

Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Systémy

Údržba systému



Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Systémy

Údržba systému

Přehled

1

Provedení kalibrace ROI (Regions of Interest)

2

Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace

3

Provedení kalibrace barev

4

Ověření funkčnosti přístroje

5

Údržba přístroje

6

© Copyright 2008, Applied Biosystems. Všechna práva vyhrazena.

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.

SPOLEČNOST APPLIED BIOSYSTEMS VÝSLOVNĚ ODMÍTÁ VEŠKERÉ ZÁRUKY VE VZTAHU K TOMUTO DOKUMENTU, VYJÁDŘENÉ NEBO IMPLICITNÍ, VČETNĚ ALE NIKOLIV VÝHRADNĚ ZÁRUK PRODEJNOSTI NEBO VHODNOSTI PRO URČITÝ ÚČEL. ZA ŽÁDNÝCH OKOLNOSTÍ NENÍ SPOLEČNOST APPLIED BIOSYSTEMS ZODPOVĚDNÁ, AŽ JIŽ NA ZÁKLADĚ SMLOUVY, OBČANSKÉHO PRÁVA, ZÁRUKY NEBO JINÉHO USTANOVENÍ NEBO NA JINÉM ZÁKLADĚ, ZA SPECIÁLNÍ, VEDLEJŠÍ, NEPŘÍMÉ, TRESTNÍ, MNOHOČETNÉ NEBO NÁSLEDNÉ ŠKODY VZNIKLÉ VE SPOJENÍ S NEBO VYPLÝVAJÍCÍ Z TOHOTO DOKUMENTU, VČETNĚ ALE NIKOLIV VÝHRADNĚ JEHO POUŽÍVÁNÍ.

Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro diagnostické účely.

UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍHO: Omezená oprávnění

Real-Time PCR systémy 7500/7500 Fast jsou chráněné jedním nebo více U.S. patenty č. 5,038,852, 5,333,675, 5,656,493, 5,475,610, 5,602,756, 6,703,236, 7,238,517, 6,814,934 a odpovídajícími nároky jiných subjektů mimo území USA, vlastněnými společností Applied. Tímto nejsou udělena žádná práva v souvislosti s nároky vyplývajícími z jiných patentů k přístrojům, reagentům, soupravám nebo metodám jako např. 5' nukleázové reakci. Další informace týkající se získání licencí podá Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

OBCHODNÍ ZNÁMKY:

Applied, Applied Biosystems, AB (Design), ABI PRISM a VIC jsou registrované obchodní známky a FAM, JOE, NED, ROX a TAMRA jsou obchodní známky společnosti Applied nebo jejích součástí v USA a/nebo v jiných zemích.

AmpErase a TaqMan jsou registrované obchodní známky společnosti Roche Molecular Systems, Inc.

SYBR je registrovaná obchodní známka společnosti Molecular Probes, Inc.

Microsoft a Windows jsou registrované obchodní známky společnosti Microsoft.

Všechny ostatní obchodní známky jsou výhradním vlastnictvím svých oprávněných majitelů.

Dokument č. 438777 Rev. C
02/2008

Obsah

Předmluva.....	vii
Jak používat tuto příručku.....	vii
Kde získat více informací.....	viii
Kde získat pomoc.....	x
Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility	xí
Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu	xii
Symboly na přístrojích.....	xiii
Bezpečnostní označení na přístrojích	xiv
Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem.....	xvi
Bezpečná manipulace s chemikáliemi	xvii
Bezpečná manipulace s chemickým odpadem	xix
Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními	xx
Pohyblivé součásti	xx
Biologické riziko	xxi
Bezpečná práce.....	xxi
Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC)	xxii
Kapitola 1 Přehled.....	1
O systémech 7500/7500 Fast	2
Jak používat tuto příručku.....	4
Pravidelná údržba.....	5
Správa pevného disku počítače	6
Archivace a zálohování souborů EDS	6
Kapitola 2 Provedení kalibrace ROI (Regions of Interest).....	7
Přehled.....	8
Příprava destičky pro kalibraci ROI	9
Provedení kalibrace	12
Provedení kalibrace ROI automaticky	12
Provedení kalibrace ROI manuálně	13
Řešení problémů s kalibrací ROI	17

Kapitola 3	Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace	19
	Provedení kalibrace pozadí	20
	Příprava destičky pro kalibraci pozadí	21
	Provedení kalibrace pozadí	23
	Provedení optické kalibrace	25
	Příprava kalibrační destičky	25
	Provedení optické kalibrace	28
	Řešení problémů s kalibrací pozadí	30
Kapitola 4	Provedení kalibrace barev	31
	Přehled	32
	Příprava destiček pro kalibraci barev	35
	Provedení kalibrace barev	36
	Řešení problémů s kalibrací barev	43
Kapitola 5	Ověření funkčnosti přístroje	45
	Přehled	46
	Zadání experimentu	48
	Spuštění experimentu	49
	Analýza experimentu	51
	Řešení problémů	54
Kapitola 6	Údržba přístroje	55
	Monitorování systému 7500/7500 Fast	56
	Zobrazení záznamu (log)	56
	Monitorování stavu přístroje	57
	Sledování stavu žárovky	58
	Dekontaminace bloku na vzorky	59
	Výměna halogenové žárovky	63
	Výměna pojistek přístroje	66
	Aktualizace operačního systému Windows	67
	Aktualizace programu 7500	68
Příloha A	Uložení, přemísťování a zprovoznění systému 7500/7500 Fast ..	69
	Dlouhodobé uložení systému 7500/7500 Fast	70
	Přemísťování systému 7500/7500 Fast	71
	Zprovoznění systému 7500/7500 Fast	73

Příloha B	Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy	75
Příloha C	Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci pozadí	81
	Rejstřík.....	83

Jak používat tuto příručku

- Účel této příručky** Tato příručka je určena vědeckým a ostatním laboratorním pracovníkům zodpovědným za údržbu Real-Time PCR systémů Applied Biosystems 7500/7500 Fast. Tato příručka doplňuje příručky popisující přípravu místa instalace a ovládacího počítače:
- Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Site Preparation Guide
 - Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Computer Setup Guide
- Komu je určena** Tato příručka je určena začátečníkům i zkušeným uživatelům Real-Time PCR systémů Applied Biosystems 7500/7500 Fast, kteří provádějí jejich údržbu.
- Předpoklady** Tato příručka předpokládá, že váš systém 7500/7500 Fast byl instalován technikem firmy Applied Biosystems, a že máte následující znalosti:
- Jste obeznámeni s operačním systémem Microsoft® Windows® XP.
 - Jste obeznámeni s technikami pro přípravu a manipulaci se vzorky DNA.
 - Máte všeobecné znalosti týkající se pevných disků, ukládání dat, přenosů a kopírování souborů.
- Práce s textem** Pro lepší pochopení pracuje tato příručka s textem následujícím způsobem:
- **Tučně** jsou vyznačeny aktivní zásahy uživatele. Například:
Napište **0**, poté stiskněte **Enter** pro každé ze zbývajících polí.
 - *Kurzívou* jsou vyznačena nová nebo důležitá slova a též zdůraznění. Například:
Před spuštěním běhu *musíte* provést kalibrace přístroje – ROI kalibraci, kalibraci pozadí a kalibraci barev.
 - Znaménko (>) odděluje po sobě následující příkazy, které volíte z rozbalovacích menu nebo nabídek. Například:
Zvolte **File > Open > Spot Set**.
- 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: Funkce Kalibrace je rovněž k dispozici v Ovládacím panelu.

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s halogenovou žárovkou používejte rukavice bez pudru.

Výstražná upozornění Součástí uživatelské dokumentace jsou i výstražná upozornění. Podrobněji viz “Výstražná upozornění” na straně xii.

Kde získat více informací

Související dokumentace Více informací o používání přístroje 7500/7500 Fast naleznete v příručkách:

Příručka	Účel a komu je určena	Kat.č.
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Genotyping Experiments</i>	Návody na provádění experimentů na přístrojích 7500/7500 Fast. Všechny návody fungují současně jako:	4387784
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Presence/Absence Experiments</i>	<ul style="list-style-type: none">• Instruktažní příručka, která za pomoci vzorových dat demonstruje použití softwaru pro přístroje Applied Biosystems 7500/7500 Fast (7500 software).• Průvodce vašimi vlastními experimenty.	4387785
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Relative Standard Curve and Comparative C_T Experiments</i>	Určené vědeckým a ostatním laboratorním pracovníkům provádějícím experimenty za použití přístrojů 7500/7500 Fast.	4387783
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Standard Curve Experiments</i>		4387779
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Systémy - Návod na údržbu</i>	Popisuje instalaci a údržbu systémů 7500/7500 Fast. Určena laboratorním pracovníkům zodpovědným za instalaci a údržbu přístrojů 7500/7500 Fast.	4387777
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Computer Setup Guide</i>		4387778
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Reagent Guide</i>	Poskytuje informace o reagentech, které lze použít při práci s Real-Time PCR systémy Applied Biosystems, zejména: <ul style="list-style-type: none">• Úvod do používání reagentů TaqMan® a SYBR® Green• Popis a doporučení pro následující typy experimentů:<ul style="list-style-type: none">– Kvantifikace– Genotypizace– Pokusy typu Přítomnost/Nepřítomnost (Kvalitativní eseje) Určené vědeckým a ostatním laboratorním pracovníkům provádějícím experimenty za použití přístrojů 7500/7500 Fast.	4387787


Příručka	Účel a komu je určena	Kat.č.
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Site Preparation Guide</i>	Vysvětluje jak připravit vaši laboratoř pro dodávku a instalaci systémů 7500/7500 Fast. Určena osobám zodpovědným za plánování, řízení a provedení úkonů k přípravě vaší laboratoře na instalaci systémů 7500/7500 Fast.	4387776
<i>Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0 Help</i>	Vysvětluje jak používat 7500 software k: <ul style="list-style-type: none">• Zadání a spuštění experimentů a analýze výsledků na přístrojích 7500/7500 Fast.• Monitorování přístrojů 7500/7500 Fast připojených do sítě.• Kalibraci přístrojů 7500/7500 Fast.• Ověření funkčnosti přístrojů 7500/7500 Fast pomocí kontrolního běhu (kvantifikace genu pro RNázu P). Určena pro: <ul style="list-style-type: none">• vědecké a ostatní laboratorní pracovníky provádějící experimenty za použití přístrojů 7500/7500 Fast.• laboratorní pracovníky zodpovědné za instalaci a údržbu přístrojů 7500/7500 Fast	-

Poznámka: Chcete-li otevřít uživatelskou dokumentaci, která je na dodaném CD, použijte program Adobe® Acrobat® Reader®, k dispozici na www.adobe.com.

Poznámka: Další dokumentace viz “Kde získat pomoc” na straně x.

Získání informací v nápovědě programu

Nápověda programu 7500 popisuje používání všech nástrojů uživatelského rozhraní. Nápovědu lze otevřít přímo z prostředí programu takto:

- Klikněte  v ovládací liště
- Zvolte **Help (Pomoc) > 7500 Software Help**
- Stiskněte **F1**

V nápovědě vyhledáte potřebné:

- Podle obsahu.
- Pomocí vyhledávání.
- Podle rejstříku.

Související dokumentace k přístrojům Applied Biosystems 7500/7500 Fast ve formátu PDF je k dispozici v nápovědě.

Pošlete nám Vaše návrhy

V Applied Biosystems vítáme Vaše komentáře a návrhy na zlepšení uživatelské dokumentace. Své připomínky můžete zaslat na adresu:

techpubs@appliedbiosystems.com

DŮLEŽITÉ! Shora uvedená emailová adresa je určená pouze pro zasílání připomínek vztahujících se k uživatelské dokumentaci. Chcete-li si dokumentaci objednat, stáhnout ve formátu PDF nebo kontaktovat technickou podporu, klikněte na stránce www.appliedbiosystems.com na odkaz **Support**. (Viz “Kde získat pomoc” níže).

Kde získat pomoc

Technickou podporu získáte na stránce www.appliedbiosystems.com kliknutím na odkaz **Support** (Technická podpora).

Na stránkách technické podpory můžete:

- Prohledávat často kladené otázky - Frequently asked questions (FAQs)
- Přímou položit dotaz Technické podpoře
- 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 zde můžete získat telefonní a faxová čísla všech oddělení Technické podpory a prodejních poboček Applied Biosystems.

Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility

Tato část textu popisuje:


■ Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu	xii
■ Symboly na přístrojích.....	xiii
■ Bezpečnostní označení na přístrojích	xiv
■ Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem	xvi
■ Bezpečná manipulace s chemikáliemi	xvii
■ Bezpečná manipulace s chemickým odpadem	xix
■ Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními	xx
■ Pohyblivé součásti	xx
■ Biologické riziko	xxi
■ Bezpečná práce	xxi
■ Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC) .	xxii


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 (DŮLEŽITÉ)**, **VAROVÁNÍ (CAUTION)**, **VÝSTRAHA (WARNING)**, **NEBEZPEČÍ (DANGER)** – vyžaduje potřebu určité úrovně pozornosti nebo aktivity, jak je popsáno níže.

Definice

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

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


 **DANGER** – 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 **IMPORTANT! (DŮLEŽITÉ)** 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 xiii).*

Příklady

Příklady níže demonstrují použití bezpečnostních upozornění:

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s halogenovou žárovkou používejte rukavice bez pudru.









 **CAUTION** Žárovka je velmi horká. Nedotýkejte se jí, dokud nevychladne na pokojovou teplotu.

 **WARNING** **CHEMICKÉ RIZIKO.** Etanol je hořlavá kapalina. Způsobuje podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí, může způsobit poškození centrálního nervového systému a jater. Seznamte se s bezpečnostním listem a dodržujte pokyny v něm uvedené stran manipulace s chemikáliemi. 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	Symbol	Popis
	Označuje polohu hlavního spínače Zapnuto .		Svorka uzemnění. Neslouží jako ochranná svorka.
	Označuje polohu hlavního spínače Vypnuto .		Ochranná svorka - označuje chráněný uzemněný výstup, který musí být uzemněn předtím, než je provedeno jakékoliv jiné elektrické připojení přístroje (připojení hlavního ochranného vodiče).
	Označuje spínač sloužící k přepnutí přístroje do pohotovostního režimu (Standby). V přístroji může stále být vysoké napětí.		Označuje výstup, který může být připojen na střídavý napájecí zdroj.
	Označuje polohu hlavního spínače Zapnuto/Vypnuto (týká se spínače, který se ovládá stlačením).		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 xiv). 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 v přístroji a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje přítomnost pohyblivých součástí a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.

Environmentální symboly Následující symbol se vztahuje ke všem elektrickým a elektronickým zařízením společnosti Applied Biosystems, které byly uvedeny na evropský trh po 13. srpnu 2005.

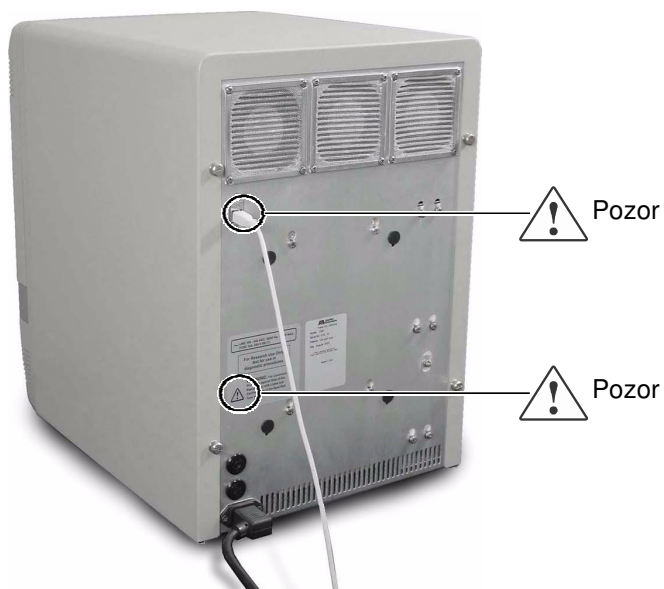
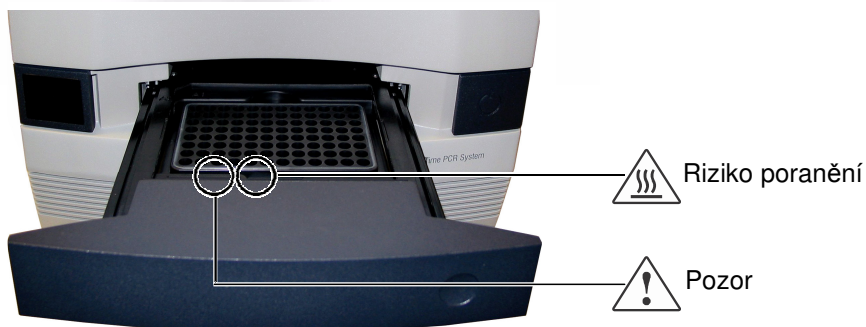
Symbol	Popis
	<p>Tento výrobek nelze odstranit jako běžný komunální odpad. Postupujte podle místních předpisů o nakládání s odpadem s ohledem na minimalizaci rizika vlivu elektrického a elektronického odpadu na životní prostředí.</p> <p>Zákazníci z Evropské unie: Kvůli odstranění přístroje a jeho recyklaci kontaktujte místní zastoupení společnosti Applied Biosystems. Seznam kanceláří společnosti v Evropské unii naleznete na www.appliedbiosystems.com.</p>

Bezpečnostní označení na přístrojích

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

English	Česky
CAUTION Hazardous chemicals. Read the Material Safety Data Sheets (MSDSs) before handling.	VAROVÁNÍ Nebezpečná chemikálie. Před použitím čtěte bezpečnostní list (MSDS).
CAUTION Hazardous waste. Refer to MSDS(s) and local regulations for handling and disposal.	VAROVÁNÍ Nebezpečný odpad. Při manipulaci a likvidaci postupujte podle pokynů v bezpečnostním listu a místních předpisů.
WARNING Hot lamp.	VAROVÁNÍ Horká žárovka.
WARNING Hot. Replace lamp with an Applied Biosystems lamp.	VAROVÁNÍ Horké. Vyměňte žárovku za žárovku Applied Biosystems.
CAUTION Hot surface.	VAROVÁNÍ Horký povrch.
DANGER High voltage.	NEBEZPEČÍ Vysoké napětí.
WARNING 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.	VÝSTRAHA 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.
CAUTION Moving parts.	VAROVÁNÍ Pohyblivé součásti.
WARNING This instrument is designed for 12 V, 75 W Halogen lamps only.	VÝSTRAHA V tomto přístroji lze použít pouze halogenovou žárovku 12 V, 75 W.

Umístění bezpečnostních označení
Bezpečnostní označení na přístrojích Applied Biosystems 7500/7500 Fast jsou umístěna jak je vyobrazeno níže.



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



WARNING 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 bezpečnostními pravidly týkajícími se tohoto přístroje.
- četl a pochopil veškeré související bezpečnostní listy (MSDS). Viz [“O bezpečnostních listech”](#) na straně xvii.




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


Čištění nebo
dekontaminace
přístroje




CAUTION Před použitím jiné než výrobcem doporučené metody čištění či dekontaminace si u výrobce ověřte, že zvolená metoda nemůže způsobit poškození přístroje.

Bezpečná manipulace s chemikáliemi

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

 **WARNING CHEMICKÉ RIZIKO.** Veškeré chemikálie v přístroji včetně náplně v hadičkách představují potenciální riziko. Před výměnou reagensů nebo součástí přístroje se vždy informujte, jaké chemikálie byly v přístroji používány. Při práci s přístrojem používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

 **WARNING RIZIKO UCHOVÁVÁNÍ CHEMIKÁLIÍ.** Nikdy neuchovávejte odpad ve skleněných nádobách kvůli možnosti jejich rozbití. Láhve na reagensy a odpad se mohou rozbít a vytéct. Každou odpadní láhev je zapotřebí umístit do bezpečnostního polyetylénového zásobníku s dotaženým víkem a úchyty zajištěnými ve svislé poloze. Při manipulacích s láhvemi obsahujícími reagensy a odpad používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

O bezpečnostních listech Výrobci chemikálií poskytují *novým* zákazníkům s dodávkou chemikálií bezpečnostní listy (MSDS). 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 společností Applied Biosystems získáte vždy od Applied Biosystems. Tato služba je bezplatná a dostupná 24 hodin denně:

1. Otevřete stránku www.appliedbiosystems.com, klikněte na **Support (Technická podpora)**, poté na **MSDS Search (Vyhledání bezpečnostního listu)**.
2. V poli hledání zadejte název chemikálie, název výrobku, katalogové číslo bezpečnostního listu nebo další informaci z bezpečnostního listu, který vás zajímá. Zvolte jazyk a klikněte **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

Poznámka: Potřebujete-li bezpečnostní listy k chemikáliím nedodávaným společností Applied Biosystems, kontaktujte jejich výrobce.

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 xvii.)
- Minimalizovat 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.
- Minimalizovat inhalaci chemikálií. Neponechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte odpovídající větrání (například digestoř). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Pravidelně kontrolovat, zda nedošlo k vylití nebo rozsypaní chemikálií. Pokud k tomu dojde, postupujte podle čistících procedur doporučených výrobcem chemikálie v bezpečnostním listu.
- Dodržovat všechna místní nebo národní nařízení a předpisy týkající se uchování chemikálií, manipulace s nimi a jejich odstraňování.

Bezpečná manipulace s chemickým odpadem

Výstraha -
chemický odpad



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.



WARNING

RIZIKO UCHOVÁVÁNÍ CHEMIKÁLIÍ. Nikdy neuchovávejte odpad ve skleněných nádobách kvůli možnosti jejich rozbití. Láhve na reagenty a odpad se mohou rozbít a vytéct. Každou odpadní láhev je zapotřebí umístit do bezpečnostního polyetylénového zásobníku s dotaženým víkem a úchyty zajištěnými ve svislé poloze. Při manipulacích s láhvemi obsahujícími reagenty a odpad používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

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 obsahuje 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 národními předpisy.

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


- Charakterizovat (analyzovat, pokud je to nutné) tento odpad, reagenty 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 elektrickými zařízeními


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


Pojistky


 **WARNING NEBEZPEČÍ POŽÁRU.** Použití nesprávných pojistek nebo zdroje vysokého napětí může vést k poškození přístroje a vzniku požáru. Před zapnutím přístroje ověřte, zda pojistky byly správně zapojeny, a že zdroj elektrického napětí ve vaší laboratoři splňuje požadavky přístroje.

 **WARNING NEBEZPEČÍ POŽÁRU.** V zájmu nepřetržité ochrany před rizikem vzniku požáru používejte pouze pojistky typu a jmenovitého proudu odpovídajícího požadavkům přístroje.

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 napětím.


Vysoké napětí Real-Time PCR přístroje Applied Biosystems 7500/7500 Fast 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.

Biologické riziko

Biohazard  **WARNING BIOHAZARD.** Biologické lidské nebo zvířecí vzorky jako např. tkáň, tělní tekutiny a krev mohou být zdrojem infekčních onemocnění. Postupujte podle všech místních/národních předpisů. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný štít, oděv a rukavice. Veškeré činnosti je zapotřebí provádět v prostorách k tomu určených a odpovídajícím způsobem vybavených. Zaměstnanci musí být řádně proškoleni podle místních předpisů ještě před započítím práce s infekčním materiálem. Prostudujte si a postupujte podle pokynů v následujících publikacích:


- Doporučení U.S. Department of Health and Human Services publikované v *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (č. 017-040-00547-4; bmb1.od.nih.gov)
- Occupational Safety and Health Standards, Bloodborne Pathogens (29 CFR §1910.1030; www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_01/29cfr1910a_01.html).
- Bezpečnostní dokumenty vaší společnosti/instituce, týkající se biologického rizika při práci s potenciálně infekčními materiály.

Další informace týkající se biologického rizika naleznete na:

<http://www.cdc.gov>

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)

V této části naleznete informace o:

- Bezpečnostních předpisů v USA a Kanadě
- Bezpečnostních předpisů v Evropě
- Bezpečnostních předpisů v Austrálii

Bezpečnostní předpisy v USA a Kanadě



Tento přístroj byl testován podle a splňuje požadavky norem UL 61010A-1 “Safety Requirements for Electrical Equipment for Laboratory Use, Part 1: General Requirements” a UL 61010-2-010 “Particular Requirements for Laboratory Equipment for the Heating of Materials.”

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

Kanadské normy EMC

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

Evropské bezpečnostní předpisy a normy



Bezpečnost

Tento přístroj splňuje bezpečnostní požadavky evropské Směrnice pro nízké napětí 2006/95/EC. Tento přístroj byl testován podle a splňuje požadavky normy EN 61010-1:2001 “Bezpečnostní požadavky na elektrická měřicí, řídicí a laboratorní zařízení, část 1: Obecné požadavky” a EN 61010-2-010 “Zvláštní požadavky pro laboratorní zařízení pro ohřev materiálu” a podle EN 61010-2-081:2002+A1:2003 “Zvláštní požadavky pro automatická a poloautomatická laboratorní zařízení pro analytické a jiné účely”.

EMC

Tento přístroj splňuje požadavky směrnice Rady Evropské unie pro elektromagnetické rušení a odolnost vůči němu (EMC směrnice 2004/108/EC). Tento přístroj byl testován podle normy EN 61326 (Skupina 1, Třída B) “Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití – požadavky EMC”.

Australské normy EMC



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


1

Přehled

1

V této kapitole naleznete:

- O systémech 7500/7500 Fast 2
- Jak používat tuto příručku 4
- Pravidelná údržba 5
- Správa pevného disku počítače 6

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Poznámky _____

O systémech 7500/7500 Fast

Přístroje Applied Biosystems 7500/7500 Fast jsou 96-jamkové systémy pro provádění Real-Time PCR, umožňující detekci pěti fluorescenčních barev. Tyto přístroje umožňují:

- Kvantifikaci cílových sekvencí nukleových kyselin (tzv. targets) v reálném čase.
- Kvalitativní detekci cílových sekvencí nukleových kyselin pomocí post-PCR analýzy (tzv. analýza typu endpoint).
- Kvalitativní analýzu produktů PCR (pomocí analýzy křivky tání prováděné po skončení PCR).

Sběr dat Systémy 7500/7500 Fast zaznamenávají fluorescenci v různých fázích průběhu PCR v závislosti na typu běhu:

Typ běhu		Sběr dat
Real-time	Standardní křivka	Sběr dat probíhá po každém kroku polymerace.
	Relativní standardní křivka	
	Komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$)	
Post-PCR (endpoint)	Genotypizace	Sběr dat probíhá: <ul style="list-style-type: none"> • Před PCR (Pro experimenty typu Ano/Ne se jedná o volitelný nicméně doporučený krok) • (Volitelně) V průběhu PCR. Přístroj může sbírat data během běhu (real-time); to může být nápomocné při řešení případných problémů. • Po PCR
	Ano /Ne (Přítomnost/ Nepřítomnost)	

Bez ohledu na typ běhu se každý bod sběru dat (tzv. čtení – *read*) na přístrojích 7500/7500 Fast skládá ze tří fází:

1. **Excitace** – Přístroj ozáří všechny jamky destičky a excituje fluorofory v jamkách.
2. **Emise** – Optické zařízení přístroje zaznamená fluorescenci vyzářenou z jamek destičky. Výsledný záznam zahrnuje pouze to fluorescenčního záření, které odpovídá rozsahu emisních filtrů.
3. **Uložení** – Přístroj digitálně zaznamená fluorescenci detekovanou v pevném časovém intervalu. Program 7500 uloží tato tzv. hrubá data pro následnou analýzu.

Po skončení běhu použije program 7500 kalibrační soubory získané během kalibrace ROI (region of interest), optické kalibrace, kalibrace barev a pozadí ke stanovení intenzity fluorescenčního signálu jednotlivých jamek v každém čtení, k určení barev emitujících daný fluorescenční signál a ke stanovení zda je daný signál signifikantní.

O filtrech Systémy 7500/7500 Fast používají následující filtry:

Filtr 1	Filtr 2	Filtr 3	Filtr 4	Filtr 5
<ul style="list-style-type: none"> • FAM™ • SYBR® Green 	<ul style="list-style-type: none"> • JOE™ • VIC® 	<ul style="list-style-type: none"> • TAMRA™ • NED™ • CY3® 	<ul style="list-style-type: none"> • ROX™ • Texas Red® 	Cy5®

Více informací Více informací o:

- Systémech 7500/7500 Fast získáte v nápovědě programu *Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR*.

Poznámka: Nápovědu v programu otevřete pomocí **Help > 7500 Software Help** (Nápověda > Nápověda programu 7500).

- Genotypování naleznete v příručce *Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Genotyping Experiments*.
- Experimentech typu Ano/Ne (Přítomnost/Nepřítomnost) naleznete v příručce *Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Presence/Absence Experiments*.
- Metodě relativní standardní křivky a komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$) metodě naleznete v příručce *Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Systems Getting Started Guide for Relative Standard Curve and Comparative C_T Experiments*.
- Metodě standardní křivky naleznete v příručce *Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Getting Started Guide for Standard Curve Experiments*.

Poznámky _____

Jak používat tuto příručku

Tato příručka popisuje jak provádět údržbu Real-Time PCR systémů Applied Biosystems 7500/7500 Fast. V kapitolách 2 až 5 této příručky jsou popsány kalibrace, které musíte v rámci pravidelné údržby Real-Time PCR systémů 7500/7500 Fast provádět. V kapitole 6 a v přílohách je pak popsáno řešení méně častých problémů, s nimiž se můžete setkat.

Kapitola/ Příloha	Název	Popis
2	Provedení kalibrace ROI (Regions of Interest)	Popisuje jak provádět kalibraci ROI, která slouží ke zmapování pozic jamek v bloku tak, aby program 7500 byl schopen přiřadit nárůst fluorescence v průběhu běhu určité specifické jamce na destičce.
3	Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace	Popisuje jak provádět kalibraci pozadí a optickou kalibraci, kde: <ul style="list-style-type: none"> • Kalibrace pozadí umožňuje programu 7500 provádět odečet fluorescence pozadí z naměřených hodnot. • Optická kalibrace slouží ke kompenzaci vlivu pátého filtru v systémech 7500/7500 Fast.
4	Provedení kalibrace barev	Popisuje jak provádět kalibraci barev, která umožňuje softwaru odlišit příspěvek jednotlivých barev do přístrojem celkově naměřené fluorescence.
5	Ověření funkčnosti přístroje	Popisuje jak provést běh s destičkou TaqMan [®] RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje 7500/7500 Fast.
6	Údržba přístroje prováděná uživatelem	Popisuje: <ul style="list-style-type: none"> • Výměnu náhradních dílů přístrojů 7500/7500 Fast, které smí měnit uživatel. • Řešení méně častých problémů, které se mohou objevit při práci s přístrojem.
A	Uložení, přemístování a instalace systému 7500/7500 Fast	Popisuje jak ukládat, přemísťovat a instalovat součásti systému 7500/7500 Fast.
B	Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barev	Popisuje jak vytvořit destičku pro kalibraci systému 7500/7500 Fast pro použití fluorescenční barvy nevyráběné společností Applied Biosystems.
C	Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci pozadí	Popisuje jak vytvořit destičku pro kalibraci pozadí není-li žádná k dispozici.

Poznámky _____

Pravidelná údržba

V následující tabulce je seznam a doporučená četnost jednotlivých kroků údržby systému 7500/7500 Fast a počítače. Kroky uvedené v tabulce by měl provádět uživatel systému 7500/7500 Fast. Chcete-li zajistit správné fungování vašeho přístroje, provádějte uvedené kroky s týdenní, měsíční a půlroční frekvencí.

DŮLEŽITÉ! Jsou-li kroky uvedené v tabulce číslovány, musí být provedeny v uvedeném pořadí.

Každý ...	Krok	Viz strana
týden	<ul style="list-style-type: none"> Ověřte volné místo na disku. Je-li potřeba, archivujte nebo zálohujte vaše data - experimenty. Vypněte počítač připojený k přístroji a po 30 sec jej zapněte Otřete povrch přístroje. <p>DŮLEŽITÉ! Pro čištění systému 7500/7500 Fast nepoužívejte organická rozpouštědla.</p>	6 — —
měsíc	<ol style="list-style-type: none"> Zkontrolujte stav žárovky, v případě potřeby ji vyměňte. Provedte kalibraci pozadí.‡ Vyčistěte a defragmentujte pevný disk přístroje. 	58 20 6
půlrok (6 měsíců)	<ol style="list-style-type: none"> Zkontrolujte stav žárovky, v případě potřeby ji vyměňte. Provedte kalibraci ROI (Regions of interest). Provedte kalibraci pozadí. Provedte optickou kalibraci. Provedte kalibraci barev. Provedte ověřovací běh RNáza P. 	58 7 20 25 31 45
Podle potřeby	<ul style="list-style-type: none"> Dekontaminujte systém 7500/7500 Fast. Vyměňte žárovku. Vyměňte pojistky systému 7500/7500 Fast. Aktualizujte operační systém Windows. Aktualizujte software 7500. 	59 63 66 67 68

‡ Kalibraci pozadí můžete použít pro kontrolu možné kontaminace. Je-li provedena výměna některých součástí optického systému, musíte provést kalibraci ROI, kalibraci pozadí, optickou kalibraci, kalibraci barev a ověřit funkčnost přístroje pomocí běhu s destičkou RNázaP.

Poznámky _____

Správa pevného disku počítače

Kdy defragmentovat a čistit pevný disk

- Alespoň jedenkrát měsíčně
- Kdykoliv operační systém Windows zobrazí zprávu požadující provedení defragmentace

Více informací Na ploše zvolte **Start > Help and Support**, čímž otevřete nápovědu systému Windows. Vyhledejte informace o čistění disku (“Disk Cleanup”) a defragmentaci (“Disk Defragment”).

DŮLEŽITÉ! Neprovádějte správu disku je-li používán program 7500.

Archivace a zálohování souborů EDS

Pravidelná archivace souborů EDS Abyste ušetřili místo na vašem pevném disku, můžete starší soubory EDS archivovat pomocí nástroje pro kompresi dat. Můžete použít různé komerčně dostupné kompresní nástroje. PKZIP a ARC jsou formáty archivů běžné v operačním systému Microsoft® Windows®.

Zálohování souborů EDS Společnost Applied Biosystems důrazně doporučuje zálohovat vaše experimenty. Zálohujte experimenty provedené vaším přístrojem, abyste:

- se ochránili před případnou ztrátou dat způsobenou nepředpokládaným selháním počítače nebo jeho pevného disku/disků.
- ušetřili místo na vašem pevném disku a optimalizovali výkon, pokud stará data po zálohování vymažete.

Správa dat Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste si vypracovali postupy pro správu dat, generovaných softwarem 7500.

Poznámka: Provádíte-li experimenty v reálném čase, generujete mnohem více dat než při genotypování nebo experimentech Plus/Minus (Přítomnost/Nepřítomnost). Jednodenní provádění experimentů v reálném čase vede k vytvoření souborů o velikosti více než 10 MB.

Pravidelná kontrola místa na disku Provádíte-li experimenty v reálném čase, ověřujte volné místo na vašem pevném disku každý týden. Zbývá-li na pevném disku 20% jeho maximální kapacity, převed'te stará data na zálohovací médium.


Poznámky _____

2

Provedení kalibrace ROI (Regions of Interest)

V této kapitole naleznete:

■ Přehled	8
■ Příprava destičky pro kalibraci ROI	9
■ Provedení kalibrace	12
■ Provedení kalibrace ROI automaticky	12
■ Provedení kalibrace ROI manuálně	13
■ Řešení problémů s kalibrací ROI	17

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Poznámky _____

Přehled

Kalibrace ROI (Regions of Interest, plošná kalibrace) slouží ke zmapování pozic jamek v bloku systému Applied Biosystems 7500/7500 tak, aby program 7500 byl schopen přiřadit nárůst fluorescence v průběhu běhu určité specifické jamce na destičce. Jelikož přístroj používá pro rozlišení emise fluorescence v průběhu běhu sadu optických filtrů, je nutné provést kalibraci ROI pro každý jednotlivý filtr, abyste eliminovali vliv možných minoritních rozdílů v optické dráze.

Poznámka: Kalibraci ROI provádí uživatel v rámci běžné údržby.

Potřebná doba 30 minut

Potřebné pomůcky



Kdy provádět kalibraci ROI Kalibraci ROI (Regions of Interest) proveďte:

- Při instalaci systému 7500/7500 Fast. Musíte provádět kalibrace v pořadí ROI, pozadí, optická, barev a následně ověřovací běh.
- Každých 6 měsíců nebo podle potřeby, v závislosti na používání přístroje.
- Po výměně žárovky.

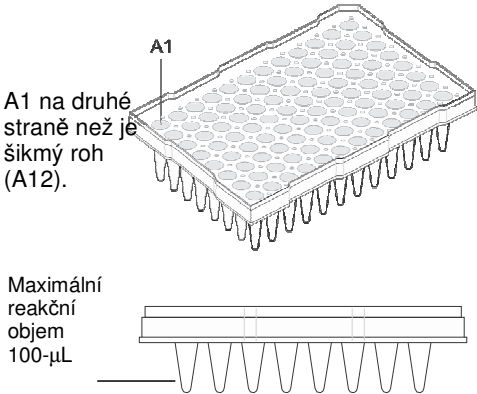
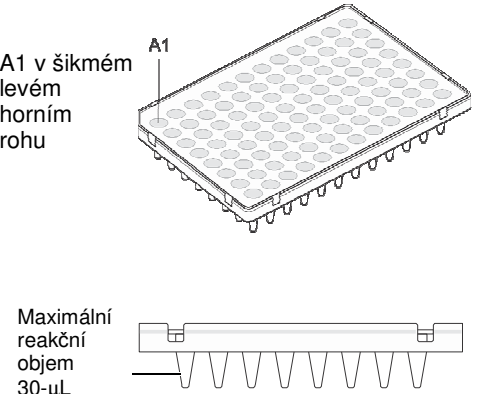
DŮLEŽITÉ! Po provedení kalibrace ROI musíte vždy provést kalibraci pozadí, optickou kalibraci, kalibraci barev a ověření funkčnosti přístroje.

Poznámky _____

Příprava destičky pro kalibraci ROI

Standardní destičky a destičky Fast

Použijte destičku podle typu vašeho systému.

Standardní destičky – systém 7500	Destičky Fast – Systém 7500 Fast
<p>Šikmý pravý horní roh</p>  <p>A1 na druhé straně než je šikmý roh (A12).</p> <p>Maximální reakční objem 100-µL</p> <p>Při promíchávání standardní destičky vortexujte a následně centrifugujte, aby se všechny reagenty dostaly na dno jamek.</p> <p>CAUTION Optické 96-jamkové destičky Fast nelze umístit do standardního bloku.</p>	<p>Šikmý levý horní roh</p>  <p>A1 v šikmém levém horním rohu</p> <p>Maximální reakční objem 30-µL</p> <p>Destičky Fast centrifugujte, aby se všechny reagenty dostaly na dno jamek.</p> <p>Destičky Fast nevortexujte. Vortexování může vést ke ztrátě objemu.</p> <p>CAUTION Standardní destičky nejsou kompatibilní se systémem 7500 Fast a mohou se v 96-jamkovém Fast bloku poškodit.</p>

Příprava destičky

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou pro kalibraci ROI používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte spektrální kalibrační kit z mrazáku a vyjměte destičku pro kalibraci ROI.
2. Nechte destičku pro kalibraci ROI ohřát na pokojovou teplotu (přibližně 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte destičku pro kalibraci ROI z obalu dokud nejste připraveni ji spustit. Fluorescenční barva v jamkách destičky je fotosenzitivní. Je-li destička delší dobu vystavena světlu, může to vést k poklesu fluorescenčního signálu.

Poznámky _____

3. Vyjměte destičku pro kalibraci ROI z obalu. Optickou fólii ponechte na destičce.

DŮLEŽITÉ! Obal destičky pro kalibraci ROI nevyhazujte. Pokud destičku uchovááte v jejím obalu, můžete jí použít až třikrát.



4. (Pouze pro standardní destičky) Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.

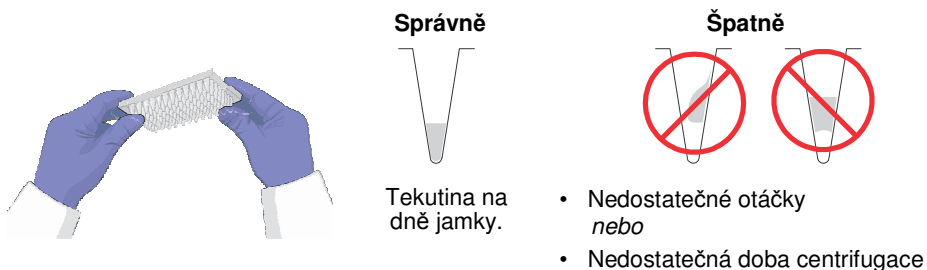
DŮLEŽITÉ! Destičky Fast nevortexujte.

(Následující kroky se vztahují na standardní destičky i destičky Fast.)

5. Centrifugujte destičku 2 min při ne více než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku pro kalibraci ROI je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

6. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.



Poznámky _____

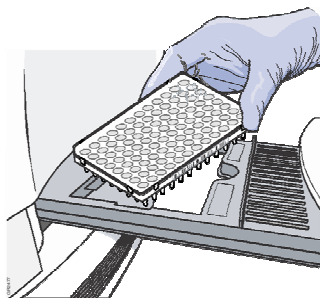
Vložení destičky



WARNING

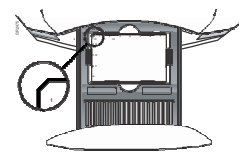
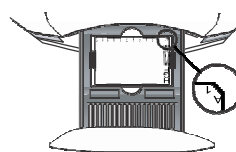
RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. Stiskem otevřete zásuvku.
2. Umístěte destičku pro kalibraci ROI do zásuvky. Ujistěte se, že destička je v držáku umístěna správně.

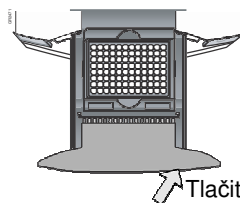
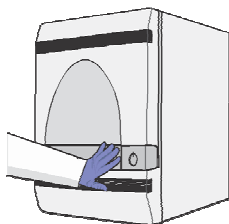


Standardní destičky (systém 7500) se šikmým rohem v pozici A12 vpravo nahoře.

Destičky Fast (systém 7500 Fast) se šikmým rohem v pozici A1 vlevo nahoře.



3. Uzavřete zásuvku. Zatlačte na její pravé straně a pod úhlem.



Poznámky _____

Provedení kalibrace

Automatická a manuální kalibrace

Program 7500 umožňuje provést kalibraci ROI automaticky nebo manuálně.

Kalibrace ROI	Popis	Použití	Viz strana
Automatická	(Začátečníci) Průvodce vás provede celým postupem kalibrace.	Běžné kalibrace	12
Manuální	(Pokročilí uživatelé) Rozhraní podobné tomu z předchozí verze programu umožní provést kalibraci manuálně.	<ul style="list-style-type: none"> Běžné kalibrace Kalibrace vlastní barvy (viz strana 75) 	13

Provedení kalibrace ROI automaticky

Spuštění kalibrace

- V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
- Na obrazovce ROI Správce údržby přístroje klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
- Proveďte kalibraci podle pokynů průvodce.

Dialogové okno kalibrace ROI zobrazuje tři záložky:

- Setup (Zadání)** – Pokyny pro zadání kalibrace ROI. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Run.
- Run (Běh)** – Kliknutím na START RUN spustíte kalibraci. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Analysis (Analýza).
- Analysis (Analýza)** – Stav kalibrace (Passed - Úspěšná/Failed - Neúspěšná).

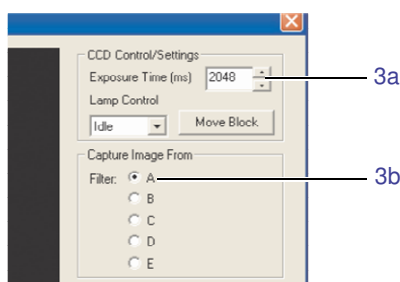
Je-li kalibrace neúspěšná, postupujte podle pokynů v části **“Řešení problémů s kalibrací ROI”** na straně 17.

Poznámky _____

Provedení kalibrace ROI manuálně

Spuštění kalibrace

1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
2. Na obrazovce ROI Správce údržby přístroje klikněte **Start Manual Calibration** (Spustit kalibraci manuálně).
3. V dialogovém okně ROI Inspector:
 - a. Nastavte dobu expozice (Exposure Time) na **2048**.
 - b. Zvolte **Filter A** (Filtr 1).



4. Klikněte **Snapshot** (Snímek) čímž vytvoříte obraz ROI.
5. Ověřte, zda je vámi vytvořený obraz ROI přijatelný (obrázky níže znázorňují obraz nenasyčený a přesycený). V přijatelném obrazu ROI jamky:
 - musí být co nejjasnější ale bez přesycení. (Provádíte-li kalibraci ROI, zobrazí se v případě přesycení varovná hláška.)
 - mohou ale nemusí obsahovat několik červených pixelů, což je známka nasycení.

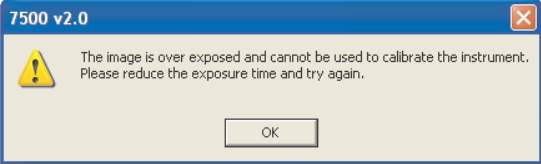
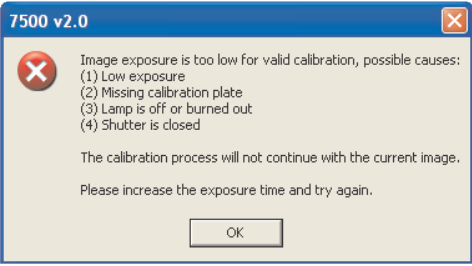
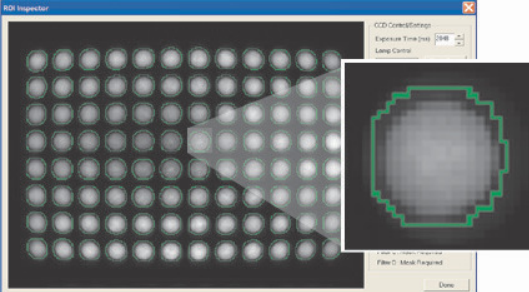
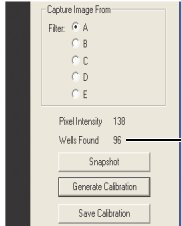
Nenasycený	Normální nasycení	Přesycený
Dobré	Přijatelné	Špatné

6. Je-li vámi vytvořený obraz ROI přijatelný, pokračujte [krokem 7](#).
Je-li vámi vytvořený obraz ROI přesycený, snižte dobu expozice (Exposure Time) na polovinu a klikněte **Snapshot** (Snímek). Opakujte tento postup dokud nedostanete přijatelný obraz ROI.
Pokud se vám nedaří dostat přijatelný obraz ROI, postupujte podle [“Řešení problémů s kalibrací ROI”](#) na straně 17.

Poznámky _____

7. Klikněte **Generate Calibration** (Vytvořit kalibrační data).

Program 7500 zpracuje snímek a zobrazí informativní hlášku nebo obraz ROI:

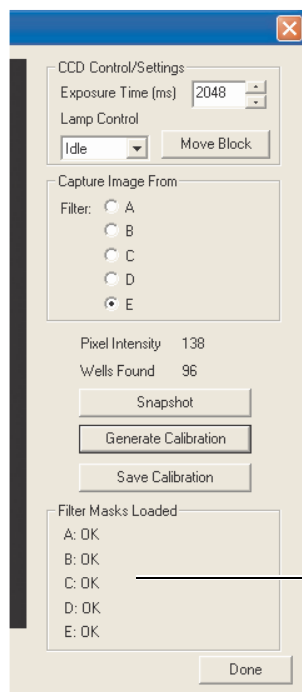
Zobrazí-li program:	Provedte:
 <p style="text-align: center;"><i>nebo</i></p> 	<ol style="list-style-type: none"> a. Klikněte OK. b. Snižte dobu expozice (Exposure Time) na polovinu (viz krok 3a na straně 13). c. Opakujte kroky 4 a 5.
<p>Velmi slabý obraz ROI nebo se vám nedaří provést úspěšnou kalibraci.</p>	<p>Viz “Řešení problémů s kalibrací ROI” na straně 17.</p>
<p>Přijatelný obraz</p> <p>Poznámka: Úspěšná kalibrace – všechny jamky mají zelené kroužky.</p>  <p>Poznámka: Zelený kroužek označuje, že daná jamka (region of interest) je jasně detekovatelná .</p>	<p>Ověřte, že :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bylo detekováno všech 96 jamek.  <p>Úspěšná kalibrace – 96 detekovaných jamek</p> <ul style="list-style-type: none"> • V obrazu ROI je okolo každé jamky zelený kroužek.

8. Klikněte **Save Calibration** (Uložit kalibrační data).

Program uloží vytvořenou kalibraci ROI pro filtr 1. V části Masks Loaded dialogového okna ROI Inspector se vedle filtru 1 zobrazí “OK”.

Poznámky _____

9. Opakujte kroky 3 až 8 pro všechny zbývající filtry, před provedením kalibrace každého filtru nastavte dobu expozice (Exposure Time) na **2048**. Kalibrace ROI je provedena pokud se v části Masks Loaded zobrazuje u všech filtrů OK.



Kalibrace je provedena pokud se v části Masks Loaded zobrazuje u všech filtrů OK

10. Klikněte **Done** (Konec).

Poznámky _____

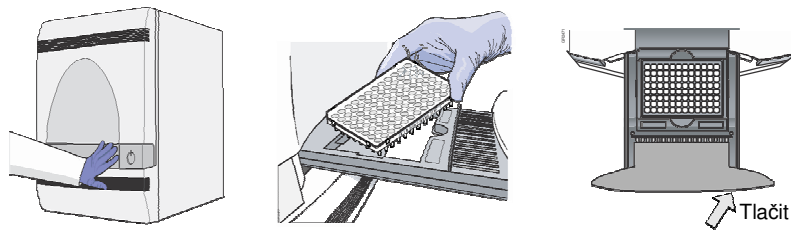
Vyjmutí destičky



WARNING RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100°C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. Vyměňte kalibrační destičku:

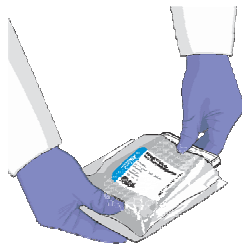
- a. Stiskem otevřete zásuvku.
- b. Vyměňte kalibrační destičku.
- c. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje.



2. Umístěte kalibrační destičku zpět do obalu. Budete-li provádět kalibraci pozadí a optickou kalibraci:

- Během následujících osmi hodin, ponechte destičku pro kalibraci ROI v obalu ale při pokojové teplotě. Při optické kalibraci budete používat tuto destičku pro kalibraci ROI.
- Následující den, uložte zabalenou destičku do spektrálního kalibračního kitu do mrazáku.

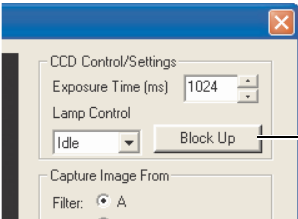
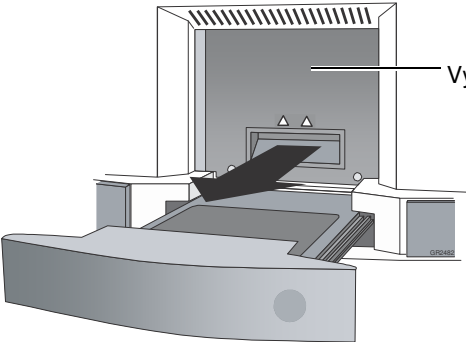
DŮLEŽITÉ! Destičku pro kalibraci ROI nevyhazujte. Pokud destičku uchováváte v jejím obalu, můžete jí použít po otevření až třikrát.



Pokračujte částí “Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace” na straně 19.

DŮLEŽITÉ! Po provedení kalibrace ROI musíte rovněž provést kalibraci pozadí (viz strana 20), optickou kalibraci (viz strana 25), kalibraci barev (viz strana 32) a ověření funkčnosti přístroje (viz strana 46).

Řešení problémů s kalibrací ROI

Problém/Symptom	Možná příčina	Krok
Kalibrace ROI se nezdařila	Blok na vzorky by mohl být ve spodní pozici.	<p>1. Pokud je v nastavení CCD Control Settings v okně ROI Inspector “Block Up”, klikněte Block Up (Blok nahoru), abyste přesunuli blok do horní pozice.</p> 
Velmi slabý obraz ROI		<p>2. Ověřte, že vyhřívaný vnitřní kryt je vytažen úplně dopředu a nebrání zasunutí zásuvky. Má-li systém 7500/7500 Fast západku vyhřívaného krytu, ověřte, že západka je uzavřena.</p>  <p>3. Pokud se kalibrace ROI nedaří ani nadále, ověřte stav žárovky v přístroji 7500/7500 Fast (viz “Sledování stavu žárovky” na straně 58), v případě potřeby žárovku vyměňte (viz “Výměna halogenové žárovky” na straně 63).</p>

Poznámky _____

2

Kapitola 2 Provedení kalibrace ROI (Regions of Interest) *Řešení problémů s kalibrací ROI*


Poznámky _____

3

Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace

V této kapitole naleznete:

- Provedení kalibrace pozadí20
 - Příprava destičky pro kalibraci pozadí21
 - Provedení kalibrace pozadí23
- Provedení optické kalibrace25
 - Příprava kalibrační destičky25
 - Provedení optické kalibrace28
- Řešení problémů s kalibrací pozadí30

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Poznámky _____

Provedení kalibrace pozadí

V průběhu kalibrace pozadí systém 7500/7500 Fast:

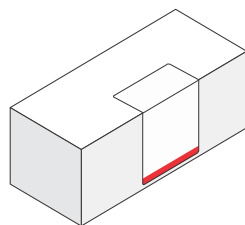
- Provádí po dobu 10 minut při 60°C kontinuální odečítání signálu z destičky pro kalibraci pozadí obsahující PCR pufr.
- Spočítá průměrnou hodnotu zaznamenaných spekter a na jejich základě generuje výsledný kalibrační soubor.

Systém 7500 během následně prováděných běhů používá tento kalibrační soubor pro odečet fluorescence pozadí z naměřených hodnot.

Poznámka: Kalibraci pozadí provádí uživatel v rámci běžné údržby.

Potřebná doba 30 min

Potřebné pomůcky



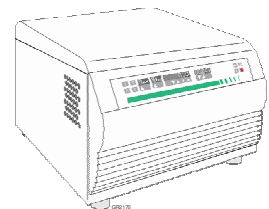
Spektrální kalibrační kit pro Real-Time PCR systém Applied Biosystems 7500/7500 Fast

Destička pro kalibraci pozadí



Rukavice bez pudru

Ochranné brýle



Centrifuga s adapterem na destičky

Kdy provádět kalibraci pozadí

Kalibraci pozadí proveďte:

- Při instalaci systému 7500/7500 Fast. Musíte provádět kalibrace v pořadí ROI, pozadí, optická, barev a následně ověřovací běh.
- Měsíčně nebo podle potřeby, v závislosti na používání přístroje.
- Po výměně žárovky.

Fluorescence pozadí

V rámci měření fluorescence Real-Time PCR systému Applied Biosystems 7500/7500 Fast je zaznamenávána i fluorescence, která je systému vlastní a běžně se označuje jako fluorescence pozadí. Fluorescence pozadí je složený signál, který je detekován v celém spektru. Tento signál sestává z fluorescence, která pochází z různých zdrojů:

- Elektronický šum pozadí
- Kontaminace v bloku na vzorky
- Spotřební plast (destičky a víčka)

Doporučení pro kalibraci

- Ujistěte se, že centrifuga, kterou používáte, je čistá. Před centrifugací vytřete závěsy centrifugy pomocí papírového ručníku.
- Abyste zabránili kontaminaci, manipulujte s kalibračními destičkami opatrně. Nepokládejte je na laboratorní stůl, neboť by mohlo dojít ke kontaminaci. Vždy je uložte zpět do jejich původních obalů.

Poznámky _____

Příprava destičky pro kalibraci pozadí

Příprava destičky **DŮLEŽITÉ!** Při manipulaci s destičkou používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte destičku pro kalibraci pozadí ze spektrálního kalibračního kitu z mrazáku.
2. Nechte destičku pro kalibraci pozadí ohřát na pokojovou teplotu (alespoň 5 minut)
3. Vyjměte destičku pro kalibraci pozadí z obalu.

DŮLEŽITÉ! Obal destičky pro kalibraci pozadí nevyhazujte. Destičku pro kalibraci pozadí můžete použít až třikrát pokud je uchována v originálním obalu.



4. (Pouze pro standardní destičky) Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.

DŮLEŽITÉ! Destičky Fast nevortexujte.

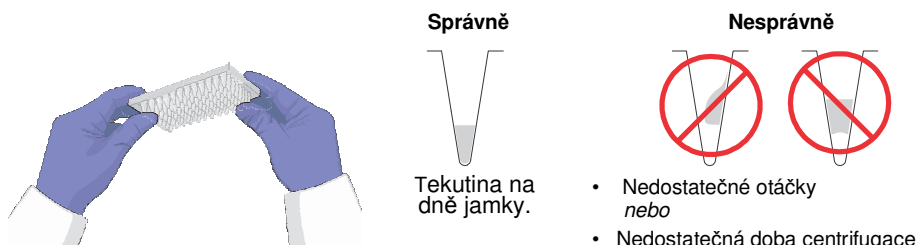
(Následující kroky se vztahují na standardní destičky i destičky Fast.)

5. Centrifugujte destičku 2 min při ne více než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

6. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

DŮLEŽITÉ! Zabraňte znečištění spodní strany destičky pro kalibraci pozadí. Tekutiny a další kontaminující látky, které přilnou ke spodní straně destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit abnormálně vysoký signál pozadí.



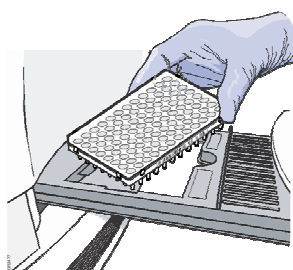
Poznámky _____

Vložení destičky



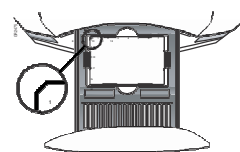
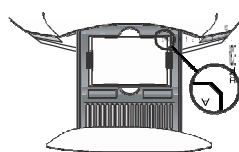
WARNING RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. Stiskem otevřete zásuvku.
2. Umístěte destičku do zásuvky. Ujistěte se, že destička je v držáku umístěna správně.

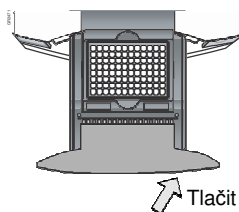
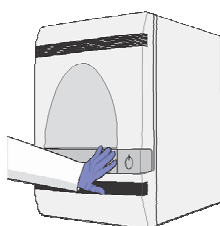


Standardní destičky (systém 7500) se šikmým rohem v pozici A12 vpravo nahoře.

Destičky Fast (systém 7500 Fast) se šikmým rohem v pozici A1 vlevo nahoře.



3. Uzavřete zásuvku. Zatlačte na její pravé straně a pod úhlem.



Poznámka: Pokud se vám nedaří zásuvku otevřít, je možné, že blok je v horní pozici a brání jejímu vysunutí. Blok přesunete do dolní pozice zvolením **Instrument > Calibrate** (Přístroj > Kalibrace), poté zavřete okno ROI Inspector (Prohlížeč ROI).

Provedení kalibrace pozadí

- Provedení kalibrace
1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
 2. Ve Správci údržby přístroje zvolte záložku **Background** (Pozadí).
 3. V záložce Background (Pozadí) klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
 4. Proved'te kalibraci podle pokynů průvodce.
Dialogové okno kalibrace pozadí zobrazuje čtyři záložky:
 - **Overview** (Přehled) – Informace o kalibraci.
 - **Setup** (Zadání) – Pokyny pro zadání kalibrace pozadí. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Run.
 - **Run** (Běh) – Kliknutím na START RUN spustíte kalibraci. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Analysis (Analýza).
 - **Analysis** (Analýza) – Stav kalibrace (Passed - Úspěšná/Failed - Neúspěšná).Je-li kalibrace neúspěšná, postupujte podle pokynů v části [“Řešení problémů s kalibrací pozadí”](#) na straně 30.

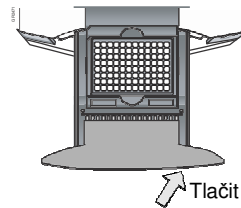
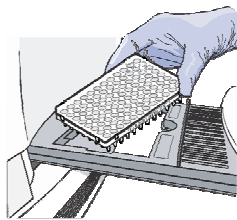
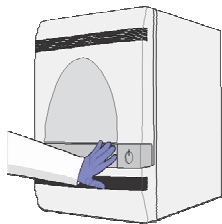
Poznámka: Spuštění běhu může předcházet pauza (až 10 minut) během níž dochází k ohřevu vyhřívaného vnitřního víka na nastavenou teplotu.

Vyjmutí destičky



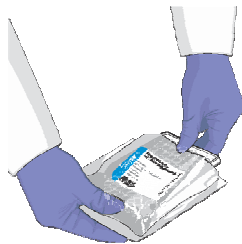
WARNING RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100°C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. Vyjměte kalibrační destičku:
 - a. Stiskem otevřete zásuvku.
 - b. Vyjměte kalibrační destičku.
 - c. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje.



2. Umístěte kalibrační destičku zpět do obalu a poté do spektrálního kalibračního kitu do mrazáku.

DŮLEŽITÉ! Destičku pro kalibraci pozadí nevyhazujte. Destičku pro kalibraci pozadí můžete použít až třikrát pokud je uchovávána v originálním obalu.



Je-li to potřeba, pokračujte částí “Provedení optické kalibrace” na straně 25.

Optickou kalibraci (viz strana 25), kalibraci barev (viz strana 32) a ověření funkčnosti přístroje (viz strana 46) musíte provést, provádíte-li kalibraci pozadí:

- Jako součást půlroční údržby
- Po výměně nebo seřízení součástí optického systému

Více informací viz “Pravidelná údržba” na straně 5.

Poznámky _____

Provedení optické kalibrace

Optická kalibrace slouží ke kompenzaci vlivu páteho filtru v systémech 7500/7500 Fast.

Poznámka: Optickou kalibraci provádí uživatel v rámci běžné údržby.

Potřebná doba	10 minut
Potřebné pomůcky	Destička pro kalibraci ROI.
Kdy provádět optickou kalibraci	<p>Proveďte optickou kalibraci:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Při instalaci systému musíte provést všechny kalibrace v tomto pořadí: ROI > Pozadí > Optická (pouze systém 7500/7500 Fast) > Barvy > Ověření funkčnosti přístroje. • Každých 6 měsíců nebo podle potřeby, v závislosti na používání přístroje.

3

Příprava kalibrační destičky

Příprava destičky Pokud jste po provedení kalibrace ROI ponechali destičku pro kalibraci ROI při pokojové teplotě (viz [Kapitola 2](#)), pokračujte [krokem 5 na straně 26](#) – stočte veškeré kondenzáty, které se mohly vytvořit během doby, po kterou byla destička při pokojové teplotě. Je-li destička pro kalibraci ROI v mrazáku, pokračujte [krokem 1](#).

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte spektrální kalibrační kit z mrazáku a vyjměte destičku pro kalibraci ROI.
2. Nechte destičku pro kalibraci ROI ohřát na pokojovou teplotu (nejméně 5 minut).
3. Vyjměte destičku pro kalibraci ROI z obalu

DŮLEŽITÉ! Obal destičky pro kalibraci ROI nevyhazujte. Pokud destičku uchováváte v jejím obalu, můžete jí použít až třikrát.



Poznámky _____

4. (Pouze pro standardní destičky) Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.

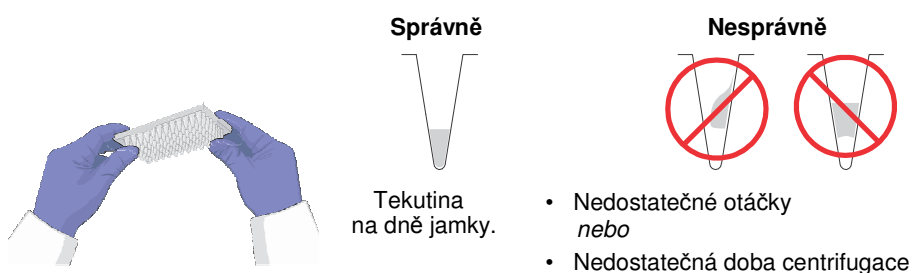
DŮLEŽITÉ! Destičky Fast nevortexujte.

(Následující kroky se vztahují na standardní destičky i destičky Fast.)

5. Centrifugujte destičku 2 min při ne více než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku pro kalibraci ROI je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

6. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.



Poznámky _____

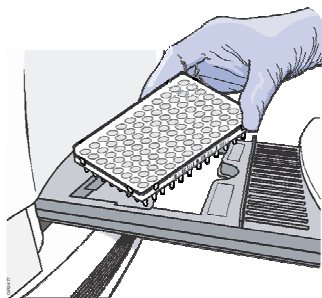
Vložení destičky



WARNING

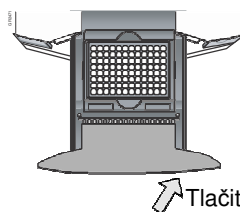
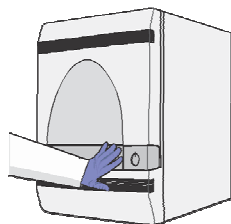
RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. Stiskem otevřete zásuvku.
2. Umístěte destičku do zásuvky. Ujistěte se, že destička je v držáku umístěna správně.



<p>Standardní destičky (systém 7500) se šikmým rohem v pozici A12 vpravo nahoře.</p>	<p>Destičky Fast (systém 7500 Fast) se šikmým rohem v pozici A1 vlevo nahoře.</p>

3. Uzavřete zásuvku. Zatlačte na její pravé straně pod úhlem.



Poznámky _____

Provedení optické kalibrace

- Provedení kalibrace
1. V programu 7500 zvolte **Instrument** > **Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
 2. Ve Správci údržby přístroje zvolte záložku **Optical** (Optická).
 3. Na obrazovce Optical klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
 4. Proveďte kalibraci podle pokynů průvodce.

Dialogové okno optické kalibrace zobrazuje čtyři záložky:

- **Overview** (Přehled) – Informace o kalibraci.
- **Setup** (Zadání) – Pokyny pro zadání optické kalibrace. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Run.
- **Run** (Běh) – Kliknutím na START RUN spustíte kalibraci. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Analysis (Analýza).
- **Analysis** (Analýza) – Stav kalibrace (Passed - Úspěšná/Failed - Neúspěšná).

Je-li kalibrace neúspěšná, postupujte podle pokynů v části **“Řešení problémů s kalibrací pozadí”** na straně 30.

Poznámka: Spuštění běhu může předcházet pauza (až 10 minut) během níž dochází k ohřevu vyhřívaného vnitřního víka na nastavenou teplotu.

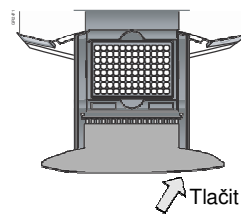
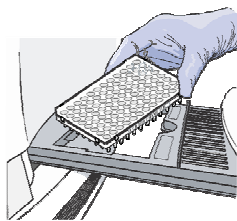
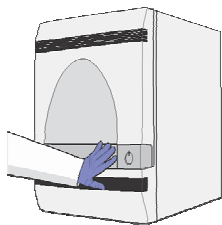
Vyjmutí destičky



WARNING

RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100°C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

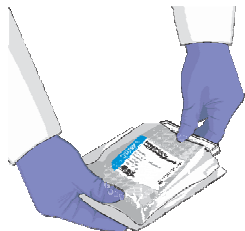
1. Vyměňte kalibrační destičku:
 - a. Stiskem otevřete zásuvku.
 - b. Vyměňte kalibrační destičku.
 - c. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje.



Poznámky _____

2. Vložte kalibrační destičku zpět do obalu a poté do spektrálního kalibračního kitu do mrazáku.

DŮLEŽITÉ! Destičku pro kalibraci nevyhazujte. Destičku můžete použít až třikrát pokud je uchovávána v originálním obalu.



Pokračujte částí “Provedení kalibrace barev” na straně 31.

Poznámky _____

Řešení problémů s kalibrací pozadí

Problém/Symptom	Možná příčina	Krok
Kalibrace pozadí se nezdařila	V jedné či více jamkách destičky pro kalibraci pozadí byla naměřena spektra přesahující maximální povolený limit.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Opakujte kalibraci za použití téže destičky. 2. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, opakujte kalibraci za použití jiné destičky pro kalibraci pozadí. 3. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, identifikujte příčinu kontaminace podle popisu v části “Určení kontaminace” níže.

Určení kontaminace Signály přesahující limit normální fluorescence pozadí mohou značit přítomnost fluorescenčních kontaminací v kalibrační destičce nebo bloku na vzorky. Běžné kontaminace jsou např. nápisy fixou, pudr z jednorázových rukavic a prach.

Chcete-li určit zdroj a místo kontaminace:

1. Zobrazte hrubá data (spektra) a zjistěte, která jamka je kontaminovaná, tak, že vybíráte stále menší oblasti destičky.
2. Otočte destičku pro kalibraci pozadí o 180° a proveďte kalibraci znovu.
3. Opakujte [krok 1](#), abyste našli polohu kontaminace. Jsou-li kontaminované jamky v [krocích 1 a 3](#):
 - **Identické** – Blok na vzorky je kontaminován. Dekontaminujte blok na vzorky podle popisu v části “[Dekontaminace bloku na vzorky](#)” na straně 59.
 - **Protilehlé** – Destička pro kalibraci pozadí je kontaminována. Vyhodte ji a proveďte novou kalibraci za použití nové destičky pro kalibraci pozadí.

Pokud se kalibrace nezdaří ani po výměně destičky pro kalibraci pozadí a dekontaminaci bloku na vzorky:

1. Vložte do přístroje 7500/7500 Fast destičku překrytou kusem černého papíru.
2. Proveďte kalibraci pozadí podle popisu v této kapitole.
3. Po skončení běhu zvolte všechny jamky destičky.
4. Zobrazte spektra. Pokud spektrální signál:
 - **Vidíte** – Optický systém přístroje 7500/7500 Fast může být kontaminován. Kontaktujte společnost Applied Biosystems - viz “[Kde získat pomoc](#)” na straně x.
 - **Nevidíte** – Blok na vzorky je kontaminován. Dekontaminujte blok podle popisu v části “[Dekontaminace bloku na vzorky](#)” na straně 59.


Poznámky _____

4

Provedení kalibrace barev

V této kapitole naleznete:

- Přehled 32
- Příprava destiček pro kalibraci barev..... 35
- Provedení kalibrace barev 36
- Řešení problémů s kalibrací barev..... 43

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Přehled

V rámci kalibrace barev systém Applied Biosystems 7500/7500 Fast:

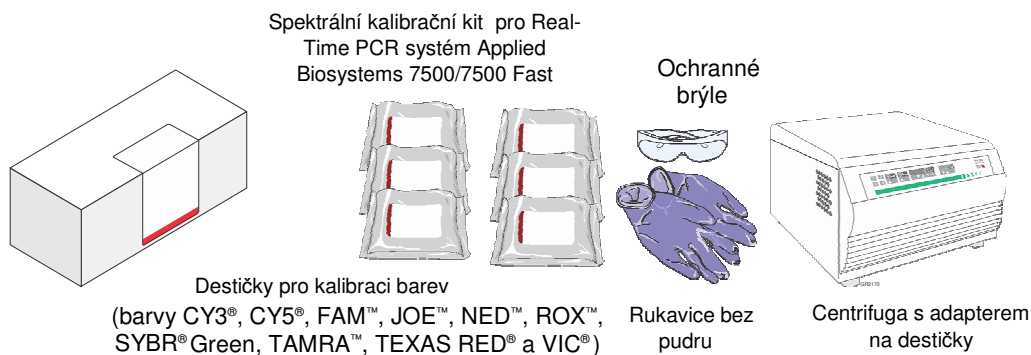
- Odečte spektra sérií standardů jednotlivých barev.
- Uloží informace o spektrech v kalibračním souboru.

Při následně prováděných běžích pak program tato kalibrační data používá pro určení jednotlivých barev a jejich příspěvků do přístrojem celkově naměřené fluorescence v rámci běhu. Po ukončení běhu je každé snímání provedené v jeho průběhu uloženo v programu 7500 ve formě nezpracovaných spektrálních dat. Příspěvek emise jedné každé fluorescenční barvy je v daném vzorku stanoven porovnáním nezpracovaných spektrálních dat a spektrálních dat této barvy uložených v kalibračním souboru. Ukládáte-li po ukončení analýzy dokument destičky, program uloží kalibrační soubor i fluorescenční data naměřená v průběhu daného experimentu.

Poznámka: Kalibraci barev provádí uživatel v rámci běžné údržby.

Potřebná doba 1 hod

Potřebné pomůcky



Poznámka: Pokud uchováváte destičky pro kalibrace barev systému Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR v jejich originálním obalu v mrazáku, můžete s nimi provést kalibraci přístroje 7500/7500 Fast až 3-krát během 6 měsíců po prvním otevření.

Kdy provádět kalibraci barev

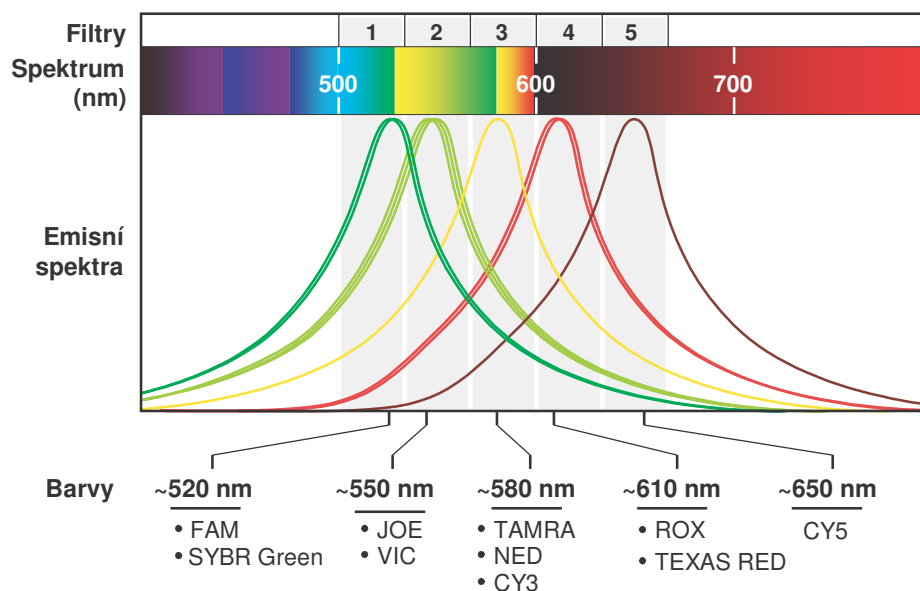
Kalibraci barev proveďte:

- Při instalaci systému 7500/7500 Fast. Musíte provádět kalibrace v pořadí ROI, pozadí, optická, barev a následně ověřovací běh.
- Každých 6 měsíců nebo podle potřeby, v závislosti na používání přístroje.

DŮLEŽITÉ! Před provedením kalibrace barev musíte provést vždy kalibraci pozadí. Stáří a míra používání přístroje může ovlivnit odečet barevných spekter, společnost Applied Biosystems proto doporučuje provedení kalibrace barev alespoň každých 6 měsíců.

Poznámky _____

Soubory barev Pro kalibraci Real-Time PCR systému Applied Biosystems 7500/7500 Fast se používají následující barvy: CY3®, CY5®, FAM™, JOE™, NED™, ROX™, SYBR® Green, TAMRA™, TEXAS RED® a VIC®. Následující obrázek ukazuje emisní spektrum pro každou barvu a současně i filtry a vlnové délky, při nichž je daná barva snímána.



Vlastní barva Systém 7500/7500 Fast podporuje používání esejí využívajících jiné barvy (barvy nedodávané Applied Biosystems). Chcete-li na vašem přístroji 7500/7500 Fast použít jinou barvu, musíte vytvořit a spustit vlastní destičku pro kalibraci této barvy. Software 7500 použije tuto destičku pro vytvoření spektrálního standardu tak, aby tuto barvu odlišil ve fluorescenčních datech naměřených během běhu. Více informací o vlastních barvách viz [Příloha B](#).

DŮLEŽITÉ! Chcete-li na vašem přístroji 7500/7500 Fast použít jinou barvu, musí být její fluorescence v rozsahu 520 až 650 nm, což je měřitelný rozsah přístroje 7500/7500 Fast.

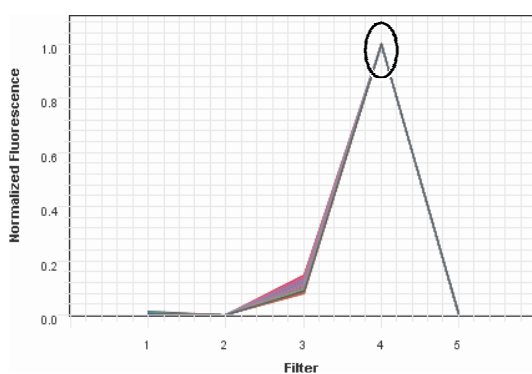
Poznámky _____

O analýze Výsledkem kalibrace barev je soubor spektrálních profilů, které lze chápat jako jakýsi fluorescenční podpis každé barvy. Každý profil sestává z 96 linek, jež představují fluorescenci naměřenou v každé z 96 jamek destičky pro kalibraci dané barvy. Program 7500 vynáší výsledná data každého spektrálního profilu do grafu zobrazujícího závislost naměřené fluorescence na použitém filtru.

Při extrakci kalibračních dat z kalibračního běhu, kterou program provádí, je vyhodnocován fluorescenční signál generovaný v každé jamce v kontextu spekter celé destičky. Spektra jsou obecně přijatelná pokud mají píky v tomtéž filtru jako celá skupina a liší se jen mírně při jiných vlnových délkách (viz níže).

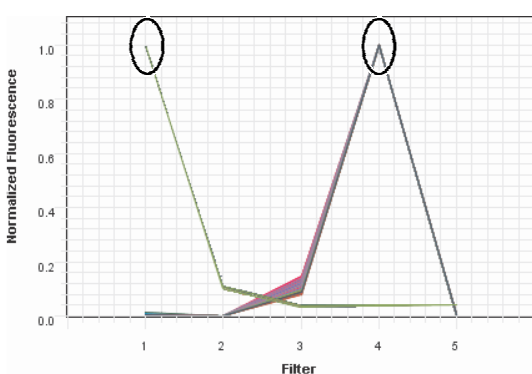
Program 7500 může kompenzovat určité problémy ve spektrálním profilu záměnou (automatická oprava) nesprávného spektra určité jamky spektrem sousední jamky. Je nicméně povoleno pouze několik takových záměn a kalibrace může být zamítnuta, pokud se spektra sousedních jamek liší výrazně.

Poznámka: Jelikož jamky v destičce pro kalibraci barev obsahují danou barvu v identické koncentraci, výsledné signály by měly být pro všechny jamky obdobné. Drobné variace spekter a píků jsou způsobeny malými rozdíly v optické a excitační energii mezi jednotlivými jamkami.



Správné spektrum

Spektrální píky totožné vlnové délky a téměř shodné



Nesprávné spektrum

Spektrální píky při rozdílných vlnových délkách

Příprava destiček pro kalibraci barev

DŮLEŽITÉ! Před provedením kalibrace barev musíte provést kalibraci ROI (viz strana 8), kalibraci pozadí (viz strana 20) a optickou kalibraci (viz strana 25).

Příprava destiček

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte spektrální kalibrační kit z mrazáku a vyjměte destičky pro kalibraci barev.
2. Vraťte spektrální kalibrační kit do mrazáku.
3. Nechte destičky pro kalibraci barev ohřát na pokojovou teplotu (přibližně 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte destičky pro kalibraci barev z obalu dokud nejste připraveni je spustit. Fluorescenční barva v jamkách destiček je fotosenzitivní. Jsou-li destičky delší dobu vystaveny světlu, může to vést k poklesu fluorescenčního signálu.

Poznámka: Pokud uchovávejte destičky pro kalibrace barev systému Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR v jejich originálním obalu v mrazáku, můžete s nimi provést kalibraci přístroje 7500/7500 Fast až 3-krát během 6 měsíců po prvním otevření.

Pokračujte v části “Provedení kalibrace barev” na straně 36.

Poznámky _____

Provedení kalibrace barev

- Provedení kalibrace
1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
 2. Ve správci údržby přístroje zvolte záložku **Dye** (Barva).
 3. Zvolte **System Dye Calibration** (Kalibrace systémových barev).
 4. Klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
 5. Proveďte kalibraci pro každou destičku podle pokynů průvodce.

DŮLEŽITÉ! Průvodce vás vede kalibrací každé barvy samostatně. Každou destičku musíte zadat, spustit a analyzovat nezávisle.

Dialogové okno kalibrace barev zobrazuje čtyři záložky:

- **Overview** (Přehled) – Informace o kalibraci.
Jste-li vyzváni k přípravě požadovaného materiálu, zvolte barvy, které chcete kalibrovat.
- **Setup** (Zadání) – Pokyny pro zadání kalibrace barev. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Run.
Jste-li vyzváni k vložení destičky, připravte a vložte destičky podle postupu v části “Vložení destičky” na straně 37.
- **Run** (Běh) – Kliknutím na START RUN spustíte kalibraci. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Analysis (Analýza).
- **Analysis** (Analýza) – Stav kalibrace (Passed - Úspěšná/Failed - Neúspěšná).

Jste-li vyzváni k analýze spekter jednotlivých barev, ověřte stav kalibrace:

- **Passed** (Úspěšná) – Kalibrace přístroje 7500/7500 Fast se zdařila. Pokračujte částí “Analýza výsledků kalibrace” na straně 39.
- **Failed** (Neúspěšná) – Kalibrace přístroje 7500/7500 Fast se nezdařila. Postupujte podle pokynů v části “Řešení problémů s kalibrací barev” na straně 43.

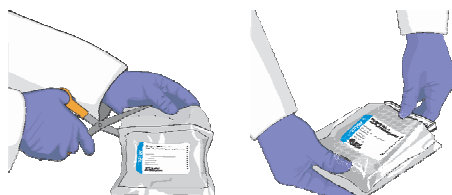
Poznámka: Spuštění běhu může předcházet pauza (až 10 minut) během níž dochází k ohřevu vyhřívaného vnitřního víka na nastavenou teplotu.

Vložení destičky

Poznámka: Jelikož průvodce vás vede kalibrací každé barvy samostatně, proveďte následující kroky pro každou barvu, kterou kalibrujete.

1. Vyjměte destičku pro kalibraci barvy požadovanou softwarem z obalu.

DŮLEŽITÉ! Obal pro destičku nevyhazujte. Destičku pro kalibraci pozadí můžete použít až třikrát pokud je uchovávána v originálním obalu.



2. (Pouze pro standardní destičky) Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.

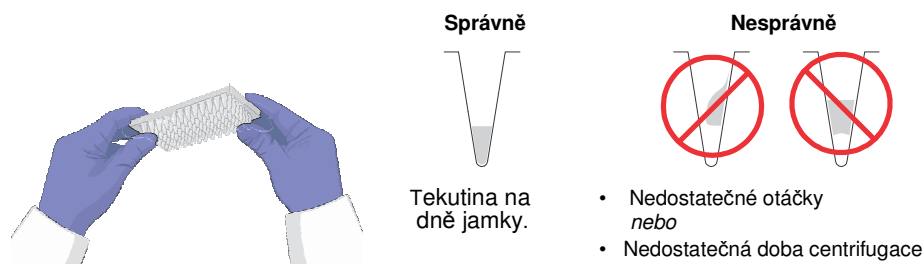
DŮLEŽITÉ! Destičky Fast nevortexujte.

(Následující kroky se vztahují na standardní destičky i destičky Fast.)

3. Centrifugujte destičku 2 min při ne více než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

4. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.



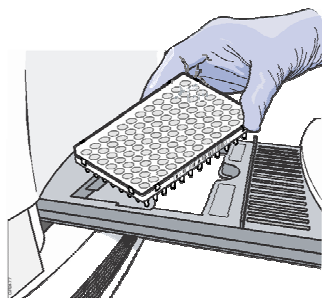
5. Ověřte, že destička, kterou se chystáte použít, odpovídá destičce požadované programem 7500.



6. Stiskem otevřete zásuvku.

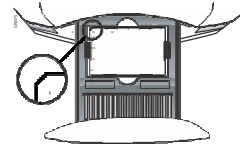
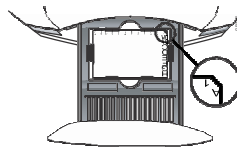
Poznámky _____

7. Umístěte destičku do zásuvky. Ujistěte se, že destička je v držáku umístěna správně.



Standardní destičky (systém 7500) se šikmým rohem v pozici A12 vpravo nahoře.

Destičky Fast (systém 7500 Fast) se šikmým rohem v pozici A1 vlevo nahoře.



8. Uzavřete zásuvku. Zatlačte na její pravé straně a pod úhlem.

Poznámka: Pokud se vám nedaří zásuvku otevřít, je možné, že blok je v horní pozici a brání jejímu vysunutí. Blok přesunete do dolní pozice zvolením **Instrument > Calibrate** (Přístroj > Kalibrace), poté zavřete okno ROI Inspector (Prohlížeč ROI).

Poznámky _____

Analýza výsledků kalibrace

Poznámka: Jelikož průvodce vás vede kalibrací každé barvy samostatně, proveďte následující kroky pro každou barvu, kterou kalibrujete.

1. Ověřte stav kalibrace:

- **Passed** (Úspěšná) – Kalibrace přístroje 7500/7500 Fast se zdařila. Viz [krok 2](#).
- **Failed** (Neúspěšná) – Kalibrace přístroje 7500/7500 Fast se nezdařila. Postupujte podle pokynů v části [“Řešení problémů s kalibrací barev”](#) na straně 43.

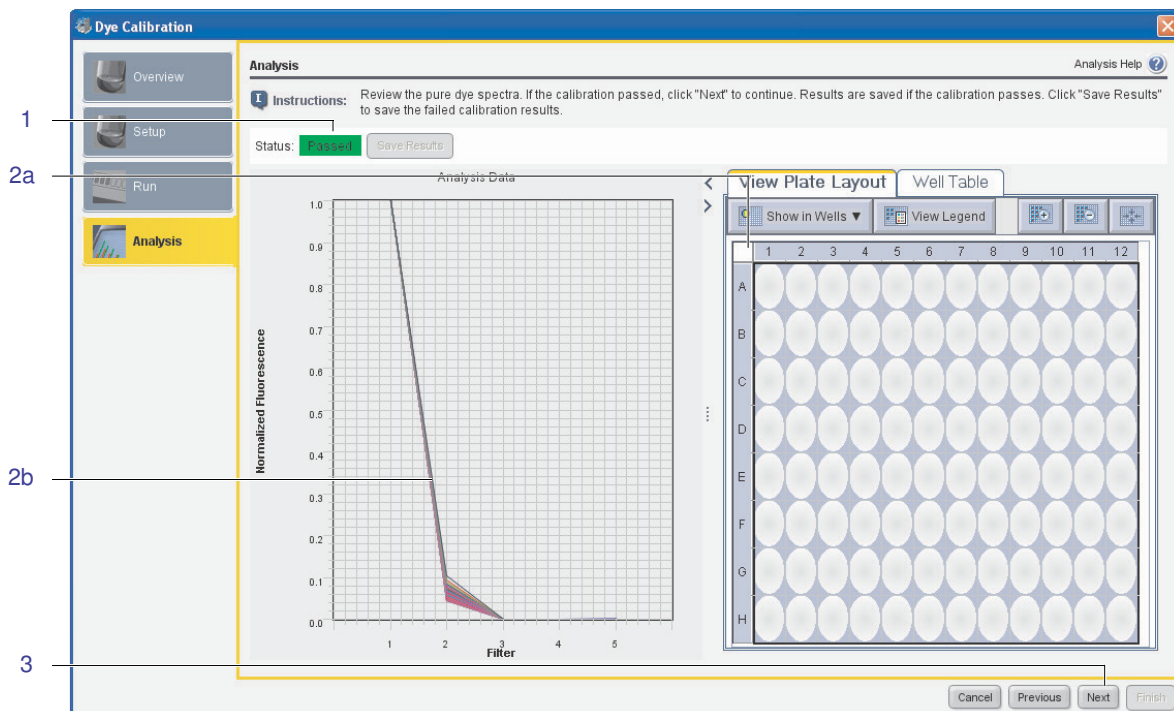
2. Ověřte seskupení spekter:

- Zvolte všechny jamky destičky.
- Zkontrolujte hrubá data (spektra). Ověřte pro každé spektrum, že:
 - Pík je v detekovatelném rozsahu přístroje 7500/7500 Fast.
 - Nejsou přítomny nepravidelné píky.
 - Pík je ve správném kanálu pro danou barvu (viz [Tabulka 1](#) na straně 41).

Nesplňuje-li spektrum tato kritéria, postupujte podle pokynů v části [“Řešení problémů s kalibrací barev”](#) na straně 43.

Poznámka: Drobné variace spekter a píků u jamek obsahujících tutéž barvu jsou způsobeny malými rozdíly v optické a excitační energii mezi jednotlivými jamkami.

3. Jsou-li všechna spektra přijatelná, klikněte **Next** (Další).



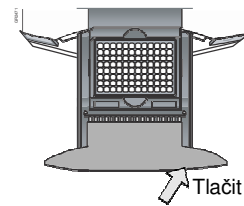
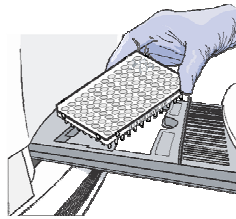
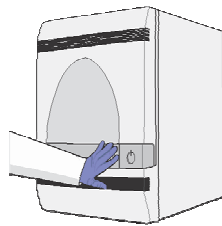
Poznámky _____

4. Vyjměte destičku:

**WARNING**

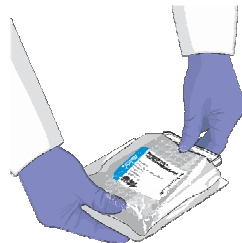
RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100°C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

- a. Stiskem otevřete zásuvku.
- b. Vyjměte kalibrační destičku.
- c. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje.



- d. Vložte kalibrační destičku zpět do obalu a poté do spektrálního kalibračního kitu do mrazáku.

Poznámka: Pokud uchováváte destičky pro kalibrace barev systému Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR v jejich originálním obalu v mrazáku, můžete s nimi provést kalibraci přístroje 7500/7500 Fast až 3-krát během 6 měsíců po prvním otevření.



5. Po vyjmutí destičky klikněte **Finish** (Konec).
6. Připravte a spusťte další destičku podle pokynů v části “Příprava destiček” na straně 35.

Poznámky _____

Pozn

Tabulka 1 Systém 7500/7500 Fast – Spektra barev

Filtr	Pík (nm)	Barva/Spektrum		
1	~520	<p>FAM</p>	<p>SYBR Green</p>	
2	~550	<p>JOE</p>	<p>VIC</p>	
3	~580	<p>CY3</p>	<p>NED</p>	<p>TAMRA</p>

Tabulka 1 Systém 7500/7500 Fast – Spektra barev

Filtr	Pík (nm)	Barva/Spektrum	
4	~610	<p>ROX</p>	<p>TEXAS RED</p>
5	~670	<p>CY5</p>	

Pozn

Řešení problémů s kalibrací barev

Problém/Symptom	Možná příčina	Krok
Jedno či více hrubých spekter je pod detekovatelným prahem citlivosti kalibrace.	<ul style="list-style-type: none"> • Destička nebyla dostatečně centrifugována. • Destička obsahuje staré reagentie nebo reagentů je málo. • Provádíte-li kalibraci vlastní barvy, její koncentrace není dostatečná. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vyměňte destičku z přístroje 7500/7500 Fast a zkontrolujte jamky destičky. Není-li tekutina v jamkách: <ul style="list-style-type: none"> – Na dně, centrifugujte destičku delší dobu a zopakujte kalibraci. – Stejného objemu, destička nebyla dobře uzavřena a reagentie se odpařily. Vyhodte ji a použijte novou. 2. Zdá-li se destička pro kalibraci barvy normální, vyhodte ji a použijte novou. 3. Pokud problém přetrvává, kontaktujte Applied Biosystems - viz "Kde získat pomoc" na straně x. <p>Poznámka: Provádíte-li kalibraci vlastní barvy, připravte novou destičku ale zvýšte koncentraci barvy.</p>
Jedno či více hrubých spekter překračuje maximální limit pro přístroj 7500/7500 Fast.	<ul style="list-style-type: none"> • Fluorescenční kontaminace v bloku na vzorky nebo v kalibrační destičce. • Provádíte-li kalibraci vlastní barvy, její koncentrace je příliš vysoká. 	<p>Ověřte, že systém není kontaminován podle pokynů v Kapitole 3 "Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace." Ukáže-li kalibrace pozadí, že blok na vzorky není kontaminován, může být kontaminována destička pro kalibraci barvy.</p> <p>Poznámka: Provádíte-li kalibraci vlastní barvy, připravte novou destičku ale snižte koncentraci barvy.</p>
Spektra obsahují píky ve více filtrech.	Fluorescenční kontaminace v bloku na vzorky nebo v kalibrační destičce.	

Poznámky _____



Kapitola 4 Provedení kalibrace barev
Řešení problémů s kalibračními barevami


Poznámky _____

5

Ověření funkčnosti přístroje

V této kapitole naleznete:

■ Přehled	46
■ Zadání experimentu	48
■ Spuštění experimentu.....	49
■ Analýza experimentu	51
■ Řešení problémů.....	54

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Přehled

Proveďte běh s destičkou TaqMan® RNÁza P, abyste ověřili funkčnost přístroje Applied Biosystems 7500/7500 Fast.

Potřebná doba 1 hod

Potřebné pomůcky



Kdy provádět běh s RNázou P

Společnost Applied Biosystems doporučuje provést běh s RNázou P:

- Při instalaci systému 7500/7500 Fast. Musíte provést kalibraci ROI, pozadí, optickou, barev a běh pro ověření funkčnosti přístroje.
- Po přemístění přístroje.
- Kdykoliv je-li zapotřebí ověřit fungování přístroje 7500/7500 Fast.

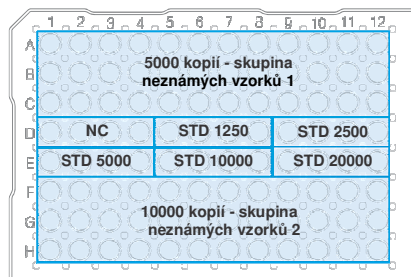
Účel běhu RNÁzy P

Destička RNÁza P obsahuje rozplněné reagencie potřebné pro detekci a kvantifikaci genomových kopií lidského genu pro RNÁzu P (jednokopiový gen kódující RNázovou podjednotku enzymu RNÁza P).

Každá jamka obsahuje:

- 1× TaqMan® Fast univerzální PCR mastermix, bez AmpErase® UNG
- Primery pro amplifikaci genu pro RNÁzu P
- Sonda značená FAM™
- Lidská genomová DNA o známé koncentraci (templát)

Obrázky níže znázorňují uspořádání standardů a skupin neznámých vzorků na destičce RNÁza P. Destička RNÁza P obsahuje pět skupin standardů (1250, 2500, 5000, 10000 a 20000 kopií), dvě skupiny neznámých vzorků (5000 a 10000 kopií) a čtyři netemplátové kontroly (NTC).



Poznámky _____

Po skončení běhu program 7500:

1. Vytvoří standardní křivku na základě průměru hodnot C_T (threshold cycle) pro jednotlivé replikáty standardů.
2. Vypočítá koncentraci dvou skupin neznámých vzorků za použití této standardní křivky.
3. Ověří funkčnost přístroje 7500/7500 Fast pomocí následujícího výpočtu:

$$[(CopyUnk_2) - 3(\sigma_{CopyUnk_2})] > [(CopyUnk_1) + 3(\sigma_{CopyUnk_1})]$$

kde:

- CopyUnk₁ = Průměrný počet kopií skupiny 1 (Obsahuje 5000 kopií)
- $\sigma_{CopyUnk_1}$ = Standardní odchylka skupiny 1 (Obsahuje 5000 kopií)
- CopyUnk₂ = Průměrný počet kopií skupiny 2 (Obsahuje 10000 kopií)
- $\sigma_{CopyUnk_2}$ = Standardní odchylka skupiny 2 (Obsahuje 10000 kopií)

Specifikace

Přístroj 7500/7500 Fast splňuje parametry instalace platí-li shora uvedený vzorec a přístroj úspěšně rozliší 5000 a 10000 kopií na hladině významnosti 99.7%.

Aby byly splněny parametry instalace, můžete z každé skupiny neznámých vzorků vyloučit omezený počet odlehlých bodů (tzv. outlier).

Přístroj	Maximální počet odlehlých bodů, které lze vyloučit			
	Neznámé vzorky		Standardy (STD)	Negativní kontroly (NC)
	5000-kopií	10000- kopií		
7500	6	6	0	0
7500 Fast				

Poznámky _____

Zadání experimentu

Připravte destičku TaqMan® RNáza P Fast pro ověření běhu přístroje.

Příprava destičky RNáza P

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou RNázaP používejte rukavice bez pudru.

1. Vyměňte destičku RNáza P z mrazáku a vyčkejte, než se destička ohřeje na pokojovou teplotu (asi 5 minut).
2. Vyměňte destičku RNáza P z obalu.



3. (Pouze pro standardní destičky) Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.

DŮLEŽITÉ! Destičky Fast nevortexujte.

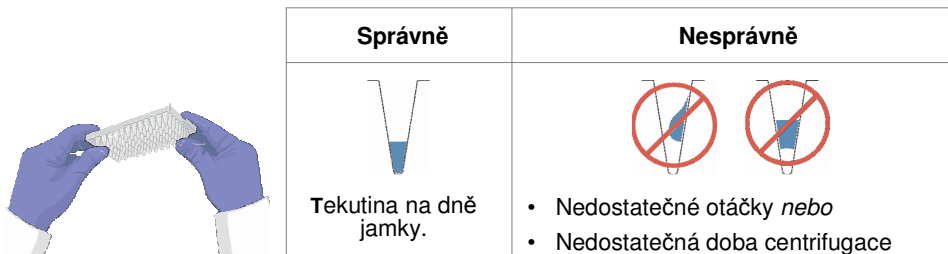
(Následující kroky se vztahují na standardní destičky i destičky Fast.)

4. Centrifugujte destičku 2 min při ne více než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

5. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.


DŮLEŽITÉ! Zabraňte znečištění spodní strany destičky pro kalibraci pozadí. Tekutiny a další kontaminující látky, které přilnou ke spodní straně destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit abnormálně vysoký signál pozadí.



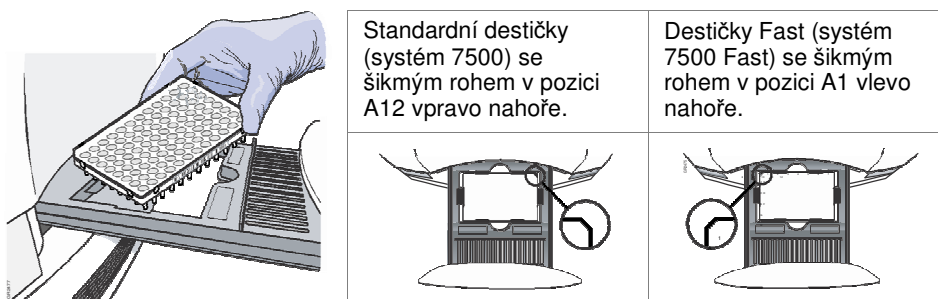
Poznámky _____

Spuštění experimentu

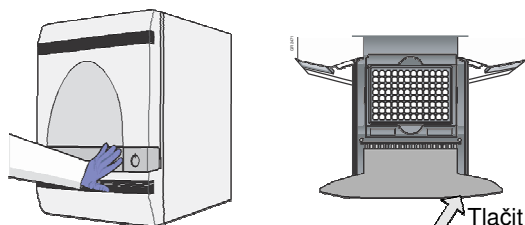
Poté co připravíte destičku TaqMan® RNáza P Fast pro ověření funkčnosti přístroje, vložte ji do přístroje 7500/7500 Fast a spusťte běh.

Vložení destičky  **WARNING RIZIKO PORANĚNÍ.** Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. Stiskem otevřete zásuvku.
2. Umístěte destičku do zásuvky. Ujistěte se, že destička je v držáku umístěna správně.



3. Uzavřete zásuvku. Zatlačte na její pravé straně a pod úhlem.



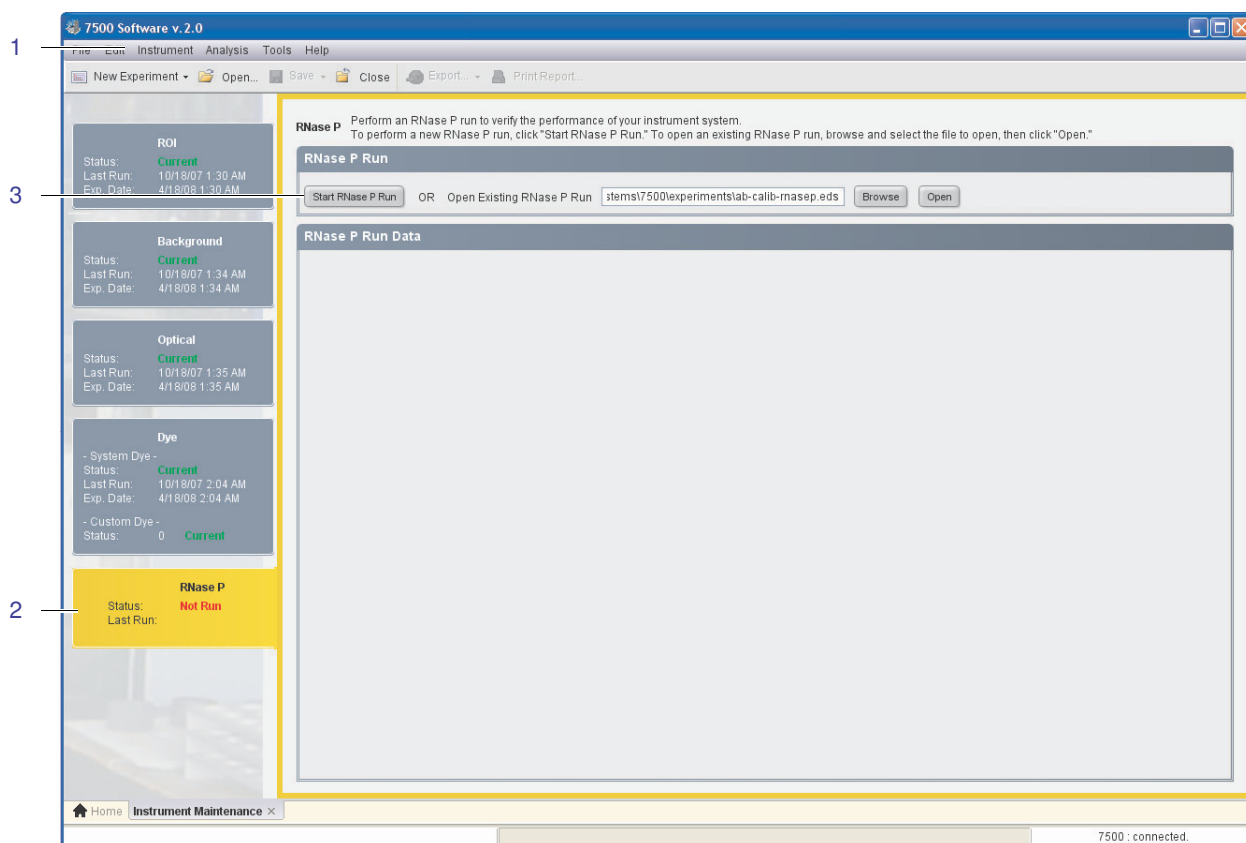
Poznámky _____

- Spuštění běhu**
1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
 2. Ve Správci údržby přístroje zvolte záložku **RNase P** (RNÁzaP).
 3. Na obrazovce RNase P klikněte **Start RNase P Run** (Spustit běh).
 4. Proveďte kalibraci podle pokynů průvodce.

Dialogové okno RNase P zobrazuje čtyři záložky:

- **Přehled** – (Přehled) – Informace o kalibraci.
- **Setup** (Zadání) – Pokyny pro zadání běhu RNÁza P. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Run.
- **Run** (Běh) – Kliknutím na START RUN spustíte kalibraci. Kliknutím na Next (Další) se otevře záložka Analysis (Analýza).
- **Analysis** (Analýza) – Stav kalibrace (Passed - Úspěšná/Failed - Neúspěšná).

Poznámka: Spuštění běhu může předcházet pauza (až 10 minut) během níž dochází k ohřevu vyhřívaného vnitřního víka na nastavenou teplotu.



Poznámky _____

Analýza experimentu

Ověřte výsledky experimentu.

Ověření výsledků analýzy Poznámka: Jakmile program 7500 dokončí běh s RNázou P, automaticky analyzuje a zobrazí výsledky na obrazovce Analysis (Analýza).

1. Na obrazovce Analysis (Analýza) ověřte stav běhu:

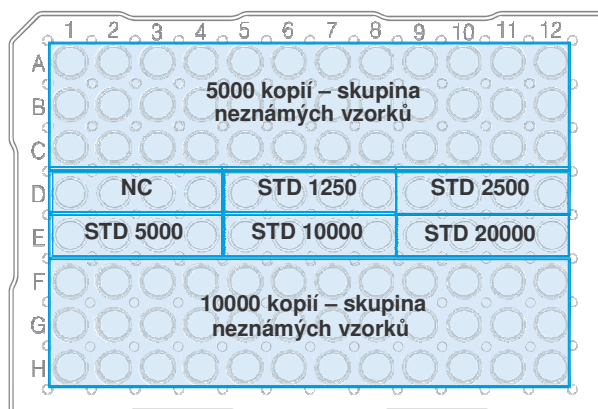
- **Passed** (Úspěšná) – Přístroj splnil kritéria běhu RNáza P. Pokračujte krokem 5 na straně 53.
- **Failed** (Neúspěšná) – Přístroj nesplnil kritéria běhu RNáza P. Pokračujte krokem 2 – ověřte výskyt odlehlých bodů.

Pokud se běh nezdaří, je možné, že součástí analýzy jsou i odlehlé body, které jsou příčinou neúspěchu. V důsledku experimentální chyby mohou být některé jamky amplifikovány nedostatečně nebo vůbec. Takové jamky většinou vedou k C_T hodnotám, které jsou výrazně odlišné od průměru dané skupiny replikátů. Pokud budou takovéto jamky (odlehlé body) zahrnuty do analýzy, mohou chybně ovlivnit její výsledky.

2. V amplifikačním grafu zvolte **Ct vs. Well** (Závislost C_T na pozici jamky).

3. Ověřte uniformitu každé skupiny replikátů porovnáním seskupení hodnot C_T (kontroly, standardy, neznámé vzorky):

a. V zobrazení destičky zvolte jamky obsahující 10000 kopií (řádky F, G, a H).



b. V grafu ověřte, že hodnoty C_T skupiny replikátů jsou stejné.

Poznámka: Čísla na ose X odpovídají jednotlivým jamkám. Počínaje jamkou A1 jsou jamky číslovány zleva doprava a shora dolů.

Poznámky _____

- c. Naleznete-li ve zvolené skupině vzorků odlehlý bod, vyberte odpovídající jamku ve vyobrazení destičky, poté klikněte **Omit** (Vynechat), čímž jamku z analýzy vypustíte.

Přístroj	Maximální počet odlehlých bodů, které lze vyloučit			
	Neznámé vzorky		Standardy (STD)	Negativní kontrola (NC)
	5000 kopií	10000 kopií		
7500	6	6	0	0
7500 Fast				

DŮLEŽITÉ! Detekujete-li příliš mnoho odlehlých bodů, objednejte novou destičku RNáza P a zopakujte pokus.

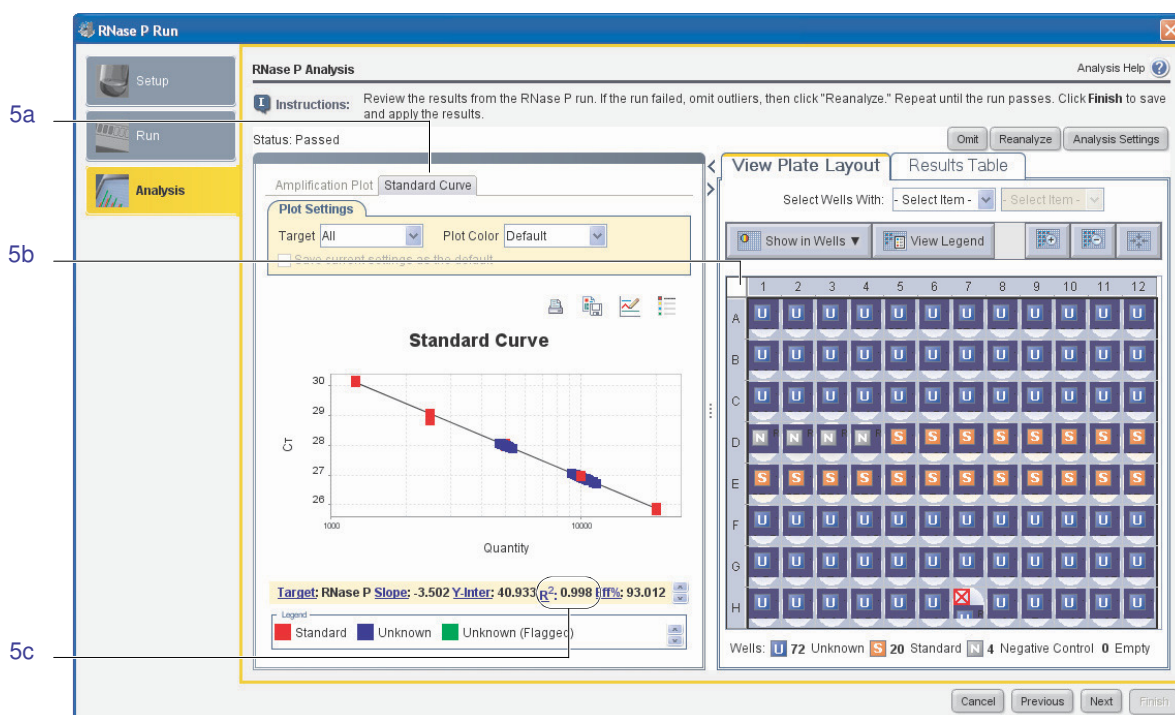
- d. Opakujte kroky 3a až 3c pro každou skupinu replikátů (neznámé vzorky, standardy, negativní kontroly) na destičce.
4. Klikněte **Reanalyze**, čímž zopakujete analýzu výsledků bez odlehlých bodů.

Pokud po provedení kroků 2 až 4 nesplní běh RNáza P požadovaná kritéria (stav **“Failed”**), zopakujte běh za použití nové destičky RNáza P. Pokud problém přetrvá, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle popisu v části **“Kde získat pomoc”** na straně x.

Poznámky _____

5. Vyhodnoťte parametry standardní křivky:
 - a. Zvolte záložku **Standard Curve** (Standardní křivka).
 - b. Klikněte do levého horního rohu vyobrazení destičky, čímž zvolíte všechny jamky.
 - c. Ověřte, že parametr R2 je vyšší nebo roven 0.990.

Je-li hodnota parametru R2 nižší než 0.990, opakujte pokus s RNázou P za použití jiné destičky RNáza P. Pokud problém přetrvává, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle popisu v části “Kde získat pomoc” na straně x.5.



6. Klikněte **Next** (Další), poté vyjměte kalibrační destičku.




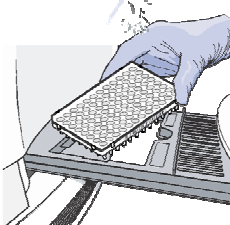
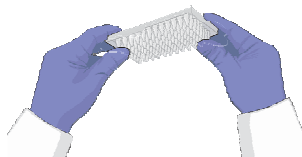
WARNING

RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100°C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

- a. Stiskem otevřete zásuvku.
 - b. Vyměňte kalibrační destičku.
 - c. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje.
7. Destičku vyhoděte.
8. Klikněte **Finish**, poté klikněte **Yes** (Ano) jste-li vyzváni k uložení experimentu.

Poznámky _____

Řešení problémů

Problém/Symptom	Možná příčina	Krok
Více než povolený počet odlehlých bodů	<ul style="list-style-type: none"> Kontaminace Chyba pipetování 	Kontaktujte společnost Applied Biosystems a objednejte si náhradní destičku TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Applied Biosystems.
Běh RNáza P se nezdařil	<ul style="list-style-type: none"> Nedostatečná centrifugace Destička nebyla dobře zavřena 	<p> WARNING RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100°C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.</p> <ol style="list-style-type: none"> Vyjměte destičku RNáza P z přístroje: <ol style="list-style-type: none"> Stiskem otevřete zásuvku. Vyjměte kalibrační destičku. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje. <p> </p> <ol style="list-style-type: none"> Podržte destičku proti světlu a ověřte, že ve všech jamkách je stejný objem tekutiny. Pozorujete-li rozdíly v objemu, ověřte těsnost uzavření destičky u jamek s nižším objemem, případná poškození či odpar. Rovněž porovnejte pozice jamek s nižším objemem tekutiny s odlehlými body. Jedná-li se o tytéž jamky, nebyla destička pravděpodobně dobře uzavřena a došlo k odparu. Kontaktujte společnost Applied Biosystems a objednejte si náhradní destičku TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Applied Biosystems.


Poznámky _____

6

Údržba přístroje

V této kapitole naleznete:

- Monitorování systému 7500/7500 Fast.....56
 - Zobrazení záznamu (log)56
 - Monitorování stavu přístroje.....57
 - Sledování stavu žárovky58
- Dekontaminace bloku na vzorky59
- Monitorování přístroje 7500/7500 Fast58
- Výměna halogenové žárovky63
- Výměna pojistek přístroje66
- Aktualizace operačního systému Windows.....67
- Aktualizace programu 750068

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Monitorování systému 7500/7500 Fast

Stav Real-Time PCR systému Applied Biosystems 7500/7500 Fast můžete sledovat pomocí nástrojů Function Test (Funkční test), Lamp Status/Replacement (Stav žárovky/Výměna) a Instrument Log (Záznam činnosti přístroje) v programu 7500. Tyto nástroje umožňují sledovat, zda je přístroj v pořádku, kontrolovat stav žárovky a zobrazovat aktuální záznamy o činnosti přístroje.

Zobrazení záznamu (log)

Záznam činnosti přístroje (Instrument Log) umožňuje zobrazit aktuální záznamy o činnosti přístroje 7500/7500 Fast. Zobrazuje hlavní události během posledních 25 běhů (včetně kalibrací), nebo události vztahující se pouze ke specifickému souboru EDS.

- Zobrazení záznamu
1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Events Log** (Přístroj > Záznam činnosti).
 2. V dialogovém okně zvolte jednu z možností:
 - **System Log** – Zobrazuje hlavní události během posledních 25 běhů (experimentů) nebo kalibrací.
 - **Document Log** – Zobrazuje události vztahující se k aktuálně otevřenému experimentu.
 3. V případě potřeby můžete data zobrazená v tabulce filtrovat nebo přidávat či vymazávat sloupce.

Chcete-li...	Krok
Filtrovat údaje v tabulce událostí	<ol style="list-style-type: none"> 1. V rozbalovací nabídce Filter (Filtr) zvolte vlastnost. 2. V rozbalovací nabídce zvolte podmínky. 3. Klikněte Apply, čímž data filtrujete . Poznámka: Chcete-li filtr vymazat, zvolte Filter > Show All Records (Filtr > Zobrazit všechny záznamy).
Přidat nebo vymazat sloupce v tabulce	Klikněte Show Columns (Zobrazit sloupce), poté zvolte požadovaný sloupec z nabídky.
Třídít data v tabulce	Klikněte do záhlaví sloupce, čímž data setřídíte vzestupně. Klikněte do záhlaví sloupce znovu, čímž data setřídíte v opačném pořadí.
Exportovat obsah záznamu	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte řádky v tabulce, 2. Stiskem Ctrl+C kopírujte data. 3. Vložte data do tabulkového editoru nebo textového souboru. Poznámka: Exportovaná data jsou oddělena tabelátorem.

4. Chcete-li ukončit zobrazení záznamu, zavřete dialogové okno.

Poznámky _____

Monitorování stavu přístroje

Dialogové okno Function Test (Funkční testy) umožňuje provedení diagnostiky hlavních součástí přístroje 7500/7500 Fast. Funkční testy není zapotřebí provádět, nemáte-li podezření na selhání hardwaru nebo vás k tomu nevyzve zástupce společnosti Applied Biosystems.

Provedení funkčních testů

1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Function-Test** (Přístroj > Funkční testy).
2. Proveďte funkční testy podle potřeby.

Chcete-li testovat:

- Všechny součásti systému – Klikněte **All Tests** (Všechny testy), poté vyčkejte, než program provede všechny funkční testy.

- Jednu či více součástí systému – zvolte:

USB – Testuje USB spojení mezi přístrojem 7500/7500 Fast a počítačem. Test je úspěšný, pokud program 7500 naváže komunikaci s přístrojem 7500/7500 Fast.

CCD – Testuje CCD kameru přístroje 7500/7500 Fast. Test je úspěšný, pokud kamera snímá obraz.

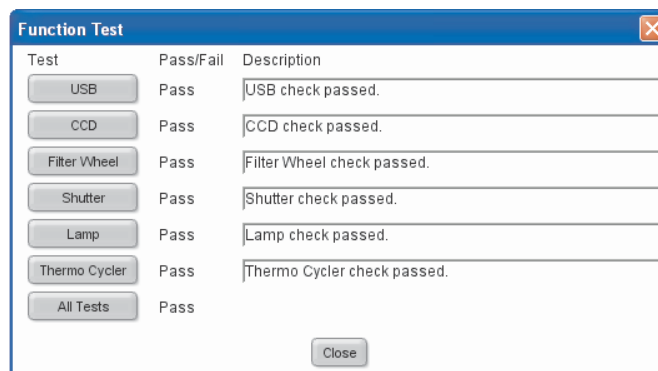
Filter Wheel – Testuje filtry přístroje 7500/7500 Fast. Test je úspěšný, pokud je k dispozici správná verze firmware.

Shutter – Testuje optickou závěrku přístroje 7500/7500 Fast. Test je úspěšný, pokud je k dispozici správná verze firmware.

Lamp – Testuje halogenovou žárovku přístroje 7500/7500 Fast. Test je úspěšný, pokud je k dispozici správná verze firmware.

Thermal Cycler – Testuje teplotní cykler přístroje 7500/7500 Fast. Test je úspěšný, pokud je k dispozici správná verze firmware.

Po skončení testů program 7500 ohlásí jejich úspěšnost (Pass) /neúspěšnost (Fail).



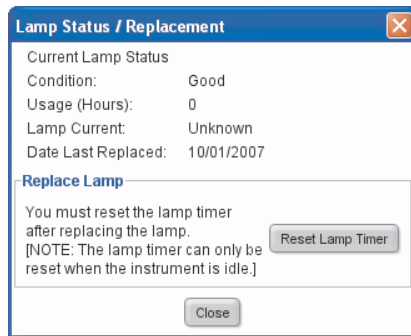
3. Po ukončení testů klikněte **Close** (Zavřít).

Poznámky _____

Sledování stavu žárovky

Funkce Lamp Status/Replacement (Stav žárovky) umožňuje sledovat stav žárovky, kterou přístroj 7500/7500 Fast využívá k osvětlení vzorků v průběhu běhu.

Ověření stavu žárovky V programu 7500 zvolte **Instrument > Lamp Status/Replacement** (Přístroj > Stav žárovky), abyste ověřili stav halogenové žárovky.



V dialogovém okně Lamp Status/Replacement (Stav žárovky):

- **Condition** – označuje jednu z následujících možností:
 - **Good** – (Dobrý) Žárovka funguje normálně. Není potřeba ji měnit. Klikněte **Close** (Zavřít).
 - **Failed** – (Špatný) Žárovku je nutné vyměnit. Klikněte **Close** (Zavřít), poté vyměňte žárovku podle popisu v části “Výměna halogenové žárovky” na straně 63.
 - **Change Soon** – (Výměna brzy) Žárovka je používána více než 2000 hodin. Je doporučeno ji brzy vyměnit. Klikněte **Close** (Zavřít), poté se rozhodněte, zda žárovku vyměníte. Rozhodnete-li se žárovku vyměnit, postupujte podle pokynů v části “Výměna halogenové žárovky” na straně 63.
- **Usage (Hours)** – (Doba používání – hod) Celkový počet hodin, kdy byla žárovka používána.
- **Lamp Current** – (Proud) Výstupní proud v ampérech (A). Nízké hodnoty mohou naznačovat brzké selhání žárovky.
- **Date Last Replaced** – Datum poslední výměny.

Výstraha Program 7500 může během běhu zobrazit následující varování:

Zpráva	Popis
Warning – Cannot detect sufficient current from lamp. Either lamp is not installed properly or needs to be replaced.	Na začátku běhu je proud žárovky příliš nízký. Běh nelze provést, dokud nevyměníte žárovku podle popisu v části “Výměna halogenové žárovky” na straně 63.
Warning – Cannot detect sufficient current from lamp. Either lamp is not installed properly or needs to be replaced.	Program 7500 zastavil běh, poněvadž proud žárovky poklesl během běhu pod přijatelnou úroveň. Běh nelze provést, dokud nevyměníte žárovku podle popisu v části “Výměna halogenové žárovky” na straně 63. Klikněte OK , zkontrolujte záznam (log), poté vyměňte žárovku.
Warning - The lamp usage has exceeded 2000 hr. We recommend replacing the lamp soon to ensure optimal assay performance.	Žárovka je používána déle než 2000 hod (před zahájením běhu). Klikněte Cancel Run (Zrušit běh), vyměňte žárovku, nebo klikněte Continue Run (Pokračovat v běhu). Provedte znovu kalibrace ROI, pozadí, optickou a barev.

Poznámky _____

Dekontaminace bloku na vzorky

Následující procedura vysvětluje jak odstranit fluorescenční kontaminace z bloku na vzorky přístroje 7500/7500 Fast. Proved'te tuto proceduru mají-li běhy pro kalibraci pozadí problematický průběh s jednou nebo více jamkami s abnormálně vysokými signály, což je známka přítomnosti fluorescenční kontaminace.

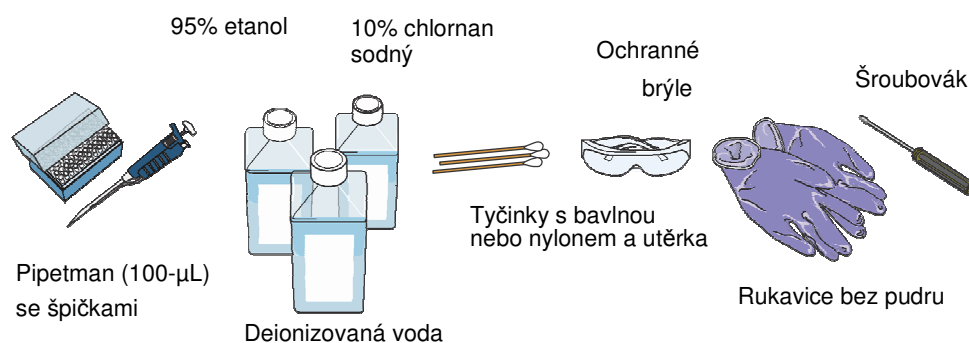
CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Neodstraňujte kryt přístroje. Uvnitř systému. 7500/7500 Fast nejsou žádné součásti, které můžete bezpečně sami opravit. Domníváte-li se, že existuje nějaký problém, kontaktujte servisního technika společnosti Applied Biosystems.

CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu

CAUTION Před použitím jiné než výrobcem doporučené metody čištění či dekontaminace si u výrobce ověřte, že zvolená metoda nemůže způsobit poškození přístroje.

Potřebná doba 30 minut

Potřebné pomůcky



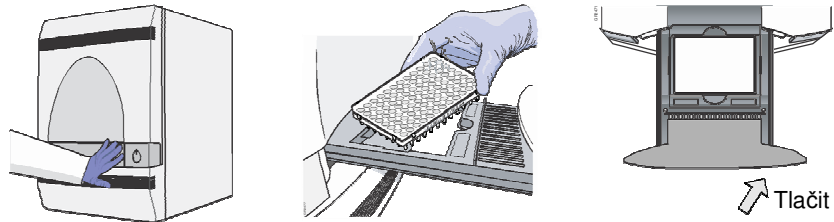
Čištění bloku na vzorky

DŮLEŽITÉ! Při provádění této operace používejte rukavice bez pudru..

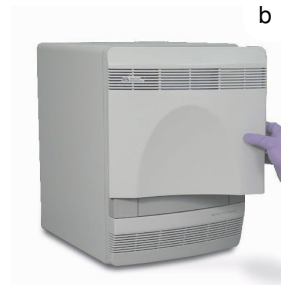
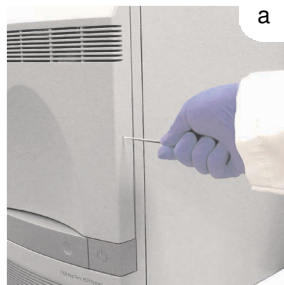
1. Identifikujte kontaminované jamky bloku na vzorky (viz “[Určení kontaminace](#)” na straně 30).
2. Vyjměte destičku a držák z přístroje 7500/7500 Fast:
 - a. Stiskem otevřete zásuvku.
 - b. Vyjměte destičku a držák.

Poznámky _____

- c. Uzavřete zásuvku. Zatlačte na její pravé straně a pod úhlem.



3. Manuálně přesuňte blok do horní pozice:
- V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
 - V záložce ROI okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Start Manual Calibration** (Spustit ruční kalibraci).
 - V dialogovém okně ROI Inspector klikněte **Move Block** (Přesunout blok).
 - Jakmile dialogové okno ROI Inspector zobrazí “Block Down” (Blok dole), klikněte **Done** (Hotovo).
4. Vypněte a vypojte systém 7500/7500 Fast ze zásuvky. Nechte jej vychladnout 15 min.
5. Otevřete dvířka přístroje 7500/7500 Fast.
- Vložte tenký šroubovák do otvoru na okraji dvířek a tlakem otevřete dvířka.
 - Otevřete dvířka.

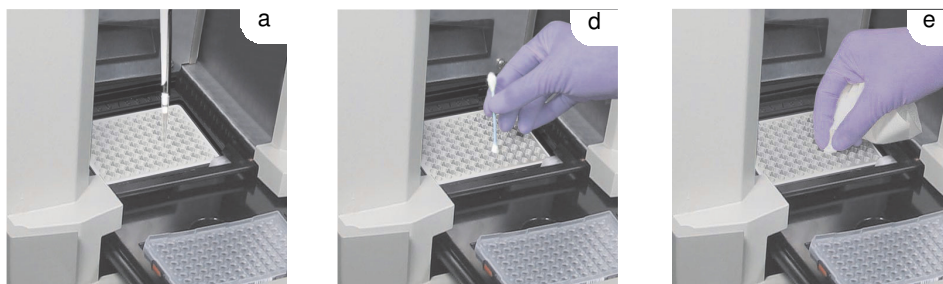


6. Zvedněte západku a zatlačte vyhřívaný vnitřní kryt dozadu.

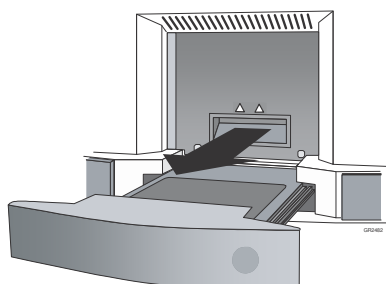


Poznámky _____

7. Vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky pomocí malého množství deionizované vody:
 - a. Pipetujte malý objem deionizované vody do všech kontaminovaných jamek.
 - b. Vypláchněte jamku několikrát pipetováním vody nahoru a dolů.
 - c. Pipetujte vodu do odpadu.
 - d. Pomocí tyčinky s bavlnou několikrát vytřete vnitřek každé kontaminované jamky.
 - e. Vysušte zbytky deionizované vody utěrkou, která nepouští vlákna.



8. Tažením vysuňte vyhřívaný vnitřní kryt přístroje úplně dopředu. Zvedněte západku a zajistěte vyhřívaný vnitřní kryt do příčné lišty.



9. Uzavřete dvířka přístroje 7500/7500 Fast.



10. Připojte systém 7500/7500 Fast do zásuvky a zapněte jej.
11. Proved'te běh pro kalibraci pozadí, abyste ověřili, že se vám podařilo kontaminaci odstranit (viz "Provedení kalibrace pozadí" na straně 20).

Poznámky _____

12. Je-li kontaminace stále přítomna, opakujte [kroky 1 až 6](#), poté vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky pomocí malého objemu 95% etanolu:
 - a. Pipetujte malý objem 95% etanolu do všech kontaminovaných jamek.
 - b. Vypláchněte jamku několikrát pipetováním etanolu nahoru a dolů.
 - c. Pipetujte etanol do odpadu.

DŮLEŽITÉ! Po čišění pomocí chlornanu sodného nebo etanolu vždy vypláchněte jamky pomocí deionizované vody.

13. Opakujte [kroky 7 až 11](#) – opláchněte jamky bloku na vzorky a ověřte, že jste kontaminaci odstranili.
14. Je-li kontaminace stále přítomna, opakujte [kroky 1 až 6](#), poté vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky pomocí 10% roztoku chlornanu sodného:
 - a. Pipetujte malý objem 10% roztoku chlornanu sodného do všech kontaminovaných jamek.
 - b. Vypláchněte jamku několikrát pipetováním roztoku chlornanu sodného nahoru a dolů.
 - c. Pipetujte roztok chlornanu sodného do odpadu.

DŮLEŽITÉ! Po čišění pomocí chlornanu sodného nebo etanolu vždy vypláchněte jamky pomocí deionizované vody.

15. Opakujte [kroky 7 až 11](#) – opláchněte jamky bloku na vzorky a ověřte, že jste kontaminaci odstranili.
Je-li kontaminace stále přítomna, kontaktujte technickou podporu společnosti Applied Biosystems (viz [“Kde získat podporu” na straně x](#)).
16. Ujistěte se, že je vyhřívaný vnitřní kryt úplně uzavřen a zajištěn. Pokud ne, zobrazí se chybová hláška.

Výměna halogenové žárovky

Vyměňte halogenovou žárovku po zhruba 2000 hodinách provozu.

! WARNING RIZIKO VZNIKU PORANĚNÍ. Systém 7500/7500 Fast a žárovka jsou horké! Je-li žárovka používána, může být velice horká. Vyčkejte dostatečně dlouhou dobu, než se žárovka ochladí, a při manipulaci s ní použijte ochranné rukavice bez pudru.

! CAUTION RIZIKO VZNIKU PORANĚNÍ. Při manipulaci se žárovkou používejte jednorázové rukavice bez pudru, abyste zabránili popálení a zkrácení životnosti instalované žárovky.

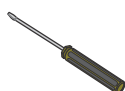
! WARNING V přístroji se smí používat pouze 12V, 75W halogenová žárovka.

Potřebná doba 30 min

Potřebné
pomůcky



Halogenová
žárovka
(12 V, 75 W)



Šroubovák,
malý



Rukavice
bez pudru



Ochranné
brýle

Výměna žárovky

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci se žárovkou používejte rukavice bez pudru.

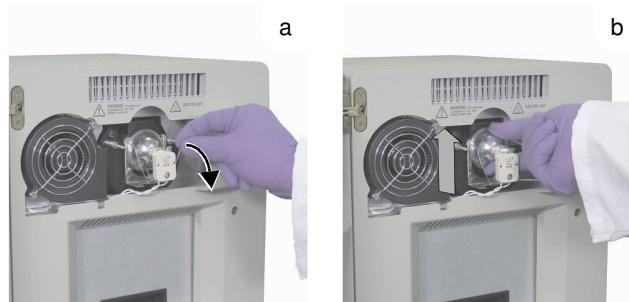
1. Vypněte a vypojte systém 7500/7500 Fast ze zásuvky. Nechte jej vychladnout 15 min.
2. Otevřete dvířka přístroje 7500/7500 Fast:
 - a. Vložte tenký šroubovák do otvoru na okraji dvířek a tlakem otevřete dvířka.
 - b. Otevřete dvířka.



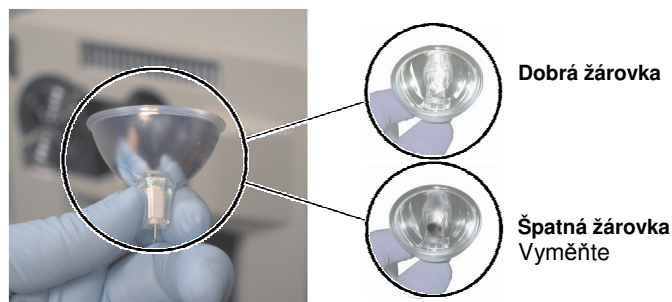
Poznámky _____

3. Vyměňte žárovku z přístroje:
 - a. Vyklepnete páčku, zajišťující žárovku, směrem dopředu.
 - b. Pevně uchopíte žárovku a vyjměte ji směrem vzhůru a ven z úchyty.

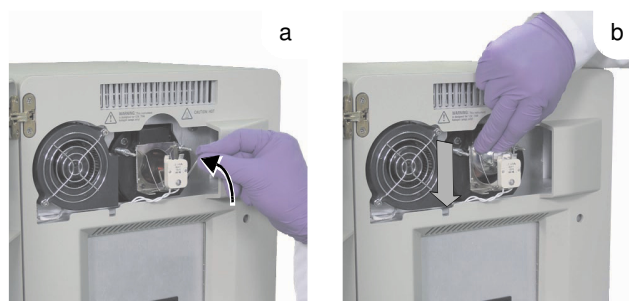
DŮLEŽITÉ! Nedotýkejte se žárovky nemáte-li rukavice bez pudru. Zkracujete tak její životnost.



4. Posuďte stav žárovky (vnitřek špatné žárovky bývá černě potažen).



5. Vložte do přístroje novou žárovku:
 - a. Zaklopte páčku, zajišťující žárovku, směrem nahoru.
 - b. Pevně uchopíte žárovku, vložte ji do úchyty a opatrně zasuňte směrem dolů na její místo.



Poznámky _____

6. Uzavřete dvířka.



7. Připojte systém 7500/7500 Fast do zásuvky a zapněte jej.

8. Otevřete dialogové okno ROI Inspector:

- V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
- V záložce ROI okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Start Manual Calibration** (Spustit ruční kalibraci).

9. V dialogovém okně ROI Inspector klikněte **Lamp Control > Idle** (Kontrola žárovky > Nečinná).

10. Za běhu přístroje se podívejte skrze otvory jeho dvířek a ověřte, že žárovka svítí, poté klikněte **Done** (Hotovo).



Měli byste vidět světlo

11. Pokud žárovka svítí, zvolte **Instrument > Lamp Status/Replacement** (Přístroj > Kontrola stavu žárovky), poté klikněte **Reset Lamp Timer** (Vynulovat časovač žárovky), poté klikněte **OK**.

Pokud žárovka nesvítí, může být vadná. Vyměňte ji za novou. Nesvítí-li ani ta, zkontrolujte pojistky přístroje (viz strana 66).

12. Po výměně žárovky proveďte níže uvedené kalibrace. Viz:

- [Kapitola 2 Provedení kalibrace ROI \(Regions of Interest\)](#)
- [Kapitola 3 Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace](#)
- [Kapitola 4 Provedení kalibrace barev](#)
- [Kapitola 5 Ověření funkčnosti přístroje](#)

Poznámky _____

Výměna pojistek přístroje

V případě jejich selhání vyměňte pojistky přístroje 7500/7500 Fast.



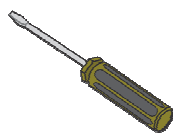
CAUTION NEBEZPEČÍ POŽÁRU. Z důvodu ochrany před rizikem vzniku požáru používejte pro výměnu pouze certifikované pojistky typu a jmenovitého proudu shodného s pojistkami, které jsou v přístroji umístěny.

Potřebná doba 30 min

Potřebné pomůcky



Pojistky (2),
12.5 A, 250 V,
5 x 20 mm



Plochý
šroubovák



Rukavice
bez pudru



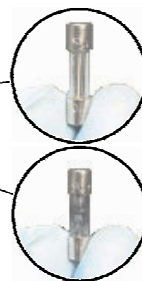
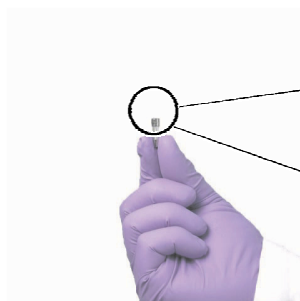
Ochranné
brýle

Výměna
pojistek

1. Vypněte přístroj a vypojte jej ze zásuvky.
2. Pomocí plochého šroubováku vyšroubujte a vyjměte držáky pojistek z přístroje.



3. Vyjměte každou pojistku z jejího držáku a ověřte zda je v pořádku. Vnitřek špatné pojistky bývá černě potažen.



Dobrá pojistka

Špatná pojistka
Vyměňte

Poznámky _____

4. Vyměňte špatné pojistky za nové 12.5 A, 250 V, 5 × 20-mm fuse.

Poznámka: Hodnoty napětí a proudu jsou na držáku pojistky.

5. Vraťte držák pojistek zpět do přístroje.



6. Připojte systém do zásuvky a zapněte jej.

Pokud se přístroj zapne, byla instalace úspěšná.

Poznámka: Defekt pojistek může být důsledkem kolísání elektrické sítě. Chcete-li tento vliv eliminovat, zvažte používání elektrického ochranného zařízení. Více informací o pojistkách viz příručka *7500/7500 Fast Site Preparation Guide*.

Aktualizace operačního systému Windows

Neaktualizujte operační systém Microsoft Windows® počítače s programem 7500 pokud jste nekonzultovali dokumentaci programu (release notes) nebo internetové stránky společnosti Applied Biosystems. Novější verze operačního systému Windows® a jeho aktualizace nemusí být kompatibilní s programem 7500.

Kompatibilita aktualizací

1. Otevřete adresář **D:\Applied Biosystems\7500 Software v2.0**, dvakrát klikněte na soubor **release-notes.html** a ověřte kompatibilitu.
2. Není-li v tomto souboru informace, kterou hledáte, vyhledejte tuto informaci na stránkách **www.appliedbiosystems.com**.
3. Není-li požadovaná informace ani tam, kontaktujte společnost Applied Biosystems (viz **“Kde získat pomoc”** na straně x).

Poznámky _____

Aktualizace programu 7500

Chcete-li aktualizovat program 7500, proveďte export údajů, uložených v knihovnách vaší stávající verze programu, a zálohujte výsledky experimentů.

Internetová stránka Applied Biosystems Aktualizace programu 7500 získáte přímo na internetové stránce Applied Biosystems. Nejnovější servisní informace a informace technické podpory pro přístroj 7500/7500 Fast získáte:

1. Otevřete stránku <https://www2.appliedbiosystems.com/support/software/>
2. Na stránce ke stažení softwaru zvolte z rozbalovací nabídky typ přístroje.
3. Na následující stránce zvolte **Updates – Patches** (Aktualizace – Opravné balíčky).

Otevře se stránka s nejnovějšími aktualizacemi softwaru 7500.

Příprava na aktualizaci Před aktualizací programu 7500:

1. Zálohujte knihovny:
 - a. V hlavní nabídce programu 7500 zvolte **Tools** <desired library> (Nástroje <požadovaná knihovna>).
 - b. Otevře se dialogové okno příslušné knihovny, zvolte, které položky chcete exportovat, a klikněte **Export**.
 - c. V dialogovém okně Export klikněte **Save** (Uložit), čímž archivujete vybrané položky.
 - d. Opakujte kroky 1a až 1c pro každou knihovnu.
2. Zálohujte výsledky experimentů – vytvořte kopii adresáře, který používáte pro uchování souborů s výsledky experimentů.

Přednastavený adresář pro soubory experimentů je:

D:\Applied Biosystems\7500\experiments




Uložení, přemísťování a zprovoznění systému 7500/7500 Fast

A

V této kapitole naleznete:

- Dlouhodobé uložení systému 7500/7500 Fast.....70
- Přemísťování systému 7500/7500 Fast.....71
- Zprovoznění systému 7500/7500 Fast.....73

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR Software v2.0, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > 7500 Software Help**.

Poznámky _____

Dlouhodobé uložení systému 7500/7500 Fast

Systém Applied Biosystems 7500/7500 Fast lze vypnout a na delší dobu vyřadit z provozu. Délka tohoto vyřazení z provozu ovlivní postup jak přístroj vypnout.

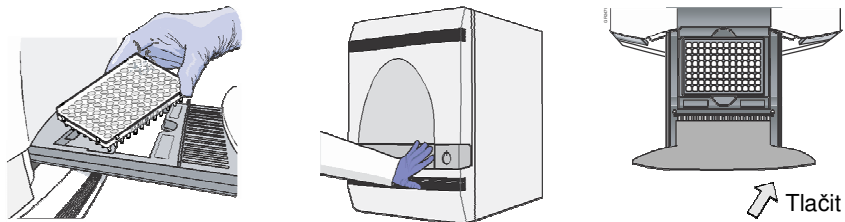
Potřebná doba 5 min

Potřebné pomůcky ABI PRISM® optická 96-jamková destička nebo optická 96-jamková destička Fast (nová).

- Příprava přístroje
1. Otevřete zásuvku přístroje.
 2. Je-li v zásuvce destička, vyjměte ji.
 3. Plánujete-li systém 7500/7500 Fast odstavit z provozu na více než týden nebo plánujete přístroj přemístit, vložte do přístroje nepoužitou destičku.

Poznámka: Nepoužitá destička chrání vnitřní součásti přístroje 7500/7500 Fast během přemísťování nebo během odstávky trvající déle než jeden týden.

4. Uzavřete zásuvku.



5. Vypněte přístroj.
6. Vypněte počítač a monitor:
 - a. Zvolte **Start > Shut Down** (Start > Vypnout).
 - b. V dialogovém okně Shut Down (Vypnout počítač) zvolte **Shut Down** (Vypnout).
 - c. Vypněte monitor.

Poznámky _____

Přemísťování systému 7500/7500 Fast

Tímto způsobem bezpečně přemístíte systém 7500/7500 Fast na krátké vzdálenosti (např. mezi dvěma laboratořemi v téže budově).



CAUTION

RIZIKO VZNIKU PORANĚNÍ. Nepokoušejte se zvedat přístroj nebo jiné těžké předměty, pokud nejste poučeni o správném postupu této činnosti. Nesprávný postup zvedání může vést ke vzniku bolestivého a někdy i trvalého poranění zad. Používejte proto při zvedání nebo přenášení přístroje správný postup. Pro zvedání přístroje 7500/7500 Fast je zapotřebí minimálně dvou osob.

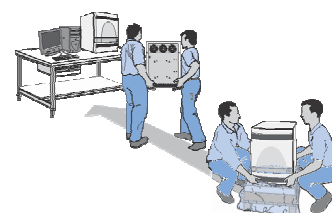
DŮLEŽITÉ! Přemísťování vašeho Real-Time PCR přístroje Applied Biosystems 7500/7500 Fast může způsobit drobné změny v nastavení optického systému.

Potřebné pomůcky

ABI PRISM® optická 96-jamková destička nebo optická 96-jamková destička Fast (nová).

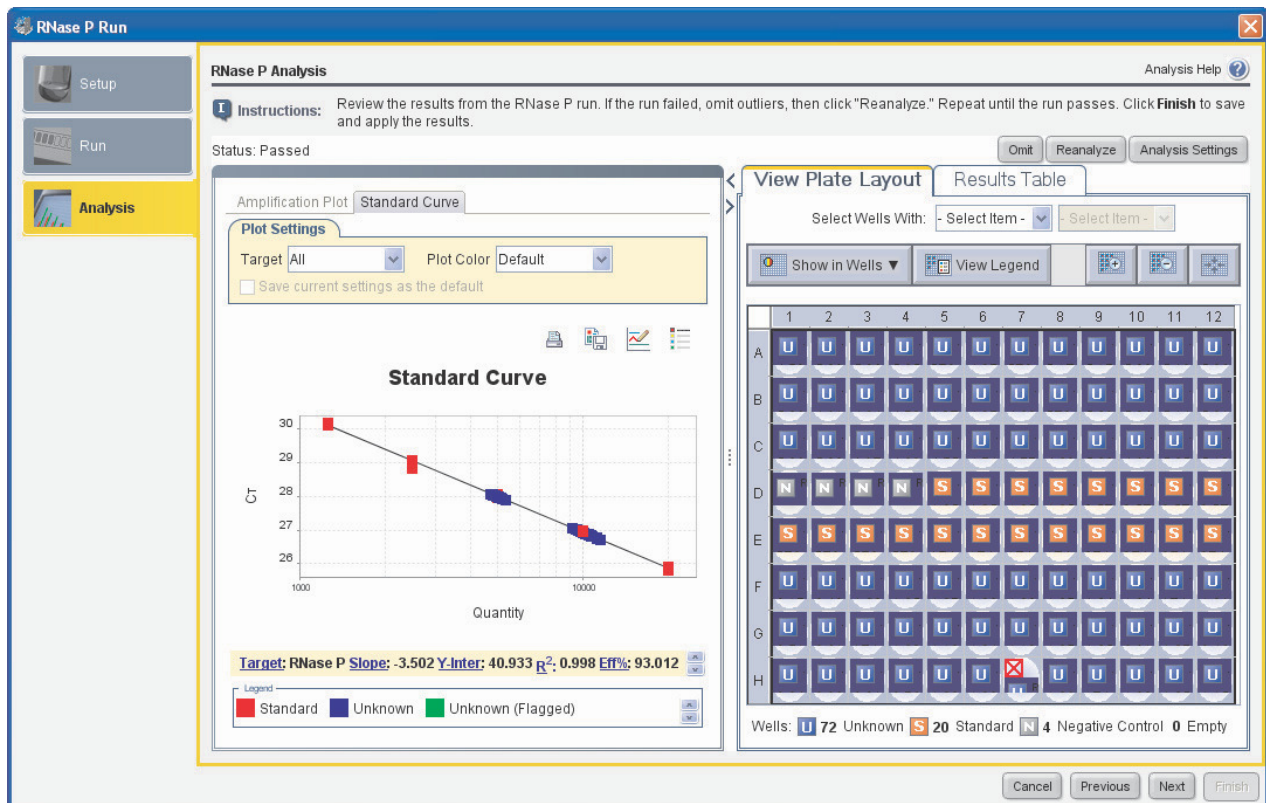
Příprava přístroje

1. Vložte do přístroje 7500/7500 Fast nepoužitou destičku.
2. Manuálně přesuňte blok do horní pozice:
 - a. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
 - b. V záložce ROI okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Start Manual Calibration** (Spustit ruční kalibraci).
 - c. V dialogovém okně ROI Inspector klikněte **Move Up** (Blok nahoru)
3. Vypněte přístroj 7500/7500 Fast a počítač.
4. Odpojte všechny součásti systému 7500/7500 Fast.
5. Přemísťujte systém 7500/7500 Fast podle těchto doporučení:
 - Ověřte, že plocha, na kterou chcete přístroj umístit, má nosnost alespoň 54,5 kg (120 liber).
 - Ověřte, že na trase předpokládaného transportu přístroje nejsou žádné překážky.
 - Udržujte svou páteř v neutrální pozici.
 - Podřepněte v kolenou a zvedejte propnutím nohou.
 - Nezvedejte předmět při současném otáčení se.
 - Před zvedáním a přenášením se na jednotlivých krocích domluvte s tím, kdo s vámi tuto činnost provádí.



Poznámky _____

6. Propojte jednotlivé součásti systému 7500/7500 Fast (viz “Zprovoznění systému 7500/7500 Fast ” na straně 73).
7. Proved'te běh s destičkou pro ověření funkčnosti přístroje TaqMan® RNáza P (viz strana 45).
 - a. Pokud se běh zdaří, není nutné přístroj znovu kalibrovat.
 - b. Pokud se běh nezdaří, proved'te novou kalibraci přístroje podle kroků 8 až 12.



8. Proved'te kalibraci ROI (viz strana 13).
9. Proved'te kalibraci pozadí (viz strana 23).
10. Proved'te optickou kalibraci (viz strana 25).
11. Proved'te kalibraci barev (viz strana 32).
12. Proved'te ověření funkčnosti přístroje (viz strana 45).

Poznámky _____

Zprovoznění systému 7500/7500 Fast

Zprovoznění počítače Informace o zprovoznění počítače k přístroji 7500/7500 Fast naleznete v příručce *Applied Biosystems Real-Time System Computer Setup Guide*.

Zprovoznění přístroje 7500/7500 Fast **DŮLEŽITÉ!** Nepřipojujte USB kabel k přístroji 7500/7500 Fast dokud vás k tomu tato příručka nevyzve.

Potřebné pomůcky

- malý a tenký šroubovák
- přívodní šňůra

Zprovoznění systému 7500/7500 Fast

1. Připravte místo instalace podle popisu v příručce *Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Site Preparation Guide*.
2. Otevřete dvířka přístroje 7500/7500 Fast.
 - a. Vložte tenký šroubovák do otvoru na okraji dvířek a tlakem otevřete dvířka.
 - b. Otevřete dvířka.
3. Ověřte, že vnitřní vyhřívaný kryt je plně vysunut do přední pozice. Je-li přístroj 7500/7500 Fast vybaven západkou vyhřívaného krytu, ujistěte se, že západka je zajištěna.
4. Ověřte, že během přemísťování nedošlo k poškození přístroje 7500/7500 Fast.

Došlo-li k poškození přístroje, poznamenejte si místo a rozsah poškození a kontaktujte technickou podporu nebo servis Applied Biosystems.
5. Uzavřete dvířka.
6. Připojte přívodní šňůru k přístroji 7500/7500 Fast a poté do zásuvky.

Poznámka: Jsou dodávány přívodní šňůry pro různé napětí. Zvolte šňůru odpovídající vaší elektrické síti a ostatní šňůry vyhodte.

7. Stiskněte hlavní spínač vlevo dole na předním panelu, poté vyčkejte náběhu přístroje 7500/7500 Fast (asi 30 sec).

Poznámky _____



8. Rozsvítí-li se stavová dioda na předním panelu vlevo dole, stiskem otevřete zásuvku přístroje.
9. Vyjměte transportní destičku a odložte ji stranou.
10. Uzavřete zásuvku a vypněte přístroj.

Poznámka: Instalujte další hardware.

DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte zatím kabel USB k přístroji 7500/7500 Fast.

11. Ověřte, že v počítači je instalován program 7500.
Pokud v počítači není instalován program 7500, instalujte program Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System Software v2.0 Software z CD.
12. Poté co jste ověřili, že v počítači je instalován program 7500, připojte USB kabel k přístroji 7500/7500 Fast.

Poznámky _____

B

Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy

Real-Time PCR systémy 7500/7500 Fast společnosti Applied Biosystems lze využít pro reakce používající vlastní barvy (barvy nevyráběné společností Applied Biosystems). Tyto barvy musí emitovat fluorescenci ve spektrálním rozsahu 520 až 650 nm měřitelném těmito systémy.

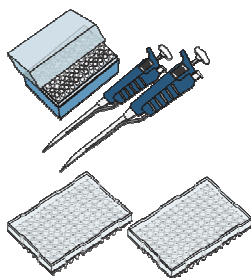
Před použitím vlastních barev

Před použitím vlastních barev na přístrojích 7500/7500 Fast musíte:

- Stanovit optimální koncentraci barvy
- Vytvořit vlastní destičku pro kalibraci barvy
- Přidat tuto barvu do programu
- Provést kalibraci barvy (viz [Kapitola 4 “Provedení kalibrace barev.”](#))

Potřebné pomůcky

Pipetman se špičkami (200- μ L a 1000- μ L)

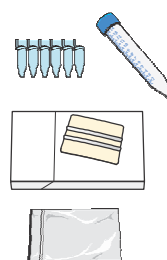


ABI PRISM® optická 96-jamková destička a optická 96-jamková destička Fast

Voda, deionizovaná



Zkumavky (2-mL a 10-mL)



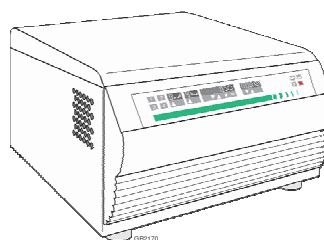
Optická adhezivní fólie nebo optická plochá víčka

Ochranné brýle



Rukavice bez pudru

Vlastní barva(y)



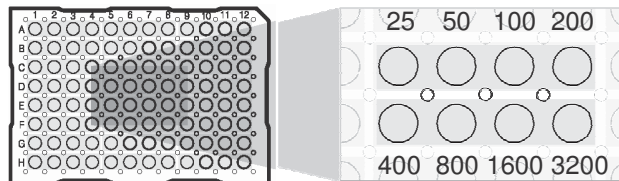
Centrifuga s adaptérem na destičky

Poznámky _____

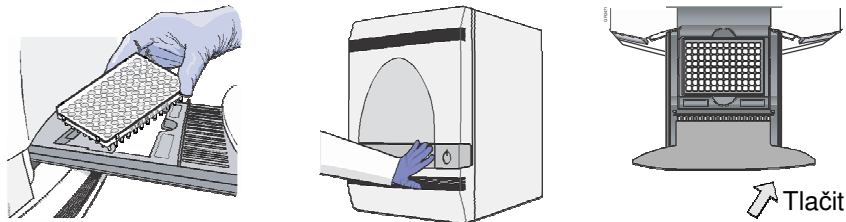
Stanovení optimální koncentrace barvy

DŮLEŽITÉ! Při vytváření vlastní destičky pro kalibraci barvy používejte rukavice bez pudru.

1. Ve středních jamkách 96-jamkové destičky připravte ředící řady vlastních barev (například 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 a 3200 nM) v objemu 50- μ L pro systém 7300/7500 a 20- μ L pro systém 7500 Fast.






2. Uzavřete jamky reakční destičky pomocí optické adhesivní fólie.
3. Vložte připravenou destičku:
 - a. Stiskem otevřete zásuvku.
 - b. Umístěte destičku pro kalibraci barvy do držáku destičky.
 - c. Uzavřete zásuvku.



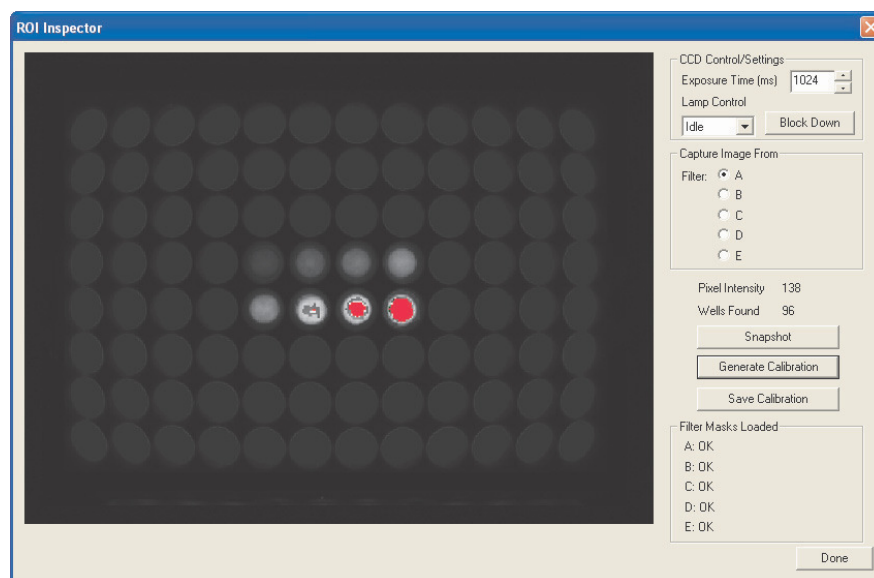
4. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
5. V záložce ROI okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Start Manual Calibration** (Spustit ruční kalibraci).
6. V okně ROI Inspector vytvořte obraz ROI pro každý filtr, začněte filtrem 1:
 - a. Nastavte dobu expozice (Exposure Time) na **1024**.
 - b. Klikněte **Block Up** (Blok nahoru).
 - c. Zvolte **Filter 1** (Filtr 1).
 - d. Klikněte **Snapshot** (Snímek).

Poznámky _____

e. Ověřte nasycení obrazu.

Nenasycený	Normální nasycení	Přesycení
		
Dobře	Špatně	

f. Zaznamenejte, která jamka dává nejjasnější signál bez saturace. Tato jamka obsahuje nejlepší koncentraci vaší vlastní barvy pro filtr 1.



7. Opakujte kroky 6c až 6f pro zbývající filtry.

8. Poté co stanovíte optimální koncentraci pro každý filtr, stanovte optimální koncentraci pro vlastní barvu:

- Porovnejte výsledky ze všech filtrů.
- Zvolte koncentraci, která dává nejjasnější signál ve všech filtrech, ale bez saturace.

Poznámky _____

Vyjmutí destičky



CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

1. V dialogovém okně ROI Inspector klikněte **Block Down** (Blok dolů).
2. Vyjměte destičku z přístroje:
 - a. Stiskem otevřete zásuvku.
 - b. Vyjměte destičku.
 - c. Zasuňte zásuvku zpět do přístroje.

Poznámka: Pokud se vám nedaří zásuvku otevřít, je možné, že blok je v horní pozici a brání jejímu vysunutí. Klikněte **Move Down** (Přesun dolů), poté klikněte **Block Down** (Blok dolů), čímž blok přesunete dolů.

3. Klikněte **Done** (Hotovo).

Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy

DŮLEŽITÉ! Při vytváření destičky používejte rukavice bez pudru.

1. Připravte 5 mL (systém 7500) nebo 2 mL (systém 7500) vlastní barvy v koncentraci stanovené v [kroku 8 na straně 77](#).
2. Pipetujte 50 µL (systém 7500) nebo 20 µL (systém 7500 Fast) takto ředěné vlastní barvy do všech jamek optické reakční destičky.
3. Pomocí optické adhezivní fólie destičku uzavřete.

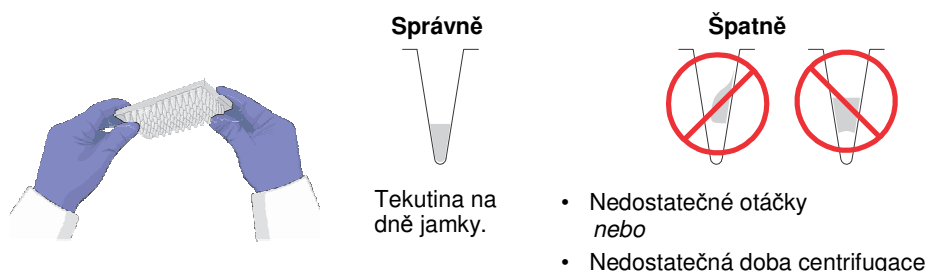


4. Centrifugujte destičku 2 min při ne více než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destička musí být dobře promíchána a centrifugována.

Poznámky _____

5. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.



Přidání vlastní barvy do programu

1. V programu 7500 zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
2. Ve správci údržby přístroje:
 - a. Zvolte záložku **Dye** (Barva).
 - b. Zvolte **Custom Dye Calibration** (Kalibrace vlastní barvy).
 - c. Klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
3. V dialogovém okně Dye Calibration (Kalibrace barvy) zvolte barvu ze seznamu, nebo vytvořte novou barvu takto:
 - a. Klikněte **New Dye** (Nová barva).
 - b. V dialogovém okně Dye Manager (Správce barev) klikněte **New** (Nová).
 - c. Vyplňte dialogové okno New Dye (Nová barva), poté klikněte **OK**.

Pole	Krok
Name	Zadejte název vlastní barvy.
Wavelength	Zadejte vlnovou délku, při níž barva emituje fluorescenci.
Type	Zvolte: <ul style="list-style-type: none"> • Reporter pokud barva funguje se zhášedčem jako reportérová indikující akumulaci PCR produktu. • Quencher (Zhášedč) pokud barva zhasí fluorescenci reportéru až do amplifikace PCR produktu. • Both (Obě) pokud barva indikuje akumulaci PCR produktu aniž potřebuje zhášedč.

- d. Klikněte **Close** (Zavřít).

Poznámky _____

4. Na obrazovce Setup (Zadání) dialogového okna Dye Calibration (Kalibrace barvy) zadejte teplotu, při níž se má provádět kalibrace.

Poznámka: Nastavte takovou teplotu, při níž hodláte měřit fluorescenci. Např. teplota pro všechny systémové barvy Applied Biosystems je 60 °C, protože měření fluorescence za použití reagentů TaqMan® probíhá během extenze PCR produktu při 60 °C.

5. Zvolte **The custom dye plate is loaded in the instrument** (Destička pro kalibraci vlastní barvy je vložena do přístroje), poté klikněte **Next** (Další).

6. Na obrazovce Run klikněte **Start Run** (Spustit běh), poté vyčkejte, než systém 7500/7500 Fast dokončí kalibraci barvy.

Poznámka: Zobrazí-li program 7500 během běhu chybové hlášky, postupujte podle pokynů v části [“Řešení problémů s kalibrací barev”](#) na straně 43.

7. Zobrazí-li přístroj 7500/7500 Fast hlavní nabídku (Main Menu), vyjměte destičku pro kalibraci vlastní barvy z přístroje.

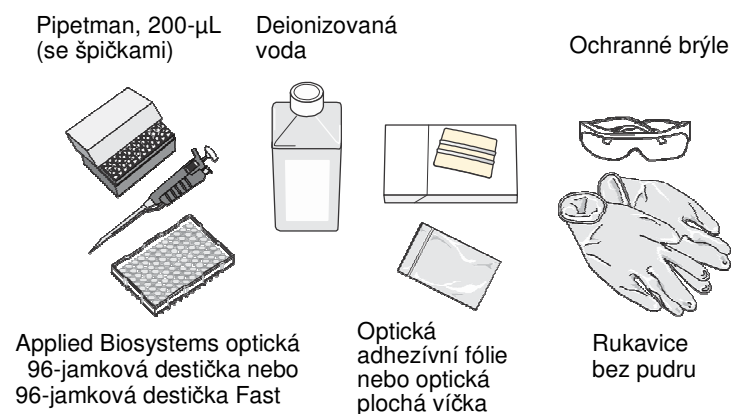
8. Analyzujte výsledky kalibrace vlastní barvy podle postupu v části [“Analýza výsledků kalibrace”](#) na straně 39.



Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci pozadí

Kdykoliv je to možné používejte destičku pro kalibraci pozadí, která je součástí spektrálního kalibračního kitu. Destičky, které jsou součástí kitu, obsahují pufr, který přesně napodobuje reagenzie používané při PCR, takže výsledkem jsou kalibrační data vysoké kvality. Není-li nicméně destička ze spektrálního kalibračního kitu k dispozici, můžete si vytvořit vlastní podle postupu níže.

Potřebné pomůcky



Vytvoření destičky pro kalibraci pozadí

DŮLEŽITÉ! Při vytváření vlastní destičky pro kalibraci pozadí používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte optickou 96-jamkovou destičku nebo optickou 96-jamkovou destičku Fast z krabice a položte ji na čistý, rovný povrch.
2. Pipetujte 50 μ L (systém 7500) nebo 20 μ L (systém 7500 Fast) deionizované vody do všech jamek optické reakční destičky.
3. Pomocí optické adhezivní fólie nebo optických plochých víček destičku uzavřete. Použijte destičku pro kalibraci pozadí stejně jako jste použili destičku pro kalibraci pozadí ze spektrálního kalibračního kitu. Viz [Kapitola 3 “Provedení kalibrace pozadí a optické kalibrace,”](#)

Poznámky _____



Poznámky _____

A

- aktualizace, operační systém 67
- analýza
 - kalibrace barev 39–42
 - kalibrace pozadí 23
 - optická kalibrace 28
 - RNáza P 51–53
 - ROI kalibrace (automatická) 12
 - ROI kalibrace (manuální) 13–15
- Applied Biosystems
 - kontakt x
 - Technická podpora x

B

- barva FAM™ 33, 41, 46
- barva CY3® 33, 41
- barva CY5® 33, 42
- barva JOE™ 33, 41
- barva NED™ 33, 41
- barva ROX™ 33, 42
- barva SYBR® Green I 33, 41
- barva TAMRA™ 41
- barva TEXAS RED 42
- barva VIC® 33, 41
- bezpečná manipulace s chemikáliemi xvii, xviii
- bezpečná manipulace s odpadem xix
- bezpečnost
 - biologické riziko xxi
 - doporučení xviii, xix
 - elektrická zařízení xx
 - ergonomie xxi
 - chemický odpad xix
 - chemikálie xvii
 - pohyblivé součásti xx
 - provoz přístroje xvi
 - před spuštěním přístroje xvi
 - přemísťování a zvedání přístroje xvi
 - standardy xxii
- bezpečnostní listy
 - popis xvii
 - získání x, xvii
- bezpečnostní označení na přístrojích xiv
- bezpečnostní standardy xxii
- bezpečnostní symboly, na přístrojích xiii

C

CCD funkční test 57

D

dekontaminace

- čistění bloku na vzorky 59–62
- identifikace kontaminace 30
- potřebné pomůcky 59

destička

- Fast 9
- kalibrace barev 35
- kalibrace pozadí 21
- RNáza P 46, 48
- ROI 9, 25
- standardní 9

destička pro kalibraci pozadí

- příprava 21
- vytvoření 81

dokumentace, související viii

doporučení, chemická bezpečnost xviii

DŮLEŽITÉ, popis xii

dvířka, otevření 63

E

EMC standardy xxii

ergonomie, bezpečnost xxi

F

Fast destička, popis 9

- nevortexovat 9

fluorescence, pozadí 20

funkční test cyklu 57

funkční test USB 57

funkční test závěrky 57

funkční testy 57

CH

chemický odpad, bezpečnost xix

I

instalace

- halogenová žárovka 63–65
- operační systém, aktualizace 67
- pojistky přístroje 66–67

K

kalibrace

- barev 32–42
- barvy (vlastní) 75–80
- optická 25–29
- pozadí 20–24
- ROI 8–17

- kalibrace barev
 - analýza 39–42
 - potřebné pomůcky 32
 - provedení 36
 - příprava 35
 - řešení problémů 43
 - spektra, 7500 41
 - vyhodnocení spekter 34
- kalibrace pozadí 20–24
 - analýza 23
 - fluorescence pozadí 20
 - potřebné pomůcky 20
 - provedení 23
 - příprava 21
 - řešení problémů 30
- kolečko s filtry, funkční test 57

N

- Nápověda ix
- nasycení, ROI kalibrace 13

O

- odlehle body 51
- odpad biologický, manipulace xix
- odstraňování odpadu xix
- operační systém, aktualizace 67
- opravné balíčky, aktualizace 67
- optická kalibrace 25–29
 - analýza 28
 - potřebné pomůcky 25
 - provedení 28
 - příprava 25
 - řešení problémů 30

P

- pojistky přístroje
 - specifikace 66
 - výměna 66–67
- potřebné pomůcky
 - dekontaminace 59
 - kalibrace barev 32
 - kalibrace pozadí 20
 - optická kalibrace 25
 - RNáza P experiment 46
 - ROI kalibrace 8
 - výměna pojistek 66
 - výměna žárovky 63
- používání této příručky vii
- provedení
 - kalibrace barev 36
 - kalibrace pozadí 23
 - optická kalibrace 28
 - RNáza P experiment 49
 - ROI kalibrace 12
- přemísťování přístroje 71

přepětí xx

příprava

- kalibrace barev 35
- kalibrace pozadí 21
- optická kalibrace 25
- RNáza P experiment 48
- ROI kalibrace 9
- ROI destička 25

přístroj

- kalibrace barev 32–42
- kalibrace barvy (vlastní) 75–80
- kalibrace pozadí 20–24
- optická kalibrace 25–29
- přemístování 71
- příprava odstavení z provozu 70
- RNáza P experiment 46–53
- ROI kalibrace 8–17
- vložení destičky 49
- zprovoznění 73

R

R2 53

radioaktivní odpad, manipulace xix

RNáza P experiment 46–53

- analýza 51–53
- potřebné pomůcky 46
- provedení 49
- příprava 48
- R2 53
- řešení problémů 54

ROI kalibrace 8–17

- analýza (automatická) 12
- analýza (manuální) 13–15
- nasycení 13
- potřebné pomůcky 8
- provedení 12
- příprava 9
- řešení problémů 17
- úspěšná 14

Ř

řešení problémů

- dekontaminace bloku na vzorky 59
- funkční testy 57
- kalibrace barev 43
- kalibrace pozadí 30
- optická kalibrace 30
- pojistky přístroje 66–67
- RNáza P experiment 54
- ROI kalibrace 17
- stav žárovky 58
- výměna žárovky 63–65
- záznam 56

S

specifikace, halogenová žárovka 63

spektra

CY3® 41

CY5® 42

FAM™ 41

JOE™ 41

NED™ 41

ROX™ 42

SYBR® Green I 41

standardní destička, popis 9

systémové barvy

CY3® 33, 41

CY5® 33, 42

FAM™ 33, 41, 46

JOE™ 33, 41

NED™ 33, 41

ROX™ 33, 42

SYBR® Green I 33, 41

TAMRA™ 33, 41

TEXAS RED® 33, 42

VIC® 33, 41

T

Technická podpora, kontakt x

test fungování žárovky 57

U

upozornění

bezpečnost xii

DŮLEŽITÉ! vii

popis příkazů vii

Poznámky vii

text vii

V

vlastní barva

destička, jak vytvořit 75–80

kalibrace 79–80

přidání do programu 79

výměna

pojistky 66–67

žárovka 63–65

výměna pojistek 66–67

potřebné pomůcky 66

výměna žárovky 63–65

bezpečnost 63

potřebné pomůcky 63

resetování časovače žárovky 58

řešení problémů 65

stav žárovky 58

životnost žárovky 63

Rejstřík

vynechání jamky 51
vynechání odlehlých bodů z běhu RNáza P 51
vynulování časovače žárovky 58
vytvoření
 destičky pro kalibraci pozadí 81
 destičky pro kalibraci vlastní barvy 75–80

Z

zprovoznění přístroje (po přemístění) 73

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.

Posláním společnosti Applera je poskytování prvotřídních technologií a informací v oblasti life science. Společnost Applera zahrnuje společnosti Applied Biosystems a Celera.

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

02/2008