка). (См. "Техническая поддержка" на стр. xiii).

Техническая поддержка

Чтобы получить самую новую информацию по услугам и поддержке из любой точки мира, введите в Интернет-браузере адрес <http://www.appliedbiosystems.com>, затем щелкните по кнопке Support (Поддержка).

На странице Support (Поддержка) можно:

- Выполнить поиск в разделе "Часто задаваемые вопросы" (FAQ)
- Отправить вопрос непосредственно в отдел технической поддержки
- Заказать пользовательскую документацию по приборам компании "Applied Biosystems", ИЛБМ, сертификаты для анализа и другие дополнительные документы.
- Загрузить PDF-документы
- Получить информацию по программе обучения пользователей
- Загрузить обновления и патчи для программ

Кроме того, на странице Технической поддержки представлены номера телефонов и факсов для связи со Службой Технической Поддержки и Отделом Продаж компании Applied Biosystems из любой точки мира.

ВАЖНО! В тех случаях, когда так указано в настоящем руководстве или когда Вам необходимо обслуживание Ваших инструментов StepOne™ или StepOnePlus™ (например, ежегодное плановое обслуживание или верификация температурного режима/калибровка), свяжитесь с центром обслуживания Applied Biosystems. Чтобы получить необходимый для этого номер телефона или отправить письмо по электронной почте, пройдите по ссылке <http://www.appliedbiosystems.com/support/contact>.
