Applied Biosystems™ SeqStudio™ 基因分析仪

简明中文手册



英潍捷基(上海)贸易有限公司 赛默飞世尔科技公司



Applied Biosystems™ SeqStudio™基因分析仪

1. 准备仪器

1.1 打开 SeqStudio™仪器开关

1.2 登录:在 Sign in 界面,点击账号处的下拉框 **2** 选择用户名,输入密码,登录到对应账号。如果是首次使用,可点击右侧 Get started,创建自己的账号,然后登录。



1.3 安装阴极缓冲液和卡夹

- (1) 将阴极缓冲液(CBC) 从冰箱拿出,室温平衡≥15分钟。检查 CBC 液面,确保高于刻度线。
- (2) 用无尘纸擦拭表面冷凝水, 小心撕开 CBC 的封膜, 再用无尘纸擦干净 CBC 槽表面的液体, 确保表面干燥。

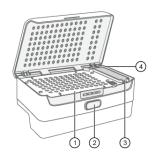


(3) 将 CBC 对应胶垫 septa 放在 CBC 槽上,用力压紧,确保平整。



(4) 点击 🎒 打开仪器门,再点击 🎹 **Eject plate**,使 autosampler 推出。

(5) 按住 autosampler 的按钮位置② (release button),将盖子打开。



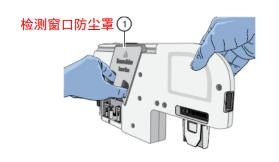
- ① 放置 96 孔板\八联管处
- ② 开关 (Release button)
- ③ 放置 CBC 处
- ④ CBC 缺口对应的位置
- (6)将 CBC 放置在 autosampler 位置(3)处,CBC 缺口朝向右上角(位置(4)),放平。
- (7) 用手按压 autosampler 盖子,将盖子盖上,扣紧。

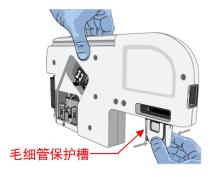


- (8) 点击 Retract plate。
- (9)将卡夹从冰箱中取出,再从包装盒中拿出。注意不要丢弃白色包装盒,此盒可用于 卡夹的保存。

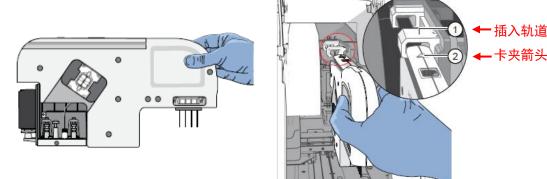


(10)如下左图,右手握住毛细管上方位置,左手握紧卡夹上保护检测窗口的防尘罩,稍用力向外拉,取下防尘罩。防尘罩取下后,注意之后的操作过程中不要碰到检测窗口。防尘罩需妥善保管,以备保存卡夹时使用。





- (11) 如上右图,左手握住卡夹的凹槽位置,右手用力捏住毛细管保护槽 Integrated Capillary Protector (ICP) 两侧卡扣,缓慢向下移动, 取下 ICP。注意不要碰到毛细管。 ICP 仅供一次性使用。
- (12)用手握住卡夹毛细管上方的位置(下图左),保持卡夹上的箭头▲(Embossed arrow)朝向仪器内部的方向,使卡夹上的凹槽沿着"插入轨道"(Insertion rails)插入进去(下图右),直至卡夹卡住。



(13) 当屏幕上显示卡夹信息 Consumable Status 时,查看耗材状态,确认耗材的有效期以及余量是否满足实验需求。



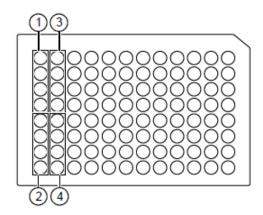
显示	卡夹 (Cartridge)	阴极缓冲液(Cathode buffer)
NA	未安装卡夹	未安装阴极缓冲液
白色	可使用	可使用
<mark>黄色</mark>	可使用,但需注意:毛细管只能做≤25 injections,或2周内到有效期,或2周内达到卡夹可在仪器上放置的最长时间*	可使用,但需注意: 阴极缓冲液只能做≤25 injections, 或 2 天内到有效期, 或 2 天内达到缓冲液在仪器上放置的最长时间(14 天)
红色	已过期:已达到最高 injection 次数,或已过有效期,或已在仪器上超过最长放置时间	已过期:已达到最高 injection 次数,或已过有效期,或已在仪器上超过最长放置时间

^{*}SeqStudio™ v1 版卡夹可在仪器上放置≤120 天, SeqStudio™ v2 版卡夹可在仪器上放置≤180 天。

(14) 点击 Close, 回到主界面。

2. 准备样本板

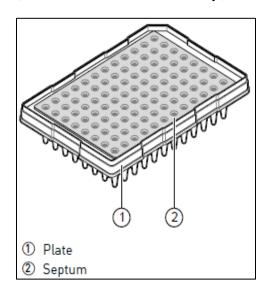
2.1 准备样本:按照试剂盒要求制备样本,并分装到相应耗材中(SeqStudio™仪器适配 0.2 mL 96 孔板或八联管)。SeqStudio™每次进样 4 个样本,默认进样顺序是 A1-D1, E1-H1, A2-D2, E2-H2, 以此类推。可以根据实际情况选择样本组位置和进样顺序。

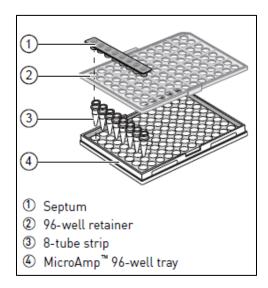


- Injection group 1, wells A1-D1
- (2) Injection group 2, wells E1-H1
- ③ Injection group 3, wells A2-D2
- 4 Injection group 4, wells E2-H2

注意: 样本在仪器上可稳定保持 16-24 h。如果上机时需使用 Long run 程序(例如 LongSeq, Long Seq BDX, Long Frag Analysis),请每块板一次最多上 48 个样本,避免样本在仪器上放置超过 24 h。

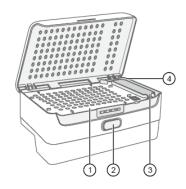
2.2 样品板组装:按照图示将 96 孔板(左图)或八联管(右图)进行组装。如果使用八联管,请使用对应的 retainer 和 tray;确保胶垫 Septum 平整地覆盖在 96 孔板或八联管上。





2.3 加载样本板:准备好的样本板立即进行上机操作;如果不能立即上机,则置于冰上避光保存。按照如下步骤将样本板放置于仪器上。

- (1)点击 🝙 再点击 🎹 Eject plate, 打开仪器门。
- (2) 按住 autosampler 的按钮位置② (release button),将盖子打开。



- ① 放置 96 孔板\八联管处
- ② 开关 (Release button)
- ③ 放置 CBC 处
- ④ CBC 缺口对应的位置
- (3) 将样本板轻轻放置在 autosampler 位置①处,A1 在左上角,并确保放平。
- (4) 用手按压 autosampler 盖子,将盖子盖上,扣紧。



(5) 点击 Retract plate, 然后关上仪器门。

3. 设置样本板运行程序

请根据实际情况,选择 A.B 的其中一种方式进行样本板程序设置即可。

A. 通过 Plate Manager 软件设置样本板运行程序

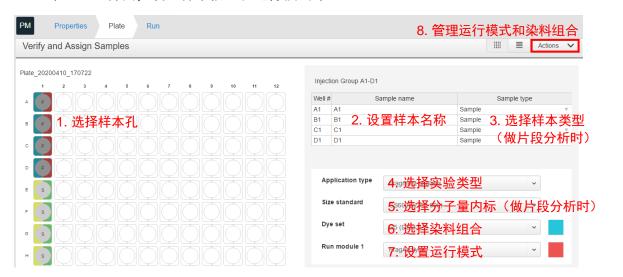
- (1) 打开 Plate Manager 软件:云端或桌面 Plate Manager 软件均可进行样本板运行程序设置,可根据实际情况选择其中一种即可。
 - a. 打开云端 Plate Manager: 登录 thermofisher.com/connect, 在 All Apps 列表里面找
- b. 打开桌面 Plate Manager: 打开与 SeqStudio™连接的电脑,输入用户名和密码,登录操作系统。双击 Plate Manager 软件快捷方式 , 或通过 Start>All Programs>Applied Biosystems>Plate Manager>Plate Manager,打开 Plate Manager 软件。

- (2) 点击 New 设置新的样本板或者点击 Open 打开之前设置的样本板。
- (3) 在 Properties 界面,输入相应信息。

如果是测序实验,且实验结果需要进一步用二级软件(例如 SeqScape™\Variant Reporter™\Minor Variant Finder 等软件)分析,可以在"I am analyzing my data with Sanger variant analysis software"处打勾。实验结果的命名将包含"amplicon"和"specimen",以便与二级软件匹配。



(4) 在 Plate 界面,设置样本信息和运行模式等。



(5) 点击 Run, 出现 Save the plate setup 界面。检查各项设置,如需修改可点击 Edit 进行修改,确认无误后点击 Save 保存。设置好的样本板运行程序可保存在电脑与仪器设置的共享文件夹(可在仪器上的 Network Drive 直接查看)、云端账号或者 U 盘上。



B. 通过 SeqStudio™仪器设置样本板运行程序

(1) 在仪器主界面,点击 Set up run。 设置新的样本板(Create new plate setup),或者打开之前设置的样本板(点击 My instrument),或者导入之前设置的样本板(通过云端账号 Cloud、USB、共享文件夹 Network drive)等。



(2) 在 Properties 界面,设置样本板信息。

如果是测序实验,且实验结果需要进一步用二级软件(例如 SeqScape™\Variant Reporter™\Minor Variant Finder 等软件)分析,可以在"I am analyzing my data with Sanger variant analysis software"处打钩。实验结果的命名将包含"amplicon"和"specimen",以便与二级软件匹配。

设置好的程序会自动保存在仪器上(Instrument),还可以选择同时保存至其他位置,例如云端账号 Cloud(在联网状态下并已设置)、USB(插入 U 盘)、Network Drive(仪器和电脑的共享文件夹)。



(3) 在 Plate 界面,设置样本孔,包括样本名称、运行模式、染料组合、分子量内标(片段分析时需设置)等。设置完成后点击 Save 保存。



4. 运行实验

- **4.1 确定样本板**: 确认在样本板准备阶段, 样本板已加载到 autosampler 中。如果没有,则按照 2.3 步骤,将样本板加载到仪器中。
- **4.2 选择运行程序**: 在仪器主界面,点击 Set up run,选择已设置好的样本板运行程序。

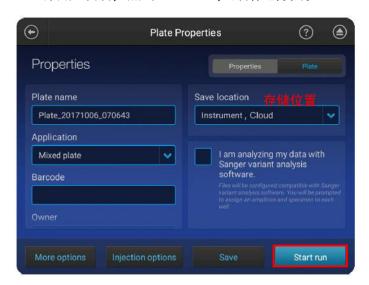
通过仪器编辑的程序,保存在 My Instrument, 其中属性是 hidden 的程序存放在 My plates 文件夹,属性是 shared 的程序存放在 Public 文件夹。通过 Plate Manager 软件设置的运行程序,根据保存的方式,选择查看位置:Cloud(云端账号),Network Drive(电脑和仪器的共享文件夹),USB(拷贝到U盘上,需插入U盘)。



4.3 运行实验

在 Properties 和 Plate 界面检查设置。实验结果的存储位置(Save location)默认是仪器上(Instrument),还可以选择同时保存至其他位置,例如 Cloud(在联网状态下并已设置)、USB(插入 U 盘)、Network Drive(仪器和电脑的共享文件夹,即可同步保存至电脑上)。如果希望通过云端 Cloud 实时查看分析后的结果,则需要在 Save location 处选上 Cloud。

确认无误后,点击 Start run,开始运行实验。



4.4 查看运行状态: 在仪器屏幕上, 查看运行剩余时间及每个样本的质控情况。

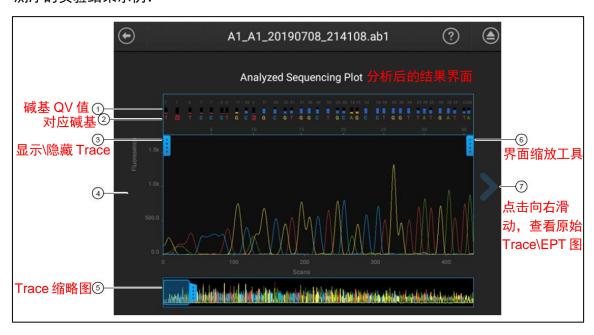


5. 查看和导出运行结果

5.1 查看实验结果:实验运行结束后,显示如下界面(左图),点击 Results 进入 List view,查看每个样本的质控情况、分析结果、原始信号以及 EPT 图(电压、电流、温度等)。对于出现质控警告或失败的样本,查看警告或失败的原因。



测序的实验结果示例:



片段分析的实验结果示例:



5.2 导出实验结果

实验结束后,实验结果已按照样本板设置时选择的 Save location 保存至相应的位置。如果需要将结果导出到其他位置,则可以按照以下操作,将结果导出。

- (1) 在仪器主界面,点击 Settings ► Run history。
- (2) 选中需要导出的样本,点击 Export。
- (3)选择导出路径(如 Cloud/ USB/ 共享文件夹 Network drive 等),点击 **Export**,将会把测序实验结果(.ab1 文件)、片段分析结果(.fsa 文件)以及 QC report 一起导出。导出结果可使用 Sequencing Analysis 或 GeneMapper™等软件做进一步分析。

6. 卸载样本板和耗材

6.1 卸载样本板

- (1) 点击 📵 再点击 III Eject plate, 打开仪器门。
- (2) 取下样本板,盖上 autosampler,扣紧。
- (3) 点击 Retract plate, 关上仪器门。

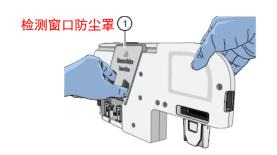
6.2 保存\卸载卡夹

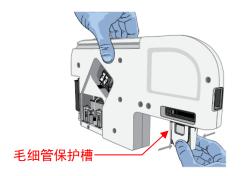
实验结束后,卡夹可保存在仪器上,或者卸载后保存到2-8度。

- 6.2.1 在仪器上保存卡夹和阴极缓冲液 CBC
- (1) 实验结束后,保持仪器在开机的状态,并放置了阴极缓冲液 CBC,仪器会自动进入 卡夹保存状态 Cartridge Storage Mode。注意,一定保证仪器在开机状态,一旦关机, 则卡夹和 CBC 不可保存在仪器上。
- (2)在 **Cartridge Storage Mode** 下,SeqStudio™ v1 版卡夹可在仪器上保存 ≤120 天,SeqStudio™ v2 版卡夹可保存 ≤180 天,阴极缓冲液 CBC 可保存 ≤14 天。如果卡夹在仪器上保存的时间超过 14 天,则需要每 14 天更换一个新的 CBC,以免 CBC 液面高度不够而影响了卡夹的保存。

6.2.2 卸载卡夹后保存

- (1) 点击 📵 再点击 🖳 Eject Cartridge, 打开仪器门。
- (2) 用手握紧卡夹毛细管上面的位置,水平向外拉,将卡夹从仪器上取下。
- (3) 将卡夹的检测窗口防尘罩小心扣上,注意不要碰到检测窗口。再将一个新的毛细管保护槽 Integrated Capillary Protector (ICP) 小心的插到毛细管外面,以保护毛细管,注意不要碰到毛细管。ICP 仅供一次性使用。





(4) 立即将卡夹竖直放回原来的白色包装盒内,注意放置方向,不要倒放,然后竖直放至 2-8 度保存。注意,尽量避免卡夹暴露在室温,且卡夹不可冻存在-20 度。

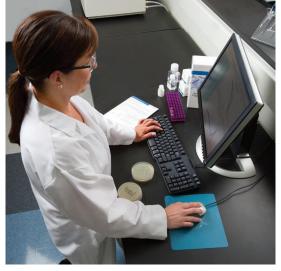


遍布全球的技术支持服务

我们在全球 60 多个国家和地区设立了办事处,拥有 备受赞誉的技术支持团队以及现场服务工程师。您可 以在我们的官方网站上订购产品、下载技术文件,以 及寻找问题答案。也非常欢迎您通过电子邮件、电 话、以及微信平台和我们联系获取信息。







Thermo Fisher Scientific

官方网站: http://www.thermofisher.com

免费热线电话: 8008208982/4008208982

技术支持邮箱: cntechsupport@thermofisher.com

微信公众号: 赛默飞世尔科技生命科学服务部



