

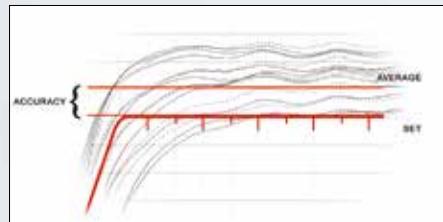
## Wie gut kennen Sie Ihren Thermocycler?



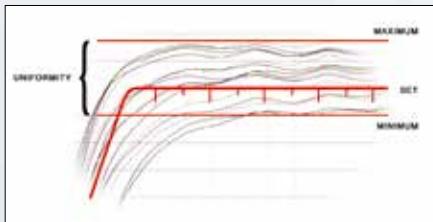
# DID YOU KNOW?

Seit den Anfängen in den 80er Jahren, hat sich die PCR (Polymerasekettenreaktion) als eine der meist verbreiteten Methoden in der Molekularbiologie entwickelt, die mittlerweile einfach und schnell anwendbar ist. Obwohl die Methode sehr gut etabliert ist, gibt es viele Faktoren, die die Effizienz einer PCR beeinflussen. Die Wichtigkeit der Auswahl der richtigen Oligonukleotide und Reagenzien als auch das DNA Template selbst sind jedem Molekularbiologen bewusst. Aber welchen Einfluss hat eigentlich der Thermocycler?

Bevor wir uns das genauer anschauen, klären wir vorab noch zwei wichtige Begriffe für die Performance von Thermocyclern: **Temperaturgenauigkeit** und **Temperaturuniformität**

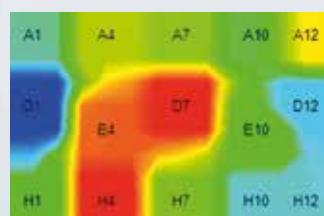
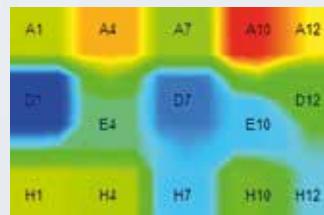


**Temperaturgenauigkeit:**  
Abweichung des Durchschnittswerts aller gemessenen Positionen im Block von der eingestellten Temperatur



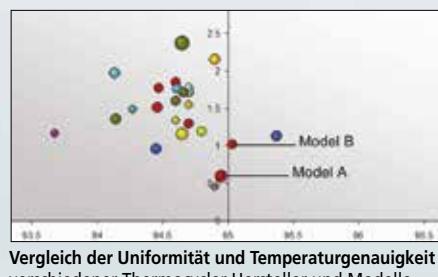
**Temperaturuniformität:**  
Differenz der maximalen und minimalen Temperatur aller gemessenen Positionen im Block

**Good to know:**  
Der Peltier-Effekt wurde bereits 1834 durch den französischen Physiker Jean Peltier beschrieben und ist die Basis für eine Vielzahl an Thermocyclern, die Peltier-Elemente zum Heizen und Kühlen verwenden. Peltier-Elemente sind elektrothermische Wandler, bei denen an zwei Halbleitern durch das Anlegen einer elektrischen Spannung eine Wärmeübertragung stattfindet.



**Vergleich der Temperaturverteilung innerhalb eines Thermoblocks zweier Thermocycler (gleiches Modell).**  
Rot: höhere Temperaturen; blau: kältere Temperaturen

Es gibt eine Vielzahl an Thermocyclern auf dem Markt. Zu erwarten ist, dass Modelle verschiedener Hersteller Unterschiede aufweisen. Aber ähnliche Modelle vom gleichen Hersteller oder sogar die gleichen Modelle mit unterschiedlicher Seriennummer werden häufig als identisch angenommen. Das dies nicht der Fall ist, zeigt die Abbildung rechts (aus: Thermocycler Calibration Guide, CYCLERtest BV). Jede Farbe repräsentiert einen Hersteller, jeder Punkt ein bestimmtes Modell und die Größe des Punktes, die Variation innerhalb des Modells.

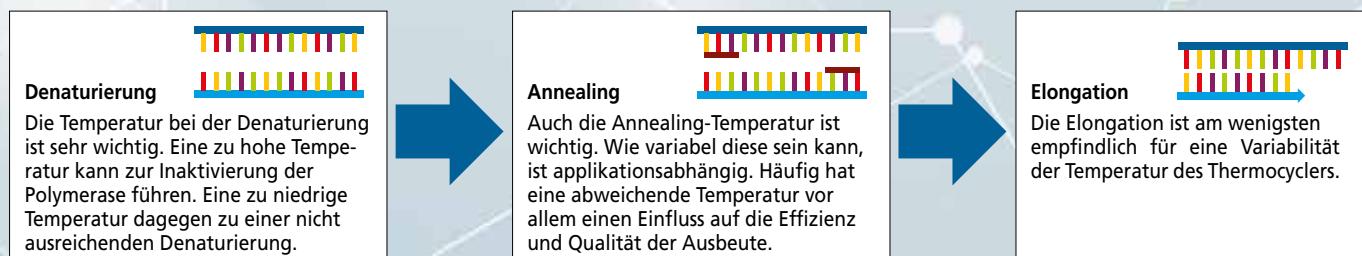


**Vergleich der Uniformität und Temperaturgenauigkeit** verschiedener Thermocycler-Hersteller und Modelle

## Welche Faktoren haben einen Einfluss auf das Temperaturprofil eines Thermocyclers?

Der Aufbau des Thermocyclers, die Art und Anzahl an verwendeten Sensoren, die Qualität der einzelnen Komponenten, die verwendete Technologie – all dies sind Faktoren, die einen entscheidenden Einfluss auf die Performance des Thermocyclers haben. Es kann außerdem hilfreich sein zu entscheiden, ob für die eigene Anwendung Schnelligkeit oder Genauigkeit im Vordergrund steht. Thermocycler mit einer großen Masse des Reaktionsblocks sind häufig langsamer, haben allerdings oft eine bessere Uniformität. Bei Thermocyclern mit kleiner Block-Masse ist es genau umgekehrt. Diese sind schneller, aber oft auch schwerer zu kontrollieren und haben häufig große Overshoots (Überschreiten der eigentlichen Ziel-Temperatur).

## Welche Phasen einer PCR werden durch eine schlechte Temperaturgenauigkeit und -uniformität beeinflusst?



## Wie bestimme ich die Performance meines Thermocyclers?

Durch eine Temperatur-Kalibrierung kann der Ist-Zustand des Thermocyclers festgestellt und mit den Soll-Werten verglichen werden. Intern ermittelte oder definierte, applikationsabhängige Grenzwerte helfen bei der Beurteilung, ob ein Thermocycler noch eingesetzt werden soll. Auch die Hersteller-Spezifikationen können zur Beurteilung herangezogen werden. Leider beinhalten diese häufig keine Angaben zur Messunsicherheit, verwendeten Messmethode und den Umgebungsbedingungen, was eine gute Vergleichbarkeit erschwert bzw. unmöglich macht. Auch der Vergleich mit anderen, baugleichen Thermocyclern oder mit Messwerten aus den Vorjahren kann zur Beurteilung herangezogen werden.

## Und was mache ich, wenn mein Thermocycler nicht mehr zufriedenstellend funktioniert?

Eine schlechte Temperaturgenauigkeit lässt sich noch durch Änderung der eingestellten Soll-Temperatur beheben, d.h. wenn die abweichende Temperatur in den PCR-Protokollen berücksichtigt wird. Eine schlechte Uniformität lässt sich allerdings nur sehr schlecht ausgleichen. In diesem Fall sollte mit dem Hersteller geklärt werden, inwieweit eine Reparatur oder ein Austausch einzelner Bauteile möglich ist.