



LightCycler®

LightCycler® 96 Real-Time PCR System





Objevte nový LightCycler® 96 Real-Time PCR System, který je dokonalým pomocníkem jak pro zkušené odborníky v oblasti PCR, tak pro začátečníky.

LightCycler® 96 je nejnovějším přístrojem pro real-time PCR řady LightCycler®, jejímuž vývoji se společnost Roche věnuje již více než deset let. LightCycler® 96 je proto vyvinut na základě mnohaletých zkušeností a odpovídá aktuálním požadavkům moderních molekulárně-biologických laboratoří.

S přístrojem LightCycler® 96 získáte vše, co pro váš výzkum potřebujete: ideální kombinaci přesnosti, teplotní homogenity a reprodukovatelnosti spolu s velmi intuitivním softwarovým řešením.

Vedle standardních analytických metod, jako „endpoint“ genotypizace a absolutní a relativní kvantifikace, obsahuje i specializované moduly pro detekci kvality a analýzu křivek tání s vysokým rozlišením (HRM).

Kvalita a spolehlivost real-time PCR systémů Roche jsou nyní dostupné každé laboratoři.

Kvalita a vlastnosti, které váš výzkum odliší od ostatních

Díky spolehlivým výsledkům ušetřete váš čas i náklady na reagentie

- Vynikající teplotní homogenita bloku a nová optika se skleněnými vlákny umožní zachytit nezkreslených dat z 96 jamek.
- Optimalizaci protokolu vám usnadní funkce teplotního gradientu.
- Přístroj nevyžaduje použití pasivních referenčních fluorescenčních barev (jako je např. Rox), teplotní kalibraci ani kompenzaci barev při multiplexních analýzách.

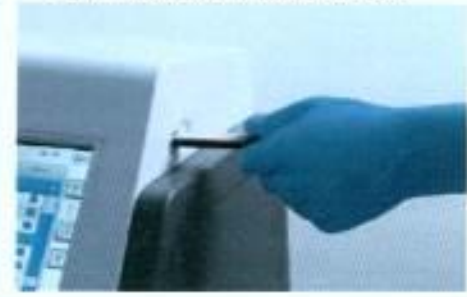
Pracujte úsporně - přizpůsobte pracovní formát požadovanému množství vzorků.

- Využijte úsporné balíčky optimalizovaných reagentů a spotřebního materiálu.
- Vyberte si mezi 96jamekovými destičkami a čirými nebo bílými střípy zkumavek.



Usnadněte si analýzu výsledků pomocí moderního a jednoduchého softwaru navrženého jak pro začátečníky, tak pro zkušené uživatele.

- Využijte výhod intuitivního rozhraní s velkou dotykovou obrazovkou.
- Zvolte si typ připojení instrumentu k počítači přes síť nebo pomocí USB kabelu.
- Analyzujte data pohodlně na dálku prostřednictvím e-mailu.
- Sdílejte získaná data na síti pomocí funkce automatického zálohování.



Hardware systému LightCycler® 96

Unikátní optika umožňuje přesné a rychlé provedení experimentu bez nutnosti teplotní kalibrace a barevné kompenzace

Získejte nezkreslené výsledky potřebné pro váš výzkum pomocí unikátní optiky a teplotního bloku systému LightCycler® 96.

Rovnoměrná excitace a souběžný záchyt dat z 96 jamek.

S vysoce intenzivní LED systémem LightCycler® 96 a s 96 páry silných optických vláken - polovinou na excitaci a polovinou na emisi (obrázek 1) - budete schopni:

- eliminovat okrajové efekty,
- vyhnout se kolísání záchytu signálu v důsledku postupného snímání fluorescence, běžného u systémů využívajících pohyblivá snímací raménka,
- vyhnout se nutnosti použití pasivního referenčního barviva,
- snadno provádět experimenty obnášející pokročilou detekci genů, kvantifikaci a genotypizaci

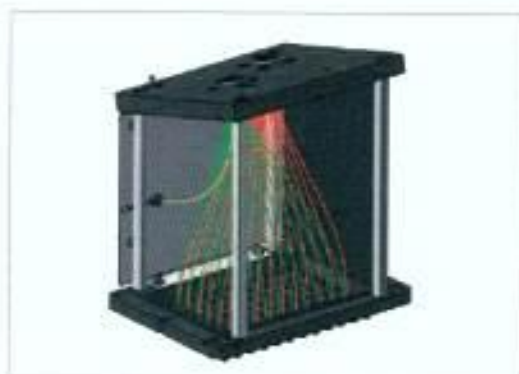
Minimalizace odchylek mezi jamkami díky vynikající teplotní homogenitě.

Maximalizujte konzistentnost dat na LightCycler® 96 s celostříbrným tepelným blokem, odlehčeným galvanoplastickým stříbrným stojánkem a vyhřívaným víkem (obrázek 2).

- Dosáhnete vysoké teplotní homogenity, která omezí odchylky mezi jamkami.
- Předcházejte optickým artefaktům vznikajícím v důsledku kondenzace.
- Optimalizujte analýzu v celém rozsahu gradientu 20 °C.

Fluorofor	Excitační filtr	Emisní filtr	Detekční formát
SYBR Green I	470	514	Interkalační barvivo
ResoLight			Interkalační barvivo pro High resolution melting
FAM			Hydrolyzační sondy
VIC HEX Yellow5555	533	572	Hydrolyzační sondy / sondy z knihovny Universal Probe Library
Red610 Texas Red	577	620	Hydrolyzační sondy
Cy5	645	697.5	Hydrolyzační sondy

Tabulka 1: Přehled excitačních a emisních filtrů, barviv a detekčních formátů pro LightCycler® 96.



Obrázek 1: Unikátní optika. Optický systém přístroje LightCycler® 96 přihlášený k patentování obsahuje dvě robustní sady 96 optických vláken, z nichž jedna přivádí do každé jamky excitační světlo (zobrazeny zeleně) a druhá zachycuje emitované světlo (zobrazeny červeně) z každé jamky. Referenční kanál je znázorněn žlutě.



Obrázek 2: Jednotka teplotního bloku cyklu. Hlavní součástí je stříbrný teplotní blok, vyhřívané víko bloku a ventilátor.

Software systému LightCycler® 96

Chytrý a intuitivní - přesně podle vašeho přání

Ať už jste v oboru qPCR začátečník, nebo zkušený odborník, software přístroje LightCycler® 96 bude vyhovovat vašim potřebám. I noví uživatelé mohou okamžitě spustit běh a získat data pro všechny aplikace, ať již jde o expresi genů nebo výzkum genetických variací. Pokročilí uživatelé využijí výkonné analytické funkce.

- Rychlé programování běhu pomocí předdefinovaných teplotních protokolů.
- Zjednodušení rutinních a pokročilých úkolů pomocí průvodce. Snadná konfigurace zobrazení rozšiřuje flexibilitu.
- Splnění požadavků MIQE* a snazší získání publikovatelných výsledků díky možnost ukládání dat do formátu RDML.
- Po provedení běhu lze využít rychlé a automatické ukládání dat do vzdálené složky, a to i v dynamických sítích.

Začátečník

Umožňuje navigaci s průvodcem a snadné zadávání protokolů.

Uspadňuje analýzu pomocí přehledných funkcí.

Středně pokročilý

Generuje přizpůsobitelné sloupcové diagramy

Nabízí větší flexibilitu (export dat pomocí jediného kliknutí).

Zkušený

Aplikuje automatické standardní křivky a korekce účinnosti.

Umožňuje přístup k hrubým datům / statistikám.

Uspadněte si práci

- **Vyberte si typ připojení:** Ovládejte systém a sledujte průběh reakce prostřednictvím dotykové obrazovky nebo z libovolného připojeného počítače či počítače na síti.
- **Analyzujte data pohodlně na dálku:** Stahujte soubory kompletních výsledků do libovolného síťového počítače nebo USB paměťového média nebo naprogramujte přístroj tak, aby vám data po dokončení běhu zaslal e-mailem.
- **Rychle interpretejte výsledky z přístroje samotného** pomocí fluorescenčních teplotních map (např. k vizualizaci změn hodnot C_d) - i po skončení běhu.

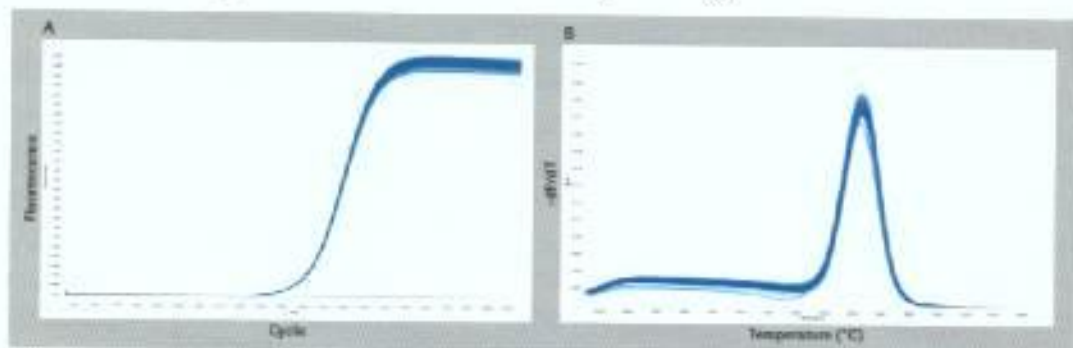


Obrázek 3: Protokol ve formátu PDF vygenerovaný softwarem přístroje. Protokol obsahuje informace o druhu experimentu a detekce, teplotní profil, amplifikační křivky sestavené na základě hrubých dat a teplotní mapy. Lze jej připojit k emailu jako přílohu nebo předložit jako speciální soubor experimentu.

* The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Bustin S.A. et al. (2008). Clin Chem. 55(4):611-22. (Směrnice MIQE: Minimální informace pro publikaci experimentů kvantitativní real-time PCR.)

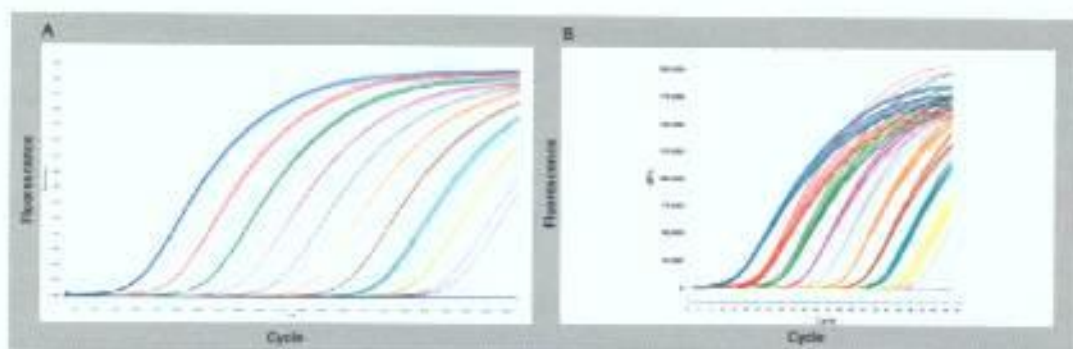
Výkonnost systému LightCycler® 96

Získejte data ze softwaru pro kontrolu kvality, která vás přesvědčí o přesnosti a citlivosti přístroje



Obrázek 4: Vynikající amplifikace a homogenita produktů reakce.

V každé z 96 pozic bloku byla provedena real-time PCR s použitím 30 ng lidské DNA. (A) Amplicon beta-globinového genu o délce 110 bp byl amplifikován za použití detekce pomocí SYBR Green I. (B) Produkt reakce byl také podroben analýze křivky tání. Celkově nízká hodnota variace C_t (rozsah $C_t = 0,18$ a $SD = 0,133$) a překrývající se křivky tání ampliconu (rozsah $T_m = 0,28$ °C a $SD = 0,063$) ve všech 96 pozicích vykazovaly teplotní homogenitu a stejné podmínky u všech vzorků - nezávisle na umístění v bloku.



Obrázek 5: Dynamický rozsah kvantifikace genů při nízkých ředěních.

Fragment genu Parvo B19 byl amplifikován v deseti sériových ředěních 1:10 v rozmezí od 10^4 až 10^5 kopií na jamku a následně detekován pomocí sondy č. 137 z knihovny univerzálních sond (UPL). Z každého ředění bylo připraveno deset replikátů (ze 4 nejvyšších koncentrací jen devět). (A) Výsledky v systému LightCycler® 96 vykazují vynikající reprodukovatelnost a rozlišení až do velmi nízkého počtu kopií. (B) U konkurenčního přístroje byly hodnoty směrodatných odchylek C_t u příslušných koncentrací mnohem vyšší a rozdíl C_t mezi jednotlivými kroky ředění se mnohem více lišily v celém rozsahu ředění.

Kontrola kvality

Využijte nový software pro kontrolu kvality

Softwarový modul přístroje LightCycler® 96 pro kontrolu kvality umožňuje spolehlivou analýzu cílových genů a kontrol pomocí dvou nebo i více barev. Pomocí vnitřní kontroly (IC) s cílem ve stejné nebo jiné jamce lze kontrolovat inhibici PCR (např. nečistoty zanesené při přípravě vzorků).

Vnitřní kontrolou může být buď endogenní gen (β-globin u lidských vzorků) nebo exogenní gen (virová nukleová kyselina nebo syntetický cíl).

Pro snadnou analýzu obsahuje modul kvalitativní detekce systému LightCycler® 96 koncepci kontroly: Na základě jednotlivých amplifikací cílových genů a vnitřních kontrol je automaticky generována kombinovaná hodnota a celkový výsledek je znázorněn pomocí intuitivní teplotní mapy (viz obrázek 6):



Obrázek 6: Modul detekce kvality poskytuje kombinované hodnoty získané z hodnot amplifikace cílových genů a vnitřní kontroly.

Jsou uváděny tři základní typy výsledků:

- Pozitivní kombinovaný výsledek: Amplifikace cílového genu pozitivní, amplifikace IC pozitivní nebo negativní (např. jamky A2, A3, B; řádky označené 1, 2, 4).
- Negativní kombinovaný výsledek: Amplifikace cílového genu negativní, amplifikace IC pozitivní (např. jamka F2; řádek označený 6).
- Neplatný kombinovaný výsledek: Amplifikace cílového genu negativní, amplifikace IC negativní (např. jamka G2; řádek označený 7).

Analýza křivek tání s vysokým rozlišením (HRM)

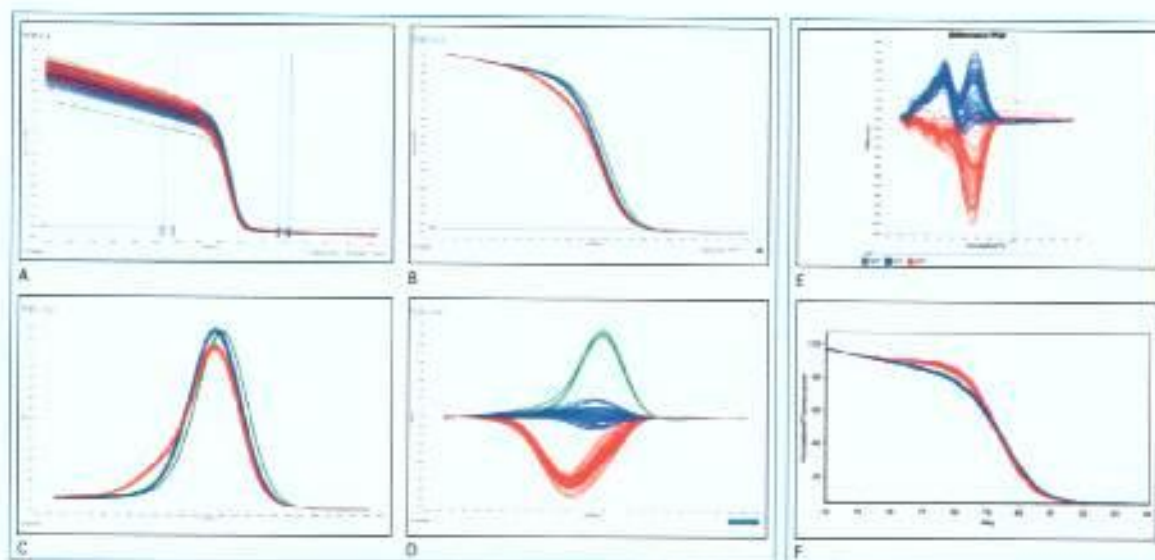
Snadno detekujte známé či neznámé mutace

Analýza křivek tání s vysokým rozlišením (HRM), je metoda post PCR umožňující rychlé a účinné odhalení genetických variací (např. SNP, inzerce, delece, metylace oblastí).

Při analýze HRM pomocí systému LightCycler® je zkoumaná DNA nejprve amplifikována za přítomnosti interkalačního fluorescenčního barviva

ResoLight, obsaženého ve směsi LightCycler® 480 High Resolution Melting Master.

Díky přehlednému znázornění křivek tání sledovaného genu a referenčních vzorků, umožňuje snadné rozřazení vzorků do skupin podle shodné teploty tání (např. heterozygot, homozygot).



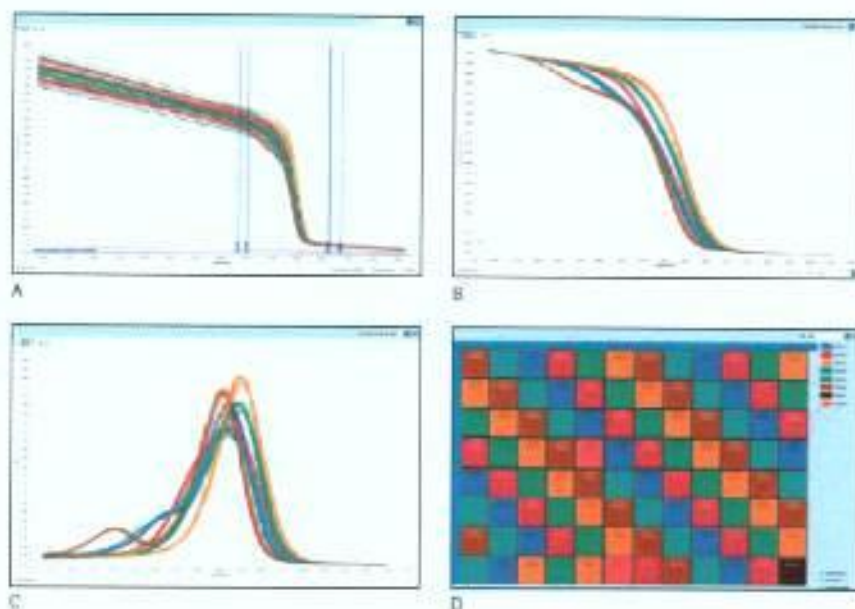
Obrázek 7: Analýza křivek tání s vysokým rozlišením v systému LightCycler® 96

Levá strana: Z lidské genomické DNA byl pomocí LightCycler® 480 High Resolution Melting Masteru amplifikován fragment genu HFE o délce 72 bp obsahující SNP III. třídy. Analýza získaných dat HRM byla provedena ve čtyřech krocích: A: původní křivky tání, B: normalizované křivky tání, C: normalizované vrcholy křivek tání, D: grafické znázornění rozdílů.

Pravá strana: Dva různé konkurenční přístroje, na nichž byla provedena stejná analýza, nebyly schopny detekovat všechny přítomné skupiny sekvenčních variací (v grafech E a F chybí zelená skupina v grafu D).

Výhody HRM softwaru přístroje LightCycler® 96:

- Analýzy jsou vždy generovány *genově specificky* (např. obsahují-li různé jamky stejné série více genů).
- Automatizovaný algoritmus vypočítává skupiny podle nastavení automatického normalizačního prahu a citlivosti.
- Graf „normalizovaných vrcholů táni“ umožňuje lepší rozlišení komplexních skupin než například grafické znázornění rozdílů (viz příklad s 6 genotypy TNF alfa na obrázku 8C).
- Podporuje automatické a manuální nastavení.
- Teplotní mapy slouží jako doplňková možnost vizualizace výsledků (viz obrázek 8D).



Obrázek 8: Analýza HRM 111 bp dlouhého fragmentu lidského genu TNF alfa, přítomného v šesti různých variantách. Jako šablóna pro technické replikáty byla použita lidská genomická DNA izolovaná ze vzorků od různých dárců. PCR byla provedena pomocí LightCycler® 480 High Resolution Melting Masteru obsahující barvivo ResoLight, sloužící k detekci a následné analýze křivek táni s vysokým rozlišením. A: původní křivky táni, B: normalizované křivky táni, C: normalizované vrcholy křivek táni, D: barevně rozlišený přehled pozorovaných variant.

Technické parametry

Obecné

Hmotnost	cca 27 kg
Rozměry	Š x H x V: 40 x 40 x 53 cm
Úroveň hlučnosti za chodu	43 dB(A)
Elektrotechnická osvědčení	CE, ICE, UL
Reakční objemy	10–50 µl
Formát analýzy	Destičky s 96 jamkami, strípy s 8 jamkami
Doba analýzy	< 40 min u tříkrokové PCR se 40 cykly < 1,5 h u HRM

Hardware

Systém termocyklieru	Založený na Peltierových elementech, blok s 96 jamkami umožňující teplotní gradient i HRM, blok nevyžaduje kalibraci
Max. konstantní zahřívání	4,4 °C
Průměrné konstantní chlazení	2,2 °C
Rozsah programovatelných teplot	37–98 °C
Přesnost teploty	±0,2 °C cílové teploty
Teplotní uniformita TM	Rozsah (max.-min.) 0,4 °C, SD <0,1 °C
Provozní rozsah gradientu	37–98 °C
Programovatelné rozpětí gradientu	Max. 20 °C
Excitace	Vysoká výkonná širokospektrá LED
Měření (integrační čas)	Souběžné získávání dat ze všech pozic za 10–1000 ms
Detekce	CCD kamera
Optický systém	Fixní optika s optickými vlákny a se čtyřmi excitačními a čtyřmi emisními filtry. Neobsahuje pohyblivé snímací prvky
Uniformita C _q	Rozsah (max.-min) 0,8 SD < 0,2 (umožňující rozlišení dvojnásobných rozdílů koncentrace)
Údržba a podpora	Nevyžaduje žádnou rutinní údržbu. IQOQ je k dispozici na požádání.

Analytický software

Operační systémy	Win XP, Win 7 a Win 8
Analýza dat	Absolutní a relativní kvantifikace Analýza T _m „End point“ genotypizace Analýza tání s vysokým rozlišením Kvalitativní detekce
Import a export dat	Z a do souborů .txt a .csv
Označování chyb	Automatické označování kritických kontrol (např. negativního výsledku pozitivní kontroly)

Provoz

Samostatně stojící	Velká 10" obrazovka Flexibilní programování a provádění experimentů Zobrazení snímání fluorescence v reálném čase Uchovávání až 50 běhů v přístroji Funkce automatického zálohování na síťovém serveru
Připojení k počítači	Programování, monitorování a analýza Vizualizace hodnot C _q ve formě sloupcového diagramu se směrodatnými odchylkami
Připojení k LAN	Podpora monitorování online pomocí připojení k místní síti (LAN) Podpora vzdáleného servisu Roche
Externí zařízení	Podpora externí čtečky čárových kódů s USB připojením
Aktivní komunikace přístroje	E-mailová upozornění s informacemi o úspěšném nebo neúspěšném běhu s volitelným zasíláním souboru dat experimentu v příloze

<i>Aplikace</i>	
Dynamický rozsah	1–10 ⁸
Rozsah vlnových délek excitačního / emisního světla (nm)	470/514 (barvivo SYBR, FAM, ResoLight) 533/572 (VIC, Hex, Yellow555) 577/620 (Red610, Texas Red), 645/697 (Cy5)
Detekční formáty	Interkalační barviva, hydrolyzační sondy, sondy LPL
Multiplexní analýza	Až 4 fluorescenční barvy v jedné reakci; předem kalibrovaná kompenzace barev (nevyžaduje spolupráci uživatele)
Pasívní referenční barvy	Nejsou nutné

Informace pro objednávání

<i>Výrobek</i>	<i>Kat. č.</i>	<i>Velikost balení</i>
Přístroj LightCycler® 96	05 815 916 001	1 přístroj
LightCycler® 8-Tube Strips (bílé) - stripy s 8 zkumavkami	06 612 601 001	120 stripů (bílých) a vícek (průhledných)
LightCycler® 96 DNA Green Value Pack S	06 713 092 001	5 balení FastStart Essential DNA Green Master (25 ml); 1 balení LightCycler® 480 Multwell Plates 96, bílé (50 ks 96-ti jamkových destiček)
LightCycler® 96 DNA Green Value Pack L	06 713 106 001	20 balení FastStart Essential DNA Green Master (100 ml); 20 balení LightCycler® 480 Multwell Plates 96, bílé (100 ks 96-ti jamkových destiček)
LightCycler® 96 DNA Probes Value Pack S	06 713 076 001	5 balení sond FastStart Essential DNA Probes Master (25 ml); 1 balení LightCycler® 480 Multwell Plates 96, bílé (50 ks 96-ti jamkových destiček)
LightCycler® 96 DNA Probes Value Pack L	06 713 122 001	20 balení sond FastStart Essential DNA Probes Master (100 ml); 20 balení LightCycler® 480 Multwell Plates 96, bílé (100 ks 96-ti jamkových destiček)
LightCycler® 480 High Resolution Melting Master	04 909 631 001	5 x 1 ml pro až 500 reakcí po 20 µl

FASTSTART, LIGHTCYCLER, RESOLIGHT a TAQMAN jsou ochranné známky společnosti Roche. Exiqon a Probel, library jsou registrované ochranné známky společnosti Exiqon A/S, Vedbaek, Dánsko.

SYBR je registrovaná ochranná známka společnosti Life Technologies Corporation. Všechny ostatní názvy výrobků a ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Patentová omezení licencí jednotlivých výrobků jsou uvedena na www.technical-support.roche.com.