

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН)**

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИАП РАН



В.Курочкин

«01» октября 2015 г

**Устройство секвенирования ДНК
по ТУ 9443-005-04699534-2013,
с принадлежностями»**

Руководство по эксплуатации

ПКДН.941417.005 РЭ

2015

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Описание и работа	6
1.1	Описание и работа устройства	6
1.1.1	Назначение	6
1.1.2	Основные параметры и характеристики, необходимые для правильной технической эксплуатации изделия:.....	7
1.1.3	Состав устройства	8
1.1.4	Требование к ПЭВМ	9
1.1.5	Устройство и работа.....	10
1.1.6	Средства измерения, инструмент и принадлежности.....	15
1.1.7	Маркировка и пломбирование	15
1.1.8	Упаковка	16
1.2	Описание и работа составных частей устройства	18
1.2.1	Общие сведения	18
1.2.2	Работа.....	22
1.2.3	Маркировка, пломбирование и упаковка.....	23
2	Использование по назначению.....	24
2.1	Эксплуатационные ограничения	24
2.2	Подготовка устройства к использованию.	25
2.2.1	Организация рабочего помещения для устройства	25
2.2.2	Меры безопасности при работе с устройством	26
2.2.3	Правила и порядок осмотра и проверки готовности устройства к использованию	28
2.2.4	Подключение к компьютеру и сети переменного тока	28
2.2.5	Порядок включения прибора.....	29
2.2.6	Установка новой линейки капилляров.....	29
2.2.7	Установка или Замена флакона с полимером.....	35
2.2.8	Замена типа полимера	35
2.2.9	замена анодного буфера.....	37
2.2.10	Удаление пузырей из каналов блока заполнения полимером и анодного блока.....	39
2.2.11	Заполнение капилляров полимером	40

2.2.12	Установка плашки для образцов и резервуаров для жидкостей ..	41
2.2.13	Замена линейки капилляров	45
2.2.14	Основные профилактические действия перед началом работы ..	50
2.2.15	Консервация прибора	51
2.3	Описание программного обеспечения управления устройством «SeqPI»	53
2.3.1	Назначение кнопок и пунктов меню главного окна программы ..	54
2.3.2	Функциональные кнопки главного окна программы	54
2.3.3	Панель меню главного окна программы	55
2.3.4	Описание центральной части окна программы «SeqPI»	59
2.3.5	Описание нижней части окна программы «SeqPI»	61
2.4	Порядок контроля работоспособности устройства.	62
2.4.1	Пространственная калибровка	62
2.4.2	Спектральная калибровка	66
2.5	Запуск фрагментного анализа и анализа последовательности	86
2.5.1	Описание плашки	86
2.5.2	Запуск анализа	93
2.6	Порядок приведения устройства в исходное положение.	97
2.7	Порядок выключения устройства, содержание и последовательность осмотра изделия после окончания работы	97
2.8	Меры безопасности при использовании изделия по назначению.	98
2.9	Действия в экстремальных условиях	100
2.10	Перечень возможных неисправностей	101
3	Техническое обслуживание	103
3.1	Общие указания	103
3.2	Консервация	103
3.2.1	Промывка капилляров	103
3.2.2	Продувка и просушка капилляров	104
4	Текущий ремонт устройства	105
4.1	Общие указания	105
4.2	Меры безопасности	105
5	Хранение	106

5.1	Правила постановки устройства на хранение	106
5.2	Условия хранения изделия.....	106
6	Транспортирование	107
7	Утилизация	108
	Приложение 1.....	110
	Комплект ЗИП, поставляемый к устройству	110
	Приложение 2.....	111
	Спектральные калибровки.....	111
	Приложение 3.....	115
	Стандартные протоколы «Программы измерения»	115
	Приложение 4.....	118
	Примеры результатов использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями»	118
	П4.1 Примеры использования устройства в криминалистике.....	118
	П4.2 Пример использования устройства в эпидемиологии	124
	П4.3 Пример использования устройства в диагностике наследственных заболеваний человека	127
	П4.4 Пример использования устройства для паспортизации сортов сельскохозяйственных культур.....	129
	П4.5 Пример использования устройства для секвенирования	130

300

Руководство по эксплуатации является эксплуатационным документом, содержащим сведения, необходимые для изучения, эксплуатации и технического обслуживания медицинского изделия «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» (в дальнейшем - устройство).

В руководстве по эксплуатации дано описание устройства и принципа действия устройства, а также технические характеристики и другие сведения, необходимые для обеспечения полного использования технических возможностей устройства и для его правильной эксплуатации.

Руководство по эксплуатации рассчитано на персонал со средним техническим образованием, имеющий опыт работы с электронными устройствами, а также с приборами медицинского и химического анализов.

Предприятие-изготовитель может обеспечивать первое включения устройства и обучение персонала.

Предприятие-изготовитель оставляет за собой право изменять конструкцию устройства без ухудшения его потребительских свойств.

Устройство имеет в своем составе лазер и источник высокого напряжения. Конструкция устройства обеспечивает надежную защиту пользователей.

1. ОПИСАНИЕ И РАБОТА

1.1 ОПИСАНИЕ И РАБОТА УСТРОЙСТВА

1.1.1 НАЗНАЧЕНИЕ

Устройство является прибором капиллярного электрофореза с лазериндуцированной флуоресцентной детекцией.

Принцип действия устройства основан на разделении молекул нуклеиновых кислот в жидкой полимерной фазе в тонких капиллярах под воздействием высокого напряжения.

Устройство предназначено для автоматического определения последовательности ДНК и для проведения фрагментного анализа ДНК.

Устройство может применяться в лабораториях научно - исследовательских институтов, для проведения клинических анализов, в судебной экспертизе, а также для санитарного и экологического контроля.

1.1.2 ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ И ХАРАКТЕРИСТИКИ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРАВИЛЬНОЙ ТЕХНИЧЕСКОЙ ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ:

Таблица 1

Наименование параметра	Значение
Количество капилляров	8
Напряжение, подводимое к капиллярам	0,5 +20 ($\pm 0,03\%$) кВ
Сопряжение с компьютером	Интерфейс USB
Автоматическая замена геля	Да
Автоматическое нанесение образца	Да
Возможность работы без оператора, при полной автоматизации	Да
Количество каналов детекции различных по спектру флуоресцентных красителей	7 каналов детекции для приема сигналов с максимумами флуоресценции 520, 550, 580, 605, 625, 645, 665 нм.
Длина прочтения последовательности ДНК	не менее 750 п.н. с точностью не менее 99 %
Точность установления длины фрагмента	± 1 нуклеотид при длине фрагмента не менее 500 п.н.
Производительность	750 нуклеотидов за время не более 90 минут
Возможность работы с реактивами различных производителей	Да
Лазер	Твердотельный, $\lambda = 488$ нм
Чувствительность по флуоресцеину	до 10^{-11} М
Выход на рабочий режим	Не более 5 минут
Потребляемая мощность в рабочем режиме, не более	300 ВА
Масса без запасных частей и принадлежностей	48 кг
Габаритные размеры (Длина x Ширина x Высота)	600 x 630 x 630 мм

1.1.3 СОСТАВ УСТРОЙСТВА

В состав изделия входят следующие принадлежности:

- линейка из восьми капилляров;
- контейнер для хранения проб;
- контейнер для хранения рабочих жидкостей;
- кабель USB 2/0 AB, 1,8м;
- трубка 1/8"×ID 0.063 Teflon, 0,2м;
- трубка 1/8"×ID 0.063 Teflon, 0,12м;
- шнур сетевой 220В, 3А;
- руководство по эксплуатации (с приложениями);
- паспорт;
- ведомость ЗИП.

В комплект эксплуатационных документов входят:

1) Руководство по эксплуатации ПКДН 941417.005 РЭ с приложениями:

- руководство оператора программы «Анализ последовательности ДНК»
RU.ПКДН.503320-02 34 01-ЛУ
- руководство оператора программы «Фрагментный анализ ДНК»
RU.ПКДН.503320-03 34 01-ЛУ

2) Паспорт ПКДН 941417.001ПС.

3) Ведомость ЗИП ПКДН 941417.001ЗИ.

В комплект ЗИП входят запасные части, инструменты, принадлежности и материалы, приведенные в приложении 1.

1.1.4 ТРЕБОВАНИЕ К ПЭВМ

Минимальный состав используемых технических (аппаратных) средств:

- IBM PC совместимый компьютер.
- Процессор – Pentium-4 - 2,4 ГГц.
- Объем оперативной памяти – 1 Гб.
- Объем видеопамати – 128 Мб.
- Общий объем памяти на жестких дисках более 40 Гб.

Для связи с устройством используется канал связи USB.

Минимальный состав используемых программных средств:

- Операционная система - Microsoft Windows XP/Vista, Windows 7 и выше.

Дополнительное ПО:

- Microsoft .Net Framework 3.5
- Microsoft Office 2010
- Internet browser Mozilla Firefox 14.0 или выше.

1.1.5 УСТРОЙСТВО И РАБОТА

Внешний вид «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» приведен на рисунках 1 и 2:



Рисунок 1 - Внешний вид устройства с принадлежностями



Рисунок 2 - Внешний вид устройства с открытыми дверцами

Конструкция устройства поясняется чертежом общего вида, изображенного на рисунке 3:

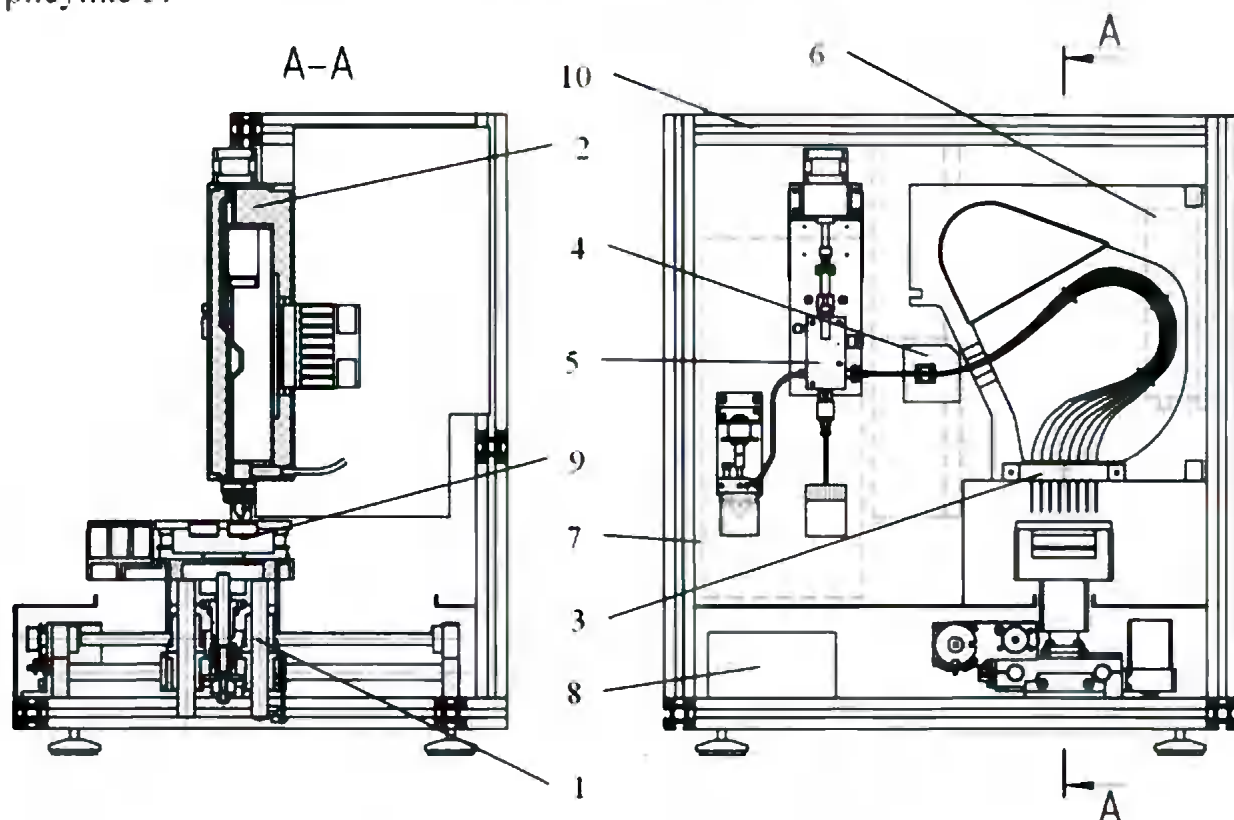


Рисунок 3 - Чертеж общего вида прибора

1 – позиционер-держатель планшета; 2 – термостатируемая кассета; 3 – линейка капилляров; 4 – термостатируемый детектор; 5 – блок заполнения капилляров полимером; 6 – высоковольтный источник; 7 – блок управления; 8 – блок питания; 9 – планшет с образцами; 10 – корпус.

Основные блоки прибора и выполняемые ими функции суммированы в таблице 2.

Таблица 2 - Основные блоки прибора и выполняемые ими функции

№	Блок	Функция
1	Позиционер-держатель планшета	Фиксирует планшет с образцами и емкости для воды, буфера и слива. Осуществляет передвижение с целью совмещения позиции капилляров и пробирок с образцами
2	Термостатируемая кассета	Поддерживает заданную температуру капилляров
3	Линейка капилляров	Сборка из 8 капилляров, заполняемых полимером, в которых происходит электрофоретическое разделение флуоресцентно-меченных фрагментов ДНК
4	Термостатируемый детектор	Обеспечивает лазерное возбуждение и сбор сигнала флуоресценции в оптическом окне и одновременно поддерживает заданную температуру
5	Блок заполнения капилляров полимером	Обеспечивает автоматическое заполнение капилляров полимером, включает в себя камеру блока заполнения, камеру промывки поршня водой, порт присоединения линейки капилляров, соединение с анодной частью блока
6	Высоковольтный источник	Обеспечивает электрическое поле
7	Блок управления	Обеспечивает управление работой всех блоков
8	Блок питания	Обеспечивает питание прибора
9	Планшет с образцами	Фиксирует пробирки с образцами

Передняя панель прибора изображена на рисунке 4:

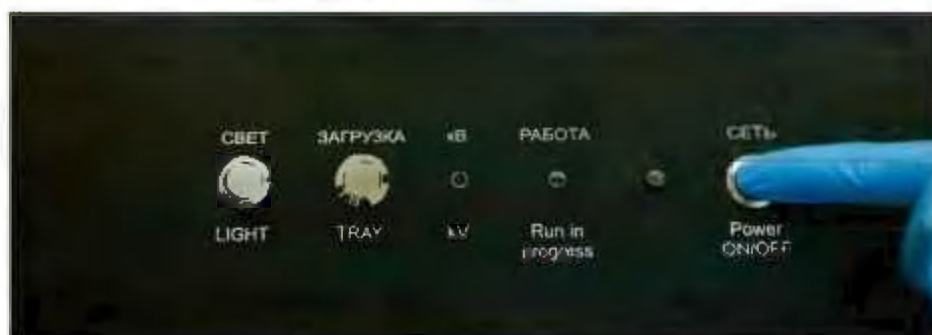


Рисунок 4 - Передняя панель прибора

- 1 – кнопка «СЕТЬ» для включения/выключения устройства;
- 2 – светодиод «СЕТЬ» (индикация включения/выключения прибора **желтым** цветом);
- 3 – светодиод «РАБОТА» (индикация связи прибора и компьютера **зеленым** цветом; если связь нарушена, светодиод не мигает);
- 4 – светодиод «кВ» (индикация включения высокого напряжения **красным** цветом)

Важно! Когда светодиод «кВ» светится, дверцы прибора открывать запрещается – при открытии дверей источник высокого напряжения автоматически выключается.

- 5 – кнопка «ЗАГРУЗКА» для загрузки планшета с образцами;
- 6 – кнопка «СВЕТ» для подсветки внутреннего пространства анализатора.

На задней панели располагается сетевой разъем с маркировкой «~ 220 В», тумблер включения и разъемы связи с компьютером «USB» и лазером «L.COM».

Работа устройства основана на физико-химических принципах капиллярного электрофореза: разделение веществ в жидкой полимерной фазе в тонких капиллярах под воздействием высокого напряжения.

Конструкция устройства обеспечивает устойчивость капиллярного электрофореза в течение многочасовых массовых анализов за счет реализации следующих условий:

- воспроизводимости ввода пробы в капилляр;
- поддержания стабильной температуры кассеты с капилляром;
- поддержания стабильного уровня высокого напряжения на концах капилляра, опущенных в жидкие проводящие растворы;
- стабильности уровня излучения лазера, высокого качества фотоприемников и схем последующей обработки сигнала;

- 909
- возможности быстрой замены полимерной фазы (геля) в капиллярах между экспериментами.

Работа устройства выполняется по заданной программе в автоматическом режиме. Задается и стабилизируется оптимальная температура капилляров в термостате. Насос устройства заполнения капилляров гелем заполняется гелем из нижнего сосуда. С помощью позиционера концы линейки капилляров соединяются со сливным контейнером для хранения рабочих жидкостей (в дальнейшем – контейнер). При помощи управляемых клапанов насос заполняет капилляры гелем. Позиционер совмещает 8 лунок планшета с исследуемыми образцами с концами капилляров. На заданное время включается высоковольтный источник, при этом электрокинетическим способом в капилляры вводятся пробы. Позиционер совмещает контейнер с буферным раствором с концами капилляров. Включается высоковольтный источник. За счет электрофореза выполняется разделение флуоресцентно-меченных фрагментов ДНК.

Детектор обеспечивает регистрацию сигналов флуоресценции от нескольких спектральных каналов каждого капилляра, в результате на экране компьютера получаются несколько графиков от каждой пробы (примеры графиков приведены в разделе 2.3).

На этих графиках пики соответствуют четырем видам нуклеотидов, составляющих молекулу ДНК, а пятом спектральном канале получаются графики с пиками фрагментов известной длины. Объединение этих графиков при вторичной обработке позволяет расшифровывать нуклеотидную последовательность и определить длину фрагментов ДНК.

1.1.6 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЯ, ИНСТРУМЕНТ И ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Дополнительно к устройству поставляются принадлежности, приведенные в разделе 1.1.3.

1.1.7 МАРКИРОВКА И ПЛОМБИРОВАНИЕ

На лицевой панели устройства нанесен товарный знак предприятия-изготовителя.

На корпусе устройства установлена фирменная табличка, на которой указано:

- наименование или товарный знак предприятия-изготовителя;
- наименование изделия;
- заводской номер;
- год изготовления;
- обозначение технических условий;
- напряжение питания.

Разъем питания имеет маркировку «~ 220 В».



Рисунок 5- Фирменная табличка

Разъем подсоединения соединительного кабеля с ПЭВМ имеет маркировку «USB».

311

Транспортная маркировка устройства содержит манипуляционные знаки, предупредительные, основные, дополнительные и информационные надписи:

- «Хрупкое. Осторожно»;
- «Беречь от влаги»;
- «Верх»;
- наименование грузополучателя;
- наименование пункта назначения;
- наименование грузоотправителя;
- наименование пункта отправления;
- масса нетто грузового места.

Пломбирование устройства и упаковки не предусмотрено.

1.1.8 Упаковка

Устройство упаковывается в ящики в соответствии с ГОСТ 23170, категория упаковки КУ-1.

Внутренняя упаковка должна соответствовать варианту защиты ВЗ-10 по ГОСТ 9.014.

В качестве упаковочного амортизирующего материала используется пенополиуретан марки 40-1,2 ОСТ 6-05-407 или любой другой амортизирующий материал.

Упаковка технических и сопроводительных документов должна соответствовать требованиям ГОСТ 23170.

Упаковку производится в следующем порядке:

- Произвести внутреннюю упаковку отдельно устройства и прилагаемого ЗИП.
- Произвести упаковку устройства в коробку из гофрокартона, по периметру установить прокладки из амортизирующего материала.
- Сверху уложить техническую документацию, прикрыв листом из гофрокартона.

312

- Произвести упаковку прилагаемого ЗИП в коробку из гофрокартона, по периметру установить прокладки из амортизирующего материала.

- Закрыть коробки и обвязать их по периметру бытовой клеящей лентой типа скотч шириной не менее 40 мм.

- Каждую коробку поставить на дно ящика, предварительно уложив на дно ящика лист из амортизирующего материала толщиной не менее 20 мм.

- Оставшееся в ящиках пространство плотно заполнить амортизирующим материалом.

- Каждый ящик закрыть крышкой, закрепив ее гвоздями длиной 60мм с шагом примерно 150 мм.

1.2 ОПИСАНИЕ И РАБОТА СОСТАВНЫХ ЧАСТЕЙ УСТРОЙСТВА

1.2.1 ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.2.1.1 Позиционер

Позиционер содержит систему двигателей, контейнер для хранения проб, который обеспечивает возможность установки 96-луночного планшета с пробами, и комплект контейнеров для хранения рабочих жидкостей, которые заполняются вспомогательными растворами.

Дополнительное количество 96-луночных планшетов (96-Well Plate Base) Part № 4317239 (Life technologies, США) и комплектов контейнеров (Buffer, Water, Waste Reservoir) Part № 628-0163 (Life technologies, США), необходимых для работы, потребитель определяет и приобретает самостоятельно.

1.2.1.2 Линейка из восьми капилляров

Изображение линейки приведено на рисунке 6. В левой части рисунка расположен электродный узел, предназначенный для крепления высоковольтных электродов. В средней части рисунка расположена рамка, служащая для фиксации капилляров перед объективом детектора. В правой части рисунка расположен наконечник, предназначенный для стыковки капилляров с устройством заполнения капилляров гелем.



Рисунок 6 - Линейка из восьми капилляров

1.2.1.3 Термостатируемая кассета

Термостатируемая кассета – это устройство, в котором закрепляются и термостатируются капилляры. Термостатируемая кассета изображена на рисунке 6.

Корпус термостатируемой кассеты - тонкостенный, выполняется из термостойкого пластика и заполняется пористым наполнителем. Крышка оформлена аналогично. Крышка откидывается на петлях и прижимается к корпусу через пористый уплотнитель.

В нижней части кассеты выполнено посадочное место для линейки капилляров, там же расположен высоковольтный разъем. Капилляры фиксируются в кассете с помощью держателей. Нагрев осуществляется сборкой из двух элементов Пельтье. Температура в кассете измеряется

345

термодатчиком. Центробежный вентилятор скрыт за панелью и не виден пользователю.

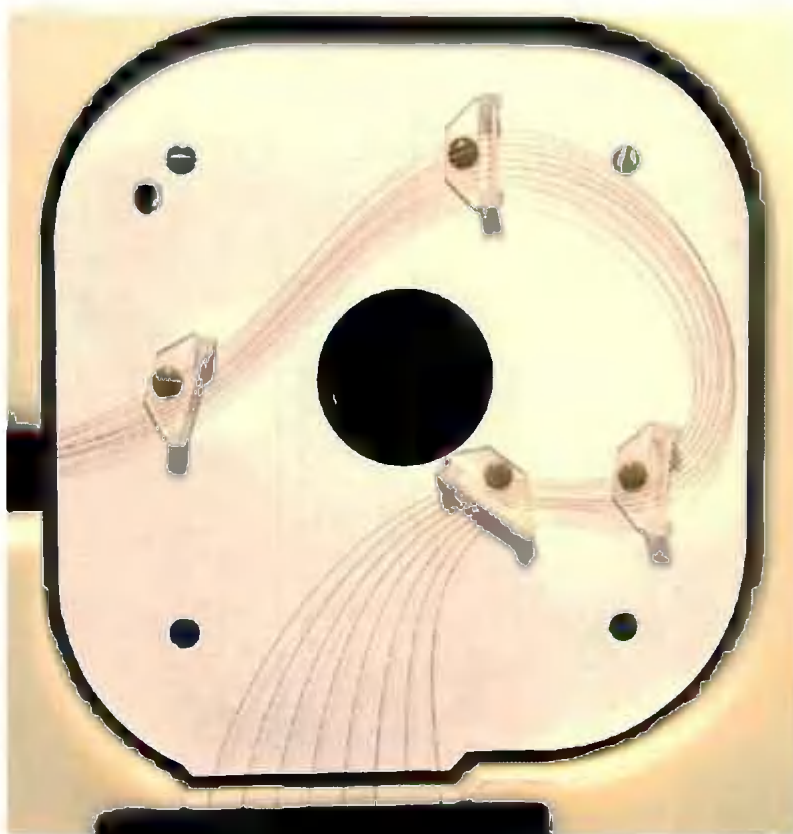


Рисунок 7 - Термостатируемая кассета

1.2.1.4 Устройство заполнения капилляров гелем

Устройство заполнения капилляров гелем изображено на рисунке 8.

Корпус плунжерного насоса выполнен из оптически прозрачного пластика. Для привода плунжера применен шаговый двигатель с линейным перемещением.

Линейка капилляров присоединяется с помощью правого штуцера. Левый штуцер с помощью клапана соединяется с резервуаром, содержащим

316

буферный раствор, а нижний штуцер с помощью второго клапана и трубки соединяется с флаконом, содержащим воду или гель.

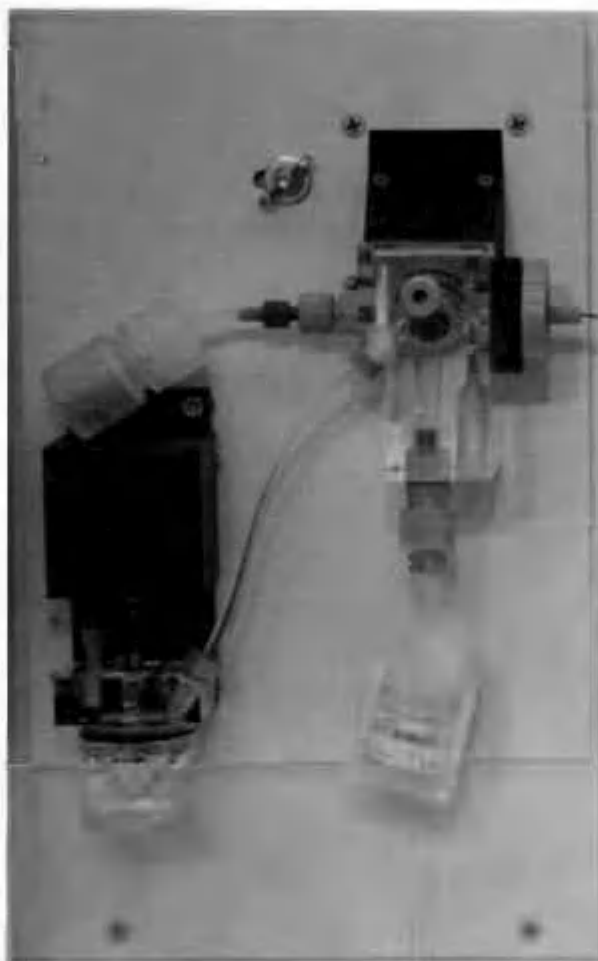


Рисунок 8 - Устройство заполнения капилляров гелем

1.2.2 РАБОТА

При эксплуатации составные части устройства выполняют следующие функции:

- позиционер обеспечивает перемещение планшета с пробам и трех контейнеров с вспомогательными растворами для совмещения их с концами капилляров;

- линейка из восьми капилляров обеспечивает условия для выполнения электрофоретического разделения фрагментов ДНК и для детектирования оптических сигналов;

- термостатируемая кассета обеспечивает крепление и термостатирование капилляров;

- устройство заполнения капилляров гелем обеспечивает заполнение и перезаполнение капилляров гелем;

- высоковольтный источник создает разность потенциалов на концах капилляра и обеспечивает как нанесение, так и разделение ДНК в капиллярах;

- детектор обеспечивает сканирование 8 капилляров, облучение капилляров лазерным лучом на длине волны 488 нм и одновременный прием до 7 сигналов флуоресценции;

- электронный блок управления обеспечивает сопряжение с компьютером путем подключения по интерфейсу «USB», выполнение программы управления и контроля позиционером, термостатом, устройством заполнения капилляров гелем, лазер-индуцированным флуориметрическим детектором и высоковольтным источником в ручном и автоматическом режимах.

1.2.3 МАРКИРОВКА, ПЛОМБИРОВАНИЕ И УПАКОВКА

Составные части устройства упаковываются в составе устройства, при этом разборка устройства не требуется.

«Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» является прибором капиллярного электрофореза с индуцированной лазером детекцией флуоресценции. Устройство предназначено для определения последовательности ДНК (секвенирования), а также определения длин фрагментов ДНК (фрагментный анализ).

2 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

2.1 ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

К работе с устройством допускаются лица, имеющие квалификацию лаборанта-биолога или химика 6 разряда, навыки работы на компьютере, изучившие эксплуатационную документацию устройства.

Пользователь программы (оператор) должен обладать практическими навыками работы с графическим пользовательским интерфейсом операционной системы.

Персонал должен быть аттестован на II квалификационную группу по электробезопасности (для работы с лабораторным оборудованием).

Важно следить за уровнем жидкости в контейнерах и планшете и не допускать как их переполнения, так и недостатка жидкости.

В устройстве используется высокое напряжение, поэтому внешние поверхности контейнеров и планшета должны быть сухими и чистыми. Случайные капли необходимо сразу убирать фильтровальной бумагой.

Необходимо внимательно выполнять установку контейнеров и планшета в позиционер.

Неправильная установка может привести к поломке капилляра и электродов.

2.2 ПОДГОТОВКА УСТРОЙСТВА К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ.

2.2.1 ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОЧЕГО ПОМЕЩЕНИЯ ДЛЯ УСТРОЙСТВА

Для обеспечения эффективной работы «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» лабораторное помещение должно соответствовать требованиям, предъявляемым МУК 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности».

В частности, помещение должно иметь:

- тамбур для переодевания и переобувания персонала;
- электрическую сеть 220 В;
- систему удаления следов ДНК – бактерицидные лампы или проточные фильтрующие устройства с УФ модулем, например, Дезар-8;
- усиленный лабораторный стол глубиной не менее 600 мм и шириной не менее 900 мм;
- систему кондиционирования;
- мойку с горячей и холодной водой;
- уборочный инвентарь.

Для обеспечения работы прибора необходимо следующее вспомогательное оборудование:

- ламинарный или ПЦР бокс;
- бытовой холодильник с морозильным отделением;
- твердотельный амплификатор, например, АНК-48;
- микроцентрифугу-встряхиватель, например, Циклотемп-901;
- микроцентрифугу для стрипов, например, Циклотемп-903;
- твердотельный термостат, например, Циклотемп-303;
- набор автоматических пипеток с переменным объемом:
0,1–2 мкл, 1–10 мкл, 10–100 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл;
- штативы «рабочее место» для пробирок различного объема –
96x0,2 мл, 72x1,5 мл.

2.2.2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С УСТРОЙСТВОМ

В устройстве имеются сетевые блоки питания, лазер и высоковольтный источник.

В конструкции прибора предусмотрены технические решения, обеспечивающие невозможность случайного доступа к токоведущим частям и случайного попадания на оператора лазерного луча.

Конструкция прибора по требованиям безопасности соответствует ГОСТ Р 51350-99. По способу защиты человека от поражения электрическим током устройство относится к изделиям класса I.

Прибор имеет съемный трехпроводный сетевой шнур с пластмассовой изоляцией и вилкой с заземляющим контактом. Два провода этого сетевого шнура обеспечивают подачу напряжения питания 220В 50Гц, а третий провод соединяет корпус прибора и его другие металлические токопроводящие части с нулевым, многократно заземленным проводом трехпроводной сети.

Все токоведущие части защищены от случайного прикосновения защитными кожухами.

Цепь питания прибора имеет плавкие предохранители, обеспечивающие отключение прибора в случае его неисправности, приводящей к увеличению тока потребления выше номинального.

В приборе обеспечено электрическое сопротивление между заземляющим контактом вилки и металлическими частями корпуса не более 0,2 Ом. Таким способом достигается надежное срабатывание плавких предохранителей при случайном соединении токоведущих частей с корпусом прибора.

В устройстве реализованы на программном уровне защитные блокировки:

- нельзя включить высокое напряжение при платформе позиционера в нижнем положении;
- нельзя включить высокое напряжение при открытой дверце прибора.

В качестве дополнительных мер электробезопасности рекомендуется производить замену линейки капилляров при выключенном приборе.

Должны соблюдаться правила техники безопасности, принятые на предприятии, эксплуатирующем прибор.

В качестве мер обеспечения биологической безопасности для сотрудников лаборатории должна быть предусмотрена спецодежда: медицинский халат, шапочка, перчатки и сменная обувь. Одноразовые перчатки подлежат смене при каждой новой операции. Работа без перчаток запрещена. Запрещается располагать личные вещи в рабочей зоне прибора.

При отказах прибора и попадании в аварийные условия эксплуатации рекомендуется выключить прибор, не дожидаясь завершения выполнения рабочего протокола.

Повторное включение выполнять после устранения неисправностей и аварийных условий эксплуатации.

В случае аварийного отключения результаты завершенных ранее анализов сохраняются и пригодны для последующей вторичной обработки.

2.2.3 ПРАВИЛА И ПОРЯДОК ОСМОТРА И ПРОВЕРКИ ГОТОВНОСТИ УСТРОЙСТВА К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

Перед началом работы производится внешний осмотр устройства. В процессе осмотра необходимо убедиться в отсутствии механических повреждений.

После транспортирования и хранения при отрицательных температурах перед расконсервацией устройство должно быть выдержано в нормальных условиях не менее 24 часов.

Размещение устройства необходимо производить в помещении согласно п 2.2.1. Установку устройства производят так, чтобы на него не попадали прямые солнечные лучи. Лабораторный стол должен иметь горизонтальную поверхность и располагаться на расстоянии не менее 1 м от отопительных приборов. Расстояние от задней стенки устройства до стены помещения должно быть не менее 0,5 м.

2.2.4 ПОДКЛЮЧЕНИЕ К КОМПЬЮТЕРУ И СЕТИ ПЕРЕМЕННОГО ТОКА

Подключить разъем устройства с маркировкой «USB» к компьютеру посредством кабеля связи, находящегося в ЗИП.

Подключить устройство к сети переменного тока 220 В 50 Гц через разъем устройства с маркировкой «~ 220 В» с помощью штатного сетевого комплекта, находящегося в ЗИП.

Включить компьютер и монитор, нажав пусковые кнопки.

Важно! На компьютере должно быть установлено программное обеспечение «СЕКВЕНАТОР».

Включить устройство. Для этого включить сетевой тумблер на задней панели и нажать кнопку «ВКЛ/ВЫКЛ» на передней панели. При этом должен загореться зеленый светодиод «220 В» в режиме постоянного свечения.

Нажать кнопку «Загрузка» на передней панели. Платформа позиционера должна переместиться в переднее положение.

В позиционер установить три контейнера с вспомогательными растворами (буфер, вода, вода). Жидкость в каждом контейнере должна быть на уровне 0,5 см от верхнего края.

В позиционер установить планшет с пробами. Рекомендуемый объем пробы – 10 мкл.

При длительной работе использовать контейнер для хранения проб, находящийся в ЗИПе.

Запустить программу «СЕКВЕНАТОР».

До запуска режима дать устройству прогреться в течение не менее 30 мин.

2.2.5 Порядок включения прибора

1) Включить компьютер, при необходимости ввести пароль.

2) Перед включением прибора убедиться, что:

- дверца термостата капилляров закрыта;
- дверцы прибора закрыты;
- компьютер включен;
- внутри рабочего пространства прибора не находится посторонних предметов;

3) Включить прибор нажатием кнопки «СЕТЬ»;

4) Убедиться, что желтый индикатор горит, а зеленый индикатор мигает.

Важно! Первый запуск устройства желательно производить в присутствии представителя предприятия изготовителя.

2.2.6 Установка новой линейки капилляров

Линейка капилляров отсутствует в приборе, позиционер опущен, дверца термостата и панель детектора открыты. Далее следует:



Рисунок 9- Отвернуть винт против часовой стрелки и выдвинуть блок заполнения полимером

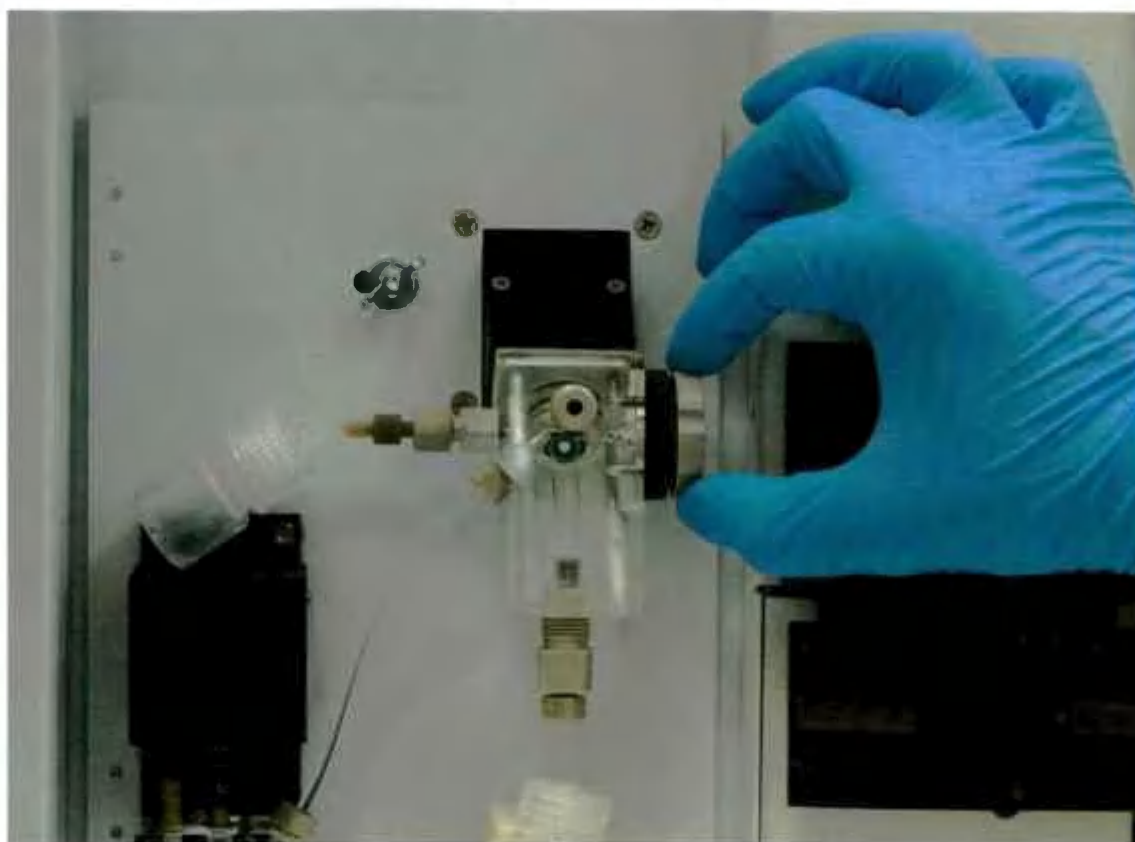


Рисунок 10 - Открутить винт, фиксирующий линейку капилляров в блоке заполнения полимером

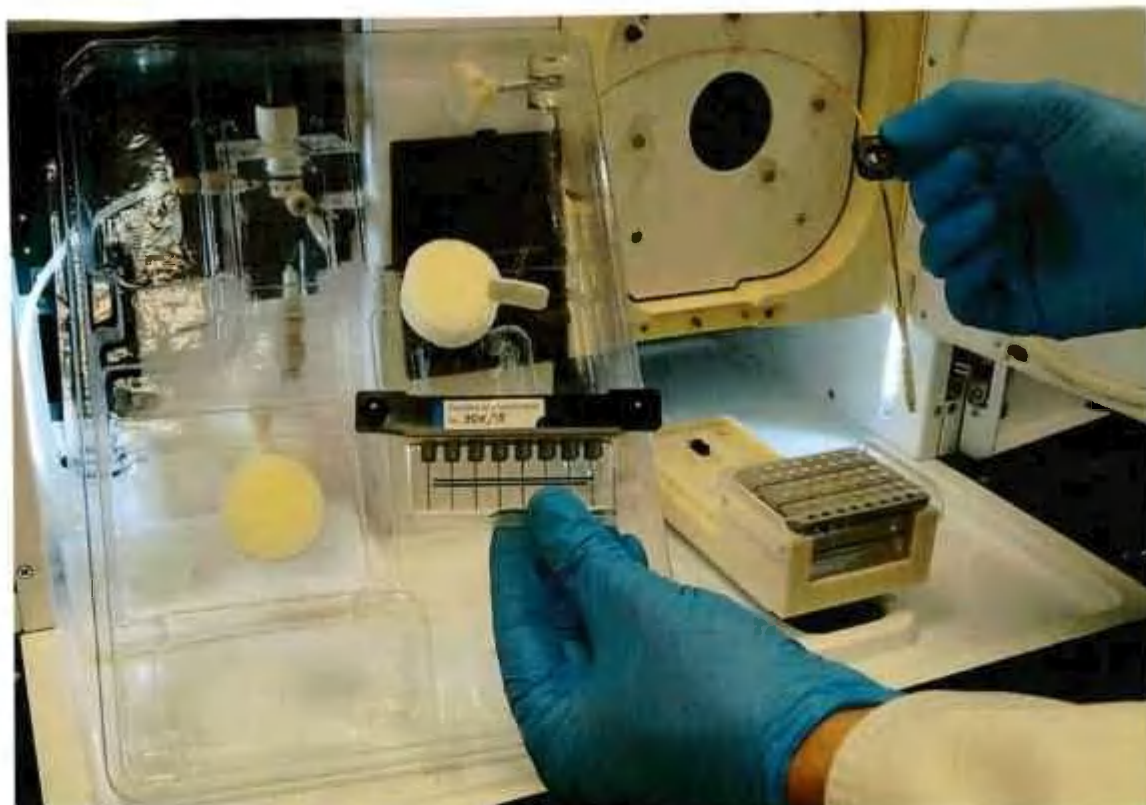


Рисунок 5 - Вскрыть коробку и достать линейку капилляров из упаковки



Рисунок 6 - Защелкнуть фиксаторы планки линейки капилляров.

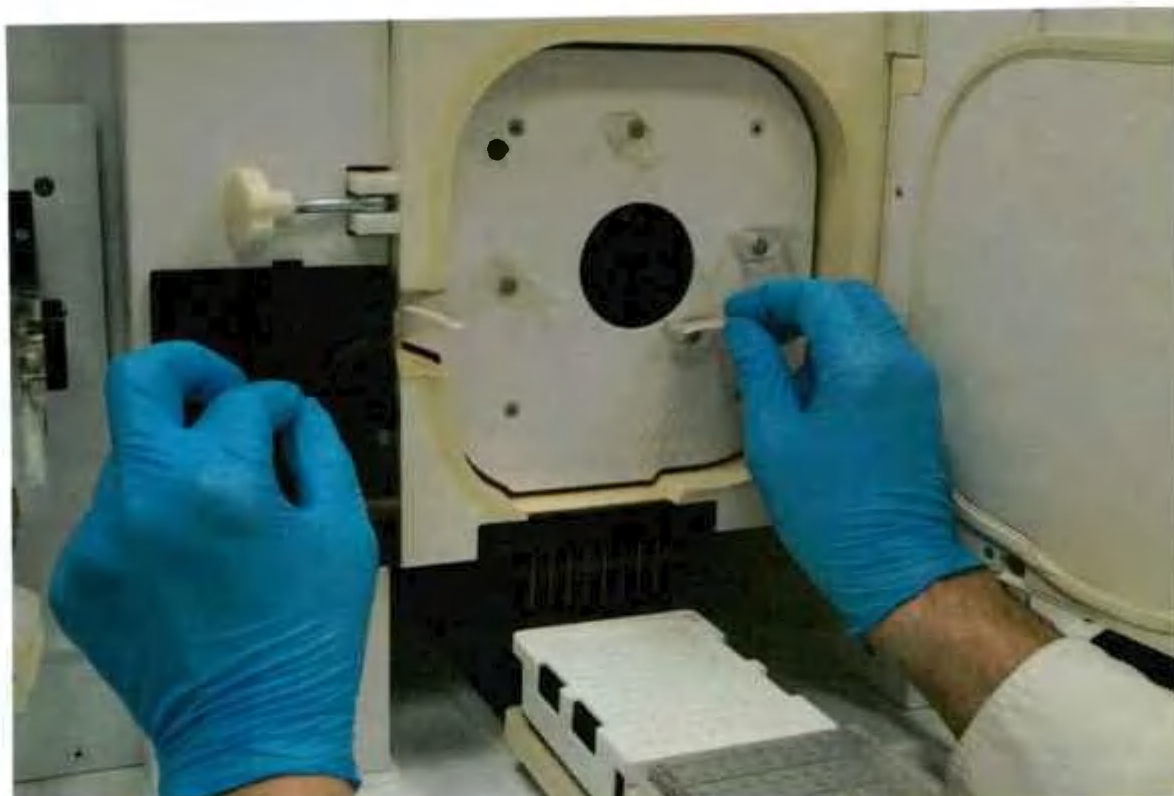


Рисунок 7 - Закрепить капилляры во внутренних фиксаторах термостата.

Если устанавливаемая линейка имеет длину 35 см, то закреплять следует в двух фиксаторах – в нижнем и в левом (Рисунок 13), если длина капилляров 50 см, то во всех четырех фиксаторах.



Рисунок 8 - Вставить трубку линейки капилляров в винт.



Рисунок 96 - Вставить трубку с винтом в блок заполнения полимером

Важно! Обратите внимание на положение оптического окна при вставке трубки с винтом, оно должно быть расположено, как показано на рисунке.

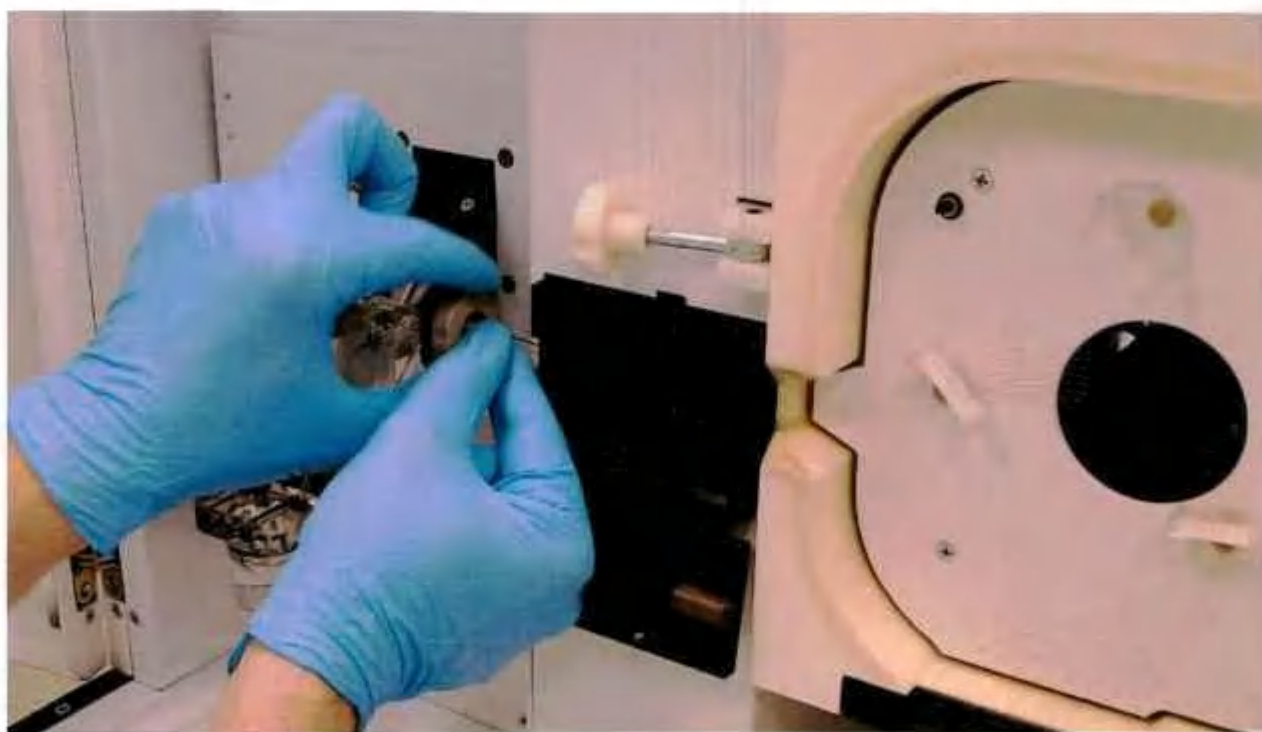


Рисунок 10 - Плотно закрутить фиксирующий винт

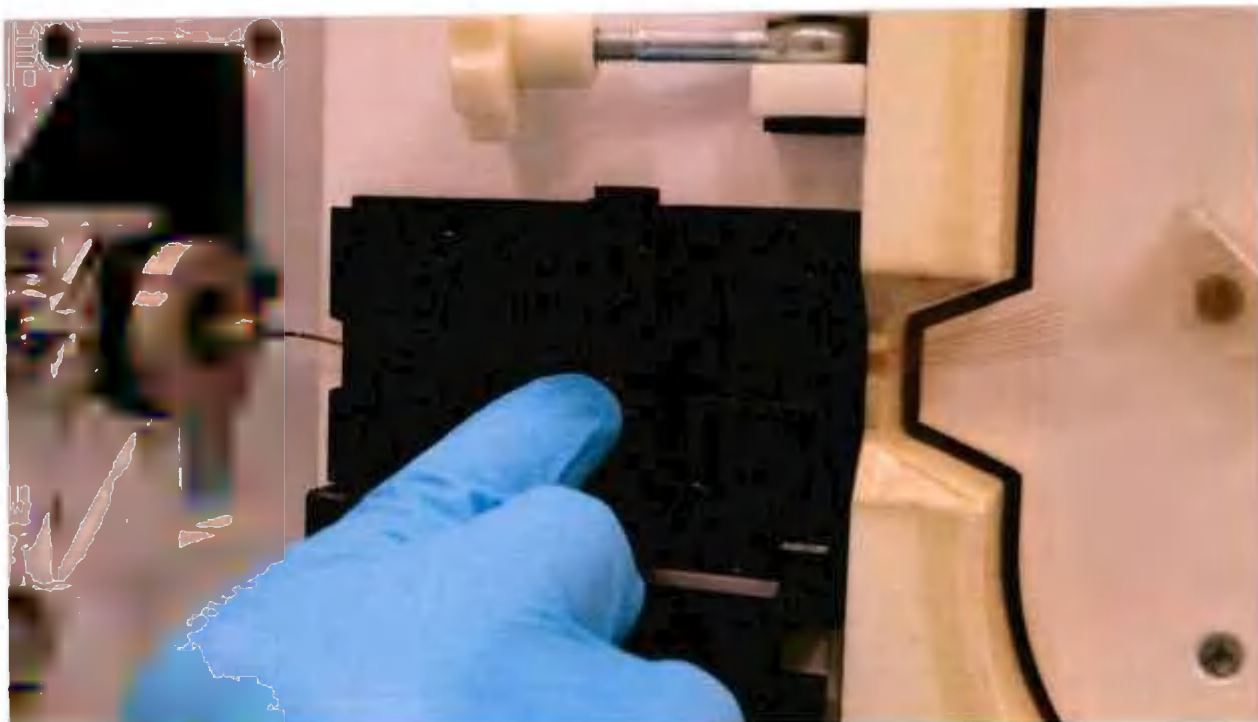


Рисунок 11 - Вставить оптическое окно линейки капилляров в окно детектора



Рисунок 12 - Зафиксировать панель блока заполнения полимером, закрутив до упора винт.

После этого закрыть панель детектора и дверцу термостата. Закрывать крышку детектора, термостата.

2.2.7 УСТАНОВКА ИЛИ ЗАМЕНА ФЛАКОНА С ПОЛИМЕРОМ

Когда полимер во флаконе заканчивается, необходимо заменить его на новый так, как это изображено на рисунке 19. Старый флакон вынуть из держателя, открутить крышку и прикрутить новый флакон.

Важно! Внести информацию об установке нового флакона с полимером в меню *Сервис* → *Замена полимера*.

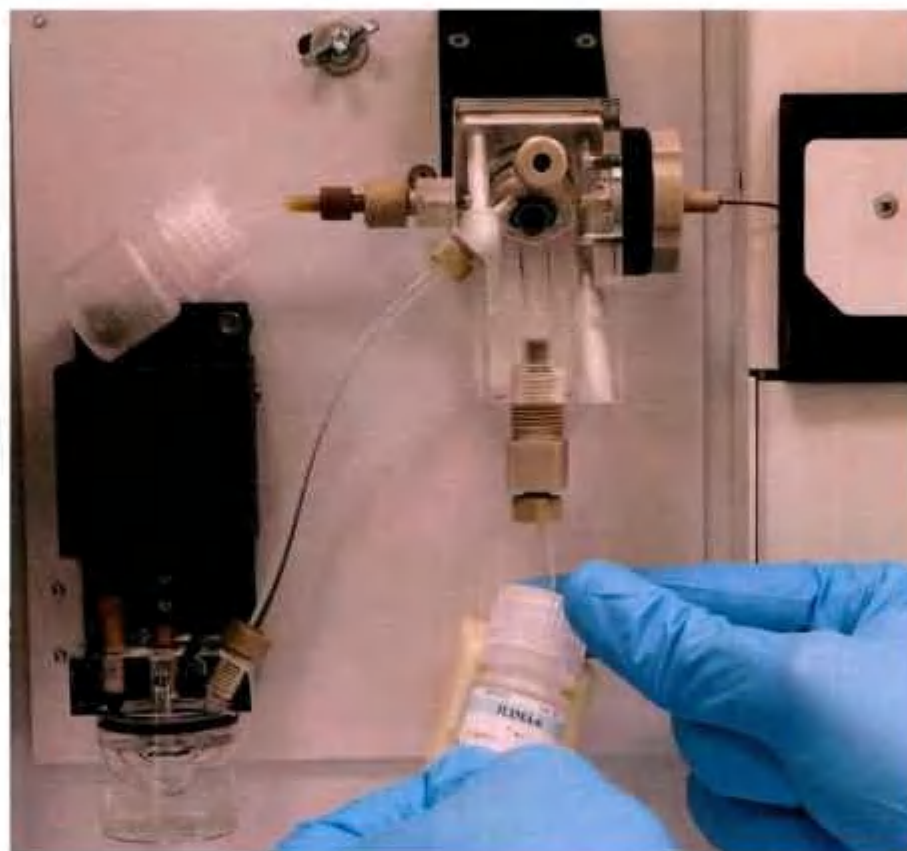


Рисунок 13 - Замена флакона с полимером

2.2.8 ЗАМЕНА ТИПА ПОЛИМЕРА

Если в процессе работы возникла необходимость поменять полимер на полимер другого типа (например, ПДМА-6 заменить на РОР-7), не меняя линейки капилляров, необходимо выполнить следующие действия:

- 1) В устройство заполнения полимером вместо флакона с полимером установить флакон с водой.

2) В пункте меню **Сервис** выбрать опцию **Шприц**.

3) В открывшемся окне убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**.

В противном случае выполнить команду **Опустить**, в результате чего клапан будет закрыт.

Выполнить следующие шаги:

- 1) Вылить буфер из емкости для анодного буфера и пустую установить ее на место (рисунок 27).
- 2) В части окна **Клапан** выполнить команду **Поднять**.
- 3) В части окна **Шприц** выставить значение **Скорость 90** и значение **Сдвинуть на (шагов) 12000**.
- 4) Выполнить команду **Вниз**. В ходе выполнения этой команды сапфировый поршень дойдет до нижней оптопары и остановится.
- 5) В части окна **Клапан** выполнить команду **Опустить**.
- 6) В части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**.
- 7) Повторить шаги 2–6 три раза.
- 8) Заменить флакон с водой на флакон с новым полимером.
- 9) Повторить шаги 2–6 два раза.
- 10) Промыть емкость для анодного буфера, заполнить ее буфером и установить на место.
- 11) Ввести информацию о замене полимера в окне **Сервис** → **Замена полимера**.

2.2.9 ЗАМЕНА АНОДНОГО БУФЕРА

Для замены анодного буфера, сначала аккуратно, качающими и крутящими движениями ослабить и снять емкость с буфером, как это изображено на рисунке 20:



Рисунок 14 - Замена анодного буфера

Старый буфер вылить, емкость промыть деионизованной водой, залить до метки свежий 1-х буфер ТАПС и крутящими движениями зафиксировать по месту. В случае вытекания избытка буфера, промокнуть его салфеткой (Рисунок 21).



Рисунок 15 - Удаление капель буфера

2.2.10 УДАЛЕНИЕ ПУЗЫРЕЙ ИЗ КАНАЛОВ БЛОКА ЗАПОЛНЕНИЯ ПОЛИМЕРОМ И АНОДНОГО БЛОКА

Выгнать из каналов блока заполнения полимером и анодного блока пузыри так, как это описано ниже:

- 1) В пункте меню **Сервис** выбрать опцию **Шприц**.

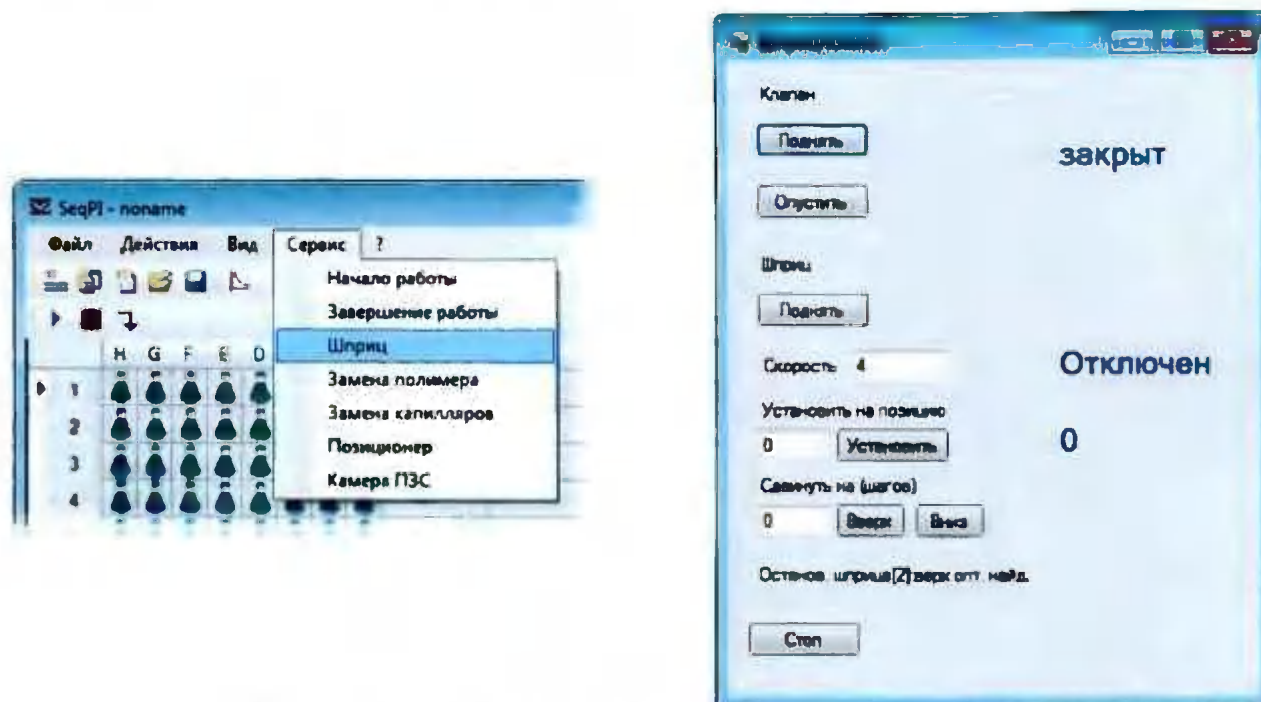


Рисунок 22 – Работа с блоком заполнения гелем

- 2) В открывшемся окне **Шприц/Клапан**, состоящем из двух частей - верхней **Клапан** и нижней **Шприц**, убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**. В противном случае выполнить команду **Опустить**, в результате чего клапан будет закрыт.
- 3) В части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**. Значение позиции шприца станет равно 0.
- 4) В части окна **Клапан** выполнить команду **Поднять**.
- 5) В части окна **Шприц** выставить значение **Скорость 90** и значение **Сдвинуть на (шагов) 1200**.
- 6) Выполнить команду **Вниз**.
- 7) Визуально убедиться, что пузыри вышли в анодный буфер.

- 8) Как только из каналов в анодный буфер вышли все пузыри, в окне **Шприц/Клапан** выполнить команду **Стоп**.
- 9) Если не все пузыри вышли, повторно выполнить команду **Вниз**.
- 10) В части окна **Клапан** выполнить команду **Опустить**.
- 11) В части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**.

Прибор готов к работе.

2.2.11 ЗАПОЛНЕНИЕ КАПИЛЛЯРОВ ПОЛИМЕРОМ

Если произошла замена линейки капилляров, то при первом заполнении капилляров полимером необходимо выполнить несколько операций.

В пункте меню **Сервис** выбрать опцию **Шприц**.

В открывшемся окне убедиться, что клапан находится в положении **Закрит**. В противном случае выполнить команду **Опустить**, в результате чего клапан будет закрыт.

- 1) Шприц установить на позицию **0**, для чего в части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**.
- 2) Прокачать полимер через капилляры, для чего выполнить команду **Сдвинуть на (шагов) 1000** при **Скорости 4** и нажать кнопку **Вниз**. В результате шприц будет перемещен на 1000 шагов вниз и через капилляры прокачается полимер (рисунок 23).

***Важно!** Величина скорости при движении шприца вниз и закрытом клапане анодного буфера не должна превышать 8!!!*



Рисунок 23 - Полимер выливается из капилляров

2.2.12 УСТАНОВКА ПЛАШКИ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ И РЕЗЕРВУАРОВ ДЛЯ ЖИДКОСТЕЙ

Последовательность сборки плашки для образцов и установка ее и резервуаров в прибор показана на рисунках 24–32:



Рисунок 16 - Элементы плашки

Слева направо: фиксатор плашки, держатель плашки, 96-луночная плашка для образцов, антииспаритель.

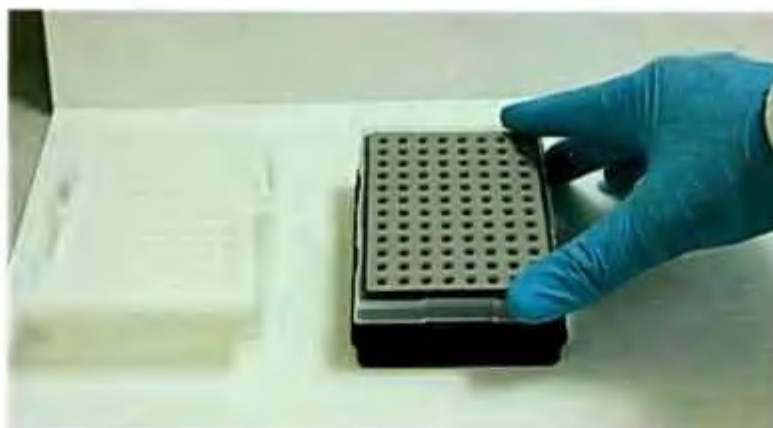


Рисунок 17 - Сборка плашки

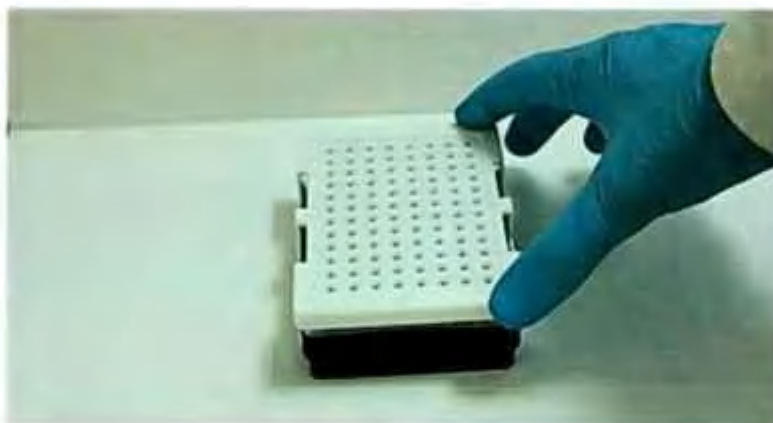


Рисунок 18 - Поместить сверху фиксатор и нажать до защелкивания. При этом отверстия в фиксаторе должны совмещаться с отверстиями в плашке



Рисунок 19 - Заполнить резервуары соответствующими жидкостями (буфером или деионизированной водой) до уровня черной линии

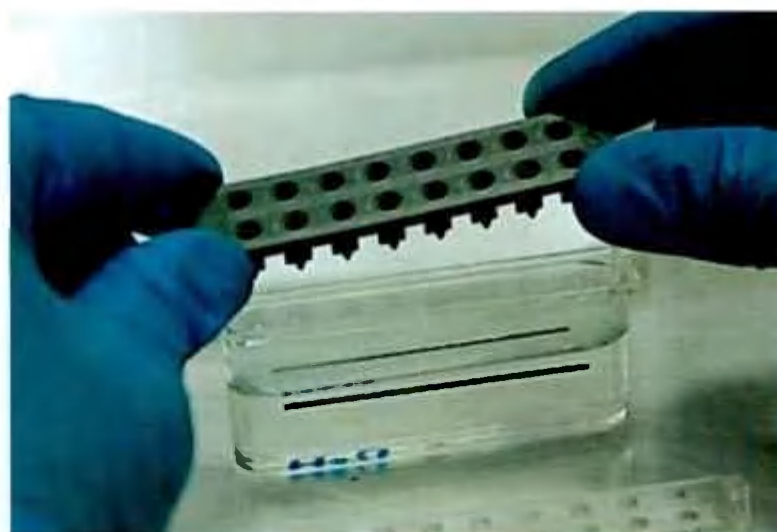


Рисунок 20 - Накрыть резервуар антииспарителем

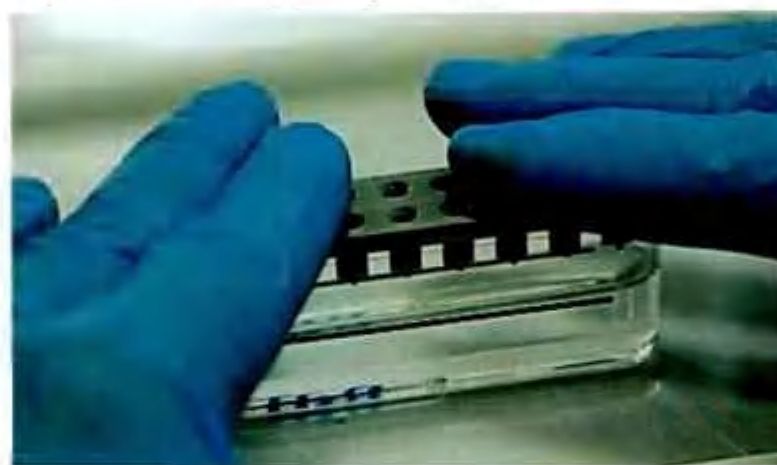


Рисунок 21 - Убедиться, что антииспаритель прилегает плотно



Рисунок 30 - Установить резервуары в соответствующие им положения на основании позиционера



Рисунок 22 - Закрывать фиксирующую крышку



Рисунок 23 - Поместить собранную плашку в позиционер

2.2.13 ЗАМЕНА ЛИНЕЙКИ КАПИЛЛЯРОВ

При замене линейки капилляров, следует сначала извлечь из прибора ранее установленную линейку. Процедура извлечения линейки пошагово проиллюстрирована на рисунках 33–41:



Рисунок 24 - Открыть дверцу термостата

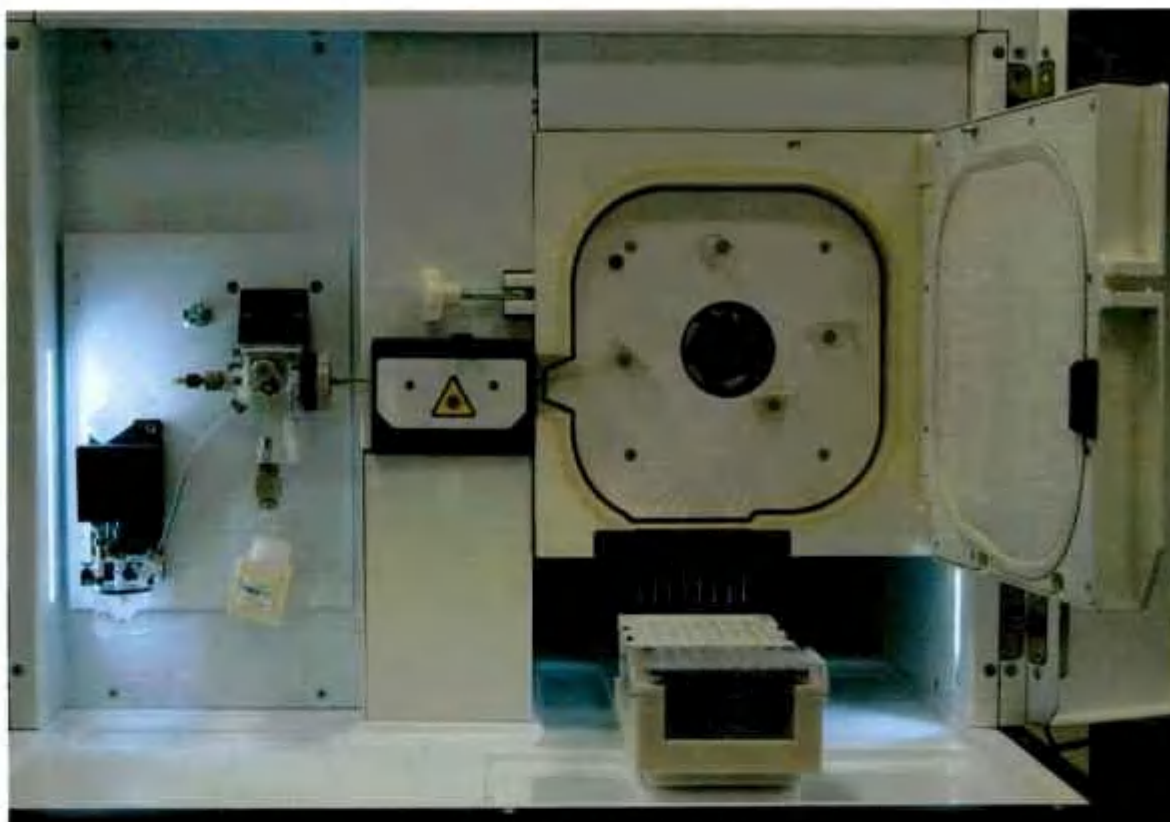


Рисунок 25 - Нажатием кнопки «ЗАГРУЗКА» выдвинуть позиционер

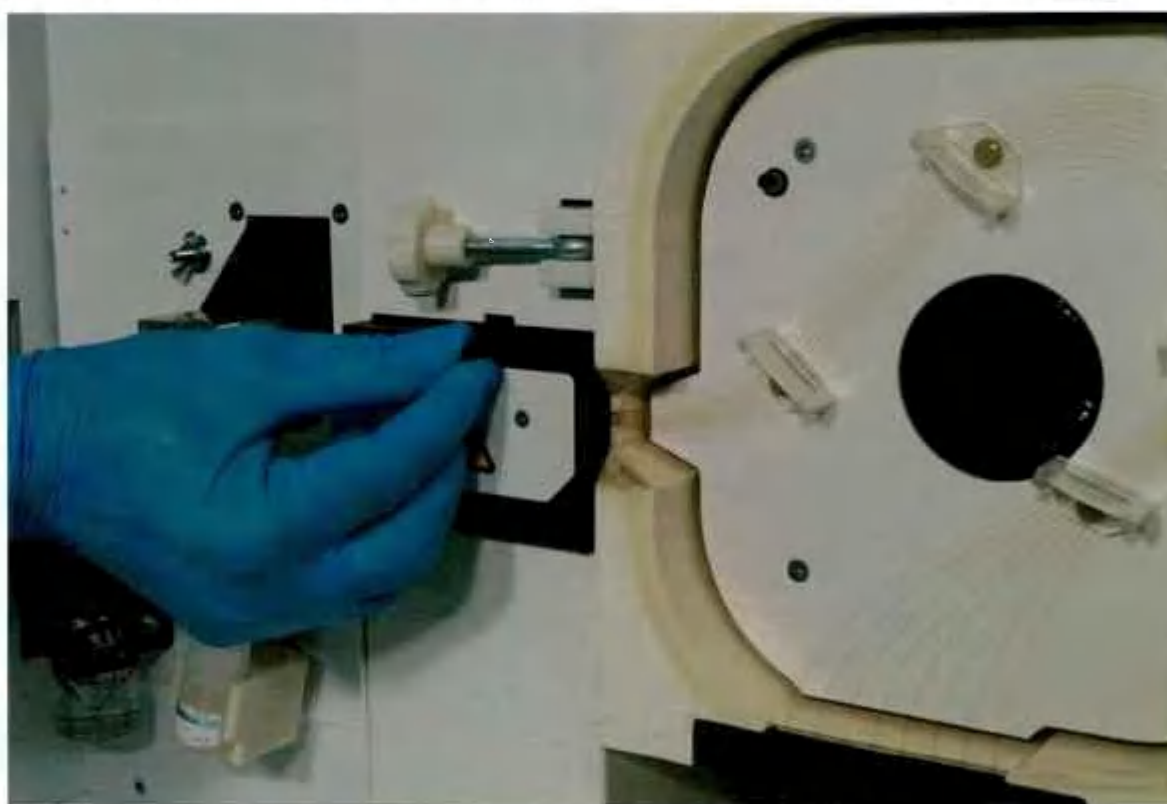


Рисунок 26 - Открутить винт панели детектора

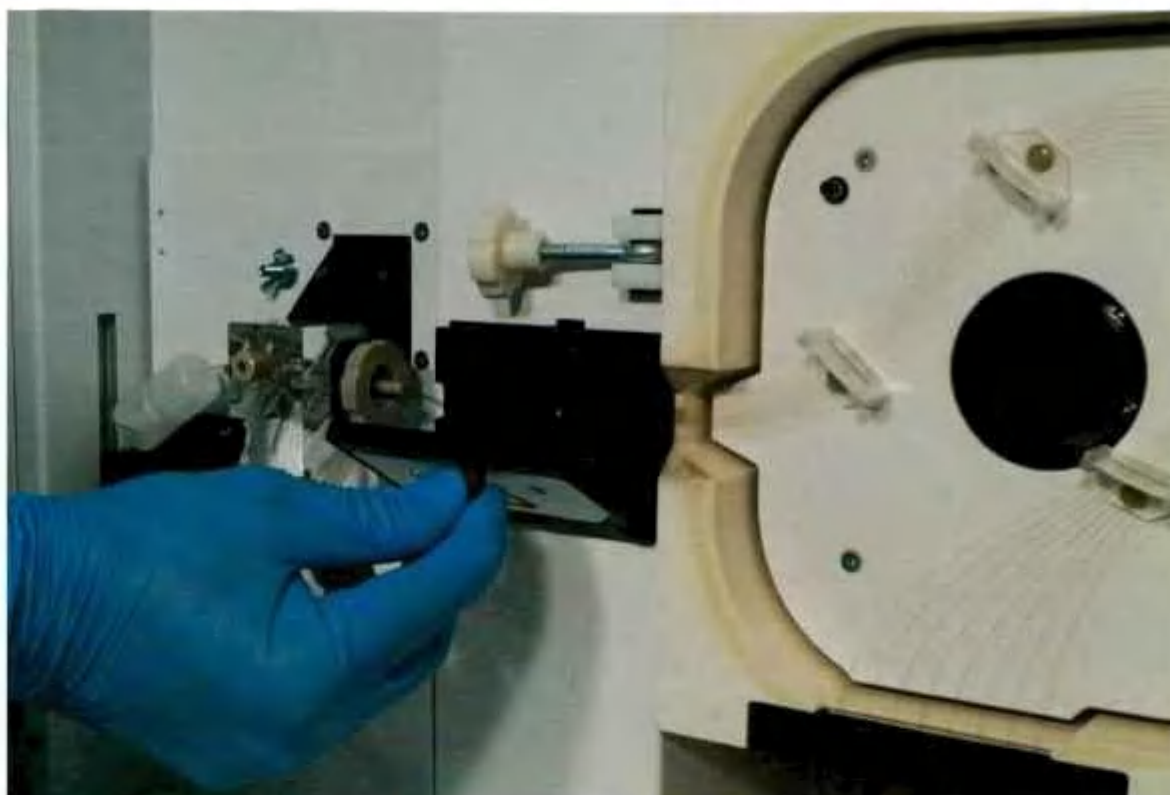


Рисунок 27 - Открыть панель детектора

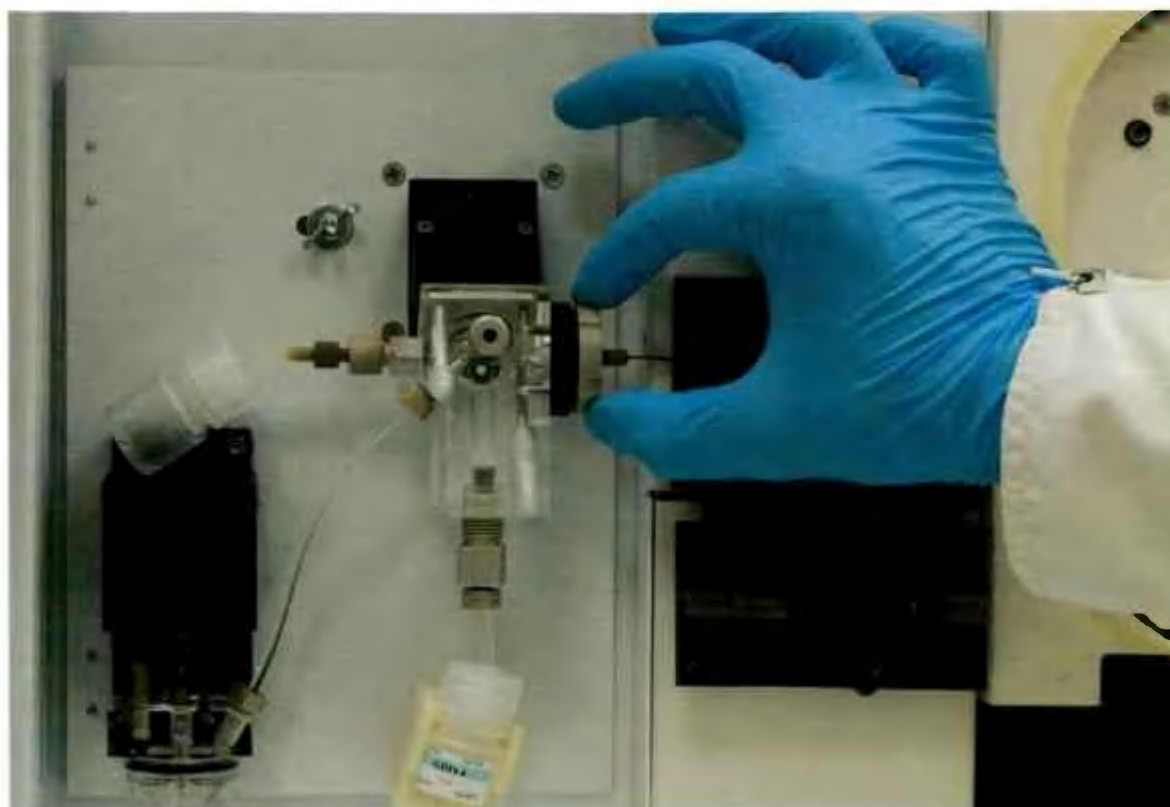


Рисунок 28 - Открутить винт, фиксирующий линейку капилляров в блоке заполнения полимером

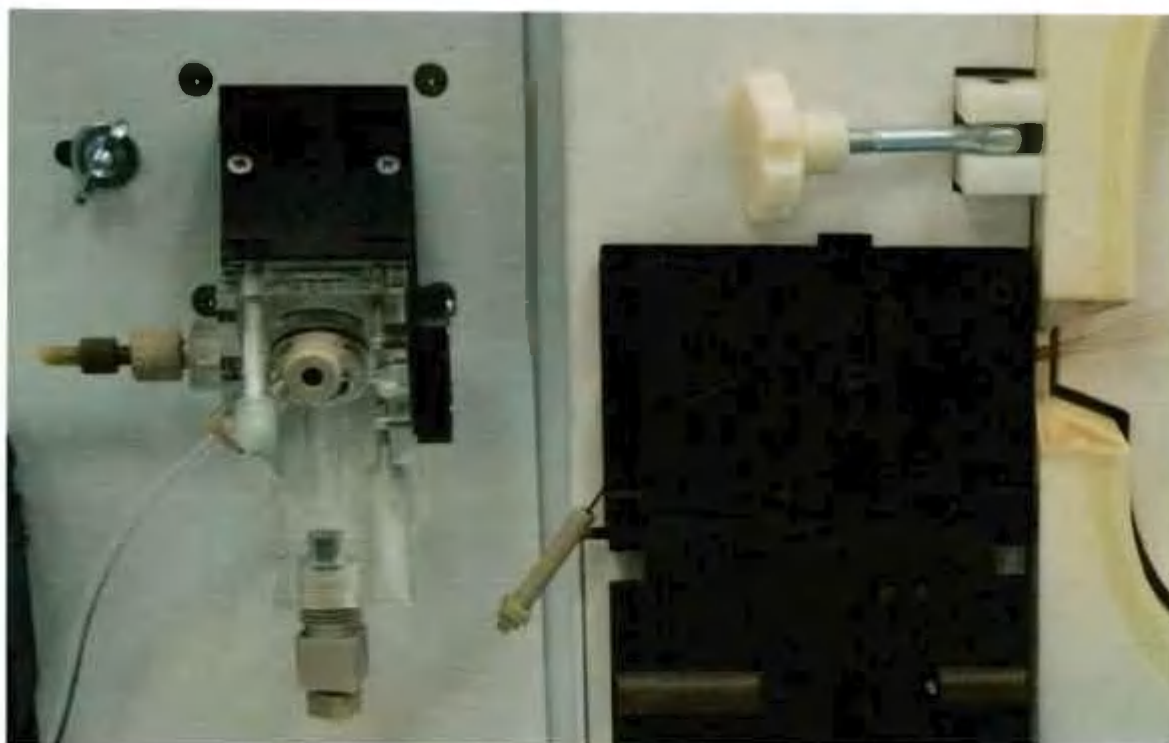


Рисунок 29 - Вынуть трубку линейки капилляров из блока заполнения полимером

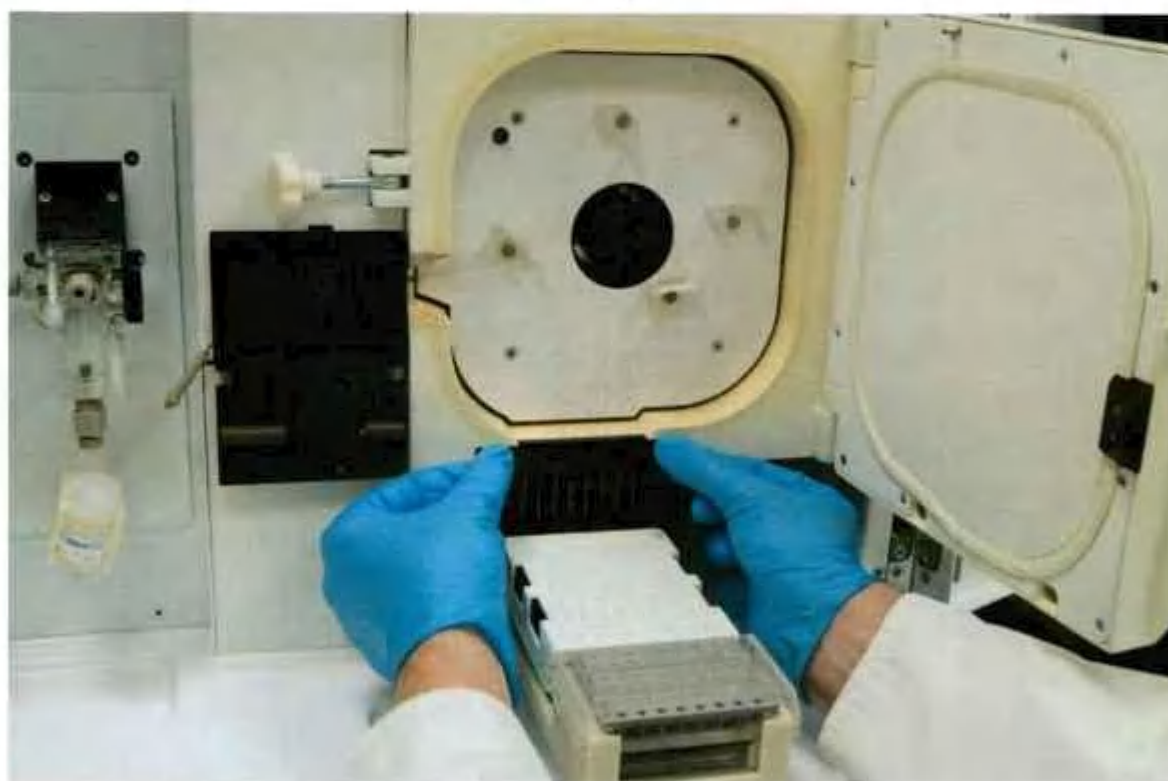


Рисунок 30 - Оттянуть на себя фиксаторы планки и снять ее

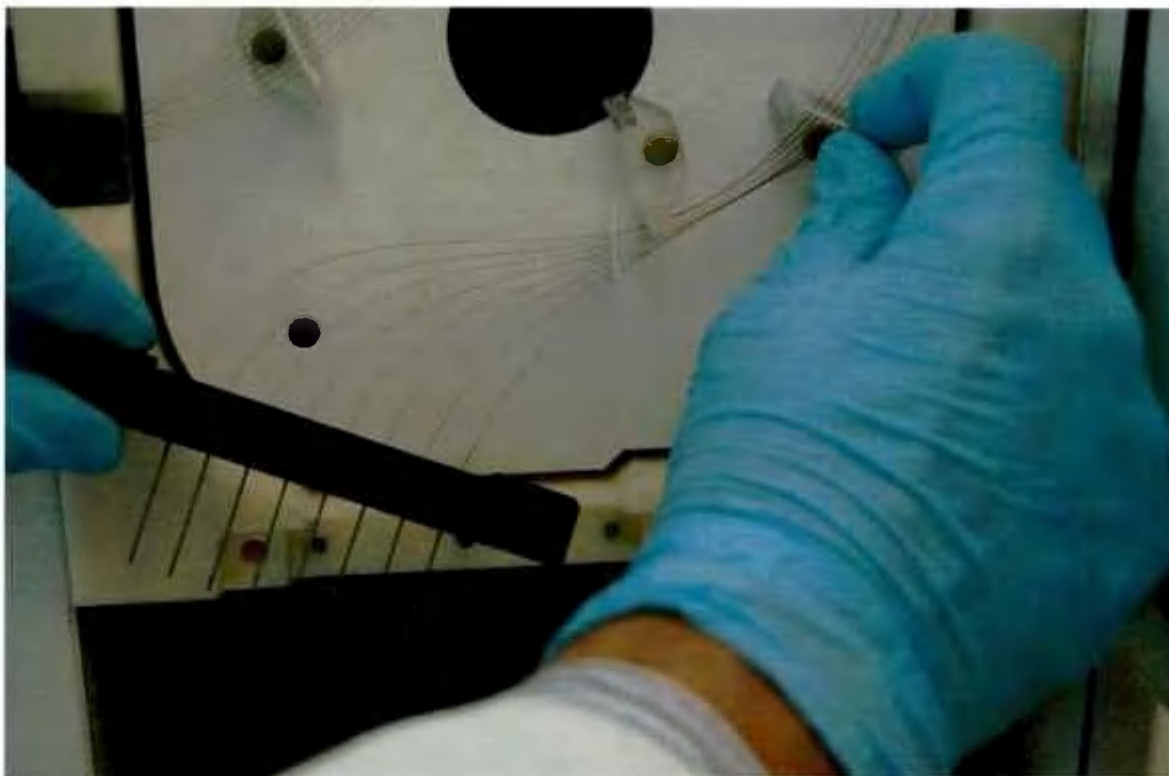


Рисунок 40 - Вынуть капилляры из внутренних фиксаторов термостата

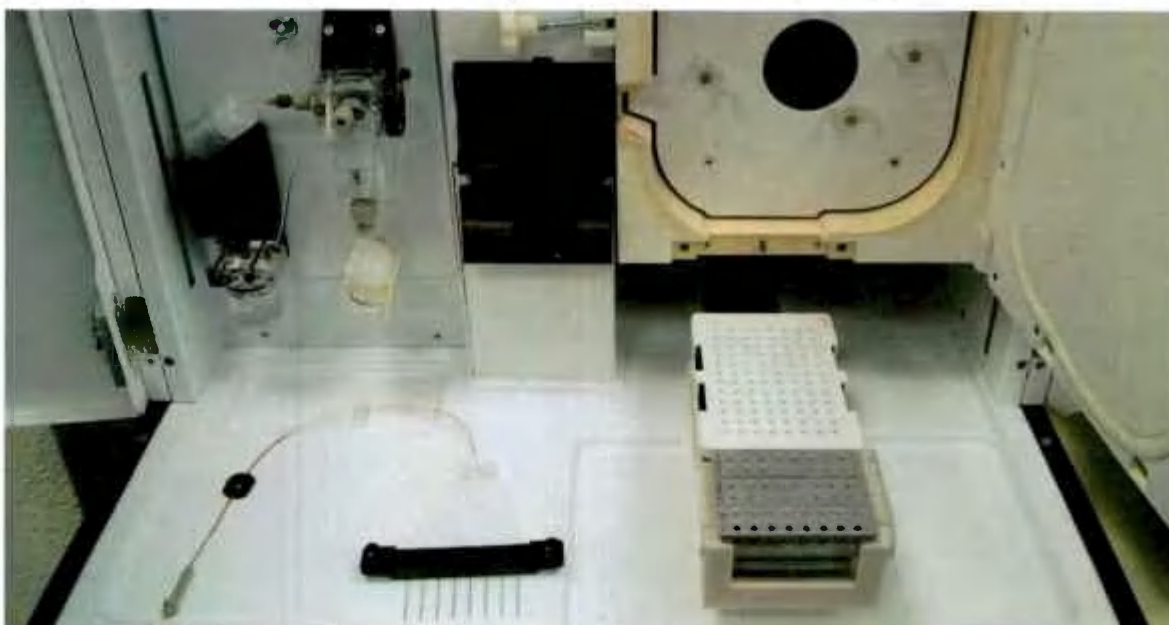


Рисунок 31 - Вынуть линейку капилляров из оптического окна детектора

Если удаленная линейка в дальнейшем будет использоваться, необходимо поместить анодный и катодный концы линейки в соответствующие емкости для хранения, заполненные буфером, а оптическое окно линейки покрыть защитной пленкой. После этого линейку капилляров упаковать в пластиковый футляр.

2.2.14 ОСНОВНЫЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ ДЕЙСТВИЯ ПЕРЕД НАЧАЛОМ РАБОТЫ

Профилактические действия при работе на «Устройстве секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» суммированы в таблице 3:

Таблица 3. Профилактические действия и их частота

№	Действие	Частота
1	Убедиться, что уровень жидкости буфера и воды в емкостях достаточен	Перед каждым запуском
2	Убедиться, что плашка с образцами, антииспаритель и фиксирующая крышка в правильной сборке (отверстия в фиксирующей крышке, антииспарителе и отверстия пробирок с образцами должны совпадать – иначе капилляры будут испорчены)	Перед каждым запуском
3	Убедиться, что плашка с образцами поставлена в позиционер правильно – плашка должна стоять ровно (никогда не используйте искривленные плашки)	Перед каждым запуском
4	Убедиться, что уровень буфера в емкости анодного буфера достаточен	Перед каждым запуском
5	Заменить буфер и воду в емкостях, находящихся в позиционере-держателе. Проверить, что внешние поверхности емкостей сухие	Каждую неделю
6	Проверить, что в блоке заполнения полимером и всех каналах, заполненных полимером, отсутствуют пузырьки. В случае наличия пузырьков необходимо удалить их	Перед каждым запуском

7	Проверить состояние капилляров со стороны позиционера-держателя на предмет их повреждения или загиба	Перед каждым запуском
8	Проверить уровень полимера в емкости с полимером и при необходимости долить полимер	Перед каждым запуском
9	Протереть поверхности прибора	Ежедневно
10	Проверить, нет ли протечки (высохшего полимера с кристаллами мочевины) вокруг винта, фиксирующего капилляры в блоке заполнения полимером, на винтах трубки, соединяющей блок заполнения полимером и анодную часть блока, вокруг перекрывающего крана	Перед каждым запуском

2.2.15 КОНСЕРВАЦИЯ ПРИБОРА

В том случае, если планируется, что прибор не будет эксплуатироваться длительное время (более месяца), необходима консервация прибора.

- 1) Убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**, вызвав опцию **Шприц**. В противном случае выполнить команду **Опустить** клапан, в результате чего клапан будет закрыт.
- 2) Удалить из прибора линейку капилляров, как описано в пункте 3.2.1. Поместить анодный и катодный концы линейки в соответствующие емкости с буфером, а оптическое окно линейки покрыть защитной пленкой. После этого линейку капилляров упаковать в пластиковый футляр.
- 3) В винт, фиксирующий линейку капилляров в блоке заполнения полимером, вставить заглушку, имеющуюся в комплекте ЗИП, и плотно закрутить винт.

- 34
- 4) Убедиться, что внешние и внутренние поверхности прибора сухие и чистые. Случайные капли жидкостей и геля необходимо ликвидировать фильтровальной бумагой.
 - 5) Закрыть дверцы.
 - 6) Выключить компьютер.
 - 7) Выключить сетевой тумблер на задней панели прибора.

2.3 ОПИСАНИЕ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ УПРАВЛЕНИЯ УСТРОЙСТВОМ «SEQPI»

Для дальнейших действий необходимо ознакомиться с управляющей программой.

Работа «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» осуществляется под управлением программы SeqPI, версия 1.1.



С помощью ярлыка на рабочем столе компьютера запустить программу SeqPI. Откроется главное окно программы:

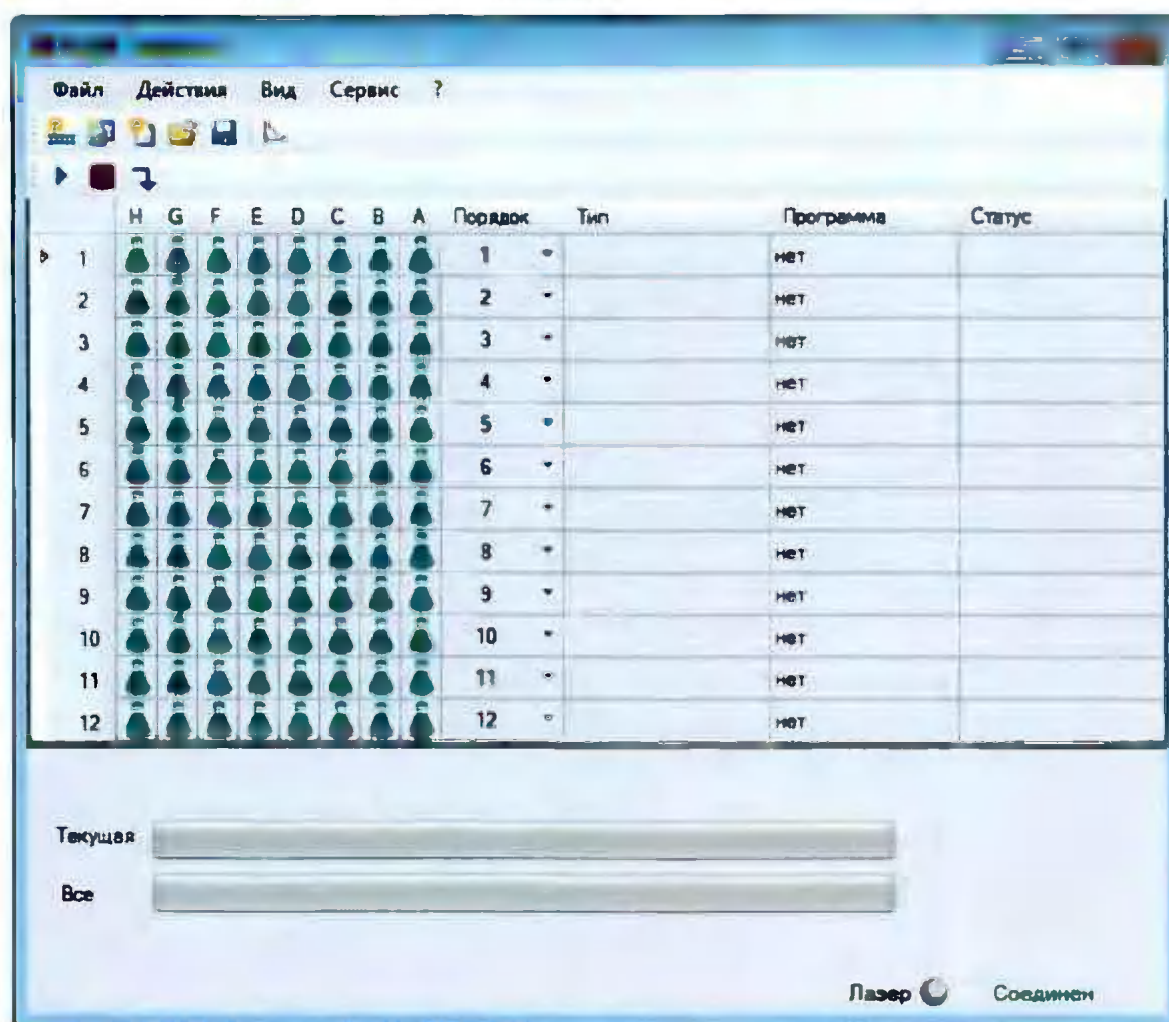


Рисунок 32 – Главное окно программы SeqPI

2.3.1 НАЗНАЧЕНИЕ КНОПОК И ПУНКТОВ МЕНЮ ГЛАВНОГО ОКНА ПРОГРАММЫ

В верхней части окна расположены кнопки и панель меню главного окна программы SeqPI:



Рисунок 33 – Пункты меню

2.3.2 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КНОПКИ ГЛАВНОГО ОКНА ПРОГРАММЫ

Назначение кнопок меню главного окна программы SeqPI приведено в таблице 4:

Таблица 4. Функциональные кнопки главного окна

Кнопка	Функция
 Добавить анализ	Открытие окна Выбор ряда . Начало создания файла проекта для проведения анализа образцов в плашке.
 Новый планшет	Очистка текущих значений параметров анализа и данных для всех рядов планшета. Открытие окна Эксперимент . Ввод названия планшета и имени оператора.
 Свойства планшета	Открытие окна Эксперимент . Ввод или изменение названия планшета и имени оператора.
 Открыть	Открытие файла проекта <i>.fap</i> . Просмотр данных проанализированных образцов и/или запуск анализа.
 Сохранить	Сохранение файла проекта <i>.fap</i> (после окончания анализа файл проекта <i>.fap</i> сохраняется автоматически).

Графики	Открытие окна Графики . Отображение текущих или сохраненных экспериментальных данных.
Изм. Текущие значения	Запуск отображения текущих экспериментальных данных в окне Графики .
Запустить	Запуск анализа плашки.
Остановить	Остановка анализа плашки.
Следующий ряд	Переход к анализу следующего ряда плашки.

2.3.3 ПАНЕЛЬ МЕНЮ ГЛАВНОГО ОКНА ПРОГРАММЫ

Панель меню программы **SeqPI** состоит из пяти категорий и выглядит следующим образом:

Файл Действия Вид Сервис ?

2.3.3.1 Категория «Файл»



Рисунок 34 – Категория «Файл»

Назначение пунктов категории **Файл** программы **SeqPI** приведено в таблице 5:

Таблица 5 - Пункты категории Файл

Пункт	Функция
 Новый планшет	Очистка текущих значений параметров анализа и данных для всех рядов планшета. Открытие окна Эксперимент . Ввод названия планшета и имени оператора.
 Открыть	Открытие файла проекта <i>.far</i> . Просмотр данных для проанализированных образцов и/или запуск анализа.
 Сохранить	Сохранение файла проекта <i>.far</i> (после окончания анализа файл проекта <i>.far</i> сохраняется автоматически).
 Свойства планшета	Открытие окна Эксперимент . Ввод или изменение названия планшета и имени оператора.
Импорт	Позволяет импортировать заранее подготовленные в формате <i>.txt</i> данные, чтобы избежать переноса данных “вручную”.
Экспорт	Позволяет экспортировать описание планшета, полученное с помощью устройства; описание планшета, полученное на приборах Applied Biosystems; а также экспортировать данные, чтобы избежать переноса “вручную”.
Выход	Завершение работы программы SeqPI .

2.3.3.2 Категория «Действия»

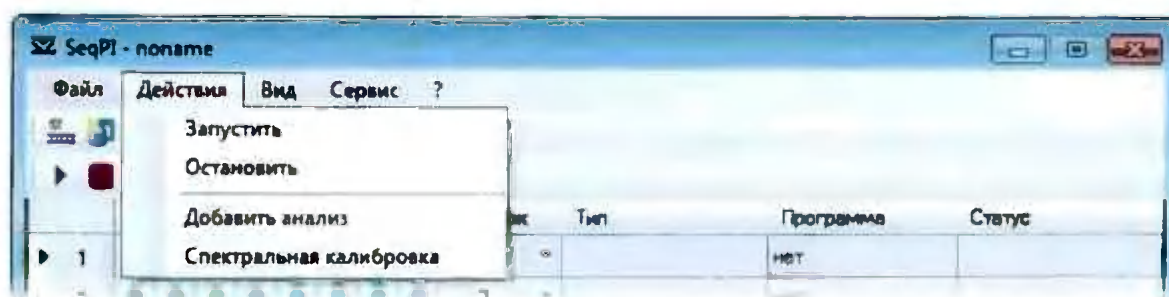


Рисунок 35 – Категория «Действия»

Назначение пунктов категории **Действия** программы **SeqPI** приведено в таблице 6:

Таблица 6 - Пункты категории Действия

Пункт	Назначение
Запустить	Запуск анализа плашки.
Остановить	Остановка анализа плашки.
Добавить анализ	Открытие окна Выбор ряда . Начало создания проекта проведения анализа образцов в плашке.
Спектральная калибровка	Открытие окна Спектральная калибровка . Начало создания проекта проведения спектральной калибровки.

2.3.3.3 Категория «Вид»

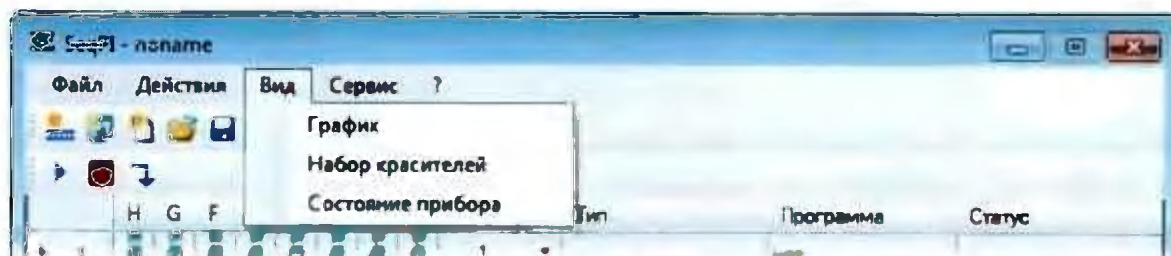


Рисунок 36 – категория «Вид»

Назначение пунктов категории **Вид** программы SeqPI приведено в таблице 7:

Таблица 7. Пункты категории Вид

Пункт	Назначение
График	Открытие окна График . Отображение текущих или сохраненных экспериментальных данных в графическом виде.
Набор красителей	Открытие окна Набор красителей . Просмотр (создание) наборов красителей и спектральных калибровок.
Состояние прибора	Открытие окна Состояние прибора . <i>Дополнительная информация о текущем состоянии прибора.</i>

2.3.3.4 Категория «Сервис»

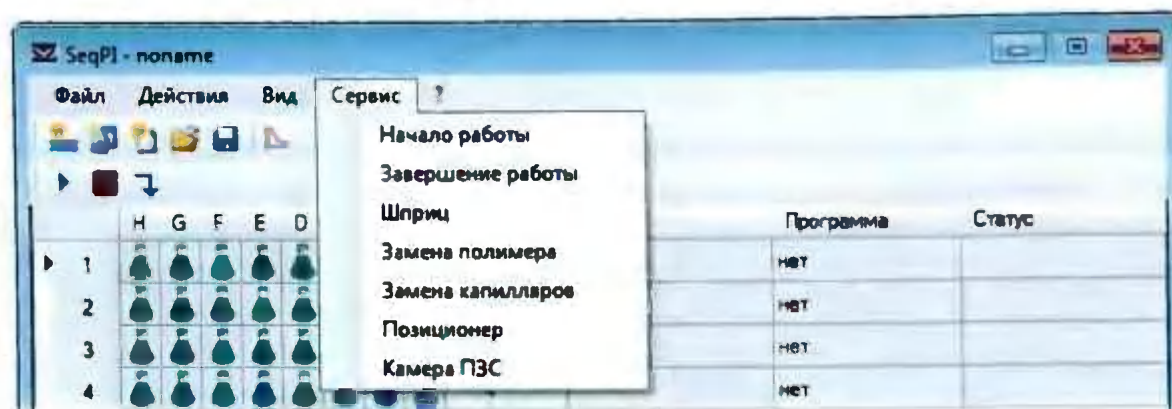


Рисунок 37- Категория «Сервис»

Назначение пунктов категории **Сервис** программы SeqPI приведено в таблице 8:

Таблица 8. Пункты категории Сервис

Пункт	Назначение
Начало работы	Включение лазера. Выполняется автоматически при запуске анализа.
Завершение работы	Выключение лазера и приведение прибора в исходное состояние.
Шприц	Открытие окна Шприц/Клапан . Управление заполнением полимером линейки капилляров и блока геля.
Замена полимера	Открытие окна Замена полимера . Ввод названия и номера партии геля после замены.
Замена капилляров	Открытие окна Замена капилляров . Внесение параметров линейки капилляров после замены.
Позиционер	Открытие окна Позиционер . Управление перемещением планшета для настройки позиционера. <i>Используется только специалистами по настройке прибора.</i>
Камера ПЗС	Открытие окна Video camera . Наблюдение сигнала флуоресценции.

2.3.3.5 Категория «?»

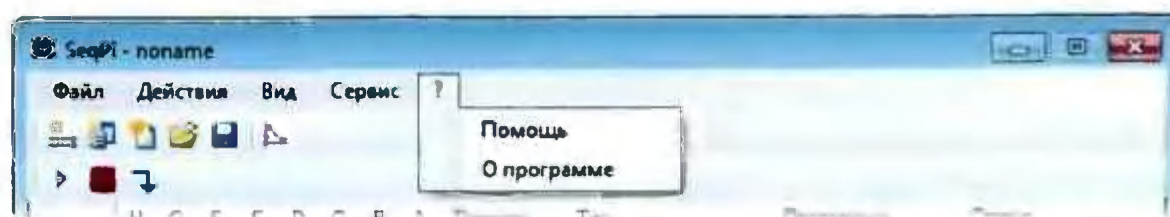


Рисунок 38 – Категория «?»

Назначение пунктов категории ? программы SeqPI приведено в таблице 9:

Таблица 9 - Пункты категории ?

Пункт	Назначение
Помощь	Выход на сайт с описанием программного обеспечения.
О программе	Содержит информацию о версии ПО.

2.3.4 ОПИСАНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ ОКНА ПРОГРАММЫ «SEQPI»

	Н	Г	Ф	Е	Д	С	В	А	Порядок	Тип	Программа	Статус
1	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	1	▼	нет	
2	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	2	▼	нет	
3	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	3	▼	нет	
4	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	4	▼	нет	
5	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	5	▼	нет	
6	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	6	▼	нет	
7	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	7	▼	нет	
8	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	8	▼	нет	
9	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	9	▼	нет	
10	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	10	▼	нет	
11	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	11	▼	нет	
12	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	12	▼	нет	

Рисунок 39 – Центральная часть окна программы SeqPI

Описание параметров и обозначений в центральной части окна программы SeqPI приведено в таблице 10:

Таблица 10. Центральная часть окна программы SeqPI

Обозначение/параметр	Назначение
1...12	Номера рядов в плашке.
H...A	Обозначение столбцов в плашке.
	- Изображение образца в плашке. - Открытие окна Образцы при двойном нажатии левой кнопки мыши, когда указатель расположен на любом значке  в выбранном ряду плашки. Просмотр (редактирование) параметров анализа и образцов. - Всплывающее окно с информацией об анализируемом образце при наведении указателя мыши на значок , в выбранном столбце и ряду плашки.
Порядок	Последовательность проведения анализа образцов по рядам в плашке.
Тип	Название типа анализа для каждого ряда плашки: Фрагментный , Сиквенсный или Спектр. калибр.
Программа	Название выбранной программы анализа для каждого ряда плашки. Всплывающее окно с параметрами программы при наведении курсора мыши на ячейку с названием программы, в выбранном ряду плашки. Открытие окна Программа измерения двойным нажатием левой кнопки мыши, когда указатель расположен на ячейке с названием программы в выбранном ряду плашки.
Статус	Готовность прибора к проведению анализа: Готов к анализу – ряд плашки готов к запуску анализа; Измерение... – идет анализ в текущем ряду плашки; Готово – анализ в данном ряду плашки завершен; Остановлено пользователем – анализ плашки был остановлен пользователем в данном ряду.

2.3.5 ОПИСАНИЕ НИЖНЕЙ ЧАСТИ ОКНА ПРОГРАММЫ «SEQPI»



Рисунок 50 – Нижняя часть окна

Описание параметров и обозначений в нижней части окна программы SeqPI приведено в таблице 11:

Таблица 11. Нижняя часть окна программы

Обозначения и параметры	Назначение
Текущая	Информация о времени до окончания программы анализа текущего ряда плашки.
Все	Информация о времени до окончания программ анализа всех рядов плашки.
Лазер 	Означает, что лазер выключен.
Лазер 	Означает, что лазер включен.
Соединен 	Означает наличие соединения прибора с компьютером.
Отсоединен 	Означает отсутствие соединения прибора с компьютером, работа с прибором невозможна.

2.4 ПОРЯДОК КОНТРОЛЯ РАБОТОСПОСОБНОСТИ УСТРОЙСТВА.

2.4.1 ПРОСТРАНСТВЕННАЯ КАЛИБРОВКА

2.4.1.1 Проведение проверки правильности установки и качества линейки капилляров

Проверка правильности установки и качества линейки капилляров проводится в следующих случаях:

- после замены/установки линейки капилляров;
- после того, как открывалось окно детектора;
- после перемещения/транспортировки анализатора.

Сначала в главном окне программы **SeqPI** в меню **Сервис** выбрать пункт **Начало работы**.

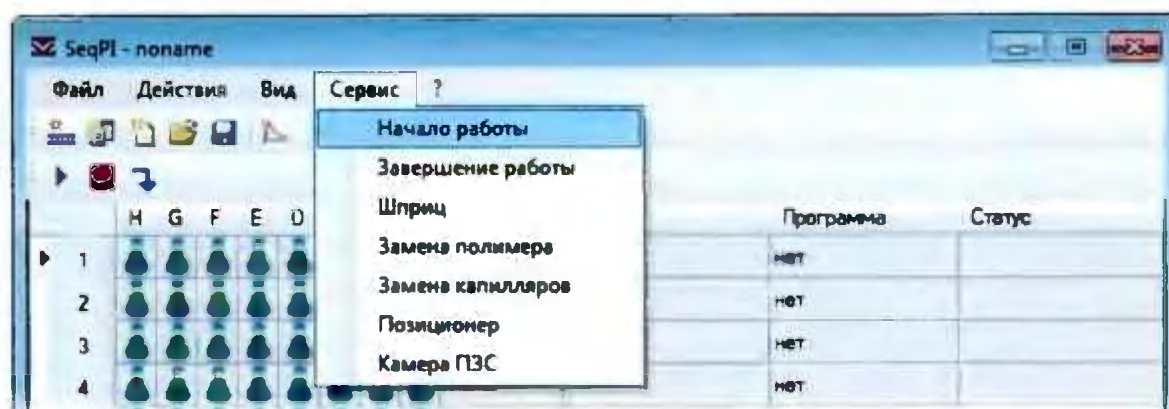


Рисунок 40 – Начало работы

При этом должен включиться лазер, а серый кружок рядом с надписью **Лазер** в нижней части окна программы должен поменять цвет на красный.

В меню **Сервис** выбрать пункт **Камера ПЗС**.

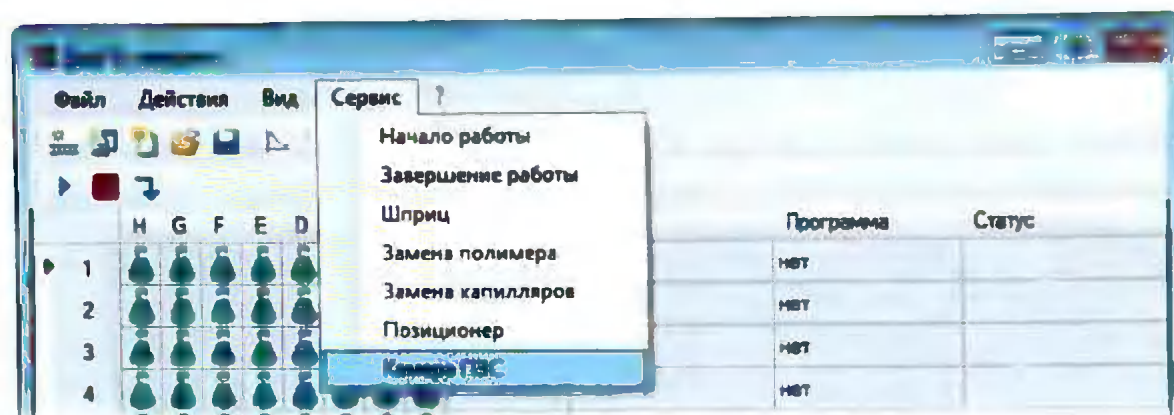


Рисунок 41 – Вызов окна «Камера ПЗС/Video camera»

В открывшемся окне **Video camera** отображается флуоресценция 8 капилляров под действием пучка лазера $\lambda = 488$ нм в спектральном диапазоне 510–710 нм (Рисунок 53).

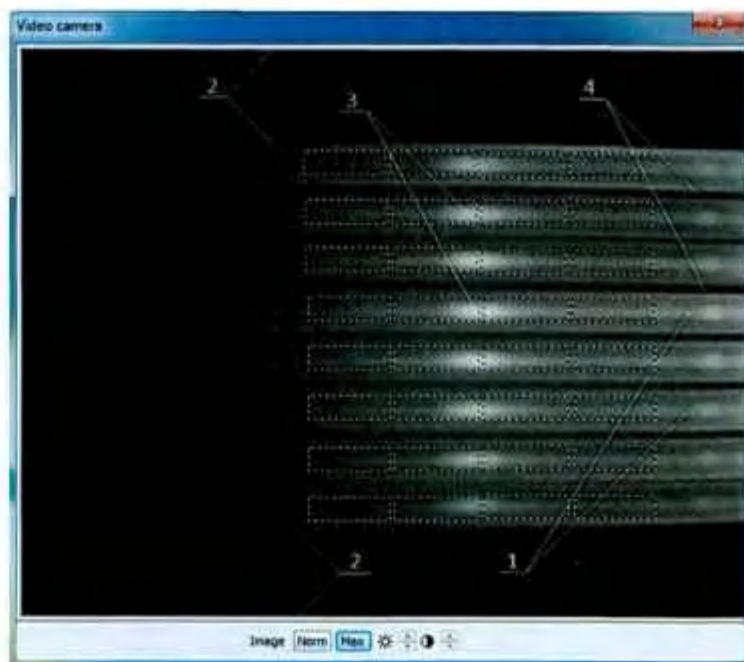


Рисунок 42. Окно Video camera.

С помощью кнопок меню **Norm** **Max** необходимо добиться четкого и контрастного изображения. Как правило, этого можно достичь нажатием кнопки **Max**.

2.4.1.2 Критерии правильной установки и хорошего качества линейки капилляров.

Главные критерии правильной установки и хорошего качества линейки капилляров можно наглядно описать исходя из рисунка 53.

1. Все восемь капилляров находятся на равном удалении друг от друга (поз.1).
2. Крайние капилляры расположены на одинаковом расстоянии от границ изображения по вертикали (поз.2). Допускается незначительное смещение, но при сохранении качества изображения для всех капилляров.
3. Изображения всех капилляров на рисунке имеют одинаковую яркость.
4. Хорошо различима только одна светящаяся область внутри изображения каждого капилляра (поз.3), характерная для комбинационного рассеяния света лазера $\lambda = 488$ нм на воде в полимере. Светящиеся области во всех капиллярах расположены вблизи центра рисунка по горизонтали и не смещены друг относительно друга.
5. Отсутствуют светящиеся области между изображениями капилляров (поз.4).

***Важно!** Наличие хорошо различимой светящейся области внутри изображения каждого капилляра гарантирует высокую чувствительность «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями».*

2.4.1.3 Критерии неправильной установки и/или плохого качества линейки капилляров.

Таблица 12. Критерии неправильной установки и/или плохого качества линейки капилляров

Критерий	Способ устранения
Видны изображения менее 8 капилляров.	Переустановить линейку и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Крайние капилляры расположены на разном расстоянии от границ окна или качество изображения капилляров заметно отличается.	Переустановить линейку и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Изображения капилляров на рисунке имеют разную яркость.	Очистить линейку сжатым воздухом, переустановить и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Не наблюдается светящаяся область внутри изображения каждого капилляра, характерная для комбинационного рассеяния света лазера 488 нм на воде в полимере.	Переустановить линейку и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Светящиеся области видны, но расположены вдали от центра изображения по горизонтали или сильно смещены друг относительно друга.	Очистить линейку сжатым воздухом, переустановить и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Наблюдаются светящиеся области между изображениями капилляров.	Очистить линейку сжатым воздухом, переустановить и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.

2.4.2 СПЕКТРАЛЬНАЯ КАЛИБРОВКА

Спектральная калибровка проводится после замены/установки линейки капилляров для каждого набора флуоресцентных красителей, используемых для анализа образцов.

2.4.2.1 Запуск программы «Спектральная калибровка»

В главном окне программы SeqPI в пункте меню Действия выбрать опцию Спектральная калибровка.

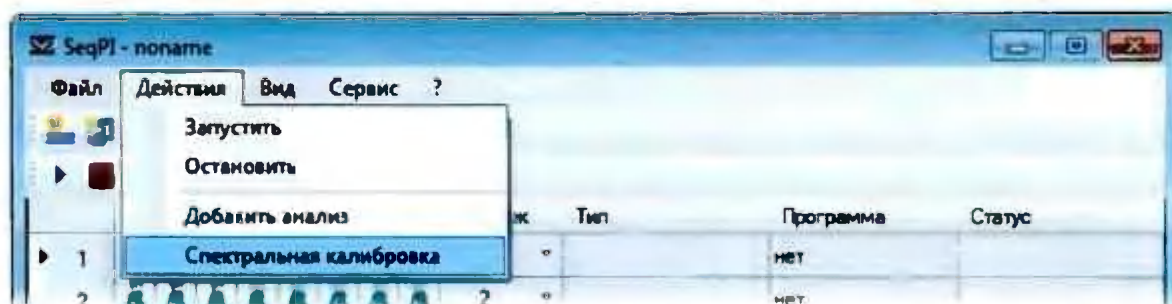


Рисунок 43 – Выбор опции спектральной калибровки

В появившемся окне Спектральная калибровка в строке Набор красителей выбрать из списка название соответствующего спектрального калибратора.

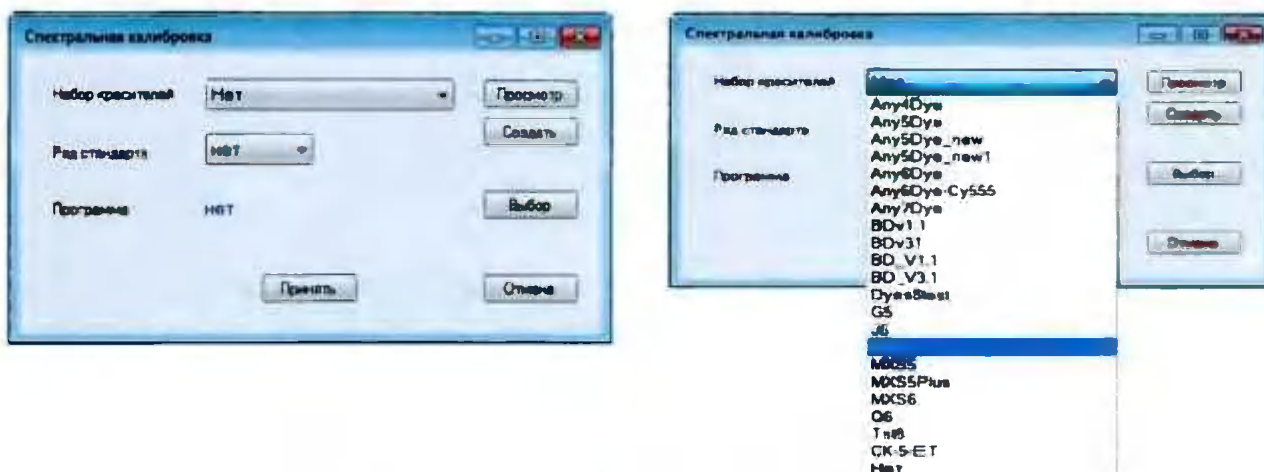


Рисунок 44 – Выбор набора красителей

Если название набора красителей в списке отсутствует, то необходимо создать новый набор, нажав кнопку Создать. Появится окно «Создание набора красителей».

В строке **Шаблон** выбрать похожий набор красителей и отредактировать графы таблицы соответствующим образом.

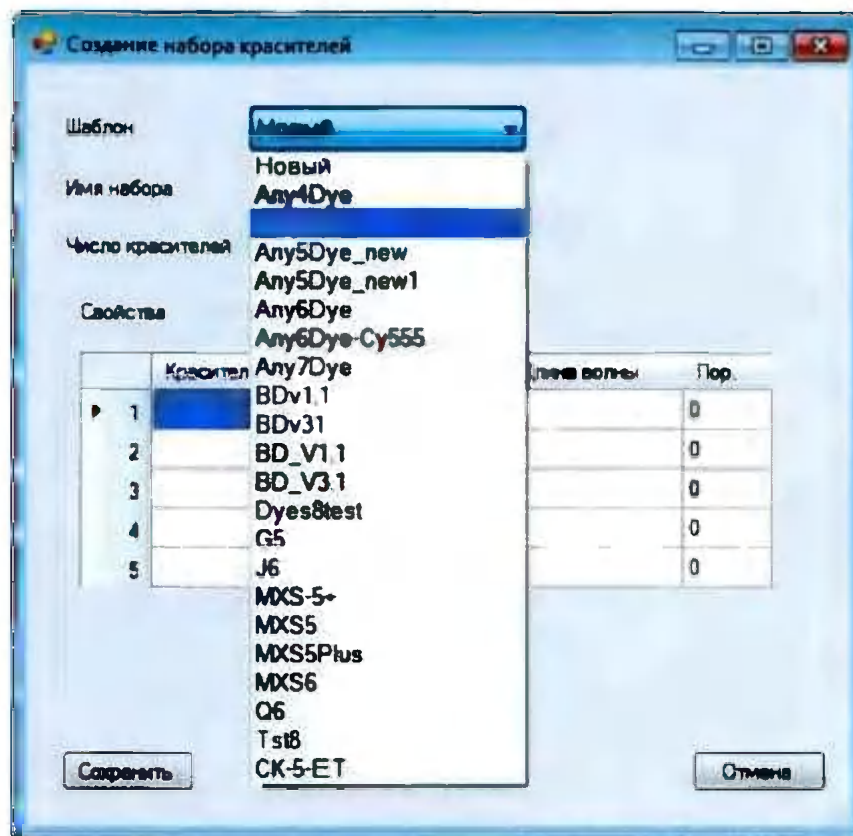


Рисунок 45 – Создание набора красителей

Если похожего набора красителей нет, необходимо заполнить все поля самостоятельно. Ввести название набора в строке **Имя набора**, выбрать число используемых в наборе красителей в строке **Число красителей**, заполнить таблицу **Свойства**, указав название красителя, цвет, длину волны и порядок выхода пика, соответствующего фрагменту ДНК из спектрального калибратора, меченного данным красителем. Например:

	Краситель	Цвет	Длина волны	Порядок
1	FAM	Синий	520	5
2	R6G	Зеленый	550	4
3	TMR	Черный	580	3
4	ROX	Красный	605	2
5	LIZ	Оранжевый	650	1

362

Важно! При неправильном вводе порядка выхода красителей спектральная калибровка будет ошибочной!

После заполнения всех полей нажать кнопку **Сохранить**.

Во вновь появившемся окне **Спектральная калибровка** в строке **Ряд стандарта** выбрать номер ряда, в котором находятся пробирки с раствором спектрального калибратора (стандарт может находиться в любом ряду планшета), затем нажать кнопку **Выбор**.

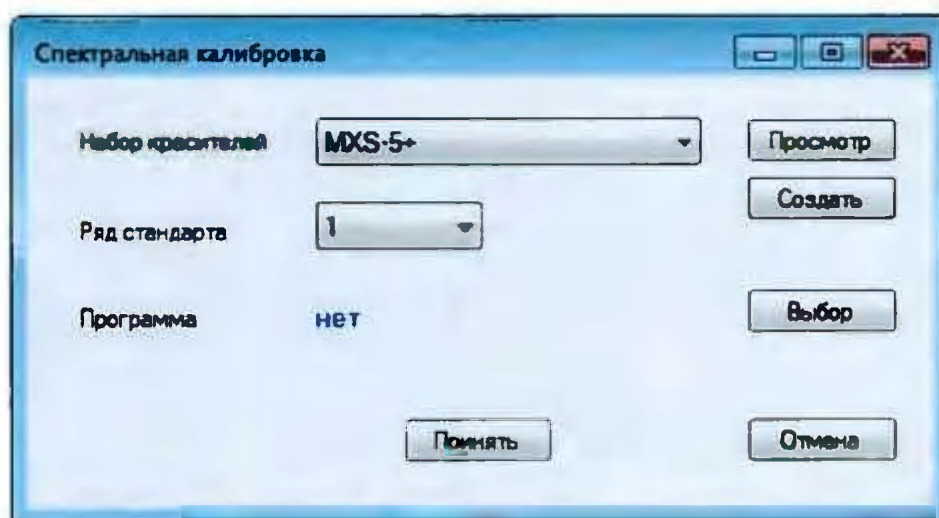


Рисунок 46 – Выбор спектральной калибровки

В открывшемся окне **Программа измерения** нажать кнопку **Открыть**

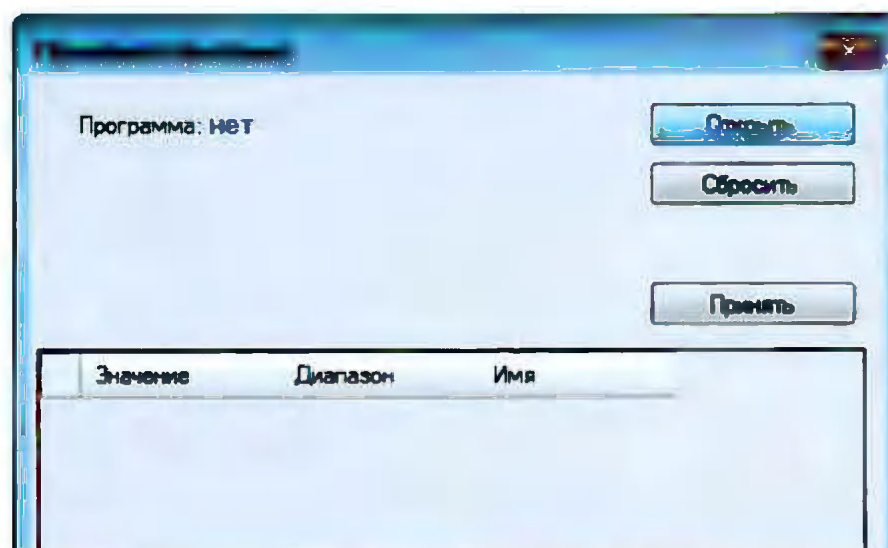


Рисунок 47 – Выбор программы измерений

Важно! Обратите внимание на длину капилляров (35 или 50 см) и тип полимера, установленных в приборе на момент анализа.

В папке ...Lib выбрать необходимую программу измерений (например, программа *Спектральная калибровка 35 см ПДМА-6.avi* используется при длине установленных капилляров 35 см, заполненных полимером ПДМА-6).



Рисунок 48 – Диалог выбора программы анализа

Если необходимо, в окне **Программа измерения** изменить параметры выбранной программы, либо оставить программу без изменений. Затем нажать кнопку **Принять**.

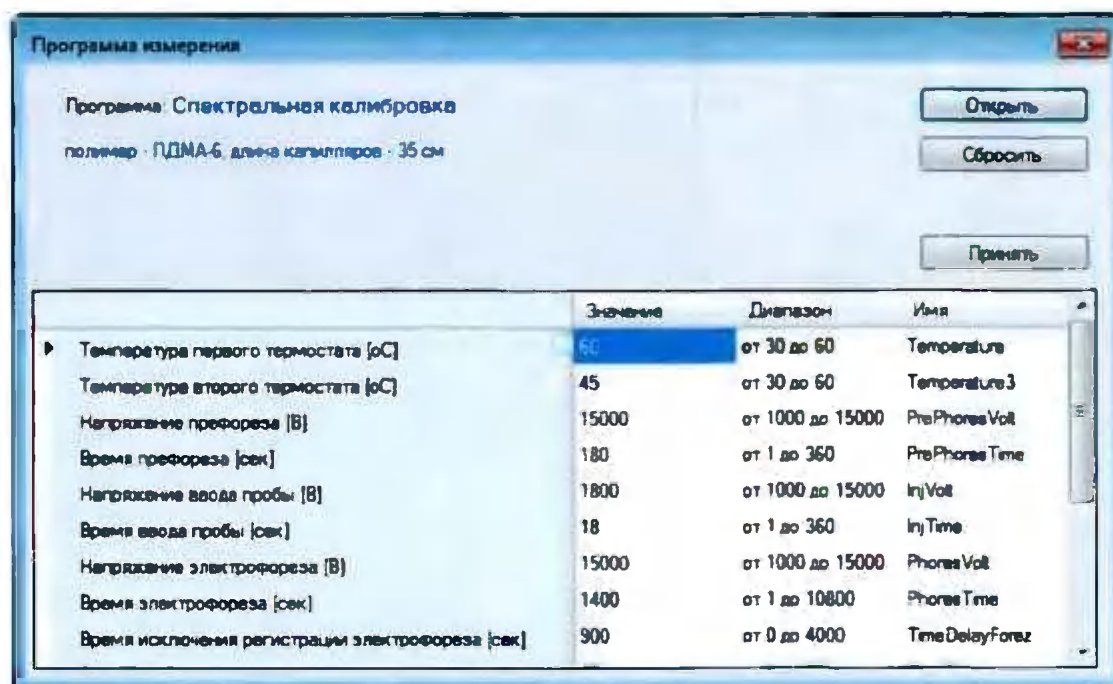


Рисунок 60 - Параметры программы измерений

В окне **Спектральная калибровка** нажать кнопку **Принять**.

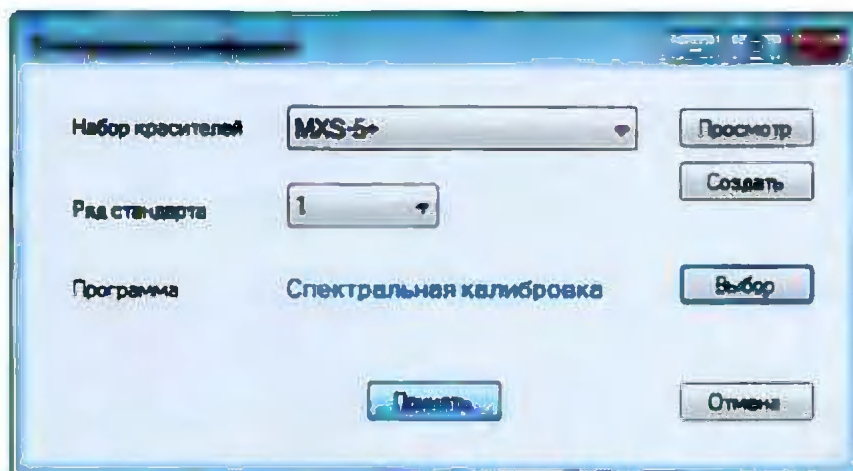


Рисунок 61 – кнопка **Принять**

В появившемся окне нажать **ОК**.

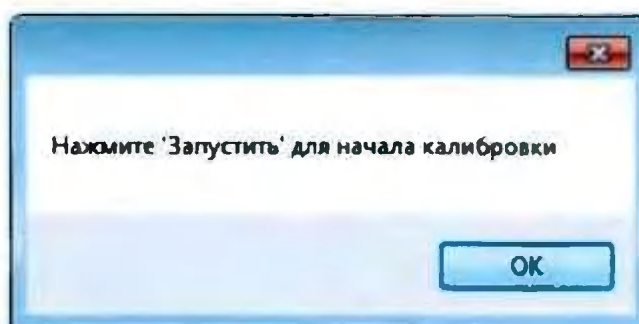


Рисунок 62 – Запуск калибровки

Активируется главное окно программы **SeqPI**. В графе **Тип** появится надпись типа анализа (**Спектр. калибр.**), в графе **Программа** – название выбранной программы анализа, а в графе **Статус** в описываемом ряду плашки появится надпись **Готов к анализу**.



Рисунок 63 – Состояние Готов к анализу

Если требуется провести спектральную калибровку для других наборов красителей, то в главном окне программы **SeqPI** в пункте меню **Действия** снова выбрать опцию **Спектральная калибровка** и повторить все действия для других рядов плашки, где установлены спектральные калибраторы.

Для запуска спектральной калибровки в меню главного окна программы **SeqPI** нажать кнопку **▶ Запустить** или в пункте меню **Действия** выбрать опцию **Запустить**.



Рисунок 49 – Запуск измерений

367

В появившемся окне **Эксперимент** задать имя оператора в строке **Оператор**, название планшета в строке **Имя планшета** и нажать кнопку **Принять**.

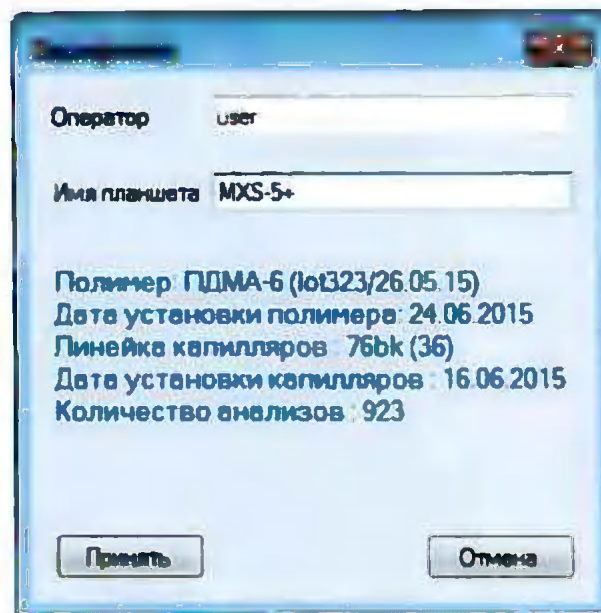


Рисунок 65 – Принять имя планшета

Активируется главное окно программы **SeqPI**. Анализируемый ряд плашки со спектральным калибратором выделится зеленым цветом, а в графе статус должна появиться надпись **Измерение**. В нижней части окна рядом с надписью **Лазер** серый кружок должен стать красным – это означает, что лазер включен. В конце строки **Текущая** отобразится время до конца текущего анализа, а в конце строки **Все** – время до конца анализа всей плашки.

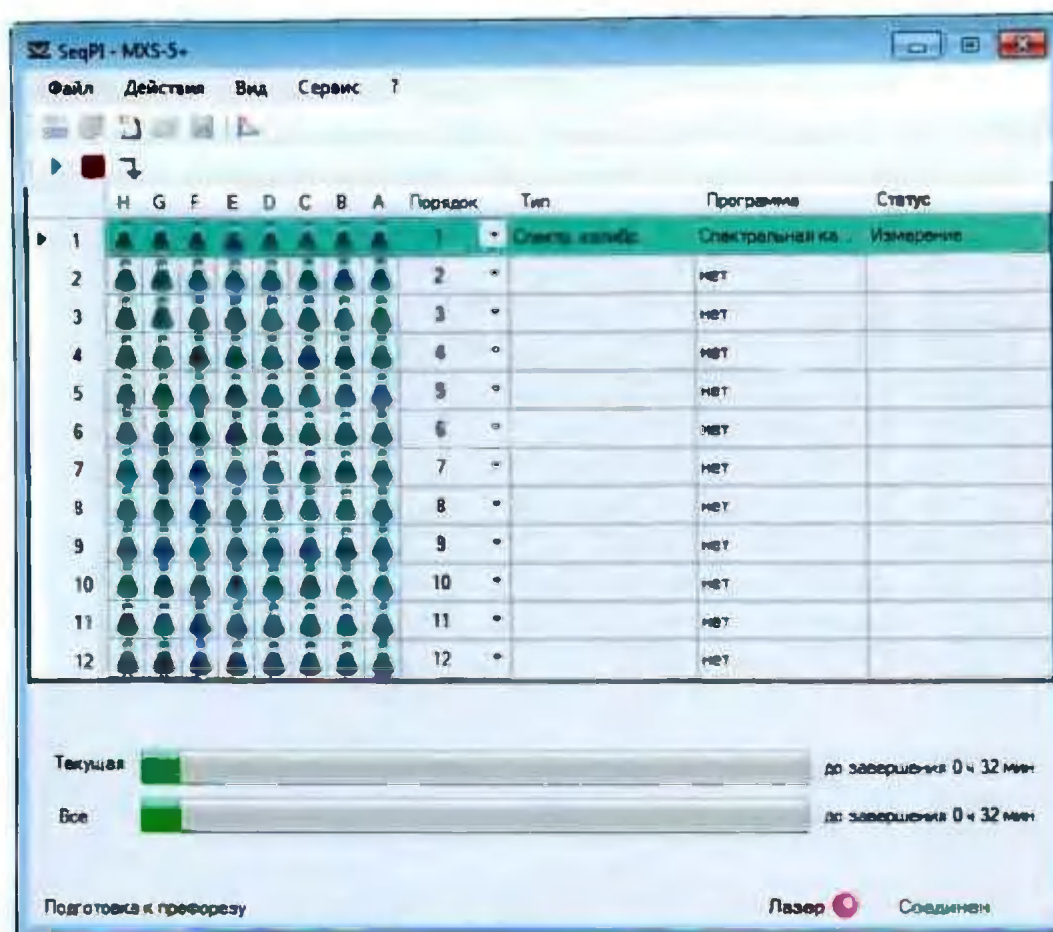


Рисунок 50 – Ход измерений

2.4.2.2 Наблюдение за измерениями в ходе выполнения калибровки

В ходе выполнения программы калибровки в окне **Графики**, вызываемом нажатием кнопки  в меню главного окна программы SeqPI, можно осуществлять просмотр данных и текущих параметров.

Выход пиков флуоресценции по всем каналам и по каждому капилляру можно наблюдать, нажимая кнопки от **Н** до **А**.



Рисунок 51 – Пики флуоресценции

Активировав кнопку  FxPlot, можно увидеть прохождение пиков в нескольких капиллярах одновременно.

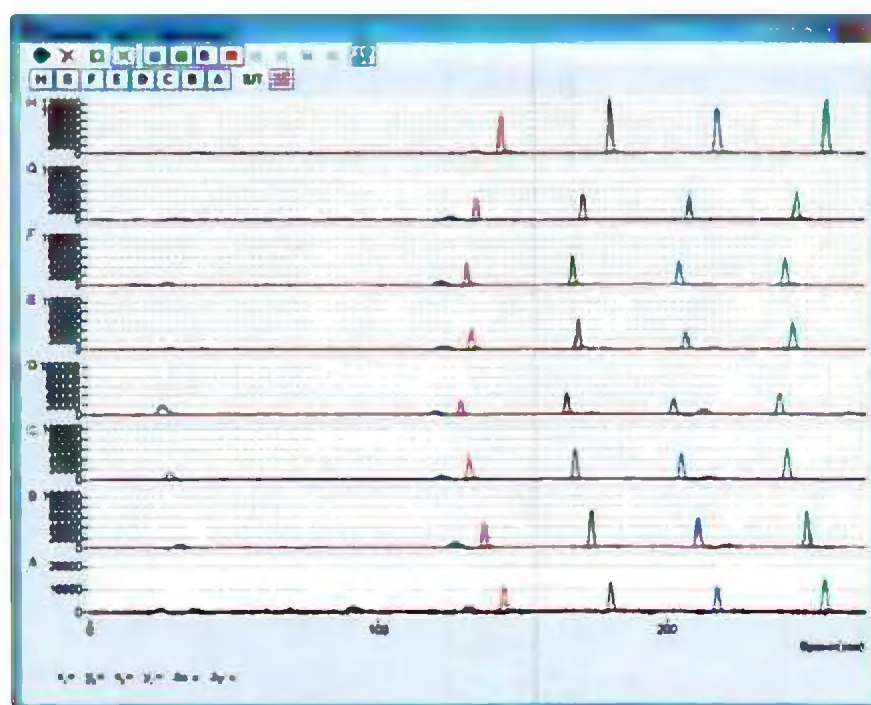


Рисунок 52 - Просмотр пиков флуоресценции во всех каналах

370

Контроль величины силы тока (I), напряжения (U), температуры воздушного термостата (T1) и термостата блока детектора (T2) осуществляется нажатием кнопки ИТ.

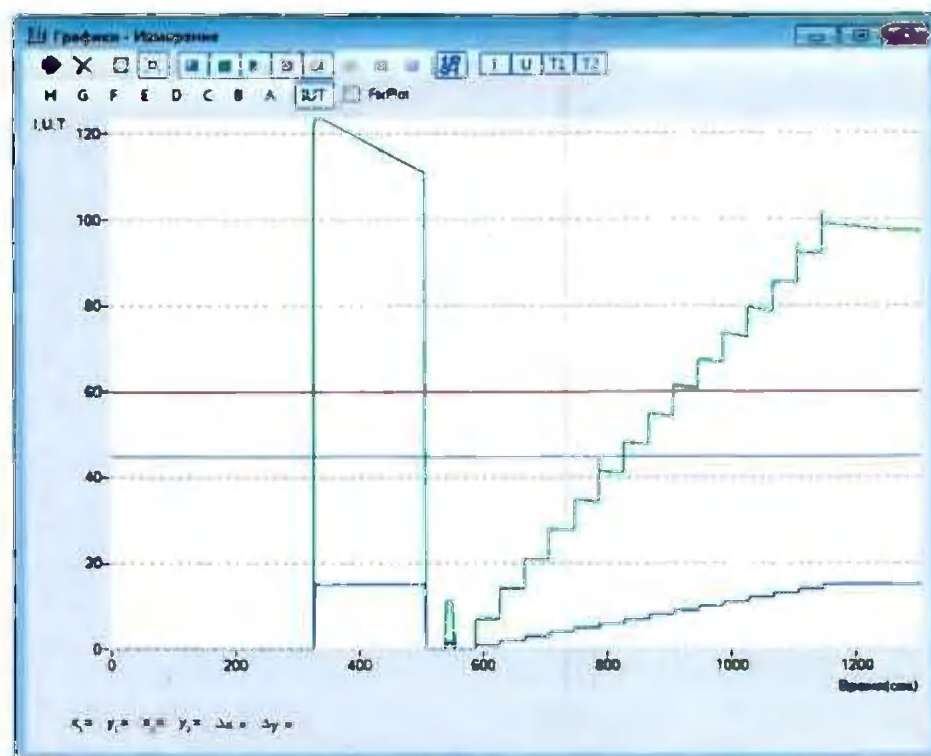


Рисунок 53 – Просмотр тока и напряжения

Одновременно можно наблюдать флуоресценцию красителей во всех капиллярах на изображениях с видеокamеры, для чего необходимо в главном окне программы SeqPI в меню Сервис выбрать опцию Камера ПЗС.

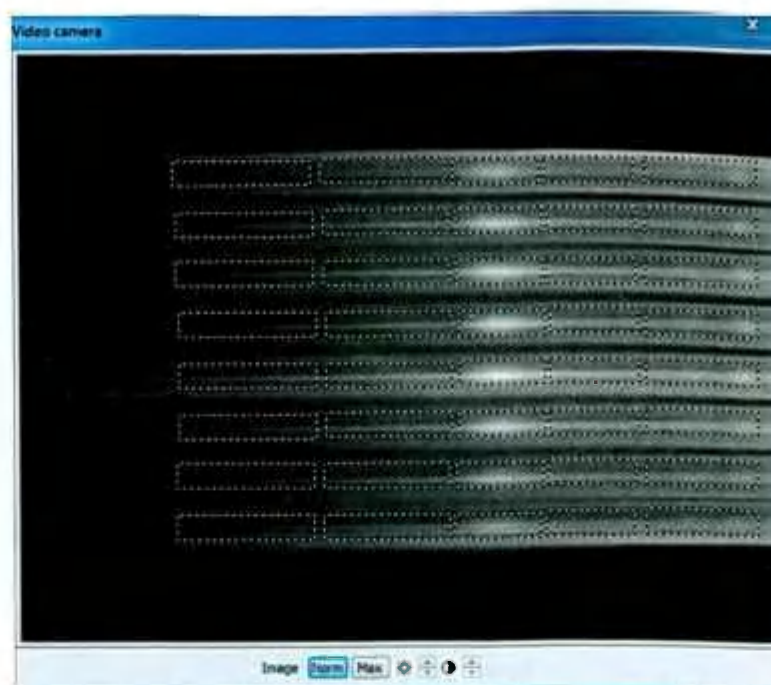


Рисунок 70 – Сигналы флуоресценции в окне камеры ПЗС

На изображении в окне должна быть видна спектральная развертка с 8 капиллярами и 8 рядов прямоугольных окон, прорисованных штриховыми линиями. Количество окон в каждом ряду соответствует числу флуоресцентных красителей, а расположение окон – спектрам излучения флуоресцентных красителей для выбранного набора. Если создавался новый набор красителей, то начальное положение окон будет не оптимальным. С помощью кнопок меню **Image** **Norm** **Max** * ☐ ◐ ◑ можно добиться четкого и контрастного изображения капилляров. Как правило, это происходит при нажатии кнопки **Max**.

После завершения анализа окна будут автоматически расставлены вдоль спектральной развертки капилляров в положениях, определяемых спектральными характеристиками набора флуоресцентных красителей.

2.4.2.3 Оценка результатов спектральной калибровки

В конце выполнения программы измерений автоматически появится окно **Набор красителей** с оценками качества спектральной калибровки по всем капиллярам. При нажатии кнопки **Качество** таблица с оценками будет скрыта. Возможны три варианта оценки качества:

Удовлетворительное или



Рисунок 71 – Оценка результатов спектральной калибровки

Нажатие кнопки **Фореграмма** вызывает окно **Графики**, что позволяет увидеть картину выхода пиков фрагментов ДНК, меченных разными красителями, и провести визуальную оценку качества по всем капиллярам.

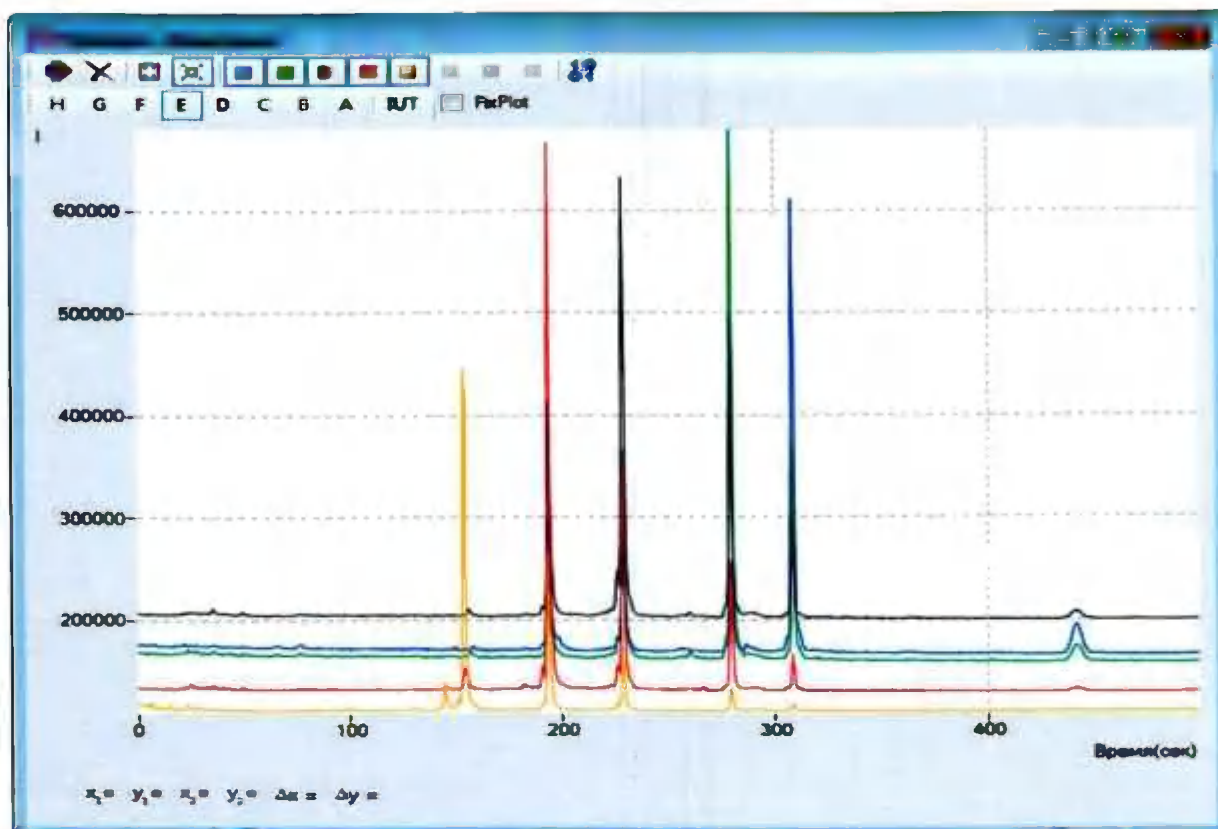


Рисунок 72 – Графики пиков спектральной калибровки

Если был создан новый набор красителей, то часть пиков в некоторых капиллярах может быть не видна или отображаться некорректно. Это связано с тем, что начальная расстановка окон может не совпадать с оптимальной расстановкой для данного набора красителей.

Для просмотра и оценки качества спектров красителей по каждому капилляру необходимо нажать кнопку  **Спектры**.

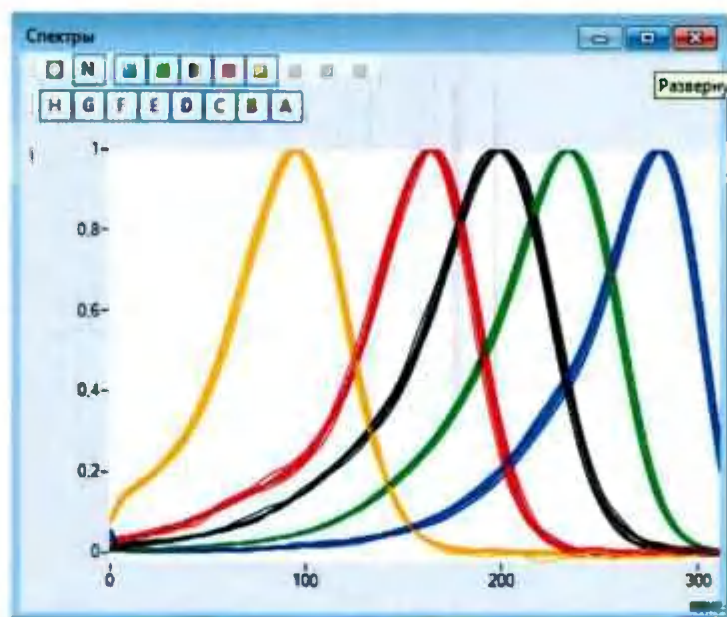


Рисунок 73 - Спектры

Для просмотра и оценки качества матриц взаимного влияния красителей по каждому капилляру необходимо нажать кнопку  **Матрицы**.

Матрицы

	H	G	F	E	D	C	B	A
		1	2	3	4	5		
▶ 1			0.24	0.37	0.19	0		
2		0.45	1	0.57	0.11	0		
3		0.2	0.65	1	0.41	0.01		
4		0.06	0.24	0.4	1	0.16		
5		0.01	0.05	0.11	0.36	1		

Рисунок 74 - Матрица

Матрица и положение окон будут ошибочными, если амплитуда пиков красителей на фореграмме превысит 800 000 отн. ед. При этом спектры красителей уширяются (см. ниже, график зеленого цвета). Такую калибровку требуется переставить, изменив условия ввода пробы или концентрацию спектрального калибратора.

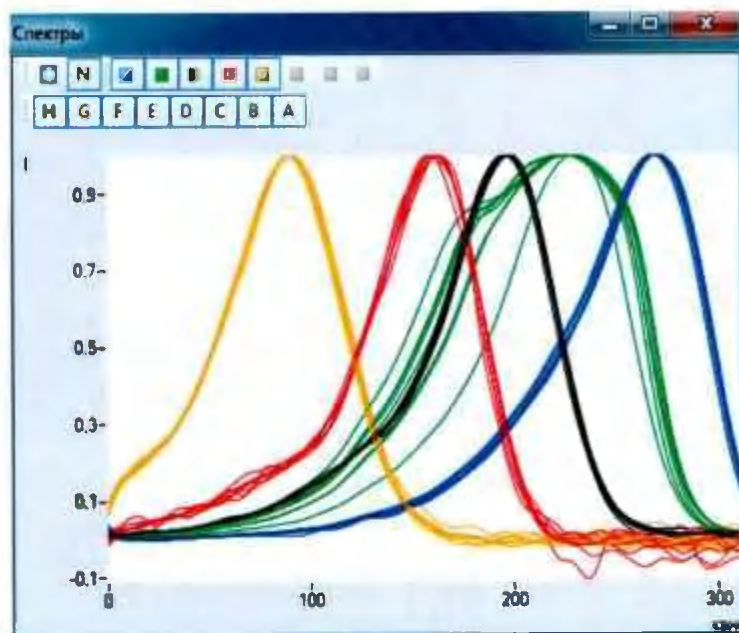


Рисунок 54 – Спектры плохого качества

Если матрица в каком-либо капилляре оказалась ошибочной, и качество спектральной калибровки по этому капилляру оценено как **Удовлетворительное** или [REDACTED], ее можно попробовать заменить матрицей из любого другого капилляра с оценкой качества [REDACTED].

Для этого в окне **Набор красителей** нажать правую кнопку мыши на строку капилляра, в котором требуется заменить матрицу. Появится опция **Установить матрицу от**. Наведя на нее указатель мыши, в выпадающем списке можно выбрать капилляр с матрицей хорошего качества (использовать лучше расположенный рядом).

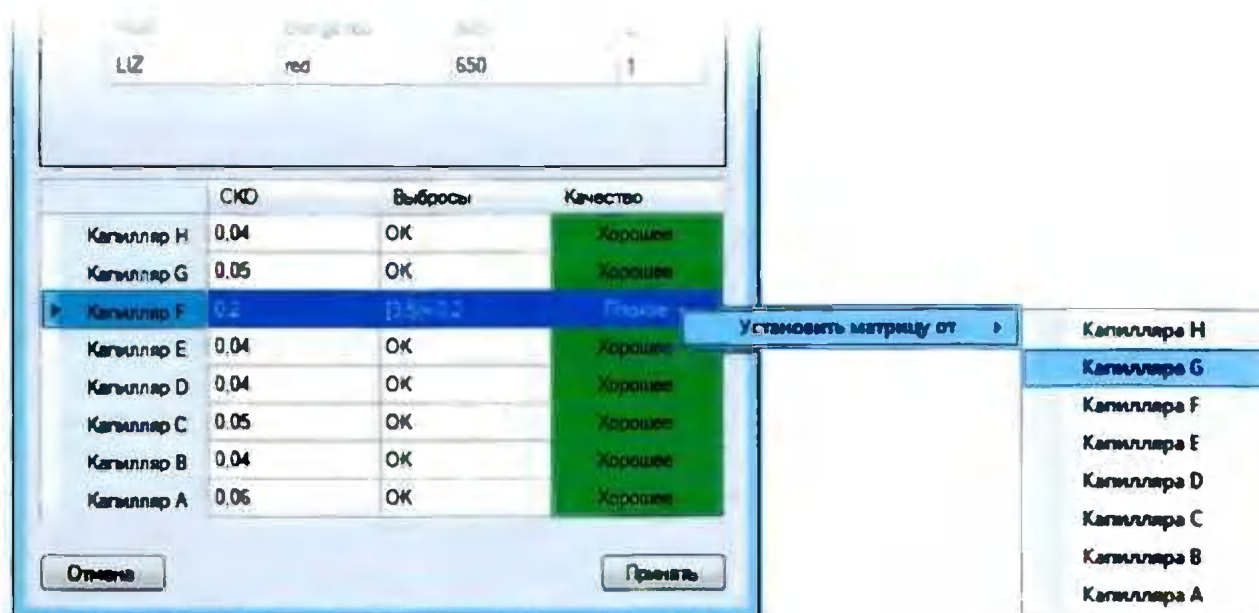


Рисунок 55 – Установка матрицы от другого капилляра

В открывшемся окне **Изменение данных** нажать кнопку **Да** для подтверждения замены матрицы.

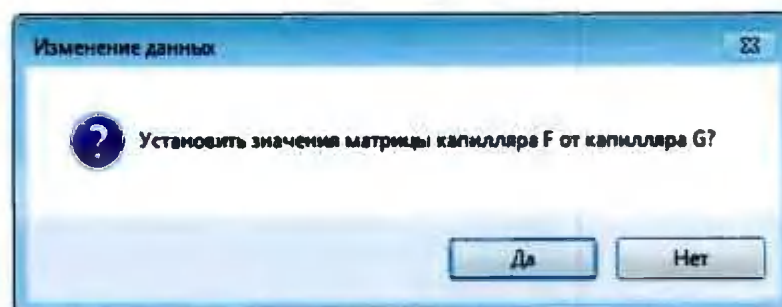


Рисунок 77 – Подтверждение изменения данных

В окне **Набор красителей** появятся новые оценки качества калибровки. Для визуальной оценки расстановки окон, в которых будет осуществляться детекция красителей данного спектрального калибратора, необходимо нажать кнопку **Окна**.



Рисунок 56- Хорошее качество спектральной калибровки

Если качество калибровки по всем капиллярам Хорошее в окне **Набор красителей** необходимо нажать кнопку **Принять**. Калибровка сохранится под заданным в строке **Набор** названием и временем старта программы измерений в формате **год.месяц.число час.минута**.

В окне **Графики** можно проконтролировать качество спектральной калибровки, нажав в меню кнопку **Применить матрицу** . При этом происходит компенсация взаимных влияний красителей по всем капиллярам. На фореграмме во время выхода пика одновременно не должно быть пика другого цвета, соответствующего другому спектральному каналу (красителю).

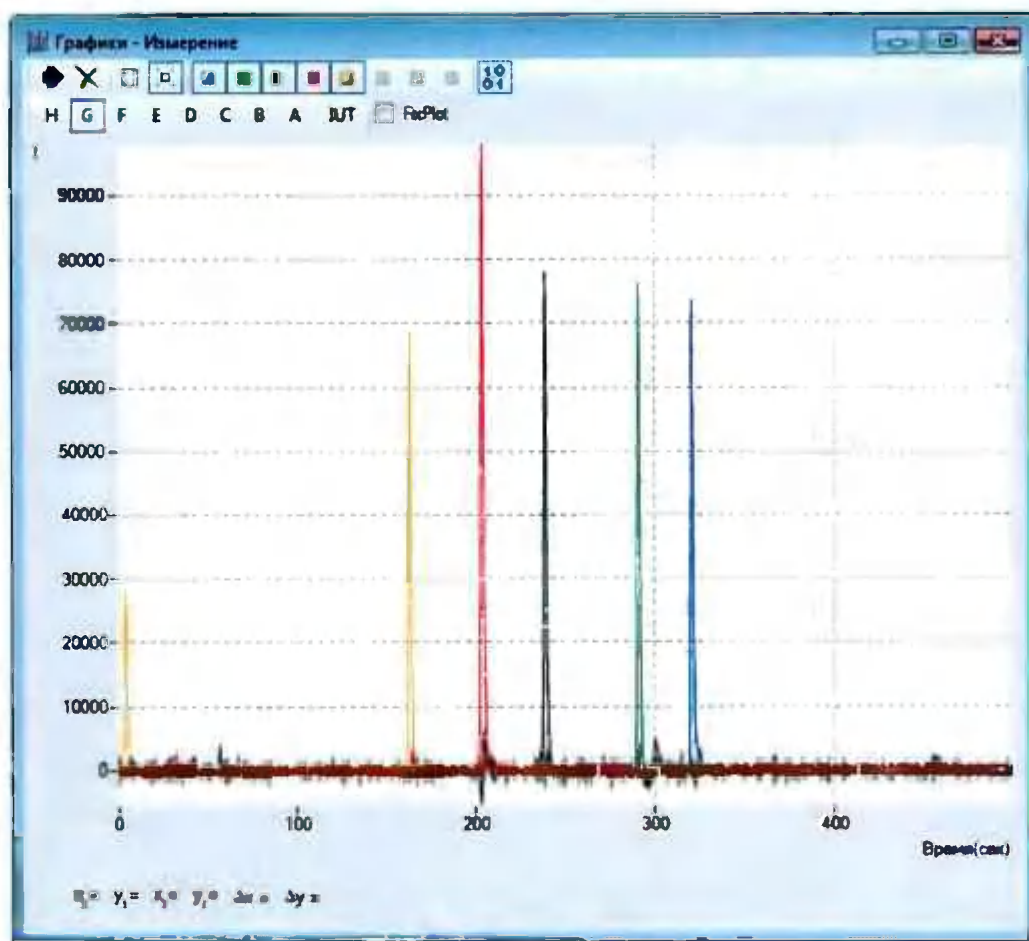


Рисунок 57 – Применение матрицы при просмотре спектральной калибровки

В Приложении 2 приведены примеры спектральных калибровок с различными наборами красителей.

Важно! Во время проведения калибровки (и в дальнейшем, анализе) необходимо контролировать уровень фона (базовой линии) на фореграмме в каждом капилляре и во всех спектральных каналах, т.к. увеличение фона снижает динамический диапазон измерений. При достижении значения фона флуоресценции порядка 400 000 отн. ед. в одном и более спектральных каналах для любого капилляра, требуется провести очистку капилляров (например, сжатым воздухом), переустановить линейку, а затем провести проверку установки и качества линейки.

379

Если прошедшая калибровка получила оценку качества [REDACTED] или **Удовлетворительное** в одном или нескольких капиллярах, требуется проверить соответствие выбранного набора красителей калибровочному раствору, проверить правильность установки пробирок с калибровочным раствором в плашке и повторить калибровку.

При повторной калибровке может потребоваться изменение параметров программы калибровки (например, время задержки старта электрофореза, время электрофореза, время и напряжение ввода пробы и др.), если:

- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра амплитуда пиков красителей менее 20 000 отн. ед.;
- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра количество пиков меньше или больше, чем число красителей в наборе;
- в окне **Спектры** спектры красителей сильно отличаются для разных капилляров и/или имеют искаженную форму.

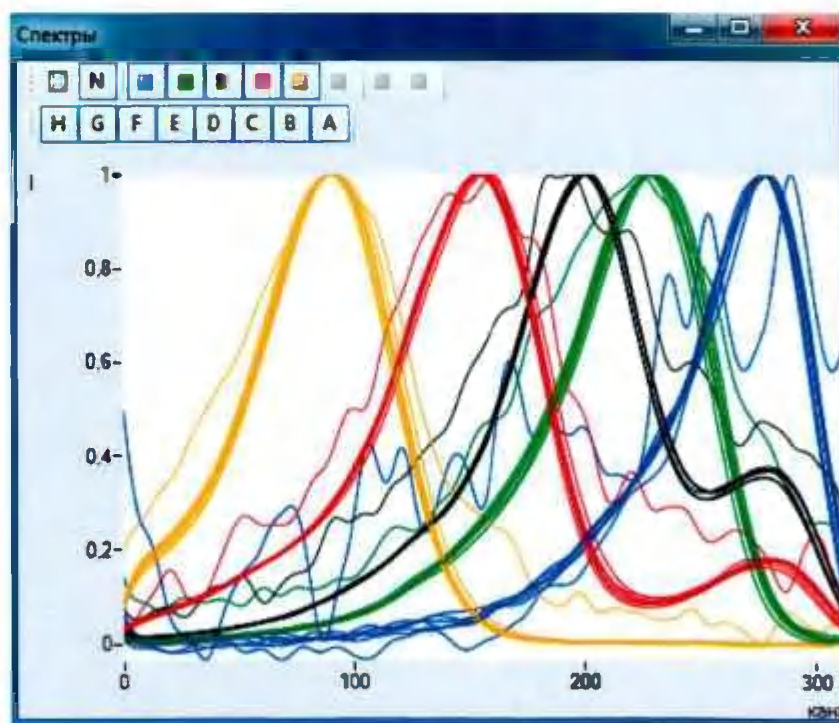


Рисунок 80 – Пример «плохих» спектров

При повторной калибровке может потребоваться заменить растворы калибратора, если:

- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра отсутствуют пики красителей;
- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра количество пиков меньше или больше, чем число красителей в наборе;
- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра амплитуда пиков красителей менее 20 000 отн. ед.;

Если после изменений параметров программы калибровки и замены калибровочного раствора калибровка не получила оценку [REDACTED] для большинства капилляров, линейку требуется заменить.

2.5 ЗАПУСК ФРАГМЕНТНОГО АНАЛИЗА И АНАЛИЗА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Для запуска любого типа анализа необходимо выполнить описание плашки и связать его с плашкой, загруженной в прибор. Также возможно проводить описание новых плашек во время текущего анализа при помощи программы SeqPI Lite.

2.5.1 ОПИСАНИЕ ПЛАШКИ

В пункте меню **Действие** главного окна программы SeqPI выбрать опцию **Добавить анализ** или в меню главного окна нажать кнопку  **Добавить анализ**.

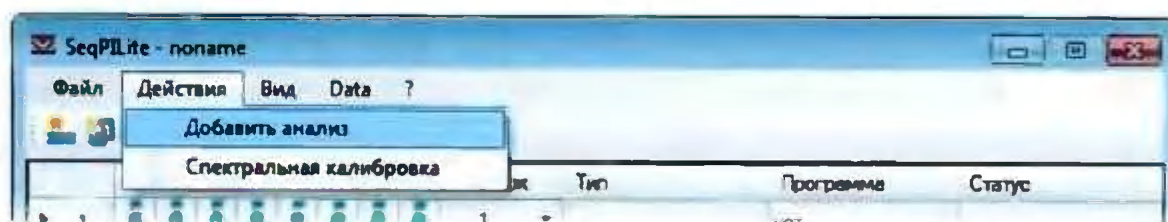


Рисунок 81 – Добавить анализ

В появившемся окне **Выбор ряда** выбрать ряд плашки, в который загружены пробирки с образцами для анализа, и нажать кнопку **Далее**.

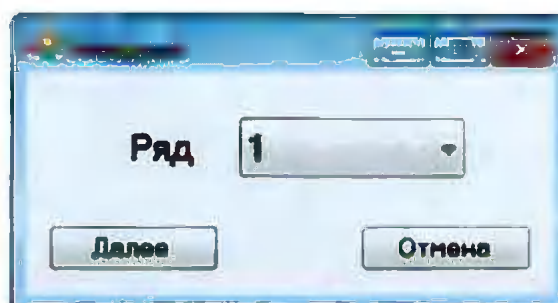


Рисунок 82 – Выбор ряда

В открывшемся окне **Программа измерений** нажать кнопку **Открыть** и в папке *//Lib* выбрать программу анализа (например, *Фрагментный анализ 35 см COrDIS Plus.avt*).

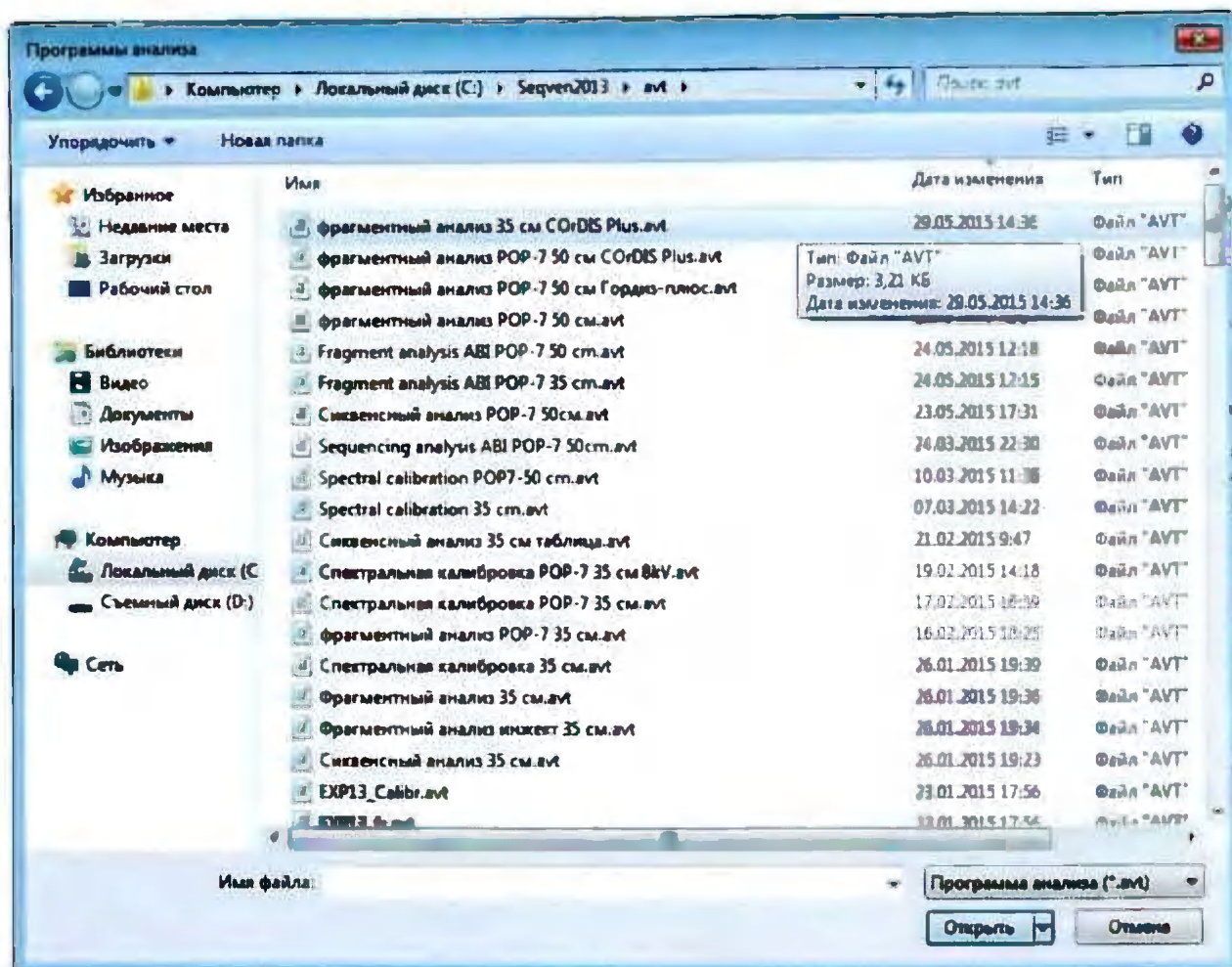


Рисунок 83 – Выбор программы анализа

При необходимости откорректировать параметры программы в окне **Программа измерения** и нажать кнопку **Принять**.

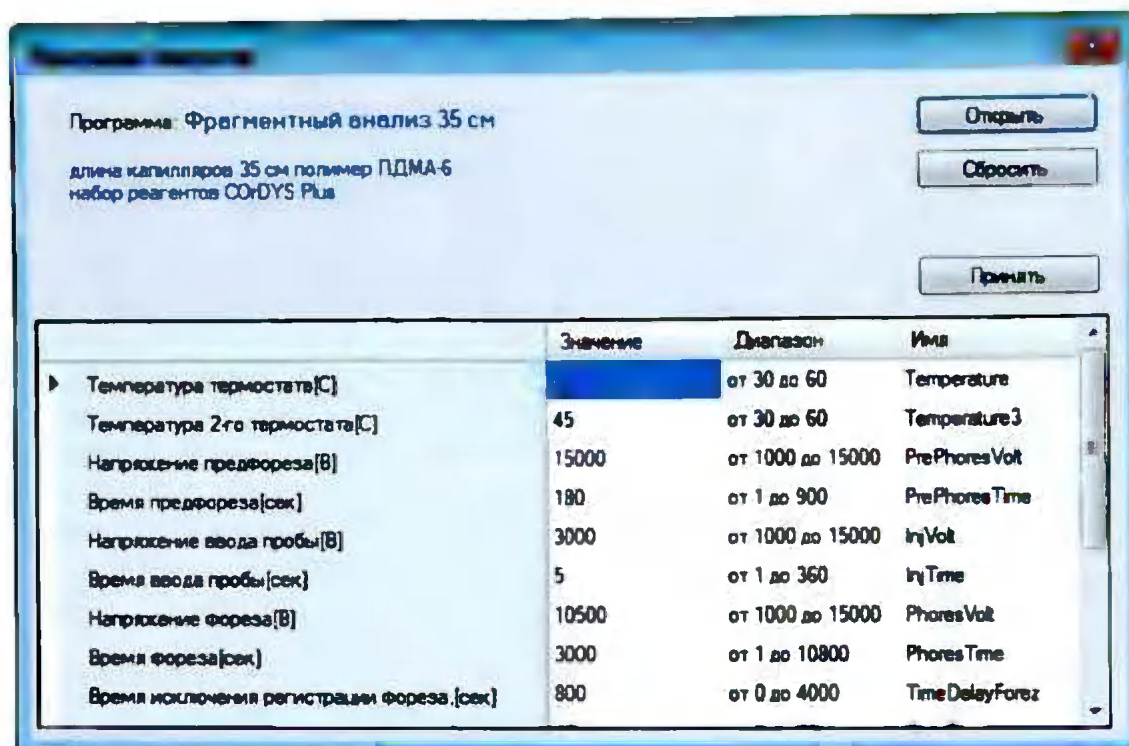


Рисунок 84 – Параметры программы анализа

Важно! *Корректировать параметры Программы измерения приходится только в редких случаях. Поэтому существуют стандартные протоколы Программы измерения, в зависимости от типа полимера, длины линейки капилляров и вида анализа (см. Приложение 3).*

В открывшемся окне **Образцы** заполнить все строки таблицы. Буква в начале каждой строки таблицы соответствует положению образца в выбранном ряду плашки. Обязательными для заполнения являются графы **Имя** и **Красители**.



Рисунок 85 – Описание образцов

- 1) В графе **Имя** вводится название или порядковый номер образца. Для этого следует нажать левую кнопку мыши, когда указатель находится на выбранной ячейке.
- 2) В графе **Файл** вводится название образца, которое будет сохранено программой.

В описание плашки возможно импортировать данные, экспортированные из лабораторной информационной системы, а также из приборов ABI Prism. Для этого в пункте меню **Файл** выбрать **Import → Plate Layout**. При этом будут импортированы только названия образцов (графы **Имя** и **Файл**), остальные графы следует заполнить, как описано ниже.

- 3) В графе **Тип** выбрать из списка тип образца: **Образец**, **Положительный контроль**, **Отрицательный контроль**, **Аллельная лестница**.

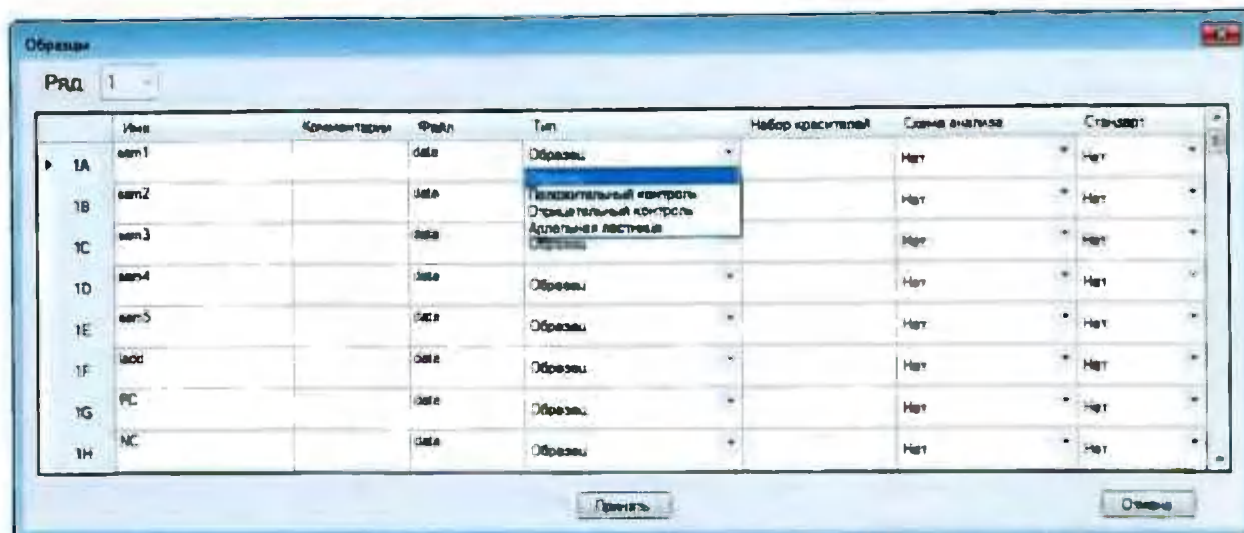


Рисунок 86 – Описание типа образца

Важно! Если проводится фрагментный анализ, то как минимум одна пробирка (лунка) при анализе каждой серии образцов должна содержать аллельную лестницу.

- 4) В графе **Набор красителей** выбрать соответствующую спектральную калибровку. Для этого перевести указатель на любую ячейку в графе **Красители** и двойным нажатием на левую клавишу мыши открыть окно **Набор красителей**. Выбрать в нем необходимую калибровку и нажать кнопку **Принять**.

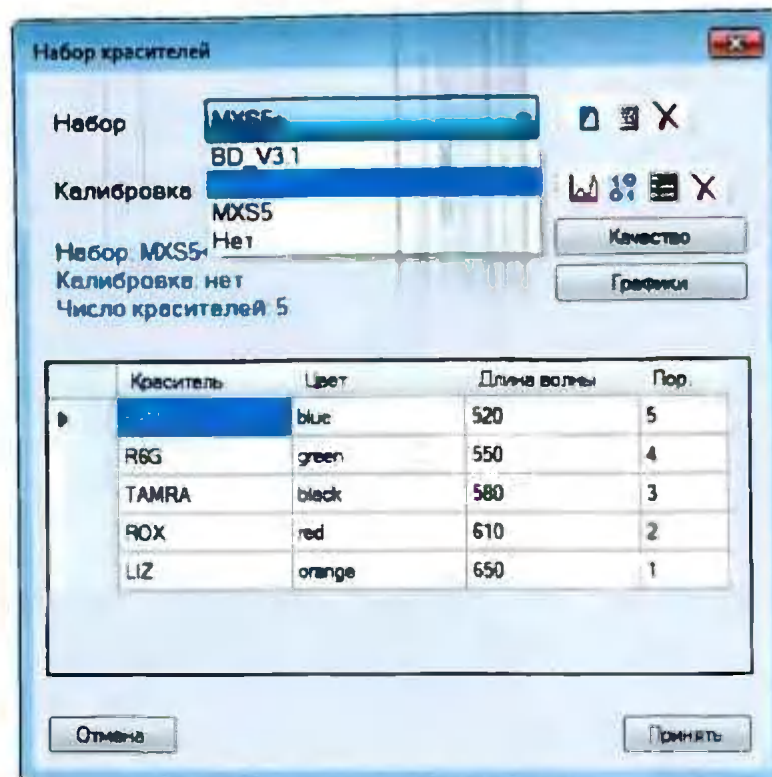


Рисунок 87 – Выбор набора красителей

Если выбираемый параметр одинаков для всех пробирок описываемого ряда плашки, то для ускорения заполнения таблицы можно выбрать опцию **Применить к ряду**. Для выбора этой опции, после ввода параметра образца, следует перевести курсор левой кнопкой мыши в ячейку ниже, а затем правой кнопкой кликнуть на ячейку с уже установленным параметром. В открывшемся окне выбрать пункт **Применить к ряду**.

В случае, когда во всех рядах плашки загружен один и тот же образец, то можно воспользоваться опцией **Применить ко всем**. При применении этой опции автоматически заполняются названия образцов во всех рядах плашки. Выбирается эта опция так же, как и опция **Применить к ряду**. (см. пример ниже)

5) В графе **Схема анализа** выбрать метод анализа.



Рисунок 58 - Выбор схемы анализа

6) В графе **Стандарт** выбрать соответствующий размерный стандарт.



Рисунок 59 – Выбор размерного стандарта

7) Дополнительные сведения об анализируемой пробе вносятся в графе **Комментарии**.

После заполнения таблицы в окне **Образцы** нажать кнопку **Принять**. Откроется главное окно программы **SeqPI** и в графе **Статус** в выбранном ряду плашки появится надпись **Готов к анализу**.

Для описания всей плашки (или ее части) требуется снова выбрать опцию **Добавить анализ** и повторить все описанные выше действия последовательно с каждым рядом плашки, заполненным образцами для

анализа. В каждом ряду плашки может быть выбран любой тип анализа, например, для 1-го ряда плашки задать фрагментный анализ, а для 2-го – анализ последовательности.

В графе **Порядок** можно изменить порядок анализа рядов с образцами в плашке или исключить из анализа ряд, выбрав строку **нет**.



Рисунок 90 – Выбор порядка проведения анализа рядов

2.5.2 ЗАПУСК АНАЛИЗА

Для запуска анализа, после описания всех загруженных образцами рядов плашки, в меню главного окна программы **SeqPI** нажать кнопку  **Запустить** или в пункте меню **Действия** выбрать опцию **Запустить**.

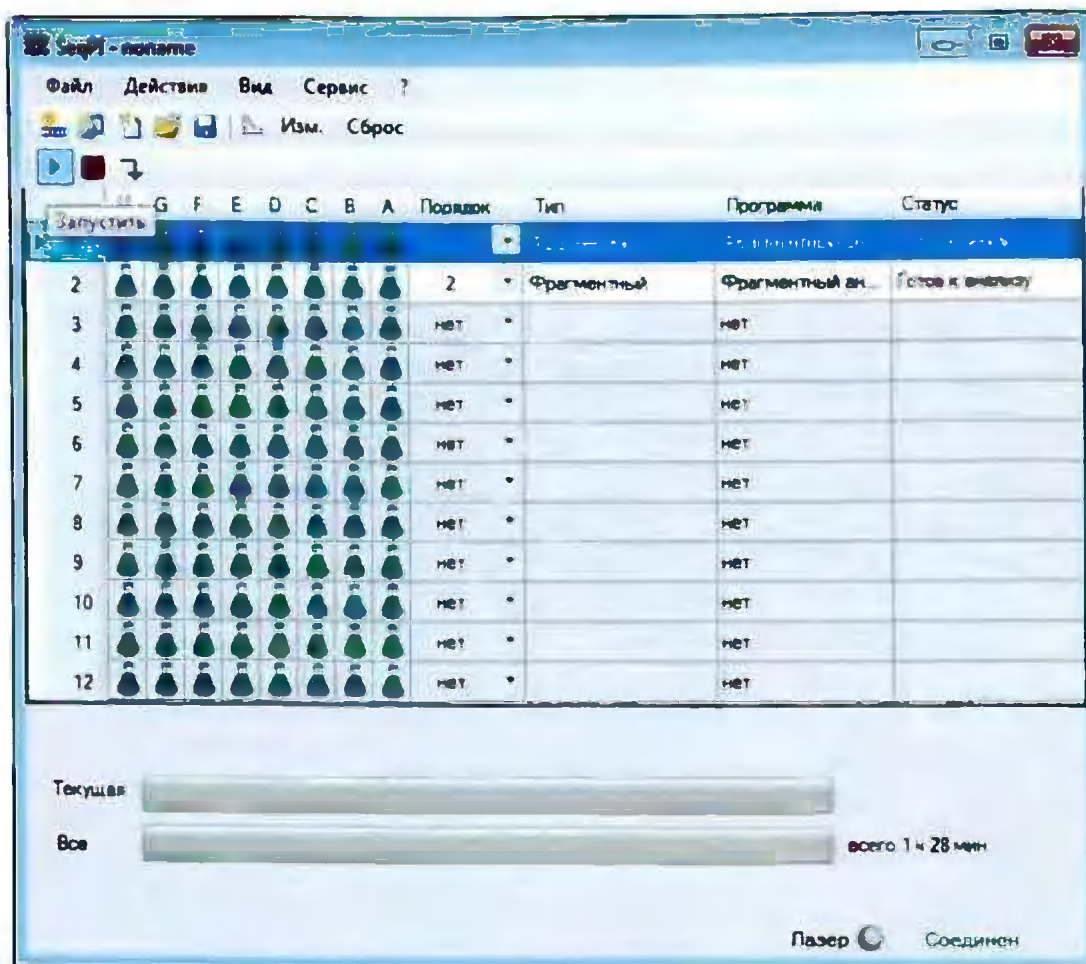


Рисунок 91 – Запуск измерений

В открывшемся окне **Эксперимент** ввести имя оператора, название планшета и нажать кнопку **Принять**.

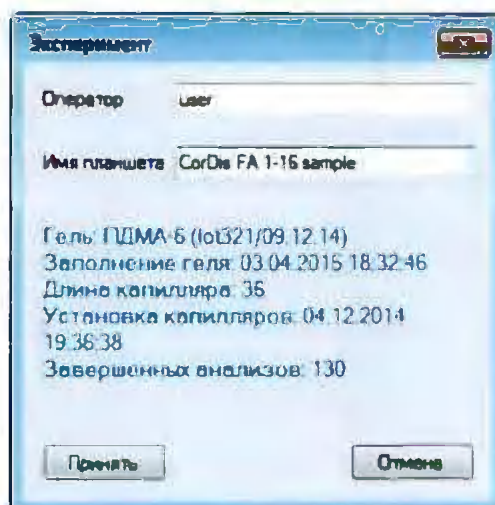


Рисунок 92 – Принять название планшета

348

Активируется главное окно программы SeqPI. Первый анализируемый ряд плашки выделится зеленым цветом, а в графе статус должна появиться надпись **Измерение**. В нижней части окна рядом с надписью **Лазер** серый кружок должен стать красным – это означает, что лазер включен. В конце строки **Текущая** отобразится время до конца текущего анализа, а в конце строки **Все** – время до конца анализа всей плашки.



Рисунок 93 – Ход измерений

Примеры результатов фрагментного анализа и анализа последовательности можно посмотреть в Приложениях 4 и 5.

Алгоритмы обработки результатов анализа описаны в руководствах **Фрагментный анализ ДНК** и **Анализ последовательности ДНК**.

Если в процессе проведения анализа требуется завершить анализ в текущем ряду и перейти к анализу следующего ряда, необходимо нажать кнопку меню  **Следующий ряд**.

Если требуется закончить проведения анализа всей плашки, необходимо нажать кнопку меню  **Остановить** или в пункте меню **Действие** выбрать опцию **Остановить**. Главное окно должно принять следующий вид.

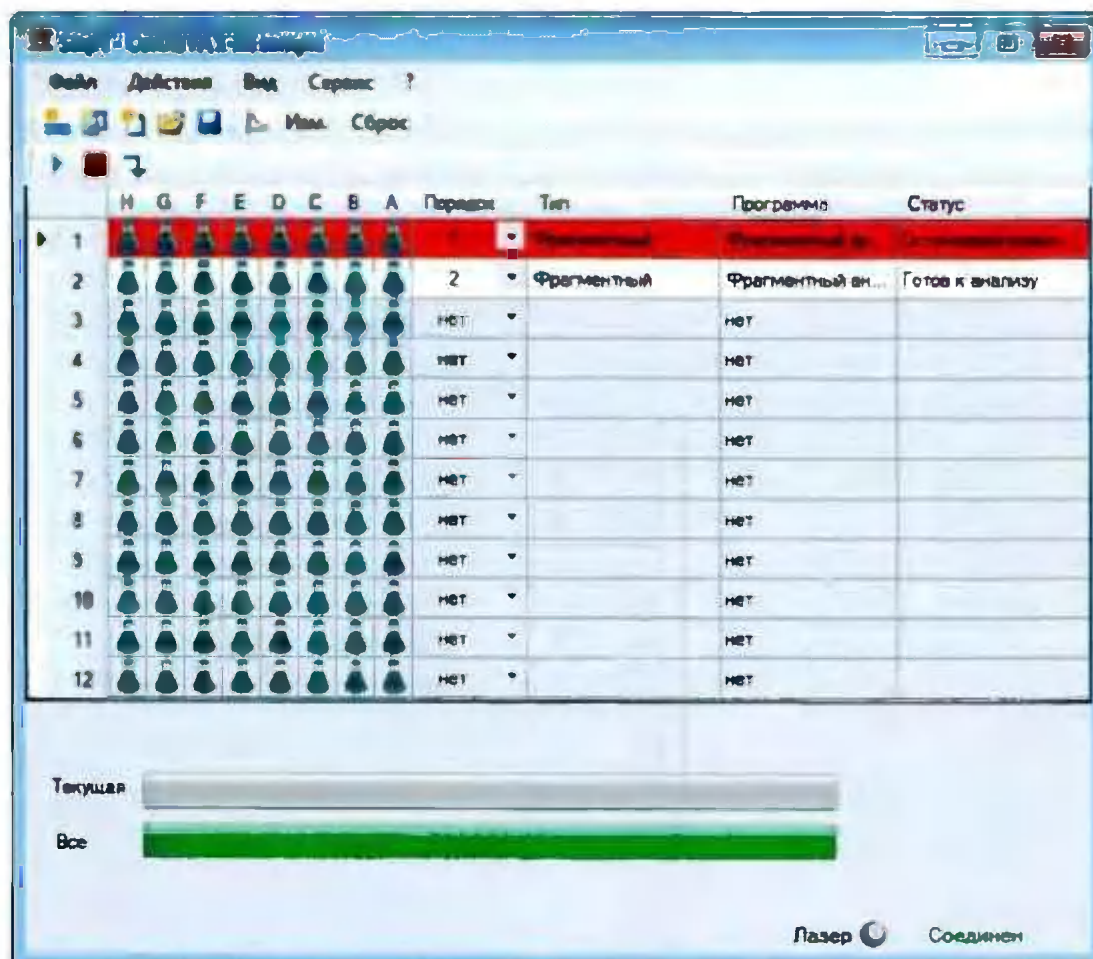


Рисунок 94 – Остановка измерений пользователем

Важно! Во время текущего анализа внести изменения в описание плашки невозможно без завершения процесса. Однако можно подготовить проект (описание новой плашки) последующего анализа с помощью программного приложения SeqPILite.

2.6 ПОРЯДОК ПРИВЕДЕНИЯ УСТРОЙСТВА В ИСХОДНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ.

Выполнить команду **Опускание платформы.**

Открыть дверцы и снять планшет с пробами. При необходимости сохранить планшет с пробами в холодильнике при температуре около 6 °С.

2.7 ПОРЯДОК ВЫКЛЮЧЕНИЯ УСТРОЙСТВА, СОДЕРЖАНИЕ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ОСМОТРА ИЗДЕЛИЯ ПОСЛЕ ОКОНЧАНИЯ РАБОТЫ.

Для обеспечения сохранности капилляров их концы опускаются в буферный раствор и закрывается клапан устройства заполнения капилляра гелем. Для этого выполнить команды:

Перемещение позиционера на 3 резервуар (с буферным раствором), Подъем платформы позиционера, Закрыть клапан устройства заполнения капилляра гелем.

Выключить сетевой тумблер на задней панели устройства.

Открыть дверцы и выполнить осмотр. В процессе осмотра необходимо убедиться в отсутствии механических повреждений. Внешние и внутренние поверхности устройства должны быть сухими и чистыми. Случайные капли жидкостей и протечки геля необходимо ликвидировать фильтровальной бумагой.

Закрыть дверцы. Выключить компьютер.

2.8 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИЗДЕЛИЯ ПО НАЗНАЧЕНИЮ.

В устройстве имеются сетевые блоки питания, лазер и высоковольтный источник.

В конструкции устройства предусмотрены технические решения, обеспечивающие невозможность случайного доступа к токоведущим частям и случайного попадания на оператора лазерного луча.

Конструкция устройства по требованиям безопасности соответствует ГОСТ Р 51350-99. По способу защиты человека от поражения электрическим током устройство относится к изделиям класса I.

Устройство имеет съемный трехпроводный сетевой шнур с пластмассовой изоляцией и вилкой с заземляющим контактом. Два провода этого сетевого шнура обеспечивают подачу напряжения питания 220 В 50 Гц, а третий провод соединяет корпус прибора и другие металлические токопроводящие части устройства с нулевым, многократно заземленным проводом трехпроводной сети.

Все токоведущие части устройства защищены от случайного прикосновения защитными кожухами.

Цепь питания устройства имеет плавкие предохранители, обеспечивающие отключение устройства в случае его неисправности, приводящей к увеличению тока потребления выше номинального.

В устройстве обеспечено электрическое сопротивление между заземляющим контактом вилки и металлическими частями корпуса не более 0,2 Ом. Таким способом достигается надежное срабатывание плавких предохранителей при случайном соединении токоведущих частей с корпусом устройства.

На передней панели располагается кнопка включения/выключения устройства «ВКЛ/ВЫКЛ» и светодиоды «СЕТЬ», «КВ» И «РАБОТА». Светодиод «СЕТЬ» индицирует включение устройства, светодиод «КВ» -

включение высокого напряжения, светодиод «РАБОТА» - запуск программы и связь с компьютером.

В устройстве реализованы на программном уровне защитные блокировки:

- нельзя включить высокое напряжение при платформе позиционера в нижнем положении;
- нельзя включить высокое напряжение при открытой крышке устройства.

В качестве дополнительных мер электробезопасности рекомендуется производить замену линейки капилляров при выключенном устройстве.

Должны соблюдаться правила техники безопасности, принятые на предприятии, эксплуатирующем устройство.

В качестве мер обеспечения биологической безопасности для сотрудников лаборатории должна быть предусмотрена спецодежда: медицинский халат, шапочка, перчатки и сменная обувь. Одноразовые перчатки подлежат смене при каждой новой операции. Работа без перчаток запрещена. Запрещается располагать личные вещи в рабочей зоне устройства.

Дополнительные сведения должны быть приведены в методических рекомендациях, разработанных для конкретных видов анализа.

Экологическая безопасность проводимых работ обеспечивается за счет отсутствия непосредственного контакта устройства с пациентами (изделию лабораторной медицинской техники, которое не имеет контакта с пациентами, присваивается код ОКП 94 4340).

2.9 ДЕЙСТВИЯ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

При отказах устройства и попадании в аварийные условия эксплуатации рекомендуется выключить устройство, не дожидаясь завершения выполнения рабочего протокола.

Повторное включение выполнять после устранения неисправностей и аварийных условий эксплуатации.

В случае аварийного отключения результаты завершенных ранее анализов сохраняются и пригодны для последующей вторичной обработки.

2.10 ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Возможные неисправности в процессе использования изделия по назначению и рекомендации по действиям при их возникновении приведены в таблице 13.

Таблица 13

Неисправность, ее внешнее проявление и дополнительные признаки	Вероятная причина или место неисправности	Способ устранения
1	2	3
Прибор не включается, зеленый светодиод рядом с выключателем не светится	Неисправность в проводах питания (сетевом комплекте)	Выключить прибор. Отсоединить от питающей сети, проверить исправность сетевого шнура, вилки и розетки комбинированным прибором типа Ц4353. Устранить неисправность
	Перегорели предохранители, установленные внутри прибора	
	Неисправность электронного блока	При исправном сетевом комплекте следует вызвать представителя предприятия-изготовителя
Позиционер не выходит на исходное положение или на заданное положение	Механическая помеха на ходовом валу позиционера	Осмотреть позиционер, удалить механическую помеху на ходовом валу позиционера
	Сбой программы прибора	Выключить и вновь включить прибор и компьютер
	Неисправен позиционер	Сообщить на предприятие-изготовитель
Термостат кассетный не выходит на заданный режим	Не закрыта крышка термостата	Закрыть крышку
	Неисправен термостат	Сообщить на предприятие-изготовитель

1	2	3
Большой шум, выбросы или дрейф нулевой линии	Воздушные пузыри в полимере	Дегазировать или заменить полимер
	Прибор не прогрелся	Дать прогреться 30 мин
Капилляры не заполняются полимером	Засорились капилляры	Промыть капилляры или поставить другую линейку капилляров
	Плохое уплотнение соединительных штуцеров блока заполнения полимером	Проверьте герметичность уплотнительных винтов
Отсутствует ток в капилляре при наличии напряжения	Капилляры заполнены воздухом	Перезаполнить капилляр полимером
	Капилляры или электрод не касаются жидкости	Долить буферный раствор в контейнеры
Отсутствуют пики на электрофореграмме	Низкая концентрация пробы	Увеличить концентрацию пробы
	Концы капилляров не достают до пробы, проба не вводится в капилляр	Увеличить объем пробы

3 ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

3.1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

При проведении технического обслуживания в течение месяца используется спирт этиловый х.ч. в объеме 200 см³.

При постоянной работе устройства периодически (1 раз в месяц) производить в выключенном состоянии удаление пыли и грязи ватным тампоном, смоченном в спирте, с наружных панелей корпусов и из зоны расположения контейнеров и планшета.

Техническое обслуживание оборудования для подготовки проб и ПЭВМ производится в соответствии с собственными руководствами по эксплуатации.

3.2 КОНСЕРВАЦИЯ

Для длительного хранения устройство должно быть подготовлено в следующей последовательности.

3.2.1 ПРОМЫВКА КАПИЛЛЯРОВ

В устройство заполнения капилляров гелем установить контейнер с водой. Открыть клапан. Запустить двигатель со скоростью 10 шагов в секунду на нижнюю позицию.

Заполнить плунжерный насос водой. Для этого закрыть клапан и запустить двигатель со скоростью со скоростью 10 шагов в секунду на верхнюю позицию.

Заполнить капилляры водой при нижнем положении платформы позиционера. Для этого выполнить быстрое движение поршня насоса со скоростью 10 шагов в секунду в нижнюю позицию.

При необходимости повторить выполнение последней команды несколько раз до выдавливания геля и появления нескольких капель воды на конце каждого капилляра в электродном узле.

3.2.2 Продувка и просушка капилляров

В устройство заполнения капилляров гелем установить пустой контейнер. Открыть клапан. Запустить двигатель со скоростью 10 шагов в секунду в нижнюю позицию.

Заполнить плунжерный насос воздухом. Для этого закрыть клапан и запустить двигатель со скоростью 10 шагов в секунду в верхнюю позицию.

Продуть капилляры при нижнем положении платформы позиционера. Для этого выполнить быстрое движение поршня насоса в нижнюю позицию. Наблюдать завершение выдавливание воды из капилляров. Повторить выполнение запуска двигателя на верхнюю позицию и в нижнюю позицию в автоматическом режиме 20 раз для просушки капилляров.

4 ТЕКУЩИЙ РЕМОНТ УСТРОЙСТВА

4.1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

К текущему ремонту относится ремонт, осуществляемый в процессе эксплуатации для гарантированного обеспечения работоспособности устройства и состоящий в замене или восстановлении его отдельных частей и их регулировании.

Текущий ремонт устройства осуществляется квалифицированными специалистами предприятия-изготовителя.

Обнаружение неисправностей производится общепринятыми методами отыскания неисправностей в радиоэлектронной аппаратуре.

Устранение неисправностей производится ремонтом вышедших из строя деталей и сборочных единиц и заменой их годными.

После устранения неисправностей производится контроль в соответствии с разделом 3, затем можно приступить к работе.

4.2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Текущий ремонт устройства осуществляется квалифицированными специалистами предприятия-изготовителя.

При проведении текущего ремонта необходимо соблюдать требования “Правил технической эксплуатации и безопасности обслуживания электроустановок промышленных предприятий”.

5 ХРАНЕНИЕ

5.1 ПРАВИЛА ПОСТАНОВКИ УСТРОЙСТВА НА ХРАНЕНИЕ

Постановка устройства на хранение выполняется после его консервации в соответствии с п. 2.2.15.

Для длительного хранения и транспортирования необходимо выполнить упаковку согласно п. 1.1.8.

5.2 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ ИЗДЕЛИЯ

Гарантийный срок хранения – 6 месяцев со дня изготовления устройства.

Устройство в упаковке и без упаковки может храниться при температуре воздуха от 5 до 40 °С и относительной влажности не более 80 % при температуре 25 °С.

В помещениях для хранения не должно быть пыли, паров кислот, щелочей, агрессивных газов и других вредных примесей, вызывающих коррозию.

6 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Транспортирование устройства производится всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с требованиями ГОСТ Р 50444-92 и правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Условия транспортирования устройства - УХЛ 5 по ГОСТ 15150-69.

Для обеспечения сохранности транспортная маркировка устройства содержит предупредительные надписи:

- «Хрупкое. Осторожно»;
- «Беречь от влаги»;
- «Верх».

Вид отправки – единичное изделие.

7 УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизации подвергается устройство после окончания срока эксплуатации, восстановление которого технически и экономически нецелесообразно.

Утилизация устройства не создает экологической опасности.

Утилизация устройства может быть выполнена фирмами, которые специализируются на утилизации (переработке) оргтехники и радиоэлектронного оборудования.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

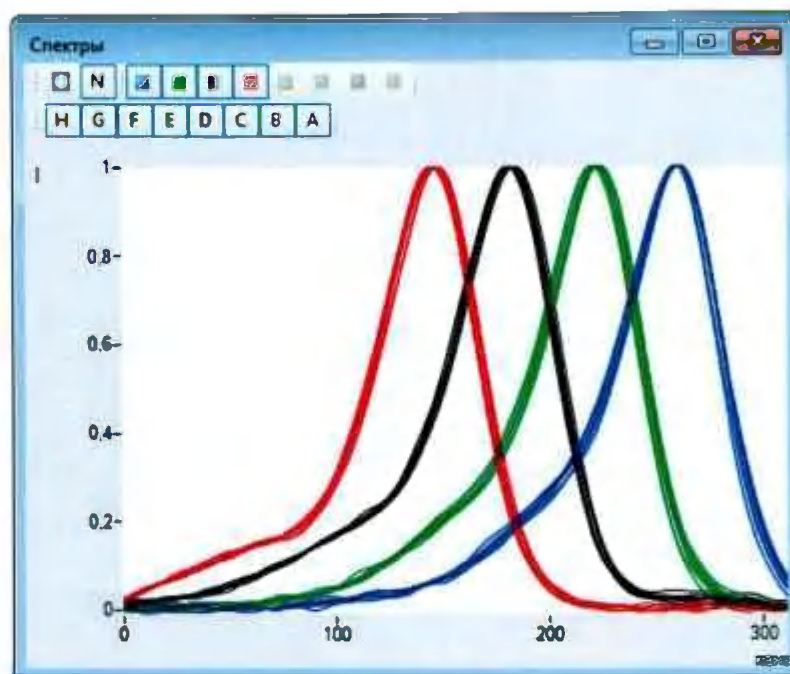
КОМПЛЕКТ ЗИП, ПОСТАВЛЯЕМЫЙ К УСТРОЙСТВУ

№ п/п	Наименование	Количество, шт.
1	Держатель 96-луночного планшета	2
2	Фиксатор 96-луночного планшета или стрипов	2
3	Антииспаритель для 96-луночного планшета	2
4	Емкости для буфера, воды и слива	1
5	Антииспаритель для емкостей буфера, воды и слива	4
6	Емкость анодного (+) буфера (бакпечатка)	2
7	Трубка блока заполнения полимером (от емкости с полимером до блока)	1
8	Трубка блока заполнения полимером (от блока до емкости с анодным буфером)	1
9	Заглушка	1
10	Флакон (8 мл) для полимера с крышкой с отверстием под трубку блока заполнения полимером	2
11	Флакон для полимера с крышкой с отверстием под трубку сброса жидкости при промывке плунжера	2
12	Шприц, 25 мл	1
13	Кольцо резиновое черное малое	2
14	Кольцо плунжера	1
15	Пинцет	1
16	Ключи X на Y	1
17	Баллончик со сжатым воздухом	1

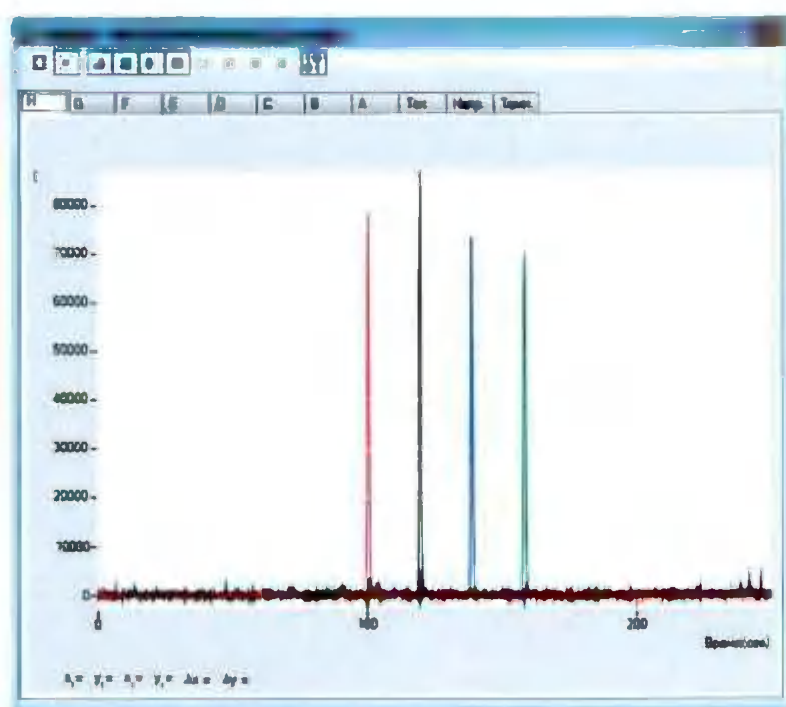
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

СПЕКТРАЛЬНЫЕ КАЛИБРОВКИ

1) 4-цветный спектральный калибратор

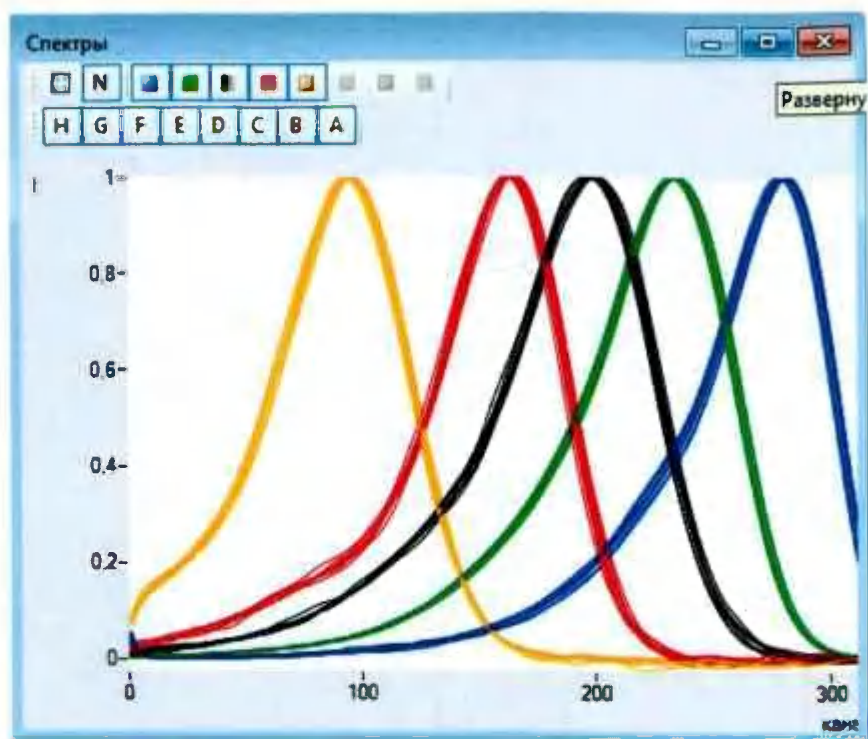


а. Спектрограмма

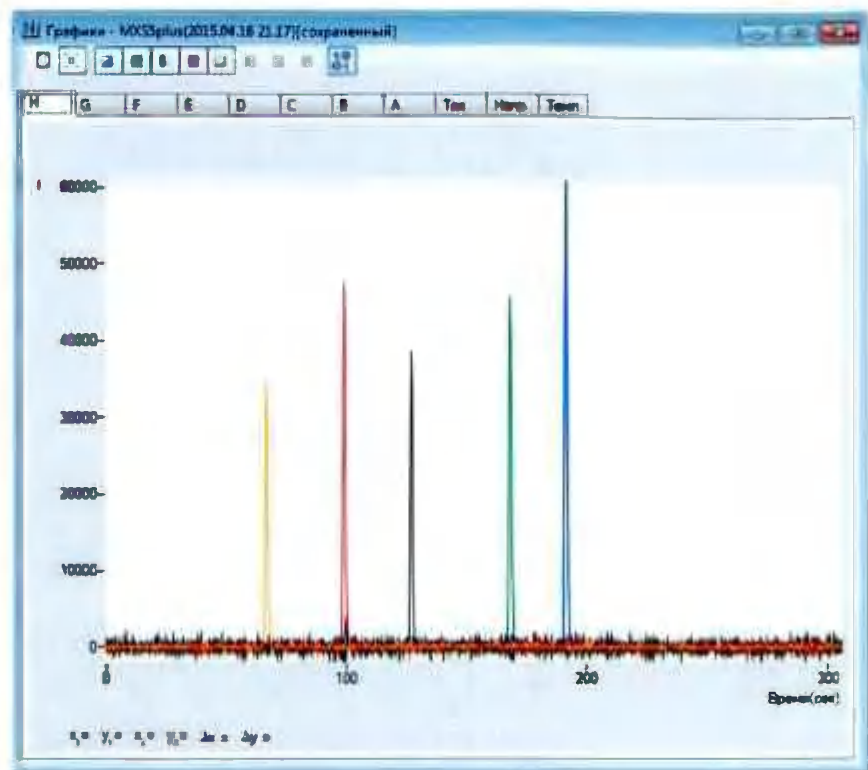


Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

2) 5-цветный спектральный калибратор

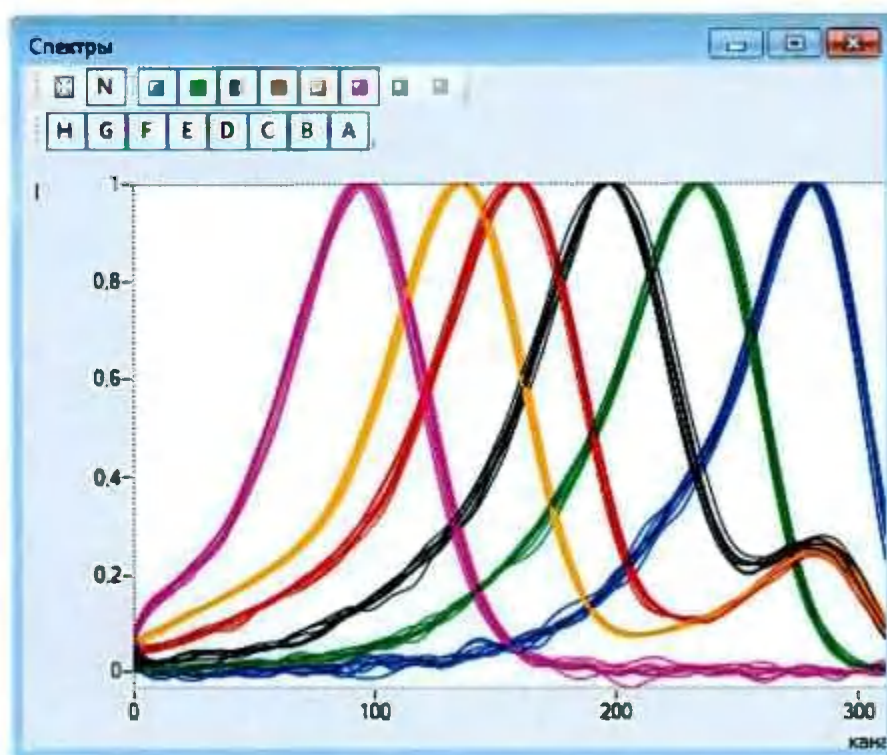


а. Спектрограмма

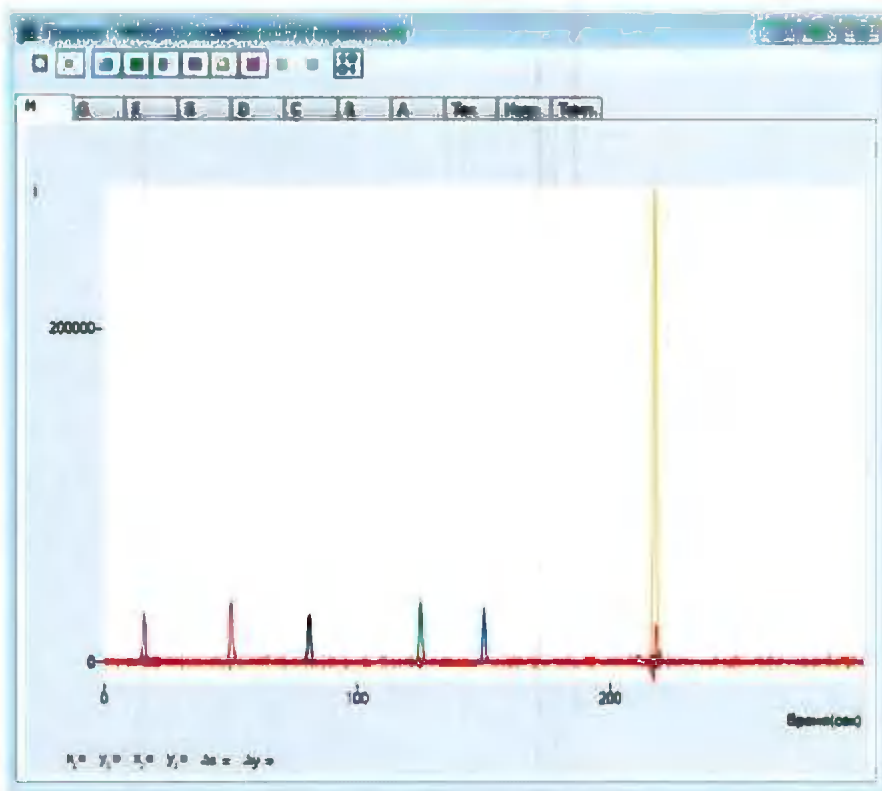


Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

3) 6-цветный спектральный калибратор

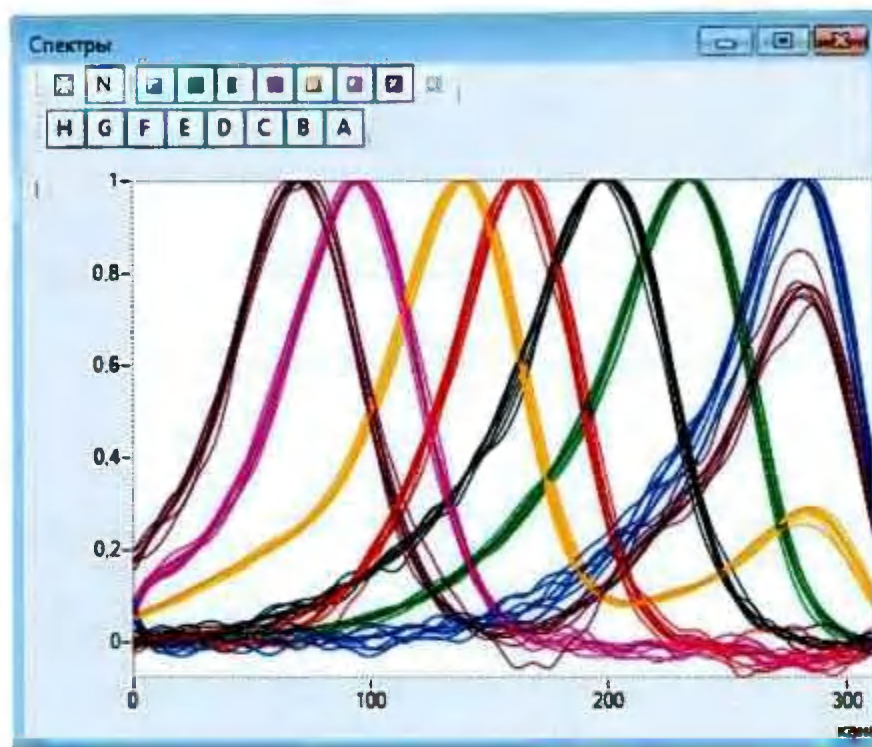


а. Спектрограмма

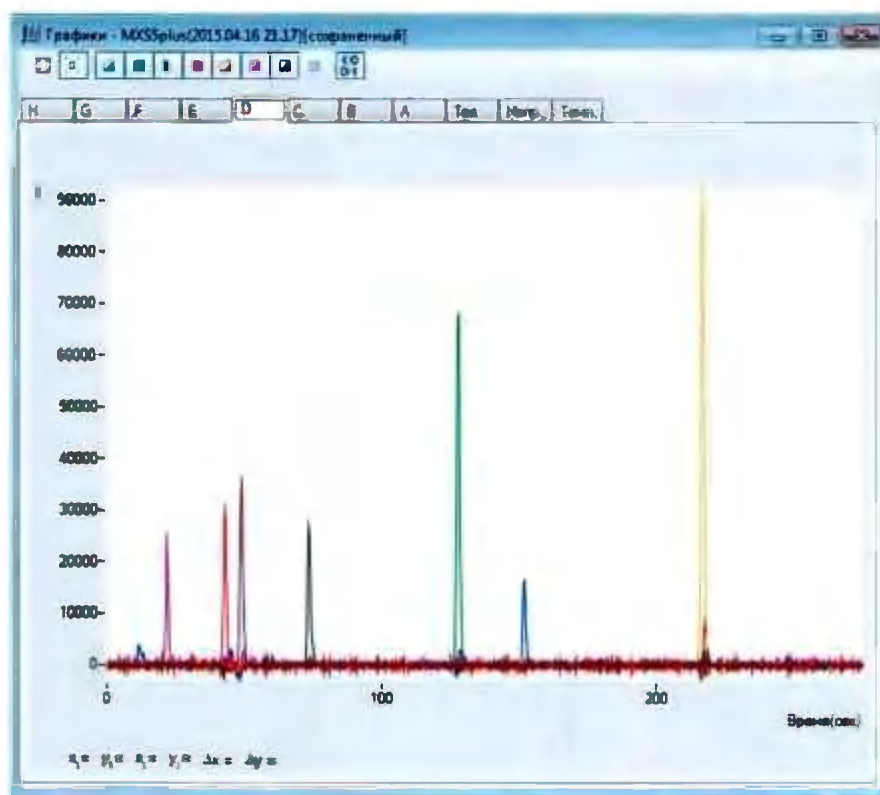


б. Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

4) 7-цветный спектральный калибратор



а. Спектрограмма



б. Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. СТАНДАРТНЫЕ ПРОТОКОЛЫ «ПРОГРАММЫ ИЗМЕРЕНИЯ»

В зависимости от длины капилляров, типа используемого полимера и вида проводимого анализа электрофорез проводится при следующих параметрах:

1) Спектральная калибровка.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 35 см

Программа измерения

Программа: Спектральная калибровка 35
длина капилляров 35 см полимер ПДМА-6

Открыть
Сбросить
Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]		от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение префореза[В]	15000	от 1000 до 15000	Pre Phores Volt
Время префореза[сек]	180	от 1 до 900	Pre Phores Time
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	Inj Volt
Время ввода пробы[сек]	5	от 1 до 360	Inj Time
Напряжение фореза[В]	15000	от 1000 до 15000	Phores Volt
Время фореза[сек]	1300	от 1 до 10800	Phores Time
Время исключения регистрации фореза[сек]	800	от 0 до 4000	Time Delay Forez

2) Спектральная калибровка.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 50 см

Программа измерения

Программа: Спектральная калибровка 50
длина капилляров 50 см полимер ПДМА-6

Открыть
Сбросить
Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]		от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение префореза[В]	15000	от 1000 до 15000	Pre Phores Volt
Время префореза[сек]	180	от 1 до 360	Pre Phores Time
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	Inj Volt
Время ввода пробы[сек]	5	от 1 до 360	Inj Time
Напряжение фореза[В]	15000	от 1000 до 15000	Phores Volt
Время фореза[сек]	1800	от 1 до 10800	Phores Time
Время исключения регистрации фореза[сек]	1300	от 0 до 4000	Time Delay Forez

3) Фрагментный анализ. Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 35 см

Программа измерения

Программа: Фрагментный анализ 35 см

длина капилляров 35 см, полимер ПДМА-6
набор реагентов COORDYS Plus

Открыть

Обрывать

Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]	50	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение предфореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhoresVolt
Время предфореза[сек]	180	от 1 до 900	PrePhoresTime
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	InjVolt
Время ввода пробы[сек]	3	от 1 до 360	InjTime
Напряжение фореза[В]	10500	от 1000 до 15000	PhoresVolt
Время фореза[сек]	3000	от 1 до 10800	PhoresTime
Время исключения регистрации фореза[сек]	800	от 0 до 4000	TimeDelayForez

4) Фрагментный анализ. Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 50 см

Программа измерения

Программа: Фрагментный анализ 50 см

длина капилляров 50 см, полимер ПДМА-6
набор реагентов COORDYS Plus

Открыть

Обрывать

Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]	50	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение предфореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhoresVolt
Время предфореза[сек]	180	от 1 до 360	PrePhoresTime
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	InjVolt
Время ввода пробы[сек]	3	от 1 до 360	InjTime
Напряжение фореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PhoresVolt
Время фореза[сек]	3600	от 1 до 10800	PhoresTime
Время исключения регистрации фореза[сек]	1200	от 0 до 4000	TimeDelayForez

5) Анализ последовательности.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 35 см

Программа измерения

Программа: Сиквенсный анализ 35 см
длина капилляров 35 см, полимер ПДМА-6

Открыть
Сбросить
Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата [C]		от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата [C]	45	от 30 до 60	Temperature3
Напряжение префореза [В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhoresVolt
Время префореза [сек]	180	от 1 до 360	PrePhoresTime
Напряжение ввода пробы [В]	1800	от 1000 до 15000	InjVolt
Время ввода пробы [сек]	30	от 1 до 360	InjTime
Напряжение фореза [В]	10500	от 1000 до 15000	PhoresVolt
Время фореза [сек]	5000	от 1 до 10800	PhoresTime
Время исключения регистрации фореза [сек]	400	от 0 до 4000	TimeDelayForez

6) Анализ последовательности.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 50 см

Программа измерения

Программа: Сиквенсный анализ 50 см
длина капилляров 50 см, полимер ПДМА-6

Открыть
Сбросить
Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата [C]	55	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата [C]	45	от 30 до 60	Temperature3
Напряжение префореза [В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhoresVolt
Время префореза [сек]	180	от 1 до 360	PrePhoresTime
Напряжение ввода пробы [В]	1800	от 1000 до 15000	InjVolt
Время ввода пробы [сек]	30	от 1 до 360	InjTime
Напряжение фореза [В]	10500	от 1000 до 15000	PhoresVolt
Время фореза [сек]	6000	от 1 до 10800	PhoresTime
Время исключения регистрации фореза [сек]	800	от 0 до 4000	TimeDelayForez

ПРИЛОЖЕНИЕ 4.

ПРИМЕРЫ РЕЗУЛЬТАТОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ «УСТРОЙСТВА СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК ПО ТУ 9443-005-04699534-2013, С ПРИНАДЛЕЖНОСТЯМИ»

П4.1 ПРИМЕРЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА В КРИМИНАЛИСТИКЕ

Пример использования устройства для определения отцовства с использованием набора реагентов "PowerPlex Fusion" («Промега», США) представлен на рисунках 1–4:

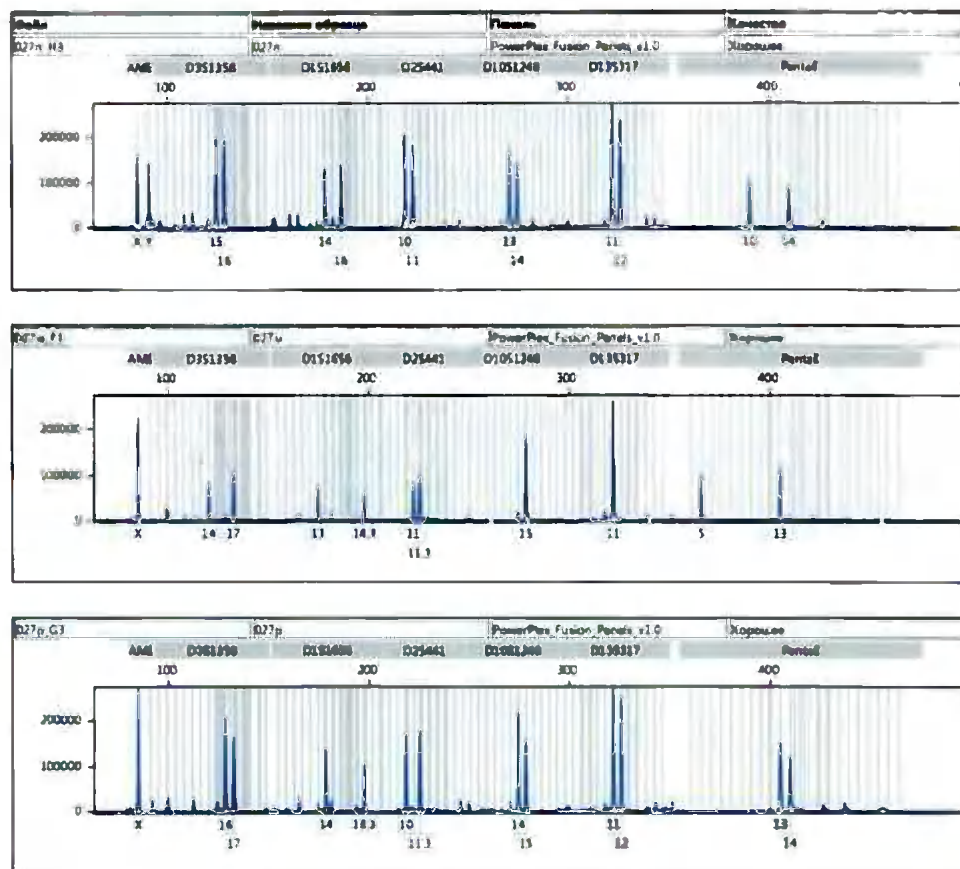


Рисунок 1 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу FAM, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

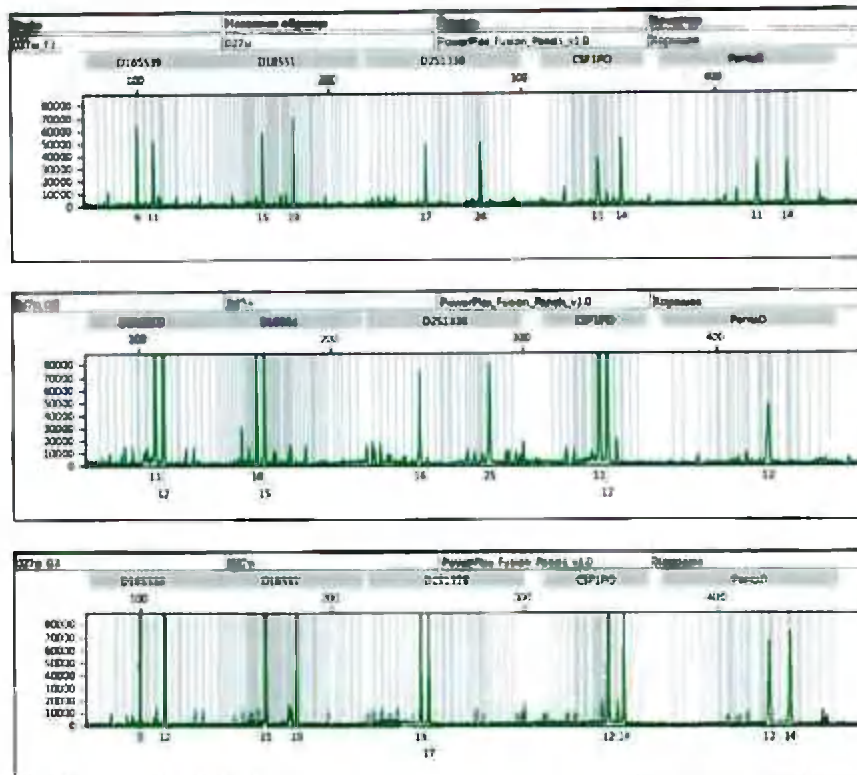


Рисунок 2 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу R6G, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

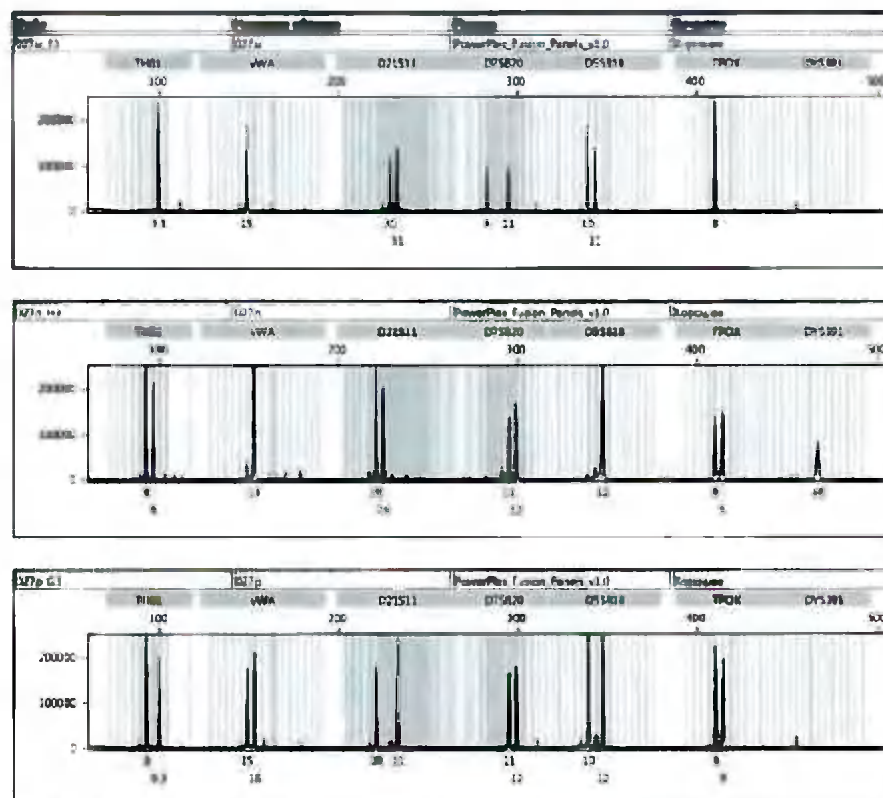


Рисунок 3 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу TAMRA, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

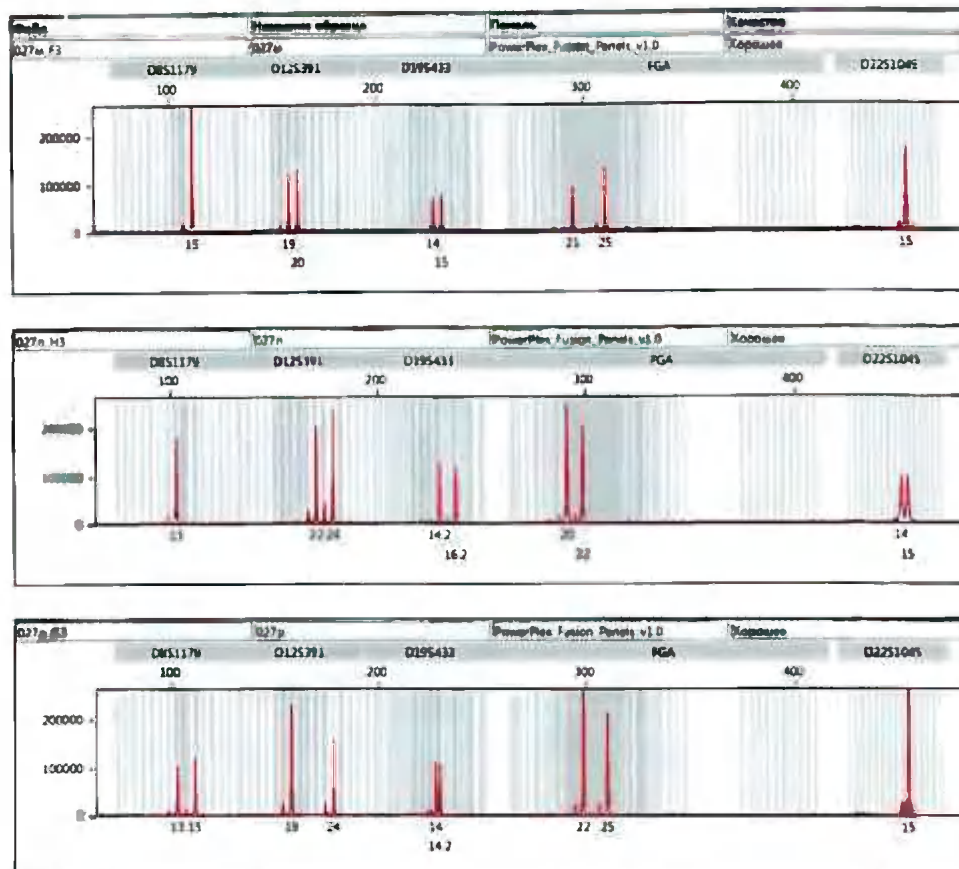


Рисунок 4 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу ROX, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

Пример использования прибора для определения родства по мужской линии с использованием набора реагентов COrDiS (ООО «Гордиз») представлен на рисунках 5– 6:

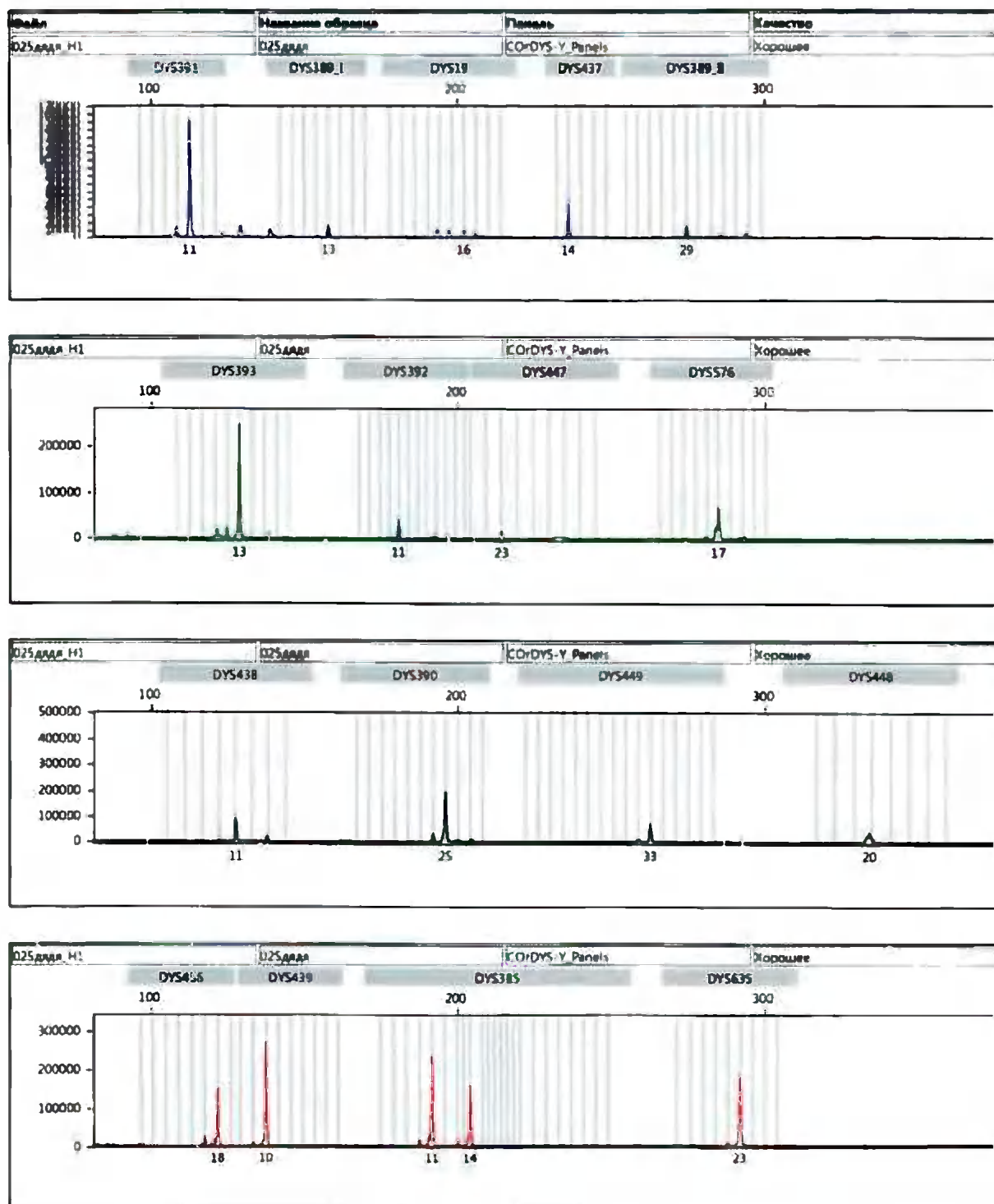


Рисунок 5 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации, полученных с ДНК дяди

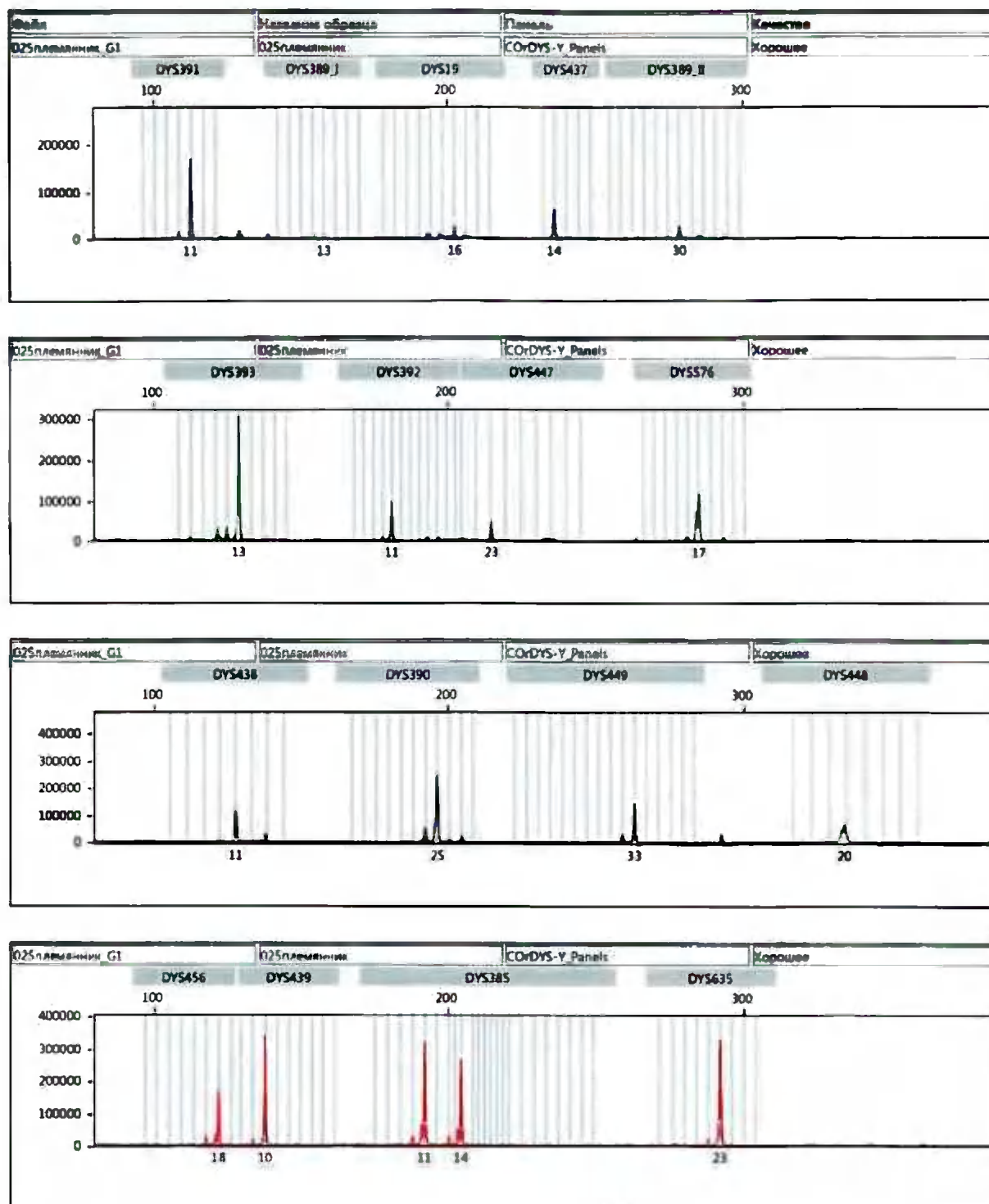


Рисунок 6 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации, полученных с ДНК племянника

Результаты, приведенные на рисунках 1 – 6, получены на «Устройстве секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» (сер.№ прибора 101401) и любезно предоставлены заведующей кафедрой судебной медицины и правоождения Оренбургского государственного

медицинского университета к.м.н. Е.Ю. Калининой и врачом с.м.э ГУЗ Оренбургское бюро судебно-медицинской экспертизы А.Б. Прокофьевым.

Пример использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для демонстрации динамического диапазона анализа образцов ДНК человека с использованием набора "COrDIS Plus" (ФСР 2012/13548 от 25 июня 2012 г.) представлен на рисунке 7. Данные получены на приборе сер.№ 101403 и любезно предоставлены генеральным директором ООО «Гордиз» к.б.н. В.А. Ореховым.

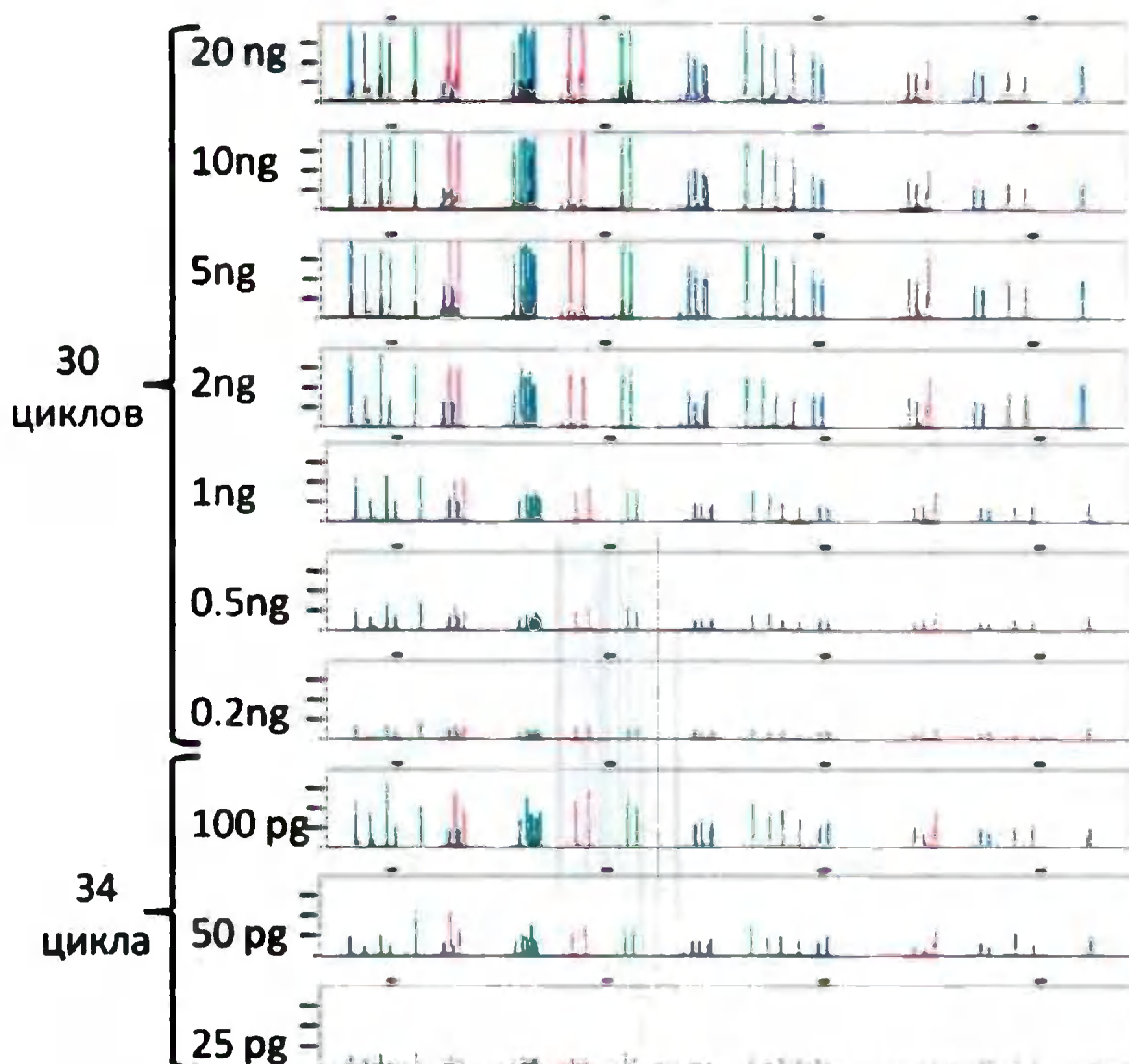


Рисунок 7 - Динамический диапазон анализа образцов ДНК человека с использованием набора "COrDIS Plus"

П4.2 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА В ЭПИДЕМИОЛОГИИ

Пример использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для генетического типирования возбудителя сибирской язвы представлены на рисунках 1 –4. Данные получены на приборе сер.№ 101402 с помощью набора реагентов "ОМ-Сибирская язва-Генотип" (ЗАО «Синтол») и любезно предоставлены научным сотрудником ЗАО «Синтол» Ю. Монаховой.

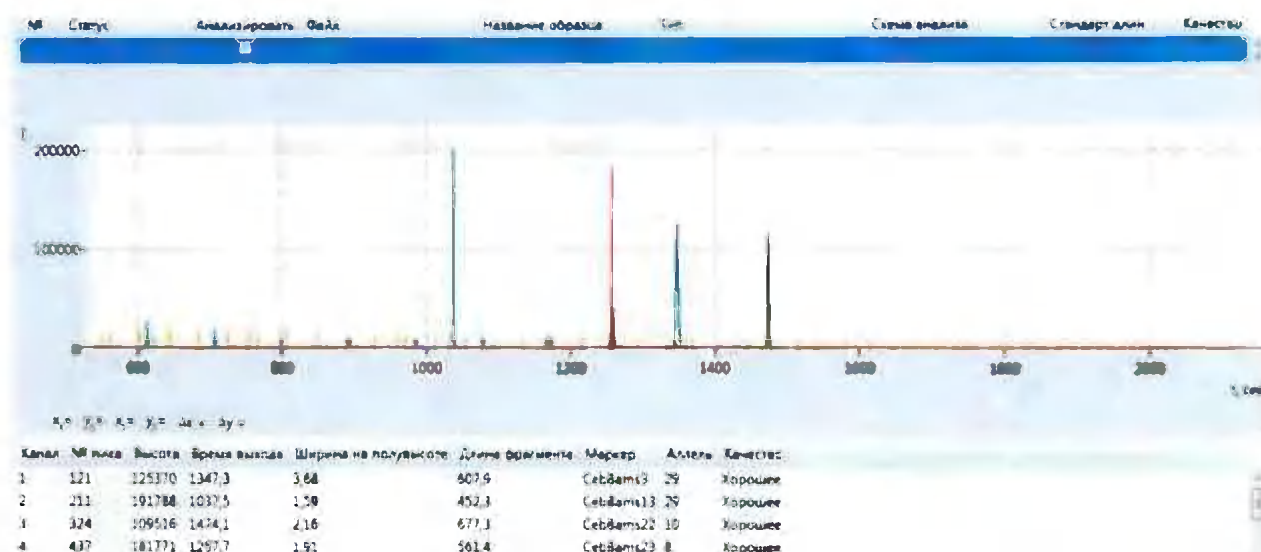


Рисунок 1 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам CebBams3, CebBams13, CebBams22, CebBams23, полученных с ДНК исследуемого штамма сибирской язвы

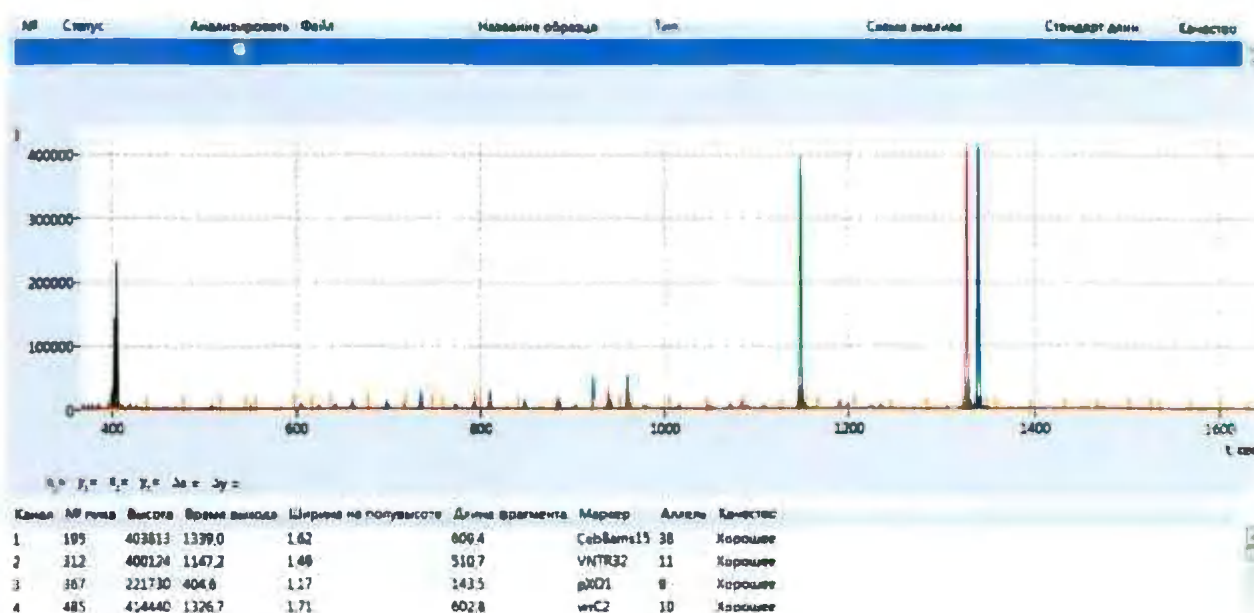


Рисунок 2 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам CebBams15, VNTR32, pXO1, mtC2, полученных с ДНК исследуемого штамма сибирской язвы

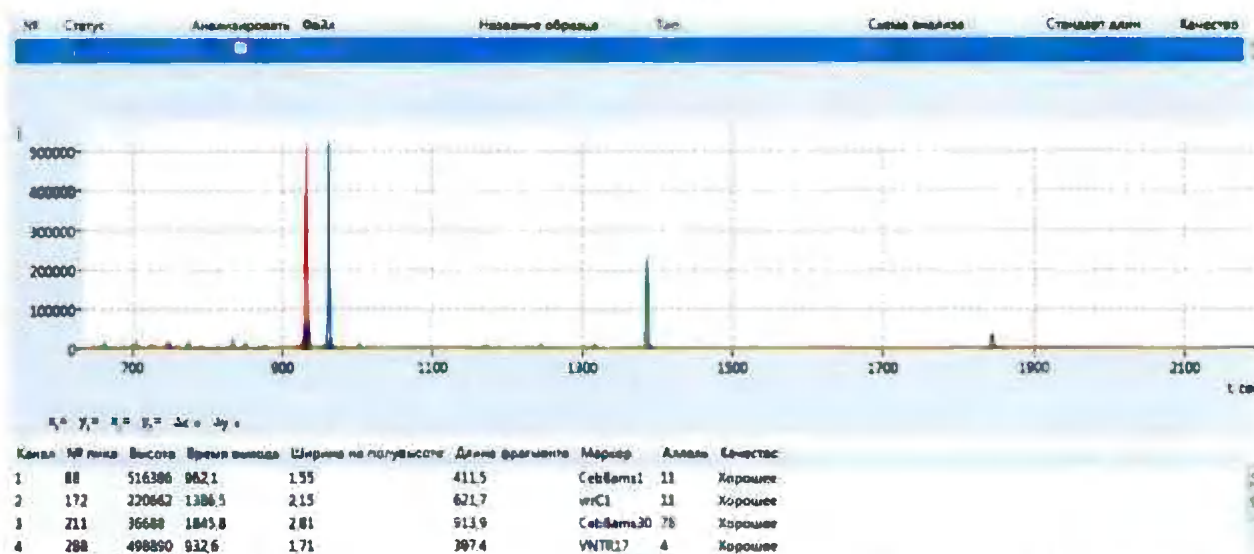


Рисунок 3 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам CebBams1, mtC1, CebBams30, VNTR17, полученных с ДНК исследуемого штамма сибирской язвы



Рисунок 4 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам VNTR16, vtrA, vtrB1, CL33, полученных с ДНК контрольного штамма сибирской язвы

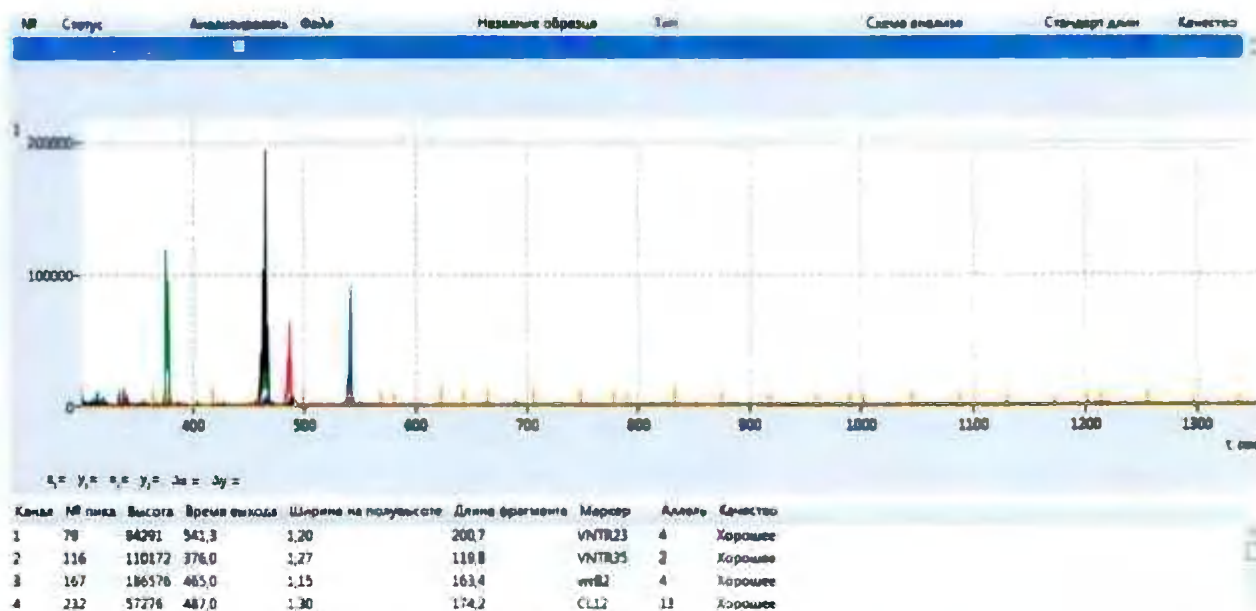


Рисунок 5 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам VNTR23, VNTR35, vtrB2, CL12, полученных с ДНК контрольного штамма сибирской язвы

П4.3 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА В ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Примеры использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для выявления анеуплоидий представлены на рисунках 1–2. Данные получены на приборе сер.№ 101404 и любезно предоставлены ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной генетики человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова к.б.н. Е.Б. Кузнецовой.

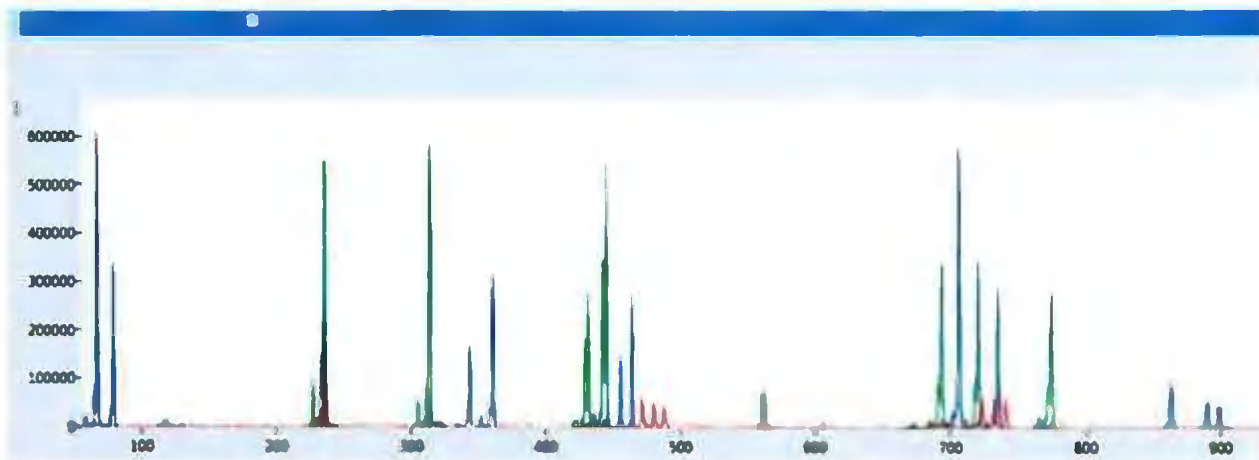


Рисунок 1 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации исследуемой ДНК человека. Пол - XXУ. Выявлена анеуплоидия для всех исследуемых хромосом по анализируемым маркерам D13S742, D18S391, D18S535, D21S11, IFNAR, D13S634, D18S386, D21S1411, AMG

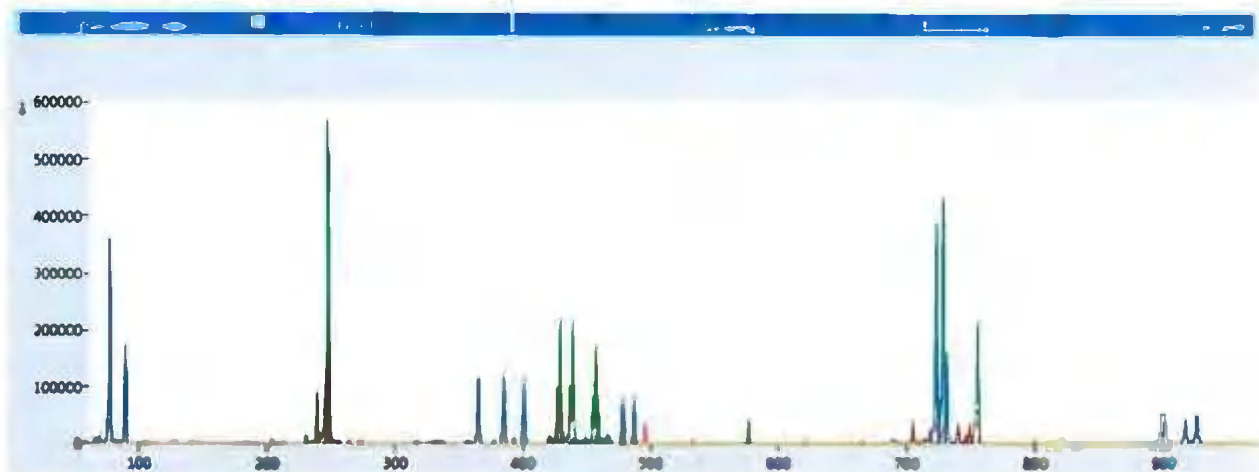


Рисунок 2 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации исследуемой ДНК человека. Пол мужской (AmelX+, AmelY+). Для локусов D13S742, D18S391, D18S535, D21S11, IFNAR показано наличие трех аллелей исследуемого маркера что свидетельствует о наличии анеуплоидии

Примеры использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для выявления мутаций,

423

вызывающих синдром Ретта представлены на рисунках 3 и 4. Данные получены на приборе сер.№ 101404 и на приборе ABIPrism 3500 и любезно предоставлены ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной генетики человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова к.б.н. Е.Б. Кузнецовой.

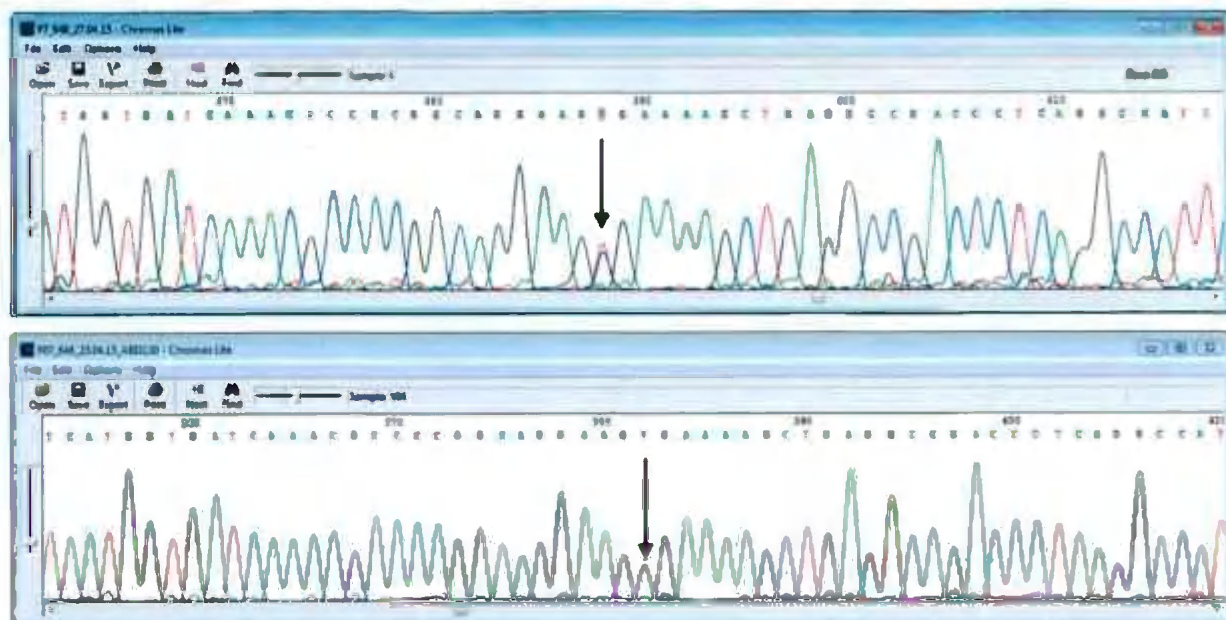


Рисунок 3 - Замена С>Т в положении p.R255X:
 верх — Электрофореграмма, полученная с помощью Устройства,
 низ — Электрофореграмма, полученная на приборе ABIPrism 3500.

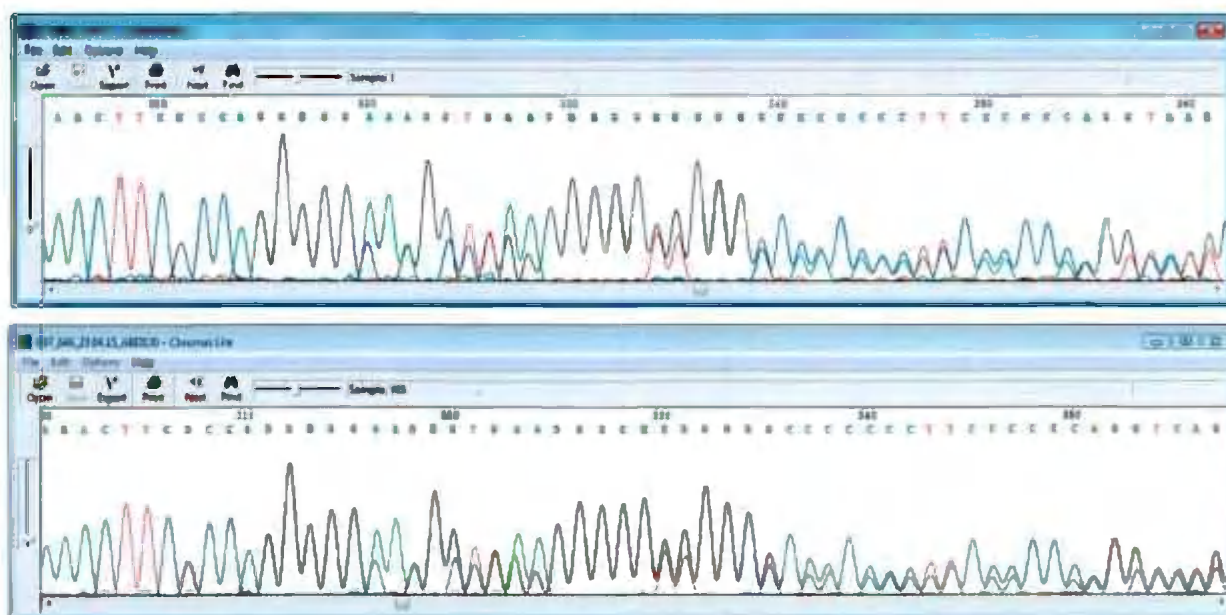


Рисунок 4 - Делеция del C в положении p.G232 fs, что ведет к появлению множественных двойных пиков:
 верх — Электрофореграмма, полученная с помощью Устройства,
 низ — Электрофореграмма, полученная на приборе ABIPrism 3500.

П4.4 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА ДЛЯ ПАСПОРТИЗАЦИИ СОРТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Пример использования прибора сер. № 101403 для генетической паспортизации сортов Сорго представлен на рисунке 1. Данные любезно предоставлены руководителем лаборатории анализа геномов Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии д.б.н. И.А. Шиловым и старшим научным сотрудником к.б.н. Ю.В. Анискиной.

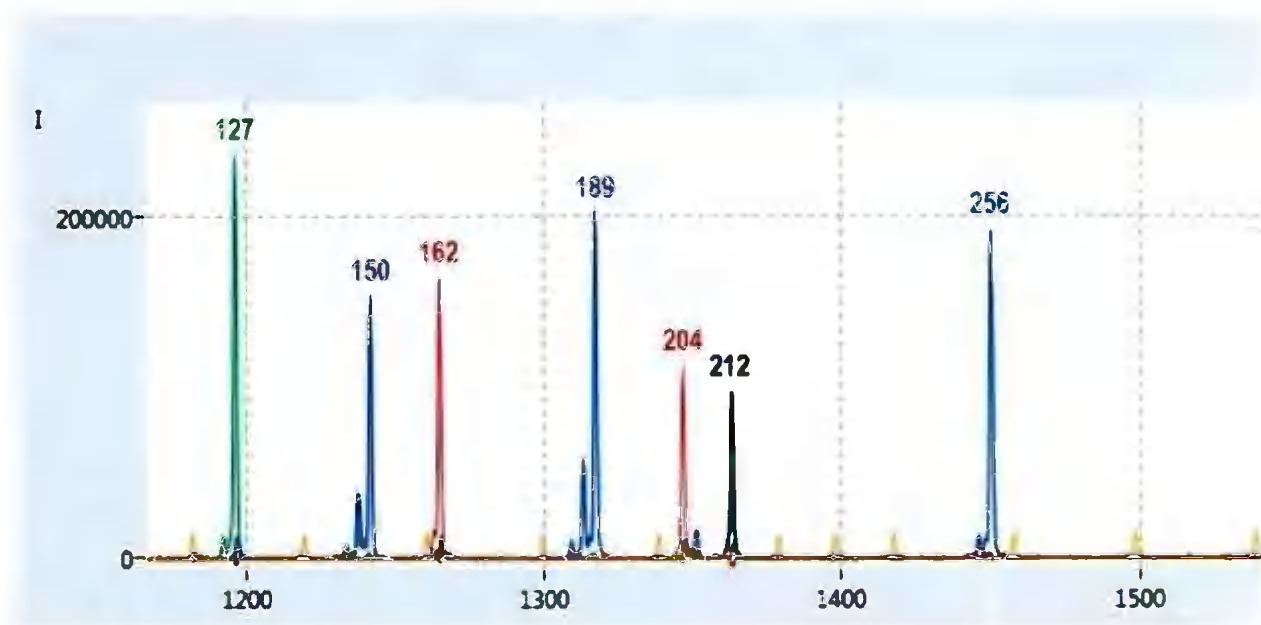


Рисунок 1 - Генетический профиль сорта сорго Сахарное 20

П4.5 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА ДЛЯ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Пример результата анализа последовательности синтетической конструкции BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard на приборе сер.№ 101405 представлен на рисунке 1. Совпадение с данными GanBank при прочтении 777 нуклеотидов составляет 99 %. Данные любезно предоставлены ведущим научным сотрудником Центра коллективного пользования научным оборудованием ВНИИСБ «Биотехнология», к.б.н. Благодатских К.А.

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?rainHdr_35384603

Download GenBank Graphics

Synthetic construct BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard sequence
Sequence ID: [gi|AY390769.1](#) Length: 1000 Number of Matches: 1

Range 1: 6 to 779 GenBank Graphics

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	1424 bits(771)	0.0	773/774(99%)	0/774(0%)	Plus/Plus
Query 4	CCCTGCAGGCGTGGCTGCAGCCTGGTTATGATTACTGTTAATGTTGCTACTACTGCTGAC				63
Sbjct 6	CCCTGCAGGCGTGGCTGCAGCCTGGTTATGATTACTGTTAATGTTGCTACTACTGCTGAC				65
Query 64	AAATGCTGCTGCTGCTTCTCTCTCACTGCTCTCCACTTCCCTTGAACCAATGCCCGCTCATGCTT				123
Sbjct 66	AAATGCTGCTGCTGCTTCTCTCTCACTGCTCTCCACTTCCCTTGAACCAATGCCCGCTCATGCTT				125
Query 124	CTTTTGCCTCCCGCTGCTCCAGAAAGCTAGGCCGAGATCAGAACCCACCACTCAATAT				183
Sbjct 126	CTTTTGCCTCCCGCTGCTCCAGAAAGCTAGGCCGAGATCAGAACCCACCACTCAATAT				185
Query 184	CACCACCTTCTCTTATAGATTCCGAATCTCATGATAGGGGCTCAGCCTCTGTGCGAGTG				243
Sbjct 186	CACCACCTTCTCTTATAGATTCCGAATCTCATGATAGGGGCTCAGCCTCTGTGCGAGTG				245
Query 244	GAGAGAAGTTTGCAGGCGAGCTGAGGAGCAATTGCAGGTGATATGATGTGCTCGGCTCAA				303
Sbjct 246	GAGAGAAGTTTGCAGGCGAGCTGAGGAGCAATTGCAGGTGATATGATGTGCTCGGCTCAA				305
Query 304	GAAGCGGGCCCGGAGAGGAAGTCTGTGCGGGGCTAATTATTGGCAAAACGAGCTCTT				363
Sbjct 306	GAAGCGGGCCCGGAGAGGAAGTCTGTGCGGGGCTAATTATTGGCAAAACGAGCTCTT				365
Query 364	GTTGTAAACATGATCCAACTGGAATGTCTAATGGCGAATCAATAATCCATAAGGCAI				423
Sbjct 366	GTTGTAAACATGATCCAACTGGAATGTCTAATGGCGAATCAATAATCCATAAGGCAI				425
Query 424	GATGGTTGCTCAGAGGCAGGAGAGAGCAACGAATACGATCTTATAAAGATAAAACATA				483
Sbjct 426	GATGGTTGCTCAGAGGCAGGAGAGAGCAACGAATACGATCTTATAAAGATAAAACATA				485
Query 484	AATAAACAGTCTTGATTATATTCTGGGTATTAAAGCCCAATCAGAACAAATATATGCTT				543
Sbjct 486	AATAAACAGTCTTGATTATATTCTGGGTATTAAAGCCCAATCAGAACAAATATATGCTT				545
Query 544	TGATCTTTTCTTGCCTTCTTCATTACCAACTGCTTCCGCGCCCAATTAAAGAACTTG				603

Рисунок 1 - Анализ последовательности синтетической конструкции BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard

Исходный и пронумерованный документ
№ 1



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИАП РАН

В.Курочкин

«01» октября 2015 г

**Устройство секвенирования ДНК
по ТУ 9443-005-04699534-2013,
с принадлежностями**

Руководство по эксплуатации

ПКДН.941417.005 РЭ

2015

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Описание и работа	6
1.1	Описание и работа устройства	6
1.1.1	Назначение	6
1.1.2	Основные параметры и характеристики, необходимые для правильной технической эксплуатации изделия:.....	7
1.1.3	Состав устройства	8
1.1.4	Требование к ПЭВМ	9
1.1.5	Устройство и работа.....	10
1.1.6	Средства измерения, инструмент и принадлежности.....	15
1.1.7	Маркировка и пломбирование	15
1.1.8	Упаковка	16
1.2	Описание и работа составных частей устройства	18
1.2.1	Общие сведения	18
1.2.2	Работа.....	22
1.2.3	Маркировка, пломбирование и упаковка.....	23
2	Использование по назначению.....	24
2.1	Эксплуатационные ограничения	24
2.2	Подготовка устройства к использованию.	25
2.2.1	Организация рабочего помещения для устройства	25
2.2.2	Меры безопасности при работе с устройством.....	26
2.2.3	Правила и порядок осмотра и проверки готовности устройства к использованию.....	28
2.2.4	Подключение к компьютеру и сети переменного тока	28
2.2.5	Порядок включения прибора.....	29
2.2.6	Установка новой линейки капилляров	29
2.2.7	Установка или Замена флакона с полимером.....	35
2.2.8	Замена типа полимера	35
2.2.9	замена анодного буфера.....	37
2.2.10	Удаление пузырей из каналов блока заполнения полимером и анодного блока.....	39
2.2.11	Заполнение капилляров полимером	40

2.2.12	Установка плашки для образцов и резервуаров для жидкостей	41
2.2.13	Замена линейки капилляров	45
2.2.14	Основные профилактические действия перед началом работы	50
2.2.15	Консервация прибора	51
2.3	Описание программного обеспечения управления устройством «SeqPI»	53
2.3.1	Назначение кнопок и пунктов меню главного окна программы	54
2.3.2	Функциональные кнопки главного окна программы	54
2.3.3	Панель меню главного окна программы	55
2.3.4	Описание центральной части окна программы «SeqPI»	59
2.3.5	Описание нижней части окна программы «SeqPI»	61
2.4	Порядок контроля работоспособности устройства	62
2.4.1	Пространственная калибровка	62
2.4.2	Спектральная калибровка	66
2.5	Запуск фрагментного анализа и анализа последовательности	86
2.5.1	Описание плашки	86
2.5.2	Запуск анализа	93
2.6	Порядок приведения устройства в исходное положение	97
2.7	Порядок выключения устройства, содержание и последовательность осмотра изделия после окончания работы	97
2.8	Меры безопасности при использовании изделия по назначению	98
2.9	Действия в экстремальных условиях	100
2.10	Перечень возможных неисправностей	101
3	Техническое обслуживание	103
3.1	Общие указания	103
3.2	Консервация	103
3.2.1	Промывка капилляров	103
3.2.2	Продувка и просушка капилляров	104
4	Текущий ремонт устройства	105
4.1	Общие указания	105
4.2	Меры безопасности	105
5	Хранение	106

5.1	Правила постановки устройства на хранение	106
5.2	Условия хранения изделия	106
6	Транспортирование	107
7	Утилизация	108
	Приложение 1	110
	Комплект ЗИП, поставляемый к устройству	110
	Приложение 2	111
	Спектральные калибровки	111
	Приложение 3	115
	Стандартные протоколы «Программы измерения»	115
	Приложение 4	118
	Примеры результатов использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями»	118
	П4.1 Примеры использования устройства в криминалистике	118
	П4.2 Пример использования устройства в эпидемиологии	124
	П4.3 Пример использования устройства в диагностике наследственных заболеваний человека	127
	П4.4 Пример использования устройства для паспортизации сортов сельскохозяйственных культур	129
	П4.5 Пример использования устройства для секвенирования	130

Руководство по эксплуатации является эксплуатационным документом, содержащим сведения, необходимые для изучения, эксплуатации и технического обслуживания медицинского изделия «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» (в дальнейшем - устройство).

В руководстве по эксплуатации дано описание устройства и принципа действия устройства, а также технические характеристики и другие сведения, необходимые для обеспечения полного использования технических возможностей устройства и для его правильной эксплуатации.

Руководство по эксплуатации рассчитано на персонал со средним техническим образованием, имеющий опыт работы с электронными устройствами, а также с приборами медицинского и химического анализов.

Предприятие-изготовитель может обеспечивать первое включения устройства и обучение персонала.

Предприятие-изготовитель оставляет за собой право изменять конструкцию устройства без ухудшения его потребительских свойств.

Устройство имеет в своем составе лазер и источник высокого напряжения. Конструкция устройства обеспечивает надежную защиту пользователей.

1. ОПИСАНИЕ И РАБОТА

1.1 ОПИСАНИЕ И РАБОТА УСТРОЙСТВА

1.1.1 НАЗНАЧЕНИЕ

Устройство является прибором капиллярного электрофореза с лазериндуцированной флуоресцентной детекцией.

Принцип действия устройства основан на разделении молекул нуклеиновых кислот в жидкой полимерной фазе в тонких капиллярах под воздействием высокого напряжения.

Устройство предназначено для автоматического определения последовательности ДНК и для проведения фрагментного анализа ДНК.

Устройство может применяться в лабораториях научно - исследовательских институтов, для проведения клинических анализов, в судебной экспертизе, а также для санитарного и экологического контроля.

1.1.2 ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ И ХАРАКТЕРИСТИКИ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРАВИЛЬНОЙ ТЕХНИЧЕСКОЙ ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ:

Таблица 1

Наименование параметра	Значение
Количество капилляров	8
Напряжение, подводимое к капиллярам	0,5 ÷ 20 ($\pm 0,03\%$) кВ
Сопряжение с компьютером	Интерфейс USB
Автоматическая замена геля	Да
Автоматическое нанесение образца	Да
Возможность работы без оператора, при полной автоматизации	Да
Количество каналов детекции различных по спектру флуоресцентных красителей	7 каналов детекции для приема сигналов с максимумами флуоресценции 520, 550, 580, 605, 625, 645, 665 нм.
Длина прочтения последовательности ДНК	не менее 750 п.н. с точностью не менее 99 %
Точность установления длины фрагмента	± 1 нуклеотид при длине фрагмента не менее 500 п.н.
Производительность	750 нуклеотидов за время не более 90 минут
Возможность работы с реактивами различных производителей	Да
Лазер	Твердотельный, $\lambda = 488$ нм
Чувствительность по флуоресценции	до 10^{-11} М
Выход на рабочий режим	Не более 5 минут
Потребляемая мощность в рабочем режиме, не более	300 ВА
Масса без запасных частей и принадлежностей	48 кг
Габаритные размеры (Длина x Ширина x Высота)	600 x 630 x 630 мм

1.1.3 СОСТАВ УСТРОЙСТВА

В состав изделия входят следующие принадлежности:

- линейка из восьми капилляров;
- контейнер для хранения проб;
- контейнер для хранения рабочих жидкостей;
- кабель USB 2/0 AB, 1,8м;
- трубка 1/8"×ID 0.063 Teflon, 0,2м;
- трубка 1/8"×ID 0.063 Teflon, 0,12м;
- шнур сетевой 220В, 3А;
- руководство по эксплуатации (с приложениями);
- паспорт;
- ведомость ЗИП.

В комплект эксплуатационных документов входят:

1) Руководство по эксплуатации ПКДН 941417.005 РЭ с приложениями:

- руководство оператора программы «Анализ последовательности ДНК»
RU.ПКДН.503320-02 34 01-ЛУ
- руководство оператора программы «Фрагментный анализ ДНК»
RU.ПКДН.503320-03 34 01-ЛУ

2) Паспорт ПКДН 941417.001ПС.

3) Ведомость ЗИП ПКДН 941417.001ЗИ.

В комплект ЗИП входят запасные части, инструменты, принадлежности и материалы, приведенные в приложении I.

1.1.4 ТРЕБОВАНИЕ К ПЭВМ

Минимальный состав используемых технических (аппаратных) средств:

- IBM PC совместимый компьютер.
- Процессор – Pentium-4 - 2,4 ГГц.
- Объем оперативной памяти – 1 Гб.
- Объем видеопамати – 128 Мб.
- Общий объем памяти на жестких дисках более 40 Гб.

Для связи с устройством используется канал связи USB.

Минимальный состав используемых программных средств:

- Операционная система - Microsoft Windows XP/Vista, Windows 7 и выше.

Дополнительное ПО:

- Microsoft .Net FrameWork 3.5
- Microsoft Office 2010
- Internet browser Mozilla Firefox 14.0 или выше.

1.1.5 УСТРОЙСТВО И РАБОТА

Внешний вид «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» приведен на рисунках 1 и 2:



Рисунок 1 - Внешний вид устройства с принадлежностями



Рисунок 2 - Внешний вид устройства с открытыми дверцами

Конструкция устройства поясняется чертежом общего вида, изображенного на рисунке 3:

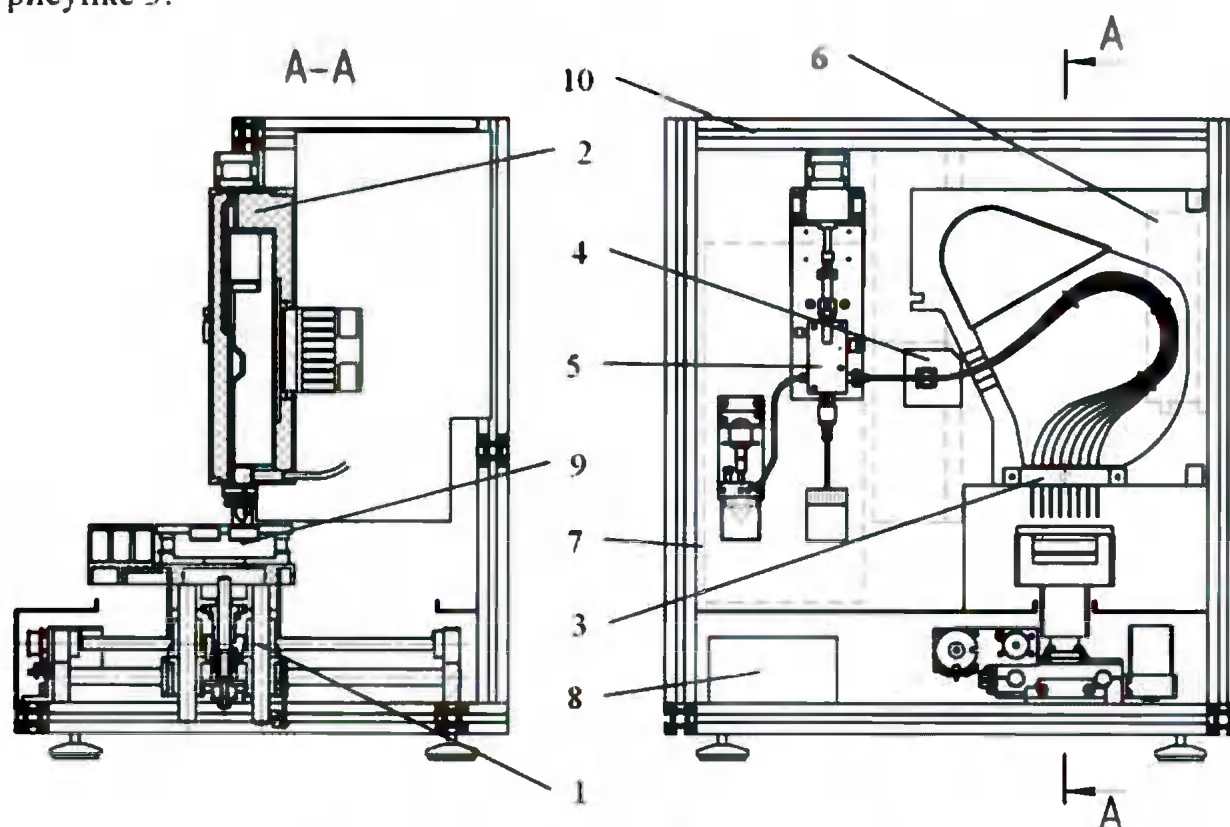


Рисунок 3 - Чертеж общего вида прибора

1 – позиционер-держатель планшета; 2 – термостатируемая кассета; 3 – линейка капилляров; 4 – термостатируемый детектор; 5 – блок заполнения капилляров полимером; 6 – высоковольтный источник; 7 – блок управления; 8 – блок питания; 9 – планшет с образцами; 10 – корпус.

Основные блоки прибора и выполняемые ими функции суммированы в таблице 2.

Таблица 2 - Основные блоки прибора и выполняемые ими функции

№	Блок	Функция
1	Позиционер-держатель планшета	Фиксирует планшет с образцами и емкости для воды, буфера и слива. Осуществляет передвижение с целью совмещения позиции капилляров и пробирок с образцами
2	Термостатируемая кассета	Поддерживает заданную температуру капилляров
3	Линейка капилляров	Сборка из 8 капилляров, заполняемых полимером, в которых происходит электрофоретическое разделение флуоресцентно-меченных фрагментов ДНК
4	Термостатируемый детектор	Обеспечивает лазерное возбуждение и сбор сигнала флуоресценции в оптическом окне и одновременно поддерживает заданную температуру
5	Блок заполнения капилляров полимером	Обеспечивает автоматическое заполнение капилляров полимером, включает в себя камеру блока заполнения, камеру промывки поршня водой, порт присоединения линейки капилляров, соединение с анодной частью блока
6	Высоковольтный источник	Обеспечивает электрическое поле
7	Блок управления	Обеспечивает управление работой всех блоков
8	Блок питания	Обеспечивает питание прибора
9	Планшет с образцами	Фиксирует пробирки с образцами

Передняя панель прибора изображена на рисунке 4:



Рисунок 4 - Передняя панель прибора

- 1 – кнопка «СЕТЬ» для включения/выключения устройства;
- 2 – светодиод «СЕТЬ» (индикация включения/выключения прибора **желтым** цветом);
- 3 – светодиод «РАБОТА» (индикация связи прибора и компьютера зеленым цветом; если связь нарушена, светодиод не мигает);
- 4 – светодиод «кВ» (индикация включения высокого напряжения **красным** цветом)

Важно! Когда светодиод “кВ” светится, дверцы прибора открывать запрещается – при открытии дверей источник высокого напряжения автоматически выключается.

- 5 – кнопка «ЗАГРУЗКА» для загрузки планшета с образцами;
- 6 – кнопка «СВЕТ» для подсветки внутреннего пространства анализатора.

На задней панели располагается сетевой разъем с маркировкой «~ 220 В», тумблер включения и разъемы связи с компьютером «USB» и лазером «L.COM».

Работа устройства основана на физико-химических принципах капиллярного электрофореза: разделение веществ в жидкой полимерной фазе в тонких капиллярах под воздействием высокого напряжения.

Конструкция устройства обеспечивает устойчивость капиллярного электрофореза в течение многочасовых массовых анализов за счет реализации следующих условий:

- воспроизводимости ввода пробы в капилляр;
- поддержания стабильной температуры кассеты с капилляром;
- поддержания стабильного уровня высокого напряжения на концах капилляра, опущенных в жидкие проводящие растворы;
- стабильности уровня излучения лазера, высокого качества фотоприемников и схем последующей обработки сигнала;

- возможности быстрой замены полимерной фазы (геля) в капиллярах между экспериментами.

Работа устройства выполняется по заданной программе в автоматическом режиме. Задается и стабилизируется оптимальная температура капилляров в термостате. Насос устройства заполнения капилляров гелем заполняется гелем из нижнего сосуда. С помощью позиционера концы линейки капилляров соединяются со сливным контейнером для хранения рабочих жидкостей (в дальнейшем – контейнер). При помощи управляемых клапанов насос заполняет капилляры гелем. Позиционер совмещает 8 лунок планшета с исследуемыми образцами с концами капилляров. На заданное время включается высоковольтный источник, при этом электрокинетическим способом в капилляры вводятся пробы. Позиционер совмещает контейнер с буферным раствором с концами капилляров. Включается высоковольтный источник. За счет электрофореза выполняется разделение флуоресцентно-меченных фрагментов ДНК.

Детектор обеспечивает регистрацию сигналов флуоресценции от нескольких спектральных каналов каждого капилляра, в результате на экране компьютера получаются несколько графиков от каждой пробы (примеры графиков приведены в разделе 2.3).

На этих графиках пики соответствуют четырем видам нуклеотидов, составляющих молекулу ДНК, а пятом спектральном канале получаются графики с пиками фрагментов известной длины. Объединение этих графиков при вторичной обработке позволяет расшифровывать нуклеотидную последовательность и определить длину фрагментов ДНК.

1.1.6 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЯ, ИНСТРУМЕНТ И ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Дополнительно к устройству поставляются принадлежности, приведенные в разделе 1.1.3.

1.1.7 МАРКИРОВКА И ПЛОМБИРОВАНИЕ

На лицевой панели устройства нанесен товарный знак предприятия-изготовителя.

На корпусе устройства установлена фирменная табличка, на которой указано:

- наименование или товарный знак предприятия-изготовителя;
- наименование изделия;
- заводской номер;
- год изготовления;
- обозначение технических условий;
- напряжение питания.

Разъем питания имеет маркировку «~ 220 В».



Рисунок 5- Фирменная табличка

Разъем подсоединения соединительного кабеля с ПЭВМ имеет маркировку «USB».

Транспортная маркировка устройства содержит манипуляционные знаки, предупредительные, основные, дополнительные и информационные надписи:

- «Хрупкое. Осторожно»;
- «Беречь от влаги»;
- «Верх»;
- наименование грузополучателя;
- наименование пункта назначения;
- наименование грузоотправителя;
- наименование пункта отправления;
- масса нетто грузового места.

Пломбирование устройства и упаковки не предусмотрено.

1.1.8 Упаковка

Устройство упаковывается в ящики в соответствии с ГОСТ 23170, категория упаковки КУ-1.

Внутренняя упаковка должна соответствовать варианту защиты ВЗ-10 по ГОСТ 9.014.

В качестве упаковочного амортизирующего материала используется пенополиуретан марки 40-1,2 ОСТ 6-05-407 или любой другой амортизирующий материал.

Упаковка технических и сопроводительных документов должна соответствовать требованиям ГОСТ 23170.

Упаковку производится в следующем порядке:

- Произвести внутреннюю упаковку отдельно устройства и прилагаемого ЗИП.
- Произвести упаковку устройства в коробку из гофрокартона, по периметру установить прокладки из амортизирующего материала.
- Сверху уложить техническую документацию, прикрыв листом из гофрокартона.

- Произвести упаковку прилагаемого ЗИП в коробку из гофрокартона, по периметру установить прокладки из амортизирующего материала.
- Закрыть коробки и обвязать их по периметру бытовой клеящей лентой типа скотч шириной не менее 40 мм.
- Каждую коробку поставить на дно ящика, предварительно уложив на дно ящика лист из амортизирующего материала толщиной не менее 20 мм.
- Оставшееся в ящиках пространство плотно заполнить амортизирующим материалом.
- Каждый ящик закрыть крышкой, закрепив ее гвоздями длиной 60мм с шагом примерно 150 мм.

1.2 ОПИСАНИЕ И РАБОТА СОСТАВНЫХ ЧАСТЕЙ УСТРОЙСТВА

1.2.1 ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.2.1.1 Позиционер

Позиционер содержит систему двигателей, контейнер для хранения проб, который обеспечивает возможность установки 96-луночного планшета с пробами, и комплект контейнеров для хранения рабочих жидкостей, которые заполняются вспомогательными растворами.

Дополнительное количество 96-луночных планшетов (96-Well Plate Base) Part № 4317239 (Life technologies, США) и комплектов контейнеров (Buffer, Water, Waste Reservoir) Part № 628-0163 (Life technologies, США), необходимых для работы, потребитель определяет и приобретает самостоятельно.

1.2.1.2 Линейка из восьми капилляров

Изображение линейки приведено на рисунке 6. В левой части рисунка расположен электродный узел, предназначенный для крепления высоковольтных электродов. В средней части рисунка расположена рамка, служащая для фиксации капилляров перед объективом детектора. В правой части рисунка расположен наконечник, предназначенный для стыковки капилляров с устройством заполнения капилляров гелем.



Рисунок 6 - Линейка из восьми капилляров

1.2.1.3 Термостатируемая кассета

Термостатируемая кассета – это устройство, в котором закрепляются и термостатируются капилляры. Термостатируемая кассета изображена на рисунке 6.

Корпус термостатируемой кассеты - тонкостенный, выполняется из термостойкого пластика и заполняется пористым наполнителем. Крышка оформлена аналогично. Крышка откидывается на петлях и прижимается к корпусу через пористый уплотнитель.

В нижней части кассеты выполнено посадочное место для линейки капилляров, там же расположен высоковольтный разъем. Капилляры фиксируются в кассете с помощью держателей. Нагрев осуществляется сборкой из двух элементов Пельтье. Температура в кассете измеряется

термодатчиком. Центробежный вентилятор скрыт за панелью и не виден пользователю.

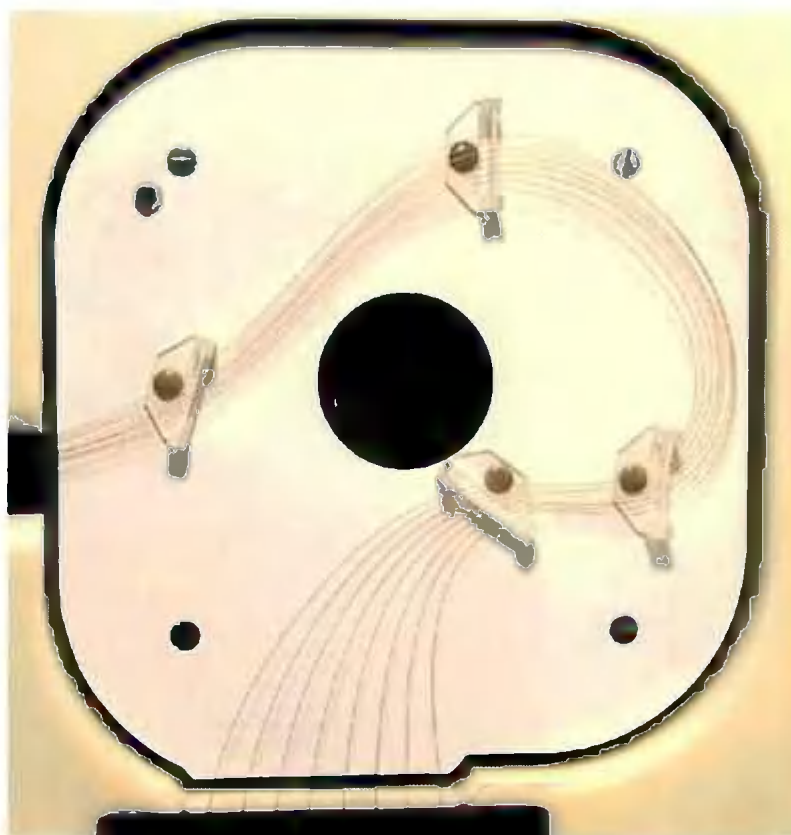


Рисунок 7 - Термостатируемая кассета

1.2.1.4 Устройство заполнения капилляров гелем

Устройство заполнения капилляров гелем изображено на рисунке 8.

Корпус плунжерного насоса выполнен из оптически прозрачного пластика. Для привода плунжера применен шаговый двигатель с линейным перемещением.

Линейка капилляров присоединяется с помощью правого штуцера. Левый штуцер с помощью клапана соединяется с резервуаром, содержащим

буферный раствор, а нижний штуцер с помощью второго клапана и трубки соединяется с флаконом, содержащим воду или гель.

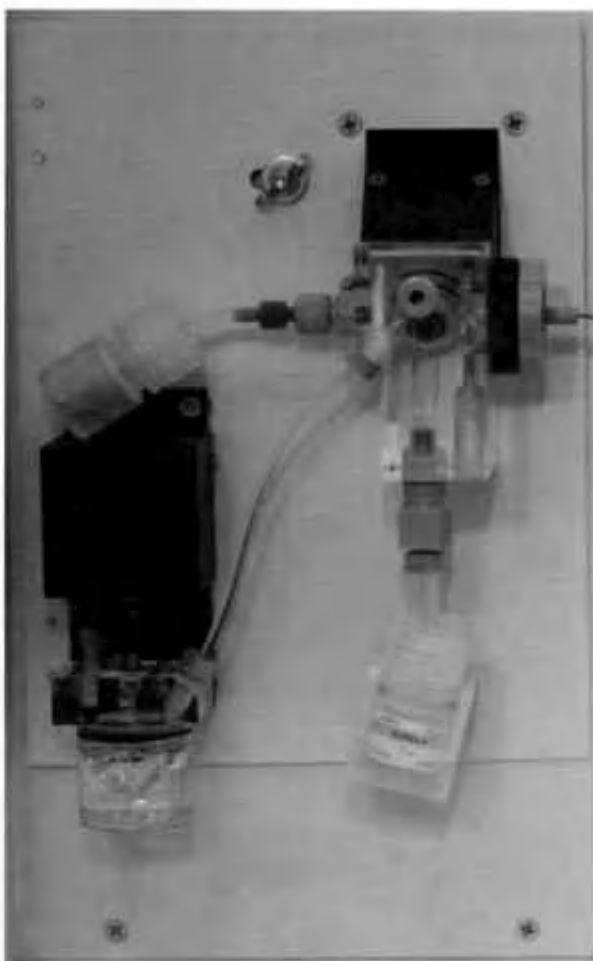


Рисунок 8 - Устройство заполнения капилляров гелем

1.2.2 РАБОТА

При эксплуатации составные части устройства выполняют следующие функции:

- позиционер обеспечивает перемещение планшета с пробам и трех контейнеров с вспомогательными растворами для совмещения их с концами капилляров;
- линейка из восьми капилляров обеспечивает условия для выполнения электрофоретического разделения фрагментов ДНК и для детектирования оптических сигналов;
- термостатируемая кассета обеспечивает крепление и термостатирование капилляров;
- устройство заполнения капилляров гелем обеспечивает заполнение и перезаполнение капилляров гелем;
- высоковольтный источник создает разность потенциалов на концах капилляра и обеспечивает как нанесение, так и разделение ДНК в капиллярах;
- детектор обеспечивает сканирование 8 капилляров, облучение капилляров лазерным лучом на длине волны 488 нм и одновременный прием до 7 сигналов флуоресценции;
- электронный блок управления обеспечивает сопряжение с компьютером путем подключения по интерфейсу «USB», выполнение программы управления и контроля позиционером, термостатом, устройством заполнения капилляров гелем, лазер-индуцированным флуориметрическим детектором и высоковольтным источником в ручном и автоматическом режимах.

1.2.3 МАРКИРОВКА, ПЛОМБИРОВАНИЕ И УПАКОВКА

Составные части устройства упаковываются в составе устройства, при этом разборка устройства не требуется.

«Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» является прибором капиллярного электрофореза с индуцированной лазером детекцией флуоресценции. Устройство предназначено для определения последовательности ДНК (секвенирования), а также определения длин фрагментов ДНК (фрагментный анализ).

2 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

2.1 ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

К работе с устройством допускаются лица, имеющие квалификацию лаборанта-биолога или химика 6 разряда, навыки работы на компьютере, изучившие эксплуатационную документацию устройства.

Пользователь программы (оператор) должен обладать практическими навыками работы с графическим пользовательским интерфейсом операционной системы.

Персонал должен быть аттестован на II квалификационную группу по электробезопасности (для работы с лабораторным оборудованием).

Важно следить за уровнем жидкости в контейнерах и планшете и не допускать как их переполнения, так и недостатка жидкости.

В устройстве используется высокое напряжение, поэтому внешние поверхности контейнеров и планшета должны быть сухими и чистыми. Случайные капли необходимо сразу убирать фильтровальной бумагой.

Необходимо внимательно выполнять установку контейнеров и планшета в позиционер.

Неправильная установка может привести к поломке капилляра и электродов.

2.2 ПОДГОТОВКА УСТРОЙСТВА К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ.

2.2.1 ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОЧЕГО ПОМЕЩЕНИЯ ДЛЯ УСТРОЙСТВА

Для обеспечения эффективной работы «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» лабораторное помещение должно соответствовать требованиям, предъявляемым МУК 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности».

В частности, помещение должно иметь:

- тамбур для переодевания и переобувания персонала;
- электрическую сеть 220 В;
- систему удаления следов ДНК – бактерицидные лампы или проточные фильтрующие устройства с УФ модулем, например, Дезар-8;
- усиленный лабораторный стол глубиной не менее 600 мм и шириной не менее 900 мм;
- систему кондиционирования;
- мойку с горячей и холодной водой;
- уборочный инвентарь.

Для обеспечения работы прибора необходимо следующее вспомогательное оборудование:

- ламинарный или ПЦР бокс;
- бытовой холодильник с морозильным отделением;
- твердотельный амплификатор, например, АНК-48;
- микроцентрифугу-встряхиватель, например, Циклотемп-901;
- микроцентрифугу для стрипов, например, Циклотемп-903;
- твердотельный термостат, например, Циклотемп-303;
- набор автоматических пипеток с переменным объемом:
0,1–2 мкл, 1–10 мкл, 10–100 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл;
- штативы «рабочее место» для пробирок различного объема –
96x0,2 мл, 72x1,5 мл.

2.2.2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С УСТРОЙСТВОМ

В устройстве имеются сетевые блоки питания, лазер и высоковольтный источник.

В конструкции прибора предусмотрены технические решения, обеспечивающие невозможность случайного доступа к токоведущим частям и случайного попадания на оператора лазерного луча.

Конструкция прибора по требованиям безопасности соответствует ГОСТ Р 51350-99. По способу защиты человека от поражения электрическим током устройство относится к изделиям класса I.

Прибор имеет съемный трехпроводный сетевой шнур с пластмассовой изоляцией и вилкой с заземляющим контактом. Два провода этого сетевого шнура обеспечивают подачу напряжения питания 220В 50Гц, а третий провод соединяет корпус прибора и его другие металлические токопроводящие части с нулевым, многократно заземленным проводом трехпроводной сети.

Все токоведущие части защищены от случайного прикосновения защитными кожухами.

Цепь питания прибора имеет плавкие предохранители, обеспечивающие отключение прибора в случае его неисправности, приводящей к увеличению тока потребления выше номинального.

В приборе обеспечено электрическое сопротивление между заземляющим контактом вилки и металлическими частями корпуса не более 0,2 Ом. Таким способом достигается надежное срабатывание плавких предохранителей при случайном соединении токоведущих частей с корпусом прибора.

В устройстве реализованы на программном уровне защитные блокировки:

- нельзя включить высокое напряжение при платформе позиционера в нижнем положении;
- нельзя включить высокое напряжение при открытой дверце прибора.

В качестве дополнительных мер электробезопасности рекомендуется производить замену линейки капилляров при выключенном приборе.

Должны соблюдаться правила техники безопасности, принятые на предприятии, эксплуатирующем прибор.

В качестве мер обеспечения биологической безопасности для сотрудников лаборатории должна быть предусмотрена спецодежда: медицинский халат, шапочка, перчатки и сменная обувь. Одноразовые перчатки подлежат смене при каждой новой операции. Работа без перчаток запрещена. Запрещается располагать личные вещи в рабочей зоне прибора.

При отказах прибора и попадании в аварийные условия эксплуатации рекомендуется выключить прибор, не дожидаясь завершения выполнения рабочего протокола.

Повторное включение выполнять после устранения неисправностей и аварийных условий эксплуатации.

В случае аварийного отключения результаты завершенных ранее анализов сохраняются и пригодны для последующей вторичной обработки.

2.2.3 ПРАВИЛА И ПОРЯДОК ОСМОТРА И ПРОВЕРКИ ГОТОВНОСТИ УСТРОЙСТВА К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

Перед началом работы производится внешний осмотр устройства. В процессе осмотра необходимо убедиться в отсутствии механических повреждений.

После транспортирования и хранения при отрицательных температурах перед расконсервацией устройство должно быть выдержано в нормальных условиях не менее 24 часов.

Размещение устройства необходимо производить в помещении согласно п 2.2.1. Установку устройства производят так, чтобы на него не попадали прямые солнечные лучи. Лабораторный стол должен иметь горизонтальную поверхность и располагаться на расстоянии не менее 1 м от отопительных приборов. Расстояние от задней стенки устройства до стены помещения должно быть не менее 0,5 м.

2.2.4 ПОДКЛЮЧЕНИЕ К КОМПЬЮТЕРУ И СЕТИ ПЕРЕМЕННОГО ТОКА

Подключить разъем устройства с маркировкой «USB» к компьютеру посредством кабеля связи, находящегося в ЗИП.

Подключить устройство к сети переменного тока 220 В 50 Гц через разъем устройства с маркировкой «~ 220 В» с помощью штатного сетевого комплекта, находящегося в ЗИП.

Включить компьютер и монитор, нажав пусковые кнопки.

Важно! На компьютере должно быть установлено программное обеспечение «СЕКВЕНАТОР».

Включить устройство. Для этого включить сетевой тумблер на задней панели и нажать кнопку «ВКЛ/ВЫКЛ» на передней панели. При этом должен загореться зеленый светодиод «220 В» в режиме постоянного свечения.

Нажать кнопку «Загрузка» на передней панели. Платформа позиционера должна переместиться в переднее положение.

В позиционер установить три контейнера с вспомогательными растворами (буфер, вода, вода). Жидкость в каждом контейнере должна быть на уровне 0,5 см от верхнего края.

В позиционер установить планшет с пробами. Рекомендуемый объем пробы – 10 мкл.

При длительной работе использовать контейнер для хранения проб, находящийся в ЗИПе.

Запустить программу «СЕКВЕНАТОР».

До запуска режима дать устройству прогреться в течение не менее 30 мин.

2.2.5 ПОРЯДОК ВКЛЮЧЕНИЯ ПРИБОРА

1) Включить компьютер, при необходимости ввести пароль.

2) Перед включением прибора убедиться, что:

- дверца термостата капилляров закрыта;
- дверцы прибора закрыты;
- компьютер включен;
- внутри рабочего пространства прибора не находится посторонних предметов;

3) Включить прибор нажатием кнопки «СЕТЬ»;

4) Убедиться, что желтый индикатор горит, а зеленый индикатор мигает.

Важно! Первый запуск устройства желательно производить в присутствии представителя предприятия изготовителя.

2.2.6 УСТАНОВКА НОВОЙ ЛИНЕЙКИ КАПИЛЛЯРОВ

Линейка капилляров отсутствует в приборе, позиционер опущен, дверца термостата и панель детектора открыты. Далее следует:



Рисунок 9- Отвернуть винт против часовой стрелки и выдвинуть блок заполнения полимером

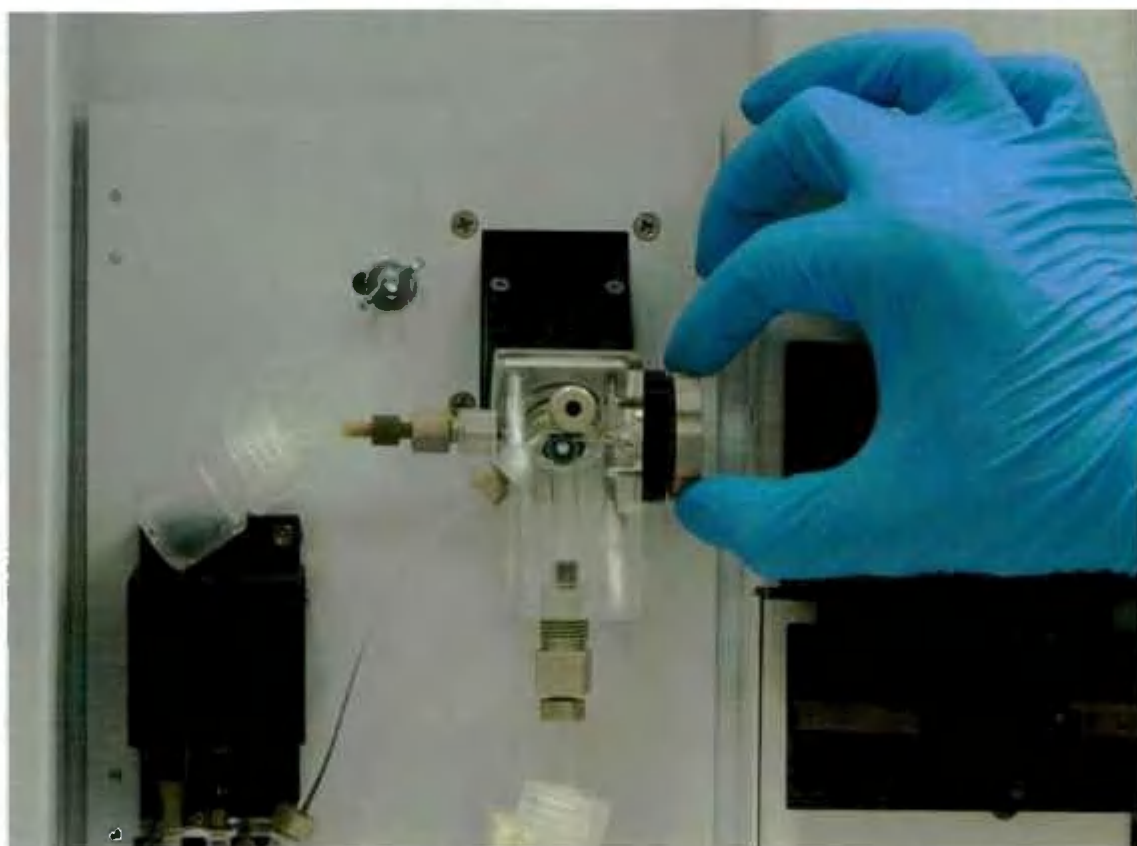


Рисунок 10 - Открутить винт, фиксирующий линейку капилляров в блоке заполнения полимером

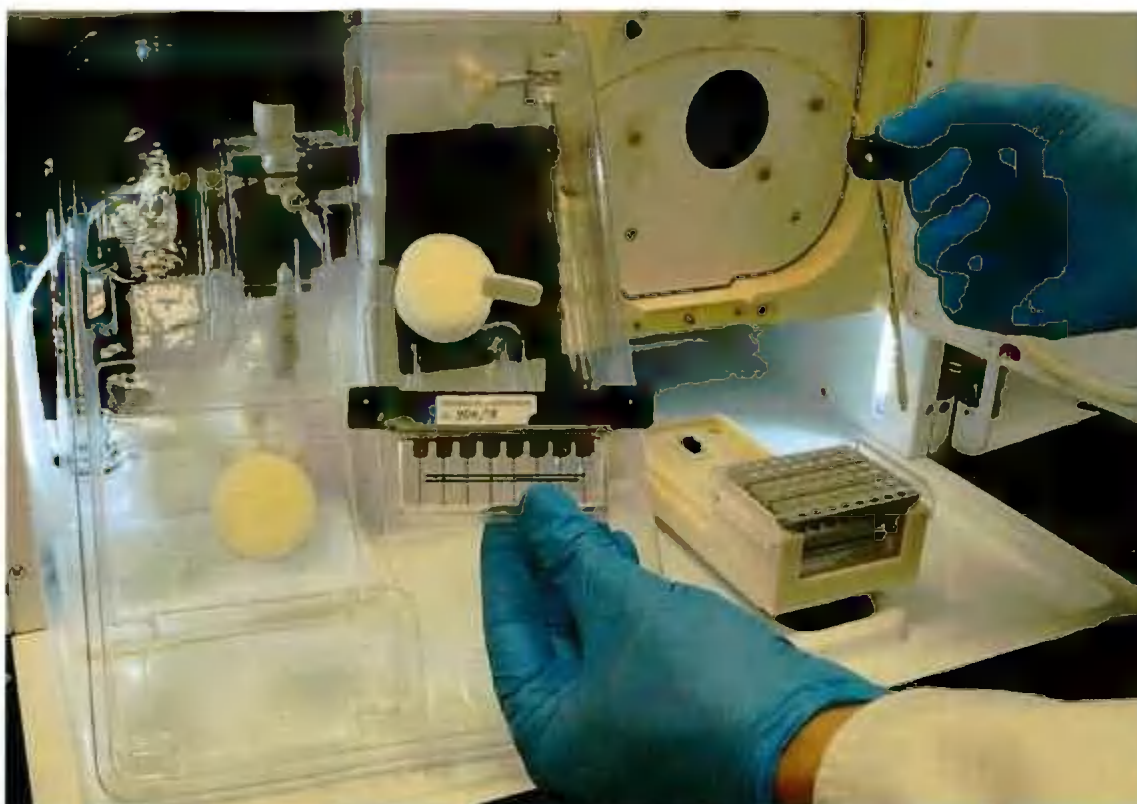


Рисунок 5 - Вскрыть коробку и достать линейку капилляров из упаковки



Рисунок 6 - Защелкнуть фиксаторы планки линейки капилляров.

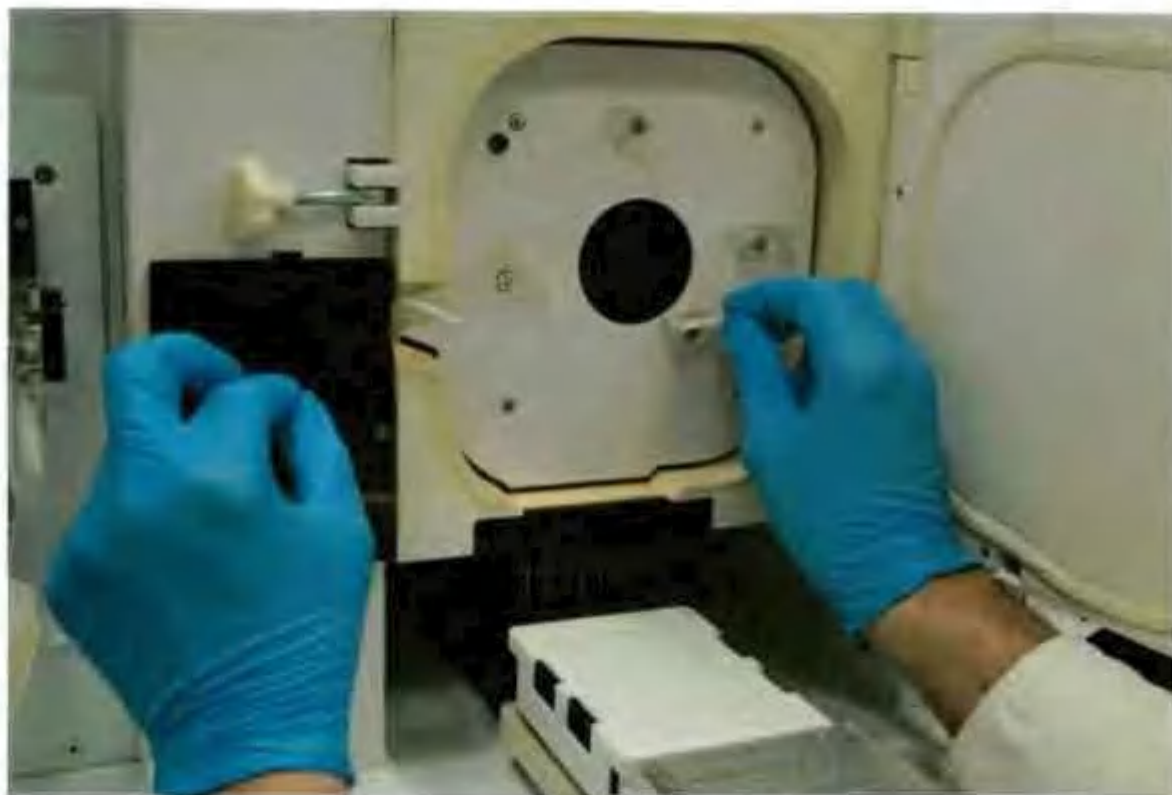


Рисунок 7 - Закрепить капилляры во внутренних фиксаторах термостата.

Если устанавливаемая линейка имеет длину 35 см, то закреплять следует в двух фиксаторах – в нижнем и в левом (Рисунок 13), если длина капилляров 50 см, то во всех четырех фиксаторах.



Рисунок 8 - Вставить трубку линейки капилляров в винт.



Рисунок 96 - Вставить трубку с винтом в блок заполнения полимером

Важно! Обратите внимание на положение оптического окна при вставке трубки с винтом, оно должно быть расположено, как показано на рисунке.



Рисунок 10 - Плотно закрутить фиксирующий винт

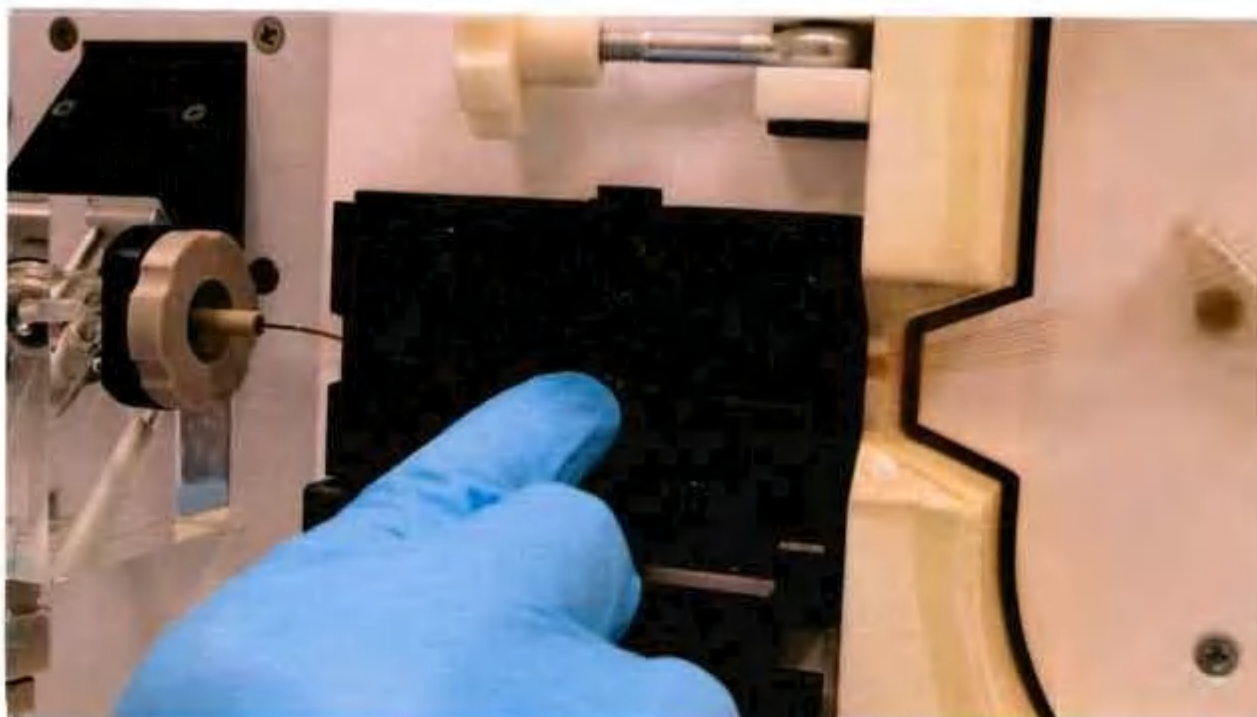


Рисунок 11 - Вставить оптическое окно линейки капилляров в окно детектора



Рисунок 12 - Зафиксировать панель блока заполнения полимером, закрутив до упора винт.

После этого закрыть панель детектора и дверцу термостата. Закрыть крышку детектора, термостата.

2.2.7 УСТАНОВКА ИЛИ ЗАМЕНА ФЛАКОНА С ПОЛИМЕРОМ

Когда полимер во флаконе заканчивается, необходимо заменить его на новый так, как это изображено на рисунке 19. Старый флакон вынуть из держателя, открутить крышку и прикрутить новый флакон.

Важно! Внести информацию об установке нового флакона с полимером в меню **Сервис** → **Замена полимера**.

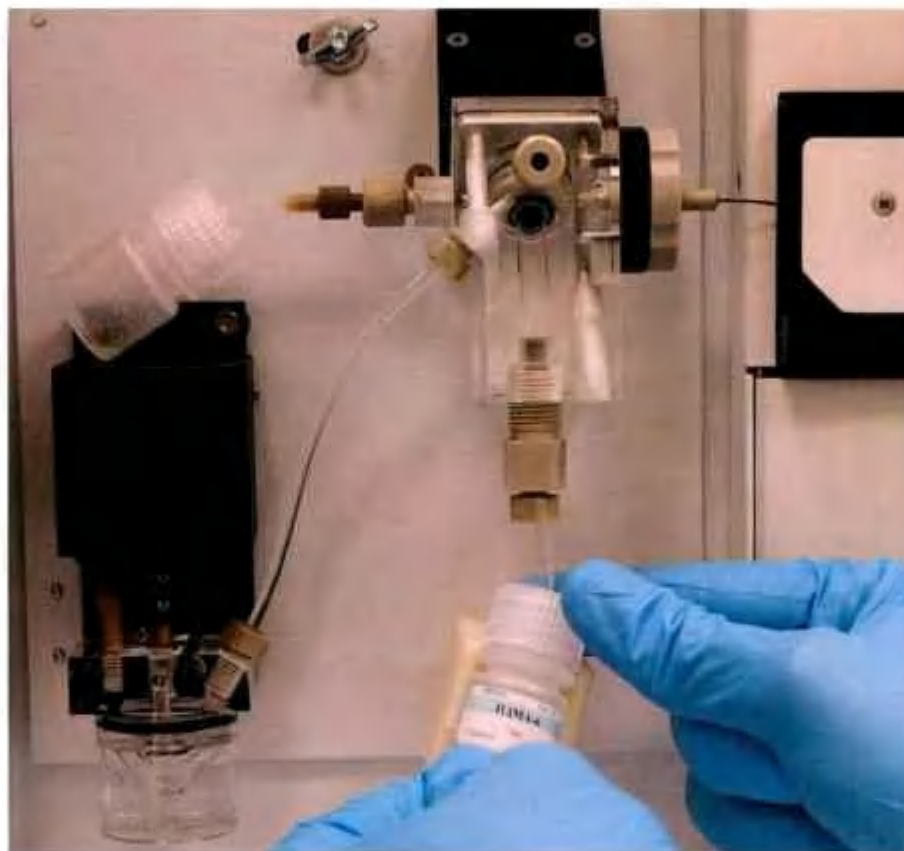


Рисунок 13 - Замена флакона с полимером

2.2.8 ЗАМЕНА ТИПА ПОЛИМЕРА

Если в процессе работы возникла необходимость поменять полимер на полимер другого типа (например, ПДМА-6 заменить на РОР-7), не меняя линейки капилляров, необходимо выполнить следующие действия:

- 1) В устройство заполнения полимером вместо флакона с полимером установить флакон с водой.

- 2) В пункте меню **Сервис** выбрать опцию **Шприц**.
- 3) В открывшемся окне убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**.

В противном случае выполнить команду **Опустить**, в результате чего клапан будет закрыт.

Выполнить следующие шаги:

- 1) Вылить буфер из емкости для анодного буфера и пустую установить ее на место (рисунок 27).
- 2) В части окна **Клапан** выполнить команду **Поднять**.
- 3) В части окна **Шприц** выставить значение **Скорость 90** и значение **Сдвинуть на (шагов) 12000**.
- 4) Выполнить команду **Вниз**. В ходе выполнения этой команды сапфировый поршень дойдет до нижней оптопары и остановится.
- 5) В части окна **Клапан** выполнить команду **Опустить**.
- 6) В части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**.
- 7) Повторить шаги 2–6 три раза.
- 8) Заменить флакон с водой на флакон с новым полимером.
- 9) Повторить шаги 2–6 два раза.
- 10) Промыть емкость для анодного буфера, заполнить ее буфером и установить на место.
- 11) Ввести информацию о замене полимера в окне **Сервис** → **Замена полимера**.

2.2.9 ЗАМЕНА АНОДНОГО БУФЕРА

Для замены анодного буфера, сначала аккуратно, качающими и крутящими движениями ослабить и снять емкость с буфером, как это изображено на рисунке 20:



Рисунок 14 - Замена анодного буфера

Старый буфер вылить, емкость промыть деионизованной водой, залить до метки свежий 1-х буфер ТАПС и крутящими движениями зафиксировать по месту. В случае вытекания избытка буфера, промокнуть его салфеткой (Рисунок 21).



Рисунок 15 - Удаление капель буфера

2.2.10 УДАЛЕНИЕ ПУЗЫРЬЕВ ИЗ КАНАЛОВ БЛОКА ЗАПОЛНЕНИЯ ПОЛИМЕРОМ И АНОДНОГО БЛОКА

Выгнать из каналов блока заполнения полимером и анодного блока пузыри так, как это описано ниже:

- 1) В пункте меню **Сервис** выбрать опцию **Шприц**.

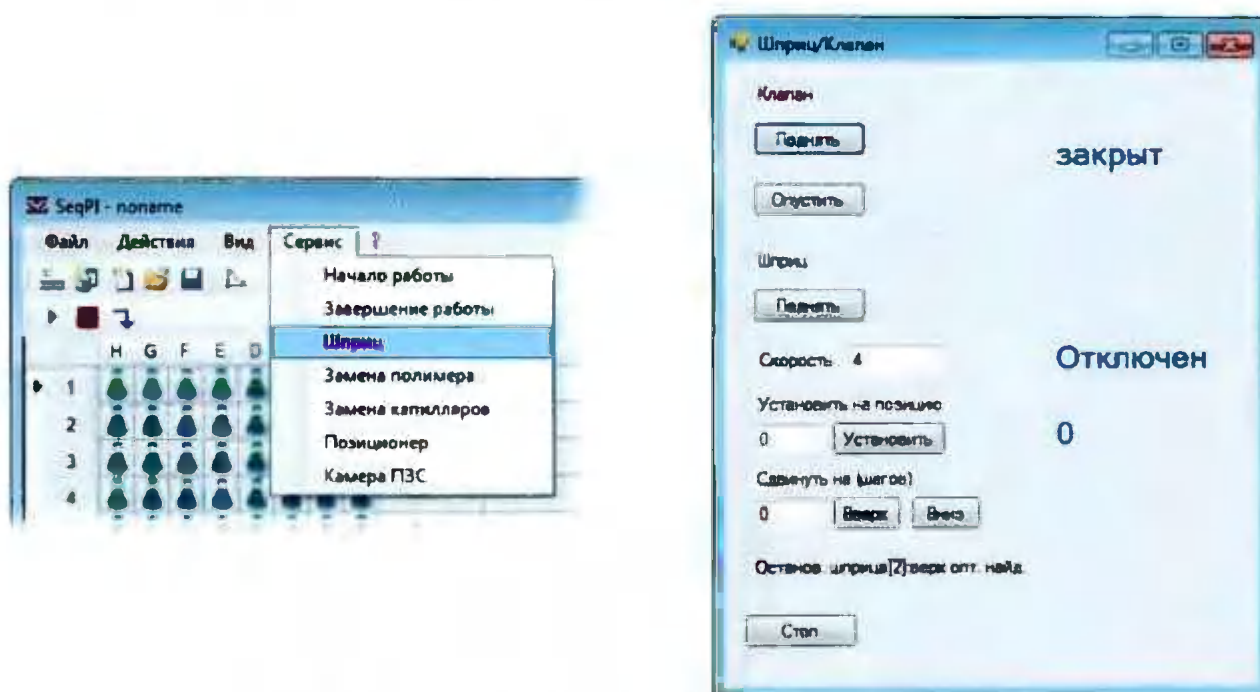


Рисунок 22 – Работа с блоком заполнения гелем

- 2) В открывшемся окне **Шприц/Клапан**, состоящем из двух частей - верхней **Клапан** и нижней **Шприц**, убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**. В противном случае выполнить команду **Опустить**, в результате чего клапан будет закрыт.
- 3) В части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**. Значение позиции шприца станет равно 0.
- 4) В части окна **Клапан** выполнить команду **Поднять**.
- 5) В части окна **Шприц** выставить значение **Скорость 90** и значение **Сдвинуть на (шагов) 1200**.
- 6) Выполнить команду **Вниз**.
- 7) Визуально убедиться, что пузыри вышли в анодный буфер.

- 8) Как только из каналов в анодный буфер вышли все пузыри, в окне **Шприц/Клапан** выполнить команду **Стоп**.
- 9) Если не все пузыри вышли, повторно выполнить команду **Вниз**.
- 10) В части окна **Клапан** выполнить команду **Опустить**.
- 11) В части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**.

Прибор готов к работе.

2.2.11 ЗАПОЛНЕНИЕ КАПИЛЛЯРОВ ПОЛИМЕРОМ

Если произошла замена линейки капилляров, то при первом заполнении капилляров полимером необходимо выполнить несколько операций.

В пункте меню **Сервис** выбрать опцию **Шприц**.

В открывшемся окне убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**. В противном случае выполнить команду **Опустить**, в результате чего клапан будет закрыт.

- 1) Шприц установить на позицию **0**, для чего в части окна **Шприц** выполнить команду **Поднять**.
- 2) Прокачать полимер через капилляры, для чего выполнить команду **Сдвинуть на (шагов) 1000** при **Скорости 4** и нажать кнопку **Вниз**. В результате шприц будет перемещен на 1000 шагов вниз и через капилляры прокачается полимер (рисунок 23).

***Важно!** Величина скорости при движении шприца вниз и закрытом клапане анодного буфера не должна превышать 8!!!*



Рисунок 23 - Полимер выливается из капилляров

2.2.12 УСТАНОВКА ПЛАШКИ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ И РЕЗЕРВУАРОВ ДЛЯ ЖИДКОСТЕЙ

Последовательность сборки плашки для образцов и установка ее и резервуаров в прибор показана на рисунках 24–32:



Рисунок 16 - Элементы плашки

Слева направо: фиксатор плашки, держатель плашки, 96-луночная плашка для образцов, антииспаритель.

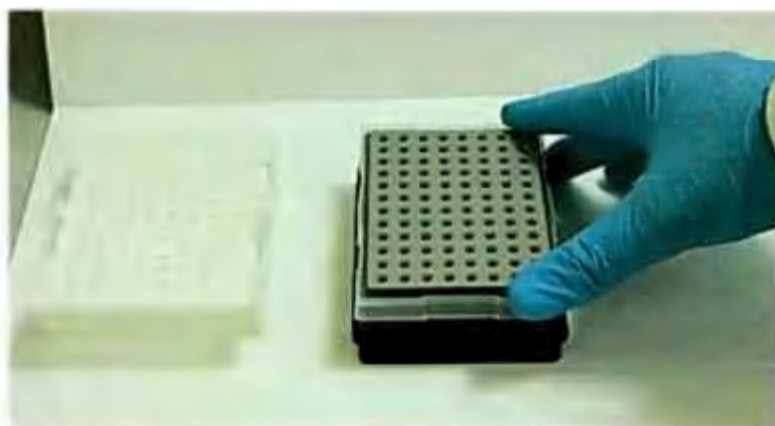


Рисунок 17 - Сборка плашки

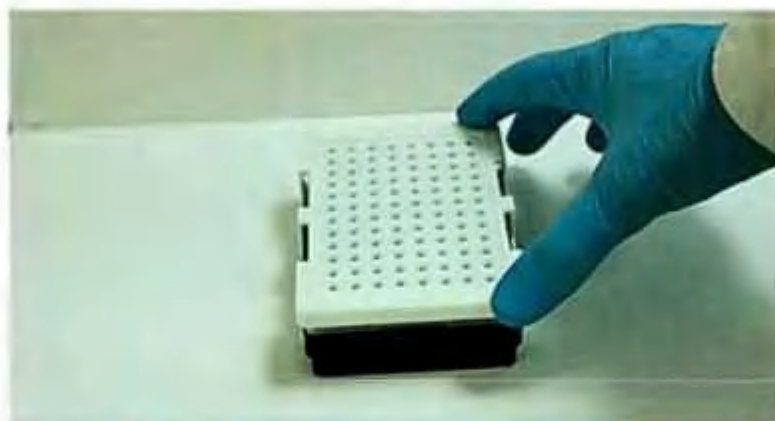


Рисунок 18 - Поместить сверху фиксатор и нажать до защелкивания. При этом отверстия в фиксаторе должны совмещаться с отверстиями в плашке

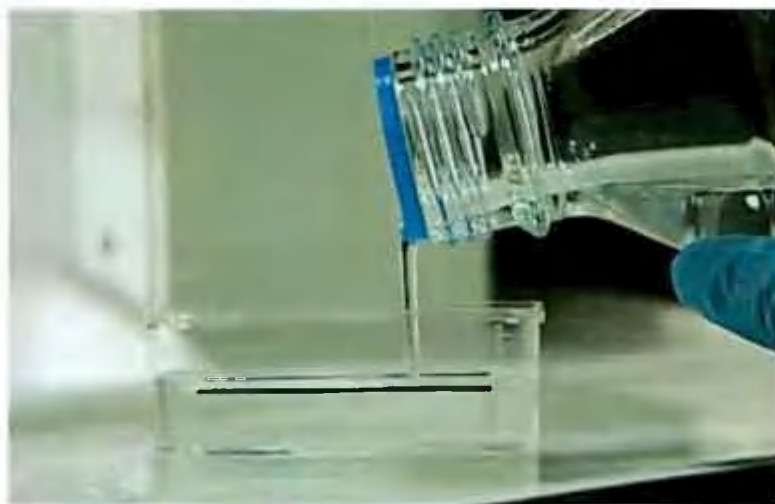


Рисунок 19 - Заполнить резервуары соответствующими жидкостями (буфером или деионизированной водой) до уровня черной линии

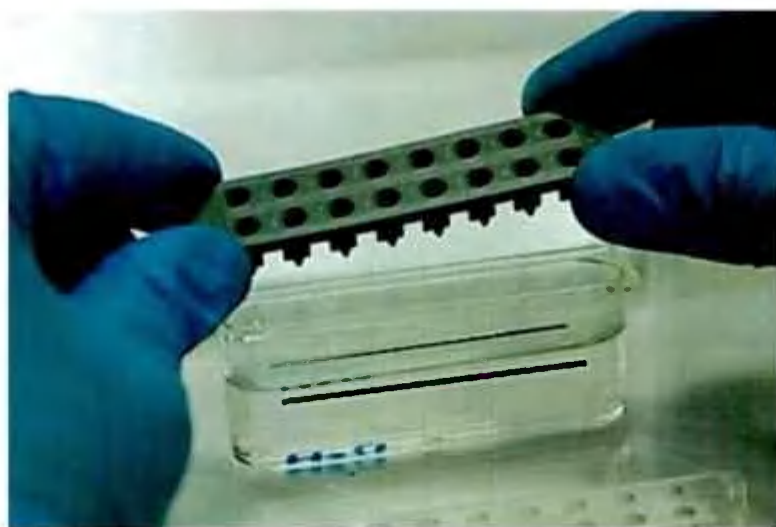


Рисунок 20 - Накрыть резервуар антииспарителем

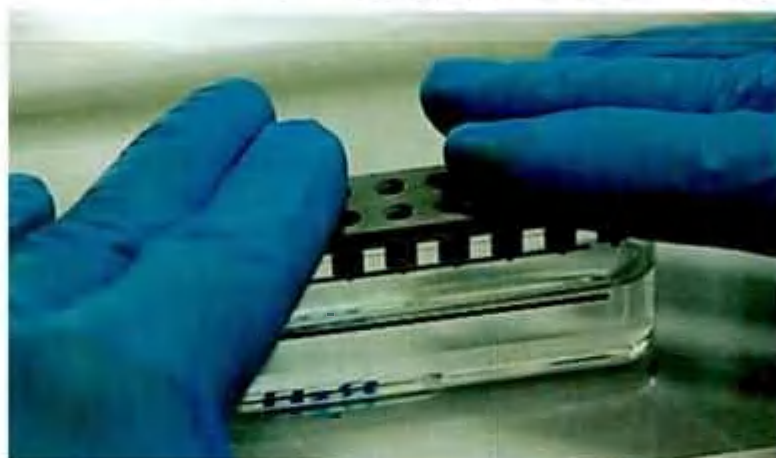


Рисунок 21 - Убедиться, что антииспаритель прилегает плотно



Рисунок 30 - Установить резервуары в соответствующие им положения на основании позиционера

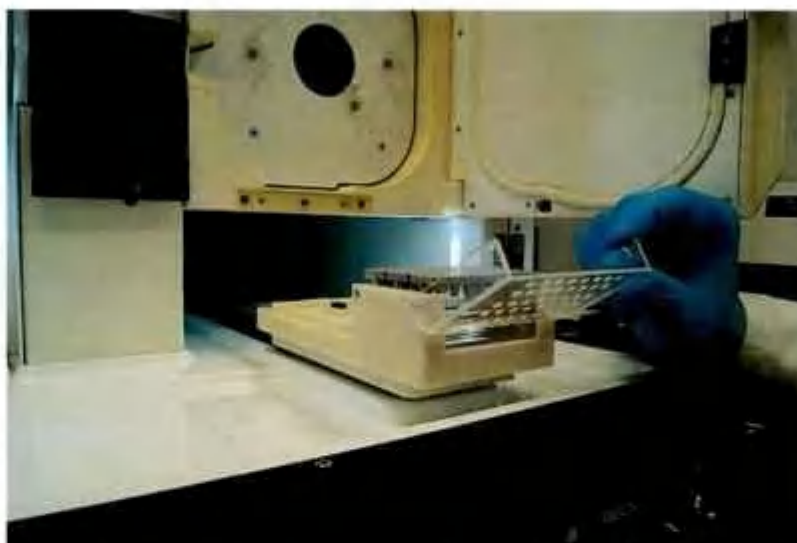


Рисунок 22 - Закрыть фиксирующую крышку



Рисунок 23 - Поместить собранную плашку в позиционер

2.2.13 ЗАМЕНА ЛИНЕЙКИ КАПИЛЛЯРОВ

При замене линейки капилляров, следует сначала извлечь из прибора ранее установленную линейку. Процедура извлечения линейки пошагово проиллюстрирована на рисунках 33–41:

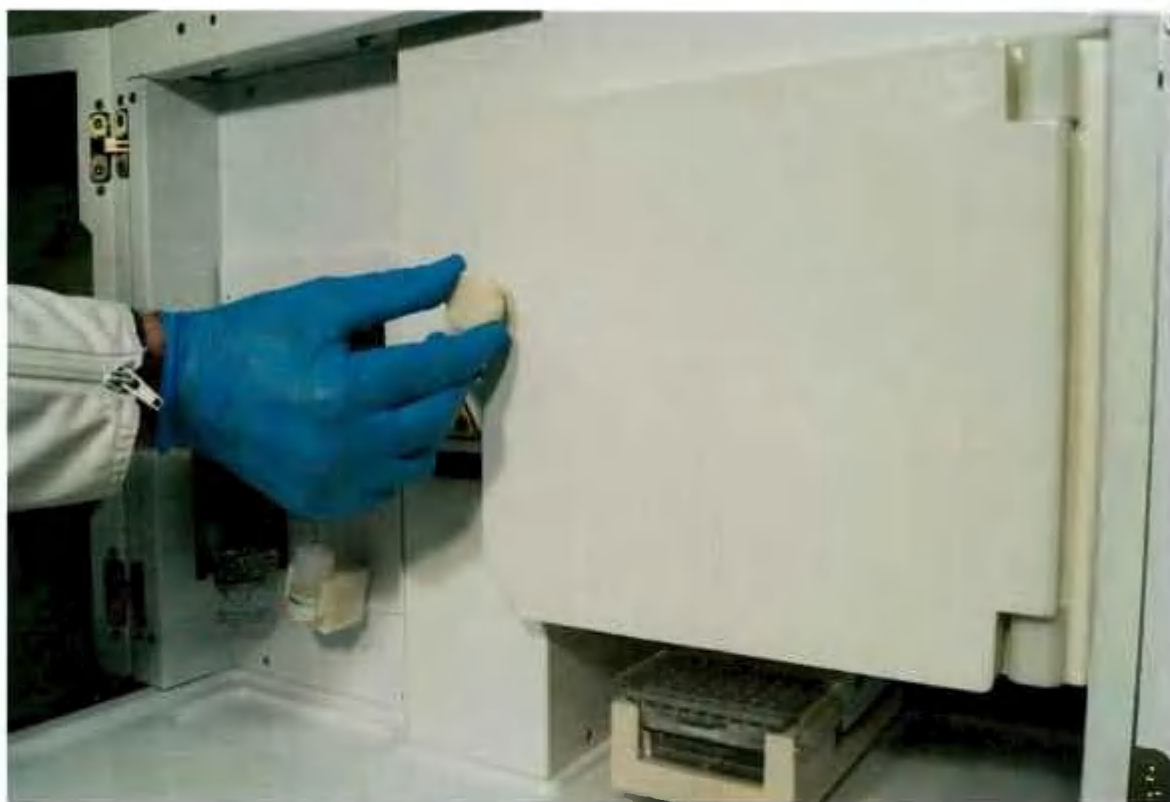


Рисунок 24 - Открыть дверцу термостата

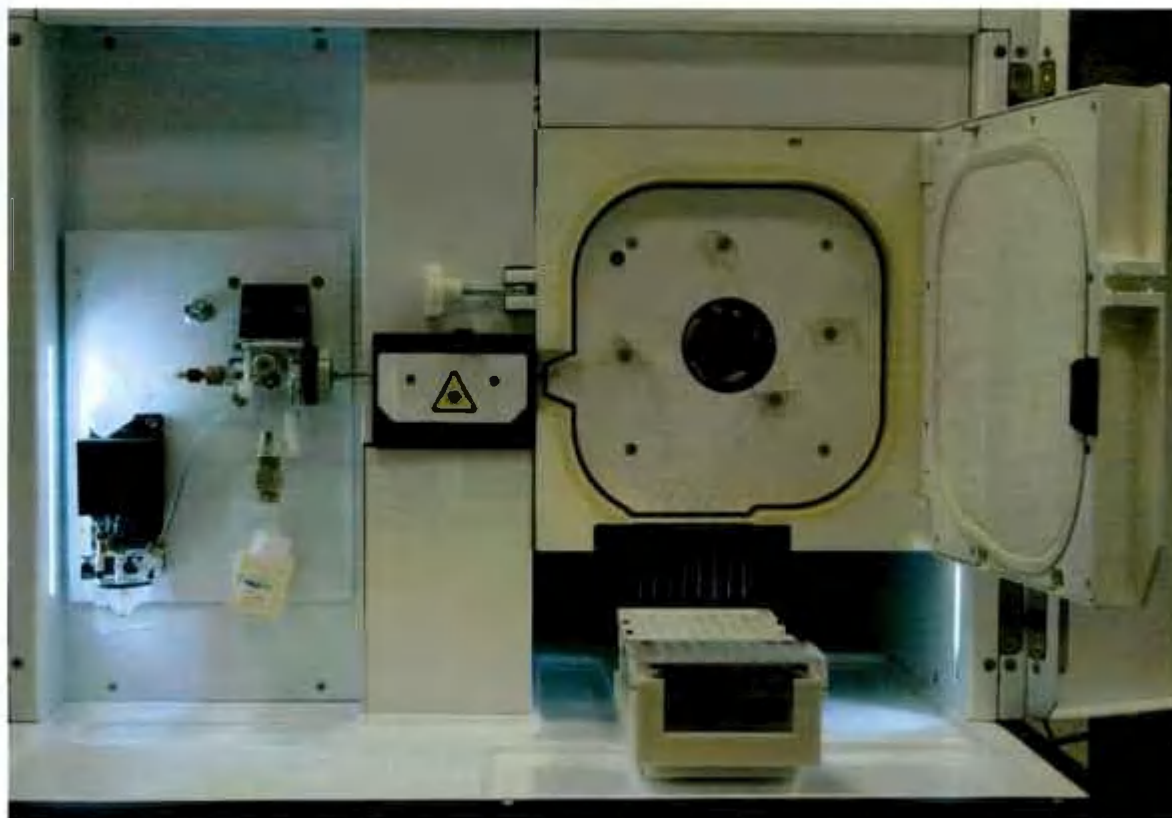


Рисунок 25 - Нажатием кнопки «ЗАГРУЗКА» выдвинуть позиционер

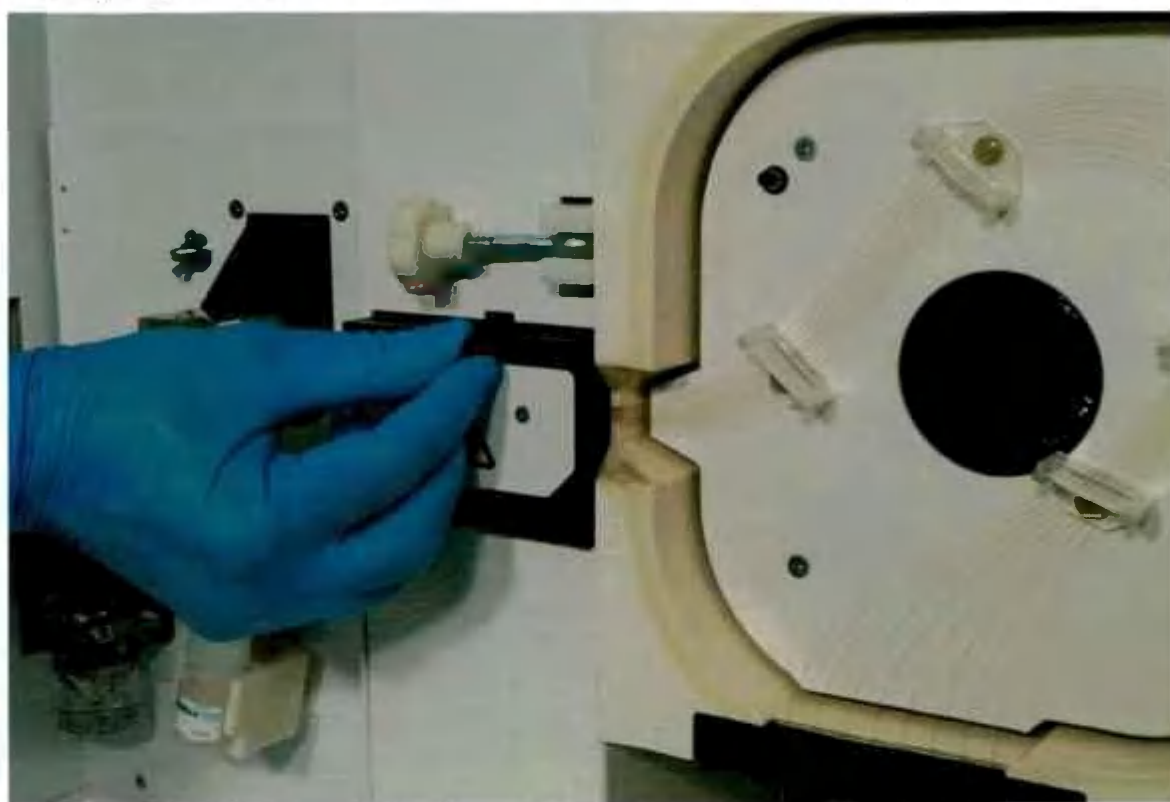


Рисунок 26 - Открутить винт панели детектора

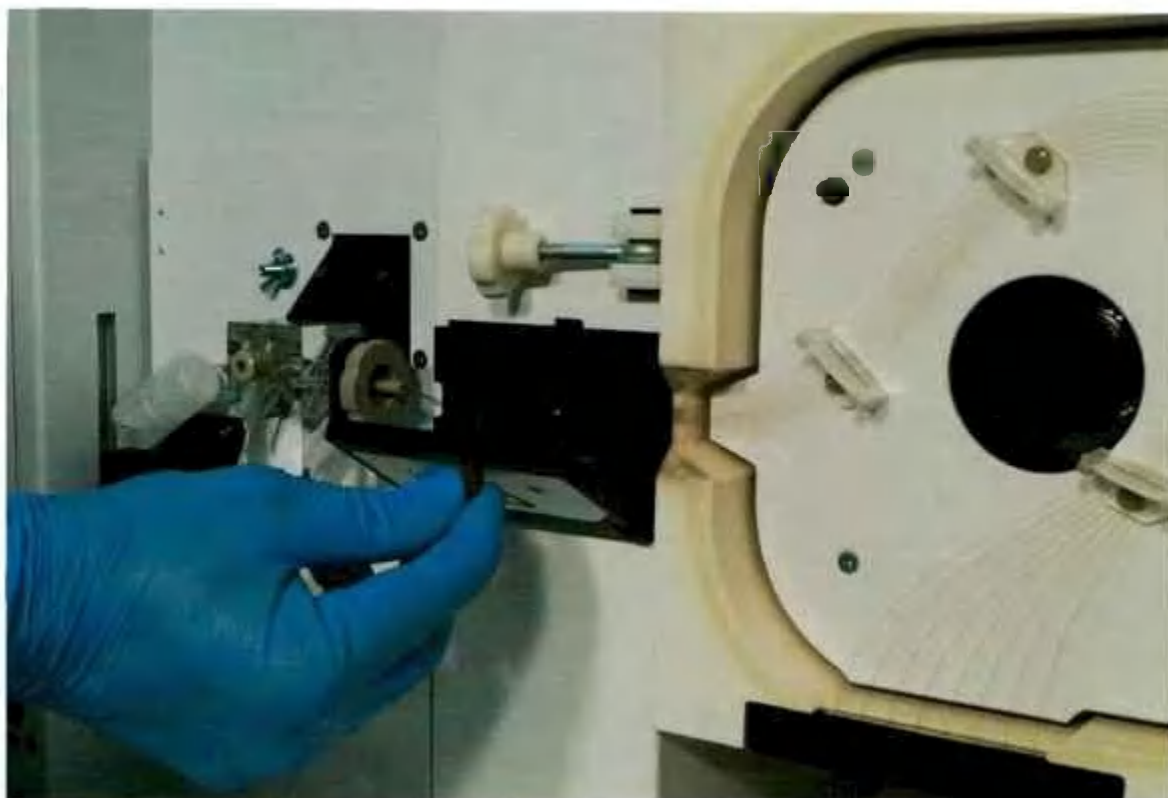


Рисунок 27 - Открыть панель детектора

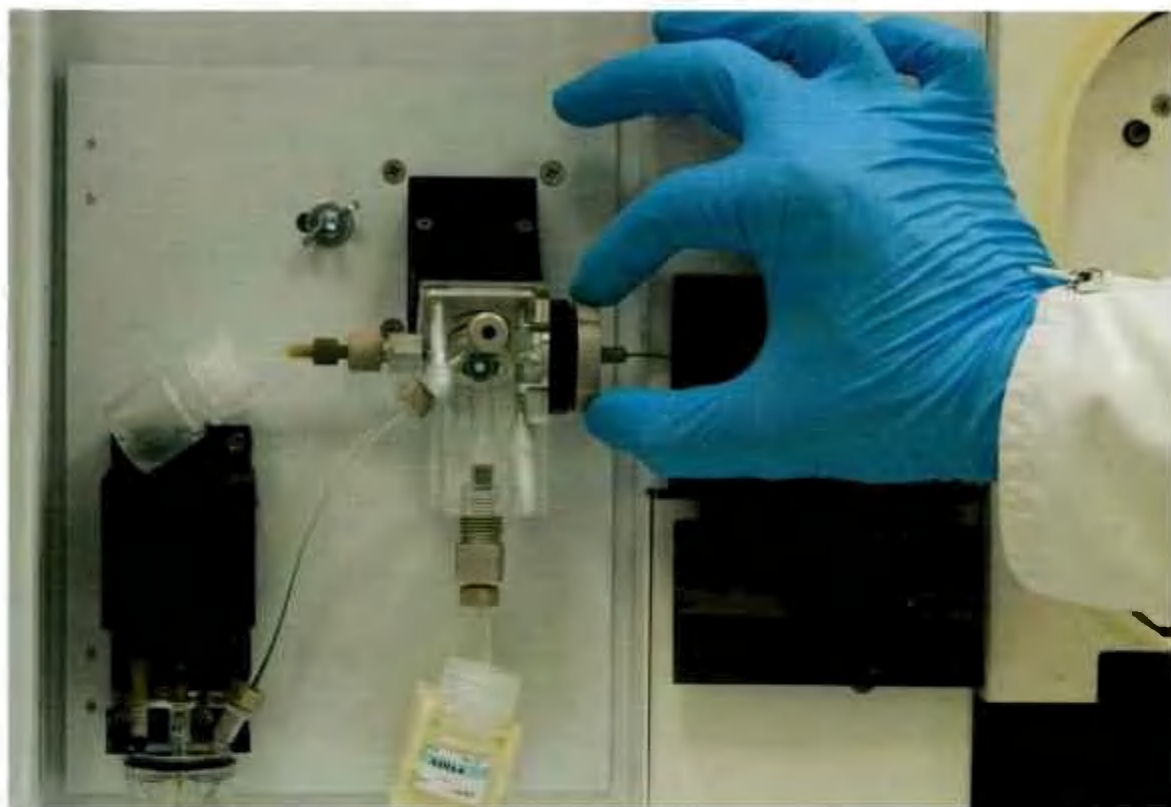


Рисунок 28 - Открутить винт, фиксирующий линейку капилляров в блоке заполнения полимером

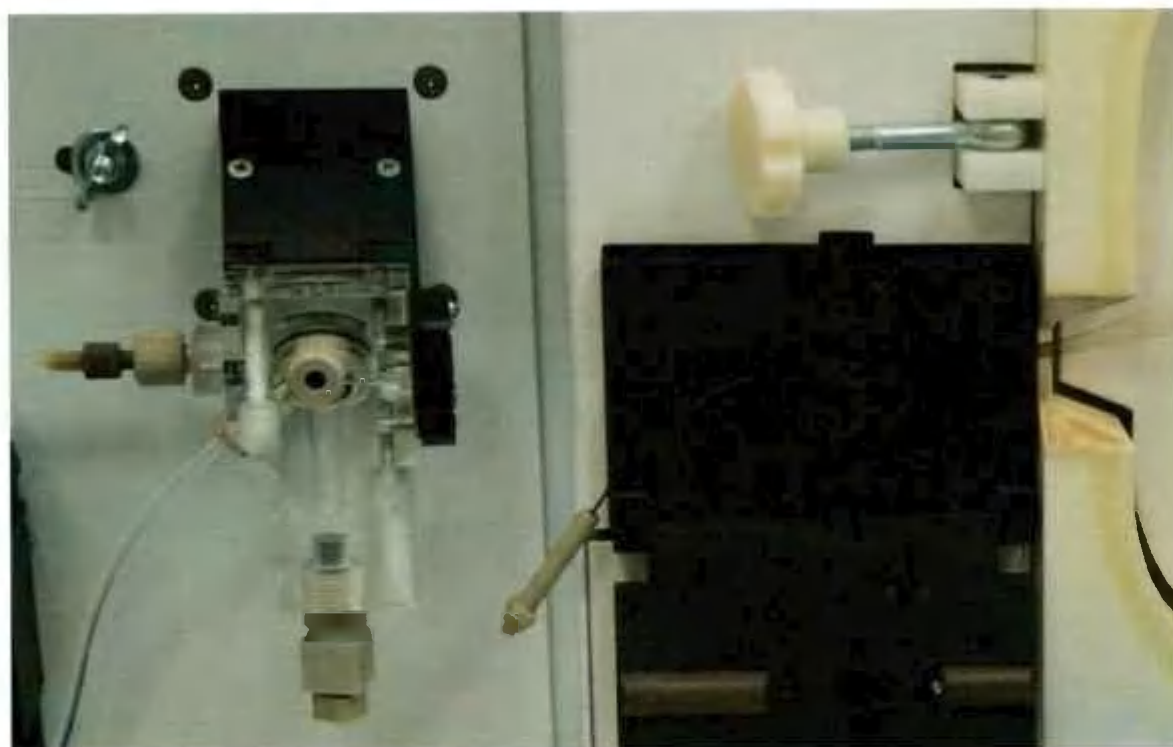


Рисунок 29 - Вынуть трубку линейки капилляров из блока заполнения полимером

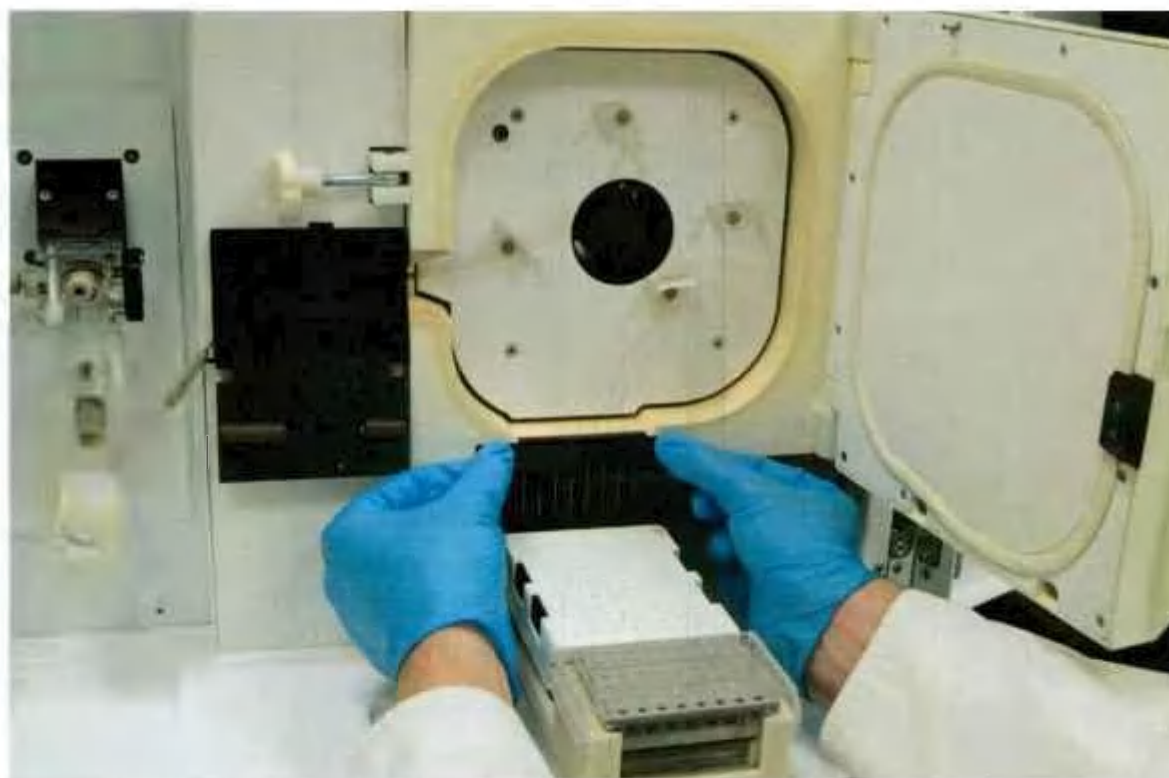


Рисунок 30 - Оттянуть на себя фиксаторы планки и снять ее

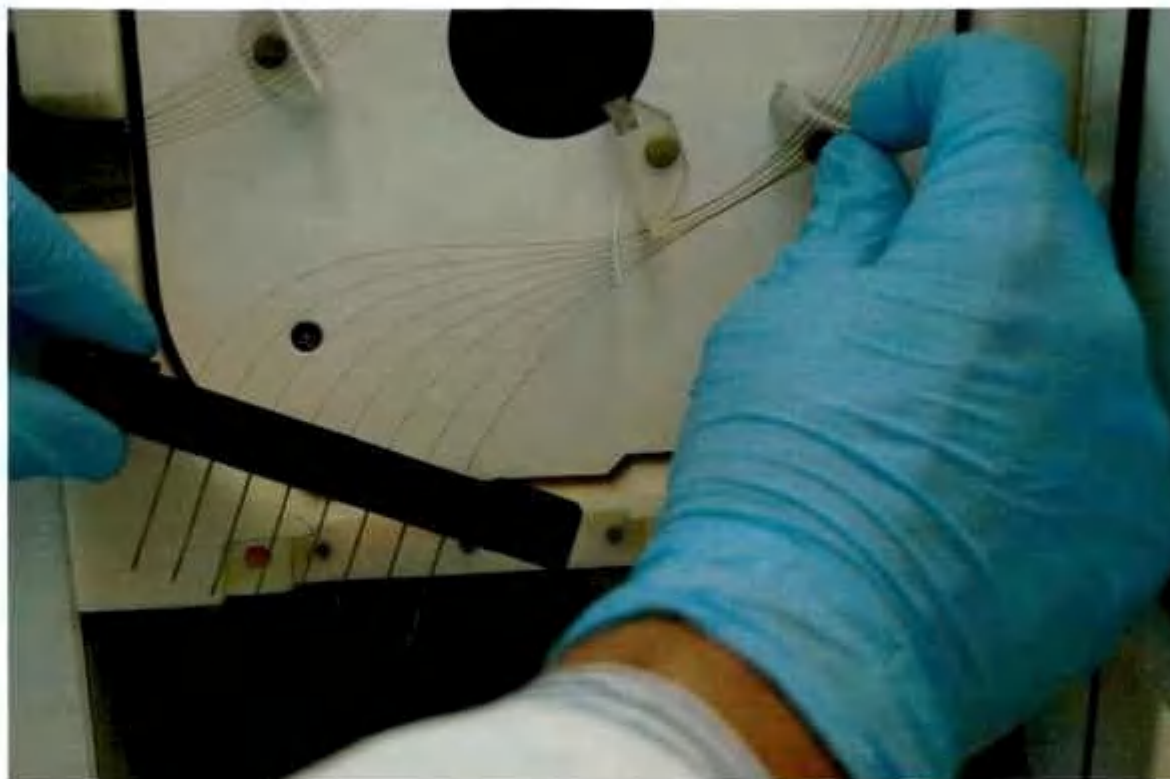


Рисунок 40 - Вынуть капилляры из внутренних фиксаторов термостата

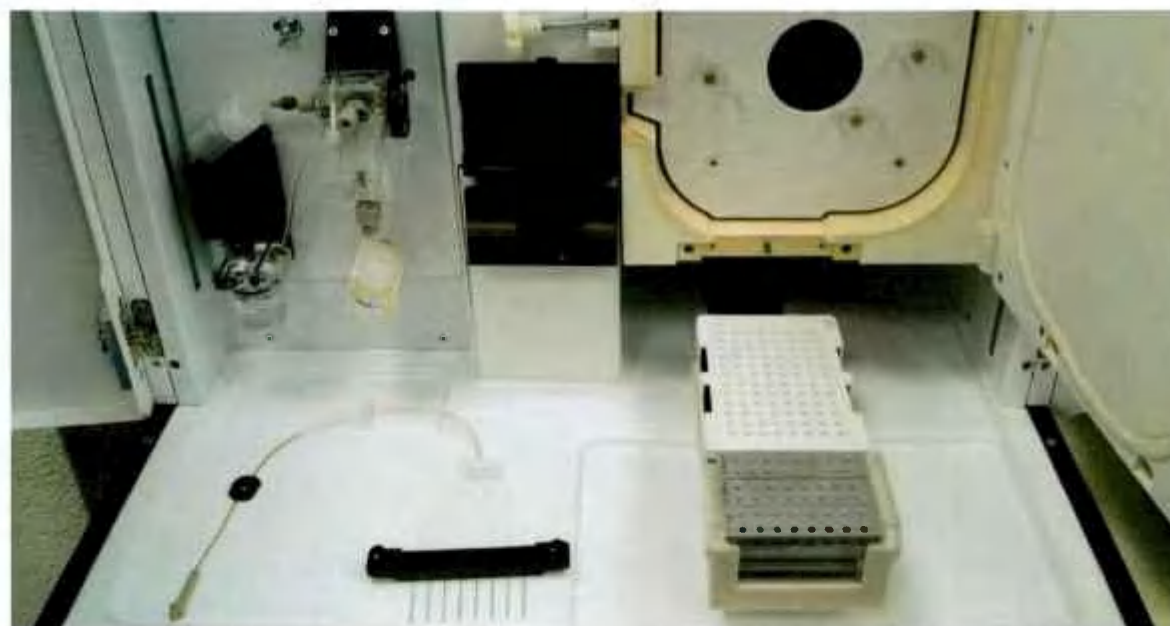


Рисунок 31 - Вынуть линейку капилляров из оптического окна детектора

Если удаленная линейка в дальнейшем будет использоваться, необходимо поместить анодный и катодный концы линейки в соответствующие емкости для хранения, заполненные буфером, а оптическое окно линейки покрыть защитной пленкой. После этого линейку капилляров упаковать в пластиковый футляр.

2.2.14 ОСНОВНЫЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ ДЕЙСТВИЯ ПЕРЕД НАЧАЛОМ РАБОТЫ

Профилактические действия при работе на «Устройстве секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» суммированы в таблице 3:

Таблица 3. Профилактические действия и их частота

№	Действие	Частота
1	Убедиться, что уровень жидкости буфера и воды в емкостях достаточен	Перед каждым запуском
2	Убедиться, что плашка с образцами, антииспаритель и фиксирующая крышка в правильной сборке (отверстия в фиксирующей крышке, антииспарителе и отверстия пробирок с образцами должны совпадать – иначе капилляры будут испорчены)	Перед каждым запуском
3	Убедиться, что плашка с образцами поставлена в позиционер правильно – плашка должна стоять ровно (никогда не используйте искривленные плашки)	Перед каждым запуском
4	Убедиться, что уровень буфера в емкости анодного буфера достаточен	Перед каждым запуском
5	Заменить буфер и воду в емкостях, находящихся в позиционере-держателе. Проверить, что внешние поверхности емкостей сухие	Каждую неделю
6	Проверить, что в блоке заполнения полимером и всех каналах, заполненных полимером, отсутствуют пузырьки. В случае наличия пузырьков необходимо удалить их	Перед каждым запуском

7	Проверить состояние капилляров со стороны позиционера-держателя на предмет их повреждения или загиба	Перед каждым запуском
8	Проверить уровень полимера в емкости с полимером и при необходимости долить полимер	Перед каждым запуском
9	Протереть поверхности прибора	Ежедневно
10	Проверить, нет ли протечки (высохшего полимера с кристаллами мочевины) вокруг винта, фиксирующего капилляры в блоке заполнения полимером, на винтах трубки, соединяющей блок заполнения полимером и анодную часть блока, вокруг перекрывающего крана	Перед каждым запуском

2.2.15 КОНСЕРВАЦИЯ ПРИБОРА

В том случае, если планируется, что прибор не будет эксплуатироваться длительное время (более месяца), необходима консервация прибора.

- 1) Убедиться, что клапан находится в положении **Закрыт**, вызвав опцию **Шприц**. В противном случае выполнить команду **Опустить** клапан, в результате чего клапан будет закрыт.
- 2) Удалить из прибора линейку капилляров, как описано в пункте 3.2.1. Поместить анодный и катодный концы линейки в соответствующие емкости с буфером, а оптическое окно линейки покрыть защитной пленкой. После этого линейку капилляров упаковать в пластиковый футляр.
- 3) В винт, фиксирующий линейку капилляров в блоке заполнения полимером, вставить заглушку, имеющуюся в комплекте ЗИП, и плотно закрутить винт.

- 4) Убедиться, что внешние и внутренние поверхности прибора сухие и чистые. Случайные капли жидкостей и геля необходимо ликвидировать фильтровальной бумагой.
- 5) Закрыть дверцы.
- 6) Выключить компьютер.
- 7) Выключить сетевой тумблер на задней панели прибора.

2.3 ОПИСАНИЕ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ УПРАВЛЕНИЯ УСТРОЙСТВОМ «SEQPI»

Для дальнейших действий необходимо ознакомиться с управляющей программой.

Работа «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» осуществляется под управлением программы **SeqPI**, версия 1.1.



С помощью ярлыка на рабочем столе компьютера запустить программу **SeqPI**. Откроется главное окно программы:

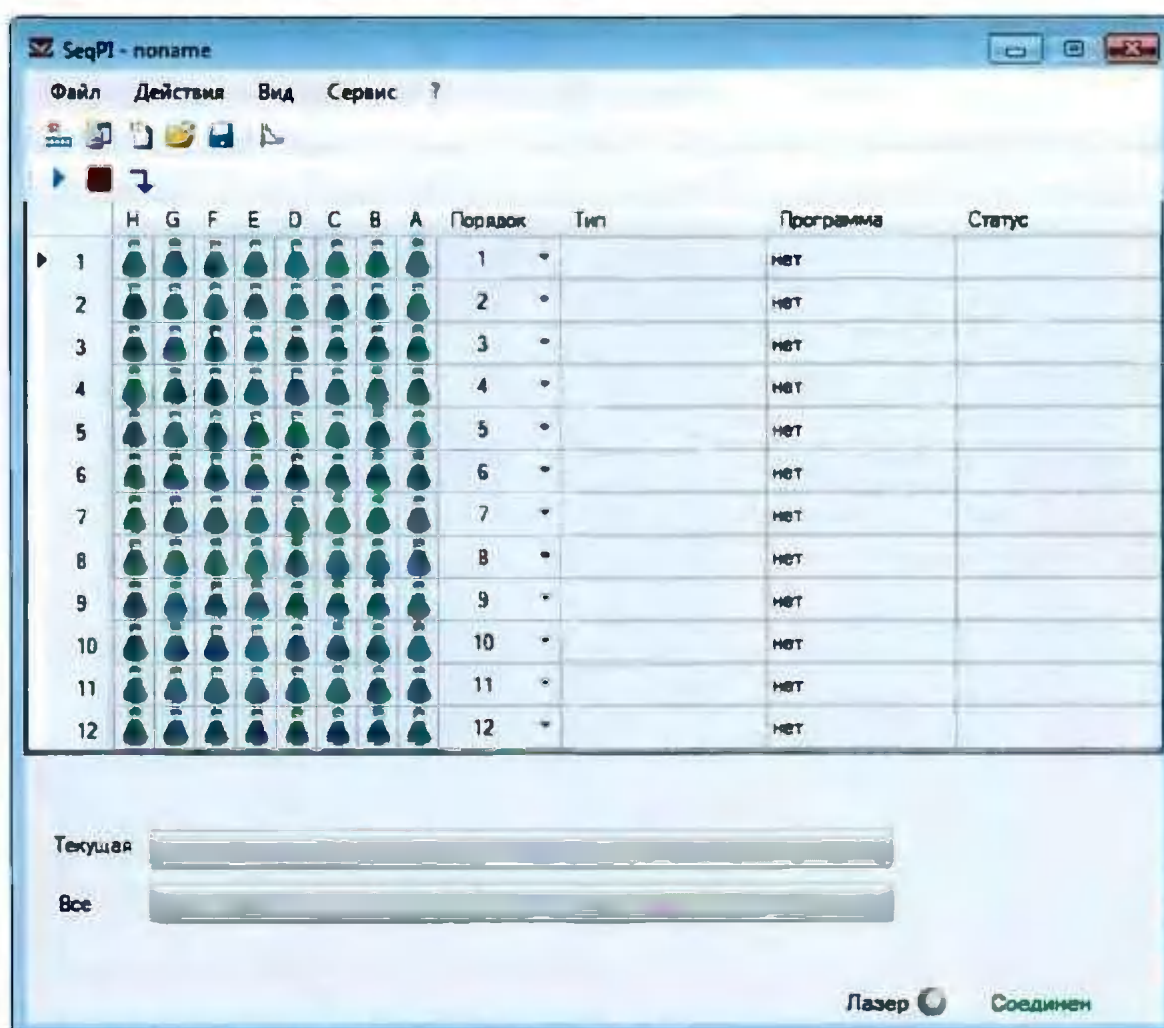


Рисунок 32 – Главное окно программы SeqPI

2.3.1 НАЗНАЧЕНИЕ КНОПОК И ПУНКТОВ МЕНЮ ГЛАВНОГО ОКНА ПРОГРАММЫ

В верхней части окна расположены кнопки и панель меню главного окна программы **SeqPI**:

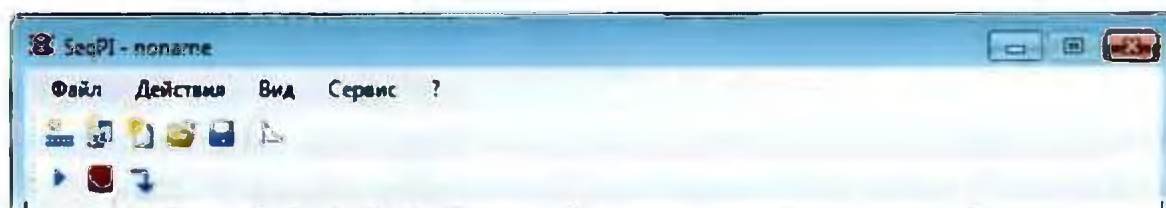


Рисунок 33 – Пункты меню

2.3.2 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КНОПКИ ГЛАВНОГО ОКНА ПРОГРАММЫ

Назначение кнопок меню главного окна программы **SeqPI** приведено в таблице 4:

Таблица 4. Функциональные кнопки главного окна

Кнопка	Функция
 Добавить анализ	Открытие окна Выбор ряда . Начало создания файла проекта для проведения анализа образцов в плашке.
 Новый планшет	Очистка текущих значений параметров анализа и данных для всех рядов планшета. Открытие окна Эксперимент . Ввод названия планшета и имени оператора.
 Свойства планшета	Открытие окна Эксперимент . Ввод или изменение названия планшета и имени оператора.
 Открыть	Открытие файла проекта <i>.far</i> . Просмотр данных проанализированных образцов и/или запуск анализа.
 Сохранить	Сохранение файла проекта <i>.far</i> (после окончания анализа файл проекта <i>.far</i> сохраняется автоматически).

 Графики	Открытие окна Графики . Отображение текущих или сохраненных экспериментальных данных.
Изм. Текущие значения	Запуск отображения текущих экспериментальных данных в окне Графики .
 Запустить	Запуск анализа плашки.
 Остановить	Остановка анализа плашки.
 Следующий ряд	Переход к анализу следующего ряда плашки.

2.3.3 ПАНЕЛЬ МЕНЮ ГЛАВНОГО ОКНА ПРОГРАММЫ

Панель меню программы **SeqPI** состоит из пяти категорий и выглядит следующим образом:

Файл Действия Вид Сервис ?

2.3.3.1 Категория «Файл»

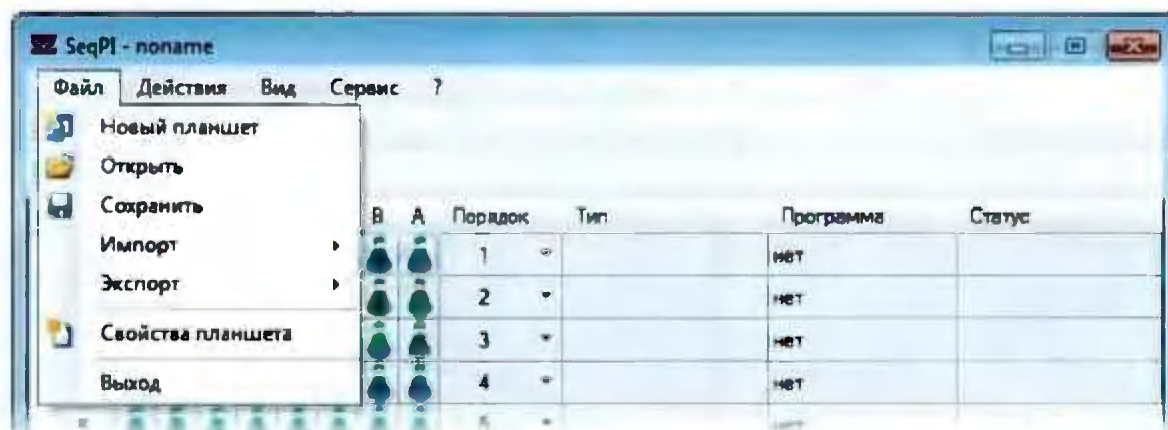


Рисунок 34 – Категория «Файл»

Назначение пунктов категории **Файл** программы **SeqPI** приведено в таблице 5:

Таблица 5 - Пункты категории Файл

Пункт	Функция
 Новый планшет	Очистка текущих значений параметров анализа и данных для всех рядов планшета. Открытие окна Эксперимент . Ввод названия планшета и имени оператора.
 Открыть	Открытие файла проекта <i>.fap</i> . Просмотр данных для проанализированных образцов и/или запуск анализа.
 Сохранить	Сохранение файла проекта <i>.fap</i> (после окончания анализа файл проекта <i>.fap</i> сохраняется автоматически).
 Свойства планшета	Открытие окна Эксперимент . Ввод или изменение названия планшета и имени оператора.
Импорт	Позволяет импортировать заранее подготовленные в формате <i>.txt</i> данные, чтобы избежать переноса данных “вручную”.
Экспорт	Позволяет экспортировать описание планшета, полученное с помощью устройства; описание планшета, полученное на приборах Applied Biosystems; а также экспортировать данные, чтобы избежать переноса “вручную”.
Выход	Завершение работы программы SeqPI .

2.3.3.2 Категория «Действия»



Рисунок 35 – Категория «Действия»

Назначение пунктов категории **Действия** программы **SeqPI** приведено в таблице 6:

Таблица 6 - Пункты категории Действия

Пункт	Назначение
Запустить	Запуск анализа плашки.
Остановить	Остановка анализа плашки.
Добавить анализ	Открытие окна Выбор ряда . Начало создания проекта проведения анализа образцов в плашке.
Спектральная калибровка	Открытие окна Спектральная калибровка . Начало создания проекта проведения спектральной калибровки.

2.3.3.3 Категория «Вид»

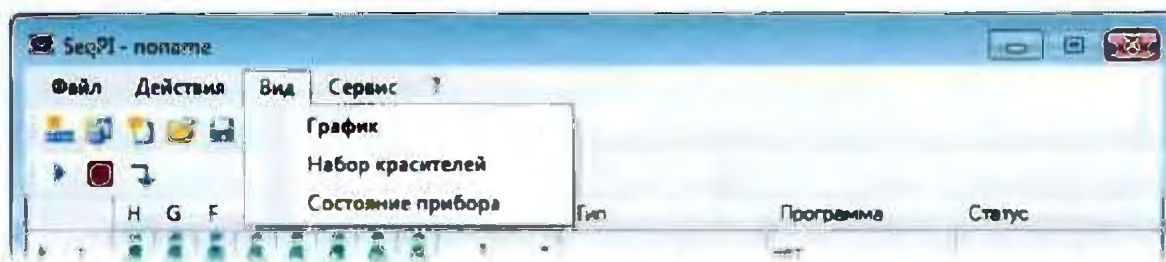


Рисунок 36 – категория «Вид»

Назначение пунктов категории **Вид** программы SeqPI приведено в таблице 7:

Таблица 7. Пункты категории Вид

Пункт	Назначение
График	Открытие окна График . Отображение текущих или сохраненных экспериментальных данных в графическом виде.
Набор красителей	Открытие окна Набор красителей . Просмотр (создание) наборов красителей и спектральных калибровок.
Состояние прибора	Открытие окна Состояние прибора . <i>Дополнительная информация о текущем состоянии прибора.</i>

2.3.3.4 Категория «Сервис»

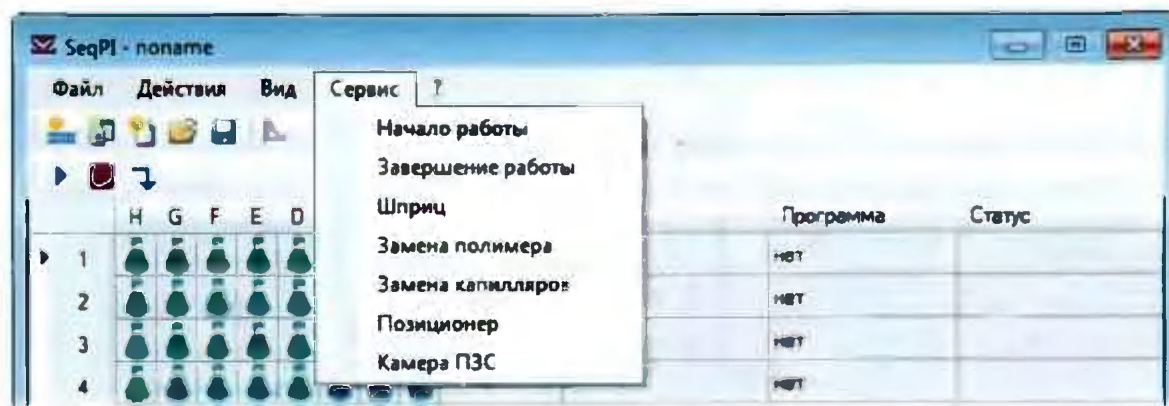


Рисунок 37- Категория «Сервис»

Назначение пунктов категории **Сервис** программы **SeqPI** приведено в таблице 8:

Таблица 8. Пункты категории Сервис

Пункт	Назначение
Начало работы	Включение лазера. Выполняется автоматически при запуске анализа.
Завершение работы	Выключение лазера и приведение прибора в исходное состояние.
Шприц	Открытие окна Шприц/Клапан . Управление заполнением полимером линейки капилляров и блока геля.
Замена полимера	Открытие окна Замена полимера . Ввод названия и номера партии геля после замены.
Замена капилляров	Открытие окна Замена капилляров . Внесение параметров линейки капилляров после замены.
Позиционер	Открытие окна Позиционер . Управление перемещением планшета для настройки позиционера. <i>Используется только специалистами по настройке прибора.</i>
Камера ПЗС	Открытие окна Video camera . Наблюдение сигнала флуоресценции.

2.3.3.5 Категория «?»

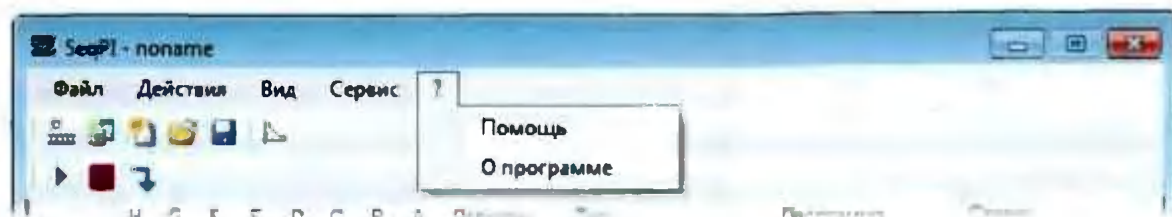


Рисунок 38 – Категория «?»

Назначение пунктов категории ? программы SeqPI приведено в таблице 9:

Таблица 9 - Пункты категории ?

Пункт	Назначение
Помощь	Выход на сайт с описанием программного обеспечения.
О программе	Содержит информацию о версии ПО.

2.3.4 ОПИСАНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ ОКНА ПРОГРАММЫ «SEQPI»

	Н	G	F	E	D	C	B	A	Порядок	Тип	Программа	Статус
1									1		нет	
2									2		нет	
3									3		нет	
4									4		нет	
5									5		нет	
6									6		нет	
7									7		нет	
8									8		нет	
9									9		нет	
10									10		нет	
11									11		нет	
12									12		нет	

Рисунок 39 – Центральная часть окна программы SeqPI

Описание параметров и обозначений в центральной части окна программы SeqPI приведено в таблице 10:

Таблица 10. Центральная часть окна программы SeqPI

Обозначение/параметр	Назначение
1...12	Номера рядов в плашке.
Н...А	Обозначение столбцов в плашке.
	- Изображение образца в плашке. - Открытие окна Образцы при двойном нажатии левой кнопки мыши, когда указатель расположен на любом значке  в выбранном ряду плашки. Просмотр (редактирование) параметров анализа и образцов. - Всплывающее окно с информацией об анализируемом образце при наведении указателя мыши на значок , в выбранном столбце и ряду плашки.
Порядок	Последовательность проведения анализа образцов по рядам в плашке.
Тип	Название типа анализа для каждого ряда плашки: Фрагментный, Сиквенсный или Спектр. калибр.
Программа	Название выбранной программы анализа для каждого ряда плашки. Всплывающее окно с параметрами программы при наведении курсора мыши на ячейку с названием программы, в выбранном ряду плашки. Открытие окна Программа измерения двойным нажатием левой кнопки мыши, когда указатель расположен на ячейке с названием программы в выбранном ряду плашки.
Статус	Готовность прибора к проведению анализа: Готов к анализу – ряд плашки готов к запуску анализа; Измерение... – идет анализ в текущем ряду плашки; Готово – анализ в данном ряду плашки завершен; Остановлено пользователем – анализ плашки был остановлен пользователем в данном ряду.

2.3.5 ОПИСАНИЕ НИЖНЕЙ ЧАСТИ ОКНА ПРОГРАММЫ «SeqPI»



Рисунок 50 – Нижняя часть окна

Описание параметров и обозначений в нижней части окна программы SeqPI приведено в таблице 11:

Таблица 11. Нижняя часть окна программы

Обозначения и параметры	Назначение
Текущая	Информация о времени до окончания программы анализа текущего ряда плашки.
Все	Информация о времени до окончания программ анализа всех рядов плашки.
Лазер 	Означает, что лазер выключен.
Лазер 	Означает, что лазер включен.
Соединен	Означает наличие соединения прибора с компьютером.
Отсоединен	Означает отсутствие соединения прибора с компьютером, работа с прибором невозможна.

2.4 ПОРЯДОК КОНТРОЛЯ РАБОТОСПОСОБНОСТИ УСТРОЙСТВА.

2.4.1 ПРОСТРАНСТВЕННАЯ КАЛИБРОВКА

2.4.1.1 Проведение проверки правильности установки и качества линейки капилляров

Проверка правильности установки и качества линейки капилляров проводится в следующих случаях:

- после замены/установки линейки капилляров;
- после того, как открывалось окно детектора;
- после перемещения/транспортировки анализатора.

Сначала в главном окне программы **SeqPI** в меню **Сервис** выбрать пункт **Начало работы**.

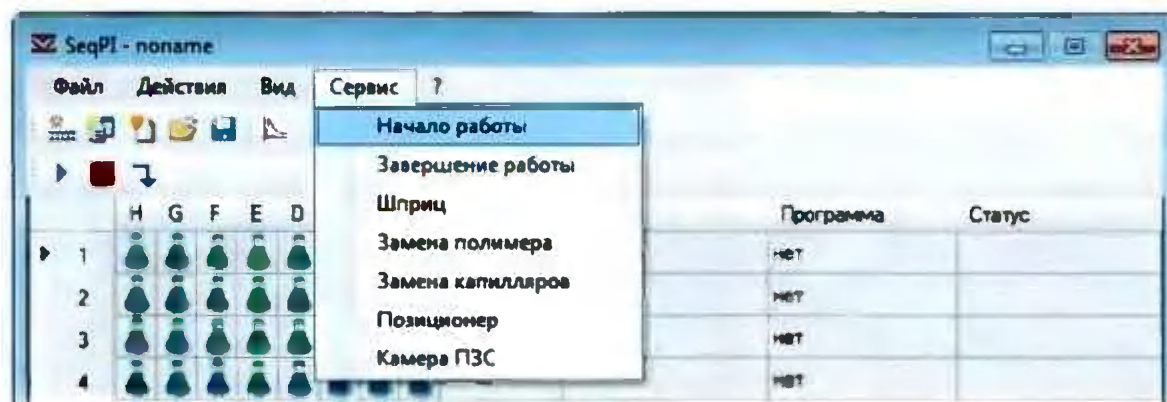


Рисунок 40 – Начало работы

При этом должен включиться лазер, а серый кружок рядом с надписью **Лазер** в нижней части окна программы должен поменять цвет на красный.

В меню **Сервис** выбрать пункт **Камера ПЗС**.

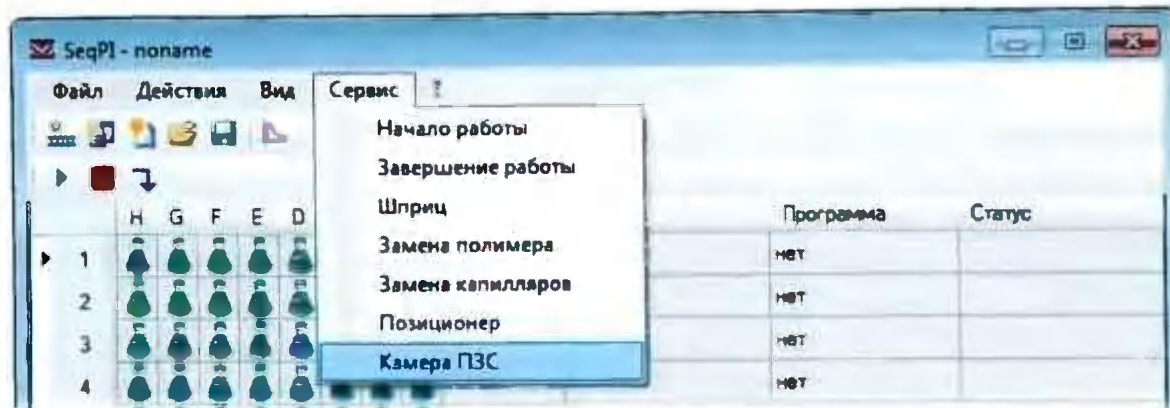


Рисунок 41 – Вызов окна «Камера ПЗС/Video camera»

В открывшемся окне **Video camera** отображается флуоресценция 8 капилляров под действием пучка лазера $\lambda = 488$ нм в спектральном диапазоне 510–710 нм (Рисунок 53).

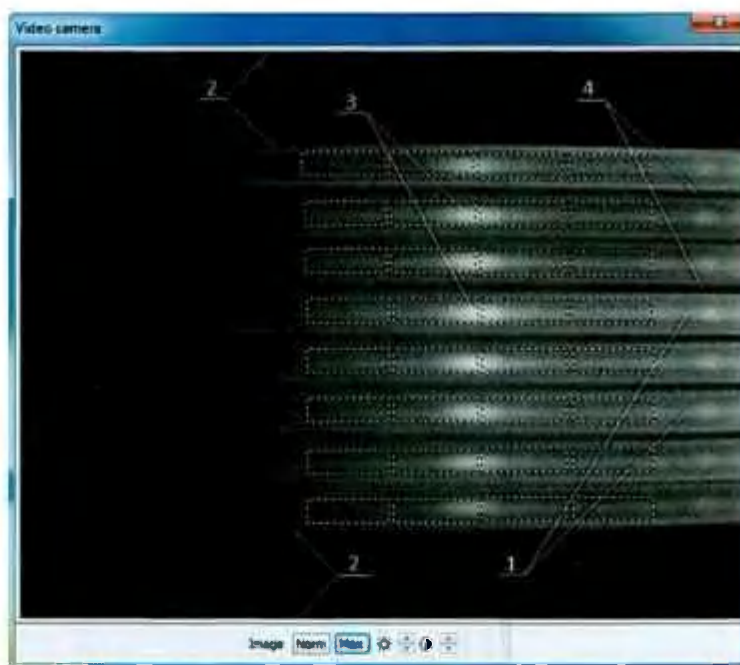


Рисунок 42. Окно Video camera.

С помощью кнопок меню **Norm** **Max** ☼ ⚙ ⏻ ⏪ ⏩ необходимо добиться четкого и контрастного изображения. Как правило, этого можно достичь нажатием кнопки **Max**.

2.4.1.2 Критерии правильной установки и хорошего качества линейки капилляров.

Главные критерии правильной установки и хорошего качества линейки капилляров можно наглядно описать исходя из рисунка 53.

1. Все восемь капилляров находятся на равном удалении друг от друга (поз.1).
2. Крайние капилляры расположены на одинаковом расстоянии от границ изображения по вертикали (поз.2). Допускается незначительное смещение, но при сохранении качества изображения для всех капилляров.
3. Изображения всех капилляров на рисунке имеют одинаковую яркость.
4. Хорошо различима только одна светящаяся область внутри изображения каждого капилляра (поз.3), характерная для комбинационного рассеяния света лазера $\lambda = 488$ нм на воде в полимере. Светящиеся области во всех капиллярах расположены вблизи центра рисунка по горизонтали и не смещены друг относительно друга.
5. Отсутствуют светящиеся области между изображениями капилляров (поз.4).

***Важно!** Наличие хорошо различимой светящейся области внутри изображения каждого капилляра гарантирует высокую чувствительность «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями».*

2.4.1.3 Критерии неправильной установки и/или плохого качества линейки капилляров.

Таблица 12. Критерии неправильной установки и/или плохого качества линейки капилляров

Критерий	Способ устранения
Видны изображения менее 8 капилляров.	Переустановить линейку и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Крайние капилляры расположены на разном расстоянии от границ окна или качество изображения капилляров заметно отличается.	Переустановить линейку и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Изображения капилляров на рисунке имеют разную яркость.	Очистить линейку сжатым воздухом, переустановить и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Не наблюдается светящаяся область внутри изображения каждого капилляра, характерная для комбинационного рассеяния света лазера 488 нм на воде в полимере.	Переустановить линейку и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Светящиеся области видны, но расположены вдали от центра изображения по горизонтали или сильно смещены друг относительно друга.	Очистить линейку сжатым воздухом, переустановить и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.
Наблюдаются светящиеся области между изображениями капилляров.	Очистить линейку сжатым воздухом, переустановить и снова проверить. Если не устраняется – заменить линейку.

2.4.2 СПЕКТРАЛЬНАЯ КАЛИБРОВКА

Спектральная калибровка проводится после замены/установки линейки капилляров для каждого набора флуоресцентных красителей, используемых для анализа образцов.

2.4.2.1 Запуск программы «Спектральная калибровка»

В главном окне программы SeqPI в пункте меню Действия выбрать опцию Спектральная калибровка.

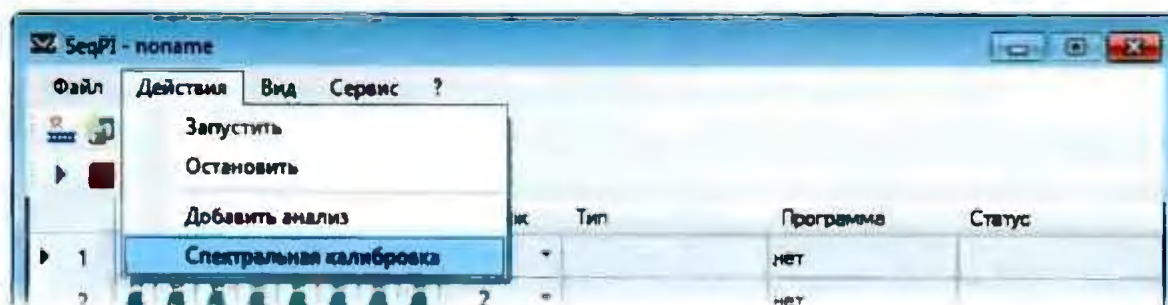


Рисунок 43 – Выбор опции спектральной калибровки

В появившемся окне Спектральная калибровка в строке Набор красителей выбрать из списка название соответствующего спектрального калибратора.

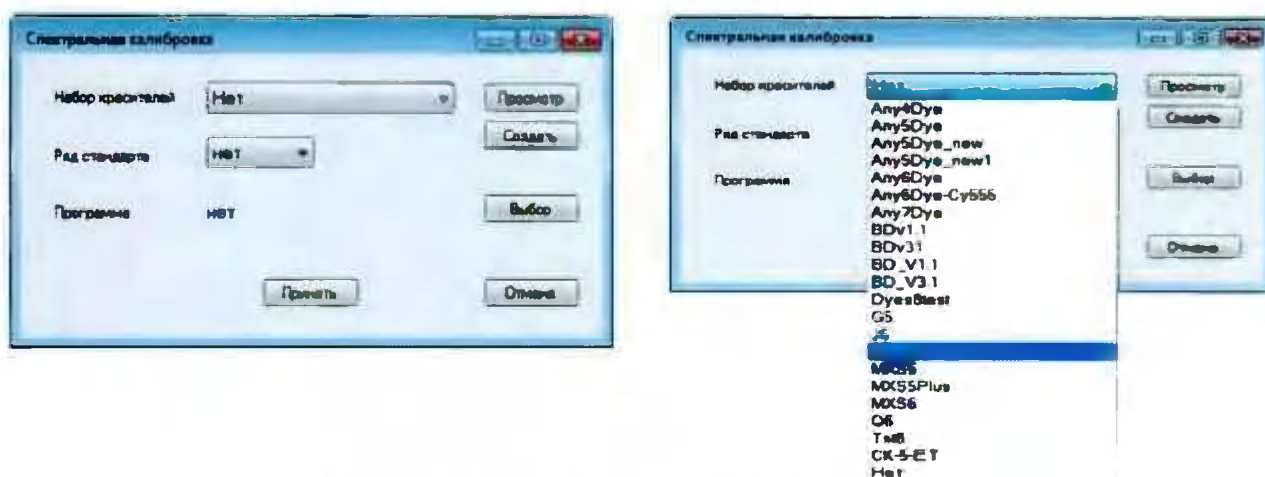


Рисунок 44 – Выбор набора красителей

Если название набора красителей в списке отсутствует, то необходимо создать новый набор, нажав кнопку Создать. Появится окно «Создание набора красителей».

В строке **Шаблон** выбрать похожий набор красителей и отредактировать графы таблицы соответствующим образом.

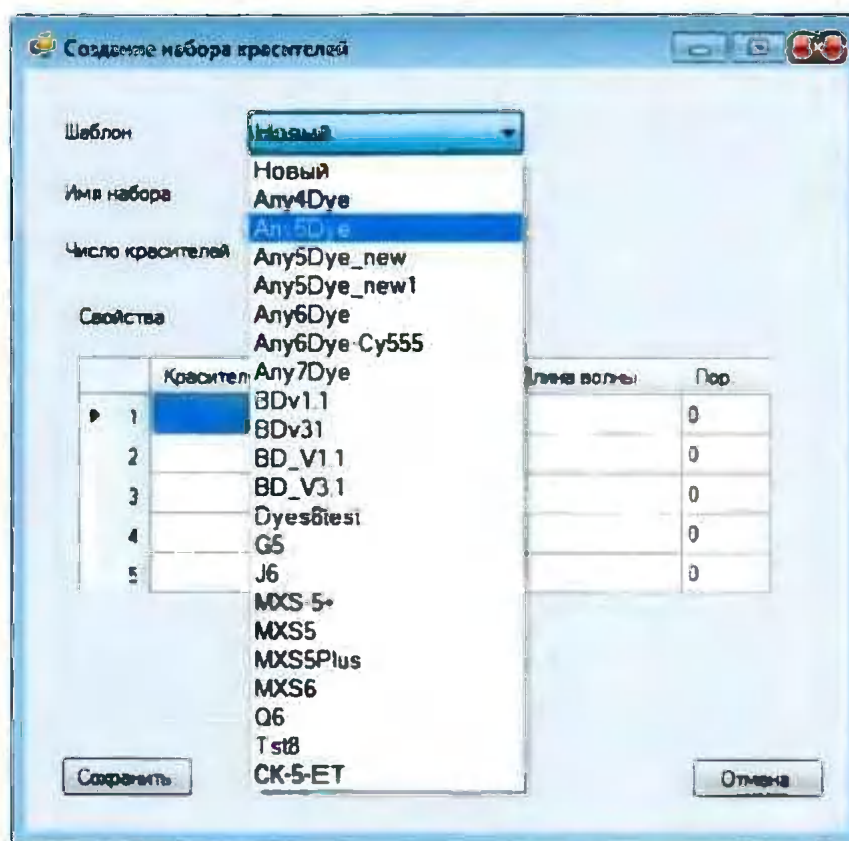


Рисунок 45 – Создание набора красителей

Если похожего набора красителей нет, необходимо заполнить все поля самостоятельно. Ввести название набора в строке **Имя набора**, выбрать число используемых в наборе красителей в строке **Число красителей**, заполнить таблицу **Свойства**, указав название красителя, цвет, длину волны и порядок выхода пика, соответствующего фрагменту ДНК из спектрального калибратора, меченного данным красителем. Например:

	Краситель	Цвет	Длина волны	Порядок
1	FAM	Синий	520	5
2	R6G	Зеленый	550	4
3	TMR	Черный	580	3
4	ROX	Красный	605	2
5	LIZ	Оранжевый	650	1

Важно! При неправильном вводе порядка выхода красителей спектральная калибровка будет ошибочной!

После заполнения всех полей нажать кнопку **Сохранить**.

Во вновь появившемся окне **Спектральная калибровка** в строке **Ряд стандарта** выбрать номер ряда, в котором находятся пробирки с раствором спектрального калибратора (стандарт может находиться в любом ряду планшета), затем нажать кнопку **Выбор**.

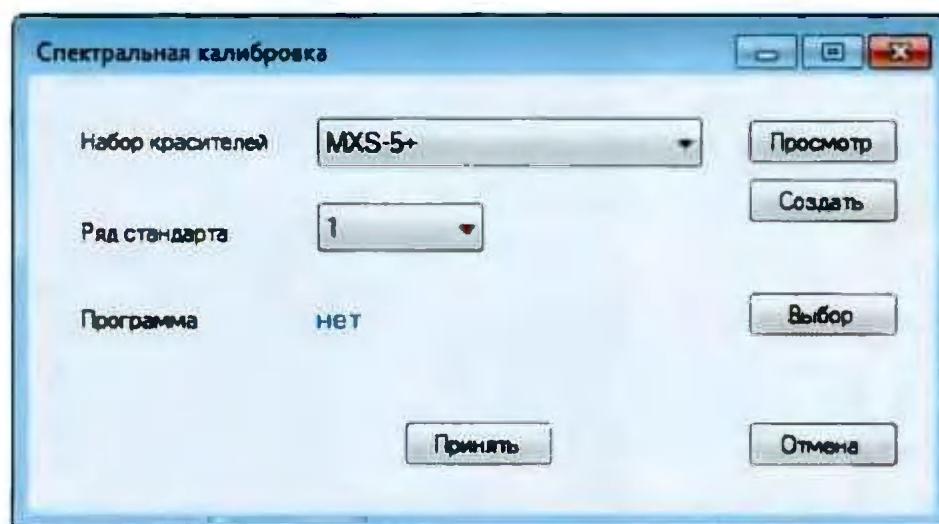


Рисунок 46 – Выбор спектральной калибровки

В открывшемся окне **Программа измерения** нажать кнопку **Открыть**

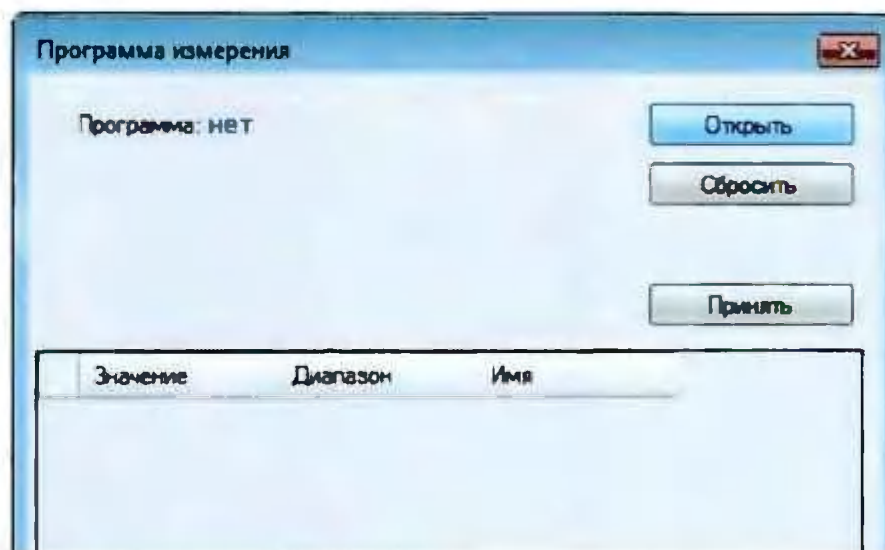


Рисунок 47 – Выбор программы измерений

Важно! Обратите внимание на длину капилляров (35 или 50 см) и тип полимера, установленных в приборе на момент анализа.

В папке *..Lib* выбрать необходимую программу измерений (например, программа *Спектральная калибровка 35 см ПДМА-6.avi* используется при длине установленных капилляров 35 см, заполненных полимером ПДМА-6).

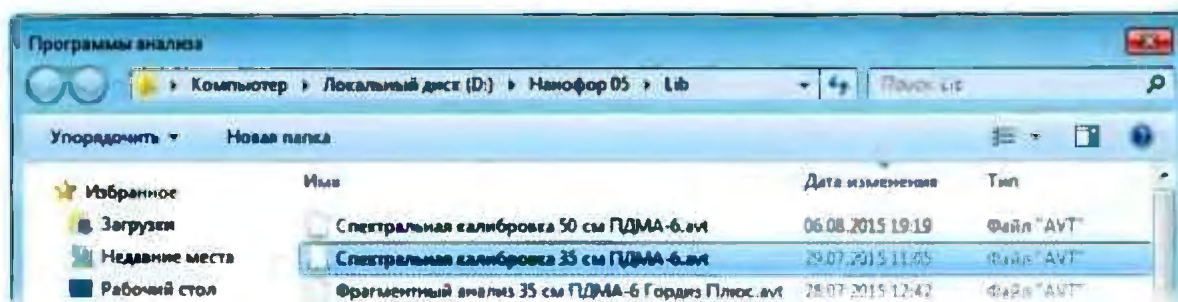


Рисунок 48 – Диалог выбора программы анализа

Если необходимо, в окне **Программа измерения** изменить параметры выбранной программы, либо оставить программу без изменений. Затем нажать кнопку **Принять**.

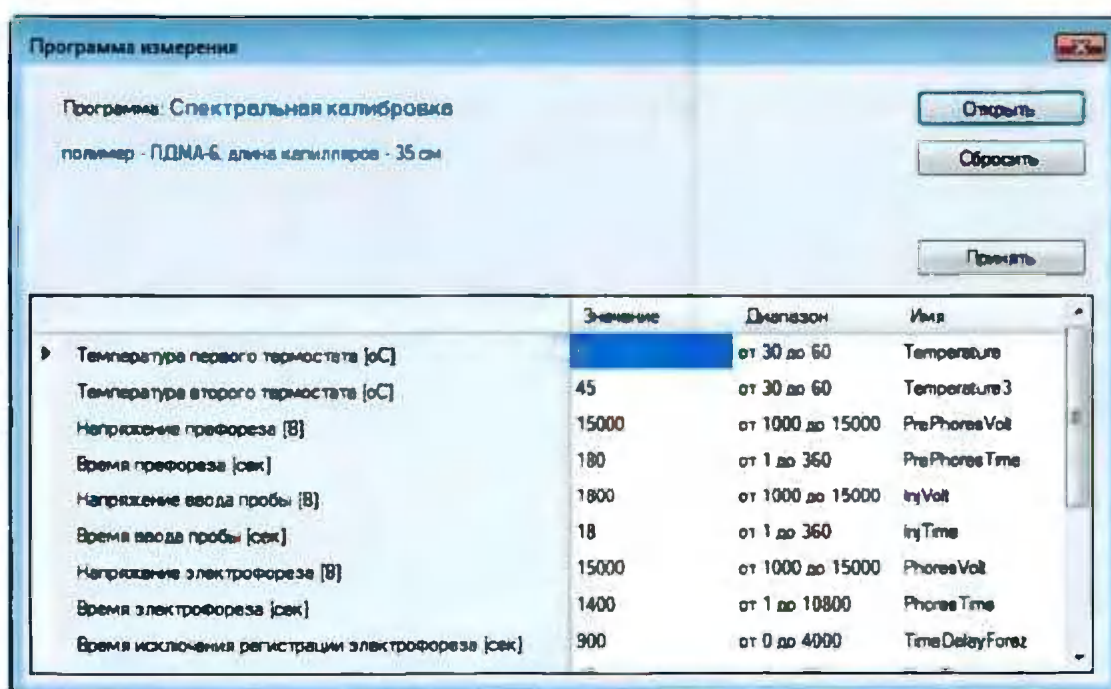


Рисунок 60 - Параметры программы измерений

В окне Спектральная калибровка нажать кнопку **Принять**.

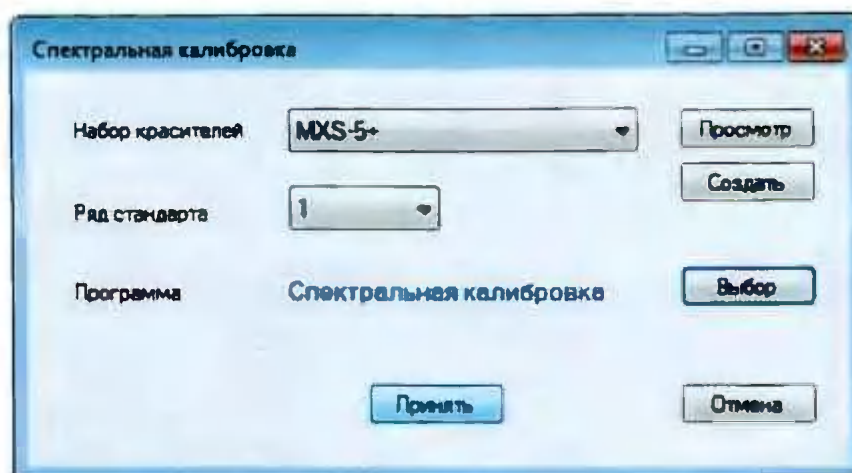


Рисунок 61 – кнопка **Принять**

В появившемся окне нажать **ОК**.

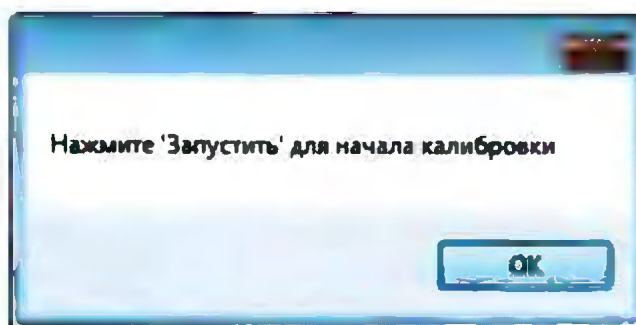


Рисунок 62 – Запуск калибровки

Активируется главное окно программы SeqPI. В графе **Тип** появится надпись типа анализа (**Спектр. калибр.**), в графе **Программа** – название выбранной программы анализа, а в графе **Статус** в описываемом ряду плашки появится надпись **Готов к анализу**.

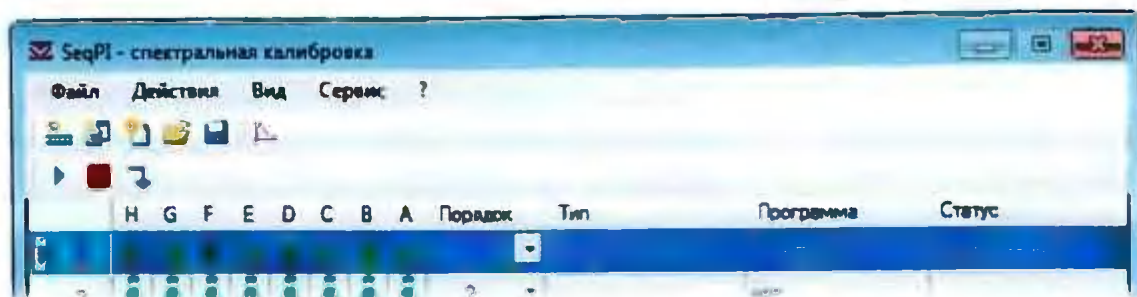


Рисунок 63 – Состояние Готов к анализу

Если требуется провести спектральную калибровку для других наборов красителей, то в главном окне программы SeqPI в пункте меню Действия снова выбрать опцию Спектральная калибровка и повторить все действия для других рядов плашки, где установлены спектральные калибраторы.

Для запуска спектральной калибровки в меню главного окна программы SeqPI нажать кнопку ▶ Запустить или в пункте меню Действия выбрать опцию Запустить.



Рисунок 49 – Запуск измерений

В появившемся окне **Эксперимент** задать имя оператора в строке **Оператор**, название планшета в строке **Имя планшета** и нажать кнопку **Принять**.

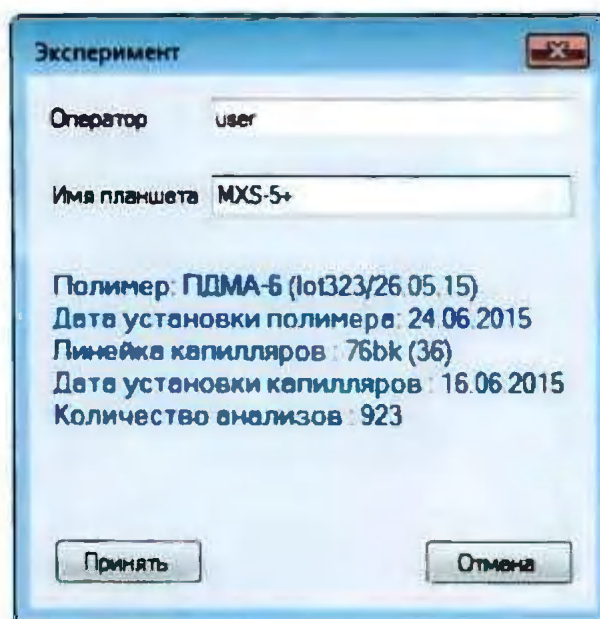


Рисунок 65 – Принять имя планшета

Активируется главное окно программы **SeqPI**. Анализируемый ряд плашки со спектральным калибратором выделится зеленым цветом, а в графе статус должна появиться надпись **Измерение**. В нижней части окна рядом с надписью **Лазер** серый кружок должен стать красным – это означает, что лазер включен. В конце строки **Текущая** отобразится время до конца текущего анализа, а в конце строки **Все** – время до конца анализа всей плашки.

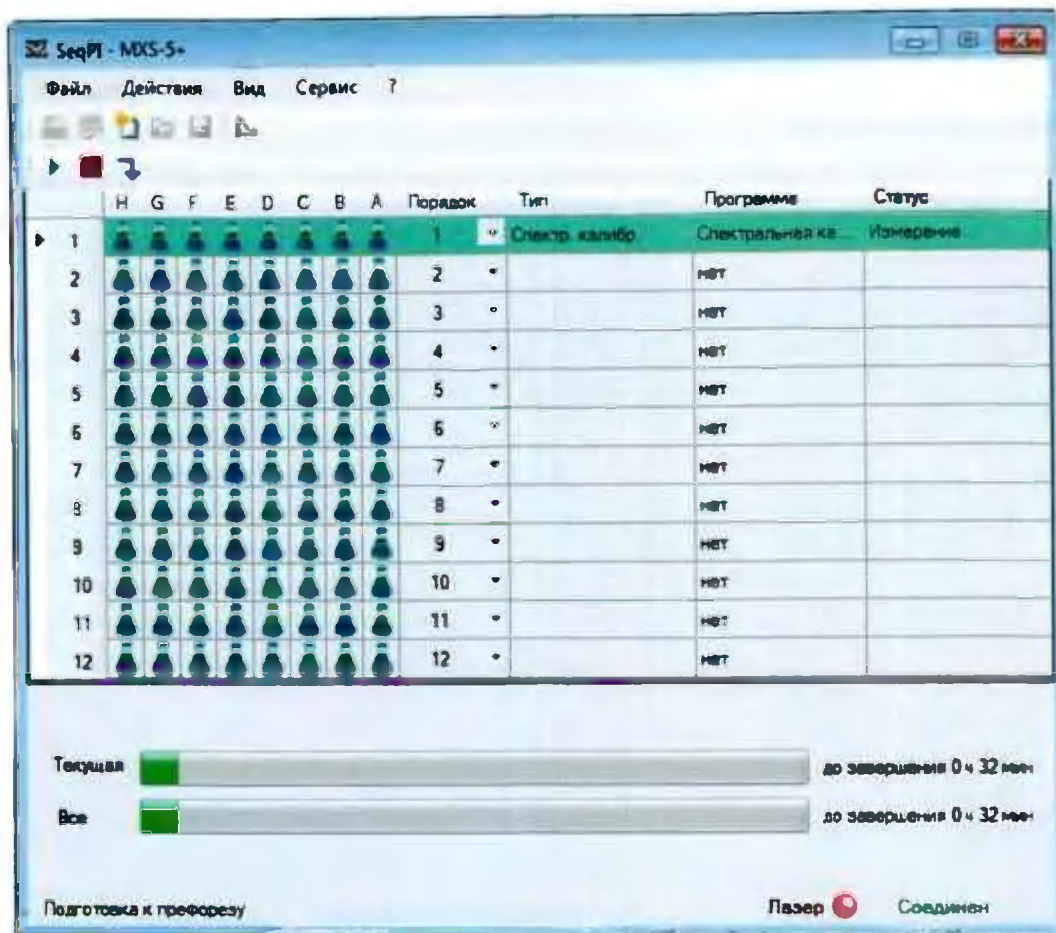


Рисунок 50 – Ход измерений

2.4.2.2 Наблюдение за измерениями в ходе выполнения калибровки

В ходе выполнения программы калибровки в окне **Графики**, вызываемом нажатием кнопки  в меню главного окна программы SeqPI, можно осуществлять просмотр данных и текущих параметров.

Выход пиков флуоресценции по всем каналам и по каждому капилляру можно наблюдать, нажимая кнопки от **H** до **A**.

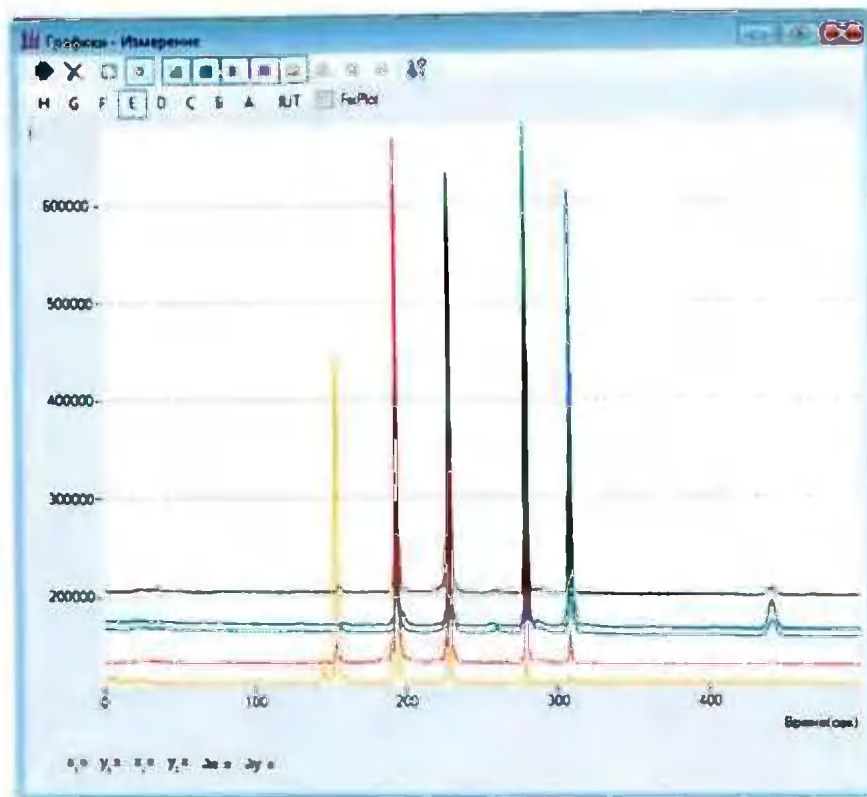


Рисунок 51 – Пики флуоресценции

Активировав кнопку ☐ **FitPlot**, можно увидеть прохождение пиков в нескольких капиллярах одновременно.

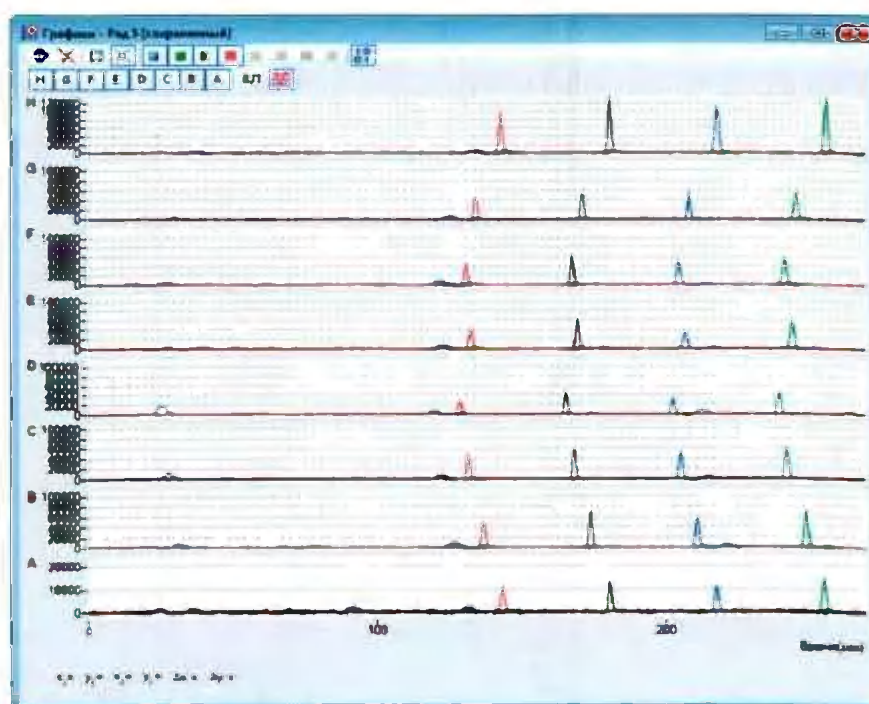


Рисунок 52 - Просмотр пиков флуоресценции во всех каналах

Контроль величины силы тока (I), напряжения (U), температуры воздушного термостата ($T1$) и термостата блока детектора ($T2$) осуществляется нажатием кнопки **ИТ**.

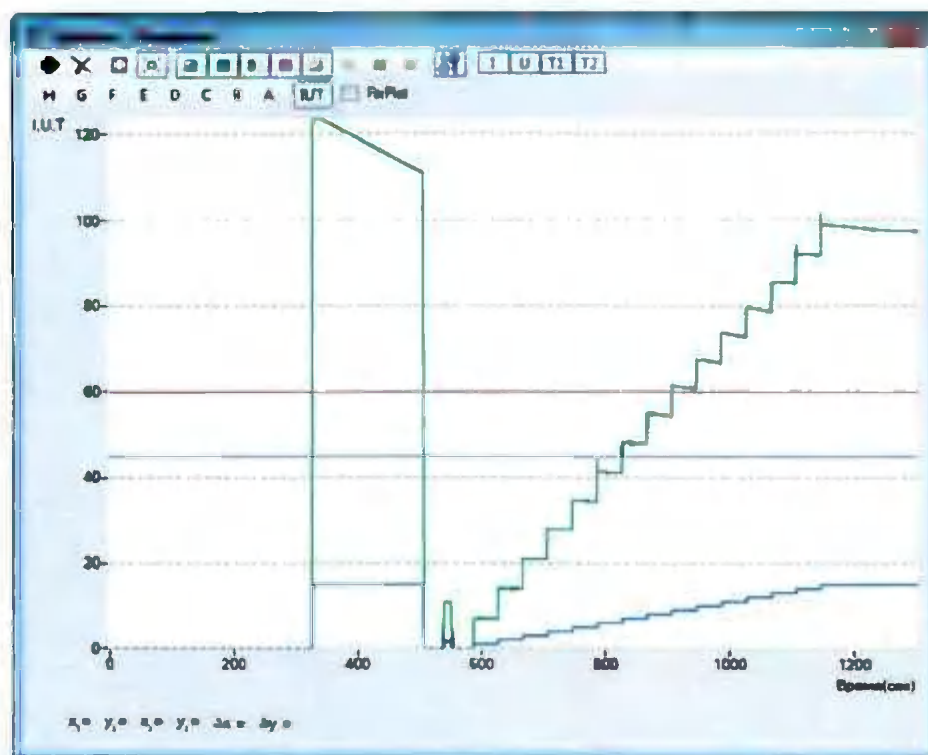


Рисунок 53 – Просмотр тока и напряжения

Одновременно можно наблюдать флуоресценцию красителей во всех капиллярах на изображениях с видеокамеры, для чего необходимо в главном окне программы **SeqPI** в меню **Сервис** выбрать опцию **Камера ПЗС**.

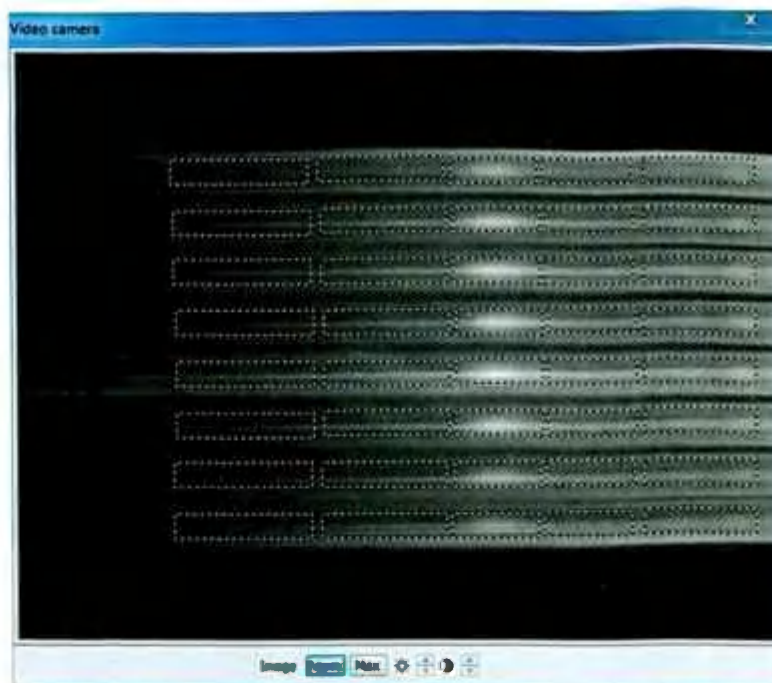


Рисунок 70 – Сигналы флуоресценции в окне камеры ПЗС

На изображении в окне должна быть видна спектральная развертка с 8 капиллярами и 8 рядов прямоугольных окон, прорисованных штриховыми линиями. Количество окон в каждом ряду соответствует числу флуоресцентных красителей, а расположение окон – спектрам излучения флуоресцентных красителей для выбранного набора. Если создавался новый набор красителей, то начальное положение окон будет не оптимальным. С помощью кнопок меню **Image** **Zoom** **Max** и иконок можно добиться четкого и контрастного изображения капилляров. Как правило, это происходит при нажатии кнопки **Max**.

После завершения анализа окна будут автоматически расставлены вдоль спектральной развертки капилляров в положениях, определяемых спектральными характеристиками набора флуоресцентных красителей.

2.4.2.3 Оценка результатов спектральной калибровки

В конце выполнения программы измерений автоматически появится окно **Набор красителей** с оценками качества спектральной калибровки по всем капиллярам. При нажатии кнопки **Качество** таблица с оценками будет скрыта. Возможны три варианта оценки качества:

 Удовлетворительное или 



Рисунок 71 – Оценка результатов спектральной калибровки

Нажатие кнопки **Фореграмма** вызывает окно **Графики**, что позволяет увидеть картину выхода пиков фрагментов ДНК, меченных разными красителями, и провести визуальную оценку качества по всем капиллярам.

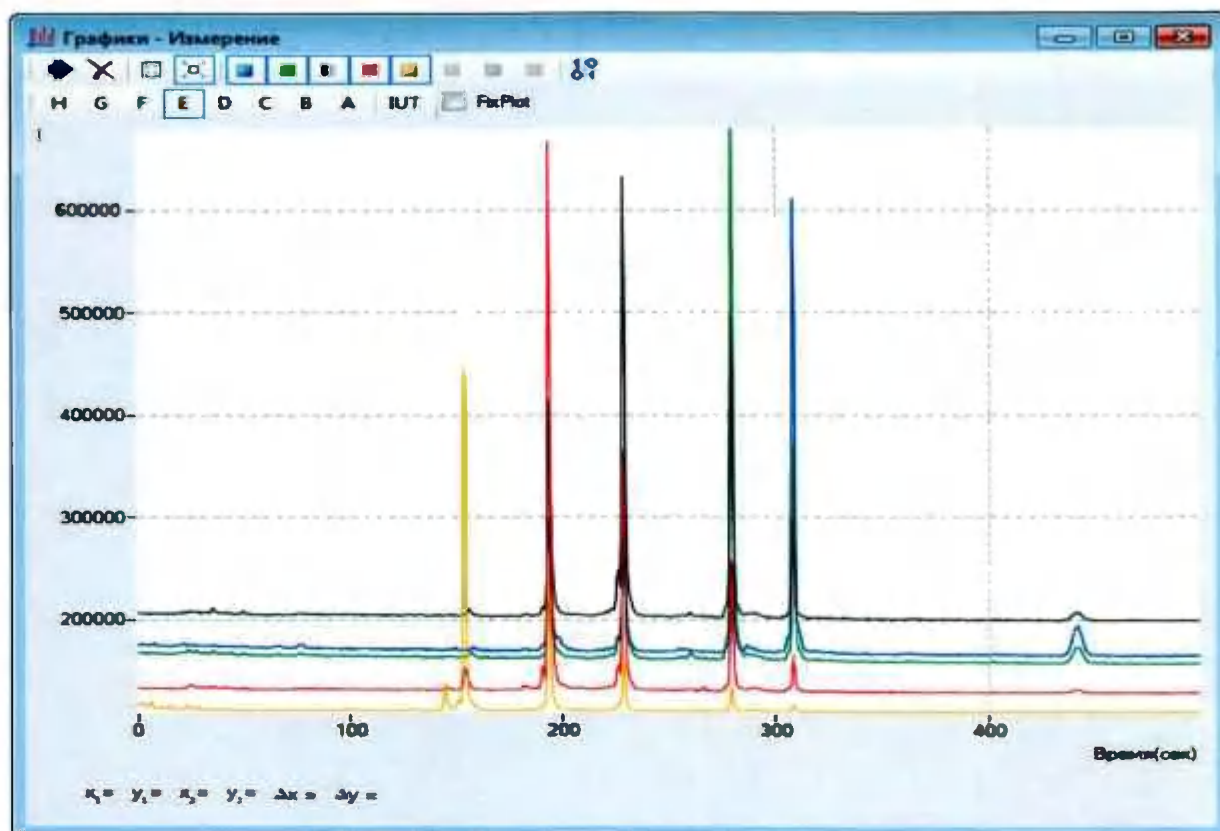


Рисунок 72 – Графики пиков спектральной калибровки

Если был создан новый набор красителей, то часть пиков в некоторых капиллярах может быть не видна или отображаться некорректно. Это связано с тем, что начальная расстановка окон может не совпадать с оптимальной расстановкой для данного набора красителей.

Для просмотра и оценки качества спектров красителей по каждому капилляру необходимо нажать кнопку  **Спектры**.

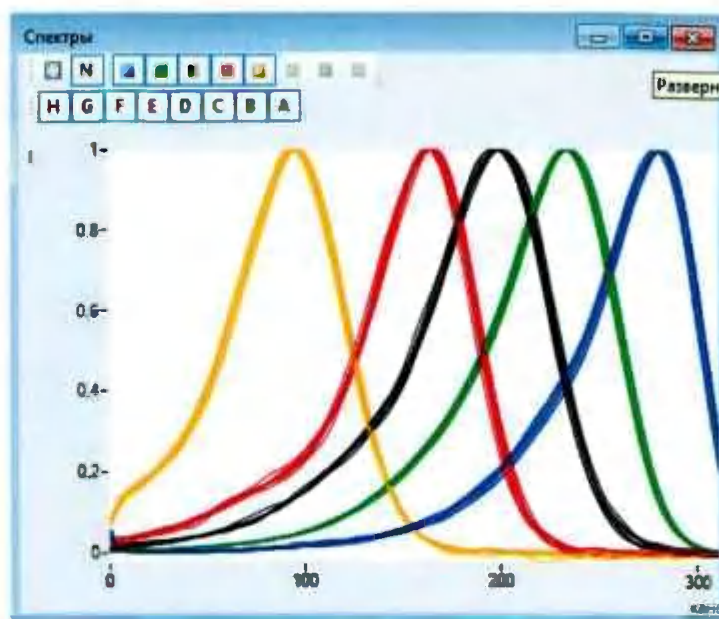


Рисунок 73 - Спектры

Для просмотра и оценки качества матриц взаимного влияния красителей по каждому капилляру необходимо нажать кнопку  **Матрицы**.

	H	G	F	E	D	C	B	A
1			0.24	0.37	0.19	0		
2	0.45	1	0.57	0.11	0			
3	0.2	0.65	1	0.41	0.01			
4	0.06	0.24	0.4	1	0.16			
5	0.01	0.05	0.11	0.36	1			

Рисунок 74 - Матрица

Матрица и положение окон будут ошибочными, если амплитуда пиков красителей на фореграмме превысит 800 000 отн. ед. При этом спектры красителей уширяются (см. ниже, график зеленого цвета). Такую калибровку требуется переставить, изменив условия ввода пробы или концентрацию спектрального калибратора.

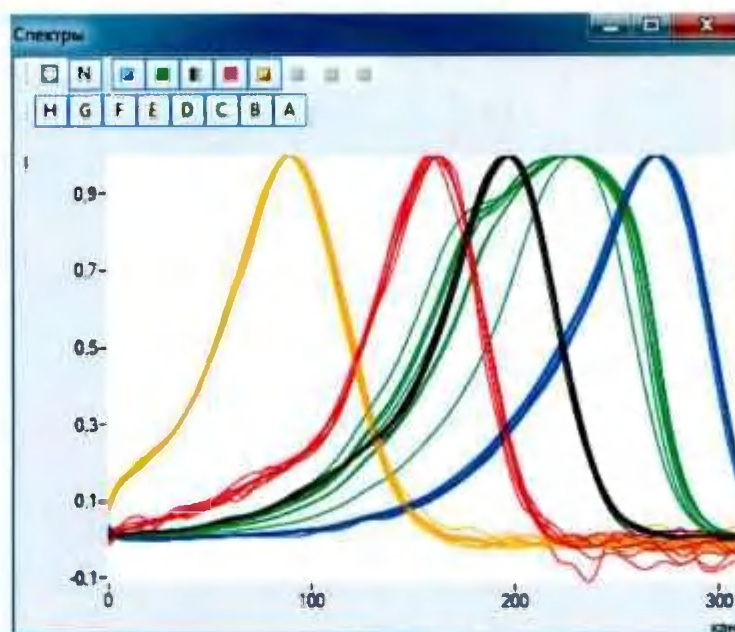


Рисунок 54 – Спектры плохого качества

Если матрица в каком-либо капилляре оказалась ошибочной, и качество спектральной калибровки по этому капилляру оценено как **Удовлетворительное** или [REDACTED], ее можно попробовать заменить матрицей из любого другого капилляра с оценкой качества [REDACTED].

Для этого в окне **Набор красителей** нажать правую кнопку мыши на строку капилляра, в котором требуется заменить матрицу. Появится опция **Установить матрицу от**. Наведя на нее указатель мыши, в выпадающем списке можно выбрать капилляр с матрицей хорошего качества (использовать лучше расположенный рядом).



Рисунок 55 – Установка матрицы от другого капилляра

В открывшемся окне **Изменение данных** нажать кнопку **Да** для подтверждения замены матрицы.

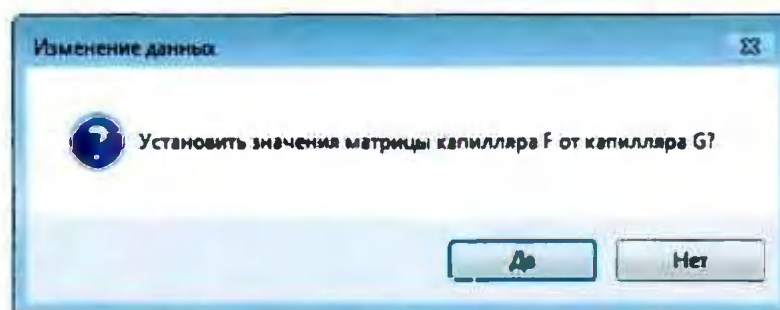


Рисунок 77 – Подтверждение изменения данных

В окне **Набор красителей** появятся новые оценки качества калибровки. Для визуальной оценки расстановки окон, в которых будет осуществляться детекция красителей данного спектрального калибратора, необходимо нажать кнопку  **Окна**.

Набор красителей

Набор CK-5-ET

Калибровка 2014.08.05 17:17

Набор CK-5-ET
Калибровка 2014.08.05 17:17
Число красителей 5

Качество
Фореграмма

Краситель	Цвет	Длина волны	Пор.
RG	синий	520	5
FAM-TAMRA	зеленый	550	4
FAM-ROX	черный	580	3
DY632	красный	607	2
	желтый	665	1

	СКО	Выбросы	Качество
Капилляр H	0.02	ОК	Хорошее
Капилляр G	0.02	ОК	Хорошее
Капилляр F	0.02	ОК	Хорошее
Капилляр E	0.02	ОК	Хорошее
Капилляр D	0.02	ОК	Хорошее
Капилляр C	0.01	ОК	Хорошее
Капилляр B	0.01	ОК	Хорошее
Капилляр A	0.02	ОК	Хорошее

Отмена Принять

Рисунок 56- Хорошее качество спектральной калибровки

Если качество калибровки по всем капиллярам Хорошее, в окне **Набор красителей** необходимо нажать кнопку **Принять**. Калибровка сохранится под заданным в строке **Набор** названием и временем старта программы измерений в формате **год.месяц.число час.минута**.

В окне **Графики** можно проконтролировать качество спектральной калибровки, нажав в меню кнопку **Применить матрицу** . При этом происходит компенсация взаимных влияний красителей по всем капиллярам. На фореграмме во время выхода пика одновременно не должно быть пика другого цвета, соответствующего другому спектральному каналу (красителю).

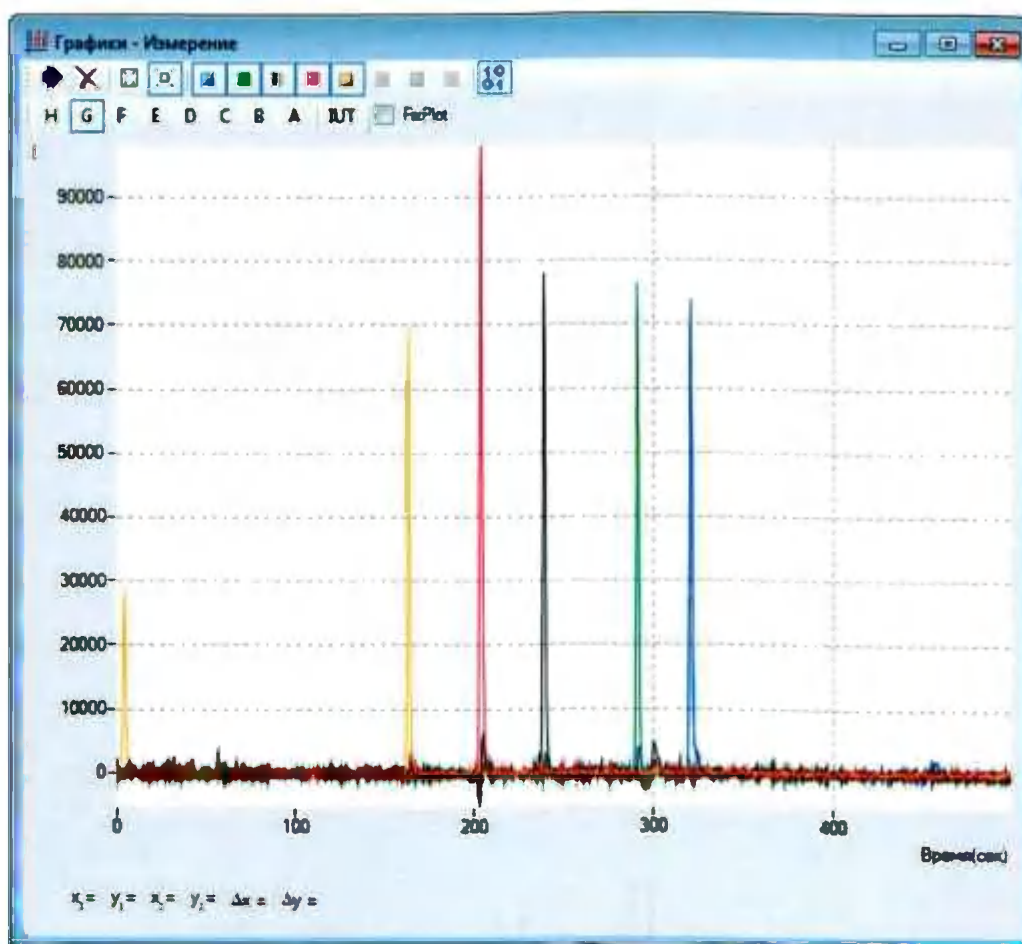


Рисунок 57 – Применение матрицы при просмотре спектральной калибровки

В Приложении 2 приведены примеры спектральных калибровок с различными наборами красителей.

Важно! Во время проведения калибровки (и в дальнейшем, анализе) необходимо контролировать уровень фона (базовой линии) на фореграмме в каждом капилляре и во всех спектральных каналах, т.к. увеличение фона снижает динамический диапазон измерений. При достижении значения фона флуоресценции порядка 400 000 отн. ед. в одном и более спектральных каналах для любого капилляра, требуется провести очистку капилляров (например, сжатым воздухом), переустановить линейку, а затем провести проверку установки и качества линейки.

Если прошедшая калибровка получила оценку качества **Плохое** или **Удовлетворительное** в одном или нескольких капиллярах, требуется проверить соответствие выбранного набора красителей калибровочному раствору, проверить правильность установки пробирок с калибровочным раствором в плашке и повторить калибровку.

При повторной калибровке может потребоваться изменение параметров программы калибровки (например, время задержки старта электрофореза, время электрофореза, время и напряжение ввода пробы и др.), если:

- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра амплитуда пиков красителей менее 20 000 отн. ед.;
- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра количество пиков меньше или больше, чем число красителей в наборе;
- в окне **Спектры** спектры красителей сильно отличаются для разных капилляров и/или имеют искаженную форму.

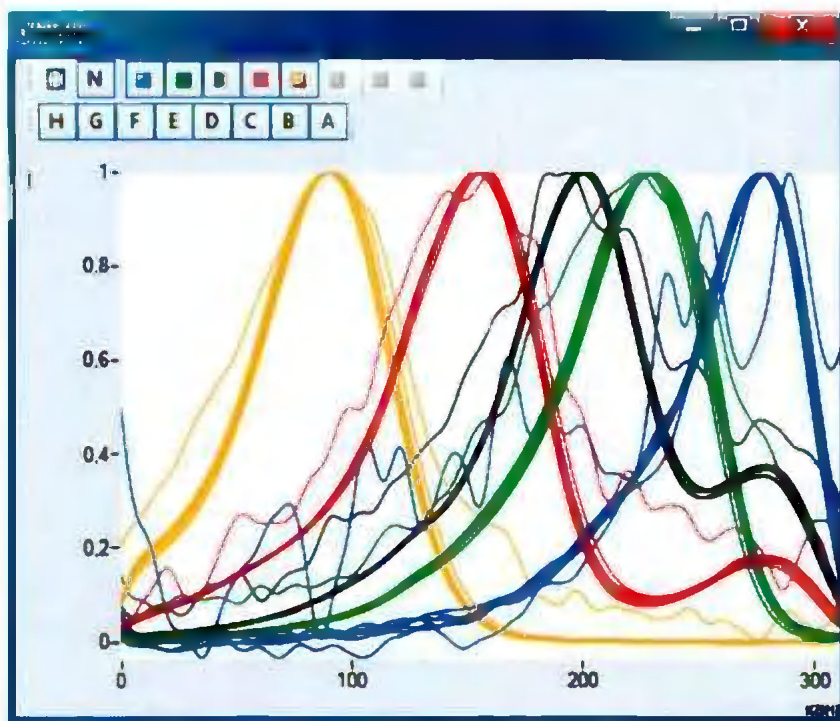


Рисунок 80 – Пример «плохих» спектров

При повторной калибровке может потребоваться заменить растворы калибратора, если:

- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра отсутствуют пики красителей;
- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра количество пиков меньше или больше, чем число красителей в наборе;
- в окне **Графики** на фореграмме какого-либо капилляра амплитуда пиков красителей менее 20 000 отн. ед.;

Если после изменений параметров программы калибровки и замены калибровочного раствора калибровка не получила оценку  для большинства капилляров, линейку требуется заменить.

2.5 ЗАПУСК ФРАГМЕНТНОГО АНАЛИЗА И АНАЛИЗА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Для запуска любого типа анализа необходимо выполнить описание плашки и связать его с плашкой, загруженной в прибор. Также возможно проводить описание новых плашек во время текущего анализа при помощи программы SeqPILite.

2.5.1 ОПИСАНИЕ ПЛАШКИ

В пункте меню **Действие** главного окна программы SeqPI выбрать опцию **Добавить анализ** или в меню главного окна нажать кнопку  **Добавить анализ**.

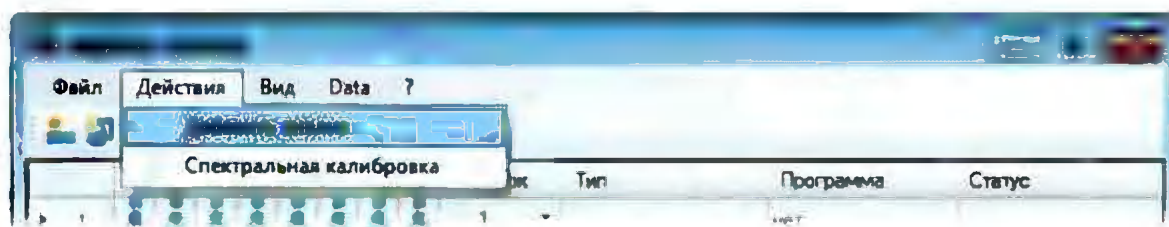


Рисунок 81 – Добавить анализ

В появившемся окне **Выбор ряда** выбрать ряд плашки, в который загружены пробирки с образцами для анализа, и нажать кнопку **Далее**.

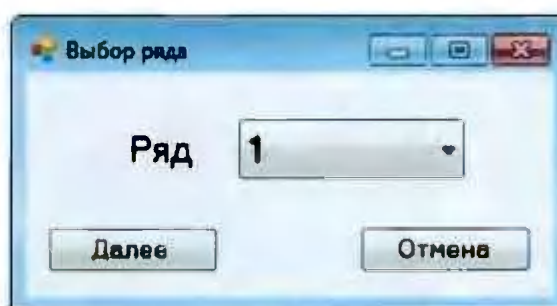


Рисунок 82 – Выбор ряда

В открывшемся окне **Программа измерений** нажать кнопку **Открыть** и в папке *//Lib* выбрать программу анализа (например, *Фрагментный анализ 35 см COrDIS Plus.avi*).

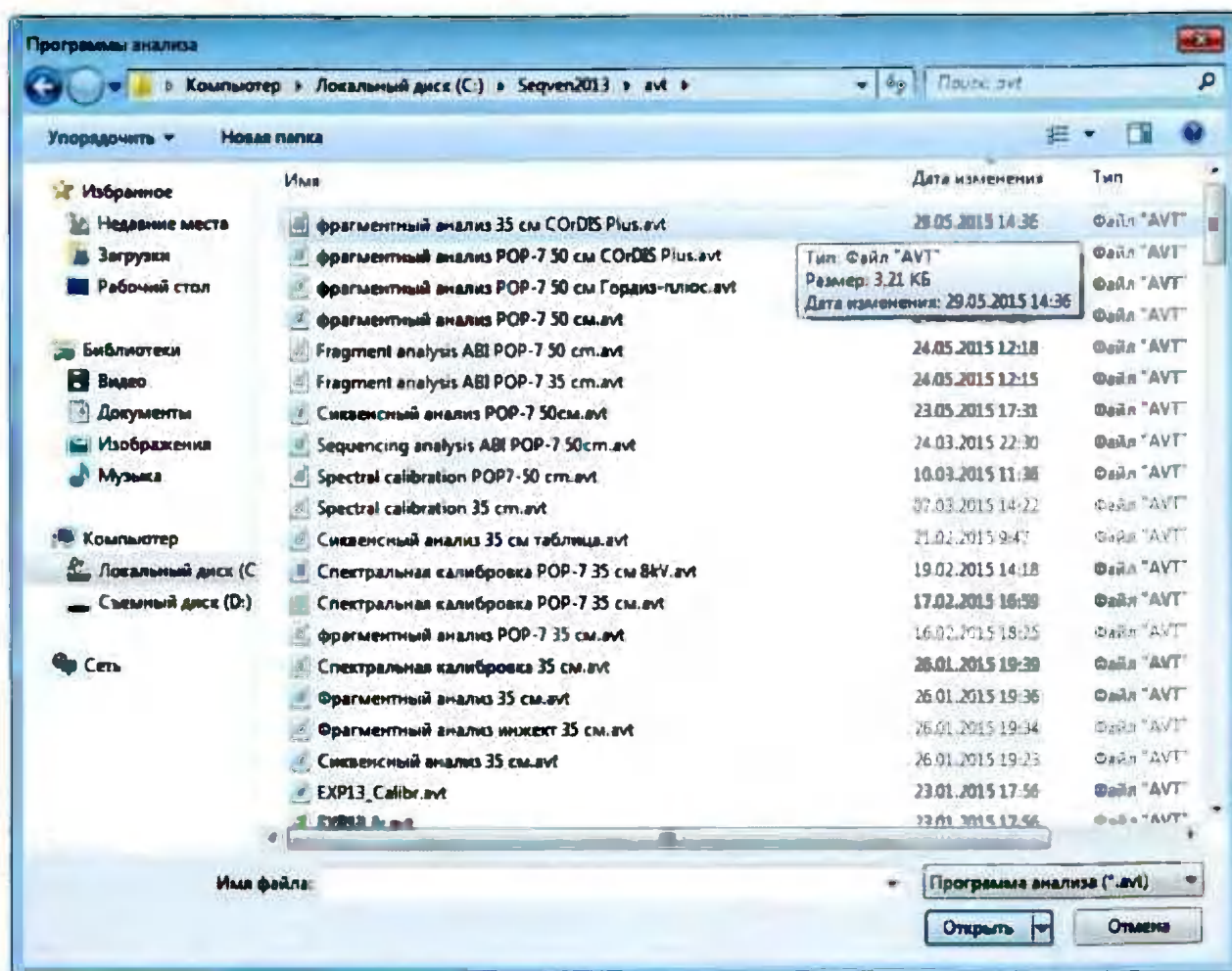


Рисунок 83 – Выбор программы анализа

При необходимости откорректировать параметры программы в окне Программа измерения и нажать кнопку Принять.

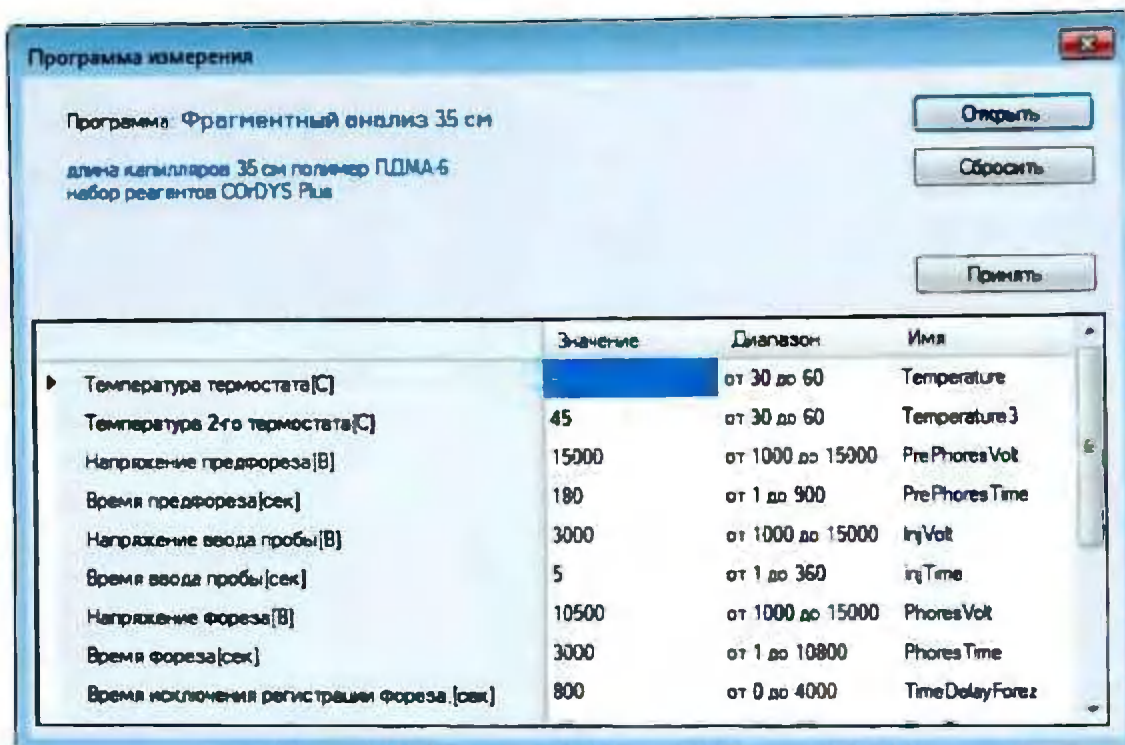


Рисунок 84 – Параметры программы анализа

Важно! *Корректировать параметры Программы измерения приходится только в редких случаях. Поэтому существуют стандартные протоколы Программы измерения, в зависимости от типа полимера, длины линейки капилляров и вида анализа (см. Приложение 3).*

В открывшемся окне **Образцы** заполнить все строки таблицы. Буква в начале каждой строки таблицы соответствует положению образца в выбранном ряду плашки. Обязательными для заполнения являются графы **Имя** и **Красители**.



Рисунок 85 – Описание образцов

- 1) В графе **Имя** вводится название или порядковый номер образца. Для этого следует нажать левую кнопку мыши, когда указатель находится на выбранной ячейке.
- 2) В графе **Файл** вводится название образца, которое будет сохранено программой.

В описание плашки возможно импортировать данные, экспортированные из лабораторной информационной системы, а также из приборов ABI Prism. Для этого в пункте меню **Файл** выбрать **Import → Plate Layout**. При этом будут импортированы только названия образцов (графы **Имя** и **Файл**), остальные графы следует заполнить, как описано ниже.

- 3) В графе **Тип** выбрать из списка тип образца: **Образец**, **Положительный контроль**, **Отрицательный контроль**, **Аллельная лестница**.

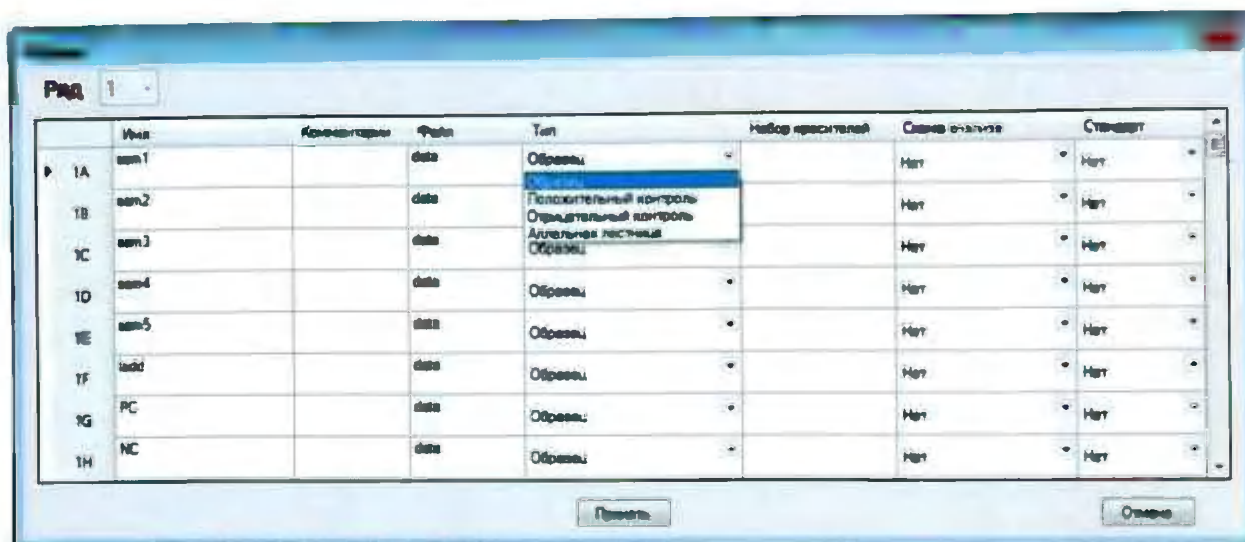


Рисунок 86 – Описание типа образца

Важно! Если проводится фрагментный анализ, то как минимум одна пробирка (лунка) при анализе каждой серии образцов должна содержать аллельную лестницу.

- 4) В графе **Набор красителей** выбрать соответствующую спектральную калибровку. Для этого перевести указатель на любую ячейку в графе **Красители** и двойным нажатием на левую клавишу мыши открыть окно **Набор красителей**. Выбрать в нем необходимую калибровку и нажать кнопку **Принять**.

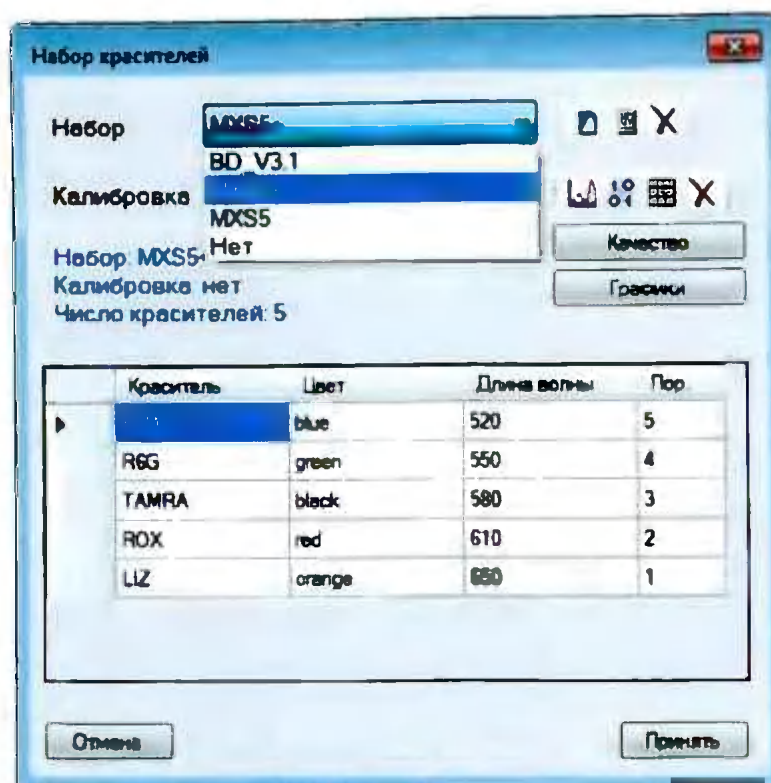


Рисунок 87 – Выбор набора красителей

Если выбираемый параметр одинаков для всех пробирок описываемого ряда плашки, то для ускорения заполнения таблицы можно выбрать опцию **Применить к ряду**. Для выбора этой опции, после ввода параметра образца, следует перевести курсор левой кнопкой мыши в ячейку ниже, а затем правой кнопкой кликнуть на ячейку с уже установленным параметром. В открывшемся окне выбрать пункт **Применить к ряду**.

В случае, когда во всех рядах плашки загружен один и тот же образец, то можно воспользоваться опцией **Применить ко всем**. При применении этой опции автоматически заполняются названия образцов во всех рядах плашки. Выбирается эта опция так же, как и опция **Применить к ряду**. (см. пример ниже)

5) В графе **Схема анализа** выбрать метод анализа.

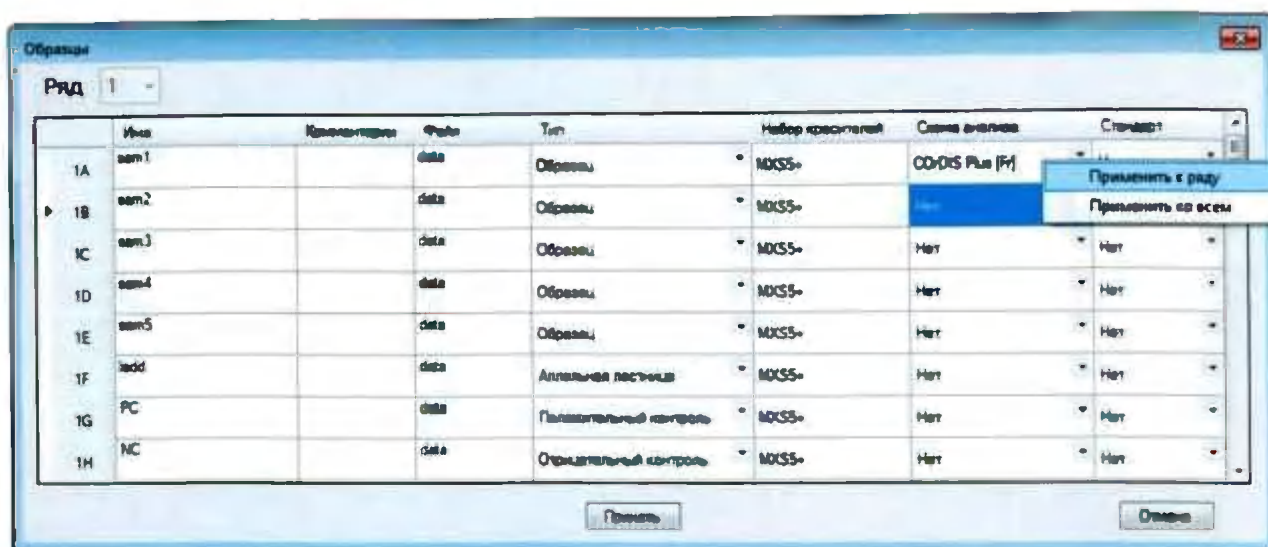


Рисунок 58 - Выбор схемы анализа

6) В графе **Стандарт** выбрать соответствующий размерный стандарт.



Рисунок 59 – Выбор размерного стандарта

7) Дополнительные сведения об анализируемой пробе вносятся в графе **Комментарии**.

После заполнения таблицы в окне **Образцы** нажать кнопку **Принять**. Откроется главное окно программы **SeqPI** и в графе **Статус** в выбранном ряду плашки появится надпись **Готов к анализу**.

Для описания всей плашки (или ее части) требуется снова выбрать опцию **Добавить анализ** и повторить все описанные выше действия последовательно с каждым рядом плашки, заполненным образцами для

анализа. В каждом ряду плашки может быть выбран любой тип анализа, например, для 1-го ряда плашки задать фрагментный анализ, а для 2-го – анализ последовательности.

В графе **Порядок** можно изменить порядок анализа рядов с образцами в плашке или исключить из анализа ряд, выбрав строку **нет**.

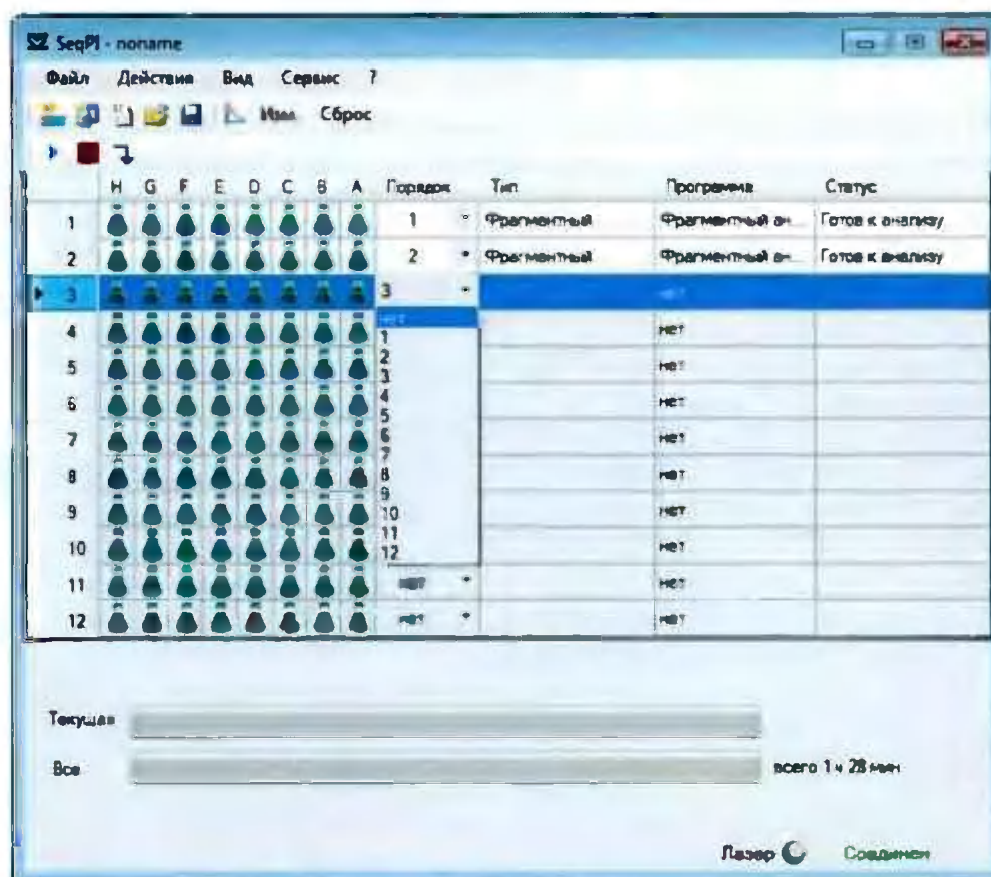


Рисунок 90 – Выбор порядка проведения анализа рядов

2.5.2 ЗАПУСК АНАЛИЗА

Для запуска анализа, после описания всех загруженных образцами рядов плашки, в меню главного окна программы SeqPI нажать кнопку  **Запустить** или в пункте меню **Действия** выбрать опцию **Запустить**.



Рисунок 91 – Запуск измерений

В открывшемся окне Эксперимент ввести имя оператора, название планшета и нажать кнопку **Принять**.

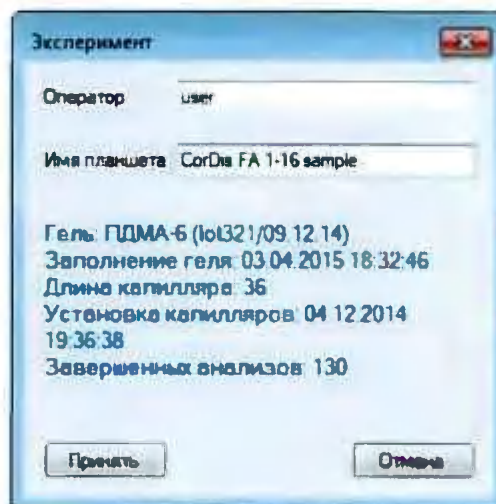


Рисунок 92 – Принять название планшета

Активируется главное окно программы SeqPI. Первый анализируемый ряд плашки выделится зеленым цветом, а в графе статус должна появиться надпись **Измерение**. В нижней части окна рядом с надписью **Лазер** серый кружок должен стать красным – это означает, что лазер включен. В конце строки **Текущая** отобразится время до конца текущего анализа, а в конце строки **Все** – время до конца анализа всей плашки.

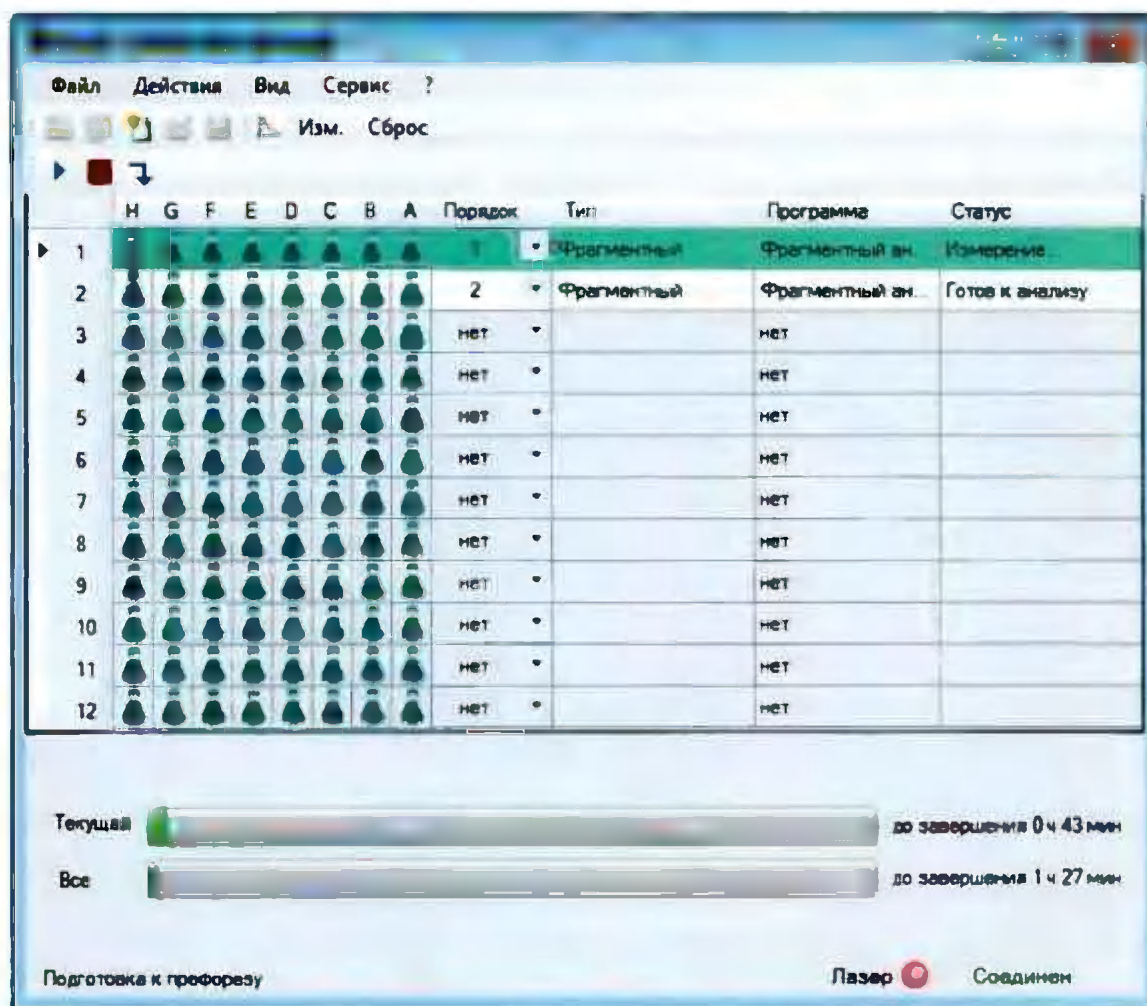


Рисунок 93 – Ход измерений

Примеры результатов фрагментного анализа и анализа последовательности можно посмотреть в Приложениях 4 и 5.

Алгоритмы обработки результатов анализа описаны в руководствах **Фрагментный анализ ДНК** и **Анализ последовательности ДНК**.

Если в процессе проведения анализа требуется завершить анализ в текущем ряду и перейти к анализу следующего ряда, необходимо нажать кнопку меню  **Следующий ряд**.

Если требуется закончить проведения анализа всей плашки, необходимо нажать кнопку меню  **Остановить** или в пункте меню **Действие** выбрать опцию **Остановить**. Главное окно должно принять следующий вид.



Рисунок 94 – Остановка измерений пользователем

Важно! Во время текущего анализа внести изменения в описание плашки невозможно без завершения процесса. Однако можно подготовить проект (описание новой плашки) последующего анализа с помощью программного приложения SeqPILite.

2.6 ПОРЯДОК ПРИВЕДЕНИЯ УСТРОЙСТВА В ИСХОДНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ.

Выполнить команду **Опускание платформы.**

Открыть дверцы и снять планшет с пробамми. При необходимости сохранить планшет с пробамми в холодильнике при температуре около 6 °С.

2.7 ПОРЯДОК ВЫКЛЮЧЕНИЯ УСТРОЙСТВА, СОДЕРЖАНИЕ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ОСМОТРА ИЗДЕЛИЯ ПОСЛЕ ОКОНЧАНИЯ РАБОТЫ.

Для обеспечения сохранности капилляров их концы опускаются в буферный раствор и закрывается клапан устройства заполнения капилляра гелем. Для этого выполнить команды:

Перемещение позиционера на 3 резервуар (с буферным раствором),
Подъем платформы позиционера, Закрывать клапан устройства заполнения капилляра гелем.

Выключить сетевой тумблер на задней панели устройства.

Открыть дверцы и выполнить осмотр. В процессе осмотра необходимо убедиться в отсутствии механических повреждений. Внешние и внутренние поверхности устройства должны быть сухими и чистыми. Случайные капли жидкостей и протечки геля необходимо ликвидировать фильтровальной бумагой.

Закрывать дверцы. Выключить компьютер.

2.8 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИЗДЕЛИЯ ПО НАЗНАЧЕНИЮ.

В устройстве имеются сетевые блоки питания, лазер и высоковольтный источник.

В конструкции устройства предусмотрены технические решения, обеспечивающие невозможность случайного доступа к токоведущим частям и случайного попадания на оператора лазерного луча.

Конструкция устройства по требованиям безопасности соответствует ГОСТ Р51350-99. По способу защиты человека от поражения электрическим током устройство относится к изделиям класса I.

Устройство имеет съемный трехпроводный сетевой шнур с пластмассовой изоляцией и вилкой с заземляющим контактом. Два провода этого сетевого шнура обеспечивают подачу напряжения питания 220 В 50 Гц, а третий провод соединяет корпус прибора и другие металлические токопроводящие части устройства с нулевым, многократно заземленным проводом трехпроводной сети.

Все токоведущие части устройства защищены от случайного прикосновения защитными кожухами.

Цепь питания устройства имеет плавкие предохранители, обеспечивающие отключение устройства в случае его неисправности, приводящей к увеличению тока потребления выше номинального.

В устройстве обеспечено электрическое сопротивление между заземляющим контактом вилки и металлическими частями корпуса не более 0,2 Ом. Таким способом достигается надежное срабатывание плавких предохранителей при случайном соединении токоведущих частей с корпусом устройства.

На передней панели располагается кнопка включения/выключения устройства «ВКЛ/ВЫКЛ» и светодиоды «СЕТЬ», «КВ» И «РАБОТА». Светодиод «СЕТЬ» индицирует включение устройства, светодиод «КВ» -

включение высокого напряжения, светодиод «РАБОТА» - запуск программы и связь с компьютером.

В устройстве реализованы на программном уровне защитные блокировки:

- нельзя включить высокое напряжение при платформе позиционера в нижнем положении;

- нельзя включить высокое напряжение при открытой крышке устройства.

В качестве дополнительных мер электробезопасности рекомендуется производить замену линейки капилляров при выключенном устройстве.

Должны соблюдаться правила техники безопасности, принятые на предприятии, эксплуатирующем устройство.

В качестве мер обеспечения биологической безопасности для сотрудников лаборатории должна быть предусмотрена спецодежда: медицинский халат, шапочка, перчатки и сменная обувь. Одноразовые перчатки подлежат смене при каждой новой операции. Работа без перчаток запрещена. Запрещается располагать личные вещи в рабочей зоне устройства.

Дополнительные сведения должны быть приведены в методических рекомендациях, разработанных для конкретных видов анализа.

Экологическая безопасность проводимых работ обеспечивается за счет отсутствия непосредственного контакта устройства с пациентами (изделию лабораторной медицинской техники, которое не имеет контакта с пациентами, присваивается код ОКП 94 4340).

2.9 ДЕЙСТВИЯ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

При отказах устройства и попадании в аварийные условия эксплуатации рекомендуется выключить устройство, не дожидаясь завершения выполнения рабочего протокола.

Повторное включение выполнять после устранения неисправностей и аварийных условий эксплуатации.

В случае аварийного отключения результаты завершенных ранее анализов сохраняются и пригодны для последующей вторичной обработки.

2.10 ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Возможные неисправности в процессе использования изделия по назначению и рекомендации по действиям при их возникновении приведены в таблице 13.

Таблица 13

Неисправность, ее внешнее проявление и дополнительные признаки	Вероятная причина или место неисправности	Способ устранения
1	2	3
Прибор не включается, зеленый светодиод рядом с выключателем не светится	Неисправность в проводах питания (сетевом комплекте)	Выключить прибор. Отсоединить от питающей сети, проверить исправность сетевого шнура, вилки и розетки комбинированным прибором типа Ц4353. Устранить неисправность
	Перегорели предохранители, установленные внутри прибора	
	Неисправность электронного блока	При исправном сетевом комплекте следует вызвать представителя предприятия-изготовителя
Позиционер не выходит на исходное положение или на заданное положение	Механическая помеха на ходовом валу позиционера	Осмотреть позиционер, удалить механическую помеху на ходовом валу позиционера
	Сбой программы прибора	Выключить и вновь включить прибор и компьютер
	Неисправен позиционер	Сообщить на предприятие-изготовитель
Термостат кассетный не выходит на заданный режим	Не закрыта крышка термостата	Закрыть крышку
	Неисправен термостат	Сообщить на предприятие-изготовитель

1	2	3
Большой шум, выбросы или дрейф нулевой линии	Воздушные пузыри в полимере	Дегазировать или заменить полимер
	Прибор не прогрелся	Дать прогреться 30 мин
Капилляры не заполняются полимером	Засорились капилляры	Промыть капилляры или поставить другую линейку капилляров
	Плохое уплотнение соединительных штуцеров блока заполнения полимером	Проверьте герметичность уплотнительных винтов
Отсутствует ток в капилляре при наличии напряжения	Капилляры заполнены воздухом	Перезаполнить капилляр полимером
	Капилляры или электрод не касаются жидкости	Долить буферный раствор в контейнеры
Отсутствуют пики на электрофореграмме	Низкая концентрация пробы	Увеличить концентрацию пробы
	Концы капилляров не достают до пробы, проба не вводится в капилляр	Увеличить объем пробы

3 ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

3.1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

При проведении технического обслуживания в течение месяца используется спирт этиловый х.ч. в объеме 200 см³.

При постоянной работе устройства периодически (1 раз в месяц) производить в выключенном состоянии удаление пыли и грязи ватным тампоном, смоченном в спирте, с наружных панелей корпусов и из зоны расположения контейнеров и планшета.

Техническое обслуживание оборудования для подготовки проб и ПЭВМ производится в соответствии с собственными руководствами по эксплуатации.

3.2 КОНСЕРВАЦИЯ

Для длительного хранения устройство должно быть подготовлено в следующей последовательности.

3.2.1 ПРОМЫВКА КАПИЛЛЯРОВ

В устройство заполнения капилляров гелем установить контейнер с водой. Открыть клапан. Запустить двигатель со скоростью 10 шагов в секунду на нижнюю позицию.

Заполнить плунжерный насос водой. Для этого закрыть клапан и запустить двигатель со скоростью со скоростью 10 шагов в секунду на верхнюю позицию.

Заполнить капилляры водой при нижнем положении платформы позиционера. Для этого выполнить быстрое движение поршня насоса со скоростью 10 шагов в секунду в нижнюю позицию.

При необходимости повторить выполнение последней команды несколько раз до выдавливания геля и появления нескольких капель воды на конце каждого капилляра в электродном узле.

3.2.2 Продувка и просушка капилляров

В устройство заполнения капилляров гелем установить пустой контейнер. Открыть клапан. Запустить двигатель со скоростью 10 шагов в секунду в нижнюю позицию.

Заполнить плунжерный насос воздухом. Для этого закрыть клапан и запустить двигатель со скоростью 10 шагов в секунду в верхнюю позицию.

Продуть капилляры при нижнем положении платформы позиционера. Для этого выполнить быстрое движение поршня насоса в нижнюю позицию. Наблюдать завершение выдавливание воды из капилляров. Повторить выполнение запуска двигателя на верхнюю позицию и в нижнюю позицию в автоматическом режиме 20 раз для просушки капилляров.

4 ТЕКУЩИЙ РЕМОНТ УСТРОЙСТВА

4.1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

К текущему ремонту относится ремонт, осуществляемый в процессе эксплуатации для гарантированного обеспечения работоспособности устройства и состоящий в замене или восстановлении его отдельных частей и их регулировании.

Текущий ремонт устройства осуществляется квалифицированными специалистами предприятия-изготовителя.

Обнаружение неисправностей производится общепринятыми методами отыскания неисправностей в радиоэлектронной аппаратуре.

Устранение неисправностей производится ремонтом вышедших из строя деталей и сборочных единиц и заменой их годными.

После устранения неисправностей производится контроль в соответствии с разделом 3, затем можно приступить к работе.

4.2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Текущий ремонт устройства осуществляется квалифицированными специалистами предприятия-изготовителя.

При проведении текущего ремонта необходимо соблюдать требования "Правил технической эксплуатации и безопасности обслуживания электроустановок промышленных предприятий".

5 ХРАНЕНИЕ

5.1 ПРАВИЛА ПОСТАНОВКИ УСТРОЙСТВА НА ХРАНЕНИЕ

Постановка устройства на хранение выполняется после его консервации в соответствии с п. 2.2.15.

Для длительного хранения и транспортирования необходимо выполнить упаковку согласно п. 1.1.8.

5.2 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ ИЗДЕЛИЯ

Гарантийный срок хранения – 6 месяцев со дня изготовления устройства.

Устройство в упаковке и без упаковки может храниться при температуре воздуха от 5 до 40 °С и относительной влажности не более 80 % при температуре 25 °С.

В помещениях для хранения не должно быть пыли, паров кислот, щелочей, агрессивных газов и других вредных примесей, вызывающих коррозию.

6 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Транспортирование устройства производится всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с требованиями ГОСТ Р 50444-92 и правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Условия транспортирования устройства - УХЛ 5 по ГОСТ 15150-69.

Для обеспечения сохранности транспортная маркировка устройства содержит предупредительные надписи:

- «Хрупкое. Осторожно»;
- «Беречь от влаги»;
- «Верх».

Вид отправки – единичное изделие.

7 УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизации подвергается устройство после окончания срока эксплуатации, восстановление которого технически и экономически нецелесообразно.

Утилизация устройства не создает экологической опасности.

Утилизация устройства может быть выполнена фирмами, которые специализируются на утилизации (переработке) оргтехники и радиоэлектронного оборудования.

ПРИЛОЖЕНИЯ

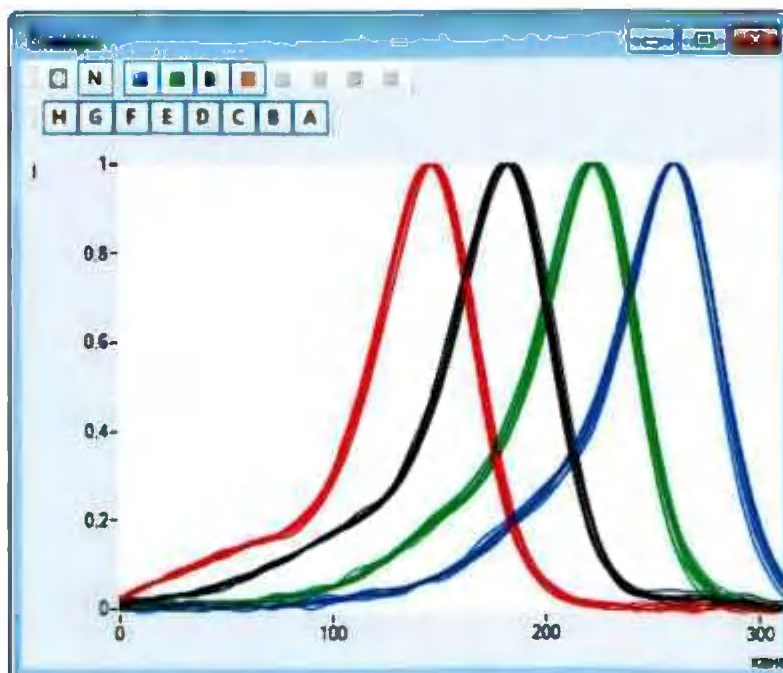
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

КОМПЛЕКТ ЗИП, ПОСТАВЛЯЕМЫЙ К УСТРОЙСТВУ

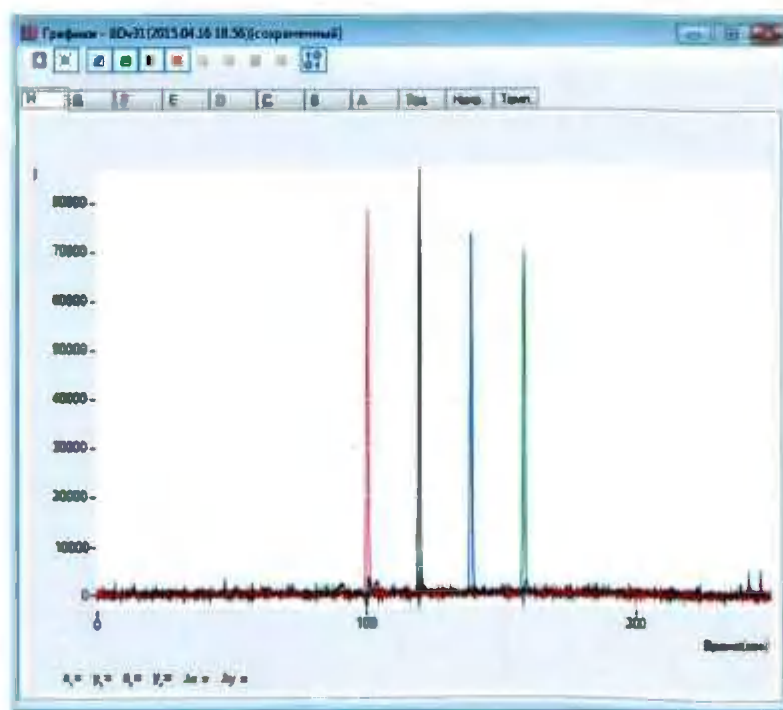
№ п/п	Наименование	Количество, шт.
1	Держатель 96-луночного планшета	2
2	Фиксатор 96-луночного планшета или стрипов	2
3	Антииспаритель для 96-луночного планшета	2
4	Емкости для буфера, воды и слива	1
5	Антииспаритель для емкостей буфера, воды и слива	4
6	Емкость анодного (+) буфера (бакпечатка)	2
7	Трубка блока заполнения полимером (от емкости с полимером до блока)	1
8	Трубка блока заполнения полимером (от блока до емкости с анодным буфером)	1
9	Заглушка	1
10	Флакон (8 мл) для полимера с крышкой с отверстием под трубку блока заполнения полимером	2
11	Флакон для полимера с крышкой с отверстием под трубку сброса жидкости при промывке плунжера	2
12	Шприц, 25 мл	1
13	Кольцо резиновое черное малое	2
14	Кольцо плунжера	1
15	Пинцет	1
16	Ключи X на Y	1
17	Баллончик со сжатым воздухом	1

СПЕКТРАЛЬНЫЕ КАЛИБРОВКИ

1) 4-цветный спектральный калибратор

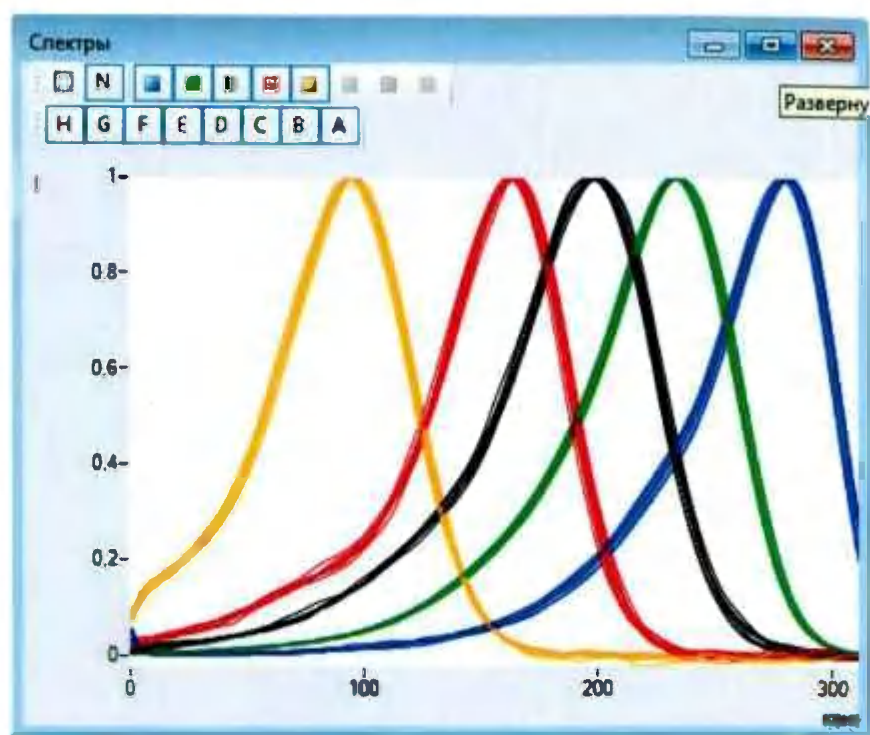


а. Спектрограмма

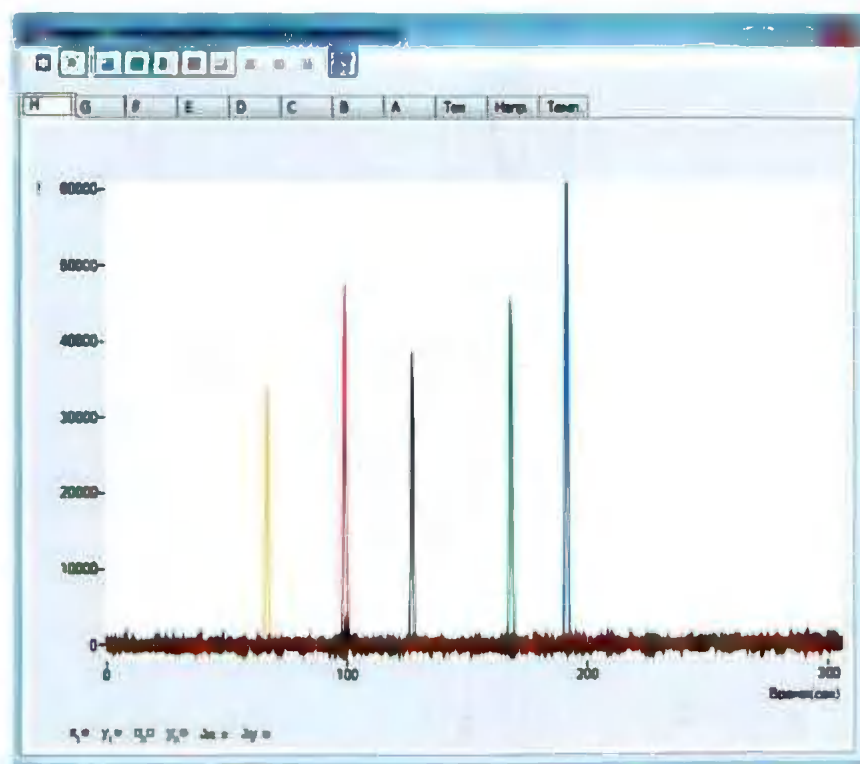


Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

2) 5-цветный спектральный калибратор

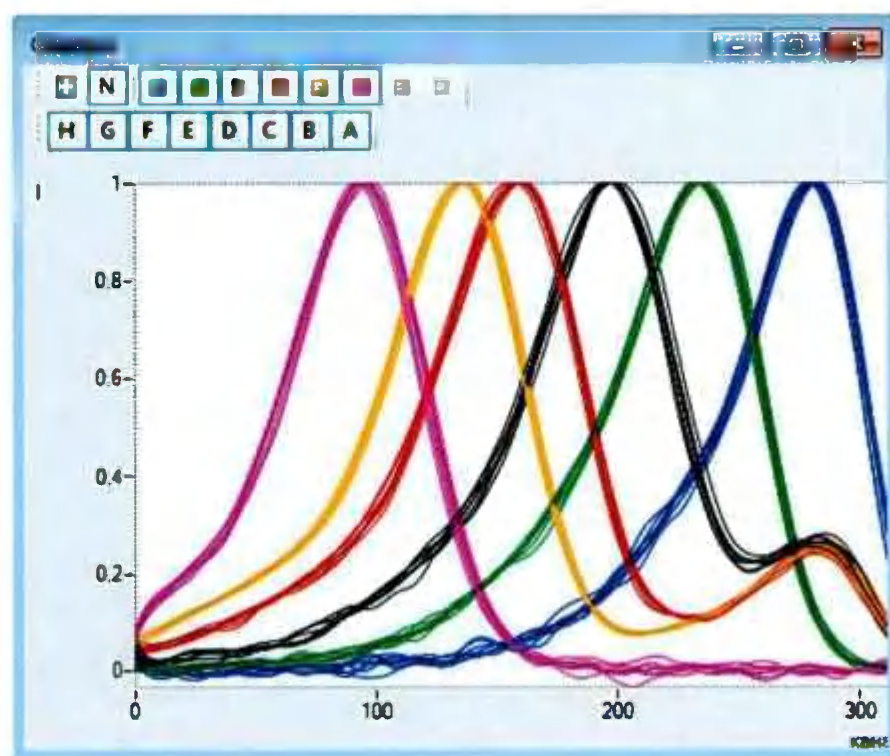


а. Спектрограмма

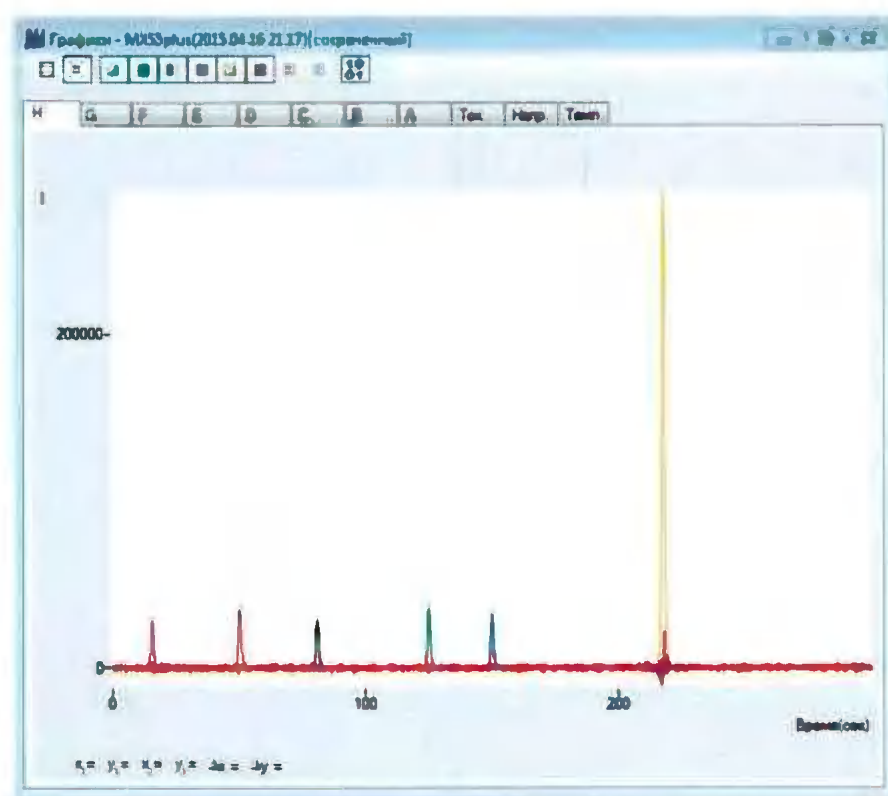


Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

3) 6-цветный спектральный калибратор

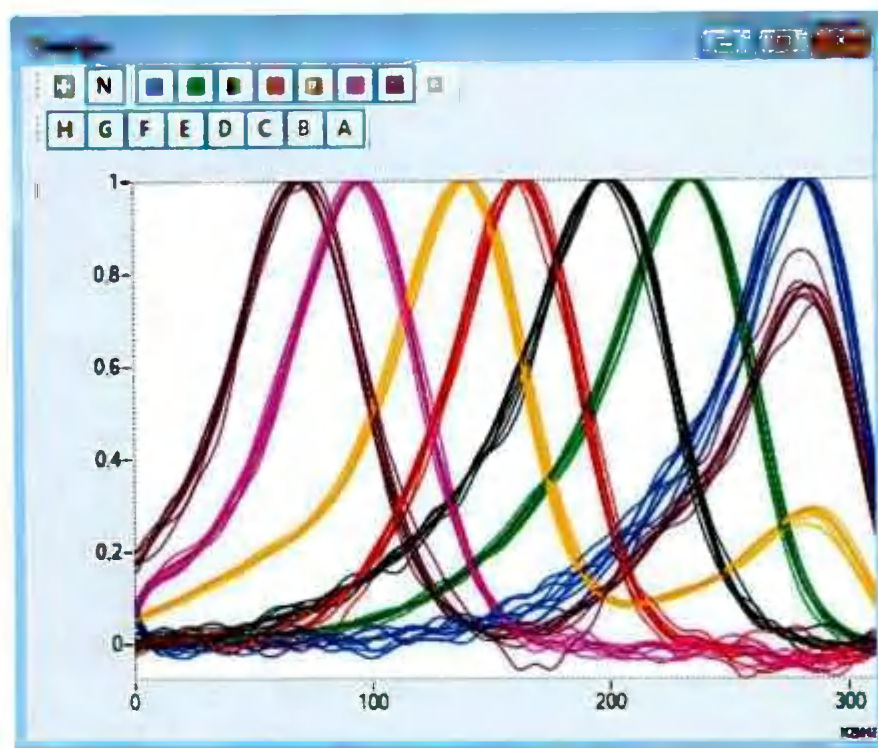


а. Спектрограмма

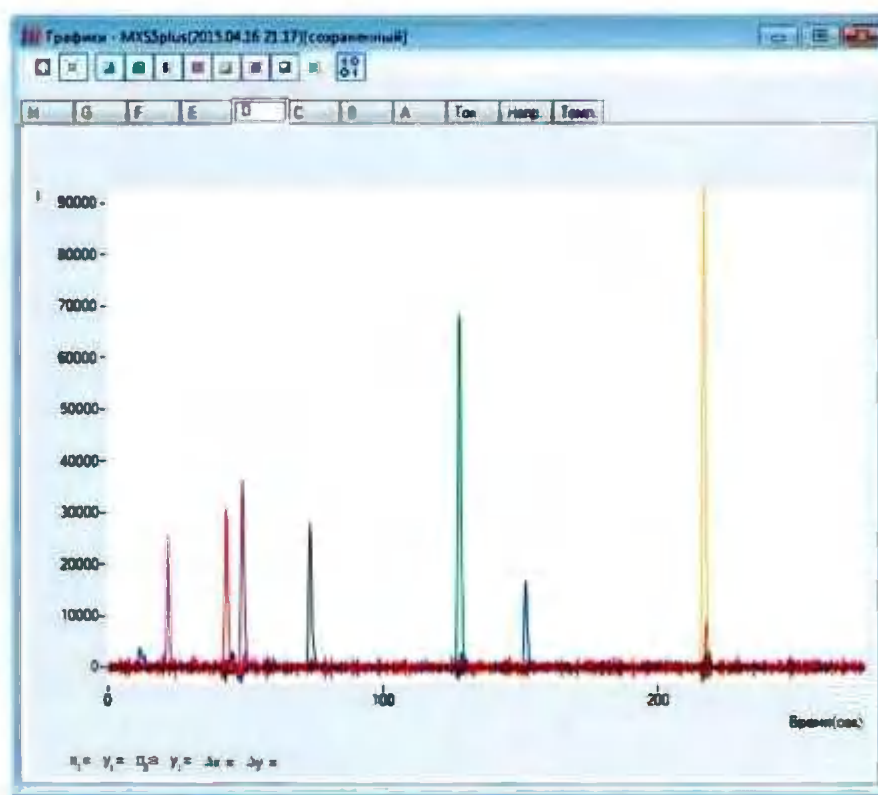


б. Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

4) 7-цветный спектральный калибратор



а. Спектрограмма



в. Электрофореграмма разделения флуоресцентно меченных фрагментов

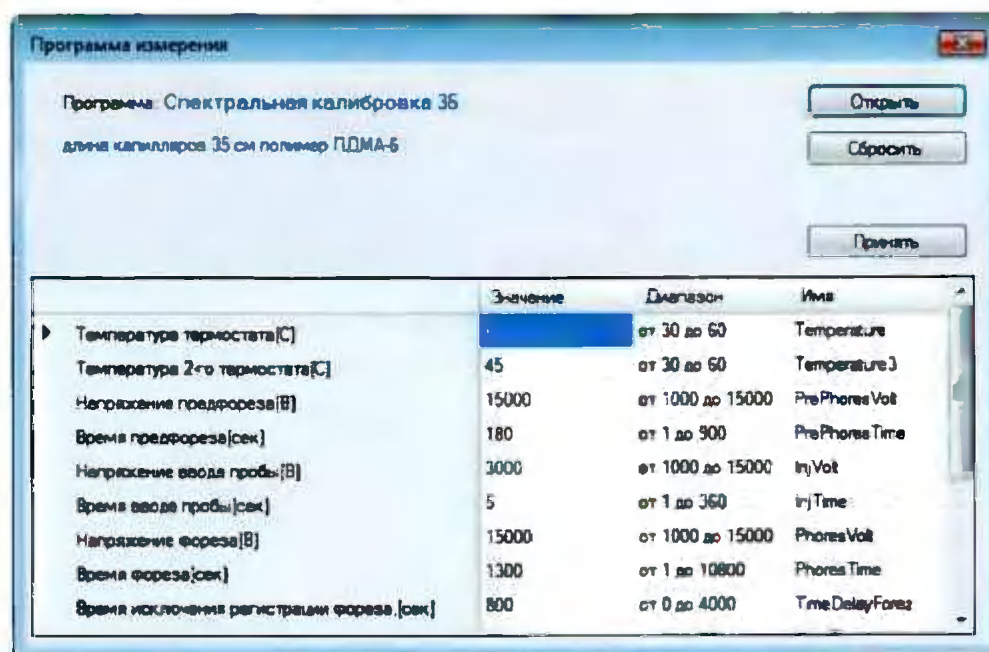
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.

СТАНДАРТНЫЕ ПРОТОКОЛЫ «ПРОГРАММЫ ИЗМЕРЕНИЯ»

В зависимости от длины капилляров, типа используемого полимера и вида проводимого анализа электрофорез проводится при следующих параметрах:

1) Спектральная калибровка.

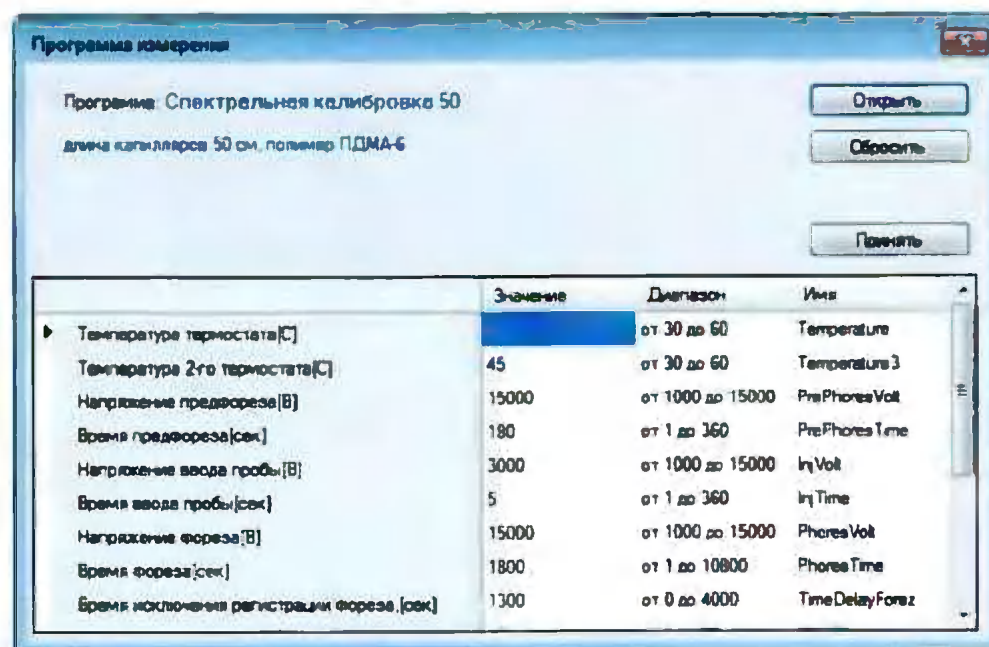
Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 35 см



	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]		от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение префореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhores Volt
Время префореза[сек]	180	от 1 до 900	PrePhores Time
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	Inj Volt
Время ввода пробы[сек]	5	от 1 до 360	Inj Time
Напряжение фореза[В]	15000	от 1000 до 15000	Phores Volt
Время фореза[сек]	1300	от 1 до 10800	Phores Time
Время исключения регистрации фореза [сек]	800	от 0 до 4000	Time Delay Forez

2) Спектральная калибровка.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 50 см



	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]		от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение префореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhores Volt
Время префореза[сек]	180	от 1 до 360	PrePhores Time
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	Inj Volt
Время ввода пробы[сек]	5	от 1 до 360	Inj Time
Напряжение фореза[В]	15000	от 1000 до 15000	Phores Volt
Время фореза[сек]	1800	от 1 до 10800	Phores Time
Время исключения регистрации фореза [сек]	1300	от 0 до 4000	Time Delay Forez

3) Фрагментный анализ. Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 35 см

Программа: Фрагментный анализ 35 см

длина капилляров 35 см, полимер ПДМА-6
набор реагентов COVDYS Plus

Открыть

Сбросить

Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]	50	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature3
Напряжение предфореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhoresVolt
Время предфореза[сек]	180	от 1 до 900	PrePhoresTime
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	InjVolt
Время ввода пробы[сек]	3	от 1 до 360	InjTime
Напряжение фореза[В]	10500	от 1000 до 15000	PhoresVolt
Время фореза[сек]	3000	от 1 до 10800	PhoresTime
Время исключения регистрации фореза [сек]	800	от 0 до 4000	TimeDelayForez

4) Фрагментный анализ. Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 50 см

Программа измерения

Программа: Фрагментный анализ 50 см

длина капилляров 50 см, полимер ПДМА-6
набор реагентов COVDYS Plus

Открыть

Сбросить

Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата[С]	50	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата[С]	45	от 30 до 60	Temperature3
Напряжение предфореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhoresVolt
Время предфореза[сек]	180	от 1 до 360	PrePhoresTime
Напряжение ввода пробы[В]	3000	от 1000 до 15000	InjVolt
Время ввода пробы[сек]	3	от 1 до 360	InjTime
Напряжение фореза[В]	15000	от 1000 до 15000	PhoresVolt
Время фореза[сек]	3600	от 1 до 10800	PhoresTime
Время исключения регистрации фореза [сек]	1200	от 0 до 4000	TimeDelayForez

5) Анализ последовательности.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 35 см

Программа: Сиквенсный анализ 35 см
длина капилляров 35 см, полимер ПДМА-6

Открыть
Обрывать
Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата [C]	60	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата [C]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение префореза [В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhores Volt
Время префореза [сек]	180	от 1 до 360	PrePhores Time
Напряжение ввода пробы [В]	1800	от 1000 до 15000	Inj Volt
Время ввода пробы [сек]	30	от 1 до 360	Inj Time
Напряжение фореза [В]	10500	от 1000 до 15000	Phores Volt
Время фореза [сек]	5000	от 1 до 10800	Phores Time
Время исключения регистрации фореза [сек]	400	от 0 до 4000	Time Delay Forez

6) Анализ последовательности.

Полимер – ПДМА-6, длина капилляров – 50 см

Программа измерения

Программа: Сиквенсный анализ 50 см
длина капилляров 50 см, полимер ПДМА-6

Открыть
Обрывать
Принять

	Значение	Диапазон	Имя
Температура термостата [C]	50	от 30 до 60	Temperature
Температура 2-го термостата [C]	45	от 30 до 60	Temperature 3
Напряжение префореза [В]	15000	от 1000 до 15000	PrePhores Volt
Время префореза [сек]	180	от 1 до 360	PrePhores Time
Напряжение ввода пробы [В]	1800	от 1000 до 15000	Inj Volt
Время ввода пробы [сек]	30	от 1 до 360	Inj Time
Напряжение фореза [В]	10500	от 1000 до 15000	Phores Volt
Время фореза [сек]	5000	от 1 до 10800	Phores Time
Время исключения регистрации фореза [сек]	800	от 0 до 4000	Time Delay Forez

ПРИЛОЖЕНИЕ 4.

ПРИМЕРЫ РЕЗУЛЬТАТОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ «УСТРОЙСТВА СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК ПО ТУ 9443-005-04699534-2013, С ПРИНАДЛЕЖНОСТЯМИ»

П4.1 ПРИМЕРЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА В КРИМИНАЛИСТИКЕ

Пример использования устройства для определения отцовства с использованием набора реагентов "PowerPlex Fusion" («Промега», США) представлен на рисунках 1–4:

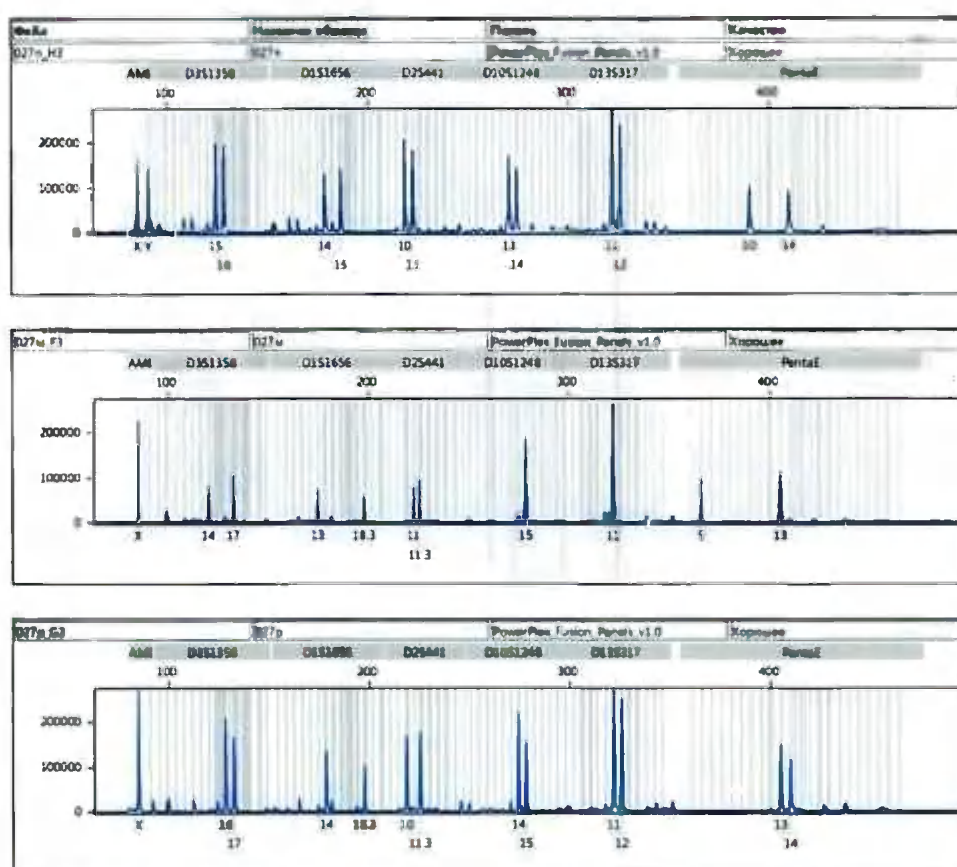


Рисунок 1 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу FAM, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

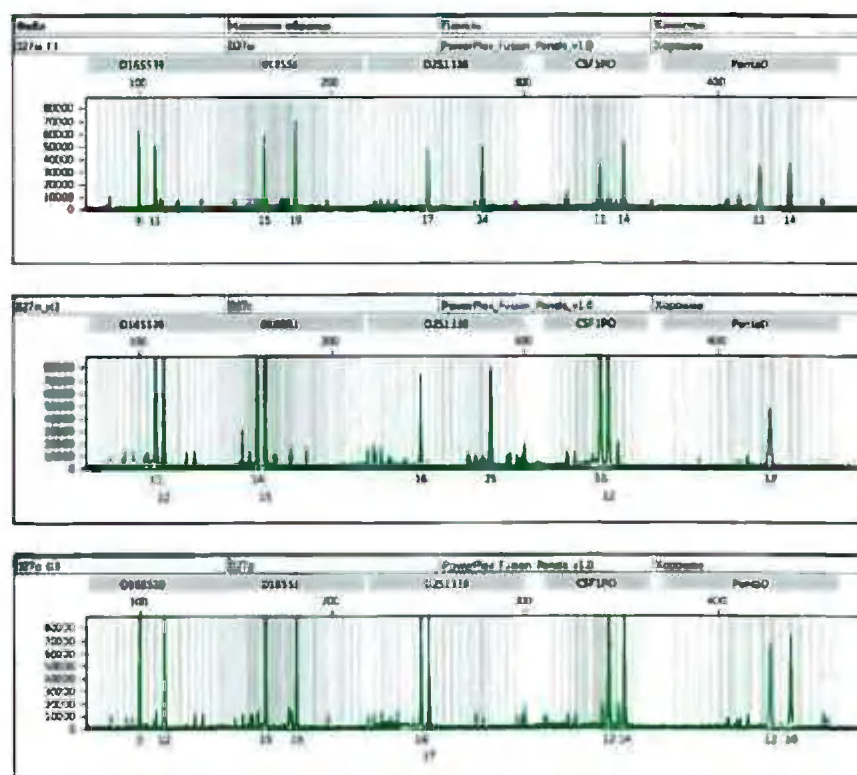


Рисунок 2 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу R6G, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

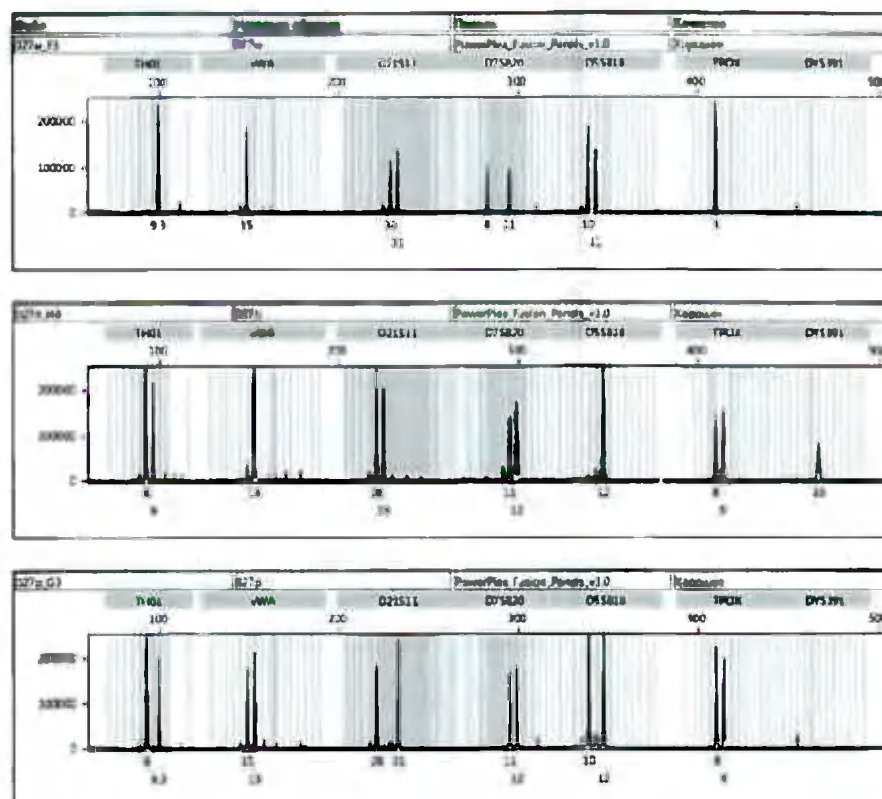


Рисунок 3 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу TAMRA, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

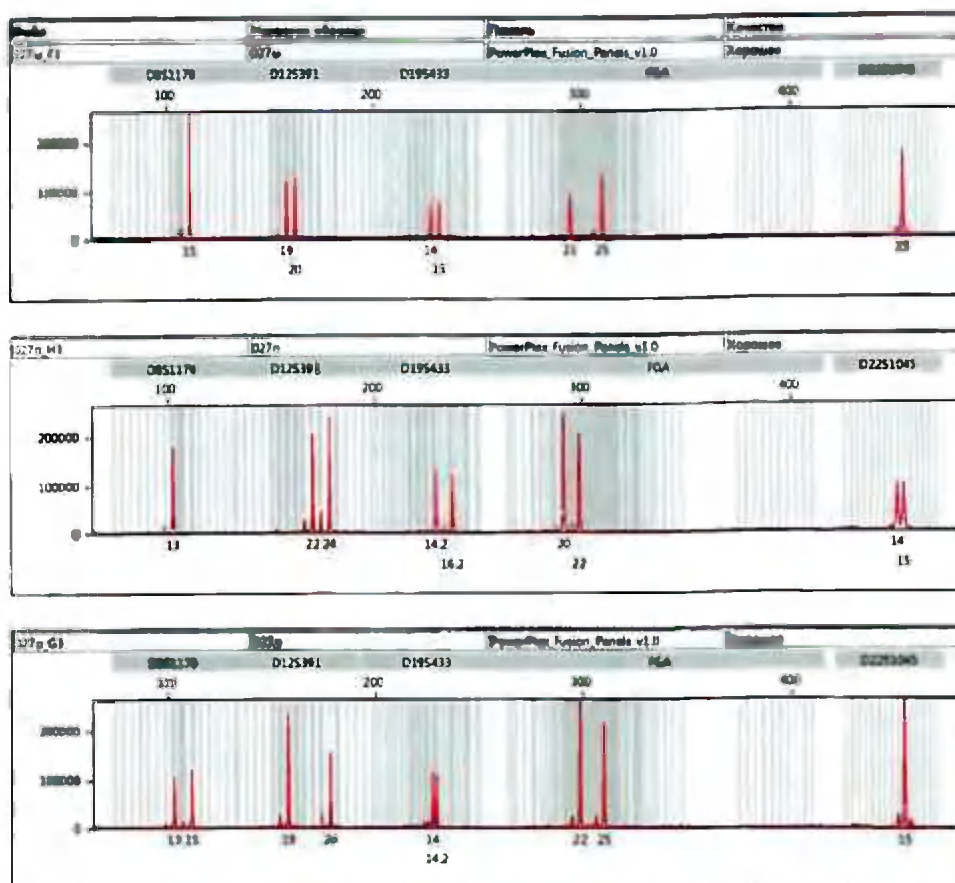


Рисунок 4 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по каналу ROX, полученных с ДНК отца (верх), ребенка (середина) и матери (низ)

Пример использования прибора для определения родства по мужской линии с использованием набора реагентов COrDiS (ООО «Гордиз») представлен на рисунках 5– 6:

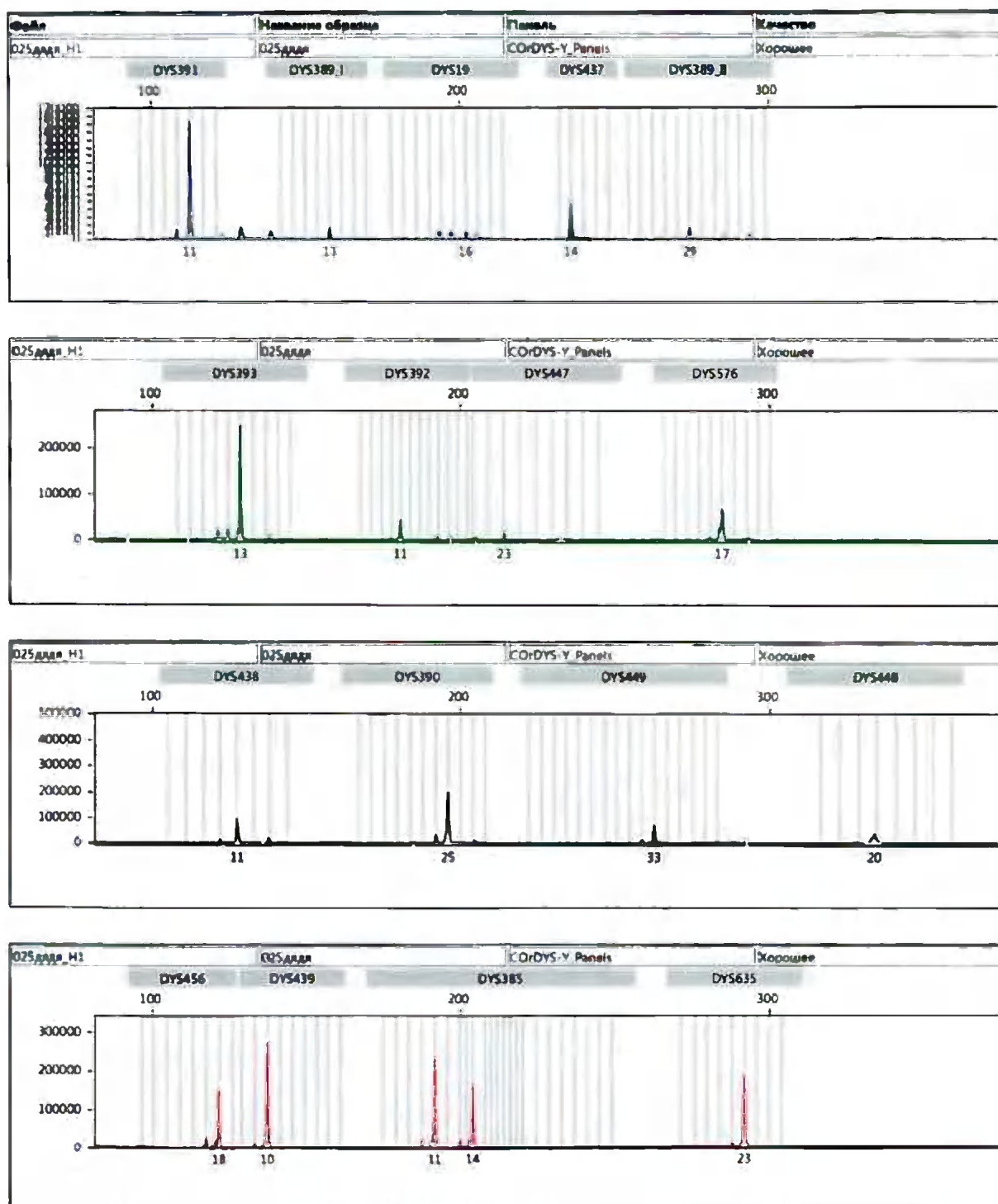


Рисунок 5 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации, полученных с ДНК дяди

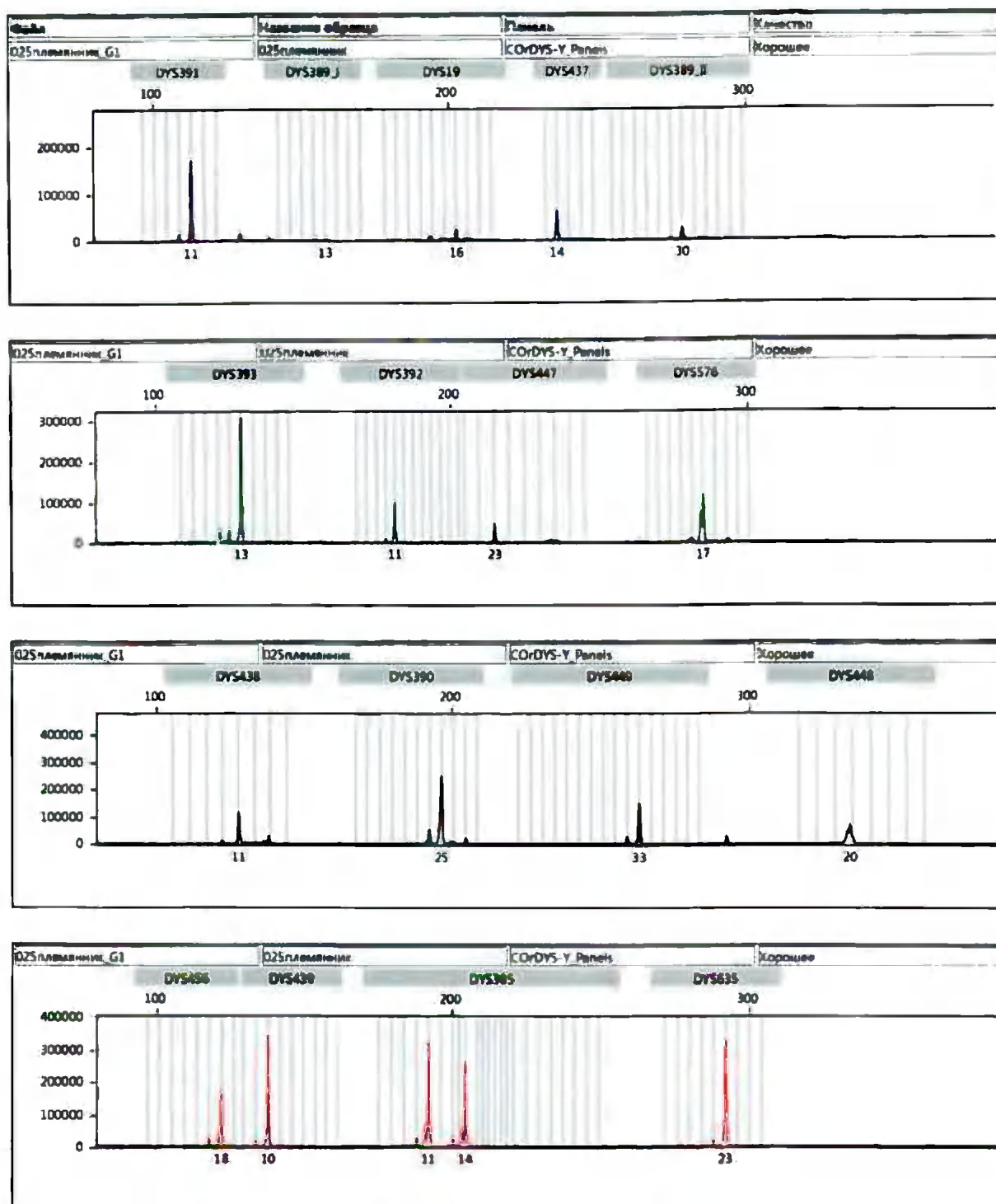


Рисунок 6 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации, полученных с ДНК племянника

Результаты, приведенные на рисунках 1 – 6, получены на «Устройстве секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» (сер.№ прибора 101401) и любезно предоставлены заведующей кафедрой судебной медицины и правоповедения Оренбургского государственного

медицинского университета к.м.н. Е.Ю. Калининой и врачом с.м.э ГУЗ Оренбургское бюро судебно-медицинской экспертизы А.Б. Прокофьевым.

Пример использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для демонстрации динамического диапазона анализа образцов ДНК человека с использованием набора "COrDIS Plus" (ФСР 2012/13548 от 25 июня 2012 г.) представлен на рисунке 7. Данные получены на приборе сер.№ 101403 и любезно предоставлены генеральным директором ООО «Гордиз» к.б.н. В.А. Ореховым.

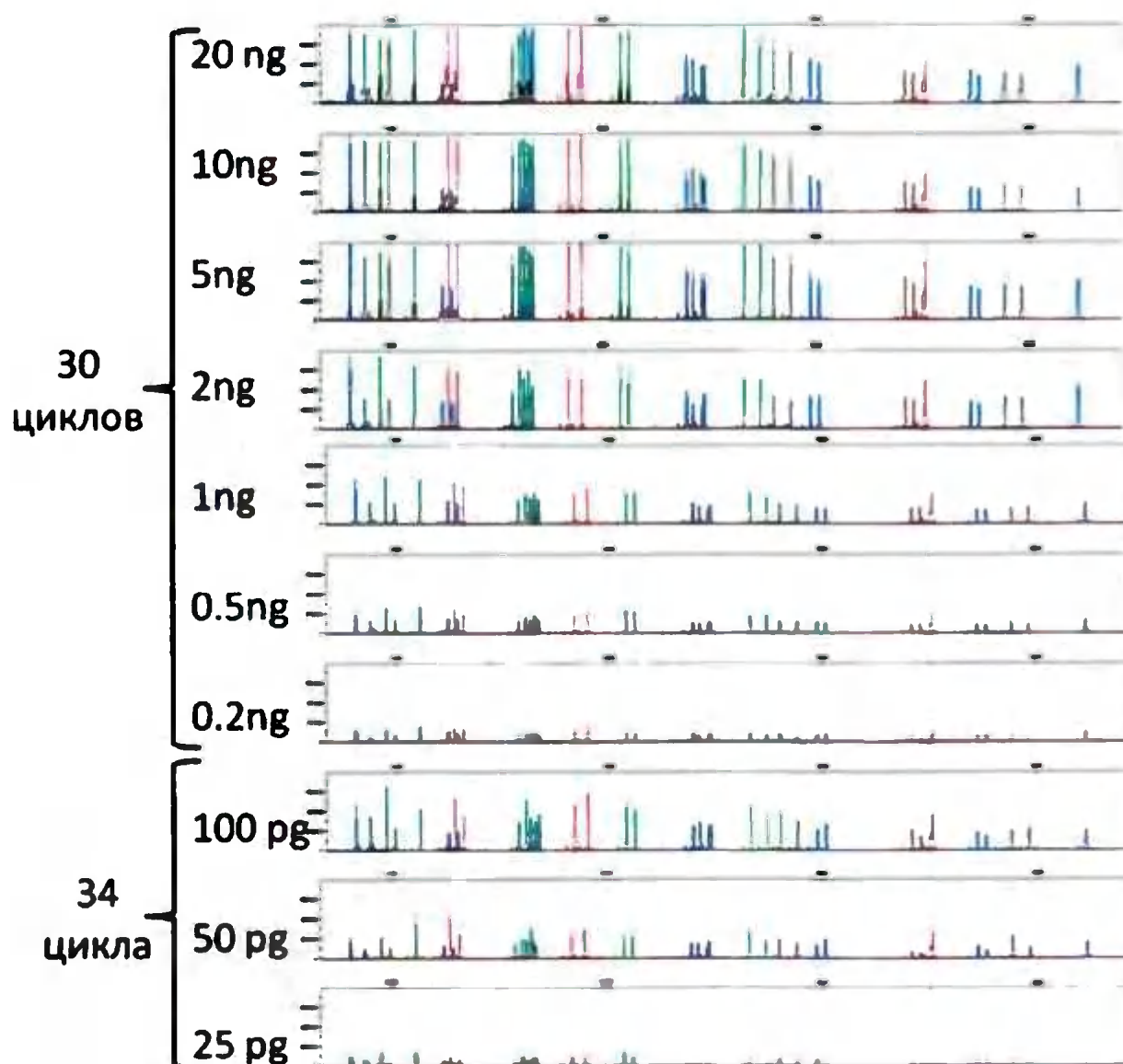


Рисунок 7 - Динамический диапазон анализа образцов ДНК человека с использованием набора "COrDIS Plus"

П4.2 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА В ЭПИДЕМИОЛОГИИ

Пример использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для генетического типирования возбудителя сибирской язвы представлены на рисунках 1 –4. Данные получены на приборе сер.№ 101402 с помощью набора реагентов "ОМ-Сибирская язва-Генотип" (ЗАО «Синтол») и любезно предоставлены научным сотрудником ЗАО «Синтол» Ю. Монаховой.

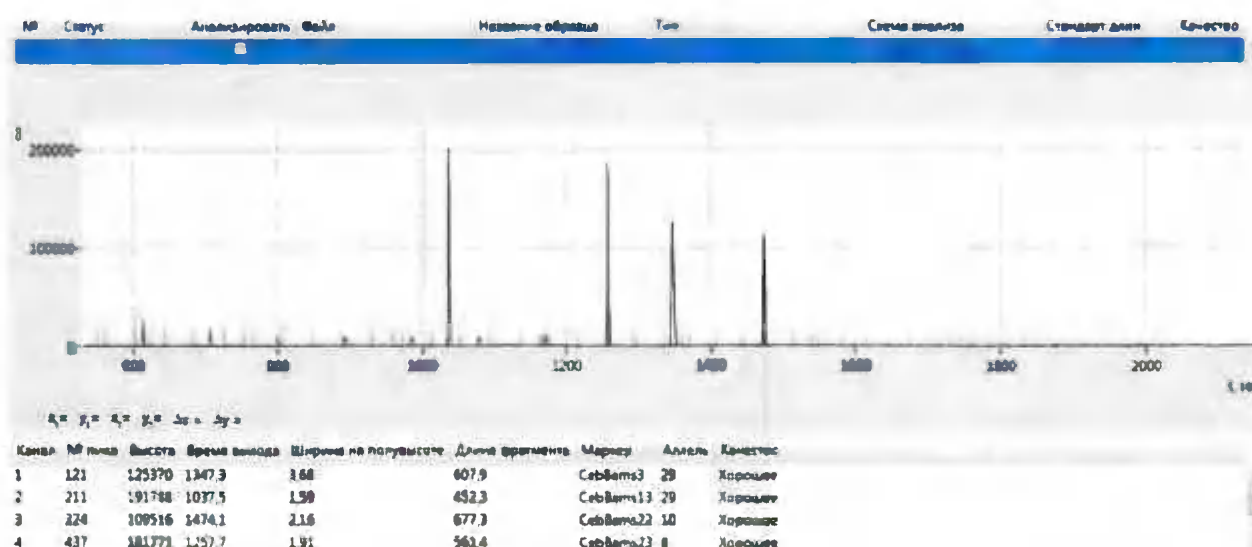


Рисунок 1 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам CebBams3, CebBams13, CebBams22, CebBams23, полученных с ДНК исследуемого штамма сибирской язвы

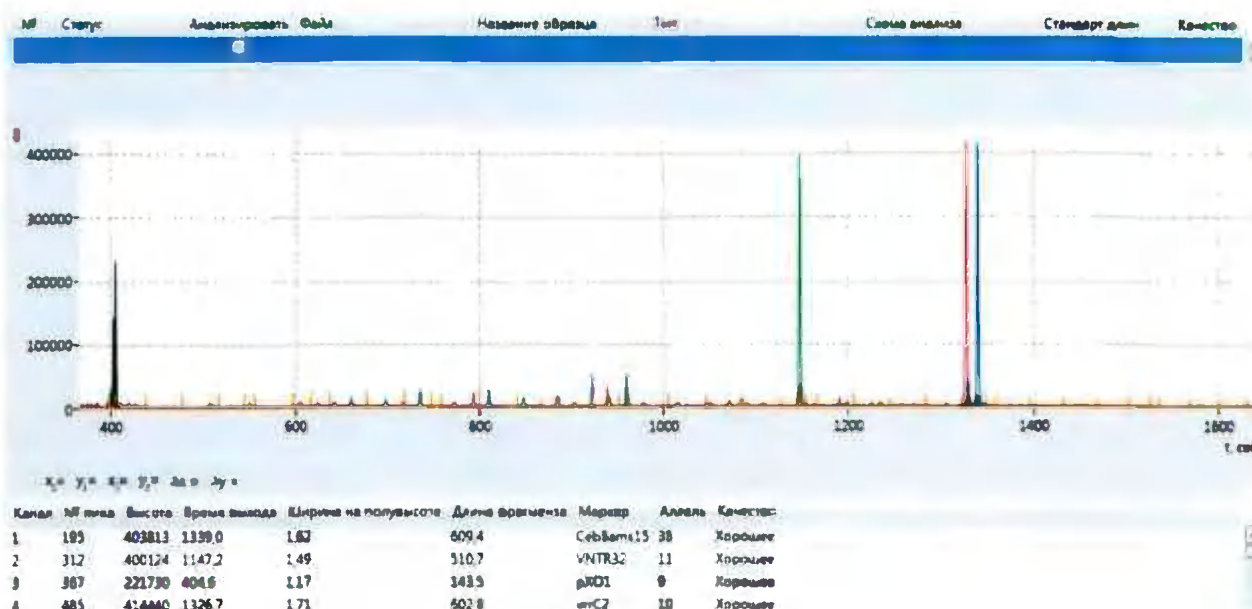


Рисунок 2 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам CebBams15, VNTR32, pXO1, vtrC2, полученных с ДНК исследуемого штамма сибирской язвы

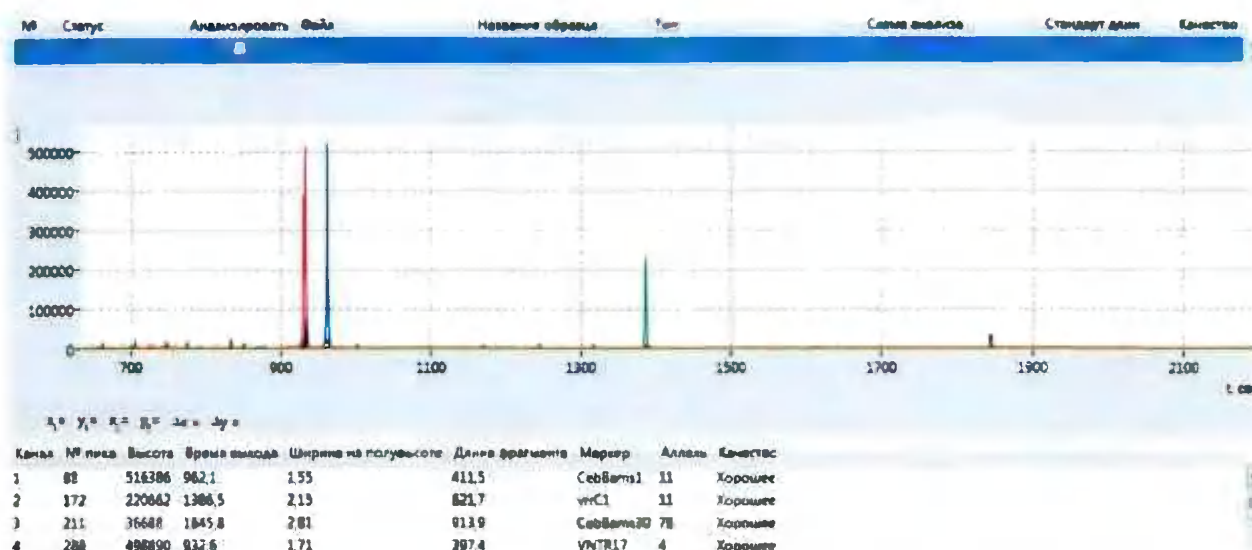


Рисунок 3 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам CebBams1, vtrC1, CebBams30, VNTR17, полученных с ДНК исследуемого штамма сибирской язвы



Рисунок 4 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам VNTR16, vtrA, vtrB1, CL33, полученных с ДНК контрольного штамма сибирской язвы

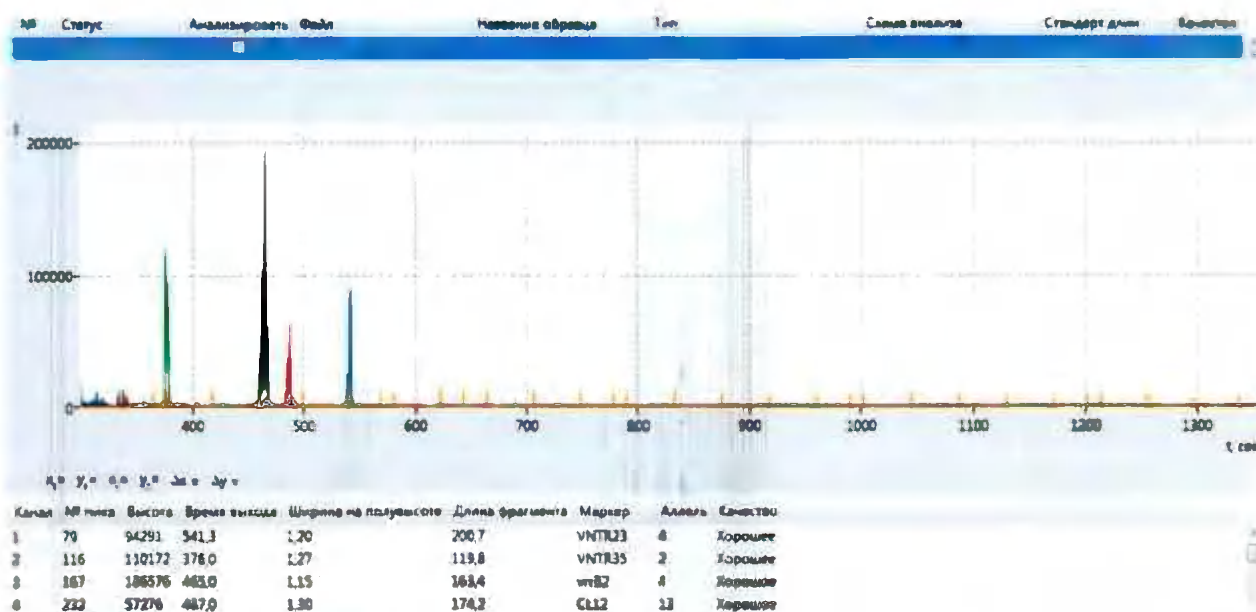


Рисунок 5 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации по локусам VNTR23, VNTR35, vtrB2, CL12, полученных с ДНК контрольного штамма сибирской язвы

П4.3 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА В ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Примеры использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для выявления анеуплоидий представлены на рисунках 1–2. Данные получены на приборе сер.№ 101404 и любезно предоставлены ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной генетики человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова к.б.н. Е.Б. Кузнецовой.

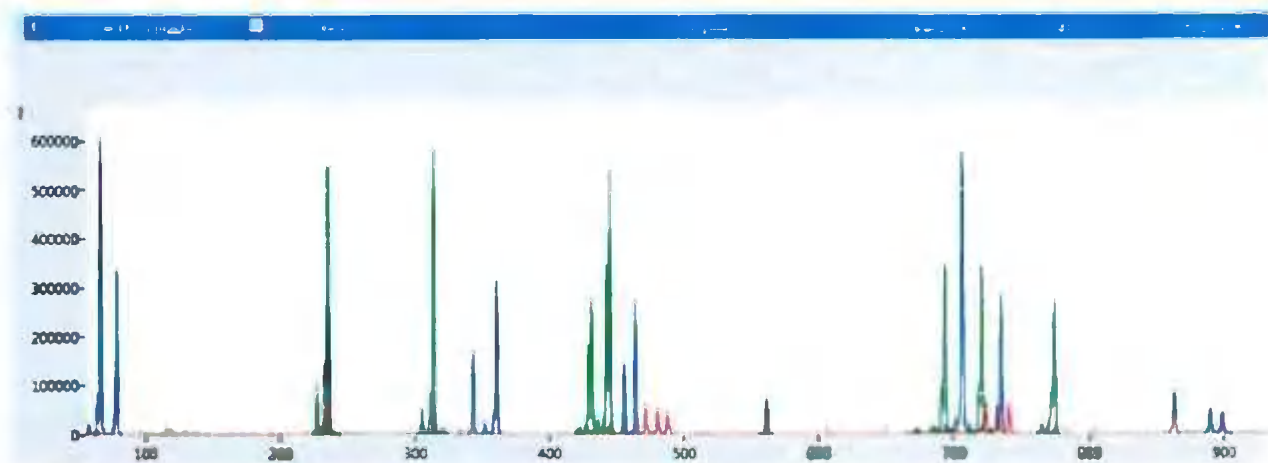


Рисунок 1 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации исследуемой ДНК человека. Пол - XXУ. Выявлена анеуплоидия для всех исследуемых хромосом по анализируемым маркерам D13S742, D18S391, D18S535, D21S11, IFNAR, D13S634, D18S386, D21S1411, AMG

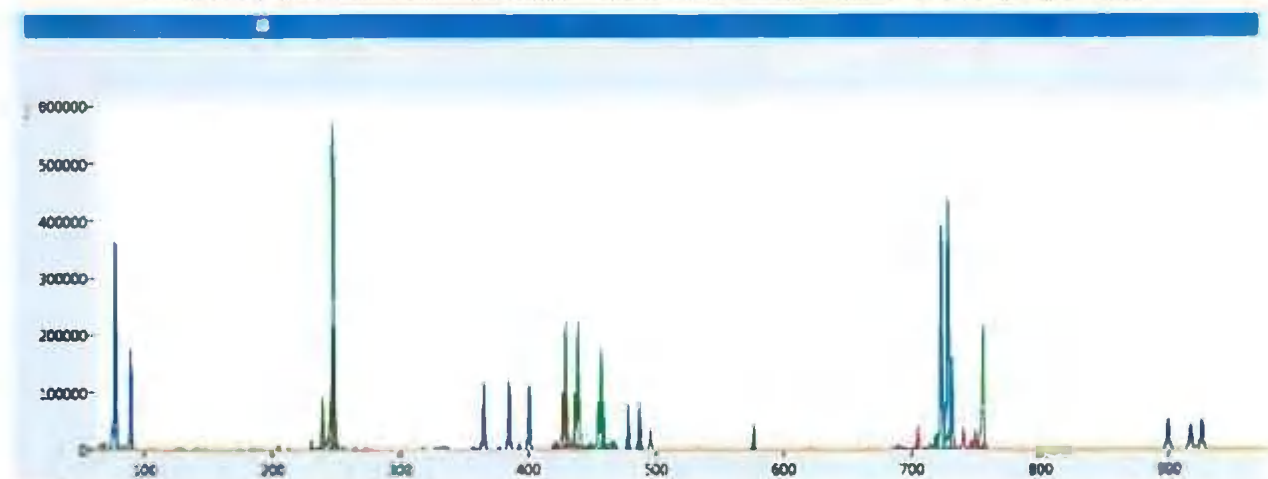


Рисунок 2 - Электрофореграмма разделения продуктов амплификации исследуемой ДНК человека. Пол мужской (AmelX+, AmelY+). Для локусов D13S742, D18S391, D18S535, D21S11, IFNAR показано наличие трех аллелей исследуемого маркера что свидетельствует о наличии анеуплоидии

Примеры использования «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» для выявления мутаций,

вызывающих синдром Ретта представлены на рисунках 3 и 4. Данные получены на приборе сер.№ 101404 и на приборе ABIPrism 3500 и любезно предоставлены ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной генетики человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова к.б.н. Е.Б. Кузнецовой.

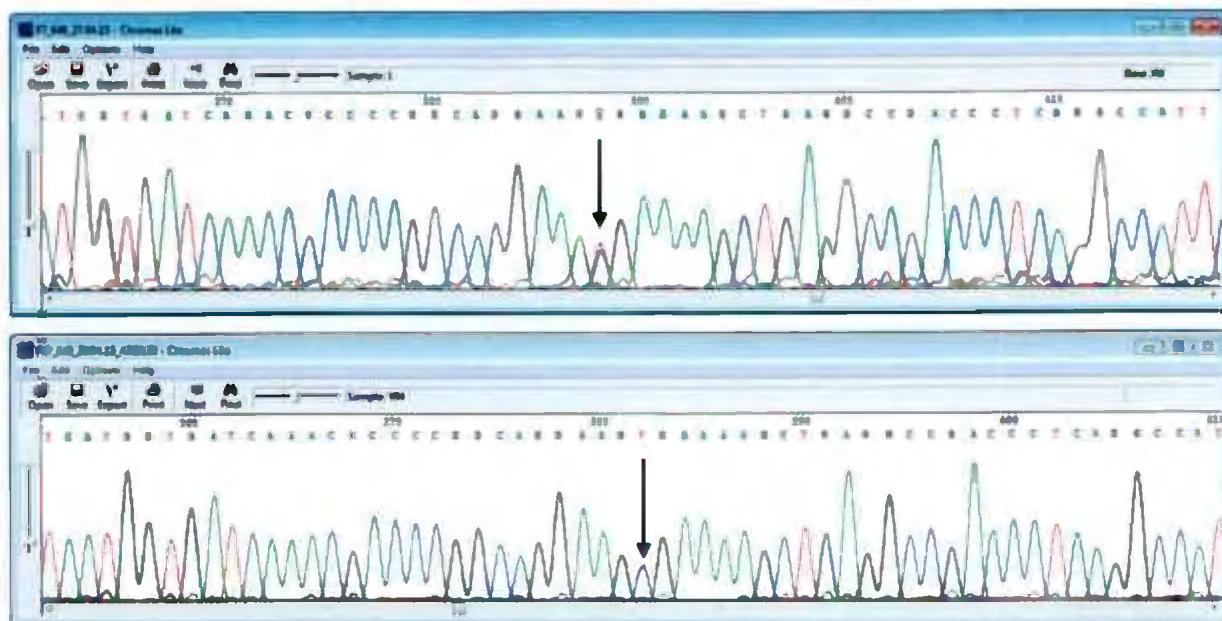


Рисунок 3 - Замена C>T в положении p.R255X:
 верх — Электрофореграмма, полученная с помощью Устройства,
 низ — Электрофореграмма, полученная на приборе ABIPrism 3500.

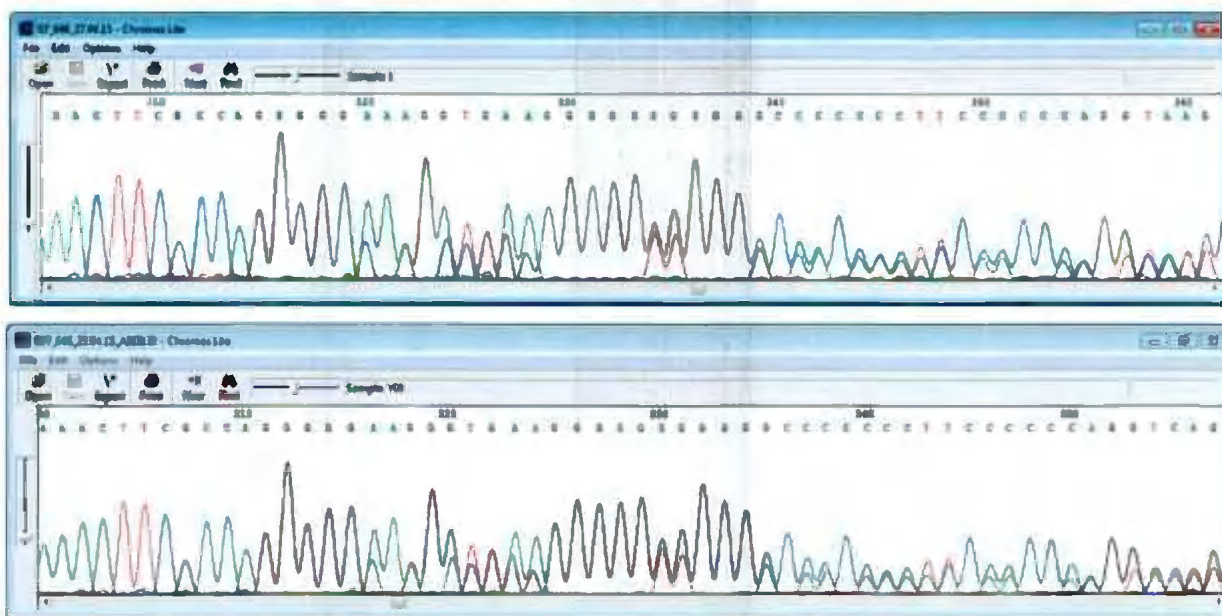


Рисунок 4 - Делеция del C в положении p.G232 fs, что ведет к появлению множественных двойных пиков:
 верх — Электрофореграмма, полученная с помощью Устройства,
 низ — Электрофореграмма, полученная на приборе ABIPrism 3500.

П4.4 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА ДЛЯ ПАСПОРТИЗАЦИИ СОРТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Пример использования прибора сер. № 101403 для генетической паспортизации сортов Сорго представлен на рисунке 1. Данные любезно предоставлены руководителем лаборатории анализа геномов Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии д.б.н. И.А. Шиловым и старшим научным сотрудником к.б.н. Ю.В. Анискиной.

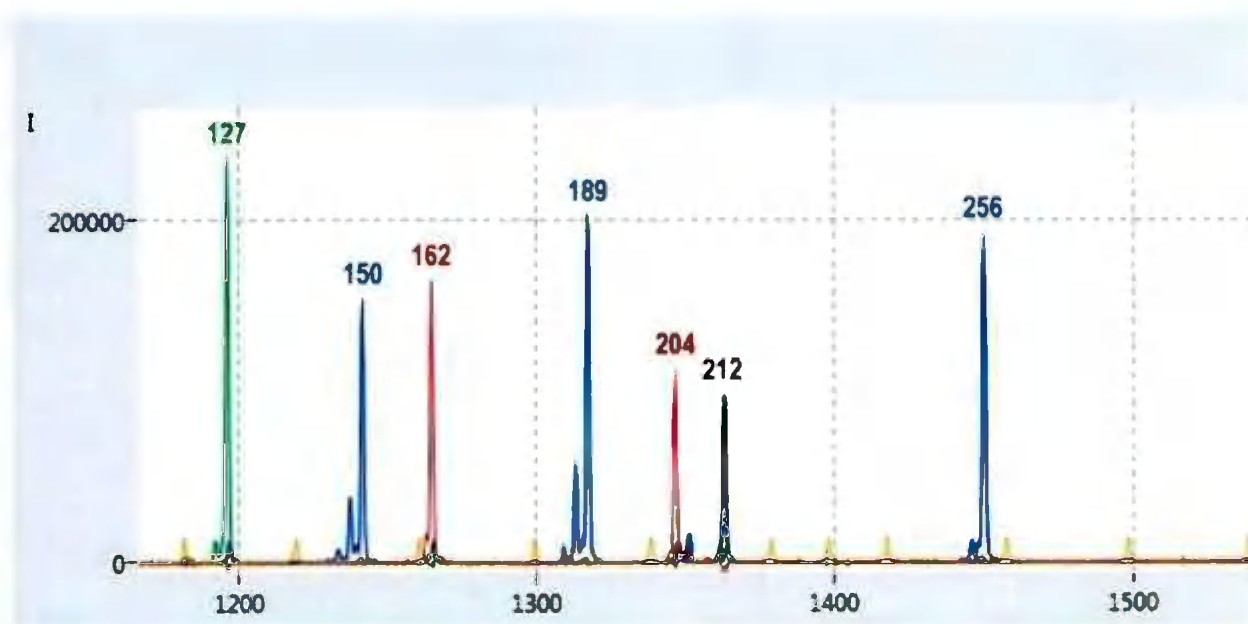


Рисунок 1 - Генетический профиль сорта сорго Сахарное 20

П4.5 ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УСТРОЙСТВА ДЛЯ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Пример результата анализа последовательности синтетической конструкции BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard на приборе сер.№ 101405 представлен на рисунке 1. Совпадение с данными GanBank при прочтении 777 нуклеотидов составляет 99 %. Данные любезно предоставлены ведущим научным сотрудником Центра коллективного пользования научным оборудованием ВНИИСБ «Биотехнология», к.б.н. Благодатских К.А.

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?seqId=35384602

Download - GenBank Graphics

Synthetic construct BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard sequence

Sequence ID: [gb|AY390769.1](#) Length: 1000 Number of Matches: 1

Range 1: 5 to 775 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1424 bits(771)	0.0	773/774(99%)	0/774(0%)	Plus/Plus
Query 4	CCCTGCAGGCGTGGCTGCAGCCTGGTTATGATTACTGTTAATGTTGCTACTACTGCTGAC	63		
Sbjct 6	CCCTGCAGGCGTGGCTGCAGCCTGGTTATGATTACTGTTAATGTTGCTACTACTGCTGAC	65		
Query 64	AATGCTGCTGCTGCTTCTCTTCACTGCTCCACTTCTCTTGAACAATGCCCGCTCATGCTT	123		
Sbjct 66	AATGCTGCTGCTGCTTCTCTTCACTGCTCCACTTCTCTTGAACAATGCCCGCTCATGCTT	125		
Query 124	CTTTTGCTTCCGCTGCTCCAGAAAGCTAGGCGCGAGATCAGAACCAACACAGTCAATAT	183		
Sbjct 126	CTTTTGCTTCCGCTGCTCCAGAAAGCTAGGCGCGAGATCAGAACCAACACAGTCAATAT	185		
Query 184	CACCACTTCTCTTATAGATTGGAAATCTCATGATAGGGGCTCAGCCTCTGTGCGAGTG	243		
Sbjct 186	CACCACTTCTCTTATAGATTGGAAATCTCATGATAGGGGCTCAGCCTCTGTGCGAGTG	245		
Query 244	GAGAGAAGTTTGAGGGCGAGCTGAGGAGCAATTGCAGGTGATATGATGTGCTCGGCTCAA	303		
Sbjct 246	GAGAGAAGTTTGAGGGCGAGCTGAGGAGCAATTGCAGGTGATATGATGTGCTCGGCTCAA	305		
Query 304	GAAGCGGGCCCGAGAGGAAGAAGTCTGTCCGGGGCTAATTATTGGCAAAACGAGCTCTT	363		
Sbjct 306	GAAGCGGGCCCGAGAGGAAGAAGTCTGTCCGGGGCTAATTATTGGCAAAACGAGCTCTT	365		
Query 364	GTTGTAACATTGATCCAACTGGAATGTCACTAATGGCGAATCAATATTCATTAAGGCAT	423		
Sbjct 366	GTTGTAACATTGATCCAACTGGAATGTCACTAATGGCGAATCAATATTCATTAAGGCAT	425		
Query 424	GATGGTTGCTCAGAGGCGAGGAGAAGAGCAACGAATACGATCTATAAAGATATAACATA	483		
Sbjct 426	GATGGTTGCTCAGAGGCGAGGAGAAGAGCAACGAATACGATCTATAAAGATATAACATA	485		
Query 484	AATAAACAGTCTGATTATATTCTGGGTATTAAAGCCACAATCAGAACAAATATATGCTT	543		
Sbjct 486	AATAAACAGTCTGATTATATTCTGGGTATTAAAGCCACAATCAGAACAAATATATGCTT	545		
Query 544	TGTAICTTTTCTTGCTTCTTCAATACCACTGCTTCCGGGGCACAATAAGAGAAGTGG	603		

Рисунок 1 - Анализ последовательности синтетической конструкции BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard

Прошито, пронумеровано,
проброшюровано 73 листов

Директор
ИАП РАН

В.Е. Курочкин



**ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ
УСТРОЙСТВО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК ПО
ТУ 9443-005-04699534-2013 С ПРИНАДЛЕЖНОСТЯМИ
ФРАГМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ДНК (ДНК ФА)**

Руководство оператора

Лист утверждения

RU.ПКДН.503320-03 34 01-ЛУ

Руководитель разработки

Вед. Инженер

 Петров А.И.
«28» марта 2015г

Ответственный исполнитель

Ст. Инженер

 Хотько К.А.
«28» марта 2015г

2015

Литера О1

Подпись и дата	
Изм. № докум.	
Взам. инв. №	
Подпись и дата	
№ подл.	

АННОТАЦИЯ

В данном программном документе приведено руководство оператора по применению и эксплуатации ПО (программного обеспечения) «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями». Программное обеспечение предназначено для обработки экспериментальных данных фрагментного анализа, полученных на приборе «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями», а также генетических анализаторах ABI Prism 3500, ABI Prism 3700.

В данном программном документе, в разделе «Назначение программы» указаны сведения о назначении программы и информация, достаточная для понимания функций программы и ее эксплуатации.

В разделе «Условия выполнения программы» указаны условия, необходимые для выполнения программы (минимальный состав аппаратных и программных средств и т.п.).

В данном программном документе, в разделе «Выполнение программы» указана последовательность действий оператора, обеспечивающих загрузку, запуск, выполнение и завершение программы, приведено описание функций, формата и возможных вариантов команд, с помощью которых оператор осуществляет загрузку и управляет выполнением программы, а также ответы программы на эти команды.

Оформление программного документа «Руководство оператора» произведено по требованиям ЕСПД (ГОСТ 19.101-77 ¹⁾, ГОСТ 19.103-77 ²⁾, ГОСТ 19.104-78* ³⁾, ГОСТ 19.105-78* ⁴⁾, ГОСТ 19.106-78* ⁵⁾, ГОСТ 19.505-79* ⁶⁾, ГОСТ 19.604-78* ⁷⁾).

¹⁾ ГОСТ 19.101-77 ЕСПД. Виды программ и программных документов

²⁾ ГОСТ 19.103-77 ЕСПД. Обозначение программ и программных документов

³⁾ ГОСТ 19.104-78* ЕСПД. Основные надписи

⁴⁾ ГОСТ 19.105-78* ЕСПД. Общие требования к программным документам

⁵⁾ ГОСТ 19.106-78* ЕСПД. Общие требования к программным документам, выполненным печатным способом

⁶⁾ ГОСТ 19.505-79* ЕСПД. Руководство оператора. Требования к содержанию и оформлению

⁷⁾ ГОСТ 19.604-78* ЕСПД. Правила внесения изменений в программные документы, выполненные печатным способом

Оглавление

Оглавление	3
1 Назначение программы	5
1.1 Функциональное назначение программы	5
1.2 Эксплуатационное назначение программы	5
1.3 Состав функций	5
2 Условия выполнения программы	6
2.1 Минимальный состав аппаратных средств	6
2.2 Минимальный состав программных средств	6
2.3 Требования к персоналу (пользователю)	7
3 Выполнение программы	7
3.1 Установка программного обеспечения	7
3.1 Состав ПО	7
4 Описание программного обеспечения	8
4.1 Описание Основного окна программы ДНК ФА	8
4.1.1 Элементы меню основного окна	9
4.1.2 Панель управления	12
4.2 Параметры электрофореза	14
4.3 Графическое представление электрофореза	15
4.3.1 Хроматограмма электрофореза	15
4.3.2 График напряжения электрофореза	16
4.3.3 График температуры электрофореза	17
4.3.4 График силы тока электрофореза	17
4.3.5 Калибровочная кривая	18
4.4 Таблица с результатами анализа	20
4.5 Строка статуса	21
5 Функции и структуры данных, доступные в программе ДНК ФА, и порядок работы с ними.	22
5.1 Создание нового проекта	22
5.2 Открытие существующего проекта и добавление файлов образцов в основное окно	22

5.3	Схема анализа	23
5.3.1	Создание и редактирование схемы анализа	24
5.4	Стандарты длин	28
5.4.1	Создание стандарта длины	30
5.4.2	Редактирование стандартов длин	31
5.5	Панели и бины	32
5.6	Файл панели	32
5.7	Файл бинов	34
5.8	Экспорт образцов	36
5.9	ЗАВЕРШЕНИЕ РАБОТЫ С ПРОГРАММОЙ	37
6	ПРОВЕДЕНИЕ ФРАГМЕНТНОГО АНАЛИЗА	38
6.1	Запуск анализа	38
6.2	Интерпретация результатов анализа	43
6.2.1	Анализ аллельной лестницы.	47
6.2.2	Анализ контрольной ДНК	51
6.2.3	Анализ образца с отрицательным контролем	52
6.2.4	Анализ исследуемых образцов	52

1 Назначение программы

Программное обеспечение относится к основному программному обеспечению «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» и предназначено для обработки полученных результатов при проведении STR-анализа, идентификации личности, SNP и AFLP –анализов.

Программное обеспечение поддерживает форматы файлов, полученных на приборе «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями», а также генетических анализаторах ABI Prism 3500, ABI Prism 3700.

1.1 Функциональное назначение программы

Программа предназначена:

- для просмотра полученных данных;
- для первичной обработки полученных результатов, с возможностью смены метода анализа «сырых» данных, файла размерного стандарта;
- для интерпретации результатов анализа, включающая анализ аллельной лестницы, анализ контрольной ДНК, анализ образа с отрицательным контролем, анализ исследуемых образцов.

1.2 Эксплуатационное назначение программы

Программное обеспечение предназначено для работы на компьютере с подключенным «Устройством секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями».

1.3 Состав функций

Запуск программы обработки данных Analysis.exe – обеспечивает:

- а) просмотр «сырых» данных (поддерживаются файлы *.SRD, *.DAN, *.ABI);
- б) настройку алгоритмов обработки данных;

- в) обработку данных фрагментного анализа;
- г) сохранение результатов обработки (поддерживаются файлы *.DAN, *.ABI, *.SCF).

2 Условия выполнения программы

Программное обеспечение запускается на компьютере под управлением операционной системы Windows 7 или выше.

На компьютере должны быть установлены соответствующие драйверы и программное обеспечение.

2.1 Минимальный состав аппаратных средств

Минимальный состав используемых технических (аппаратных) средств:

- IBM PC совместимый;
- процессор – Pentium-4 2,4 ГГц;
- объем оперативной памяти – 1 Гб;
- объем видеопамати – 128 Мб;
- общий объем памяти на жестких дисках не менее 40 Гб.

2.2 Минимальный состав программных средств

Минимальный состав используемых программных средств:

- Операционная система - Microsoft Windows 7, Windows 8 или выше.

Дополнительное ПО:

- Microsoft.Net FrameWork 4.5;
- Microsoft Office'
- Internet browser Mozilla Firefox 14.0 или выше.

2.3 Требования к персоналу (пользователю)

Конечный пользователь программы (оператор) должен обладать практическими навыками работы с графическим пользовательским интерфейсом операционной системы.

Персонал должен быть аттестован на II квалификационную группу по электробезопасности (для работы с лабораторным оборудованием).

3 Выполнение программы

3.1 Установка программного обеспечения

Программное обеспечение устанавливается путем копирования папки «Fragment» на компьютер средствами операционной системы.

3.1 Состав ПО

После установки программного обеспечения:

В *Program Files\IAI\Fragment* находится:

- Fragment.exe – основной модуль программы;
- GRWnd.dll – модуль обработки графической информации;
- MatExp.dll – основные мат. операции;

В *Program Data\IAI\Fragment\Panels* находятся:

- файлы панелей;
- файлы бинов.

4 Описание программного обеспечения

4.1 Описание Основного окна программы ДНК ФА

Основное окно (Рисунок 1) является главным окном в интерфейсе программного обеспечения ДНК ФА. Это окно позволяет выполнять следующие действия:

- запускать фрагментный анализ;
- просматривать результаты анализа в табличной либо графической форме;
- документировать результаты анализа.

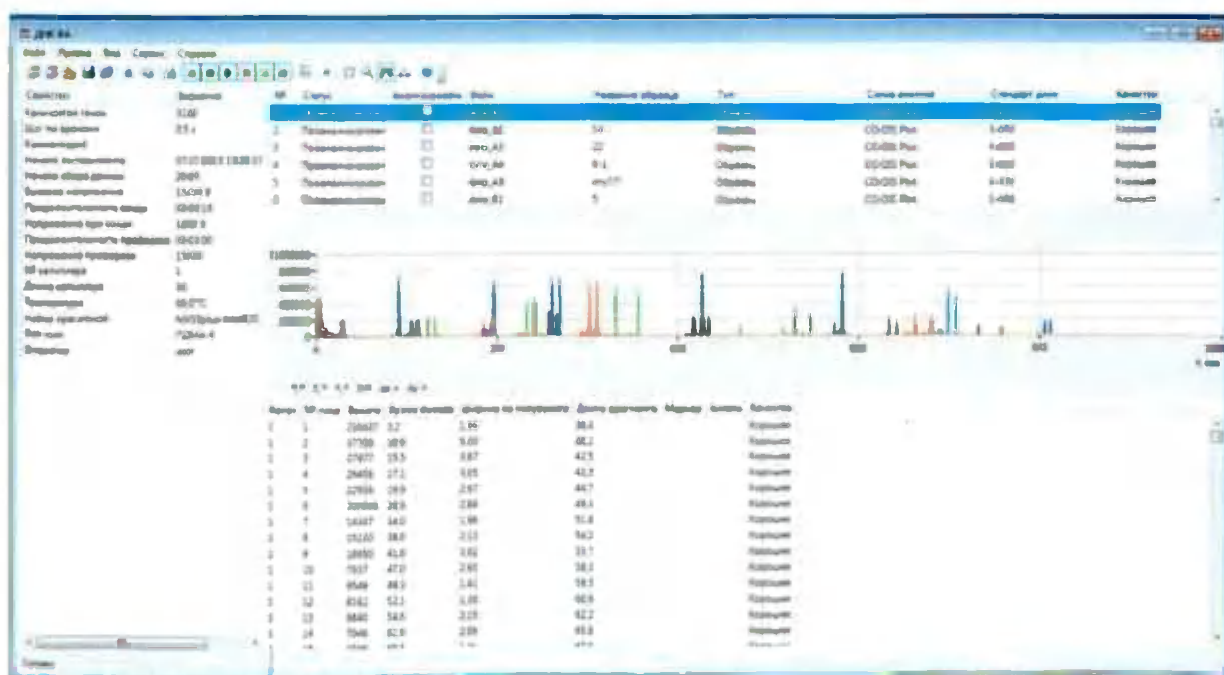


Рисунок 1 - Вид Основного окна программы ДНК ФА

4.1.1 Элементы меню основного окна

Строка меню основного окна программы содержит следующие категории:

Файл Правка Вид Сервис Справка

Категории меню Основного окна описаны в Таблице 1.

Таблица 1

Категория	Пункт категории	Функция
1	2	3
Файл	Новый проект	Открывает пустое окно для создания в нем нового проекта
	Открыть проект	Открывает окно с данными проведенного ранее анализа, в котором можно выбрать файл планшета
	Добавить файлы	Открывает окно с данными проведенного ранее анализа, в котором можно выбрать файл конкретного образца
	Сохранить Сохранить как... Сохранить все	Сохраняет проанализированные данные
	Экспорт	Позволяет экспортировать данные в другие программы в универсальном формате
	Импорт бинов	Импортирует нужный текстовый файл с бинами в программу ДНК ФА
	Импорт панелей	Импортирует нужный текстовый файл с панелями в программу ДНК ФА
	Печать	Выводит на печать текущее окно программы
	Выход	Выход из программы

1	2	3
Правка	Копировать как текст	Копирует данные в текстовом формате
	Вставить пик	Позволяет редактировать пики
Вид	Панель инструментов	Отображает или скрывает кнопки панели управления
	Каналы	Отображает картину анализа по каждому каналу. Можно просматривать одновременно все или выбирать отдельно любой из 6 каналов
	Напряжение	Отображает график напряжения во время электрофореза
	Температура	Отображает график температуры во время электрофореза
	Ток	Отображает график тока во время электрофореза
	Калибровочная кривая	Отображает калибровочную кривую
	Показать всё	Отображает всю картину анализа
	Масштаб осей	Позволяет изменять масштаб графиков по осям
Сервис	Запустить анализ	Запускает процесс анализа, активирует индикатор хода выполнения анализа.
	Редактировать стандарт	Позволяет вручную выбрать/обозначить пики, соответствующие фрагментам стандарта длин и ввести необходимые изменения
	Пересчитать номера пиков	После редактирования стандарта длин позволяет пересчитать длины фрагментов с учетом проведенного редактирования

11
RU.ПКДН.503320-03 34 01

1	2	3
	Удалить отметки стандарта	Удалить все рассчитанные программой длины фрагментов стандарта длин для последующего редактирования
	Аллели	Открывает окно, в котором представлены и могут быть отредактированы результаты анализа
	Схемы анализа	Позволяет выбрать определенную схему анализа для конкретного случая
	Стандарты длин	Позволяет выбрать стандарт длин
Справка	Вызов справки	Позволяет провести поиск справки о программе
	О программе	Открывает окно, в котором указана версия программы

4.1.2 Панель управления



Панель управления предназначена для быстрого доступа к функциям **Основного окна**. Описание кнопок панели приведено в таблице 2.

Таблица 2

Кнопка	Функция
 Новый проект	Открывает пустое окно для создания в нем нового проекта
 Открыть проект	Открывает окно с данными проведенного ранее анализа, в котором можно выбрать файл планшета
 Добавить файлы	Открывает окно проводника, в котором можно выбрать файл исследования
 Сохранить	Сохраняет проанализированные данные
 Сохранить всё	Сохраняет проанализированные данные
 Копировать	Позволяет копировать данные и графики
 Печать	Выводит на печать текущее окно программы
 Отображать 1 канал	Отображает график по первому каналу
 Отображать 2 канал	Отображает график по второму каналу
 Отображать 3 канал	Отображает график по третьему каналу
 Отображать 4 канал	Отображает график по четвертому каналу
 Отображать 5 канал	Отображает график по пятому каналу
 Отображать 6 канал	Отображает график по шестому каналу

 Отображать 7 канал	Отображает график по седьмому каналу
 Аллели	Открывает окно для просмотра результатов анализа в графическом изображении
 Запустить анализ	Запускает процесс анализа, активирует индикатор хода выполнения анализа.
 Показать всё	Отображает всю картину анализа
 Масштаб осей	Позволяет изменять масштаб графиков по осям
 Каретки	При наведении курсора на пик, отображает его положение на графике по осям
 Выделение пиков	Позволяет выделить отдельный пик на хроматограмме (черный цвет) и, одновременно, соответствующую этому пику строку в таблице
 Справка	Позволяет провести поиск справки о программе

4.2 Параметры электрофореза

Параметры электрофореза отображаются в верхней левой колонке **Основного окна**. Каждый параметр для данного конкретного эксперимента можно редактировать. Описание параметров электрофореза представлено в таблице 3.

Таблица 3

Свойство	Описание
Количество точек	Количество сканов (снятий данных с ПЗС камеры), прошедшее за форе́з
Шаг по времени	Скорость прочтения (например, 0.5 секунд – 2 скана в секунду)
Начало эксперимента	Дата и время запуска эксперимента
Начало сбора данных	Время от начала форе́за, когда начинается чтение данных
Высокое напряжение	Напряжение во время форе́за
Продолжительность ввода	Длительность ввода образцов
Напряжение при вводе	Напряжение при вводе образцов
Продолжительность префореза	Длительность префореза
Напряжение префореза	Напряжение при префорезе
№ капилляра	Номер капилляра, в котором проходил форе́з
Длина капилляра	Длина используемого капилляра (36 или 50 см)
Температура	Температура термостата (60 °C)
Набор красителей	Название и дата создания используемой спектральной калибровки
Тип геля	Тип используемого в данном эксперименте геля
Оператор	Имя оператора, проводившего форе́з

4.3 Графическое представление электрофореза

В области графического представления могут быть отражены следующие элементы.

4.3.1 Хроматограмма электрофореза

После прохождения анализа на хроматограмме можно видеть пики нескольких цветов (до семи, в зависимости от используемого набора), которые соответствуют каналам детекции (каналы детекции и красители перечислены в таблице 4). По горизонтальной оси графика откладывается время прохождения электрофореза в секундах (и, соответственно, время выхода пиков); по вертикальной оси – интенсивность флуоресценции в относительных единицах (Рисунок 2).

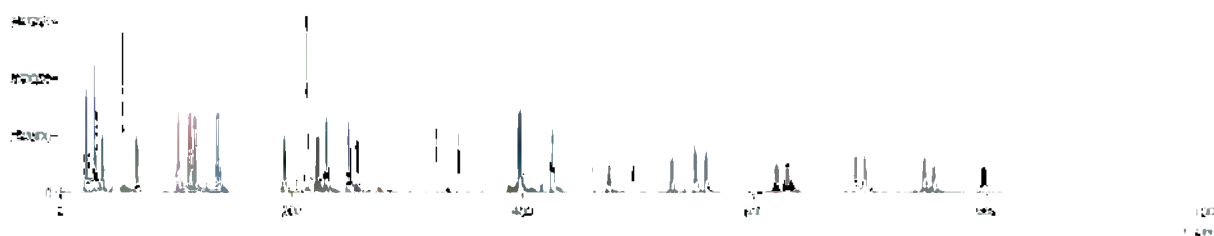


Рисунок 2 - Пример электрофореграммы

В коммерческих наборах используется несколько флуоресцентных красителей, характеризующихся разными длинами волн эмиссии для возможности одновременной детекции в разных каналах флуоресценции.

Таблица 4

Цвет	Краситель	Длина волны эмиссии, нм
Синий	FAM	520
Зелёный	VIC, R6G	550
Чёрный	NED, TAMRA	580
Красный	TAZ, ROX	605
Оранжевый	SID, MR590	625
Серый	LIZ, DY632	645
Коричневый	CY5	665

4.3.2 График напряжения электрофореза

Для контроля стабильности напряжения во время электрофореза можно посмотреть график напряжения, для этого в категории меню **Вид** выбрать пункт **Напряжение**.

По горизонтальной оси графика откладывается время прохождения электрофореза в секундах; по вертикальной оси – напряжение в вольтах. Пример графика представлен на рисунке 3.

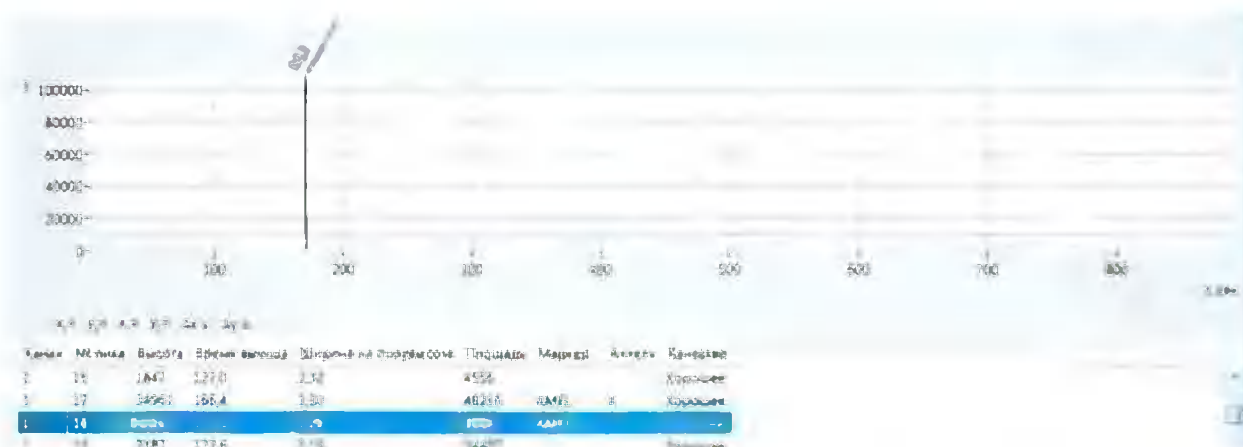


Рисунок 3 - График напряжения электрофореза

4.3.3 График температуры электрофореза

Для просмотра графика температуры процесса в категории меню **Вид** выбрать пункт **Температура**.

По горизонтальной оси графика откладывается время прохождения электрофореза в секундах, по вертикальной оси – температура в градусах Цельсия. Пример графика приведен на рисунке 4.

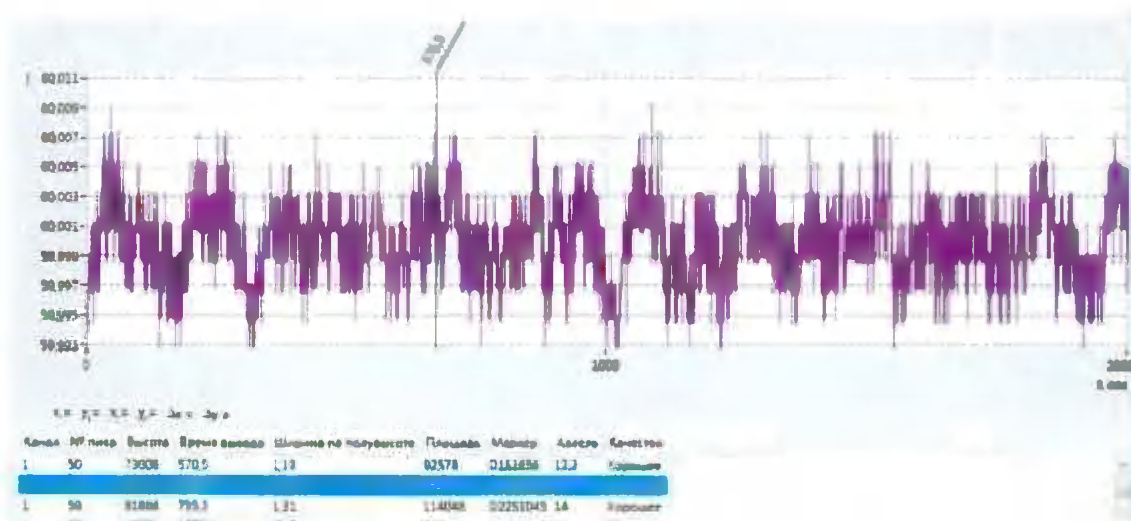


Рисунок 4 - График температуры

4.3.4 График силы тока электрофореза

Для просмотра графика силы тока в категории меню **Вид** выбрать пункт **Ток**.

По горизонтальной оси графика откладывается время прохождения электрофореза в секундах, по вертикальной оси – сила тока в микроамперах. Пример графика приведен на рисунке 5.

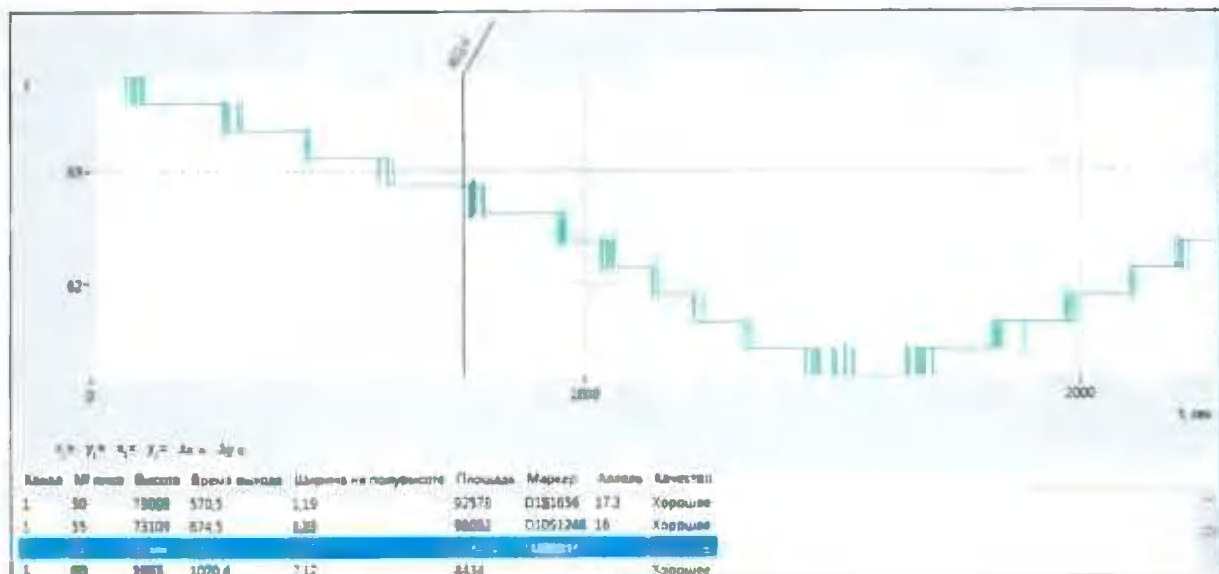


Рисунок 5 - График силы тока электрофореза

4.3.5 Калибровочная кривая.

По горизонтальной оси графика откладывается время прохождения электрофореза в секундах, по вертикальной оси – показано распределение относительно размерного стандарта. Пример графика приведен на рисунке 6.

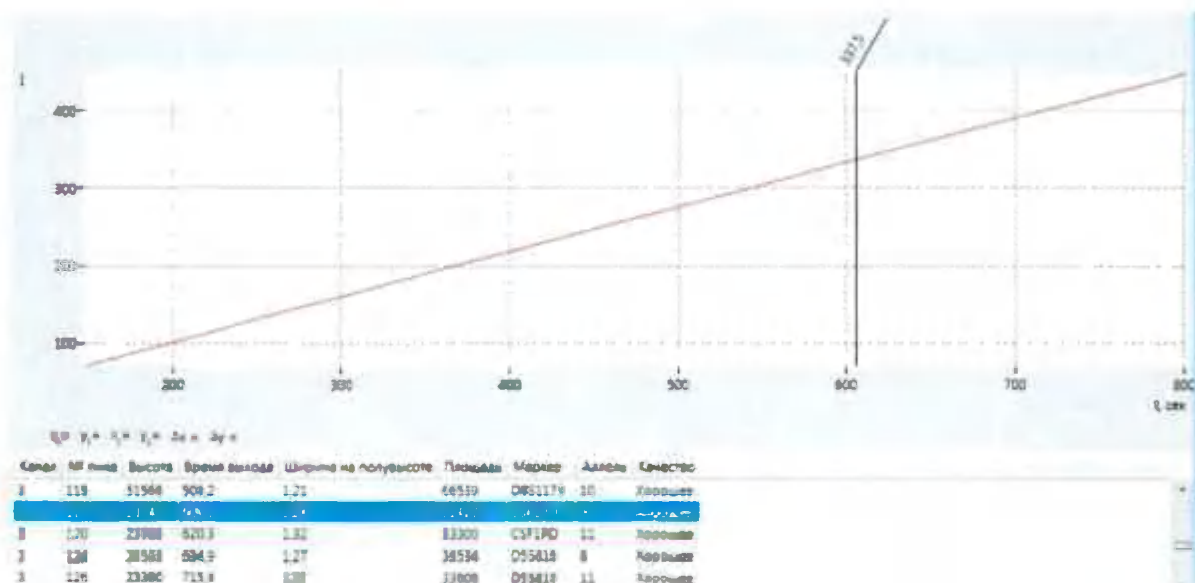


Рисунок 6 - Калибровочная кривая

Масштаб осей на графиках можно изменять в диалоговом окне **Масштаб осей** (Рисунок 7), в категории меню **Вид** выбрав пункт **Масштаб осей**, или с помощью мыши. Для этого следует поместить курсор мыши на одну из осей (вертикальную

или горизонтальную) и тянуть мышь, нажимая на левую клавишу – программа выполнит увеличение или уменьшение масштаба в выбранной области.

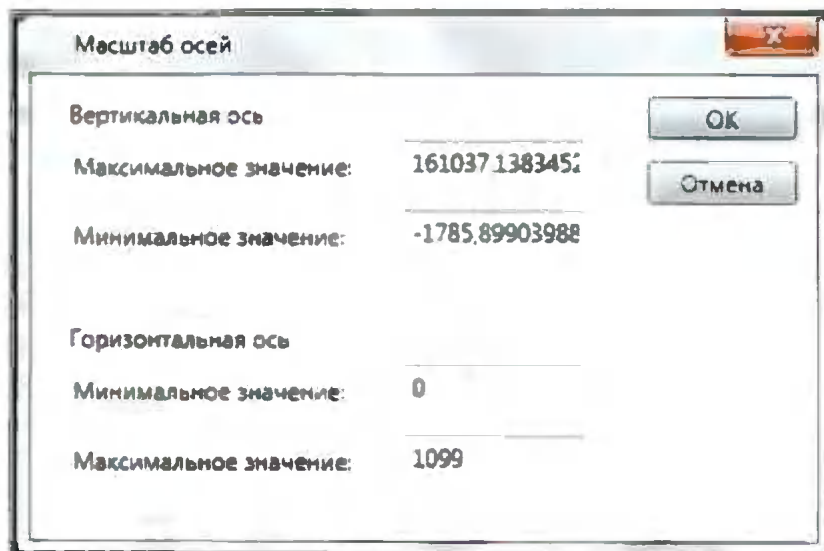


Рисунок 7 - Диалоговое окно «Масштаб осей»

4.4 Таблица с результатами анализа

Канал	№ пика	Высота	Время выхода	Ширина на полувысоте	Длина фрагмента	Маркер	Аллель	Качество
4	422	186011	184.7	1.33	125.6	VWA	17	Хорошее
4	423	193220	192.9	1.38	130.7	VWA	18	Хорошее
4	444	673375	302.3	1.27	183.4	D21S11	29	Хорошее
4	445	654532	310.6	1.26	187.4	D21S11	30	Хорошее
4	488	268131	562.8	1.35	355.5	SE33	30.2	Хорошее

Рисунок 8 – Таблица с результатами

Эта область **Основного окна** расположена в его нижней части и предназначена для отображения результатов анализа образцов. При этом по строкам указываются характеристики каждого определенного на электрофореграмме пика. Описание полей представлено в таблице 5.

Таблица 5

Показатель	Описание
Канал	Порядковый номер канала детекции.
Номер пика	Порядковый номер пика, в соответствии со временем его выхода.
Высота	Интенсивность сигнала пика в относительных единицах флюоресценции.
Время выхода	Время появления пика на фореграмме в секундах.
Ширина на полувысоте	Ширина пика на половине интенсивности сигнала этого пика в секундах.
Длина фрагмента	Длина фрагмента, соответствующего данному пику, рассчитанная по калибровочной кривой.
Маркер	Название локуса, к которому относится фрагмент в соответствии с его длиной и цветом красителя.
Аллель	Номер аллеля отражает количество повторов в фрагменте, исходя из его длины.
Качество	Оценка качества прохождения анализа: хорошее, среднее, плохое.

4.5 Строка статуса

Процесс выполнения анализа отображается в окне на индикаторе .

После прохождения анализа в левом нижнем углу окна появляется надпись **Готово**.

5 Функции и структуры данных, доступные в программе ДНК ФА, и порядок работы с ними.

5.1 Создание нового проекта

Для создания нового проекта выбрать в меню основного окна **Файл → Новый проект** или нажать кнопку  **Новый проект** на панели управления.

Если при создании нового проекта уже открыт другой проект, то откроется диалоговое окно, в котором можно: сохранить текущий проект, создать новый проект без сохранения текущего проекта или отменить создание нового проекта.

5.2 Открытие существующего проекта и добавление файлов образцов в основное окно

Добавить в **Основное окно** данные исследуемых образцов – файлы, полученные после прохождения анализа в программе SeqPI. Это можно сделать двумя способами:

- 1) Добавить **Файл проекта**. Файл проекта сохраняется в папке: `..\Data\год_месяц_число\название плашки\ час минута секунда` и имеет расширение `.far`. В меню **Файл** выбрать пункт **Открыть проект** (или нажать кнопку ). В открывшемся окне выбрать нужный файл и нажать **Открыть**. При этом будут открыты данные по всем образцам данного проекта.
- 2) Добавить **Отдельные файлы образцов**. В меню **Файл** выбрать пункт **Добавить файлы** (или нажать кнопку ). В открывшемся окне отметить нужные файлы и нажать **Открыть**. К текущему проекту добавятся только они.

Программа **ДНК ФА** также может анализировать файлы, полученные на приборах **ABIPrizm**, имеющих расширение `.fas` и `.hid`. Открыть такие файлы для анализа можно аналогично, с помощью опции **Добавить файлы** (или нажав кнопку ).

5.3 Схема анализа

При анализе образцов схемы анализа определяют алгоритм нахождения максимумов флюоресценции (пиков) и алгоритм присвоения качества образца. Создание и редактирование схем анализа в программе **ДНК ФА** возможно через окно **Схемы анализа** (Рисунок 9). Для его открытия выбрать **Сервис** → **схемы анализа**.

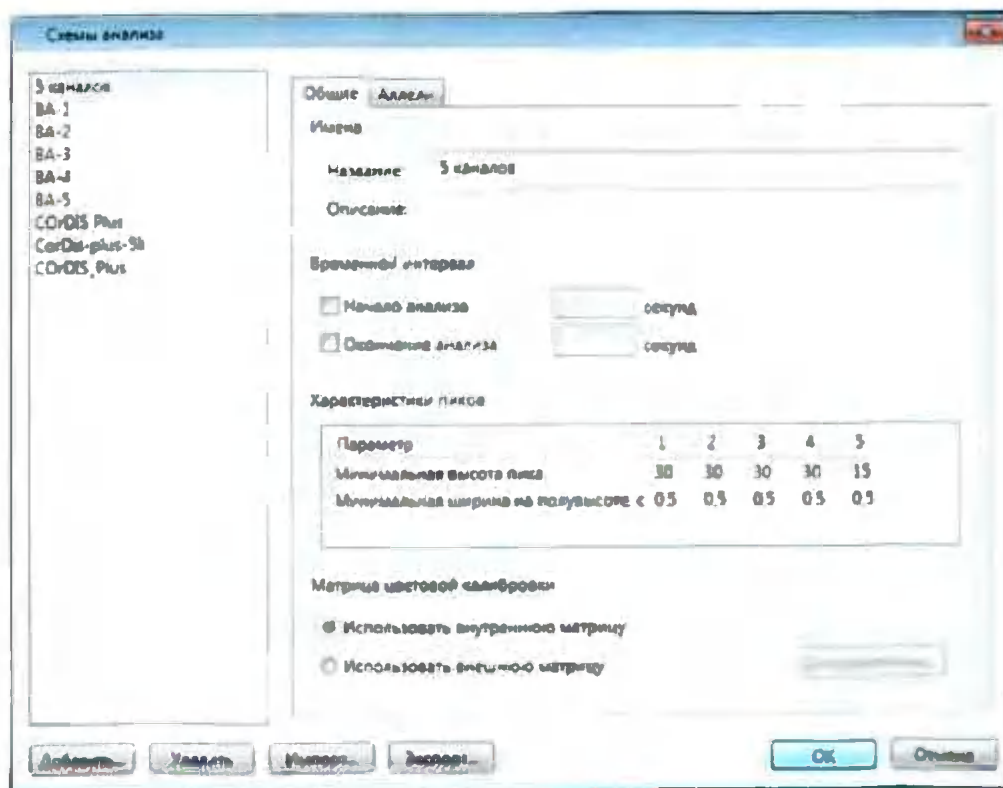


Рисунок 9 - Окно Схемы анализа

5.3.1 Создание и редактирование схемы анализа

Если в памяти компьютера отсутствует необходимая для проведения анализа схема, ее следует создать.

1) Перейти **Файл** → **Импорт бинов**. В папке *C:\ProgramData\IAI\Fragment\Panels* выбрать файл с актуальными бинами.

2) Перейти **Файл** → **Импорт панелей**. Импортируйте панели аналогично импорту бинов.

3) Перейти **Сервис** → **Схемы анализа**.

В окне **Схемы анализа** нажать кнопку **Добавить**. В открывшемся диалоговом окне выбрать количество каналов детекции (например, 5, 6 или 7) и нажать кнопку **ОК**.

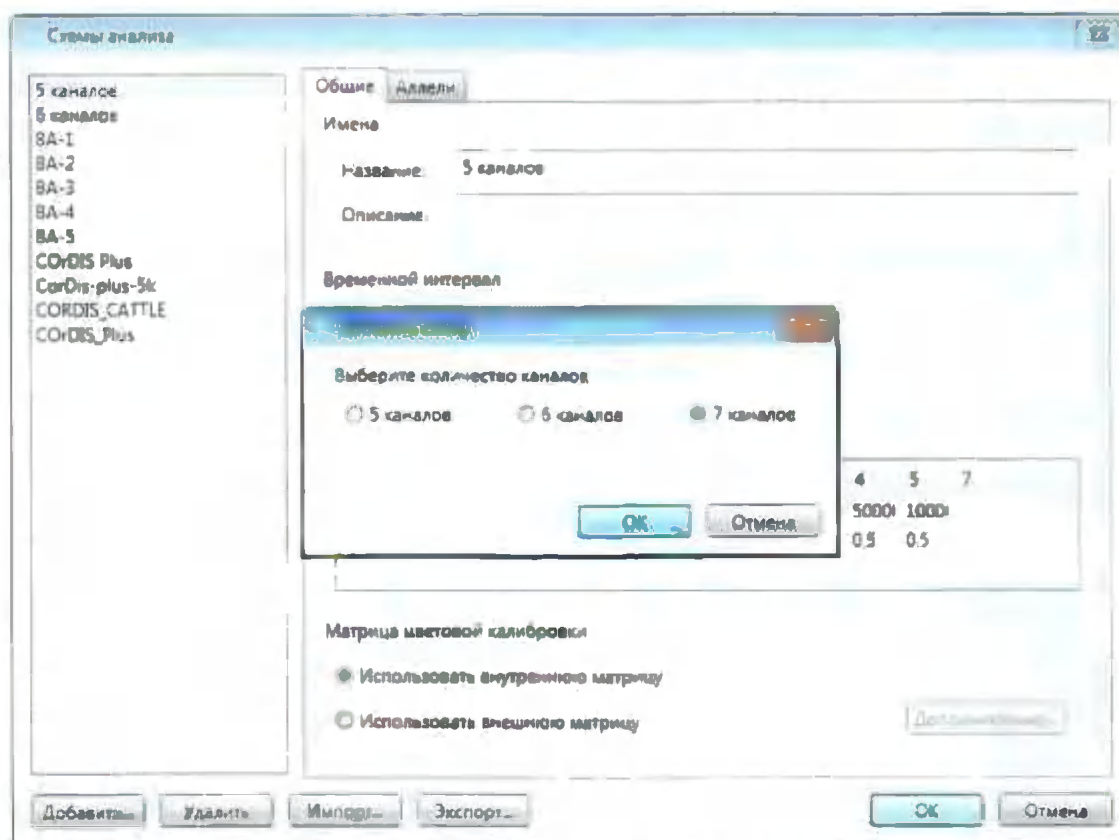


Рисунок 10 - Схема анализов выбор количества каналов

Во вкладке **Общие** присвоить название в поле **Название** и дать краткое описание в поле **Описание** (если это необходимо).

Если требуется, в полях **Начало анализа** и **Окончание анализа** указать время, до и после которого, сигнал флюоресценции, зарегистрированный во время электрофореза, не используется в анализе.

В таблице **Характеристика пиков** выставить минимальную высоту пика и минимальную ширину на полувысоте по каждому каналу детекции. Рекомендуется установить все значения равными 0, и убедиться, что маркер  матрицы цветовой калибровки активирован для использования внутренней матрицы.

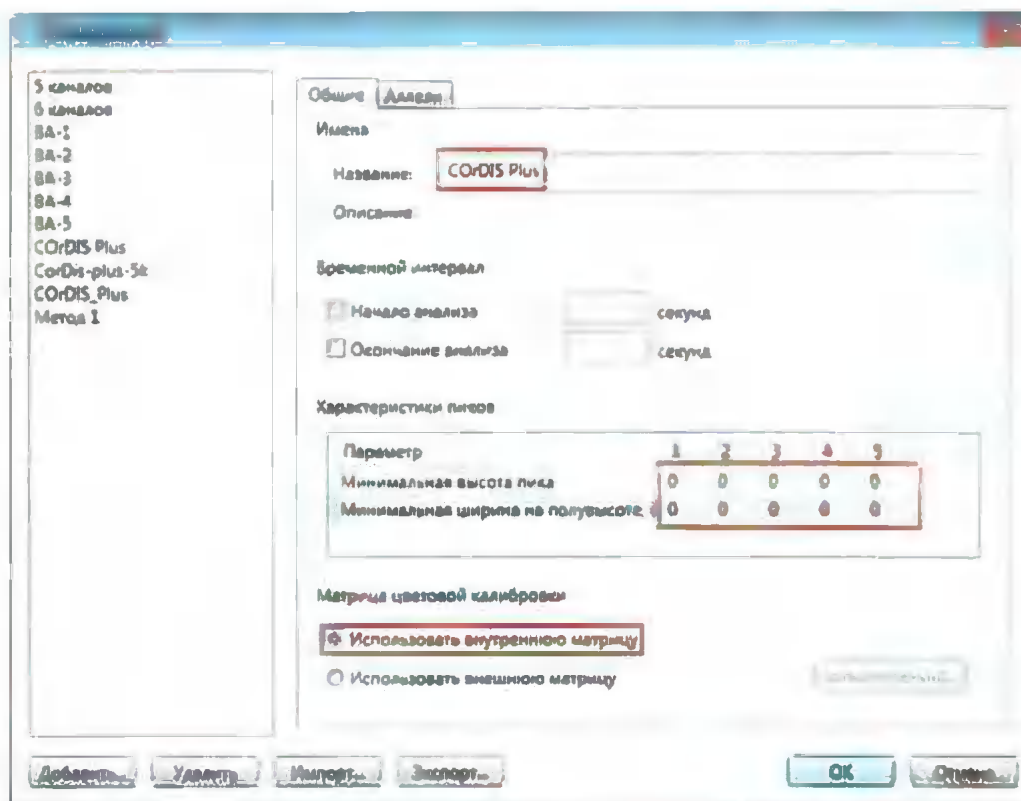


Рисунок 11 – Схема анализа. Характеристики пиков

Если будет использована внешняя матрица, вызвать вкладку **Дополнительно** и выставить в ней значения цветовой калибровки (Рисунок 12).

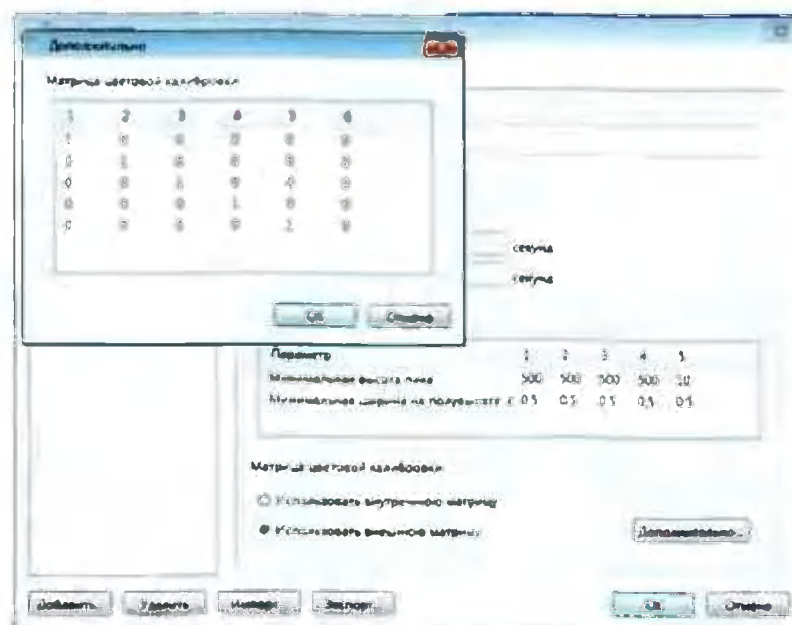


Рисунок 12 - Схема анализа. Использование внешней матрицы

Во вкладке **Аллели** (Рисунок 13) развернуть список **Панель** и выбрать соответствующую использованному набору (Рисунок 14).

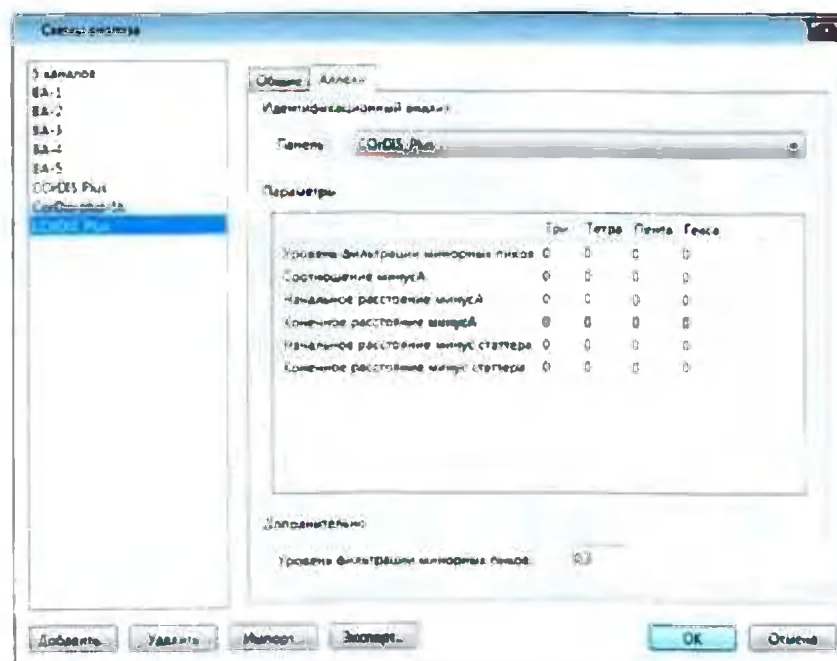


Рисунок 13 - Схемы анализа. Вкладка «Аллели»

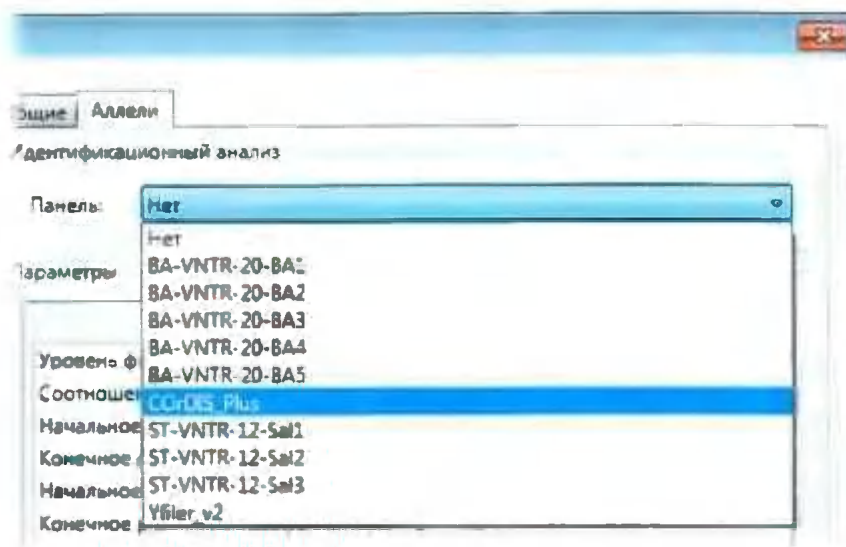


Рисунок 14 - Выбор панели

В таблице **Параметры** установить рекомендованные производителем набора значения (Рисунок 15) и нажать **ОК**.

Параметры

	Три	Тетра	Пента	Гекса
Уровень фильтрации минорных пиков	0,2	0,2	0	0
Соотношение минуса	0,1	0,1	0	0
Начальное расстояние минуса	0,7	0,7	0	0
Начальное расстояние минус статтера	2,25	3,25	0	0
Конечное расстояние минуса	1,3	1,3	0	0
Конечное расстояние минус статтера	3,75	4,75	0	0

Рисунок 15 - Параметры панели

Для редактирования существующей схемы анализа выбрать схему в списке **Схемы анализа** и внести необходимые изменения в соответствующие поля.

Если требуется удалить схему анализа, выбрать нужную в списке **Схемы анализа** и нажать кнопку **Удалить**.

5.4 Стандарты длин

Создание и редактирование стандартов длин в программе ДНК ФА возможно через окно **Стандарты длин**. Для его открытия выберите **Сервис** → **Стандарты длин** (Рисунок 16).

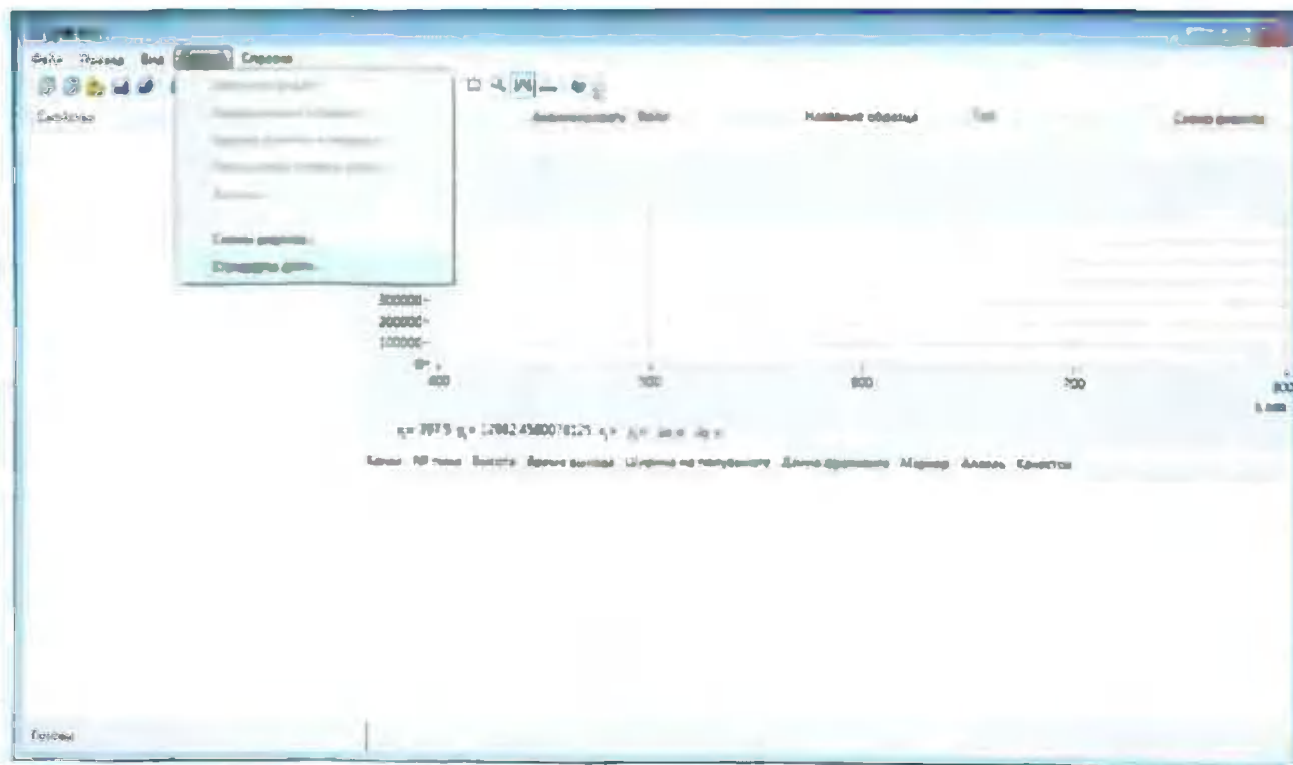


Рисунок 16 - Вызов окна «Стандарты длин»

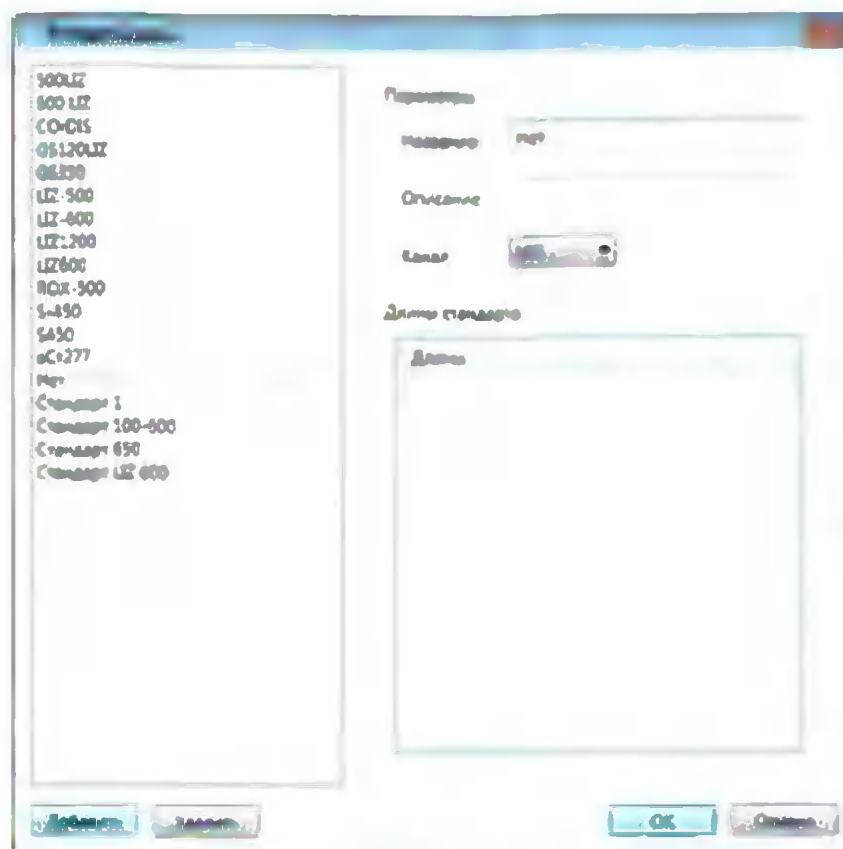


Рисунок 17 - Окно Стандарты длин

В левой части окна расположен список всех загруженных в базу стандартов длин. Для добавления стандарта длин нажать кнопку **Добавить**, для удаления – выбрать нужный стандарт и нажать клавишу **Удалить**.

При нажатии левой клавишей мыши на одно из названий, в правой части окна отображается название стандарта и его описание. В поле **Канал** указывается канал, по которому проходит детекция данного стандарта. Длины фрагментов в нуклеотидах отображаются в таблице **Длины стандарта** (Рисунок 17).

5.4.1 Создание стандарта длины

В окне **Стандарты длин** нажать кнопку **Добавить**, в части окна **Параметры** ввести **Название** стандарта длины, а в списке **Канал** выбрать номер канала детекции (Рисунок 18).

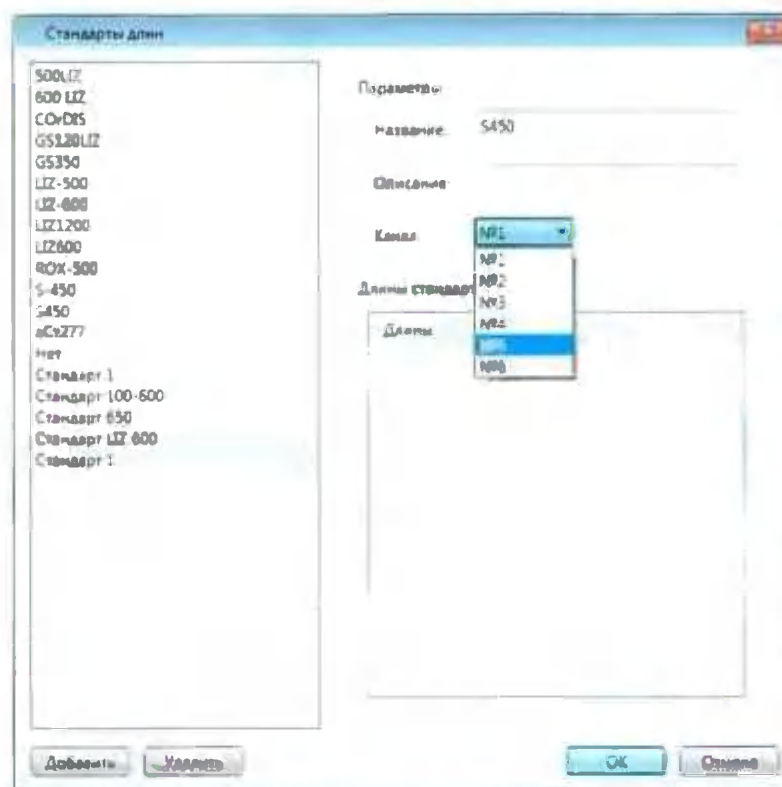


Рисунок 18 - Выбор канала детекции

В таблице **Длины стандарта** ввести значения длин от меньших к большим в соответствии с данными, приводимыми производителем стандарта, и нажать **OK**.

Например, необходимо создать стандарт длин LIZ-1200. В окне **Стандарты длин** нажать кнопку **Добавить**. Ввести название LIZ-1200, выбрать канал №5 и ввести последовательно длины фрагментов:

80, 100, 114, 120, 140, 160, 180, 200, 214, 220, 240, 250, 260, 280, 300, 314, 320, 340, 360, 380, 400, 414, 420, 440, 460, 480, 500, 514, 520, 540, 560, 580, 600, 614, 620, 640, 660, 680, 700, 714, 720, 740, 760, 780, 800, 820, 840, 850, 860, 880, 900, 920, 940, 960, 980, 1000, 1020, 1040, 1060, 1080, 1100, 1120, 1140, 1160, 1180, 1200 (Рисунок 19).

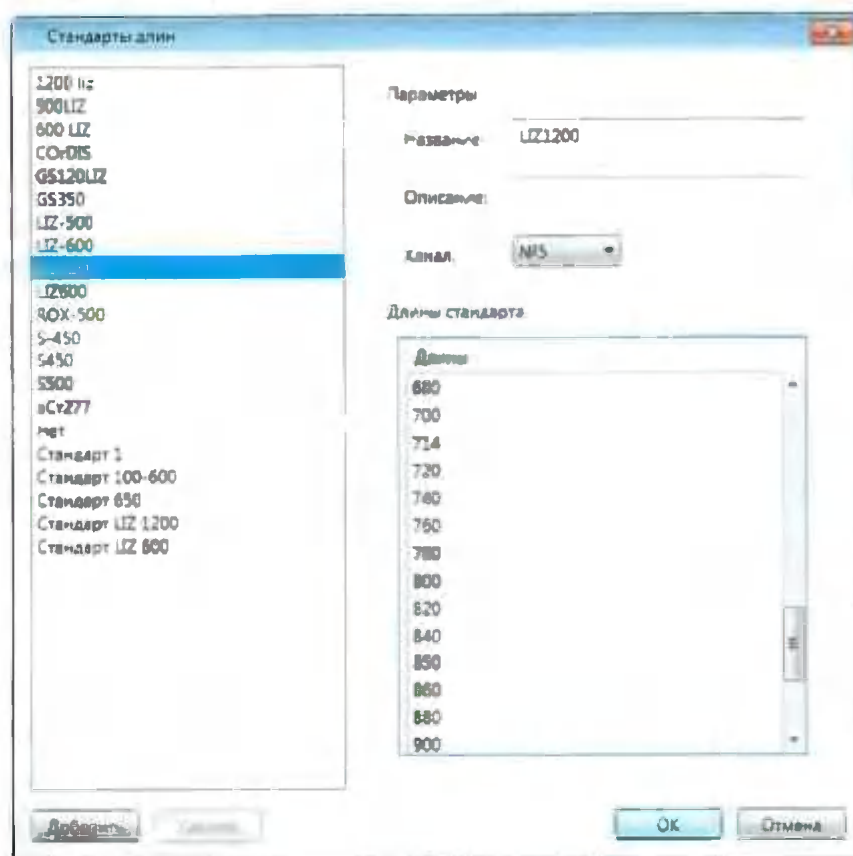


Рисунок 19 - Стандарт длин LIZ-1200

Нажать кнопку **Ок**. После этого в списке стандартов длин появится LIZ-1200.

5.4.2 Редактирование стандартов длин

В таблице **Длины стандарта** возможны следующие действия:

- **редактирование длины фрагмента**: отметить курсором нужный фрагмент в таблице **Длины стандарта** и ввести новое значение. Для подтверждения нажать клавишу **ENTER**;
- **удаление фрагмента**: выбрать нужный фрагмент в таблице и нажать клавишу **DEL**;
- **добавление фрагмента**: выбрать пустую ячейку в конце таблицы и ввести значение длины. Для подтверждения нажать клавишу **ENTER**.

После завершения работы нажать клавишу **ОК** в нижней части окна для подтверждения внесенных изменений.

5.5 Панели и бины

Файлы панелей и бинов представляют собой текстовые файлы с информацией обо всех применяемых пользователем панелях, входящих в них локусов и аллелей, встречающихся в локусах. Файлы хранятся в папке: *Локальный диск C:\ProgramData\IAI\Fragment\Panels* и могут быть изменены или созданы в любом текстовом редакторе (например, *Блокнот*). Разделителем полей в файлах являются символы табуляции.

5.6 Файл панели

Выбрать *C:\ProgramData\IAI\Fragment\Panels*. Отметить требуемую панель и открыть файл.

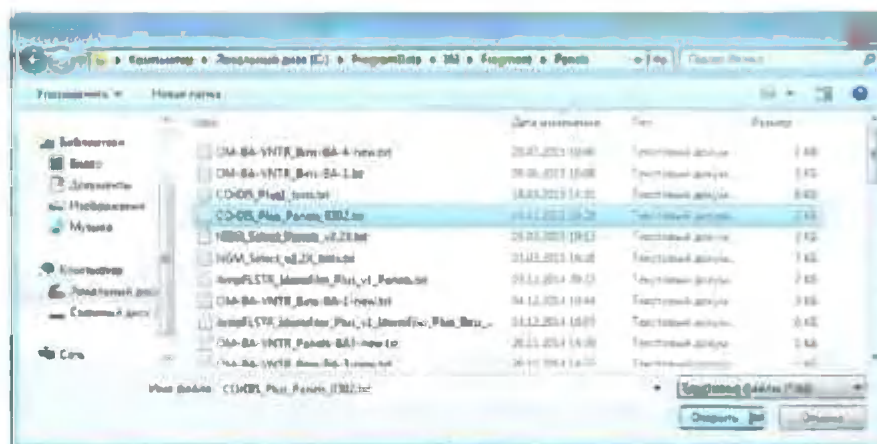


Рисунок 20 – Выбор файла панели в проводнике Windows

Пример файла панели представлен на рисунке 21 и содержит следующие поля:

- название локуса;
- канал детекции (цвет);
- минимальный диапазон аллельного размера;
- максимальный диапазон аллельного размера;
- генотип положительного контрольного образца;
- шаг повтора;
- граница отсечения статтера (% от высоты основного пика);

- комментарии (при их отсутствии в этом поле указывается *none*);
- аллели, присутствующие в аллельной лестнице для каждого локуса.

Version MID-X v 1.2												
Kit type: MICRO SATELLITE												
Chemistry kit: COROIS_plus												
Panel	COROIS_plus	name										
D351358	blue	92.5	151.0	15.17	4	0.13	none	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 2				
YN01	blue	151.4	196.0	6.9.3	4	0.13	none	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.1,				
D125391	blue	200.3	269.2	21.23	4	0.13	none	15, 16, 17, 18, 18.3, 19, 20, 21, 22,				
D151656	blue	278.0	335.0	11.11	1	0.13	none	10, 11, 12, 13, 14, 14.8, 15, 16, 16,				
D1051248	blue	339.0	394.0	13.15	4	0.13	none	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 1				
D25441	green	84.0	133.3	9.13	4	0.13	none	8, 9, 10, 11, 11.3, 12, 13, 14, 15, 1				
D75820	green	134.6	183.0	10.12	4	0.13	none	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,				
D135317	green	187.6	238.0	11.12	4	0.13	none	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,				
FGA	green	239.0	188.0	20.26	4	0.13	none	16, 17, 18, 18.2, 19, 19.2, 20, 20.2,				
TPOX	yellow	68.0	123.0	8.8	4	0.13	none	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,				
D18551	yellow	124.5	218.0	12.14	4	0.13	none	7, 8, 9, 10, 10.2, 11, 12, 12.2, 13,				
D165539	yellow	211.0	262.0	9.11	4	0.13	none	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,				
D851279	yellow	261.0	319.0	9.10	4	0.13	none	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,				
CSF1PO	yellow	326.0	365.0	9.11	4	0.13	none	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,				
VWA	red	81.3	153.3	15.18	4	0.13	none	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,				
D21511	red	155.0	234.0	27.28	4	0.13	none	23.2, 24, 24.2, 25, 25.2, 26, 27, 28,				
SE33	red	239.0	409.0	17.21.2	4	0.13	none	4.2, 5.3, 6.3, 8, 9, 10, 11, 12, 13,				
AMEL	blue	79.0	85.5	X,Y	9	0.13	none	X, Y,				
D251045	blue	197.0	445.0	15.15	3	0.13	none	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 1				
D55618	yellow	370.0	424.0	10.11	4	0.13	none	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,				

Рисунок 21 - Файл панели в текстовом редакторе

Данные, содержащиеся в файлах **Панели**, можно импортировать, воспользовавшись функцией **Импорт панели**. Для этого выбрать **Файл → Импорт панели**:

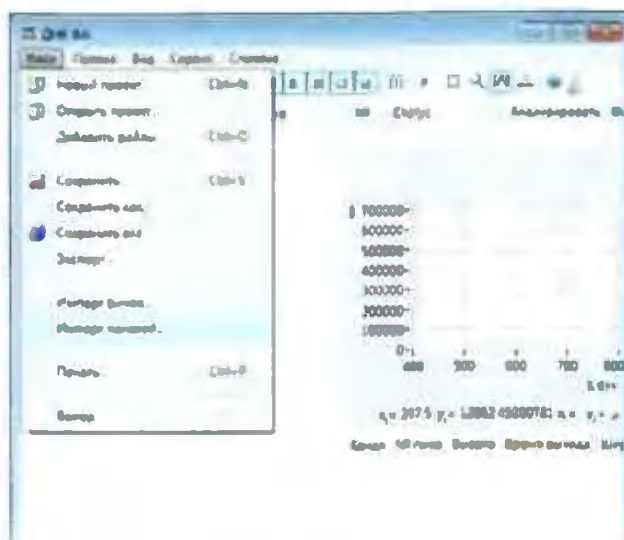


Рисунок 22 – Импорт панели

Затем в папке *C:\ProgramData\IAI\Fragment\Panels* выбрать файл нужной панели.

5.7 Файл бинов

Файлы бинов так же хранятся в папке *C:\ProgramData\IAI\Fragment\Panels*.

Для просмотра выбрать нужные бины одним нажатием клавиши мыши и нажать кнопку **Открыть**.

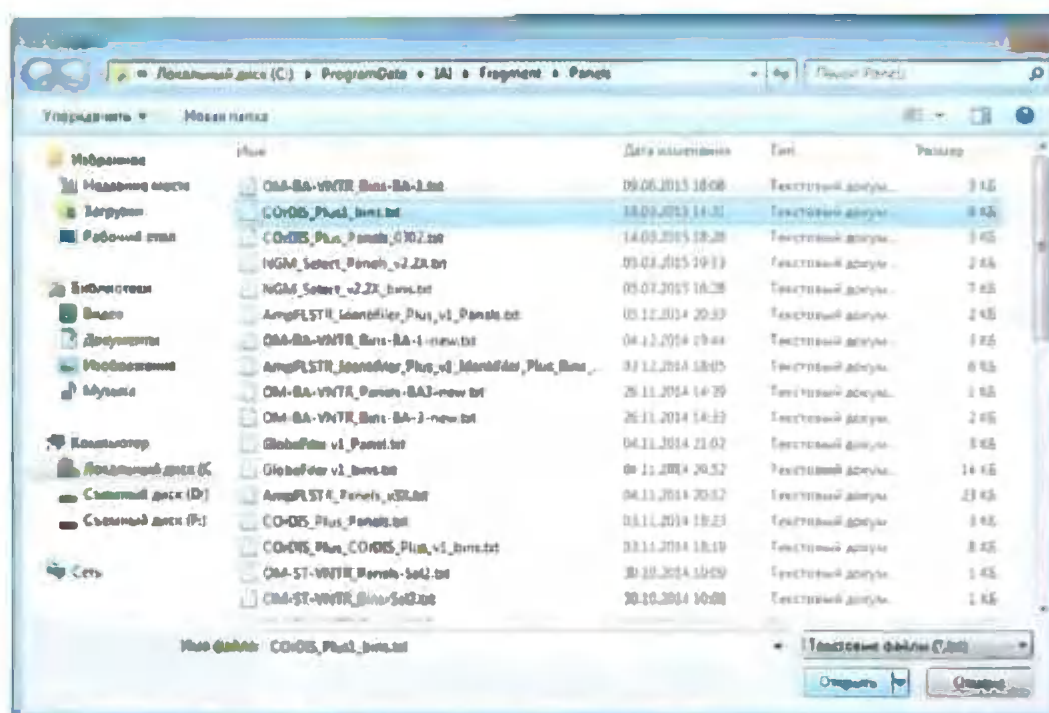


Рисунок 23 – Выбор файла бинов в проводнике Windows

Пример файла бинов представлен на Рисунке 24 и содержит следующие поля:

- название локуса;
- название аллеля;
- длина фрагмента в нуклеотидах;
- допуск в нуклеотидах слева;
- допуск в нуклеотидах справа.

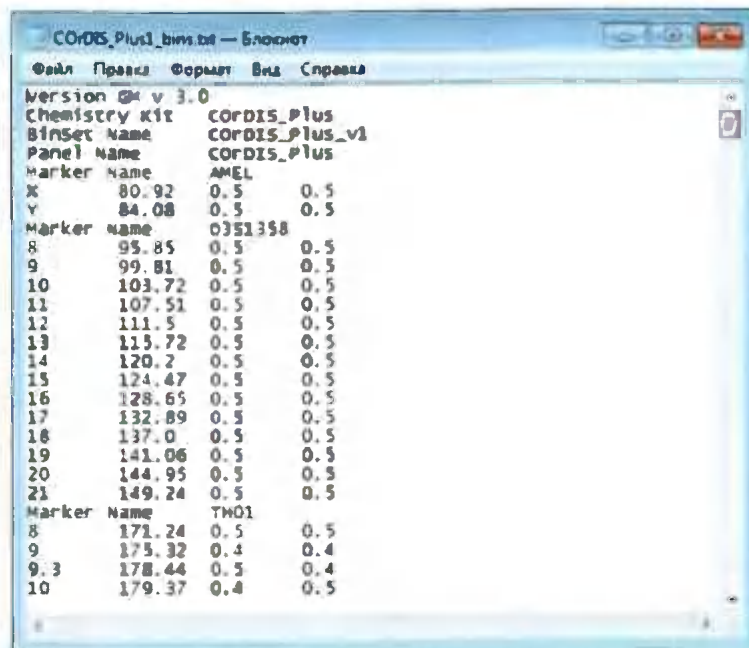


Рисунок 24 - Файл бинов в блокноте

Для импорта файла с бинами выбрать **Файл → Импорт бинов.**

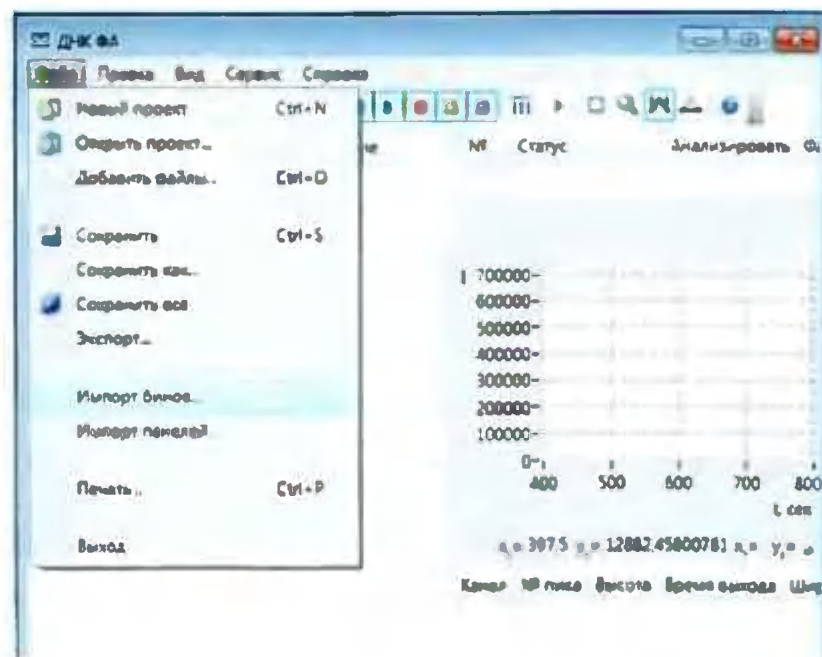


Рисунок 25 - Импорт файла бинов

Выбрать в папке *C:\ProgramData\IAI\Fragment\Panels* файл с актуальными бинами. Если в папке отсутствует файл, запросить его у производителя наборов, скопировать в указанную папку и выбрать через опцию **Импорт бинов.**

5.8 Экспорт образцов

Обработка результатов анализа образцов возможна вне программы ДНК ФА (например, в программе *GeneMapper*). Для этого необходимо экспортировать образцы в формате *.fas*.

Отметить нужный образец в таблице Основного окна и нажать **Файл** → **Сохранить как**. В открывшемся диалоговом окне в поле **Тип файла** выбрать **Файлы fas** (Рисунок 26).

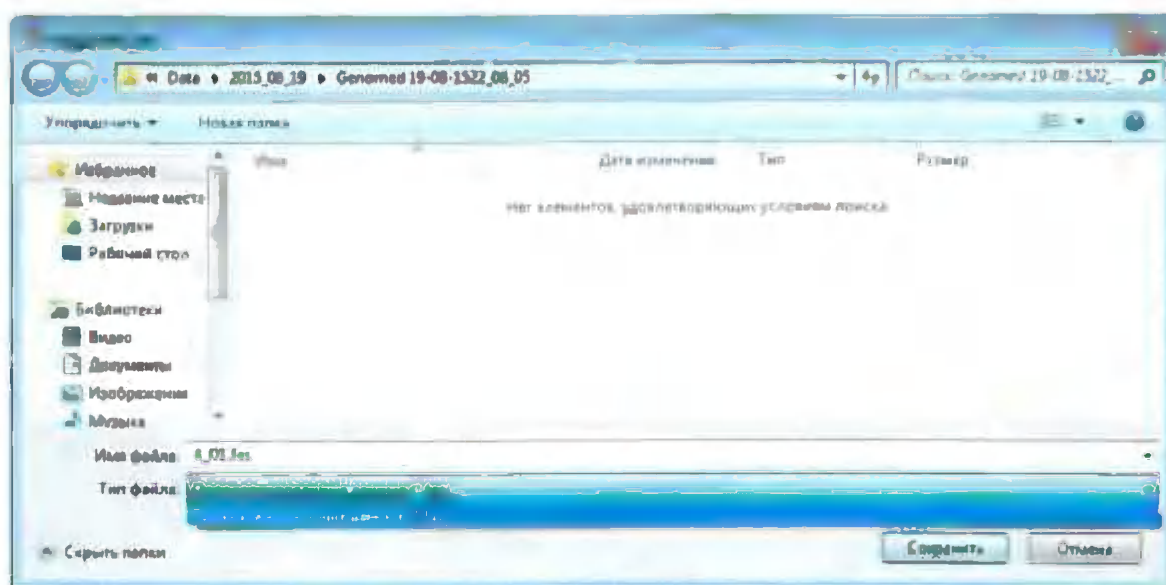


Рисунок 26 – Окно Сохранить как для экспорта образцов в формат *.fas*

Экспорт образцов можно провести и через программу **SeqPI**, выбрав **Файл** → **Экспорт**.

5.9 ЗАВЕРШЕНИЕ РАБОТЫ С ПРОГРАММОЙ

Завершить работу с программным обеспечением ДНК ФА можно одним из способов: выбрать в меню основного окна **Файл** → **Выход**, либо нажать кнопку



Если при завершении работы имеются несохраненные данные, откроется диалоговое окно (Рисунок 27), в котором можно: сохранить данные (данные сохраняются в формате *.fas*), завершить работу без сохранения данных или отменить завершение работы.

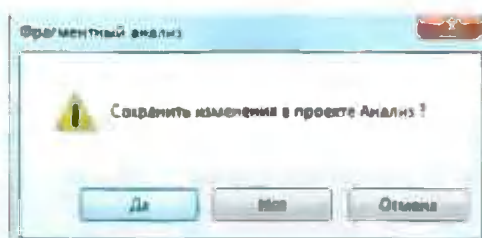


Рисунок 27 – Диалоговое окно сохранения данных

6 ПРОВЕДЕНИЕ ФРАГМЕНТНОГО АНАЛИЗА

В этом разделе приведено описание порядка действий при проведении фрагментного анализа.

Анализ данных, полученных после электрофоретического разделения продуктов амплификации образцов ДНК на устройстве секвенирования ДНК, осуществляется при помощи программного обеспечения **Фрагментный анализ ДНК (ДНК ФА)**.



6.1 Запуск анализа

1. Запустить программу **Фрагментный анализ ДНК**, дважды щелкнув мышью по пиктограмме, которая находится на рабочем столе компьютера. Откроется **Основное окно программы**.



Рисунок 28 – Основное окно программы ДНК ФА

2. Добавить в **Основное окно** данные исследуемых образцов – файлы, полученные после прохождения анализа в программе SeqPI. Это можно сделать двумя способами:

3) Добавить **Файл проекта**. Файл проекта сохраняется в папке: *..\Data\год_месяц_число\название_плашки\час_минута_секунда* и имеет расширение *.far*. В меню **Файл** выбрать пункт **Открыть проект** (или нажать кнопку ).

В открывшемся окне выбрать нужный файл и нажать **Открыть**. При этом будут открыты данные по всем образцам данного проекта.

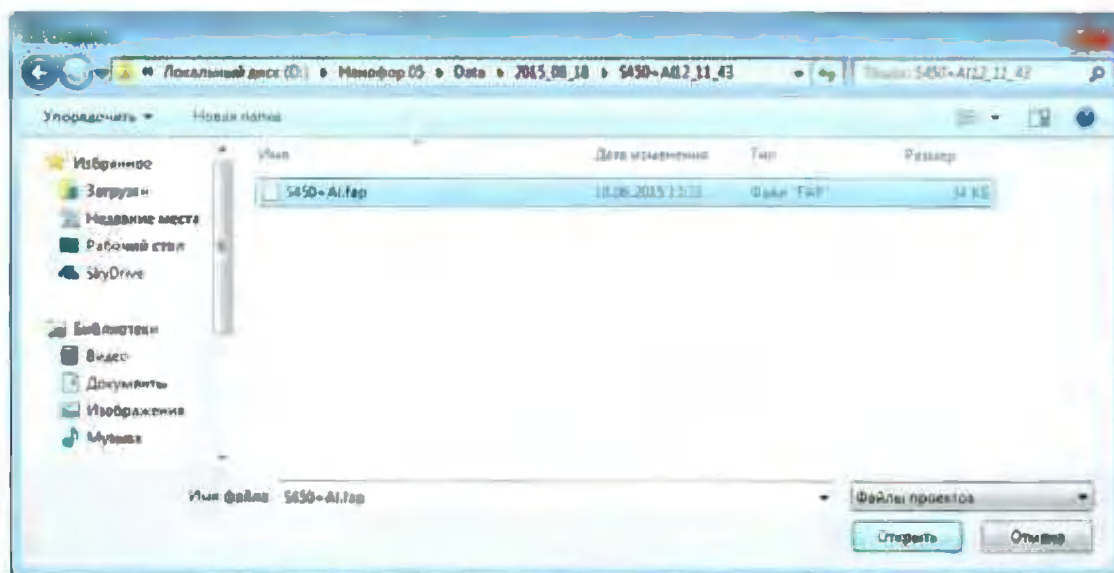


Рисунок 279 – Выбор файла проекта

4) Добавить **Отдельные файлы образцов**. В меню **Файл** выбрать пункт **Добавить файлы** (или нажать кнопку ). В открывшемся окне отметить нужные файлы и нажать **Открыть**. К текущему проекту добавятся только они.

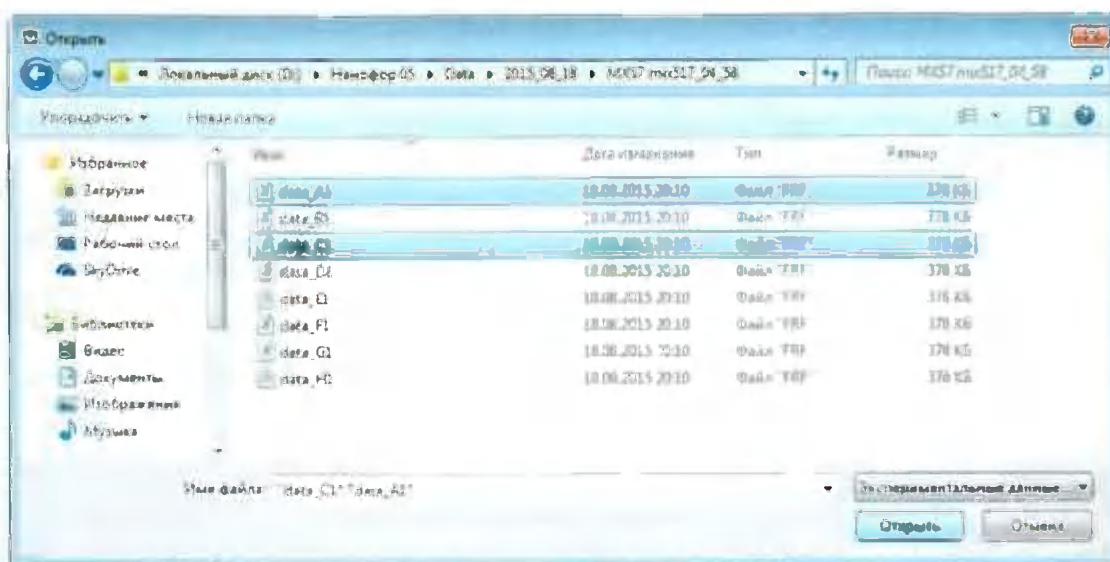


Рисунок 30 – Выбор отдельных файлов образцов

Программа **ДНК ФА** также может анализировать файлы, полученные на приборах **ABIPrizm**, имеющих расширение *.fas* и *.hid*. Открыть такие файлы для анализа можно аналогично, с помощью опции **Добавить файлы** (или нажав кнопку ).

Перед проведением анализа необходимо убедиться, что для каждого образца заданы все необходимые параметры, а именно, **Тип, Схема анализа, Стандарт длин**. Как правило, все эти параметры уже введены в программе **SeqPI** при описании плашки (раздел 2.5 **Руководства** по эксплуатации «Устройства секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями»).

Если параметры не заданы, то для каждого добавленного образца требуется их задать. Значения параметров выбираются из выпадающих списков в ячейках таблицы. Нажать на ячейку правой клавишей мыши и выбрать нужное значение параметра (Рисунки 31–36).

- 5) В графе **Тип** выбрать из списка один из типов образца: **Образец, Положительный контроль, Отрицательный контроль, Аллельная лестница**.

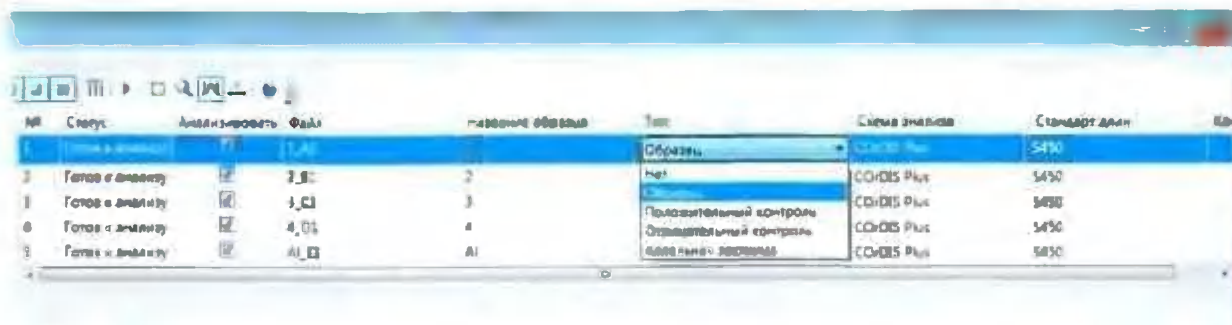


Рисунок 281. Выбор типа образца

Для того, чтобы применить выбранный параметр ко всем ячейкам столбца (т. е. для всех образцов), нажать левой кнопкой мыши по пустой ячейке, затем правой кнопкой по уже заполненной ячейке. В выпадающем списке выбрать команду **Применить ко всем** (выполняется аналогично для всех столбцов таблицы).

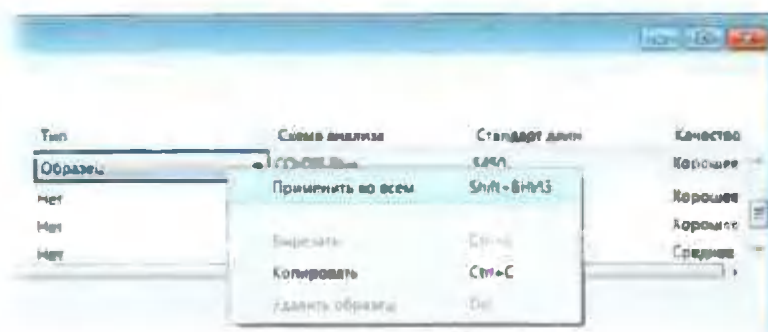


Рисунок 292 – Применить ко всем

Важно! При использовании наборов, содержащих аллельную лестницу, среди всех анализируемых образцов хотя бы один образец должен быть с типом Аллельная лестница.

6) В графе **Схема анализа** выбрать соответствующую схему.

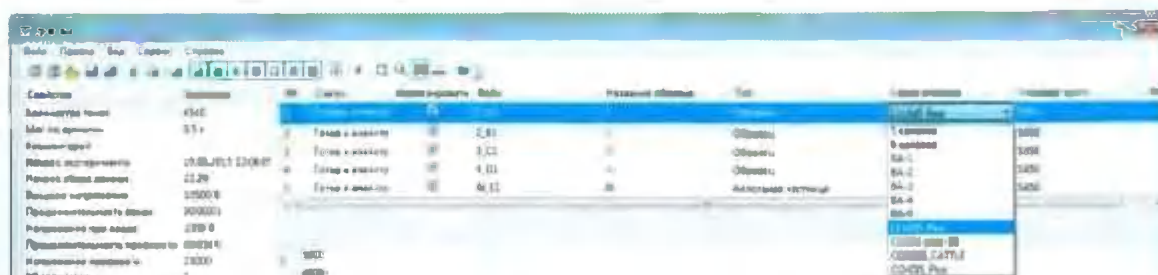


Рисунок 303 – Схема анализа

7) В графе **Стандарт** длин выбрать соответствующий стандарт, а в графе **Анализировать** отметить символом ☒ каждый образец, для которого требуется провести анализ.

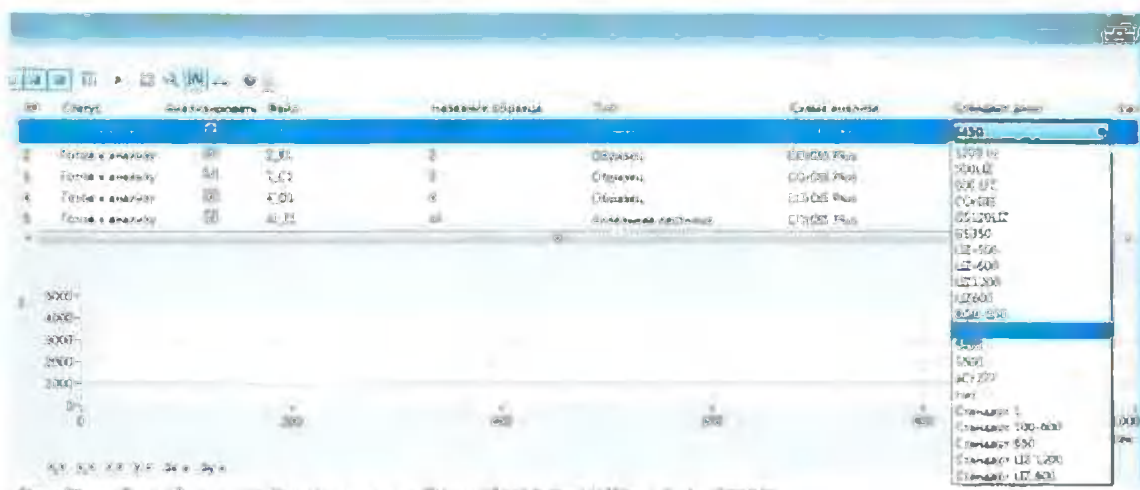


Рисунок 314 - Выбор стандарта длин

2 Нажать кнопку **▶ Запустить анализ**, которая находится на панели инструментов Основного окна программы **ДНК ФА**. Процесс выполнения анализа отображается на индикаторе  в строке состояния в нижнем левом углу окна. После завершения анализа появляется надпись **Готово**.

6.2 Интерпретация результатов анализа

После завершения анализа **Основное окно** принимает вид, как показано на рисунке 35.

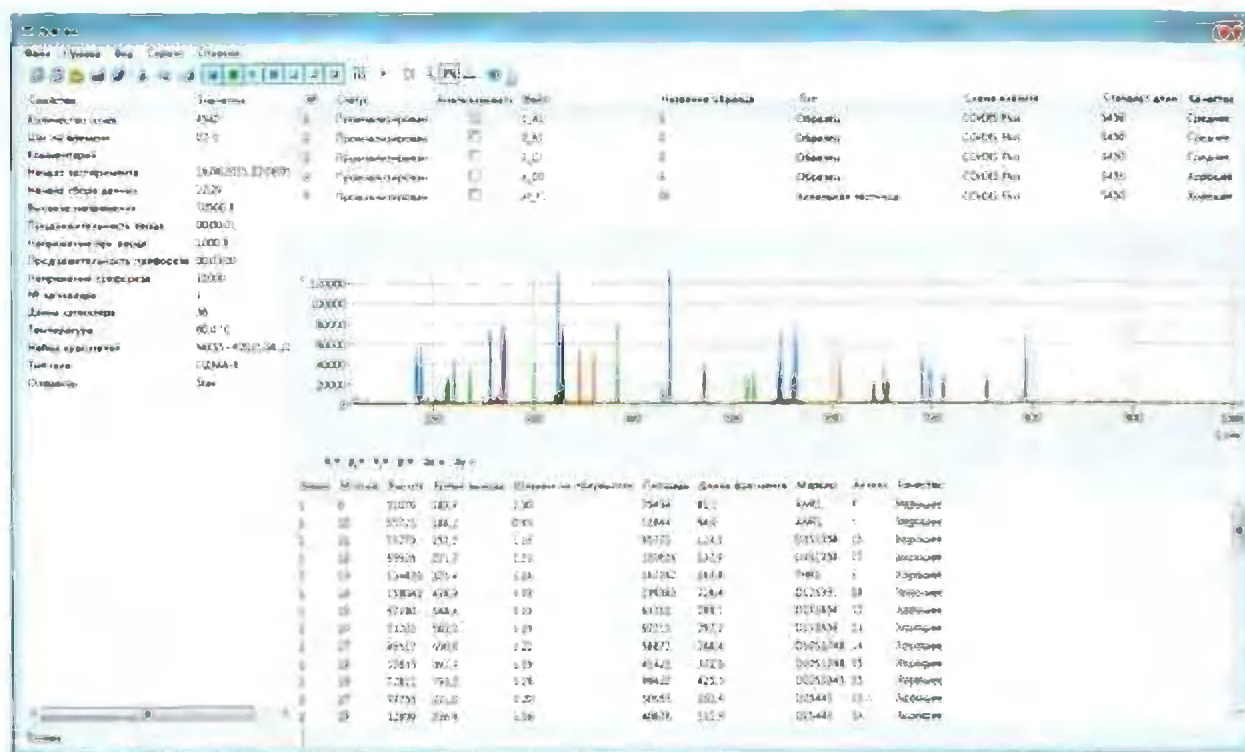


Рисунок 32 - Результаты анализа в Основном окне

В графе **Качество** для каждого образца появляется оценка качества: *Хорошее* (найлены все пики размерного стандарта), *Среднее* (не найден один пик размерного стандарта) или *Плохое* (не найдено более одного пика размерного стандарта).

Для получения итогового протокола анализа пригодны образцы с качеством *Хорошее* и *Среднее*. Для образцов с оценкой качества *Плохое* необходимо, в случае видимого отсутствия пиков размерного стандарта, повторить анализ с момента приготовления образца для электрофореза. В случае наличия пиков стандарта длин, необходимо произвести их расстановку “вручную”. Для этого нужно:

- 1) Отключая последовательно кнопки отображения каналов детекции

 , оставить только канал, соответствующий красителю, входящему в состав фрагментов стандарта длин (например, ).

2) Перейти Сервис → Редактировать стандарт.

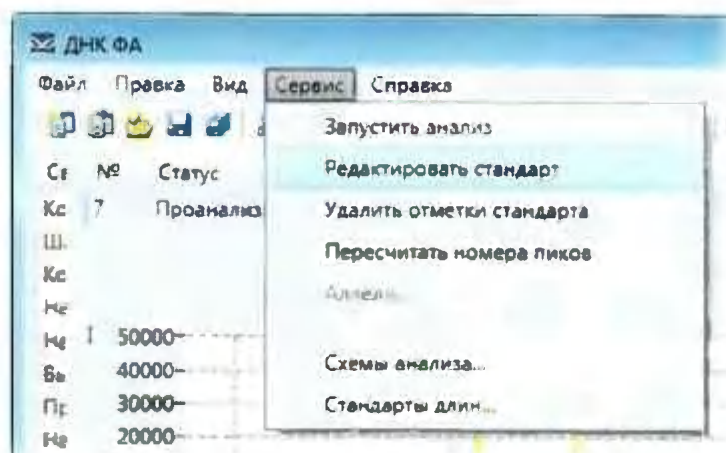


Рисунок 336 – Редактировать стандарт

3) В таблице аллелей Основного окна в столбце **Длина фрагмента** ввести значения, соответствующие пикам стандарта длин, и каждый из них отметить ☒ как **Пик стандарта**.

№	Канал	№ пика	Высота	Время выхода	Ширина на полувысоте	Длина фрагмента	Пик стандарта	Маркер	Алель	Качество
5	673	997	1638.6	1.11	0.0		☐			Хорошее
5	675	979	1648.5	0.72	0.0		☐			Хорошее
5	676	1426	1653.8	2.27	0.0		☐			Хорошее
5	677	1039	1699.9	1.88	0.0		☐			Хорошее
5	678	6039	1708.9	2.93	380.0		☒			Хорошее
5	679	1154	1713.1	0.94	0.0		☐			Хорошее
5	680	18357	1782.0	2.80	0.0		☐			Хорошее
5	681	5104	1796.0	2.64	400.0		☒			Хорошее
5	682	830	1861.2	1.71	0.0		☐			Хорошее
5	683	5739	1881.2	2.95	420.0		☒			Хорошее
5	684	969	1915.9	1.14	0.0		☐			Хорошее
5	685	3662	1964.2	2.86	440.0		☒			Хорошее
5	686	5752	2002.1	2.79	450.0		☒			Хорошее

Рисунок 347 – Добавить пик стандарта

- 4) В категории меню **Сервис** выбрать
Пересчитать номера пиков.

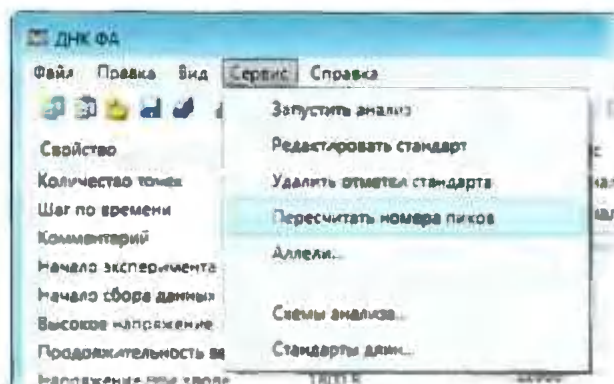


Рисунок 358 – Пересчитать номера пиков

Если редактирование выполнено правильно, то оценка качества анализа должна измениться на *Хорошее*.

Пример результата анализа с оценкой качества *Хорошее* приведен на рисунках 39-40:



Рисунок 369 - Образец с оценкой качества *Хорошее*

Канал	№ пика	Высота	Время выхода	Ширина на половине	Длина фрагмента	Маркер	Алель	Качество
1	10	204048	365.3	1.77	82.0	AMEL	7	Хорошее
1	17	208814	382.2	1.71	84.9	AMEL	7	Хорошее
1	27	160205	539.8	1.97	119.8	D3S1358	14	Хорошее
1	32	175946	611.7	1.78	136.9	D3S1358	18	Хорошее
1	41	163568	731.5	1.83	163.5	TH01	6	Хорошее
1	47	167002	797.5	1.85	179.3	TH01	9.3	Хорошее
1	61	270452	951.4	2.05	214.1	D1S1656	15	Хорошее
1	64	178311	1058.2	2.05	236.5	D1S1656	20	Хорошее
1	80	237817	1333.7	2.18	301.1	D1S1656	15	Хорошее
1	83	203508	1351.7	2.21	305.3	D1S1656	16	Хорошее
1	93	75589	1638.5	2.36	371.4	D2S1348	14	Хорошее
1	98	81298	1668.7	2.38	379.4	D2S1348	16	Хорошее
1	101	27326	1853.6	2.69	424.1	D2S1348	15	Хорошее
1	102	26083	1885.8	2.45	427.2	D2S1348	16	Хорошее
2	126	640867	446.5	1.71	98.5	D2S1348	13	Хорошее
2	143	248435	682.5	2.01	152.6	D7S820	9	Хорошее
2	146	245952	700.2	2.95	156.5	D7S820	10	Хорошее
2	159	263083	890.8	1.82	209.7	D1S1656	9	Хорошее
2	164	243093	934.8	1.85	208.7	D1S1656	11	Хорошее
2	173	214364	1180.9	2.13	266.4	FGA	19.2	Хорошее
2	179	249891	1214.6	2.16	274.2	FGA	21.2	Хорошее
1	230	266207	1944.5	1.80	371.7	TH01	8	Хорошее
1	245	285513	1961.7	1.74	248.3	D1S1656	11	Хорошее
1	252	246454	215.2	1.76	260.0	D1S1656	15	Хорошее
1	265	142711	1050.2	2.12	238.5	D1S1656	11	Хорошее
1	268	123735	1075.5	2.15	242.4	D1S1656	12	Хорошее
3	277	174041	1259.7	2.14	284.5	D5S1179	11	Хорошее
3	281	142927	1329.6	2.20	300.1	D6S1179	15	Хорошее
3	292	266214	1512.7	2.36	342.5	CSF1PO	20	Хорошее
3	301	250486	1758.5	2.54	400.6	D5S1179	12	Хорошее
4	335	289707	567.4	1.85	126.4	WWA	17	Хорошее
4	338	277464	569.3	1.87	130.7	WWA	18	Хорошее
4	348	235163	849.7	2.85	191.7	D21S11	31	Хорошее
4	350	281260	875.7	1.90	197.5	D21S11	32.7	Хорошее
4	359	274890	1448.3	2.43	327.9	SE33	23.2	Хорошее
4	364	221496	1481.9	2.41	336.0	SE33	25.2	Хорошее

Рисунок 40 - Таблица аллелей к результату анализа образца с оценкой качества *Хорошее*

Результаты анализа образцов с оценкой качества *Хорошее* и *Среднее* доступны для просмотра в окне Аллели (кнопка ).

Результаты анализа образцов с оценкой качества *Плохое* просмотреть в окне Аллели нельзя.

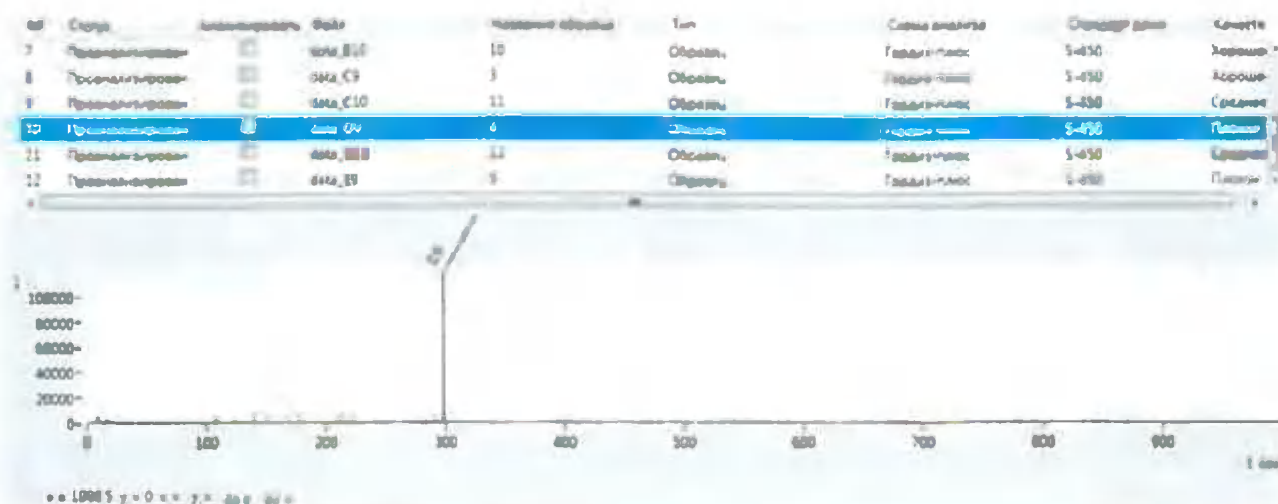


Рисунок 371 - Пример результатов анализа образца с оценкой качества *Плохое*

Важно! Плохое качество может быть обусловлено низким уровнем сигнала флуоресценции по всем каналам (недостаточное количество ДНК в образце), или другими причинами: высоким уровнем шумового фона, «зашкалами» сигнала вследствие схождения остатков праймеров в начале электрофореза, высоким уровнем аллельной диспропорции в аллельной лестнице или за счет резких изменений в подвижности, приводящих к образованию значительных локальных участков, где имеет место нарушение линейности движения фрагментов.

При получении результатов с качеством *Плохое* следует повторить анализ. Далее рекомендуется следующий алгоритм действий:

6.2.1 Анализ аллельной лестницы.

Важно! Анализ аллельной лестницы проводится при оценке качества *Хорошее* или *Среднее*. Если для аллельной лестницы качество определено как *Плохое*, повторный электрофорез необходимо провести для всей серии образцов.

- 1) В основном окне ДНК ФА выделить строку с аллельной лестницей и нажать кнопку  Аллели.



№	Анализировать	Файл	Название образца	Тип	Схема анализа
1	☒	1_1	1	Аллельная лестница	1
2	☒	1_F1	2	Образец	CODIS Plus
3	☒	1_E1	3	Образец	CODIS Plus
4	☒	4_01	4	Образец	CODIS Plus
5	☒	3_01	5	Образец	CODIS Plus
6	☒	2_E1	6	Образец	CODIS Plus
7	☒	1_A1	7	Образец	CODIS Plus

Рисунок 382 – Выбор аллельной лестницы

Откроется окно Аллели, предназначенное для просмотра результатов анализа в графическом виде (Рисунок 43).



Рисунок 393 - Окно «Аллели»

В окне **Аллели** отображается несколько графиков, расположенных вертикально. Каждый график соответствует одному из использованных при анализе красителей. По горизонтальной оси графиков откладывается рассчитанная длина фрагментов в нуклеотидах, по вертикальной оси – интенсивность флуоресценции. Над графиками расположены названия локусов и номера возможных аллелей, под графиками – номера аллелей, определенных в результате анализа. Пример окна изображен выше на рисунке 43, элементы панели инструментов окна **Аллели** описаны в таблице 6.

Таблица 6

Элемент	Описание
 Печать	Выводит на печать результат анализа образцов
Порог	Порог сигнала флуоресценции
☒ Применить порог	Применить порог сигнала флуоресценции.
☐ Показать все	Кнопка масштабирования, позволяющая посмотреть сразу всю картину хроматограммы.
 Масштаб осей	Изменение масштаба осей

- 2) Визуально убедиться, что все пики фрагментов аллельной лестницы имеют под осью X значения, соответствующие их длине и количеству коротких tandemных повторов (Рисунок 44).

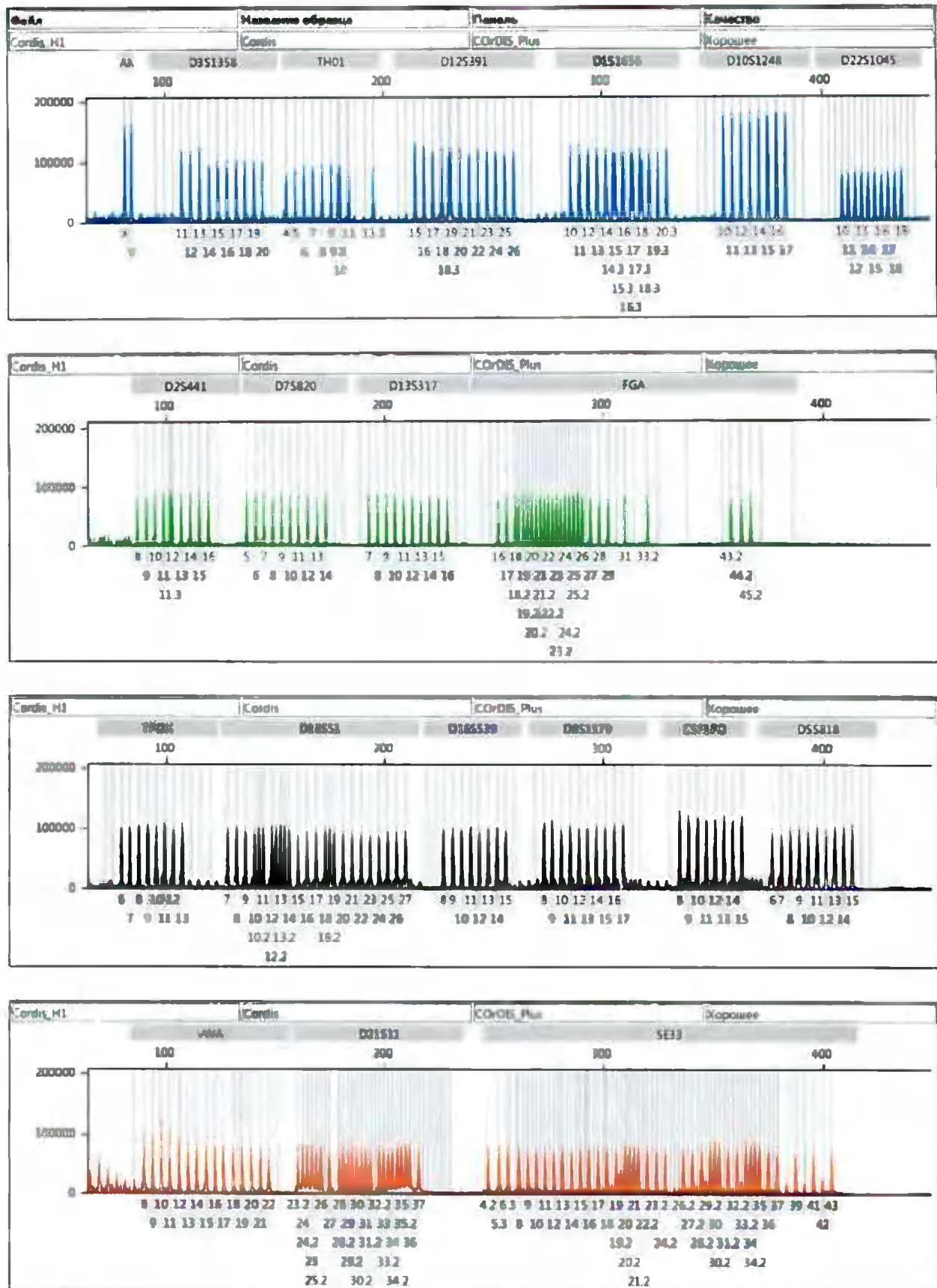


Рисунок 40 - Электрофореграмма разделения аллельной лестницы
(панель COrDIS Plus)

6.2.2 Анализ контрольной ДНК

Аналогично процедуре, описанной для анализа аллельной лестницы, в основном окне ДНК ФА выделить строку, соответствующую образцу с положительным контролем, и нажать кнопку  Аллели. Результат анализа для контрольного образца должен иметь качество *Хорошее* или *Среднее*, установленный генетический профиль должен соответствовать генетическому профилю использованного в анализе образца контрольной ДНК (Рисунок 45).

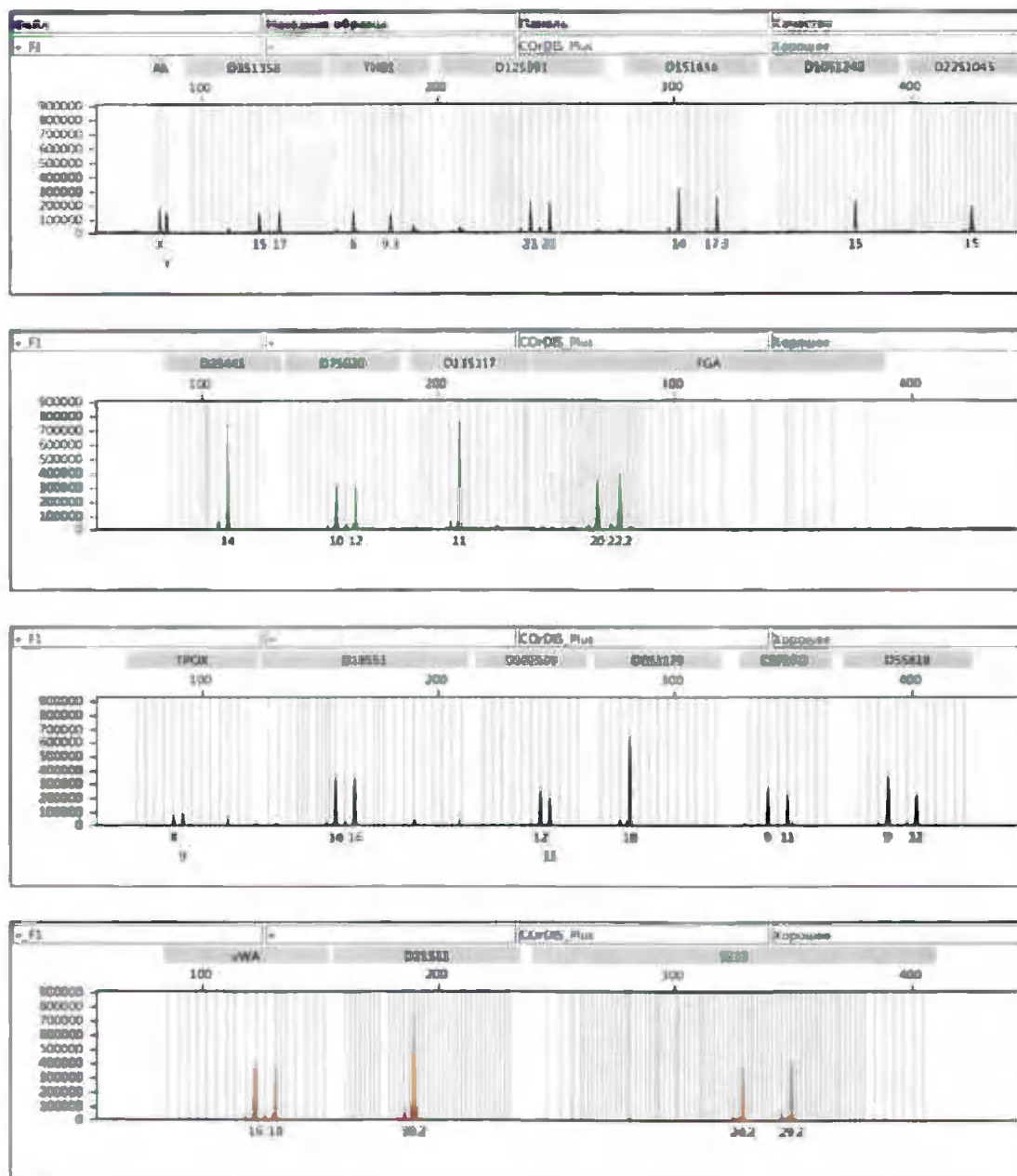


Рисунок 415 - Электрофореграмма разделения контрольной ДНК

6.2.3 Анализ образца с отрицательным контролем

Необходимо убедиться, что на электрофореграмме образца с отрицательным контролем в диапазоне выхода целевых фрагментов отсутствуют какие-либо пики, кроме пиков размерного стандарта.

6.2.4 Анализ исследуемых образцов

Аналогично процедуре, описанной для анализа аллельной лестницы, анализируются все остальные образцы с оценкой качества *Хорошее* и *Среднее*. Для образцов с качеством *Плохое*, необходимо провести расстановку пиков размерного стандарта “вручную”, как описано выше, либо провести повторный электрофорез.

Для просмотра отметить нужный образец в таблице и нажать кнопку **III Аллели** на панели инструментов основного окна. Откроется окно **Аллели** содержащее графическое изображение результатов анализа данного образца (Рисунок 46).



Отключая последовательно кнопки отображения каналов детекции , можно получить в окне совмещенные электрофореграммы нескольких образцов. Ниже показан одновременный просмотр результатов анализа аллельной лестницы, образца контрольной ДНК и исследуемого образца по локусу DIS1656 (Рисунок 47).

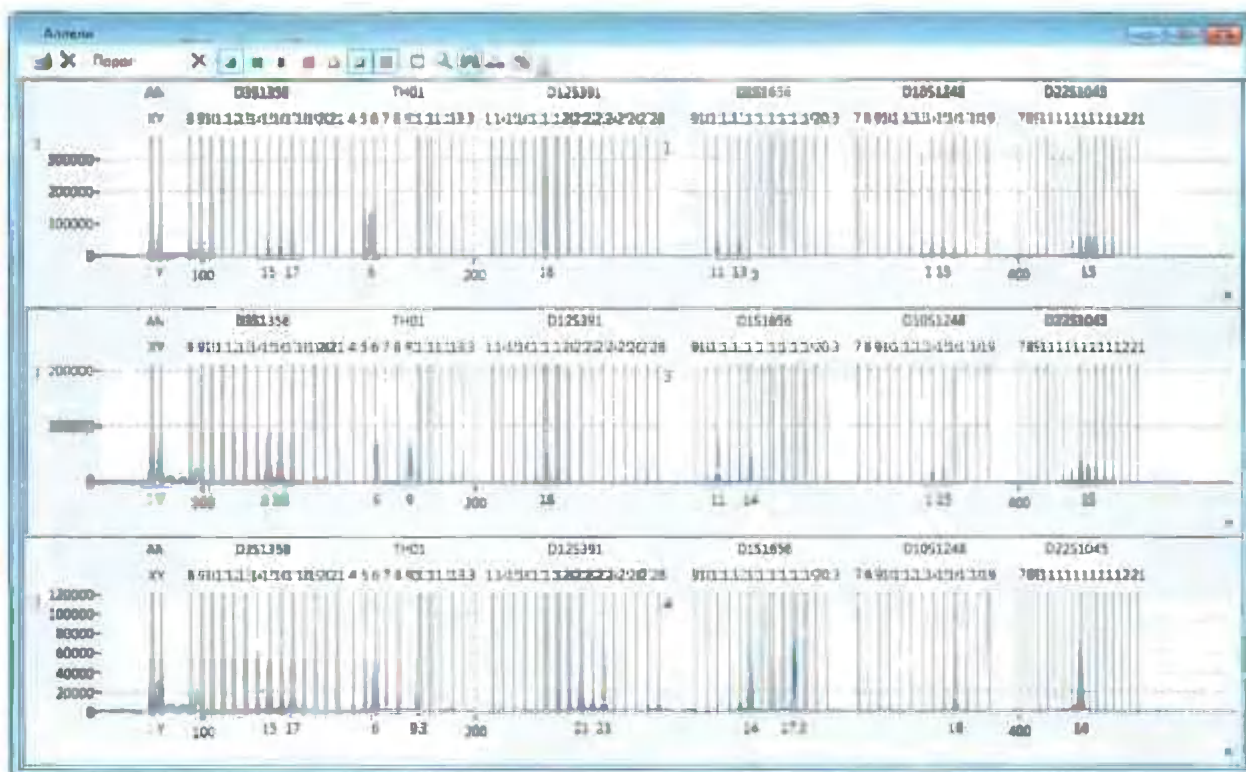


Рисунок 43 - Одновременный просмотр результатов анализа нескольких образцов в окне «Аллели»

Отсечь пики с интенсивностью меньшей, чем задана в поле **Порог**, можно нажав на кнопку **× Применить порог**. Для обновления результата после применения порога необходимо закрыть окно **Аллели** и открыть его заново.

Удалить подпись под пиком можно, выставив курсор в соответствующий квадрат под пиком и нажав кнопку **× Удалить подпись**.

Графики можно распечатать, нажав кнопку **→ Печать**.

Прошито, пронумеровано,
проброшюровано 33 листов

Директор
ИАП РАН



В.Е. Курочкин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт аналитического приборостроения
Российской академии наук (ИАП РАН)

ОКП 94 4330

**УСТРОЙСТВО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК
ПО ТУ 9443-005-04699534-2013,
С ПРИНАДЛЕЖНОСТЯМИ**

Паспорт

ПКДН.941417.001 ПС

2015

СОДЕРЖАНИЕ

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ ИЗДЕЛИИ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ	3
КОМПЛЕКТНОСТЬ	4
РЕСУРСЫ, СРОКИ СЛУЖБЫ И ХРАНЕНИЯ И ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	5
СВИДЕТЕЛЬСТВО О ПРИЁМКЕ	6
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	7
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	8

Уважаемый покупатель!

Благодарим Вас за приобретение нашей продукции и рекомендуем внимательно изучить руководство по эксплуатации Устройства прежде, чем Вы приступите к его эксплуатации!

ВНИМАНИЕ! «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» не является средством измерений и не нуждается в ежегодной поверке.

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ ИЗДЕЛИИ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Медицинское изделие «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» представляет собой прибор для проведения капиллярного электрофореза с лазер-индуцированной флуоресцентной детекцией, позволяющий одновременно выявлять в каждом капилляре фрагменты одноцепочечной ДНК различной длины, меченные семью флуоресцентными красителями FAM, R6G, TAMRA, ROX, DY632, MR590 и Cy5.

Медицинское изделие «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» предназначено для секвенирования и фрагментного анализа ДНК при проведении научных и диагностических медико-биологических исследований в медицинских центрах и научно-исследовательских лабораториях;

ТЕХНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Наименование параметра	Значение
Количество капилляров	8
Напряжение, подводимое к капиллярам	0,5 ÷ 20 ($\pm 0,03$ %) кВ
Сопряжение с компьютером	Интерфейс USB
Автоматическая замена геля	Да
Автоматическое нанесение образца	Да
Возможность работы без оператора, при полной автоматизации	Да
Количество каналов детекции различных по спектру флуоресцентных красителей	7 каналов детекции для приема сигналов с максимумами флуоресценции 520, 550, 580, 605, 625, 645, 665 нм.
Длина прочтения последовательности ДНК	не менее 750 п.н. с точностью не менее 99 %
Точность установления длины фрагмента	± 1 нуклеотид при длине фрагмента не менее 500 п.н.
Производительность	750 нуклеотидов за время не более 90 минут
Возможность работы с реактивами различных производителей	Да
Лазер	Твердотельный, $\lambda = 488$ нм
Чувствительность по флуоресценции	до 10^{-11} М
Выход на рабочий режим	Не более 5 минут
Потребляемая мощность в рабочем режиме, не более	300 ВА
Масса, кг	48
Габаритные размеры (Длина x Ширина x Высота), мм	600 x 630 x 630

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Наименование	Обозначение	Количество, шт.
1 Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями	ПКДН.941417.001	1
2 Программное обеспечение на компакт-диске (SeqPI, ДНК-ФА, ДНК-АЛ)	ПКДН.941417.001 ПО	1
<u>3 Принадлежности</u>		2
3.1 Линейка из восьми капилляров	ПКДН.306585.001	
3.2 Контейнер для хранения проб	ПКДН.307651.001	2
3.3 Контейнер для хранения рабочих жидкостей	ПКДН.307651.002	4
3.4 Кабель USB 2/0 AB, 1,8м	BW411(либо аналог)	1
3.5 Трубка 1/8"×ID 0.063 Тefлон, 0,2 м	Supelko (58703) (либо аналог)	1
3.6 Трубка 1/8"×ID 0.063 Тefлон, 0,12 м	Supelko (58703) (либо аналог)	1
3.7 Шнур сетевой 220В, 3А	SCZ-1 (либо аналог)	1
<u>Эксплуатационная документация</u>		
4.1 Руководство по эксплуатации	ПКДН.941417.005 РЭ	1
4.2 Руководство оператора	RU.ПКДН.503320-02 34 01	1
4.3 Руководство оператора	RU.ПКДН.503320-03 34 01	1
5 Паспорт	ПКДН.941417.001 ПС	1
6 Ведомость ЗИП	ПКДН.941417.001 ЗИ	1

Примечание: ПЭВМ в обязательный комплект поставки не входит и поставляется по требованию заказчика при заключении отдельного договора.

РЕСУРСЫ, СРОКИ СЛУЖБЫ И ХРАНЕНИЯ И ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Срок службы изделия до списания и утилизации 8 лет.

Ресурс изделия составляет не менее 5 лет при соблюдении следующих условий эксплуатации:

1. Температура окружающего воздуха от 10 до 40 °С.
2. Относительная влажность не более 80% при 25 °С.
3. Атмосферное давление 760 ± 30 мм рт. ст. ($101,3 \pm 4$ кПа).
4. Устройство должно эксплуатироваться в лабораторных помещениях, не содержащих высоких концентраций паров агрессивных химических веществ и пыли.
5. После транспортирования и хранения в условиях отрицательных температур до начала эксплуатации устройство в транспортной упаковке должно быть выдержано при нормальных климатических условиях не менее 4 ч.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Предприятие-изготовитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН) гарантирует соответствие «Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями» требованиям ТУ 9443-005-04699534-2013 при соблюдении условий транспортировки, хранения, монтажа и эксплуатации.

Гарантийный срок эксплуатации – 24 месяца со дня продажи.

Гарантийный срок хранения – 6 месяцев со дня изготовления устройства.

При обнаружении неисправности Устройства в период действия гарантии, а также для сервисного обслуживания в послегарантийный период обращаться на предприятие-изготовитель по адресу:

Россия, 198095, Санкт-Петербург, Рижский пр., д. 26, ИАП РАН

Тел. (812) 363-07-19

Тел./факс: (812) 363-07-20

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ПРИЁМКЕ

Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013, с принадлежностями

заводской номер № XXXXXXX

соответствует требованиям ТУ 9443-005-04699534-2013

и признано годным к эксплуатации.

Начальник ОТК



Подпись

Расшифровка

Дата выпуска

Директор предприятия-изготовителя



Подпись

Расшифровка

Дата выпуска

Мы будем благодарны за все Ваши конструктивные предложения и замечания по работе устройства!

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Утилизации подвергается устройство после окончания срока эксплуатации, восстановление которого технически и экономически нецелесообразно.

Утилизация устройства не создаст экологической опасности.

Утилизация устройства может быть выполнена компаниями, специализирующимися на утилизации (переработке) оргтехники и радиоэлектронного оборудования.

Заводской номер XXXXXXX

Дата	Вид работ	Фактически выполненные действия	Гарантия ФИО Подпись
1	2	3	4

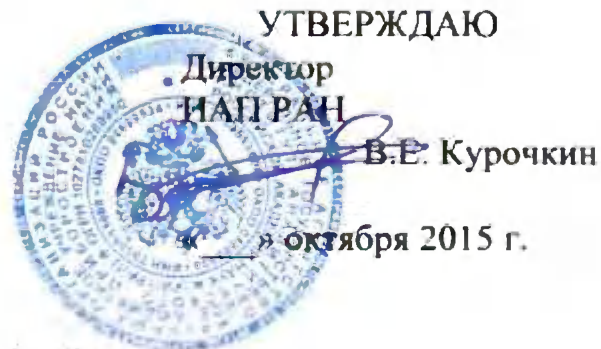
Прошито, пронумеровано,
проброшпоровано 8 листов

Директор
ИАП РАН

В.Е. Курочкин



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН)



УТВЕРЖДАЮ

Директор
ИАП РАН

В.Е. Курочкин

«___» октября 2015 г.

МАРКИРОВКА

МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Устройство секвенирования ДНК по ТУ 9443-005-04699534-2013,
с принадлежностями»

Лицевая панель Устройства маркируется следующим образом (рисунок 1).

В левом верхнем углу – наименование производителя.

С правой стороны сверху – наименование изделия.

В правом нижнем углу – обозначения управляющих кнопок и сигнальных светодиодов на русском и английском языках.



Рисунок 1 – Лицевая панель изделия

Разъем для связи с компьютером на задней панели Устройства маркируется с помощью надписи «USB».

Сетевой разъем на задней панели Устройства маркируется «220В».

Лицевая панель Устройства маркируется с помощью следующей фирменной таблички (рисунок 2).



Рисунок 2 – Фирменная табличка

Транспортная упаковка маркируется с помощью следующих этикеток (рисунок 3).

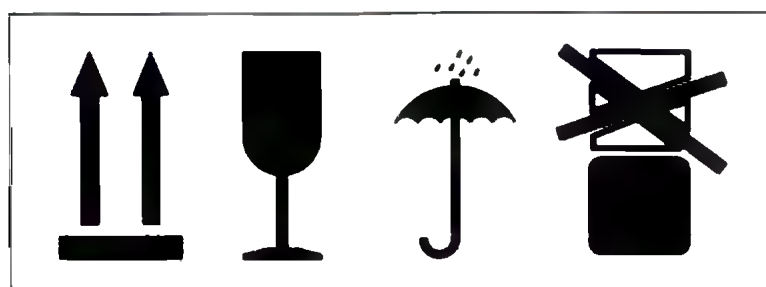
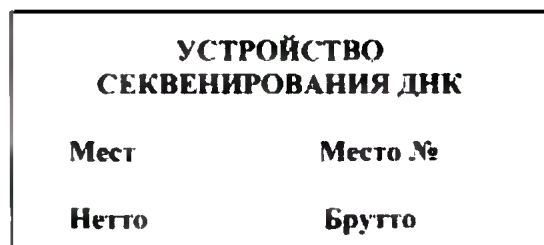
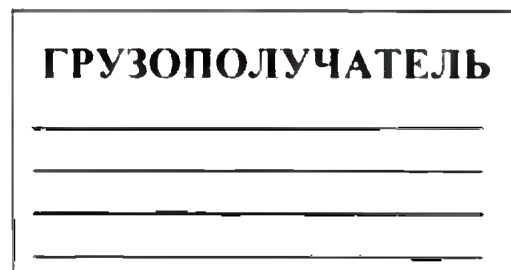
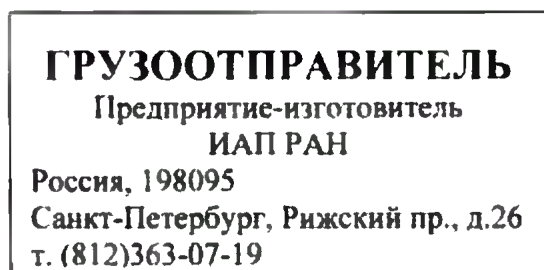
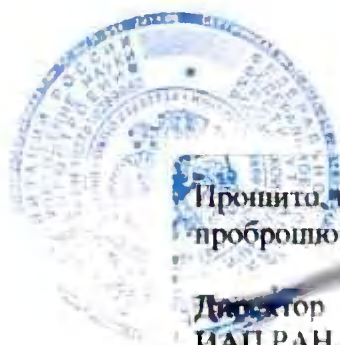


Рисунок 3 – Маркировка транспортной упаковки



Прочито, пронумеровано,
проброшюровано 2 листов

Директор
ИАП РАН

В.Е. Курочкин