

Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™

Real-Time PCR systémy

Instalace, práce v síti a údržba



Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™

Real-Time PCR systémy

Instalace, práce v síti a údržba – Uživatelská příručka

Začínáme

1

Zprovoznění
přístroje

2

Instalace přístroje
s počítačem

3

Instalace přístroje
bez připojení
k počítači

4

Připojení systému
do sítě

5

Údržba systému

6

© Copyright 2007, Applied Biosystems. Všechna práva vyhrazena.

Informace obsažené v tomto dokumentu se mohou změnit bez předchozího oznámení. Společnost Applied Biosystems nepřijímá žádnou zodpovědnost za chyby, které se mohou v tomto dokumentu objevit.

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

UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍHO:

Real-Time PCR systémy Applied Biosystems StepOne[™]/StepOnePlus[™] jsou chráněné jedním nebo více U.S. patenty č. 5,038,852, 5,333,675, 5,656,493, 5,475,610, 5,602,756, 6,703,236, 6,814,934 a odpovídajícími nároky jiných subjektů mimo území USA, vlastněnými společností Applied. Další informace týkající se získání licencí podá Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

OBCHODNÍ ZNÁMKY:

Applied, Applied Biosystems, AB (Design), Primer Express a VIC jsou registrované obchodní známky a FAM, JOE, MicroAmp, ROX, StepOne, StepOnePlus a TAMRA jsou obchodní známky společnosti Applied nebo jejích součástí v USA a/nebo v jiných zemích.

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

SYBR je registrovaná obchodní známka společnosti Molecular Probes, Inc.

Microsoft a Windows jsou registrované obchodní známky společnosti Microsoft.

Všechny ostatní obchodní známky jsou výhradním vlastnictvím svých oprávněných majitelů.

Dokument č. 4376782 Rev. C
05/2007

	Předmluva	vii
	Jak používat tuto příručku	vii
	Kde získat více informací	ix
	Kde získat pomoc	x
	Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu	xi
	Symbyly na přístrojích	xii
	Bezpečnostní označení na přístrojích	xiii
	Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem	xiv
	Bezpečná manipulace s chemikáliemi.....	xv
	Bezpečná manipulace s chemickým odpadem	xvii
	Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními	xviii
	Bezpečná práce s diodami	xviii
	Biologické riziko	xix
	Bezpečná práce	xix
	Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC)	xx
Kapitola 1	Začínáme	1
	O systémech StepOne™ a StepOnePlus™	2
	Dříve než začnete	5
	Volba ochranných zařízení	7
	Volba způsobu instalace	9
	Plánování instalace.....	11
Kapitola 2	Zprovoznění přístroje	13
	O instalaci	14
	Vybalení přístroje.....	15
	Kontrola dodávky	17
	Zprovoznění přístroje.....	20
	Dokončení instalace	23

Kapitola 3	Instalace přístroje s počítačem.....	25
	O instalaci přístroje s počítačem	26
	Instalace počítače.....	27
	Nastavení počítače	28
	Instalace programu StepOne™	31
	Propojení součástí systému	35
	Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP	38
	Zadání experimentu	40
	Spuštění experimentu	41
	Analýza experimentu.....	43
	Po instalaci	47
Kapitola 4	Instalace přístroje bez připojení k počítači	49
	O instalaci přístroje bez připojení k počítači.....	50
	Nastavení počítače	51
	Instalace počítače	52
	Instalace programu StepOne™	54
	Příprava programu StepOne™ k použití.....	58
	Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP	60
	Zadání experimentu	62
	Spuštění experimentu	63
	Analýza výsledků běhu RNáza P	65
	Vyjmutí destičky	65
	Kopírování pokusu	66
	Analýza experimentu.....	68
	Po instalaci	71
Kapitola 5	Připojení systému do sítě	73
	Přehled	74
	Připojení přístroje do sítě.....	78
	Nastavení počítače pro vzdálené monitorování	80
	Monitorování přístroje.....	82

Kapitola 6	Údržba systému	87
	Pravidelná údržba.....	88
	Provedení prostorové kalibrace	90
	Provedení kalibrace pozadí.....	94
	Provedení kalibrace barev	100
	Archivace a zálohování dat.....	113
	Nepravidelná údržba.....	114
	Dekontaminace bloku na vzorky	115
	Přemisťování přístroje	118
	Výměna pojistek.....	120
	Odeslání přístroje do servisu	122
	Aktualizace operačního systému Windows.....	124
	Aktualizace programu StepOne™	125
Příloha A	Řešení problémů při instalaci.....	127
	Problémy s programem StepOne™	128
	Problémy s připojením k síti	129
	Nezdařená kalibrace pozadí.....	132
	Nezdařená kalibrace barev.....	134
	Terminologický slovník.....	137
	Rejstřík.....	153

Jak používat tuto příručku

Účel této příručky Níže uvedené příručky jsou dodávány společně s Real-Time PCR systémy Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™.

Příručka	Účel a komu je určena	Kat. č.
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Genotypovací experimenty</i>	Vysvětlují jak provádět pokusy na systémech StepOne™ a StepOnePlus™. Každá příručka funguje současně jako:	4376786
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Experimenty typu Ano/Ne (Přítomnost/Nepřítomnost)</i>	<ul style="list-style-type: none"> Návod k použití – za pomoci demonstračních dat dodávaných spolu s programem Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software (StepOne™ software). 	4376787
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Relativní standardní křivka a komparativní C_T metoda</i>	<ul style="list-style-type: none"> Průvodce vašimi vlastními experimenty. <p>Určené zaměstnancům laboratoří a vědcům, kteří provádějí pokusy s pomocí přístrojů StepOne™ nebo StepOnePlus™.</p>	4376785
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Standardní křivka</i>		4376784
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy - Instalace, práce v síti a údržba - Uživatelská příručka</i>	Vysvětlují jak zprovoznit a provádět údržbu systémů StepOne™ a StepOnePlus™.	4376782
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Instalace – Zkrácený návod</i>	Určené zaměstnancům laboratoří zodpovědným za zprovoznění a údržbu přístrojů StepOne™ nebo StepOnePlus™.	4376783
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Volba reagentů</i>	<p>Poskytují informace, které je možné používat na systémech StepOne™ a StepOnePlus™ včetně:</p> <ul style="list-style-type: none"> Vysvětlení principu chemizmů TaqMan® a SYBR® Green Popisu a doporučení pro návrh následujících typů experimentů: <ul style="list-style-type: none"> Kvantifikace Genotypizace Pokusy typu Ano/Ne <p>Určené zaměstnancům laboratoří a vědcům, kteří provádějí pokusy s pomocí přístrojů StepOne™ nebo StepOnePlus™.</p>	4379704
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy – Příprava místa</i>	<p>Popisuje nároky systémů StepOne™ nebo StepOnePlus™ z hlediska jejich umístění a přípravy zvoleného místa.</p> <p>Určené osobám zodpovědným za přípravu místa pro systémy StepOne™ nebo StepOnePlus™.</p>	4376768

Příručka	Účel a komu je určena	Kat. č.
<i>Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR systém – nápověda programu</i>	Vysvětluje jak v programu StepOne™ : <ul style="list-style-type: none">• Nastavit, spustit a analyzovat experimenty pomocí systémů StepOne™ a StepOnePlus™.• Monitorovat činnost do sítě připojených přístrojů StepOne™ a StepOnePlus™.• Kalibrovat přístroje StepOne™ a StepOnePlus™.• Ověřit funkčnost přístrojů StepOne™ a StepOnePlus™ pomocí běhu RNázy P. Určená: <ul style="list-style-type: none">• Zaměstnancům laboratoří a vědcům, kteří provádějí pokusy s pomocí přístrojů StepOne™ nebo StepOnePlus™..• Zaměstnancům laboratoří zodpovědným za zprovoznění a údržbu přístrojů StepOne™ nebo StepOnePlus™..	nemá

Tato příručka je určena osobám vyškoleným společností Applied Biosystems. Společnost Applied Biosystems není zodpovědná za škody nebo zranění, která jsou výsledkem používání této příručky neautorizovanými nebo nevyškolenými osobami.

- Práce s textem** Pro lepší pochopení pracuje tato příručka s textem následujícím způsobem:
- **Tučně** jsou vyznačeny aktivní zásahy uživatele. Například:
Napište **0**, poté stiskněte **Enter** pro každé ze zbývajících polí.
 - *Kurzívou* jsou vyznačena nová nebo důležitá slova a též zdůraznění. Například:
Před vlastní analýzou *vždy* připravte čerstvou matrici.
 - Znaménko (>) odděluje po sobě následující příkazy, které volíte z rozbalovacích menu nebo nabídek. Například:
Zvolte **File > Open**.

Upozornění pro uživatele V dokumentaci Applied Biosystems se používají upozornění pro uživatele. Každé upozornění vyžaduje určitou míru pozornosti nebo aktivity, jak je popsáno níže:

Poznámka (Note) – Poskytuje informace, které mohou být zajímavé nebo nápomocné, ale které nejsou kritické z hlediska používání přístroje.

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

Příklady použití těchto upozornění:

Poznámka: Kalibraci lze spustit též z ovládací konzole.

DŮLEŽITÉ! Chcete-li ověřit připojení, musíte znát platné uživatelské jméno.

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

Kde získat více informací

Související dokumentace

Více informací o používání přístrojů StepOne™ a StepOnePlus™ naleznete v příručkách


Dokument	Kat. č.
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy Protokol pro ověření úspěšné instalace</i>	4376791
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy Protokol pro kvalifikaci instalace</i>	4376790
<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy Protokol plánování údržby†</i>	4376788

† Dostupné od července 2007.

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

Získání informací v nápovědě programu

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

- Stiskněte **F1**.
- Klikněte  v ovládací liště.
- Zvolte **Help (Pomoc) > StepOne Help**.

V nápovědě vyhledáte potřebné:

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

Pošlete nám Vaše návrhy

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

techpubs@appliedbiosystems.com

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

Kde získat pomoc

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

Na stránkách technické podpory můžete:

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

Kromě toho zde můžete získat telefonní a faxová čísla všech oddělení Technické podpory a prodejních poboček Applied Biosystems.

Středisko péče o zákazníky Applied Biosystems

Kontaktujte středisko péče o zákazníky Applied Biosystems pokud vás k tomu vyzve tato příručka nebo pokud potřebujete naplánovat údržbu vašeho přístroje (např. roční pravidelnou údržbu nebo teplotní verifikaci/kalibraci). Chcete-li kontaktovat středisko péče o zákazníky Applied Biosystems, volejte číslo 1-800-762-4001, volba 1 (pouze v USA). Ve všech ostatních zemích kontaktujte servisního technika společnosti Applied Biosystems.

Bezpečnostní upozornění používaná v tomto dokumentu

Výstražná upozornění

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

Definice

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



CAUTION

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



WARNING

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



DANGER

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

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

Příklady

DŮLEŽITÉ! Pro každou 96-ti jamkovou destičku musíte vytvořit zvláštní tabulku.



CAUTION

CHEMICKÉ RIZIKO. TaqMan Universal PCR Master Mix může způsobit podráždění očí a kůže. Při inhalaci nebo polknutí může dojít k projevům nevolnosti. Přečtěte si bezpečnostní list a dodržujte pokyny při manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.



WARNING

RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý až na 100 °C.











DANGER

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






Symboly na přístrojích

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

Symbol	Popis	Symbol	Popis
	Označuje polohu hlavního spínače Zapnuto .		Svorka uzemnění. Neslouží jako ochranná svorka.
	Označuje polohu hlavního spínače Vypnuto .		Ochranná svorka - označuje chráněný uzemněný výstup, který musí být uzemněn předtím, než je provedeno jakékoliv jiné elektrické připojení přístroje (připojení hlavního ochranného vodiče).
	Označuje spínač sloužící k přepnutí přístroje do pohotovostního režimu (Standby). V přístroji může stále být vysoké napětí.		Označuje výstup, který může být připojen na střídavý napájecí zdroj.
	Označuje polohu hlavního spínače Zapnuto/Vypnuto (týká se spínače, který se ovládá stlačením).		Označuje výstup, který může být připojen na střídavý nebo stejnosměrný napájecí zdroj.


Bezpečnostní symboly

Následující tabulka popisuje bezpečnostní symboly, které mohou být použity na přístrojích Applied Biosystems. Každý symbol může být použit sám o sobě nebo v kombinaci s textem, který vysvětluje případné riziko (viz **“Bezpečnostní označení na přístrojích”** na straně xiii). 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 manuálu a pokračovat s patřičnou obezřetností.		Indikuje přítomnost pohyblivých součástí a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností
	Indikuje horký povrch nebo jiné riziko související s vysokou teplotou a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.		Indikuje možný úraz elektrickým proudem a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
			Indikuje přítomnost laseru a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.

Environmentální symboly

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

Symbol	Popis
	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. Zákazníci z Evropské unie: Kvůli odstranění přístroje a jeho recyklaci kontaktujte místní zastoupení společnosti Applied Biosystems. Seznam kanceláří společnosti v Evropské unii naleznete na www.appliedbiosystems.com .

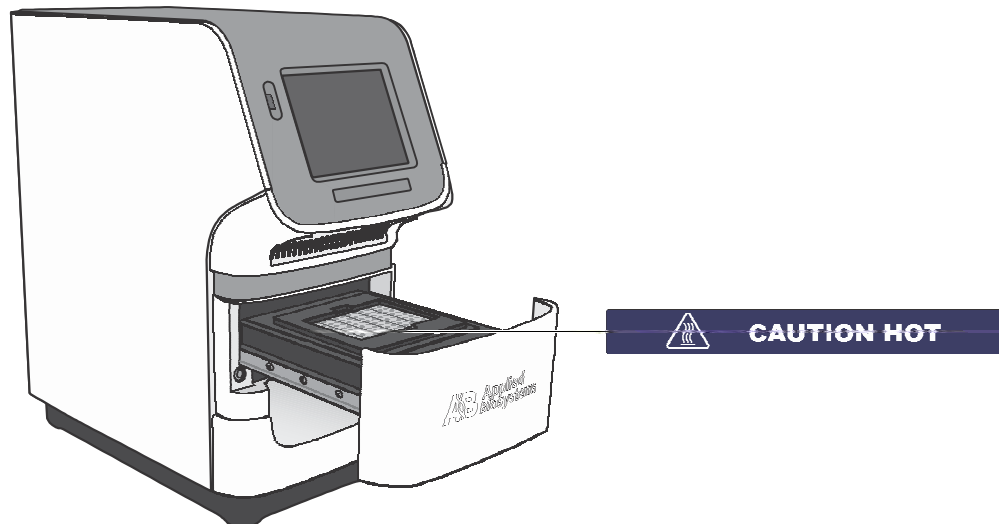
Bezpečnostní označení na přístrojích

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


English	Česky
CAUTION Hazardous chemicals. Read the Material Safety Data Sheets (MSDSs) before handling.	VAROVÁNÍ Nebezpečná chemikálie. Před použitím čtěte bezpečnostní list (MSDS).
CAUTION Hazardous waste. Refer to MSDS(s) and local regulations for handling and disposal.	VAROVÁNÍ Nebezpečný odpad. Při manipulaci a likvidaci postupujte podle pokynů v bezpečnostním listu a místních předpisů.
CAUTION Hot surface.	VAROVÁNÍ Horký povrch.
DANGER High voltage.	NEBEZPEČÍ Vysoké napětí.
WARNING To reduce the chance of electrical shock, do not remove covers that require tool access. No user-serviceable parts are inside. Refer servicing to Applied Biosystems qualified service personnel.	VÝSTRAHA Neodstraňujte kryty, na jejichž odstranění je zapotřebí nástrojů – riziko úrazu elektrickým proudem. Potřeba uživatelských zásahů v prostoru pod krytem je vyloučena. Servis provádí pouze kvalifikovaný technik Applied Biosystems.
CAUTION Moving parts.	VAROVÁNÍ Pohyblivé součásti.
DANGER Class 3B (III) visible and/or invisible LED radiation present when open and interlocks defeated. Avoid exposure to beam.	NEBEZPEČÍ Laserové záření třídy 3B (III) a/nebo neviditelné záření LED při otevření a vypnutí kontaktní pojistky. Vyhněte se přímému vystavení se laserovému paprsku.

Umístění
bezpečnostních
označení


Bezpečnostní označení jsou umístěna jak je vyobrazeno níže:




Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem

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

Přemísťování
a zvedání
přístroje

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

Přemísťování a
zvedání počítačů
a monitorů

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

Před zvedáním počítače a/nebo monitoru:


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

Ovládání
přístroje



Ujistěte se, že každý kdo ovládá přístroj:

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

Čistění nebo
dekontaminace
přístroje

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

Bezpečná manipulace s chemikáliemi

- Výstraha – chemické riziko  **WARNING** **CHEMICKÉ RIZIKO.** Před manipulací s jakýmkoliv chemikáliemi si prostudujte příslušný bezpečnostní list - Material Safety Data Sheet (MSDS), poskytnutý dodavatelem chemikálie, a řiďte se jeho pokyny.
-
-  **WARNING** **RIZIKO UCHOVÁVÁNÍ CHEMIKÁLIÍ.** Nikdy neuchovávejte odpad ve skleněných nádobách kvůli možnosti jejich rozbití. Láhve na reagenty a odpad se mohou rozbít a vytéct. Každou odpadní láhev je zapotřebí umístit do bezpečnostního polyetylénového zásobníku s dotaženým víkem a úchyty zajištěnými ve svislé poloze. Při manipulacích s láhvemi obsahujícími reagenty a odpad používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice.
-

Pravidla manipulace s chemikáliemi

Abyste minimalizovali riziko plynoucí z používání chemikálií, musíte:

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

O bezpečnostních listech

Výrobci chemikálií poskytují *novým* zákazníkům s dodávkou chemikálií bezpečnostní listy (MSDS). Bezpečnostní list je rovněž poskytnut spolu s dodávkou chemikálií v případě, že byl aktualizován. Bezpečnostní listy obsahují informace, které potřebujete pro bezpečné ukládání, manipulaci, přepravu a odstranění chemikálie.

Obdržíte-li s dodávkou chemikálie i bezpečnostní list, vždy jej založte – udržujte tyto listy aktuální.

Získání bezpečnostního listu

Bezpečnostní listy pro chemikálie dodávané společností Applied Biosystems získáte vždy od Applied Biosystems. Tato služba je bezplatná a dostupná 24 hodin denně.


Chcete-li získat bezpečnostní list:


1. Otevřete stránku docs.appliedbiosystems.com/msdssearch.html
2. V poli hledání:
 - a. Zadejte název chemikálie, katalogové číslo nebo další informaci z bezpečnostního listu, který vás zajímá.
 - b. Zvolte jazyk.
 - c. Klikněte na **Search** (Hledat).
3. Zvolte dokument, který vás zajímá, klikněte pravým tlačítkem myši na jeho název a zvolte jednu z následujících možností
 - **Open** – Otevření dokumentu
 - **Print Target** – Vytisknutí dokumentu
 - **Save Target As** – Stažení dokumentu ve verzi PDF do zvoleného adresáře
4. Chcete-li, aby vám byl bezpečnostní list zaslán emailem nebo faxem:
 - a. Zvolte **Fax** nebo **Email** pod názvem dokumentu.
 - b. Klikněte na **RETRIEVE DOCUMENTS** (Získat dokumenty) na konci jejich seznamu.
 - c. Vyplňte požadované informace.
 - d. Klikněte na **View/Deliver Selected Documents Now** (Nyní doručit zvolené dokumenty).

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

Bezpečná manipulace s chemickým odpadem

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

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

 **WARNING RIZIKO UCHOVÁVÁNÍ CHEMIKÁLIÍ.** Nikdy neuchovávejte odpad ve skleněných nádobách kvůli možnosti jejich rozbití. Láhve na reagentie a odpad se mohou rozbít a vytéct. Každou odpadní láhev je zapotřebí umístit do bezpečnostního polyetylénového zásobníku s dotaženým víkem a úchyty zajištěnými ve svislé poloze. Při manipulacích s láhvemi obsahujícími reagentie 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 národními 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 elektrickými zařízeními

	 DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Při ovládání systémů bez ochranných krytů může dojít k vážnému úrazu elektrickým proudem. Neodstraňujte kryty přístroje. Po jejich odstranění je možný přístup ke zdrojům vysokého napětí.
Pojistky	 WARNING NEBEZPEČÍ POŽÁRU. Použití nesprávných pojistek nebo zdroje vysokého napětí může vést k poškození přístroje a vzniku požáru. Před zapnutím přístroje ověřte, zda pojistky byly správně zapojeny, a že zdroj elektrického napětí ve vaší laboratoři splňuje požadavky přístroje.
	 WARNING NEBEZPEČÍ POŽÁRU. V zájmu nepřetržité ochrany před rizikem vzniku požáru používejte pouze pojistky typu a jmenovitého proudu odpovídajícího požadavkům přístroje
Zdroj	 DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Pro bezpečný provoz zařízení je nezbytné jeho uzemnění. Nikdy nepoužívejte přístroj, který není správným způsobem uzemněn
	 DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Používejte pouze schválené elektrické kabely odpovídající napětí ve vaší elektrické síti.
	 DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Připojte přístroj pouze do uzemněné zásuvky s odpovídajícím elektrickým napětím.
Vysoké napětí	Systémy StepOne™ a StepOnePlus™ spadají do třídy II (přepětí) a jsou klasifikovány jako přenosné přístroje.

Bezpečná práce s diodami

Abyste se nevystavovali nebezpečnému účinku záření diod:

- Musí údržbu systémů provádět servisní technici společnosti Applied Biosystems.
- Veškeré kryty přístroje musí být během jeho provozu na svém místě. V takovém případě nedochází k detekovatelné emisi záření. Odstraníte-li během provozu přístroje kryt (např. během servisního zásahu při vypnutí kontaktních pojistek), můžete být vystaveni záření přesahující rozsah třídy **3B**.
- Neodstraňujte bezpečnostní označení a nevypínejte kontaktní pojistky.

Biologické riziko

Biohazard



WARNING

BIOHAZARD.

Biologické lidské nebo zvířecí vzorky jako např. tkáň, tělní tekutiny a krev mohou být zdrojem infekčních onemocnění. Postupujte podle všech místních/národních předpisů. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný 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

Bezpečná práce

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



CAUTION

NEBEZPEČÍ SVALOVÉHO PORANĚNÍ.

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

Abyste toto nebezpečí snížili:

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

Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC)

Bezpečnostní předpisy v USA a Kanadě



Tento přístroj byl testován podle a splňuje požadavky norem:

UL 61010A-1/CAN/CSA C22.2 No. 1010.1-92, "Safety Requirements for Electrical Equipment for Measurement, Control, and Laboratory Use, Part 1: General Requirements."

UL 61010A-2-010/CAN/CSA 1010.2.010, "Particular Requirements for Laboratory Equipment for the Heating of Materials."

FDA "Radiation Control for Health and Safety Act of 1968 Performance Standard 21 CFR 1040.10 and 1040.11,".

Kanadské normy EMC

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

Evropské bezpečnostní předpisy a normy EMC



Bezpečnost

Tento přístroj splňuje bezpečnostní požadavky evropské Směrnice pro nízké napětí 73/23/EEC. Tento přístroj byl testován podle a splňuje požadavky norem EN 61010-1:2001 "Bezpečnostní požadavky na elektrická měřicí, řídicí a laboratorní zařízení, část 1: Obecné požadavky",

EN 61010-2-010 "Zvláštní požadavky pro laboratorní zařízení pro ohřev materiálu",

EN 61010-2-081 "Zvláštní požadavky pro automatická a poloautomatická laboratorní zařízení pro analytické a jiné účely".

EMC

Tento přístroj splňuje požadavky směrnice Rady Evropské unie pro elektromagnetické rušení a odolnost vůči němu (EMC směrnice 89/336/EEC). Tento přístroj byl testován podle normy EN 61326 (Skupina 1, Třída B) "Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití – požadavky EMC".


Australské normy EMC



Tento přístroj byl testován podle 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"

V této kapitole naleznete:

- O systémech StepOne™ a StepOnePlus™ 2
- Dříve než začnete 5
- Volba ochranných zařízení 7
- Volba způsobu instalace 9
- Plánování instalace 11

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

O systémech StepOne™ a StepOnePlus™

Tento systém Real-Time PCR se dodává ve dvou provedeních:

System	Vlastnosti
Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR systém (StepOne™ systém)	<ul style="list-style-type: none">• pro 48-jamkové destičky• tříbarevná detekce
Applied Biosystems StepOnePlus™ Real-Time PCR systém (StepOnePlus™ systém)	<ul style="list-style-type: none">• pro 96-ti jamkové destičky• čtyřbarevná detekce• blok na vzorky VeriFlex™

Real-Time PCR systémy Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ umožňují:

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

Sběr dat Systémy StepOne™ a StepOnePlus™ zaznamenávají fluorescenci v různých fázích průběhu PCR v závislosti na typu běhu:

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

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

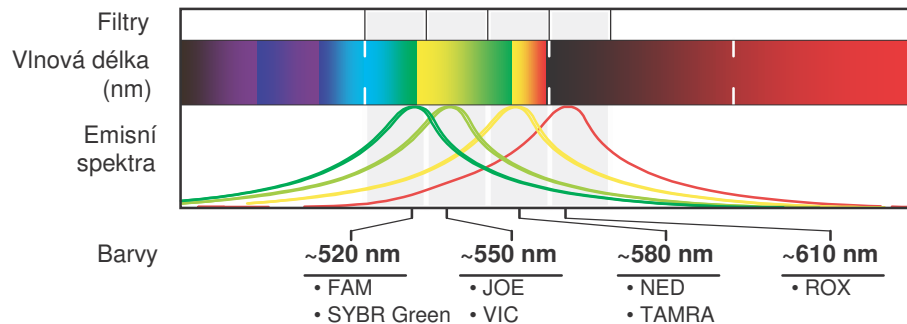
1. **Excitace** – Přístroj ozáří všechny jamky destičky a excituje fluorofory v jamkách.
2. **Emise** – Optické zařízení přístroje zaznamená fluorescenci vyzářenou z jamek destičky. Výsledný záznam zahrnuje pouze to fluorescenční záření, které odpovídá rozsahu emisních filtrů.
3. **Uložení** – Přístroj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

Po skončení běhu použije program StepOne™ kalibrační soubory (prostorová kalibrace, kalibrace barev a kalibrace pozadí) ke stanovení intenzity fluorescenčního signálu jednotlivých jamek v každém čtení, k určení barev emitujících daný fluorescenční signál a ke stanovení jeho významu.

Filtry a podporované barvy

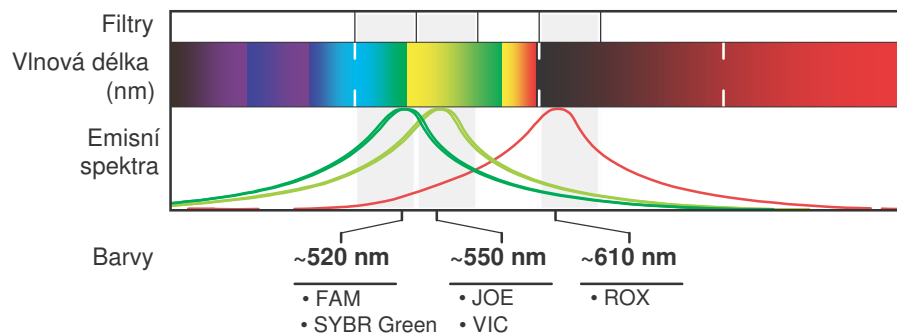
Systém StepOnePlus™

Systém StepOnePlus™ je vybaven sadou čtyř filtrů, které umožňují použití následujících barev Applied Biosystems: FAM™, JOE™, NED®, ROX™, TAMRA®, VIC® a SYBR® Green. Na následujícím obrázku jsou znázorněna emisní spektra každé barvy a filtr, v němž je její signál zaznamenáván.



Systém StepOne™

Systém StepOne™ je vybaven sadou tří filtrů, které umožňují použití následujících barev Applied Biosystems: FAM™, JOE™, ROX™, VIC® a SYBR® Green. Na následujícím obrázku jsou znázorněna emisní spektra každé barvy a filtr, v němž je její signál zaznamenáván.



O bloku na vzorky VeriFlex™

Přístroj StepOnePlus™ je vybaven blokem na vzorky VeriFlex™, který je rozčleněn na šest nezávisle ovládaných teplotních zón pro snazší optimalizaci teplotních profilů vašich reakcí. Pro jednu nebo více zón lze nastavit různé teploty nebo lze pro všechny zóny nastavit stejnou teplotu.

Dříve než začnete

Před instalací systémů Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ se seznamte s touto příručkou, přečtěte si dokumentaci týkající se přípravy místa a zajistěte si pomůcky potřebné pro instalaci.

Tato příručka

Tuto příručku můžete použít pro:

- Instalaci systému.

V kapitolách 2 až 5 této příručky naleznete veškeré informace, které potřebujete pro provedení instalace systému. Instalace systému trvá 4 hodiny; může však trvat déle, chcete-li systém připojit do sítě.

- Údržbu systému.

V kapitole 6 této příručky naleznete veškeré informace, které potřebujete pro provádění rutinní údržby systému:

- Archivace a zálohování dat
- Kalibrace přístroje
- Dekontaminace přístroje
- Přemísťování přístroje
- Výměna pojistek přístroje
- Odeslání přístroje do servisu

Příprava na instalaci

- Seznamte se s příručkou *Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™ - Real-Time PCR systems SitePreparation Guide* a zkontrolujte splnění všech kontrolních kroků v ní uvedených.
- Zajistěte si pomůcky potřebné pro instalaci (viz “Pomůcky pro instalaci” na straně 6).
- Seznamte se s částí “Volba ochranných zařízení” na straně 7 a zajistěte si je, chcete-li je použít.

DŮLEŽITÉ! Tuto příručku lze použít pro opakovanou instalaci systémů StepOne™ nebo StepOnePlus™ po přepravě, ale musíte mít k dispozici potřebné reagentie. Informaci o pomůckách potřebných pro instalaci a způsobu jejich objednání od společnosti Applied Biosystems naleznete v části “Součásti dodávky” na straně 17.

Pomůcky pro instalaci

- Nástroje a zařízení
 - Centrifuga s adaptérem na destičky odpovídající velikosti
 - Rukavice bez pudru
 - Ochranné brýle
 - Nůžky
 - Plochý šroubovák
- Počítač (viz níže)
- (Volitelné) Ochranné zařízení pro připojení počítače a přístroje (viz “Volba ochranných zařízení” na straně 7).

Minimální požadavky na počítač

Pokud jste si neobjednali počítač spolu se systémem, musí vámi dodaný počítač splňovat následující požadavky:

Součást	Minimální požadavky‡
Počítač	<ul style="list-style-type: none"> • Intel procesor, 1.0 GHz • 512 MB RAM • Jeden pevný disk 60-GB • 20/48X IDE CD-ROM • Ethernet network interface adapter (10BASE-T)§ • značka CE • značka FCC
Monitor	<ul style="list-style-type: none"> • rozlišení 1280 × 1024 pixelů • 32-bit barvy
Operační systém	Microsoft Windows® XP Professional, opravný balíček 2 nebo vyšší

‡ Počítač, který splňuje optimální požadavky, podává optimální výkon a je podporován společností Applied Biosystems.

§ Zapotřebí pouze v případě, že chcete připojit počítač k přístroji nebo do místní počítačové sítě.

Volba ochranných zařízení

Před instalací systému si opatřete jakékoliv z níže uvedených volitelných zařízení.

Elektrická ochranná zařízení

Společnost Applied Biosystems doporučuje používat ochranná elektrická zařízení, jejichž účelem je chránit systém před ztrátou dat a před poškozením.

Regulátor napětí

Společnost Applied Biosystems doporučuje v oblastech, kde dochází k výkyvům napětí v rozsahu více než $\pm 10\%$, 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)

Společnost Applied Biosystems doporučuje 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.

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

Společnost Applied Biosystems doporučuje 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.

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.

Zálohování dat

Abyste zabránili ztrátě dat způsobené nepředpokládaným selháním počítače nebo jeho pevného disku, doporučuje společnost Applied Biosystems používat jedno nebo více zařízení pro zálohování dat. Je-li součástí vašeho systému počítač, můžete pro zálohování dat použít CD/DVD jednotku. Budete-li ukládat soubory (EDS) na CD nebo DVD pravidelně (týdně), vytvoříte si zálohu dat generovaných vaším systémem. Před instalací systému zvažte, jakou metodu zálohování dat budete používat ([“Zálohování dat” na straně 113](#)).

- Software třetích stran** Společnost Applied Biosystems doporučuje pro optimální fungování vašeho systému používání různých typů komerčně dostupných programů, zejména:
- Program pro kompresi souborů při archivaci dat, generovaných systémem
 - Program pro defragmentaci pevného disku/ů počítače
 - Antivirový program a firewall pro ochranu vašeho systému, pokud jej hodláte připojit do sítě

Před instalací programů třetích stran na počítač s programem StepOne™ se ujistěte, že tyto programy:

- neomezí síťovou komunikaci
- neinterferují s fungováním programu StepOne™ (viz níže)

Chcete-li ověřit, že programy třetích stran neinterferují s programem StepOne™:

1. Instalujte tyto programy na počítač s programem StepOne™.
2. Proveďte několik testovacích běhů za použití destiček neobsahujících reagenty.

Poznámka: Cílem testovacích běhů je navodit situaci, která odpovídá normálnímu provozu přístroje. Zadání testovacích běhů (rozvržení vzorků v destičce a definice parametrů běhu) musí být proto co nejpodobnější vašim skutečným experimentům.

3. Ověřte provedení každého testovacího experimentu bez chybových hlášek.

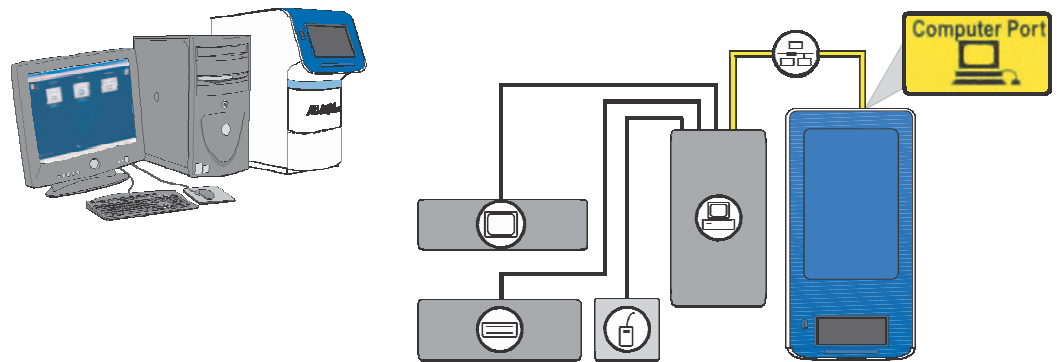
Provede-li systém testovací běhy úspěšně, můžete provádět běžné experimenty. Zaznamenáte-li během testovacích běhů chyby, instalované programy nemusí být kompatibilní s programem StepOne™.

Volba způsobu instalace

Před zahájením instalace systémů StepOne™ nebo StepOnePlus™ zvolte její způsob tak, aby co nejlépe odpovídal potřebám vaší laboratoře. Volba způsobu instalace má vliv na její provedení. Systémy StepOne™ a StepOnePlus™ lze instalovat dvěma možnými způsoby popsány níže (bez nebo s počítačem).

Instalace s počítačem

Přístroj je přímo propojen s počítačem pomocí žlutého dodávaného kabelu. V tomto uspořádání můžete definovat, spustit a analyzovat experimenty z připojeného počítače. Instalace s počítačem je znázorněna na následujícím obrázku.



Poznámka: Přístroj připojený k počítači lze stále ovládat prostřednictvím dotykového displeje, ale pouze není-li spuštěn běh z prostředí programu StepOne™.

Poznámka: Výsledky experimentů lze mezi samostatně instalovaným přístrojem a počítačem přenášet pomocí počítačové sítě. Viz [“Instalace bez nebo s počítačem – Připojení do sítě”](#) na straně 10.

Níže je ve stručnosti popsán postup práce, je-li přístroj instalován spolu s počítačem:

1. Vytvořte experiment na připojeném počítači v programu StepOne™.


2. Z připojeného počítače spusťte běh.

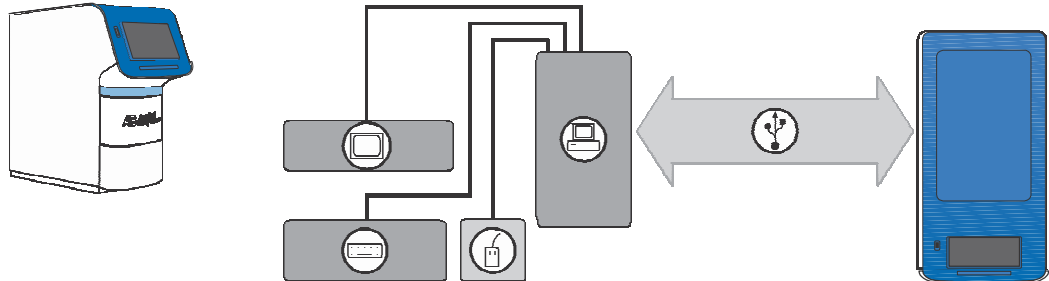
V průběhu běhu můžete připojený počítač použít k:

- Monitorování běhu.
- Zobrazení teplot a amplifikačních křivek.

3. Analyzujte experiment v programu StepOne™ na připojeném počítači.

Instalace bez počítače

Přístroj *není* připojen k počítači. Pro přenos dat mezi přístrojem a počítačem se používá USB disk (). Při instalaci tímto způsobem zadáváte a analyzujete experimenty v počítači, ale spouštíte je pomocí dotykového displeje přístroje. Instalace bez počítače je znázorněna na následujícím obrázku.



Poznámka: Výsledky experimentů lze mezi samostatně instalovaným přístrojem a počítačem přenášet pomocí počítačové sítě. Viz [“Instalace bez nebo s počítačem – Připojení do sítě”](#) níže.

Je-li přístroj instalován samostatně, je postup práce komplikovanější než v případě instalace s počítačem, protože mezi součástmi systému není přímé propojení. Níže je ve stručnosti popsán postup práce, je-li přístroj instalován bez počítače:

1. Vytvořte experiment na počítači v programu StepOne™.
2. Přeneste experiment do přístroje pomocí disku USB.
3. Pomocí dotykového displeje přístroje spustíte běh.
Průběh běhu můžete monitorovat na displeji přístroje.
4. Přeneste experiment do počítače pomocí disku USB.
5. Analyzujte experiment v programu StepOne™ na počítači.

Instalace bez nebo s počítačem – připojení do sítě

Samostatný přístroj nebo systém sestávající z počítače a přístroje můžete připojit do počítačové sítě. Je-li přístroj součástí sítě, mohou ostatní počítače v síti, na nichž je instalován program StepOne™:

- Monitorovat stav přístroje
- Posílat a stahovat experimenty do a z přístroje

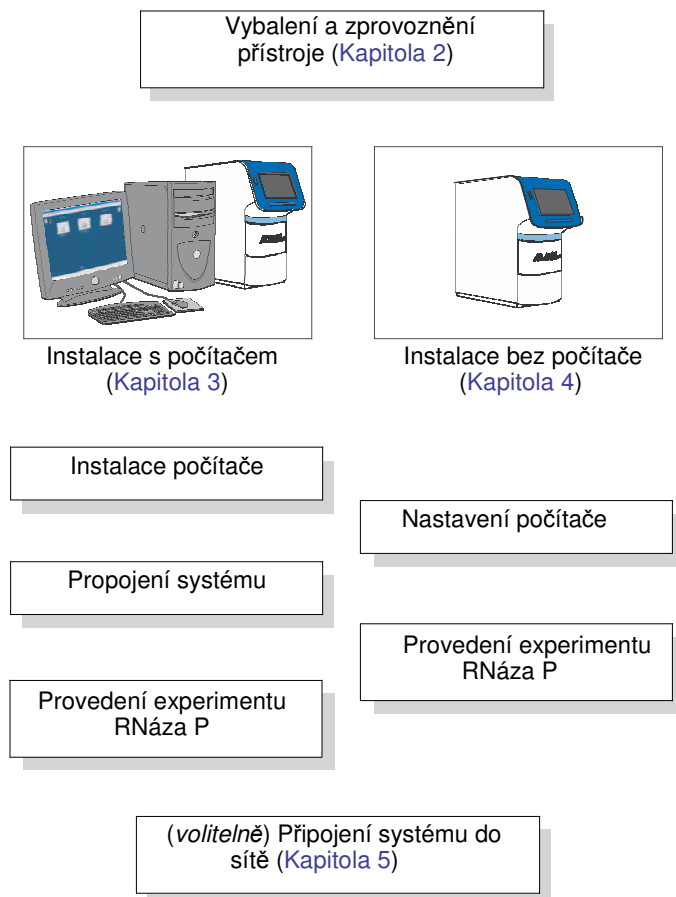
DŮLEŽITÉ! Počítače v síti nemohou systém ovládat, pouze jej monitorovat.

Poznámka: Detailní informace o připojení systému do sítě naleznete v [Kapitole 5, “Připojení systému do sítě”](#) na straně 73.

Plánování instalace

Systém lze instalovat během 4 hodin. Instalace nevyžaduje vaši neustálou pozornost, ale většinu této doby strávíte prací se systémem.

Doporučený postup




2

Zprovoznění přístroje

V této kapitole naleznete:

■ O instalaci.....	14
■ Vybalení přístroje	15
■ Kontrola dodávky	17
■ Zprovoznění přístroje.....	20
■ Dokončení instalace	23

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

O instalaci

V této kapitole je vysvětleno, jak instalovat Real-Time PCR přístroj StepOne™/ StepOnePlus™ společnosti Applied Biosystems s nebo bez počítače.

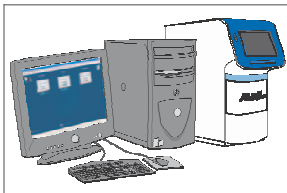
Postup
instalace

*Kapitola 1,
Začínáme*

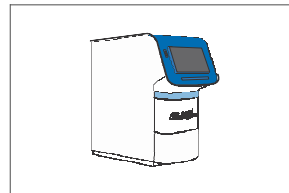
Vybalení a zprovoznění přístroje

1. Vybalte přístroj a umístěte jej na vhodné místo.
2. Zkontrolujte obsah dodávky.
3. Zprovozněte přístroj.
 - a. Připravte přístroj.
 - b. Proveďte nastavení přístroje.

*Kapitola 3,
Instalace s počítačem*



*Kapitola 4,
Instalace bez počítače*



Vybalení přístroje

Připravte místo pro umístění a vybalte přístroj.

Před vybalením

- Ověřte splnění požadavků uvedených v příručce *Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems Site Preparation Guide*. Tato příručka vám byla zaslána před dodávkou přístroje a obsahuje důležité údaje z hlediska nároků systému na umístění.
- Připravte místo na umístění systému podle příručky *Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems Site Preparation Guide*.

Ověřte vhodnost zvoleného místa

DŮLEŽITÉ! Neumíst'ujte systém na místa, která jsou vystavena neustálým nebo občasným vibracím. Stolní centrifugy, vortexy a další laboratorní zařízení mohou způsobit vibrace během běhu a vést k chybnému čtení dat.

Ověřte splnění požadavků uvedených v následující tabulce. Kompletní seznam požadavků naleznete v příručce *Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems Site Preparation Guide*.

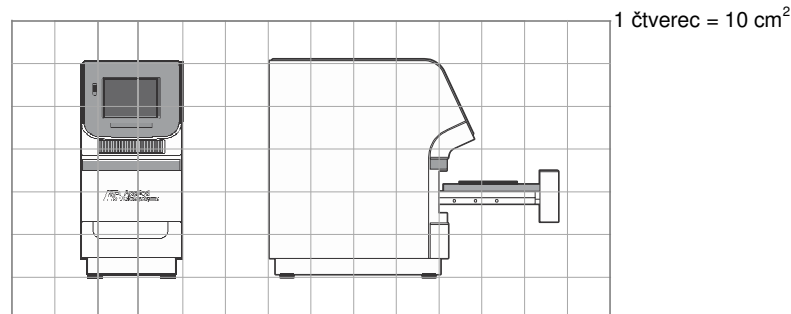
Požadavek	Přístroj	Navíc	Celkem
Délka (nosítka zavřena)	48.5 cm	<ul style="list-style-type: none"> • vpředu‡ – 18.8 cm • vzadu§ – 15.2 cm 	82.5 cm
Šířka	24.6 cm	15.2 cm #	39.8 cm
Výška	51.2 cm	30.5 cm	81.7 cm
Hmotnost	<ul style="list-style-type: none"> • StepOne™ – 23.59 ± 0.45 kg ‡‡ • StepOnePlus™ – 24.04 ± 0.45 kg 		
Teplota	15 až 30 ° C / max. změna < 15 ° C každých 24 hod		
Vlhkost	15 až 80% relativní vlhkost, nekondenzující		
El. síť	100 až 240 VAC (50 až 60 Hz)		

‡ Potřebné místo pro vysunutí nosítek přístroje.

§ Potřebné místo pro tok vzduchu a chlazení.

Potřebné místo vlevo a vpravo pro tok vzduchu a chlazení.

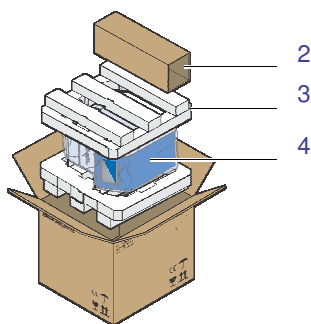
‡‡ Nebo nejméně 38.32 kg je-li počítač vedle přístroje. Aktuální hmotnost závisí na modelu používaného počítače.



Umístění
přístroje**WARNING**

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

1. Přeřízněte popruhy držící krabici a otevřete ji.
2. Vyjměte krabici obsahující instalační soupravu a odložte ji stranou.
3. Vyjměte obalový materiál z krabice.
4. Sejměte ochranný kryt přístroje.



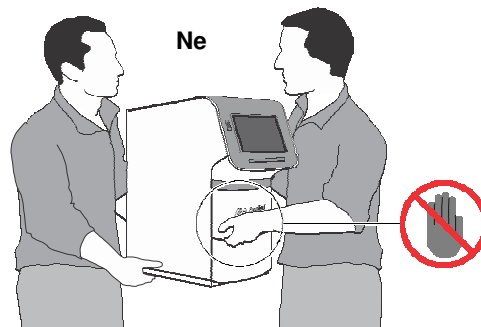
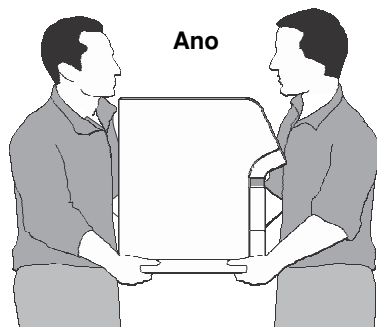
5. Přistupte k přístroji ze stran a pevně jej uchopte v rozích.
6. Zvedněte přístroj a umístěte jej na zvolené místo.

Doporučení pro zvedání a přemísťování přístroje:

- Udržujte svou páteř v neutrální pozici.
- Podřepněte v kolenou a zvedejte propnutím nohou.
- Nezvedejte předmět při současném otáčení se.
- Před zvedáním a přenášením se na jednotlivých krocích domluvte s tím, kdo s vámi tuto činnost provádí.

**CAUTION**

Nenoste přístroj za vysouvací nosítka. Mohlo by dojít k poškození optického systému přístroje.



Kontrola dodávky

Před zahájením instalace ověřte, že jste obdrželi všechny součásti systému, které jsou dodávány spolu s Real-Time PCR systémy Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™.

Přístroj a počítač

√	Součást
	Přístroj StepOne™ a StepOnePlus™
	(volitelně) počítač Dell®: • Dell® desktop s plochým monitorem Dell® <i>nebo</i> • Dell® laptop s PCMCIA síťovou kartou DŮLEŽITÉ! Pokud jste si neobjednali počítač od společnosti Applied Biosystems, mějte k dispozici vlastní, splňující požadavky v části "Minimální požadavky na počítač" na straně 6.

Instalační souprava

Instalační souprava pro systém StepOnePlus™

√	Součást	Kat. č.
	Držák na vizitky	4333831
	kabel, síťový (modrý)	4376698
	kabel, pro systém StepOne™ (žlutý)	4376700
	kabely, univerzální napájecí sada‡	4377117
	MicroAmp™ 96-jamková základna	4379590
	MicroAmp™ 96-jamková nosítka pro bloky VeriFlex	4379983
	MicroAmp™ Adhesive Film Applicator (nástroj pro zavírání destiček filmem)	4333183
	MicroAmp™ Cap Installing Tool (nástroj pro zavírání zkumavek)	4330015
	MicroAmp™ Fast 8-zkumavkové stripy (0.1 mL)	4358293
	MicroAmp™ Fast optické 96-jamkové destičky s čárovým kódem (0.1-mL)	4346906
	MicroAmp® Fast reakční zkumavky s víčkem (0.1-mL)	4358297
	MicroAmp™ optické 8-víčkové stripy	4323032
	MicroAmp™ optický adhezivní film	4360954
	StepOnePlus™ System USB disk	4333831
	Záruční list, Poznámky k výrobku	—

‡ obsahuje přírodní kabely australské, britské, evropské, severoamerické a japonské.

Instalační souprava pro systém StepOne™

√	Součást	Kat. č.
	Držák na vizitky	4333831
	kabel, síťový (modrý)	4376698
	kabel, pro systém StepOne™ (žlutý)	4376700
	kabely, univerzální napájecí sada‡	4377117
	MicroAmp® Fast reakční zkumavky s víčkem (0.1-mL)	4358297
	MicroAmp™ 48-jamkový adapter	4375284
	MicroAmp™ 48-jamkový optický adhezivní film	4375928
	MicroAmp™ 96-jamková základna	4379590
	MicroAmp™ Fast 48-jamková nosítka	4375282
	MicroAmp™ Fast 8-zkumavkové stripy (0.1 mL)	4358293
	MicroAmp™ Fast optické 48-jamkové destičky	4375816
	MicroAmp™ optické 8-víčkové stripy	4323032
	StepOnePlus™ System USB disk	4333831
	Záruční list, Poznámky k výrobku	—

‡ obsahuje přívodní kabely australské, britské, evropské, severoamerické a japonské.

Ověřovací
instalační
souprava

Ověřovací instalační souprava pro systém StepOnePlus™

√	Součást	Kat. č.
	TaqMan® RNÁza P Fast 96-jamková destička pro ověření funkčnosti přístroje	4351979

Ověřovací instalační souprava pro systém StepOne™

√	Součást	Kat. č.
	TaqMan® RNÁza P Fast 48-jamková destička pro ověření funkčnosti přístroje	4371439

Software a dokumentace

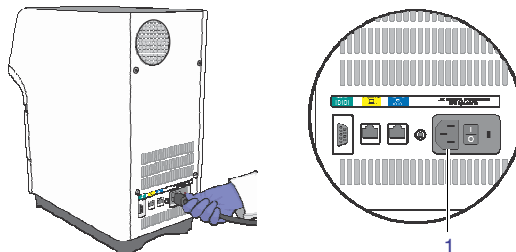
√	Součást	Kat. č.
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy</i> <i>Návod na přípravu místa</i>	4376768
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy –</i> <i>Instalace – Zkrácený návod</i>	4376783
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy</i> <i>Instalace, práce v síti a údržba - Uživatelská příručka (tato příručka)</i>	4376782
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR</i> <i>systémy – Genotypovací experimenty</i>	4376786
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR</i> <i>systémy – Experimenty typu Ano/Ne (Přítomnost/Nepřítomnost)</i>	4376787
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy –</i> <i>Standardní křivka</i>	4376784
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR</i> <i>systémy – Relativní standardní křivka a komparativní C_T metoda</i>	4376785
	<i>Applied Biosystems StepOne™ a StepOnePlus™ - Real-Time PCR systémy –</i> <i>Volba reagensů</i>	4379740
	<i>CD, Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR Systém Software</i>	4382355
	Primer Express® Software v3.0	4361938
	Další položky (podložka pro myš, registrační karta atd.)	—

Zprovoznění přístroje

Pokud jste ověřili, že jste obdrželi kompletní dodávku, proveďte systémový test přístroje a základní nastavení.

Příprava přístroje

1. Připojte přívodní kabel k přístroji.



2. (volitelně) Zapojte elektrická ochranná zařízení.

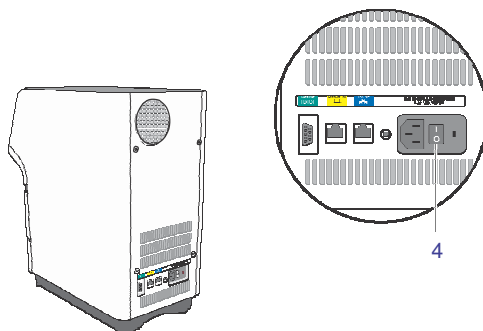
Společnost Applied Biosystems doporučuje použití alespoň jednoho elektrického ochranného zařízení (regulátor napětí, záložní zdroj a/nebo svodič přepětí), abyste zabránili ztrátě dat a ochránili přístroj před škodami vzniklými v důsledku problémů v elektrické síti.

Poznámka: Více informací o volbě elektrických ochranných zařízení naleznete v části [“Volba ochranných zařízení”](#) na straně 7.

3. Připojte přívodní kabel do zásuvky.
4. Zapněte přístroj, vyčkejte na provedení počáteční diagnostiky systému.

Při prvním zapnutí přístroje může jeho spuštění trvat více než 5 min. S instalací pokračujte v okamžiku, kdy se na dotykovém displeji zobrazí Hlavní nabídka (Main Menu), což je signál dokončení startu přístroje.

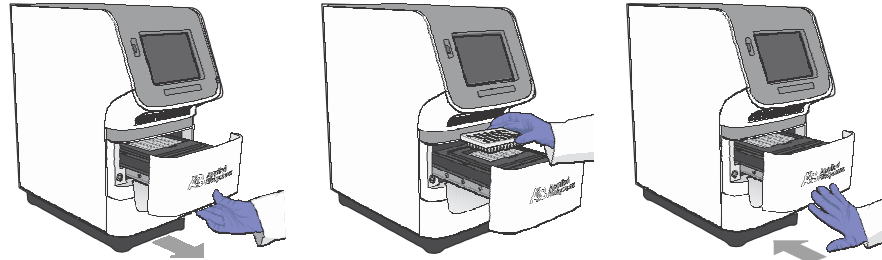
Poznámka: Aktualizace firmwaru přístroje může trvat až 20 min.



Zobrazí-li přístroj chybovou hlášku, vypněte jej, vyčkejte 30 sec a znovu jej zapněte. Zobrazí-li znovu chybovou hlášku, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle pokynů v části [“Kde získat pomoc”](#) na straně x.

5. Odstraňte ochrannou destičku z bloku na vzorky:
 - a. Otevřete nosítka přístroje.
 - b. Odstraňte ochrannou destičku z bloku na vzorky.
 - c. Uzavřete nosítka přístroje.

Pro odstranění ochranné destičky musíte přístroj nejprve zapnout, aby se blok na vzorky přesunul do spodní pozice. Během přepravy je blok v “horní” pozici a nepřesune se dolů, dokud přístroj nezapnete.



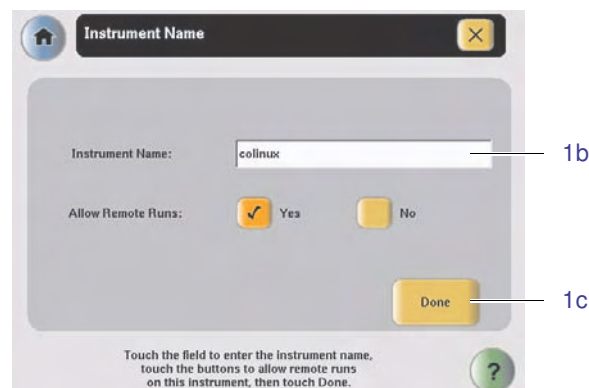
Nastavení přístroje

1. Zadejte název přístroje:
 - a. V Hlavní nabídce (Main Menu) se dotkněte **Settings** (Nastavení) > **Admin** > **Set Instrument Name** (Zadání názvu přístroje).
 - b. Dotkněte se pole **Instrument Name** (Název přístroje), zadejte název a dotkněte se **Done** (Hotovo).

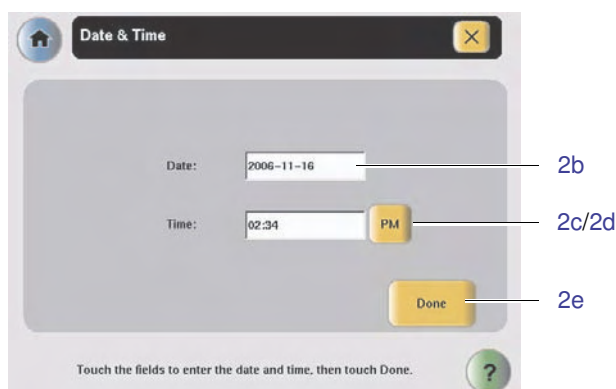
Název přístroje jej identifikuje v počítačové síti. Chcete-li přístroj připojit do sítě, musíte mu přidělit unikátní název.


Poznámka: Pro název přístroje neexistují omezení stran jeho délky nebo použitých znaků. Pokud však chcete přístroj připojit do sítě, použijte název dlouhý max. 15 znaků a nepoužívejte mezery nebo speciální znaky (jako např. ; : " < > * + = \ | ? , ,).

- c. Dotkněte se **Done** čímž nastavení uložíte, poté se dotkněte **OK**.



2. Nastavte datum a čas:
 - a. V nabídce Admin se dotkněte **Set Date & Time** (Nastavení data a času).
 - b. Dotkněte se pole Date (Datum), zadejte aktuální datum ve formátu *rok/měsíc/den*, poté se dotkněte **Done**.
 - c. Dotkněte se pole Time (Čas), zadejte čas ve formátu *hodina:minuta*, poté se dotkněte **Done**.
 - d. Dotkněte se **AM/PM** pro specifikaci času (1-12, 13-24).
 - e. Dotkněte se **Done**, čímž nastavení uložíte, poté se dotkněte **OK**.



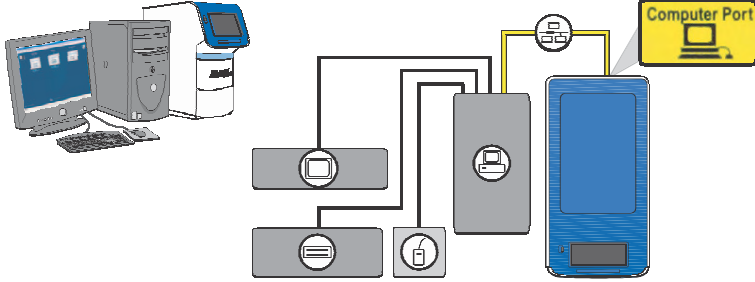
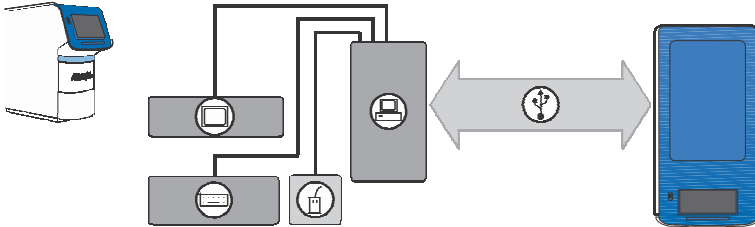
3. Dotkněte se , poté se dotkněte **Yes** (Ano), čímž aktivujete pohotovostní režim (Standby).

Dokončení instalace

Po ukončení nastavení přístroje instalujte zbývající součásti systému podle zvoleného způsobu instalace (bez nebo s počítačem) a proveďte ověření funkčnosti přístroje pomocí ověřovací destičky s RNázou P.

Proveďte zvolenou instalaci

Jak je vysvětleno v části **“Volba způsobu instalace”** na straně 9, systém je možné instalovat dvěma základními způsoby: samostatně (bez) a s počítačem. Proveďte instalaci podle vámi zvoleného způsobu.

Chcete-li instalovat...	Pokračujte v...
<p>přístroj a počítač v tomtéž místě a propojené pomocí žlutého systémového kabelu StepOne.</p> 	<p>Kapitole 3 “Instalace přístroje s počítačem” na straně 25.</p>
<p>přístroj a počítač v různých místech.</p> 	<p>Kapitole 4 “Instalace přístroje bez počítače” na straně 49.</p>


DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte přístroj do sítě dokud neukončíte instalaci úspěšným provedením ověřovacího experimentu s destičkou RNáza P. Připojení do sítě viz Kapitola 5 “Připojení systému do sítě” na straně 73.

3

Instalace přístroje s počítačem

V této kapitole naleznete:

■ O instalaci přístroje s počítačem.....	26
■ Instalace počítače.....	27
Nastavení počítače.....	28
Instalace programu StepOne™.....	31
■ Propojení součástí systému.....	35
■ Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP.....	38
Zadání experimentu.....	40
Spuštění experimentu.....	41
Analýza experimentu.....	43
■ Po instalaci.....	47

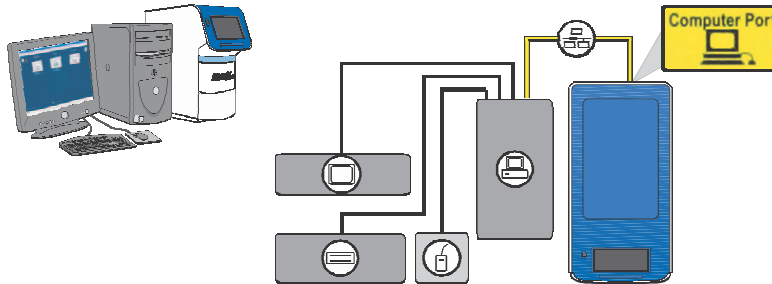
Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

O instalaci přístroje s počítačem

V této kapitole je vysvětleno jak instalovat Real-Time PCR systém Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ s počítačem.

Kdy instalovat
přístroj
s počítačem

Přístroj a počítač jsou propojeny žlutým kabelem. Tuto instalaci proveďte, bude-li počítač umístěn hned vedle přístroje. Úplný popis naleznete v části “Instalace s počítačem” na straně 9.



Poznámka: Pokud *nechcete* připojit počítač k přístroji, instalujte přístroj bez počítače podle popisu v [Kapitole 4 “Instalace přístroje bez připojení k počítači.”](#)

Instalace
s počítačem -
postup

Kapitola 2, Zprovoznění přístroje

Instalace počítače

1. Vybalte počítač.
2. Instalujte program StepOne™ .

DŮLEŽITÉ! Krok 2 proveďte pouze pokud váš počítač není od společnosti Applied Biosystems.

Propojte systém

1. Připojte přístroj k počítači.
2. Ověřte připojení.

Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNÁzaP

1. Zadejte experiment.
2. Spustěte běh.
3. Analyzujte výsledky.

Kapitola 5, Připojení systému do sítě

Instalace počítače

Poté co instalujete přístroj StepOne™ nebo StepOnePlus™, připojte počítač.

DŮLEŽITÉ! Pokud jste objednali počítač od společnosti Applied Biosystems, musíte jej pouze vybalit podle popisu na straně 28. Počítače dodávané společností Applied Biosystems jsou připraveny k použití a již v nich je instalován program StepOne™.

Potřebné pomůcky

- CD, Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software
- Počítač

DŮLEŽITÉ! Pokud jste si neobjednali počítač od společnosti Applied Biosystems, použijte počítač, který splňuje požadavky uvedené v části [“Minimální požadavky na počítač” na straně 6](#).

- Šroubováky
- Žlutý kabel StepOne (z instalační soupravy)
- (*volitelně*) Elektrická ochranná zařízení pro připojení počítače

Společnost Applied Biosystems doporučuje použití jednoho nebo více elektrických ochranných zařízení, abyste zabránili ztrátě dat a ochránili počítač před škodami vzniklými v důsledku problémů v elektrické síti.:

- Regulátor napětí
- Záložní zdroj
- Svodič přepětí
- Zařízení pro zálohování dat

Více informací naleznete v části [“Volba ochranných zařízení” na straně 7](#).

Nastavení počítače

Po instalaci přístroje vybalte počítač a umístěte jej vedle přístroje.

Ověření vhodnosti umístění

Ověřte, že vámi zvolené místo splňuje požadavky pro instalaci počítače. Naleznete je v dokumentaci k počítači.

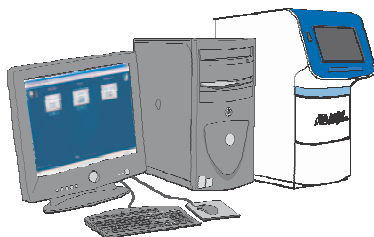
Umístění počítače



CAUTION

RIZIKO PORANĚNÍ. Nesprávný způsob zvedání může způsobit bolestivá a někdy trvalá poranění zad. Při zvedání nebo přemísťování počítače použijte správnou techniku.. Nepokoušejte se zvedat nebo přemísťovat počítač nebo monitor bez asistence dalších osob. V závislosti na hmotnosti počítače nebo monitoru se může jednat o dvě i více osob.

1. Pokud jste to již neprovedli, vybalte monitor, počítač, klávesnici a myš a sestavte tyto komponenty dohromady podle postupu v dokumentaci počítače.



Doporučení pro zvedání a přemísťování počítače:

- Ujistěte se, že počítač při zvedání pevně držíte.
- Ujistěte se, že dráha mezi místem, kde počítač je, a kam jej chcete přemístit, je prostá překážek.
- Nezvedejte se a neotáčejte se najednou.
- Dbejte, aby vaše páteř byla při zvedání předmětu ve stabilní neutrální poloze.
- Všechny zúčastněné osoby musí postup zvedání a přenášení vzájemně koordinovat.
- Nevyjímejte počítač/monitor z krabice, namísto toho položte krabici na bok a přidrže ji, zatímco někdo jiný nechá její obsah opatrně vyklouznout ven.

2. Propojení:

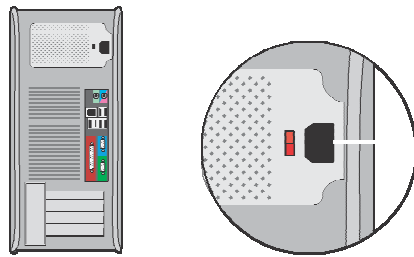
Propojte				Nepropojte
Zdroj	Myš	Klávesnice	Monitor	Síť
	/	/	/	

3. Pokud jste si objednali laptop od společnosti Applied Biosystems, instalujte síťovou PCMCIA kartu podle popisu v její dokumentaci.

Po instalaci PCMCIA karty vyčkejte několik minut, aby počítač mohl toto zařízení aktivovat. Počítač může vyžadovat několik minut pro registraci síťové karty v operačním systému než je možné ji použít.



Poznámka: Pokud instalujete přístroj společně s počítačem, nepropojujte přístroj StepOne k síťovému portu PCMCIA karty. Pokud jste propojili přístroj přes kartu, odpojte jej a připojte kabel do správného portu.


4. Pokud jste si objednali počítač typu desktop od společnosti Applied Biosystems, nastavte odpovídající napětí podle popisu v dokumentaci počítače.

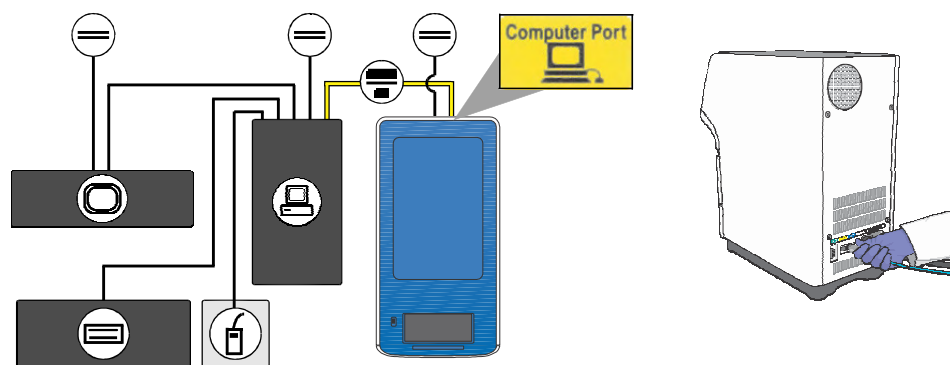


4

5. Vezměte z instalační soupravy žlutý propojovací kabel StepOne (viz “[Kontrola dodávky](#)” na straně 17) a propojte:

- Žlutý síťový port () přístroje
- Síťový port () počítače

DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte systémový kabel StepOne do *modrého* LAN portu (); tento port je vyhrazen pro připojení do sítě.



6. (volitelné) Instalujte k počítači elektrická ochranná zařízení.

Poznámka: Více informací viz “[Volba ochranných zařízení](#)” na straně 7.

Zapnutí
počítače

1. Zapněte počítač a monitor.
2. Přihlaste se do operačního systému:
 - Používáte-li vlastní počítač, přihlaste se do operačního systému jako uživatel s administrátorskými právy.
 - Používáte-li počítač od společnosti Applied Biosystems, zadejte **Administrator** do pole User (Uživatel) a klikněte **Login**. Pole pro heslo ponechte prázdné.

DŮLEŽITÉ! Používáte-li vlastní počítač, musíte se přihlásit do operačního systému Windows® jako uživatel s právy administrátora.

3. V okně Getting Started with Windows® XP (Začínáme s Windows® XP), odznačte **Show this screen at startup** (Ukázat tuto obrazovku při spuštění) a klikněte **Exit**.
4. Následující krok:
 - Používáte-li vlastní počítač, pokračujte částí “[Instalace programu StepOne™](#)” na straně 31.
 - Používáte-li počítač od společnosti Applied Biosystems, pokračujte částí “[Propojení součástí systému](#)” na straně 35.

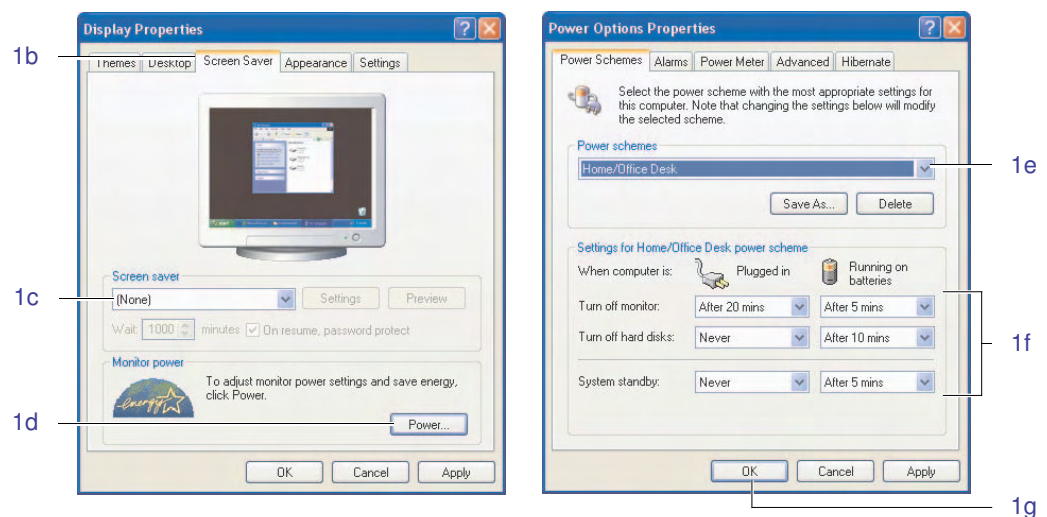
Instalace programu StepOne™

Po zprovoznění počítače upravte vlastnosti zobrazení, zadejte název počítače a nastavte datum a čas, poté instalujte program StepOne™.

DŮLEŽITÉ! Používáte-li počítač od společnosti Applied Biosystems, přeskočte část “Instalace programu StepOne™” a pokračujte částí “Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP” na straně 38. Počítače dodávané společností Applied Biosystems mají program StepOne™ již instalován a jsou připraveny k použití.

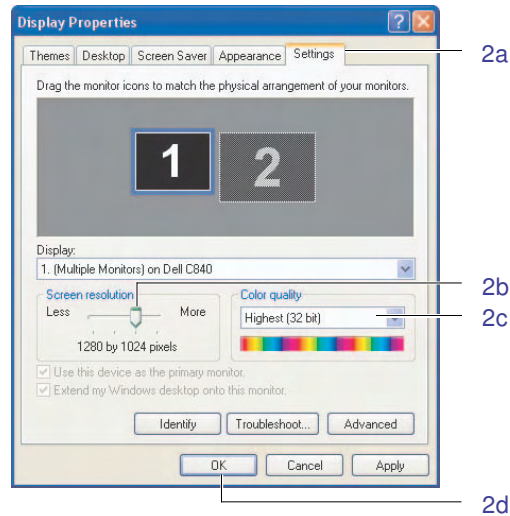
Příprava operačního systému

1. Změňte nastavení spořiče obrazovky a možností napájení:
 - a. Klikněte pravým tlačítkem myši na plochu, zvolte **Properties** (Vlastnosti).
 - b. V dialogovém okně Display Properties zvolte záložku **Screen Saver** (Spořič obrazovky).
 - c. V rozbalovací liště v části Screen saver zvolte **None** (Žádný).
 - d. Klikněte **Power** (Napájení).
 - e. V dialogovém okně Power Options Properties (Možnosti napájení) zvolte v rozbalovací nabídce možnost **Home\Office Desk**.
 - f. Nastavte možnosti napájení pro variantu Plugged in (Připojeno do sítě):
 - Monitor – Zvolte **After 20 mins** (Po 20 minutách).
 - Hard Disks (Pevné disky) – Zvolte **Never** (Nikdy).
 - System standby (Pohotovostní režim) – Zvolte **Never** (Nikdy).
 - g. Klikněte **OK** čímž nastavení uložíte.



2. Změňte nastavení obrazovky:

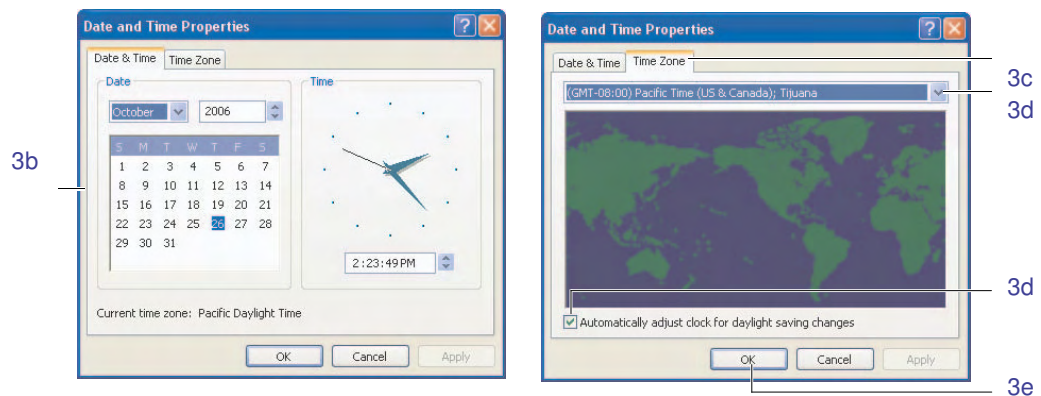
- V dialogovém okně Display Properties (Možnosti zobrazení) zvolte záložku **Settings** (Nastavení).
- Posuňte posuvník na volbu **1280 by 1024 pixels**.
- V části Colors (Barvy) zvolte v rozbalovací nabídce **Highest (32 bit)**.
- Klikněte dvakrát **OK** a poté **Yes** (Ano), čímž nastavení potvrdíte.




3. Nastavte datum a čas:

- Klikněte pravým tlačítkem myši na pole čas v dolní liště, zvolte **Adjust Date/Time** (Nastavit Datum/Čas).
- V záložce Date & Time nastavte datum a čas.
- Zvolte záložku **Time Zone** (Časové pásmo).
- Z rozbalovací nabídky zvolte časové pásmo, poté zvolte **Automatically adjust clock for daylight saving changes** (Automatické nastavení letního času).
- Klikněte **OK**.

Poznámka: Počítače v síti synchronizují nastavení data/času podle serveru.



4. Změňte název počítače:

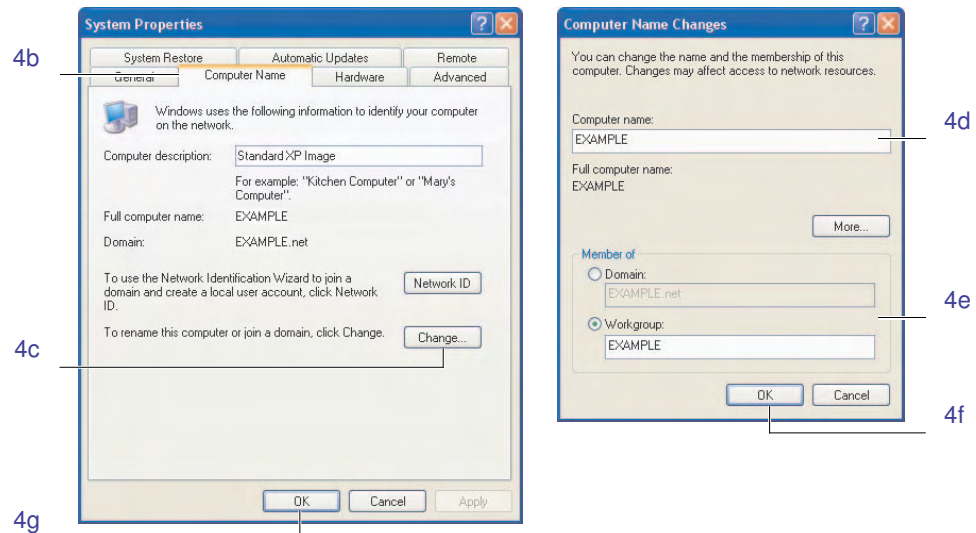
- a. Klikněte pravým tlačítkem myši na ikonu  **My Computer** (Můj počítač), zvolte **Properties** (Vlastnosti).
- b. V dialogovém okně System Properties (Vlastnosti systému) zvolte záložku **Computer Name** (Název počítače).
- c. Klikněte **Change** (Změnit).
- d. V poli Computer Name (Název počítače) zadejte název počítače.



CAUTION Nedávejte počítači stejný název jako přístroji. Identický název by mohl způsobit konflikt názvů v síti.

- e. Chcete-li připojit počítač do sítě, nastavte Domain (Doménu) a Workgroup (Pracovní skupinu).
- f. Klikněte dvakrát **OK**.
- g. V dialogovém okně Network Identification klikněte **OK**.

Poznámka: Název počítače slouží k jeho identifikaci v síti a musí být jiný než název přístroje. Po instalaci systému můžete název počítače změnit, aniž to ovlivní fungování programu StepOne™.




5. V dialogovém okně Systems Settings Change (Změna systémových nastavení) klikněte **Yes** (Ano), čímž restartujete počítač.
6. Přihlaste se do operačního systému jako uživatel s právy administrátora.

**Instalace
softwaru**

DŮLEŽITÉ! Chcete-li instalovat program StepOne™, musíte být přihlášení jako administrátor operačního systému Windows®.

Poznámka: Pokud v průběhu instalace programu StepOne™ dojde k chybám, odinstalujte program podle postupu v části “Odstranění programu StepOne™” na straně 128.

1. Vložte CD Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software do mechaniky počítače a vyčkejte na začátek instalace.

Pokud se instalace nespustí automaticky, dvakrát klikněte na ikonu  (My Computer), otevřete CD a dvakrát klikněte na **Setup.exe**.

2. Na první stránce průvodce instalací klikněte **Next** (Další).
3. Na stránce License Agreement (Licenční ujednání) klikněte **Yes** (Ano).
4. Na stránce Choose Destination Location (Volba umístění) klikněte **Next**, čímž potvrdíte předvolený adresář.

Poznámka: Společnost Applied Biosystems doporučuje instalovat program StepOne™ na disk D, můžete jej však instalovat kamkoliv.

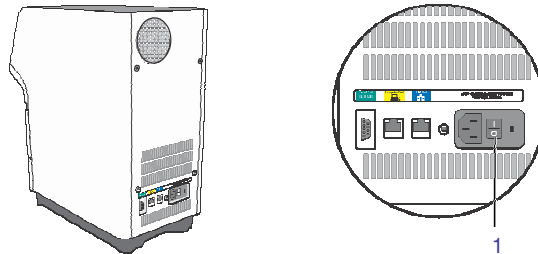
5. Na stránce Default Instrument Type (Přednastavený typ přístroje) zvolte typ přístroje, který instalujete (**StepOnePlus™ Instrument** nebo **StepOne™ Instrument**) a poté klikněte **Next** (Další).
6. Na stránce Start Copying Files (Spuštění kopírování souborů) potvrďte, že cílový adresář v poli Current Settings odpovídá vaší volbě, poté klikněte **Next** (Dále), čímž spustíte instalaci programu StepOne™.
7. Po skončení instalace programu StepOne™ klikněte **Finish** (Konec).

Propojení součástí systému

Poté co připravíte počítač, připojte přístroj k počítači a ověřte, že program StepOne™ může navázat spojení s přístrojem.


Navázání spojení

1. Pokud jste to již neprovedli, zapněte přístroj.



2. Zapněte počítač a monitor.
3. Přihlaste se jako uživatel s právy administrátora.

DŮLEŽITÉ! Používáte-li vlastní počítač, musíte se přihlásit do operačního systému Windows® jako uživatel s právy administrátora

4. Na ploše dvakrát klikněte na ikonu **StepOne Software v2.0**  (nebo zvolte **Start > All Programs > Applied Biosystems > StepOne Software > StepOne Software v2.0**).

Při startu programu StepOne™:

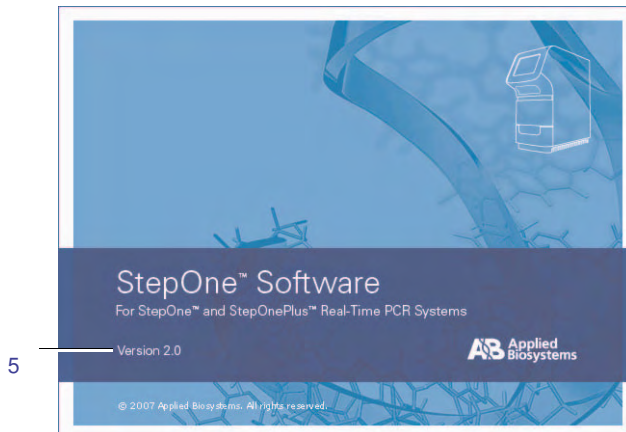
- Program StepOne™ naváže komunikaci s přístrojem.
- Operační systém Windows XP automaticky detekuje připojení k síti.



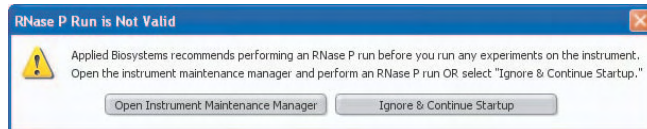
Poznámka: Zobrazování zpráv o stavu sítě můžete vypnout. Viz “(Volitelné) Vypnutí zobrazování zpráv o stavu sítě” na straně 37.

5. Objeví-li se úvodní okno programu StepOne™, porovnejte zobrazené číslo verze programu s verzí dodanou s vaším přístrojem.

Je-li číslo verze nižší než číslo na obalu programu, zavřete program StepOne™ a vložte CD Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software do diskové jednotky počítače, abyste aktualizovali verzi programu.



6. Jste-li vyzváni k aktualizaci firmwaru přístroje, klikněte **Upgrade Firmware Now** (Aktualizace firmwaru nyní).
7. Jakmile vás program StepOne™ vyzve k Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP, klikněte **Open Instrument Maintenance Manager** (Otevřít správce údržby přístroje).

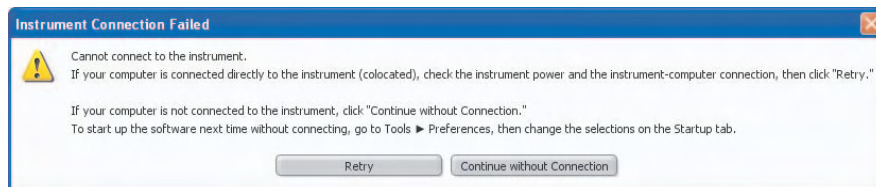


Vyčkejte než program StepOne™ stáhne z přístroje údaje o stavu jeho údržby. Proběhne-li vše úspěšně, program StepOne™ automaticky otevře průvodce během RNázy P v Instrument Maintenance Manager.

Zobrazí-li program StepOne™ zprávu “Instrument Connection Failed” (Propojení s přístrojem se nezdařilo):

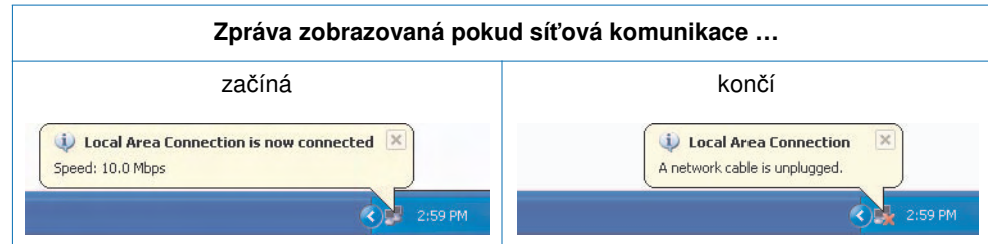
- Ověřte, že počítač a přístroj jsou propojeny žlutým kabelem podle popisu v [kroku 5 na straně 29](#).
- Vypněte přístroj, po 30 sec jej znovu zapněte.
- Zobrazí-li přístroj hlavní obrazovku, klikněte **Retry** (Zkusit znovu).

Pokud problém přetrvává, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle popisu v části “[Kde získat podporu](#)” na straně x.





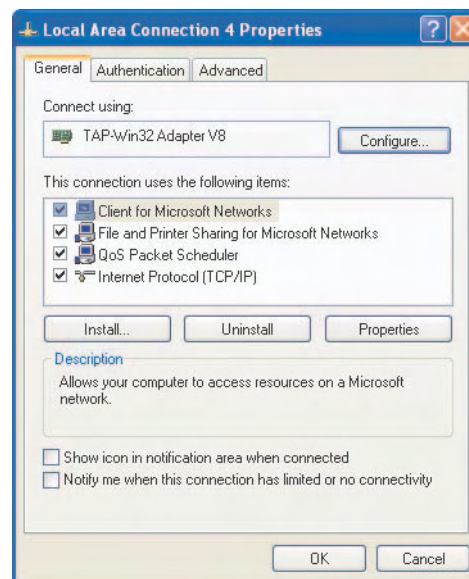
(Volitelné) Vypnutí
zobrazování
zpráv o stavu
sítě

Za normálního nastavení zobrazuje operační systém Windows® zprávy o stavu připojení k místní síti. Zobrazování těchto zpráv můžete vypnout změnou nastavení vlastností sítě podle postupu popsaneho níže.



Chcete-li vypnout zobrazování zpráv o stavu síťového připojení:

1. Zvolte **Start > Control Panel**, poté dvakrát klikněte na  **Network Connections**.
2. Klikněte pravým tlačítkem myši na  **Local Area Connection (Vlastnosti sítě)**, poté zvolte **Properties (Vlastnosti)**.
3. Odznačte **Show icon in notification area when connected** (Zobrazovat informace o navázání připojení).
4. Odznačte **Notify me when this connection has limited or no connectivity** (Zobrazovat informace není-li síťové připojení k dispozici).
5. Klikněte **OK**.



6. Uzavřete okno Network Connections (Síťová připojení).

Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNÁzaP

Poté co komponenty systému komunikují, ověřte fungování systému pomocí ověřovací destičky TaqMan® RNÁza P Fast.

Potřebné pomůcky

- Ověřovací destička TaqMan® RNÁza P Fast
- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle
- Centrifuga s adaptérem na destičky

Kdy provádět ověřovací běh s RNázou P

Společnost Applied Biosystems doporučuje provést experiment s destičkou RNÁza P:

- Po instalaci systému.
- Po přemístění přístroje na jiné místo.
- Pokud potřebujete ověřit funkčnost přístroje, v závislosti na požadavcích vaší laboratoře a místních předpisů.

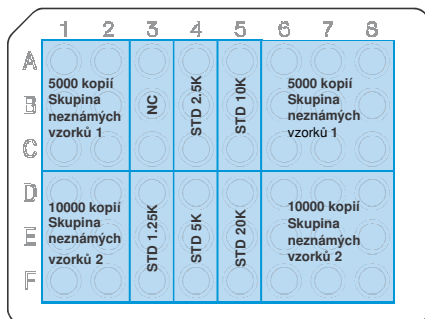
Účel pokusu

Pokus s destičkou TaqMan® RNÁza P Fast slouží k ověření funkčnosti přístroje. V destičce RNÁza P jsou rozplněny reagencie potřebné pro detekci a kvantifikaci genomických kopií lidského genu pro RNÁzu P (jednokopiový gen kódující RNázovou jednotku enzymu RNÁza P).

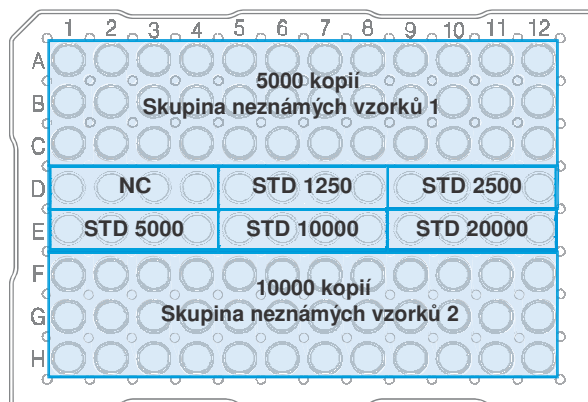
Každá jamka obsahuje:

- 1× TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix, No AmpErase® UNG
- primery pro RNÁzu P
- barvivem FAM™ značenou sondu
- templát – lidskou genomickou DNA o známé koncentraci

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



TaqMan® 48-jamková destička RNÁza P pro systém StepOne™



TaqMan® 96-jamková destička RNÁza P pro systém StepOnePlus™

Po skončení běhu program StepOne™:

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

$$[(CopyUnk_2) - 3(\sigma CopyUnk_2)] > [(CopyUnk_1) + 3(\sigma CopyUnk_1)]$$

kde:

- CopyUnk₁ = Průměrný počet kopií skupiny 1 (Obsahuje 5000 kopií)
- σ CopyUnk₁ = Standardní odchylka skupiny 1 (Obsahuje 5000 kopií)
- CopyUnk₂ = Průměrný počet kopií skupiny 2 (Obsahuje 10000 kopií)
- σ CopyUnk₂ = Standardní odchylka skupiny 2 (Obsahuje 10000 kopií)

Ověření funkčnosti

Ověření funkčnosti přístroje je úspěšné, pokud získaná data dokládají, že přístroj je schopen rozlišit 5000 a 10000 genomových ekvivalentů s 99.7% koeficientem spolehlivosti.

Při analýze je z každé skupiny neznámých vzorků (5000 a 10000 kopií) možné vyloučit určitý počet odlehlých bodů. Počet odlehlých bodů, které lze vyloučit, závisí na typu přístroje, který instalujete.

Přístroj	Maximální počet odlehlých bodů, které je možné vyloučit z...			Celkem
	Skupina neznámých vzorků	Standardy (STD)	Negativní kontroly (NC)	
StepOnePlus™	6	0	0	12
StepOne™	2	0	0	4

Zadání experimentu

Přípravte ověřovací destičku TaqMan® RNÁza P Fast ke spuštění.

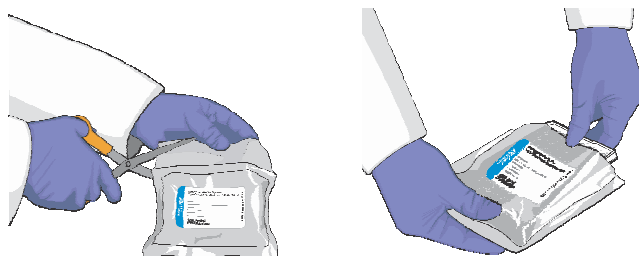
Příprava
destičky
RNÁza P

DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte destičku RNÁza P určenou pro jiný přístroj Applied Biosystems než pro přístroj StepOne™. Destičky RNÁza P pro jiné přístroje obsahují barvivo TAMRA™, kterou nelze v systému StepOne™ použít.



DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s ověřovací destičkou RNÁza P používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte ověřovací destičku TaqMan® RNÁza P Fast z mrazáku a vyčkejte, než se destička ohřeje na pokojovou teplotu (asi 5 minut).
2. Vyjměte destičku RNÁza P z obalu.

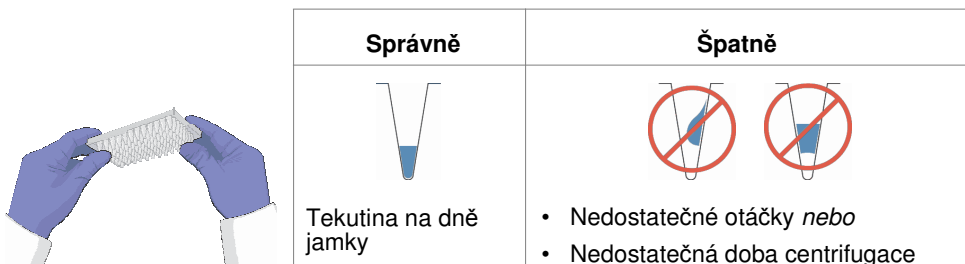


3. Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.
4. Destičku krátce centrifugujte v centrifuze (< 1500 rpm).

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

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

DŮLEŽITÉ! Nedovolte, aby došlo k znečištění dna destičky RNÁza P. Tekutiny a další kontaminace, které přilnou ke dnu reakční destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit příliš vysoký signál pozadí.



Spuštění běhu

Poté co připravíte destičku TaqMan® RNÁza P Fast, vložte ji do přístroje a spusťte běh.

Vložení
destičky do
přístroje



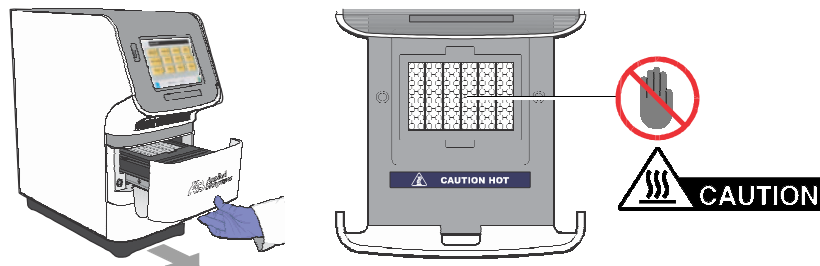
CAUTION

RIZIKO PORANĚNÍ. Při provozu přístroje může teplota bloku na vzorky překročit 100 °C. Pokud byl přístroj aktuálně používán, vyčkejte, než dojde k ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.

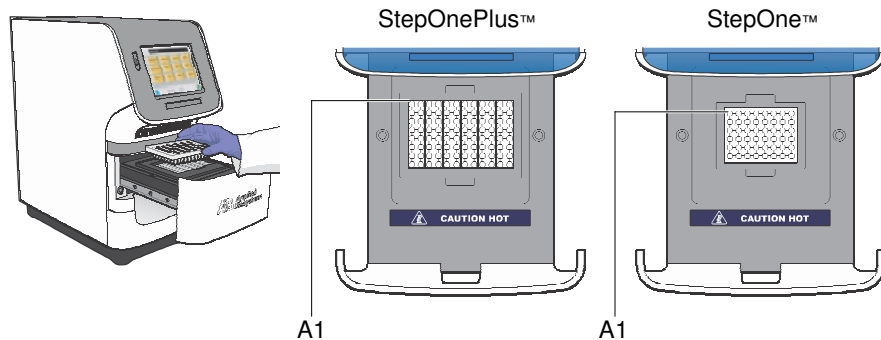


DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou RNÁza P používejte rukavice bez pudru.

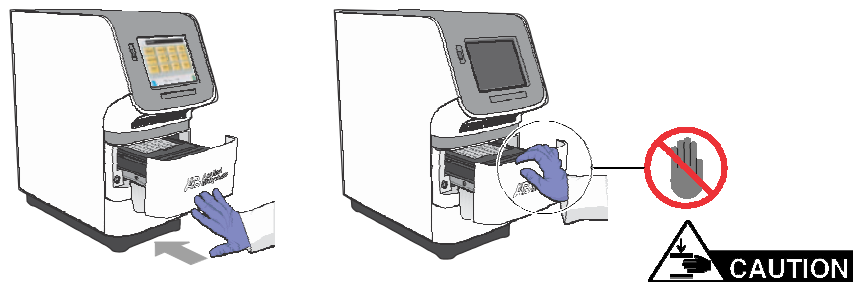
1. Otevřete nosítka přístroje.



2. Umístěte destičku RNÁza P do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je v levém zadním rohu bloku.

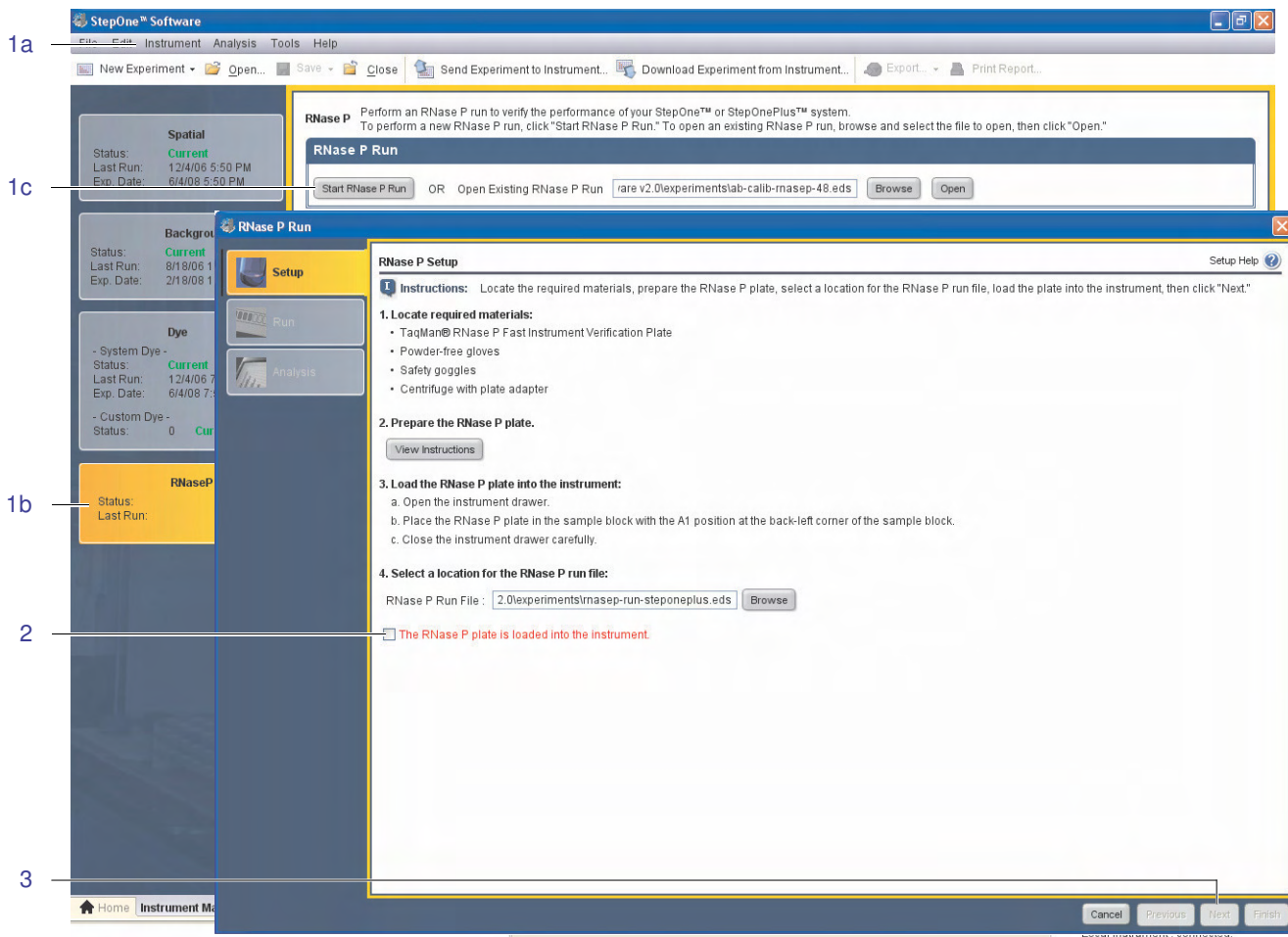


3. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



- Spuštění běhu**
1. Pokud program StepOne™ automaticky otevřel dialogové okno běhu RNáza P, pokračujte krokem 2. Jinak postupujte následovně:
 - a. Zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Správce údržby přístroje).
 - b. V okně Instrument Maintenance Manager zvolte **RNase P**.
 - c. Klikněte **Start RNase P Run** (Spustit běh RNáza P).
 2. Na obrazovce Setup v průvodci experimentem s RNázou P zvolte **The RNase P plate is loaded into the instrument** (Destička je vložena v přístroji).
 3. Klikněte **Next** (Dále).
 4. Na obrazovce Run (Běh) v průvodci experimentem klikněte **Start Run** ▶.

Poznámka: Před spuštěním běhu může nastat pauza až 15 min kvůli ohřevu vyhřívaného víka na požadovanou teplotu.



Analýza výsledků běhu

Ověřte výsledky experimentu.

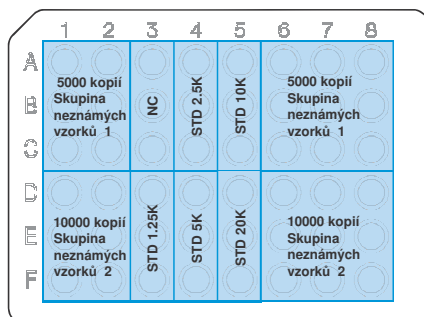
Ověření výsledků analýzy

Poznámka: Poté co program StepOne™ ukončí běh RNÁza P, automaticky analyzuje výsledky a zobrazí je v záložce Analysis (Analýza).

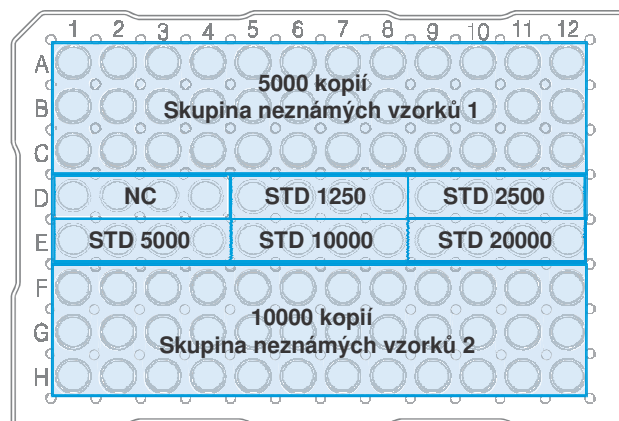
- Na obrazovce Analysis (Analýza) v průvodci experimentem s RNázou P ověřte stav:
 - Passed** – Přístroj splnil kritéria běhu RNÁza P. Pokračujte **krokem 5 na straně 45**.
 - Failed** – Přístroj nesplnil kritéria běhu RNÁza P. Pokračujte **krokem 2** – vyhledáním odlehlých bodů.

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

- V amplifikačním grafu zvolte **Ct vs. Well** (Závislost C_T na pozici jamky).
- Ověřte uniformitu každé skupiny replikátů porovnáním seskupení hodnot C_T (kontroly, standardy, neznámé vzorky):
 - V zobrazení destičky zvolte jamky obsahující 10,000 kopií:
 - StepOne™ – Jamky ze sloupců 1, 2, 6, 7 a 8 v řádcích D, E a F
 - StepOnePlus™ – Jamky v řádcích F, G a H



TaqMan® 48-jamková destička RNÁza P pro systém StepOne™



TaqMan® 96-jamková destička RNÁza P pro systém StepOnePlus™

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

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

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

Přístroj	Maximální počet odlehlých bodů, které je možné vyloučit z...			Celkem
	Skupina neznámých vzorků	Standardy (STD)	Negativní kontroly (NC)	
StepOnePlus™	6	0	0	12
StepOne™	2	0	0	4

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

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

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

The screenshot shows the RNase P Run software interface. On the left, there are navigation buttons for 'Setup', 'Run', and 'Analysis'. The main area shows 'RNase P Analysis' with instructions and a status of 'Passed'. Below this is an 'Amplification Plot' showing a graph of Ct vs Well Number. A circled point on the graph is labeled '3b' and 'Odehlý bod'. To the right is a 'View Plate Layout' showing a grid of wells with their respective Ct values and status indicators. A circled well in the grid is labeled '3a'. At the top right of the plate layout, there are buttons for 'Omit' and 'Reanalyze', with '3c' and '4' circled around them. The bottom of the interface has 'Cancel', 'Previous', 'Next', and 'Finish' buttons.

5. Vyhodnoťte parametry standardní křivky:

- Zvolte záložku **Standard Curve** (Standardní křivka).
- Klikněte do levého horního rohu vyobrazení destičky, čímž zvolíte všechny jamky.
- Ověřte, že parametr R^2 je vyšší nebo roven 0.990.

Je-li hodnota parametru R^2 nižší než 0.990, opakujte pokus s RNázou P za použití jiné destičky RNÁza P. Pokud problém přetrvává, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle popisu v části “Kde získat pomoc” na straně x.

6. Klikněte **Finish** (Konec) a klikněte **Yes** (Ano), jste-li vyzváni k uložení pokusu.

The screenshot displays the 'RNase P Run' software interface. On the left, a navigation pane shows 'Setup', 'Run', and 'Analysis' (selected). The main window is titled 'RNase P Analysis' and shows 'Status: Passed'. A 'Standard Curve' plot is visible, showing Ct values on the y-axis (ranging from 25.75 to 30.00) and Quantity (Copies) on the x-axis (log scale from 1000 to 10000). The plot includes a linear regression line and data points. Below the plot, the following parameters are displayed: Target: RNase P, Slope: -3.297, Y-Inter: 40.077, R^2 : 0.997, Eff%: 101.047. To the right, the 'View Plate Layout' section shows a 96-well plate grid with columns 1-12 and rows A-H. The grid contains various sample types: 'U' (Unknown), 'S' (Standard), and 'N' (Negative Control). A summary at the bottom of the grid indicates: Wells: U 72 Unknown, S 20 Standard, N 4 Negative Control, 0 Empty. At the bottom of the software window, there are buttons for 'Cancel', 'Previous', 'Next', and 'Finish'.

Vyjmutí destičky



CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Při provozu přístroje může teplota bloku na vzorky překročit 100 °C. Pokud byl přístroj aktuálně používán, vyčkejte, než dojde k ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.



DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou RNáza P používejte rukavice bez pudru.

1. Otevřete nosítka přístroje.
2. Vyjměte destičku RNáza P z bloku na vzorky.
3. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



4. Destičku RNáza P vyhodte.

DŮLEŽITÉ! Přístroj po ukončení běhu nevypínejte. Automaticky se přepne do stavu spánku není-li používán. Přístroj vypínejte pokud jej nebudete používat delší dobu.

Po instalaci

Po ověření funkčnosti systému pomocí běhu RNÁza P můžete na počítač instalovat další programy nebo připojit počítač do sítě.

Instalace dalších programů Společnost Applied Biosystems doporučuje pro lepší zabezpečení a fungování počítače instalovat následující programy:

- Antivirový program
- Archivační nebo kompresní program
- Bezpečnostní programy (firewall a kódovací nástroje)
- Programy pro optimalizaci výkonu počítače

Poznámka: Více informací viz “[Volba ochranných zařízení](#)” na straně 7.

Chcete-li ověřit, že programy třetích stran neinterferují s programem StepOne™:

1. Instalujte tyto programy na počítač s programem StepOne™.
2. Proved'te několik testovacích běhů za použití destiček neobsahujících reagenty.

Poznámka: Cílem testovacích běhů je navodit situaci, která odpovídá normálnímu provozu přístroje. Zadáání testovacích běhů (rozvržení vzorků v destičce a definice parametrů běhu) musí být proto co nejpodobnější vašim skutečným experimentům.

3. Ověřte provedení každého testovacího experimentu bez chybových hlášek.

Provede-li systém testovací běhy úspěšně, můžete provádět běžné experimenty. Zaznamenáte-li během testovacích běhů chyby, instalované programy nemusí být kompatibilní s programem StepOne™.

Připojení systému do sítě Možnosti přístroje můžete rozšířit, připojíte-li k němu připojený počítač do sítě. Je-li přístroj takto připojen do sítě, je možné z počítačů v síti, na nichž je instalován program StepOne™:

- Monitorovat stav aktuálního běhu
- Posílat a stahovat experimenty do a z přístroje

DŮLEŽITÉ! Počítače připojené k přístroji přes síť nelze použít k ovládní přístroje.


Chcete-li připojit přístroj do sítě, naleznete informace v [Kapitole 5 “Připojení systému do sítě”](#) na straně 73.

4

Instalace přístroje bez připojení k počítači

V této kapitole naleznete:


■ O instalaci přístroje bez připojení k počítači.....	50
■ Nastavení počítače.....	51
Instalace počítače	52
Instalace programu StepOne™	54
Příprava programu StepOne™ k použití	58
■ Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP	60
Zadání experimentu.....	62
Spuštění experimentu	63
■ Analýza ověřovacího běhu s destičkou RNáza P	65
Vyjmutí destičky	65
Kopírování experimentu.....	66
Analýza experimentu.....	68
■ Po instalaci	71

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

O instalaci přístroje bez připojení k počítači

V této kapitole je vysvětleno jak instalovat Real-Time PCR systém Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ bez připojení k počítači.

Kdy instalovat
přístroj bez
připojení
k počítači

Přístroj a počítač s programem StepOne™ *nejsou* propojeny. Místo toho se pro přenos dat mezi počítačem a přístrojem používá USB disk (). Tuto instalaci proveďte, bude-li počítač umístěn jinde než přístroj. Úplný popis naleznete v části “[Instalace bez počítače](#)“ na straně 10.



Poznámka: Pokud chcete k přístroji připojit počítač, instalujte přístroj s počítačem podle popisu v [Kapitole 3 “Instalace přístroje s počítačem.”](#)

Instalace
bez počítače -
postup

Kapitola 2, Zprovoznění přístroje

Nastavení počítače

1. Vyberte počítač.
2. Instalujte program StepOne™.

Poznámka: Krok 2 proveďte pouze pokud váš počítač není od společnosti Applied Biosystems.

Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP

1. Zadejte experiment.
2. Spusťte běh.

Analýza ověřovacího běhu s destičkou RNázaP

1. Kopírujte pokus.
2. Analyzujte výsledky.

Kapitola 5, Připojení systému do sítě

Nastavení počítače

Poté co instalujete přístroj, vybalte počítač a umístěte jej na určené místo.

DŮLEŽITÉ! Pokud jste objednali počítač od společnosti Applied Biosystems, musíte jej pouze vybalit podle popisu na straně 52. Počítače dodávané společností Applied Biosystems jsou připraveny k použití a již v nich je instalován program StepOne™.

Potřebné pomůcky

- CD, Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software
- Počítač

DŮLEŽITÉ! Pokud jste si neobjednali počítač od společnosti Applied Biosystems, použijte počítač, který splňuje požadavky uvedené v části [“Minimální požadavky na počítač”](#) na straně 6.

- Šroubováky
- (volitelně) Elektrická ochranná zařízení pro připojení počítače

Společnost Applied Biosystems doporučuje použití jednoho nebo více elektrických ochranných zařízení, abyste zabránili ztrátě dat a ochránili počítač před škodami vzniklými v důsledku problémů v elektrické síti:

- Regulátor napětí
- Záložní zdroj
- Svodič přepětí
- Zařízení pro zálohování dat

Více informací naleznete v části [“Volba ochranných zařízení”](#) na straně 7.

Instalace počítače

Po instalaci přístroje vybalte počítač a umístěte jej na vhodné místo.

Ověření vhodnosti umístění

Ověřte, že vámi zvolené místo splňuje požadavky pro instalaci počítače. Naleznete je v dokumentaci k počítači.

Umístění počítače











CAUTION

RIZIKO PORANĚNÍ. Nesprávný způsob zvedání může způsobit bolestivá a někdy trvalá poranění zad. Při zvedání nebo přemísťování počítače používejte správnou techniku.. Nepokoušejte se zvedat nebo přemísťovat počítač nebo monitor bez asistence dalších osob. V závislosti na hmotnosti počítače nebo monitoru se může jednat o dvě i více osob.

1. Doporučení pro zvedání a přemísťování počítače:

- Ujistěte se, že počítač při zvedání pevně držíte.
- Ujistěte se, že dráha mezi místem, kde počítač je, a kam jej chcete přemístit, je prostá překážek.
- Nezvedejte se a neotáčejte se najednou.
- Dbejte, aby vaše páteř byla při zvedání předmětu ve stabilní neutrální poloze.
- Všechny zúčastněné osoby musí postup zvedání a přenášení vzájemně koordinovat.
- Nevyjímejte počítač/monitor z krabice, namísto toho položte krabici na bok a přidržte ji, zatímco někdo jiný nechá její obsah opatrně vyklouznout ven.

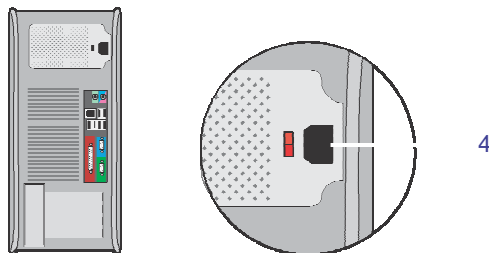
2. Propojení:

Propojte				Nepropojte
Zdroj	Myš	Klávesnice	Monitor	Síť
	 / 	 / 	 / 	

3. Pokud jste si objednali laptop od společnosti Applied Biosystems, instalujte síťovou PCMCIA kartu podle popisu v její dokumentaci.

Po instalaci PCMCIA karty vyčkejte několik minut, aby počítač mohl toto zařízení aktivovat. Počítač může vyžadovat několik minut pro registraci síťové karty v operačním systému než je možné ji použít.

4. Pokud jste si objednali počítač typu desktop od společnosti Applied Biosystems, nastavte odpovídající napětí podle popisu v dokumentaci počítače.



5. (volitelné) Instalujte k počítači elektrická ochranná zařízení.

Poznámka: Více informací viz “Volba ochranných zařízení” na straně 7.

Zapnutí počítače

1. Zapněte počítač a monitor.
2. Přihlaste se do operačního systému:
 - Používáte-li vlastní počítač, přihlaste se do operačního systému jako uživatel s administrátorskými právy.
 - Používáte-li počítač od společnosti Applied Biosystems, zadejte **Administrator** do pole User (Uživatel) a klikněte **Login**. Pole pro heslo ponechte prázdné.

DŮLEŽITÉ! Používáte-li vlastní počítač, musíte se přihlásit do operačního systému Windows® jako uživatel s právy administrátora.

3. V okně Getting Started with Windows® XP (Začínáme s Windows® XP), odznačte **Show this screen at startup** (Ukázat tuto obrazovku při spuštění) a klikněte **Exit**.
4. Následující krok:
 - Používáte-li vlastní počítač, pokračujte částí “Instalace programu StepOne™” na straně 54.
 - Používáte-li počítač od společnosti Applied Biosystems, pokračujte částí “Po instalaci” na straně 71.

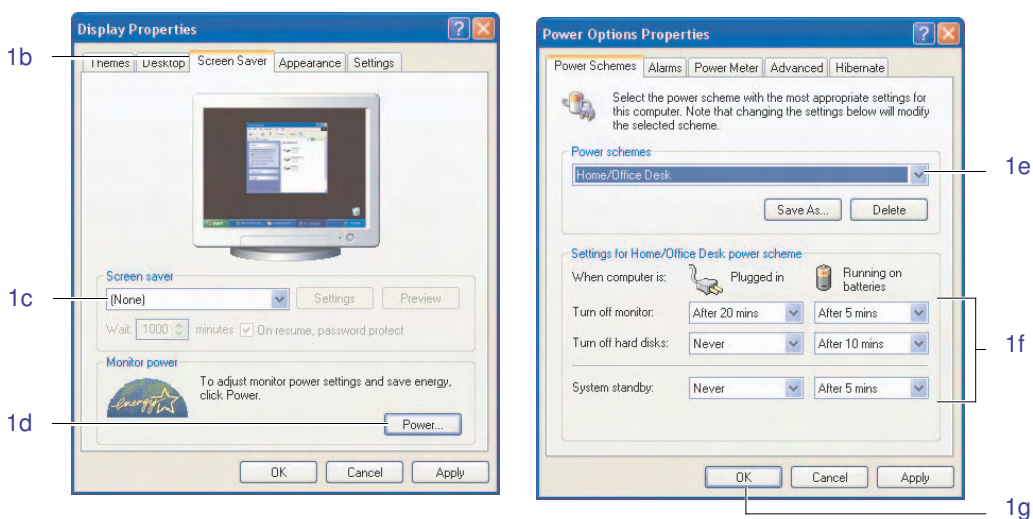
Instalace programu StepOne™

Po zprovoznění počítače upravte vlastnosti zobrazení, zadejte název počítače a nastavte datum a čas, poté instalujte program StepOne™.

DŮLEŽITÉ! Používáte-li počítač od společnosti Applied Biosystems, přeskočte část “Instalace programu StepOne™” a pokračujte částí “Po instalaci” na straně 71. Počítače dodávané společností Applied Biosystems mají program StepOne™ již instalován a jsou připraveny k použití.

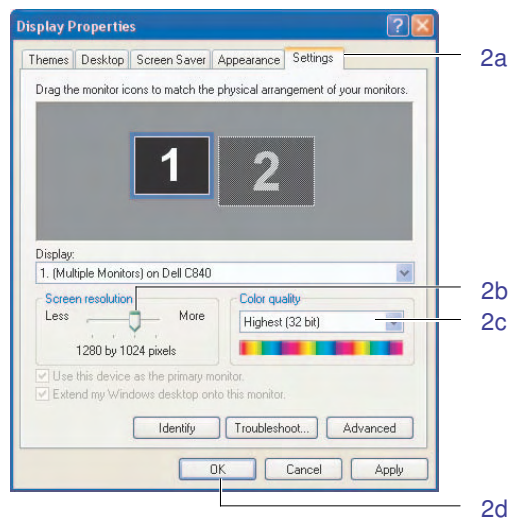
Příprava operačního systému

1. Změňte nastavení spořiče obrazovky a možností napájení:
 - a. Klikněte pravým tlačítkem myši na plochu, zvolte **Properties** (Vlastnosti).
 - b. V dialogovém okně Display Properties zvolte záložku **Screen Saver** (Spořič obrazovky).
 - c. V rozbalovací liště v části Screen saver zvolte **None** (Žádný).
 - d. Klikněte **Power** (Napájení).
 - e. V dialogovém okně Power Options Properties (Možnosti napájení) zvolte v rozbalovací nabídce možnost **Home/Office Desk**.
 - f. Nastavte možnosti napájení pro variantu Plugged in (Připojeno do sítě):
 - Monitor – Zvolte **After 20 mins** (Po 20 minutách).
 - Hard Disks (Pevné disky) – Zvolte **Never** (Nikdy).
 - System standby (Pohotovostní režim) – Zvolte **Never** (Nikdy).
 - g. Klikněte **OK** čímž nastavení uložíte.



2. Změňte nastavení obrazovky:

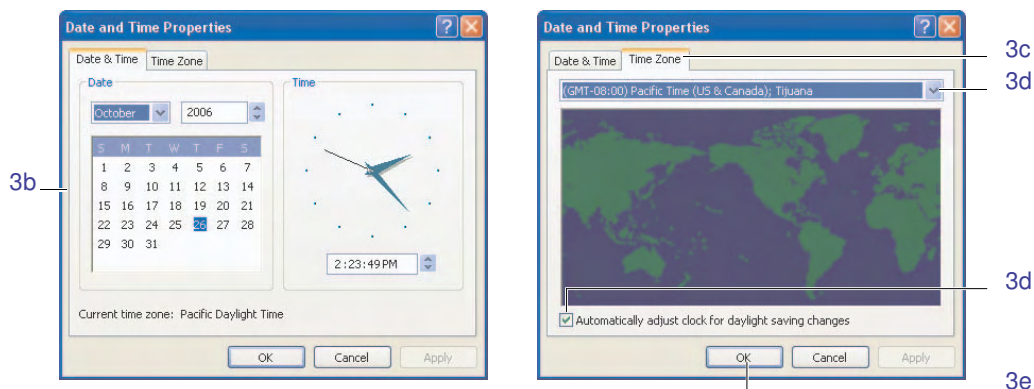
- a. V dialogovém okně Display Properties (Možnosti zobrazení) zvolte záložku **Settings** (Nastavení).
- b. Posuňte posuvník na volbu **1280 by 1024 pixels**.
- c. V části Colors (Barvy) zvolte v rozbalovací nabídce **Highest (32 bit)**.
- d. Klikněte dvakrát **OK** a poté **Yes** (Ano), čímž nastavení potvrdíte.




3. Nastavte datum a čas:

- a. Klikněte pravým tlačítkem myši na pole čas v dolní liště, zvolte **Adjust Date/Time** (Nastavit Datum/Čas).
- b. V záložce Date & Time nastavte datum a čas.
- c. Zvolte záložku **Time Zone** (Časové pásmo).
- d. Z rozbalovací nabídky zvolte časové pásmo, poté zvolte **Automatically adjust clock for daylight saving changes** (Automatické nastavení letního času).
- e. Klikněte **OK**.

Poznámka: Počítače v síti synchronizují nastavení data/času podle serveru.



4. Změňte název počítače:

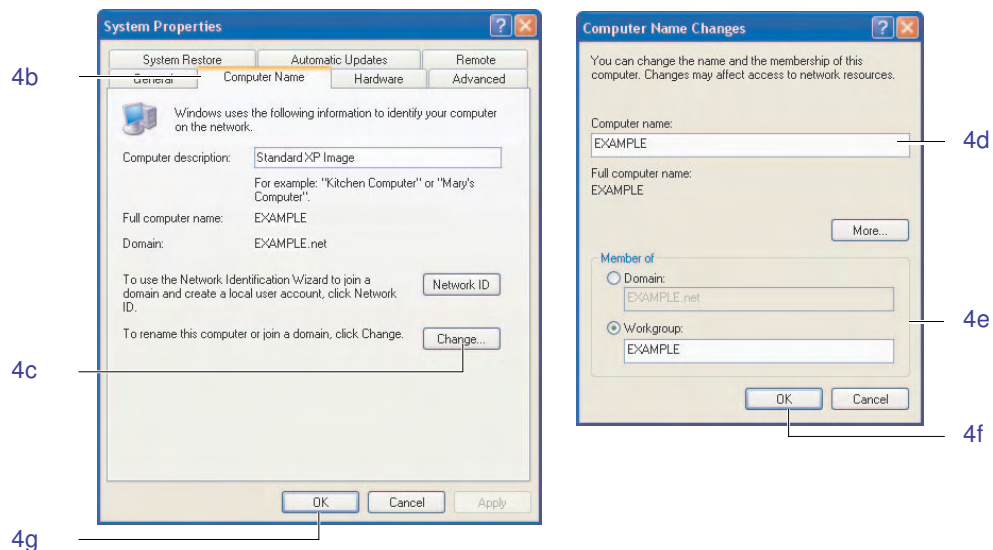
- Klikněte pravým tlačítkem myši na ikonu  **My Computer** (Můj počítač), zvolte **Properties** (Vlastnosti).
- V dialogovém okně System Properties (Vlastnosti systému) zvolte záložku **Computer Name** (Název počítače).
- Klikněte **Change** (Změnit).
- V poli Computer Name (Název počítače) zadejte název počítače.



CAUTION Nedávejte počítači stejný název jako přístroji. Identický název by mohl způsobit konflikt názvů v síti.

- Chcete-li připojit počítač do sítě, nastavte Domain (Doménu) a Workgroup (Pracovní skupinu).
- Klikněte dvakrát **OK**.
- V dialogovém okně Network Identification klikněte **OK**.

Poznámka: Název počítače slouží k jeho identifikaci v síti a musí být jiný než název přístroje. Po instalaci systému můžete název počítače změnit, aniž to ovlivní fungování programu StepOne™




- V dialogovém okně Systems Settings Change (Změna systémových nastavení) klikněte **Yes** (Ano), čímž restartujete počítač.
- Přihlaste se do operačního systému jako uživatel s právy administrátora.

Instalace softwaru

DŮLEŽITÉ! Chcete-li instalovat program StepOne™, musíte být přihlášení jako administrátor operačního systému Windows®.

Poznámka: Pokud v průběhu instalace programu StepOne™ dojde k chybám, odinstalujte program podle postupu v části “Odstranění programu StepOne™” na straně 128.

1. Vložte CD Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software do mechaniky počítače a vyčkejte na začátek instalace.

Pokud se instalace nespustí automaticky, dvakrát klikněte na ikonu  (My **Computer**), otevřete CD a dvakrát klikněte na **Setup.exe**.

2. Na první stránce průvodce instalací klikněte **Next** (Další).
3. Na stránce License Agreement (Licenční ujednání) klikněte **Yes** (Ano).
4. Na stránce Choose Destination Location (Volba umístění) klikněte **Next**, čímž potvrdíte předvolený adresář.


Poznámka: Společnost Applied Biosystems doporučuje instalovat program StepOne™ na disk D, můžete jej však instalovat kamkoliv.

5. Na stránce Default Instrument Type (Přednastavený typ přístroje) zvolte typ přístroje, který instalujete (**StepOnePlus™ Instrument** nebo **StepOne™ Instrument**) a poté klikněte **Next** (Další).
6. Na stránce Start Copying Files (Spuštění kopírování souborů) potvrďte, že cílový adresář v poli Current Settings odpovídá vaší volbě, poté klikněte **Next** (Dále), čímž spustíte instalaci programu StepOne™.
7. Po skončení instalace programu StepOne™ klikněte **Finish** (Konec).

Příprava programu StepOne™

Po instalaci programu StepOne™ jej nastavte takovým způsobem, aby se při spuštění nesnažil navázat připojení s přístrojem nebo ověřit stav běhu RNázy P.

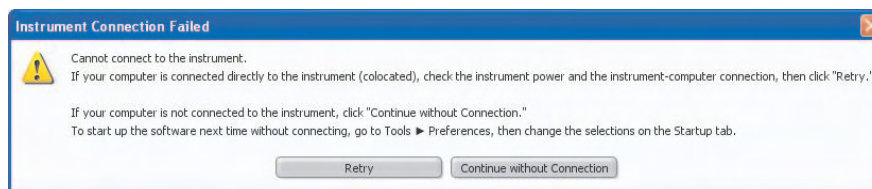
Spuštění programu

1. Na ploše dvakrát klikněte na ikonu **StepOne Software v2.0**  nebo zvolte **Start > All Programs > Applied Biosystems > StepOne Software > StepOne Software v2.0**.
2. Objeví-li se úvodní okno programu StepOne™, porovnejte zobrazené číslo verze programu s verzí dodanou s vaším přístrojem.

Je-li číslo verze nižší než číslo na obalu programu, zavřete program StepOne™ a vložte CD Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Software do diskové jednotky počítače, abyste aktualizovali verzi programu.

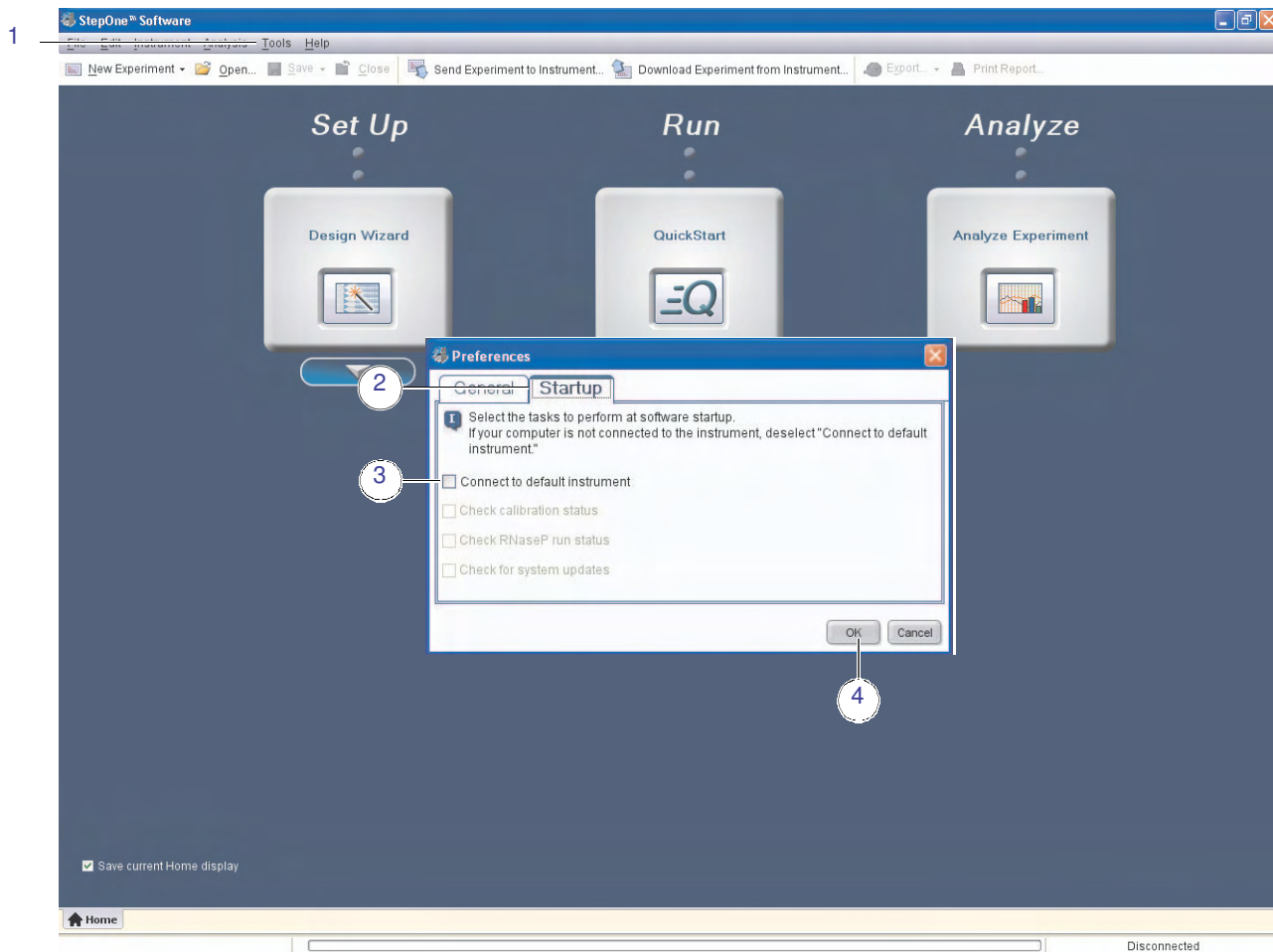


3. Zobrazí-li program StepOne™ zprávu “Instrument Connection Failed” (Propojení s přístrojem se nezdařilo), klikněte **Continue without connection** (Pokračovat bez připojení).



Předvolby programu

1. Na hlavní obrazovce zvolte **Tools > Preferences** (Nástroje > Předvolby).
2. V dialogovém okně Preferences zvolte záložku **Startup** (Spuštění).
3. Odznačte možnost **Connect to default instrument** (Připojovat se ke zvolenému přístroji).
4. Klikněte **OK**.



Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNÁzaP

Po instalaci přístroje ověřte funkčnost systému pomocí ověřovací destičky TaqMan® RNÁza P Fast.

Potřebné pomůcky

- Ověřovací destička TaqMan® RNÁza P Fast
- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle
- Centrifuga s adaptérem na destičky

Kdy provádět ověřovací běh s RNázou P

Společnost Applied Biosystems doporučuje provést experiment s destičkou RNÁza P:

- Po instalaci systému.
- Po přemístění přístroje na jiné místo.
- Pokud potřebujete ověřit funkčnost přístroje, v závislosti na požadavcích vaší laboratoře a místních předpisů.

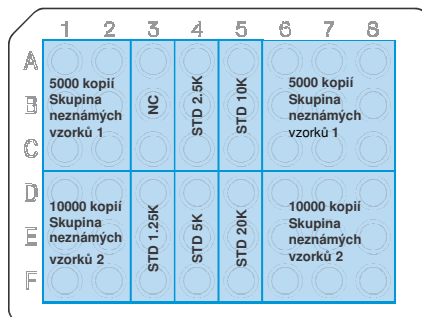
Účel pokusu

Pokus s destičkou TaqMan® RNÁza P Fast slouží k ověření funkčnosti přístroje. V destičce RNÁza P jsou rozplněny reagentie potřebné pro detekci a kvantifikaci genomických kopií lidského genu pro RNÁzu P (jednokopiový gen kódující RNázovou jednotku enzymu RNÁza P).

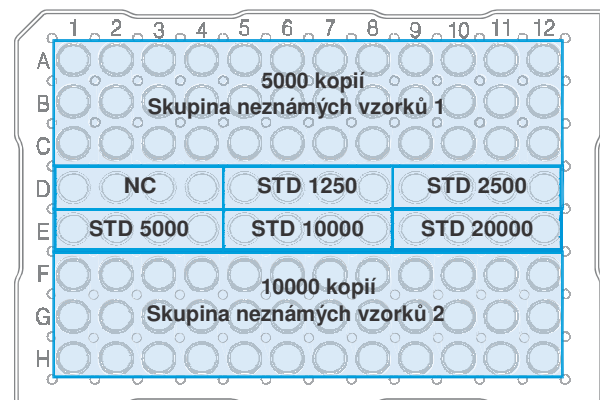
Každá jamka obsahuje:

- 1× TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix, No AmpErase® UNG
- primery pro RNÁzu P
- barvivem FAM™ značenou sondu
- templát – lidskou genomickou DNA o známé koncentraci

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



TaqMan® 48-jamková destička RNÁza P pro systém StepOne™



TaqMan® 96-jamková destička RNÁza P pro systém StepOnePlus™

Po skončení běhu program StepOne™:

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

$$[(CopyUnk_2) - 3(\sigma CopyUnk_2)] > [(CopyUnk_1) + 3(\sigma CopyUnk_1)]$$

kde:

- CopyUnk₁ = Průměrný počet kopií skupiny 1 (Obsahuje 5000 kopií)
- σ CopyUnk₁ = Standardní odchylka skupiny 1 (Obsahuje 5000 kopií)
- CopyUnk₂ = Průměrný počet kopií skupiny 2 (Obsahuje 10000 kopií)
- σ CopyUnk₂ = Standardní odchylka skupiny 2 (Obsahuje 10000 kopií)

Ověření funkčnosti

Ověření funkčnosti přístroje je úspěšné, pokud získaná data dokládají, že přístroj je schopen rozlišit 5000 a 10000 genomových ekvivalentů s 99.7% koeficientem spolehlivosti.

Při analýze je z každé skupiny neznámých vzorků (5000 a 10000 kopií) možné vyloučit určitý počet odlehlých bodů. Počet odlehlých bodů, které lze vyloučit, závisí na typu přístroje, který instalujete.

Přístroj	Maximální počet odlehlých bodů, které je možné vyloučit z...			Celkem
	Skupina neznámých vzorků	Standardy (STD)	Negativní kontroly (NC)	
StepOnePlus™	6	0	0	12
StepOne™	2	0	0	4

Zadání experimentu

Připravte ověřovací destičku TaqMan® RNÁza P Fast ke spuštění.

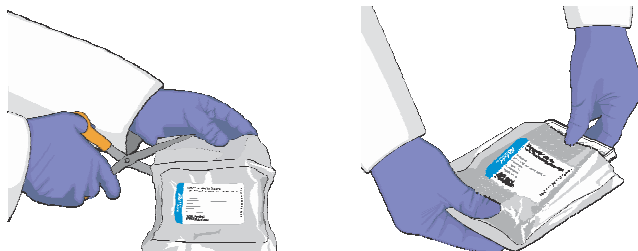
Příprava
destičky
RNÁza P

DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte destičku RNÁza P určenou pro jiný přístroj Applied Biosystems než pro přístroj StepOne™. Destičky RNÁza P pro jiné přístroje obsahují barvivo TAMRA™, kterou nelze v systému StepOne™ použít.



DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s ověřovací destičkou RNÁza P používejte rukavice bez pudru.

1. Vyjměte ověřovací destičku TaqMan® RNÁza P Fast z mrazáku a vyčkejte, než se destička ohřeje na pokojovou teplotu (asi 5 minut).
2. Vyjměte destičku RNÁza P z obalu.

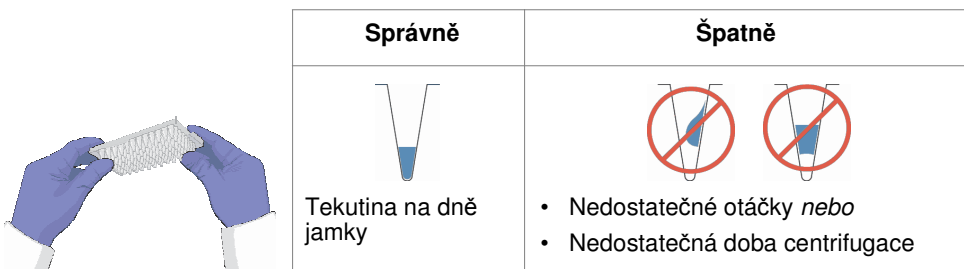


3. Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.
4. Destičku krátce centrifugujte v centrifuze (< 1500 rpm).

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

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

DŮLEŽITÉ! Nedovolte, aby došlo k znečištění dna destičky RNÁza P. Tekutiny a další kontaminace, které přilnou ke dnu reakční destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit příliš vysoký signál pozadí.



Spuštění experimentu

Poté co připravíte destičku TaqMan® RNáza P Fast, vložte ji do přístroje a spusťte běh.

Vložení
destičky do
přístroje



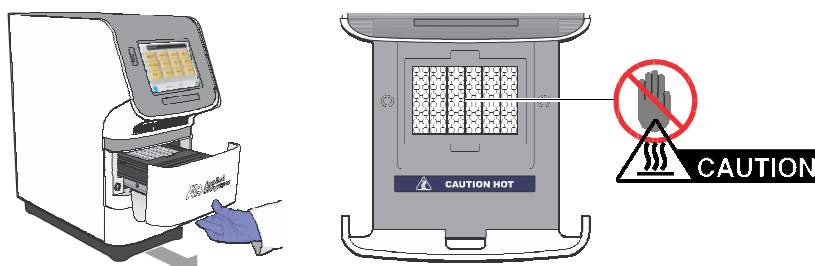
CAUTION

RIZIKO PORANĚNÍ. Při provozu přístroje může teplota bloku na vzorky překročit 100 °C. Pokud byl přístroj aktuálně používán, vyčkejte, než dojde k ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.

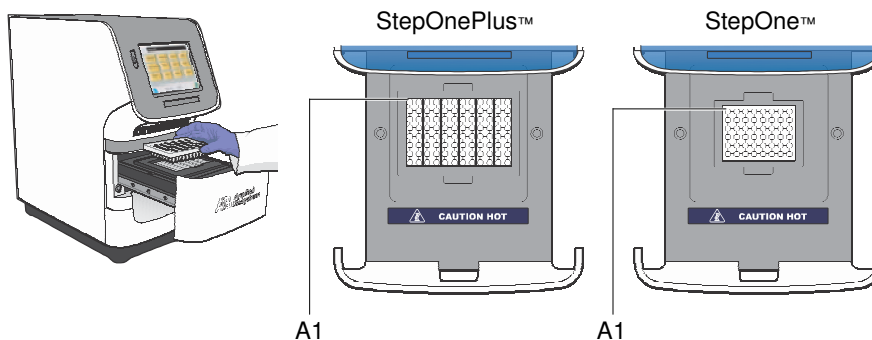
DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou RNáza P používejte rukavice bez pudru.



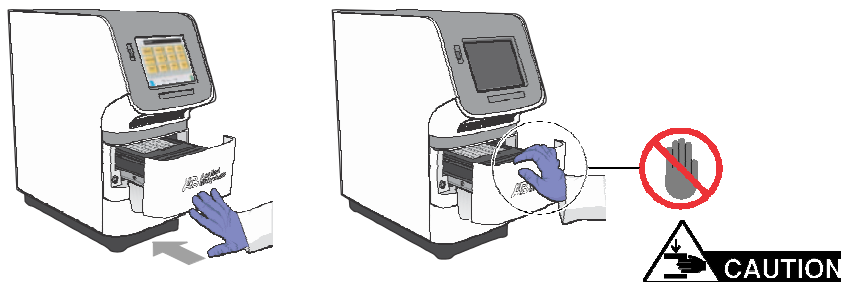
1. Otevřete nosítka přístroje.





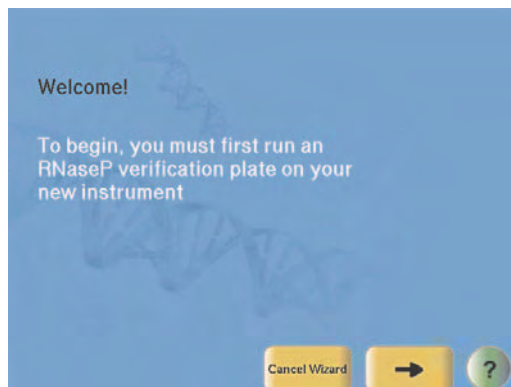
2. Umístěte destičku RNáza P do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je v levém zadním rohu bloku.



3. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.

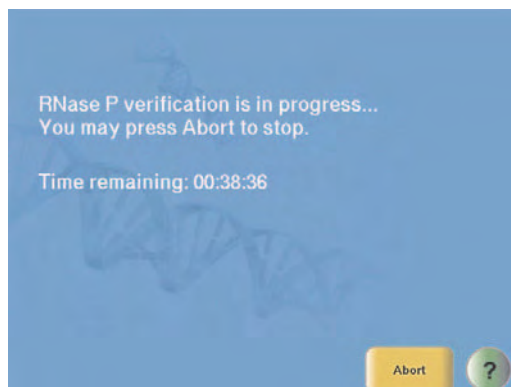


- Spuštění běhu**
1. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
 2. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools Menu** (Nástroje), poté se dotkněte **RNase P Wizard** (RNázaP – Průvodce).
 3. V uvítací obrazovce se dotkněte **Continue** (Pokračovat), poté se dotkněte čtyřikrát , čímž projdete obrazovky s instrukcemi.



4. Na obrazovce Start Run (Spustit běh) se dotkněte **Start**, tím spustíte běh.

Poznámka: Před spuštěním běhu může nastat pauza až 15 min kvůli ohřevu vyhřívaného víka na požadovanou teplotu.



Analýza výsledků běhu RNáza P

Máte-li zprovozněný počítač a provedli jste ověřovací běh s RNázou P, analyzujte jeho výsledky.

Potřebné pomůcky

- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle
- USB disk (z instalační soupravy)

Vyjmutí destičky

Vyjměte destičku RNáza P z přístroje StepOne™.

Vyjmutí destičky



CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Při provozu přístroje může teplota bloku na vzorky překročit 100 °C. Pokud byl přístroj aktuálně používán, vyčkejte, než dojde k ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.



DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou RNáza P používejte rukavice bez pudru.

1. Otevřete nosítka přístroje.
2. Vyjměte destičku RNáza P z bloku na vzorky.
3. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



4. Destičku RNáza P vyhod'te.

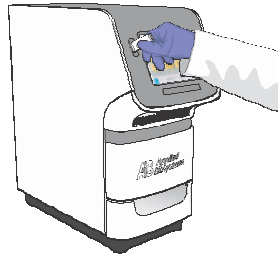
DŮLEŽITÉ! Přístroj po ukončení běhu nevypínejte. Automaticky se přepne do stavu spánku není-li používán. Přístroj vypínejte pokud jej nebudete používat delší dobu.


Kopírování pokusu

Poté co vyjmete destičku z přístroje, kopírujte experiment do počítače pro jeho následnou analýzu.

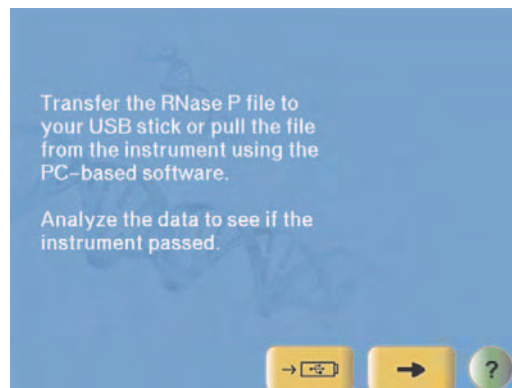
Přenos dat na USB disk


1. Připojte USB disk do USB portu přístroje.

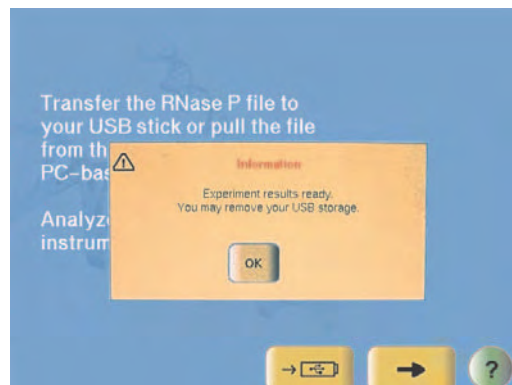


2. V průvodci během RNázy P se dotkněte → .

Pokud přístroj StepOne™ nedetekuje USB disk, dotkněte se **OK**, vyčkejte 30 sec, poté se znovu dotkněte **Collect Results** (Stáhnout výsledky).



3. Oznámí-li přístroj úspěšný přenos dat, dotkněte se **OK**, poté se dotkněte → .

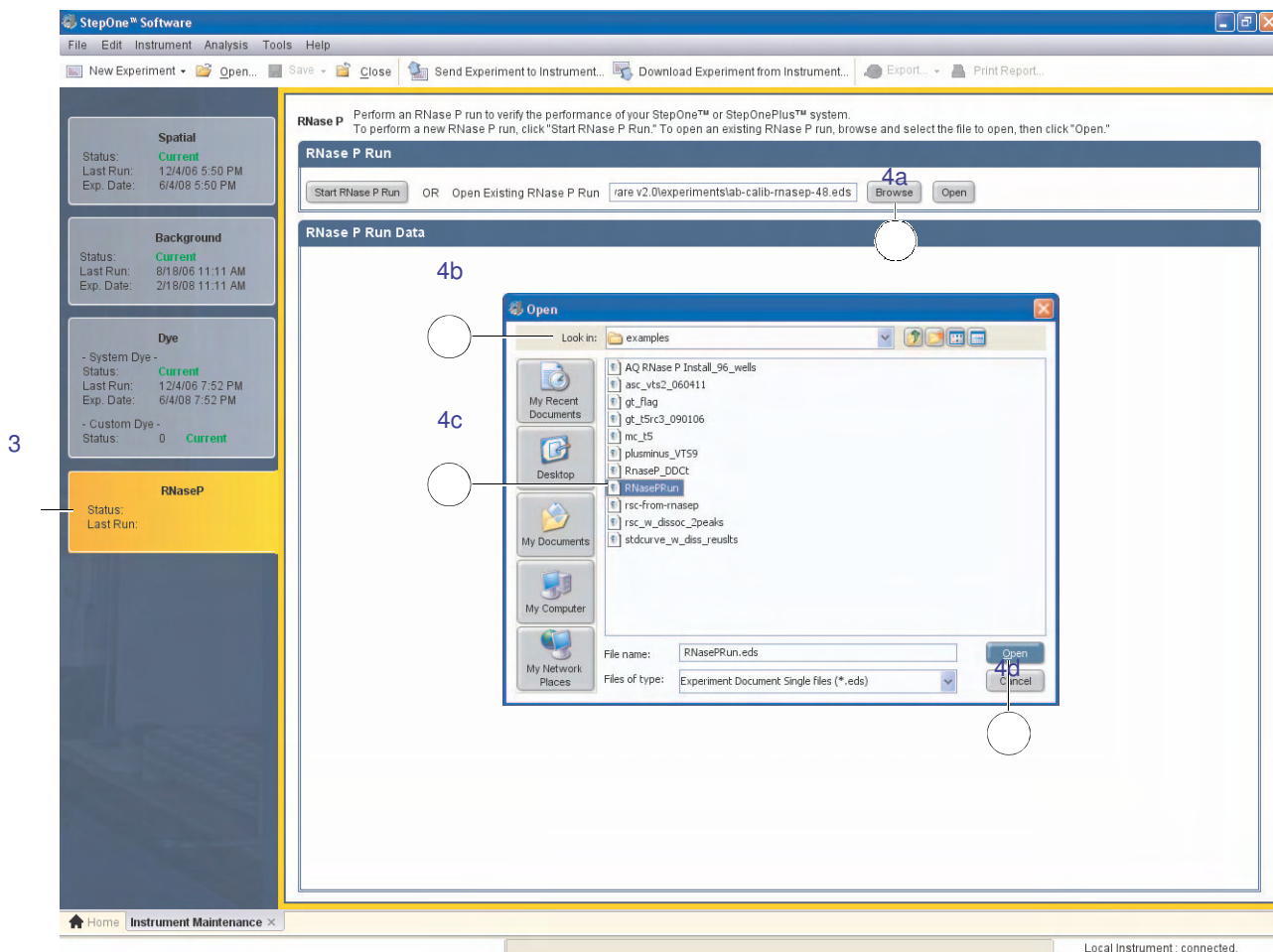


4. Odeberte USB disk z přístroje.

Přenos výsledků
 do počítače

1. Připojte USB disk do USB portu počítače.
2. V programu StepOne™ zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
3. V okně Instrument Maintenance Manager klikněte **RNase P**.
4. Zvolte běh RNázy P:
 - a. V obrazovce RNázy P klikněte **Browse** (Vyhledat).
 - b. V dialogovém okně Open (Otevřít) vyhledejte USB disk.
 - c. V poli název zvolte pokus.
 - d. Klikněte **Open** (Otevřít).

Program StepOne™ provede automaticky analýzu běhu a zobrazí výsledky.



Analýza experimentu

Ověřte výsledky experimentu.

Ověření výsledků analýzy

1. Na obrazovce Analysis (Analýza) v průvodci experimentem s RNázou P ověřte stav:

- **Passed** – Přístroj splnil kritéria běhu RNÁza P. Pokračujte **krokem 5 na straně 70**.
- **Failed** – Přístroj nesplnil kritéria běhu RNÁza P. Pokračujte **krokem 2** – vyhledáním odlehlých bodů.

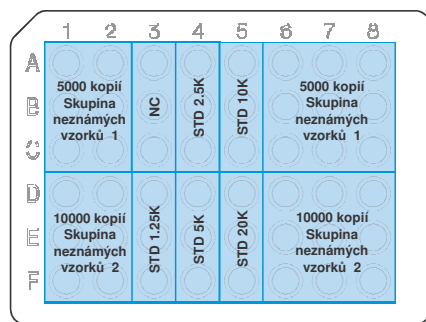
Pokud se běh nezdaří, je možné, že součástí analýzy jsou i odlehlé body, které jsou příčinou neúspěchu. V důsledku experimentální chyby mohou být některé jamky amplifikovány nedostatečně nebo vůbec. Takové jamky většinou vedou k Ct hodnotám, které jsou výrazně odlišné od průměru dané skupiny replikátů.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

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

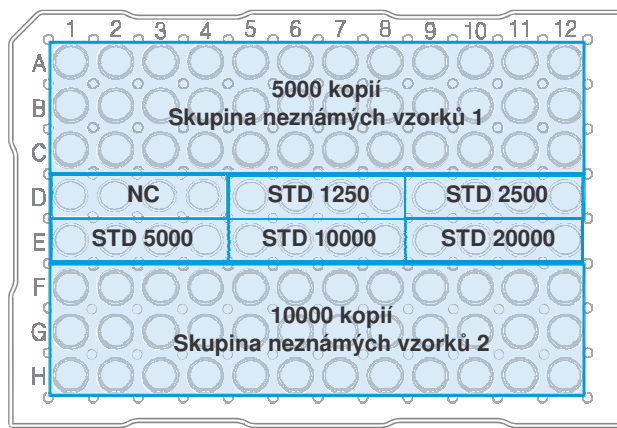
3. Ověřte uniformitu každé skupiny replikátů porovnáním seskupení hodnot Ct (kontroly, standardy, neznámé vzorky):

a. V zobrazení destičky zvolte jamky obsahující 10,000 kopií:

- StepOne™ – Jamky ze sloupců 1, 2, 6, 7 a 8 v řádcích D, E a F
- StepOnePlus™ – Jamky v řádcích F, G a H



TaqMan® 48-jamková destička
RNÁza P pro systém StepOne™



TaqMan® 96-jamková destička
RNÁza P pro systém StepOnePlus™

b. 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.

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

Přístroj	Maximální počet odlehlých bodů, které je možné vyloučit z...			Celkem
	Skupina neznámých vzorků	Standardy (STD)	Negativní kontroly (NC)	
StepOnePlus™	6	0	0	12
StepOne™	2	0	0	4

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

- d. Opakujte kroky 3a až 3c pro každou skupinu replikátů (neznámé vzorky, standardy, negativní kontroly) na destičce.

4. Klikněte **Reanalyze**, čímž zopakujete analýzu výsledků bez odlehlých bodů.

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

5. 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 společnost Applied Biosystems podle popisu v části “Kde získat pomoc” na straně x.

The screenshot shows the StepOne Software interface. On the left sidebar, there are status panels for Spatial, Background, Dye, and RNaseP. The main window is titled 'RNaseP' and contains a 'Calibrate RNaseP' section with buttons for 'Start RNase P Run' and 'Open Existing RNase P Run'. Below this is the 'RNaseP Data' section showing a 'Standard Curve' plot. The plot has a y-axis labeled 'Ct' ranging from 25.75 to 30.00 and an x-axis labeled 'Quantity (Copies)' on a log scale from 1000 to 10000. A linear regression line is shown through several data points. Below the plot, the following parameters are displayed: Target: RNase P, Slope: -3.297, Y-Inter: 40.077, R²: 0.997, Eff%: 101.047. To the right of the plot is the 'View Plate Layout' section, which shows a grid of wells (A-H, 1-12) with their respective Ct values. A callout '6' points to the 'Save Status' button in the top right of the main window.

6. Klikněte **Save Status** (Uložit stav), poté klikněte **Yes** (Ano) jste-li vyzváni.

7. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™ aby se přístroj uvedl do chodu a poté se dotkněte **Pass** (Splněno) v průvodci RNáza P.

Po instalaci

Po ověření funkčnosti systému pomocí běhu RNÁza P můžete na počítač instalovat další programy nebo připojit počítač do sítě.

Instalace dalších programů

Společnost Applied Biosystems doporučuje pro lepší zabezpečení a fungování počítače instalovat následující programy:

- Antivirový program
- Archivační nebo kompresní program
- Bezpečnostní programy (firewall a kódovací nástroje)
- Programy pro optimalizaci výkonu počítače

Poznámka: Více informací viz “[Volba ochranných zařízení](#)” na straně 7.

Chcete-li ověřit, že programy třetích stran neinterferují s programem StepOne™:

1. Instalujte tyto programy na počítač s programem StepOne™.
2. Proved'te několik testovacích běhů za použití destiček neobsahujících reagenty.

Poznámka: Cílem testovacích běhů je navodit situaci, která odpovídá normálnímu provozu přístroje. Zadáání testovacích běhů (rozvržení vzorků v destičce a definice parametrů běhu) musí být proto co nejpodobnější vašim skutečným experimentům.

3. Ověřte provedení každého testovacího experimentu bez chybových hlášek.

Provede-li systém testovací běhy úspěšně, můžete provádět běžné experimenty. Zaznamenáte-li během testovacích běhů chyby, instalované programy nemusí být kompatibilní s programem StepOne™.

Připojení systému do sítě

Možnosti přístroje můžete rozšířit, připojíte-li jej do sítě, pak je možné z počítačů v síti, na nichž je instalován program StepOne™:

- Monitorovat stav aktuálního běhu
- Posílat a stahovat experimenty do a z přístroje namísto používání USB disku


Chcete-li připojit přístroj do sítě, naleznete informace v [Kapitole 5 “Připojení systému do sítě”](#) na straně 73.

5

Připojení systému do sítě

V této kapitole naleznete:

■ Přehled.....	74
■ Připojení přístroje do sítě	78
■ Nastavení počítače pro vzdálené monitorování.....	80
■ Monitorování přístroje.....	82

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

DŮLEŽITÉ! V této kapitole *nenaleznete* dostatečné informace o integraci Real-Time PCR systémů Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ do sítí o různé architektuře. Jelikož součástí vaší počítačové sítě může být firewall nebo různé domény, doporučuje společnost Applied Biosystems, abyste připojení Real-Time PCR systémů Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ do sítě konzultovali se správcem vaší sítě.

Přehled

Po provedení instalace Real-Time PCR systémů Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ můžete přístroj připojit do místní sítě, čímž rozšíříte možnosti jeho použití.

V této kapitole je popsáno:

- Zprovoznění přístroje pro použití v síti.
- Nastavení počítače pro vzdálené monitorování.
- Ověření připojení do sítě zprovozněním funkce vzdáleného monitorování.

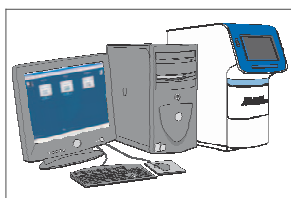
O vzdáleném monitorování

Je-li přístroj připojen do sítě, můžete jeho činnost vzdáleně monitorovat prostřednictvím programu StepOne™ z jakéhokoliv počítače v síti. V průběhu běhu poskytuje funkce vzdáleného monitorování informace o stavu přístroje, teplotě a údaje o průběhu amplifikace jak je přístroj snímá. Více informací viz část “Monitorování přístroje” na straně 82.

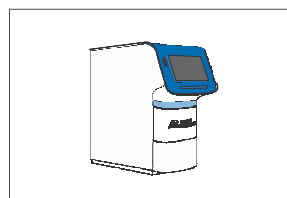
DŮLEŽITÉ! Funkce vzdáleného monitorování neumožňuje ovládání přístroje. Ovládat přístroj je možné pouze z počítače, ke kterému je přístroj přímo připojen, nebo pomocí dotykového displeje, je-li přístroj instalován bez počítače.

Připojení k síti - postup

*Kapitola 3,
Instalace přístroje
s počítačem*



*Kapitola 4, Instalace
přístroje bez připojení
k počítači*



Připojení přístroje do sítě

1. Nastavení portu.

Nastavení počítače pro vzdálené monitorování

1. Připojení počítače do sítě.
2. Instalace programu StepOne™.


Testování připojení do sítě

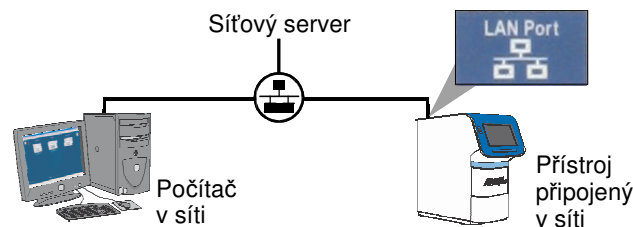
1. Zprovoznění vzdáleného monitorování.

Příklady připojení do sítě



Síťový port a port pro připojení k počítači, jimiž je přístroj vybaven, umožňují připojit systém do sítě několika způsoby. V následujících příkladech jsou popsány dvě základní možnosti připojení systému do sítě.

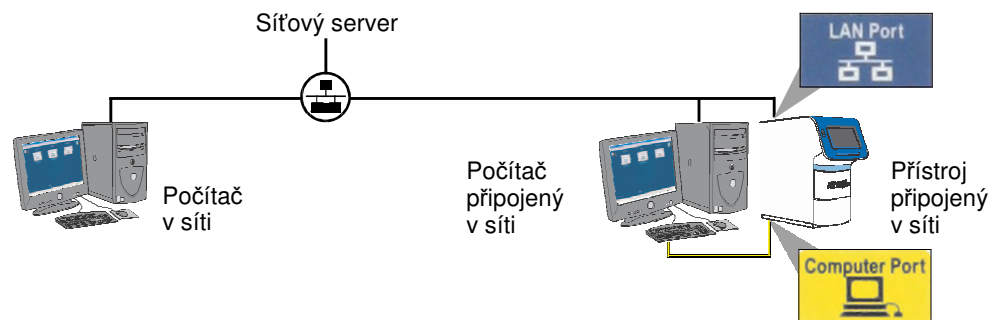
Přímé připojení přístroje do sítě (bez počítače)

V tomto případě je přístroj připojen přímo do sítě bez prostřednictví počítače, a to pomocí síťového portu (). Přístroj je nastaven pro fungování v režimu DHCP (dynamic host configuration protocol) nebo má přidělenou statickou IP adresu. V takovém případě může být k monitorování přístroje a k přenosu dat použit jakýkoliv počítač v síti; z počítačů v síti však není možné přístroj ovládat. Běhy je nutné spouštět pomocí dotykového displeje přístroje.

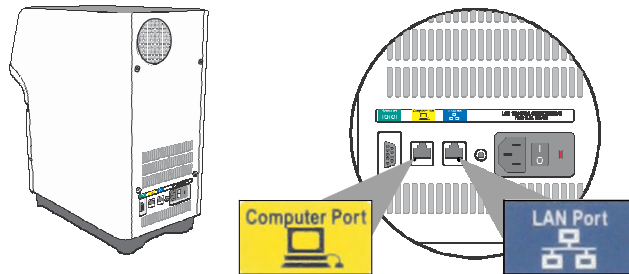




Připojení přístroje do sítě prostřednictvím počítače

V tomto případě je přístroj připojen přímo k počítači (), připojenému do sítě, a současně do sítě prostřednictvím síťového portu (), konfigurovaného pro fungování v režimu DHCP nebo s přidělenou statickou adresou. V takovém případě může být k monitorování přístroje a k přenosu dat použit jakýkoliv počítač v síti; z počítačů v síti však není možné přístroj ovládat. Běhy je nutné spouštět pomocí počítače, k němuž je přístroj přímo připojen.



Porty přístroje Přístroj podporuje dvě ethernetová (10Base-T) připojení: port pro připojení k počítači a síťový port pro připojení do místní sítě.



Port	Účel	Možnosti
	Pro připojení k počítači, určenému k ovládání přístroje. Poznámka: Společnost Applied Biosystems nepodporuje instalaci s počítačem, při níž není port pro připojení k počítači přímo propojen s počítačem.	Statická IP adresa pouze s maskou podsítě a standardním nastavením brány sítě
	Pro připojení k místní síti. Je-li přístroj připojen do sítě, je možné z počítačů v síti, na nichž je instalován program StepOne™: <ul style="list-style-type: none"> Vzdálené monitorování běhů, které přístroj provádí. Posílání experimentů do a stahování experimentů z přístroje. DŮLEŽITÉ! Počítače připojené k přístroji prostřednictvím síťového portu <i>nemohou</i> sloužit k ovládání přístroje.	<ul style="list-style-type: none"> Statická IP adresa s maskou podsítě a standardním nastavením brány sítě <i>nebo</i> <ul style="list-style-type: none"> Konfigurace DHCP Managed data network service (mDNS/DNS) pro místní doménu‡ IPv4 link-local (IPv4LL) v RFC§

‡ Jelikož služba managed data network service (mDNS) je omezena na přímá síťová připojení, přístroj připojený prostřednictvím této služby může být neviditelný pro další uzly oddělené pomocí routerů, rozbočovačů apod.



§ Též známo jako Automatic Private IP Addressing (APIPA) nebo Internet Protocol Automatic Configuration (IPAC). Je-li přístroj konfigurován pro DHCP připojení, služba Automatic Private IP Addressing (APIPA) je automaticky zapnuta a přístroj si sám přidělí IP adresu, není-li tato přidělena pomocí DHCP serveru.

Doporučení pro
připojení k síti

- **Kontaktujte správce sítě**

Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste před připojením přístroje do vaší laboratorní sítě kontaktovali jejího správce.

- **Ověřte připojení přístroje**

Ověřte, že je přístroj připojen do sítě pomocí modrého síťového portu (). Je-li přístroj instalován spolu s počítačem, ověřte, že je k němu připojen prostřednictvím žlutého portu ().

- **Pro vzdálené monitorování používejte jeden počítač**

Vyhnete se používání více než jednoho počítače pro vzdálené monitorování naráz. Ačkoliv systém tuto možnost podporuje, každé připojení zatěžuje procesor přístroje. Příliš mnoho připojení může přetížít přístroj a vést k chybám.

Poznámka: Důsledky přetížení přístroje lze sledovat v grafickém záznamu teploty v průběhu běhu. Přetížení se projeví prodlouženými inkubacemi nebo krátkými neočekávanými inkubacemi.

- **Omezené možnosti mDNS a Auto Discovery**

Přístroj podporuje službu multicast domain name service (mDNS), ale pouze sdílí-li přístroj a počítač přímé síťové připojení a jsou současně v téže podsíti. Důsledkem je, že z počítačů v síti, oddělených od přístroje pomocí routerů, rozbočovačů apod., nemusí být možný přímý přístup k přístroji pomocí jeho jména.

Přístroj nepodporuje funkci auto discovery pro mDNS. Podporuje však funkci překladu adres, ale jméno přístroje musí být v rámci podsítě jedinečné.

Poznámka: Ověřte jedinečnost jména přístroje. Po zadání jména přístroj neověřuje jeho jedinečnost.

- **Přidání přístrojů výhradně pomocí malých písmen**

Pokud přidáváte přístroj pro vzdálené monitorování (viz “[Monitorování přístroje](#)” na [straně 82](#)), zadejte jméno přístroje výhradně pomocí malých písmen.

Připojení přístroje do sítě

Jakmile se rozhodnete jak připojit přístroj do sítě, zprovozněte přístroj podle požadavků vaší sítě.

Potřebné pomůcky

Síťový kabel s konektory RJ45

Získání potřebných informací


- Získání IP adresy ve vaší síti: DHCP *nebo* statická IP adresa.

DŮLEŽITÉ! Je-li přístroj konfigurován pro DHCP připojení, služba Automatic Private IP Addressing (APIPA) je automaticky zapnuta a přístroj si sám přidělí IP adresu, není-li tato přidělena pomocí DHCP serveru .


- Pokud je pro připojení požadována statická IP adresa, získejte pro připojení přístroje IP adresu, masku podsítě a adresu brány.

Jak zjistit MAC adresu přístroje


Pokud váš správce sítě požaduje Media Access Control (MAC) adresu přístroje, zjistíte ji následovně:


1. Dotkněte se dotykového displeje přístroje, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte  .
2. V hlavní nabídce zvolte **Settings Menu** (Nastavení), poté se dotkněte **About the Instrument** (O přístroji). MAC adresa přístroje je v pravé části obrazovky.




3. Jste-li hotovi, dotkněte se **Done** (Hotovo).
4. V nabídce Settings (Nastavení) se dotkněte  , čímž se vrátíte do hlavní nabídky.


Nastavení síťového portu


1. Dotkněte se dotykového displeje přístroje, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
2. V hlavní nabídce zvolte **Settings Menu** (Nastavení), poté se dotkněte **Admin Menu** (Administrátor), poté se dotkněte **Set IP Address** (Nastavení IP adresy).
3. Definujte nastavení IP adresy.

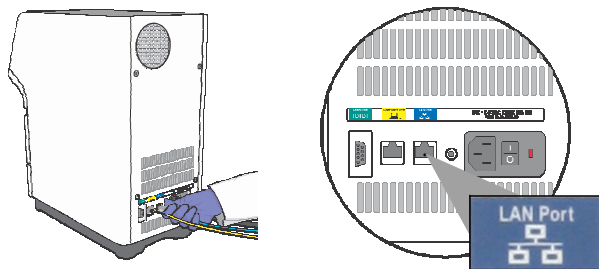
Síťová služba	Krok
DHCP	Dotkněte se Assign IP address dynamically (using DHCP) (Dynamické přidělování IP adresy), dotkněte se Done (Hotovo), poté se dotkněte OK .
Statická IP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dotkněte se Static. 2. Zadejte IP adresu, masku podsítě a standardní bránu. Pro zadání každého parametru se dotkněte příslušného pole, zadejte údaj, poté se dotkněte Done (Hotovo). 3. Dotkněte se Done (Hotovo) čímž nastavení uložíte, poté se dotkněte OK. <p>Na následujícím obrázku je příklad nastavení statické IP adresy.</p> 

4. Dotkněte se , čímž se vrátíte do hlavní nabídky.

5. Propojte síťový kabel mezi:

- *Modrým* síťovým portem () přístroje a
- síťovým portem vaší sítě

DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte síťový kabel do *žlutého* portu pro připojení počítače (); tento port je vyhrazen pro přímé připojení počítače.



Nastavení počítače pro vzdálené monitorování

Po připojení přístroje do sítě připojte do sítě i počítač a instalujte program StepOne™ pro vzdálené monitorování.

Potřebné pomůcky

Síťový kabel s konektory RJ45

Požadavky na počítač


Pokud do sítě připojujete vámi poskytnutý počítač, ověřte že počítač obsahuje kartu network interface card (NIC) nebo volný síťový port.

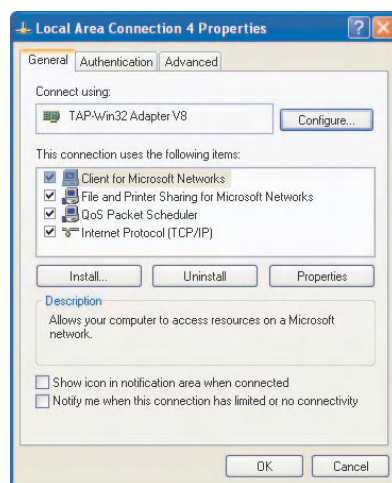
Získání potřebných informací

- Získání IP adresy ve vaší síti: DHCP *nebo* statická IP adresa.
- Pokud je pro připojení požadována statická IP adresa, získajte pro připojení přístroje IP adresu, masku podsítě a adresu brány.

Connect the Computer to the Network

DŮLEŽITÉ! Společnost Applied Biosystems doporučuje, aby připojení počítače do sítě provedl váš správce sítě. Následující popis nezahrnuje potřebné detaily pro všechny možné architektury počítačové sítě.

1. Pro připojení počítače do sítě použijte síťový kabel.
2. Zapněte počítač, přihlaste se jako administrátor.
3. Na ploše počítače klikněte pravým tlačítkem myši na **My Network Places** (Místa v síti) a zvolte **Properties** (Vlastnosti).
4. Klikněte pravým tlačítkem myši na **Local Area Connection** (Připojení místní sítě) a zvolte **Properties** (Vlastnosti).
5. Zvolte  **Internet Protocol (TCP/IP)**, klikněte **Properties** (Vlastnosti).



6. Nastavte vlastnosti protokolu TCP/IP:

Nastavení sítě	Krok
DHCP	<ol style="list-style-type: none"> Zvolte Obtain an IP address automatically (Získat IP adresu automaticky). Pokud počítač získá DNS adresy: <ul style="list-style-type: none"> Automaticky – Zvolte Obtain DNS server address automatically. Staticky – Zvolte Use the following DNS address (Použít následující DNS adresu), zadejte adresu preferovaného a alternativního DNS serveru.
Statická IP adresa	<ol style="list-style-type: none"> Zvolte Use the following IP address (Použít následující IP adresu). V poli IP Address zadejte statickou IP adresu. Je-li potřeba, zadejte masku podsítě. Je-li potřeba, zadejte adresu brány v poli Gateway.

7. Požaduje-li vaše síť pokročilé nastavení TCP/IP (např. nastavení WINS):

- Klikněte **Advanced** (Pokročilé) v okně Internet Protocol (TCP/IP) Properties.
- Definujte nastavení v záložkách IP Settings, DNS a WINS podle pokynů vašeho správce sítě, poté klikněte **OK**.

8. Uzavřete všechna okna kliknutím **OK**.

9. Restartujte počítač.

Poznámka: Počítač je nyní připojen do sítě.

Instalace programu StepOne™

- Pokud jste to již neprovedli, instalujte program StepOne™ (viz [“Instalace softwaru” strany 34 nebo 57](#)).

Poznámka: Program StepOne™ je zapotřebí pro monitorování přístroje prostřednictvím sítě.

- (*Volitelné*) Instalujte ochranné zařízení pro připojení počítače (viz [“Volba ochranných zařízení” na straně 7](#)).

Monitorování přístroje

Po připojení přístroje a počítače do sítě ověřte fungování připojení pomocí funkce vzdáleného monitorování.

O vzdáleném monitorování

Je-li přístroj připojen do sítě, je možné z jakéhokoli počítače v síti, na němž je instalován program StepOne™:

- Monitorovat stav přístroje během běhu a mezi běhy
- Posílat experimenty do přístroje (viz [strana 84](#))
- Stahovat experimenty z přístroje (viz [strana 84](#))
- Zapnout nebo změnit nastavení informování prostřednictvím emailu (viz [strana 85](#))

Doporučení pro vzdálené monitorování


Pro optimální fungování funkce vzdáleného monitorování je třeba:

- Ačkoliv program StepOne™ umožňuje pro vzdálené monitorování přidat více přístrojů, nemůže monitorovat více než jeden přístroj najednou.
- Společnost Applied Biosystems nedoporučuje, aby byl přístroj monitorován současně z více než jednoho počítače.
- Pokud si nejste jisti, že váš přístroj a počítač jsou v rámci jedné podsítě, společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste pro vzdálené monitorování přístroje zadali jeho IP adresu.

Umožnění vzdáleného monitorování

1. V programu StepOne™ zvolte **Instrument > Remote Monitor** (Přístroj > Vzdálené monitorování).
2. Na obrazovce Manage Instrument (Správa přístrojů) klikněte **Add Instrument** (Přidat přístroj).
3. V dialogovém okně Add Instrument přidejte přístroj:
 - a. V poli Profile Name (Název profilu) zadejte jméno vašeho přístroje (z [kroku 1b](#) na straně 21).
 - b. V poli Instrument Name (Jméno přístroje), Host Name nebo IP Address (IP adresa) zadejte jméno přístroje nebo IP adresu přístroje, který chcete monitorovat.
 - c. Klikněte **Save & Exit** (Uložit a Konec).

Program StepOne™ zobrazí záznam přístroje v levém sloupci obrazovky Manage Instruments (Správa přístrojů).

4. Pro daný přístroj zapněte funkci vzdáleného monitorování:
 - a. Na obrazovce Manage Instrument (Správa přístrojů) zvolte přístroj.
 - b. Klikněte .

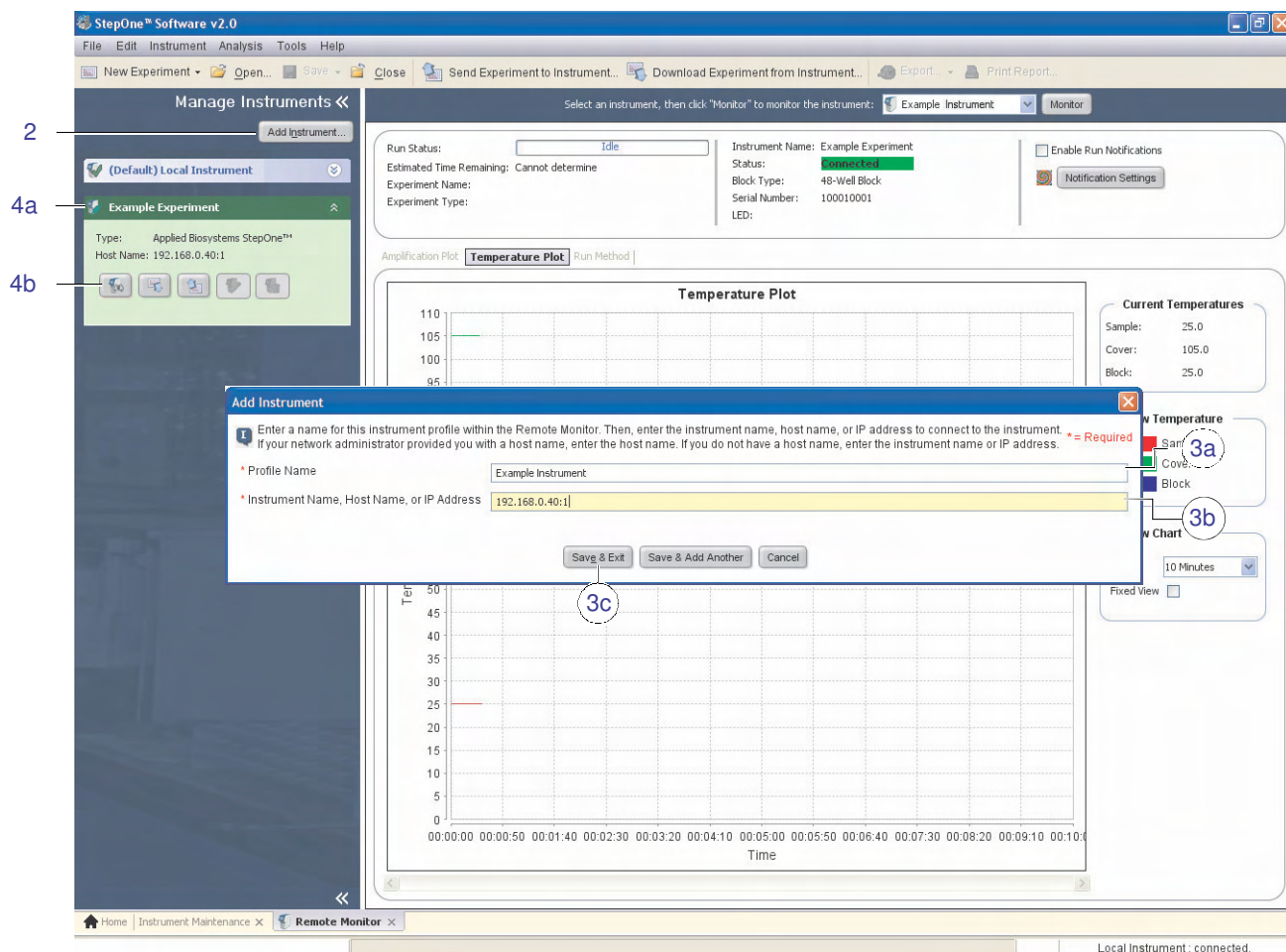
Poznámka: Přístroje můžete rovněž monitorovat tak, že je zvolíte z rozbalovací nabídky a kliknete **Monitor**.

Program StepOne™ zobrazí aktuální stav a graf fluorescence v reálném čase pro zvolený přístroj. Objeví-li se chybová hláška, postupujte podle popisu v části “Problémy s připojením do sítě” na straně 129.


Přímé připojení k přístroji ztratíte pokud:

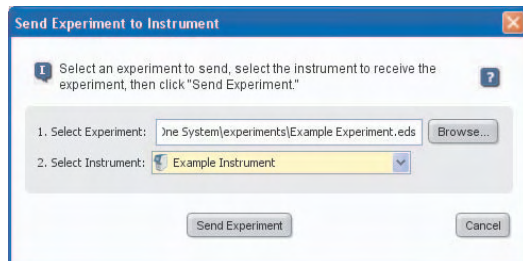
- Změníte přístroj, který je přímo připojen k vašemu počítači
- Pomocí dotykového displeje změníte název přístroje nebo IP adresu


Chcete-li obnovit spojení, restartujte program StepOne™.

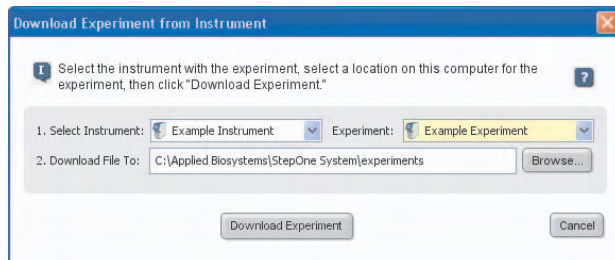


Odeslání
experimentu na
monitorovaný
přístroj

1. V záznamu k vašemu přístroji klikněte .
2. Klikněte **Browse** (Procházet), poté vyhledejte a zvolte experiment, který chcete odeslat do přístroje, a klikněte **Open**.
3. Zvolte váš přístroj z rozbalovací nabídky Select Instrument.
4. Klikněte **Send Experiment** (Odeslat experiment), poté klikněte **OK**.

Stahování
experimentu
z monitorovaného
přístroje

1. V záznamu k vašemu přístroji klikněte .
2. Zvolte váš přístroj z rozbalovací nabídky Select Instrument.
3. Zvolte váš experiment z rozbalovací nabídky Experiment.
4. Klikněte **Browse** (Procházet), poté vyhledejte a zvolte adresář, do kterého chcete stáhnout experiment, poté klikněte **Select** (Zvolit).
5. Klikněte **Download Experiment** (Stáhnout experiment), poté klikněte **OK**.



Zapnutí nebo změna nastavení informování prostřednictvím emailu

Program StepOne™ lze nastavit tak, aby prostřednictvím emailových zpráv informoval uživatele o začátku a konci běhu nebo o případných chybách, které se v průběhu běhu objeví. Toto nastavení je volitelné a nemá vliv na fungování systému.

DŮLEŽITÉ! Program StepOne™ odesílá emaily pouze je-li přístroj monitorován. Není-li připojení k síti k dispozici, přenos se neuskuteční.

Chcete-li změnit nastavení odesílání emailových zpráv:

1. Od svého správce sítě získejte:
 - Síťovou adresu SMTP (Simple Mail Transfer Protocol) serveru.
 - Uživatelské jméno a heslo pro přístup k serveru, je-li potřeba.
 - SSL (Secure Sockets Layer) nastavení serveru (zapnuto nebo vypnuto).
2. Během monitorování přístroje zvolte možnost **Enable Run Notifications** (Umožnit odesílání zpráv) v pravém horním rohu obrazovky.
3. Klikněte **Change Notifications** (Změna nastavení), změňte nastavení podle potřeby a kliknutím okno zavřete.
4. Zvolte **Enable Notifications** (Umožnit odesílání zpráv).
5. Zvolte události, o nichž mají být odeslány zprávy:
 - **Instrument Error** (Chyba přístroje) – Bude odeslán email o všech chybách, které se vyskytnou během běhu.
 - **Run Started** (Běh spuštěn) – Bude odeslán email vždy když je spuštěn běh.
 - **Run Completed** (Běh ukončen) – Bude odeslán email vždy když je běh ukončen.
6. Klikněte do pole **Enter e-mail addresses for notifications** (Zadejte emailovou adresu), zadejte emailovou adresu/y, na něž mají být odeslány zprávy.
7. Klikněte do pole **Outgoing Mail Server** (server pro odchozí poštu), zadejte adresu SMTP serveru.
8. Nastavte parametry ověření identity podle potřeby.

Požaduje-li SMTP server ověření identity:

 - a. Klikněte **Yes** (Ano).
 - b. Klikněte do pole **User Name** (Uživatelské jméno) a zadejte uživatelské jméno pro přístup na server.
 - c. Klikněte do pole **Password** (Heslo) a zadejte heslo pro přístup na server.

4

5

6

7

8a

8b

8c

Notification Settings

Enable Notifications: Yes No

Select the events to generate notifications:

- Instrument Error
- Run Started
- Run Completed

Enter e-mail addresses for notifications:
Separate e-mail addresses with commas.
For example: jane_smith@mydomain.com,awong@bigmailhost.com

scientist@mycompany.com, supervisor@mycompany.com, technician@mycompany.com

Outgoing Mail Server (SMTP): smtp.mycompany.com
For example: smtp.mycompany.com

Server requires an encrypted connection? Yes No

Server requires authentication? Yes No

(Server Authentication) User Name: ExampleUser


(Server Authentication) Password: *****



Údržba systému

V této kapitole naleznete:

■ Pravidelná údržba.....	88
Provedení prostorové kalibrace	90
Provedení kalibrace pozadí	94
Provedení kalibrace barev	100
Archivace a zálohování dat	113
■ Nepravidelná údržba	114
Dekontaminace bloku na vzorky	115
Přemísťování přístroje.....	118
Výměna pojistek.....	120
Odeslání přístroje do servisu	122
Aktualizace operačního systému Windows.....	124
Aktualizace programu StepOne™.....	125

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

Pravidelná údržba



Plánování údržby Pravidelnou údržbou Real-Time PCR systému Applied Biosystems StepOne™ nebo StepOnePlus™ a počítače zajistíte jejich správné fungování. V následující tabulce je seznam a doporučená četnost jednotlivých kroků údržby.


Každý ...	Krok	Viz strana
týden	Ověřte volné místo na disku. Je-li potřeba, archivujte nebo zálohujte vaše data - experimenty.	113
	Vypněte počítač připojený k přístroji a po 30 sec jej zapněte.	—
	Otřete povrch přístroje.	—
	Defragmentujte pevný disk počítače.	—
měsíc	Provedení kalibrace pozadí.‡	94
1.5 roku	Provedení prostorové kalibrace.	90
	Provedení kalibrace barev.	100

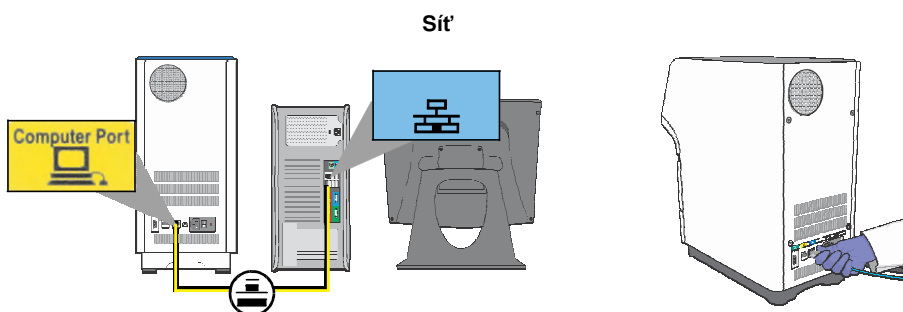
‡ Kalibraci pozadí lze provést jako kontrolu kontaminace. Rovněž musíte provést kalibraci pozadí a kalibraci barev po výměně jakékoliv součásti optického systému přístroje.

Připojení jako předpoklad provádění údržby

Prostorovou kalibraci, kalibraci pozadí a barev musíte provádět výhradně je-li přístroj přímo připojen k počítači. Chcete-li provádět údržbu, propojte žlutým kabelem:

- Žlutý síťový port () přístroje a
- síťový port () počítače s instalovaným programem StepOne™

DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte žlutý kabel do *modrého* síťového portu (), ten je vyhrazen pro připojení k místní síti.



Výzvy k provádění údržby

Je-li některý krok údržby (např. kalibraci) zapotřebí provést, program StepOne™ a přístroj zobrazí hlášky, které k provedení daného kroku vyzývají.

**Zobrazení zpráv
o údržbě**

Program StepOne™ umožňuje zobrazit souhrnné informace o stavu údržby vašeho systému. Chcete-li tyto informace zobrazit, zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje). Pro každou kalibraci (prostorovou, pozadí a barev) zobrazí program následující informace:

- **Status** (Stav) – Stav aktuální kalibrace, kde:
 - **Current (Platná)** značí, že kalibrace je aktuální.
 - **Expired (Prošlá)** značí, že kalibraci je nutné co nejdříve provést.
 - **Not Run (Neprovedena)** značí, že kalibrace nebyla provedena (týká se pouze běhu RNáza P).
- **Last Run** (Poslední běh) – Datum provedení platné kalibrace.
- **Expiry Date** (Exspirace) – Datum ukončení platnosti platné kalibrace.

Přístrojové testy

V nabídce Tools (Nástroje) je k dispozici několik testů, jimiž můžete otestovat teploty některých součástí přístroje a porovnat naměřené hodnoty s hodnotami, jichž by v rámci testů mělo být dosaženo (dle technické specifikace přístroje).

Test	Popis
Run Cycle Performance Test	Ověří přesnost teploty bloku na vzorky.
Optics Verification	Ověří správné fungování optického systému přístroje.
Statistics	Zobrazí statistické informace o přístroji: <ul style="list-style-type: none"> • Teplotní cykly provedené s blokem na vzorky. • Stupně Celsia - ohřev a chlazení bloku na vzorky. • Počet hodin provozu LED přístroje. • Data z ověřovacího běhu RNáza P.

Služba teplotní validace Applied Biosystems

Společnost Applied Biosystems doporučuje s roční frekvencí provádět teplotní validaci přístroje (v závislosti na využití přístroje a požadavcích laboratoře). Teplotní validaci provádí společnost Applied Biosystems při roční prohlídce přístroje nebo ji na náklady uživatele provádí servisní technik Applied Biosystems.

Další kontaktní informace a ceny získáte ve společnosti Applied Biosystems - viz část “Kde získat pomoc” na straně x.

Provedení prostorové kalibrace

Provedení prostorové kalibrace každých 18 měsíců nebo podle potřeby, v závislosti na používání přístroje.


Potřebné pomůcky

- Spektrální kalibrační destička 1 ze spektrálního kalibračního kitu:
 - StepOne™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (PN 4371433)
 - StepOnePlus™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (PN 4371435)
- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- Centrifuga s adapterem na destičky
- Kabel, žlutý (z instalační soupravy přístroje)

Účel kalibrace

Prostorová kalibrace slouží ke zmapování pozic jamek v destičce tak, aby program StepOne™ byl schopen přiřadit nárůst fluorescence v průběhu běhu určité specifické jamce na destičce.



Příprava kalibrace


 **CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ.** Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý na více než 100 °C. Byl-li přístroj aktuálně používán, vyčkejte ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.

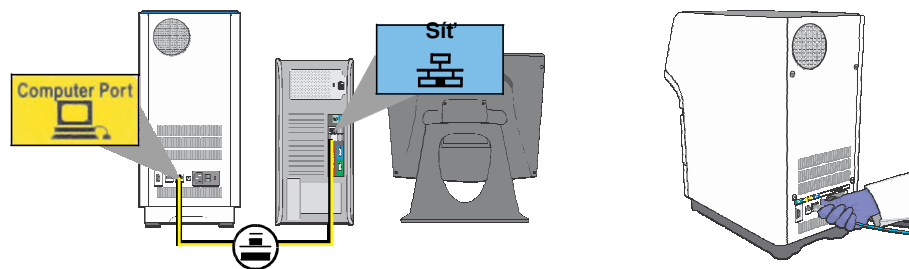


DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s kalibračními destičkami používejte rukavice bez pudru.

1. Pokud jste to již neprovedli, propojte žlutým kabelem:

- Žlutý síťový port () přístroje a
- síťový port () počítače s instalovaným programem StepOne™

DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte žlutý kabel do *modrého* síťového portu ().



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

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

4. Vyměňte kalibrační destičku 1 z obalu.

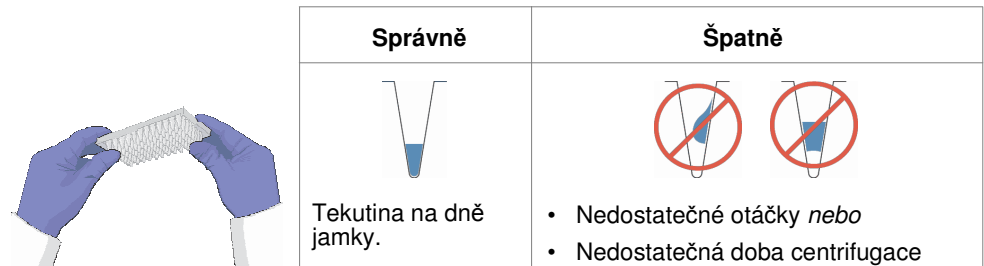


5. Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.
6. Centrifugujte kalibrační destičku 2 min při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

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

DŮLEŽITÉ! Spodní strana kalibrační destičky se nesmí znečistit. Tekutiny a jiné kontaminace, které přilnou ke dnu destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit abnormálně vysoký signál pozadí.



8. Vložte kalibrační destičku 1 do přístroje:
- Otevřete nosítka přístroje.
 - Umístěte kalibrační destičku do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je vlevo vzadu.
 - Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



Provedení kalibrace

1. V programu StepOne™ zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
2. V navigační liště okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Spatial** (Prostorová kalibrace).
3. V okně Instrument Maintenance Manager klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
4. Na obrazovce Setup dialogového okna Spatial Calibration (Prostorová kalibrace) zvolte **The calibration plate is loaded into the instrument** (Kalibrační destička je vložena do přístroje), poté klikněte **Next** (Další).
5. Na obrazovce Run (Běh) klikněte **START RUN** (Spustit běh), poté vyčkejte na ukončení prostorové kalibrace.

Vyjmutí kalibrační destičky



CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý na více než 100 °C. Byl-li přístroj aktuálně používán, vyčkejte ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.



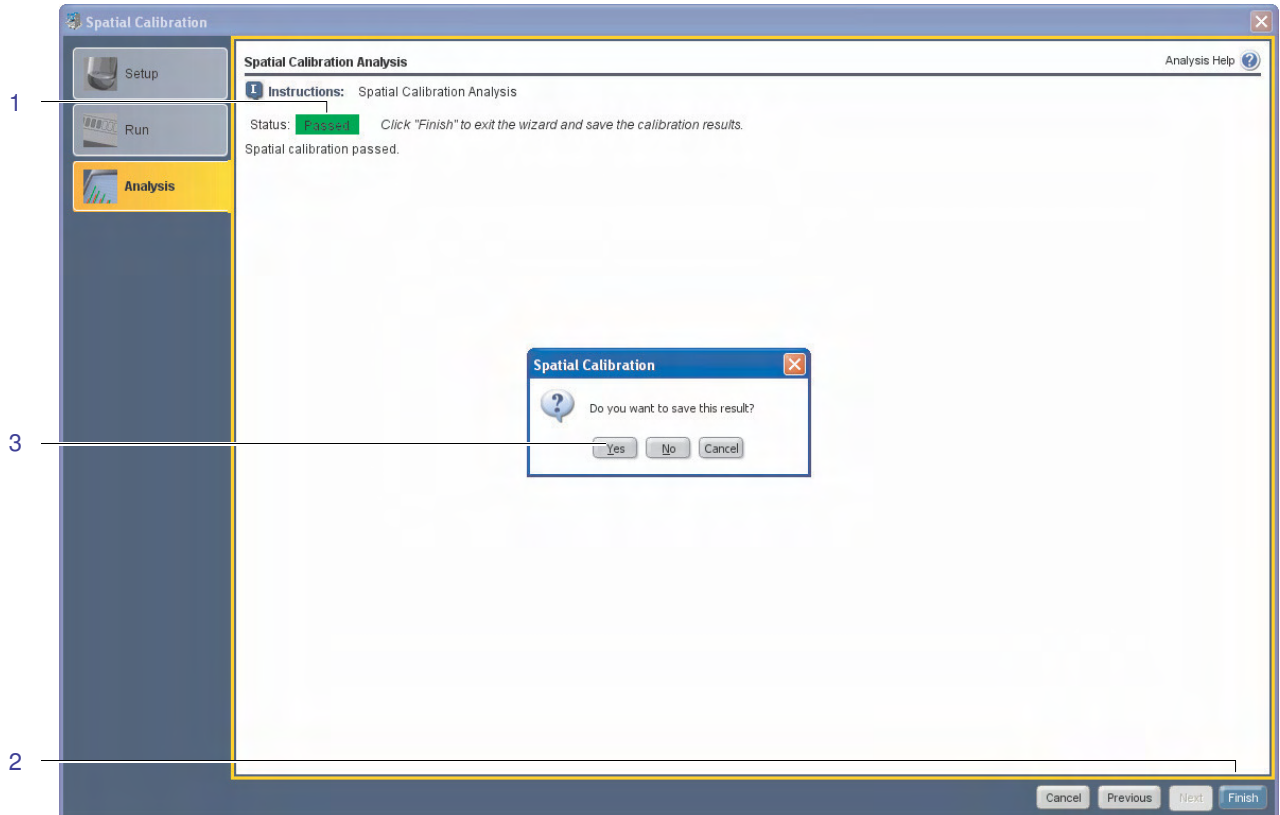
DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s kalibrační destičkou používejte rukavice bez pudru.

1. Otevřete nosítka přístroje.
2. Vyjměte kalibrační destičku 1 z bloku na vzorky, umístěte ji zpět do obalu a vraťte spektrální kalibrační kit zpět do mrazáku.
3. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



Analýza výsledků kalibrace

1. V části Analysis (Analýza) dialogového okna Spatial Calibration (Prostorová kalibrace) ověřte stav kalibrace:
 - **Passed (Úspěšná)** – Kalibrace se zdařila. Pokračujte **krokem 2**.
 - **Failed (Neúspěšná)** – Kalibrace se nezdařila. Kontaktujte společnost Applied Biosystems podle popisu v části “Kde získat pomoc” na straně x.
2. Klikněte **Finish** (Konec).
3. Jste-li vyzváni k uložení kalibrace, klikněte **Yes** (Ano).



Provedení kalibrace pozadí

Provedení kalibrace pozadí měsíčně nebo podle potřeby, v závislosti na používání přístroje.

Potřebné pomůcky

- Destička pro kalibraci pozadí ze spektrálního kalibračního kitu:
 - StepOne™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (PN 4371433)
 - StepOnePlus™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (PN 4371435)

Poznámka: Destičku pro kalibraci pozadí můžete vytvořit podle popisu v části [“Jak vytvořit destičku pro kalibraci pozadí”](#) na straně 99.

- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle
- Centrifuga s adapterem na destičky
- Kabel, žlutý (z instalační soupravy přístroje)

Doporučení pro kalibraci

- Ujistěte se, že centrifuga je čistá. Před centrifugací vytřete závěsy papírovým ručníkem.
- Manipulujte s kalibračními destičkami tak, abyste zabránili kontaminaci. Nepokládejte destičky na laboratorní stůl. Vždy vraťte destičku do jejího obalu.

Účel kalibrace

Kalibrace pozadí slouží ke změření úrovně fluorescence pozadí v přístroji. V průběhu kalibrace pozadí systém:

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

Program StepOne™ během následně prováděných běhů používá tento kalibrační soubor pro odečet fluorescence pozadí z naměřených hodnot.

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 plast (destičky a víčka)

Příprava kalibrace





CAUTION


RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý na více než 100 °C. Byl-li přístroj aktuálně používán, vyčkejte ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.

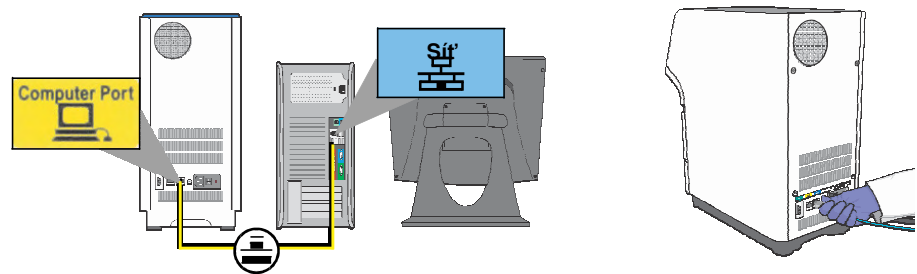


DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s destičkou pro kalibraci pozadí používejte rukavice bez pudru.

1. Pokud jste to již neprovedli, propojte žlutým kabelem:

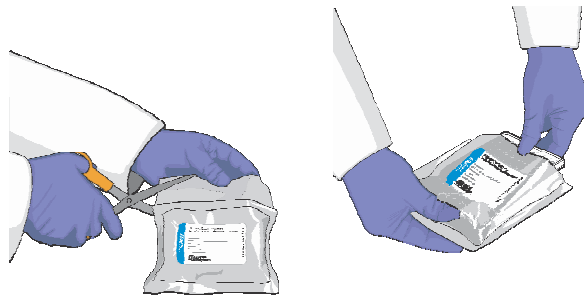
- Žlutý síťový port () přístroje a
- síťový port () počítače s instalovaným programem StepOne™

DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte žlutý kabel do *modrého* síťového portu ().



2. Vyměňte spektrální kalibrační kit z mrazáku a vyměňte destičku pro kalibraci pozadí.
3. Nechte destičku pro kalibraci pozadí ohřát na pokojovou teplotu (přibližně 5 minut).
4. Vyměňte destičku pro kalibraci pozadí z obalu.

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

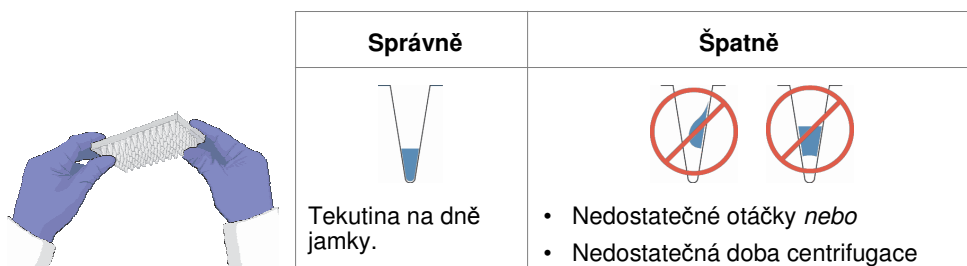


5. Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.
6. Centrifugujte destičku pro kalibraci pozadí 2 min při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

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

DŮLEŽITÉ! Spodní strana destičky pro kalibraci pozadí se nesmí znečistit. Tekutiny a jiné kontaminace, které přilnou ke dnu destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit abnormálně vysoký signál pozadí.



8. Vložte destičku pro kalibraci pozadí do přístroje:
- Otevřete nosítka přístroje.
 - Umístěte destičku pro kalibraci pozadí do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je vlevo vzadu.
 - Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



Provedení kalibrace

- V programu StepOne™ zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
- V navigační liště okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Background** (Kalibrace pozadí).
- Klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
- Na obrazovce Setup dialogového okna Background Calibration (Kalibrace pozadí) zvolte **The background plate is loaded into the instrument** (Destička pro kalibraci pozadí je vložena do přístroje), poté klikněte **Next**.
- Na obrazovce Run (Běh) klikněte **START RUN** (Spustit běh), poté vyčkejte na ukončení kalibrace pozadí.

Poznámka: Zobrazí-li program StepOne™ během běhu chybové hlášky, postupujte podle pokynů v části **“Nezdařená kalibrace pozadí”** na straně 132.

Vyjmutí destičky
pro kalibraci
pozadí



CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý na více než 100 °C. Byl-li přístroj aktuálně používán, vyčkejte ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.



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

1. Otevřete nosítka přístroje.
2. Vyjměte destičku pro kalibraci pozadí z bloku na vzorky, umístěte ji zpět do obalu a vraťte spektrální kalibrační kit zpět do mrazáku.

Poznámka: Destičku pro kalibraci pozadí nevyhazujte. Destičku pro kalibraci pozadí můžete použít až třikrát pokud je uchovávána v originálním obalu při –20 až –25 °C.

3. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



Analýza výsledků kalibrace

1. V části Analysis (Analýza) dialogového okna Background Calibration (Kalibrace pozadí) ověřte stav kalibrace:

- **Passed (Úspěšná)** – Kalibrace se zdařila. Pokračujte **krokem 2**.
- **Failed (Neúspěšná)** – Kalibrace se nezdařila. Postupujte podle pokynů v části “Nezdařená kalibrace pozadí” na straně 132.

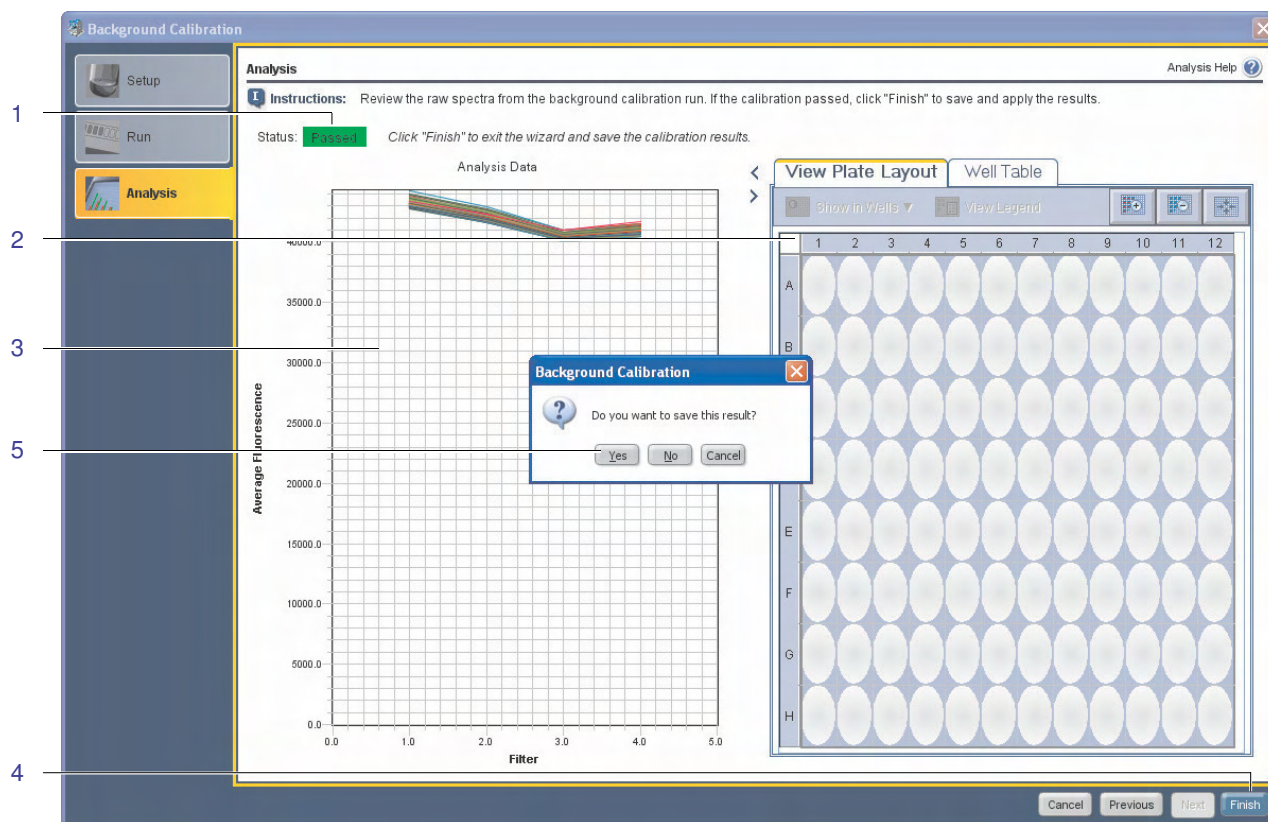
2. V dokumentu destičky zvolte všechny jamky.

3. Prostudujte hrubá data – hledejte abnormální spektrální píky.

Pokud se spektrum jedné nebo více jamek výrazně liší od spekter jamek sousedících, destička pro kalibraci pozadí nebo blok na vzorky mohou obsahovat fluoreskující kontaminaci. Máte-li podezření na kontaminaci, postupujte podle pokynů v části “Nezdařená kalibrace pozadí” na straně 132.

4. Jsou-li všechna spektra v pořádku, klikněte **Finish** (Konec).

5. Jste-li vyzváni k ukončení kalibrace pozadí, klikněte **Yes** (Ano).



Jak vytvořit destičku pro kalibraci pozadí

Kdykoliv můžete, použijte destičku pro kalibraci pozadí ze spektrálního kalibračního kitu. Destička, které je součástí kitu, obsahuje pufr, který odpovídá reagensům používaným v PCR, a proto pomocí ní získáte kalibrační data vysoké kvality. Nemáte-li nicméně k dispozici destičku pro kalibraci pozadí ze spektrálního kalibračního kitu, můžete si ji vytvořit níže uvedeným způsobem.

Potřebné pomůcky

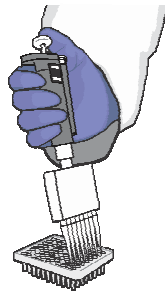
- Deionizovaná voda
- MicroAmp optický adhezivní film nebo MicroAmp™ 8-víčkové stripy (pouze plochá víčka)
- MicroAmp™ optická reakční destička
- Pipetman, 200- μ L a špičky
- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle

Vytvoření destičky pro kalibraci pozadí

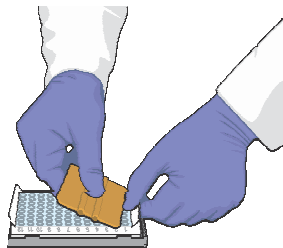
DŮLEŽITÉ! Při vyvážení destičky pro kalibraci pozadí používejte rukavice bez pudru.



1. Vyjměte destičku z krabice a umístěte ji na čisté suché místo.
2. Pipetujte 30 μ L deionizované vody do každé jamky reakční destičky.



3. Pomocí optického adhezivního filmu nebo optických plochých víček destičku uzavřete.



4. Proved'te kalibraci pozadí s touto destičkou.

Provedení kalibrace barev

Provedení kalibrace barev je zapotřebí každých 18 měsíců nebo podle potřeby v závislosti na používání přístroje. Na odečítání spekter jednotlivých barev má vliv stáří a používání přístroje, je proto možné, že bude zapotřebí provádět kalibraci častěji.

DŮLEŽITÉ! Proveďte kalibraci pozadí před provedením kalibrace barev (viz [“Provedení kalibrace pozadí” na straně 94](#)).

Potřebné pomůcky

- Destičky pro kalibraci barev ze spektrálního kalibračního kitu:
 - StepOne™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (PN 4371433)
 - StepOnePlus™ Real-Time PCR System Spectral Calibration Kit (PN 4371435)
- Ochranné brýle
- Rukavice bez pudru
- Centrifuga s adapterem na destičky
- Kabel, žlutý (z instalační soupravy přístroje)

Jiné barvy

Přístroje StepOne™ a StepOnePlus™ podporují používání jiných barev (než těch podporovaných společností Applied Biosystems), jejichž fluorescence spadá do spektrálního rozsahu těchto přístrojů (500 až 650 nm). Více informací viz [“Jak kalibrovat vlastní barvu” na straně 110](#).

Účel kalibrace barev

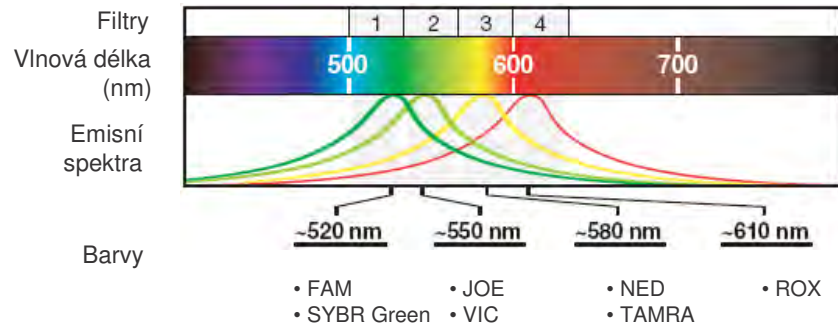
V rámci kalibrace barev systém:

- odečte spektra sérií standardů jednotlivých barev.
- uloží informace o spektrech jednotlivých barev v příslušném kalibračním souboru v adresáři programu StepOne™.

Program StepOne™ pak při následně prováděných bězích tato kalibrační data používá pro určení jednotlivých barev a jejich příspěvků do přístrojem celkově naměřené fluorescence v rámci běhu. Po ukončení běhu je každé snímání provedené v jeho průběhu uloženo programem StepOne™ 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 StepOne™ uloží pro každý experiment kalibrační soubor i fluorescenční data naměřená v průběhu daného experimentu.

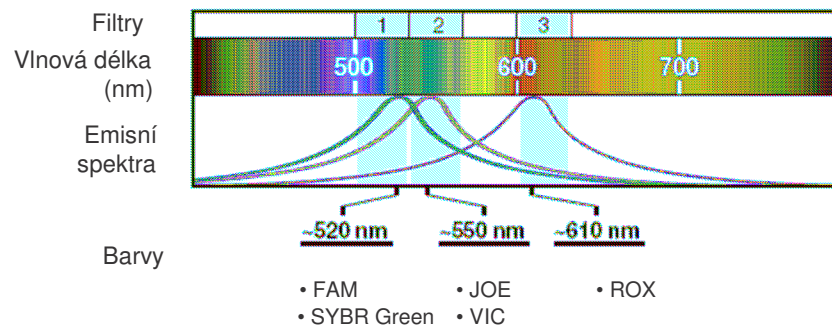
Podporované barvy Systém StepOnePlus™

Pro kalibraci přístroje StepOnePlus™ se používají následující barvy: FAM™, JOE™, NED®, ROX™, TAMRA®, VIC® a SYBR® Green. Následující obrázek ukazuje emisní spektrum pro každou barvu a současně i filtry a vlnové délky, při nichž je daná barva snímána.



Systém StepOne™

Pro kalibraci přístroje StepOne™ se používají následující barvy: FAM™, JOE™, ROX™, VIC® a SYBR® Green. Následující obrázek ukazuje emisní spektrum pro každou barvu a současně i filtry a vlnové délky, při nichž je daná barva snímána.



Vlastní barvy

Systémy lze využít pro provádění esejí za použití vlastních barev (barev nepodporovaných společností Applied Biosystems). Před jejich použitím však musíte vytvořit destičku pro kalibraci vlastní barvy a přístroj kalibrovat. Účel této destičky je obdobný jako u spektrální kalibrační destičky. Program StepOne™ použije tuto destičku pro vytvoření standardního souboru a následné rozlišení fluorescence této barvy z celkového naměřeného spektrálního signálu v průběhu běhu.

DŮLEŽITÉ! Chcete-li použít nějakou vlastní barvu, musí emitovat fluorescenční záření v rozsahu 500 až 650 nm – měřitelné přístroji StepOne™ a StepOnePlus™.

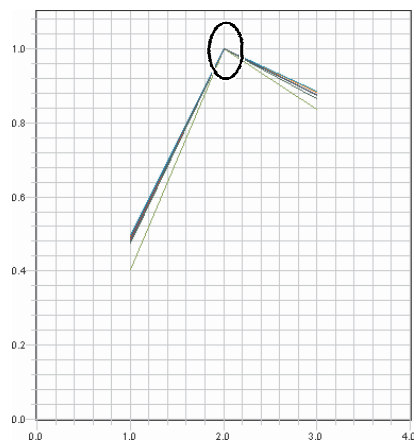
DŮLEŽITÉ! Společnost Applied Biosystems nedoporučuje používat barvu TAMRA™ ani jako reportér, ani jako zhášec, v systému StepOne™. Naopak barvu TAMRA™ lze použít jako reportér nebo zhášec v systému StepOnePlus™.

O analýze Výsledkem kalibrace barev je soubor spektrálních profilů, které lze chápat jako jakýsi fluorescenční podpis každé barvy. Každý profil sestává ze souboru spekter, která odpovídají fluorescenci naměřené v jamkách spektrální kalibrační destičky. Program StepOne™ vynáší výsledná data každého spektrálního profilu do grafu zobrazujícího závislost naměřené fluorescence na použitém filtru.

Při extrakci kalibračních dat z 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).

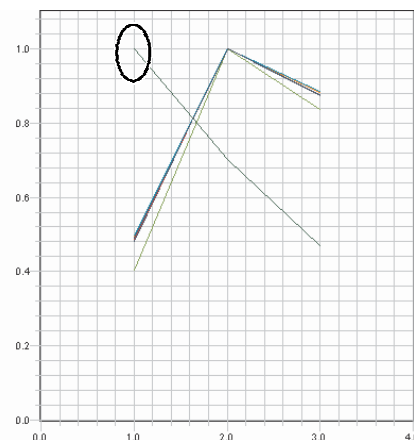
Program StepOne™ může kompenzovat určité rozdíly ve spektrálním profilu záměnou (automatická oprava) nesprávného spektra určité jamky spektrem jiných jamek na destičce. Je nicméně povoleno pouze několik takových záměn a kalibrace může být zamítnuta, pokud se spektra sousedních jamek liší výrazně.

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



Správné spektrum

Píky při identické vlnové délce a nepřilíší odlišné



Nesprávné spektrum



Pík při odlišné vlnové délce.

Příprava kalibrace

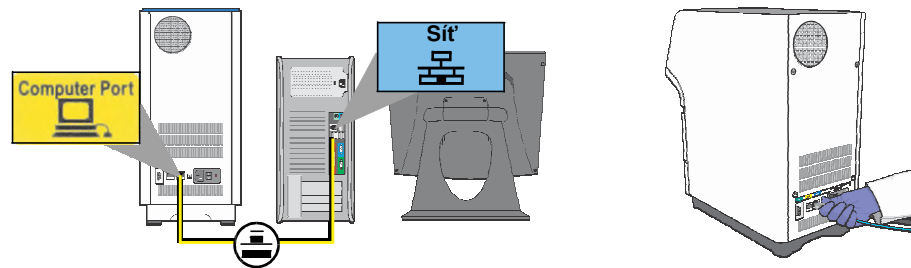


DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s kalibračními destičkami používejte rukavice bez pudru.

1. Pokud jste to již neprovedli, propojte žlutým kabelem:

- Žlutý síťový port () přístroje a
- síťový port () počítače s instalovaným programem StepOne™

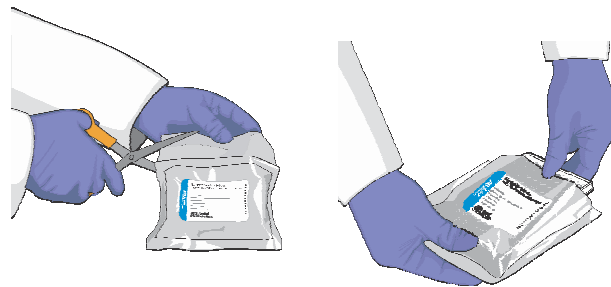
DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte žlutý kabel do *modrého* síťového portu ().



2. Vyměňte spektrální kalibrační kit z mrazáku a vyjměte kalibrační destičku 1.
3. Nechte kalibrační destičku 1 ohřát na pokojovou teplotu (přibližně 5 minut).

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

4. Vyměňte kalibrační destičku 1 z obalu.

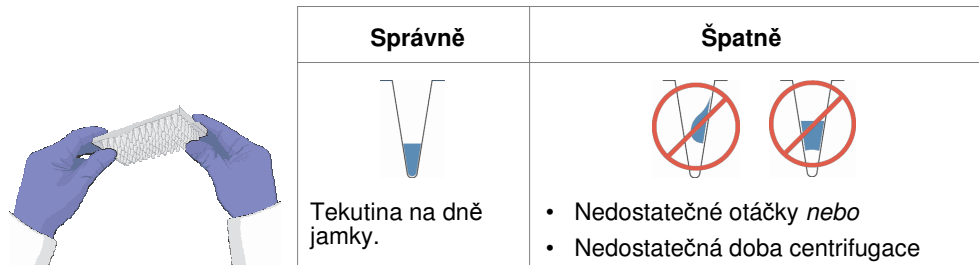


5. Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.
6. Centrifugujte kalibrační destičku 2 min při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

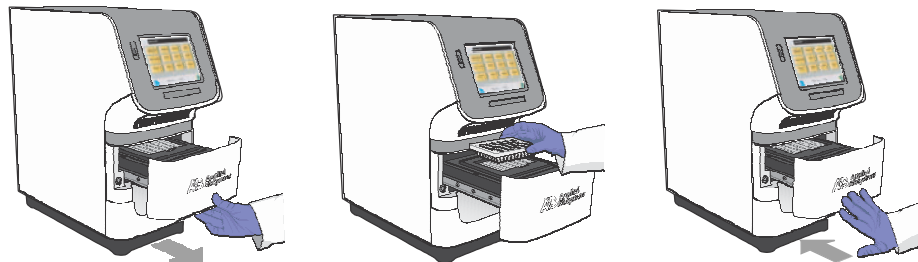
7. Ověřte, že tekutina je v každé jamce na dně. Pokud není, centrifugujte destičku znovu při vyšších otáčkách a delší dobu.

DŮLEŽITÉ! Spodní strana kalibrační destičky se nesmí znečistit. Tekutiny a jiné kontaminace, které přilnou ke dnu destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit abnormálně vysoký signál pozadí.



8. Vložte kalibrační destičku do přístroje.

- Otevřete nosítka přístroje.
- Umístěte kalibrační destičku do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je vlevo vzadu.
- Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



Provedení kalibrace

**CAUTION**

RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý na více než 100 °C. Byl-li přístroj aktuálně používán, vyčkejte ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.

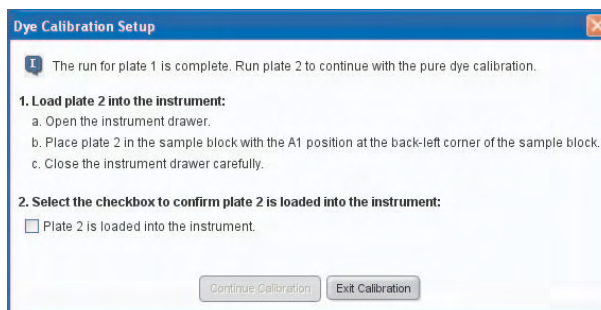
1. V programu StepOne™ zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
2. V navigační liště okna Instrument Maintenance Manager klikněte **Dye** (Kalibrace barev).
3. V okně Dye (Barvy) zvolte **System Dye Calibration** (Kalibrace systémových barev).
4. Klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).
5. Na obrazovce Setup dialogového okna Dye Calibration (Kalibrace barev) zvolte **Plate 1 is loaded into the instrument** (Kalibrační destička 1 je vložena do přístroje).
6. Klikněte **Next** (Další).
7. Na obrazovce Run (Běh) klikněte **START RUN** ➤ (Spustit běh)

The screenshot displays the StepOne™ Software interface during a dye calibration process. The main window is titled 'StepOne™ Software' and shows a menu bar (File, Edit, Instrument, Analysis, Tools, Help) and a toolbar with options like 'New Experiment', 'Open...', 'Save', 'Close', 'Send Experiment to Instrument...', 'Download Experiment from Instrument...', 'Export...', and 'Print Report...'. The 'Instrument Maintenance Manager' window is open, showing a 'Dye' section with a list of dyes: 'System Dye' (Expired), 'Background' (Current), and 'RNaseP' (Failed). The 'Calibrate Dye' dialog box is active, showing 'System Dye Calibration' selected and a 'Start Calibration' button. Below this is the 'Dye Calibration Setup' dialog box, which contains instructions and a checkbox for 'Plate 1 is loaded into the instrument'. The 'Next' button is highlighted in the bottom right corner.

8. Zatímco přístroj provádí běh s kalibrační destičkou 1, připravte kalibrační destičku 2 podle postupu v [krocích 4 až 7](#) na straně 104.
9. Jakmile vás program vyzve, vložte a spusťte běh s kalibrační destičkou 2:
 - a. Otevřete nosítka přístroje.
 - b. Vyjměte kalibrační destičku 1 z přístroje a vyhod'te ji.
 - c. Umístěte kalibrační destičku 2 do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je vlevo vzadu.
 - d. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



- e. V okně Dye Calibration Setup (Kalibrace barev – zadání) zvolte **Plate 2 is loaded in the instrument** (Kalibrační destička 2 je vložena do přístroje), klikněte **Continue Calibration** (Pokračovat v kalibraci).



10. Po skončení kalibrace vyjměte kalibrační destičku 2 z přístroje:
 - a. Otevřete nosítka přístroje.
 - b. Vyjměte kalibrační destičku 2 z přístroje a vyhod'te ji.
 - c. Opatrně uzavřete nosítka přístroje.

Analýza výsledků kalibrace

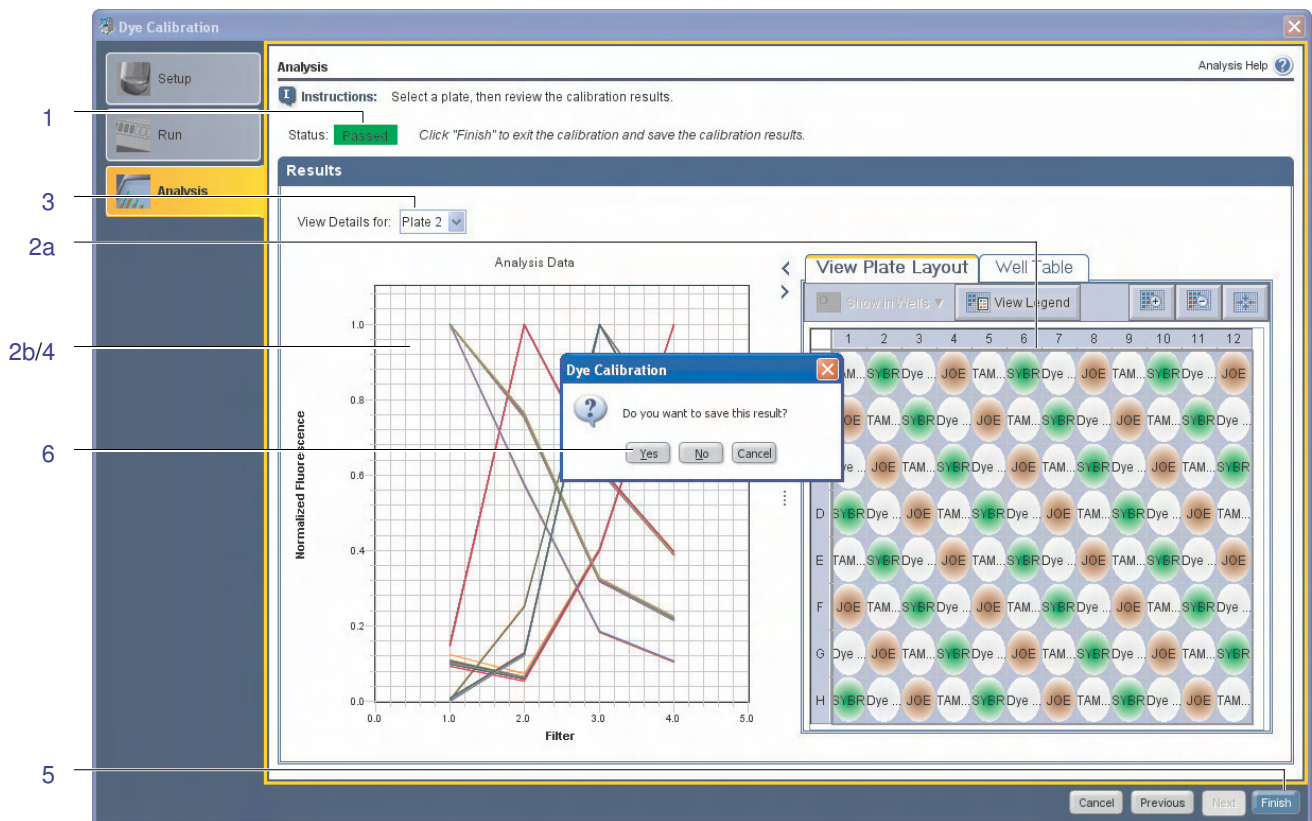
1. Po skončení kalibrace ověřte stav kalibrace:
 - **Passed (Úspěšná)** – Kalibrace se zdařila. Pokračujte [krokem 2a](#).
 - **Failed (Neúspěšná)** – Kalibrace se nezdařila. Postupujte podle pokynů v části [“Nezdařená kalibrace barev”](#) na straně 134.

2. Pro každou barvu na destičce ověřte průběh spekter:
 - a. Ve vyobrazení destičky zvolte (stiskněte klávesu **Ctrl** a označte) jamky obsahující tutěž barvu.
 - b. Prostudujte hrubá data. Pro každé spektrum ověřte, že:
 - Píky jsou v detekovatelném rozsahu přístroje.
 - Ve spektru nejsou abnormální píky.
 - Píky jsou v kanálu odpovídajícímu dané barvě (viz “Spektra barev – systém StepOne™” na straně 108 nebo “Spektra barev – systém StepOnePlus™” na straně 109).

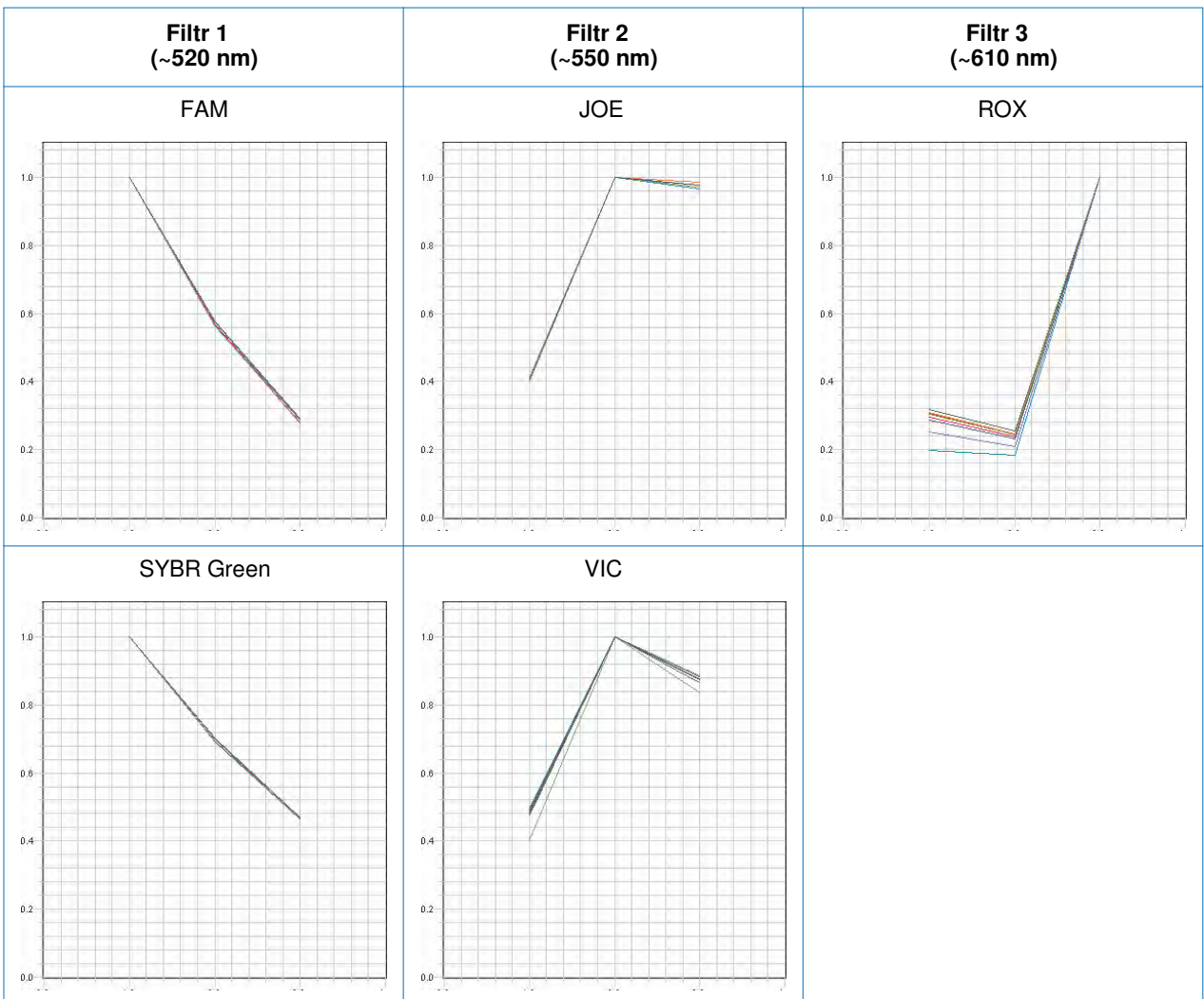
Pokud spektrum nespĺňuje shora uvedené parametry, postupujte podle pokynů v části “Nezdařená kalibrace barev” na straně 134.

Poznámka: Drobné variace spekter a píků mezi jamkami obsahujícími tutěž barvu jsou způsobeny malými rozdíly v optické a excitační energii mezi těmito jamkami.

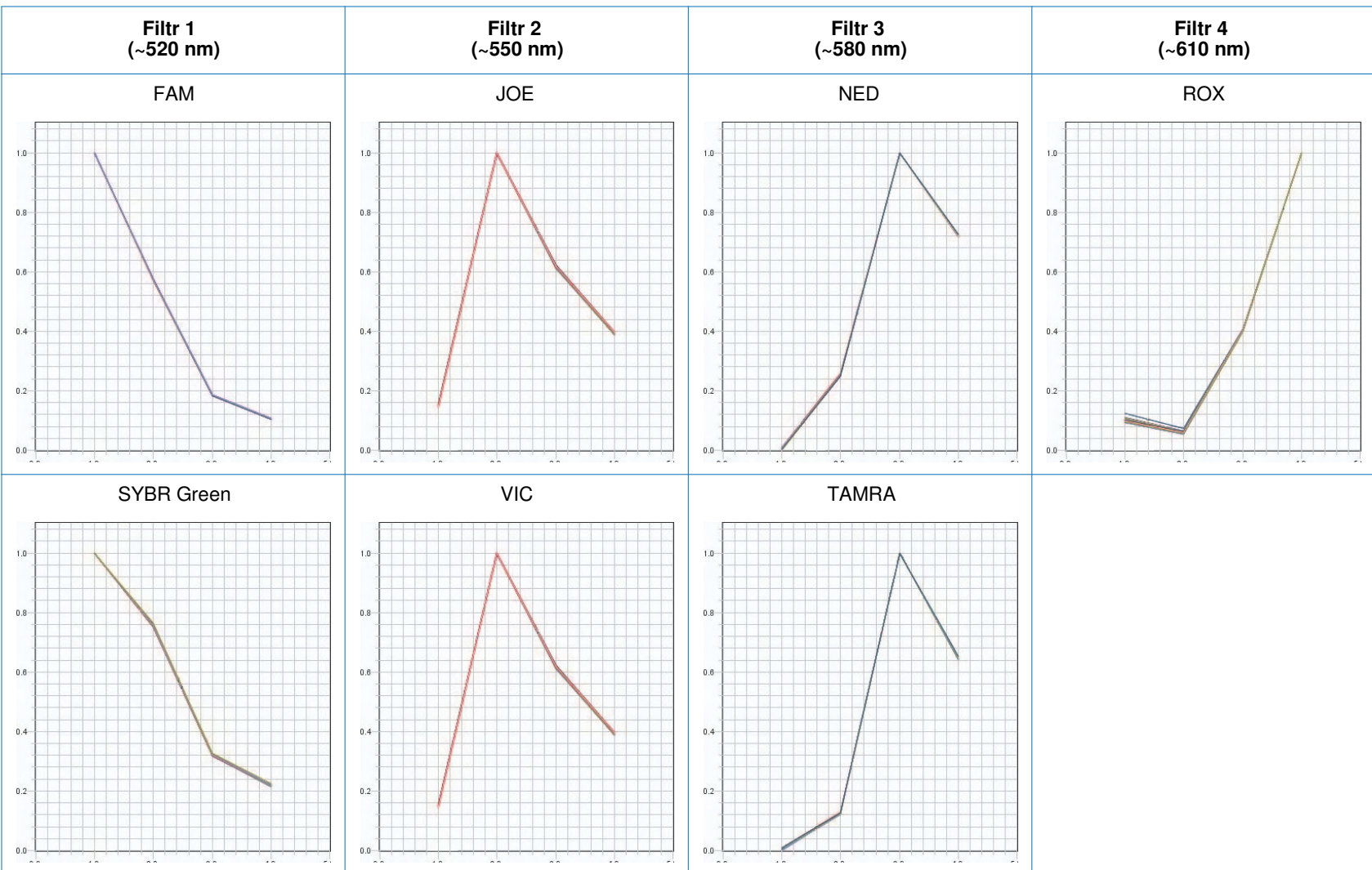
3. Jsou-li všechna spektra přijatelná, klikněte v nabídce View Details (Zobrazit detaily) na možnost **Plate 2** (Destička 2).
4. Prostudujte hrubá data pro destičku 2 podle postupu v [kroku 2b](#).
5. Jsou-li všechna spektra přijatelná, klikněte **Finish** (Konec).
6. Jste-li vyzváni k uložení kalibrace barev, klikněte **Yes** (Ano).



Spektra barev – Systém StepOne™



Spektra barev – Systém StepOnePlus™



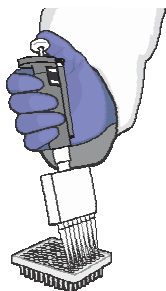
Kalibrace vlastní
barvy

Potřebné pomůcky

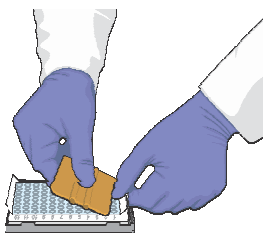
- Centrifuga s adaptérem na destičky
- Vlastní barva(y)
- Deionizovaná voda
- MicroAmp optický adhezivní film nebo MicroAmp™ 8-víčkové stripy (pouze plochá víčka)
- MicroAmp™ optická reakční destička pro daný typ přístroje
- Pipetmany a špičky (200- μ L a 1000- μ L)
- Rukavice bez pudru
- Ochranné brýle
- Zkumavky (2-ml a 10-ml)

Příprava vlastní destičky pro kalibraci barvy

1. Připravte vlastní destičku pro kalibraci barvy
 - a. Připravte roztok barvy v objemu 1.5 mL o požadované koncentraci.
 - b. Pipetujte 30 μ L roztoku do všech jamek destičky.



- c. Uzavřete jamky destičky pomocí optického adhezivního filmu nebo optických plochých víček.

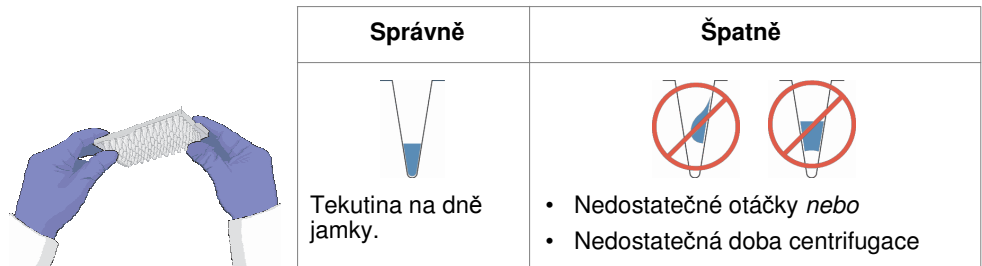


- d. Vortexujte destičku po dobu 5 vteřin.
 - e. Centrifugujte destičku pro kalibraci pozadí 2 min při méně než 1500 rpm.

DŮLEŽITÉ! Destičku je nutné dobře promíchat a centrifugovat.

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

DŮLEŽITÉ! Spodní strana destičky pro kalibraci pozadí se nesmí znečistit. Tekutiny a jiné kontaminace, které přilnou ke dnu destičky, mohou kontaminovat blok na vzorky a způsobit abnormálně vysoký signál pozadí



2. Vložte destičku pro kalibraci vlastní barvy do přístroje:

- Otevřete nosítka přístroje.
- Umístěte destičku pro kalibraci vlastní barvy do bloku na vzorky tak, že pozice A1 je vlevo vzadu .
- Opatrně uzavřete nosítka přístroje.



Spuštění vlastní destičky pro kalibraci barvy

- V programu StepOne™ zvolte **Instrument > Instrument Maintenance Manager** (Přístroj > Správce údržby přístroje).
- V okně Instrument Maintenance Manager (Správce údržby přístroje):
 - V navigační liště klikněte **Dye** (Barvy).
 - V okně Dye (Barvy) zvolte **Custom Dye Calibration** (Kalibrace vlastních barev).
 - Klikněte **Start Calibration** (Spustit kalibraci).

3. Na obrazovce Setup dialogového okna Dye Calibration (Kalibrace barev) zvolte vlastní barvu ze seznamu nebo vytvořte novou takto:
 - a. Klikněte **New Dye** (Nová barva).
 - b. V dialogovém okně Dye Manager (Správce barev) klikněte **New** (Nová).
 - c. Vyplňte dialogové okno New Dye (Nová barva), poté klikněte **OK**.

Pole	Krok
Name (Název)	Zadejte název vlastní barvy.
Wavelength (Vlnová délka)	Zadejte vlnovou délku, při níž barva emituje fluorescenci.
Type (Typ)	Zvolte: <ul style="list-style-type: none"> • Reporter pokud se jedná o barvu, která emituje záření, zhasené zhasěčem. • Quencher (Zhasěč) pokud se jedná o barvu, která absorbuje fluorescenci reportérové barvy. • Both (Obě) pokud barva emituje záření nezávisle na zhasěči.

- d. Klikněte **Close** (Zavřít).
4. Na obrazovce Setup dialogového okna Dye Calibration (Kalibrace barev) zadejte teplotní parametry kalibrace.

Poznámka: Nastavte teplotu tak, aby odpovídala teplotě, při níž chcete měřit fluorescenci. Například teplota pro všechny systémové barvy Applied Biosystems je 60 ° C, poněvadž při používání reagensů TaqMan® probíhá měření fluorescence během fáze extenze, jež se provádí při 60 ° C.

5. Zvolte **The custom dye plate is loaded in the instrument** (Destička pro kalibraci vlastní barvy je vložena do přístroje), poté klikněte **Next** (Další).
6. Na obrazovce Run (Běh) klikněte **Start Run** (Spustit běh), poté vyčkejte na ukončení kalibrace barev.

Poznámka: Pokud program StepOne™ zobrazí v průběhu běhu chybové hlášky, postupujte podle pokynů v části [“Nezdařená kalibrace barev”](#) na straně 134.

7. Jakmile přístroj zobrazí hlavní menu, vyjměte destičku.
8. Analyzujte výsledky kalibrace podle popisu v části [“Analýza výsledků kalibrace”](#) na straně 106.

Archivace a zálohování dat

Vypracujte si postupy pro správu dat, generovaných přístrojem:

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

Archivace výsledků Pomocí nějakého kompresního nástroje můžete provádět archivaci experimentů, čímž ušetříte místo na pevném disku vašeho počítače. Můžete použít různé komerčně dostupné kompresní nástroje. PKZIP a ARC jsou formáty archivů běžné v operačním systému Microsoft® Windows®.

Pravidelné zálohování experimentů Zálohujte experimenty provedené vaším přístrojem, abyste:

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

Více informací o volbě zařízení pro zálohování dat viz [“Volba ochranných zařízení” na straně 7.](#)

Nepravidelná údržba

Údržba

Následující kroky provádějte podle potřeby pro řešení vzniklých problémů:

- Dekontaminace bloku na vzorky 115
- Přemístování přístroje 118
- Výměna pojistek 120
- Odeslání přístroje do servisu 122
- Aktualizace operačního systému Windows 124
- Aktualizace programu StepOne™ 125

Dekontaminace bloku na vzorky

Pokud jste provedli kalibraci pozadí a pozorovali vysoký signál fluorescence pozadí, o němž se domníváte, že by mohl být výsledkem kontaminace, proveďte dekontaminaci bloku na vzorky.

Potřebné pomůcky

- Chlornan sodný (10%)
- Tyčinky s bavlnou nebo nylonem a utěrka nepouštějící chlupy
- Deionizovaná voda
- Etanol (95%)
- Pipetman se špičkami (100- μ L)
- Rukavice bez pudru
- Kabel, žlutý (z instalační soupravy systému)

Doporučení pro používání chlornanu sodného



CAUTION Společnost Applied Biosystems doporučuje pro odstranění kontaminací v bloku na vzorky používat 10% roztok chlornanu sodného; nicméně rozsáhlé používání tohoto roztoku může způsobit korozi bloku.

Abyste předešli poškození bloku:



- Používejte roztok chlornanu sodného pro dekontaminaci bloku až jako poslední možnost. Nejprve zkuste kontaminace odstranit deionizovanou vodou a 95% etanolem.
- Po propláchnutí bloku chlornanem sodným jej pečlivě vypláchněte destilovanou vodou. Takové promytí snižuje účinky dlouhodobého používání chlornanu sodného.

Čistění kontaminovaných jamek

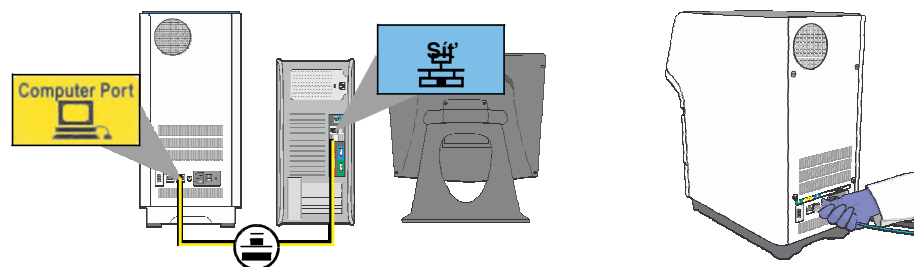


CAUTION RIZIKO PORANĚNÍ. Je-li přístroj v provozu, může být blok na vzorky ohřátý na více než 100 °C. Byl-li přístroj aktuálně používán, vyčkejte ochlazení bloku na vzorky na pokojovou teplotu.

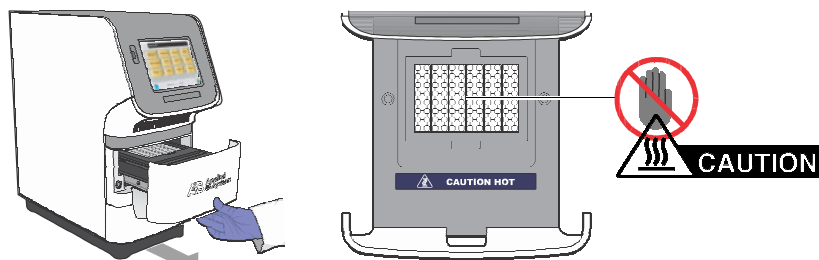
Příprava přístroje

1. Pokud jste to již neprovedli, propojte žlutým kabelem:
 - Žlutý síťový port () přístroje a
 - síťový port () počítače s instalovaným programem StepOne™

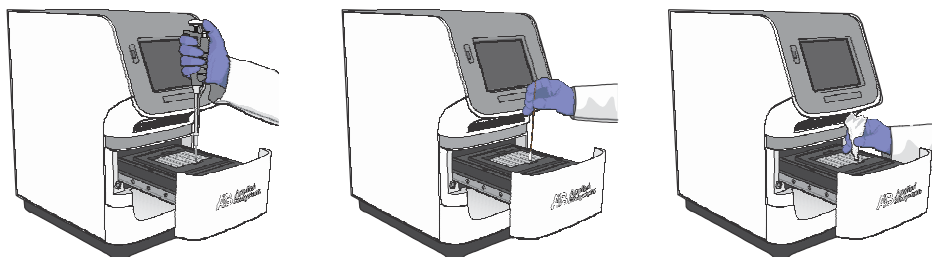
DŮLEŽITÉ! Nepřipojujte žlutý kabel do *modrého* LAN portu ().



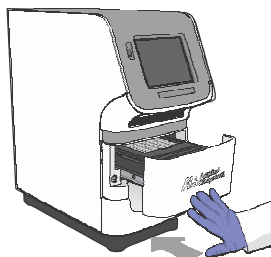
2. Na základě výsledků kalibrace pozadí identifikujte kontaminované jamky bloku.
3. Vypněte přístroj a vypojte jej ze zásuvky. Nechte je vychladnout 15 min.
4. Otevřete nosítka přístroje.



5. Vyčistěte kontaminované jamky bloku na vzorky:
 - a. Pipetujte malý objem deionizované vody do všech kontaminovaných jamek, vypláchněte jamku několikrát pipetováním vody nahoru a dolů a pipetujte vodu do odpadu.
 - b. Pomocí tyčinky s bavlnou vytřete vnitřek každé kontaminované jamky.
 - c. Vysušte zbytky deionizované vody utěrkou, která nepouští vlákna.
 - d. Opakujte kroky 5a až 5d.



6. Uzavřete nosítka přístroje, připojte jej do zásuvky a zapněte.



7. Proveďte kalibraci pozadí, abyste potvrdili, že jste kontaminaci odstranili.

8. Je-li kontaminace stále přítomna, vyčistěte jamky pomocí 95% etanolu:



WARNING

CHEMICKÉ RIZIKO. Etanol je hořlavá tekutina a vytváří hořlavé výpary. Způsobuje podráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí a může způsobit poškození centrálního nervového systému a jater. Přečtěte si bezpečnostní list a dodržujte pokyny při manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice

- Opakujte kroky 2 až 5 za použití 95% EtOH namísto deionizované vody.
- Opakujte krok 5 za použití deionizované vody, abyste vypláchli jamky bloku.
- Proveďte kroky 6 a 7, abyste ověřili, že jste kontaminaci odstranili.

DŮLEŽITÉ! Poté co promyjete jamky chlornanem sodným nebo etanolem je vždy vypláchněte deionizovanou vodou.

9. Je-li kontaminace stále přítomna, vyčistěte jamky pomocí 10% roztoku chlornanu sodného:



WARNING

CHEMICKÉ RIZIKO. Chlornan sodný je dezinfekční prostředek, který může poleptat kůži a způsobit její depigmentaci. Přečtěte si bezpečnostní list a dodržujte pokyny při manipulaci. Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice bez pudru.

- Opakujte kroky 2 až 5 za použití 10% roztoku chlornanu sodného namísto deionizované vody.
- Opakujte krok 5 za použití deionizované vody, abyste vypláchli jamky bloku.
- Proveďte kroky 6 a 7, abyste ověřili, že jste kontaminaci odstranili.

DŮLEŽITÉ! Poté co promyjete jamky chlornanem sodným nebo etanolem je vždy vypláchněte deionizovanou vodou.

10. Je-li kontaminace stále přítomna, kontaktujte technickou podporu společnosti Applied Biosystems.

Přemísťování přístroje

Následující kroky proveďte, chcete-li přemístit přístroj na krátkou vzdálenost (např. mezi laboratořemi v téže budově).

Poznámka: Chcete-li přístroj odeslat prostřednictvím pozemní nebo letecké přepravy, připravte jej k přepravě podle postupu v části “Odeslání přístroje do servisu” na straně 122.

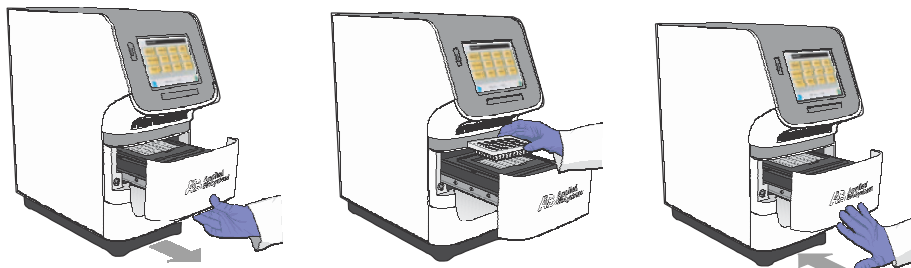
Potřebné pomůcky

Originální transportní destička nebo MicroAmp™ optická destička.


Příprava přístroje

1. Vložte transportní destičku nebo prázdnou destičku do přístroje:

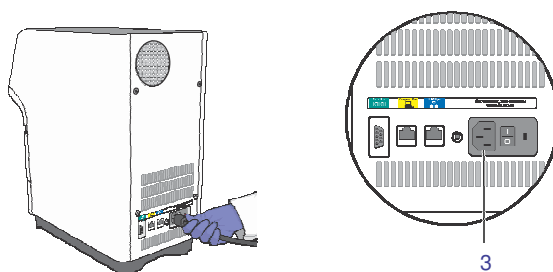
- a. Otevřete nosítka přístroje.
- b. Vložte destičku do bloku na vzorky.
- c. Uzavřete nosítka přístroje.



2. Přesuňte blok na vzorky do horní pozice (pro účel přepravy):

- a. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
- b. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools Menu** (Nástroje), poté se dotkněte **Ship Prep** (Příprava k přepravě).
- c. Vyčkejte na přesun bloku do horní pozice, poté přístroj na výzvu na displeji vypněte.

3. Vypojte přívodní elektrickou šňůru.



Přemístění a
znovuzapojení
přístroje



WARNING

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

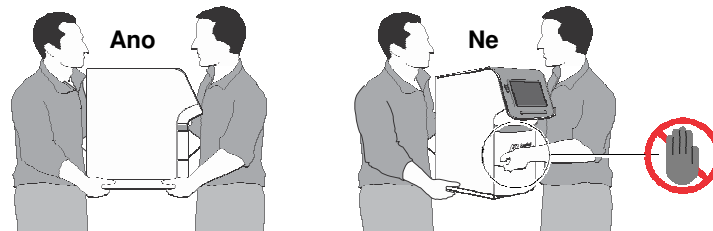
DŮLEŽITÉ! Přemístování vašeho přístroje může způsobit drobné změny v nastavení optického systému. Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste po přemístění ověřili funkčnost přístroje pomocí ověřovací destičky TaqMan® RNase P Fast Instrument Verification Plate .

1. Přemístěte váš systém podle pokynů v kroku 6 na straně 16.



CAUTION

Nenoste přístroj za vysouvací nosítka. Mohlo by dojít k poškození optického systému přístroje



2. Instalujte součásti systému podle vámi zvolené varianty instalace.

Instalace	Popis	Proveďte podle popisu v části ...
S počítačem	Přístroj je přímo propojen s počítačem pomocí žlutého dodávaného kabelu.	Kapitola 3, "Instalace přístroje s počítačem," na straně 25
Bez počítače	Přístroj není přímo propojen s počítačem s instalovaným programem StepOne™.	Kapitola 4, "Instalace přístroje bez připojení k počítači," na straně 49

Pokud pokus s RNázou P provedený po skončení instalace:

- splní požadovaná kritéria, přemístění se zdařilo.
- nesplní požadovaná kritéria, proveďte znovu kalibraci přístroje:
 - a. Proveďte prostorovou kalibraci (viz "Provedení prostorové kalibrace" na straně 90).
 - b. Proveďte kalibraci pozadí (viz "Provedení kalibrace pozadí" na straně 94).
 - c. Proveďte kalibraci barev (viz "Provedení kalibrace barev" na straně 100).
 - d. Proveďte běh s RNázou P (viz "Provedení ověřovacího běhu s destičkou RNázaP" na straně 38 nebo 60).

Výměna pojistek

Výměnu pojistek přístroje provádějte podle potřeby.

- Potřebné pomůcky
- Pojistky, 10 A, 250 VAC Slo-Blo®
 - Malý plochý šroubovák

O pojistkách

Přístroj je vybaven dvěma 10 A, 250 VAC pojistkami, které jej chrání vůči přepětí. Měníte-li pojistku, doporučuje společnost Applied Biosystems výměnu obou pojistek najednou bez ohledu na jejich stav.

Poznámka: Povolené napětí v síti je 100, 120, 220, 230 $\pm 10\%$; 240 VAC
+6%/-10%, 50/60 Hz $\pm 1\%$.



WARNING 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



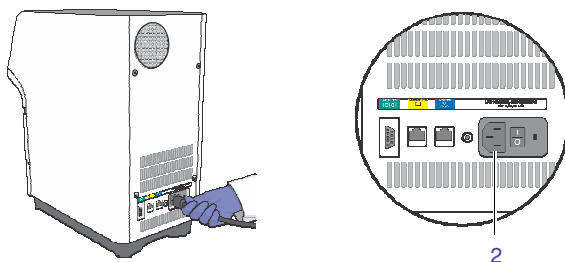
DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Abyste se ochránili před úrazem elektrickým proudem, používejte pouze zásuvku se zemnicím kolíkem. Nepoužívejte adaptér k zásuvce bez zemnicího kolíku, která neposkytuje dostatečnou ochranu.



Výměna
pojistek

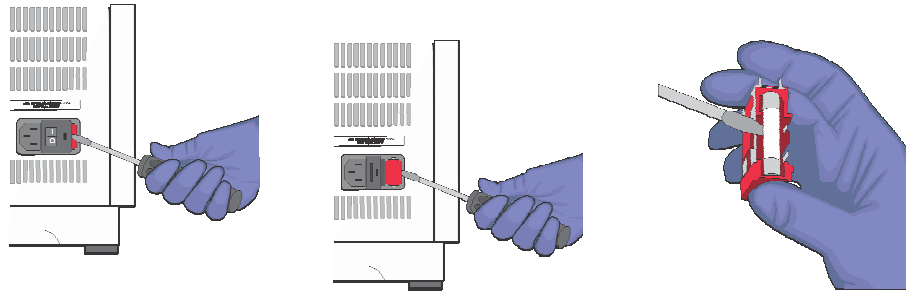
DANGER NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Úder elektrickým proudem, který může způsobit úraz nebo smrt, může být výsledkem práce na přístroji, v němž je vysoké napětí. Abyste se tomuto riziku vyhnuli, vypojte přístroj ze sítě a vyčkejte alespoň jednu minutu před zahájením práce na přístroji.

1. Vypněte přístroj.
2. Vypojte přívodní šňůru ze zásuvky.



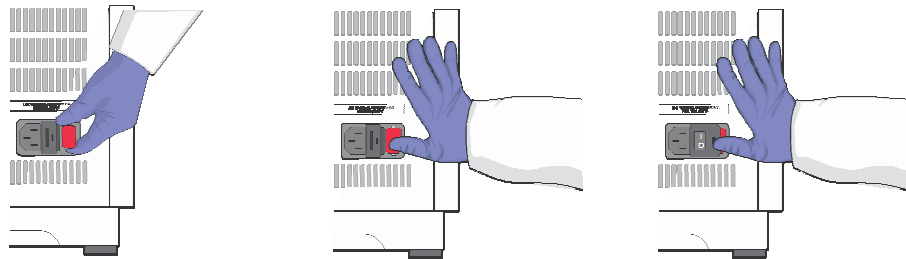
3. Vyjměte držák pojistek a pojistky:

- a. Vložte plochý šroubovák do jednoho z otvorů na pravé straně krytu pojistek a páčením jej otevřete.
- b. Vložte šroubovák do jednoho z otvorů po stranách držáku pojistek a vysuňte jej.
- c. Vyměňte spálenou pojistku(y) za novou 10 A , 250 VAC pojistku.



4. Vložte držák pojistek zpět:

- a. Jemně stlačte pojistky mezi palec a ukazovák a vložte jejich držák zpět do lůžka do správné pozice.
- b. Uzavřete kryt pojistek.



5. Připojte přívodní šňůru k přístroji.

6. Zapněte přístroj a vyčkejte na provedení všech diagnostických testů. Proběhnou-li tyto testy úspěšně, přístroj zobrazí hlavní nabídku.

Vyskytne-li se nějaký problém, přístroj zobrazí odpovídající chybový kód. Opakujte shora uvedený postup bez výměny pojistek, abyste znovu usadili jejich držák do lůžka. Pokud problém přetrvává, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle pokynů v části “Kde získat pomoc” na straně x.

Odeslání přístroje do servisu

Pokud je potřeba, aby na přístroji provedl opravu servisní technik společnosti Applied Biosystems, dekontaminujte přístroj a zabalte jej pro odeslání do společnosti Applied Biosystems.

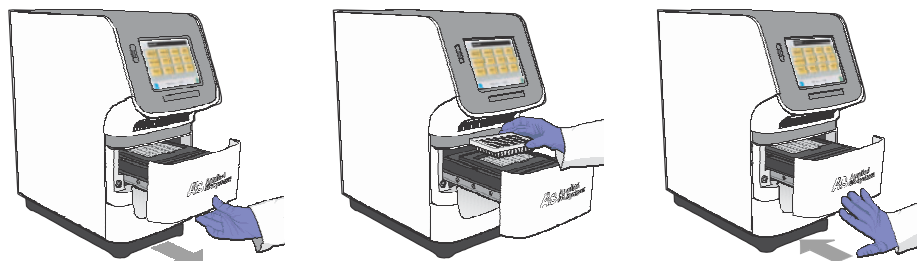
Potřebné pomůcky MicroAmp™ optická reakční destička


Příprava pro přepravu do Applied Biosystems

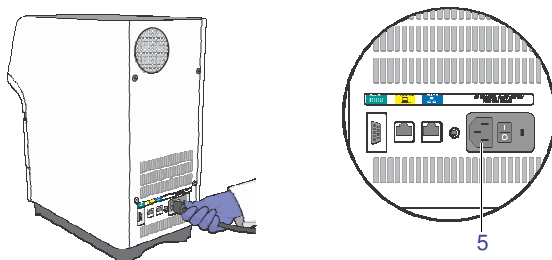
1. Kontaktujte zákaznické centrum společnosti Applied Biosystems (viz “[Kde získat pomoc](#)” na straně x) a vyžádejte si Certifikát o dekontaminaci.
2. Dekontaminujte přístroj podle pokynů v certifikátu o dekontaminaci.
3. Podepište vyplněný certifikát o dekontaminaci a faxujte nebo jej odešlete e-mailem do zákaznického centra společnosti Applied Biosystems.

DŮLEŽITÉ! Certifikát o dekontaminaci nevyhazujte. Jeho kopii musíte zabalit spolu s přístrojem.

4. Přesuňte blok na vzorky do horní pozice (pro účel přepravy):
 - a. Vložte prázdnou reakční destičku do přístroje.



- b. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
 - c. V hlavní nabídce se dotkněte **Tools Menu** (Nástroje), poté se dotkněte **Ship Prep** (Příprava k přepravě).
 - d. Vyčkejte na přesun bloku do horní pozice, poté přístroj na výzvu na displeji vypněte.
5. Vypojte přívodní elektrickou šňůru.



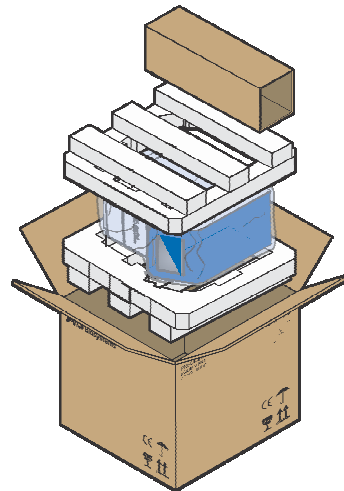
6. Zabalte přístroj do obalového materiálu Applied Biosystems. Součástí balení musí být:

- Přístroj StepOne™ nebo StepOnePlus™
- Certifikát o dekontaminaci (z kroku 3b na straně 122)

DŮLEŽITÉ! Odeslání přístroje do společnosti Applied Biosystems bez vyplněného certifikátu o dekontaminaci bude znamenat prodloužení doby opravy.

- Objednávka servisu:
 - Písemná objednávka servisu *nebo*
 - Dopis na hlavičkovém papíře vaší společnosti s odkazem na “ústně provedenou objednávku servisu” *nebo*
 - Informace o platební kartě Visa nebo MasterCard
- Vaše kontaktní informace včetně:
 - Adresy pro zaslání faktury
 - Adresy pro zpětné doručení přístroje
 - Jméno a telefon kontaktní osoby

DŮLEŽITÉ! Příslušenství a přívodní šňůry neposílejte.



7. Opatřete balík údaji k přepravě.

8. Odešlete balík na adresu poskytnutou zákaznickým centrem společnosti Applied Biosystems.

Instalace
opraveného
přístroje

Poté co přístroj dostanete zpět, instalujte jej jako by byl nový podle pokynů v kapitolách 1 až 5 této příručky.

Aktualizace operačního systému Windows

Navštivte stránku StepOne™ Na internetových stránkách společnosti Applied Biosystems naleznete sekci věnovanou systémům StepOne™ a StepOnePlus™. Najdete zde nejnovější informace z hlediska souvisejících produktů a služeb a technické podpory:

info.appliedbiosystems.com/stepone

Jsou zde rovněž nejnovější verze ovládacího softwaru a dokumentace k přístroji.

Na stránkách technické podpory můžete:

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

Kompatibilita aktualizací Neinstalujte vyšší verzi operačního systému Microsoft Windows® na počítač připojený k přístroji aniž byste prostudovali poznámky k dané verzi (tzv. Release Notes) nebo informace na stránkách Applied Biosystems. Novější verze operačního systému Windows® nebo jeho aktualizace může způsobit konflikt s programem StepOne™ a váš přístroj může být neovladatelný.

1. Otevřete adresář **D:\Applied Biosystems\StepOne Software v2.0**, dvakrát klikněte na **release-notes.html** a seznamte se s obsahem tohoto dokumentu, který obsahuje informace týkající se kompatibility.
2. Nejsou-li informace v tomto dokumentu dostatečné, navštivte stránku **www.AppliedBiosystems.com/StepOne** a vyhledejte potřebné informace zde.
3. Nejsou-li informace na internetové stránce dostatečné, kontaktujte společnost Applied Biosystems (viz “**Kde získat pomoc**” na straně x).

Aktualizace programu StepOne™

Chcete-li aktualizovat program StepOne™, zálohujte nejprve data (výsledky experimentů a aplikační knihovny) na vašem počítači.

Příprava aktualizace

1. Zálohujte aplikační knihovny:
 - a. V hlavní nabídce programu StepOne™ zvolte **Tools** (Nástroje) > <požadovaná knihovna>.
 - b. Objeví-li se dialogové okno příslušné knihovny, zvolte prvky, které chcete exportovat a klikněte **Export**.
 - c. V dialogovém okně Export klikněte **Save** (Uložit).
 - d. Opakujte kroky 1 až 3 i pro ostatní archivované knihovny.

2. Zálohujte výsledky experimentů – vytvořte kopii adresáře, v němž tyto výsledky ukládáte.


Přednastavený adresář pro experimenty StepOne nebo StepOnePlus™ je:

D:\Applied Biosystems\StepOne Software v2.0\experiments

3. Zálohujte data z přístroje:

- a. Připojte USB disk do USB portu.



- b. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
- c. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings** (Nastavení), poté se dotkněte **Admin Menu** (Administrátor), poté se dotkněte **Back Up Experiments and Settings** (Zálohovat experimenty a nastavení).
- d. Dotkněte se **Back Up** (Zálohovat) a vyčkejte přenosu dat.
- e. Po ukončení přenosu se dotkněte **Done** (Hotovo) a vyjměte USB disk.




Řešení problémů při instalaci

A

V této příloze naleznete:

- Problémy s programem StepOne™ 128
- Problémy s připojením k síti 129
- Nezdařená kalibrace pozadí..... 132
- Nezdařená kalibrace barev 134

Poznámka: Více informací k tématům diskutovaným v této příručce naleznete v online nápovědě programu StepOne™ Real-Time PCR System Software, do které se dostanete stiskem klávesy **F1** nebo ikony  nebo volbou **Help > StepOne Software Help** (Nápověda > Nápověda programu StepOne).

Problémy s programem StepOne™

Setkáte-li se během instalace programu StepOne™ s problémy, před opětovnou instalací program nejprve odinstalujte.

Odinstalování programu StepOne™

1. Přihlaste se do operačního systému jako administrátor nebo jako uživatel s právy administrátora.

DŮLEŽITÉ! Instalujete-li program StepOne™, musíte být přihlášení do operačního systému Windows® jako uživatel s právy administrátora.

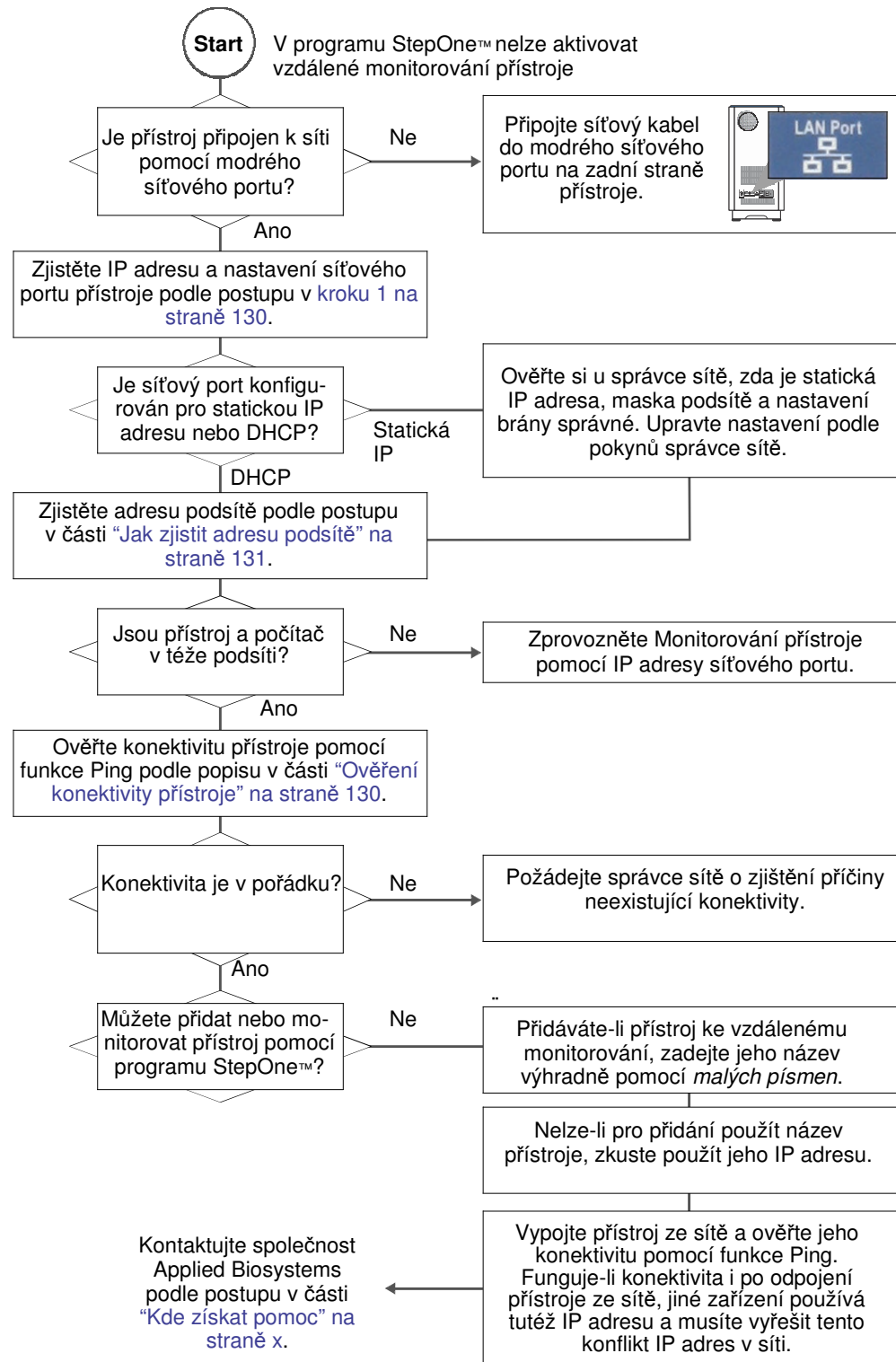
2. Odstraňte program StepOne™:
 - a. Na ploše zvolte **Start > Control Panel > Add/Remove Programs** (Start > Ovládací panely > Přidat/Odebrat programy).
 - b. V dialogovém okně Add/Remove Programs (Přidat/Odebrat programy) zvolte program **StepOne™** a klikněte **Change/Remove** (Změnit/Odebrat).
 - c. V dialogovém okně InstallShield Wizard zvolte **Remove** (Odstranit).
 - d. V dialogovém okně Confirm Uninstall (Potvrďte odstranění) klikněte **OK**.
 - e. Po odstranění programu klikněte **Finish** (Konec).
 - f. Uzavřete dialogové okno Add/Remove Programs (Přidat/Odebrat programy).
3. Restartujte počítač a přihlaste se jako administrátor nebo uživatel s právy administrátora.
4. Instalujte znovu program StepOne™.

Pokud se instalace programu znovu nezdaří, přeinstalujte počítač pomocí obrazu (image) originální instalace a instalujte program znovu.


Problémy s připojením k síti

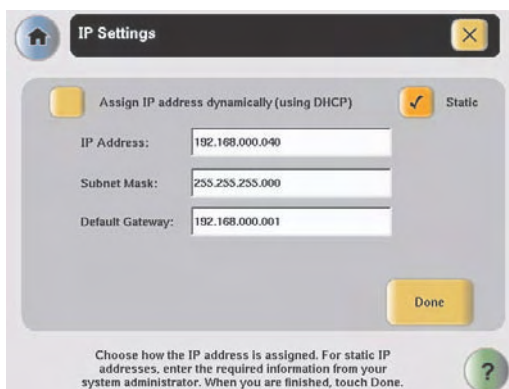
Zde najdete informace potřebné pro vyřešení případných problémů s nastavením přístroje pro vzdálené monitorování.

Řešení problémů - postup



Ověření konektivity přístroje Propojení počítače v síti a přístroje můžete ověřit pomocí funkce Ping. Příkazem Ping z příkazové řádky DOS odešlete 32-bitové datové pakety do přístroje. Je-li síťové propojení počítače a přístroje v pořádku, přístroj jako odpověď odešle datové pakety.

1. Ověřte IP adresu přístroje:
 - a. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
 - b. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings Menu > Admin Menu > Set IP Address** (Nastavení > Administrátor > Nastavení IP adresy).
 - c. Poznamenejte si IP adresu v poli IP Address.



2. Odešlete příkaz Ping na přístroj:
 - a. Zapněte přístroj a vyčkejte na jeho náběh.
 - b. Na ploše počítače zvolte **Start > Programs > Accessories > Command Prompt** (Start > Programy > Příslušenství > Příkazový řádek).
 - c. V okně příkazového řádku zadejte **ping <IP adresa>**, poté stiskněte **Enter**.


Pokud...	pak...
se "ping" vrátí	počítač komunikuje s IP adresou.
zobrazí "request timed out"	Vyčkejte několik minut na aktualizaci síťové adresy přístroje a postup opakujte. Pokud se ani druhý pokus nezdaří, obraťte se na správce sítě, abyste zjistili příčinu nefunkční síťové komunikace.

Konflikt IP adres v síti

Máte-li podezření, že IP adresa používaná portem přístroje může být totožná, jako adresa jiného zařízení v síti, můžete toto podle následující procedury ověřit.

1. Odpojte přístroj ze sítě.
2. Pomocí funkce ping ověřte dostupnost IP adresy přístroje podle postupu výše.
Pokud funkce Ping prokáže dostupnost zařízení v síti, znamená to, že tuto adresu má jiné zařízení v síti a přístroji musí být přidělena jiná IP adresa.

Jak zjistit adresu podsítě

1. Dotkněte se dotykového displeje přístroje StepOne™, aby se přístroj uvedl do chodu, poté se dotkněte .
.
2. V hlavní nabídce se dotkněte **Settings Menu > Admin Menu > Set IP Address** (Nastavení > Administrátor > Nastavení IP adresy)
3. Poznamenejte si IP adresu v poli IP Address. První tři čísla IP adresy je adresa podsítě.
Např. v následující IP adrese je adresa podsítě vyznačena kurzívou:
192.168.100.140

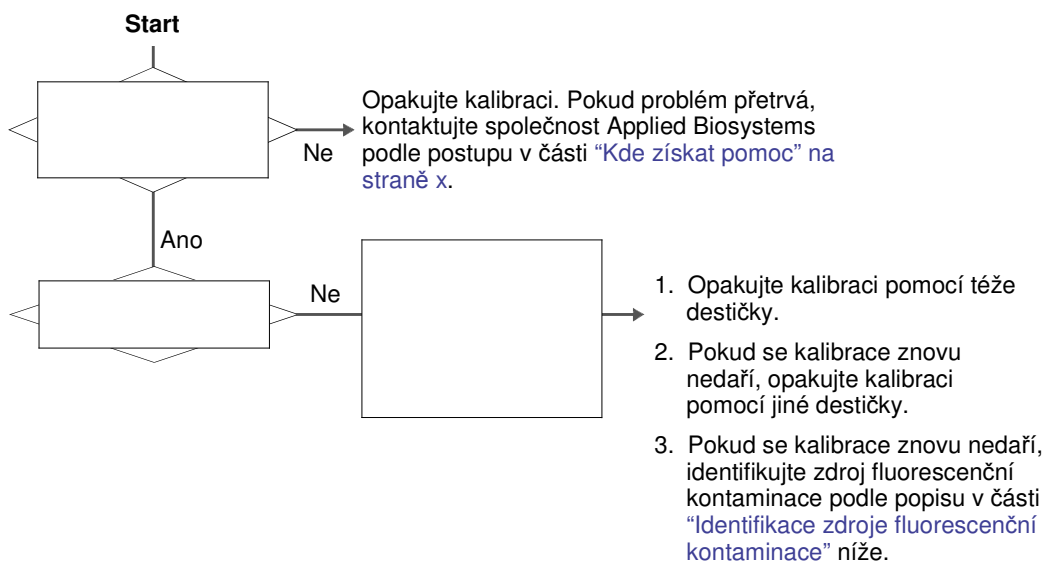
Je-li adresa podsítě pro přístroj odlišná od adresy podsítě, v níž je počítač určený pro vzdálené monitorování, nelze použít název přístroje, chcete-li jej přidat do seznamu pro vzdálené monitorování. Omezení mDNS popsané v části “[Doporučení pro připojení k síti](#)” na straně 77 dovoluje použít název přístroje jako identifikátor zařízení v síti pouze pro v rámci téže podsítě.

Poznámka: Chcete-li zjistit adresu podsítě vašeho počítače (určeného pro vzdálené monitorování), zvolte **Start > Help and Support** (Nápověda) na ploše a následně v nápovědě Microsoft Windows vyhledejte postup pro váš operační systém.

Nezdařená kalibrace pozadí

Zde najdete informace potřebné pro vyřešení případných problémů s kalibrací pozadí.

Řešení problémů
- postup



Identifikace
zdroje
fluorescenční
kontaminace

Signály, které překročí úroveň normální fluorescence pozadí, jsou známkou fluorescenční kontaminace v kalibrační destičce nebo bloku na vzorky. Mezi běžné kontaminace patří: inkoust z fixů, prach z rukavic a prachové částice.

Chcete-li identifikovat zdroj fluorescenční kontaminace:

1. Zobrazte hrubá spektra a identifikujte kontaminovanou jamku(y) postupnou volbou stále menších oblastí destičky.
2. Otočte destičku o 180°, proved'te znovu kalibraci pozadí.
3. Opakujte [krok 1](#). Je-li místo(a) kontaminace identifikované v [krocích 1 a 3](#):
 - **Identické** – Je kontaminován blok na vzorky. Proved'te dekontaminaci bloku na vzorky podle postupu na straně [115](#).
 - **Odlišné** – Je kontaminována kalibrační destička. Destičku vyhod'te a proved'te kalibraci pozadí pomocí nové destičky.

Pokud se kalibrace nezdaří ani po výměně kalibrační destičky a dekontaminaci bloku na vzorky, proved'te následující test:

1. Vložte do přístroje destičku pokrytou kusem černého papíru.
2. Proved'te kalibraci pozadí podle postupu v části "[Provedení kalibrace pozadí](#)" na straně [94](#).
3. Po skončení běhu zvolte všechny jamky destičky.



4. Zobrazte spektra. Je-li spektrální pík(y):

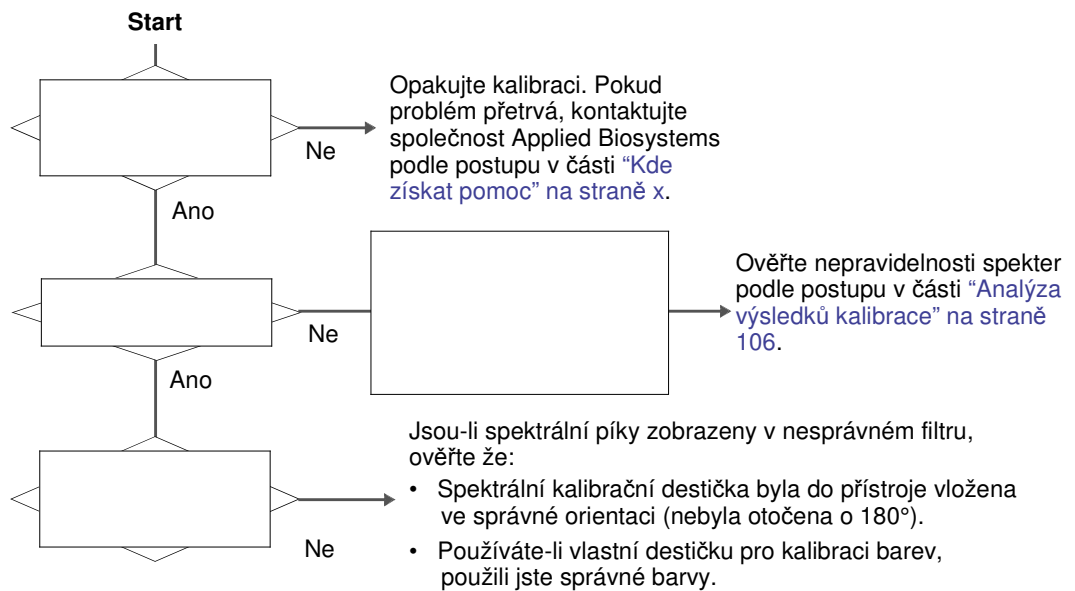
- **Přítomen** – Optický systém vašeho přístroje může být kontaminován. Kontaktujte společnost Applied Biosystems podle postupu v části “[Kde získat pomoc](#)” na straně x.
- **Nepřítomen** – Je kontaminován blok na vzorky. Proveďte dekontaminaci bloku na vzorky podle postupu na straně [na straně 115](#).



Nezdařená kalibrace barev

Zde najdete informace potřebné pro vyřešení případných problémů s kalibrací barev.

Řešení problémů
- postup



Běžné problémy V následující tabulce je výčet běžných problémů při kalibraci barev.

Spektra	Možná příčina	Krok
Jedno nebo více spekter je pod detekovatelným prahem, jehož dosažení je předpokladem kalibrace.	<ul style="list-style-type: none"> Nedostatečné centrifugování spektrální kalibrační destičky. Staré nebo málo reagensů ve spektrální kalibrační destičce. Při použití vlastní destičky pro kalibraci pozadí – nedostatečná koncentrace barvy. 	<ol style="list-style-type: none"> Vyjměte destičku a zkontrolujte jamky. Pokud tekutina v jamkách destičky: <ul style="list-style-type: none"> Není na dně jamek, centrifugujte destičku delší dobu a opakujte kalibraci. Nemá totožný objem, destička nebyla těsně uzavřena a reagensie se odpařily. Destičku vyhoďte a použijte jinou. Vypadá-li spektrální kalibrační destička normálně, vyhoďte ji a použijte jinou. Pokud problém přetrvává, kontaktujte společnost Applied Biosystems podle postupu v části “Kde získat pomoc” na straně x. <p>Poznámka: Používáte-li vlastní destičku pro kalibraci barev, vytvořte novou destičku, ale zvýšte koncentraci barvy, jejíž signál je nedostatečný.</p>
Jedno nebo více spekter přesahuje maximální limit přístroje.	<ul style="list-style-type: none"> Fluorescenční kontaminace je v bloku na vzorky nebo spektrální kalibrační destičce. Používáte-li vlastní destičku pro kalibraci barev, barva může být příliš koncentrovaná. 	<p>Ověřte přítomnost kontaminace provedením kalibrace pozadí podle postupu v části “Provedení kalibrace pozadí” na straně 94. Pokud kalibrace pozadí neukáže, že je kontaminován blok na vzorky, může být kontaminovaná spektrální kalibrační destička.</p> <p>Poznámka: Používáte-li vlastní destičku pro kalibraci barev, vytvořte novou destičku, ale snižte koncentraci barvy, jejíž signál je vysoký.</p>
Spektrum obsahuje píky ve více než jednom filtru.	V bloku na vzorky nebo spektrální kalibrační destičce je fluorescenční kontaminace.	



Terminologický slovník

Advanced Setup (Pokročilé zadání)	Funkce programu StepOne™, která umožňuje zadání experimentu podle vaší potřeby. Poskytuje maximální flexibilitu v návrhu a zadání experimentu.
AIF	Viz soubor informací o eseji (AIF) .
alela	Jakákoliv sekvenční varianta genu, která se vyskytuje v populaci.
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 (C_T) na jamce
amplikon	Část DNA amplifikovaná pomocí PCR.
AutoDelta	Funkce umožňující zvyšování/snižování teploty a/nebo zkracování/prodlužování doby inkubace v každém dalším cyklu PCR. Je-li funkce AutoDelta zapnuta, poznáte to podle ikony v teplotním profilu: <ul style="list-style-type: none">• AutoDelta zapnuto: ▲• AutoDelta vypnuto: ▲
automatické C_T	Nastavení parametrů analýzy, kdy program automaticky stanoví rozsah cyklů pro výpočet fluorescence pozadí a vypočítá hodnotu prahu (threshold). Následně stanoví hodnoty prahového cyklu (C_T). Viz též prahový cyklus (CT) .
automatické nastavení pozadí (baseline)	Nastavení parametrů analýzy, kdy program automaticky stanoví rozsah cyklů pro výpočet fluorescence pozadí. Automatické nastavení pozadí lze použít pro vybrané jamky destičky. Viz též pozadí (baseline) .

barva cílové sekvence

V programu StepOne™ se jedná o barvu, jíž je označena cílová sekvence, a která je použita k její identifikaci ve vyobrazení destičky a v amplifikačním grafu.

barva ROX™

Barva dodávaná společností Applied Biosystems, systémy StepOne™ a StepOnePlus™ jsou pro použití této barvy prekalibrovány. Barva ROX se používá jako pasivní reference.

blok na vzorky VeriFlex™

Blok na vzorky v přístroji StepOnePlus™. Blok VeriFlex obsahuje 96 jamek a je rozdělen do zón. Umožníte-li používat blok VeriFlex v programu StepOne™, můžete pro každou zónu nastavit různou teplotu.

bod

Jeden standard ve standardní křivce. Množství daného standardu ve standardní křivce se počítá na základě výchozího množství a sériového faktoru.

cílová sekvence (target)

Sekvence nukleové kyseliny, kterou chcete amplifikovat a detekovat.

C_T

Viz [prahový cyklus \(C_T\)](#).

čtení post-PCR

Používá se při genotypování a experimentech typu Ano/Ne, jedná se o fázi sběru dat po amplifikaci. Při genotypování jsou data získaná při čtení post-PCR zobrazena v grafu alelické diskriminace a použita pro odečty alel. Při provádění experimentů typu Ano/Ne jsou data získaná při čtení post-PCR zobrazena v grafu typu Ano/Ne a používána k odečtu výsledků.

čtení pre-PCR

Používá se při genotypování a experimentech typu Ano/Ne, jedná se o fázi sběru dat před amplifikací. Jedná se o nepovinnou součást sběru dat, nicméně doporučenou. Fluorescenční data získaná během čtení pre-PCR lze použít pro normalizaci fluorescence naměřené post-PCR.

delta R_n (ΔR_n)

Viz [normalizovaný signál reportérové barvy po odečtení pozadí \(DR_n\)](#).

derivace signálu reportérové barvy ($-R_n'$)

Záporná hodnota první derivace normalizovaného signálu reportérové barvy během amplifikace PCR. V grafu závislosti $-R_n'$ na teplotě (křivka tání) se zobrazuje na ose y.

disociační křivka

Viz [křivka tání](#).

dotykový displej

Displej přístroje StepOne™ nebo StepOnePlus™, který umožňuje tyto přístroje ovládat pomocí.

efektivita amplifikace (EFF%)

Výpočet efektivit PCR amplifikace. Efektivita amplifikace se počítá na základě sklonu regresní linie standardní křivky. Sklon blízký -3.32 znamená optimální 100% efektivitu PCR amplifikace. Efektivitu amplifikace ovlivňují:

- **Koncentrační rozsah standardů** – Chcete-li zvýšit přesnost měření efektivit amplifikace, použijte široké rozpětí koncentrací standardů, 5 až 6 řádů (10^5 až 10^6 krát).
- **Počet replikátů standardů** – Chcete-li zvýšit přesnost a snížit vliv nepřesnosti pipetování, používejte replikáty.
- **Inhibitory PCR** – Inhibitory PCR v reakci mohou snížit amplifikaci a ovlivnit měření efektivit.

EFF%

Viz [efektivita amplifikace \(EFF%\)](#).

endogenní kontrola

Detektor pro gen relativně stabilně exprimovaný ve všech analyzovaných vzorcích. Endogenní kontrola se používá pro normalizaci fluorescenčního signálu cílového ampliconu při kvantifikaci metodou relativní standardní křivky a komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$) metodou. Jako endogenní kontrolu lze použít tzv. housekeepingové (“provozní”) geny. Viz též [housekeepingové \(“provozní”\) geny](#).

endpoint čtení

Viz [post-PCR čtení](#).

esej

V systémech StepOne™ a StepOnePlus™ : reakční mix obsahující primery pro amplifikaci cílové sekvence a reagentie pro detekci amplifikované molekuly.

eseje na objednávku (made-to-order)

Eseje pro kvantifikaci genové exprese (TaqMan® Gene Expression Assays) a genotypování (TaqMan® SNP Genotyping Assays) vyráběné v okamžiku objednávky. Odesílány jsou pouze eseje splňující parametry kontroly jakosti.

eseje skladem (inventoried)

Eseje pro kvantifikaci genové exprese (TaqMan® Gene Expression Assays) a genotypování (TaqMan® SNP Genotyping Assays), které již byly vyrobeny, splnily parametry kontroly jakosti a jsou k dispozici skladem.

experiment

Označení celého procesu provedení běhu na přístroji StepOne™ nebo StepOnePlus™, zahrnuje zadání, vlastní běh a analýzu. Na přístrojích StepOne™ a StepOnePlus™ lze provádět následující typy experimentů:

- Kvantifikace – standardní křivka
- Kvantifikace - relative standard curve
- Kvantifikace - komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$)
- Křivka tání
- Genotypování
- Ano/ne

- fáze (stage)** Skupina jednoho nebo více kroků v teplotním profilu. Existují tři 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 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 (cycling stage)**
Opakování v rámci teplotního profilu. Též nazývána fáze amplifikace. Pro fázi cyklování můžete použít funkci AutoDelta. 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.
- forward primer** Oligonukleotid ohraničující 5' konec amplikonu. Spolu s reverzním primerem se používá při PCR reakci k amplifikaci.
- graf alelické diskriminace**
Zobrazení dat získaných čtením po provedení PCR. Jedná se o graf závislosti normalizovaného signálu reportérové barvy alely 1 na normalizovaném signálu reportérové barvy alely 2.
- graf teploty** Grafický záznam teploty vzorků, vyhřívaného víka přístroje a bloku. K dispozici v programu StepOne™ při provádění běhů na přístroji StepOne™ nebo StepOnePlus™.
- housekeepingový (provozní) gen**
Gen, který nějakým způsobem participuje v základních procesech buňky a má konstitutivní hladinu exprese. Provozní geny lze používat jako endogenní kontroly. Viz též [endogenní kontrola](#).
- hranice zóny** Okraj zóny v bloku VeriFlex™. V programu StepOne™ jsou hranice zón vyznačeny tlustou červenou čarou ve vyobrazení destičky.
- hrubá data** Grafický záznam naměřené fluorescence (nenormalizované) v každém optickém filtru.
- ID eseje (Assay ID)** Identifikační označení esejí pro kvantifikaci genové exprese (TaqMan® Gene Expression Assays) a pro genotypování (TaqMan® SNP Genotyping Assays) společnosti Applied Biosystems.
- inhibitor IPC** Reagencie přidávaná do PCR reakcí za účelem inhibice amplifikace interní pozitivní kontroly (IPC).

- inhibovaná IPC** U experimentů typu Ano/Ne reakce obsahující inhibitor amplifikace IPC (interní pozitivní kontrola). V programu StepOne™ se jedná o úlohu detektoru v jamkách obsahujících inhibitor amplifikace IPC. Viz též [negativní kontrola – inhibované jamky IPC](#).
- inkubace (holding stage)** Fáze teplotního profilu zahrnující jeden nebo více kroků. Kroky inkubace lze zařadit kvůli aktivaci enzymů, inaktivaci enzymů nebo jako inkubaci reakce.
- instalace bez počítače** Instalace přístroje StepOne™ nebo StepOnePlus™ bez přímého propojení přístroje s počítačem pomocí žlutého kabelu. Ovládání přístroje je možné pouze pomocí dotykového displeje a přenos dat mezi počítačem a přístrojem je možný pouze pomocí USB disku nebo počítačové sítě.
- instalace s počítačem** Způsob instalace systému StepOne™ nebo StepOnePlus™, kdy je přístroj přímo připojen k počítači pomocí žlutého propojovacího kabelu. V této konfiguraci lze přístroj ovládat programem StepOne™ instalovaným v počítači nebo pomocí dotykového displeje.
- interní pozitivní kontrola (IPC)** Používaná u experimentů typu Ano/Ne, 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** U experimentů typu Ano/Ne zkratka pro interní pozitivní kontrolu (internal positive control - IPC). V programu StepOne™ úloha detektoru v jamkách obsahujících IPC a neobsahujících inhibitor IPC. Viz též [interní pozitivní kontrola \(IPC\)](#).
- IPC+** Viz [negativní kontrola-IPC jamky](#).
- kalibrátor** Viz [referenční vzorek](#).
- Knihovna cílových sekvencí (Target Library)** V programu StepOne™ se jedná o soubor cílových sekvencí používaných v experimentech, definovaných pomocí názvu, reportérové barvy, zhášeče a barvy cílové sekvence.
- Knihovna SNP esejí (SNP Assay Library)** V programu StepOne™ se jedná o soubor SNP esejí, které lze použít v genotypovacích experimentech. SNP esejí jsou definovány pomocí názvu a barvy a každá alela je definována názvem nebo pomocí báze, barvou reportérové barvy, zhášeče a alely.

Knihovna vzorků (Sample Library)

Soubor vzorků v programu StepOne™. Každý vzorek je definován svým jménem a barevným označením.

komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$) metoda

Metoda stanovení relativní kvantity cílového amplikonu ve vzorku. Pomocí komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$) metody program StepOne™ měří amplifikaci cílové molekuly a endogenní kontroly ve vzorcích a v referenčním vzorku. Měření jsou normalizována pomocí endogenní kontroly. Program stanoví relativní množství cílové molekuly v každém vzorku srovnáním s referenčním vzorkem.

Koncentrace ředěného vzorku (10× pro reakční směs)

V programu StepOne™ : pole zobrazované v záložce Sample Dilution Calculations (Výpočet koncentrace vzorků) na obrazovce Reaction Setup (Sesazení reakce). V tomto poli zadejte koncentraci vzorku, kterou chcete použít v reakční směsi pro všechny vzorky v destičce. “10× for Reaction Mix” znamená, že program předpokládá, že vzorek nebo standard, které jsou součástí reakční směsi, je 10× koncentrován. Např. je-li koncentrace vzorku 50.0 ng/μL (10×), bude výsledná koncentrace v reakci 5 ng/μL (1×).

kontrola bez amplifikace (no amplification control - NAC)

Viz negativní kontrola - inhibované jamky IPC.

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. V systému StepOnePlus™, který je vybaven blokem VeriFlex™, obsahuje každý krok 6 teplot (1 pro každou zónu).

křivka tání

Grafický záznam dat získaných během fáze křivky tání – píky označují teplotu tání (T_m) cílové molekuly nebo slouží k identifikaci nespecifické PCR amplifikace. V programu StepOne™ můžete křivku tání znázornit jako závislost normalizovaného signálu reportérové barvy (R_n) na teplotě nebo první derivace normalizovaného signálu reportérové barvy ($-R_n'$) na teplotě. Též se používá název disociační křivka.

manuální C_T

Nastavení parametrů analýzy, kdy definujete hodnotu prahu a stanovíte zda rozsah cyklů pro výpočet fluorescence pozadí definovat automaticky nebo manuálně. Program používá definované pozadí a práh pro výpočet prahového cyklu (threshold cycle - C_T).

manuální nastavení pozadí (baseline)

Nastavení, kdy stanovíte rozsah cyklů pro výpočet fluorescence pozadí. Manuální nastavení pozadí lze použít pro vybrané jamky destičky.

metoda běhu

Definice reakčního objemu a teplotního profilu pro běh přístroje StepOne™ nebo StepOnePlus™.

metoda kvantifikace

Při kvantifikačních experimentech je možné ke kvantifikaci používat různé metody. Systémy StepOne™ a StepOnePlus™ podporují tři kvantifikační metody: standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$).

metoda relativní standardní křivky

Metoda stanovení relativního množství cílové molekuly ve vzorcích. Používáte-li tuto metodu, měří program StepOne™ amplifikaci cílové sekvence a endogenní kontroly ve vzorcích, v referenčním vzorku a v ředících řadách standardů. 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 StepOne™ 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](#).

mix primerů

Součást reakční směsi PCR obsahující forward primer a reverzní primer pro amplifikaci.

mix primerů/sondy

Součást reakční směsi PCR obsahující primery a sondu TaqMan® k detekci amplikonu.

množství

Množství cílové molekuly ve vzorcích. Absolutní množství může být vyjádřeno v počtu kopií, hmotnosti, molaritě nebo jako virová nálož. Relativní množství odpovídá násobku rozdílu 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 StepOne™ lze toto množství definovat jako hmotnost, počet kopií, virová nálož nebo další jednotky.
- Při kvantifikaci metodou relativní standardní křivky se jedná o množství templátu ve standardech. Může odkazovat na množství cDNA nebo množství zásobního roztoku standardu v PCR reakci. Jednotky nejsou důležité, neboť výsledkem výpočtu je bezjednotkové číslo.

multikomponentní graf

Graf zobrazující úplný příspěvek každé barvy k celkovému naměřenému spektrálnímu signálu pro zvolenou jamku v průběhu PCR.

nákres destičky (plate layout)

Grafické vyobrazení jamek a jejich obsahu. U systému StepOne™ obsahuje 6 řádek a 8 sloupců. U systému StepOnePlus™ obsahuje 8 řádek a 12 sloupců.

V programu StepOne™ můžete nákres destičky použít jako nástroj pro definování obsahu jamek, zobrazení obsahu jamek a zobrazení výsledků. Nákres destičky lze vytisknout, zahrnout do zprávy o výsledcích, exportovat a uložit jako diapozitiv pro prezentaci.

název experimentu Identifikátor daného experimentu, definuje se při zadání experimentu. Názvy nesmí být delší než 100 znaků a nesmí obsahovat následující znaky: /, \, >, <, *, ?, ", |, : , ; .

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 vážící se do malého žlábků DNA zvyšuje teplotu tání (T_m) aniž je zapotřebí zvýšit délku sondy. Tím je rovněž umožněno navrhovat kratší sondy.

negativní kontrola - inhibované jamky IPC

V experimentech typu Ano/Ne se jedná o jamky obsahující inhibitor amplifikace IPC namísto vzorku. V jamkách negativní kontroly s inhibitorem IPC by nemělo dojít k žádné amplifikaci, neboť v reakci není vzorek a amplifikace IPC je inhibována. Dříve nazývána kontrola bez amplifikace - no amplification control (NAC).

negativní kontrola - IPC jamky

V experimentech typu Ano/Ne se jedná o jamky obsahující templát IPC a pufr nebo vodu namísto vzorku. V těchto jamkách dojde k amplifikaci pouze templátu IPC , protože v reakci není žádný vzorek. Dříve nazývána IPC+.

negativní kontrola (NC)

V programu StepOne™ 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 v programu StepOne™ 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 Ano/Ne se jedná o úlohu pro jamky obsahující vzorek v němž je testována přítomnost cílové sekvence.

neznámý-IPC (unknown-IPC)

Při provádění experimentů typu Ano/Ne se jedná o jamky obsahující vzorek a interní pozitivní kontrolu (IPC).

normalizované množství

Množství cílové molekuly vydělené množstvím endogenní kontroly.

normalizovaný signál reportérové barvy (Rn)

Fluorescenční signál reportérové barvy normalizovaný na fluorescenční signál pasivní reference.

normalizovaný signál reportérové barvy po odečtení pozadí (ΔRn)

1. 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:

ΔRn (cyklus) = Rn (cyklus) – Rn (pozadí), kde Rn = normalizovaný signál reportérové barvy

2. Při genotypování nebo u experimentů typu Ano/Ne – rozdíl normalizované fluorescence reportérové barvy mezi čtením pre-PCR a post-PCR. V grafu alelické diskriminace (genotypování) a u experimentů typu Ano/Ne se ΔRn počítá jako:

ΔRn = Rn (čtení post-PCR) – Rn (čtení pre-PCR), kde Rn = normalizovaný signál reportérové barvy

Viz též [normalizovaný signál reportérové barvy \(Rn\)](#).

odlehlý bod (outlier) Neobvykle se lišící výsledek měření určitého parametru (vyšší nebo nižší).

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). Výsledky jsou v odmítnutých jamkách vypočítány až do fáze, kdy byly tyto jamky z další analýzy dále vyřazeny.

pasivní reference

Barva generující fluorescenční signál. 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 nebo koncentračními rozdíly mezi jednotlivými jamkami. Normalizace vůči pasivní referenci zvyšuje přesnost výsledků.

poměr vzorek/cíl v reakci (sample/target reaction)

V kvantifikačních experimentech se jedná o kombinaci toho kterého vzorku v němž je kvantifikována ta která cílová sekvence. Zadávaté-li experiment pomocí Průvodce zadáním experimentu (Design Wizard), můžete kvantifikovat pouze jednu cílovou sekvenci v jedné PCR reakci. Použijte Pokročilé zadání (Advanced Setup), chcete-li detekovat a kvantifikovat více než jednu cílovou sekvenci v jedné PCR reakci.

poměr vzorek/SNP eseje v reakci (sample/SNP assay reaction)

V genotypovacích experimentech se jedná o kombinaci toho kterého vzorku testovaného pomocí té které SNP eseje. Každá PCR reakce může obsahovat pouze jeden vzorek a jednu SNP eseji.

pozadí (baseline)

V terminologii amplifikačního grafu: fluorescence vzorku ve vymezeném rozsahu cyklů předtím, než je detekovatelná amplifikace produktu.

pozitivní kontrola

V genotypovacích experimentech se jedná o DNA vzorek o známém genotypu, homozygotní nebo heterozygotní. V programu StepOne™ se jedná o úlohu detektoru pro SNP eseji v jamce obsahující vzorek o známém genotypu.

- práh** 1. Určitá úroveň fluorescence používaná pro stanovení hodnot C_T při provádění PCR v reálném čase. Nastavuje se výše než je pozadí (baseline) a dostatečně nízko, aby byl položen ve fázi exponenciální amplifikace. Lze definovat automaticky (viz [automatické CT](#)) nebo nastavit manuálně (viz [manuální CT](#)).
2. Při provádění experimentů typu Ano/Ne se jedná o úroveň fluorescence, nad níž program StepOne™ vyhodnotí výsledek rozhodnutím Ano.
- prahový cyklus (threshold cycle - C_T)**
Cyklus PCR v němž fluorescence protne práh v amplifikačním grafu.
- prostorová kalibrace (spatial calibration)**Jedna z kalibrací systému StepOne™ a StepOnePlus™ používaná k mapování pozic jednotlivých jamek v bloku na vzorky. Používá se k tomu, aby program správně přiřadil detekovaný nárůst fluorescence během běhu dané jamce destičky.
- 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 (C_T) pro vzorek s množstvím rovným 1.
- Průvodce zadáním experimentu (Design Wizard)**
Funkce programu StepOne™ umožňující definovat zadání experimentu a poskytující rady k zadání.
- QuickStart** Funkce programu StepOne™, která umožňuje zadání experimentu aniž zadáte informace o destičce. Funkce QuickStart vyžaduje instalaci přístroje spolu s počítačem.
- R₂ parametr** Regresní koeficient vypočítaný z regresní linie standardní křivky. Parametr R₂ indikuje míru vzájemné shody regresní linie standardní křivky a jednotlivých hodnot C_T standardů. Hodnota 1.00 indikuje perfektní shodu regresní linie a hodnot C_T standardů.
- ramp** Rychlost změny teploty v průběhu běhu. Vyjma křivky tání je ramp definován v procentech. V případě křivky tání je ramp definován jako změna teploty. V grafickém záznamu teplotního profilu je ramp vyznačen diagonálou.
- reagencie** Součásti PCR reakce používané k amplifikaci cílové sekvence a k detekci amplifikace. V systémech StepOne™ a StepOnePlus™ lze použít:
- reagencie TaqMan®
 - reagencie SYBR® Green
 - Jiné reagencie
- 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.

reakční směs	Roztok obsahující všechny komponenty potřebné pro provedení PCR, vyjma templátu (vzorek, standard nebo kontrola).
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 Ano/Ne.
referenční vzorek	Používá se při kvantifikaci metodou relativní standardní křivky a komparativní C_T ($\Delta\Delta C_T$) 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: $C_T = m [\log (Q_{ty})] + b$ kde m je sklon, b je průsečík s osou y (y-intercept) a Q_{ty} je množství standardu. Viz též regresní koeficienty .
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.
reverzní primer	Oligonukleotid ohraničující 3' konec ampliconu. Spolu s forward primerem se používá při PCR reakci k amplifikaci.
reverzní transkriptáza	Enzym přepisující RNA do cDNA. Reverzní transkriptáza se přidává do PCR při provádění jednokrokové RT-PCR.
Rn	Viz normalizovaný signál reportérové barvy (Rn) .
rs číslo	Viz refSNP ID .

rychlost rampu Rychlost s níž se v průběhu běhu mění teplota. K dispozici jsou varianta rychlá (fast) a standardní.

- Pro dosažení optimálních výsledků při rychlém rampingu doporučuje společnost Applied Biosystems používání reagentů TaqMan® Fast.
- Pro dosažení optimálních výsledků při standardním rampingu doporučuje společnost Applied Biosystems používání standardních reagentů.

DŮLEŽITÉ! Reagencie TaqMan Fast nejsou podporovány při genotypovacích experimentech a experimentech typu Ano/Ne.

ředící faktor Viz [sériový faktor](#).



ředící látka Látka používaná k ředění vzorku nebo standardu předtím, než jsou pipetovány do PCR reakce. Jedná se o vodu nebo pufr.

ředící série 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 StepOne™ 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](#).

sběr dat (data collection)

Proces v rámci běhu přístroje kdy přístroj měří fluorescenci v každé jamce destičky. Přístroj tento signál konvertuje na elektronický signál a takto data uloží v souboru daného běhu. V programu StepOne™ je fáze sběru dat indikována ikonkou v teplotním profilu:

- Sběr dat zapnut :
- Sběr dat vypnut :

série Viz [ředící série standardů](#).

sériový faktor V programu StepOne™ 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 10x, 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 Soubor identických reakcí v témže experimentu.

SNP	Zkratka pro jednobodový polymorfismus (single nucleotide polymorphism). Může se jednat o substituci, inzerci nebo delecii jedné báze.
SNP esej	Používá se při genotypování, jedná se o PCR reakci obsahující dvě sondy k detekci dvou různých alel.
soubor informací o eseji (assay information file - AIF)	Datový soubor na CD dodávaný s každou objednanou esejí. Název souboru obsahuje číslo z čárového kódu destičky. Jedná se o soubor typu *.txt (data oddělená tabulátorem).
standard	Vzorek obsahující známé množství templátu. Standardy se používají k vytváření standardních křivek. Viz též standardní křivka a ředící série standardů .
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 C_T, 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. Viz též ředící série standardů.
systemová barva	Barva dodávaná společností Applied Biosystems, pro kterou jsou systémy StepOne™ nebo StepOnePlus™ prekalibrovány. Před použitím systémových barev ve vašich experimentech se ve Správci údržby přístroje (Instrument Maintenance Manager) ujistěte, že kalibrace barev je platná. Systémové barvy pro systém StepOne™: <ul style="list-style-type: none"> • FAM™ • JOE™ • ROX™ • SYBR® Green • VIC® Systémové barvy pro systém StepOnePlus™: <ul style="list-style-type: none"> • FAM™ • JOE™ • NED™ • ROX™ • SYBR® Green • TAMRA™ • VIC® <p>DŮLEŽITÉ! Společnost Applied Biosystems nedoporučuje používat barvu TAMRA™ ani jako reportér, ani jako zhášec, v systému StepOne™. Naopak barvu TAMRA™ lze použít jako reportér nebo zhášec v systému StepOnePlus™.</p>

templát	<p>V Průvodci zadáním experimentu (Design Wizard) v programu StepOne™ (a v průvodci QuickStart při kvantifikaci) se jedná o typ nukleové kyseliny přidávané do PCR reakce. Doporučení stran templátu se liší podle typu experimentu:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kvantifikace (standardní křivka, relativní standardní křivka a komparativní Ct) – cDNA (komplementární cDNA), RNA nebo gDNA (genomická DNA). Při provádění kvantifikace ovlivní typ templátu metodu běhu, zadání reakce a seznam vybavení. • Genotypování –DNA v roztoku (gDNA nebo cDNA) nebo vysušená DNA (gDNA nebo cDNA) Při genotypování ovlivní typ templátu zadání reakce. • Experimenty typu Ano/Ne - DNA Při provádění experimentů typu Ano/Ne doporučuje společnost Applied Biosystems přidávat templátovou DNA do PCR reakcí.
teplota tání (T _m)	<p>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.</p>
teplotní profil	<p>Definice teplot, času, rampu a sběru dat pro všechny kroky a fáze běhu přístroje StepOne™ nebo StepOnePlus™.</p>
T _m	<p>Viz teplota tání (T_m).</p>
typ experimentu	<p>Typy experimentů, které lze provádět na přístrojích StepOne™ nebo StepOnePlus™:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Standardní křivka • Komparativní Ct ($\Delta\Delta C_T$) • Relativní standardní křivka • Křivka tání (není k dispozici v průvodci návrhem) • Genotypování • Ano/Ne <p>Zvolený typ experimentu ovlivní zadání, běh i analýzu.</p>
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 Ano/Ne) • Inhibovaná IPC - Blocked IPC (při experimentech typu Ano/Ne)

vlastní barva	<p>Barva nepodporovaná společností Applied Biosystems. Při práci se systémy StepOne™ a StepOnePlus™ lze používat vlastní barvy. Používáte-li vlastní barvy, měli byste je přidat do knihovny barev (Dye Library) a provést kalibraci vlastní barvy.</p> <p>DŮLEŽITÉ! Společnost Applied Biosystems nedoporučuje používat barvu TAMRA™ ani jako reportér, ani jako zhášec, v systému StepOne™. Naopak barvu TAMRA™ lze použít jako reportér nebo zhášec v systému StepOnePlus™.</p>
výchozí množství (starting quantity)	<p>Definujete-li v programu StepOne™ standardní křivku, odpovídá výchozí množství nejvyššímu nebo nejnižšímu množství.</p>
vynechání jamky (omit well)	<p>Krok, kterým vynecháte jednu nebo více jamek z analýzy. Data z vynechaných jamek nejsou nijak analyzována a neobsahují tedy žádné výsledky.</p>
Vzdálené monitorování	<p>Nástroj programu StepOne™, který umožňuje monitorovat činnost systémů StepOne™ nebo StepOnePlus™ prostřednictvím počítačové sítě. Pomocí tohoto nástroje můžete monitorovat stav přístroje, odeslat do přístroje experiment, monitorovat nárůst amplifikačních křivek a teplotní průběh PCR v grafech a stahovat dokončené experimenty z přístroje. Funkce Vzdáleného monitorování neumožňuje přístroje StepOne™ nebo StepOnePlus™ ovládat.</p>
vzorek	<p>Templát, který testujete.</p>
Vzorek DNA (10×)	<p>V programu StepOne™ se jedná o součást reakce, zobrazovanou v záložce pro výpočet složení reakční směsi (Reaction Mix Calculations). Program předpokládá, že vzorkovou DNA přidáváte do reakční směsi 10× koncentrovanou. Např. je-li reakční objem 20 µL, vypočítaný objem vzorku pro 1 reakci jsou 2 µL.</p>
Vzorek nebo Standard (10×)	<p>V programu StepOne™ se jedná o součást reakce, zobrazovanou v záložce pro výpočet složení reakční směsi (Reaction Mix Calculations). Program předpokládá, že vzorek nebo standard přidáváte do reakční směsi 10× koncentrovaný. Např. je-li reakční objem 20 µL, vypočítaný objem vzorku nebo standardu pro 1 reakci jsou 2 µL.</p>
zhášec	<p>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 v kombinaci s MGB (minor groove binder). Při použití reagensů SYBR® Green se zhášec nepoužívá.</p> <p>DŮLEŽITÉ! Společnost Applied Biosystems nedoporučuje používat barvu TAMRA™ ani jako reportér, ani jako zhášec, v systému StepOne™. Naopak barvu TAMRA™ lze použít jako reportér nebo zhášec v systému StepOnePlus™.</p>
zóna	<p>Jedna z šesti oblastí bloku VeriFlex™, pro kterou lze v rámci běhu nastavit specifickou teplotu.</p> <p>Poznámka: Při provádění analýzy křivky tání musíte pro všechny zóny nastavit tutéž teplotu.</p>

A

- AIF. *Viz* soubor informací o eseji.
- aktualizace operačního systému 124
- alela 137
- amplifikace 137
- amplifikační graf 137
- amplikon 137
- analýza
 - experiment RNÁza P 43–45, 68–70
 - kalibrace barev 106–109
 - kalibrace pozadí 98
 - prostorová kalibrace 93
- antivirové programy 8, 47, 71
- APIPA. *Viz* Automatic Private IP Addressing.
- Applied Biosystems
 - kontakt x
 - připomínky k dokumentaci ix
 - služba teplotní validace 89
 - Technická podpora x
- Applied Biosystems StepOne a StepOnePlus Real- Time PCR Systémy. *Viz* přístroj *nebo* systém.
- archivace souborů 113
- AutoDelta 138
- automatické Ct 138
- automatické nastavení pozadí (baseline) 138
- Automatic Private IP Addressing - kompatibilita 78

B

- barvy
 - systémové 4, 101, 149
 - vlastní 101, 139
- bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními xviii
- bezpečná manipulace s chemikáliemi xv
- bezpečná manipulace s odpadem xvii
- bezpečná práce xix
- bezpečnost
 - biologické riziko xix
 - doporučení xv, xvii
 - elektrická xviii
 - ergonomie xix
 - chemický odpad xvii
 - opakované pohyby xix
 - počítač xix
 - před ovládním přístroje xiv
 - při manipulaci s chemikáliemi xv
 - přístroj, ovládní xiv
 - standardy xx
 - symboly, na přístrojích xii
 - značky na přístroji xiii
 - zvedání a přemísťování přístroje xiv
 - zvedání/přemísťování xiv

Rejstřík

bezpečnostní list
popis xv
získání x, xvi
bezpečnostní programy 8, 47, 71
biologický odpad, manipulace xvii
blok na vzorky, dekontaminace 115–117

C

CAUTION - VAROVÁNÍ, popis xi
Ст. Viz prahový cyklus.

D

data
o sběru dat 3, 140
zařízení pro zálohování 7
datum a čas - nastavení
v přístroji 21
v softwaru 32, 55
delta Rn (ΔR_n) 140
destička pro kalibraci barev
o destičce 100
vlastní barva 100
vytvoření 110
destička pro kalibraci pozadí
o destičce 94
opakované použití 95
vytvoření 99
destičky
destička pro kalibraci pozadí 94
destička pro kalibraci pozadí, vlastní 99
destička pro spektrální kalibraci 90, 100
MicroAmp 17, 18
opakované použití 95
RNáza P 18, 38, 60
disociační křivka 140
dodávané soupravy
instalační souprava 17–18
ověřovací instalační souprava 18
software a dokumentace 19
dokumentace
dodávaná se systémem 19
související ix
získání x
doporučení
bezpečná likvidace chemického odpadu xvii
bezpečná manipulace s chemickým odpadem xvii
bezpečná manipulace s chemikáliemi xv
kalibrace pozadí 94
práce v síti 77
roztok chlornanu sodného, použití 115
vzdálené monitorování 82
zvedání a přemísťování 16, 28, 52
doporučení pro přemísťování 16, 28, 52
doporučení pro zvedání 16, 28, 52

DŮLEŽITÉ, popis xi

E

- efektivita amplifikace (EFF%) 139
- EFF%. Viz efektivita amplifikace.
- elektrická ochranná zařízení 7
- elektromagnetická kompatibilita, normalizace EMC xx
- endogenní kontrola 140
- ergonomie xix
- esej 139
 - ID 140
- experiment 141
 - název 141
 - odeslání do přístroje 84
 - RNáza P. Viz experiment RNáza P experiment.
 - stažení z přístroje 84
 - typ 141
- experiment - postup
 - instalace bez počítače 10
 - instalace s počítačem 9
- Experiment RNáza P 38, 60
 - analýza 43–45, 68–70
 - potřebné pomůcky 38, 60
 - provedení 41, 63
 - příprava 40, 62
 - účel 38, 60
 - R2 parametr 45, 70, 144

F

- FAM™ barva 4, 101
 - spektrální profil 108, 109
- fáze cyklování 140
- firewall 8, 47, 71
- forward primer 141

G

- graf alelické diskriminace 140

H

- heslo, přednastavené pro počítač 30, 53
- hmotnost
 - počítač 28, 52
 - přístroj 15

I

- inhibovaná IPC 139
- instalace
 - aktualizace operačního systému 124
 - instalace bez počítače 50–71
 - instalace s počítačem 26–47
 - instalační souprava 17–18

Rejstřík

- postup 11, 14
- potřebné pomůcky 6
- používání této příručky 5
- požadavky instalace 39, 44, 61, 69
- příprava 5
- příprava místa 15, 28, 52
- přístroj 14–23
- síť 74–86
- software 31–34, 54–57
- software, administrátorská práva 34, 57
- software, třetí strany 8, 47, 71
- Windows, aktualizace 124
- instalace s počítačem 9, 139
 - instalace 26–47
 - instalace počítače 27–34
 - kde instalovat 26
 - postup instalace 26
 - propojení součástí systému 35–37
 - provedení pokusu RNázaP 38–46
 - příklady připojení k síti 75
 - připojení k síti 74
- instalační souprava, obsah 17–18
- interní pozitivní kontrola (IPC) 141
- IPv4 link-local (IPV4LL) 76

J

- JOE™ barva 4, 101
 - spektrální profil 108, 109

K

- kalibrace
 - barva (vlastní) 110–112
 - barva (systémová) 100–108
 - plánování 88
 - pozadí 94–99
 - prostorová 90–93
- kalibrace barev 100–108
 - analýza dat 106
 - provedení 105–106
 - příprava 103–104
 - spektra, vyhodnocení 102
 - účel 100
- kalibrace pozadí 94–99
 - analýza dat 98
 - doporučení 94
 - provedení 96
 - příprava 95–96
 - účel 94
- kalibrátor 139
- kategorie přepětí xviii

kódovací programy 8, 47, 71
 komparativní Ct ($\Delta\Delta Ct$) metoda 139
 kontaminace, odstranění 115–117
 kurzíva, používání viii

M

MAC adresa, přístroj 78
 materiál dodávaný s přístrojem 17
 mDNS/DNS kompatibilita 76
 místo na disku, kontrola 113
 místo, požadavky
 počítač 28, 52
 přístroj 15
 monitorování přístroje. *Viz vzdálené monitorování.*
 multikomponentní graf 142

N

Nabídka Tools (Nástroje), testy údržby 89
 nápověda, přístup ix
 nároky na napájení
 počítač 28, 52
 přístroj 15
 nastavení IP adresy 79
 nastavení počítače 27, 51
 nastavení pro vzdálené monitorování 80
 nastavení vlastností napájení 31, 54
 NEBEZPEČÍ, popis xi
 NED® barva 4, 101
 spektrální profil 109
 neslučitelnost, programy třetích stran 8

O

obalový materiál, odstranění 21
 odeslání přístroje 122
 odlehlé body 43, 68
 odstranění odlehlých bodů – experiment RNáza P 43, 68
 odstraňování odpadu, doporučení xvii
 ochranná zařízení, elektrická 7
 ochranná zařízení, volitelná 7
 online nápověda. *Viz Nápověda*
 opakované pohyby, bezpečnost xix
 operační systém
 aktualizace 124
 příprava 31–33, 54–56
 ověřovací instalační souprava 18

P

pasivní reference 143
 péče o zákazníky x
 plnění přístroje 41, 63

Rejstřík

počítač

- monitorování přístroje 82
- nastavení pro vzdálené monitorování 80
- název 33, 56
- požadavky 6
- přednastavené uživatelské jméno a heslo 30, 53
- připojení k přístroji 35
- příprava operačního systému 31–33, 54–56
- umístění 28, 52

pokročilé zadání 137

port pro připojení počítače

- o portu 76
- propojení počítače a přístroje 29

postup

- instalace přístroje 14
- instalace systému 11

potřebné pomůcky, k

- analýza výsledků běhu RNÁza P 65
- dekontaminace bloku na vzorky 115
- instalace systému 6
- provedení experimentu RNÁza P 38, 60
- provedení kalibrace barev 100
- provedení kalibrace pozadí 94
- provedení kalibrace vlastních barev 110
- provedení prostorové kalibrace 90
- přemisťování přístroje 118
- připojení přístroje do sítě 78
- vytvoření destičky pro kalibraci pozadí 99

používání textu viii

pozadí 94, 138

požadavky

- počítač 6, 28, 52
- přístroj 15
- Viz též* potřebné pomůcky.

práce s textem

- bezpečnost xi
- DŮLEŽITÉ!** viii
- kurzíva viii
- Poznámky viii
- tučné písmo viii
- upozornění pro uživatele viii
- v této příručce viii

prahový cyklus 139

program

- administrátorská práva 34, 57
- antivirový 8, 47, 71
- dodávaný se systémem 19
- firewall 8, 47, 71
- instalace 31–34, 54–57
- instalace, administrátorská práva 34, 57
- instalace (třetí strany) 8
- kódování 8, 47, 71
- komprese 8, 47, 71
- programy, třetí strany 8

- příprava k použití 58
- příprava operačního systému 31–33, 54–56
- volitelný 7
- program pro kompresi souborů 8, 47, 71
- propojení, přístroj k počítači 35
- prostorová kalibrace 90–93, 147
 - analýza dat 93
 - provedení 92
 - příprava 90–91
 - účel 90
- provedení
 - experiment RNáza P 41, 63
 - kalibrace barev 105–106
 - kalibrace pozadí 96
 - prostorová kalibrace 92
- přemisťování a zvedání, bezpečnost xiv
- přenos dat 66
 - kdy provádět 38, 60
 - odeslání experimentu do přístroje 84
 - stažení experimentu z přístroje 84
- připojení k síti 74
 - instalace 50–71
 - kde instalovat 50
 - popis 10
 - postup instalace 50
 - příklady připojení k síti 75
- příprava
 - Experiment RNáza P 40, 62
 - kalibrace barev 103–104
 - kalibrace pozadí 95–96
 - prostorová kalibrace 90–91
- příprava instalace systému 5
- příprava místa 28, 52
- přístroj
 - Automatic Private IP Addressing 78
 - instalace 14–23
 - IPV4LL 76
 - kalibrace barev 100–108
 - kalibrace barev (vlastních) 110–112
 - kalibrace pozadí 94–99
 - MAC adresa 78
 - mDNS/DNS kompatibilita 76
 - odeslání experimentu do přístroje 84
 - nastavení 21
 - název přístroje 21
 - plánování údržby 88
 - plnění 41, 63
 - port počítače 76
 - prostorová kalibrace 90–93
 - připojení k počítači 35
 - připojení k síti 78
 - příprava místa 15
 - síťový port 76

Rejstřík

- služba teplotní validace 89
- spektra barev 108, 109
- stažení experimentu z přístroje 84
- údržba 89
- umístění 16
- vyjmutí destičky 46, 65
- zprovoznění 20

R

- R2 parametr 45, 70
- radioaktivní odpad, manipulace xvii
- regulátor napětí 7, 27, 51
- ROX™ barva 4, 101, 146
 - spektrální profil 108, 109
- rozlišení monitoru 32, 55
- rozměry
 - počítač 28, 52
 - přístroj 15
- roztok chlornanu sodného, použití 115

S

- síť 74–86
 - doporučení 77
 - odesílání zpráv 85
 - postup připojení 74
 - použití této příručky 5
 - příklady připojení 75
 - připojení 74
- síťový port
 - definice IP adresy 79
 - o portu 76
- soubor informací o eseji (assay information file - AIF) 139
- spektrum, systémové barvy 108, 109
- spořič obrazovky 31, 54
- svodič přepětí, požadavky 7, 20, 27, 51
- SYBR® Green I barvivo 4, 101
 - spektrální profil 108, 109
- symboly, bezpečnostní xii
- systém
 - dokumentace 19
 - instalační ověřovací souprava 18
 - instalační souprava 17–18
 - sběr dat 3
 - software 19
 - součásti 17
- systémové barvy 101, 108, 109, 149

T

- TAMRA® barva 4, 101
 - spektrální profil 109
- TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix, No AmpErase® UNG 38, 60

TaqMan™ reagensie 149
 TaqMan® RNáza P, destička pro ověření funkčnosti přístroje 18, 38, 60
Viz též Experiment RNáza P .
 Technická podpora, kontakt x
 test
 optics verification 89
 programů třetích stran z hlediska nekompatibility 8
 run cycle performance 89
 tučné písmo, použití viii

U

údržba
 archivace souborů 113
 dekontaminace 115–117
 místo na disku, ověření 113
 nepravidelná údržba 114
 plánování 88
 používání této příručky 5
 služba teplotní validace 89
 statistika, přístroj 89
 test optics verification 89
 test run cycle performance test 89
 výzvy k provádění údržby 88
 zálohování experimentů 113
 zobrazení informací 89
 umístění
 počítač 28, 52
 přístroj 16
 USB disk, přenos dat 10, 66
 uživatelské jméno, přednastavené pro počítač 30, 53

V

VIC® barva 4, 101
 ^ spektrální profil 108, 109
 vlastní barva
 destička, jak vytvořit 110–112
 kalibrace 110–112
 o vlastních barvách 139
 vlhkost
 počítač 28, 52
 přístroj 15
 výměna pojistek přístroje 120
 vynechání jamky 43, 68, 143
 vypnutí zpráv o stavu sítě 37
 VÝSTRAHA, popis xi
 výstražná upozornění, popis viii
 výstražné symboly. *Viz bezpečnostní symboly, na přístrojích.*
 vytvoření
 destička pro kalibraci barev 110–112
 destička pro kalibraci pozadí 99
 vzdálené monitorování 74
 doporučení 82

Rejstřík

- monitorování přístroje 82
- nastavení (počítač) 80
- odesílání zpráv 85

W

- Windows operační systém
 - aktualizace, instalace 124
 - opravné balíčky, instalace 124

Z

- zálohování experimentů 113
- záložní zdroj, požadavky 7, 20, 27, 51
- zařízení pro zálohování dat 7
- zprovoznění
 - počítač 28, 51
 - přístroj 20

Celosvětová prodejní a servisní síť

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

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

Sídlo společnosti

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

05/2007