

Applied Biosystems 3730/3730xl DNA Analyzer

简明使用手册



爱普拜斯应用生物系统公司

启动3730/3730xl DNA Analyzer流程

Step 1: 启动电脑系统

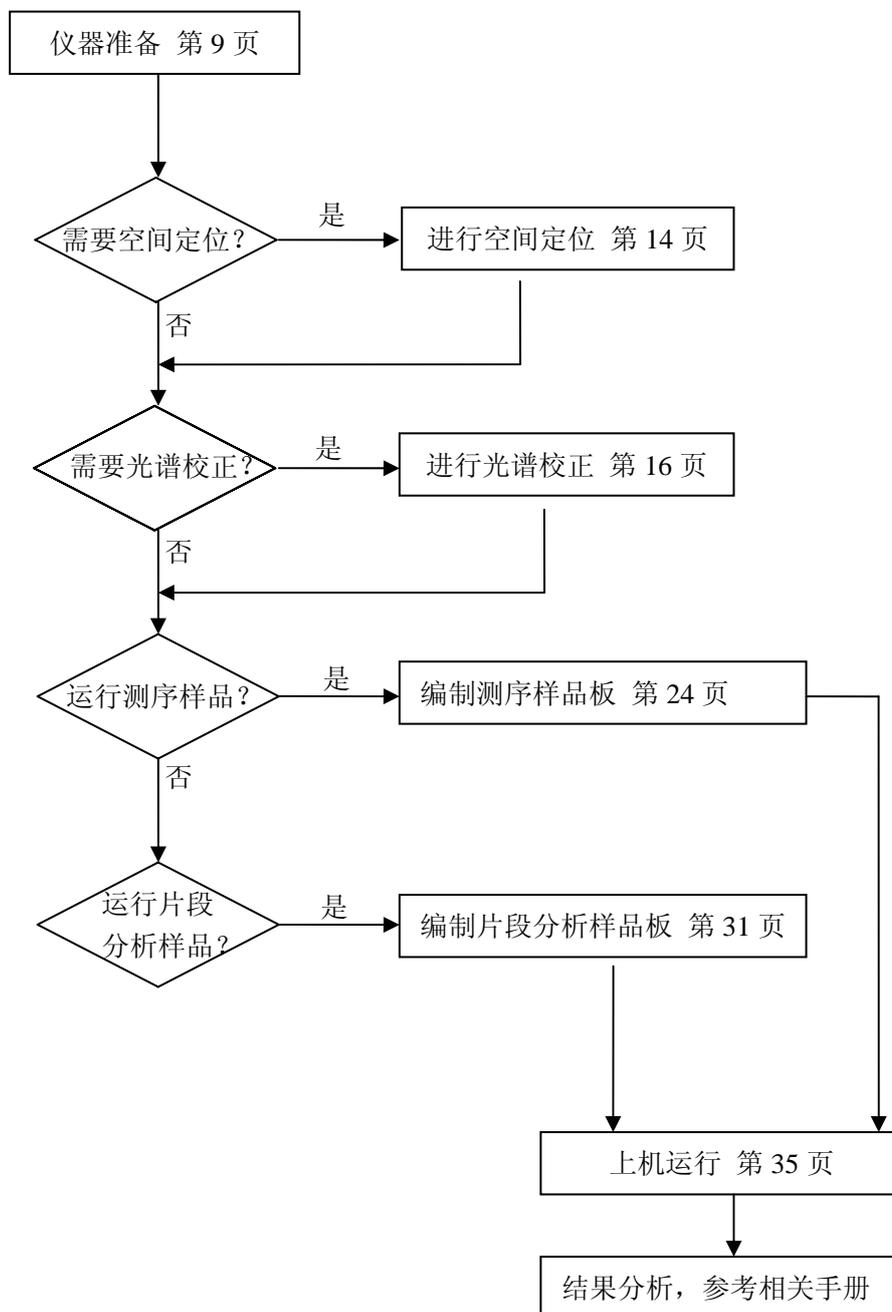
- 1A. 打开显示器电源
- 1B. 打开电脑电源，直至出现登录界面
- 1C. 输入Windows操作系统用户名及密码

Step 2: 启动仪器

- 2A. 确认电脑系统已经启动
- 2B. 确认仪器
 - 加热炉门已关闭
 - 仪器门已关闭
 - 样品舱门已关闭
 - Buffer, Water, Waste槽已安装
- 2C. 打开仪器电源

Step3: 上样前设置

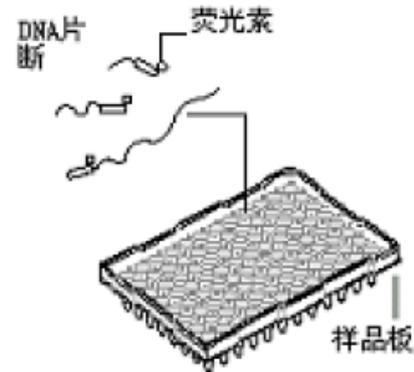
- 3A. 确认下胶块，泵胶块，胶块连接管及胶管已安装到位
- 3B. 确认阴极Buffer, Water, Waste槽的液面不低于刻度线(约80ml)并已安装到位
- 3C. 确认阳极Buffer杯中液面不低于刻度线(约67ml)并已安装到位
- 3D. 确认毛细管已安装到位，空间定位已完成
- 3E. 确认Dye Set相应光谱校正已完成
- 3F. 确认样品已正确放置于样品舱内
- 3G. 在Plate Manager内编辑样品板，准备上样



一、DNA 测序或片段分析的流程

1. 样品制备

样品制备即是在DNA片段上用化学的方法标记荧光素。标记上荧光素后就可以对DNA片段进行检测和确认了，一般每一 DNA分子标记一个荧光素分子，最多有五种荧光素可用于DNA样品的标记。不同的样品制备方法选用不同的荧光素和试剂的组合，样品制备可在96孔或384孔板进行



2. 软件设置

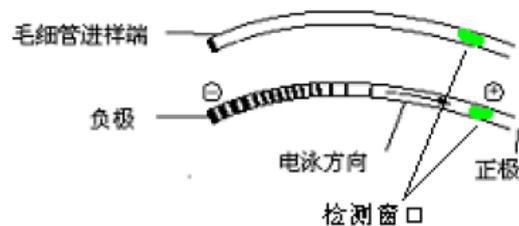
操作人员根据所使用的标记方法、电泳的毛细管长度、电泳胶的种类等，在数据采集（Data Collection）软件中选择正确的运行模块和分析模块

3. 开始运行

操作人员把样品板放到仪器上并开始运行，仪器便会根据设定好的顺序，用相应的电泳程序分析样品板上的样品

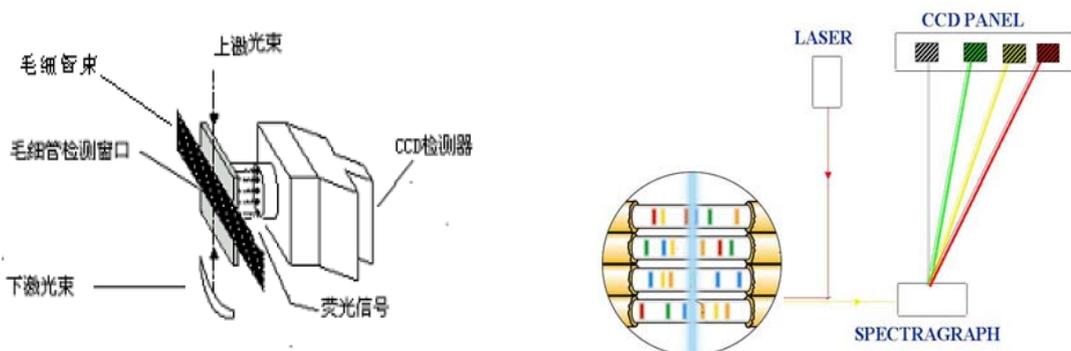
4. 电泳

用“电进样”的方法将带电的样品分子加到灌好电泳胶的毛细管的进样端（负极），然后在毛细管两端加上直流电压，样品中不同大小的DNA片段开始从负极向正极移动，移动的速度受到片段自身大小影响，片段越短移动得越快。电泳的结果是使长度不同的带电DNA片段互相分离，并且按片段的长短的顺序通过检测窗口，产生信号，短片段先到达检测窗口



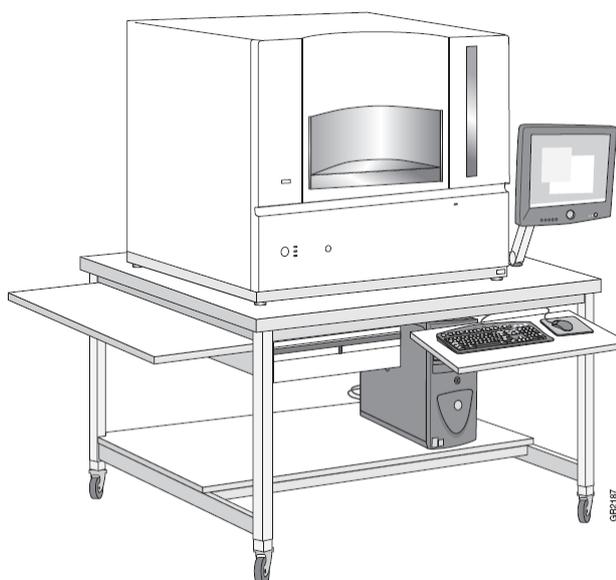
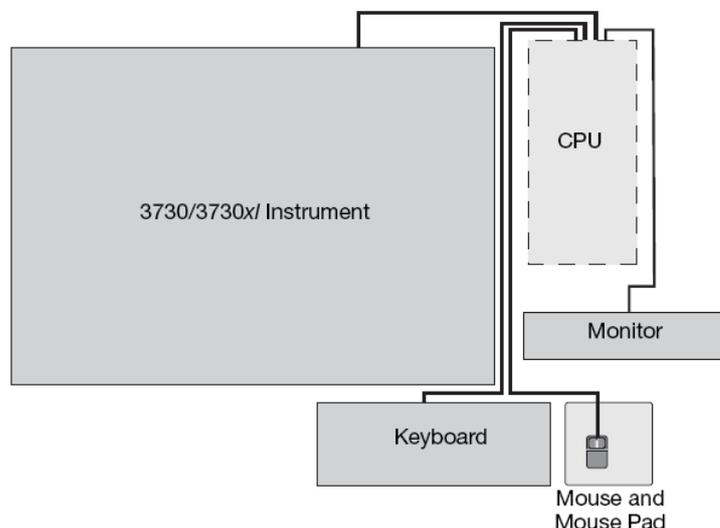
5. 激发和检测

当标记有荧光素的DNA片段移动到检测窗口时，荧光素受到激光束的激发而产生荧光信号，此荧光信号被CCD检测器所检测并被转化为电信号传递到计算机



6. 数据采集和处理

CCD检测器把检测到的荧光信号转换为电信号，并把它传送给安装了Data Collection（简称DC）软件的计算机工作站。工作站接收到信号后，用预先设置好的方式进行初步处理，并把这些数据存贮在计算机的数据库里



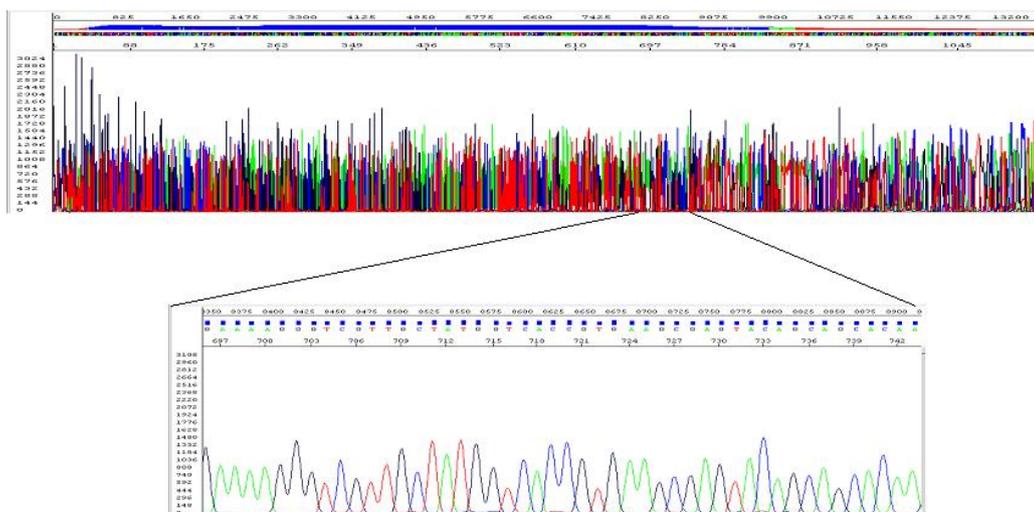
7. 自动数据提取和分析

工作站会自动地从数据库中提取这些数据，并根据不同的运行模式，完成对样品DNA的碱基序列或片段信息的分析，然后把分析完成后的结果数据以样品文件的形式保存于计算机的硬盘中

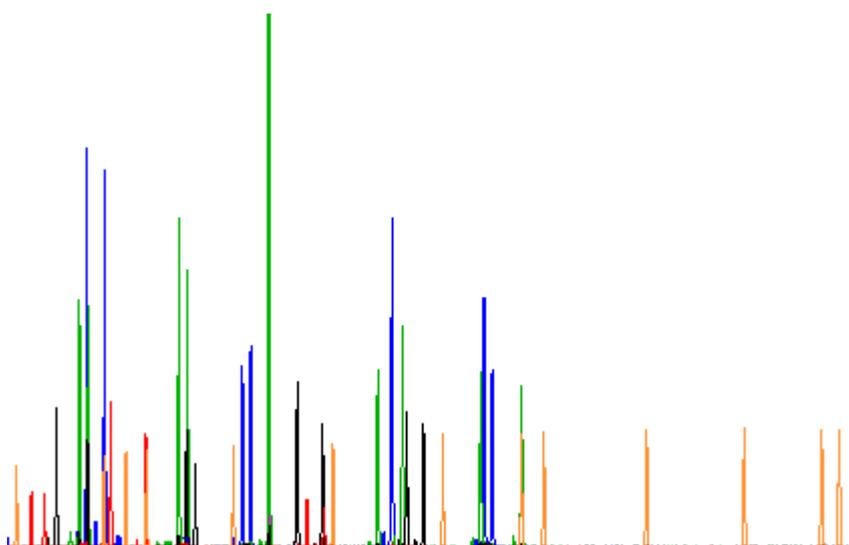


8. 结果

分析好的样品文件可以用序列分析软件或片段分析软件来打开查看结果，如有必要，这些数据可以改用不同的分析参数进行重新分析。电泳信号图的X轴表示时间，Y轴表示相对荧光强度，图上不同颜色的信号线代表了样品制备时所使用的不同的荧光素（对于测序结果，每种颜色代表一种碱基），图中的每个峰代表一个DNA片段



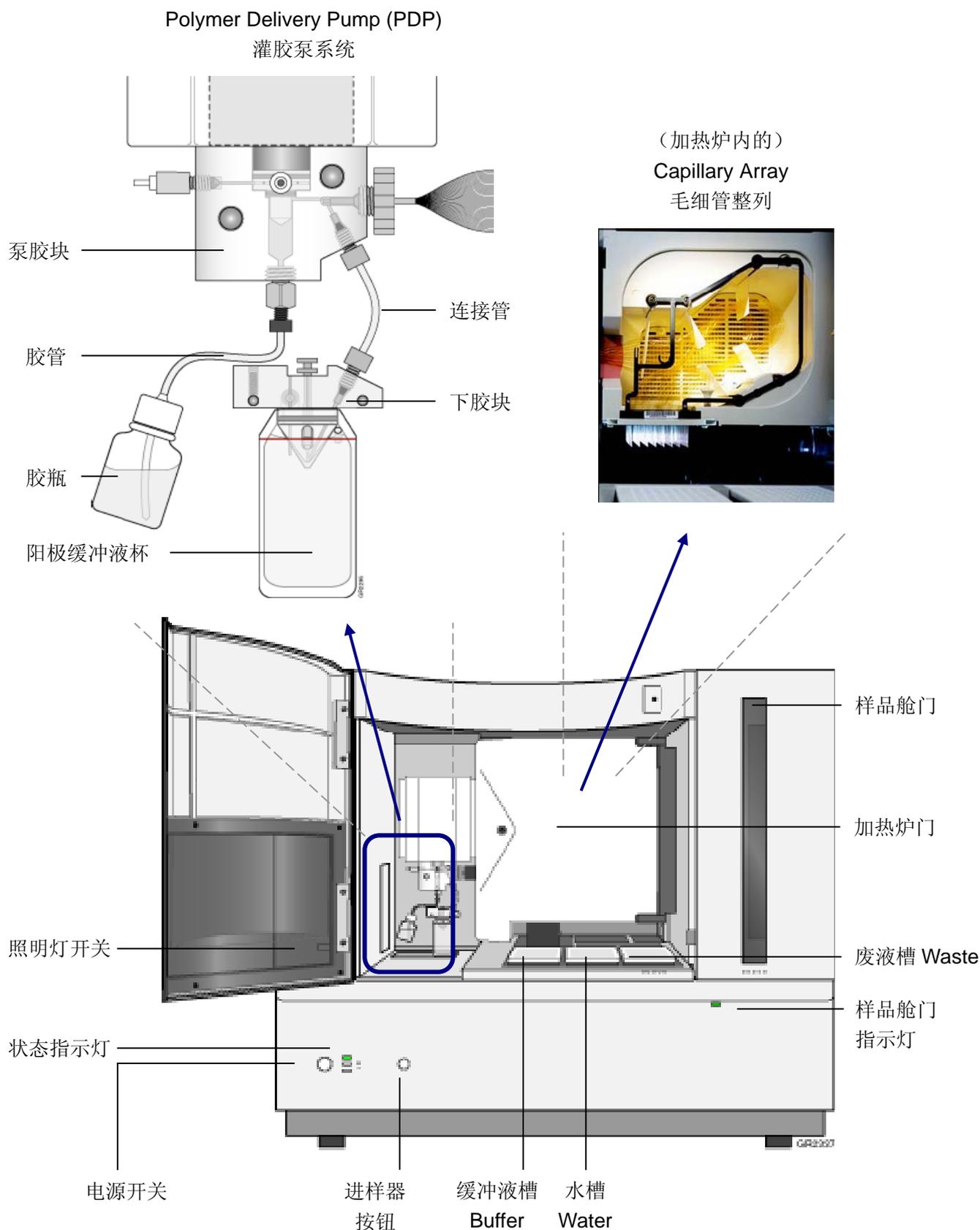
测序样品的结果图



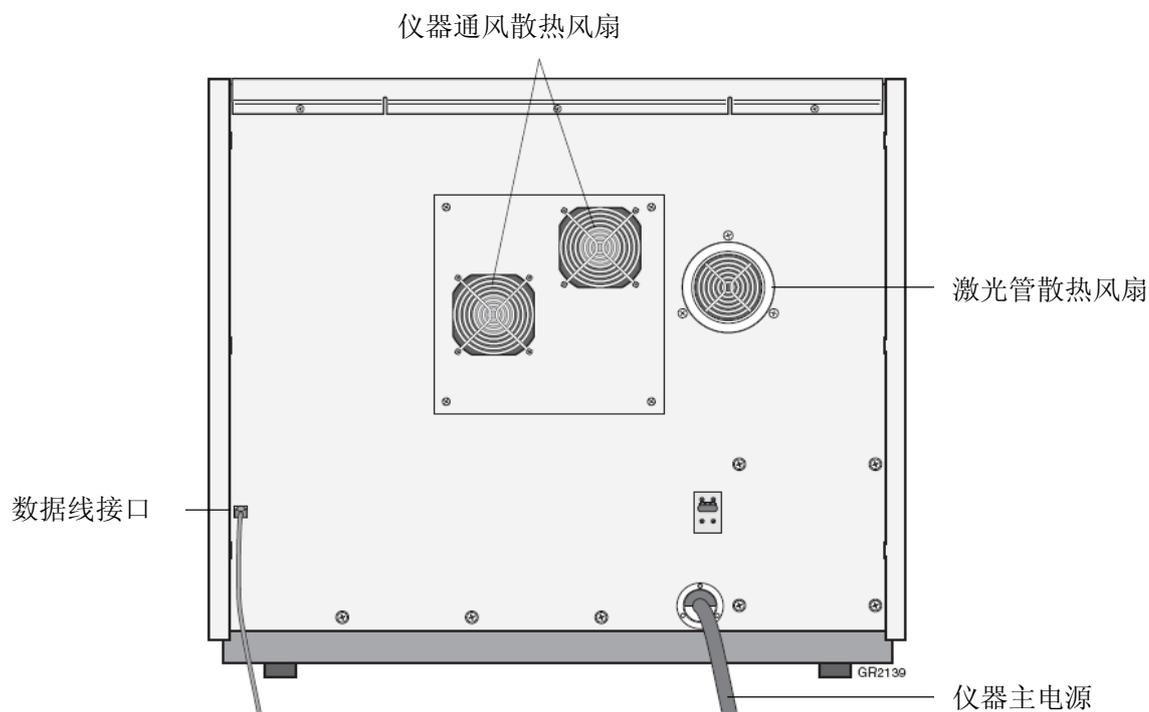
片段分析的结果图

二、仪器硬件结构

1. 仪器前视图



2. 仪器后视图



CAUTION 激光管散热风扇不能被堵塞!

3. 主要部件功能

电源开关：打开或关闭仪器电源；

照明灯开关：打开或关闭仪器内部的照明灯；

进样器按钮：使进样器抓取缓冲液槽到毛细管针端（或相反）；

样品舱：放置等待上样的样品；

阳极缓冲液杯：内装1X缓冲液（约67ml），电泳时作为阳极介质；

缓冲液槽：装1X缓冲液（约80ml），电泳时作为阴极介质；

水槽/废液槽：装去离子水，清洗毛细管用或放置废胶；

泵胶块：泵入胶并将其灌入毛细管；

下胶块：上装有阳极，阳极缓冲液杯装在此处；

恒温加热炉：保证电泳时，毛细管处于一个均一、稳定的温度环境中；

数据线：不是普通Ethernet网线，有一定方向性，主要用于仪器和电脑通讯

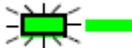
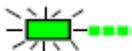
三、实验操作

1. 仪器准备

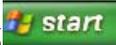
A 开机 —— 先开电脑，再开仪器，最后开软件

- (如有) 开启UPS电源，确保UPS处于电池供电状态，稳定5分钟；
- 打开显示器和电脑电源开关，登录到Windows XP桌面；
- 检查确保仪器的加热炉门和仪器前门已关闭；
- 打开仪器电源开关，仪器进行一系列的初始化后，绿色状态灯亮，仪器启动完成；

仪器的状态指示灯的不同状态显示了仪器处于不同的工作状态，具体请参考下表：

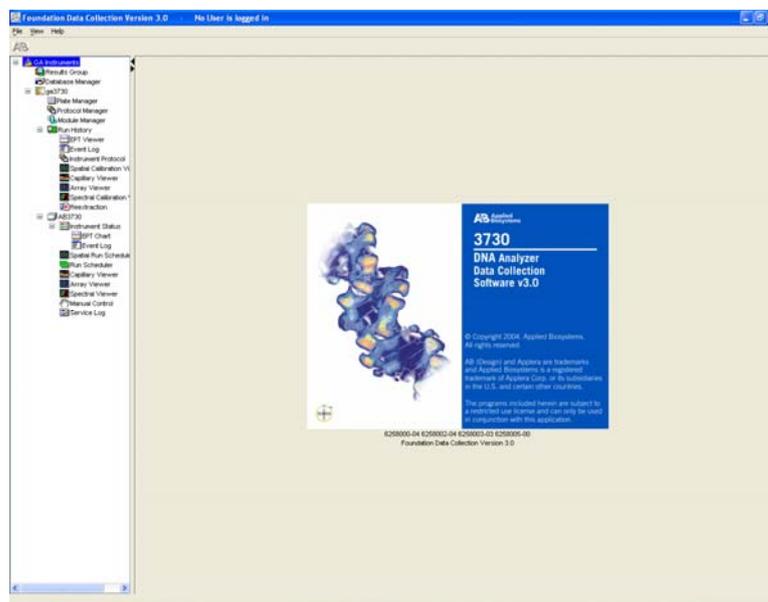
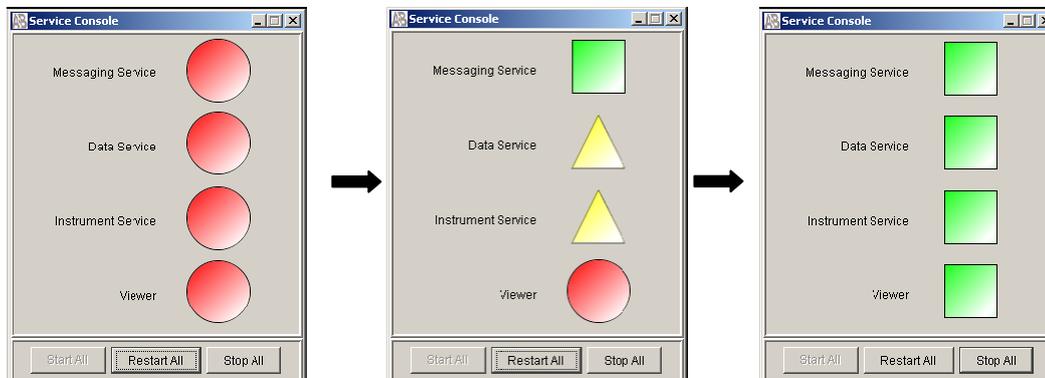
状态	指示灯	操作
<ul style="list-style-type: none"> • 仪器已就绪 • 仪器正在运行自动向导程序，且仪器门已关闭 	 绿灯长亮	<ul style="list-style-type: none"> • 仪器已就绪
<ul style="list-style-type: none"> • 仪器实验运行中 	 绿灯闪烁	
<ul style="list-style-type: none"> • 仪器与电脑无法通讯 	 黄灯长亮	<ul style="list-style-type: none"> • 确认已进入Windows界面 • 确认网线连接正确 • 确认仪器门已关闭 • 确认各溶液槽位置正确 • 确保电脑名未更改，否则请改回原电脑名 • 确保电脑防火墙已关闭 • 确保电脑与仪器连接的IP地址为： 192.168.0.1 • 确保电脑用于通讯的用户名3730User，密码为3730User，并且设置为永不过期
<ul style="list-style-type: none"> • 仪器正在下载firmware • 仪器正在运行诊断程序 • 仪器加热炉门已打开 • 仪器门已打开 • 缓冲液槽未安装 • 毛细管未安装 • 仪器正在运行自动向导程序，仪器门打开状态 	 黄灯闪烁	<ul style="list-style-type: none"> • 确认仪器门及加热炉门已关闭 • 确认毛细管及缓冲液槽已安装
<ul style="list-style-type: none"> • 仪器诊断检测到故障 	 红灯长亮	<ul style="list-style-type: none"> • 关闭仪器，30秒后重新启动 • 打开Data Collection软件，在  GA Instruments >  ga3730 >  instrument name > Instrument Status > Event Log察看日志中的信息 • 联系AB技术支持

- 点击桌面Data Collection软件快捷方式

或  > All Programs > Applied Biosystems > Unified Data Collection

> Run Unified Data Collection v3.0, 运行软件

- 等待Service Console窗口中的指示灯全部变成绿色后，DC软件打开



*参考第2页 [启动3730/3730xl DNA Analyzer流程](#)

B 安装毛细管

- 打开 Data Collection 软件，选择在  GA

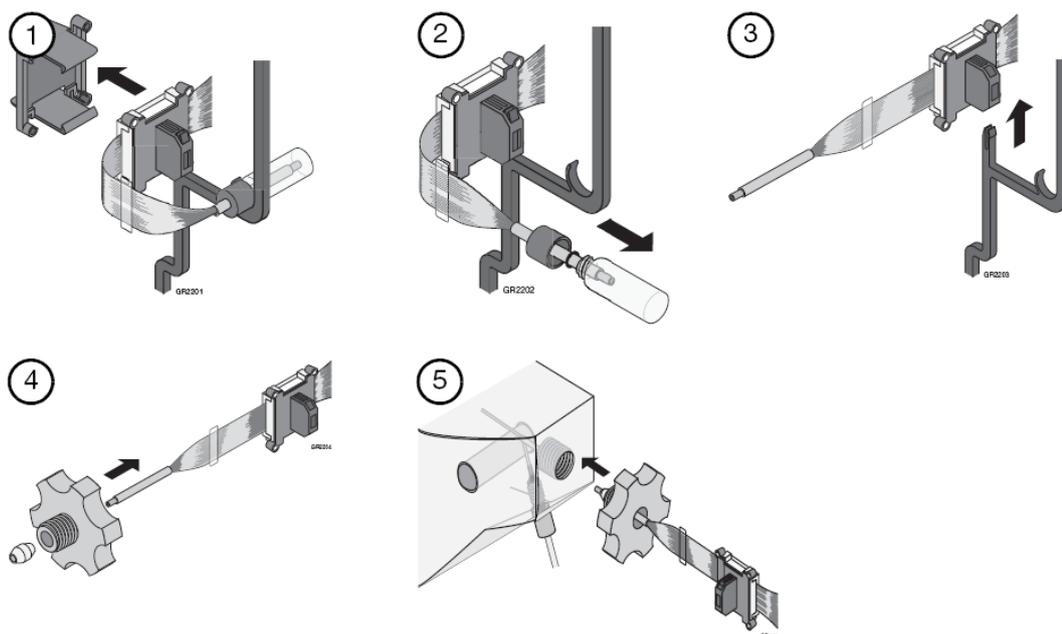
Instruments >  ga3730 >  instrument name

- 在菜单栏里选择 Wizards > Install Array Wizard
- 根据向导提示，完成毛细管的安装
- 运行空间定位 (Spatial Calibration)，校正毛细管的位置



注意:

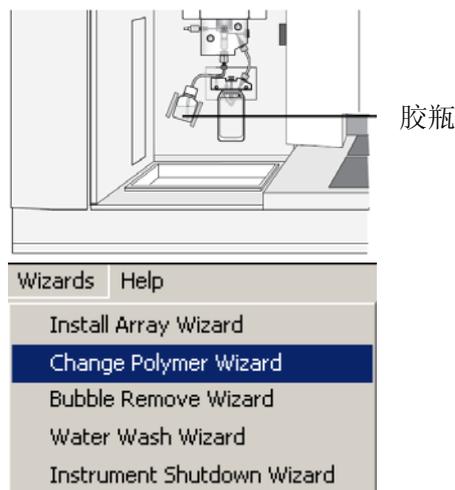
1. 安装毛细管的全程需要带无粉手套 
2. 不要拉扯毛细管
3. 拆下来暂时不用的毛细管需要使用原始包装保存，毛细管末端放在缓冲液槽及玻璃小瓶中，使用 1X Buffer 浸泡，使用保护罩保护毛细管的检测窗口



毛细管安装图解

C 更换POP胶（3730系列仅支持POP7胶）

- 打开Data Collection软件，选择在 GA Instruments
- >  ga3730 >  instrument name
- 在菜单栏里选择Wizards> Change Polymer Wizard
- 根据向导提示，完成POP7胶的更换



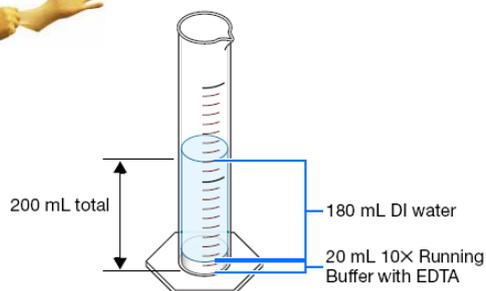
注意：

1. 胶在25℃的使用寿命为7天，使用过期的胶有可能会使实验灵敏度下降，
2. 胶在从4℃冰箱取出之后需要先回温到室温，建议放置1个小时，以防安装后有气泡产生
3. 每天都需要检查POP胶的剩余量
96道毛细管每轮消耗约250μl，
48道毛细管每轮消耗约110μl
4. 更换POP胶的全程需要带无粉手套

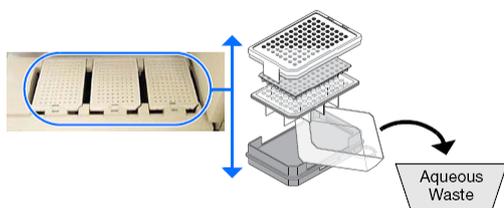


D 更换缓冲液及去离子水

1. 更换Buffer/DI Water的全程需要带无粉手套
2. 制备1XBuffer
 - 将20ml 10XBuffer加入量筒
 - 补充180ml 去离子水，至总体积200ml
 - 充分混匀，待用
3. 关闭仪器门，确认绿色状态指示灯常亮
4. 点击按钮Tray（进样器按钮），弹出Buffer槽，打开仪器门
5. 拔下Buffer槽供电接头，拆开Buffer/Water/Waste槽组件，将原废液倒入废液缸

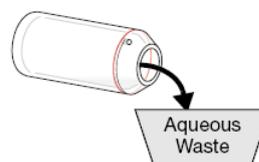


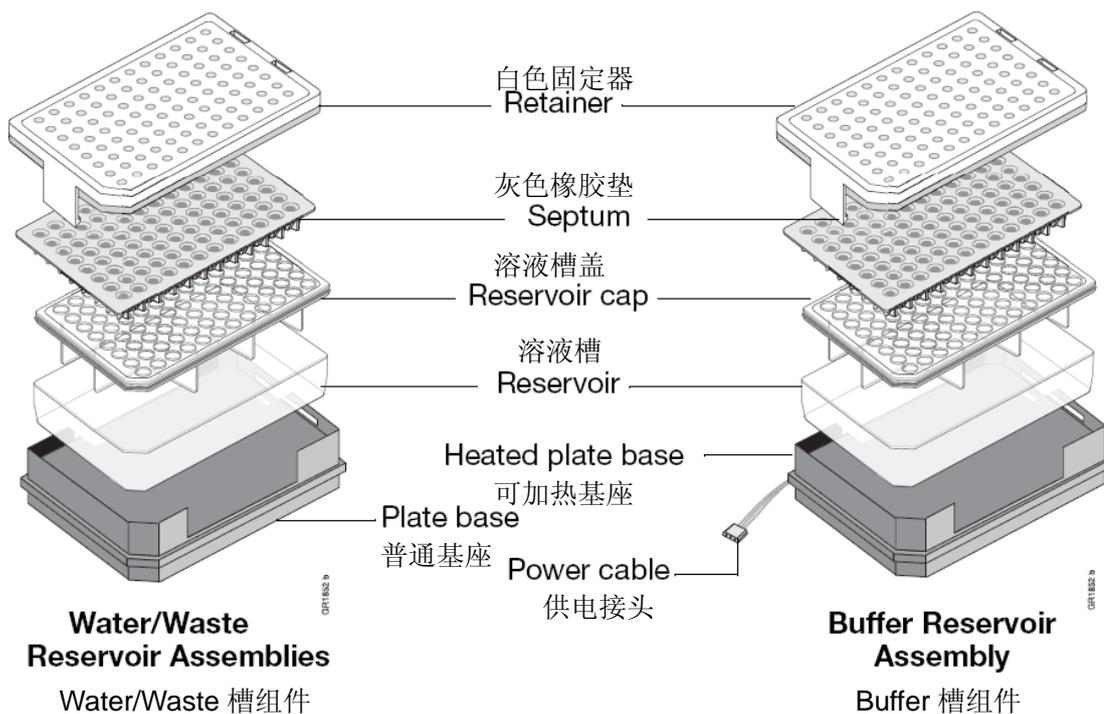
6. 使用去离子水清洗Buffer/Water/Waste槽



7. 更换Buffer及去离子水（约80ml/槽）

8. 组装Buffer/Water/Waste槽组件，擦干外表面液体
9. 取下阳极杯，将原废液倒入废液缸
10. 使用去离子水清洗阳极杯
10. 更换阳极杯1XBuffer（约67ml）
11. 安装各槽组件及阳极缓冲液杯

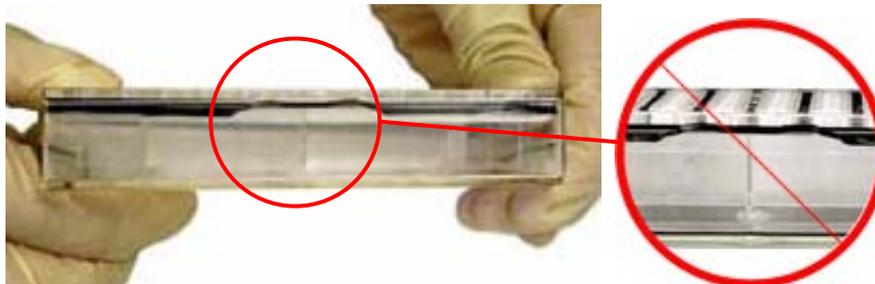




Buffer/Water/Waste槽组件组装示意图

注意:

1. 组装溶液槽盖的时候，注意周围的橡皮垫正确安装



2. 组装灰色橡胶垫和白色固定器的时候，注意橡胶垫要平整以及进样孔要对齐



3. 1XBuffer在2~8℃可保存1个月，室温为1个星期
4. 建议24至48小时或每次实验前，更换Buffer及去离子水，以保证良好的实验灵敏度

2. 空间定位 (Spatial Calibration)

A 什么是毛细管空间定位?

3730/3730xl Analyzer Data Collection软件, 通过毛细管空间定位程序, 收集每道毛细管的背景信号, 在CCD上形成图像, 在图像上确定每根毛细管的具体位置及收集信号的位置

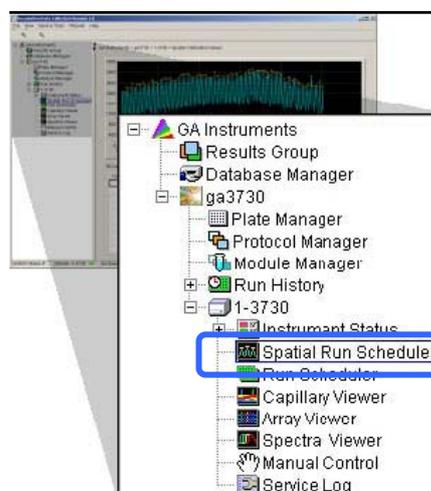
B 何时做毛细管空间定位?

- 安装新毛细管或用过的毛细管后
- 移除或调节了毛细管检测窗口的位置
- 搬动仪器后

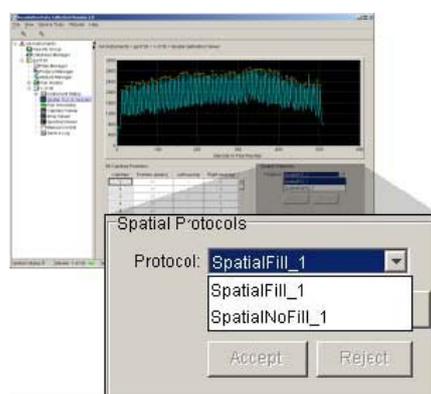
C 如何做毛细管空间定位?

- 打开Data Collection软件, 选择

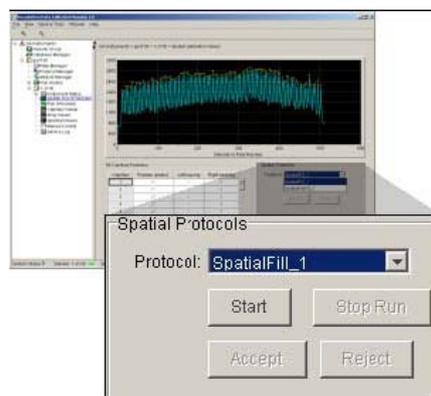
GA Instruments > ga3730 > instrument name > Spatial Run Scheduler



- 选择SpatialFill_1

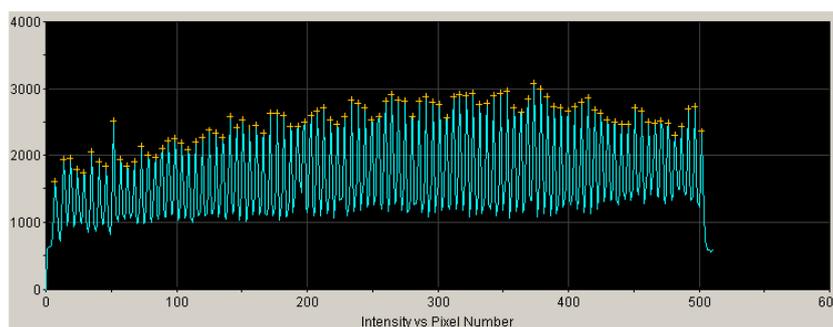
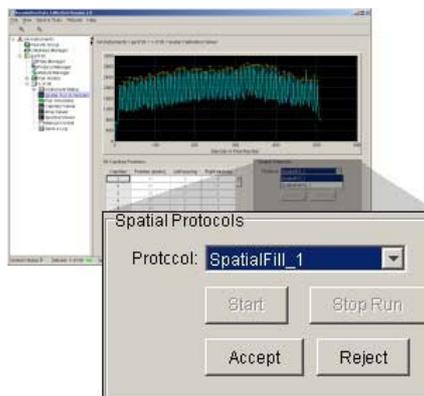


- 点击 **Start**, 开始定位
 - 灌胶模式 (Fill), 约需3~4分钟,
 - 不灌胶模式 (NoFill), 约需2分钟

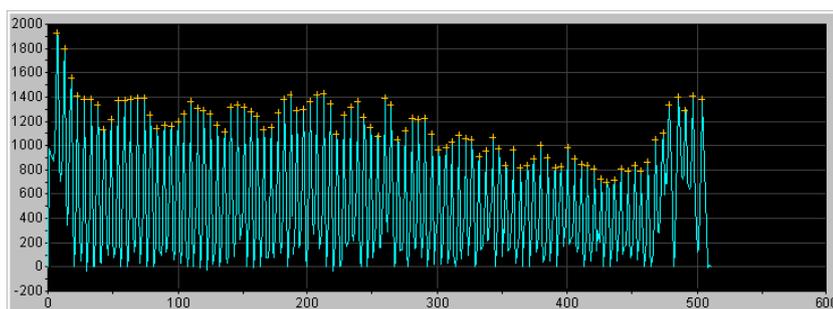


• 人工估计定位结果，各道的信号高度相差不大，间隔均一（96道毛细管一般为5或6，48道毛细管为9~11），**确认所有毛细管都有信号**

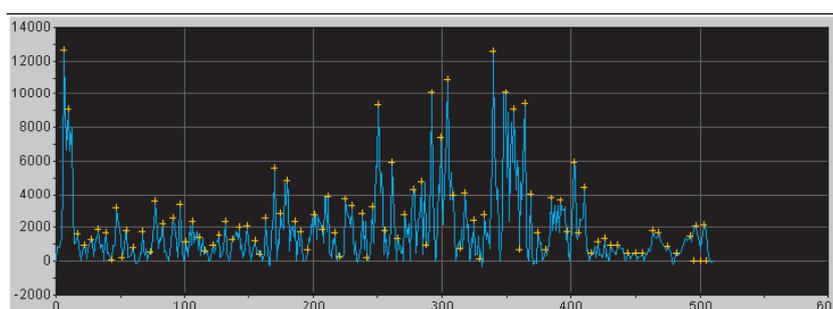
• 成功的点击Accept，失败的点击Reject
 对于无法确定毛细管位置的空间定位结果，点击Accept后DC软件会提示无法通过可参考下图



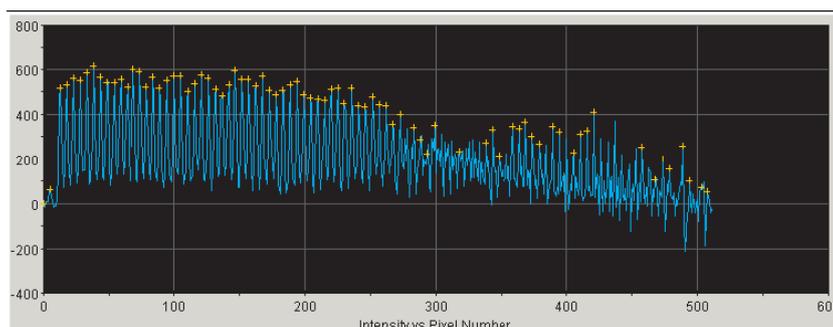
成功



成功



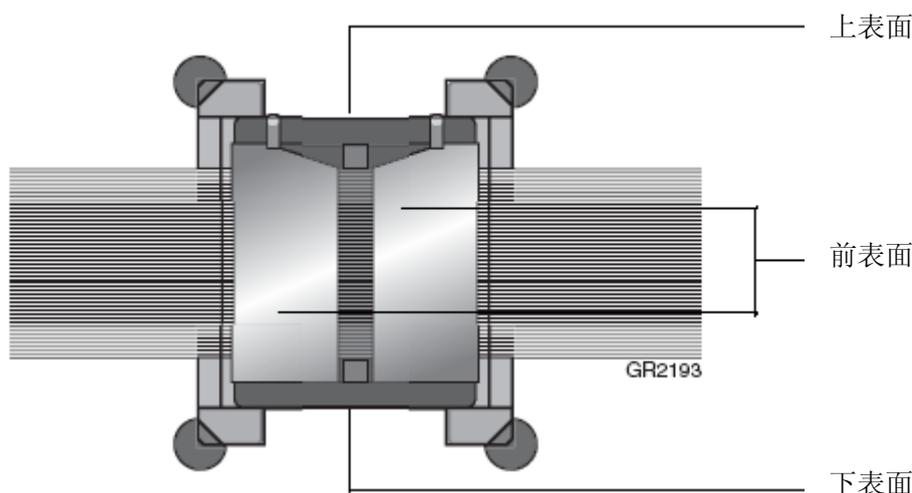
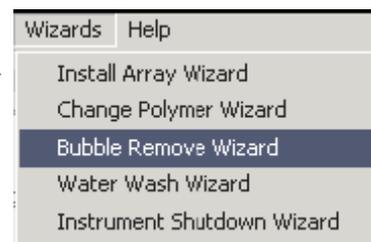
失败



失败

D 空间定位失败了怎么办？

- 重复以上过程进行定位
- 若无效，观察系统中有无气泡，使用Bubble Remove向导去除气泡后再进行空间定位
- 若无效，重新安装毛细管的检测窗口，进行空间定位
- 若无效，取下毛细管，使用移液器或注射器，吸取无水甲醇淋洗毛细管检测窗口，如下图

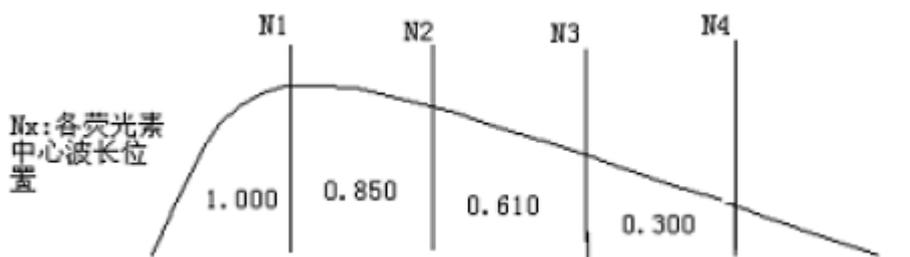


- 待甲醇晾干后将毛细管装回，进行空间定位
- 若无效，联系AB技术支持

3. 光谱校正 (Spectral Calibration)

A 什么是光谱校正？

DNA会被不同的荧光素标记，不同的荧光素组合称为染料组 (Dye Set)。从下图可以看到，四 (或五) 色荧光检测系统的本质是检测四 (或五) 种荧光素在其中心发射波长处的信号。由于每一种荧光素的发射光谱不是锐线光谱，而是一种有一定宽度分布的光谱带。所以一种纯荧光除在它自己光谱的中心波长处能采集到信号N1外，在其他荧光信号光谱的中心波长处亦能检测到信号而产生信号重叠。为了校准信号重叠，需知道一种荧光信号在其他荧光信号处产生的重叠系数。所以，我们用不同长度的DNA片段分别标记上不同的荧光素来计算这些系数。最后得到一个4 x 4 (或5 x 5) 的数据矩阵 (Matrix)。光谱校正，又称为Matrix校正。



B 何时做光谱校正?

- 使用了新的荧光染料
- 激光系统或CCD在工程师调节或更换后
- 实验结果中出现不同颜色的荧光干扰（有拔起或下压峰）
- 参数的改变（荧光类型Dye Set, 毛细管类型50cm/36cm）

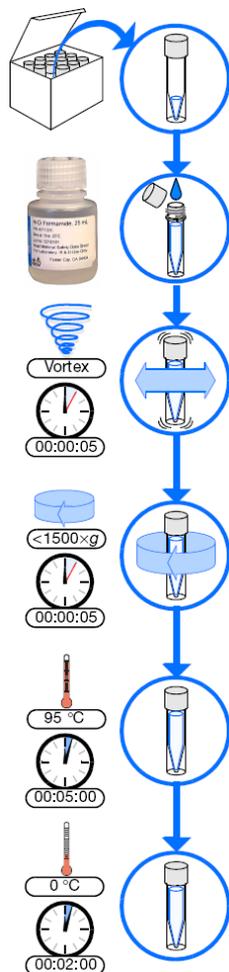
注：仅仅更换同种类型的毛细管，无需光谱校正

C 不同的Dye Set如何选取试剂?

测序试剂	Dye Set	光谱校正试剂
ABI PRISM® BigDye® v3.1 Terminator	Z_BigDyeV3	BigDye® v3.1 Terminator Sequencing Standard
ABI PRISM® BigDye® v1.1 Terminator	E_BigDyeV3	BigDye® v1.1 Terminator Sequencing Standard
片段分析试剂	Dye Set	光谱校正试剂
ABI PRISM® Linkage Mapping Set v2.5/custom oligos	G5	DS33 Matrix Standard
ABI PRISM® Linkage Mapping Set v2.5/custom oligos	G5-RCT	DS33 Matrix Standard

注：其他实验试剂请联系试剂厂商了解相应Dye Set及相应光谱校正试剂

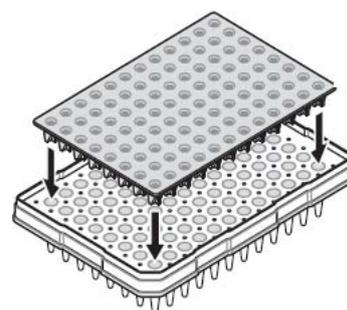
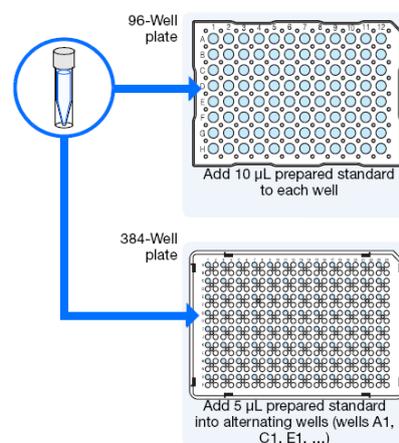
D 样品准备



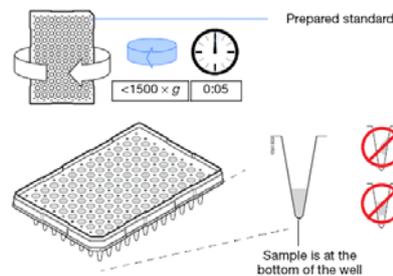
- 照试剂盒说明书，用Hi-Di甲酰胺混合校正标准品
 - 震荡离心
 - 95°C变性5分钟后立即冰浴2分钟
 - 震荡离心
- 如左图

- 在96或384孔板中分装样品（96孔板10μl/孔连续加样，384孔板5μl/孔隔行加样）
- 如右上图

- 使用橡胶垫装配样品板，装配后橡胶垫必须平整。样品板上的孔与橡胶垫上的孔要对齐（如使用热封膜，请参考相关封膜机手册）
- 如右下图

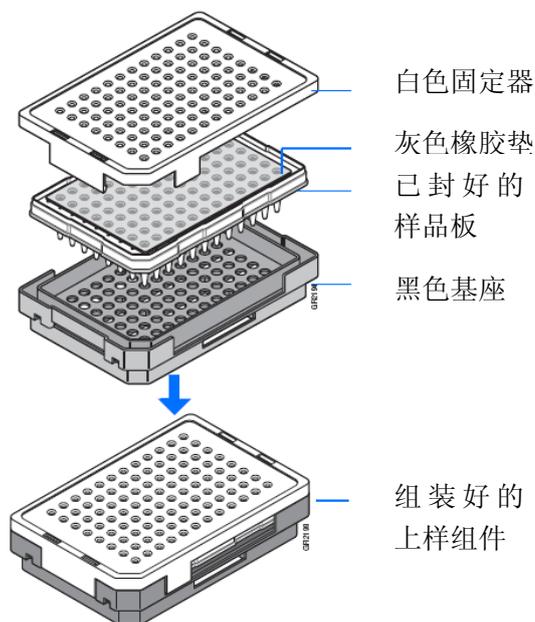


- 简单离心，比如<1500g，5秒
- 确认所有孔的样品都在底部
如右图

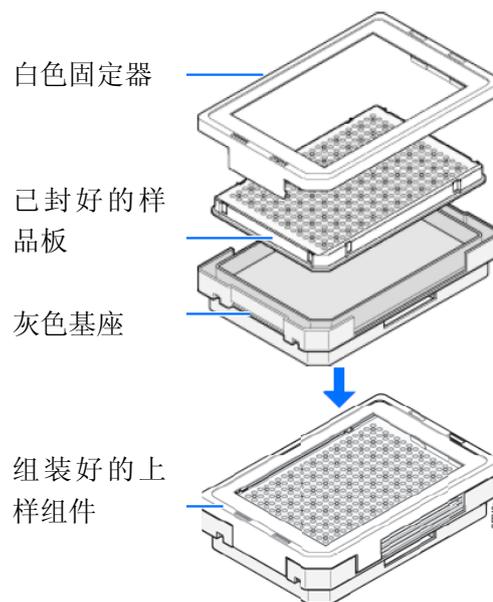


- 按下图组装上样组件

Septum 组件（胶垫上样组件）



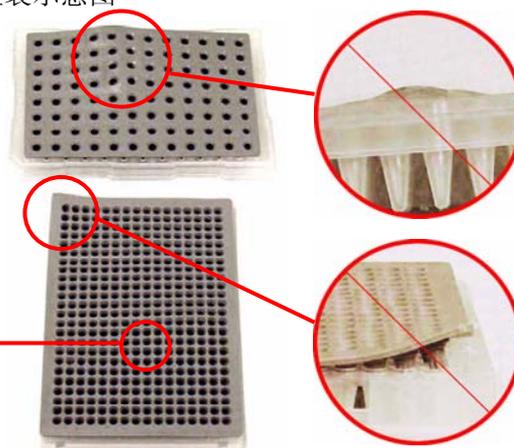
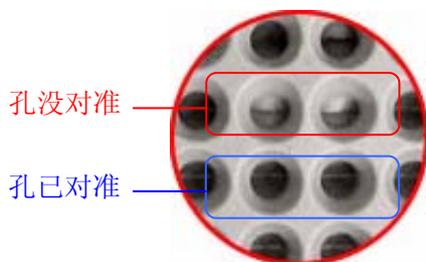
Heat-Sealed 组件（热封膜上样组件）



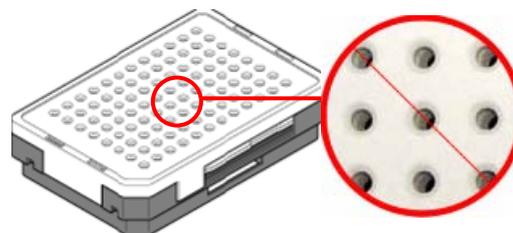
上样组件组装示意图

注意：

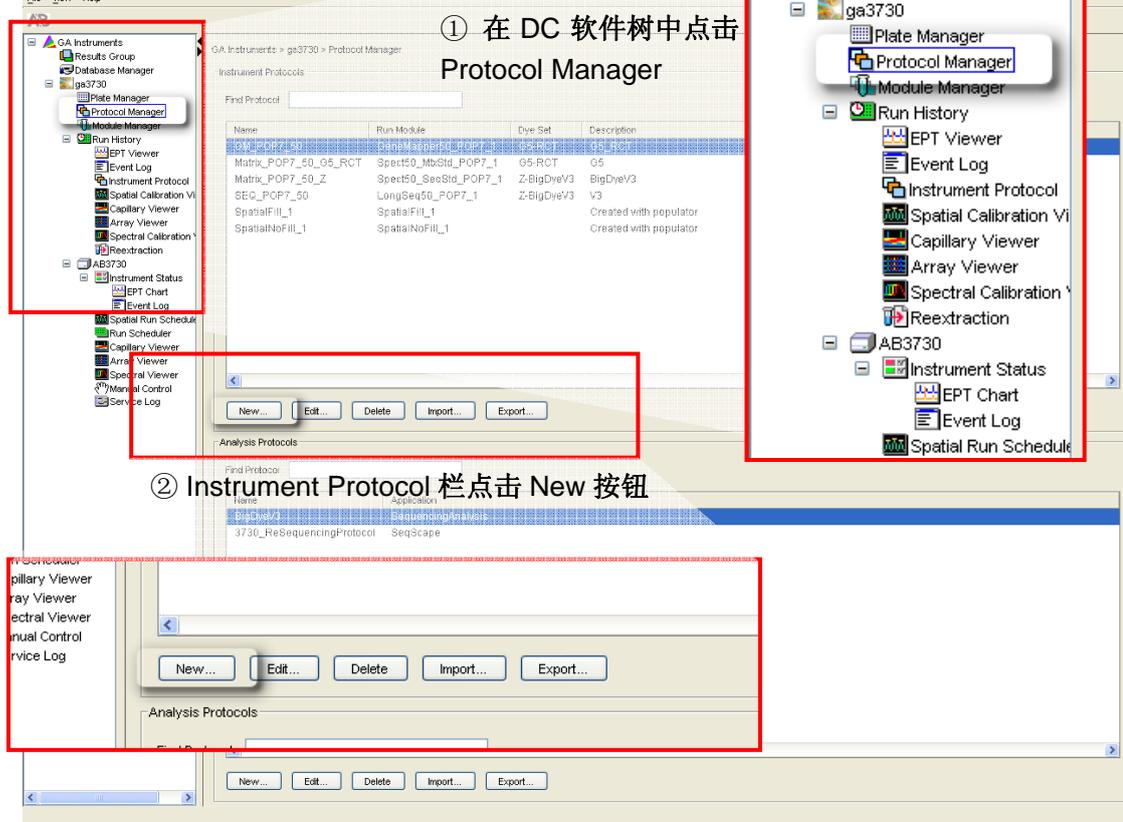
1. 组装灰色橡胶垫和样品板的时候，注意样品板上的孔与橡胶垫上的孔要对齐，不要有拱起或压扁



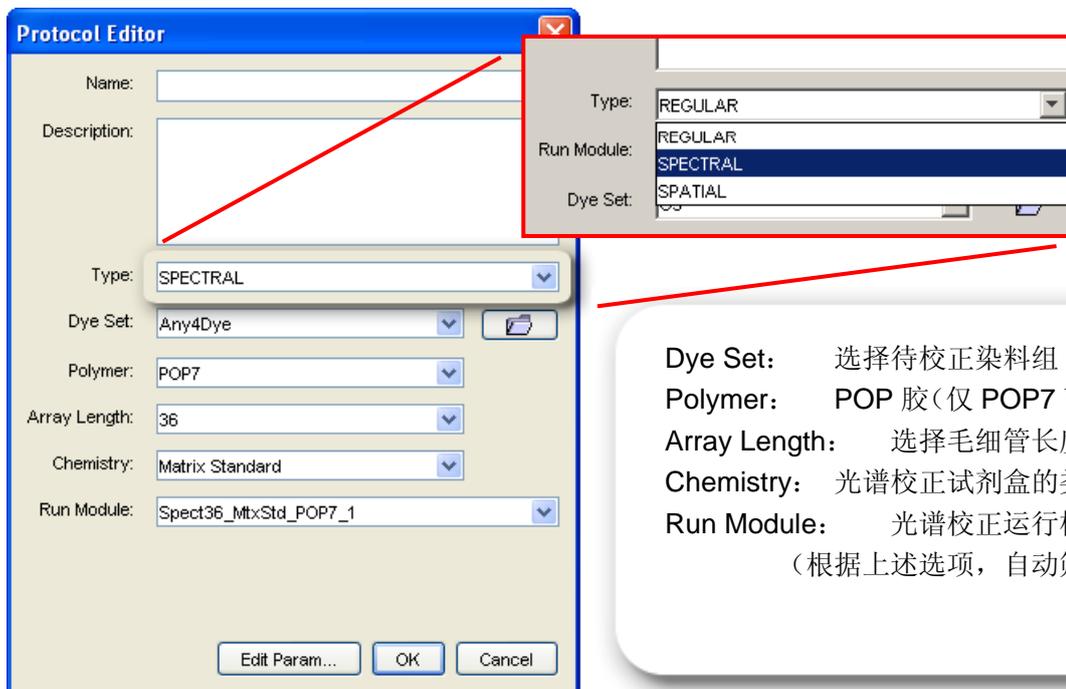
2. 组装灰色橡胶垫和白色固定器的时候，注意橡胶垫于固定器上进样孔要对齐，否则会损坏毛细管



E 创建光谱校正Instrument Protocol



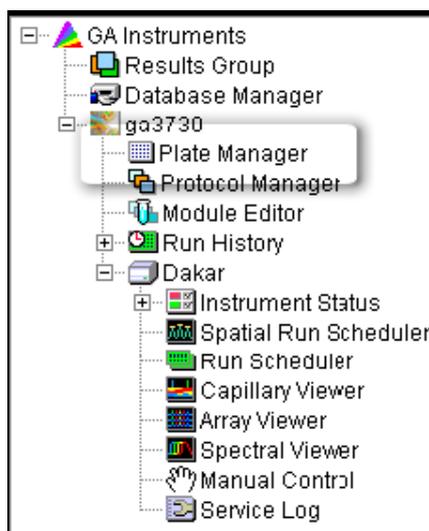
③ 弹出Protocol Editor窗口，从Type下拉菜单中选择SPECTRAL



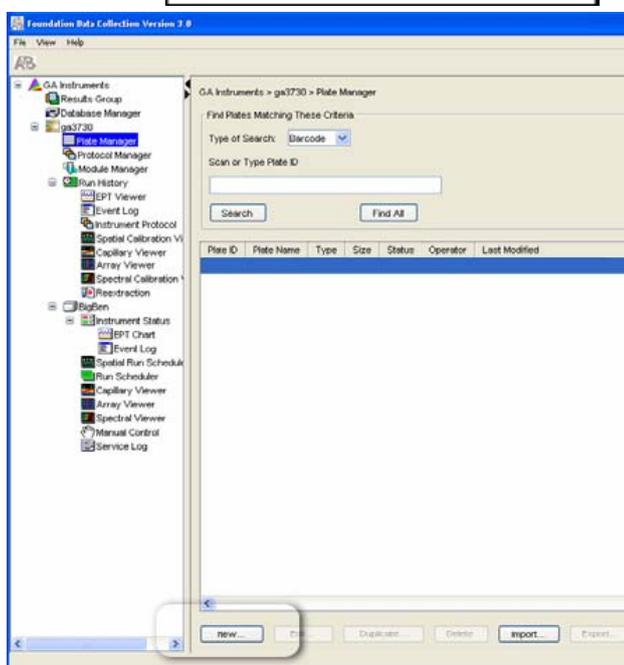
④ 输入Name命名该Protocol，设置完成，点击OK按钮

F 设置光谱校正板 (Plate)

① 在 DC 软件树中点击 Plate Manager

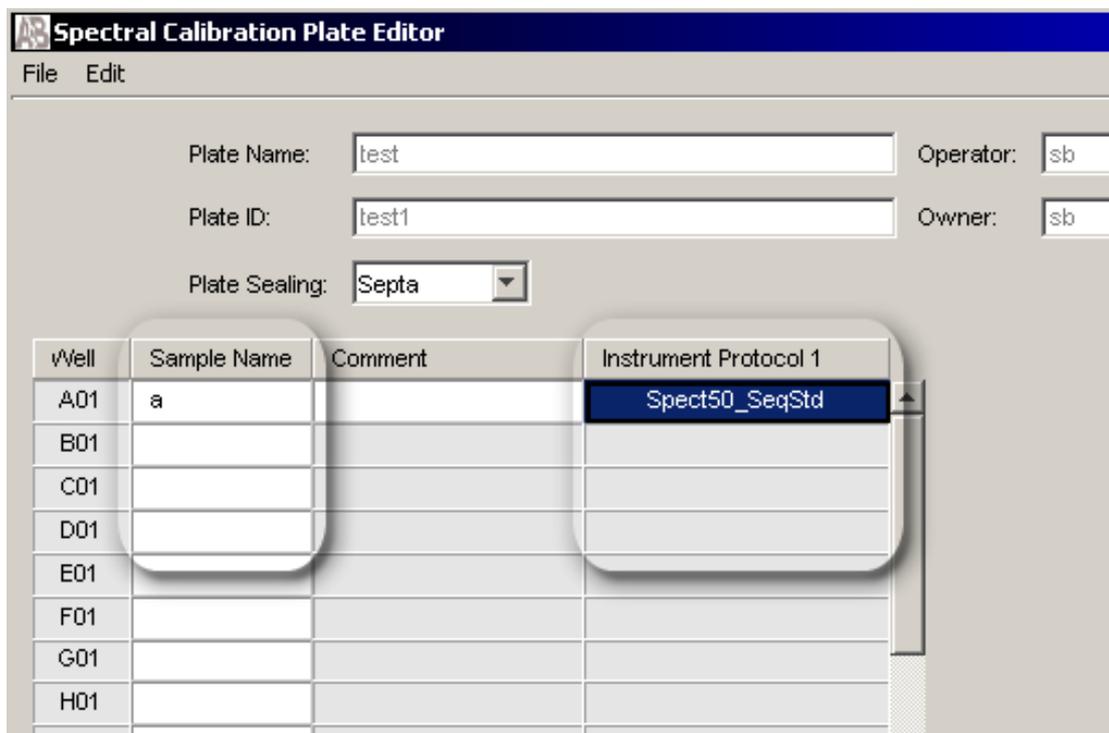


② 在 Plate Manager 栏左下角点击 New 按钮



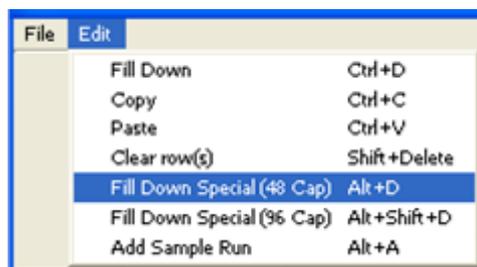
- ③ 在 New Plate Dialog 窗口内输入板的信息，
- ID (Barcode) 条码或板的编号
 - Name 校正板的名称
 - Application 选择 Spectral Calibration
 - Plate Type 选择 384 或 96 孔板
 - Plate Sealing 选择封板的方式 Septa 或 Heat Seal
- 输入完成后，点击右下角 OK 按钮

④ 在Spectral Calibration Plate Editor窗口内输入Sample Name，选择Instrument Protocol



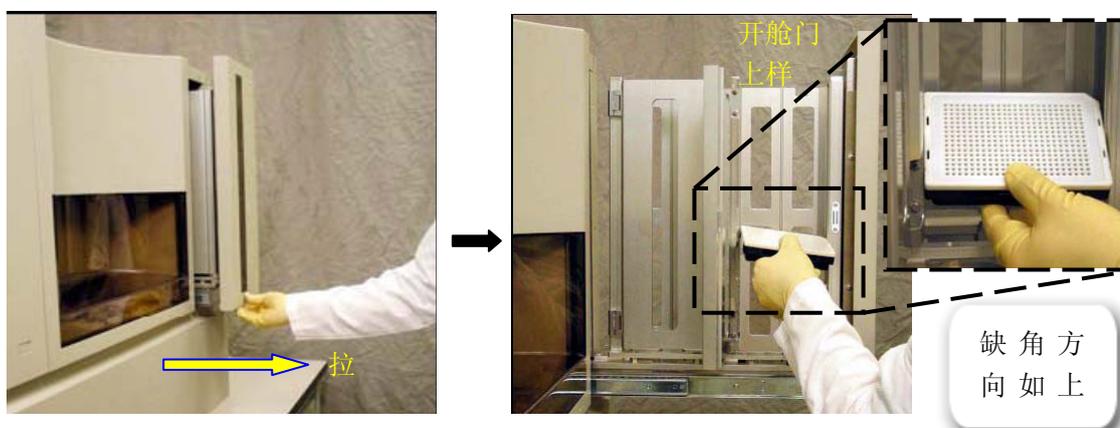
⑤ 选中整行后，选择Edit > Fill Down Special 复制其内容到其它行

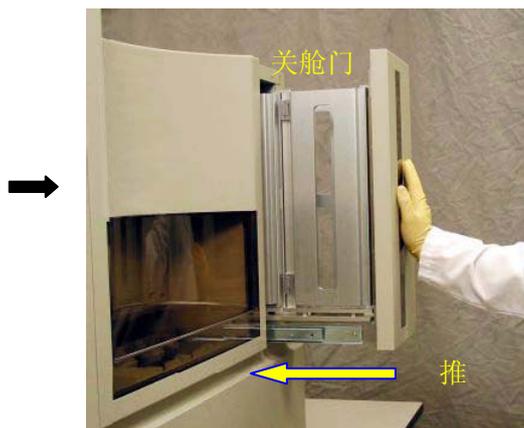
- 3730xl / 96孔板: *Fill Down*
- 3730 / 96孔板: *Fill down Special(48 Cap)*
- 3730xl / 384孔板: *Fill down Special(96 Cap)*
- 3730 / 384孔板: *Fill down Special(48 Cap)*



完成后点击 **OK** 按钮

G 载入光谱校正板





H 运行光谱校正

① 选 Run Schedule

② 点击 Search A...

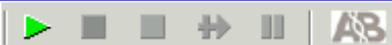
③ 点击 Find All

④ 选择前面编辑好的板 (Plate)

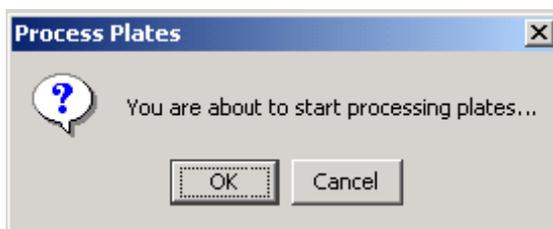
⑤ 点击 Add 或 Add All 添加板

Plate Name	Type	Description
Matrix090824_G5_RCT	Spectral Calibration	AB_G5_RCT
Matrix090824_Z	Spectral Calibration	AB_BigDyeZ
STD_GM090824	GeneManner	AB...
STD	GeneManner	AB...

⑥ 点击软件左上角



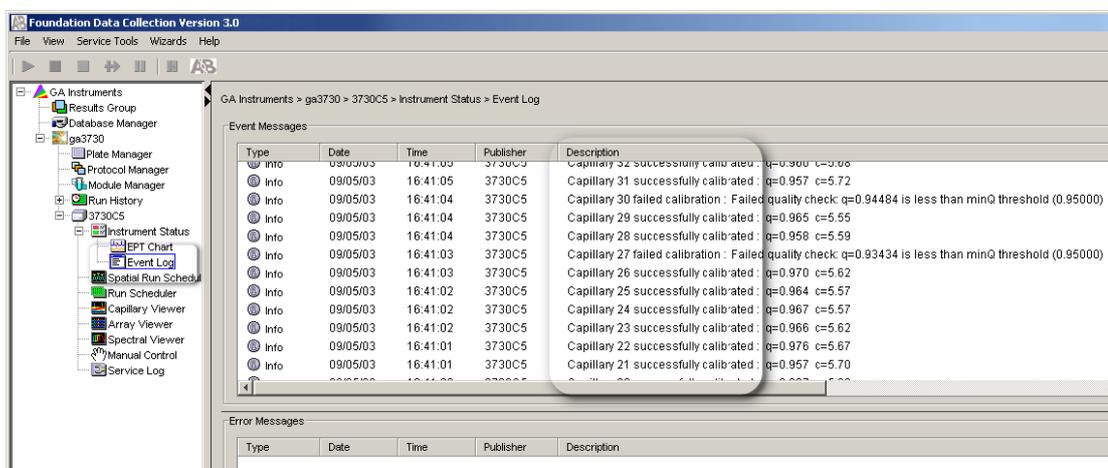
⑦ 弹出窗口点击



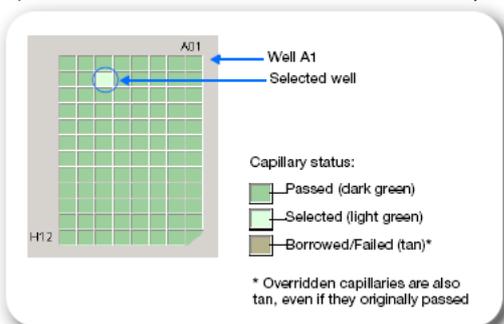
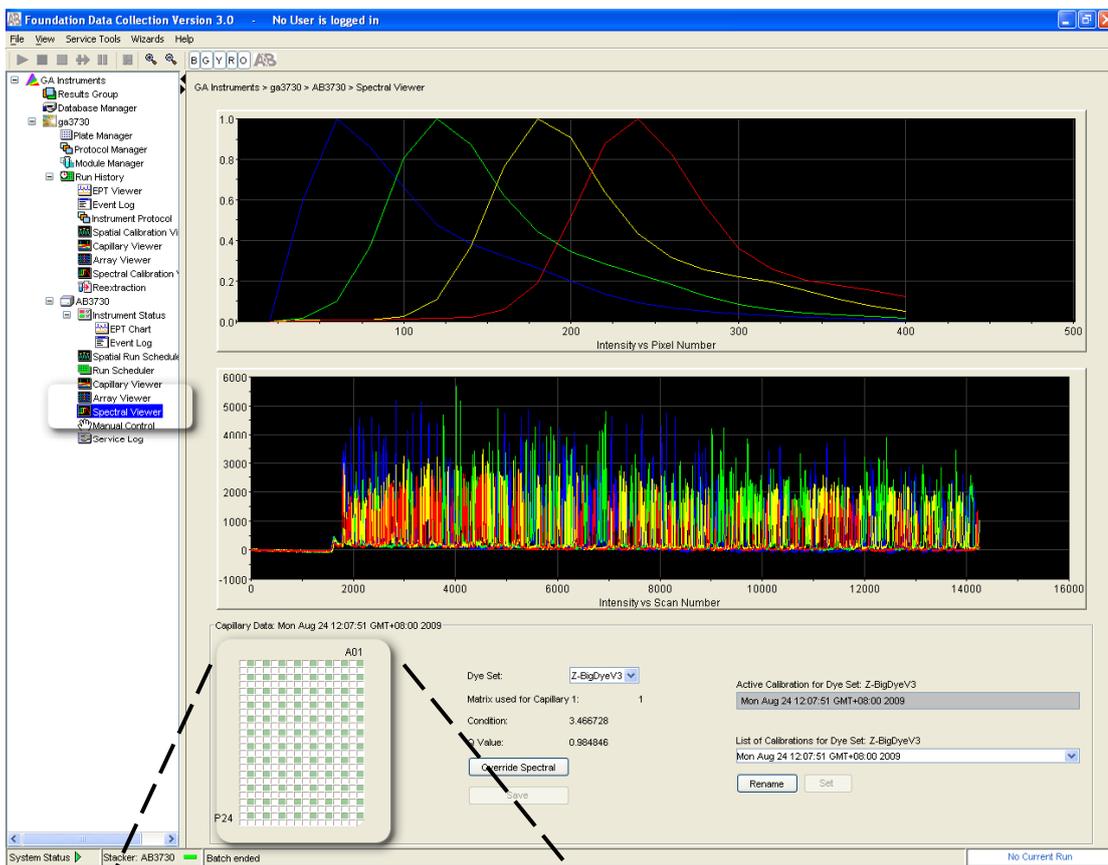
⑧ 大约 30 分钟校正完成

I 确认光谱校正成功/失败

- 可以在Event Log里查看各毛细管光谱校正是否通过，以及失败的原因



- 可以在Spectral Viewer里查看各毛细管光谱校正是否通过

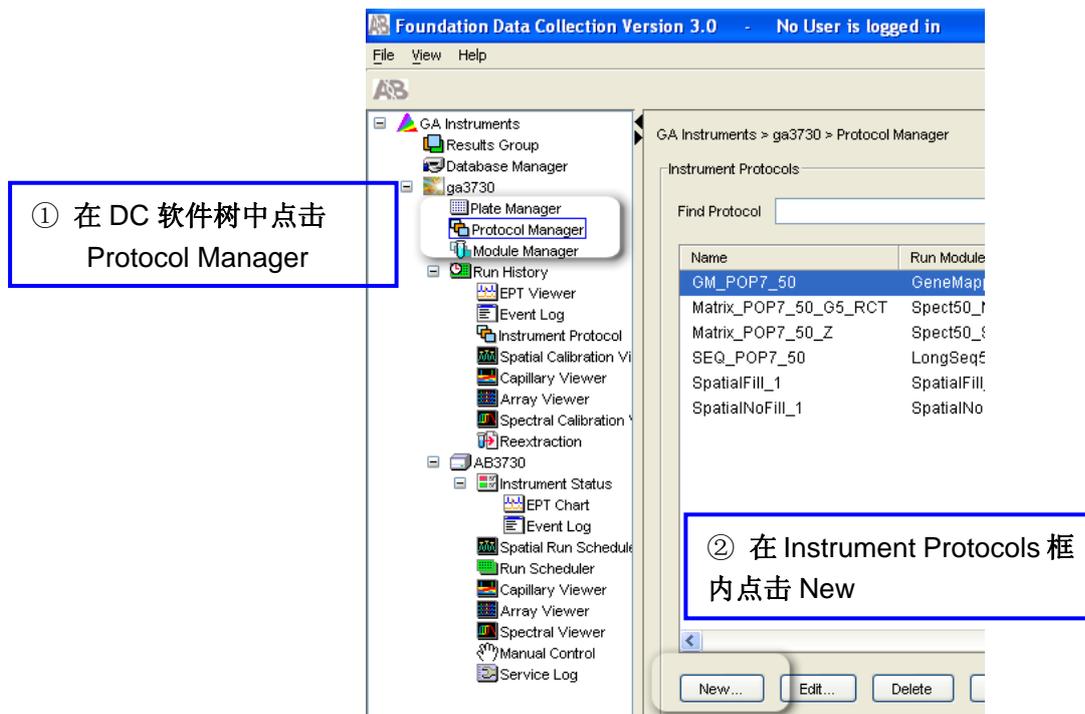


J 光谱校正失败了怎么办？

症状	可能原因	解决方法
无信号	样品预处理问题	更换样品，使用新的Hi-Di甲酰氨溶解样品
	样品板中有气泡	离心
光谱校正失败或显示“No candidate spectral files found”	毛细管阻塞	手工命令灌胶，观察毛细管在阴极的喷胶情况来判断其是否阻塞
	毛细管未充满胶	检查是否有毛细管断裂，重新灌胶
	过期的光谱校正样品	检查保质期和储存条件，必要的话更换新批号的样品
有很多杂峰	胶过期	更换新胶
	气泡，尤其在胶中	<ul style="list-style-type: none"> 使用Bubble Remove向导灌胶 使用前要使胶升温至室温 更换过期的胶
	胶污染	更换新胶

4. DNA Sequencing软件设置

A 创建测序Instrument Protocol





③ 在 Protocol 窗口内输入板的信息，
 Name Protocol 的名称
 Type 选择 REGULAR
 Run Module 选择测序运行模版*
 Dye Set 选择试剂盒的染料组**
 输入完成后，点击右下角 OK 按钮

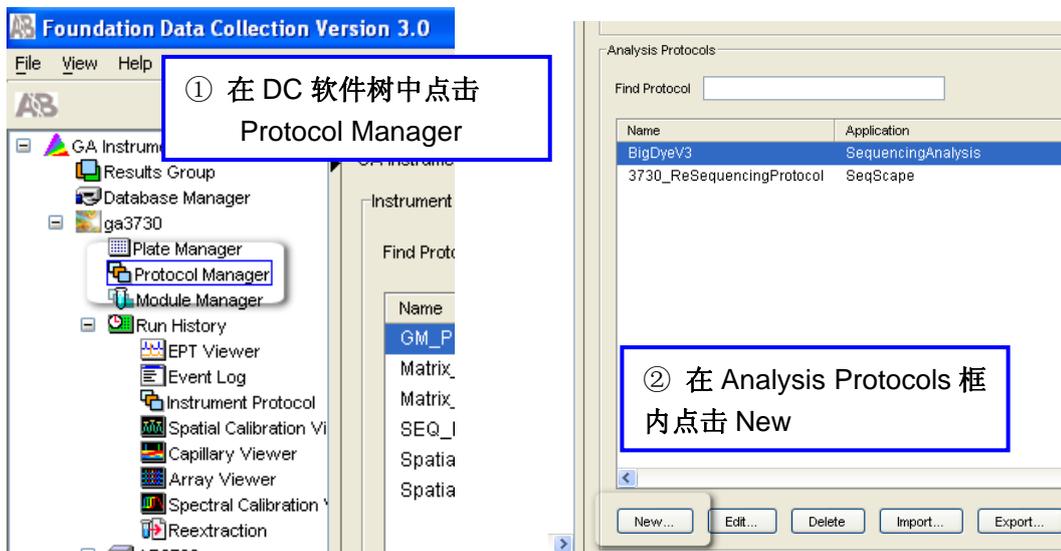
*RUN Module参照表

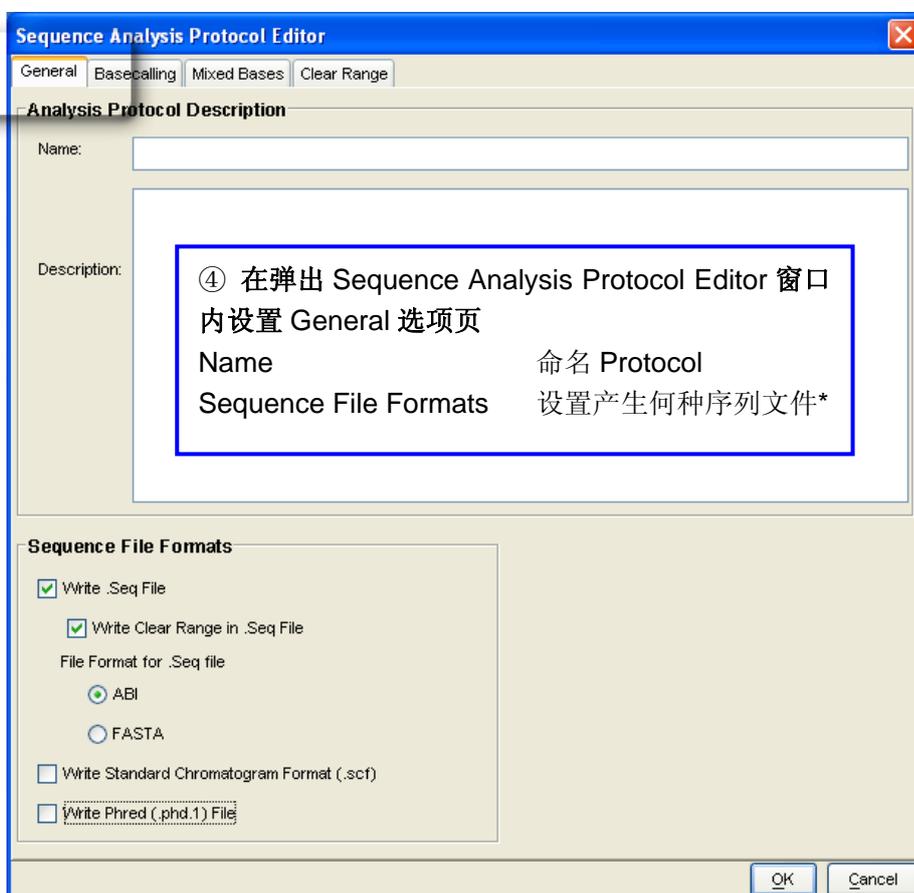
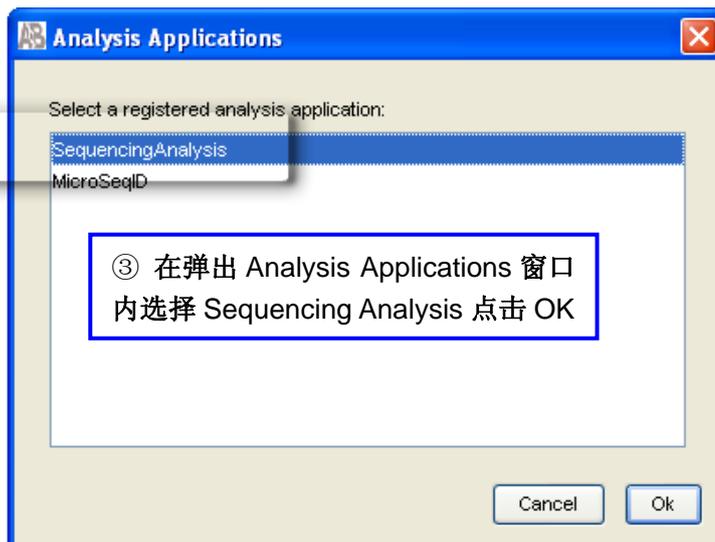
Sequencing Run Modules	毛细管长度 (cm)	Sequencing Run	预计运行时间 (min)
XLRSeq50_POP7	50	Extra long read	180
LongSeq50_POP7	50	Long read	120
FastSeq50_POP7	50	Fast read	60
StdSeq36_POP7	36	Standard read	60
RapidSeq36_POP7	36	Rapid read	35
TargetSeq36_POP7	36	Short read	20

**Dye Set参照表

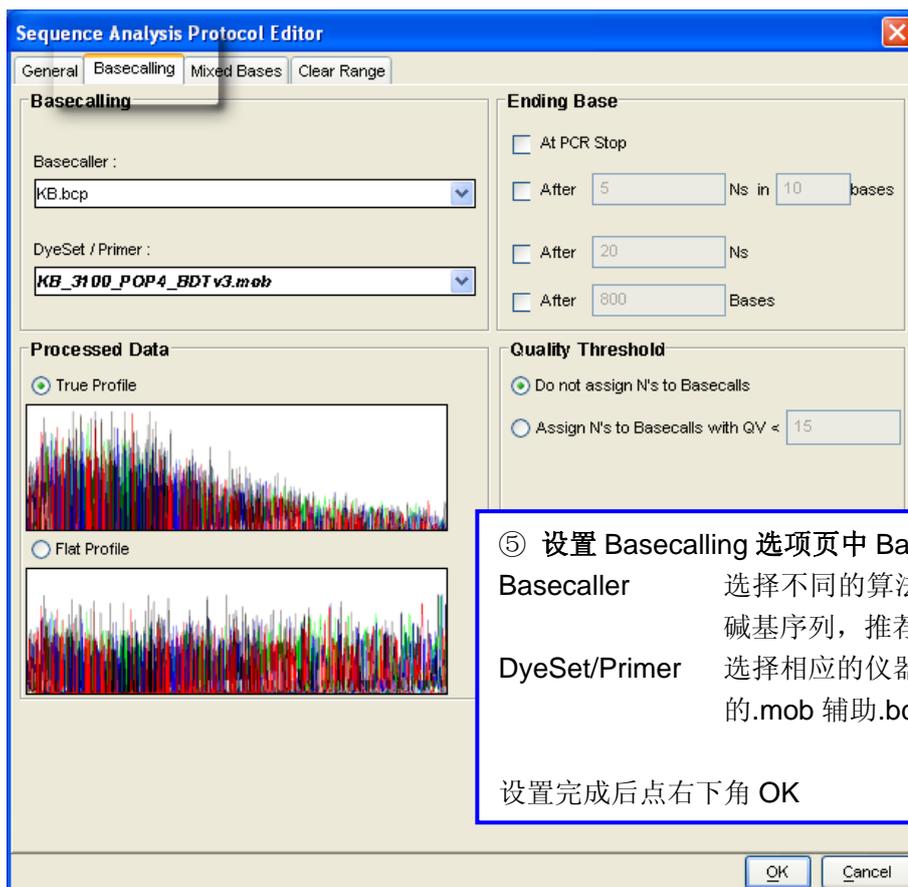
Dye Set	测序试剂
E_BigDyeV1	ABI PRISM® BigDye® v1.1 Terminator
Z_BigDyeV3	ABI PRISM® BigDye® v3.1 Terminator

B 创建测序Analysis Protocol



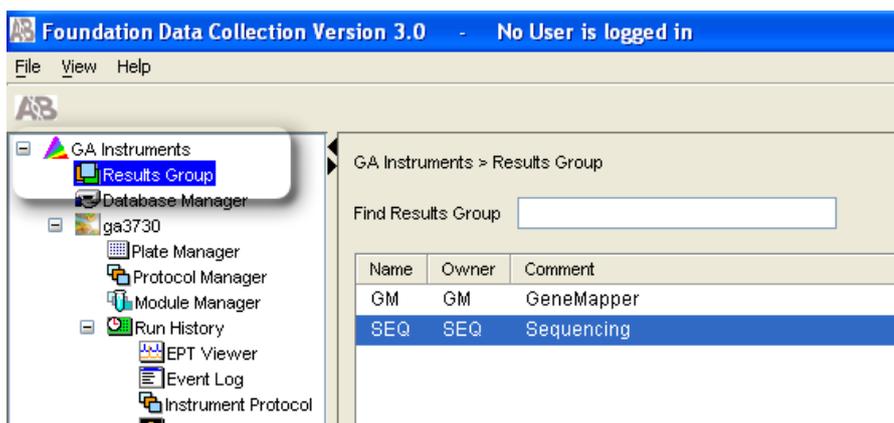


*Sequence File Formats (序列文件选项)	如果打钩, 会生成……
Write .Seq File	以.seq为扩展名的序列文件 (文本格式)
Write Clear Range in .Seq File	按照Clear Range选项页设置, 输出.seq文件
• ABI • FASTA	.seq序列文件的不同文本格式
Write Standard Chromatogram Format	以.scf为扩展名的序列文件 (用于其它软件)
Write Phred (.phd.1) File	以.phd.1为扩展名的序列文件 (用于其它软件)

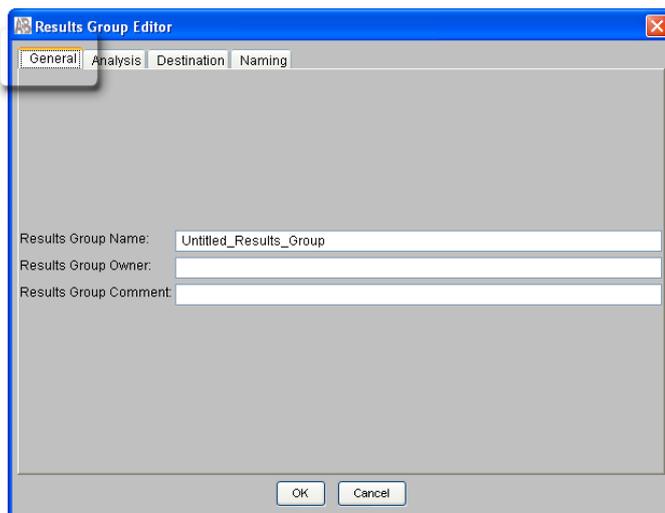


C 创建测序 Results Group

- DC软件树中选择Results Group，点击New按钮新建Results Group，设置从数据库信息转化为有效结果文件的一系列规则



• 设置General选项页

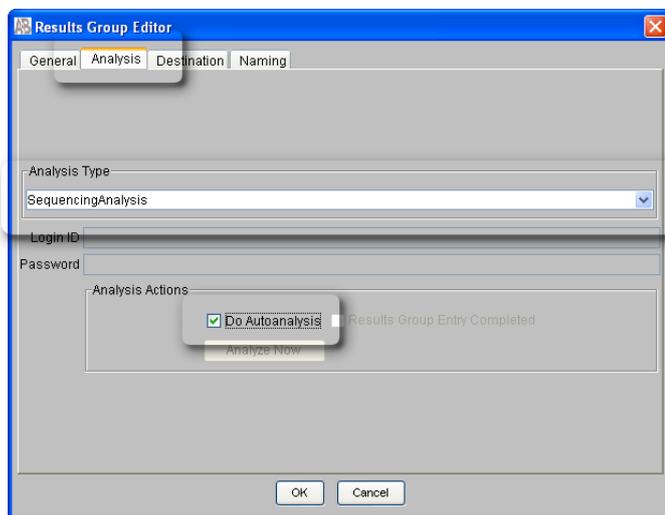


Results Group Name
命名结果分组

Results Group Owner
填写使用人

Results Group Comment (可选)
填写备注

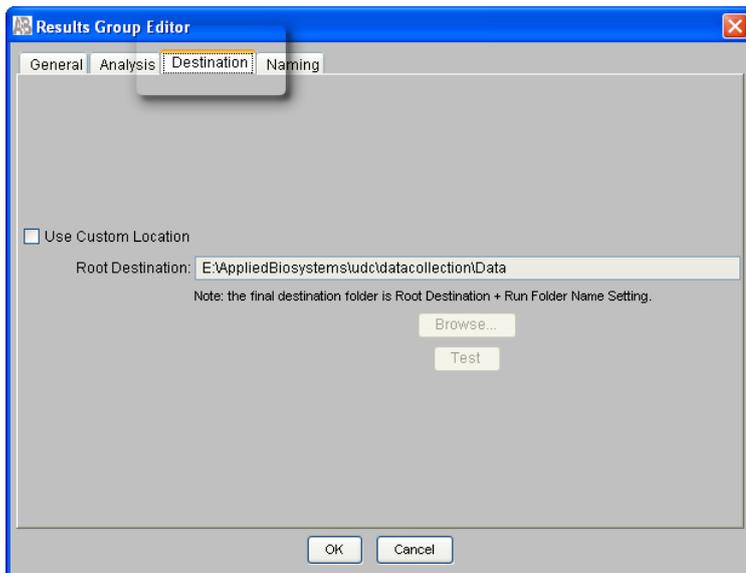
• 设置Analysis选项页



Analysis Type
下拉菜单中选择
SequencingAnalysis

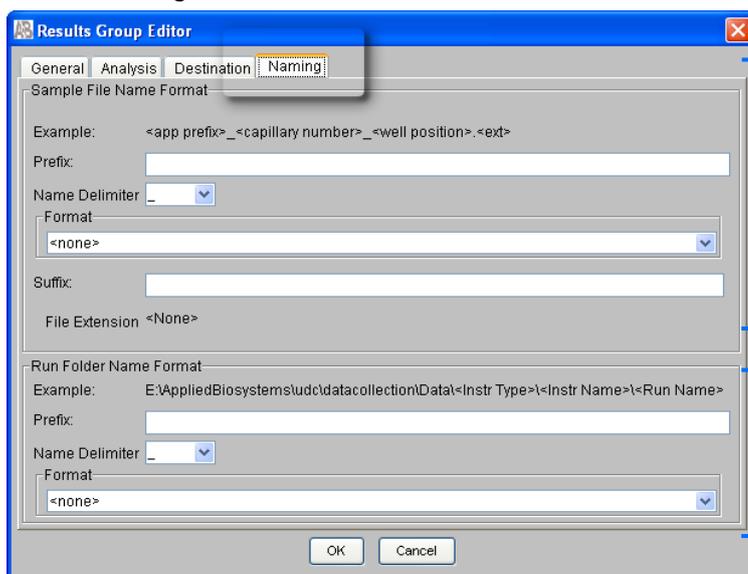
Analysis Action
在 Do Autoanalysis 选项前打钩

• 设置Destination选项页



使用默认选项
或
选择 Use Custom Location
点击 Browse...
选择自定义文件夹
用于存放结果文件

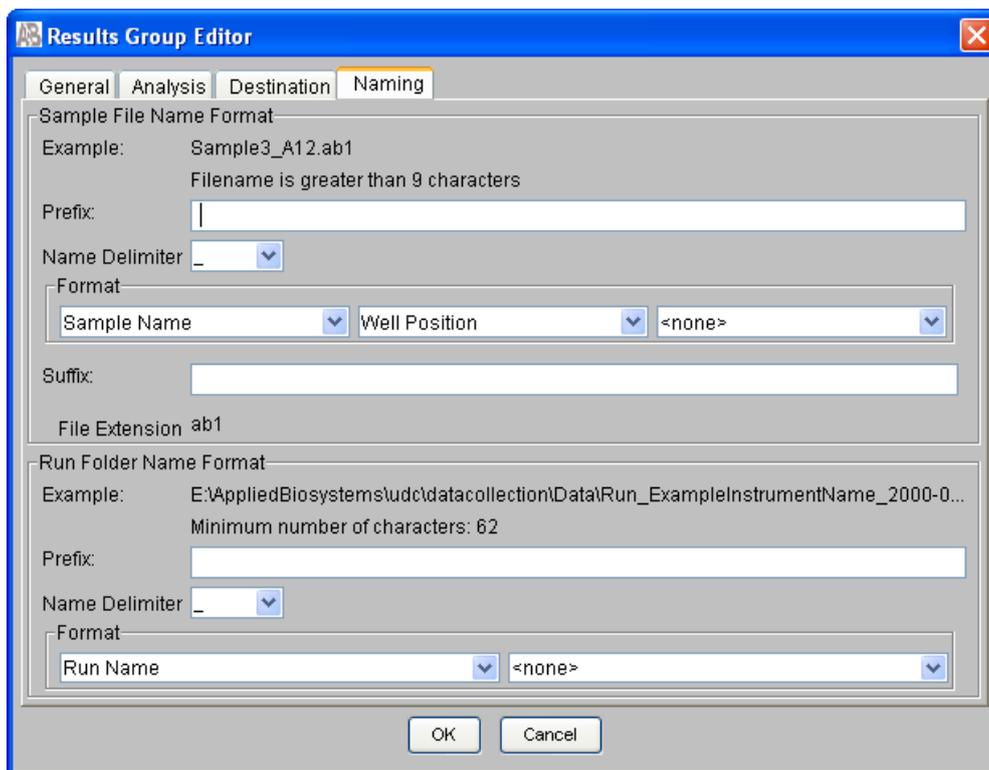
- 设置Naming选项页



设置结果文件命名规则
推荐 Format 中包括
Sample Name
Well Position

设置每次运行实验结果
存放的文件夹命名规则
推荐 Format 中包括
Run Name

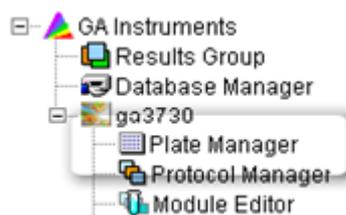
示例:



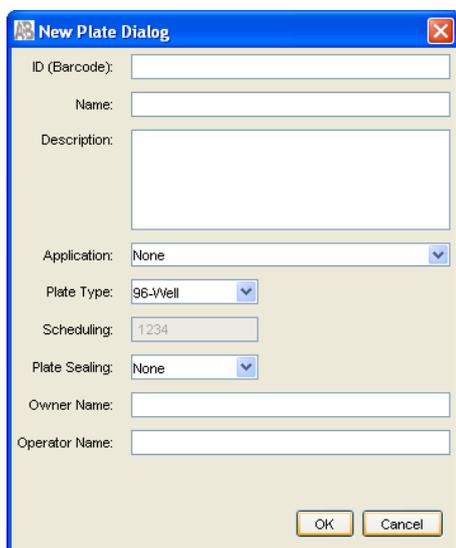
- 设置完成后点击OK按钮

D 创建测序实验板 (Plate)

- ① 在 DC 软件树中点击 Plate Manager

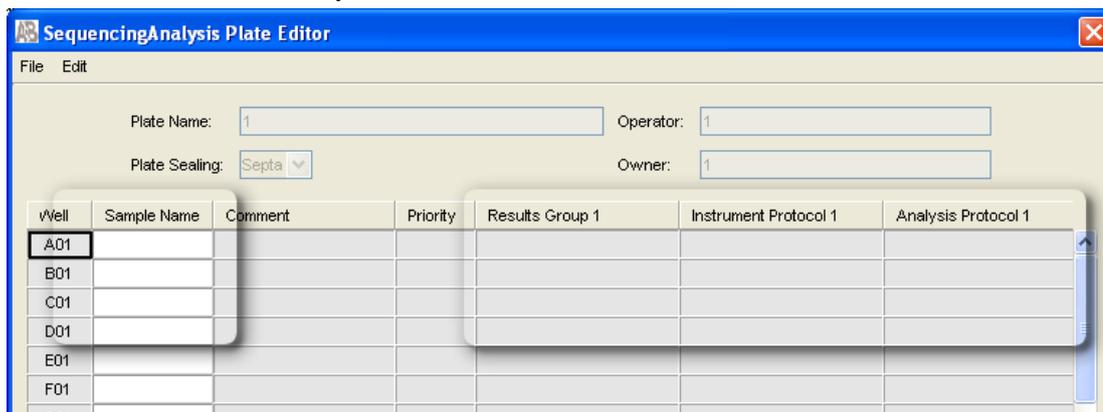


② 在 Plate Manager 栏左下角
点击 New 按钮



③ 在 New Plate Dialog 窗口内输入板的信息，
 ID (Barcode) 条码或板的编号
 Name 校正板的名称
 Application 选择 **SequencingAnalysis**
 Plate Type 选择 384 或 96 孔板
 Plate Sealing 选择封板的方式 Septa 或 Heat Seal
 输入完成后，点击右下角 OK 按钮

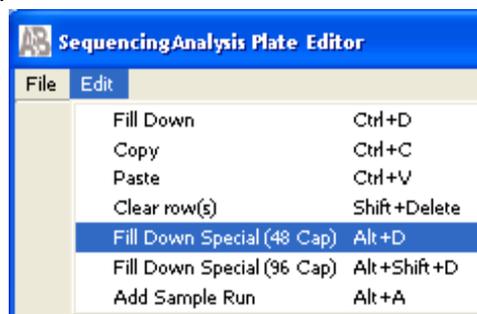
④ 在 SequencingAnalysis Plate Editor 窗口内输入 Sample Name，选择 Results Group，Instrument Protocol，Analysis Protocol



(可选) 选中整行后，选择 Edit > Fill Down Special
复制其内容到其它行

- 3730xl / 96孔板: *Fill Down*
- 3730 / 96孔板: *Fill down Special(48 Cap)*
- 3730xl / 384孔板: *Fill down Special(96 Cap)*
- 3730 / 384孔板: *Fill down Special(48 Cap)*

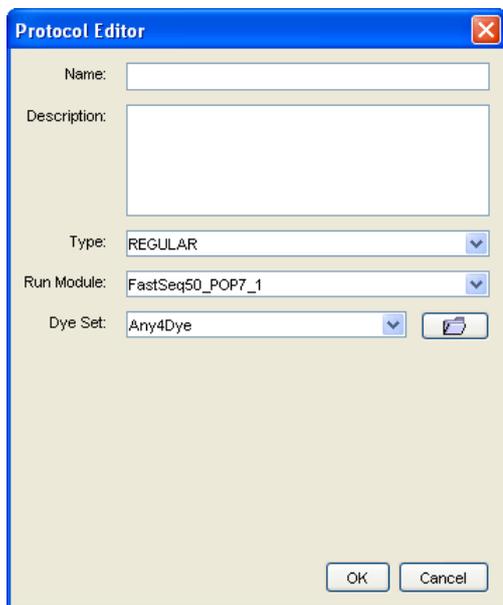
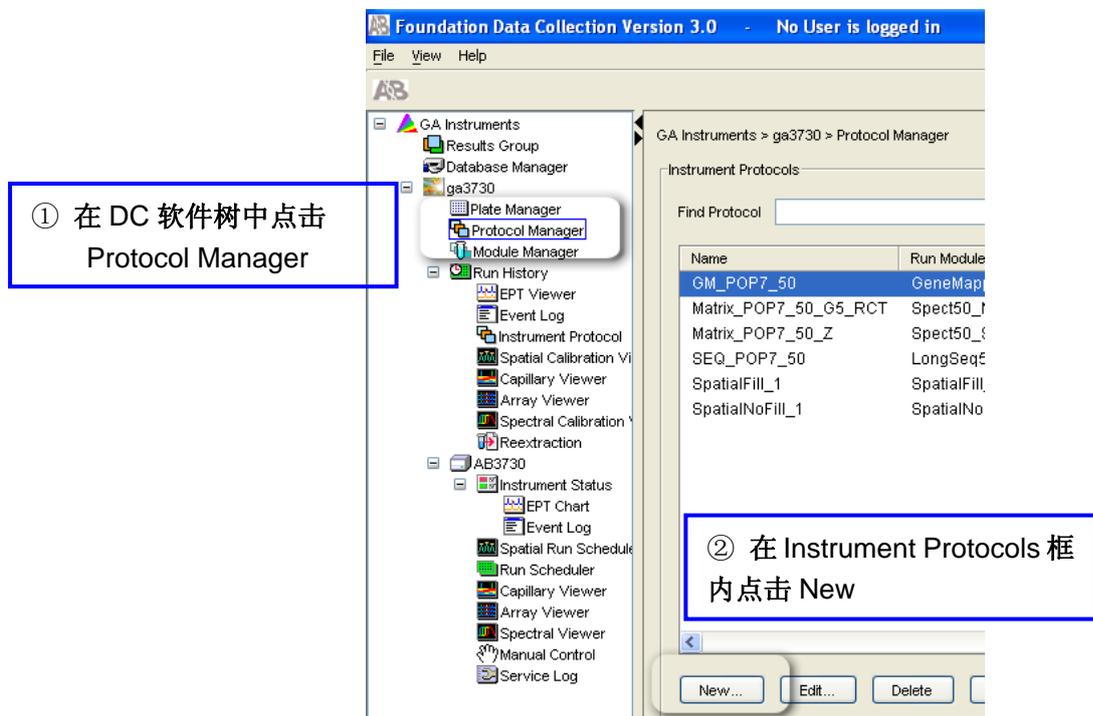
(可选) 根据需要修改 Sample Name，Results Group，Instrument Protocol，Analysis Protocol



⑤ 完成后点击 **OK** 按钮

5. Fragment Analysis软件设置

A 创建片段分析Instrument Protocol



- ③ 在 Protocol 窗口内输入板的信息，
- Name Protocol 的名称
 - Type 选择 REGULAR
 - Run Module 选择片段分析运行模版*
 - Dye Set 选择试剂盒的染料组**
- 输入完成后，点击右下角 OK 按钮

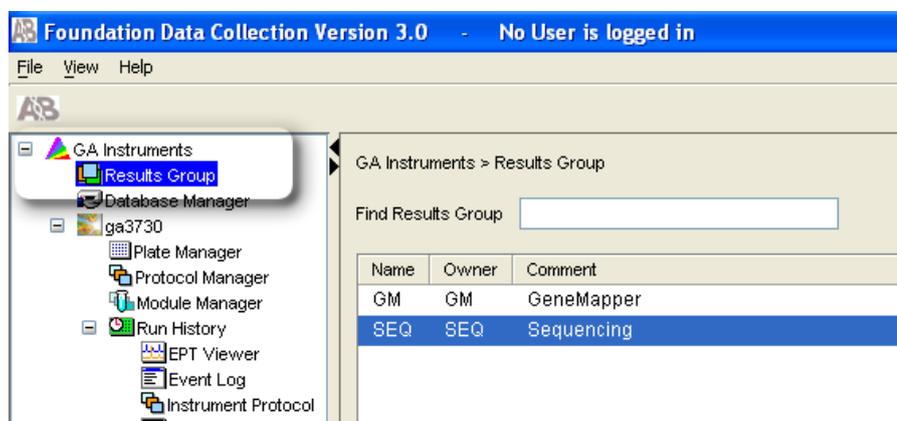
*RUN Module参照表

Sequencing Run Modules	毛细管长度 (cm)
GeneMapper36_POP7	36
GeneMapper50_POP7	50
HTSNP36_POP7_V3 (SNPlex)	36
HTSNP50_POP7 (SNPlex)	50

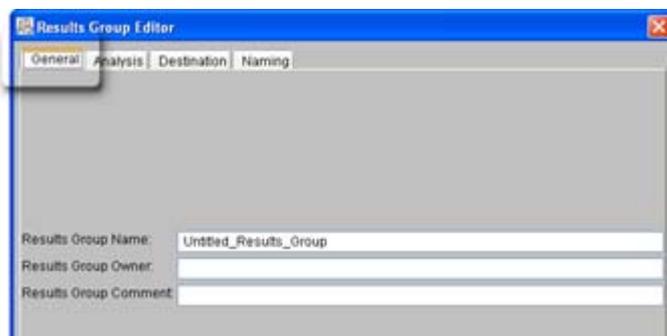
**对于3730xl (96道毛细管)，同样使用G5染料组，推荐使用G5-RCT染料组选项，可以消除毛细管间干扰（使用前需要确认G5-RCT已完成光谱校正，而非G5）

B 创建片段分析Instrument Protocol

- DC软件树中选择Results Group，点击New按钮新建Results Group，设置从数据库信息转化为有效结果文件的一系列规则



- 设置General选项页

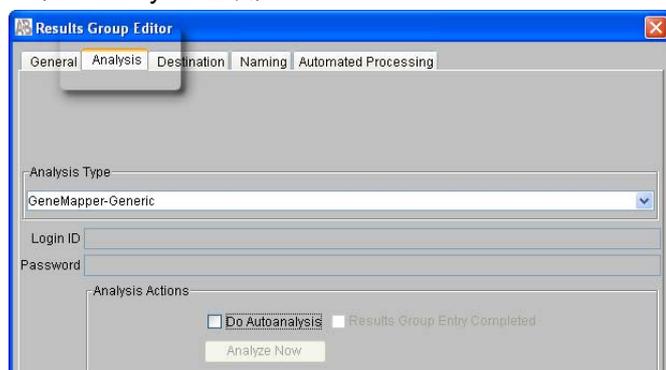


Results Group Name
命名结果分组

Results Group Owner
填写使用人

Results Group Comment (可选)
填写备注

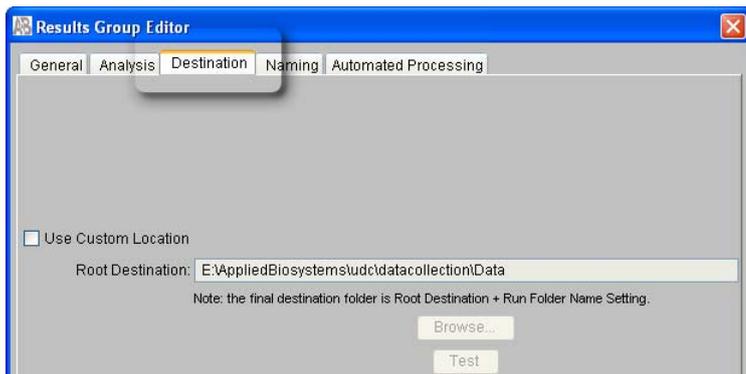
- 设置Analysis选项页



Analysis Type
下拉菜单中选择
GeneMapper-Generic

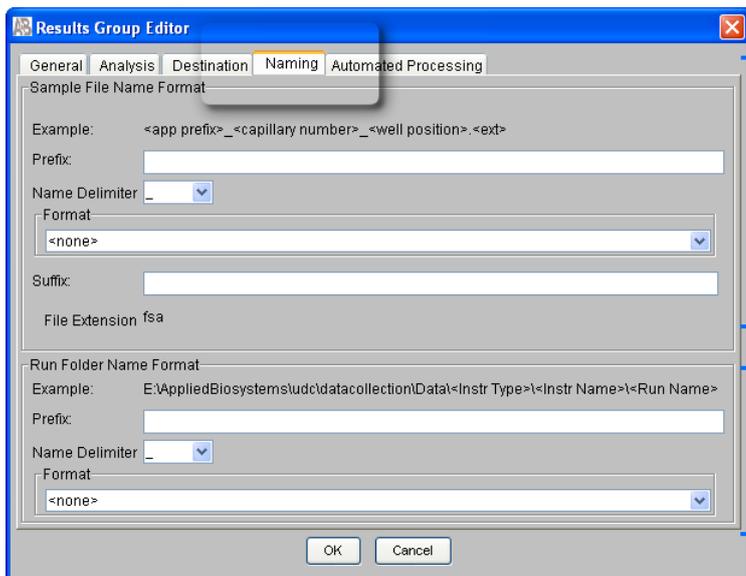
Analysis Action
不要在 Do Autoanalysis 选项前
打钩

• 设置Destination选项页



使用默认选项
或
选择 Use Custom Location
点击 **Browse...**
选择自定义文件夹
用于存放结果文件

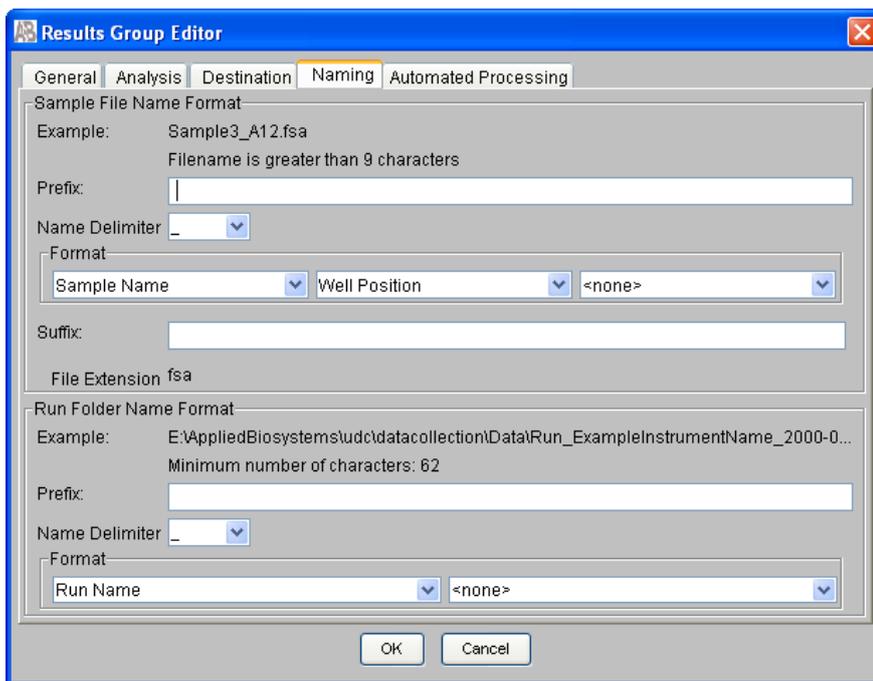
• 设置Naming选项页



设置结果文件命名规则
推荐 Format 中包括
Sample Name
Well Position

设置每次运行实验结果
存放的文件夹命名规则
推荐 Format 中包括
Run Name

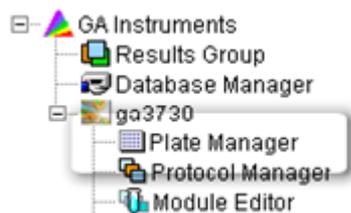
示例:



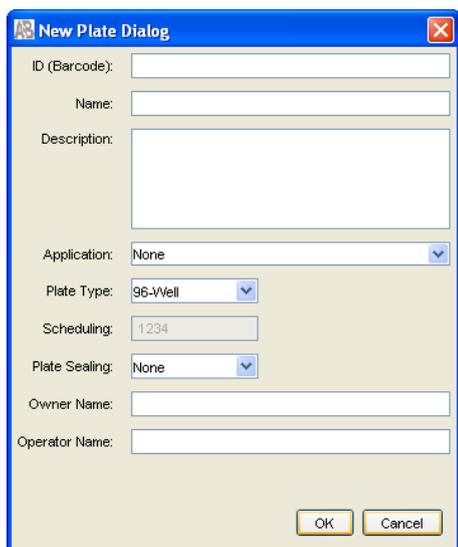
• 设置完成后点击OK按钮

C 创建片段分析实验板 (Plate)

① 在 DC 软件树中点击 Plate Manager

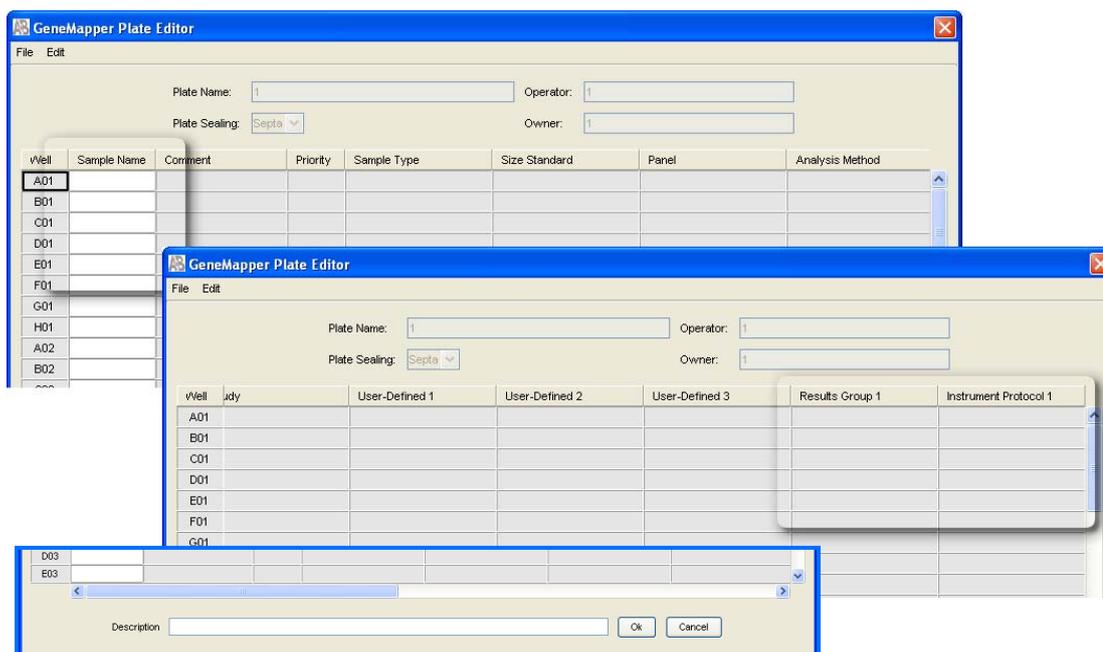


② 在 Plate Manager 栏左下角点击 New 按钮



③ 在 New Plate Dialog 窗口内输入板的信息，
 ID (Barcode) 条码或板的编号
 Name 校正板的名称
 Application 选择 **GeneMapper-Generic**
 Plate Type 选择 384 或 96 孔板
 Plate Sealing 选择封板的方式 Septa 或 Heat Seal
 输入完成后，点击右下角 OK 按钮

④ 在 GeneMapper Plate Editor 窗口内输入 Sample Name，使用滚动条移到最右边选择 Results Group 和 Instrument Protocol



(可选) 选中整行后, 选择Edit > Fill Down Special

复制其内容到其它行

- 3730xl / 96孔板: *Fill Down*
- 3730 / 96孔板: *Fill down Special(48 Cap)*
- 3730xl / 384孔板: *Fill down Special(96 Cap)*
- 3730 / 384孔板: *Fill down Special(48 Cap)*

(可选) 根据需要修改Sample Name, Results Group, Instrument Protocol,

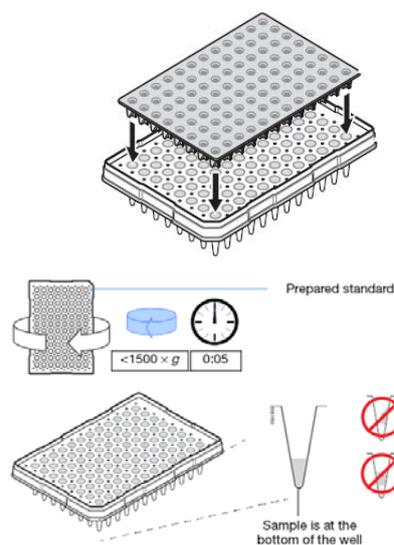


⑤ 完成后点击 **OK** 按钮

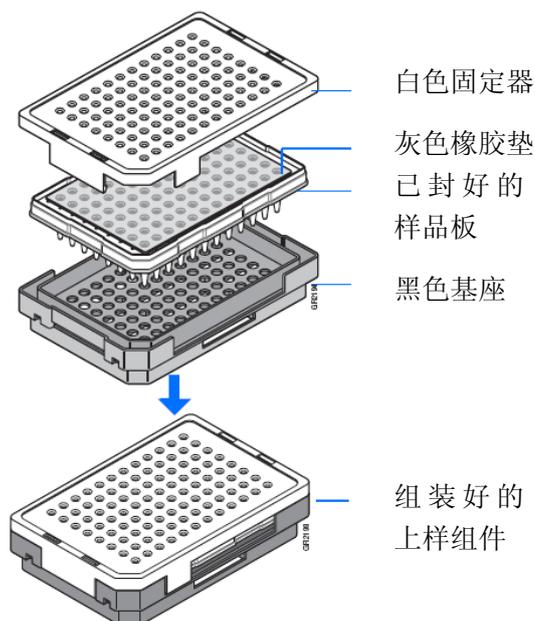
6. 运行仪器

A 样品准备

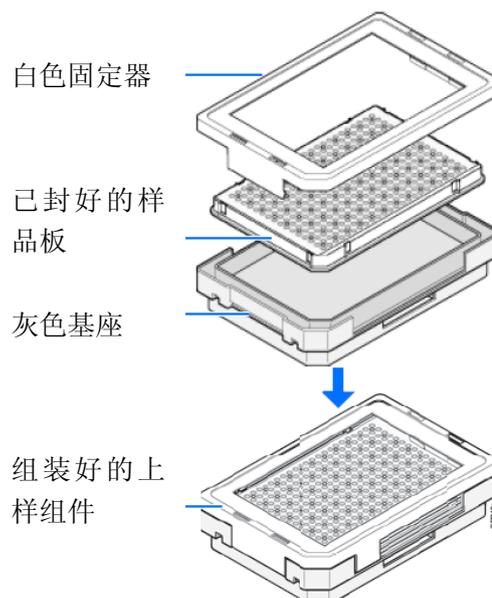
- 用Hi-Di甲酰胺溶解样品
 - 震荡离心
 - 95℃变性5分钟后立即冰浴2分钟
 - 使用橡胶垫装配样品板, 装配后橡胶垫必须平整。
- 样品板上的孔与橡胶垫上的孔要对齐(如使用热封膜, 请参考相关封膜机手册)
- 简单离心, 比如<1500g, 5秒
 - 确认所有孔的样品都在底部
 - 按下图组装上样组件



Septum 组件 (胶垫上样组件)



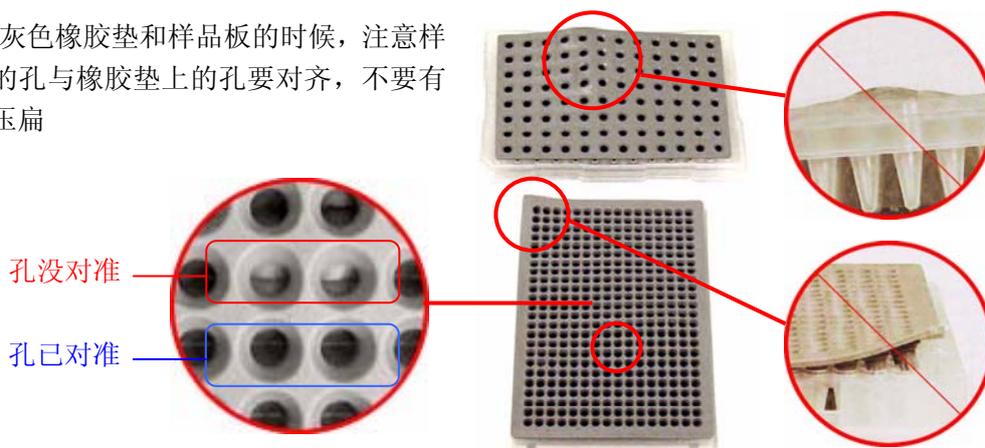
Heat-Sealed 组件 (热封膜上样组件)



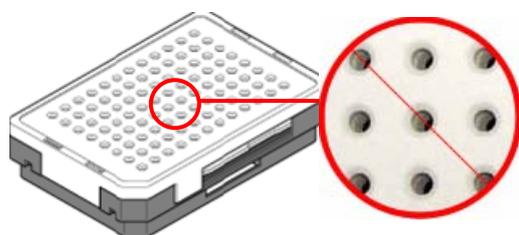
上样组件组装示意图

注意:

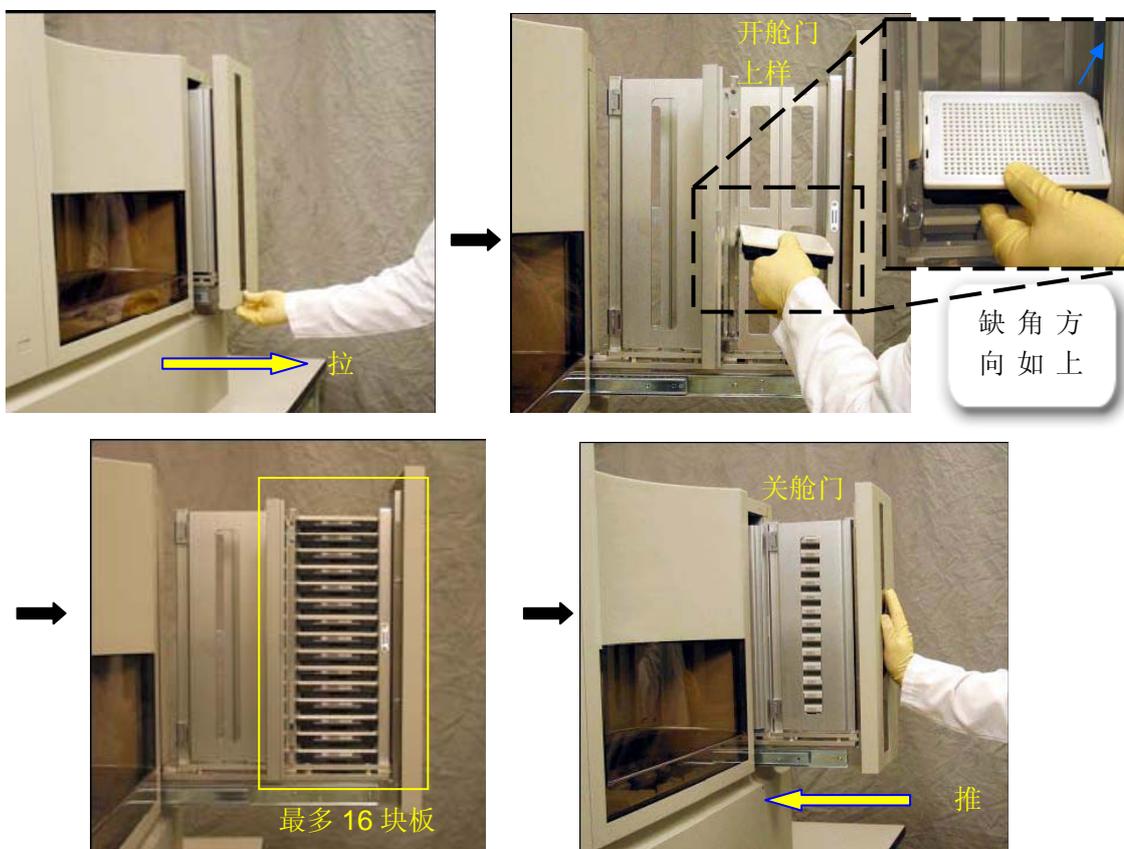
1. 组装灰色橡胶垫和样品板的时候，注意样品板上的孔与橡胶垫上的孔要对齐，不要有拱起或压扁



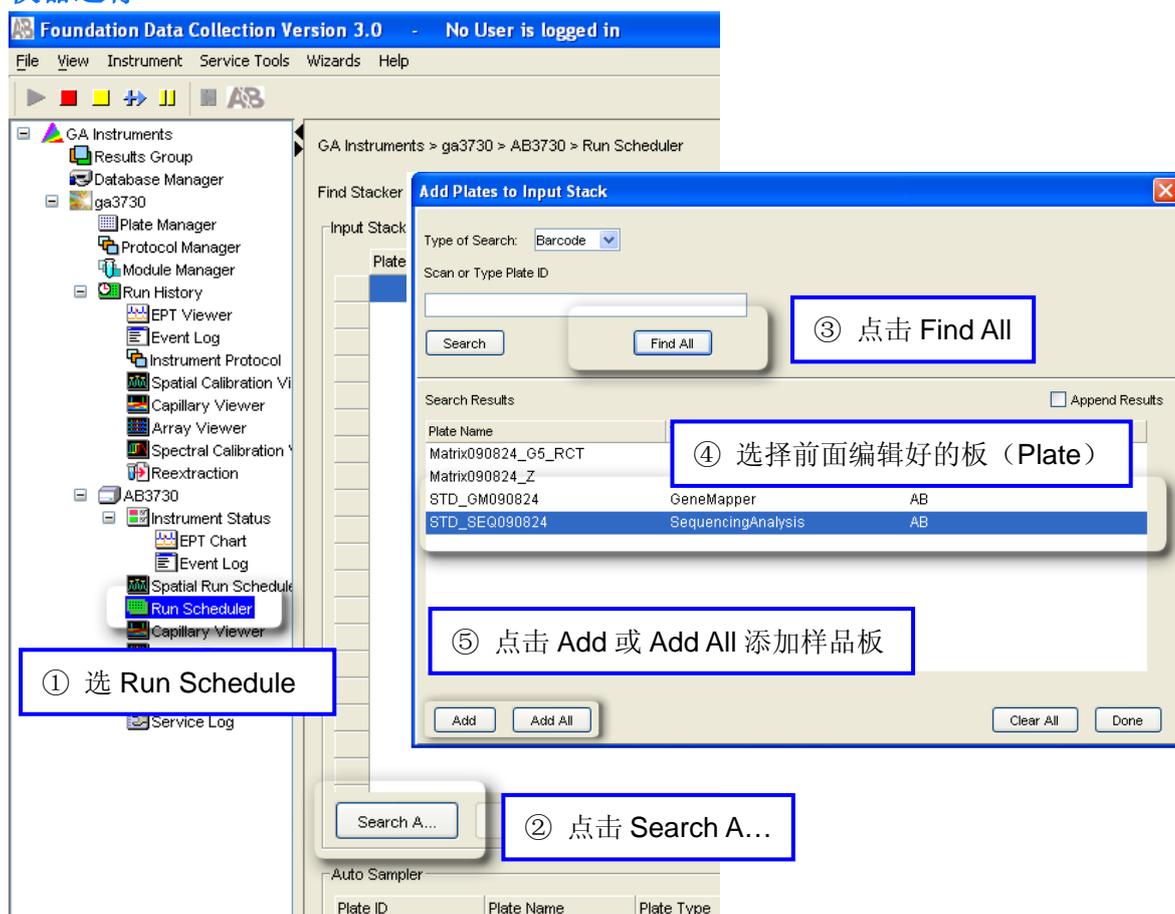
2. 组装灰色橡胶垫和白色固定器的时候，注意橡胶垫于固定器上进样孔要对齐，否则会损坏毛细管



B 样品板载入



C 仪器运行



⑥ 点击软件左上角



⑦ 弹出窗口点击



⑧ 预计运行时间

DNA Sequencing 测序应用范围	毛细管长度 (cm)	Run Module	预计运行时间 (min)
Short read DNA Sequencing	36	TargetSeq36_POP7	20
Rapid read DNA sequencing	36	RapidSeq36_POP7	35
Standard read DNA sequencing	36	StdSeq36_POP7	60
Fast DNA sequencing	50	FastSeq50_POP7	60
Long read DNA sequencing	50	LongSeq50_POP7	120
Extra Long DNA sequencing	50	XLRSeq50_POP7	180

Fragment Analysis 片段分析应用范围	毛细管长度 (cm)	Run Module	预计运行时间 (min)
Fragment Analysis	36	GeneMapper36_POP7	32
Fragment Analysis	50	GeneMapper50_POP7	43
SNPlex™ Genotyping	36	HTSNP36_POP7_V3	15
SNPlex™ Genotyping	50	HTSNP50_POP7	25

D 运行过程控制



描述	点击……	功能
Start the run		开始一个Run
Stop the current run		马上停止当前Run
Stop after the current run		运行完当前Run之后 停止仪器
Skip to next run		停止当前Run 并跳到下一个Run
Pause after current run		运行完当前Run之后暂停 等待Resume指令才运行下 一个Run
Resume after pause		下达Resume指令，继续被暂 停下一个Run

四、日常维护

1. 每天

维护工作	频率
确认Buffer/Water/Waste槽中有足够的缓冲液和水	每次实验前
确认样品板正确组装 重要! 固定器和橡胶垫的孔必须对齐, 否则会损毁毛细管	每次实验前
确认样品板牢靠平整地放入样品舱 重要! 永远不要使用弯曲的样品板	每次实验前
检查阳极缓冲液杯中缓冲液的量, 确认其溢液孔畅通且面朝仪器前方	每次实验前
更换Buffer/Water/Waste槽中的缓冲液和水, 确认槽的外围是干燥的	<48小时
检查泵胶块, 下胶块, 连接管, 胶管和各通道中的气泡, 使用Bubble Remove向导去除气泡	每天或每次实验前
检查毛细管的取样末端, 确认其未损坏	每天或每次实验前
检查胶瓶中的胶, 确认有足够的胶完成实验	每天或每次实验前
检查泵胶块和下胶块, 确认其未松动	每天
清洁仪器表面	每天
检查毛细管旋钮, 连接管螺帽和阀门	每天

2. 每周

维护工作	频率
使用Change Polymer向导更换POP7胶	每星期或需要时
更换灰色橡胶垫 (Septa)	每星期或需要时
检查临时存放的毛细管的存储条件*	每星期
冲洗水密封环**	每星期

3. 每月

维护工作	频率
运行Water Wash向导, 不管有无气泡, 冲洗毛细管端口	每月或需要时

4. 需要时

维护任务	频率
清洁漏液托盘	需要时
更换毛细管	需要时
使用去离子水润湿的无纤维布, 去除毛细管末端已经干掉的胶	需要时

*临时存放的毛细管

1. 使用Install Array Wizard拆下毛细管
重要! 如果毛细管仍会使用，不要选**Discard Array**
2. 准备80ml 1XBuffer，放入毛细管缓冲液槽及玻璃小瓶（含橡胶密封环）中
3. 使用保护罩保护毛细管的检测窗口
4. 使用去离子水，清洁毛细管接头及末端
5. 旋松玻璃小瓶，套上毛细管接头并旋紧
6. 将毛细管放入缓冲液槽（如右图）
7. 每周观察液面情况，保证毛细管浸润在液体中



**冲洗水密封环

1. 在20ml维护专用注射器里装上20ml去离子水（水温40°C以下），将注射器装到右图中2号的位置
2. 将1号和2号位上的塑料螺丝放松1/2圈
3. 用烧杯在1号口底下接收流出来的水，然后慢慢地压注射器，使水通过Water Seal后从1号口流出，使用水的体积约5~10ml
4. 拧紧2号位上的螺母，再拧紧1号位上的螺母
5. 取下20ml注射器，冲洗步骤完成

