

SureCycler 8800

Guida alla configurazione e all'uso

Versione C2, ottobre 2015

**A solo scopo di ricerca. Da non utilizzare in
procedure di diagnostica.**



Agilent Technologies

Avvisi

© Agilent Technologies, Inc. 2015

Nessuna parte di questo manuale può essere riprodotta in qualsiasi forma o mezzo (compresa la memorizzazione su supporti elettronici ed il recupero o la traduzione in lingua straniera) senza la preventiva autorizzazione scritta di Agilent Technologies Inc., conformemente a quanto previsto dalle leggi in vigore negli Stati Uniti e da altre normative internazionali sui diritti d'autore.

Codice del manuale

G8800-92000

Edizione

Versione C2, ottobre 2015

Stampato in USA

Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Rd
Santa Clara, CA 95051 USA

Microsoft® è un marchio o un marchio registrato di Microsoft Corporation negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

Supporto tecnico

Per il supporto tecnico, contattare Agilent all'indirizzo techservices@agilent.com. Le informazioni complete sui contatti per il Supporto tecnico sono elencate a [pagina 14](#).

Agilent SureCycler 8800

Prodotto

Agilent Technologies LDA Malaysia Sdn. Bhd.
Bayan Lepas Free Industrial Zone
11900 Penang, Malaysia

Per

Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd.
No. 1, Yishun Avenue 7,
Singapore 768923
www.agilent.com

Garanzia

Le informazioni contenute in questo documento sono fornite allo stato corrente e sono soggette a modifiche senza preavviso nelle edizioni future. Inoltre, nei limiti massimi previsti dalle leggi vigenti, Agilent non fornisce alcuna garanzia, espressa o implicita, relativamente al presente manuale e alle informazioni in esso contenute, comprese senza limitazione alcuna, le garanzie implicite di commerciabilità ed idoneità a un uso specifico. Salvo il caso di dolo o colpa grave Agilent non sarà responsabile di errori o danni diretti o indiretti relativi alla fornitura o all'uso di questo documento o delle informazioni in esso contenute. Nel caso in cui Agilent e l'utente abbiano stipulato un accordo scritto separato relativo ai termini di garanzia a copertura del materiale contenuto nel presente documento ed in conflitto con i termini sopra espressi, prevarrà l'accordo separato.

Licenze sulla tecnologia

I componenti hardware e/o software descritti in questo documento vengono forniti con licenza e possono essere utilizzati o copiati solo in conformità ai termini di tale licenza.

Limitazione dei diritti

Diritti limitati per gli utenti del governo degli Stati Uniti. I diritti sui dati tecnici e relativi al software garantiti al governo federale comprendono solamente i diritti abitualmente assicurati ai clienti finali. Agilent fornisce questa licenza commerciale

standard sui dati tecnici e relativi al software secondo quanto previsto dalle specifiche FAR 12.211 (dati tecnici) e 12.212 (software per computer) e, per il Dipartimento della difesa, DFARS 252.227-7015 (dati tecnici - articoli commerciali) e DFARS 227.7202-3 (diritti su software commerciale per computer o documentazione sul software per computer).

Indicazioni di sicurezza

ATTENZIONE

L'indicazione **ATTENZIONE** segnala un rischio. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analoga operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare danni al prodotto o la perdita di dati importanti. Non procedere oltre un segno di **ATTENZIONE** fino a che le condizioni indicate non siano state completamente comprese e rispettate.

AVVERTENZA

L'indicazione **AVVERTENZA** segnala un pericolo. Richiama l'attenzione su una procedura operativa analoga operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare lesioni personali o morte. Non procedere oltre un segno di **AVVERTENZA** fino a che le condizioni indicate non siano state completamente comprese e rispettate.

In questo manuale...

Questo documento descrive come programmare e usare il SureCycler 8800 Agilent.

1 Prima di Iniziare

Questo capitolo contiene informazioni che devono essere lette e comprese prima di iniziare l'utilizzo.

2 Installazione

Questo capitolo contiene le istruzioni di installazione per la configurazione dello strumento ciclatore.

3 Introduzione

Questo capitolo contiene le istruzioni per il caricamento dei campioni, l'avvio del software, la configurazione degli account utente e l'accesso remoto agli strumenti attraverso una rete.

4 Programmi PCR

Questo capitolo contiene le istruzioni per lavorare con programmi PCR, incubazioni e report. Sono forniti anche i suggerimenti per la risoluzione dei problemi.

5 Manutenzione e Aggiornamenti

Questo capitolo contiene le istruzioni per la manutenzione dello strumento e il caricamento degli aggiornamenti software.

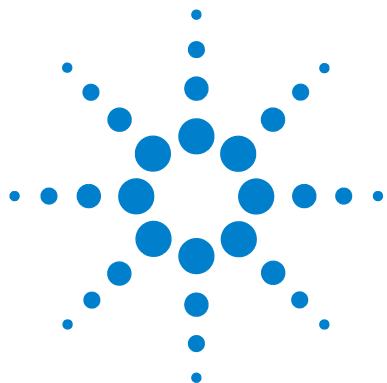
Contenuti

1	Prima di Iniziare	9
	Materiali Forniti	10
	Precauzioni di Sicurezza	10
	Indicatore LED	13
	Informazioni Generali	13
	Supporto tecnico per il SureCycler 8800	14
2	Installazione	15
	Installazione	16
	Fase 1. Scelta di una posizione per lo strumento	16
	Fase 2. Disimballo del ciclatore	16
	Fase 3. Installazione del blocco termico sulla base dello strumento	16
	Fase 4. Collegamento dello strumento a una sorgente di alimentazione	17
	Fase 5. Connessione dei dispositivi opzionali	17
	Fase 6. Accensione dello strumento	17
	Fase 7. Collegamento del ciclatore a una rete (opzionale)	17
	Scambio del Blocco Termico	18
	Per rimuovere il blocco termico	18
	Per montare il blocco termico	18
3	Introduzione	19
	Preparazione e Caricamento del Campione	20
	Per preparare i campioni	20
	Per caricare i campioni	20
	Articoli in Plastica E prodotti di Consumo Agilent	21
	Avvio del Software	22
	Funzionamento del Software con il Touchscreen	22

Schermata Iniziale	22
Account Utente	24
Livelli di Accesso	24
Accesso agli Account Utente	24
Gestione degli Account Utente	26
Impostazioni di rete e Accesso Remoto	29
Per visualizzare o modificare l'indirizzo IP e il nome del ciclatore	29
Per accedere al ciclatore da un altro ciclatore	30
Accesso al ciclatore da un computer	31
Accesso al ciclatore da un iPhone	31
Impostazioni del Ciclatore	32
Impostazione Coperchio Riscaldato	32
Nome del ciclatore	33
Data e ora	33
4 Programmi PCR	35
Creazione di Nuovi Programmi PCR	36
Per creare manualmente i programmi	36
Per creare un programma PCR usando la procedura guidata PCR	39
Suggerimenti per la Creazione di Programmi PCR per il SureCycler 8800 a 384 Pozzetti	42
Fasi del Programma Nell'elenco dei Comandi	43
Avvio a Caldo	43
Procedura Guidata Ciclo	44
Avvia Ciclo	45
Fase Temperatura	46
Fine Ciclo	47
Fase Gradiente	47
Touchdown	49
Fase di Stoccaggio/Pausa	50
Uso di un Programma PCR Precaricato	51
Per accedere ai programmi precaricati	52

Per modificare un programma precaricato	52
Modifica dei Programmi PCR	53
Per modificare i parametri delle fasi del programma	53
Per copiare una fase PCR	54
Per aggiungere o eliminare una fase PCR	54
Per eliminare un programma PCR	54
Esecuzione di un Programma PCR	55
Per eseguire un programma PCR	55
Per arrestare o mettere in pausa un programma	55
Esecuzione di un Incubazione	56
Per configurare ed eseguire un'incubazione	56
Visualizzazione di Report	57
Per visualizzare i report	57
Per eliminare un report	57
Diagnosi dei Problemi	58
Se la resa del PCR è scarsa quando si lavora su piccoli volumi di reazione con una pendenza di aumento Standard	58
Se non viene mostrata alcuna temperatura effettiva durante la reazione	58
Se il programma non si avvia	58
Se viene trovata della condensa nei tubi durante una sessione	59
Se la micropiastra sigillata perde un volume di campione	59
Se i dispositivi USB, incluse le chiavette di memoria e la tastiera non vengono riconosciuti	59
Se il ciclatore non si accende	59
Se lo schermo è vuoto e spento	60
Se lo schermo è acceso ma non mostra alcuna informazione o mancano dei caratteri	60
5 Manutenzione e Aggiornamenti	61
Manutenzione	62
Pulizia	62
Sostituzione di un fusibile	62

Aggiornamenti Software	63
------------------------	----



1

Prima di Iniziare

Materiali Forniti	10
Precauzioni di Sicurezza	10
Indicatore LED	13
Informazioni Generali	13
Supporto tecnico per il SureCycler 8800	14

Questo capitolo contiene informazioni che devono essere lette e comprese prima di iniziare l'utilizzo.

Per le istruzioni di installazione, vedere [“Installazione”](#) a pagina 16.



Materiali Forniti

Tavola 1 Materiali Forniti

Parte	Quantità
Base strumento SureCycler 8800	1
Unità blocco termico (96 pozzetti o 384 pozzetti)*	1
Cavo di alimentazione	1
Unità esterna USB**	1
Certificato di collaudo funzionale	1
Foglio della Guida rapida all'installazione	1
CD con PDF della Guida alla configurazione e all'uso	1

*Le unità blocco termico vengono vendute separatamente con i codici G8810A (blocco da 96 pozzetti) e G8820A (blocco da 384 pozzetti).

** L'unità esterna USB viene fornita per il trasferimento di file verso e provenienti dal ciclatore secondo necessità. Si raccomanda l'utilizzo di quest'unità per tutti i trasferimenti di file sul ciclatore.

Precauzioni di Sicurezza

Parti Elettriche

È necessario attenersi alle precauzioni di sicurezza standard per i componenti elettrici, incluse le seguenti:

- Collocare sempre lo strumento in una posizione in cui, se necessario, l'alimentazione elettrica possa essere disconnessa immediatamente.
- La tensione corretta deve essere fornita prima che lo strumento venga acceso per la prima volta.
- Il dispositivo deve essere collegato a una presa dotata di messa a terra.
- Non toccare interruttori o prese con le mani umide.
- Spegnerlo lo strumento prima di scollegare il cavo di alimentazione.

- Staccare lo strumento prima di pulire grossi versamenti di liquidi, di eseguire interventi di manutenzione sulle parti elettriche o sui componenti interni, o di sostituire il blocco termico.
- Non azionare lo strumento se è connesso a una presa elettrica non dotata di messa a terra.
- *Non intervenire sui componenti elettrici se non si è qualificati per farlo.*

Fluidi e Reagenti

- Riempire i vasi di reazione fuori dal ciclatore in modo che nessun fluido penetri nello strumento.
- Non ciclare né incubare mai sostanze esplosive, infiammabili o reattive nello strumento.
- Attenersi ai relativi regolamenti di sicurezza quando si trattano agenti patogeni, sostanze radioattive o altre sostanze pericolose per la salute.
- Non immergere lo strumento in alcun liquido.

Pericolo di Ustioni

- *Non toccare il blocco termico, il lato interno del coperchio riscaldato e i recipienti di reazione.* Queste aree raggiungono rapidamente temperature superiori a 50°C. Tenere chiuso il coperchio riscaldato fino a quando non viene raggiunta una temperatura non superiore a 30°C.
- Non usare materiali (piastre, sigillature, pellicole, tappetini) non caratterizzati da una sufficiente stabilità termica (fino a 120°C).

Ambiente Operativo

- Garantire sempre il passaggio dell'aria attraverso le aperture di ventilazione del dispositivo. Lasciare almeno 10 cm di spazio intorno allo strumento.
- Mantenere sempre la temperatura ambiente compresa fra 20°C e 30°C, con livelli di umidità compresi fra il 20% e l'80%, senza condensa.
- Non utilizzare lo strumento in un ambiente pericoloso o potenzialmente esplosivo.

Valori Nominali Dell'apparecchiatura

- Livello di inquinamento 2

1 Prima di Iniziare

Precauzioni di Sicurezza

- Categoria di installazione II
- Altitudine 2000 m
- Umidità dal 20 all'80%, senza condensa
- Alimentazione elettrica 100-240 V, 50/60 Hz, 11 A
- Temperatura da 20°C a 30°C
- Solo per uso in ambienti interni

Scarica Elettrostatica

Il SureCycler 8800 è sensibile alle scariche elettrostatiche. Le scariche elettrostatiche superiori a 8000 volt possono interferire con il normale funzionamento delle porte USB dello strumento. Quando si lavora in ambienti con notevoli cariche statiche, prendere delle precauzioni per maneggiare lo strumento. In ambienti con notevoli cariche statiche, indossare un bracciale connesso a terra e adottare altre precauzioni antistatiche prima di toccare il dispositivo. ESD STM5.1-1998 Classe 3B.

Simboli di Sicurezza

Sullo strumento possono essere riportati i simboli elettrici/di sicurezza descritti di seguito.



Accensione



Spegnimento



Attenzione



Attenzione, superfici molto calde

Indicatore LED

La parte anteriore dello strumento (angolo superiore destro) contiene un indicatore di stato a LED, i cui codici di stato sono riassunti di seguito. [Tavola 2](#) summarizes the status codes for this LED light.

Tavola 2 Aspetto dell'indicatore di stato a LED

Aspetto	Stato Dello Strumento
Spento	Il ciclatore è inattivo.
Verde lampeggiante	Il ciclatore sta eseguendo un programma o un'incubazione.
Verde fisso	Il ciclatore è in pausa.
Rosso lampeggiante	Il ciclatore ha rilevato un errore. Controllare lo schermo per leggere un messaggio di errore contenente ulteriori dettagli.

Informazioni Generali

Il SureCycler 8800 è un ciclatore termico progettato per eseguire la reazione a catena della polimerasi (PCR) e i relativi metodi per l'amplificazione dei modelli DNA. Il ciclatore può eseguire anche le tecniche di ciclaggio termico più complesse, con incrementi di tempo e temperatura, touchdown PCR e gradienti di temperatura. L'interfaccia software, azionata attraverso il touchscreen a colori, è caratterizzata da una procedura guidata intelligente di creazione dei programmi che può creare automaticamente i protocolli PCR a partire dalle informazioni sul primer e sul modello.

Supporto tecnico per il SureCycler 8800

E-mail

USA e Canada: techservices@agilent.com

Europa: tech_europe@agilent.com

Giappone: email_japan@agilent.com

Tutti gli altri paesi: techservices@agilent.com

World Wide Web

www.genomics.agilent.com

Telefono

USA e Canada

(800) 227-9770

Europa

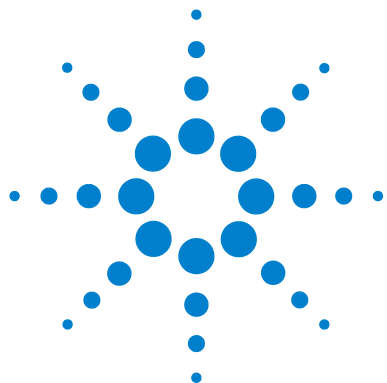
Austria	01 25125 6800
Benelux	02 404 92 22
Danimarca	45 70 13 00 30
Finlandia	010 802 220
Francia	0810 446 446
Germania	0800 603 1000
Italia	800 012575
Olanda	020 547 2600
Spagna	901 11 68 90
Svezia	08 506 4 8960
Svizzera	0848 8035 60
GB/Irlanda	0845 712 5292

Giappone

0120-477-111

Tutti gli altri paesi

Andare a www.agilent.com/genomics/contactus.



2 Installazione

Installazione	16
Fase 1. Scelta di una posizione per lo strumento	16
Fase 2. Disimballo del ciclatore	16
Fase 3. Installazione del blocco termico sulla base dello strumento	16
Fase 4. Collegamento dello strumento a una sorgente di alimentazione	17
Fase 5. Connessione dei dispositivi opzionali	17
Fase 6. Accensione dello strumento	17
Fase 7. Collegamento del ciclatore a una rete (opzionale)	17
Scambio del Blocco Termico	18
Per rimuovere il blocco termico	18
Per montare il blocco termico	18

Questo capitolo contiene le istruzioni di installazione per la configurazione dello strumento ciclatore.



Installazione

Fase 1. Scelta di una posizione per lo strumento

- Individuare per lo strumento una superficie pulita, solida e piana. Assicurarsi che siano presenti le seguenti condizioni:
 - Lo strumento rimane completamente stabile.
 - Le aperture posteriori per l'aria non sono coperte.
 - L'unità è sempre distante almeno 10 cm (circa 4 pollici) dalla parete o dallo strumento più vicino.
 - La temperatura (ambiente normale) è compresa fra 20°C e 30°C con livelli di umidità compresi fra il 20% e l'80%, senza condensa.
 - L'atmosfera non è esplosiva.

Fase 2. Disimballo del ciclatore

- 1 Aprire i contenitori di spedizione e disimballare il contenuto.

Le istruzioni dettagliate per il disimballaggio sono contenute nel foglio di installazione (imballato nella stessa scatola della base dello strumento).

Fase 3. Installazione del blocco termico sulla base dello strumento

- 1 Usando entrambe le mani, afferrare l'unità blocco termico sul lato sinistro e destro e posizionarla sulla base dello strumento.
- 2 Premere saldamente su entrambi i lati dell'unità blocco termico finché non si blocca in posizione. Assicurarsi che i lati sinistro e destro dell'unità blocco termico siano fissati in posizione premendo su entrambi i lati.

L'unità blocco termico si fissa in posizione solo se viene collocata sulla base dello strumento con l'orientamento corretto.

Per le istruzioni di scambio del blocco termico, vedere [“Scambio del Blocco Termico”](#) a pagina 18.

Fase 4. Collegamento dello strumento a una sorgente di alimentazione

Lo strumento deve essere collegato a una presa CA dotata di messa a terra.

- 1 Inserire il cavo di alimentazione dello strumento al connettore di alimentazione sul retro dello strumento.
- 2 Collegare l'altro lato del cavo alla presa.

Fase 5. Connessione dei dispositivi opzionali

Se lo si desidera, è possibile collegare un dispositivo USB opzionale (come una tastiera, un mouse o una chiavetta di memoria) allo strumento tramite le porte USB poste sulla parte anteriore dello strumento.

- 1 Collegare il cavo USB del dispositivo a una delle porte USB sullo strumento.

Fase 6. Accensione dello strumento

- 1 Premere il pulsante di alimentazione situato vicino all'angolo inferiore sinistro, nella parte anteriore dello strumento.

È possibile spegnere lo strumento in qualsiasi momento. Non è necessario uscire dal software dello strumento prima di spegnerlo.

Fase 7. Collegamento del ciclatore a una rete (opzionale)

- 1 Collegare un'estremità di un cavo ethernet alla porta ethernet sul lato posteriore dello strumento.
- 2 Collegare l'altra estremità del cavo a una porta di rete.

Scambio del Blocco Termico

Con il SureCycler 8800 sono disponibili due unità blocco termico intercambiabili: il blocco a 96 pozzetti e il blocco a 384 pozzetti.

Per rimuovere il blocco termico

- 1 Spegnere lo strumento e scollegare l'alimentazione elettrica.
- 2 Sollevare il coperchio del blocco termico premendo saldamente sul pulsante grigio in testa allo strumento.
- 3 Usando entrambe le mani, afferrare l'unità blocco termico sul lato sinistro e destro utilizzando i pollici per premere verso il basso i pulsanti sui lati sinistro e destro.
- 4 Con i pulsanti premuti saldamente, sollevare l'unità blocco termico e staccarla dalla base dello strumento.

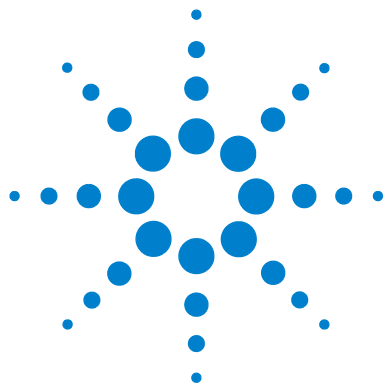
Fare attenzione mentre si solleva l'unità blocco termico per evitare che il coperchio si chiuda sulle mani. Tenere l'unità leggermente inclinata in direzione opposta a sé per aiutare a evitare la caduta del coperchio.

Per montare il blocco termico

- 1 Usando entrambe le mani, afferrare l'unità blocco termico sul lato sinistro e destro e posizionarla sulla base dello strumento.
- 2 Premere saldamente su entrambi i lati dell'unità blocco termico finché non si blocca in posizione. Assicurarsi che i lati sinistro e destro dell'unità blocco termico siano fissati in posizione premendo su entrambi i lati.

L'unità blocco termico si fissa in posizione solo se viene collocata sulla base dello strumento con l'orientamento corretto.

- 3 Al termine, ricollegare il cavo di alimentazione.



3

Introduzione

Preparazione e Caricamento del Campione	20
Per preparare i campioni	20
Per caricare i campioni	20
Articoli in Plastica E prodotti di Consumo Agilent	21
Avvio del Software	22
Funzionamento del Software con il Touchscreen	22
Schermata Iniziale	22
Account Utente	24
Livelli di Accesso	24
Accesso agli Account Utente	24
Gestione degli Account Utente	26
Impostazioni di rete e Accesso Remoto	29
Per visualizzare o modificare l'indirizzo IP e il nome del ciclatore	29
Per accedere al ciclatore da un altro ciclatore	30
Accesso al ciclatore da un computer	31
Impostazioni del Ciclatore	32
Impostazione Coperchio Riscaldato	32
Nome del ciclatore	33
Data e ora	33

Questo capitolo contiene le istruzioni per il caricamento dei campioni, l'avvio del software, la configurazione degli account utente e l'accesso remoto agli strumenti attraverso una rete.



Preparazione e Caricamento del Campione

Per evitare di danneggiare il blocco e il coperchio riscaldato, usare solo tubi e piastre per campioni che rimangano stabili al variare della temperatura. Tubi e piastre inadeguati possono danneggiarsi durante il ciclo. Vedere [“Articoli in Plastica E prodotti di Consumo Agilent”](#) a pagina 21 per un elenco degli articoli in plastica consigliati.

AVVERTENZA

Pericolo di ustioni: Il blocco termico, i tubi e le piastre dei campioni possono raggiungere temperature pari a 100°C. Tenere lontane le mani fino a quando la temperatura non è uguale o inferiore a 30°C.

Per preparare i campioni

Tenere presenti le seguenti indicazioni quando si preparano i campioni nelle piastre e nei tubi di reazione:

- Collocare dei cappucci sui tubi prima di caricare i campioni nel blocco termico.
- Per ottenere un risultato migliore, subito prima di caricare i campioni nel blocco termico, farli ruotare brevemente in una centrifuga.
- Se si utilizza una pellicola per sigillare una piastra di reazione, utilizzare un tappetino di compressione durante il ciclo per assicurarsi che la pellicola aderisca saldamente alla piastra. Vedere [“Articoli in Plastica E prodotti di Consumo Agilent”](#) a pagina 21 per informazioni sulle modalità di ordinazione del tappetino di compressione.

Per caricare i campioni

Lo strumento può essere caricato con tubi PCR singoli o tubi in striscia oppure, in funzione del blocco termico installato, con una piastra PCR a 96 pozzetti o una piastra PCR a 384 pozzetti.

- 1 Sollevare il coperchio del blocco termico premendo saldamente sul pulsante in testa allo strumento per aprire il coperchio.
- 2 Collocare la piastra o i tubi sul blocco e controllare che siano posizionati correttamente.

Sul blocco a 96 pozzetti, posizionare i tubi nei fori rotondi del blocco termico. Sul blocco a 384 pozzetti, posizionare i tubi nei fori rotondi più grandi.

- 3 Chiudere il coperchio fino a quando non scatta in posizione.

Articoli in Plastica E prodotti di Consumo Agilent

Le seguenti piastre PCR, tubi di reazione e pellicole di sigillatura sono compatibili con SureCycler 8800:

Codice Agilent	Descrizione
401333	Piastra a 96 pozzetti, confezione da 25
410188	Piastra a 384 pozzetti, confezione da 50
410186	Pellicole adesive sigillanti, confezione da 100
410187	Tappetini di compressione, confezione da 10
410082	Tubi in striscia, 200 µl (80 strisce di 12)
410086	Cappucci per tubi in striscia (80 strisce di 12)

Avvio del Software

Funzionamento del Software con il Touchscreen

Il touchscreen a colori permette di far funzionare il software toccando i pulsanti sullo schermo. Se allo strumento è stato collegato un mouse, è possibile scegliere pulsanti facendo clic su di essi. Quando le funzioni del software richiedono l'immissione di dati da una tastiera, il software mostra automaticamente una tastiera virtuale utilizzabile attraverso il touchscreen. I dati possono essere immessi anche per mezzo di una tastiera connessa alla porta USB.

Schermata Iniziale

Poco dopo l'accensione dello strumento, il touchscreen mostra la schermata iniziale. Questa schermata è il punto di partenza per tutte le operazioni dello strumento controllate dal software, oltre alla gestione dei file e degli account. Ogni pulsante di navigazione sul menu della schermata iniziale porta a una diversa area funzionale del software.

La tabella che segue descrive le funzioni associate a ogni pulsante di navigazione della schermata iniziale:

Tavola 3 Descrizioni dei Pulsante Della Schermata Iniziale

Pulsante	Descrizione
Nuovo Programma	Utilizzare questo pulsante per creare un nuovo programma PCR.
Programmi	Apri la directory dei file per sfogliare i programmi PCR memorizzati. Utilizzare questo pulsante per modificare o eseguire i programmi.
Procedura Guidata PCR	Utilizzare questo pulsante per creare un nuovo programma PCR usando una procedura guidata.
Controllo Rete	Utilizzare questo pulsante per collegare più strumenti per mezzo di una rete.
Incubazione	Avvia un'incubazione a temperatura singola per un periodo predefinito o mantenendola per un periodo indeterminato.
Report	Apri l'elenco dei report che permette di esaminare i file di report memorizzati.

Tavola 3 Descrizioni dei Pulsante Della Schermata Iniziale (continua)

Pulsante	Descrizione
Accesso	Aprire la schermata di accesso.
Impostazioni	Utilizzare questo pulsante per regolare le impostazioni del ciclatore, aggiornare il software e gestire gli account degli utenti.

Account Utente

Livelli di Accesso

Quando lo strumento viene acceso, il software accede automaticamente all'account *Ospite*.

Per gli account degli utenti sono disponibili tre livelli d'accesso diversi: Amministratore, Utente registrato e Utente ospite. Ogni livello ha diritti utente specifici. Solo gli amministratori sono autorizzati a creare nuovi utenti e modificare e/o assegnare diritti e password agli utenti.

Tavola 4 Livelli di accesso

Livello di accesso	Funzioni permesse
Ospite	<ul style="list-style-type: none">• Diritti di accesso alla cartella Ospite• Creazione, copia, modifica ed esecuzione dei programmi memorizzati nella cartella Ospite
Utente	<ul style="list-style-type: none">• Diritti di accesso alla cartella Ospite e alle cartelle personali• Creazione, copia, modifica ed esecuzione dei programmi memorizzati nella cartella Ospite e nelle cartelle personali
Amministratore	<ul style="list-style-type: none">• Diritti di accesso a tutte le cartelle Ospite e degli utenti• Configurazione e manutenzione degli account utente• Configurazione e manutenzione dei ciclatori• Archiviazione/manutenzione di tutti i report

Accesso agli Account Utente

Per eseguire l'accesso come Ospite

- Per accedere come *Ospite* non è richiesta alcuna password. Per impostazione predefinita, il software accede automaticamente all'account *Ospite* del sistema ogni volta che si accende lo strumento.

Quando si accede come *Ospite*, si hanno diritti utente limitati e si lavora dalla cartella non protetta Ospite, a cui possono accedere tutti gli utenti. Prima di potere utilizzare lo strumento come utente registrato, un amministratore deve creare un nuovo account utente. Quando si è un utente registrato, si dispone di una cartella di file personale e crittografata, in cui è possibile gestire i propri file di programma PCR.

Per eseguire l'accesso come Amministratore

- 1 Dalla schermata iniziale, fare clic sul pulsante **Accedi** toccando lo schermo o facendo clic con il mouse.
Appare la schermata di accesso.
- 2 Scegliere **Amministratore** dall'elenco a discesa **Nome utente** e immettere la password. La password predefinita dell'Amministratore è ADMIN.
Utilizzare il tasto Maiusc sulla tastiera virtuale per commutare tra lettere minuscole e maiuscole.
- 3 Premere **Accedi**.
Ora si è connessi all'account Amministratore.

ATTENZIONE

Cambiare la password di accesso predefinita in fabbrica per impedire l'accesso non autorizzato allo strumento. Vedere [“Per modificare gli account utente”](#) a pagina 28 per le istruzioni sulla modifica della password.

Per eseguire l'accesso come Utente registrato

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Accedi**.
Appare la schermata di accesso.
- 2 Scegliere il nome dell'utente dall'elenco a discesa **Nome utente** e immettere la password.
- 3 Premere **Accedi**.
Questo permette di accedere al sistema e concede i diritti di lettura e scrittura specifici per il proprio livello di utente.

Se necessario, un amministratore può reimpostare le password degli utenti. Vedere [“Per modificare gli account utente”](#) a pagina 28.

Per modificare gli utenti

Per cambiare gli utenti registrati, non è richiesto alcun processo di disconnessione.

- 1** Dalla schermata iniziale, premere **Accedi**.
- 2** Scegliere il nuovo utente dall'elenco a discesa **Nome utente**.
- 3** Se ci si connette con un nome utente registrato o come Amministratore, immettere la password di quell'account.
Se si accede come *Ospite*, lasciare in bianco la casella di testo Password.
- 4** Fare clic o toccare il pulsante **Accedi**.
Appare un messaggio di conferma per verificare il nome dell'utente registrato nel sistema.

Gestione degli Account Utente

Un amministratore può utilizzare il menu Impostazioni (accessibile dalla schermata iniziale) per creare nuovi utenti, modificare le informazioni dell'account utente ed eliminare gli account utente.

Per aggiungere nuovi account utente

- 1** Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**.
- 2** Premere **Gestione utenti**. (Per accedere alle funzionalità di Gestione utenti, è necessario accedere con un account *Amministratore*.)

Lo schermo Gestione utenti si apre elencando i nomi degli utenti disponibili e i livelli d'accesso corrispondenti.

Name	Access Level
Administrator	Administrator
Guest	Guest
user123	Administrator
user456	User

Buttons: Add, Edit, Remove, Cancel

- 3** Premere **Aggiungi** per aprire la schermata Aggiunta nuovo utente.

Form fields: User Name, Password, Confirm Password, Access Level (dropdown menu showing Administrator).

- 4** Nel campo **Nome utente**, immettere un nome di utente.
- 5** Nei campi **Password** e **Conferma password**, immettere una password per l'account.
- 6** Scegliere il livello di accesso (**Utente** o **Amministratore**) dall'elenco a discesa Livello d'accesso.
- Se si seleziona **Utente** si crea un account utente registrato. Se si seleziona **Amministratore** all'utente verranno assegnati i diritti di amministratore.
- 7** Premere **OK** per salvare l'account utente.

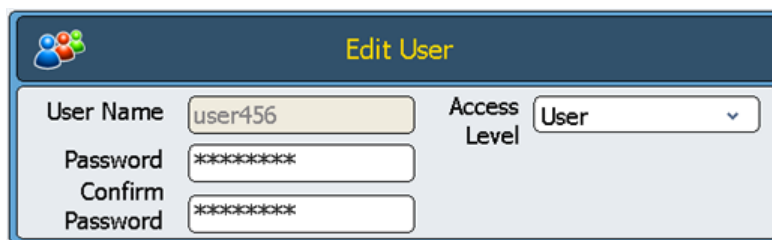
Dopo avere eseguito con successo la configurazione, appare un messaggio di conferma e il nome del nuovo utente viene aggiunto all'elenco Gestione utenti.

Per modificare gli account utente

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**.
- 2 Premere **Gestione utenti**. (Per accedere alle funzionalità di Gestione utenti, è necessario accedere con un account *Amministratore*.)

Lo schermo Gestione utenti si apre elencando i nomi degli utenti disponibili e i livelli utente corrispondenti.

- 3 Scegliere l'account utente da modificare e premere **Modifica** per aprire la schermata Modifica utente.



- 4 Dalla schermata Modifica utente, è possibile cambiare la password e il livello di accesso dell'account utente. (Si osservi che il livello di accesso degli account *Amministratore* e *Ospite* non può essere modificato.)
- 5 Premere **OK** per salvare le modifiche.

Dopo avere eseguito con successo l'aggiornamento dei dati dell'utente, appare un messaggio di conferma.

Per eliminare gli account utente

Gli account *Amministratore* e *Ospite* non possono essere eliminati.

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**.
- 2 Premere **Gestione utenti**. (Per accedere alle funzionalità di Gestione utenti, è necessario accedere con un account *Amministratore*.)

Lo schermo Gestione utenti si apre elencando i nomi degli utenti disponibili e i livelli utente corrispondenti.

- 3 Scegliere il nome utente da rimuovere.
- 4 Premere **Rimuovi** per rimuovere il nome dell'utente dall'elenco degli utenti.

Tutte le autorizzazioni dell'utente per quell'account vengono eliminate. Tutti i programmi e i report GLP associati a quell'utente vengono eliminati.

Impostazioni di rete e Accesso Remoto

Per visualizzare o modificare l'indirizzo IP e il nome del ciclatore

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**. Apparirà la schermata Impostazioni.
- 2 Nella schermata Impostazioni, premere **Impostazioni LAN**. Se lo strumento è connesso a una rete, la schermata Impostazioni LAN visualizza l'indirizzo IP, la subnet mask, il gateway predefinito e il server DHCP.

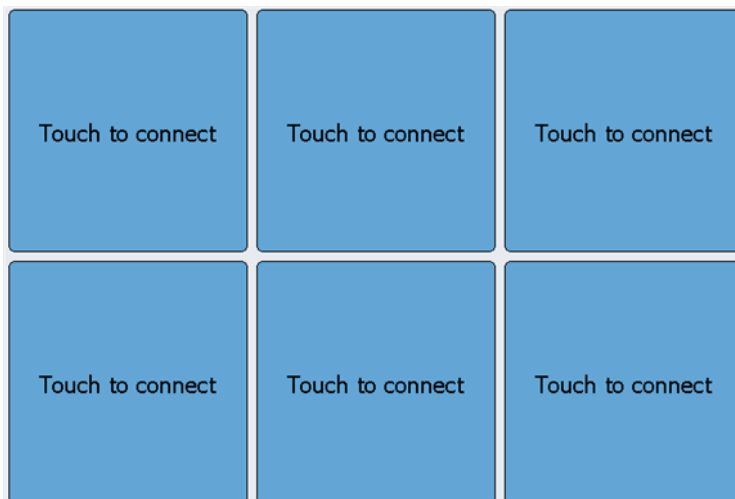
Si ha la possibilità di ottenere automaticamente un indirizzo IP o di assegnarne manualmente uno.

- Se si sceglie l'opzione **Otteni automaticamente un indirizzo IP**, i campi delle informazioni di rete non sono disponibili.
- Se si sceglie l'opzione **Utilizza configurazione manuale**, questi campi sono modificabili ed è possibile immettere le informazioni desiderate. Se si modificano le informazioni di rete, premere **OK** per salvare le modifiche.

Una volta eseguito l'accesso, si può controllare il ciclatore dal PC usando il software basato sul web di SureCycler 8800. Si osservi che alcune delle schermate del software basato sul web sono leggermente diverse dalla versione del software installata sullo strumento.

Per accedere al ciclatore da un altro ciclatore

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Controllo dalla rete**.
- 2 Premere uno qualunque dei sei quadrati "Toccare per connettersi" sulla schermata.



Viene aperta una nuova schermata.

- 3 Immettere l'indirizzo IP o il nome del ciclatore dello strumento a cui ci si desidera collegare nel campo **Indirizzo IP/Ciclatore**.
- 4 Premere **Connetti**. Si tornerà alla schermata Controllo dalla rete e nel quadrato verranno visualizzate le informazioni sulla rete e sullo stato dello strumento collegato.
- 5 Premere il quadrato dello strumento collegato. Verrà richiesto di accedere allo strumento.



- 6 Immettere un **Nome utente** e una **Password** validi per assumere il controllo remoto dello strumento, quindi premere **Accedi**. Ora si sta gestendo il software dello strumento a distanza collegato.

Accesso al ciclature da un computer

- 1 Dal PC, aprire un'applicazione browser Internet (Sono necessari Microsoft® Internet Explorer 6, 7 o 8 o Safari 5.0.2).
- 2 Nel campo URL, immettere l'indirizzo IP del ciclature.
Il software SureCycler 8800 si apre sul computer.

- 3 Accedere al ciclature collegato con **Nome utente** e **Password** appropriati.

Accesso al ciclature da un iPhone

- 1 Dall'iPhone, aprire Safari (versione 5.0.2 con iOS 4.3).
- 2 Nel campo URL, digitare l'indirizzo IP del ciclature.
Il software SureCycler 8800 si apre sullo schermo dell'iPhone.
- 3 Accedere al ciclature collegato con un **Nome utente** e una **Password** appropriati.

Impostazioni del Ciclatore

Impostazione Coperchio Riscaldato

Per abilitare o disabilitare l'uso del coperchio riscaldato del ciclatore:

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**.
- 2 Premere **Impostazione coperchio riscaldato**.
- 3 Nella schermata Impostazione coperchio riscaldato, scegliere di utilizzare il coperchio riscaldato:
 - Scegliere **Sì** per usare il coperchio riscaldato quando lo strumento è in funzione.
 - Scegliere **No** per disattivare il coperchio riscaldato.
- 4 Confermare la selezione premendo **OK**.

Quando il coperchio riscaldato è disabilitato, il coperchio non viene riscaldato durante le sessioni e le incubazioni PCR. La plancia (mostrata su diverse schermate del software) mostra un'icona che indica quando è stato disabilitato il coperchio riscaldato. Di seguito viene riportata un'immagine della plancia che include questa icona.



Nome del ciclatore

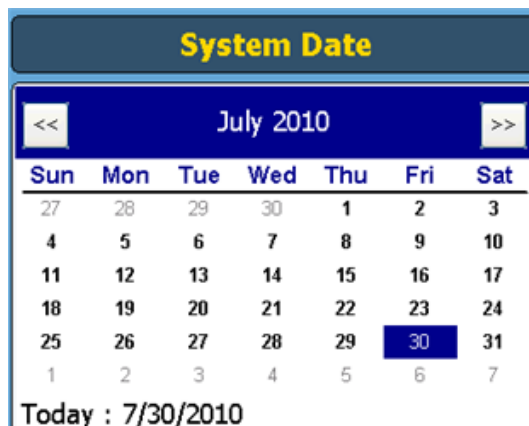
Il nome del ciclatore può essere cambiato da un amministratore usando la procedura che segue:

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**.
- 2 Premere **Impostazioni di sistema**.
- 3 Premere il pulsante **Cambia** posto vicino alla parte superiore dello schermo. Appare una nuova schermata che chiede di immettere un nuovo nome per il ciclatore.
- 4 Confermare le modifiche premendo **OK**.

Data e ora

La data e l'ora possono essere cambiate da un amministratore usando la procedura che segue:

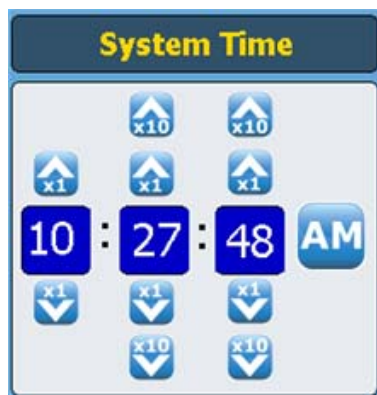
- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**.
- 2 Premere **Impostazioni di sistema**.
- 3 Per cambiare la data, scegliere la data corretta usando il calendario sotto *Data di sistema*.



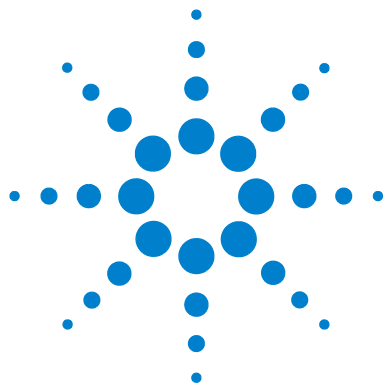
3 Introduzione

Data e ora

- 4 Per cambiare l'ora, premere le frecce in su o in giù per regolare l'ora, i minuti o i secondi elencati sotto *Ora di sistema*.



- 5 Confermare le modifiche premendo **Applica**.



4 Programmi PCR

Creazione di Nuovi Programmi PCR	36
Per creare manualmente i programmi	36
Per creare un programma PCR usando la procedura guidata PCR	39
Suggerimenti per la Creazione di Programmi PCR per il SureCycler 8800 a 384 Pozzetti	42
Fasi del Programma Nell'elenco dei Comandi	43
Uso di un Programma PCR Precaricato	51
Modifica dei Programmi PCR	53
Esecuzione di un Programma PCR	55
Visualizzazione di Report	57
Diagnosi dei Problemi	58

Questo capitolo contiene le istruzioni per lavorare con programmi PCR, incubazioni e report. Sono forniti anche i suggerimenti per la risoluzione dei problemi.



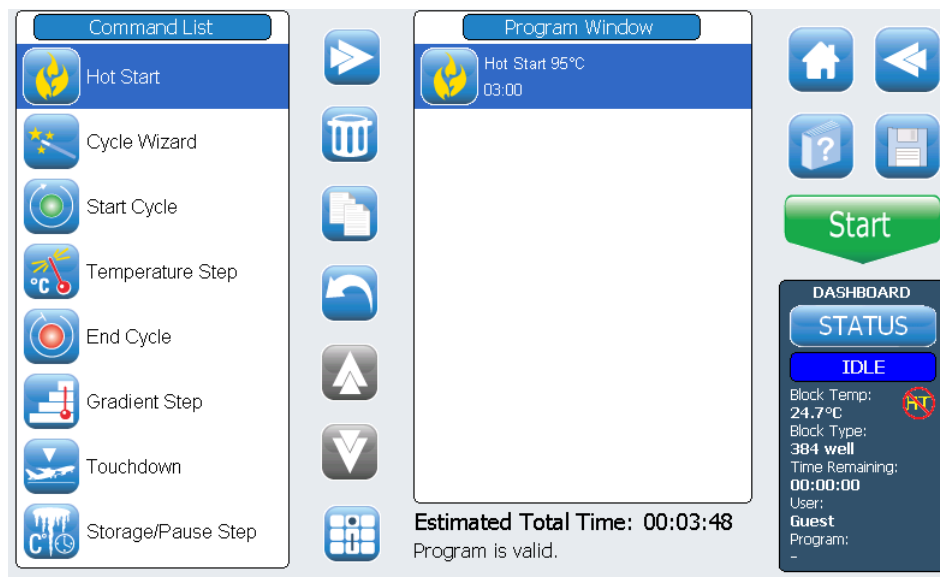
Creazione di Nuovi Programmi PCR

I nuovi programmi PCR possono essere creati in due modi: creando manualmente, passo dopo passo, un programma personalizzato usando l'elenco dei comandi disponibili o utilizzando la creazione guidata del programma per generare automaticamente il programma. I due metodi sono descritti nelle sezioni che seguono.

Per creare manualmente i programmi

I programmi possono essere creati manualmente dalla schermata di programmazione. I passaggi dell'*Elenco dei comandi* vengono usati per costruire il programma PCR. La *Finestra di programma* elenca in ordine di esecuzione i comandi che sono stati aggiunti al programma. La [Figura 1](#) mostra un esempio della schermata di programmazione in cui al programma è stato aggiunto un comando *Avvio a caldo*.

Figura 1 La schermata di programmazione software del SureCycler 8800.



Utilizzare i seguenti passaggi per generare manualmente un nuovo programma PCR.

- 1** Dalla schermata iniziale, premere **Nuovo programma**. Appare la schermata di programmazione.
- 2** Dai passaggi di programma disponibili, elencati nell'**Elenco dei comandi** sul lato sinistro dello schermo, determinare l'ordine dei passaggi che comporranno il nuovo programma PCR.

Vedere [“Fasi del Programma Nell'elenco dei Comandi”](#) a pagina 43.

- 3** Aggiungere il primo passaggio del programma dall'*Elenco dei comandi* alla *Finestra di programma* usando uno dei due approcci seguenti:
 - Premere il comando, quindi premere il pulsante freccia in avanti (mostrato di seguito).



- Premere due volte sul comando.

Entrambi gli approcci aprono una nuova schermata in cui è possibile immettere i parametri per il passaggio selezionato.

- 4** Immettere le impostazioni necessarie per il passaggio appena aggiunto, come richiesto.
- 5** Confermare le impostazioni premendo **OK**. Si viene riportati alla schermata di programmazione.
- 6** Ripetere i passaggi dal [passaggio 3](#) al [passaggio 5](#) per ogni fase del programma da aggiungere. *È possibile cambiare l'ordine dei comandi nella Finestra dei comandi in qualsiasi momento usando i pulsanti freccia in su o in giù (mostrati di seguito).*



4 Programmi PCR

Per creare manualmente i programmi

7 Per immettere informazioni sul programma PCR (facoltative):

- a Premere il pulsante Informazioni sul programma (mostrato di seguito). Viene aperta una nuova schermata.



- b Premere l'icona della tastiera (mostrata di seguito) per accedere alla tastiera virtuale del touchscreen.



- c Immettere una descrizione del programma. Al termine, premere **OK** per tornare alla schermata di programmazione.

8 Per salvare il file prima di eseguire il programma PCR.

- a Premere il pulsante **Salva** (mostrato di seguito). Appare la schermata Salva programma.



- b Premere l'icona della tastiera (mostrata di seguito sulla sinistra) per accedere alla tastiera virtuale del touchscreen e usare la tastiera per immettere un nome nel campo **Nome programma**. Una volta che il nome è stato immesso, chiudere la tastiera virtuale premendo di nuovo l'icona (mostrata di seguito sulla destra).



- c Scegliere la cartella in cui il programma sarà salvato usando l'elenco in fondo allo schermo. È possibile premere **Crea cartella** se deve essere creata una nuova cartella.
- d Una volta che il nome corretto della cartella è nel campo **Salva nella cartella utente**, premere **Salva** per salvare il programma.
- e Si apre una finestra di dialogo per segnalare che il file è stato salvato con successo. Premere **OK** in questa finestra per tornare alla schermata di programmazione.

- 9 Per avviare il programma:
 - a Nella schermata di programmazione, premere **Avvia**.
 - b Immettere il volume di reazione (in microlitri) quando viene richiesto e premere **OK**.

NOTA

Per istruzioni sul modo di modificare un programma PCR, vedere “[Modifica dei Programmi PCR](#)” a pagina 53.

Per creare un programma PCR usando la procedura guidata PCR

Come alternativa alla creazione manuale di un programma PCR, è possibile usare la procedura guidata PCR del ciclatore. La procedura guidata esegue una serie di cinque passaggi per generare automaticamente un nuovo programma PCR.

Avvio della Procedura Guidata PCR

- Premere il pulsante Procedura guidata PCR nella schermata iniziale.

Le 5 fasi della Procedura Guidata PCR

1 Selezione Polimerasi

- Scegliere una DNA polimerasi dall'elenco e premere **Avanti**. Le opzioni per la polimerasi sono:
 - Paq5000 (avvio a caldo o versione standard)
 - *PfuUltra* II
 - Herculase II
 - *PfuTurbo* (avvio a caldo o versione standard)
 - *Taq*

L'algoritmo della procedura guidata determina i parametri delle fasi del programma in base alla indicazioni specifiche per l'enzima scelto. (Vedere la documentazione dell'enzima per le raccomandazioni di ciclaggio.) Queste direttive, tuttavia, sono spesso ampiamente applicabili e, una volta che il programma è stato generato e visualizzato nella schermata di programmazione, è possibile modificare i parametri di un passaggio o aggiungere/eliminare i passaggi. Vedere “[Modifica dei Programmi PCR](#)” a pagina 53 per ulteriori istruzioni.

2 Informazioni sul Primer

- Immettere le informazioni sul primer per uno dei due metodi seguenti. Al termine, premere **Avanti**.
 - Immettere le sequenze del primer o selezionare la sequenza da un'unità USB collegata. Si raccomanda l'utilizzo dell'unità USB fornita con il ciclatore.
 - In assenza di informazioni sulla sequenza, immettere le temperature di fusione (T_m) dei primer.

Le informazioni sul primer vengono utilizzate per determinare la temperatura di annealing per il programma PCR. La temperatura di annealing è impostata a 5°C sotto la T_m media dei due primer. Se sono state immesse le sequenze di base dei primer (invece delle T_m) il software calcola la T_m per ogni primer, basandosi sulla formula:

$$T_m = 69,3 + (0,41 \times GC\%) - (650/N)$$

dove il GC% è la percentuale di contenuto GC nella sequenza del primer e N è il numero di nucleotidi nella sequenza del primer

3 Lunghezza del Prodotto

- Immettere la lunghezza del prodotto prevista e scegliere le **unità** come **bp** o **kb**. Al termine, premere **Avanti**.

La procedura guidata utilizza la lunghezza del prodotto per impostare il tempo di allungamento del programma PCR.

4 Informazioni Sull'origine del DNA

- Specificare l'origine del DNA modello dall'elenco, quindi premere **Avanti**. Le opzioni per l'origine sono:
 - cDNA
 - DNA genomico
 - DNA vettore

Le informazioni sull'origine del DNA sono utilizzate per determinare la durata dell'avvio a caldo o della fase di denaturazione iniziale e della fase di allungamento.

5 Adattamenti

- Scegliere gli adattamenti del programma.
 - **Contenuto “GC” superiore al 70%?** Se il modello del DNA contiene più del 70% di coppie base GC, aggiungere questo adattamento. La procedura guidata adatterà il programma PCR per compensare la maggiore temperatura di fusione del modello.
 - **Si desidera una fase di annealing del gradiente?** Se si desidera che la fase di annealing del programma PCR sia un gradiente di temperatura, aggiungere questo adattamento. La procedura guidata determinerà un intervallo di gradiente appropriato in base alle temperature di fusione dei primer.

Una volta che la procedura guidata ha attraversato queste cinque fasi, crea un programma PCR basato sulle informazioni fornite e lo mostra nella schermata di programmazione con i passaggi del programma indicati nell'ordine nella finestra di programma.

A questo punto è possibile aggiungere, modificare o eliminare le fasi in modo analogo a un programma creato manualmente (vedere [“Modifica dei Programmi PCR”](#) a pagina 53).

Per esaminare o modificare i parametri di qualsiasi fase, premere due volte sulla fase nella finestra di programma. Appare una nuova schermata che mostra le impostazioni per quel comando, come la temperatura e la durata. Vedere la sezione [“Fasi del Programma Nell'elenco dei Comandi”](#) a pagina 43 per ulteriori informazioni sui parametri di ogni comando.

Suggerimenti per la Creazione di Programmi PCR per il SureCycler 8800 a 384 Pozzetti

Quando si esegue un PCR sul blocco a 384 pozzetti, riducendo la durata della fase di denaturazione, durante il ciclaggio si può migliorare la resa del prodotto per alcuni enzimi. Tempi di denaturazione di 3–5 secondi possono essere ottimali per alcuni protocolli.

Se si utilizza PCR Wizard per progettare un PCR, il programma deve essere modificato dopo la creazione per abbreviare la fase alla temperatura di denaturazione. Vedere [“Per modificare i parametri delle fasi del programma”](#) a pagina 53 per le istruzioni sulla modifica del programma.

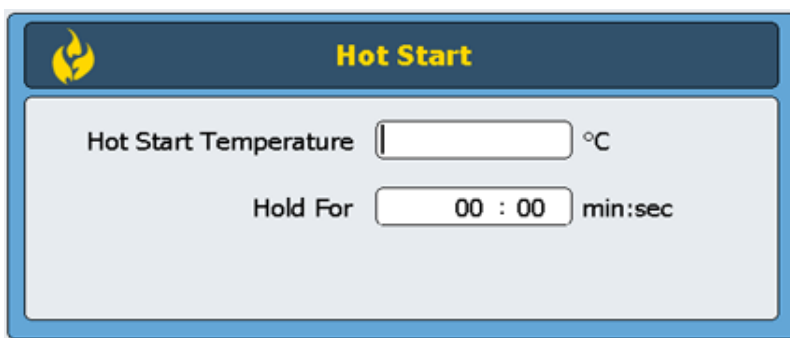
Fasi del Programma Nell'elenco dei Comandi

Le seguenti fasi del programma sono disponibili nell'Elenco dei comandi per la creazione di programmi PCR personalizzati nella schermata di programmazione. La descrizione di ogni fase include i parametri specifici che devono essere definiti quando si crea il programma.

Avvio a Caldo

La fase *Avvio a caldo* del programma è una fase di denaturazione estesa che può essere aggiunta all'inizio dei programmi PCR che usano polimerasi con tecnologia di avvio a caldo. La fase di denaturazione estesa attiva la polimerasi rimuovendo un agente di modificazione chimica o denaturando un anticorpo legato alla polimerasi. Il comando di *Avvio a caldo* può essere usato anche per la denaturazione iniziale di un programma PCR, quando usa polimerasi che non hanno possibilità di avvio a caldo.

Quando si aggiunge una fase di *Avvio a caldo* del programma, si devono specificare la temperatura e il tempo. Durante l'esecuzione del programma, il comando successivo sarà eseguito immediatamente dopo la fase di avvio a caldo.



**Temperatura di
Avvio a Caldo:**

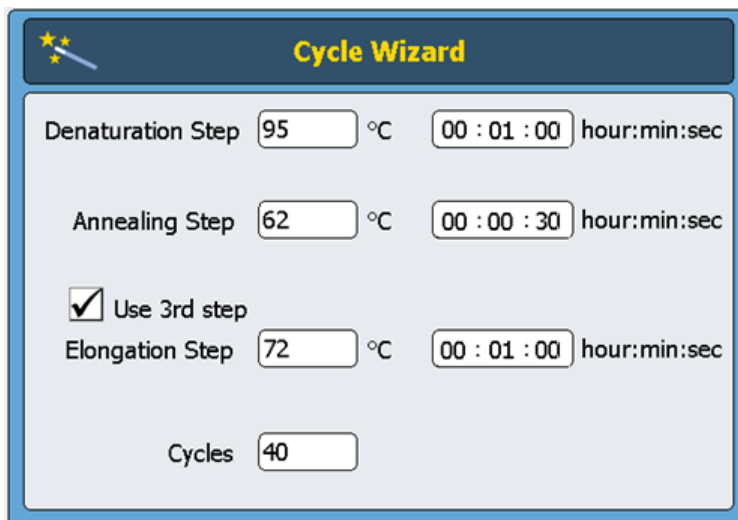
Immettere la temperatura per la fase di avvio a caldo.

Mantenere per

Immettere la durata della fase. *Consultare la documentazione del produttore della polimerasi per le raccomandazioni sulle condizioni di avvio a caldo.*

Procedura Guidata Ciclo

Il comando della procedura guidata ciclo può essere utilizzato per creare le fasi del programma che devono essere reiterate più volte. L'utilizzo della procedura guidata Ciclo per creare fasi iterate sostituisce la necessità di aggiungere manualmente i comandi Avvia ciclo e Termina ciclo. Queste fasi saranno automaticamente aggiunte al programma dalla procedura guidata.



Cycle Wizard

Denaturation Step 95 °C 00 : 01 : 00 hour:min:sec

Annealing Step 62 °C 00 : 00 : 30 hour:min:sec

☒ Use 3rd step

Elongation Step 72 °C 00 : 01 : 00 hour:min:sec

Cycles 40

Fase di Denaturazione Immettere la temperatura di denaturazione in °C (campo sinistro) e il tempo di denaturazione in ore : minuti : secondi (campo destro).

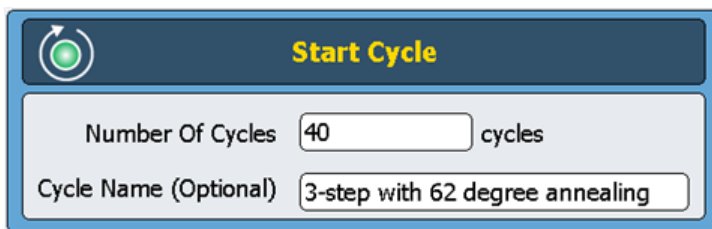
Fase di Annealing Immettere la temperatura di annealing in °C (campo sinistro) e il tempo di annealing in ore : minuti : secondi (campo destro).

Fase di Allungamento Se il protocollo PCR utilizza un ciclo in 3 fasi con fasi di annealing e allungamento separate (invece di un protocollo di ciclo in 2 fasi con una fase combinata di annealing/allungamento), contrassegnare la casella di controllo etichettata con **Usa 3a fase**. Immettere la temperatura di allungamento in °C (campo sinistro) e il tempo di allungamento in ore : minuti : secondi (campo destro).

Cicli Immettere il numero di cicli.

Avvia Ciclo

Questa fase del programma avvia un ciclo PCR. Posizionare questa fase prima di una serie di fasi che devono essere ripetute per alcuni cicli.



Numero di Cicli Immettere il numero di volte in cui deve essere ripetuta la serie di fasi.

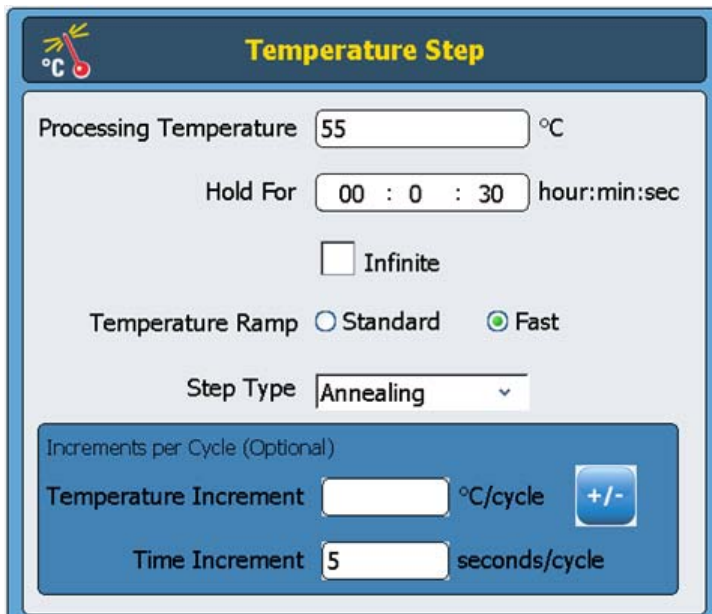
Nome del Ciclo (Facoltativo) Se lo si desidera, immettere per il ciclo un nome selezionato dall'utente.

NOTA

Per avere un programma valido, le fasi di un ciclo devono essere contenute tra un comando *Inizio ciclo* e un comando *Fine ciclo*.

Fase Temperatura

Questa fase del programma mantiene il blocco termico a una temperatura specificata per un tempo specificato. I parametri definiti dall'utente per questa fase permettono anche di impostare incrementi (o diminuzioni) di temperatura o di tempo per ogni ciclo e la velocità con cui il blocco termico raggiunge la temperatura impostata.



**Temperatura di
Processo**

Immettere la temperatura per la fase (in °C).

Mantenere per

Immettere la durata della fase. Le unità sono *ore : minuti : secondi*

**Pendenza della
Temperatura**

Scegliere la pendenza di aumento per lo strumento. La pendenza di aumento **Rapida** è la pendenza di aumento predefinita per lo strumento ed è ottimale nella maggior parte dei protocolli PCR. La pendenza di aumento **Standard** viene fornita come opzione e in alcuni casi può aumentare l'amplificazione. *Osservare che la pendenza di aumento **Rapida** migliora le prestazioni per alcuni enzimi, inclusi Hercules II DNA Polymerase e PfuUltra II DNA Polymerase di Agilent.*

Tipo Fase

Scegliere il tipo di fase per la diminuzione. Le opzioni sono denaturazione, annealing e allungamento.

NOTA

I campi della sezione **Incrementi per ciclo** vengono utilizzati per impostare gli incrementi di temperatura e di tempo per la fase della temperatura durante i cicli. L'uso degli incrementi è una funzionalità facoltativa. Lasciare in bianco questi campi se non si desidera aggiungere incrementi.

Incremento di Temperatura

Immettere l'aumento o la diminuzione richiesta in ogni ciclo per la temperatura di processo. Premere il pulsante +/- per commutare fra numeri negativi e positivi. I numeri negativi (es. -2°C) indicano una diminuzione della temperatura a ogni ciclo.

Incremento di Tempo:

Immettere l'aumento del tempo **Mantieni per** richiesto a ogni ciclo. Le unità per questo campo sono secondi/ciclo.

Fine Ciclo

Inserire questa fase di programma per terminare un ciclo PCR. Posizionare questa fase dopo una serie di fasi che devono essere ripetute per alcuni cicli.

NOTA

Per avere un programma valido, le fasi di un ciclo devono essere contenute tra un comando *Inizio ciclo* e un comando *Fine ciclo*.

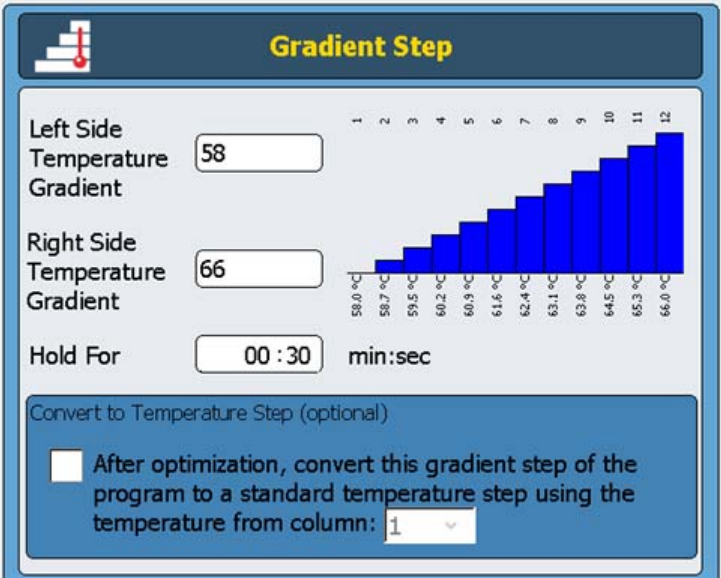
Fase Gradiente

Una *Fase gradiente* è simile a una *Fase di temperatura*, ma in una Fase di gradiente il blocco termico mantiene un gradiente di temperatura (invece di una singola temperatura attraverso l'intero blocco) per una lunghezza di tempo specificata.

La *Fase gradiente* è utile per ottimizzare la temperatura di annealing per un particolare sistema primer/modello.

4 Programmi PCR
Fase Gradiente

Durante l'esecuzione, lo strumento genera un gradiente di temperatura basato su valori immessi nei campi **Gradiente di temperatura lato sinistro** e **Gradiente di temperatura lato destro**. La differenza fra le temperature minime e massime non deve superare i 30°C.



**Gradiente di
Temperatura Lato
Sinistro**

Immettere la temperatura desiderata per il lato sinistro del blocco termico.

**Gradiente di
Temperatura Lato
Destro**

Immettere la temperatura desiderata per il lato destro del blocco termico.

Mantenere per

Immettere la durata della *Fase gradiente* (le unità sono *minuti : secondi*).

**Converti in Fase
Temperatura
(facoltativo)**

Una volta che è stata determinata la temperatura di annealing ottimale, la *Fase gradiente* può essere convertita facilmente in una *Fase temperatura* standard contrassegnando questa casella di controllo e specificando nella casella a discesa quale colonna di temperatura ha prodotto il risultato di amplificazione migliore. La *Fase gradiente* sarà quindi convertita in una *Fase temperatura* standard, in cui la temperatura del blocco termico è uniforme.

Touchdown

Touchdown PCR è una tecnica PCR avanzata utilizzata per ridurre il legame tra primer non specifico e modello. Nei cicli iniziali del touchdown PCR, la temperatura di annealing è impostata relativamente alta per promuovere una specifica amplificazione. Quindi, nei cicli successivi, la temperatura di annealing viene abbassata per permettere un'amplificazione più stabile.

La fase di *programma* Touchdown viene fornita come comando a una fase per una facile programmazione del touchdown PCR. Si immette la temperatura di annealing massima (iniziale) e la temperatura di annealing minima (finale). Quindi, durante l'esecuzione, il software esegue il protocollo di ciclaggio in modo che la temperatura di annealing venga abbassata di una quantità uguale a ogni ciclo.

Touchdown	
Denaturation Temperature	95 °C
Hold For	00 : 30 min:sec
Max Annealing Temperature	65 °C
Min Annealing Temperature	60 °C
Hold For	00 : 30 min:sec
Elongation Temperature	72 °C
Hold For	01 : 00 min:sec
Cycles	40

Temperatura di Denaturazione e Tempo di Mantenimento

Immettere la temperatura di denaturazione (nel campo *Temperatura di denaturazione*) e la durata della denaturazione (nel campo *Mantieni per*) da usare durante il ciclaggio touchdown.

Temperatura di Annealing Massima

Immettere la temperatura di annealing massima. *Il primo ciclo del programma PCR userà questa temperatura di annealing.*

4 Programmi PCR

Fase di Stoccaggio/Pausa

Temperatura di Annealing Minima Immettere la temperatura di annealing minima. *L'ultimo ciclo del programma PCR userà questa temperatura di annealing.*

NOTA

La differenza fra la temperatura di annealing massima e minima è comunemente compresa fra 5°C e 10°C, iniziando con una temperatura massima che è 2°C sopra la temperatura più alta di fusione del primer (T_m). Ad esempio, se la T_m di Primer 1 è di 60°C e la T_m di Primer 2 è 54°C, impostare la temperatura massima a 62°C e la temperatura minima intorno a 52°C.

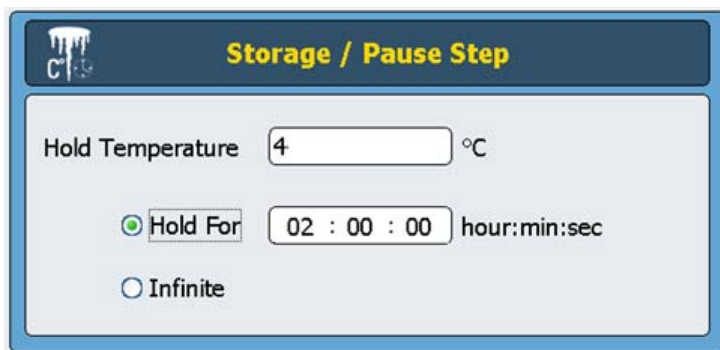
Mantenere per Immettere la durata della fase di annealing.

Temperatura di Allungamento e Tempo di Mantenimento Immettere la temperatura di allungamento (nel campo *Temperatura di allungamento*) e la durata dell'allungamento (nel campo adiacente *Mantieni per*) da usare durante il ciclaggio touchdown.

Cicli Immettere il numero di cicli della fase *Touchdown*.

Fase di Stoccaggio/Pausa

La fase di programma *Stoccaggio/pausa* raffredda il blocco termico a una temperatura compresa fra 4°C e 12°C per un periodo di tempo specificato o a tempo indeterminato.



Mantenimento Temperatura Immettere la temperatura di stoccaggio in °C.

Mantenere per Scegliere questo pulsante di scelta se si preferisce mantenere la temperatura per una durata impostata. Immettere la durata nel campo associato.

Infinito Scegliere questo pulsante di scelta per mantenere la temperatura di stoccaggio per un periodo di tempo illimitato.

Uso di un Programma PCR Precaricato

Numerosi programmi PCR sono precaricati nel software per l'uso su SureCycler 8800 a 96 pozzetti. Questi programmi sono stati progettati per l'esecuzione PCR con svariati enzimi e kit Agilent PCR per amplificare il DNA umano genomico o il DNA vettore.

Ogni programma precaricato è ottimizzato per amplificare gli obiettivi di una particolare lunghezza con una temperatura di annealing adatta ad alcuni primer. Può essere necessario adattare la temperatura di annealing, il tempo di allungamento o un altro parametro di ciclaggio utilizzato nel programma precaricato, in modo da raggiungere un particolare obiettivo di interesse. Tutti i programmi precaricati possono essere salvati sotto un nuovo nome di file e quindi modificati in modo da ottimizzare il programma per il proprio sistema di primer/modello.

I programmi precaricati disponibili sono elencati nella [Tavola 5](#).

Tavola 5 Descrizione dei programmi PCR precaricati per SureCycler 8800 a 96 pozzetti

Nome di file del programma PCR	Enzima o Kit PCR	Denaturazione	Annealing	Allungamento
Herculase II Fusion 1kb target.pcr	Herculase II Fusion DNA Polymerase	95°C per 20 secondi	55°C per 20 secondi	72°C per 30 secondi
Paq5000 HS MM 1kb target.pcr	Paq5000 Hotstart Master Mix	95°C per 20 secondi	55°C per 20 secondi	72°C per 30 secondi
PfuTurbo HS MM 1kb target.pcr	PfuTurbo Hotstart Master Mix	95°C per 30 secondi	55°C per 30 secondi	72°C per 1 minuto
PfuUltra II HS MM 1kb target.pcr	PfuUltra II Hotstart Master Mix	95°C per 20 secondi	55°C per 20 secondi	72°C per 15 secondi
QuikChange II 4 kb target.pcr	QuikChange II Site-Directed Mutagenesis Kit	95°C per 30 secondi	55°C per 1 minuto	68°C per 4 minuti
QuikChange Lightning 4kb target.pcr	QuikChange Lightning Site-Directed Mutagenesis Kit	95°C per 20 secondi	60°C per 10 secondi	68°C per 2 minuti
QuikChange Lightning Multi 4 kb target.pcr	QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit	95°C per 20 secondi	55°C per 30 secondi	65°C per 2 minuti
QuikChange Multi 4kb target.pcr	QuikChange Multi Site-Directed Mutagenesis Kit	95°C per 1 minuto	55°C per 1 minuto	65°C per 8 minuti

Per accedere ai programmi precaricati

- 1 Premere il pulsante **Programmi** nella schermata iniziale.
- 2 Nel browser sul lato sinistro dello schermo, andare alla cartella *Ospite\Agilent*.
I file dei programmi PCR precaricati sono salvati in questa cartella.
- 3 Premere sul programma desiderato per sceglierlo. Premere **Esegui** per eseguire il programma selezionato o **Apri** per esaminare i parametri del programma nella schermata di programmazione.

Per modificare un programma precaricato

- 1 Premere il pulsante **Programmi** nella schermata iniziale.
- 2 Nel browser sul lato sinistro dello schermo, andare alla cartella *Ospite\Agilent*.
- 3 Scegliere il programma desiderato e premere **Apri**.
Il programma si apre nella schermata di programmazione.
- 4 Nella schermata di programmazione, premere **Salva** per salvare il file sotto un nuovo nome o in una nuova directory.
- 5 Modificare il programma come si desidera usando le istruzioni fornite in [“Modifica dei Programmi PCR”](#) a pagina 53.

Modifica dei Programmi PCR

I programmi che vengono creati manualmente o con la procedura guidata per i programmi possono essere modificati nello stesso modo con le funzioni disponibili nella schermata di programmazione. I programmi precaricati possono anche essere modificati dopo essere stati salvati con un nuovo nome (vedere [“Per modificare un programma precaricato”](#) a pagina 52).

Dopo avere modificato un programma PCR, il programma può essere salvato con lo stesso nome o sotto un nuovo nome di file. L'unità USB nella parte anteriore dello strumento consente di eseguire il backup dei programmi PCR salvati su una chiavetta USB o trasferirli su un altro strumento SureCycler 8800. Si raccomanda l'utilizzo dell'unità USB fornita con il ciclatore.

Per modificare i parametri delle fasi del programma

- 1 Premere il pulsante **Programmi** nella schermata iniziale.
A seconda del livello dell'utente (Ospite o utente registrato), viene visualizzata la directory specifica dell'utente o la directory Ospite, che elenca tutti i file dei programmi PCR esistenti.
- 2 Scegliere il programma e premere **Apri**.
Le fasi del programma sono visualizzate nel pannello Finestra di programma della schermata di programmazione.
- 3 Per modificare una particolare fase, premere due volte sulla fase del programma.
Viene aperta la schermata di quella fase del programma.
- 4 Modificare se necessario i parametri e premere **OK**. Si tornerà alla schermata di programmazione.
- 5 Ripetere il [passaggio 3](#) e il [passaggio 4](#) per ogni fase del programma che richiede la modifica.
- 6 Nella schermata di programmazione, premere **Salva**. È possibile salvare le modifiche sotto lo stesso nome di programma o assegnare un nuovo nome al file.
- 7 In questo momento è possibile premere **Avvia** per avviare il programma PCR.

Per copiare una fase PCR

- 1 Andare alla schermata di programmazione del programma.
- 2 Nella Finestra di programma, premere la fase da copiare per sceglierla.
- 3 Premere il pulsante di copia (mostrato di seguito).



Per aggiungere o eliminare una fase PCR

- Andare alla schermata di programmazione del programma, quindi:
 - Aggiungere una nuova fase, premere un comando nell'Elenco dei comandi per sceglierla e quindi premere il pulsante freccia in avanti. Verrà chiesto di immettere i parametri della nuova fase. Vedere [“Fasi del Programma Nell'elenco dei Comandi”](#) a pagina 43 per dettagli sui parametri di un particolare comando.
 - Per eliminare una fase dal programma, premere il comando nella Finestra di programma per sceglierla e quindi premere il pulsante di eliminazione (mostrato di seguito).



- Per salvare le modifiche apportate al programma, premere **Salva**. È possibile salvare il programma sotto lo stesso nome o assegnare un nuovo nome al file.

Per eliminare un programma PCR

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Programmi**.
A seconda del livello dell'utente (*Ospite* o utente registrato), viene visualizzata la directory specifica dell'utente o la directory Ospite, che elenca tutti i file dei programmi PCR esistenti.
- 2 Premere sul programma da eliminare per sceglierlo.
- 3 Premere **Elimina** per rimuovere il programma dalla cartella.

Esecuzione di un Programma PCR

Per eseguire un programma PCR

Dalla schermata iniziale:

- 1 Premere **Programmi**.
- 2 Scegliere il programma da eseguire premendo su di esso.
- 3 Premere **Esegui selezionato**.
- 4 Nella finestra di dialogo, immettere il volume delle reazioni in microlitri e premere **OK**.

Dalla schermata di programmazione:

- 1 Premere **Avvia**.
- 2 Nella finestra di dialogo, immettere il volume delle reazioni in microlitri e premere **OK**.

Per arrestare o mettere in pausa un programma

Dalla schermata Stato:

- Premere il pulsante **Arresta** (mostrato di seguito) per interrompere l'esecuzione.



- Premere il pulsante **Pausa** (mostrato di seguito) per mettere in pausa l'esecuzione. Il pulsante **Pausa** è disponibile solo quando un programma sta funzionando attivamente. Quando un programma è in pausa, questo pulsante diventa un pulsante **Esegui**. Premere **Esegui** per riavviare il programma.



Esecuzione di un'Incubazione

La funzione di incubazione è utile per impostare lo strumento in modo da eseguire un'incubazione con un'unica temperatura per un periodo di tempo specificato o a tempo indeterminato.

Per configurare ed eseguire un'incubazione

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Incubazione**.
- 2 Nel campo **Temperatura di incubazione**, immettere la temperatura dell'incubazione.
- 3 Specificare la durata dell'incubazione:
 - Se si desidera che lo strumento mantenga la temperatura di incubazione per una durata di tempo specifica, selezionare l'opzione **Mantieni per** e immettere la durata richiesta in *ore : minuti : secondi*.
 - Se si desidera che lo strumento mantenga la temperatura di incubazione a tempo indeterminato, scegliere l'opzione **Infinito**.
- 4 Premere **OK** per iniziare l'incubazione.

Visualizzazione di Report

Ogni volta che viene avviato un programma PCR, un report GLP viene creato e salvato nell'elenco degli utenti (ad esempio, se si accede all'account *Ospite* quando viene avviato il programma PCR, il file del report viene salvato nella directory Ospite). I file dei report hanno l'estensione *glp*.

Per visualizzare i report

- 1 Dalla schermata iniziale, premere **Report**.
Questo apre la schermata Sfoglia report che elenca i file dei report.
- 2 È possibile scorrere l'elenco usando i pulsanti freccia in fondo allo schermo o ordinare i report per nome o per data. Premere l'intestazione della colonna **Nome report** per ordinarli per nome, o l'intestazione della colonna **Data** per ordinarli per data. È possibile anche ridimensionare le colonne trascinando il separatore nel touchscreen.
- 3 Scegliere il report da visualizzare e premere **Apri**. Il report si apre in una nuova schermata. Al termine della visualizzazione, premere **Indietro** per tornare alla schermata Sfoglia report.

Per eliminare un report

- Selezionare il report nella schermata Sfoglia report e premere **Canc**.

Diagnosi dei Problemi

Questa sezione descrive i problemi potenziali e le azioni consigliate.

Se la resa del PCR è scarsa quando si lavora su piccoli volumi di reazione con una pendenza di aumento Standard

- ✓ Se si utilizzano film/materassini sigillanti, abbreviare la durata della fase di denaturazione durante il ciclaggio. Tempi di denaturazione di 3–5 secondi possono essere adeguati. In alternativa, passare all'uso di provette di reazione coperte.
- ✓ Aumentare il volume della reazione a 50 µl.
- ✓ Provare a passare alla pendenza di aumento Rapida.

Se non viene mostrata alcuna temperatura effettiva durante la reazione

L'unità del blocco termico potrebbe non essere posizionata correttamente nello strumento.

- ✓ Controllare che l'unità sia installata correttamente e riavviare il ciclatore.

Se il programma non si avvia

L'unità del blocco termico potrebbe non essere posizionata correttamente nello strumento.

- ✓ Controllare che l'unità sia installata correttamente e riavviare il ciclatore.

Se viene trovata della condensa nei tubi durante una sessione

La condensa appare normalmente alla fine di una sessione e non ha alcun effetto deleterio.

- ✓ Ruotare il liquido per riportarlo sul fondo del tubo e continuare con i passaggi che seguono il PCR.

Il coperchio riscaldato è disabilitato.

- ✓ Abilitare il coperchio riscaldato usando le istruzioni di [“Impostazione Coperchio Riscaldato”](#) a pagina 32.

Se la micropiastra sigillata perde un volume di campione

- ✓ Controllare che la micropiastra/il sistema di sigillatura siano di buona qualità.
- ✓ Assicurarsi di utilizzare un tappetino di compressione durante la sessione PCR per tenere la pellicola di sigillatura aderente alla piastra.

Se i dispositivi USB, incluse le chiavette di memoria e la tastiera non vengono riconosciuti

- ✓ Riavviare il ciclature.
- ✓ Utilizzare l'unità esterna USB fornita con il ciclature.

Se il ciclature non si accende

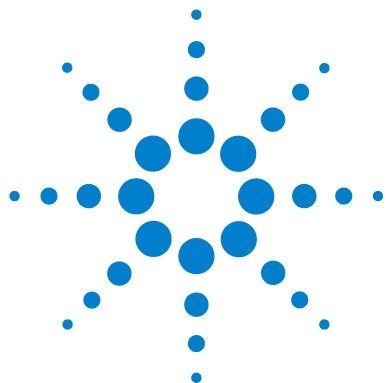
- ✓ Controllare che l'alimentazione elettrica sia accesa e che il cavo di alimentazione sia inserito.
- ✓ Controllare i fusibili sul retro dello strumento sopra l'ingresso dell'alimentazione.

Se lo schermo è vuoto e spento

- ✓ Controllare che l'alimentazione elettrica sia accesa e che il cavo di alimentazione sia inserito.
- ✓ Controllare i fusibili sul retro dello strumento sopra l'ingresso dell'alimentazione.

Se lo schermo è acceso ma non mostra alcuna informazione o mancano dei caratteri

- ✓ Riavviare il ciclature.
- ✓ Se il problema persiste, chiamare l'Assistenza Tecnica. Vedere [“Supporto tecnico per il SureCycler 8800”](#) a pagina 14.



5 Manutenzione e Aggiornamenti

Manutenzione	62
Pulizia	62
Sostituzione di un fusibile	62
Aggiornamenti Software	63

Questo capitolo contiene le istruzioni per la manutenzione dello strumento e il caricamento degli aggiornamenti software.



Manutenzione

Pulizia

Il SureCycler 8800 è stato progettato per richiedere interventi minimi di manutenzione da parte dell'utente.

- Utilizzare acqua o alcol isopropilico per pulire lo strumento.
- Evitare che solventi organici o soluzioni aggressive vengano a contatto con lo strumento.
- Non permettere l'ingresso di liquidi nello strumento.
- Spegner e scollegare lo strumento dall'alimentazione elettrica prima di pulirlo.

Sostituzione di un fusibile

AVVERTENZA

Scollegare il cavo di alimentazione prima di rimuovere o installare un fusibile, per evitare il rischio di infortuni gravi causati da folgorazioni.

I vani dei fusibili sono situati sul retro dello strumento, sopra il collegamento all'alimentazione elettrica. Controllare l'etichetta che riporta la tensione di alimentazione per verificare che lo strumento sia compatibile con la tensione della linea CA disponibile sul sito di installazione. Controllare che i fusibili siano di tipo T 10A, 250V.

Aggiornamenti Software

Quando viene rilasciata una nuova versione di software per il SureCycler 8800, è possibile scaricare la nuova versione dal sito web di Agilent website e quindi caricarla sul SureCycler 8800 attenendosi alle seguenti istruzioni.

- 1 La disponibilità di una nuova versione del software verrà comunicata da Agilent. La notifica comprende un indirizzo web che permette di accedere ai file del software. Salvare i file in una chiavetta di memoria USB.
- 2 Accedere a uno degli account utente del ciclatore che dispone di accesso come Amministratore (vedere [“Per eseguire l'accesso come Amministratore”](#) a pagina 25 per le istruzioni).
- 3 Dalla schermata iniziale, premere **Impostazioni**, quindi premere **Aggiornamento software**.
- 4 Inserire la chiavetta di memoria USB in una delle porte USB sulla parte anteriore del ciclatore.
- 5 Premere **Sfoglia** per aprire un browser che permette di accedere alla cartella che contiene i file del software. Scegliere la cartella appropriata e premere **OK** per ritornare alla schermata Aggiornamento software.
- 6 Premere **Aggiorna**. *Se lo strumento non rileva alcun file di software nella cartella selezionata, il pulsante Aggiorna non è disponibile.*
- 7 Il ciclatore inizierà a scaricare i file. Quando tutti i file sono stati scaricati, il ciclatore sarà riavviato automaticamente.
- 8 Una volta iniziato il riavvio, rimuovere la chiavetta di memoria USB dal ciclatore.
- 9 Quando il riavvio è stato completato, è possibile tornare alla schermata Aggiornamento software per controllare se è in esecuzione la nuova versione del software.

5 **Manutenzione e Aggiornamenti**

Aggiornamenti Software

www.agilent.com

In questo volume

Questo documento descrive
come programmare e usare il
SureCycler 8800 Agilent.

© Agilent Technologies, Inc. 2015

Versione C2, ottobre 2015



G8800-92000



Agilent Technologies