

UŽIVATELSKÁ PŘÍRUČKA

applied
biosystems®
by *life* technologies™

Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR systém

ÚDRŽBA A SPRÁVA

Katalogové číslo dokumentu: 4470689 Rev. B
Datum revize: 15.6.2012



life
technologies™

Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro terapeutické či diagnostické účely u osob ani u zvířat.
Informace obsažené v tomto dokumentu se mohou změnit bez předchozího oznámení.

ZÁRUKA A ODPOVĚDNOST

SPOLEČNOST LIFE TECHNOLOGIES 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 LIFE TECHNOLOGIES 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 TÍMTO DOKUMENTEM, VČETNĚ ALE NIKOLIV VÝHRADNĚ V SOUVISLOSTI S JEHO POUŽÍVÁNÍM

UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍHO: Licence

Tímto nejsou udělena žádná práva v souvislosti s nároky vyplývajícími z jiných patentů k přístrojům, reagensům, soupravám nebo metodám jako např. 5' nukleázové reakci. Další informace týkající se získání licencí podá Director of Licensing, Life Technologies, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008 USA.

OBCHODNÍ ZNÁMKY

Zde uvedené obchodní známky jsou vlastnictvím společnosti Life Technologies nebo svých příslušných majitelů.

TaqMan je registrovaná obchodní známka společnosti Roche Molecular Systems, Inc. Twister je obchodní známka společnosti Caliper Life Sciences. Apple, Safari a Macintosh jsou obchodní známky společnosti Apple Inc. Microsoft, Windows, Excel a Internet Explorer jsou obchodní známky společnosti Microsoft. Mozilla je obchodní známka Mozilla Foundation. Adobe, Acrobat a Reader jsou registrované obchodní známky společnosti Adobe Systems, Inc. iLink je registrovaná obchodní známka společnosti Zymark Corporation.

© 2012 Life Technologies Corporation. Všechna práva vyhrazena.

Obsah

O této příručce	13
Účel	13
Komu je určena	13
Předpoklady	13
Bezpečnostní upozornění	14
Výstražná upozornění	14
Bezpečnostní listy (SDSs).....	14
Bezpečnostní označení na přístrojích	15
Jak používat tuto příručku	16
■ KAPITOLA 1 Začínáme.....	17
O systému QuantStudio™ 12K Flex	18
Sběr dat.....	18
Filtry přístroje a podporované barvy.....	19
Technické parametry systému	20
Technické parametry systému QuantStudio™ 12K Flex	20
Systém QuantStudio™ 12K Flex – Náskres a propojení.....	23
Hardware systému QuantStudio™ 12K Flex	24
Součásti přístroje	24
Čtečka čárových kódů.....	26
Součásti robota Twister®.....	27
Volba ochranných zařízení.....	29
Software systému QuantStudio™ 12K Flex.....	30
Požadavky na počítač	30
Instalace softwaru	30
Software robota Twister®.....	31
Software třetích stran	31
Spotřební materiál pro systém QuantStudio™ 12K Flex	32
Kompatibilní spotřební materiál.....	32
Pokyny pro manipulaci se spotřebním materiálem	33

■ KAPITOLA 2 Kalibrace bloků na destičky a karty	35
Doporučená kalibrace a údržba	36
Příprava karet pro kalibraci přístroje	37
Potřebné pomůcky.....	37
Plnění karet pro kalibraci.....	37
Provedení kalibrace ROI	41
Kdy provádět kalibraci	41
O kalibraci ROI	41
Příprava kalibrační destičky nebo karty.....	42
Příprava kalibrační destičky ROI	42
Provedení kalibrace.....	43
Provedení kalibrace pozadí.....	45
Kdy provádět kalibraci	45
O kalibraci pozadí.....	45
Příprava kalibrační destičky nebo karty.....	45
Příprava destičky pro kalibraci pozadí.....	46
Provedení kalibrace.....	47
Provedení kalibrace uniformity	49
Kdy provádět kalibraci	49
O kalibraci uniformity	49
Příprava kalibrační destičky nebo karty.....	49
Příprava kalibrační destičky	50
Provedení kalibrace.....	51
Provedení kalibrace barev.....	53
Kdy provádět kalibraci barev	53
O kalibraci barev.....	53
Příprava kalibrační destičky nebo karty.....	55
Příprava kalibrační destičky	55
Provedení kalibrace.....	56
Provedení kalibrace normalizace	59
Kdy provádět kalibraci	59
O kalibraci normalizace	59
Příprava kalibrační destičky nebo karty.....	59
Příprava kalibračních destiček	59
Provedení kalibrace.....	60
Ověření funkčnosti přístroje	63
Kdy provádět běh s RNázou P pro ověření funkčnosti přístroje	63
O soupravě RNáza P.....	63
O analýze	64
Instalační specifikace	65
Příprava materiálu	65
Příprava destičky TaqMan® RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje.....	65
Příprava karty pro ověření funkčnosti přístroje	66
Spuštění experimentu.....	68

Řešení problémů	71
Jak identifikovat kontaminaci	80
■ KAPITOLA 3 Kalibrace bloků na destičky OpenArray®	81
Doporučená kalibrace a údržba	82
Kalibrační plaketa OpenArray®	83
Péče o kalibrační plaketu OpenArray®	83
Provedení kalibrace pozadí	84
Potřebné pomůcky	84
Kdy provádět kalibraci	84
O kalibraci pozadí	84
Vložení plakety	85
Otočení plakety	85
Dokončení kalibrace	86
Provedení kalibrace uniformity	87
Potřebné pomůcky	87
Kdy provádět kalibraci	87
O kalibraci uniformity	87
Vložení plakety	88
Otočení plakety	88
Dokončení kalibrace	89
Provedení kalibrace barev	90
Potřebné pomůcky	90
Kdy provádět kalibraci barev	90
O kalibraci barev	91
Pokyny pro manipulaci s kalibračními komůrkami OpenArray®	91
Čtení s prázdnými komůrkami	91
Čtení s naplněnými komůrkami	92
Dokončení kalibrace	94
Ověření funkčnosti přístroje	95
Kdy provádět běh s RNázou P pro ověření funkčnosti přístroje	95
O soupravě OpenArray® RNáza P	95
Instalační specifikace	95
Manipulace s destičkou OpenArray®	95
Potřebné pomůcky	96
Příprava ověřovacího běhu	96
Inicializace systému	97
Příprava plnění	98
Plnění destičky OpenArray®	99
Uzavření destičky OpenArray®	101
Spuštění experimentu	103
Řešení problémů	105
Jak identifikovat kontaminaci	107
Záznam barvy ROX	108

■ KAPITOLA 4 Údržba.....	109
Pravidelná údržba	110
Údržba disků počítače	110
Archivace a zálohování souborů s výsledky experimentů.....	110
Zálohování nastavení přístroje	110
Dekontaminace bloku na vzorky	111
Potřebné pomůcky.....	111
Jak manipulovat s blokem na vzorky.....	111
Čistění bloku na vzorky	112
Výměna pojistek přístroje.....	114
Potřebné pomůcky.....	114
Výměna pojistek	114
Aktualizace operačního systému Windows®	115
Aktualizace softwaru a firmwaru QuantStudio™ 12K Flex	116
Aktualizace programu QuantStudio™ 12K Flex.....	116
Aktualizace firmwaru QuantStudio™ 12K Flex	116
Správa licencí programu QuantStudio™ 12K Flex	117
O licencích programu QuantStudio™ 12K Flex	117
Správa licencí	117
Výměna bloku na vzorky	119
Potřebné pomůcky.....	119
Jak manipulovat s blokem na vzorky.....	119
Výměna bloku na vzorky	119
Výměna vyhřívaného víka.....	121
Potřebné pomůcky.....	121
Jak manipulovat s vyhřívaným víkem.....	121
Výměna vyhřívaného víka	121
Výměna adaptéru na destičky.....	123
Potřebné pomůcky.....	123
Výměna adaptéru na destičky	123
■ KAPITOLA 5 Práce v síti	125
Práce v síti – Přehled	126
Ovládání a monitorování přístrojů QuantStudio™ 12K Flex zapojených v síti	126
O síťovém portu.....	126
Příklad zapojení do sítě	127
Práce v síti – doporučení.....	128
Postup zapojení do sítě.....	128
Získání informací o síti	129
Připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do sítě	129
Potřebné pomůcky.....	129
Nastavení internetového protokolu přístroje QuantStudio™ 12K Flex	129

Připojení počítače do sítě.....	130
Potřebné pomůcky	130
Požadavky na počítač.....	130
Získejte potřebné informace.....	130
Nastavení počítače	130
Instalace programu QuantStudio™ 12K Flex	131
Monitorování přístroje QuantStudio™ 12K Flex	132
O vzdáleném monitorování	132
Monitorování stavu přístroje QuantStudio™ 12K Flex během běhu.....	132
Odesílání nebo stahování experimentů nebo templátů do a z přístroje	133
QuantStudio™ 12K Flex	133
Připomenutí provedení kalibrace	133
■ KAPITOLA 6 Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis .	137
Administrátoři – Přehled.....	138
Příklady použití.....	138
Nastavení zabezpečení systému	139
Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení systému	139
Uživatelské účty a pravidla zabezpečení	142
Nastavení oznámení	142
Správa uživatelských účtů.....	143
Vytvoření nebo úprava uživatelského účtu	143
Zjištění který uživatel je přihlášen	145
Vytvoření nebo úprava úlohy uživatele	145
Zobrazení a tisk zprávy o uživateli.....	145
Nastavení sledování změn (audit)	145
Obrazovka Audit a nastavení sledování změn.....	145
Volba položek, jejichž změny jsou sledovány	145
Důvody provádění změn	145
Zpráva o výsledku sledování změn.....	146
Zpráva o sledování změn - zobrazení při nastavení zabezpečení	146
Zpráva o sledování změn pro experiment, templát a studii	149
Elektronický podpis – nastavení.....	150
Zapnutí nebo vypnutí elektronického podpisu	150
Použití elektronického podpisu	150
Nastavení elektronického podpisu pro jednotlivé úlohy uživatelů.....	151
Volba kroků vyžadujících podpis.....	151
Jak program vyzve k elektronickému podpisu	152
Zpráva o používání elektronického podpisu	152
Zobrazení záznamů	152
Uložení nebo tisk záznamů.....	152
Uložení nebo tisk tabulky se seznamem podepsaných kroků	153
Export a import uživatelských účtů a nastavení zabezpečení, sledování změn a elektronického podpisu	153
Export.....	153
Import	153

Uživatelé – Přehled	154
Zabezpečení.....	154
Přihlášení.....	154
Oprávnění.....	154
Změna hesla po vypršení jeho platnosti.....	154
Inaktivace účtu.....	154
Automatické odhlášení	155
Sledování změn (Audit).....	155
Elektronický podpis.....	155
■ PŘÍLOHA A Ovládání pomocí dotykového displeje	157
Možnosti dotykového displeje	158
Funkce dostupné prostřednictvím dotykového displeje	158
Ovládání přístroje pomocí dotykového displeje	159
Vytvoření experimentu na základě šablony	159
Spuštění experimentu.....	160
Přenos experimentů, šablon a výsledků	161
Údržba přístroje pomocí dotykového displeje	163
Zálohování a obnovení nastavení přístroje	164
Samočinný test přístroje.....	165
Aktualizace firmwaru přístroje	166
Správa přístroje pomocí dotykového displeje	167
Nastavení data a času.....	168
Nastavení přístroje	168
Nastavení výzvy k provádění údržby.....	169
Nastavení sítě.....	170
Nastavení zástupců.....	171
Statistické údaje o provozu přístroje	171
Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení	172
Zobrazení záznamu (log)	172
■ PŘÍLOHA B Zapnutí a vypnutí, uložení a přemístění systému	175
Pohotovostní režim systému QuantStudio™ 12K Flex	176
Zapnutí systému QuantStudio™ 12K Flex.....	176
Vypnutí systému QuantStudio™ 12K Flex.....	177
Odstávka systému QuantStudio™ 12K Flex.....	178
Potřebné pomůcky.....	178
Příprava přístroje QuantStudio™ 12K Flex.....	178
Přemístování systému QuantStudio™ 12K Flex.....	179
Potřebné pomůcky.....	179
Jak manipulovat s blokem na vzorky a vyhřívaným víkem	179
Příprava součástí systému QuantStudio™ 12K Flex	179
Přemístování systému QuantStudio™ 12K Flex.....	180
Opětovná instalace systému QuantStudio™ 12K Flex	180

■	PŘÍLOHA C Příprava spotřebního materiálu na kalibraci	181
	Příprava vlastní destičky nebo karty pro kalibraci pozadí	182
	Potřebné pomůcky	182
	Příprava destičky pro kalibraci pozadí	182
	Příprava karty pro kalibraci pozadí	183
	Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy	184
	Před použitím vlastních barev	184
	Potřebné pomůcky	184
	Stanovení optimální koncentrace barvy	184
	Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy	185
	Přidání vlastní barvy do programu	186
■	PŘÍLOHA D Ovládání programu z příkazové řádky	189
	Přehled	190
	Ovládání z příkazové řádky	190
	Podpůrné soubory pro vytvoření experimentu	191
	Přednostní pravidla pro vytváření experimentu	192
	Práce s příkazovou řádkou	193
	Práce s příkazovou řádkou	193
	Nápověda k příkazové řádce	193
	Syntaxe a argumenty	194
	Dávkový soubor	194
	Export výsledků	196
	Příklady	197
	Tvorba dávkového souboru	197
	Export výsledků	197
■	PŘÍLOHA E Formát souborů	199
	Formát importovaných souborů	200
	O formátech importovaných souborů	200
	Konvence	200
	Formát souboru Plate setup	201
	Struktura souboru	201
	Záhlaví souboru Plate setup	201
	Tělo souboru Plate setup	202
	Sloupce v souboru Plate setup	203
	Příklady	204
	Formát souboru Sample	206
	Struktura souboru	206
	Příklad	206
	Formát souboru Barcode	207
	Struktura souboru	207
	Příklad	207

Soubor Assay information	207
Formát exportovaných souborů	208
O formátech exportovaných souborů	208
Formát exportu QuantStudio12Kflex	209
Struktura souboru	209
Záhlaví souboru	210
Zadání	211
Hrubá data	213
Amplifikace	214
Multikomponenty	215
Výsledky	215
Formát exportu 7900	223
Co lze exportovat	223
Zadání	223
Záhlaví	223
Údaje o esejích (detektorech)	224
Údaje o jamkách	224
Multikomponenty	225
Výsledky	226
Standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT	227
Genotypování	228
Formát exportu RDML	228
Více informací	228
■ PŘÍLOHA F Součásti a materiál	229
Jak objednávat	230
Jak objednávat z programu QuantStudio™ 12K Flex	231
Jak objednávat v internetovém obchodě Life Technologies	231
Příslušenství	232
Kalibrační soupravy a soupravy pro ověření funkčnosti	233
Soupravy pro 384-jamkové bloky	233
Soupravy pro 96-jamkové bloky	234
Soupravy pro 96-jamkové bloky typu Fast	234
Soupravy pro bloky na karty	235
Spotřební materiál	236

■ PŘÍLOHA G Bezpečnost	237
Bezpečný provoz přístroje.....	238
Bezpečnostní označení na přístrojích	238
Umístění bezpečnostních označení na přístrojích	240
Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem	241
Bezpečná práce.....	242
Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními.....	242
Bezpečná manipulace s laserem čtečky čárových kódů.....	243
Bezpečná práce s přístrojem.....	243
Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické.....	
kompatibility (EMC)	244
Bezpečná manipulace s chemikáliemi	245
Pravidla bezpečné manipulace s chemikáliemi.....	245
Bezpečnostní listy.....	246
Bezpečná manipulace s chemickým odpadem	246
Bezpečná manipulace s biologickým odpadem	248
Bezpečnostní výstrahy	249
Obecné výstrahy pro všechny chemikálie	249
Obecné výstrahy pro přístroje	249
Specifické výstrahy pro přístroje	249
Dokumentace a technická podpora	251
Související dokumentace	251
Získání informací v nápovědě (Help)	252
Kde získat pomoc.....	252
Terminologický slovník	253
Rejstřík.....	269

O této příručce

Účel

Uživatelská příručka *Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR systém - Údržba a správa* poskytuje informace o přístroji QuantStudio™ 12K Flex a popisuje, jak jej připravit k provozu, jak provádět jeho údržbu a řešit s jeho provozem spojené problémy.

Komu je určena

Tato uživatelská příručka je určena osobám, které pracují s a provádějí údržbu systému QuantStudio™ 12K Flex.

Předpoklady

Tato příručka předpokládá, že váš systém QuantStudio™ 12K Flex byl instalován technikem firmy Life Technologies, a že máte následující znalosti:

- Jste obeznámeni s operačním systémem Microsoft® Windows® 7.
- Jste obeznámeni s technikami pro přípravu a manipulaci se vzorky DNA a metodou PCR.
- Máte všeobecné znalosti týkající se pevných disků, ukládání dat, přenosů a kopírování souborů.


Bezpečnostní upozornění


Poznámka: Obecné informace k bezpečnému provozu přístroje naleznete zde a v Příloze G "Bezpečnost" na straně 237. Vysvětlení výstražných symbolů a rizik souvisejících s používáním chemikálií nebo přístroje jako takového naleznete v Příloze G "Bezpečnost".


Výstražná upozornění

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

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

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

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

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

Vyjma **DŮLEŽITÉ!** (IMPORTANT) se každé výstražné upozornění v dokumentaci Life Technologies objevuje spolu s bezpečnostními symboly ve výstražném trojúhelníku. *Tyto výstražné symboly jsou totožné se symboly na přístrojích Life Technologies (viz "Symboly na přístrojích" na straně 238)*






Bezpečnostní listy

Bezpečnostní listy (MSDS - Material Safety Data Sheets) pro chemikálie dodávané společnostmi Life Technologies nebo Ambion jsou k dispozici 24 hod denně. Návod jak získat bezpečnostní listy je v části "**Bezpečnostní listy**" na straně 246.

DŮLEŽITÉ! Bezpečnostní listy k chemikáliím dodávaným jinými výrobci než společnostmi Life Technologies nebo Ambion získáte u příslušných dodavatelů.

Bezpečnostní označení na přístrojích

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

Výstražný symbol	Anglicky	Česky
	CAUTION! Hazardous chemicals. Read the Safety Data Sheets before handling.	VAROVÁNÍ! Nebezpečná chemikálie. Před použitím čtěte bezpečnostní list (MSDS).
	CAUTION! Hazardous waste. Refer to SDS(s) and local regulations for handling and disposal.	VAROVÁNÍ! Nebezpečný odpad. Před manipulací nebo likvidací čtěte bezpečnostní list a seznamte se s místními předpisy.
	VÝSTRAHA! Hot lamp.	VÝSTRAHA! Horká žárovka.
	VÝSTRAHA! Hot. Do not replace lamp until 15 min after disconnecting supply.	VÝSTRAHA! Horká žárovka. Nevýjímajte žárovku dříve než po 15 min od vypojení přístroje ze sítě.
	VÝSTRAHA! Hot. Replace lamp with an Life Technologies lamp.	VÝSTRAHA! Horké předměty. Pro výměnu použijte žárovku dodanou společností Life Technologies.
	CAUTION! Hot surface.	VAROVÁNÍ! Horký povrch.
	DANGER! High voltage.	NEBEZPEČÍ! Vysoké napětí.
	VÝSTRAHA! To reduce the chance of electrical shock, do not replace covers that require tool access. No user-serviceable parts are inside. Refer servicing to Life Technologies qualified service personnel.	VÝSTRAHA! Neodstraňujte kryty, na jejichž odstranění je zapotřebí nástrojů – riziko úrazu elektrickým proudem. Potřeba uživatelských elektrických zásahů v prostoru pod krytem je vyloučena. Servis provádí pouze kvalifikovaný technik Life Technologies.
	CAUTION! Moving parts. Crush/pinch hazard.	VAROVÁNÍ! Pohyblivé součásti, nebezpečí úrazu.
		

Jak používat tuto příručku

Tato příručka je určena jako návod k provádění kalibrace a údržby, k připojení do sítě a ke správě Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex.

Obsahuje následující informace

- [Kapitola 2 “Kalibrace bloků na destičky a karty”](#) – Popisuje použití systému QuantStudio™ 12K Flex při provádění analýz v 96/384-jamkových destičkách nebo kartách včetně kalibrace a ověření funkčnosti.
- [Kapitola 3 “Kalibrace bloků na destičky OpenArray®”](#) – Popisuje použití systému QuantStudio™ 12K Flex při provádění analýz v destičkách OpenArray® včetně kalibrace a ověření funkčnosti.
- [Kapitola 4 “Údržba”](#) – Popisuje kroky údržby, prováděné uživatelem systému Přístroj QuantStudio™ 12K Flex, a řešení problémů spojených s jeho provozem.
- [Kapitola 5 “Práce v síti”](#) – Popisuje připojení systému QuantStudio™ 12K Flex do místní sítě a jeho vzdálené monitorování a kontrolu.
- [Kapitola 6 “Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis”](#) – Popisuje funkce zabezpečení, sledování změn a elektronického podpisu systému QuantStudio™ 12K Flex.
- [Příloha A “Ovládání pomocí dotykového displeje”](#) – Popisuje jak ovládat systém QuantStudio™ 12K Flex pomocí dotykového displeje.
- [Příloha B “Zapnutí a vypnutí, uložení a přemístění systému”](#) – Popisuje jak ukládat, přemisťovat a znovu instalovat jednotlivé součásti systému.
- [Příloha C “Příprava spotřebního materiálu na kalibraci”](#) – Popisuje přípravu karet a destiček OpenArray® za účelem kalibrace a ověření funkčnosti systému QuantStudio™ 12K Flex. Dále popisuje, jak připravit destičku nebo kartu pro kalibraci pozadí nebo destičku nebo kartu pro kalibraci barev, které nejsou vyráběny společností Life Technologies.
- [Příloha D “Ovládání programu z příkazové řádky”](#) – Popisuje jak ovládat přístroj pomocí příkazové řádky softwaru QuantStudio™ 12K Flex.
- [Příloha E “Formát souborů”](#) – Poskytuje informace o formátech souborů, které software systému QuantStudio™ 12K Flex importuje, exportuje a ukládá.
- [Příloha F “Součásti a materiál”](#) – Popisuje jak objednat součásti, příslušenství a spotřební materiál pro systém QuantStudio™ 12K Flex System.

1

Začínáme

V této kapitole naleznete:

■ O systému QuantStudio™ 12K Flex.....	18
■ Technické parametry systému	20
■ Hardware systému QuantStudio™ 12K Flex.....	24
■ Software systému QuantStudio™ 12K Flex	30
■ Spotřební materiál pro systém QuantStudio™ 12K Flex	32

O systému QuantStudio™ 12K Flex

Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex umožňuje pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) za současného monitorování fluorescence:

- 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

Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex zaznamenává fluorescence 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 ($\Delta\Delta C_T$)	
	Křivka tání‡	
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 - Presence/absence)	

‡ Není k dispozici pro destičky OpenArray®.

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

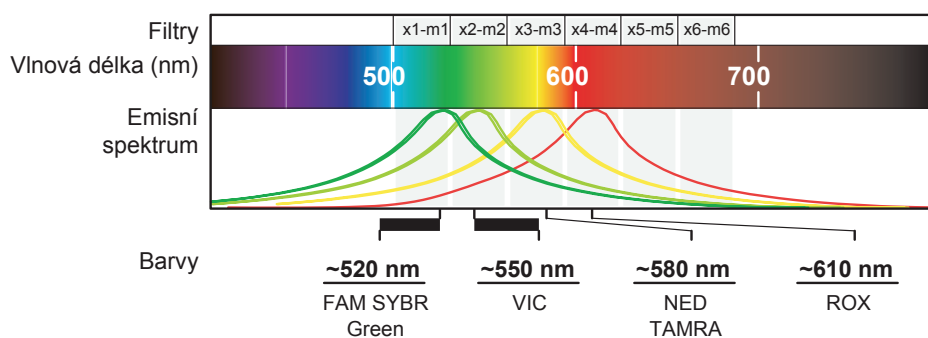
1. **Excitace** – Přístroj ozáří všechny jamky destičky a excituje fluorofory v jamkách.
2. **Emise** – Optické zařízení přístroje zaznamená fluorescenci vyzářenou z jamek destičky. Výsledný záznam zahrnuje pouze to fluorescenční záření, které odpovídá rozsahu emisních filtrů.
3. **Uložení** – Přístroj digitálně zaznamená fluorescenci detekovanou v pevném časovém intervalu. Program QuantStudio™ 12K Flex uloží tato tzv. hrubá data pro následnou analýzu.

Po skončení běhu použije program QuantStudio™ 12K Flex kalibrační soubory ke stanovení intenzity fluorescenčního signálu jednotlivých jamek v každém čtení, k určení barev emitujících daný fluorescenční signál a ke stanovení jeho významu.

Filtry přístroje a podporované barvy

Systémové barvy

Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex je vybaven sadou šesti excitacních a šesti emisních filtrů, které umožňují použití všech fluorescenčních barev dodávaných společností Applied Biosystems. Na následujícím obrázku je znázorněno emisní spektrum každé barvy a odpovídající filtr.



Sada filtrů	Barva	Vlnová délka filtru (nm) [‡]		Podporované barvy
		Excitace	Emise	
x1-m1	Modrá	470±15	520±15	FAM™ a SYBR® Green
x2-m2	Zelená	520±10	558±12	VIC®, JOE™, TET™ a HEX™
x3-m3	Žlutá	549.5±10	586.5±10	NED™ a TAMRA™
x4-m4	Oranžová	580±10	623±14	ROX™
x5-m5	Červená	640±10	682±14	LIZ™
x6-m6	Tmavě	662±10	711±12	Žádná§

[‡] Střední vlnové délky jsou optimalizované vlnové délky.

[§] Společnost Life Technologies v současnosti nedodává žádnou barvu v tomto vlnovém rozsahu.

Vlastní barvy

Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex umožňuje provádět i analýzy za použití barev nedodávaných společností Life Technologies, které jsou excitovány v rozsahu 455 až 672 nm a mají emisi v rozsahu 505 až 723 nm

Technické parametry systému

Technické parametry systému QuantStudio™ 12K Flex

Na obrázku níže jsou uvedeny rozměry a další prostorové nároky systému QuantStudio™ 12K Flex. Více informací viz příručka *Real-Time PCR System Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Site Preparation Guide* (kat. č. 4470654).

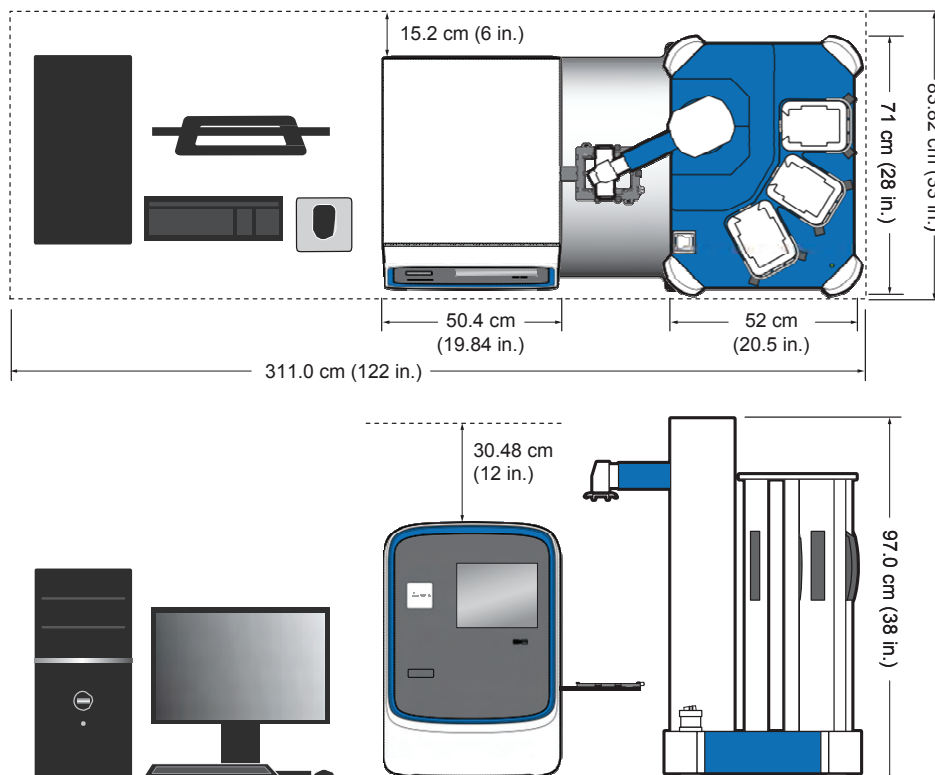
Součást	Výška	Hloubka	Šířka	Hmotnost
Přístroj QuantStudio™ 12K Flex ‡	73.8 cm (29.0 in.)	66.0 cm (26.0 in.)	50.4 cm (19.8 in.)	70.0 kg (154.3 lbs)
Počítač§	56.5 cm (22.3 in.)	54.7 cm (22.4 in.)	21.6 cm (8.5 in.)	24.9 kg (55.0 lbs)
Monitor	38.0 cm (15.0 in.)	13.7 cm (5.4 in.)	37.4 cm (14.7 in.)	3.0 kg (6.7 lbs)
Klávesnice	5.0 cm (2.0 in.)	15.25 cm (6.0 in.)	44.7 cm (17.5 in.)	0.1 kg (0.2 lbs)
Systém OpenArray® Accufill™ #	76.0 cm (30.0 in.)	64.0 cm (25.0 in.)	79.0 cm (31.0 in.)	55.0 kg (120.0 lbs)
Robot Twister® #	97.0 cm (38.0 in.)	71.0 cm (28.0 in.)	52.0 cm (20.5 in.)	52.2 kg (115.0 lbs)

‡ Hmotnost se liší v závislosti na typu instalovaného bloku.

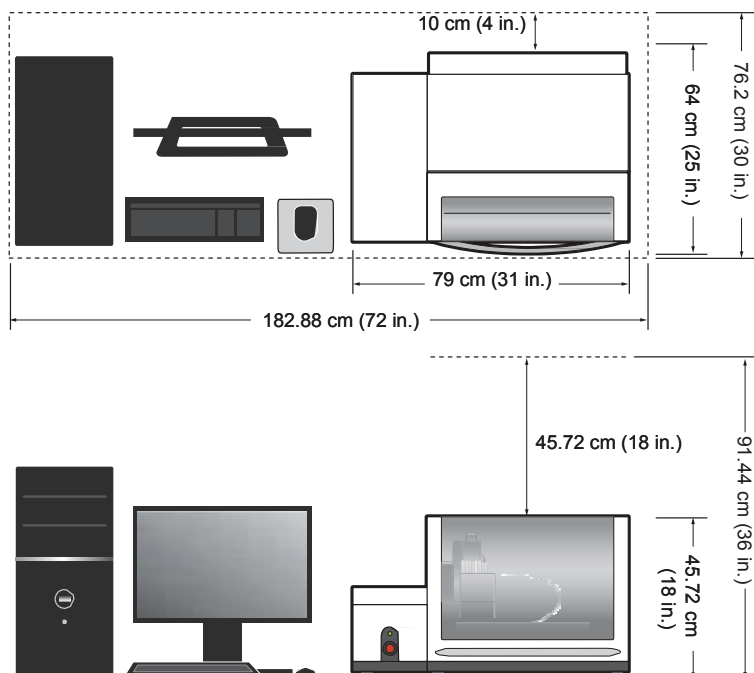
§ Vlastnosti počítače se liší v závislosti na jeho typu (laptop nebo desktop).

Volitelná součást systému QuantStudio™ 12K Flex.

Obrázek 1 Systém QuantStudio™ 12K Flex a robot Twister®



Obrázek 2 Systém OpenArray® Accufill™



Volné místo

Systém QuantStudio™ 12K Flex vyžaduje volné místo:

Součást	Shora	Zepředu	Po stranách	Vzadu
Přístroj QuantStudio™ 12K Flex	30.48 cm (12.0 in.)	122.0 cm (48.0 in.)	51.0 cm (20.0 in.)	15.2 cm (6.0 in.)
Robot Twister®	15.2 cm (6.0 in.)	15.2 cm (6.0 in.)	15.2 cm (6.0 in.)	15.2 cm (6.0 in.)
Systém OpenArray® Accufill™	190.0 cm (76.0 in.)	—	—	10.0 cm (4.0 in.)
Počítač a volitelná UPS	—	30.48 cm (12.0 in.)	—	15.24 cm (6.0 in.)

Horký vzduch ventilovaný přístrojem

Přístroj QuantStudio™ 12K Flex ventiluje do okolí max. 2731 BTU/hod (800W) horkého vzduchu (skrz ventilační otvor na zadní straně přístroje).

Požadavky na elektrickou síť

Poznámka: Doporučujeme připojit přístroj QuantStudio™ 12K Flex a ovládací počítač do elektrického okruhu, v kterém nejsou zapojeny přístroje, jež mohou způsobit výpadky elektrického proudu (např. hlubokomrazící boxy).

Požadavky na elektrickou síť jsou uvedeny v tabulce níže. Je zapotřebí obvod 15 A.

Komponenta	Proud (A)	Výkon (VA)	Napětí (VAC)	Frekvence (Hz)
Přístroj QuantStudio™ 12K Flex	12.5 A	950 VA	100-240 ± 10% VAC	50/60 Hz
Počítač	2.1A	125 VA		
Monitor	1.5 A	65 VA		
Robot Twister® ‡	2.5A	150 VA		
Systém OpenArray® Accufill™ ‡	0.6 A	75 VA		

‡ Volitelná součást systému QuantStudio™ 12K Flex.

Poznámka: Přístroj, monitor, počítač typu desktop/laptop a robot Twister® II jsou vybaveny automatickou detekcí napětí 100V-240V / 50/60 Hz.

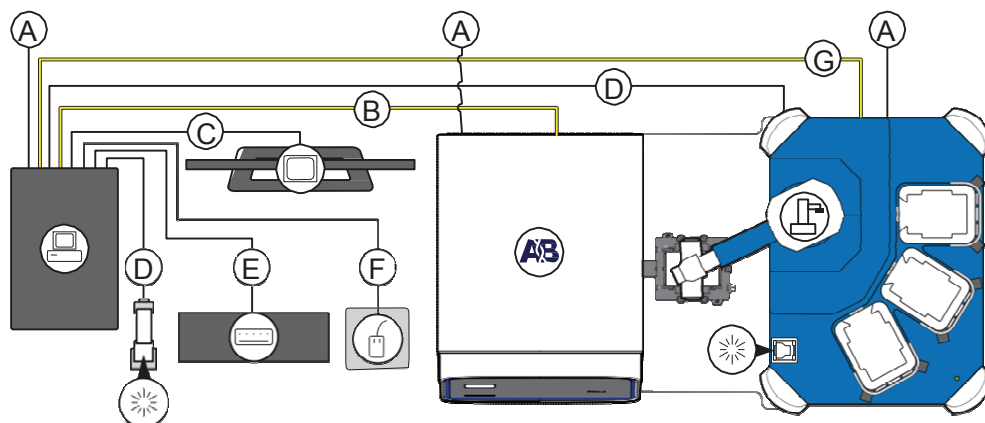
Environmentální parametry








Požadavek	Popis
Nadm. výška	Méně než 2000 m (6500 stop) nad mořem
Teplota	15 až 30 °C (59 až 86 °F) Neumísťujte systém QuantStudio™ 12K Flex v blízkosti zdrojů tepla, chladicích potrubí a nevystavujte ho přímému slunečnímu záření. Výkyvy teploty mohou mít vliv na fungování systému.
Vlhkost	Přístroj QuantStudio™ 12K Flex, počítač, UPS: 20–80% (nekondenzující) Systém OpenArray® Accufill™: <ul style="list-style-type: none"> • max. 80% při 31°C • max. 50% při 40°C
Znečištění	Stupeň znečištění II.‡ Hlučnost v pohotovostním stavu <60 dB.
Umístění	Pouze pro vnitřní použití DŮLEŽITÉ! Systém QuantStudio™ 12K Flex nesmí být umístěn vedle: <ul style="list-style-type: none"> • Zdrojů vibrací jako např. centrifugy, pumpy nebo kompresory. Vibrace mohou mít vliv na fungování systému. • Elektricky rušících zařízení jako např. mrazáky.

‡ Systém QuantStudio™ 12K Flex lze použít v prostředí znečištěném pouze nevodivými znečišťujícími látkami (prachové částice nebo piliny). Typické prostředí se stupněm znečištění 2 jsou laboratoře a komerční prostory.

System QuantStudio™ 12K Flex – Návrh a propojení

System QuantStudio™ 12K Flex sestává ze součástí vyobrazených níže:



	Součást	Popis
	Přístroj QuantStudio™ 12K Flex	Provádí detekci fluorescence a sběr dat a kalibraci.
	Počítač	Pomocí programu QuantStudio™ 12K Flex umožňuje: <ul style="list-style-type: none"> • Kalibraci přístroje QuantStudio™ 12K Flex. • Zadání experimentů. • (Volitelné) Spuštění experimentů. • Analýzu experimentů.
	Monitor	
	Klávesnice	
	Myš	
	Čtečka čárových kódů	Skenuje čárové kódy spotřebního materiálu před a po tom co jsou vloženy do přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
	Robot Twister®‡	Umožňuje automatické vkládání a vyjímání spotřebního materiálu z přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

‡ Není určeno pro diagnostické účely.

	Propojení	Popis
A	Elektrické kabely	Přivádí elektrický proud k přístrojům Applied Biosystems Twister® II a QuantStudio™ 12K Flex. §
B	Síťový kabel ‡	Připojuje přístroj QuantStudio™ 12K Flex do síťové karty počítače.
C	DVI kabel	Připojuje monitor k počítači (DVI port).
D	Kabel čtečky čárových kódů	Připojuje čtečku čárových kódů k počítači (USB port).
E	Kabel klávesnice	Připojuje klávesnici k počítači (USB port).
F	Kabel myši	Připojuje myš k počítači (USB port).
G	Sériový kabel	Připojuje robot Twister® II k počítači (sériový port).

‡ 115/230 V závislosti na místní síti.

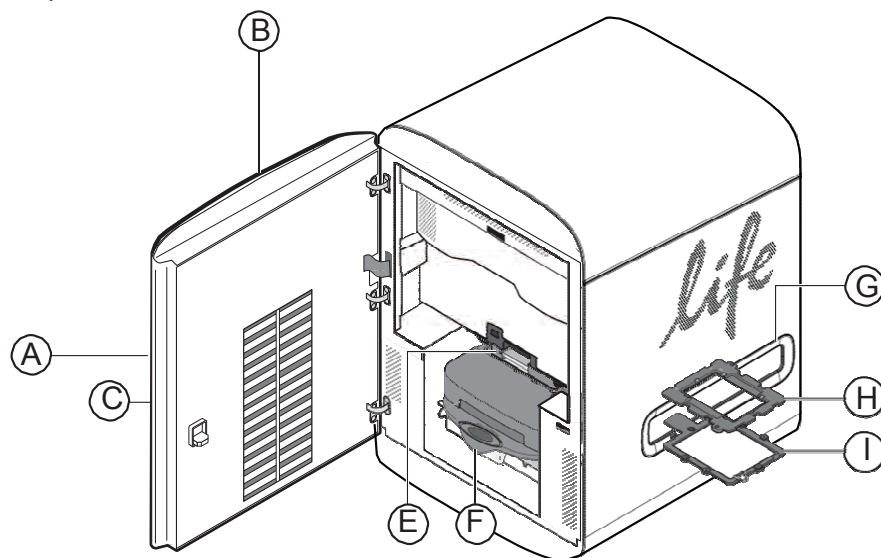
§ Dodáván se systémem QuantStudio™ 12K Flex.

Hardware systému QuantStudio™ 12K Flex

Součásti přístroje

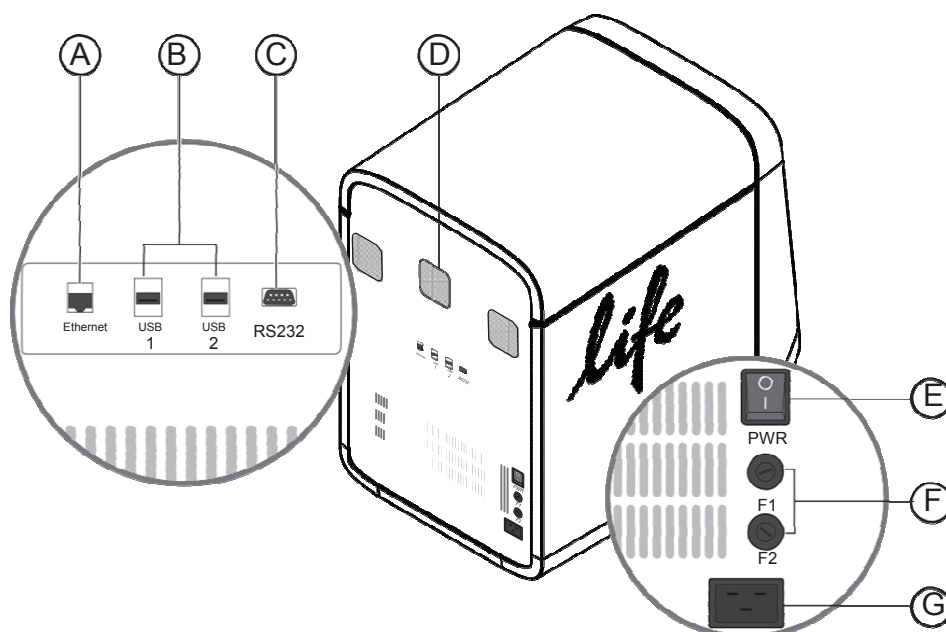
Systém QuantStudio™ 12K Flex sestává ze součástí vyobrazených níže:

Čelní pohled



	Součást	Popis
A	USB porty	Umožňují komunikaci s přístrojem QuantStudio™ 12K Flex. Lze je použít pro přenos dat do a z přístroje a pro aktualizaci firmwaru. Poznámka: Je-li zapojeno najednou více USB disků, umožní přístroj použít pouze ten, který byl zapojen jako první, a to bez ohledu na použitý port.
B	Dotykový displej přístroje	Umožňuje ovládání přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Lze jej použít pro spuštění experimentů, přenos dat a další ovládání přístroje bez použití počítače.
C	Dvířka	Po jejich otevření lze získat přístup k lampě přístroje, vyhřívanému víku a bloku na vzorky.
D	Lampa	Během běhu funguje jako zdroj světla pro osvit destičky nebo karty.
E	Vyhřívané víko	Během běhu zakrývá destičku nebo kartu a brání kondenzaci a odparu z uzavřeného spotřebního materiálu případnými netěsnostmi.
F	Blok na vzorky	Během běhu ohřívá destičku nebo kartu.
G	Boční dvířka	Umožňuje vysunutí ramene.
H	Adapter na	Umožňuje připevnění destiček nebo karet na rameno.
I	Rameno	Vkládá a vysouvá destičky nebo karty do / z bloku na vzorky přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

Zadní pohled



	Součást	Pohled
A	Síťový port	Port RJ45 umožňuje síťové spojení (Gigabit) s přístrojem QuantStudio™ 12K Flex.‡
B	USB porty	Umožňují komunikaci s přístrojem QuantStudio™ 12K Flex. Lze je použít pro přenos dat do a z přístroje a pro aktualizaci firmwaru. Poznámka: Je-li zapojeno najednou více USB disků, umožní přístroj použít pouze ten, který byl zapojen jako první, a to bez ohledu na použitý port.
C	RS232 port	Umožňuje sériový přenos dat mezi přístrojem QuantStudio™ 12K Flex a počítačem. DŮLEŽITÉ! Pouze pro použití firmou Life Technologies.
D	Ventilátory	Chlazení přístroje QuantStudio™ 12K Flex. DŮLEŽITÉ! Přístup vzduchu nesmí být blokován, jinak může dojít k chybnému fungování přístroje.
E	Hlavní spínač (On/Off)	Hlavní spínač přístroje QuantStudio™ 12K Flex – Zapnuto () nebo Vypnuto (O).
F	Pojistky	Dvě 12.5A, 250VAC, 5 × 20-mm elektrické pojistky, které chrání přístroj QuantStudio™ 12K Flex před příliš vysokým proudem.
G	Elektrická přípojka	Umožňuje připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do elektrické sítě (100-240VAC).


‡ Pro připojení přístroje do síťové karty počítače používejte síťový kabel, dodávaný se systémem QuantStudio™ 12K Flex.

Čtečka čárových kódů Součástí Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex mohou být i dvě čtečky čárových kódů pro načítání dat a rozeznání mikrodestiček:

- Ruční čtečka čárových kódů slouží k manuálnímu načítání kódů
- Pevně umístěná čtečka čárových kódů je používána pro automatické snímání kódu mikrodestičky umístované do přístroje (je používána pouze v součinnosti s robotem Twister® II).

Obě čtečky čárových kódů pracují s laserovým paprskem třídy II o vlnové délce 670 nm a podporují formát 128 ASCII znakového čárového kódu. Jedná se o volitelnou součást systému, která je dostupná v závislosti na jeho konfiguraci.

O ruční čtečce čárových kódů

 **VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ LASEROVÉHO ZÁŘENÍ.** Přímé nebo odražené laserové paprsky mohou poškodit sítnici, což může vést k trvalému poškození zraku. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku. Odstraňte šperky a další předměty, které mohou odrážet paprsek do vašich očí. Chraňte ostatní před laserovými paprsky.

Ruční čtečka čárových kódů funguje jako přídatné zařízení ke klávesnici a slouží k automatickému zadání čárových kódů do programu QuantStudio™ 12K Flex.

Chcete-li naskenovat čárový kód pomocí ruční čtečky čárových kódů:

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte pole, kam chcete kód naskenovat.
2. Podržte ruční čtečku čárových kódů 20 až 30 cm od destičky zacílenou na střed čárového kódu a stiskněte spoušť. Pomalu posouvejte laserový paprsek přes čárový kód, dokud čtečka nevydá vysoký tón signalizující přečtení kódu.

Pokud čtečka odečte čárový kód, automaticky:

- Převeďte znakový ekvivalent čárového kódu do programu QuantStudio™ 12K Flex. Čárový kód je zadán do pole, v kterém je umístěn kurzor.
- Uloží načtený kód (ekvivalentní funkce jako kdybyste po zadání kódu stiskli Enter).

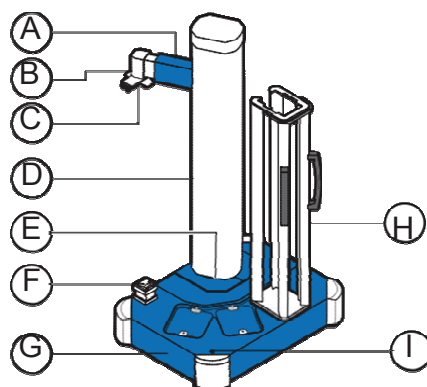
Více informací o ovládání ruční čtečky čárových kódů viz uživatelská dokumentace dodávaná přímo s čtečkou čárových kódů.

Součásti robota Twister®

Systém QuantStudio™ 12K Flex umožňuje používání robota Applied Biosystems Twister® II (volitelné příslušenství), který sestává ze součástí vyobrazených níže.

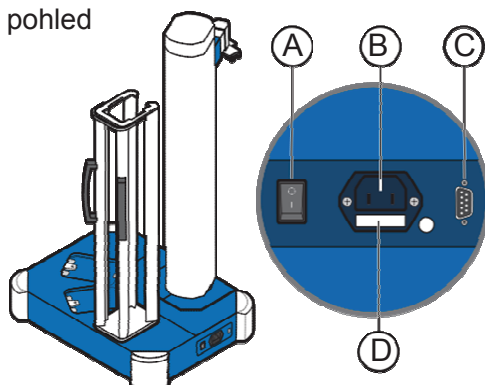
Poznámka: Pokyny k provozu, kalibraci a údržbě robota Twister® II viz příručka *Real-Time PCR System Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Automation Guide* (kat. č. 4470693).

Čelní pohled



	Součást	Popis
A	Rameno	Umožňuje horizontální pohyb úchopu o 28.5 až 50.1 cm od středu umístění robota.
B	Kloub	Umožňuje rotaci destičky/karty ("na výšku" nebo "na šířku"), úhel pohybu je $\pm 135^\circ$ (270° celkem).
C	Úchop	Umožňuje uchopit destičku/kartu.
D	Věž / Vertikální osa	Umožňuje pohyb ramene nahoru a dolů o 54.6 cm z výšky 16.5 cm do výšky 71.1 cm nad pracovní deskou stolu.
E	Rotační osa	Umožňuje rotaci ramene o 340° kolem základny robota Twister® II. Kontinuální rotace není možná.
F	Čtečka čárových kódů	Skenuje čárové kódy spotřebního materiálu, tak jak je vkládán do přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
G	Kryt základny	Snímatelný kryt, pomocí čtyř šroubů je robot Twister® II připojen k základně Sciclone ALH 3000.
H	Úložné věže	Umožňuje uložit destičky / karty před a po provedení běhu v přístroji QuantStudio™ 12K Flex (je vyobrazena jedna ze tří věží).
I	Dioda zapnutí	Pokud svítí, je robot Twister® II zapnut.

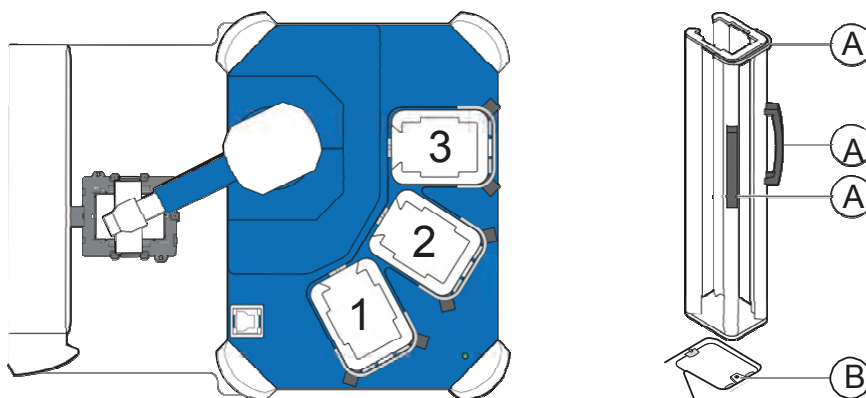
Zadní
pohled



	Součást	Popis
A	Hlavní spínač (On/Off)	Hlavní spínač robota Twister® II – Zapnuto () nebo Vypnuto (O).
B	Elektrická	Umožňuje připojení robota Twister® II do elektrické sítě (100-240VAC).
C	RS232 port	Umožňuje sériový přenos dat mezi robotem a počítačem.
D	Pojistky	Dvě T1.6A 250VAC, 5 × 20-mm elektrické pojistky, které chrání robot Twister® II před příliš vysokým proudem.

Úložné věže

Úložné věže jsou hliníkové vyjímatelné držáky používané pro umístění destiček / karet pro provedení PCR. Věže jsou číslovány proti směru hodinových ručiček, pozice 1 je nejbližší čelní straně robota Twister® II (viz níže). Každou věž lze použít pouze v její konkrétní pozici.



	Součást	Popis
A	Držáky	Pro manipulaci.
B	Zámek věže	Umožňuje připojení věže k podložce.

Poznámka: S věžemi manipulujte opatrně. Dojde-li k jejich deformaci, nemůže do nich robot Twister® II umístit destičky / karty.

Volba ochranných zařízení

V místech, kde dochází k častým výpadkům či kolísání dodávky proudu, doporučujeme používat ochranná zařízení, aby nebylo ovlivněno fungování systému QuantStudio™ 12K Flex.

Regulátor napětí

V oblastech, kde dochází k výkyvům napětí v rozsahu více než $\pm 10\%$, doporučujeme používat 1.5-kVA regulátor napětí. Výkyvy napětí mohou nepříznivě ovlivnit funkci přístroje a data, která generuje.

Poznámka: Regulátor napětí monitoruje proud na vstupu do přístroje a upravuje vstupní příkon. Nechrání přístroj vůči nárazovému proudu nebo výpadku sítě.

Záložní zdroj (UPS)

Doporučujeme používat 1.5-kVA záložní zdroj (uninterruptable power supply, UPS), a to zejména v oblastech, kde dochází k výpadkům proudu. Výpadky proudu a další události, které neočekávaně ukončí funkci systému, mohou poškodit data a případně i systém QuantStudio™ 12K Flex.

DŮLEŽITÉ! Zařízení UPS jsou vybavena bateriemi s omezenou dobou fungování, takže dodávají proud po omezenou dobu. Jejich účelem je oddálit důsledky výpadku proudu, nikoliv sloužit jako náhradní elektrické zdroje. V případě výpadku proudu systém vypněte, pokud neočekáváte obnovení dodávky elektrického proudu během doby životnosti baterie UPS.

Svodič přepětí

Doporučujeme v oblastech s častými elektrickými bouřemi nebo v blízkosti zařízení, která jsou elektricky rušivá jako lednice, klimatizace nebo centrifugy, používat 10-kVA svodiče přepětí. Krátkodobé výrazné kolísání elektrického napětí může neočekávaně ukončit fungování a tudíž poškodit počítač i systém QuantStudio™ 12K Flex.

Poznámka: Speciálně vyčleněný kabel a uzemnění spojující přístroj s hlavním rozvaděčem v budově může rovněž napomoci při eliminaci problémů vznikajících v důsledku kolísání elektrického proudu.

Software systému QuantStudio™ 12K Flex

Software systému QuantStudio™ 12K Flex se používá ke kalibraci, spuštění, automatickému provozu a integraci systému QuantStudio™ 12K Flex do pracovních procesů laboratoře (LIMS). V základní konfiguraci jsou součástí softwaru níže uvedené komponenty. Je možné, že je k dispozici i další programové vybavení, pro informaci o nejnovějších aktualizacích programového vybavení systému navštivte stránku:

www.lifetechnologies.com/quantstudio12Kflex/

Poznámka: Na této stránce naleznete i opravné balíčky, aktualizace firmwaru a další nástroje pro obsluhu systému QuantStudio™ 12K Flex.

Požadavky na počítač

Požadavky na počítač používaný k ovládní systému QuantStudio™ 12K Flex se mohou lišit v závislosti na verzi softwaru QuantStudio™ 12K Flex, kterou používáte. Chcete-li zjistit požadavky na počítač pro vaši verzi softwaru, otevřete dokument Release notes, viz:

C:\Applied Biosystems\QuantStudio12KFlex\README.html

Instalace softwaru

Výchozí instalace softwaru QuantStudio™ 12K Flex předpokládá vytvoření logických disků na pevném disku vašeho počítače podle následujícího schématu:

Disk	Software	Popis
C	Microsoft® Windows® OS‡	Soubory operačního systému.
	Software QuantStudio™ 12K Flex	Pro kalibraci a provádění experimentů na přístroji QuantStudio™ 12K Flex.
	Příkazová řádka systému QuantStudio™ 12K Flex	Pro automatické vytváření nových experimentů a export existujících experimentů.
	Software SampleTracker	Pro rychlé zadávání informací o vzorcích pro destičky OpenArray®.
	Software ExpressionSuite	Nástroj pro analýzu genové exprese.
	Software AccuFill™	Ovládá přístroj AccuFill™, určený pro plnění destiček OpenArray®.
	HRM Software	Volitelný modul programu QuantStudio™ 12K Flex umožňující provádění experimentů high-resolution melting (křivka tání s vysokým rozlišením).
	Software TaqMan® Genotyper	Nástroj pro analýzu výsledků genotypizačních experimentů.
	Software robota Twister® II	Pro ovládání robota Twister® II a ukládání naučených pozic. Součástí je VBA kód pro ovládání robota Twister® II pomocí automatického ovládacího programu.

‡ Nedoporučujeme instalovat programy na disk C.

Software robota Twister®

Software robota Twister® sestává z několika modulů určených ke kalibraci, programování a ovládání robota Twister®. Typicky je instalován na disk C počítače systému QuantStudio™ 12K Flex a sestává z těchto modulů.

- **QuantStudio™ 12K Flex Control Program (ICP)** – Kalibrace robota Twister® a uchování uložených údajů (pozic).
- **QuantStudio Adapter Driver for iLink® PRO Software** – Koordinace činnosti robota Twister® a přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
- **Microsoft® software** – Nástroje Microsoft® používané robotem Twister®. Zahrnují: Microsoft® Data Access Components (MDAC), Microsoft® .NET Framework, Microsoft® SQL 2005 Manager a Microsoft® VBA Service Packs.
- **Automation Controller Software a iLink® PRO Software** – Software k automatizaci činnosti robota Twister® a přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

Poznámka: Pro definici počátečního rozložení materiálu se používají programy iLink® PRO Storage software a iLink® PRO automation control software.

Software třetích stran

Před instalací programů jiných výrobců na počítač s programem QuantStudio™ 12K Flex se ujistěte, že tyto programy:

- Neomezí fungování sítě
- Neomezí fungování programu QuantStudio™ 12K Flex (viz níže)

Chcete-li ověřit, že programy jiných výrobců neomezí fungování programu QuantStudio™ 12K Flex:

1. Instalujte program na počítač s programem QuantStudio™ 12K Flex.
2. Proveďte několik testovacích běhů pomocí destiček bez reagensů.

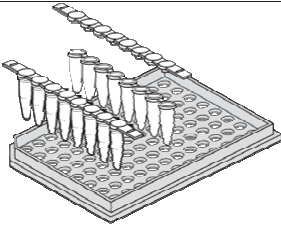
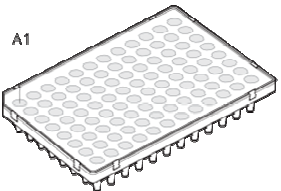
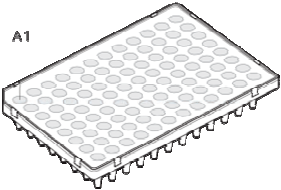
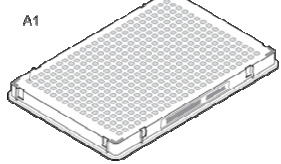
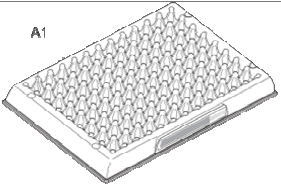

Poznámka: Cílem těchto běhů je simulovat běžné provozní podmínky. Použijte taková nastavení softwaru, která jsou obdobná vašim běžným pracovním nastavením.

3. Ujistěte se, že všechny testovací běhy zdárně proběhly a nedošlo k neočekávaným chybám. Proběhly-li testy v pořádku, přistupte k vlastním experimentům. Pokud se objevily chybové hlášky, program nemusí být kompatibilní s programem QuantStudio™ 12K Flex.

Spotřební materiál pro systém QuantStudio™ 12K Flex

Kompatibilní spotřební materiál

Při práci se systémem QuantStudio™ 12K Flex je díky systému vyměnitelných bloků možné použít různé typy specializovaného spotřebního materiálu. Použijte takový typ spotřebního materiálu, který odpovídá vámi používanému bloku na vzorky.

Blok na vzorky	Spotřební materiál	Reakční objem
96-jamková destička, 0.2 mL	 <ul style="list-style-type: none"> • MicroAmp® optická víčka, 8 ve stripu • MicroAmp® 8-zkumavkový strip (0.2-mL) • MicroAmp® zkumavky bez víček (0.2-mL) • MicroAmp® 96-jamkový držák (tzv. sada Tray/ Retainer) 	50 µL
	 <ul style="list-style-type: none"> • MicroAmp® optická adhezivní fólie • MicroAmp® optická 96-jamková destička s čárovým kódem 	50 µL
96-jamková destička, 0.1 mL	 <ul style="list-style-type: none"> • MicroAmp® optická adhezivní fólie • MicroAmp® optická 96-jamková Fast destička s čárovým kódem 	50 µL
384-jamková destička	 <ul style="list-style-type: none"> • MicroAmp® optická adhezivní fólie • MicroAmp® optická 384-jamková destička s čárovým kódem 	20 µL
Karta	 <ul style="list-style-type: none"> • Karta Applied Biosystems (tzv. Array Card) 	1 µL
Destička OpenArray®	 <ul style="list-style-type: none"> • Destička OpenArray® 	33 nL

Pokyny pro manipulaci se spotřebním materiálem

Při používání zkumavek, destiček a karet dodržujte následující pokyny:

- Kalibrační destičky nebo karty uchovávejte ve tmě a vyjímejte je těsně před použitím. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.
- Spodní strany zkumavek, destiček a karet uchovávejte v čistotě. Kontaminace, které přilnou na spodní stranu spotřebního materiálu, mohou způsobit kontaminaci bloku na vzorky a způsobit zvýšenou fluorescenci pozadí.
- Centrifuga, kterou používáte, musí být čistá. Před centrifugací vytřete závěsy do čista.
- *(pouze pro destičky)* Všechny kalibrační destičky vortexujte, aby došlo k dokonalému promíchání reagensů, poté je centrifugujte, aby všechny reagensy dosedly na dno jamek. Destičku před použitím je vždy nutné promíchat a centrifugovat.
- *(pouze pro destičky)* Obaly kalibračních destiček nevyhazujte. Každou destičku můžete použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu až 6 měsíců, pokud je uchovávána ve svém obalu.
- *(pouze pro destičky)* Manipulujte s destičkami opatrně, aby nedošlo ke kontaminaci. Nepokládejte destičky na pracovní stůl, mohlo by dojít k jejich kontaminaci. Vždy vraťte destičky do jejich obalu.
- *(pouze pro 96-jamkové destičky)* Pokud destičky uzavíráte pomocí stripových víček, ujistěte se, že je dobře uzavřena. Při nedokonalém uzavření může během běhu dojít k odparu reagensů.
- *(pouze pro zkumavky)* Všechny zkumavky a stripy pečlivě uzavřete. Při nedokonalém uzavření může během běhu dojít k odparu reagensů.
- *(pouze pro destičky OpenArray®)* Destičky OpenArray® držte za okraje jejich pouzder. Nedotýkejte se destiček.
- *(pouze pro destičky OpenArray®)* Destičky naplňte a zatavte max. po jedné hodině od jejich otevření.
- *(pouze pro destičky OpenArray®)* Pokud destičku OpenArray® upustíte, vyhoďte ji.

2

Kalibrace bloků na destičky a karty

V této kapitole naleznete:

■ Doporučená kalibrace a údržba	36
■ Příprava karet pro kalibraci přístroje	37
■ Provedení kalibrace ROI	41
■ Provedení kalibrace pozadí	45
■ Provedení kalibrace uniformit	49
■ Provedení kalibrace barev	53
■ Provedení kalibrace normalizace	59
■ Ověření funkčnosti přístroje	63
■ Řešení problémů	71

Doporučená kalibrace a údržba

Pro správné fungování Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex je zapotřebí jej pravidelně kalibrovat a provádět jeho údržbu. V této kapitole naleznete popis procedur, které musíte pravidelně provádět, aby bylo zajištěno optimální fungování přístroje.

DŮLEŽITÉ! Kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex provádějte při stejné pokojové teplotě, při jaké provádíte vaše experimenty. Velké výkyvy pokojové teploty mohou mít vliv na ohřev a chlazení systému QuantStudio™ 12K Flex a v extrémních případech mohou ovlivnit výsledky experimentů.

DŮLEŽITÉ! Pro čištění systému QuantStudio™ 12K Flex nepoužívejte organická rozpouštědla.

Tabulka 1 Údržba bloků na destičky a karty

Frekvence	Uživatelé prováděná údržba
Týdně	Zkontrolujte volné místo na disku. Podle potřeby archivujte nebo zálohujte vaše experimenty a nastavení přístroje. Vypněte počítač ovládající přístroj QuantStudio™ 12K Flex a po 30 vteřinách jej znovu zapněte. Oťfete povrch systému QuantStudio™ 12K Flex utěrkou. Proveďte test systému QuantStudio™ 12K Flex (samočinný test).
Měsíčně	Zkontrolujte stav žárovky, v případě potřeby ji vyměňte. Proveďte kalibraci pozadí.†
Jednou za 6 měsíců	Vyčistěte a defragmentujte disk. Proveďte kalibraci ROI. Proveďte kalibraci pozadí. Proveďte kalibraci uniformity. Proveďte kalibraci barev. Proveďte kalibraci normalizace.
Podle potřeby	Ověřte funkčnost přístroje. Dekontaminujte systém QuantStudio™ 12K Flex. Vyměňte pojistky systému QuantStudio™ 12K Flex. Aktualizujte operační systém Windows. Aktualizujte software a firmware QuantStudio™ 12K Flex.

† Kalibraci pozadí proveďte za účelem kontroly, zda nedošlo ke kontaminaci. Dojde-li ke změnám v optickém systému přístroje (výměna), musíte provést všechny kalibrace včetně běhu RNázy P pro ověření funkčnosti přístroje.

Příprava karet pro kalibraci přístroje

DŮLEŽITÉ! Následující proceduru provádějte, pokud kalibrujete systém QuantStudio™ 12K Flex s blokem na karty.

Potřebné pomůcky

- Spektrální kalibrační souprava pro karty, systém QuantStudio™ 12K Flex:
 - prázdné karty, Applied Biosystems
 - spektrální kalibrační souprava pro karty: barvy FAM™, VIC®, ROX™, mix barev na kalibraci ROI, pufr pro kalibraci pozadí, směs barev FAM™/ROX™ a směs barev VIC®/ROX™
- Nástroj na zaslepení jamek (tzv. sealer)
- Centrifuga se závěsy a držáky na karty
- Fixa
- Pipetman, 200- μ L (s pipetovacími špičkami)
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Plnění karet pro kalibraci

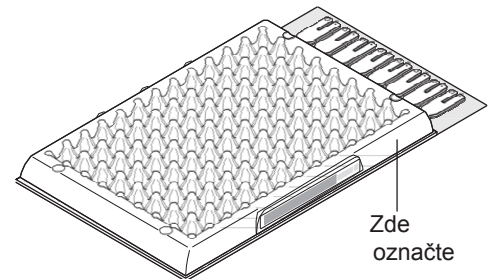
DŮLEŽITÉ! Při přípravě karet použijte rukavice bez pudru.

Poznámka: Poznámka: Níže je vysvětleno, jak vytvořit *všechny* karty potřebné pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex, ale ne všechny z nich jsou zapotřebí pro provádění měsíční údržby. Před přípravou kalibrace si zjistěte v části [“Doporučená kalibrace a údržba” na straně 36](#), které kalibrace jsou zapotřebí.

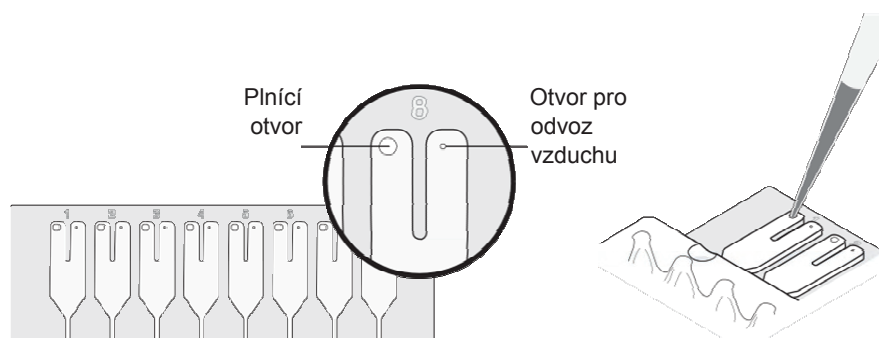
Poznámka: Videozáznam o přípravě karet je k dispozici na webových stránkách Applied Biosystems. Viz:

www2.appliedbiosystems.com/lib/multimedia/taqman_tlda/tlda_1.cfm

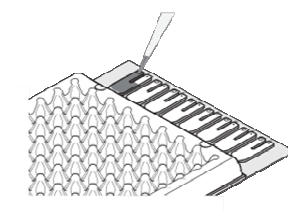
1. Vyjměte zásobní balení kalibračních roztoků z mrazáku ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), nechte je roztát a dobře jejich obsah promíchejte na vortexu.
2. Vyjměte karty z obalu a položte je na čistý pracovní stůl.
3. Prázdné karty označte na boku fixou:
 - Background (Pozadí)
 - FAM
 - ROI
 - ROX
 - VIC
 - FAM/ROX
 - VIC/ROX
4. Do každého z osmi rezervoárů každé karty pipetujte 100 μ L příslušného kalibračního roztoku:
 - a. Položte kartu na stůl fólií dolů.
 - b. Pipetujte 100 μ L kalibračního roztoku do pipety.



- c. Pipetujte pod úhlem ca 45 stupňů do plnicího otvoru rezervoáru karty.
Plnicí otvor je na levé straně rezervoáru a je to ten větší z obou otvorů.

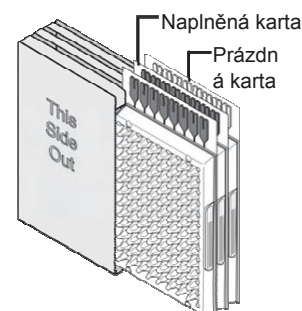


- d. Vytlačte kapalinu z pipetovací špičky tak, že naplní celý rezervoár.
Pipetujete-li reagentie do rezervoáru, pipetujte celý objem (100- μ L), ale nemačkejte píšť pipety dál než za první doraz, nebo můžete vytlačit roztok otvorem pro odvod vzduchu ven.



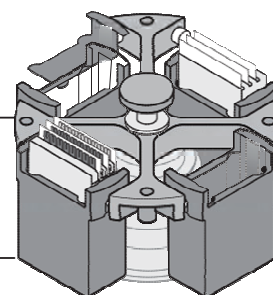
DŮLEŽITÉ! Nedotýkejte se špičkou fólie pod plnicím otvorem, mohlo by dojít k jejímu poškození.

5. Opakujte [krok 4](#), dokud nenaplníte všechny porty všech karet příslušnými kalibračními roztoky.
6. Umístěte naplněnou kartu / karty do držáku, prázdné pozice zaplňte prázdnými kartami. Ujistěte se, že nápisy na držácích a závěsích směřují stejným směrem.



7. Umístěte držáky s kartami do centrifugačních závěsů. Ujistěte se, že plnicí rezervoáry karet a nápisy na závěsích a držácích směřují směrem ven.

DŮLEŽITÉ! Do centrifugy vložte vždy všechny čtyři závěsy a oba držáky naplněné kartami. Prázdné pozice vyplňte prázdnými kartami.



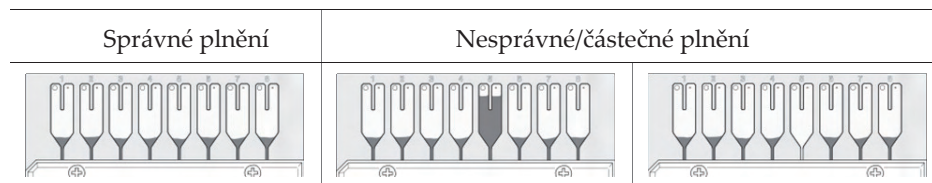
DŮLEŽITÉ! Protilehlé závěsy v centrifuze musí být vyváženy.

8. Uzavřete víko centrifugy, poté karty centrifugujte 1 minutu při 1200 rpm.

9. Po skončení běhu centrifugu zastavte a znovu centrifugujte karty 1 minutu při 1200 rpm.

DŮLEŽITÉ! Nesnažte se ušetřit čas a centrifugovat najednou 2 minuty. Dvojí pomalý náběh centrifugy je pro úspěšné plnění karet důležitý.

10. Po skončení druhé centrifugace otevřete centrifugu a ověřte, že hladina ve všech rezervoárech každé karty klesla stejně. Zkontrolujte rovněž, zda se v jamkách netvoří bubliny či zda se neobjevil nějaký další problém.

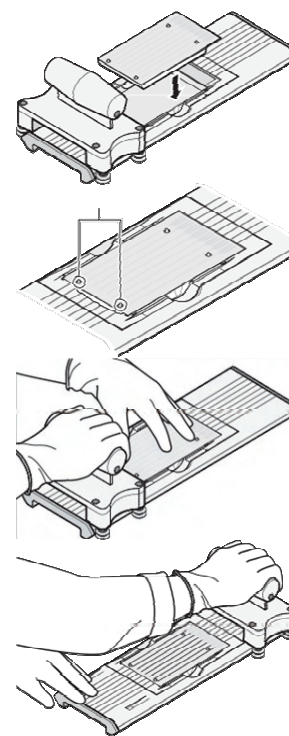


V případě potřeby centrifugaci opakujte. Necentrifugujte karty déle než 3×1 minutu, doba jednotlivé centrifugace nesmí přesáhnout 1 minutu.

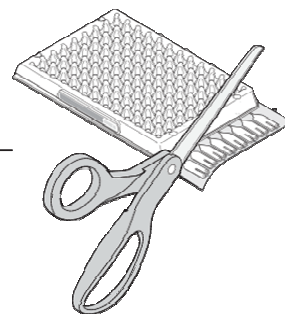
11. Zaslepení karet:


Používání
nástroje pro
zaslepení karet

- Připravte si nástroj na zaslepování karet s madlem ve výchozí pozici, umístěte do něj naplněnou kartu fólií nahoru a rezervoáry co nejdále od madla.
- Jemně zatlačte na všechny čtyři rohy karty, aby dosedla do nástroje na zaslepení.
- Dva kovové hroty na základně nástroje pro zaslepení karty zapadají do odpovídajících otvorů mikrofluidní karty. Při správném umístění zapadne karta do nástroje tak, že její povrch splývá s povrchem nástroje.
- Přesuňte madlo se zaslepovacími noži přes základnu nástroje na zaslepení ve směru šipek. Proveďte to jediným pomalým plynulým pohybem až na konec. Netlačte madlo směrem dolů.



- e. Vyjměte kartu z nástroje a odstříhnete rezervoáry. Začistěte fólii, aby byla hrana karty rovná.



DŮLEŽITÉ! Plnicí rezervoáry je nutné úplně odstranit, aby na kartě nezůstaly žádné vyčnívající zbytky plastu, jinak může dojít k tomu, že karta nedokonale dosedne do bloku na vzorky, což může mít vliv na kvalitu výsledku.

Správné začistění	Nesprávné začistění

12. Opakujte [krok 11](#) se všemi ostatními kartami.

DŮLEŽITÉ! Zaslepené karty uchovávejte na tmavém místě, nevystavujte je světlu, dokud nejste připraveni je použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

DŮLEŽITÉ! Při nedokonalém zaslepení karty může dojít k úniku reagentů a kontaminaci bloku na vzorky, případně k selhání kalibračního běhu či běhu pro ověření funkčnosti přístroje.

Provedení kalibrace ROI

Kalibrace ROI (Regions of Interest, prostorová kalibrace) slouží ke zmapování pozic jamek v bloku systému QuantStudio™ 12K Flex tak, aby program QuantStudio™ 12K Flex 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.

Kdy provádět kalibraci

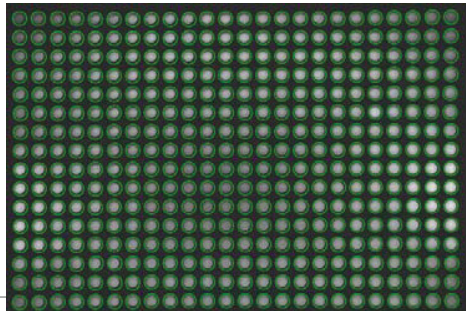
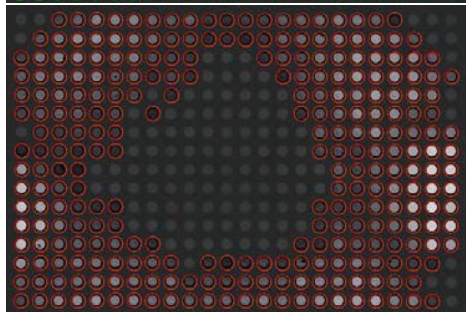
Každý rok nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

DŮLEŽITÉ! Po provedení kalibrace ROI musíte vždy provést kalibraci pozadí, kalibraci uniformity, kalibraci barev, kalibraci normalizace a ověření funkčnosti přístroje pomocí RNázy P.

O kalibraci ROI

V průběhu kalibrace ROI zaznamená systém QuantStudio™ 12K Flex obraz kalibrační destičky ROI při použití každého z filtrů přístroje. Kalibrace ROI se zdaří, pokud jsou na zaznamenaných obrazech vidět všechny jamky destičky nebo karty ROI. Každá jamka na obrazu musí být jasně rozeznatelná a viditelná se stejnou intenzitou (při relativním srovnání s ostatními jamkami na obraze).

Chcete-li zkontrolovat zaznamenané obrazy ROI, zvolte v okně Instrument Manager (Správce přístroje) v nabídce Filter Set (záložka ROI) příslušnou sadu filtrů.

	Stav	Obraz
<p>atelný obraz</p> <p>Přij</p> <p>Okolo <i>všech</i> jamek destičky jsou zelené kruhy, což je známka úspěšné kalibrace každé jamky. Zelený kruh znamená, že záznam fluorescence z dané jamky je dostatečně jasný.</p>		
<p>Nepřijatelný obraz</p> <p>Okolo některých jamek jsou červené kruhy a okolo některých jamek nejsou vůbec žádné, dané jamky nejsou kalibrovány. Chybějící kruhy znamenají, že záznam fluorescence z dané jamky není dostatečně jasný.</p>		

Příprava kalibrační destičky nebo karty

DŮLEŽITÉ! Při přípravě destiček nebo karet používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

Připravte materiál na kalibraci ROI podle typu vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- Příprava kalibrační destičky ROI..... 42
- Příprava karet pro kalibraci přístroje 37

Příprava kalibrační destičky ROI

Potřebné pomůcky

- 96- nebo 384-jamková destička pro kalibraci Region of Interest (ROI) a pozadí
- Centrifuga s adaptérem na destičky
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Poznámka: Pro tuto kalibraci je zapotřebí pouze destička ROI.

Příprava kalibrační destičky

1. Vyjměte kalibrační destičku ROI z mrazáku a nechte ji ohřát na pokojovou teplotu (asi 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte kalibrační destičku z obalu, dokud nejste připraveni ji použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

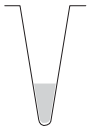
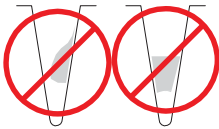
2. Vyjměte ROI kalibrační destičku z obalu. Neodstraňujte optický film.

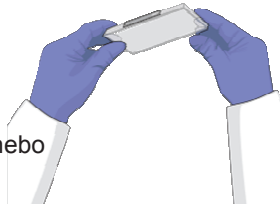
DŮLEŽITÉ! Nevyhazujte obalový materiál kalibrační destičky ROI. Destičku můžete použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu až 6 měsíců, pokud je uchovávána ve svém obalu.

3. Vortexujte a centrifugujte destičku:
 - a. Vortexujte kalibrační destičku ROI 5 vteřin.
 - b. Centrifugujte destičku 2 minuty při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Kalibrační destička ROI musí být dobře promíchána a centrifugována.

- c. Ověřte, že tekutina v každé jamce kalibrační destičky ROI je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

Správně	Špatně
 <p data-bbox="493 1883 655 1944">Tekutina je na dně jamky.</p>	 <ul style="list-style-type: none"> • Centrifugováno při nízkých otáčkách, nebo • Centrifugováno příliš krátkou dobu



Provedení kalibrace

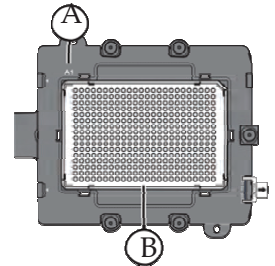
1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.

Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.

3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce kalibrací:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **ROI**.
 - b. Na ROI kalibrační obrazovce zvolte Start Calibration (Spustit kalibraci).
5. Klikněte na Next (Další), poté proveďte kalibraci podle pokynů.

Jakmile se otevrou boční dvířka, vložte kalibrační destičku nebo kartu ROI. Ujistěte se, že destička nebo karta dobře dosedla do držáku.

- (A) 96/384-jamkovou destičku vložte tak, že pozice A1 je v levém horním rohu adaptéru.
- (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k přístroji.



DŮLEŽITÉ! Destičky nebo karty vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

6. Poté co vložíte destičku nebo kartu, spusťte kalibraci:
 - a. V záložce Setup (Zadání) zvolte **Check the box when the ROI calibration plate has been loaded** (Zatrhněte toto políčko, je-li vložena destička pro kalibraci ROI), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh) klikněte na **START RUN** (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

7. Po skončení běhu se zobrazí obrazovka Analysis (Analýza), z nabídky Filter Set zvolte příslušný filtr a ověřte, že na obraze ROI jsou kolem každé jamky zelené kruhy.

8. Po kontrole obrazů ROI ověřte stav kalibrace. Stav *passed* (úspěšná) znamená, že kalibrace proběhla v pořádku, *failed* (neúspěšná) znamená, že kalibrace se nezdařila.

Stav kalibrace	Krok
Passed	Klikněte na Next (Další), vyjměte destičku nebo kartu, jakmile se z přístroje QuantStudio™ 12K Flex vysune rameno.
Failed	Postupujte podle pokynů v části “Řešení problémů s kalibrací ROI” na straně 72.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části [“Řešení problémů s kalibrací ROI” na straně 72.](#)

9. Destičku nebo kartu uchovejte nebo vyhodte.

Spotřební materiál	Krok
Karta	Kartu vyhodte, pokud neplánujete brzy provést kalibraci uniformity. Poznámka: Kartu lze znovu použít, pokud kalibraci ROI a uniformity provádíte v tentýž den.
Destička	Vraťte ROI kalibrační destičku do obalu. Pokud chcete provést kalibraci pozadí a uniformity: <ul style="list-style-type: none"> Během následujících 8 hodin, ponechte ROI kalibrační destičku při pokojové teplotě. (ROI kalibrační destička se používá při kalibraci uniformity.) Další den, vraťte destičku v obalu do mrazáku. <p>DŮLEŽITÉ! Kalibrační destičku nevyhazujte. Je-li destička uchovávána ve svém obalu, můžete ji použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex 3× po dobu 6 měsíců od otevření.</p>

10. Na kalibrační obrazovce ROI klikněte na **Finish (Dokončit)** pro ukončení kalibrace, poté klikněte na **Yes (Ano)**, čímž výsledky kalibrace uložíte.

Provedení kalibrace pozadí

V průběhu kalibrace pozadí systém QuantStudio™ 12K Flex:

- Snímá fluorescence destičky pro kalibraci pozadí po dobu 10 minut při 60 °C.
- Vypočítá průměrnou intenzitu zaznamenané fluorescence pozadí a provede extrakci spektrálního signálu, data uloží do kalibračního souboru.

Program QuantStudio™ 12K Flex používá tento kalibrační soubor v následujících bžích pro eliminaci fluorescenčního signálu pozadí.

Kdy provádět kalibraci

Měsíčně nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

O kalibraci pozadí

V průběhu kalibrace pozadí zaznamená systém QuantStudio™ 12K Flex řadu obrazů destičky pro kalibraci pozadí za použití každého z filtrů. Software porovná fluorescence každé jamky s průměrnou intenzitou fluorescence destičky. Kalibrace pozadí se zdaří, pokud získané obrazy nevykazují žádnou abnormální intenzitu fluorescence ani v jednom filtru.

Výsledek kalibrace

Po skončení kalibrace můžete zkontrolovat její výsledky v záložce Background (Pozadí) v okně Instrument Manager (Správce přístroje). Graf s výsledky analýzy (vlevo) zobrazuje snímanou fluorescence ve všech filtrech. V záložce Well Table (Tabulka jamek, vpravo) jsou zobrazené výsledky aktuální kalibrace. V záložce QC (Kontrola kvality) jsou zobrazeny výsledky kontroly kvality kalibrace provedené softwarem QuantStudio™ 12K Flex.

Fluorescence pozadí

V rámci měření fluorescence 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 materiál (destička nebo karta)

Příprava kalibrační destičky nebo karty

Připravte materiál na kalibraci pozadí podle typu vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- Příprava kalibrační destičky 46
- Příprava karet pro kalibraci přístroje 37

Příprava destičky pro kalibraci pozadí

DŮLEŽITÉ! Při přípravě destiček nebo karet používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

Potřebné pomůcky

- 96- nebo 384-jamková destička pro kalibraci Region of Interest (ROI) a pozadí
- Centrifuga s adapterem na destičky
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Poznámka: Pro tuto kalibraci je zapotřebí pouze destička pro kalibraci pozadí.

Příprava kalibrační destičky

1. Vyjměte destičku na kalibraci pozadí z mrazáku a nechte ji ohřát na pokojovou teplotu (asi 5 minut).
2. Vyjměte destičku na kalibraci pozadí z obalu. Neodstraňujte optický film.

DŮLEŽITÉ! Nevyhazujte obalový materiál kalibrační destičky. Destičku na kalibraci pozadí můžete použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu až 6 měsíců, pokud je uchovávána ve svém obalu.

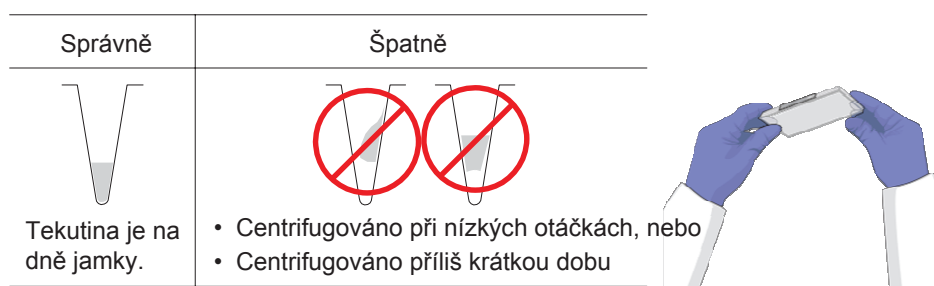
3. Vortexujte a centrifugujte destičku na kalibraci pozadí:

- a. Vortexujte destičku na kalibraci pozadí 5 vteřin.
- b. Centrifugujte destičku 2 minuty při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destička musí být dobře promíchána a centrifugována.

- c. Ověřte, že tekutina v každé jamce kalibrační destičky je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

DŮLEŽITÉ! Dno destičky se nesmí znečistit. Tekutiny a další kontaminace, které mohou ulpět na dně destičky, mohou způsobit kontaminaci bloku na vzorky a abnormálně vysokou hodnotu fluorescence pozadí.

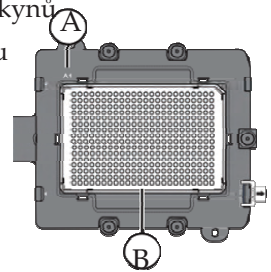


Provedení kalibrace

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce kalibrací:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **Background (Pozadí)**.
 - b. Na obrazovce Background Calibration (Kalibrace pozadí) zvolte Start Calibration (Spustit kalibraci).

5. Klikněte na Next (Další), poté proveďte kalibraci podle pokynů. Jakmile se otevrou boční dvířka, vložte kalibrační destičku nebo kartu pro kalibraci pozadí. Ujistěte se, že destička nebo karta dobře dosedla do držáku.

- (A) 96/384-jamkovou destičku vložte tak, že pozice A1 je v levém horním rohu adaptéru.
- (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k přístroji.



DŮLEŽITÉ! Destičky nebo karty vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

6. Poté co vložíte destičku nebo kartu, spusťte kalibraci:
 - a. V záložce Setup (Zadání), zvolte **Check the box when the background calibration plate has been loaded** (Zatrhněte toto políčko je-li vložena destička pro kalibraci pozadí), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh), klikněte na START RUN (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

7. Po skončení běhu se zobrazí obrazovka Analysis (Analýza), ověřte stav analýzy a poté zvolte záložku **QC (Kontrola kvality)** a zkontrolujte výsledky kontroly kvality dat.

- **Analysis Status (Stav analýzy)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed (úspěšná)* znamená, že kalibrace proběhla v pořádku, *failed (neúspěšná)* znamená, že kalibrace se nezdařila.

Poznámka: Abnormální spektrum nebo abnormálně vysoká fluorescence pozadí může indikovat přítomnost kontaminace v destičce, kartě nebo bloku na vzorky, což může způsobit, že se kalibrace nezdaří.

- **QC Status (Stav kontroly kvality)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed (úspěšná)* znamená, že kalibrace proběhla v pořádku a splnila kritéria kontroly kvality, *failed (neúspěšná)* znamená, že kalibrace se nezdařila a jedna nebo více jamek se výrazně liší od ostatních jamek v destičce.

Stav analýzy	Stav QC	Krok
Passed	Passed	Klikněte na Next (Další), vyjměte destičku nebo kartu, jakmile se z přístroje QuantStudio™ 12K Flex vysune rameno.
Passed	Failed	Postupujte podle pokynů v části " Řešení problémů s kalibrací pozadí " na straně 73. Poznámka: Kalibraci, která má v poli Analysis status stav <i>Passed</i> a v poli QC Status <i>failed</i> můžete přesto přijmout.
Failed	Failed	Doporučujeme přijmout pouze kalibrace, které mají <i>obě</i> kritéria splněna (<i>passed</i>).



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části "[Řešení problémů s kalibrací pozadí](#)" na straně 73.

8. Destičku nebo kartu uchovejte nebo vyhoďte.

Spotřební materiál	Krok
Karta	Kartu vyhoďte.
Destička	Vraťte destičku pro kalibraci pozadí do obalu a do mrazáku. DŮLEŽITÉ! Kalibrační destičku nevyhazujte. Je-li destička uchovávána ve svém obalu, můžete ji použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex 3× po dobu 6 měsíců od otevření.

9. Na obrazovce Background Calibration (Kalibrace pozadí) klikněte na **Finish (Dokončit)** pro ukončení kalibrace. Poté klikněte na **Yes (Ano)**, čímž výsledky kalibrace uložíte.

Kalibrace uniformity

Kalibrace uniformity umožní uložit data, která pomáhají programu QuantStudio™ 12K Flex kompenzovat vliv fyzikálních parametrů filtrů systému QuantStudio™ 12K Flex na zaznamenané výsledky.

Kdy provádět kalibraci

Kalibraci uniformity provádějte každý rok nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

O kalibraci uniformity

Během kalibrace uniformity program QuantStudio™ 12K Flex zaznamená sérii obrazů destičky pro kalibraci ROI za použití každého z filtrů přístroje. Po skončení kalibrace můžete zkontrolovat její výsledky v záložce Uniformity (Uniformita) v okně Instrument Manager (Správce přístroje). Graf s výsledky analýzy (vlevo) zobrazuje snímanou fluorescenci ve všech filtrech. V záložce Well Table (Tabulka jamek, vpravo) jsou zobrazené výsledky aktuální kalibrace. V záložce QC (Kontrola kvality) jsou zobrazeny výsledky kontroly kvality kalibrace provedené softwarem QuantStudio™ 12K Flex.

Příprava kalibrační destičky nebo karty

Máte-li z aktuálně provedené kalibrace ROI ještě destičku nebo kartu pro provedení kalibrace ROI, pokračujte [krokem b na straně 50](#) (destičky), nebo částí [“Provedení kalibrace” na straně 51](#) (karty). V opačném případě připravte materiál na kalibraci ROI podle typu vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- Příprava kalibrační destičky ROI..... 42
- Příprava karet pro kalibraci přístroje..... 37

Příprava kalibrační destičky

DŮLEŽITÉ! Při přípravě destiček nebo karet používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

Potřebné pomůcky

Seznam pomůcek viz část [“Provedení kalibrace ROI” na straně 41.](#)

1. Vyjměte kalibrační destičku ROI z mrazáku a nechte ji ohřát na pokojovou teplotu (asi 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte kalibrační destičku z obalu, dokud nejste připraveni ji použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

2. Vyjměte ROI kalibrační destičku z obalu. Neodstraňujte optický film.

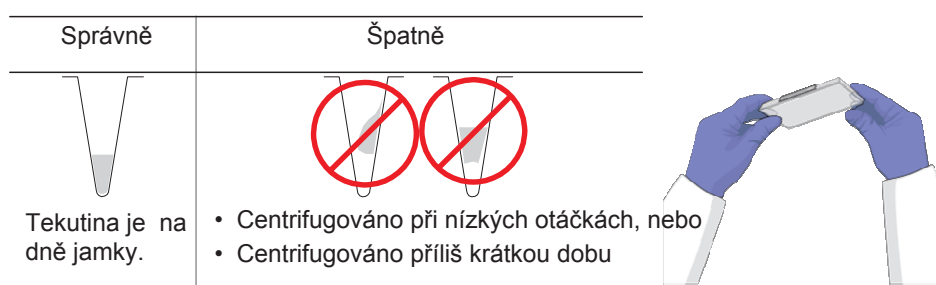
DŮLEŽITÉ! Nevyhazujte obalový materiál kalibrační destičky ROI. Destičku můžete použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu až 6 měsíců, pokud je uchovávána ve svém obalu.

3. Vortexujte a centrifugujte destičku:

- a. Vortexujte kalibrační destičku ROI 5 vteřin.
- b. Centrifugujte destičku 2 minuty při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Kalibrační destička ROI musí být dobře promíchána a centrifugována.

- c. Ověřte, že tekutina v každé jamce kalibrační destičky ROI je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

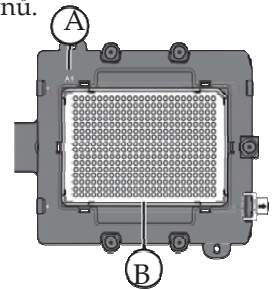


Provedení kalibrace

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce kalibrací:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **Uniformity (Uniformita)**.
 - b. Na obrazovce Uniformity Calibration (Kalibrace uniformity) zvolte **Start Calibration (Spustit kalibraci)**.
5. Klikněte na Next (Další), poté proveďte kalibraci podle pokynů.

Jakmile se otevrou boční dvířka, vložte kalibrační destičku nebo kartu ROI. Ujistěte se, že destička nebo karta dobře dosedla do držáku.

- (A) 96/384-jamkovou destičku vložte tak, že pozice A1 je v levém horním rohu adaptéru.
- (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k přístroji.



DŮLEŽITÉ! Destičky nebo karty vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

6. Poté co vložíte destičku nebo kartu, spusťte kalibraci:
 - a. V záložce Setup (Zadání) zvolte **Check the box when the Uniformity calibration plate has been loaded** (Zatrhněte toto políčko je-li vložena destička pro kalibraci uniformity), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh) klikněte na START RUN (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

7. Po skončení běhu se zobrazí obrazovka Analysis (Analýza), ověřte stav analýzy a poté zvolte záložku **QC (Kontrola kvality)** a zkontrolujte výsledky kontroly kvality dat.

- **Analysis Status (Stav analýzy)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed (úspěšná)* znamená, že kalibrace proběhla v pořádku, *failed (neúspěšná)* znamená, že kalibrace se nezdařila.

Poznámka: Kalibrace se nezdaří, pokud se spektra v jamkách výrazně liší jedno od druhého nebo spektrální signály mají příliš nízkou intenzitu. Abnormální spektrum může indikovat přítomnost kontaminace v destičce, kartě nebo bloku na vzorky.

- **QC Status (Stav kontroly kvality)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed (úspěšná)* znamená, že kalibrace proběhla v pořádku a splnila kritéria kontroly kvality, *failed (neúspěšná)* znamená, že kalibrace se nezdařila a jedna nebo více jamek se výrazně liší od ostatních jamek v destičce.

Stav analýzy	Stav QC	Krok
Passed	Passed	Klikněte na Next (Další), vyjměte destičku nebo kartu, jakmile se z přístroje QuantStudio™ 12K Flex vysune rameno.
Passed	Failed	Postupujte podle pokynů v části “Řešení problémů s kalibrací uniformity” na straně 74.
Failed	Failed	Poznámka: Kalibraci, která má v poli Analysis status stav <i>Passed</i> a v poli QC Status <i>failed</i> můžete přesto přijmout. Doporučujeme přijmout pouze kalibrace, které mají <i>obě</i> kritéria splněna (<i>passed</i>).



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části [Tabulka 4, “Řešení problémů s kalibrací uniformity” na straně 74.](#)

8. Destičku nebo kartu uchovejte nebo vyhodte.

Spotřební materiál	Krok
Karta	Kartu vyhodte.
Destička	Vraťte destičku pro kalibraci ROI do obalu a do mrazáku. DŮLEŽITÉ! Kalibrační destičku nevyhazujte. Je-li destička uchovávána ve svém obalu, můžete ji použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu 6 měsíců od otevření.

9. Na obrazovce Uniformity Calibration (Kalibrace uniformity) klikněte na **Finish (Dokončit)** pro ukončení kalibrace. Poté klikněte na **Yes (Ano)**, čímž výsledky kalibrace uložíte.

Provedení kalibrace barev

V průběhu kalibrace barev systém QuantStudio™ 12K Flex:

- Zaznamenaná spektrální signály použitých standardních fluorescenčních barev.
- Zaznamenaná data uloží do kalibračního souboru pro každou standardní barvu.

Program QuantStudio™ 12K Flex pak při následně prováděných bězích tato kalibrační data používá pro určení jednotlivých barev a jejich příspěvku do přístrojem celkově naměřené fluorescence v rámci běhu. Po ukončení běhu je každé snímání provedené v jeho průběhu uloženo programem QuantStudio™ 12K Flex 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. Po ukončení analýzy program QuantStudio™ 12K Flex uloží do každého experimentu i kalibrační údaje i fluorescenční data naměřená v průběhu daného experimentu.

DŮLEŽITÉ! Kalibrovat musíte pouze ty fluorescenční barvy, které hodláte při analýzách na přístroji QuantStudio™ 12K Flex používat.

Kdy provádět kalibraci barev

Provádějte kalibraci barev každý rok nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

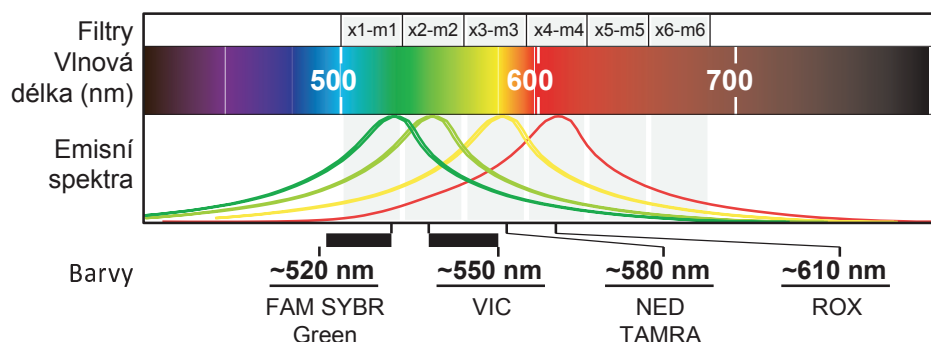
DŮLEŽITÉ! Kalibrovat musíte pouze ty fluorescenční barvy, které hodláte při analýzách na přístroji QuantStudio™ 12K Flex používat. Například pokud hodláte spustit analýzu destičky RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje (viz [strana 63](#)), musíte kalibrovat barvy FAM™, TAMRA™ a ROX™, protože všechny tři jsou součástí chemie používané v této destičce.

DŮLEŽITÉ! Před každou kalibrací barev musíte provést kalibraci pozadí. Jelikož během používání přístroje může vlivem času dojít ke změně tvaru spektrálních signálů, doporučujeme provádět kalibraci barev nejméně jednou ročně.

O kalibraci barev

Systémové barvy

Pro kalibraci Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex se používají následující barvy: FAM™, NED™, ROX™, SYBR® Green, TAMRA™ a VIC®. Následující obrázek ukazuje emisní spektrum pro každou barvu a současně i filtry a vlnové délky, při nichž je daná barva snímána.



Vlastní barvy

System QuantStudio™ 12K Flex podporuje používání esejí využívajících jiné barvy (barvy nedodávané společností Applied Biosystems). Chcete-li na vašem přístroji QuantStudio™ 12K Flex použít jinou barvu, musíte vytvořit a spustit vlastní destičku pro kalibraci této barvy. Software QuantStudio™ 12K Flex použije tuto destičku pro vytvoření spektrálního standardu tak, aby tuto barvu odlišil ve fluorescenčních datech naměřených během běhu. Více informací viz část [“Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy” na straně 184.](#)

DŮLEŽITÉ! Chcete-li na vašem přístroji použít jinou barvu, musí být tato barva excitována v rozsahu 455 až 672 nm a emitovat fluorescenci v rozsahu 505 až 723 nm.

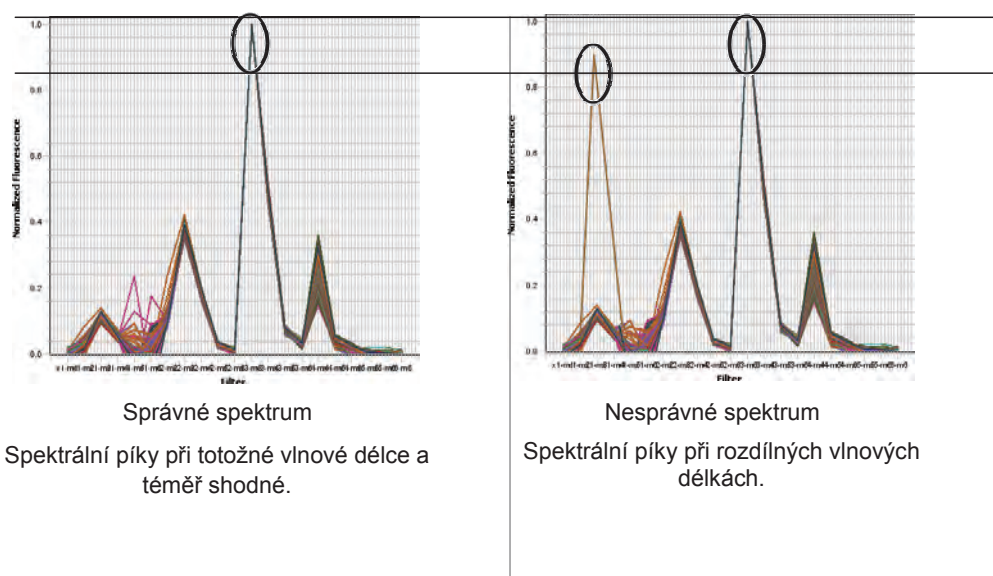
O kalibraci barev

Výsledkem kalibrace barev je soubor spektrálních profilů, které lze chápat jako jakýsi fluorescenční podpis každé barvy. Každý profil sestává ze spektrálních signálů, jež představují fluorescenci naměřenou v každé z jamek destičky pro kalibraci dané barvy. Program QuantStudio™ 12K Flex 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 QuantStudio™ 12K Flex 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.



Příprava kalibrační destičky nebo karty

Připravte materiál na kalibraci podle typu vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- Příprava kalibrační destičky 55
- Příprava karet pro kalibraci přístroje..... 37

Příprava kalibrační destičky

DŮLEŽITÉ! Před provedením kalibrace barev musíte provést kalibraci ROI, kalibraci pozadí a uniformity.

DŮLEŽITÉ! Při přípravě destiček nebo karet používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

Potřebné pomůcky

- 96- nebo 384-jamkové destičky pro kalibraci barev (FAM™, VIC®, ROX™, NED™, TAMRA™, SYBR® Green)
- Centrifuga s adapterem na destičky
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Příprava kalibrační destičky

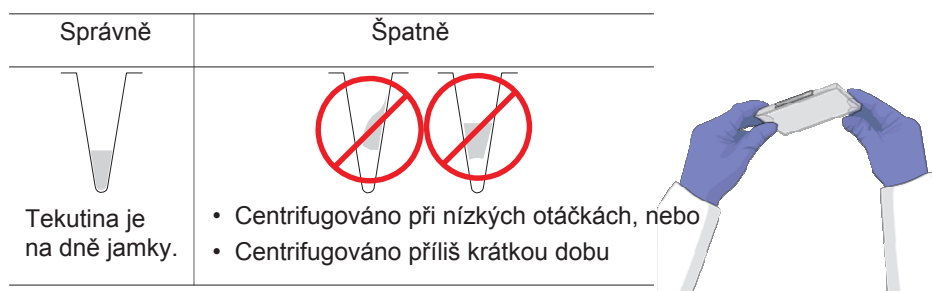
1. Vyjměte destičku pro kalibraci barvy z mrazáku a nechte ji ohřát na pokojovou teplotu (asi 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte kalibrační destičku z obalu, dokud nejste připraveni ji použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

Poznámka: Destičku můžete použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu až 6 měsíců, pokud je uchovávána ve svém obalu..

2. Pokračujte v části [“Provedení kalibrace” na straně 56.](#)

Před použitím každou destičku vortexujte 5 sec, centrifugujte 2 min při méně než 1500 rpm, poté ověřte, že tekutina v každé jamce kalibrační destičky je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

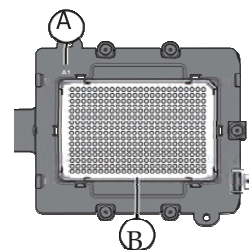


DŮLEŽITÉ! Kalibrační destička musí být dobře promíchána a centrifugována.

Provedení kalibrace

DŮLEŽITÉ! Program QuantStudio™ 12K Flex vás provádí kalibraci každé barvy zvlášť. Kalibraci každé barvy musíte spustit a analyzovat zvlášť.

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce kalibrací:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **Dye (Barva)**.
 - b. Na obrazovce Dye Calibration (Kalibrace barev) zvolte **System Dye Calibration (Systémová barva)**, poté klikněte na **Start Calibration (Spustit kalibraci)**.
5. Na obrazovce Dye Calibration (Kalibrace barev) zvolte z nabídky Dye Name, kterou barvu chcete kalibrovat, poté proveďte kalibraci podle pokynů.
6. Vložte kalibrační destičku nebo kartu do přístroje QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. Ověřte, že destička nebo karta, kterou vkládáte do přístroje, obsahuje barvu zvolenou v programu QuantStudio™ 12K Flex. Název barvy je na destičce hned vedle čárového kódu.
 - b. Jakmile se otevřou boční dvířka, vložte kalibrační destičku nebo kartu. Ujistěte se, že destička nebo karta dobře dosedla do držáku.
 - (A) 96/384-jamkovou destičku vložte tak, že pozice A1 je v levém horním rohu adaptéru.
 - (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k přístroji.



DŮLEŽITÉ! Destičky nebo karty vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

7. Poté co vložíte destičku nebo kartu, spusťte kalibraci:
 - a. Na obrazovce Dye Calibration (Kalibrace barev) zvolte **Check the box when the dye calibration plate has been loaded** (Zatrhněte toto políčko, je-li vložena destička pro kalibraci barvy), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh), klikněte na START RUN (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

8. Po skončení běhu program QuantStudio™ 12K Flex zobrazí obrazovku Analysis (Analýza), zkontrolujte výsledná spektra:
- Zvolte záložku **Plate Layout (Vyobrazení destičky)**, poté zkontrolujte hrubá data. Pro každé spektrum ověřte, že pík je:
 - V rozsahu detekovatelném přístrojem QuantStudio™ 12K Flex.
 - Nejsou přítomny nepravidelné píky.
 - Přítomen ve správném filtru pro danou barvu (viz tabulka níže).

Sada filtrů	Excitace (nm)	Emise (nm)	Systémové barvy
x1-m1 (modrý)	470± 15	520± 15	<ul style="list-style-type: none"> FAM™ SYBR® Green
x2-m2 (zelený)	520± 10	558± 12	<ul style="list-style-type: none"> HEX™ JOE™ TET™ VIC®
x3-m3 (žlutý)	549.5± 10	586.5± 10	<ul style="list-style-type: none"> NED™ TAMRA™
x4-m4 (oranžový)	580± 10	623± 14	ROX™
x5-m5 (červený)	640± 10	682± 14	LIZ™
x6-m6 (tmavě červený)	662± 10	711± 12	—‡

‡ Společnost Life Technologies nedodává žádné barvy detekované ve filtrech x6-m6.

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

- Zvolte záložku **QC (Kontrola kvality)** a zkontrolujte výsledky kontroly kvality dat.

9. Poté co zkontrolujete spektra barev, ověřte stav kalibrace:

- **Analysis Status (Stav analýzy)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed* (úspěšná) znamená, že kalibrace proběhla v pořádku, *failed* (neúspěšná) znamená, že kalibrace se nezdařila.
- **QC Status (Stav kontroly kvality)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed* (úspěšná) znamená, že kalibrace proběhla v pořádku a splnila kritéria kontroly kvality, *failed* (neúspěšná) znamená, že kalibrace se nezdařila a jedna nebo více jamek se výrazně liší od ostatních jamek v destičce.

Stav analýzy	Stav QC	Krok
Passed	Passed	1. Klikněte na Next (Další). 2. Do pole Comments napište libovolný komentář, klikněte na Finish (Dokončit), poté klikněte na Yes (Ano), čímž výsledky kalibrace ukončíte. 3. Vyjměte destičku nebo kartu, jakmile se z přístroje QuantStudio™ 12K Flex vysune rameno.
Passed	Failed	Postupujte podle pokynů v části " Řešení problémů s kalibrací barev " na straně 75. Poznámka: Kalibraci, která má v poli Analysis status stav <i>passed</i> a v poli QC Status <i>failed</i> můžete přesto přijmout. Doporučujeme přijmout pouze kalibrace, které mají <i>obě</i> kritéria splněna (<i>passed</i>).
Failed	Failed	



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části [Tabulka 5, "Řešení problémů s kalibrací barev"](#) na straně 75.

10. Destičku nebo kartu uchovejte nebo vyhodte:

Spotřební materiál	Krok
Karta	Kartu vyhodte.
Destička	Vraťte destičku pro kalibraci barvy do obalu a do mrazáku. DŮLEŽITÉ! Kalibrační destičku nevyhazujte. Je-li destička uchovávána ve svém obalu, můžete ji použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu 6 měsíců od otevření.

11. Opakujte kalibraci a její kontrolu ([krok 4](#) až [krok 10](#)) pro další barvy, které hodláte používat.

Kalibrace normalizace

V průběhu kalibrace normalizace systém QuantStudio™ 12K Flex:

- Zaznamenaná spektrální signály použitých normalizačních standardů.
- Zaznamenaná data uloží do kalibračního souboru pro normalizaci.

Kalibrace normalizace slouží k vytvoření a uložení údajů, jež systém QuantStudio™ 12K Flex následně používá, pokud jsou v rámci tzv. studie porovnávány výsledky získané z více přístrojů QuantStudio™ 12K Flex.

Kdy provádět kalibraci

Provádějte kalibraci normalizace každý rok nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

O kalibraci normalizace

Během kalibrace normalizace program QuantStudio™ 12K Flex zaznamená sérii obrazů každé normalizační destičky za použití každého z filtrů přístroje. Výsledkem této kalibrace je buď úspěšné ("Pass") nebo neúspěšné ("Fail") provedení, vyhodnocování je prováděno pro každou normalizační destičku.

Příprava kalibrační destičky nebo karty

Připravte spotřební materiál na kalibraci normalizace podle typu vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- Příprava kalibračních destiček 59
- Příprava karet pro kalibraci přístroje 37

Příprava kalibračních destiček

DŮLEŽITÉ! Při přípravě destiček nebo karet používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

DŮLEŽITÉ! Před provedením kalibrace normalizace musíte provést kalibraci ROI, pozadí, uniformity a barev.

Potřebné pomůcky

- 96- nebo 384-jamkové destičky pro kalibraci normalizace s barvami FAM™/ROX™ a VIC®/ROX™
- Centrifuga s adapterem na destičky
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Příprava kalibrační destičky

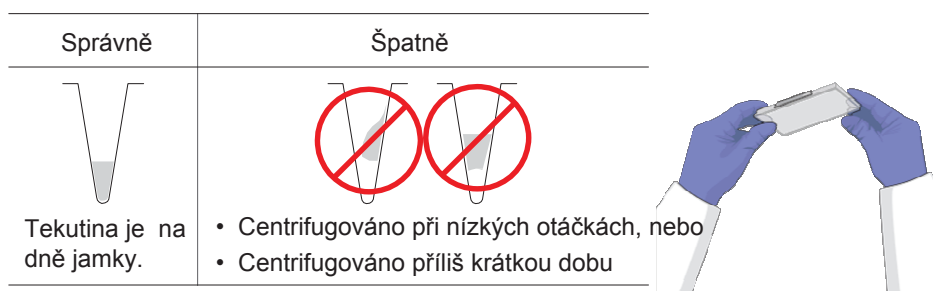
1. Vyjměte kalibrační destičky z mrazáku a nechte je ohřát na pokojovou teplotu (asi 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte kalibrační destičku z obalu, dokud nejste připraveni ji použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

Poznámka: Kalibrační destičku nevyhazujte. Je-li destička uchovávána ve svém obalu, můžete ji použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu 6 měsíců od otevření.

2. Pokračujte v části **“Provedení kalibrace”** na straně 60.

Před použitím každou destičku vortexujte 5 sec, centrifugujte 2 min při méně než 1500 rpm, poté ověřte, že tekutina v každé jamce kalibrační destičky je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.



DŮLEŽITÉ! Destička musí být dobře promíchána a centrifugována.

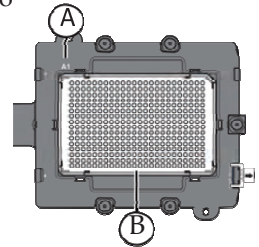
Provedení kalibrace

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.

Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.

3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce kalibrací:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **Normalization (Normalizace)**.
 - b. Na obrazovce Normalization Calibration (Kalibrace normalizace) zvolte Start Calibration (Spustit kalibraci).
5. Na obrazovce Normalization Calibration (Kalibrace normalizace) zvolte kombinaci reportérová barva/pasivní reference, kterou hodláte kalibrovat, poté proveďte kalibraci podle pokynů.

6. Vložte kalibrační destičku nebo kartu do přístroje QuantStudio™ 12K Flex:
- Ujistěte se, že vkládáte destičku nebo kartu, která odpovídá nastavení v programu QuantStudio™ 12K Flex. Název barev je na destičce hned vedle čárového kódu.
 - Jakmile se otevřou boční dvířka, vložte kalibrační destičku nebo kartu. Ujistěte se, že destička nebo karta dobře dosedla do držáku.
 - (A) 96/384-jamkovou destičku vložte tak, že pozice A1 je v levém horním rohu adaptéru.
 - (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k přístroji.



DŮLEŽITÉ! Destičky nebo karty vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

7. Poté co vložíte destičku nebo kartu, spusťte kalibraci:
- Na obrazovce Normalization Calibration (Kalibrace normalizace) zvolte **Check the box when the normalization calibration plate has been loaded** (Zatrhněte toto políčko, je-li vložena destička pro kalibraci normalizace), poté Klikněte na Next (Další).
 - Na obrazovce Run (Běh), klikněte na START RUN (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

8. Po skončení běhu program QuantStudio™ 12K Flex zobrazí obrazovku Analysis (Analýza), ověřte výsledek kalibrace. Stav *passed* (úspěšná) znamená, že kalibrace proběhla v pořádku, *failed* (neúspěšná) znamená, že kalibrace se nezdařila.

Stav analýzy	Krok
Passed	Do pole Comments napište libovolný komentář, klikněte na Next (Další), poté vyjměte destičku nebo kartu, jakmile se z přístroje QuantStudio™ 12K Flex vysune rameno.
Failed	Postupujte podle pokynů v části “Řešení problémů s kalibrací normalizace” na straně 76 .



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části [Tabulka 6, “Řešení problémů s kalibrací normalizace”](#) na straně 76.

9. Destičku nebo kartu uchovejte nebo vyhodte:

Spotřební materiál	Krok
Karta	Kartu vyhodte.
Destička	Vraťte destičku pro kalibraci normalizace do obalu a do mrazáku. DŮLEŽITÉ! Kalibrační destičku nevyhazujte. Je-li destička uchovávána ve svém obalu, můžete ji použít pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex třikrát po dobu 6 měsíců od otevření.

10. Na obrazovce Normalization Calibration (Kalibrace normalizace) klikněte na Finish (Dokončit) pro ukončení kalibrace, **poté klikněte na Yes (Ano), čímž výsledky kalibrace uložíte.**
11. Opakujte [kroky 4 až 10](#) i s druhou destičkou pro kalibraci normalizace.

Ověření funkčnosti přístroje

Proveďte běh s destičkou TaqMan® RNÁza P, abyste ověřili funkčnost Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex.

Kdy provádět
běh s RNázou P
pro ověření
funkčnosti
přístroje

Doporučujeme provést běh s RNázou P pro ověření funkčnosti přístroje:

- Po přestěhování přístroje QuantStudio™ 12K Flex na jiné místo.
- Podle potřeby.

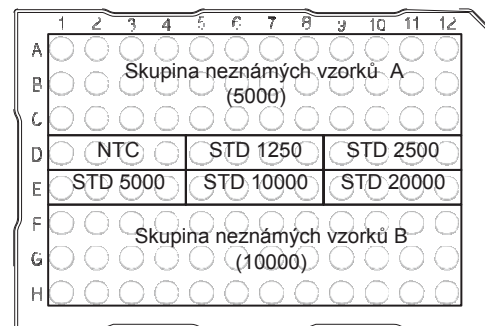
O soupravě
RNÁza P

V experimentu ověřujícím funkčnost přístroje se používá jedna ze dvou k tomu určených souprav společnosti Life Technologies. Soupravy se liší pouze typem použitého spotřebního plastu: destička TaqMan® RNÁza P pro ověření funkčnosti přístroje QuantStudio™ 12K Flex s 96/384-jamkovým blokem na vzorky a karta RNÁza P pro ověření funkčnosti přístroje QuantStudio™ 12K Flex s blokem na karty.

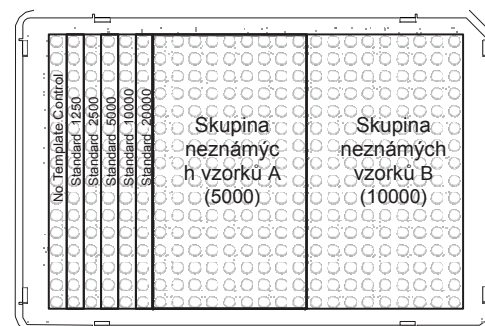
Destička TaqMan® RNÁza P pro ověření funkčnosti přístroje

Destička RNÁza P obsahuje rozplněné reagentie potřebné pro detekci a kvantifikaci genomových kopií lidského genu pro RNÁzu P (jednokopiový gen kódující RNázovou podjednotku enzymu RNÁza P). Každá jamka obsahuje TaqMan® Fast univerzální PCR mastermix, primery pro amplifikaci genu pro RNÁzu P, sondu značenou FAM™ a lidskou genomovou DNA o známé koncentraci (templát).

Obrázek vpravo znázorňuje uspořádání standardů a skupin neznámých vzorků na 96-jamkové 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 netemplátové kontroly (NTC).



Obrázek vpravo znázorňuje uspořádání standardů a skupin neznámých vzorků na 384-jamkové 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 netemplátové kontroly (NTC).



O kartě RNáza P

Součástí soupravy TaqMan® RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje je jedna prázdná karta a osm zkumavek s roztoky. V každé zkumavce je reakční směs (TaqMan® Universal PCR mastermix, primery pro amplifikaci genu pro RNázu P, sonda značená FAM™ a lidská genomovou DNA o známé koncentraci (templát).

Chcete-li provést ověření funkčnosti přístroje, pipetujete roztoky do prázdné karty podle schématu vpravo. Karta bude obsahovat pět skupin standardů (200, 400, 800, 1600 a 3200 kopií), dvě skupiny neznámých vzorků (800 a 1600 kopií) a netemplátové kontroly (NTC)..

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	PORT		
A																										1	
B																											2
C																											3
D																											4
E																											5
F																											6
G																											7
H																											8

O analýze

Program QuantStudio™ 12K Flex analyzuje data totožným způsobem, ať již byla použita 96/384-jamková destička nebo karta.

Po skončení běhu program QuantStudio™ 12K Flex:

1. Vytvoří standardní křivku na základě průměru hodnot CT (threshold cycle) pro jednotlivé replikáty standardů.
2. Vypočítá koncentraci dvou skupin neznámých vzorků za použití této standardní křivky.
3. Ověří funkčnost přístroje QuantStudio™ 12K Flex pomocí následujícího výpočtu:

$$\frac{CopyUnk_2 - 3 \cdot CopyUnk_2}{CopyUnk_1} > \frac{CopyUnk_1 + 3 \cdot CopyUnk_1}{CopyUnk_1}$$

kde:

- CopyUnk₁ = Průměrný počet kopií skupiny A (Obsahuje 5000 kopií)
- CopyUnk₁ = Standardní odchylka skupiny A (Obsahuje 5000 kopií)
- CopyUnk₂ = Průměrný počet kopií skupiny B (Obsahuje 10000 kopií)
- CopyUnk₂ = Standardní odchylka skupiny B (Obsahuje 10000 kopií)

Poznámka: Skupina neznámých vzorků A jsou vzorky o koncentraci 5000 kopií v řádcích A až C (96-jamková) nebo sloupcích 7 až 15 (384-jamková) destičky TaqMan® RNáza P nebo o koncentraci 800 kopií v řádcích C a D karty. Skupina neznámých vzorků B jsou vzorky o koncentraci 10000 kopií v řádcích F až H (96-jamková) nebo sloupcích 16 až 24 (384-jamková) destičky TaqMan® RNáza P nebo o koncentraci 1600 kopií v řádcích E a F karty.

Instalační specifikace

Přístroj QuantStudio™ 12K Flex splňuje parametry instalace, platí-li shora uvedený vzorec a přístroj úspěšně rozliší 5000 a 10000 kopií na hladině spolehlivosti 99.7%.

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

Blok na vzorky	Maximální počet odlehlých bodů, které lze vyloučit			
	Neznámé vzorky A‡	Neznámé vzorky B§	Standardy (STD) #	Netemplátové kontroly (NTC)
96-jamkový ‡‡	6	6	1	0
384-jamkový	10	10	2	0
Karty	4	4	4	0

‡ 5,000-kopií pro 96/ 384-jamkovou destičku; 800-kopií pro karty.

§ 10,000- kopií pro 96/ 384-jamkovou destičku; 1,600-kopií pro karty.

Maximální počet jamek, které lze vyloučit z *každé* skupiny standardů.

‡‡ Standardní 96-jamková destička nebo 96-jamková destička typu Fast

Příprava materiálu

DŮLEŽITÉ! Provádíte-li ověření funkčnosti přístroje pomocí běhu s destičkou / kartou RNáza P:

- Proveďte nejprve všechny kalibrace.
- Běh s destičkou / kartou TaqMan® RNáza P proveďte brzy potom, jakmile reagentie v destičce / kartě roztají. Pro optimální výsledek je nutné dobu mezi roztátím reagentie a spuštěním běhu co nejvíce zkrátit.
- Při přípravě destiček nebo karty používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

Přípravte materiál na ověření funkčnosti podle typu vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- Příprava destičky TaqMan® RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje..... 65
- Příprava karty pro ověření funkčnosti přístroje 66

Příprava destičky TaqMan® RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje

Potřebné pomůcky

- Centrifuga s adapterem na destičky
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle
- TaqMan® RNase P Fast 96-jamková destička pro ověření funkčnosti přístroje

Příprava destičky TaqMan® RNáza P

1. Vyjměte destičku TaqMan® RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje z mrazáku a nechte ji ohřát na pokojovou teplotu (asi 5 minut).

DŮLEŽITÉ! Nevyjímejte destičku z obalu, dokud nejste připraveni ji použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

2. Vyjměte destičku RNáza P z obalu.

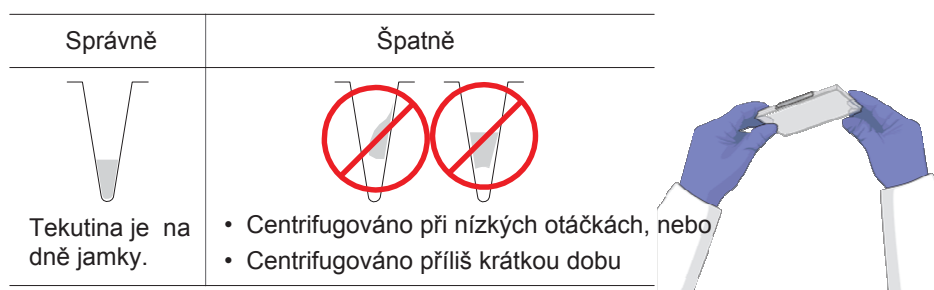
3. Vortexujte a centrifugujte destičku RNáza P:

- a. Vortexujte destičku 5 vteřin.
- b. Centrifugujte destičku 2 minuty při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destička musí být dobře promíchána a centrifugována.

- c. Ověřte, že tekutina v každé jamce kalibrační destičky je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

DŮLEŽITÉ! Dno destičky se nesmí znečistit. Tekutiny a další kontaminace, které mohou ulpět na dně destičky, mohou způsobit kontaminaci bloku na vzorky a abnormálně vysokou hodnotu fluorescence pozadí.



Příprava karty pro ověření funkčnosti přístroje

DŮLEŽITÉ! Následující proceduru proveďte pouze pokud ověřujete funkčnost bloku na karty přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

Potřebné pomůcky

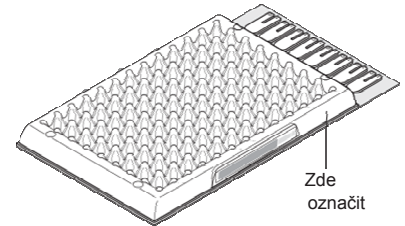
- Nástroj pro zaslepení karet
- Centrifuga s držáky a závěsy na karty
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle
- Pipetman, 200- μ L (s pipetovacími špičkami)
- TaqMan® RNáza P souprava pro ověření funkčnosti přístroje:
 - Karta Applied Biosystems
 - TaqMan® RNáza P souprava pro ověření funkčnosti přístroje, součástí je reakční směs pro každý rezervoár (celkem 8 zkumavek)

Příprava karty pro ověření funkčnosti přístroje

DŮLEŽITÉ! Při přípravě karet používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte kartu z mrazáku a nechte ji ohřát na pokojovou teplotu.
2. Vyjměte kartu z obalu a položte ji na čistý pracovní stůl.

3. Prázdnou kartu označte na boku fixou (RNÁza P).

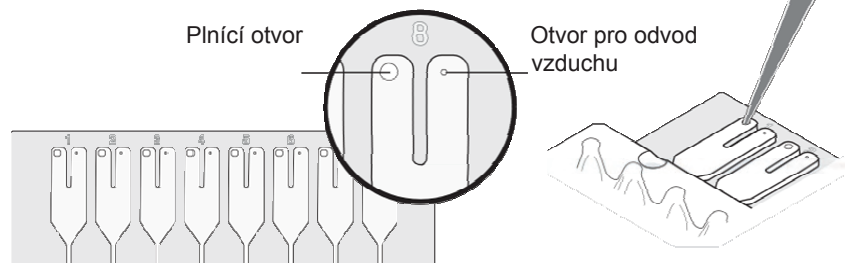


4. Pipetujte 100 μ L každého roztoku do příslušného plnicího rezervoáru karty:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	PORT		
Ø																											1
Ø																											2
Ø																											3
Ø																											4
Ø																											5
Ø																											6
Ø																											7
Ø																											8

Postupujte takto:

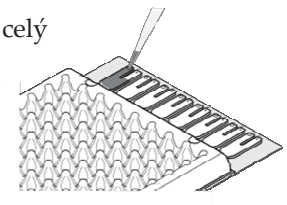
- Položte kartu na stůl fólií dolů.
- Pipetujte 100 μ L kalibračního roztoku do pipety.
- Pipetujte pod úhlem ca 45 stupňů do plnicího otvoru rezervoáru karty. Plnicí otvor je na levé straně rezervoáru a je to ten větší z obou otvorů



DŮLEŽITÉ! Nedotýkejte se špičkou fólie pod plnicím otvorem, mohlo by dojít k jejímu poškození.

- Vytlačte kapalinu z pipetovací špičky tak, že naplní celý rezervoár.

Pipetujete-li reagentie do rezervoáru, pipetujte celý objem (100- μ L), ale nemačkejte píst pipety dál než za první doraz, nebo můžete vytlačit roztok otvorem ven.



DŮLEŽITÉ! Nedotýkejte se špičkou fólie pod plnicím otvorem, mohlo by dojít k jejímu poškození.

5. Centrifugujte a zaslepte kartu podle pokynů v **krocích 6 až 11** na straně **38**.
6. Analýzu karty spusťte co nejdříve po naplnění. Zaslepené karty uchovávejte na tmavém místě, nevystavujte je světlu, dokud nejste připraveni je použít.

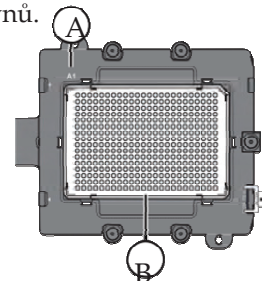
DŮLEŽITÉ! Zaslepené karty uchovávejte na tmavém místě, nevystavujte je světlu, dokud nejste připraveni je použít. Fluorescenční barvy v jamkách jsou fotosenzitivní. Dlouhodobé vystavení těchto barev světlu má vliv na jejich funkčnost.

Spuštění experimentu

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce RNáza P:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **RNase P Run**.
 - b. Na obrazovce RNase P Run klikněte na **Start RNase P Run** (Spustit běh).
5. Klikněte na Next (Další), poté proveďte kalibraci podle pokynů.

Jakmile se otevřou boční dvířka, vložte kalibrační destičku nebo kartu ROI. Ujistěte se, že destička nebo karta dobře dosedla do držáku.

- (A) 96/384-jamkovou destičku vložte tak, že pozice A1 je v levém horním rohu adaptéru.
- (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k přístroji.



DŮLEŽITÉ! Destičky nebo karty vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

6. Poté co vložíte destičku nebo kartu, spusťte kalibraci:
 - a. Na obrazovce Overview (Přehled) zvolte **Check the box when the RNase P calibration plate has been loaded** (Zatrhněte toto políčko, je-li vložena kalibrační destička RNáza P), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh) klikněte na **START RUN** (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

7. Po skončení běhu se zobrazí obrazovka Analysis (Analýza), ověřte výsledek běhu:

Výsledek	Krok
Passed	Ověřovací běh je úspěšný. Pokračujte v části 12 na straně 70 .
Failed	Ověřovací běh je neúspěšný. Pokračujte v části 8 vyloučením 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 CT hodnotám, které jsou výrazně odlišné od průměru dané skupiny replikátů. Pokud budou takovéto jamky (odlehlé body) zahrnuty do analýzy, mohou chybně ovlivnit její výsledky.

8. V amplifikačním grafu zvolte **Ct vs. Well** (Závislost Ct na pozici jamky). Ověřte uniformitu každé skupiny replikátů porovnáním seskupení hodnot CT (kontroly, standardy, neznámé vzorky):
- V zobrazení destičky zvolte jamky obsahující skupinu neznámých vzorků A:
 - **96-jamková destička** – Řádky A až C (5000 kopií).
 - **384-jamková destička** – Sloupce 7 až 15 (5000 kopií).
 - **Karta** – Řádky C a D (800 kopií).
 - V grafu ověřte, že hodnoty CT skupiny replikátů jsou stejné.
Poznámka: Čísla na ose X odpovídají jednotlivým jamkám. Počínaje jamkou A1 jsou jamky číslovány zleva doprava a shora dolů.
 - Naleznete-li ve zvolené skupině vzorků odlehlý bod, vyberte odpovídající jamku ve vyobrazení destičky, poté klikněte **Omit** (Vynechat), čímž jamku z analýzy vypustíte. Pokud počet odlehlých bodů překročí limity podle tabulky níže, opakujte experiment pomocí jiné destičky nebo karty RNáza P.

Blok na vzorky	Maximální počet odlehlých bodů, které lze vyloučit			
	Neznámé vzorky A [‡]	Neznámé vzorky B [§]	Standardy (STD)	Netemplátové kontroly (NTC)
96-jamkový	6	6	1 [#]	0
384-jamkový	10	10	2 [#]	0
Karty	4	4	4 [#]	0

[‡] 5,000-kopií pro 96/ 384-jamkovou destičku; 800-kopií pro karty.

[§] 10,000- kopií pro 96/ 384-jamkovou destičku; 1,600-kopií pro karty.

[#] Maximální počet jamek, které lze vyloučit z *každé* skupiny standardů.

^{‡‡} Standardní 96-jamková destička nebo 96-jamková destička typu Fast

- Opakujte [kroky 8a až 8c](#) pro každou skupinu replikátů (neznámé vzorky, standardy, negativní kontroly) na destičce.

9. Zkontrolujte, zda se v tabulce výsledků zobrazují ukazatele kvality:
- Zvolte záložku **Results Table (Tabulka výsledků)**.
 - Zkontrolujte sloupec Flag, zda se v něm vyskytují údaje o nedostatečné kvalitě některého z kontrolovaných parametrů.
 - Každý takový údaj vyhodnoťte podle pokynů v části [“Řešení problémů s výsledky běhu RNÁza P” na straně 77](#).

AMPNC	Amplifikace v negativní kontrole
BADROX	Špatný signál pasivní reference
BLFAIL	Selhání stanovení pozadí
CTFAIL	Selhání stanovení C _T
EXPFAIL	Selhání stanovení exponenciální fáze amplifikace
HIGHSD	Vysoká standardní odchylka v rámci skupiny replikátů
NOAMP	Žádná amplifikace
NOISE	Vyšší šum než v jiných jamkách
NOSIGNAL	Žádný signál v jamce
OFFSCALE	Příliš silný fluorescenční signál
OUTLIERRG	Odlehlý bod ve skupině replikátů
SPIKE	Výkyvy šumu
THOLDFAIL	Selhání stanovení prahu

10. Pokud jste vyloučili odlehlé body, klikněte na tlačítko **Reanalyze** (Analyzovat znovu).
- Pokud jste provedli [kroky 8 až 10](#) a stav běhu RNÁza P je “Failed” (Neúspěšný), opakujte běh znovu za použití nové destičky. Pokud problém přetrvává, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.
11. Vyhodnoťte parametry standardní křivky:
- Zvolte záložku **Standard Curve** (Standardní křivka).
 - Klikněte do levého horního rohu vyobrazení destičky, čímž zvolíte všechny jamky.
 - 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 technickou podporu Life Technologies.
12. Na obrazovce Analysis (Analýza) klikněte na Next (Další), vyjměte destičku nebo kartu jakmile se z přístroje QuantStudio™ 12K Flex vysune rameno, poté destičku nebo kartu vyhodte.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

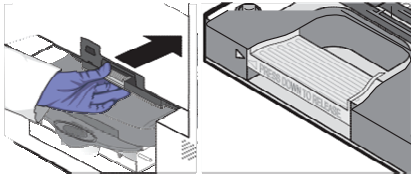
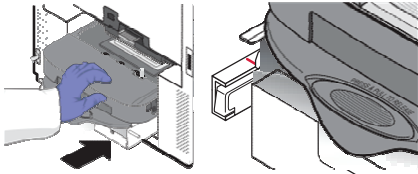
DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části [Tabulka 7, “Řešení problémů s výsledky běhu RNÁza P” na straně 77](#).

13. Klikněte na **Finish (Dokončit)**, poté klikněte na **Yes (Ano)**, čímž výsledky uložíte.

Řešení problémů

■ Tabulka 2 Řešení problémů s kalibrací ROI.....	72
■ Tabulka 3 Řešení problémů s kalibrací pozadí.....	73
■ Tabulka 4 Řešení problémů s kalibrací uniformity	74
■ Tabulka 5 Řešení problémů s kalibrací barev	75
■ Tabulka 6 Řešení problémů s kalibrací normalizace.....	76
■ Tabulka 7 Řešení problémů s výsledky běhu RNáza P	77

Tabulka 2 Řešení problémů s kalibrací ROI

Problém	Možná příčina	Krok
Kalibrace ROI se nezdařila.	Blok na vzorky nebo vyhřívané víko dobře nedosedlo.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky. 2. Vyčkejte 15 minut, otevřete dvířka. 3. Zatlačte blok na vzorky a vyhřívané víko směrem dozadu, abyste se ujistili, že dobře dosedly. <p>DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že šipky na přední páčce vyhříváného víka jsou namířeny, jak je vyobrazeno níže. Pokud šipky nemíří proti sobě, zatlačte víko dále dozadu, dokud páčka nesedne na místo.</p> 
Obraz ROI je tmavý.		<p>DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že značka na levé straně bloku na vzorky je za červenou linkou na vodící liště bloku. Pokud tomu tak není, zatlačte blok na vzorky dále dozadu, dokud blok nesedne na místo.</p>  <ol style="list-style-type: none"> 4. Pokud ROI kalibrace opakovaně selže, zkontrolujte stav halogenové žárovky systému QuantStudio™ 12K Flex, v případě potřeby žárovku vyměňte.
Chyba přístroje.	Různé důvody	Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.
Destička ROI se nevysunula z přístroje.	Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívánému víku v přístroji.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasadte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka. 5. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky.

Tabulka 3 Řešení problémů s kalibrací pozadí

Problém	Možná příčina	Krok
Kalibrace pozadí se nezdařila.	Fluorescence v jedné nebo více jamkách destičky nebo karty pro kalibraci pozadí překročila povolený limit.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Opakujte kalibraci pozadí za použití téže destičky nebo karty. 2. Pokud kalibrace znovu selže, opakujte kalibraci znovu za použití nové destičky nebo karty pro kalibraci pozadí. 3. Pokud kalibrace znovu selže, určete zdroj kontaminace podle pokynů v části “Jak identifikovat kontaminaci” na straně 80.
Destička pro kalibraci pozadí se nevysunula z přístroje.	Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívanému víku v přístroji.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasadte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka. 5. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky.
Chyba přístroje.	Různé důvody	Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.

Tabulka 4 Řešení problémů s kalibrací uniformity

Problém	Možná příčina	Krok
Kalibrace uniformity se nezdařila.	Spektrální signály mají příliš nízkou intenzitu ve všech jamkách destičky nebo karty.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ujistěte se, že jste pro kalibraci použili destičku nebo kartu pro kalibraci ROI. Pokud ne, použijte ji a opakujte kalibraci znovu. 2. Pokud jste použili správnou destičku nebo kartu, opakujte kalibraci za použití nové destičky nebo karty. 3. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.
	Fluorescence v jedné nebo více jamkách destičky nebo karty se výrazně liší od fluorescence v jiných jamkách.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Na obrazovce Analysis (Analýza) zobrazte výsledky kalibrace a určete, v kterých jamkách je abnormální signál. 2. Otočte destičku pro kalibraci o 180°, poté proveďte kalibraci znovu. 3. Znovu určete, v kterých jamkách je abnormální signál. Jsou-li pozice kontaminovaných jamek v kroku 1 a kroku 2: <ul style="list-style-type: none"> • Identické – Je kontaminovaný blok na vzorky. Dekontaminujte blok na vzorky. • Reverzní – Je kontaminovaná destička nebo karta. Destičku nebo kartu vyhodte, poté proveďte kalibraci pomocí nové destičky nebo karty ROI. 4. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.
Destička ROI se nevysunula z přístroje.	Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívanému víku v přístroji.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasadte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka. 5. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky.
Chyba přístroje.	Různé důvody	Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.


Tabulka 5 Řešení problémů s kalibrací barev

Problém	Možná příčina	Krok
<p>Jeden nebo více spektrálních signálů je příliš nízký</p>	<p>Destička pro kalibraci barvy byla nedostatečně centrifugována</p>	<p>1. Vyjměte destičku ze systému QuantStudio™ 12K Flex a zkontrolujte jamky. Pokud tekutina není:</p> <ul style="list-style-type: none"> • U všech jamek na dně, centrifugujte destičku déle a zopakujte kalibraci. • Ve všech jamkách ve stejném objemu, reagenty se odpařily. Destičku vyhodte a použijte jinou. <p>2. Pokud se destička zdá v pořádku, vyhodte ji a použijte jinou.</p> <p>3. Pokud problém přetrvává, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.</p> <p>Poznámka: Provádíte-li kalibraci vlastní barvy, připravte novou destičku s vyšší koncentrací barvy.</p>
	<p>Destička pro kalibraci barvy obsahuje staré nebo málo reagentů</p>	
	<p>Koncentrace vlastní barvy je příliš nízká.</p>	
<ul style="list-style-type: none"> • Spektrální píky jsou detekovány ve více než jednom filtru. • Jeden nebo více spektrálních signálů je příliš vysoký 	<p>Blok na vzorky nebo kalibrační destička jsou kontaminovány fluorescenčními kontaminacemi.</p>	<p>Ujistěte se pomocí kalibrace pozadí, že nedošlo ke kontaminaci (viz “Provedení kalibrace pozadí” na straně 45). Pokud nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky, může být kontaminována kalibrační destička.</p> <p>Poznámka: Provádíte-li kalibraci vlastní barvy, připravte novou destičku s nižší koncentrací barvy.</p>
	<p>Koncentrace vlastní barvy je příliš vysoká.</p>	
<p>Destička pro kalibraci barvy se nevysunula z přístroje.</p>	<p>Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívanému víku v přístroji.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasadte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka. 5. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky.
<p>Chyba přístroje.</p>	<p>Různé důvody</p>	<p>Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.</p>

Tabulka 6 Řešení problémů s kalibrací normalizace

Problém	Možná příčina	Krok
Kalibrace normalizace se nezdařila.	Spektrální signály mají příliš nízkou intenzitu ve všech jamkách destičky nebo karty.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ujistěte se, že jste pro kalibraci použili destičku nebo kartu pro kalibraci normalizace. Pokud ne, použijte ji a opakujte kalibraci znovu. 2. Pokud jste použili správnou destičku nebo kartu, opakujte kalibraci za použití nové destičky nebo karty. 3. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.
	Fluorescence v jedné nebo více jamkách destičky nebo karty se výrazně liší od fluorescence v jiných jamkách.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Na obrazovce Analysis (Analýza) zobrazte výsledky kalibrace a určete, v kterých jamkách je abnormální signál. 2. Otočte destičku pro kalibraci o 180°, poté proveďte kalibraci znovu. 3. Znovu určete, v kterých jamkách je abnormální signál. Jsou-li pozice kontaminovaných jamek v kroku 1 a kroku 2: <ul style="list-style-type: none"> • Identické – Je kontaminovaný blok na vzorky. Dekontaminujte blok na vzorky. • Reverzní – Je kontaminovaná destička nebo karta. Destičku nebo kartu vyhodte, poté proveďte kalibraci pomocí nové destičky nebo karty ROI. 4. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.
Destička pro kalibraci normalizace se nevysunula z přístroje.	Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívanému víku v přístroji.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasaďte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka. 5. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky.
Chyba přístroje.	Různé důvody	Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.

Tabulka 7 Řešení problémů s výsledky běhu RNáza P

Problém	Možná příčina	Krok
Větší než povolený počet odlehlých bodů	Kontaminace Chyba pipetování	Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
Běh RNáza P se nezdařil	Nedostatečná centrifugace Destička nebyla dobře zavřena	 VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu. 1. Vyjměte destičku nebo kartu RNáza P z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. 2. Podržte destičku proti světlu a ověřte, že ve všech jamkách je stejný objem tekutiny. 3. 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. 4. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.
Destička RNáza P se nevysunula z přístroje.	Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívanému víku v přístroji.	1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasadte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka. 5. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že nedošlo ke kontaminaci bloku na vzorky.
V jamce se zobrazuje signál NOSIGNAL, intenzita fluorescence v jamce je velmi nízká nebo nulová.	• Žádná reakční směs v důsledku chyby pipetování	Je-li jamka takto označena, ověřte výsledek: 1. Zvažte vypuštění určitých jamek z analýzy. 2. U každé označené jamky ověřte, že nedošlo k odparu nebo že objem reagensů není příliš nízký. 3. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.

Problém	Možná příčina	Krok
V jamce se zobrazuje signál BADROX, signál pasivní reference je nepřijatelný	<ul style="list-style-type: none"> • Kapky na stěnách jamek • Netěsnost uzavření destičky • Kondenzace 	<p>Je-li jamka takto označena, ověřte výsledek:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte označenou jamku(y) ve vyobrazení destičky nebo v tabulce. 2. Zobrazte amplifikační graf (R_n vs. cyklus) a zkontrolujte nepravdivosti v amplifikačních křivkách. 3. Zkontrolujte pohledem, zda v destičce nepozorujete kondenzaci nebo různé objemy reagentů v jamkách 4. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Ujistěte se, že je dobře uzavřena a centrifugována. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
V jamce se zobrazuje signál BLFAIL, program nemůže vypočítat úroveň fluorescence pozadí.	<ul style="list-style-type: none"> • Pozdní amplifikace • Žádná amplifikace 	<p>Je-li jamka takto označena, ověřte výsledek:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte označenou jamku(y) ve vyobrazení destičky nebo v tabulce. 2. Zobrazte amplifikační graf (R_n vs. cyklus a ΔR_n vs. cyklus) a ověřte, nedošlo-li k časně, pozdní, nízké nebo žádné amplifikaci. 3. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Ujistěte se, že je dobře uzavřena a centrifugována. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
V jamce se zobrazuje signál CTFAIL, program nemůže vypočítat C _T	<ul style="list-style-type: none"> • Příliš časná amplifikace • Pozdní amplifikace • Nízká amplifikace 	
V jamce se zobrazuje signál EXPFAIL, program nemůže stanovit exponenciální fázi amplifikační křivky	<ul style="list-style-type: none"> • Žádná amplifikace 	
V jamkách negativní kontroly se zobrazuje signál AMPNC, došlo v nich k amplifikaci.	Kontaminace	Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies
V jamce se zobrazuje signál OFFSCALE, intenzita fluorescence v jamce (pro jednu nebo více barev) je příliš vysoká (mimo detekovatelný rozsah).	<ul style="list-style-type: none"> • Fluorescenční kontaminace v destičce nebo bloku • Fluorescenční kontaminace v reakci 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Proveďte kalibraci pozadí. Detekujete-li fluorescenční kontaminaci, dekontaminujte blok na vzorky 2. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu společnosti Life Technologies.

Problém	Možná příčina	Krok
V jamce se zobrazuje signál HIGHSD, hodnota standardní odchylky C_T pro skupinu replikátů je příliš vysoká.	<ul style="list-style-type: none"> • Kapky na stěnách jamek • Netěsnost uzavření destičky • Kondenzace • Různé objemy v jamkách destičky 	<p>Je-li jamka takto označena, ověřte výsledek:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte označenou jamku(y) a příslušnou skupinu replikátů ve vyobrazení destičky nebo v tabulce. 2. Zobrazte amplifikační graf (R_n vs. cyklus) a zkontrolujte nepravidelnosti v amplifikačních křivkách. 3. 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. 4. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Ujistěte se, že je dobře uzavřena a centrifugována. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu společnosti Life Technologies.
V jamce se zobrazuje signál NOAMP, nedošlo k amplifikaci.	<ul style="list-style-type: none"> • Chybějící templát • Světelný zdroj přístroje nefunguje 	
V jamce se zobrazuje signál NOISE, hodnota šumu v jamce je vyšší než v ostatních jamkách destičky.	<ul style="list-style-type: none"> • Kapky na stěnách jamek • Netěsnost uzavření destičky • Kondenzace 	
V jamce se zobrazuje signál OUTLIERRG, C_T hodnota pro tuto jamku se výrazně liší od C_T hodnot dané skupiny replikátů (označen je pouze odlehlý bod)	<ul style="list-style-type: none"> • Kontaminace • Netěsnost uzavření destičky 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dekontaminujte pracovní plochu a pipetmany. 2. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Ujistěte se, že je dobře uzavřena a centrifugována. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu společnosti Life Technologies.
V jamce se zobrazuje signál SPIKE, datové body amplifikační křivky nejsou v souladu s jinými datovými body této křivky.	<ul style="list-style-type: none"> • Bubliny • Odpar kvůli netěsnosti uzavření destičky 	Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Ujistěte se, že je dobře uzavřena a centrifugována. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu společnosti Life Technologies.
V jamce se zobrazuje signál THOLDFAIL, program nemůže vypočítat práh (threshold)	<ul style="list-style-type: none"> • Příliš časná amplifikace • Pozdní amplifikace • Nízká amplifikace • Žádná amplifikace 	<p>Je-li jamka takto označena, ověřte výsledek:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte označenou jamku(y) ve vyobrazení destičky nebo v tabulce. 2. Zobrazte amplifikační graf (R_n vs. cyklus a ΔR_n vs. cyklus) a ověřte, nedošlo-li k časně, pozdní, nízké nebo žádné amplifikaci. 3. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku nebo kartu TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Ujistěte se, že je dobře uzavřena a centrifugována. Pokud se během znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu společnosti Life Technologies..
Chyba přístroje.	Různé důvody	Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.

Jak identifikovat kontaminaci

Pokud v některých jamkách dojde k překročení limitní hodnoty normální fluorescence pozadí, může to indikovat fluorescenční kontaminaci kalibrační destička nebo bloku na vzorky. Mezi běžné kontaminující látky patří inkoust z popisovačů, pudr z rukavic a prach.

Chcete-li určit zdroj kontaminace:

1. Na obrazovce Analysis (Analýza) zobrazte výsledky kalibrace, zvolte záložku **QC (Kontrola kvality)** a zkontrolujte seznam jamek, které neprošly kontrolou kvality.
2. Otočte destičku pro kalibraci pozadí o 180°, poté proveďte kalibraci pozadí znovu.
3. Zkontrolujte seznam jamek, které neprošly kontrolou kvality.
Jsou-li pozice kontaminovaných jamek v [kroku 1](#) a [kroku 2](#):
 - **Identické** – Je kontaminovaný blok na vzorky. Dekontaminujte blok na vzorky (viz [“Dekontaminace bloku na vzorky” na straně 124](#)).
 - **Reverzní** – Je kontaminovaná destička nebo karta. Destičku nebo kartu vyhodte, poté proveďte kalibraci pozadí pomocí nové destičky nebo karty.
4. Pokud se kalibrace po výměně destičky nebo karty nebo dekontaminaci bloku na vzorky nezdaří:
 - a. Zakryjte destičku nebo kartu kusem černého papíru.
 - b. Proveďte kalibraci pozadí podle postupu popsaného v této kapitole, použijte přitom destičku nebo kartu zakrytou papírem.
 - c. Po skončení běhu zobrazte výsledky kalibrace, ve vyobrazení destičky zvolte všechny jamky a zobrazte spektrální profil. Pokud píky v kontaminovaných jamkách jsou:
 - **Přítomné** – Optický systém vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex je kontaminován. Kontaktujte společnost Life Technologies.
 - **Nepřítomné** – Blok na vzorky je kontaminován. Dekontaminujte blok na vzorky znovu a zopakujte kalibraci.

3

Kalibrace bloků na destičky OpenArray®

V této kapitole naleznete:

■ Doporučená kalibrace a údržba	82
■ Kalibrační plaketa OpenArray®	83
■ Provedení kalibrace pozadí	84
■ Provedení kalibrace uniformity	87
■ Provedení kalibrace barev	90
■ Ověření funkčnosti přístroje	95
■ Řešení problémů	105

Doporučená kalibrace a údržba

Pro správné fungování Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex je zapotřebí jej pravidelně kalibrovat a provádět jeho údržbu. V této kapitole naleznete popis procedur, které musíte pravidelně provádět, aby bylo zajištěno optimální fungování přístroje.

DŮLEŽITÉ! Kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex provádějte při stejné pokojové teplotě, při jaké provádíte vaše experimenty. Velké výkyvy pokojové teploty mohou mít vliv na ohřev a chlazení systému QuantStudio™ 12K Flex a v extrémních případech mohou ovlivnit výsledky experimentů.

DŮLEŽITÉ! Pro čištění systému QuantStudio™ 12K Flex nepoužívejte organická rozpouštědla.


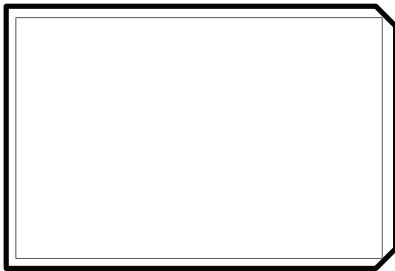
Tabulka 8 Údržba bloků na destičky OpenArray®

Frekvence	Uživatелеm prováděná údržba
Týdně	Zkontrolujte volné místo na disku. Podle potřeby archivujte nebo zálohujte vaše experimenty a nastavení přístroje.
	Vypněte počítač ovládající přístroj QuantStudio™ 12K Flex a po 30 vteřinách jej znovu zapněte.
	Otřete povrch systému QuantStudio™ 12K Flex utěrkou.
	Proveďte test systému QuantStudio™ 12K Flex (samočinný test).
Měsíčně	Proveďte kalibraci pozadí. ‡
	Vyčistěte a defragmentujte disk.
Jednou za 6 měsíců	Proveďte kalibraci pozadí.
	Proveďte kalibraci uniformity.
	Proveďte kalibraci barev.
	Proveďte ověřovací běh přístroje.
Podle potřeby	Dekontaminujte systém QuantStudio™ 12K Flex.
	Vyměňte pojistky systému QuantStudio™ 12K Flex.
	Aktualizujte operační systém Windows.
	Aktualizujte software a firmware QuantStudio™ 12K Flex.

‡ Kalibraci pozadí proveďte za účelem kontroly, zda nedošlo ke kontaminaci. Dojde-li ke změnám v optickém systému přístroje (výměna), musíte provést všechny kalibrace včetně běhu RNázy P pro ověření funkčnosti přístroje.

Kalibrační plaketa OpenArray®

Kalibrační plaketa OpenArray® je speciální nástroj určený k provedení kalibrace pozadí a uniformity bloku OpenArray® systému QuantStudio™ 12K Flex. Jedná se o tenkou plastovou destičku, která má dvě designově i funkčně odlišné strany:

Černá strana	Oranžová strana
<ul style="list-style-type: none"> • Matná, černá. • Úplně hladká. • Pro provedení kalibrace pozadí. 	<ul style="list-style-type: none"> • Lesklá, tmavě oranžová. • Pórovitá, se strukturou mřížky. • Pro provedení kalibrace uniformity.
	

Péče o kalibrační plaketu OpenArray®

Plaketa OpenArray® je citlivá na světlo a musí být udržována v čistotě. Při jejím používání dodržujte následující pokyny:

Krok	Doporučení
Manipulace	<ul style="list-style-type: none"> • Vždy používejte rukavice bez pudru. • Držte plaketu za okraje. • Udržujte plaketu v čistotě..
Přechovávání	Pokud plaketu nepoužíváte, uchovávejte ji: <ul style="list-style-type: none"> • Při pokojové teplotě. • V originálním obalu nebo v čistém plastovém sáčku. • Ve tmě a suchu, např. v zásuvce.
Čistění	Pokud dojde k znečištění plakety OpenArray®, postupujte následovně: <ol style="list-style-type: none"> Položte plaketu OpenArray® na čistý a suchý povrch. Pipetujte malý objem 95% etanolu nebo 95% isopropanolu na kus papírové utěrky, která nepouští vlákna a pečlivě plaketu otřete. Pomocí suché utěrky vytřete do sucha.

Provedení kalibrace pozadí

DŮLEŽITÉ! Následující postup použijte pouze pokud hodláte kalibrovat systém QuantStudio™ 12K Flex s blokem na destičky OpenArray®.

V průběhu kalibrace pozadí systém QuantStudio™ 12K Flex:

- Dvakrát odečítá signál kalibrační plakety OpenArray™ vždy 10 minut při 60°C.
- Vypočítá průměrnou intenzitu zaznamenané fluorescence a provede extrakci spektrálního signálu, data uloží do kalibračního souboru.

Program QuantStudio™ 12K Flex používá tento kalibrační soubor v následujících bězích pro eliminaci fluorescenčního signálu pozadí.

Potřebné pomůcky

- Kalibrační plaketa OpenArray®
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Kdy provádět kalibraci

Měsíčně nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

O kalibraci pozadí

V průběhu kalibrace pozadí zaznamená systém QuantStudio™ 12K Flex řadu obrazů černě strany kalibrační plakety OpenArray® za použití každého z filtrů. Software porovná fluorescenci celého obrazu. Kalibrace pozadí se zdaří, pokud jsou obrazy získané ze všech filtrů v normě.

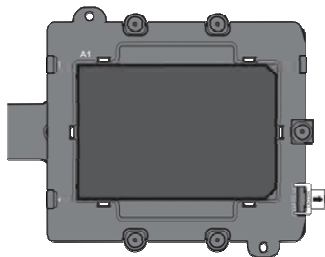
DŮLEŽITÉ! Během kalibrace musí být uživatel přítomen u přístroje. Po skončení prvního čtení je zapotřebí otočit kalibrační plaketu OpenArray® o 180°.

Vložení plakety

1. Jakmile se otevřou dvířka přístroje, vložte kalibrační plaketu OpenArray® (černou stranou nahoru) do držáku.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že je kalibrační plaketa OpenArray® vložena do držáku černou stranou nahoru.

DŮLEŽITÉ! Přístroj smí ovládat pouze uživatelé, kteří jsou náležitě proškoleni z hlediska rizika, plynoucího z faktu, že v přístroji jsou pohyblivé součásti.



2. Zahajte kalibraci:
 - a. Zvolte možnost **Check the box when the calibration plaque has been loaded (Zatrhněte toto pole, je-li kalibrační plaketa vložena)**, poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh), klikněte na **START RUN (SPUSTIT BĚH)**.

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

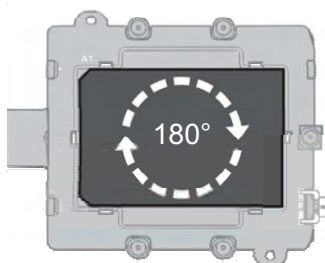
Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

Otočení plakety

Jakmile se otevřou dvířka přístroje a jste vyzváni k otočení plakety OpenArray®:

1. Otočte kalibrační plaketu OpenArray® o 180°, poté ji položte znovu do držáku (černou stranou nahoru).

DŮLEŽITÉ! Nepřetáčejte plaketu dolní stranou nahoru. Černá strana plakety musí mířit nahoru.



2. Kliknutím na **OK** zavřete dialogové okno, poté klikněte na **START RUN (SPUSTIT BĚH)** na obrazovce Run (Běh), provede se druhé čtení.

Dokončení kalibrace

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s kalibrační plaketou OpenArray® používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

1. Ověřte výsledek kalibrace:

Program QuantStudio™ 12K Flex zobrazí v okně Analysis Status výsledek kalibrace, kde *passed* označuje úspěšné provedení kalibrace a *failed* neúspěšné provedení kalibrace.

Stav analýzy	Krok
Passed	1. Klikněte na Next (Další). 2. Do pole Comments napište libovolný komentář, klikněte na Finish (Dokončit), poté klikněte na Yes (Ano), čímž výsledky kalibrace uložíte.
Failed	1. Opakujte kalibraci. Podle potřeby kalibrační plaketu OpenArray® vyčistěte podle postupu v části “Péče o kalibrační plaketu OpenArray®” na straně 83 . 2. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte společnost Life Technologies.

2. Jakmile se otevřou dvířka přístroje, vyjměte kalibrační plaketu OpenArray® z držáku přístroje.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička nebo plaketa ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

3. Uložte kalibrační plaketu do originálního obalu nebo čistého plastového pytlíku.

DŮLEŽITÉ! Kalibrační plaketa OpenArray® nesmí být vystavena delší dobu přímému slunečnímu záření. Pokud plaketu nepoužíváte, uchovejte ji v čistém prostředí v originálním obalu při pokojové teplotě a ve tmě.

DŮLEŽITÉ! Pokud se plaketa z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevyšune, vyjměte ji podle pokynů v části [“Řešení problémů” na straně 105](#).

Kalibrace uniformity

DŮLEŽITÉ! Následující postup použijte pouze pokud hodláte kalibrovat systém QuantStudio™ 12K Flex s blokem na destičky OpenArray®.

Kalibrace uniformity umožní uložit data, která pomáhají programu QuantStudio™ 12K Flex kompenzovat vliv fyzikálních parametrů filtrů systému QuantStudio™ 12K Flex na zaznamenané výsledky.

Potřebné pomůcky

- Kalibrační plaketa OpenArray®
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Kdy provádět kalibraci

Kalibraci uniformity provádějte každý rok nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

DŮLEŽITÉ! Kalibraci uniformity musíte provést před provedením kalibrace barev.

O kalibraci uniformity

Během kalibrace uniformity program QuantStudio™ 12K Flex zaznamená sérii obrazů *oranžové* strany kalibrační plakety OpenArray® za použití každého z filtrů přístroje. Program QuantStudio™ 12K Flex používá získané obrazy ke kalibraci optické uniformity přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

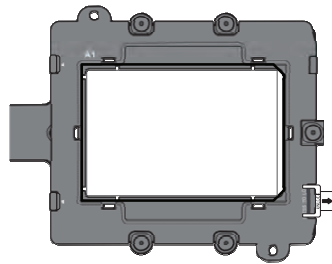
DŮLEŽITÉ! Během kalibrace musí být uživatel přítomen u přístroje. Po skončení prvního čtení je zapotřebí otočit kalibrační plaketu OpenArray® o 180°.

Vložení plakety

1. Jakmile se otevřou dvířka přístroje, vložte kalibrační plaketu OpenArray® (oranžovou stranou nahoru) do držáku.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že je kalibrační plaketa OpenArray® vložena do držáku oranžovou stranou nahoru.

DŮLEŽITÉ! Přístroj smí ovládat pouze uživatelé, kteří jsou náležitě proškoleni z hlediska rizika, plynoucího z faktu, že v přístroji jsou pohyblivé součásti.



2. Zahajte kalibraci:
 - a. Zvolte **Check the box when the calibration plaque has been loaded (Zatrhněte toto pole, je-li kalibrační plaketa vložena)**, poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh), klikněte na **START RUN (SPUSTIT BĚH)**.

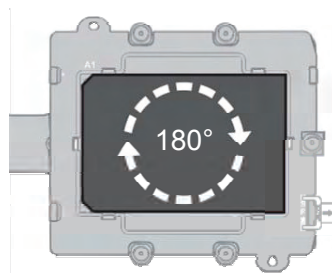
DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

Otočení plakety

Jakmile se otevřou dvířka přístroje a jste vyzváni k otočení plakety OpenArray®:

1. Otočte kalibrační plaketu OpenArray® o 180°, poté ji položte znovu do držáku (oranžovou stranou nahoru).



DŮLEŽITÉ! Nepřetáčejte plaketu dolní stranou nahoru. *Oranžová* strana plakety musí mířit nahoru.

2. Kliknutím na **OK** zavřete dialogové okno, poté klikněte na **START RUN (SPUSTIT BĚH)** na obrazovce Run (Běh), provede se druhé čtení.

Dokončení kalibrace

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s kalibrační plaketou OpenArray® používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.

1. Ověřte výsledek kalibrace:

Program QuantStudio™ 12K Flex zobrazí v okně Analysis Status výsledek kalibrace, kde *passed* označuje úspěšné provedení kalibrace a *failed* neúspěšné provedení kalibrace.

Stav analýzy	Krok
Passed	1. Klikněte na Next (Další). 2. Do pole Comments napište libovolný komentář, klikněte na Finish (Dokončit), poté klikněte na Yes (Ano), čímž výsledky kalibrace uložíte.
Failed	1. Opakujte kalibraci. Podle potřeby kalibrační plaketu OpenArray® vyčistěte podle postupu v části " Péče o kalibrační plaketu OpenArray® " na straně 83. 2. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte společnost Life Technologies.

2. Jakmile se otevřou dvířka přístroje, vyjměte kalibrační plaketu OpenArray® z držáku přístroje.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička nebo plaketa ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

3. Uložte kalibrační plaketu do originálního obalu nebo čistého plastového pytlíku.

DŮLEŽITÉ! Kalibrační plaketa OpenArray® nesmí být vystavena delší dobu přímému slunečnímu záření. Pokud plaketu nepoužíváte, uchovejte ji v čistém prostředí v originálním obalu při pokojové teplotě a ve tmě.

DŮLEŽITÉ! Pokud se plaketa z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune, vyjměte ji podle pokynů v části "[Řešení problémů](#)" na straně 105.

Provedení kalibrace barev

DŮLEŽITÉ! Následující postup použijte pouze pokud hodláte kalibrovat systém QuantStudio™ 12K Flex s blokem na destičky OpenArray®.

Během provedení kalibrace systém QuantStudio™ 12K Flex:

- Zaznamenaná spektrální signály fluorescenční barvy FAM™.
- Zaznamenaná data uloží do kalibračního souboru .

Program QuantStudio™ 12K Flex pak při následně prováděných bězích tato kalibrační data používá pro určení příspěvku jednotlivých barev do přístrojem celkově naměřené fluorescence v rámci běhu. Po ukončení běhu je každé snímání provedené v jeho průběhu uloženo programem QuantStudio™ 12K Flex 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. Po ukončení analýzy program QuantStudio™ 12K Flex uloží do každého experimentu i kalibrační údaje i fluorescenční data naměřená v průběhu daného experimentu.

DŮLEŽITÉ! Kalibrovat musíte pouze ty fluorescenční barvy, které hodláte při analýzách na přístroji QuantStudio™ 12K Flex používat.

Potřebné pomůcky

- Souprava QuantStudio™ 12K Flex System Installation/Calibration Kit:
 - OpenArray® FAM™ Dye Solution – roztok barvy FAM™
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® Calibration Cases (4) – kalibrační komůrky
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® Plugs (4) - zátky
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® kalibrační stříkačka a špička
- Lis na destičky OpenArray® (OpenArray® Plate Press)
- Pipety
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Kdy provádět kalibraci barev

Provádějte kalibraci barev každý rok nebo podle potřeby, v závislosti na využití přístroje.

DŮLEŽITÉ! Před každou kalibrací barev musíte provést kalibraci pozadí. Jelikož během používání přístroje může vlivem času dojít ke změně tvaru spektrálních signálů, doporučujeme provádět kalibraci barev nejméně jednou ročně.

O kalibraci barev

Kalibrace barev je dvoukroková procedura, během níž přístroj QuantStudio™ 12K Flex provede dvě čtení kalibračních komůrek OpenArray®:

- První čtení (preread) prázdných kalibračních komůrek OpenArray®
- Druhé čtení (postread) kalibračních komůrek OpenArray® naplněných roztokem barvy FAM™

O kalibraci barev

Výsledkem kalibrace barev je soubor spektrálních profilů, které lze chápat jako jakýsi fluorescenční podpis barvy FAM™. Profil sestává ze spektrálních signálů, jež představují fluorescenci naměřenou v kalibrační komůrce. Program QuantStudio™ 12K Flex 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 kalibrační komůrce v kontextu všech snímaných spekter. 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 QuantStudio™ 12K Flex může kompenzovat určité problémy ve spektrálním profilu záměnou (automatická oprava) nesprávného spektra určité jamky spektrem jiné oblasti kalibrační komůrky. Je nicméně povoleno pouze několik takových záměn a kalibrace může být zamítnuta, pokud se spektra sousedních jamek liší výrazně.

Pokyny pro manipulaci s kalibračními komůrkami OpenArray®

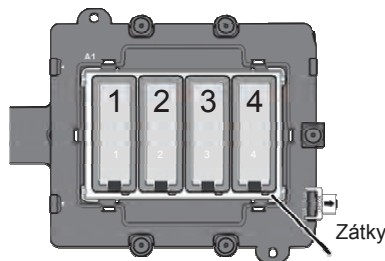
- Použijte rukavice o číslo menší než běžně používáte, aby nedocházelo k nadbytečnému kontaktu materiálu rukavic a kalibračních komůrek OpenArray® při jejich plnění.
- Držte kalibrační komůrky OpenArray® za okraje.

Čtení s prázdnými komůrkami

DŮLEŽITÉ! Při přípravě kalibračních komůrek OpenArray® používejte rukavice bez pudru.

1. Vložte prázdné kalibrační komůrky OpenArray® do držáku, sledujte označení komůrek a dodržujte orientaci:
 - a. Vyjměte kalibrační komůrky OpenArray® z obalu.
 - b. Odstraňte všechny ochranné fólie komůrek.

- c. Vložte nejprve komůrku č. 1 co nejbliže k přístroji a následně i ostatní komůrky podle následujícího obrázku.



DŮLEŽITÉ! Komůrky OpenArray® musí být v takové orientaci, aby zátky byly směrem pryč od pozice A1, viz obrázek.

DŮLEŽITÉ! Přístroj smí ovládat pouze uživatelé, kteří jsou náležitě proškoleni z hlediska rizika, plynoucího z faktu, že v přístroji jsou pohyblivé součásti..

2. Po vložení komůrek OpenArray® zahajte kalibraci:
 - a. Na obrazovce Dye Calibration (Provedení kalibrace barev) zvolte **Check the box when the dye calibration cases have been loaded** (Zatrhněte toto políčko, jsou-li vloženy komůrky pro kalibraci barvy), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh), klikněte na START RUN (SPUSTIT BĚH).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu.

Čtení s naplněnými komůrkami

DŮLEŽITÉ! Při přípravě kalibračních komůrek OpenArray® používejte rukavice bez pudru.

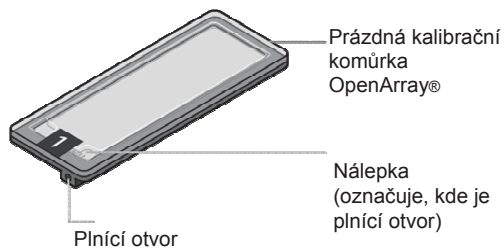
Jakmile se otevřou dvířka přístroje a jste vyzváni k provedení čtení s komůrkami OpenArray® naplněnými barvou FAM™:

1. Nasadte špičku na stříkačku a odložte na čistý povrch.

DŮLEŽITÉ! Špičku nasadte silou. Ujistěte se, že je dobře nasazena.

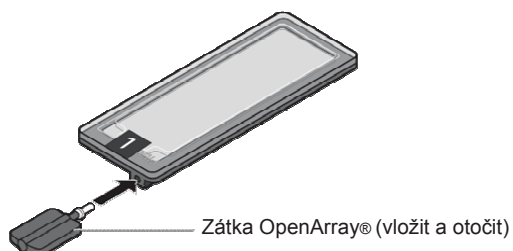
2. Natáhněte do stříkačky asi 2 mL roztoku OpenArray® FAM™ Dye Solution.
3. Vyjměte kalibrační komůrku č. 1 z držáku, držte ji za okraje.
4. Odstraňte nálepku "RUN EMPTY FIRST" (NEJPRVE SPUSŤTE PRÁZDNOU) a uvolněte plnicí otvor.

5. Držte kalibrační komůrku OpenArray® svisle, vložte stříkačku do plnicího otvoru a plynule stlačte píst stříkačky, aby se všechna tekutina dostala do komůrky.



Poznámka: Snažte se, aby nevznikaly vzduchové bubliny. U plnicího otvoru ponechte malou bublinu, aby tekutina nevytekla ven.

6. Vložte do plnicího otvoru zátku a otočte ji po směru hodinových ručiček, dotáhněte a odstraňte držák zátky.



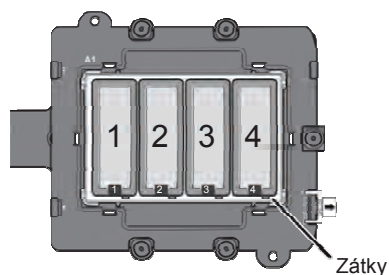
7. Vložte naplněnou kalibrační komůrku OpenArray® do *stejně* pozice držáku OpenArray® (pozice 1).

DŮLEŽITÉ! *Musíte* vložit naplněnou komůrku OpenArray® do stejné pozice držáku, v jaké byla.

DŮLEŽITÉ! Přístroj smí ovládat pouze uživatelé, kteří jsou náležitě proškoleni z hlediska rizika, plynoucího z faktu, že v přístroji jsou pohyblivé součásti..

8. Opakujte kroky 1 – 7 a naplňte zbylé tři kalibrační komůrky OpenArray®.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že kalibrační komůrky OpenArray® jsou ve svých původních pozicích a zátky směrem pryč od pozice A1, viz obrázek.



9. Kliknutím na **OK** zavřete dialogové okno, poté klikněte na **START RUN (SPUSTIT BĚH)** na obrazovce Run (Běh), čímž spustíte běh.

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu

Dokončení kalibrace

DŮLEŽITÉ! Při přípravě kalibračních komůrek OpenArray® používejte rukavice bez pudru.

- Ověřte výsledek kalibrace:
 - Analysis Status (Stav analýzy)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed (úspěšná)* znamená, že kalibrace proběhla v pořádku, *failed (neúspěšná)* znamená, že kalibrace se nezdařila.
 - QC Status (Stav kontroly kvality)** – Informuje o výsledku kalibrace. Stav *passed (úspěšná)* znamená, že kalibrace proběhla v pořádku a splnila kritéria kontroly kvality, *failed (neúspěšná)* znamená, že kalibrace se nezdařila a jedna nebo více komůrek se výrazně liší od ostatních.

Stav analýzy	Krok
Passed	1. Klikněte na Next (Další). 2. Do pole Comments napište libovolný komentář, klikněte na Finish (Dokončit), poté klikněte na Yes (Ano), čímž výsledky kalibrace uložíte.
Failed	Připravte a proveďte kalibraci s novými kalibračními komůrkami. Pokud se kalibrace znovu nezdaří, kontaktujte společnost Life Technologies.

- Jakmile se otevřou dvířka přístroje, vyjměte držák OpenArray® z držáku přístroje.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být držák ohřátý až na 100 °C. Před jeho vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

- Kalibrační komůrky OpenArray® vyhodte do odpadu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se držák z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune, vyjměte jej podle pokynů v části **“Řešení problémů”** na straně 105.

Ověření funkčnosti přístroje

DŮLEŽITÉ! Následující postup použijte pouze pokud hodláte kalibrovat systém QuantStudio™ 12K Flex s blokem na destičky OpenArray®.

DŮLEŽITÉ! Provádíte-li běh RNáza P pro ověření funkčnosti přístroje:

- Proveďte nejprve všechny kalibrace.
 - Destičku OpenArray® analyzujte ihned jakmile reagentie roztají. Čím kratší je doba mezi roztátím destičky a její analýzou, tím vyšší je kvalita výstupu.
 - Při přípravě destiček nebo karty používejte rukavice bez pudru a bezpečnostní brýle.
-

Proveďte běh RNáza P pro ověření funkčnosti Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex .

Kdy provádět
běh s RNázou P
pro ověření
funkčnosti
přístroje

Doporučujeme provést běh s RNázou P pro ověření funkčnosti přístroje:

- Po přestěhování přístroje QuantStudio™ 12K Flex na jiné místo.
- Podle potřeby.

O soupravě
OpenArray®
RNáza P

Součástí soupravy je jedna prázdná destička OpenArray® a zkumavka, obsahující reakční směs OpenArray® RNase P Reaction Mix (TaqMan® Universal PCR Master Mix, RNase P primery, FAM™-MGB sonda) a templátová DNA (lidská genomická DNA o známé koncentraci).

Instalační
specifikace

Přístroj QuantStudio™ 12K Flex splňuje parametry instalace, je-li standardní odchylka CT hodnot všech pórů destičky OpenArray® ≤0.25. Při hodnocení lze výsledek dosažený až ve 48 pórech ignorovat.

Manipulace
s destičkou
OpenArray®

- Držte destičku za okraje.
- Nedotýkejte se pórů destičky.
- Naplňte a uzavřete destičku OpenArray® během *jedné hodiny* po otevření obalu.

Potřebné pomůcky

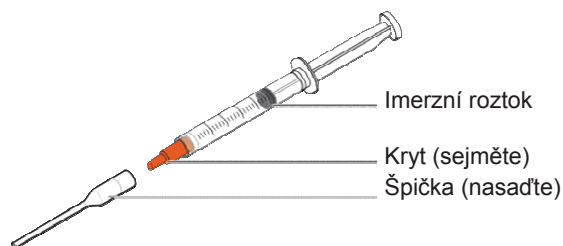
- Souprava QuantStudio™ 12K Flex System RNase P Kit, obsahující:
 - OpenArray® RNase P Reaction Mix – Reakční směs RNáza P
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® Lid - kryt
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® Plug- zátka
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® Immersion Fluid – imerzní roztok
 - QuantStudio™ 12K Flex System OpenArray® Immersion Fluid Tip - špička
 - OpenArray® Digital PCR Plate – destička pro digitální PCR
 - OpenArray® 384-jamková destička
- Systém OpenArray® AccuFill™
- OpenArray® Plate Press – lis na destičky
- Čistící roztok (10%)
- Etanol
- OpenArray® 384-jamkové destičky na vzorky
- OpenArray® AccuFill™ System Loader Tips – špičky na plnění systému AccuFill
- Pipety
- Rukavice bez pudru
- Bezpečnostní brýle

Příprava ověřovacího běhu

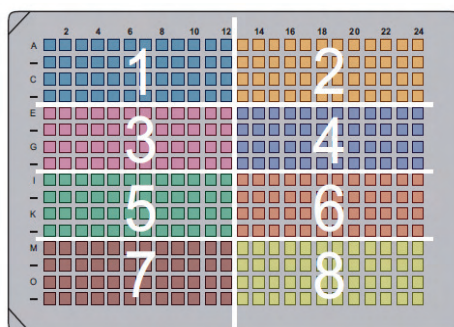
DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkami OpenArray® používejte rukavice bez pudru.

1. Ujistěte se, že 384-jamková destička na vzorky OpenArray®, špičky na plnění systému OpenArray® AccuFill™ a držák na destičku jsou úplně suché.
2. Vyjměte destičku OpenArray® z mrazáku, ale neotevírejte obal. Ponechte Destičku roztát při pokojové teplotě (asi 15 min).
Poznámka: Neotevřené destičky OpenArray® lze ponechat při pokojové teplotě až 24 hodin.
3. Natáhněte do stříkačky imerzní roztok, nasadte na stříkačku špičku a odložte bokem.

DŮLEŽITÉ! Špičku nasadte silou. Ujistěte se, že je dobře nasazena.



4. Pipetujte 5.0 μ L roztoku RNÁza P do pozice 1 384-jamkové destičky na vzorky:



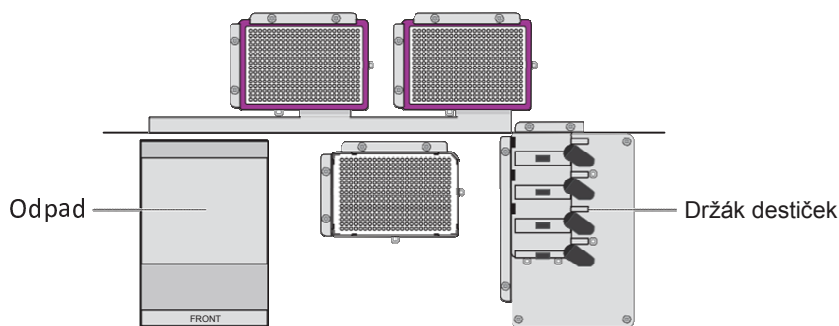
5. Zakryjte destičku na vzorky fólií a rozřízněte fólii na 8 částí podle obrázku výše.
6. Centrifugujte destičku 1 min při 1500 rpm, poté ji uložte na ledu.

Inicializace systému

1. Zavřete dvířka a zapněte program OpenArray® Accufill™. Program ověří komunikaci přístroje a počítače.
Na vyzvání odstraňte předměty z pracovní plochy a vyhoďte použité špičky:
- Otevřete dvířka přístroje směrem vzhůru.

DŮLEŽITÉ! Pro bezpečný provoz přístroje je nutné udržovat pracovní plochu čistou a odpad na špičky prázdný.

- Vyprázdněte odpad a vložte jej zpět na pracovní plochu.



- Odstraňte z pracovní plochy všechny destičky OpenArray®.

3. V případě potřeby vložte nové krabičky se špičkami.

Poznámka: Krabičky obsahují 384 špiček a jsou rozdělené na 8 částí. Kliknete-li na **Load**, systém OpenArray® Accufill™ připraví novou plnou krabičku se špičkami. Program OpenArray® Accufill™ vás vyzve, abyste ověřili, že špičky se nacházejí v pozicích zobrazených na obrazovce. Klikněte do každého vyobrazení špiček, tím potvrdíte, že v dané pozici se špičky nacházejí. Doporučujeme používat plné krabičky se špičkami.

- a. Vložte krabičky se špičkami do daných pozic
 - b. Vložte krabičky se špičkami na pracovní plochu do dvou souběžných pozic.
 - c. Před použitím sejměte víčka.
4. Zavřete dvířka přístroje.
 5. Klikněte na **Proceed**, systém zahájí inicializační test. Po skončení testu je systém připraven k provozu.

Poznámka: Test probíhá pouze při zapnutí. Test se nespouští, dokud není přístroj znovu zapnut nebo není dán uživatelský pokyn k provedení testu (rozbalovací nabídka Instrument > System Self Test).

Příprava plnění

1. Klikněte na **Setup & Load (Zahájení a plnění)**.

2. Otevřete dvířka přístroje OpenArray® Accufill™.

3. V okně Setup Load Information zadejte nebo naskenujte do pole Sample Plate čárový kód vaší soupravy TaqMan® RNase P OpenArray® Plate Instrument Verification Reagents Kit.
4. Vložte do přístroje 384-jamkovou destičku na vzorky s fólií (zatlačte destičku, dokud nezapadne na místo).

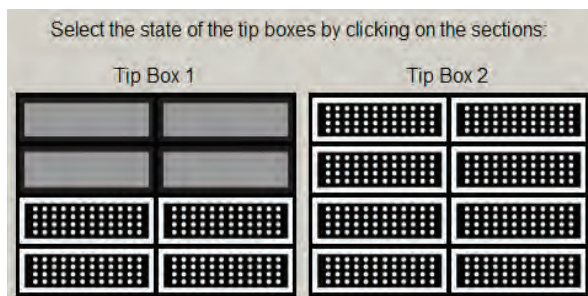
Poznámka: Zatím neodstraňujte z destičky fólii.

5. Zadejte údaje o destičce OpenArray®:
 - a. V rozbalovací nabídce Samples Per Subarray zvolte **1**.
 - b. Do pole Position 1 napište **RNase P** (vzorek v první pozici držáku).
 - c. Vložte do držáku roztátou destičku OpenArray®. Destičku OpenArray®:
 - Vždy držte za okraje.
 - Pokud destičku upustíte, vyhodte ji.
 - Naplňte destičku OpenArray® během *jedné hodiny* po otevření obalu. Uchopte destičku OpenArray® za okraje a umístěte ji do držáku čárovým kódem nahoru a doleva.
6. Klikněte na Next (Další).

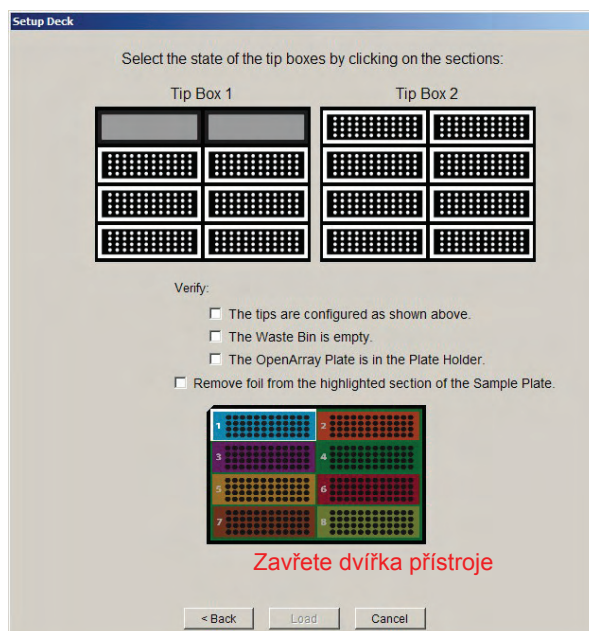
Plnění destičky OpenArray®

1. Ověřte, že se vyobrazení špiček v okně Tip Status (Stav špiček) shoduje s umístěním špiček na pracovní ploše. Ujistěte se, že:
 - Šedé oblasti v okně Tip Status označují místo, kde špičky nejsou.
 - Bílé oblasti označují místo, kde špičky jsou.

Pokud umístění špiček neodpovídá, klikněte na příslušnou sekci v okně Tip Status.



2. Ověřte a potvrďte následující:
 - Pozice špiček je definována.
 - Odpad je vyprázdněn.
 - Destička OpenArray® je v držáku.



Poznámka: Musíte zatrhnout, že všechny tři možnosti jsou v pořádku, jinak vám program nedovolí pokračovat.

3. Pomocí pinzety strhněte fólii z té části destičky, kde jsou vzorky, které mají být plněny do destičky OpenArray®.
4. Zatrhněte možnost **Remove foil from the highlighted section of the Sample Plate (Fólie z vyobrazené sekce odstraněna)**.
5. Zavřete dvířka přístroje.
6. Klikněte na **Load (Naplnit)**.

Poznámka: Pokud je počet destiček OpenArray® v přístroji odlišný od počtu definovaného v okně Setup Load Information, budete vyzváni k odstranění nadbytečných destiček. Proveďte a pokračujte.
7. Jakmile se objeví okno Remove OpenArray® Plate (Vyměte destičku OpenArray®), otevřete dvířka přístroje a opatrně vyjměte naznačenou destičku OpenArray®, poté ji okamžitě uzavřete podle popisu v části [“Uzavření destičky OpenArray®” na straně 101](#).

DŮLEŽITÉ! Po naplnění musí být destička OpenArray® uzavřena během 90 sec, aby nedošlo k odparu.

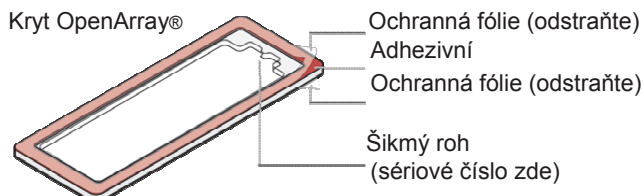
8. Zavřete dvířka přístroje.

Poznámka: Po spuštění destičky vyčistěte přístroj OpenArray® Accufill™.

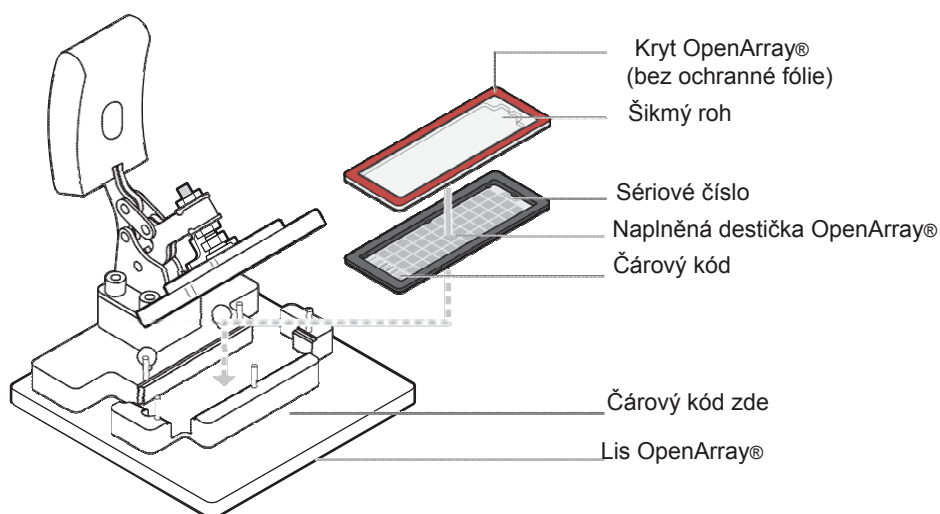
Uzavření destičky OpenArray®

1. Odstraňte ochrannou fólii z horní i dolní strany krytu OpenArray®.

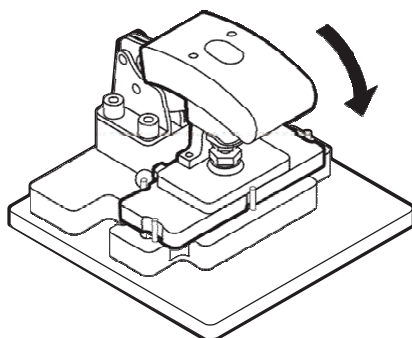
DŮLEŽITÉ! Odstraňte fólii z obou stran krytu.



2. Uchopte destičku OpenArray® za horní okraj co nejbližší čárovému kódu palcem a ukazovákem levé ruky. Opatrně zvedněte destičku z držáku a vložte ji do lisu OpenArray® Plate Press.



3. Vložte kryt OpenArray® z něhož jste odstranili ochranné fólie (horní i dolní) na destičku OpenArray® a srovnajte je na sebe.
4. Spusťte lis OpenArray® na 10 sec.



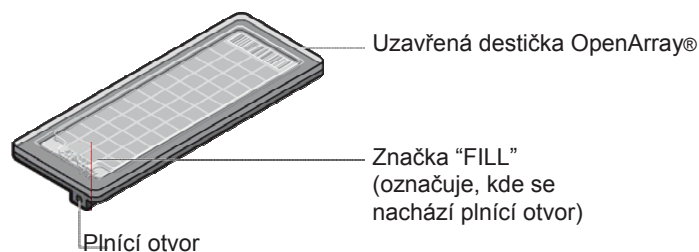
5. Naplňte kryt OpenArray® imerzním roztokem:

DŮLEŽITÉ! Imerzní roztok nesmí být v krytu vystaven působení vzduchu déle než 60 minut.

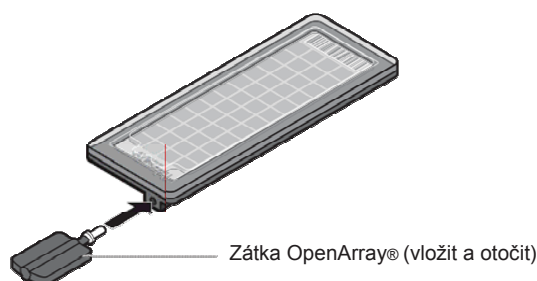
- a. Vyjměte uzavřený kryt OpenArray® z lisu, držte jej za okraje.
- b. Do plnicího otvoru na konci uzavřeného krytu vložte špičku stříkačky a plynulým pohybem naplňte kryt imerzním roztokem.

DŮLEŽITÉ! Plňte imerzní roztok pomalu. Je-li roztok plněn příliš rychle, může vypláchnout vzorky z pórů destičky.

Poznámka: Snažte se, aby se nevytvořily vzduchové bubliny; jedna malá bublinka je přijatelná.



- c. Držte destičku OpenArray® svisle a uzavřete plnicí otvor pomocí zátky – vložte zátku do otvoru a otočte ji po směru hodinových ručiček na doraz. Odstraňte držák zátky.



- d. Namočte papírový ručník v etanolu a důkladně otřete kryt. Vysušte dosucha. Netlačte na destičku a manipulujte s ní opatrně.

Uzavřenou destičku OpenArray® lze vložit do přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

Poznámka: Nečistoty na krytu mohou rušit snímání fluorescence. Ujistěte se, že je kryt dokonale čistý.

DŮLEŽITÉ! Připravené destičky OpenArray® analyzujte během jedné hodiny od jejich naplnění. Po provedené kalibraci je vyhod'te.

Spuštění experimentu

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) spusťte průvodce RNáza P:
 - a. Klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **RNase P Run**.
 - b. Na obrazovce RNase P Run klikněte na **Start RNase P Run** (Spustit běh).
5. Dokončete kalibraci podle pokynů na obrazovce. Jakmile se otevřou dvířka přístroje, vložte destičku OpenArray® do *libovolné* pozice držáku. Čárový kód musí být co nejbližší pozici A1 držáku a zátka směřuje k přední straně přístroje.

DŮLEŽITÉ! Destičky vkládají uživatelé systému, kteří jsou obeznámeni s nebezpečím plynoucím z pohyblivých součástí přístroje.

Poznámka: Destičku OpenArray® lze vložit do *libovolné* pozice držáku.

6. Po vložení destičky OpenArray® zahajte kalibraci:
 - a. Na obrazovce Overview (Přehled) zvolte **Check the box when the RNase P calibration plate has been loaded** (Zatrhnete toto políčko, je-li vložena kalibrační destička RNáza P), poté klikněte na Next (Další).
 - b. Na obrazovce Run (Běh) klikněte na START RUN (Spustit běh).

DŮLEŽITÉ! Během běhu se nepokoušejte otevřít dvířka přístroje. Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex v provozu, jsou dvířka uzamčena.

Poznámka: Před spuštěním kalibrace může přístroj QuantStudio™ 12K Flex vyčkat (až 10 minut), než se ohřeje vyhřívané víko na požadovanou teplotu .

7. Po skončení běhu se zobrazí obrazovka Analysis (Analýza), ověřte výsledek běhu:

Výsledek	Krok
Passed	Pokračujte v části 12 na straně 104 .
Failed	Pokračujte v části 8 a ověřte přítomnost odlehlých bodů. Pokud se běh nezdaří, je možné, že je to proto, že program QuantStudio™ 12K Flex zahrnul do analýzy odlehlé body. V některých pórech nemusela proběhnout amplifikace a CT hodnoty těchto jamek se výrazně liší od průměru replikátů. Tyto odlehlé body je potřeba z analýzy vyloučit.

8. V amplifikačním grafu zvolte v nabídce Plot type (Typ grafu) **CRT vs. Well** (Závislost CRT na pozici jamky), ověřte uniformitu každé skupiny replikátů porovnáním seskupení hodnot CT:
 - a. V zobrazení destičky zvolte všechny póry.
 - b. V grafu ověřte, že hodnoty CT skupin replikátů jsou shodné.
 - c. Naleznete-li ve zvolené skupině vzorků odlehlý bod, vyberte odpovídající pór ve vyobrazení destičky, poté klikněte **Omit** (Vynechat), čímž pór z analýzy vypustíte. Pokud počet odlehlých bodů překročí 48 pórů, opakujte experiment s jinou destičkou OpenArray®.

9. Zkontrolujte, zda se v tabulce výsledků zobrazují ukazatele kvality:

- a. Zvolte záložku **Results Table (Tabulka výsledků)**.
- b. Zkontrolujte sloupec Flag, zda se v něm vyskytují údaje o nedostatečné kvalitě některého z kontrolovaných parametrů.
- c. Každý takový údaj vyhodnoťte podle pokynů v části **“Řešení problémů” na straně 105**.

AMPNC	Amplifikace v negativní kontrole
BADROX	Špatný signál pasivní reference
BLFAIL	Selhání stanovení pozadí
CTFAIL	Selhání stanovení Ct
EXPFAIL	Selhání stanovení exponenciální fáze amplifikace
HIGHSD	Vysoká standardní odchylka v rámci skupiny replikátů
NOAMP	Žádná amplifikace
NOISE	Vyšší šum než v jiných jamkách
NOSIGNAL	Žádný signál v jamce
OFFSCALE	Příliš silný fluorescenční signál
OUTLIERRG	Odlehlý bod ve skupině replikátů
SPIKE	Výkyvy šumu
THOLDFAIL	Selhání stanovení prahu

10. Pokud jste vyloučili odlehlé body, klikněte na tlačítko **Reanalyze** (Analyzovat znovu).

Pokud jste provedli [kroky 8 až 10](#) a stav běhu RNáza P je “Failed” (Neúspěšný), opakujte běh znovu za použití nové destičky. Pokud problém přetrvává, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.

11. Dokončete kalibraci podle pokynů. Vysune-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex rameno s destičkou, vyhoďte ji.




VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Pokud se destička z přístroje QuantStudio™ 12K Flex nevysune automaticky, vyjměte ji podle pokynů v části **“Řešení problémů” na straně 105**.

12. Klikněte na **Finish (Dokončit)**, poté klikněte na **Yes (Ano)**, čímž výsledky uložíte.

Řešení problémů

Problém	Možná příčina	Krok
Větší než povolený počet odlehých bodů	Kontaminace Chyba pipetování	Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní reagensie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
Běh RNáza P se nezdařil	Destička nebyla dobře zavřena	 VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu. <ol style="list-style-type: none"> 1. Vyjměte destičku OpenArray® z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. 2. Podržte destičku proti světlu a ověřte, že obsahuje kapalinu a je bez bublin. 3. Objednejte si náhradní reagensie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
Destička RNáza P se nevysunula z přístroje.	Adhezivní fólie destičky se mohla přilepit k vyhřívanému víku v přístroji.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex. 2. Vyčkejte 15 minut, poté zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a vyjměte destičku. 3. Pokud se destička nevysune, vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, poté otevřete dvířka. 4. Nasadte si rukavice bez pudru, rukou vyjměte destičku z přístroje, poté zavřete dvířka.
V póru se zobrazuje signál NOSIGNAL, intenzita fluorescence v póru je velmi nízká nebo nulová.	<ul style="list-style-type: none"> • Žádná reakční směs v důsledku chyby pipetování 	Je-li pór takto označen, ověřte výsledek: <ol style="list-style-type: none"> 1. Zvažte vypuštění určitých pórů z analýzy. 2. U každého označeného póru ověřte, že nedošlo k odparu nebo že objem reagensií není příliš nízký. 3. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si reagensie pro provedení náhradního běhu pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
V póru se zobrazuje signál SPIKE, datové body amplifikační křivky nejsou v souladu s jinými datovými body této křivky.	<ul style="list-style-type: none"> • Bubliny • Odpar kvůli netěsnosti uzavření destičky 	Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní reagensie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.

Problém	Možná příčina	Krok
V póru se zobrazuje signál OFFSCALE, intenzita fluorescence v póru (pro jednu nebo více barev) je příliš vysoká (mimo detekovatelný rozsah).	<ul style="list-style-type: none"> Fluorescenční kontaminace v destičce nebo bloku Fluorescenční kontaminace v reakci 	<ol style="list-style-type: none"> Proveďte kalibraci pozadí. Detekujete-li fluorescenční kontaminaci, dekontaminujte blok na vzorky Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní reagencie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
V póru se zobrazuje signál HIGHSD, hodnota standardní odchylky C_T pro skupinu replikátů je příliš vysoká.	<ul style="list-style-type: none"> Kapky na stěnách jamek Netěsnost uzavření destičky Kondenzace Různé objemy v pórech destičky 	<p>Je-li pór takto označen, ověřte výsledek:</p> <ol style="list-style-type: none"> Zvolte označený pór(y) a příslušnou skupinu replikátů ve vyobrazení destičky nebo v tabulce. Zobrazte amplifikační graf (R_n vs. cyklus) a zkontrolujte nepravidelnosti v amplifikačních křivkách. Podržte destičku proti světlu a ověřte, že obsahuje kapalinu a je bez bublin. Zkontrolujte záznam barvy ROX z hlediska uniformity – viz část “Záznam barvy ROX” na straně 108. Nízká uniformita může být způsobena při plnění destičky. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní reagencie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
V póru se zobrazuje signál NOAMP, nedošlo k amplifikaci.	<ul style="list-style-type: none"> Chybějící templát Světelný zdroj přístroje nefunguje 	
V póru se zobrazuje signál NOISE, hodnota šumu v póru je vyšší než v ostatních jamkách destičky.	<ul style="list-style-type: none"> Kapky na stěnách jamek Netěsnost uzavření destičky Kondenzace 	
V póru se zobrazuje signál OUTLIERRG, C_T hodnota pro tento pór se výrazně liší od C_T hodnot dané skupiny replikátů (označen je pouze odlehlý bod)	<ul style="list-style-type: none"> Kontaminace Netěsnost uzavření destičky 	<ol style="list-style-type: none"> Dekontaminujte pracovní plochu a pipetmany. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní reagencie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
V póru se zobrazuje signál THOLDFAIL, program nemůže vypočítat práh (threshold)	<ul style="list-style-type: none"> Příliš časná amplifikace Pozdní amplifikace Nízká amplifikace Žádná amplifikace 	<p>Je-li pór takto označen, ověřte výsledek:</p> <ol style="list-style-type: none"> Zvolte označený pór(y) ve vyobrazení destičky nebo v tabulce. Zobrazte amplifikační graf (R_n vs. cyklus a ΔR_n vs. cyklus) a ověřte, nedošlo-li k časně, pozdní, nízké nebo žádné amplifikaci. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní reagencie pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu nebo servis společnosti Life Technologies.
Chyba přístroje	Různé důvody	Kontaktujte servis společnosti Life Technologies.

Jak identifikovat kontaminaci

Pokud v některých jamkách dojde k překročení limitní hodnoty normální fluorescence pozadí, může to indikovat fluorescenční kontaminaci kalibrační destička nebo bloku na vzorky. Mezi běžné kontaminující látky patří inkoust z popisovačů, pudr z rukavic a prach.

Chcete-li určit zdroj kontaminace:

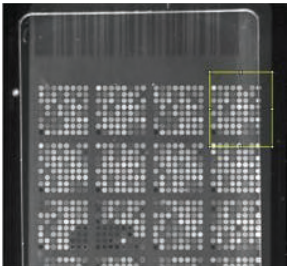
1. Na obrazovce Analysis (Analýza) zobrazte výsledky kalibrace, zvolte záložku **QC (Kontrola kvality)** a zkontrolujte seznam jamek, které neprošly kontrolou kvality.
2. Otočte destičku pro kalibraci pozadí o 180°, poté proveďte kalibraci pozadí znovu.
3. Zkontrolujte seznam jamek, které neprošly kontrolou kvality.
Jsou-li pozice kontaminovaných jamek v [kroku 1](#) a [kroku 2](#):
 - **Identické** – Je kontaminovaný blok na vzorky. Dekontaminujte blok na vzorky.
 - **Reverzní** – Je kontaminovaná destička. Destičku vyhoďte, poté proveďte kalibraci pozadí pomocí nové destičky.
4. Pokud se kalibrace po výměně destičky nebo dekontaminaci bloku na vzorky nezdaří:
 - a. Zakryjte destičku kusem černého papíru.
 - b. Proveďte kalibraci pozadí podle postupu popsaneho v této kapitole, použijte přitom destičku zakrytou papírem.
 - c. Po skončení běhu zobrazte výsledky kalibrace, ve vyobrazení destičky zvolte všechny jamky a zobrazte spektrální profil. Pokud píky v kontaminovaných jamkách jsou:
 - **Přítomné** – Optický systém vašeho přístroje QuantStudio™ 12K Flex je kontaminován. Kontaktujte společnost Life Technologies.
 - **Nepřítomné** – Blok na vzorky je kontaminován. Dekontaminujte blok na vzorky znovu a zopakujte kalibraci.

Záznam barvy ROX

Záznam kontroly kvality (QC) běhu RNázy P lze exportovat. Obsahuje kalibrační obrazy, čárový kód a obrazy snímané během běhu. Pomocí těchto obrazů můžete zkontrolovat, zda kalibrace proběhla v pořádku.

Chcete-li exportovat obrazy kontroly kvality běhu RNázy P:

1. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) klikněte na Export při současném zobrazení výsledků běhu RNázy P.
2. Na obrazovce Export zvolte, kam má být soubor exportován.
 Poznámka: Chcete-li nastavit výchozí umístění exportovaných souborů, pokračujte v části **Tools>Preferences (Nástroje>Nastavení)**, zvolte záložku **Export**, zvolte **Use Last File Location (Použít poslední umístění souboru)** nebo **Use Default Folder (Použít výchozí adresář)**. Výchozí adresář je `C:\Applied Biosystems\QuantStudio\user files\experiments`.
3. Klikněte na **Export QC Images (Exportovat obrazy kontroly kvality)**.
4. Použijte grafický editor (např. Microsoft® Paint) a zobrazte obrazy kontroly kvality.

Problém	Možná příčina	Krok
<p>Žádná amplifikace v pórech podél delšího okraje destičky OpenArray®.</p> <p>Destička OpenArray® nebyla správně vložena (viz níže).</p> 	<p>Špatné uzavření krytu OpenArray.</p>	<p>! VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Vyjměte destičku OpenArray® z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. 2. Podržte destičku proti světlu a ověřte, že kryt je správně umístěn. 3. Kontaktujte společnost Life Technologies a objednejte si náhradní destičku TaqMan® RNáza P pro ověření přístroje. Pokud se běh znovu nezdaří, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.

V této kapitole naleznete:

■ Pravidelná údržba	110
■ Dekontaminace bloku na vzorky	111
■ Výměna pojistek přístroje	114
■ Aktualizace operačního systému Windows®	115
■ Aktualizace softwaru a firmwaru QuantStudio™ 12K Flex	116
■ Správa licencí programu QuantStudio™ 12K Flex	117
■ Výměna bloku na vzorky	119
■ Výměna vyhřívaného víka	121
■ Výměna adaptéru na destičky	123

DŮLEŽITÉ! V této kapitole jsou popsány všechny servisní úkony, které provádí uživatelé Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex. Ostatní servisní úkony musí provádět servisní technik společnosti Life Technologies.

Pravidelná údržba

Údržba disků počítače

Defragmentujte a vyčistěte disk:

- Alespoň jednou měsíčně.
- Vždy když operační systém Windows zobrazí výzvu k defragmentaci disku.

Více informací o tom, jak provádět údržbu disku počítače, naleznete v nápovědě operačního systému Windows, v části Disk Cleanup (Čistění disku) a Disk Defragment (Defragmentace disku).

DŮLEŽITÉ! Správu disku a program QuantStudio™ 12K Flex nespouštějte najednou.

Archivace a zálohování souborů s výsledky experimentů

Archivuje soubory s experimenty pravidelně

Chcete-li ušetřit místo na disku počítače, můžete staré soubory EDS archivovat pomocí nástrojů na kompresi dat. K dispozici je několik komerčně dostupných nástrojů pro kompresi souborů ve formátu ZIP nebo ARC.

Zálohování souborů s výsledky experimentů

Důrazně doporučujeme pravidelné zálohování vašich souborů s výsledky experimentů.

Zálohováním:

- Se chráníte před možnou ztrátou dat způsobenou nečekaným selháním počítače nebo jeho disku(ů).
- Šetříte místo na disku a optimalizujete jeho fungování.

Plánování správy dat

Správu souborů vytvářených systémem QuantStudio™ 12K Flex doporučujeme plánovat.

Poznámka: Běhy zaznamenávané v reálném čase vedou ke vzniku větších souborů než běhy genotypizační nebo typu přítomnost / nepřítomnost. Běh zaznamenávaný v reálném čase může mít velikost více než 10 MB.

Kontrola místa na disku

Provádíte-li analýzy v reálném čase, kontrolujte každý týden volné místo na disku. Je-li na disku méně než 20% volného místa, přeneste starší data na nějaké jiné médium.

Zálohování nastavení přístroje

Pomocí dotykového displeje přístroje QuantStudio™ 12K Flex můžete zálohovat nastavení přístroje (název přístroje, ikonu, nastavení doby, po níž systém přejde do pohotovostního režimu, teplotu víka). Je-li nastavení systému QuantStudio™ 12K Flex resetováno, můžete toto nastavení ze zálohy obnovit.

Více informací viz [“Zálohování nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex” na straně 164.](#)

Dekontaminace bloku na vzorky

Následující procedura vysvětluje jak odstranit fluorescenční kontaminace z bloku na vzorky přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Proveďte 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.

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

⚠ VÝSTRAHA! 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.

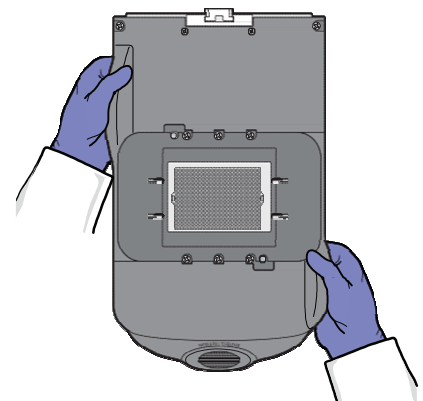
⚠ VÝSTRAHA! Před použitím jiné než výrobcem doporučené metody čištění či dekontaminace si u výrobce ověřte, že zvolená metoda nemůže způsobit poškození přístroje.

Potřebné pomůcky

- Chlornan sodný, 10% roztok
- Utěrka
- Tyčinky s vatou
- Etanol, 95% roztok
- Bezpečnostní brýle
- Pipetman (100- μ L) s pipetovacími špičkami
- Rukavice bez pudru
- Šroubovák
- Deionizovaná voda

Jak manipulovat s blokem na vzorky

Aby nedošlo k poškození nebo kontaminaci bloku na vzorky, manipulujte s ním podle vyobrazení. Po vyjmutí bloku ze systému QuantStudio™ 12K Flex jej umístěte na čistý a suchý povrch nebo do krabice v níž vám byl doručen



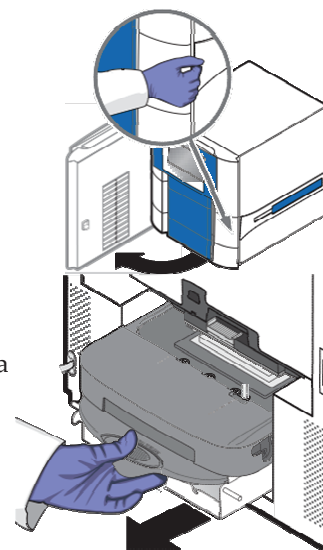
Čistění bloku na vzorky



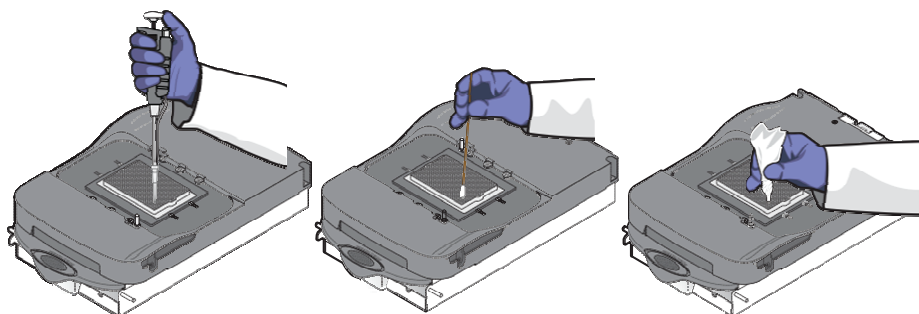
VÝSTRAHA! Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky a vyhřívané víko ohřáté až na 100 °C. Před provedením následujících kroků vyčkejte dostatečnou dobu, než se blok ochladí na pokojovou teplotu.

DŮLEŽITÉ! Při provádění této procedury používejte rukavice bez pudru.

1. Identifikujte kontaminované jamky bloku na vzorky (viz [“Jak identifikovat kontaminaci”](#) na straně 80).
2. Vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky a nechte jej 15 minut vychladnout.
3. Otevřete dvířka přístroje.

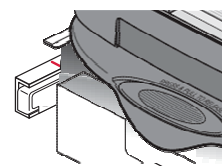


4. Stlačte páku bloku na vzorky a vyjměte jej z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Položte blok na vzorky na čistý a suchý povrch.
5. Vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky pomocí malého množství deionizované vody:
 - a. Pipetujte malý objem deionizované vody do všech kontaminovaných jamek.
 - b. 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.



6. Vložte blok na vzorky zpět do přístroje QuantStudio™ 12K Flex, poté zavřete dvířka.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že značka na levé straně bloku na vzorky je za červenou linkou na vodící liště bloku. Pokud tomu tak není, zatlačte blok na vzorky dále dozadu, dokud blok neseďne na místo.



7. Uzavřete dvířka přístroje.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že dvířka jsou úplně uzavřena. Nejsou-li dvířka uzavřena a zajištěna, program zobrazí chybovou hlášku.

8. Zapojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex do zásuvky a zapněte jej.
9. Proveďte kalibraci pozadí, abyste ověřili, že se vám podařilo kontaminaci odstranit.
10. Je-li kontaminace stále přítomna, opakujte **kroky 2 až 5**, poté vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky pomocí malého objemu 95% etanolu:
- Pipetujte malý objem 95% etanolu do všech kontaminovaných jamek.
 - Vypláchněte jamku několikrát pipetováním etanolu nahoru a dolů.
 - Pipetujte etanol do odpadu.
11. Opakujte **kroky 5 až 9** – opláchněte jamky bloku na vzorky a ověřte, že jste kontaminaci odstranili.

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


12. Je-li kontaminace stále přítomna, opakujte **kroky 2 až 5**, poté vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky pomocí 10% roztoku chlornanu sodného:
- Pipetujte malý objem 10% roztoku chlornanu sodného do všech kontaminovaných jamek.
 - Vypláchněte jamku několikrát pipetováním roztoku chlornanu sodného nahoru a dolů.
 - Pipetujte roztok chlornanu sodného do odpadu.
13. Opakujte **kroky 5 až 9** – opláchněte jamky bloku na vzorky a ověřte, že jste kontaminaci odstranili.

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

14. Je-li kontaminace stále přítomna, kontaktujte technickou podporu společnosti Life Technologies.

Výměna pojistek přístroje

V případě jejich selhání vyměňte pojistky přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

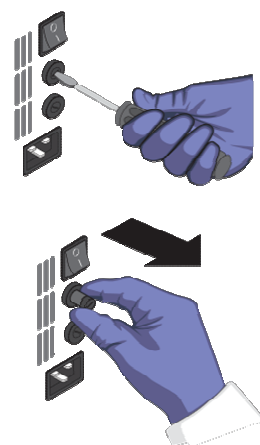
 **VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ POŽÁRU.** Z důvodu ochrany před rizikem vzniku požáru používejte pro výměnu pouze certifikované pojistky typu a jmenovitého proudu shodného s pojistkami, které jsou v přístroji umístěny.

Potřebné pomůcky

- Pojistky 12.5A, Time-Lag T, 250VAC, 5 × 20-mm (2)
- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- Plochý šroubovák

Výměna pojistek

1. Vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, nechte jej vychladnout 15 minut
2. Pomocí plochého šroubováku vyšroubujte a vyjměte držák pojistek z přístroje.
3. Vyjměte každou pojistku z jejího držáku a ověřte, zda je v pořádku. Vnitřek špatné pojistky bývá černě potažen.



4. Vyměňte špatné pojistky za nové (12.5A, Time-Lag T, 250VAC, 5 × 20-mm).
Poznámka: Hodnoty napětí a proudu jsou na držáku pojistky.
5. Vraťte držák pojistek zpět do přístroje.
6. Zapojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex 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.

Aktualizace operačního systému Windows®

Aktualizaci operačního systému Microsoft Windows® na počítači, který používáte pro ovládání přístroje QuantStudio™ 12K Flex, neprovádějte, dokud se neseznámíte s informacemi o kompatibilitě (dokument Release notes), případně vyhledejte tyto informace na internetových stránkách společnosti Life Technologies. Nová vydání a aktualizace operačního systému Windows® nemusí být kompatibilní s programem QuantStudio™ 12K Flex.

Chcete-li zjistit, zda je určitá verze operačního systému kompatibilní s programem QuantStudio™ 12K Flex:

1. Otevřete adresář **C:\Program Files\Applied Biosystems\QuantStudio12Kflex\docs**, dvakrát klikněte na dokument **README.html** a přečtěte si informace v něm uvedené.
2. Není-li v tomto dokumentu uvedena požadovaná informace, vyhledejte ji na stránkách www.lifetechnologies.com/quantstudio.
3. Není-li požadovaná informace ani na internetu, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.

Aktualizace softwaru a firmwaru QuantStudio™ 12K Flex

Společnost Life Technologies může vydat aktualizace softwaru QuantStudio™ 12K Flex a firmwaru přístroje QuantStudio™ 12K Flex, které můžete instalovat svépomocí bez asistence servisních techniků nebo pracovníků technické podpory. Aktualizace můžete získat přímo na internetových stránkách Life Technologies.

Nejnovější informace o aktualizacích naleznete:

1. Otevřete stránku www.lifetechnologies.com/support/software/
2. Z nabídky zvolte **Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System**.
3. Na další stránce zvolte **Updates – Patches (Aktualizace – Opravy)**. Zobrazí se stránka s informacemi o nejnovějších verzích softwaru a firmwaru pro přístroj QuantStudio™ 12K Flex.

Aktualizace programu QuantStudio™ 12K Flex

Příprava aktualizace

Chcete-li aktualizovat program QuantStudio™ 12K Flex, exportujte z programu knihovny nastavení a zálohujte vaše výsledky.

Chcete-li připravit aktualizaci programu:

1. Exportujte knihovny (tzv. application libraries). Pro každou knihovnu:
 - a. V hlavní nabídce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > <desired library>** (Nástroje > <požadovaná knihovna>).
 - b. Otevře-li se požadovaná knihovna, zvolte položky, které chcete exportovat a poté klikněte na **Export**.
 - c. V dialogovém okně Export klikněte na **Save (Uložit)**, čímž zvolené položky archivujete.
2. Zálohujte všechny vaše výsledky – vytvořte kopii adresáře, do něhož soubory s výsledky ukládáte.
Přednastavený adresář pro ukládání výsledků je:

C:\Applied Biosystems\QuantStudio12KFlex\User Files\experiments

Instalace programu

Aktualizaci programu proveďte podle pokynů, které si stáhnete společně s programem. Aktualizujete-li program na počítači, kde je již instalována jiná verze programu QuantStudio™ 12K Flex, bude při aktualizaci automaticky použita již instalovaná softwarová licence. Pokud instalujete program QuantStudio™ 12K Flex na počítač, kde žádná předchozí verze instalovaná není, musíte mít k dispozici soubor s licencí (od společnosti Life Technologies). Nemáte-li licenční soubor k dispozici, postupujte podle pokynů v části [“Správa licencí programu QuantStudio™ 12K Flex” na straně 133](#).

Aktualizace firmwaru QuantStudio™ 12K Flex

Pro aktualizaci firmwaru přístroje QuantStudio™ 12K Flex můžete použít dotykový displej. Viz [“Aktualizace firmwaru přístroje” na straně 116](#).

Správa licencí programu QuantStudio™ 12K Flex

Pro přístup k programu QuantStudio™ 12K Flex a jeho modulům musíte mít k dispozici licenci. Tuto licenci je nutné získat, instalovat a aktivovat.

O licencích programu QuantStudio™ 12K Flex

Pro provoz programu QuantStudio™ 12K Flex a jeho modulů musíte mít instalovanou platnou licenci. Licenční soubory lze vytvořit na internetových stránkách společnosti Life Technologies po aktivaci licenčního klíče. Soubor obsahuje licenci určenou pro konkrétní počítač, na němž byl licenční klíč aktivován. Po aktivaci klíče a vytvoření licenčního souboru nelze tento soubor použít na jiném počítači. Chcete-li převést licenci na jiný počítač, musíte na tomto počítači znovu aktivovat licenční klíč.

Poznámka: Licence programu QuantStudio™ 12K Flex mají časově omezenou platnost a musí být pravidelně obnovovány. Pokud licence je nebo brzy bude neplatná, zobrazí program QuantStudio™ 12K Flex při každém spuštění výstrahu.

Poznámka: Licenční klíče lze nalézt na CD s programem QuantStudio™ 12K Flex nebo je lze získat od technické podpory Life Technologies.

Správa licencí

Monitorování stávajících licencí

V programu QuantStudio™ 12K Flex můžete sledovat stav a datum expirace aktuálně instalovaných licencí.

1. V hlavní nabídce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > License Central (Nástroje > Správa licencí)**.
2. V dialogovém okně License Central (Správa licencí) zkontrolujte stav vašich licencí. Program zobrazuje stav všech instalovaných licencí, možný stav je Current (Aktuální) a Expired (Neplatná), program zobrazuje i datum expirace.
Poznámka: V okně License Central (Správa licencí) se každá licence zobrazuje na samostatném řádku, protože každá je spravována samostatně.
3. (Volitelné) Podle potřeby můžete informaci o licenci uložit do textového souboru:
 - a. Zvolte licenci, kterou chcete exportovat, poté klikněte na **Save License Request Info**.
 - b. Vyhledejte adresář, kam chcete soubor uložit, a klikněte na **Save (Uložit)**.
4. Po skončení klikněte na **OK**.

Aktivace nebo obnovení licence

Máte-li k dispozici platný licenční klíč pro program QuantStudio™ 12K Flex nebo některý z jeho modulů nebo pokud vaše licence expirovala, můžete použít okno License Central (Správa licencí) k aktivaci licence podle postupu níže.

DŮLEŽITÉ! Pro aktivaci softwarové licence je zapotřebí připojení k internetu, prohlížeč a platná emailová adresa. Není-li počítač s programem QuantStudio™ 12K Flex připojen k internetu, kontaktujte technickou podporu Life Technologies.

1. V hlavní nabídce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > License Central (Nástroje > Správa licencí)**.
2. V dialogovém okně License Central (Správa licencí) zvolte licenci, klikněte na **Renew License (Obnovit licencí)** a vyčkejte, než se otevře stránka Life Technologies.
3. Na stránce Life Technologies Software License Activation (Aktivace softwarových licencí) klikněte na **QuantStudio™ 12K Flex Software**, poté podle pokynů aktivujte licenci.
Po úspěšné aktivaci obdržíte váš soubor s licencí (.lic) emailem a musíte jej instalovat na počítači.

Instalace licence

Poté co jste aktivovali licenci a získali soubor.lic, musíte tento soubor instalovat podle pokynů níže, jinak program QuantStudio™ 12K Flex nebo některý z jeho modulů nelze spustit.

Poznámka: Každý soubor s licencí je vytvořen pouze pro počítač, na němž byla provedena aktivace licenčního klíče.

1. Uložte soubor s licencí (.lic) na počítač s programem QuantStudio™ 12K Flex.
2. V hlavní nabídce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > License Central (Nástroje > Správa licencí)**.
3. V dialogovém okně License Central (Správa licencí) klikněte na **Install License (Instalace licence)**.
4. V dialogovém okně Open (Otevřít) vyhledejte soubor s licencí, poté klikněte na **Open (Otevřít)**.
5. Kliknutím na **OK** zavřete dialogové okno License Central (Správa licencí).

Výměna bloku na vzorky

Vyměňte blok na vzorky v případě potřeby – při poruše nebo při změně typu používaného spotřebního materiálu.



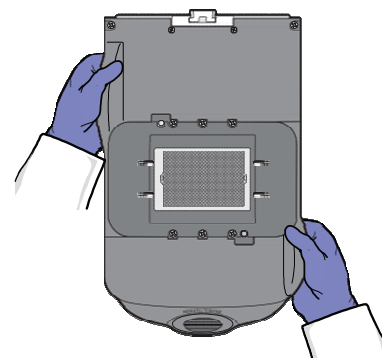
VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky a vyhřívané víko ohřáté až na 100 °C. Před vyjmutím bloku vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

Potřebné pomůcky

- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- Blok na vzorky

Jak manipulovat s blokem na vzorky

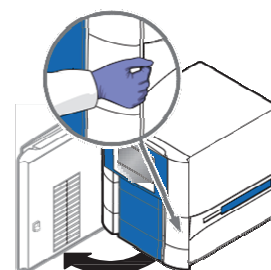
Aby nedošlo k poškození nebo kontaminaci bloku na vzorky, manipulujte s blokem podle vyobrazení vpravo. Po vyjmutí bloku z přístroje QuantStudio™ 12K Flex položte blok na čistý a suchý povrch nebo do krabice v níž byl dodán.



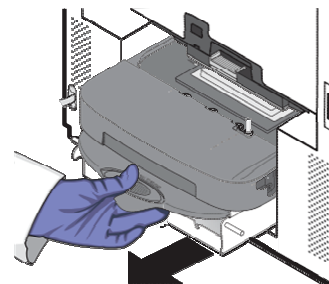
Výměna bloku na vzorky

DŮLEŽITÉ! Chcete-li instalovat blok jiného formátu než je blok vyjímáný (např. blok na 96/384-jamkovou destičku za blok na karty), musíte rovněž vyměnit adaptér pro příslušný typ spotřebního materiálu.

1. Vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, nechte jej vychladnout 15 minut.
2. Otevřete dvířka přístroje.

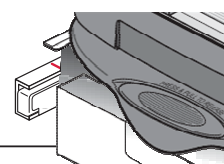


3. Stlačte rukojeť na bloku na vzorky smerom dolú, poté blok vyjměte z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Položte blok na vzorky na čistý a suchý povrch.



4. Instalujte nový blok na vzorky.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že značka na levé straně bloku na vzorky je za červenou linkou na vodící liště bloku. Pokud tomu tak není, zatlačte blok na vzorky dále dozadu, dokud blok nesesedne na místo.



5. Instalujete-li blok pro jiný typ spotřebního materiálu, musíte vyměnit vyhřívané víko a adaptér na destičku.

DŮLEŽITÉ! Chcete-li instalovat blok jiného formátu než je blok vyjímáný, musíte rovněž vyměnit adaptér pro příslušný typ spotřebního materiálu.

6. Uzavřete dvířka přístroje.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že dvířka jsou úplně uzavřena. Nejsou-li dvířka uzavřena a zajištěna, program zobrazí chybovou hlášku.

7. Zapojte přístroj do zásuvky a zapněte jej.
8. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
9. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte ze seznamu přístrojů váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex, poté zkontrolujte údaj o bloku v poli Block Type v části Instrument Properties (Vlastnosti přístroje). Instalace bloku je úspěšná pokud se přístroj QuantStudio™ 12K Flex zapne a v poli Block Type se zobrazuje údaj o správném typu bloku.

Poznámka: V poli Block Type se zobrazuje údaj o bloku na vzorky instalovaném v přístroji QuantStudio™ 12K Flex.
10. Proved'te následující kalibrace v uvedeném pořadí: kalibrace ROI, kalibrace pozadí, kalibrace uniformity, kalibrace barev, kalibrace normalizace.

Výměna vyhřívaného víka

Vyměňte vyhřívané víko v případě potřeby – při poruše nebo při změně typu používaného spotřebního materiálu.



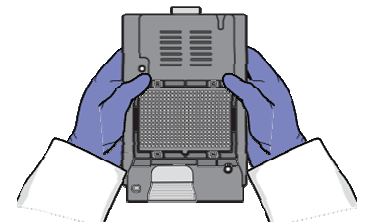
VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky a vyhřívané víko ohřáté až na 100 °C. Před vyjmutím víka vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

Potřebné pomůcky

- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- Vyhřívané víko

Jak manipulovat s vyhřívaným víkem

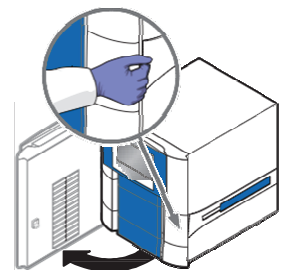
Aby nedošlo k poškození nebo kontaminaci vyhřívaného víka, manipulujte s ním podle vyobrazení vpravo. Po vyjmutí víka z přístroje QuantStudio™ 12K Flex položte víko na čistý a suchý povrch nebo do krabice v níž bylo dodáno.



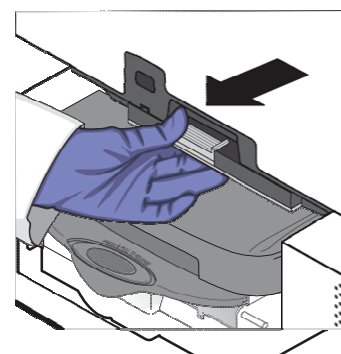
Výměna vyhřívaného víka

Poznámka: Ujistěte se, že víko, které chcete do přístroje instalovat, je možné použít pro typ spotřebního materiálu, s nímž hodláte pracovat. Určité typy vyhřívaného víka lze použít pro více typů spotřebního materiálu.

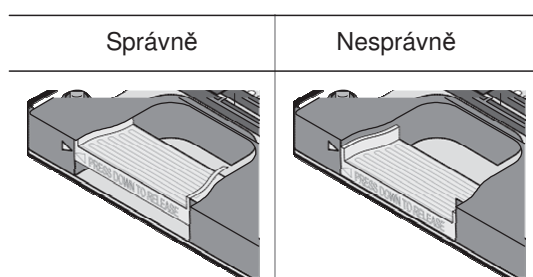
1. Vypněte a vypojte přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze zásuvky, nechte jej vychladnout 15 minut.
2. Otevřete dvířka přístroje.



3. Stlačte rukojeť na víku smerom dolú, poté vyjměte víko z přístroje QuantStudio™ 12K Flex a umístěte je na čistý, suchý povrch.
4. Instalujte nové vyhřívané víko.



DŮLEŽITÉ! Je-li vyhřívané víko správně zasunuto do přístroje, ukazuje šipka na rukojeti na šipku na šasi, viz obrázek níže. Pokud tomu tak není, zatlačte víko dále do přístroje QuantStudio™ 12K Flex dokud nedosedne na místo.



5. Instalujete-li vyhřívané víko pro jiný typ spotřebního materiálu, je nutná i výměna bloku na vzorky a adaptéru na destičky.

DŮLEŽITÉ! Instalujete-li vyhřívané víko pro jiný typ spotřebního materiálu, je nutná i výměna bloku na vzorky a adaptéru na destičky tak, aby to odpovídalo typu spotřebního materiálu, který hodláte použít.

6. Uzavřete dvířka přístroje.
Ujistěte se, že dvířka jsou úplně uzavřena. Nejsou-li dvířka uzavřena a zajištěna, program zobrazí chybovou hlášku.
7. Zapojte přístroj do zásuvky a zapněte jej.
8. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
9. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte ze seznamu přístrojů váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex, poté zkontrolujte údaj o víku v poli Heated Cover Firmware Version v části Instrument Properties (Vlastnosti přístroje).
Instalace víka je úspěšná pokud se přístroj QuantStudio™ 12K Flex zapne a v poli Heated Cover Firmware Version se zobrazuje verze firmwaru.
10. Proveďte následující kalibrace v uvedeném pořadí: kalibrace ROI, kalibrace pozadí, kalibrace uniformity, kalibrace barev, kalibrace normalizace.

Výměna adaptéru na destičky

Vyměňte adaptér na destičky v případě potřeby – při poruše nebo při změně typu používaného spotřebního materiálu.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky a vyhřívané víko ohřáté až na 100 °C. Před vyjmutím víka vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

Potřebné pomůcky

- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- Adaptér na destičku

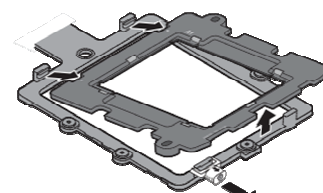
Výměna adaptéru na destičky

DŮLEŽITÉ! Chcete-li instalovat adaptér na spotřební materiál jiného typu než je adaptér vyjímáný, musíte rovněž vyměnit blok na vzorky za blok pro příslušný typ spotřebního materiálu.

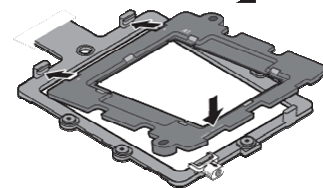
1. Dotkněte se dotykového displeje přístroje, poté stiskněte .

2. V hlavní nabídce se dotkněte .

3. Jakmile se vysune rameno, vytáhněte pojistku a sejměte adaptér na destičku.



4. Nasadte na rameno nový adaptér a zajistěte pojistkou, v případě potřeby zatlačte ve směru šipky (viz obrázek), dokud adaptér nezaklapne na místo.



5. V hlavní nabídce se dotkněte .

6. Instalujete-li adaptér na spotřební materiál jiného typu než je adaptér vyjímáný, musíte provést výměnu bloku na vzorky.

V této kapitole naleznete:

■ Práce v síti – Přehled	126
■ Postup zapojení do sítě	128
■ Získání informací o síti.....	129
■ Připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do sítě	129
■ Připojení počítače do sítě	130
■ Monitorování přístroje QuantStudio™ 12K Flex.....	132

DŮLEŽITÉ! V této kapitole *nejsou* popsány detailní možnosti zapojení Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex do počítačové sítě, protože síť může mít různou architekturu. V závislosti na organizaci vaší počítačové sítě (firewall nebo síťové domény) doporučujeme, abyste připojení vašeho systému QuantStudio™ 12K Flex do počítačové sítě konzultovali s jejím správcem.

Práce v síti - Přehled

Po instalaci systému QuantStudio™ 12K Flex jej můžete připojit do místní sítě, což vám poskytuje další možnosti práce s ním.

V této kapitole naleznete popis jak:

- Zapojit systém QuantStudio™ 12K Flex do sítě.
- Zprovoznit na počítači funkci vzdáleného monitorování.
- Testovat zapojení do sítě pomocí funkce vzdáleného monitorování.

Ovládání a monitorování přístrojů QuantStudio™ 12K Flex zapojených v síti

Je-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex zapojený do sítě, můžete jej prostřednictvím počítačů v síti, na nichž je instalován program QuantStudio™ 12K Flex, ovládat nebo monitorovat. Program QuantStudio™ 12K Flex může ovládat až 4 přístroje a monitorovat až 15 přístrojů najednou. Přístroj QuantStudio™ 12K Flex zapojený do sítě lze ovládat pouze jedním počítačem. Z počítače zapojeného v síti, na němž je instalovaný program QuantStudio™ 12K Flex, můžete přenést experimenty do přístroje nebo je stáhnout z přístroje do počítače, zahájit a spustit běh a provádět určité kroky údržby. V průběhu běhu můžete využít funkci Remote Monitoring (Vzdálené monitorování) ke kontrole probíhajícího běhu (stav běhu, teplota a sledování amplifikace v reálném čase). Viz kapitola [“Monitorování přístroje QuantStudio™ 12K Flex” na straně 132.](#)

Poznámka: Vzdálené monitorování neznamená ovládání přístroje QuantStudio™ 12K Flex System.

O síťovém portu

Přístroj QuantStudio™ 12K Flex je vybaven gigabitovým síťovým portem pro přímou komunikaci s počítačem a se sítí. Je-li systém QuantStudio™ 12K Flex připojený do sítě, je možné z počítačů zapojených v síti a vybavených programem QuantStudio™ 12K Flex:

- Odesílat a stahovat experimenty do/z přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
- Spouštět experimenty na přístroji QuantStudio™ 12K Flex.
- Vzdáleně monitorovat přístroj QuantStudio™ 12K Flex.

Síťový port přístroje QuantStudio™ 12K Flex podporuje:

- Přidělení statické IP adresy (maska podsítě, primární a sekundární servery DNS, brána) nebo protokol DHCP.
- mDNS/DNS pro místní domény

Poznámka: Jelikož mDNS je omezeno na přímé připojení do sítě, takto zapojený systém QuantStudio™ 12K Flex nemusí být viditelný do dalších uzlů sítě oddělených routerem, rozbočovačem nebo jiným síťovým zařízením.

- IPv4 link-local (IPv4LL) v RFC (tzv. Automatic Private IP Addressing [APIPA] nebo Internet Protocol Automatic Configuration [IPAC])

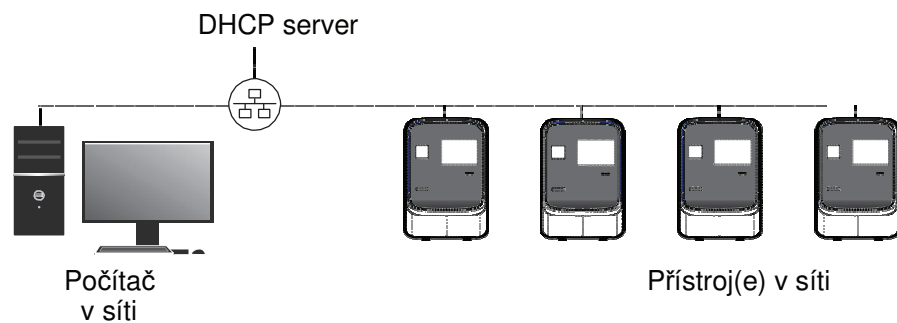
Poznámka: Je-li systém QuantStudio™ 12K Flex připojen pomocí DHCP, protokol APIPA je automaticky zapnut a systém QuantStudio™ 12K Flex má přidělenou IP adresu, není-li automaticky přidělena serverem DHCP.

Příklad zapojení do sítě

Příklad 1

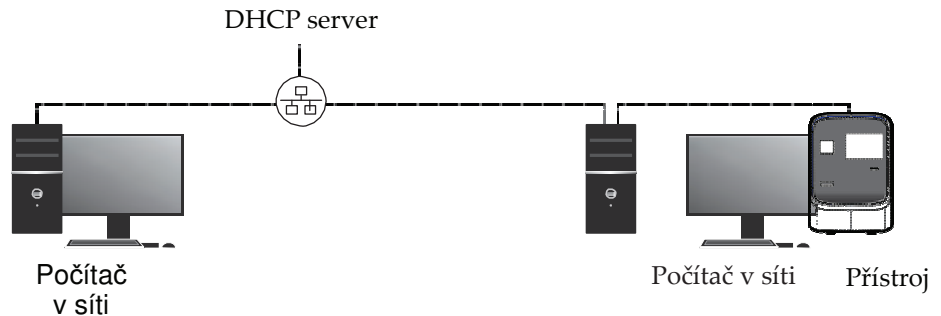
V následujícím příkladu je jeden nebo více přístrojů QuantStudio™ 12K Flex připojeno do sítě pomocí síťového portu a protokolu DHCP. V tomto uspořádání můžete tyto přístroje ovládat nebo monitorovat z počítače zapojeného do sítě. Experimenty lze spustit vzdáleně (přes síť) nebo z displeje přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

Poznámka: Z počítače zapojeného v síti můžete ovládat až 4 přístroje a monitorovat až 15 přístrojů v síti najednou.



Příklad 2

Počítač systému QuantStudio™ 12K Flex je připojený do sítě. V tomto uspořádání si můžete prostřednictvím počítačů v síti vyměňovat data s počítačem připojeným k přístroji QuantStudio™ 12K Flex, přístroj QuantStudio™ 12K Flex však nelze vzdáleně ani monitorovat ani ovládat, protože není zapojený do sítě přímo.



Práce v síti - doporučení

- Konzultace se správcem sítě.
 - Doporučujeme, abyste připojení vašeho systému QuantStudio™ 12K Flex do počítačové sítě konzultovali s jejím správcem.
 - Plně funkční program QuantStudio™ 12K Flex získáte teprve po připojení počítače do sítě.
- Pro monitorování jednoho přístroje nepoužívejte více než 10 počítačů.

Vyhnete se tomu, aby přístroj QuantStudio™ 12K Flex monitorovalo více než 10 počítačů najednou. Jakkoliv přístroj QuantStudio™ 12K Flex podporuje funkci vzdáleného monitorování z více počítačů, každý další připojený počítač zatěžuje mikroprocesor přístroje a tato situace může vyústit v chyby přístroje.

Poznámka: Tyto chyby lze vysledovat v grafickém záznamu teploty během běhu přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Jedná se např. o prodloužené doby inkubace nebo grafický záznam ve tvaru plató v místě kde není očekáván.
- Omezení mDNS a Autodiscovery.

Systém QuantStudio™ 12K Flex podporuje mDNS, ale pouze pokud je přístroj QuantStudio™ 12K Flex a počítač zapojen do sítě přímo v rámci jedné podsítě. Takto zapojený systém QuantStudio™ 12K Flex nemusí být viditelný do dalších uzlů sítě oddělených routerem, rozbočovačem nebo jiným síťovým zařízením.
- Unikátní jméno přístroje.

Přístroj QuantStudio™ 12K Flex podporuje rozeznání jména, ale toto jméno musí být v rámci podsítě unikátní. Program QuantStudio™ 12K Flex může automaticky rozeznat přístroje QuantStudio™ 12K Flex v síti, u nichž je umožněna funkce Autodiscovery (Automatické vyhledání) (viz [“Nastavení sítě” na straně 170](#)).

Poznámka: Systém QuantStudio™ 12K Flex při zadání jména přístroje neověřuje, zda je jméno unikátní.
- Zadejte jméno přístroje QuantStudio™ 12K Flex pomocí malých písmen.

Zadávejte-li jméno přístroje QuantStudio™ 12K Flex (viz [“Nastavení přístroje” na straně 168](#)), použijte pro název přístroje výhradně malá písmena.

Postup zapojení do sítě

1. Získání informací o síti.
2. Připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do sítě.
3. Připojení počítače do sítě.
4. Monitorování přístroje QuantStudio™ 12K Flex (testování síťového připojení).

Získání informací o síti

O síti musíte získat následující informace (od správce sítě):

- Jak jsou přidělovány IP adresy (DHCP nebo statická IP adresa).

DŮLEŽITÉ! Je-li systém QuantStudio™ 12K Flex připojen pomocí DHCP, protokol APIPA je automaticky zapnut a systém QuantStudio™ 12K Flex má přidělenou IP adresu, není-li automaticky přidělena serverem DHCP.

- Je-li požadována statická IP adresa, musíte získat IP adresu, masku podsítě a adresu brány pro přístroj QuantStudio™ 12K Flex Instrument.

Připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do sítě

Rozhodněte se, jak chcete zapojit systém QuantStudio™ 12K Flex do sítě a zapojte jej.

Potřebné pomůcky

Síťový kabel s koncovkami RJ45 (CAT6 síťový kabel pro síť 1000Mbit/s nebo CAT5 síťový kabel pro síť 100Mbit/s)

Nastavení internetového protokolu přístroje QuantStudio™ 12K Flex

1. Pomocí síťového kabelu připojte prostřednictvím síťového portu 1 přístroj QuantStudio™ 12K Flex do sítě.

DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte pro toto připojení síťový port 2 přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Ten je vyhrazen výhradně pro společnost Applied Biosystems.

2. Zapněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex.
3. Pomocí dotykového displeje přístroje QuantStudio™ 12K Flex nastavte připojení do sítě, viz část "[Nastavení sítě](#)" na straně 170.

Připojení počítače do sítě

Po připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do sítě připojte do sítě i počítač a zprovozněte funkci vzdáleného monitorování v programu QuantStudio™ 12K Flex.

Potřebné pomůcky

Síťový kabel s koncovkami RJ45

Požadavky na počítač

Ujistěte se, že počítač má k dispozici volný síťový port.

Získejte potřebné informace

O síti musíte získat následující informace (od správce sítě):

- Jak jsou přidělovány IP adresy (DHCP nebo statická IP adresa).
- Je-li požadována statická IP adresa, musíte získat IP adresu, masku podsítě a adresu brány pro přístroj QuantStudio™ 12K Flex Instrument.

Nastavení počítače

DŮLEŽITÉ! Doporučujeme, aby připojení počítače do počítačové sítě provedl její správce. Níže nejsou popsány detailní možnosti zapojení počítače do počítačové sítě, protože síť může mít různou architekturu.

Poznámka: Následující popis platí pro operační systém Microsoft® Windows® XP.

1. Pomocí síťového kabelu připojte prostřednictvím síťového portu počítač do sítě.
2. Zapněte počítač a přihlaste se do systému jako administrátor.
3. Na ploše klikněte pravým tlačítkem myši na **My Network Places (Místa v síti)**, poté zvolte **Properties (Vlastnosti)**.
4. Pravým tlačítkem myši zvolte **Local Area Connection (Nastavení místní sítě)**, poté zvolte **Properties (Vlastnosti)**.
5. Zvolte **Internet Protocol (TCP/IP)**, poté klikněte na **Properties (Vlastnosti)**.

6. Nastavte internetový protokol (TCP/IP) pro komunikaci pomocí statické nebo dynamické (DHCP) adresy:

Nastavení sítě	Krok
DHCP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte Obtain an IP address automatically (Získat IP adresu automaticky). 2. Nastavte adresu DNS. Je-li adresa DNS získána: <ul style="list-style-type: none"> • Automaticky – Zvolte Obtain DNS server address automatically (Získat adresu DNS serveru automaticky). • Staticky – Zvolte Use the following DNS address (Použít následující DNS adresu) a zadejte adresu DNS serverů, pokud ji máte.
Statická IP adresa	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zvolte Use the following IP address (Použít následující IP adresu). 2. Zadejte IP adresu. 3. V případě potřeby zadejte masku podsítě. 4. V případě potřeby zadejte adresu brány (gateway).

7. Pokud vaše síť vyžaduje pokročilé nastavení protokolu TCP/IP (např. WINS):
 - a. Klikněte na **Advanced (Pokročilé)** v okně Internet Protocol (TCP/IP) Properties (Vlastnosti TCP/IP).
 - b. Nastavte záložky IP, DNS a WINS podle pokynů vašeho správce sítě, poté klikněte na **OK**.
8. Všechna dialogová okna zavřete kliknutím na **OK**.
9. Restartujte počítač. Počítač je nyní připojen do sítě.

Instalace programu QuantStudio™ 12K Flex

1. Používáte-li váš vlastní počítač, instalujte program QuantStudio™ 12K Flex z dodávaného CD Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Software.
Poznámka: Chcete-li monitorovat počítač prostřednictvím sítě, musíte instalovat program QuantStudio™ 12K Flex.
2. (Volitelné) Instalujte zabezpečovací programy.

Monitorování přístroje QuantStudio™ 12K Flex

Jsou-li přístroj QuantStudio™ 12K Flex a počítač, na němž je instalován program QuantStudio™ 12K Flex, zapojeny do sítě, můžete přístroj prostřednictvím počítače monitorovat.

O vzdáleném monitorování

Je-li systém QuantStudio™ 12K Flex připojený do sítě, můžete z jakéhokoliv počítače v síti, na němž je instalován program QuantStudio™ 12K Flex, provádět tyto činnosti:

- Monitorování stavu přístroje QuantStudio™ 12K Flex během běhu viz níže
- Odesílání nebo stahování experimentů nebo templátů do a z přístroje QuantStudio™ 12K Flex 133
- Připomenutí provedení kalibrace..... 134

Doporučení pro vzdálené monitorování

Při vzdáleném monitorování dbejte následujících pokynů:

- Program QuantStudio™ 12K Flex může monitorovat až 15 přístrojů.
- Nedoporučujeme, aby přístroj QuantStudio™ 12K Flex monitorovalo více než 10 počítačů najednou.
- Pokud si nejste jisti, zda váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex a počítač existují v rámci jedné podsítě, doporučujeme, abyste IP adresu přístroje zadali v rámci funkce vzdáleného monitorování ručně.

Monitorování stavu přístroje QuantStudio™ 12K Flex během běhu

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) klikněte na **(Monitor) Monitorovat**, poté klikněte na **Information (Informace)**.
5. Na obrazovce Monitor Instrument (Monitorovat přístroj) klikněte na **Monitor Running Experiment (Monitorovat běžící experiment)**.
Program QuantStudio™ 12K Flex zobrazí stav a parametry běhu, stav kalibrací a grafický záznam amplifikace ze zvoleného přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Zobrazí-li se chybová hláška, kontaktujte správce sítě.

Připojení s přístroje QuantStudio™ 12K Flex lze ztratit pokud:

- Změníte přístroj QuantStudio™ 12K Flex přímo připojený k vašemu počítači
- Pomocí dotykového displeje změníte jméno přístroje nebo IP adresu

Poznámka: Chcete-li obnovit připojení, restartujte program QuantStudio™ 12K Flex.

Odesílání nebo stahování experimentů nebo templátů do a z přístroje QuantStudio™ 12K Flex

Poznámka: V přístroji QuantStudio™ 12K Flex lze uložit až 100 experimentů. Před odesláním experimentu se ujistěte, že v paměti přístroje je dostatek místa.

1. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
2. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
3. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
4. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) klikněte na **Manage Files (Správa souborů)**, poté klikněte na **File Manager (Správce souborů)**.
5. Na obrazovce File Manager (Správce souborů) proveďte přenos souboru(ů):
Chcete-li odeslat (*upload*) soubor do přístroje QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. V poli Folders (Adresáře) zvolte adresář, do kterého chcete soubor odeslat. Chcete-li vytvořit nový adresář, klikněte na **Create (Vytvořit)** a zadejte název nového adresáře.
 - b. Klikněte na **Upload (Odeslat)**, zvolte experiment nebo templát, který chcete odeslat do přístroje QuantStudio™ 12K Flex, poté klikněte na **Open (Otevřít)**.

Chcete-li stáhnout (*download*) soubor z přístroje QuantStudio™ 12K Flex:

- a. V poli Folders (Adresáře) zvolte adresář, který obsahuje soubor(y), který chcete stáhnout.
- b. V poli Experiments (Experimenty) zvolte soubory, které chcete stáhnout. Chcete-li zvolit více souborů, označte je kliknutím při současném stisku kláves **Ctrl** nebo **Shift**.
- c. Jsou-li soubory zvoleny, klikněte na **Download (Stáhnout)**.
- d. V dialogovém okně Send experiment to instrument (Odesílání experimentů do přístroje) zvolte adresář, kam chcete soubory stáhnout, poté klikněte na **Open (Otevřít)**.

Poznámka: Pole Folders (Adresáře) a Experiments (Experimenty) můžete rovněž použít k:

- Vytvoření / smazání adresářů v přístroji QuantStudio™ 12K Flex
- Přidání, smazání nebo stažení experimentů z přístroje QuantStudio™ 12K Flex

Připomenutí provedení kalibrace

Program QuantStudio™ 12K Flex vás může pomocí emailu upozornit, když je potřeba přístroj QuantStudio™ 12K Flex kalibrovat. Toto nastavení je volitelné a nemá vliv na fungování přístroje.

DŮLEŽITÉ! Program QuantStudio™ 12K Flex odešle email pouze, pokud je přístroj QuantStudio™ 12K Flex monitorován. Je-li síťové připojení přerušeno, program email neodešle.

Získání potřebných informací

Program QuantStudio™ 12K Flex vyžaduje přístup k SMTP (Simple Mail Transfer Protocol) serveru, aby mohl odeslat upozornění. Získejte od správce sítě následující informace:

- Síťovou adresu SMTP serveru.
- Uživatelské jméno a heslo pro přístup k serveru, je-li to zapotřebí.
- Nastavení SSL (Secure Sockets Layer) serveru (zapnuto nebo vypnuto).

Nastavení

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Preferences (Nástroje > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte záložku **SMTP Settings (Nastavení SMTP)**.
3. V záložce SMTP Settings (Nastavení SMTP) nastavte:
 - Pole **Outgoing Mail Server (SMTP) (Server odchozí elektronické pošty)** – Zadejte síťovou adresu serveru SMTP. Volitelně můžete nastavit TCP port serveru (transmission control protocol) zadáním jeho čísla k názvu serveru, údaje jsou odděleny znakem “:”.
Např.: smtp.mycompany.com:2023
Poznámka: Není-li TCP port zadán, program QuantStudio™ 12K Flex použije port číslo 25.
 - **Encryption Required? (Šifrování?)** – Zvolte, je-li zapnuta funkce SSL.
 - **Authentication Required? (Autentikace?)** – Zadejte, je-li požadováno uživatelské jméno a heslo.
 - Pole **User Name (Uživatelské jméno) a Password (Heslo)** – Zadejte uživatelské jméno a heslo, které vám poskytl váš správce sítě.
4. Klikněte **OK**.

Nastavení pro
připomenutí
provedení
kalibrace
monitorovaného
přístroje
QuantStudio™
12K Flex

1. Otevřete obrazovku Calibration Reminders (Připomenutí kalibrace):
 - a. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
 - b. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex ze seznamu přístrojů v síti a klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.

Poznámka: Váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex musíte přidat do seznamu před tím, než můžete provádět jeho správu.
 - c. Jakmile je přístroj QuantStudio™ 12K Flex přidán do seznamu, zvolte jej a klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
 - d. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **Calibration Reminders (Připomenutí kalibrace)**.
2. V tabulce Calibration Reminders Setting (Nastavení připomenutí kalibrace) proveďte příslušné nastavení. Pro každou kalibraci můžete:
 - a. Ve sloupci Expiry Interval (Expirace) zadat počet dní platnosti dané kalibrace.
 - b. Ve sloupci Send a Reminder (Odeslat připomenutí) zvolit, zda chcete být informováni o nutnosti provedení kalibrace.
 - c. Ve sloupci Reminder Interval (Lhůta připomenutí) zadat počet dní, které mají uplynout před odesláním připomenutí.
3. Do pole Enter e-mail addresses for notifications (Zadat emailovou adresu) zadejte adresu(y), na které chcete dostat email s připomenutím. Jednotlivé adresy oddělte čárkou (,).
4. Klikněte na **Apply (Použít)**, čímž nastavení uložíte.

6

Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis

V této kapitole naleznete:

■ Administrátoři – Přehled.....	138
■ Nastavení zabezpečení systému.....	139
■ Správa uživatelských účtů	142
■ Nastavení sledování změn (audit)	145
■ Zpráva o výsledku sledování změn.....	146
■ Elektronický podpis – nastavení	150
■ Zpráva o používání elektronického podpisu	152
■ Export a import nastavení.....	153
■ Uživatelé – Přehled	154
■ Zabezpečení.....	154
■ Sledování změn (Audit).....	155
■ Elektronický podpis	155

Administrátoři (Správci systému)

DŮLEŽITÉ! Modul SAE (Security-Zabezpečení, Audit-Sledování změn, E-Signature-Elektronický podpis) je volitelnou součástí Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex.

DŮLEŽITÉ! Zprovoznění modulu zabezpečení, auditu a elektronického podpisu jako takového neznamená, že by systém QuantStudio™ 12K Flex následně odpovídal požadavkům jakékoliv normy. Pro tyto účely je zapotřebí nastavit tento modul dle požadavků dané normy.

Modul SAE (Security-Zabezpečení, Audit-Sledování změn, E-Signature-Elektronický podpis) je volitelnou součástí Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex a umožňuje nastavit systém QuantStudio™ 12K Flex tak aby odpovídal specifickým požadavkům. Tento modul umožňuje:

- **Zabezpečení systému** – Kontrola přístupu uživatelů k programu. Program je instalován s jedním předvoleným uživatelským účtem (administrátor) a je možné definovat další uživatelské účty.

Poznámka: Přednastavené heslo pro uživatelský účet Administrator je *Administrator*; během instalace je můžete změnit.

Poznámka: Zabezpečení systému lze aktivovat či deaktivovat.

- **Sledování změn (Audit)** – Sledování změn v knihovnách, sledování kroků prováděných uživateli, sledování změn v nastavení modulu SAE. Určité operace jsou sledovány automaticky, sledování dalších operací lze aktivovat. Je možné tisknout soupisy provedených změn.

Poznámka: Sledování změn lze aktivovat či deaktivovat. Po instalaci je sledování změn automaticky deaktivováno.

- **Elektronický podpis (e-sig)** – Pro provádění určitých kroků je/není vyžadováno zadání uživatelského jména a hesla. Tuto funkci lze nastavit i tak, že určité předdefinované operace nelze provést bez elektronického podpisu nebo může být vyžadován více než jeden elektronický podpis nebo elektronický podpis konkrétního uživatele.

Poznámka: Elektronický podpis lze aktivovat či deaktivovat. Po instalaci je elektronický podpis automaticky aktivován.

Příklady použití

Modul SAE lze nastavit různými způsoby, například:

- Uživatel se musí přihlásit, ale sledování změn se nepoužívá.
- Protokoly smějí vytvářet a upravovat pouze konkrétní uživatelé.
- Schválit úpravy vzorků smějí pouze konkrétní uživatelé.
- Před spuštěním experimentu nebo tiskem jeho výsledků je vyžadován elektronický podpis.


Nastavení zabezpečení systému

Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení systému

Obrazovka Security (Zabezpečení) umožňuje zapnout nebo vypnout používání zabezpečení systému, nastavit a uplatnit omezená oprávnění pro různé uživatele a definovat způsoby oznámení událostí, která narušují pravidla zabezpečení.

DŮLEŽITÉ! Pokud zabezpečení vypnete, vypínáte i funkce sledování změn a elektronického podpisu, nicméně tato základní změna nastavení zabezpečení není sledována – není vytvořen záznam o vypnutí zabezpečení systému.

Zabezpečení je po instalaci automaticky aktivováno. Chcete-li vypnout nebo zapnout používání zabezpečení:

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex, zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **System (Systém)**.
3. Klikněte na **Disable (Vypnout)** nebo **Enable (Zapnout)**. VeźmĚte na vědomí:
 - Vypnutím zabezpečení vypínáte i sledování zmĚn a elektronický podpis.
 - Probíhá-li běh, není použití příkazů Disable a Enable možné.
 - Po zapnutí zabezpečení musíte zadat své uživatelské jmĚno a heslo.
 - Je-li zabezpečení vypnuto, nápověda  v dolní části obrazovky není aktivní.

DŮLEŽITÉ! Pokud zapnete nebo vypnete zabezpečení, sledování zmĚn a elektronický podpis v programu QuantStudio™ 12K Flex, musíte obdobně zapnout nebo vypnout zabezpečení přístroje QuantStudio™ 12K Flex (viz strana 156). Program QuantStudio™ 12K Flex se nemůžĚ připojit k přístroji QuantStudio™ 12K Flex, není-li nastavení zabezpečení v souladu.

4. Klikněte na **Apply Settings (Uložit změny)**.

Uživatelské účty a pravidla zabezpečení

Pravidla zabezpečení jsou platná pro všechny uživatelské účty.

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V části Account Setup (Uživatelské účty – pravidla) nastavte pravidla, jak mají být definována uživatelská jména.

DŮLEŽITÉ! V uživatelských jménech lze používat mezery, nicméně používejte mezery uvážlivě. Více informací viz [“Mezery v uživatelských jménech a/nebo heslech” na straně 140](#).

3. Nastavte pravidla, jak mají být definována hesla:
 - a. Definujte délku hesel.
 - b. Definujte pravidla opakovaného použití hesla. Tuto funkci nelze úplně vypnout.
 - c. Definujte znaky, jejichž používání je v uživatelských heslech povoleno: mezery, písmena, číslice, velká písmena, malá písmena, zvláštní znaky jako čárky, tečky, středníky, pomlčky, podtržítka a vlnovky.
4. V části Security policies (Nastavení zabezpečení) definujte, na jak dlouho má heslo omezenou platnost, kdy dojde k vyřazení uživatelského účtu z provozu a jak dlouho dopředu je uživatel upozorněn na blížící se konec platnosti hesla.

Poznámka: Nejsou-li současně prováděny jiné kroky, dojde po uplynutí doby nastavené v části Session Timeout k automatickému odhlášení uživatele případně i během běhu.
5. V části Open Non-Secure Data (Otevřít nezabezpečená data) zvolte **Yes (Ano)** nebo **No (Ne)**. Tím nastavíte, zda mohou uživatelé otevírat experimenty a templáty, které byly vytvořeny bez zabezpečení.
6. Klikněte na **Setup Messaging Notification Settings (Oznámení událostí)** a definujte, kdy a jak mají být správci systému oznamována porušení pravidel zabezpečení. Více informací viz [“Nastavení oznámení” na straně 140](#).

7. Klikněte na Apply Settings (Uložit změny).

Nová nastavení se u přihlášeného uživatele projeví při jeho dalším přihlášení.

Povolíte-li v uživatelských jménech používání mezer, vezměte na vědomí:

- Mezery na začátku (leading) a konci (trailing) uživatelského jména lidské oko obtížně vnímá.
- Několik mezer za sebou lidské oko obtížně rozliší.

Mezery mohou rovněž způsobit potíže např. při vyhledávání informací o sledování změn. Chcete-li nalézt záznam související s daným uživatelským jménem, musí být toto uživatelské jméno napsáno bezchybně včetně všech mezer.

**Mezery
v uživatelských
jménech a/nebo
heslech**

Nastavení oznámení

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. Na obrazovce Security (Zabezpečení) klikněte na **Notification Settings (Nastavení oznámení)**, zobrazí se dialogové okno Setup Notifications (Nastavení oznámení).
3. Zvolte události, jejichž výskyt má být oznámen:
 - **System security enabled or disabled** – Zabezpečení bylo zapnuto nebo vypnuto.
 - **User did not enter correct password** – Uživatel zadává nesprávné heslo. Ve zprávě je uveden počet chybných zadání hesla.
 - **User account suspended** – Uživatel překročil povolený počet možností zadání hesla (přihlášení se nezdařilo).
 - **User session timed out** – Uživatel byl automaticky odhlášen pro nečinnost.
4. Zvolte způsob oznámení těchto událostí:
 - **Notify Admin at Login** – Okno se seznamem chyb a uživatelů, u kterých byly zaznamenány, se objeví, jakmile se přihlásí uživatel s administrátorskými právy.
Administrátor má možnost potvrdit, že mu byla zpráva oznámena, čímž ji vymaže.
 - **Email Notification** – jakmile dojde k dané události, odešle program QuantStudio™ 12K Flex email na adresy uvedené ve sloupci Email Address. V emailu je uvedeno o jakou událost se jedná a jméno dotčeného uživatele.
5. Klikněte na **OK**.

Správa uživatelských účtů

Vytvoření nebo úprava uživatelského účtu

Součástí programu je přednastavený účet správce systému (Administrator), který je oprávněn provádět v programu veškeré operace. Tento uživatelský účet nelze upravit.

Vytvoření uživatelského účtu

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **Users (Uživatelé)**.
3. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**, zobrazí se dialogové okno New User (Nový uživatel).
4. Zadejte uživatelské jméno (user name), heslo (password), křestní jméno (first name), druhé jméno (middle initial - volitelné) a příjmení (last name). Po kliknutí do příslušného pole se zobrazí omezení pro toto pole platná (nastavená při konfiguraci Zabezpečení).

Poznámka: Křestní jméno, druhé jméno a příjmení vytvoří následně úplné jméno uživatele, které program rovněž zobrazuje.

Poznámka: Po jeho uložení nelze již uživatelské jméno změnit.

5. Zvolte **Password Expires at First Login (Platnost hesla do prvního přihlášení)**, chcete-li, aby musel uživatel při prvním přihlášení definovat nové heslo. Datum expirace hesla (Password Expires On date) je definováno v pravidlech Zabezpečení.
6. Zvolte úlohu uživatele (user role) a definujte pravidla použití elektronického podpisu (zda je uživatel oprávněn k elektronickému podpisu). V poli Status (Stav) ponechte nastaveno Active (Aktivní).
7. (Volitelné) Zadejte emailovou adresu (pouze informativní), telefon a komentář.
8. Klikněte na Save (**Uložit**).

Úprava uživatelského účtu

1. Na obrazovce Users (Uživatelé) zvolte uživatelský účet a klikněte **Edit (Upravit)**.

Poznámka: Zvolíte-li více uživatelů, lze změnit pouze pole Status (Stav) a Role (Úloha).

2. Upravte nastavení dle potřeby. Uživatelské jméno nelze změnit.
3. Klikněte na Save (**Uložit**).

Aktivace neaktivního uživatelského účtu

1. Na obrazovce Users (Uživatelé) zvolte uživatele.
2. Klikněte na **Edit (Upravit)**.
3. V poli Status (Stav) změňte nastavení **Suspended (Neaktivní)** na **Active (Aktivní)**, poté klikněte **Save (Uložit)**.

Vymazání (inaktivace) uživatelského účtu

DŮLEŽITÉ! Uživatelský účet nelze vymazat, neboť záznamy uživatelů podléhají sledování změn. Uživatelský účet lze inaktivovat.

1. Na obrazovce Users (Uživatelé) zvolte uživatele.
2. Klikněte na Edit (Upravit).
3. V poli Status (Stav) změňte nastavení z Active (Aktivní) na Suspended (Neaktivní), poté klikněte **Save (Uložit)**.

Zjištění který uživatel je přihlášen

Jméno přihlášeného uživatele se zobrazuje v záhlaví programu QuantStudio™ 12K Flex.

Vytvoření nebo úprava úlohy uživatele

Úloha uživatele umožňuje definovat oprávnění příslušného uživatele.

V programu jsou definovány tři přednastavené úlohy. Dvě z nich můžete upravit a můžete vytvořit i nové úlohy podle potřeby:

- Správce systému - Administrator (nelze upravit ani smazat)
- Vědec - Scientist
- Laborant - Technician

Chcete-li upravit oprávnění pro tyto úlohy, zvolte úlohu a klikněte na **Edit (Upravit)**.

Vytvoření úlohy

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **Roles (Úlohy)**.
3. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.
4. Zadejte název úlohy (Role name) a komentář (volitelné).
5. Nastavte oprávnění (viz [“Oprávnění a přednastavené uživatelské úlohy”](#) na straně 144). Chcete-li vybrat všechna oprávnění, zatrhněte políčko vedle názvu kategorie.

Poznámka: Kroky, které nejsou uvedeny v následující tabulce, jsou k dispozici pro všechny úlohy.


6. Klikněte na **Save Role (Uložit úlohu)**

Oprávnění a přednastavené uživatelské úlohy

V následující tabulce jsou uvedena všechna uživatelsky nastavitelná oprávnění a nastavení předdefinovaných úloh.

Oprávnění		Přednastavené úlohy		
Kategorie	Funkce	Scientist – Vědec	Technician – Laborant	Administrator – Správce systému
Setup – Zadání	Vytvoření a úprava experimentů nebo templátů (včetně spuštění)	Ano	Ano	Ano
Run – Spuštění	Spuštění experimentu pomocí funkce Quickstart	Ano	Ano	Ano
	Spuštění experimentu	Ano	Ano	Ano
	Zastavení experimentu	Ano	Ano	Ano
Targets (Library) – Knihovna cílů (targets)	Vytvoření cílů	Ano	Ano	Ano
	Úprava cílů	Ano	Ano	Ano
	Mazání cílů	Ano	Ne	Ano
Analysis Settings (Library) – Nastavení analýza /knihovna)	Vytvoření parametrů analýzy (včetně přednastavených)	Ano	Ano	Ano
	Úprava parametrů analýzy (včetně přednastavených)	Ano	Ano	Ano
	Vymazání parametrů analýzy	Ano	Ne	Ano
Run Methods (Library) – Metody (Knihovna)	Vytvoření metody	Ano	Ano	Ano
	Vymazání metody	Ano	Ne	Ano
Dye (Library) – Barvy (Knihovna)	Vytvoření vlastní barvy	Ano	Ano	Ano
	Vymazání barvy	Ano	Ne	Ano
Preferences – Nastavení	Úprava nastavení systému	Ano	Ne	Ano
	Export nastavení systému	Ne	Ne	Ano
	Import nastavení systému	Ne	Ne	Ano
Calibrations – Kalibrace	Provedení kalibrací	Ano	Ano	Ano
RNaseP – RNáza P	Provedení experimentu RNáza P	Ano	Ne	Ano
Instrument Configuration – Nastavení přístroje	Zařazení nebo vyjmutí přístroje QuantStudio™ 12K Flex do/z režimu monitorování	Ne	Ne	Ano
Security Configuration – Nastavení zabezpečení	Změna nastavení zabezpečení / auditu	Ne	Ne	Ano
	Přihlášení pokud byl uživatel automaticky odhlášen	Ne	Ne	Ano
	Právo elektronického podpisu	Ano	Ano	Ano

Úprava úlohy

1. Na obrazovce Roles (Úloha) zvolte úlohu a klikněte na  **Edit (Upravit)**.
2. Upravte nastavení dle potřeby. Úlohu Administrator nelze upravit.
3. Klikněte na Save Role (**Uložit úlohu**).

Zobrazení a tisk zprávy o uživateli

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **Users (Uživatelé)** nebo **Roles (Úlohy)**.
3. Klikněte na **View Report (Zobrazit zprávu)**.
4. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte zprávu dle potřeby. Umístíte-li kurzor nad ikonu, zobrazí se popis její funkce.
5. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu **Print**. Chcete-li uložit zprávu ve formátu .pdf, klikněte na ikonu **Save**.

Nastavení sledování změn (audit)

Obrazovka Audit a nastavení sledování změn

Na obrazovce Audit je možné zapnout/vypnout sledování změn, jaké změny jsou sledovány, a je možné definovat důvody, které mohou uživatelé uvést při provádění změn. Po instalaci programu je sledování změn automaticky vypnuto.

DŮLEŽITÉ! Pokud vypnete zabezpečení, vypínáte i funkce sledování změn a elektronického podpisu, nicméně tato základní změna nastavení zabezpečení není sledována – není vytvořen záznam o vypnutí sledování změn a elektronického podpisu.

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **Audit (Sledování změn)**.
3. Zvolte nebo vypněte možnost **Enable Audit (Povolit sledování změn)**.
4. Klikněte na **Apply Settings (Uložit změny)**.

Volba položek, jejichž změny jsou sledovány

1. Zvolte položky, které chcete sledovat, a režim sledování pro každou z nich: Experimenty, Templáty experimentů, Studie
2. Zvolte Audit Mode (Režim sledování) pro každou sledovanou položku:
 - **Optional (Volitelný)** – Změny jsou sledovány, zobrazí se výzva ke zdůvodnění prováděné změny, ale uživatel může pokračovat bez udání důvodu.
 - **Required** – Změny jsou sledovány, zobrazí se výzva ke zdůvodnění prováděné změny, uživatel musí udat důvod.
 - **Silent** – Změny jsou sledovány, nezobrazí se výzva ke zdůvodnění prováděné změny.
3. Klikněte na **Apply Settings (Uložit změny)**.

Důvody provádění změn

Můžete vytvořit, upravit a smazat možné důvody, které mají uživatelé k dispozici v dialogovém okně Audit Reason (Důvod změny) (zobrazí se, provede-li uživatel sledovanou změnu).

1. Požadujete-li, aby uživatelé pouze volili některý ze zadaných důvodů provádění změn, zvolte možnost **Require users to select a reason to change from the list**. Uživatelům není umožněno zapsat vlastní zdůvodnění.
2. Podle potřeby klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**, nebo zvolte důvod a klikněte na **Edit (Upravit)** nebo **Delete (Smazat)**.

Zpráva o výsledku sledování změn

Program QuantStudio™ 12K Flex můžete využít k vytváření zpráv o historii sledování změn. Zprávy lze vytvořit jak při nastavení zabezpečení tak při práci s experimenty, templáty nebo studii.

- Zpráva o sledování změn - zobrazení při nastavení zabezpečení 146
- Zpráva o sledování změn pro experiment nebo templát 149

Zpráva o sledování změn - zobrazení při nastavení zabezpečení

Zobrazení zprávy

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **Audit (Sledování změn)**, poté klikněte na **View Reports (Zobrazit zprávy)**.

Poznámka: Chcete-li otevřít obrazovku Audit Reports, musíte mít oprávnění pro Nastavení modulu SAE (Configure SAE permission). Uživatelé bez tohoto oprávnění mohou sledovat historii jednotlivých položek v knihovnách pomocí funkce **View Audit History (Zpráva o sledování změn)**.

3. Zvolte záložku:
 - **System Configuration History** – Změny nastavení modulu SAE včetně historie změn uživatelských účtů.
 - **Action Record** – Systémově definované sledované změny.
4. (Volitelné) Tabulku seřadíte (**Filter by**):
 - Sort the table.
 - Filtrujte údaje v tabulce (datum, uživatelské jméno, krok, položka nebo typ záznamu, název položky nebo záznamu, důvod), poté klikněte na **Refresh (Obnovit)**.

Poznámka: V části System Configuration History se nepoužívá pole Reason (Důvod).

- Zvolte záznam(y) a klikněte na **View Report (Zobrazit zprávu)**.

Historie zabezpečení systému

Historie zabezpečení systému umožňuje výpis informací o zabezpečení, sledování změn a elektronickém podpisu.

Typ záznamu	Krok	Odpovídá
Security Settings – Nastavení zabezpečení	Aktualizovat	Vypnout, zapnout, nebo upravit nastavení zabezpečení: nastavení doby automatického odhlášení.
Account Settings – Nastavení uživatelského účtu	Aktualizovat	Upravit nastavení hesel, nastavení zabezpečení (expirace hesla a inaktivace uživatelského účtu), nebo nastavení uživatelského jména
User Group Manager – Správce skupiny uživatelů	Aktualizovat	Vytvořit, smazat, nebo upravit důvod změny
User Role – Úloha	Vytvořit	Vytvořit uživatelskou úlohu
	Smazat	Smazat uživatelskou úlohu
	Aktualizovat	Upravit uživatelskou úlohu
User Account – Uživatelský účet	Vytvořit	Vytvořit nový uživatelský účet
	Aktualizovat	Upravit nebo inaktivovat uživatelský účet
Role Assignment – Přiřazení úlohy	Smazat	Přiřadit jinou uživatelskou úlohu existujícímu uživatelskému účtu
	Aktualizovat	Vytvořit uživatelský účet nebo přiřadit jinou uživatelskou úlohu existujícímu uživatelskému účtu
Audit Settings – Nastavení sledování změn	Aktualizovat	Zapnout nebo vypnout sledování změn
Audit Type – Typ sledování	Aktualizovat	Upravit nastavení sledování změn
Function Management Settings – Správa funkcí	Aktualizovat	Aktualizovat správu funkcí
Function Access Manager – Správce přístupu k funkcím	Aktualizovat	Aktualizovat správu přístupu k funkcím
Function – Funkce	Vytvořit	Vytvořit funkci
	Smazat	Smazat funkci
	Aktualizovat	Aktualizovat funkci
Role Permissions – Oprávnění úlohy	Vytvořit	Vytvořit uživatelskou úlohu [‡]
	Smazat	Smazat uživatelskou úlohu [‡]
	Aktualizovat	Upravit oprávnění uživatelské úlohy
Audit Reason for Change – Důvod změny	Smazat	Vytvořit důvod změny
	Aktualizovat	Smazat nebo upravit důvod změny
Event Manager – Správce událostí	Aktualizovat	Aktualizovat správce událostí
E-signature Manager – Správce elektronického podpisu	Aktualizovat	Zapnout nebo vypnout elektronický podpis
E-signature Type – Typ elektronického podpisu	Vytvořit	Vytvořit význam elektronického podpisu
	Smazat	Smazat význam elektronického podpisu
	Aktualizovat	Upravit význam elektronického podpisu nebo krok elektronického podpisu
E-signature Function – Funkce elektronického podpisu	Aktualizovat	Upravit krok vyžadující elektronický podpis

[‡] Vytvoří jeden záznam o přiřazení úlohy pro každé oprávnění úlohy.

Záznam akcí – Action Log

Zobrazuje seznam systémově definovaných sledovaných změn.

Veškeré změny položek v záznamu akcí jsou sledovány na pozadí (bez vědomí uživatele) vyjma položek vedených jako nastavitelné. Součástí nastavitelných položek může být komentář.

- Nastavení sledování změn (Aktualizace)
- Sledovaná událost (Archivace, Obnovení, Vymazání)
- Nastavení (Import, Export)
- Sledování změn dat (Archivace, Obnovení, Vymazání)
- Přihlášení (Úspěšné, Neúspěšné)
- Odhlášení (Úspěšné)
- Běh (Spuštění, Vypnutí, Dokončení, Selhání, Přerušování, Chyba)
- Uživatelský účet (Vytvoření, Aktualizace)

Zobrazení a tisk zpráv o sledování změn

1. Zvolte záložku **System Configuration History** (Historie nastavení systému).
2. Zobrazte záznamy.
3. Filtrujte položky v seznamu, aby zobrazení zprávy netrvalo příliš dlouho.

DŮLEŽITÉ! Kliknete-li na tlačítko View (Zobrazit), musíte vyčkat na zobrazení zprávy, akci nelze přerušit

4. Klikněte na **View Report (Zobrazit zprávu)**.
5. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte zprávu dle potřeby. Umístíte-li kurzor nad ikonu, zobrazí se popis její funkce. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu **Print**. Chcete-li uložit zprávu ve formátu .pdf, klikněte na ikonu **Save**.
6. Zavřete zprávu.

Archivace, vymazání a obnovení záznamů o sledování změn

Funkce archivace (Archive) vytvoří kopii záznamů o sledování změn, funkce vymazání (Purge) vytvoří kopii záznamů o sledování změn a záznamy smaže. Následně lze pro obnovení vymazaných záznamů použít funkci obnovení (Restore).

Archivace a vymazání

Chcete-li archivovat nebo vymazat záznamy o nastavení systému nebo o akcích:

1. Zvolte záložku **System Configuration History** (Historie nastavení systému).
2. Zobrazte záznamy
3. Klikněte **Archive (Archivace) nebo Purge (Vymazání)**.
4. Zvolíte-li archivaci, musíte určit cílový adresář a název pro archivní soubor .asz.

Obnovení

Chcete-li obnovit záznamy o nastavení systému nebo o akcích, klikněte na **Restore (Obnovit)** a vyberte soubor .asz, který má být obnoven.

Export záznamů o sledování změn

Podle potřeby lze záznamy o sledování změn exportovat do souboru .txt a následně je použít mimo prostředí programu QuantStudio™ 12K Flex.

1. Na příslušné obrazovce zvolte záznamy.
2. Klikněte na **Export**.
3. Zadejte název souboru .txt a zvolte cílový adresář. Klikněte na **Save (Uložit)**.

Chcete-li exportovat záznamy o sledování změn vzorků, které nejsou ve svém původním adresáři (soubory byly vymazány nebo přesunuty), zobrazí se chybová hláška. Musíte vrátit soubory do jejich původního adresáře a exportovat záznamy znovu.

Zpráva o sledování změn pro experiment nebo templát

Zobrazení historie sledování změn

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex otevřete experiment (.eds) nebo templát (.edt).
2. Klikněte na **Audit (Sledování změn)**, poté klikněte na **Audit Records (Záznamy o sledování změn)**.
3. (Volitelné) Tabulku filtrujte:
 - a. Zatrhněte pole **Filter by (Filtrovat podle)**.
 - b. Filtrujte údaje v tabulce podle požadovaného parametru.
 - c. Klikněte na **Refresh (Obnovit)**.

Zobrazení detailů o specifickém záznamu:

- a. Klikněte do řádky v seznamu nalevo, detaily se zobrazí v tabulce vpravo nahoře.
- b. Klikněte do jakékoliv řádky, detaily se zobrazí v tabulce vpravo dole.

Export záznamů o sledování změn

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex otevřete experiment (.eds) nebo templát (.edt).
2. Klikněte na **Audit (Sledování změn)**.
3. V tabulce vlevo zvolte záznamy, které chcete exportovat:
 - Klikněte do tabulky, stiskněte **Ctrl-A** (tím zvolíte všechny záznamy).
 - Klikněte a táhněte myši nebo stiskněte **Shift** (tím zvolíte několik řádků pod sebou).
 - Stiskněte **Ctrl** a klikněte do řádků (tím zvolíte několik řádků).
4. Exportujte záznamy:
 - Klikněte na **Export Summary** – exportují se záznamy z tabulky vlevo.
 - Klikněte na **Export Details** - exportují se záznamy z tabulky vlevo a detailní údaje.
5. Zvolte adresář a název exportovaného souboru, poté klikněte na **Save (Uložit)**.
6. Klikněte na **OK**.

Tisk zpráv o sledování změn

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex otevřete experiment (.eds) nebo šablónu (.edt).
2. Klikněte na **Audit (Sledování změn)**.
3. Klikněte na **View Report (Zobrazit zprávu)**.
4. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu **Print**. Chcete-li zprávu uložit, klikněte na ikonu **Save**.
5. Zavřete okno.

Elektronický podpis - Nastavení

Zapnutí nebo vypnutí elektronického podpisu

DŮLEŽITÉ! Pokud vypnete zabezpečení, vypínáte i funkce sledování změn (audit) a elektronického podpisu, nicméně tato základní změna nastavení zabezpečení není sledována – není vytvořen záznam o vypnutí sledování změn a elektronického podpisu.

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte **Tools > Security > Settings (Nástroje > Zabezpečení > Nastavení)**.
2. V dialogovém okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) zvolte záložku **e-Signature (Elektronický podpis)**.
3. Zvolte nebo vypněte možnost **Enable e-Signature (Zapnout elektronický podpis)**.

DŮLEŽITÉ! Zapnutí elektronického podpisu může výrazně zvětšit velikost souborů (experiment (.eds) nebo šablóna (.edt)).

4. Klikněte na Apply Settings (Uložit změny).

Použití elektronického podpisu

V okně Security Settings (Nastavení zabezpečení) definujte možnosti použití elektronického podpisu. Těmito možnostmi se rozumí důvody, které může uživatel zvolit, popisuje-li proč je zapotřebí elektronický podpis.

V programu QuantStudio™ 12K Flex jsou jako výchozí definovány následující možnosti.

Definice elektronického podpisu	Typ dat			
	Definice destičky	Teplotní protokol	Parametry analýzy	Výsledky analýzy
Kontrola a schválení zadání destičky	Ano	Ano	Ne	Ne
Kontrola a schválení výsledků	Ano	Ano	Ano	Ano
Kontrola a schválení šablóny	Ano	Ano	Ne	Ne

Přidání možnosti

1. V záložce e-Signature (Elektronický podpis) dialogového okna Security Settings (Nastavení zabezpečení) klikněte na **Add (Přidat)**.

2. V dialogovém okně Create Meaning zadejte popis možnosti použití elektronického podpisu, poté klikněte na **OK**.
3. Zvolte, jakých dat se podpis má týkat.
4. Klikněte na Apply Settings (Uložit změny).

- Vymazání možnosti
1. Zvolte možnost v seznamu, poté klikněte na **Remove (Odstranit)**.
 2. Klikněte na Apply Settings (Uložit změny).

Nastavení elektronického podpisu pro jednotlivé úlohy uživatelů

Chcete-li definovat, kteří uživatelé (role) mohou elektronicky podepisovat:

1. V záložce e-Signature (Elektronický podpis) dialogového okna Security Settings (Nastavení zabezpečení) zatrhněte pole vedle dané úlohy v tabulce User Role signature rights.
2. Klikněte na Apply Settings (Uložit změny).

Volba kroků vyžadujících podpis

DŮLEŽITÉ! V průběhu kalibrace neměňte nastavení elektronického podpisu.

1. Ve sloupci Signature Required (Podpis požadován) zatrhněte pole vedle kroku, pro který má být vyžadován elektronický podpis (viz níže). Provede-li následně uživatel daný krok, je vyzván k jeho elektronickému podepsání. Bez elektronického podpisu nelze daný krok provést.

Krok	Program QuantStudio™ 12K Flex vyžaduje elektronický podpis pro
Print Report	Tisk zprávy o experimentu nebo studii
Start Run	Spuštění běhu z programu nebo přístroje QuantStudio™ 12K Flex

2. Pro každý krok definujte, kolik elektronických podpisů je požadováno před provedením daného kroku. Např. jak je uvedeno na obrázku níže alespoň dva správci systému (Administrator) musí podepsat experiment před jeho spuštěním.

Actions requiring signatures

Signature Required	Action	Number of signatures required for the selected action		
		Administrator	Technician	Scientist
<input type="checkbox"/>	Print Report			
<input checked="" type="checkbox"/>	Start Run			

3. Klikněte na Apply Settings (Uložit změny).

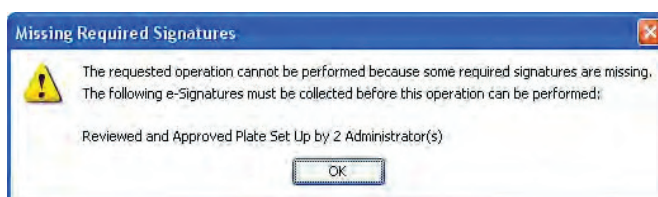
Jak program vyzve k elektronickému podpisu

Je-li systém nastaven tak, že se má před spuštěním běhu nebo tiskem zprávy provést kontrola platnosti elektronického podpisu a data nejsou podepsána, jakmile uživatel klikne na **Start Run (Spustit běh)** nebo **Print Report (Tisknout zprávu)** program QuantStudio™ 12K Flex zobrazí výzvu k podpisu.

Příklad

Systém je nastaven tak, že je před spuštěním běhu vyžadován elektronický podpis dvou správců systému (Administrator). Experiment nebyl podepsán.

Uživatel se pokusí spustit běh. Zobrazí se tato výzva:



Před spuštěním musí běh podepsat dva správci systému. Není-li zadán správný podpis, výzva se zobrazí znovu.

Zpráva o používání elektronického podpisu

Program QuantStudio™ 12K Flex můžete využít k vytvoření zprávy o používání elektronického podpisu (z otevřeného experimentu (.eds) nebo templátu (.edt)).

Zobrazení záznamů

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex otevřete experiment (.eds) nebo templát (.edt).
2. V otevřeném experimentu nebo templátu zvolte **Audit (Sledování změn)**, poté klikněte na **E-Signatures (Elektronické podpisy)**.
3. (Volitelné) Klikněte do zvolené řádky, zobrazí se detailní údaje.

Uložení nebo tisk záznamů

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex otevřete experiment (.eds) nebo templát (.edt).
2. V otevřeném experimentu nebo templátu zvolte **Audit (Sledování změn)**, poté klikněte na **E-Signatures (Elektronické podpisy)**.
3. (Volitelné) Klikněte do zvolené řádky.
4. Uložte nebo tiskněte záznam:
 - Klikněte na **Save (Uložit)**, zvolte cílový adresář a zadejte název souboru, poté klikněte na **Save (Uložit)**.
 - nebo
 - Klikněte na **Print (Tisk)**.
5. Klikněte na **OK**.

Uložení nebo tisk tabulky se seznamem podepsaných kroků

1. V programu QuantStudio™ 12K Flex otevřete experiment (.eds) nebo templát (.edt).
2. V otevřeném experimentu nebo templátu zvolte **Audit (Sledování změn)**, poté klikněte na **Print E- Signatures (Tisknout elektronické podpisy)**.
3. Uložte nebo tiskněte záznam:
 - Klikněte na Save (Uložit), zvolte cílový adresář a zadejte název souboru, poté klikněte na **Save (Uložit)**.
 - nebo
 - Klikněte na Print (Tisk) .
4. Klikněte na **OK**.

Export a import nastavení

Poznámka: Funkci export/import lze použít, pokud chcete zabezpečení nastavit na více počítačích úplně stejně.

Export

1. Na jakémkoliv obrazovce modulu SAE klikněte na **Export**.
2. Zvolte položky, které chcete exportovat:
 - **All** – Všechny.
 - **Custom** – Vlastní volba položek:
 - **Users & Roles (Uživatelé a úlohy)** – Všechny uživatelské účty, jejichž stav je "Active" ("Aktivní") a všechny úlohy a jejich oprávnění (v případě, že uživatelský účet definuje roli, která na systému, kam chcete nastavení importovat, neexistuje).
 - **System & Roles (Systém a úlohy)** – Všechna systémová nastavení a všechny úlohy a jejich oprávnění.
3. Klikněte na **Export nebo OK**.
4. Zadejte cílový adresář a zadejte název souboru (.dat), poté klikněte na **Save (Uložit)**. Po skončení exportu se zobrazí zpráva.

Import

1. Na jakémkoliv obrazovce modulu SAE klikněte na **Import** v navigační liště.
2. Zvolte soubor .dat, který chcete importovat, poté klikněte na **Open (Otevřít)**. Zobrazí se výzva, zda chcete přepsat aktuální systémové nastavení. Klikněte na **Yes (Ano)**.
Pokud nějaký uživatelský účet již v systému existuje, systém vás vyzve k jeho přepsání nebo k přeskočení této operace.

Uživatelé – Přehled

Modul SAE (Security-Zabezpečení, Audit-Sledování změn, E-Signature-Elektronický podpis) je volitelnou součástí Real-Time PCR systému Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex. Tento modul umožňuje:

- **Zabezpečení systému** – Kontrola přístupu uživatelů k programu.
- **Sledování změn (Audit)** – Sledování změn v knihovnách, sledování kroků prováděných uživateli, sledování změn v nastavení modulu SAE.
- **Elektronický podpis (e-sig)** – Pro provádění určitých kroků je/není vyžadováno zadání uživatelského jména a hesla.

V závislosti na tom, jakým způsobem správce systému nastavil pravidla jeho používání, je možné, že se uživatelé systému při práci s programem setkají s následujícími dialogovými okny a pokyny.

Zabezpečení

Přihlášení

Je-li ve vašem systému aktivováno jeho zabezpečení, musíte pro přihlášení do programu zadat uživatelské jméno a heslo.

Možnosti používání programu jsou dány oprávněními, která vám byla přidělena. Nemáte-li oprávnění používat určité funkce, jsou tato tlačítka šedá.

Je-li nastavena omezená platnost vašeho hesla, budete pravidelně vyzýváni k jeho obměně. Je-li nastaven limit pro počet neúspěšných přihlášení, bude po jeho překročení (tzn. pokud se pokusíte přihlásit do systému pomocí chybných údajů) váš uživatelský účet blokován.

Oprávnění

Nemáte-li oprávnění používat určité funkce, jsou tato tlačítka šedá.

Změna hesla po vypršení jeho platnosti

Dojde-li k ukončení platnosti vašeho hesla, zobrazí se po přihlášení informativní zpráva.

Chcete-li změnit heslo, klikněte na **Tools > Change Password (Nástroje > Změnit heslo)**.

Zadejte vaše stávající heslo, poté dvakrát nové heslo a klikněte **OK**.

Inaktivace účtu

Je-li ve vašem systému nastaven limit pro počet neúspěšných přihlášení a zadáte chybně opakovaně uživatelské jméno a heslo, takže tento limit překročíte, dojde k inaktivaci vašeho uživatelského účtu, což je indikováno i na přihlašovací okně Log In.

Uživatelský účet lze opět aktivovat dvěma způsoby:

- Můžete vyčkat, až automaticky vyprší doba inaktivace.
- Správce systému může váš účet opět aktivovat.

Poznámka: Je-li účet inaktivován, může se po kliknutí na tlačítko **Reset** přihlásit jiný uživatel.

Automatické odhlášení

Je-li ve vašem systému nastaveno automatické odhlášení uživatele po určité době nečinnosti, je po takovém automatickém odhlášení zobrazena zpráva v okně Log In (Přihlášení). Zadejte znovu vaše uživatelské jméno a heslo.

Poznámka: Po kliknutí na tlačítko **Reset** se může přihlásit správce systému nebo další uživatel s právem přihlášení po automatickém odhlášení.

Sledování změn (Audit)

Je-li váš systém nastaven tak, aby byly sledovány některé jeho změny, můžete být při provádění určitých kroků v programu vyzváni ke zdůvodnění prováděné změny.

V závislosti na nastavení systému máte možnost buď udat důvod, nebo vybrat důvod ze seznamu.

Elektronický podpis

Je-li váš systém nastaven tak, že pro provedení určitých kroků je zapotřebí elektronický podpis, můžete být vyzváni k zadání vašeho uživatelského jména a hesla.

Je-li požadováno zadání dvou podpisů, nelze daný krok provést, dokud nejsou zadány oba podpisy.

Je-li požadován elektronický podpis pro provedení experimentů, platí jedna z následujících možností:

- V nabídce **Tools > Security (Nástroje > Zabezpečení)** je k dispozici možnost **Sign Data (Podepsat)**.
- Jste vyzváni k elektronickému podpisu podle pokynů v části "[Jak program vyzve k elektronickému podpisu](#)" na straně 152.



Ovládání pomocí dotykového displeje

V této příloze naleznete:

- Možnosti dotykového displeje 158
- Ovládání přístroje pomocí dotykového displeje 159
- Údržba přístroje pomocí dotykového displeje 163
- Správa přístroje pomocí dotykového displeje 167

Poznámka: V této příloze je popsáno jak ovládat přístroj QuantStudio™ 12K Flex ručně pomocí dotykového displeje. Ačkoliv přístroj QuantStudio™ 12K Flex je možné používat samostatně bez připojeného počítače, ovládání prostřednictvím dotykového displeje neposkytuje tolik možností, kolik jich je ve skutečnosti k dispozici.

Možnosti dotykového displeje

Přístroj QuantStudio™ 12K Flex je vybaven dotykovým displejem, který lze použít ke spuštění experimentů, k upravení nastavení přístroje a k jeho připojení do sítě. Dotykový displej neumožňuje použít veškeré funkce přístroje jako např. analýza výsledků, kalibrace přístroje nebo zaslání upozornění, které jsou dostupné pouze prostřednictvím programu QuantStudio™ 12K Flex.

Funkce dostupné prostřednictvím dotykového displeje

V tabulce níže jsou uvedeny funkce dostupné prostřednictvím dotykového displeje přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Tabulka je seříděna podle rolí uživatelů, v části Ovládání jsou možnosti dostupné uživatelům provádějícím experimenty, v části Údržba jsou kroky dostupné při provádění údržby přístroje a v části Správa jsou kroky dostupné správcům systému nebo zaměstnancům IT. Ve sloupci vpravo je uvedeno, zda je daná funkce k dispozici v zabezpečeném režimu (viz [“Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení” na straně 172](#)).

Úloha uživatele	Funkce	Dostupné v zabezpečeném režimu?
Ovládání	Vytvoření experimentů z templátů	Ne
	Spuštění experimentů	
	Přenos experimentů, templátů a výsledků na/z USB disk	
Údržba	Zálohování a obnovení nastavení přístroje	Ano
	Samočinný test přístroje	
	Aktualizace firmwaru přístroje QuantStudio™ 12K Flex	
Správa	Nastavení data a času	
	Nastavení přístroje	
	Nastavení sítě	
	Nastavení výzvy k provádění údržby	
	Nastavení zástupců	
	Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení	
	Statistické údaje o provozu přístroje	
	Zobrazení záznamu (log)	





Ovládání přístroje pomocí dotykového displeje

Dotykový displej v omezené míře umožňuje ovládání přístroje QuantStudio™ 12K Flex za účelem spuštění experimentů a přenosu dat. Chcete-li použít přístroj bez počítače, můžete prostřednictvím dotykového displeje provádět následující úkony:



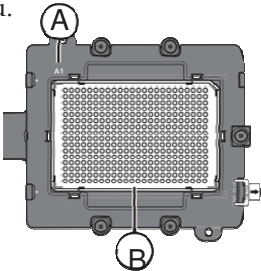




- Vytvoření experimentu na základě šablony 159
- Spuštění experimentu 160
- Přenos experimentů, šablon a výsledků 161

Poznámka: Pokud přístroj QuantStudio™ 12K Flex pracuje v zabezpečeném režimu (viz [“Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení”](#) na straně 172), mohou uživatelé pouze otevřít a zavřít boční dvířka.

Vytvoření experimentu na základě šablony

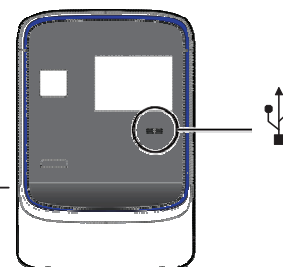
1. V případě potřeby stáhněte šablonu experimentu do přístroje QuantStudio™ 12K Flex podle popisu v části [“Přenos experimentů z USB disku”](#) na straně 161.
2. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
3. V hlavní nabídce se dotkněte  **View Templates (Zobrazit šablony)**.
4. Na obrazovce View Templates (Zobrazit šablony) se dotkněte šablony a poté **New (Nový)**:
Chcete-li zobrazit parametry šablony, zvolte požadovaný šablon, poté se dotkněte  **View (Zobrazit)**. Po skončení se dotkněte  čímž se vrátíte na obrazovku View Templates (Zobrazit šablony).
Poznámka: Parametry šablony nelze změnit.
5. Na obrazovce Create New Experiment (Vytvořit nový experiment) se dotkněte každého pole a zadejte:
 - New experiment name – Název experimentu (max. 100 znaků)
 - Save to Folder – Adresář pro uložení experimentu
 - Reaction volume – Reakční objem v μL
 - Bar code – Čárový kód (volitelné pole)
 - Notes – Poznámky, max. 200 znaků
6. Po skončení se buď:
 - Dotkněte **Save & Exit (Uložit & Konec)**, nebo
 - Dotkněte **Save & Start Run (Uložit a spustit běh)**.

Spuštění experimentu

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte .
3. Jakmile se otevřou boční dvířka, vložte destičku nebo kartu. Ujistěte se, že je spotřební materiál správně umístěn v adaptéru.
 - (A) 96/384-jamkové destičky vkládejte do adaptéru pozicí A1 vlevo nahoru.
 - (B) Destičky i karty vkládejte čárovým kódem orientovaným směrem k čelní straně přístroje.
4. V hlavní nabídce se dotkněte **Browse Experiments (Vyhledat experimenty)**.
5. Na obrazovce Experiments (Experimenty) se dotkněte požadovaného experimentu, poté se dotkněte buď:
 -  **Start Run** – ihned spustíte běh, dále viz [krok 10](#). nebo
 -  **View/Edit** – můžete zobrazit/upravit experiment před spuštěním.
6. Upravte parametry experimentu podle potřeby. Chcete-li:
 - Upravit teplotní profil, dotkněte se vlevo od příslušného místa v teplotním profilu, kam chcete přidat krok nebo cyklování, a poté se dotkněte **Add (Přidat)**.
 - Přidat na konec teplotního profilu křivku tání, dotkněte se **Add Melt Curve (Přidat křivku tání)**.
 - Změnit teploty a časy, dotkněte se příslušného pole v daném kroku, upravte nastavení podle potřeby, poté se dotkněte **Close (Zavřít)**.
 - Změnit počet cyklů, dotkněte se příslušného pole, upravte nastavení podle potřeby, poté se dotkněte **Close (Zavřít)**.
 - Smazat krok nebo cyklování z teplotního profilu, dotkněte se kroku nebo cyklování, které chcete smazat, poté se dotkněte **Delete (Smazat)**.
7. Jsou-li všechny parametry upraveny, dotkněte se  **Save (Uložit)**.
8. Na obrazovce Save Experiment (Uložit experiment) se dotkněte každého pole a zadejte název experimentu (experiment, name), reakční objem (reaction volume), čárový kód (bar code) a další údaje.
9. Dotkněte se **Save & Start Run (Uložit & Spustit experiment)**.
10. Na obrazovce Start Run (Spustit běh) se dotkněte a upravte jednotlivá pole podle potřeby, poté se dotkněte **Start Run Now (Spustit běh nyní)**.
 Poznámka: Po skončení běhu se dotkněte , abyste mohli vyjmout destičku. Výsledky experimentu můžete stáhnout na počítač, pokud je přístroj QuantStudio™ 12K Flex připojen do sítě, nebo na USB (viz [“Přenos experimentů, templátů a výsledků” na straně 161](#)).






Přenos experimentů, šablón a výsledků

Pomocí USB disku můžete přenášet experimenty, šablóny a výsledky do a z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Připojte USB disk do jednoho z portů na pravé straně dotykového displeje přístroje QuantStudio™ 12K Flex.







DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte USB porty na zadní straně přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Tyto USB porty jsou vyhrazeny pouze pro personál společnosti Life Technologies.






Přenos šablón z USB disku

1. Připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.
2. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
3. V hlavní nabídce se dotkněte  **View Templates (Zobrazit šablóny)**.
4. Na obrazovce Browse Experiments (Vyhledat experimenty) zvolte šablónu:
 - a. Dotkněte se , poté se dotkněte **USB**.
 - b. Dotkněte se požadovaného šablónu, poté se dotkněte  **Save (Uložit)**.
5. Na obrazovce Save Experiment As (Uložit experiment jako) zadejte název souboru.
 - a. Dotkněte se pole New Template Name (Název nového šablónu), poté zadejte název pro kopírovaný soubor.
 - b. Dotkněte se pole Save to Folder (Uložit do adresáře), poté zvolte adresář.
 - c. Dotkněte se **Save (Uložit)**.
6. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.
7. Odpojte USB disk.

Přenos experimentů z USB disku

1. Připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.
2. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
3. V hlavní nabídce se dotkněte **Browse Experiments (Vyhledat experimenty)**.
4. Na obrazovce Browse Experiments (Vyhledat experimenty) zvolte experiment:
 - a. Dotkněte se , poté se dotkněte **USB**.
 - b. Dotkněte se požadovaného experimentu, poté se dotkněte  **Save (Uložit)**.
5. Na obrazovce Save Experiment As (Uložit experiment jako) se dotkněte experimentu, který chcete přenést na USB disk, poté se dotkněte **Save**.
6. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.
7. Odpojte USB disk.

Kopírování výsledků na USB disk

1. Připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.
2. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
3. V hlavní nabídce se dotkněte **Collect Results (Vyzvednout výsledky)**.
4. Na obrazovce Collect Results (Vyzvednout výsledky) se dotkněte požadovaného experimentu nebo se dotkněte  **Select all (Vybrat všechny)**,
5. Dotkněte se  **Copy to USB (Kopírovat na USB)**.
6. Na obrazovce Copy Results To USB (Kopírovat výsledky na USB) se dotkněte  **Copy to USB (Kopírovat na USB)**.
7. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.
8. Odpojte USB disk.

Poznámka: Poté co jste si vyzvedli výsledky posledního experimentu, zobrazí se u daného experimentu "Collected" ("Vyzvednuto") a experiment lze smazat.

Údržba přístroje pomocí dotykového displeje

Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex umožňuje přístup k několika nástrojům pro údržbu přístroje, které nelze využít při ovládání pomocí programu QuantStudio™ 12K Flex. Jedná se o následující kroky:

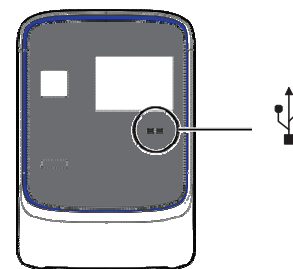
- Zálohování a obnovení nastavení přístroje.....164
- Samočinný test přístroje.....165
- Aktualizace firmwaru přístroje.....166

Poznámka: Dotykový displej neumožňuje přístup ke všem funkcím přístroje. Kalibrace přístroje, odesílání upozornění a další funkce jsou dostupné pouze prostřednictvím programu QuantStudio™ 12K Flex.

Zálohování a obnovení nastavení přístroje

Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex můžete použít při zálohování nastavení přístroje (ikona, doba přechodu do pohotovostního režimu a teplota vyhřívaného víka pokud není v provozu) a některých síťových nastavení (možnosti Autodiscovery a Smart Monitoring). Dojde-li k vymazání nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex, můžete pomocí této zálohy toto nastavení obnovit.




Zálohování a obnovení nastavení se provádí na/z USB disku. Před zálohováním nebo obnovováním nastavení musíte do USB portu na pravé straně dotykového displeje připojit USB disk.



DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte USB porty na zadní straně přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Tyto USB porty jsou vyhrazeny pouze pro personál společnosti Applied Biosystems.



Poznámka: Zálohování lze použít jako nástroj správy přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Můžete takto vytvořit obraz ("image") nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex a použít jej pro nastavení dalších přístrojů, čímž se vyhnete nutnosti manuální konfigurace.

Zálohování nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex

1. Připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.
2. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
3. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools (Nástroje)**, poté se dotkněte **Back Up (Zálohování nastavení)**.
4. Na obrazovce Backup Settings (Zálohování nastavení) se dotkněte  **Backup (Zálohování)**.
5. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.
6. Odpojte USB disk.

Poznámka: Zálohování lze použít jako nástroj správy přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Můžete takto vytvořit obraz ("image") nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex a použít jej pro nastavení dalších přístrojů. Nastavení síťového připojení je nutné provést pro každý přístroj zvlášť.

Obnovení nastavení přístroje

1. Připojte USB disk, na němž je zálohováno nastavení přístroje do USB portu na pravé části dotykového displeje.
2. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
3. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools (Nástroje)**, poté se dotkněte  **Restore Settings (Obnovení nastavení)**.

4. Na obrazovce Restore Settings (Obnovení nastavení) zvolte, která nastavení chcete obnovit:
 - a. Dotkněte se možnosti v seznamu.
 - b. Dotkněte se **Restore (Obnovit)**.

DŮLEŽITÉ! Neodpojujte USB disk od přístroje QuantStudio™ 12K Flex dokud k tomu nejste vyzváni.


Poznámka: Alternativně se můžete dotknout **Restore Default Settings (Obnovit výchozí nastavení)** čímž obnovíte tovární nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

5. Po restartu přístroje QuantStudio™ 12K Flex odpojte USB disk.

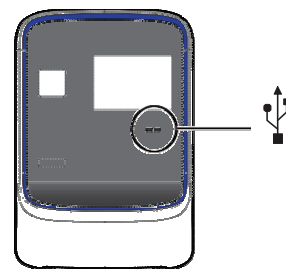
Samočinný test přístroje


Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex můžete použít k provedení samočinného testu přístroje (samočinný test) QuantStudio™ 12K Flex. Po skončení testu vytvoří přístroj QuantStudio™ 12K Flex dva soubory, v nichž je detailní popis stavu a funkcí přístroje. V případě problému můžete výsledky uložit na USB disk a odeslat je servisním technikům nebo pracovníkům aplikační podpory společnosti Applied Biosystems.

Poznámka: Je doporučeno provádět tento samočinný test v rámci pravidelné údržby přístroje QuantStudio™ 12K Flex.

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools (Nástroje)**, poté se dotkněte **Run Self Test (Spuštění samočinného testu)**.
3. Na obrazovce Self Test (Samočinný test) se dotkněte **Start Self Test (Spustit samočinný test)**, poté vyčkejte na ukončení testu.
4. (Volitelné) Po skončení testu uložte jeho výsledky na USB disk:
 - a. Připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.
 - b. Dotkněte se **Save (Uložit)**.

DŮLEŽITÉ! Neodpojujte USB disk od přístroje QuantStudio™ 12K Flex dokud k tomu nejste vyzváni.

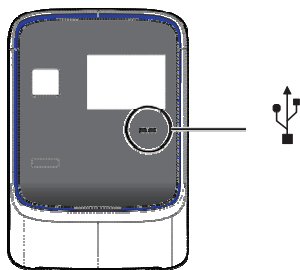



- c. Poté co přístroj QuantStudio™ 12K Flex ukončí zápis na USB disk, dotkněte se **OK**, poté odpojte USB disk.
5. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.

Aktualizace firmwaru přístroje

Aktualizace firmwaru přístroje QuantStudio™ 12K Flex lze stáhnout přímo z internetových stránek společnosti Life Technologies. Poté co stáhnete aktualizaci firmwaru, přeneste ji do přístroje QuantStudio™ 12K Flex pomocí USB disku.

- Aktualizace firmwaru
1. Stáhněte aktualizaci firmwaru:
 - a. Jděte na www.lifetechnologies.com/support/software/
 - b. Z nabídky zvolte **Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Software**.
 - c. Na další stránce zvolte **Updates – Patches (Aktualizace – Opravy)**.
 - d. Stáhněte aktualizaci firmwaru pro přístroj QuantStudio™ 12K Flex na USB disk.
 2. Připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.



3. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
4. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools (Nástroje)**, poté se dotkněte **Upgrade Firmware (Aktualizace firmwaru)**.
5. Na obrazovce Upgrade Firmware (Aktualizace firmwaru) zvolte aktualizaci, poté se dotkněte **Upgrade Firmware (Aktualizace firmwaru)**. Přístroj provede aktualizaci.

DŮLEŽITÉ! Neodpojujte USB disk od přístroje QuantStudio™ 12K Flex dokud k tomu nejste vyzváni.

6. Po dokončení aktualizace a restartu přístroje QuantStudio™ 12K Flex ověřte úspěšný průběh aktualizace:
 - a. Odpojte USB disk.
 - b. Dotkněte se **Settings (Nastavení)**, poté se dotkněte **About this instrument (O tomto přístroji)**, kde se zobrazí číslo verze softwaru, podle kterého ověříte, zda byla aktualizace úspěšná.



Správa přístroje pomocí dotykového displeje

Dotykový displej umožňuje přístup k funkcím přístroje, které následně umožní jeho integraci do pracovních procesů ve vaší laboratoři. K dispozici jsou níže uvedené funkce umožňující vlastní nastavení přístroje QuantStudio™ 12K Flex a jeho zapojení do sítě.


■ Nastavení data a času.....	168
■ Nastavení přístroje	168
■ Nastavení výzvy k provádění údržby	169
■ Nastavení sítě	170
■ Nastavení zástupců	171
■ Statistické údaje o provozu přístroje.....	171
■ Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení.....	172
■ Zobrazení záznamu (log).....	173

Poznámka: Dotykový displej neumožňuje přístup ke všem funkcím přístroje. Kalibrace přístroje, odesílání upozornění a další funkce jsou dostupné pouze prostřednictvím programu QuantStudio™ 12K Flex.

Nastavení data a času

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte  .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings (Nastavení)**, poté se dotkněte **Set Date & Time (Nastavení data a času)**.
3. Na obrazovce Set Date & Time (Nastavení data a času):
 - a. Dotkněte se **Time zone (Časové pásmo)**, poté zvolte časové pásmo ze seznamu.
 - b. Dotkněte se pole **Date (Datum)**, zadejte datum, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.
 - c. Dotkněte se rozbalovací nabídky **Date Format (Formát data)**, poté zvolte formát.
 - d. Dotkněte se polí **Time (Čas)**, zadejte časové jednotky, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.
 - e. Dotkněte se **12 Hour or 24 Hour (12-ti nebo 24-hodinový formát)** a zvolte požadovaný formát.
 - f. Dotkněte se **Save (Uložit)**, poté se dotkněte **OK**, jste-li k tomu vyzváni.
4. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.

Nastavení přístroje

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte  .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings (Nastavení)**, poté se dotkněte **Configure the Instrument (Nastavení přístroje)**.
3. Dotkněte se pole **Instrument Name (Název přístroje)**, zadejte až 16 znaků – název přístroje QuantStudio™ 12K Flex, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**. Název přístroje je číslicovopísmenný řetěz znaků, umožňující identifikaci přístroje v síti.

DŮLEŽITÉ! Pro připojení přístroje QuantStudio™ 12K Flex do sítě zvolte unikátní název.

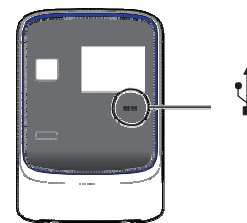
DŮLEŽITÉ! V názvu nelze použít mezery nebo zvláštní znaky jako jsou ; : " < > * + = \ | ? ,) .

4. Zvolte ikonu přístroje:

Ikona přístroje je grafický symbol používaný v programu QuantStudio™ 12K Flex pro označení vašeho přístroje.


- a. Zvolte grafický symbol a uložte jej na USB disk, poté připojte USB disk do USB portu na pravé části dotykového displeje.
- b. Dotkněte se **Upload Icon (Zvolit ikonu)**, zvolte grafický soubor, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.

Poznámka: Obrázek musí mít velikost maximálně 48 × 48 pixelů a musí být ve formátu .png.



- c. Odpojte USB disk.
5. Definujte dobu přechodu do pohotovostního režimu (standby time-out):
 - a. Zvolte **Standby Time-out (Doba přechodu do pohotovostního režimu)**.
 - b. Dotkněte se pole **Standby Time-out (Doba přechodu do pohotovostního režimu)**.
 - c. Zadejte počet minut (1 až 300). Po uplynutí této doby nečinnosti přejde přístroj QuantStudio™ 12K Flex do pohotovostního režimu, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.

Poznámka: V pohotovostním režimu je displej přístroje vypnut a spotřeba energie snížena.



6. Definujte teplotu vyhřívaného víka:
 - a. Zvolte **Cover Idle Temperature (Teplota víka pokud není v provozu)**.
 - b. Dotkněte se **Cover Idle Temperature (Teplota víka pokud není v provozu)**.
 - c. Zadejte teplotu (50 až 110 °C) vyhřívaného víka, tato teplota bude udržována, není-li přístroj v provozu, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.
7. Dotkněte se **Save (Uložit)**, poté se dotkněte **OK**.
8. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.

Nastavení výzvy k provádění údržby


Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex můžete použít k:

- Nastavení doby expirace kalibrací přístroje a životnosti lampy.
- Aktivaci, deaktivaci nebo změně frekvence, s jakou jste upozorňováni na nutnost provedení kroků údržby.

Nastavení výzvy

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings (Nastavení)**, poté se dotkněte **Set Maintenance Reminders (Nastavení výzvy)**.
3. Pro každou výzvu:
 - a. Dotkněte se pole Calibration expires after (Kalibrace expiruje po), zadejte počet dní nebo hodin, po jejichž uplynutí kalibrace expiruje, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.
 - b. Dotkněte se zatrhávacího pole, čímž aktivujete nebo deaktivujete připomenutí ukončení platnosti dané kalibrace.
 - c. Dotkněte se pole Display reminders before (Upozornění zobrazit), zadejte počet dní. Přístroj QuantStudio™ 12K Flex zobrazí upozornění daný počet dní předtím, než dojde k expiraci, poté se dotkněte **Done**.
4. Dotkněte se **Save (Uložit)**, poté se dotkněte **OK**.
5. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.

Nastavení sítě

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings (Nastavení)**, poté se dotkněte **Set Network Information (Nastavení sítě)**.
Poznámka: Na obrazovce Set Network Information (Nastavení sítě) se zobrazuje adresa (Media Access Control – MAC) přístroje QuantStudio™ 12K Flex a zatrhávací políčka pro funkce Autodiscovery a Smart Monitoring. MAC adresu lze použít pro identifikaci přístroje QuantStudio™ 12K Flex v síti.
3. Dotkněte se **Autodiscovery**, tato funkce umožní, že je přístroj QuantStudio™ 12K Flex zjistitelný pro počítače s programem QuantStudio™ 12K Flex.
4. Dotkněte se **Smart Monitoring**.
Funkce Smart Monitoring umožní servisním technikům společnosti Applied Biosystems vzdáleně monitorovat stav přístroje QuantStudio™ 12K Flex přes internet. Tato funkce je zabezpečena protokoly Secure Sockets Layer (SSL) a Lightweight Directory Access Protocol (LDAP) a umožňuje řešení problémů s přístrojem QuantStudio™ 12K Flex v podstatě okamžitě. Podrobný popis práce servisu v režimu Smart Monitoring naleznete v příručce *Smart Monitoring Service Product Bulletin: Leveraging the power of the Internet while maintaining system security* (kat. č. 121PB07-03).
5. Nastavte protokol TCP/IP pro komunikaci prostřednictvím DHCP nebo pomocí statické IP adresy.


Nastavení	Krok
DHCP	Dotkněte se Obtain an IP address automatically (Získat IP adresu automaticky), poté se dotkněte Save (Uložit).
Static IP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dotkněte se Use the following IP address (Použít tuto IP adresu). 2. Dotkněte se pole IP Address, zadejte IP adresu, poté se dotkněte Done (Hotovo). 3. Opakujte krok 2 a nastavte: <ul style="list-style-type: none"> • IP adresy DNS serverů (primárních a sekundárních) • Masku podsítě (Subnet Mask) • Výchozí bránu (Gateway) 4. Dotkněte se Save (Uložit), poté se dotkněte OK.


6. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.

Nastavení zástupců

Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex lze použít pro nastavení zástupců pro určité úkony, které se zobrazují v hlavní nabídce. Pomocí zástupců lze otevírat specifické soubory nebo adresáře a tím se k nim rychle dostat.

Nastavení zástupců



1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce:
Chcete-li *přidat* zástupce:
 - a. Dotkněte se zvoleného zástupce, poté se dotkněte **Set Shortcut (Nastavení zástupce)**.
 - b. Dotkněte se **From Template (Z templátů)**, čímž propojíte zástupce s určitým templátem nebo se dotkněte se **From Folders (Z adresářů)**, čímž propojíte zástupce s určitým adresářem.
 - c. Dotkněte se templátu nebo adresáře.

Chcete-li *smazat* zástupce, dotkněte se zvoleného zástupce, poté se dotkněte **Remove Shortcut (Odstranit zástupce)**, nebo se dotkněte **Remove All (Odstranit všechny)**, čímž smažete všechny zástupce.
3. Po dokončení nastavení zástupců se dotkněte  pro návrat do hlavní nabídky.

Shlédnutí statistických údajů

Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex lze použít k zobrazení statistických údajů o činnosti vyhřívaného víka, halogenové žárovky a dalších součástí systému.

Zobrazení statistiky

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools (Nástroje)**, poté se dotkněte **Show Statistics (Zobrazit statistické údaje)**.
3. Po skončení se dotkněte  pro návrat na hlavní obrazovku.


Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení


System QuantStudio™ 12K Flex lze provozovat v bezpečnostním režimu, což vede k omezené možnosti použití určitých funkcí systému. Je omezeno použití dotykového displeje pouze na správu přístroje a změnu jeho nastavení. Je-li zabezpečení aktivováno, musíte pro změnu nastavení přístroje, aktualizaci firmwaru nebo vypnutí zabezpečení zadat heslo správce (administrátor).

DŮLEŽITÉ! Aktivujete-li či deaktivujete-li zabezpečení přístroje QuantStudio™ 12K Flex, audit a elektronický podpis, musíte obdobně aktivovat či deaktivovat zabezpečení programu QuantStudio™ 12K Flex (viz strana 139). Program QuantStudio™ 12K Flex se nemůže připojit k přístroji QuantStudio™ 12K Flex, pokud mají rozdílné nastavení zabezpečení.

Poznámka: Bezpečnostní režim vede k omezené možnosti použití určitých funkcí přístroje QuantStudio™ 12K Flex pomocí dotykového displeje; nevyžaduje zadání přihlašovacích údajů uživatele prostřednictvím dotykového displeje.

Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení



1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings (Nastavení)**, poté se dotkněte **Set Administrator Options (Nastavení pro správce)**.
3. Na obrazovce Set Administrator Options (Nastavení pro správce), se dotkněte **Secure Environment (Zabezpečení)**, čímž aktivujete (zatrženo) nebo deaktivujete (nezatrženo) zabezpečení systému.
4. (Volitelné) Chcete-li změnit heslo správce (administrator):
 - a. Dotkněte se **Change Password (Změnit heslo)**.
 - b. Zadejte vaše stávající heslo, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.
 - c. Zadejte nové heslo, poté se dotkněte **Done (Hotovo)**.
 - d. Na výzvu znovu zadejte nové heslo.
 - e. Dotkněte se **OK**.

Poznámka: Přednastavené heslo je "password"; během instalace však mohlo dojít k jeho změně.
5. Dotkněte se **Save (Uložit)**.
6. Dotkněte se pole Administrator Password (Heslo správce), zadejte heslo správce, poté se dotkněte **Done**.
7. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.

Zobrazení záznamu (log)

Dotykový displej přístroje QuantStudio™ 12K Flex lze použít pro zobrazení záznamu (log), v němž je informace o činnosti přístroje za posledních šest měsíců. Každý záznam sestává ze zápisu o konkrétní činnosti a data a času, kdy k ní došlo.

Zobrazení záznamu

1. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools (Nástroje)**, poté se dotkněte **View Log (Zobrazit záznam)**.
3. Na obrazovce View Log (Zobrazení záznamu) zvolte, který záznam chcete zobrazit:
 - Filtrujte záznamy pomocí možností v rozbalovací nabídce.
 - Zvolte **Earliest First (Nejdříve nejmladší)** nebo **Latest First (Nejdříve nejstarší)**, čímž záznamy seřadíte.
4. Dotkněte se  pro návrat na hlavní obrazovku.


B

Zapnutí a vypnutí, uložení a přemístění systému QuantStudio™ 12K Flex

V této příloze naleznete:

- Pohotovostní režim systému QuantStudio™ 12K Flex 176
- Zapnutí systému QuantStudio™ 12K Flex 176
- Vypnutí systému QuantStudio™ 12K Flex 177
- Odstávka systému QuantStudio™ 12K Flex 178
- Přemisťování systému QuantStudio™ 12K Flex 179

Pohotovostní režim systému QuantStudio™ 12K Flex

Není-li používán, přepne se systém QuantStudio™ 12K Flex automaticky do pohotovostního režimu (z důvodu úspory energie). Chcete-li přejít do pohotovostního režimu ručně, dotkněte se ikony  na dotykovém displeji QuantStudio™ 12K Flex.

Zapnutí systému QuantStudio™ 12K Flex

Chcete-li zapnout vypnutý systém QuantStudio™ 12K Flex:


1. Zapněte spínač na zadní straně přístroje QuantStudio™ 12K Flex a vyčkejte, než systém naběhne.
Poznámka: Přístroj je připraven k použití, pokud se na dotykovém displeji zobrazí hlavní nabídka.
2. Máte-li k dispozici robot Applied Biosystems Twister® II, zapněte spínač na zadní straně robota Twister® II.
Poznámka: Robot Twister® II je připraven k použití, pokud svítí stavová dioda.
3. Zapněte monitor.
4. Zapnutí počítače systému QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. Zapněte počítač a vyčkejte, než naběhne.
 - b. Zadejte vaše přihlašovací údaje (uživatelské jméno a heslo), poté klikněte na **OK**.
 - c. Na ploše dvakrát klikněte na ikonu **QuantStudio™ 12K Flex System** (nebo zvolte **Start > All Programs > Applied Biosystems > QuantStudio™ 12K Flex System > QuantStudio™ 12K Flex Software**).
 - d. Pokud je to nutné, zadejte vaše přihlašovací jméno a heslo pro program QuantStudio™ 12K Flex, poté klikněte na **OK**.

Vypnutí systému QuantStudio™ 12K Flex

Není-li používán, je systém QuantStudio™ 12K Flex v energeticky úsporném režimu; systém můžete úplně vypnout, takže nespotřebává žádnou energii.

Poznámka: Nehodláte-li systém QuantStudio™ 12K Flex používat delší dobu, postupujte podle pokynů v části [“Odstávka systému QuantStudio™ 12K Flex”](#) na straně 178.

Chcete-li vypnout systém QuantStudio™ 12K Flex:

1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. Na dotykovém displeji přístroje QuantStudio™ 12K Flex se dotkněte  pro přechod do pohotovostního režimu.
 - b. Vypněte spínač na zadní straně přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
2. Vypnutí počítače systému QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. Na ploše zvolte **Start > Shut Down (Vypnout)**.
 - b. V dialogovém okně Shut Down Windows (Vypnutí Windows) zvolte **Shut Down (Vypnutí)**, poté klikněte na **OK**.
3. Vypněte monitor.
4. Máte-li k dispozici robot Applied Biosystems Twister® II, vypněte spínač na zadní straně robota Twister® II.

Odstávka systému QuantStudio™ 12K Flex

Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex lze vypnout a na delší dobu odstavit. Doba odstávky určuje jakým způsobem přístroj QuantStudio™ 12K Flex vypnout.





Potřebné pomůcky

MicroAmp® optická 96/384-jamková destička nebo karta (nepoužitá)

Příprava přístroje QuantStudio™ 12K Flex

1. Máte-li v úmyslu odstavit přístroj QuantStudio™ 12K Flex z provozu na déle než týden nebo jej máte v úmyslu přemístit, vložte do něj nepoužitou destičku nebo kartu:

Poznámka: Prázdňá destička chrání vnitřní komponenty systému QuantStudio™ 12K Flex během přepravy nebo během odstávky trvající déle než týden.

- a. Je-li přístroj v pohotovostním režimu (stand-by), dotkněte se dotykového displeje, poté stiskněte .
 - b. Dotkněte se , čímž vysunete rameno na destičku, vložte do něj destičku nebo kartu, poté znovu stiskněte .
 - c. Dotkněte se , čímž přepnete přístroj QuantStudio™ 12K Flex do pohotovostního režimu.
2. Vypněte spínač na zadní straně přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
 3. Vypnutí počítače systému QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. Na ploše zvolte **Start > Shut Down (Vypnout)**.
 - b. V dialogovém okně Shut Down Windows (Vypnutí Windows) zvolte **Shut Down (Vypnutí)**, poté klikněte na **OK**.
 4. Vypněte monitor.
 5. Máte-li k dispozici robot Applied Biosystems Twister® II, vypněte spínač na zadní straně robota Twister® II.

Přemístování systému QuantStudio™ 12K Flex

Pokud potřebujete přemístit systém QuantStudio™ 12K Flex na krátkou vzdálenost (např. mezi laboratořemi v téže budově), postupujte podle pokynů níže.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Nezvedejte přístroj QuantStudio™ 12K Flex

ani další těžké předměty, pokud nejste poučeni o tom, jak to máte provádět. Nesprávný postup zvedání může způsobit bolestivé a někdy trvalé poranění zad. Pro zvedání přístroje QuantStudio™ 12K Flex jsou zapotřebí nejméně dvě osoby.

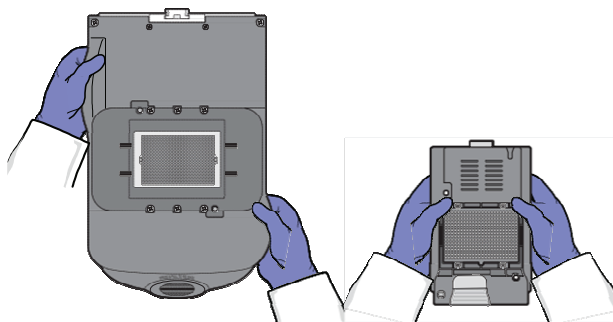
DŮLEŽITÉ! Při přemístování přístroje může dojít k drobným výchytkám optiky systému. V případě potřeby přístroj kalibrujte.

Potřebné pomůcky

Žádné

Jak manipulovat s blokem na vzorky a vyhřívaným víkem

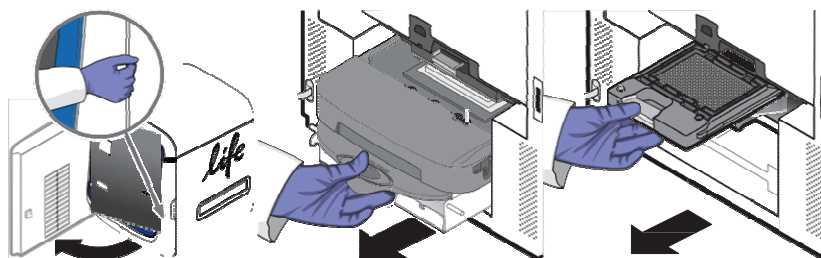
Aby nedošlo k poškození nebo kontaminaci bloku na vzorky a vyhřívaného víka, držte je podle obrázku níže. Poté, co je vyjmete z přístroje QuantStudio™ 12K Flex, je položte na čistý, suchý povrch nebo do krabice, v níž byly dodány.



Příprava součástí systému QuantStudio™ 12K Flex

1. Vypněte přístroj QuantStudio™ 12K Flex a počítač.
2. Po vypnutí systému QuantStudio™ 12K Flex a počítače rozpojte kabely.
3. Připravte přístroj QuantStudio™ 12K Flex k přestěhování:
 - a. Otevřete dvířka přístroje QuantStudio™ 12K Flex.
 - b. Stlačte rukojeť na bloku na vzorky směrem dolů, poté blok vyjměte z přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Položte blok na vzorky na čistý a suchý povrch.
 - c. Stlačte rukojeť na víku směrem dolů, poté vyjměte víko z přístroje QuantStudio™ 12K Flex a umístěte je na čistý, suchý povrch.

d. Sbalte vyhřívané víko a blok na vzorky do čistých bezprašných krabic.



Přemísťování systému QuantStudio™ 12K Flex

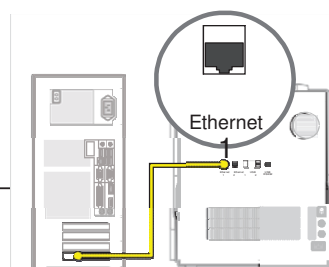
Přemístěte systém QuantStudio™ 12K Flex podle pokynů:

- Ujistěte se, že stůl, na němž má být systém QuantStudio™ 12K Flex umístěn, má dostatečnou nosnost 77.9 ± 0.6 kg (171.5 ± 0.13 lb).
- Ujistěte se, že v dráze transportu nejsou žádné překážky.
- Zvedejte a přemísťujte přístroj QuantStudio™ 12K Flex alespoň dva.
- Držte záda rovná
- Podřepněte a zvedejte přístroj propnutím v kolenou.
- Při zvedání se současně neotáčejte.
- Domluvte se se spolupracující osobou, jak budete při přenášení postupovat.

Opětovná instalace systému QuantStudio™ 12K Flex

1. Znovu propojte součásti systému QuantStudio™ 12K Flex. Použijte síťový kabel dodávaný se systémem QuantStudio™ 12K Flex a propojte přístroj (síťový port 1) do síťové karty v počítači.

DŮLEŽITÉ! Pro připojení nepoužívejte standardní síťový kabel.



DŮLEŽITÉ! Pro připojení síťovým kabelem nepoužívejte síťový port 2 přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Tento port je vyhrazen pouze pro servis společnosti Applied Biosystems.

2. Instalujte blok na vzorky a vyhřívané víko.
3. Proveďte běh s RNázou P pro ověření funkčnosti přístroje. Pokud se běh:
Zdaří – Není nutné znovu kalibrovat přístroj QuantStudio™ 12K Flex. Žádné další kroky nejsou potřeba.
Nezdaří – Proveďte následující kalibrace v uvedeném pořadí: ROI, pozadí, uniformity, barev, normalizace.



Příprava vlastních kalibračních destiček a karet

V této příloze naleznete:

- Příprava vlastní destičky nebo karty pro kalibraci pozadí..... 182
- Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy 184

Příprava vlastní destičky nebo karty pro kalibraci pozadí

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

Potřebné pomůcky

Blok na 96/384-jamkové destičky

- Optická 96/384-jamková destička Applied Biosystems
- Ochranné brýle
- Optická adhezivní fólie nebo optická plochá víčka
- Pipetman, 200- μ L (s pipetovacími špičkami)
- Rukavice bez pudru
- Deionizovaná voda

Blok na karty

- Karta Applied Biosystems
- Nástroj na zaslepování karet Applied Biosystems
- Centrifuga se závěsy a držáky na karty
- Popisovač
- Pipetman, 200- μ L (s pipetovacími špičkami)
- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle
- Deionizovaná voda

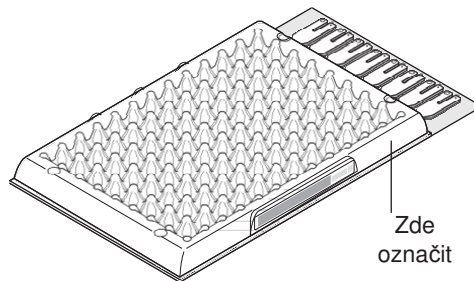
Příprava destičky pro kalibraci pozadí

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

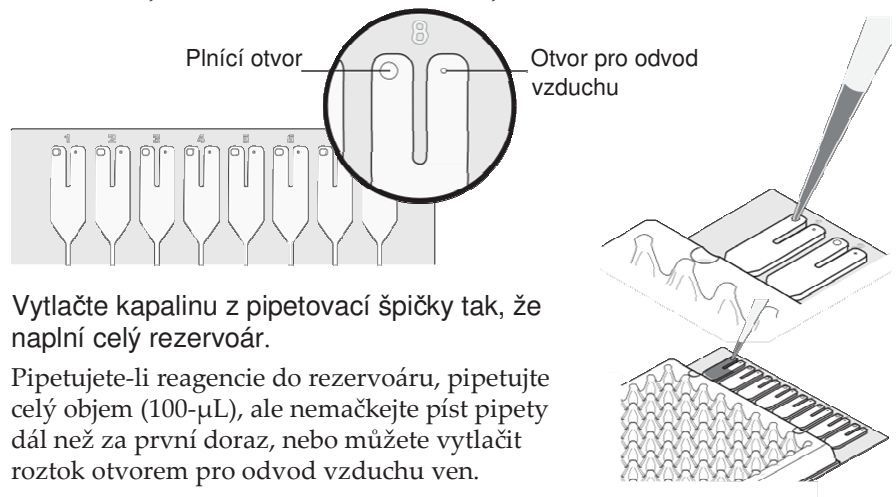
1. Vyjměte optickou 96/384-jamkovou destičku Applied Biosystems z krabice a položte ji na čistý, suchý povrch.
2. Pipetujte 20 μ L deionizované vody do každé jamky destičky.
3. Pomocí optické adhezivní fólie nebo optických plochých víček destičku uzavřete.
4. Použijte destičku pro kalibraci pozadí stejně, jako jste použili destičku pro kalibraci pozadí ze spektrálního kalibračního kitu.

Příprava karty pro kalibraci pozadí

1. Vyjměte kartu Applied Biosystems z krabice a položte ji na čistý, suchý povrch.
2. Pomocí popisovače kartu z boku označte nápisem "Pozadí".



3. Pipetujte 100 μL deionizované vody do každého z osmi plnicích otvorů v rezervoárech karty:
 - a. Položte kartu na stůl fólií dolů.
 - b. Pipetujte 100 μL vody do pipety.
 - c. Pipetujte pod úhlem ca 45 stupňů do plnicího otvoru rezervoáru karty. Plnicí otvor je na levé straně rezervoáru a je to ten větší z obou otvorů.



- d. Vytlačte kapalinu z pipetovací špičky tak, že naplní celý rezervoár.

Pipetujete-li reagentie do rezervoáru, pipetujte celý objem (100- μL), ale nemačkejte píst pipety dál než za první doraz, nebo můžete vytlačit roztok otvorem pro odvod vzduchu ven.

DŮLEŽITÉ! Nedotýkejte se špičkou fólie pod plnicím otvorem, mohlo by dojít k jejímu poškození.

4. Centrifugujte a zaslepte kartu podle pokynů v části "Plnění karet" na straně 37.

Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy

Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex lze využít pro reakce používající vlastní barvy (barvy nevyráběné společností Applied Biosystems). Tyto barvy musí být excitovatelné v rozsahu 455 až 672 nm a musí emitovat fluorescenci v rozsahu 505 až 723 nm měřitelném tímto systémem.

Před použitím vlastních barev

Před použitím vlastních barev na přístroji QuantStudio™ 12K Flex musíte:

- Stanovit optimální koncentraci barvy
- Vytvořit vlastní destičku pro kalibraci barvy
- Přidat tuto barvu do programu
- Provést kalibraci barvy

Potřebné pomůcky

- Centrifuga s adapterem na destičky
- Vlastní barva(y)
- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- MicroAmp® optická 96/384-jamková destička
- Optická adhezivní fólie
- Pipetmany a špičky (200- μ L a 1000- μ L)
- Zkumavky (2-mL a 10-mL)
- Deionizovaná voda

Stanovení optimální koncentrace barvy

Poznámka: Při přípravě vlastní destičky pro kalibraci barvy používejte rukavice bez pudru.

1. Připravte a naplňte destičku pro kalibraci vlastní barvy:
 - a. Ve středních jamkách 96/384-jamkové destičky připravte ředící řady vlastních barev (například 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 a 3200 nM) v objemu 20 μ L (pro 96 i 384-jamkovou destičku).
 - b. Pomocí optické adhezivní fólie destičku uzavřete.
 - c. Vložte připravenou destičku do přístroje.

2. Spusťte průvodce kalibrací:
 - a. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
 - b. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex, poté klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
 - c. Zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex, poté klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
 - d. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **ROI**.
 - e. Na obrazovce ROI Calibration (Kalibrace ROI) zvolte Start Calibration (Spustit kalibraci).
 - f. V dialogovém okně ROI klikněte na Next (Další) dokud nejste vyzváni k vložení destičky do přístroje QuantStudio™ 12K Flex. Jakmile se otevřou boční dvířka, vložte uzavřenou destičku. Ujistěte se, že destička/karta dosedla do držáku.
 - g. V dialogovém okně ROI zvolte **Check the box when the ROI calibration plate has been loaded (Zatrhněte toto pole, pokud byla ROI kalibrační destička vložena)**, klikněte dvakrát na Next (Další), poté klikněte na **START RUN**, čímž spustíte kalibraci.
3. Po skončení běhu zkontrolujte obraz ROI:
 - a. Z rozbalovací nabídky zvolte první filtr.
 - b. Poznamenejte si, v které jamce je nejnižší koncentrace barvy a současně je daná jamka označena kroužkem. V této jamce je optimální koncentrace vlastní barvy pro daný filtr.
 - c. Opakujte **kroky a a b** pro zbývající filtry.
 - d. Poté co stanovíte optimální koncentraci barvy pro každý filtr, stanovte optimální koncentraci vlastní barvy. Porovnejte údaje získané při použití všech filtrů a zvolte koncentraci, která dává ve všech filtrech nejvyšší možný signál.
4. Vyhod'te destičku.



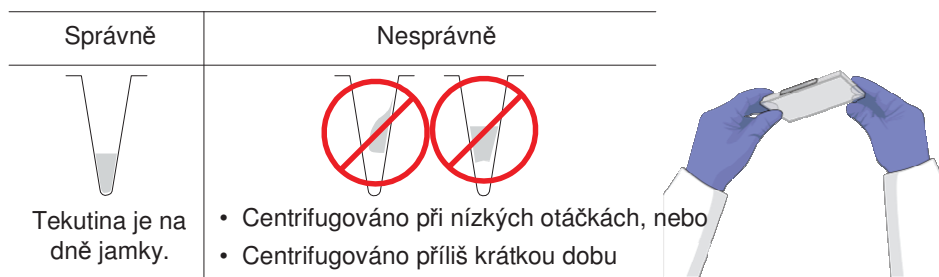
VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

5. V dialogovém okně ROI klikněte na Finish (Dokončit) pro ukončení kalibrace a klikněte na **No (Ne)**, když se zobrazí výzva k uložení výsledku kalibrace.

Vytvoření vlastní destičky pro kalibraci barvy

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

1. Připravte 2 mL roztoku vlastní barvy v koncentraci stanovené v části “Stanovení optimální koncentrace barvy” na straně 184.
2. Pipetujte 20 μ L roztoku vlastní barvy do všech jamek optické destičky.
3. Pomocí optické adhezivní fólie destičku uzavřete.
4. Centrifugujte destičku 2 minuty při méně než 1500 rpm.
Poznámka: Kalibrační destička musí být dobře promíchána a centrifugována.
5. Ověřte, že tekutina v každé jamce destičky je na dně jamky. Pokud ne, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.



Přidání vlastní barvy do programu

1. Spusťte kalibraci barev:
 - a. Na výchozí obrazovce programu QuantStudio™ 12K Flex zvolte Instrument Console (Správa přístroje).
 - b. V okně Instrument Console (Správa přístroje) zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex, poté klikněte na **Add to My Instruments (Přidat mezi mé přístroje)**.
 - c. Zvolte váš přístroj QuantStudio™ 12K Flex, poté klikněte na **Manage Instrument (Správa přístroje)**.
 - d. V okně Instrument Manager (Správce přístroje) klikněte na Maintenance (Údržba), poté klikněte na **Dye**.
 - e. Na obrazovce Dye Calibration (Kalibrace barev) zvolte Start Calibration (Spustit kalibraci).
2. V okně Dye (Barva) zvolte barvu ze seznamu nebo zadejte údaje o vlastní barvě:
 - a. Klikněte na **New Dye (Nová barva)**.
 - b. V dialogovém okně Dye Library (Knihovna barev) zvolte **New (Nová)**.
 - c. Vyplňte údaje v dialogovém okně New Dye (Nová barva), poté klikněte na **OK**.

Pole	Krok
Name (Název)	Zadejte název nové vlastní barvy.
Wavelength (Vlnová délka)	Zadejte vlnovou délku (max. emise této barvy).
Type (Typ)	Zvolte: <ul style="list-style-type: none"> • Reporter pokud barva funguje jako reportérová pro signalizaci nárůstu koncentrace PCR produktu, ale nedochází-li k amplifikaci, je její signál tlumen zhášečem. • Quencher (zhášeč) pokud barva potlačuje signál reportérové barvy dokud nedojde k tvorbě PCR produktu. • Both (obě) pokud barva funguje jako reportérová pro signalizaci nárůstu koncentrace PCR produktu, ale nedochází-li k amplifikaci není její signál tlumen zhášečem.

d. Klikněte na **Close (Zavřít)**.

3. V dialogovém okně Dye (Barva) zadejte teplotu kalibrace. Teplotu nastavte tak, aby odpovídala teplotě, při níž hodláte snímat fluorescenci. Např. teplota pro všechny systémové barvy Applied Biosystems je 60 °C, protože měření fluorescence při používání reagentů TaqMan® je při 60 °C (během fáze annealingu/extenze PCR).
4. Vložte destičku s barvou do přístroje, zvolte **Please check the box when the dye calibration plate has been loaded (Zatrhněte toto pole, pokud byla destička pro kalibraci barvy vložena)**, klikněte dvakrát na Next (Další), poté klikněte na **START RUN**, čímž spustíte kalibraci.
5. Po skončení běhu destičku nebo kartu vyhod'te.

 **VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ.** Je-li přístroj v provozu, může být destička ohřátá až na 100 °C. Před jejím vyjmutím vyčkejte, než vychladne na pokojovou teplotu.

6. V dialogovém okně Dye (Barva) klikněte na Next (Další).

7. Ověřte záznamy spekter:

- a. Ve vyobrazení destičky označte všechny jamky.
- b. Prostudujte spektra. Ověřte, že u všech spekter je pík:
 - V rozsahu detekovatelném systémem QuantStudio™ 12K Flex.
 - Ve spektrech nejsou nepravidelné píky.
 - Pík je detekován ve správném filtru.

Poznámka: Obsahují-li jamky tutéž barvu, můžete pozorovat při porovnávání signálů z jednotlivých jamek mírná posun píků, což je způsobeno fluktuacemi optického systému a mírnými rozdíly v excitační energii mezi jednotlivými jamkami.

8. Ověřte výsledek kalibrace. Je-li kalibrace:

Úspěšná (Passed) – Jsou-li všechna spektra v pořádku, ukončete kalibraci:

- a. Klikněte na Next (Další).
- b. Zadejte komentář do pole Comments (volitelné), klikněte na **Finish (Dokončit)**, poté na výzvu o uložení výsledků kalibrace klikněte na **Yes (Ano)**.

Neúspěšná (Failed) – Připravte novou destičku pro kalibraci barvy za použití nejbližší vyšší koncentrace vlastní barvy (viz část [“Stanovení optimální koncentrace barvy” na straně 184](#)), poté opakujte kalibraci znovu.



Ovládání programu z příkazové řádky

V této příloze naleznete:

■ Přehled	190
■ Podpůrné soubory pro vytvoření experimentu.....	191
■ Přednostní pravidla pro vytváření experimentu.....	192
■ Práce s příkazovou řádkou.....	193
■ Syntaxe a argumenty	194
■ Příklady	197

Přehled

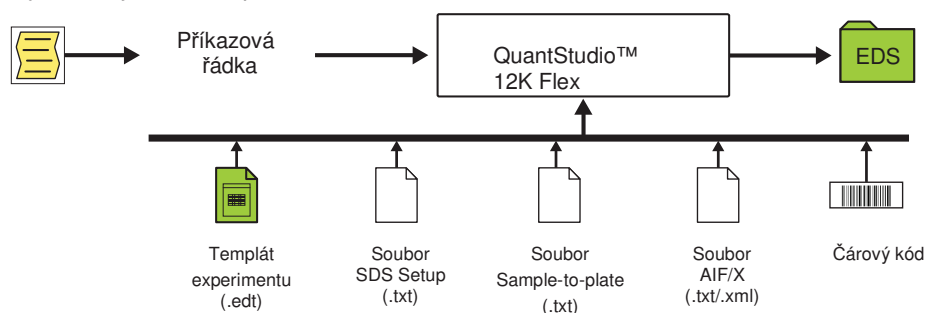
Program QuantStudio™ 12K Flex je možné ovládat z příkazové řádky a vytvářet a exportovat soubory (experimenty) pomocí příkazů MS DOS nebo dávkového souboru. Tato možnost je určena pokročilým uživatelům, kteří se rozhodnou vytvářet nebo exportovat experimenty pomocí skriptů.

DŮLEŽITÉ! Poté co vytvoříte experimenty pomocí příkazové řádky, ověřte jejich správnost v programu QuantStudio™ 12K Flex.

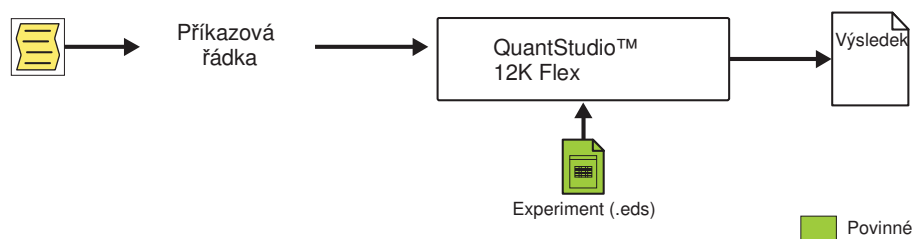
Ovládání z příkazové řádky

Z příkazové řádky je možné provádět operace schematicky znázorněné na obrázku níže. Jsou vyobrazeny povinné i volitelné podpůrné soubory.

Vytvoření jednoho experimentu



Export



 Povinné

Podpůrné soubory pro vytvoření experimentu

Příkaz pro tvorbu souboru (cmdlineutil.exe –expgen) může využít níže uvedené podpůrné soubory. Jejich použití není povinné.

Soubor	Popis
assay information (.aif nebo .aix)	Soubor s údaji oddělenými tabelátorem (tab-delimited) nebo typu XML dodávaný na CD s každou esejí TaqMan® objednanou u společnosti Applied Biosystems (u určitých výrobků je po dodání též ke stažení na internetových stránkách Applied Biosystems.). Obsahuje popis eseje, který lze importovat do programu QuantStudio™ 12K Flex pro použití v experimentech. Viz “Soubor Assay information” na straně 207.
barcode (.txt)	Uživatelé vytvořený textový soubor (údaje na samostatných řádcích), obsahující čárové kódy spotřebního materiálu, pro který je vytvářena definice experimentu. Viz “Soubor Bar code” na straně 207.
experiment document single (.eds)	Soubor programu QuantStudio™ 12K Flex obsahující informace o destičce nebo kartě včetně tzv. metadat (název, čárový kód, komentář), zadání destičky (obsah jamek, definice esejí), metodu (teplotní profil), výsledky běhu, parametry analýzy, výsledky analýzy, audit a další údaje.
experiment document template (.edt)	Soubor programu QuantStudio™ 12K Flex používaný jako templát pro zadání experimentů. Obsahuje zadání destičky (obsah jamek, definice esejí), metodu (teplotní profil), parametry analýzy a další údaje.
plate setup (.txt)	Uživatelé vytvořený textový soubor s údaji oddělenými tabelátorem (tab-delimited) popisující uspořádání esejí a vzorků v používaném typu spotřebního materiálu v daném experimentu. Viz “Soubor Plate setup” na straně 201.
sample (.txt)	Uživatelé vytvořený textový soubor s údaji oddělenými tabelátorem (tab-delimited) obsahující údaje o vzorcích. Tyto údaje lze importovat do programu QuantStudio™ 12K Flex. Viz “Soubor Sample file format” na straně 206.

Přednostní pravidla pro vytváření experimentu

Při vytváření zadání experimentu (.eds) z příkazové řádky pomocí programu QuantStudio™ 12K Flex může dojít k tomu, že informace pro zadání jsou ve vzájemném rozporu. V takovém případě platí pravidla pro upřednostnění určitých informací před jinými. Soubory Assay information (.aif nebo .aix), Plate setup (.txt) a templáty (.edt) mohou obsahovat data, používaná k definici těchto parametrů v zadávaném experimentu. Například jak templát tak soubor Plate setup může definovat polohu vzorků a esejí v destičce.

Soubory pro vytváření experimentu (.eds)	Pravidla
Templát (.edt)	Platí zadání uvedené v templátu kromě: <ul style="list-style-type: none"> • Název experimentu (Experiment Name) – Definováno podle nastavení File Name Convention. • Čárový kód (Bar Code) – Definováno podle čárového kódu pokud se používá. Jinak je hodnota nulová. • Název souboru (Experiment File Name) – Definováno podle nastavení File Name Convention.
<ul style="list-style-type: none"> • Templát (.edt) • Soubor Assay information (.aif/.aix) 	Platí zadání uvedené v templátu kromě: <ul style="list-style-type: none"> • Definice expresních esejí (Gene Expression Targets/Assay Definition) • Definice genotypizačních esejí (Genotyping Assay/SNP Definition) • Pasivní reference V případě konfliktů u uvedených položek platí zadání podle souboru Assay information.
<ul style="list-style-type: none"> • Templát (.edt) • Soubor Plate setup (.txt) 	Platí zadání uvedené v templátu kromě: <ul style="list-style-type: none"> • Cílová sekvence (Target/Assay/SNP) • Vzorek (Sample) • Úloha (Task) • Biologická skupina (Biological Group) • Kvantita (Well Quantity) • Barva vzorku (Sample Color) • Barva cílové sekvence (Target Color) • Barva biologické skupiny (Biological Group Color) • Definice expresních esejí (Gene Expression Targets Definition) • Definice genotypizačních esejí (Genotyping Assay Definition) • Pasivní reference
<ul style="list-style-type: none"> • Templát (.edt) • Soubor Plate setup (.txt) • Soubor Assay information (.aif/.aix) 	Platí zadání uvedené v templátu kromě: <p>V případě konfliktů u uvedených položek mezi souborem Assay information a Plate Setup a templátem platí zadání ze souboru Assay information:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Definice expresních esejí (Gene Expression Targets Definition) • Definice genotypizačních esejí (Genotyping Assay Definition) • Pasivní reference <p>V případě konfliktů u uvedených položek mezi souborem Plate Setup a templátem platí zadání ze souboru Plate Setup:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vzorek (Sample) • Úloha (Task) • Biologická skupina (Biological Group) • Kvantita (Well Quantity) • Barva vzorku (Sample Color) • Barva cílové sekvence (Target Color) • Barva biologické skupiny (Biological Group Color)

Práce s příkazovou řádkou

Práce
s příkazovou
řádkou

1. Na ploše zvolte **Start > Run (Spustit)**.
2. V dialogovém okně Run (Spustit) zadejte **cmd**, poté klikněte na **OK**.
3. V příkazové řádce změňte instalační adresář a zadejte příkaz:
 - a. Napište **cd C:\Program Files\Applied Biosystems\QuantStudio12KFlex\bin**, poté stiskněte **Enter**.
 - b. Napište **cmdlineutil.exe** následováno **-expgen** nebo **-export**, poté všechny parametry a argumenty. Viz *"Syntaxe a argumenty"* na straně 194.

Nápověda
k příkazové řádce

Chcete-li zobrazit nápovědu k funkcím příkazové řádky:

- Pro celou aplikaci, zadejte **cmdlineutil.exe -help**
- Pro určitou funkci, zadejte **cmdlineutil.exe -expgen -help** pro zobrazení nápovědy pro tvorbu souborů, nebo **cmdlineutil.exe -export -help** pro zobrazení nápovědy pro export souborů.

Syntaxe a argumenty

Dávkový soubor Pro vytvoření dávkového souboru zadejte:

```
cmdlineutil.exe -expgen [ parameters ]
```

V libovolném pořadí můžete použít příkazy uvedené v tabulce níže. Viz též [“Příklady” na straně 197](#).

DŮLEŽITÉ! Adresy jednotlivých souborů zadávejte v uvozovkách, aby bylo možné používat znak mezery.

Parametr	Popis
-a <filepath>	(Volitelné) Určuje adresu a název (<filepath>) souboru Assay information (.aif nebo .aix). Příklad: -a "D:\assayfiles\assayfile.aif"
-b <filepath>	(Volitelné) Určuje adresu a název (<filepath>) souboru Bar code. Není-li parametr -b definován, program vytvoří experimenty v počtu definovaném parametrem -n. Příklad: -b "D:\barcodefiles\barcodefile.txt"
-c <string>	(Volitelné) Je-li použit parametr -f, určuje řetězec znaků, které program zahrne do názvů nových experimentů. Není-li údaj zadán, použije se defaultně "custom". Příklad: -c "Batch001_"
-f <option>	(Volitelné) Určuje, jak program pojmenovává nové soubory. Lze použít následující argumenty v libovolném pořadí: <ul style="list-style-type: none"> • Vlastní název – Definováno parametrem -c. • ID – Čárový kód destičky určený souborem Bar code v parametru -b. Příklad: -f "Custom Name Field_ID" Není-li údaj parametru -f zadán, program pojmenovává soubory podle: "Custom Name Field_ID"
-l <dirpath>	(Povinné) Určuje adresář (<dirpath>) kam program ukládá nové soubory. Příklad: -l "D:\Applied Biosystems\ QuantStudio 12K Flex Software\User Files\experiments" Před vytvořením souborů program ověří, zda daný adresář existuje, pokud ne, příkaz se zruší.
-m <filepath>	(Volitelné) Určuje adresář a název (<filepath>) souboru Sample. Příklad: -m "D:\samplefiles\samplefile.txt"
-n <integer>	(Volitelné) Není-li zadán parametr -b, určuje počet experimentů (<integer>), které program vytvoří. Není-li zadán žádný údaj, program defaultně vytvoří 25 experimentů. Příklad: -n 31
-s <filepath>	(Volitelné) Určuje adresář a název (<filepath>) souboru Setup. Příklad: -s "D:\setupfiles\setupfile.txt"

Parametr	Popis
-t <filepath>	(Povinné) Určuje adresář a název (<filepath>) templátu. Příklad: -t "D:\Applied Biosystems\ViiA7 Software v1.1\experiments\templatefile.edt"
-v	(Volitelné) Umožňuje konfiguraci programu v režimu, kdy program zobrazuje každou operaci, kterou provádí.

Export výsledků

Pro export výsledků experimentů zadejte:

```
cmdlineutil.exe -export [ parameters ]
```

V libovolném pořadí můžete použít příkazy uvedené v tabulce níže. Viz též [“Příklady” na straně 197](#).

DŮLEŽITÉ! Adresy jednotlivých souborů zadávejte v uvozovkách, aby bylo možné používat znak mezery.

Parametr	Popis
-e <dirpath>	(Povinné) Určuje adresu adresáře (<dirpath>), který obsahuje experimenty (.eds), jejichž výsledky mají být exportovány. Příklad: -e "D:\Applied Biosystems\ViiA7 Software v1.1\experiments\"
-f <option>	(Povinné) Určuje formát exportovaných dat (viz strana 199): <ul style="list-style-type: none"> • ViiA7 – Data kompatibilní s přístrojem QuantStudio™ 12K Flex. • SDS23 – Data kompatibilní s přístrojem Applied Biosystems 7900HT Real-Time PCR System. • RDML – Data ve formátu real-time data markup language (RDML). Příklad: -f "RDML"
-l <path>	(Volitelné) Určuje adresu adresáře (<path>), kam se uloží exportovaná data. Příklad: -l "D:\exports\"
-s <option>	(Volitelné) Určuje (<option>), jak program exportuje data z více experimentů: <ul style="list-style-type: none"> • single – Exportuje data ze všech experimentů do jednoho souboru. • multiple – Exportuje data ze všech experimentů do více souborů. Příklad: -s "multiple"
-x <filepath>	(Povinné) Určuje formát exportovaného souboru: <ul style="list-style-type: none"> • ViiA 7: .txt, .xls nebo .xlsx • SDS23: .txt • RDML: .rdml Příklad: -x "rdml"

Příklady

Tvorba dávkového souboru

V příkladu níže je popsáno vytvoření sady experimentů za použití všech parametrů popsaných v části *“Syntaxe a argumenty”* na straně 194 (povinných a volitelných).

```
cmdlineutil.exe -expgen -t "C:\Applied Biosystems\QuantStudio
12K Flex Software\User Files\experiments\templates\
standard_curve.edt" -a "C:\Applied Biosystems\QuantStudio 12K
Flex Software\User Files\experiments\examples\AIF\
AIF_820629.txt" -s "C:\Applied Biosystems\QuantStudio 12K
Flex Software\User Files\experiments\examples\Plate Setup
Files\SDS_820629.txt" -m "C:\Applied Biosystems\QuantStudio
12K Flex Software\User Files\experiments\examples\
SampleNames\SampleFileNames.txt" -c "alloptionsused"
-f "Plate Barcode_Custom Name Field" -b "C:\barcodes.txt"
-v -l "C:\Experiment"
```

V tomto příkladu dojde k:

- Importu definic esejí ze souboru AIF_820629.txt.
- Importu názvů vzorků ze souboru SampleFileNames.txt.
- Vytvoření experimentu pro každý čárový kód uvedený v souboru barcodes.txt, kde pro každý experiment je použito nastavení z šablony standard_curve.edt a zadání SDS_820629.txt.

Poznámka: Informace ze souborů AIF_820629.txt a SampleFileNames.txt jsou propojeny pro každý vytvořený experiment.

- Uložení všech vytvořených souborů podle pojmenovacího schématu (naming convention): *<barcode>_alloptionsused*
- Uložení všech souborů do:
C:\Experiment*<date/time>*

Poznámka: Systém v adresáři určeném pro export automaticky vytváří časově pojmenované adresáře. Například adresář vytvořený pro soubory generované 7. dubna 2010 ve 12:48:35 bude pojmenován: 2010-04-07 124835

Export výsledků

V příkladu níže je popsán export ve formátu real-time data markup language (RDML) do adresáře na disku C. RDML soubor je vytvořen pro každý experiment.

```
cmdlineutil.exe -export -e "C:\Applied Biosystems\QuantStudio
12K Flex Software\User Files\experiments\" -f "SDS23"
-l "C:\exports\" -s "single" -x "rdml"
```




Formát souborů

V této příloze naleznete:

■ Formát importovaných souborů.....	200
■ Formát souboru Plate setup	201
■ Formát souboru Sample.....	206
■ Formát souboru Barcode.....	207
■ Soubor Assay information.....	207
■ Formát exportovaných souborů	208
■ Formát exportu QuantStudio12Kflex.....	209
■ Formát exportu 7900.....	223
■ Formát exportu RDML.....	228

Formát importovaných souborů

Do programu QuantStudio™ 12K Flex lze importovat soubory v několika podporovaných formátech. Díky tomu lze automaticky vytvářet zadání experimentů (import informací o esejích a vzorcích). Soubory lze importovat pomocí příkazové řádky (viz strana 189) nebo v rozhraní API programu QuantStudio™ 12K Flex, které umožňuje integraci systému QuantStudio™ 12K Flex do pracovních procesů laboratoře (LIMS). Informace o rozhraní API (application programming interface) a další související údaje viz příručka *Real-Time PCR system Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Robotics User Guide* (PN 4442663).

Poznámka: Specifikace souborů uvedené níže se mohou změnit. Aktuální údaje viz dokument Release Notes v: C:\Program Files\Applied Biosystems\QuantStudio12KFlex\docs\README.html.

O formátech importovaných souborů

Formát souboru	Popis	Viz...
Plate setup (.txt)	Uživatелеm vytvořený textový soubor s údaji oddělenými tabelátorem (tab-delimited) popisující uspořádání esejí a vzorků v používaném typu spotřebního materiálu v daném experimentu a další údaje (teplotní profil, nastavení pro měření fluorescence).	strana 201
Sample (.txt)	Uživatелеm vytvořený textový soubor s údaji oddělenými tabelátorem (tab-delimited) obsahující údaje o vzorcích.	strana 206
Assay information (.aif nebo .aix)	Soubor s údaji oddělenými tabelátorem (tab-delimited) nebo typu XML dodávaný na CD s každou esejí TaqMan® objednanou u společnosti Applied Biosystems. Obsahuje popis eseje, který lze importovat do programu QuantStudio™ 12K Flex pro použití v experimentech.	strana 207
Bar code (.txt)	Uživatелеm vytvořený textový soubor (údaje na samostatných řádcích), obsahující čárové kódy spotřebního materiálu, pro který je vytvářena definice experimentu pomocí příkazové řádky.	strana 207

Konvence

Níže v této části příručky je používána následující konvence:

- normal – Normální text, musí být zadán přesně podle popisu.
- <kurzíva> – Kurzívou psaný text mezi špičatými závorkami je nahrazen vašimi vlastními údaji.
- [*povinný text*] – Text mezi hranatými závorkami je povinný. Musí být zadán, aby byl import úspěšný.
- { *volitelný text* } – Text mezi složenými závorkami je volitelný.
- Není-li uvedeno jinak, musí být všechny údaje v řádcích odděleny tabelátorem (U+0009).
- Není-li uvedeno jinak, musí být na konci každého řádku znak pro posun kurzoru na začátek dalšího řádku (U+000D).

Formát souboru Plate setup

Soubor Plate setup lze použít pro automatické zadání experimentu v programu QuantStudio™ 12K Flex nebo nových experimentů vytvořených pomocí příkazové řádky (viz strana 189). V souboru Plate setup jsou data oddělená tabulátory (tab-delimited ASCII textový soubor .txt) a určují poziční informace pro daný experiment. Soubory lze vytvářet ručně pomocí textového editoru nebo automaticky pomocí programů od jiných výrobců.

DŮLEŽITÉ! Aby bylo zadání ze souboru Plate setup úspěšně importováno do experimentu, musí tento soubor obsahovat všechny náležitosti popsané níže a v uvedeném pořadí.

Struktura souboru

Soubor Plate setup má záhlaví, které udává typ přístroje, pro nějž je experiment určen, a část, v níž jsou popsány vzorky.

Část	Popis	Viz...
Záhlaví souboru	Udává typ přístroje, pro nějž je experiment určen, a barvu používanou jako pasivní reference.	strana 201
Vlastní tělo souboru	Udává obsah 96/384-jamkové destičky nebo karty včetně cílové sekvence (target), eseje SNP, vzorků a úloh (task).	strana 202

Záhlaví souboru Plate setup

Záhlaví souboru Plate setup sestává ze dvou řádků. Každá řádka začíná hvězdičkou (*) a končí znakem pro posun kurzoru na další řádku a to takto:

* <název pole> = <hodnota>

Záhlaví musí obsahovat tyto řádky:

Pole	Popis	Platné hodnoty
Instrument Type	Model, pro který je experiment určen.	QuantStudio12KFlex
Passive Reference	Barva používaná jako pasivní reference.	<ul style="list-style-type: none"> Barva z knihovny barev (Dye Library) v programu QuantStudio™ 12K Flex Software‡ nebo <prázdné> není-li použita.

‡ Vlastní barvy lze použít, pokud jsou zadány v knihovně barev (Dye Library).

Poznámka: Program QuantStudio™ 12K Flex automaticky odstraní mezery na začátku a konci názvů i zadaných údajů.

Příklad:

```
* Instrument Type = QuantStudio12KFlex
* Passive Reference = ROX
```

Tělo souboru Plate setup

Tělo souboru Plate setup obsahuje buď údaje o cílové sekvenci (target), a pak lze toto zadání použít ve všech experimentech vyjma genotypování, nebo údaje o SNP esej, které lze importovat pouze do experimentů typu genotypování. Tělo sestává ze tří povinných polí (hlavička, záhlaví sloupců, vlastní tělo), v nichž je uveden popis obsahu 96/384-jamkové destičky nebo karty.

DŮLEŽITÉ! Při definici souboru Plate setup dodržujte následující doporučení:

- Mezi hlavičkou a záhlavím sloupců nesmí být prázdný řádek.
 - Nepoužívejte nepovolené znaky: \, tab, *, znak pro konec odstavce, znak pro konec řádku, [], ", '.
-

Hlavička

Obsahuje označení pro začátek informací o vzorcích.

Příklad:

```
[Sample Setup]
```

Záhlaví sloupců

Určuje pozice údajů ve sloupcích. Údaje jsou odděleny tabelátory. Viz ["Sloupce v souboru Plate setup" na straně 203](#).

Příklad:

```
Well Sample Name Sample Color Biogroup Name Biogroup Color Target Name...
```

Tělo souboru

Obsahuje údaje o vzorcích. V každé řádce jsou údaje o obsahu jedné jamky: vzorek, cílová sekvence nebo SNP esej, úloha (task) a komentář. Je-li v jamce více esejí (multiplexní PCR), jsou údaje o dalších esejích na samostatných řádcích a údaje o vzorku v dané jamce se opakují. Viz ["Sloupce v souboru Plate setup" na straně 203](#).

Poznámka: Řádky mohou být uvedeny v libovolném pořadí.

Příklad:

```
Well Sample Name Sample Color Biogroup Name Biogroup Color Target
Name...
1 Liver cDNA "RGB(25,0,0)"
2 Liver cDNA "RGB(25,0,0)"
3 Liver cDNA "RGB(25,0,0)"
4 Heart cDNA "RGB(0,25,0)"
5 Heart cDNA "RGB(0,25,0)"
```

Sloupce
v souboru Plate
setup

V tabulce níže je uvedeno záhlaví a popis sloupců, které jsou používány v souboru Plate setup pro všechny typy experimentů a následně sloupce specifické pro genotypizační experimenty a ne-genotypizační experimenty.

	Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Všechny experimenty	Well	Číslo jamky v daném typu spotřebního materiálu (jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů).	<Pozitivní číslo (1 až 96/384)>§
	Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	<100 znaků max.>
	Sample Color	(Volitelné) RGB barva vzorku.	"RGB(<r>,<g>,)"#
	Biogroup Name	(Volitelné) Název biologické skupiny.	<100 znaků max.>
	Biogroup Color	(Volitelné) RGB barva biologické skupiny.	"RGB(<r>,<g>,)"#
	Comments	(Volitelné) Popis jamky.	"<1024 znaků max.>"
Vše vyjma genotypizace	Target Name	Název cílové sekvence (target) detekované v dané jamce.	<100 znaků max.>‡
	Target Color	(Volitelné) RGB barva cílové sekvence.	"RGB(<r>,<g>,)"#
	Task	Úloha eseje v dané jamce.‡	<UNKNOWN STANDARD NTC ENDOGENOUS IPC BlockedIPC>
	Reporter	Reportérová barva eseje.	<název barvy>‡§§
	Quencher	Zhášec eseje.	< název barvy >§§
Quantity	(Volitelné) Množství standardu v dané jamce. Není-li úloha jamky STANDARD, je toto pole prázdné.	<číslo>	
Jen genotypizace	SNP Assay Name	Název SNP eseje v dané jamce.	<100 znaků max.>‡
	SNP Assay Color	(Volitelné) RGB barva SNP eseje	"RGB(<r>,<g>,)"#
	Task	Úloha SNP eseje.‡	<UNKNOWN NTC PC_ALLELE_1 PC_ALLELE_2 PC_ALLELE_BOTH>
	Allele1 Name	Název první alely detekované SNP esejí.	<100 znaků max.>‡
	Allele1 Color	RGB barva první alely.	"RGB(<r>,<g>,)"#
	Allele1 Reporter	Reportérová barva pro první alelu.	< název barvy >‡§§
	Allele1 Quencher	Zhášec pro první alelu.	< název barvy >§§
	Allele2 Name	Název druhé alely detekované SNP esejí	<100 znaků max.>‡
	Allele2 Color	RGB barva druhé alely.	"RGB(<r>,<g>,)"#
Allele2 Reporter	Reportérová barva pro druhou alelu.	< název barvy >‡§§	
Allele2 Quencher	Zhášec pro druhou alelu.	< název barvy >§§	

‡ Musí být vyplněno.

§ Určuje červenou (r), modrou (b) a zelenou (g) barvu, hodnoty 0 až 255. Údaje v uvozovkách bez mezer.

Může být prázdné, není-li určena úloha (Task). Jinak musí být vyplněno.

‡‡ Viz příručka Real-Time PCR system Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Getting Started Guide – popis úloh.

§§ Barva musí být zadána v programu QuantStudio™ 12K Flex (v knihovně barev - Dye Library). Název musí mít max. 100 znaků.

Příklady

Kvantitativní PCR

V následujícím příkladu je soubor Plate setup vytvořený za účelem kvantifikace na přístroji QuantStudio™ 12K Flex. Cílem je kvantifikovat expresi dvou genů (CCKAR a GH1) ve třech vzorcích (cDNA z jater, srdce a mozku). Obě reakce jsou na bázi sond TaqMan® značených barvou FAM™ jako reportérem a nefluorescenčním zhasěčem (NFQ-MGB). Biologické skupiny (biological groups) nejsou v tomto experimentu definovány.

```
* Instrument Type = QuantStudio12KFlex
* Passive Reference = ROX
[Sample Setup]
Well Sample Name Sample Color Biogroup Name Biogroup Color Target Name Target Color Task Reporter Quencher Quantity Comments
1 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
2 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
3 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
4 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
5 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
6 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
7 Brain cDNA "RGB (0,0,25)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
...
378 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
379 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
380 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
381 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
382 Brain cDNA "RGB (0,0,25)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
383 Brain cDNA "RGB (0,0,25)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
384 Brain cDNA "RGB (0,0,25)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
```

V následujícím příkladu je soubor Plate setup pro stejný účel jako výše ale v multiplexní verzi, takže eseje pro obě cílové sekvence (CCKAR a GH1) jsou v těžce jamce. Obě reakce jsou na bázi sond TaqMan® značených barvou FAM™ jako reportérem a nefluorescenčním zhasěčem (NFQ-MGB).

```
* Instrument Type = QuantStudio12KFlex
* Passive Reference = ROX
[Sample Setup]
Well Sample Name Sample Color Biogroup Name Biogroup Color Target Name Target Color Task Reporter Quencher Quantity Comments
1 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
1 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
2 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
2 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
3 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
3 Liver cDNA "RGB (25,0,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
4 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
4 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
5 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
5 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
6 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" CCKAR "RGB (98,25,0)" ENDOGENOUS FAM NFQ-MGB
6 Heart cDNA "RGB (0,25,0)" GH1 "RGB (0,0,105)" UNKNOWN FAM NFQ-MGB
...
```


Experimenty typu Přítomnost/Nepřítomnost (Presence/absence)

V následujícím příkladu je soubor Plate setup vytvořený za účelem detekce (přítomnost/nepřítomnost) na přístroji QuantStudio™ 12K Flex. Cílem je detekce přítomnosti patogenu (E. coli O157:H7). V esaji se používají dvě sondy typu TaqMan® značené barvami FAM™ a VIC® za účelem amplifikace unikátní genomické sekvence a interní pozitivní kontroly (IPC).

```
* Instrument Type = QuantStudio12KFlex
* Passive Reference = ROX
[Sample Setup]
Well Sample Name Sample Color Biogroup Name Biogroup Color Target Name Target Color Task Reporter Quencher Quantity Comments
1 Control "RGB(25,0,0)" E.coli "RGB(98,25,0)" NTC FAM NFQ-MGB
1 Control "RGB(25,0,0)" IPC "RGB(98,25,0)" NTC VIC NFQ-MGB
2 Control "RGB(25,0,0)" E.coli "RGB(98,25,0)" NTC FAM NFQ-MGB
2 Control "RGB(25,0,0)" IPC "RGB(98,25,0)" NTC VIC NFQ-MGB
3 Control "RGB(25,0,0)" E.coli "RGB(98,25,0)" NTC FAM NFQ-MGB
3 Control "RGB(25,0,0)" IPC "RGB(98,25,0)" NTC VIC NFQ-MGB
4 Pos Control "RGB(0,25,0)" E.coli "RGB(98,25,0)" IPC FAM NFQ-MGB
4 Pos Control "RGB(0,25,0)" IPC "RGB(98,25,0)" IPC VIC NFQ-MGB
5 Pos Control "RGB(0,25,0)" E.coli "RGB(98,25,0)" IPC FAM NFQ-MGB
5 Pos Control "RGB(0,25,0)" IPC "RGB(98,25,0)" IPC VIC NFQ-MGB
6 Pos Control "RGB(0,25,0)" E.coli "RGB(98,25,0)" IPC FAM NFQ-MGB
6 Pos Control "RGB(0,25,0)" IPC "RGB(98,25,0)" IPC VIC NFQ-MGB
..
```

Genotypizace

V následujícím příkladu je soubor Plate setup vytvořený za účelem genotypizace na přístroji QuantStudio™ 12K Flex. Cílem je detekce SNP (rs15934) za použití alelicky specifických sond TaqMan® značených barvami FAM™ a VIC® jako reportéry a nefluorescenčním zhasěčem (NFQ-MGB).

```
* Instrument Type = QuantStudio12KFlex
* Passive Reference = ROX
[Sample Setup]
Well Sample Name Sample Color SNP Assay Name SNP Assay Color Task Allele1 Name Allele1 Color Allele1 Reporter Allele1 Quencher Allele2 Name Allele2 Color Allele2 Reporter Allele2
Quencher Comments
1 Neg Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" NTC G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
2 Neg Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" NTC G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
3 Neg Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" NTC G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
4 A11 Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" PC_ALLELE_1 G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
5 A11 Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" PC_ALLELE_1 G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
6 A11 Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" PC_ALLELE_1 G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
7 A12 Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" PC_ALLELE_2 G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
8 A12 Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" PC_ALLELE_2 G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
9 A12 Control "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" PC_ALLELE_2 G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
10 Sample01 "RGB(25,0,0)" SNP rs15934 "RGB(0,75,0)" UNKNOWN G "RGB(0,0,50)" VIC NFQ-MGB A "RGB(0,50,0)" FAM NFQ-MGB
..
```

Formát souboru Sample

Do programu QuantStudio™ 12K Flex lze importovat soubor Sample, v němž jsou definovány informace o vzorcích. V souboru Sample jsou data oddělená tabulátory (tab-delimited ASCII textový soubor .txt) a určují, v které jamce je který vzorek a další údaje o tomto vzorku. Soubory lze vytvářet ručně pomocí textového editoru nebo automaticky pomocí programů od jiných výrobců.

DŮLEŽITÉ! Aby bylo zadání ze souboru Sample úspěšně importováno do experimentu, musí tento soubor obsahovat všechny náležitosti popsané níže a v uvedeném pořadí.

Poznámka: Pomocí příkazové řádky (viz strana 189) nelze importovat soubor Sample. Používáte-li příkazovou řádku, použijte pro import informací o vzorcích soubor Plate setup (viz [“Formát souboru Plate setup” na straně 201](#)).

Struktura souboru

Hlavička

Soubor Sample volitelně obsahuje hlavičku, jejíž součástí je informace o záhlaví sloupců: číslo jamky (“Well”), název vzorku (“Sample Name”) a volitelné vlastnosti vzorků. Pořadí sloupců nelze změnit.

Tělo souboru

Obsahuje údaje o vzorcích organizované v řádcích, vždy jeden řádek pro jeden vzorek: číslo jamky (well number), název vzorku (sample name) a volitelná vlastní pole. Údaje se mohou týkat pouze vybraných jamek, řádky pro prázdné jamky lze vynechat. Pořadí řádků je libovolné.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky v daném typu spotřebního materiálu (jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů).	<Pozitivní číslo (1 až 96/384)>
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	<100 znaků max.>
Custom1 ... Custom6	(Volitelné) Volitelný text popisující vzorek v jamce.	<1024 znaků max.>

Příklad

```
Well Sample Name Custom1 Custom2 Custom3 Custom4 Custom5 Custom6
21 Sample 1test1 test2 test3 test4 test5 test6
22 Sample 2test1 test2 test3 test4 test5 test6
23 Sample 3test1 test3 test4 test5 test6
1 Sample 5test1 test2 test3 test4 test5 test6
2 Sample 6test1 test2 test3 test4 test5 test6
3 Sample 7test1 test2 test3 test4 test5 test6
4 Sample 8test1 test2 test3 test4 test5 test6
...
```

Formát souboru Bar code

Při ovládání programu QuantStudio™ 12K Flex z příkazové řádky lze importovat soubor Bar code pro tvorbu souborů experimentů (.eds). V souboru Bar code jsou data oddělená tabelátory (tab-delimited ASCII textový soubor .txt) a jedná se o seznam čárových kódů. Soubory lze vytvářet ručně pomocí textového editoru nebo automaticky pomocí programů od jiných výrobců.

DŮLEŽITÉ! Aby bylo zadání ze souboru Bar code úspěšně importováno do experimentu, musí tento soubor obsahovat všechny náležitosti popsané níže a v uvedeném pořadí.

Struktura souboru

V souboru Bar code je seznam čárových kódů, na každé řádce je jeden čárový kód a řádek je ukončen znakem pro posun kurzoru na další řádek. Čárové kódy mohou být v libovolném pořadí a nesmí začínat ani končit mezerou.

Poznámka: Při ovládání programu QuantStudio™ 12K Flex z příkazové řádky se neprovádí ověření čárových kódů.

Příklad

```
HA996346102
IB894812348
DD834814679
EK209825848
AF092387348
FF225676243
```

Soubor Assay information

Při ovládání programu QuantStudio™ 12K Flex z příkazové řádky lze importovat data pro eseje Applied Biosystems ze souboru Assay information files (.aif), který je dodáván na CD s každou esejí. Soubor .aif obsahuje údaje o esejích v dané dodávce. Jedná se o koncentraci eseje; reportéry a zhášeče; katalogové číslo a číslo šarže; ID číslo eseje, zkumavky a destičky. V názvu souboru je číslo čárového kódu z destičky.

Formát exportovaných souborů

V této části jsou popsány formáty exportovaných souborů podporovaných programem QuantStudio™ 12K Flex. Zde uvedené informace jsou určeny uživatelům, kteří chtějí na práci s programem QuantStudio™ 12K Flex navázat práci v programech dalších výrobců např. s cílem další analýzy výsledků, a to včetně nástrojů systému LIMS.

Poznámka: Specifikace souborů uvedené níže se mohou změnit. Aktuální údaje viz dokument Release Notes v: C:\Program Files\Applied Biosystems\QuantStudio12KFlex\docs\README.html.

O formátech exportovaných souborů

Program QuantStudio™ 12K Flex umožňuje za účelem jejich další analýzy export zadání a výsledků experimentů (.eds) v několika formátech. Formáty exportovaných souborů mají standardizovanou strukturu, aby bylo možné je využít v co možná největším počtu dalších softwarových nástrojů.

Program QuantStudio™ 12K Flex podporuje export v následujících formátech:

Formát souboru	Popis	Viz...
QuantStudio™ 12K Flex export	Textový soubor formát QuantStudio™ 12K Flex s údaji o zadání a/nebo výsledcích exportovaných ze	strana 209
7900 export	Textový soubor formát 7900 s údaji o zadání a/nebo výsledcích exportovaných ze souboru .eds.	strana 223
RDML export	Komprimovaný XML soubor s údaji o zadání a/nebo výsledcích exportovaných ze souboru .eds a konvertovaných do formátu Real-time PCR Data Markup Language (RDML). Komprimováno do formátu PKZIP.	strana 228

Formáty exportovaných souborů a API

Export souborů lze prostřednictvím rozhraní API (application programming interface) programu QuantStudio™ 12K Flex integrovat do systému LIMS.

Formát exportu QuantStudio™ 12K Flex

Program QuantStudio™ 12K Flex umožňuje za účelem jejich další analýzy export zadání a výsledků experimentů (.eds) do textového souboru (txt) (tabelátorem oddělená data) ve formátu QuantStudio™ 12K Flex. Data exportovaná ve formátu QuantStudio™ 12K Flex lze otevřít v běžných tabulkových editorech jako je Microsoft Excel®, nebo importovat do systému LIMS či databázi k tomu uzpůsobených.

Struktura souboru

V následující tabulce je popsána struktura souboru exportovaného ve formátu QuantStudio™ 12K Flex a to bez ohledu na typ experimentu. Při exportu ve formátu QuantStudio™ 12K Flex mohou uživatelé upravit, které sloupce jsou exportovány. Popis uvedený níže je používán jako výchozí. Ve skutečnosti může být v exportovaných souborech méně sloupců, pokud uživatel upraví parametry exportu.

Část	Popis	Viz...
Záhlaví souboru	Popisuje v jakém typu přístroje QuantStudio™ 12K Flex byl experiment proveden a uvádí další údaje jako je datum a čas běhu a barva použitá jako pasivní reference.	strana 210
Zadání	Popisuje definici vzorků jako je jejich umístění, cílová sekvence nebo vlastnosti SNP eseje a úloha (task).	strana 211
Hrubá data	Hrubá data naměřená přístrojem QuantStudio™ 12K Flex během experimentu.	strana 213
Amplifikace	Normalizovaná data naměřená během fáze cyklování PCR, na jejichž základě program QuantStudio™ 12K Flex vytvoří amplifikační graf. Poznámka: Netýká se experimentů typu přítomnost/nepřítomnost (presence/absence), genotypování nebo analýzy křivky tání pokud nebylo provedeno cyklování.	strana 214
Multikomponenty	Spektrální data používaná programem QuantStudio™ 12K Flex pro tvorbu multikomponentního zobrazení, kde je zobrazen signál každé barvy v průběhu PCR.	strana 215
Výsledky	Normalizovaná, zpracovaná a analyzovaná data vytvořená programem QuantStudio™ 12K Flex.	strana 215

Záhlaví souboru

Soubor má záhlaví, v kterém je popsáno v jakém typu přístroje QuantStudio™ 12K Flex byl experiment proveden a uvádí další údaje. Každá řádka začíná hvězdičkou (*) a končí znakem pro posun kurzoru na další řádku a to takto:

* <název pole> = <hodnota>

Poznámka: Program QuantStudio™ 12K Flex automaticky odstraní mezery na začátku a konci názvů i zadanych údajů.

Záhlaví obsahuje tyto řádky.

Pole	Popis	Platné hodnoty
Block Type	Typ bloku na vzorky instalovaný v přístroji QuantStudio™ 12K Flex v době kdy byl proveden experiment	96/384-jamková destička nebo karta
Calibration Expired	Informace o tom, zda byla kalibrace přístroje QuantStudio™ 12K Flex expirovaná v době kdy byl experiment proveden.	Yes(Ano)nebo No(Ne)
Chemistry	Použitý typ chemie.	<100 znaků max.>
Experiment File Name	Adresa souboru experimentu uloženém na místním disku.	<filepath>
Experiment Name	Název experimentu zadany v poli Experiment Name.	<100 znaků max.>
Experiment Run End Time	Datum a čas ukončení experimentu.	<datum a čas>
Experiment Type	Typ experimentu.	Standard Curve, Presence/Absence, Relative Standard Curve, nebo DDCT Quantification
Instrument Type	Model přístroje.	ViiA 7
Passive Reference	Barva používaná jako pasivní reference (případně prázdné pole pokud nebyla použita).	<100 znaků max.>
Signal Smoothing On	Vyhlazení signálu použité v experimentu.	true Ano) nebo false (Ne)
Stage\Cycle where Analysis is performed	Fáze a cyklus během cyklování, kdy přístroj QuantStudio™ 12K Flex snímal data.	Fáze <číslo>, Krok <číslo>
Calibration Date	Datum a čas provedení a expirace aktuální kalibrace pozadí, ROI, uniformity nebo barev.	<datum a čas>
Calibration Expiration Date		<datum a čas>
Instrument serial number	Sériové číslo přístroje QuantStudio™ 12K Flex, na němž byl experiment proveden.	<100 znaků max.>
Quantification cycle method	Použitá metoda kvantifikace.	<100 znaků max.>

Zadání

Je-li zvolena možnost exportu zadání experimentu, exportuje program QuantStudio™ 12K Flex zadání hned za záhlavím. V zadání je popsána definice vzorků jako je jejich umístění, název, cílová sekvence nebo vlastnosti SNP eseje, úloha (task), barva.

Nejprve je uvedeno záhlaví sloupců, následně vlastní údaje, v každé řádce jsou údaje o jedné jamce oddělené tabulátory. Je-li v jamce více než jedna esej (target), program QuantStudio™ 12K Flex vypíše údaje o esejích na samostatných řádcích, přičemž číslo jamky a informace o vzorku se opakují. Data exportovaná v této části se liší podle toho, o jaký typ experimentu se jedná.

Níže jsou popsány následující typy zadání:

- Kvantifikace a experimenty typu přítomnost/nepřítomnost..... 211
- Genotypování..... 212

Kvantifikace a experimenty typu přítomnost/nepřítomnost

V tabulce níže je uveden popis zadání, které lze exportovat z experimentů typu absolutní kvantifikace, relativní kvantifikace nebo přítomnost/nepřítomnost. Popis uvedený níže je používán jako výchozí. Ve skutečnosti může být v exportovaných souborech méně údajů, pokud uživatel upraví parametry exportu.

Poznámka: Genotypování viz [“Genotypování” na straně 212](#).

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Sample Color	RGB barva vzorku.	"RGB(<r>,<g>,)"§
Target Name	Název cílové sekvence (target) detekované v dané jamce. Více cílových sekvencí je na více řádcích.	100 znaků max.
Target Color	RGB barva cílové sekvence.	"RGB(<r>,<g>,)"§
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN, STANDARD, IPC, NTC nebo Platné "RGB"
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Quencher	Zhášeč eseje.	100 znaků max.
Quantity	Množství standardu v dané jamce. Pouze pro standardní křivku a relativní standardní křivku.	Číslo
Comments	Další údaje pro danou jamku.	1024 znaků max.

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

§ Určuje červenou (r), modrou (b) a zelenou (g) barvu, hodnoty 0 až 255. Údaje v uvozovkách bez mezer.

Genotypování

V tabulce níže je uveden popis zadání, které lze exportovat z experimentů typu genotypování. Popis uvedený níže je používán jako výchozí. Ve skutečnosti může být v exportovaných souborech méně údajů, pokud uživatel upraví parametry exportu.

Poznámka: Ostatní typy experimentů viz [“Kvantifikace a experimenty typu přítomnost/nepřítomnost”](#) na straně 211.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Sample Color	RGB barva vzorku.	"RGB(<r>,<g>,)"§
SNP Assay Name	Název SNP eseje v dané jamce. Více SNP esejí je na více řádcích.	100 znaků max.
SNP Assay Color	RGB barva SNP eseje.	"RGB(<r>,<g>,)"§
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
Allele1 Name	Název první alely detekované SNP esejí.	100 znaků max.
Allele1 Color	RGB barva první alely.	"RGB(<r>,<g>,)"§
Allele1 Reporter	Reportérová barva pro první alelu.	100 znaků max.
Allele1 Quencher	Zhášeč pro první alelu.	100 znaků max.
Allele2 Name	Název druhé alely detekované SNP esejí	100 znaků max.
Allele2 Color	RGB barva druhé alely.	"RGB(<r>,<g>,)"§
Allele2 Reporter	Reportérová barva pro druhou alelu.	100 znaků max.
Allele2 Quencher	Zhášeč pro druhou alelu.	100 znaků max.
Comments	Další údaje pro danou jamku.	1024 znaků max.

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

§ Určuje červenou (r), modrou (b) a zelenou (g) barvu, hodnoty 0 až 255. Údaje v uvozovkách bez mezer.

Hrubá data

Program QuantStudio™ 12K Flex může exportovat nezpracovaná hrubá data (R) naměřená přístrojem QuantStudio™ 12K Flex během experimentu. Hrubými daty jsou záznamy fluorescence snímané přístrojem QuantStudio™ 12K Flex, které nebyly normalizovány na signál pasivní reference.

Soubor sestává ze záhlaví sloupců a vlastních hrubých dat, kde v každé řádce jsou data z jedné jamky oddělená tabulátory. Data jsou tříděna podle binů, kde každý bin představuje jednu kombinaci excitačního a emisního filtru, zvolenou během zadávání experimentu. Názvy binů odpovídají kombinacím filtrů takto:

<název excitačního filtru >-<název emisního filtru >

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Cycle	Cyklus, během něhož došlo k záznamu fluorescence.	Číslo
<Bin #>	Naměřená hrubá fluorescence v dané jamce v daném binu v daném cyklu.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Hrubá data z HRM analýzy

V následující tabulce je popis údajů exportovaných z analýzy typu HRM (high resolution melting – křivka tání s vysokým rozlišením). Ve skutečnosti může být v exportovaných souborech méně údajů, pokud uživatel upraví parametry exportu.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1–96/384)‡
Reading	Pořadí odečtené hodnoty	Číslo
Temperature	Teplota ve stupních Celsia	Číslo
Fluorescence	Naměřená fluorescence	Číslo
Derivative	Derivace naměřené hodnoty fluorescence	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Amplifikace

Program QuantStudio™ 12K Flex může exportovat zpracovaná amplifikační data používaná pro tvorbu amplifikačních grafů z experimentů real-time PCR. Amplifikační data (R_n) jsou hrubá měření fluorescence naměřená přístrojem QuantStudio™ 12K Flex a normalizovaná na fluorescenci pasivní reference. Je-li to možné, program exportuje rovněž normalizovaná fluorescenční data po odečtení signálu pozadí (baseline) (ΔR_n).

Soubor sestává ze záhlaví sloupců a vlastních amplifikačních dat, kde v každé řádce jsou data z jedné jamky oddělená tabelátory. Je-li v jamce více než jedna esej (target), program QuantStudio™ 12K Flex vypíše údaje o esejích na samostatných řádcích, přičemž číslo jamky a informace o vzorku se opakují.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Cycle	Cyklus, během něhož došlo k záznamu fluorescence.	Číslo
Target Name	Genotypování – Název SNP eseje v dané jamce a název alely.	<Název SNP eseje> - <název alely>
	Ostatní experimenty – Název cílové sekvence v dané jamce.	Název cílové sekvence
Rn	Hrubá fluorescence v dané jamce normalizovaná na fluorescenci pasivní reference.	Číslo
Delta Rn	Normalizovaná fluorescenční data po odečtení signálu pozadí.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Multikomponenty

Program QuantStudio™ 12K Flex může z real-time PCR experimentu exportovat data používaná pro tvorbu multikomponentního grafu. Multikomponentní data umožňují sledovat hrubou fluorescenci všech reportérových barev v reakci během běhu.

Soubor sestává ze záhlaví sloupců a vlastních multikomponentních dat, kde v každé řádce jsou data z jedné jamky oddělená tabelátory. Pro každou barvu přítomnou v reakci se údaje zobrazují ve zvláštním sloupci. Údaje se zobrazují pro všechny reportérové barvy, zřáhšeče (kromě nefluorescenčních) a pasivní referenci.

Pole	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Cycle	Cyklus, během něhož došlo k záznamu fluorescence.	Číslo
<Název barvy>	Hrubá fluorescence dané barvy v dané jamce v daném cyklu.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Výsledky

Program QuantStudio™ 12K Flex umožňuje exportovat výsledky daného analyzovaného experimentu. Formát a obsah exportovaného souboru závisí na typu experimentu a nastavení parametrů analýzy.

Soubor sestává ze záhlaví sloupců a vlastních výsledků, kde v každé řádce jsou data z jedné jamky oddělená tabelátory. Je-li v jamce více než jedna esej (target), program QuantStudio™ 12K Flex vypíše údaje o esejích na samostatných řádcích, přičemž číslo jamky a informace o vzorku se opakují.

Export závisí na typu experimentu:

- Standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT..... 216
- Biologické replikáty 217
- Technické replikáty 218
- Genotypování 219
- Křivka tání 220
- HRM 221
- Přítomnost/Nepřítomnost 222

Standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT. Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Target Name	Název cílové sekvence (target) v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN, NTC, nebo STANDARD
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Quencher	Zhášeč eseje.	100 znaků max.
CT	Vypočítaný prahový cyklus - threshold cycle (CT) pro cílovou sekvenci v dané jamce.	Číslo
Ct Mean	Průměr CT pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Ct SD	Standardní odchylka průměrné hodnoty CT pro jamky replikátů.	Číslo
Quantity	<ul style="list-style-type: none"> • Neznámé vzorky – Vypočítané množství vzorku v dané jamce. • Standardy – Definované množství standardu v dané jamce. 	Číslo
Quantity Mean	<ul style="list-style-type: none"> • Neznámé vzorky – Průměrné množství vzorku pro jamky replikátů. • Standardy – Definované množství standardu v dané jamce. 	Číslo
Quantity SD	Standardní odchylka průměrného množství vzorku pro jamky replikátů.	Číslo
Automatic Ct Threshold	Stanovení prahu automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Ct Threshold	Prahový cyklus (CT) vzorku v dané jamce.	Číslo
Automatic Ct Baseline	Stanovení pozadí (baseline) automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Baseline Start	První cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Baseline End	Poslední cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Custom1... Custom6	Obsah vlastních (custom) polí v tabulce výsledků experimentu.	1024 znaků max. (pro každé pole)
Jsou-li pomocí vlaječek (flags) detekovány při analýze chyby, jsou tyto údaje uvedeny při exportu.		true (Ano) nebo false (Ne)

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Biologické replikáty

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu relativní kvantifikace. Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Biogroup Name	Název biologické skupiny.	100 znaků max.
Target Name	Název cílové sekvence (target) detekované v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
RQ	Relativní kvantita replikátů pro danou kombinaci cílová sekvence/vzorek.	Číslo
RQ Min	Minimální relativní kvantita replikátů pro danou kombinaci cílová sekvence/vzorek. Dolní limit intervalu spolehlivosti.	Číslo
RQ Max	Maximální relativní kvantita replikátů pro danou kombinaci cílová sekvence/vzorek. Horní limit intervalu spolehlivosti.	Číslo
Ct Mean	Průměr C_T pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Delta Ct Mean	Průměr ΔC_T pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Delta Ct SD	Standardní odchylka ΔC_T pro replikáty. V závislosti na nastavení analýzy může být tento sloupec nahrazen "Delta Ct SE" (standardní chyba ΔC_T).	Číslo
Delta Delta Ct	Hodnota $\Delta\Delta C_T$ pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo

Technické replikáty

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu relativní kvantifikace. Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Target Name	Název cílové sekvence (target) v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
RQ	Relativní kvantita replikátů pro danou kombinaci cílová sekvence/vzorek.	Číslo
RQ Min	Minimální relativní kvantita replikátů pro danou kombinaci cílová sekvence/vzorek. Dolní limit intervalu spolehlivosti.	Číslo
RQ Max	Maximální relativní kvantita replikátů pro danou kombinaci cílová sekvence/vzorek. Horní limit intervalu spolehlivosti.	Číslo
Ct Mean	Průměr Ct pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Delta Ct Mean	Průměr Δ Ct pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Delta Ct SD	Standardní odchylka Δ Ct pro replikáty. V závislosti na nastavení analýzy může být tento sloupec nahrazen "Delta Ct SE" (standardní chyba Δ Ct).	Číslo
Delta Delta Ct	Hodnota $\Delta\Delta$ Ct pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo

Genotypování

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu genotypování. Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
SNP Assay Name	Název SNP eseje v dané jamce. Více SNP esejí je na více řádcích.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
Allele1 Rn	Hrubá fluorescence sondy pro alelu 1 SNP eseje v dané jamce normalizovaná na fluorescenci pasivní reference.	Číslo
Allele2 Rn	Hrubá fluorescence sondy pro alelu 2 SNP eseje v dané jamce normalizovaná na fluorescenci pasivní reference.	Číslo
Pass. Ref	Hrubá fluorescence pasivní reference v dané jamce.	Číslo
Quality(%)	Spolehlivost automatického odečtu alely.	Číslo (1 až 100)
Call	Odečet alely.	Homozygous <alela x/alela x>, Heterozygous <alela x/alela y> nebo Negative Control (NC)
Method	Metoda odečtu alely.	Auto nebo Manual
Allele1 Automatic Ct Threshold	Stanovení prahu pro alelu 1 automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Allele1 Baseline Start	První cyklus pro výpočet pozadí – alela 1.	Číslo
Allele1 Baseline End	Poslední cyklus pro výpočet pozadí – alela 1.	Číslo
Allele2 Automatic Ct Threshold	Stanovení prahu pro alelu 2 automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Allele2 Baseline Start	První cyklus pro výpočet pozadí – alela 2.	Číslo
Allele2 Baseline End	Poslední cyklus pro výpočet pozadí – alela 2.	Číslo
Custom1... Custom6	Obsah vlastních (custom) polí v tabulce výsledků experimentu.	1024 znaků max. (pro každé pole)

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Křivka tání

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu křivka tání. Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Target Name	Název cílové sekvence (target) v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Quencher	Zhášeč eseje.	100 znaků max.
CT	Vypočítaný prahový cyklus - threshold cycle (CT) pro cílovou sekvenci v dané jamce.	Číslo
Ct Mean	Průměr CT pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Ct SD	Standardní odchylka průměrné hodnoty CT pro jamky replikátů.	Číslo
Quantity	<ul style="list-style-type: none"> Neznámé vzorky – Vypočítané množství vzorku v dané jamce. Standardy – Definované množství standardu v dané jamce. 	Číslo
Quantity Mean	<ul style="list-style-type: none"> Neznámé vzorky – Průměrné množství vzorku pro jamky replikátů. Standardy – Definované množství standardu v dané jamce. 	Číslo
Quantity SD	Standardní odchylka průměrného množství vzorku pro jamky replikátů.	Číslo
Automatic Ct Threshold	Stanovení prahu automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Ct Threshold	Prahový cyklus (CT) vzorku v dané jamce.	Číslo
Automatic Ct Baseline	Stanovení pozadí (baseline) automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Baseline Start	První cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Baseline End	Poslední cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Tm1... Tm3	První, druhá a třetí teplota tání (Tm) ve stupních Celsia.	Číslo
Comments	Další údaje pro danou jamku.	1024 znaků max.
Custom1... Custom6	Obsah vlastních (custom) polí v tabulce výsledků experimentu.	1024 znaků max. (pro každé pole)

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

HRM

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu křivka tání s vysokým rozlišením (HRM). Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Target Name	Název cílové sekvence (target) v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Quencher	Zhášeč eseje.	100 znaků max.
Variant Calls	Odečet alely	Hetero, Homo 1 nebo Homo 2
Confidence Value	Spolehlivost automatického odečtu alely.	Číslo (1–100)
CT	Vypočítaný prahový cyklus - threshold cycle (CT) pro cílovou sekvenci v dané jamce.	Číslo
Ct Mean	Průměr CT pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Ct SD	Standardní odchylka průměrné hodnoty CT pro jamky replikátů.	Číslo
Number of Flags	Počet výstražných vlaječek signalizovaných při analýze vzorku.	Číslo
Tm	Teplota tání.	Číslo
Tm1... Tm3	První, druhá a třetí teplota tání (T _m) ve stupních Celsia.	Číslo
Comments	Další údaje pro danou jamku.	1024 znaků max.
Custom1 ...	Obsah vlastních (custom) polí v tabulce výsledků experimentu.	1024 znaků max. (pro každé pole)

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Přítomnost/Nepřítomnost

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu Přítomnost/Nepřítomnost. Při exportu lze určité sloupce vypustit, takže exportovaný soubor může obsahovat méně sloupců, než je uvedeno níže.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Target Name	Název cílové sekvence (target) v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Quencher	Zhášeč eseje.	100 znaků max.
Rn	Hrubá fluorescence v dané jamce normalizovaná na fluorescenci pasivní reference.	Číslo
Rn Mean	Průměrná normalizovaná fluorescence (R_n) skupiny replikátů s touž kombinací cílová sekvence/vzorek.	Číslo
Rn SD	Standardní odchylka normalizované fluorescence (R_n) skupiny replikátů s touž kombinací cílová sekvence/vzorek.	Číslo
Threshold Value	Hodnota prahu pro pozitivní odečet.	Číslo
Call	Odečet Přítomnost/Nepřítomnost přiřazený vzorku v dané jamce.	Negative Control, Blocked IPC Control, IPC Failed, Positive, nebo Negative
Comments	Další údaje pro danou jamku.	1024 znaků max.
Automatic Ct Threshold	Stanovení prahu automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Ct Threshold	Prahový cyklus (CT) vzorku v dané jamce.	Číslo
Automatic Ct Baseline	Stanovení pozadí (baseline) automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Baseline Start	První cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Baseline End	Poslední cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Custom1... Custom6	Obsah vlastních (custom) polí v tabulce výsledků experimentu.	1024 znaků max. (pro každé pole)

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Formát exportu 7900

Program QuantStudio™ 12K Flex umožňuje za účelem jejich další analýzy export zadání a výsledků experimentů (.eds) do textového souboru (txt) (tabelátorem oddělená data) ve formátu kompatibilním s přístrojem Applied Biosystems 7900HT Real-Time PCR System. Formát exportu 7900 má standardizovanou strukturu, aby bylo možné je využít v co možná největším počtu dalších softwarových nástrojů. Data exportovaná ve formátu 7900 lze otevřít v běžných tabulkových editorech jako je Microsoft Excel®, nebo importovat do systému LIMS či databázi k tomu uzpůsobených.

Poznámka: Jelikož koncept systému QuantStudio™ 12K Flex je značně odlišný, nelze provést export všemi způsoby jako u systému Applied Biosystems 7900HT Real-Time PCR System.

Poznámka: Úpravy (třídění a vynechávání sloupců) nelze provádět. Je možný export pouze do více souborů.

Co lze exportovat

V následující tabulce jsou uvedeny datové soubory, které lze z programu QuantStudio™ 12K Flex exportovat ve formátu 7900.

Soubor	Popis	Viz...
Zadání	Popisuje definici vzorků jako je jejich umístění, cílová sekvence nebo vlastnosti SNP eseje a úloha (task).	strana 223
Multikomponenty	Spektrální data používaná programem QuantStudio™ 12K Flex pro tvorbu multikomponentního zobrazení, kde je zobrazen signál každé barvy v průběhu PCR.	strana 225
Výsledky	Normalizovaná, zpracovaná a analyzovaná data vytvořená programem QuantStudio™ 12K Flex.	strana 226

Zadání

Je-li zvolena možnost exportu zadání experimentu, exportuje program QuantStudio™ 12K Flex zadání jako jeden soubor. V zadání je popsána definice vzorků jako je jejich umístění, název, cílová sekvence nebo vlastnosti SNP eseje, úloha (task).

Záhlaví

Soubor začíná údaji uvedenými v tabulce níže:

Pole	Popis	Platné hodnoty
File Version	Verze zadání použitá pro vytvoření souboru.	Číslo
Plate Size	Počet jamek v destičce (např. 96/384).	Číslo
Plate ID	ID číslo destičky. Běžně se jedná o čárový kód destičky.	100 znaků max.

*** Setup File Version <číslo verze>
 *** Output Plate Size <počet jamek>
 *** Output Plate ID <ID destičky>

Údaje o esejích (detektorech)

Jsou uvedeny údaje o použitých esejích. (U systému 7900HT jsou eseje nazývány detektory ("detectors")). Je zde uveden celkový počet esejí, záhlaví sloupců a vlastní data oddělená tabelátory. V prvním řádku je uveden celkový počet esejí.

*** Počet detektorů <počet esejí>

V záhlaví sloupců jsou definovány exportované sloupce a poté jsou údaje o jednotlivých esejích oddělené tabelátory.

Sloupec	Popis	Platné hodnoty
Detector	Název cílové sekvence v jamce. Je-li v jamce více než jedna esej (target), jsou údaje o esejích na samostatných řádcích	100 znaků max.
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Quencher	Zhášec eseje.	100 znaků max.
Description	Popis.	1024 znaků max.
Comments	Další údaje pro danou jamku.	1024 znaků max.

Údaje o jamkách

Po esejích exportuje program QuantStudio™ 12K Flex i údaje o jamkách, kde je popsáno uspořádání vzorků a esejí v destičce/kartě. V tabulce níže jsou uvedeny údaje o jamkách, které lze exportovat z experimentů typu absolutní kvantifikace, relativní kvantifikace nebo přítomnost/nepřítomnost. Je-li v jamce více než jedna esej (target), program QuantStudio™ 12K Flex vypíše údaje o esejích v dalších sloupcích vpravo.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Detector Name	Název cílové sekvence (target) detekované v dané jamce.	100 znaků max.
Task	Úloha esej v dané jamce.	UNKNOWN, STANDARD, nebo NTC
Quantity	Množství standardu v dané jamce. Pouze pro standardní křivku a relativní standardní křivku.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Multikomponenty

Program QuantStudio™ 12K Flex může z real-time PCR experimentu exportovat data používaná pro tvorbu multikomponentního grafu. Multikomponentní data umožňují sledovat hrubou fluorescence všech reportérových barev v reakci během běhu.

Soubor začíná linkou označující formát exportu (SDS 2.3) a typ exportovaných dat (multicomponent). Následuje záhlaví sloupců a vlastní multikomponentní data, kde v každé řádce jsou data z jedné jamky oddělená tabulátory. Pro každou barvu přítomnou v reakci se údaje zobrazují ve zvláštním sloupci. Údaje se zobrazují pro všechny reportérové barvy, zhášeče (kromě nefluorescenčních) a pasivní referenci.

Pole	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Time	Doba v milisek od začátku běhu, kdy bylo měření provedeno.	Číslo
Temp	Teplota (°C) vzorku v okamžiku, kdy bylo měření provedeno.	Číslo
Cycle	Cyklus, během něhož došlo k záznamu fluorescence.	Číslo
<Název barvy>	Hrubá fluorescence dané barvy v dané jamce v daném cyklu.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Výsledky

Program QuantStudio™ 12K Flex umožňuje exportovat výsledky daného analyzovaného experimentu. Formát a obsah exportovaného souboru závisí na typu experimentu a nastavení parametrů analýzy.

Záhlaví

Soubor začíná linkou označující formát exportu (SDS 2.3) a typ exportovaných dat (Std Results). V tabulce níže jsou uvedeny exportované údaje.

Pole	Popis	Platné hodnoty
Filename	Adresa souboru experiment na disku.	<filename>
Plate ID	Identifikátor destičky – čárový kód.	<100 znaků max.>
Assay Type	Typ experimentu.	Standard Curve, Presence/Absence, Relative Standard Curve nebo DDCT Quantification
Run Datetime	Datum a čas dokončení experimentu.	<datum a čas>
Operator	Uživatel přihlášený do programu QuantStudio™ 12K Flex v době provádění	<100 znaků max.>
ThermalCycleParameters	Teplotní profil experimentu.	96/384-well nebo Array card

Program QuantStudio™ 12K Flex může exportovat výsledky analyzovaného experimentu. Formát a obsah exportovaného souboru závisí na typu experimentu a nastavení parametrů analýzy.

Soubor sestává ze záhlaví sloupců a vlastních výsledků, kde v každé řádce jsou data z jedné jamky oddělená tabulátory. Je-li v jamce více než jedna esej (target), program QuantStudio™ 12K Flex vypíše údaje o esejích na samostatných řádcích, přičemž číslo jamky a informace o vzorku se opakují.

Export závisí na typu experimentu:

- Standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT..... 227
- Genotypování..... 228

Standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní CT.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
Detector Name	Název cílové sekvence (detector) v dané jamce.	100 znaků max.
Reporter	Reportérová barva eseje.	100 znaků max.
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN, NTC, nebo STANDARD
CT	Vypočítaný prahový cyklus - threshold cycle (CT) pro cílovou sekvenci v dané jamce.	Číslo
Quantity	<ul style="list-style-type: none"> • Neznámé vzorky – Vypočítané množství vzorku v dané jamce. • Standardy – Definované množství standardu v dané jamce. 	Číslo
Quantity Mean	<ul style="list-style-type: none"> • Neznámé vzorky – Průměrné množství vzorku pro jamky replikátů. • Standardy – Definované množství standardu v dané jamce. 	Číslo
Quantity SD	Standardní odchylka průměrného množství vzorku pro jamky replikátů.	Číslo
Ct Median	Medián C _T pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Ct Mean	Průměr C _T pro replikáty (kombinace cílová sekvence/vzorek).	Číslo
Ct SD	Standardní odchylka průměrné hodnoty C _T pro jamky replikátů.	Číslo
Automatic Ct Baseline	Stanovení pozadí (baseline) automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Baseline Start	První cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Baseline End	Poslední cyklus pro výpočet pozadí.	Číslo
Automatic Ct Threshold	Stanovení prahu automaticky (true) nebo ručně (false).	true (Ano) nebo false (Ne)
Ct Threshold	Prahový cyklus (C _T) vzorku v dané jamce.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Genotypování

V tabulce níže je popsán export výsledků z experimentu typu Genotypování.

Název sloupce	Popis	Platné hodnoty
Well	Číslo jamky.	Číslo (1 až 96/384)‡
Sample Name	Název vzorku v dané jamce.	100 znaků max.
SNP Assay Name	Název SNP eseje v dané jamce.	100 znaků max.
Allele1 Rn	Hrubá fluorescence sondy pro alelu 1 SNP eseje v dané jamce normalizovaná na fluorescenci pasivní reference.	Číslo
Allele2 Rn	Hrubá fluorescence sondy pro alelu 2 SNP eseje v dané jamce normalizovaná na fluorescenci pasivní reference.	Číslo
Call	Odečet alely.	Homozygous <alela x/alela x>, Heterozygous <alela x/alela y> nebo Negative Control (NC)
Quality(%)	Spolehlivost automatického odečtu alely.	Číslo (1 až 100)
Method	Metoda odečtu alely.	Auto nebo Manual
Task	Úloha eseje v dané jamce.	UNKNOWN nebo NTC
Pass. Ref	Hrubá fluorescence pasivní reference v dané jamce.	Číslo

‡ Jamka A1 v levém horním rohu má číslo 1 a čísla se zvyšují zleva doprava a shora dolů.

Formát exportu RDML

Program QuantStudio™ 12K Flex umožňuje export dat z kvantifikačních experimentů real-time PCR ve formátu Real-time PCR Data Markup Language (RDML), což je standard pro export qPCR dat ve formátu XML. V souladu s doporučeními pro tzv. minimálně nutné informace (MIQPCR) jsou ve formátu RDML popsány všechny aspekty experimentu včetně zadání, analýzy a interpretace výsledků. Exportovaný soubor ve formátu RDML se uloží jako textový soubor, který je možné použít pro přenos qPCR dat mezi programem QuantStudio™ 12K Flex a programy dalších výrobců.

DŮLEŽITÉ! Formát exportu RDML je k dispozici pouze pro experimenty typu standardní křivka, analýza genové exprese a relativní standardní křivka.

Více informací

Standard RDML je udržován a vyvíjen konsorciem RDML, což je organizace, jejímiž členy jsou skupiny vývojářů a uživatelé-členové komunity. Více informací o formátu RDML naleznete na internetu (www.rdml.org). Na těchto internetových stránkách jsou k dispozici volně dostupné nástroje pro správu dat včetně on-line generátoru souborů RDML a knihoven.



Součásti a materiál

V této příloze naleznete:

■ Jak objednávat	230
■ Příslušenství	232
■ Kalibrační soupravy a soupravy pro ověření funkčnosti.....	233
■ Spotřební materiál	236

Jak objednávat

Materiál a příslušenství můžete od společnosti Life Technologies objednávat přímo přes internetové stránky společnosti.

Poznámka: Dostupnost a ceny jednotlivých výrobků se liší podle toho, v které zemi se objednávka provádí. Online objednávání přes internet není dostupné ve všech zemích. V případě potřeby kontaktujte místní zastoupení Life Technologies.

Chcete-li objednávat přes internet nebo z programu QuantStudio™ 12K Flex:

- Ujistěte se, že váš počítač je připojen k internetu.
- Doporučujeme následující prohlížeče a program Adobe® Acrobat® Reader pro přístup na stránky Applied Biosystems:

Operační systém	Microsoft® Internet Explorer®	Apple® Safari®	Mozilla® Firefox®	Adobe® Acrobat® Reader
Microsoft® Windows®	v6.x nebo vyšší	Není†	v2.x nebo vyšší	v4.0 nebo vyšší
Macintosh®	Není†	v2.0.4 nebo vyšší		

† Pro tento operační systém není k dispozici.

Poznámka: Pro správné fungování internetových stránek musíte mít povoleny cookies a Javascript.

Jak objednávat z programu QuantStudio™ 12K Flex

1. Chcete-li nalézt esej v obchodě Life Technologies, vyplňte údaje v části Find Assay (Najít esej) v příslušném okně programu QuantStudio™ 12K Flex:
 - a. Zadejte název genu do pole Enter Gene Name, poté klikněte na **Find Assay (Najít esej)**.
 - b. V dialogovém okně Find Assay Results (Výsledky hledání esejí) zvolte esej.
 - c. Klikněte na **Apply Assay Selection (Vybrat esej)**. Vybraná esej je vložena do seznamu nakupovaných položek.
2. Ověřte, že jste zvolili všechny položky, které chcete objednat, poté klikněte na **Order Materials in List (Objednat podle seznamu)**.

3. V dialogovém okně Order Materials - Login (Přihlášení) zadejte vaše uživatelské jméno a heslo pro obchod Life Technologies, poté klikněte na **Log In and Submit (Přihlášení)**.

Poznámka: Nemáte-li přihlašovací jméno a heslo, klikněte na **Register Now (Registrace)** a vytvořte si uživatelský účet.

Po připojení do obchodu Life Technologies dokončete objednávku.

Jak objednávat v internetovém obchodě Life Technologies

Objednáváte-li...	Postup
Eseje a reagenzie	<ol style="list-style-type: none"> Jděte na www.lifetechnologies.com V části "I Want to Buy" ("Chci koupit") zvolte produkty.
Náhradní díly na přístroje a příslušenství	<ol style="list-style-type: none"> Jděte na www.lifetechnologies.com/quantstudio. Klikněte na Parts and Accessories (Součásti a příslušenství). Zvolte produkty a dokončete objednávku podle pokynů. Viz "Spotřební materiál" na straně 236.
Kalibrační soupravy	

Příslušenství

Příslušenství pro Real- Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex.

QuantStudio™ 12K Flex - Příslušenství	Kat. číslo.
Adaptér na 384-jamkovou destičku	4457087
Vyhřívané víko pro 384-jamkovou destičku/kartu	4453555
Vyhřívané víko pro 96-jamkovou destičku	4453560
Adaptér na 96-jamkovou destičku	4459845
96-jamkový adaptér na zkumavky	4462077
Adaptér na karty	4454166
Vyhřívané víko pro 96-jamkovou destičku Fast	4459838
Adaptér na 96-jamkovou destičku Fast	4459846
96-jamkový adaptér na zkumavky, typ Fast	4462078
Vyhřívané víko pro blok OpenArray®	4471049
Adaptér na destičky OpenArray®	4454166
384-jamkový blok na vzorky	4453553
96-jamkový blok na vzorky	4453556
Blok na karty	4453554
96-jamkový blok na vzorky, typ Fast	4453559
Blok na vzorky OpenArray®	4471025

Kalibrační soupravy a soupravy pro ověření funkčnosti

Pro Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex jsou určeny tyto soupravy.

Soupravy pro kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex:

- Soupravy pro 384-jamkové bloky.....viz níže
- Soupravy pro 96-jamkové bloky..... 234
- Soupravy pro 96-jamkové bloky typu Fast 234
- Soupravy pro bloky na karty 180

Poznámka: Datum expirace je uvedeno na obalu.

Soupravy pro 384-jamkové bloky

QuantStudio™ 12K Flex – Spotřební materiál	Kat. číslo	Skladování (°C)
384-jamková spektrální kalibrační destička s barvou FAM™	4432271	-15 až -25
384-jamková spektrální kalibrační destička s barvou VIC®	4432278	
384-jamková spektrální kalibrační destička s barvou ROX™	4432284	
384-jamková spektrální kalibrační destička s barvou NED™	4432302	
384-jamková spektrální kalibrační destička s barvou SYBR® Green	4432290	
384-jamková spektrální kalibrační destička s barvou TAMRA™	4432296	
384-jamková destička Region of Interest (ROI) a destička pro kalibraci pozadí • 384-jamková Region of Interest (ROI) kalibrační destička • 384-jamková destička pro kalibraci pozadí	4432320	
384-jamková normalizační destička s barvami FAM™/ROX™ a VIC®/ROX™ • 384-jamková normalizační destička s barvami FAM™/ROX™ • 384-jamková normalizační destička s barvami VIC®/ROX™	4432308	
Souprava TaqMan® RNase P Fast 384-jamková destička pro ověření funkčnosti přístroje	4455280	

Soupravy pro 96-jamkové bloky

QuantStudio™ 12K Flex – Spotřební materiál	Kat. číslo	Skladování (°C)
96-jamková spektrální kalibrační destička s barvou FAM™	4432327	-15 až -25
96-jamková spektrální kalibrační destička s barvou VIC®	4432334	
96-jamková spektrální kalibrační destička s barvou ROX™	4432340	
96-jamková spektrální kalibrační destička s barvou SYBR® Green	4432346	
96-jamková spektrální kalibrační destička s barvou TAMRA™	4432352	
96-jamková spektrální kalibrační destička s barvou NED™	4432358	
96-jamková destička Region of Interest (ROI) a destička pro kalibraci pozadí • 96-jamková Region of Interest (ROI) kalibrační destička • 96-jamková a destička pro kalibraci pozadí	4432364	
96-jamková normalizační destička s barvami FAM™/ROX™ a VIC®/ROX™ • 96-jamková normalizační destička s barvami FAM™/ROX™ • 96-jamková normalizační destička s barvami VIC®/ROX™	4432370	
Souprava TaqMan® RNase P 96-jamková destička pro ověření funkčnosti přístroje	4432382	

Soupravy pro 96-jamkové bloky typu Fast

QuantStudio™ 12K Flex – Spotřební materiál	Kat. číslo	Skladování (°C)
96-jamková spektrální kalibrační destička Fast s barvou FAM™	4432389	-15 až -25
96-jamková spektrální kalibrační destička Fast s barvou VIC®	4432396	
96-jamková spektrální kalibrační destička Fast s barvou ROX™	4432402	
96-jamková spektrální kalibrační destička Fast s barvou SYBR® Green	4432408	
96-jamková spektrální kalibrační destička Fast s barvou TAMRA™	4432414	
96-jamková spektrální kalibrační destička Fast s barvou NED™	4432420	
96-jamková destička Fast Region of Interest (ROI) a destička pro kalibraci pozadí • 96-jamková Region of Interest (ROI) kalibrační destička Fast • 96-jamková destička Fast pro kalibraci pozadí	4432426	
96-jamková normalizační destička Fast s barvami FAM™/ROX™ a VIC®/ROX™ • Fast 96-jamková normalizační destička Fast s barvami FAM™/ROX™ • Fast 96-jamková normalizační destička Fast s barvami VIC®/ROX™	4432432	
Souprava TaqMan® RNase P 96-jamková destička Fast pro ověření funkčnosti přístroje	4351979	

Soupravy pro bloky na karty

QuantStudio™ 12K Flex – Spotřební materiál	Kat. číslo	Skladování (°C)
Spektrální kalibrační kit s kartami <ul style="list-style-type: none"> • TaqMan® kalibrační karta s barvou FAM™ • TaqMan® kalibrační karta s barvou VIC® • TaqMan® kalibrační karta s barvou ROX™ • TaqMan® kalibrační karta ROI • TaqMan® kalibrační karta s barvou FAM™/ROX™ • TaqMan® kalibrační karta s barvou VIC®/ROX™ • TaqMan® karta pro kalibraci pozadí 	4432376	-15 až -25
Souprava TaqMan® RNase P karta pro ověření funkčnosti přístroje <ul style="list-style-type: none"> • Port 1 NTC • Port 2 Neznámé vzorky A • Port 3 Neznámé vzorky B • Port 4 Standard 200 kopií • Port 5 Standard 400 kopií • Port 6 Standard 800 kopií • Port 7 Standard 1600 kopií • Port 8 Standard 3200 kopií 	44322654	

Spotřební materiál

Poznámka: Datum expirace je uvedeno na obalu.

Pro Real-Time PCR systém Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex je určen tento spotřební materiál:

QuantStudio™ 12K Flex – Spotřební materiál		Kat. číslo
Nástroj pro zaslepení karet Applied Biosystems		4331770
Centrifugační závěs/držák na karty – souprava	1. generace	4337762
	2. generace	4442571
Karta, 8-portů (prázdná)	4 ks	4334812
	1 ks	4351471
Centrifugační závěsy na karty	1. generace	4337230
	2. generace	4442573
Centrifugační adaptér na karty		4334682
MicroAmp® Fast 8-zkumavkový Strip, 0.1-mL	125 stripů	4358293
MicroAmp® Fast optická 96-jamková destička s čárovým kódem, 0.1-mL	10 destiček	4346906
	200 destiček	4366932
MicroAmp® optická 96-jamková destička, 0.2-mL	10 destiček	N8010560
	500 destiček	4316813
MicroAmp® optická 96-jamková destička s čárovým kódem, 0.2-mL	10 destiček	4306737
	500 destiček	4326659
MicroAmp® optická 384-jamková destička, 1000 destiček		4343370
MicroAmp® optická 384-jamková destička s čárovým kódem	1000 destiček	4343814
	500 destiček	4326270
	50 destiček	4309849
MicroAmp® optický 8-víčkový strip	300 stripů	4323032
MicroAmp® optický 8-zkumavkový strip, 0.2-mL	1000 zkumavek	4316567
MicroAmp® optická adhezivní fólie		4311971



Bezpečnost

V této příloze naleznete:

■ Bezpečný provoz přístroje.....	238
Bezpečnostní označení na přístrojích.....	238
Umístění bezpečnostních označení na přístrojích.....	240
Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem.....	241
Bezpečná práce.....	242
Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními.....	242
Bezpečná manipulace s laserem čtečky čárových kódů.....	243
Bezpečná práce s přístrojem.....	243
Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC).....	244
■ Bezpečná manipulace s chemikáliemi.....	245
Pravidla bezpečné manipulace s chemikáliemi.....	245
Bezpečnostní listy.....	246
Bezpečná manipulace s chemickým odpadem.....	246
Bezpečná manipulace s biologickým odpadem.....	248
■ Bezpečnostní výstrahy.....	249
Obecné výstrahy pro všechny chemikálie.....	249
Obecné výstrahy pro přístroje.....	249
Specifické výstrahy pro přístroje.....	249










Bezpečný provoz přístroje

Bezpečnostní označení 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 vypínače Zapnuto .		Ochranná svorka - označuje chráněný uzemněný výstup, který musí být uzemněn předtím, než je provedeno jakékoliv jiné elektrické připojení přístroje (připojení hlavního ochranného vodiče).
	Označuje polohu hlavního vypínače Vypnuto .		
	Přepínač do pohotovostního režimu. V přístroji může být vysoké napětí.		Střídavé napětí nebo proud
	Svorka uzemnění. Neslouží jako ochranná svorka.		Stejnoseměrné napětí nebo proud.


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. Tyto bezpečnostní symboly se mohou rovněž objevit v textu tohoto nebo dalších dokumentů vedle označení DANGER (NEBEZPEČÍ), WARNING (VÝSTRAHA) a CAUTION (VAROVÁNÍ).

Symbol	Popis	Symbol	Popis
	Indikuje, že byste měli získat další informace z příručky a pokračovat s patřičnou obezřetností.		Indikuje přítomnost ostrých předmětů a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
			Indikuje přítomnost pohyblivých součástí a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
 	Indikuje možný úraz elektrickým proudem a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností. Indikuje horký povrch nebo jiné riziko související s vysokou teplotou a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.		Indikuje přítomnost laseru a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
		 	Indikuje přítomnost UV záření a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Riziko uklouznutí.		Nebezpečí radioaktivního záření.

Environmentální symboly na přístrojích

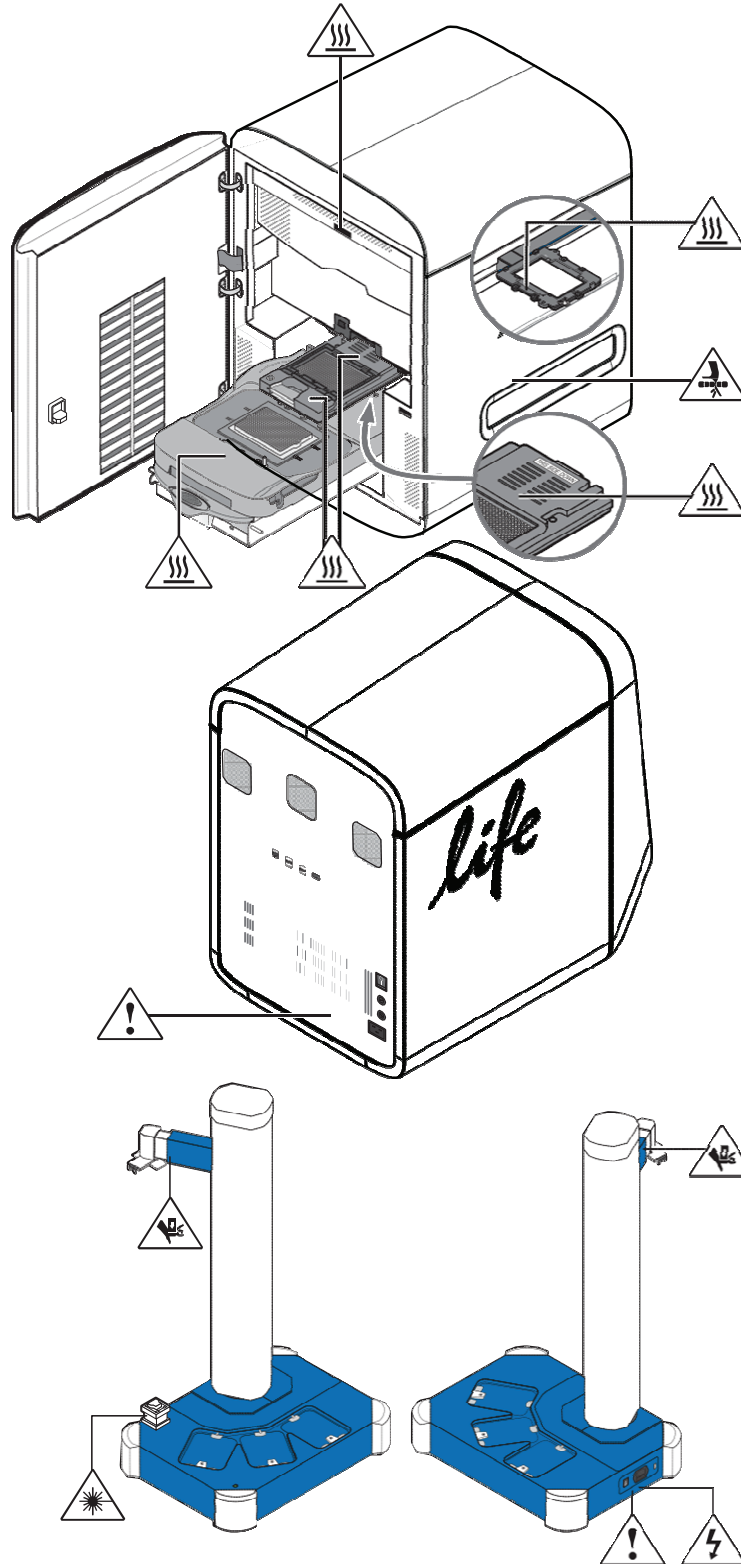
Následující symbol se vztahuje ke všem elektrickým a elektronickým zařízením společnosti Applied Biosystems, které byly uvedeny na evropský trh po 13. srpnu 2005.

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 Life Technologies. Seznam kanceláří společnosti v Evropské unii naleznete na www.lifetechnologies.com.</p>



Umístění bezpečnostních označení na přístrojích

Na přístroji QuantStudio™ 12K Flex jsou výstrahy umístěny takto:



Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem



VÝSTRAHA! 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



VÝSTRAHA! 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



VÝSTRAHA! 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).

Čistění nebo dekontaminace přístroje



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



Bezpečná práce

Ultrafialové záření



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ ULTRAFIALOVÉHO ZÁŘENÍ. Nedívejte se přímo do ultrafialového záření, může dojít k poškození zraku. Chraňte sebe i spolupracující osoby před vystavením účinků ultrafialového záření. Dodržujte doporučení výrobců stran prostředků ochrany očí a ochranného oděvu.

Pohyblivé součásti



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Při ovládání přístroje nesahejte na pohyblivé součásti. Před servisním zásahem vypojte přístroj ze sítě.

Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními



VÝSTRAHA! 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



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



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ POŽÁRU. Používejte pouze schválené elektrické kabely odpovídající napětí ve vaší elektrické síti.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Připojte přístroj pouze do uzemněné zásuvky s odpovídajícím elektrickým napětím.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Používejte pouze originální přívodní elektrické kabely.

Přepětí

Systém QuantStudio™ 12K Flex spadá do třídy II (přepětí) a je klasifikován jako přenosný přístroj.

Bezpečná manipulace s laserem čtečky čárových kódů

Typ laseru Laser čtečky čárových kódů, která je součástí přístroje QuantStudio™ 12K Flex, je klasifikován jako laser třídy 2 (II).

Pravidla manipulace s laserem Lasery třídy 2 (II) jsou nízkoenergetické lasery s viditelným paprskem, který může způsobit poškození očí. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku. Skener je konstruován tak, aby laserový paprsek nebyl dostupný pro operátora přístroje při jeho běžném používání, údržbě nebo během předepsaných servisních zásahů.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ LASEROVÉHO ZÁŘENÍ. Lasery třídy 2 (II) mohou způsobit poškození očí. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku třídy 2 (II) nebo neobracejte tento paprsek proti očím někoho jiného.

Bezpečná práce s přístrojem

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.



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

Abyste toto nebezpečí snížili:

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



Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC)

Tato část obsahuje informace o:

- Bezpečnostních předpisů v USA a Kanadě
- Kanadských normách EMC
- Evropských bezpečnostních předpisů a normách EMC
- Australských normách EMC

Bezpečnostní předpisy v USA a Kanadě



Tento přístroj byl testován podle a splňuje požadavky norem:

UL 61010-1/CSA C22.2 No. 61010-1 "Safety Requirements for Electrical Equipment for Measurement, Control, and Laboratory Use, Part 1: General Requirements."

UL 61010-2-010 "Particular Requirements for Laboratory Equipment for the Heating of Materials."

Kanadské normy EMC

Tento přístroj byl testován podle a splňuje požadavky normy:

ICES-001, vydání 3: "Industrial, Scientific, and Medical Radio Frequency Generators." Cet appareil numerique de la classe B est conforme a la norme NMB-001 du Canada.

Evropské bezpečnostní předpisy a normy EMC



Bezpečnost

Tento přístroj splňuje bezpečnostní požadavky evropské Směrnice pro nízké napětí (2006/95/EC). Tento přístroj byl testován podle norem

EN 61010-1:2001 "Bezpečnostní požadavky na elektrické měřicí, řídicí a laboratorní zařízení, část 1: Obecné požadavky".

EN 61010-2-010:2003 "Zvláštní požadavky pro laboratorní zařízení pro ohřev materiálu."

EN 61010-2-081:2002+A1:2003 "Zvláštní požadavky na automatická a poloautomatická zařízení pro analýzy a jiné účely."

EMC

Tento přístroj splňuje požadavky evropské směrnice týkající se elektromagnetické kompatibility (EMC Directive 2004/108/EC).

EN 61326-1:2006 "Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití – požadavky EMC" (Skupina 1, třída B).

Australské a novozélandské normy EMC



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

Bezpečná manipulace s chemikáliemi

Pravidla bezpečné manipulace s chemikáliemi

Výstraha –
chemické riziko



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



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



VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Odpad neukládejte ve skleněných odpadních láhvích, může dojít k jejich rozbití. U láhví s reagenty a odpadem může dojít k netěsnostem. Ukládejte tyto láhve do bezpečnostních polyethylenových obalů, uzavřené a zajištěné proti vylití. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

Bezpečná
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.
- Minimalizujte kontakt s chemikáliemi. Používejte odpovídající osobní ochranné pomůcky pro práci s chemikáliemi (např. ochranné brýle, rukavice, ochranný oděv). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Minimalizujte inhalaci chemikálií. Neponechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte odpovídající větrání (například digestoř). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Pravidelně kontrolujte, zda nedošlo k vylití nebo rozsypání chemikálií. Pokud k tomu dojde, postupujte podle čistících procedur doporučených výrobcem chemikálie v bezpečnostním listu.
- Dodržujte všechna místní nebo národní nařízení a předpisy týkající se uchovávání chemikálií, manipulace s nimi a jejich odstraňování.



Bezpečnostní listy

O bezpečnostních listech Výrobci chemikálií poskytují *novým* zákazníkům s dodávkou chemikálií bezpečnostní listy. Bezpečnostní list je rovněž poskytnut spolu s dodávkou chemikálií v případě, že byl aktualizován. Bezpečnostní listy obsahují informace, které potřebujete pro bezpečné ukládání, manipulaci, přepravu a odstranění chemikálie.

Obdržíte-li s dodávkou chemikálie i bezpečnostní list, vždy jej založte – udržujte tyto listy aktuální.

Získání bezpečnostního listu

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

1. Otevřete stránku www.lifetechnologies.com, zvolte **Support** (Technická podpora), poté zvolte **MSDS**.
2. V poli hledání zadejte název chemikálie, katalogové číslo nebo další informaci z bezpečnostního listu, který vás zajímá. Zvolte jazyk, klikněte na **Search** (Hledat).
3. Zvolte dokument, který vás zajímá, klikněte pravým tlačítkem myši na jeho název a zvolte jednu z následujících možností:
 - **Open** – Otevření dokumentu
 - **Print Target** – Vytisknutí dokumentu
 - **Save Target As** – Stažení dokumentu ve verzi PDF do zvoleného adresáře

Poznámka: Bezpečnostní listy k chemikáliím nedodávaných společností Applied Biosystems získáte u jejich dodavatelů.

Bezpečná manipulace s chemickým odpadem

Výstraha – Chemické riziko



VAROVÁNÍ! NEBEZPEČNÝ ODPAD. Při manipulaci s nebezpečným odpadem a při jeho odstraňování se řiďte pokyny v bezpečnostním listu a místními předpisy.



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



VÝSTRAHA! RIZIKO UCHOVÁVÁNÍ CHEMIKÁLIÍ. Nikdy neuchovávejte odpad ve skleněných nádobách kvůli možnosti jejich rozbití. Láhve na reagenty a odpad se mohou rozbit a vytéct. Každou odpadní láhev je zapotřebí umístit do bezpečnostního polyetylenového 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 shromáždění. 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 státními předpisy.

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

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

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

Bezpečná manipulace s biologickým odpadem

Biohazard



VÝSTRAHA! 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 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; bmbi.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).
- Pravidla práce s nebezpečným infekčním odpadem platná ve vaší společnosti/instituci.
- Další informace týkající se biologického rizika naleznete na www.cdc.gov.

V Evropské unii:

Dodržujte pokyny místně platných předpisů týkajících se biologického rizika a pokynů Světové zdravotnické organizace (WHO), příručka Biobezpečnost, třetí vydání http://www.who.int/csr/resources/publications/bioBezpecnost/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/



Bezpečnostní výstrahy

Obecné výstrahy pro všechny chemikálie

Zabraňte kontaktu s kůží, očima, používejte ochranný oděv. Přečtěte si bezpečnostní list a dodržujte pokyny. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.

Obecné výstrahy pro přístroje



VÝSTRAHA! Čisticí prostředky používejte pouze v souladu s pokyny v tomto manuálu. Použití jiných čisticích prostředků může ovlivnit fungování přístroje. V případě dotazů kontaktujte místní zastoupení společnosti Life Technologies.



VÝSTRAHA! V přístroji používejte pouze halogenové žárovky 12 V, 75 W.

Specifické výstrahy pro přístroje



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ POŽÁRU. Aby nedošlo k požáru, používejte pouze pojistky shodného typu jako ty originálně instalované v přístroji.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Nezvedejte přístroj ani další těžké předměty, pokud nejste poučeni o tom, jak to máte provádět. Nesprávný postup zvedání může způsobit bolestivé a někdy trvalé poranění zad. Pro zvedání přístroje QuantStudio™ 12K Flex jsou zapotřebí nejméně dvě osoby



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



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Diody v přístroji QuantStudio™ 12K Flex jsou horké! Nechte diodu vychladnout alespoň 15 minut předtím, než ji vyjmete, a při manipulaci s ní používejte rukavice bez pudru.





VÝSTRAHA! 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.



VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ. Při manipulaci s diodou používejte jednorázové rukavice bez pudru, prodloužíte tím její životnost.

Související dokumentace

Spolu s přístrojem jsou dodávány následující související dokumenty:

Dokument	Kat. č..	Popis
Real-Time PCR system Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Multi-Well Plates and Array Card Experiments User Guide	4470050	Obsahuje pět samostatných brožur popisujících šest typů experimentů, které lze provádět na přístroji QuantStudio™ 12K Flex Jedná se o kvantifikaci pomocí standardní křivky, relativní standardní křivky a metody komparativní CT, genotypizaci, testu na přítomnost/nepřítomnost a křivky tání. Slouží jako: <ul style="list-style-type: none"> • Návod, využívá vzorové experimenty instalované spolu s programem QuantStudio™ 12K Flex. • Návod pro vaše vlastní experimenty. Pro osoby provádějící experimenty na přístroji QuantStudio™ 12K Flex.
Real-Time PCR system Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Quick Reference Guide	4470688	Popisuje jak instalovat a provádět údržbu systému QuantStudio™ 12K Flex. Pro osoby zodpovědné za instalaci a údržbu systému QuantStudio™ 12K Flex.
Real-Time PCR system Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Site Preparation Guide	4470654	Popisuje jak připravit místo instalace systému QuantStudio™ 12K Flex. Pro osoby zodpovědné za přípravu místa instalace systému QuantStudio™ 12K Flex.
Real-Time PCR system Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex Installation Guide	4442662	Popisuje jak instalovat a provádět údržbu systému QuantStudio™ 12K Flex. Pro osoby zodpovědné za instalaci a údržbu systému QuantStudio™ 12K Flex.
QuantStudio™ 12K Flex Software - Návod	Nemá	Popisuje jak používat program QuantStudio™ 12K Flex k: <ul style="list-style-type: none"> • Zadání, spuštění a analýze experimentů pomocí systému QuantStudio™ 12K Flex. • Monitorování a zapojení systému QuantStudio™ 12K Flex do sítě. • Kalibraci systému QuantStudio™ 12K Flex. • Provedení běhu RNáza P. Pro osoby provádějící experimenty na přístroji QuantStudio™ 12K Flex a zodpovědné za jeho údržbu.

Získání informací v nápovědě (Help)

Program QuantStudio™ 12K Flex poskytuje ve svém grafickém rozhraní instrukce k ovládání. Tyto informace jsou dostupné po:

- Kliknutí na ikonu  v nástrojové liště programu QuantStudio™ 12K Flex.
- **Volbě Help > QuantStudio™ 12K Flex Software Help.**
- Stisku klávesy **F1**.

V nápovědě vyhledáte potřebné:

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

Kde získat pomoc

Technickou podporu získáte na stránce <http://www.lifetechnologies.com>. Na stránkách technické podpory můžete:

- Prohledávat často kladené otázky - Frequently asked questions (FAQs)
- Přímou položku dotaz Technické podpore
- Objednat uživatelské dokumenty, 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
- Kontaktovat zákaznické centrum.

Kromě toho zde můžete získat telefonní a faxová čísla všech oddělení Technické podpory a prodejních poboček Applied Biosystems.

Terminologický slovník

AIF	Viz soubor informací o eseji (AIF).
AIX	XML verze souboru AIF. Viz též soubor informací o eseji (AIF).
alela	U diploidních organizmů jedna ze dvou DNA sekvencí v témž lokusu (např. určitý gen), ale umístěná na homologních chromozómech. Dvě alely mohou mít identické sekvence nebo se mohou částečně lišit např. díky bodovým polymorfismům (SNP).
algoritmus pozadí práh (baseline threshold)	Algoritmus pro stanovení CT, fungující na základě odečtu pozadí a definice prahové hodnoty fluorescence v exponenciální fázi kvantifikace.
algoritmus relativního prahu	Algoritmus vypočítávající hodnotu relativního prahu na základě modelovaného průběhu účinnosti amplifikace.
amplifikace	Zmnožení cílového úseku pomocí PCR. Při kvantifikaci se měří fluorescence v průběhu amplifikace a výsledky měření se použijí pro výpočet výsledků. Při genotypování nebo u experimentů typu Ano/Ne lze fluorescenční data naměřená během amplifikace použít při řešení problémů.
amplifikační graf	Zobrazení dat z běhů PCR v reálném čase. Lze zobrazit jako: <ul style="list-style-type: none">• Závislost normalizované fluorescence reportérové barvy po odečtení pozadí (ΔR_n) na počtu cyklů PCR• Závislost normalizované fluorescence reportérové barvy (R_n) na počtu cyklů PCR• Závislost prahového cyklu (CT) na jamce
amplikon	Část DNA amplifikovaná pomocí PCR.
barva cílové sekvence (target color)	V programu se jedná o barvu, již je označena cílová sekvence, a která je použita k její identifikaci ve vyobrazení destičky a v grafech s výsledky.

barva ROX™	Barva dodávaná společností Applied Biosystems, která se používá jako pasivní reference.
biologické replikáty	<p>Reakce obsahující tytéž složky a objemy ale s různými vzorky, které nicméně pochází z téhož biologického zdroje (např. vzorky ze tří myších jedinců stejného kmene nebo samostatně izolované vzorky z téže buněčné linie či tkáně).</p> <p>Pokud se v experimentech používají biologické replikáty, ve studii genové exprese se v záložce Biological Replicates zobrazují výsledky vypočítané na základě různých vzorků, které jsou nicméně pokládány za jednu skupinu (populaci, vlastně jeden vzorek). Pro výpočet variability jednoho biologického replikátu na základě ΔCT (normalizace vůči endogenní kontrole) v singleplexním experimentu pracuje program s různými vzorky jako s nepárovými daty. Individuální příspěvek jednotlivých vzorků spadajících do jednoho biologického replikátu je vyčíslen v záložce Technical Replicates.</p> <p>Viz též technické replikáty.</p>
cílová sekvence (target)	Sekvence nukleové kyseliny, kterou chcete amplifikovat a detekovat.
C_q	Viz cyklus kvantifikace (C_q).
C_T	Viz prahový cyklus (C_T).
C_{RT}	Viz relativní prahový cyklus (C_T).
C_{RT} algoritmus	Viz algoritmus relativního prahu.
čistá barva (pure dye)	Fluorescenční látka používaná ke kalibraci přístroje. Viz systémová barva.
delta Rn (ΔR_n)	Viz normalizovaný signál reportérové barvy po odečtení pozadí (ΔR_n).
dokument experimentu	Elektronický záznam informací o daném experimentu – destička / karta, tzv. metadata (název, čárový kód, komentář), zadání (obsah jamek, definice esejí), metoda (teplotní profil), výsledky, parametry analýzy, výsledky analýzy, záznam sledování změn a další. Dokumenty experimentů mají přípony .eds (experiment document single), .edt (templát), a .edm (multiple – studie).
dotykový displej	Displej přístroje, pomocí kterého jej můžete ovládat.
efektivita amplifikace (EFF%)	Výpočet efektivity PCR amplifikace. Efektivita amplifikace (též účinnost) se počítá na základě sklonu regresní linie standardní křivky. Sklon blízký -3.32 znamená optimální 100% efektivitu PCR amplifikace.

EFF%	Viz efektivita amplifikace (EFF%).
endogenní kontrola	Gen, který slouží k normalizaci rozdílů v koncentraci templátů a variability mezi jednotlivými vzorky nebo běhy.
esej	Reakční mix obsahující primery pro amplifikaci cílové sekvence nebo primery pro amplifikaci cílové sekvence a sondu pro detekci amplifikované molekuly.
experiment	Označení celého procesu provedení běhu na přístroji, zahrnuje zadání, vlastní běh a analýzu. Lze provádět následující typy experimentů: <ul style="list-style-type: none"> • Kvantifikace – standardní křivka • Kvantifikace – relativní standardní křivka • Kvantifikace - komparativní CT ($\Delta\Delta CT$) • Křivka tání • Genotypování • Přítomnost/Nepřítomnost
export	Nástroj programu umožňující exportovat zadání experimentů, výsledky, informace o přístroji a nastavení zabezpečení a sledování změn do tabulkového editoru nebo textového souboru. Můžete upravit přednastavenou definici adresáře, kam se ukládají exportované soubory.
fáze (stage)	Skupina jednoho nebo více kroků v teplotním profilu. Existují různé fáze: inkubace (holding stage, včetně čtení pre-PCR a čtení post-PCR), cyklování (též tzv. fáze amplifikace) a fáze křivky tání.
fáze amplifikace (amplification stage)	Část běhu přístroje kdy dochází k amplifikaci cílové sekvence. V rámci teplotního profilu reakce sestává z kroků denaturace, annealingu primerů a polymerizace, které jsou cyklicky opakovány. Při použití chemismu TaqMan bývá annealing a polymerizace kombinován do jednoho kroku. Při kvantifikaci se měří fluorescence v průběhu amplifikace a výsledky měření se použijí pro výpočet výsledků. Při genotypování nebo u experimentů typu Ano/Ne lze fluorescenční data naměřená během amplifikace použít při řešení problémů. Viz též fáze cyklování.
fáze cyklování	Opakovaná fáze teplotního profilu. Též fáze amplifikace. Viz též fáze amplifikace.
fáze křivky tání (melt curve stage)	Fáze teplotního profilu kdy dochází k pomalému zvyšování teploty, aby mohla být vytvořena křivka tání.

filtr	Kombinace excitačního a emisního filtru zvolená pro váš experiment. Přístroj QuantStudio™ 12K Flex má sadu šesti filtrů a umožňuje detekovat barvy FAM™, NED™, ROX™, SYBR® Green, TAMRA™ a VIC®.
forward primer	Oligonukleotid ohraničující 5' konec amplikonu. Spolu s reverzním primerem se používá při PCR reakci k amplifikaci.
genotypizační experiment	Experiment identifikující známé mutace ve vzorku DNA. Pomocí tohoto experimentu lze určit zda je vzorek homozygotní pro jednu či druhou alelu nebo heterozygotní.
graf alelické diskriminace	Zobrazení výsledků genotypizace získaných během čtení post-PCR (post PCR read). Jedná se o graf závislosti normalizovaného signálu jedné reportérové barvy na normalizovaném signálu druhé reportérové barvy.
housekeepingový (provozní) gen	Gen, který nějakým způsobem participuje v základních buněčných procesech. Může se jednat o vhodnou endogenní kontrolu, stabilitu jeho exprese je však vždy nutné ověřit experimentálně. Viz též endogenní kontrola.
hrubá data (raw data)	Grafický záznam naměřené fluorescence (nenormalizované) v každém optickém filtru pro každý vzorek.
chemismus	Viz reagentie.
chyba	Standardní chyba sklonu regresní přímky standardní křivky. Lze použít pro výpočet intervalu spolehlivosti sklonu (slope). Jelikož ze sklonu se počítá efektivita amplifikace (EFF%), lze na základě chyby vypočítat interval spolehlivosti pro efektivitu amplifikace.
ID eseje (Assay ID)	Identifikační označení esejí společnosti Applied Biosystems.
import	Nástroj programu umožňující importovat zadání informací do destičky nebo nastavení zabezpečení. Do některých knihoven systému lze rovněž importovat údaje.
inhibovaná (blokována – blocked) IPC	U experimentů typu Přítomnost/Nepřítomnost reakce obsahující inhibitor amplifikace IPC (interní pozitivní kontrola). V programu QuantStudio™ 12K Flex se jedná též o úlohu detektoru v jamkách obsahujících inhibitor amplifikace IPC. Viz též negativní kontrola – inhibované jamky IPC.

inkubace (holding stage)

Fáze teplotního profilu kdy je teplota udržována konstantní, může se jednat o více kroků za sebou. Kroky inkubace lze zařadit kvůli aktivaci enzymů, inaktivaci enzymů nebo jako inkubaci reakce.

Instrument Console (Správa přístroje)

Nástroj programu umožňující zobrazit informace o přístrojích v síti. Můžete zde monitorovat stav přístrojů v síti; zobrazit údaje o kalibraci, údržbě a vlastnostech přístrojů a otevírat a zavírat dvířka přístroje.

Instrument Manager (Správce přístroje)

Nástroj programu umožňující zobrazit informace o přístrojích v síti. Můžete zde monitorovat stav přístroje; monitorovat amplifikační grafy a teplotní grafy v reálném čase; zobrazit stav kalibrací, provádět kalibrace a správu souborů včetně stahování dokončených experimentů do vašeho počítače.

interní pozitivní kontrola (IPC)

Používaná u experimentů typu Přítomnost/Nepřítomnost, jedná se o krátkou syntetickou molekulu DNA přidávanou do PCR reakcí. Využívá se k rozlišení skutečně negativních výsledků (to znamená takových, kde není detekována cílová amplifikovaná molekula) a negativních výsledků způsobených inhibitory PCR, nesprávným sesazením reakcí nebo selháním reagentů či přístroje.

IPC

Viz interní pozitivní kontrola (IPC).

IPC blokující činidlo

Látka přidávaná do PCR reakce a bránící amplifikaci interní pozitivní kontroly (IPC).

IPC+

Viz negativní kontrola-IPC jamky.

kalibrace barev

Typ kalibrace, kdy přístroj snímá úroveň fluorescence barevných standardů a informaci o jejich signálu ukládá do kalibračního souboru. Kalibrační soubor je následně používán během experimentů pro rozlišení příspěvku jedné každé použité fluorescenční barvy v celkovém naměřeném fluorescenčním signálu.

kalibrace normalizace

Typ kalibrace, kdy přístroj snímá úroveň fluorescence normalizačních standardů a informaci ukládá do kalibračního souboru. Kalibrační soubor je následně používán při porovnání dat z více přístrojů, analyzovaných v rámci jedné studie.

kalibrace pozadí

Typ kalibrace, kdy přístroj snímá úroveň fluorescence pozadí na základě destičky pro kalibraci pozadí a informaci o signálu pozadí ukládá do kalibračního souboru. Kalibrační soubor je následně používán během experimentů pro odstranění signálu pozadí z výsledků.

kalibrace ROI (region of interest)

Typ kalibrace, kdy přístroj mapuje pozice jamek v bloku na vzorky. Program používá výsledek kalibrace ROI k tomu, aby správně přiřadil detekovaný nárůst fluorescence konkrétní jamce destičky. Pro každý filtr se musí toto poziční mapování provést samostatně, aby byly reflektovány drobné rozdíly v optické dráze systému.

kalibrace uniformity

Typ kalibrace, kdy přístroj měří uniformitu bloku na vzorky. Výsledkem kalibrace jsou data, která pomáhají programu QuantStudio™ 12K Flex kompenzovat vliv fyzikálních parametrů filtrů systému QuantStudio™ 12K Flex na zaznamenané výsledky.

kalibrátor

Viz referenční vzorek.

Knihovna barev (Dye Library)

V programu definovaný soubor fluorescenčních barev použitelných v experimentech. Do knihovny lze přidat vlastní barvy, ale nelze z ní odstranit systémové barvy. Před použitím barvy se ujistěte v okně Instrument Console (Správa přístroje), že kalibrace dané barvy je aktuální.

komparativní CT metoda (metoda ddCt)

Metoda stanovující relativní množství cílové sekvence ve vzorku. Program určí množství cílové sekvence a endogenní kontroly ve vzorku a v referenčním vzorku. Endogenní kontrola slouží k normalizaci měření. Program určí relativní množství cílové sekvence ve vzorku srovnáním tohoto vzorku s referenčním vzorkem.

krok (step)

Součást teplotního profilu, pro každý krok lze nastavit rychlost rampy, teplotu inkubace, dobu inkubace a můžete definovat, kdy má dojít k měření dat. Pro fáze cyklování můžete též použít funkci AutoDelta.

křivka tání

Záznam fluorescence během pomalé denaturace produktů PCR amplifikace. Píky v křivce tání určují teplotu tání (T_m) cílové sekvence a mohou signalizovat případné nespecifické produkty v reakci. Graficky je zobrazena jako závislost normalizovaného signálu reportérové barvy (R_n) nebo jeho derivaci na teplotě. Též nazývána disociační křivka.

kvantifikační cyklus (C_q)

PCR cyklus používaný pro kvantifikaci podle standardu Real-time PCR Data Markup Language (RDML). CT a CRT jsou algoritmy pro výpočet C_q .

metoda běhu

Definice reakčního objemu a teplotního profilu pro běh přístroje. Určuje teplotu, čas, rychlost rampy a fáze měření fluorescence.

metoda relativní standardní křivky

Metoda stanovení relativního množství cílové molekuly ve vzorcích, která bere v úvahu možnou rozdílnou efektivitu amplifikace cílové sekvence a endogenní kontroly. Používáte-li tuto metodu, měří program amplifikaci cílové sekvence a endogenní kontroly v neznámých vzorcích, v referenčním vzorku a v ředících řadách standardů (např. cDNA). Měření jsou normalizována pomocí endogenní kontroly. Výsledky získané pomocí ředících řad standardů jsou použity k vytvoření standardních křivek. Pomocí standardních křivek pak program vypočítá množství cílové sekvence ve vzorcích a v referenčním vzorku. Následně program vypočítá relativní množství cílové sekvence v každém vzorku porovnáním s referenčním vzorkem.

metoda standardní křivky

Metoda stanovení absolutního množství cílové sekvence ve vzorcích. Používáte-li tuto metodu, měří program amplifikaci cílové sekvence ve vzorcích a v ředící řadě standardů. Výsledky z ředící řady standardů jsou použity k vytvoření standardní křivky. Na základě standardní křivky pak program vypočítá absolutní množství cílové sekvence ve vzorcích. Viz též standard a standardní křivka.

množství

Množství cílové molekuly ve vzorcích. Absolutní množství může být vyjádřeno v počtu kopií, hmotnosti, molaritě nebo jako virová nálož. Relativní množství odpovídá násobku mezi normalizovaným množstvím cílové molekuly ve vzorku a normalizovaným množstvím cílové molekuly v referenčním vzorku.

množství standardu

Známé množství v PCR reakci. Při kvantifikaci metodou standardní křivky se jedná o množství templátu ve standardech. V programu lze toto množství definovat jako hmotnost, počet kopií, virová nálož nebo další jednotky.

multikomponentní graf Záznam signálu jedné každé barvy během PCR amplifikace.

náhled destičky (plate layout)

Grafické vyobrazení jamek a jejich obsahu. Počet řádků a sloupců závisí na použitém typu bloku na vzorky. V programu můžete náhled destičky použít jako nástroj pro definování obsahu jamek, zobrazení obsahu jamek a zobrazení výsledků. Náhled destičky lze vytisknout, zahrnout do zprávy o výsledcích, exportovat a uložit jako diapositiv pro prezentaci.

název experimentu

Zadáva se během zadání experimentu, slouží k identifikaci experimentu.

nefluorescenční zhášec – minor groove binder (NFQ-MGB)

Molekuly na 3' konci sond TaqMan®. Dokud je sonda intaktní, nefluorescenční zhášec (NFQ) brání emisi fluorescence reportérové barvy. Jelikož NFQ neemituje fluorescenční záření, je fluorescence pozadí nižší, což vede k vyšší přesnosti kvantifikace. Minor groove binder (MGB) – protein vázící se do malého žlábků DNA zvyšuje teplotu tání (T_m) aniž je zapotřebí zvýšit délku sondy. Tím je umožněno navrhovat kratší sondy.

negativní kontrola (NC) Úloha detektoru pro jamky obsahující namísto vzorku vodu nebo pufr. V jamkách negativní kontroly by nemělo dojít k žádné amplifikaci. Dříve nazývaná netemplátová kontrola (NTC).

netemplátová kontrola (NTC) Viz negativní kontrola (NC).

neznámý (unknown) Typ úlohy používaný v programu pro jamky obsahující testované vzorky. Při kvantifikaci se jedná o úlohu pro jamky obsahující vzorky s neznámým množstvím cílové sekvence. Při genotypování se jedná o úlohu pro jamky obsahující vzorek o neznámém genotypu. Při provádění experimentů typu přítomnost/nepřítomnost se jedná o úlohu pro jamky obsahující vzorek v němž je testována přítomnost cílové sekvence. Při provádění analýzy křivky tání se jedná o úlohu pro jamky obsahující vzorek s neznámým profilem křivky tání.

normalizované množství

Buď průměrná hodnota CT cílového genu mínus průměrná hodnota CT endogenní kontroly (experimenty typu komparativní CT), nebo průměrné množství cílového genu vydělené průměrným množstvím endogenní kontroly (experimenty relativní standardní křivky).

normalizované průměrné množství

Ekvivalent průměrné hodnoty ΔCT z experimentu typu komparativní Ct používaný v experimentech typu relativní standardní křivka (počítaný jako geometrický průměr).

normalizovaný signál reportérové barvy (Rn)

Fluorescenční signál reportérové barvy normalizovaný na fluorescenční signál pasivní reference (na přístrojích Applied Biosystems obvykle barva ROX).

normalizovaný signál reportérové barvy po odečtení pozadí (ΔRn)

V experimentech monitorovaných v reálném čase - násobek normalizované fluorescence reportérové barvy v každém cyklu PCR amplifikace. V grafu závislosti ΔRn na cyklu se ΔRn počítá jako:

$$\Delta Rn (\text{cyklus}) = Rn (\text{cyklus}) - Rn (\text{pozadí}), \text{ kde } Rn = \text{normalizovaný signál reportérové barvy.}$$

Viz též normalizovaný signál reportérové barvy (Rn).

odlehlý bod (outlier)

Významně se lišící výsledek (např. CT) měření určitého parametru, např. jeden lišící se vzorek ze skupiny replikátů.

odmítnutí jamky (reject well)	Krok, kterým program během analýzy výsledků vyřadí jednu nebo více jamek z analýzy, poněvadž nesplnila/y některé z kritérií kvality (je označena výstražnou vlaječkou – tzv. flag).
pasivní reference	Barva generující fluorescenční signál nezávisle na PCR amplifikaci, v každé reakci má konstantní koncentraci. Jelikož signál pasivní reference by měl být srovnatelný ve všech jamkách, používá se k normalizaci signálu reportérové barvy s cílem eliminace fluktuací fluorescence, které nesouvisí s průběhem PCR, ale jsou způsobeny drobnými objemovými rozdíly mezi jednotlivými jamkami. Normalizace vůči pasivní referenci obvykle zvyšuje přesnost výsledků při hodnocení technických replikátů.
post-PCR čtení	Část běhu po amplifikaci (v genotypizační experimentech a v experimentech typu přítomnost/nepřítomnost). V genotypizační experimentech jsou získaná data zobrazována v grafu alelické diskriminace a slouží k odečtu alel. V experimentech typu přítomnost/nepřítomnost jsou získaná data zobrazována v grafu přítomnost/nepřítomnost a slouží k analýze výsledků.
pozadí (baseline)	V terminologii amplifikačního grafu: fluorescence vzorku ve vymezeném rozsahu cyklů předtím, než je detekovatelná amplifikace produktu. Rozsah lze nastavit ručně nebo automaticky; podle eseje nebo vzorek po vzorku.
pozitivní kontrola	V genotypovacích experimentech a experimentech typu Přítomnost/Nepřítomnost se jedná o DNA vzorek o známém genotypu, homozygotní nebo heterozygotní. V programu se jedná o úlohu SNP eseje v jamce obsahující vzorek o známém genotypu.
práh (threshold)	Určitá úroveň fluorescence používaná pro stanovení hodnot CT při provádění PCR v reálném čase. Nastavuje se výše než je pozadí (baseline) a dostatečně nízko, aby byl položen ve fázi exponenciální amplifikace. Pro algoritmus typu pozadí – práh (baseline threshold) Lze definovat automaticky nebo nastavit manuálně. Při provádění experimentů typu Přítomnost/Nepřítomnost se jedná o úroveň fluorescence, nad níž program vyhodnotí výsledek rozhodnutím Přítomnost.
prahový cyklus (threshold cycle - CT)	Cyklus PCR, v němž fluorescence protne práh v amplifikačním grafu.
pre-PCR čtení	Část běhu před amplifikací (v genotypizační experimentech a v experimentech typu přítomnost/nepřítomnost). Volitelná ale doporučená. Získaná data slouží k normalizaci dat, získaných v post-PCR čtení.
průsečík s osou y (y-intercept)	Hodnota na ose y – průsečík regresní linie standardní křivky a osy y. Průsečík s osou y indikuje hodnotu prahového cyklu (CT) pro vzorek s množstvím rovným 1.

přechodná oblast tání (melting transition)	V experimentech křivky tání se jedná o oblast před a za teplotou tání (T_m).
R2 parametr	Regresní koeficient vypočítaný z regresní linie standardní křivky. Parametr R2 indikuje míru vzájemné shody regresní linie standardní křivky a jednotlivých hodnot CT standardů. Hodnota 1.00 indikuje perfektní shodu regresní linie a hodnot CT standardů.
ramp	Fáze amplifikačního cyklu, kdy se mění teplota, definované ve stupních Celsia / sec. Lze zvolit standardní a rychlý (fast) režim.
reakční směs	Roztok obsahující všechny komponenty potřebné pro provedení PCR, vyjma templátu (vzorek, standard nebo kontrola). Rovněž nazývaná "PCR koktejl".
reagencie	Součásti PCR reakce používané k amplifikaci cílové sekvence a k detekci amplifikace.
reagencie SYBR® Green	Součásti PCR reakce – dva primery pro amplifikaci vybraného úseku DNA a barvivo SYBR® Green pro detekci dvouřetězcové DNA.
reagencie TaqMan®	Součásti PCR reakce – primery pro amplifikaci vybraného úseku DNA a sonda TaqMan® pro detekci amplifikace cílové sekvence.
real-time PCR	Proces měření fluorescence během PCR. Data získaná během real-time PCR (PCR monitorovaná v reálném čase) lze použít pro výpočet výsledků kvantifikace nebo řešení případných problémů při genotypování nebo při provádění experimentů typu Přítomnost/Nepřítomnost.
Real-time PCR Data Markup Language (RDML)	Formát dat doporučený na základě tzv. MIQE (Minimum Information for Publication for Quantitative Real Time Experiments).
reference	Při provádění experimentů HRM se jedná o křivku tání, kterou uživatel zvolí a která je v tzv. rozdílovém zobrazení (difference plot) použita pro porovnání výsledků. Program zobrazuje ostatní data jako křivky vyjadřující rozdíl fluorescence mezi porovnávaným vzorkem a referencí.
referenční vzorek	Používá se při kvantifikaci metodou relativní standardní křivky a komparativní CT ($\Delta\Delta CT$) metodou, jedná se o vzorek používaný pro srovnání výsledků relativní kvantifikaci. Rovněž nazývaný kalibrátor.

refSNP ID	Identifikátor referenčního SNP (refSNP). Vytvářený databází Single Nucleotide Polymorphism Database of Nucleotide Sequence Variation (dbSNP) v National Center for Biotechnology Information (NCBI). Identifikátor refSNP ID lze použít k prohledávání SNP genotypovacích esejí v obchodě Applied Biosystems. Rovněž nazývaný rs číslo (rs number).
regresní koeficienty	Parametry vypočítané z regresní linie standardních křivek, zahrnuje R ² , sklon (slope) a průsečík s osou y (y-intercept). Lze je použít ke zhodnocení kvality výsledků získaných za pomoci standardů. Viz též standardní křivka.
regresní linie	Používá se při kvantifikaci pomocí standardní křivky a metodou relativní standardní křivky, jedná se o přímku proloženou standardní křivkou. Vzorec regresní linie: $CT = m [\log (Qty)] + b$ <p>kde m je sklon, b je průsečík s osou y (y-intercept) a Qty je množství standardu. Viz též regresní koeficienty.</p>
relativní prahový cyklus	Číslo cyklu definované pomocí algoritmu relativního prahu (na základě modelované účinnosti amplifikace).
replikáty	Celkový počet identických reakcí obsahujících tytéž komponenty a totožné objemy.
reportér	Fluorescenční barva používaná k detekci amplifikace. Používáte-li reagentie TaqMan®, je reportérová barva připojena k 5' konci sondy. Používáte-li reagentie SYBR® Green, je reportérovou barvou barvivo SYBR® Green, které se stejně jako barvy používané při analýze HRM váže přímo na DNA.
reverzní primer	Oligonukleotid ohraničující 3' konec amplikonu. Spolu s forward primerem se používá při PCR reakci k amplifikaci.
reverzní transkriptáza	Enzym přepisující RNA do cDNA.
Rn	Viz normalizovaný signál reportérové barvy (Rn).
rs číslo	Viz refSNP ID.
ředící řada standardů	Používá se při kvantifikaci metodou standardní křivky a relativní standardní křivky, jedná se o sadu standardů obsahujících templát v určitém rozsahu množství. Přípravuje se sériovým ředěním standardů. Např. koncentrovaný zásobní roztok standardu je použit k přípravě prvního ředění, první ředění je použito k přípravě druhého ředění atd. Program vypočítá objemy potřebné k přípravě ředící série standardů ze znalosti počtu ředění, počtu replikátů standardů, výchozího množství, sériového faktoru a koncentrace zásobního roztoku standardu. Viz též standardní křivka.

sériový faktor	V programu se jedná o číselný parametr, označující ředění standardů. Spolu s definicí výchozího množství se používá k výpočtu množství jednotlivých standardů. Např. je-li standardní křivka definována pomocí sériového faktoru 1:10 nebo 10 \times , rozdíl mezi dvěma sousedními body křivky je desetinásobný.
sklon	Regresní koeficient vypočítaný z regresní linie standardní křivky. Je mírou efektivity PCR amplifikace pro danou esej. Sklon -3.32 znamená 100% efektivitu amplifikace. Viz též efektivita amplifikace (EFF%) a regresní linie.
skupina replikátů	Uživatelé definované seskupení vzorků. Může se jednat o soubor identických reakcí v témže experimentu.
směs primerů	Směs primerů forward a reverzní určená k amplifikaci cílové sekvence.
směs primery/sonda	Směs primerů forward a reverzní a sondy TaqMan® určená k amplifikaci a detekci cílové sekvence.
soubor informací o esejí (assay information file - AIF)	Datový soubor na CD dodávaný s každou objednanou esejí. Obsahuje detailní údaje o esejích v dodávce (koncentrace sejí, reportéry a zhášeče, katalogová čísla a čísla šarží, identifikační čísla spotřebního materiálu). Název souboru obsahuje číslo z čárového kódu destičky. Jedná se o soubor typu *.txt (data oddělená tabulátorem).
soubor Plate setup	Soubor (.txt, .csv, .xml nebo .sds) obsahující informace o zadání experimentu jako jsou čísla jamek, názvy vzorků, barvy vzorků, názvy cílových sekvencí, barvy a další.
soubor Sample definition	Soubor formátu *.txt nebo *.csv, obsahující informace o čísle jamky, názvu vzorku a dalších vlastnostech vzorku. Jednotlivé údaje jsou odděleny tabulátory.
standard	Vzorek obsahující známé množství templátu, v různých ředěních se amplifikuje spolu s neznámými vzorky. Standardy se používají k vytváření standardních křivek. Viz též standardní křivka.
standardní chyba (SE) normalizovaného množství	Ekvivalent hodnoty ΔCT SE z experimentu typu komparativní Ct používaný v experimentech typu relativní standardní křivka (počítaný jako geometrický průměr standardní chyby).
standardní křivka	Používá se při kvantifikaci metodou standardní křivky a relativní standardní křivky: <ul style="list-style-type: none"> • Přímka proložená v grafu závislosti hodnot CT, získaných na základě kvantifikace standardů, na množství templátu standardů. Viz též regresní linie.

- Soubor standardů o určitém rozsahu koncentrace templátu. Standardní křivka je definována počtem bodů v ředící řadě, počtem replikátů standardů, výchozím množstvím a sériovým faktorem.

teplota tání (T_m) V experimentech křivky tání se jedná o teplotu, při níž je 50% DNA v dvouřetězcové formě a 50% DNA je disociováno do jednořetězcové DNA. T_m se zobrazí v grafickém záznamu křivky tání.

typ experimentu Typ prováděného experimentu:

- Kvantifikace – standardní křivka
- Kvantifikace – relativní standardní křivka
- Kvantifikace - komparativní CT ($\Delta\Delta CT$)
- Křivka tání
- Genotypování
- Přítomnost/Nepřítomnost

Volbou typu ovlivníte možnosti jeho zadání, spuštění a analýzy.

systémová barva Barva dodávaná společností Applied Biosystems, pro kterou je systém QuantStudio™ 12K Flex prekalibrován. Před použitím systémových barev ve vašich experimentech se v okně Instrument Console (Správa údržby) ujistěte, že kalibrace barev je platná.

Systémové barvy jsou:

- FAM™
- ROX™
- NED™
- SYBR® Green
- TAMRA™
- VIC®

technické replikáty Jamky obsahující identické komponenty včetně vzorku; důležité pro určení přesnosti.

templát Nukleová kyselina přidávaná do PCR reakce.

templát (soubor) Uživatelem vytvořený soubor obsahující informace o zadání experimentu (typ experimentu, názvy vzorků, názvy cílových sekvencí a teplotní profil). Používá se jako výchozí pro zadání nových experimentů. Soubory templátů mají příponu .edt.



teplotní graf V programu se jedná o zobrazení záznamu teploty vyhřívání víka a bloku na vzorky během běhu.

teplotní profil	Definice teplot, času, rampu a měření fluorescence dat pro všechny kroky a fáze běhu přístroje.
úloha (task)	<p>Typ reakce prováděné v dané jamce. Používají se tyto různé úlohy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Unknown – Neznámý vzorek • Negative Control – Negativní kontrola • Standard (při kvantifikaci pomocí standardní křivky a relativní standardní křivky) • Pozitivní kontrola (při genotypování) • Interní pozitivní kontrola - IPC (při experimentech typu Přítomnost/Nepřítomnost) • Inhibovaná IPC - Blocked IPC (při experimentech typu Přítomnost/Nepřítomnost)
vlaječka (flag)	Nástroj kontroly kvality (QC) používaný programem při analýze výsledků a indikující možný problém v dané reakci. Např. v případě, že nedojde k amplifikaci v dané jamce, může se zobrazit vlaječka. Vlaječky signalizující možné problémy se zobrazují v záložce Kontrola kvality (Quality Control), ve vyobrazení destičky, v tabulce jamek a na obrazovce QC Summary (Přehled kontroly kvality).
vlastní barva	Barva, která není v přístroji kalibrována při jeho instalaci. Při práci se systémem QuantStudio™ 12K Flex lze používat vlastní barvy za předpokladu, že je systém schopen je excitovat a detekovat jejich emisi. Používáte-li vlastní barvy, měli byste je přidat do knihovny barev (Dye Library) a provést kalibraci vlastní barvy.
výchozí množství (starting quantity)	Definujete-li v programu standardní křivku, odpovídá výchozí množství nejvyššímu množství.
vynechání jamky (omit well)	Krok, kterým vynecháte jednu nebo více jamek z analýzy. Data z vynechaných jamek nejsou nijak analyzována a neobsahují tedy žádné výsledky. Jamky lze do analýzy opět zahrnout, údaje z nich nejsou tedy definitivně ztraceny.
vzorek	Templát, který testujete.
zabezpečení, sledování změn (audit) a elektronický podpis	<p>Volitelný modul programu, který umožňuje:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zabezpečení systému – Kontrolovaný přístup uživatelů k programu. Je přednastaven jeden účet správce (Administrator) a můžete definovat další uživatelské účty a oprávnění.

- Sledování změn (Audit) – Sledování změn prováděných v položkách knihoven, sledování kroků prováděných uživateli a změn v nastavení vlastního zabezpečení a sledování změn. Určité kroky program sleduje automaticky na pozadí. Můžete definovat, které další kroky mají být sledovány a specifikovat režim sledování. Můžete získávat zprávy o provedených změnách.
- Elektronický podpis (eSignature) – Omezený přístup uživatelů k určitým funkcím programu (vyžaduje zadání uživatelského jména a hesla). Můžete zvolit, které funkce programu jsou takto chráněny a jakým způsobem mají být zpřístupněny. Používají-li tento nástroj autorizované osoby, jsou tyto kroky právně závazné.

záznam fluorescence (Data Collection)

Proces, kdy přístroj zaznamenává fluorescenci každé jamky během běhu. Zapnutí a vypnutí záznamu fluorescence je indikováno ikonou v teplotním profilu v programu:

- Záznam zapnut: 
- Záznam vypnut: 

zhášec

Molekula na 3' konci sondy typu TaqMan®, která absorbuje (zháší) fluorescenci reportérové barvy na 5' konci sondy, dokud je sonda nedegradovaná. Při použití reagensů typu TaqMan® lze použít nefluorescenční zhášec (NFQ) v kombinaci s MGB (minor groove binder). Při použití reagensů SYBR® Green se sonda a tedy ani zhášec nepoužívá.

Rejstřík

A

- adaptér na destičku 24
 - instalace 123
- aktualizace
 - firmware 116, 166
 - operační systém 115
 - servisní balíčky 115
 - software 116
- aktivace, licenční klíče 117
- amplifikace 253
- amplifikační graf 253
- amplikon 253
- APIPA 126
- argumenty
 - export výsledků 196
 - příkazová řádka 194
- archivace
 - experimenty 110
 - nastavení přístroje 110, 164
 - záznamy o sledování změn 148
- Autodiscovery, přístroj 170
- automatické nastavení pozadí (baseline) 254
- automatické nastavení prahu (threshold) 254

B

- barvy
 - systémové 19, 53, 91
 - vlastní 19, 54
- bezpečnost
 - biologické riziko 248
 - čtečka čárových kódů 243
 - elektrická síť 242
 - ergonomie 243
 - chemické látky 245
 - chemický odpad 246
 - nástroj pro zaslepování karet 37
 - před použitím přístroje 241
- bezpečnostní listy 14

- popis 246
- získání 246, 252
- biologický odpad 248
- blok na vzorky 24
 - dekontaminace 111
 - instalace 119
 - manipulace 111, 119

Č

- čárové kódy 26
- čistá barva 261
- čtečka čárových kódů 26, 27

D

- data
 - provedení kalibrace barev 54, 91
 - provedení kalibrace normalizace 59
 - provedení kalibrace pozadí 45, 84
 - provedení kalibrace ROI 41
 - provedení kalibrace uniformity 49, 87
 - přenos do/z přístroje 133, 161
- datum/čas, nastavení 168
- dekontaminace
 - blok na vzorky 111
 - identifikace kontaminujících látek 80, 107
- dekontaminace bloku na vzorky 111
 - identifikace 80, 107
- destička
 - provedení kalibrace barev 55
 - provedení kalibrace pozadí 46
 - provedení kalibrace normalizace 59
 - provedení kalibrace ROI 42, 50
 - pokyny k přípravě 32
 - RNáza P přístroj ověření funkčnosti 65
- destičky, kalibrace 32
- DHCP 126
- DNS 126
- dokumentace související 251
- doporučená frekvence údržby 36, 82
- dotykový displej, přístroj 24, 158
- držák destičky 97
- DŮLEŽITÉ, popis 14
- dvířka
 - otevření 24
 - boční 24

E

- elektronický podpis 155
- elektronický podpis, povolení 151
- EMC standardy 244
- ergonomie 243
- experiment 257
 - název 257
 - přenos do/z přístroje 133, 161
 - spuštění z dotykového displeje 160
 - typ 18, 257
 - vytvoření z dotykového displeje 159
- export 257
 - formát 7900 223
 - formát QuantStudio 209
 - formát RDML 228
 - nastavení elektronického podpisu 153
 - nastavení sledování změn 153
 - nastavení uživatelského účtu 153
 - nastavení zabezpečení 153
 - záznamy o sledování změn 149

F

- fáze amplifikace 253
- filtr 258
- firmware, aktualizace 116, 166
- fluorescence pozadí 45
- formát
 - exportu 7900 223
 - exportu QuantStudio 209
 - exportu RDML 228
 - soubor Assay information 207
 - soubor Čárový kód 207
 - soubor zadání destičky 201
 - zadání 206
- formáty exportu 208
 - soubor 7900 223
 - soubor QuantStudio 209
 - soubor RDML 228
- forward primer 258

G

- genotypizační experiment 258
- graf alelické diskriminace 253

H

heslo

- expirace 139
- omezení 139
- správce 138
- změna 154

hmotnost přístroje 20

CH

chemické látky 245

chemický odpad, bezpečnost 246, 247

I

ID eseje 254

ikona přístroje 168

iLink PRO Software 31

import 258

- nastavení sledování změn 153
- uživatelský účet - nastavení 153
- zabezpečení nastavení 153

instalace

- adaptér destičky 119, 123
- aktualizace firmware 116
- aktualizace operačního systému 115
- aktualizace software 116
- vyhřívané víko 121
- licenční klíče 117
- pojistky přístroje 114
- síť 126
- software 30

IP nastavení, síťový port 170

IPv4 link-local (IPv4LL) 126

J

jak identifikovat kontaminaci 80, 107

K

kalibrace

- barev 53, 90
- destičky 32
- karty 32, 37
- normalizace 59
- plaketa 83

- pozadí 45, 84
- připomenutí, zapnutí/vypnutí 134
- ROI 41
- soupravy 233
- spotřební materiál 32, 236
- vlastní barva 184
- uniformita 49, 87

karta

- kalibrace 32
- ověření funkčnosti přístroje 37, 66
- pro kalibraci pozadí, vytvoření 182
- příprava na kalibraci 37

karta RNáza P 64, 233

kategorie přepětí 242

kompatibilita, software třetích stran 31

kontaminace

L

laborant, úloha uživatele 143

laser, bezpečnost

- čtečka čárových kódů 243
- požadavky 243

laser, zatřídění 243

LED 24

License Central 117

licence, software 117

Life Technologies, technická podpora 252

log, přístroj 173

M

mDNS 126

Microsoft Data Access Components (MDAC) 31

Microsoft .NET Framework 31

Microsoft SQL 2005 Manager 31

Microsoft VBA Service Packs 31

monitorování přístroje prostřednictvím sítě 126

N

nakládání s odpady, pokyny 247

nastavení

- datum/čas 168
- název přístroje 168
- síť 170
- údržba, připomenutí 169

- zabezpečení přístroje 172
- nastavení přístroje 110, 164
- nastavení systému, historie 147
 - zobrazení 146, 149, 152
- nástroj pro zaslepování karet 37, 236
- název přístroje 168
- NEBEZPEČÍ, popis 14
- NED™ 19, 53

O

- objednání
 - jak objednávat 230
 - kalibrační soupravy a soupravy pro ověření funkčnosti 233
 - ze softwaru 231
 - z webu 231
- obnovení
 - nastavení přístroje 164
 - záznamy o sledování změn 148
- odlehlé body, vynechání 68
- OpenArray AccuFill systém, inicializace 97
- OpenArray kalibrační pouzdra, manipulace 91
- OpenArray destička, plnění 99
- OpenArray destička RNáza P 95
- operační systém, aktualizace 115
- oprávnění, uživatelské účty 143, 154
- optická kalibrace
 - provedení 51
 - řešení problémů 73
- ověření funkčnosti
 - destička 65
 - destička OpenArray 96
 - karty 37, 66
 - provedení 68, 103
 - řešení problémů 77, 105
 - soupravy 233
 - spotřební materiál 236
- ovládání přístroje připojeného do sítě 126

P

- pevný disk - údržba 110
- plaketa, kalibrace 83
- plnění destičky OpenArray 99
- plnění karty 37
 - ověření funkčnosti přístroje 37, 66
- počítač

- experimenty, údržba 110
- pevné disky, údržba 110
- požadavky 30
- vzdálené monitorování 130, 132
- pojistky, kryt 25, 28
- pojistky, výměna 114
- pokyny
 - destička TaqMan OpenArray 95
 - kalibrace OpenArray 91
 - manipulace s chemickým odpadem 246
 - manipulace s chemikáliemi 245
 - práce v síti 128
 - příprava spotřebního materiálu 32
 - vzdálené monitorování 132
- požadavky
 - elektrická síť 22
 - environmentální 22
 - hmotnost 20
 - počítač 30
 - SMTP server 134
 - ventilace 21
 - vzdálenost 21
- podpis 155
- pohotovostní režim 176
- pokyny 245, 246, 247
 - laser 243
 - opakované pohyby 243
 - ovládání přístroje 241
 - pohyblivé součásti 242
 - standardy 244
 - ultrafialové záření 242
 - zvedání a přemísťování 180, 241
- port
 - RS232 (sériový) 25, 28
 - síťový 25, 126, 129
 - USB 25
- požadavky na elektrickou síť 22
- provedení
 - provedení kalibrace barev 56, 91
 - provedení kalibrace normalizace 60
 - provedení kalibrace pozadí 47
 - provedení kalibrace ROI 43
 - provedení kalibrace uniformity 51
 - optická kalibrace 51
 - RNáza P - ověření funkčnosti přístroje 68, 103
- provedení kalibrace barev 53, 90, 256
 - data 54, 91

- kdy provádět 53, 90
- provedení 56, 91
- řešení problémů 75
- vyhodnocení spekter 55
- provedení kalibrace normalizace 59
 - data 59
 - kdy provádět 59
 - provedení 60
 - řešení problémů 76
- provedení kalibrace pozadí 45, 84, 254
 - data 45, 84
 - fluorescence pozadí 45
 - kdy provádět 45, 84
 - provedení 47
 - řešení problémů 73
- provedení kalibrace ROI 41
 - data 41
 - kdy provádět 41
 - provedení 43
 - příprava 42
 - řešení problémů 72
- provedení kalibrace uniformity 49, 87, 268
 - data 49, 87
 - kdy provádět 49, 87
 - provedení 51
 - řešení problémů 74
- přenos dat z/do přístroje 133, 162
- přihlášení 154
- příkazová řádka
 - použití 193
 - syntaxe a argumenty 194, 196
- připojení 23
- příslušenství 232
 - nastavení účtu 139
- příprava
 - destičky pro ověření funkčnosti přístroje 65, 96
 - destičky pro provedení kalibrace barev 55
 - destičky pro provedení kalibrace normalizace 59
 - destičky pro provedení kalibrace pozadí 46
 - destičky pro provedení kalibrace ROI 42, 50
 - destičky pro provedení kalibrace vlastní barvy 185
 - karty 37, 66
 - RNáza P 65, 96
- přístroj 18, 24, 25
 - APIPA 126
 - Autodiscovery 170
 - datum/čas - nastavení 168

DHCP 126
dotykový displej 24, 158
experiment RNáza P 63, 95
filtry 19
ikona 168
instalace 180
instalační specifikace 65, 95
IPV4LL 126
log 173
mDNS/DNS 126
monitorování prostřednictvím sítě 126
náčrtek a propojení 23
nastavení 110, 164
nastavení sítě 170
název 168
ověření funkčnosti 37, 65, 66, 96
pohotovostní režim 176
pojistky, výměna 114
práce v síti 126, 129
provedení kalibrace barev 53, 90, 184
provedení kalibrace normalizace 59
provedení kalibrace pozadí 45, 84
provedení kalibrace ROI 41
provedení kalibrace uniformity 49, 87
přemisťování 179
přenos dat 133
příslušenství 232
samočinný test 165
síťový port 126
Smart Monitoring 170
software 30
statická IP adresa 126
statistika 171
údržba 36, 82, 163
údržba, připomenutí 169
uložení 178
ventilace 21
vyhřívání víko, teplota 168
zabezpečení 172
zapnutí/vypnutí 176, 177

R

R2 68
radioaktivní odpad, manipulace 247
RDML export 228
registrace software 117
regulátor napětí 29

- reinstalace přístroje 180
- RNáza P - ověření funkčnosti přístroje 63, 95
 - kdy provádět 63, 95
 - odstranění odlehlých bodů 68
 - provedení 63, 95
 - příprava 65, 96
 - R2 68
 - řešení problémů 77, 105
 - soupravy 63, 95
- robot 27
 - držáky 28
 - software 31
 - součásti 27, 28
- ROX™ 19, 53, 264
- rozměry přístroje 20
- RS232 port 25, 28
- ruční čtečka čárových kódů 26

Ř

- řešení problémů
 - provedení kalibrace pozadí 73
 - provedení kalibrace barev 75
 - pojistky přístroje 114
 - ověření funkčnosti přístroje 77, 105
 - provedení kalibrace normalizace 76
 - optická kalibrace 73
 - RNáza P - ověření funkčnosti 77, 105
 - provedení kalibrace ROI 72
 - blok na vzorky, dekontaminace 111
 - provedení kalibrace uniformity 74

S

- sada filtrů 19
- samočinný test, provedení 165
- sběr dat 18, 256
- sériová čísla 98
- sériový port 25, 28
- síť
 - nastavení, přístroj 170
 - počítač 130
 - pokyny 128
 - přehled 126
- síťový port 25, 126, 129
- sledování změn (audit), správci 145
 - archivace záznamů 148

- důvod - nastavení 145
- export nastavení 153
- export záznamů 149
- historie 146, 149, 152
- import nastavení 153
- kroky 148
- log 146, 148, 149, 152
- nastavení konfigurace systému 146, 147, 149, 152
- obnovení záznamů 148
- přehled 138
- při vypnutí zabezpečení 145
- režim 145
- sledované objekty a kroky 145
- vymazání záznamů 148
- vypnutí nebo zapnutí 145
- sledování změn (audit), uživatelé
 - důvod změny 155
 - přehled 154
- Smart Monitoring 170
- SMTP 134
- software
 - licence, správa 117
 - přístroj 30
 - robot 31
 - třetích stran 31
- software, aktualizace 116
- soubor
 - assay information 191, 207
 - čárový kód 191, 207
 - formát exportu 208
 - formát importu 200
 - vzorek 191, 206
 - zadání 191
 - zadání destičky 201
- soubor Assay information 191, 254
 - formát 207
- specifikace
 - instalace 65, 95
- spotřební materiál 236
- správa dat 110
- správce
 - heslo 138
 - sledování změn 145
 - úloha uživatele 143
 - zabezpečení 138
- správce údržby přístroje 258
- statistika, přístroj 171

systémové barvy 19, 53, 91

Š

školení, informace 252

T

TAMRA™ 19, 53

TaqMan OpenArray destička, pokyny pro manipulaci 95

tisk

zpráva o sledování změn 148

zpráva o uživateli 145

typ běhu 18

U

údržba

experimenty 110

licence softwaru 117

pevné disky počítače 110

plánování 36, 82

provedení kalibrace barev 53, 90

provedení kalibrace normalizace 59

provedení kalibrace pozadí 45, 84

provedení kalibrace ROI 41

provedení kalibrace uniformity 49, 87

připomenutí 169

přístroj 163

přístroj, nastavení 110, 164

RNáza P, ověření funkčnosti přístroje 63, 95

úloha uživatele, vytvoření 143

uložení přístroje 178

umístění, požadavky 22

UPS, požadavky 29

úprava účinnosti 256

USB disk, přenos dat 161

USB porty 24, 25, 161

uživatelské účty

aktivace 142

inaktivace 142

oprávnění 143

smazání 142

vytvoření nebo úprava 142

V

- VAROVÁNÍ, popis 14
- vědec, úloha uživatele 143
- větráky přístroje 25
- VIC® 19, 53
- vlaječka 258
- vlastní barvy 19, 54, 256
 - kalibrace 184
 - přidání do programu 186
 - příprava destičky 185
- vlhkost, požadavky 22
- volba ochranných zařízení 29
- vyhřívané víko 24
 - instalace 121
 - manipulace 121
 - nastavení teploty 168
- vymazání záznamů o sledování změn 148
- výměna, pojistky přístroje 114
- vynechání jamky 260
- vypnutí
 - připomenutí kalibrace 134
 - zabezpečení, přístroj 172
 - zabezpečení, software 139
- vypnutí nebo zapnutí 150
- výsledky, přenos na USB disk 162
- VÝSTRAHA, popis 14
- vytvoření
 - experimenty 159
 - karty na kalibraci 37
 - karty na ověření funkčnosti 63
 - vlastní destičky nebo karty pro kalibraci pozadí 182
 - vlastní destičky pro kalibraci barvy 185

Z

- zabezpečení
 - přístroj 172
 - software 139
 - správce 138
 - zapnutí/vypnutí 139
- zabezpečení a sledování změn 265
- zabezpečení, účet správce 139
 - export nastavení 153
 - export nastavení uživatelského účtu 153
 - import nastavení 153
 - import nastavení uživatelského účtu 153
 - mezery v uživatelských jménech 140

- omezení uživatelských jmen 139
- oznámení 139, 140
- přehled 138
- úloha uživatele 143
- uživatelské účty 142
- vypnutí, vliv na sledování změn a elektronický podpis 139
- zapnutí/vypnutí 139
- zabezpečení, účet uživatele
 - inaktivace účtu 154
 - oprávnění 154
 - přehled 154
 - přihlášení 154
 - změna hesla 154
- zadání a plnění destiček 98
- zálohování experimentů 110
- záložní zdroj, požadavky 29
- zapnutí
 - elektronický podpis 150
 - připomenutí kalibrace 134
 - zabezpečení, přístroj 172
 - zabezpečení, software 139
- zaslepení karty 37
- zobrazení jména přihlášeného uživatele 143
- zpráva
 - elektronický podpis 152
 - konfigurace systému 146, 147, 149, 152
 - objekt, historie sledování změn 146, 149, 152
 - sledování změn 148
 - uživatel 145

4470689B



Sídlo společnosti
5791 Van Allen Way | Carlsbad, CA 92008 USA | Tel. +1 760 603 7200
Technická podpora viz www.lifetechnologies.com/support
www.lifetechnologies.com

