

快速梯度 PCR 仪

- (1) 连接电源，开 PCR 仪器，大约 3 分钟后仪器达到稳定状态
 - (2) 仪器达到稳定状态后，仪器主界面：New Protocol / Protocol Auto Writer / Saved Files / Incubate / Tools
- (a) **New Protocol**，编写新的 PCR 程序。Name 给实验命名；Volume PCR 反应体系的体积；Lid 盖子的温度，一般填写 105℃。PCR 程序设置：95℃热变性 3~5 分钟（面板 DNA 双链变为单链，有利于引物结合）；扩增程序 95℃ 30 秒，60℃（引物退火温度）30 秒，延伸 72℃时间依赖扩增片段长度进行设置，循环数 35~45*；最后延伸 72℃ 5~10 分钟；全部 PCR 反应完成之后，温度保持在 4~12℃。
 - (b) **Insert**：插入实验步骤包括 Temperature / Gradient / Goto，选择 Temperature 插入温度步骤，选择 Gradient 设置温度梯度，主要用于筛选引物退火温度（需设置最高和最低温度），选择 Goto 设置从那一步开始设置循环
 - (c) **Delete** 删除，选中实验步骤，点击 Delete 即可删除
 - (d) **Options** 选中一个实验步骤后，再点击“Options”，即可对该实验步骤的参数进行修改
 - (e) **Save** 保存文件（实验），填写文件名、保存路径，点击“Save”即可
 - (f) **Run** 上述所有参数设置完成之后，点击“Run”，选择运行模块，可选择仅在 A 或 B 模块运行，或 AB 模块均运行此程序，点击“OK”即开始运行
 - (g) **Protocol AutoWriter**：①Enzyme 选择 PCR 反应所使用的酶，有 iTag / iProof / Other 三种；②Target 填写扩增长度及引物退火温度，若在 Enzyme 中选择 Other，除上述 2 个参数外，还需要填写 Gradient（温度梯度范围）/ Hot Start Activation（热变性时间）/ Final Extension（最后延伸时间）3 个参数；③Speed PCR 反应速度，Standard / Fast / Ultrafast 3 种可选
 - (h) **Ta Calculation** 只知引物序列，不知退火温度可点击该图标，输入正向和反向引物序列，点击计算，可得出使用该对引物所使用的退火温度
 - (i) 点击“Next”，出现 PCR 反应程序，可对该程序进行编辑，包括插入、删除、参数修改等，方法同前面
 - (j) **Save Files** 查看和调用已编辑好的 PCR 程序
 - (k) **Incubate** 恒温孵育，设置温度、时间及盖子温度，点击“Run”即可开始恒温孵育
 - (l) **Tools** PCR 实验时辅助工具

- (3) 程序设置好之后，选择反应模块，模块中放入 PCR 管，拧紧盖子，点击“Run”开始运行实验
- (4) 运行结束，拧开盖子，取出样品放置在 4℃冰箱待检测；关上盖子，软件退至主界面，关闭仪器电源，拔出仪器电源插头