# TERMAL DÖNGÜLEYİCİ

Eppendorf Mastercycler nexus

# **Kullanım Amacı**

- PCR makineleri olarak da bilinen termo döngüleyiciler, termal döngüleyiciler veya termo döngüleyiciler, enzimatik reaksiyonlar, tipik olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) için kapalı mikro test tüplerinde sulu çözeltilerin, süspansiyonların veya emülsiyonların sıcaklık kontrolü için kullanılır.
- PCR makineleri yalnızca iç mekanda kullanım için tasarlanmıştır ve çoğu zaman laboratuvar çalışanlarının düzgün ve verimli bir şekilde çalışmasını bekledikleri kesintisiz bir iş gücü haline gelir.
- PCR makineleri, moleküler biyoloji ve klinik tekniklere dayanan herhangi bir laboratuvar için de önemlidir. DNA amplifikasyonu, DNA parmak izi, bakteri veya virüslerin (AIDS, Covide....vs.) tespiti ve genetik bozuklukların teşhisi için vazgeçilmez bir araçtır.
- Dizileme için DNA'nın işlenmesinin erken aşamalarında, enfeksiyon sırasında patojenlerin tanımlanmasına yardımcı olacak bir genin varlığını veya yokluğunu tespit etmek ve küçük DNA örneklerinden adli DNA profilleri oluştururken kullanılır.
- Bazen moleküler fotokopi olarak adlandırılan geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), bir numuneden eser miktarda DNA ve RNA'yı çoğaltmak (kopyalamak) için kullanılan bir tekniktir. Araştırma için gereken büyük miktarları üretmek için bir PCR termal döngüleyici kullanılır.

#### 5 - Çalıştırma (Mastercycler nexus)

#### 5.1 İlk adımlar

- Doğru kurulumun kontrol edilmesi
- Mastercycler nexus'un ilk kez devreye alınmasının altında, aşağıdaki gereksinimlerin karşılandığından emin olun:
  - Cihaz doğru şekilde bağlanmış
  - Cihaz arızalı veya hasarlı.
  - Cihazın arka kısmındaki havalandırma delikleri ve ön ayakların arkasındaki fanda havanın serbest dolaşımı sağlanmıştır.

#### 5.1.1 Esnek kapaklı ısıtmalı kapağın kullanılması

- Mastercycler nexus, esnek kapaklı ısıtmalı bir kapakla donatılmıştır. Flexlid ısıtmalı kapak, kullanılan PCR tüplerinin veya PCR plakalarının yüksekliğine göre otomatik olarak ayarlanır. Tek elle çalıştırılabilir. Tüp yüksekliğinin manuel olarak ayarlanması veya tüp kapaklarına temas basıncının ayarlanması gerekli değildir.
- Isıtmalı kapak, tüpler ve termoblok arasında eşit temas sağlar ve tüp kapaklarını sızıntılara karşı korur.
   Isıtma işlemi, reaksiyon sıvısının temperlenmesi sırasında tüpün üst bölgesinde yoğuşma oluşmasını önler.

### 5.1.1.1 İsitmalı kapağı açın

- CALTON! Termoblok, ısıtılmış kapak ve reaksiyon kaplarında yanma riski.
- Termo blok, ısıtılmış kapak ve reaksiyon kapları çok hızlı bir şekilde 50C'nin üzerindeki sıcaklıklara ulaşır.
- Termoblok, ısıtılmış kapak ve reaksiyon kaplarının sıcaklığı 30 C'nin altına düşene kadar bekleyin.
- Ardından ısıtılmış kapağı açın
- Kalıp ısıtmalı kapağı tek seferde aşağıdaki gibi açın:
- Kapak tutamağını ısıtılmış kapağın üzerine çevirin ve ısıtılmış kapağı, gidebildiği kadar kapak tutamağından yukarı çevirin.

# 5.1.12 Isıtılmış kapağın kapatılması

- Önkoşullar
- Numune tüpleri veya bir PCR plakası ile yüklenmiş termoblok.
- DİKKAT! Isıtılmış kapağı kapatırken ezilme riski.
- Isıtmalı kapağın üzerindeki tutamağın ortasından tutun.
- Isıtmalı kapağı kapatırken parmaklarınızı ısıtmalı kapak ile gövde arasına koymayın.



- 1. Isıtılmış kapağı ortasından veya kapak tutacağından tutun ve kapatın (1).
- 2. Kapak tutamağını yatay konuma gelene kadar aşağı doğru hareket ettirmeye devam edin (2).
- Isıtmalı kapak artık kilitlenmiştir. Artık bir program çalıştırmasını başlatabilir veya iyileştirilmiş kapağı ve numuneleri manuel olarak temperleyebilirsiniz.
- Isıtılmış kapağın üzerindeki kolun ortasından tutun.
- Isıtılmış kapağı kapattığınızda, parmaklarınızı ısıtılan kapak ile gövde arasına koymayın.

#### 5.2 Mastercycler bağlantısının başlatılması

- Önkoşullar
- Mastercycler nexus düzgün şekilde kurulmuş ve güç kaynağına bağlanmıştır.
- Arkadaki güç anahtarını kullanarak cihazı açın.
- Durum lambası yanar ve fan çalışır.
- Ekran aydınlatması açık (Mastercycler nexus eco için değil).

### 5.5.1.2 Yeni bir program oluşturma

1. Gezinti ağacında, yeni programı oluşturmak istediğiniz kullanıcı düğümünü veya klasörü işaretleyin.

2. Yeni yazılım tuşuna basın

|                                       |   | OK            | Cancel |
|---------------------------------------|---|---------------|--------|
|                                       |   |               | Ţ.     |
| Comment                               |   |               |        |
| PCR standard pr<br>ogoles, a hold ste | ogsam vith 3 temperatu<br>p at the end. | resper opde a | P430   |
| Description                           | a.ereh How                              |               |        |
| Name:<br>Use tenclate:                | prog00                                  |               | -      |
|                                       |   |               |        |

- 3. Program adını Ad alanına girin. Maksimum karakter sayısı 21'dir.
- 4. Şablonu kullan: alanında bir program şablonu seçin.
- 5. İsteğe bağlı: Yorum alanına yeni program için bir yorum girin.
- 6. Tamam yazılım tuşuna basın.
- Yeni program an düzenleyicide açılır.

#### 6 Programlama

#### 6.1 Program düzenleyiciye genel bakış

#### 6.1.1 Program düzenleyiciyi açma

1. Navigasyon ağacında istediğiniz programı işaretleyin veya yeni bir prpgram oluşturun

#### 2. Düzenle ekran tuşuna basın.

• Program düzenleyici görüntülenir.

#### 6.1.2 Program düzenleyicinin yapısı

• Program oluşturmak ve ayarlamak için program düzenleyiciyi kullanın.



#### 2 Blok sıcaklığı (OC)

3 Bekletme süresi (dd:ss)

4 Gradyan adımları için ortalama sıcaklıklar

5 Program adımı vurgulanmış işaretleme

6 Döngü içindeki adım sayısı

7 Aktif giriş alanı

8 Genişletilmiş program adımları

9 Degrade adımlarının işaretlenmesi

10 Döngü sayısı

#### 6.2.1 Başlığın açılması

1. Program düzenleyiciyi açın



2. Isıtıcı ekran tuşuna basın Başlık ayarları görüntülenir.



### 6.3 Programları düzenleme

# 6.3.1 Bir program adımı ekleme

- 1. Program düzenleyiciyi açın
- 2. Önüne yeni bir program adımı eklemek istediğiniz program adımını ok tuşları ile işaretleyin.
- İşaretli program adımı vurgulanır.
- 3. Ekle yazılım tuşuna basın
- Kullanılabilir program adımlarını içeren bir liste görüntülenir.



- 4. Ok tuşlarıyla istediğiniz program adımını seçin.
- 5. Ekle yazılım tuşuna basın.

#### 6.3.2 Parametreleri düzenleme

- 1. Ok tuşları ile istenilen program adımını işaretleyiniz.
- İşaretli program adımı mavi renkle vurgulanır.
- Sıcaklığı, bekletme süresini ve döngü sayısını doğrudan bu bölümde değiştirebilirsiniz.

| 2 <sup>1/3</sup> 3<br>94.0 <sup>-</sup><br>00:15 | Temperature      | Adjustable from 4.0 °C to 99.0 °C (in 0.1 °C increments)    |
|--|------------------|---|
| 2 <sup>173</sup> 3<br>94.0°                      | Dwell time       | Adjustable from 000:00 to 999:59 (mmm:ss) in 1-second steps |
| ×30  | Number of cycles | Adjustable from 1 to 99                                     |

2. Değişiklikleri kabul etmek için enter tuşuna basın.

Genişletilmiş seçenekler

3. Seçenekler ekran tuşuna basın

İşaretli program adımı için genişletilmiş parametre ayarı görüntülenir.

- 4. Ayarı kabul etmek için OK ekran tuşuna basın.
- Program görünümü belirir.
- 5. > > ekran tuşuna basın. Kaydet ekran tuşuna basın.
- 6. Düzenleyiciden çıkmak için Çıkış ekran tuşuna basın.

#### 6.3.3 Degrade adımı oluşturma

- 1. Gradyanı tanımlamak istediğiniz sıcaklık kontrol adımını işaretleyin.
- 2. Seçenekler ekran tuşuna basın

 Degrade onay kutusunu seçin
 Gradyan sıcaklıklarını tanımlayın
 İsteğe bağlı: Dereceyi Düzenle'ye basın. Sonuç sıcaklıklarını blok sütunlarda görüntülemek için yazılım tuşu.

| _edmin     |                       | Nelle       | /claning/ | Step 2 (Cyr | del |
|------------|-----------------------|-------------|-----------|-------------|-----|
| Temp 🧕     | т סי <mark>ן 🔝</mark> | eno Inc.    | /Dec. 태   | 0.0 °C      | ;   |
| 🗔 Gradient | fran                  | <b>_'</b> C | tu        | °(          | 3   |
|            | Center —              | <b>.</b> .c | Span      | - "(        | ;   |
| Time 🛛     | 10:15                 | l ine line. | /Dec. [+] | 00:00       |     |
| Ramp       | 🗹 max                 | < E         |           | °C/s        |     |
|            |                       |             | OK.       | Cancel      |     |

| _edmin |                | Nelli  | e/claning/S       | Step 3 (Cycle) |
|--------|----------------|--------|-------------------|----------------|
| Temp   |                | TempIn | o./Dec. [+1       | 0.0 ℃          |
| 🗹 Grad | ient from 55.0 | D. C   | to <mark>6</mark> | 5.0 °C         |
|        | Center 60.     | D. C   | Span 10           | <b>0.0</b> ℃   |
| Time   | 000:15         | TimeIn | c./Dec. 🕇         | 00:00          |
| Ramp   | 🗹 m            | ax [   | -                 | °C/s           |
|        | Edit Grad.     |        | OK                | Carcel         |

6. Ayarı kabul etmek ve pencereyi kapatmak için Tamam ekran tuşuna basın. Gradyan adımı, program düzenleyicide üç yatay çizgi ile sembolize edilir.





#### 6.3.4 Program adımlarını silme

1. Ok tuşları ile istenilen program adımını işaretleyiniz. Tüm program adımlarını silmek için Tümünü Temizle yazılım tuşu

2. del tuşuna basın.

3. Değişikliği kaydetmek için Kaydet ekran tuşuna basın.

• Düzenleyiciden çıkmak için Çıkış ekran tuşuna basın.

#### 6.3.6 Bir programı kaydetme ve düzenleyiciden çıkma

- 1. >> yazılım tuşuna basın
- 2. Kaydet ekran tuşuna basın. Program kaydedildi
- 3. Çıkış ekran tuşuna basın
- Gezgin ağacı görüntülenir. Artık programı başlatabilirsiniz.

#### 6.4 Program şablonu

Aşağıdaki tablo, program şablonlarına genel bir bakış sağlar. Program şablonları, yeni programlar oluşturmak için kullanılabilir.

| Program<br>template      | Description  |  |
|--------------------------|--|--|
| none                     | Empty template with standard header settings.  |  |
| 2-step PCR               | Standard PCR program with two temperatures per cycle and 30 cycles, one hold step at the end.  |  |
| 3-step PCR               | Standard PCR program with three temperatures per cycle and 30 cycles, one hold step at the end.  |  |
| Cycle sequencing         | Standard program for cycle sequencing with ramp rates of 1 °C/s.   |  |
| Fast PCR                 | 3-step PCR with short hold times and temperature mode fast   |  |
| Gradient PCR             | PCR program with a temperature gradient in the annealing step of each cycle.   |  |
| Hot start PCR<br>manual  | PCR program with thermoblock preheating at 95 °C. Start the following PCR run using the start key.   |  |
| Hot start PCR            | 10 min enzyme activation at 95 °C and 3-step PCR.  |  |
| Incubation               | IsoTherm incubation.   |  |
| Large volume PCR         | 3-step PCR in safe temperature mode.   |  |
| Long range PCR           | 3-step PCR with 10 min elongation and a time interval of +10 s per cycle.  |  |
| Low volume PCR           | 3-step PCR in fast temperature mode.   |  |
| Mastercycler 533x        | 3-step PCR with simulation of the temperature control behavior of the<br>Mastercycler gradient 5331.                                       |  |
| Nested cycles            | Program in which 3 cycles, with 3 temperatures each, are summarized in a<br>9-StepCycle, e.g., for TAIL PCR.                               |  |
| Reduced Ramping          | 3-step PCR with ramp rates of 1 °C/s.  |  |
| Reverse<br>Transcription | Incubation for reverse transcription and enzyme activation.  |  |
| RT-PCR                   | Program for 1-step RT-PCR with series incubation for reverse transcription.  |  |
| Touchdown PCR            | PCR program with falling annealing temperature. During the first 16 cycles, the annealing temperature will be decreased by 1 °C per cycle. |  |

#### 7. PCR çalışması

#### 7.1.1 Numune tüplerinin seçilmesi

#### 7.1.1.1 96 kuyulu termobloklu cihazlar için onaylı numune tüpleri

- 0.1 ml PCR tüpleri
- 0.2 ml PCR tüpleri
- 0,5 ml PCR tüpleri
- PCR tüp şeridi (0,1 mL veya 0,2 mL)
- 96 oyuklu PCR plakaları
- Ayrı 96 oyuklu PCR plakalarının segmentleri

#### 7.1.1.2 64+32-kuyulu termobloklu cihazlar için onaylı numune tüpleri

- 0.1 ml PCR tüpleri
- 0.2 ml PCR tüpleri
- 0,5 ml PCR tüpleri
- PCR tüp şeridi (0,1 mL veya 0,2 mL)
- 64 ve 32 kuyulu PCR plakaları
- Ayrı 96 oyuklu PCR plakalarının segmentleri

#### 7.1.1.3 Düz termobloklu cihazlar için onaylı numune tüpleri

- 4 tarafa kadar
- 7.1.1.4 Uyumlu PCR plaka türleri

#### Aşağıdaki PCR plaka tipleri uyumludur. PCR mikro test tüplerinin ve kapaklarının bir seçimi ayrı olarak bulunabilir

| Semi-skirted PCR plate                   | Skirted PCR plate                     | Non-skirted/unskirted PCR plate            |
|--|---------------------------------------|--|
| $\nabla$                                 |                                       | 0000                                       |
| PCR plate with surrounding<br>half-edge. | PCR plate with a surrounding<br>edge. | PCR plate without any<br>surrounding edge. |

#### • 7.1.1.5 Gereksinimler

- Numune tüpleri aşağıdaki gereksinimleri karşılamalıdır:
- • Sıcaklık dayanımı en az 120 oC
- • Termobloğa tam oturma
- 7.1.1.6 Maksimum hacimler
- PCR plakaları ve 0,1 mL veya 0,2 mL PCR tüpleri: maks 70 IL
- • 0,5 mL PCR tüpleri: maks. 100 PL
- 7.1.2 Numune tüplerinin yerleştirilmesi
- Strip tüplerini termoblokun ortasına yerleştirin ve simetrik olarak yerleştirilmelerini sağlayın. Bu uygulanabilir lot bireysel tüpleri, ube şeritleri ve ayrılabilir PCR plakalarının bölümleridir.
- • 96 kuyulu termobloğa en az 5 tüp yükleyin. Daha az reaksiyon grubunuz varsa, termoblok en az 5 tüple doldurulacak şekilde boş tüpler de ekleyin.
- 7.2 Bir programın başlatılması
- 1. Navigasyonda programı ok tuşlarıyla işaretleyin veya editörde açın.
- 2. Başlat tuşuna basın
- 3. Tamam yazılım tuşuna basın
- Program başlatılır ve durum görünümü belirir.
- 7.2.1 Durum görünümü
- Halihazırda aktif olan adım, yanıp sönen bir çizgi olarak görüntülenir.



- 1 User, program name and cycler
- 2 Remaining run time
- 3 Start and end time of the program
- 4 Block and heated lid temperature
- 5 Device status

- 6 Cycle number
- 7 Block target temperature
- 8 Remaining holding time
- 9 Information on the current program step
- 10 Specification of the selected cycler

• Çıkış ekran tuşuna basarak istediğiniz zaman durum görünümünden çıkabilir ve gezinme ağacına dönebilirsiniz.

#### 7.3 Bir programı kesintiye uğratmak veya durdurmak

#### 7.3.1 Bir programı kesintiye uğratmak

- 1. Durum görünümünü açın
- 2. Durdur tuşuna basın
- Duraklatıldı, durum görünümünde görüntülenir.

# 7.3.2 Bir programı sürdürme

- 1. Isıtmalı kapak açıksa: ısıtmalı kapağı kapatın
- 2. Devam yazılım tuşuna basın
- durum görünümünde çalışıyor görünür ve program çalıştırması devam eder.

### 7.3.3 Bir programı durdurma

- Abart yazılım tuşuna basın
- Boşta durumu görüntülenir. Program durduruldu ve devam edilemiyor.
- Bir PCR programının sonundaki bekletme adımı enter tuşu ile tamamlanır.

#### 7.4 En son çalıştırılan programları görüntüleme

- Cihaz, en çok çalıştırılan 5 programın bir listesini görüntüleyebilir.
- PIN işlevi açıksa ve oturum açıldıysa, En son kullanılan düğüm, kullanıcı düğümünde konumlandırılır.



• Aşağıdaki işlevler mevcuttur:

| Key: start      | Start the last run program.                   |  |
|-----------------|---|--|
| Softkey: Prop.  | Display the properties of the last run progra |  |
| Softkey: Edit   | Edit the last run program.                    |  |
| Softkey: Copy   | Copy the last run program.                    |  |
| Softkey: Export | Export the last run program.                  |  |

| 9 QUICK STAR | t | t |
|--------------|---|---|
|--------------|---|---|

9.1 Login





#### 9.2 Creating folders and programs

#### 9.3 Copying folders and programs

| telle   | Cycler Plogram Level | 0   | 1. Select the folder or program.   |
|---|----------------------|-----|------------------------------------|
| - 2 Nelie<br>- 2 Recently Used<br>- 2 Hecks<br>- 2 HLA  | MOROLI ILIOOIden     | 000 | z. Press the <i>copy</i> softkey.  |
| Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users     Control Users |                      |     | 3. Confirm the prompt.             |
| Prop. Show Co.  | Di Ecile Level       | •   | 4. Mark the target folder or user. |
| Eppendof  | Avragoti si 3 1.3 ye | ంరం | 5. Press the Paste softkey.        |
| HLA<br>actin 62   |                      | V   |                                    |

9.4 Deleting folders and programs

| Nelle              | Cycler Program Level  | 0          | 1. Mark the folder or program.         |
|--------------------|-----------------------|------------|--|
| - Eppendor         | Ja/25/2011 El-28-38y= | •          |  |
| E & Nalia          | 9A - 3                | 0 0        |  |
| R-Co Recently Used |                       |            |  |
| E- Checks          |                       | O          |  |
| D HA               |                       |            | 202 51 203                             |
| actin 62           |                       | (del)      | 2. Press the del key.                  |
| Claning            |                       | 0          |  |
| E B Other Users    |                       | $\bigcirc$ | <ol><li>Press the enter key.</li></ol> |
| er- K Greg         | -                     |            |  |
| Prop. Edit Cop     | # Stat Expot          | 10 5012    |  |

#### 9.5 Editing programs





| Nelle Gible Program Level<br>Eppendof Automatics Statistics<br>Recently Uned<br>Program decko  | 1. Mark the program.   |
|--|--|
| Prop. Edit Copy Stat Expot   | <ul> <li>2. Insert the sample tubes.</li> <li>3. Close the heated lid.</li> <li>4. Start the program.</li> </ul>   |
| Nelle Cjoler Selection<br>MC service graditint<br>MC nexus GSX1e right<br>MC nexus GX2e left Block 64<br>Dr. Cancel  | <ul> <li>S. If several cyclers are connected:<br/>highlight the cycler.</li> <li>6. Confirm input.</li> </ul>  |
| Note         Natio/checks/plannid332_N/C resus graden/***           1         2         0x1         4         0x1           95.0*         94.0*         55.0*         72.0*         00:19           01:00         00:15         55.0*         00:07         00:19           Remarking namine:         01:02:96         actual step:         4           stated         03:37pm and         04:44pm         2:0/c         1/30           Book:         72.0 °C         Time:         00:30         1/30           Book:         72.0 °C         1/30         1/30         1/30 | <ul> <li>7. The following options are available in the status view:</li> <li>Stop the program: press the <i>Stop</i> softkey.</li> <li>Abort the program: press the <i>Abort</i> softkey.</li> <li>Resume the program: press the <i>Resume</i> softkey.</li> </ul> |

#### 9.6 Stopping and starting programs