

# *Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™*

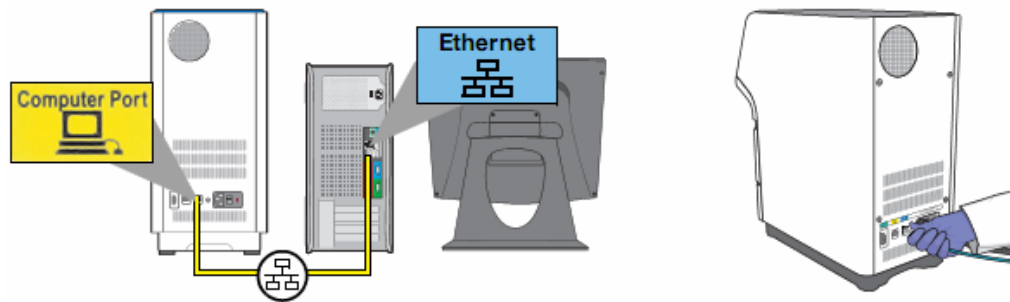
## Real-Time PCR Systems

### 定期保養手冊

保養排程:

時程	
上機前	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 檢查儀器Drawer是否正確關閉。</li><li>2. 檢查隨身碟等存放裝置是否已從儀器上移除。</li><li>3. 檢查Colocated電腦電源線是否接上，以免電池電源不足造成無法收取data。</li></ol>
每週	<ol style="list-style-type: none"><li>4. 檢查電腦硬碟空間，並備份相關資料。</li><li>5. 關閉操作電腦及儀器，等候30秒後重新開啟。</li><li>6. 使用拭鏡紙小心擦拭儀器及電腦。</li></ol>
每月	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 執行Background Run確認儀器sample block是否受到污染。</li></ol>
每18個月	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 執行Spatial 定位校正。</li><li>2. 執行Pure Spectra 螢光校正。</li></ol>

**注意：** Background Run, Spatial Calibration, Pure Spectra Calibration 必需在StepOne™(StepOnePlus™) 處於Colocated狀態下才能執行。



確認StepOne™(StepOnePlus™)維護時程：  
可透過StepOne™操作軟體確認保養時程，開啟軟體後，選擇Instrument→Instrument Maintenance Manager，系統將依序列出Spatial, Background, Dye，及RNase P 校正資訊：

- **Status**—顯示目前該項校正的相關資訊：
  - **Current** 目前該項校正為正確且不需重新校正。
  - **Expired** 目前該項校正已過期且應重新校正。
  - **Not Run** 該項校正並未被執行過(僅在RNase P出現)
- **Last Run**—顯示最後一次執行的日期。
- **Expiry Date**—告知校正到期日，屆時應重新執行校正，以確保data正確性。

檢查電腦硬碟空間：

1. 當電腦中存放run experiments的區域使用空間已達總使用空間的20%以上時，請將資料另外備份至外部存放磁碟或燒錄至光碟保存。
2. 為節省存放空間，可將資料先行壓縮後再行備份。
3. 當已將資料進行備份後，請將備份後的資料刪除，並清除資源回收筒

## 執行Background校正

### 1 製備Background Calibration Plate

#### 1.1 準備所需項目：

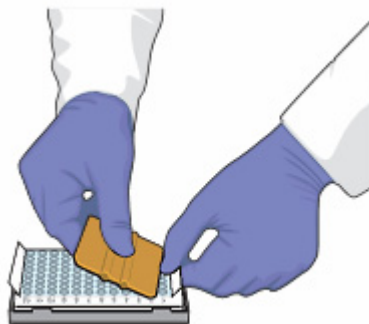
- 1.1.1 Deionized water
- 1.1.2 MicroAmp™ Optical Reaction Plate
- 1.1.3 MicroAmp Optical Adhesive Film
- 1.1.4 Pipettor, 200 $\mu$ l and pipette tips
- 1.1.5 Powder-free gloves

#### 1.2 配置Background Calibration Plate:

- 1.2.1 將30 $\mu$ l 二次水加入reaction plate中

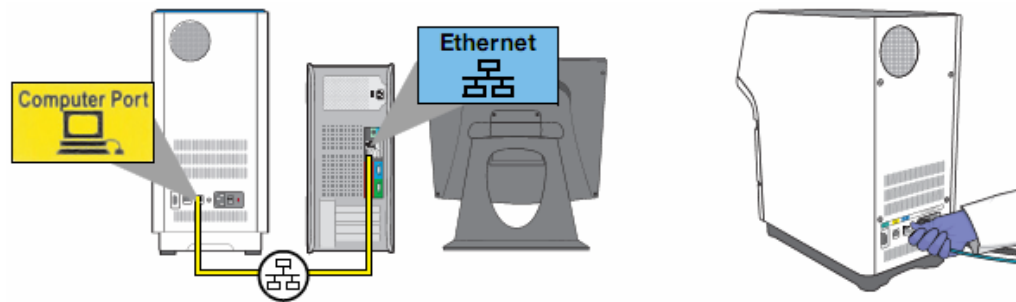


- 1.2.2 小心地封上封膜



### 2 上機前準備

- 2.1 將StepOne™(StepOnePlus™)連接成Colocated 模式

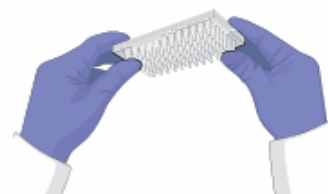


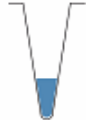
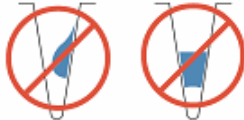
注意：連線時，勿將Internet Cable接至 StepOne™(StepOnePlus™)上藍色網路孔，應接於黃色網路孔上。

2.2 取出Background Calibration Plate，若之前放置於冷凍庫內，應將其靜置於室溫5分鐘以上使其回到室溫。

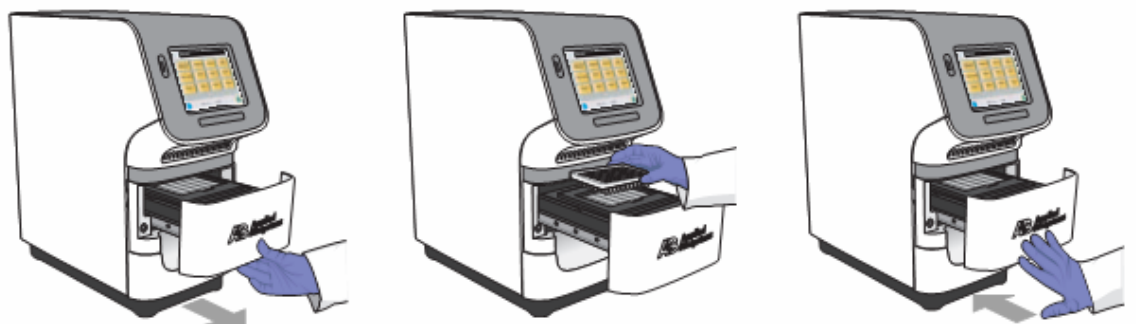
2.3 將Background Calibration Plate離心 (2min@1500rpm)

2.4 確認液體均位於每個well的底部並且沒有氣泡產生；如有，重新離心並Vortex

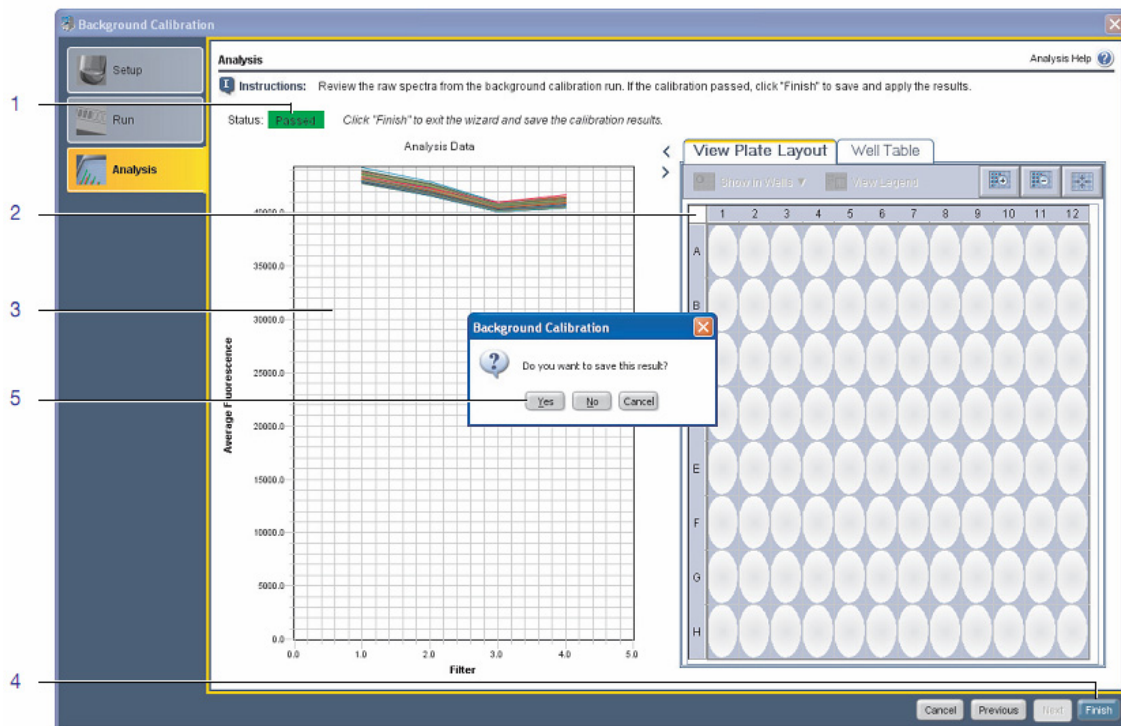


Correct	Incorrect
 <p>Liquid is at the bottom of the well.</p>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>• Not centrifuged with enough force, or</li> <li>• Not centrifuged for enough time</li> </ul>

2.5 將Background Plate小心地放置於StepOne™ 上機拖盤上，並將拖盤確實推回



- 3 將Background Plate上機
  - 3.1 於StepOne™ 控制軟體上，選擇Instrument→Instrument Maintenance Manager選項。
  - 3.2 點選Background項目，準備進行Background校正
  - 3.3 點擊 **Start Calibration**
  - 3.4 於Background Calibration彈出視窗上，勾選The background plate is loaded into the instrument, 接著點擊 Next
  - 3.5 按下Start Run ，等候StepOne™ 自動執行(約需耗時5~10分鐘)。
  - 3.6 當執行完畢後，將Background Plate取出，以錫箔紙包覆後放置於冷凍庫中，可反覆使用數次。
- 4 分析上機後的結果
  - 4.1 在Analysis畫面中，確認結果為成功或失敗
  - 4.2 全選所有的wells
  - 4.3 觀察是否有任何的peak特別高或特別突出
  - 4.4 若無，則點選Finish
  - 4.5 當出現儲存Background結果的視窗時，選擇Yes.



注意：若結果為Fail時，需確認失敗原因，常見原因如下：

- 1 Background Plate污染或體積不足：重新Prepare Background Plate並重新上機。
- 2 StepOne™(StepOnePlus™) sample block 已遭污染，需進行清潔。

清潔Sample Block程序：

1 準備相關用具

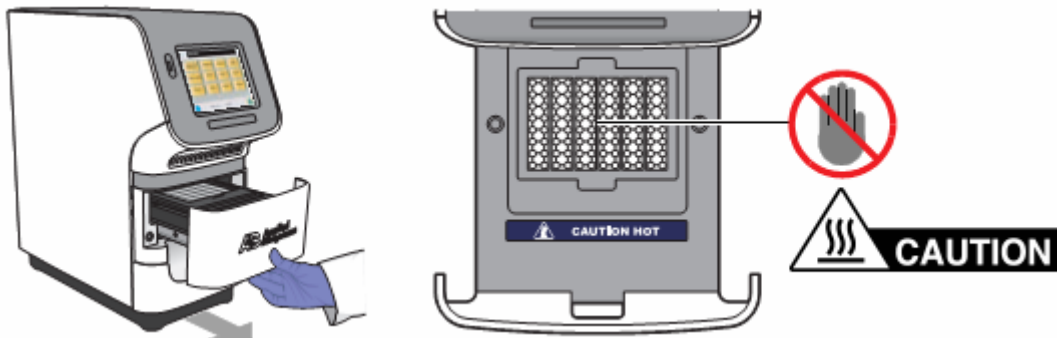
1.1 Deionized water

1.2 EtOH solution (95%以上)

1.3 Bleach solution (10%以下)

注意：非不得已，盡量不要使用Bleach solution，若使用後，切記需使用Deionized water仔細清潔過，避免殘留。

- 1.4 棉棒(lint-free)數支(需超過欲清潔的wells數)
- 1.5 Pipettor and pipette tips(100 $\mu$ l)
- 1.6 Powder-free gloves
- 1.7 Background Calibration Plate
- 2 利用Background結果，判斷受污染的區域或wells
- 3 關閉StepOne™ (StepOnePlus™ )儀器，靜置五分鐘使其降溫。
- 4 清潔Sample Block
  - 4.1 將Sample Block拖盤拉出



- 4.2 仔細清潔Sample Block
  - 4.2.1 將少量二次水加入Sample Block中，並Pipette數次後，排置waste beaker中
  - 4.2.2 利用清潔棉棒仔細清潔該well，之後拋棄清潔棉棒(勿將同一支清潔棉棒重覆使用)
  - 4.2.3 仔細檢視該well中是否尚有液體留在其中，確定所有的液體均已排除。
- 5 重新啟動StepOne™(StepOnePlus™)
- 6 執行Background Calibration以確認污染源是否已排除。若未能排除，則重覆Step 4.2，將水置換成EtOH；若仍無法排除，再置換為Bleach solution。
- 7 若經數次清潔後，依舊無法排除contamination，請與ABI support 部門聯絡，執行進一步檢查。

1.5 Years	Perform a spatial calibration.
	Perform a dye calibration.

StepOne™ (StepOnePlus™ ) Spatial 定位校正與 Pure Spectra 螢光校正方式，請參照StepOne™ (StepOnePlus™ ) Installation and Maintenance Manual (P/N: 4376782) 執行。

相關校正試劑：

- StepOne™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (P/N: 4371433)
- StepOnePlus™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (P/N: 4371435)