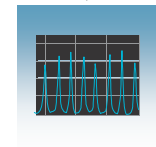


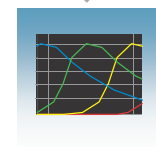
# Uživatelská příručka



Připřava přístroje



Provedení prostorové kalibrace



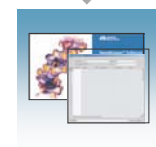
Provedení spektrální kalibrace



Automatická analýza v programu Sequencing Analysis



Automatická analýza v programu SeqScope



Automatická fragmentační analýza



Spuštění přístroje

© Copyright 2004, Applied Biosystems. Všechna práva vyhrazena.

Pouze pro výzkumné účely. Ne pro diagnostické účely.

Informace obsažené v tomto dokumentu se mohou změnit bez předchozího oznámení. Společnost Applied Biosystems nepřijímá žádnou zodpovědnost za chyby, které se mohou v tomto dokumentu objevit. V okamžiku svého vydání je tento dokument pokládán za kompletní a přesný. Společnost Applied Biosystems není v žádném případě zodpovědná za náhodné, zvláštní, opakované nebo následné škody vzniklé ve spojení s tímto dokumentem nebo v přímé souvislosti s jeho používáním.

#### **UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍHO:**

Tento přístroj je autorizován pro provádění DNA sekvenování a fragmentační analýzy. Tato autorizace je zahrnuta v pořizovací ceně přístroje a odpovídá zálohovému licenčnímu poplatku vztahujícímu se k patentům U.S. Patent č. 5,821,058 a 5,332,666 a ke všem dalším nárokům vztahujícím se k procesům DNA sekvenování a fragmentační analýzy, které vyplývají z U. S. patentů nyní nebo následně vlastněných či licencovatelných společností Applied Biosystems, pro něž je tato autorizace požadována, a k souvisejícím nárokům jiných subjektů, pro něž je tato autorizace požadována. Průběžné licenční poplatky lze zakoupit od společnosti Applied Biosystems nebo získat používáním autorizovaných reagensů zakoupených od autorizovaných distributorů v souladu s licenčními právy, vztahujícími se k těmto reagensům. Koupě přístroje sama o sobě nepředstavuje udělení úplné licence uživateli nebo práva provádět výše zmíněné procesy. Tento přístroj je rovněž licencován k použití podle patentů U.S. Patent č. 5,171,534 a ve vztahu k z něho vyplývajícím souvisejícím nárokům jiných subjektů. Další informace týkající se licencí podá Director of Licensing at Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

#### **UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍHO:**

Prodejní cena genetického analyzátoru Applied Biosystems 3130/3130xl zahrnuje udělení omezené nepřenosné licence podle patentů U.S. Patent č. 5,567,292 a k z něho vyplývajícím metodickým nárokům jiných subjektů a podle patentů U.S. Patent č. 6,358,385 a k z něho vyplývajícím nárokům jiných subjektů, vztahujících se k součástem, pro použití tohoto přístroje pro provádění metod elektroforetické separace za použití fluorescence jako metody detekce. Žádné další licence ani práva nejsou tímto uděleny, ať již výslovně nebo nepřímě, včetně, ale nikoliv výhradně nároků k narovnání.

Součástí genetických analyzátorů Applied Biosystems 3130 a 3130xl je patentovaná technologie, licencovaná od společnosti Hitachi, Ltd. v rámci strategického partnerství Applied Biosystems a Hitachi, Ltd., a patentovaná technologie Applied Biosystems.

#### **Obchodní známky**

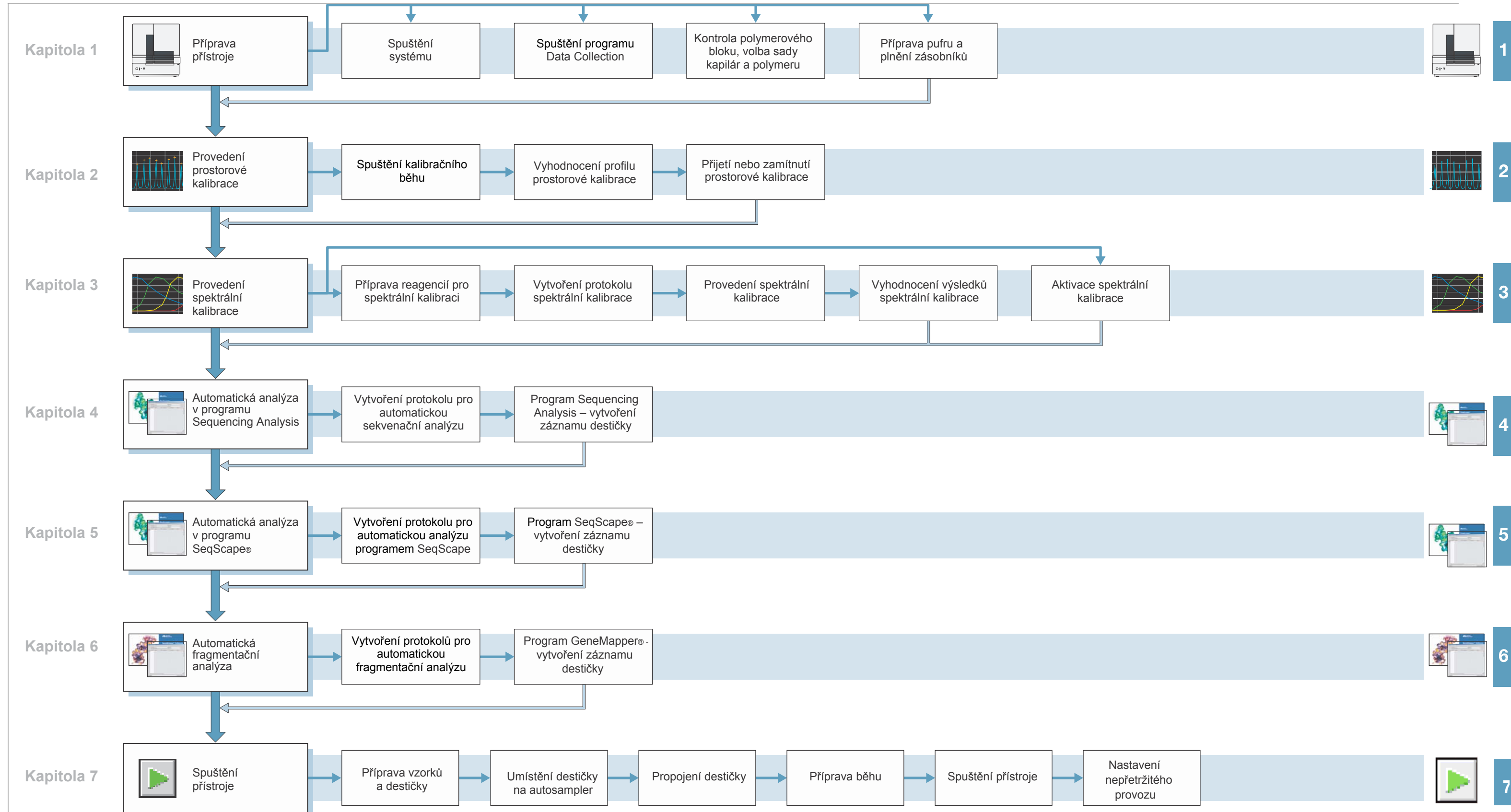
Applied Biosystems, AmpFISTR, BigDye, Cofiler, GeneMapper, Identifiler, Profiler, Profiler Plus ID, SeqScape, SGM Plus, SNaPshot a StockMarks jsou registrované obchodní známky a AB (Design), Applera, Hi-Di, KB, POP, POP-4, POP-6, POP-7, SEfiler a Yfiler jsou obchodní známky společnosti Applera Corporation nebo jejich poboček v USA a/nebo v jiných zemích.

Dell je registrovaná obchodní známka společnosti Dell Computer Corporation.

Microsoft, Windows a Windows XP jsou registrované obchodní známky společnosti Microsoft Corporation v USA a jiných zemích.

Oracle je registrovaná obchodní známka společnosti Oracle Corporation.

Všechny ostatní obchodní známky jsou výhradním vlastnictvím svých oprávněných majitelů.





# Obsah

	<b>Úvodem</b>	<b>ix</b>
	Jak používat tuto příručku.....	ix
	Kde získat více informací.....	x
	Kde získat pomoc.....	xi
	<b>Bezpečnost</b>	<b>xiii</b>
	Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu.....	xiv
	Symboly na přístrojích.....	xv
	Bezpečnostní označení na přístrojích.....	xvi
	Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem.....	xvii
	Bezpečná manipulace s chemikáliemi.....	xviii
	Bezpečná manipulace s chemickým odpadem.....	xx
	Bezpečná manipulace s elektrickým zařízením.....	xxi
	Pohyblivé součásti.....	xxi
	Bezpečná manipulace s laserem.....	xxi
	Bezpečná práce.....	xxii
	Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC).....	xxiii
<b>Kapitola 1</b>	<b>Příprava přístroje</b>	<b>1</b>
	Popis přístroje.....	2
	Souhrn aplikací.....	3
	Čtečky čárových kódů.....	6
	Spuštění genetického analyzátoru 3130/3130xI.....	7
	Program Data Collection.....	9
	Příprava přístroje.....	11
	Příprava pufry a plnění zásobníků.....	16
<b>Kapitola 2</b>	<b>Provedení prostorové kalibrace</b>	<b>21</b>
	Prostorová kalibrace.....	22
	Vytvoření souboru prostorové kalibrace.....	22
	Vyhodnocení profilu prostorové kalibrace.....	23
	Příklady profilů prostorové kalibrace.....	25

<b>Kapitola 3</b>	<b>Provedení spektrální kalibrace</b>	<b>27</b>
	Spektrální kalibrace.....	28
	Příprava reagensů pro spektrální kalibraci.....	31
	Příprava vzorků do destičky.....	32
	Vytvoření protokolu spektrální kalibrace.....	35
	Provedení spektrální kalibrace.....	37
	Vyhodnocení výsledků spektrální kalibrace.....	43
	Aktivace spektrální kalibrace.....	47
	Příklady přijatelné spektrální kalibrace - sekvenování.....	49
	Příklady přijatelné spektrální kalibrace - fragmentační analýza.....	51
<b>Kapitola 4</b>	<b>Automatická analýza v programu Sequencing Analysis</b>	<b>53</b>
	Program Sequencing Analysis.....	54
	Záznam destičky v programu Sequencing Analysis.....	55
	Vytvoření protokolu pro automatickou analýzu v programu Sequencing Analysis.....	59
	Protokol o analýze v programu Sequencing Analysis.....	62
	Výsledková skupina v programu Sequencing Analysis.....	70
	Vyplnění záznamu destičky v programu Sequencing Analysis.....	77
<b>Kapitola 5</b>	<b>Automatická analýza v programu SeqScape</b>	<b>81</b>
	Program SeqScape.....	82
	Záznam destičky v programu SeqScape.....	83
	Vytvoření protokolu pro automatickou analýzu v programu SeqScape.....	88
	Vyplnění záznamu destičky v programu SeqScape.....	101
<b>Kapitola 6</b>	<b>Automatická fragmentační analýza</b>	<b>105</b>
	Program GeneMapper.....	106
	Záznam destičky v programu GeneMapper.....	108
	Vytvoření protokolu pro automatickou fragmentační analýzu.....	112
	Vyplnění záznamu destičky v programu GeneMapper.....	123
<b>Kapitola 7</b>	<b>Spuštění přístroje</b>	<b>127</b>
	Příprava vzorků a destičky.....	128
	Propojení a odpojení destičky.....	128
	Spuštění přístroje.....	130
	Ovládání běhu.....	133
	Nastavení nepřetržitého běhu.....	134
	Používání funkce Historie běhů.....	145
	Prohlížení výsledků ukončeného běhu v programu Data Collection.....	146

	Zobrazení výsledků automatické extrakce.....	147
	Používání programu Autoanalysis Manager.....	155
	Zobrazení dat po analýze .....	160
<b>Příloha A</b>	<b>Mapování destičky</b>	<b>161</b>
	Plánování nástřiku vzorků.....	161
	Mapa sady kapilár.....	161
	Mapování 96-jamkové destičky.....	162
	Mapování 384-jamkové destičky.....	163
	<b>Rejstřík</b>	<b>165</b>





## Jak používat tuto příručku

- Účel této příručky** *Uživatelská příručka Genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130xl poskytuje návod jak krok za krokem připravit a analyzovat vzorky. Příručka Vám pomůže rychle se naučit používat genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130xl.*
- Komu je určena** Tato příručka je určena vědeckým a ostatním laboratorním pracovníkům, kteří předpokládají, že budou používat a ovládat genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130xl.
- Předpoklady** Tato příručka předpokládá, že máte následující znalosti:
- Jste obeznámeni s operačním systémem Microsoft® Windows® XP.
  - Máte všeobecné znalosti týkající se manipulace se vzorky DNA a jejich přípravou pro elektroforézu.
  - Máte všeobecné znalosti týkající se pevných disků, ukládání dat, přenosů a kopírování souborů.
- Pokud chcete genetické analyzátorů 3130/3130xl integrovat do počítačové sítě Vaší stávající laboratoře, potřebujete znalosti pro práci se sítí.
- Práce s textem** Tato příručka pracuje s textem následujícím způsobem:
- **Tučně** jsou vyznačeny aktivní zásahy uživatele. Například:  
Napiště **0**, poté stiskněte **Enter** pro každé ze zbývajících polí.
  - *Kurzívou* jsou vyznačena nová nebo důležitá slova a též zdůraznění. Například:  
Před zahájením analýzy si *vždy* připravte čerstvou matici.
  - Znaménko (>) odděluje po sobě následující příkazy, které volíte z rozbalovacích menu nebo nabídek. Například:  
Zvolte **File > Open > Spot Set**.  
Zvolte řádek kliknutím pravým tlačítkem myši, následně zvolte **View Filter > View All Runs**.
- Upozornění pro uživatele** V dokumentaci Applied Biosystems se používají dvě slova pro upozornění uživatele. Každé slovo vyžaduje určitou míru pozornosti nebo aktivity jak je popsáno níže:
- **Poznámka (Note)** – Poskytuje informace, které mohou být zajímavé nebo nápomocné, ale které nejsou kritické z hlediska používání přístroje.
  - **DŮLEŽITÉ! (IMPORTANT!)** – Poskytuje informace, které jsou nezbytné pro správné ovládání přístroje, používání reagentů nebo bezpečné používání chemikálií.

Příklady upozornění uživatele:

---

Poznámka: Velikost kolony má vliv na dobu trvání separace.

---

---

**DŮLEŽITÉ!** Chcete-li ověřit propojení s databází, potřebujete platné uživatelské jméno a heslo do databáze Oracle.

---

**Výstražná upozornění** Součástí uživatelské dokumentace jsou i výstražná upozornění. Podrobněji viz [“Výstražná upozornění” na straně xiv](#).

## Kde získat více informací

**Související dokumentace** Součástí dodávky systému jsou i následující související dokumenty:

- *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů (Applied Biosystems 3130/ 3130xl Genetic Analyzers Maintenance, Troubleshooting, and Reference Guide P/N 4352716)* – Obsahuje informace o údržbě přístroje a počítače, návody na diagnostiku možných provozních problémů a přehledy pro rychlou orientaci.
- *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – příprava místa (Applied Biosystems 3130/ 3130xl Genetic Analyzers Site Preparation Guide P/N 4352717)* – Obsahuje informace o nárocích systému na umístění, ve vztahu k životnímu prostředí a pro připojení do elektrické sítě.
- *DNA Analyzátoři Applied Biosystems 3730/3730xl a Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl - AB Navigator Software Administrator (P/N 4359472)* – Obsahuje informace a postupy pro správu a údržbu počítačového systému a souborů genetických analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130xl.
- *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – Stručný manuál uživatele (Applied Biosystems 3130/ 3130xl Genetic Analyzers Quick Reference Card P/N 4362825)* – Obsahuje schéma jak analyzovat vzorky a ovládat přístroj, popis jednotlivých kroků údržby a návod na používání programu pro sběr dat (program Data Collection).

---

Poznámka: Další dokumentace viz [“Kde získat pomoc” na straně xi](#).

---

**Pošlete nám Vaše návrhy** V Applied Biosystems vítáme Vaše komentáře a návrhy na zlepšení uživatelské dokumentace. Své připomínky můžete poslat na adresu:

[techpubs@appliedbiosystems.com](mailto:techpubs@appliedbiosystems.com)

## Kde získat pomoc

Nejaktuálnější služby a informace Technické podpory (Support) naleznete na adrese <http://www.appliedbiosystems.com>, kde klikněte na odkaz **Support**.

Na stránkách technické podpory můžete:

- Prohledávat často kladené otázky - Frequently asked questions (FAQs)
- Přímou položit dotaz Technické podpore
- Objednat uživatelské dokumenty Applied Biosystems, bezpečnostní listy (MSDS), certifikáty o analýze a další související dokumenty
- Stahovat dokumenty ve formátu PDF
- Získat informace o školení pro zákazníky
- Stahovat programové aktualizace a opravné balíčky

Kromě toho naleznete na stránkách technické podpory i telefonní a faxová čísla všech oddělení Technické podpory a prodejních poboček Applied Biosystems.



# Bezpečnost

Tato část se týká bezpečnosti a popisuje:

Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu .....	xiv
Symbole na přístrojích .....	xv
Bezpečnostní označení na přístrojích.....	xvi
Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem .....	xvii
Bezpečná manipulace s chemikáliemi .....	xviii
Bezpečná manipulace s chemickým odpadem.....	xx
Bezpečná manipulace s elektrickým zařízením .....	xxi
Pohyblivé součásti .....	xxi
Bezpečná manipulace s laserem .....	xxi
Bezpečná práce .....	xxii
Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC).....	xxiii

## Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu


**Výstražná upozornění** V uživatelské dokumentaci Applied Biosystems jsou používána čtyři výstražná upozornění, a to na těch místech dokumentů, kde je zapotřebí upozornit na odpovídající rizika. Každé z těchto slov – **DŮLEŽITÉ (IMPORTANT)**, **VAROVÁNÍ (CAUTION)**, **VÝSTRAHA (WARNING)**, **NEBEZPEČÍ (DANGER)** – vyžaduje potřebu určité úrovně pozornosti nebo aktivity jak je popsáno níže:

### Definice


---

**DŮLEŽITÉ! (IMPORTANT!)** – Poskytuje informace, které jsou nezbytné pro správné ovládání přístroje, používání reagentů nebo bezpečné používání chemikálií.


---

 **CAUTION** – **VAROVÁNÍ** Indikuje potenciálně nebezpečnou situaci, která, pokud se jí nevyhnete, může vést k malému nebo středně těžkému zranění. Lze též použít jako varování před nebezpečnými činnostmi.

---

 **WARNING** – **VÝSTRAHA** Indikuje potenciálně nebezpečnou situaci, která, pokud se jí nevyhnete, může způsobit smrt nebo těžké zranění.

---

 **DANGER** – **NEBEZPEČÍ** Indikuje bezprostřední nebezpečnou situaci, která, pokud se jí nevyhnete, způsobí smrt nebo vážné zranění. Používání tohoto výstražného upozornění je omezeno jen na nejzávažnější situace.

---

Vyjma **DŮLEŽITÉ! (IMPORTANT)** se každé výstražné upozornění v dokumentaci Applied Biosystems objevuje spolu s bezpečnostními symboly ve výstražném trojúhelníku. *Tyto výstražné symboly jsou totožné se symboly na přístrojích Applied Biosystems (viz “Symboly na přístrojích” na straně xvi).*

## Příklady

Níže jsou uvedeny příklady použití výstražných upozornění:

**DŮLEŽITÉ!** Pro každou 96ti-jamkovou mikrodestičku musíte vytvořit samostatný seznam vzorků.



**CAUTION** Lampa je velmi horká. Nedotýkejte se lampy dokud nevychladne na pokojovou teplotu.



**WARNING CHEMICKÉ RIZIKO. Formamid.** Expozice vede k podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Možné riziko vývojových vad a poškození plodu. Přečtěte si bezpečnostní list a dodržujte pokyny při manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.










**DANGER ELEKTRICKÉ RIZIKO.** Nesprávně uzemněný přístroj může způsobit úraz elektrickým proudem. Uzemněte přístroj podle připojeného návodu.

## Symboly na přístrojích






### Elektrické symboly na přístrojích

Následující tabulka popisuje elektrické symboly, které mohou být použity na přístrojích Applied Biosystems.

Symbol	Popis
	Označuje polohu hlavního vypínače <b>Zapnuto</b> .
	Označuje polohu hlavního vypínače <b>Vypnuto</b> .
	Označuje polohu hlavního vypínače <b>Zapnuto/Vypnuto</b> (týká se vypínače, který se ovládá stlačením).
	Svorka uzemnění. Neslouží jako ochranná svorka.
	Ochranná svorka - označuje chráněný uzemněný výstup, který musí být uzemněn předtím, než je provedeno jakékoliv jiné elektrické připojení přístroje (připojení hlavního ochranného vodiče).
	Označuje výstup, který může být připojen na střídavý napájecí zdroj.
	Označuje výstup, který může být připojen na střídavý nebo stejnosměrný napájecí zdroj.

## Bezpečnostní symboly

Následující tabulka popisuje bezpečnostní symboly, které mohou být použity na přístrojích Applied Biosystems. Každý symbol může být použit sám o sobě nebo v kombinaci s textem, který vysvětluje případné riziko (viz [“Bezpečnostní označení na přístrojích”](#) na straně xvi). Tyto bezpečnostní symboly se mohou rovněž objevit v textu tohoto nebo dalších dokumentů vedle označení DANGER (NEBEZPEČÍ), WARNING (VÝSTRAHA) a CAUTION (VAROVÁNÍ).

Symbol	Popis
	Indikuje, že byste měli získat další informace z manuálu a pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje možný úraz elektrickým proudem a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje horký povrch nebo jiné riziko související s vysokou teplotou a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje přítomnost laseru a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje přítomnost pohyblivých součástí a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.

## Bezpečnostní označení na přístrojích

Následující prohlášení CAUTION (VAROVÁNÍ), WARNING (VÝSTRAHA) a DANGER (NEBEZPEČÍ) mohou být použity na přístrojích Applied Biosystems v kombinaci s bezpečnostními symboly popsány v předchozí části.

Anglicky	Česky
<b>CAUTION</b> Hazardous chemicals. Read the Material Safety Data Sheets (MSDSs) before handling.	<b>VAROVÁNÍ</b> Nebezpečná chemikálie. Před použitím čtěte bezpečnostní list (MSDS).
<b>CAUTION</b> Hazardous waste. Read the waste profile (if any) in the site preparation guide for this instrument before handling or disposal.	<b>VAROVÁNÍ</b> Nebezpečný odpad. Před manipulací nebo likvidací čtěte informace o odpadu (jsou-li) v návodu na přípravu místa.
<b>CAUTION</b> Hazardous waste. Refer to MSDS(s) and local regulations for handling and disposal.	<b>VAROVÁNÍ</b> Nebezpečný odpad. Při manipulaci a likvidaci postupujte podle pokynů v bezpečnostním listu a místních předpisů.
<b>WARNING</b> Hot lamp.	<b>VÝSTRAHA</b> Horká lampa.
<b>WARNING</b> Hot. Replace lamp with an Applied Biosystems lamp.	<b>VÝSTRAHA</b> Horké. Zaměňte lampu za lampu Applied Biosystems.
<b>CAUTION</b> Hot surface.	<b>VAROVÁNÍ</b> Horký povrch.
<b>DANGER</b> High voltage.	<b>NEBEZPEČÍ</b> Vysoké napětí.



Anglicky	Česky
<b>WARNING</b> To reduce the chance of electrical shock, do not remove covers that require tool access. No user-serviceable parts are inside. Refer servicing to Applied Biosystems qualified service personnel.	<b>VÝSTRAHA</b> Neodstraňujte kryty, na jejichž odstranění je zapotřebí nástrojů – riziko úrazu elektrickým proudem. Potřeba uživatelských zásahů v prostoru pod krytem je vyloučena. Servis provádí pouze kvalifikovaný technik Applied Biosystems.
<b>DANGER</b> Class 3B laser radiation present when open and interlock defeated. Avoid direct exposure to laser beam.	<b>NEBEZPEČÍ</b> Laserové záření třídy 3B při otevření a vypnutí kontaktní pojistky. Vyhněte se přímému vystavení se laserovému paprsku.
<b>DANGER</b> Class 3B laser radiation when open. Avoid direct exposure to laser beam.	<b>NEBEZPEČÍ</b> Laserové záření třídy 3B při otevření. Vyhněte se přímému vystavení laserovému paprsku.
<b>DANGER</b> Class 2(II) laser radiation present when open and interlock defeated. Do not stare directly into the beam	<b>NEBEZPEČÍ</b> Laserové záření třídy 2(II) při otevření a vypnutí kontaktní pojistky. Chraňte svůj zrak – nedívejte se přímo do paprsku.
<b>DANGER</b> Class 2(II) laser radiation present when open. Do not stare directly into the beam.	<b>NEBEZPEČÍ</b> Laserové záření třídy 2(II) při otevření. Chraňte svůj zrak – nedívejte se přímo do paprsku.
<b>DANGER</b> Class 2(II) LED when open and interlock defeated. Do not stare directly into the beam.	<b>NEBEZPEČÍ</b> Při otevření a vypnutí kontaktní pojistky třída 2(II) LED. Chraňte svůj zrak – nedívejte se přímo do paprsku.
<b>DANGER</b> Class 2(II) LED when open. Do not stare directly into the beam.	<b>NEBEZPEČÍ</b> Při otevření třída 2(II) LED. Chraňte svůj zrak – nedívejte se přímo do paprsku.
<b>CAUTION</b> Moving parts.	<b>VAROVÁNÍ</b> Pohyblivé součásti.

## Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem



**WARNING RIZIKO PORANĚNÍ.** Používejte tento výrobek pouze v souladu s postupy uvedenými v tomto dokumentu. Jiné používání než v souladu s instrukcemi Applied Biosystems může vést ke zranění nebo k poškození přístroje.

Přemísťování  
a zvedání  
přístroje



**CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ.** Přístroj smí přemísťovat pouze osoby nebo dodavatelé uvedení v návodu na přípravu místa. Rozhodnete-li se přístroj přemísťovat nebo zvedat poté co byl instalován, provádějte to vždy v dostatečném počtu osob, za použití příslušného vybavení a odpovídajícím způsobem. Nesprávná manipulace může způsobit bolestivá a trvalá poranění zad. V závislosti na jeho hmotnosti může přemísťování nebo zvedání přístroje vyžadovat dvě a více osob.

Přemísťování  
a zvedání  
počítačů a  
monitorů



Zvedání nebo přenášení počítačů a monitorů provádějte vždy v dostatečném počtu osob. V závislosti na hmotnosti počítače a/nebo monitoru může jejich přemísťování nebo zvedání vyžadovat dvě a více osob.

#### Před zvedáním počítače a/nebo monitoru:

- Ujistěte se, že máte ke zvedání počítače nebo monitoru vhodné nástroje.
- Ujistěte se, že na předpokládané dráze pohybu přenášeného objektu se nenacházejí žádné překážky.
- Při zvedání předmětu se současně neotáčejte.
- Dbejte, aby vaše páteř byla při zvedání předmětu ve stabilní neutrální poloze.
- Všechny zúčastněné osoby musí postup zvedání a přenášení vzájemně koordinovat.
- Nevyjímejte předmět z krabice, namísto toho položte krabici na bok a přidržte ji, zatímco někdo jiný nechá její obsah opatrně vyklouznout ven.

Ovládání  
přístroje

Ujistěte se, že každý kdo ovládá přístroj:

- byl obeznámen s obecnými pravidly bezpečnosti pro práci v laboratoři a zvláštními pravidly bezpečnosti týkajícími se tohoto přístroje.
- četl a pochopil veškeré související bezpečnostní listy (MSDS). Viz „O bezpečnostních listech” na straně xviii.

## Bezpečná manipulace s chemikáliemi

Výstraha –  
chemické riziko



**CHEMICKÉ RIZIKO.** Před manipulací s jakýmkoliv chemikáliemi si prostudujte příslušný bezpečnostní list - Material Safety Data Sheet (MSDS), poskytnutý dodavatelem chemikálie, a řiďte se jeho pokyny.



**CHEMICKÉ RIZIKO.** Veškeré chemikálie nacházející se v přístroji včetně tekutin v hadičkách představují potenciální riziko. Před výměnou reagensů nebo součástí přístroje si vždy zjistěte, jaké chemikálie v něm byly použity. Při práci používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

O bezpečnostních  
listech

Výrobci chemikálií poskytují novým zákazníkům s dodávkou chemikálií bezpečnostní listy. Bezpečnostní list je rovněž poskytnut spolu s dodávkou chemikálií v případě, že byl aktualizován. Bezpečnostní listy obsahují informace, které potřebujete pro bezpečné ukládání, manipulaci, přepravu a odstranění chemikálie. Obdržíte-li s dodávkou chemikálie i bezpečnostní list, vždy jej založte – udržujte tyto listy aktuální.

**Získání bezpečnostního listu** Bezpečnostní listy pro chemikálie dodávané Applied Biosystems získáte vždy od Applied Biosystems. Tato služba je bezplatná a dostupná 24 hodin denně. Chcete-li získat bezpečnostní list:

1. Otevřete stránku <https://docs.appliedbiosystems.com/msdssearch.html>
2. V poli hledání zadejte název chemikálie, katalogové číslo nebo další informaci z bezpečnostního listu, který vás zajímá. Zvolte jazyk, klikněte na Search (Hledat).
3. Zvolte dokument, který vás zajímá, klikněte pravým tlačítkem myši na jeho název a zvolte jednu z následujících možností:
  - Open – Otevření dokumentu
  - Print Target – Vytisknutí dokumentu
  - Save Target As – Stažení dokumentu ve verzi PDF do zvoleného adresáře
4. Chcete-li získat kopii dokumentu faxem nebo emailem, zvolte Fax or Email po levé straně názvu dokumentu ve výsledcích hledání, pak klikněte na RETRIEVE DOCUMENTS (ZÍSKAT DOKUMENTACI) na konci seznamu vyhledaných dokumentů.
5. Po zadání požadovaných informací klikněte na View/Deliver Selected Documents Now (Zobrazit/Stáhnout vybranou dokumentaci).

**Pravidla manipulace s chemikáliemi**

Abyste minimalizovali riziko plynoucí z používání chemikálií musíte:

- Přečíst a pochopit bezpečnostní listy dodávané výrobcem chemikálií, a to ještě před tím, než začnete tyto chemikálie nebo rizikové materiály ukládat nebo s nimi manipulovat či pracovat. (Viz “O bezpečnostních listech” na straně xviii.)
- Minimalizujte kontakt s chemikáliemi. Používejte odpovídající osobní ochranné pomůcky pro práci s chemikáliemi (např. ochranné brýle, rukavice, ochranný oděv). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Minimalizujte inhalaci chemikálií. Neponechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte odpovídající větrání (například digestoř). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Pravidelně kontrolujte, zda nedošlo k vylití nebo rozsypaní chemikálií. Pokud k tomu dojde, postupujte podle čistících procedur doporučených výrobcem chemikálie v bezpečnostním listu.
- Dodržujte všechna místní nebo národní nařízení a předpisy týkající se uchovávání chemikálií, manipulace s nimi a jejich odstraňování.

## Bezpečná manipulace s chemickým odpadem

Výstraha -  
chemické riziko



**CAUTION NEBEZPEČNÝ ODPAD.** Při manipulaci s nebezpečným odpadem a při jeho odstraňování se řiďte pokyny v bezpečnostním listu.



**WARNING NEBEZPEČNÝ ODPAD.** Odpady produkované přístroji Applied Biosystems představují potenciální riziko a mohou způsobit zranění, nemoc nebo smrt.

Pravidla  
manipulace  
s chemickým  
odpadem

Abyste minimalizovali riziko plynoucí z manipulace s chemickým odpadem, musíte:


- Přečíst a pochopit bezpečnostní listy, dodávané výrobcem chemikálií z nichž odpad vzniká, předtím než začnete chemický odpad ukládat, manipulovat s ním nebo ho odstraňovat.
- Mít k dispozici primární i sekundární nádoby na odpad. (Primární nádoba na odpad je pro jeho okamžité shromažďování. Sekundární nádoba na odpad osahuje to co vyteče nebo se vysype z primární nádoby. Obě nádoby musí odpovídat typu ukládaného odpadu a splňovat nařízení místních i národních předpisů.)
- Minimalizovat kontakt s chemikáliemi. Při práci s chemikáliemi používejte odpovídající osobní ochranné pomůcky (např. ochranné brýle, rukavice, ochranný oděv). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Minimalizovat inhalaci chemikálií. Neponechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte odpovídající větrání (například digestoř). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Manipulovat s chemickým odpadem v digestoři.
- Pytle s odpadem zajistit svorkou.
- Odstraňovat odpad z odpadní misky a odstraňovat odpadní láhve v souladu se správnou laboratorní praxí a místními i státními předpisy.


**Odstraňování odpadu** Pokud při práci s přístrojem vznikne potenciálně nebezpečný odpad, musíte:


- Charakterizovat (analyzovat, pokud je to nutné) tento odpad, reagentie a substráty používané ve vaší laboratoři.
- Zajistit ochranu zdraví a bezpečnost všech pracovníků vaší laboratoře.
- Zajistit, že odpad z přístroje je ukládán, přenášen, transportován a odstraňován v souladu se všemi místními i národními předpisy.


**DŮLEŽITÉ!** Radioaktivní nebo biologické odpady mohou vyžadovat zvláštní způsoby zacházení a mohou se na ně vztahovat omezení stran možností jejich odstraňování.

## Bezpečná manipulace s elektrickým zařízením

 **DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM.** Při ovládání genetických analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130x/ bez ochranných krytů může dojít k vážnému úrazu elektrickým proudem. Neodstraňujte kryty přístroje. Po jejich odstranění je možný přístup ke zdrojům vysokého napětí.


Zdroj  **DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM.** Pro bezpečný provoz zařízení je nezbytné jeho uzemnění. Nikdy nepoužívejte přístroj, který není správným způsobem uzemněn.

 **DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM.** Používejte pouze schválené elektrické kabely odpovídající napětí ve vaší elektrické síti.

 **DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM.** Připojte přístroj pouze do uzemněné zásuvky s odpovídajícím elektrickým proudem.

Vysoké napětí Genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130x/ spadají do třídy II (přepětí) a jsou klasifikovány jako přenosné přístroje.

## Pohyblivé součásti

Pohyblivé součásti  **WARNING RIZIKO PORANĚNÍ.** Pohyblivé součásti se mohou zlomit či jinak poškodit. Při ovládání přístroje nesahejte na pohyblivé součásti. Před servisním zásahem vypojte přístroj ze sítě.

## Bezpečná manipulace s laserem

Laser Genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130x/ používají argonový laser. Za normálních provozních podmínek se jedná o laser třídy I. Jsou-li během určitých servisních zásahů vyřazeny z činnosti kontaktní pojistky, může laser způsobit trvalé poškození zraku a je tudíž za těchto podmínek zařazen jako laser třídy 3B.

Genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130x/ byly testovány podle a odpovídají požadavkům nařízení 21 CFR, 1040.10 a 1040.11.

Genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130x/ byly testovány podle a odpovídají požadavkům nařízení EN60825-1, "Bezpečnost laserových zařízení – Část 1: Klasifikace zařízení, požadavky a pokyny pro používání."

## Pravidla manipulace s laserem

Pro bezpečný provoz laseru:

- Systém musí být instalován a udržován servisním technikem Applied Biosystems.
- Je-li přístroj v provozu, musí být všechny ochranné kryty na svých místech. V případě, že jsou všechny kryty na svých místech, žádné záření nelze detekovat. Je-li kterýkoliv z krytů sejmuto během provozu laseru (v případě servisu při vypnutí kontaktních pojistek), vystavujete se možnosti expozice laseru třídy 3B.
- Neodstraňujte bezpečnostní označení nebo nevypínejte kontaktní pojistky.

## Další informace k bezpečnému provozu laseru

Další informace týkající se bezpečnostních předpisů naleznete v uživatelské dokumentaci, poskytnuté společně s laserem.



**WARNING**

**NEBEZPEČÍ LASEROVÉHO ZÁŘENÍ.** Laser může trvale poškodit sítnici. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku. Odstraňte šperky a další předměty, které mohou odrážet paprsek do vašich očí. Neodstraňujte svrchní nebo boční kryty přístroje. Používejte odpovídající prostředky ochrany očí a v případě odstranění krytů během servisního zásahu na vstup do laboratoře umístěte varování o přítomnosti laseru.



**WARNING**

**NEBEZPEČÍ POPÁLENÍ LASEROVÝM PAPSREM.** Je-li v kontaktu s kůží může přehřátý laserový paprsek způsobit těžké popáleniny. NIKDY nepoužívejte laser pokud nemůže být ochlazován ventilátorem. Vždy používejte ochranné pomůcky pro práci s laserem.

## Bezpečná práce

Správná ergonomie vašeho pracovního místa může snížit nebo eliminovat únavu, bolest a námahu. Tyto průvodní jevy můžete omezit nebo odstranit takovým umístěním vašeho systému, které umožní jeho pohodlné ovládání.



**CAUTION**

**NEBEZPEČÍ SVALOVÉHO PORANĚNÍ.** Toto nebezpečí je způsobeno např. ale nikoliv výlučně opakovanými pohyby, nevhodným umístěním, vysokou namáhavostí, udržováním těla ve statických pozicích, tlakem a dalšími faktory.

Abyste toto nebezpečí snížili:

- Používejte zařízení, které vám umožní pracovat v neutrálních pozicích s dobrou dostupností klávesnice, monitoru a myši.
- Umístěte klávesnici, myš a monitor tak, aby byla umožněná relaxovaná poloha hlavy a těla.

## Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC)

Tato část obsahuje informace o:

- [Bezpečnostních předpisech v USA a Kanadě](#)
- [Kanadských normách EMC](#)
- [Evropských bezpečnostních předpisech a normách EMC](#)
- [Australských normách EMC](#)

Bezpečnostní předpisy v USA a Kanadě



Tento přístroj byl testován podle normy UL 3101-1 “Safety Requirements for Electrical Equipment for Laboratory Use, Part 1: General Requirements” a splňuje její požadavky.

Tento přístroj byl testován podle normy CSA 1010.1 “Safety Requirements for Electrical Equipment for Measurement, Control, and Laboratory Use, Part 1: General Requirements” a splňuje její požadavky.

Kanadské normy EMC

Tento přístroj byl testován podle normy ICES-001, Issue 3: “Industrial, Scientific, and Medical Radio Frequency Generators“ a splňuje její požadavky.

Evropské bezpečnostní předpisy a normy EMC



Bezpečnost

Tento přístroj splňuje bezpečnostní požadavky evropské Směrnice pro nízké napětí 73/23/EEC. Tento přístroj byl testován podle norem EN 61010-1:2001 “Bezpečnostní požadavky na elektrické měřicí, řídicí a laboratorní zařízení, část 1: Obecné požadavky” a EN 61010-2-010 “Zvláštní požadavky pro laboratorní zařízení pro ohřev materiálu” a splňuje jejich požadavky.

EMC

Tento přístroj splňuje požadavky směrnice Rady Evropské unie pro elektromagnetické rušení a odolnost vůči němu (EMC směrnice 89/336/EEC). Tento přístroj byl testován podle normy EN 61326 (Třída B) “Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití – požadavky EMC”.

Australské normy EMC

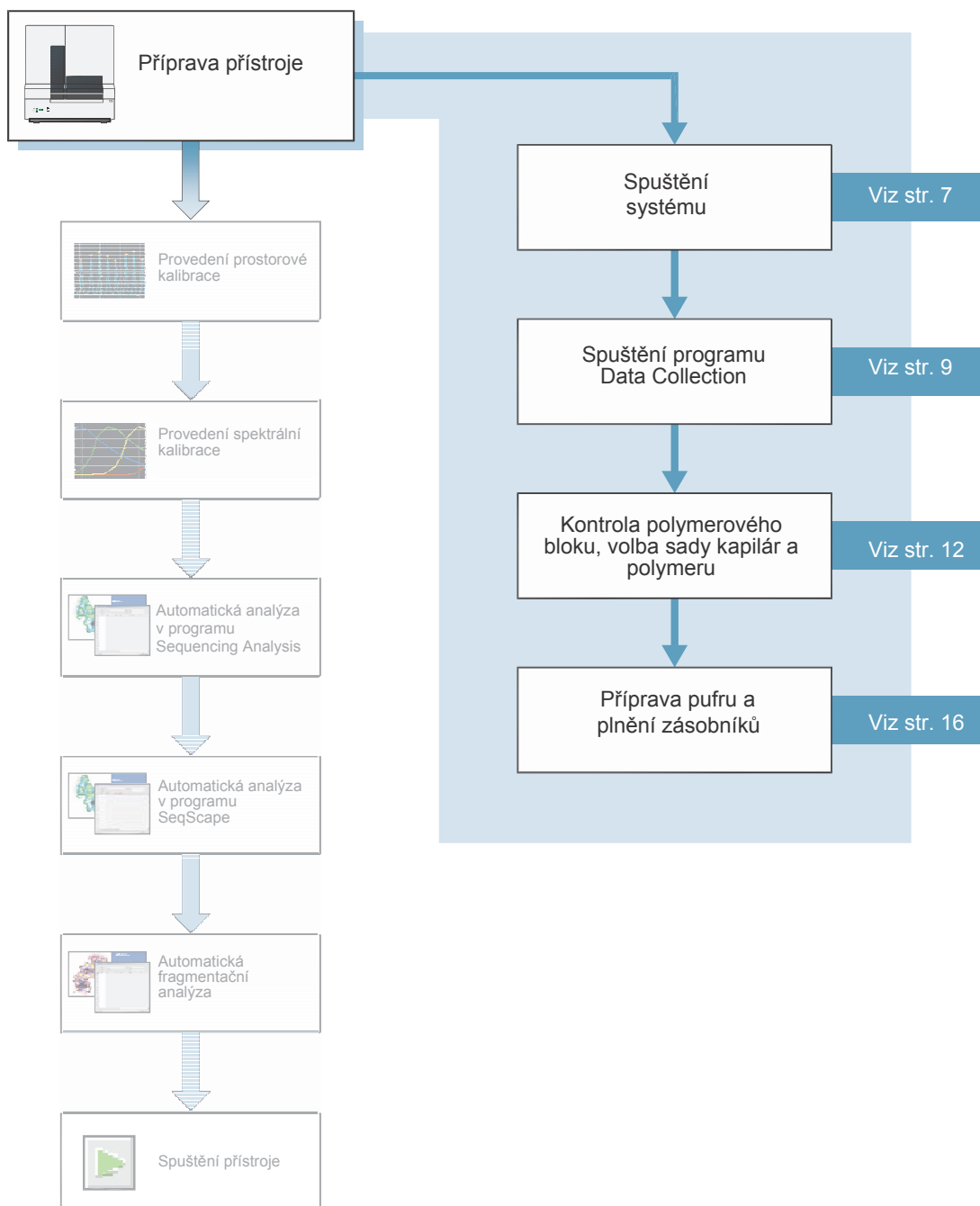
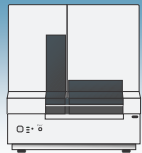


Tento přístroj byl testován podle normy AS/NZS 2064 “Limits and Methods Measurement of Electromagnetic Disturbance Characteristics of Industrial, Scientific, and Medical (ISM) Radio-frequency Equipment” a splňuje její požadavky.

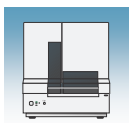




# Příprava přístroje

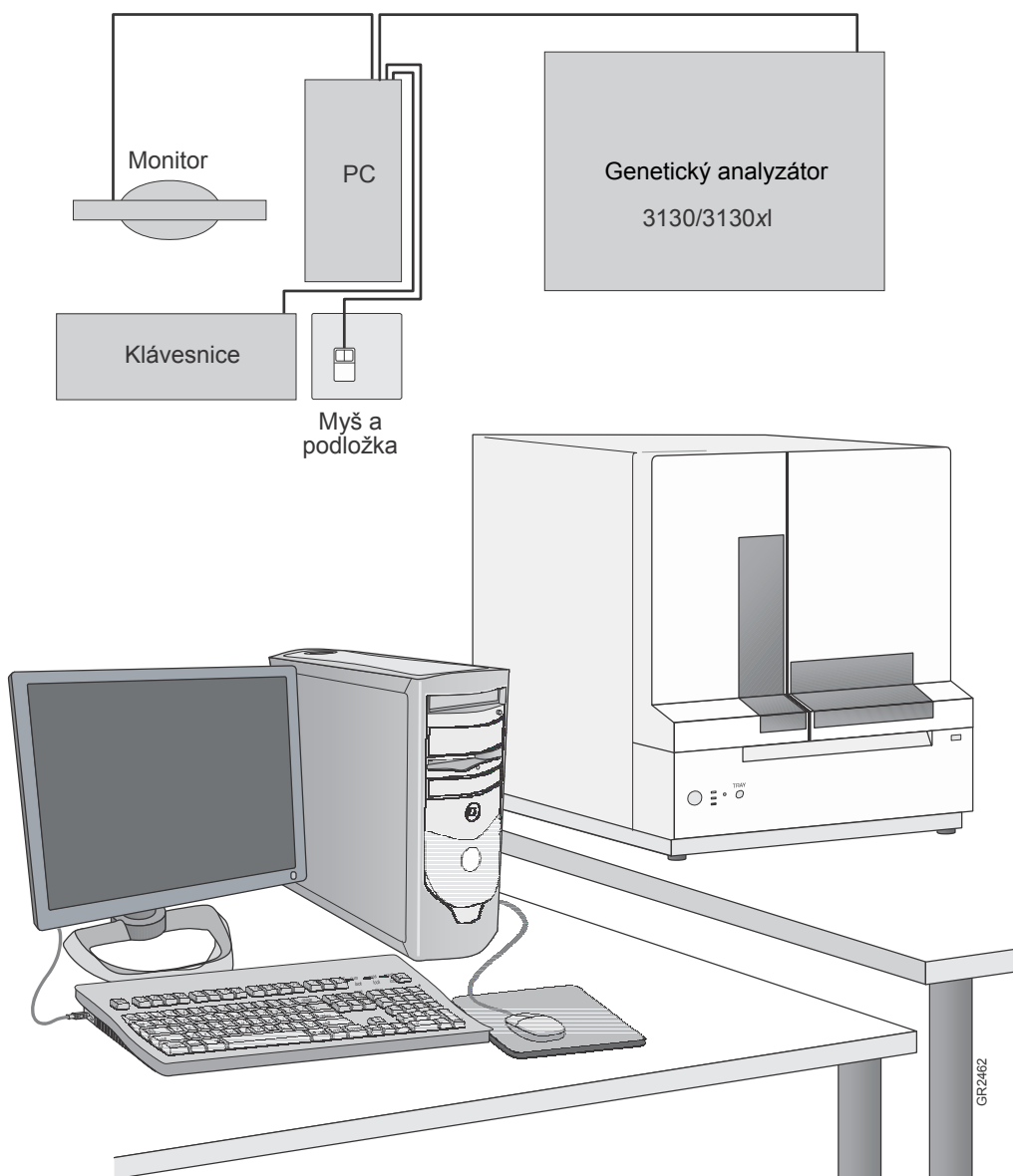


Poznámky \_\_\_\_\_



## Popis přístroje

**Rozvržení součástí přístroje** Typické rozvržení jednotlivých součástí přístroje je znázorněno na následujícím obrázku.



Poznámky \_\_\_\_\_



## Souhrn aplikací

### Rozlišení a specifikace sekvenování

Z následující tabulky zvolte sadu kapilár a polymer, které nejlépe splňují vaše požadavky na rozlišení a specifikace.

Typ běhu	Délka kapiláry (cm)	Typ polymeru	Modul	Doba běhu (min)	Počet vzorků za 24 hod		KB Basecaller QV <sub>20</sub> LOR <sup>a b</sup>
					3130 Genetický analyzátor	3130xI Genetický analyzátor	
Ultrarychlý (Ultra rapid)	36	POP-4™	UltraSeq36_POP4	40	144	576	400
		POP-7™	UltraSeq36_POP7	35	164	656	500
Rychlý (Rapid)	36	POP-6™	RapidSeq36_POP6	60	96	384	500
		POP-7	RapidSeq36_POP7		96	384	600
Rychlý (Fast)	50	POP-7	FastSeq50_POP7	60	96	384	700
Standard	50	POP-4	StdSeq50_POP4	100	56	224	600
		POP-6	StdSeq50_POP6	150	36	144	600
		POP-7	StdSeq50_POP7	120	48	192	850
Dlouhé čtení (Long read)	80	POP-4	LongSeq80_POP4	210	24	96	700
		POP-7	LongSeq80_POP7	170	32	128	950

a Parametr Délka čtení (Length of Read - LOR) udává použitelný rozsah vysoce kvalitních neboli s vysokou přesností čtených bází a je stanoven pomocí nástroje KB™ Basecaller v1.2 a jím definovaných ukazatelů kvality - Quality Values (QV). Hodnota LOR se stanovuje pomocí klouzavého okna o délce 20 bází s průměrnou hodnotou QV > 20.

b Rozlišení jednotlivých bází (basecalling) s přesností 98.5%, méně než 2% N.

Poznámky \_\_\_\_\_



### Rozlišení a specifikace fragmentační analýzy

Z následující tabulky zvolte sadu kapilár a polymer, které nejlépe splňují vaše požadavky na rozlišení a specifikace. Podrobnější informace o kapiláře, polymeru a modulu běhu viz “Kity pro fragmentační analýzu a moduly běhu” na straně 5.

Moduly běhu	Délka kapiláry (cm)	Typ polymeru	Doba běhu (min)	Počet GT za 24 hod <sup>a</sup>		Rozlišení (bp)	Specifikace (SD) <sup>b</sup>
				Analyzátor 3130	Analyzátor 3130x/		
<b>Vysokokapacitní analýza malých fragmentů</b>							
FragmentAnalysis22_POP4	22	POP-4	20	5,760	23,040	250	0.15
SNP22_POP4	22		20	5,760	23,040	120	0.50
<b>Standardní fragmentační analýza</b>							
FragmentAnalysis36_POP4	36	POP-4	45	2,560	10,240	500	0.15
HIDFragmentAnalysis36_POP4			45	2,560	10,240	500	0.15
SNP36_POP4			30	3,840	15,360	120	0.50
FragmentAnalysis36_POP7		POP-7	35	3,290	13,170	500	0.15
FragmentAnalysis50_POP4	50	POP-4	65	1,760	7,040	500	0.15
FragmentAnalysis50_POP6		POP-6	90	1,200	4,800	500	0.15
FragmentAnalysis50_POP7		POP-7	50	2,300	9,220	500	0.15

a 20 GT (genotypů)/kapilára/nástřik.

b Rozlišení 1bp s přesností 99.99%.

Poznámky \_\_\_\_\_



### Kity pro frag- mentační analýzu a moduly běhu

Níže uvedená tabulka uvádí typy kitů Applied Biosystems spolu s příslušnými moduly běhu a soubory barev.

Použití / Kit	Modul									
	SNP22_POP4	SNP36_POP4	HTSNP36_POP7	FragmentAnalysis22_POP4	FragmentAnalysis36_POP4	FragmentAnalysis36_POP7	FragmentAnalysis50_POP4	FragmentAnalysis50_POP6	FragmentAnalysis50_POP7	HIDFragmentAnalysis36_POP4
SNaPshot® Multiplex System	E5	E5								
Oligonukleotidy na objednávku				D, F, G5	D, F, G5	D, F, G5	D, F, G5	D, F, G5	D, F, G5	
Linkage Mapping Set (lidský) v2.5				D, G5	D, G5	D, G5	D, G5	D, G5	D, G5	
ABI PRISM® Mouse Mapping Set v1.0				D, G5	D, G5	D, G5	D, G5	D, G5	D, G5	
Stockmarks® kity (pro skot a psi) se 4 barvami					F					
Stockmarks® kit (pro koně) s 5 barvami					G5					
AFLP® kity					F					
AmpF/STR® kity se 4 barvami										F
AmpF/STR kity s 5 barvami										G5

Tabulka kitů AmpF/STR

Kity	HIDFragmentAnalysis 36_POP4
AmpF/STR COfiler® Kit	F
AmpF/STR Profiler Plus® Kit	
AmpF/STR Profiler Plus <i>ID</i> Kit	
AmpF/STR SGM Plus® Kit	
Další AmpF/STR kity se 4 barvami	
AmpF/STR SEfiler™ Kit	G5
AmpF/STR Identifiler® Kit	
AmpF/STR Yfiler™ Kit	
Další AmpF/STR kity s 5 barvami	

Poznámky \_\_\_\_\_

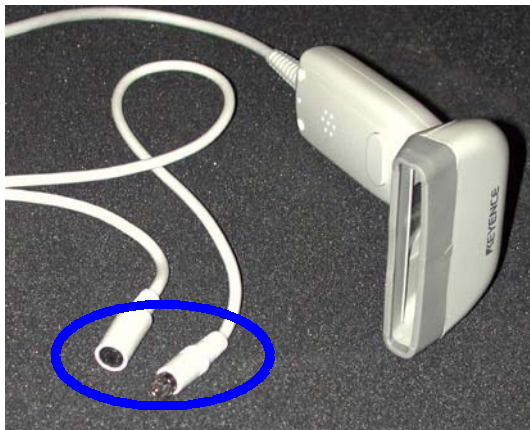


## Čtečky čárových kódů



**NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM.** Před připojením externí čtečky čárových kódů k přístroji vypněte přístroj i počítač.

Externí čtečky  
čárových kódů



Externí čtečku čárových kódů lze použít s oběma typy analyzátorů 3130/3130x/. Pomocí čtečky KEYENCE BL-80VE (viz foto výše) připojené ke klávesnici počítače můžete snímat čárové kódy do libovolných textových polí programu Data Collection. Jako zdroj světla používá tato čtečka LED.

Poznámky \_\_\_\_\_

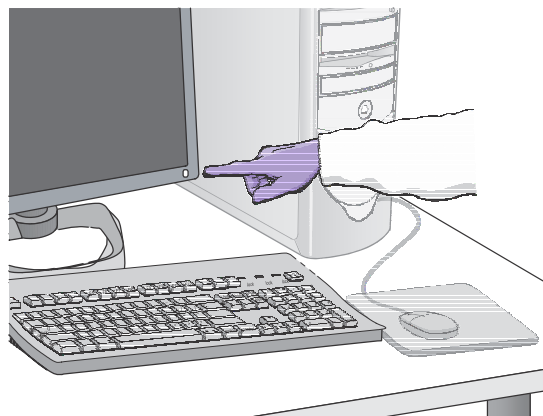


## Spuštění genetického analyzátoru 3130/3130xl

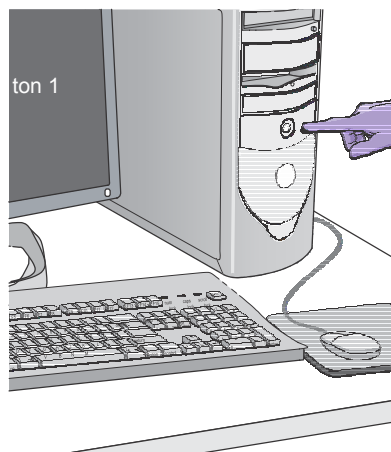
### Spuštění počítače

**DŮLEŽITÉ!** Před spuštěním přístroje musíte zapnout připojený počítač.

1. Zapněte monitor.



2. Zapněte počítač.



3. Pro přihlášení do systému Windows zadejte:

- a. Uživatelské jméno.
- b. Heslo, pokud je požadováno.

**Poznámka:** Je-li počítač připojen do sítě, není pro spuštění přístroje přihlášení do sítě nutné.

- c. Klikněte  .



Poznámky \_\_\_\_\_



## Spuštění genetického analyzátoru 3130/3130xl

1. Ujistěte se, že:
  - Dvířka termostatu jsou uzavřena a zajištěná
  - Dvířka přístroje jsou uzavřena

---

Poznámka: Pokud jsou dvířka během spouštění přístroje otevřena, bude žlutá dioda blikat dokud je nezavřete.

---

2. Ujistěte se, že je zapnutý počítač.

---

Poznámka: Počítač musí být zapnutý, protože analyzátor z něho kopíruje příslušný firmware.

---

3. Spusťte analyzátor stiskem tlačítka zapnout/vypnout na jeho čelním panelu.

---

Poznámka: Během náběhu a sebetestování přístroje bliká žlutá dioda.

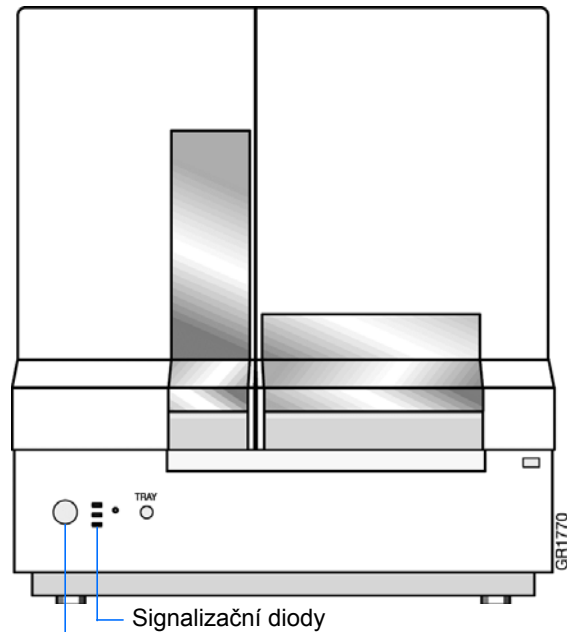
---

4. Před dalším pokračováním se ujistěte, že zelená dioda svítí a neblíká.

---

Poznámka: Pokud se zelená dioda nerozsvítí, spusťte program Data Collection a zobrazte záznam (log). Naleznete jej:  
E:\AppliedBiosystems\UDC\DataCollection\  
Log\Instrument Name

---



Stiskněte tlačítko zapnout/vypnout chcete-li spustit přístroj

Poznámky \_\_\_\_\_



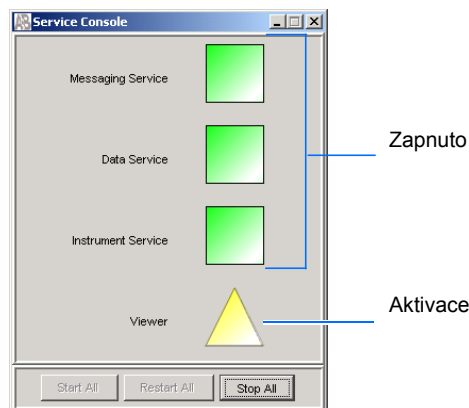


## Program Data Collection

**DŮLEŽITÉ!** Jméno počítače neměňte. Počítači připojenému k přístroji bylo přiděleno unikátní jméno před instalací programu Data Collection. Po instalaci programu Data Collection jméno počítače neměňte. Přejmenování může způsobit špatné fungování programu Data Collection.

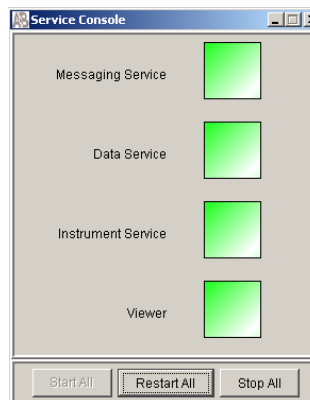
### Spuštění programu 3130/3130x/ Data Collection

1. Zvolte **Start > All Programs > Applied Biosystems > Data Collection > Run 3130 Data Collection v3.0** nebo **Run 3130x/ Data Collection v3.0** – tím otevřete okno Service Console. Všechny aplikace jsou přednastaveny jako vypnuté, což je indikováno červenými kroužky. Aplikace se spustí automaticky jakmile je spuštěn program 3130/3130x/ Data Collection.



Během aktivace každé aplikace se červený kroužek (vypnuto) mění na žlutý trojúhelník (probíhá aktivace) a následně na zelený čtverec (zapnuto), kdy je daná aplikace plně funkční.

Jakmile jsou zapnuty všechny aplikace (všude jsou zobrazeny zelené čtverce – tento proces může trvat několik minut), zobrazí se okno Foundation Data Collection.



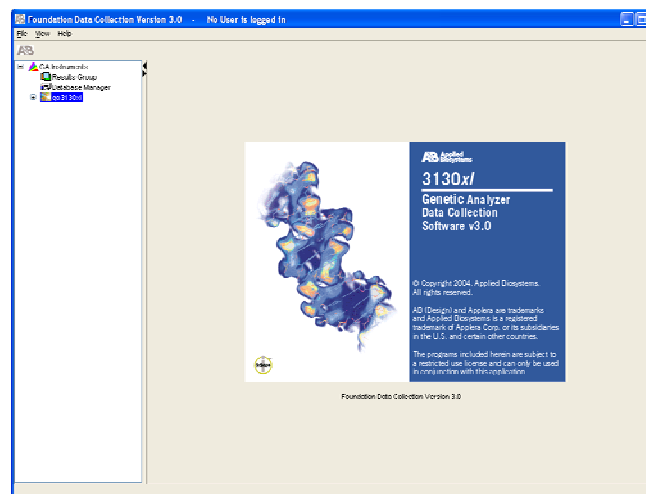
Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Kapitola 1 Příprava přístroje Program Data Collection

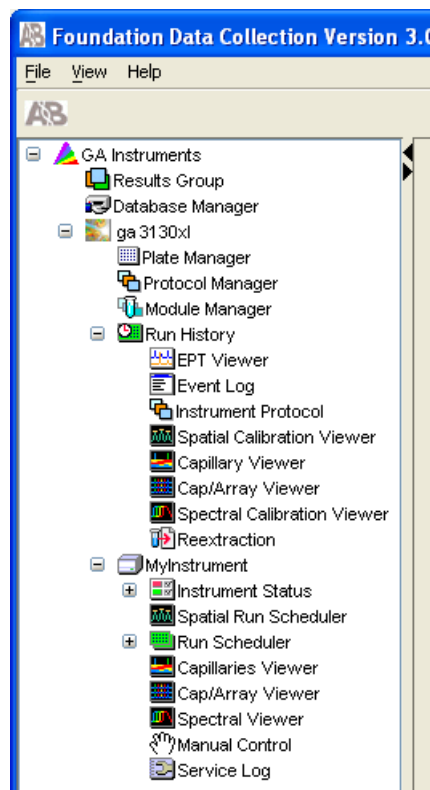
2. Klikněte na symbol + čímž otevřete podadresáře v levém adresářovém okně. Nyní vidíte všechny adresáře aplikací.

Zvolte v tomto okně správce (manager), prohlížeč (viewer) nebo další programová okna.



3. Klikněte + čímž otevřete podadresáře v adresářovém okně. Nyní vidíte všechny adresáře aplikací.

Zvolte v tomto okně správce (manager), prohlížeč (viewer) nebo další programová okna.

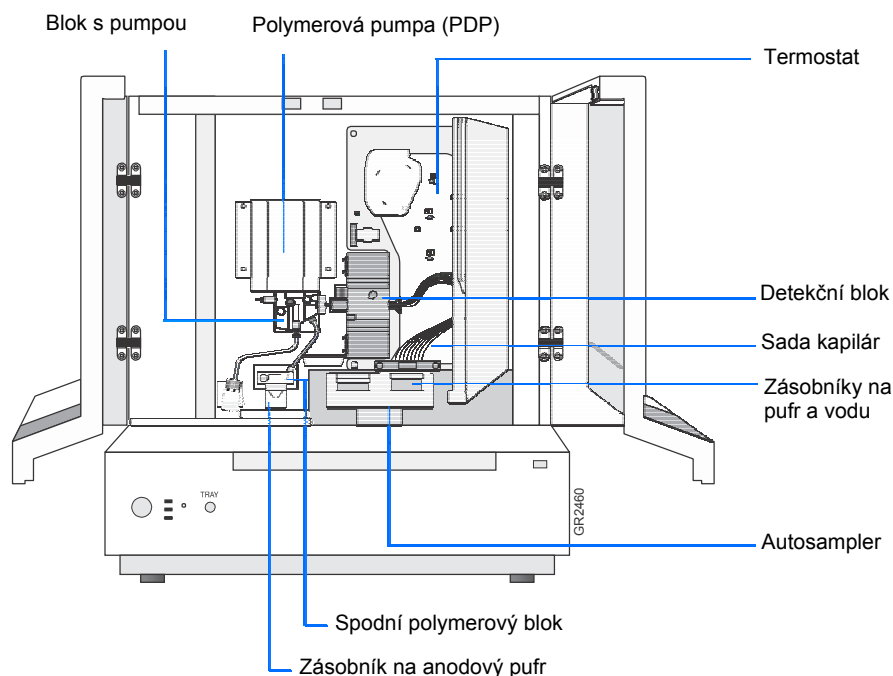


Poznámky \_\_\_\_\_



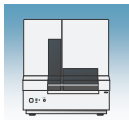
## Příprava přístroje

### Dvířka a vnitřní prostor přístroje



Část	Funkce
Zásobník na anodový pufr	Obsahuje 16 mL 1X separačního pufru.
Zásobníky na pufr a vodu (čtyři)	Každý obsahuje 16 mL 1X separačního pufru nebo vody.
Autosampler	Slouží pro umístění destiček se vzorky a zásobníků a pohybuje jimi tak, aby do nich bylo možné zanoření kapilár.
Sada kapilár	Umožňuje elektroforetickou separaci fluorescenčně značených fragmentů DNA. Je vyměnitelná a skládá se ze 4 nebo 16 kapilár.
Detekční blok a ohříváč	Slouží pro uchycení kapilár v poloze vhodné pro detekci laserem.
Spodní polymerový blok	Obsahuje ventil elektroforetického pufru, anodu a zásobník na anodový pufr.
Termostat	Udržuje stálou teplotu sady kapilár.
Polymerová pumpa (PDP)	Slouží k pumpování polymeru do kapilár a provádění některých kroků údržby.
Blok s pumpou	Obsahuje pumpu, těsnění pístu, úchyt na připojení sady kapilár a propojení do spodního polymerového bloku pomocí propojovací trubičky.

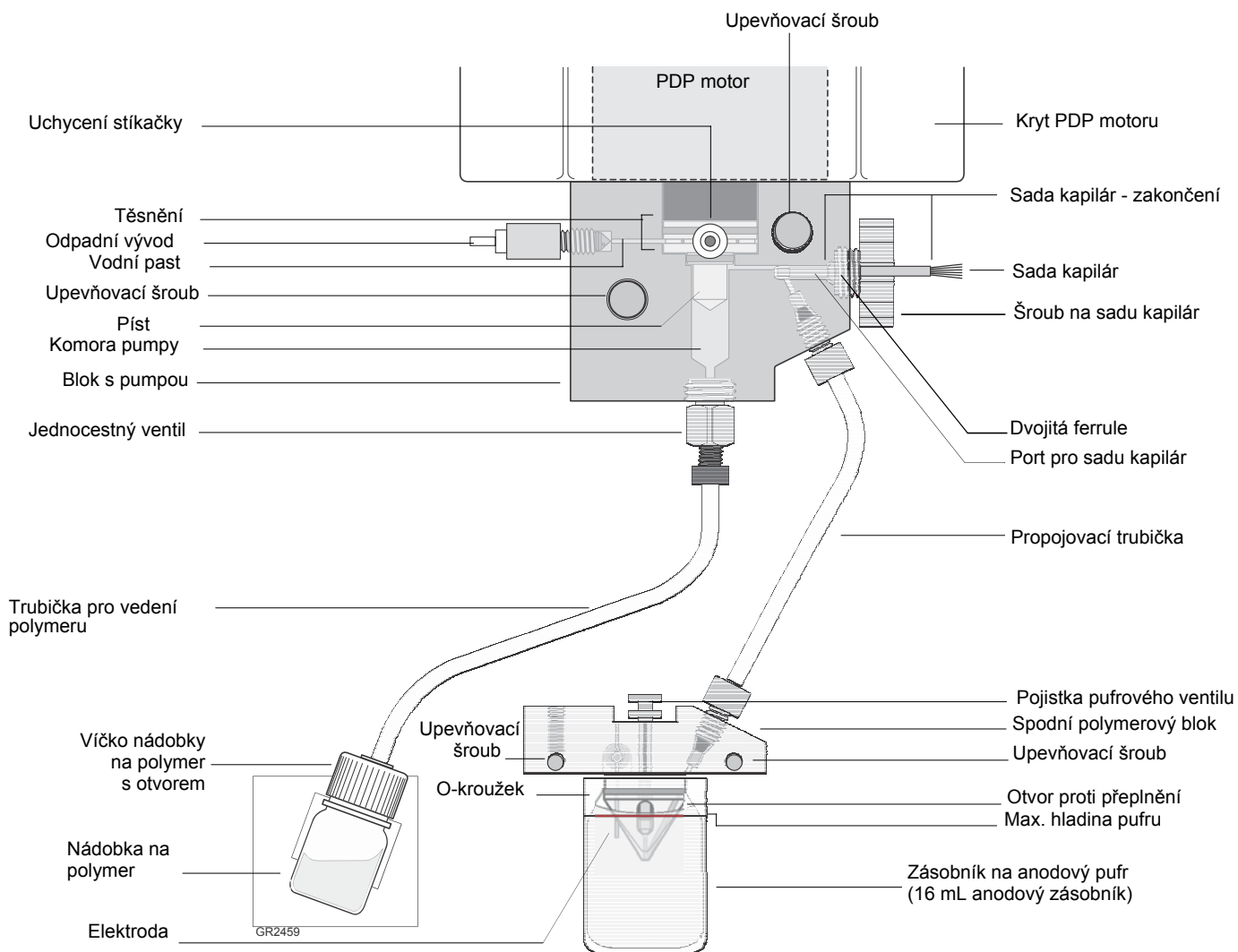
Poznámky \_\_\_\_\_



## Prohlídka přístroje

1. Otevřete dveře přístroje.
2. Proved'te kroky denní údržby - viz Kapitola 1 *Genetické analyzátořy Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.
3. Instalujte čisté misky na zachytávání odkapávajících tekutin.

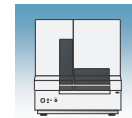
## Polymerová pumpa



Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



## Prohlídka přístroje

1. Otevřete dveře přístroje.
2. Proved'te kroky denní údržby – viz Kapitola 1 *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*, kde naleznete více údajů o údržbě.
3. Instalujte čisté misky na zachytávání odkapávajících tekutin.

## Instalace nebo výměna sady kapilár

**DŮLEŽITÉ!** Pro provedení správné automatické analýzy výsledků je nezbytné, aby délka sady kapilár jak je uvedena v průvodci instalací sady kapilár (Install Array Wizard) odpovídala skutečné délce.

**DŮLEŽITÉ!** Při manipulaci s polymerem, sadou kapilár, septem nebo se zásobníky pufrů používejte rukavice.

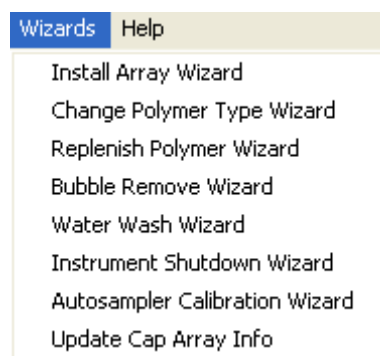


**CAUTION CHEMICKÉ RIZIKO. Polymer POP** může způsobit podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Prosím přečtete si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice. Používejte polymer pouze pro výzkumné a vývojové účely.

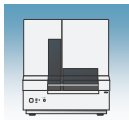
1. Instalujte sadu kapilár kliknutím na <název přístroje>, zvolte **Install Array Wizard** (Průvodce instalací sady kapilár) a postupujte podle pokynů.

**DŮLEŽITÉ!** Chcete-li instalovat nebo vyměnit sadu kapilár, která má odlišnou délku od té, kterou jste používali, musíte aktivovat spektrální kalibraci (viz str. 47) nebo provést znovu spektrální kalibraci pro vaši kombinaci souboru barev a délky sady kapilár (viz str. 37).

2. Volitelné: Zvolte průvodce **Update Cap Array Info** (Aktualizace údajů o sadě kapilár) pokud chcete opravit nebo aktualizovat údaje o sadě kapilár.



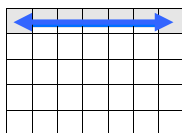
Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Kdy doplnit nebo vyměnit polymer

**DŮLEŽITÉ!** Pokud byl polymer v přístroji déle než týden, vždy jej vyměňte.

Po Út St Čt Pá So Ne



Je-li v přístroji polymer ...	pak ...
méně než jeden týden a je ho dost na dokončení vašich analýz <sup>a</sup>	odstraňte všechny bubliny a pokračujte s přípravou přístroje.
méně než jeden týden a není ho dost na dokončení vašich analýz	použijte čerstvý polymer, postupujte podle průvodce Replenish Polymer Wizard (Průvodce doplněním polymeru).
více než jeden týden	
typu, který nechcete použít (je nutná záměna mezi typy POP-4, POP-6, a/nebo POP-7)	zaměňte polymery postupem podle průvodce Change Polymer Type Wizard (Průvodce změnou typu používaného polymeru).

a Na jeden běh se na genetickém analyzátoru 3130x/ spotřebuje 50 až 80  $\mu$ L polymeru a na genetickém analyzátoru 3130 ~25 až 40  $\mu$ L polymeru.

## Před použitím polymeru

1. Vyměňte polymer z místa jeho uchování při 4 °C.
2. Uvolněte zátku a vyčkejte ohřátí polymeru na pokojovou teplotu.
3. Utáhněte zátku a jemně polymer promíchejte – tím uvolníte usazeniny.

## Doplnění polymeru

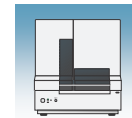
**DŮLEŽITÉ!** Při manipulaci s polymerem, sadou kapilár, septem nebo se zásobníky pufřů používejte rukavice.



**CAUTION CHEMICKÉ RIZIKO.** Polymer POP může způsobit podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Prosím přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice. Používejte polymer pouze pro výzkumné a vývojové účely.

1. Klikněte < **Název přístroje** > v adresářovém okně.

Poznámky \_\_\_\_\_



2. Chcete-li doplnit polymer, zvolte **Wizards > Replenish Polymer Wizard** (Průvodce doplněním polymeru).

**DŮLEŽITÉ!** Typ polymeru tak jak je definován v průvodci musí odpovídat typu polymeru, který skutečně používáte.

## Výměna typu polymeru

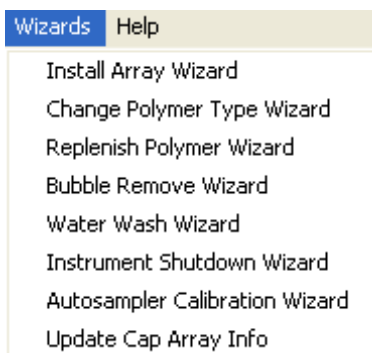
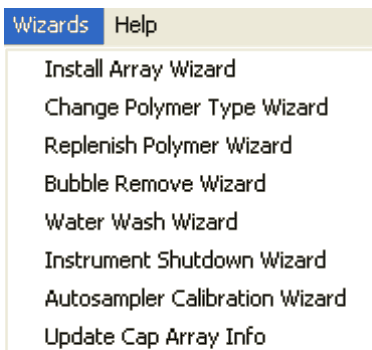
**DŮLEŽITÉ!** Při manipulaci s polymerem, sadou kapilár, septem nebo se zásobníky pufrů používejte rukavice.



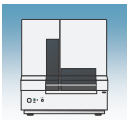
### **CAUTION CHEMICKÉ RIZIKO. Polymer**

**POP** může způsobit podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Prosím přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice. Použitelné pouze pro výzkumné a vývojové účely.

1. Klikněte < **Název přístroje** > v adresářovém okně.
2. Chcete-li změnit typ polymeru, zvolte **Wizards > Change Polymer Type Wizard** (Průvodce změnou typu používaného polymeru).



Poznámky \_\_\_\_\_



## Příprava pufru a plnění zásobníků

### Potřebný materiál



**CAUTION**

**CHEMICKÉ RIZIKO. Puf**

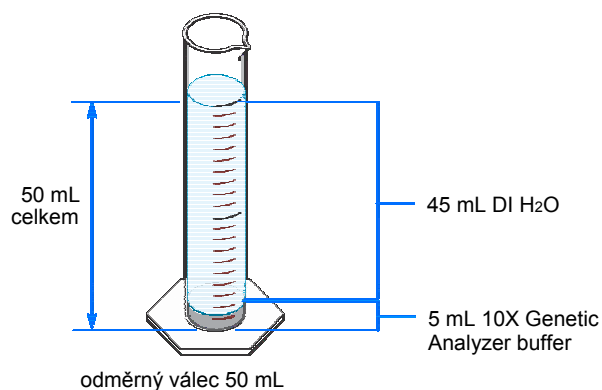
**10X Genetic Analyzer Buffer s EDTA** může způsobit podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Prosím přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

Materiál potřebný k přípravě 1X separačního pufru:

- 10X Genetic Analyzer Buffer (P/N 402824)
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Odměrný válec 50 mL

### Příprava pufru pro jeden běh

1. Odměřte odměrným válcem 5 mL pufru 10X Genetic Analyzer.
2. Doplněte objem vodou na 50 mL celkem.
3. Dobře promíchejte.



### Uchovávání pufru

1X separační pufr lze uchovávat:

- při teplotě 2 až 8 °C po dobu až 1 měsíc
- při pokojové teplotě 1 týden

Podmínky uchovávání pufru	
Možnost A	Možnost B
<p>2 °C až 8 °C</p>	<p>20 °C až 25 °C</p>
<p>Po Út St Čt Pá So Ne</p> <p>1 měsíc</p>	<p>Po Út St Čt Pá So Ne</p> <p>7 dní</p>

Poznámky \_\_\_\_\_





## Výměna pufru a vody

V anodovém a katodovém zásobníku pufrů vyměňujte pufrы denně nebo před každou várkou běhů.

---

**DŮLEŽITÉ!** Opomenete-li vyměnit pufr, může to vést ke ztrátě rozlišení a snížení kvality výsledků.

---

---

**DŮLEŽITÉ!** Při čištění a plnění zásobníků se autosampler dostává do čelní pozice a hroty kapilár zůstávají ve vzduchu. Neoponechávejte autosampler v této poloze příliš dlouhou dobu, neboť kapiláry mohou vyschnout a sada tak může být poškozena.

---

## Plnění zásobníku na vodu a katodový pufr

**DŮLEŽITÉ!** Během níže uvedené procedury i při každé manipulaci se sadou kapilár, septem nebo zásobníky pufrů používejte rukavice.

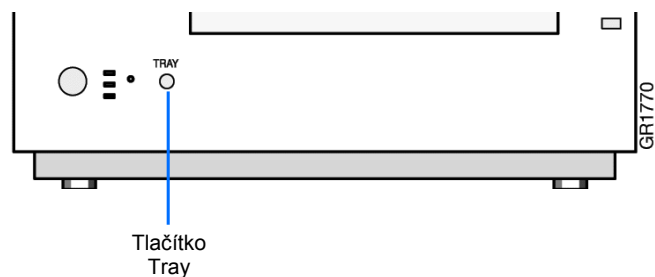


**CAUTION**

**CHEMICKÉ RIZIKO. Pufr 1X Genetic Analyzer Buffer s EDTA** může způsobit podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Prosím přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

---

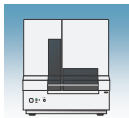
1. Ověřte, že dvířka termostatu i přístroje jsou uzavřena.
2. Stiskněte tlačítko Tray umístěné zevně přístroje, čímž přesunete autosampler do čelní pozice.
3. Vyčkejte dokud autosampler nezastaví v čelní pozici, poté otevřete dvířka přístroje.



Poznámky \_\_\_\_\_

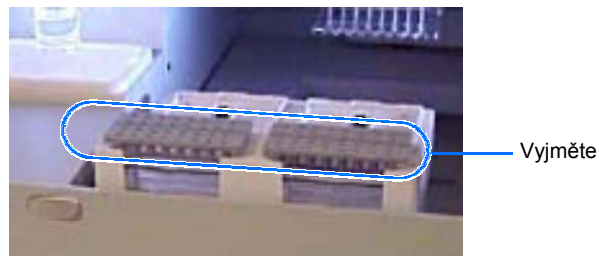
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

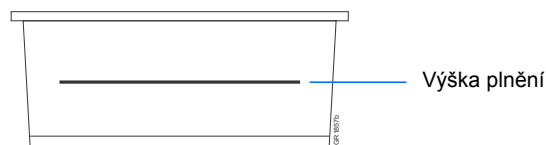


4. Vyjměte z přístroje zásobníky na katodový pufr a vodu.
5. Vylijte zbytky tekutin a propláchněte zásobníky deionizovanou vodou.

**Poznámka:** Při odstraňování tekutin postupujte podle vašich interních předpisů.

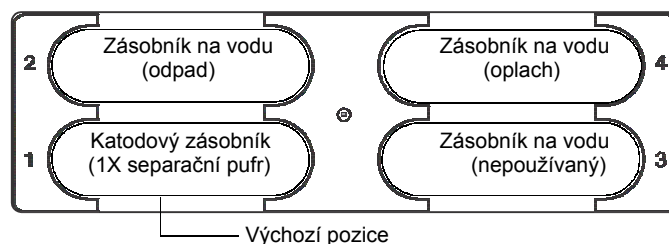


6. Vypláchněte zásobník na katodový pufr 1X separačním pufrem a poté jej 1X separačním pufrem naplňte až po rysku (ca 16 mL).
7. Naplňte dva zásobníky na vodu až po rysku deionizovanou vodou (ca 16 mL).



**CAUTION** Ujistěte se, že septum dobře dosedá na zásobníky, aby nedošlo k poškození hrotů kapilár.

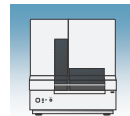
8. Umístěte na každý zásobník čisté septum a vysušte vnější stranu zásobníku pomocí jemného papírového ručníku.
9. Umístěte zásobníky na autosampler podle přiloženého schématu.



10. Uzavřete dvířka přístroje.

**Poznámka:** Uzavření dvířek vrátí autosampler do poslední známé pozice a hroty kapilár jsou spuštěny do vody nebo pufru.

Poznámky \_\_\_\_\_



## Plnění zásobníku na anodový pufr

Vyměňte anodový pufr:

- Každých 24 hod
- Před každým během nebo várkou běhů
- Vždy když doplňujete polymer nebo měníte polymer za polymer jiného typu

### **CAUTION** **CHEMICKÉ RIZIKO. Pufr 1X**

**Genetic Analyzer Buffer s EDTA** může způsobit podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Prosím přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.




1. Vyjměte zásobník na anodový pufr pevným tahem směrem dolů a pomalým otočením.
2. Vhodným způsobem odstraňte použitý pufr..
3. Vyčistěte zásobník a vypláchněte jej deionizovanou vodou a poté pufrém.

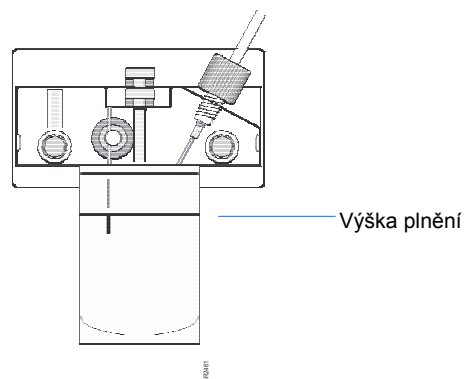
4. Naplňte zásobník na anodový pufr až po rysku čerstvým 1X separačním pufrém (ca 16 mL).

**Poznámka:** Hladina pufru by měla sahat přesně po rysku.

5. Umístěte zásobník na anodový pufr zpět do přístroje.
6. Pokud se zásobník naplní tekutinou, zopakujte tuto proceduru odstranění a výměny separačního pufru.

**Poznámka:** Zásobník se může naplnit při odstraňování bublin.

Výměna anodového pufru		
 Každých 24 hod	 Před každým během nebo várkou běhů	



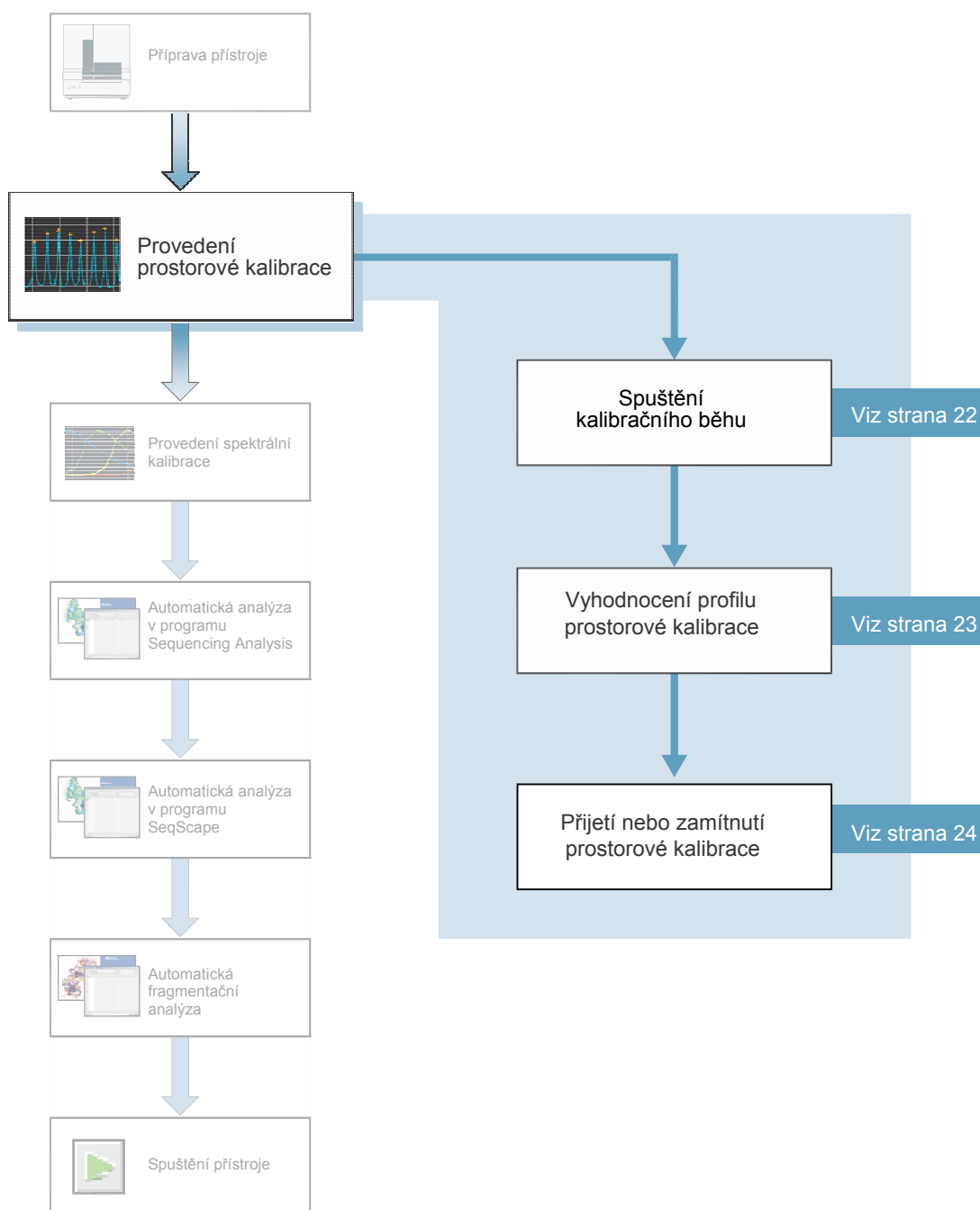
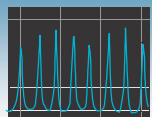
Poznámky \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



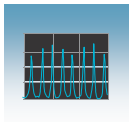
Kapitola 1 Příprava přístroje  
*Příprava pufru a plnění zásobníků*

Poznámky \_\_\_\_\_

# Provedení prostorové kalibrace



Poznámky \_\_\_\_\_



## Prostorová kalibrace

Program Data Collection genetických analyzátorů 3130/3130xl používá obrazy sejmuté během prostorové kalibrace pro odvození vztahu mezi signálem emitovaným každou z kapilár a místem, kam tento signál dopadá a kde je detekován CCD kamerou.

Kdy provádět  
prostorovou  
kalibraci

Prostorovou kalibraci musíte provést, když:

- Instalujete nebo měníte sadu kapilár
- Dočasně vyjímáte sadu kapilár z detekčního bloku
- Přemísťujete přístroj

## Vytvoření souboru prostorové kalibrace

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130 / ga3130xl** > **jméno přístroje** > **Spatial Run Scheduler** (Plánovač běhů prostorové kalibrace).

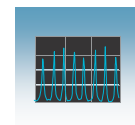
Profil prostorové kalibrace

Pozice (pixel) každé kapiláry

Spustit (Start), Přijmout (Accept) nebo Odmítnout (Reject) profil prostorové kalibrace

Capillary	Position (pixels)	Left spacing	Right spacing
1	11	0	15
2	26	15	16
3	42	16	15
4	57	15	15
5	72	15	15
6	87	15	16
7	103	16	15
8	118	15	16
9	134	16	15
10	149	15	15
11	164	15	16
12	180	16	15
13	195	15	15

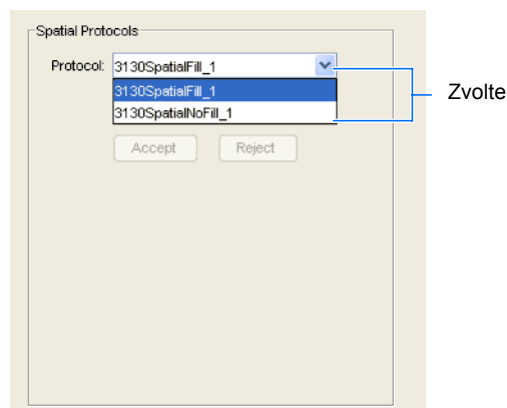
Poznámky \_\_\_\_\_



2. V části Spatial Protocols (Protokoly prostorové kalibrace) zvolte jednu z možností:

- Obsahují-li kapiláry čerstvý polymer, zvolte **Protocol > 3130SpatialNoFill\_1**
- Jinak zvolte **Protocol > 3130SpatialFill\_1**

Poznámka: Při každém provádění prostorové kalibrace není nutné plnit kapiláry.

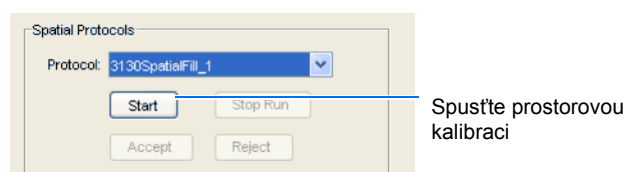


3. Klikněte

Kalibrační běh trvá ca:

- 2 min bez plnění kapilár
- 6 min včetně plnění kapilár

Poznámka: Okno prostorové kalibrace při jejím zahájení zčerná.

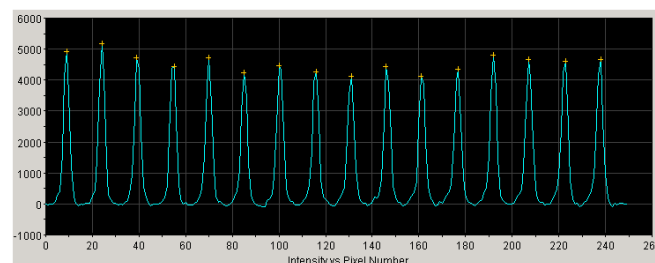


## Vyhodnocení profilu prostorové kalibrace

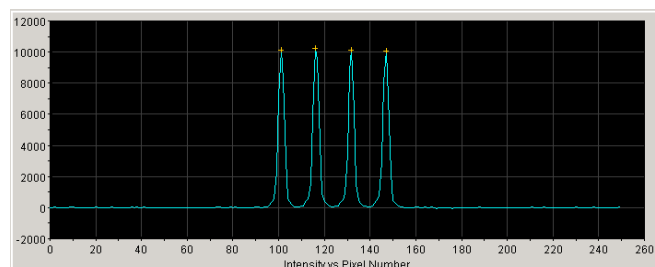
1. Pro vyhodnocení profilu prostorové kalibrace použijte následující kritéria:

Vlastnost píku	Přijatelné pokud
Výška	Podobná pro všechny píky.
Oranžové křížky	Na každém vrcholku píku jeden oranžový křížek. Žádné křížky mimo.
Tvar	Pro každou kapiláru jeden ostrý pík.  Malé "hrbolky" na píku jsou přijatelné.
Mezery	Rozdíl sousedících pozic je 13 až 16 pixelů. Teoretická mezera mezi kapilárami je 15.

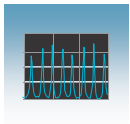
Profil prostorové kalibrace pro systém 3130x/



Profil prostorové kalibrace pro systém 3130



Poznámky \_\_\_\_\_



2. Prostudujte každou řádku v tabulce kapilár (16 nebo 4 řádky) a ověřte že se hodnoty ve sloupcích Left spacing a Right spacing (Mezera vlevo a vpravo) pohybují v rozsahu 13 až 16 pixelů.

Chcete-li posunout křížek:

- Napište do sloupce Position (pixels) novou hodnotu pro zvolenou kapiláru.
- Klikněte mimo okénko nebo stiskněte **Enter**.

Capillary	Position (pixels)	Left spacing	Right spacing
1	10	0	15
2	25	15	16
3	41	16	15
4	56	15	16
5	72	16	15
6	87	15	15
7	102	15	15
8	117	15	15
9	132	15	16
10	148	16	15
11	163	15	15
12	178	15	16
13	194	16	15

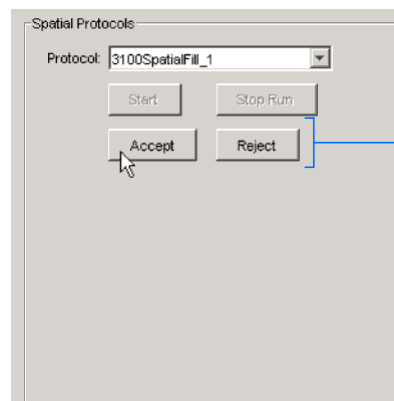
Capillary	Position (pixels)	Left spacing	Right spacing
1	96	0	15
2	111	15	15
3	126	15	15
4	141	15	0

Sloupce Left spacing a Right spacing (Mezera vlevo a vpravo)

## Přijetí nebo odmítnutí prostorové kalibrace

Pokud je kalibrace:

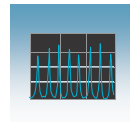
- přijatelná, klikněte na  (Přijmout) čímž zapíšete kalibrační data do databáze a souboru .ini
- nepřijatelná, klikněte na  (Odmítnout) a postupujte dále podle příručky *Genetické analyzátoř Applied Biosystems 3130/ 3130xl – údržba a řešení problémů*.



Tlačítka Accept a Reject (Přijmout a Odmítnout)

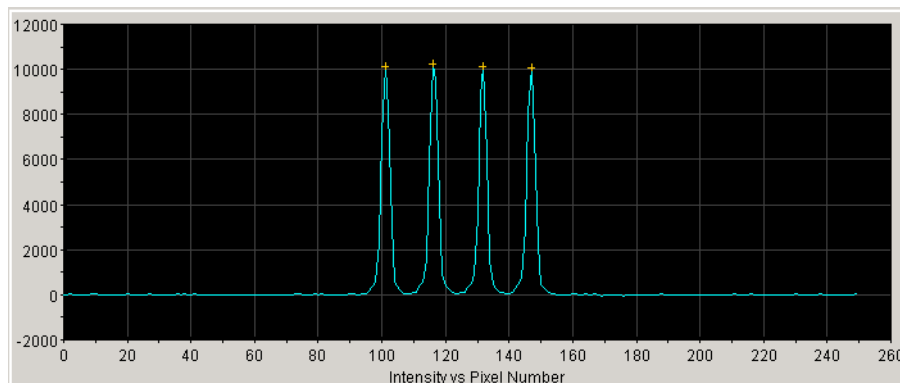
Poznámky \_\_\_\_\_



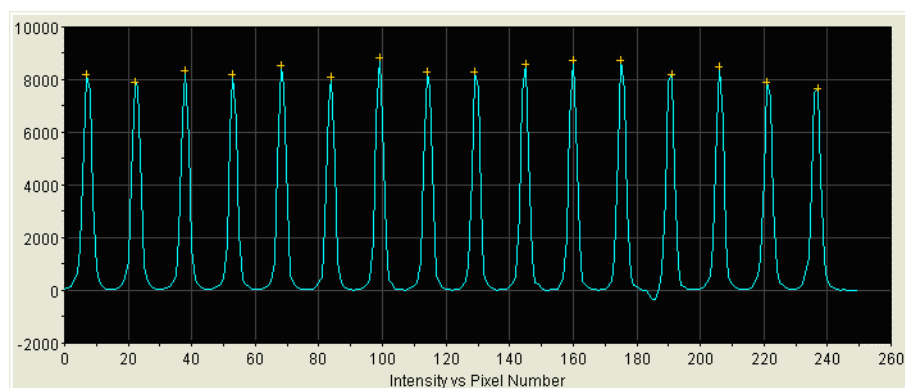


## Příklady profilů prostorové kalibrace

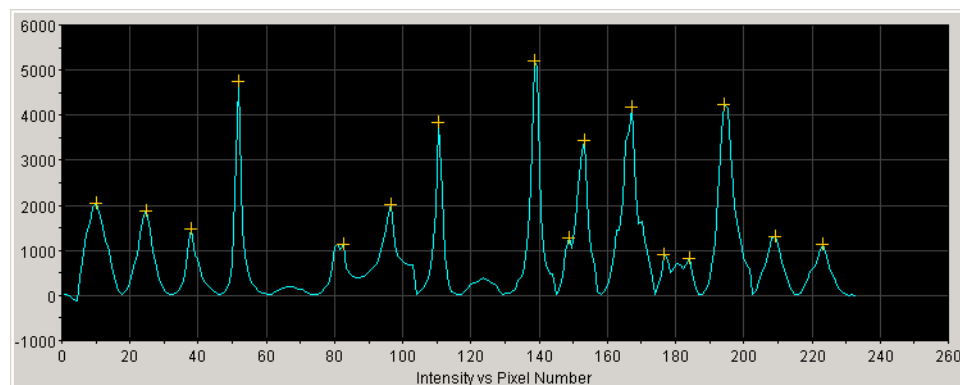
Přijatelné profily Genetický analyzátor 3130



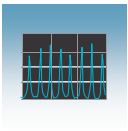
Genetický analyzátor 3130xl



Nepřijatelný profil Genetický analyzátor 3130xl



Poznámky \_\_\_\_\_



## Kapitola 2 Provedení prostorové kalibrace

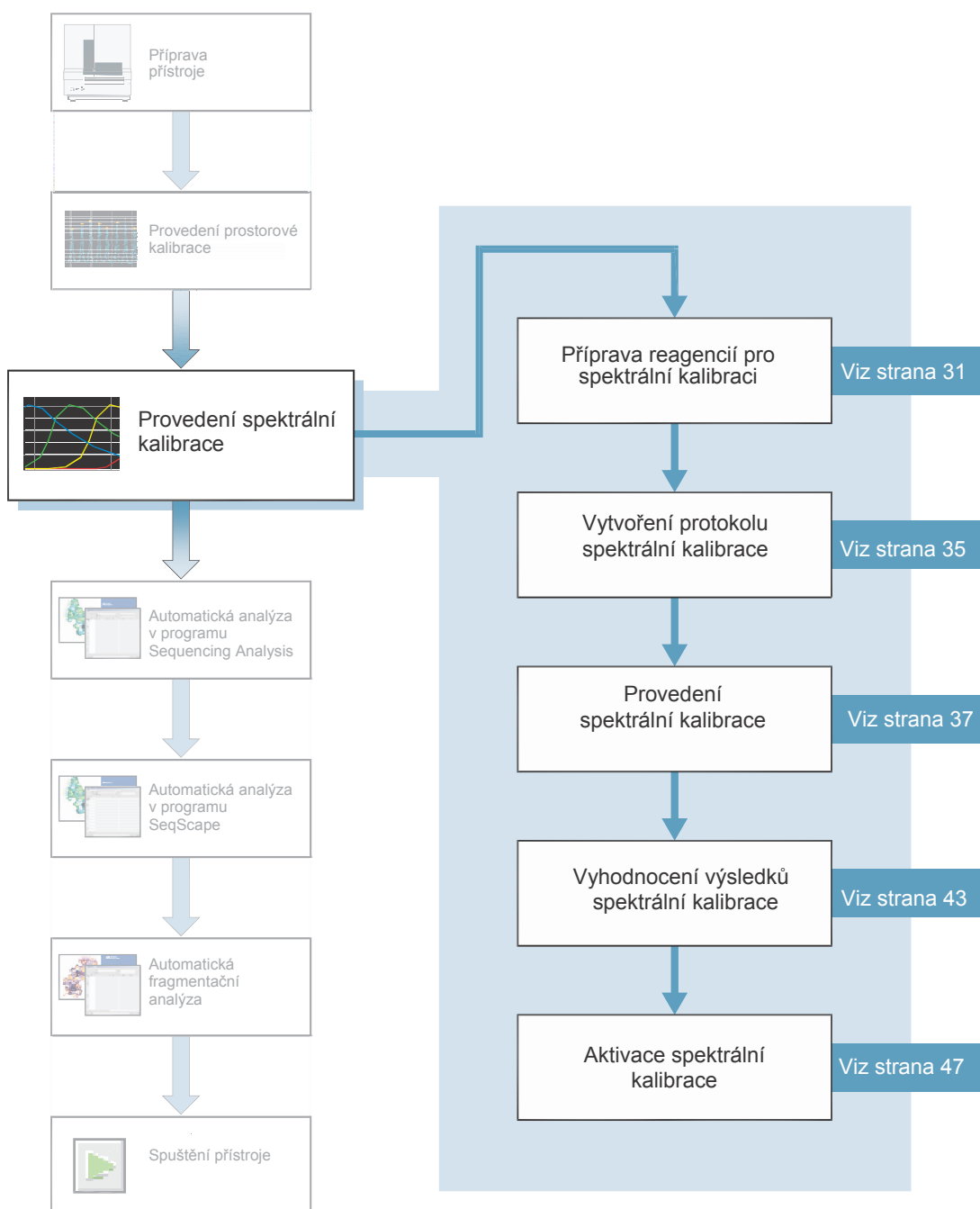
### *Příklady profilů prostorové kalibrace*

Poznámky \_\_\_\_\_

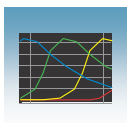
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

# Provedení spektrální kalibrace



Poznámky \_\_\_\_\_



## Spektrální kalibrace

Účelem spektrální kalibrace je vytvořit matici, která je během běhu používána k redukci nezpracovaných dat (raw data) z přístroje na data uchovávaná v souborech jednotlivých vzorků ve 4 nebo 5 barvách. Provedení spektrální kalibrace je obdobou analýzy vzorků s tím rozdílem, že namísto vzorků jsou analyzovány kalibrační standardy a místo modulu běhu se používá modul spektrální kalibrace.

### Kdy provádět spektrální kalibraci

Proveďte spektrální kalibraci:

- Používáte-li na přístroji nový soubor barev (dye set)
- Pokud chcete použít kapiláru o jiné délce než stávající (nebo měníte polymer pro fragmentační analýzu)
- Pokud servisní technik provedl přenastavení/výměnu laseru nebo CCD kamery
- Pokud pozorujete zhoršení spektrální separace (píky typu pull-up a/nebo pull-down – zvětšené nebo zmenšené) v nezpracovaných nebo analyzovaných datech

### Co se děje?

Provedete běh se spektrálními standardy ve všech 16 nebo 4 kapilárách. Následně program Data Collection:

- Uloží data v 16 nebo 4 zvláštních dočasných souborech
- Analyzuje data a vytvoří pro každou kapiláru matici
- Uloží data spektrální kalibrace pro daný soubor barev

### Změna délky sady kapilár a typu polymeru

Pro každý soubor barev a délku sady kapilár se používá specifická spektrální kalibrace.

- Pro každý soubor barev při sekvenování a pro různé délky kapilár, které používáte, musíte provést zvláštní spektrální kalibraci.
- Pro každý soubor barev při fragmentační analýze a pro různé kombinace délky kapilár a typu polymeru, které používáte, musíte provést zvláštní spektrální kalibraci.

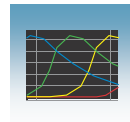
Informace o tom, jak přepínat soubory spektrální kalibrace pokud jsou pro každý soubor barev při dané délce kapiláry již vytvořeny naleznete v odstavci [“Aktivace spektrální kalibrace” na straně 47.](#)

### Podporované reagenty pro sekvenování

Pro použití kitů ABI PRISM® BigDye® Terminator v1.1 a v3.1 na přístrojích typu 3130/3130xl budou vyvinuty nové basecaller, tzv. soubory pohyblivosti (mobility files) a moduly běhu. Potřebujete-li více informací, kontaktujte prosím technickou podporu Applied Biosystems.

Kity ABI PRISM® BigDye® Terminator v1.0, v2.0 a v3.0 se již nevyrobějí.

Poznámky \_\_\_\_\_



### Typy kalibračních standardů

Existují dva typy spektrálních kalibračních standardů:

- **Matriční standardy pro fragmentační analýzu a sekvenování** – zkumavka obsahující čtyři nebo pět fragmentů, každý značený rozdílnou barvou.
- BigDye® v3.1 or BigDye® v1.1 Terminator Sequencing Standard – zkumavka obsahující směs značených fragmentů pro každou ze čtyř barev

### Tabulky souborů barev

Za použití níže uvedených tabulek zvolte vhodný soubor barev a soubor matričních standardů pro vámi používanou aplikaci.

#### Sekvenování - soubory barev, kalibrační standardy a Chemistry File

Sekvenační kit	Soubor barev (Dye Set)	Spektrální kalibrační standardy	Chemistry File
<ul style="list-style-type: none"> <li>• BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit</li> <li>• ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator v 3.0 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit<sup>a</sup></li> </ul>	Z_BigDyeV3	BigDye® v3.1 Matrix Standards	Matrix Standard
		BigDye® v3.1 Terminator Sequencing Standard	Sequence Standard
<ul style="list-style-type: none"> <li>• BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit</li> <li>• ABI PRISM® BigDye® Primer Cycle Sequencing Kity</li> <li>• ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit<sup>a</sup></li> </ul>	E_BigDyeV1	DS-01 Matrix Standards	Matrix Standard
		BigDye® v1.1 Terminator Sequencing Standard	Sequence Standard
ABI PRISM® dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kit		dRhodamine Matrix Standards Kit	Matrix Standard

<sup>a</sup> dGTP kity nejsou na přístrojích provádějících kapilární elektroforézu podporovány kvůli kompresím v určitých úsecích sekvencí; pokud to pro vás nepředstavuje problém, můžete tyto kity použít.

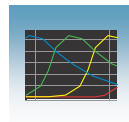
Poznámky \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



Fragmentační analýza - Soubory barev, kalibrační standardy a Chemistry File

Kity pro fragmentační analýzu	Soubor barev (Dye Set)	Spektrální kalibrační standardy	Chemistry File
Oligonukleotidy na objednávku	D	DS-30 Matrix Standards	Matrix Standard
<ul style="list-style-type: none"><li>ABI PRISM® Mouse Mapping Set v1.0</li><li>Oligonukleotidy na objednávku</li></ul>	D	DS-31 Matrix Standards	
<ul style="list-style-type: none"><li>AFLP® kity</li><li>Stockmarks® Kity se 4 barvami (pro skot a psi)</li><li>AmpF/STR® COfiler® Kit</li><li>AmpF/STR® Profiler Plus® Kit</li><li>AmpF/STR® Profiler Plus® ID Kit</li><li>AmpF/STR® SGM Plus® Kit</li><li>Další AmpF/STR Kity se 4 barvami</li></ul>	F	DS-32 Matrix Standards	
ABI PRISM® SNaPshot® Multiplex System	E5	DS-02 Matrix Standards	
<ul style="list-style-type: none"><li>ABI PRISM® Linkage Mapping Set v2.5</li><li>Stockmarks® Kit s 5 barvami (pro koně)</li><li>Oligonukleotidy na objednávku</li><li>AmpF/STR® Identifiler® Kit</li><li>AmpF/STR® SEfiler™ Kit</li><li>AmpF/STR® Yfiler™ Kit</li><li>Další AmpF/STR Kity s 5 barvami</li></ul>	G5	DS-33 Matrix Standards	

Poznámky \_\_\_\_\_



## Příprava reagensií pro spektrální kalibraci

### Příprava kalibračního standardu

1. Připravte jeden z následujících standardů:



#### **WARNING CHEMICKÉ RIZIKO.**

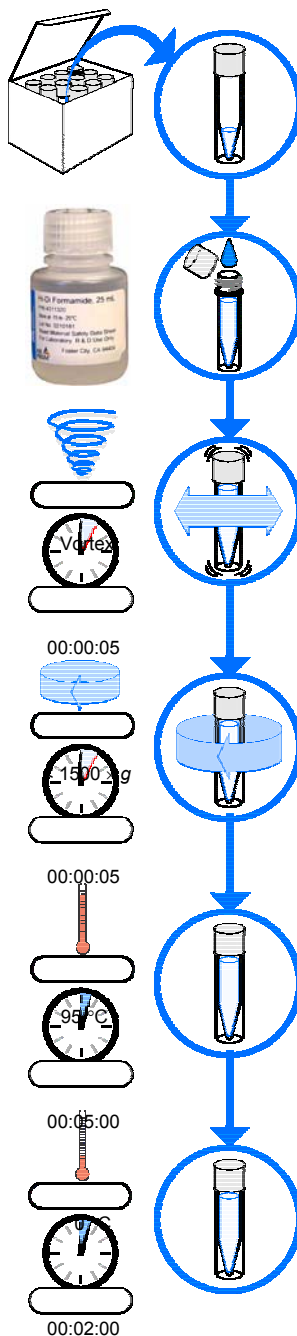
**Formamid** způsobuje podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Je rizikovým faktorem reprodukce a vzniku vrozených vad. Přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

- ABI PRISM BigDye Terminator v1.1 nebo v3.1 Sequencing Standard:
  - Vyměňte zkumavku obsahující Sequencing Standard z mrazáku.
  - Resuspendujte BigDye Terminator v1.1 nebo v3.1 Sequencing Standard ve 170 µL Hi-Di™ formamidu.
- Matriční standardy pro sekvenování nebo fragmentační analýzu:
  - Vyměňte zkumavku s matričním standardem z lednice.
  - Pečlivě promíchejte a krátce ji stočte v mikrocentrifuze.
  - Přidejte Hi-Di formamid v poměru podle instrukcí u matričního standardu .

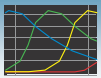
2. Pečlivě vortexujte.  
Krátce centrifugujte.

3. Inkubujte zkumavku se standardem při 95 °C po dobu 5 min - denaturace DNA.

4. Ochlad'te zkumavku na ledu 2 min.




Poznámky \_\_\_\_\_



## Příprava vzorků do destičky

**WARNING CHEMICKÉ RIZIKO.** Veškeré chemikálie přítomné v přístroji včetně tekutin v hadičkách jsou potenciálně nebezpečné. Prosím přečtěte si Bezpečnostní list a postupujte podle instrukcí pro manipulaci. Při práci s přístrojem používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

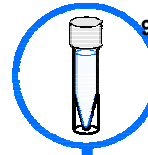
**WARNING** Nepoužívejte zkroucené nebo poškozené destičky. 

Poznámka: Obrázek znázorňuje efektivní způsob rozložení vzorků na destičce. Vztah mezi pozicí vzorku a pořadím nástřiku je vysvětlen v [Appendixu A, "Mapování destičky"](#).

Příprava vzorků do destičky:

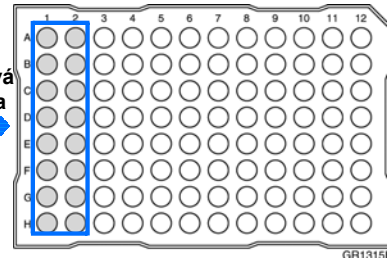
1. Pipetujte denaturované vzorky do 96- nebo 384-jamkové destičky:
  - Používáte-li genetický analyzátor 3130xl:
    - **96-jamková destička** – Pipetujte 10  $\mu$ L denaturovaného standardu do jamek A1 až H2.
    - **384-jamková destička** – Pipetujte 5  $\mu$ L denaturovaného standardu střídavě do jamek na destičce:  
Řádek 1: A1, C1, E1, ...K1, M1, O1  
Řádek 2: Prázdný  
Řádek 3: A3, C3, E3, ...K3, M3, O3
  - Používáte-li genetický analyzátor 3130:
    - **96-jamková destička** – Pipetujte 10  $\mu$ L denaturovaného standardu do jamek A1, B1, C1 a D1.
    - **384-jamková destička** – Pipetujte 5  $\mu$ L denaturovaného standardu střídavě do jamek na destičce:  
Řádek 1: A1, C1, E1 a G1

Připravený standard  
(z kroku 4 na straně 31)

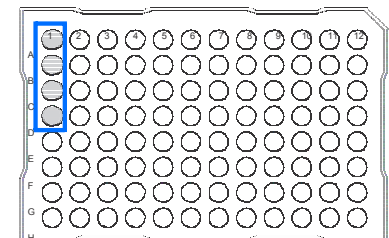


96-jamková destička

3130xl



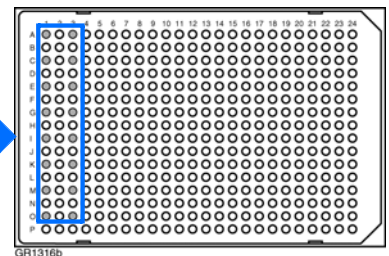
3130



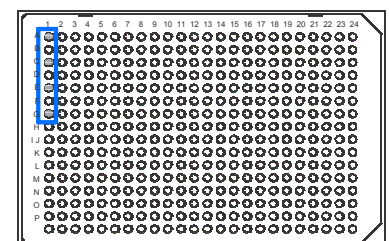
Přidejte 10  $\mu$ L připraveného standardu

384-jamková destička

3130xl



3130

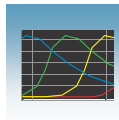


GR1316c

Přidejte 5  $\mu$ L připraveného standardu střídavě do jamek

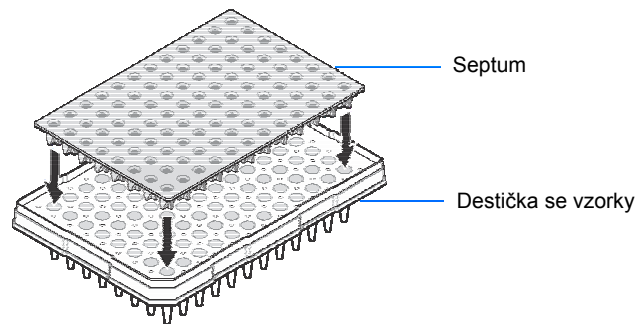
Poznámky \_\_\_\_\_



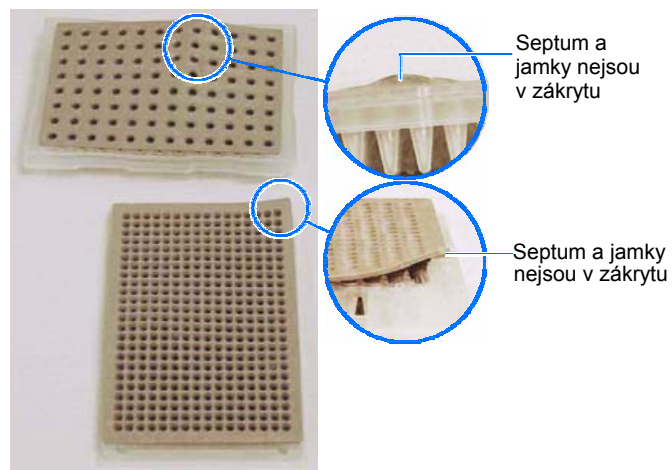


2. Uzavřete destičku:
  - a. Položte destičku na čistý rovný povrch.
  - b. Položte na destičku septum.
  - c. Otvory septa musí být v přesném zákrytu s jamkami destičky, poté pevně přimáčkněte septum dolů k destičce.

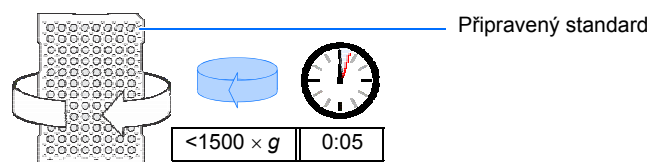
**DŮLEŽITÉ!** Destičky překryté septem nezahřívajte.



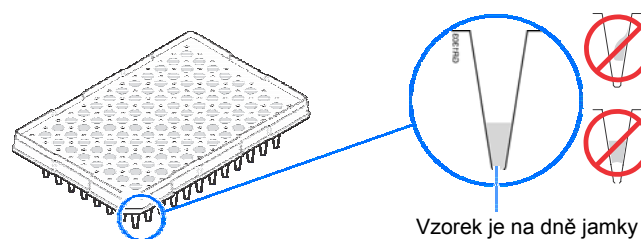
3. Abyste předešli poškození kapiláry, ověřte, že septum dobře dosedá na destičku.



4. Krátce destičku centrifugujte.

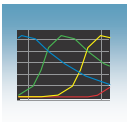


5. Vyjměte destičku z centrifugy a ověřte, že je každý vzorek na dně jamky.  
Pokud se v některém ze vzorků nacházejí bubliny nebo není na dně jamky, opakujte kroky 4 a 5.



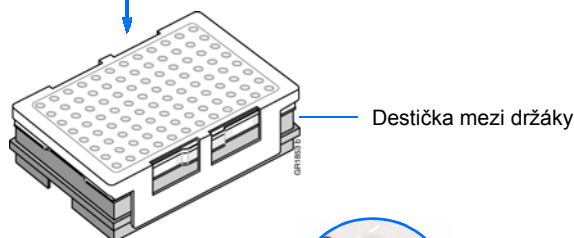
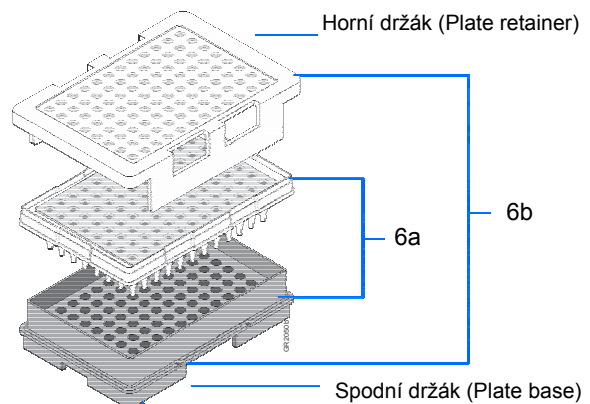
6. Ponechte destičku na ledu do té doby, než budete připraveni umístit ji spolu s držáky na autosampler.

Poznámky \_\_\_\_\_

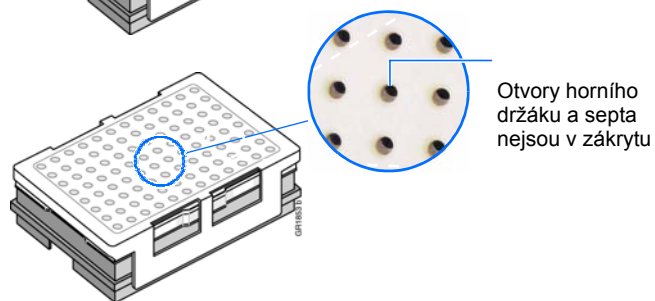


7. Vložte destičku mezi držáky:

- a. Umístěte destičku se vzorky do spodního držáku.
- b. Uchytěte ji shora horním držákem.



8. Ověřte, že jsou otvory horního držáku a septa v zákrytu. Pokud ne, rozeberte destičku a držáky a sestavte je znovu (viz [krok 7](#)).

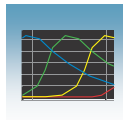


---

**DŮLEŽITÉ!** Pokud septum a horní držák nejsou v dokonalém zákrytu, dojde k poškození hrotů kapilár.

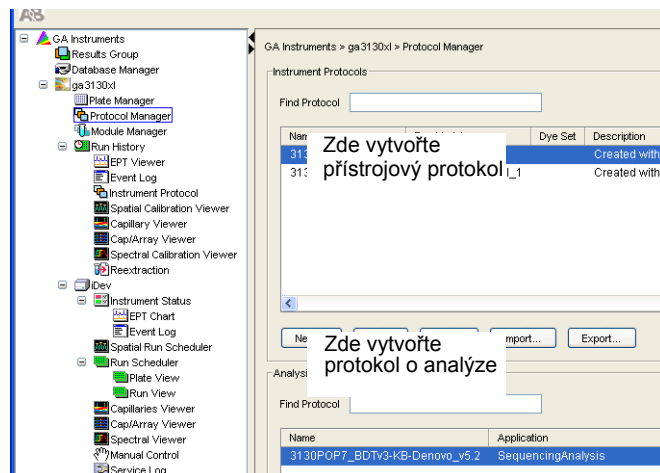
---

Poznámky \_\_\_\_\_

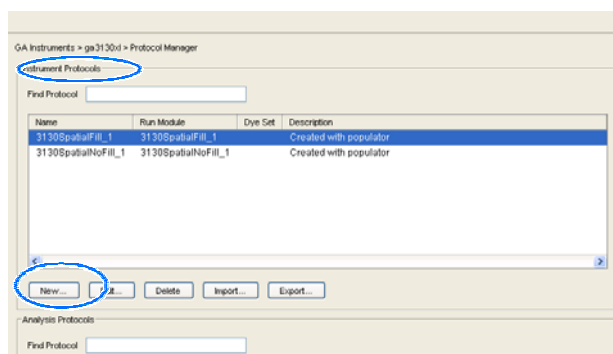


## Vytvoření protokolu spektrální kalibrace

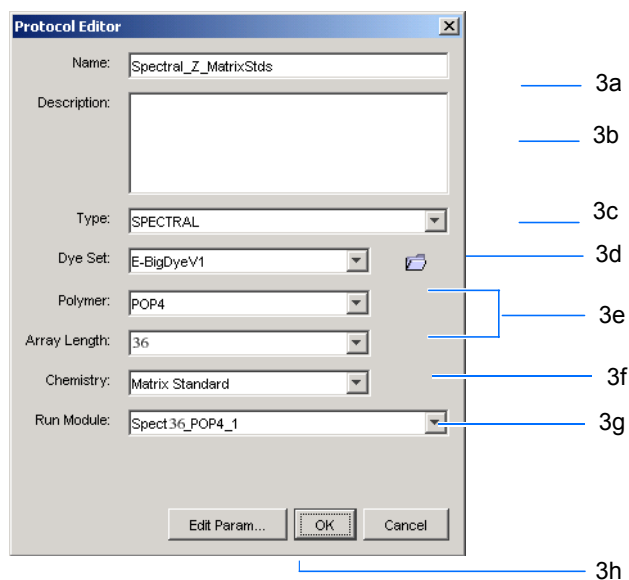
1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte na **GA Instruments** > **ga3130xl** or **ga3130** > **Protocol Manager**, čímž otevřete okno Správce protokolů (Protocol Manager).



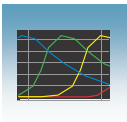
2. V Instrument Protocols klikněte na **New...**, otevře se Protocol Editor.



3. Vyplňte okno Protocol Editor.
  - a. Napište jméno (Name) protokolu.
  - b. Napište popis (Description) protokolu (volitelné).
  - c. V rozbalovacím menu Type zvolte **Spectral**.
  - d. Zvolte odpovídající soubor barev (dye set) pro váš běh, viz "Tabulky souborů barev", str. 29.



Poznámky \_\_\_\_\_



- e. Zvolte polymer a délku sady kapilár (Array Length) pomocí příslušných rozbalovacích menu. Viz tabulka “Polymer, délka sady kapilár a moduly spektrální kalibrace.”
- f. Zvolte Chemistry file v rozbalovacím menu. Pokud pro vaše vzorky pro spektrální kalibraci nezvolíte správný Chemistry file, kalibrace se nezdaří. Viz “Tabulky souborů barev” na straně 29.

---

Poznámka: Pro fragmentační analýzu se používá chemistry file Matrix Standard.

---

- g. V rozbalovacím menu Run Module zvolte příslušný modul běhu. Viz tabulka “Polymer, délka sady kapilár a moduly spektrální kalibrace.”

---

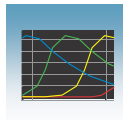
Poznámka: Seznam modulů, které jsou k dispozici, je upraven podle vámi zvoleného typu polymeru a délky sady kapilár – viz krok e. Může se stát, že je k dispozici pouze jeden modul běhu.

---

- h. Klikněte .

#### Polymer, délka sady kapilár a moduly spektrální kalibrace

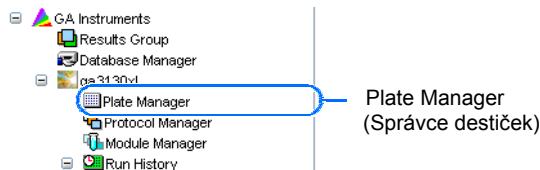
Typ polymeru	Délka sady kapilár (cm)	Modul spektrální kalibrace
POP-4	22	Spect22_POP4
	36	Spect36_POP4
		SpectSQ36_POP4
	50	Spect50_POP4
80	Spect80_POP4	
POP-6	36	Spect36_POP6
	50	Spect50_POP6
POP-7	36	Spect36_POP7
	50	Spect50_POP7
	80	Spect80_POP7



## Provedení spektrální kalibrace

### Vytvoření záznamu destičky (Plate record)

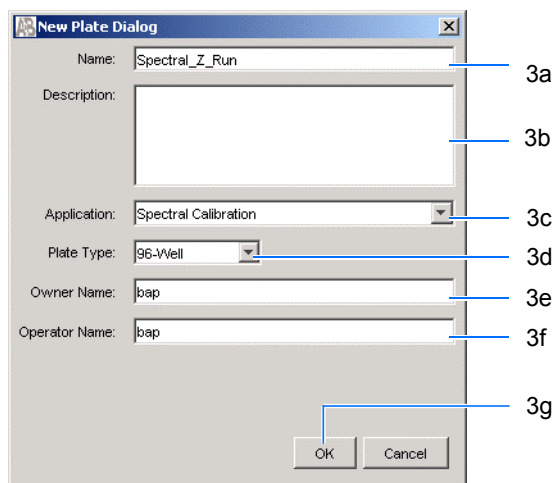
1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130x/** nebo **3130** > **jméno přístroje** > **Plate Manager** (Správce destiček).



2. Klikněte **New...**, čímž otevřete okno New Plate (Nová destička).

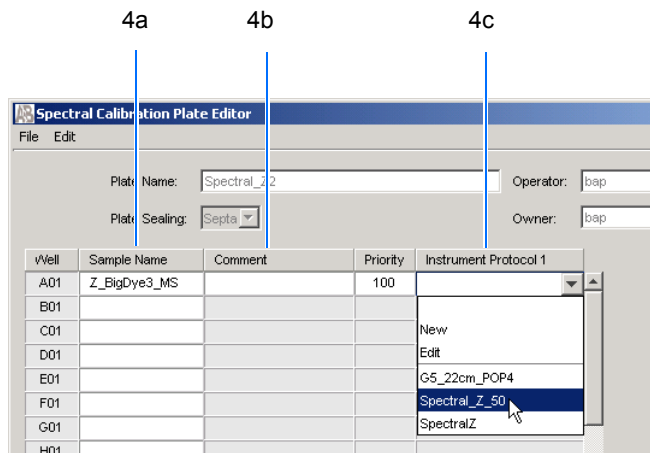
3. Vyplňte okno New Plate (Nová destička):

- a. Zadejte název (Name) destičky.
- b. Volitelné: Zadejte popis (Description) záznamu destičky.
- c. V rozbalovacím menu Application zvolte **Spectral Calibration** (Spektrální kalibrace).
- d. V rozbalovacím menu Plate Type (Typ destičky) zvolte **96-Well** nebo **384-Well** (96- nebo 384-jamková destička).
- e. Zadejte jméno majitele (Owner) destičky.
- f. Zadejte jméno operátora (Operator) přístroje.
- g. Klikněte **OK**.



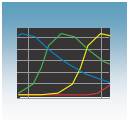
4. V okně Spectral Calibration Plate Editor (Editor záznamů destiček):

- a. Ve sloupci Sample Name (Název vzorku) zadejte název vzorku a klikněte na další buňku. Ve sloupci Priority (Priorita) se automaticky zobrazí hodnota 100.
- b. Volitelné: Ve sloupci Comments (Komentář) zadejte jakýkoliv další komentář k danému vzorku v dané jamce destičky.
- c. Ve sloupci **Instrument Protocol 1** (Přístrojový protokol) zvolte protokol ze seznamu nebo vytvořte nový protokol (viz [krok 2 na straně 35](#))



5. Označte celý řádek.

Poznámky \_\_\_\_\_



6. Zvolte **Edit > Fill Down Special**.

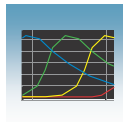
V závislosti na typu vaší destičky (96 nebo 384 jamek) a sadě kapilár (16 nebo 4 kapiláry) vyplní program automaticky odpovídající počet jamek pro jeden běh.

Edit	
Fill Down	Ctrl+D
Copy	Ctrl+C
Paste	Ctrl+V
Clear row(s)	Shift+Delete
Fill Down Special	Alt+D
Add Sample Run	Alt+A

7. Klikněte .

Úspěšně jste vytvořili záznam destičky pro spektrální kalibraci.

Poznámky \_\_\_\_\_



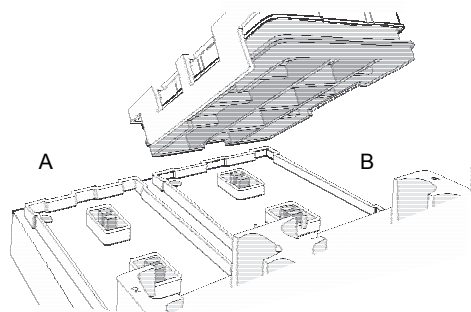
## Umístění destičky do přístroje

1. Ověřte, že jsou dvířka termostatu i přístroje uzavřena.
2. Stiskněte tlačítko Tray čímž přesunete autosampler do čelní pozice.
3. Otevřete dvířka přístroje.
4. Používáte-li genetický analyzátor 3130*xl*, položte destičku uchycenou v držácích na autosampler do pozice A nebo B, v případě genetického analyzátoru 3130 do pozice B.

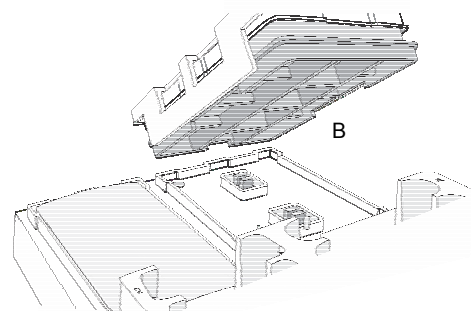
---

Poznámka: Jediná správná orientace destičky je šikmým rohem směrem od vás pryč.

---



genetický analyzátor 3130*xl*



genetický analyzátor 3130

5. Ujistěte se, že destička i s držáky leží dobře na autosampleru. Pokud by tomu tak nebylo, mohly by hroty kapilár zvednout destičku i s držáky z autosampleru.
6. Uzavřete dvířka přístroje.

---

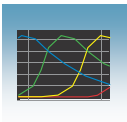
Poznámka: Uzavření dvířek vrátí autosampler do výchozí pozice a hroty kapilár jsou spuštěny do pufry.

---

Poznámky \_\_\_\_\_

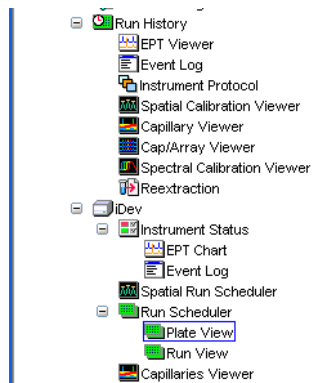
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



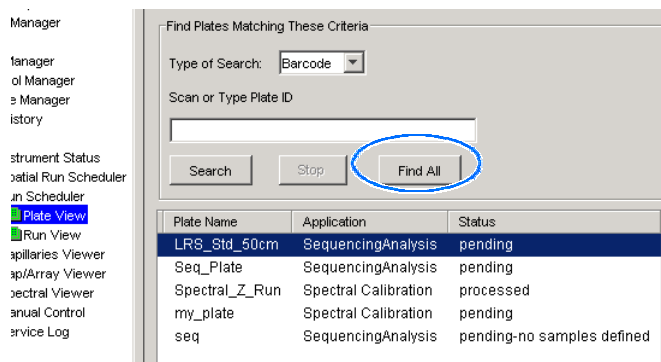
## Spuštění destičky pro spektrální kalibraci

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130x1** nebo **3130** > **jméno přístroje** > **Run Scheduler** > **Plate View** (Zobrazení destičky).



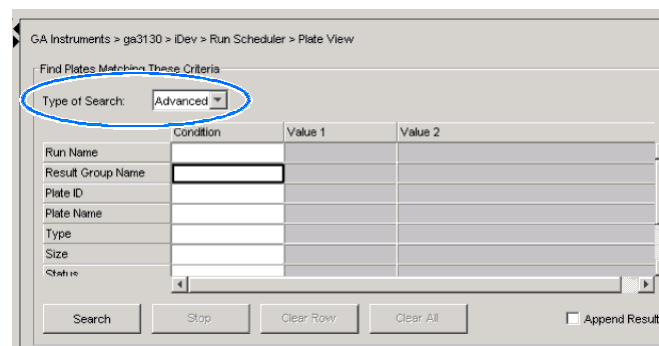
2. Vyhledejte váš záznam destičky. Jsou k dispozici dvě možnosti:

- V rozbalovacím menu Type of Search (Způsob hledání) zvolte **Barcode** (Čárový kód).
  - Do pole **Scan or Type Plate ID** napište název destičky a klikněte **Search** (Hledat).
  - Máte-li v databázi omezený počet destiček, klikněte **Find All** (Najít vše).



Zobrazí se všechny destičky z databáze.

- Použijte vyhledávání typu **Advanced** (Pokročilé) z rozbalovacího menu Type of Search (Způsob hledání).
  - Použijte rozbalovací menu chcete-li definovat podmínky hledání pro jednu nebo více kategorií (Run Name – Název běhu, Result Group Name – Název výsledkové skupiny, Plate Name – Název destičky, atd.)

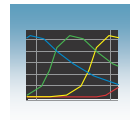


**Poznámka:** Údaj zadaný do pole Plate Name (Název destičky) bude použit i v poli Plate ID (Identifikátor destičky).

- Pro každou zvolenou kategorii napište do pole Value 1 hodnotu (primárně hledaný řetězec).
- Klikněte **Search**. Zobrazí se všechny destičky z databáze, které splňují kritéria vyhledávání.

Poznámky \_\_\_\_\_



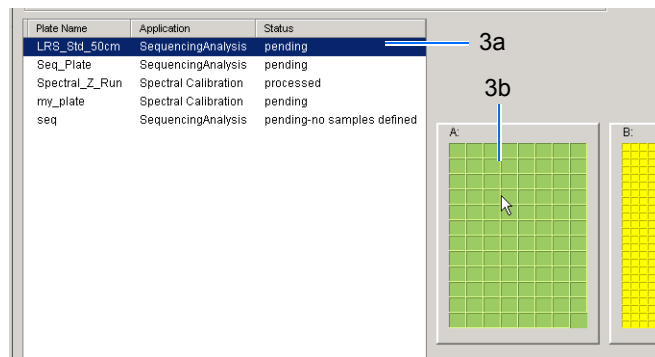



### 3. Propojení destičky.

- Zvolte destičku, kterou chcete spustit.
- Klikněte na pozici, která odpovídá destičce, kterou chcete použít.

Dojde-li k úspěšnému propojení, barva pozice se změní ze žluté na zelenou.

**Poznámka:** Genetický analyzátor 3130 má pouze jednu pozici (Pozice B) s níž lze propojit destičku.

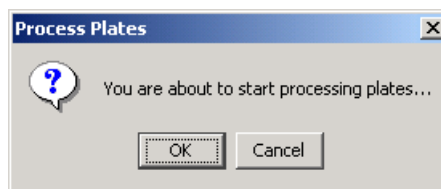


- V panelu nástrojů programu Data Collection klikněte  čímž zahájíte běh.



- Objeví se okno Process Plates. Klikněte



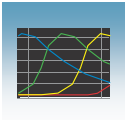


**Poznámka:** Před zahájením běhu může nastat prodleva, během níž dochází k ohřátí termostatu.

### Přibližná doba trvání běhu spektrální kalibrace

Délka kapiláry (cm)	Typ běhu	Doba ohřevu (min)	Přibližná celková doba (min)
22	Spec22_POP4	3	21
36	Spec36_POP4	10	35
	SpecSQ36_POP4	10	48
	Spec36_POP6	10	54
	Spec36_POP7	5	30
50	Spec50_POP4	7.5	110
	Spec50_POP6	10	95
	Spec50_POP7	7.5	52
80	Spec80_POP4	10	140
	Spec80_POP7	10	120

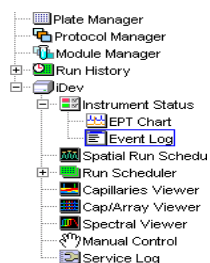
Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Zobrazení výsledku Přijatelné/Nepřijatelné po skončení běhu

Po ukončení běhu spektrální kalibrace je v sekci Event Log (Záznam zpráv systému) v adresáři Instrument Status (Stav přístroje) zaznamenán pro každou jednotlivou kapiláru její výsledek (Přijatelné/Nepřijatelné).

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments > ga3130xl** nebo **ga3130 > jméno přístroje > Instrument Status > Event Log** (Záznam zpráv systému).
2. V části Event Messages (Zprávy systému) tohoto okna vidíte záznam pro každou kapiláru.



Poznámka: Okno níže zobrazuje výsledky pro soubor barev G5.

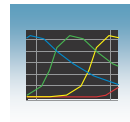
Event Messages					Kap #	Přij./Nepřij.	Q-value	Condition Number
Type	Date	Time	Publisher	Description				
Info	07/07/03	15:41:31	iDev	Instrument saving spectral calibration data				
Info	07/07/03	15:41:30	iDev	Saving spectral calibration data				
Info	07/07/03	15:41:30	iDev	Capillary 16 successfully calibrated : q=0.988 c=9.12				
Info	07/07/03	15:41:30	iDev	Capillary 15 successfully calibrated : q=0.986 c=9.15				
Info	07/07/03	15:41:30	iDev	Run completed				
Info	07/07/03	15:41:30	iDev	Capillary 14 successfully calibrated : q=0.986 c=9.01				
Info	07/07/03	15:41:30	iDev	Capillary 13 successfully calibrated : q=0.988 c=8.99				
Info	07/07/03	15:41:29	iDev	Capillary 12 successfully calibrated : q=0.989 c=8.87				

Hodnota Q-value by pro každou kapiláru měla být vyšší než 0.95 a parametr Condition number by měl mít rozpětí podle tabulky vpravo.

Poznámka: Pokud se nepodaří celá spektrální kalibrace, postupujte podle návodu na řešení problémů v příručce *Genetické analyzátořy Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.

Soubor barev (Dye Set)	Přijatelné rozpětí Condition Number	Q-Value
Sekvenování		0.95
Z_BigDyeV3	3 až 5	
E_BigDyeV1		
Fragmentační analýza		0.80
D	4 až 8.5	
F	6 až 12	
E5	2.5 až 4	
G5	8.5 až 14.5	
Jakýkoliv soubor 4 nebo 5 barev	1 až 20	

Poznámky \_\_\_\_\_



## Vyhodnocení výsledků spektrální kalibrace

**DŮLEŽITÉ!** Zhodnoťte výsledky spektrální kalibrace pro každou kapiláru, i když podle záznamu výsledků jsou přijatelné.

Poznámka: [Strany 49 až 50](#) – příklady přijatelných profilů spektrální kalibrace pro sekvenování. [Strany 51 až 52](#) - příklady přijatelných profilů spektrální kalibrace pro fragmentační analýzu.

### Vyhodnocení spektrálního profilu a nezpracovaných dat

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **název přístroje** > **Spectral Viewer** (Prohlížeč spektra).

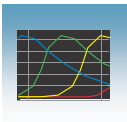
Zobrazení destičky  
Klikněte na každou jamku a ověřte její spektrální profil a nezpracovaná data

Spektrální profil

Nezpracovaná data (matriční standardy)

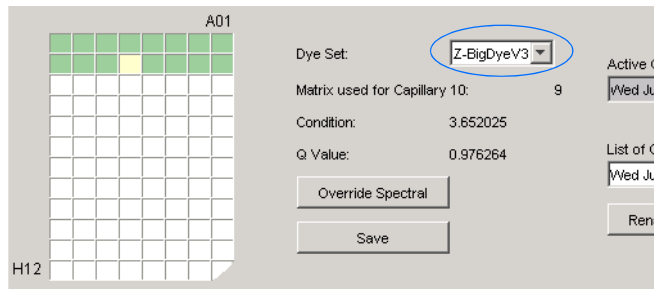
Zobrazit, přejmenovat nebo nastavit aktivní spektrální kalibraci pro zvolený soubor barev

Poznámky \_\_\_\_\_



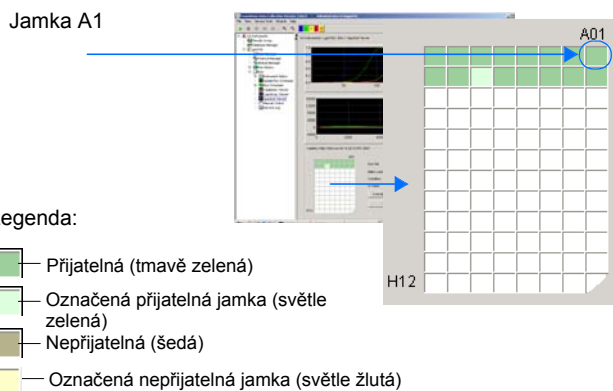
2. V rozbalovacím menu Souborů barev (Dye Set) zvolte soubor barev, který jste právě vytvořili.

**Poznámka:** Pokud se spektrální kalibrace nezdaří (nejsou vytvořeny žádné spektrální profily), postupujte podle příručky *Genetické analyzá-tory Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.



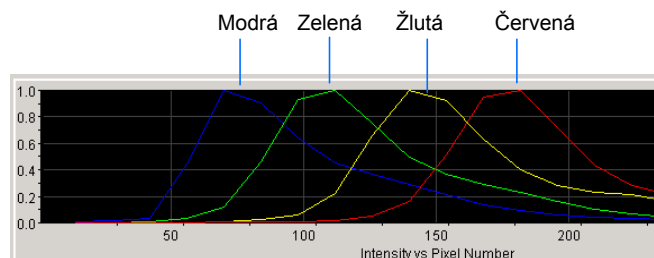
3. Ve schematicém zobrazení destičky zvolte tu jamku destičky, pro niž chcete zobrazit výsledky spektrální kalibrace.

**Poznámka:** Kapiláře, u níž se spektrální kalibrace nezdařila, je automaticky přiřazen spektrální profil nejbližší kapiláry, u níž se zdařila.

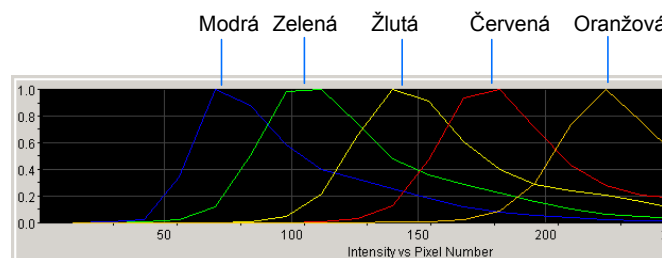


4. Pro zvolenou kapiláru vyhodnoťte spektrální profil a nezpracovaná data:
  - a. Ověřte, že pořadí píků spektrálního profilu je ve směru zleva doprava:
    - 4 barvy: modrá-zelená-žlutá-červená
    - 5 barev: modrá-zelená-žlutá-červená-oranžová

Je pořadí píků správné?	Pak
Ano	Pokračujte <b>krokem b.</b>
Ne	Kalibrační běh se nezdařil. Postupujte podle příručky <i>Genetické analyzá-tory Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů</i>

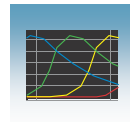


Příklad spektrálního profilu pro 4 barvy



Příklad spektrálního profilu pro 5 barev

Poznámky \_\_\_\_\_



b. Ověřte, že pořadí píků spektrálního profilu v nezpracovaných datech je:

**Sekvenování**

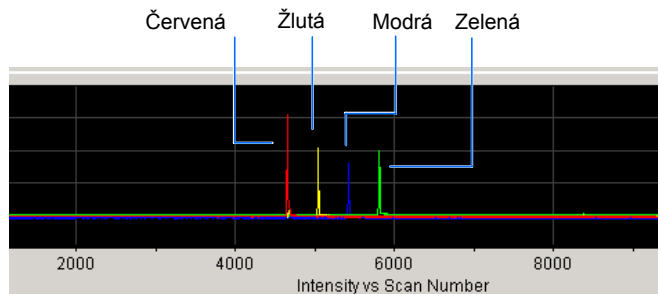
– 4 barvy: červená-žlutá-modrá-zelená

**Fragmentační analýza**

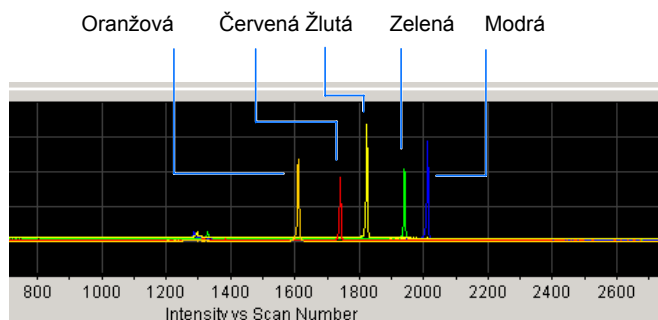
– 4 barvy: červená-žlutá-zelená-modrá

– 5 barev: oranžová-červená-žlutá-zelená-modrá

Jsou píky v nesprávném pořadí nebo se objevují nadbytečné píky?	Pak
Ano	Kalibrační běh se nezdařil. Postupujte podle příručky <i>Genetické analyzátoary Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů</i>
Ne	Pokračujte <a href="#">krokem c.</a>



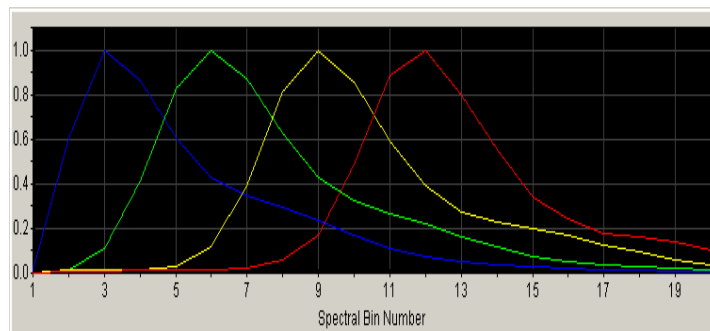
Příklad profilu nezpracovaných dat, 4 barvy, sekvenování



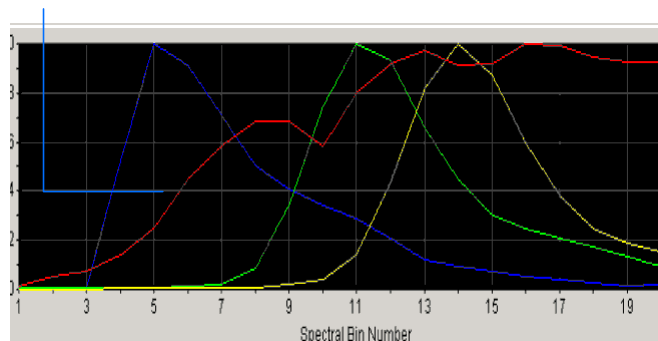
Příklad profilu nezpracovaných dat, 5 barev, fragmentační analýza

c. Ověřte, že píky ve spektrálním profilu výrazně nezasahují jeden do druhého a nevykazují nepravidelnosti (viz “Zvětšování zobrazení spektrálního profilu nebo nezpracovaných dat” na straně 46).

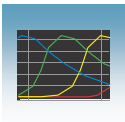
Píky jsou oddělené, pravidelné a ve správném pořadí – přijatelné



Červený pík není oddělený, pravidelný nebo ve správném pořadí - nepřijatelné

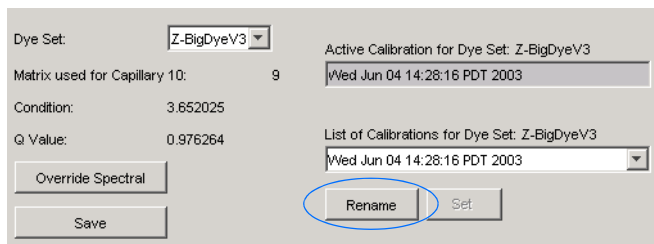


Poznámky \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

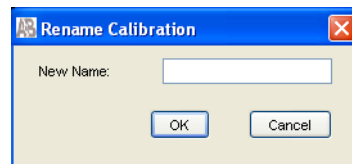


- Opakujte kroky 3 a 4 pro každou kapiláru dané sady.
- Volitelné: Přejmenujte (Rename) spektrální běh. Přednastavené jméno je datum a čas běhu.

a. Klikněte 








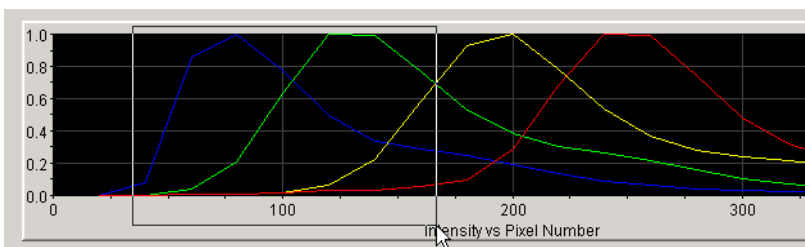
b. V okně Rename Calibration zadejte název spektrální kalibrace zahrnující soubor barev, délku sady kapilár a typ polymeru (volitelné).



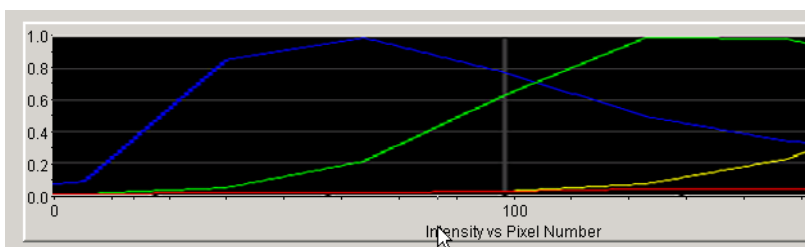
c. Klikněte 

### Zvětšování zobrazení spektrálního profilu nebo nezpracovaných dat

- V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  **GA Instruments** >  **ga3130x1** nebo  **ga3130** >  *název přístroje* >  **Spectral Viewer** (Prohlížeč spektra).
- V zobrazení spektrálního profilu nebo nezpracovaných dat vyberte žádanou oblast kliknutím a potažením myši.
- Uvolněte tlačítko myši.  
Program Data Collection zobrazí zvolenou oblast.
- Stiskněte **r**, chcete-li se vrátit do původního zobrazení.

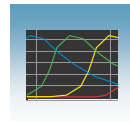


Zvětšování - volba oblasti spektrálního profilu



Zvětšená oblast tohoto spektrálního profilu

Poznámky \_\_\_\_\_



## Aktivace spektrální kalibrace

---

**DŮLEŽITÉ!** Není možné zahájit běh pokud není aktivní kalibrační soubor, který odpovídá zvolenému souboru barev a délce sady kapilár.

---

---

**DŮLEŽITÉ!** Software nepožaduje, abyste po změně typu polymeru provedli spektrální kalibraci, nicméně provedení tohoto kroku se důrazně doporučuje.

---

---

**DŮLEŽITÉ!** Kdykoliv instalujete nebo měníte sadu kapilár nebo přepínáte soubor barev, musíte aktivovat spektrální kalibraci příslušnou dané kombinaci sady kapilár a souboru barev nebo musíte tuto kalibraci nejprve provést a poté ji aktivovat.

---

---





**DŮLEŽITÉ!** Každá nová spektrální kalibrace je pro daný soubor barev automaticky nastavena jako aktivní.

---

Předešle vytvořenou spektrální kalibraci můžete pro daný běh aktivovat pokud odpovídá zvolenému souboru barev a délce sady kapilár (a pro fragmentační analýzu i typu polymeru), které používáte. Používejte aktivní spektrální kalibraci pro:

- Sekvenování vyžadující zvláštní spektrální kalibraci (pro týž soubor barev) pro různé délky kapilár a typy polymerů
- Fragmentační analýzu, která vyžaduje zvláštní spektrální kalibraci (pro týž soubor barev) pro různé délky kapilár a typy polymerů
- Zopakujte spektrální kalibraci je-li původní kalibrace lepší

### Nastavení aktivní spektrální kalibrace

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  **GA Instruments** >  **ga3130xl** or **ga3130** >  *název přístroje* >  **Spectral Viewer** (Prohlížeč spekter).

---

**DŮLEŽITÉ!** Je-li okno Prohlížeče spekter (Spectral Viewer) prázdné a neaktivní, znamená to buď že:

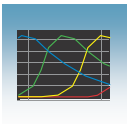
- Spektrální kalibrace pro daný soubor barev není v databázi
  - nebo
  - Změnili jste délku sady kapilár a nemáte pro danou kombinaci souboru barev a délky sady kapilár aktivovaný spektrální kalibrační soubor.
- 

2. V rozbalovacím menu Soubor barev (Dye Set) zvolte soubor barev.

Poznámky \_\_\_\_\_

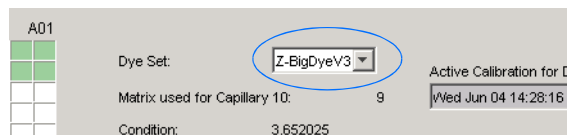
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

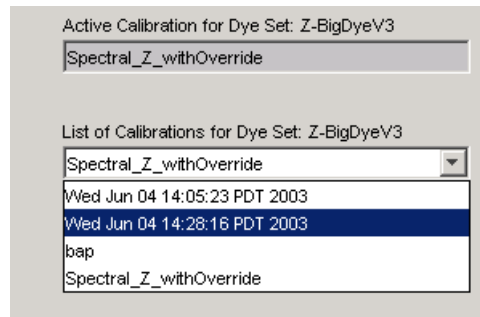


## Kapitola 3 Provedení spektrální kalibrace

### Aktivace spektrální kalibrace



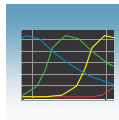
3. V samorozbalovacím menu Seznam kalibrací pro soubor barev (List of Calibrations for Dye Set) zvolte tu spektrální kalibraci, kterou chcete použít. Zobrazí se spektrální profil a nezpracovaná data.



4. Je-li spektrální kalibrace přijatelná, klikněte **Set**. Pokud ne, proveďte novou spektrální kalibraci.

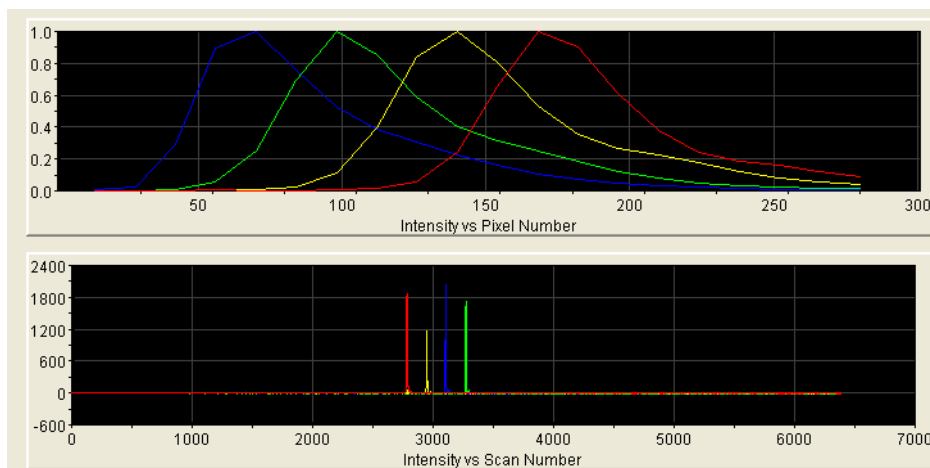
Poznámky \_\_\_\_\_



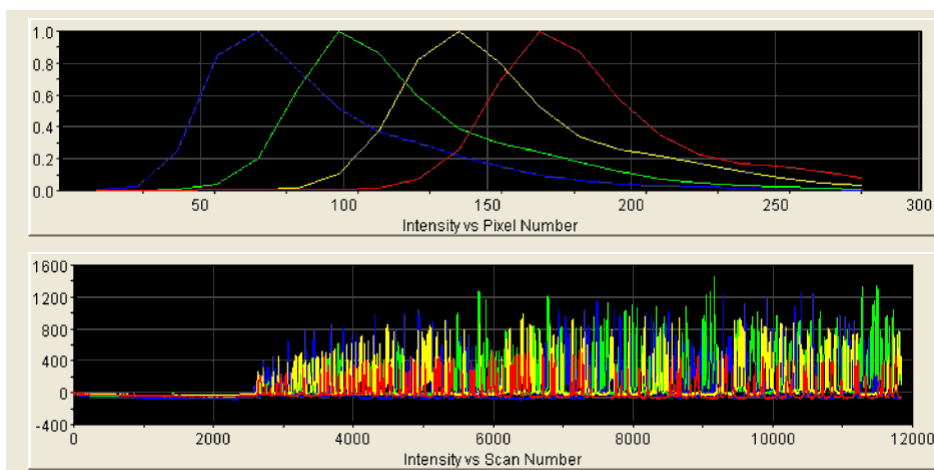


## Příklady přijatelné spektrální kalibrace - sekvenování

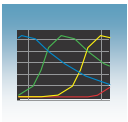
Soubor barev Z  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu Matrix  
Standard



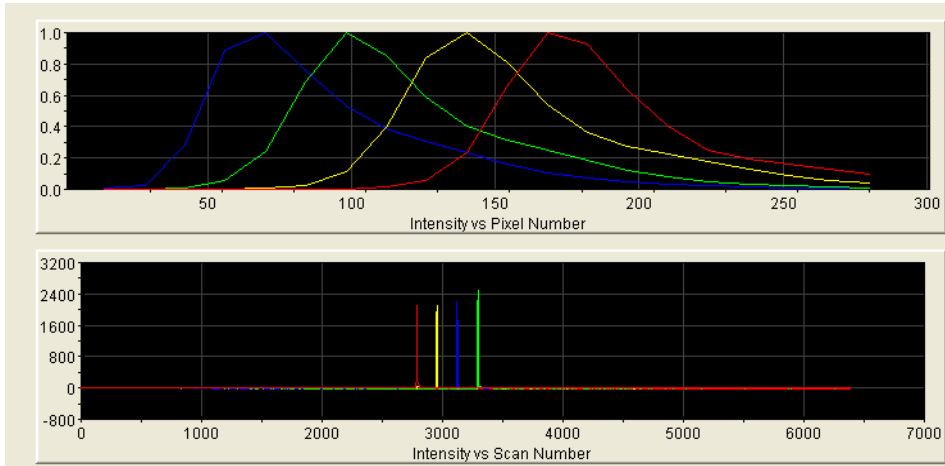
Soubor barev Z  
vytvořený z  
kalibračního  
standardu Sequen-  
cing Standard



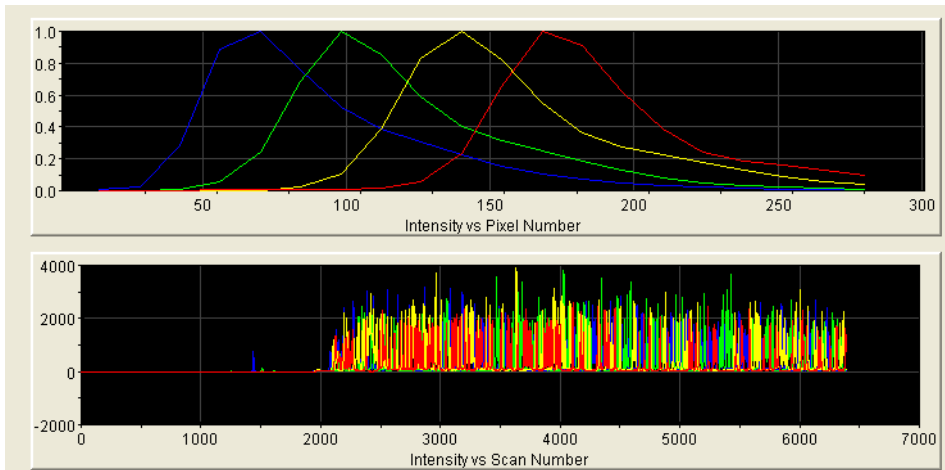
Poznámky \_\_\_\_\_



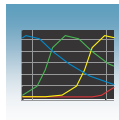
Soubor barev E  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu Matrix  
Standard Set  
DS-01



Soubor barev E  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu  
Sequencing  
Standard

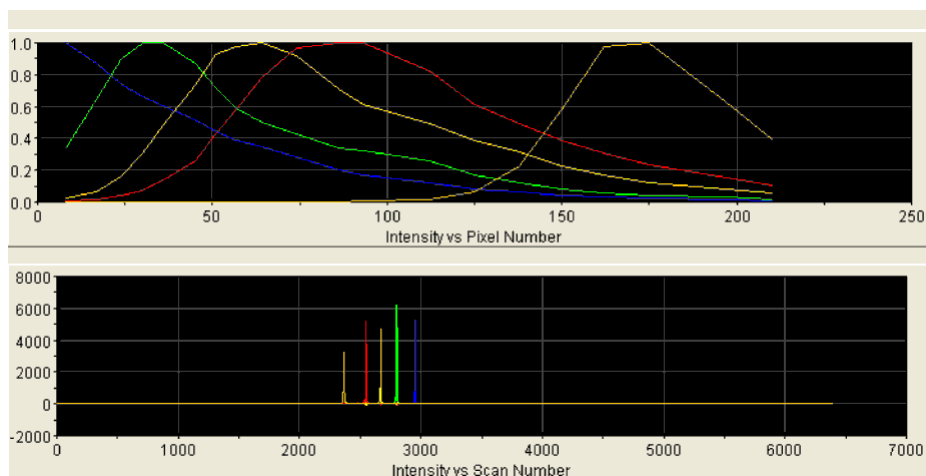


Poznámky \_\_\_\_\_

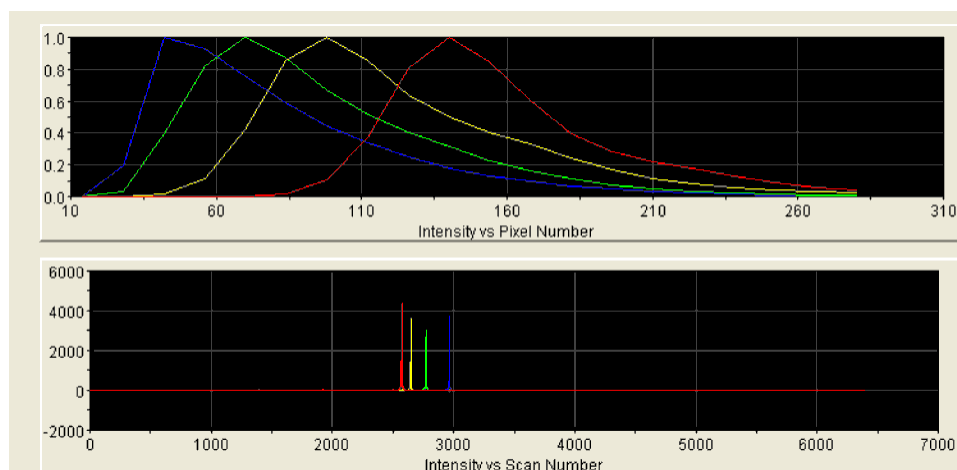


## Příklady přijatelné spektrální kalibrace – Fragmentační analýza

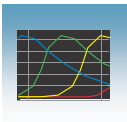
Soubor barev G5  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu  
Matrix Standard  
Set DS-33



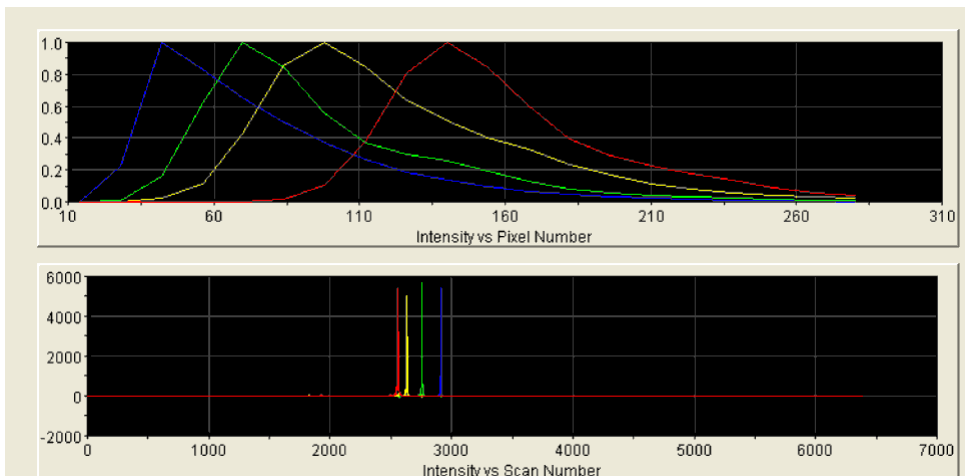
Soubor barev F  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu Matrix  
Standard Set  
DS-32



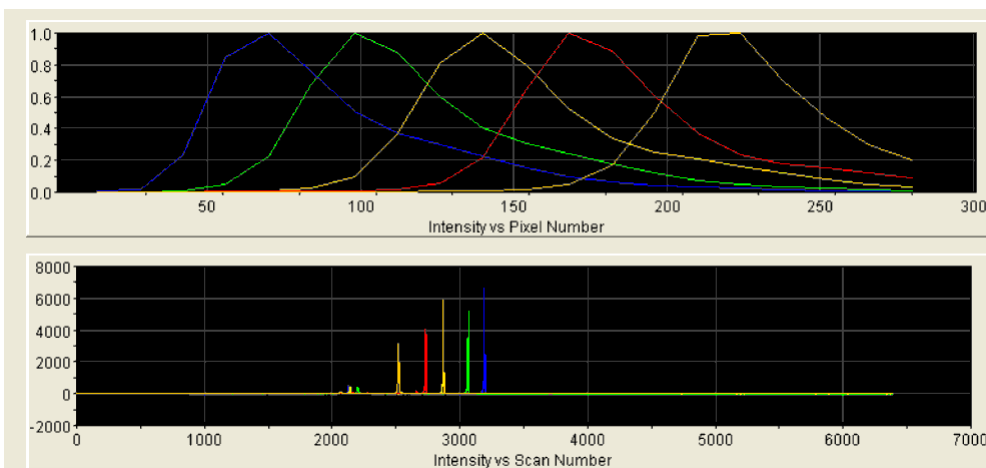
Poznámky \_\_\_\_\_



Soubor barev D  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu  
Matrix Standard  
Set DS-30

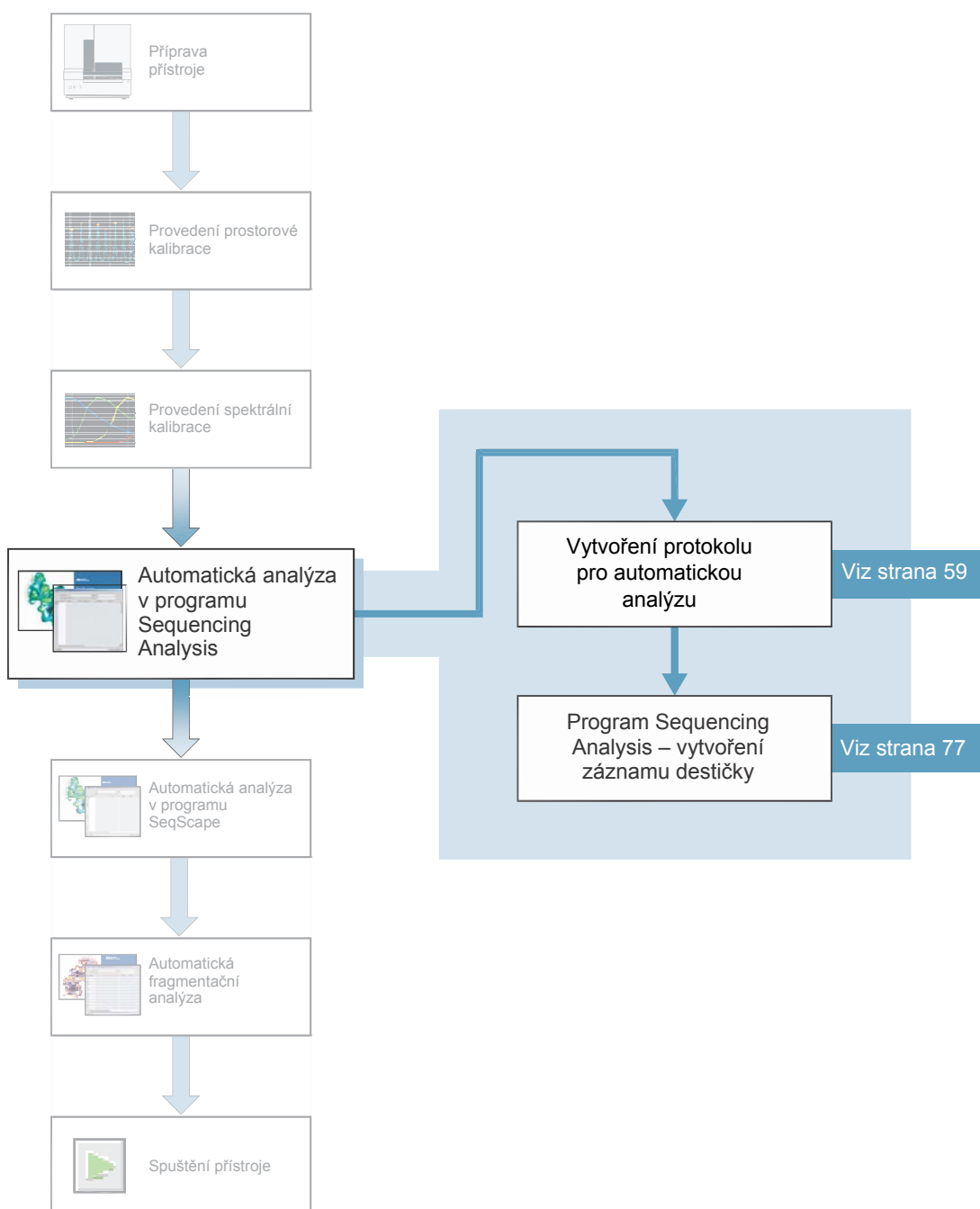


Soubor barev E5  
vytvořený  
z kalibračního  
standardu Matrix  
Standard Set  
DS-02



Poznámky \_\_\_\_\_

# Automatická analýza v programu Sequencing Analysis



Poznámky \_\_\_\_\_



## Program Sequencing Analysis

Detailní informace o sekvenační analýze naleznete v uživatelské příručce *Applied Biosystems DNA Sequencing Analysis Software v5.1 User Guide* (P/N 4346366) a o verzi programu 5.2. v uživatelském věstníku *Sequencing Analysis Software v5.2 User Bulletin* nazvaném *New Features* (P/N 4358355) (*Nové vlastnosti*).

Vaše sekvenační vzorky můžete analyzovat pomocí automatické analýzy nebo manuálně.

### Automatická analýza

Automatická analýza sekvenačních vzorků se provádí pomocí programu Data Collection genetických analyzátorů 3130/3130xl a programu Sequencing Analysis v5.2 nebo vyšší.

Program Sequencing Analysis je před vytvářením souborů potřebných pro automatickou analýzu nutné instalovat a registrovat spolu s programem Data Collection genetických analyzátorů 3130/3130xl.

Automatickou analýzu je možné provádět pouze na tom počítači, který byl použit pro sběr sekvenačních dat z jednotlivých vzorků. Pokud provádíte automatickou analýzu vzorků, ale přejete si její výsledky editovat nebo prohlížet na jiném počítači, musíte převést protokol o analýze vzorků do databáze programu Sequencing Analysis. Chcete-li analyzovat vzorky na jiném počítači, musíte tamtéž umístit soubory.

### Manuální analýza

Pokud v rámci běhu není nastavena automatická analýza, naleznete podrobnější informace v příručkách *Applied Biosystems DNA Sequencing Analysis Software v5.1 User Guide* a *Sequencing Analysis Software v5.2 User Bulletin - New Features*.

### Pravidla pojmenování souborů

V názvech souborů a jménech uživatelů není možné používat některé abecedněčíslicové znaky. Nepoužívejte níže uvedené znaky:

mezery

\ / : \* ? " < > |

---

**DŮLEŽITÉ!** Pokud některý z těchto znaků použijete, zobrazí se chybová hláška. Před dalším pokračováním musíte neplatný znak odstranit.

---

Poznámky \_\_\_\_\_



## Záznam destičky v programu Sequencing Analysis

**Přehled** Záznamy destiček (Plate records) jsou data v tabulkové formě, uložená v databázi přístroje, která obsahují následující informace:

- Název destičky, typ a majitel
- Pozice vzorku na destičce (číslo jamky)
- Název vzorku
- Mobility file (korekce pohyblivosti; v protokolu o analýze, údaje shrnuté v datovém souboru a sloužící ke korekci pohybu jednotlivých fragmentů)
- Komentář k destičce a jednotlivým vzorkům
- Název modulu běhu a informace o souboru barev (moduly běhu definují podmínky, za nichž jsou elektroforeticky analyzovány vzorky)
- Název protokolu o analýze

**Poznámka:** Záznam destičky (plate record) je obdobou seznamu vzorků (sample sheet) nebo seznamu nástřiku (injection list), který možná znáte z práce na jiných přístrojích ABI PRISM®.

**Kdy vytvořit záznam destičky** Záznam destičky vytvořte pro každou destičku se vzorky analyzovanými v následujících typech běhů:

- Spektrální kalibrace
- Analýza programem Sequencing Analysis
- Analýza programem SeqScape
- Analýza programem GeneMapper®
- Směsná destička (vzorky na sekvenování i fragmentační analýzu – detaily o tvorbě záznamu destičky pro tento typ běhu viz *Genetické analyzátory Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*)

Před zahájením běhu musíte vytvořit záznam destičky a propojit jej s destičkou připravenou v přístroji. Záznamy nových destiček můžete vytvářet během běhu.

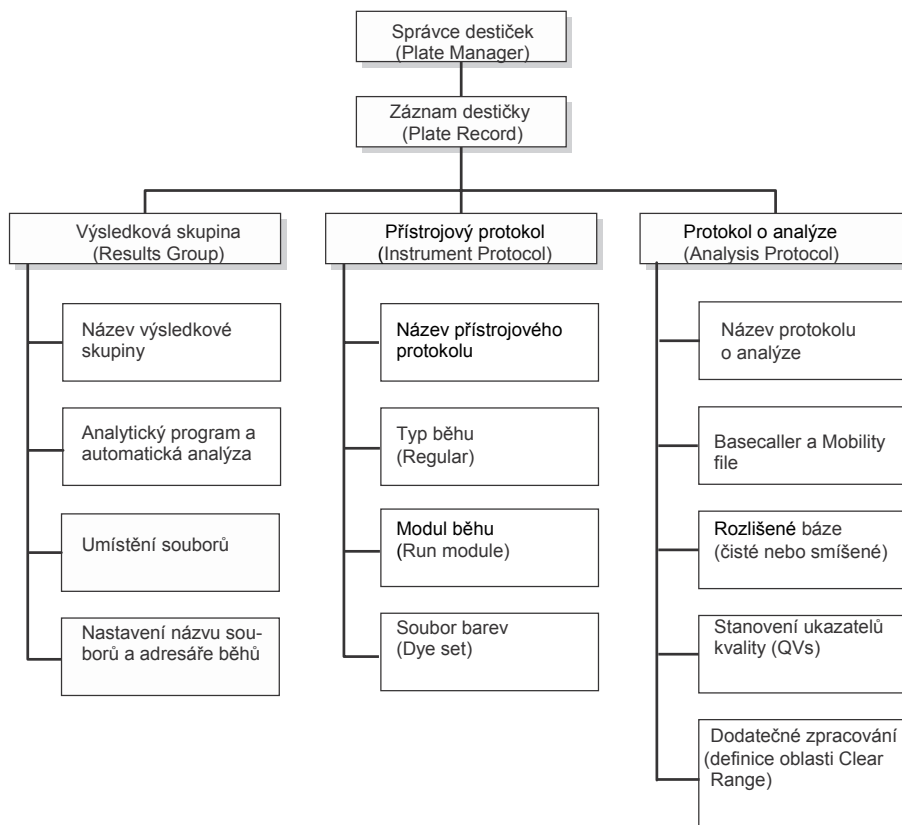
**Záznam destičky pro sekvenační analýzu** Zvolíte-li možnost New Plate (Nová destička), zobrazí editor záznamů destiček (Plate Editor) prázdný záznam destičky. Podle aplikace zvolené v dialogovém okně se mění jednotlivé údaje zobrazované v záznamu destičky. Tato část textu popisuje údaje v záznamu destičky je-li zvolena analýza programem Sequencing Analysis. Tabulka níže uvádí požadované údaje při editaci záznamu destičky:

Parametr	Popis	Viz strana
Přístrojový protokol (Instrument Protocol)	Obsahuje modul běhu a soubor barev, nutné pro provoz přístroje.	59
Protokol o analýze (Analysis Protocol)	Obsahuje vše potřebné pro analýzu sekvenačních dat.	62
Výsledková skupina (Results Group)	Definuje typ a název souboru, místo jeho uložení, program používaný pro analýzu a automatickou analýzu.	70

Poznámky \_\_\_\_\_



### Součásti záznamu destičky v programu Sequencing Analysis



---

**DŮLEŽITÉ!** Aby byly sběr dat a jejich automatická analýza úspěšné, je nutné, aby součástí záznamu destičky pro každý jednotlivý běh byly vždy přístrojový protokol, protokol o analýze a výsledková skupina.

---

Poznámky \_\_\_\_\_





Záznam destičky  
v programu  
Sequencing  
Analysis

Přednastaven je jeden běh, přidání dalších  
běhů viz [strana 79](#)

Sloupce v záznamu destičky v programu Sequencing Analysis

Číslo a sloupec	Popis
1. Název vzorku	Název vzorku
2. Komentář	Komentář ke vzorku (volitelné)
3. Priorita	Přednastavená hodnota je 100. Snížení této hodnoty zvyšuje prioritu souboru 16 nebo 4 vzorků ve smyslu upřednostnění jejich analýzy před ostatními vzorky v seznamu nástřiku.
4. Výsledková skupina	<p>Vybrané možnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nová (New): Otevře dialogové okno Editor výsledkové skupiny (Results Group Editor)</li> <li>• Upravit (Edit): Otevře Editor výsledkové skupiny pro výsledkovou skupinu zadanou v buňce</li> <li>• Žádná (None): Nastaví buňku tak, že v ní není zvolena žádná výsledková skupina</li> <li>• Zvolte jednu z výsledkových skupin ze seznamu</li> </ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit výsledkovou skupinu. Viz "Výsledková skupina v programu Sequencing Analysis" na straně 70.</p>

Poznámky \_\_\_\_\_



Číslo a sloupec	Popis
5. Přístrojový protokol	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nový (New): Otevře dialogové okno Editor protokolu (Protocol Editor).</li><li>• Upravit (Edit): Otevře dialogové okno Editor protokolu pro přístrojový protokol zadaný v buňce.</li><li>• Žádný: Nastaví buňku tak, že v ní není zvolen žádný protokol.</li><li>• Seznam přístrojových protokolů: V číslíkové abecedním pořadí.</li></ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit přístrojový protokol. Viz <a href="#">"Přístrojový protokol v programu Sequencing Analysis"</a> na straně 59.</p>
6. Protokol o analýze	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nový (New): Otevře dialogové okno Editor protokolu o analýze (Analysis Protocol Editor).</li><li>• Upravit (Edit): Otevře dialogové okno Editor protokolu o analýze pro protokol o analýze zadaný v buňce.</li><li>• Žádný: Nastaví buňku tak, že v ní není zvolen žádný protokol.</li><li>• Seznam protokolů o analýze: V číslíkové abecedním pořadí.</li></ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit protokol o analýze. Viz <a href="#">"Protokol o analýze v programu Sequencing Analysis"</a> na straně 62.</p>

Poznámky \_\_\_\_\_




## Vytvoření protokolu pro automatickou analýzu v programu Sequencing Analysis




Pokud máte již příslušný přístrojový protokol, protokol o analýze a výsledkovou skupinu vytvořeny, pokračujte [na straně 77](#) “Vyplnění záznamu destičky v programu Sequencing Analysis”.

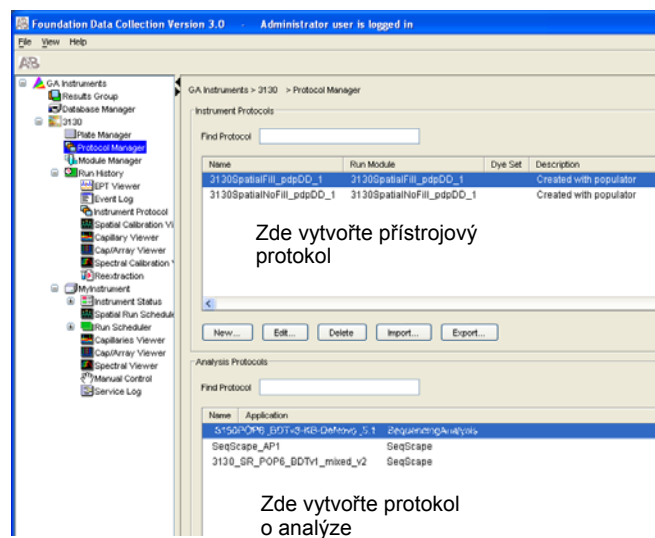
### Přístrojový protokol v programu Sequencing Analysis

Přístrojový protokol obsahuje veškerá nastavení potřebná pro spuštění přístroje: název protokolu, typ běhu, modul běhu a soubor barev.

 **WARNING** Je-li přístroj v provozu, neupravujte aktuálně používaný přístrojový protokol.

#### Vytvoření přístrojového protokolu

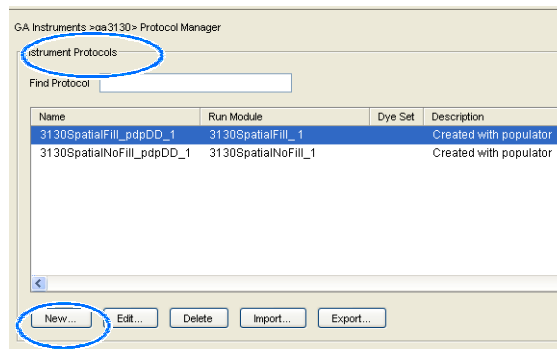
1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  **GA Instruments** >  **ga3130xl** nebo **ga3130** >  **Protocol Manager** (Správce protokolů).



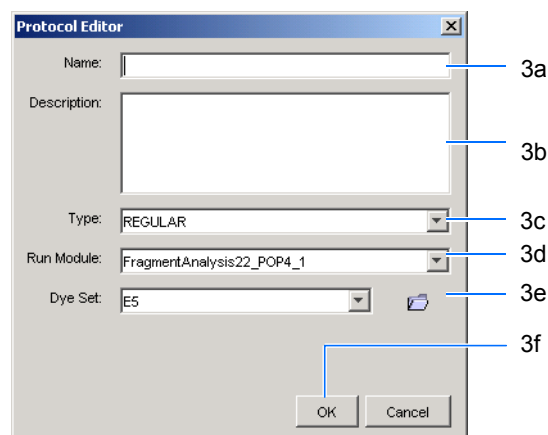
Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



2. V části Přístrojový protokol (Instrument Protocol) klikněte **New...**.  
Otevře se Editor protokolu (Protocol Editor).



3. Vyplňte Editor protokolu:
- Napište název (Name) protokolu.
  - Napište popis (Description) protokolu (volitelné).
  - Zvolte **Regular** v menu typ (Type).



- d. Zvolte modul běhu (Run module) pro váš běh.  
Viz [“Rozlišení a specifikace sekvenování”](#)  
na straně 3.

---

Poznámka: Chcete-li upravit modul běhu, postupujte podle příručky *Genetické analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.

---

Poznámky \_\_\_\_\_



- e. Zvolte odpovídající soubor barev (Dye Set) pro váš běh podle následující tabulky.

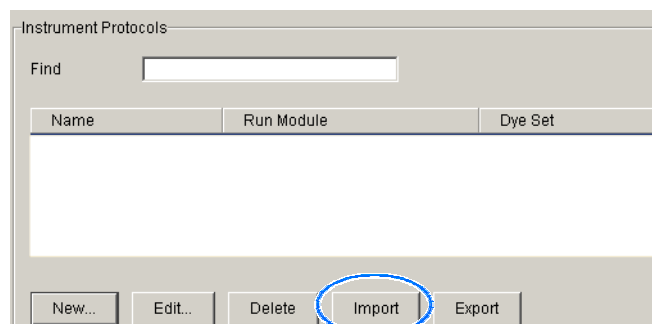
Kit	Soubor barev (Dye Set)	POP-4 Polymer			POP-6 Polymer		POP-7 Polymer				
		UltraSeq36	StdSeq50	LongSeq80	RapidSeq36	StdSeq50	UltraSeq36	RapidSeq36	FastSeq50	StdSeq50	LongSeq80
BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	Z_BigDye V3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator v3.0 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	E_BigDye V1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kit*		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ABI PRISM® dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit		√	√	√	√	√	—	—	—	—	—
ABI PRISM® BigDye® Primer Cycle Sequencing Kity		—	—	—	√	√	—	—	—	—	—

\* dGTP kity nejsou na přístrojích provádějících kapilární elektroforézu podporovány kvůli kompresím v určitých úsecích sekvencí; pokud to pro vás nepředstavuje problém, můžete tyto kity použít.

- f. Klikněte

### Import přístrojového protokolu

1. V okně Editor protokolu, v části Přístrojové protokoly (Instrument Protocols) klikněte  , čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).
2. Najděte soubor typu .xml, který chcete importovat.
3. Zvolte .xml soubor a klikněte Otevřít (Open).



### Export přístrojového protokolu

1. V části Přístrojové protokoly (Instrument Protocols) označte protokol, který chcete exportovat.
2. Klikněte  , čímž otevřete dialogové okno Export souboru (File Export).
3. Zvolte cílový adresář.
4. Klikněte  (Uložit).

Poznámky \_\_\_\_\_



## Protokol o analýze v programu Sequencing Analysis

Protokol o analýze obsahuje veškerá nastavení nezbytná pro analýzu a následné zpracování:

- **Název protokolu** – Název, popis protokolu o analýze a formáty souborů sekvencí, které budou používány.
- **Nastavení Basecalling (rozlišení jednotlivých bází)** – Basecaller, Mobility file a konečný bod analýzy.
- **Směsné báze (Mixed Bases) (Volitelné)** – Jsou-li v jedné pozici detekovány dvě báze. Nastavte výšku druhého nejvyššího píku (v %) v poměru k nejvyššímu píku.
- **Clear Range** – Oblast sekvence o vysoké kvalitě vzniklá odstraněním úseků o nízké kvalitě, které se běžně vyskytují na začátku a na konci sekvence. Oblast Clear range lze definovat pozicemi bází, pomocí ukazatelů kvality (QV) a/nebo počtem přítomných nedefinovaných bází (N).

**Poznámka:** Pokud jste vytvořili protokol o analýze v programu Sequencing Analysis, můžete jej použít i v prostředí Data Collection.

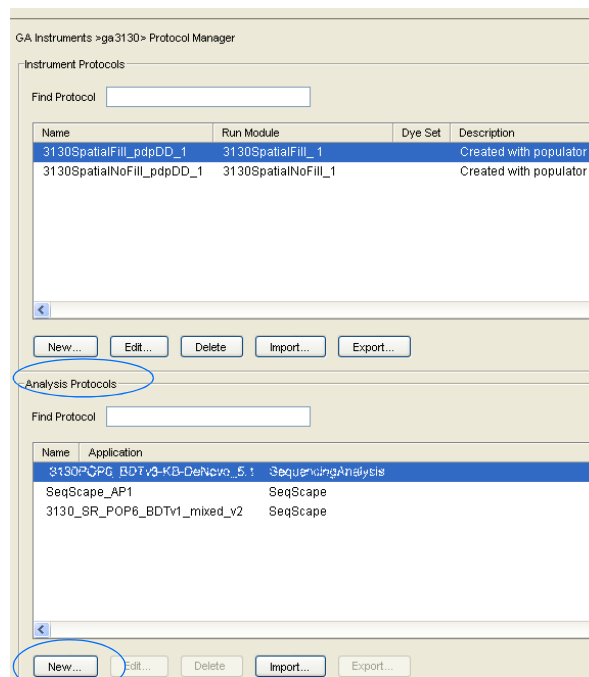
**DŮLEŽITÉ!** Protokol o analýze, který je právě používán, nemažte. Pokud to učiníte, nebude provedena automatická analýza.

### Vytvoření protokolu o analýze

Potřebujete-li více informací o protokolech o analýze, naleznete je v příručce *Applied Biosystems DNA Sequencing Analysis Software v5.2 User Guide* (P/N 4346366).

1. V části Protokol o analýze (Analysis Protocol) Správce protokolů (Protocol Manager) klikněte **New...** (Nový). Je-li na počítači sloužícímu pro sběr dat instalováno více aplikací pro analýzu sekvencí, otevře se okno Analysis Applications (Aplikace pro analýzu).

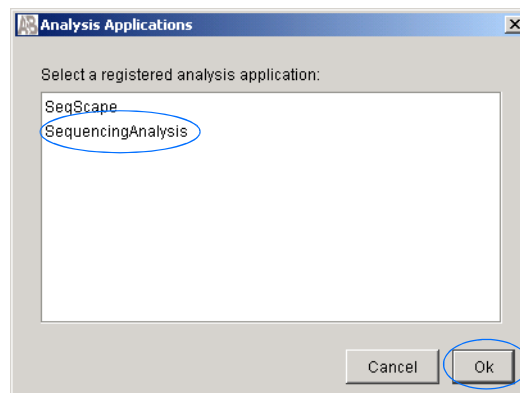
**Poznámka:** Při pojmenování vašich protokolů o analýze použijte označení verze, abyste vaše protokoly lépe odlišili.



Poznámky \_\_\_\_\_



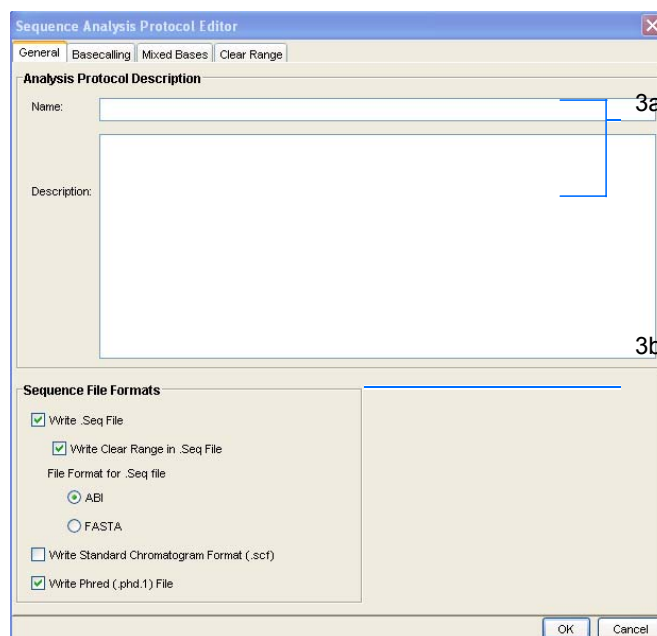
2. Zvolte **Sequencing Analysis**, klikněte **OK**, čímž otevřete dialogové okno Editor protokolu o analýze (Analysis Protocol Editor).



3. V záložce **General (Obecné)**:

- Zadejte unikátní název a popis nového protokolu.
- Zvolte odpovídající nastavení formátů souborů sekvencí (Sequence File Formats).

Možnost	Následek...
Zatrhnuo Write .Seq File	Soubor .seq pro tisk sekvence v textovém formátu nebo pro použití v jiném softwaru. <ul style="list-style-type: none"> <li>Použijte formát ABI pro software Applied Biosystems.</li> <li>Použijte formát FASTA pro ostatní software.</li> </ul>
Write Standard Chromatogram Format file (.scf)	Soubor .scf pro použití v jiném softwaru. Vytváří se bez přípony .scf.
Write Phred (.phd.1) File	Soubor .phd.1 pro použití v jiném softwaru pokud jste použili KB™ basecaller.



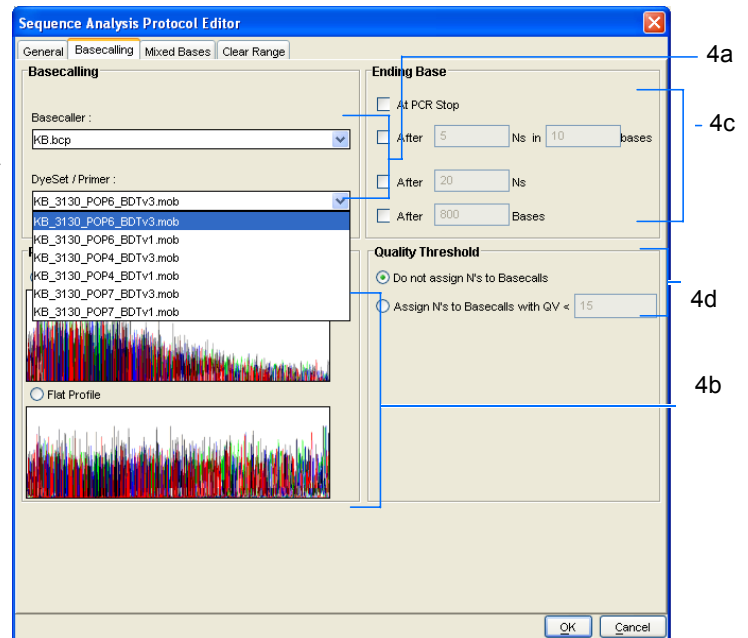
Poznámky \_\_\_\_\_



4. V záložce **Basecalling**:

- a. Zvolte Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/ Primer (Mobility file) podle tabulky “Genetické analyzátoři 3130/3130xl – Basecaller a Soubor barev/Primer” na straně 66.

Poznámka: Programy Sequencing Analysis a Data Collection genetických analyzátoři 3130/3130xl filtrují nabídku souborů .mob tak, aby odpovídala zvolenému souboru .bcp.



- b. V části Processed data (Analyzovaná data) zvolte typ profilu True nebo Flat.

Možnost	Zobrazení dat...
<input checked="" type="radio"/> True Profile	Uniformně – průměrná výška píků v oblasti nejsilnějšího signálu je přibližně rovna fixní hodnotě. Celkový profil píků je velmi podobný zobrazení signálu nezpracovaných dat.
<input checked="" type="radio"/> Flat Profile	Semilokálně – průměrná výška píků v jakékoliv oblasti je přibližně rovna fixní hodnotě. Celkový profil píků je plochý a ve střední škále (> ca 40 bází).  Poznámka: Tuto možnost lze použít pouze pro data analyzovaná pomocí KB™ basecaller. Používáte-li ABI basecaller, změní se nastavení na True Profile.

- c. Máte možnost zvolit jeden nebo více konečných bodů (stop points) analýzy.  
 d. Nastavte parametr Quality Threshold (Práh kvality).

Možnost	Funkce
<input checked="" type="radio"/> Call all bases and assign QV	Při použití KB™ basecaller je pro každou pozici definována báze a ukazatel kvality (QV).
<input checked="" type="radio"/> Assign 'N' for bases with QV < 15	Při použití KB™ basecaller jsou pozice s hodnotou ukazatele kvality (QV) nižší než nastavená hodnota určeny jako báze N. Hodnota QV se zobrazí.

Poznámky \_\_\_\_\_



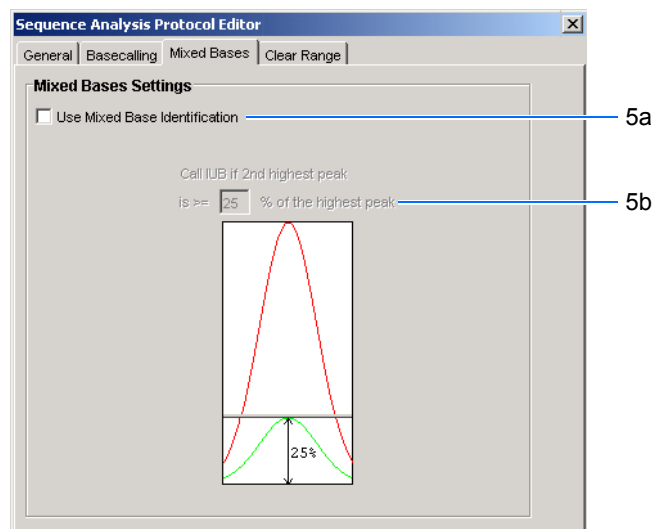


5. Zvolte záložku **Mixed Bases** (Směsné báze).

Poznámka: Tato funkce je dostupná pouze při použití KB Basecaller.

- a. Zvolte **Use Mixed Base Identification** (Používat identifikaci směsných bází).
- b. Použijte předdefinované nastavení 25% nebo je změňte zadáním nové hodnoty či potažením linky % nahoru nebo dolů.

Poznámka: Jako detekční limit nepoužívejte méně než 15%.

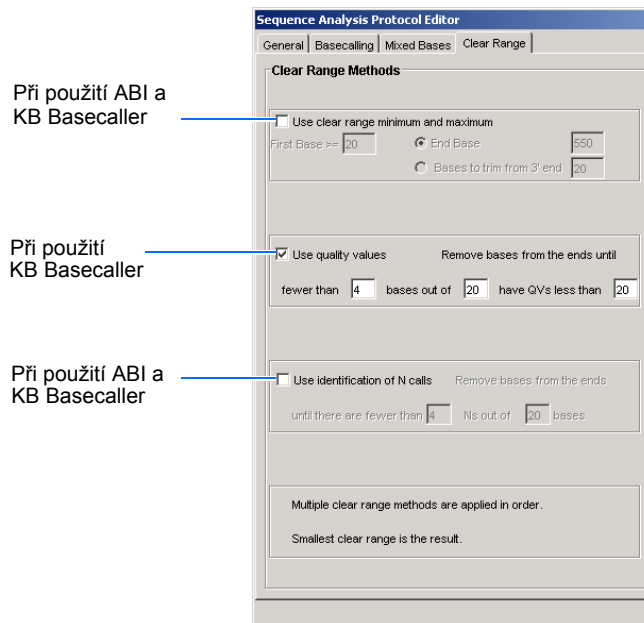


6. Zvolte záložku **Clear Range**.

Poznámka: Oblast Clear Range je ta oblast sekvence, která zůstane po odstranění sekvence o nízké kvalitě nebo náchylné k chybám na 5' a 3' konci.

Zvolte jednu nebo více metod pro definici oblasti Clear Range. Pokud použijete více metod, bude výsledkem ta nejmenší oblast Clear Range.

7. Klikněte **OK**, čímž protokol uložíte a uzavřete dialogové okno editoru Sequence Analysis Protocol Editor.



Poznámky \_\_\_\_\_



## Genetické analyzátoři 3130/3130xl - Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/Primer

Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/Primer pro použití s kity BigDye® Terminator a KB Basecalling

Kit	Polymer	KB Basecalling modul běhu	Soubor barev (DyeSet)/Primer (Mobility file)	Basecaller		
BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	POP-4™	UltraSeq36_POP4	KB_3130_POP4_BDTv1.mob	KB.bcp		
		StdSeq50_POP4				
		LongSeq80_POP4				
	POP-6™	RapidSeq36_POP6	KB_3130_POP6_BDTv1.mob			
		StdSeq50_POP6				
	POP-7™	UltraSeq36_POP7	KB_3130_POP7_BDTv1.mob			
		RapidSeq36_POP7				
		FastSeq50_POP7				
		StdSeq50_POP7				
		LongSeq80_POP7				
	BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	POP-4	UltraSeq36_POP4		KB_3130_POP4_BDTv3_.mob	
			StdSeq50_POP4			
LongSeq80_POP4						
POP-6		RapidSeq36_POP6	KB_3130_POP6_BDTv3.mob			
		StdSeq50_POP6				
POP-7		UltraSeq36_POP7	KB_3130_POP7_BDTv3.mob			
		RapidSeq36_POP7				
		FastSeq50_POP7				
		StdSeq50_POP7				
		LongSeq80_POP7				

Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/Primer pro použití s kity BigDye® Terminator a ABI Basecalling

Kit	Polymer	ABI Basecalling modul běhu	Basecaller	Soubor barev (DyeSet)/Primer (Mobility file)
BigDye® Terminator v1.1 Kit	POP-4™	UltraSeq36_POP4	Basecaller-3130POP4UR.bcp	DT3130POP4LR{BD}v1.mob
		LongSeq80_POP4	Basecaller-3130POP4_80cmv3.bcp	
	POP-6™	RapidSeq36_POP6	Basecaller-3130POP6RRv2.bcp	DT3130POP6{BD}v2.mob
		StdSeq50_POP6	Basecaller-3130POP6SR.bcp	

Poznámky \_\_\_\_\_



Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/Primer pro použití s kity BigDye® Terminator a ABI Basecalling (pokračování)

BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	POP-4	UltraSeq36_POP4	Basecaller-3130POP4UR.bcp	DT3130POP4{BDv3}v1.mob
		LongSeq80_POP4	Basecaller-3130POP4_80cmv3.bcp	
	POP-6	RapidSeq36_POP6	Basecaller-3130POP6RRv2.bcp	DT3130POP6{BDv3}v1.mob
		StdSeq50_POP6	Basecaller-3130POP6SRv2.bcp	
ABI PRISM® dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit	POP-4	UltraSeq36_POP4	Basecaller-3130APOP4UR.bcp	DT3130POP4{dRhod}v2.mob
		LongSeq80_POP4	Basecaller-3130POP4_80cmv3.bcp	
	POP-6	RapidSeq36_POP6	Basecaller-3130POP6RRv2.bcp	DT3130POP6{dRhod}v2.mob
		StdSeq50_POP6	Basecaller-3130POP6SR.bcp	

Kity se značenými primery

Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/Primer pro použití s kity se značenými primery

Kit	Polymer	ABI Basecalling Modul běhu	Basecaller	Soubor barev (DyeSet)/Primer (Mobility file)
ABI PRISM® BigDye® Primer Cycle Sequencing Kit	POP-6	RapidSeq36_POP6	Basecaller-3130POP6RRv2.bcp	DP3130POP6{BD-21M13}v1.mob
		StdSeq50_POP6	Basecaller-3130POP6SR.bcp	DP3130POP6{BD-21M13Rev}v1.mob

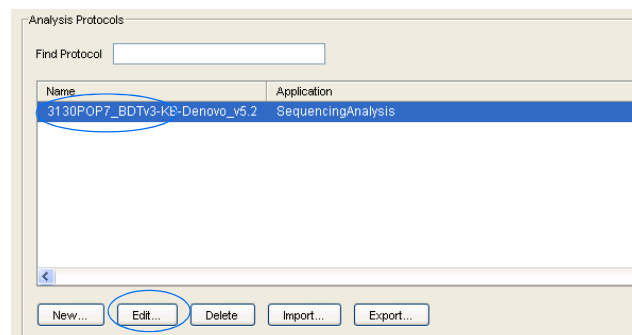
Poznámky \_\_\_\_\_



## Úpravy a vymazání protokolu o analýze

### Úpravy protokolu o analýze

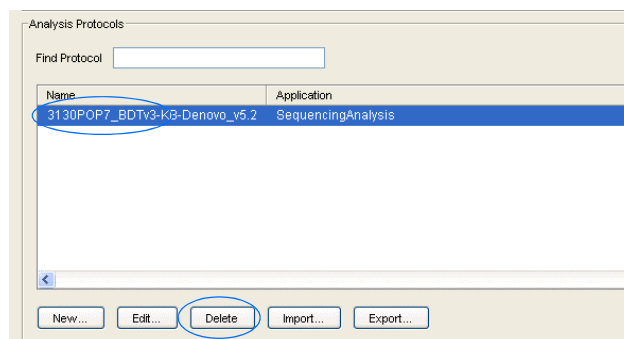
1. Ve správci protokolů o analýze (Analysis Protocol Manager) v části Protokoly o analýze (Analysis Protocols) označte protokol, který chcete upravit.
2. Klikněte **Edit...** (Upravit).
3. Proveďte žádané změny v záložkách Obecné (General), Basecalling, Směsné báze (Mixed Bases) a Clear Range.
4. Klikněte **OK**, čímž protokol uložíte a uzavřete okno editoru protokolu.



### Vymazání protokolu o analýze

**DŮLEŽITÉ!** Nevymazávejte protokol o analýze pokud je používán v právě spuštěném běhu. Pokud tak učiníte, nebude provedena automatická analýza. Nejprve musíte vymazat všechny záznamy destiček, které tento protokol o analýze používají, teprve pak je možné vymazat nebo upravit protokol o analýze používaný v těchto destičkách.

1. Ve správci protokolů o analýze (Analysis Protocol Manager) v části Protokoly o analýze označte protokol, který vymazat.
2. Klikněte **Delete** (Smazat), čímž zobrazíte dialogové okno, kde potvrdíte vymazání protokolu.
3. Klikněte **Yes**.

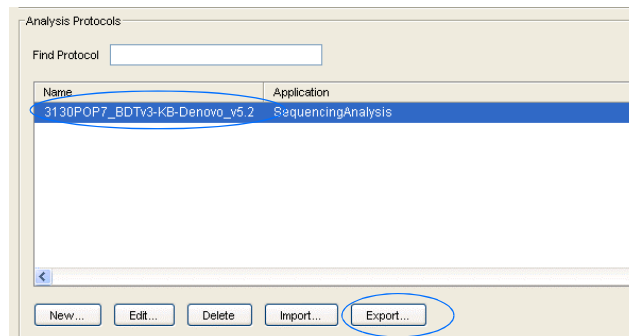


Poznámky \_\_\_\_\_



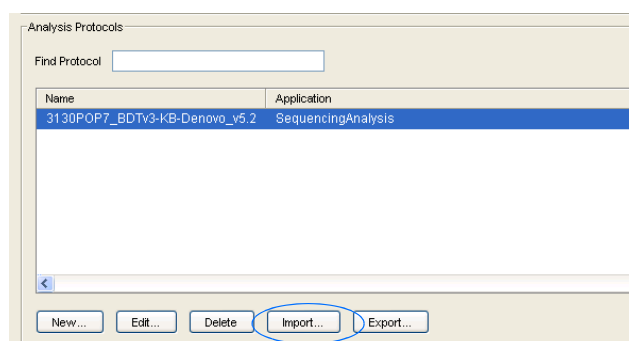
## Export protokolu o analýze

1. Ve správci protokolů o analýze (Analysis Protocol Manager) v části Protokoly o analýze označte protokol, který chcete exportovat.
2. Klikněte **Export**, čímž otevřete dialogové okno Export souboru (File Export).
3. Zvolte cílový adresář.
4. Klikněte **Save** (Uložit).



## Import protokolu o analýze

1. Klikněte **Import**, čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).
2. Najděte soubor typu .xml, který chcete importovat a klikněte **Open** (Otevřít).



Poznámky \_\_\_\_\_

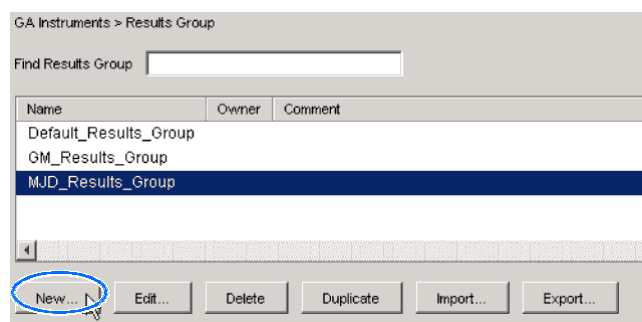


## Výsledková skupina v programu Sequencing Analysis

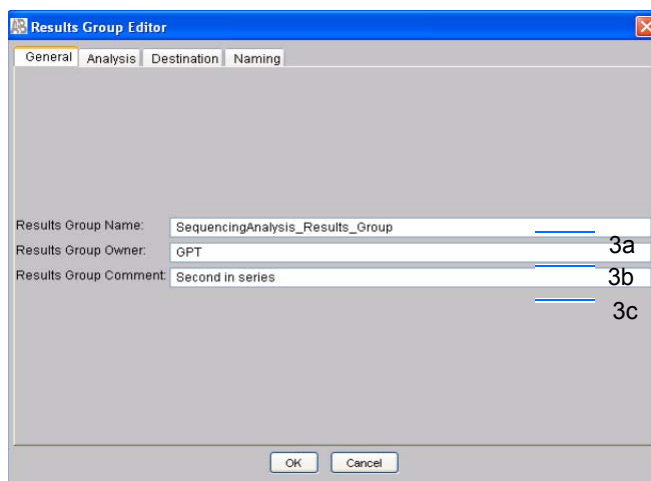
Výsledková skupina, která je součástí programu Data Collection, pod jedním názvem zahrnuje vzorky a určitá uživatelská nastavení. Nazývá se Výsledková skupina, protože se používá pro pojmenování a manipulace se vzorky, které jsou výsledkem běhu.

### Vytvoření výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **Results Group** (Výsledková skupina).
2. Klikněte **New...**, čímž zobrazíte editor výsledkové skupiny (Results Group Editor).



3. Vyplňte záložku General (Obecné):
  - a. Napište unikátní název výsledkové skupiny. Název lze použít při pojmenování a třídění souborů vzorků.
  - b. Napište jméno majitele (Owner) výsledkové skupiny (volitelné). Jméno lze použít při pojmenování a třídění souborů vzorků.
  - c. Napište komentář k výsledkové skupině (volitelné).

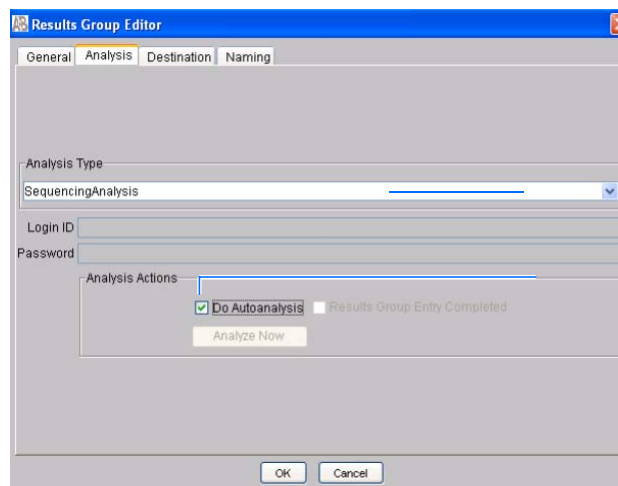


Poznámky \_\_\_\_\_



4. Zvolte záložku **Analysis** (Analýza):
- Z rozbalovacího menu zvolte **Sequencing Analysis**.
  - V části Analysis Actions (Kroky analýzy) zvolte **Do Autoanalysis (Provést automatickou analýzu)**, pokud chcete, aby data byla po ukončení běhu automaticky analyzována.

Poznámka: Uživatelské jméno a heslo nejsou pro program Sequencing Analysis požadovány.

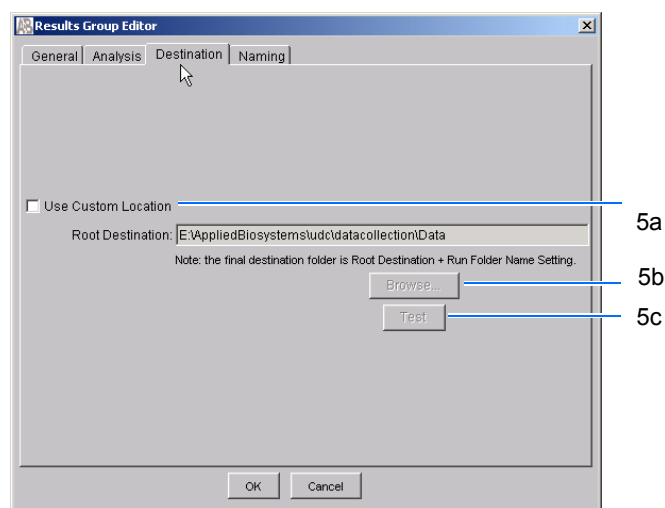


5. Zvolte záložku **Destination** (Umístění souborů) a definujte cílový adresář umístění dat.

Chcete-li použít...	Pak ...
předvolené umístění*	jděte na krok 6.
vlastní umístění	proved'te kroky a-b.

- Klikněte **Use Custom Location (Vlastní umístění)**, pak klikněte **Browse...** (Vyhledat) a vyhledejte požadované umístění.
- Klikněte **Test**, čímž ověříte dosažitelnost zvoleného adresáře:

Pokud...	Zobrazí se zpráva ...
je dosažen	Test succeeded: <"umístění">.
není dosažen	Test failed:<"umístění">.



#### \*Umístění souborů vzorků

Umístění souborů vzorků během zpracování:

- Předvolené nastavení a pojmenování adresářů: E:\AppliedBiosystems\UDC\DataCollection\data\*<typ přístroje>*\<i>název přístroje</i>\adresář běhu
- Předvolené nastavení a volitelné pojmenování adresářů: E:\AppliedBiosystems\UDC\DataCollection\data\volitelný adresář podadresáře, atd.
- Volitelné umístění, předvolené pojmenování adresářů: Umístění\*<typ přístroje>*\<i>název přístroje</i>\adresář běhu
- Volitelné umístění, volitelné pojmenování adresářů: Umístění\adresář\podadresáře, atd.

Poznámky \_\_\_\_\_



## 6. Zvolte záložku **Naming** (Pojmenování).

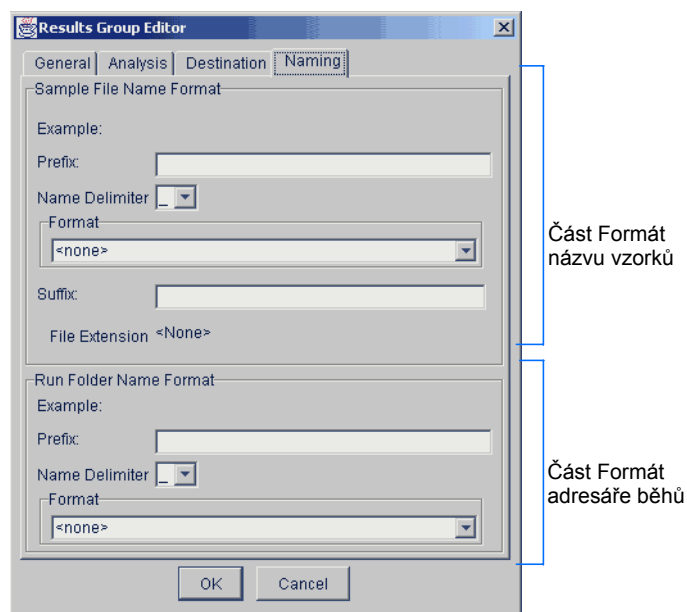
Tato záložka slouží k úpravě názvů vzorků a adresářů běhů. Máte dvě možnosti:

- Použijte předvolené názvy adresáře a vzorků.
- Použijte vlastní názvy pro adresář a vzorky. Viz **“Volitelné: Vyplnění části Formát názvu vzorků”** na straně 73, kde naleznete vysvětlení jednotlivých položek.

---

Poznámka: Název vzorku, adresáře běhů a cesty nesmí přesáhnout více než 250 znaků celkem.

---



Poznámky \_\_\_\_\_

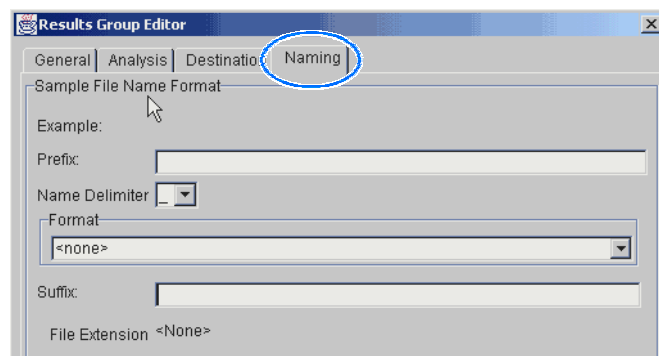




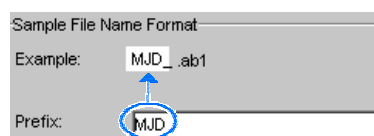
## Volitelné: Vyplnění části Formát názvu vzorků

Poznámka: Přednastavený název pro sekvenční analýzu je: seq\_<číslo kapiláry>\_<označení jamky>.ab1

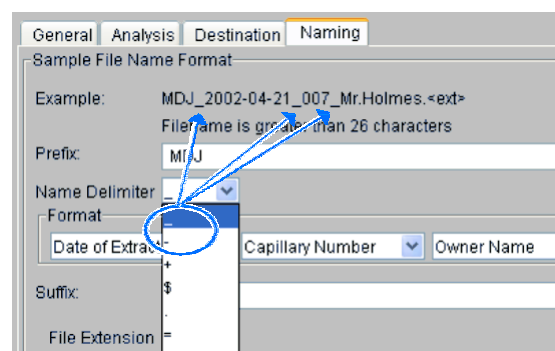
### 1. Zvolte záložku Naming (Pojmenování).



### 2. Zadejte předponu názvu v kolonce Prefix. Vámi zadaný údaj se zobrazí v řádce Example (příklad).

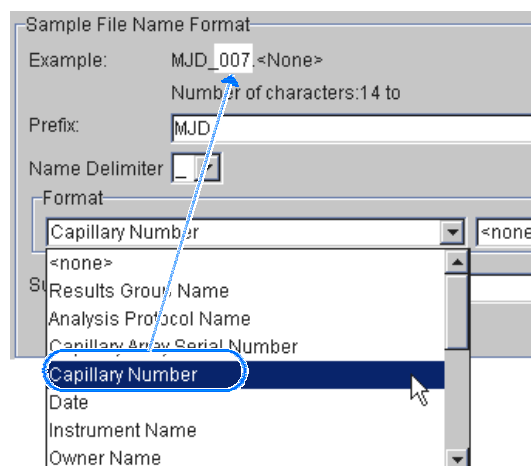


### 3. Z rozbalovacího menu zvolte symbol (Name delimiter), jímž oddělíte předponu názvu od další části názvu. Je možné zvolit pouze jeden oddělovací symbol.



### 4. Klikněte na seznam v části Format a zvolte údaje, které chcete mít jako součást názvu vzorku.

Poznámka: Vzorky z jediného běhu mohou být všechny umístěny do téhož adresáře běhu nebo adresáře výsledků, takže názvy vzorků v rámci jednoho běhu by měly být odlišné. Většina možností v seznamu Format není pro jednotlivé vzorky odlišná, takže zvolte alespoň jednu z možností, která odlišná je.



Poznámky \_\_\_\_\_



Pokud součástí názvu není jednoznačná identifikace vzorku, zobrazí se varovná hláška. Zvolte pojmenování tak, aby bylo pro vzorky unikátní.

Například:

- Označení jamky
- Číslo kapiláry
- Číslo běhu
- Kvadrant destičky

**Poznámka:** Některé součásti názvu jako je označení jamky, číslo kapiláry a kvadrant destičky nejsou samy o sobě unikátní. Kvadrant destičky není unikátní pro 96-jamkovou destičku.

Zvolené součásti názvu se postupně zobrazují v řádce Example (příklad). Postupně se zobrazují i další rozbalovací menu, umožňující výběr dalších součástí názvu.

Varovná hláška

Pole jednotlivých rozbalovacích menu se mohou zmenšovat, ale řádka Example zůstává viditelná až do délky 72 znaků.

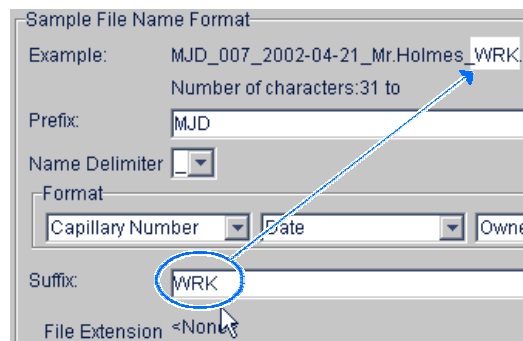
**Poznámka:** Pro plné zobrazení jednotlivých rozbalovacích menu můžete upravit velikost dialogového okna výsledkové skupiny.

Poznámky



5. V poli Suffix (Přípona) napište příponu názvu vzorku.

Poznámka: Pole File Extension (přípona souboru) zobrazuje příponu souboru vytvořenou na základě specifikace typu analýzy v záložce Analysis (viz [strana 71](#)). Například analýza programem Sequencing Analysis generuje vzorky s příponou .ab1.



## Volitelné: Vyplnění části formát názvu Adresáře běhů/podadresářů

Poznámka: Přednastavený název adresáře běhů pro sekvenční analýzu je Run\_<Název přístroje>\_<Datum a čas běhu>\_<RunSeq#>.

Při tvorbě názvu podadresářů proveďte totožné kroky jako při tvorbě formátu názvů vzorků (viz [strana 73](#)). Vytvořte názvy podadresářů unikátní např. použitím názvu adresáře.

## Uložení výsledkové skupiny

Jakmile ukončíte nastavení jednotlivých parametrů klikněte v jakékoliv záložce  .

Poznámka: I když definujete vlastní místo ukládání souborů běhu, systém vytvoří zvláštní předdefinovaný adresář obsahující soubor log.

## Importování a exportování výsledkové skupiny

Výsledkové skupiny je možné importovat z nebo exportovat do souborů typu XML, čímž je umožněno sdílení totožných výsledkových skupin mezi jednotlivými přístroji.

### Import výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **Results Group**.
2. Klikněte  , čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).

Poznámky \_\_\_\_\_





3. Vyhledejte soubor, který chcete importovat.

Poznámka: Jedná se o soubor typu .xml (XML soubor).

4. Klikněte  (otevřít).

#### Export výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  **GA Instruments** >  **Results Group**.

2. Kliknutím zvolte výsledkovou skupinu.

3. Klikněte .

Zobrazí se dialogové okno pro export souboru se jménem zvolené výsledkové skupiny.

4. Vyhledejte plánované umístění exportovaného souboru.

5. Klikněte  (uložit).


---

Poznámka: Pokud již v daném umístění existuje výsledková skupina téhož jména, proveďte duplikaci výsledkové skupiny. Duplikace uloží nastavení do obdobné výsledkové skupiny bez rizika uživatelské chyby při jejím manuálním kopírování (viz postup níže).

---

#### Duplikace výsledkové skupiny

1. Klikněte na název výsledkové skupiny.

2. Klikněte  (duplikovat).

---

Poznámka: Při duplikaci výsledkové skupiny musíte zadat název nové výsledkové skupiny a typ aplikace používané pro analýzu.

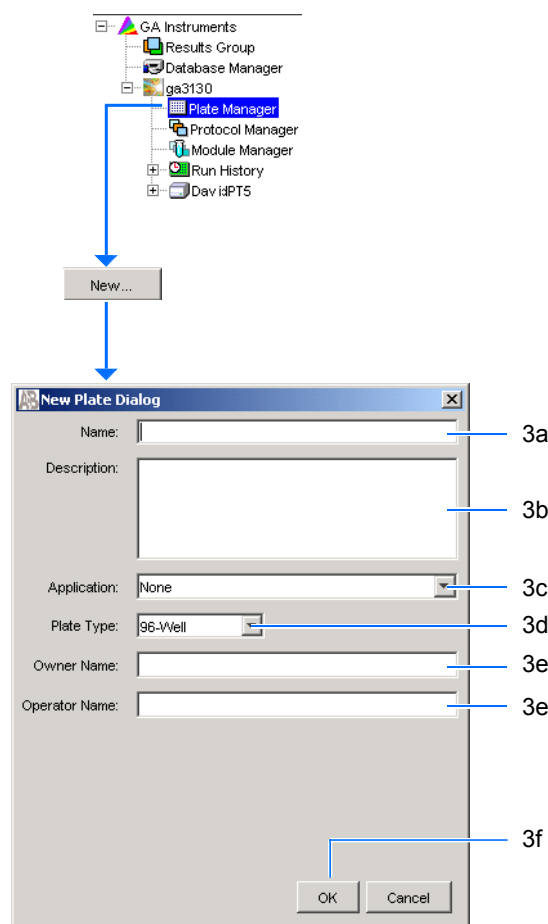
---



## Vyplnění záznamu destičky v programu Sequencing Analysis

### Vytvoření záznamu destičky v programu Sequencing Analysis

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **Plate Manager** (Správce destiček).
2. Klikněte **New...**, čímž otevřete okno New Plate (Nová destička).
3. Vyplňte okno New Plate (Nová destička):
  - a. Zadejte název (Name) destičky.
  - b. Volitelné: Zadejte popis (Description) záznamu destičky.
  - c. Zvolte aplikaci pro analýzu sekvencí z rozbalovacího menu Application.
  - d. V rozbalovacím menu Plate Type (Typ destičky) zvolte **96-Well** nebo **384-Well** (96- nebo 384-jamková destička).
  - e. Zadejte jméno majitele (Owner) destičky a operátora (Operator) přístroje .
  - f. Klikněte **OK**, čímž otevřete Editor destičky v programu Sequencing Analysis (Sequencing Analysis Plate Editor).



Poznámky \_\_\_\_\_



## Vyplnění záznamu destičky v programu Sequencing Analysis

1. Ve sloupci **Sample Name** (Název vzorku) zadejte název vzorku a klikněte na další buňku. Ve sloupci **Priority** se automaticky zobrazí hodnota 100.
2. Ve sloupci **Comments** (Komentář) zadejte jakýkoliv další komentář k danému vzorku.
3. Ve sloupci **Priority** (Priorita) můžete změnit přednastavenou hodnotu. Nižší číslo znamená vyšší prioritu pořadí analýzy pro 4 nebo 16 vzorků.
4. Ve sloupci **Results Group 1** (Výsledková skupina) zvolte z rozbalovacího menu výsledkovou skupinu (viz [strana 70](#)) nebo vytvořte novou výsledkovou skupinu.
5. Ve sloupci **Instrument Protocol 1** (Přístrojový protokol) zvolte z rozbalovacího menu přístrojový protokol (viz [strana 59](#)) nebo vytvořte nový přístrojový protokol.
6. Ve sloupci **Analysis Protocol 1** (Protokol o analýze) zvolte z rozbalovacího menu protokol o analýze (viz [strana 62](#)) nebo vytvořte nový protokol o analýze.

Well	Sample Name	Comment	Priority	Results Group 1
A01				
B01				
C01				
D01				
E01				
F01				

Instrument Protocol 1	Analysis Protocol 1

7. Vyplňte celý záznam destičky v souladu se vzorky, které budete analyzovat:

- Pro jednotlivé běhy analyzující tytéž vzorky a používající tytéž protokoly – Označte celý řádek a klikněte **Edit > Fill Down Special**. Podle typu vaší destičky (96 nebo 384 jamek) a sady kapilár (16 nebo 4 kapiláry) program automaticky vyplní odpovídající počet jamek vašeho běhu nebo
- Pro celé destičky používající tytéž vzorky a protokoly – Označte celý řádek a klikněte **Edit > Fill Down**, čímž vyplníte celou destičku.
- Pro destičky s různými vzorky a protokoly vyplňte záznam ručně.

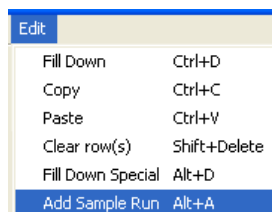
Edit	
Fill Down	Ctrl+D
Copy	Ctrl+C
Paste	Ctrl+V
Clear row(s)	Shift+Delete
Fill Down Special	Alt+D
Add Sample Run	Alt+A

Poznámky \_\_\_\_\_



8. Pokud chcete provést nástřik některého vzorku více než jednou, klikněte **Edit > Add Sample Run** (přidat běh).

Do pravé části záznamu destičky se přidají sloupce výsledková skupina, přístrojový protokol a protokol o analýze.



9. Vyplňte sloupce i pro tento dodatečný běh.

10. Klikněte .

---

Poznámka: Po potvrzení záznamu kliknutím OK se vyplněný záznam destičky uloží v Plate Manager database (Databáze správce destiček). Tyto záznamy lze prohledávat, upravovat, duplikovat exportovat nebo mazat ve Správci destiček (Plate Manager).

---

Poznámky \_\_\_\_\_



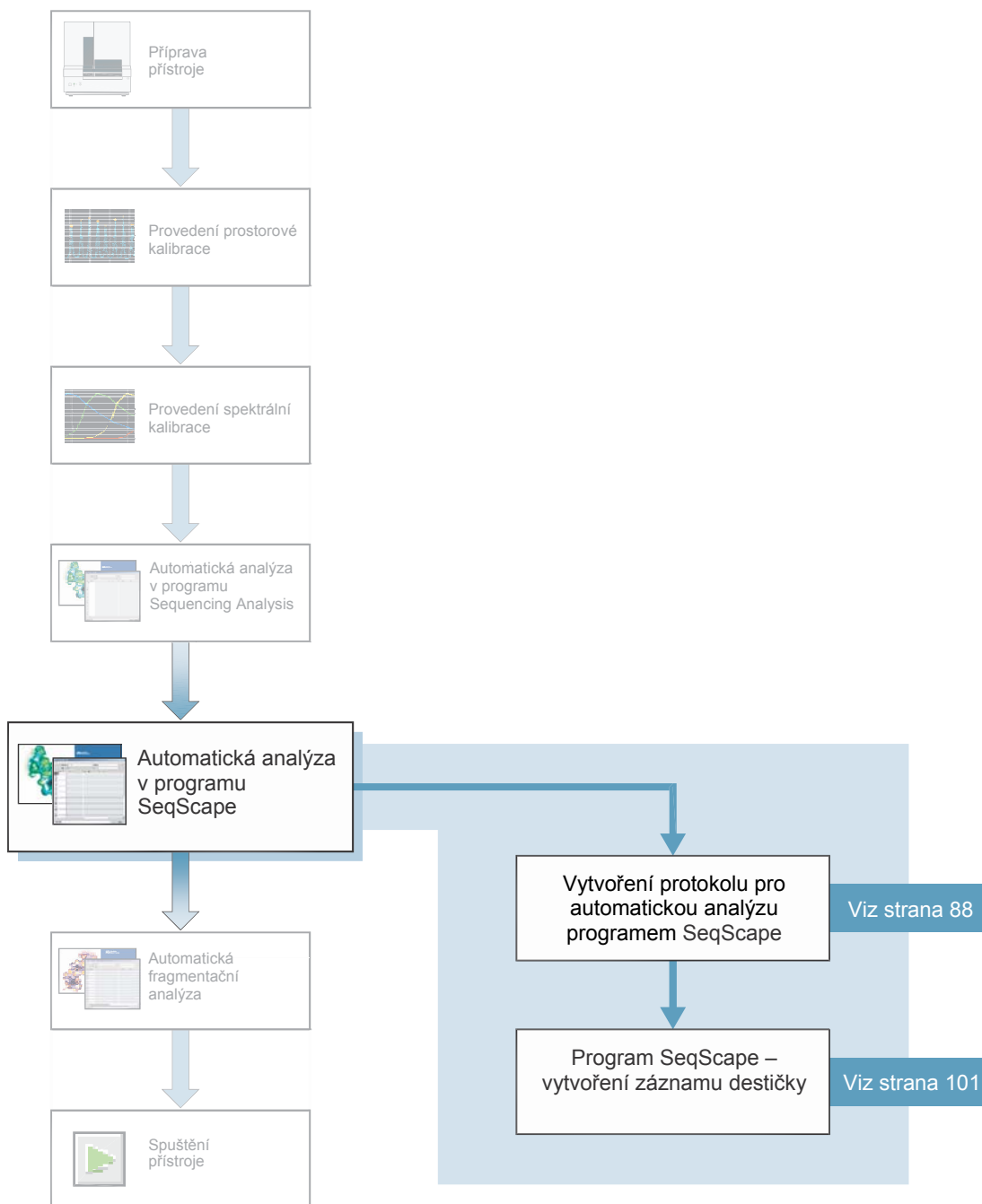
## Kapitola 4 Automatická analýza v programu Sequencing Analysis

*Vyplnění záznamu destičky v programu Sequencing Analysis*

Poznámky \_\_\_\_\_



# Automatická analýza v programu SeqScape



5

Poznámky \_\_\_\_\_



## Program SeqScape

Vaše sekvenační vzorky můžete analyzovat pomocí automatické analýzy nebo manuálně.

**Automatická analýza** Automatickou analýzu dat z genetických analyzátorů Applied Biosystems 3130/3130xl můžete provádět pomocí programu ABI PRISM® SeqScape®. Provádějte automatickou analýzu pouze na počítači, který používáte pro sběr sekvenačních dat z jednotlivých vzorků. Program lze nastavit takovým způsobem, že provádí sběr dat a automatickou analýzu bez zásahu uživatele.

Před zahájením automatické analýzy musíte programy SeqScape a Data Collection instalovat a registrovat.

Více informací o nastavení automatické analýzy naleznete v příloze B příručky *SeqScape Software User Guide v2.5* (P/N 4359442).

**Požadované softwarové vybavení** Automatická analýza vyžaduje tři programové balíky:

- Program Data Collection pro genetické analyzátorů 3130/3130xl  
Program Data Collection slouží k ovládnání přístroje a sběru fluorescenčních dat ze vzorků. Aby byla automatická analýza úspěšná, program musí komunikovat s dalšími programovými balíky.  
Nastavení parametrů analýzy pro sběr dat i nastavení vytvořená v programu SeqScape jsou dostupná prostřednictvím programu Data Collection.
- Program Autoanalysis Manager  
Program Autoanalysis Manager je program integrovaný mezi sběr dat a programové balíky SeqScape a GeneMapper®. Předává zprávy a sleduje jejich zpracování. Každá zpráva představuje jeden dávkový úkol, ať již se týká jednoho vzorku, vzorků výsledkové skupiny a nebo celého běhu.  
Autoanalysis Manager je instalován v rámci instalace programových balíků SeqScape nebo GeneMapper pokud jsou tyto balíky instalovány na počítač s programem Data Collection.
- Verze programu SeqScape bez uživatelského rozhraní  
Tato verze programu SeqScape je stejná jako běžná verze, ale nemá žádné uživatelské rozhraní. Autoanalysis Manager používá tuto verzi programu pro analýzu dat.  
Verze programu SeqScape bez uživatelského rozhraní i standardní verze se instalují z instalačního CD SeqScape.

---

**DŮLEŽITÉ!** Pokud instalujete program SeqScape na počítač připojený ke genetickému analyzátoru 3130/3130xl, musíte spustit program Data Collection, jinak neproběhne registrace programu SeqScape ve službě Data Service. Podrobnější informace naleznete v kapitole 2 příručky *SeqScape Software User Guide v2.5*.

---

Poznámky \_\_\_\_\_



**Import záznamů a projektů po automatické analýze** Ve verzi 2.5 programu SeqScape zvolte záložku **Tools > Options** (Nástroje > Možnosti). Můžete nastavit automatický import:

- Záznamů po ukončení automatické analýzy
- Projektů po ukončení automatické analýzy

Více informací naleznete v příručce *SeqScape Software User Guide v2.5* (P/N 4359442).

**Pravidla pojmenování souborů** V názvech souborů a jménech uživatelů není možné používat některé abecedněčíslicové znaky. Nepoužívejte níže uvedené znaky:

mezery

\ / : \* ? " < > |

---

**DŮLEŽITÉ!** Pokud některý z těchto znaků použijete, zobrazí se chybová hláška. Před dalším pokračováním musíte neplatný znak odstranit.

---

**Manuální analýza** Informace o provedení manuální analýzy naleznete v příručce *SeqScape Software User Guide v2.5* (P/N 4359442).

## Záznam destičky v programu SeqScape

**Požadavky** Předpokladem úspěšné automatické analýzy je:

- Program SeqScape je úspěšně nainstalován
- Program SeqScape je registrován a je vytvořeno uživatelské jméno
- Program Autoanalysis Manager je v činnosti
- Genetické analyzátoři 3130/3130xl a vzorky jsou připraveny k analýze
- Jsou připraveny součásti záznamu destičky v programu Data Collection:
  - Přístrojový protokol
  - Protokol o analýze
  - Výsledková skupina přidělená záznamu destičky

**Kdy vytvořit záznam destičky** Záznam destičky vytvořte pro každou destičku se vzorky analyzovanými v následujících typech běhů:

- Spektrální kalibrace
- Analýza programem Sequencing Analysis
- Analýza programem SeqScape
- Analýza programem GeneMapper®
- Směsná destička (vzorky na sekvenování i fragmentační analýzu – detaily o tvorbě záznamů destiček pro tento typ běhu viz *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*)

Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Před zahájením běhu musíte vytvořit záznam destičky a propojit jej s destičkou připravenou v přístroji. Záznamy nových destiček můžete vytvářet během běhu.

### Záznam destičky v programu SeqScape

Zvolíte-li možnost New Plate (Nová destička), zobrazí editor záznamů destiček (Plate Editor) prázdný záznam destičky. Podle aplikace zvolené v dialogovém okně se mění jednotlivé údaje zobrazované v záznamu destičky. Tato část textu popisuje údaje v záznamu destičky je-li zvolen program SeqScape.

**DŮLEŽITÉ!** Mají-li být sběr dat a jejich automatická analýza programem SeqScape úspěšné, musí mít každý běh definován přístrojový protokol, protokol o analýze a výsledkovou skupinu přidělenou záznamu destičky. Dále je zapotřebí vytvořit projekt, templát projektu a definovat pokus (specimen).

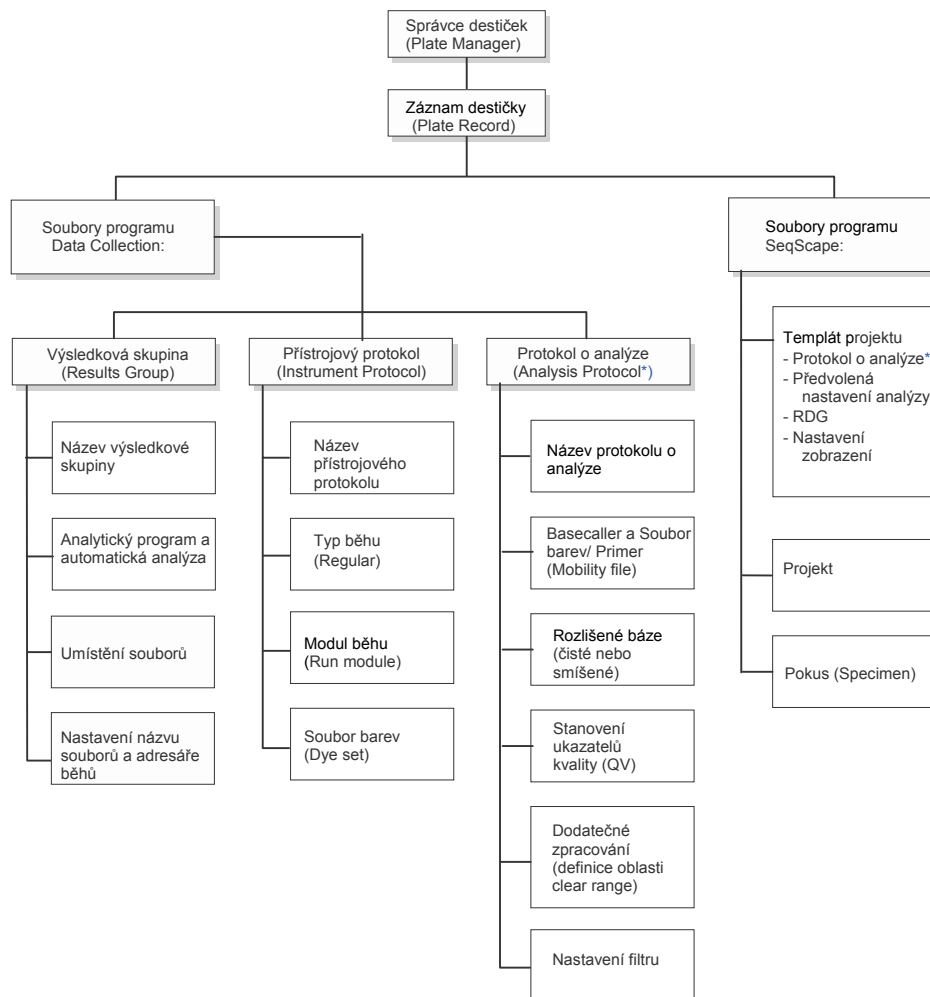
Tabulka níže uvádí požadované údaje při editaci záznamu destičky:

Parametr	Popis	Viz strana
Přístrojový protokol (Instrument Protocol)	Obsahuje modul běhu a soubor barev, nutné pro provoz přístroje. Vytváří se v programu Data Collection.	88
Protokol o analýze (Analysis Protocol)	Obsahuje vše potřebné pro analýzu sekvenačních dat. Vytváří se v programu Data Collection nebo SeqScape. Pokud upřednostňujete používání protokolů o analýze vytvořených v programu SeqScape, zvolte v nastavení analýzy v programu SeqScape možnost "Always use this protocol" (Vždy používat tento protokol).	92
Výsledková skupina (Results Group)	Definuje typ a název souboru, místo jeho uložení, přednastavený protokol o analýze propojený s nástřikem vzorků, uživatelské jméno a heslo. Vytváří se v programu Data Collection.	98
Projekt (Project)	Skupina příbuzných sekvencí.	
Templát projektu (Project Template)	Obsahuje referenční skupinu dat (reference data group, RDG), přednastavené parametry analýzy a zobrazení.	Viz příručka SeqScape Software User Guide v2.5
Pokus (Specimen)	Sdružuje data ze všech vzorků určitého původu (biologický druh, PCR produkt) ve formě spojených kontigů (contigs)	

Poznámky \_\_\_\_\_



## Součásti záznamu destičky v programu SeqScape



\*Protokol o analýze můžete vytvořit v programu SeqScape nebo Data Collection

Poznámky \_\_\_\_\_



Záznam destičky v programu SeqScape Níže je vyobrazen záznam destičky v programu SeqScape včetně popisu jednotlivých sloupců.

Přednastaven je jeden běh, přidání dalších běhů viz [strana 103](#)

Číslo a sloupec	Popis
1. Název vzorku	Název vzorku
2. Komentář	Komentář ke vzorku (volitelné)
3. Priorita	Přednastavená hodnota je 100. Snížení této hodnoty zvyšuje prioritu souboru 16 nebo 4 vzorků ve smyslu upřednostnění jejich analýzy před ostatními vzorky v seznamu nástřiku.
4. Projekt	Zvolte jeden z projektů předešle vytvořených v programu Data Collection nebo SeqScape.
5. Templát projektu	Vyplní se automaticky v závislosti na zvoleném projektu.
6. Pokus	Zvolte jeden z pokusů předešle vytvořených v programu Data Collection nebo SeqScape.

Poznámky \_\_\_\_\_



Číslo a sloupec	Popis
7. Výsledková skupina	<p>Vybrané možnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nová (New): Otevře dialogové okno Editor výsledkové skupiny (Results Group Editor)</li> <li>• Upravit (Edit): Otevře Editor výsledkové skupiny pro výsledkovou skupinu zadanou v buňce</li> <li>• Žádná (None): Nastaví buňku tak, že v ní není zvolena žádná výsledková skupina</li> <li>• Zvolte jednu z výsledkových skupin ze seznamu</li> </ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit výsledkovou skupinu. Viz <a href="#">"Vytvoření výsledkové skupiny" na straně 98.</a></p>
8. Přístrojový protokol	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nový (New): Otevře dialogové okno Editor protokolu (Protocol Editor).</li> <li>• Upravit (Edit): Otevře dialogové okno Editor protokolu pro přístrojový protokol zadaný v buňce.</li> <li>• Žádný: Nastaví buňku tak, že v ní není zvolen žádný protokol.</li> <li>• Seznam přístrojových protokolů: V číslíkové abecedním pořadí.</li> </ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit přístrojový protokol. Viz <a href="#">"Vytvoření přístrojového protokolu" na straně 88.</a></p>
9. Protokol o analýze	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nový (New): Otevře dialogové okno Editor protokolu o analýze (Analysis Protocol Editor).</li> <li>• Upravit (Edit): Otevře dialogové okno Editor protokolu o analýze pro protokol o analýze zadaný v buňce.</li> <li>• Žádný: Nastaví buňku tak, že v ní není zvolen žádný protokol.</li> <li>• Seznam protokolů o analýze: V číslíkové abecedním pořadí.</li> </ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit protokol o analýze. Viz <a href="#">"Vytvoření protokolu o analýze" na straně 93.</a></p>

Poznámky \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



## Vytvoření protokolu pro automatickou analýzu v programu SeqScape

Pokud máte již vytvořeny příslušné protokoly programu SeqScape a výsledkové skupiny, pokračujte na [straně 101](#) “Vyplnění záznamu destičky v programu SeqScape”.

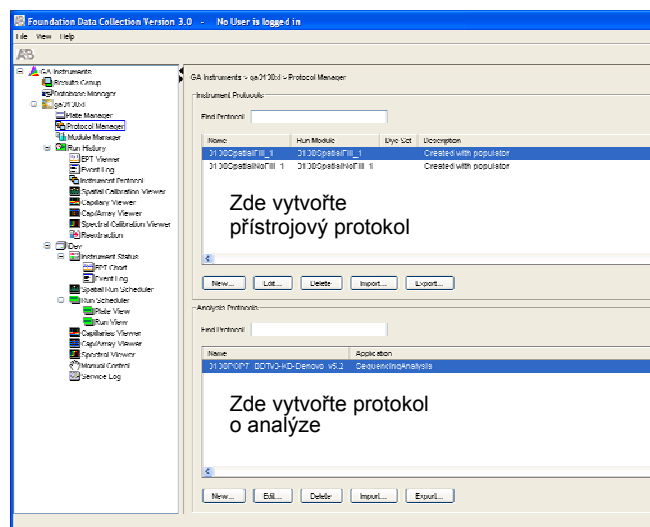
### Přístrojový protokol v programu SeqScape

Přístrojový protokol obsahuje veškerá nastavení potřebná pro spuštění přístroje:

- Název protokolu
- Typ běhu
- Modul běhu
- Soubor barev

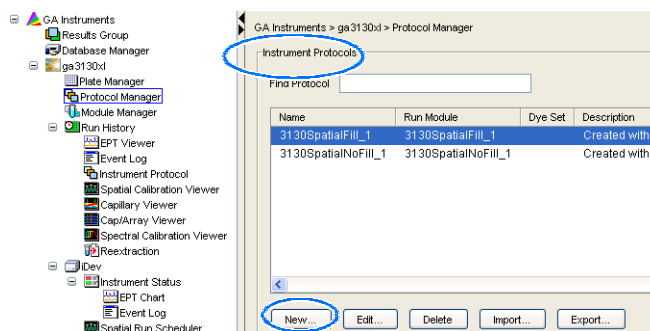
### Vytvoření přístrojového protokolu

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **Protocol Manager** (Správce protokolů).



2. V části Přístrojový protokol (Instrument Protocol) klikněte **New...**.

Otevře se Editor protokolu (Protocol Editor).



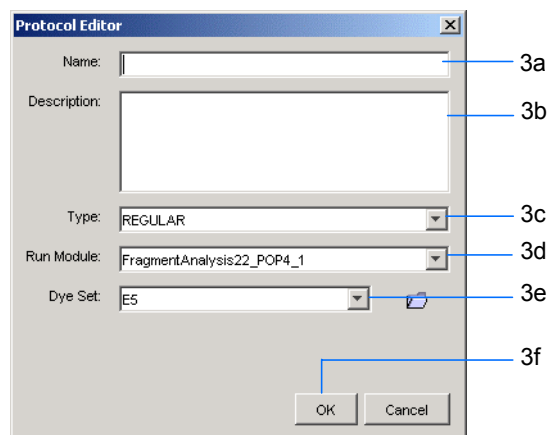
Poznámky \_\_\_\_\_





3. Vyplňte Editor protokolu:

- a. Napište název (Name) protokolu.
- b. Napište popis (Description) protokolu (volitelné).
- c. Zvolte **Regular** v menu typ (Type).



- d. Zvolte modul běhu (Run Module) pro váš běh. Seznam modulů viz [“Rozlišení a specifikace sekvenování” na straně 3](#), informace o úpravě přednastaveného modulu viz příručka *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.

Poznámky \_\_\_\_\_



- e. Zvolte odpovídající soubor barev (Dye Set) pro váš běh podle následující tabulky.

Kit	Soubor barev (Dye Set)	POP-4 Polymer			POP-6 Polymer		POP-7 Polymer				
		UltraSeq36	StdSeq50	LongSeq80	RapidSeq36	StdSeq50	UltraSeq36	RapidSeq36	FastSeq50	StdSeq50	LongSeq80
BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	Z_BigDye V3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator v3.0 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	E_BigDye V1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kit*		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ABI PRISM® dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit		√	√	√	√	√	—	—	—	—	—
ABI PRISM® BigDye® Primer Cycle Sequencing kity		—	—	—	√	√	—	—	—	—	—

\* dGTP kity nejsou na přístrojích provádějících kapilární elektroforézu podporovány kvůli kompresím v určitých úsecích sekvencí; pokud to pro vás nepředstavuje problém, můžete tyto kity použít.

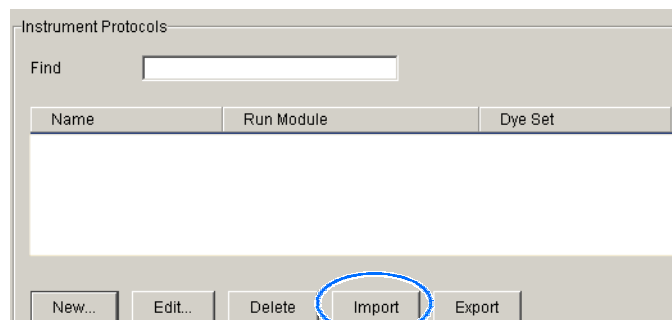
- f. Klikněte .

Poznámky \_\_\_\_\_



## Import přístrojového protokolu

1. V okně Editor protokolu (Protocol Editor), v části Přístrojové protokoly (Instrument Protocols) klikněte **Import**, čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).



2. Najděte soubor typu .xml, který chcete importovat.
3. Zvolte .xml soubor a klikněte Otevřít (Open).

## Export přístrojového protokolu

1. V části Přístrojové protokoly (Instrument Protocols) označte protokol, který chcete exportovat.
2. Klikněte **Export**, čímž otevřete dialogové okno Export souboru (File Export).
3. Zvolte cílový adresář.
4. Klikněte **Save** (Uložit).

Poznámky \_\_\_\_\_



## Protokol o analýze v programu SeqScape

**Protokol o analýze** Protokol o analýze obsahuje veškerá nastavení nezbytná pro analýzu a následné zpracování:

- **Název protokolu** – Název, popis protokolu o analýze a formáty souborů sekvencí, které budou používány.
- **Nastavení Basecalling (rozlišení jednotlivých bází)** – Basecaller, Soubor barev/Primer (Mobility file) a konečný bod analýzy.
- **Směs bází (Mixed Bases)** (Volitelné) – Jsou-li v jedné pozici detekovány dvě báze. Nastavte výšku druhého nejvyššího píku (v %) v poměru k nejvyššímu píku.
- **Clear Range** – Oblast sekvence o vysoké kvalitě vzniklá odstraněním úseků o nízké kvalitě, které se běžně vyskytují na začátku a na konci. Oblast Clear range lze definovat pozicemi bází, pomocí ukazatelů kvality (QV) a/nebo počtem přítomných nedefinovaných bází (N).
- **Filter** – Nastavení definující, které vzorky budou použity ve složené sekvenci (assembly)

---

Poznámka: Pokud jste vytvořili protokol o analýze v programu SeqScape, můžete jej použít i v prostředí programu Data Collection. Více informací o automatické analýze a protokolech o analýze viz příloha B příručky *SeqScape Software User Guide v2.5* (P/N 4359442).

---

---

**DŮLEŽITÉ!** Protokol o analýze, který je právě používán, nemažte. Pokud to učiníte, nebude provedena automatická analýza.

---

---

**DŮLEŽITÉ!** Pokud chcete program SeqScape používat pro analýzu, musíte zvolit možnost “Always use this Analysis Protocol” (Vždy používat tento protokol o analýze) v nastavení analýzy Analysis Defaults > Analysis Protocol programu Seqscape. Více informací viz příručka *SeqScape Software User Guide v2.5* (P/N 4359442).

---

Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

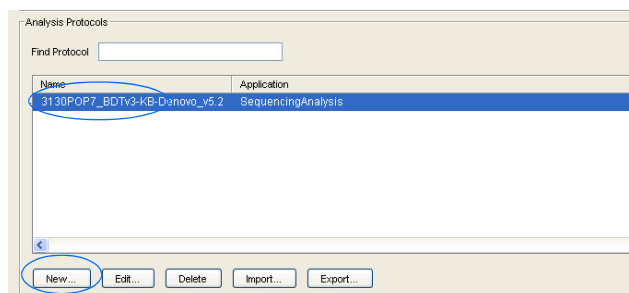
\_\_\_\_\_



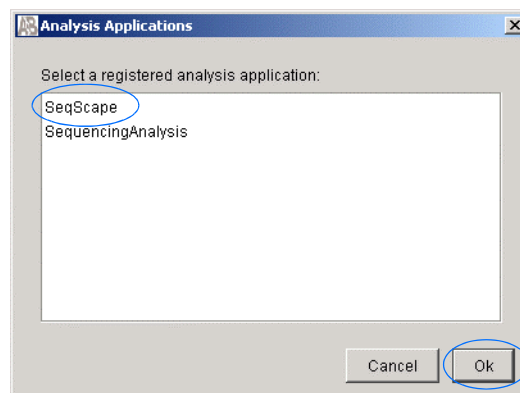
## Vytvoření protokolu o analýze

**DŮLEŽITÉ!** Pokud jste vytvořili protokol o analýze v programu SeqScape, můžete jej použít v programu Data Collection. Protokol o analýze můžete také vytvářet v programu SeqScape.

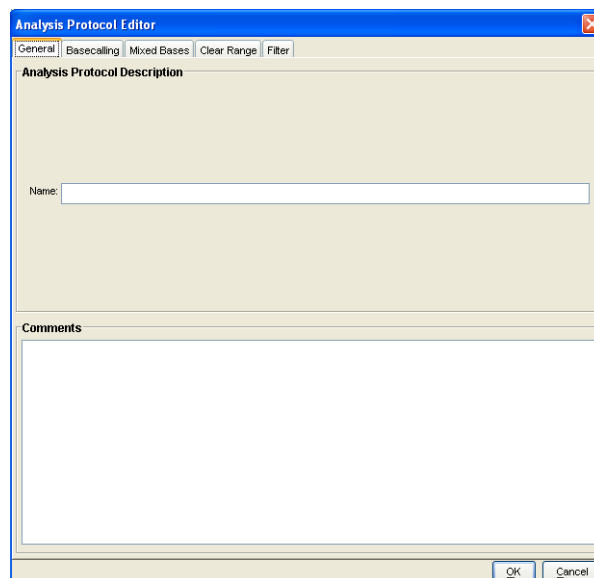
1. V části Protokol o analýze (Analysis Protocol) Správce protokolů (Protocol Manager) klikněte **New...** (Nový). Je-li na počítači sloužícímu pro sběr dat instalováno více aplikací pro analýzu sekvencí, otevře se okno Analysis Applications (Aplikace pro analýzu).



2. Zvolte **SeqScape**, klikněte **OK**, čímž otevřete dialogové okno Editor protokolu o analýze (Analysis Protocol Editor).



3. V záložce **General (Obecné)** zadejte unikátní název (Name) a popis (Description - volitelné) nového protokolu.



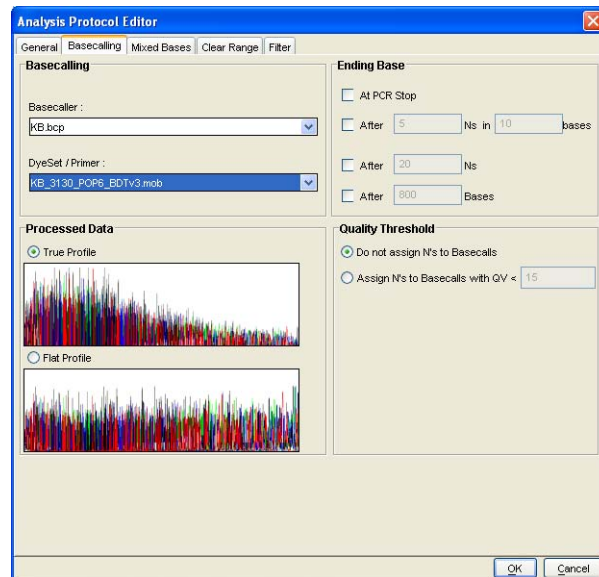
Poznámky \_\_\_\_\_



#### 4. V záložce **Basecalling**:

- a. Zvolte basecaller a Soubor barev/Primer (Mobility file) podle toho jaký kit, délku sady kapilár a typ polymeru používáte. Výběr zobrazených souborů odpovídá zvolenému basecalleru. Soubory barev/Primer viz tabulka “Genetické analyzátory 3130/3130xl - Basecaller a Soubor barev (DyeSet)/Primer” na straně 66.

Poznámka: Programy SeqScape a Data Collection filtrují nabídku souborů .mob tak, aby odpovídala zvolenému souboru .bcp.



- b. V části Processed data (Analyzovaná data) zvolte typ profilu True nebo Flat.

Možnost	Zobrazení dat
<input checked="" type="radio"/> True Profile	Uniformně – průměrná výška píků v oblasti nejsilnějšího signálu je přibližně rovna fixní hodnotě. Celkový profil píků je velmi podobný zobrazení signálu nezpracovaných dat.
<input checked="" type="radio"/> Flat Profile	Semilokálně – průměrná výška píků v jakékoliv oblasti je přibližně rovna fixní hodnotě. Celkový profil píků je plochý a ve střední škále (> ca 40 bází).  Poznámka: Tuto možnost lze použít pouze pro data analyzovaná pomocí KB™ basecaller. Používáte-li ABI basecaller, změňte nastavení na True Profile.

- c. Máte možnost zvolit jeden nebo více konečných bodů (stop points) analýzy.  
d. Nastavte parametr Quality Threshold (Práh kvality).

Možnost	Funkce při použití KB basecaller
<input checked="" type="radio"/> Call all bases and assign QV	Pro každou pozici je definována báze a ukazatel kvality (QV).
<input checked="" type="radio"/> Assign 'N' for bases with QV < 15	Pozice s hodnotou ukazatele kvality (QV) nižší než nastavená hodnota jsou určeny jako báze N. Hodnota QV se zobrazí.

Poznámky \_\_\_\_\_

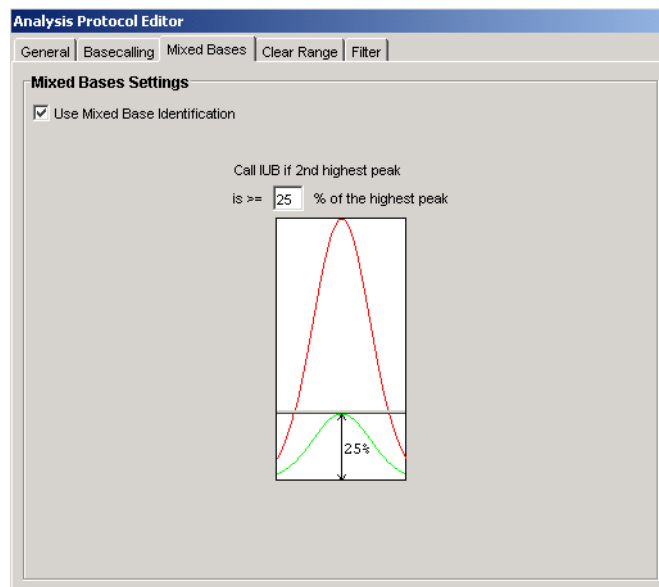


5. Zvolte záložku **Mixed Bases** (Směs bází).

Poznámka: Tato funkce je dostupná pouze při použití KB Basecaller.

- a. Zvolte **Use Mixed Base Identification** (Používat identifikaci směsi bází).
- b. Použijte předdefinované nastavení 25% nebo je změňte zadáním nové hodnoty či potažením linky % nahoru nebo dolů.

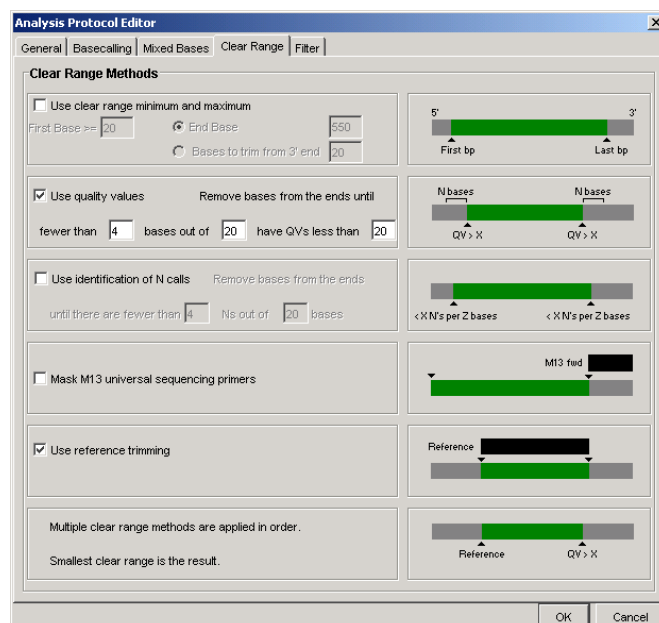
Poznámka: Jako detekční limit nepoužívejte méně než 15%.



6. Zvolte záložku **Clear Range** a definujte jeden nebo více konečných bodů analýzy (volitelné). Zvolte doporučené nastavení což jsou přednastavené hodnoty:

- a. Používat Ukazatele kvality, méně než 4 báze z 20 mají QV menší než 20.
- b. Zvolte možnost Use reference trimming (automatické ořezání sekvencí podle referenční sekvence).

Poznámka: Oblast Clear Range je ta oblast sekvence, která zůstane po odstranění sekvence o nízké kvalitě nebo náchylné k chybám na 5' a 3' konci.



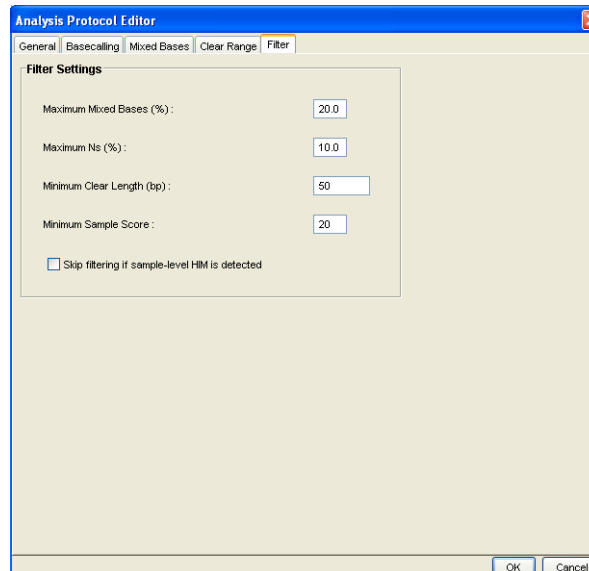
5

Poznámky \_\_\_\_\_



7. Zvolte záložku **Filter** a změňte nastavení (volitelné). Zvolte doporučené nastavení což jsou přednastavené hodnoty:

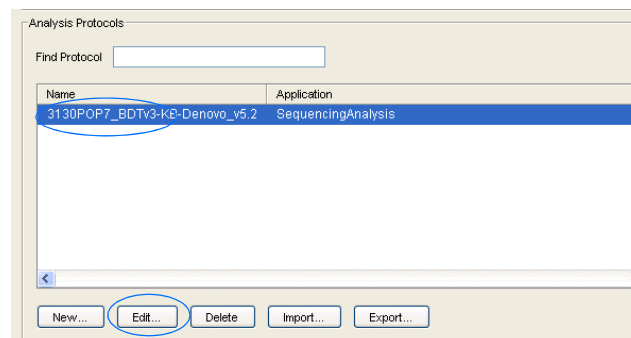
- a. Maximální počet směsných bází (Mixed bases) (%): **20**
- b. Maximální počet bází N (%): **10.0**
- c. Minimální délka oblasti Clear Range (Clear Length) (bp): **50**
- d. Minimální hodnota parametru Sample Score: **20**



8. Klikněte **OK**, čímž protokol uložíte a uzavřete dialogové okno editoru.

## Úpravy protokolu o analýze

1. Ve správci protokolů o analýze (Analysis Protocol Manager) v části Protokoly o analýze (Analysis Protocols) označte protokol, který chcete upravit.
2. Klikněte **Edit...** (Upravit).
3. Proveďte žádané změny v záložkách Obecné (General), Basecalling, Směsné báze (Mixed Bases) a Clear Range.
4. Klikněte **OK**, čímž protokol uložíte a uzavřete okno editoru protokolu.



Poznámky \_\_\_\_\_

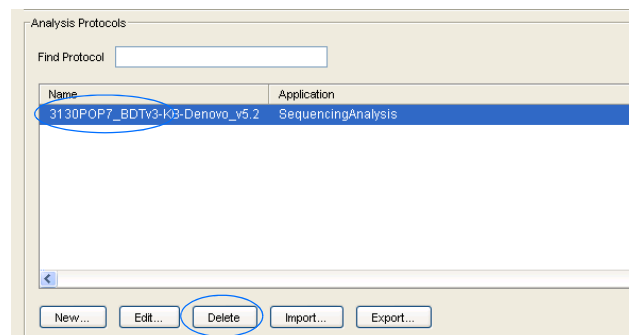




## Vymazání protokolu o analýze

**DŮLEŽITÉ!** Nevymazávejte protokol o analýze pokud je používán v právě spuštěném běhu. Pokud tak učiníte, nebude provedena automatická analýza. Nejprve musíte vymazat všechny záznamy destiček, které tento protokol o analýze používají, teprve pak je možné vymazat nebo upravit protokol o analýze používaný v těchto destičkách.

1. Ve správci protokolů o analýze (Analysis Protocol Manager) v části Protokoly o analýze označte protokol, který vymazat.
2. Klikněte **Delete** (Smazat), čímž zobrazíte dialogové okno, kde potvrdíte vymazání protokolu.
3. Klikněte **Yes**.



## Export protokolu o analýze

1. Ve správci protokolů o analýze (Analysis Protocol Manager) v části Protokoly o analýze označte protokol, který chcete exportovat.
2. Klikněte **Export**, čímž otevřete dialogové okno Export souboru (File Export).
3. Zvolte cílový adresář.
4. Klikněte **Save** (Uložit).

## Import protokolu o analýze

1. Klikněte **Import**, čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).
2. Najděte soubor typu .xml, který chcete importovat a klikněte **Open** (Otevřít).

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

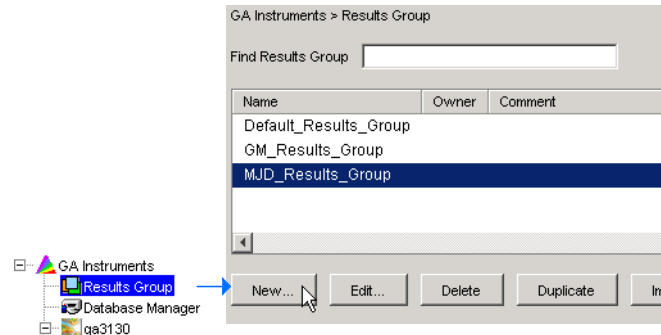


## Výsledková skupina v programu SeqScape

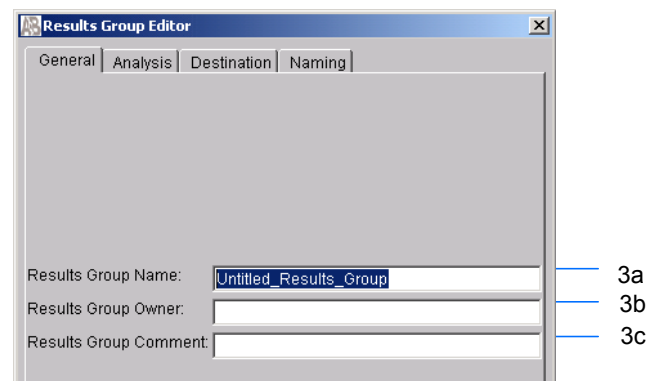
Výsledková skupina, která je součástí programu Data Collection, pod jedním názvem zahrnuje vzorky a určitá uživatelská nastavení. Nazývá se Výsledková skupina, protože se používá pro pojmenování a manipulace se vzorky, které jsou výsledkem běhu.

### Vytvoření výsledkové skupiny

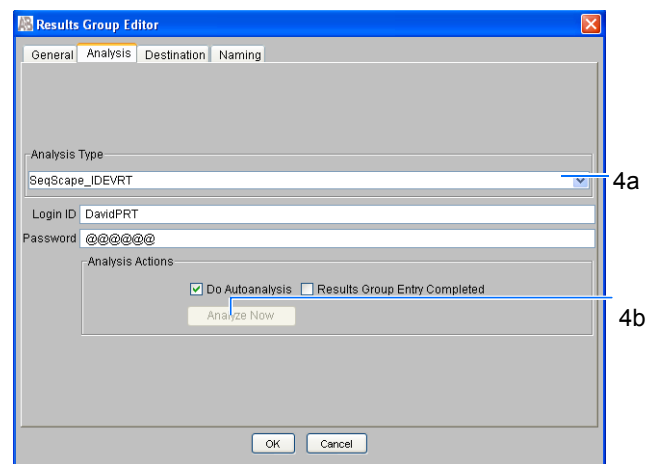
1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments > Results Group** (Výsledková skupina).
2. Klikněte **New...**, čímž zobrazíte editor výsledkové skupiny (Results Group Editor).



3. Vyplňte záložku General (Obecné):
  - a. Napište unikátní název (Name) výsledkové skupiny. Název lze použít při pojmenování a seskupování souborů vzorků.
  - b. Napište jméno majitele (Owner) výsledkové skupiny (volitelné). Jméno lze použít při pojmenování a třídění souborů vzorků.
  - c. Napište komentář (Comment) k výsledkové skupině (volitelné)



4. Zvolte záložku **Analysis** (Analýza):
  - a. Z rozbalovacího menu zvolte **SeqScape\_název počítače**.
  - b. V části Analysis Actions (Kroky analýzy) zvolte **Do Autoanalysis (Provést automatickou analýzu)**.
  - c. Zadejte platné uživatelské jméno (Login ID) a heslo (Password) pro program SeqScape.



Poznámka: Pokud nepoužijete platné uživatelské jméno a heslo, automatická analýza nebude provedena.

Poznámky \_\_\_\_\_

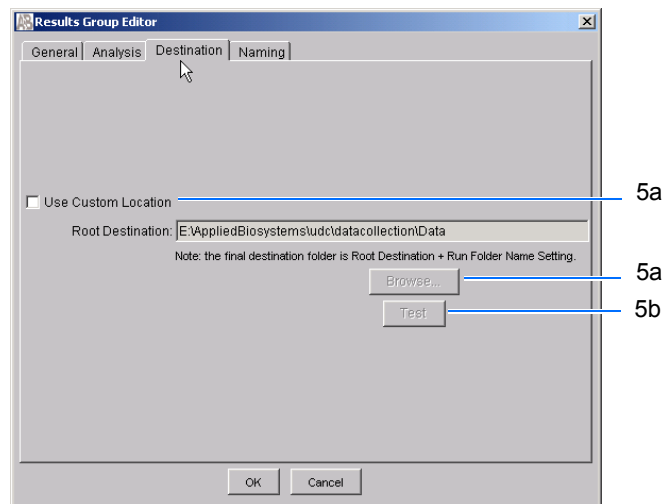


5. Zvolte záložku **Destination (Umístění souborů)** a použijte předdefinovaný nebo definujte nový cílový adresář umístění dat .

Chcete-li použít...	Pak ...
předvolené umístění*	jděte na krok 6.
vlastní umístění	provedte kroky a-b.

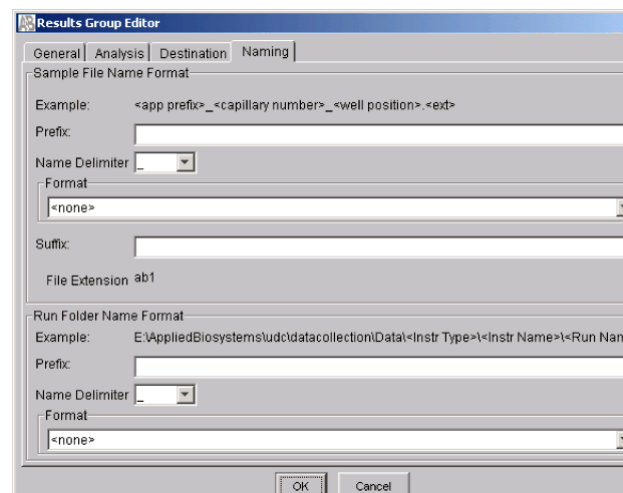
- Klikněte **Use Custom Location (Vlastní umístění)**, pak klikněte **Browse...** (Vyhledat) a vyhledejte požadované umístění
- Klikněte **Test**, čímž ověříte dosažitelnost zvoleného adresáře:

Pokud...	Zobrazí se zpráva ...
je dosažen	Test succeeded: <"umístění">.
není dosažen	Test failed:<"umístění">.



6. Zvolte záložku **Naming (Pojmenování)** a definujte vlastní názvy vzorků a adresáře běhů. Viz **"Volitelné: Vyplnění části Formát názvu vzorků" na straně 73**, kde naleznete detailní informace na toto téma.

7. Klikněte **OK**, čímž nastavení uložíte a zavřete editor výsledkové skupiny (Results Group Editor).



#### \*Umístění souborů vzorků

Umístění souborů vzorků během zpracování:

- Předvolené nastavení a pojmenování adresářů: E:\AppliedBiosystemsUDC\DataCollection\data\<typ přístroje>\<název přístroje>\adresář běhu
- Předvolené nastavení a volitelné pojmenování adresářů: E:\AppliedBiosystemsUDC\DataCollection\data\volitelný adresář podadresáře, atd.
- Volitelné umístění, předvolené pojmenování adresářů: Umístění\<typ přístroje>\<název přístroje>\adresář běhu
- Volitelné umístění, volitelné pojmenování adresářů: Umístění\adresář\podadresáře, atd.

Poznámky \_\_\_\_\_



## Importování a exportování výsledkové skupiny

---

Poznámka: Výsledkové skupiny programu SeqScape nelze přenášet mezi jednotlivými počítači.

---

### Import výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **Results Group**.
2. Klikněte **Import**, čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).
3. Vyhledejte soubor, který chcete importovat.  
Poznámka: Jedná se o soubor typu .xml (XML soubor).
4. Klikněte **Open** (Otevřít).

Poznámka: Pokud provádíte import nebo duplikaci výsledkové skupiny, musíte zadat název nové výsledkové skupiny a aplikaci používanou k analýze.

### Export výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **Results Group**.
2. Kliknutím zvolte výsledkovou skupinu.
3. Klikněte **Export**. Zobrazí se dialogové okno pro export souboru se jménem zvolené výsledkové skupiny.
4. Vyhledejte plánované umístění exportovaného souboru.
5. Klikněte **Save** (uložit).

---

Poznámka: Pokud již v daném umístění existuje výsledková skupina téhož jména, proveďte duplikaci výsledkové skupiny. Duplikace uloží nastavení do obdobné výsledkové skupiny bez rizika uživatelské chyby při jejím manuálním kopírování (viz [“Duplikace výsledkové skupiny” na straně 100](#)).

---

### Duplikace výsledkové skupiny

1. Klikněte na název výsledkové skupiny.

Poznámky \_\_\_\_\_

---

---



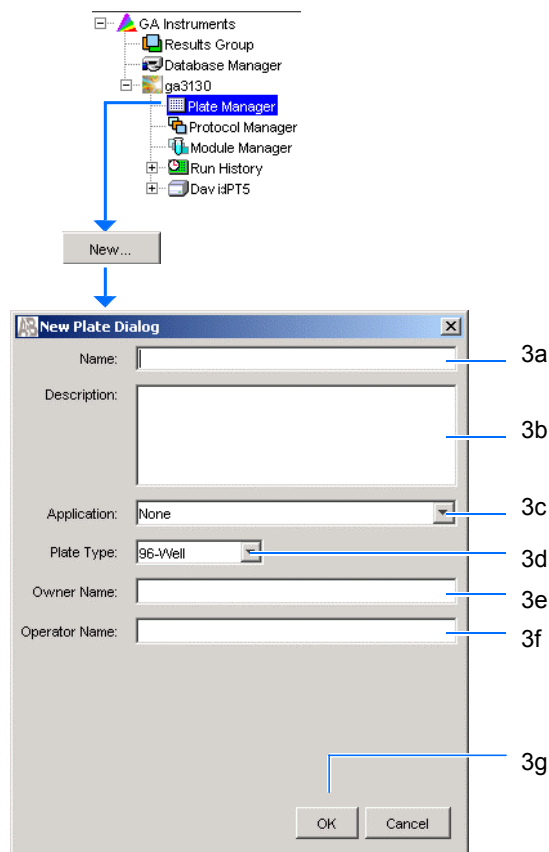
2. Klikněte **Duplicate** (duplikovat).

Poznámka: Při duplikaci výsledkové skupiny musíte zadat název nové výsledkové skupiny a typ aplikace používané pro analýzu.

## Vyplnění záznamu destičky v programu SeqScape

### Vytvoření záznamu destičky v programu SeqScape

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **Plate Manager** (Správce destiček).
2. Klikněte **New...**, čímž otevřete okno New Plate (Nová destička).
3. Vyplňte okno New Plate (Nová destička):
  - a. Zadejte název (Name) destičky.
  - b. Volitelné: Zadejte popis záznamu destičky.
  - c. Zvolte **SeqScape\_název počítače** z rozbalovacího menu Application.
  - d. V rozbalovacím menu Plate Type (Typ destičky) zvolte **96-Well** nebo **384-Well** (96- nebo 384-jamková destička).
  - e. Zadejte jméno majitele (Owner) destičky.
  - f. Zadejte jméno operátora (Operator) destičky.
  - g. Klikněte **OK**, čímž otevřete Editor destičky programu SeqScape (SeqScape Plate Editor).



Poznámky \_\_\_\_\_



## Vyplnění záznamu destičky v programu SeqScape

1. Ve sloupci **Sample Name** (Název vzorku) zadejte název vzorku a klikněte na další buňku. Ve sloupci **Priority** (priorita) se automaticky zobrazí hodnota 100.
2. Ve sloupci **Comments** (Komentář) zadejte jakýkoliv další komentář k danému vzorku.
3. Ve sloupci **Priority** (Priorita) můžete změnit přednastavenou hodnotu. Nižší číslo znamená vyšší prioritu pořadí analýzy pro 4 nebo 16 vzorků (změna hodnot priority viz příručka *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*).
4. Ve sloupci **Project** (Projekt) zvolte z rozbalovacího menu projekt nebo na základě příslušného templátu projektu vytvořte projekt nový.  
V závislosti na zvoleném projektu je automaticky vyplněn i templát projektu.
5. Ve sloupci **Specimen** (Pokus) zvolte nebo vytvořte nový pokus.
6. Ve sloupci **Results Group 1** (Výsledková skupina) zvolte z rozbalovacího menu výsledkovou skupinu (viz [strana 98](#)).
7. Ve sloupci **Instrument Protocol 1** (Přístrojový protokol) zvolte z rozbalovacího menu přístrojový protokol (viz [strana 88](#)).
8. Ve sloupci **Analysis Protocol 1** (Protokol o analýze) zvolte z rozbalovacího menu protokol o analýze (viz [strana 93](#)).
9. Vyplňte celý záznam destičky v souladu se vzorky, které budete analyzovat:
  - Pro jednotlivé běhy analyzující tytéž vzorky a používající tytéž protokoly – označte celý řádek a klikněte **Edit > Fill Down Special**. Podle typu vaší destičky (96 nebo 384 jamek) a sady kapilár (16 nebo 4 kapiláry) program automaticky vyplní odpovídající počet jamek vašeho běhu.

Well	Sample Name	Comment	Priority	Project	Project Template	Specimen
A01						
B01						
C01						
D01						
E01						
F01						

Results Group 1	Instrument Protocol 1	Analysis Protocol 1

Edit	
Fill Down	Ctrl+D
Copy	Ctrl+C
Paste	Ctrl+V
Clear row(s)	Shift+Delete
Fill Down Special	Alt+D
Add Sample Run	Alt+A

Poznámky \_\_\_\_\_



- Pro celé destičky používající tytéž vzorky a protokoly – Označte celý řádek a klikněte **Edit > Fill Down**, čímž vyplníte celou destičku.
  - Pro destičky s různými vzorky a protokoly vyplňte záznam ručně.
10. Pokud chcete provést nástřik některého vzorku více než jednou, klikněte **Edit > Add Sample Run** (přidat běh).

Do pravé části záznamu destičky se přidá další sloupec pro výsledkovou skupinu, přístrojový protokol a protokol o analýze.

Edit	
Fill Down	Ctrl+D
Copy	Ctrl+C
Paste	Ctrl+V
Clear row(s)	Shift+Delete
Fill Down Special	Alt+D
Add Sample Run	Alt+A

Přidejte dodatečný běh pomocí **Edit > Add Sample Run** (přidat běh).

11. Vyplňte sloupce i pro tento dodatečný běh.
12. Klikněte  , čímž uložíte a uzavřete záznam destičky.

---

**Poznámka:** Po potvrzení záznamu kliknutím OK se vyplněný záznam destičky uloží v Plate Manager database (Databáze správce destiček). Tyto záznamy lze prohledávat, upravovat, duplikovat exportovat nebo mazat ve Správci destiček (Plate Manager).

---

Příprava vzorků a spuštění přístroje viz [Kapitola 7](#), “Spuštění přístroje.”

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Kapitola 5 Automatická analýza v programu SeqScape

*Vyplnění záznamu destičky v programu SeqScape*

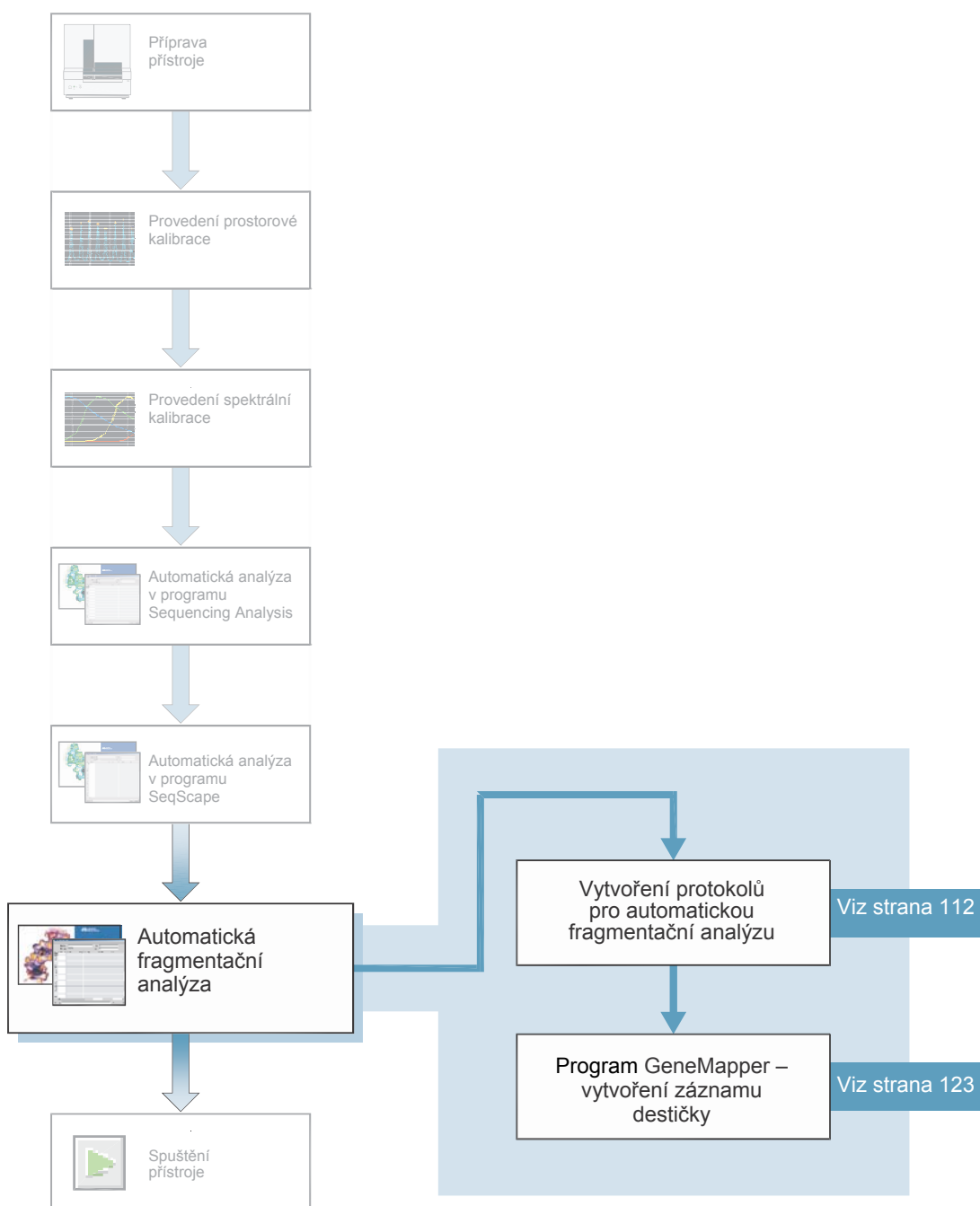
Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



# Automatická fragmentační analýza



Poznámky \_\_\_\_\_



## Program GeneMapper

Vzorky vaší fragmentační analýzy můžete analyzovat pomocí automatické analýzy nebo manuálně.

---

Poznámka: Tato kapitola se týká programu GeneMapper® v3.7 nebo vyšší a GeneMapper® ID v3.2. Vyobrazené náhledy jsou z programu GeneMapper v3.7.

---

### Program GeneMapper v3.7 a GeneMapper ID v3.2

Automatickou fragmentační analýzu můžete provést za pomoci nástrojů genetických analyzátorů 3130/3130xl - programových balíků Data Collection a GeneMapper buď na počítači, který je používán na sběr dat, nebo na jiném počítači.

- Automatickou analýzu můžete provádět na počítači připojeném k přístroji za účelem sběru dat a nebo na jiném počítači, a to díky programu GeneMapper, který umožňuje vzdálenou analýzu.
- Pokud si po skončení automatické analýzy přejete upravovat/studovat její výsledky na jiném počítači, musíte na něj do databáze GeneMapper převést následující prvky programu GeneMapper: projekt, metody analýzy, velikostní standardy, panel a soubory binů. Všechny tyto prvky je nutné exportovat a importovat jednotlivě.
- Při vyplňování záznamu destičky zadejte informace o přístrojovém protokolu a další informace potřebné pro činnost programu Data Collection.
- Vytváříte-li pro automatickou analýzu vzorků novou výsledkovou skupinu, zatrhněte možnost Do Autoanalysis (Provést automatickou analýzu) a zadejte platné uživatelské jméno a heslo pro program GeneMapper. Při provádění vzdálené analýzy definujte adresář pro ukládání souborů vzorků.

### Pravidla pojmenování souborů

V názvech souborů a jménech uživatelů není možné používat některé abecedněčíslicové znaky. Nepoužívejte níže uvedené znaky:

mezery

\ / : \* ? " < > |

---

**DŮLEŽITÉ!** Pokud některý z těchto znaků použijete, zobrazí se chybová hláška. Před dalším pokračováním musíte neplatný znak odstranit.

---

### Manuální analýza

Informace o provedení manuální analýzy naleznete v příručce *GeneMapper Software v3.7 User Guide* (PN 4359413) nebo *GeneMapper ID Software V3.1 User Guide* (PN 4338775) nebo v Uživatelském věstníku *GeneMapper ID Software v3.2, Subject: New Features and Installation Procedures for GeneMapper ID Software v3.2* (PN 4352543).

Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



## Fragmentační analýza a sběr dat

Máte-li program GeneMapper instalován na počítači připojeném ke genetickému analyzátoru 3130/3130xl s programem Data Collection, jsou v editoru výsledkové skupiny (Results Group Editor) k dispozici dvě aplikace (viz [strana 115](#)):

- GeneMapper-Generic
- GeneMapper-<Název počítače>

## GeneMapper-Generic

Program GeneMapper-Generic vytváří soubory typu .fsa aniž je provedena automatická analýza. Vyplňujete-li seznam vzorků (Sample Sheet), vyplňte základní informace, aby program Data Collection mohl dokončit běh; veškerá další pole vztahující se k programu GeneMapper jsou textová pole. Tato textová pole lze s výhodou použít pokud využíváte jiné programové balíky pro analýzu nebo chcete analyzovat vzorky v programu GeneMapper na jiném počítači, ale v databázi programu GeneMapper na počítači připojeném ke genetickému analyzátoru nemáte tytéž údaje. Například pokud na jiném počítači s programem GeneMapper máte vlastní nedefinovaný velikostní standard, můžete jeho název napsat do sloupce Velikostní standard (size standard) a tento údaj se objeví ve vašem projektu v programu GeneMapper.

## GeneMapper-<Název počítače>

Pro automatickou analýzu používejte GeneMapper-<Název počítače>. Sloupce seznamu vzorků Size Standard (velikostní standard), Analysis Method (metoda analýzy) a Panel se načítají přímo z databáze programu GeneMapper. Tyto prvky musíte vytvořit v programu GeneMapper před vytvořením záznamu destičky pro daný běh. Pokud máte otevřen editor záznamu destičky, není tyto prvky možné vytvořit. Vytvoříte-li nový prvek v programu GeneMapper a máte-li současně otevřen záznam destičky, sloupce nebudou aktualizovány. Chcete-li je aktualizovat, musíte záznam destičky uzavřít a znovu otevřít. Více informací naleznete v části [“Vytvoření protokolů pro automatickou fragmentační analýzu”](#) na straně 112.



## Záznam destičky v programu GeneMapper

Záznam destičky (plate record) je obdobou seznamu vzorků (sample sheet) nebo seznamu nástřiku (injection list), které možná znáte z práce na jiných přístrojích ABI PRISM®.

Záznamy destiček (Plate records) jsou data v tabulkové formě, uložená v databázi přístroje, která obsahují následující informace:

- Název destičky, typ a majitel
- Pozice vzorku na destičce (číslo jamky)
- Komentáře k destičce a jednotlivým vzorkům
- Soubor barev (v Přístrojovém protokolu)
- Název modulu běhu, který udává údaje jak spustit vzorky (v Přístrojovém protokolu)

### Kdy vytvořit záznam destičky

Záznam destičky vytvořte pro každou destičku se vzorky analyzovanými v následujících typech běhů:

- Spektrální kalibrace
- Analýza programem Sequencing Analysis
- Analýza programem SeqScape
- Analýza programem GeneMapper®
- Směsná destička (vzorky na sekvenování i fragmentační analýzu – detaily o tvorbě záznamů destiček pro tento typ běhu viz *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*)

Před zahájením běhu musíte vytvořit záznam destičky a propojit jej s destičkou připravenou v přístroji. Záznamy nových destiček můžete vytvářet během běhu.

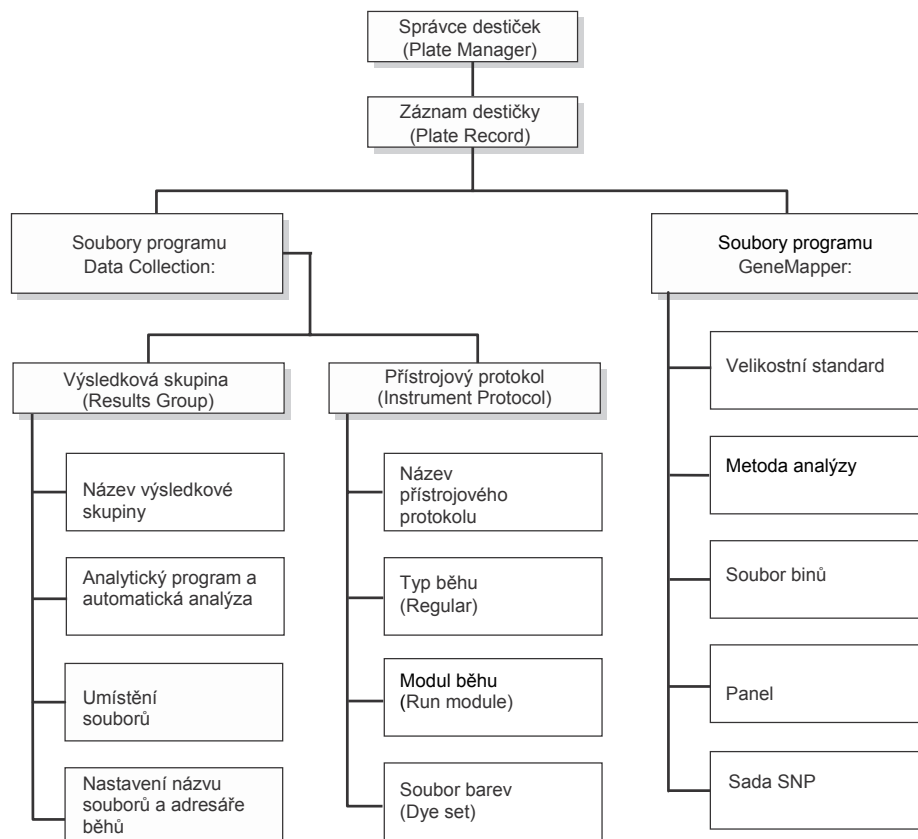
Tabulka níže uvádí požadované údaje při úpravě záznamu destičky v programu GeneMapper:

Parametr	Popis	Viz strana
Přístrojový protokol (Instrument Protocol)	Obsahuje všechny údaje potřebné pro provoz přístroje.	112
Výsledková skupina (Results Group)	Definuje typ a název souboru, místo jeho uložení a program používaný pro automatickou analýzu ve spojení s nástřikem vzorku.	115

**DŮLEŽITÉ!** Aby byly sběr dat a jejich automatická analýza úspěšné, je nutné, aby součástí záznamu destičky pro každý jednotlivý běh byly vždy přístrojový protokol, výsledková skupina a soubory vytvořené v programu GeneMapper pro danou destičku.



### Součásti záznamu destičky v programu GeneMapper



Poznámky \_\_\_\_\_



## Kapitola 6 Automatická fragmentační analýza Záznam destičky v programu GeneMapper

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

GeneMapper Plate Editor

File Edit

Plate Name: GM1

Plate Sealing: Septa

Operator: bap

Owner: bap

Well	Sample Name	Comment	Priority	Sample Type	Size Standard	Panel	Analysis Method	Snp Set	User-Defined 1	User-Defined 2	User-Defined 3	Results Group 1	Instrument Protocol 1
A01													
B01													
C01													
D01													
E01													
F01													
G01													
H01													
A02													
B02													
C02													
D02													

Přednastaven je jeden běh, přidání dalších běhů viz strana 125

Description

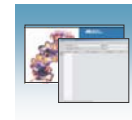
Ok Cancel

Nevyplněný záznam destičky v programu GeneMapper

Sloupce, které jsou součástí záznamu destičky pro fragmentační analýzu

Číslo a sloupec	Popis
1. Název vzorku	Název vzorku
2. Komentář	Komentář ke vzorku (volitelné)
3. Priorita	Přednastavená hodnota je 100. Snížení této hodnoty zvyšuje prioritu souboru 16 nebo 4 vzorků ve smyslu upřednostnění jejich analýzy před ostatními vzorky v injekčním seznamu.
4. Typ vzorku	Slouží k identifikaci vzorku – vzorek, pozitivní kontrola, alelický žebřík, negativní kontrola.
5. Velikostní standard DŮLEŽITÉ! Pouze pro verzi GeneMapper-<Název počítače>: Před vytvořením nové destičky vytvořte v programu GeneMapper velikostní standard, panel a metodu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>GeneMapper-Generic (volitelné): Zadejte velikostní standardy ručně do textového pole</li> <li>GeneMapper-&lt;Název počítače&gt;: Zvolte uložený velikostní standard z rozbalovacího menu</li> </ul>
6. Panel DŮLEŽITÉ! Pouze pro verzi GeneMapper-<Název počítače>: Před vytvořením nové destičky vytvořte v programu GeneMapper velikostní standard, panel a metodu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>GeneMapper-Generic (volitelné): Zadejte panely ručně do textového pole.</li> <li>GeneMapper-&lt;Název počítače&gt;: Zvolte uložený panel z rozbalovacího menu.</li> </ul>

Poznámky \_\_\_\_\_



Číslo a sloupec	Popis
<p>7. Metoda analýzy DŮLEŽITÉ! Pouze pro verzi GeneMapper-&lt;Název počítače&gt;: Před vytvořením nové destičky vytvořte v programu GeneMapper velikostní standard, panel a metodu analýzy.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>GeneMapper-Generic (volitelné): Zadejte metodu analýzy ručně do textového pole</li> <li>GeneMapper-&lt;Název počítače&gt;: Zvolte uloženou metodu analýzy z rozbalovacího menu</li> </ul>
<p>8. Sada SNP DŮLEŽITÉ! Pouze pro verzi GeneMapper-&lt;Název počítače&gt;: Sada SNP vytvořená v programu GeneMapper propojí název SNP s názvem markeru.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>GeneMapper-Generic (volitelné): Zadejte sadu SNP ručně do textového pole</li> <li>GeneMapper-&lt;Název počítače&gt;</li> </ul>
<p>9. Tři uživatelem definované sloupce</p>	<p>Text dle vaší potřeby</p>
<p>10. Výsledková skupina</p>	<p>Možnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Nová (New): Otevře dialogové okno Editor výsledkové skupiny (Results Group Editor)</li> <li>Upravit (Edit): Otevře Editor výsledkové skupiny pro výsledkovou skupinu zadanou v buňce</li> <li>Žádná (None): Nastaví buňku tak, že v ní není zvolena žádná výsledková skupina</li> <li>Zvolte jednu z výsledkových skupin ze seznamu</li> </ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit výsledkovou skupinu. Viz <a href="#">"Vytvoření výsledkové skupiny" na straně 115.</a></p>
<p>11. Přístrojový protokol</p>	<p>Možnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Nový (New): Otevře dialogové okno Editor protokolu (Protocol Editor).</li> <li>Upravit (Edit): Otevře dialogové okno Editor protokolu pro přístrojový protokol zadaný v buňce.</li> <li>Žádný: Nastaví buňku tak, že v ní není zvolen žádný protokol.</li> <li>Seznam přístrojových protokolů: V číslíkové abecedním pořadí.</li> </ul> <p>Poznámka: Pro každý vzorek musíte zvolit přístrojový protokol. Viz <a href="#">"Přístrojový protokol pro fragmentační analýzu" na straně 115.</a></p>

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Vytvoření protokolu pro automatickou fragmentační analýzu

Pokud máte již příslušné protokoly pro fragmentační analýzu a výsledkovou skupinu vytvořeny, pokračujte [na straně 123](#) “Vytvoření záznamu destičky v programu GeneMapper”.

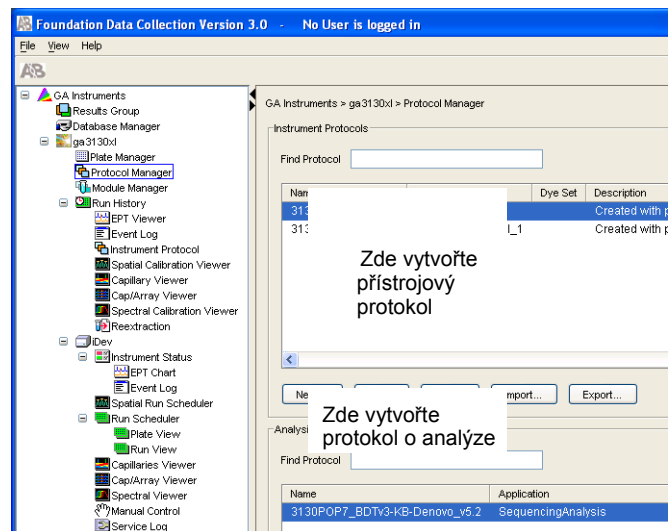
### Přístrojový protokol pro fragmentační analýzu

Přístrojový protokol obsahuje veškerá nastavení potřebná pro spuštění přístroje:

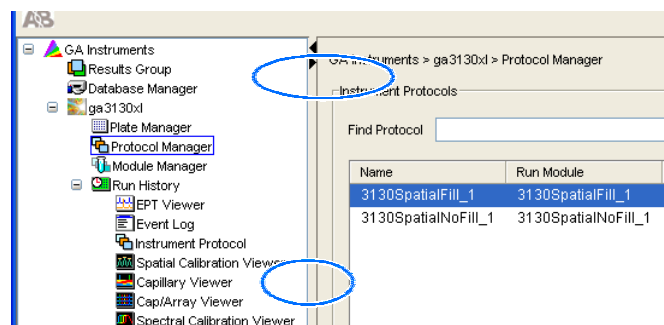
- Název protokolu
- Typ běhu
- Modul běhu
- Soubor barev

#### Vytvoření přístrojového protokolu

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **Protocol Manager** (Správce protokolů).

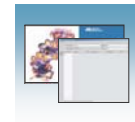


2. V části Přístrojový protokol (Instrument Protocol) klikněte **New...**.  
Otevře se Editor protokolu (Protocol Editor).



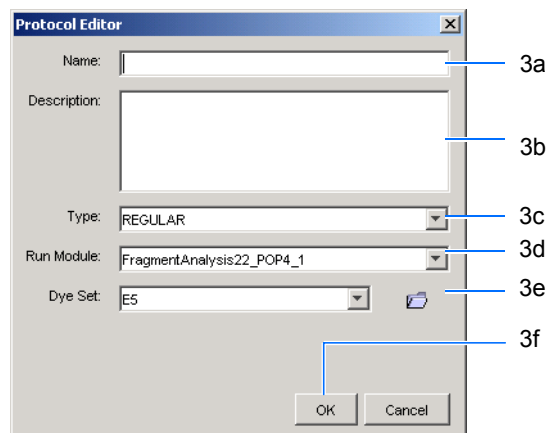
Poznámky \_\_\_\_\_





3. Vyplňte Editor protokolu:

- a. Napište název (Name) protokolu.
- b. Napište popis (Description) protokolu (volitelné).
- c. Zvolte **Regular** v menu typ (Type).



- d. Pomocí níže uvedené tabulky zvolte modul běhu pro váš běh. Chcete-li modul běhu upravit, postupujte podle příručky *Genetické analyzátořy Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.

Použití nebo kit	Délka sady kapilár (cm)	Modul běhu
SNaPshot® Multiplex System	22	SNP22_POP4_1
	36	SNP36_POP4_1
<ul style="list-style-type: none"> <li>• LMS v2.5</li> <li>• ABI PRISM® Mouse Mapping Set v1.0</li> <li>• Oligonukleotidy na objednávku</li> <li>• Stockmarks</li> <li>• AFLP®</li> </ul>	22	FragmentAnalysis22_POP4_1
	36	FragmentAnalysis36_POP4_1
		FragmentAnalysis36_POP7_1
	50	FragmentAnalysis50_POP4_1
		FragmentAnalysis50_POP6_1
		FragmentAnalysis50_POP7_1
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AmpF/STR® COfiler®</li> <li>• AmpF/STR Profiler Plus®</li> <li>• AmpF/STR SGM Plus®</li> <li>• AmpF/STR Profiler Plus <i>ID</i></li> <li>• AmpF/STR SEfiler™</li> <li>• AmpF/STR Yfiler™</li> <li>• Další AmpF/STR kity se 4 barvami</li> <li>• AmpF/STR Identifiler</li> <li>• Další AmpF/STR kity s 5 barvami</li> </ul>	36	HIDFragmentAnalysis36_POP4_1

Poznámky \_\_\_\_\_



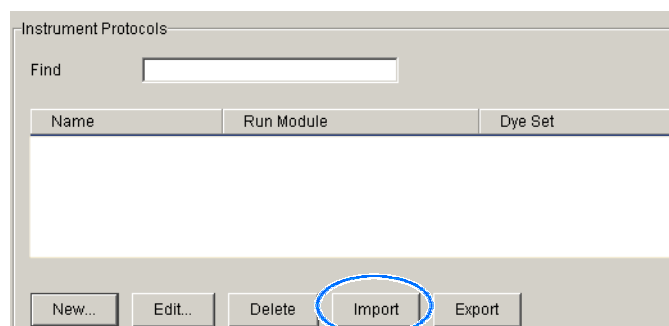
- e. Pomocí níže uvedené tabulky zvolte správný Soubor barev (Dye Set) pro váš běh.

Aplikace nebo kit	Soubor barev	Matriční standard
Oligonukleotidy na objednávku	D	DS-30
<ul style="list-style-type: none"><li>• ABI PRISM Mouse Mapping Set v1.0</li><li>• Oligonukleotidy na objednávku</li></ul>	D	DS-31
<ul style="list-style-type: none"><li>• AmpF/STR Cofiler</li><li>• AmpF/STR Profiler Plus</li><li>• AmpF/STR SGM Plus</li><li>• AmpF/STR Profiler Plus <i>ID</i></li><li>• Další AmpF/STR kity se 4 barvami</li><li>• AFLP</li><li>• Stockmarks – pro skot a psi</li></ul>	F	DS-32
ABI PRISM SnaPshot Multiplex System	E5	DS-02
<ul style="list-style-type: none"><li>• ABI PRISM Linkage Mapping Set v2.5</li><li>• Oligonukleotidy na objednávku</li><li>• AmpF/STR Identifiler™</li><li>• AmpF/STR SEfiler</li><li>• AmpF/STR Yfiler</li><li>• Další AmpF/STR kity s 5 barvami</li><li>• Stockmarks – pro koně</li></ul>	G5	DS-33

- f. Klikněte

## Import přístrojového protokolu

1. V okně Editor protokolu, v části Přístrojové protokoly (Instrument Protocols) klikněte  , čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).



2. Najděte soubor typu .xml, který chcete importovat.
3. Zvolte .xml soubor a klikněte Otevřít (Open).

Poznámky \_\_\_\_\_



## Export přístrojového protokolu

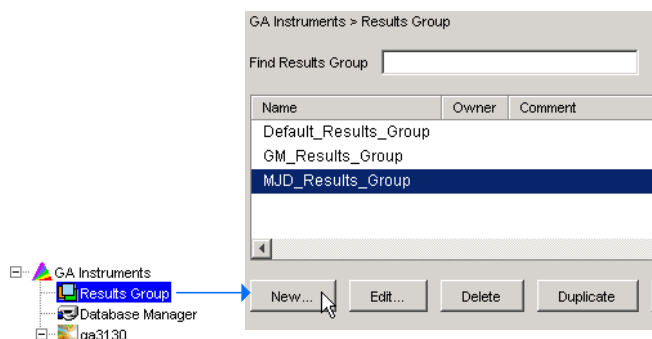
1. V části Přístrojové protokoly (Instrument Protocols) označte protokol, který chcete exportovat.
2. Klikněte **Export**, čímž otevřete dialogové okno Export souboru (File Export).
3. Zvolte cílový adresář.
4. Klikněte **Save** (Uložit).

## Výsledková skupina pro fragmentační analýzu

Výsledková skupina, která je součástí programu Data Collection, pod jedním názvem zahrnuje vzorky a určitá uživatelská nastavení. Nazývá se Výsledková skupina, protože se používá pro pojmenování a manipulace se vzorky, které jsou výsledkem běhu.

### Vytvoření výsledkové skupiny pro automatickou analýzu

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments > Results Group** (Výsledková skupina).
2. Klikněte **New...**, čímž zobrazíte editor výsledkové skupiny (Results Group Editor).

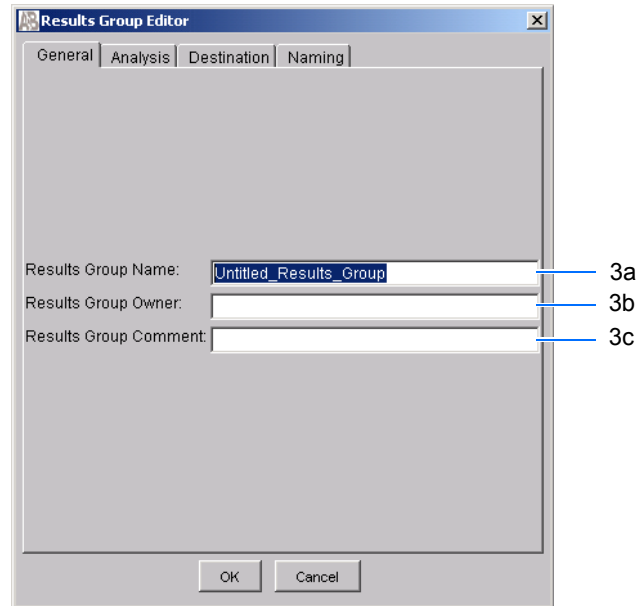


Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



3. Vyplňte záložku General (Obecné):

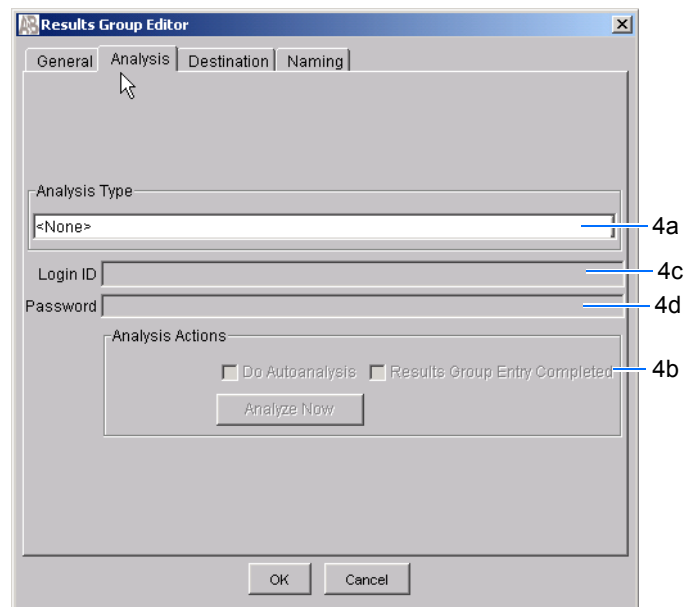
- a. Napište unikátní název výsledkové skupiny. Název lze použít při pojmenování a třídění souborů vzorků.
- b. Napište jméno majitele (Owner) výsledkové skupiny (volitelné). Jméno lze použít při pojmenování a třídění souborů vzorků.
- c. Napište komentář (Comment) k výsledkové skupině (volitelné).



4. Zvolte záložku Analysis (Analýza):

- a. Klikněte na **Analysis Type** (Typ analýzy) a zvolte jednu z následujících možností:

Zvolíte-li ...	Pak ...
None (Žádná)	Jsou vytvořeny pouze soubory s nezpracovnými daty.
GeneMapper-Generic	Automatická analýza neprobíhá a vznikají pouze soubory typu .fsa.
GeneMapper-<Název počítače>	Probíhá automatická analýza ukončených běhů.  Kroky b, c a d níže se vztahují pouze k softwaru GeneMapper-<Název počítače> (ne GeneMapper-Generic).



Poznámky \_\_\_\_\_



- b. Zvolte jednu z možností v části Analysis Actions (Kroky analýzy) pomocí níže uvedené tabulky.

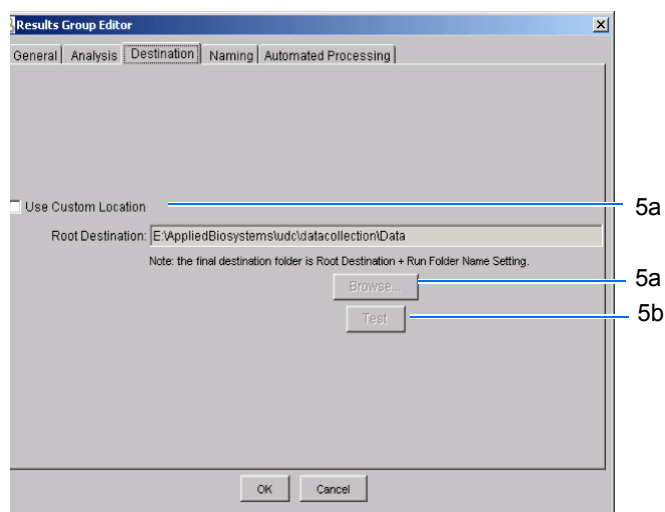
Zvolíte-li ...	Pak ...	Použití při nastavení ze záložky Automated Processing (Automatické zpracování) (strana 118)
Do Autoanalysis (provést automatickou analýzu)	Vzorky jsou analyzovány vždy po běhu 4 nebo 16 vzorků.	Po skončení každého běhu
Do Autoanalysis and Results Entry Group Complete (provést automatickou analýzu)	Vzorky jsou analyzovány po ukončení běhu všech vzorků téže výsledkové skupiny.	Pouze po ukončení výsledkové skupiny

- c. Zadejte uživatelské jméno (Login ID).  
d. Zadejte vaše heslo (password).

Poznámka: Uživatelské jméno a heslo se vztahují k programu GeneMapper. Je možné je vytvořit pouze ze záložky Options (Možnosti) programu GeneMapper. Je-li zadáno nesprávné uživatelské jméno a heslo, automatická analýza nebude provedena.

5. Zvolte záložku **Destination (Umístění souborů)** a definujte cílový adresář umístění dat.

Chcete-li použít...	Pak ...
předvolené umístění*	jděte na krok 6.
vlastní umístění <i>Použijte pro vzdálenou analýzu pomocí GeneMapper v3.7</i>	provedte kroky a-b.



#### \* Umístění souborů vzorků

Umístění souborů vzorků během zpracování:

- Předvolené nastavení a pojmenování adresářů: E:\AppliedBiosystemsUDC\DataCollection\data\*typ přístroje*\<název přístroje>\adresář běhu
- Předvolené nastavení a volitelné pojmenování adresářů: E:\AppliedBiosystemsUDC\DataCollection\data\volitelný adresář podadresáře, atd.
- Volitelné umístění, předvolené pojmenování adresářů: Umístění\*typ přístroje*\<název přístroje>\adresář běhu
- Volitelné umístění, volitelné pojmenování adresářů: Umístění\adresář\podadresáře, atd.

Poznámky \_\_\_\_\_



- a. Klikněte **Use Custom Location (Vlastní umístění)**, pak klikněte **Browse...** (Vyhledat) a vyhledejte požadované umístění.
- b. Klikněte **Test**, čímž ověříte dosažitelnost zvoleného adresáře:

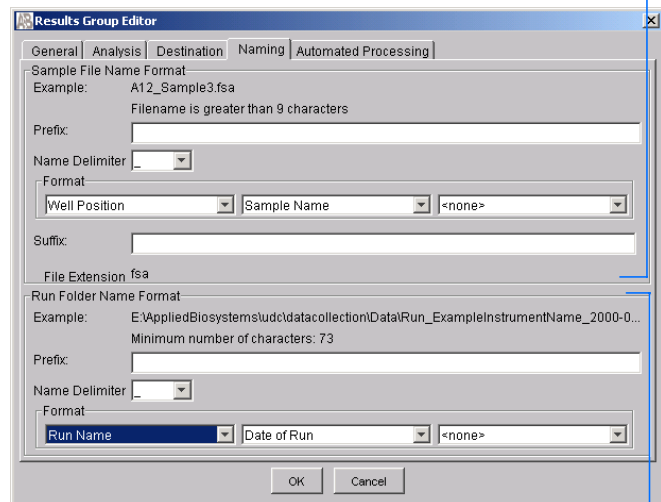
Pokud...	Zobrazí se zpráva ...
je dosažen	Test succeeded: <"umístění">.
není dosažen	Test failed:<"umístění">.

6. Zvolte záložku **Naming** (Pojmenování), tato záložka slouží k úpravě názvů vzorků a adresářů běhů.

Poznámka: Přednastavený formát názvu vzorku pro fragmentační analýzu je:  
frag\_<číslo kapiláry>\_<pozice jamky>.fsa

Poznámka: Název vzorku, adresáře běhů a cesty nesmí přesáhnout více než 250 znaků celkem.

Definice jednotlivých součástí záložky Pojmenování (Naming) viz [strana 119](#).

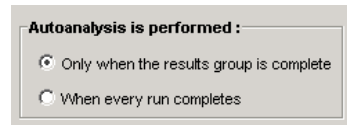


Formát názvu vzorku

Formát názvu adresáře běhů

7. Zvolte záložku **Automated Processing** (Automatické zpracování).

V podokně "Autoanalysis is performed" (Automatická analýza je provedena) zvolte kdy chcete tuto analýzu provést:

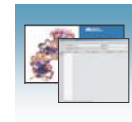


Zvolte možnosti automatické analýzy

Zvolíte-li ...	Pak ...	Nastavení záložky Analysis (Analýza) (strana 117)
Pouze po ukončení výsledkové skupiny (Only when the results group is complete)	Vzorky jsou analyzovány po ukončení běhu všech vzorků téže výsledkové skupiny.	<b>Do Autoanalysis and Results Entry Group Complete</b> (provést automatickou analýzu)
Po ukončení každého běhu (When every run completes)	Vzorky jsou analyzovány vždy po běhu 4 nebo 16 vzorků.	<b>Do Autoanalysis</b> (provést automatickou analýzu)

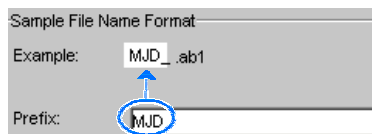
8. Klikněte **OK**, čímž výsledkovou skupinu uložíte.

Poznámky \_\_\_\_\_

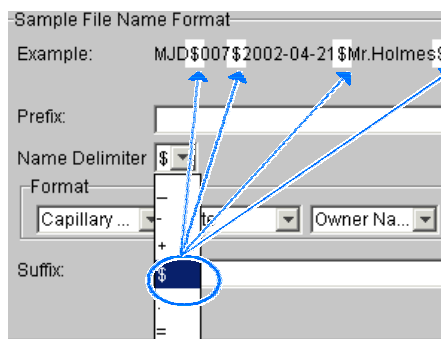


### Vyplnění části Formát názvu vzorků

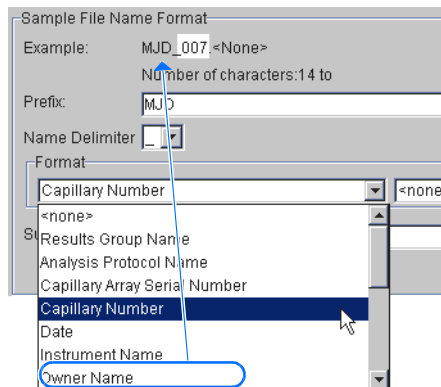
1. Zadejte předponu názvu v kolonce Prefix.  
Vámi zadaný údaj se zobrazí v řádce Example (příklad).
2. Z rozbalovacího menu zvolte symbol (Name delimiter), jímž oddělíte předponu názvu od další části názvu. Je možné zvolit pouze jeden oddělovací symbol.



3. Klikněte na seznam v části Format a zvolte údaje, které chcete mít jako součást názvu vzorku.



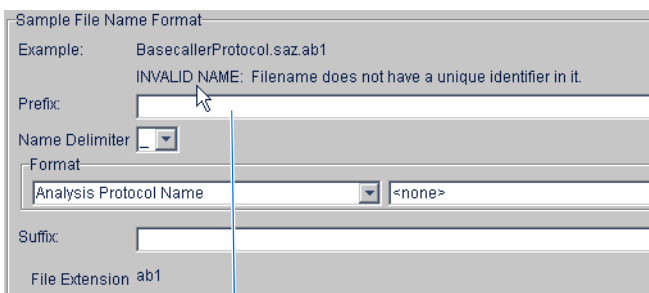
**Poznámka:** Vzorky z jediného běhu mohou být všechny umístěny do téhož adresáře běhu nebo adresáře výsledků, takže názvy vzorků v rámci jednoho běhu by měly být odlišné. Většina možností v seznamu Format není pro jednotlivé vzorky odlišná, takže zvolte alespoň jednu z možností, která odlišná je.



Pokud součástí názvu není jednoznačná identifikace vzorku, zobrazí se varovná hláška. Zvolte pojmenování tak, aby bylo pro vzorky unikátní.  
Například:

- Označení jamky
- Číslo kapiláry
- Číslo běhu
- Kvadrant destičky

**Poznámka:** Některé součásti názvu jako je označení jamky, číslo kapiláry a kvadrant destičky nejsou samy o sobě unikátní. Kvadrant destičky není unikátní pro 96-jamkovou destičku.

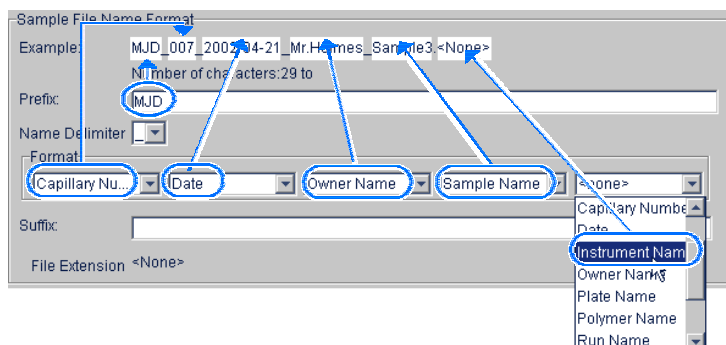


Varovná hláška

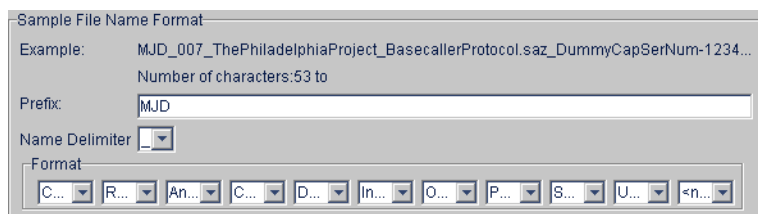
Poznámky \_\_\_\_\_



Zvolené součásti názvu se postupně zobrazují v řádce Example (příklad). Postupně se zobrazují i další rozbalovací menu, umožňující výběr dalších součástí názvu.

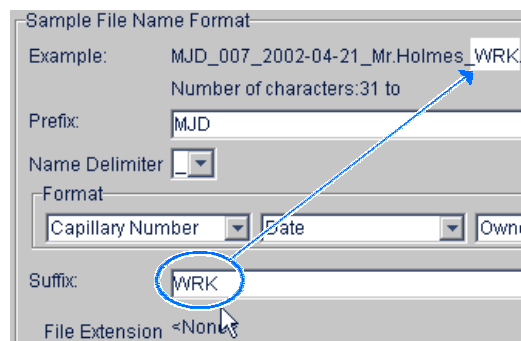


Pole jednotlivých rozbalovacích menu se mohou zmenšovat, ale řádka Example zůstává viditelná až do délky 72 znaků.



4. V poli Suffix (Přípona) napište příponu názvu vzorku.

Pole File Extension (přípona souboru) zobrazuje příponu souboru vytvořenou na základě specifikace typu analýzy v záložce Analysis (viz [strana 116](#)). Například analýza programem Sequencing Analysis generuje vzorky s příponou .ab1.



Vyplnění části formát názvu Adresáře běhů/podadresářů

Při tvorbě názvu podadresářů v rámci adresáře běhů proveďte totožné kroky jako při tvorbě formátu názvu vzorků (viz [strana 119](#)).

Poznámky \_\_\_\_\_




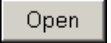








## Importování a exportování výsledkové skupiny

Import a export výsledkových skupin programu GeneMapper není mezi samostatnými počítači podporován.

### Import výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  **GA Instruments** >  **Results Group** (Výsledková skupina).
2. Klikněte , čímž otevřete dialogové okno Import souboru (File Import).
3. Vyhledejte soubor, který chcete importovat.  
Poznámka: Jedná se o soubor typu .xml (XML soubor).
4. Klikněte  (otevřít)  
Poznámka: Pokud provádíte import nebo duplikaci výsledkové skupiny, musíte zadat název nové výsledkové skupiny a aplikaci používanou k analýze.

### Export výsledkové skupiny

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  **GA Instruments** >  **Results Group** (Výsledková skupina).
2. Kliknutím zvolte výsledkovou skupinu.
3. Klikněte .  
Zobrazí se dialogové okno pro export souboru se jménem zvolené výsledkové skupiny.
4. Vyhledejte plánované umístění exportovaného souboru.
5. Klikněte  (Uložit).

---

Poznámka: Pokud již v daném umístění existuje výsledková skupina téhož jména, proveďte duplikaci výsledkové skupiny. Duplikace uloží nastavení do obdobné výsledkové skupiny bez rizika uživatelské chyby při jejím manuálním kopírování (viz [“Duplikace výsledkové skupiny” na straně 122](#)).

---

Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



### Duplikace výsledkové skupiny

1. Klikněte na název výsledkové skupiny.
2. Klikněte **Duplicate** (duplikovat).

---

Poznámka: Při duplikaci výsledkové skupiny musíte zadat název nové výsledkové skupiny a typ aplikace používané pro analýzu.

---

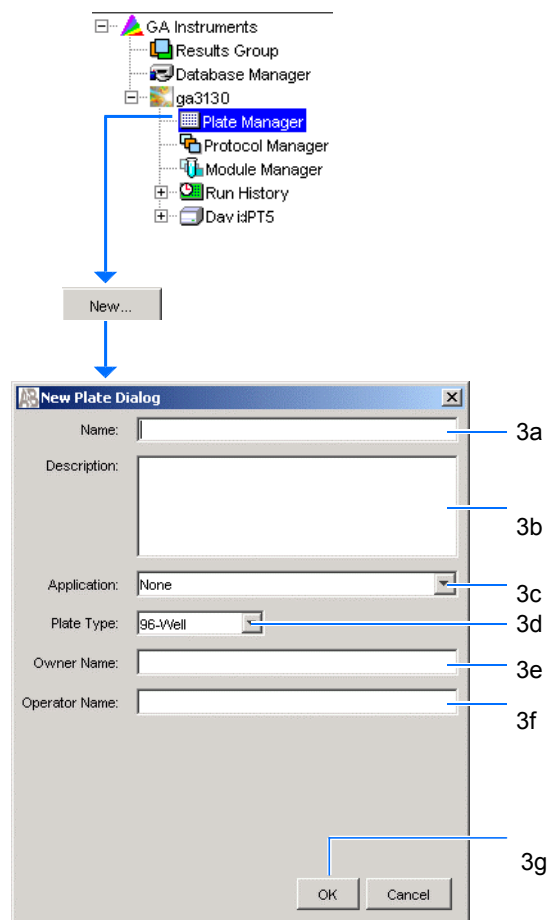
Poznámky \_\_\_\_\_



## Vytvoření záznamu destičky v programu GeneMapper

### Vytvoření záznamu destičky pro automatickou analýzu

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **Plate Manager** (Správce destiček).
2. Klikněte **New...**, čímž otevřete okno New Plate (Nová destička).
3. Vyplňte okno New Plate (Nová destička):
  - a. Zadejte název (Name) destičky.
  - b. Volitelné: Zadejte popis záznamu destičky.
  - c. Zvolte typ aplikace GeneMapper z rozbalovacího menu Application.
  - d. V rozbalovacím menu Plate Type (Typ destičky) zvolte **96-Well** nebo **384-Well** (96- nebo 384-jamková destička).
  - e. Zadejte jméno majitele (Owner) destičky.
  - f. Zadejte jméno operátora (Operator) destičky. Klikněte **OK**, čímž otevřete Editor destičky programu GeneMapper.



Poznámky \_\_\_\_\_



## Vyplnění záznamu destičky v programu GeneMapper

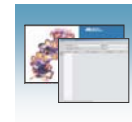
1. Ve sloupci **Sample Name** (Název vzorku) zadejte název vzorku a klikněte na další buňku. Ve sloupci **Priority** (priorita) se automaticky zobrazí hodnota 100.
2. Ve sloupci **Comments** (Komentář) zadejte jakýkoliv další komentář k danému vzorku.
3. Ve sloupci **Priority** (Priorita) můžete změnit přednastavenou hodnotu.
4. Ve sloupci **Type** (Typ vzorku) zvolte typ vzorku ze samorozbalovacího menu.
5. Ve sloupci **Size standard** (Velikostní standard) zvolte velikostní standard ze samorozbalovacího menu.
6. Ve sloupci **Panel** zvolte panel ze samorozbalovacího menu.
7. Ve sloupci **Analysis method** (Metoda analýzy) zvolte metodu analýzy ze samorozbalovacího menu.
8. Pokud je to relevantní, zvolte ve sloupci **SNP set** (Soubor SNP) soubor SNP ze samorozbalovacího menu nebo zvolte None (Žádný).
9. Zadejte text do uživatelem definovaných sloupců (User-Defined columns) 1 až 3.
10. Ve sloupci **Results Group 1** (Výsledková skupina) zvolte z rozbalovacího menu výsledkovou skupinu nebo vytvořte novou (viz [strana 115](#)).
11. Ve sloupci **Instrument Protocol 1** (Přístrojový protokol) zvolte z rozbalovacího menu přístrojový protokol nebo vytvořte nový (viz [strana 112](#)).

	1	2	3	4	5
Well	Sample Name	Comment	Priority	Sample Type	Size Standard
A01					
B01					
C01					
D01					
E01					
F01					

	6	7	8	9	
Panel	Analysis Method	Snp Set	User-Defined 1	User-Defined 2	

	9	10	11
User-Defined 3	Results Group 1	Instrument Protocol 1	

Poznámky \_\_\_\_\_



12. Vyplňte celý záznam destičky:

- Pro jednotlivé běhy analyzující tytéž vzorky a používající tytéž protokoly – Označte celý řádek a klikněte **Edit > Fill Down Special**.  
Podle typu vaší destičky (96 nebo 384 jamek) a sady kapilár (16 nebo 4 kapiláry) program automaticky vyplní odpovídající počet jamek vašeho běhu.
- Pro celé destičky používající tytéž vzorky a protokoly – Označte celý řádek a klikněte **Edit > Fill Down**, čímž vyplníte celou destičku.
- Pro destičky s různými vzorky a protokoly vyplňte záznam ručně.

Edit	
Fill Down	Ctrl+D
Copy	Ctrl+C
Paste	Ctrl+V
Clear row(s)	Shift+Delete
<b>Fill Down Special</b>	<b>Alt+D</b>
Add Sample Run	Alt+A

13. Pokud chcete provést nástřik některého vzorku více než jednou, klikněte **Edit > Add Sample Run** (přidat běh).

Do pravé části záznamu destičky se přidá další sloupec pro výsledkovou skupinu, přístrojový protokol a protokol o analýze.

Přidejte dodatečný běh pomocí **Edit > Add Sample Run** (přidat běh).

Edit	
Fill Down	Ctrl+D
Copy	Ctrl+C
Paste	Ctrl+V
Clear row(s)	Shift+Delete
Fill Down Special	Alt+D
<b>Add Sample Run</b>	<b>Alt+A</b>

14. Vyplňte sloupce i pro tento dodatečný běh.

15. Klikněte  , čímž uložíte a uzavřete záznam destičky.

Poznámka: Po potvrzení záznamu kliknutím OK se vyplněný záznam destičky uloží v Plate Manager database (Databáze správce destiček). Tyto záznamy lze prohledávat, upravovat, duplikovat exportovat nebo mazat ve Správci destiček (Plate Manager).

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Kapitola 6 Automatická fragmentační analýza

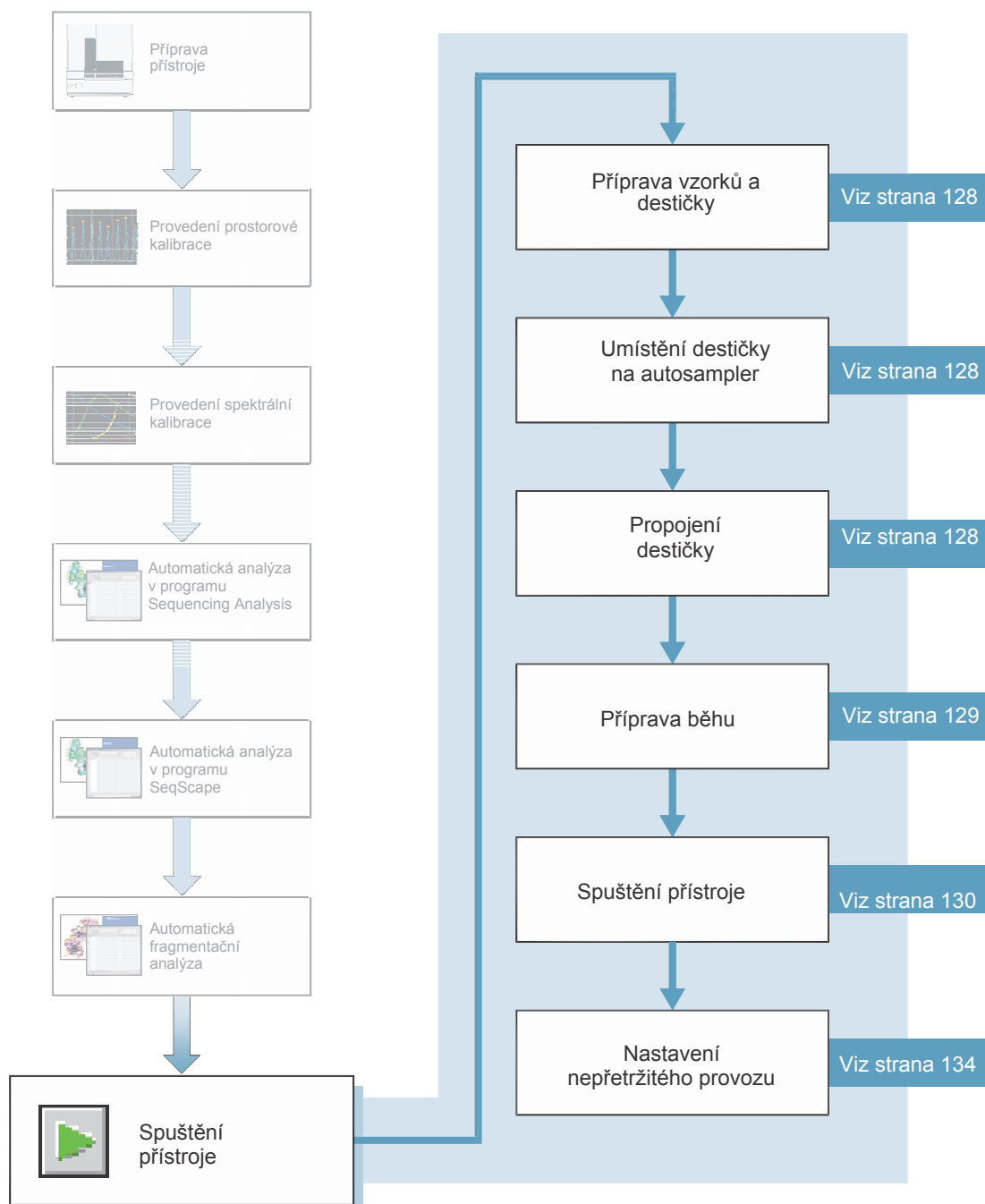
Vytvoření záznamu destičky v programu GeneMapper

Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

# Spuštění přístroje



Poznámky \_\_\_\_\_



## Příprava vzorků a destičky

### Přehled

Obecné kroky přípravy vzorků a destičky jsou popsány v kapitole 3, “Provedení spektrální kalibrace,” na straně 27.


Téma...	Viz
Příprava vzorku	“Příprava kalibračního standardu” na straně 31 a “Příprava vzorků do destičky” na straně 32.  Postupujte podle pokynů ve vašem kitu a připravte vzorky o objemu:  10 až 30 µL pro 96-jamkovou destičku  5 až 15 µL pro 384-jamkovou destičku
Uzavření destičky	“Uzavření destičky” na straně 33.
Umístění destičky do přístroje	“Umístění destičky do přístroje” na straně 39.
Vyhledání záznamu destičky a její propojení	“Spuštění destičky pro spektrální kalibraci” na straně 40.

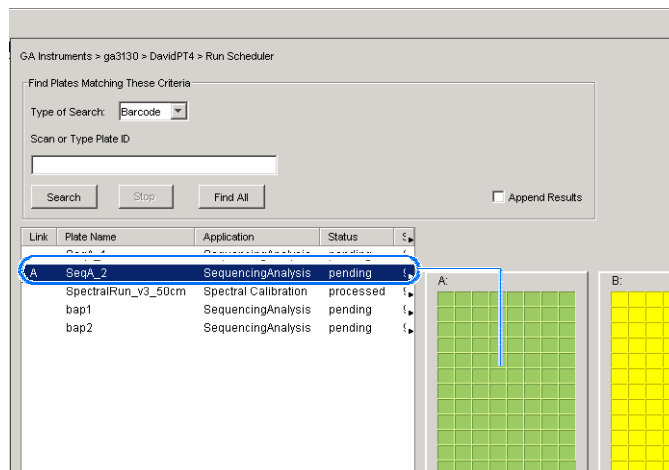
## Propojení a odpojení destičky

Před spuštěním musíte destičku na autosampleru propojit s nově vytvořeným záznamem destičky.

Zvolte žádaný záznam destičky a klikněte na indikátor destičky odpovídající její pozici v přístroji. Pozice destičky (A nebo B) se zobrazí ve sloupci Link (Propojení).

**Poznámka:** Genetický analyzátor 3130 má pouze jednu možnou pozici destičky (B) k propojení.

Barva indikátoru se po propojení pozice destičky změní ze žluté na zelenou a zelené tlačítko  bude aktivní.



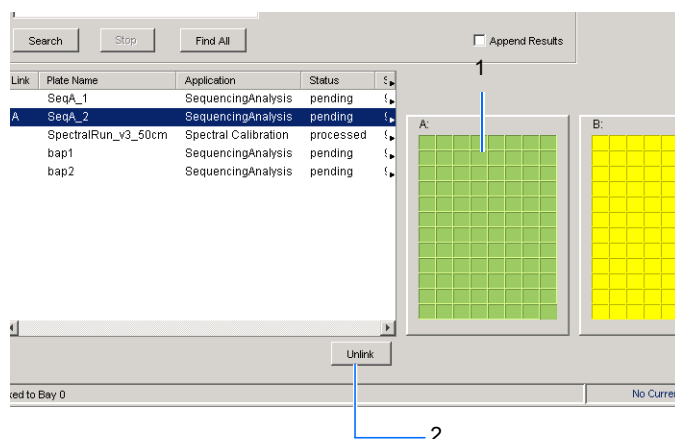
Poznámky \_\_\_\_\_





## Odpojení záznamu destičky

1. Klikněte na záznam destičky, kterou chcete odpojit.
2. Klikněte **Unlink** (Odpojit).

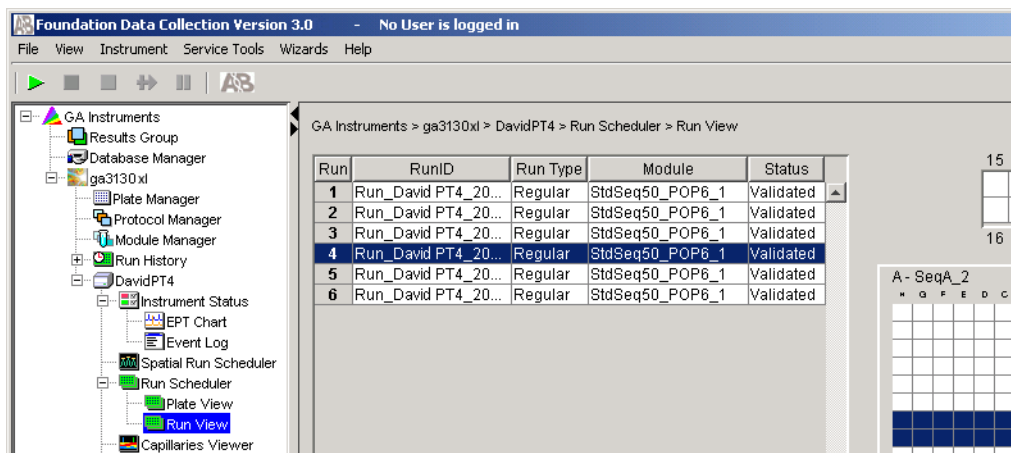


## Prohlížení plánu běhů

Více informací o plánování běhů a nástřiku vzorků naleznete v kapitole “Mapování destičky” na straně 161.

Chcete-li ověřit naplánování běhů:

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments**  
> **ga3130xl** or **ga3130** > **název přístroje** > **Run Scheduler** > **Run View** (Zobrazení běhů).
2. Zvolte běh. V zobrazení destičky se zvýrazní jamky, z nichž bude v průběhu daného běhu proveden nástřik.



Poznámky \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



## Spuštění přístroje

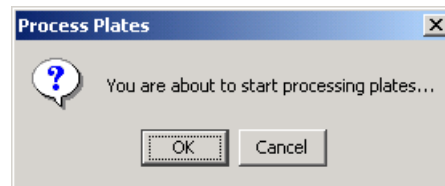
### Spuštění běhu

1. Ověřte, že aktivní spektrální kalibrace odpovídá (pro všechny naplánované běhy) vašemu souboru barev a délce kapiláry.

Chcete-li aktivní spektrální kalibraci změnit, postupujte podle “Aktivace spektrální kalibrace” na straně 47.

Chcete-li provést novou spektrální kalibraci, postupujte podle “Vytvoření protokolu spektrální kalibrace” na straně 35.

2. Klikněte na zelenou šipku v panelu nástrojů.
3. Zobrazí se dialogové okno Process Plates, klikněte .



Program automaticky provede kontrolu nastavení běhu:

- Je-li kontrola v pořádku, běh začne.
- Pokud některý z kontrolních testů neproběhne úspěšně, běh nezačne. Více informací naleznete v záznamech (log).

Poznámky \_\_\_\_\_



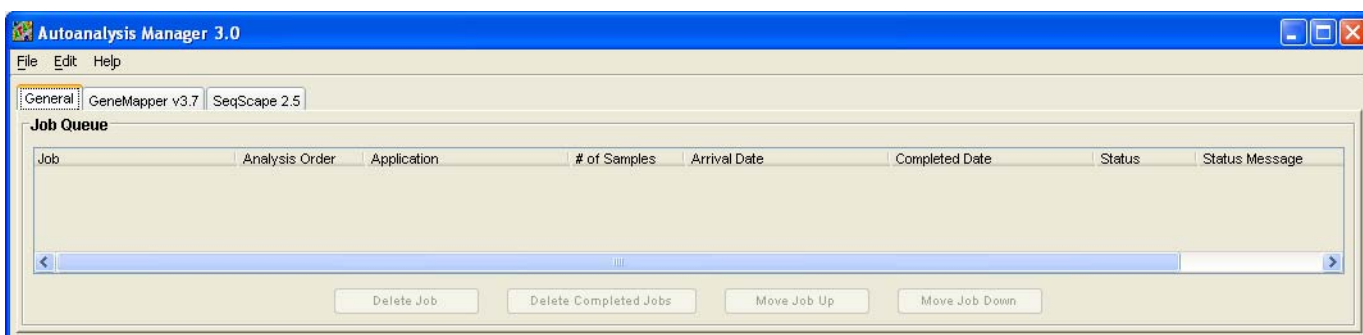
## Spuštění programu Autoanalysis Manager pro SeqScape a/nebo GeneMapper

Pro automatickou analýzu dat pomocí programových balíků SeqScape® a/nebo GeneMapper® použijte program Autoanalysis Manager (AAM).

1. Zvolte **Start > Programs > Applied Biosystems > Autoanalysis Manager > Autoanalysis Manager 3.0.**

**Poznámka:** Program Autoanalysis Manager se nespustí automaticky. Program musíte otevřít a pak přijímá data z programu Data Collection za účelem jejich analýzy v programu SeqScape a/nebo GeneMapper.

Otevře se okno Autoanalysis Manager.



2. Vypněte program SeqScape a/nebo GeneMapper.

Žádné další kroky s programem AAM nejsou potřeba dokud běh neskončí. Více informací viz “Používání programu Autoanalysis Manager” na straně 155.

Poznámky \_\_\_\_\_



**Základní kroky běhu** Automatické kroky po zahájení běhu

Krok	Přibližná doba trvání
Zapnutí termostatu	-
Čekání na ekvilibraci termostatu Inicializace autosampleru	1 min 40 sec
Plnění kapilár	3-4 min
Pre-separace	3 min
Nástřik vzorků	10 až 30 sec
Zahájení separace Zvyšování napětí	10 min
Sběr dat	Variabilní
Konec běhu: Termostat zůstává zapnut Laser vypnut	Do zahájení dalšího běhu
Celková doba do zahájení separace:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Termostat není nahřátý: ~25 min</li> <li>• Termostat je nahřátý: ~6.5 min</li> </ul>	

Informace o modifikacích tohoto postupu viz příručka *Genetické analyzátoři Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.

Poznámka: Nástroj PostBatch Utility vypne po skončení várky běhů jak termostat tak i laser.

**Trvání běhů - DNA sekvenování** Přibližná doba trvání běžných sekvenačních běhů

Typ běhu	Modul běhu	Doba trvání (min)
Ultrarychlý (Ultra rapid)	UltraSeq36_POP4	40
	UltraSeq36_POP7	35
Rychlý (Rapid)	RapidSeq36_POP6	60
	RapidSeq36_POP7	60
Rychlý (Fast)	FastSeq50_POP7	60
Standard	StdSeq50_POP4	100
	StdSeq50_POP6	150
	StdSeq50_POP7	120
Dlouhé čtení (Long read)	LongSeq80_POP4	210
	LongSeq80_POP7	170

Poznámky \_\_\_\_\_



## Trvání běhů – fragmentační analýza

Přibližná doba trvání běžných běhů fragmentační analýzy

Typ běhu	Modul běhu	Doba trvání (min)
Vysokokapacitní analýza malých fragmentů	FragmentAnalysis22_POP4	20
	SNP22_POP4	20
Standardní fragmentační analýza	FragmentAnalysis36_POP4	45
	HIDFragmentAnalysis36_POP4	45
	SNP36_POP4	30
	FragmentAnalysis36_POP7	35
	FragmentAnalysis50_POP4	65
	FragmentAnalysis50_POP6	90
	FragmentAnalysis50_POP7	50

## Ovládání běhu

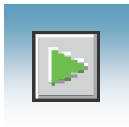
### Panel nástrojů


Ovládání běhu se provádí pomocí panelu nástrojů v okně programu Data collection.



Ikona ...	Popis
 Spustit běh	Spustí běh
 Stop	Zastaví současný běh a všechny naplánované běhy
 Stop po současném běhu	Dokončí současný běh a pak zastaví všechny naplánované běhy
 Přeskočit na další běh	Zastaví současný běh a zahájí další naplánované běhy

Poznámky \_\_\_\_\_



Ikona ...	Popis
 Pauza	Pozastaví současný běh <sup>a</sup>

a Příliš dlouhá pauza zejména po nástřiku vzorku se projeví v kvalitě dat.

## Nastavení nepřetržitého běhu

### Přehled

Pomocí funkce nepřetržitého běhu můžete během běhu vytvořit a propojit destičku. Je možné:

- Analyzovat jednu nebo více destiček
- Odstranit destičku/destičky po analýze vzorků
- Propojit a analyzovat další destičky

Používáte-li funkci nepřetržitého běhu:

- Vkládejte a vyjímajte destičky pouze je-li přístroj pozastaven.
- Vytvářejte záznamy destiček před pozastavením přístroje, čímž propojení destiček zrychlíte a dobu pozastavení zkrátíte.
- Propojujte nové destičky po znovuzahájení běhu.

### Přidání nebo výměna destičky během běhu

Je-li přístroj pozastaven (Pause), můžete i během běhu vkládat a vyjímat destičky. Vytvoříte záznam destičky a po znovuzahájení běhu jej propojíte.

Je-li destička používána, postupuje podle odstavce “Přidání, výměna a odebrání destičky během běhu” na straně 135.

---


**DŮLEŽITÉ!** Příliš dlouhá pauza zejména po nástřiku vzorku se projeví v kvalitě dat.

---

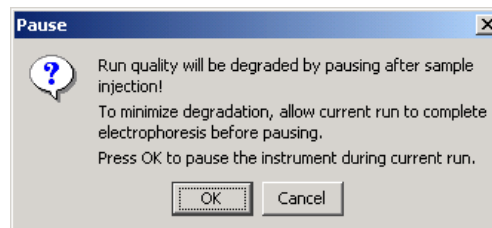


## Přidání, výměna a odebrání destičky během běhu

Chcete-li vyměnit nebo vložit destičku do nepoužité pozice autosampleru (genetický analyzátor 3130xI).

1. Připravte si destičku a vytvořte záznam destičky.
2. Klikněte  (Pauza).

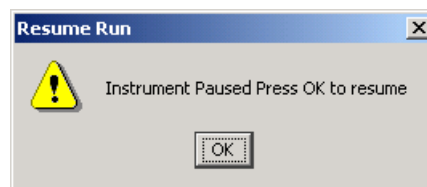
Přečtěte si varování v dialogovém okně Pause (Pauza), poté klikněte , čímž běh pozastavíte.



Je-li běh pozastaven po nástřiku vzorku, bude jeho kvalita zhoršena. Chcete-li riziko zhoršení kvality minimalizovat, dokončete stávající běh bez pozastavení. Stiskněte OK, chcete-li běh nyní pozastavit.

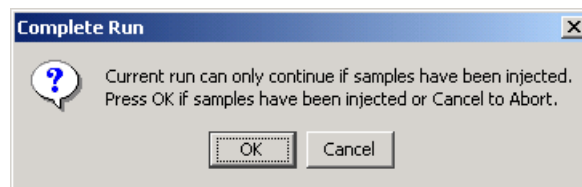
Otevře se dialogové okno Resume run (Znovuzahájení běhu).

**DŮLEŽITÉ!** *Neklikejte* OK pro znovuzahájení běhu. Dočasně toto okno ignorujte.



3. Odstraňte starou destičku (je-li to zapotřebí).
  - a. Stiskněte tlačítko Tray, čímž se autosampler přesune do přední polohy.
  - b. Otevřete dvířka přístroje.
  - c. Vyjměte starou destičku.
4. Vložte novou destičku.
5. Uzavřete dveře.
6. Klikněte **OK** v okně Resume Run (Znovuzahájení běhu).
7. V okně Complete Run klikněte  byl-li proveden nástřik vzorků, nebo , čímž běh ukončíte a přístroj uvedete do stavu nečinnosti.

**DŮLEŽITÉ!** Pokud kliknete OK, stávající běh bude pokračovat bez ohledu na to, zda byl či nebyl proveden nástřik vzorků. Pokud nástřik neproběhl, bude proveden nástřik vzorků z nové destičky.



Poznámky \_\_\_\_\_



8. Vyhledejte záznam destičky a propojte novou destičku.

Nová destička bude analyzována po ukončení všech naplánovaných běhů stávající destičky.

---

**Poznámka:** Pokud odeberete stávající destičku před zahájením sběru dat ale po nástřiku vzorku (klikli jste na OK pro pokračování), změní se statut destičky a bude považována za analyzovanou i když běh ve skutečnosti pokračuje.

---

Poznámky \_\_\_\_\_





## Prohlížení dat během běhu

Plánovač běhu > V adresářovém okně programu Data Collection klikněte  
 Zobrazení destičky (Run Scheduler > Plate View)  
**GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **název přístroje** > **Run Scheduler** > **Plate View** (Zobrazení destiček).

Poznámka: Okna **Run Scheduler** a **Plate View** zobrazují tytéž informace.

GA Instruments > ga 3130xl > iDev > Run Scheduler > Plate View

Find Plates Matching These Criteria

Type of Search: Barcode

Scan or Type Plate ID

Search Find All Append Results

Link	Plate Name	Application	Status
	SEQsite29	SequencingAnalysis	pending-no samples defir
	SpectralZ_run3	Spectral Calibration	pending-no samples defir
	SpectralZrun2	Spectral Calibration	pending-no samples defir
	Spectral_Z_Run	Spectral Calibration	pending-no samples defir
	gpt-6	SeqScape	pending-no samples defir
	robin	GeneMapper	pending-no samples defir
	seqA	SequencingAnalysis	pending
	site23	SeqScape	pending-no samples defir
	testrun20	SeqScape	pending-no samples defir

System Status Plate A 96 well mounted No Current Run

Poznámky \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Plánovač běhu >  
Zobrazení běhu  
(Run Scheduler >  
Run View)

V adresářovém okně programu Data Collection klikněte

GA Instruments > ga3130xl nebo ga3130 > název přístroje > Run Scheduler > Run View (Zobrazení běhů) – toto zobrazení vám umožňuje monitorovat průběh naplánovaných běhů.

The screenshot shows the 'Foundation Data Collection Version 3.0' interface. The left sidebar contains a tree view with 'Run View' selected under 'Run Scheduler'. The main window displays a table of runs and a grid layout for plate mapping.

Run	RunID	Run Type	Module	Status
1	Run_David PT4_20...	Regular	StdSeq50_POP6_1	Validated
2	Run_David PT4_20...	Regular	StdSeq50_POP6_1	Validated
3	Run_David PT4_20...	Regular	StdSeq50_POP6_1	Validated
4	Run_David PT4_20...	Regular	StdSeq50_POP6_1	Validated
5	Run_David PT4_20...	Regular	StdSeq50_POP6_1	Validated
6	Run_David PT4_20...	Regular	StdSeq50_POP6_1	Validated

Below the table, there are two grid layouts labeled 'A - SeqA\_2' and 'B'. Grid A shows a 12x16 grid with columns H, G, F, E, D, C, B, A and rows 1-12. Grid B is empty. Below the grids are four buttons labeled 'Site 1', 'Site 2', 'Site 3', and 'Site 4'. The status bar at the bottom indicates 'Plate SeqA\_2 has been linked to Bay 0' and 'No Current Run'.

Poznámka: Více informací o přednastavených mapách viz Příloha A: “Mapování destičky.”

Poznámky \_\_\_\_\_



**Stav přístroje** V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments > ga3130xl** nebo **ga3130 > název přístroje > Instrument Status** – toto zobrazení vám umožňuje sledovat stav přístroje nebo současného běhu.

Event Log – zobrazuje zprávy systému

System Status – před zahájením běhu musí být 'Ready'

Informace o sadě kapilár a polymeru

The screenshot shows the 'Instrument Status' window for a GA Instruments ga3130. The window title is 'Foundation Data Collection Version 3.0 - No User is logged in'. The main content area is divided into several sections:

- Status Overview:** Shows Instrument ID: 3130-019, Run ID: Run\_3130-019\_2003-09-05\_17-46\_0122, Plate Name: seq\_1\_2, and System Status: Processing.
- Sensor States:** A list of components with their status: Laser (On), EP (On), Oven (On), Front Doors (Closed), Oven Door (Closed), and Autosampler (Return).
- Sensor Values:** Three graphs showing EP Voltage (12.2 kV), Laser Power (15.0 mW), and Oven Temp (50.0 °C).
- Array Information:** Array Serial Number: cap50, Array Length: 50 cm, Array Usage: 122, Polymer Type: POP6.
- Events:** A list of status change events, such as 'Run\_3130-019\_2003-09-08\_15-29\_0170 status has changed to...'
- Errors:** An empty section for displaying error messages.

At the bottom of the window, a 'System Status' bar shows 'Plate seq\_1\_3 has been linked to Bay 1' and 'Est. 80%, 0:26:01 remaining.'

System Status – v případě chybových hlášek se mění ze zelené na blikající červenou, viz Event Log (Záznam zpráv systému).

Poznámky \_\_\_\_\_



### Senzory stavu přístroje

Barva senzorů poskytuje informace o stavu zařízení. Definice jednotlivých barev viz tabulka níže.

Pro...	Zelená znamená...	Červená znamená...	Žlutá znamená...
Laser	Laser je vypnut	Laser je zapnut	Laser je nečinný
Elektroforéza	Elektroforéza je vypnuta	Elektroforéza je zapnuta	—
Termostat	Termostat je vypnut	Termostat je zapnut	—
Dvířka přístroje	Dvířka jsou zavřena	Dvířka jsou otevřena	—
Dvířka termostatu	Dvířka jsou zavřena	Dvířka jsou otevřena	—
Autosampler	Autosampler je ve výchozí pozici	Autosampler je v přední pozici	—

### Zobrazení zpráv

Zobrazují se zprávy:

- O aktuálních krocích přístroje
- O stavu každé kapiláry po ukončení spektrální kalibrace (přijatelná, nepřijatelná)
- O kalibračních údajích po ukončení prostorové kalibrace

Některé ze zobrazených zpráv jsou určeny servisním technikům.

### Chybové hlášky

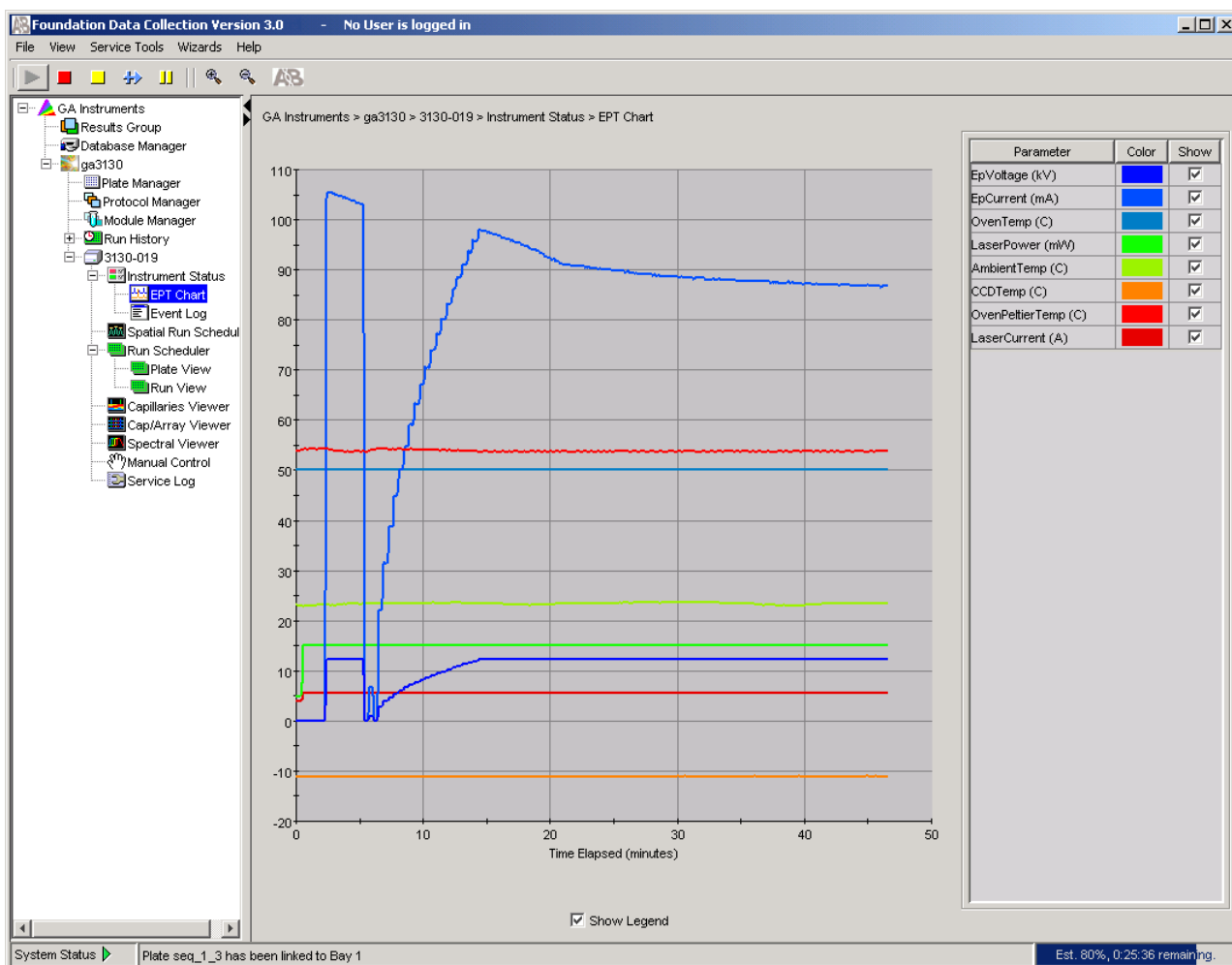
Zobrazují se zprávy o chybách během běhu.

Některé ze zobrazených chybových hlášek jsou určeny servisním technikům. “Fatální” chyba obvykle vyžaduje restartování programu Data Collection.

Poznámky \_\_\_\_\_



Stav přístroje > Graf EPT V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **název přístroje** > **Instrument Status** > **EPT Chart**. Graf EPT zobrazuje elektroforetické parametry v průběhu běhu.



Poznámky \_\_\_\_\_

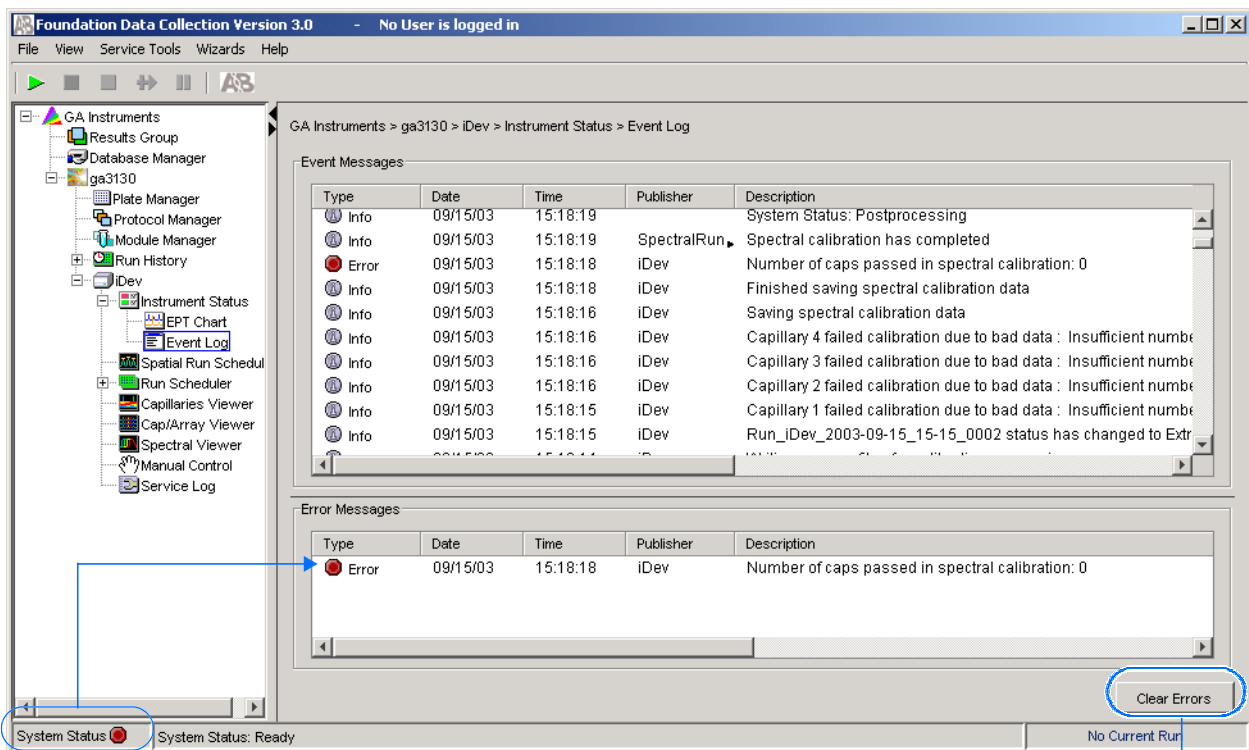


Stav přístroje  
> Záznam  
zpráv systému  
(Event Log)

V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **název přístroje** > **Instrument Status** > **Event Log**. Ve zprávách systému se zaznamenávají události jako chybové hlášky a obecné informace pro všechny kroky sběru dat.

Pomocí tlačítka **Clear Errors** (Odstranit chyby) můžete odstranit chybové hlášky. Stavová dioda přístroje červeně bliká dokud nejsou všechny chyby odstraněny. Proveďte nápravné kroky podle charakteru chyby.

Poznámka: Toto zobrazení je rovněž možné použít pro sledování výsledků spektrální kalibrace v reálném čase, čímž můžete ověřit průběh kalibrace jednotlivých kapilár.



Tlačítko Clear Errors mění ikonu System status (Stav přístroje) z červené na zelenou (přístroj je připraven).

Poznámky \_\_\_\_\_



## Prohlížeč kapilár (Capillaries Viewer)

V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments > ga3130** nebo **ga3130xl > název přístroje > Capillaries Viewer**. Prohlížeč kapilár umožňuje monitorovat kvalitu nezpracovaných dat během analýzy v několika kapilárách současně.

Klikněte na jednotlivé barvy čímž je zobrazíte nebo skryjete

Zatrhnete, kterou kapiláru chcete zobrazit

Nezpracovaná data

### Zobrazení kapilár


Zatrhnete okénko u čísla té kapiláry, jejíž elektroforetogram chcete zobrazit. Kapiláry se zobrazují v pořadí v jakém tato okénka zatrháváte. Čím více okének je zatrženo, tím pomaleji se data obnovují.

### Nezpracovaná data

Elektroforetogram je graf relativní koncentrace barev v čase, zobrazený pro každou barvu. Zobrazená data jsou upravena s ohledem na překryv spekter (multikomponentní analýza).

### Zvětšení zobrazení (Zoom)

Zvětšené a plné zobrazení:

1. Pomocí myši označte oblast vašeho zájmu. Uvolněte tlačítko myši – vámi zvolená oblast se zobrazí v detailním náhledu.
2. Klikněte , čímž se vrátíte do úplného zobrazení.

Poznámky \_\_\_\_\_



Prohlížeč sady  
kapilár  
(Cap/Array  
Viewer)

V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments > ga3130 nebo ga3130xl > název přístroje > Cap/Array Viewer**. Toto okno slouží k prohlídce kvality vašich dat během běhu. Můžete zobrazit všechny kapiláry. Kapiláry (vertikální osa) jsou zobrazeny v čase (horizontální osa).

Klikněte na jednotlivé barvy čímž je zobrazíte nebo skryjete

Nezpracovaná data pro zvolenou kapiláru (4)

Elektroforetogram

0 → Konec

Zvětšení zobrazení (Zoom)

Zvětšené a plné zobrazení:

1. Pomocí myši označte oblast vašeho zájmu. Uvolněte tlačítko myši – vámi zvolená oblast se zobrazí v detailním náhledu.
2. Klikněte , čímž se vrátíte do úplného zobrazení.

Poznámky \_\_\_\_\_





## Používání funkce Historie běhů

### Historie běhů

**Součásti historie běhů** Nástroj Historie běhů slouží k práci s ukončenými běhy uloženými v lokální databázi programu Data Collection genetických analyzátorů 3130/3130xl. Tento nástroj nelze použít k prohlížení dat z běhů v reálném čase.

Pro spuštění dané funkce klikněte na k ní příslušící ikonu.

#### Součásti historie běhů

Ikona	Funkce	Zobrazuje ...
	Prohlížeč EPT	Elektroforetické parametry běhu – napětí, proud, teplota..
	Záznam zpráv systému	Záznamy týkající se běhu.
	Přístrojový protokol	Přístrojový protokol a nastavení modulu běhu.
	Prohlížeč prostorové kalibrace	Prostorovou kalibraci pro daný běh.
	Prohlížeč kapilár	Elektroforetogram pro každý jednotlivý vzorek v běhu.
	Prohlížeč sady kapilár	Sadu kapilár.
	Prohlížeč spekter	Spektrální kalibraci použitou pro daný běh.
	Opakovaná extrakce	Extrakci a stav jednotlivých vzorků z hlediska jejich analýzy. Více informací viz odstavec "Zobrazení výsledků automatické extrakce" na straně 147.

**Poznámka:** Pokud jste databázi vymazali pomocí funkce Cleanup Database (vyčištění databáze), nelze v historii běhů prohlížet zpracovaná data.

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



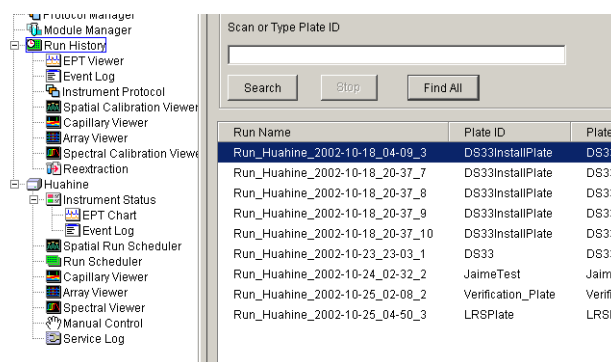
## Prohlížení výsledků ukončeného běhu v programu Data Collection

V rámci historie běhů v programu Data Collection genetických analyzátorů 3130/3130xl můžete prohlížet ukončené běhy dvojím způsobem:

- V okně Prohlížeče sady kapilár (Cap/Array Viewer).
- V okně Prohlížeč kapilár, které umožňují prohlížení jednotlivých kapilár.

### Prohlížení výsledků ukončeného běhu

1. V adresářovém okně programu Data Collection klikněte **GA Instruments** > **ga3130xl** nebo **ga3130** > **Run History** (Historie běhů) a zvolte běh, který chcete prohlížet.
2. Vyhledejte běh pomocí prohledávání čárových kódů (Barcode) nebo funkce Pokročilé vyhledávání (Advanced search).
3. Po zvolení běhu klikněte na požadované součásti historie běhů, např. prohlížeč sady kapilár nebo prohlížeč kapilár, čímž zobrazíte příslušná data.



Poznámky \_\_\_\_\_



## Zobrazení výsledků automatické extrakce


<b>Přehled</b>	<p>Podle nastavení editoru destičky a výsledkové skupiny je po ukončení běhu automaticky provedena jeho extrakce a analýza. Jejich výsledky lze zobrazit v panelu opakované extrakce (Reextraction Panel). Vzorky můžete znovu extrahovat při dodržení týchž parametrů nebo pomocí jiného protokolu o analýze či výsledkové skupiny. To může být z mnoha důvodů užitečné:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• V průběhu běhu nebyl cílový adresář dosažitelný.</li><li>• Analýza některých vzorků neproběhla a změna protokolu o analýze může jejich analýze napomoci.</li><li>• Vzorky se mají ukládat v různých adresářích nebo bez provedení analýzy (úspora místa).</li><li>• Názvy vzorků se změnil.</li></ul>
<b>Cílový adresář vzorků</b>	<p>Spolu s formátem názvu adresáře souborů je definován v záložce umístění souborů (Destination) výsledkové skupiny.</p>
<b>Změny provedené v panelu opakované extrakce</b>	<p>Změny provedené v panelu opakované extrakce týkající se nastavení výsledkové skupiny, protokolu o analýze, názvů vzorků nebo komentářů se promítnou do původního záznamu destičky. Tam uložené původní údaje jsou přepsány.</p>

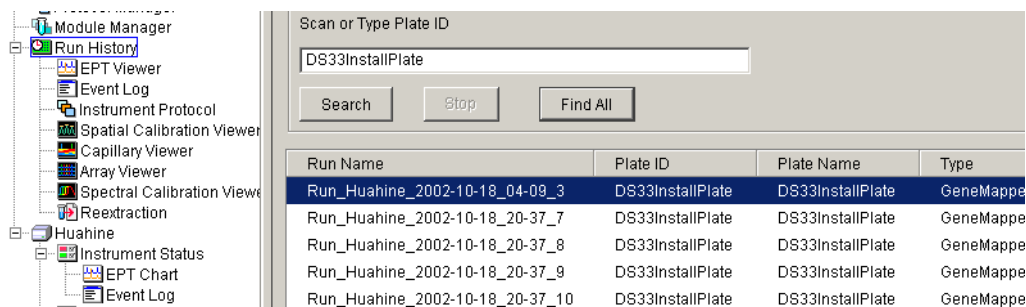
Poznámky \_\_\_\_\_



## Volba a řazení vzorků k extrakci


Jednotlivé vzorky, jejichž prvotní extrakce selhala, a které jsou určeny k opakované extrakci pomocí jiných protokolů o analýze, je zapotřebí seřadit.

1. Klikněte  (Historie běhů).
2. Zadejte název ukončené destičky nebo klikněte **Search** (Hledat). Opakovaná extrakce není možná u destiček u nichž jsou stále naplánovány běhy. V okně se zobrazí všechny běhy z dané destičky.
3. Zvolte běh ze seznamu.



The screenshot shows a software interface with a tree view on the left and a search window on the right. The tree view includes 'Run History' and 'Reextraction' under the 'Huahine' module. The search window is titled 'Scan or Type Plate ID' and contains a text input field with 'DS33InstallPlate', a 'Search' button, a 'Stop' button, and a 'Find All' button. Below the search window is a table with the following data:

Run Name	Plate ID	Plate Name	Type
Run_Huahine_2002-10-18_04-09_3	DS33InstallPlate	DS33InstallPlate	GeneMappe
Run_Huahine_2002-10-18_20-37_7	DS33InstallPlate	DS33InstallPlate	GeneMappe
Run_Huahine_2002-10-18_20-37_8	DS33InstallPlate	DS33InstallPlate	GeneMappe
Run_Huahine_2002-10-18_20-37_9	DS33InstallPlate	DS33InstallPlate	GeneMappe
Run_Huahine_2002-10-18_20-37_10	DS33InstallPlate	DS33InstallPlate	GeneMappe

3. Klikněte  (Reextraction - Opakovaná extrakce), zobrazí se okno opakované extrakce.
5. Ve sloupci Extract (Extrahovat) označte zvolené vzorky.
6. Klikněte **Extract** (Extrahovat), čímž zahájíte opakovanou extrakci.

**Poznámka:** Pokud toto nastavení nezměníte v nastavení výsledkové skupiny, ukládají se opakovaně extrahované vzorky do původního adresáře, do kterého byly primárně extrahovány.

Poznámky \_\_\_\_\_



## Součásti okna opakované extrakce

Všecké vzorky se zobrazují včetně výsledků extrakce a analýzy.

Poznámka: Sloupce panelu opakované extrakce můžete seřadit tak, že podržíte klávesu Shift a kliknete na hlavičku sloupce.

### Okno opakované extrakce - sekvenování

Zvolte vzorky pro opakovanou extrakci

Zvolte běh

Výsledky extrakce a analýzy

Select a run to view: Run\_DavidPT5\_2003-07-08\_14-16\_0004

Extract	Cap	Well	Extraction Result	Results Group	Analysis Protocol	Analysis Result	Score	Sample Name
<input checked="" type="checkbox"/>	1	A01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	31.048977	s
<input checked="" type="checkbox"/>	3	B01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.7	s
<input checked="" type="checkbox"/>	5	C01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.370401	s
<input checked="" type="checkbox"/>	7	D01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	31.201584	s
<input checked="" type="checkbox"/>	9	E01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.77367	s
<input checked="" type="checkbox"/>	11	F01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.596704	s
<input checked="" type="checkbox"/>	13	G01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.43482	s
<input checked="" type="checkbox"/>	15	H01	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.161997	s
<input checked="" type="checkbox"/>	2	A02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.684116	s
<input checked="" type="checkbox"/>	4	B02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.889853	s
<input checked="" type="checkbox"/>	6	C02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	31.220848	s
<input checked="" type="checkbox"/>	8	D02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.625536	s
<input checked="" type="checkbox"/>	10	E02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.507118	s
<input checked="" type="checkbox"/>	12	F02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	30.35501	s
<input checked="" type="checkbox"/>	14	G02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	31.815218	s
<input checked="" type="checkbox"/>	16	H02	SUCCESS: Extr	seqa	3130POP6_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	31.374426	s

Extract...      Zde zahájíte extrakci      Check      Uncheck

Tato tlačítka použijte je-li označeno více vzorků

Poznámky \_\_\_\_\_



Okno opakované extrakce – fragmentační analýza

Zvolte vzorky pro opakovanou extrakci      Zvolte běh      Výsledky extrakce

Extract	Cap	Well	Extraction Result	Results Group	Sample Name	Comment	Sample Type	Size Standard	Plate
<input checked="" type="checkbox"/>	1	A01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	3	B01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	5	C01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	7	D01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	9	E01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	11	F01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	13	G01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	15	H01	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	2	A02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	4	B02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	6	C02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	8	D02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	10	E02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	12	F02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	14	G02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:
<input checked="" type="checkbox"/>	16	H02	SUCCESS: Extr.	gm_runbyrun	s		Sample	GSS00LIZ	D:

Extract...      Zde zahájte extrakci      Check      Uncheck

Tato tlačítka použijte je-li označeno více vzorků

Poznámky \_\_\_\_\_



## Zobrazení výsledků

Výsledky extrakce a analýzy jsou barevně označeny. Následující tabulka udává přehled tohoto barevného označení a jeho významu v případě sekvenování.

Barva	Význam
Červená	Extrakce nebo analýza se nezdařila.  Poznámka: Změnou velikosti sloupců můžete zobrazit celé v nich zobrazené textové informace.
Žlutá	Extrakce nebo analýza – výstraha.  Poznámka: Změnou velikosti sloupců můžete zobrazit celé v nich zobrazené textové informace.
Zelená	Úspěšná extrakce (analýza se neprovádí) nebo úspěšná extrakce i analýza.

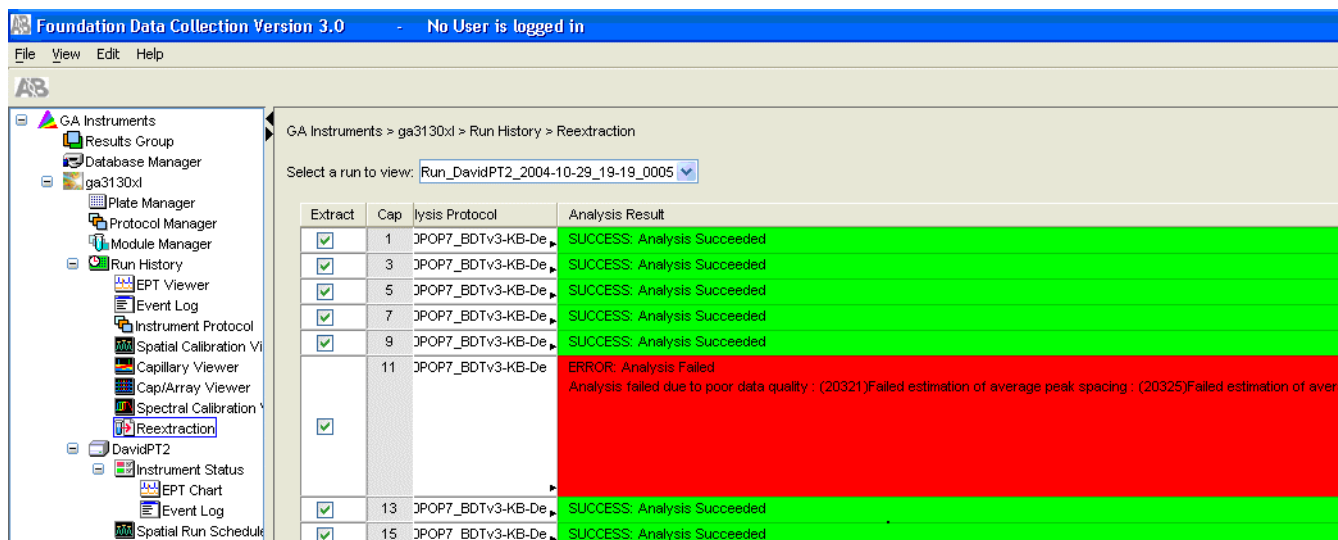
Ve sloupcích se zobrazují pouze počáteční části textu zpráv. Celou zprávu a cestu k adresáři, v němž je vzorek uložen, zobrazíte roztažením buňky. Pro každý vzorek lze získat informace umístěním kurzoru nad tento vzorek.

Informace o vzorku získáte umístěním kurzoru nad vzorek

Extract	Cap	vWell	Extraction Result	Results Group	Analysis Protocol	Analysis Result	Score
<input checked="" type="checkbox"/>	1	A01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	29.672728
<input checked="" type="checkbox"/>	3	B01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	52.34312
<input checked="" type="checkbox"/>	5	C01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	52.317997
<input checked="" type="checkbox"/>	7	D01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	3.0
<input checked="" type="checkbox"/>	9	E01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	53.78796
<input checked="" type="checkbox"/>	11	F01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	ERROR: Analysis Failed	<NA>
<input checked="" type="checkbox"/>	13	G01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	36.262295
<input checked="" type="checkbox"/>	15	H01	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	54.028168
<input checked="" type="checkbox"/>	2	A02	SUCCESS: Extr	SeqA-auto	3130POP7_BDTv3-KB-De	SUCCESS: Analysis Succ	5.0

Potáhnutím za hranu buňky sloupec rozšíříte

Poznámky \_\_\_\_\_



### Roztažený sloupec

### Ukazatele kvality

Sloupec ukazatelů kvality zobrazuje ukazatele kvality pro celou sekvenci. Ukazatele kvality se zobrazují pouze při použití KB™ Basecaller.

### Použité barvy a jejich význam

Barva	Ukazatel kvality
Červená	< 15
Oranžová	≥ 15 a < 20
Žlutá	≥ 20 a < 30
Zelená	> 30

Poznámka: Více informací o ukazatelích kvality a KB Basecaller naleznete v příručce *Applied Biosystems DNA Sequencing Analysis Software v5.1 User Guide*, PN 4346366.

Sloupec zůstává prázdný (bílý) pokud:

- Analýza nebyla provedena
- Analýza se nezdařila
- Byl použit ABI Basecaller, který neumožňuje přidělení ukazatelů kvality.

Poznámky \_\_\_\_\_





## Výsledková skupina a protokol o analýze

Pro účel opakované extrakce můžete výsledkovou skupinu a protokol o analýze upravit (týká se též metody analýzy v programu GeneMapper®).

---

**Poznámka:** Kliknutím na hlavičku sloupce v okně opakované extrakce můžete zvolit celý sloupec. Např. kliknutím na hlavičku sloupce Extract (extrakce) zvolíte všechny vzorky. Kliknutí na tlačítka Uncheck nebo Check označíte nebo zrušíte výběr každého vzorku. Pro snazší zadávání informací zde funguje obdobným způsobem jako v editoru destičky kombinace kláves **Ctrl+D**.

---

## Třídění sloupců

1. Stiskněte klávesu Shift a klikněte na hlavičku sloupce, čímž setřídíte vzorky.
2. Stiskněte klávesu Shift a znovu klikněte, čímž vzorky setřídíte v opačném pořadí.

Třídít lze podle:

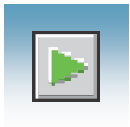
- Čísla kapiláry
- Pozice jamky
- Výsledků
- Kvality
- Sloupce extrakce

---

**Poznámka:** Tímto způsobem můžete například všechny vzorky, jejichž analýza selhala, umístit na začátek sloupce a nemusíte procházet a prohledávat celý sloupec.

---

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Opakovaná extrakce zvolených vzorků

1. Roztáhněte žlutý nebo červený sloupec s výsledky tak, abyste viděli celou výstražnou zprávu.
2. Pokud chcete, zvolte novou výsledkovou skupinu nebo upravte stávající. Zvolení nové výsledkové skupiny vám umožňuje vypnout automatickou analýzu, změnit nastavení názvů vzorků a adresářů a jejich umístění a změnit majitele výsledkové skupiny.
3. Pokud chcete, změňte protokol o analýze tak, aby analýza byla provedena jiným způsobem, např. za použití jiného basecalleru.
4. Označte vzorky, které chcete znovu extrahovat, ve sloupci Extract (Extrakce).
5. Klikněte **Extract** (Extrakce).

---

**Poznámka:** Opakovaná extrakce vede k vytvoření úplně nového souboru, nedochází k přepsání předešle uloženého souboru. Přítomnost předešle uloženého souboru nemá na vytvoření nového souboru žádný vliv. Pokud jste nezměnili nastavení týkající se pojmenování souborů, je k názvu souboru připojeno číslo. Například má-li první vzorek název “sample 01.ab1”, druhý vzorek bude pojmenován “sample 01 (1).ab1.”

---



## Používání programu Autoanalysis Manager

Program Autoanalysis Manager se používá spolu s programy SeqScape a/nebo GeneMapper. Autoanalysis Manager se instaluje z jejich instalačního CD.

Automatická analýza se provádí následujícím způsobem:

1. Jakmile program Data collection ukončí běh, je odeslána zpráva “Run Completed” (Běh ukončen).
2. Program Autoanalysis Manager tuto zprávu přijme a zahájí úkol. Úkol se zobrazí v záložce Obecné (General).
3. Program Autoanalysis Manager vyhledává úkoly každé dvě minuty a automaticky analyzuje data pomocí funkcí pro zpracování dat v programech SeqScape a/nebo GeneMapper.
4. Ukončení analýzy znamená automatickou úpravu stavu programu Autoanalysis Manager.

### Vytvoření souborů

Program Data collection uchovává soubory jednotlivých vzorků v umístění podle specifikace ve výsledkové skupině. Autoanalysis Manager tato data kopíruje do databáze Data Store pro následné zpracování programy SeqScape a GeneMapper.

V zájmu zachování dostatečného místa na disku vašeho počítače nepotřebné soubory vzorků smažte nebo převed'te na jiný disk.

### Automatická analýza

---

Poznámka: Pokud jste v průběhu automatické analýzy měli otevřen program GeneMapper nebo SeqScape, uzavřete je a spus'te znovu Autoanalysis Manager.

---

Ihned po obdržení zprávy z přístroje otevírá Autoanalysis Manager speciální verze programů SeqScape a/nebo GeneMapper pro automatické zpracování a analýzu dat. Běžné uživatelské verze programů SeqScape a/nebo GeneMapper musí být pro zahájení automatické analýzy zavřeny.

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

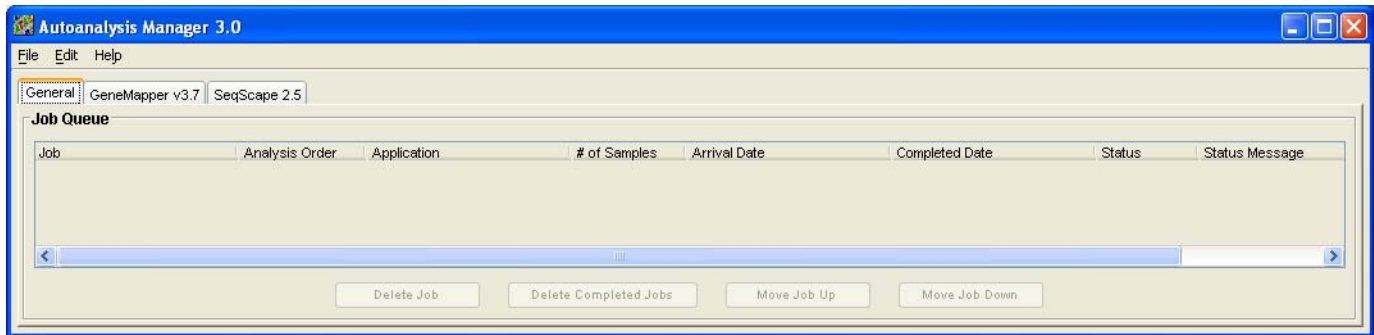


## Součásti

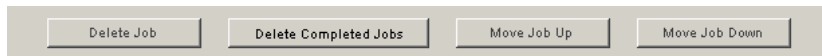
Autoanalysis Manager má dvě nebo tři záložky:

- Záložka Obecné (General)
- Záložka GeneMapper, pokud je instalován GeneMapper v3.7 nebo GeneMapper *ID* v3.2
- Záložka SeqScape, pokud je instalován SeqScape

**Záložka Obecné** Záložka Obecné slouží k zobrazení úkolů programu a jejich stavu zpracování.



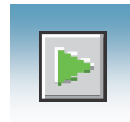
Příkazová tlačítka záložky Obecné



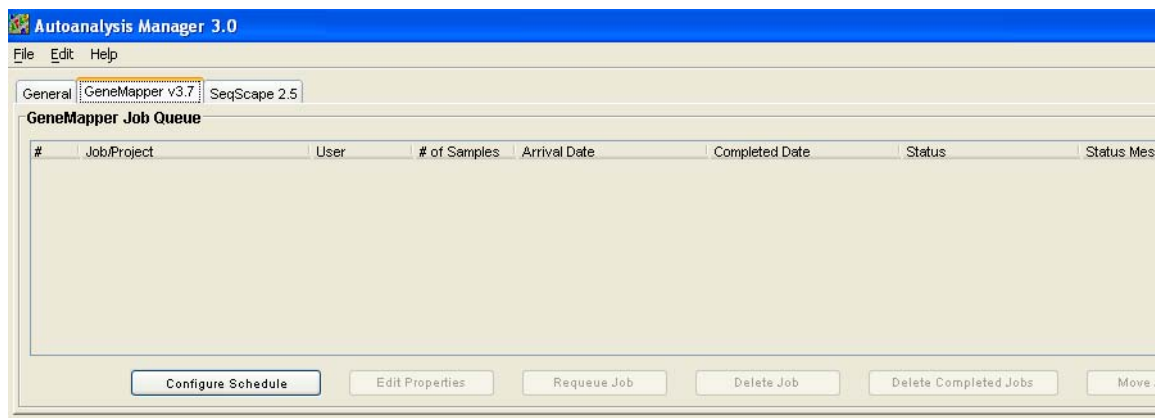
Funkce příkazových tlačítek záložky Obecné

Název tlačítka	Funkce
Smazat úkol (Delete Job)	Vymaže úkol/projekt ze seznamu úkolů v programu Autoanalysis Manager. Nesmaže soubory vzorků ani projekty programů SeqScape nebo GeneMapper.
Smazat ukončené úkoly (Delete Completed Jobs)	Vymaže všechny ukončené úkoly/projekty ze seznamu úkolů v programu Autoanalysis Manager. Maže pouze úspěšně ukončené úkoly. Nesmaže soubory vzorků ani projekty programů SeqScape nebo GeneMapper.
Posun úkolu nahoru (Move Job Up)	Aktivní úkol/projekt má vždy pořadové číslo 1. Po jeho skončení dostane úkol č. 2 číslo 1 a ostatní úkoly jsou přečíslovány. Posun úkolu umožňuje měnit pořadí jeho analýzy.
Posun úkolu dolů (Move Job Down)	

Poznámky \_\_\_\_\_



**Záložka GeneMapper** Záložka GeneMapper slouží k zobrazení úkolů a jejich stavu zpracování.



Příkazová tlačítka záložky GeneMapper



Funkce příkazových tlačítek záložky GeneMapper

Název tlačítka	Funkce
Nastavení analýzy (Configure Schedule)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Čas další analýzy (Next Analysis Time): Umožňuje nastavit čas zahájení další automatické analýzy. Automatická analýza nezačne dříve než v nastavenou dobu.</li> <li>Omezení automatické analýzy (Periods restricting automated analysis): Umožňuje nastavit dobu, během níž automatická analýza neprobíhá. S výhodou lze použít pokud víte, že v určité době budete prohlížet data a nechcete, aby se objevovalo okno "Runs ready for processing" (Běhy připraveny pro zpracování). Běhy jsou řazeny jeden za druhý a budou automaticky analyzovány po uplynutí nastavené doby.</li> <li>Automatické vymazání ukončených úkolů (Automatic Deletion of Completed Jobs): Umožňuje automaticky smazat ukončené úkoly. Nezdařené nebo neanalyzované úkoly nebudou vymazány. Vymaže se pouze úkol programu Autoanalysis Manager, soubory vzorků ani projekty programu GeneMapper se nesmažou.</li> </ul>
Úprava vlastností (Edit Properties)	<p>Umožňuje změnit následující nastavení:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Název úkolu/projektu (Job/Project Name)</li> <li>Uživatelské jméno (UserName) programu GeneMapper</li> <li>Heslo (Password) programu GeneMapper</li> <li>Pořadí (Queue position): Zadejte nové pořadí projektu</li> </ul>

Poznámky \_\_\_\_\_

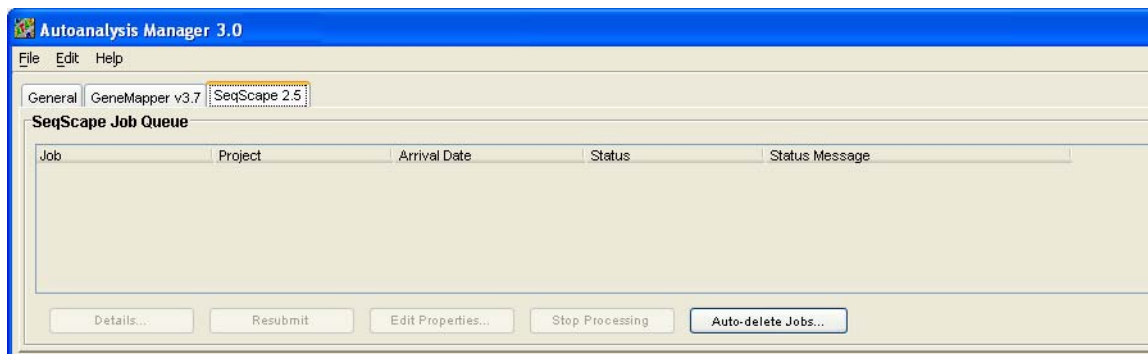


Název tlačítka	Funkce
Nové provedení úkolu (Requeue Job)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Vzorky určené k automatické analýze mají ve sloupci # uvedené číslo, určující pořadí jejich analýzy.</li><li>• Již analyzované vzorky nebo ty u nichž se analýza nezdařila mají ve sloupci # prázdné pole. Chcete-li úkol provést znovu, přiřďte pomocí tlačítka Requeue Job danému úkolu číslo.</li></ul>
Smazat úkol (Delete Job)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Vymaže úkol/projekt ze seznamu v programu AutoAnalysis Manager. Nesmaže soubory vzorků ani projekty programu GeneMapper.</li></ul>
Smazat ukončené úkoly (Delete Completed Jobs)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Vymaže všechny ukončené úkoly/projekty ze seznamu v programu AutoAnalysis Manager. Maže pouze úspěšně ukončené úkoly. Nesmaže soubory vzorků ani projekty programu GeneMapper.</li></ul>

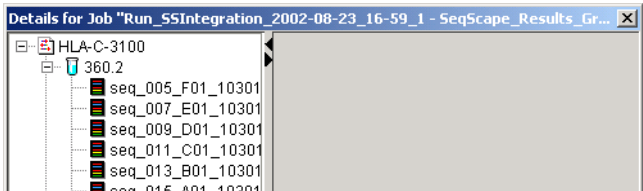
Poznámky \_\_\_\_\_



**Záložka SeqScape** Záložka SeqScape slouží k zobrazení úkolů, projektů a jejich stavu zpracování.



Příkazová tlačítka záložky SeqScape

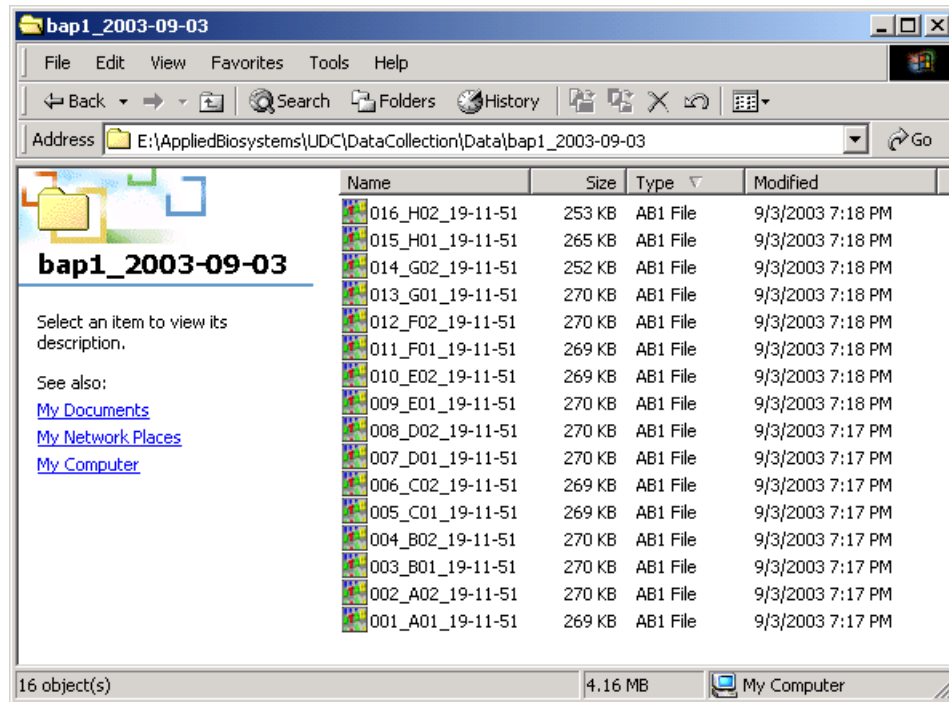
Název tlačítka	Funkce
Detaily (Details)	Zobrazuje projekty 
Nové provedení (Resubmit)	Zařadí úkol do plánu analýzy
Úprava vlastností (Edit Properties)	Úprava jména a hesla (pouze pokud se analýza nezdaří)
Smazat (Delete)	Vymaže úkol v Autoanalysis Manager

Poznámky \_\_\_\_\_



## Zobrazení dat po analýze

**Vyhledání souborů vzorků** Analyzované soubory vzorků jsou extrahovány do adresáře běhů, který je definován v záložce Pojmenování (Naming) vaší výsledkové skupiny a umístěn jak je definováno v záložce Umístění (Destination). Přednastavené umístění je  
E:\AppliedBiosystems\UDC\Data Collection\Data\ <typ přístroje>\<název přístroje>\<Název běhu>



**Vyhledání souborů vzorků**

Vyhledejte znovuextrahovaná data v adresáři definovaném ve výsledkové skupině případně v přednastaveném adresáři.

**Prohlížení souborů vzorků** Pomocí programu Sequencing Analysis, SeqScape nebo GeneMapper můžete prohlížet nezpracovaná i analyzovaná data jednotlivých vzorků.

Typ souboru vzorku	Přípona souboru
Sekvenování, SeqScape	.ab1
Fragmentační analýza	.fsa

Poznámky \_\_\_\_\_



# Mapování destičky

## Plánování nástřiku vzorků

V závislosti na počtu kapilár a umístění vzorků v 96- nebo 384-jamkové destičce je plánován nástřik jednotlivých vzorků. Seznamte se s uspořádáním jednotlivých destiček popsaném v odstavcích “[Mapování 96-jamkové destičky](#)” nebo “[Mapování 384-jamkové destičky](#)”, abyste dokázali uspořádat vzorky podle priority jejich nástřiku.

Systém plánování nástřiku je založen na:

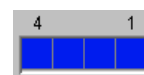
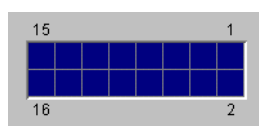
- Pořadí propojených (linked) destiček (pouze model 3130xl). Propojení destiček viz [strana 128](#).
- Definované prioritě vzorku v záznamu destičky.

Je-li priorita všech vzorků nastavena na 100 (přednastaveno), jsou běhy plánovány podle postupu viz níže. Více informací o nastavení priority běhů viz příručka *Genetické analyzátoř Applied Biosystems 3130/3130xl – údržba a řešení problémů*.

## Mapa sady kapilár

V nákresech níže je znázorněn počet kapilár v sadě. Rozvržení sady kapilár je totožné pro 96- i 384-jamkové destičky.

Rozvržení kapilár

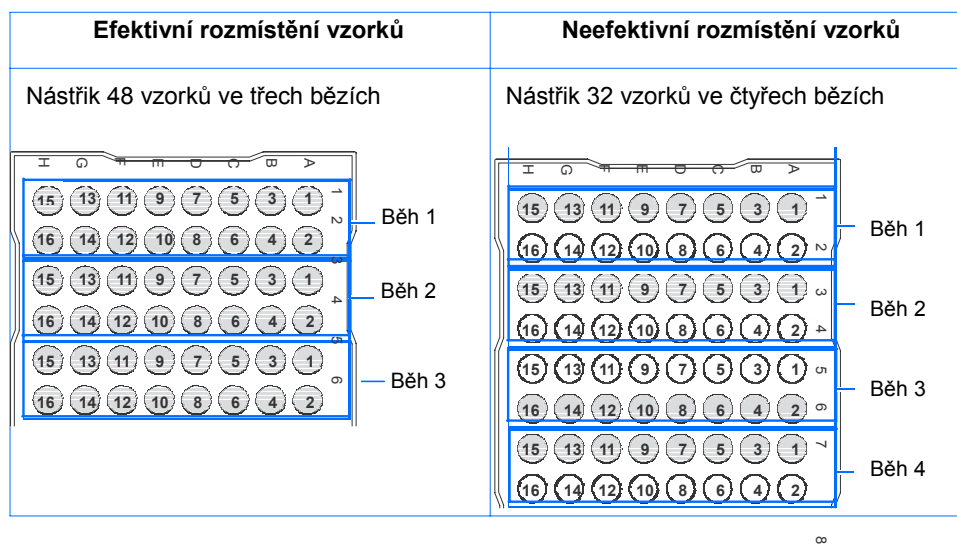


Poznámky \_\_\_\_\_

## Mapování 96-jamkové destičky

Genetický  
analyzátor  
3130x/

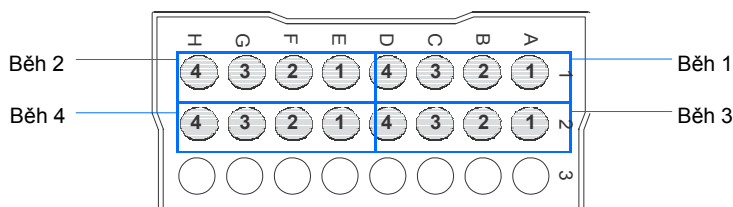
V případě 96-jamkové destičky probíhá nástřik z každé jamky ve dvou po sobě jdoucích řadách počínaje lichou řadou. Nástřik všech vzorků plně obsazené 96-jamkové destičky vyžaduje šest běhů. Příklady níže znázorňují jak může rozložení vzorků (šedé) a umístění kapilár (čísla) ovlivnit počet vašich běhů.



Genetický  
analyzátor  
3130

V případě 96-jamkové destičky probíhá nástřik ze čtyř vedle sebe ležících jamek v řadě. Nástřik všech vzorků plně obsazené 96-jamkové destičky vyžaduje 24 běhů.

Příklad níže znázorňuje 96-jamkovou destičku, šedé kruhy jsou vzorky a čísla označují jednotlivé kapiláry. Pro nástřik 16 vzorků jsou zapotřebí 4 běhy.



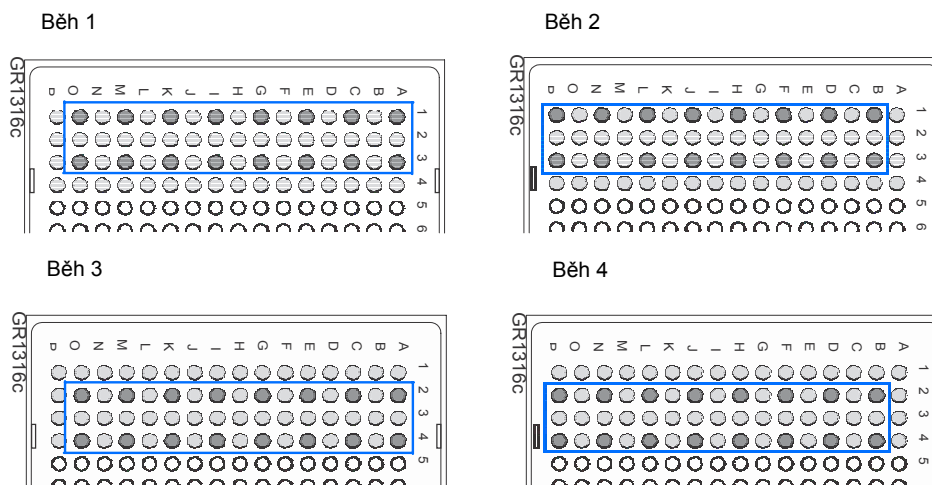
Poznámky \_\_\_\_\_

## Mapování 384-jamkové destičky

### Genetický analyzátor 3130x/

V případě 384-jamkové destičky probíhá nástřik z každé druhé jamky a řádku. Nástřik všech vzorků plně obsazené 384-jamkové destičky vyžaduje 24 běhů.

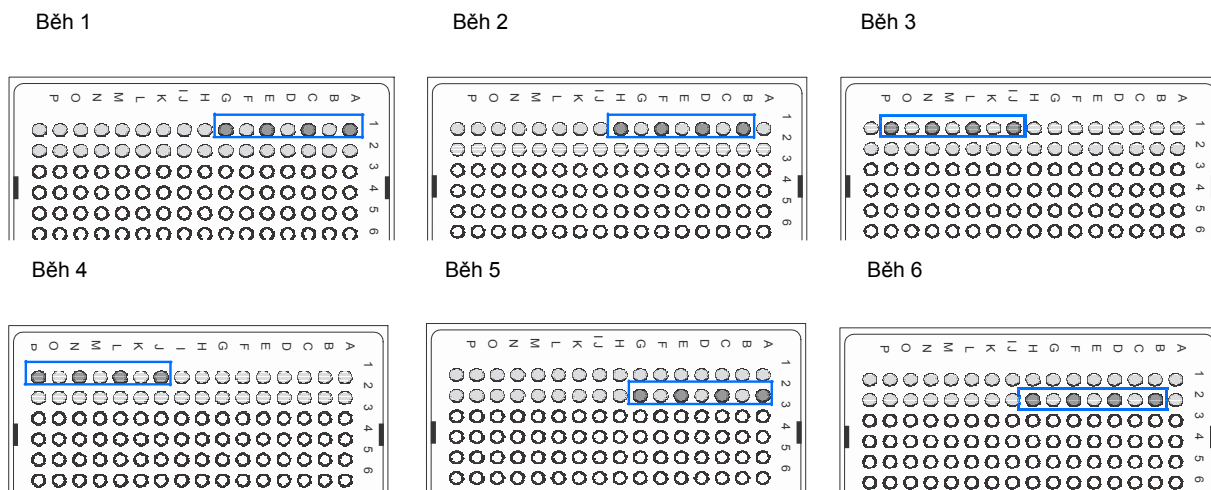
Příklad níže znázorňuje rozložení prvních 4 nástřiků počínaje jamkou A01. Světle šedé kruhy jsou vzorky a tmavě šedé kruhy jsou vzorky, u nichž se provádí nástřik.



### Genetický analyzátor 3130

V případě 384-jamkové destičky probíhá nástřik z každé druhé jamky. Nástřik všech vzorků plně obsazené 384-jamkové destičky vyžaduje 96 běhů.

Příklad níže znázorňuje rozložení prvních 6 nástřiků počínaje jamkou A01. Světle šedé kruhy jsou vzorky a tmavě šedé kruhy jsou vzorky, u nichž se provádí nástřik.



Poznámky \_\_\_\_\_

Poznámky \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## Číslice

3130 basecaller a soubory barev/primer (Mobility files)  
66, 67

## A

ABI PRISM® BigDye® Primer Cycle Sequencing kity,  
tabulka souborů barev a standardů 29

ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator Cycle  
Sequencing Ready Reaction kit, tabulka souborů barev a  
standardů 29

ABI PRISM® dGTP BigDye® Terminator v 3.0 Cycle  
Sequencing Ready Reaction kit, tabulka souborů barev a  
standardů 29

ABI PRISM® dRhodamine Terminator Cycle Sequencing  
kit, tabulka 29

aktivace spektrální kalibrace 47

aktualizace údajů o sadě kapilár 13

AmpFISTR kity

matriční standard 30

tabulka souborů barev, filtr, moduly 5

analýza manuální 54, 83, 106

analýza dat v programu GeneMapper 160

Applied Biosystems

kontakt xi

návrhy na zlepšení dokumentace x

technická podpora xi

australské normy EMCxxiii

automatická analýza

manuální, dokumentace k fragmentační analýze  
106

manuální, dokumentace k programu Seqscape  
83

manuální, dokumentace k sekvenování  
sekvenování 54

program GeneMapper, název počítače 107

Autoanalysis Manager

používání 155

součásti 156

spuštění 131

vysvětlení 82

záložka obecné 156

automatická analýza SeqScape 82

automatická analýza, požadavky 83

automatická extrakce, přehled 147

automatické zpracování, záložka 118

autosampler 18

funkce 11

## B

basecaller a soubor barev/primer 66

basecaller, soubory 66, 67

běh

fragmentační analýza 133

prohlížení dat 137

sekvenování, průměrná doba trvání 132

senzory stavu 140

spuštění 130

spuštění, zastavení, přeskočení, pozastavení 133

vyžaduje záznam destičky 55, 84, 108

bezpečná práce xxii

bezpečnost

elektrická xxii

ergonomie xxii

chemická xviii

chemický odpad xx

laser xxii

normy xxiii

ovládání přístroje xviii

pohyblivé součásti xxi

přemísťování a zvedání přístroje xvii

přístroje xvii

upozornění xiv

bezpečnostní listy (MSDS)

odkaz xix, xx

popis xviii

získání xix

bezpečnostní symboly xvi

chemikálie, manipulace xix

chemický odpad, bezpečnost xx

chemický odpad, odstraňování xx

BigDye® Terminator kity, tabulka 66

BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit tabulka,  
soubor barev a standard 29

## C

cílový adresář 147

condition number, parametr spektrální kalibrace 42

## Č

čárové kódy, vyhledávání 40

čtečka čárových kódů 6

## D

data

prohlížení 137

prohlížení analyzovaných sekvenačních dat 160

prohlížení ukončeného běhu 146

zvětšení zobrazení (zoom) 143

Data Collection program, spuštění 9

délka čtení (LOR), definice 3

destička

uchycení do držáků, nákres 34

umístění do přístroje	39
destičky	
propojení a odpojení se záznamy destiček	128
uzavření	33
detekční blok a ohřivač, funkce	11
doba trvání běhu	
fragmentační analýza	4
spektrální kalibrace	41
dokumentace	
GeneMapper, uživatelská příručka	106
související	x
DŮLEŽITÉ, popis	xiv, ix
příklad	xv
dvojitá ferrule, nákras	12
dye primer kity, tabulka	67
Dye Terminator kity, soubory	66

## E

E soubor barev, sekvenační kity – tabulka	61
editor záznamů destiček, vyplnění	37
editor záznamů destiček	84
editor záznamů destiček, součásti	85
elektrické symboly na přístrojích	xv
elektrické zařízení, bezpečnost	xxi
elektrické zařízení, symboly	xvi
elektrické zařízení, úrazy	xxi
elektroda, nákras	12
elektroforetogram, definice	143
elektromagnetická kompatibilita, normalizace, viz. EMC normy	
EMC normy	xxiii
australské	xxiii
evropské	xxiii
kanadské	xxiii
EPT graf	141
ergonomie	xxii
evropské bezpečnostní normy	xxiii

## F

fragmentační analýza	
analýza dat	160
běh, doba trvání	133
moduly běhu	113
přijatelné profily spektrální kalibrace	51
sada filtrů	5
typy kitů	5
funkce fill down special	38

## G

GeneMapper™ a GeneMapper™ ID	106
GeneMapper, název počítače	107
generic	107
přístrojový protokol	108
součásti	109

výsledková skupina	108
záznamy destiček	108
GeneMapper, záložka	157

## H

historie běhů	145
hledání destiček, najít vše	40

## CH

chybové hlášky	140
----------------	-----

## J

jak používat tuto příručku	ix
jednocestný ventil, nákras	12

## K

kalibrační standardy	
typy, fragmentační analýza	30
typy, sekvenování	29
kapiláry, prohlížeč	143
katodový pufr, zásobník, plnění	17
KB basecalling moduly běhu	66
kurzíva, používání	ix
kvalita, sloupec	152

## L

laser, bezpečnost	xxi
laser, riziko	xxi
symbol	xvi
výstraha	xxii
laser, zatřídění	xxi

## M

manuální analýza, fragmentační analýza, dokumentace	106
manuální analýza, Seqscape, dokumentace	83
manuální analýza, Sequencing Analysis, dokumentace	54
matriční standardy	
fragmentační analýza	30, 114
příprava na sekvenování	31
sekvenování	29
moduly	
fragmentační analýza	4, 5
KB basecalling	66
sekvenování	3
spektrální	36
moduly běhu	
automatické kroky, popis	132
výběr pro fragmentační analýzu	113
výběr, spektrální	36

## N

nastavení (aktivace) spektrální kalibrace 47

NEBEZPEČÍ, popis xiv

příklad xv

normy

EMC xxiii

bezpečnostní xxiii

## O

O-kroužek, nákres 12

odpad biohazard, manipulace xx

odpad, odstraňování xx

odpojení destičky 129

okno opakované extrakce 147

odstraňování odpadu xx

opakovaná extrakce 154

výsledky, sloupec 151

opakované pohyby, riziko xxii

otvor proti přeplnění, nákres 12

## P

panel nástrojů 133

PDP motor, kryt, nákres 12

píst, nákres 12

plánovač běhů prostorové kalibrace 22

počítač

přidělení unikátního jména 9

spuštění 7

pohyblivé součásti

bezpečnost xxi

riziko xxi

symbol xvi

podporované sekvenační kity 28

pojistka pufrového ventilu, nákres 12

pojmenování záložky, fragmentační analýza 118

polymer

délka sady kapilár, tabulka 36

doplnění nebo výměna 14

kdy doplnit nebo vyměnit 14

změna typu 15

polymer, nádobka, nákres 12

polymer, trubička pro vedení, nákres 12

polymer, víčko nádoby s otvorem, nákres 12

polymerová pumpa, nákres 12

pozastavení běhu 134

poznámka, popis ix

práce s textem ix

pravidla pojmenování souborů 54, 83, 106

prohlížeč

ikony a informace 145

kapilár 143

plánu běhů 129

sady kapilár 144

spekter 47, 145

program, spuštění 9

propojení destičky 128

propojovací trubička, 12

prostorová kalibrace

kdy provádět 22

prohlížeč 145

přijetí nebo odmítnutí 24

příklady profilů 25

vyhodnocení profilu 23

vytvoření 22

protokol o analýze, vymazání 68, 97

export 69, 97

import 69, 97

možnosti 58

možnosti, SeqScape 87

obecný popis 55

příprava vzorků do destičky 34

úpravy 68, 96

průvodce aktualizací údajů o sadě kapilár 13

průvodce doplněním polymeru 15

průvodce instalací sady kapilár, použití 13

průvodce změnou typu polymeru, použití 15

přemisťování a zvedání

monitor xviii

počítač xviii

přemisťování a zvedání přístroje, bezpečnost xvii

přepětí, kategorie xxi

přístroj

dokumentace x

EPT stav 141

nákres 11

ovládání 130

rozložení 2

spuštění 8

stav 140

přístrojový protokol

ikona, zobrazení 145

možnosti, SeqScape 87

možnosti, Sequencing Analysis 58

obecný popis 55

vytvoření 35

vytvoření, SeqScape 88

vytvoření, Sequencing Analysis 109, 112

pufr anodový, zásobník 12

pufr, hladina 12

pufrý

příprava 16

riziko 32

pumpa, blok 12

funkce 11

pumpa, komora – nákres 12

## Q

Q-value, spektrální kalibrace 42

## R

radioaktivní odpad, manipulace xx

riziko

chemický odpad xx

laser	xxi	
opakované pohyby	xxii	
pohyblivé součásti	xxi	
přemísťování a zvedání přístroje	xvii	
úraz elektrickým proudem	xxi	
rozlišení, fragmentační analýza	4	
rozvržení přístroje	2'	
<b>S</b>		
sada filtrů, fragmentační analýza	5	
sada kapilár, délka a typ polymeru, tabulka	36	
sada kapilár		
funkce	11	
instalace nebo výměna	13	
nákres	12	
sada kapilár, port, vyobrazení	12	
sada kapilár, prohlížeč	144	
sekvenování		
data, automatická analýza	82	
doba trvání běhu	132	
editor záznamů destiček	55	
matriční standardy	31	
moduly spektrální kalibrace	36	
požadované soubory	55	
přijatelné profily spektrální kalibrace	49	
specifikace	3	
vytvoření protokolů	59	
zobrazení analyzovaných dat	160	
sekvenační kity, podporované	28	
senzory stavu	140	
separační pufr, příprava a uchování	16	
SeqScape Software v2.5, automatická analýza	82	
SeqScape, záložka	159	
signalizační diody při spuštění přístroje	8	
směšná destička, záznam	55	
soubor barev		
fragmentační analýza	30, 114	
tabulka, sekvenování	29	
soubory, neplatné znaky v názvech	54	
soubory, typy	160	
soubory vzorků	147	
přednastavené umístění	160	
typ	160	
specifikace		
fragmentační analýza	4	
sekvenování	3	
spektrální kalibrace		
doba trvání	41	
kdy provádět	28	
nastavení	47	
provedení	37	
přijatelná/nepřijatelná	42	
přijatelné profily, fragmentační analýza	51	
přijatelné profily, sekvenování	49	
příprava standardů	31	
typy standardů	29	
vytvoření záznamu destičky	37	
vyhodnocení	43	
spektrální kalibrace, běh	40	
spodní polymerový blok	11	
spodní polymerový blok, nákres	12	
správce destiček, přístup	37	
správce protokolů, přístup	35	
spuštění běhu	133	
stav		
přístroj	139	
service console	9	
symboly		
horký povrch	xvi	
riziko	xvi	
symboly na přístrojích		
bezpečnostní	xvi	
elektrické	xv	
<b>Š</b>		
školení, informace	xi	
<b>T</b>		
tabulky, souhrn	3	
technická podpora, kontakt	xi	
termostat		
funkce	11	
těsnění, nákres	12	
tučný text, použití	ix	
<b>U</b>		
ukazatele kvality, rozsah	152	
upevňovací šroub, nákres	12	
upozornění pro uživatele – slova, popis	ix	
USA – bezpečnostní normy	xxiii	
<b>V</b>		
<b>VAROVÁNÍ</b>		
popis	xiv	
příklad	xv	
vodní past, nákres	12	
výsledková skupina		
editor, GeneMapper	107	
import a export	100	
možnosti	57	
možnosti, SeqScape	165	
obecný popis	55	
vytvoření, fragmentační analýza	115	
vytvoření, SeqScape	98	
vytvoření, Sequencing Analysis	70	
VÝSTRAHA, popis	xiv	
výstražná upozornění		
DŮLEŽITÉ	xiv	
NEBEZPEČÍ	xiv	
popis	xiv	
symboly	xiv	
VAROVÁNÍ	xiv	



VÝSTRAHA	xiv		
vytvoření			
GeneMapper, záznam destičky pro automatickou analýzu	123		
protokolu pro automatickou analýzu	62, 93		
SeqScape, záznam destičky	101		
Sequencing Analysis, záznam destičky	77		
vzorky			
automatická analýza	155		
příprava do destičky	32		
<b>Z</b>			
Z soubor barev, sekvenační kity – tabulka	61		
zásobník anodového pufru, plnění	19		
funkce	11		
zásobníky, plnění	17		
umístění na autosampleru	18		
zastavení běhu	133		
záznam destičky			
GeneMapper	123		
obecně	55, 83, 108		
propojení a odpojení	128		
směsná destička	55		
součásti, Sequencing Analysis	56		
vyhledání	40		
vytvoření, SeqScape	101		
vytvoření, Sequencing Analysis	77		
záznam správ systému	142		
ikona, zobrazení	145		
znaky, přijatelné	54, 83, 106		
zobrazení destiček	137		

# Anglicko-český terminologický slovník

Allelic Ladder – Alelický žebřík  
Analysis Method – Metoda analýzy  
Analysis Protocol – Protokol o analýze  
Autoanalysis – Automatická analýza  
Autosampler – Autosampler  
Basecaller – Basecaller  
Basecalling – Basecalling (rozlišení jednotlivých bází)  
Bin Set – Soubor binů  
Capillary Array – Sada kapilár  
Clear Range – Oblast Clear Range  
Dye Set – Soubor barev  
Event Log – Záznam zpráv systému  
Fragment Analysis – Fragmentační analýza  
Injection – Nástřik  
Injection List – Seznam nástřiku  
Instrument Protocol – Přístrojový protokol  
Length of Read – Délka čtení

Link Plate – Propojení destičky  
Plate Manager – Správce destiček  
Plate Record – Záznam destičky  
Plate View – Zobrazení destiček  
Protocol Manager – Správce protokolů  
Quality Value – Ukazatel kvality  
Raw data – Nezpracovaná data  
Reextraction – Opakovaná extrakce  
Results Group – Výsledková skupina  
Run – Běh  
Run History – Historie běhů  
Run Module – Modul běhu  
Sample Sheet – Seznam vzorků  
Size Standard – Velikostní standard  
SNP Set – Sada SNP  
Spatial Calibration – Prostorová kalibrace  
Spectral Calibration – Spektrální kalibrace  
Spectral Viewer – Prohlížeč spekter





**iScience** Pro lepší pochopení komplexních interakcí biologických systémů neustále vyvíjíme nové revoluční přístupy objevování, zahrnující technologie, informatiku a tradiční laboratorní výzkum. Společnost Applied Biosystems poskytuje v těsné spolupráci se svými zákazníky nejmodernější výrobky, služby a znalostní databáze, které pomáhají tuto novou **Integrovanou vědu** uvést v život.

**Sídlo společnosti**

850 Lincoln Centre Drive  
Foster City, CA 94404 USA  
Telefon: +1 650.638.5800  
Bezplatná linka (v Severní Americe): +1 800.345.5224  
Fax: +1 650.638.5884

**Celosvětová prodejní a servisní síť**

Široká distribuční a servisní síť školených specialistů Applied Biosystems funguje ve 150 zemích na šesti kontinentech. Adresy našich obchodních zastoupení a technické podpory získáte ve vaší místně příslušné pobočce nebo na internetové adrese [www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com).

[www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com)



Posláním společnosti Applera je poskytování prvotřídních technologií a informací v oblasti life science.

Applera Corporation zahrnuje společnosti Applied Biosystems a Celera Genomics.

Vytištěno v USA, 11/2004  
Dokument č. 4352715 Rev. B

**an Applera business**