



Genetické analyzátoru Applied Biosystems 3500/3500xL Uživatelská příručka

Uživatelská příručka

Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro diagnostické účely.

Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro diagnostické účely.

© Copyright 2009, Life Technologies. Všechna práva vyhrazena.

Informace obsažené v tomto dokumentu se mohou změnit bez předchozího oznámení.

SPOLEČNOST APPLIED BIOSYSTEMS VÝSLOVNĚ ODMÍTÁ VEŠKERÉ ZÁRUKY VE VZTAHU K TOMUTO DOKUMENTU, VYJÁDŘENÉ NEBO IMPLIKITNÍ, VČETNĚ ALE NIKOLIV VÝHRADNÉ ZÁRUK PRODEJNOSTI NEBO VHODNOSTI PRO URČITÝ ÚCEL. ZA ŽÁDNÝCH OKOLNOSTÍ NENÍ SPOLEČNOST APPLIED BIOSYSTEMS ZODPOVĚDNA, AŤ JIŽ NA ZÁKLADĚ SMLOUVY, OBČANSKÉHO PRÁVA, ZÁRUKY NEBO JINÉHO USTANOVENÍ NEBO NA JINÉM ZÁKLADĚ ZA SPECIÁLNÍ, VEDLEJŠÍ, NEPŘÍMÉ, TRESTNÍ, MNOHOČETNÉ NEBO NÁSLEDNÉ ŠKODY VZNÍKLÉ VE SPOJENÍ S TÍMTO DOKUMENTEM, VČETNĚ ALE NIKOLIV VÝHRADNĚ V SOUVISlostI S JEHO POUŽÍVÁníM, AŤ JIž JSOU TYTO ŠKODY PřEDVIDATELNÉ ČI NIKOLIV, A TO VČETNĚ SITUACÍ, KDY JE SPOLEČNOST APPLIED BIOSYSTEMS O MOŽNOSTI TAKOVÝCH ŠKOD OBEZNÁMENA.

UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍHO:

V pořizovací ceně přístroje je zahrnuto udělení omezené, nepřenosné licence podle patentu U.S. Patent No. 5,567,292 a k němu vyplývajícím metodickým nárokům jiných subjektů a podle patentu U.S. Patent č. 6,358,385 a k němu vyplývajícím nárokům jiných subjektů vztahujícím se k součástem, pro použití tohoto přístroje pro provádění metod elektroforetické separace za použití fluorescence jako metody detekce. Žádné další licence ani práva nejsou tímto uděleny, ať již výslovně nebo nepřímo, včetně, ale nikoliv výhradně nároků k narovnání.

Genetické analyzátoru využívají patentované technologie, licencované od společnosti Hitachi, Ltd. v rámci strategického partnerství Applied Biosystems a Hitachi, Ltd., a patentovaná technologie Applied Biosystems.

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

OBCHODNÍ ZNÁMKY:

Obchodní známky společnosti Life Technologies a přidružených společností: Applied Biosystems®, AB (Design)®, AmpFISTR®, BigDye®, BigDye Xterminator™, Cofiler®, GeneMapper®, GeneScan™, Hi-Di™, Identifiler®, KB™, LIZ®, MicroSeq®, Minifiler™, POP-4™, POP-6™, POP-7™, Profiler®, Profiler Plus®, SEfiler Plus™, SeqScape®, SGM Plus®, SNaPshot®, Variant Reporter™, Yfiler®

AFLP je registrovaná obchodní známka společnosti Keygene N.V. MLPA je registrovaná obchodní známka společnosti MRC-Holland. Všechny ostatní obchodní známky jsou výhradním vlastnictvím svých oprávněných majitelů.

Dokument č. 4401661 Rev. B
08/2009

Obsah

Předmluva.....	xiii
Bezpečnostní upozornění	xiii
O přístroji	xv
Účel této příručky.....	xv
Komu je určena	xv
Předpoklady	xv
Jak používat tuto příručku.....	xvi
Kde získat pomoc	xvii
 Kapitola 1 Popis přístroje a softwaru.....	1
Popis systému	1
Popis přístroje	2
Vnitřní prostor přístroje	3
Části přístroje a jejich funkce	4
Princip fungování.....	5
Příprava vzorků.....	5
Příprava přístroje.....	5
Během běhu.....	5
Výsledky	6
Normalizace	7
Normalizace – přehled.....	7
Kdy používat normalizaci.....	7
Pro běžný provoz	8
Externí čtečka čárových kódů	8
Záložní zdroj (Uninterruptible Power Supply - UPS)	8
Spotřební materiál a reagencie	9
Zásobník na anodový pufr - Anode buffer container (ABC)	9
Zásobník na katodový pufr - Cathode buffer container (CBC)	9
Polymery	10
Regenerační roztok (Conditioning reagent).....	11
Hi-Di™ Formamid	12
Kapilární sady	12
Program 3500 Series Data Collection – přehled.....	14
O programu	14
Součásti programu	15

Používání programu bez přístroje	19
Kapitola 2 Spuštění systému 21	
Pracovní postup.....	21
Spuštění přístroje.....	22
Spuštění počítače	24
Přihlášení do Windows	24
Spuštění programu	24
Přihlášení	26
Ovládací panel – Stav systému	26
Ovládací panel – přehled	26
Pokyny k údržbě	28
Stav spotřebního materiálu	29
Kontrola zásobníků s pufrem	31
Výměna reagencí a spotřebního materiálu	31
Nastavení	32
Přehled.....	32
Nastavení systému (System preferences).....	32
Uživatelská nastavení.....	33
Obecná nastavení	33
Zobrazení a zprávy při analýze výsledků sekvenování	36
Kapitola 3 Zadání a spuštění 41	
Pracovní postup.....	41
Příprava přístroje	42
Zadání destičky	43
Definice obsahu destičky	46
Pojmenování a určení typu vzorku	48
Esej, pojmenování souborů a výsledková skupina	49
Tisk náhledu destičky	50
Příprava a vkládání destiček	51
Příprava destiček se vzorky	52
Destička a držáky	53
Vložení destičky do přístroje	53
Kontrola stavu přístroje	53
Propojení destičky (funkce Link)	54
Rychlé spuštění běhu	55
Vkládání destiček a vytváření seznamu nástříků	56
Úpravy seznamu nástříků.....	59
Spuštění běhu	61
Monitorování běhu	61
Kontrola výsledků a opakovaný nástřík.....	62

Kontrola kvality výsledků	62
Opakovaný nástřík.....	65
Kontrola dokončených nástříků	69
Spuštění a vypnutí běhu	69
Další možnosti v definici obsahu destičky	70
Vyobrazení destičky – možnosti	70
Vyobrazení tabulky – možnosti	71
Třídění a úprava tabulek.....	72
Přidání esejí, definice pojmenování souborů a výsledkových skupin do definice destičky	73
Import zadání destičky.....	73
Úprava zadání destičky	74
Import a export zadání destičky	75
Templát zadání destičky.....	75
Předvolený typ destičky.....	76
Elektronická verze zpráv	76
Další možnosti při načtení destičky (Load Plate)	76
Záložka Recent plates a Recent runs	76
Další možnosti při monitorování běhu	77
Zobrazení běhů	77
 Kapitola 4 Kontrola výsledků.....	79
Kontrola výsledků sekvenování.....	80
Obrazovka View Sequencing Results (Zobrazení výsledků sekvenování)	80
Kontrola kvality sekvence	81
Kontrola chromatogramu	82
Používání ukazatelů kvality (Quality Values - QVs)	84
Opakovaný nástřík.....	85
Zobrazení, tisk a uložení (.pdf) výsledků	85
Export výsledků sekvenování	87
Kontrola výsledků fragmentační analýzy/HID	88
Obrazovka View Fragment/HID Results (Zobrazení výsledků fragmentační analýzy/HID)	88
Kontrola kvality vzorku.....	89
Kontrola výsledků normalizace	90
Grafy.....	91
Kontrola odečtu velikosti píků	94
Opakovaný nástřík.....	95
Zobrazení, tisk a uložení (.pdf) zpráv o kvalitě vzorků	95
Export výsledků fragmentační analýzy/HID	96
Další možnosti kontroly výsledků	97
Přejmenování	97
Třídění	97
Další analýza dat	98

Kapitola 5 Kalibrace a kontrola funkčnosti	99
Část 1 Kalibrace.....	99
Prostorová kalibrace	99
Kdy provádět prostorovou kalibraci	99
Provedení prostorové kalibrace	99
Vyhodnocení prostorové kalibrace	101
Příklady profilů prostorové kalibrace	101
Export výsledků prostorové kalibrace.....	101
Zobrazení a tisk zprávy o prostorové kalibraci.....	102
Uložení starých zpráv o kalibraci (.pdf).....	102
Spektrální kalibrace	103
Kdy provádět spektrální kalibraci	103
Příprava spektrální kalibrace.....	104
Provedení spektrální kalibrace	106
Vyhodnocení spektrální kalibrace	110
Co se děje během spektrální kalibrace	112
Příklady spektrální kalibrace	114
Export výsledků spektrální kalibrace	115
Zobrazení a tisk zprávy o spektrální kalibraci	116
Uložení starých zpráv o kalibraci (.pdf).....	116
Zobrazení historie spektrálních kalibrací	117
Část 2 Kontrola funkčnosti	119
Kontrola funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu.....	119
Příprava kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu	119
Spuštění kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu	122
Co se děje během běhu.....	124
Jak program určí úspěch/neúspěch spektrální kalibrace	125
Jak program určí úspěch/neúspěch kontroly funkčnosti v každé kapiláře	125
Vyhodnocení výsledků kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního standardu	126
Sekvenační instalační standard – příklad	127
Zobrazení historie sekvenačních instalačních standardů.....	127
Zobrazení a tisk zprávy o běhu sekvenačního instalačního standardu.....	127
Uložení starých zpráv o kontrole funkčnosti	128
Kontrola funkčnosti pomocí instalačního standardu pro fragmentační analýzu	
nebo HID.....	129
Kdy provádět	129
Příprava kontroly funkčnosti pomocí instalačního standardu FA/HID	129
Spuštění kontroly funkčnosti pomocí instalačního standardu FA/HID	132
Co se děje během běhu.....	134
Jak program určí úspěch/neúspěch kontroly funkčnosti v každé kapiláře	135

Vyhodnocení výsledků kontroly funkčnosti pomocí standardu FA/HID.....	135
Fragmentační instalační standard – příklad	137
HID instalační standard – příklad.....	137
Zobrazení historie instalačních standardů.....	137
Zobrazení a tisk detailní zprávy o běhu FA/HID instalačního standardu	137
Uložení starších zpráv o kontrole funkčnosti (.pdf).....	138
Kapitola 6 Správa knihoven	139
Knihovny – přehled.....	139
Práce s knihovnami	140
Přístup ke knihovnám	140
Vytvoření nové položky z továrního nastavení, templátu nebo uzamčené položky	140
Vymazání položky z knihovny.....	141
Úprava položky v knihovně.....	141
Import a export položky z knihovny.....	141
Historie sledovaných změn a elektronického podpisu pro položky v knihovnách .	142
Třídění, filtrování a prohledávání knihoven	142
Vlastní nastavení.....	143
Knihovna destiček	143
Přehled	143
Vytvoření nové destičky.....	144
Knihovna esejí.....	147
Přehled	147
Vytvoření nové eseje	148
Knihovna pro definice pojmenování souborů.....	151
Přehled	151
Vytvoření nové definice pojmenování souborů	151
Knihovna výsledkových skupin	155
Přehled	155
Vytvoření nové výsledkové skupiny	156
Výsledková skupina – příklad 1: ukládání souborů podle názvu destičky.....	160
Výsledková skupina – příklad 2: jak uložit jeden alelický žebřík v jednom adresáři (8-kapilární přístroje)	161
Výsledková skupina – příklad 3: jak uložit opakovaný nástřik v jiném adresáři....	162
Knihovna protokolů přístroje	165
Přehled	165
Jak vytvořit nový protokol přístroje	165
Knihovna souborů barev	168
Přehled	168
Jak vytvořit nový soubor barev	168
Knihovna velikostních standardů.....	171
Přehled	171
Velikostní standardy pro normalizaci	171

Vytvoření nového velikostního standardu	172
Úprava továrně nastaveného standardu pro normalizaci	173
Knihovna protokolů pro odečet bází - basecalling (primární analýza – sekvenování) ..	174
Přehled	174
Vytvoření nového protokolu pro odečet bází – basecalling	174
Knihovna protokolů pro odečet velikostí pásků – sizecalling (primární analýza – fragmentace)	179
Přehled	179
Vytvoření nového protokolu pro odečet velikostí pásků – sizecalling	179
Knihovna protokolů QC (primární analýza – HID)	184
Přehled	184
Vytvoření nového protokolu QC	184
Knihovna protokolů pro analýzu výsledků sekvenování (sekundární analýza)	189
Přehled	189
Vytvoření nového sekvenačního protokolu	189
Knihovna protokolů MicroSeq® ID (sekundární analýza)	191
Přehled	191
Vytvoření nového protokolu MicroSeq® ID	191
Knihovna protokolů pro analýzu výsledků fragmentace (sekundární analýza)	193
Přehled	193
Vytvoření nového fragmentačního protokolu	193
Knihovna protokolů pro analýzu výsledků HID (sekundární analýza)	195
Přehled	195
Vytvoření nového protokolu HID	195
Kapitola 7 Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)	197
Část 1 Správci systému (administrátoři)	197
Správci systému – přehled	197
Nastavení zabezpečení	198
Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení systému	198
Uživatelské účty a pravidla zabezpečení	199
Nastavení oznámení	200
Správa uživatelských účtů	201
Vytvoření nebo úprava uživatelského účtu	201
Zjištění jména přihlášeného uživatele	203
Vytvoření nebo úprava úlohy uživatele	203
Zobrazení a tisk zprávy o uživateli	205
Nastavení sledování změn (audit)	207
Obrazovka Audit a nastavení sledování změn	207
Volba položek, jejichž změny jsou sledovány	208
Důvody provádění změn	208
Zpráva o výsledku sledování změn	209
Zobrazení zprávy o výsledku sledování změn	209

Sledování změn položky.....	210
Sledování historie nastavení systému.....	211
Záznam akcí - Action log	212
Zobrazení a tisk zpráv o sledování změn	213
Archivace, vymazání a obnovení záznamů o sledování změn.....	214
Export záznamů o sledování změn	215
Elektronický podpis – nastavení.....	216
Zapnutí nebo vypnutí elektronického podpisu	216
Volba kroků vyžadujících podpis.....	217
Zpráva o používání elektronického podpisu	221
Zobrazení záznamů.....	221
Zobrazení a tisk zpráv o používání elektronického podpisu.....	222
Export zpráv o používání elektronického podpisu	223
Export a import uživatelských účtů a nastavení zabezpečení, sledování změn a elektronického podpisu	224
Část 2 Uživatelé	225
Uživatelé – přehled.....	225
Zabezpečení	225
Sledování změn (Audit)	227
Elektronický podpis.....	227
Kapitola 8 Údržba přístroje	229
Plánování údržby.....	229
Výzvy k provádění údržby.....	229
Úkony údržby prováděné denně	230
Úkony údržby prováděné týdně	231
Úkony údržby prováděné měsíčně.....	231
Úkony údržby prováděné kvartálně.....	231
Úkony údržby prováděné každoročně	232
Úkony údržby prováděné podle potřeby.....	232
Kalendář údržby přístroje.....	232
Zobrazení kalendáře	232
Přednastavené záznamy v kalendáři	233
Vytvoření záznamu v kalendáři.....	233
Kontrola záznamů o údržbě	234
Provoz přístroje	236
Kontrola spotřebního materiálu na Ovládacím panelu	236
Výměna zásobníku na anodový pufr.....	237
Výměna zásobníku na katodový pufr	238
Kontrola uskladněných kapilárních sad	240
Promytí lapače pumpy (pump trap)	241
Běžné čistění přístroje	242
Přemístění a vyvážení přístroje	243

Průvodce jednotlivými kroky údržby	244
O průvodcích.....	244
Doplňení polymeru	245
Změna typu polymeru	247
Částečně spotřebovaný polymer.....	249
Promytí pumpy a kanálků	249
Použití regeneračního roztoku (tzv. conditioning reagent)	250
Plnění kapilární sady čerstvým polymerem	251
Odstranění bublin z polymerové pumpy	251
Výměna kapilárních sad	252
Odstávka přístroje	253
Údržba počítače	254
Odinstalování softwaru	254
Archivace, vymazání a obnovení dat.....	254
Kontrola volného prostoru na disku.....	256
Kontrola záznamů o údržbě	257
Servisní záznamy	258
 Příloha A Reagencie a moduly běhů	259
Reagencie pro sekvenování.....	259
Reagencie pro fragmentační analýzu a HID	260
Soubory barev pro sekvenování	261
Soubory barev pro fragmentační analýzu	261
Soubory barev pro HID	262
Moduly běhů	263
Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro sekvenování)	263
Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro fragmentační analýzu a HID)	264
 Příloha B Sekundární analýza: Sekvenování.....	267
Provedení sekundární analýzy při sekvenování.....	267
Automatická analýza.....	267
Vytvoření projektu pro automatickou analýzu v programu SeqScape®	268
Definice destičky (v programu 3500 Series Data Collection) pro sekundární analýzu programem SeqScape®	270
Automatická analýza v programu MicroSeq® ID	277
 Příloha C Sekundární analýza: Fragmentace	279
Provedení sekundární analýzy při fragmentaci	279
Automatická analýza.....	279
Nastavení programu GeneMapper® pro provedení automatické analýzy	280
Definice destičky (v programu 3500 Series Data Collection) pro sekundární analýzu programem GeneMapper®	284
Automatická analýza v programu GeneMapper® ID-X.....	289

Příloha D	Vzdálená automatická analýza	291
	Princip vzdálené automatické analýzy.....	291
	Vzdálená automatická analýza – instalace.....	291
	Vytvoření sdíleného adresáře	294
	Nastavení programu 3500 Series Data Collection v1.0.....	297
Příloha E	Řešení problémů.....	299
	Řešení problémů – Přístroj	299
	Řešení problémů – Prostorová kalibrace.....	300
	Řešení problémů – Spektrální kalibrace.....	301
	Řešení problémů – Sekvenační instalační standard	302
	Řešení problémů – Fragmentační/HID instalační standard.....	303
	Řešení problémů – Zásobník na anodový pufr	303
	Řešení problémů – Zásobník na katodový pufr	304
	Řešení problémů – RFID	304
	Řešení problémů – Propojení destičky (funkce Link)	304
	Jak prohledávat a používat záznamy (log)	305
	Senzory přístroje	305
	Řešení problémů – Data/elektroferogram.....	306
	Řešení problémů – Ovládací panel (Dashboard).....	309
	Řešení problémů – Vkládání destičky	309
	Řešení problémů – Monitorování běhu	311
	Řešení problémů – Kontrola výsledků.....	311
	Chybové hlášky	312
	Řešení problémů – Sledování změn (Audit)	312
	Řešení problémů – Elektronický podpis	312
	Řešení problémů – Ruční ovládání	313
	Různé	313
	Resetování přístroje	314
Příloha F	Bezpečnost	315
	Bezpečný provoz přístroje	315
	Symboly na přístrojích.....	315
	Bezpečnostní označení na přístrojích	317
	Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem	317
	Další bezpečnostní rizika.....	318
	Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními	319
	Laser.....	320
	Bezpečná manipulace s laserem čtečky čárových kódů.....	321
	Bezpečná práce	321
	Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC).....	322

Bezpečná manipulace s chemikáliemi	328
Bezpečná manipulace s chemikáliemi.....	328
Bezpečnostní listy.....	329
Bezpečná manipulace s chemickým odpadem	330
Biologické riziko.....	331
Bezpečnostní upozornění	332
Chemické riziko	332
Bezpečnostní upozornění k přístrojům	334
 Dokumentace	 335
Související dokumentace	335
Získání informací v návodě (Help).....	336
Pošlete nám naše návrhy.....	336
 Rejstřík	 337

Předmluva

Bezpečnostní upozornění

Poznámka: Obecné informace k bezpečnému provozu přístroje naleznete v [Příloze F "Bezpečnost" na straně 315](#). Vysvětlení výstražných symbolů a rizik souvisejících s používáním chemikálií nebo přístroje jako takového naleznete v [Příloze F "Bezpečnost" na straně 315](#).

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:

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

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

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

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

Vyjma DŮLEŽITÉ! (IMPORTANT) se každé výstražné upozornění v dokumentaci Applied Biosystems objevuje spolu s bezpečnostními symboly ve výstražném trojúhelníku. *Tyto výstražné symboly jsou totožné se symboly na přístrojích Applied Biosystems* (viz "[Symboly na přístrojích](#)" na straně 315).

Bezpečnostní listy

Bezpečnostní listy (MSDS - Material Safety Data Sheets) pro chemikálie dodávané společnostmi Applied Biosystems nebo Ambion jsou k dispozici 24 hod denně. Návod jak získat bezpečnostní listy je v části "[Bezpečnostní listy](#)" na straně 329.

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

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 popsanými v předchozí části.

Výstražný symbol	Anglicky	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. Před manipulací nebo likvidací čtěte bezpečnostní list a seznamte se s místními předpisy.
	CAUTION! Potential slipping hazard.	VAROVÁNÍ! Nebezpečí uklouznutí.
	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! Class 2(II) visible and/or invisible radiation present. Do not stare directly into the beam or view directly with optical instruments.	VAROVÁNÍ! Laserové záření třídy 2 (II) – viditelný a/nebo neviditelný paprsek. Chraňte svůj zrak – nedívajte se přímo do paprsku.
	DANGER! Class 3B (III) visible and/or invisible radiation present. Avoid exposure to beam.	NEBEZPEČÍ! Laserové záření třídy 3B (III) – viditelný a/nebo neviditelný paprsek. Vyhnete se přímému vystavení laserovému paprsku.
	CAUTION! Sharp object.	VAROVÁNÍ! Ostrý předmět.

O přístroji

Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL jsou automatické 8- nebo 24-kapilární přístroje určené pro provádění sekvenování a fragmentační analýzy.

DŮLEŽITÉ! Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro diagnostické účely.

Účel této příručky

Příručka *Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL - Uživatelská příručka* poskytuje návod jak krok za krokem připravit a analyzovat vzorky. Příručka Vám pomůže rychle se naučit používat genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xl.



VAROVÁNÍ! Používejte přístroj pouze v souladu s postupy uvedenými v tomto dokumentu. Jiné používání než v souladu s doporučením stran prostředí vhodného pro provoz přístroje, prováděné údržby nebo způsobem nedoporučeným výrobcem (Applied Biosystems) může vést ke zranění nebo k poškození přístroje.

Komu je určena

Tato příručka je určena vědeckým a ostatním laboratorním pracovníkům, kteří budou používat genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL.

Předpoklady

Příručka *Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL - Uživatelská příručka* předpokládá, že váš genetický analyzátor 3500 nebo 3500xL byl uveden do provozu servisním technikem Applied Biosystems.

Tato příručka dále předpokládá, že máte následující znalosti:

- Jste obeznámeni s operačním systémem Microsoft® Windows Vista®.
- Máte všeobecné znalosti týkající se manipulace se vzorky DNA a jejich přípravou pro elektroforézu.
- Máte všeobecné znalosti týkající se pevných disků, ukládání dat, přenosů a kopírování souborů.

Jak používat tuto příručku

Práce s textem

Tato příručka pracuje 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 výměnou reagencií se *vždy* ujistěte, jaké reagencie byly použity předešle.
- Znaménko (**>**) odděluje po sobě následující příkazy, které volíte z rozbalovacích menu nebo nabídek. Například:
Zvolte **File > Open > Spot Set**.
Zvolte řádek kliknutím pravým tlačítkem myši, následně zvolte **View Filter > View All Runs**.

Upozornění pro uživatele

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

Poznámka: Poskytuje informace, které mohou být zajímavé nebo nápomocné, ale které nejsou kritické z hlediska používání přístroje.

DŮLEŽITÉ! Poskytuje informace, které jsou nezbytné pro správné ovládání přístroje, používání reagencií nebo bezpečné používání chemikálií.

Tabulka zkratek

V následující tabulce jsou vysvětleny zkratky používané v této uživatelské příručce a v návodě programu 3500 Series Data Collection.

Zkratka	Definice
ABC	Anode Buffer Container – Zásobník na anodový pufr
BDT	Souprava BigDye® Terminator
BDX	Souprava BigDye® Xterminator™
Cap	Kapiláry
CBC	Cathode Buffer Container – Zásobník na katodový pufr
EPT	Elektroforetická telemetrie (parametry)
Pe	Probability of error – Pravděpodobnost chyby
QV	Quality Value – Ukazatel kvality

Zkratka	Definice
GM	GeneMapper®
GMIDx	GeneMapper® IDx
POP™	Polymer
SAE	Security, Audit, Electronic signature – Zabezpečení, sledování změn, elektronický podpis

Kde získat pomoc

Technickou podporu získáte na stránce <http://www.appliedbiosystems.com> kliknutím na odkaz **Support** (Technická podpora). Na stránkách technické podpory můžete:

- Prohledávat často kladené otázky - Frequently asked questions (FAQs)
- Přímo 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
- Kontaktovat zákaznické centrum.

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

Kde získat více informací Informace k přípravě instalace přístroje naleznete v příručce *Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzer Site Preparation Guide* (4401689).

Poznámka: Účel této příručky je poskytnout informace jak připravit vaši laboratoř na instalaci systému 3500 nebo 3500xL.

Popis přístroje a softwaru

Popis systému

Genetické analyzátory 3500 nebo 3500xL jsou dodávány v této konfiguraci:

- Genetický analyzátor.
- 3500 (8-kapilární) nebo 3500xL (24-kapilární) sada a polymer POPTM
- Reagencie a další spotřební materiál určené ke zprovoznění systému pro následné provádění DNA sekvenování nebo fragmentační analýzy.
- Počítač Dell® s plochým monitorem.
- Software pro ovládání přístroje, sběr dat, kontrolu kvality a analýzu výsledků.

Popis přístroje

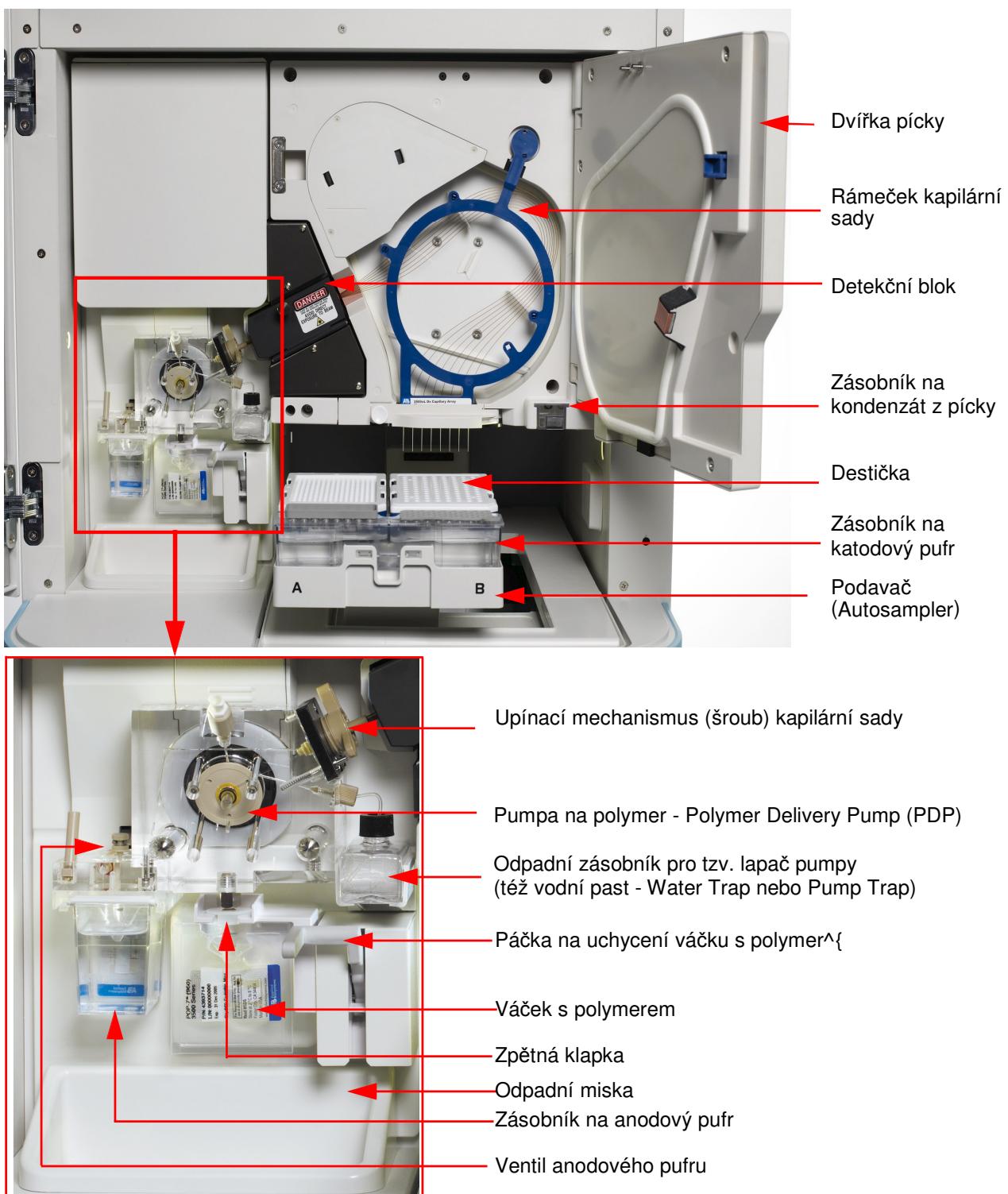
Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL jsou přístroje pro analýzu fluorescenčně značené DNA pomocí technologie kapilární elektroforézy za použití 8- nebo 24-kapilárních sad.

Detailní rozměry přístrojů udává příručka *Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzer Site Preparation Guide* (4401689).

Poznámka: Účelem příručky *Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzer Site Preparation Guide* je poskytnout informace o tom jak připravit vaši laboratoř na instalaci přístroje 3500 nebo 3500xL.



Vnitřní prostor přístroje



Obrázek 1 Vnitřní prostor přístroje

Části přístroje a jejich funkce

Tabulka 1 Části přístroje a jejich funkce

Část	Funkce
Autosampler - Podavač	Slouží pro umístění destiček se vzorky a zásobníku na katodový pufr a pohybuje jimi tak, aby do nich bylo možné zanoření kapilár.
Pícka	Udržuje stálou teplotu sady kapilár.
Zásobník na kondenzát z pásky	Shromažďuje se v něm kondenzát z pásky.
Blok pumpy	Sestává z pumpy, komory na polymer, těsnění pístu, úchytu na připojení sady kapilár, spodního bloku na uchycení váčku s polymerem a zpětné klapky.
Detekční blok	Slouží pro uchycení kapilár v poloze vhodné pro detekci laserem a udržuje konstantní teplotu 50 °C.
Pumpa na polymer	Slouží k pumpování polymeru do kapilár a provádění automatických kroků údržby.
Spodní polymerový blok	Sestává z ventilu elektroforetického pufru, anody a zásobníku na anodový pufr včetně těsnění.
Radiofrekvenční identifikace (RFID)	Pomocí RFID čipů jsou snímány informace o základním spotřebním materiálu v přístroji: <ul style="list-style-type: none"> • Čísla šarží • Výrobní čísla • Data (expirace) • Kapacita (použití) Spotřební materiál, který je takto identifikován: <ul style="list-style-type: none"> • Kapilární sada • Zásobník na katodový pufr • POP™ Polymer • Zásobník na anodový pufr
Kapilární sada	Umožňuje elektroforetickou separaci fluorescenčně značených fragmentů DNA. Je vyměnitelná a skládá se z 8 nebo 24 kapilár (délka 50 cm nebo 36 cm). Poznámka: Kapiláry o délce 36 cm jsou určeny pouze pro forenzní aplikace (HID - Human Identification).
Zásobník na anodový pufr	Zásobník na anodový pufr obsahuje 1× koncentrovaný elektroforetický pufr pro provádění kapilární elektroforézy. Jeho součástí je přepad pro udržení konstantní hladiny pufru.
Zásobník na katodový pufr	Zásobník na katodový pufr obsahuje 1× koncentrovaný elektroforetický pufr pro provádění kapilární elektroforézy
Váček s polymerem	Obsahuje zásobní polymer.
Regenerační roztok (Conditioning reagent)	Používá se pro iniciaci a promytí polymerové pumpy při výměnách polymeru a při dlouhodobé odstávce přístroje. Objem je volen tak, aby jedno balení mělo jednorázové použití.

Princip fungování

Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL jsou přístroje pro analýzu fluorescenčně značené DNA pomocí technologie kapilární elektroforézy za použití 8- nebo 24-kapilárních sad.

Genetické analyzátory 3500 nebo 3500xL jsou plně automatizované, všechny kroky počínaje nástřikem vzorku a konče základní analýzou dat (sekvenování, fragmentační analýza, forenzní aplikace - HID) jsou automatické.

Poznámka: V této příručce a návodě programu 3500 Series Data Collection je základní analýza výsledků sekvenování označována termínem basecalling (odečet bází). Základní analýza výsledků fragmentační analýzy nebo HID je označována termínem sizing (odečet velikostí fragmentů).

Příprava vzorků

Příprava vzorků DNA pro účel sekvenování, fragmentační analýzy nebo HID na přístrojích 3500 nebo 3500xL spočívá v jejich značení fluorofory. Ve většině případů jsou vzorky před analýzou denaturovány, takže se analyzuje jednořetězcová DNA.

Příprava přístroje

Před vlastní analýzou je zapotřebí na přístroji provést dva typy kalibrací:

- **Prostorová (Spatial) kalibrace** – Pro určení místa na CCD čipu, na které dopadá signál z každé kapiláry kapilární sady. Více informací viz "["Prostorová kalibrace" na straně 99.](#)"
- **Spektrální (Spectral) kalibrace** – Pro vytvoření matrice (pro jednu každou kapiláru), která slouží ke kompenzaci překryvů spekter jednotlivých barev a používá se ke konverzi 20-ti barevného obrazu na 4-, 5- nebo 6-ti barevný. Více informací viz "["Spektrální kalibrace" na straně 103.](#)"

Během běhu

V průběhu běhu systém:

- Pomocí pumpy naplní kapiláry čerstvým polymerem z váčku na polymer, starý polymer je vytlačen do zásobníku na odpad, jenž je součástí zásobníku na katodový pufr.
- Mechanismem elektrokinetické injekce při použití nízkého napětí po stanovenou dobu nastříkne vzorky do kapilár.
- Oplácne konce kapilár v k tomu určené části zásobníku na katodový pufr a ponoří je zpět do té části zásobníku na katodový pufr, v němž jsou během vlastní elektroforézy.

- Ustaví konstantní napětí.

Negativně nabité DNA fragmenty migrují separačním polymerem. Menší fragmenty migrují rychleji než větší fragmenty a dostanou se dříve k detektoru.

Aby byly zajištěny ideální podmínky separace fragmentů a aby byly fragmenty udrženy v denaturovaném stavu, jsou kapiláry umístěny ve vyhřívané pícce a detekčním bloku. Pícka je vybavena Peltierovým článkem pro ohřev a větrákem pro cirkulaci vzduchu. Pomocí Peltierova článku může být pícka vyhřívána i chlazena na nižší než pokojové teploty, což je užitečné pro provádění nedenaturačních aplikací jako SSCP (Single-strand conformation polymorphism).

- V detekčním bloku pomocí laserového paprsku provede excitaci fluoroforů, jimiž jsou značeny DNA fragmenty. Laserový paprsek je veden ke kapiláram ve dvou směrech, shora a zdola. Fluorofory absorbují světlo laseru a emitují záření o vyšší vlnové délce.
- Pomocí optického systému zaznamená záření emitované fluorofory při současném odfiltrování světla laserového paprsku. Světlo prochází skrze mřížku, kde dojde k jeho rozkladu. Je detekováno na chlazeném CCD čipu. Pro každou kapiláru je na čipu zaznamenán 20-ti barevný světelný signál.
- Převede 20-ti barevný světelný signál na signál odpovídající použitým fluoroforům. Pro sekvenování se požívají 4 fluorofory označující báze A, G, C a T. Pro fragmentační analýzu a HID se používá až 6 barev v rámci jednoho běhu.

Výsledky

Program vytvoří elektroferogram (záznam intenzity) pro jeden každý fluorofor na základě migrace fragmentů DNA během běhu a generuje primární výsledky analýzy:

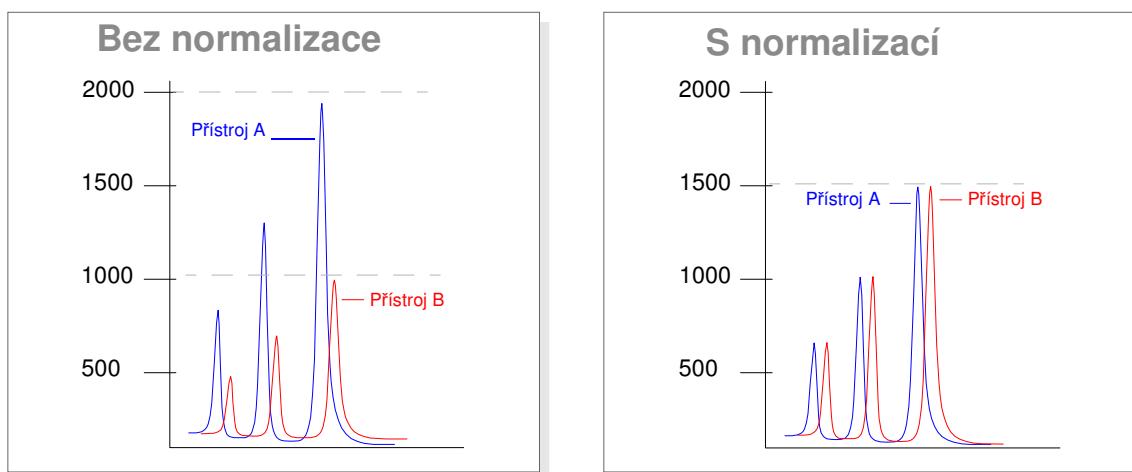
- Při analýze výsledků sekvenování je elektroferogram upraven tak, aby byl eliminován vliv fluoroforů na pohyblivost DNA fragmentů, poté je proveden odečet bází a stanoveny hodnoty ukazatelů kvality (quality values).
- Při analýze výsledků fragmentační analýzy a HID program použije interní velikostní standard pro odečet velikostí neznámých fragmentů a stanovení ukazatelů kvality (quality value) pro každý pík.

Pokud je analýza prováděna automaticky (autoanalysis), systém importuje data do dalších (sekundárních) programů pro analýzu výsledků za účelem jejich další analýzy. Toto je možné provést i ručně.

Normalizace

Normalizace - přehled

Při provádění fragmentační analýzy a aplikací HID nabízí program 3500 Series Data Collection možnost tzv. normalizace, a to na základě použití velikostního standardu GeneScan™ 600 LIZ® Size Standard v2.0 (GS600 LIZ v2). Normalizace umožňuje zeslabit variabilitu intenzity signálu danou použitím různých přístrojů, kapilárních sad, různého obsahu solí ve vzorcích a různých parametrů nástríku neboli injekce. Normalizaci lze provést během primární analýzy výsledků.



Obrázek 2 Srovnání výsledků fragmentační analýzy s a bez normalizace

Chcete-li data normalizovat, musíte při přípravě vzorků použít velikostní standard GS600 LIZ v2 a definovat použití této funkce pro účel primární analýzy. Standard GS600 LIZ v2 funguje jako interní standard pro normalizaci intenzity signálu a současně i jako velikostní standard pro odečet velikostí píků.

Kdy používat normalizaci

V programu 3500 Series Data Collection jsou definovány tři velikostní standardy pro použití pro normalizaci:

- **Fragmentační analýza:**
 - GS600LIZ+Normalizace
 - GS600(60-600)LIZ+Normalizace – Pro případy, kdy jsou píky 20 bp a 40 bp velikostního standardu GS600 LIZ v2 překryty primerem píkem.
- **HID:**
 - GS600(80-400)LIZ+Normalizace

Pro běžný provoz

Potřebujete-li objednat spotřební materiál pro genetické analyzátory 3500 nebo 3500xL, kontaktujte místní zastoupení společnosti Applied Biosystems nebo na stránce www.appliedbiosystems.com zvolte **Products**.

Externí čtečka čárových kódů

Pro skenování čárových kódů lze při práci s analyzátory 3500 nebo 3500xL použít externí čtečku čárových kódů.

Společnost Applied Biosystems doporučuje model Symbol LS 1203 (viz foto), tato čtečka se připojuje k ovládacímu počítači přístroje.

Čtečka umožňuje skenování čárových kódů do libovolných textových polí programu 3500 Series Data Collection.

Více informací o instalaci, provozu a technických parametrech čtečky naleznete v její dokumentaci.



Záložní zdroj (Uninterruptible Power Supply - UPS)

Výpadky proudu v průběhu běhu mohou vést ke ztrátě výsledků. Pokud k tomu ve vaší laboratoři dochází, doporučuje společnost Applied Biosystems používání záložních zdrojů elektrické energie.

Máte-li k dispozici záložní generátor elektrického proudu, je potřeba mít k dispozici baterií napájený zdroj, který poskytne elektrický proud po dobu, než dojde k náběhu a stabilizaci dodávky elektrického proudu z tohoto záložního generátoru.

Poznámka: K náhradnímu zdroji zapojte přístroj, počítač i monitor.

Nemáte-li k dispozici záložní generátor elektrického proudu, poskytne záložní zdroj dodávku elektrické energie pouze po omezenou dobu. Pro delší výpadky proudu lze navýšit kapacitu baterií. Jednotka o výkonu 800W vydrží dodávat proud po dobu 20 minut a po přidání další baterie po více než 2 hodiny.

Poznámka: Doba dodávky proudu baterií závisí na teplotě a stáří baterie, takže uvedené údaje nejsou garantovány.

Spotřební materiál a reagencie

Seznam reagencí, spotřebního materiálu a modulů běhů naleznete v [Příloze A Reagencie a moduly běhů](#).

Zásobník na anodový pufr - Anode buffer container (ABC)

Zásobník na anodový pufr (kat. č. 4393927) obsahuje 1 × koncentrovaný elektroforetický pufr určený pro veškeré aplikace prováděné na přístrojích 3500 nebo 3500xL.

Zásobník je dodáván již připravený k použití, je určený pro jednorázové použití a je vybaven RFID čipem. Jeho součástí je přepad pro udržení konstantní hladiny pufru.

Přesný popis zdravotních rizik najdete v části “[Specifické výstrahy](#)” na straně 333.



VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Anodový pufr.

Zásobník na anodový pufr uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C, dokud jej nechcete použít. Zapečetěný pufr v zásobníku je při uvedené teplotě stabilní až do data expirace uvedeného na obalu. Po otevření je pufr stabilní při pokojové teplotě až 7 dní. Neotevřejte zásobník dříve než v okamžiku jeho použití.

Pro dosažení optimální funkčnosti je použitelnost zásobníku limitována buď na 7 dnů od první instalace nebo 120 injekcí na modelu 3500 (8-kapilární) / 50 injekcí na modelu 3500xL (24-kapilární), podle toho co nastane dříve. Pokud vás program přístroje upozorní na dosažení limitu, musíte před další prací s přístrojem zásobník vyměnit za nový.

Více informací naleznete v příbalovém letáku.

Výměna zásobníku na anodový pufr je popsána v části “[Výměna zásobníku na anodový pufr](#)” na straně 237.

Zásobník na katodový pufr - Cathode buffer container (CBC)

Zásobník na katodový pufr (kat. č. 4408256) obsahuje 1 × koncentrovaný elektroforetický pufr určený pro veškeré aplikace prováděné na přístrojích 3500 nebo 3500xL.

Zásobník je dodáván již připravený k použití, je určený pro jednorázové použití a je vybaven RFID čipem. Má dvě oddělené části:

- Strana s 24 otvory – katodový pufr pro elektroforézu.
- Strana se 48 menšími otvory – pufr pro oplach kapilár a sběr odpadu mezi jednotlivými nástříky.

Přesný popis zdravotních rizik najdete v části “[Specifické výstrahy](#)” na straně 333.



VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Katodový pufr.

Zásobník na katodový pufr uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C, dokud jej nechcete použít. Zapečetěný pufr v zásobníku je při uvedené teplotě stabilní až do data expirace, uvedeného na obalu. Po otevření je pufr stabilní při pokojové teplotě až 7 dní. Neotevřejte zásobník dříve než v okamžiku jeho použití.

Pro dosažení optimální funkčnosti je použitelnost zásobníku limitována buď na 7 dnů od první instalace nebo 120 injekcí na modelu 3500 (8-kapilární) / 50 injekcí na modelu 3500xL (24-kapilární), podle toho co nastane dříve. Pokud vás program přístroje upozorní na dosažení limitu, musíte před další prací s přístrojem zásobník vyměnit za nový.

Více informací naleznete v příbalovém letáku.

Výměna zásobníku na anodový pufr je popsána v části “[Výměna zásobníku na katodový pufr](#)” na straně 238.

Polymery

Polymer pro analyzátory 3500 nebo 3500xL je k dispozici ve formě váčku určeného k okamžitému použití. Na separaci se používá polymer POP-4TM, POP-6TM nebo POP-7TM.

DŮLEŽITÉ! Pokud byl polymer již instalován na jednom typu přístroje, nepoužívejte jej na jiném typu přístroje. Např. pokud jste instalovali nový váček s polymerem na přístroji 3500 (8-kapilární), nepoužívejte tento polymer na přístroji 3500xL (24-kapilární).

Ve váčku je dostatek polymeru pro daný počet vzorků (384 nebo 960) nebo injekcí a nadbytečný objem pro omezený počet instalací a souvisejících kroků údržby prováděných pomocí průvodců (tzv. wizards). Váček na polymer je vybaven RFID čipem.

Poznámka: Ústí váčku je zapečetěno pomocí plastového krytu, který je před instalací váčku do přístroje nutno odstranit.

Přesný popis zdravotních rizik najdete v části “[Specifické výstrahy](#)” na straně 333.



VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Polymery POP-4TM, POP-6TM a POP-7TM.

Polymer uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C, dokud jej nechcete použít. Zapečetěný polymer je při uvedené teplotě stabilní až do data expirace.

Více informací naleznete v příbalovém letáku.

Výměna polymeru je popsána v části “[Změna typu polymeru](#)” na straně 247.

DŮLEŽITÉ! Vyjměte-li váček s polymerem z přístroje, abyste jej uchovali, uzavřete váček pomocí víčka (Pouch Cap, kat. č. 4412619) a v přístroji jej nahraďte pomocí prázdného váčku (nebo regeneračního roztoku - conditioning reagent), aby nedošlo k vysychání zbytkového polymeru na adapteru, k němuž se váček připojuje. Při výměně postupujte podle pokynů průvodce (wizard).

Použití

- Polymery POP-6TM a POP-7TM jsou určeny pro sekvenování a fragmentační analýzu.
- Polymer POP-4TM je určen pro HID/forenzní aplikace.

Tabulka 2 Přehled polymerů

Polymer	Kat. č.	Přístroj	Použitelnost v přístroji (podle toho co nastane dříve) [‡]	Omezení	
				Neprekročitelná [§]	Prekročitelná [#]
POP-4 TM (960)	4393710	3500 (8-kapilární)	7 dní nebo 960 vzorků nebo 120 nástříků	Datum expirace Počet vzorků a/nebo počet injekcí	7-denní limit
POP-6 TM ^{##} (960)		3500xL (24-kapilární)	7 dní nebo 960 vzorků nebo 50 nástříků		
POP-7 TM (960)			7 dní nebo 384 vzorků nebo 60 nástříků		
POP-4 TM (384)	4393715	3500 (8-kapilární)	7 dní nebo 384 vzorků nebo 20 nástříků	Datum expirace Počet vzorků a/nebo počet injekcí	7- denní limit
POP-6 TM ^{##} (384)		3500xL (24-kapilární)	7 dní nebo 384 vzorků nebo 20 nástříků		
POP-7 TM (384)			7 dní nebo 384 vzorků nebo 20 nástříků		

[‡] Ve váčku je dostatek polymeru pro omezený počet instalací a souvisejících kroků údržby prováděných pomocí průvodců (tzv. wizards).

Pokud však počet těchto kroků překročí určitý limit, sníží se počet vzorků, které lze analyzovat, nebo nástříků, které lze provést. Např. pokud budete odstraňovat bubliny pomocí průvodce více než čtyřikrát nebo nebudete provádět opakovaně jiné operace údržby, sníží se počet vzorků, které lze analyzovat, nebo nástříků, které lze provést. Viz měřič spotřeby polymeru na ovládacím panelu programu.

[§] Před dalším pokračováním vyměňte váček.

[#] Společnost Applied Biosystems ověřila funkčnost polymeru v přístroji po dobu max. 7 dní.

^{##} Pokojovou teplotou se rozumí teplota v rozsahu 15 °C až 25 °C. Trvalé používání při vyšších teplotách může vést ke kratším délkám čtení než jak je uvedeno ve specifikacích.

Regenerační roztok (Conditioning reagent)

Regenerační roztok (tzv. Conditioning reagent, kat. č. 4393718) pro analyzátoru 3500 nebo 3500xL je k dispozici v ihned použitelném váčku. Používá se pro iniciaci a promytí polymerové pumpy při výměnách polymeru a při proceduře dlouhodobého vypnutí přístroje. Objem je volen tak, aby jedno balení mělo jednorázové použití.

Poznámka: Používání regeneračního roztoku je dáno pokyny v průvodcích (tzv. wizards) při provádění kroků údržby. Váček použijte v souladu s těmito pokyny.



VAROVÁNÍ! Expirované váčky nelze použít. Váčky jsou určeny pouze pro jednorázové použití.

Více informací naleznete v příbalovém letáku.

Více informací o použití regeneračního roztoku naleznete v části [“Použití regeneračního roztoku \(tzv. conditioning reagent\)” na straně 250.](#)

Hi-Di™ Formamid

Hi-Di™ Formamid (v balení po 4 kusech po 5-ml, kat. č. 4440753) je vysoce deionizovaný stabilizovaný formamid, který je připraven k použití jako rozpouštědlo vzorků pro účel jejich nástríku do kapilár, a to u všech aplikací prováděných na přístrojích 3500 nebo 3500xL.

Přesný popis zdravotních rizik najdete v části [“Specifické výstrahy” na straně 333.](#)



Více informací naleznete v příbalovém letáku.



Použití

Hi-Di™ Formamid se používá při sekvenování, fragmentační analýze a HID/forenzních aplikacích. Potřebný objem formamidu je dán typem aplikace, příslušným protokolem respektive příbalovým letákem.

Tabulka 3 Hi-Di™ Formamid - přehled

Hi-Di™ Formamid - název	Přístroj	Kat. č.	Použitelnost v přístroji
Hi-Di™ Formamid - 5-ml (čtyři lahvičky)	3500 (8-kapilární) 3500xL (24-kapilární)	4440753	24 hod

Kapilární sady

Kapilární sady pro analyzátory 3500 nebo 3500xL jsou dodávány připravené k použití.



Informace o výměně kapilár naleznete v části [“Výměna kapilárních sad” na straně 252.](#)

Použití

- Kapilární sada o délce 36 cm se používá při HID/forenzních aplikacích.
- Kapilární sada o délce 50 cm se používá pro sekvenování a fragmentační analýzu.

Tabulka 4 Kapilární sady

Název kapilární sady	Kat. č.	Přístroj	Použitelnost v přístroji	Limit kontrolovaný pomocí RFID čipu
				Uživatel volitelně pokračuje‡
8-kapilární, 36 cm	4404683	3500	160 injekcí	Uživatel může limit (160 injekcí a datum expirace) překročit
8-kapilární, 50 cm	4404685			Uživatel může limit (160 injekcí a datum expirace) překročit
24-kapilární, 36 cm	4404687	3500xL		Uživatel může limit (160 injekcí a datum expirace) překročit
24-kapilární, 50 cm	4404689			Uživatel může limit (160 injekcí a datum expirace) překročit

‡ Společnost Applied Biosystems ověřila funkčnost kapilár pro 160 injekcí.

Program 3500 Series Data Collection - přehled

O programu

Tabulka 5 3500 Series Data Collection – podporované aplikace

Applikace	Typy aplikací
Sekvenování	<ul style="list-style-type: none"> • Přímé sekvenování – detekce mutací • Srovnávací sekvenování s a bez referenční sekvence • Identifikace mikroorganizmů pomocí sekvenování
Fragmentační analýza	<ul style="list-style-type: none"> • Mikrosatelity • AFLP® (amplified fragment length polymorphism) • Souprava SNaPshot® • LOH (ztráta heterozygoty - loss of heterozygosity) • MLPA® (Multiplex ligation-dependent probe amplification)
HID	<ul style="list-style-type: none"> • Analýza DNA stop • Databáze • Určování otcovství

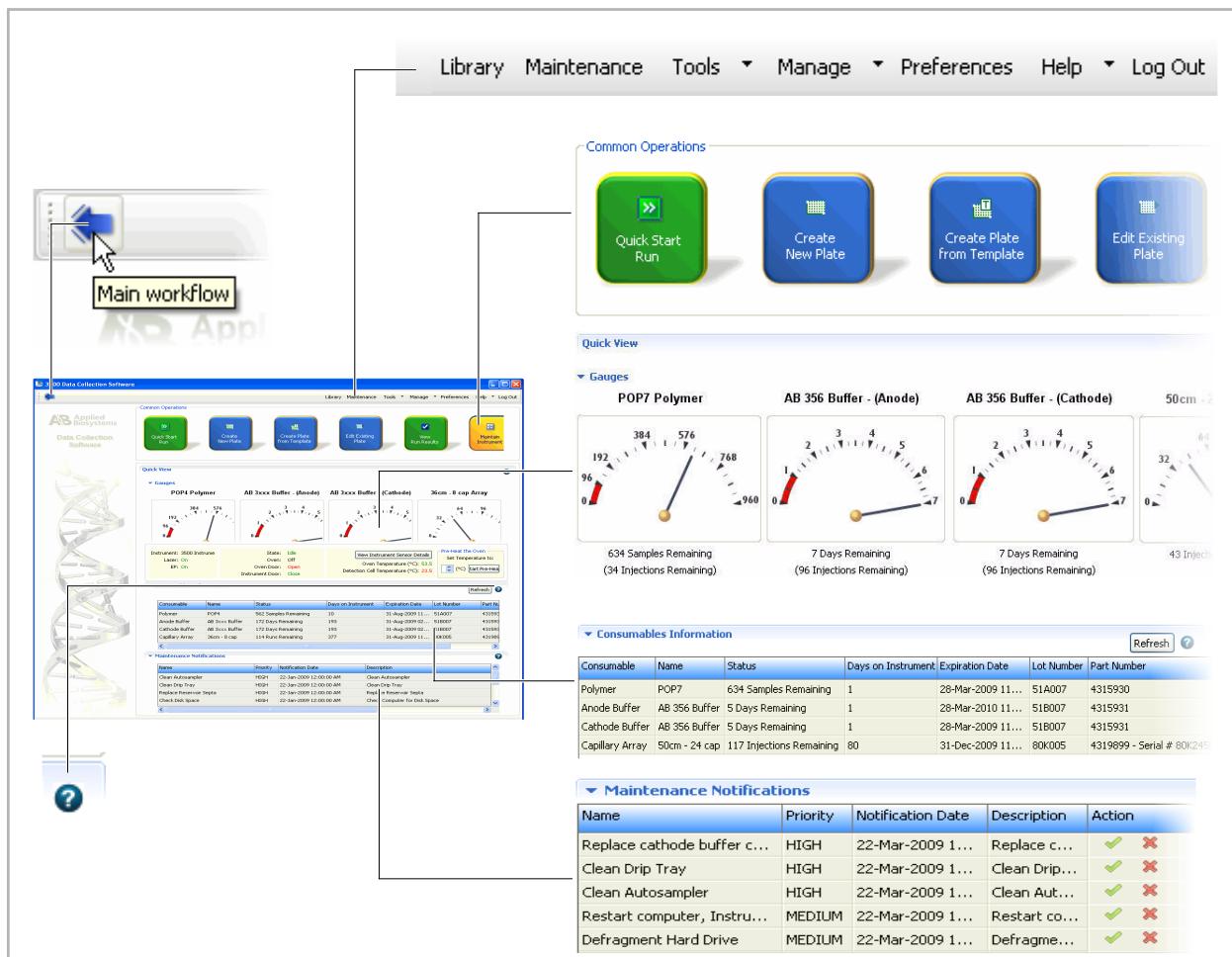
Během běhu programu:

- Kontroluje činnost stroje a vytváří soubory s výsledky:
 - Sekvenování (.ab1)
 - Fragmentační analýza (.fsa)
 - HID (.hid)
- Provádí primární analýzu a kontrolu kvality dat:
 - Sekvenování – Odečet bází (Basecalling) a zkrácení sekvence (trimming)
 - Fragmentační analýza a HID – Detekce píků a odečet jejich velikostí (sizing)
- (Volitelné) Provádí sekundární analýzu (automatická analýza) pomocí následujících programů Applied Biosystems:
 - Sekvenování – SeqScape® v2.7 (nebo vyšší) nebo MicroSeq® ID Analysis v2.2 (nebo vyšší)
 - Fragmentační analýza – GeneMapper® v4.1 (nebo vyšší)
 - HID – GeneMapper® ID-X v1.2 (nebo vyšší)

Poznámka: Soubory s výsledky lze do shora uvedených programů pro účel sekundární analýzy rovněž importovat ručně. Soubory s výsledky jsou rovněž kompatibilní s programy Applied Biosystems Variant Reporter™ (v1.1 nebo vyšší) a Sequence Analysis (SeqA) (v5.4 nebo vyšší).

Součásti programu

Ovládací panel První obrazovka, která se zobrazí po spuštění programu 3500 Series Data Collection je tzv. Ovládací panel (Dashboard) (Obrázek 3).



Obrázek 3 Ovládací panel programu 3500 Series Data Collection

Ovládací panel umožňuje rychlý přístup k informacím a úkonům potřebným pro spuštění běhu:

- Šipka **Main workflow – Hlavní postup práce** – Umožňuje přístup k obrazovkám, kde lze zadat, vložit a spustit analýzu destičky se vzorky a zobrazit výsledky.
- **Menu – Hlavní nabídka** – Umožňuje přístup ke všem ostatním prvkům programu. Zobrazuje se na všech obrazovkách.
- **Common operations – Běžné kroky** – Umožňuje rychlé spuštění (již definované destičky), vytvoření a úpravu destiček, zobrazení výsledků a provádění údržby (Maintenance).

- **Quick view – Rychlé zobrazení** – Zobrazuje měříče spotřeby spotřebního materiálu a stav přístroje. Spotřeba spotřebního materiálu je sledována automaticky pomocí čipů RFID.
- **Consumables information – Informace o spotřebním materiálu** – Poskytuje detailní informace o spotřebním materiálu a červeně označuje datum blížící se expirace (na základě údajů z čipů RFID).
- **Maintenance notifications – Upozornění na nutnost údržby** – Vypisuje seznam plánovaných kroků údržby.
- **Help icon ? – Nápověda** – Zobrazuje údaje z návodů, vztahující se k aktuální obrazovce nebo tématu.

Více informací viz „[Ovládací panel – Stav systému](#)“ na straně 26.

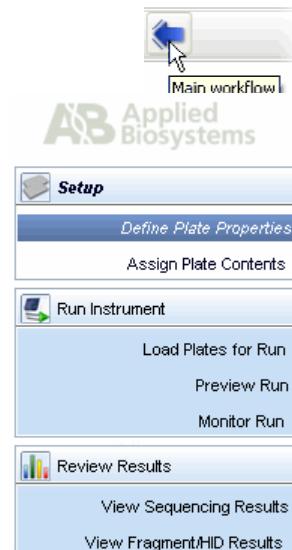
Šipka – Hlavní obrazovka

Klikněte na šipku (Main workflow) vlevo nahore, zobrazí se hlavní obrazovka programu. Postupně se budou zobrazovat další obrazovky, kde zadáte, vložíte a spustíte destičky a zobrazíte výsledky.

Navigace v postupu práce je koncipována jako série úkonů. Na každé obrazovce je tlačítko, po jehož stisknutí postoupíte na další obrazovku – další krok pracovního postupu.

Zvolte žádaný úkon v navigační liště.

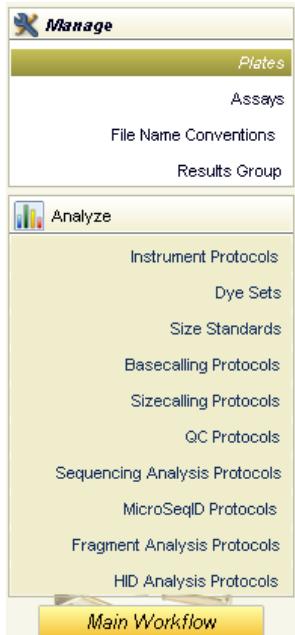
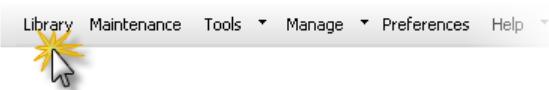
Kdykoliv můžete zvolit **Dashboard** (Ovládací panel) nebo příkazy z Hlavní nabídky (Menu).



Postup práce je popsán v [Kapitole 3 “Zadání a spuštění”](#) na straně 41 a [“Kontrola výsledků”](#) na straně 79.

Práce s knihovnami

V hlavní nabídce (Menu) zvolte **Library (Knihovna)**.



Pod odkazem Library jsou dostupné obrazovky, kde můžete provádět správu esejí (assays), protokolů (protocols) a dalších nastavení potřebných k získání a analýze dat.

Pod odkazem Library naleznete:

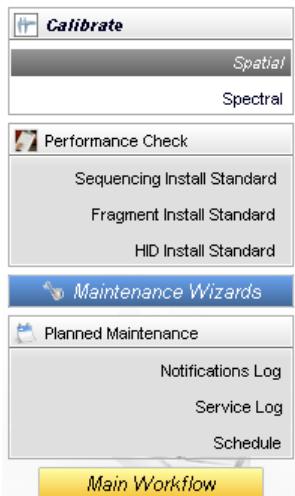
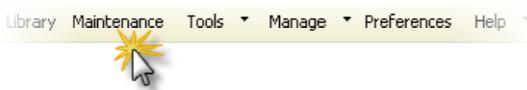
- Úkony potřebné pro spuštění běhu: zadání destiček, esejí, názvů souborů a tzv. výsledkových skupin (results groups)
- Úkony potřebné pro vytvoření esejí:
 - Protokoly přístroje (Instrument protocols)
 - Protokoly primární analýzy – Basecalling (pro sekvenování), sizecalling (pro fragmentační analýzu), QC (pro HID)
 - Volitelné protokoly sekundární analýzy – Sekvenační protokoly, fragmentační protokoly a protokoly HID
- Položky potřebné pro definice protokolů přístroje, protokolů fragmentační analýzy a QC: Soubory barev (tzv. Dye sets) a velikostní standardy (size standards)

Kdykoliv můžete zvolit **Dashboard** (Ovládací panel) nebo příkazy z Hlavní nabídky (Menu).

Práce s knihovnami je popsána v části "[Správa knihoven](#)" na straně 139.

Údržba

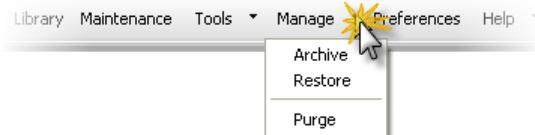
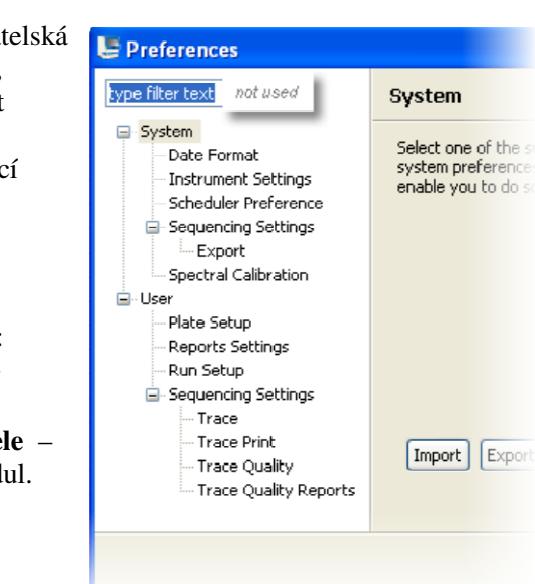
V hlavní nabídce (Menu) zvolte **Maintenance (Údržba)**.



Nabídka Maintenance (Údržba) zahrnuje obrazovky, jejich prostřednictvím provádíte kalibraci přístroje, kontrolu jeho funkčnosti, jednotlivé dílčí kroky údržby a máte přístup k záznamům o prováděné údržbě a servisu.

Kdykoliv můžete zvolit **Dashboard** (Ovládací panel) nebo příkazy z Hlavní nabídky (Menu).

Kroky údržby jsou popsány v [Kapitole 8 "Údržba přístroje"](#) na straně 229.

Nástroje V hlavní nabídce (Menu) zvolte Tools (Nástroje) programu 3500 Series Data Collection. K dispozici jsou tyto nástroje:	 <ul style="list-style-type: none"> • Security (Zabezpečení), Sledování změn (Audit) a E-signature (Elektronický podpis) (je-li součástí vašeho systému tzv. SAE modul) • Change Password (Změna hesla). • View Logs – Zobrazení logů = záznamů o jednotlivých bězích. • Manual Commands (Ruční ovládání), které lze použít při řešení problémů s fungováním přístroje. <p>Modul SAE je popsán v Kapitole 7 “Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)” na straně 197.</p>
Správa V hlavní nabídce (Menu) zvolte Manage (Správa). K dispozici jsou funkce archivace dat (Archive), obnovení archivovaných dat (Restore) a mazání uživatelských nastavení (Purge).	
Nastavení V hlavní nabídce (Menu) zvolte Preferences (Nastavení), kde můžete provést jednorázová nastavení některých funkcí programu.	
Je možné nastavit systémová a uživatelská jednorázová nastavení – formát data, adresář pro ukládání souborů, formát souborů pro export sekvenačních výsledků a další parametry související se sekvenováním. Systémová nastavení se vztahují na všechny uživatele. Uživatelská nastavení se vztahují na:	<ul style="list-style-type: none"> • Všechny uživatele – Pokud váš systém nemá SAE modul. • Každého přihlášeného uživatele – Pokud váš systém má SAE modul. <p>Nastavení jsou popsána v Kapitole 2 “Spuštění systému” na straně 21.</p>
Nápověda V hlavní nabídce (Menu) zvolte Help (Nápověda).	

Návod poskytuje stručné informace k jednotlivým funkcím programu, aktuálně dostupným na obrazovce. Detailní informace o těchto funkcích naleznete v této uživatelské příručce.

Navigace v programu

Z Ovládacího panelu (Dashboard)

Chcete-li přejít z Ovládacího panelu na:

- **Hlavní postup práce (Main workflow)** – Zvolte 
- **Další obrazovky programu** – Zvolte položku Hlavní nabídky (Menu).



Z okna Hlavního postupu práce (Main workflow)

Chcete-li přejít z okna Main workflow na:

- **Ovládací panel (Dashboard)** – Klikněte **Dashboard**.
- Jiné obrazovky **Hlavního postupu práce (Main workflow)** – Zvolte příslušnou volbu v navigační liště.
- **Jiné obrazovky programu** – Zvolte položku v menu.



Z oken Knihovny (Library) nebo Údržby (Maintenance)

Chcete-li přejít z okna Maintenance (Údržba) nebo Library (Knihovna) na:

- **Ovládací panel (Dashboard)** – Klikněte **Dashboard**.
- Jiné obrazovky **Hlavního postupu práce (Main workflow)** – Zvolte příslušnou volbu v navigační liště.
- **Hlavní postup práce (Main workflow)** – Zvolte **Main workflow** v navigační liště.
- **Jiné obrazovky programu** – Zvolte položku v menu.



Používání programu bez přístroje

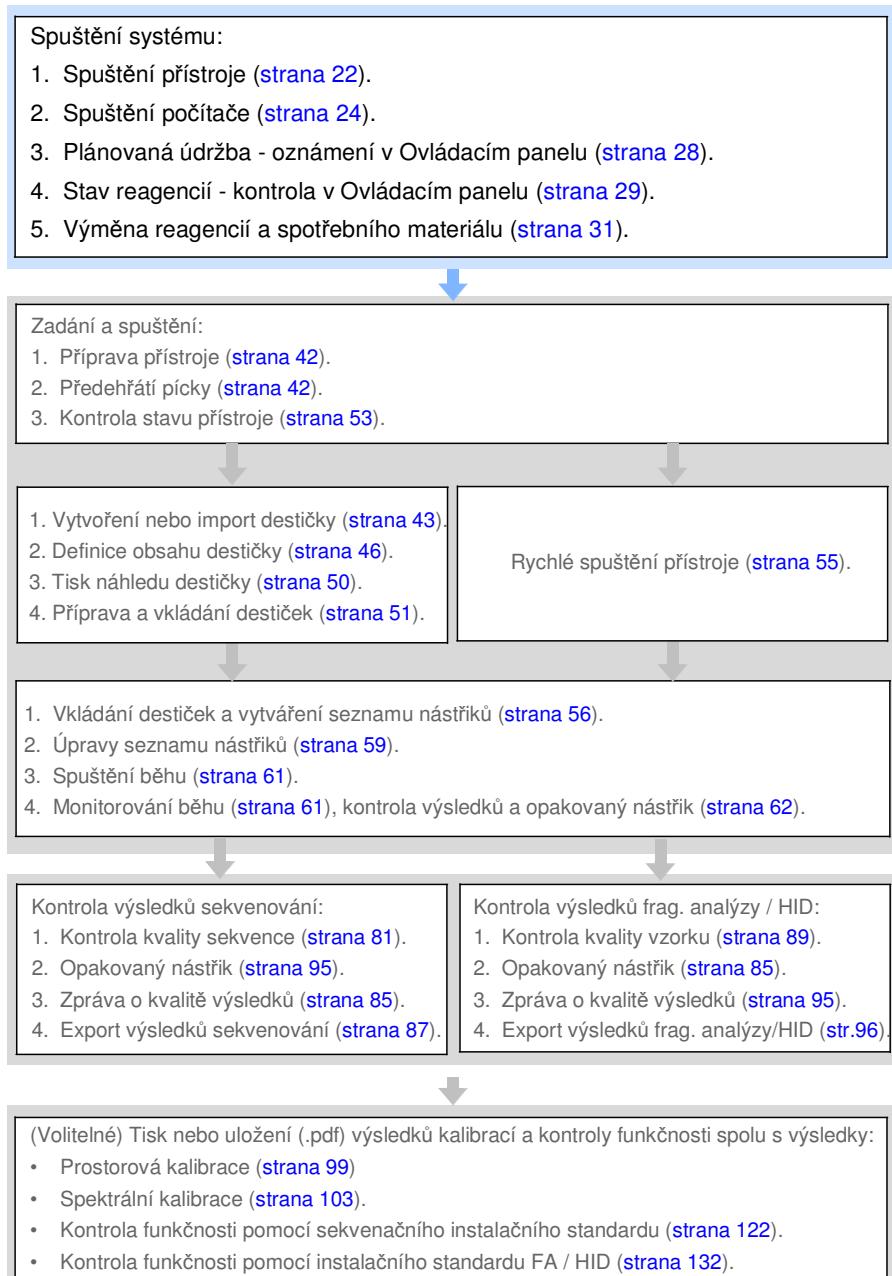
Program 3500 Series Data Collection lze instalovat i na počítač, který není připojen k přístroji. Můžete vytvářet definice destiček, protokoly a další položky knihoven a prohlížet výsledky.

DŮLEŽITÉ! Je-li program instalován na počítači bez přístroje, nepoužívejte funkce pro ovládání přístroje.

2

Spuštění systému

Pracovní postup



Spuštění přístroje

1. Ověřte, že přístroj je připojen do odpovídající elektrické sítě.



VAROVÁNÍ! Nevybalujte ani nezapojujte žádné součásti přístroje, dokud servisní technik společnosti Applied Biosystems neupravil konfiguraci přístroje tak, aby odpovídala napětí ve vaší elektrické síti.

Více informací viz příručka *Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzer Site Preparation Guide* (4401689).

Poznámka: Účelem příručky *Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzer Site Preparation Guide* je poskytnout informace o tom jak připravit vaši laboratoř na instalaci přístroje 3500 nebo 3500xL.

DŮLEŽITÉ! Po instalaci programu 3500 Series Data Collection neměňte název počítače. Počítači, určenému k ovládání přístroje, bylo přiděleno unikátní jméno. Změna jména může způsobit nefunkčnost programu 3500 Series Data Collection.

2. Zkontrolujte vnitřní prostor přístroje. Ujistěte se, že:
 - a. Dveře pícky jsou zavřeny.
 - b. Ve vnitřním prostoru přístroje nejsou žádné cizí předměty.

DŮLEŽITÉ! Předměty zapomenuté ve vnitřním prostoru přístroje jej mohou poškodit.

3. Zavřete dveře přístroje.
4. Zapněte přístroj. Stiskněte hlavní spínač na čelním panelu a vyčkejte, než se rozsvítí zelená stavová dioda.



- a. Stiskněte tlačítko Tray na čelním panelu přístroje, čímž přesunete podavač (autosampler) do přední pozice. Vyčkejte než se podavač zastaví.

Poznámka: Jsou-li dveře otevřené, bliká žlutá stavová dioda a přístroj provádí iniciační kontrolu a úpravu pozice autosampleru.

- b. Zkontrolujte stav přístroje. Než budete pokračovat, ujistěte se, že zelená stavová dioda svítí a nebliká. Tabulka níže vysvětluje význam stavových diod přístroje.

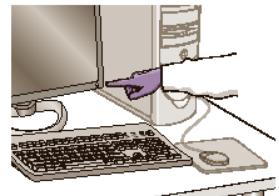
Situace	Stav
Všechny diody vypnuty	Přístroj je vypnutý
Zelená svítí	Připraven ke spuštění Pauza v běhu, běh ukončen, nástřík zastaven uživatelem (v programu Data Collection). Poznámka: Nástřík lze zastavit pouze pokud zelená dioda bliká, nikoliv svítí.
Zelená bliká	Běh spuštěn
Oranžová bliká	Diagnostika při zapnutí přístroje Pauza v běhu Otevřené dveře Chyba běhu, restart přístroje není nutný
Oranžová svítí	Pohotovostní režim
Červená svítí	Nezdařená diagnostika Chyba přístroje Vyžaduje restart přístroje a počítače

Spuštění počítače

1. Zapněte počítač.



2. Zapněte monitor.
3. Přihlaste se do systému Windows:
 - a. Zadejte uživatelské jméno.
 - b. Zadejte heslo je-li potřeba.



Poznámka: Je-li počítač připojen do sítě, není zapotřebí se před spuštěním přístroje přihlásit do sítě.

- c. Klikněte **OK**. Vyčkejte na dokončení náběhu přístroje.

DŮLEŽITÉ! Stavová ikona v pravém dolním rohu obrazovky ukazuje

spuštění systému 3500 Server Monitor 2:47 PM .

DŮLEŽITÉ! Tuto ikonu nezavírejte. Software by nefungoval správně.

Přihlášení do Windows

Přihlaste se do systému Windows podle pokynů na obrazovce.

Spuštění programu

1. krok: Systém Pokud se systém Daemon nespustí sám, zvolte:
Daemon Start > Programs > Applied Biosystems > 3500 > Daemon



Poznámka: Start systému Daemon trvá asi 15 sec.

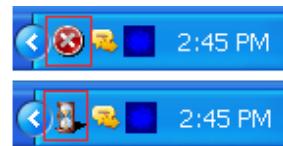
2. krok: Systém Server Monitor

Pokud se systém Server Monitor nespustí sám, zvolte:

Start > Programs > Applied Biosystems > 3500 > Server Monitor



Poznámka: Start systému Server Monitor trvá asi 2 min. Během této doby se stavová dioda v pravé dolní části obrazovky mění z červeného kroužku se znakem X uprostřed (označuje nedokončené spuštění systémů 3500) na přesýpací hodiny.



Je-li náběh systému Server Monitor dokončen, ikona přesýpacích hodin zmizí a objeví se ikona vyobrazená na obrázku vpravo, indikující, že všechny systémy 3500 jsou spuštěny.



3. krok:

Program 3500

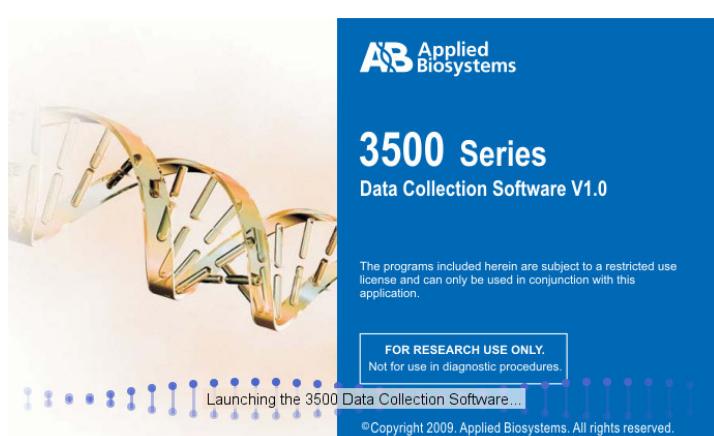
Spusťte program:

Start > Programs > Applied Biosystems > 3500



Úvodní obrazovka

Při spuštění programu 3500 Series Data Collection se zobrazí na několik vteřin úvodní obrazovka.



Poté co zmizí úvodní obrazovka programu 3500 Series Data Collection, dojde k jedné z následujících situací:

- Zobrazí se Ovládací panel (Dashboard) (viz "[Ovládací panel – Stav systému](#)" na straně 26)
- Zobrazí se dialogové okno Login (Přihlášení) (viz "[Přihlášení](#)" na straně 26)

Přihlášení

Modul SAE Modul Security (Zabezpečení), Audit (Sledování změn) a E-signature (Elektronický podpis), zkráceně SAE modul, je volitelnou součástí programu 3500 Series Data Collection. S jeho pomocí lze mimo jiné zabezpečit přístup do programu. Více informací o modulu SAE naleznete v [Kapitole 7 Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis \(Modul SAE\)](#).

Poté co zmizí úvodní obrazovka programu 3500 Series Data Collection, přihlaste se do programu:

1. Zadejte uživatelské jméno (User Name) a heslo (Password).



2. Klikněte **OK**.

Znovu se objeví na několik sekund objeví úvodní obrazovka a poté se otevře program 3500 Series Data Collection.

Spustí se Ovládací panel (Dashboard) programu 3500 Series Data Collection.

DŮLEŽITÉ! Pokud omylem zavřete některý ze systémů uvedených výše, program nebude správně fungovat. Chcete-li příslušný systém znova otevřít, umístěte kurzor na stavovou ikonu, klikněte pravým tlačítkem myši, zvolte Services (Služby) a zvolte systém, který chcete znova spustit.

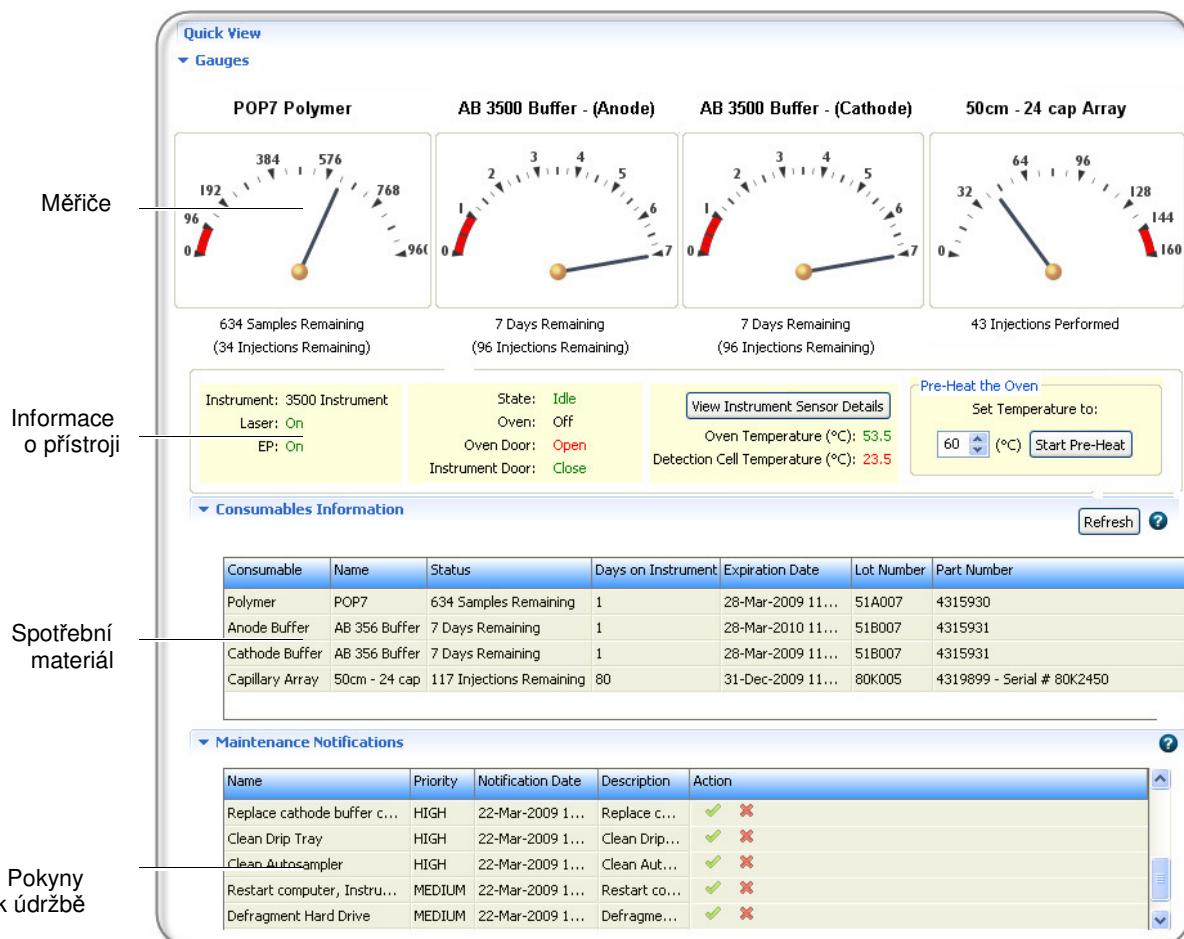
Ovládací panel – Stav systému

Ovládací panel - přehled

První obrazovka, která se zobrazí po spuštění programu 3500 Series Data Collection je Ovládací panel (Dashboard) ([Obrázek 4](#)).

Na Ovládacím panelu se zobrazí měříče, informace o přístroji, o spotřebním materiálu a upozornění týkající se údržby, které poskytují rychlý přehled o celkovém stavu systému.

Spotřební materiál je osazen RFID čipy, díky nimž přístroj identifikuje, o jaký spotřební materiál se jedná, a monitoruje, kolik běhů lze s daným spotřebním materiélem ještě provést, či jak dlouho je použitelný. Čipy obsahují informace i o datu expirace, čísle šarže a katalogovém čísle.



Obrázek 4 Ovládací panel

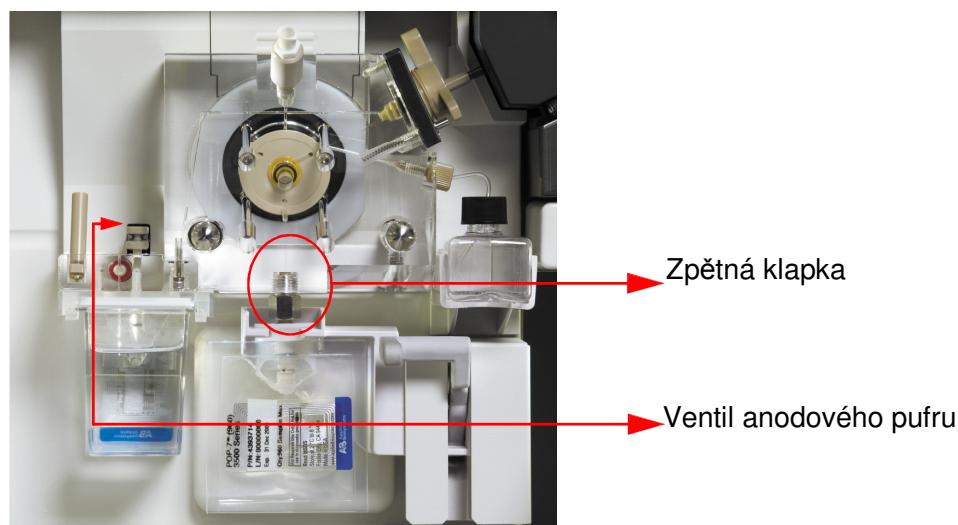
Pokyny k údržbě

V části Maintenance Notifications (Pokyny k údržbě) naleznete připomínky úkonů, které jsou plánovány ve vašem kalendáři údržby přístroje (viz „[Kalendář údržby přístroje](#)“ na straně 232). Nastavení spuštění těchto připomínek lze provést v části Preferences (Nastavení) (viz „[Obecná nastavení](#)“ na straně 33).

- Zkontrolujte část Maintenance Notifications (Pokyny k údržbě).

▼ Maintenance Notifications				
Name	Priority	Notification Date	Description	Action
Perform Performance Check	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Performance Check	✓ ✘
Clean Drip Tray	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Clean Drip Tray	✓ ✘
Clean Autosampler	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Clean Autosampler	✓ ✘
Replace Reservoir Septa	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Replace Reservoir Septa	✓ ✘
Wash Pump Trap	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Wash Pump Trap	✓ ✘

- Proveďte plánované kroky údržby a potvrďte jejich provedení kliknutím na symbol ✓ (případně klikněte na symbol ✘, pokud je provést nechcete). Provedení úkonů je zaznamenáno v záznamu (log) (více informací viz „[Kontrola záznamů o údržbě](#)“ na straně 257).
- Proveďte další denní, měsíční či kvartální kroky údržby, které nejsou uvedeny v Pokynech k údržbě (Maintenance Notifications) (viz [Kapitola 8 Údržba přístroje](#)).
- Zkontrolujte vnitřní prostor přístroje. Viz „[Spuštění přístroje](#)“ na straně 22.
 - Odstraňte případné nečistoty.
 - Pozorujete-li netěsnost a v důsledku toho i precipitaci reagencií okolo ventilu anodového pufru, zkontrolujte zpětnou klapku a páčku na instalaci polymeru. V případě potřeby kontaktujte společnost Applied Biosystems.



Stav spotřebního materiálu

DŮLEŽITÉ! Doba použitelnosti pufrů se aktualizuje pouze po kliknutí na tlačítko Refresh (Obnovit) nebo po spuštění běhu. V rámci přípravy spuštění přístroje klikněte na **Refresh (Obnovit)**, aby se údaje aktualizovaly.

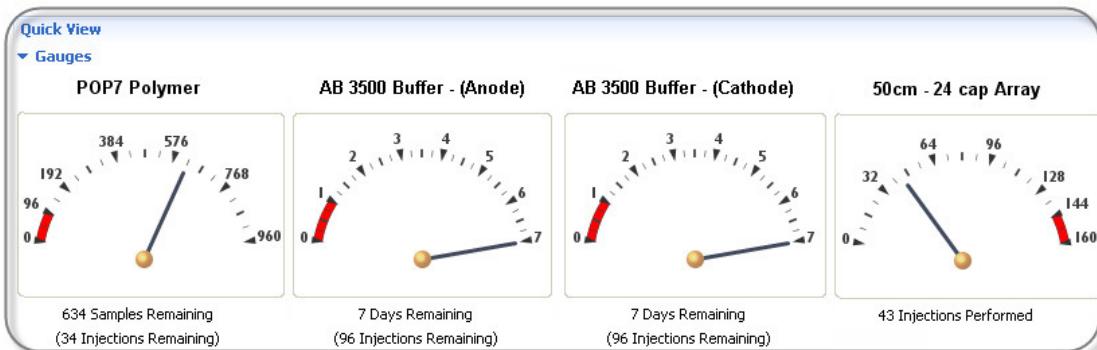
- Klikněte na tlačítko **Refresh (Obnovit)**, čímž aktualizujete informace o spotřebním materiálu.

Zobrazí se data expirací a čísla šarží (načtená z čipů RFID na obalech spotřebního materiálu).

Consumables Information						
Consumable	Name	Status	Days on Instrument	Expiration Date	Lot Number	Part Number
Polymer	POP7	634 Samples Remaining	1	28-Mar-2009 11...	51A007	4315930
Anode Buffer	AB 356 Buffer	5 Days Remaining	1	28-Mar-2010 11...	51B007	4315931
Cathode Buffer	AB 356 Buffer	5 Days Remaining	1	28-Mar-2010 11...	51B007	4315931
Capillary Array	50cm - 24 cap	117 Injections Remaining	80	31-Dec-2009 11...	80K005	4319899 - Serial # 80K2450

- Podle měřičů zkontrolujte, kolik nástríků lze provést, kolik vzorků lze analyzovat, či kolik dní životnosti má který spotřební materiál. V tabulce níže naleznete informace o používaném spotřebním materiálu.

Je-li ukazatel v měřiči na <10%, ručička je v červeném poli **VÝSTRAHA**. Příslušný spotřební materiál se pak zobrazuje červeným písmem.



DŮLEŽITÉ! Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste si výměnu polymeru a pufrů naplánovali ve vašem kalendáři údržby. Nastavte si zobrazení upozornění 2 dny před plánovanou výměnou polymeru.

Spotřební materiál			Limit použitelnosti v přístroji (platí co nastane dříve)	Poznámky
Polymer ^{‡§}	8-kap.	Balení pro 960 vzorků	960 vzorků nebo 120 nástříků	Spotřebujte polymer do 7 dnů od instalace do přístroje.
		Balení pro 384 vzorků	384 vzorků nebo 60 nástříků	
	24-kap.	Balení pro 960 vzorků	960 vzorků nebo 50 nástříků	Program umožní používat polymer déle než 7 dnů. Společnost Applied Biosystems však ověřila funkčnost polymeru po dobu max. 7 dnů v přístroji.
		Balení pro 384 vzorků	384 vzorků nebo 20 nástříků	
Pufry	8-kapilární		7 dnů nebo 120 nástříků	Aby bylo zajištěno optimální fungování systému, požaduje program výměnu pufru každých 7 dní.
	24-kapilární		7 dnů nebo 50 nástříků	
Kapilární sada			160 nástříků	Program umožní použít kapilární sadu na více než 160 nástříků. Společnost Applied Biosystems však ověřila funkčnost sad na max. 160 nástříků.

‡ Spotřeba polymeru je sledována podle počtu vzorků – pouze pokud je v jamce vzorek, je zaznamenáno použití polymeru. Spotřeba je však zároveň sledována podle počtu nástříků bez ohledu na to, zda v jamce vzorek je či není. Limit daný počtem vzorků nemusí odpovídat limitu danému počtem nástříků. Nastavený limit podle počtu nástříků je vyšší než podle počtu vzorků.

Príklad: Balení pro 960 vzorků na 24-kapilární sadě:

Pokud při každém nástříku obsahuje každá jamka vzorek: $960/24 = 40$ nástříků.

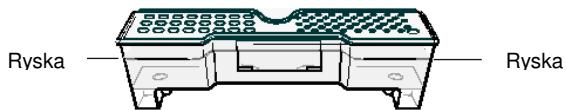
Pokud při každém nástříku neobsahuje každá jamka vzorek: $960/24 = 40$ a více nástříků, maximálně však 50 nástříků a 960 vzorků.

Váček s polymerem obsahuje nadbytečný objem pro účel jeho instalace a souvisejících kroků údržby prováděných pomocí průvodců (wizards). Pokud však počet tétoho kroků překročí určitý limit, sníží se počet vzorků, které lze analyzovat, nebo nástříků, které lze provést. Např. pokud budete odstraňovat bubliny pomocí průvodce více než čtyřikrát nebo budete provádět opakováně jiné operace údržby včetně opakovacích instalací váčku s polymerem, sníží se počet vzorků, které lze analyzovat, nebo nástříků, které lze provést..

§ Pokojovou teplotou pro polymer POP-6™ se rozumí teplota v rozsahu 15 °C až 25 °C. Trvalé používání při vyšších teplotách může vést ke kratším délkám čtení než jak je uvedeno ve specifikacích.

Kontrola zásobníků s pufrem

Zkontrolujte hladinu pufrů v zásobnících. Hladina musí být až po rysku. Ověřte těsnost zatavení zásobníků.



DŮLEŽITÉ! Zásobník nepoužívejte, pokud je hladina příliš nízká nebo zásobník netěsný. Hladina musí být minimálně po rysku a těsnění neporušené.

Výměna reagencií a spotřebního materiálu

Podle potřeby proveděte tyto kroky:

- [“Doplňení polymeru” na straně 245.](#)
- [“Změna typu polymeru” na straně 247.](#)

DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s polymerem, kapilární sadou, septy nebo zásobníkem na katodový pufr používejte rukavice.

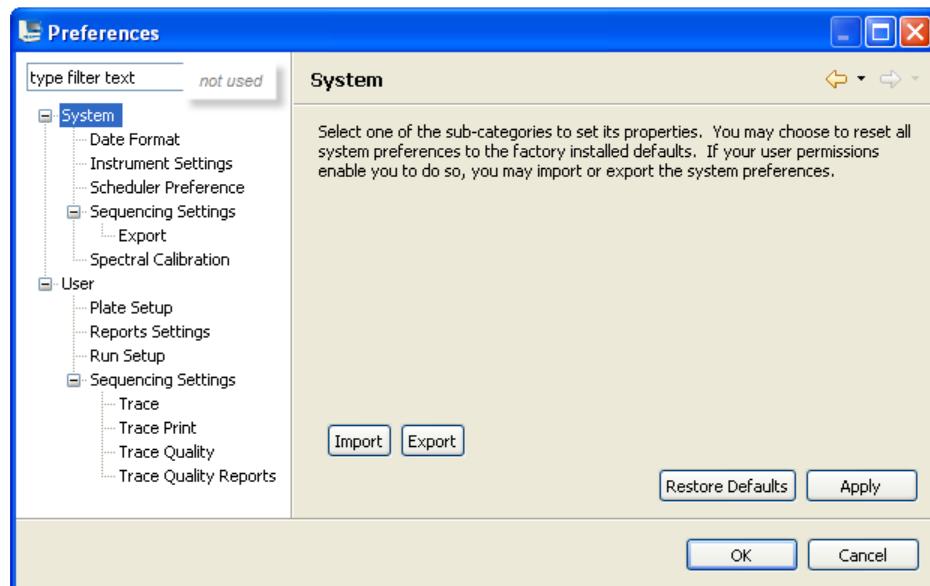
- [“Výměna zásobníku na anodový pufr” na straně 237.](#)
- [“Výměna zásobníku na katodový pufr” na straně 238.](#)
- [“Plnění kapilární sady čerstvým polymerem” na straně 251.](#)
- [“Výměna kapilárních sad” na straně 252.](#)

Pokračujte podle pokynů v [Kapitole 3 “Zadání a spuštění”](#) na straně 41.

Nastavení

Přehled

Nastavení (Preferences) jsou předvolená nastavení, která lze definovat po kliknutí na Preferences v nástrojové liště. Provedení těchto nastavení je volitelné.



Poznámka: Pole "type filter text" vlevo nahoře v okně Preferences se nepoužívá.

Nastavení systému (System preferences)

Následující nastavení se vztahují na všechny uživatele:

- Date format - Formát data
- Instrument settings (Instrument name) – Nastavení (název) přístroje
- Scheduler preference – Interval připomenutí kroků údržby
- Sequencing export settings – Formát exportu výsledků sekvenování
- Spectral calibration – Spektrální kalibrace (definice počtu kapilár, které mohou při spektrální kalibraci selhat)

Uživatelská nastavení

Pokud není součástí vašeho systému modul SAE, vztahují se tato nastavení na všechny uživatele, pokud je modul SAE součástí vašeho systému, pak si každý uživatel definuje své nastavení:

Poznámka: Více informací o modulu SAE naleznete v Kapitole 7 “Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)” na straně 197.

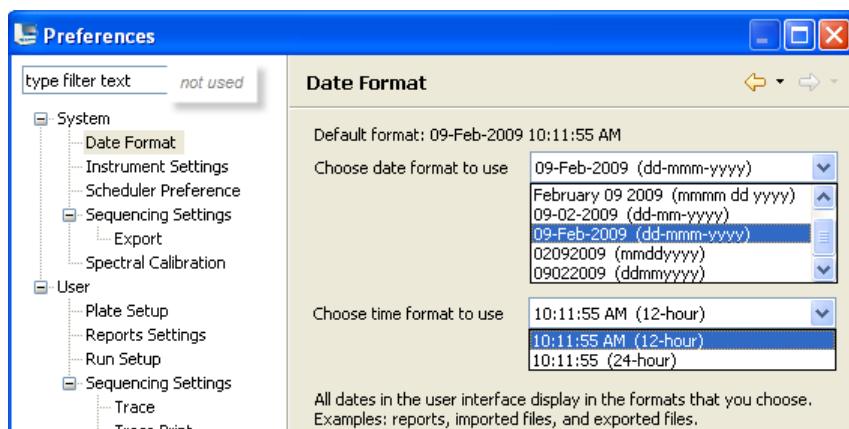
- Plate setup – Zadání destičky
- Reports settings – Nastavení zpráv
- Run setup – Zadání běhu
- Sequencing – Zobrazení a zprávy při provádění sekvenování

Obecná nastavení

Nastavení systému

1. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte:

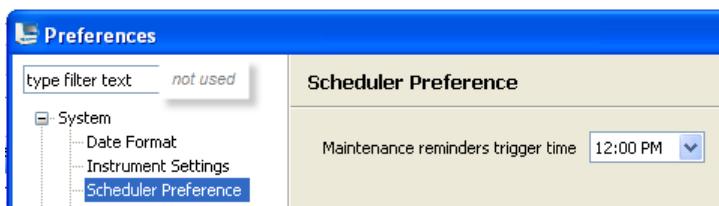
- **Date Format** (Formát data), chcete-li definovat způsob zobrazení data a času.



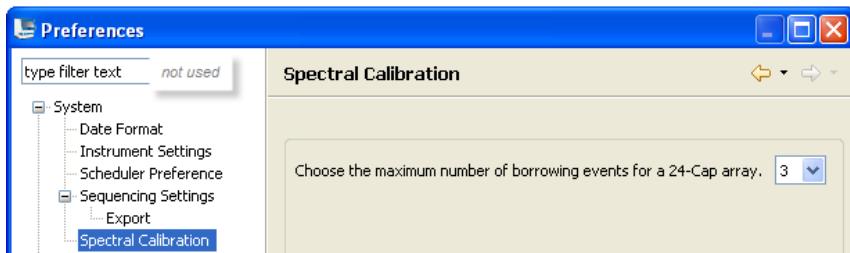
- **Instrument Settings** (Nastavení přístroje), chcete-li zadat název přístroje (zobrazuje se na Ovládacím panelu, ve zprávách, může být součástí názvů souborů, při zobrazení výsledků sekvenování).



- **Scheduler Preference** (Interval připomenutí kroků údržby), chcete-li nastavit v jakém intervalu se mají předem zobrazovat připomínky k provedení kroků údržby v Ovládacím panelu (viz „Pokyny k údržbě“ na straně 28).



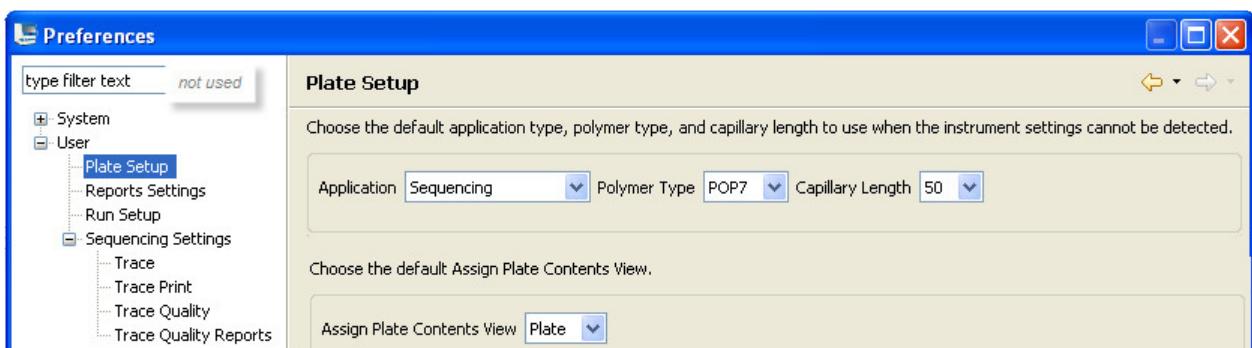
- **Spectral Calibration** (Spektrální kalibrace), chcete-li změnit počet kapilár, které mohou při spektrální kalibraci selhat (lze si pro ně tzv. "vypůjčit" výsledek kalibrace ze sousední kapiláry) (viz „Co se děje během spektrální kalibrace“ na straně 112).



2. Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz „Nastavení systému (System Preferences)“ na straně 32).

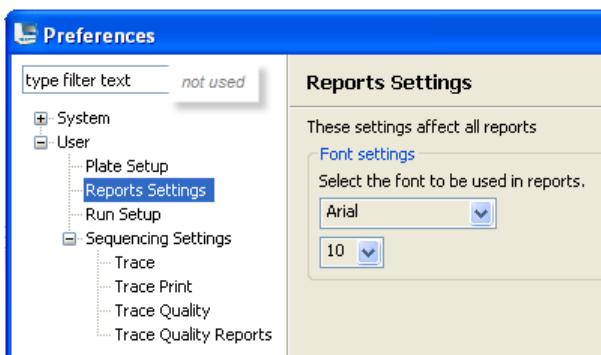
Uživatelská nastavení

1. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte:
 - **Plate setup**, chcete-li definovat výchozí nastavení pro:
 - Typ destičky a další parametry pro její zadání.
 - Typ destičky v dialogovém okně Open Plate (Otevřít destičku).



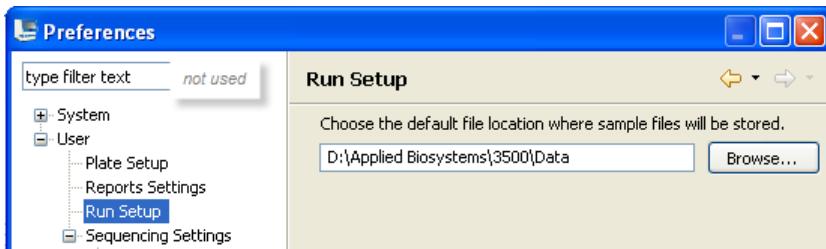
- **Reports settings** (Nastavení zpráv), chcete-li definovat používané výchozí typy písma a jeho velikost.

Poznámka: Toto nastavení lze pro každou jednotlivou zprávu později upravit.



- **Run Setup** (Zadání běhu), chcete-li nastavit výchozí adresář pro datové soubory (výsledky) v definici pojmenování souborů a v definici tzv. výsledkové skupiny.

Poznámka: Toto nastavení lze později upravit.



2. Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz „Uživatelská nastavení“ na straně 33).

Uživatelská nastavení tabulek a grafů

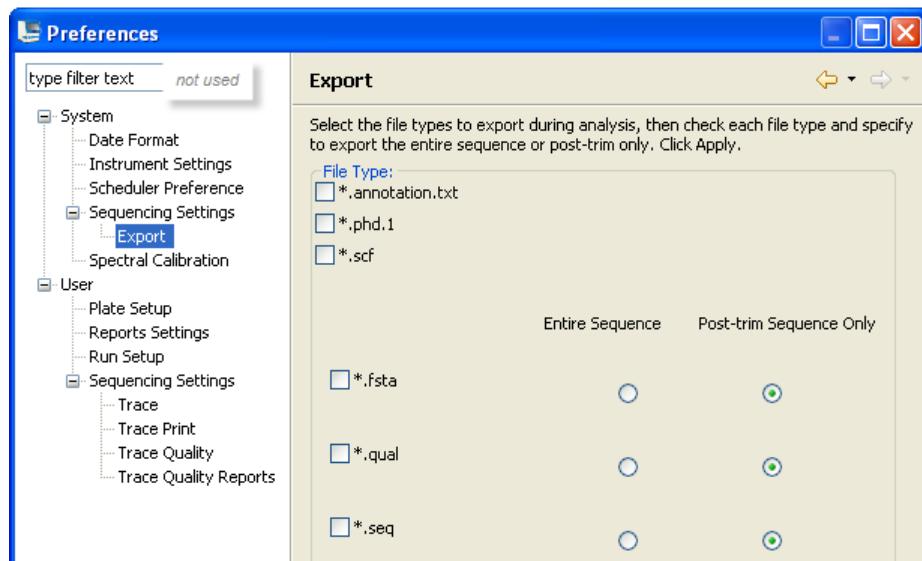
Uživatelé rovněž mohou uložit výchozí nastavení zobrazování tabulek a grafů:

- **Table settings (Nastavení tabulek)** – Určuje, které sloupečky se zobrazují v tabulkách a jejich pořadí.
- **Plot settings (Nastavení grafů)** – Určuje výchozí způsob zobrazení grafů.

Zobrazení a zprávy při analýze výsledků sekvenování

Export (nastavení systému) Nastavením parametrů exportu lze ovlivnit formát souborů automaticky exportovaných během analýzy výsledků sekvenování. Exportované soubory se ukládají ve stejném adresáři jako soubory typu .ab1.

1. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte **Export (System Sequencing)**.



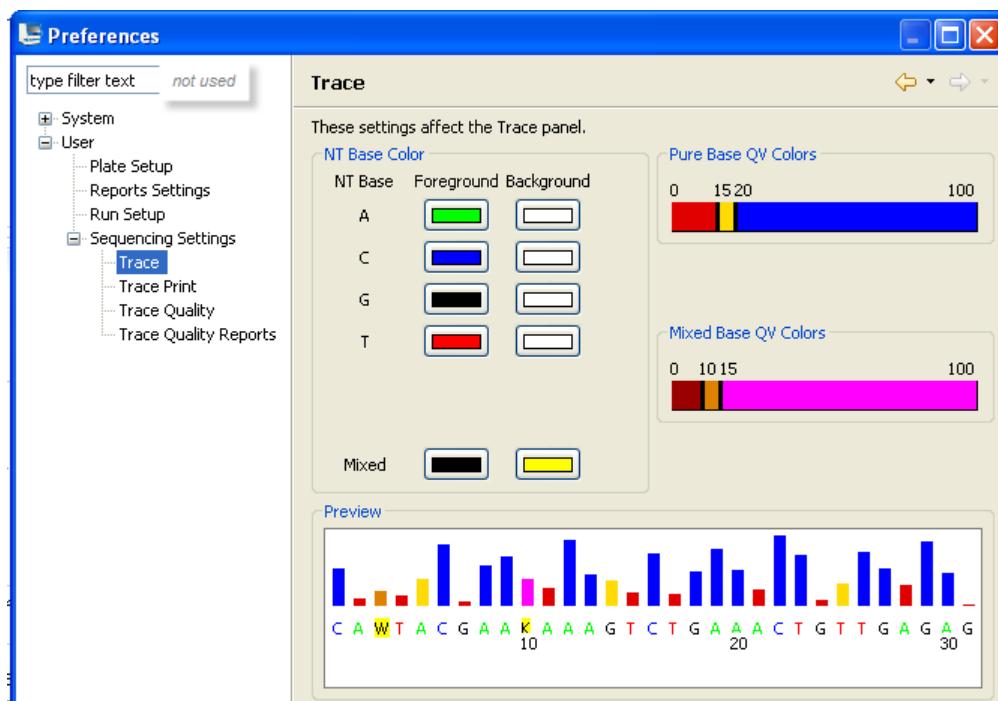
2. Zvolte typ exportovaného souboru. Exportované soubory se ukládají ve stejném adresáři jako soubory typu .ab1.

Typ souboru	Popis
*.annotation.txt	Informace ze záložky Annotation, např. doba snímání dat, časové údaje o začátku a konci běhu
*.phd.1, *.scf	Výsledky sekvenování v jiných formátech
*.fsta, *.qual, *.seq	Zjištěná sekvence – buď celá nebo zkrácená (Post-trim)

3. Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz „**Nastavení systému (System Preferences)**“ na straně 32).

Chromatogram (uživatelské nastavení) Nastavení zobrazení chromatogramu (trace) umožňuje navolit výchozí parametry zobrazení barev pro jednotlivé nukleotidy a ukazatelů kvality při zobrazování výsledků sekvenování.

1. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte v části User > Sequencing settings možnost **Trace (Chromatogram)**.



2. Nastavte následující parametry:

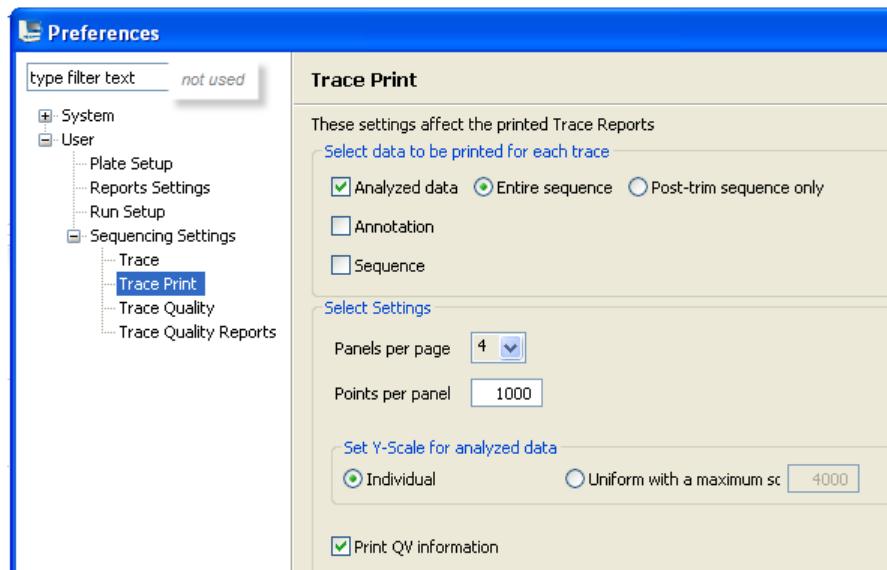
Nastavení	Popis
NT base color – barevné zobrazení nukleotidů	Zvolte barvu popředí (Foreground) a pozadí (Background) kliknutím na barevný obdélníček.
Pure Base and Mixed Base QV Colors – zobrazení ukazatelů kvality pro čisté a smíšené báze	<p>Nastavte barvy a rozsahy pro ukazatele kvality (Quality Values – QV) čistých a smíšených bází, je doporučeno ponechat přednastavené parametry:</p> <ol style="list-style-type: none"> Klikněte na příslušný barevný obdélníček a zvolte novou barvu. Chytněte posuvník myší a tažením jej posuňte. <p>Společnost Applied Biosystems doporučuje následující nastavení ukazatelů kvality:</p> <ul style="list-style-type: none"> Čisté báze (Pure bases): Nízká hodnota QV ≤ 15, Střední hodnota QV = 15 až 19, Vysoká hodnota QV = 20+ (přednastaveno) Smíšené báze: Nízká hodnota QV ≤ 5, Střední hodnota QV = 5 až 10, Vysoká hodnota QV > 10 (optimalizujte nastavení podle vašich výsledků)

3. Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz „Uživatelská nastavení“ na straně 34).

Tisk chromatogramu (uživatelské nastavení)

Pro tisk chromatogramu lze definovat výchozí parametry.

1. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte v části User > Sequencing settings možnost **Trace Print (Tisk chromatogramu)**.



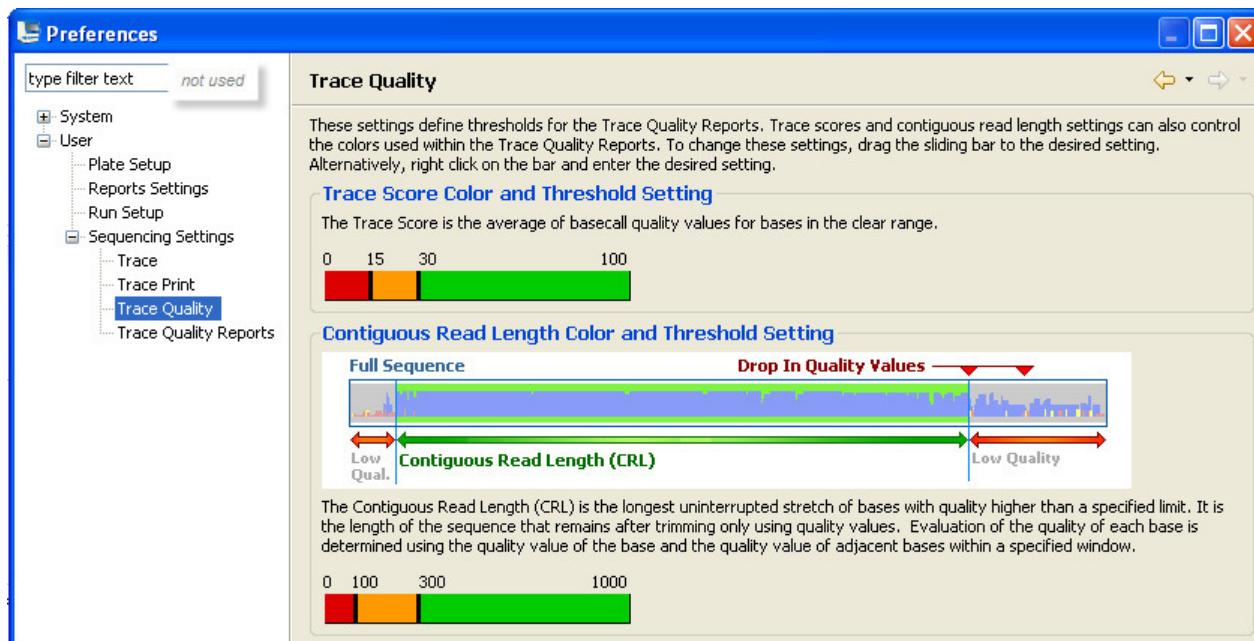
2. Definujte co chcete tisknout, nastavení tisku a škálu osy y (Y-Scale).
3. Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz "[Uživatelská nastavení](#)" na straně 34).

Kvalita chromatogramu (uživatelské nastavení)

Pro účel zprávy o kvalitě výsledků (QC report) a zprávy o destičce (Plate report) definujte rozsah ukazatelů pro zhodnocení kvality chromatogramu:

- **QC report** – Trace Score (Skóre chromatogramu) a parametr CRL
- **Plate report** – Trace Score (Skóre chromatogramu)

1. V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte v části User > Sequencing settings možnost **Trace Quality (Kvalita chromatogramu)**.



2. Definujte barvy a rozsahy:

- Kliknutím na barvu zvolíte jinou.
- Chytněte posuvník myší a tažením jej posuňte.

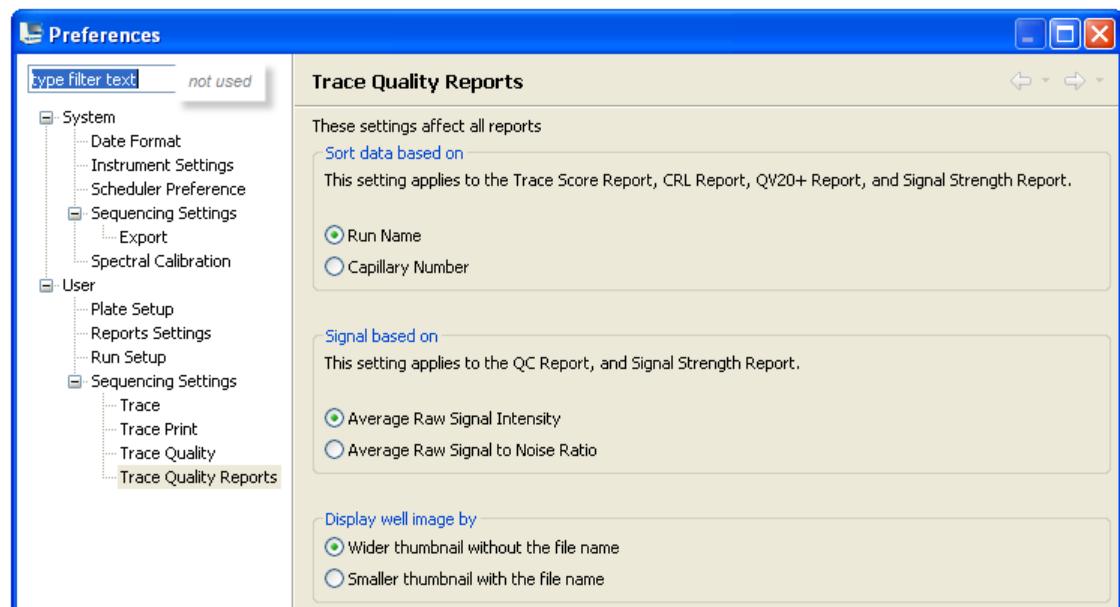


- Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz "Uživatelská nastavení" na straně 32).

Zpráva o kvalitě chromatogramu (uživatelské nastavení)

V nastavení zpráv o kvalitě chromatogramu určíte obsah a formátování zprávy o kvalitě výsledků (QC report), zprávy o destičce (Plate report) a dalších zpráv.

- V dialogovém okně Preferences (Nastavení) zvolte v části User > Sequencing settings možnost **Trace Quality Report (Zpráva o kvalitě chromatogramu)**.



2. Nastavte následující parametry.:

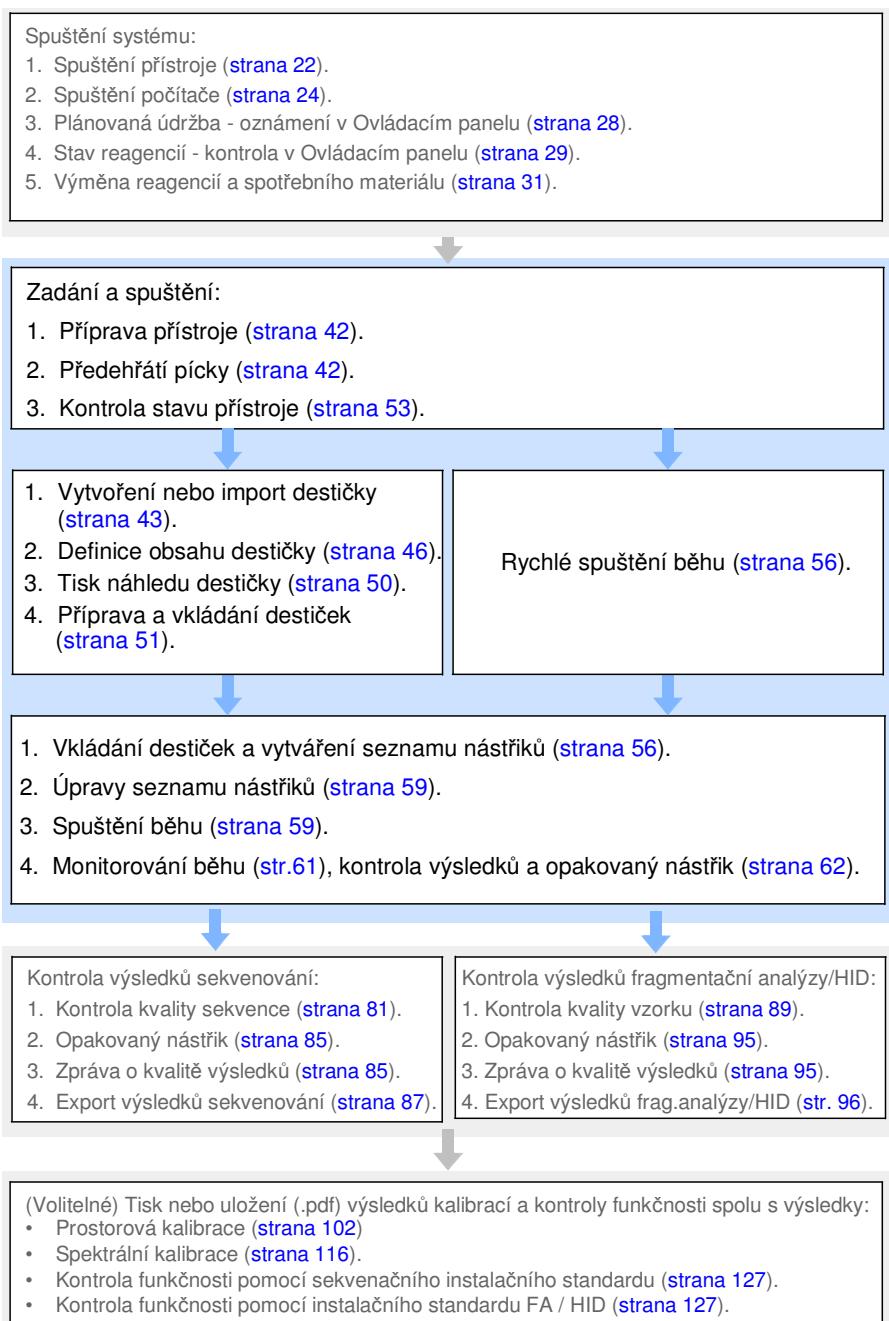
Nastavení	Popis
Sort data (Třídění dat)	Ve zprávách typu Trace Score, CRL, QV20+ a Signal Strength se data řadí podle: <ul style="list-style-type: none"> • Názvu běhu • Čísla kapiláry
Signal based on (Odečet signálu podle)	Odečet signálu ve zprávách typu QC a Signal Strength je podle: <ul style="list-style-type: none"> • Průměrné intenzity signálu (hrubá data) • Průměrného poměru signál:pozadí (hrubá data)
Display well image by (Zobrazení jamek podle)	Ve zprávě o destičce se náhled zobrazí: <ul style="list-style-type: none"> • Široký náhled bez názvu souboru • Užší náhled s názvem souboru

3. Klikněte na **Apply (Použít)** čímž vaše nastavení uložíte (viz „Uživatelská nastavení“ na straně 34).

3

Zadání a spuštění

Pracovní postup



Příprava přístroje

1. V Ovládacím panelu zkontrolujte stav reagencií ([strana 29](#)). Ujistěte se, že:
 - Reagencie nejsou prošlé.
 - Hladina pufrů je po plnící rysku.
2. Nastavte teplotu pácky a klikněte na **Start Pre-heat (Spustit předehřívání)**:
 - 60 °C pro polymery POP-7™ a POP-4™
 - 50 °C pro polymer POP-6™Pácka a detekční blok se předehřejí zatímco budete připravovat běh (teplota detekčního bloku je nastavena automaticky). Předehřátí eliminuje jemné fluktuace v rychlosti migrace fragmentů během prvního běhu. Vytápení pácky se vypne automaticky pokud není přístroj po 2 hodiny v provozu.
Je-li přístroj studený, doporučuje společnost Applied Biosystems předehřátí pácky po dobu nejméně 30 min před spuštěním běhu.
3. Ověřte, že v systému nejsou bubliny a v případě potřeby je odstraňte pomocí průvodce odstraněním bublin (tzv. Remove Bubble wizard - viz [strana 251](#)).

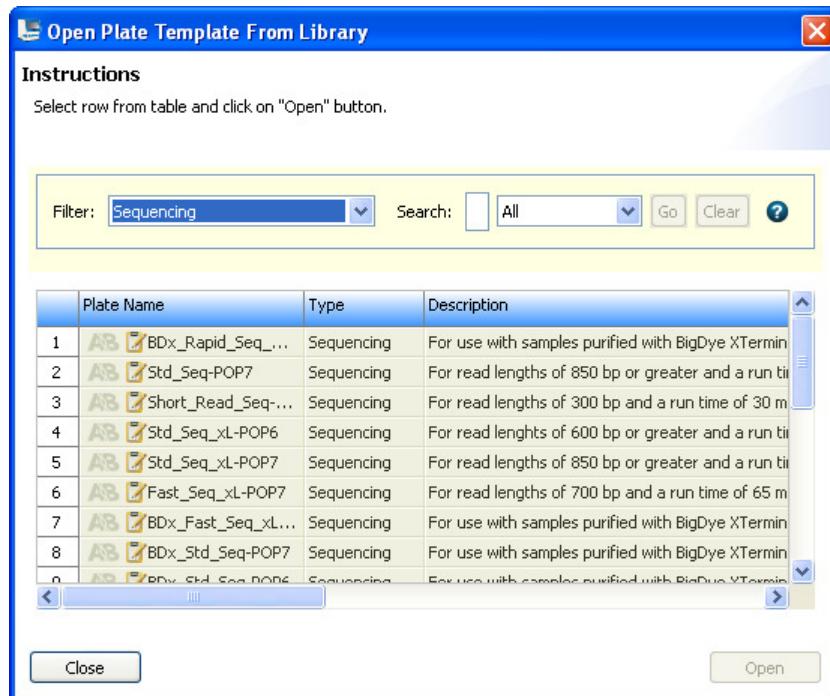
Zadání destičky

Poznámka: Pokud používáte program 3500 Series Data Collection na počítači, který není připojen k přístroji, můžete vytvořit zadání destičky a následně je exportovat na počítač používaný k ovládání přístroje.

Zadání destičky pomocí templátu

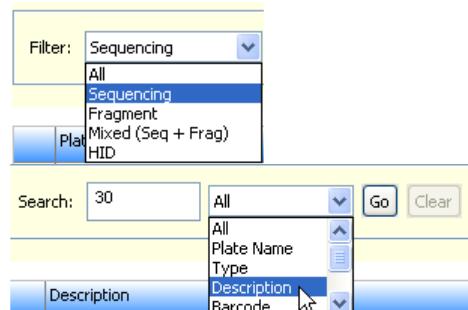
Součástí programu jsou templáty pro zadání destičky (instalují se spolu s programem), které lze použít jako výchozí bod pro zadání destičky (můžete si rovněž vytvořit vlastní templáty). Kromě již nastavených parametrů může být součástí templátu i seznam příslušných esejí, nastavení pro vytváření názvů souborů a adresářů a výsledkové skupiny. Více informací viz [“Templát zadání destičky” na straně 75](#).

1. V Ovládacím panelu zvolte **Create Plate From Template (Zadat destičku pomocí templátu)**, zobrazí se dialogové okno Open Plate Template from Library (Otevřít templát destičky z knihovny).



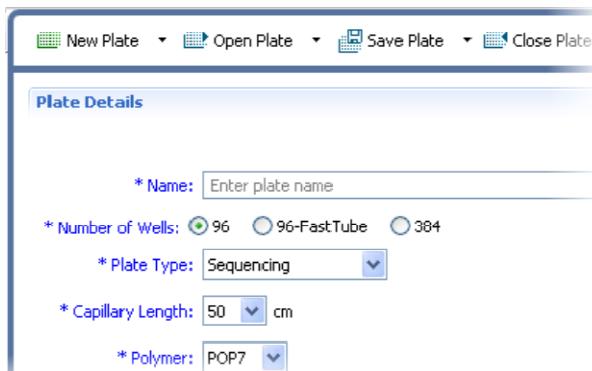
2. (Volitelné) Vyberte (Filter) templáty:

- a. Zvolte typ templátu.



Poznámka: Výchozí typ templátu v tomto filtru lze navolit v Nastavení (Preferences). Viz "["Předvolený typ destičky"](#) na straně 76.

- b. Vyhledejte templát, zadejte hledaný text, poté klikněte **Go (Hledat)**. (Po kliknutí na **Clear (Smazat)** smažete zadaný text a můžete zadat jiný).
3. Zvolte templát a klikněte na **Open (Otevřít)**.
4. V okně Define Plate Properties (Vlastnosti destičky) zvolte typ destičky.



- **96** – pro 96-jamkové standardní destičky. Při použití vhodného adaptéra lze použít i zkumavky ve stripech po osmi.
 - **96-Fast Tube** – pro 96-jamkové destičky typu Fast. Při použití vhodného adaptéra lze použít i zkumavky typu fast ve stripech po osmi.
5. Nastavte další vlastnosti destičky a klikněte na **Save (Uložit)**.
6. Klikněte na **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)**, pokračujte v části "["Definice obsahu destičky"](#) na straně 46.

Import zadání
destičky

1. Proveďte jeden z následujících kroků:

- Vytvořte zadání destičky na jiném počítači v programu 3500 Series Data Collection a exportujte zadání (viz "["Import a export zadání destičky"](#) na straně 75).
- Vytvořte základní zadání destičky (viz "["Zadání destičky"](#) na straně 74).

2. Otevřete obrazovku Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky): klikněte na šípku **Main workflow (Hlavní postup práce)** ← v Ovládacím panelu a poté zvolte **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** v navigační liště.
3. Klikněte na  **Import**, vyberte soubor, který chcete importovat.
4. Klikněte na **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)**.



Definice obsahu destičky

Před spuštěním destičky zadáte pro jednotlivé její jamky následující údaje:

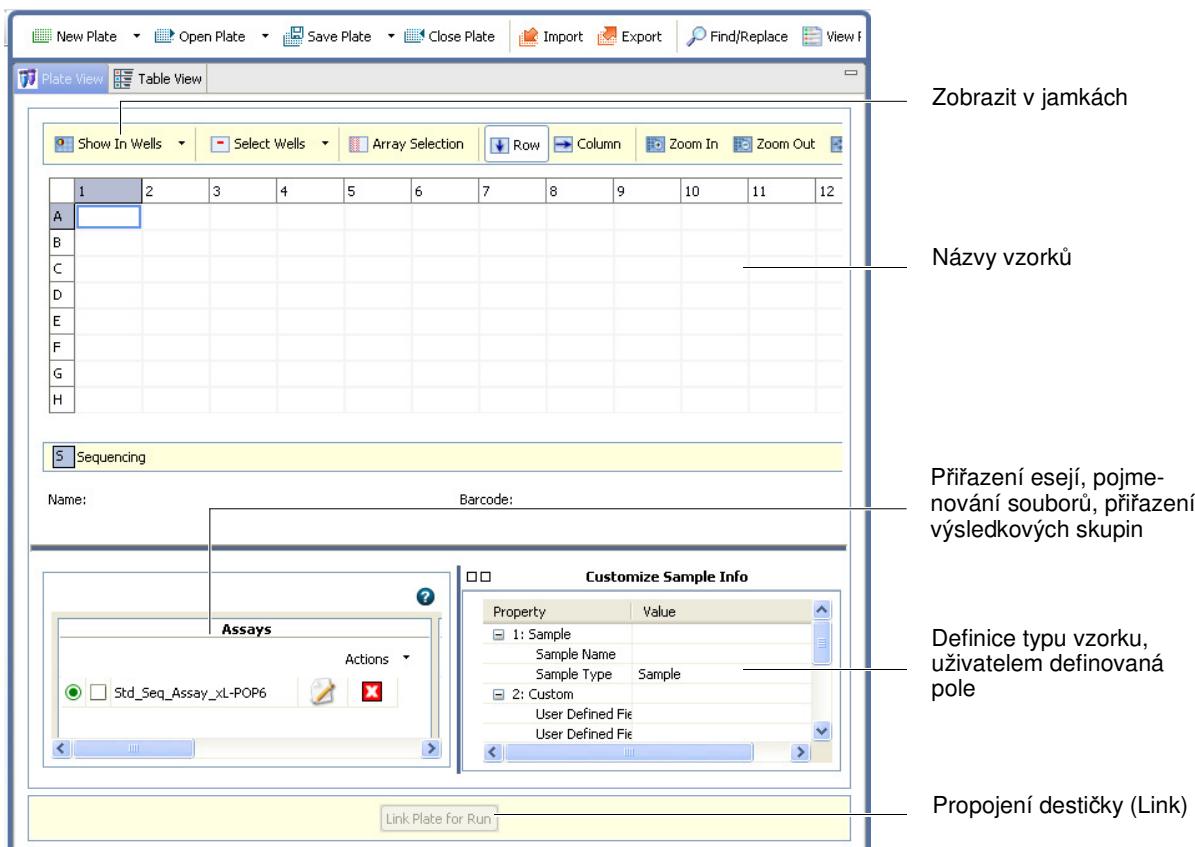
- **Názvy a typy vzorků** (povinné) – Pro každý vzorek definujete jeho pozici v destičce.
- **Esej** (povinné) – Definujete určující parametry sběru dat a primární analýzy (odečet bází nebo velikostí fragmentů). Je-li pro jamku destičky specifikován název vzorku, musí být zvolena i esej. Více informací o esejích naleznete v části „Knihovna esejí“ na straně 147.
- **Pojmenování souborů** (Volitelné) – Určujete jak budou pojmenovány soubory. Více informací naleznete v části „Knihovna pro definice pojmenování souborů“ na straně 151.
- **Výsledková skupina** (Volitelné) – Určujete umístění souborů. Více informací naleznete v části „Knihovna výsledkových skupin“ na straně 155.

Dříve než
definujete
obsah destičky

1. Otevřete obrazovku Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) ([Obrázek 5 na straně 47](#)) z:
 - Obrazovky Define Plate Properties (Vlastnosti destičky) kliknutím na **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** (dle popisu výše).
 - Navigační lišty kliknutím na **Assign Plate Contents**.
 - Ovládacího panelu kliknutím na šipku **Main workflow (Hlavní postup práce)** ↪ a zvolením **Assign Plate Contents**.
2. Zadání destičky. Postupujte podle jedné z následujících možností:
 - „[Vytvoření nové destičky](#)“ na straně 144
 - „[Zadání destičky pomocí templátu](#)“ na straně 43
 - „[Import zadání destičky](#)“ na straně 44
 - Nebo zvolte **Open Plate > Edit Existing Plate** (Otevřít destičku > Upravit)
3. Klikněte na pole **Show In Wells (Zobrazit v jamkách)**, kde můžete definovat, jaké údaje se zobrazují v náhledu destičky.

Na [obrázku 5 na straně 47](#) je náhled na vyobrazení destičky.





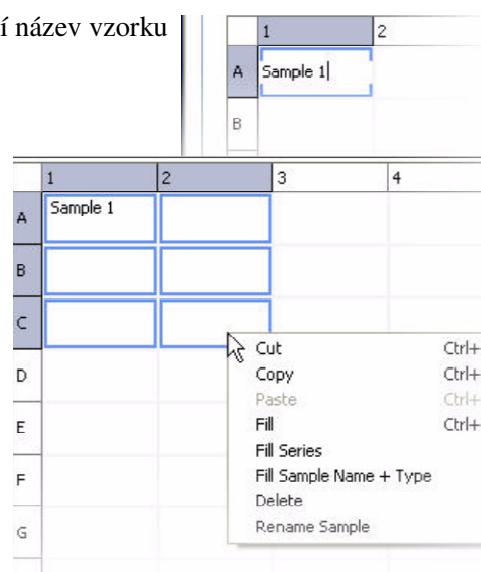
Obrázek 5 Náhled na vyobrazení destičky

Pojmenování a určení typu vzorku

V této části naleznete popis jednoho možného způsobu jak pojmenovat vzorky a určit jejich typ. Další možnosti provedení těchto úkonů jsou popsány v části „[Vyobrazení destičky - možnosti](#)“ na straně 70 a „[Vyobrazení tabulky - možnosti](#)“ na straně 71.

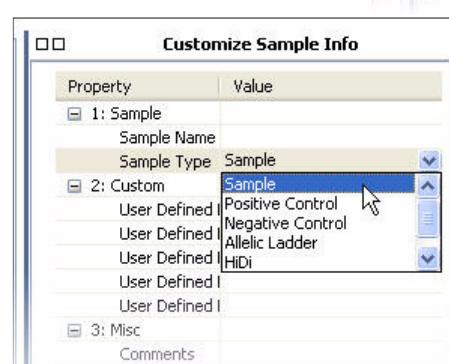
Postup

- Kliknutím zvolte jamku, napište do ní název vzorku a potvrďte **Enter**.



- Kliknutím a tažením myší zvolte více jamek.
- Klikněte pravým tlačítkem myši a zvolte **Fill (Vyplnit)** nebo **Fill Series (Vyplnit sérii)**. Pro použití možnosti Fill Series musí být poslední vepsaný znak v názvu vzorku číslice.
Názvy vzorků lze rovněž kopírovat a vkládat do dalších jamek.

- V pravé dolní části obrazovky **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** zvolte panel **Customize Sample Info** (Další informace o vzorcích).
- Kliknutím a tažením myší zvolte požadované jamky ve vyobrazení destičky.
- Definujte typ vzorku (Sample Type) a potvrďte klávesou **Enter**.
- (Volitelné) Zadejte další libovolné vámi požadované údaje o vzorcích do polí User Defined Fields a Comments. Informace v polích User Defined Fields se zobrazují pouze v tabulce (Table View).



8. (Volitelné) Při sekvenování zadejte amplikon a specimen (jedinec).
9. Definujte typ vzorku (Sample Type) pro všechny pojmenované jamky.
10. Pokračujte v části „Esej, pojmenování souborů a výsledková skupina“ na straně 49.

Property	Value
1: Sample	
Sample Name	
Sample Type	Sample
2: Custom	
User Defined Field 1	
User Defined Field 2	
User Defined Field 3	
User Defined Field 4	
User Defined Field 5	
3: Analysis	
Amplicon	
Specimen	
4: Misc	

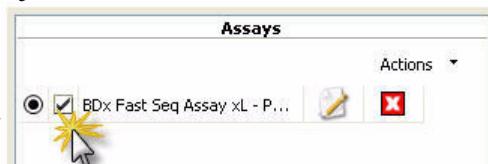
Poznámka: Pro aplikace typu HID zahrňte označení jamky do názvu vzorku – alelického žebříku. Toto označení je nutné, aby bylo možné identifikovat jamku, v níž je alelický žebřík, pro účel opakovaného nástřiku.

Esej, pojmenování souborů a výsledková skupina

Poznámka: Není-li esej, definice pojmenování souborů nebo výsledková skupina při zadání destičky k dispozici, postupujte podle pokynů v části „Přidání esejí, definice pojmenování souborů a výsledkových skupin do definice destičky“ na straně 73.

1. Zvolte jamky, jimž chcete přiřadit esej.
2. Zatrhněte čtvereček vlevo od názvu eseje.

Poznámka: Pro účel normalizace výsledků fragmentační analýzy nebo HID zvolte esej s definovaným protokolem pro odečet velikostí fragmentů (sizecalling protocol) nebo protokol kontroly kvality (QC protocol) s velikostním standardem umožňujícím normalizaci.



3. (Volitelné) Opakujte tyto kroky i pro definici pojmenování souborů (file name conventions) a výsledkovou skupinu (results group).

File Name Conventions	Actions	Results Groups	Actions
<input checked="" type="checkbox"/> My FNC		<input checked="" type="checkbox"/> My Sequencing Results Gro...	

4. Zvolte **Save Plate (Uložit destičku)**.
5. Pokračujte v části „Tisk náhledu destičky“ na straně 50.

Kam se ukládají soubory s výsledky

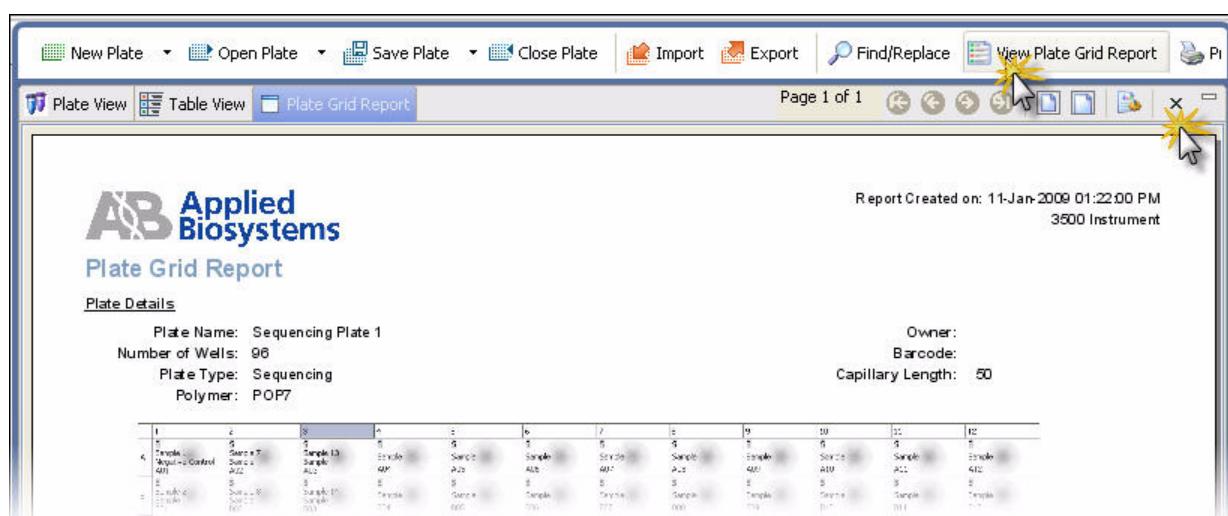
Pokud nezvolíte možnost pojmenování souborů (file name convention), budou datové soubory pojmenovány podle formátu: <název vzorku>_<jamka>.

Pokud nezvolíte výsledkovou skupinu, budou soubory ukládány podle nastavení v definici pojmenování souborů (file name convention) nebo v Preferences (Nastavení) > User (Uživatel) > Run (Běh) (viz "[Uživatelská nastavení](#)" na straně 34).

Definujete-li jak možnost pojmenování souborů (file name convention) tak výsledkovou skupinu (results group), budou soubory s výsledky uloženy podle nastavení ve výsledkové skupině.

Tisk náhledu destičky

1. Na obrazovce Assign Plates for Run klikněte na **View Plate Grid Report (Zobrazení náhledu destičky)**.



Poznámka: Náhled 384-jamkové destičky se zobrazuje ve čtyřech kvadrantech na čtyřech stranách.

2. Zvolte **Print Preview (Náhled tisku)** nebo **Print (Tisk)**.
3. Chcete-li náhled tisknout / uložit ve formátu .pdf, zvolte pro tisk tiskárnu **CutePDF Writer**.
4. Zavřete okno.
5. Pokračujte v části "[Příprava a vkládání destiček](#)" na straně 51.

Příprava a vkládání destiček

DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte deformované nebo poškozené destičky .

Mapy destiček

Níže jsou vyobrazeny tzv. mapy destiček – náhled na to, do jakých kapilár jsou injikovány vzorky z jakých jamek a v jakém pořadí. Změňte-li pořadí nástříků v seznamu nástříků (injection list), mapy budou odlišné.

- **96** – pro 96-jamkové standardní destičky. Při použití vhodného adaptéra lze použít i zkumavky ve stripech po osmi.
- **96-Fast Tube** – pro 96-jamkové destičky typu Fast. Při použití vhodného adaptéra lze použít i zkumavky typu fast ve stripech po osmi.

8-kapilární: 96-jamková destička

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	Cap	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
C	3...	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
D	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
E	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
F	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
G	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

8-kapilární: 384-jamková destička

Není k dispozici na přístroji 3500 Dx (8-kapilární)

	1	2	3	4	5
A	Cap	1	2	3	4
B	2	3	4	5	2
C	4	3	5	3	6...
n	2	4	2	4	2

24-kapilární: 96-jamková destička

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4	4	4
	Cap	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	2	3	4	5	6...	2	2	2	3	3	3	4
C	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
D	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
E	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
F	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
G	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
H	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4

24-kapilární: 384-jamková destička

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
B	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
C	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
D	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
E	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
F	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
G	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
H	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
I	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
J	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
K	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
L	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
M	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
N	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16
O	1	3	1	3	1	3	5	7	5	7	5	7	9	11	9	11	9	11	13	15	13	15	13	15
P	2	4	2	4	2	4	6	8	6	8	6	8	10	12	10	12	10	12	14	16	14	16	14	16

Alelický žebřík - požadavky

Společnost Applied Biosystems doporučuje injekci alelického žebříku jednou na každých 24 vzorků:

- **8-kapilární přístroje** – Jeden nástřík alelického žebříku během 3 injekcí
- **24-kapilární přístroje** – Jeden nástřík alelického žebříku při každé injekci

Pro přesnou genotypizaci vzorků v programu sekundární analýzy (GeneMapper® ID-X v1.2 nebo vyšší) musí být nástřík alelického žebříku proveden za identických podmínek.

DŮLEŽITÉ! Změna teploty v laboratoři může způsobit změnu rychlosti pohybu fragmentů, a to může vést k variabilitě zjištěné velikosti fragmentů (sizing).

Společnost Applied Biosystems doporučuje shora uvedenou frekvenci provedené nástříků alelického žebříku, díky níž je eliminována běžná variabilita rychlosti pohybu fragmentů. V případě interních validací HID metod ověřte požadovanou frekvenci nástříků alelického žebříku, abyste získali přesné výsledky genotypování pro všechny vzorky a za podmínek existujících ve vaší laboratoři.

Výsledková skupina s jedním alelickým žebříkem v adresáři

Pro 24-kapilární přístroj vytvořte výsledkovou skupinu určující adresář pro daný nástřík a poté zvolte tuto výsledkovou skupinu pro všechny nástříky z dané destičky.

Pro 8-kapilární přístroj vytvořte jednu výsledkovou skupinu pro každý soubor tří nástříků z destičky. Více informací viz „[Výsledková skupina – příklad 2: jak uložit jeden alelický žebřík v jednom adresáři \(8- kapilární přístroje\)](#)“ na straně 161.

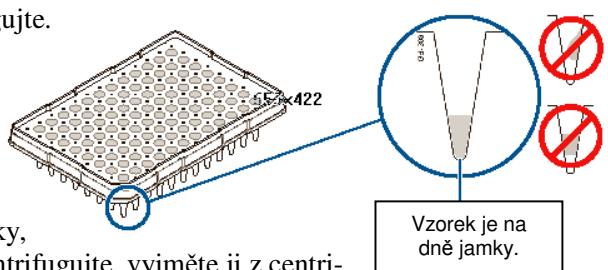
Příprava destiček se vzorky

1. Pipetujte vzorky do destičky dle zvoleného schématu (viz „[Tisk náhledu destičky](#)“ na straně 50).

2. Destičku krátce centrifugujte.

3. Ověřte, že tekutina je vždy na dně jamky.

DŮLEŽITÉ! Jsou-li v jamkách bubliny nebo tekutina není na dně jamky, destičku znova krátce centrifugujte, vyjměte ji z centrifugy a znova ověřte.

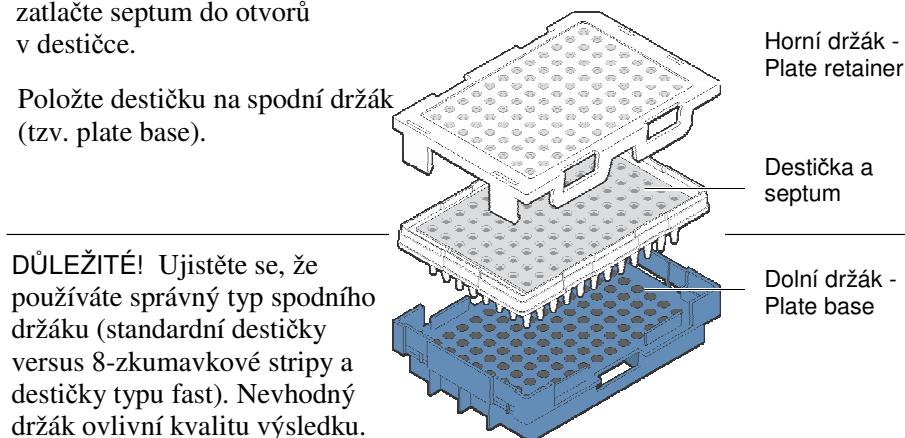


4. Dokud nevložíte destičku do držáků a následně do přístroje, držte ji na ledu.

Destička a držáky

DŮLEŽITÉ! Destičku vkládejte do držáků na rovném a čistém pracovním stole. Destičky, které jsou uzavřeny septem, nezahřívejte.

1. Otvory v septu a v jamkách srovnejte do zákrytu, poté zatlačte septum do otvorů v destičce.
2. Položte destičku na spodní držák (tzv. plate base).



DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že používáte správný typ spodního držáku (standardní destičky versus 8-zkumavkové stripy a destičky typu fast). Nevhodný držák ovlivní kvalitu výsledku.

3. Uchytěte destičku k dolnímu držáku pomocí horního držáku (plate retainer).
4. Ověrte, že jsou otvory horního držáku a septa v zákrytu. Pokud ne, rozeberte destičku a držáky a sestavte je znova.

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

Vložení destičky do přístroje

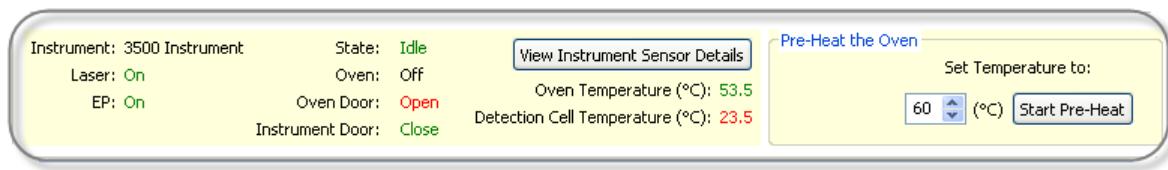
1. Umístěte destičku na autosampler označením vpřed (ke dveřím přístroje) a šikmým rohem do šikmého vybrání autosampleru.
2. Zavřete dveře přístroje.



Kontrola stavu přístroje

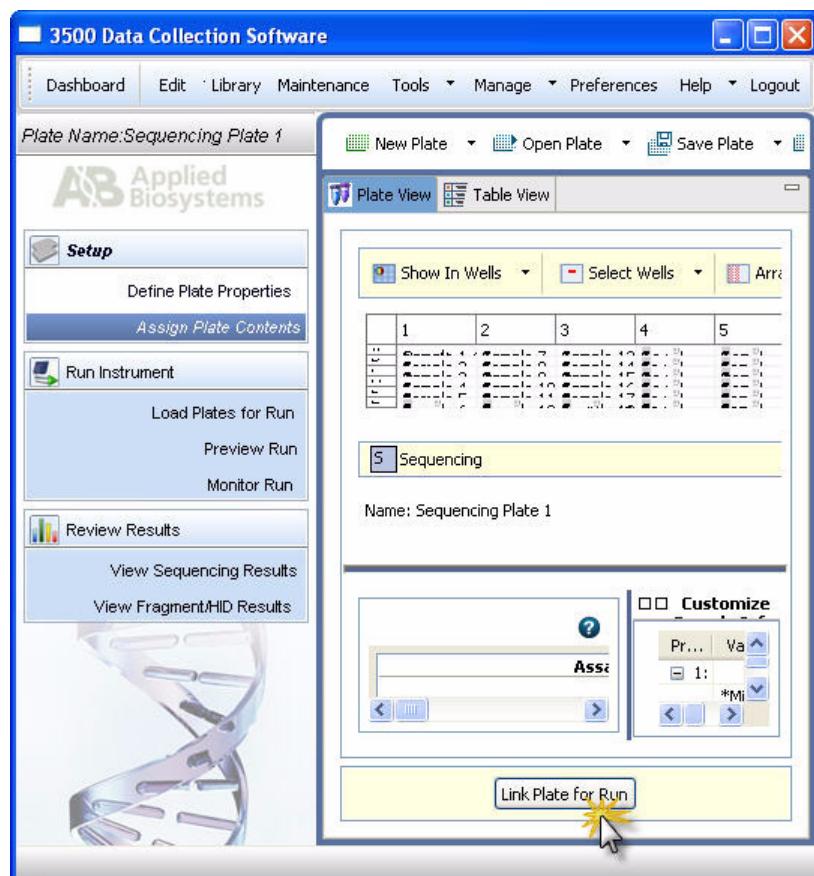
Zkontrolujte stav přístroje v Ovládacím panelu. Dochází-li k náběhu teplot, jsou údaje o nich zobrazovány červeně. Dosáhnou-li teploty nastavených hodnot, jsou zobrazeny zeleně. Během stabilizace teplot může docházet k jejich drobným výkyvům.

Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste zapnuli vyhřívání pícky nejméně 30 min před spuštěním běhu na studeném přístroji. Předebehřátím eliminujete možné výkyvy v rychlosti pohybu fragmentů v průběhu prvního běhu (Pokusíte-li se spustit běh v situaci, kdy jsou stavové indikátory zobrazeny červeně, spuštění nebude možné, všechny stavové indikátory musí být zelené).



Propojení destičky (funkce Link)

1. Na obrazovce Assign Plates for Run (Výběr destičky ke spuštění) klikněte na **Link Plate for Run**.



2. Pokračujte v části "Vkládání destiček a vytváření seznamu nástríků" na straně 56.

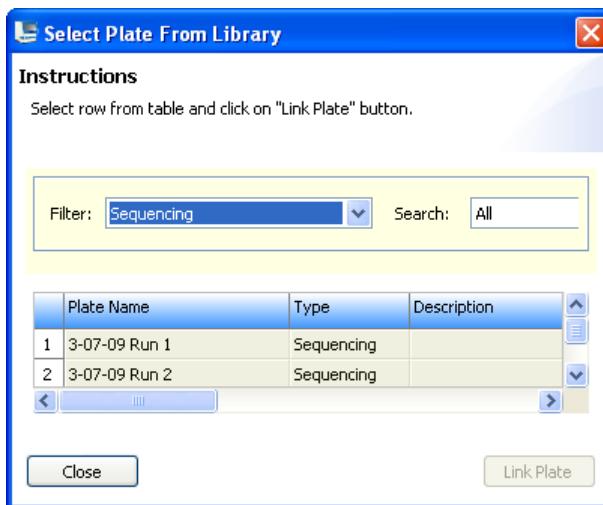
Poznámka: Přístroj volí nejprve destičku v pozici A.

Rychlé spuštění běhu

Běh lze spustit z Ovládacího panelu tak, že vyberete destičku, v níž byly vzorky již definovány.

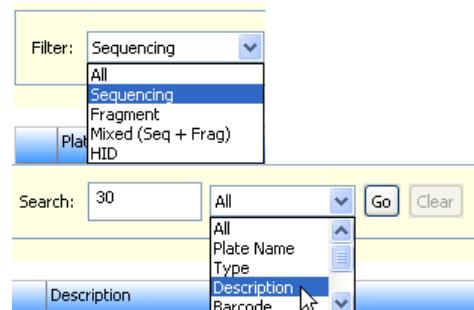
Nejprve vložte destičku do přístroje (viz „[Vložení destičky do přístroje](#)“ na straně 53).

- V Ovládacím panelu zvolte **Quick Start Run (Rychlé spuštění běhu)**, zobrazí se okno Select Plate from Library (Vyberte destičku z knihovny).



- (Volitelné) Zobrazené destičky lze třídit:

- Zvolte typ destičky (typ destičky lze přednastavit v Nastavení (Preferences), viz „[Předvolený typ destičky](#)“ na straně 76).



- Zadejte hledaný text, zvolte jaký parametr destičky má být prohledáván a kliknutím na **Go** vyhledejte požadovanou destičku. (Kliknutím na **Clear** zadaný text smažete a můžete zadat jiný).

- Zvolte destičku a klikněte na **Load Plate (Načíst destičku)**.
- Klikněte na **Start Run (Spuštít běh)**.

DŮLEŽITÉ! Po zavření dveří trvá náběh přístroje asi 10 sec. Nespuštějte běh dokud stavová dioda přístroje nesvítí zeleně.

Vkládání destiček a vytváření seznamu nástříků

Vložte destičku do přístroje (viz “[Vložení destičky do přístroje](#)” na straně 53) a propojte ji (“[Propojení destičky \(funkce Link\)](#)” na straně 54).

- Otevřete okno Load Plates for Run (Načtení destiček ke spuštění) ([Obrázek 6 na straně 56](#)):
 - z Obrazovky **Assign Plate Contents** kliknutím na **Link Plate for Run**.
 - Zvolením možnosti **Load Plates for Run** (**Načtení destiček ke spuštění**) v navigační liště.
 - z Ovládacího panelu kliknutím na šipku **Main workflow (Hlavní postup práce)** ↪ a zvolením možnosti **Load Plates for Run** v navigační liště.



Run Information
You can edit the Run Name by entering text.
Run 2009-03-08-13-28-46-903
Connection Status: Connected
User Name: Administrator

Plates on Instrument

Plate A (96 wells)	Plate B
Name: 3-09 Run 2 Type: HID	
Barcode:	

Recent Plates **Recent Runs**

Name	Date Modified
3-09 Run 2	08-Mar-200...
3-07-09 Run 2	07-Mar-200...
3-9	07-Mar-200...
test template	04-Mar-200...
test reinjections	03-Mar-200...

Consumables Information

Consumable	Name	Status	Days on Instrument	Expiration Date	Lot Number	Part Number
Polymer	POP4	384 Samples Remaining	66	01-Jan-2010 11:...	51A007	4315930
Anode Buffer	AB 300x Buffer	299 Days Remaining	66	01-Jan-2010 02:...	51-B-34007	72Y5931
Cathode Buffer	AB 300x Buffer	299 Days Remaining	66	01-Jan-2010 02:...	8751-6TH-B	CB-431A-01
Capillary Array	36cm - 24 cap	105 Injections Remaining	66	01-Jan-2010 11:...	80K005	4319899 - Serial # 80K2450

Calibration Information - Capillary Array: 80K2450

Spatial
ID: Spatial_Run 2009-03-03-14-43-32 Calibration Date: 03-Mar-2009 02:53:38 PM

Spectral
Dye Set: Chemistry Standard Calibration Date: 04-Mar-2009 08:09:26 PM Run ID: Run 2009-03-04-20-07-29-198

Create Injection List **Start Run**

Obrázek 6 Načtení destiček ke spuštění

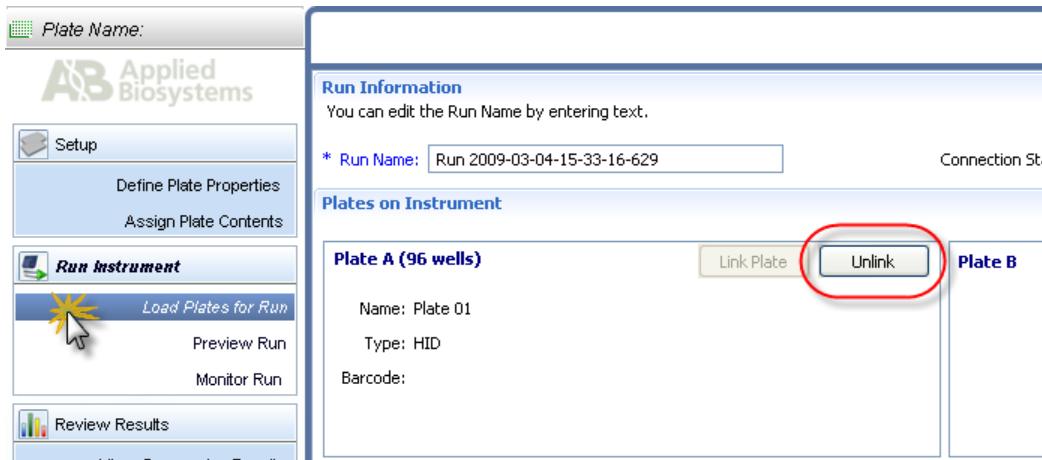
- Zkontrolujte stav spotřebního materiálu a informace o kalibracích přístroje a ujistěte se, že běh lze za dané situace spustit.

- Zadejte název běhu (Run Name) nebo použijte přednastavený název: <Start Instrument Run Date/Time Stamp> YYYY-MM-DD-hh-mm-ss-SSS (milisekundy), např. "Run 2009-02-05-15-03-42-096", kde datum spuštění běhu je 5.2.2009 a čas spuštění běhu je 15:03:42:096.

Poznámka: Běh spustíte kliknutím na Start Run (na obrazovce Load Plates for Run) a běh skončí po provedení posledního nástřiku na poslední destičce. Pokud např. propojíte (Link) dvě destičky a poté spustíte běh, jsou součástí tohoto běhu obě destičky a všechny případné opakované nástřiky. Nástřik (neboli injekce) je jednorázové zpracování/analýza 8 nebo 24 vzorků (v závislosti na typu přístroje) analyzovaných za stejných podmínek.

DŮLEŽITÉ! Po zavření dveří trvá náběh přístroje asi 10 sec. Nespoštějte běh dokud stavová dioda přístroje nesvítí zeleně.

Pokud obrazovku Load Plates for Run otevřete kliknutím na možnost Load Plates for Run na obrazovce Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) je tato destička automaticky propojena (Link) (což lze poznat i podle aktivního tlačítka Unlink).



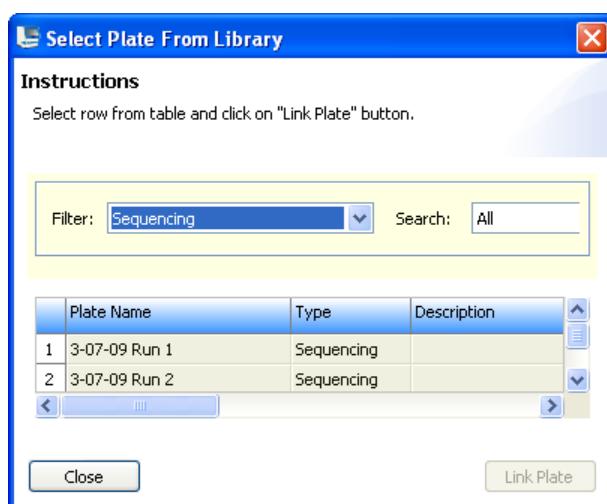
- V případě potřeby klikněte na **Unlink** a postupujte podle pokynů v části "[Není-li destička propojena](#)" níže.
- V případě potřeby klikněte na **Switch Plates (Záměna destiček)** () , čímž přiřadíte destičku do druhé pozice v autosampleru.
- Zvolte jednu z následujících možností:
 - Create Injection List (Vytvořit seznam nástříků)** – Zobrazí se obrazovka Preview Run (Náhled běhu), kde lze seznam nástříků upravit před spuštěním běhu. Více informací viz "[Úpravy seznamu nástříků](#)" na straně 59.
 - Start Run (Spustit běh)** – Zobrazí se obrazovka Monitor Run (Monitorování běhu). Více informací viz "[Monitorování běhu](#)" na straně 61.

Není-li destička propojena Pokud jste obrazovku Load Plates for Run otevřeli příkazem z navigační lišty, destička nemusí být propojena (což lze poznat i podle aktivního tlačítka Link).



Chcete-li destičku propojit (funkce Link):

1. Klikněte na **Link Plate**, zobrazí se okno Select Plate from Library (Vyberte destičku z knihovny).



2. Zvolte destičku a klikněte na **Link Plate**.
3. Zvolte jednu z následujících možností:
 - Klikněte na **Create Injection List** (Vytvořit seznam nástríků) a pokračujte podle pokynů v části “Úpravy seznamu nástríků” na straně 59.
or
 - Klikněte na **Start Run** (Spustit běh) a pokračujte podle pokynů v části “Monitorování běhu” na straně 61.

Úpravy seznamu nástříků

Obrazovka Preview Run (Náhled běhu) umožňuje upravit seznam nástříků před spuštěním běhu.

- Otevřete obrazovku Preview Run ([obrázek 7 na straně 59](#)):

- z Obrazovky Load Plates for Run kliknutím na **Create Injection List (Vytvořit seznam nástříků)**.
- zvolením možnosti **Preview Run** v navigační liště.
- z Ovládacího panelu kliknutím na šipku **Main workflow (Hlavní postup práce)** a zvolením možnosti **Preview Run**.

- Klikněte na ikonu nad vyobrazením destičky, umožňuje definovat, jaké údaje se zobrazují v destičce.

- Zvolte záložku A nebo B – zobrazí se příslušná destička.

The screenshot shows the 'Run instrument' software interface. A context menu is open over the 'Main workflow' button, with 'Preview Run' selected. Below, the 'Injection List' window is open, showing four injections in Plate A. The 'Consumables Information' section lists polymer, anode buffer, cathode buffer, and capillary array details. At the bottom, a yellow bar indicates 'Spuštění běhu' (Run start).

Obrázek 7 Obrazovka Preview Run (Náhled běhu)

Na obrazovce Preview Run se zobrazuje seznam nástříků a je na ní vyobrazena destička. Seznam nástříků je propojen s vyobrazením destičky. Označte nástřík a zvýrazní se odpovídající jamky.

DŮLEŽITÉ! Je-li seznam nástříků prázdný, ujistěte se, že jste vytvořili seznam nástříků na obrazovce Load Plates for Run.

4. Seznam nástříků lze kdykoliv před zahájením nebo v průběhu běhu upravit: vyberte nástřík a zvolte jednu z možností Move Up (Posun nahoru), Move Down (Posun dolů) a Delete (Smazat).

Poznámka: Vzorky jimž byly přiřazeny eseje s různými protokoly přístroje jsou v seznamu nástříků uvedeny v počtu přiřazených protokolů přístroje.

5. Chcete-li provést opakování nástřík (nástřík za stejných podmínek jako původní nástřík – týž protokol přístroje), vyberte nástřík a klikněte na ikonu . Soubory s výsledky opakování nástříku lze uložit v různých adresářích (podle definice výsledkové skupiny). Více informací viz „[Výsledková skupina – příklad 3: jak uložit opakování nástřík v jiném adresáři](#)“ na straně 162.

Poznámka: Chcete-li pro opakování nástřík použít jiný protokol, definujte opakování nástřík na obrazovce Monitor Run po spuštění běhu.

Spuštění běhu

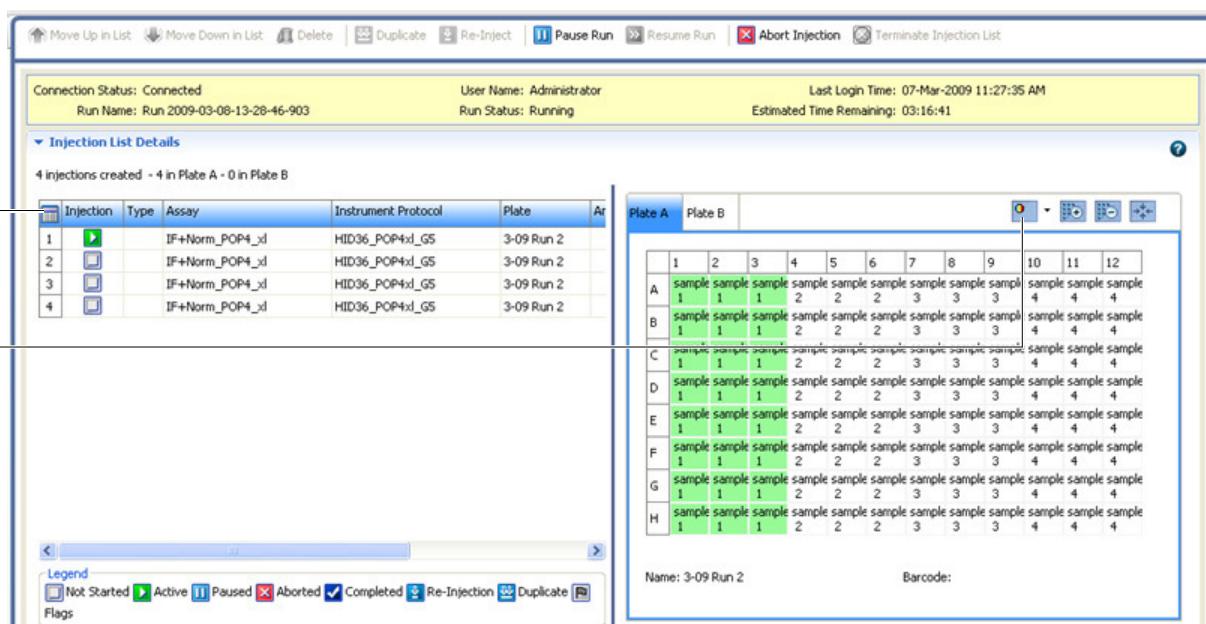
Jakmile je definován seznam nástříků, klikněte na **Start Run (Spustit běh)**. Automaticky se zobrazí obrazovka Monitor Run (Monitorování běhu).

DŮLEŽITÉ! Opakováný nástřík lze provést pouze než se běh ukončí.

Poznámka: Po zavření dveří trvá náběh přístroje asi 10 sec. Nespouštějte běh dokud stavová dioda přístroje nesvítí zeleně.

Monitorování běhu

Jakmile z obrazovky Load Plates for Run nebo Preview Run spustíte běh, automaticky se zobrazí obrazovka Monitor Run (Monitorování běhu) (Obrázek 8 na straně 61). Ve vyobrazení destičky se zeleně podbarví aktuálně nastříkávané vzorky. Zvolíte-li jiný nástřík v pořadí, zvýrazní se odpovídající jamky žlutě.



Obrázek 8 Obrazovka Monitor Run (Monitorování běhu)

Poznámka: Vzorky, jimž byly přiřazeny eseje s různými protokoly přístroje, jsou v seznamu nástříků uvedeny v počtu přiřazených protokolů přístroje .

- Klikněte na ikonu Table Settings (Nastavení tabulky) a zvolte, které sloupce se mají v tabulce se seznamy nástříků zobrazovat.

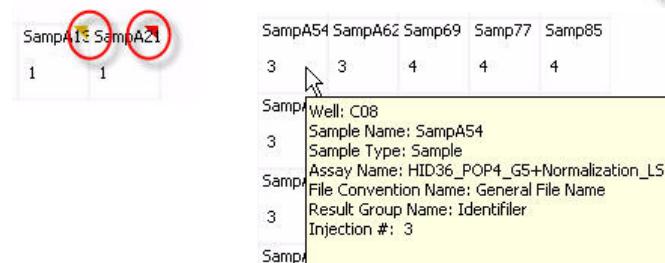


2. Volitelné:

- Klikněte na ikonu nad vyobrazením destičky, umožňuje definovat, jaké údaje se zobrazují v náhledu destičky. Kromě údajů dostupných již v Náhledu běhu (Preview Run) je k dispozici i tzv. Flag (Vlaječka).

Zvolíte-li možnost Flag, zobrazí se v jamkách, v nichž je hodnota průměrného ukazatele QV (ukazatel kvality při sekvenování) nebo SQ (ukazatel kvality zjištěné velikosti fragmentů při fragmentační analýze / HID) nízká (Fail) nebo pochybná (Suspect) červený nebo žlutý výstražný symbol. Červené výstražné symboly se zobrazují v jamkách, v nichž je intenzita signálu příliš vysoká (offscale).

- Umístíte-li kurzor nad jamku, zobrazí se detailní informace o vzorku.

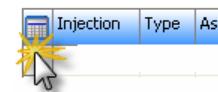


Kontrola výsledků a opakování nástřík

Po dokončení nástříku se ve sloupcích Injection a Analysis zobrazí symbol . Pokud program zjistí, že intenzita signálu je příliš vysoká (offscale) nebo detekuje jiný typ problému, zobrazí se rovněž symbol .

	Injection	Type	Assay	Inst Plate	Analysis	Time Remaining	Flags
1	<input checked="" type="checkbox"/>	IF+N...	...	3-0...	<input checked="" type="checkbox"/>	00:00:00	

Poznámka: Pokud se sloupce Injection (Nástřik), Analysis (Analýza) nebo Flags nezobrazují, klikněte na možnost Table Settings (Nastavení tabulek) a zvolte možnost jejich zobrazení.



Kontrola kvality výsledků

- Kliknutím otevřete panel Flag ve spodní pravé části obrazovky.

The screenshot shows the BioNumerics software interface. At the top, there are various control buttons: Move Up in List, Move Down in List, Delete, Duplicate, Re-Inject, Pause Run, Resume Run, Abort Injection, and Terminate In.

Below the buttons, the Connection Status is shown as Connected, the User Name is Administrator, and the Last Login Time is 07-Mar-2009 11:27:35 AM. The Run Name is Run 2009-03-08-13-28-46-903, the Run Status is Completed, and the Estimated Time Remaining is 00:00:00.

The main area is divided into two sections:

- Injection List Details:** A table showing 8 injections created, all in Plate A (3-0...). The columns are: Injection, Type, Assay, Inst Plate, Analysis, and Time Remaining. All entries show 00:00:00.
- Instrument Run Views and Flags:** This section includes a timeline for Injection 3, a color legend for EpiVoltage(kV), and a table for flags found. A red circle highlights the "2 Flags Found" message and the circled row in the table.

V tabulce se zobrazují údaje o kontrole kvality jednotlivých vzorků.

Tabulka kontroly kvality je propojena s vyobrazením destičky. Kliknutím na vlaječku zvýrazníte odpovídající jamku ve vyobrazení destičky:

Poznámka: Nejsou-li v seznamu žádné vzorky, znamená to, že všechny vzorky splňují všechna kritéria kontroly kvality.

- Všechny vzorky v pořádku.
- Alespoň jeden vzorek je pochybné kvality a vyžaduje kontrolu
- Intenzita signálu u alespoň jednoho vzorku je příliš vysoká (offscale) nebo z jiného důvodu pochybná

□□ 2 Flags Found

Display	All Flags	?		
Inject	Offscale	SQ/QV	Cap #	Sample N
3			9	sample
3			18	sample
sample	sample	sample	sample	
3, 5, 7, i	4, 6			

□□ 2 Flags Found

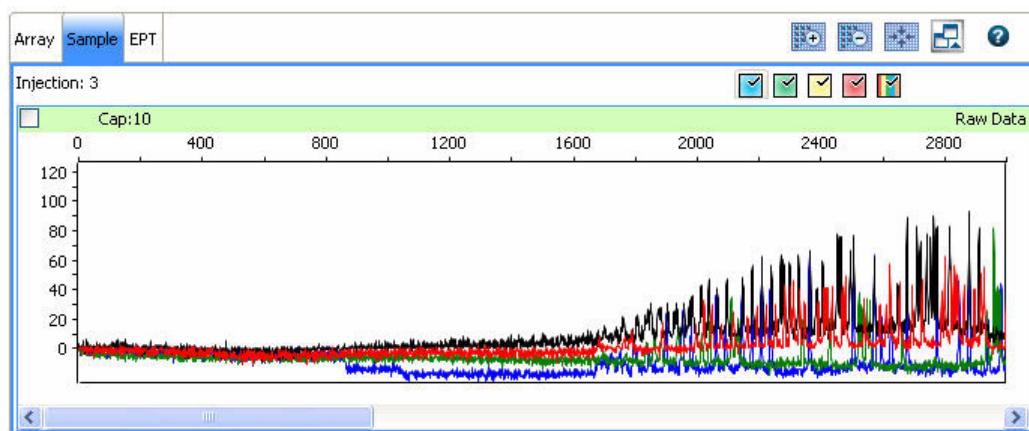
Display	All Flags	?		
Inject	Offscale	SQ/QV	Cap #	Sample N
3			9	sample
3			18	sample

2. Chcete-li vlaječky v tabulce třídit, zvolte typ vlaječky. Chcete-li zobrazit vlaječky pro HID, zvolte All (Všechny).

Údaje v tabulce lze řadit dvojklikem na záhlaví sloupce, podle něhož mají být vzorky seřazeny. Možné typy vlaječek v tabulce jsou:

Vlaječka	Popis
Offscale (zelený nebo červený symbol)	(červený) Příliš intenzivní signál v alespoň jednom bodě (v daném rozsahu analýzy dat - Analysis range) – dochází k přesvícení CCD čipu. Poznámka: Na obrazovce View Results (Zobrazit výsledky) se takový vzorek označuje symbolem .
Průměrný ukazatel kvality (sekvenování) (zelený, žlutý nebo červený symbol)	(žlutý) nebo (červený) Hodnota průměrného ukazatele kvality (Average Quality Value) (definovaná na základě parametrů CRL, Trace Score a QV20+) je pochybná nebo nízká. Více informací viz "Protokol pro odečet bází – záložka QV settings" na straně 178.
Kvalita odečtu velikosti (fragmentační analýza/HID) (zelený, žlutý nebo červený symbol)	(žlutý) nebo (červený) Hodnota kvality odečtu velikostí (Sizing Quality) je pochybná nebo nízká. Více informací viz Tabulka 15 na straně 183 nebo Tabulka 17 na straně 188. DŮLEŽITÉ! U vzorků označených vlaječkou se neprovádí normalizace.

3. Chcete-li zobrazit související datový soubor, označte řádek v tabulce kontroly kvality a klikněte na záložku Sample (Vzorek) v zobrazení jednotlivých běhů.



Opakování nástřík

Před skončením běhu lze zadat opakování nástříku. Opakování budou do kapilárních nástříků všechny vzorky, které jsou aktuálně analyzovány v kapilárách. Můžete použít jiný protokol přístroje (instrument protocol) a definovat, zda mají být při opakování nástříku zaznamenána data ze všech nebo jen z některých kapilář.

- Zvolte, které nástříky opakovat, či které vzorky opakování nastříknout:

Poznámka: Možnost opakovat nástřík  (Re-inject) není k dispozici, pokud jste vybrali k opakování nástřík, v jehož zadání je definována více než jedna výsledková skupina, nebo pokud jste v tabulce kontroly kvality označili vzorky, pro které je opět definována více než jedna výsledková skupina. Chcete-li opakovat nástřík, zvolte vzorky, pro které je definována táz výsledková skupina.

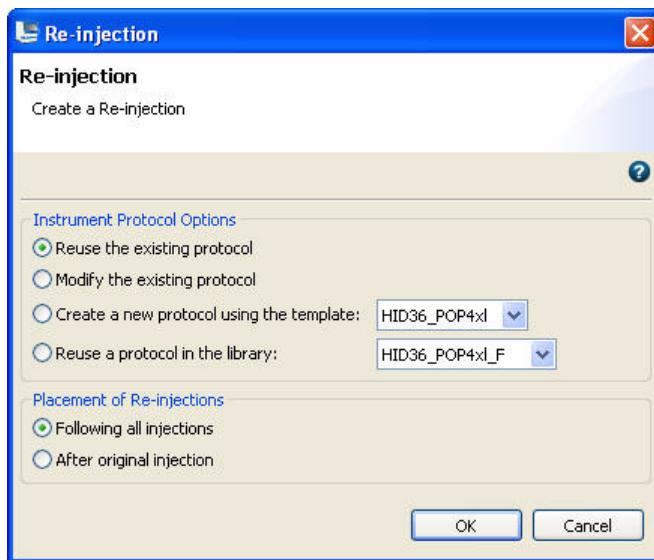
Chcete-li zaznamenat data ze všech kapilár	<ol style="list-style-type: none"> V seznamu nástříků zvolte nástřík. Klikněte  Re-inject (Opakování nástřík).
Chcete-li zaznamenat data jen z některých jamek (Vzorky, jimž byly přiřazeny eseje s různými protokoly přístroje, jsou v seznamu nástříků uvedeny v počtu přiřazených protokolů přístroje) Poznámka: Opakování nástřík lze definovat i při kontrole výsledků.	<ol style="list-style-type: none"> Zvolte nástřík. V zobrazení kapilární sady zvolte pouze vámi vybrané kapiláry (viz "Zobrazení kapilární sady" na straně 77). Klikněte  Re-inject.
Chcete-li zaznamenat data pouze u vzorků označených vlaječkami	<ol style="list-style-type: none"> Vyberte vzorky v tabulce kontroly kvality (viz "Kontrola kvality výsledků" na straně 62). Klikněte  Re-inject.

Poznámka: V případě analýzy typu HID postupujte podle pokynů v části "[Opakování nástřík alelického žebříku](#)" na straně 67.

- V dialogovém okně Re-injection zvolte:

- Protokol pro opakování nástřík: původní, upravený, nový nebo z knihovny
- Kdy provést opakování nástřík

Poznámka: Výsledky opakování nástříku lze uložit v samostatném adresáři je-li to definováno ve výsledkové skupině. Více informací viz "[Výsledková skupina – příklad 3: jak uložit opakování nástřík v jiném adresáři](#)" na straně 162.



Zvolíte-li jiný protokol než původní

Zvolíte-li jiný protokol než původní, program:

- Vytvoří kopii eseje přiřazené jamce určené k opakovánu nástříku (Original_Assay-1).
- Přiřadí této eseji nový nebo modifikovaný protokol přístroje.
- Přiřadí tuto eseji jamce určené k opakovánu nástříku.
- Uloží definici destičky (nově definovaná eseji se neukládá do knihovny).

Zobrazení opakovánu nástříku v náhledu destičky

Zobrazuje-li se v jamkách číslo nástříku (Injection Number), zobrazí se jak pořadové číslo původního tak i opakovánu nástříku.

Poznámka: Definujete-li opakovánu nástříku pouze v určitých jamkách (což znamená nástřík vzorků do všech kapilár kapilární sady ale záznam dat pouze z těchto vybraných jamek), zobrazí se číslo opakovánu nástříku u všech vzorků, u nichž k němu dochází, nikoliv pouze u těch, kde proběhne záznam dat.

A	1 sample 1 1, 2
B	sample 2 1, 2
C	sample 3

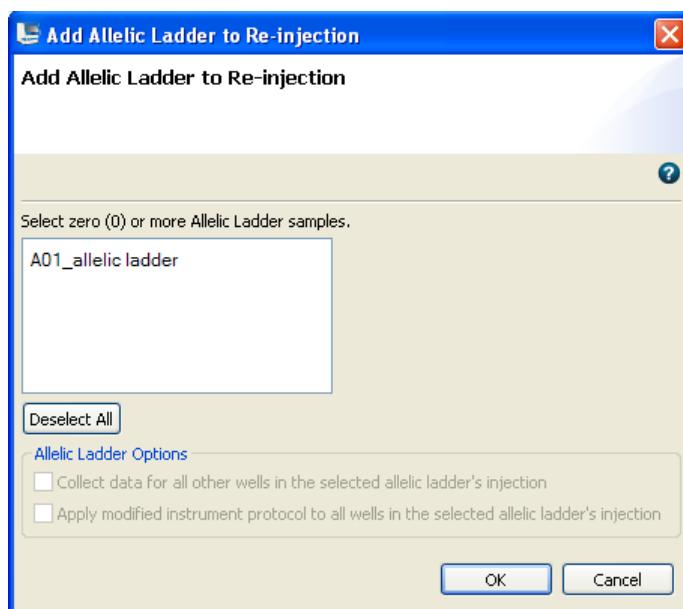
Vzorek 1 – opakovánu nástříku
Údaj o opakovánu nástříku zobrazeny ve všech jamkách

Opakování nástřík alelického žebříku

Určíte-li provedení opakování nástříku pro vzorek, v jehož výsledkové skupině je definován alelický žebřík, avšak alelický žebřík není součástí opakování nástříku, program vás vyzve k opakování nástříku alelického žebříku.

Například:

- Používáte 8-kapilární přístroj a definovali jste jednu výsledkovou skupinu pro každé tři nástříky (více informací viz „[Výsledková skupina – příklad 2: jak uložit jeden alelický žebřík v jednom adresáři \(8- kapilární přístroje\)](#)“ na straně 161)
 - Alelický žebřík je v prvním nástříku.
 - Opakově chcete nastříknout vzorek, který je v druhém nástříku.
 - Program vás vyzve k opakování nástříku alelického žebříku.
- K dispozici jsou všechny alelické žebříky z téže destičky a v rámci téže výsledkové skupiny jako při původním nástříku. Není-li součástí výsledkové skupiny alelický žebřík, program vás nevyzve k opakování nástříku alelického žebříku.



V dialogovém okně Add Allelic Ladder to Re-injection (Opakovat nástřík alelického žebříku):

1. Zvolte jeden nebo více alelických žebříků.

DŮLEŽITÉ! V dialogovém okně se nezobrazuje informace o tom, v jakých jamkách je alelický žebřík. Abyste rozeznali v kterých jamkách je alelický žebřík, zadejte při definování obsahu destičky název jamky s alelickým žebříkem tak, aby jeho součástí byla i poloha jamky (např. A01).

2. Určete, zda se mají zaznamenat data i pro ostatní vzorky z opakování nástříku skupiny vzorků, jejíž součástí je alelický žebřík.

3. Zvolte, zda se pro opakovaný nástřík alelického žebříku má použít upravený protokol přístroje, nebo se má použít původní protokol přístroje. Upravený protokol zvolíte na následující obrazovce.

DŮLEŽITÉ! Pro přesnou genotypizaci v programu sekundární analýzy (GeneMapper® ID-X v1.2 nebo vyšší) je doporučen nástřík alelických žebříků za totožných podmínek.

4. Klikněte **OK**.
5. Definujte další parametry opakovaného nástříku podle popisu v části [“Opakovaný nástřík” na straně 65](#).

Do seznamu nástříků jsou přidány dva nástříky. V rámci prvního nástřiku se provede nová analýza zvoleného vzorku. Druhý nástřík slouží k opakování nástříku alelického žebříku.

Kontrola dokončených nástříků

Výsledky jakýchkoliv dokončených nástříků můžete kontrolovat. Zvolte nástřík, poté klikněte na **Review Results (Kontrola výsledků)**. Vzorky ze zvoleného nástříku se zobrazí v tabulce (Samples Table) v okně Review Results (Kontrola výsledků). Více informací viz „[Kontrola výsledků](#)“ na straně 79.

Spuštění a vypnutí běhu

Spuštění běhu Běh můžete spustit:

- z obrazovky Load Plates for Run (Načtení destiček ke spuštění) (viz „[Vkládání destiček a vytváření seznamu nástříků](#)“ na straně 56).
- z obrazovky Preview Run (Náhled běhu) (viz „[Spuštění běhu](#)“ na straně 61).

Pauza a obnovení běhu Zvolte podle potřeby:

- **Pause (Pauza)** – Pauza v běhu po dokončení aktuálního nástříku (symbol se v seznamu nástříků nezobrazuje, protože nástřík se dokončí).
- **Resume (Obnovení)** – Obnovení běhu.

Zrušení nebo ukončení Zvolte podle potřeby:

- **Abort (Zrušení)** – Aktuální běh se zastaví. Běh nelze zastavit volbou Delete (Smazat).

DŮLEŽITÉ! Aktuální běh lze zastavit pouze pokud zelená stavová dioda přístroje bliká. Zvolíte-li **Abort** pokud zelená stavová dioda přístroje svítí, běh je již ukončen (ačkoliv program stále zpracovává data) a zobrazí se zpráva oznamující, že aktuálně neprobíhá žádný běh.

- **Terminate (Ukončení)** – Běh přístroje se zastaví. Tato funkce je k dispozici pouze je-li pauza v běhu.

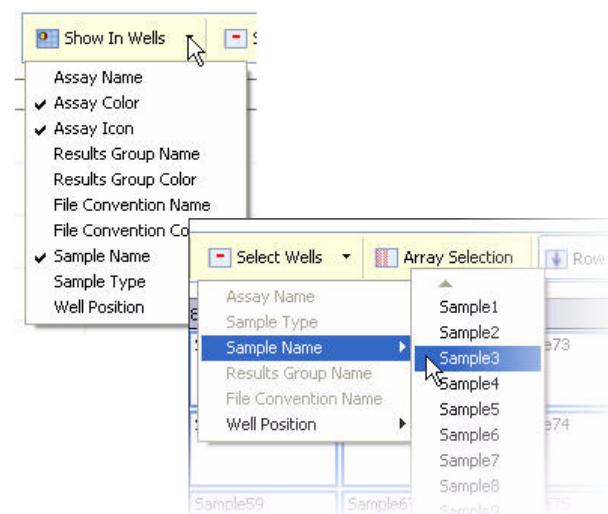
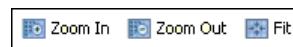
Další možnosti v definici obsahu destičky

Vyobrazení destičky - možnosti

Pojmenování vzorků ve vyobrazení destičky	Chcete-li pojmenovat vzorky ve vyobrazení destičky (Plate View):
Pojmenování 1 vzorku	<ul style="list-style-type: none"> Zvolte jamku, napište název vzorku, poté stiskněte Enter. Kopírujte a vložte název z jiné jamky. <p>Nastavení pohybu kurzoru po stisku klávesy Enter:</p> <ul style="list-style-type: none"> Zvolte Row, chcete-li, aby se kurzor po stisku klávesy Enter posunul vertikálně do dalšího řádku. Zvolte Column, chcete-li, aby se kurzor po stisku klávesy Enter posunul horizontálně do dalšího sloupce.
Pojmenování více vzorků	<ol style="list-style-type: none"> Zvolte pojmenovanou jamku. Klikněte a táhnutím vyberte další jamky. Klikněte pravou myší a zvolte Fill (Vyplnit) nebo Fill Series (Vyplnit sérií). <p>Poznámka: Pro použití funkce Fill Series musí být poslední znak pojmenované jamky číslice. Názvy jamek lze rovněž kopírovat.</p>
Pojmenování všech vzorků najednou	<ol style="list-style-type: none"> Zvolte všechny jamky. Vyberte esej, způsob pojmenování souborů a výsledkovou skupinu. Zadejte název a zvolte typ vzorku (v panelu Customize Sample Info) pro celou destičku.

Vlastní nastavení vyobrazení destičky

- Chcete-li definovat jaké údaje se mají zobrazit v náhledu destičky zvolte **Show In Wells (Zobrazit v jamkách)**.
- Chcete-li zvolit určité specifické jamky zvolte **Select Wells (Zvolit jamky)**.
- Podle potřeby zvolte **Zoom In (Zvětšení)**, **Zoom Out (Zmenšení)** a **Fit (Zobrazení podle velikosti okna)**.



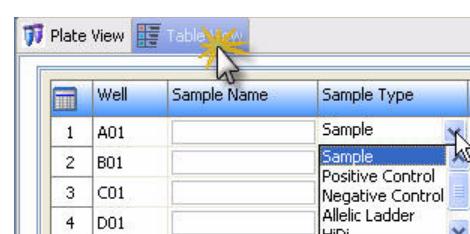
Zobrazení mapy kapilár / destiček

Chcete-li zobrazit jamky podle nástříků, zvolte **Array Selection**. Dalším kliknutím toto zobrazení vypnete.

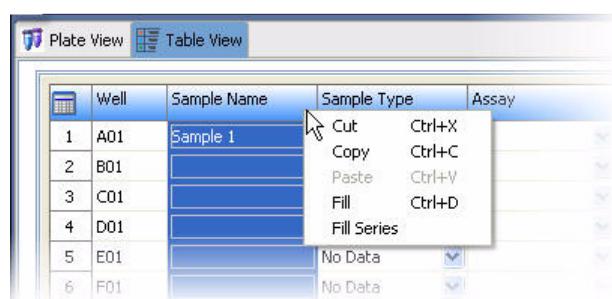


Vyobrazení tabulky - možnosti

1. Zvolte **Table View (Zobrazení tabulky)**.
2. V poli Sample Name zadejte název vzorku.
3. Po kliknutí na zvolte jednu z možností.



4. Klikněte pravým tlačítkem myši do záhlaví sloupce a zvolte **Fill (Vyplnit)** nebo **Fill Series (Vyplnit sériu)**, vyplní se zvolená pole tabulky. Pro použití funkce Fill Series musí být poslední znak pojmenované jamky číslice.



Poznámka: Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte. Možné je i třídění podle více sloupců (viz "[Třídění podle více sloupců](#)" níže).

Třídění a úprava tabulek

Třídění podle více sloupců

Jakékoliv tabulky v programu lze třídit. Možné je i třídění podle více sloupců:

- Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte.
- Stiskněte Alt+Shift a klikněte do záhlaví dalšího sloupce, data se třídí podle tohoto sloupce.
- Opakujte tento postup s třetím sloupcem. Priorita třídění je znázorněna číslicemi v záhlaví sloupců.



Vlastní nastavení tabulek

Jakékoliv tabulky v programu lze upravit. Zvolte Table Settings (Nastavení tabulky) a definujte, které sloupce se mají zobrazovat či skrýt.



Přidání esejí, definice pojmenování souborů a výsledkových skupin do definice destičky

- Není-li v seznamu ve spodní části obrazovky Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) žádná esej, přidejte alespoň jednu esej. Různým jamkám lze přiřadit různé eseje.

Add Assay From Library

Instructions:
Select rows from table and click on "Add To Plate" button.

	Assay Name	Type	Instrument Protocol	Primary
1	AB Fragment_Analysis_...	Fragment	FragmentAnalysis50_POP7_1	Fragment
2	AB Fragment_Analysis_...	Fragment	FragmentAnalysis50_POP7...	Fragment
3	AB Fragment_Analysis_...	Fragment	FragmentAnalysis50_POP6_1	Fragment

- (Volitelné) Není-li v seznamu ve spodní části obrazovky Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) určen žádný způsob pojmenování souborů nebo výsledková skupina, přidejte je podle potřeby. Tyto parametry jsou volitelné nicméně velmi užitečné pro pojmenování a správu datových souborů.

Import zadání destičky

Templát pro import zadání destičky

Program 3500 Series Data Collection umožňuje importovat zadání destičky z jiného programu.

Chcete-li nejprve vytvořit templát pro import zadání destičky, zadejte destičku v programu 3500 Series Data Collection a zadání exportujte, vytvoříte soubor se správným záhlavím a dalšími informacemi, které jsou předpokladem úspěšného importu:

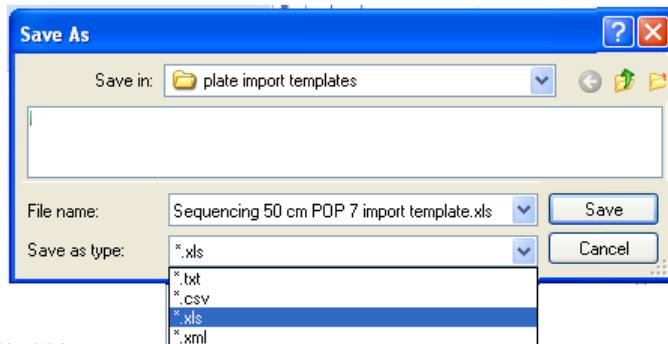
- V Ovládacím panelu zvolte **Create Plate from Template** (Vytvořit destičku z templáту).
- V dialogovém okně Open Plate Template from Library (Otevřít templát z knihovny):
 - Zobrazte (filter) templáty dle potřeby.
 - Zvolte templát a klikněte **Open** (Otevřít).
- Zadejte název destičky, definujte délku kapilární sady a typ polymeru.
- Klikněte na **Assign Plate Contents** (Definice obsahu destičky).



- Na obrazovce Assign Plate Contents zvolte **Export**.

Poznámka: Před exportem můžete zadat informace o destičce podle postupu v části “Definice obsahu destičky” na straně 46.

- Zvolte formát templátu.
- Zadejte název a specifikujte adresář kam se má templát uložit.
- Klikněte **Save (Uložit)**.



Na obrázku níže je vyobrazeno exportované zadání.

	A	B	C	D	E	F	G	H	
1	3500 Plate Layout File Version 1.0								
2									
3	Plate Name	Application Type	Capillary Length (cm)	Polymer	Number of Wells	Owner Name	Barcode Number	Comments	
4	plate import template	Sequencing		50 POP7		96			
5									
6	Well	Sample Name	Assay	Results Group	File Name Convention	Sample Type	User Defined Field 1	User Defined Field 2	User Defir
7	A01								
8	B01								
9	C01								
10	DD1								

Zadání destičky

- Otevřete templát pro import zadání (viz “Templát pro import zadání destičky” na straně 73).
- Uložte templát pod novým názvem.
- Zadejte názvy vzorků (povinné).
- (Volitelné) Zadejte údaje do zbývajících sloupců.

Poznámka: Definujete-li esej, výsledkovou skupinu a způsob pojmenování souborů, musí se jejich názvy přesně shodovat s již existujícími položkami v knihovně.

- Uložte soubor.

Úprava zadání destičky

Zadání destičky lze upravit z:

- Knihovny (Library)** – Zvolte destičku a klikněte **Edit (Upravit)**.
- Ovládacího panelu (Dashboard)** – Zvolte **Edit Existing Plate (Upravit stávající destičku)**.
- obrazovky **Define Plate Properties (Vlastnosti destičky)** – Zvolte **Open Plate (Otevřít destičku) > Edit Existing Plate (Upravit stávající destičku)**.
- obrazovky **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** – Zvolte **Open Plate (Otevřít destičku) > Edit Existing Plate (Upravit stávající destičku)**.

Import a export zadání destičky

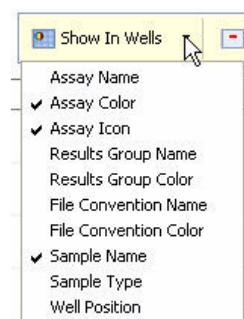
Zadání destiček lze importovat a exportovat z:

- **Knihovny destiček (Plates library)** – Soubory ve formátu .xml, použitelné i na jiných přístrojích 3500 nebo 3500xL. Viz „[Import a export položky z knihovny](#)“ na straně 141.
- obrazovky **Define Plate Properties (Vlastnosti destičky)** – Soubory ve formátu .txt, .csv a .xls, které jste vytvořili.
- obrazovky **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** – Soubory ve formátu .txt, .csv a .xls, které jste vytvořili.

Templát zadání destičky

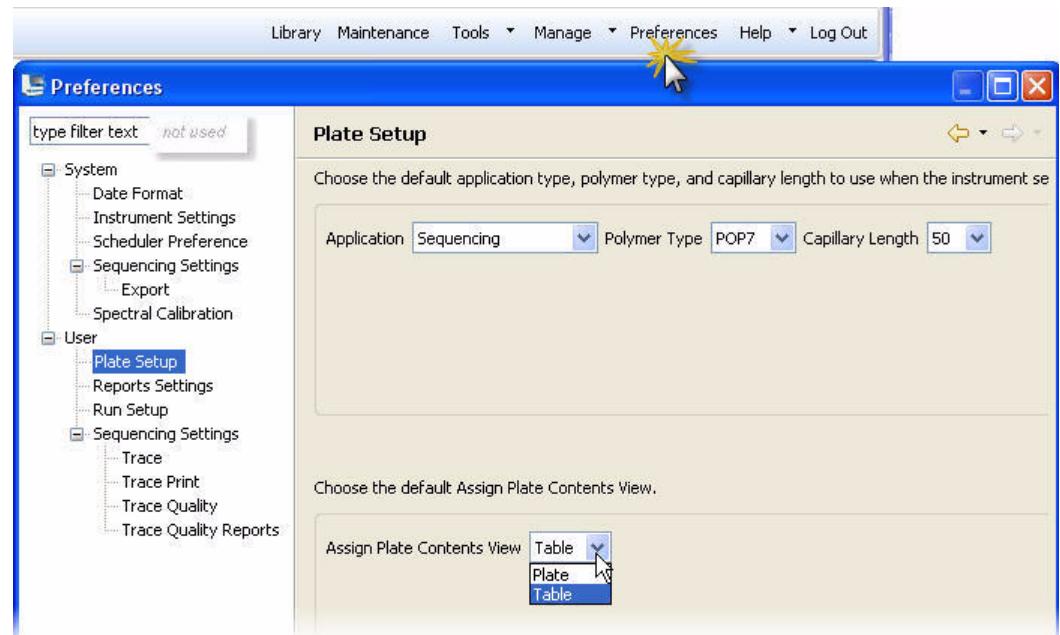
Templát zadání destičky obsahuje předdefinované parametry, které můžete následně upravit, zadáváte-li destičku na jeho základě.

1. Vytvořte zadání destičky (viz „[Vytvoření nové destičky](#)“ na straně 144).
2. (Volitelné) Zadejte názvy a typy vzorků (viz „[Pojmenování a určení typu vzorku](#)“ na straně 48).
3. (Volitelné) Definujte esej, výsledkovou skupinu a způsob pojmenování souborů (vhodné pro konkrétní aplikaci) (viz „[Přidání esejí, definice pojmenování souborů a výsledkových skupin do definice destičky](#)“ na straně 73).
Přidáte-li eseje, výsledkovou skupinu a způsob pojmenování souborů do templátu pro zadání destičky, zobrazí se tyto údaje automaticky na obrazovce Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) jakmile templát otevřete. Nemusíte pak tyto údaje zadávat z knihovny pro každou vytvořenou destičku zvlášť.
- (Volitelné) Klikněte na pole **Show In Wells (Zobrazit v jamkách)**, kde můžete definovat, jaké údaje se zobrazují v náhledu destičky.
3. Zvolte **Save Plate (Uložit destičku) > Save As Template (Uložit jako templát)**. Program pod vyobrazením destičky zobrazí ikonu templátu .



Předvolený typ destičky

V Nastavení (Preferences) lze definovat výchozí typ zadání destičky pro zobrazení v dialogovém okně Open Plate (Otevřít destičku).



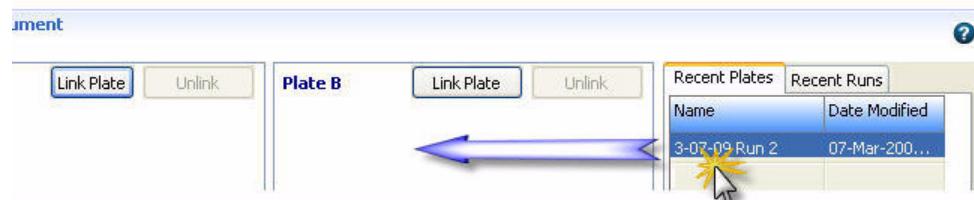
Elektronická verze zpráv

Tisknete-li jakoukoliv zprávu, můžete zvolit tiskárnu **CutePDF Writer** a uložit tak zprávu ve formátu .pdf.

Další možnosti při načtení destičky (Load Plate)

Záložka Recent plates a Recent runs

Destičku lze propojit (Link) i tak, že v záložce Recent Plates (zadané destičky) nebo Recent Runs (již analyzované destičky) zvolíme v nedávné době definovanou / analyzovanou destičku a tažením myši ji přetáhneme.

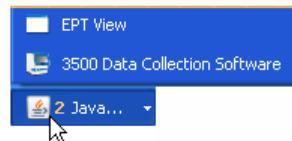


Další možnosti při monitorování běhu

Zobrazení běhů

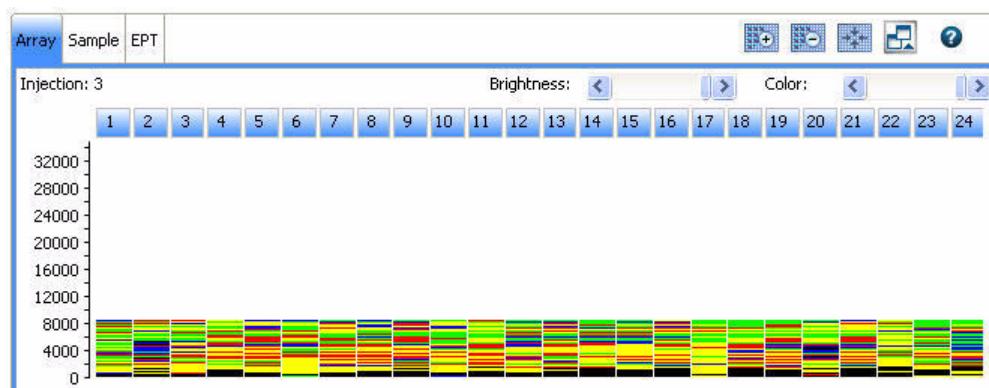
Zvolte nástřík a záložku Instrument run view (Zobrazení běhů). Podle potřeby:

- Zvětšete / zmenšíte zobrazení pomocí
- Kliknutím na zobrazíte běh v samostatném okně (po kliknutí na ikonu 3500 v hlavním panelu).



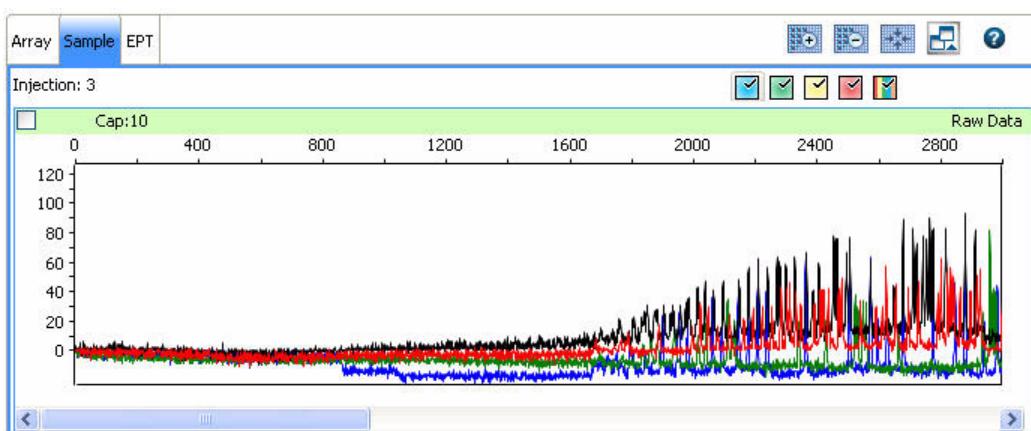
Zobrazení kapilár

Zobrazení kapilár – kapilární sady (Array) ukazuje na základě hlavní fluorescenční barvy barevný profil každé kapiláry jako funkci čísla skenu (času). Barvu (color) a jas (brightness) můžete upravit pomocí posuvníků.



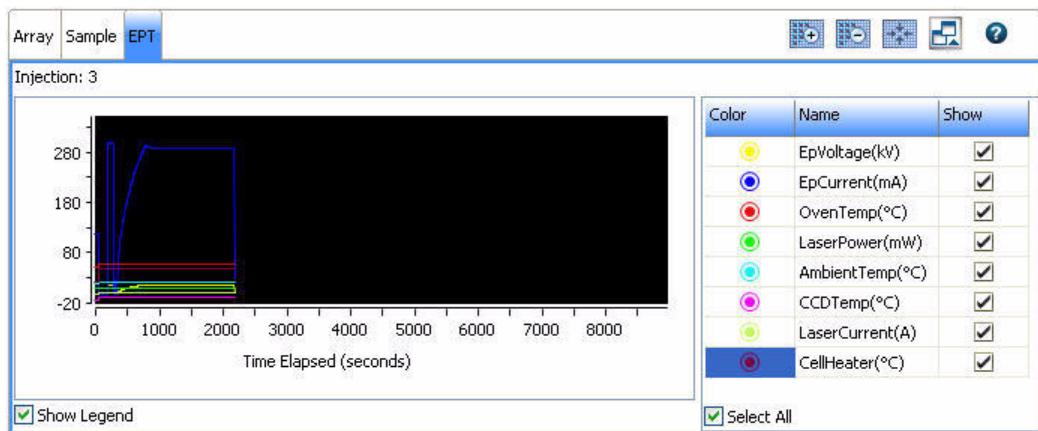
Zobrazení vzorku

Zobrazení vzorku (Sample) ukazuje pro zvolenou kapiláru relativní koncentraci barev jako funkci čísla skenu (času). Můžete navolit, které barvy se mají zobrazovat.



Zobrazení EPT

Zobrazení EPT (ElectroPhoresis Telemetry) zobrazuje stav určitých parametrů přístroje (výkon laseru, teploty, napětí) jako funkci času. Můžete zvolit, které parametry se mají zobrazovat.



4

Kontrola výsledků

Pracovní postup

- Spuštění systému:
1. Spuštění přístroje ([strana 22](#)).
 2. Spuštění počítače ([strana 24](#)).
 3. Plánovaná údržba - oznámení v Ovládacím panelu ([strana 28](#)).
 4. Stav reagencí - kontrola v Ovládacím panelu ([strana 29](#)).
 5. Výměna reagencí a spotřebního materiálu ([strana 31](#)).

- Zadání a spuštění:
1. Příprava přístroje ([strana 42](#)).
 2. Předehřátí pícky ([strana 42](#)).
 3. Kontrola stavu přístroje ([strana 53](#)).

1. Vytvoření nebo import destičky ([strana 43](#)).
2. Definice obsahu destičky ([strana 46](#)).
3. Tisk náhledu destičky ([strana 50](#)).
4. Příprava a vkládání destiček ([strana 51](#)).

Rychlé spuštění běhu ([strana 55](#)).

1. Vkládání destiček a vytváření seznamu nástříků ([strana 56](#)).
2. Úpravy seznamu nástříků ([strana 59](#)).
3. Spuštění běhu ([strana 61](#)).
4. Monitorování běhu ([strana 61](#)), kontrola výsledků a opakování nástřík ([strana 62](#)).

- Kontrola výsledků sekvenování:
1. Kontrola kvality sekvenace ([strana 81](#)).
 2. Opakování nástřík ([strana 85](#)).
 3. Zpráva o kvalitě výsledků ([strana 85](#)).
 4. Export výsledků sekvenování ([strana 87](#)).

- Kontrola výsledků frag. analýzy / HID:
1. Kontrola kvality vzorku ([strana 89](#)).
 2. Opakování nástřík ([strana 95](#)).
 3. Zpráva o kvalitě výsledků ([strana 95](#)).
 4. Export výsledků frag. analýzy/HID ([strana 96](#)).

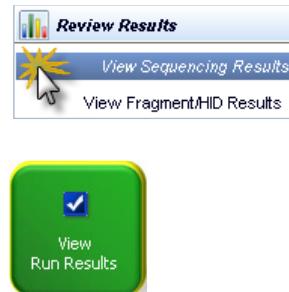
- (Volitelné) Tisk nebo uložení (.pdf) výsledků kalibrací a kontroly funkčnosti spolu s výsledky:
- Prostorová kalibrace ([strana 99](#))
 - Spektrální kalibrace ([strana 103](#)).
 - Kontrola funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu ([strana 122](#)).
 - Kontrola funkčnosti pomocí instalačního standardu FA / HID ([strana 132](#)).

Kontrola výsledků sekvenování

Obrazovka View Sequencing Results (Zobrazení výsledků sekvenování)

Otevřete obrazovku View Sequencing Results z:

- Obrazovky Monitor Run (Monitorování běhu) kliknutím na **Review Results (Kontrola výsledků)**.
- Navigační lišty kliknutím na **View Sequencing Results (Zobrazení výsledků sekvenování)**.
- Ovládacího panelu kliknutím na View Run Results (Zobrazení výsledků běhu).

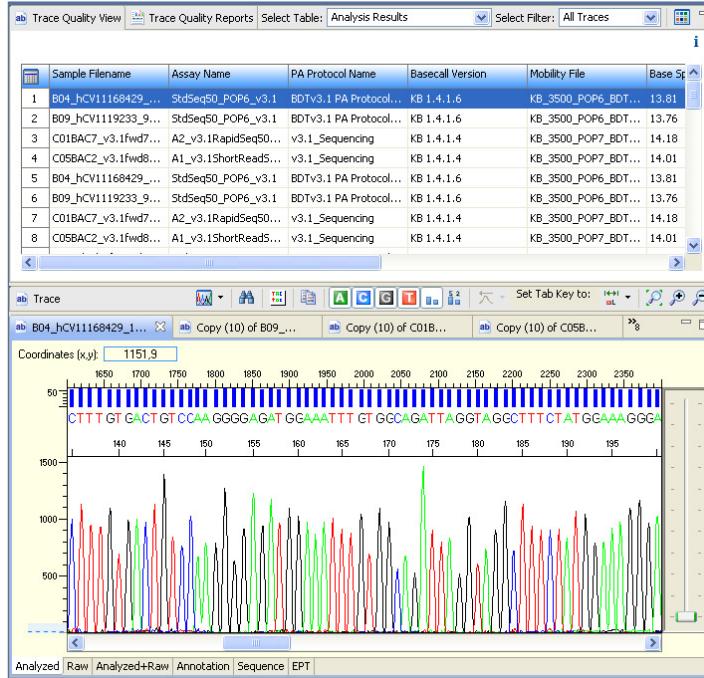


Kontrola výsledků – aktuálně analyzovaná destička

Zobrazíte-li výsledky sekvenování je-li přístroj v běhu, v záložce Trace Quality View se zobrazí výsledky dokončených nástříků aktuálně probíhajícího běhu.

Zvolte jeden nebo více vzorků a klikněte na Open Trace (Otevřít chromatogram), v panelu Trace se zobrazí výsledky.

Poznámka: Verze basecalleru (algoritmus pro odečet bází) je v protokolu uvedena v trojciferné podobě. Verze uvedená v zobrazení výsledků sekvenování má čtyři číslice, čtvrtá číslice je interním označením.



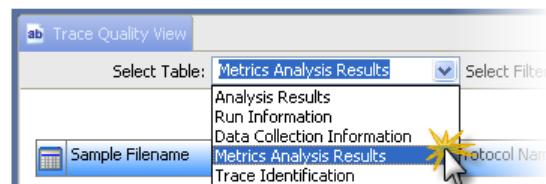
Kontrola výsledků – předchozí analýzy

Zobrazíte-li výsledky sekvenování není-li přístroj v běhu a destička není propojena, nezobrazí se žádné výsledky. (Je-li aktuální destička propojena, zobrazí se výsledky z této destičky.)

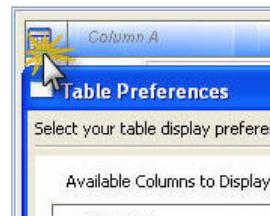
Chcete-li zobrazit výsledky předchozích analýz, klikněte na **Import**  a zvolte, které výsledky chcete zobrazit.

Kontrola kvality sekvence

1. Zobrazte Metric Analysis results, zkontrolujte výsledky odečtu bází (basecalling) a zkrácení sekvence (trimming).

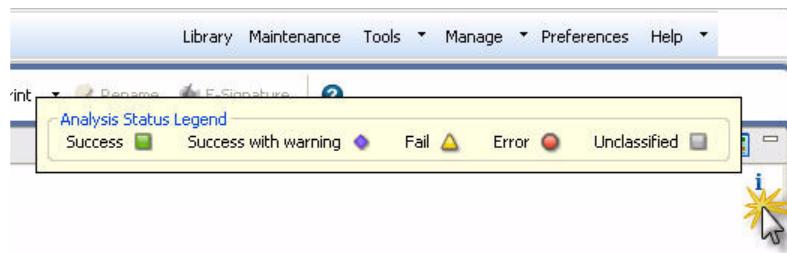


2. Klikněte na ikonu Table Settings (Nastavení tabulky) a zvolte, které sloupce se mají v tabulce zobrazovat.
3. Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte. Možné je i třídění podle více sloupců (viz "Třídění" na straně 97).
4. Kontrola výsledků:



Výsledek	Popis
Trace Score	Průměrná hodnota ukazatelů kvality (QV) bází v oblasti Clear range daného vzorku. Oblast Clear range je ta část sekvence, která zbývá po odstranění sekvence nízké kvality na 5' a 3' konci. Je definována na základě ukazatelů kvality pomocí basecalleru KB.
CRL	Nejdelší nepřerušovaný úsek sekvence s ukazatelem kvality (QV) ≥ 20 . Program hodnotí QV pro každou bázi a pro sousední báze (+/- 20 bází).
QV20+	Celkový počet bází v celé sekvenci majících ukazatel kvality rovný nebo vyšší než 20.
Trace Score Quality CRL Quality QV20 Quality	Výsledek analýzy sekvence dle nastavení uvedených parametrů v záložce QV Settings. Pass (Dobře) / Fail (Špatně) / Check (Kontrola).
PUP Score	Měřítko intenzity pozadí reakce počítané jako poměr intenzity fluorescenčního signálu nejvyššího sekundárního páku k intenzitě fluorescence hlavní odečtené báze.

5. Zkontrolujte výstražná upozornění:
 - a. V pravé části tabulky Metric Analysis se zobrazuje sloupec Warning.
 - b. Zobrazte vysvětlení symbolů používaných v sloupci Warning.



c. Zkontrolujte výstražná upozornění:

Výsledek	Popis
Success	Odečet bází (basecalling) a zkrácení (trimming) proběhly úspěšně.
Success with warnings	Odečet bází (basecalling) proběhl úspěšně, zkrácení (trimming) neúspěšné. Bližší informace jsou uvedeny ve sloupci Warning/Error Message (přednastaveno jako poslední sloupec tabulky).
Fail	Odečet bází (basecalling) a zkrácení (trimming) neúspěšné, žádné výsledky.
Error	Odečet bází (basecalling) a zkrácení (trimming) neúspěšné, chyba programu, žádné výsledky.
Unclassified	Analýza nebyla provedena.

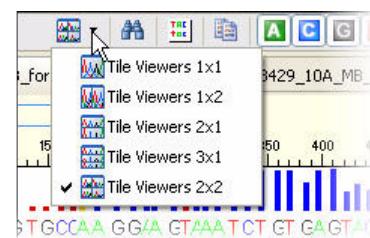
6. (Volitelné) Kliknutím na **Minimize** okno zmenšíte, kliknutím na **Restore** znovu obnovíte.

Kontrola chromatogramu

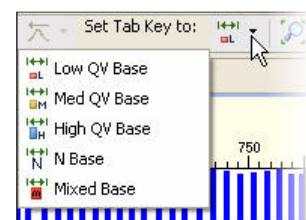
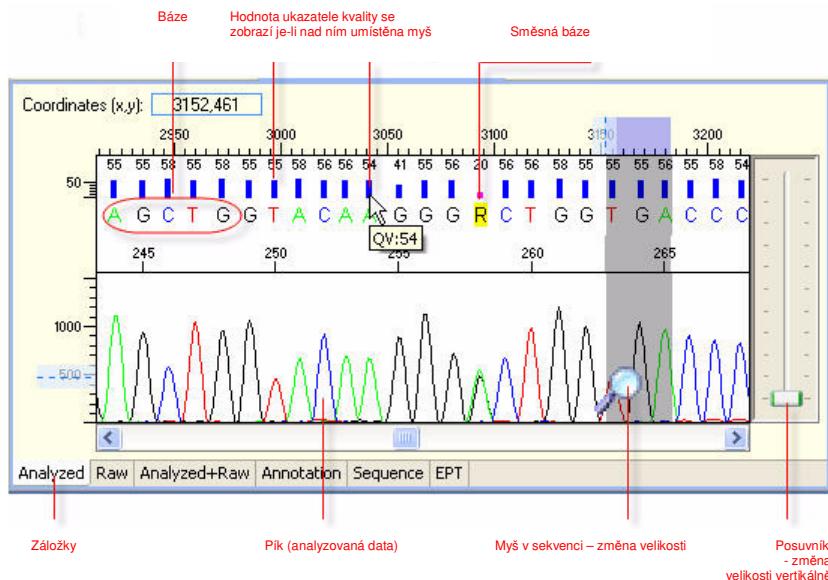
1. V tabulce vzorků vyberte vzorky a klikněte na **Open Trace (Otevřít chromatogram)**.
2. Upravte zobrazení vzorků podle potřeby. Popis funkce příslušné ikony získáte, pokud nad ní umístíte kurzor.



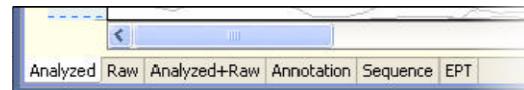
3. (Volitelné) Upravte zobrazení vzorků:
 - Pomocí funkce Tile Viewer můžete zobrazit až čtyři vzorky najednou.
 - Nastavte barevné zobrazení chromatogramu v Nastavení (Preferences) (viz "[Zobrazení a zprávy při analýze výsledků sekvenování](#)" na straně 36).



4. Nastavte funkci klávesy Tab.

5. Zkontrolujte chromatogramy: stiskem klávesy **Tab** se pohybujete v sekvenci zleva doprava. Stiskem **Shift+Tab** zprava doleva.

6. Záložky na spodu zobrazení obsahují různé typy informací ke zvolenému vzorku.



Používání ukazatelů kvality (Quality Values - QVs)

Rozsah ukazatelů kvality Společnost Applied Biosystems doporučuje následující nastavení rozsahu pro ukazatele kvality (viz Nastavení (Preferences), „[Zobrazení a zprávy při analýze výsledků sekvenování](#)“ na straně 36):

- **Čisté báze - Pure bases** – Nízká (Low) QV ≤ 15, Střední (Medium) QV = 15 až 19, Vysoká (High) QV = 20+ (přednastaveno)
- **Směsné báze - Mixed bases** – Nízká (Low) QV ≤ 5, Střední (Medium) QV = 5 až 10, Vysoká (High) QV >10 (nastavení je nutné optimalizovat pro vaše použití)

Poznámka: Algoritmy pro odečet bází (basecalling) lze v programu nastavit tak, aby sekvence byly zkracovány na základě ukazatelů kvality (viz „[Knihovna protokolů pro odečet bází - basecalling \(primární analýza – sekvenování\)](#)“ na straně 174).

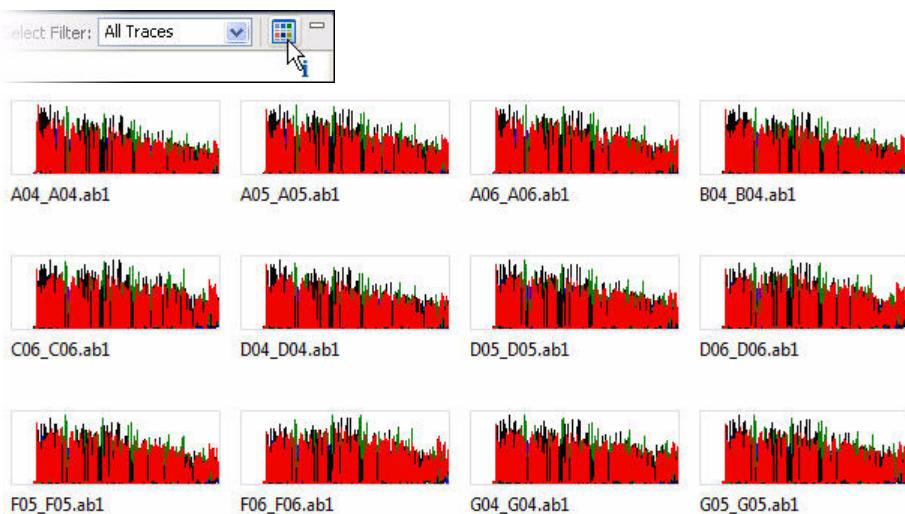
Čisté a směsné báze Pravděpodobnost chybného odečtu báze je pro čisté a směsné báze počítána stejně ($10^{-q/10}$). Platí přitom následující:

- Čisté báze odečtené s vysokou jistotou mají většinou QV 20 a vyšší.
- Rozpětí hodnot QV pro směsné báze je většinou výrazně odlišné od čistých bází.
- Hodnoty QV pro směsné báze zřídkaždy přesáhnou 30.
- Směsné báze odečtené s vysokou jistotou mohou mít hodnoty QV nízké (až 5), jelikož v případě směsných bází je vyšší pravděpodobnost chybného odečtu. Zkontrolujte směsné báze mající hodnoty QV mezi 5 a 10.

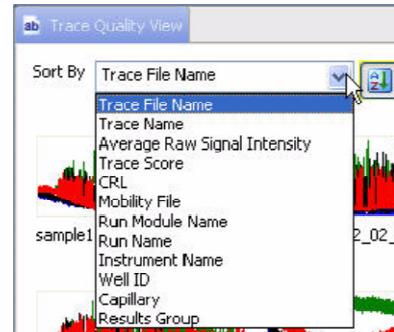
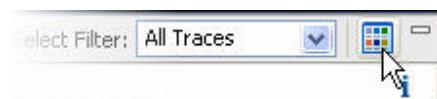
Ukazatele kvality (QV) a pravděpodobnost chyby (Pe)

QV	Pe	QV	Pe
1	79.0%	30	0.10%
5	32.0%	35	0.032%
10	10.0%	40	0.010%
15	3.2%	45	0.0032%
20	1.0%	50	0.0010%
25	0.32%	60	0.00010%

Náhledy 1. Chcete-li zobrazit náhledy výsledků, klikněte na View Thumbnails (Zobrazit náhledy).



2. Setříďte náhledy podle potřeby.
3. Chcete-li porovnat intenzitu signálu pro všechny vzorky, zvolte **Uniform Y Scaling**.
4. Náhledy zavřete kliknutím na View Tables.



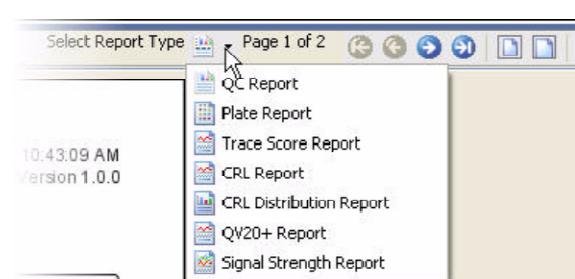
Opakování nástřík

Před dokončením běhu můžete zvolit vzorek a kliknout na Re-inject (Opakování nástřík).

Zobrazení, tisk a uložení (.pdf) výsledků

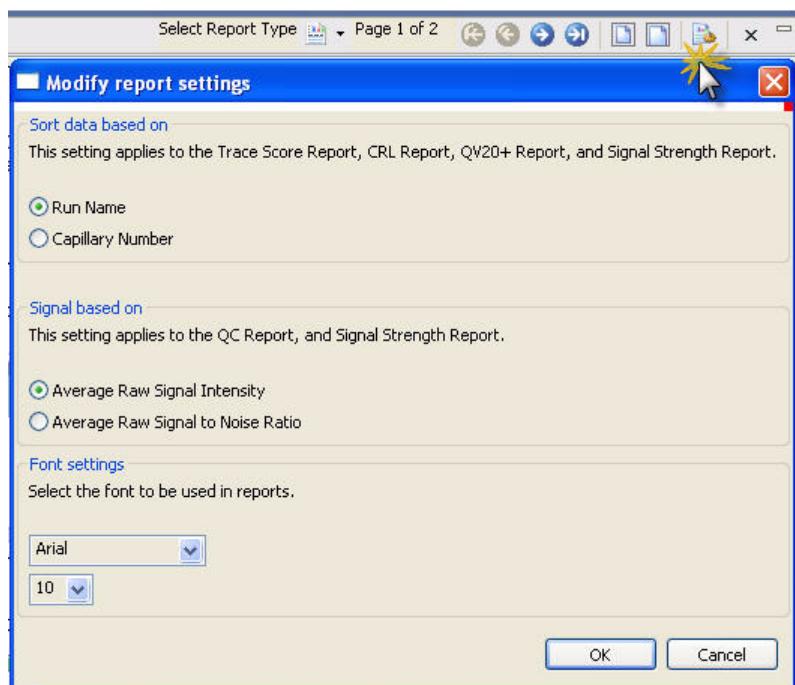
Zpráva o výsledcích

1. Klikněte na ikonu Zpráva o výsledcích, zvolte a vytiskněte požadovaný typ zprávy. Typ zprávy lze předvolit – viz Nastavení (Preferences) (viz „Zobrazení a zprávy při analýze výsledků sekvenování“ na straně 36).



2. Zvolte typ zprávy a zkontrolujte její obsah. Viz „Možnosti zpráv“ na straně 86.

3. Definujte parametry zprávy podle potřeby. Další nastavení lze provést podle pokynů v části Nastavení (Preferences - viz „Tisk chromatogramu (Uživatelské nastavení)“ na straně 38, „Kvalita chromatogramu (Uživatelské nastavení)“ na straně 38 a „Zpráva o kvalitě chromatogramu (Uživatelské nastavení)“ na straně 39).



4. Dvojím kliknutím myši na údaje ve zprávě zobrazíte relevantní chromatogram.
5. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu Print (Tisk).
6. Chcete-li zprávu uložit (.pdf), vytiskněte ji a jako tiskárnu zvolte **CutePDF Writer**.

7. Zavřete zprávu.



Možnosti zpráv

- **QC** – Kontrola kvality. Statistické údaje (graf) pro každý zvolený vzorek.
- **Plate** – Destička. Pro každou destičku zobrazené výsledky – náhledy chromatogramů (hrubá data). Barva záhlaví náhledu odpovídá kvalitě výsledku.
- **Trace Score, CRL a QV20+** – Statistické údaje (graf) pro každý zvolený vzorek – Trace score (Skóre chromatogramu), CRL, QV20+.
- **CRL Distribution** – Statistické údaje (graf) - CRL.
- **Signal Strength** – Intenzita signálu. Grafické znázornění průměrné intenzity signálu pro všechny zvolené vzorky.

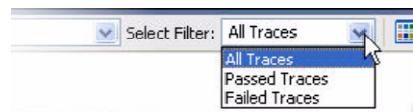


Export výsledků sekvenování

1. Zvolte (Filter) vzorky dle potřeby.
2. Zvolte, co chcete exportovat: Výsledky, zprávy nebo chromatogramy.
3. Zvolte možnosti exportu a adresář pro export a klikněte OK.

Soubor(y) je exportován do zvoleného adresáře a pojmenován následovně:

- **Výsledky - Results** – *export_ReportName.txt*
- **Zprávy - Reports** – *ReportName.** (* - zvolený typ souboru: .txt, .xls, .pdf, .html)
- **Chromatogramy - Traces** – *FileName.** (* - zvolený typ souboru: .annotation.txt, .phd.1, .scf, .fsta, .qual, .seq)

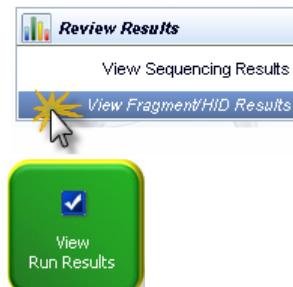


Kontrola výsledků fragmentační analýzy/HID

Obrazovka View Fragment/HID Results (Zobrazení výsledků fragmentační analýzy/HID)

Otevřete obrazovku View Fragment/HID Results z:

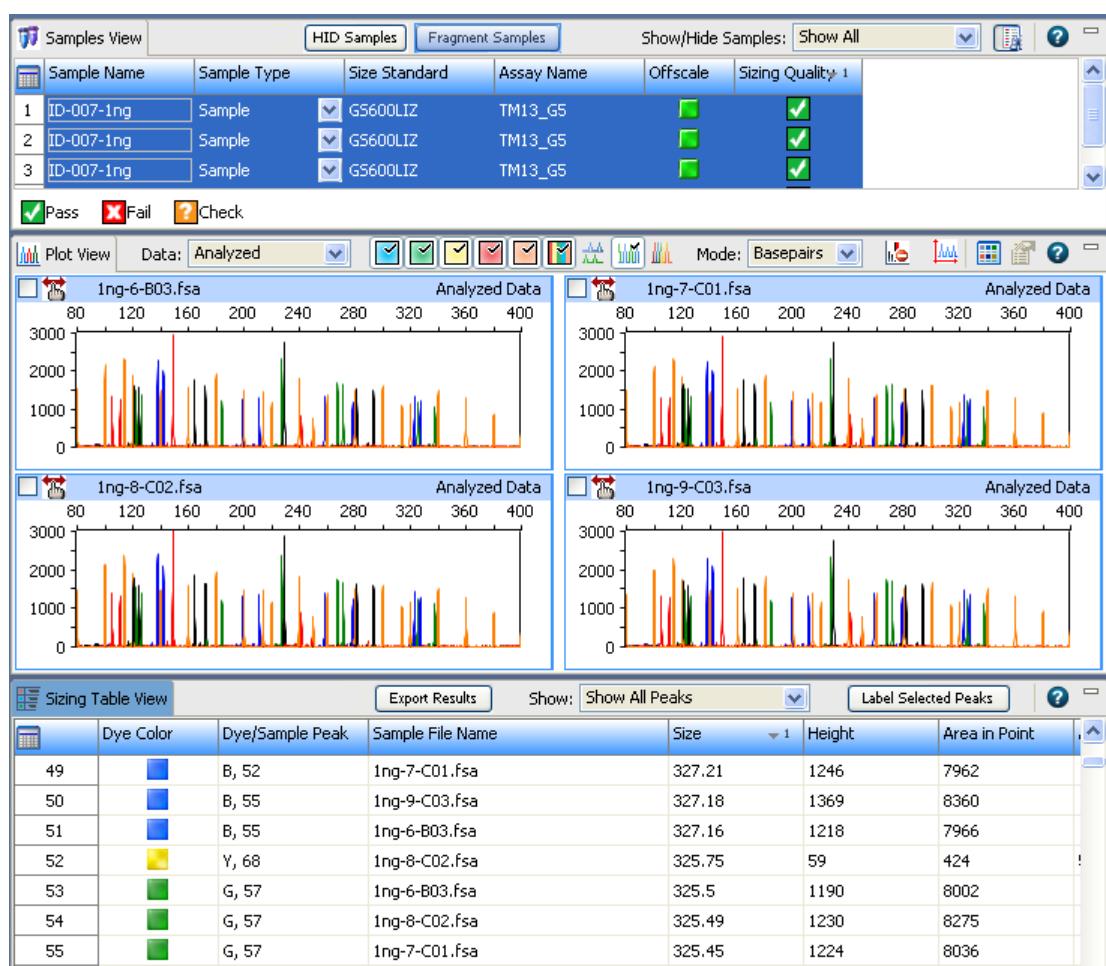
- Obrazovky Monitor Run (Monitorování běhu) kliknutím na **Review Results (Kontrola výsledků)**.
- Navigační lišty kliknutím na **View Sequencing Results (Zobrazení výsledků sekvenování)**.
- Ovládacího panelu kliknutím na **View Run Results (Zobrazení výsledků běhu)**.



Kontrola výsledků – aktuálně analyzovaná destička

Zobrazíte-li výsledky fragmentační analýzy/HID je-li přístroj v běhu, v tabulce výsledků se zobrazí výsledky dokončených nástříků aktuálně probíhajícího běhu.

Zvolte jeden nebo více vzorků v tabulce a zobrazte výsledky jejich analýzy (graf a tabulka).

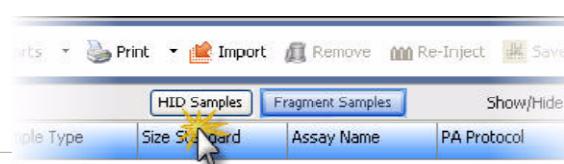


Kontrola výsledků – předchozí analýzy

Zobrazíte-li výsledky fragmentační analýza/HID není-li přístroj v běhu a destička není propojena, nezobrazí se žádné výsledky. (Je-li aktuální destička propojena, zobrazí se výsledky z této destičky.)

Chcete-li zobrazit výsledky předchozích analýz, klikněte na **Import**  a zvolte, které výsledky chcete zobrazit.

Poznámka: Přednastavené je zobrazení typu Samples.
Importujete-li soubory HID, zvolte **HID Samples**.



Kontrola kvality vzorku

- V zobrazení vzorků klikněte na ikonu Table Settings (Nastavení tabulky) a zvolte, které sloupce se mají v tabulce zobrazovat.
- Dvojklikem na záhlaví sloupců Offscale, Pull-Up (fragmentační analýza), Broad Peak (HID) a SQ setříďte vzorky s problematickými vlaječkami (flags) v tabulce nahoru.



Možné je i třídění podle více sloupců (viz "[Třídění](#)" na straně 97).

Offscale	Spectral PullUp	Sizing Quality 1

Vlaječka/Symboly	Popis
Offscale	⚠️ Příliš intenzivní signál v alespoň jednom bodě v daném rozsahu analýzy dat (Analysis range) – dochází k přesvícení CCD čipu. Poznámka: Na obrazovce Monitor Run (Monitorování běhu) je vzorek, který je offscale, označen symbolem .
Pull-Up (pouze fragmentační analýza)	⚠️ Součástí alespoň jednoho píku je tzv. pull-up pík (výška menšího píku je $\leq X\%$ hlavního píku a je ve vzdálenosti $\pm Y$ datových bodů od hlavního píku, hodnoty X a Y viz Kapitola 6 Správa knihoven)
Broad Peak – Široký pík (pouze analýza HID)	⚠️ Šířka alespoň jednoho píku přesahuje stanovený limit. Je-li pík příliš široký, má to vliv na kvalitu stanovení velikosti píků (Sizing Quality). Viz Kapitola 6 Správa knihoven . Poznámka: Umístěte-li kurzor nad vlaječku širokého píku, zobrazí se číselný údaj, nejedná se však o údaj udávající šířku píku.
Limit normalizace	Při analýze byl použit velikostní standard umožňující normalizaci, normalizační faktor pro daný vzorek je v rámci limitu. Při analýze byl použit velikostní standard umožňující normalizaci, normalizační faktor pro daný vzorek není v rámci limitu. <ul style="list-style-type: none"> Žádný údaj – Normalizace je možná, ale hodnota SQ je . NO – Při analýze nebyl použit velikostní standard umožňující normalizaci. N/A – Vzorek byl analyzován na jiném přístroji než na přístroji 3500 nebo 3500xL. Více informací viz "Kontrola výsledků normalizace" na straně 90. Poznámka: Je-li parametr SQ , normalizace se neprovádí, i když je normalizační faktor v rámci limitu.

Sizing Quality – Kvalita odečtu velikostí píků    Poznámka: Je-li parametr SQ  , normalizace se neprovádí, i když je normalizační faktor v rámci limitu.	  - Kvalita odečtu velikostí píků je pochybná nebo nízká. Umístěte-li kurzor nad vlaječku Sizing Quality, zobrazí se číselná hodnota tohoto parametru. Viz Kapitola 6 Správa knihoven .
--	---

3. Klinutím na vlaječku v tabulce vzorků nebo přímým zvolením vzorků v tabulce tyto zobrazíte.
4. (Volitelné) Úprava zobrazení vzorků:
 - Klikněte pravým tlačítkem myši do pole Velikostní standard (Size Standard), zobrazí se velikostní standard daného vzorku.
 - Klikněte na **Minimize (Minimalizovat)** a **Restore (Obnovit)**  

Kontrola výsledků normalizace

Účelem normalizace je korekce variability výsledků, dané používáním různých přístrojů a kapilár, a způsobené variabilitou nástříku. Je-li použití normalizace definováno v primárním analytickém protokolu, vypočítá program pro každý vzorek normalizační faktor. Tento faktor se používá jako násobitel k úpravě výšky píků vzorku relativně vůči píkům velikostního standardu GS600 LIZ® V2.

Podmínkou normalizace je použití velikostního standardu, který to umožňuje (definováno v primárním analytickém protokolu eseje).

Poznámka: Je-li parametr SQ , normalizace se neprovádí, i když je normalizační faktor v rámci limitu. Ujistěte se, že používáte normalizační standard vhodný pro vaše účely. Více informací viz [“Velikostní standardy pro normalizaci”](#) na straně 171.

Jak se používá normalizace

Při normalizaci program:

1. Zjistí, zda byla data získána na přístroji 3500 nebo 3500xL.
2. Zjistí, zda byla data získána za použití velikostního standardu umožňujícího provedení normalizace.
3. Vypočítá pro každý vzorek za použití údajů o fragmentech velikostního standardu tzv. normalizační faktor. Tento faktor je vypočítán jako poměr cíle normalizace (Normalization Target) a průměrné výšky píků velikostního standardu ve vzorcích.
4. Porovná vypočítaný normalizační faktor vzorku s prahovými hodnotami, definovanými v programu v protokolu přístroje.
5. Je-li hodnota vypočítaného normalizačního faktoru v předem stanoveném rozsahu, jsou výšky píků vzorku násobeny tímto faktorem.
Není-li hodnota vypočítaného normalizačního faktoru v předem stanoveném rozsahu, jsou výšky píků vzorku násobeny maximální nebo minimální povolenou prahovou hodnotou normalizačního faktoru. Např. je-li povolený rozsah pro hodnotu normalizačního faktoru 0.3 až 3.0 a vypočítaný normalizační faktor má hodnotu 5, program použije normalizační faktor 3.0).
6. Zobrazí stav normalizace daného vzorku ve sloupci Normalization Limit.

Normalizační faktor při sekundární analýze

Je-li normalizace použita v programu 3500 Series Data Collection, je hodnota vypočítaného normalizačního faktoru uložena spolu s hrubými daty a použita při analýze výsledků v programech GeneMapper® v4.1 nebo GeneMapper® ID-X v1.2. Normalizaci lze zapnout či vypnout v nastavení metody analýzy. Není-li normalizace použita v programu 3500 Series Data Collection (nebyl použit vhodný velikostní standard nebo se nezdařil odečet velikosti píků – SQ -), nelze normalizaci v rámci sekundární analýzy použít.

Grafy

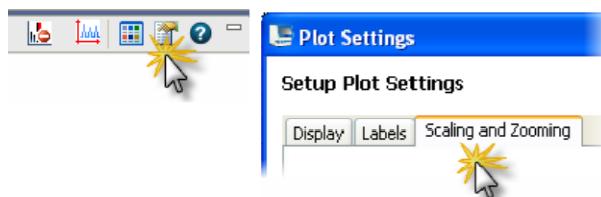
1. V tabulce vzorků zvolte příslušné vzorky.
2. Nastavte zobrazení grafů podle potřeby pomocí ikon v nástrojové liště. Popis ikony se zobrazí, umístíte-li nad ní kurzor.



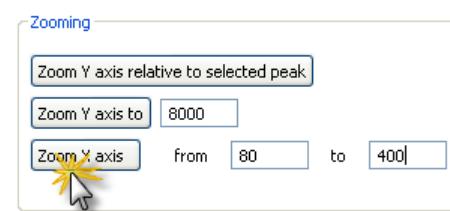
DŮLEŽITÉ! Pokud jste napřed zobrazili vzorek se čtyřbarevným značením a následně s pětibarevným značením, musíte pátou barvu navolit ručně. Není navolena automaticky.

3. Nastavte rozlišení:

Nastavte rozsah
zobrazení os Y a X,
poté klikněte na tlačítka
Zoom.



DŮLEŽITÉ! Při zobrazení výsledků je nutné toto nastavení provést vždy opakovaně. Rozlišení není při zobrazení výsledků nastaveno automaticky.

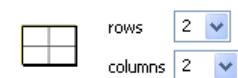


Chcete-li nastavené rozlišení použít pro všechny vzorky v tabulce vzorků, označte v tabulce všechny vzorky, nastavte požadované rozlišení, klikněte na **Zoom** a poté pomocí kláves **Page Up** a **Page Down** zobrazte všechny vzorky.

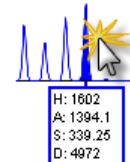
Je-li ikona šedá, znamená to, že okno Plot Settings (Nastavení grafů) je otevřené. Klikněte na ikonu 3500 v systémové liště a zvolte Plot Settings.



4. Podle potřeby zvolte zobrazení více grafů najednou:
v záložce Plot Settings Display zvolte
Checkerboard (Šachovnice).



5. Označte pík – klikněte na něj (chcete-li označit všechny píky, postupujte podle pokynů v části „Označení píků“ na straně 93).



Zvětšení 1. Umístěte kurzor myši *nad graf* nebo *vlevo od grafu* na počátek oblasti, kterou chcete zvětšit, a klikněte, kurzor se změní na .

2. Přetáhněte kurzor na konec oblasti, kterou chcete zvětšit. Nesmíte kurzor táhnout směrem do grafu, symbol zmizí a zvětšení nebude možné.



**Nastavení
grafu**

Klikněte na ikonu (Plot Settings – Nastavení grafu) v nástrojové liště grafu. Více informací o nastavení grafu získáte po kliknutí na ikonu .

Je-li ikona šedá, znamená to, že okno Plot Settings (Nastavení grafů) je otevřené. Klikněte na ikonu 3500 v systémové liště a zvolte Plot Settings

Překryv vzorků 1. Zvolte vzorky, které chcete zobrazit.

2. Klikněte na ikonu **Overlay All (Překryv)**. Je-li zvolena možnost Combine Dyes (Kombinovat barvy), zobrazí se jediný graf se všemi vzorky a barvami. Je-li zvolena možnost Separate Dyes (Oddělit barvy), zobrazí se každá barva samostatně, všechny vzorky překryté.

Označení píků 1. Zvolte vzorky, které chcete zobrazit.

2. Klikněte na ikonu (Plot Settings – Nastavení grafu) v nástrojové liště grafu.



3. V dialogovém okně Plot Settings zvolte záložku **Labels (Označení)**.
4. Pokud jste již nastavili předdefinované označení píků, pak v části Labelling Options (Možnosti označení):
 - a. Zvolte **Show Peak Labels (Zobrazit označení píků)**.
 - b. Klikněte na **Label Peaks (Označit píky)**.
 - c. Klikněte na **Apply (Použít)**.

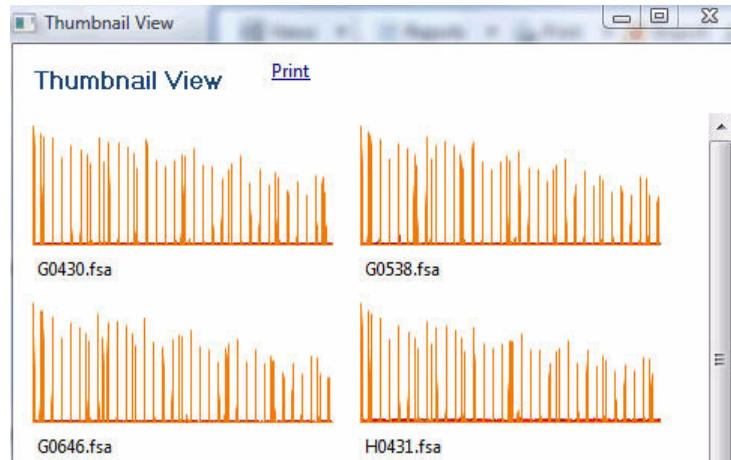
DŮLEŽITÉ! Při zobrazení výsledků je nutné toto nastavení provést vždy opakovaně. Označení není při zobrazení výsledků nastaveno automaticky.

Pokud jste ještě nenastavili předdefinované označení píků:

- a. V části Labels to Show (Použité označení) zvolte požadované označení.
- b. V části Labelling Options (Možnosti označení):
 - Zvolte **Show Peak Labels (Zobrazit označení píků)**.
 - Chcete-li označit všechny píky, klikněte na **Label Peaks (Označit píky)** (musí být zatržena možnost **All - Všechny**).
 - Chcete-li označit určité píky, ze seznamu zvolte kategorii pro jejich označení (Height - Výška, Area - Plocha, Size - Velikost) a požadovaný rozsah (např. zvolíte-li Výšku, musíte určit výškový rozsah, označeny budou pouze píky v tomto rozsahu), poté klikněte na **Label Peaks (Označit píky)**.
 - Zvolte možnost **Retain Labels (Ponechat označení)**.
- a. Klikněte na **Save to Preferences (Uložit předdefinované nastavení)**. Předdefinované nastavení můžete kdykoliv změnit.
- b. Klikněte na **Apply (Použít)**.

Náhledy

Klikněte na View Thumbnails (Zobrazit náhledy), chcete-li zobrazit náhledy zvolených vzorků a barev.



Kontrola odečtu velikosti píků

Zobrazení Sizing Table umožňuje zobrazit:

- **Pro fragmentační analýzu** – Všechny barvy
- **Pro HID** – Pouze barvu velikostního standardu (oranžová nebo červená)

Nastavení tabulky vzorků

1. Zvolte vzorky, které chcete zobrazit.
2. Klikněte na ikonu Table Settings (Nastavení tabulky) a zvolte, které sloupce se mají v tabulce zobrazovat.
3. Filtrujte data v tabulce dle potřeby, viz obrázek.
4. Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte. Možné je i třídění podle více sloupců (viz "[Třídění podle více sloupců](#)" na straně 97).
5. Zvolte řádky v tabulce vzorků a klikněte na **Label Selected Peaks** (Označit zvolené píky).



Kontrola velikostního standardu

1. V nástrojové liště grafu vyberte pouze barvu odpovídající velikostnímu standardu (červená nebo oranžová).
2. V tabulce zvolte požadované píky velikostního standardu.

3. Klikněte na **Label Selected Peaks (Označit zvolené píky)**, v grafu se označí píky velikostního standardu.

Poznámka: Pokud se označení nezobrazí, klikněte na ikonu (Nastavení grafu) v nástrojové liště grafu a zvolte možnost Show Labels (Zobrazit označení píků) v záložce Labels (Označení). Klikněte na **Save to Preferences (Uložit předdefinované nastavení)**.

4. Ujistěte se, že všechny píky velikostního standardu jsou správně označeny.

Překryv křivek pro odečet velikostí

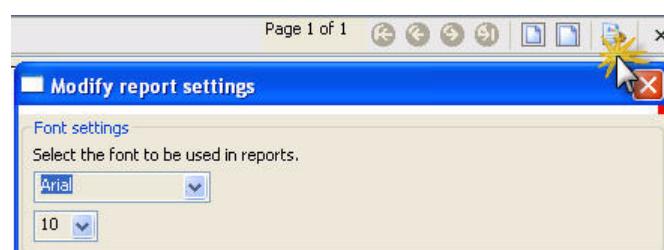
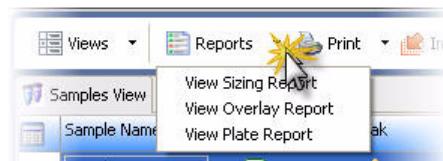
1. Klikněte na ikonu Plot Settings (Nastavení grafu) v nástrojové liště grafu.
2. Zvolte **Overlay Sizing Curve (Překryv křivek pro odečet velikostí)** v záložce Display (Zobrazení).

Opakování nástřík

Před skončením běhu zvolte vzorky s vlaječkami, ukazujícími nízkou nebo pochybnou kvalitu výsledku, a zvolte opakování nástřík - **Re-inject**.

Zobrazení, tisk a uložení (.pdf) zpráv o kvalitě vzorků

1. V tabulce vzorků zvolte požadované vzorky.
2. Klikněte na ikonu **Reports (Zprávy)**, zvolte požadovaný typ zprávy.
3. Zprávy se zobrazují ve spodní části obrazovky.
4. Upravte zobrazení zprávy dle potřeby.

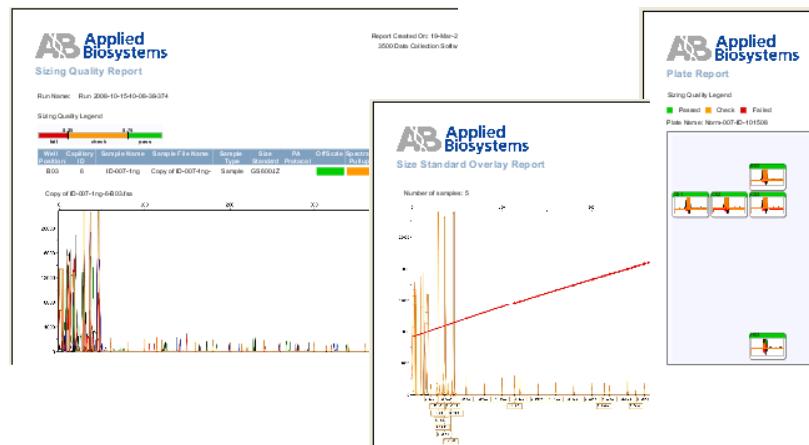


5. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu **Print (Tisk)**, poté zvolte Náhled (Preview) nebo rovnou tisk.
6. Tisknete-li jakoukoliv zprávu, můžete zvolit tiskárnu **CutePDF Writer** a uložit tak zprávu ve formátu .pdf.
7. Zavřete zprávu.



Typy zpráv

- **Sizing** – Odečet velikosti fragmentů. Jedna strana – jeden vzorek, zobrazuje hodnoty ukazatelů kvality pro zvolený vzorek a elektroferogram. V rámci zprávy není zohledněno nastavené zvětšení grafu.
- **Overlay** – Překryv. Jedna strana – všechny zvolené vzorky, zobrazuje velikostní standardy a křivky pro odečet velikostí (size standard curves).
- **Plate** – Destička. Jedna strana – jedna destička, zobrazuje náhledy vzorků v odpovídající poloze v destičce, barva záhlaví odpovídá kvalitě odečtu velikosti píků. V rámci zprávy není zohledněno nastavené zvětšení grafů.



Export výsledků fragmentační analýzy / HID

1. Definujte tabulku s odečtenými velikostmi píků podle pokynů výše.
Exportovány jsou všechny řádky i sloupce zobrazené v tabulce.
2. Klikněte na **Export Results (Exportovat výsledky)**.

Další možnosti kontroly výsledků

Přejmenování

Poznámka: Měníte-li názvy vzorků, jsou tyto změny sledovány pouze v případě, že součástí vašeho systému je modul Security (Zabezpečení), Audit (Sledování změn) a E-signature (Elektronický podpis) (tzv. modul SAE) a je umožněna možnost sledování změn (Audit).

1. Ve sloupci Sample Name (Název vzorku) zvolte vzorek, který chcete přejmenovat, nebo kliknutím do záhlaví tohoto sloupce zvolte celý sloupec.
2. Klikněte na ikonu  **Rename (Přejmenovat)**.
3. V poli Search (Hledat) zadejte původní název vzorku.
4. V poli Rename (Přejmenovat) zadejte nový název vzorku.
5. Klikněte na Search a poté na Rename.

Třídění

Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte. Možné je i třídění podle více sloupců:

- Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte.
- Kliknutím do záhlaví dalšího sloupce při současném stisku Alt+Shift setřídíte data podle tohoto sloupce.
- Kliknutím do záhlaví třetího sloupce při současném stisku Alt+Shift setřídíte data podle tohoto sloupce.

Priorita třídění je znázorněna číslicemi v záhlaví sloupců.



Další analýza dat

Chcete-li upravit či dále analyzovat vaše výsledky sekvenování, fragmentační analýzy nebo HID analýzy, použijte k tomu určené programy sekundární analýzy dat jako např.:

- **Sekvenování** – SeqScape® v2.7 (nebo vyšší), MicroSeq® ID v2.2 (nebo vyšší), Variant Reporter™ (v1.1 nebo vyšší) a Sequence Analysis (SeqA) (v5.4 nebo vyšší)
- **Fragmentační analýza** – GeneMapper® v4.1 (nebo vyšší)
- **HID** – GeneMapper® ID-X v1.2 (nebo vyšší)

Kalibrace a kontrola funkčnosti

Část 1 Kalibrace

Prostorová kalibrace

Program 3500 Series Data Collection používá obrazy sejmuté během prostorové kalibrace pro odvození vztahu mezi signálem emitovaným každou z kapilár a místem, kam tento signál dopadá a kde je detekován CCD kamerou.

Kdy provádět prostorovou kalibraci

Prostorovou kalibraci musíte provést, když:

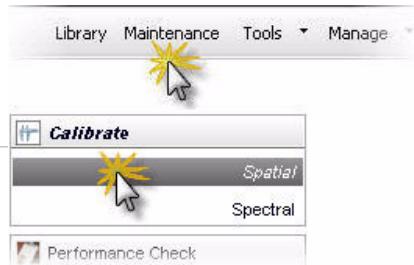
- Instalujete nebo měníte sadu kapilár
- Otevříte dvírka detekčního bloku
- Přemisťujete přístroj

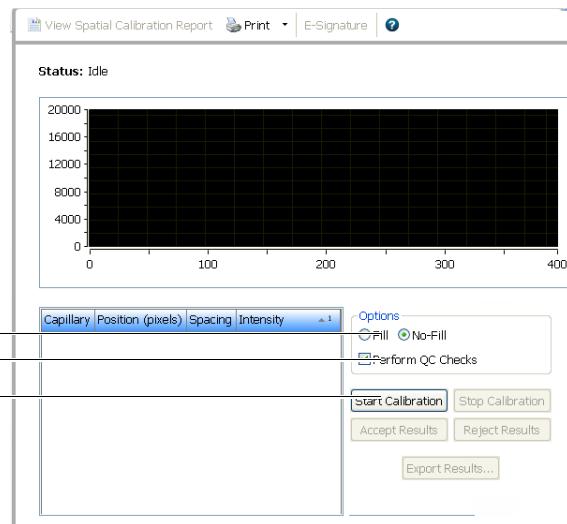
Provedení prostorové kalibrace

DŮLEŽITÉ! Během prostorové kalibrace neotvírejte dvírka přístroje. Pokud je otevřete, kalibrace se zastaví a program 3500 Series Data Collection bude nutné spustit znova.

1. Přejděte na obrazovku Spatial Calibration (Prostorová kalibrace):
V navigační liště zvolte **Maintenance (Údržba)**, poté zvolte **Spatial Calibration (Prostorová kalibrace)**.

Poznámka: Na obrazovce nejsou zobrazeny žádné výsledky, nebyla-li prostorová kalibrace již předešle provedena.



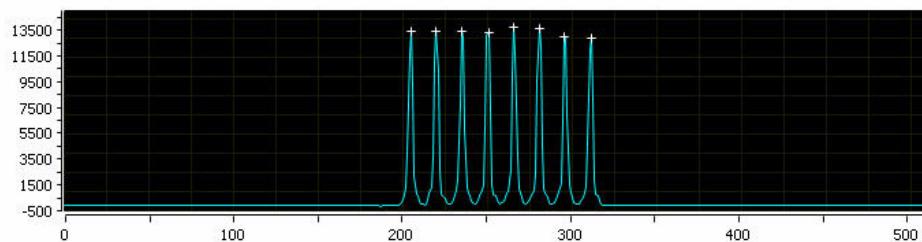


2. Zvolte jednu z možností - **No Fill (Nenaplňit)** nebo **Fill (Naplňit)**, podle toho, zda chcete před kalibrací naplnit kapilární sadu čerstvým polymerem.
 (Volitelné) Zvolte **Perform QC Checks (Provést kontrolu kvality)** pokud chcete, aby systém kontroloval výsledek kalibrace v jedné každé kapiláře z hlediska vzdáleností kapilár (spacing) a intenzity signálu. Během kalibrace program počítá:

Parametr	Výpočet	Prahová hodnota
Průměrná výška píku	<u>Součet výšek všech píků</u> Počet píků	<ul style="list-style-type: none"> • 8-kapilár: 6400 RFU • 24-kapilár: 3000 RFU
Uniformita (podobná výška píku)	Standardní odchylka Průměrná výška píku	0.2
Vzdálenost kapilár	Max. vzdálenost – min. vzdálenost	2 pixely

3. Klikněte na **Start Calibration (Spustit kalibraci)**.

V průběhu kalibrace se aktualizuje zobrazení jejího výsledku na displeji.



Překročí-li hodnota jakékoliv parametru kontroly kvality definovanou prahovou hodnotou, zobrazí se chybová hláška.

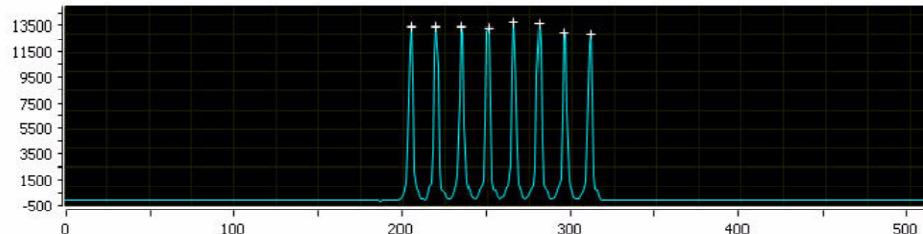
Vyhodnocení prostorové kalibrace

Po dokončení kalibrace:

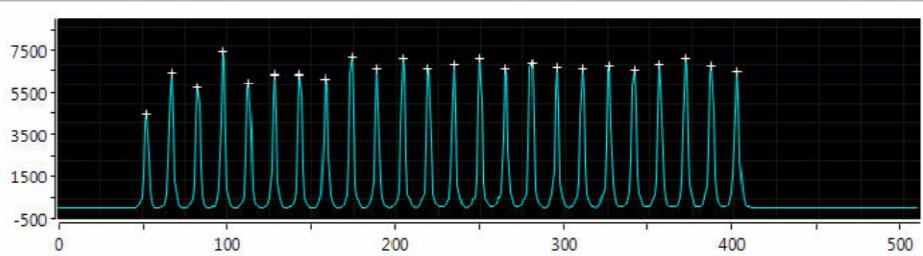
1. Zkontrolujte profil píků, musíte vidět:
 - Jeden pik pro každou kapiláru. Malé "hrbolky" jsou přijatelné.
 - Na každém vrcholku piku jednu značku (+). Žádné značky mimo pik.
 - Rovnoměrný profil piků (podobná výška všech piků).
2. Splňují-li výsledky shora uvedená kritéria, klikněte na **Accept Results** (**Přijmout výsledek**).
Nesplňují-li výsledky shora uvedená kritéria, klikněte na **Reject Results** (**Odmítout výsledek**), dále postupujte podle pokynů v části "[Řešení problémů – Prostorová kalibrace](#)" na straně 300.

Příklady profilů prostorové kalibrace

8-kapilár



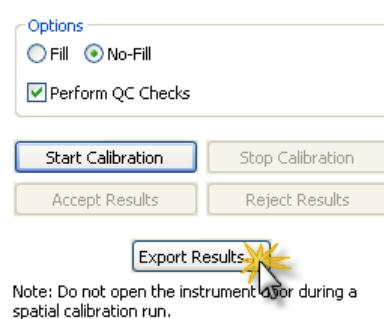
24-kapilár



Export výsledků prostorové kalibrace

Chcete-li exportovat výsledky prostorové kalibrace:

1. Klikněte na **Export**.
2. Zadejte název exportovaného souboru.
3. Zvolte typ exportovaného souboru.
4. Klikněte na **Save (Uložit)**.



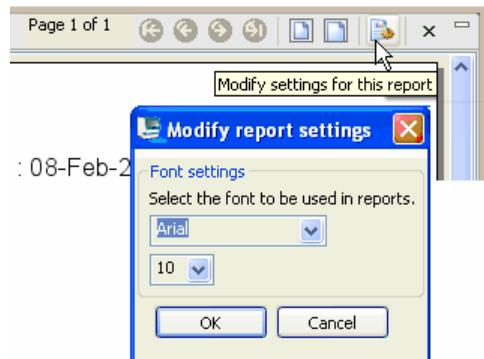
Exportují se následující údaje:

- Číslo kapiláry
- Pozice (pixely)
- Vzdálenost (Spacing)
- Intenzita

Zobrazení a tisk zprávy o prostorové kalibraci

Poznámka: Zprávy o prostorové a spektrální kalibraci obsahují i datum první instalace kapiláry na přístroji. Zprávy o analýze instalačních standardů obsahují datum nejnovější instalace kapiláry (za předpokladu, že kapilára byla vyjmuta a znova instalována).

1. Klikněte na  **View Spatial Calibration Report (Zobrazit zprávu o prostorové kalibraci)**.
2. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte vlastnosti zprávy podle potřeby. Popis funkce ikony získáte, umístíte-li nad ní kurzor.



3. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu  **Print**.



4. Zavřete zprávu.

Uložení starších zpráv o kalibraci (.pdf)

DŮLEŽITÉ! Po provedení kalibrace uložte zprávu v elektronické formě. Program neuchovává výsledky předešlých kalibrací, uložena je pouze aktuální kalibrace.

1. Klikněte na ikonu  **View Spatial Calibration Report (Zobrazit zprávu o prostorové kalibraci)**.
2. Klikněte na ikonu  **Print (Tisk)**.
3. V dialogovém okně Printer (Tiskárna) zvolte tiskárnu **CutePDF Writer**.
4. Zadejte název zprávy a zvolte adresář, kam se má zpráva uložit.

Spektrální kalibrace

Účelem spektrální kalibrace je vytvořit matrici, která je během běhu používána ke zpracování (redukci) hrubých dat (raw data) z přístroje na data uchovávaná v souborech jednotlivých vzorků ve 4, 5, 6 barvách nebo ve formátu AnyDye (jakákoli barva).

Kdy provádět spektrální kalibraci

Proveďte spektrální kalibraci pro každou kombinaci souboru barev (dye set) a typu polymeru, kterou používáte:

- Soubor barev pro sekvenování/typ polymeru
- Soubor barev pro fragmentační analýzu/typ polymeru
- Soubor barev pro HID/typ polymeru

Proveďte spektrální kalibraci:

- Používáte-li na přístroji nový soubor barev (dye set)
- Pokud chcete použít jinou kapiláru
- Pokud měníte typ polymeru
- Pokud servisní technik provedl přenastavení/výměnu laseru nebo CCD kamery či zrcátek
- Pokud pozorujete zhoršení spektrální separace (píky typu pull-up a/nebo pull-down – zvětšené nebo zmenšené) v hrubých nebo analyzovaných datech

Poznámka: Používáte-li sekvenační standardy v3.1 nebo v1.1 a chcete provést kontrolu funkčnosti a spektrální kalibraci, můžete tuto proceduru vynechat a provést kontrolu funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu. Zvolíte-li v rámci kontroly funkčnosti možnost Keep Spectral Calibration Data (Uložit výsledek spektrální kalibrace), program provede během kontroly funkčnosti i spektrální kalibraci pro soubor barev E nebo Z a umožní vám její výsledky uložit. Více informací viz ["Kontrola funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu"](#) na straně 119.

Předpokládaná doba běhu

Typ standardu	Typ polymeru	Doba běhu (min)
Matriční standard	jakýkoliv	≤30
Sekvenační standard	POP-7™ polymer	≤40
	POP-6™ polymer	≤135

Příprava spektrální kalibrace

Příprava přístroje

1. Pokud jste ji již neprovédli, provedte prostorovou kalibraci (viz „[Prostorová kalibrace](#)“ na straně 99).
2. V Ovládacím panelu zkontrolujte stav spotřebního materiálu ([strana 29](#)). Ujistěte se, že:
 - Spotřební materiál není prošlý
 - K dispozici je dostatečný počet nástřiků
3. Zkontrolujte, že pufry jsou doplněny po plnící rysky („[Kontrola zásobníků s pufrem](#)“ na straně 31).
4. Nastavte teplotu pásky (Oven) a klikněte na **Start Pre-heat (Předeheřátí)**:
 - **60 °C** – POP-7™ polymer
 - **50 °C** – POP-6™ polymer

Pácka a detekční blok se předeheřejí zatímco budete připravovat běh (teplota detekčního bloku je nastavena automaticky). Předeheřátí eliminuje jemné fluktuace v rychlosti migrace fragmentů během prvního běhu. Vytápění pásky se vypne automaticky pokud není přístroj po 2 hodiny v provozu.

Je-li přístroj studený, doporučuje společnost Applied Biosystems předeheřátí pásky po dobu nejméně 30 min před spuštěním běhu.
5. Ověřte, že v systému nejsou bubliny a v případě potřeby je odstraňte pomocí průvodce odstraněním bublin (tzv. Remove Bubble wizard - viz [strana 251](#)).

Příprava kalibračního standardu

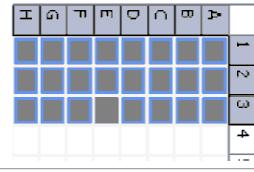
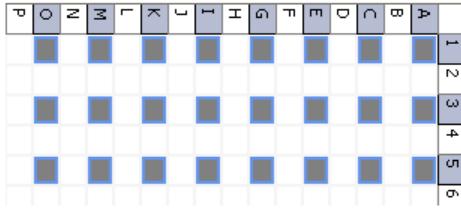
DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte deformované nebo poškozené destičky. 

1. Připravte kalibrační standard podle pokynů v příbalovém letáku. Katalogová čísla standardů viz [Tabulka 28 na straně 259](#) a [Tabulka 29 na straně 260](#).

Soubor barev	Standard
E	BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Sequencing Standard
	BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Matrix Standard
Z	BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Sequencing Standard
	BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Matrix Standard
F	DS-32 Matrix Standard
E5	DS-02 Matrix Standard
G5	DS-33 Matrix Standard

2. Pipetujte standard do pozice prvního nástríku v destičce:

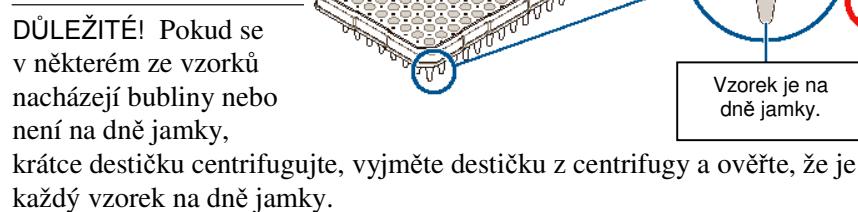
DŮLEŽITÉ! Při provádění kalibrace nedefinujete obsah destičky. Používá se předdefinované nastavení kalibrační destičky, nelze definovat, v jakých jamkách je standard umístěn. Pokud nepipetujete kalibrační standard do určených pozic, kalibrace se nezdaří.

8-kapilár 96-jamková destička	A1 až H1	
24-kapilár 96-jamková destička	A1 až H1, A2 až H2 a A3 až H3	
24-kapilár 384-jamková destička Poznámka: 384- jamkovou destičku nelze na 8- kapilárních přístrojích použít.	Sloupce 1, 3 a 5 v řádcích A, C, E, G, I, K, M, O	

- 96** – Lze použít 96-jamkovou standardní destičku. Při použití vhodných adaptérů lze použít i zkumavky ve stripech po osmi.
- 96-Fast Tube** – Lze použít 96-jamkovou destičku typu Fast. Při použití vhodných adaptérů lze použít i zkumavky ve stripech po osmi.

3. Krátce destičku centrifugujte.

4. Vyjměte destičku z centrifugy a ověřte,
že je každý vzorek na dně jamky.



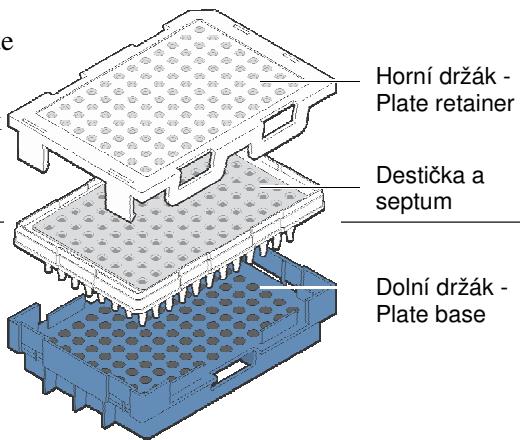
5. Ponechejte destičku na ledu do té doby, než budete připraveni umístit ji spolu s držáky do přístroje.

Příprava destičky

DŮLEŽITÉ! Následující kroky provádějte na čistém a rovném pracovním stole. Destičky, které jsou uzavřeny septem, nezahřívejte.

1. Otvory v septu a v jamkách srovnejte do zákrytu, poté zatlačte septum do otvorů v destičce.
2. Položte destičku na spodní držák (plate base).

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že používáte správný typ spodního držáku (standardní destičky versus 8-zkumavkové stripy a destičky typu fast). Nevhodný držák ovlivní kvalitu výsledku.



3. Uchycete destičku k dolnímu držáku pomocí horního držáku (plate retainer).
4. Ověřte, že jsou otvory horního držáku a septa v zákrytu. Pokud ne, rozeberte destičku a držáky a sestavte je znova.

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

Vložení destičky do přístroje

1. Umístěte destičku na autosampler označením vpřed (ke dveřím přístroje) a šikmým rohem do šikmého vybrání autosampleru.
2. Zavřete dveře přístroje.



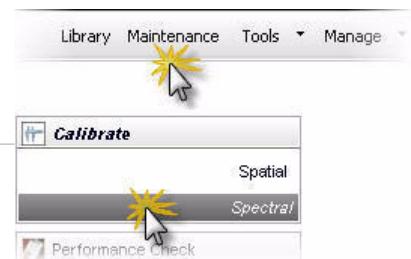
Provedení spektrální kalibrace

DŮLEŽITÉ! Během spektrální kalibrace neměňte nastavení elektronického podpisu.

DŮLEŽITÉ! Změňte-li typ polymeru, nejsou spektrální kalibrace pro původní typ polymeru uloženy.

- Přejděte na obrazovku Spectral Calibration (Spektrální kalibrace): V navaigacní liště zvolte Maintenance (Údržba), poté zvolte Spectral Calibration (Spektrální kalibrace).

Poznámka: Na obrazovce nejsou zobrazeny žádné výsledky nebyla-li spektrální kalibrace již provedena. Chcete-li zobrazit výsledky předchozích spektrálních kalibrací, klikněte na History View.



- Zadejte počet jamek v destičce (Number of wells) a pozici destičky v přístroji (Plate position).

Poznámka: Při provádění kalibrace nedefinujete obsah destičky. Používá se předdefinované nastavení kalibrační destičky, nelze definovat, v jakých jamek je standard umístěn.

-
3. Zvolte standard (Chemistry standard) a soubor barev (Dye set), pro který provádíte kalibraci.

Poznámka: Je-li rozbalovací nabídka souborů barev prázdná, ujistěte se, že pro vámi vybraný kalibrační standard používáte odpovídající typ polymeru a kapiláru správné délky.

DŮLEŽITÉ! Chcete-li provést kalibraci vlastního souboru barev (custom dye set) pomocí souboru barev AnyDye, nejprve musíte vytvořit váš soubor barev (viz „[Jak vytvořit nový soubor barev](#)“ na straně 168), poté zvolte tento soubor barev v rozbalovací nabídce Dye Set. Možnost AnyDye v rozbalovací nabídce Dye Set obsahuje přednastavené parametry a neodpovídá vlastním souborům barev, které vytváříte.

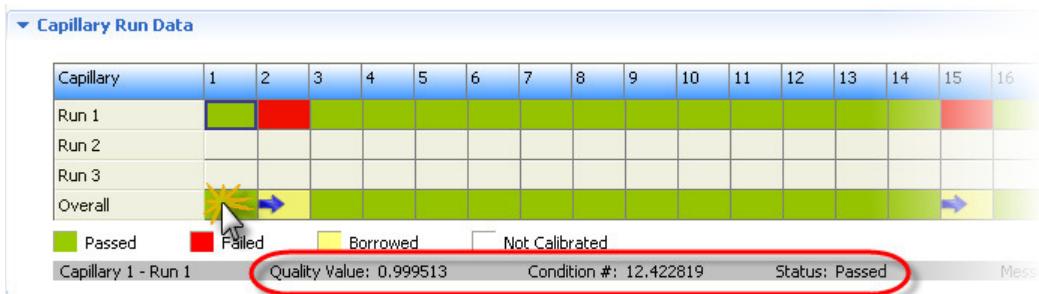
4. (Volitelné) Zvolte **Allow Borrowing (Umožnit vypůjčení)**. Zvolíte-li tuto možnost, pak v kapilárách, kde se kalibrace nezdařila, program tuto kalibraci automaticky nahradí kalibrací ze sousední kapiláry s nejvyšším ukazatelem kvality. Více informací viz „[Co se děje během spektrální kalibrace](#)“ na straně 112.
5. Klikněte na **Start Run (Spustit běh)**:
 - Systém zadá provedení tří nástírků (informace o počtu provedených nástírků viz „[Co se děje během spektrální kalibrace](#)“ na straně 112).
 - Po dokončení každého běhu se zobrazí aktuální informace.
 - Během prvního běhu se aktualizují informace ve stavové liště.

DŮLEŽITÉ! Během 2. a 3. běhu se neaktualizují informace ve stavové liště.

- Kapiláry, v nichž se kalibrace zdaří/nezdaří, jsou zobrazeny zeleně/červeně. Kapiláry s „vypůjčenou“ kalibrací jsou zobrazeny žlutě a pomocí šipky je znázorněno, z které kapiláry byla kalibrace vypůjčena.

Chcete-li zobrazit výsledky kalibrace příslušné kapiláry (spektrální data, Ukazatel kvality, parametr Condition Number), zvolte v tabulce příslušnou kapiláru.

Poznámka: Zvolíte-li kapiláru s vypůjčenou kalibrací, zobrazí se „vypůjčené“ výsledky. Chcete-li zjistit, proč v dané kapiláře došlo k selhání kalibrace, zobrazte zprávu o spektrální kalibraci. Viz „[Zobrazení a tisk zprávy o spektrální kalibraci](#)“ na straně 116.



Výsledky kalibrace zkontrolujte pro všechny nástríky včetně kapilár, které jsou vyobrazeny zeleně. Postupujte podle pokynů níže.

Ukazatel kvality a parametr Condition Number

Ukazatel kvality

Ukazatel kvality spektrální kalibrace vyjadřuje spolehlivost s jakou lze emisní signály jednotlivých barev oddělit od celkového naměřeného spektrálního signálu. Je to vyjádření shody vytvořené matrice a dat, na jejichž základě byla tato matrice vytvořena. Je-li hodnota ukazatele kvality 1.0, znamená to vysokou shodu, vytvořená matice je ideální a nebyly detekovány žádné píky typu pull-up/pull-down.

Ojediněle může dojít k tomu, že i nekvalitní matice může mít vysokou hodnotu ukazatele kvality. Může se to stát, pokud jsou v matričním standardu nějaké artefakty a dojde ke vzniku jednoho nebo více nadbytečných píků. Přítomnost nadbytečného píku způsobí, že skutečný pík příslušné barvy je výpočetním algoritmem ignorován, a v konečném důsledku to může vést k vyšší hodnotě ukazatele kvality, než kdyby byla počítána na základě skutečného píku dané barvy. Proto je důležité kontrolovat spektrální profil každé kapiláry (viz „[Vyhodnocení spektrální kalibrace](#)“ na straně 110).

Parametr Condition Number

Parametr Condition Number vyjadřuje jak velký je překryv fluorescenčních spekter jednotlivých barev v daném souboru barev.

Pokud nedochází k žádnému překryvu, Condition Number je 1.0 (ideální stav), což je nejnižší možná hodnota. S rostoucím překryvem roste i hodnota condition number.

Povolené rozsahy, na jejichž základě program rozhodne, zda se kalibrace v dané kapiláře zdařila či nikoliv, jsou:

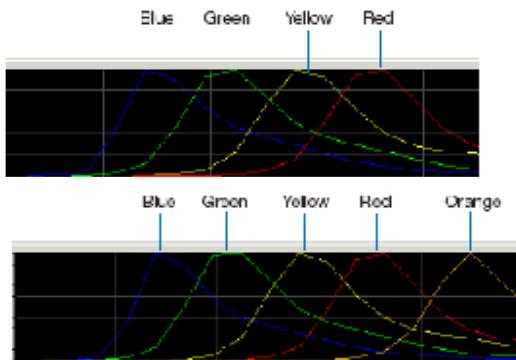
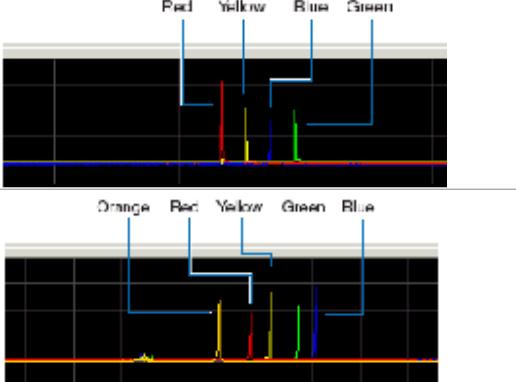
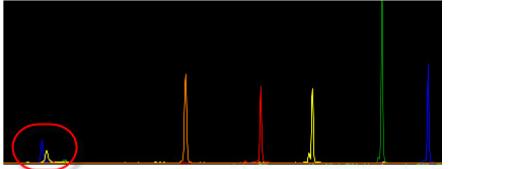
Soubor barev	Ukazatel kvality (Quality Value) - Minimum	Condition Number - Maximum
AnyDye	0.8 (přednastaveno)	20.0 (přednastaveno)
E	0.95	5.5
E5	0.95	6.0
F	0.95	8.5
G5	0.95	13.5
J6	0.95	8.0
Z	0.95	5.5

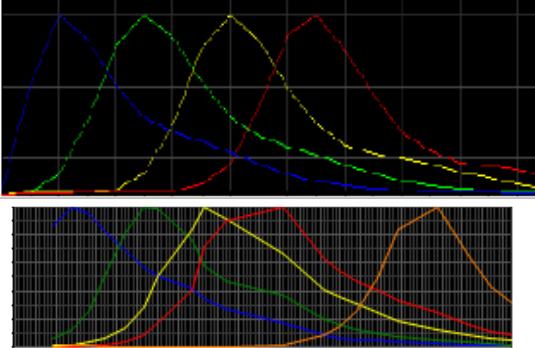
Vyhodnocení spektrální kalibrace

DŮLEŽITÉ! Výsledek spektrální kalibrace nepřijmějte, dokud nezkontrolujete všechny kapiláry.

Po skončení spektrální kalibrace:

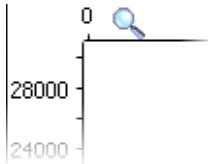
1. Zvolte kapiláru, zobrazí se spektra a hrubá data.
2. Ověřte, že jsou splněna následující kritéria:

Parametr	Kritérium	Příklad
Pořadí píků ve spektrálním profilu (zleva doprava)	<ul style="list-style-type: none"> • 4 barvy: modrá-zelená-žlutá-červená • 5 barev: modrá-zelená-žlutá-červená-oranžová 	
Pořadí píků v hrubých datech (zleva doprava)	<ul style="list-style-type: none"> • Sekvenování (pouze matriční standard): <ul style="list-style-type: none"> – 4 barvy: červená-žlutá-modrá-zelená • Fragmentační analýza/HID: <ul style="list-style-type: none"> – 4 barvy: červená-žlutá-zelená-modrá – 5 barev: oranžová- červená-žlutá-zelená-modrá 	
Nadbytečné píky v hrubých datech	<p>Nepřítomny</p> <p>Poznámka: V profilu E5 se mohou objevit nadbytečné píky mimo oblast skutečných matričních píků, lze je ignorovat.</p>	

Parametr	Kritérium	Příklad
Tvar píků ve spektrálním profilu	<ul style="list-style-type: none"> Žádné velké překryvy či nepravidelnosti Píky dobře odděleny <p>Poznámka: Profily pro soubory barev G5 (viz obrázek vpravo), F a J6 mohou vykazovat více nepravidelností, než profily ostatních souborů barev (viz obrázek nahoře) a to kvůli variabilitě tzv. binningu (redukce variability signálu mezi jednotlivými barvami v důsledku různé intenzity fluorescence).</p>	

3. Podle potřeby upravte zobrazení spektrálního profilu:

- Umístěte kurzor myši *nad grafem nebo vlevo* od grafu na počátek oblasti, kterou chcete zvětšit, a klikněte, kurzor se změní na .
- Přetáhněte kurzor  na konec oblasti, kterou chcete zvětšit. Nesmíte kurzor táhnout směrem do grafu, symbol  zmizí a zvětšení nebude možné.



Zobrazení lze rovněž upravit pomocí ikon   

- Splňují-li všechny kapiláry kritéria uvedená výše, klikněte na **Accept Results** (**Přijmout výsledek**).
- Nesplňuje-li některá z kapilár kritéria uvedená výše, klikněte na **Reject Results** (**Odmítнуть výsledek**) a postupujte podle pokynů v části "["Řešení problémů – Spektrální kalibrace"](#)" na straně 301.

Co se děje během spektrální kalibrace

Během spektrální kalibrace se automaticky provedou až tři nástříky. Počet skutečně provedených nástříků závisí na:

- Počtu kapilár, v nichž se kalibrace zdaří/nezdaří
- Volbě Allow Borrowing (Umožnit vypůjčení)

Poznámka: Prováděte-li spektrální kalibraci po instalaci nové kapilární sady poprvé pro daný soubor barev, můžete pozorovat tzv. pull-down páky (případně "zrcadlení" pílků). Tyto artefakty se automaticky opraví po skončení běhu.

Kombinování výsledků

Během spektrální kalibrace je možné výsledky kombinovat:

- **Mezi nástříky** – Pokud výsledek kalibrace určité kapiláry v určitém nástříku nesplňuje kritéria stanovená pro ukazatel kvality a Condition Number (viz strana 109), program pro tuto kapiláru automaticky použije výsledek z jiného nástříku (z téže kapiláry).
- **V rámci nástříku** – Pokud výsledek kalibrace určité kapiláry v určitém nástříku nesplňuje kritéria stanovená pro ukazatel kvality a Condition Number (viz strana 109), a je zvolena možnost Allow Borrowing (Povolit vypůjčení), program pro tuto kapiláru použije výsledek z kapiláry vlevo nebo vpravo, a to za předpokladu, že hodnoty obou parametrů jsou vyšší, než z téže kapiláře v jiném nástříku.

Zakázané Vypůjčení

Je-li Vypůjčení (Borrowing) zakázáno, musí všechny kapiláry splnit stanovená kritéria (Ukazatel kvality – Quality Value a Condition Number), jinak se kalibrace nezdaří.

Allow Borrowing

Nástřík 1	<ul style="list-style-type: none"> • Program vyhodnotí ukazatel kvality a Condition Number pro všechny kapiláry. • Pokud všechny kapiláry splní kritéria, kalibrace je úspěšně ukončena a nástřík 2 a 3 se neprovádí. • Pokud některá z kapilár nesplní kritéria, provede se nástřík 2.
Nástřík 2	<ul style="list-style-type: none"> • Program vyhodnotí ukazatel kvality pro všechny kapiláry z nástříků 1 a 2 a použije výsledek s nejvyšší hodnotou ukazatele kvality pro každou kapiláru. • Pokud všechny kapiláry splní kritéria, kalibrace je úspěšně ukončena a nástřík 3 se neprovádí. • Pokud tatáž kapilára nesplní kritéria v nástříku 1 ani 2, provede se nástřík 3.
Nástřík 3	<ul style="list-style-type: none"> • Program vyhodnotí ukazatel kvality pro všechny kapiláry z nástříků 1, 2 a 3 a použije výsledek s nejvyšší hodnotou ukazatele kvality pro každou kapiláru. • Pokud všechny kapiláry splní kritéria, kalibrace je úspěšně ukončena. • Pokud tatáž kapilára nesplní kritéria v nástříku 1, 2 ani 3, kalibrace se nezdařila.

Povolené Vypůjčení

Allow Borrowing

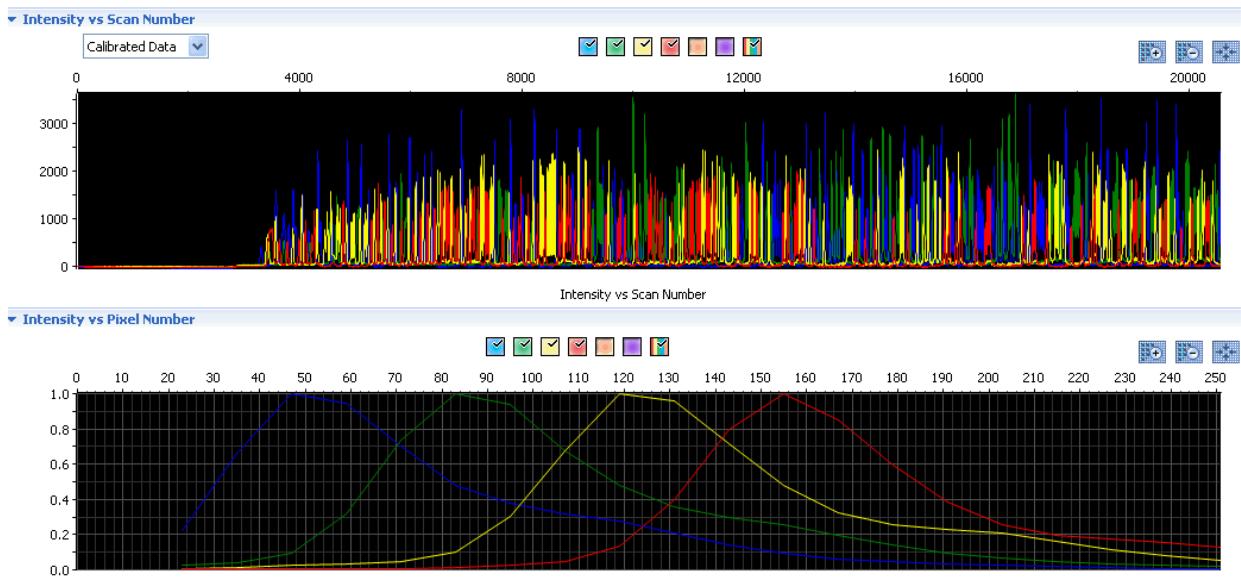
Je-li Vypůjčení (Borrowing) *povoleno*, musí všechny kapiláry splnit stanovená kritéria (Ukazatel kvality – Quality Value a Condition Number) při splnění následujících limitů:

- 8-kapilární přístroje – Povoleno je jedno vypůjčení
- 24- kapilární přístroje – Povolena jsou až tři vypůjčení (povolený počet vypůjčení lze nastavit v části Preferences).

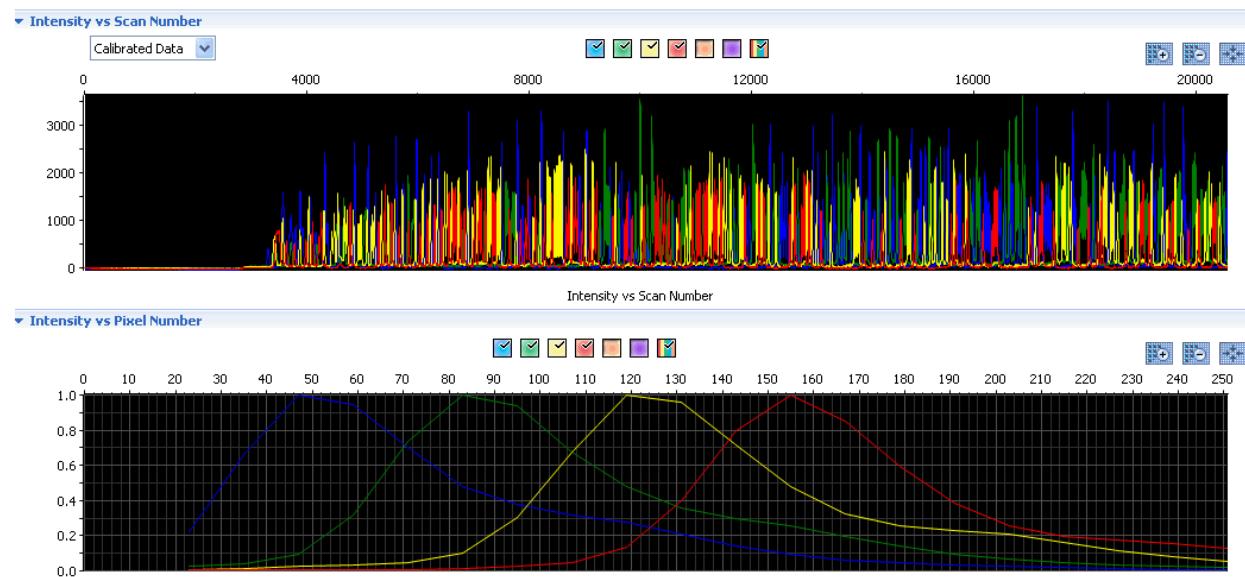
Nástrík 1	<ul style="list-style-type: none"> • Program vyhodnotí ukazatel kvality a Condition Number pro všechny kapiláry. • Pokud všechny kapiláry splní kritéria, kalibrace je úspěšně ukončena a nástrík 2 a 3 se neprovádí. • Pokud některá z kapilár nesplní kritéria, program si vypůjčí výsledek ze sousední kapiláry. • Pokud i po vypůjčení >1 nebo > 3 kapiláry nesplní kritéria, provede se nástrík 2.
Nástrík 2	<ul style="list-style-type: none"> • Program vyhodnotí ukazatel kvality mezi sousedními kapilárami v nástríku 2 a pro každou kapiláru z kombinace nástríků 1 a 2 a použije výsledek s nejvyšší hodnotou ukazatele kvality pro každou kapiláru. • Pokud všechny kapiláry splní kritéria, kalibrace je úspěšně ukončena a nástrík 3 se neprovádí. • Pokud i po vypůjčení >1 nebo > 3 kapiláry z nástríků 1 nebo 2 nesplní kritéria, provede se nástrík 3.
Nástrík 3	<ul style="list-style-type: none"> • Program vyhodnotí ukazatel kvality mezi sousedními kapilárami v nástríku 3 a pro každou kapiláru z kombinace nástríků 1, 2 a 3 a použije výsledek s nejvyšší hodnotou ukazatele kvality pro každou kapiláru. • Pokud všechny kapiláry splní kritéria, kalibrace je úspěšně ukončena. • Pokud i po vypůjčení >1 nebo > 3 kapiláry z nástríků 1 nebo 2 nebo 3 nesplní kritéria, kalibrace se nezdařila.

Příklady spektrální kalibrace

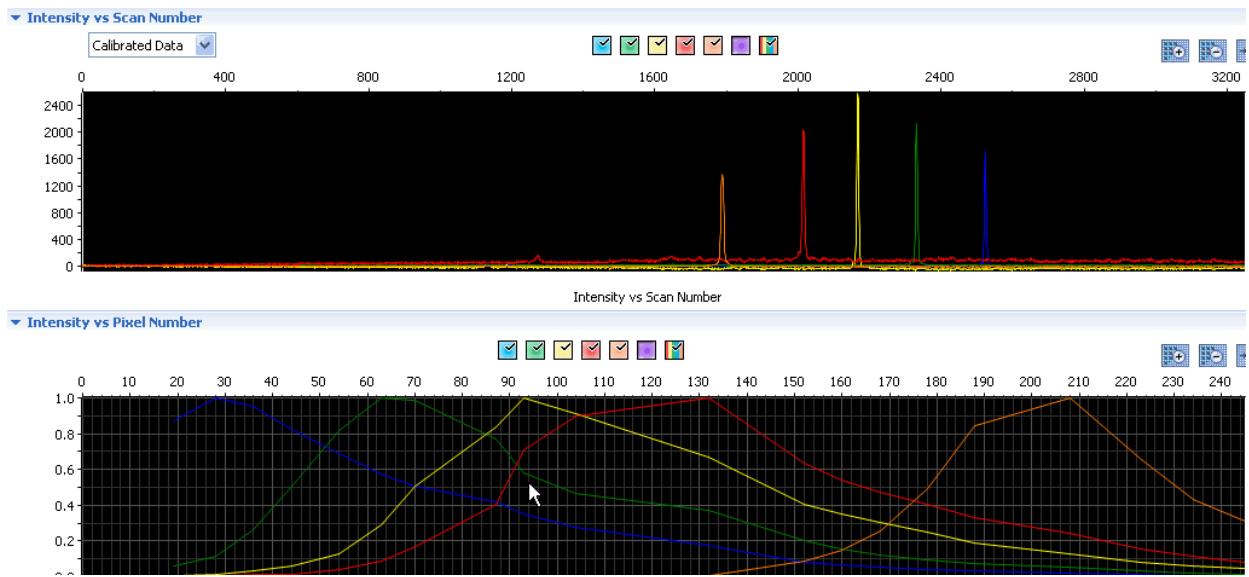
Soubor barev E,
sekvenační
standard



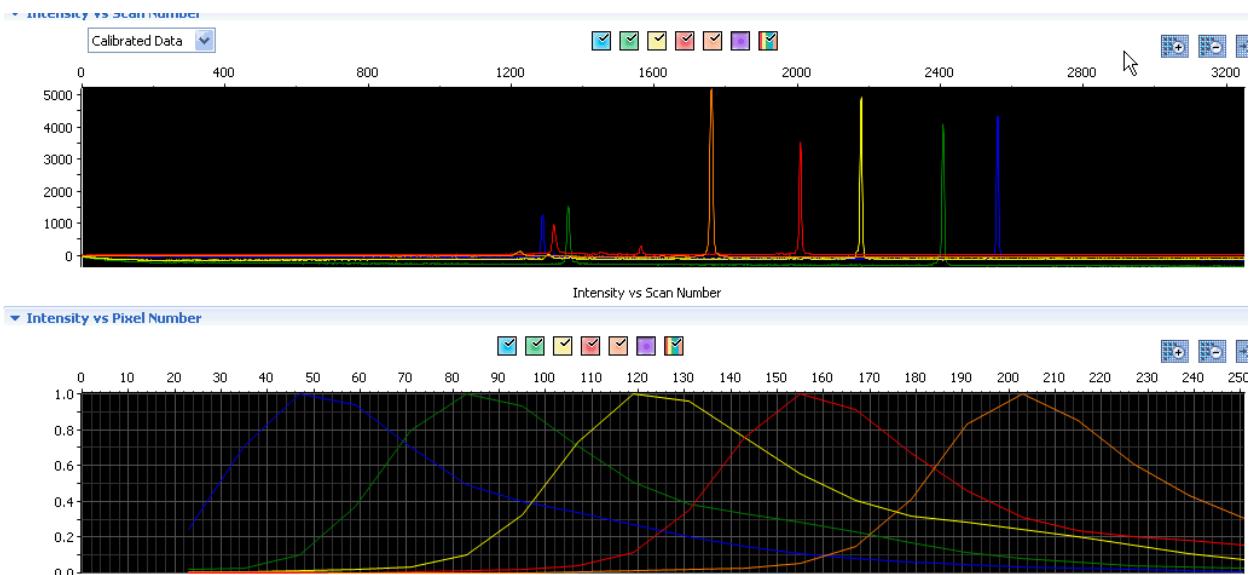
Soubor barev Z,
sekvenační
standard



Soubor barev G5, matriční standard DS-33



Soubor barev E5, matriční standard DS-02



Export výsledků spektrální kalibrace

Chcete-li exportovat výsledky spektrální kalibrace:

1. Klikněte na ikonu **Export Spectral Calibration Results (Export výsledků spektrální kalibrace)**.

2. Zadejte název exportovaného souboru a cílový adresář.
3. Klikněte na **Save (Uložit)**.

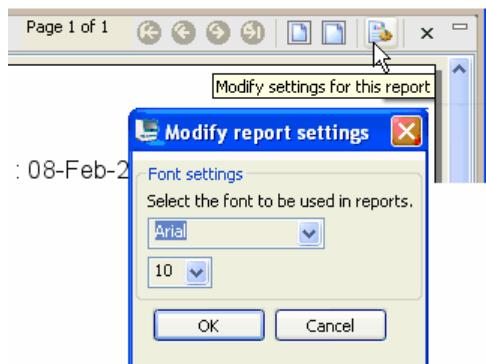
Exportují se následující údaje:

- Číslo kapiláry
- Condition Number
- Číslo skenu - Scan Number
- Vypůjčeno z kapiláry
- Ukazatel kvality - Quality Value
- Výška píku - Peak Height
- Důvod proč kalibrace selhala
- Nástřik

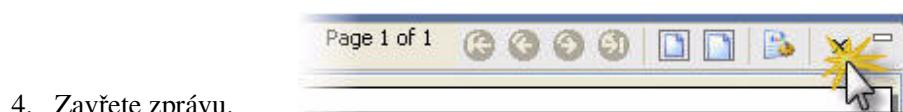
Zobrazení a tisk zprávy o spektrální kalibraci

Poznámka: Zprávy o prostorové a spektrální kalibraci obsahují i datum první instalace kapiláry na přístroji. Zprávy o analýze instalačních standardů obsahují datum nejnovější instalace kapiláry (za předpokladu, že kapilára byla vyjmuta a znova instalována).

1. Klikněte na  **View Spectral Calibration Report (Zobrazit zprávu o spektrální kalibraci)**.
2. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte vlastnosti zprávy podle potřeby. Popis funkce ikony získáte, umístíte-li nad ní kurzor.



3. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu  **Print**.



4. Zavřete zprávu.

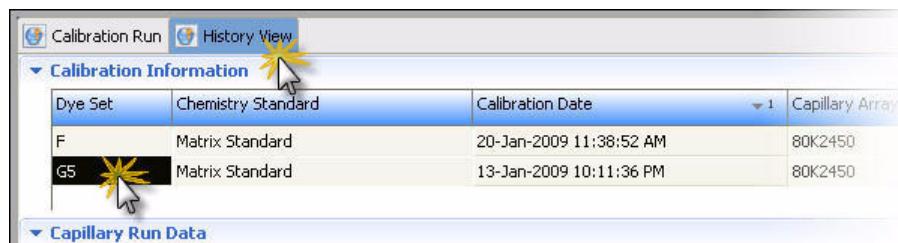
Uložení starších zpráv o kalibraci (.pdf)

DŮLEŽITÉ! Po provedení kalibrace uložte zprávu v elektronické formě. Program neuchovává výsledky předešlých kalibrací, uložena je pouze aktuální spektrální kalibrace pro každý soubor barev.

1. Klikněte na ikonu  **View Spectral Calibration Report (Zobrazit zprávu o spektrální kalibraci).**
2. Klikněte na ikonu  **Print (Tisk).**
3. V dialogovém okně Printer (Tiskárna) zvolte tiskárnu **CutePDF Writer**.
4. Zadejte název zprávy a zvolte adresář, kam se má zpráva uložit.

Zobrazení historie spektrálních kalibrací

Zvolte **History View**, poté zvolte soubor barev.



Část 2 Kontrola funkčnosti

Funkce Kontrola funkčnosti umožňuje pravidelné provádění kontroly fungování přístroje pomocí standardu od společnosti Applied Biosystems.

Kontrola funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu

Kdy provádět Při instalaci přístroje provádí servisní technik kontrolu funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu.

Společnost Applied Biosystems doporučuje provádění kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu každý měsíc, abyste ověřili, že přístroj dosahuje požadované délky čtení (read length).

V rámci kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu je možné provést i spektrální kalibraci. Zvolíte-li tuto možnost a přijmete výsledky běhu se sekvenačním instalačním standardem, není zapotřebí provádět spektrální kalibraci (podle popisu v části „[Spektrální kalibrace](#)“ na straně 103) pro soubory barev E a Z. Pro další soubory barev je nutné Spektrální kalibraci provést.

Kontrola funkčnosti se provádí s ohledem na daný typ aplikace. Provádíte-li běžné sekvenování s polymerem POP-7™ a analýzu systémem MicroSeq® ID s polymerem POP-6™, instalujte daný typ polymeru a proveděte dvě zvláštní kontroly funkčnosti.

Předpokládaná doba běhu

- Sekvenování – 45 minut
- MicroSeq® ID – 2 hod

Příprava kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu

- Příprava přístroje**
1. V Ovládacím panelu zkontrolujte stav spotřebního materiálu ([strana 29](#)). Ujistěte se, že:
 - Spotřební materiál není prošlý
 - K dispozici je dostatečný počet nástríků
 2. Zkontrolujte, že pufry jsou doplněny po plnící rysky (“[Kontrola zásobníků s pufrem](#)” na straně 31).
 3. Nastavte teplotu pícky (Oven) a klikněte na **Start Pre-heat (Předehřátí)**:
 - **60 °C** – POP-7™ polymer
 - **50 °C** – POP-6™ polymer

Pícka a detekční blok se předehřejí zatímco budete připravovat běh (teplota detekčního bloku je nastavena automaticky). Předehřátí eliminuje jemné fluktuace v rychlosti migrace fragmentů během prvního běhu. Vytápění pícky se vypne automaticky pokud není přístroj po 2 hodiny v provozu.

Je-li přístroj studený, doporučuje společnost Applied Biosystems předehřátí pícky po dobu nejméně 30 min před spuštěním běhu.

- Ověřte, že v systému nejsou bubliny a v případě potřeby je odstraňte pomocí průvodce odstraněním bublin (Remove Bubble wizard - viz strana 251).

Příprava instalačního standardu

- DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte deformované nebo poškozené destičky.



- Připravte sekvenační instalační standard podle pokynů v příbalovém letáku. Katalogová čísla standardů viz Tabulka 28 na straně 259.

Použití	Standard
Sekvenování (POP-7™ polymer, 50-cm kapilára)	BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Standard
MicroSeq® ID (POP-6™ polymer, 50-cm kapilára)	BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Standard

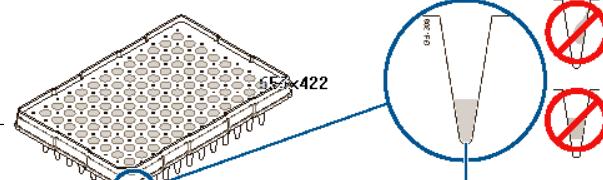
- Pipetujte standard do pozice prvního nástřiku v destičce:

DŮLEŽITÉ! Při provádění kontroly funkčnosti nedefinujete obsah destičky. Používá se předdefinované nastavení destičky, nelze definovat, v jakých jamkách je standard umístěn. Pokud nepipetujete standard do určených pozic, kontrola se nezdaří.

8-kapilár 96-jamková destička	A1 až H1	
24-kapilár 96-jamková destička	A1 až H1, A2 až H2 a A3 až H3	
24-kapilár 384-jamková destička Poznámka: 384- jamkovou destičku nelze na 8-kapilár- ních přístrojích použít.	Sloupce 1, 3 a 5 v řádcích A, C, E, G, I, K, M, O	

- 96** – Lze použít 96-jamkovou standardní destičku. Při použití vhodných adaptérů lze použít i zkumavky ve stripech po osmi.
- 96-Fast Tube** – Lze použít 96-jamkovou destičku typu Fast. Při použití vhodných adaptérů lze použít i zkumavky ve stripech po osmi.

- Krátce destičku centrifugujte.

4. Vyjměte destičku z centrifugy a ověrte, že je každý vzorek na dně jamky.
- 

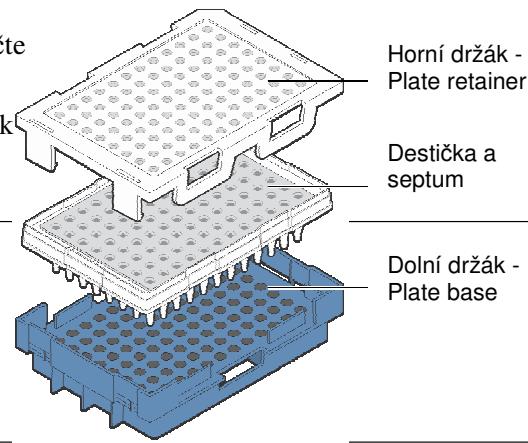
DŮLEŽITÉ! Pokud se v některém ze vzorků nacházejí bubliny nebo není na dně jamky, krátce destičku centrifugujte, vyjměte destičku z centrifugy a ověrte, že je každý vzorek na dně jamky.
5. Ponechejte destičku na ledu do té doby, než budete připraveni umístit ji spolu s držáky do přístroje.

Příprava destičky

DŮLEŽITÉ! Následující kroky provádějte na čistém a rovném pracovním stole. Destičky, které jsou uzavřeny septem, nezahřívejte.

1. Otvory v septu a v jamkách srovnejte do zákrytu, poté zatlačte septum do otvorů v destičce.
2. Položte destičku na spodní držák (plate base).

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že používáte správný typ spodního držáku (standardní destičky versus 8-zkumavkové stripy a destičky typu fast). Nevhodný držák ovlivní kvalitu výsledku.



3. Uchyťte destičku k dolnímu držáku pomocí horního držáku (plate retainer).
4. Ověrte, že jsou otvory horního držáku a septa v zákrytu. Pokud ne, rozeberte destičku a držáky a sestavte je znova.

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

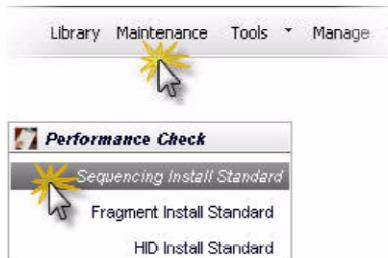
Vložení destičky do přístroje

1. Umístěte destičku na autosampler označením vpřed (ke dveřím přístroje) a šikmým rohem do šikmého vybrání autosampleru.
2. Zavřete dveře přístroje.



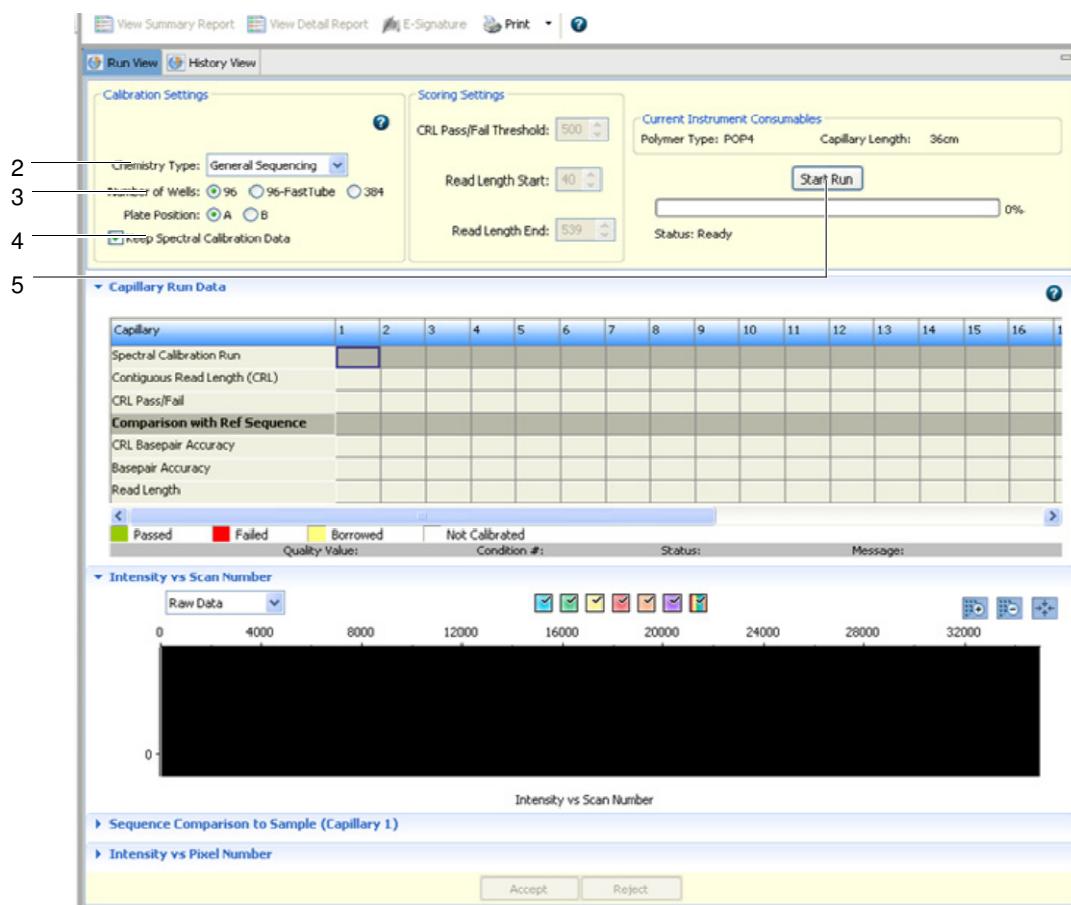
Spuštění kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu

- Přejděte na obrazovku Sequencing install standard (Obrázek 9 na straně 122): V navigační liště zvolte Maintenance (Údržba), poté zvolte Sequencing Install Standard (Sekvenační instalační standard).



- Zvolte typ chemie: General Sequencing (Sekvenování) nebo MicroSeq® ID.
- Zadejte typ destičky a pozici destičky v přístroji (Plate position).

Poznámka: Při provádění kontroly funkčnosti nedefinujete obsah destičky. Používá se předdefinované nastavení destičky, nelze definovat, v jakých jamkách je standard umístěn.



Obrázek 9 Obrazovka Sequencing Install Standard

4. (Volitelné) Pokud jste ještě neprovodili spektrální kalibraci, zvolte **Keep Spectral Calibration Data (Uložit výsledek spektrální kalibrace)**, tím uložíte výsledek běhu se sekvenačním instalačním standardem (pokud se zdaří) jako spektrální kalibraci. Při sekvenování pomocí standardu BDTv3.1 Install standard a polymeru POP-7™ se provede spektrální kalibrace pro soubor barev Z.

Poznámka: Výsledek spektrální kalibrace se uloží pouze pokud zvolíte možnost Keep Spectral Calibration Data. Pokud tuto možnost nezatrhnnete, provedete spektrální kalibraci samostatně.

- Při použití systému MicroSeq® se standardem BDTv1.1 Install Standard a polymerem POP-6™ se provede spektrální kalibrace pro soubor barev E.

5. Klikněte na **Start Run (Spustit běh)**.

DŮLEŽITÉ! Výsledek kontroly funkčnosti nepřijímejte, dokud nezkontrolujete všechny kapiláry.

Co se děje během běhu

Systém provede jeden běh a vyhodnotí:

- Spektrální data, pokud jste chtěli provést spektrální kalibraci
- Výsledek sekvenování

Výsledek běhu ([Obrázek 10 na straně 124](#)):

- Stav spektrální kalibrace se zobrazí na prvním řádku tabulky s výsledky. Kapiláry, v nichž se kontrola funkčnosti zdaří/nezdaří, jsou zobrazeny zeleně/červeně (hodnoceno na základě CRL). Kapiláry s "vypůjčenou" kalibrací jsou zobrazeny žluté a pomocí šipky je znázorněno, z které kapiláry byla kalibrace vypůjčena. Výsledek spektrální kalibrace pro každou kapiláru se zobrazuje pod tabulkou s výsledky.

Poznámka: Zvolíte-li kapiláru s vypůjčenými výsledky, zobrazí se "vypůjčené" výsledky. Chcete-li zjistit, proč daná kapilára selhala, zobrazte detailní zprávu s výsledky.

- Stav instalačního standardu se zobrazuje v třetí řadce tabulky s výsledky (CRL Pass/Fail).
- Pod tabulkou se zobrazuje ukazatel kvality (Quality Value) a Condition Number pro každou kapiláru.

Capillary Run Data												
Capillary	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Median	SD
Spectral Calibration Run	Passed	Passed	Passed	Net Calibrated	Passed	Passed	Passed	Passed	Passed	Passed		
Contiguous Read Length (CRL)	691.0	712.0	0.0	711.0	705.0	703.0	708.0	704.0	704.0	710.0	708.5	144.98
CRL Pass/Fail	Passed	Passed	Failed	Passed	Passed	Passed	Passed	Passed	Passed	Passed		
Comparison with Ref Sequence												
CRL Basepair Accuracy	100.0	99.9		99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	
Basepair Accuracy	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
Read Length	500.0	500.0		500.0	500.0	500.0	500.0	500.0	500.0	500.0	500.0	
											99.9	
											100.0	
											500.0	102.47

Jak program určí úspěch/neúspěch spektrální kalibrace

Program u každé kapiláry posuzuje ukazatel kvality a parametr Condition Number (více informací viz „[Ukazatel kvality a parametr Condition Number](#)“ na straně [109](#)).

Vypůjčení je automaticky umožněno: 1 vypůjčení pro 8-kapilární stroje, až 3 vypůjčení pro 24-kapilární stroje. Více informací viz „[Kombinování výsledků](#)“ na straně [112](#). Počet vypůjčení lze snížit – viz „[Uživatelská nastavení](#)“ na straně [34](#).

Povolené rozsahy, na jejichž základě program rozhodne, zda se kalibrace v dané kapiláře zdařila či nikoliv, jsou:

Soubor barev	Ukazatel kvality (Quality Value) - Minimum	Condition Number - Maximum
E	0.95	5.5
Z	0.95	5.5

Jak program určí úspěch/neúspěch kontroly funkčnosti v každé kapiláře

Pro každou kapiláru program spočítá Contiguous Read Length – Souvislou délku čtení. V kapilárách s nižší než prahovou hodnotou je kontrola funkčnosti neúspěšná. Ostatní zobrazené výsledky jsou čistě informativní.

Parametr	Popis
Contiguous Read Length (CRL) – Souvislá délka čtení	Nejdelší nepřerušovaný úsek sekvence bází s průměrnou hodnotou ukazatelů kvality (Quality Value (QV) ≥ 20 . Kromě určení hodnoty QV pro každou bázi program vyhodnocuje QV sousedních bází (v okně o velikosti ± 20 -bp): počínaje od 5' konce program počítá průměrnou hodnotu QV v rámci klouzavého okna o délce 20 bází, které vždy o jednu bázi posune k 3' konci. Výsledný nejdelší nepřerušovaný úsek je CRL.
Prahová hodnota CRL	<ul style="list-style-type: none"> Sekvenování – Kontrola se nezdaří v kapilárách s $CRL \leq 500$ bp. MicroSeq® ID – Kontrola se nezdaří v kapilárách s $CRL \leq 600$ bp.
Informativní údaje – Založeny na srovnání odečtené sekvence vzorku a známé referenční sekvence sekvenačního instalačního standardu	
CRL Basepair Accuracy – Přesnost CRL	Přesnost CRL je stanovena na základě srovnání sekvence vzorku a známé referenční sekvence instalačního standardu v rámci CRL sekvence (podle definice výše).
Read Length – Délka čtení	Délka čtení (v bázích) s přesností čtení $\geq 98.5\%$. Tento parametr je odvozen na základě přesnosti odečtu bází, nikoliv na základě ukazatelů kvality.
Basepair Accuracy (Read Length Accuracy) – Přesnost čtení	Přesnost čtení je stanovena na základě srovnání sekvence vzorku a známé referenční sekvence instalačního standardu v rámci délky čtení (rozsah délky čtení viz Scoring settings v horní části obrazovky) s přesností čtené sekvence $\geq 98.5\%$ ve srovnání s referenční sekvencí).
CRL Median a SD	Medián a standardní odchylka všech kapilár.

Vyhodnocení výsledků kontroly funkčnosti pomocí sekvenačního standardu

Po úspěšném ukončení běhu sekvenačního instalačního standardu se v řádce CRL Pass/Fail zobrazí výsledek pomocí zelených nebo červených polí.

Pro každou kapiláru:

1. Zvolte kapiláru a zobrazte spektrální a hrubá data.
2. Ověřte, že jsou splněna následující kritéria:

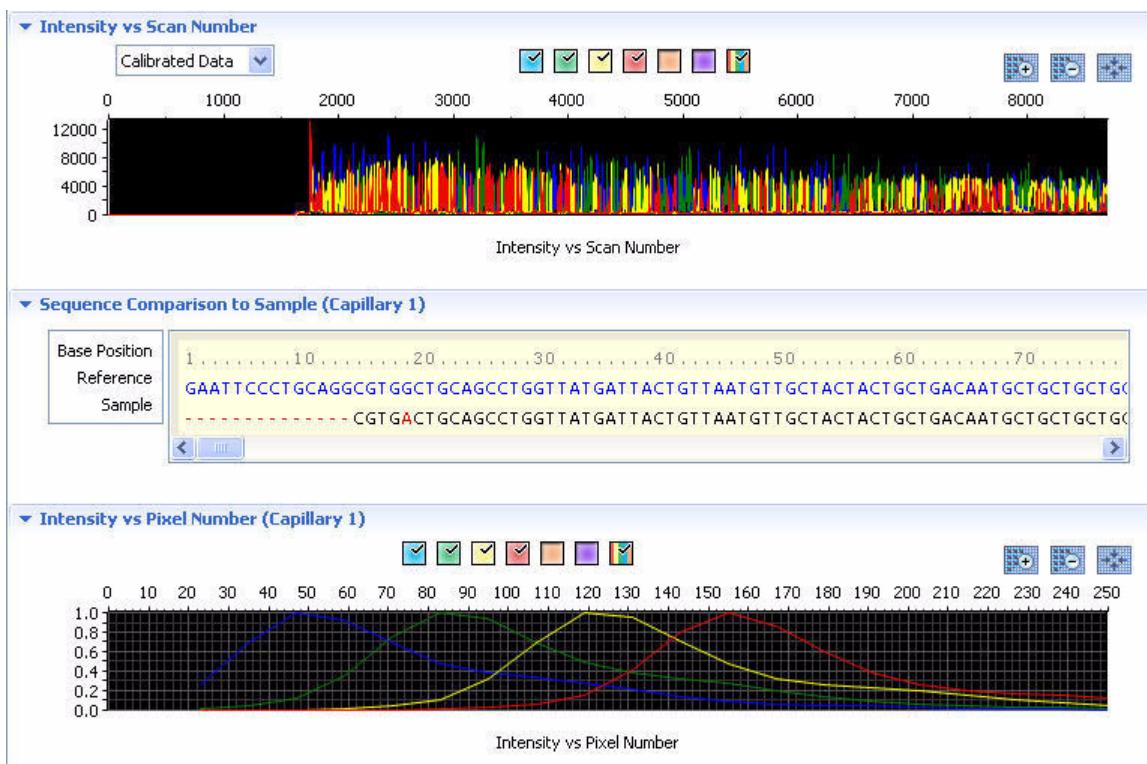
Parametr	Kritérium	Příklad
Pořadí píků ve spektrálním profilu (zleva doprava)	4 barvy: modrá-zelená-žlutá-červená	
Nadbytečné píky v hrubých datech	Nepřítomny Poznámka: V profilu E5 se mohou objevit nadbytečné píky mimo oblast skutečných matričních píků, lze je ignorovat.	E5:
Tvar píků ve spektrálním profilu	<ul style="list-style-type: none"> • Žádné velké překryvy či nepravidelnosti • Píky dobře odděleny • Vrcholky píků se nepřekrývají (báze se překrývají) 	

3. (Volitelné) Ověřte Přesnost CRL (CRL basepair accuracy), abyste zjistili, zda se odečtená sekvence liší od referenční:
 - Sekvenování: 40 až 539 bp
 - MicroSeq® ID: 20 až 619 bp
 Pozorujete-li výrazné odlišnosti (např. 5 až 10 špatně odečtených bází), zkонтrolujte výsledky. Pozorujete-li výrazný pík v hrubých datech (výrazně vyšší než okolní píky) s pull-up píky ve všech 4 barvách, může to být v důsledku bubliny. Zkontrolujte přítomnost bublin v pumpě, odstraňte bubliny pomocí průvodce Remove Bubbles (viz „Odstranění bublin z polymerové pumpy“ na straně 251), podle potřeby běh opakujte.
4. Splňují-li všechny kapiláry kritéria uvedená výše, klikněte na **Accept Results (Přijmout výsledek)**.
5. Nesplňuje-li požadovaný počet kapilár (7 kapilár na 8-kapilárních přístrojích, 21 kapilár na 24-kapilárních přístrojích) kritéria uvedená výše:
 - a. (Volitelné) Chcete-li vytvořit zprávu o výsledku běhu, klikněte na ikonu **View Summary Report (Zobrazit souhrnnou zprávu)** nebo **View Detail Report (Zobrazit podrobnou zprávu)** předtím než výsledky odmítnete (Reject Results). Chcete-li zprávu uložit v elektronické podobě, vytiskněte ji na tiskárně **CutePDF**.

- b. Klikněte na **Reject Results (Odmítnout výsledek)**. Řešení problémů viz „[Řešení problémů – Sekvenační instalační standard](#)“ na straně 302.

DŮLEŽITÉ! Pokud výsledek odmítnete, spektrální kalibrace se neuloží.

Sekvenační instalační standard - příklad



Zobrazení historie sekvenačních instalačních standardů

Zvolte **History View**, poté zvolte sekvenační instalační standard.

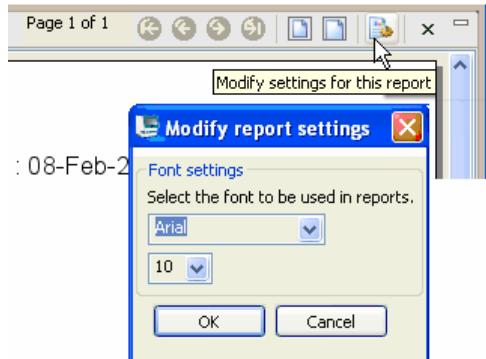
Zobrazení a tisk zprávy o běhu sekvenačního instalačního standardu

DŮLEŽITÉ! Před zobrazením zprávy se ujistěte, že jsou zobrazeny všechny barvy. Není-li tomu tak, zpráva nebude kompletní.

Vezměte na vědomí:

- Zprávy o analýze instalačních standardů obsahují datum nejnovější instalace kapiláry (za předpokladu, že kapilára byla vyjmuta a znova instalována). Zprávy o prostorové a spektrální kalibraci obsahují datum první instalace kapiláry na přístroji.

- Nastavení obrazovky Install Standard není ve zprávě použito.
 - Můžete vytvořit zprávu i pro nezdařený běh, a to předtím, než výsledek běhu odmítnete (Reject Results).
1. Klikněte na ikonu **View Summary Report (Zobrazit souhrnnou zprávu)** nebo  **View Detail Report (Zobrazit podrobnou zprávu)**.
 2. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte vlastnosti zprávy podle potřeby. Popis funkce ikony získáte, umístíte-li nad ní kurzor.



3. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu  **Print**.
4. Chcete-li zprávu uložit v elektronické podobě (.pdf), vytiskněte ji na tiskárnu **CutePDF**.

5. Zavřete zprávu.



Uložení starších zpráv o kontrole funkčnosti (.pdf)

DŮLEŽITÉ! Po provedení kontroly funkčnosti uložte zprávu v elektronické formě. Program neuchovává výsledky předešlých kontrol funkčnosti, uložena je pouze aktuální spektrální kalibrace pro každý soubor barev.

1. Klikněte na ikonu **View Summary Report (Zobrazit souhrnnou zprávu)** nebo  **View Detail Report (Zobrazit podrobnou zprávu)**
2. Klikněte na ikonu  **Print**.
3. V dialogovém okně Printer zvolte tiskárnu **CutePDF Writer**.
4. Zadejte název zprávy a zvolte adresář, kam se má zpráva uložit.

Kontrola funkčnosti pomocí instalačního standardu pro fragmentační analýzu nebo HID

Kdy provádět

Při instalaci přístroje provádí servisní technik kontrolu funkčnosti pomocí instalačního standardu pro fragmentační analýzu nebo HID.

Společnost Applied Biosystems doporučuje provádění kontroly funkčnosti pomocí instalačního standardu pro fragmentační analýzu nebo HID každý měsíc, abyste ověřili, že přístroj dosahuje požadované přesnosti při odečtu velikosti píků (sizing) v určeném rozsahu velikostí (sizing range), a že výška píků splňuje stanovené požadavky.

DŮLEŽITÉ! Kontrola funkčnosti se provádí s ohledem na daný typ aplikace. Změňte-li polymer a délku kapiláry, musíte provést novou kontrolu funkčnosti.

Předpokládaná doba běhu 30 minut

Příprava kontroly funkčnosti pomocí instalačního standardu FA / HID

Příprava přístroje

1. Pokud jste ji již neprovědli, provedte prostorovou kalibraci (viz „[Prostorová kalibrace](#)“ na straně 99).
2. V Ovládacím panelu zkontrolujte stav spotřebního materiálu ([strana 29](#)). Ujistěte se, že:
 - Spotřební materiál není prošlý
 - K dispozici je dostatečný počet nástříků
3. Zkontrolujte, že pufry jsou doplněny po plnící rysky („[Kontrola zásobníků s pufrem](#)“ na straně 31).
4. Nastavte teplotu pásky (Oven) na 60 °C, poté klikněte na **Start Pre-heat (Předehřátí)**. Pícka a detekční blok se předehřejí zatímco budete připravovat běh (teplota detekčního bloku je nastavena automaticky). Předehřátí eliminuje jemné fluktuace v rychlosti migrace fragmentů během prvního běhu. Vytápění pásky se vypne automaticky pokud není přístroj po 2 hodiny v provozu.
Je-li přístroj studený, doporučuje společnost Applied Biosystems předehřátí pásky po dobu nejméně 30 min před spuštěním běhu.
5. Ověřte, že v systému nejsou bubliny a v případě potřeby je odstraňte pomocí průvodce odstraněním bublin (Remove Bubble wizard - viz [strana 251](#)).

Příprava kalibračního standardu

DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte deformované nebo poškozené destičky.

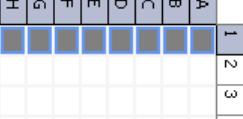
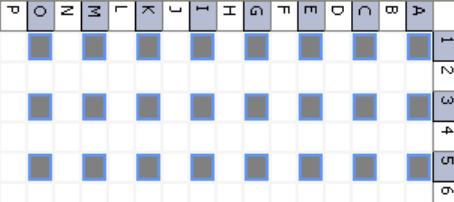


- Připravte instalacní standard podle pokynů v příbalovém letáku. Katalogová čísla standardů viz [Tabulka 29 na straně 260](#).

Použití	Standard
Fragmentační analýza (sada barev G5, POP-7™ polymer, 50 cm kapilára)	GeneScan™ Installation Standard DS-33
HID (sada barev G5, POP-4™ polymer, 36 cm kapilára)	AmpFℓSTR® Identifiler® Allelic Ladder

- Pipetujte standard do pozice prvního nástřiku v destičce:

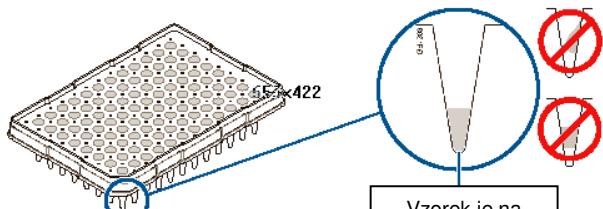
DŮLEŽITÉ! Při provádění kontroly funkčnosti nedefinujete obsah destičky. Používá se předdefinované nastavení destičky, nelze definovat, v jakých jamkách je standard umístěn. Pokud nepipetujete standard do určených pozic, kontrola se nezdaří.

8-kapilár 96-jamková destička	A1 až H1	
24-kapilár 96-jamková destička	A1 až H1, A2 až H2 a A3 až H3	
24-kapilár 384-jamková destička <small>Poznámka: 384-jamkovou destičku nelze na 8-kapilárních přístrojích použít.</small>	Sloupce 1, 3 a 5 v řádcích A, C, E, G, I, K, M, O	

- Krátké destičku centrifugujte.

- Vyjměte destičku z centrifugy a ověřte, že je každý vzorek na dně jamky.

DŮLEŽITÉ! Pokud se v některém ze vzorků nacházejí bublinky nebo není na dně jamky, krátce destičku centrifugujte, vyjměte destičku z centrifugy a ověřte, že je každý vzorek na dně jamky.

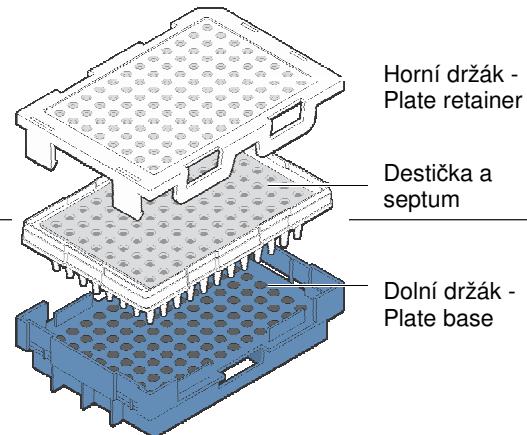


5. Ponechejte destičku na ledu do té doby, než budete připraveni umístit ji spolu s držáky do přístroje.

Příprava destičky

DŮLEŽITÉ! Následující kroky provádějte na čistém a rovném pracovním stole. Destičky, které jsou uzavřeny septem, nezahřívejte.

1. Otvory v septu a v jamkách srovnejte do zákrytu, poté zatlačte septum do otvorů v destičce.
2. Položte destičku na spodní držák (plate base).



DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že používáte správný typ spodního držáku (standardní destičky versus 8-zkumavkové stripy a destičky typu fast). Nevhodný držák ovlivní kvalitu výsledku.

3. Uchytěte destičku k dolnímu držáku pomocí horního držáku (plate retainer).
4. Ověrte, že jsou otvory horního držáku a septa v zákrytu. Pokud ne, rozeberte destičku a držáky a sestavte je znova.

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

Vložení destičky do přístroje

1. Umístěte destičku na autosampler označením vpřed (ke dveřím přístroje) a šikmým rohem do šikmého vybrání autosampleru.
2. Zavřete dveře přístroje.



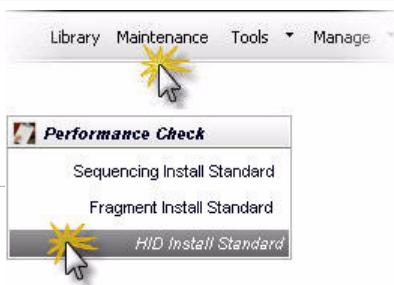
Spuštění kontroly funkčnosti pomocí instalačního standardu FA / HID

1. Přejděte na obrazovku Fragment Install Standard nebo HID install standard:
V navaigační liště zvolte **Maintenance (Údržba)**, poté zvolte **Fragment Install Standard (Fragmentační instalační standard)** nebo **HID Install Standard (HID Instalační standard)**.
2. Zadejte typ destičky a pozici destičky v přístroji (Plate position).



Poznámka: Při provádění kontroly funkčnosti nedefinujete obsah destičky. Používá se předdefinované nastavení destičky, nelze definovat, v jakých jamkách je standard umístěn.

3. Klikněte na **Start Run (Spustit běh)**.



2

The screenshot shows the software interface for a genetic analyzer. At the top, there are tabs for 'View Detail Report', 'E-Signature', 'Print', and a help icon. Below this is a toolbar with icons for 'Run View' (selected), 'History View', and other functions.

Calibration Settings:

- Number of Wells: 96 (radio button selected)
- Plate Position: A (radio button selected)
- Polymer Type: POP4
- Capillary Length: 36cm
- Status: Ready
- Start Run button
- Progress bar: 0%

Capillary Run Data:

Capillary	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
#Allele Peaks																					
#Size Standard Peaks																					
Include	<input checked="" type="checkbox"/>																				
Recalculate																					

Capillary Information:

A chromatogram plot showing peak heights across 21 capillaries. The x-axis represents size from 0 to 32000, and the y-axis represents height from 0 to 50000. Above the plot, color-coded boxes indicate the presence of specific dyes in each capillary.

Dye	Allele	Size	Height
1			
2			
3			
4			
5			

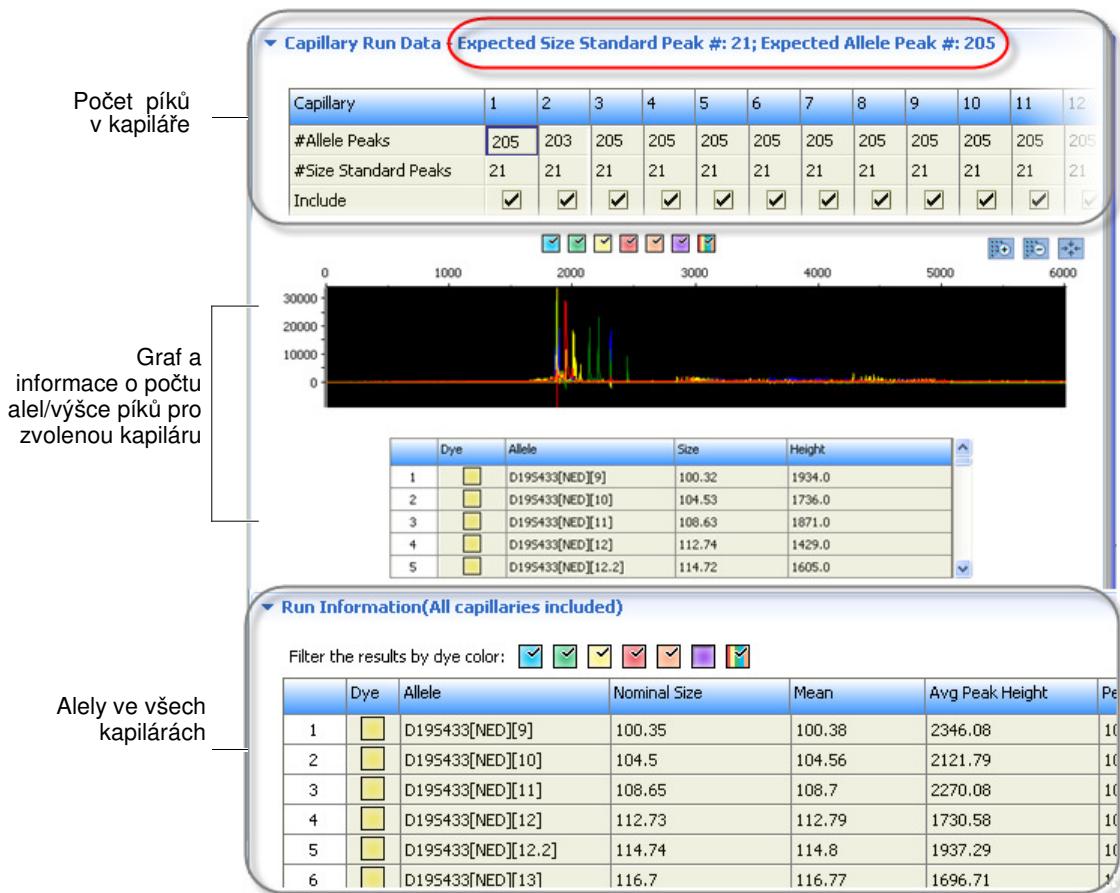
Run Information (All capillaries):

Accept | Reject

Co se děje během běhu

Systém provede jeden běh a vyhodnotí počet alelických píků a píků velikostního standardu. Tyto údaje se zobrazí v tabulce. Pro každou alelu jsou zobrazeny výsledky na spodní straně obrazovky v tabulce Run Information.

Poznámka: Příklad níže se týká instalacního standardu HID.



Jak program určí úspěch/neúspěch kontroly funkčnosti v každé kapiláře

Program vyhodnotí píky v každé kapiláře. Aby byly píky rozpoznány jako alelické, musí být jejich velikost v daném rozsahu (nominální velikost alel nebo referenční velikost binů je v programu zadána):

- Pro všechny markery vyjma THO1: ± 0.7 bp nominální velikosti alely
- THO1: ± 0.5 bp nominální velikosti alely

Pro všechny píky, které splňují shora uvedenou podmínu, program spočítá průměrnou výšku (Average Peak Height) a přesnost odečtu velikosti (Sizing Precision). Píky musí splnit níže uvedená kritéria:

Parametr	Popis	Prahová hodnota
Průměrná výška píku (Avg Peak Height)	Průměrná výška píků alely ve vybraných kapilárách.	<ul style="list-style-type: none"> • Frag. analýza: > 175 RFU • HID: > 400 RFU
Přesnost odečtu velikosti (Sizing Precision)	Standardní odchylka zjištěné velikosti alel.	≤ 0.15
Splňuje - Pass/ Nesplňuje - Fail	Alely, které nesplnily uvedená kritéria, jsou označeny Fail. Poznámka: Výsledky u těchto alel zkонтrolujte.	

Parametr	Popis
Informativní údaje	
Nominální velikost (Nominal Size)	Očekávaná velikost píku dané alely (bp).
Průměr (Mean)	Zjištěná průměrná velikost alelických píků.
Výška píku (Peak Height) % > Min	% vyjádření počtu alelických píků s výškou píku vyšší než je prahová hodnota.
Přesnost odečtu velikosti (Sizing Accuracy)	Rozdíl mezi zjištěnou a průměrnou velikostí alely.

Vyhodnocení výsledků kontroly funkčnosti pomocí standardu FA / HID

1. Zkontrolujte počet píků velikostního standardu a alelických píků v každé kapiláře.

Poznámka: Příklad níže se týká instalačního standardu HID.

Očekáváno - Expected		Capillary Run Data - Expected Size Standard Peak #: 21; Expected Allele Peak #: 205											
Pozorováno	Capillary	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	#Allele Peaks	205	203	205	205	205	205	205	205	205	205	205	205
	#Size Standard Peaks	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21
	Include	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

2. Je-li pozorován očekávaný počet píků velikostního standardu a alelických píků, klikněte na **Accept Results (Přijmout výsledek)**.

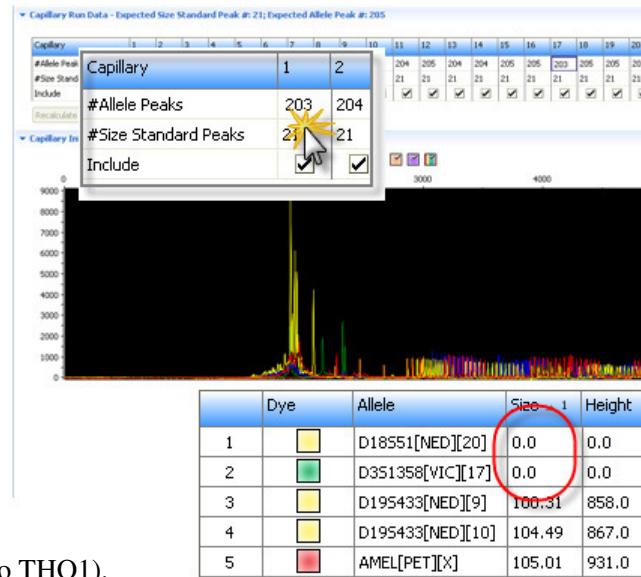
Není-li pozorován očekávaný počet píků velikostního standardu a alelických píků, postupujte podle pokynů níže.

Řešení problémů

- Označte kapiláru, v níž je pozorovaný počet píků nižší než očekávaný, zobrazí se detailní informace.

- Dvojklikem do záhlaví sloupce Size výsledky setřídíte a identifikujete nedetekované alely.

Je-li ve sloupci Size "0", je alelický pík mimo povolený velikostní rozsah (Nominální velikost ± 0.7 bp nebo ± 0.5 pro THO1).



3. Řešení problému:

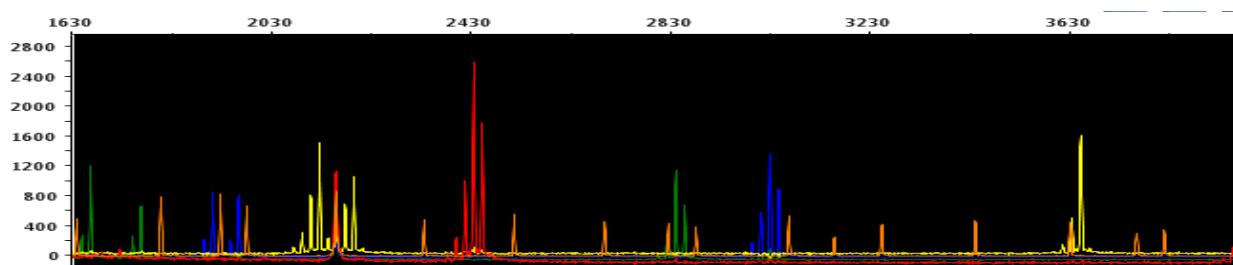
- Analyzujte výsledek běhu v programu sekundární analýzy (GeneMapper® v4.1 nebo vyšší; GeneMapper® ID-X v1.2 nebo vyšší za použití panelu a binů pro soupravu Identifiler®).
- Zkontrolujte alely nedetekované programem 3500 Series Data Collection.
- Pokud jsou tyto alely v programu sekundární analýzy správně odečteny:
 - V řádku **Include** (Zahrnout) (viz obrázek na předchozí straně) odstraňte označení pro uvedenou kapiláru.
 - Klikněte na **Recalculate (Přepočítat)**.
 - Přijměte (Accept) výsledek běhu instalačního standardu.

Poznámka: Program GeneMapper® ID-X může identifikovat alely, které nebyly rozpoznány programem 3500 Series Data Collection, protože je vybaven funkcí bin-offsetting (posun binů, referenční pozice binů jsou upraveny na základě pohyblivosti píků alelického žebříku).

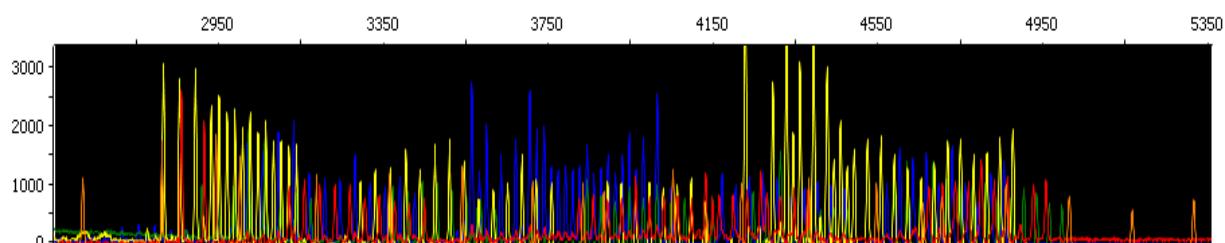
Pokud nejsou tyto alely v programu sekundární analýzy správně odečteny:

- (Volitelné) Chcete-li vytvořit zprávu o výsledku běhu, klikněte na ikonu  **View Detail Report (Zobrazit podrobnou zprávu)** předtím než výsledky odmítnete (Reject Results). Chcete-li zprávu uložit v elektronické podobě, vytiskněte ji na tiskárnu **CutePDF**. Více informací viz „[Uložení starších zpráv o kontrole funkčnosti \(.pdf\)](#)“ na straně 138.
- Klikněte na **Reject Results (Odmítnout výsledek)**.
- Spusťte instalační standard znovu, abyste zjistili, zda je problém způsoben přípravou vzorku, nástříkem, kapilárou nebo samotným přístrojem (což může vyžadovat servisní zásah). Více informací viz „[Řešení problémů – Fragmentační/HID instalační standard](#)“ na straně 303.

Fragmentační instalační standard - příklad



HID instalační standard - příklad



Zobrazení historie instalačních standardů

Zvolte **History View**, poté zvolte instalační standard.

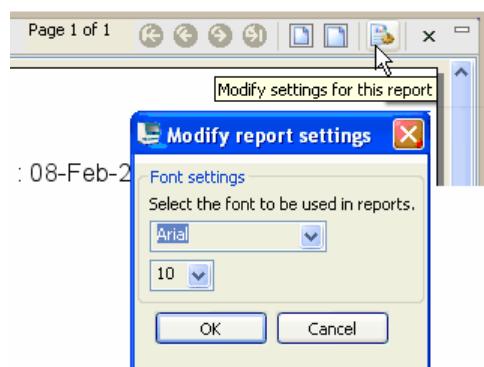
Zobrazení a tisk detailní zprávy o běhu FA / HID instalačního standardu

DŮLEŽITÉ! Před zobrazením zprávy se ujistěte, že jsou zobrazeny všechny barvy. Není-li tomu tak, zpráva nebude kompletní.

Vezměte na vědomí:

- Zprávy o analýze instalacích standardů obsahují datum nejnovější instalace kapiláry (za předpokladu, že kapilára byla vyjmuta a znovu instalována). Zprávy o prostorové a spektrální kalibraci obsahují datum první instalace kapiláry na přístroji.
- Nastavení obrazovky Install Standard není ve zprávě použito.
- Můžete vytvořit zprávu i pro nezdařený běh, a to předtím, než výsledek běhu odmítnete (Reject Results).

1. Klikněte na ikonu **View Detail Report (Zobrazit podrobnou zprávu)**.
2. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte vlastnosti zprávy podle potřeby.
Popis funkce ikony získáte, umístíte-li nad ní kurzor.



3. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu **Print**.

4. Zavřete zprávu.



Uložení starších zpráv o kontrole funkčnosti (.pdf)

DŮLEŽITÉ! Po provedení kontroly funkčnosti uložte zprávu v elektronické formě. Program neuchovává výsledky předešlých kontrol funkčnosti, uložena je pouze aktuální spektrální kalibrace pro každý soubor barev.

1. Klikněte na ikonu **View Detail Report (Zobrazit podrobnou zprávu)**.
2. Klikněte na ikonu **Print**.
3. V dialogovém okně Printer zvolte tiskárnu **CutePDF Writer**.
4. Zadejte název zprávy a zvolte adresář, kam se má zpráva uložit.

Správa knihoven

Knihovny - Přehled

Knihovny umožňují správu esejí, protokolů a dalších nastavení, potřebných k práci s programem.

Pracujete-li s knihovnami, pracujete s:

- Nastaveními potřebnými pro zadání běhu:
 - Destičky
 - Eseje
 - (Volitelné) Definice pojmenování soubortů
 - (Volitelné) Výsledkové skupiny
- Nastaveními potřebnými pro vytvoření eseje:
 - Protokoly přístroje
 - Protokoly primární analýzy – Basecalling – odečet bází (sekvenování), sizecalling – odečet velikostí fragmentů (fragmentační analýza), QC – kontrola kvality (HID)
 - (Volitelné) Protokoly sekundární analýzy – sekvenační protokoly, fragmentační protokoly a protokoly HID
- Nastaveními, které potřebujete pro vytvoření protokolů pro odečet velikostí fragmentů a protokolů kontroly kvality:
 - Soubory barev
 - Velikostní standardy

Tovární nastavení – templáty a uzamčená nastavení

Knihovny programu 3500 Series Data Collection obsahují tovární nastavení určitých nástrojů potřebných pro určité aplikace (např. protokoly přístroje s určitými moduly a specificky nastavené protokoly primární analýzy). Tyto přednastavené funkce můžete ihned použít. Pokud je použít nechcete nebo je chcete upravit, můžete tak učinit, případně můžete vytvořit nová nastavení.

Položky v knihovnách mohou být označeny následujícími symboly:

- Tovární nastavení. Nelze upravit ani smazat.
- Templát.
- Uzamčeno. Je-li součástí vašeho systému modul SAE (Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis), lze dané nastavení odemknout a upravit pouze uživatelem, který je vytvořil, nebo jiným uživatelem, který je k tomu oprávněn. Více informací viz [Kapitola 7 “Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis \(Modul SAE\)”](#) na straně 197.

Práce s knihovnami

Přístup ke knihovnám

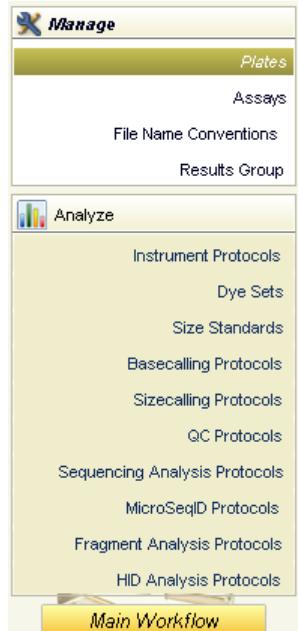
V hlavní nabídce zvolte **Library (Knihovna)**.



Knihovny umožňují správu esejí, protokolů a dalších nastavení, potřebných k práci s programem.

Pracujete-li s knihovnami, pracujete s:

- Nastaveními potřebnými pro zadání běhu jako jsou destičky, eseje, (volitelné) definice pojmenování souborů, (volitelné) výsledkové skupiny.
- Nastaveními potřebnými pro vytvoření eseje jako jsou protokoly přístroje, protokoly primární analýzy (Basecalling – odečet bází - sekvenování), sizecalling – odečet velikostí fragmentů (fragmentační analýza), QC – kontrola kvality (HID analysis), (volitelné) protokoly sekundární analýzy – sekvenační protokoly, fragmentační protokoly a protokoly HID.
- Nastaveními, které potřebujete pro vytvoření protokolů pro odečet velikostí fragmentů a protokolů kontroly kvality jako jsou soubory barev a velikostní standardy



Kdykoliv můžete zvolit šipku v levém horním okně obrazovky nebo **Dashboard** (Ovládací panel) nebo příkazy z Hlavní nabídky (Menu).

Vytvoření nové položky z továrního nastavení, templátu, nebo uzamčené položky

DŮLEŽITÉ! Sledování změn položky (tzv. audit) závisí na tom, zda je položka vytvořena v rámci knihovny nebo jiným způsobem (např. esej můžete vytvořit přímo v knihovně nebo rovnou v destičce v rámci obrazovky Assign Plate Contents-Definice obsahu destičky). Více informací viz "[Sledování změn položky](#)" na straně 210.

1. Zvolte jednu z továrně nastavených položek v knihovně.
2. Klikněte na ikonu **Duplicate (Zdvojení)**. Program vytvoří kopii zvolené položky.
3. Zvolte vytvořenou kopii a klikněte na ikonu **Edit (Upravit)**.
4. Zadejte název této položky.
5. Upravte nastavení podle potřeby.

6. Klikněte na **Save (Uložit)**.

Vymazání položky z knihovny

DŮLEŽITÉ! Sledování změn položky (tzv. audit) závisí na tom, zda je položka smazána v rámci knihovny nebo jiným způsobem (např. esej můžete smazat přímo v knihovně nebo rovnou v destičce v rámci obrazovky Assign Plate Contents-Definice obsahu destičky). Více informací viz „[Sledování změn položky](#)“ na straně [210](#).

Poznámka: Továrně nastavené  položky nelze vymazat.

Zvolte položku a klikněte na ikonu  **Delete (Smazat)**.

Vymazání položky z knihovny nemá vliv na jiné existující položky, jichž je tato položka součástí. (Pokud chcete, aby položka byla součástí položky vyšší úrovně, je v položce vyšší úrovně vytvořena *kopie* zvolené položky. Např. chcete-li, aby součástí eseje byl určitý protokol přístroje, je protokol přístroje kopírován do eseje. Pokud následně tento protokol přístroje smažete, kopie, která je součástí eseje, zůstává nedotčena.)

Více informací o sledování historie vymazaných položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně [210](#).

Úprava položky v knihovně

DŮLEŽITÉ! Sledování změn položky (tzv. audit) závisí na tom, zda je položka upravována v rámci knihovny nebo jiným způsobem (např. esej můžete upravit přímo v knihovně nebo rovnou v destičce v rámci obrazovky Assign Plate Contents-Definice obsahu destičky). Více informací viz „[Sledování změn položky](#)“ na straně [210](#).

1. Zvolte položku a klikněte na ikonu  **Edit (Upravit)**.
2. Upravte nastavení podle potřeby.
3. Klikněte na **Save (Uložit)**.

Import a export položky z knihovny

Položky v knihovnách lze importovat a exportovat jako .xml soubory a následně použít na jiných přístrojích 3500 nebo 3500xL:

- **Import** – Klikněte na ikonu  **Import** a zvolte .xml soubor, který chcete importovat. Existuje-li tato položka již v knihovně, program zobrazí hlášku umožňující import zrušit nebo položku přepsat.
- **Export** – Zvolte jednu nebo více položek a klikněte na ikonu  **Export**, poté zadejte adresář, kam se má položka exportovat.
Chcete-li vybrat více položek, označte je kliknutím při současném stisku klávesy Shift (položky za sebou) nebo Ctrl (položky na přeskáčku).

Historie sledovaných změn a elektronického podpisu pro položky v knihovnách

Poznámka: Administrátor může shlednou historii sledování změn a elektronického podpisu i v modulu SAE. Více informací viz [Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis \(Modul SAE\)"](#) na straně 197.

Chcete-li zobrazit historii sledování změn nebo elektronického podpisu pro určitou položku knihovny:

1. Zvolte položku v knihovně.
2. Klikněte na ikonu **View Audit History (Zobrazit historii sledování změn)** nebo **View E-Signature History (Zobrazit historii elektronického podpisu)** (aktivní, pouze je-li pro zvolenou položku elektronický podpis možný).

Poznámka: U továrně nastavených položek se v historii sledování změn nezobrazuje datum jejich vytvoření. Pokud takovou položku zdvojíte (duplicate), je v historii nové položky zobrazeno datum zdvojení jako datum jejího vytvoření.

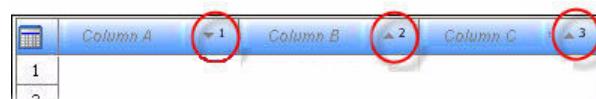
3. Více informací viz ["Zobrazení zprávy o výsledku sledování změn"](#) na straně 209.

Třídění, filtrování a prohledávání knihoven

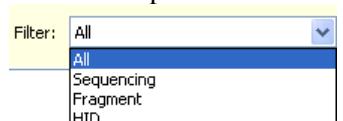
Třídění Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte. Možné je i třídění podle více sloupců:

- Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tento setřídíte.
- Kliknutím do záhlaví dalšího sloupce při současném stisku Alt+Shift setřídíte data podle tohoto sloupce.
- Kliknutím do záhlaví třetího sloupce při současném stisku Alt+Shift setřídíte data podle tohoto sloupce.

Priorita třídění je znázorněna číslicemi v záhlaví sloupců.

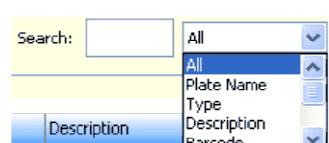


Filtrování Chcete-li zvolit pouze položky platné pro danou aplikaci, v rozbalovací nabídce Filter zvolte tuto aplikaci:



Prohledávání

V každé knihovně lze vybrat, co se má prohledávat, a zadat klíčové slovo. Možnosti prohledávání jsou dány sloupcí použitými v dané knihovně.



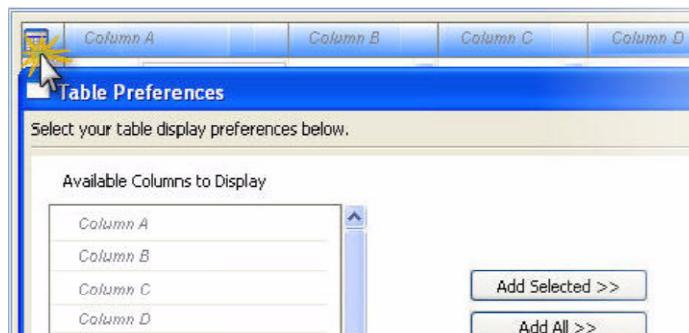
Kliknutím na **Go** zahájíte prohledávání. Kliknutím na **Clear** vymažete zadání prohledávání.

Vlastní nastavení

Klikněte na ikonu Tabulka Settings (Nastavení tabulky) a zvolte, které sloupce se mají zobrazovat.

Klikněte na:

- **Apply** – Má-li být toto nastavení použito pouze aktuálně.
- **Save to Preferences** – Má-li být toto nastavení uloženo a bude k dispozici všem uživatelům. Je-li součástí vašeho systému modul SAE, je nastavení uloženo pro přihlášeného uživatele.
- **Restore Defaults** – Má-li být obnoveno tovární nastavení.



Knihovna destiček

Knihovna destiček (Plates Library) obsahuje všechny destičky uložené v programu (spuštěné i dosud nespuštěné).

Přehled

Definice destičky

Destička umožňuje spojení parametrů pro daný vzorek (informace o vzorku a nastavení parametrů analýzy) s určitou jamkou. Destička určuje, jak jsou vzorky během kapilární elektroforézy analyzovány, soubory pojmenovány a uloženy.

Při vytvoření destičky definujete:

- Typ destičky (sekvenování, fragmentační analýza, směsná nebo HID)
- Počet jamek, délku kapilár a typ polymeru

Definujete-li destičku, zadáváte eseje, volitelně zadáváte definice pojmenování souborů a výsledkové skupiny. Zadáváte-li tyto položky z knihoven, vytváříte v destičce jejich kopie, které lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek najeznete v části „Sledování změn položky“ na straně 210.

Templáty destiček

Součástí knihovny destiček jsou i templáty optimalizované pro různé aplikace (např. destičky definované pro určitý typ polymeru a délku kapiláry), které můžete použít pro vytváření nových destiček.

Vytvoření nové destičky

1. Otevřete knihovnu destiček.
2. Klikněte na ikonu  **Create (Vytvořit)**.

Program zobrazí obrazovku Define Plate Properties (Definice obsahu destičky) ([Obrázek 11 na straně 145](#)).

Poznámka: Obrazovku Define Plate Properties (Definice obsahu destičky) lze rovněž otevřít z Ovládacího panelu (Dashboard) a z obrazovky Assign Plate Contents.

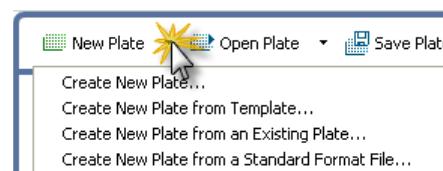


3. Chcete-li vytvořit novou destičku, definujte její vlastnosti ([Tabulka 6 na straně 145](#)).

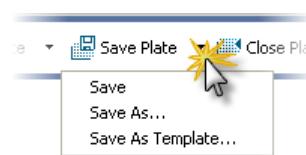
Chcete-li vytvořit novou destičku na základě existující destičky, klikněte na ikonu  **New Plate (Nová destička)**, poté zvolte možnost Create New Plate from an Existing Plate. Zvolte destičku, klikněte na **Open (Otverit)**.

Další možnosti vytvoření nové destičky viz:

- “Zadání destičky pomocí templáту” na straně 43.
- “Import zadání destičky” na straně 73



4. Klikněte na Save Plate (Uložit destičku).



The screenshot shows the 'Plate Details' configuration screen. At the top, there are buttons for 'New Plate', 'Open Plate', 'Save Plate', 'Close Plate', and 'Start Run'. Below this is a 'Plate Details' panel with the following fields:

- * Name: (highlighted in yellow)
- * Number of Wells: (highlighted in yellow) - Error message: 'Plate Name is a required field. Provide a unique value.'
- * Plate Type: HID
- * Capillary Length: 36 cm
- * Polymer: POP4
- Owner: (empty field)
- Barcode: (empty field)
- Description: (text area)

Below this is a 'Secondary Analysis' section with the following fields:

- * Software Type: (dropdown menu)
- * Software Location: (dropdown menu)
- * Username: (text field)
- * Password: (text field)

At the bottom of the panel, there is a note about auto-analysis: '* Auto Analysis is performed: Only when the results group is complete When every injection completes'.

Obrázek 11 Definice destičky

Tabulka 6 Definice destičky

Nastavení	Popis
Údaje o destičce	
Name – Název	Název destičky (musí být unikátní).
Number of Wells – Počet jamek	<ul style="list-style-type: none"> 96 well – Pro standardní 96-jamkové destičky <ul style="list-style-type: none"> – Lze použít 96-jamkové standardní destičky a při použití vhodného adapteru i 8-zkumavkové stripy. 96 Fast tube – Pro 96-jamkové destičky typu Fast <ul style="list-style-type: none"> – Lze použít 96-jamkové destičky typu Fast a při použití vhodného adapteru i 8-zkumavkové stripy typu Fast. 384 well – 384-jamkové destičky
Plate Type – Typ destičky	<ul style="list-style-type: none"> Sequencing - Sekvenování Fragment analysis – Fragmentační analýza Mixed (Seq + Frag) - Směsná HID
Capillary Length, Polymer – Délka kapiláry a polymer	Délka kapiláry a typ polymeru, které budou s danou destičkou použity.
Owner, Barcode, Description (Volitelné) – Vlastník, Čárový kód, Popis	Volitelná textová pole Pomocí těchto polí lze destičky vyhledávat v knihovně destiček a záznamech o běhu (run logs) (Tools-Nástroje > View Logs-Zobrazit záznamy běhu).

Tabulka 6 Definice vlastností destičky (pokračování)

Nastavení	Popis
Sekundární analýza	
Poznámka: V eseji nastavené protokoly sekundární analýzy musí odpovídat nastavení pro automatickou analýzu (auto-analysis) destičky. Více informací viz:	
	<ul style="list-style-type: none"> • "Knihovna protokolů pro analýzu výsledků sekvenování (sekundární analýza)" na straně 189 • "Knihovna protokolů MicroSeq® ID (sekundární analýza)" na straně 191 • "Knihovna protokolů pro analýzu výsledků fragmentace (sekundární analýza)" na straně 193 • "Knihovna protokolů pro analýzu výsledků HID (sekundární analýza)" na straně 195
Perform Auto-Analysis – Provést automatickou analýzu	Umožňuje provedení automatické analýzy pomocí příslušného programu sekundární analýzy
Software Type – Program	Podporované programy sekundární analýzy
Software Location – Umístění programu	Počítač na němž je instalován program sekundární analýzy
Username – Uživatelské jméno	Uživatelské jméno a heslo pro přihlášení do programu sekundární analýzy
Password – Heslo	
Auto-Analysis is performed (fragment/HID only) – Provedení automatické analýzy (pouze fragmentační analýza/HID)	Určení, kdy jsou výsledky odeslány do programu sekundární analýzy: <ul style="list-style-type: none"> • Po ukončení výsledkové skupiny • Po ukončení každého nástříku

Knihovna esejí

Přehled

Součástí eseje (assay) je protokol přístroje (instrument protocol), jehož součástí je soubor barev (dye set) a definice parametrů běhu, a protokol primární analýzy. Eseje, definice pojmenování souborů a výsledkové skupiny mohou být součástí templátu destičky.

Poznámka: Není-li v seznamu žádná esej, alespoň jednu vytvořte.

Součástí eseje je:

- Jeden nebo více protokolů přístroje pro daný typ vzorku/soubor barev, pro které je esej určena
- Protokol primární analýzy (podle aplikace):
 - **Sekvenování** – Protokol pro odečet bází (basecalling)
 - **Fragmentační analýza** – Protokol pro odečet velikostí fragmentů (sizecalling)
 - **HID** – Protokol kontroly kvality (QC)
- (Volitelné) Protokol sekundární analýzy (podle aplikace):
 - **Sekvenování** – SeqScape® v2.7 (nebo vyšší) nebo MicroSeq® ID v2.2 (nebo vyšší)
 - **Fragmentační analýza** – GeneMapper® v4.1 (nebo vyšší)
 - **HID** – GeneMapper® ID-X v1.2 (nebo vyšší)

Všechny aplikace vyžadují zadání eseje. Ke všem pojmenovaným jamkám destičky (obsahujícím vzorky) musíte přiřadit esej před tím, než destičku spustíte.

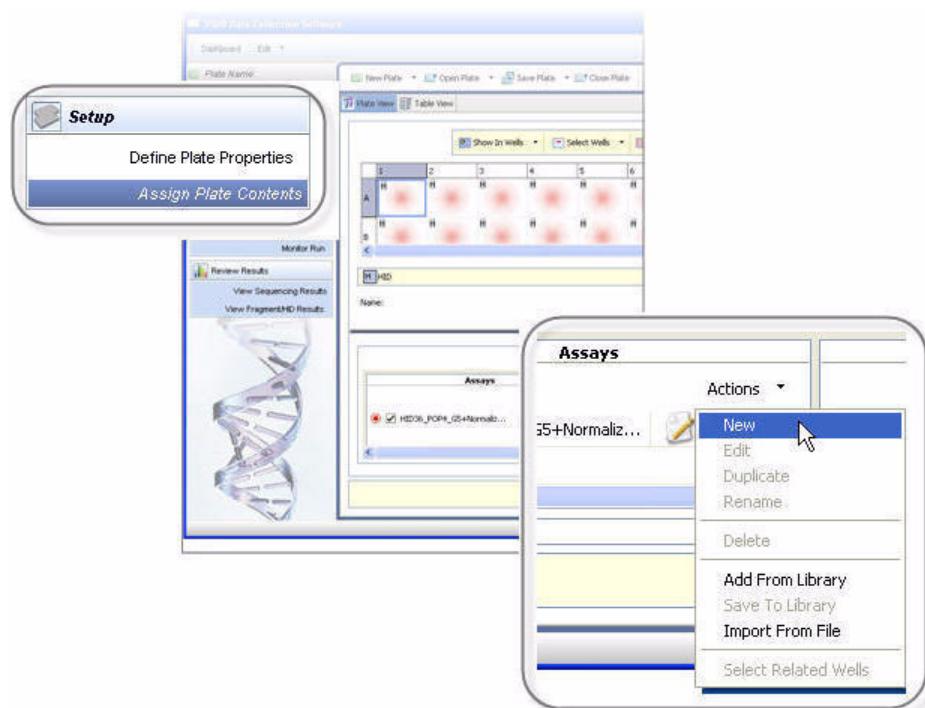
Definujete-li esej, přidáváte do ní jeden nebo více protokolů přístroje a protokol primární analýzy. Zadáváte-li tyto položky z knihoven, vytváříte v destičce jejich *kopie*, které lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

Vytvoření nové eseje

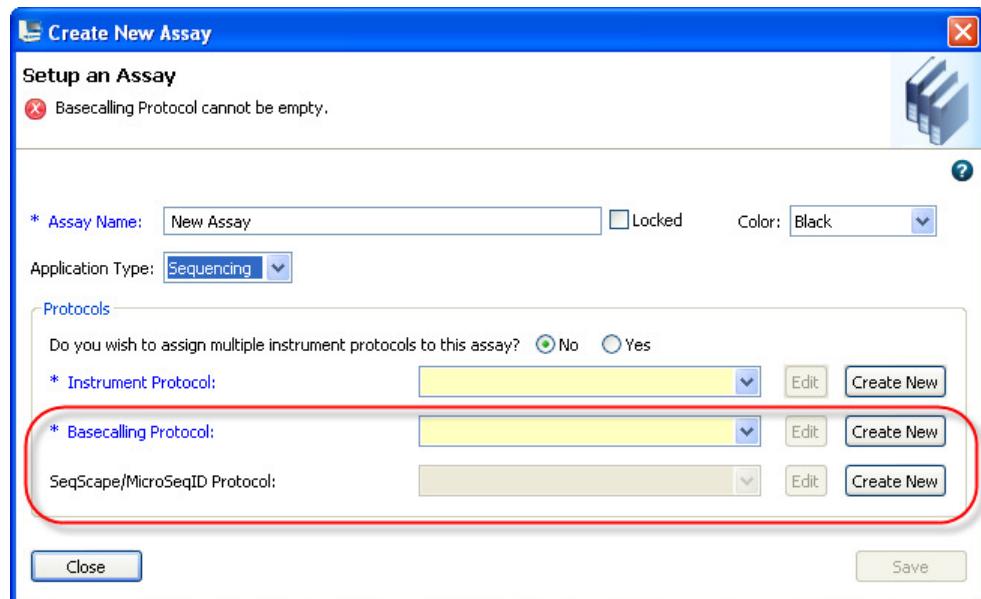
Pokud továrně nastavené eseje nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu esejí.
2. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.

Poznámka: Esej lze rovněž vytvořit z obrazovky Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky).



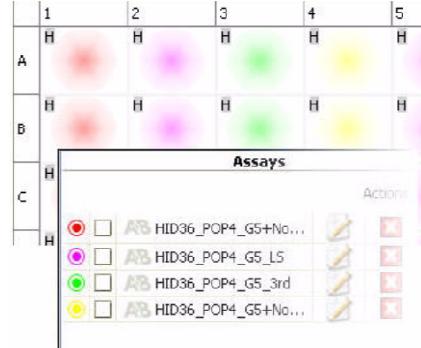
3. V dialogovém okně Create New Assays (Vytvořit nové eseje) zvolte typ aplikace: Sekvenování, Fragmentační analýza nebo HID. Obrazovka se změní v závislosti na zvolené aplikaci (Obrázek 12 na straně 149 ukazuje obrazovku pro sekvenování).
4. Nastavte parametry (viz [Tabulka 7 na straně 149](#)).
5. Uložte esej:
 - Vytváříte-li esej z knihovny, klikněte na **Save (Uložit)**.
 - Vytváříte-li esej z obrazovky Assign plate Contents (Definice obsahu destičky), klikněte na **Apply to Plate (Použít v destičce)** nebo **Save to Library (Uložit do knihovny)**.



Obrázek 12 Vytvoření nové eseje – sekvenování – zvýrazněná oblast se mění podle typu aplikace

Tabulka 7 Definice eseje

Nastavení	Popis
Assay Name – Název eseje	Název eseje (musí být unikátní)
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197.
Color - Barva	Barva zobrazení eseje na obrazovce Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) (je-li barevné zobrazení umožněno v nastavení Show In Wells – Zobrazit v jamkách).
Application Type - Typ aplikace	<ul style="list-style-type: none"> • Sequencing - Sekvenování • Fragment analysis – Fragmentační analýza • HID



Tabulka 7 Definice eseje (pokračování)

Nastavení	Popis
Do you wish to assign multiple instrument protocols to this assay? – Chcete v této eseji použít více protokolů přístroje?	Zvolíte-li Yes (Ano), můžete vybrat nebo vytvořit další protokoly přístroje pro danou eseji. Program pro každý zvolený protokol přístroje zadá jeden nástrčík.
Instrument Protocol – Protokol přístroje	Protokol pro sběr dat. Více informací viz „Knihovna protokolů přístroje“ na straně 165.
Sekvenování	
<ul style="list-style-type: none"> Basecalling Protocol - Protokol pro odečet bází 	Protokol primární analýzy (odečet bází a zkrácení sekvence) a kontroly kvality. Více informací viz „Knihovna protokolů pro odečet bází – basecalling (primární analýza – sekvenování)“ na straně 174.
<ul style="list-style-type: none"> SeqScape /MicroSeq® ID protokoly 	Volitelný protokol sekundární analýzy (automatická analýza). Více informací viz: <ul style="list-style-type: none"> „Knihovna protokolů pro analýzu výsledků sekvenování (sekundární analýza)“ na straně 189. „Knihovna protokolů MicroSeq® ID (sekundární analýza)“ na straně 191.
Fragmentační analýza	
<ul style="list-style-type: none"> Sizecalling Protocol - Protokol pro odečet velikostí fragmentů 	Protokol primární analýzy (detekce piků a odečet velikostí) a kontroly kvality. Více informací viz „Knihovna protokolů pro odečet velikostí fragmentů - sizecalling (primární analýza – fragmentace)“ na straně 179.
<ul style="list-style-type: none"> GeneMapper® protokol 	Volitelný protokol sekundární analýzy (automatická analýza). Více informací viz „Knihovna protokolů pro analýzu výsledků fragmentace (sekundární analýza)“ na straně 193.
HID	
<ul style="list-style-type: none"> QC protokol 	Protokol primární analýzy (detekce piků a odečet velikostí) a kontroly kvality. Více informací viz „Knihovna protokolů QC (primární analýza – HID)“ na straně 184.
<ul style="list-style-type: none"> GeneMapper® ID-X Protokol 	Volitelný protokol sekundární analýzy (automatická analýza). Více informací viz „Knihovna protokolů pro analýzu výsledků HID (sekundární analýza)“ na straně 195.

Knihovna pro definice pojmenování souborů

Přehled

Definice pojmenování souborů - File Name Convention (FNC) určuje, jak budou pojmenovány soubory (s výsledky), které program automaticky vytváří pro každý zadaný vzorek. Je to volitelný parametr při definici obsahu destičky.

Pokud žádnou definici pojmenování souborů neurčíte, budou soubory pojmenovány ve formě:

<název vzorku>_<jamka>

Přípona souboru závisí na aplikaci:

- **Sekvenování** – .ab1 (v Nastavení - Preferences můžete definovat export výsledků i v jiných formátech. Viz „[Zobrazení a zprávy při analýze výsledků sekvenování](#)“ na straně 36.)
- **Fragmentační analýza** – .fsa
- **HID** – .hid

Poznámka: Adresář pro uložení souborů určený v definici pojmenování souborů je použit pouze pokud pro danou jamku není definována výsledková skupina.

Při definování obsahu destičky můžete pro každou jamku jako volitelný prvek zadat i definici pojmenování souborů (file name convention). Zadáváte-li tuto položku z knihovny, vytváříte v destičce její *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

Vytvoření nové definice pojmenování souborů

Pokud továrně nastavené definice pojmenování souborů nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu definic pojmenování souborů.
2. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.

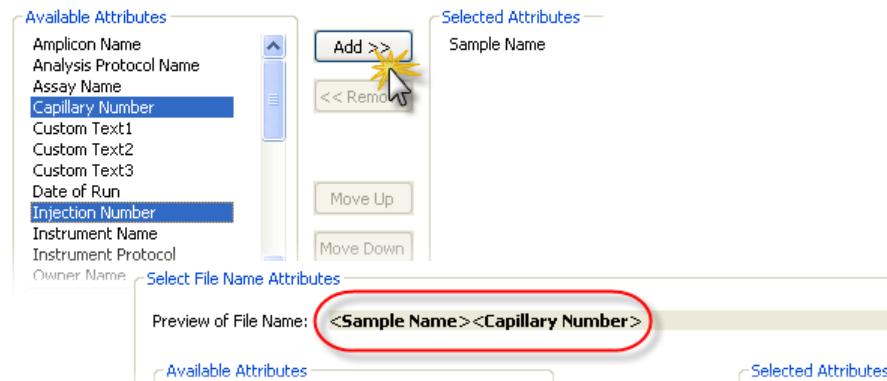
Poznámka: Definici pojmenování souborů lze rovněž vytvořit z obrazovky Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky).



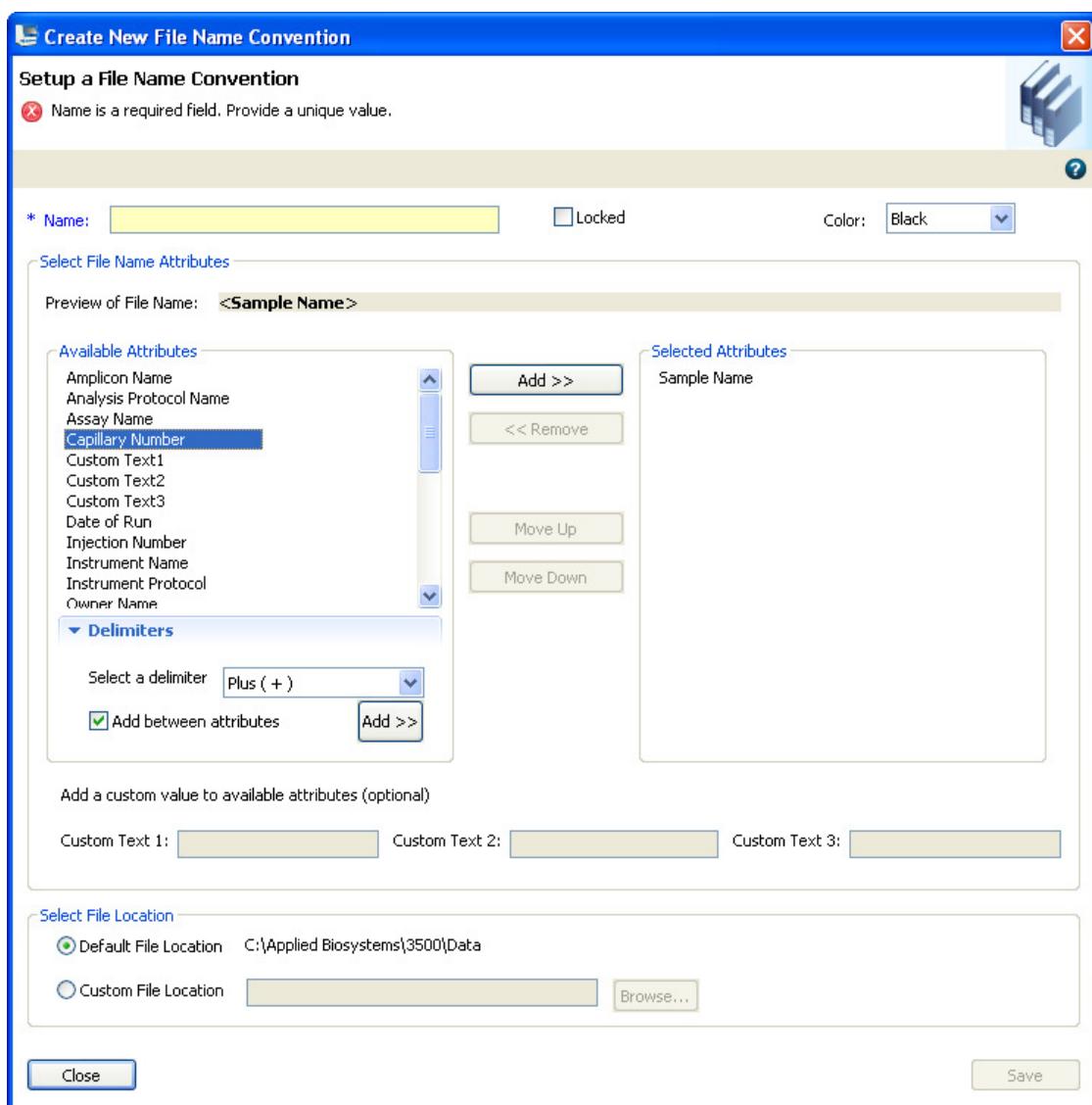


- V dialogovém okně Create New File Name Conventions (Vytvořit novou definici pojmenování souborů) (Obrázek 13 na straně 153) zvolte položky názvů a jejich oddělovače (viz Tabulka 8 na straně 153).

Volíte-li jednotlivé položky názvů, program zobrazuje náhled jména souboru.



- Chcete-li mezi zvolené položky názvů přidat oddělovače:
 - Kliknutím při současném stisku klávesy Ctrl nebo Shift zvolte dvě nebo více položek v sloupci Selected Attributes.
 - Zvolte oddělovač.
 - Zvolte možnost Add between attributes (Přidat mezi položky).
 - Klikněte na **Add (Přidat)**.
- Uložte definici pojmenování souborů:
 - Vytváříte-li definici pojmenování souborů z knihovny, klikněte na **Save (Uložit)**.
 - Vytváříte-li definici pojmenování souborů z obrazovky Assign plate Contents (Definice obsahu destičky), klikněte na **Apply to Plate (Použít v destičce)** nebo **Save to Library (Uložit do knihovny)**.

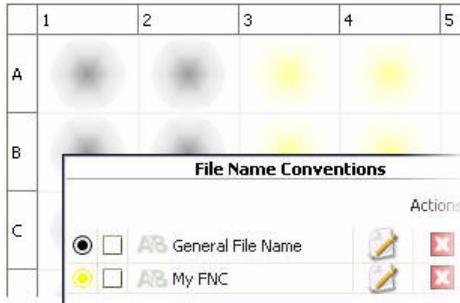


Obrázek 13 Vytvoření nové definice pojmenování souborů

Tabulka 8 Definice pojmenování souborů

Nastavení	Popis
Name – Název	Název definice pojmenování souborů (musí být unikátní)
Locked – Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197.

Tabulka 8 Definice pojmenování souborů (pokračování)

Nastavení	Popis
Color - Barva	<p>Barva zobrazení definice pojmenování souborů na obrazovce Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) (je-li barevné zobrazení umožněno v nastavení Show In Wells – Zobrazit v jamkách).</p> 
Preview of name – Náhled pojmenování	Interaktivní zobrazení zvolených položek názvu souboru.
Available attributes – Položky, které lze použít	<ul style="list-style-type: none"> • Název amplikonu – Amplicon Name • Název primárního protokolu analýzy – Analysis Protocol Name • Název eseje – Assay Name • Číslo kapiláry – Capillary Number • Vlastní text – Custom text, až tři pole • Datum běhu – Date of Run • Pořadí nástříku – Injection Number • Název přístroje – Instrument Name • Protokol přístroje – Instrument Protocol • Vlastník destičky – Owner Name • Název destičky – Plate Name <p>DŮLEŽITÉ! Maximální povolená délka názvu souboru, a to včetně adresy, je 240 znaků. Pokud tento limit překročíte, objeví se výstražná hláška, ale je možné nastavení uložit. Před spuštěním běhu se objeví chybové hlášení.</p>
Delimiters - Oddělovače	Symboly, které lze použít v názvu souboru: pomlčka (-), tečka (.), podtržení (_), plus (+), dolar (\$).
Custom text - Vlastní text	Text, který se zobrazí v polích pro vlastní text.
File location - Umístění souborů	Adresář pro uložení souborů určený v definici pojmenování souborů je použit pouze pokud pro danou jamku není definována výsledková skupina. Nastavení výsledkové skupiny má před nastavením definice pojmenování souborů přednost.

Knihovna výsledkových skupin

Přehled

Výsledková skupina (Results Group) je soubor nastavení, určujících jak pojmenovávat, třídit a uživatelsky nastavovat adresáře, v nichž jsou uloženy datové soubory s výsledky. Je to volitelný parametr při definici obsahu destičky.

Poznámka: Umístění souborů definované ve výsledkové skupině má přednost před umístěním souborů definovaným v definici pojmenování souborů pro danou jamku.

Při definování obsahu destičky můžete pro každou jamku jako volitelný prvek zadat i výsledkovou skupinu (results group). Zadáváte-li tuto položku z knihovny, vytváříte v destičce její *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

Alelický žebřík - umístění (analýza HID)

Pro přesné genotypování vyžaduje program GeneMapper® ID-X nejméně jeden soubor alelického žebříku v adresáři běhu. (Genotypování je možné i v případě, že je v jednom adresáři více souborů alelického žebříku.)

Společnost Applied Biosystems doporučuje injekci alelického žebříku jednou na každých 24 vzorků:

- **8-kapilární přístroje** – Jeden nástrík alelického žebříku během 3 injekcí
- **24-kapilární přístroje** – Jeden nástrík alelického žebříku při každé injekci

Poznámka: Proveďte vlastní validaci, abyste zjistili potřebný počet nástríků alelického žebříku.

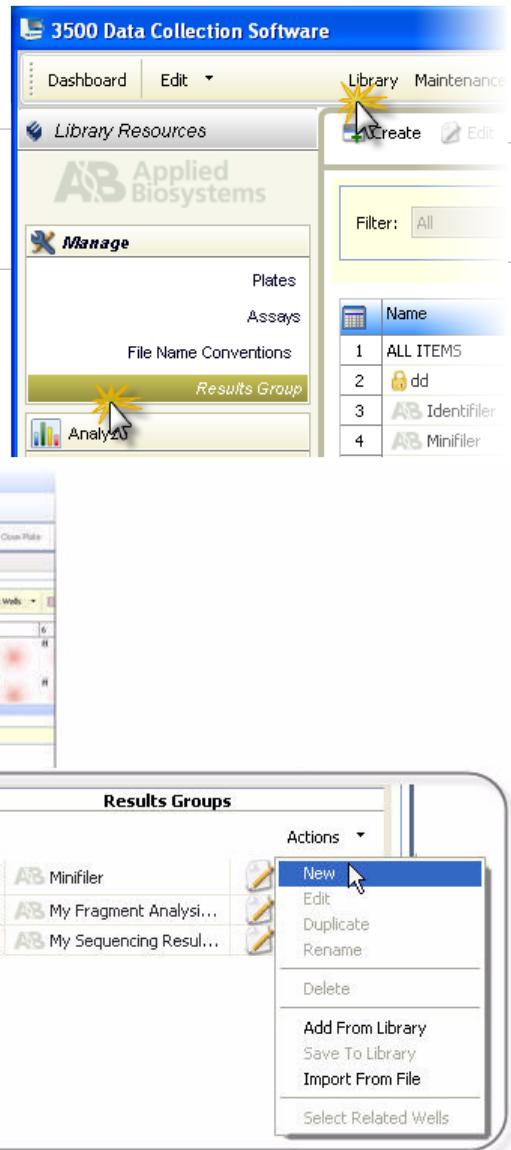
Příklad popisující umístění tří nástríků do každého běhu 8-kapilárního přístroje viz „[Výsledková skupina – příklad 2: jak uložit jeden alelický žebřík v jednom adresáři \(8- kapilární přístroje\)](#)“ na straně 161.

Vytvoření nové výsledkové skupiny

Pokud továrně nastavené výsledkové skupiny nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu výsledkových skupin
2. Klikněte na ikonu  **Create (Vytvořit)**.

Poznámka: Definici výsledkové skupiny lze rovněž vytvořit z obrazovky Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky).



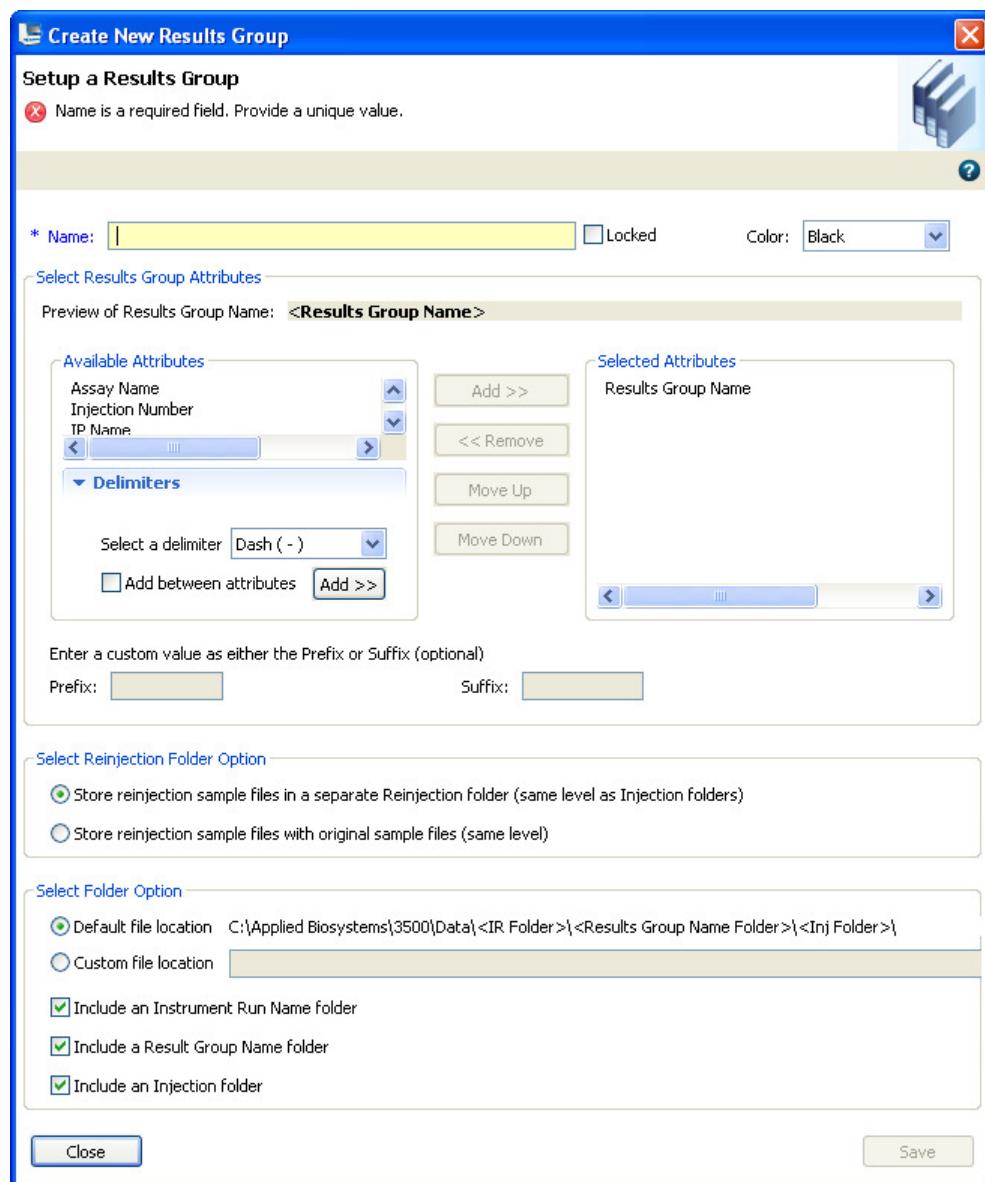
3. V dialogovém okně Create Results group (Vytvořit novou výsledkovou skupinu) (Obrázek 14 na straně 158) zvolte položky názvů a jejich oddělovače (viz Tabulka 9 na straně 158).

Volíte-li jednotlivé položky názvů, program zobrazuje náhled jména souboru.



4. Chcete-li mezi zvolené položky názvů přidat oddělovače:
 - a. Kliknutím při současném stisku klávesy Ctrl nebo Shift zvolte dvě nebo více položek v sloupci Selected Attributes.
 - b. Zvolte oddělovač.
 - c. Zvolte možnost Add between attributes (Přidat mezi položky).
 - d. Klikněte na **Add (Přidat)**.
5. Uložení výsledkové skupiny:
 - Vytváříte-li výsledkovou skupinu z knihovny, klikněte na **Save (Uložit)**.
 - Vytváříte-li výsledkovou skupinu z obrazovky Assign plate Contents (Definice obsahu destičky), klikněte na **Apply to Plate (Použít v destičce)** nebo **Save to Library (Uložit do knihovny)**.

Umístění souborů definované ve výsledkové skupině má přednost před umístěním souborů definovaným v definici pojmenování souborů pro danou jamku.



Obrázek 14 Vytvoření nové výsledkové skupiny

Tabulka 9 Definice výsledkové skupiny

Nastavení	Popis
Name - Název	Název výsledkové skupiny (musí být unikátní) Název výsledkové skupiny je povinná položka, nelze jej odstranit ze seznamu zvolených položek Selected Attributes.
Locked – Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197.

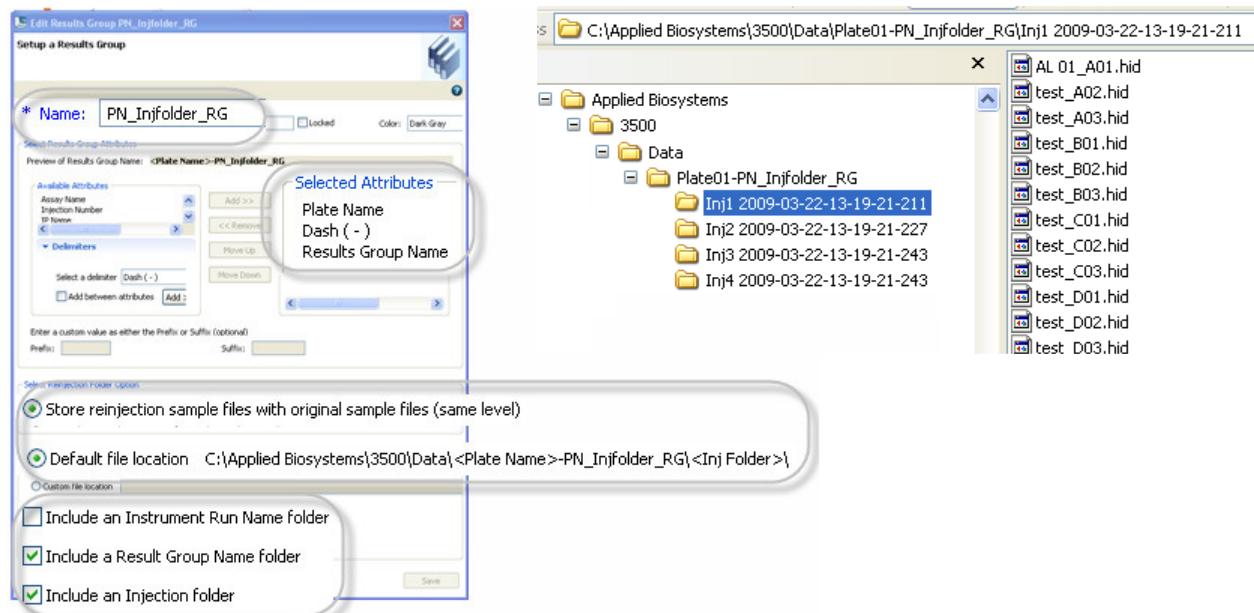
Tabulka 9 Definice výsledkové skupiny (pokračování)

Nastavení	Popis	
Color - Barva	<p>Barva zobrazení výsledkové skupiny na obrazovce Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky) (je-li barevné zobrazení umožněno v nastavení Show In Wells – Zobrazit v jamkách).</p>	
Preview of name – Náhled pojmenování	Interaktivní zobrazení zvolených položek názvu souboru.	
Available attributes – Položky, které lze použít	<ul style="list-style-type: none"> Název výsledkové skupiny - Results Group Name (povinné) Název eseje - Assay Name Pořadí nástřiku – Injection Number Protokol přístroje - Instrument protocol Jméno uživatele – Logged-in User Name (pouze při použití zabezpečení, modul SAE) 	<ul style="list-style-type: none"> Název primárního protokolu analýzy - PA Protocol Name (primary analysis) Název destičky – Plate Name Předpona - Prefix Datum běhu/časové označení - Start Instrument Run Date/time Stamp Přípona - Suffix
Delimiters - Oddělovače	Symboly, které lze použít v názvu souboru: pomlčka (-), tečka (.), podtržení (_), plus (+), dolar (\$).	
Prefix/suffix text Předpona/Přípona	Text zobrazený jako předpona/přípona.	
Select re-injection folder option – Adresář pro opakované nástřiky	<ul style="list-style-type: none"> Store reinjection sample files in a separate reinjection folder (same level as injection folders) – Soubory vzniklé v rámci opakovaných nástřiků uložit v samostatných adresářích (stejná úroveň adresáře jako první nástřik) Store reinjection sample files with original sample files (same level) – Soubory vzniklé v rámci opakovaných nástřiků uložit spolu s originálními soubory (stejná úroveň) 	
Select folder option - Volba adresáře	<p>Umístění:</p> <ul style="list-style-type: none"> Default file location - Přednastavené (viz Preferences > User > Run Setup) Custom location - Vlastní <p>Podadresáře:</p> <ul style="list-style-type: none"> Include an instrument run name folder – Použít jako podadresář název běhu Include a results group name folder – Použít jako podadresář název výsledkové skupiny Include an injection folder – Použít jako podadresář název nástřiku 	

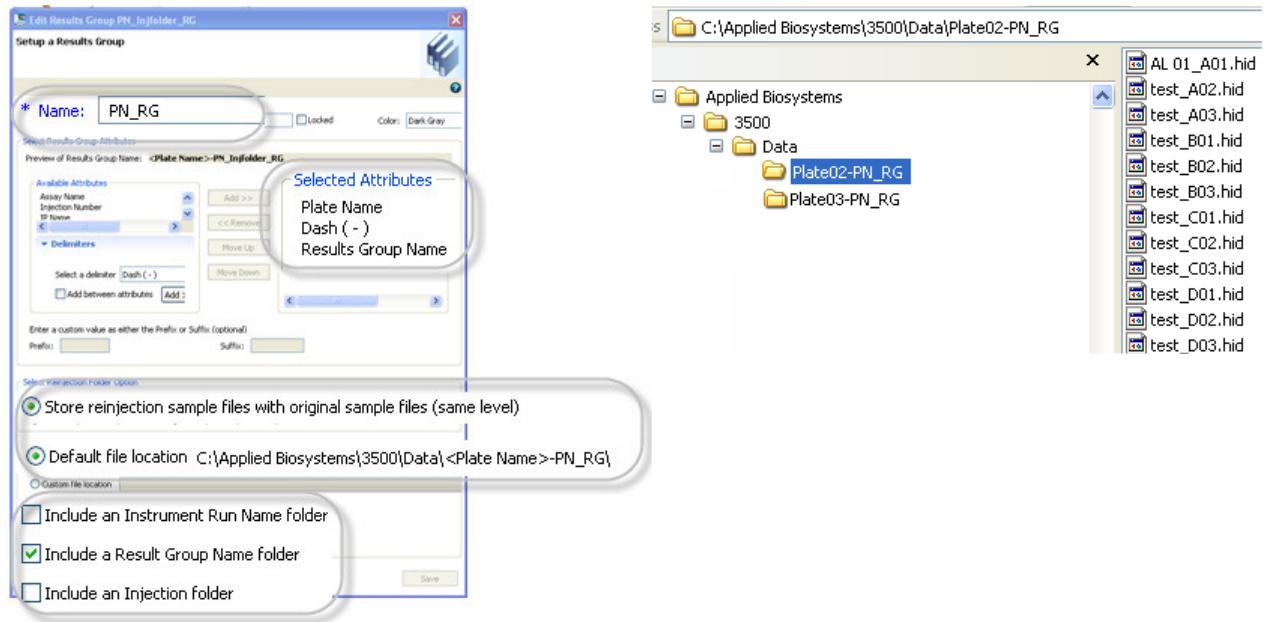
Výsledková skupina – příklad 1: ukládání souborů podle názvu destičky

Součástí programu jsou dvě přednastavené výsledkové skupiny, umožňující uložení souborů podle názvu destičky:

- **Obrázek 15 na straně 160** zobrazuje továrně nastavenou výsledkovou skupinu PN_Injfolder_RG results a adresáře vytvořené při jejím použití. Pro každý nástrík je vytvořen samostatný adresář.
- **Obrázek 16 na straně 161** zobrazuje továrně nastavenou výsledkovou skupinu PN_RG results group a adresáře vytvořené při jejím použití. Pro každý nástrík není vytvořen samostatný adresář. Všechny vzorky z dané destičky jsou uloženy v též adresáři. Jsou-li součástí jednoho běhu dvě destičky, je pro každou z nich vytvořen samostatný adresář.



Obrázek 15 Výsledková skupina PN_Injfolder_RG



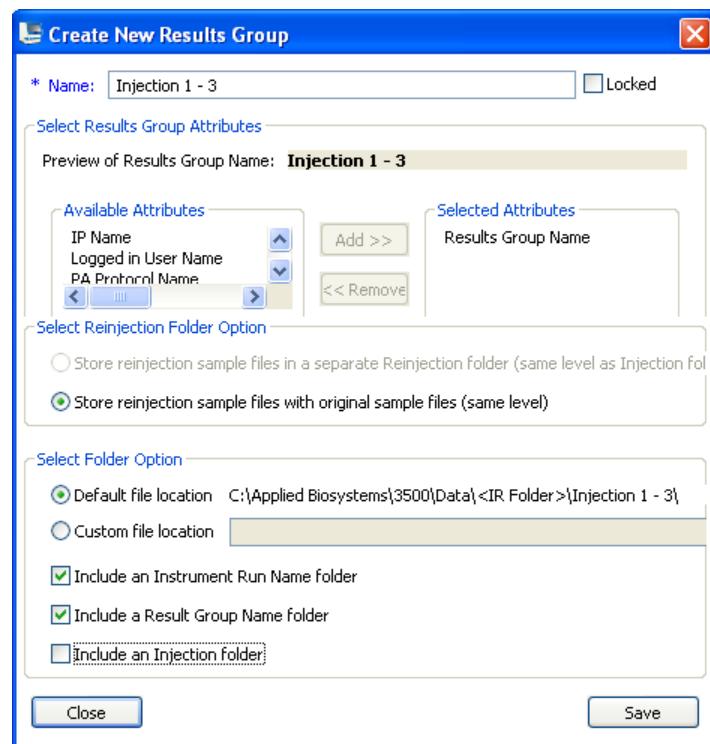
Obrázek 16 Výsledková skupina PN_RG results group

Výsledková skupina – příklad 2: jak uložit jeden alelický žebřík v jednom adresáři (8- kapilární přístroje)

Společnost Applied Biosystems doporučuje injekci alelického žebříku jednou na každých 24 vzorků (viz „[Alelický žebřík – umístění \(analýza HID\)](#)“ na straně 155).

Pro 8-kapilární přístroj vytvořte jednu výsledkovou skupinu pro každý soubor tří nástříků z destičky. Každá výsledková skupina znamená jeden podle ní pojmenovaný adresář. Jelikož táz výsledková skupina je identická pro soubor tří nástříků, je všech 24 vzorků uloženo v též adresáři, a to včetně alelického žebříku.

Příklad níže zobrazuje jednu výsledkovou skupinu; pro 96-jamkovou destičku vytvořte tři další s identickým nastavením ale odlišnými názvy, např. Injection 4 - 6, Injection 7 - 9 a Injection 10 -12.



Výsledková skupina – příklad 3: jak uložit opakovaný nástřik v jiném adresáři

[Obrázek 17 na straně 163](#) zobrazuje příklad výsledkové skupiny ukládající soubory do:

C:\Example\adresář pro běh přístroje-instrument run (IR)\adresář pro výsledkovou skupinu - result group [název výsledkové skupiny-results group name+datum zahájení běhu-start instrument run date/časové označení-time stamp+uživatelské jméno přihlášeného uživatele-logged in user name]\název adresáře pro nástřik-injection nebo název adresáře pro opakovaný nástřik.

Čísla na obrázku se vztahují k součástem výsledkové skupiny a odpovídají hierarchii souborů, vytvořené při běhu, který tuto výsledkovou skupinu využívá ([Obrázek 20 na straně 164](#)).

* Name: RG Example 3

Selected Attributes 3

- Results Group Name
- Plus (+)
- Start Instrument Run Date/Time Stamp
- Plus (+)
- Logged in User Name

Select Reinjection Folder Option 4

- Store reinjection sample files in a separate Reinjection folder (same level as Injection folders)
- Store reinjection sample files with original sample files (same level)

Select Folder Option 1

- Default file location C:\Applied Biosystems\3500\Data
- Custom file location C:\Example 2
- Include an Instrument Run Name folder 3
- Include a Result Group Name folder 4
- Include an Injection folder

Obrázek 17 Příklad výsledkové skupiny

Obrázek 18 na straně 163 zobrazuje seznam nástríků v běhu, v němž je zadán dvojí nástrík a opakováný nástrík.

Čísla na obrázku se vztahují k položkám seznamu nástríků a odpovídají hierarchii souborů, vytvořené při běhu, který tento seznam nástríků využívá (Obrázek 20 na straně 164).

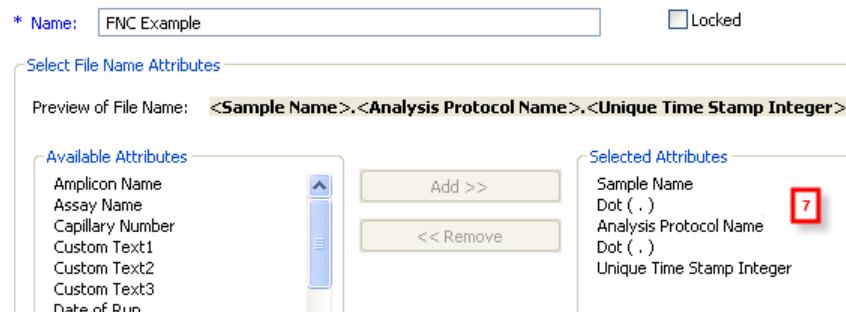
Injection List Details						
7 injections created - 7 in Plate A - 0 in Plate B						
	Injection	Type	Assay	Instrument Protocol	Plate	Analysis
1			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	<input checked="" type="checkbox"/>
2			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	<input checked="" type="checkbox"/>
3			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	<input checked="" type="checkbox"/>
4			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	<input checked="" type="checkbox"/>
5			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	<input checked="" type="checkbox"/>
6			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	<input checked="" type="checkbox"/>
7			IF+Norm_POP4_xl	HID36_POP4xl_G5	Plate 01	

Obrázek 18 Příklad seznamu nástríků

Obrázek 19 na straně 164 zobrazuje příklad definice pojmenování souborů se syntaxí:

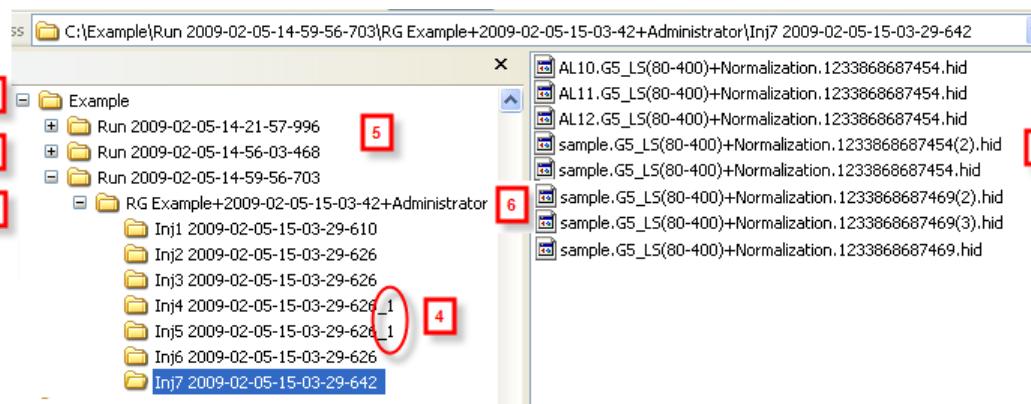
název vzorku-sample name.(primární)protokol analýzy-analysis protocol.časové označení-unique time stamp integer

Čísla na obrázku se vztahují k položkám definice pojmenování souborů a odpovídají hierarchii souborů, vytvořené při běhu, který tuto definici využívá (Obrázek 20 na straně 164).



Obrázek 19 Příklad definice seznamu nástříků

Obrázek 20 na straně 164 zobrazuje adresáře a soubory vytvořené na základě výsledkové skupiny, definice pojmenování souborů, názvu běhu a nástříků zobrazených na obrázku 17 na straně 163, obrázku 18 na straně 163 a obrázku 19 na straně 164.



Obrázek 20 Hierarchie adresářů a příklad pojmenování souborů

1	Umístění souborů – výsledková skupina	<input checked="" type="checkbox"/> Custom file location <input type="text" value="C:\Example"/>
2	Adresář podle názvu běhu - výsledková skupina	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Include an Instrument Run Name folder
3	Adresář podle názvu výsledkové skupiny – výsledková skupina	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Include a Result Group Name folder
4	Adresář podle názvu nástřiku – výsledková skupina	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Include an Injection folder Zdvojené nástříky znázorněny _n kde n je počet opakování.
5	Název běhu (přednastavený nebo uživatelem definovaný) ze seznamu nástříků	Run Name: Run 2009-02-05-14-59-56-703
6	Syntaxe názvu výsledkové skupiny – výsledková skupina	RG Example+<Start Instrument Run Date/Time Stamp>+<Logged in User Name>
7	Syntaxe názvu souboru z definice pojmenování souborů	<Sample Name>.<Analysis Protocol Name>.<Unique Time Stamp Integer>

Knihovna protokolů přístroje

Přehled

Protokol přístroje je soubor parametrů, které určují fungování přístroje v průběhu běhu. Je to povinná součást eseje pro všechny typy aplikací.

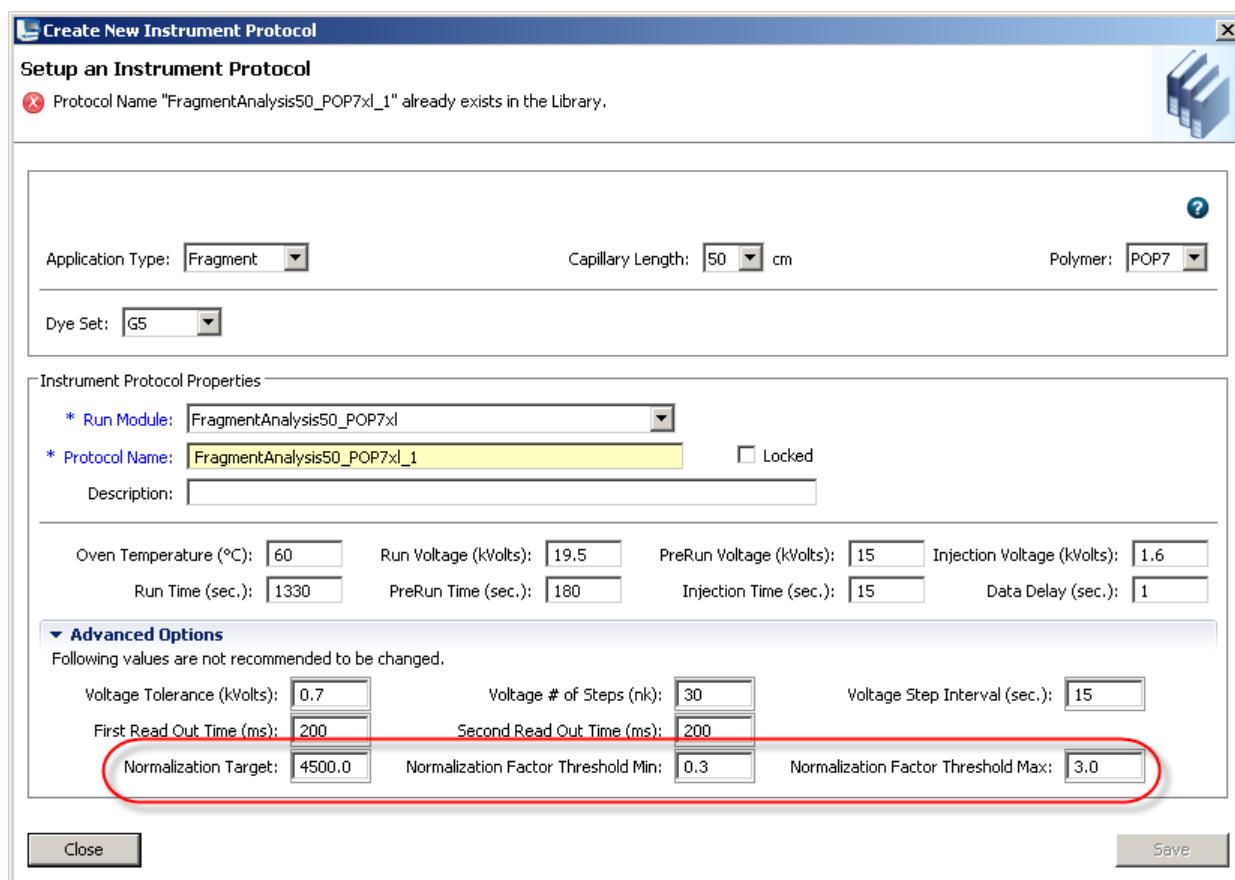
Vytváříte-li esej, je její součástí jeden nebo více protokolů přístroje. Zadáváte-li protokoly z knihovny, vytváříte v eseji jejich *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

Vytvoření nového protokolu přístroje

Pokud továrně nastavené protokoly přístroje nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu protokolů přístroje.
2. Klikněte na ikonu  **Create** (**Vytvořit**).
3. V dialogovém okně Create New Instrument Protocol (Vytvořit nový protokol přístroje) ([Obrázek 21 na straně 166](#)) zvolte typ aplikace: Sekvenování, Fragmentační analýza nebo HID. Seznam modulů je filtrován v závislosti na zvolené aplikaci.
4. Nastavte parametry ([Tabulka 10 na straně 166](#)).
5. Uložte protokol přístroje:
 - Vytváříte-li protokol přístroje z knihovny, klikněte na **Save (Uložit)**.
 - Vytváříte-li protokol přístroje z obrazovky Assign plate Contents (Definice obsahu destičky), klikněte na **Apply to Plate (Použít v destičce)** nebo **Save to Library (Uložit do knihovny)**.





Obrázek 21 Vytvoření nového protokolu přístroje – nastavení parametrů normalizace je zvýrazněno červeně a zobrazuje se pouze v případě fragmentační analýzy a HID

Tabulka 10 Definice protokolu

Nastavení	Popis
Application Type – Typ aplikace	<ul style="list-style-type: none"> Sequencing - Sekvenování Fragment analysis – Fragmentační analýza HID
Capillary Length, Polymer, Dye set – Délka kapiláry, polymer, sada barev	Délka kapiláry, polymer a sada barev, s kterými bude protokol použit.
Run module – Modul běhu	Továrně nastavené moduly, jimiž jsou definovány parametry běhu. Více informací viz "Moduly běhu" na straně 263.
Protocol name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 167.
Description - Popis	Volitelné textové pole.

Tabulka 10 Definice protokolu (pokračování)

Nastavení	Popis
Oven temperature (°C)	Teplota pícky během běhu.
Run voltage (kVolt)	Napětí během elektroforézy vzorku.
Prerun voltage (kVolt)	Napětí během preelektroforézy (před nástříkem vzorku).
Injection voltage (kVolt)	Napětí při nástříku vzorku.
Run time (sec)	Doba trvání běhu od dosažení požadovaného napětí.
PreRun time (sec)	Doba trvání preelektroforézy.
Injection time (sec)	Doba nástříku.
Data delay (sec)	Doba mezi zahájením separace a zahájením sběru dat.
Pokročilá nastavení – Neměňte, pokud vás k tomu nevyzve zástupce společnosti Applied Biosystems	
Voltage tolerance (kVolt)	Maximální povolená tolerance napětí.
Voltage # of Steps	Počet kroků náběhu napětí na požadovanou hodnotu.
Voltage step interval (sec)	Doba trvání každého kroku náběhu napětí.
First read out time (ms)	Interval snímání dat. Hodnota First ReadOut time by měla být stejná jako Second ReadOut time.
Second read out time (ms)	Interval snímání dat. Hodnota Second ReadOut by měla být stejná jako First ReadOut time.
Pouze pro protokoly fragmentační analýzy a HID: Parametry normalizace (Normalization) ponechejte na přednastavených hodnotách (informace o používání těchto parametrů viz „Kontrola normalizovaných výsledků“ na straně 90).	
Normalization Target – Cíl normalizace	<p>Předpokládaná průměrná hodnota RFU pro soubor pík ve velikostním standardu GS600 LIZ®v2 používaném pro normalizaci.</p> <p>Pro každý modul byla experimentálně stanovena přednastavená hodnota, a to v závislosti na výšce vybraných pík velikostního standardu GS600 při dané době nástříku.</p> <p>DŮLEŽITÉ! Změňte-li v protokolu přístroje dobu nástříku, upravte úměrně tomu i hodnotu parametru Normalization Target. Např. je-li doba nástříku 10 sec a Normalization Target má hodnotu 2000, pak změňte-li dobu nástříku na 15 sec (50% prodloužení), změňte hodnotu Normalization Target na 3000 (50% zvýšení).</p>
Normalization Factor Thresholds – Prahové hodnoty normalizačního faktoru	<p>Povolený rozsah parametru Normalization Factor (přednastavený rozsah je 0.3 až 3.0).</p> <p>DŮLEŽITÉ! Zvýšení prahové hodnoty nad 3.0 může zvýšit pozadí.</p> <p>Není-li hodnota vypočítaného normalizačního faktoru v předem stanoveném rozsahu, jsou výšky pík vzorku násobeny maximální nebo minimální povolenou prahovou hodnotou normalizačního faktoru. Např. je-li povolený rozsah pro hodnotu normalizačního faktoru 0.3 až 3.0 a vypočítaný normalizační faktor má hodnotu 5, program použije normalizační faktor 3.0).</p>
Normalization Factor - Normalizační faktor	<p>Průměrná hodnota RFU pro soubor pík ve velikostním standardu GS600 LIZ®v2 používaném pro normalizaci vydělená hodnotou parametru Normalization Target.</p> <p>Pokud je normalizační faktor pro daný vzorek v rámci limitu, jsou vzorky označeny symbolem , pokud ne, jsou označeny symbolem .</p>

Knihovna souborů barev

Přehled

Soubor barev je součástí protokolu přístroje a definuje:

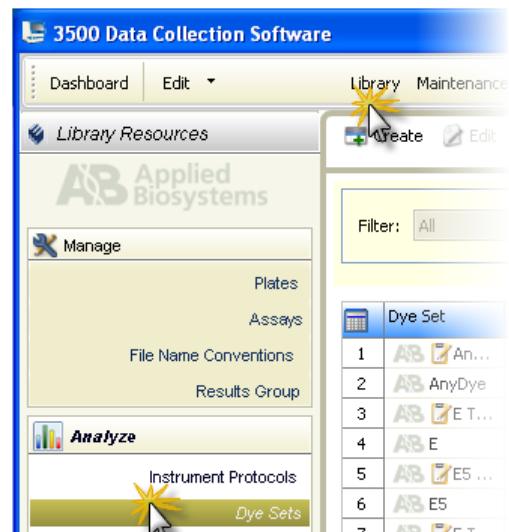
- Barvu(y)
- Pořadí barevných píků standardu
- Parametry spektrální analýzy

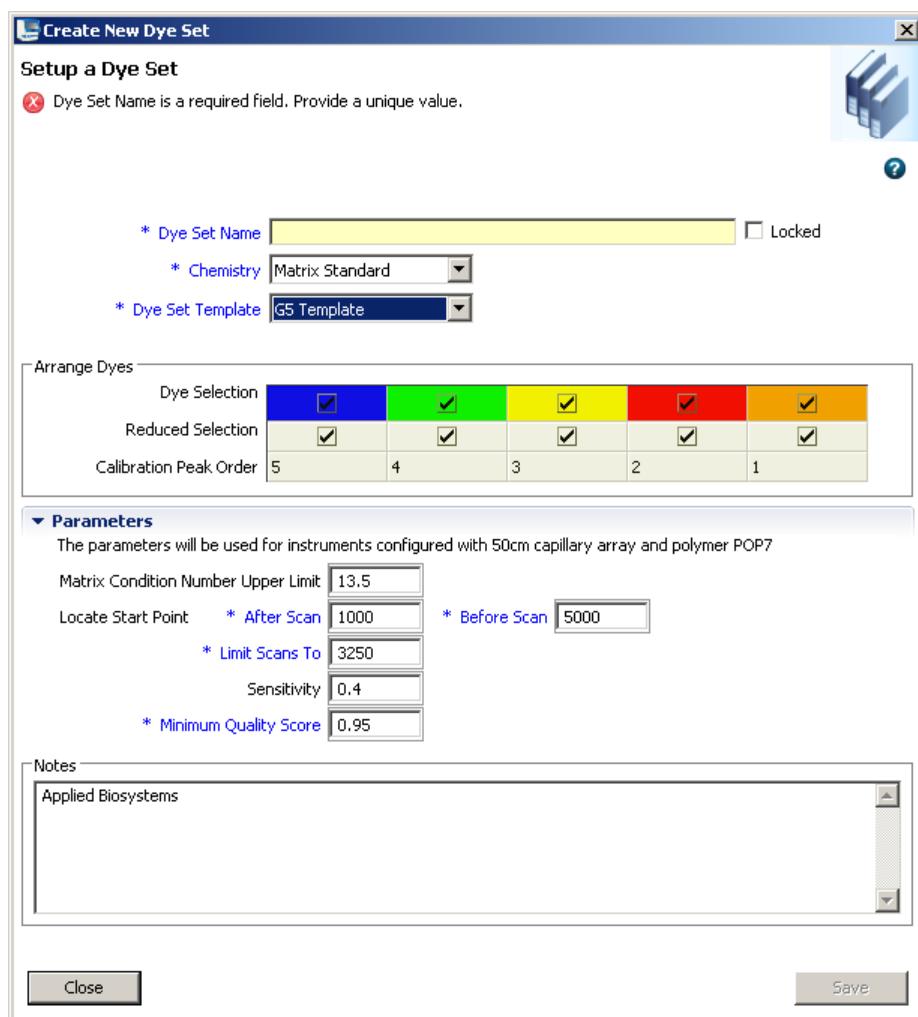
Vytváříte-li protokol přístroje, je jeho součástí i soubor barev. Zadáváte-li tuto položku z knihovny, vytváříte v protokolu její *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části "[Sledování změn položky](#)" na straně 210.

Vytvoření nového souboru barev

Pokud továrně nastavené soubory barev nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu souborů barev.
2. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.
3. V dialogovém okně Create New Dye Set (Vytvořit nový soubor barev) ([Obrázek 22 na straně 169](#)) zadejte název.
4. Nastavte parametry ([Tabulka 11 na straně 169](#)).
5. Kliknutím na **Save** nastavení uložte.





Obrázek 22 Vytvoření nového souboru barev

Tabulka 11 Definice souboru barev

Nastavení	Popis
Dye Set Name - Název	Název souboru barev (musí být unikátní).
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 107.
Chemistry - Chemismus	Typ standardu, pro který daný soubor barev vytváříte: sekvenační (Sequencing) nebo matriční (Matrix) standard
Dye Set Template – Templat souboru barev	Továrně definovaný templát, na jehož základě je vytvořen soubor barev. Templat Any Dye (jakákoli barva) lze použít pro situace, kdy nevyužíváte barvy, které jsou součástí matričních standardů pro provádění spektrální kalibrace.

Tabulka 11 Definice souboru barev

Nastavení	Popis
Arrange Dyes – Řazení barev	Zobrazí barvy a pořadí píků pro zvolený soubor barev. Tabulku upravujte pouze pro templát AnyDye: <ul style="list-style-type: none">• Dye Selection – Určení barvy použité pro kalibraci• Reduced Selection – Určení barvy použité ve vzorcích. Např. používáte-li soubor 5 barev, ale máte vzorky značené pouze modrou barvou, můžete snížit počet barev pouze na modrou a oranžovou (velikostní standard).
Parameters - Parametry	Nastavení ukazatele kvality (Quality Value), parametru Condition Number, skenu (Scan) a citlivosti (Sensitivity).
Notes - Poznámky	Volitelné textové pole.

Knihovna velikostních standardů

Přehled

Velikostní standard je soubor fragmentů o známé velikosti, který se používá k vytvoření křivky, na jejímž základě je odečtena velikost neznámých píků-fragmentů.

Vytváříte-li nový protokol pro odečet velikostí píků (sizecalling – fragmentační analýza) nebo protokol QC (HID), je součástí protokolu i velikostní standard. Zadáváte-li velikostní standard z knihovny, vytváříte v eseji jeho *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

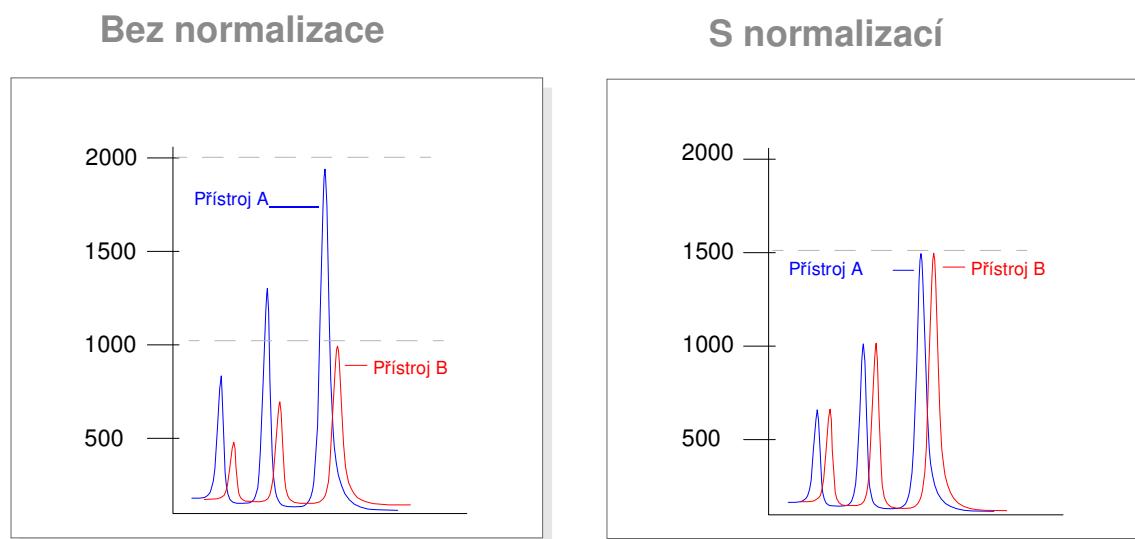
Velikostní standardy pro normalizaci

Součástí knihovny jsou továrně nastavené velikostní standardy určené pro normalizaci výsledků fragmentační analýzy a HID:

- Fragmentační analýza:
 - GS600LIZ+Normalization
 - GS600(60-600)LIZ+Normalization – Pro případy, kdy jsou píky o velikosti 20 a 40 bází velikostního standardu GS600 LIZ v2 překryty primer píkem.
- HID:
 - GS600(80-400)LIZ+Normalization

Normalizace umožňuje korekci variability intenzity signálu dané použitím různých přístrojů, kapilárních sad a parametrů injekce. Je-li použití normalizace definováno v primárním analytickém protokolu, vypočítá program pro každý vzorek normalizační faktor. Tento faktor se používá jako násobitel k úpravě výšky píků vzorku relativně vůči píkům velikostního standardu GS600 LIZ® V2.

DŮLEŽITÉ! Pokud se nezdaří odečet velikostí fragmentů (parametr SQ (Sizing Quality) je), normalizace se neprovádí, i když je normalizační faktor v rámci limitu. Ujistěte se, že používáte normalizační standard vhodný pro vaše účely. Např. pokud hrozí, že malé fragmenty budou překryty primerovými píky nebo že velké fragmenty nebudou kvůli pomalé pohyblivosti vůbec detekovány, upravte odpovídajícím způsobem definici velikostního standardu.

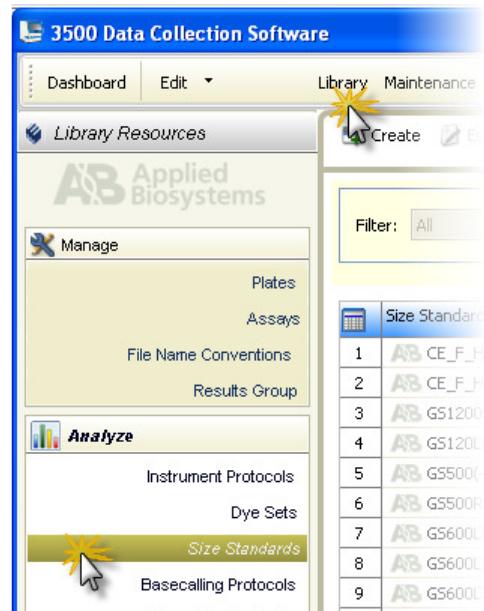


Více informací viz „Kontrola výsledků normalizace“ na straně 90.

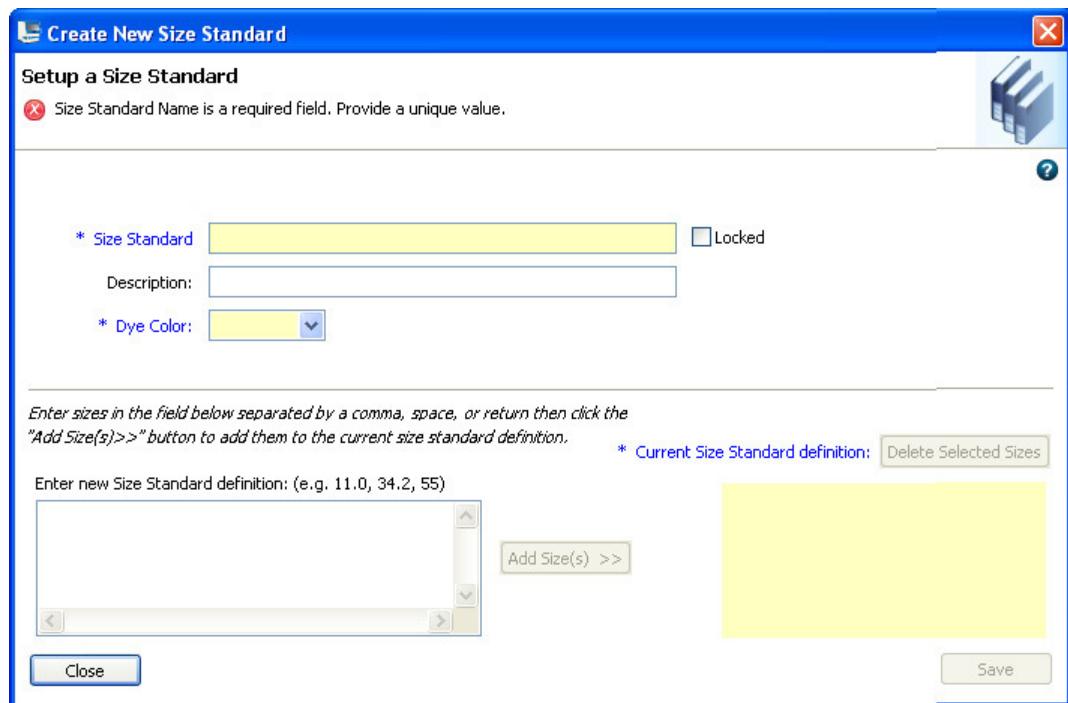
Vytvoření nového velikostního standardu

Pokud továrně nastavené velikostní standardy nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu velikostních standardů.
2. Klikněte na ikonu **Create** (**Vytvořit**).
3. V dialogovém okně Create New Size Standard (Vytvořit nový velikostní standard) (Obrázek 22 na straně 169) zadejte název velikostního standardu.
4. (Volitelné):
 - Označte pole Locked (Uzamčeno). Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 „Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)“ na straně 197.
 - Zadejte popis.
5. Zvolte barvu.
6. Zadejte velikosti fragmentů oddělené čárkou, mezerou nebo klávesou Enter.
7. Klikněte na ikonu **Add Sizes (Přidat velikosti)**.



8. Klikněte na **Save (Uložit)**.



Obrázek 23 Vytvoření nového velikostního standardu

Úprava továrně nastaveného standardu pro normalizaci

1. Zvolte továrně nastavený velikostní standard pro normalizaci (označený jako název "+Normalization.")
2. Klikněte na **Duplicate (Zdvojení)**.
3. Upravte takto vytvořenou kopii velikostního standardu. Píky velikostního standardu používané pro normalizaci jsou vyobrazeny šedě a nelze je upravit.
4. Klikněte na **Save (Uložit)**.

Knihovna protokolů pro odečet bází - basecalling (primární analýza – sekvenování)

Přehled

Protokol pro odečet bází - basecalling je protokol primární analýzy výsledků sekvenování.

Protokol je soubor nastavení používaných algoritmy (tzv. basecallery) pro přiřazení jedné z bází každému detekovanému píku a pro přiřazení ukazatele kvality každé takto čtené bázi. Součástí jsou:

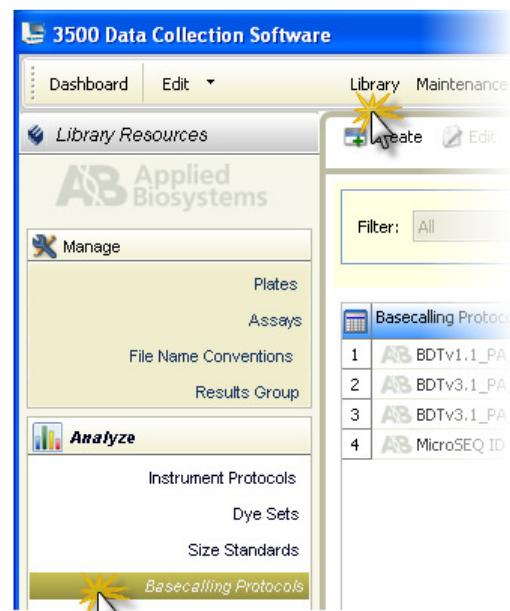
- Parametry analýzy
- Platné rozsahy ukazatelů kvality (viz záložka View Results)

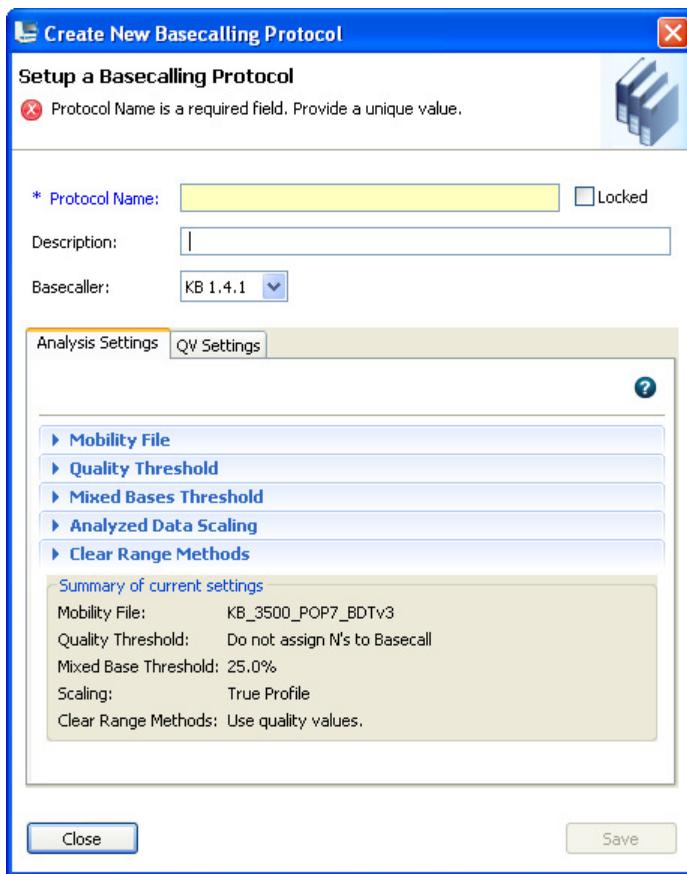
Vytváříte-li esej pro sekvenování, je její součástí protokol pro odečet bází - basecalling. Zadáváte-li protokoly z knihovny, vytváříte v esejích jejich kopii, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

Vytvoření nového protokolu pro odečet bází - basecalling

Pokud továrně nastavené protokoly pro odečet bází nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu protokolů pro odečet bází.
2. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.
3. V dialogovém okně Create New Basecalling Protocol (Vytvořit nový protokol pro odečet bází) v záložce Analysis Settings (Parametry analýzy) (Obrázek 24 na straně 175) nastavte parametry (viz Tabulka 12 na straně 175).
4. V záložce **QV Settings (Nastavení ukazatelů kvality)** téhož dialogového okna (Obrázek 25 na straně 177) nastavte zbývající parametry (Tabulka 13 na straně 178).
5. Klikněte na **Save (Uložit)**.



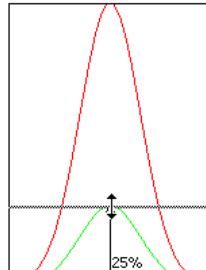


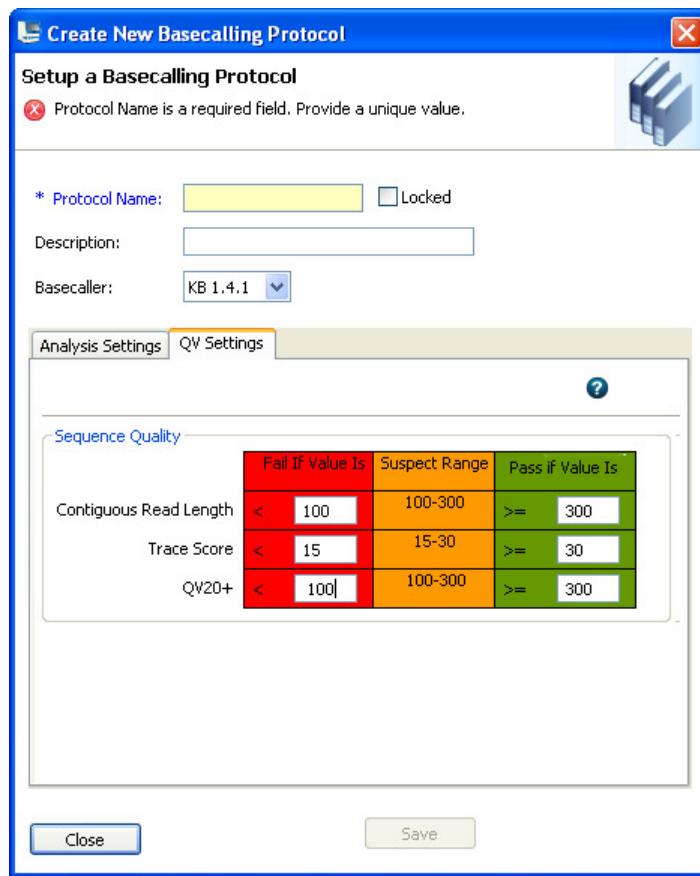
Obrázek 24 Vytvoření nového protokolu pro odečet bází – záložka Analysis Settings

Tabulka 12 Protokol pro odečet bází – záložka Analysis Settings

Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197.
Description - Popis	Volitelné textové pole.
Basecaller	Algoritmus pro odečet bází. Poznámka: Verze basecalleru (algoritmus pro odečet bází) je v protokolu uvedená v trojciferné podobě. Verze uvedená v zobrazení výsledků sekvenování má čtyři číslice, čtvrtá číslice je interním označením.
Mobility file – Soubor pohyblivosti	Obsahuje údaje potřebné pro výpočet korekce pohyblivosti jednotlivých fragmentů v důsledku použití různého fluorescenčního značení.

Tabulka 12 Protokol pro odečet bází – záložka Analysis Settings

Nastavení	Popis
Quality Threshold – Prahové hodnoty kvality	<ul style="list-style-type: none"> Basecall Assignment (ambiguous bases) – Přiřazení bází (nejednoznačné báze): <ul style="list-style-type: none"> Do not assign N's to basecalls – Neoznačovat báze symbolem N Assign N's to basecalls with QV<15 – Báze s hodnotou QV < 15 označit symbolem N Ending base – Poslední odečtená báze: <ul style="list-style-type: none"> At PCR Stop – Na konci PCR produktu After X number of Bases – Po určitém počtu bází After X number of Ns in X number of Bases – Po určitém počtu použití symbolu N v daném celkovém počtu bází After X number of Ns - Po určitém počtu použití symbolu N <p>Poznámka: Analyzujete-li sekvence krátkých PCR produktů, zvolte možnost At PCR Stop – Konec analýzy na konci PCR produktu.</p>
Mixed bases threshold – Prahová hodnota směsných bází	<p>Při použití této funkce bude báze v místě, kde jsou detekovány dva překrývající se píky, a výška menšího z nich je vyšší než nastavená minimální hodnota, interpretována jako směsná.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Use Mixed Base Identification</p> <p>Do not assign a mixed base when the secondary peak height is <= to <input type="text" value="25"/> %</p> 
Analyzed Data Scaling - Nastavení zobrazení dat	<p>Nastavení zobrazení dat. Tento parametr neovlivňuje přesnost odečtu bází.</p> <ul style="list-style-type: none"> True Profile – Uniformně – průměrná výška píků v oblasti nejsilnějšího signálu je přibližně rovna fixní hodnotě. Celkový profil píků je velmi podobný zobrazení signálu nezpracovaných dat. Flat Profile – Semilokálně – průměrná výška píků v jakékoli oblasti je přibližně rovna fixní hodnotě. Celkový profil píků je plochý ve střední škále (> ca 40 bází).
Clear range – Způsob definice oblasti Clear Range	<ul style="list-style-type: none"> Use clear range minimum and maximum – Oblast Clear Range je dána definicí první a poslední báze, případně určením kolik bází z 3' konce bude oříznuto. Use quality values – Určení Clear Range na základě ukazatelů kvality. Program posuzuje počet bází s nízkou hodnotou ukazatele kvality v klouzavém okně o dané délce, oblast Clear Range začne při splnění podmínky, že počet těchto bází nesmí překročit nastavenou hodnotu, a skončí, jakmile podmínka znova není splněna. Use identification of N cells – Určení Clear Range na základě symbolů N. Program posuzuje počet bází N v klouzavém okně o dané délce, oblast Clear Range začne při splnění podmínky, že počet těchto bází nesmí překročit nastavenou hodnotu, a skončí, jakmile podmínka znova není splněna.



Obrázek 25 Vytvoření nového protokolu pro odečet bází – záložka QV Settings

V záložce QV settings se nastavuje rozsah ukazatelů kvality, používaných na následujících obrazovkách:

- **Monitor Run (Monitorování běhu)** – Stav ukazatele kvality (QV):
 - Jsou-li všechny parametry vyhodnoceny jako “Dobře” (pass), je hodnota QV na obrazovce Monitor Run (zelená).
 - Je-li jakýkoliv parametr vyhodnocen jako pochybný – nutná “Kontrola” (suspect), je hodnota QV na obrazovce Monitor Run (žlutá).
 - Je-li jakýkoliv parametr vyhodnocen jako “Špatně” (fail), je hodnota QV na obrazovce Monitor Run (červená).
- **View Sequencing Results (Kontrola výsledků sekvenování) > Tabulka Metric Analysis Results** – Zobrazuje stav pass/check/fail (dobře/kontrola/špatně) pro parametry Trace Score Quality, CRL Quality a QV20+ (viz “Kontrola kvality sekvence” na straně 81).

Tabulka 13 Protokol pro odečet bází – záložka QV settings

Nastavení	Popis
Contiguous Read Length	Nejdelší nepřerušovaný úsek sekvence bází s průměrnou hodnotou ukazatelů kvality (Quality Value (QV) ≥ 20). Kromě určení hodnoty QV pro každou bázi program vyhodnocuje QV sousedních bází (v okně o velikosti $\pm 20\text{-bp}$): počínaje od 5' konce program počítá průměrnou hodnotu QV v rámci klouzavého okna o délce 20 bází, které vždy o jednu bázi posune k 3' konci. Výsledný nejdelší nepřerušovaný úsek je CRL.
Trace Score	Průměrná hodnota ukazatelů kvality (QV) bází v oblasti Clear range daného vzorku.
QV20+	Celkový počet bází v celé sekvenci majících ukazatel kvality rovný nebo vyšší než 20.

Knihovna protokolů pro odečet velikostí píků - sizecalling (primární analýza – fragmentace)

Přehled

Protokol pro odečet velikostí píků - sizecalling je protokol primární analýzy výsledků fragmentační analýzy.

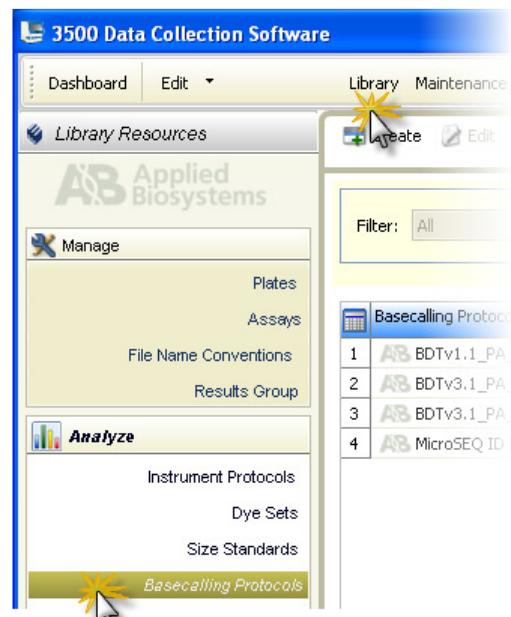
Protokol je soubor nastavení pro detekci píků, odečet jejich velikostí a pro ukazatele kvality.

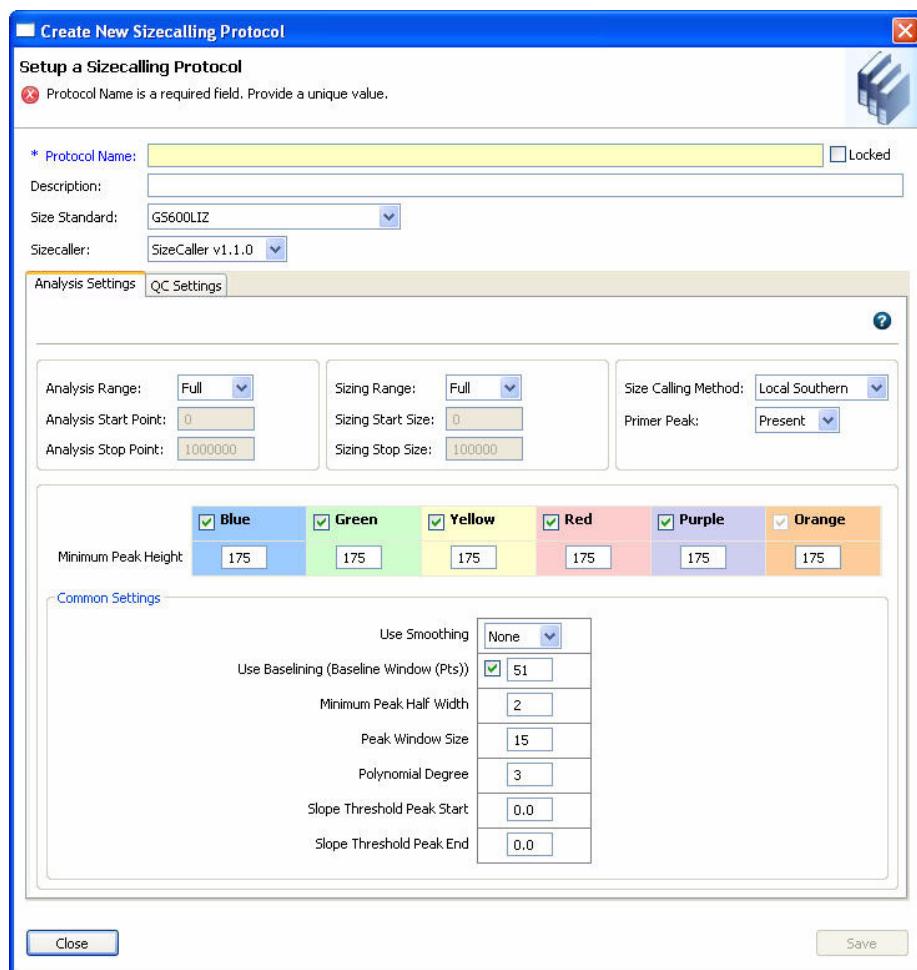
Vytváříte-li esej pro fragmentační analýzu, je její součástí protokol pro odečet velikostí píků - sizecalling. Zadáváte-li protokoly z knihovny, vytváříte v esejí jejich *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

Vytvoření nového protokolu pro odečet velikostí píků - sizecalling

Pokud továrně nastavené protokoly pro odečet velikostí píků nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu protokolů pro odečet velikostí píků.
2. Klikněte na ikonu **Create** (**Vytvořit**).
3. V dialogovém okně Create New Sizecalling Protocol (Vytvořit nový protokol pro odečet velikostí píků) v záložce Analysis Settings (Parametry analýzy) ([Obrázek 26 na straně 180](#)) nastavte parametry (viz [Tabulka 14 na straně 180](#)).
4. V záložce **QC Settings** (**Nastavení ukazatelů kvality**) téhož dialogového okna ([Obrázek 27 na straně 183](#)) nastavte zbývající parametry ([Tabulka 15 na straně 183](#)).
5. Klikněte na **Save** (**Uložit**).





Obrázek 26 Vytvoření nového protokolu pro odečet velikostí píků – záložka Analysis Settings

DŮLEŽITÉ! Pokud se nezdaří odečet velikostí fragmentů (parametr SQ (Sizing Quality) je **X**), normalizace se neprovádí. Nastavte parametry analýzy tak, aby byly správně odečteny velikosti píků velikostního standardu, a odpovídajícím způsobem nastavte i parametry ukazatelů kvality. Program 3500 Series Data Collection neumožňuje opakovat analýzu dat.

Tabulka 14 Protokol pro odečet velikostí píků – záložka Analysis settings

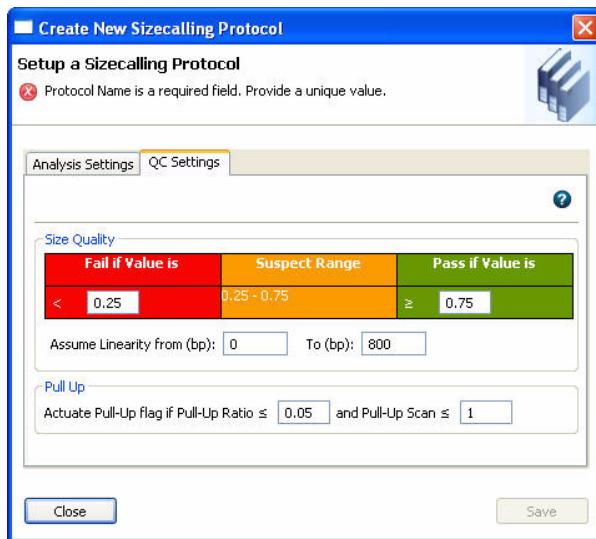
Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Description - Popis	Volitelné textové pole.
Size standard - Velikostní standard	Definice velikostního standardu v programu odpovídající použitému souboru barev. Chcete-li použít normalizaci, zvolte odpovídající velikostní standard (viz „Velikostní standardy pro normalizaci“ na straně 171).

Tabulka 14 Protokol pro odečet velikostí píků – záložka Analysis settings (pokračování)

Nastavení	Popis
Analysis Range – Rozsah analýzy	<p>Nastavte rozsah oblasti, v níž se provádí analýza (v datových bodech):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Full Range – Úplný rozsah – analyzuje se celá oblast jak byla zaznamenána, včetně primer píku. • Partial Range – Částečný rozsah – analyzuje se oblast v definovaném rozsahu. Zadejte počátek analyzované oblasti (v datových bodech) za primer píkem a před prvním požadovaným píkem velikostního standardu. Zadejte konec analyzované oblasti za posledním požadovaným píkem velikostního standardu. Toto zadání se může mezi jednotlivými přístroji lišit. Potřebné informace o tom, jak tyto hodnoty zadat, získáte náhledem na hrubá data. <p>Datové body mimo zadaný rozsah nejsou brány v potaz.</p> <p>Poznámka: Ujistěte se, že v rozsahu analýzy tak jak je zadán jsou přítomny všechny píky velikostního standardu definované v poli Sizing Range (níže).</p>
Sizing Range – Rozsah používaných fragmentů velikostního standardu	<p>Nastavte rozsah používaných fragmentů velikostního standardu (v bp):</p> <ul style="list-style-type: none"> • All Sizes – Všechny velikosti. • Partial Sizes – Vybrané velikosti. Zadejte počáteční a koncovou hodnotu odpovídající zvoleným píkům používaného velikostního standardu.
Size Calling Method – Metoda odečtu velikostí píků	<ul style="list-style-type: none"> • Local Southern - (přednastaveno) Velikost fragmentů je určena na základě vztahu mezi jeho velikostí a elektroforetickou pohyblivostí. • 3rd Order Least Squares – Regresní analýza. • 2nd Order Least Squares - Regresní analýza. • Cubic Spline Interpolation – Křivka pro odečet velikostí píků (sizing curve) prochází všemi body zvoleného velikostního standardu. • Global Southern Method – Kompenzuje variabilitu elektroforetické pohyblivosti určitých fragmentů (obdoba metody nejmenších čtverců - least squares methods).
Primer Peak – Primer pík	<p>Pokud primer pík zakrývá jiné píky, o které máte zájem, zvolte Present - Přítomen. Algoritmus ignoruje přítomnost primer píku, ale tento je stejně zobrazen.</p> <p>Poznámka: Pokud nejsou detekovány píky 20 a 40 bází standardu GS600 LIZ , použijte standard GS600(60-600)LIZ+Normalization.</p>
Peak Amplitude Thresholds – Minimální výška píku	<p>Definujte minimální výšku píku (RFU) v každé barvě. Nižší píky nejsou detekovány. Použijete-li např. přednastavenou hodnotu 175, program detekuje pouze píky o výšce minimálně 175. Nižší píky jsou sice zobrazeny, ale nejsou rozpoznány ani označeny (není odečítána jejich velikost).</p> <p>Poznámka: Nastavte hodnotu parametru Peak amplitude thresholds na 175 i v metodě analýzy programu GeneMapper® .</p>
Smoothing - Vyhlassení	<p>Zvolte jednu z možností vyhlazení kontury píků – ovlivňuje též detekci falešných píků:</p> <ul style="list-style-type: none"> • None (Žádné) (přednastaveno). Nejlepší v případě ostrých, úzkých píků. • Light (Mírné). Pro normální ("typické") výsledky. Mírně snižuje výšku píku. • Heavy (Výrazné). Pro velmi ostré a úzké píky. Může výrazně snížit výšku píku.

Tabulka 14 Protokol pro odečet velikostí píků – záložka Analysis settings (pokračování)

Nastavení	Popis
Baseline Window – Okno pro odečet pozadí	Definujte rozsah okna, v němž budou upraveny signály všech barev na stejnou úroveň tak, aby bylo umožněno lepší srovnání relativní intenzity signálu: <ul style="list-style-type: none"> • Malý rozsah může vést ke zkrácení píků. • Velký rozsah může vést ke zvýšení signálu pozadí a následně k "pozdvihnutí" píků, případně nebudou píky vykresleny až na úroveň signálu pozadí.
Min. Peak Half Width – Minimální šířka píku	Nejmenší povolená šířka píku v polovině jeho výšky. Používá se pro detekci píků. Povolený rozsah je 2 až 99 datových bodů.
Polynomial Degree – Stupeň polynomu	Stupeň polynomu nemůže být větší než hodnota parametru Peak Window Size. Ovlivňuje citlivost detekce píků. Umožňuje detektovat píky lišící se o jednu bázi a přitom minimalizovat detekci rozšířených bází píků. Algoritmus detekce píků počítá první derivaci polynomické regresní křivky proložené datovými body v okně, jehož střed je v každém datovém bodě definovaného rozsahu analýzy (analysis range). Vyšší hodnota stupně polynomu umožňuje křivce lépe sledovat průběh signálu a tedy zachytit lépe tvar píků v elektroferogramu.
Peak Window Size – Šířka okna - citlivost detekce píků	Zadejte šířku okna (v datových bodech). Je-li v okně více než jeden vrchol píku, jsou všechny rozpoznány jako jeden pík: <ul style="list-style-type: none"> • Maximální hodnota je počet datových bodů mezi píky. • Lze použít pouze lichá čísla. Chcete-li zvýšit citlivost detekce píků, zvýšte hodnotu stupně polynomu a snižte hodnotu parametru Peak window size. Chcete-li snížit citlivost detekce píků, snižte hodnotu stupně polynomu a zvýšte hodnotu parametru Peak window size.
Thresholds Peak Start and End - Prahová hodnota sklonu – počátek a konec píku	<ul style="list-style-type: none"> • Peak Start – Počátek píku – Pík začne, když hodnota první derivace (sklon tečny) na počátku píku před inflexním bodem je rovna nebo vyšší než hodnota v poli "Peak Start". Přednastavená hodnota je 0, což znamená, že pík začne co nejvíce vlevo, kde je sklon tečny co nejbližší 0° (horizontální linie). Jiná čísla než 0 posouvají počátek píku směrem k jeho středu. Zadaná hodnota nesmí být negativní. • Peak End – Konec píku – Pík končí, když hodnota první derivace (sklon tečny) na konci píku za inflexním bodem je rovna nebo vyšší než hodnota v poli "Peak Start". Přednastavená hodnota je 0, což znamená, že pík skončí co nejvíce vpravo, kde je sklon tečny co nejbližší 0° (horizontální linie). Jiná čísla než 0 posouvají konec píku směrem k jeho středu. Zadaná hodnota nesmí být pozitivní.



Obrázek 27 Protokol pro odečet velikostí píků – Záložka QC Settings

DŮLEŽITÉ! Pokud se nezdaří odečet velikostí fragmentů (parametr SQ (Sizing Quality) je) , normalizace se neprovádí. Program 3500 Series Data Collection neumožňuje opakovat analýzu dat.

Tabulka 15 Protokol pro odečet velikostí píků – záložka QC settings

Nastavení	Popis
Size Quality - Kvalita odečtu velikostí píků	Zadejte rozsahy pro označení výsledku "Dobře" (Pass) a "Špatně" (Fail). Při zobrazení výsledků (View Fragment Results) program zobrazí příslušný symbol ve sloupci SQ – Pass , Fail , výsledky mezi Pass a Fail jsou označeny (Check - "Kontrola"). Např. je-li rozsah pro Pass 0.75 až 1.0, pro Fail 0.0 až 0.25, pak jakýkoliv výsledek s hodnotou ne nižší než 0.75 je znázorněn , a výsledek s hodnotou ne vyšší než 0.25 , výsledek s hodnotou mezi 0.26 až 0.74 je znázorněn . Jak se určuje kvalita odečtu velikostí píků Algoritmus pro určení velikostí píků porovnává profilu velikostního standardu ("pattern") a jeho definici (zadané velikosti píků), pro každý vzorek vypočítá hodnotu SQ (rozsah 0 až 1).
Assume Linearity	Definice předpokládaného lineárního průběhu. Užitečné v případě analýzy velkých fragmentů, kde lze předpokládat nelinearitu.
Pull-Up	Zadejte poměr pro pull-up píky a toleranci pro jejich identifikaci. Pull-up pík je definován jako menší pík v překryvu dvou píků, kde výška menšího píku je: <ul style="list-style-type: none"> • $\leq X\%$ (pull-up ratio) hlavního píku a • je ve vzdálenosti $\pm Y$ datových bodů (pull-up scan) od hlavního píku Je-li alespoň jeden pík rozpoznán jako pull-up, ve sloupci Spectral Pull-Up na obrazovce View Fragment Results se zobrazí symbol ("Kontrola").

Knihovna protokolů QC (primární analýza – HID)

Přehled

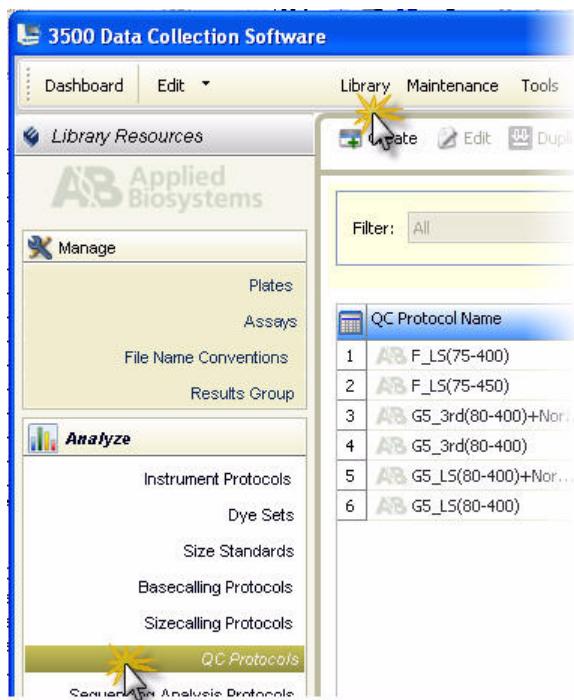
Protokol QC je protokol primární analýzy výsledků HID. Protokol je soubor nastavení pro detekci pílků, odečet jejich velikostí a pro ukazatele kvality.

Vytváříte-li esej typu HID, je její součástí protokol QC. Zadáváte-li protokoly z knihovny, vytváříte v eseji jejich *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

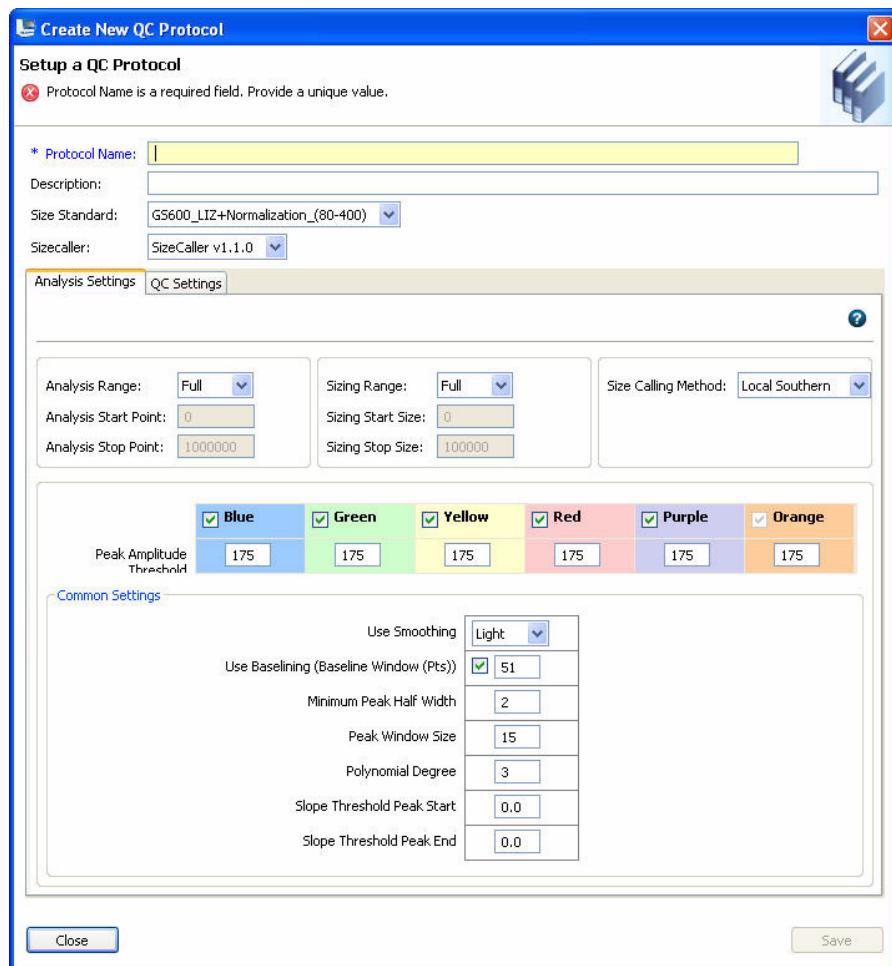
Vytvoření nového protokolu QC

Pokud továrně nastavené protokoly QC nesplňují vaše požadavky, můžete vytvořit nové:

1. Otevřete knihovnu protokolů.



2. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.
3. V dialogovém okně Create New QC Protocol (Vytvořit nový protokol QC) v záložce Analysis Settings (Parametry analýzy) ([Obrázek 28 na straně 185](#)) nastavte parametry (viz [Tabulka 16 na straně 185](#)).
4. V záložce **QC Settings (Nastavení ukazatelů kvality)** téhož dialogového okna ([Obrázek 29 na straně 188](#)) nastavte zbývající parametry ([Tabulka 17 na straně 188](#)).
5. Klikněte na **Save (Uložit)**.



Obrázek 28 Vytvoření nového protokolu QC – záložka Analysis Settings

DŮLEŽITÉ! Přednastavené hodnoty v templátech protokolů QC (s vyjímkou výšky píků – peak amplitude threshold) jsou optimalizovány pro jednotlivé soupravy. Hodnoty pro určení minimální výšky píků (peak amplitude threshold) musí být optimalizovány v rámci interní validace. Pokud upravujete i další parametry, ujistěte se, že nově nastavené parametry umožňují detekci a identifikaci píků velikostního standardu. Pokud se nezdaří odečet velikostí fragmentů (parametr SQ (Sizing Quality) je **X**), normalizace se neprovádí. Program 3500 Series Data Collection neumožňuje opakovat analýzu dat.

Tabulka 16 Protokol QC – záložka Analysis settings

Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Popis	Volitelné textové pole.

Tabulka 16 Protokol QC – záložka Analysis settings (pokračování)

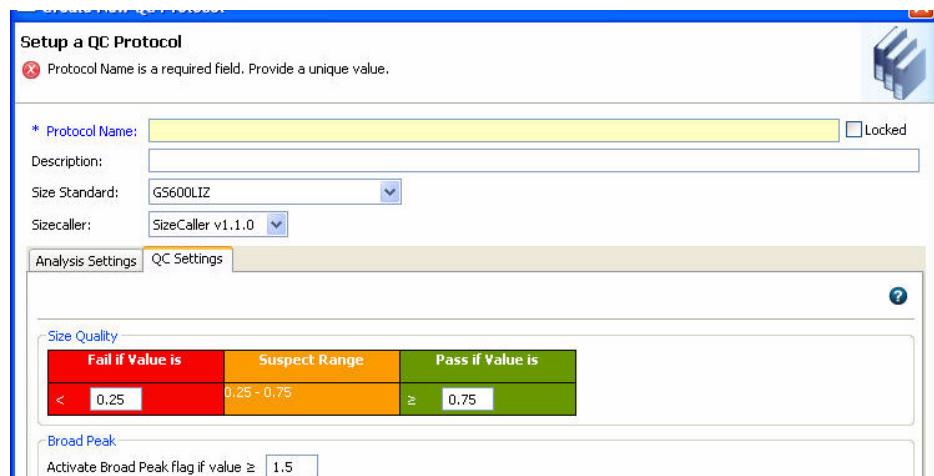
Nastavení	Popis
Size standard - Velikostní standard	Definice velikostního standardu v programu odpovídající použitému souboru barev. Chcete-li použít normalizaci, zvolte odpovídající velikostní standard (viz „Velikostní standardy pro normalizaci“ na straně 171).
Analysis Range – Rozsah analýzy	Zvolte Full Range – Úplný rozsah – analyzuje se celá oblast jak byla zaznamenána, včetně primer píku. Částečný rozsah můžete definovat při analýze v programu GeneMapper® ID-X. Poznámka: Zvolte-li Partial range – Částečný rozsah , ujistěte se, že v rozsahu analýzy tak jak je zadán jsou přítomny všechny píky velikostního standardu definované v poli Sizing Range (níže).
Sizing Range – Rozsah používaných fragmentů velikostního standardu	Zvolte Partial Sizes – Vybrané velikosti . Zadejte počáteční a koncovou hodnotu 80 až 400 odpovídající zvoleným píkům používaného velikostního standardu. Zadáte-li velikosti mimo tento rozsah, analýza se nemusí zdařit.
Size Calling Method – Metoda odečtu velikostí píků	Zvolte metodu stanovení velikostí fragmentů podle typu AmpF/STR® soupravy, kterou používáte: <ul style="list-style-type: none"> • Local Southern - (přednastaveno) Velikost fragmentů je určena na základě vztahu mezi jeho velikostí a elektroforetickou pohyblivostí. Velikost neznámého fragmentu je vypočítána na základě průměrné velikosti stanovené na základě dvou větších a jednoho menšího resp. dvou menších a jednoho většího fragmentu velikostního standardu. <ul style="list-style-type: none"> – Souprava Identifiler® – Souprava SEfiler Plus™ – Souprava Sinofiler™ – Souprava Yfiler® – Souprava Profiler Plus® – Souprava COfiler® – Souprava Profiler® – Souprava SGM Plus® • 3rd Order Least Squares - Regresní analýza. <ul style="list-style-type: none"> – Souprava MiniFiler™ . Další možnosti pro soupravy neuvedené výše: <ul style="list-style-type: none"> • 2nd Order Least Squares - Regresní analýza. • Cubic Spline Interpolation – Křivka pro odečet velikostí píků (sizing curve) prochází všemi body zvoleného velikostního standardu. • Global Southern Method – Kompenzuje variabilitu elektroforetické pohyblivosti určitých fragmentů (obdoba metody nejmenších čtverců - least squares methods).

DŮLEŽITÉ! Upravujete-li nastavení parametrů ovlivňující detekci píků, ujistěte se, že nově nastavené parametry umožňují detekci a identifikaci píků velikostního standardu. Pokud se nezdaří odečet velikostí fragmentů (parametr SQ (Sizing Quality) je), normalizace se neprovádí. Program 3500 Series Data Collection neumožňuje opakovat analýzu dat. Více informací o detekci píků viz návod k programu GeneMapper® ID-X.

Smoothing - Vyhlazení	Zvolte jednu z možností vyhlazení kontury píků – ovlivňuje též detekci falešných píků: <ul style="list-style-type: none"> • None (Žádné) (přednastaveno). Nejlepší v případě ostrých, úzkých píků. • Light (Mírné). Pro normální (“typické”) výsledky. Mírně snižuje výšku píku. • Heavy (Výrazné). Pro velmi ostré a úzké píky. Může výrazně snížit výšku píku.
Baseline Window – Okno pro odečet pozadí	Definujte rozsah okna, v němž budou upraveny signály všech barev na stejnou úroveň tak, aby bylo umožněno lepší srovnání relativní intenzity signálů: <ul style="list-style-type: none"> • Malý rozsah může vést ke zkrácení píků. • Velký rozsah může vést ke zvýšení signálu pozadí a následně k “pozdvihnutí” píků, případně nebudou píky vykresleny až na úroveň signálu pozadí.

Tabulka 16 Protokol QC – záložka Analysis settings (pokračování)

Nastavení	Popis
Peak Amplitude Thresholds – Minimální výška píku	Definujte minimální výšku píku (RFU) v každé barvě. Nižší píky nejsou detekovány. Použijete-li např. přednastavenou hodnotu 175, program detekuje pouze píky o výšce minimálně 175. Nižší píky jsou sice zobrazeny, ale nejsou rozpoznány ani označeny (není odečítána jejich velikost). Poznámka: Nastavte hodnotu parametru Peak amplitude thresholds na 175 i v metodě analýzy programu GeneMapper® .
Min. Peak Half Width – Minimální šířka píku	Nejmenší povolená šířka píku v polovině jeho výšky. Používá se pro detekci píků. Povolený rozsah je 2 až 99 datových bodů.
Polynomial Degree – Stupeň polynomu	Stupeň polynomu nemůže být větší než hodnota parametru Peak Window Size. Ovlivňuje citlivost detekce píků. Umožňuje detektovat píky lišící se o jednu bázi a přitom minimalizovat detekci rozšířených bází píků. Algoritmus detekce píků počítá první derivaci polynomické regresní křivky proložené datovými body v okně, jehož střed je v každém datovém bodě definovaného rozsahu analýzy (analysis range). Vyšší hodnota stupně polynomu umožňuje křivce lépe sledovat průběh signálu a tedy zachytit lépe tvar píků v elektroferogramu.
Peak Window Size – Šířka okna - citlivost detekce píků	Zadejte šířku okna (v datových bodech). Je-li v okně více než jeden vrchol píku, jsou všechny rozpoznány jako jeden pík: <ul style="list-style-type: none"> • Maximální hodnota je počet datových bodů mezi píky. • Lze použít pouze lichá čísla. Chcete-li zvýšit citlivost detekce píků, zvýšte hodnotu stupně polynomu a snižte hodnotu parametru Peak window size. Chcete-li snížit citlivost detekce píků, snižte hodnotu stupně polynomu a zvýšte hodnotu parametru Peak window size.
Thresholds Peak Start and End - Prahová hodnota sklonu – počátek a konec píku	Není doporučeno pro analýzu výsledků získaných za pomoci souprav AmpF/STR®. <ul style="list-style-type: none"> • Peak Start – Počátek píku – Pík začne, když hodnota první derivace (sklon tečny) na počátku píku před inflexním bodem je rovna nebo vyšší než hodnota v poli "Peak Start". Přednastavená hodnota je 0, což znamená, že pík začne co nejvíce vlevo, kde je sklon tečny co nejbližší 0° (horizontální linie). Jiná čísla než 0 posouvají počátek píku směrem k jeho středu. Zadaná hodnota nesmí být negativní. • Peak End – Konec píku – Pík končí, když hodnota první derivace (sklon tečny) na konci píku za inflexním bodem je rovna nebo vyšší než hodnota v poli "Peak Start". Přednastavená hodnota je 0, což znamená, že pík skončí co nejvíce vpravo, kde je sklon tečny co nejbližší 0° (horizontální linie). Jiná čísla než 0 posouvají konec píku směrem k jeho středu. Zadaná hodnota nesmí být pozitivní.



Obrázek 29 Protokol QC – Záložka QC Settings

DŮLEŽITÉ! Pokud se nezdaří odečet velikostí fragmentů (parametr SQ (Sizing Quality) je **X**), normalizace se neprovádí. Program 3500 Series Data Collection neumožňuje opakovat analýzu dat.

Tabulka 17 Protokol QC – záložka QC settings

Nastavení	Popis
Size Quality - Kvalita odečtu velikostí píků	Zadejte rozsahy pro označení výsledku "Dobре" (Pass) a "Špatně" (Fail). Při zobrazení výsledků (View Fragment Results) program zobrazí příslušný symbol ve sloupci SQ – Pass Fail výsledky mezi Pass a Fail jsou označeny (Check - "Kontrola"). Např. je-li rozsah pro Pass 0.75 až 1.0, pro Fail 0.0 až 0.25, pak jakýkoliv výsledek s hodnotou ne nižší než 0.75 je znázorněn a výsledek s hodnotou ne vyšší než 0.25 , výsledek s hodnotou mezi 0.26 až 0.74 je znázorněn ("Kontrola").
Size Quality - Kvalita	Jak se určuje kvalita odečtu velikostí píků Algoritmus pro určení velikostí píků porovnává profil velikostního standardu ("pattern") a jeho definici (zadané velikosti píků), pro každý vzorek vypočítá hodnotu SQ (rozsah 0 až 1). Parametr BD Parametr Broad Peak (BD) – Široký pík v protokolu QC v záložce QC Settings má vliv na hodnotu SQ. Program: <ul style="list-style-type: none">• Vypočítá šířku píků velikostního standardu.• Je-li vypočítaná šířka jakéhokoliv píku (v rozsahu Sizing range) větší než hodnota v poli Broad peak, je hodnota parametru SQ násobena faktorem 0.5: Průběžná hodnota SQ × (1 – 0.5) Poznámka: Toto nastavení lze v programu GeneMapper® ID-X upravit. Více informací viz návod k programu GeneMapper® ID-X.
Broad Peak – Široký pík	Zadejte maximální možnou šířku píku (v bp). Je-li vypočítaná šířka větší než hodnota v poli Broad peak, na obrazovce View HID Results se ve sloupci BD (Broad Peak) zobrazí symbol ("Kontrola").

Knihovna protokolů pro analýzu výsledků sekvenování (sekundární analýza)

Přehled

Sekvenační protokol (sequencing protocol) je volitelný protokol, umožňující definovat parametry sekundární analýzy (automatická analýza) v programu SeqScape® v2.7 nebo vyšší.

V rámci sekvenačního protokolu je definováno:

- Umístění programu sekundární analýzy (SeqScape®)
- Projekt, templát a jedinec (jedinci)

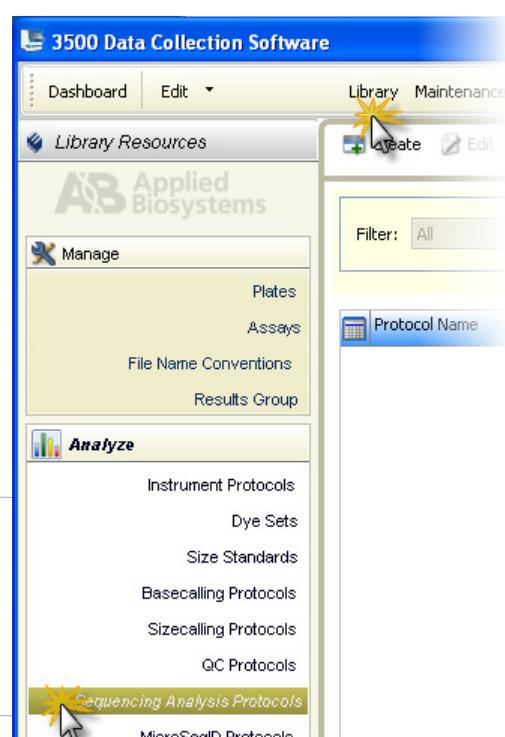
Definujete-li esej pro sekvenování, můžete do ní jako volitelný prvek přidat sekvenační protokol. Zadáváte-li tuto položku z knihovny, vytváříte v destičce její *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „[Sledování změn položky](#)“ na straně 210.

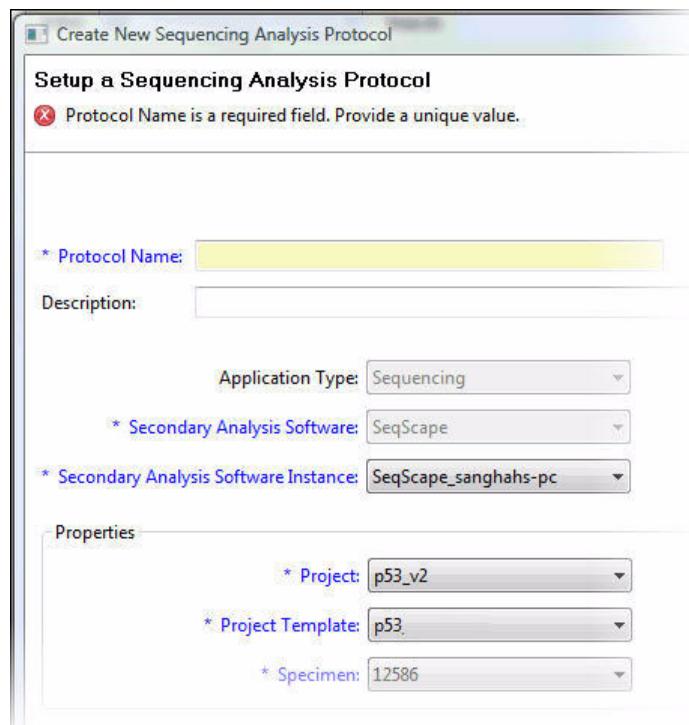
Vytvoření nového sekvenačního protokolu

1. Otevřete knihovnu sekvenačních protokolů.
2. Klikněte na ikonu **Create** (**Vytvořit**).
3. V dialogovém okně Create New Sequencing Analysis Protocol (Vytvořit nový sekvenační protokol) ([Obrázek 30 na straně 190](#)) nastavte parametry (viz [Tabulka 18 na straně 190](#)).
4. Klikněte na **Save** (**Uložit**).

Poznámka: Nezobrazují-li se v příslušných seznamech všechny projekty, templáty a jedinci, zvolte znova program sekundární analýzy, seznamy se aktualizují.

DŮLEŽITÉ! V esejích nastavené protokoly sekundární analýzy musí odpovídat nastavení pro automatickou analýzu (auto-analysis) destičky. Více informací viz „[Vytvoření nové destičky](#)“ na straně 144.





Obrázek 30 Vytvoření nového sekvenačního protokolu

Tabulka 18 Definice nového sekvenačního protokolu

Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Description - Popis	Volitelné textové pole.
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE) na straně 197.
Application Type - Typ aplikace	Automaticky nastaveno Sekvenování.
Secondary Analysis Software – Program sekundární analýzy	DŮLEŽITÉ! Program sekundární analýzy musí být správně nainstalován a nastaven spolu s programem 3500 Series Data Collection, jinak nebude na této obrazovce k dispozici.
Secondary Analysis Software Instance	Počítáč na němž běží program sekundární analýzy.
Project - Projekt	Projekt programu SeqScape.
Project Template - Templat	Templat projektu programu SeqScape.
Specimen - Jedinec	Jedinec v projektu programu SeqScape. Poznámka: Pro každého jedince je nutné definovat sekvenační protokol.

Knihovna protokolů MicroSeq® ID (sekundární analýza)

Přehled

Protokol MicroSeq® ID je volitelný protokol, umožňující definovat parametry sekundární analýzy (automatická analýza) v programu MicroSeq® ID Analysis v2.2 nebo vyšší.

V rámci protokolu MicroSeq® ID je definováno:

- Umístění programu sekundární analýzy (MicroSeq® ID)
- Projekt a jedinec (jedinci)

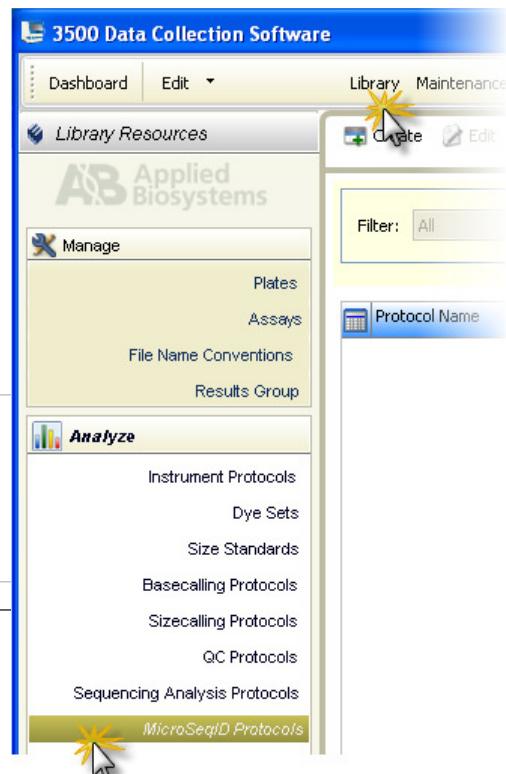
Definujete-li esej pro sekvenování, můžete do ní jako volitelný prvek přidat protokol MicroSeq® ID. Zadáváte-li tuto položku z knihovny, vytváříte v destičce její *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek najdete v části „[Sledování změn položky](#)“ na [straně 210](#).

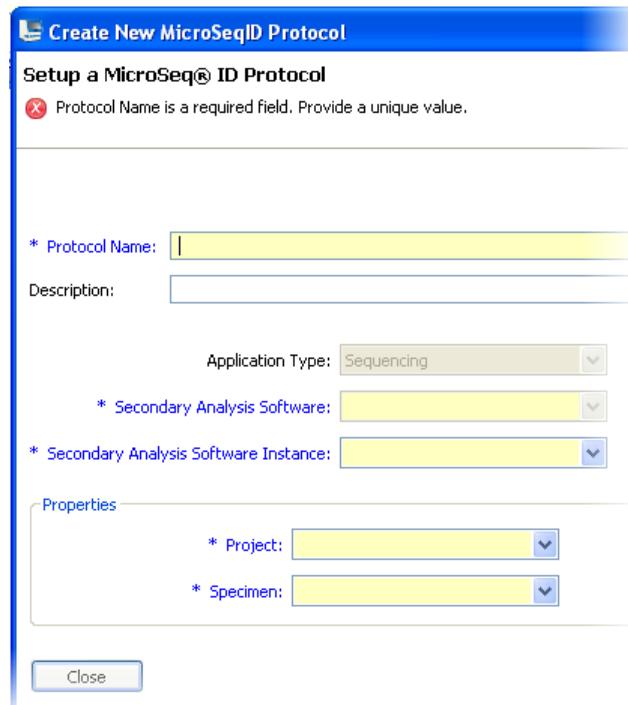
Vytvoření nového protokolu MicroSeq® ID

1. Otevřete knihovnu protokolů MicroSeq® ID.
2. Klikněte na ikonu  **Create (Vytvořit)**.
3. V dialogovém okně Create New MicroSeq® ID Protocol (Vytvořit nový protokol MicroSeq® ID) ([Obrázek 31 na straně 192](#)), nastavte parametry (viz [Tabulka 19 na straně 192](#)).
4. Klikněte na **Save (Uložit)**.

Poznámka: Nezobrazují-li se v příslušných seznamech všechny projekty a jedinci, zvolte znova program sekundární analýzy, seznamy se aktualizují.

DŮLEŽITÉ! V esejí nastavené protokoly sekundární analýzy musí odpovídat nastavení pro automatickou analýzu (auto-analysis) destičky. Více informací viz „[Vytvoření nové destičky](#)“ na [straně 144](#).





Obrázek 31 Vytvoření nového protokolu MicroSeq® ID

Tabulka 19 Definice nového protokolu MicroSeq® ID

Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Description - Popis	Volitelné textové pole.
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197.
Application Type - Typ aplikace	Automaticky nastaveno Sekvenování.
Secondary Analysis Software – Program sekundární analýzy	DŮLEŽITÉ! Program sekundární analýzy musí být správně nainstalován a nastaven spolu s programem 3500 Series Data Collection, jinak nebude na této obrazovce k dispozici.
Secondary Analysis Software Instance	Počítač na němž běží program sekundární analýzy.
Project - Projekt	Projekt programu MicroSeq® ID.
Specimen - Jedinec	Jedinec v projektu programu MicroSeq® ID. Poznámka: Pro každého jedince je nutné definovat sekvenační protokol.

Knihovna protokolů pro analýzu výsledků fragmentace (sekundární analýza)

Přehled

Fragmentační protokol (GeneMapper® protocol) je volitelný protokol, umožňující definovat parametry sekundární analýzy (automatická analýza) v programu GeneMapper® v4.1 nebo vyšší.

V rámci fragmentačního protokolu je definováno:

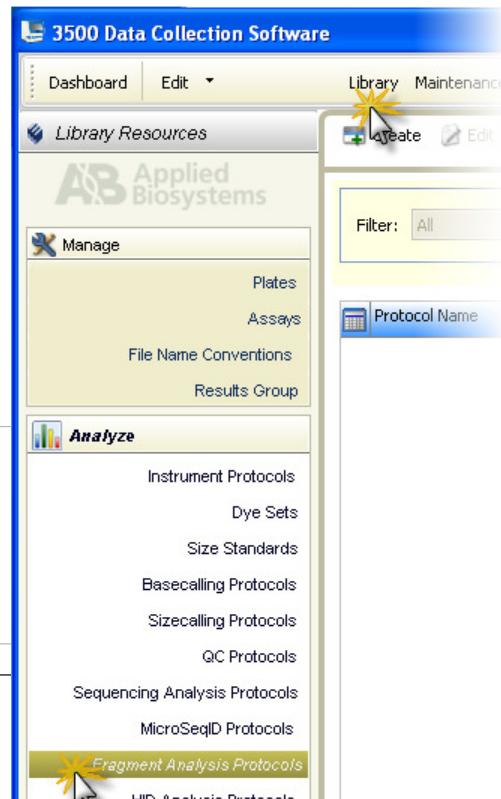
- Umístění programu sekundární analýzy (GeneMapper®)
- Metoda analýzy, velikostní standard a panel, použité programem GeneMapper® při automatické analýze

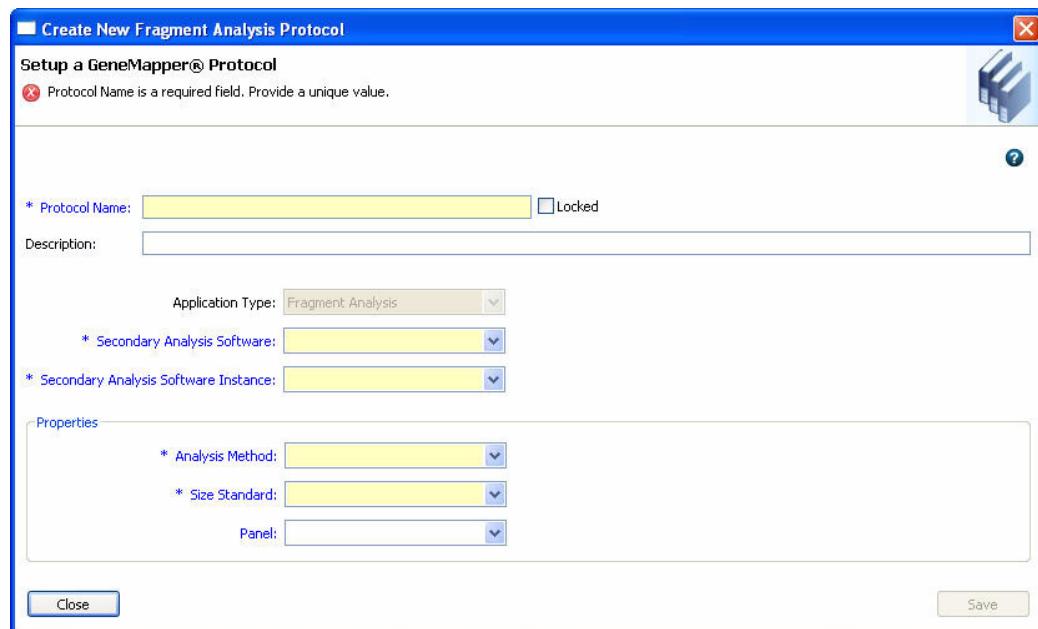
Vytvoření nového fragmentačního protokolu

1. Otevřete knihovnu fragmentačních protokolů.
2. Klikněte na ikonu **Create** (**Vytvořit**).
3. V dialogovém okně Create New Fragment Analysis Protocol (Vytvořit nový fragmentační protokol) (Obrázek 32 na straně 194) nastavte parametry (viz Tabulka 20 na straně 194).
4. Klikněte na **Save** (**Uložit**).

Poznámka: Nezobrazují-li se v příslušných seznamech všechny metody analýzy, standardy a panely, zvolte znova program sekundární analýzy, seznamy se aktualizují.

DŮLEŽITÉ! V eseji nastavené protokoly sekundární analýzy musí odpovídat nastavení pro automatickou analýzu (auto-analysis) destičky. Více informací viz „[Vytvoření nové destičky](#)“ na straně 144.





Obrázek 32 Vytvoření nového fragmentačního protokolu

Tabulka 20 Definice nového fragmentačního protokolu

Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Description - Popis	Volitelné textové pole.
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197 .
Application Type - Typ aplikace	Automaticky nastaveno Fragmentační analýza.
Secondary Analysis Software – Program sekundární analýzy	DŮLEŽITÉ! Program sekundární analýzy musí být správně nainstalován a nastaven spolu s programem 3500 Series Data Collection, jinak nebude na této obrazovce k dispozici.
Secondary Analysis Software Instance	Počítač na němž běží program sekundární analýzy.
Properties - Vlastnosti	Metoda analýzy, velikostní standard a panel použité programem GeneMapper® při automatické analýze.

Knihovna protokolů pro analýzu výsledků HID (sekundární analýza)

Přehled

HID protokol (GeneMapper® ID-X protocol) je volitelný protokol, umožňující definovat parametry sekundární analýzy (automatická analýza) v programu GeneMapper® ID-X v1.2 nebo vyšší.

V rámci HID protokolu je definováno:

- Umístění programu sekundární analýzy (GeneMapper® ID-X)
- Metoda analýzy, velikostní standard a panel, použité programem GeneMapper® ID-X při automatické analýze

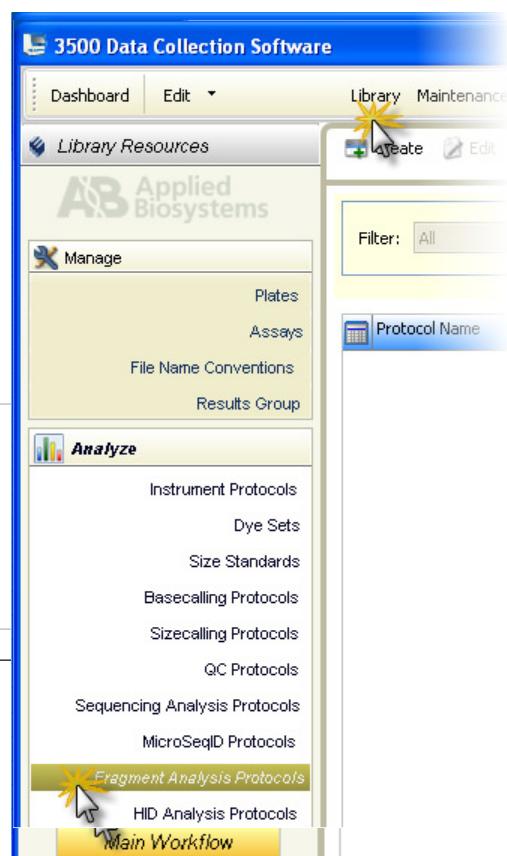
Definujete-li esej pro HID, můžete do ní jako volitelný prvek přidat protokol HID. Zadáváte-li tuto položku z knihovny, vytváříte v destičce její *kopii*, kterou lze upravit nezávisle na původní položce uložené v knihovně. Více informací o sledování historie změn položek naleznete v části „**Sledování změn položky**“ na straně 210.

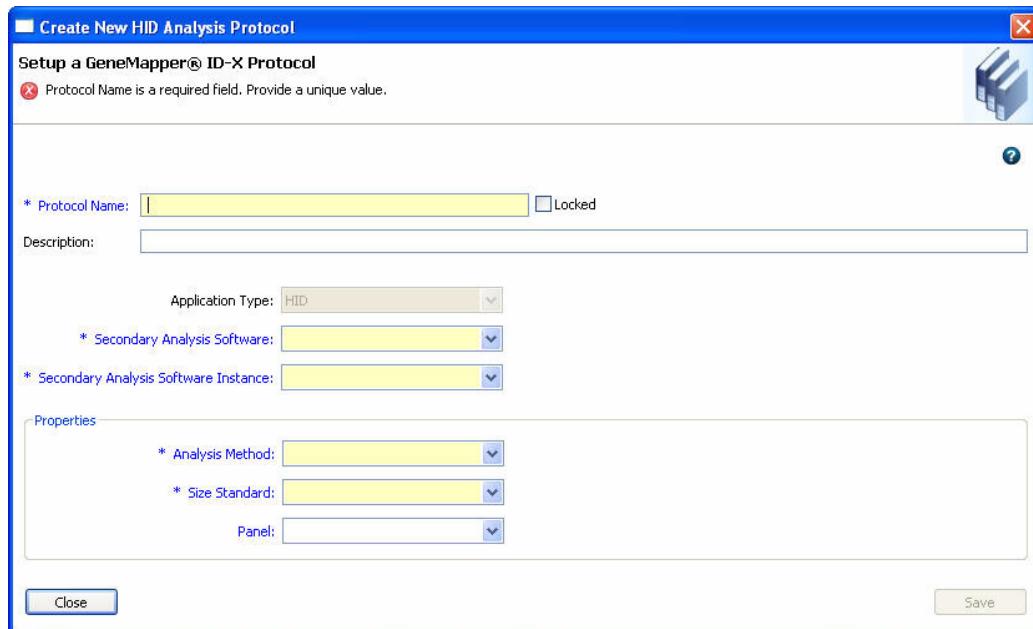
Vytvoření nového protokolu HID

- Otevřete knihovnu HID protokolů.
- Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.
- V dialogovém okně Create New HID Analysis Protocol (Vytvořit nový protokol HID) (Obrázek 33 na straně 196) nastavte parametry (viz Tabulka 21 na straně 196).
- Klikněte na **Save (Uložit)**.

Poznámka: Nezobrazují-li se v příslušných seznamech všechny metody analýzy, standardy a panely, zvolte znova program sekundární analýzy, seznamy se aktualizují.

DŮLEŽITÉ! V esejích nastavených protokoly sekundární analýzy musí odpovídat nastavení pro automatickou analýzu (auto-analysis) destičky. Více informací viz „**Vytvoření nové destičky**“ na straně 144.





Obrázek 33 Vytvoření nového protokolu HID

Tabulka 21 Definice nového protokolu HID

Nastavení	Popis
Name – Název protokolu	Název protokolu (musí být unikátní).
Description - Popis	Volitelné textové pole.
Locked - Uzamčeno	Je-li tato možnost zvolena, může dané nastavení odemknout pouze uživatel, který je vytvořil, administrátor, nebo jiný uživatel, který je k tomu oprávněn. Více informací viz Kapitola 7 "Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)" na straně 197.
Application Type - Typ aplikace	Automaticky nastaveno HID.
Secondary Analysis Software – Program sekundární analýzy	DŮLEŽITÉ! Program sekundární analýzy musí být správně nainstalován a nastaven spolu s programem 3500 Series Data Collection, jinak nebude na této obrazovce k dispozici.
Secondary Analysis Software Instance	Počítač na němž běží program sekundární analýzy.
Properties - Vlastnosti	Metoda analýzy, velikostní standard a panel použité programem GeneMapper® ID-X při automatické analýze.

Poznámka: Používáte-li samostatnou verzi programu 3500 Series Data Collection (verzi, která je instalována na počítači, jež není připojen k analyzátoru), můžete vytvářet destičky a protokoly a exportovat je na počítač připojený k analyzátoru.

Zabezpečení, sledování změn a elektronický podpis (Modul SAE)

7

Část 1

Správci systému (administrátoři)

Správci systému - přehled

Modul SAE (Security-Zabezpečení, Audit-Sledování změn, E-Signature-Elektronický podpis) je volitelnou součástí programu 3500 Series Data Collection. Modul SAE umožňuje:

- **Zabezpečení systému** – Kontrola přístupu uživatelů k programu. Program je instalován s jedním předvoleným uživatelským účtem (administrátor) a je možné definovat další uživatelské účty.
Zabezpečení systému lze aktivovat či deaktivovat.
- **Sledování změn (Audit)** – Sledování změn v knihovnách, sledování kroků prováděných uživateli, sledování změn v nastavení modulu SAE. Určité operace jsou sledovány automaticky, sledování dalších operací lze aktivovat. Je možné tisknout soupisy provedených změn.
Sledování změn lze aktivovat či deaktivovat, případně lze aktivaci či deaktivaci provést na úrovni určitého typu záznamu. Po instalaci je sledování změn automaticky aktivováno.
- **Elektronický podpis (e-sig)** – Pro provádění určitých kroků je/není vyžadováno zadání uživatelského jména a hesla. Tuto funkci lze nastavit i tak, že určité předdefinované operace nelze provést bez elektronického podpisu (např. je možné spustit destičku pouze byly-li elektronicky podepsány výsledky kalibrace) nebo může být vyžadován více než jeden elektronický podpis nebo elektronický podpis konkrétního uživatele.
Elektronický podpis lze aktivovat či deaktivovat, případně lze aktivaci či deaktivaci provést na úrovni určitého typu elektronického podpisu. Po instalaci je elektronický podpis automaticky aktivován.

Příklady použití

Modul SAE lze nastaví různými způsoby, například:

- Uživatel se musí přihlásit, ale sledování změn a elektronický podpis se nepoužívají.
- Protokoly smějí upravovat pouze konkrétní uživatelé.
- Schválit úpravy vzorků smějí pouze konkrétní uživatelé.

Nastavení zabezpečení

Zapnutí nebo vypnutí zabezpečení systému

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

Zabezpečení je po instalaci automaticky aktivováno.

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

1. Otevřete obrazovku Security (Zabezpečení).
2. Klikněte na **Disable (Vypnout)** nebo **Enable (Zapnout)** (Obrázek 34 na straně 198). Vezměte na vědomí:
 - Vypnutím zabezpečení vypínáte i sledování změn a elektronický podpis.
 - Probíhá-li běh, není použití příkazů Disable a Enable možné.
 - Po zapnutí zabezpečení musíte zadat své uživatelské jméno a heslo.
 - Je-li zabezpečení vypnuto, návod ? v dolní části obrazovky není aktivní.



Obrázek 34 Zapnutí a vypnutí zabezpečení

Uživatelské účty a pravidla zabezpečení

Pravidla zabezpečení jsou platná pro všechny uživatelské účty.

- V části Account Setup (Uživatelské účty – pravidla) nastavte pravidla jak mají být definována uživatelská jména.

The screenshot shows two main sections: Account Setup and User Password.

Account Setup:

- User Name:** The length of user names must be between 3 and 32 characters.
- Define name spacing:** Options for Leading, Trailing, and Consecutive spaces are available, with Leading checked.
- Define name characteristics:** Options for Alpha, Numeric, Uppercase, Lowercase, and Special characters are checked.

User Password:

- The length of user passwords must be between 8 and 32 characters.
- Define password spacing:** Options for Leading, Trailing, and Consecutive spaces are checked.
- Define password characteristics:** Options for Alpha (0), Numeric (0), Uppercase (0), Lowercase (0), and Special (0) characters are set to zero.
- A note states: "User may not reuse the previous 3 passwords."

DŮLEŽITÉ! V uživatelský jménech lze používat mezery (Define name spacing), nicméně používejte mezery uvážlivě. Více informací viz ["Mezery v uživatelských jménech"](#) na straně 200.

- Definujte znaky, jejichž používání je v uživatelských jménech *povoleno*: mezery, písmena (alpha), číslice (numeric), velká písmena (uppercase), malá písmena (lowercase), zvláštní znaky (special) jako čárky, tečky, středníky, pomlčky, podtržítka a vlnovky.
- Nastavte pravidla, jak mají být definována hesla (User password).
- Definujte znaky, jejichž použití je v heslech *povinné*: mezery, písmena (alpha), číslice (numeric), velká písmena (uppercase), malá písmena (lowercase), zvláštní znaky (special) – ostatní nevyjmenované znaky.
- Definujte pravidla opakovaného použití hesla. Tuto funkci nelze úplně vypnout.
- V části Password Expiration (Platnost hesla) definujte, zda má heslo omezenou platnost, na jak dlouho a jak dlouho dopředu je uživatel upozorněn na blížící se konec platnosti hesla.

The screenshot shows three configuration sections: Password Expiration, Account Suspension, and Session Timeout.

Password Expiration: Passwords will expire Yes every 60 days. Notify user 3 days before expiration.

Account Suspension: Login attempts with an incorrect password will suspend the user account. Options are Yes (radio button selected) and No. For the next 24 Hours, if consecutively failing 3 time(s) within any 60 minute period.

Session Timeout: User sessions will be timed out if there is no user activity. Options are Yes (radio button selected) and No. For 60 minutes. (An instrument run is not considered user activity.)

Poznámka: Nejsou-li současně prováděny jiné kroky dojde po uplynutí doby nastavené v části Session Timeout k automatickému odhlášení uživatele případně i během běhu.

- Klikněte na **Setup Messaging Notification Settings (Oznámení událostí)** a definujte, kdy a jak mají být správci systému oznamována porušení pravidel zabezpečení. Více informací viz ["Nastavení oznámení"](#) na straně 200.
- Klikněte na **Save Settings (Uložit nastavení)**.

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

Mezery v uživatelských jménech

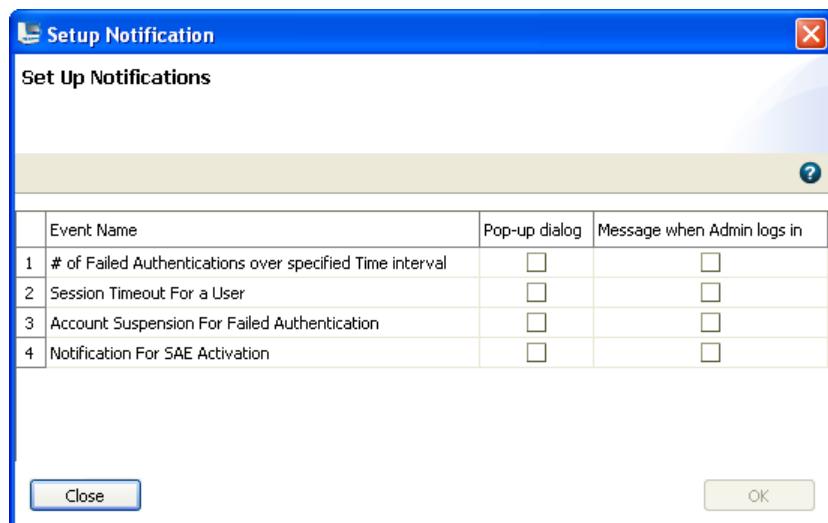
Povolíte-li v uživatelských jménech používání mezer, vezměte na vědomí:

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

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

Nastavení oznámení

1. Na obrazovce Security (Zabezpečení) ([Obrázek 34 na straně 198](#)) zvolte **Messaging Notifications (Nastavení oznámení)**.



2. Zvolte události, jejichž výskyt má být oznámen:
 - **# failed authentications over specified time interval** – Uživatel zadává nesprávné heslo. Ve zprávě je uveden počet chybných zadání hesla.
 - **Session timeout for a user** – Uživatel byl automaticky odhlášen pro nečinnost.
 - **Account suspension for failed authentication** – Uživatel překročil povolený počet možností zadání hesla (přihlášení se nezdařilo).
 - **Notification for SAE activation** – Zabezpečení bylo zapnuto nebo vypnuto.

3. Zvolte způsob oznámení těchto událostí:

- **Pop-up dialog** – Ihned jakmile se chyba vyskytne, objeví se okno tuto chybu oznamující. Součástí oznámení je výzva, aby uživatel nahlásil tuto událost administrátorovi.
- **Message when Admin logs in** – Okno se seznamem chyb a uživatelů, u kterých byly zaznamenány, se objeví, jakmile se přihlásí uživatel s administrátorskými právy.
Administrátor má možnost potvrdit, že mu byla zpráva oznámena, čímž ji vymaže.

4. Klikněte na **OK**.

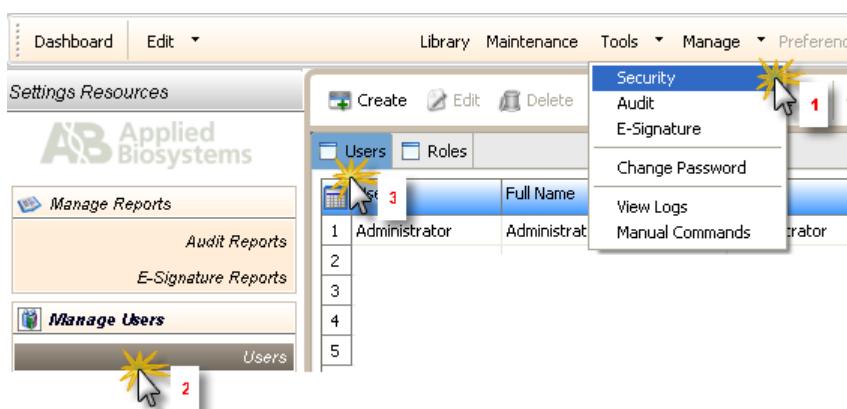
Správa uživatelských účtů

Vytvoření nebo úprava uživatelského účtu

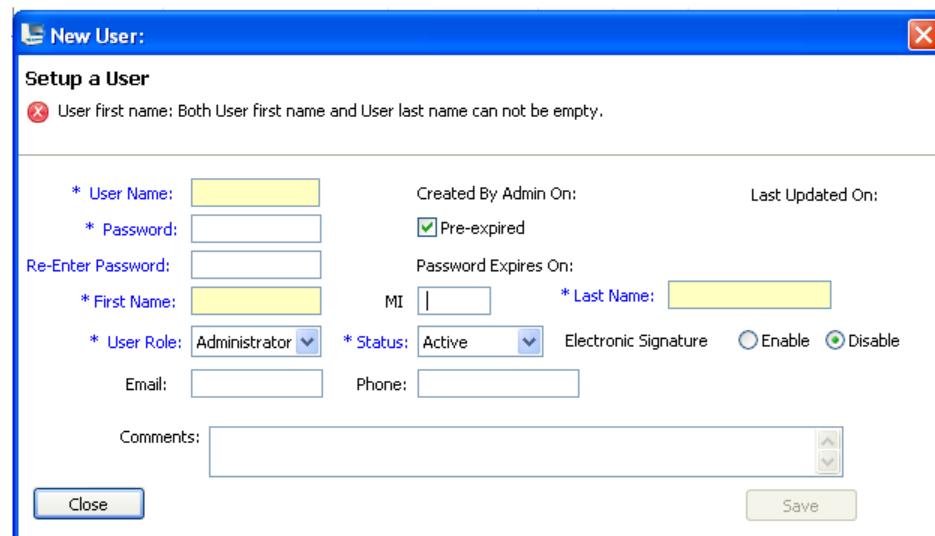
Součástí programu je přednastavený účet správce systému (Administrator), který je oprávněn provádět v programu veškeré operace. Tento uživatelský účet nelze upravit.

Vytvoření uživatelského účtu

1. Otevřete obrazovku Users (Uživatelé).



2. Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**, zobrazí se dialogové okno New User (Nový uživatel).



3. Zadejte uživatelské jméno (user name), heslo (password), křestní jméno (first name), druhé jméno (middle initial - volitelné) a příjmení (last name). Po kliknutí do příslušného pole se zobrazí omezení pro toto pole platná (nastavená při konfiguraci Zabezpečení).

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

Poznámka: Po jeho uložení nelze již uživatelské jméno změnit.

4. Zvolte **Pre-expired (Omezená platnost)**, chcete-li, aby musel uživatel při prvním přihlášení definovat nové heslo. Datum expirace hesla (Password Expires On date) je definováno v pravidlech Zabezpečení.
5. Zvolte úlohu uživatele (user role) (viz „[Vytvoření nebo úprava úlohy uživatele](#)“ na straně 203) a definujte pravidla použití elektronického podpisu (zda je uživatel oprávněn k elektronickému podpisu). V poli Status (Stav) ponechte nastaveno Active (Aktivní).
6. (Volitelné) Zadejte emailovou adresu (pouze informativní), telefon a komentář.

7. Klikněte na Save (Uložit).

Je-li tlačítka Save šedé, je zadání v některém z polí neplatné. Klikněte do jednoho pole po druhém, aby se zobrazila omezení pro toto pole platná.

Na obrazovce Users (Uživatelé) se pro každého uživatele zobrazují následující údaje:

- Full Name - Jméno
- Role - Úloha
- Status - Stav
- Password Expired – Omezená platnost hesla (true=ano, false=ne)
- Last Modified On – Datum poslední úpravy
- Password Change Date (by either user or administrator) – Datum změny hesla (uživatelem nebo správcem)
- Email
- Phone - Telefon
- Comments - Komentář

Úprava uživatelského účtu

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

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

	User	Full Name	Role	Status	Password Expired	Last Modified On	Created Date	Password Change Date	Email	Phone	Comments
1	Adm...	Adminis...	Ad...	Active	false						
2	User 1	User 1 ...	Ad...	Active	true	12-Feb-2009 1...	12-Feb-200...	12-Feb-2009 12:28:...			

- Upravte nastavení dle potřeby. Uživatelské jméno nelze změnit.
 - Klikněte na Save (**Uložit**).
- Aktivace neaktivního uživatelského účtu
- Zvolte uživatele.
 - Klikněte na **Edit (Upravit)**.
 - V poli Status (Stav) změňte nastavení Suspended (Neaktivní) na Active (Aktivní).

Vymazání (inaktivace) uživatelského účtu

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

- Zvolte uživatele.
- Klikněte na **Edit (Upravit)**.
- V poli Status (Stav) změňte nastavení z Active (Aktivní) na Suspended (Neaktivní).
- Klikněte na Save (**Uložit**).

Zjištění jména přihlášeného uživatele

Chcete-li zobrazit jméno přihlášeného uživatele, umístěte kurzor myši nad příkaz Logout (Odhlásit). Jméno uživatele se rovněž zobrazuje na obrazovce Load Plates for Run (Načtení destiček ke spuštění) a Monitor Run (Monitorování běhu).



Vytvoření nebo úprava úlohy uživatele

Úloha uživatele umožňuje definovat oprávnění příslušného uživatele.

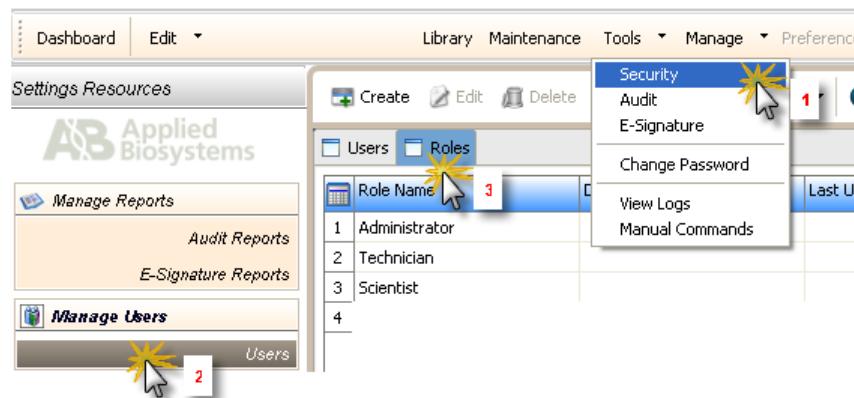
V programu jsou definovány tři přednastavené úlohy. Dvě z nich můžete upravit a můžete vytvořit i nové úlohy podle potřeby:

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

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

Vytvoření úlohy

- Otevřete obrazovku Roles (Úlohy).



- Klikněte na ikonu **Create (Vytvořit)**.
- Zadejte název úlohy (Role name) a komentář (volitelné).
- Nastavte oprávnění (viz Tabulka 22 na straně 204). Chcete-li vybrat všechna oprávnění, zatrhněte políčko vedle názvu kategorie.
- Klikněte na **Save Role (Uložit úlohu)**.

Tabulka 22 Oprávnění

Kategorie	Oprávnění
Setup – Zadání	Vytvoření destičky/templátu destičky
Run – Spuštění	<ul style="list-style-type: none"> Úprava přednastaveného názvu přístroje Správa seznamu nástříků Zdvojení nástříku Opakovaný nástřík
Primary Analysis – Primární analýza	<p>Úprava názvů vzorků Export výsledků sekvenování</p> <ul style="list-style-type: none"> Assay - Esej File name convention – Pojmenování souborů Results group – Výsledková skupina Instrument protocol – Protokol přístroje PA protocol – Protokol primární analýzy (basecalling a sizescalling) SA protocol – Protokol sekundární analýzy (sekvenování, fragmentační analýza, HID) QC protocol – QC protokol (primární analýza: HID) Size standard – Velikostní standard Dye set – Soubor barev

Tabulka 22 Oprávnění (pokračování)

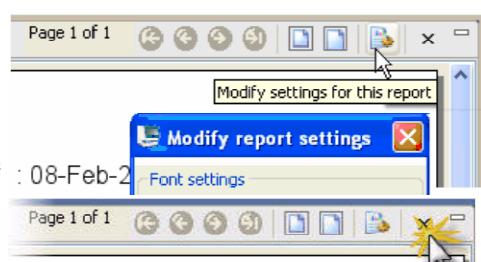
Kategorie	Oprávnění
Plates and templates – Destičky a templáty	<ul style="list-style-type: none"> • Úprava • Smazání • Import • Export
Locking/Unlocking – Uzamčení/Odemčení	<ul style="list-style-type: none"> • Assay - Esej • File name convention – Pojmenování souborů • Results group – Výsledková skupina • Instrument protocol – Protokol přístroje • PA protocol – Protokol primární analýzy (basecalling a sizecalling) • SA protocol – Protokol sekundární analýzy (sekvenování, fragmentační analýza, HID) • QC protocol – QC protokol (primární analýza: HID) • Size standard – Velikostní standard • Dye set – Soubor barev
Preferences - Nastavení	<ul style="list-style-type: none"> • Změna Nastavení systému (System preferences) • Změna Nastavení exportu (Export preferences) • Změna Nastavení importu (Import preferences)
Calibrations - Kalibrace	<ul style="list-style-type: none"> • Provedení prostorové kalibrace • Provedení spektrální kalibrace
Performance check – Kontrola funkčnosti	Provedení kontroly funkčnosti pomocí instalacích standardů
Archiving – Archivace	<ul style="list-style-type: none"> • Archivace • Čistění • Obnovení
SAE configuration – Nastavení modulu SAE	<ul style="list-style-type: none"> • Nastavení modulu SAE • Nastavení automatického odhlášení uživatele

Úprava úlohy

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

Zobrazení a tisk zprávy o uživateli

1. Zvolte záložku User (Uživatel) nebo Roles (Úlohy). Klikněte na View Report (Zobrazit zprávu).
2. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte zprávu dle potřeby. Umístěte-li kurzor nad ikonou, zobrazí se popis její funkce.
3. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu Print.



Uložení zprávy Chcete-li uložit zprávu ve formátu .pdf, vytiskněte ji pomocí tiskárny **CutePDF Writer**.

Zpráva - náhled

User Report												
#	User	Full Name	Role	Email	Phone	Status	Created Date	Last Modified On	Password Change Date	Password Expired	Comments	
1	Administrator	Administrator	Administrator			Active				false		
2	technician	First Name M.I.	Technician			Active	29-Jan-2009 10:13:57 AM	01-Feb-2009 10:49 AM	31-Jan-2009 10:12:48 AM	false		
3	scientist	First Name M.I.	Scientist			Active	29-Jan-2009 11:30:12 AM	01-Feb-2009 10:22 AM	31-Jan-2009 03:36:58 PM	false		
4	Analyst1	First Name M.I.	Log in to Analyst1			Active	01-Feb-2009 10:21:26 AM	01-Feb-2009 10:21:26 AM	01-Feb-2009 10:21:26 AM	true		

User Role Report				
#	Role Name	Description	Last Updated Date	User Counts
1	Administrator			3
2	Technician			1
3	Scientist			1
4	Log in to timed-out session		01-Feb-2009 10:12:18 AM	1

Nastavení sledování změn (audit)

Obrazovka Audit a nastavení sledování změn

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

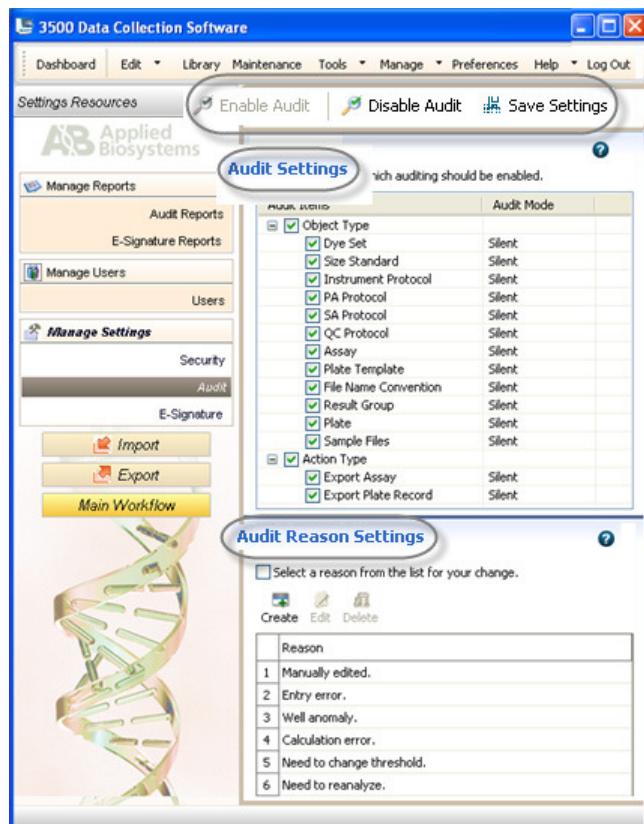
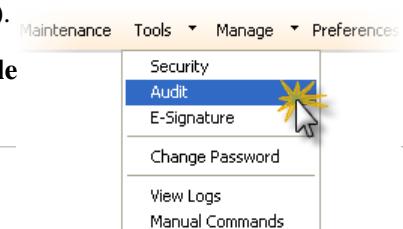
Po instalaci programu je sledování změn automaticky zapnuto.

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

- Otevřete obrazovku Audit (Sledování změn).

- Klikněte na **Disable (Vypnout) nebo Enable (Zapnout)** (Obrázek 35 na straně 207).

Poznámka: Je-li zabezpečení vypnuto, nápověda  v dolní části obrazovky není aktivní.



Obrázek 35 Sledování změn – vypnuto nebo zapnuto

Volba položek, jejichž změny jsou sledovány

1. Zvolte položky a kroky, které jsou sledovány.

Typ položky	Typ kroku
<ul style="list-style-type: none">• Dye set – Soubor barev• Size standard – Velikostní standard• Instrument protocol – Protokol přístroje• PA protocol – Protokol primární analýzy• SA protocol – Protokol sekundární analýzy• QC protocol – QC protokol• Assay - Esej• Plate template – Templat destičky• File name convention – Pojmenování souborů• Results group – Výsledková skupina• Plate – Destička• Sample files – Soubory s výsledky	<ul style="list-style-type: none">• Export assay – Export eseje• Export plate record – Export záznamu destičky

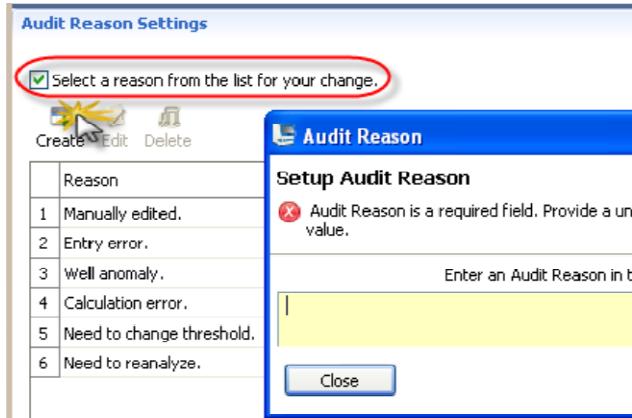
Poznámka: Seznam položek, u nichž probíhá sledování změn automaticky bez zásahu uživatele, viz ["Zpráva o sledování změn"](#) na straně 209.

2. Pro každou položku nastavte režim sledování změn (Audit Mode):
 - **Prompt** – Změny jsou sledovány, zobrazí se výzva ke zdůvodnění prováděné změny, ale uživatel může pokračovat bez udání důvodu.
 - **Required** – Změny jsou sledovány, zobrazí se výzva ke zdůvodnění prováděné změny, uživatel musí udat důvod.
 - **Silent** – Změny jsou sledovány, nezobrazí se výzva ke zdůvodnění prováděné změny.
3. Klikněte na **Save Settings (Uložit nastavení)**.

Důvody provádění změn

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

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



Zpráva o výsledku sledování změn

Zobrazení zprávy o výsledku sledování změn

1. Otevřete obrazovku Audit Reports (Zprávy o výsledku sledování změn).

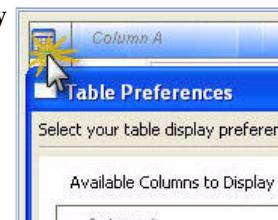
Poznámka: Chcete-li otevřít obrazovku Audit Reports, musíte mít oprávnění pro Nastavení modulu SAE (Configure SAE permission). Uživatelé bez tohoto oprávnění mohou sledovat historii jednotlivých položek v knihovnách (viz ["Historie sledovaných změn a elektronického podpisu pro položky v knihovnách"](#) na straně 142).



2. Zvolte záložku:
 - **Object Audit History** – Aktuální sledované změny všech uživatelských položek (vzorky a položky v knihovnách).
 - **System Configuration History** – Změny nastavení modulu SAE včetně historie změn uživatelských účtů.
 - **Action log** – Systémově definované sledované změny.
3. (Volitelné):
 - Tabulkou setříďte. Viz ["Třídění podle více sloupců"](#) na straně 72.
 - Filtrujte údaje v tabulce (datum, uživatelské jméno, krok, položka nebo typ záznamu, název položky nebo záznamu, důvod), poté klikněte na **Go**.

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

- Zvolte záznam a klikněte na **Show Object History** (Historie záznamu) nebo **Show Audit Details** (Detailly sledování změn).
- Klikněte na **Table Settings** a zadejte, které sloupce se mají zobrazovat.



Sledování historie položky

Záznamy V části Object Audit History (Historie položky) se zobrazují aktuální provedené změny pro níže uvedené položky (vzorky a položky knihoven).

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Soubor barev • Velikostní standard • Protokol přístroje • Protokol primární analýzy • Protokol sekundární analýzy • QC protokol | <ul style="list-style-type: none"> • Esej • Templát destičky • Pojmenování souborů • Výsledková skupina • Destička • Soubory s výsledky |
|--|---|

Možnosti Položky je možné aktualizovat, vytvářet a mazat:

Možnost	Popis
Update - Aktualizace	<p>Sledování aktualizací závisí na tom, zda je položka upravena nebo přepsána:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Modified – Upravena – Záznam se vytvoří pokud položku upravíte. • Updated – Přepsána – Záznam se nevytvoří pokud je položka přepsána v knihovně. Příklad: Vytvoříte destičku, v rámci destičky vytvoříte výsledkovou skupinu a uložíte ji do knihovny. Poté destičku otevřete, upravíte výsledkovou skupinu v rámci destičky a uložíte ji do knihovny. Systém zobrazí upozornění, že výsledková skupina již existuje, a zeptá se, zda ji má přepsat. Klikněte na Yes (Ano). Tento krok je považován za vytvoření nové výsledkové skupiny, nikoliv úpravu stávající. Nevytvoří se záznam o aktualizaci ale o vytvoření.
Create - Vytvoření	<p>Záznam se vytvoří pokud:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vytvoříte položku v knihovně. • Vytvoříte položku v jiné položce. • Upravíte položku v jiné položce, poté přepíšete tuto položku v knihovně (viz "Update" výše).
Delete - Smazání	<p>Sledování smazání závisí na tom, jakou položku mažete:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Položky v knihovně – Záznam je v knihovně až do svého vymazání. Smazání není sledováno. Pokud například smažete velikostní standard z knihovny, není vytvořen žádný záznam o jeho smazání v části Object Audit History. • Položky v položkách – Smazání položky existující v rámci jiné položky je sledováno. Pokud například změníte definici velikostního standardu v protokolu QC, je vytvořen záznam o smazání a zobrazen v části Object Audit History.

Historie položky Chcete-li zobrazit historii položky, zvolte položku a klikněte na **Show Object History**.

V historii položky je vyobrazen výpis sledovaných změn položek a položek, které tuto položku obsahují. Například pokud vytvoříte esej, jsou její součástí kopie protokolu přístroje, kopie protokolu primární analýzy (tzn. i soubor barev a velikostní standard) a kopie protokolu sekundární analýzy. Položky, které jsou součástí jiných položek, mají jinou historii než položky v knihovnách.

Sledování historie nastavení systému

Historie nastavení systému obsahuje záznamy o nastavení modulu SAE.

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

Tabulka 23 Historie nastavení systému

Typ záznamu	Krok	Odpovídá
Zabezpečení	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Umožnit zabezpečení Vypnout zabezpečení Upravit pravidla zabezpečení: Automatické odhlášení
Nastavení uživatelského účtu	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Upravit nastavení uživatelského jména Upravit nastavení hesla Upravit pravidla zabezpečení Vypršení platnosti hesla Zrušení platnosti účtu
Sledovat důvod změny	Aktualizace	Upravit důvod změny
	Vytvořit	Vytvořit důvod změny
	Smazat	Smazat důvod změny
Pravidla sledování změn	Aktualizace	Umožnit sledování změn Vypnout sledování změn
Typ sledování změn	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Upravit pravidla sledování změn
Typ sledování změn	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Upravit pravidla sledování změn Vytvořit důvody změn Smazat důvody změn
Funkce elektronického podpisu	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Upravit požadovaný počet podpisů nebo osob pro funkci "výzva před" Upravit stav Umožnit pro funkce "kontrola před" nebo "výzva před"
Nastavení elektronického podpisu	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Umožnit elektronický podpis Vypnout elektronický podpis
Typ elektronického podpisu	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Upravit nastavení elektronického podpisu Upravit stav Umožnit pro typ elektronického podpisu

Tabulka 23 Historie nastavení systému (pokračování)

Typ záznamu	Krok	Odpovídá
Přiřazení úlohy	Vytvořit	<ul style="list-style-type: none"> Vytvořit nový uživatelský účet Přiřadit jinou úlohu stávajícímu uživatelskému účtu
Oprávnění úlohy	Smazat	Přiřadit jinou úlohu stávajícímu uživatelskému účtu
Oprávnění úlohy	Aktualizace	Upravit oprávnění úlohy uživatele
	Vytvořit	Vytvořit úlohu uživatele – Vytvoří jeden záznam o přiřazení úlohy pro každé oprávnění
Uživatelský účet	Smazat	Smazat úlohu uživatele – Vytvoří jeden záznam o smazání úlohy pro každé oprávnění
	Aktualizace	<ul style="list-style-type: none"> Upravit Zrušit
Úloha uživatele	Vytvořit	Vytvořit nový uživatelský účet
	Aktualizace	Upravit úlohu uživatele
	Vytvořit	Vytvořit úlohu uživatele
	Smazat	Smazat úlohu uživatele

Záznam akcí – Action Log

Zobrazuje seznam systémově definovaných sledovaných změn.

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

Tabulka 24 Sledování změn – záznam akcí

Kategorie	Akce
Esej	<p>Esej úspěšně exportována</p> <p>Poznámka: Exportujete-li více esejí, je vytvořen pouze jeden záznam</p>
Přihlášení	<ul style="list-style-type: none"> Uživatel přihlášen Přihlášení se nezdařilo Uživatel odhlášen
Průvodce kroky údržby	<ul style="list-style-type: none"> Spuštění průvodce Odstranění bublin Spuštění průvodce Promýtí ústí kapilární sady Spuštění průvodce Změna typu polymeru Spuštění průvodce Výměna kapiláry Spuštění průvodce Doplnění polymeru Spuštění průvodce Plnění polymeru Spuštění průvodce Oplach vodou
Destička	<p>Destička úspěšně exportována</p> <p>Poznámka: Exportujete-li více destiček, je vytvořen pouze jeden záznam.</p>

Tabulka 24 Sledování změn – záznam akcí (pokračování)

Kategorie	Akce
Běh	<ul style="list-style-type: none"> • Start • Pauza • Obnovení • Stop (Zrušení nástřiku) • Ukončení (seznam nástřiků)
Nastavení modulu SAE	<ul style="list-style-type: none"> • Export
Záznamy sledování změn systému	<ul style="list-style-type: none"> • Archivace • Vymazání • Obnovení
Záznamy akcí systému	<ul style="list-style-type: none"> • Archivace • Vymazání • Obnovení
Uživatelský profil	<ul style="list-style-type: none"> • Export

Zobrazení a tisk zpráv o sledování změn

1. Zobrazte zvolené záznamy podle postupu výše.
2. Filtrujte položky v seznamu, aby zobrazení zprávy netrvalo příliš dlouho.

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

3. Klikněte na  **View Audit Summary Report (Zobrazit souhrnnou zprávu o sledování změn)** nebo  **View Audit Detailed Report (Zobrazit detailní zprávu o sledování změn)**.

System Configuration History Summary Report						
#	Date	User Name	User Full Name	Record Type	Record Name	Action
1	28-Jan-2009 05:01:08 PM	Administrator	Administrator	Security Settings		Update
2	28-Jan-2009 05:00:57 PM	Administrator	Administrator	Security Settings		Update

System Configuration History Detailed Report						
1	Date : 28-Jan-2009 05:01:08 PM	Action : Update				
User Name :	Administrator	User Full Name :	Administrator			
Record Type :	Security Settings	Record Name :				
#	Record Type	Object Name	Old Value	Current Value	Action	
1	Security Settings	Security On / Security Off	DISABLED	ENABLED	Update	

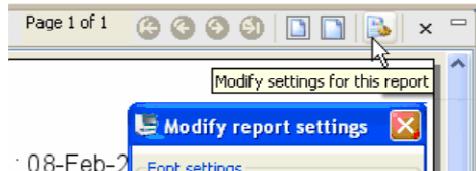
2	Date : 28-Jan-2009 05:00:57 PM	Action : Update			
User Name :	Administrator	User Full Name :	Administrator		
Record Type :	Security Settings	Record Name :			
#	Record Type	Object Name	Old Value	Current Value	Action
1	Security Settings	Security On / Security Off	ENABLED	DISABLED	Update

4. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte zprávu dle potřeby. Umístíte-li kurzor nad ikonou, zobrazí se popis její funkce.

5. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu Print.

6. Chcete-li uložit zprávu ve formátu .pdf, vytiskněte ji pomocí tiskárny **CutePDF Writer**.

7. Zavřete zprávu.



Archivace, vymazání a obnovení záznamů o sledování změn

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

Více informací o archivaci položek v knihovnách viz „[Archivace, vymazání a obnovení dat](#)“ na straně 254.

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

- Na příslušné obrazovce zvolte záznamy.

2. Klikněte na  **Archive Audit Records (Archivace záznamů o sledování změn)** nebo  **Purge Audit Records (Vymazání záznamů o sledování změn)**.
3. Zvolíte-li archivaci, musíte určit cílový adresář a název pro archivní soubor .asz.

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

Export záznamů o sledování změn

Podle potřeby lze záznamy o sledování změn exportovat do souboru .txt a následně je použít mimo prostředí programu 3500 Series Data Collection.

1. Na příslušné obrazovce zvolte záznamy.
2. Klikněte na  **Export Audit Records (Export záznamů o sledování změn)**.
3. Zadejte název souboru .txt a zvolte cílový adresář.
4. Klikněte na **Save (Uložit)**.

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

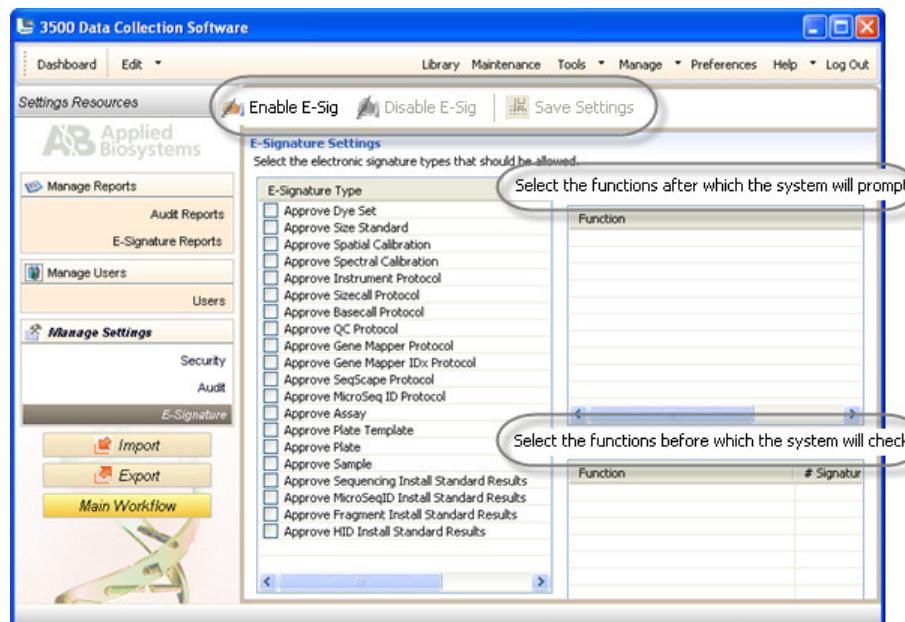
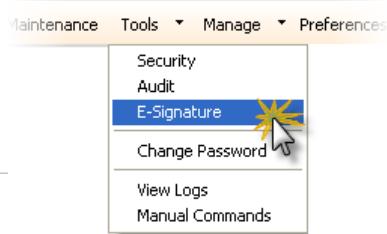
Elektronický podpis - nastavení

Zapnutí nebo vypnutí elektronického podpisu

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

1. Otevřete obrazovku E-Signature Settings (Nastavení elektronického podpisu).
2. Klikněte na **Disable (Vypnout) nebo Enable (Zapnout)** (Obrázek 36 na straně 216).

Poznámka: Je-li elektronický podpis vypnut, nápověda  v dolní části obrazovky není aktivní.

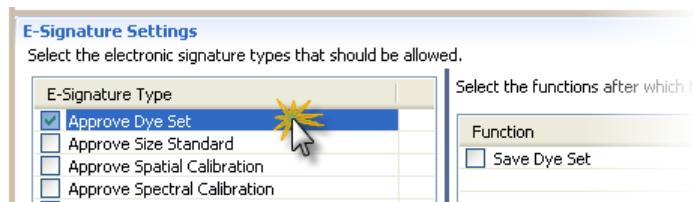


Obrázek 36 Elektronický podpis – vypnutí nebo zapnutí

Volba kroků vyžadujících podpis

DŮLEŽITÉ! Nastavení elektronického podpisu neměňte během spektrální kalibrace.

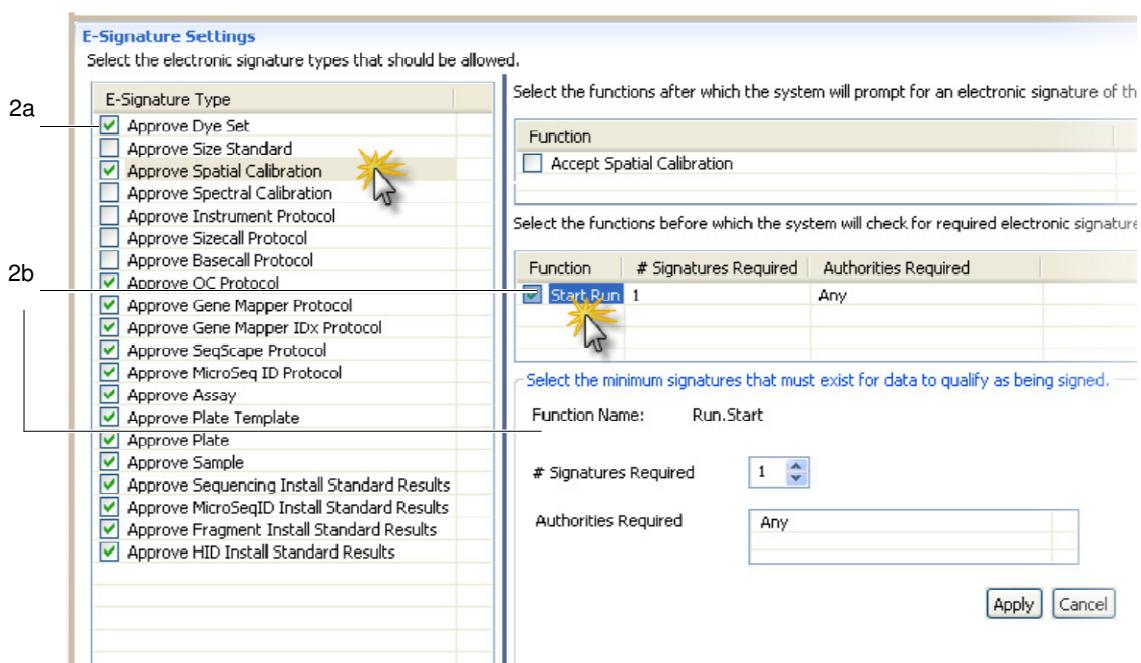
- Chcete-li aktivovat elektronický podpis pro určité kroky, zvolte tyto kroky v seznamu



v okně E-Signature Type (viz [Tabulka 25 na straně 218](#)). Pro provádění těchto kroků bude následně vyžadován elektronický podpis.

- (Volitelné) Pro každou zvolenou položku,::

- V pravé horní části okna definujte funkce *po jejichž provedení* systém vyzve k zadání elektronického podpisu. Uživatel může tyto kroky elektronicky podepsat nebo pokračovat bez podpisu.
- V pravé dolní části okna definujte funkci (spustit běh) před jejímž provedením systém zkонтroluje platnost elektronického podpisu/u (viz [Tabulka 26 na straně 219](#)). Pokud nebyl běh předešle autorizován (podepsán), objeví se před jeho provedením výzva k zadání elektronického podpisu. Před pokračováním se uživatel musí elektronicky podepsat. Pro funkce vyžadující podepsání "před" můžete rovněž:
 - Změnit počet požadovaných podpisů.
 - Nastavit požadavek na specifický elektronický podpis: klikněte do pole Authorities Required a zvolte uživatelský účet nebo úlohu, která je pro podepsání vyžadována. Program je přednastaven tak, že specifický podpis není vyžadován, elektronicky podepsat se může jakýkoliv uživatel.
 - Klikněte na **Apply (Použít)**.



3. Klikněte na **Save Settings (Uložit nastavení)**.

Program je přednastaven tak, že žádný podpis není vyžadován.

Tabulka 25 Nastavení elektronického podpisu – výzva po provedení funkce

Typ elektronického podpisu	Krok
Schválit soubor barev	Uložit
Schválit velikostní standard	Uložit
Schválit prostorovou kalibraci	Přjmout
Schválit spektrální kalibraci	Přjmout
Schválit protokol přístroje	Uložit
Schválit protokol pro odečet velikostí	Uložit
Schválit protokol pro odečet bází	Uložit
Schválit protokol QC	Uložit
Schválit protokol GeneMapper	Uložit
Schválit protokol GeneMapper IDX	Uložit
Schválit protokol SeqScape	Uložit

Tabulka 25 Nastavení elektronického podpisu – výzva po provedení funkce (pokračování)

Typ elektronického podpisu	Krok
Schválit protokol MicroSeq ID	Uložit
Schválit esej	Uložit
Schválit templát destičky	Uložit
Schválit destičku	Uložit
Schválit vzorek	Uložit
Schválit výsledky sekvenačního instalačního standardu	Přijmout
Schválit výsledky MicroSeq ID instalačního standardu	Přijmout
Schválit výsledky fragmentačního instalačního standardu	Přijmout
Schválit výsledky HID instalačního standardu	Přijmout

Tabulka 26 Nastavení elektronického podpisu – výzva před provedením funkce

Typ elektronického podpisu	Krok	Podpis specifického uživatele
Schválit prostorovou kalibraci	Spuštění běhu	1 podpis, jakýkoliv uživatel, jakýkoliv úloha
Schválit spektrální kalibraci		
Schválit destičku		
Schválit výsledky sekvenačního instalačního standardu		
Schválit výsledky MicroSeq ID instalačního standardu		
Schválit výsledky fragmentačního instalačního standardu		
Schválit výsledky HID instalačního standardu		

Jak program vyzve k elektronickému podpisu Je-li systém nastaven tak, že se má před spuštěním běhu provést kontrola platnosti elektronického podpisu, zobrazí se po spuštění běhu (**Start Run**) oznámení.

Příklad

Systém je nastaven tak, že je před spuštěním běhu vyžadován elektronický podpis prostorové kalibrace dvou uživatelů (podpis administrátora a podpis uživatele s úlohou vědec-scientist). Prostorová kalibrace není podepsána.

Uživatel spustí běh. Zobrazí se následující zpráva:



Před spuštěním běhu se musí elektronicky podepsat dva uživatelé:

- Administrátor
- Jakýkoliv další uživatel s úlohou vědec-scientist, kterému je povolen elektronický podpis

Podepíše-li se elektronicky uživatel nesplňující uvedená kritéria, zpráva se zobrazí znova.

Zpráva o používání elektronického podpisu

Zobrazení záznamů



1. Otevřete obrazovku E-Signature Reports (Zpráva o používání elektronického podpisu).
2. (Volitelné):
 - Filtruje položky v seznamu (datum, uživatelské jméno, krok, typ položky, název položky), poté klikněte na **Go**.
 - Zvolte záznam a klikněte na **Show Object History (Zobrazit historii položky)**.
 - Zvolte záznam a klikněte na **Show E-Signature Details (Detailed elektronického podpisu)**.
 - Dvojím kliknutím do záhlaví sloupce tabulku setříďte. Tabulkou lze třídit i podle více sloupců (viz „Třídění podle více sloupců“ na straně 72).
 - Upravte tabulku dle potřeby (viz „Vlastní nastavení tabulek“ na straně 72).
3. Zobrazené záznamy (jsou-li zvoleny v nastavení elektronického podpisu):

<ul style="list-style-type: none"> • Schválit soubor barev • Schválit velikostní standard • Schválit prostorovou kalibraci • Schválit spektrální kalibraci • Schválit protokol přístroje • Schválit protokol pro odečet velikostí • Schválit protokol pro odečet bází • Schválit protokol QC • Schválit protokol GeneMapper • Schválit protokol GeneMapper IDX • Schválit protokol SeqScape 	<ul style="list-style-type: none"> • Schválit protokol MicroSeq ID • Schválit esej • Schválit templát destičky • Schválit destičku • Schválit vzorek • Schválit výsledky sekvenačního instalačního standardu • Schválit výsledky MicroSeq ID instalačního standardu • Schválit výsledky fragmentačního instalačního standardu • Schválit výsledky HID instalačního standardu
--	---

Zobrazení a tisk zpráv o používání elektronického podpisu

1. Zobrazte zvolené záznamy podle postupu výše.

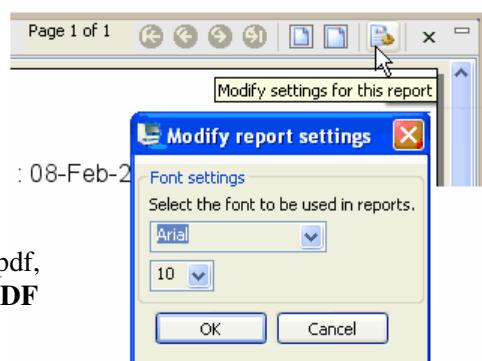
Poznámka: Filtrujte položky v seznamu, aby zobrazení zprávy netrvalo příliš dlouho.

2. Klikněte na View E-Sig Summary Report (Zobrazit souhrnnou zprávu o používání elektronického podpisu) nebo View E-Sig Detailed Report (Zobrazit detailní zprávu o používání elektronického podpisu).

#	Date	User Name	User Full Name	Object Type	Object Name	Comments
1	04-May-2009 03:11:47 PM	Administrator	Administrator	Approve Spatial Calibration	Spatial_Run 2009-05-04-15-10-51	Spatial calibration is acceptable

E-Signature Details		Object Details	
1	User Name : Administrator	User Full Name :	Administrator
	Object Type : Approve Spatial Calibration	Object Name :	Spatial_Run 2009-05-04-15-10-51
	Date : 04-May-2009 03:11:47 PM	Comments :	Spatial calibration is acceptable
<u>Esignature Details</u>		<u>Object Details</u>	
	Esignature Type : Approve Spatial Calibration	5	Intensity
	Signed By : Administrator		16 5 -5 5 13 2 8 9 12 -1 -1 7 3 6 -1 1 -7 4 4 8 5 -2 0 9 2 -3 0 -6 -8 -2 7 -4 -4 -9 -3 -8 -3 8 -7 4 2 1 -3 -5 -2 1 -3 -4 5 6 5 3 0 2 0 1 -1 2 5 1 3 2 0 1 3 0 1 -3 4 0 -5 -7 -5 -7 -3 1 4
	Full Name : Administrator	6	Run ID
	Signed On : 04-May-2009 03:11:47 PM	7	Number of Capillaries
	Authority : User Account: Administrator, User Role: Administrator	8	Locked
		9	Instrument
		10	Capillary Array

3. Pomocí ikon v nástrojové liště upravte zprávu dle potřeby. Umístěte-li kurzor nad ikonou, zobrazí se popis její funkce.
4. Chcete-li zprávu vytisknout, klikněte na ikonu Print.
5. Chcete-li uložit zprávu ve formátu .pdf, vytiskněte ji pomocí tiskárny **CutePDF Writer**.



6. Zavřete zprávu.



Export zpráv o používání elektronického podpisu

Podle potřeby lze zprávy o používání elektronického podpisu exportovat do souboru .txt a následně je použít mimo prostředí programu 3500 Series Data Collection.

1. Na příslušné obrazovce zvolte záznamy.
2. Klikněte na **Export E-Sig Records (Export zprávy o používání elektronického podpisu)**.
3. Zadejte název souboru .txt a zvolte cílový adresář.
4. Klikněte na Save (**Uložit**).

Export a import uživatelských účtů a nastavení zabezpečení, sledování změn a elektronického podpisu

Export

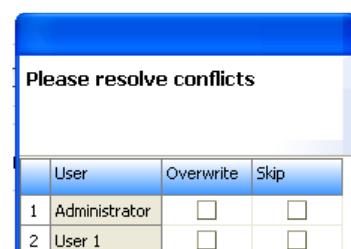
- Na jakékoliv obrazovce modulu SAE klikněte na ikonu Export v navaigacní liště.
- Zvolte položky, které chcete exportovat:



- Uživatelské profily** – Obsahují všechna nastavení na následujících obrazovkách:
 - Edit User (Upravit uživatele)** – Všechny aktivní uživatelské účty
 - User Role (Úloha uživatele)** – Všechny úlohy uživatelů a přidělená oprávnění (v případě, že pro uživatelský účet je definována úloha, která není definována v systému, do něhož profily importujete)
 - System Configuration (Nastavení systému)** – Obsahují všechna nastavení na následujících obrazovkách:
 - Security (Zabezpečení)** – Nastavení účtu a pravidla zabezpečení
 - Audit (Sledování změn)** – Položky, jejichž změny jsou sledovány, nastavení sledování a důvody
 - E-Signature Settings (Nastavení elektronického podpisu)** – Položky, které musí být podepsány, funkce, počet podpisů, podpis specifického uživatele/ů
 - User Roles (Úlohy uživatelů)** – Všechny úlohy a oprávnění uživatelů
- Klikněte na **Export**.
 - Zadejte název a adresář pro umístění exportovaného souboru .dat, poté klikněte na **Save (Uložit)**. Po ukončení exportu se zobrazí informativní hláška.

Import

- Na jakékoliv obrazovce modulu SAE klikněte na ikonu Import v navaigacní liště.
- Zvolte soubor .dat, který chcete importovat, a klikněte na **Open (Otevřít)**. Zobrazí se dotaz, zda chcete přepsat aktuální nastavení systému. Klikněte na **Yes (Ano)**. Pokud nějaký uživatelský účet již v systému existuje, musíte se rozhodnout, má-li se jeho nastavení přepsat nebo přeskočit.



Část 2 Uživatelé

Uživatelé - přehled

Modul SAE (Security-Zabezpečení, Audit-Sledování změn, E-Signature-Elektronický podpis) je volitelnou součástí programu 3500 Series Data Collection. Modul SAE umožňuje:

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

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

Zabezpečení

Přihlášení

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

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

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

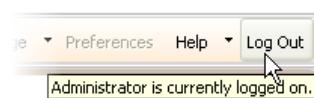


Oprávnění

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

Zjištění jména přihlášeného uživatele

Chcete-li zobrazit jméno přihlášeného uživatele, umístěte kurzor myši nad příkaz Logout (Odhlásit). Jméno uživatele se rovněž zobrazuje na obrazovce Load Plates for Run (Načtení destiček ke spuštění) a Monitor Run (Monitorování běhu).

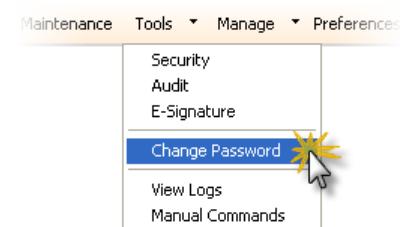


Změna hesla po vypršení jeho platnosti

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

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

Zadejte vaše stávající heslo, poté dvakrát nové heslo a klikněte **OK**.



Inaktivace účtu

Je-li ve vašem systému nastaven limit pro počet neúspěšných přihlášení a zadáte chybně opakováně uživatelské jméno a heslo, takže tento limit překročíte, dojde k inaktivaci vašeho uživatelského účtu, což je indikováno i na přihlašovacím okně Log In.

Uživatelský účet lze opět aktivovat dvěma způsoby:

- Můžete vyčkat, až automaticky vyprší doba inaktivace.
- Správce systému může váš účet opět aktivovat.



Poznámka: Je-li účet inaktivován, může se po kliknutí na tlačítko **Reset** přihlásit jiný uživatel.

Automatické odhlášení

Je-li ve vašem systému nastaveno automatické odhlášení uživatele po určité době nečinnosti, je po takovém automatickém odhlášení zobrazena zpráva v okně Log In (Přihlášení). Zadejte znova vaše uživatelské jméno a heslo.

Poznámka: Po kliknutí na tlačítko **Reset** se může přihlásit správce systému nebo další uživatel s právem přihlášení po automatickém odhlášení.



Sledování změn (audit)

Je-li váš systém nastaven tak, aby byly sledovány některé jeho změny, můžete být při provádění určitých kroků v programu vyzváni ke zdůvodnění prováděné změny.

V závislosti na nastavení systému máte možnost bud' udat důvod nebo vybrat důvod ze seznamu.



Elektronický podpis

Je-li váš systém nastaven tak, že pro provedení určitých kroků je zapotřebí elektronický podpis, můžete být vyzváni k zadání vašeho uživatelského jména a hesla.

Je-li požadováno zadání dvou podpisů, není nutné tyto podpisy vložit v týž okamžik.

Po zadání prvního podpisu je stav daného kroku nastaven na Partially Signed (Částečně podepsáno). Po zadání druhého podpisu je stav nastaven na Signed (Podepsáno).



Rovněž můžete být vyzváni k podepsání položek jako jsou destičky, kalibrace nebo další položky v knihovnách. Je-li elektronický podpis vyžadován k podepsání položek, mohou nastat následující situace:

- V knihovně nebo kalibraci je aktivní ikona elektronického podpisu.
- Podpis je požadován v souladu s pokyny v části "[Jak program vyzve k elektronickému podpisu](#)" na straně 220.

- V dialogovém okně Open Plates (Otevřít destičky) nebo v knihovnách se zobrazuje sloupec “Is signed” (“Podepsáno”), který udává stav elektronického podpisu dané položky.

The screenshot shows a software interface titled "Open Plate From Library". At the top, there is a section labeled "Instructions" with the text "Select row from table and click on "Open" button.". Below this is a search bar with fields for "Filter" (set to "HID"), "Search" (empty), and "All" (dropdown menu). To the right of the search bar are "Go" and "Clear" buttons, and a help icon. The main area is a table with the following data:

	Plate Name	Type	Date Modified	Is Signed
1	Plate 01	HID	12-Apr-2009 05:13:13 PM	No
2	test well attributes	HID	13-Apr-2009 09:58:39 AM	No

Údržba přístroje

Plánování údržby

V této části jsou uvedeny úkony, jejichž provádění umožní udržet váš genetický analyzátor Applied Biosystems 3500/3500xL v dobrém stavu provozuschopnosti.

Přehled úkonů údržby je uveden na Ovládacím panelu (Dashboard) a vychází z údajů zadaných v části věnované plánování kroků údržby (Planned Maintenance).

⚠️ VÝSTRAHA! Kdykoliv pracujete s provozními kapalinami používanými v přístroji, nebo součástmi, které s nimi mohly přijít do kontaktu, používejte ochranný oděv včetně rukavic, ochranných brýlí a laboratorního pláště.

DŮLEŽITÉ! Čistící prostředky používejte pouze v souladu s pokyny v této příručce. Používání čistících prostředků neuvedených v této příručce může přístroj poškodit.

Řešení možných problémů viz [Příloha E „Řešení problémů“ na straně 299](#).

Výzvy k provádění údržby

Výzvy k provádění kroků údržby jsou uvedeny na Ovládacím panelu. Každý den tyto výzvy kontrolujte a provádějte odpovídající kroky.

Maintenance Notifications				
Name	Priority	Notification Date	Description	Action
Perform Performance Check	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Performance Check	✓ ✘
Clean Drip Tray	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Clean Drip Tray	✓ ✘
Clean Autosampler	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Clean Autosampler	✓ ✘
Replace Reservoir Septa	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Replace Reservoir Septa	✓ ✘
Wash Pump Trap	HIGH	28-Jan-2009 12:00:00 AM	Wash Pump Trap	✓ ✘

Pokud daný krok provedete, klikněte na , čímž jej označíte jako hotový. Případně klikněte na , čímž jej označíte jako krok, který nechcete provést.

Poznámka: Všechny kroky označené jako provedené nebo jako kroky, které nebudou provedeny, jsou ze seznamu odstraňovány a neobjeví se v něm znovu, není-li potřeba jejich provádění opakovaná. O krocích, které nebyly záměrně provedeny, lze vést záznamy (log).

Záznamy lze vést o všech prováděných krocích. Viz [“Kontrola záznamů o údržbě“ na straně 257](#).

Úkony údržby prováděné denně

Udržujte držáky destiček, zásobník na anodový a katodový pufr v čistotě a suchu.

DŮLEŽITÉ! Čistící prostředky používejte pouze v souladu s pokyny v této příručce. Používání čistících prostředků neuvedených v této příručce může přístroj poškodit.

Úkon	Četnost	Viz ...
Zkontrolujte stav spotřebního materiálu v Ovládacím panelu – ověřte stav anodového a katodového pufru a polymeru.	Před každým během	"Kontrola spotřebního materiálu na Ovládacím panelu" na straně 236
Vizuálně zkontrolujte hladinu anodového a katodového pufru v zásobníku. Hladina musí být po rysku.		"Výměna zásobníku na katodový pufr" na straně 238
Ujistěte se, že destičky jsou správně usazeny v držácích. DŮLEŽITÉ! Pokud septum a horní držák nejsou v dokonalém zákrytu, dojde k poškození hrotů kapilár.		"Destička a držáky" na straně 53
Ujistěte se, že jsou destičky a zásobník na katodový pufr správně usazeny v přístroji.		"Vložení destičky do přístroje" na straně 53
Ujistěte se, že je kapilára zajištěna.		Kapitola 1 Popis přístroje a softwaru
Ověřte, že v pumpě a kanálcích nejsou bubliny. Poznámka: Odstraňte bubliny pomocí průvodce Remove Bubble.	Denně nebo před každým během	"Odstranění bublin z polymerové pumpy" na straně 251
Ověřte, že hroty kapilár nejsou viditelně poškozeny.		"Výměna kapilárních sad" na straně 252
Ujistěte se, že blok pumpy je zasunut dozadu.	Denně	Kapitola 1 Popis přístroje a softwaru
Vyčistěte povrch přístroje, odstraňte zaschlé zbytky chemikálií apod.		"Běžné čistění přístroje" na straně 242
Zkontrolujte, že v okolí ventilu elektroforetického pufru (Buffer-Pin Valve), zpětné klapky (Check Valve) a ústí kapiláry nedochází k viditelnému úniku provozních kapalin.		"Pokyny k údržbě" na straně 28
DŮLEŽITÉ! Dochází-li opakovaně k úniku, kontaktujte společnost Applied Biosystems.		

Úkony údržby prováděné týdně

Úkon	Četnost	Viz ...
Máte-li uskladněné kapilární sady, ověřte, že nedochází k vysychání jejich zásobníků (konec kapilár musí být smáčený).	Týdně	"Kontrola uskladněných kapilárních sad" na straně 240
Spusťte průvodce Wash Pump and Channels.		"Promytí pumpy a kanálků" na straně 249
Pomocí papírového ručníku otřete ventil jímž ústí zásobník na anodový pufr do polymerové pumpy.		Kapitola 1 Popis přístroje a softwaru
Restartujte počítač a přístroj.		"Resetování přístroje" na straně 314

Úkony údržby prováděné měsíčně

Úkon	Četnost	Viz ...
Promyjte tzv. lapač pumpy (pump trap)	Měsíčně nebo podle potřeby	"Promytí lapače pumpy (pump trap)" na straně 241
Vyprázdněte zásobník na kondenzát a odpadní zásobník tzv. vodní pasti (vpravo od pumpy).		Kapitola 1 Popis přístroje a softwaru
Vyměňte septum zásobníku na katodový pufr.		"Výměna zásobníku na katodový pufr" na straně 238
Proveďte kontrolu funkčnosti		Kapitola 5 Kalibrace a kontrola funkčnosti
Vyčistěte podavač (autosampler)		"Běžné čistění přístroje" na straně 242
Vyprázdněte odpadní misku		
Zkontrolujte volný prostor na disku		"Kontrola volného prostoru na disku" na straně 256
Defragmentujte pevný disk	Měsíčně Dříve než fragmentace dosáhne 10%.	"Defragmentace pevného disku" na straně 257

Úkony údržby prováděné kvartálně

Úkon	Četnost	Viz ...
Proveďte kontrolu funkčnosti	Každé tři měsíce	Kapitola 5 Kalibrace a kontrola funkčnosti

Úkony údržby prováděné každoročně

Kontaktujte společnost Applied Biosystems a naplánujte pravidelnou roční prohlídku přístroje.

Úkony údržby prováděné podle potřeby

Úkon	Četnost	Viz ...
Vyměňte misku.	Podle potřeby	"Běžné čistění přístroje" na straně 242
Pomocí papírového ručníku namočeného v destilované vodě očistěte hroty kapilár od zaschlého polymeru.		
Archivujte a vymažte objekty z knihoven		Kapitola 6 Správa knihoven
Ovládací panel: Manage > Archive nebo Purge		

Kalendář údržby přístroje

Kalendář údržby přístroje zobrazuje běžné úkony údržby přístroje v denním nebo měsíčním přehledu. Má-li být daný úkon proveden, bude uveden v seznamu kroků údržby na Ovládacím panelu v části Maintenance Notifications (viz "["Výzvy k provádění údržby"](#) na straně 229).

Zobrazení kalendáře

Chcete-li zobrazit kalendář údržby přístroje:

1. Na Ovládacím panelu klikněte na **Maintain Instrument** (Údržba přístroje).

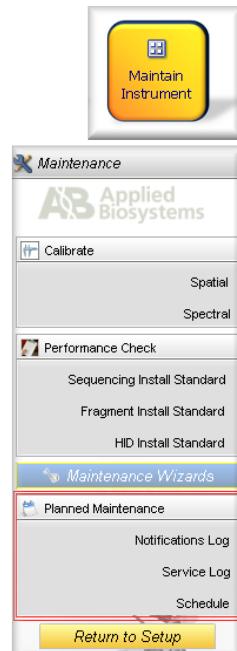
V levé dolní části hlavního okna se zobrazí okno Planned Maintenance (Plánovaná údržba):

Na Ovládacím panelu se zobrazují aktuálně potřebné úkony údržby. Více informací získáte po kliknutí na

2. V části Planned Maintenance (Plánovaná údržba) klikněte na **Schedule (Kalendář)**.

3. Více informací získáte po kliknutí na v Kalendáři vlevo nahoře.

Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste si provádění pravidelných kroků údržby naplánovali do Kalendáře podle postupu níže.



Přednastavené záznamy v kalendáři

Provádění některých úkonů je v kalendáři již definováno společností Applied Biosystems, tyto kroky jsou v měsíčním přehledu označeny zkratkou FR (Factory Repeating) a v denním přehledu F (Factory). Uživatelem definované opakované úkony údržby jsou v Kalendáři označeny v měsíčním přehledu písmenem R (Repeating), viz obrázek níže.

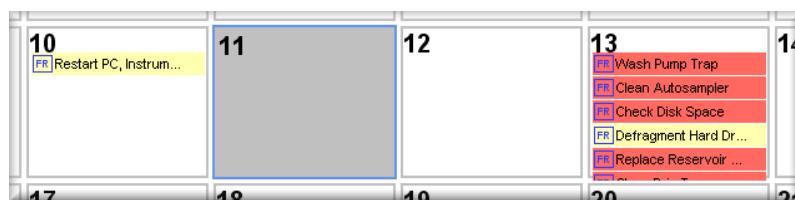
U továrně definovaných úkonů můžete pozměnit prioritu jejich provedení, ale nemůžete je z kalendáře odstranit či změnit frekvenci jejich provádění.

Společnost Applied Biosystems doporučuje, abyste do kalendáře zadali provádění:

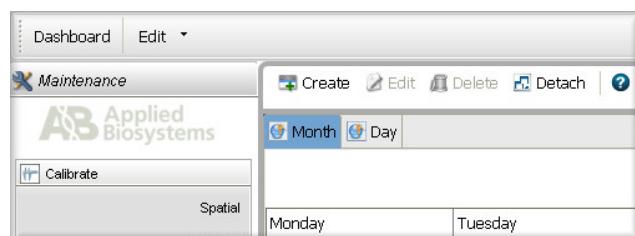
- Pravidelných kroků údržby.
- Informaci o nutné výměně spotřebního materiálu (na základě data expirace), např. vytvořte výzvu k výměně polymeru, která se zobrazí dva dny před datem expirace

Vytvoření záznamu v kalendáři

Chcete-li vytvořit nový plánovaný úkon, klikněte na **Create (Vytvořit)** a postupujte podle pokynů. Níže je vyobrazen příklad naplánovaných úkonů v kalendáři.



Záložky Month (Měsíc) a Day (Den) vám umožní zobrazit kalendář v různém formátu. Kliknutím na **Detach (Vyčlenit)** okno kalendáře oddělít od hlavního okna.



Kontrola záznamů o údržbě

V programu jsou pro zpětnou kontrolu kroků údržby vedeny záznamy (Notifications Log). Jedná se o seznam všech výzev k provádění kroků údržby spolu s informací o tom, zda daný krok byl/nebyl proveden. Záznamy poskytují informace o stavu stroje v době provádění předešlých běhů.

Aktuální kroky údržby se zobrazují na Ovládacím panelu (Dashboard) jak je popsáno níže.

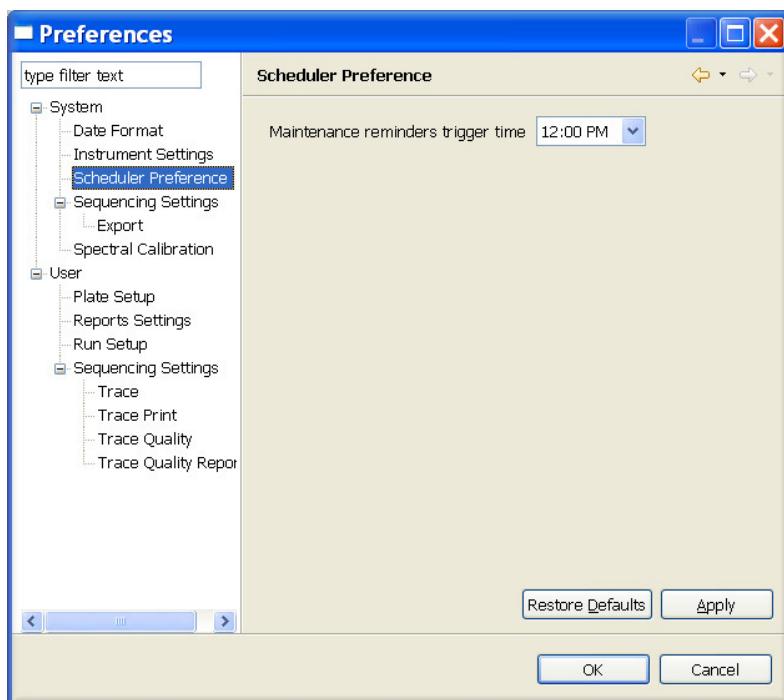
Údaje je možné třídit podle více sloupců (viz „[Třídění podle více sloupců](#)“ na straně 72. Chcete-li z Ovládacího panelu záznamy otevřít:

1. Klikněte na **Maintain Instrument (Údržba přístroje)**.
2. V levé části okna v sekci Planned Maintenance (Plánovaná údržba) klikněte na **Notifications Log (Záznamy o údržbě)**.

Více informací získáte po kliknutí na  v levé horní části okna Notification Log. V záznamech získáte o každém úkonu tyto informace:

Záznam	Popis
Name – Název	Název úkonu.
Priority – Priorita	Priorita úkonu.
Notification Date – Datum oznámení	Datum oznámení úkonu.
Status – Stav	Aktuální stav úkonu.
User – Uživatel	Jméno uživatele.
Acknowledge Date/Time – Datum provedení/zamítnutí	Datum a čas provedení/zamítnutí úkonu.
Description – Popis	Popis úkonu.

Interval připomenutí kroků údržby je definován v Nastavení (Preferences). Na Ovládacím panelu klikněte na Preferences (Nastavení), otevře se dialogové okno Preferences, klikněte na Scheduler Preference (Interval připomenutí kroků údržby) a postupujte podle pokynů.



Provoz přístroje

Každodenní provoz přístroje zahrnuje provádění následujících úkonů.

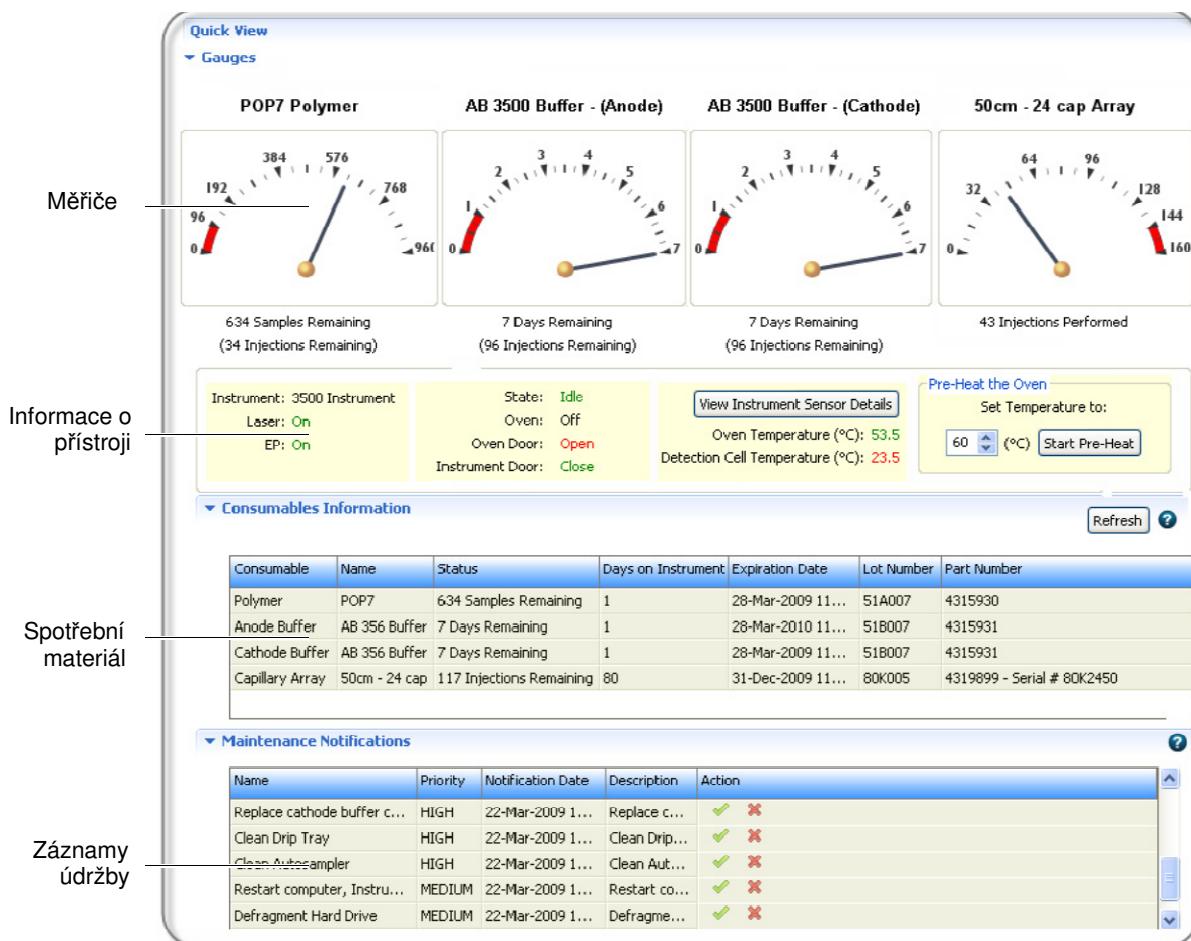
Kontrola spotřebního materiálu na Ovládacím panelu

- Výměna zásobníku na anodový puf
- Výměna zásobníku na katodový puf
- Výměna polymeru
- Použití regeneračního roztoku
- Plnění kapilární sady čerstvým polymerem
- Odstraňování bublin

V části Quick view (Rychlé zobrazení) se zobrazují základní informace k provozu přístroje.

Informace zobrazené v části Quick View jsou vytvářeny automaticky pomocí čipů a čtečky (tzv. Radio Frequency Identification - RFID).

Informace zobrazené v části Quick View využijete před a po provedení některého z kroků údržby.



Výměna zásobníku na anodový pufr

Podrobné informace o riziku vyplývajícím z používání určitých chemikálií naleznete v části “Specifické výstrahy” na straně 333.



VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Zásobník na anodový pufr.

Více informací viz “Spotřební materiál a reagencie” na straně 9.

Kvalitu dat může výrazně zhoršit kontaminace. Abyste zabránili kontaminaci, používejte původní zabalený polymer, anodový a katodový pufr a regenerační roztok.

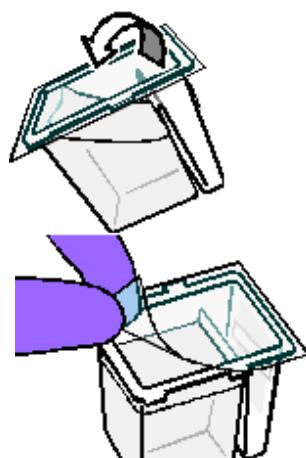
1. Připravte si nový zásobník na anodový pufr.
2. Ověřte na jeho obalu, že anodový pufr nebude expirovat před nebo během svého používání.
3. Zásobník nechte před použitím temperovat na pokojovou teplotu. Zásobník ponechte zapečetěný dokud nedokončíte krok 5 níže.

DŮLEŽITÉ! Dříve než odstraníte zapečetění zásobníku, ujistěte se, že veškerý pufr je ve větší části zásobníku.

4. Ověřte, že hladina pufru je nejméně po plnící rysku, a že zapečetění není porušeno.

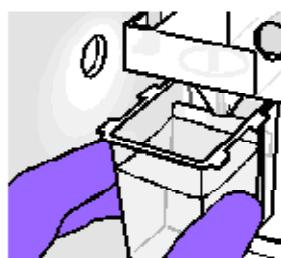
DŮLEŽITÉ! Zásobník nepoužívejte, je-li hladina pufru příliš nízká nebo je zapečetění poškozeno. Tolerance hladiny pufru je ± 1 mm od rysky.

5. Mírně nakloňte zásobník (jako na obrázku), aby byl pokud možno veškerý 1 X pufr ve větší části zásobníku. V menší části zásobníku by měl zůstat méně než 1 ml 1 X pufru.
6. Ověřte, že hladina pufru je po plnící rysku.
7. Odstraňte zapečetění zásobníku.



8. Umístěte zásobník do přístroje do držáku pod pumpu.

DŮLEŽITÉ! RFID čip musí být orientován směrem k přístroji (a ne k vám), jenom tak budou údaje z čipu RFID načteny správně.



9. Zavřete dvírka přístroje.

Poznámka: Pokud nezavřete dvírka přístroje, musíte kliknout na **Refresh (Obnovit)** na Ovládacím panelu.

10. Klikněte na **Refresh (Obnovit)** na Ovládacím panelu – údaje se aktualizují.
11. Po výměně zásobníku ověřte údaje v části Quick View (Rychlé zobrazení), kde se aktualizují informace o zásobníku na anodový pufr.

Výměna zásobníku na katodový pufr

Podrobné informace o riziku vyplývajícím z používání určitých chemikalií naleznete v části „[Specifické výstrahy](#)“ na straně 333.



VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Zásobník na katodový pufr.

Více informací viz „[Spotřební materiál a reagencie](#)“ na straně 9.

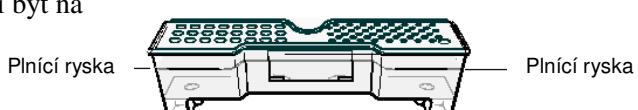
Kvalitu dat může výrazně zhoršit kontaminace. Abyste zabránili kontaminaci, používejte původní zabalený polymer, anodový a katodový pufr a regenerační roztok.

Používejte pouze originální součásti a reagencie. Použití jiných součástí či reagencí vede ke snížené kvalitě výsledků, případně k poškození přístroje.

1. Připravte si nový zásobník na katodový pufr.
2. Ověřte na jeho obalu, že katodový pufr nebude expirovat před nebo během svého používání.
3. Zásobník nechte před použitím temperovat na pokojovou teplotu. Zásobník ponechte zapečetěný dokud nedokončíte krok 5 níže.
4. Otřete papírovým ručníkem kondenzát na povrchu zásobníku.
5. Ověřte, že hladina pufru je nejméně po plnící rysku, a že zapečetění není porušeno.

DŮLEŽITÉ! Zásobník nepoužívejte, je-li hladina pufru příliš nízká nebo je zapečetění poškozeno. Tolerance hladiny pufru je ± 0.5 mm od rysky.

Poznámka: Meniskus musí být na rysce nebo nad ryskou.

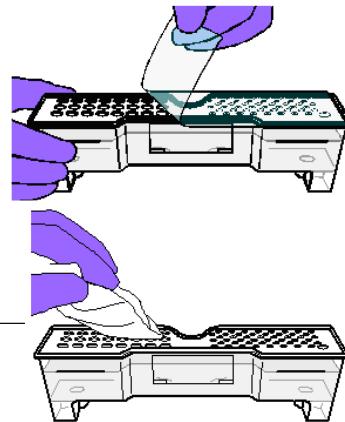


- Nakloňte zásobník opatrně vpřed a vzad, aby byl pufr rovnoměrně distribuován.

Poznámka: Pokud zásobník nenakloníte, zůstává pufr díky povrchovému napětí na mezistěnách.

- Ověrte, že hladina pufru je po či nad plnící rysku.

- Umístěte zásobník na rovný povrch a odstraňte zapečetění.

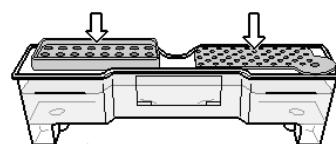


- Pomocí papírového ručníku odstraňte pufr na povrchu zásobníku. Horní strana zásobníku musí být suchá.

DŮLEŽITÉ! Pokud tento krok neprovedete, může dojít k probíjení a předčasnému ukončení běhu.

- Umístěte septa na obě strany zásobníku.

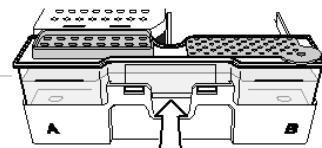
- Zkontrolujte, že septa se překrývají (jejich symetrická část) se 24 otvory v zásobníku.



- Nejprve mírně a potom silně zatlačte septa do otvorů v zásobníku.

- Umístěte zásobník na katodový pufr do podavače (autosampler).

Poznámka: Při správném umístění se po usazení zásobníku do podavače ozve kliknutí.



- Zavřete dvířka přístroje.

- Klikněte na **Refresh (Obnovit)** na Ovládacím panelu – údaje se aktualizují.

- Po výměně zásobníku ověrte údaje v části Quick View (Rychlé zobrazení), kde se aktualizují informace o zásobníku na katodový pufr.

Kontrola uskladněných kapilárních sad

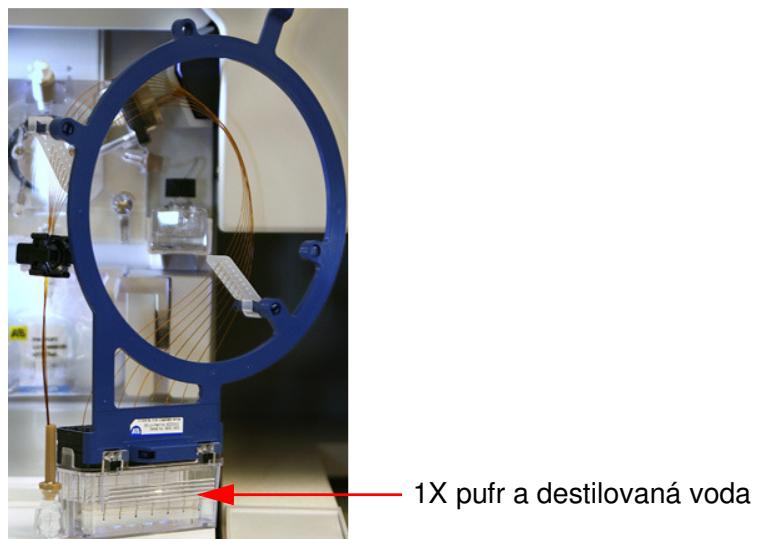
DŮLEŽITÉ! Kdykoliv pracujete s provozními kapalinami používanými v přístroji, nebo součástmi, které s nimi mohly přijít do kontaktu, používejte ochranný oděv včetně rukavic, ochranných brýlí a laboratorního pláště.

Po instalaci kapilární sady jsou elektrody na spodním konci ponořeny do zásobníku na katodový pufr. Druhý konec elektrod je napojen do polymerové pumpy.

Společnost Applied Biosystems doporučuje, aby elektrody na spodním konci byly ponořeny do 1X pufru. Více informací viz [“Spotřební materiál a reagencie” na straně 9](#).

DŮLEŽITÉ! Elektrody na spodním konci kapilární sady udržujte v 1X pufru, aby nedocházelo k vysychání polymeru v kapilárách. Je-li hladina příliš nízká, přidejte do pufru destilovanou vodu.

Pokyny k uchování kapilární sady viz průvodce Install capillary.



Promytí lapače pumpy (pump trap)

Lapač pumpy (též tzv. vodní past – Water trap) je zapotřebí jedenkrát měsíčně promýt, aby se prodloužila životnost pumpy a vymyl ředěný polymer.

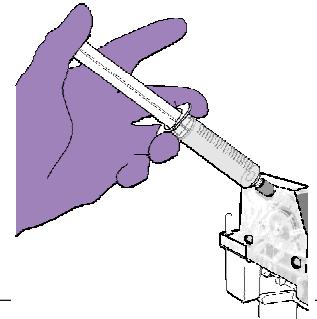
Promyjte lapač pumpy destilovanou a deionizovanou vodou a ujistěte se, že voda odtéká do odpadního zásobníku. Zásobník vyprázdněte. Viz „[Chemické riziko](#)“ na straně 328.

Poznámka: Lapač ponechte naplněný destilovanou nebo deionizovanou vodou.

- Naplňte dodávanou stříkačku (20 mL, PDP Cleaning kit, kat. č. 4359572) destilovanou nebo deionizovanou vodou. Vytláčte ze stříkačky bubliny.

DŮLEŽITÉ! Nepoužívejte stříkačku menší než 20 mL. Mohlo by to vést k příliš vysokému tlaku uvnitř lapače.

- Připojte stříkačku k dopředu vystupujícímu ventilu v horní části bloku pumpy. Podržte ventil jednou rukou a druhou našroubujte stříkačku.
- Otevřete ventil – uchopte jej a mírně povolte i s nasazenou stříkačkou asi jednu a půl otáčky proti směru hodinových ručiček.



DŮLEŽITÉ! NETLAČTE NA PÍST STŘÍKAČKY PŘÍLIŠ SILNĚ, může dojít k poškození těsnění lapače. 5 mL destilované nebo deionizované vody byste měli protlačovat lapačem asi 30 sec.

Poznámka: Objem lapače je asi 325 µL, takže stačí relativně malý objem vody k jeho úplnému promytí. Vyšší objem však kvalitu promytí jenom zlepší, za předpokladu, že tlak na píst a rychlosť proudění vody jsou adekvátní tzn. v limitech uvedených výše.

- Odšroubujte stříkačku z ventilu. Podržte ventil jednou rukou a druhou odšroubujte stříkačku proti směru hodinových ručiček.
- Dotáhněte ventil otočením ve směru hodinových ručiček.

Běžné čistění přístroje

DŮLEŽITÉ! Kdykoliv pracujete s provozními kapalinami používanými v přístroji, nebo součástmi, které s nimi mohly přijít do kontaktu, používejte ochranný oděv včetně rukavic, ochranných brýlí a laboratorního pláště.

1. Ujistěte se, že jsou dvířka pícky a přístroje uzavřena.
 2. Stiskněte tlačítko Tray na čelním panelu přístroje, čímž přesunete podavač (autosampler) do přední pozice. Vyčkejte než se podavač zastaví.
-

DŮLEŽITÉ! Čistící prostředky používejte pouze v souladu s pokyny v této příručce. Používání čistících prostředků neuvedených v této příručce může přístroj poškodit. V případě pochybností kontaktujte společnost Applied Biosystems.

3. Pomocí papírového ručníku setřete veškeré tekutiny na a poblíž podavače.
 4. Pomocí papírového ručníku a deionizované vody otřete krystaly polymeru viditelné kdekoliv v přístroji včetně hrotů kapilár.
 5. Vyčistěte šroub kapilární sady.
 6. Deionizovanou vodou nebo etanolem vypláchněte/vytřete odpadní misky.
-

Poznámka: Odpadní misky lze vyjmout.

Přemístění a vyvážení přístroje



VAROVÁNÍ! RIZIKO PORANĚNÍ. Rozhodněte-li se přístroj přemisťovat 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 přemisťování nebo zvedání přístroje vyžadovat dvě a více osob.

1. Vyjměte z přístroje:
 - Destičky z podavače.
 - Zásobník na katodový pufr z podavače.
 - Kapilární sadu: pomocí průvodce **Shutdown the Instrument (Odstávka přístroje)** v části **Maintenance (Údržba)**. Viz „[Odstávka přístroje](#)“ na straně 253.
 - Zásobník na anodový pufr.
2. Vypněte pojistku na zadní straně přístroje.
3. Odpojte přívodní elektrickou šňůru a síťový kabel.
4. Přemístěte přístroj.
5. Otáčením nožiček uveďte přístroj do vodorovné polohy.

DŮLEŽITÉ! Při přemisťování přístroje se vyvarujte otřesů a nárazů.

Chcete-li roh přístroje...	Otáčejte nožičkou ...
zvednout	doprava (po směru hodinových ručiček)
snížit	doleva (proti směru hodinových ručiček)

Průvodce jednotlivými kroky údržby

O průvodcích

Chcete-li použít průvodce určitým krokem údržby (tzv. Wizards), klikněte na Ovládacím panelu na ikonu **Maintain Instrument** (Údržba přístroje).

Průvodce jednotlivými kroky údržby umožňují provádět určité operace údržby v řádném sledu kroků.

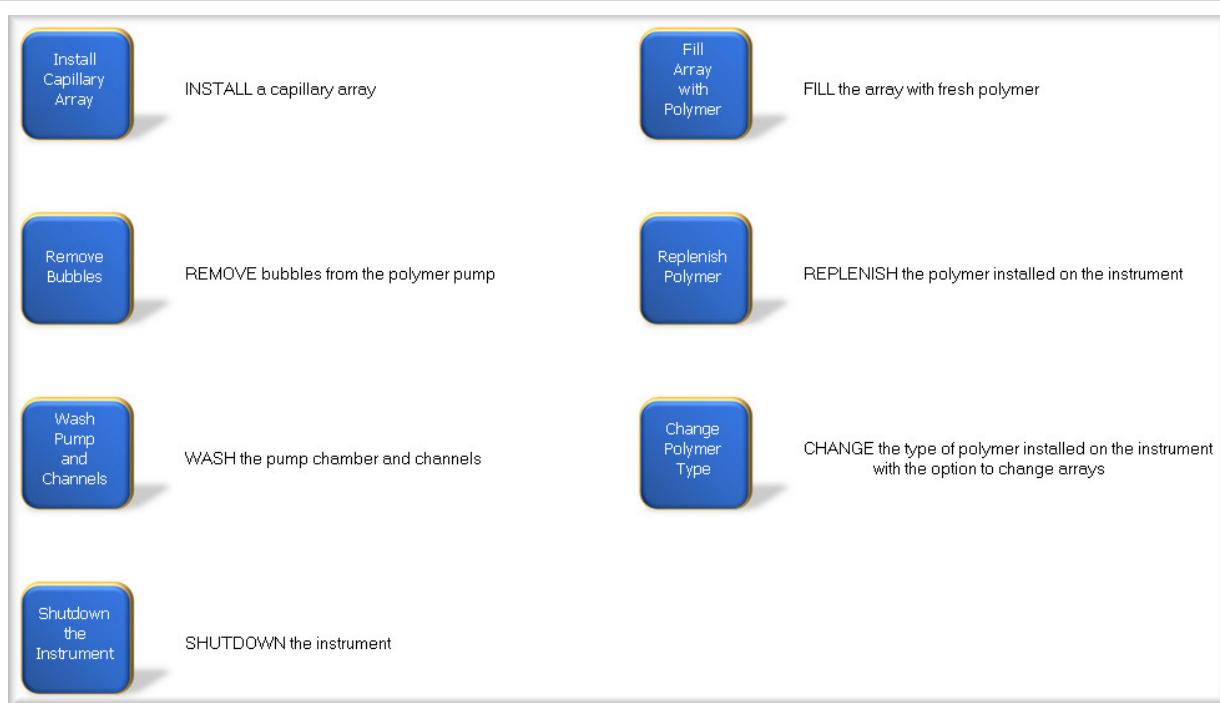


Jedná se o následující operace (pořadí operací není důležité):

- Instalace kapilární sady
- Odstranění bublin z polymerové pumpy
- Promytí pumpy a kanálků
- Plnění kapilární sady čerstvým polymerem
- Doplnění polymeru instalovaného v přístroji
- Změna typu polymeru instalovaného v přístroji se současnou možností výměny kapilární sady.
- Odstávka přístroje.

DŮLEŽITÉ! Jakmile je průvodce spuštěn, nelze jej stornovat.

DŮLEŽITÉ! Promyjete-li přístroj pomocí regeneračního roztoku, ujistěte se před provedením následných kroků (vyjma průvodce promytím pumpy a kanálků), že hladina pufru v zásobníku na anodový pufr je na nebo nad plnící ryskou.



Doplnění polymeru

DŮLEŽITÉ! Pokud byl polymer již instalován na jednom typu přístroje, nepoužívejte jej na jiném typu přístroje. Např. pokud jste instalovali nový váček s polymerem na přístroji 3500 (8-kapilární), nepoužívejte tento polymer na přístroji 3500xL (24-kapilární). Pokud to uděláte, může být váček použit na méně vzorků/nástříků než dle specifikace.

Podrobné informace o riziku vyplývajícím z používání určitých chemikálií naleznete v části "[Specifické výstrahy](#)" na straně 333.

⚠️ VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Polymery POP-4™, POP-6™ a POP-7™.

Více informací viz "[Spotřební materiál a reagencie](#)" na straně 9.

Doplňujete-li polymer v přístroji, tzn. neměnите typ polymeru, postupujte podle pokynů níže:

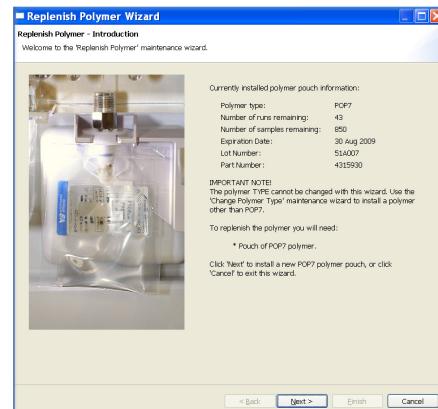
DŮLEŽITÉ! Vyjměte-li z přístroje váček s polymerem, který chcete uchovat, nezapomeňte jej uzavřít pomocí víčka (tzv. Pouch Cap, kat. č. 4412619) a do přístroje nasadte prázdný váček nebo regenerační roztok, čímž zabráníte vysychání zbytkového polymeru.

1. Na obrazovce Maintenance Wizards (Průvodce údržbou) klikněte na **Replenish Polymer (Doplnit polymer)**.



Poznámka: Průvodce doplněním polymeru trvá 10 až 20 min.

2. Postupujte podle pokynů na obrazovce.
3. Kliknutím na ikonu **Refresh (Obnovit)** na Ovládacím panelu aktualizujete obrazovku.
4. V části Quick View Ovládacího panelu by se měla po doplnění polymeru aktualizovat informace o jeho stavu.



Změna typu polymeru

DŮLEŽITÉ! Pokud byl polymer již instalován na jednom typu přístroje, nepoužívejte jej na jiném typu přístroje. Např. pokud jste instalovali nový váček s polymerem na přístroji 3500 (8-kapilární), nepoužívejte tento polymer na přístroji 3500xL (24-kapilární). Pokud to uděláte, může být váček použit na méně vzorků/nástřiků než dle specifikace.

Podrobné informace o riziku vyplývajícím z používání určitých chemikálií naleznete v části “[Specifické výstrahy](#)” na straně 333.

 **VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Polymery POP-4™, POP-6™ a POP-7™.**

DŮLEŽITÉ! Vyjměte-li z přístroje váček s polymerem, který chcete uchovat, nezapomeňte jej uzavřít pomocí víčka (tzv. Pouch Cap, kat. č. 4412619) a do přístroje nasadte prázdný váček nebo regenerační roztok, čímž zabráníte vysychání zbytkového polymeru.

Více informací viz “[Spotřební materiál a reagencie](#)” na straně 9.

DŮLEŽITÉ! Dojde-li k vysychání polymeru v místě upevnění váčku do přístroje nebo v ústí váčku, může dojít k narušení funkce systému upevnění váčku. Po odstranění polymerového váčku nasadte do přístroje nový nebo prázdný váček, případně regenerační roztok. Aby nedošlo k vysychání, uzavřete váček víčkem (tzv. Pouch Cap, kat. č. 4427991).

Poznámka: Váčky s prošlým datem expirace nelze v přístroji použít.

1. Vyjměte polymer z lednice (4 °C).
2. Nechte polymer temperovat na pokojovou teplotu.
3. Ověřte na jeho obalu, že polymer není expirovaný.

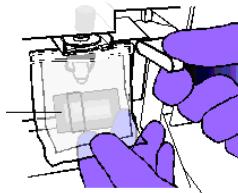
DŮLEŽITÉ! Váček s polymerem nepoužívejte je-li poškozený nebo chybí svrchní zapečetění.

4. Odstraňte zapečetění váčku.

Poznámka: V ústí váčku můžete příležitostně spatřit malou kapku polymeru (zbytek po plnění váčku ve výrobě). Tato kapka **nepůsobí** žádné problémy s fungováním polymeru.

5. Nasuňte váček na ústí pákového mechanismu pro uchycení polymeru. Zatlačte páku nahoru, čímž nasadíte váček na vyústění polymerové pumpy.

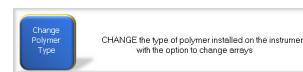
Poznámka: RFID čip musí být orientován směrem k přístroji (a ne k vám), jenom tak budou údaje z čipu RFID načteny správně.



RFID čip směrem k přístroji

6. Pokud vyjímáte částečně spotřebovaný váček, který chcete v budoucnu použít, uzavřete jej víckem a uchovejte dle doporučení.

7. Na obrazovce Maintenance Wizards (Průvodce údržbou) klikněte na **Change Polymer Type** (Změna typu polymeru).



CHANGE the type of polymer installed on the instrument with the option to change arrays

DŮLEŽITÉ! Tento průvodce umožňuje změnit typ polymeru instalovaného v přístroji s volitelnou možností současně výměny kapilární sady.

Poznámka: Průvodce změnou typu polymeru trvá 60 až 70 min.

8. Postupujte podle pokynů na obrazovce.

Poznámka: Výměna polymeru vyžaduje použití regeneračního roztoku (Conditioning Reagent). Viz "[Použití regeneračního roztoku](#)" na straně 250.



9. Kliknutím na ikonu **Refresh** (**Obnovit**) na Ovládacím panelu aktualizujete obrazovku.
10. V části Quick View Ovládacího panelu by se měla po výměně polymeru aktualizovat informace o jeho stavu.

Částečně spotřebovaný polymer

DŮLEŽITÉ! Pokud byl polymer již instalován na jednom typu přístroje, nepoužívejte jej na jiném typu přístroje. Např. pokud jste instalovali nový váček s polymerem na přístroji 3500 (8-kapilární), nepoužívejte tento polymer na přístroji 3500xL (24-kapilární). Pokud to uděláte, může být váček použit na méně vzorků/nástřiků než dle specifikace.

Vyjměte-li z přístroje váček s polymerem, který chcete uchovat, nezapomeňte jej uzavřít pomocí víčka (tzv. Pouch Cap, kat. č. 4412619) a uchovávejte váček dle doporučení.

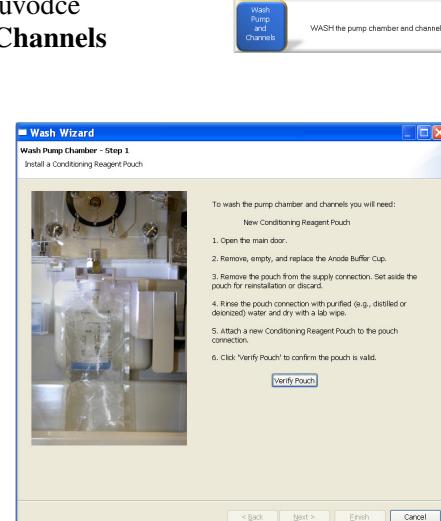
Dojde-li k vysychání polymeru v místě upevnění váčku do přístroje nebo v ústí váčku, může dojít k narušení funkce systému upevnění váčku. Po odstranění polymerového váčku nasadte do přístroje nový nebo prázdný váček, případně regenerační roztok. Aby nedošlo k vysychání, uzavřete váček víčkem (tzv. Pouch Cap, kat. č. 4427991).

DŮLEŽITÉ! Při instalaci váčku postupujte podle pokynů průvodce.

Promytí pumpy a kanálků

Poznámka: Průvodce promytím pumpy a kanálků trvá více než 40 min.

1. Na obrazovce Maintenance Wizards (Průvodce údržbou) klikněte na **Wash Pump and Channels (Promytí pumpy a kanálků)**.
2. Postupujte podle pokynů na obrazovce.



Použití regeneračního roztoku (tzv. conditioning reagent)

Více informací viz „Spotřební materiál a reagencie“ na straně 9.

DŮLEŽITÉ! Expirovaný regenerační roztok nelze v přístroji použít. Roztok je určen pro jednorázové použití.

Použití regeneračního roztoku je dáno průvodci jednotlivými kroky údržby.

Kvalitu dat může výrazně zhoršit kontaminace. Abyste zabránili kontaminaci, používejte původní zabalený polymer, anodový a katodový pufr a regenerační roztok.

Používejte pouze originální součásti a reagencie. Použití jiných součástí či reagencí vede ke snížené kvalitě výsledků, případně k poškození přístroje.

Informace ke zprovoznění (iniciaci) pumpy a spuštění běhu naleznete v [Kapitole 3 Zadání a spuštění](#).

Informace nezbytné k používání regeneračního roztoku (Conditioning Reagent) naleznete v části Quick View Ovládacího panelu.

Poznámka: Regenerační roztok instalujte pouze pokud vás k tomu vyzve některý z průvodců údržbou přístroje.

Chcete-li regenerační roztok (conditioning reagent) použít v přístroji

1. Ověřte na jeho obalu, že regenerační roztok není expirovaný.

DŮLEŽITÉ! Váček s regeneračním roztokem nepoužívejte je-li poškozený nebo chybí svrchní zapečetění.

2. Odstraňte zapečetění váčku.
3. Nasuňte váček na ústí pákového mechanismu pro uchycení polymeru. Zatlačte páku nahoru, čímž nasadíte váček na vyústění polymerové pumpy.

Poznámka: RFID čip musí být orientován směrem k přístroji (a ne k vám), jenom tak budou údaje z čipu RFID načteny správně.

4. Postupujte podle pokynů na obrazovce.
5. Kliknutím na ikonu **Refresh** (**Obnovit**) na Ovládacím panelu aktualizujete obrazovku.


RFID čip směrem k přístroji
6. V části Quick View Ovládacího panelu by se měla po výměně regeneračního roztoku aktualizovat informace o jeho stavu.

Plnění kapilární sady čerstvým polymerem

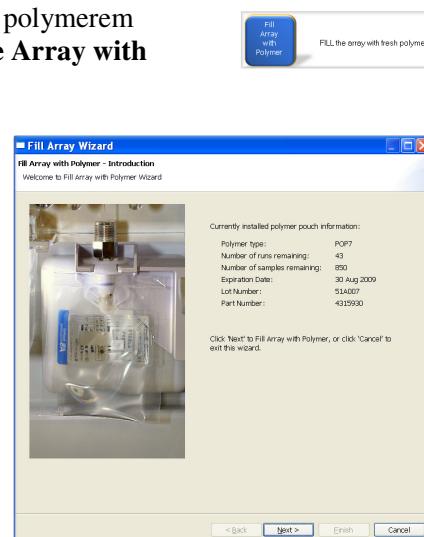
Podrobné informace o riziku vyplývajícím z používání určitých chemikálií naleznete v části “Specifické výstrahy” na straně 333.

! VÝSTRAHA! CHEMICKÉ RIZIKO. Polymery POP-4™, POP-6™ a POP-7™.

Více informací viz “Spotřební materiál a reagencie” na straně 9.

Plnění kapilární sady čerstvým polymerem je dáno průvodci jednotlivými kroky údržby.

1. Chcete-li naplnit kapilární sadu čerstvým polymerem (stejný typ polymeru), klikněte na **Fill the Array with fresh Polymer**.
2. Postupujte podle pokynů na obrazovce.
3. Kliknutím na ikonu **Refresh (Obnovit)** na Ovládacím panelu aktualizujete obrazovku.
4. V části Quick View Ovládacího panelu by se měla po plnění kapilární sady čerstvým polymerem aktualizovat informace o stavu systému.



Odstranění bublin z polymerové pumpy

Odstraňte bubliny z polymerové pumpy před každým během. Více informací viz “Úkony údržby prováděné denně” na straně 230.

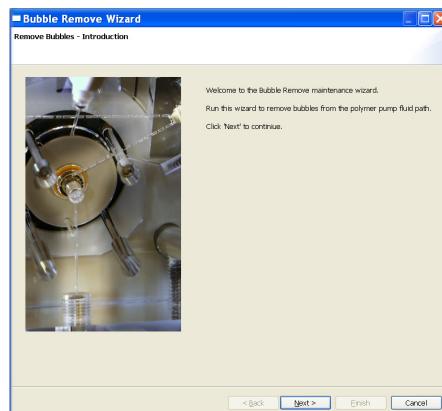
DŮLEŽITÉ! Při manipulaci s polymerem, kapilární sadou, septy nebo zásobníkem na katodový pufr používejte rukavice.

1. Bubliny se do systému dostávají z váčku na polymer, skrz vyústění kapilární sady a ze zásobníku na anodový pufr. Chcete-li je odstranit, klikněte na **Remove Bubbles (Odstranit bubliny)**.



Poznámka: Průvodce odstraněním bublin trvá 5 až 15 min.

2. Postupujte podle pokynů na obrazovce.
3. V části Quick View Ovládacího panelu by se měla po odstranění bublin aktualizovat informace o stavu váčku s polymerem



Výměna kapilárních sad



VAROVÁNÍ! OSTRÉ HROTY Konce kapilár jsou tvořeny tupými ale malými hroty a mohou způsobit bodné zranění.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že hrot kapilár nejsou poškozeny.

Více informací viz "[Spotřební materiál a reagencie](#)" na straně 9.

1. Na obrazovce Maintenance Wizards (Průvodce údržbou) klikněte na **Install Capillary Array (Instalace kapilární sady)**.



Poznámka: Průvodce instalací kapilární sady trvá 15 až 45 min.

2. Postupujte podle pokynů na obrazovce.
3. V části Quick View Ovládacího panelu by se měla po výměně kapilární sady aktualizovat informace o jejím stavu.



Odstávka přístroje

Průvodce odstávkou přístroje použijte při odstavení přístroje z provozu.

- Na obrazovce Maintenance Wizards (Průvodce údržbou) klikněte na **Shutdown the Instrument (Odstávka přístroje)**.

Poznámka: Průvodce odstávkou přístroje trvá 60 min.

- Postupujte podle pokynů na obrazovce.

Způsob odstávky přístroje zvolte na základě následující tabulky:



DŮLEŽITÉ! Při provádění odstávky přístroje umístěte do přístroje regenerační roztok (conditioning reagent).

Bude-li odstávka trvat ...	proveděte odstavení přístroje z provozu takto:
ne více než 1 týden	Odstavení z provozu neprovádějte.
1 až 2 týdny	DŮLEŽITÉ! Elektrody na spodním konci kapilární sady udržujte v 1× pufru, aby nedocházelo k vysychání polymeru v kapilárách. Je-li hladina příliš nízká, přidejte do pufru destilovanou vodu. Chcete-li přístroj znova spustit, dejte do přístroje nový zásobník na katodový pufr.
více než 2 týdny	Dlouhodobé odstavení z provozu. Použijte průvodce Shutdown the Instrument (Odstávka přístroje) .

Údržba počítače

V této části jsou uvedeny běžné úkony, jejichž provádění umožní udržet počítač vašeho genetického analyzátoru Applied Biosystems 3500/3500xL v dobrém stavu provozuschopnosti.

Řešení problémů s počítačem viz [Příloha E „Řešení problémů“ na straně 299](#).

Odinstalování softwaru

Chcete-li odinstalovat software, jste vyzváni k zálohování dat (adresáře, který obsahuje položky knihoven, jež jste vytvořili, jako jsou destičky a protokoly).

DŮLEŽITÉ! Zálohu neumisťujte do instalačního adresáře, neboť ten je při odinstalování softwaru odstraněn.

Archivace, vymazání a obnovení dat

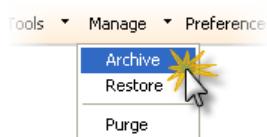
- **Archivace (Archive)** – Vytvoří kopii dat do externího souboru, který můžete uložit do libovolného adresáře.
- **Vymazání (Purge)** – Umožní vymazat uživatelem vytvořené položky uložené v knihovně. Továrně vytvořené položky nejsou vymazány, položky můžete rovněž archivovat.
- **Obnovení (Restore)** – Obnoví archivované položky.

DŮLEŽITÉ! Tyto funkce mají vliv na položky uložené v knihovnách. Nemají vliv na datové soubory.

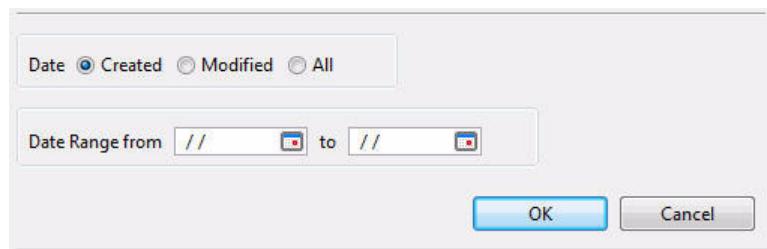
Četnost Společnost Applied Biosystems doporučuje vymazání položek z knihoven každé tři měsíce.

Archivace položek v knihovnách Funkce archivace umožní archivovat položky uložené v knihovnách. Chcete-li archivovat záznamy o sledování změn (audit), postupujte podle pokynů v části [“Archivace, vymazání a obnovení záznamů o sledování změn“ na straně 214](#).

1. Klikněte na Archive (Archivace).



2. Definujte rozsah dat určených k archivaci a klikněte na **OK**.



3. Definujte cílový adresář a název archivu (.dsz), poté klikněte na Save (Uložit). Po ukončení archivace se zobrazí informativní zpráva.

DŮLEŽITÉ! Neukládejte archiv do adresáře
x:\Applied Biosystems\3500\datastore, jinak bude archiv při odinstalování
softwaru odstraněn.

Pokud zvolíte adresář, do něhož nemáte oprávnění ukládat data, objeví se
výstražná hláška a máte možnost uložit soubor do jiného adresáře.

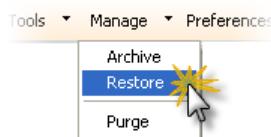
Archivace souborů Datové soubory můžete archivovat dvojím způsobem:

1. Start > Control Panel > System and Maintenance > Backup and Restore Center
NEBO
Programs > Accessories > System tools > Backup
2. Použijte jednu z možností pro zálohování datových souborů.

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

Obnovení Tato funkce obnoví položky uložené v knihovně. Chcete-li obnovit záznamy o
sledování změn (audit), postupujte podle pokynů v části "[Archivace, vymazání a
obnovení záznamů o sledování změn](#)" na straně 214.

1. Klikněte na Restore (Obnovit).



2. Zvolte archiv (.dsz), který chcete obnovit, poté klikněte **Open (Otevřít)**.
Jsou-li v archivu položky, které již v systému existují, objeví se informativní
zpráva.



3. Zvolte jednu z možností.

Po ukončení obnovení se zobrazí informativní zpráva.

Vymazání Tato funkce vymaže položky uložené v knihovně. Chcete-li vymazat záznamy o sledování změn (audit), postupujte podle pokynů v části [“Archivace, vymazání a obnovení záznamů o sledování změn” na straně 214.](#)

1. Klikněte na Purge (Vymazat).



2. Objeví-li se výstražná zpráva, klikněte na **Yes (Ano)**, čímž potvrdíte, že chcete všechny záznamy z knihovny definitivně vymazat.
3. Definujte rozsah dat určených k vymazání a klikněte na **OK**.
4. Klikněte na **Yes (Ano)** objeví-li se výstražná zpráva.

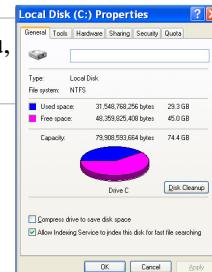
Po ukončení vymazání se zobrazí informativní zpráva.

Kontrola volného prostoru na disku

Zajistěte, aby na disku byl neustále dostatek místa:

- Archivujte data
- Mažte nepotřebné soubory
- Vyprazdňujte odpadkový koš
- Defragmentujte disky

Stav pevného disku Zkontrolujte velikost volného místa na disku D.
Chcete-li zkontovalovat velikost volného místa, zvolte My Computer, klikněte pravým tlačítkem myši na disk D, zvolte Properties (Vlastnosti), klikněte na záložku **General (Obecné)**.



Poznámka: Program Data Collection zobrazí zprávu v okamžiku, kdy disk bude plný z 70-75% (při 78% se nespustí běh).

Není-li na disku dost místa:

- Archivujte soubory s výsledky.
- Vymažte soubory s výsledky z disku D a vyprázdněte Koš (Recycle Bin).

Defragmentace pevného disku

Defragmentaci lze naplánovat do kalendáře. Jsou-li soubory fragmentovány, má to vliv na fungování programu Data Collection a operační systém počítače. Programům trvá načtení souborů déle jsou-li fragmentovány.

Zvolte Start > Programs > Accessories > System Tools > Disk Defragmenter a postupujte podle pokynů.

Poznámka: Můžete kliknout na tlačítko **Analyze (Analyzovat)**, abyste viděli, zda je defragmentace nutná.

Kontrola volného prostoru všech disků

Před každým během kontroluje program Data Collection volné místo na disku. Není-li na disku dost místa na ukládání dat, zobrazí se následující zpráva:

Remove data: the drive is getting full
(Odstraňte soubory: disk je příliš zaplněn)

Zkontrolujte chybové hlášky, které se zobrazí (okno Event Log). Viz [Příloha E](#) „[Řešení problémů](#)“ na straně 299.

Zkontrolujte rovněž stavovou diodu v levém dolním okně programu Data Collection zda nebliká červeně.

Kontrola záznamů o údržbě

V programu jsou pro zpětnou kontrolu kroků údržby vedeny záznamy (Notifications Log). Jedná se o seznam všech výzev k provádění kroků údržby spolu s informací o tom, zda daný krok byl/nebyl proveden. Záznamy poskytují informace o stavu stroje v době provádění předešlých běhů.

Aktuální kroky údržby se zobrazují na Ovládacím panelu (Dashboard) jak je popsáno níže.

Údaje je možné třídit podle více sloupců (viz „[Třídění podle více sloupců](#)“ na straně 72).

Chcete-li z Ovládacího panelu záznamy otevřít:

1. Klikněte na **Maintain Instrument (Údržba přístroje)**.
2. V levé části okna v sekci Planned Maintenance (Plánovaná údržba) klikněte na **Notifications Log (Záznamy o údržbě)**.

Více informací získáte po kliknutí na v levé horní části okna Notification Log.

V záznamech získáte o každém úkonu tyto informace:

Záznam	Popis
Name – Název	Název úkonu.
Priority – Priorita	Priorita úkonu.
Notification Date – Datum oznámení	Datum oznámení úkonu.
Status – Stav	Aktuální stav úkonu.
User – Uživatel	Jméno uživatele.
Acknowledge Date/Time – Datum provedení/zamítnutí	Datum a čas provedení/zamítnutí úkonu.
Description – Popis	Popis úkonu.

Interval připomenutí kroků údržby je definován v Nastavení (Preferences). Na Ovládacím panelu klikněte na Preferences (Nastavení), otevře se dialogové okno Preferences, klikněte na Scheduler Preference (Interval připomenutí kroků údržby) a postupujte podle pokynů.

Servisní záznamy

Servisní záznamy jsou seznamem všech kroků, které provádí servisní technik společnosti Applied Biosystems při servisu přístroje.

Chcete-li z Ovládacího panelu záznamy otevřít:

1. Klikněte na **Maintain Instrument (Údržba přístroje)**.
2. V levé části okna v sekci Planned Maintenance (Plánovaná údržba) klikněte na **Service Log (Servisní záznamy)**.

Více informací získáte po kliknutí na  v levé horní části okna Service Log.

Servisní záznamy jsou seznamem všech servisních zásahů v systému počínaje nejnovějším zásahem. V záznamech získáte o každém úkonu tyto informace:

Záznam	Popis
Ticket Number – Číslo zásahu	Číslo servisního zásahu.
Service Type – Typ zásahu	Typ servisního zásahu.
Event Occur Date – Datum události	Datum, kdy došlo k závadě.
Service Start Date – Počátek servisu	Datum, kdy byl zahájen servisní zásah.
Service End Date – Konec servisu	Datum, kdy byl ukončen servisní zásah.
Service Engineer – Jméno technika	Jméno servisního technika.
Reason – Důvod	Důvod zaznamenání události.
Comments - Komentář	Dodatečný komentář.

Spotřební reagencie a moduly běhů

A

Reagencie pro sekvenování

Poznámka: Více informací naleznete v příslušném příbalovém letáku.

V následující tabulce jsou uvedeny veškeré reagencie pro sekvenování.

Tabulka 27 Reagencie pro sekvenování

Název	Kat. číslo	Skladování	Životnost v přístroji při pokojové teplotě
BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Cycle Sequencing Kit 24 reakcí	4337454	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Cycle Sequencing Kit 100 reakcí	4337455	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Cycle Sequencing Kit 1000 reakcí	4337456	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Cycle Sequencing Kit 5000 reakcí	4337457	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Cycle Sequencing Kit 24 reakcí	4337449	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Cycle Sequencing Kit 100 reakcí	4337450	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Cycle Sequencing Kit 1000 reakcí	4337451	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Cycle Sequencing Kit 5000 reakcí	4337452	-15 °C až -25 °C	24 hod

Tabulka 28 Sekvenační standardy

Název	Kat. číslo	Skladování	Životnost v přístroji při pokojové teplotě
BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Sequencing Standard (long read)	4404312	-15 °C až -25 °C	24 hod

Tabulka 28 Sekvenační standardy

Název	Kat. číslo	Skladování	Životnost v přístroji při pokojové teplotě
BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Sequencing Standard (long read)	4404314	-15 °C až -25 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v3.1 Matrix Standard	4336974	2 °C až 8 °C	24 hod
BigDye® Terminator (BDT) v1.1 Matrix Standard	4336824	2 °C až 8 °C	24 hod

Reagencie pro fragmentační analýzu a HID

Poznámka: Datum expirace naleznete na obalu.

V následující tabulce jsou uvedeny veškeré reagencie pro fragmentační analýzu a HID.

Tabulka 29 Standardy pro fragmentační analýzu a HID

Název	Kat. číslo	Skladování	Životnost v přístroji při pokojové teplotě
Fragment Analysis Matrix Standards (5-Dye) -DS-02	4323014	2 až 8 °C	24 hod
Fragment Analysis Matrix Standards (4-dye) - DS-32	4345831	2 až 8 °C	24 hod
Fragment Analysis Matrix Standards (5-Dye) -DS-33	4345833	2 až 8 °C	24 hod
Fragment Analysis Installation kit (5-Dye) -DS-33	4376911	2 až 8 °C	24 hod
GS120LIZ Size Standard	4322362	2 až 8 °C	24 hod
GS500ROX Size Standard	401734	2 až 8 °C	24 hod
GS600 LIZ Size Standard v2 (for Normalization)	4408399	2 až 8 °C	24 hod
GS1200 LIZ Size Standard	4379950	2 až 8 °C	24 hod

Soubory barev pro sekvenování

Poznámka: Datum expirace naleznete na obalu.

V následující tabulce jsou uvedeny veškeré soubory barev pro sekvenování.

Tabulka 30 Soubory barev pro sekvenování

Soubor barev	Použití
E (v1.1 BigDye® Terminator)	Rychlé DNA sekvenování
Z (3.1 BigDye® Terminator)	DNA sekvenování

Soubory barev pro fragmentační analýzu

Poznámka: Datum expirace naleznete na obalu.

V následující tabulce jsou uvedeny veškeré soubory barev pro fragmentační analýzu.

Tabulka 31 Soubory barev pro fragmentační analýzu

Soubor barev	Použití
E5	Souprava SNaPshot®
G5	DNA sizing – 5 barev
J6	DNA sizing – 6 barev
F	DNA sizing – 4 barvy
Any dye (Jakákoliv barva)	DNA sizing

Soubory barev pro HID

Tabulka 32 Soupravy AmpFℓSTR

Soupravy AmpFℓSTR®	Soubor barev (pro modul HID Fragment Analysis 36_POP4)
4-barevné: • COfiler® • Profiler Plus® • Profiler Plus® ID • SGM Plus® • Jiné 4-barevné soupravy	F
5-barevné: • Identifiler® • Minifiler™ • SEfiler™ Plus • SinoFiler™ • Yfiler® • Jiné 5-barevné soupravy	G5

Moduly běhů

Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro sekvenování)

Na základě následující tabulky zvolte kapilární sadu a polymer tak, aby byly splněny vaše požadavky na délku a rychlosť čtení.

Tabulka 33 Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro sekvenování)

Typ modulu & Název modulu	Konfigurace		Počet analýz během 23 hod†			Výsledek Spojité délka čtení - Contiguous Read Length (CRL)§
	Délka kapiláry (cm)	Typ polymeru	Doba běhu (min)	3500	3500xL	
Rapid sequencing – Velmi rychlé sekvenování RapidSeq50_POP7	50	POP-7™	≤40	≥280	≥840	≥500
Standard sequencing – Standardní sekvenování StdSeq50_POP6	50	POP-6™	≤135	≥80	≥240	≥600
Fast sequencing – Rychlé sekvenování FastSeq50_POP7	50	POP-7™	≤65	≥168	≥504	≥700
Standard sequencing – Standardní sekvenování StdSeq50_POP7	50	POP-7™	≤125	≥88	≥264	≥850
Short read sequencing – Krátké čtení ShortReadSeqPOP7	50	POP-7™	≤30	≥368	≥1104	≥300
Rapid sequencing BigDye® XTerminator™ – Velmi rychlé sekvenování, BigDye® XTerminator™ RapidSeq_BDX_50_POP7	50	POP-7™	≤40	≥280	≥840	≥500
Standard sequencing BigDye® XTerminator™ - Standardní sekvenování, BigDye® XTerminator™ StdSeq_BDX_50_POP6	50	POP-6™	≤140	≥80	≥240	≥600
Fast sequencing BigDye® XTerminator™ - Rychlé sekvenování, BigDye® XTerminator™ FastSeq_BDX_50_POP7	50	POP-7™	≤65	≥168	≥504	≥700
Standard sequencing BigDye® XTerminator™ - Standardní sekvenování, BigDye® XTerminator™ StdSeq_BDX_50_POP7	50	POP-7™	≤125	≥88	≥264	≥850
Short read sequencing BigDye® XTerminator™ - Krátké čtení, BigDye® XTerminator™ ShortReadSeq_BDX_POP7	50	POP-7™	≤30	≥368	≥1104	≥300
Microbial Sequencing – Sekvenování mikrobiální DNA MicroSeq_POP7	50	POP-7™	≤125	≥88	≥264	≥850

Tabulka 33 Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro sekvenování) (pokračování)

Typ modulu & Název modulu	Konfigurace		Počet analýz během 23 hod‡			Výsledek Spojitá délka čtení - Contiguous Read Length (CRL)§
	Délka kapiláry (cm)	Typ polymeru	Doba běhu (min)	3500	3500xL	
Microbial Sequencing – Sekvenování mikrobiální DNA MicroSeq_POP6	50	POP-6™	≤135	≥80	≥240	≥600

‡ Počet vzorků za den: Celkový počet vzorků analyzovaných během 23 hod (0.5 hod počítáno na nastavení stroje a 0.5 hod na předehřátí).

§ Nejdelší nepřerušovaný úsek sekvence s ukazatelem kvality (QV) ≥ 20. Program hodnotí QV pro každou bázi a pro sousední báze (okno +/- 20 bází). Počítáno na základě vzorku AB Long Read Standard. Výpočet začíná od báze č.1. Délka čtení je počítána od střední báze prvního dobrého okna až po střední bázi posledního dobrého okna, kde "dobrým" oknem se rozumí okno s průměrem QV ≥ 20.

Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro fragmentační analýzu a HID)

Tabulka 34 Kapilární sada a polymer (moduly běhů pro fragmentační analýzu a HID)

Typ modulu & Název modulu	Konfigurace		Počet analýz během 23 hod‡			Výsledek				
	Délka kapiláry (cm)	Typ polymeru	Doba běhu (min)	3500	3500xL	Rozsah§	Přesnost odečtu velikostí fragmentů#	50bp- 400bp	401bp- 600bp	601bp- 1200bp
Fragment analysis – Fragmentační analýza FragmentAnalysis50_POP7	50	POP-7™	≤40	≥280	≥840	≤40 až ≥520	<0.15	<0.30	NA##	
Fragment analysis – Fragmentační analýza FragmentAnalysis50_POP6	50	POP-6™	≤100	≥112	≥336	≤20 až ≥550	<0.15	<0.30	NA##	
Long fragment analysis – Dlouhá fragmentační analýza LongFragAnalysis50_POP7	50	POP-7™	≤125	≥88	≥360	≤40 až ≥700	<0.15	<0.30	<0.45	
HID HID36_POP4	36	POP-4™	≤35	≥312	≥936	≤60 až ≥400	<0.15	NA##	NA##	
HID HID36_POP7	36	POP-7™	≤26	≥424	≥1272	≤60 až ≥400	<0.15	NA##	NA##	
SNaPshot® SNaPshot50_POP7	50	POP-7™	≤30	≥376	≥1104	≤40 až ≥120	<0.50	NA##	NA##	

‡ Počet vzorků za den: Celkový počet vzorků analyzovaných během 23 hod (0.5 hod počítáno na nastavení stroje a 0.5 hod na předehřátí).

- § Rozsah (Range): Rozsah velikostí fragmentů, v němž je docíleno rozlišení ≥ 1 . Rozlišením se rozumí vzdálenost mezi páky vydělená šírkou páku měřenou v polovině jeho výšky, získáno za použití velikostních standardů GS600 nebo GS1200 LIZ a při použití metody nejmenších čtverců třetího rádu pro odečet velikostí jejich fragmentů. Tabulka znázorňuje rozsah velikostí, v němž bylo toto rozlišení dosaženo u $\geq 90\%$ vzorků.
- # Přesnost odečtu velikostí fragmentů (Sizing Precision): Standardní odchylka velikostí jedné alely v instalačním standardu DS-33 získaná při použití velikostního standardu GS600 LIZ v kapilárách téhož běhu. Aby byla v jednom nástřiku splněna podmínka dosažení požadované přesnosti, musí 100% alel v tomto nástřiku splnit toto kritérium. Tabulka znázorňuje přesnost odečtu velikostí 100% alel v $\geq 90\%$ vzorků.

†† Nelze stanovit, neboť to neumožňuje velikost fragmentů v daném běhu.

Sekundární analýza: Sekvenování

B

Provedení sekundární analýzy při sekvenování

Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL a program 3500 Series Data Collection umožňují propojit výstupy přístroje s programy sekundární analýzy výsledků SeqScape® v2.7 a MicroSeq® ID v2.2. Vzorky jsou automaticky načteny do těchto programů a analyzovány v souladu s protokoly, jejichž použití bylo definováno pro každou destičku před jejím spuštěním.

Program	Účel
SeqScape®	Resekvenování – detekce SNP, mutací, identifikace haplotypů, typizace patogenů, ověřování sekvence klonů.
MicroSeq® ID	Srovnávací sekvenování – identifikace bakterií a hub.

Automatická analýza

Automatickou analýzu lze provést pouze na počítači, který je určen pro ovládání genetického analyzátoru, proto musí být programy SeqScape® nebo MicroSeq® ID instalovány na též počítači jako program 3500 Series Data Collection (operační systém Windows Vista®). Automatický odečet bází je prováděn za použití algoritmu KB™ Basecaller v1.4.1 (odečet čistých nebo směsných bází a určení ukazatelů kvality) a následná automatická analýza je prováděna pomocí programů SeqScape® nebo MicroSeq® ID.

Níže je popsán postup vytvoření templátů a projektů v programu SeqScape® a dále nastavení pro provedení automatické analýzy v programu 3500 Series Data Collection. Po skončení běhu jsou výsledky plynule převedeny do programu SeqScape® a v něm analyzovány.

Poznámka: Podrobný popis nastavení programu MicroSeq® ID a nastavení automatické analýzy v programu 3500 Series Data Collection viz, příručka *MicroSeq® ID v2.2 Getting Started Guide*.

Vytvoření projektu pro automatickou analýzu v programu SeqScape®

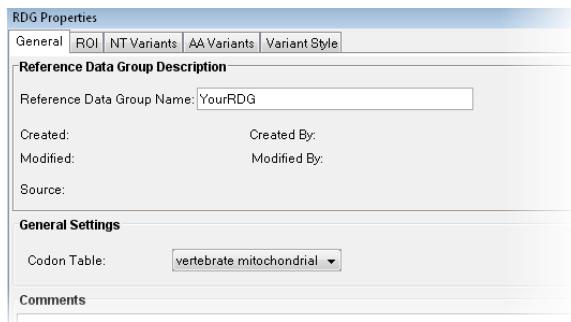
DŮLEŽITÉ! Používáte-li pro automatickou analýzu výsledků program SeqScape®, musí být jeho v2.7 instalována na *tomtéž* počítači, na kterém je i program 3500 Series Data Collection.

Před spuštěním běhu na přístroji 3500/3500xL musíte v programu SeqScape® vytvořit nový projekt. Analýza v programu SeqScape® probíhá v rámci projektů. Projekt vytvoříte takto:

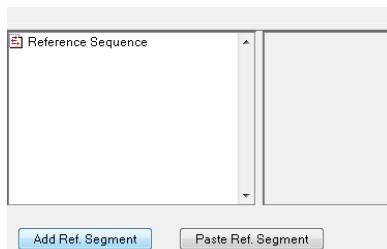
1. Importujte referenční sekvenci a vytvořte RDG (Reference Data Group).
2. Definujte parametry analýzy a zobrazení.
3. Vytvořte templát projektu.
4. Vytvořte prázdný projekt a definujte jedince (specimen).

Import referenční sekvence

1. Spusťte program SeqScape®, zvolte **Tools > SeqScape Manager (Nástroje > Správce programu SeqScape)**.
2. Zvolte záložku **Reference Data Group (Referenční skupina dat)**, klikněte na **New (Nová)** a zadejte název.



3. Zvolte záložku **ROI** (Regions of Interest – Oblasti zájmu), klikněte na **Add Ref. Segment (Přidat část ref. sekvence)**.



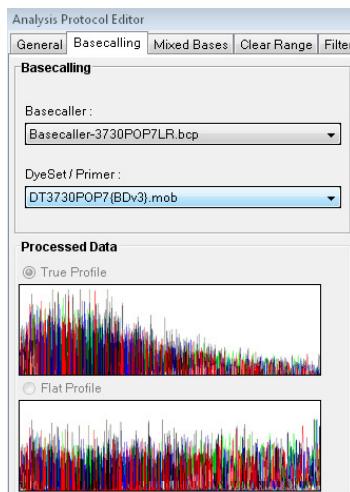
4. Vyberte soubor obsahující vaši referenční sekvenci a klikněte na **Import**.
5. V záložce **NT Variants (NT varianty)** definujte nukleotidové varianty referenční sekvence, poté klikněte na **Import** a importujte .txt soubor (tabelátem oddělená data) nebo multi fasta soubor (.fsta).

Poznámka: Při importu aminokyselinových variant použijte formát .txt.

6. Klikněte na **OK**.

Definice parametrů

1. Zvolte **Tools > SeqScape Manager (Nástroje > Správce programu SeqScape)**.
2. Zvolte záložku **Analysis Protocols (Protokoly analýzy)**, klikněte na **New (Nový)** a zadejte název.
3. Zvolte záložku **Basecalling (Odečet bází)**, zvolte Basecaller a soubor DyeSet/Primer.



Poznámka: Není-li to nezbytně nutné, neměňte nastavení v sekci Processed Data (Zpracovaná data), Ending Base (Poslední báze) a Quality Threshold (Prahová hodnota kvality).

4. V záložce Mixed Bases (Směsné báze) definujte práh rozlišení směsných bází.
5. Záložky Clear Range a Filter ponechejte beze změn, klikněte na **OK**.
6. Zvolte záložku **Analysis Defaults (Přednastavené parametry analýzy)**, klikněte na **New (Nové)** a zadejte název.
7. V záložce **Sample (Vzorek)** zvolte v rozbalovací nabídce protokol analýzy, který jste právě vytvořili.
8. Záložky Project (Projekt) a Specimen (Jedinec) ponechejte beze změn, klikněte na **Save (Uložit)**. Ve většině případů použijete přednastavené parametry zobrazení (Default Display Settings) a budete pokračovat vytvořením templátu projektu.

Vytvoření templátu projektu

1. Zvolte **Tools > SeqScape Manager** (Nástroje > Správce programu SeqScape).
2. Zvolte záložku **Project Templates** (Templáty projektů), klikněte na **New (Nový)** a zadejte název.
3. V rozbalovacích nabídkách Reference Data Group (Referenční skupina dat) a Analysis Defaults (Přednastavené parametry analýzy) zvolte právě vytvořená nastavení.
4. Použijete přednastavené parametry zobrazení (Default Display Settings), klikněte na **OK**.

Tím je vytvořen templát projektu.

Vytvoření prázdného projektu

1. V programu SeqScape® zvolte **File > New Project** (Soubor > Nový projekt).
2. Zadejte název projektu.
3. V seznamu templátů zvolte templát projektu, který jste vytvořili.
4. Jakmile se projekt otevře, klikněte na **Add Specimen (Tools > New Specimen)** (Přidat jedince – Nástroje > Nový jedinec) a vytvořte jedince podle potřeby, poté klikněte na **OK**.
5. Zavřete program SeqScape®.

Nyní jste připraveni zadat v programu 3500 Series Data Collection běh za použití protokolu sekundární analýzy v programu SeqScape.

Definice destičky (v programu 3500 Series Data Collection) pro sekundární analýzu programem SeqScape®

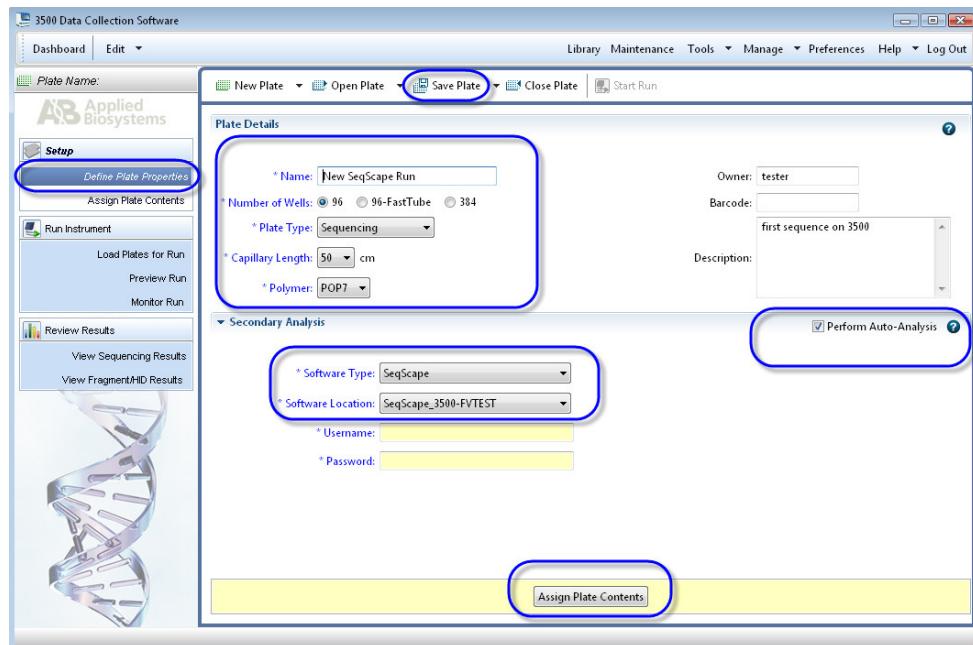
Spuštění programu 3500 Series Data Collection

1. Před spuštěním programu 3500 Series Data Collection spusťte program Auto-Analysis Manager.
2. Spusťte program 3500 Series Data Collection.
3. Zadejte název nové destičky.
4. Zvolte počet jamek (Number of Wells), zadejte typ destičky – Sekvenování (Sequencing), délku kapiláry (Capillary Length) a polymer.
5. (Volitelné) Zadejte své jméno (Owner – Majitel), čárový kód a popis destičky.



Nastavení automatické analýzy

- Zvolte možnost **Perform Auto-Analysis (Provést automatickou analýzu)**, rozbalí se okno umožňující nastavení parametrů.



- Zvolte program **SeqScape** (v části Software Type).

Poznámka: Pokud v rozbalovací nabídce v části Software Type *není* možnost SeqScape, zkontrolujte správnost instalace. Není-li program sekundární analýzy správně instalován ve vašem počítači, neobjeví se ani v této rozbalovací nabídce.

- Zkontrolujte, že v části Software Location je zobrazen název vašeho počítače.

DŮLEŽITÉ! Pro úspěch automatické analýzy je nezbytné, aby byl protokol sekundární analýzy umístěn na zde uvedeném počítači.

- Zadejte vaše uživatelské jméno (User Name) a heslo (Password) pro přístup do programu SeqScape.
- Klikněte na ikonu , čímž definici destičky uložíte, poté na **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)**.

Definice obsahu destičky

Pro jednotlivé jamky destičky zadáváte esej (Assay), pojmenování souborů (File Naming Convention) a výsledkovou skupinu (Results group).

Zadání eseje

1. Na obrazovce **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** v části Assays (Eseje) zvolte **Create New Assay (Vytvořit novou eseje)** nebo **Add From Library (Přidat z knihovny)**.



2. V dialogovém okně Setup an Assay (Zadání eseje) zvolte esej.

Poznámka: (Volitelné) Zvolte barvu eseje – zobrazuje se v náhledu destičky.

3. Zvolte protokol přístroje (Instrument Protocol) pro esej.

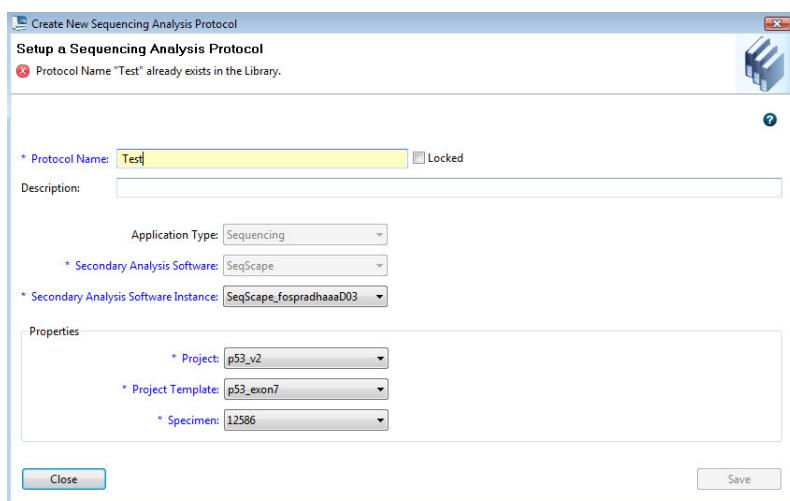
Poznámka: Více informací o protokolech přístroje viz "["Vytvoření nového protokolu přístroje"](#) na straně 165.

4. Zvolte protokol pro odečet bází (Basecalling) pro danou esej.

DŮLEŽITÉ! Ujistěte se, že toto nastavení odpovídá nastavení v části Analysis Protocol v programu SeqScape.

Poznámka: Více informací o protokolech pro odečet bází viz "["Vytvoření nového protokolu pro odečet bází - basecalling"](#) na straně 174.

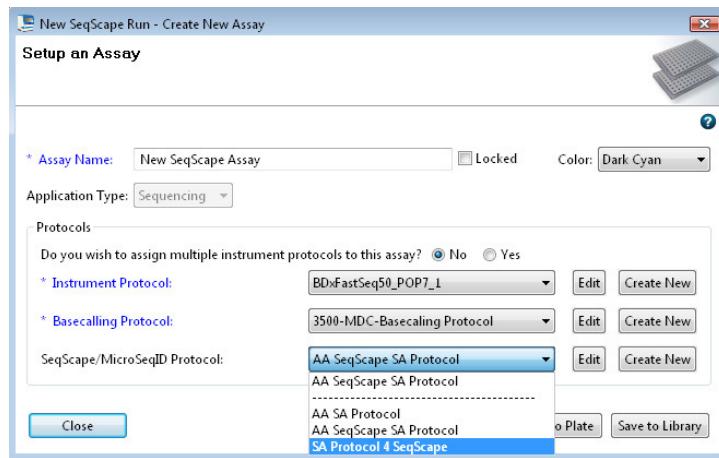
5. Klikněte na **Create New (Vytvořit nový)**, čímž vytvoříte nový protokol pro analýzu výsledků sekvenování.



- Pojmenujte nový sekvenační protokol, poté kliknutím zvolte jednoho jedince (specimen) za druhým a vždy klikněte na **Save (Uložit)**.

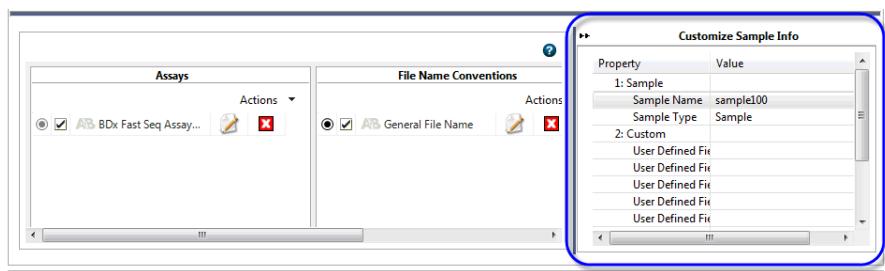
DŮLEŽITÉ! V každém protokolu SeqScape existuje jeden jedinec (specimen), pro více jedinců musíte tedy vytvořit více protokolů. Více protokolů znamená i více esejí, jelikož každá esej je propojena s jedním protokolem sekundární analýzy.

Poznámka: Více informací o nastavení protokolů sekundární analýzy naleznete v části "[Vytvoření nového sekvenačního protokolu](#)" na straně 189.



- Klikněte na tlačítko **Apply to Plate**. Chcete-li tuto esej uložit do knihovny pro opakování použití, klikněte na **Save to Library (Uložit do knihovny)**.
- Klikněte na **Close (Zavřít)**.

- Pojmenujte vzorky – označte jamky v destičce a pojmenujte vzorky v části **Customize Sample Info**.



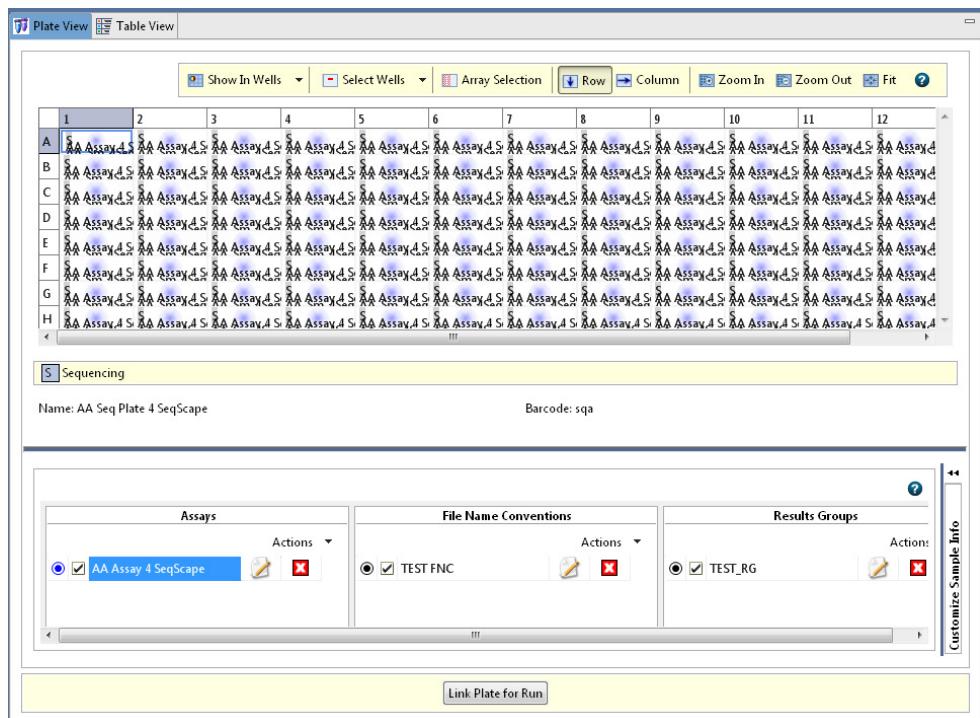
Poznámka: Více informací o pojmenování vzorků naleznete v části “[Pojmenování vzorků ve vyobrazení destičky](#)” na straně 70.

Pojmenování souborů a výsledková skupina

- Definujte způsob pojmenování souborů (File Name Convention - FNC) a parametry Výsledkové skupiny (Results Group - RG).
- Označte jamky v destičce (zobrazení Plate View) a zvolte pro každou jamku příslušný způsob pojmenování souborů.
- Zopakujte tyto kroky i pro výsledkovou skupinu.

Poznámka: Více informací o pojmenování souborů naleznete v části “[Vytvoření nové definice pojmenování souborů](#)” na straně 151. Více informací o nastavení výsledkové skupiny naleznete v části “[Vytvoření nové výsledkové skupiny](#)” na straně 156.

- Klikněte na **(Uložit destičku)**.

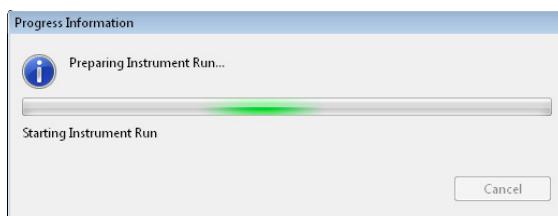


5. Klikněte na **Link Plate for Run** (Propojit destičku).
6. Klikněte na **Create Injection List** (Vytvořit seznam nástríků), poté klikněte na **OK**.

Spuštění běhu

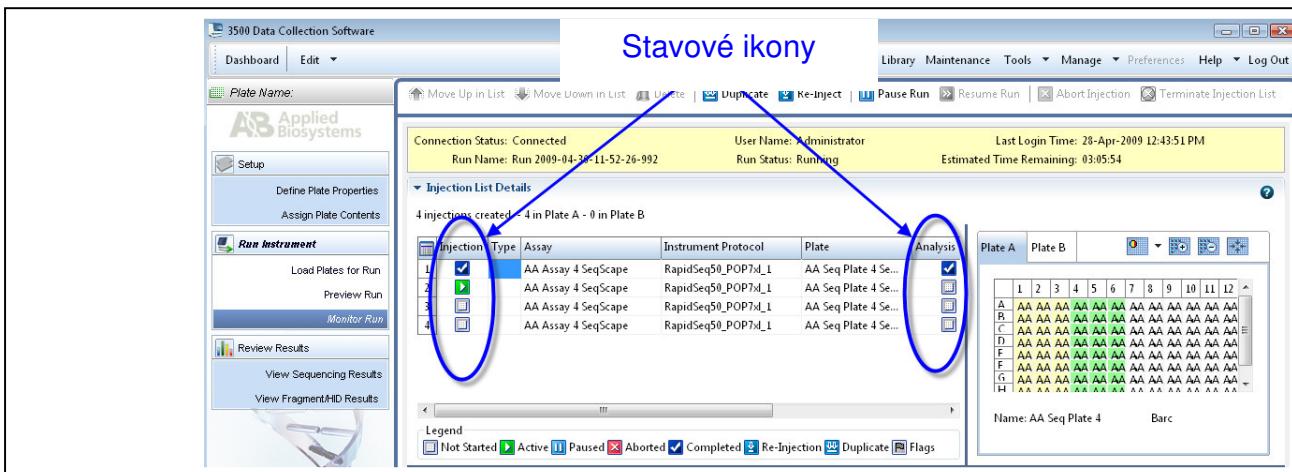
Klikněte na **Start Run** (Spustit běh), součástí běhu je i automatická analýza.

Během kontroly stavu spotřebního materiálu se na monitoru zobrazuje okno vyobrazené níže.



Monitorování běhu

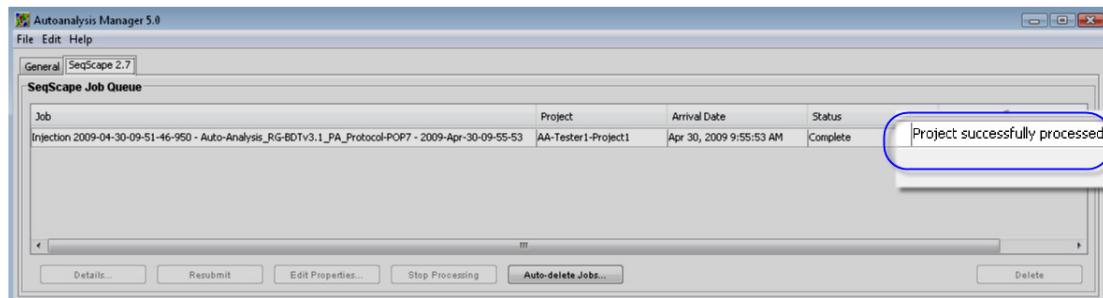
Monitorovat běh můžete pomocí stavových ikon na obrazovce Monitor Run v části Injection Details.



Zobrazení výsledků sekvenování

Výsledky sekvenování můžete zobrazit v programu 3500 Series Data Collection na obrazovce View Sequencing Results, kde zvolíte požadovanou záložku.

- Dokončení běhu** Jsou-li výsledky běhu úspěšně zpracovány/analyzovány, zobrazí se informativní upozornění v okně Autoanalysis Manager (Project successfully processed – Projekt úspěšně zpracován).



Spusťte program SeqScape® a zkontrolujte výsledky analýzy.

Poznámka: Více informací o práci s programem SeqScape® naleznete v příručce *SeqScape® Software v2.7 Workflow Quick Reference Guide* (kat. č. 4401740) nebo *SeqScape® Software User Guide* (kat. č. 4359442).

Automatická analýza v programu MicroSeq® ID

Informace k nastavení protokolu pro analýzu v programu MicroSeq® ID naleznete v části “[Vytvoření nového protokolu MicroSeq® ID](#)” na straně 191. Popis jak nastavit program MicroSeq® ID, aby fungoval ve spolupráci s programem 3500 Series Data Collection, naleznete v příručce *MicroSeq® ID v2.2 Getting Started Guide*.

Sekundární analýza: Fragmentace

Provedení sekundární analýzy při fragmentaci

Genetické analyzátory Applied Biosystems 3500/3500xL a program 3500 Series Data Collection umožňují propojit výstupy přístroje s programy sekundární analýzy výsledků GeneMapper® v4.1 a GeneMapper® ID-X v1.1. Vzorky jsou automaticky načteny do těchto programů a analyzovány v souladu s protokoly, jejichž použití bylo definováno pro každou destičku před jejím spuštěním.

Program	Účel
GeneMapper®	Všeobecný program pro všechny typy fragmentační analýzy a genotypizace.
GeneMapper® ID-X	Program pro identifikaci osob (databáze, stopy, testy otcovství) používaný spolu se soupravami AmpFlSTR.

Automatická analýza

Automatickou analýzu lze provést pouze na počítači, který je určen pro ovládání genetického analyzátoru, proto musí být programy GeneMapper® nebo GeneMapper® ID-X instalovány na též počítači jako program 3500 Series Data Collection (operační systém Windows Vista®). Sekundární analýza je prováděna v programech GeneMapper® nebo GeneMapper® ID-X.

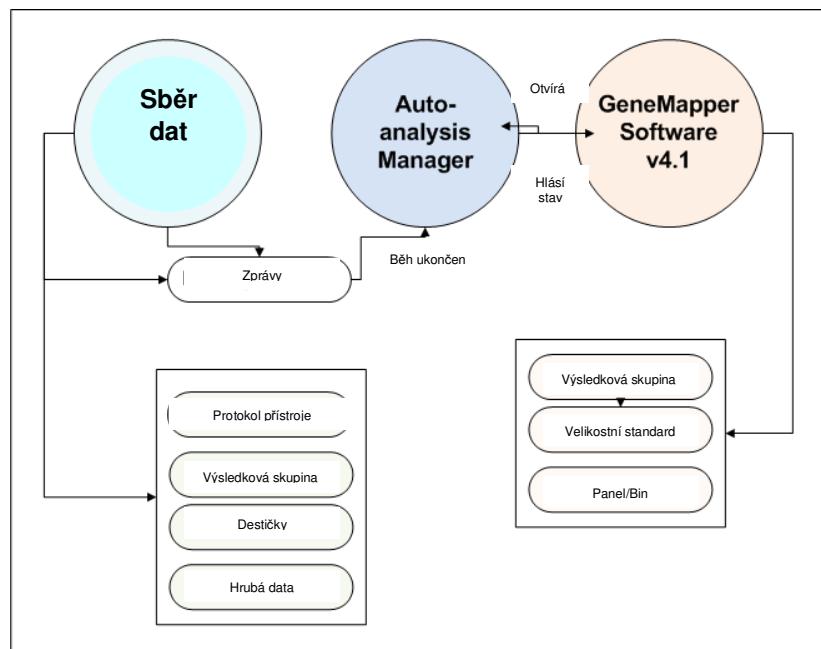
Níže je popsán postup vytvoření panelů a sad binů v programu GeneMapper® v4.1 a dále nastavení programu 3500 Series Data Collection pro provedení automatické analýzy. Po skončení běhu jsou výsledky plynule převedeny do programu GeneMapper® a v něm analyzovány.

Poznámka: Více informací o nastavení programů GeneMapper® ID-X a 3500 Series Data Collection pro provedení automatické analýzy naleznete v příručce *GeneMapper® ID-X v 1.1 User Guide*.

Nastavení programu GeneMapper® pro provedení automatické analýzy

DŮLEŽITÉ! Používáte-li pro automatickou analýzu výsledků program GeneMapper®, musí být jeho v4.1 instalována na *tomtéž* počítači, na kterém je i program 3500 Series Data Collection.

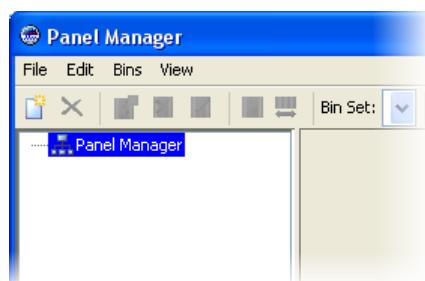
Postup automatické analýzy fragmentace je znázorněn na obrázku níže.



Před spuštěním běhu na přístroji 3500/3500xL musíte v programu GeneMapper® vytvořit nový projekt. Analýza v programu GeneMapper® probíhá v rámci projektů.

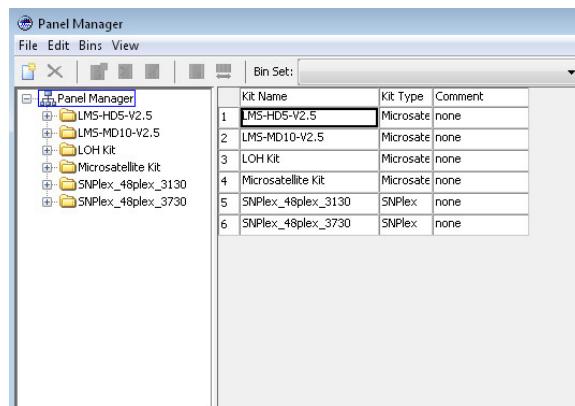
Kit, panel a sada binů

1. Otevřete program GeneMapper® v4.1.
2. Kliknutím na ikonu otevřete Panel Manager (Správce panelů).
3. Označte adresář Panel Manager v levé části okna.



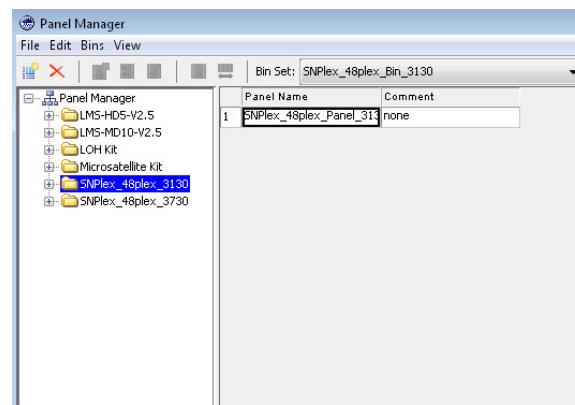
4. Klikněte na **File > Import** a importujte předešle vytvořenou soupravu (kit) s informací o panelech a markerech.

Poznámka: Panely musíte importovat postupně, opakujte import pro každý požadovaný panel.



5. Importujte sady binů (bin set) pro předešle importované panely (**File > Import**).

Poznámka: Pro každý importovaný panel musíte importovat i sadu binů.

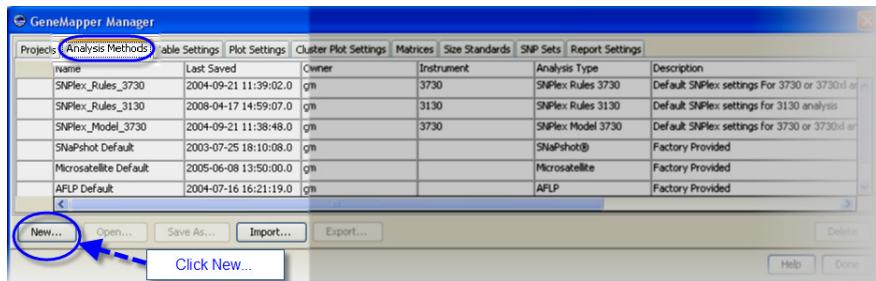


6. Klikněte na **OK** čímž nastavení uložíte a okno Panel Manager zavřete.

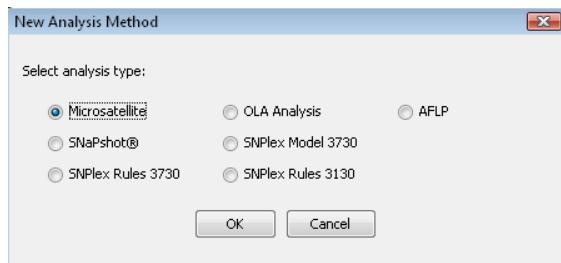
Poznámka: Více informací o vytvoření panelů a sad binů naleznete v příručce *GeneMapper® v4.1 Quick Reference Guide* (kat. č. 4362816) nebo návodu pro příslušný typ aplikace.

Vytvoření nového projektu

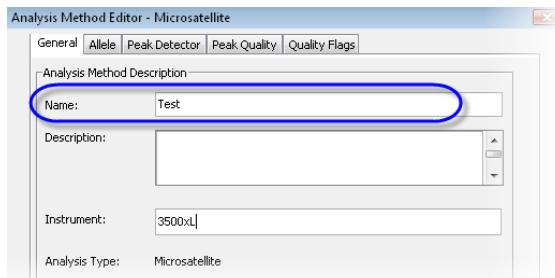
- Klikněte na ikonu GeneMapper Manager (Správce programu GeneMapper).
- Zvolte záložku Analysis Method (Metoda analýzy), klikněte na New (Nová).



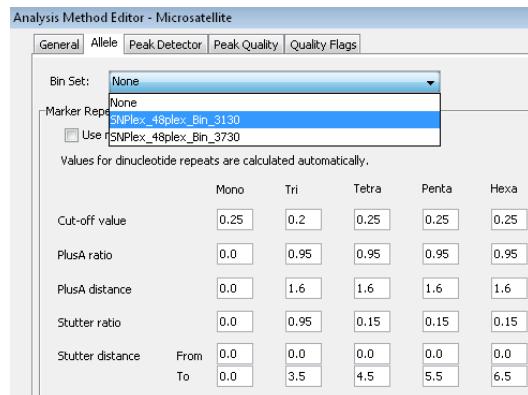
- Definujte typ metody analýzy, který chcete, poté klikněte na OK.



- Zadejte název metody analýzy (záložka General - Obecné).

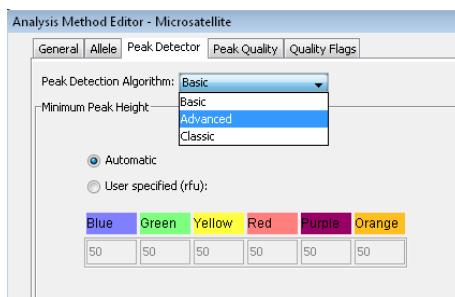


- Zvolte sadu binů (záložka Allele - Alela).



6. Zvolte algoritmus detekce píků (záložka Peak Detector) – Basic (Základní), Advanced (Pokročilý) nebo Classic (Klasický).

DŮLEŽITÉ! Chcete-li používat normalizaci pomocí velikostního standardu, musíte zvolit algoritmus **Advanced (Pokročilý)**.



7. Nastavte parametry v záložce Peak Quality (Kvalita píků) a/nebo Quality Flag (Ukazatele kvality) podle potřeby.



8. Kliknutím na **OK** nastavení uložíte, kliknutím na **Done (Hotovo)** zavřete GeneMapper® Manager.

DŮLEŽITÉ! Před prováděním automatické analýzy pomocí programu 3500 Series Data Collection musíte program GeneMapper® v4.1 zavřít.

Definice destičky (v programu 3500 Series Data Collection) pro sekundární analýzu programem GeneMapper®

Spuštění programu 3500 Series Data Collection

1. Před spuštěním programu 3500 Series Data Collection spusťte program Auto-Analysis Manager.
2. Spusťte program 3500 Series Data Collection.
3. Zadejte název nové destičky.



Plate Details

* Name: Test Fragment Plate
* Number of Wells: 96 96-FastTube 384
* Plate Type: Fragment
* Capillary Length: 50 cm
* Polymer: POP7

Nastavení automatické analýzy

4. Zvolte počet jamek (Number of Wells), zadejte typ destičky – Fragmentace (Fragment), délku kapiláry (Capillary Length) a polymer.

1. Zvolte možnost **Perform Auto-Analysis (Provést automatickou analýzu)**, rozbalí se okno umožňující nastavení parametrů.

Secondary Analysis

→ Perform Auto-Analysis

* Software Type: GeneMapper
* Software Location: GeneMapper-3500-FVTEST

2. Zvolte program **GeneMapper** (v části Software Type).

Poznámka: Pokud v rozbalovací nabídce v části Software Type *není* možnost GeneMapper, zkонтrolujte správnost instalace. Není-li program sekundární analýzy správně instalován ve vašem počítači, neobjeví se ani v této rozbalovací nabídce.

3. Zkontrolujte, že v části Software Location je zobrazen název vašeho počítače.

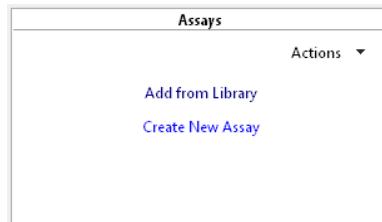
DŮLEŽITÉ! Pro úspěch automatické analýzy je nezbytné, aby byl protokol sekundární analýzy umístěn na zde uvedeném počítači.

4. Zadejte vaše uživatelské jméno (User Name) a heslo (Password) pro přístup do programu GeneMapper.
5. Klikněte na ikonu Save Plate, čímž definici destičky uložíte, poté na **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)**.

Definice obsahu destičky Pro jednotlivé jamky destičky zadáváte esej (Assay), pojmenování souborů (File Naming Convention) a výsledkovou skupinu (Results group).

Zadání eseje

1. Na obrazovce **Assign Plate Contents (Definice obsahu destičky)** v části Assays (Eseje) zvolte **Create New Assay (Vytvořit novou esej)** nebo **Add From Library (Přidat z knihovny)**.



2. V dialogovém okně **Setup an Assay (Zadání eseje)** zvolte esej.

Poznámka: (Volitelné) Zvolte barvu eseje – zobrazuje se v náhledu destičky.

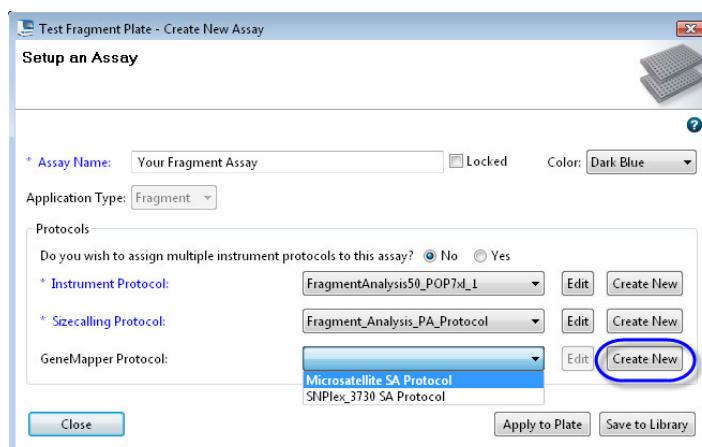
3. Zvolte protokol přístroje (Instrument Protocol) pro esej.

Poznámka: Více informací o protokolech přístroje viz "["Vytvoření nového protokolu přístroje"](#) na straně 165.

4. Zvolte protokol pro odečet velikostí písků (Sizecalling) pro danou esej.

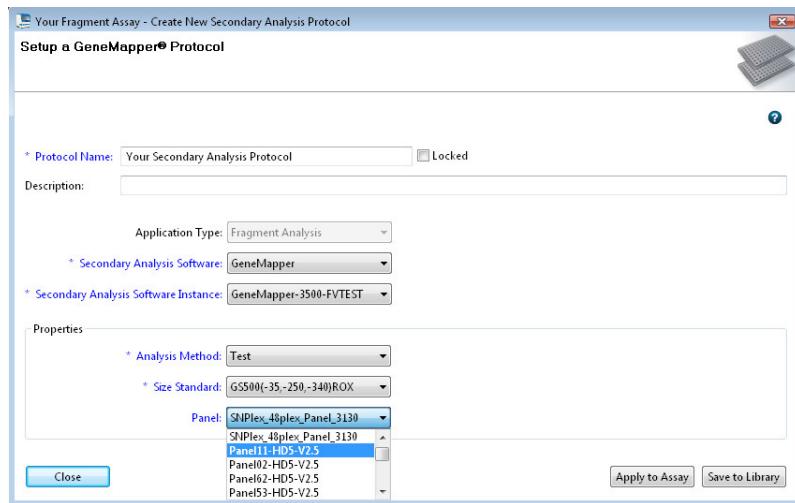
Poznámka: Více informací o protokolech pro odečet velikostí písků viz "["Vytvoření nového protokolu pro odečet velikostí písků - sizecalling"](#) na straně 179.

5. Klikněte na **Create New**, čímž vytvoříte nový protokol pro analýzu výsledků fragmentace (protokol GeneMapper).



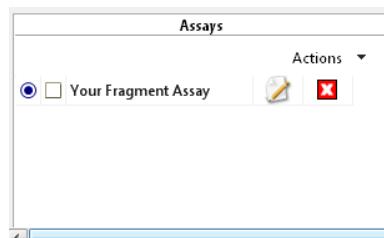
6. Pojmenujte nově vytvořený protokol a (volitelné) zadejte jeho popis (Description).

7. Zvolte v programu GeneMapper® předešle vytvořený(é) panel(y) a klikněte na **Apply to Assay**.

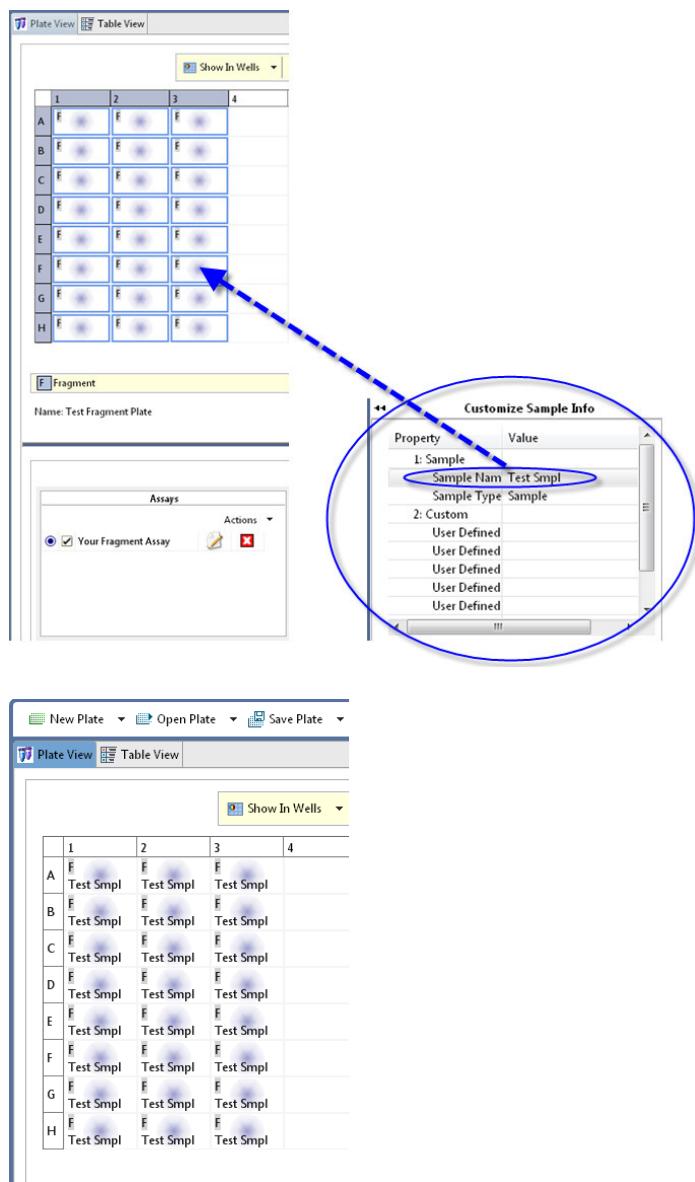


Poznámka: Více informací o vytvoření protokolu sekundární analýzy naleznete v části ["Vytvoření nového fragmentačního protokolu"](#) na straně 193.

8. Klikněte na **Close (Zavřít)**.
9. Klikněte na tlačítko **Apply to Plate**, poté zavřete dialogové okno Setup an Assay (Zadání eseje).



- Pojmenujte vzorky – označte jamky v destičce a pojmenujte vzorky v části Customize Sample Info.

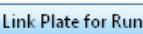


Poznámka: Více informací o pojmenování vzorků naleznete v části
[“Pojmenování vzorků ve vyobrazení destičky” na straně 70.](#)

Pojmenování souborů a výsledková skupina

1. Definujte způsob pojmenování souborů (File Name Convention - FNC) a parametry Výsledkové skupiny (Results Group - RG).
2. Označte jamky v destičce (zobrazení Plate View) a zvolte pro každou jamku příslušný způsob pojmenování souborů.
3. Zopakujte tyto kroky i pro výsledkovou skupinu.

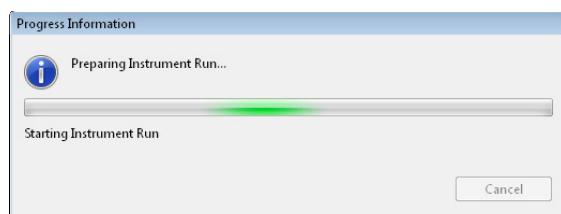
Poznámka: Více informací o pojmenování souborů naleznete v části "[Vytvoření nové definice pojmenování souborů](#)" na straně 151. Více informací o nastavení výsledkové skupiny naleznete v části "[Vytvoření nové výsledkové skupiny](#)" na straně 156.

4. Klikněte na  Save Plate (Uložit destičku).
5. Klikněte na  Link Plate for Run (Propojit destičku).
6. Klikněte na **Create Injection List** (Vytvořit seznam nástříků), poté klikněte na **OK**.

Spuštění běhu

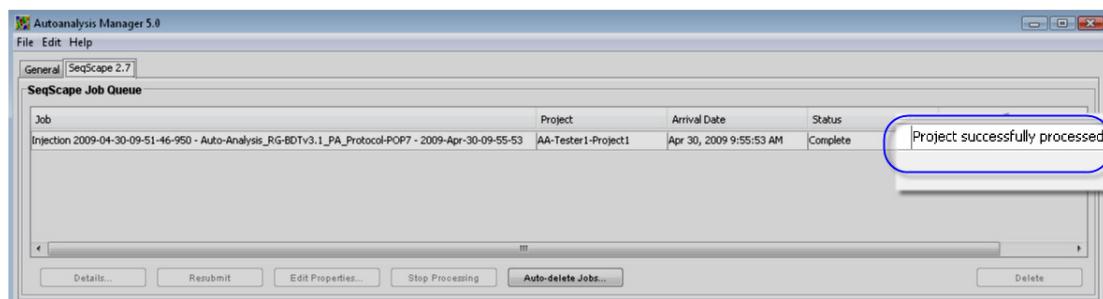
Klikněte na **Start Run (Spustit běh)**, součástí běhu je i automatická analýza.

Během kontroly stavu spotřebního materiálu se na monitoru zobrazuje okno vyobrazené níže.



Dokončení běhu

Jsou-li výsledky běhu úspěšně zpracovány/analyzovány, zobrazí se informativní upozornění v okně Autoanalysis Manager (Project successfully processed – Projekt úspěšně zpracován)



Spusťte program GeneMapper® a zkontrolujte výsledky analýzy.

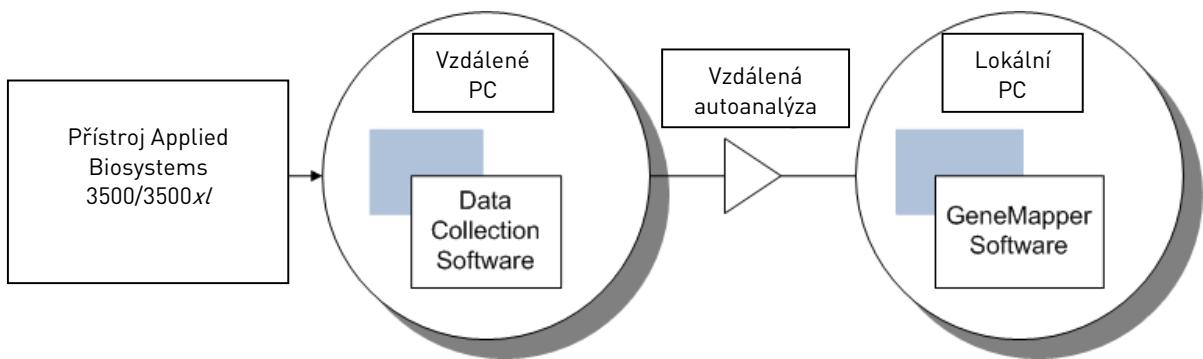
Poznámka: Více informací o práci s programem GeneMapper® naleznete v příručce *GeneMapper® v4.1 Quick Reference Guide* (kat. č. 4362816) nebo návodu pro příslušný typ aplikace.

Automatická analýza v programu GeneMapper® ID-X

Informace k nastavení protokolu pro analýzu v programu GeneMapper® ID-X naleznete v části "[Vytvoření nového protokolu HID](#)" na straně 195. Popis jak nastavit program GeneMapper® ID-X v1.1, aby fungoval ve spolupráci s programem 3500 Series Data Collection, naleznete v příručce *GeneMapper® ID-X Software v1.1 User Guide*.

Vzdálená automatická analýza

Princip vzdálené automatické analýzy



V případě vzdálené automatické analýzy je program 3500 Series Data Collection instalován na počítači připojeném k přístroji a program GeneMapper® na *jiném* počítači.

Oba programy lze nastavit tak, aby se program GeneMapper®:

- připojil ke vzdálenému počítači s programem 3500 Series Data Collection
- stáhnul datové soubory ze vzdálené databáze programu 3500 Series Data Collection
- provedl automatickou analýzu výsledků

Vzdálená automatická analýza - instalace

Tento postup instalace proveďte, pokud chcete provádět automatickou analýzu dat z jiného počítače, než z počítače, který je určený k ovládání genetického analyzátoru, a na němž je instalován program 3500 Series Data Collection.

Chcete-li instalovat program GeneMapper® za účelem vzdálené automatické analýzy, musíte:

1. Spustit služby programu Data Collection na vzdáleném počítači.
2. Instalovat program GeneMapper® na lokálním počítači.

DŮLEŽITÉ! Před instalací programu GeneMapper® spusťte služby programu Data Collection na vzdáleném počítači.

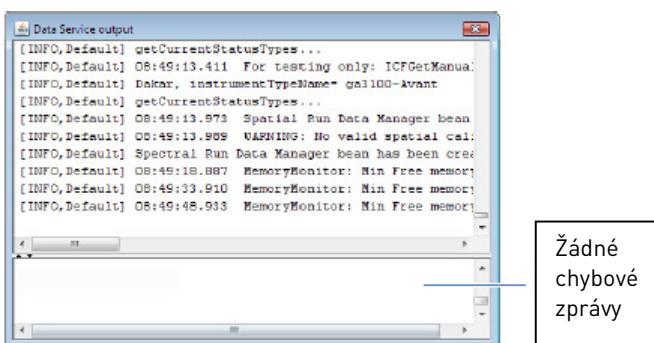
Spuštění služeb
programu 3500
Data Collection

1. Na počítači s programem Data Collection zvolte **Start > All Programs > Applied Biosystems > Data Collection > Run Data Collection version 1.0.**

Poznámka: Pokud se služby nespustí automaticky, klikněte na **Start All (Spustit vše)**.

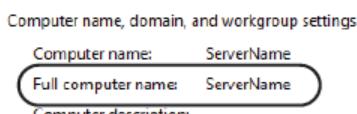
KONTROLNÍ BOD. Vyčkejte než je ikona pro všechny spouštěné služby zelená, teprve poté pokračujte.

2. Je-li v programu 3500 Series Data Collection nutné zadat heslo, zadejte vaše uživatelské jméno a heslo a stiskněte **OK**.
3. Ověřte, že datové služby byly spuštěny bez problému:
 - a. V okně Service Console klikněte pravým tlačítkem myši na ikonu vedle každé služby a zvolte **Show Console**, čímž zobrazíte okno s informací o dané službě.
 - b. Ověřte, že v tomto okně nejsou zobrazeny žádné chybové zprávy, a okno zavřete.



4. Zjistěte si úplný název hostitelského počítače:
 - a. Klikněte pravým tlačítkem myši na ikonu **My Computer (Můj počítač)** na ploše, zvolte **Properties (Vlastnosti)**.
 - b. Poznamenejte si název počítače. (Název budete potřebovat při instalaci programu GeneMapper®).

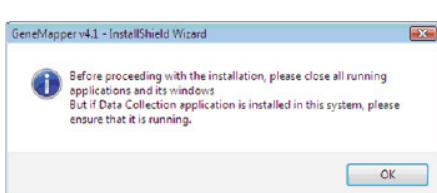
Windows Vista



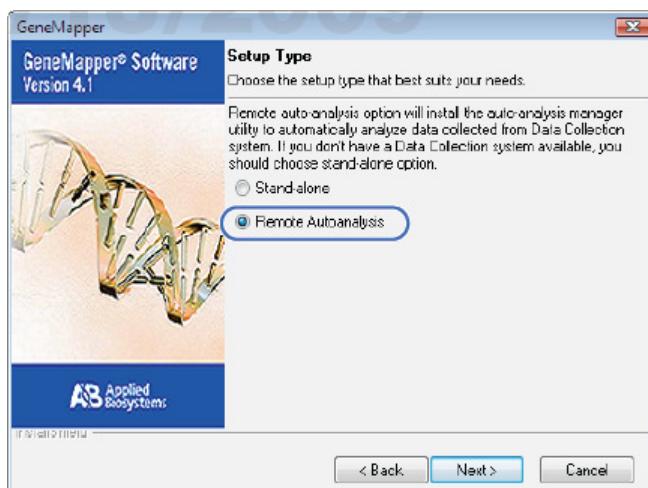
- c. Zavřete dialogové okno.

**Instalace
programu
GeneMapper®
v4.1 pro
vzdálenou
automatickou
analýzu**

1. Vložte instalační DVD *GeneMapper® v4.1 Software Full Installation* do DVD jednotky počítače.
Pokud se instalátor nespustí automaticky:
 - a. Klikněte pravým tlačítkem myši na **My Computer (Můj počítač)**, zvolte **Explore (Prozkoumat)**.
 - b. V adresáři DVD disku vyhledejte adresář GeneMapper® v4.1.
 - c. Dvakrát klikněte na ikonu  , čímž zahájíte instalaci.
2. Objeví-li se zpráva vyobrazená níže, zavřete všechna otevřená okna jiných programů a klikněte na **OK**:



3. Na uvítací obrazovce klikněte na **Next (Další)**.
4. Zkontrolujte splnění požadavků na úspěšný průběh instalace, poté klikněte na **Next (Další)**.
5. Jako typ instalace zvolte **Remote Analysis (Vzdálená automatická analýza)**, poté klikněte na **Next (Další)**.



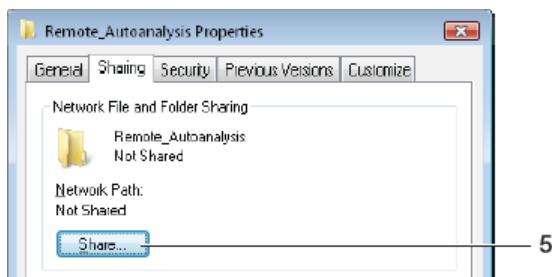
6. V okně GeneMapper Client setup zadejte název serveru (úplný název počítače) na němž je instalován program Data Collection (viz [krok 4 na straně 292](#)), zvolte možnost ABI 3500, poté klikněte na **Next (Další)**.
7. Přečtěte si informace o programu (Release notes), poté klikněte na **Next (Další)**.

Poznámka: Další možnosti instalace a nastavení programu naleznete v kapitole 3 příručky *GeneMapper® v4.1 Installation and Administration Guide*.

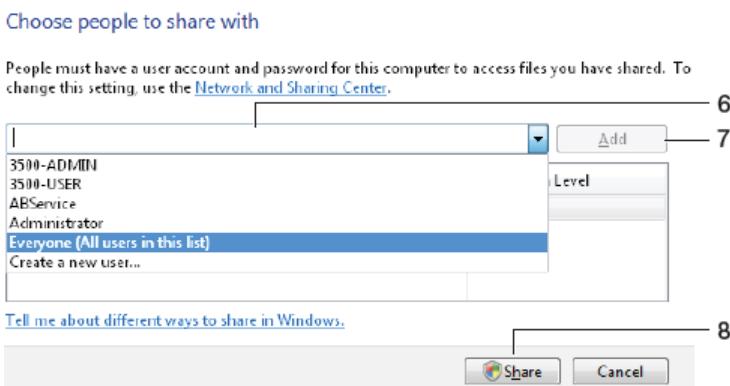
Vytvoření sdíleného adresáře

Vytvoření sdíleného adresáře
(Windows Vista®)

1. Zvolte **Start > My Computer (Můj počítač)**, poté dvakrát klikněte na disk, na němž chcete vytvořit sdílený adresář..
2. Zvolte **File > New Folder (Soubor > Nový adresář)**.
3. Zadejte název adresáře (např.: Remote_Autoanalysis).
4. Klikněte pravým tlačítkem myši na tento adresář a zvolte **Properties (Vlastnosti)**.
5. Zvolte záložku Sharing (Sdílení), klikněte na **Share (Sdílet)**.



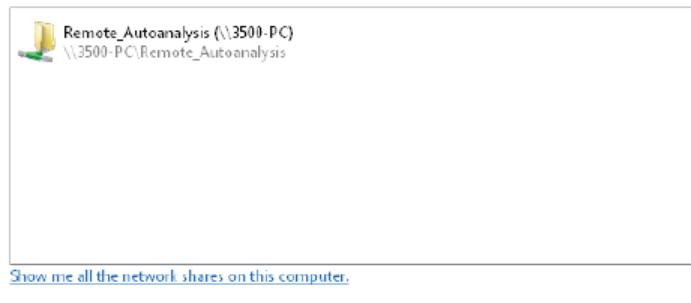
6. V dialogovém okně Choose people to share with (Uživatelé s právem sdílení) klikněte do rozbalovací nabídky a zvolte **Everyone (All users in this list) (Všichni)**.



7. Klikněte na **Add (Přidat)**.
8. Ve sloupci Permission Level (Úroveň oprávnění) změňte hodnotu z Reader (Právo čtení) na Co-owner (Spoluúzemní).
9. Klikněte na **Share (Sdílet)**, poté na **Done (Hotovo)** a **Close (Zavřít)**.

Your folder is shared.

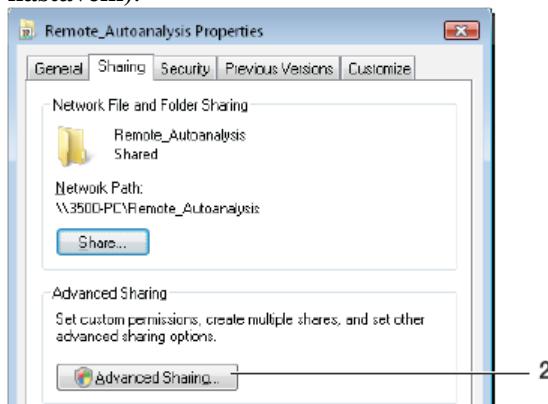
You may [e-mail](#) these links to notify people that you have shared these files, or [copy](#) the links onto the Windows clipboard, where you can paste them into any program you choose.



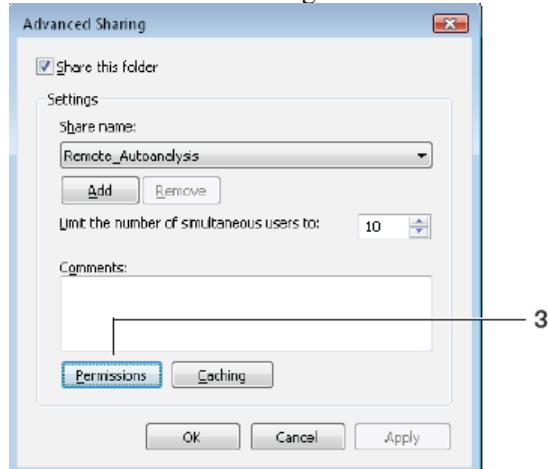
10. Klikněte na OK.

Úroveň zabezpečení sdíleného adresáře

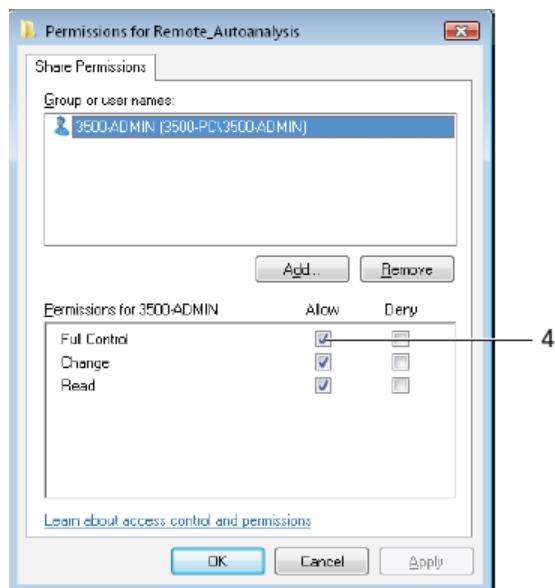
1. Klikněte pravým tlačítkem myši na sdílený adresář a zvolte **Properties** (**Vlastnosti**).
2. Zvolte záložku **Sharing (Sdílení)**, klikněte na **Advanced Sharing (Pokročilé nastavení)**.



3. V okně Advanced Sharing zvolte **Permissions (Oprávnění)**.



4. V dialogovém okně Permissions for <název sdíleného adresáře> zatrhněte možnost **Full Control (Úplná kontrola)** (ve sloupci Allow - Povolit).

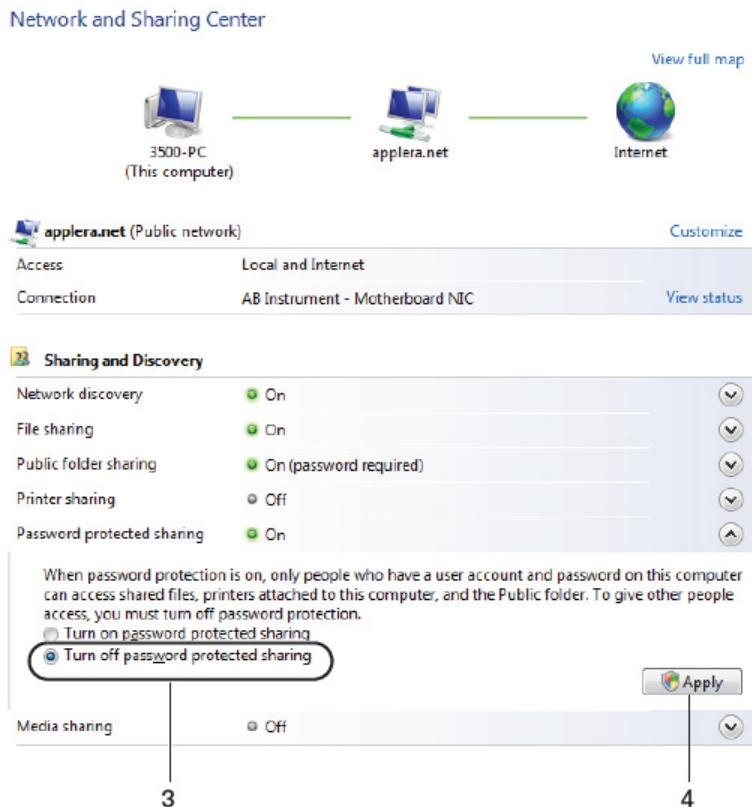


5. Klikněte dvakrát na **OK**.
6. Klikněte na **Close (Zavřít)**.

Vypnutí zadání hesla pro přístup do sdíleného adresáře

DŮLEŽITÉ! Před spuštěním vzdálené automatické analýzy se ujistěte, že v počítači, v němž je instalován program Data Collection, je vypnuta nutnost zadání hesla pro přístup do sdíleného adresáře.

1. V počítači, v němž je instalován program Data Collection, zvolte **Start > Control Panel > Network and Sharing Center** (**Start > Ovládací panely > Sít' a sdílení**).
2. Klikněte na ikonu ,
3. Zvolte možnost **Turn off password protected sharing** (**Vypnout nutnost zadání hesla pro přístup do sdíleného adresáře**).



4. Klikněte na **Apply (Použít)**.

Nastavení programu 3500 Series Data Collection v1.0

Dokončení nastavení automatické analýzy v programu Data Collection

Chcete-li dokončit nastavení automatické analýzy, musíte vytvořit novou výsledkovou skupinu (Results Group).

1. V navigační liště zvolte Results Group (Výsledková skupina).
2. Klikněte na **New (Nová)**.
3. Zadejte údaje v záložce General (Obecné):
 - a. Zadejte název výsledkové skupiny.
 - b. Zadejte vlastníka (Owner) výsledkové skupiny.
 - c. (Volitelné) Zadejte komentář.
 - d. Zatrhněte políčko **Results Group Entry Completed (Zadání výsledkové skupiny dokončeno)**.
4. Zadejte údaje v záložce Analysis (Analýza):
 - a. V rozbalovací nabídce zvolte možnost GeneMapper + název počítače.

- b. Zatrhněte možnost **Do Autoanalysis (Provést automatickou analýzu)**.

Poznámka: Chcete-li provádět automatickou analýzu až po dokončení všech vzorků téže výsledkové skupiny, a nikoliv ihned po dokončení běhu, zatrhněte možnost **Results Group Entry Completed (Po dokončení výsledkové skupiny)**.

- c. Zadejte uživatelské jméno a heslo pro program GeneMapper.
5. Zadejte údaje v záložce Destination (Umístění):
- Zvolte možnost **Use Custom Location (Vlastní volba umístění)**.
 - Zadejte cílový adresář ve formátu:
\\Název vzdáleného počítače\\Název sdíleného adresáře, např.:
\\myPC\Remote_Autoanalysis
 - (Pouze pro vzdálenou automatickou analýzu) Ověřte dostupnost vzdáleného počítače:
 - Zvolte **Start > Run (Spustit)**.
 - Zadejte adresu cílového adresáře a klikněte na **OK**.
 - Klikněte na **Test** – testuje se dostupnost cílového adresáře.

KONTROLNÍ BOD. Je-li test úspěšný, zobrazí se zpráva “Test successful.” Je-li test neúspěšný, zobrazí se zpráva “Could not make the connection. Please check that the Path Name is correct.” Klikněte na tlačítko **Browse** a zvolte správný adresář.

Řešení problémů

Pokud při práci s přístrojem dojde k nějaké nečekané a potenciálně nebezpečné události, vypněte hlavní spínač, odpojte přístroj z elektrické sítě a zavolejte servisního technika společnosti Applied Biosystems.

DŮLEŽITÉ! V Příloze F naleznete potřebné bezpečnostní informace týkající se přístroje a chemikálií.

Řešení problémů - Přístroj

Problém	Možná příčina	Řešení
Oranžová dioda (bliká)	Pauza běhu	Znovu spusťte běh
	Otevřená dvířka	Zavřete dvířka přístroje
	Chyba v běhu, která nevyžaduje znovuspuštění přístroje	Spusťte další běh
Stavová dioda přístroje bliká červeně	Chyba přístroje	<ol style="list-style-type: none"> Vypněte přístroj. Zapněte přístroj. Restartujte počítač.
Hláška "An error has been detected from the instrument."	Selhání komunikace	Restartujte počítač
Stavová ikona programu 3500 Series Data Collection je  namísto 	Některá ze služeb programu je vypnuta.	Klikněte pravým tlačítkem myši na stavovou ikonu, zvolte Services (Služby) . Pokud není některá z voleb zatržena, kliknutím ji zapněte. 
Hláška "Unable to transmit measurement data. Internal data buffer overflow."	Chyba komunikace.	Restartujte přístroj a počítač.
Hláška "Electric discharge".	Hladina pufru v zásobníku na anodový pufr může být nízká.	Vyměňte pufr. Pufr v anodovém zásobníku je zapotřebí měnit v souladu s oznámeními údržby v programu 3500 Series Data Collection.

Řešení problémů - Prostorová kalibrace

Problém	Možná příčina	Řešení
Tlačítko "Start" prostorové kalibrace je neaktivní.	Chyba komunikace mezi programem Data Collection a přístrojem	Restartujte přístroj a počítač. Ověřte kabelové spojení.
Zvláštní pásky nebo žádné páky (rovná čára) po prostorové kalibraci.	Nesprávná instalace detekčního okénka kapiláry: Detekční okénko není dobře usazeno.	Instalujte znova kapilární sadu: Ujistěte se, že detekční okénko kapiláry je dobře usazeno. Pokud se kalibrace znova nezdáří:
	Přístroj potřebuje více času pro dosažení stability. Není-li dosaženo stability, nemusí se zobrazit páky.	1. Naplňte kapiláry polymerem. 2. Opakujte prostorovou kalibraci.
	Poškozená kapilára, takže nedochází k jejímu správnému plnění polymerem.	Zkontrolujte, zda kapilára není viditelně poškozena, zejména u detekčního okénka. V případě potřeby ji vyměňte pomocí průvodce.
Opakující se špatný výsledek prostorové kalibrace.	Vadná kapilární sada.	Vyměňte kapilární sadu a opakujte kalibraci. Pokud se výsledek nezlepší, kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
Chybová hláška "Spatial Calibration Error". Přístroj nemůže provést prostorovou kalibraci s plněním polymeru (Array fill).	V přístroji je instalován regenerační roztok (Conditioning reagent).	Nahraďte regenerační roztok polymerem.

Řešení problémů - Spektrální kalibrace

Problém	Možná příčina	Řešení
Žádný signál	Chyba v přípravě vzorku	Připravte nové vzorky za použití nového Hi-D™ formamidu.
	Bubliny v jamkách destičky	Odstraňte bubliny centrifugací.
	Hroty kapilár se neponoří do vzorku.	Zkontrolujte objem vzorků, případně kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
	Hroty kapilár narážejí na dno jamek destičky. Špatně seřízený podavač vzorků (autosampler).	Kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
Spektrální kalibrace se nezdaří nebo se zobrazí hláška "No spectral files found." ("Žádné spektrální soubory")	Blokovaná kapilára	Znovu naplňte kapilární sadu. Možná bude nutné instalovat novou sadu.
	Špatně nastavení souboru barev a/nebo modulu běhu.	Upravte nastavení a opakujte kalibraci.
	Nedostatečné plnění kapilární sady.	Ověřte, že kapiláry nejsou poškozeny, a znova je naplňte.
	Expirované matriční standardy nebo staré reagencie.	Ověřte datum expirace a podmínky uchování matričních standardů a/nebo reagencí. V případě potřeby je vyměňte.
Hláška alespoň jeden pík je nižší než 750 jednotek.	Alespoň jeden pík je nižší než 750 jednotek.	Opakujte běh, v případě potřeby zvyšte objem použitých spektrálních standardů.
Tzv. spiky nebo chybová hláška "Bad dye order detected" ("Chybné pořadí barev").	Expirovaný polymer.	Vyměňte polymer za nový pomocí průvodce Replenish Polymer.
	Bubliny v systému.	Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove.
	Kontaminace nebo krystaly v polymeru.	Nechte polymer temperovat na pokojovou teplotu; nezahřívejte. Vyměňte je-li expirovaný.
Zvýšené pozadí.	Špatná spektrální kalibrace.	Opakujte spektrální kalibraci.
V historii spektrální kalibrace se nezobrazují výsledky předchozích běhů.	Změňte-li typ polymeru, spektrální kalibrace pro původní polymer je ztracena.	Nemá řešení.
Tzv. pull-down páky	Ihned po provedení první spektrální kalibrace (pro každý soubor barev) po instalaci nové kapilární sady si můžete povšimnout tzv. pull-down pák. Po skončení běhu budou opraveny.	Nemá řešení.

Řešení problémů – Sekvenační instalační standard

Problém	Možná příčina	Řešení
Žádný signál	Chyba v přípravě vzorku	Připravte nové vzorky za použití nového Hi-Di™ formamidu.
	Bubliny v jamkách destičky	Odstraňte bubliny centrifugací.
	Hroty kapilár se neponoří do vzorku.	Zkontrolujte objem vzorků, případně kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
	Hroty kapilár narážejí na dno jamek destičky. Špatně seřízený podavač vzorků (autosampler).	Kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
Běh sekvenačního instalačního standardu se nezdáří.	Blokovaná kapilára	Znovu naplňte kapilární sadu. Možná bude nutné instalovat novou sadu.
Špatná kapilára	Špatné nastavení souboru barev a/nebo modulu běhu.	Upravte nastavení a opakujte kalibraci.
	Nedostatečné plnění kapilární sady.	Ověřte, že kapiláry nejsou poškozeny, a znova je naplňte.
	Expirované matriční standardy nebo staré reagencie.	Ověřte datum expirace a podmínky uchování matričních standardů a/nebo reagencií. V případě potřeby je vyměňte.
	Expirovaný polymer.	Vyměňte polymer za nový pomocí průvodce Replenish Polymer.
	Bubliny v systému.	Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove.
	Kontaminace nebo krystaly v polymeru.	Nechte polymer temperovat na pokojovou teplotu; nezahřívejte. Vyměňte je-li expirovaný.

Řešení problémů - Fragmentační/HID instalační standard

Problém	Možná příčina	Řešení
Zpráva obsahuje prázdné strany nebo neúplné informace.	Před vytvořením zprávy nebyly vybrány všechny barvy.	Zvolte všechny barvy, poté vytvořte zprávu.
Žádný signál	Chyba v přípravě vzorku	Připravte nové vzorky za použití nového Hi-Di™ formamidu.
	Bubliny v jamkách destičky	Odstraňte bubliny centrifugací.
	Hrot kapilár se neponoří do vzorku.	Zkontrolujte objem vzorků, případně kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
	Hrot kapilár narážejí na dno jamek destičky. Špatně seřízený podavač vzorků (autosampler).	Kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
Běh fragmentačního/HID instalačního standardu se nezdaří.	Blokovaná kapilára	Znovu naplňte kapilární sadu. Možná bude nutné instalovat novou sadu.
	Nedostatečné plnění kapilární sady.	Ověřte, že kapiláry nejsou poškozeny, a znova je naplňte.
	Expirované matriční standardy nebo staré reagencie.	Ověřte datum expirace a podmínky uchování matričních standardů a/nebo reagencí. V případě potřeby je vyměňte.
	Expirovaný polymer.	Vyměňte polymer za nový pomocí průvodce Replenish Polymer.
	Bubliny v systému.	Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove.
	Kontaminace nebo krystaly v polymeru.	Nechte polymer temperovat na pokojovou teplotu; nezahřívejte. Vyměňte je-li expirovaný.

Řešení problémů – Zásobník na anodový pufr

Viz též „[Řešení problémů - Data/elektroferogram](#)“ na straně 306.

Problém	Možná příčina	Řešení
Chyba během elektroforézy.	Nedostatečná hladina pufru (pod plnící rysku).	Ujistěte se, že hladina pufru je dostatečná (po plnící rysku). Je-li hladina nízká nebo těsnění poškozené, zásobník nepoužívejte.

Řešení problémů – Zásobník na katodový pufr

Viz též „[Řešení problémů - Data/elektroferogram](#)“ na straně 306.

Problém	Možná příčina	Řešení
Chyba během elektroforézy.	Nedostatečná hladina pufru (pod plnící rysku).	Ujistěte se, že hladina pufru je dostatečná (po plnící rysku). Je-li hladina nízká nebo těsnění poškozené, zásobník nepoužívejte.

Řešení problémů - RFID

Problém	Možná příčina	Řešení
Nenačtení údajů z RFID čipů. Hláška “Failure to Read from RFID tag”.	Nesprávná instalace spotřebního materiálu nebo poškození čipu. Špatná orientace polymeru/regeneračního roztoku.	Ujistěte se, že RFID čip není viditelně poškozen a balení je správně instalováno. Ujistěte se, že čip je ve správné orientaci (k přístroji). Znovu instalujte balení a klikněte na ikonu Refresh (Obnovit) v ovládacím panelu. Pokud to nepomůže, restartujte přístroj a pak počítač. Pokud to nepomůže, instalujte nové balení (je-li k dispozici), kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.

Řešení problémů – Propojení destičky (funkce Link)

Problém	Možná příčina	Řešení
Destičku nelze propojit.	Nebyla provedena prostorová/spektrální kalibrace	1. Proveděte prostorovou kalibraci. 2. Znovu propojte destičku(y).
Destička byla propojena, ale již není.	Otevřete-li obrazovku Load Plates for Run z navigační lišty, destička nemusí být propojena (tlačítko Link je aktivní).	Otevřete obrazovku Load Plates for Run z navigační lišty a klikněte na Link Plate (Propojit destičku) .
Hláška “No plate in position A” – “Žádná destička v pozici A”.	Snažíte se propojit destičku umístěnou v pozici B.	Klikněte na Link Plates (Propojit destičky) a propojte destičku z pozice B. Postupujte podle pokynů.
Hláška “No plate detected” – “Žádná destička”	Destička je v pozici B.	Umístěte destičku do pozice A.

Jak prohledávat a používat záznamy (log)

Program 3500 Series Data Collection generuje následující záznamy, které lze zobrazit pomocí textových editorů typu Wordpad:

- **3500UsageStatistics.txt**–Počet analyzovaných destiček, počet běhů určitého typu (sekvenování, fragmentace, HID).
Uložen v: x:\Applied Biosystems\3500\UsageData
- **3500ConsumableUpdates.txt**–Souhrn informací o instalacích spotřebního materiálu.
Uložen v: D:\Applied Biosystems\3500\LogFiles

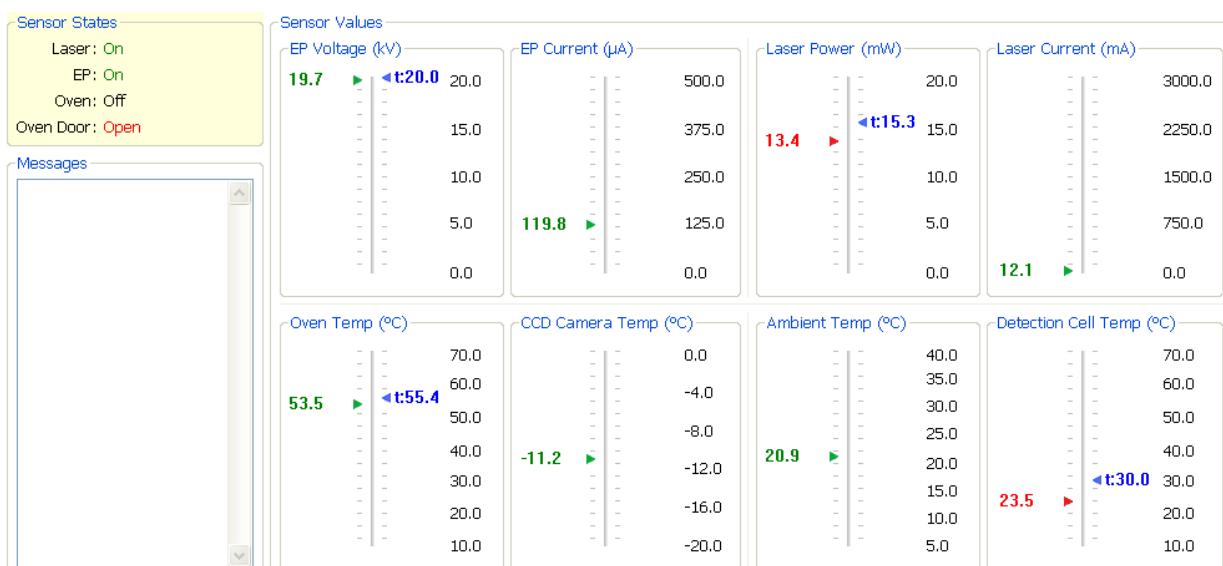
Senzory přístroje

Klikněte na **View Instrument Sensor Details** (Načíst údaje ze senzorů přístroje)

v Ovládacím panelu, zobrazí se údaje ze senzorů.

View Instrument Sensor Details

Stav přístroje se zobrazuje rovněž během běhu.



Obrázek 37 Údaje ze senzorů přístroje

Řešení problémů - Data/elektroferogram

Problém	Možná příčina	Řešení
Příliš intenzivní signál.	Příliš vysoká koncentrace vzorku.	<p>Nařeďte vzorek.</p> <p>Zkrat'te dobu nástřiku.</p>
	Příliš mnoho DNA přidáno do reakce, což vede k nerovnoměrné distribuci signálu.	Optimalizujte podmínky reakce.
Žádný signál.	Reakce se nezdáila.	Proveďte reakci znovu.
	Blokovaná kapilára.	Znovu naplňte kapilární sadu. Možná bude nutné instalovat novou sadu.
	Ohnuté hroty kapilár.	Vyměňte kapilární sadu.
	Zničená kapilární sada.	Prohlédněte kapilární sadu včetně detekčního okénka, zda není viditelně poškozena.
Nízká intenzita signálu.	Degradovaný formamid.	Použijte čerstvý Hi-Di™ formamid.
	Málo vzorku: Chyba pipetování.	Použijte více DNA.
	Vysoká koncentrace solí ve vzorku.	<p>Nařeďte destilovanou vodou.</p> <p>Odstraňte sole pomocí přečistění přes kolonky.</p>
	Nedostatečné promíchání.	Pečlivě vzorek vortexujte, krátce centrifugujte.
	Špatná amplifikace DNA.	<p>Opakujte amplifikaci DNA.</p> <p>Zkontrolujte kvalitu DNA.</p>
	Špatná kalibrace podavače (autosampleru).	Ověřte objem vašich vzorků. Je-li intenzita signálu stále nízká, kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
	Možná kontaminace v dráze polymeru.	Použijte regeneračního roztoku pro promytí polymerové pumpy.
Zvýšené pozadí.	Možná kontaminace nebo krytal v polymeru.	<p>Temperujte polymer na pokojovou teplotu.</p> <p>Je-li polymer expirovaný, vyměňte jej.</p>
	Nízká kvalita spektrální kalibrace.	Proveďte novou spektrální kalibraci.
	Nástřik velkého množství vzorku.	Nařeďte vzorky a opakujte nástřik.
Ztráta rozlišení.	Nízká kvalita vody.	Použijte destilovanou/deionizovanou vodu.
	Degradovaný polymer.	Použijte čerstvý polymer.
	Překročená životnost kapilární sady (160 nástřiků).	Vyměňte kapilární sadu.
	Degradovaný formamid.	Použijte čerstvý Hi-Di™ formamid pro novou přípravu vzorků.
	Vysoká koncentrace solí ve vzorku.	<p>Použijte doporučený protokol pro odstranění solí.</p> <p>Vyřeďte sole vodou.</p>

Problém	Možná příčina	Řešení
Špatné rozlišení v některých kapilárách.	Nedostatečné plnění kapilární sady.	Naplňte znova kapilární sadu a ověřte, že nedochází k úniku polymeru. Pokud problém přetrvá, kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems. Opakujte nástřik týchž vzorků.
	Nedostatečná kvalita vzorků.	Ověřte způsob přípravy vzorků.
	Netěsnost systému.	Dotáhněte spojky a šroub kapilární sady.
Žádný proud.	Nízká hladina pufru v anodovém zásobníku.	Ujistěte se, že hladina pufru je dostatečná (po plnící rysku).
	Bubliny v dolním polymerovém bloku a/nebo kapilární sadě a/nebo spojnicích.	Pozastavte běh (pause) a ověřte, zda nejsou v systému bubliny. Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove Wizard.
Vysoký proud.	Degradovaný polymer.	Použijte čerstvý polymer.
	Probíjení v dolním polymerovém bloku.	Zkontrolujte, zda není dolní polymerový blok viditelně poškozen nebo nemá změněnou barvu, případně jej vyměňte.
Nestabilní proud.	Bubliny v polymerovém bloku.	Pozastavte běh (pause) a ověřte, zda nejsou v systému bubliny. Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove Wizard.
	Drobná netěsnost systému.	Ověřte, že v systému není viditelná netěsnost. Dotáhněte všechny konektory.
	Nízká hladina pufru v anodovém zásobníku.	Ujistěte se, že hladina pufru je dostatečná (po plnící rysku).
	Probíjení	Ověřte, že septa, zásobník na katodový pufr, píčka a podavač nejsou vlhké.
Špatné fungování kapilární sady použité na méně než 100 běhů.	Nedostatečná kvalita vzorků, problém s čištěním vzorků.	Použijte doporučený protokol pro odstranění solí.
	Degradovaný formamid.	Použijte čerstvý Hi-Di™ formamid pro novou přípravu vzorků.
	Netěsnost systému.	Dotáhněte spojky a šroub kapilární sady.
Doba separace se postupně prodlužuje.	Netěsnost systému.	Dotáhněte spojky a šroub kapilární sady.
	Nesprávné plnění systému polymerem.	Polymerová pumpa může vyžadovat servis. Pokud problém přetrvá, kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
Doba separace se postupně zkracuje.	Voda v systému polymeru, polymer je naředěn.	Pomocí průvodce Bubble Remove Wizard přidejte do systému polymer.
	Netěsnost ventilu elektroforetického pufru (buffer valve).	Ověřte, že se ventil správně zavírá.

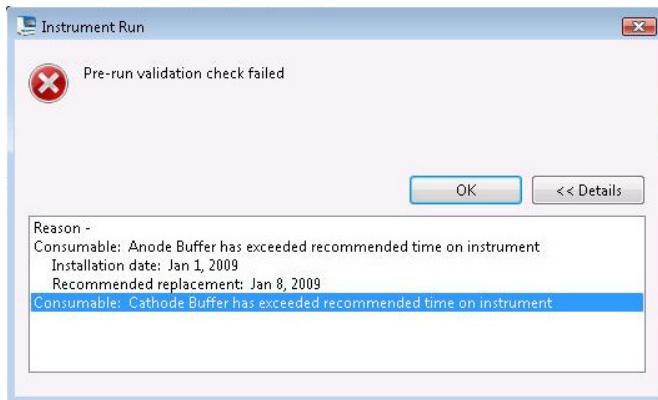
Problém	Možná příčina	Řešení
Nadbytečné páky v elektroferogramu.	Data mimo rozsah (off scale).	Nařeďte vzorek a opakujte nástřik.
	Možná kontaminace ve vzorku.	Opakujte amplifikaci DNA.
	Renaturace vzorku.	Tepelně denaturujte vzorek ve formamidu a okamžitě dejte do ledu.
“Před-páky” a “za-páky” při analýze v programu GeneMapper® ID-X.	Renaturace vzorku.	Tepelně denaturujte vzorek ve formamidu a okamžitě dejte do ledu.
Chybové hlášky:	Bubliny v systému polymeru.	Pomocí průvodce Bubble Remove Wizard bubliny odstraňte.
<ul style="list-style-type: none"> "Leak detected during polymer delivery" – Netěsnost při plnění systému polymerem "Leak detected during bubble compression" – Netěsnost v důsledku stlačení bublin 	Netěsnost systému polymeru.	Ověřte viditelnou netěsnost. Dochází-li k úniku polymeru, promyjte systém vodou (Water wash wizard) a promyjte tzv. pump trap pomocí dodávané soupravy.
	Netěsnost ventilu elektroforetického pufru (buffer valve).	Ověřte, že se ventil správně zavírá. Vyčistěte ventil.
Běh skončí.	Plnění kapilární sady během instalace.	Spusťte průvodce Fill the Array with fresh Polymer nebo Change Polymer Type.
Detekční okénko kapilární sady nelze při vyjmání sady uvolnit.	Nesprávně usazené detekční okénko.	Chcete-li detekční okénko uvolnit: <ol style="list-style-type: none"> Uvolněte šroub kapilární sady a vysuňte polymerový blok směrem k vám. Uchopte kapilární sadu po obou stranách okénka oběma rukama a mírně zatlačte. Uvolněte.
Nestabilní proud.	Bubliny v polymerovém bloku.	Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove.
Nezdařená elektroforéza.	Pufr pod plnící rysku.	Zkontrolujte, zda je zásobník na pufr naplněn až po plnící rysku.

Řešení problémů – Ovládací panel (Dashboard)

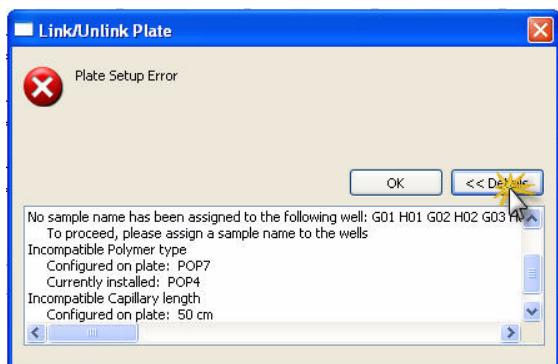
Problém	Možná příčina	Řešení
Hodnota v poli Days Remaining (Zbývá dní) pro pufr/polymer se automaticky neaktualizuje.	Hodnota v poli Days Remaining (Zbývá dní) se aktualizuje automaticky pouze po kliknutí na Refresh (Obnovit) nebo Start A Run (Spustit běh) .	Klikněte na Refresh (Obnovit) , aby se stav aktualizoval.

Řešení problémů – Vkládání destičky

Problém	Možná příčina	Řešení
V rámci analýzy stavu spotřebního materiálu před během se nezobrazí datum.	Program nezobrazí datum pokud je identické jako předechozí zobrazené datum – viz obrázek níže, data pro katodový pufr jsou identická jako pro anodový.	Nemá řešení.

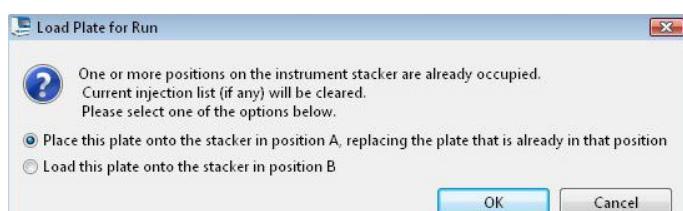
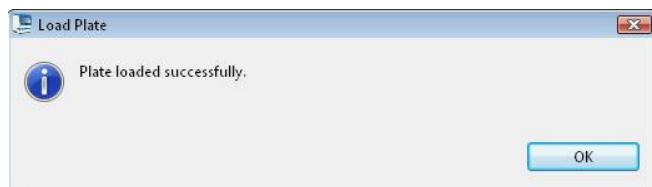


Chybová hláška Link/Unlink Plate.	Viz detailní údaje v hlášce.	Klikněte na tlačítko Details , zobrazíte příčinu chyby. Po úspěšném vložení destičky se zobrazí obrazovka Load Plates for Run.
-----------------------------------	------------------------------	--



Příloha E Řešení problémů

Problém	Možná příčina	Řešení
Hláška "No plate in position A" – "Žádná destička v pozici A".	Snažíte se propojit destičku umístěnou v pozici B.	Klikněte na Link Plates (Propojit destičky) a propojte destičku z pozice B. Postupujte podle pokynů.
Hláška "No plate detected" – "Žádná destička"	Destička je v pozici B.	Umístěte destičku do pozice A.
Hláška "Fragment performance check is required" – "Je nutné provést kontrolu funkčnosti pomocí instalačního standardu pro fragmentační analýzu"	Spuštění modulů pro fragmentaci po vložení destičky.	Změňte polymer na POP-7™. Prověďte kontrolu funkčnosti pomocí instalačního standardu pro fragmentační analýzu.
Hláška "Sequencing performance check is required" – "Je nutné provést kontrolu funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu".	Spuštění modulů pro sekvenování (POP-6™) po vložení destičky.	Změňte polymer na POP-7™. Prověďte kontrolu funkčnosti pomocí sekvenačního instalačního standardu.
Hláška Load plate nebo Load Plate for Run (Vložit destičku).	Chyba fungování.	Klikněte na OK a postupujte podle pokynů.



Řešení problémů – Monitorování běhu

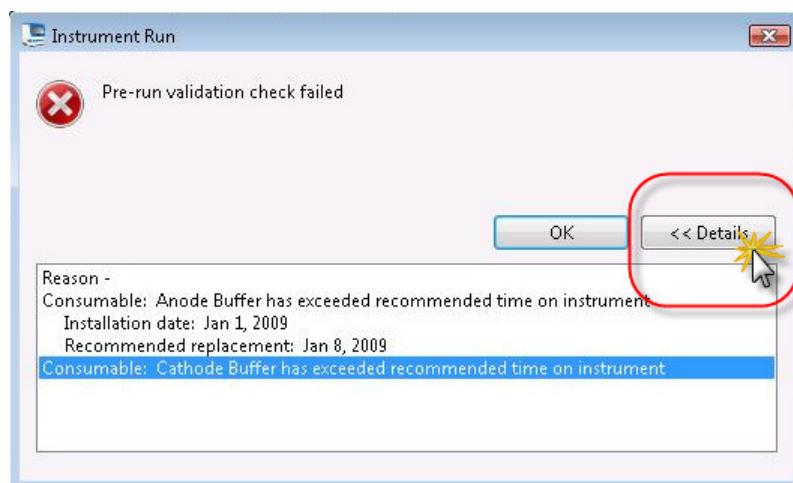
Problém	Možná příčina	Řešení
Tlačítko Re-inject (Opakovaný nástřík) je při volbě nástříku matné	Součástí nástřiku jsou vzorky s esejemi, v nichž je definováno více protokolů přístroje.	Zvolte v seznamu nástříků nástřík s vybraným protokolem přístroje, v náhledu na kapilární sadu (array view) zvolte odpovídající kapiláru, poté klikněte na Re-inject.
Běh stroje se neočekávaně pozastaví (pause).	Proces čtení/zápisu RFID.	Zkontrolujte ovládací panel. Načtěte údaje z RFID čipů. Pokud se nenačtou, restartujte počítač a přístroj.
Ikona Start nereaguje	Inicializace stroje neproběhla.	Inicializace přístroje po zavření dveří trvá asi 10 sec. Nespoštějte běh, dokud stavová dioda přístroje není zelená.
Hláška "Fragment performance check is required" – "Je nutné provést kontrolu funkčnosti pomocí instalacního standardu pro fragmentační analýzu"	Spuštění modulů pro fragmentaci po vložení destičky.	Změňte polymer na POP-7™. Proveďte kontrolu funkčnosti pomocí instalacního standardu pro fragmentační analýzu.
Hláška "Sequencing performance check is required" – "Je nutné provést kontrolu funkčnosti pomocí sekvenačního instalacního standardu".	Spuštění modulů pro sekvenování (POP-6™) po vložení destičky.	Změňte polymer na POP-7™. Proveďte kontrolu funkčnosti pomocí sekvenačního instalacního standardu.

Řešení problémů - Kontrola výsledků

Problém	Možná příčina	Řešení
Soubory se po importu nezobrazí.	Importovali jste vzorky s příponou .hid a neklikli na HID Samples.	Klikněte na HID Samples (HID vzorky) .
Píky nejsou označeny.	Značky se nezobrazují automaticky.	Viz " Označení píků " na straně 93.
Měřítko os x a y grafu není automaticky upraveno po kliknutí na Apply (Použít).	Měřítko os x a y grafu je automaticky upraveno po kliknutí na Zoom (Zvětšit).	Klikněte na Zoom (Zvětšit) .
Výsledek odečtu velikostí píků v programu 3500 Series Data Collection se liší od výsledku v programu GeneMapper® ID-X.	Importovali jste do programu GeneMapper® ID-X soubory .fsa namísto .hid. Program 3500 Series Data Collection <i>nevyhodnocuje</i> při kontrole kvality výsledků fragmentační analýzy přítomnost širokých píků, proto jsou výsledky vyhodnocené v programu 3500 Series Data Collection odlišné od výsledků v programu GeneMapper® ID-X, který hodnotí i přítomnost širokých píků.	Nemá řešení.

Chybové hlášky

Součástí chybových hlášek v programu 3500 Series Data Collection je tlačítko Details (Detaily). Chcete-li zobrazit více informací o dané chybové hlášce, klikněte na toto tlačítko.



Řešení problémů – Sledování změn (Audit)

Problém	Možná příčina	Řešení
Hláška "Export did not complete successfully" – "Export neproběhl úspěšně"	Exportovali jste záznamy o vzorcích, které nejsou v původním adresáři (byly smazány nebo přemístěny).	Vraťte soubory do původního adresáře a exportujte znova.

Řešení problémů – Elektronický podpis

Problém	Možná příčina	Řešení
Při úpravě pole určeného na komentář ke vzorku se objeví výzva k zadání elektronického podpisu při úpravě tohoto pole se zobrazuje bez ohledu na nastavení elektronického podpisu.	Výzva k zadání elektronického podpisu při úpravě tohoto pole se zobrazuje bez ohledu na nastavení elektronického podpisu.	Nemá řešení.

Řešení problémů – Ruční ovládání

Problém	Možná příčina	Řešení
Zvolíte-li Tools > Manual Commands, Set defined command for Consumables, poté Read Command, informace je nečitelná.	Údaje z čipů spotřebního materiálu se touto cestou nenačítají.	Informace z RFID čipů získáte v Ovládacím panelu.

Různé

Problém	Možná příčina	Řešení
Krystaly polymeru na ventilu elektroforetického pufru (Buffer-Pin Valve).	Netěsnost ventilu elektroforetického pufru.	Vyčistěte ventil elektroforetického pufru. Dodržujte pokyny k údržbě jak jsou plánovány v programu 3500 Series Data Collection.
Nedochází k pohybu kapaliny ze zásobníku na polymer nebo regenerační roztok skrz pumpu do zásobníku na anodový pufr.	Nelze určit.	Kontaktujte zástupce společnosti Applied Biosystems.
Hláška "Electric discharge".	Hladina pufru v zásobníku na anodový pufr může být nízká.	Vyměňte zásobník na anodový pufr. Pufr v anodovém zásobníku je zapotřebí měnit v souladu s oznameními údržby v programu 3500 Series Data Collection.
Detekovaná netěsnost systému – během běhu v důsledku komprese bublin nebo při plnění kapilární sady.	Netěsnost systému.	Odstraňte bubliny pomocí průvodce Bubble Remove. Ujistěte se, že v pumpě nejsou bubliny. Pokud problém přetrvá, použijte regenerační roztok a propláchněte systém. Doplňte polymer pomocí průvodce Replenish Polymer.
Pouze některé ze zadaných nástříků jsou dokončeny.	Program 3500 Series Data Collection neprovádí následné nástříky.	Zkontrolujte spojení mezi počítačem a přístrojem a oba restartujte.
Po dokončení některých nástříků se zobrazí hláška "Injection failed" – "Nástřík se nezdařil".	Nelze načíst data z RFID čipu kapilární sady.	Znovu zadejte nástříky a spusťte běh.
Po kliknutí na tlačítko Refresh (Obnovit) na Ovládacím panelu se údaje neaktualizují ("Unknown").	Chyba spojení mezi počítačem a přístrojem.	
Po spuštění programu 3500 Series Data Collection se zobrazí hláška "Instrument is not connected" – "Přístroj není připojen".		
Hláška "Internal buffer data overflow".		

Resetování přístroje

Přístroj resetujte v případě:

- Vážné chyby indikované červenou stavovou diodou nebo
- V případě, že přístroj nereaguje na příkazy z programu 3500 Series Data Collection

Použití tlačítka
Reset

1. Vypněte počítač.
2. Zavřete dvířka přístroje.
3. Resetujte přístroj pomocí tlačítka Reset, viz obrázek.

Poznámka: Tlačítko Reset je přístupné skrz malý otvor vlevo od tlačítka Tray.



Resetování
pomocí vypnutí

1. Vypněte počítač.
2. Zavřete dvířka přístroje.
3. Vypněte přístroj pomocí hlavního spínače na čelním panelu.
4. Zapněte přístroj a vyčkejte, až se dioda rozsvítí zeleně (nebliká).
5. Zapněte počítač.
6. Spusťte program 3500 Series Data Collection (aplikace Service Console se spouští automaticky).

DŮLEŽITÉ! Předtím než budete pokračovat vyčkejte až se počítač úplně spustí.

Bezpečnost

Bezpečný provoz přístroje

Symboly na přístrojích

Elektrické symboly na přístrojích

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

Symbol	Popis
	Světelný spínač.
	Označuje polohu hlavního vypínače Zapnuto .
	Označuje polohu hlavního vypínače Vypnuto .
	Označuje spínač, který zapíná přístroj do provozního režimu (standby). Při zapnutém stavu může být v přístroji vysoké napětí.
	Označuje polohu hlavního vypínače Zapnuto/Vypnuto (přepínání).
	Svorka uzemnění. Neslouží jako ochranná svorka.
	Ochranná svorka - označuje chráněný uzemněný výstup, který musí být uzemněn předtím, než je provedeno jakékoliv jiné elektrické připojení přístroje (připojení hlavního ochranného vodiče).
	Střídavé napětí nebo proud.

Bezpečnostní symboly

Následující tabulka popisuje bezpečnostní symboly, které mohou být použity na přístrojích Applied Biosystems. Každý symbol může být použit sám o sobě nebo v kombinaci s textem, který vysvětluje případné riziko (viz „[Bezpečnostní označení na přístrojích](#)“ na straně 317). Tyto bezpečnostní symboly se mohou rovněž objevit v textu tohoto nebo dalších dokumentů vedle označení DANGER (NEBEZPEČÍ), WARNING (VÝSTRAHA) a CAUTION (VAROVÁNÍ).



Symbol	Popis
	Indikuje, že byste měli získat další informace z příručky a pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje možný úraz elektrickým proudem a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje horký povrch nebo jiné riziko související s vysokou teplotou a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje přítomnost laseru a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje biologické riziko a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.
	Indikuje přítomnost ostrých předmětů/možnost zranění a nutnost pokračovat s patřičnou obezřetností.

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

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

Bezpečnostní označení na přístrojích

Genetické analyzátoru Applied Biosystems 3500/3500xL nesou bezpečnostní označení na následujících místech:

Laser - výstraha

Na dvířkách detekčního okénka – viz obrázek.



Obecná pravidla bezpečnosti při práci s přístrojem

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

Přemisťování a zvedání přístroje

⚠️ VAROVÁNÍ! RIZIKO PORANĚNÍ. Přístroj smí přemisťovat pouze osoby nebo dodavatelé uvedení v návodu na přípravu místa. Rozhodnete-li se přístroj přemisťovat 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 přemisťování nebo zvedání přístroje vyžadovat dvě a více osob.

Přemisťování a zvedání počítače a monitoru

⚠️ VÝSTRAHA! Zvedání nebo přenášení počítačů a monitorů provádějte vždy v dostatečném počtu osob. V závislosti na hmotnosti počítače a/nebo monitoru může jejich přemisťování 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.
- Nevyjmímejte předmět z krabice, namísto toho položte krabici na bok a přidržte ji, zatímco někdo jiný nechá její obsah opatrně vylouznout 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 329.

Čistění nebo dekontaminace přístroje

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

Další bezpečnostní rizika

Pohyblivé součásti

 **VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ.** Při ovládání přístroje nesahejte na pohyblivé součásti. Před servisním zásahem vypojte přístroj ze sítě.

Rozpouštědla a stlačené kapaliny

 **VÝSTRAHA! RIZIKO PORANĚNÍ.** Při práci s rozpouštědly nebo stlačenými kapalinami vždy používejte prostředky ochrany očí.

Bezpečná manipulace s elektrickými zařízeními



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

Pojistky



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



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Používejte pouze schválené elektrické kabely odpovídající napětí ve vaší elektrické síti.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ ÚRAZU ELEKTRICKÝM PROUDEM. Připojte přístroj pouze do uzemněné zásuvky s odpovídajícím elektrickým napětím.

Přepětí Analyzátory 3500/3500xL spadají do třídy II (přepětí) a jsou klasifikovány jako přenosné přístroje.



Laser

Laser Genetické analyzátory 3500 nebo 3500xL používají laser. Parametry laseru jsou následující:

- Vlnová délka 505nm
- Výstupní výkon 20mW

Parametry LED:

- Emituje přirozenou bílou barvu
- Svítivost 250 Cd

Za normálních provozních podmínek se jedná o laser třídy I. Jsou-li během určitých servisních zásahů vyrazeny z činnosti kontaktní pojistky, může laser způsobit trvalé poškození zraku a je tudíž za těchto podmínek zařazen jako laser třídy 3B.



VAROVÁNÍ! LASER. Používání kontrol nebo úpravy nebo provádění procedur jiných než uvedených v této příručce může vést k riziku ozáření.

Pravidla manipulace s laserem

Pro bezpečný provoz laseru:

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

Další informace k bezpečnému provozu laseru

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

Rovněž si povšimněte výstražných upozornění týkajících se laseru v části "[Bezpečnostní označení na přístrojích](#)" na straně 317.



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

Bezpečná manipulace s laserem čtečky čárových kódů

Používání čtečky čárových kódů je volitelné.

Laser Čtečka čárových kódů je vybavena laserem třídy 2 (II).

Bezpečná manipulace s laserem Lasery třídy 2 (II) jsou nízkoenergetické lasery s viditelným paprskem, který může způsobit poškození očí. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku. Skener je konstruován tak, aby laserový paprsek nebyl dostupný pro operátora přístroje při jeho běžném používání, údržbě nebo během předepsaných servisních zásahů.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČÍ LASEROVÉHO ZÁŘENÍ. Lasery třídy 2 (II) mohou způsobit poškození očí. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku třídy 2 (II) nebo neobracejte tento paprsek proti očím někoho jiného.

Bezpečná práce

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.



VAROVÁNÍ! NEBEZPEČÍ SVALOVÉHO PORANĚNÍ. Toto nebezpečí je způsobeno např. ale nikoliv výlučně opakovánmi 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 umožněna relaxovaná poloha hlavy a těla.

Bezpečnost a normalizace v oblasti elektromagnetické kompatibility (EMC)

Tato část obsahuje informace o:

- [Bezpečnostních předpisech v USA a Kanadě na straně 322](#)
- [Kanadských normách EMC na straně 323](#)
- [Evropských bezpečnostních předpisech a normách EMC na straně 323](#)
- [Australských normách EMC na straně 328](#)

Bezpečnostní
předpisy v USA a
Kanadě
 us

Přístroje 3500 nebo 3500xL byly testovány podle a splňují požadavky norem:

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

UL 61010-2-010, "Particular Requirements for Laboratory Equipment for the Heating of Materials."

Přístroje 3500 nebo 3500xL byly testovány podle a splňují požadavky nařízení "21 CFR, 1040.10 and 1040.11 except for deviations pursuant to Laser Notice No.50, ze dne 24. června 2007 v platném znění."

Pro čtečku/zapisovač v přístrojích Applied Biosystems 3500/3500xL

VÝSTRAHA FCC (Federal Communications Commission – Federální úřad pro komunikaci)

Toto zařízení splňuje požadavky části 15 pravidel FCC. Předpokladem provozu je splnění následujících podmínek

1. Zařízení by nemělo vydávat záření
2. Zařízení musí přijímat jakékoliv záření, včetně záření, které může způsobit jeho nesprávné fungování.

Změny nebo úpravy, které nejsou výslovně schváleny zodpovědnou autoritou, mohou vést k zákazu používání zařízení.

UPOZORNĚNÍ

Toto zařízení bylo testováno podle a splňuje limity pro digitální zařízení třídy B, shodně s částí 15 pravidel FCC. Tyto limity jsou stanoveny tak, aby poskytovaly přiměřenou úroveň ochrany před nebezpečným zářením při instalaci v obytných prostorách.

Toto zařízení vytváří, používá a může emitovat radiofrekvenční záření a pokud není instalováno a provozováno v souladu s pokyny může vážně narušit rádiovou komunikaci. Současně není poskytována záruka, že k tomuto narušení za určitých podmínek instalace nedojde. Dojde-li k narušení příjmu rádiového nebo televizního signálu, což lze ověřit vypnutím a zapnutím přístroje, je uživateli doporučeno pokusit se situaci napravit pomocí jednoho z následujících kroků:

- Přetočit nebo přemístit přijímací anténu

- Vzdálit od sebe přístroj a přijímač.
- Připojit zařízení do jiného zásuvkového okruhu, než v němž je připojen přijímač.
- Vyžádat si pomoc prodejce nebo zkušeného technika v oboru příjmu radio/TV signálu.

Kanadské normy EMC Přístroje 3500 nebo 3500xL byly testovány podle a splňují požadavky normy ICES-001, vydání 3: "Industrial, Scientific, and Medical Radio Frequency Generators." Cet appareil numerique de la classe B est conforme a la norme NMB-001 du Canada.

Upozornění Kanadského úřadu pro komunikaci

Toto zařízení splňuje požadavky nařízení RSS-Gen. Provoz je možný za následujících předpokladů:

1. Zařízení by nemělo vydávat záření
2. Zařízení musí přijímat jakékoliv záření, včetně záření, které může způsobit jeho nesprávné fungování.

Evropské bezpečnostní předpisy a normy EMC



Bezpečnost

Tento přístroj splňuje bezpečnostní požadavky evropské Směrnice pro nízké napětí (2006/95/EC). Tento přístroj byl testován podle norem EN 61010-1:2001 "Bezpečnostní požadavky na elektrické měřicí, řídící 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 na automatická a poloautomatická zařízení pro analýzy a jiné účely".

EN 60825-1, "Bezpečnost laserových zařízení - Část 1: Klasifikace zařízení a požadavky".

EMC

Přístroje 3500 nebo 3500xL splňují požadavky evropské směrnice 2004/108/ES o sbližování právních předpisů členských států týkajících se elektromagnetické kompatibility.

EN 61326-1:2006 "Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití – požadavky EMC" (Skupina 1, třída B)

Pro čtečku/zapisovač v přístrojích Applied Biosystems 3500/3500xL

CE Upozornění (Evropská unie)

Označení tímto symbolem potvrzuje shodu zařízení ASI4000-98-BS1 RFID R/W Modul s nařízením o elektromagnetické kompatibilitě a nízkém napětí Evropské unie. Tím je potvrzeno, že RFID R/W Modul splňuje požadavky norem:

- EN 300330 – "Elektromagnetická kompatibilita a rádiové spektrum (ERM) - Přístroje s krátkým dosahem (SRD)." 

- EN 301489 – “Elektromagnetická kompatibilita a rádiové spektrum (ERM) - Norma pro elektromagnetickou kompatibilitu (EMC) rádiových zařízení a služeb.”
- EN 60950 – “Zařízení informační technologie - Bezpečnost.”

Evropa – CE prohlášení o shodě (čtečka / zapisovač) EN 300 330-1 V1.5.1 (2006-04), EN 300 330-2 V1.3.1 (2006-04), EN 301 489-3 V1.4.1 (2002-08), EN 301 489-1 V1.6.1 (2005-09), EN 60950-1:2006
Společnost ART Technology Co. Ltd. tímto prohlašuje, že zařízení ASI4000-98-BS1 je ve shodě se základními požadavky a dalšími příslušnými ustanoveními směrnice.

Français

[French]

Par la présente ART Technology Co., Ltd. déclare que l'appareil
ASI4000-98-BS1 est conforme aux exigences essentielles et aux autres
dispositions pertinentes de la directive 1999/5/CE.

Deutsch

[German]

Hiermit erklärt ART Technology Co., Ltd. dass sich das Gerät ASI4000-98-BS1
in Übereinstimmung mit den grundlegenden Anforderungen und den übrigen
einschlägigen Bestimmungen der Richtlinie 1999/5/EG befindet.

Italiano

[Italian]

Con la presente ART Technology Co., Ltd. dichiara che questo
ASI4000-98-BS1 è conforme ai requisiti essenziali ed alle altre disposizioni
pertinenti stabilite dalla direttiva 1999/5/CE.

Español

[Spanish]

Por medio de la presente ART Technology Co., Ltd. declara que el
ASI4000-98-BS1 cumple con los requisitos esenciales y cualesquier otras
disposiciones aplicables o exigibles de la Directiva 1999/5/CE.

Português

[Portuguese]

ART Technology Co., Ltd. declara que este ASI4000-98-BS1 está conforme
com os requisitos essenciais e outras disposições da Directiva 1999/5/CE.

Suomi

[Finnish]

ART Technology Co., Ltd. Vakuuttaa täten että ASI4000-98-BS1 tyyppinen laite
on direktiivin 1999/5/EY oleellisten vaatimusten ja sitä koskevien direktiivin
muiden ehtojen mukainen.

Nederlands

[Dutch]

Hierbij verklaart ART Technology Co., Ltd. dat het toestel ASI4000-98-BS1 in
overeenstemming is met de essentiële eisen en de andere relevante



Česky

[Czech]

ART Technology Co., Ltd. tímto prohlašuje, že tento ASI4000-98-BS1 je ve shodě se základními požadavky a dalšími příslušnými ustanoveními směrnice 1999/5/ES.

Dansk

[Danish]

Undertegnede ART Technology Co., Ltd. erklærer herved, at følgende udstyr ASI4000-98-BS1 overholder de væsentlige krav og øvrige relevante krav i direktiv 1999/5/EU.

Eesti

[Estonian]

Käesolevaga kinnitab ART Technology Co., Ltd. seadme ASI4000-98-BS1 vastavust direktiivi 1999/5/EÜ põhинuetele ja nimetatud direktiivist tulenevatele teistele asjakohastele sätetele.

Ελληνική

[Greek]

ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ART Technology Co., Ltd. ΔΗΛΩΝΕΙ ΟΤΙ
ASI4000-98-BS1 ΣΥΜΜΟΡΦΩΝΕΤΑΙ ΠΡΟΣ ΤΙΣ ΟΥΣΙΩΔΕΙΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ
ΚΑΙ ΤΙΣ ΛΟΙΠΕΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ΤΗΣ ΟΔΗΓΙΑΣ 1999/5/ΕΚ.

Latviski

[Latvian]

Ar šo ART Technology Co., Ltd. deklarē, ka ASI4000-98-BS1 atbilst Direktīvas 1999/5/EK būtiskajām prasībām un citiem ar to saistītajiem noteikumiem.

Lietuvių

[Lithuanian]

Šiuo ART Technology Co., Ltd. deklaruojama, kad šis ASI4000-98-BS1 atitinka esminius reikalavimus ir kitas 1999/5/EB Direktyvos nuostatas.

Malte

[Maltese]

Hawnhekk, ART Technology Co., Ltd. jiddikjara li dan ASI4000-98-BS1 jikkonforma mal-fid-Direttiva 1999/5/EC.

Magyar

[Hungarian]

Alulírott, ART Technology Co., Ltd. nyilatkozom, hogy a ASI4000-98-BS1 megfelel a vonatkozó alapvető követelményeknek és az 1999/5/EC irányelv egyéb előírásainak.

Polski

[Polish]

Niniejszym ART Technology Co., Ltd. oświadcza, że ASI4000-98-BS1 jest zgodny z zasadniczymi wymogami oraz pozostałymi stosownymi postanowieniami Dyrektywy 1999/5/EC.

Slovensko

[Slovenian]

ART Technology Co., Ltd. izjavlja, da je ta ASI4000-98-BS1 v skladu z bistvenimi zahtevami in ostalimi relevantnimi določili direktive 1999/5/ES.

Slovensky

[Slovak]

ART Technology Co., Ltd. týmto vyhlasuje, že ASI4000-98-BS1 splňa základné požiadavky a všetky príslušné ustanovenia Smernice 1999/5/ES.

Svenska

[Swedish]

Härmed intygar ART Technology Co., Ltd. att denna ASI4000-98-BS1 står i överensstämmelse med de väsentliga egenskapskrav och övriga relevanta bestämmelser som framgår av direktiv 1999/5/EG.

Íslenska

[Icelandic]

Hér með lýsir ART Technology Co., Ltd. yfir því að ASI4000-98-BS1 er í samræmi við grunnkröfur og aðrar kröfur, sem gerðar eru í tilskipun 1999/5/EC.

Norsk

[Norwegian]

ART Technology Co., Ltd. erklærer herved at utstyret ASI4000-98-BS1 er i samsvar med de grunnleggende krav og øvrige relevante krav i direktiv 1999/5/EF.



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.

Bezpečná manipulace s chemikáliemi

Bezpečná manipulace s chemikáliemi

Výstraha – chemické riziko

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

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

Bezpečná manipulace s chemikáliemi - Doporučení

Abyste minimalizovali riziko plynoucí z používání chemikálií musíte:

- Přečíst a pochopit bezpečnostní listy dodávané výrobci 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 329.)
- Minimalizujte kontakt s chemikáliemi. Používejte odpovídající osobní ochranné pomůcky pro práci s chemikáliemi (např. ochranné brýle, rukavice, ochranný oděv). Další bezpečnostní opatření najeznete v bezpečnostním listu.
- Minimalizujte inhalaci chemikálií. Neponechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte odpovídající větrání (například digestoř). Další bezpečnostní opatření najeznete v bezpečnostním listu.
- Pravidelně kontrolujte, zda nedošlo k vylití nebo rozsypání chemikálií. Pokud k tomu dojde, postupujte podle čistících procedur doporučených výrobcem chemikálie v bezpečnostním listu.
- Dodržujte všechna místní nebo národní nařízení a předpisy týkající se uchovávání chemikálií, manipulace s nimi a jejich odstraňování.

Bezpečnostní listy

O bezpečnostních listech

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

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

Získání bezpečnostního listu

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

1. Otevřete stránku www.appliedbiosystems.com, zvolte **Support** (Technická podpora), poté zvolte **MSDS**.
2. V poli hledání zadejte název chemikálie, katalogové číslo nebo další informaci z bezpečnostního listu, který vás zajímá. Zvolte jazyk, klikněte na **Search** (Hledat).
3. Zvolte dokument, který vás zajímá, klikněte pravým tlačítkem myši na jeho název a zvolte jednu z následujících možností:
 - **Open** – Otevření dokumentu
 - **Print Target** – Vytisknutí dokumentu
 - **Save Target As** – Stažení dokumentu ve verzi PDF do zvoleného adresáře

Poznámka: Bezpečnostní listy k chemikáliím nedodávaných společností Applied Biosystems získáte u jejich dodavatelů.



Bezpečná manipulace s chemickým odpadem

Výstraha –
Chemické riziko



VAROVÁNÍ! NEBEZPEČNÝ ODPAD. Při manipulaci s nebezpečným odpadem a při jeho odstraňování se řídte pokyny v bezpečnostním listu a místními předpisy.



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



VÝSTRAHA! RIZIKO UCHOVÁVÁNÍ CHEMIKÁLIÍ. Nikdy neuchovávejte odpad ve skleněných nádobách kvůli možnosti jejich rozbití. Lávhe na reagencie a odpad se mohou rozbit 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 reagencie 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 výrobci chemikálií z nichž odpad vzniká, předtím než začnete chemický odpad ukládat, manipulovat s ním nebo ho odstraňovat.
- Mít k dispozici primární i sekundární nádoby na odpad. (Primární nádoba na odpad je pro jeho okamžité shromažďování. Sekundární nádoba na odpad osahuje to co vytéče nebo se vysype z primární nádoby. Obě nádoby musí odpovídat typu ukládaného odpadu a splňovat nařízení místních i národních předpisů.)
- Minimalizovat kontakt s chemikáliemi. Při práci s chemikáliemi používejte odpovídající osobní ochranné pomůcky (např. ochranné brýle, rukavice, ochranný oděv). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Minimalizovat inhalaci chemikálií. Neponechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte odpovídající větrání (například digestoř). Další bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu.
- Manipulovat s chemickým odpadem v digestoři.
- Pytle s odpadem zajistit svorkou.
- Odstraňovat odpad z odpadní misky a odstraňovat odpadní láhve v souladu se správnou laboratorní praxí a místními i státními předpisy.

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

- Charakterizovat (analyzovat, pokud je to nutné) tento odpad, reagencie a substráty používané ve vaší laboratoři.
- Zajistit ochranu zdraví a bezpečnost všech pracovníků vaší laboratoře.

you

- 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.

Biologické riziko

Biohazard



VÝSTRAHA! BIOHAZARD. Biologické lidské nebo zvířecí vzorky jako např. tkáně, 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 započetím 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; bml.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



Bezpečnostní upozornění

Definici bezpečnostních upozornění **IMPORTANT** (DŮLEŽITÉ), **CAUTION** (VAROVÁNÍ), **WARNING** (VÝSTRAHA) a **DANGER** (NEBEZPEČÍ) naleznete v části „[Bezpečnostní upozornění](#)“ na straně [xiii](#).

Chemické riziko

Obecně platná
výstraha pro
všechny
chemikálie



VÝSTRAHA! Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice kdykoliv pracujete s provozními kapalinami přístroje nebo součástmi, které s nimi přicházejí do kontaktu.

DŮLEŽITÉ! Čistící prostředky používejte pouze v souladu s pokyny v tomto manuálu. Použití jiných čistících prostředků může ovlivnit fungování přístroje. V případě dotazů kontaktujte místní zastoupení společnosti Life Technologies.

- Čtěte bezpečnostní list příslušné chemikálie a dodržujte pokyny.
- Zabraňte inhalaci, kontaktu s očima, kůží, oděvy a dlouhodobé nebo opakováno expozici.
- Spotřební materiály mají omezenou životnost. Jejich používání nad rámec této životnosti může ovlivnit kvalitu výsledků analýz.

Specifické výstrahy



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. POP-4™ POLYMER.

Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Nevdechujte výpary, při práci zajistěte větrání.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. POP-6™ POLYMER.

Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Nevdechujte výpary, při práci zajistěte větrání.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. POP-7™ POLYMER.

Nebezpečná při inhalaci a polknutí. Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Neochutnávejte a nepolykejte. Nevdechujte výpary. Zásobní lahvičku udržujte dobře uzavřenou. Při práci zajistěte větrání..



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. Hi-Di™ Formamid.

Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Možné riziko vývojových vad a poškození plodu. Nevdechujte výpary. Při práci zajistěte větrání.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. Anodový pufr.

Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Nevdechujte výpary, při práci zajistěte větrání.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. Katodový pufr.

Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Nevdechujte výpary, při práci zajistěte větrání.



VÝSTRAHA! NEBEZPEČNÁ CHEMIKÁLIE. 1× GA pufr/EDTA.

Způsobuje podráždění očí, kůže a zažívacího traktu. Nevdechujte výpary, při práci zajistěte větrání.



Bezpečnostní upozornění k přístrojům

Obecně platná upozornění k přístrojům



VÝSTRAHA! Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice kdykoliv pracujete s provozními kapalinami přístroje nebo součástmi, které s nimi přicházejí do kontaktu.

Specifické výstrahy



VÝSTRAHA! Používejte prostředky ochrany očí, ochranný oděv a rukavice kdykoliv pracujete s provozními kapalinami přístroje nebo součástmi, které s nimi přicházejí do kontaktu

Za normálních provozních podmínek je laser přístroje klasifikován jako laser třídy I. Jsou-li během určitých servisních zásahů vyřazeny z činnosti kontaktní pojistky, může laser způsobit trvalé poškození zraku a je tudíž za těchto podmínek zařazen jako laser třídy 3B.

Tento přístroj byl testován a splňuje požadavky norem 21 CFR, 1040.10 a 1040.11 s výjimkou odchylek shodných s nařízením č. 50 týkajícím se laserů ze dne 24.6.2007 v platném znění.

Tento přístroj byl testován a splňuje požadavky normy EN60825-1: 2001 „Bezpečnost laserových zařízení - Část 1: Klasifikace zařízení a požadavky“.



VAROVÁNÍ! Používání kontrol nebo úpravy nebo provádění procedur jiných než uvedených v této příručce může vést k riziku ozáření.

Parametry laseru

- Vlnová délka 505nm
- Výstupní výkon 20mW

Parametry LED:

- Emittuje přirozenou bílou barvu
- Svítivost 250 Cd

Dokumentace

Související dokumentace

Spolu s přístrojem jsou dodávány následující související dokumenty:

Dokument	Kat. č.	Popis
<i>Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzers Quick Reference Card</i>	4401662	<ul style="list-style-type: none">Obsahuje postupový diagram jak analyzovat vzorky na přístrojiObsahuje seznam kroků údržbyObsahuje informace k programu Data Collection
<i>Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzer Site Preparation Guide (4401689)</i> Poznámka: Účelem této příručky je poskytnout informace o tom jak připravit vaši laboratoř na instalaci přístroje 3500 nebo 3500xL.	4401663	Poskytuje informace o tom, jaké místo, podmínky a elektrické připojení jsou zapotřebí pro provoz přístrojů Applied Biosystems 3500/3500xL.

PDF verze této příručky, Quick Reference Card a záručního listu jsou rovněž k dispozici na instalačním CD, které je dodáváno spolu s přístrojem.

Poznámka: Více informací viz „[Kde získat pomoc](#)“ na straně xvii.

Získání informací v návodě (Help)

Program 3500 Data Collection poskytuje ve svém grafickém rozhraní instrukce k provádění základních kroků obsluhy a dodatečné informace pro rozhodnutí o dalším postupu. Tyto informace jsou dostupné po kliknutí na ikonu

Návod


Analyzátory 3500 nebo 3500xL jsou vybaveny návodou (Help) obsahující návod jak používat jednotlivé funkce programu. Návod lze otevřít přímo z prostředí programu takto:

- Klikněte na symbol  v okně programu Data Collection.
- Zvolte **Help (Pomoc) > Help Contents (Obsah návodu)**.

V návodu 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, postupujte podle pokynů v části **“Kde získat pomoc”** na straně xvii.

Rejstřík

Symboly

- .annotation.txt [36](#), [87](#)
- .csv [75](#)
- .fsta [36](#), [87](#)
- html [87](#)
- .pdf [87](#)
 - destička - vyobrazení [50](#)
 - elektronický podpis - zpráva [222](#)
 - fragmentace/HID - kontrola funkčnosti pomocí standardu [138](#)
 - kvalita vzorku - zprávy [95](#)
 - prostorová kalibrace - zpráva [102](#)
 - sekvenování - kontrola funkčnosti pomocí standardu [128](#)
 - spektrální kalibrace [116](#)
 - uživatel - zpráva [206](#)
 - zpráva o sledování změn [214](#)
- .phd.1 [36](#), [87](#)
- .qual [36](#), [87](#)
- .scf [36](#), [87](#)
- .seq [36](#), [87](#)
- .txt [75](#), [87](#)
- .xls [75](#), [87](#)
- .xml [75](#)

Číslice

- 8-zkumavkový strip
- destička, držák [53](#)
- destička, typ [44](#), [51](#), [105](#), [120](#), [145](#)
- 96 Fast, zkumavka, destička - typ [145](#)

A

- ABC. viz anodový pufr
- administrátor, uživatelská úloha [203](#)
- alelický žebřík
 - adresář [52](#)
 - amplikon, určení [49](#)
 - běh, požadavky [155](#)
 - název pro opakovaný nástřik vzorku [49](#)
 - opakovaný nástřik [67](#)
 - oranžová stavová dioda [23](#)
 - požadavky pro přesné genotypování [52](#), [68](#)
 - validace [52](#)
 - vzorek, typ [48](#)
- analýza, rozsah
 - fragmentační analýza [181](#)
 - HID analýza [186](#)
- anodový pufr
 - katalogové číslo [9](#)
 - limity použitelnosti v přístroji [30](#)

podmínky uchovávání 9
popis 9
řešení problémů 303
výměna 237
AnyDye
spektrální kalibrace 108
vytvořit soubor barev 169
Applied Biosystems
připomínky k dokumentaci 336
archivovat
datové soubory 255
knihovna, položky 254
záznamy o sledování změn 214
archivovat položky 214
export nastavení 224
export záznamů 215
historie nastavení systému 209, 211
import nastavení 224
když zabezpečení je vypnuto 207
obnovit záznamy 214
položka – historie sledování změn 209, 210
přehled 197
řešení problémů 312
sledování změn, důvod - nastavení 208
sledování změn, kroky 210, 212
sledování změn, režim 208
sledování změn. záznamy položek 210
vymazat záznamy 214
zapnout či vypnout 207
automatická analýza
destička, nastavení 146
automatické odhlášení 199, 226

B

Basecaller 175
basecaller – verze v protokolu a vyobrazení výsledků sekvenování 80
basecalling – protokoly, vytvořit 174
definice 174
export 141
import 141
v eseji 150
běh, název výchozí 57
bezpečnostní listy
o xiii
popis 329
získání xvii, 329
BigDye® Terminator, kity a standardy 259
biohazard 331
Broad Peak (BD) a SQ 188
práh 188
vlaječka ve vyobrazení fragmentace/HID, výsledky 89

C

- CBC. viz katodový puf
- Clear range [176](#)
- condition number, spektrální kalibrace [109](#)
- contiguous read length. viz CRL
- CRL
 - definice [81](#)
 - kontrola funkčnosti [125](#)
 - pokojová teplota, závislost [30](#)
 - práh [178](#)
 - QV, nastavení [178](#)
 - výsledek [81](#)
 - zpráva [85](#)

Č

- čárový kód [145](#)
- červená stavová dioda [23](#)
- čisté báze, barva [37](#)
 - QV rozsah [37](#)
- čisté báze, nastavení [84](#)
- čtečka čárových kódů [8](#)

D

- datové soubory, řešení problémů [306](#)
- datové soubory, uchovávání
 - běh přístroje, název adresáře [159](#)
 - definice pojmenování souborů, umístění [50](#)
 - nástrčík, adresář [159](#)
 - soubory vzorků, archivace [255](#)
 - soubory vzorků, umístění [18](#)
 - výsledková skupina, název adresáře [159](#)
 - výsledková skupina, umístění [50](#)
- definice obsahu destičky [48](#)
 - amplikon a jedinec [49](#)
 - definice pojmenování souboru [49, 73](#)
- destička - vyobrazení [48, 70](#)
- destička - vyobrazení, vlastní nastavení [71](#)
 - esej [49, 73](#)
 - kapilární sada výběr [71](#)
 - monitorování běhu [62](#)
 - název vzorku [48, 70](#)
 - přehled [46](#)
 - součásti obrazovky [46](#)
 - tabulka, vyobrazení [71](#)
 - templát pro [75](#)
 - vlastní nastavení definice obsahu destičky [71](#)
 - výsledková skupina [49, 73](#)
 - vzorek, typ [48](#)
- definice pojmenování souborů, přiřazení do destičky [49, 73](#)
 - definice [151](#)
 - export [141](#)

import 141
umístění souborů 154
v destičce 151
vytvořit 151
definice vlastností destičky 44
délka čtení 125
denní údržba přístroje 230, 231
destička
 definice pojmenování souborů 49, 73
 držáky 53
 esej 49, 73
 export 75
 import 44, 75
 podpis 228
 přehled 143
 propojení 54, 57
 tisk 50
 typ 145
 upravit 74
 upravit stávající 46
 viz též definice obsahu destičky
 vlastník 145
 vlastnosti 44
 vložení do přístroje 53
 vložení do programu 56
 výsledková skupina 49, 73
 vytvořit 43
 vytvořit pro import 73
 vytvořit z templátu 43
 vzorek, příprava 51
 zpracovaná 76
destička, definice 143
destička, import templátu 73
destička se vzorky
 viz též kontrola výsledků, fragmentace/HID
 v kontrole výsledků 89
 v monitorování běhu 62
destička, templát - vytvořit 75
 vytvořit destičku z 43
destička, vlastnosti 145
destička, výchozí typ 34
 nastavit výchozí 76
 určit 44, 51, 105, 120, 145
destička, vyobrazení
 .pdf 50
 tisk 50
 uložení pro budoucí použití 75
destička, záznam. *viz* destička
destička zpráva
 fragmentace/HID 95
 sekvenování 85
detekční blok, teplota 42, 104, 119, 129
dokumentace, související 335

doplňení polymeru, průvodce [245](#)
doporučení
 chemický odpad, bezpečnost [330](#)
 chemický odpad, odstraňování [330](#)
 chemikálie, bezpečnost [328](#)
DŮLEŽITÉ, popis [xiii](#)

E

elektrická zařízení, bezpečnost [319](#)
elektroferogram, řešení problémů [306](#)
elektronický podpis, administrátoři
elektronický podpis, záznamy [221](#)
 vyobrazení v knihovně [142](#)
EMC standardy [322](#)
EPT vyobrazení [78](#)
ergonomie, bezpečnost [321](#)
esej [141](#)
 definice [46, 147](#)
 definice pojmenování souborů [141](#)
destička [75, 141](#)
elektronický podpis, nastavení [224](#)
elektronický podpis, záznamy [223](#)
fragmentační analýza, protokoly [141](#)
HID analýza, protokoly [141](#)
normalizace dat [49](#)
odečet velikostí, protokoly [141](#)
přiřazení do destičky [49, 73](#)
prostorová kalibrace [101](#)
protokol [141](#)
protokol přístroje [141, 150](#)
protokoly, basecalling [141](#)
QC protokoly [141](#)
sekvenační analýza, protokoly [141](#)
sekvenování, výsledky, zprávy [87](#)
sledování změn, nastavení [224](#)
sledování změn, záznamy [215](#)
soubor barev [141](#)
spektrální kalibrace [115](#)
uživatelský účet, nastavení [224](#)
velikostní standardy [141](#)
výsledková skupina [141](#)
vytvořit [147](#)
zabezpečení, nastavení [224](#)

F

fast destička
 destička, držáky [53](#)
 destička, typ [44, 51, 105, 120, 145](#)
formát data, nastavení [33](#)
fragmentace/HID - kontrola funkčnosti pomocí standardu
 odhadovaná doba běhu [129](#)
 příklady [137](#)

vyhodnocení dat 135
zprávy 137
fragmentační analýza
moduly běhů 264
reagence, katalogová čísla, podmínky uchovávání 260
soubor barev 261
fragmentační analýza – protokoly
definice 193
export 141
import 141
v eseji 150
vytvořit 193
fragmentační analýza - výsledky.
viz Kontrola výsledků, fragmentace/HID

G

GeneMapper ID-X, protokoly
viz též HID analýza, protokoly - vytvořit 195
GeneMapper, protokoly
viz též fragmentační analýza, protokoly - vytvořit 193
graf velikostního standardu 94
grafy, fragmentace/HID
nastavení 92
nastavení, výchozí 35
označení písků 93
překryv 93
rozsah os 92
zobrazení grafů 91
zvětšení 92
GS600 LIZ® v2.0 velikostní standard 171, 260
GS600(60-600)LIZ+Normalizace 171
GS600(80-400)LIZ+Normalizace 171
GS600LIZ+Normalizace 171

H

heslo
expirace 199
omezení 199
změna 226
HID analýza
alelický žebřík, validace 52
moduly běhů 264
reagencie, katalogová čísla, podmínky uchovávání 260
soubor barev 262
výsledky. *viz* kontrola výsledků, fragmentace/HID
HID analýza – protokoly, vytvořit 195
definice 195
export 141
import 141
v eseji 150
HID - kontrola funkčnosti pomocí standardu. *viz* fragmentace/HID kontrola funkčnosti pomocí standardu
Hi-Di™ Formamid

katalogové číslo 12
limity použitelnosti v přístroji 12
historie 137
 běh 132
 co se děje 134
 destička, příprava 129
 kdy provádět 129
 podpis 228
 přístroj, příprava 129
 řešení problémů 136, 303
 standardy 130
historie nastavení systému
 obsah 211
 zobrazení 209
hlavní postup práce
 přístup z ovládacího panelu 19

CH

chemický odpad, bezpečnost 330
chemikálie, bezpečnost 328
chybové hlášky
 přístroj 299, 313
 propojení destičky 304
 prostorová kalibrace 300
 RFID 304
 spektrální kalibrace 301
 zobrazení, detail 312

I

import
 basecalling, protokoly 141
 definice pojmenování souborů 141
 destička 44, 75, 141
 elektronický podpis, nastavení 224
 eseje 141
 fragmentační analýza, protokoly 141
 HID analýza protokoly 141
 odečet velikostí, protokoly 141
 protokol přístroje 141
 QC protokoly 141
 sekvenační analýza, protokoly 141
 sledování změn nastavení 224
 soubor barev 141
 soubory vzorků 81
 soubory vzorků, fragmentace/HID 89
 uživatelský účet, nastavení 224
 velikostní standardy 141
 výsledková skupina 141
 zabezpečení, nastavení 224
instalace kapilární sady, průvodce 252

J

- jamky
 - definice obsahu destičky [46](#)
 - uložit v templátu [75](#)

K

- kalibrace
 - viz* prostorová kalibrace
 - viz* spektrální kalibrace
- kapilára
 - viz* též kapilární sada
 - vyobrazení [77](#)
 - kapilární sada výběr, definice obsahu destičky [71](#)
 - přístroj, údržba [232](#)
- kapilární sada
 - katalogové číslo [13](#)
 - kontrola uložené [240](#)
 - limity použitelnosti v přístroji [30](#)
 - plnění polymerem [251](#)
 - podmínky uchovávání [240](#)
 - popis [12](#)
 - výměna [252](#)
- katalogová čísla
 - anodový pufr [9](#)
 - fragmentace/HID - standardy [260](#)
 - Hi-Di™ Formamid [12](#)
 - kapilární sada [13](#)
 - katodový pufr [9](#)
 - regenerační roztok [11](#)
 - sekvenační analýza - reagencie [259](#)
- katodový pufr
 - katalogové číslo [9](#)
 - limity použitelnosti v přístroji [30](#)
 - podmínky uchovávání [9](#)
 - popis [9](#)
 - řešení problémů [304](#)
 - výměna [238](#)
- knihovna
 - archivovat [254](#)
 - definice pojmenování souborů [151](#)
 - exportovat položky [141](#)
 - filtr [142](#)
 - GeneMapper ID-X, protokoly [195](#)
 - hledání [142](#)
 - import položky [141](#)
 - přehled [196](#)
 - přístup [140](#)
 - SeqScape, protokoly [189](#)
 - templát [139](#)
 - templát, vytvořit novou položku z [140](#)
 - továrně nastavené položky [139](#)
 - továrně nastavené položky, vytvořit novou položku z [140](#)
 - tfídlení [142](#)
 - upravit položku [141](#)

uzamčeno 139
vymazat položku 141
vymazat položku, sledování změn 141
vyobrazení - elektronický podpis, záznamy 142
vyobrazení - sledování změn, záznamy 142
vytvořit novou položku 140

knihovny
basecalling, protokoly 174
definice pojmenování souborů 151
eseje 147
fragmentační analýza, protokoly 193
HID analýza, protokoly 195
MicroSeq ID analýza, protokoly 191
odečet velikostí, protokoly 179
protokoly přístroje 165
QC protokoly 184
sekvenační analýza, protokoly 189
soubory barev 168
velikostní standardy 171
výsledkové skupiny 156

kontrola funkčnosti
oprávnění, uživatelský účet 203, 225
 viz fragmentace/HID kontrola, funkčnosti pomocí standardu
 viz sekvenování, kontrola funkčnosti pomocí standardu

kontrola výsledků
import – soubory vzorků 81
import soubory vzorků, fragmentace/HID 89
předešlý běh 81
předešlý běh, fragmentace/HID 89
přejmenování 97
současný běh, sekvenování 80
současný běh, fragmentace/HID 88
tfidění 81
zobrazit/skrýt sloupce 81

kontrola výsledků, fragmentace/HID
 grafy 91
 normalizace dat 90
 opakování nástřík 95
 označení pírků 93
 překryv grafů 93
 přístup 88
 rozsah os 92
 vlaječka 89

kontrola výsledků, sekvenování 87
 export 36
 náhledy 84
 opakování nástřík 85
 ukazatele kvality – barva a rozsah 37
 vyobrazení bází - barvy 37

kroky jak umožnit elektronický podpis 217
 export 223
 export nastavení 224
 funkce vyžadující elektronický podpis 217
 import nastavení 224
 když zabezpečení je vypnuto 216

přehled 197
zapnout či vypnout 216
zpráva 222
křivka pro odečet velikostí, přehled 95
kurzíva, používání xvi
kvalita sekvence
 viz též kontrola výsledků, sekvenování monitorování běhu 62
 čisté báze, nastavení 84
 doporučené rozsahy 84
 směsné báze, nastavení 84
 v kontrole výsledků 81
kvartální údržba přístroje 231

L

laser, bezpečnost 320
 čtečka čárových kódů 321
 požadavky 320, 321

M

matriční standardy, katalogová čísla 260
metoda odečtu velikostí písků
 fragmentační analýza 181
 HID analýza 186
MicroSeq ID analýza, protokoly - vytvořit 191
 definice 191
Mobility file 175
modul běhu 166
moduly běhu
 fragmentace/HID, analýza 264
 sekvenování, analýza 263
monitorování běhu
 opakování nástřík 65
 řešení problémů 311
 seznam nástříků 61
 seznam nástříků, úprava 61
 současný běh 61
 spuštění, vypnutí, znovuspuštění běhu 69
 vlaječka v destičce, vyobrazení 62
 vlaječka v seznamu nástříků 62
 vlaječka, nastavení 177
měsíční údržba přístroje 231

N

náhledy
 fragmentace/HID 94
 sekvenování 84
napětí 167
nápowěda, přístup 336
nastavení
 destička, typ 34
 formát data 33
 graf, nastavení 35

- přehled [32](#)
- přístroj, název [33](#)
- sekvenování, export [36](#)
- systém [32](#)
- tabulky, nastavení [35](#)
- údržba, připomínka [33](#)
- umístění souborů [35](#)
- uživatel [33](#)
- zprávy [34](#)
- zprávy, sekvenování [38](#)
- nastavení
 - fragmentace/HID [95](#)
 - sekvenování [86](#)
- nástřik, definice [57](#)
 - adresář [159](#)
 - opakovaný nástřik [65](#)
 - opakovat [60](#)
 - určit nový protokol přístroje [65](#)
 - zdvojení [60](#)
- nástřiky, seznam
 - dokončený nástřik [62](#)
 - monitorování běhu [61](#)
 - opakovaný nástřik [65](#)
 - prázdný [60](#)
 - sloupce v tabulce [62](#)
 - ukončení [69](#)
 - úprava [60](#)
 - vyobrazení běhu [59](#)
 - zdvojení nástřiku [60](#)
 - zrušit nástřik [69](#)
- název souboru, maximální délka [154](#)
- název souboru, výchozí formát [50](#)
 - bez definice pojmenování souborů [50, 151](#)
 - s definicí pojmenování souborů [151](#)
- NEBEZPEČÍ, popis [xiii](#)
- negativní kontrola [48](#)
- normalizace
 - a SQ (určení velikosti - kvalita) [183, 188](#)
 - cíl [91, 167](#)
 - faktor [91, 167](#)
 - GS600 LIZ® v2.0 velikostní standard [171](#)
 - jak program normalizuje [91](#)
 - přehled [7](#)
 - velikostní standardy [171](#)
 - vlaječka ve vyobrazení výsledků fragmentace/HID [89](#)
 - vyobrazení dat [90](#)

O

- obnovit
 - knihovna, položky [254](#)
 - sledování změn, záznamy [214](#)
- obnovit běh přístroje [69](#)
- odečet velikostí, výsledky fragmentace/HID, označení pílků [94](#)

- odinstalování programu [254](#)
- odstranit bubliny, průvodce [251](#)
- odstraňování odpadu, doporučení [330](#)
- offscale vlaječka - monitorování běhu [64](#)
 - vyobrazení fragmentace/HID, výsledky [89](#)
- opakované pohyby, bezpečnost [321](#)
- opakovaný nástřík
 - viz též* zdvojení nástříku, alelický žebřík [67](#)
 - definice [65](#)
 - měření dat ve specifických jamkách [65](#)
 - monitorování běhu [65](#)
 - pořadí [65](#)
 - protokol přístroje, volba [65](#)
 - šedivé tlačítko [65](#)
 - umístění souborů [159](#)
 - ve vyobrazení výsledků fragmentace/HID [95](#)
 - ve vyobrazení výsledků sekvenování [85](#)
- ověření běhu. *viz* fragmentace/HID, kontrola funkčnosti, sekvenování kontrola funkčnosti
- ovládací panel [29](#)
 - přístroj, stav [53](#)
 - přístup z hlavního postupu práce [19](#)
 - řešení problémů [309](#)
 - stav spotřebního materiálu [236](#)
- označení píků [93, 94](#)
- oznámení
 - SAE modul [200](#)
 - údržba v ovládacím panelu [28, 229](#)
 - záznam kroků údržby [234, 257](#)

P

- pauza běhu přístroje [69](#)
- Peak Window Size [182](#)
- plánování údržby [232](#)
- plnění kapilární sady polymerem, průvodce [251](#)
- počítač
 - název, požadavek [22](#)
 - spuštění [24](#)
- podepisování, elektronický podpis [227](#)
- pohyblivé součásti, bezpečnost [318](#)
- položka
 - historie sledování změn [210](#)
 - zobrazení [209](#)
- polymer
 - doplňení [245](#)
 - expirace [11](#)
 - katalogová čísla [11](#)
 - limity použitelnosti v přístroji [30](#)
 - plnění kapilární sady [251](#)
 - podmínky uchovávání [10](#)
 - pokojová teplota, požadavky [30](#)
 - popis [10](#)
 - teplota páicky, POP-4, POP-6, POP-7 [42](#)
 - uchování částečně použitého polymeru [249](#)

změna typu [247](#)
práce s textem
 DŮLEŽITÉ! [xvi](#)
 kurzíva [xvi](#)
 poznámky [xvi](#)
 tučný text [xvi](#)
 výstrahy [xvi](#)
princip fungování [5](#)
program 3500 Series Data Collection
 3500 Program [25](#)
 Daemon [24](#)
 hlavní postup [16](#)
 knihovna postup [17](#)
 navigace [19](#)
 ovládací panel [15](#)
použití bez přístroje [19](#)
 přehled [14](#)
 Server Monitor [25](#)
 soubory vytvářené [14](#)
 součásti [15](#)
 spuštění [24](#)
 stavová ikona v liště Windows [24](#)
 údržba postup [17](#)
 výchozí nastavení [32, 33](#)
 záznam v [26](#)
program, použití bez přístroje [19](#)
promytí pumpý a kanálků, průvodce [249](#)
propojení destičky [54, 57](#)
propojení destičky – chybová hláška [304](#)
propojení destičky - řešení problémů [309](#)
prostorová kalibrace
 AnyDye [108](#)
 co se děje [112](#)
 condition number [109](#)
 destička, příprava [104](#)
 export [101](#)
 export [115](#)
 historie [117](#)
 jedinec, určení [49](#)
 kdy provádět [103](#)
 kdy provádět [99](#)
 podpis [228](#)
 podpis [228](#)
 přibližná doba běhu [103](#)
 příklady [114](#)
 přístroj, příprava [104](#)
 provedení [106](#)
 provedení [99](#)
 pull-down páky [112](#)
 řešení problémů [300](#)
 řešení problémů [301](#)
 sdílení kapilár [112](#)
 spektrální kalibrace
 standardy [104](#)

účel 103
účel 99
ukazatel kvality 109
vyhodnocení dat 110
vypůjčení 34
zpráva 116
zprávy 102
zvětšení 111
protokol přístroje
definice 165
export 141
import 141
normalizace, nastavení 167
v eseji 150
vytvořit 165
protokoly pro odečet velikostí
definice 179
export 141
import 141
v eseji 150
vytvořit 179
provoz přístroje 236
provoz přístroje, bezpečnost 318
průměrný ukazatel kvality (QV), monitorování běhu 64
první běh, změna pohyblivosti 53
předehráť, trvání 42
přejmenování vzorku v kontrole výsledků 97
přemisťování přístroje 243
přepětí 319
přístroj
běžné čistění 242
chybové hlášky 313
název, určení 33
ověření. viz fragmentace/HID - kontrola funkčnosti, sekvenování - kontrola funkčnosti
přemisťování a využití 243
princip fungování 5
příprava pro běh 42
řešení problémů 299, 313
resetování 314
spuštění 22
stav, v ovládacím panelu 53
stavové diody 23
údržba. viz údržba
vložení destičky 53
vypnutí 253
přístroj, běh
definice 57
monitorování 61
obnovení 69
pauza 69
spuštění 61, 69
ukončení seznamu nástríků 69
vyobrazení 61
vypnutí 69

zrušit nástřík 69
přístroj – běh, vyobrazení 77
přístroj, detaily senzorů - vyobrazení 305
přístroj – odstávka, průvodce 253
pufr, anodový. viz anodový pufr
pufr, katodový. viz katodový pufr
Pull-Up, vlaječka 89
nastavení 183
pumpa
 odstranit bubliny 251
 promytí komory a kanálků 249
 promytí vodní pasti 241
PUP Score 81

Q

QC protokoly, vytvořit 184
 definice 184
 export 141
 import 141
 v eseji 150
QC zpráva, sekvenování
 vytvořit 85
QV20+
 nastavení 178
 výsledek 81
 zpráva 85
QV (průměrný ukazatel kvality)
 viz též průměrný ukazatel kvality
 viz též ukazatel kvality, monitorování běhu 64
QV nastavení
 barva a rozsah 37
 basecalling - protokol 177
 doporučené rozsahy 84
 monitorování běhu, obrazovka 177

R

radioaktivní odpad, manipulace 331
regenerační roztok, popis 11
 katalogové číslo 11
 umístění do přístroje 250
resetování přístroje 314
RFID
 chybová hláška 304
 řešení problémů 304
rozpouštědla, bezpečnost 318
rozsah analýzy pro odečet velikostí
 fragmentační analýza 181
 HID analýza 186
ruční příkazy, řešení problémů 313
rychlé spuštění 55

Ř

- řešení problémů
 - červená stavová dioda [23](#)
 - data [306](#)
 - elektroferogram [306](#)
 - fragmentace/HID, kontrola funkčnosti pomocí standardu [303](#)
 - kontrola výsledků, fragmentace/HID [311](#)
 - monitorování běhu [311](#)
 - ovládací panel [309](#)
 - přístroj [299, 313](#)
 - propojení destičky [304, 309](#)
 - prostorová kalibrace [300](#)
 - RFID [304](#)
 - ruční příkazy [313](#)
 - sekvenování, kontrola funkčnosti pomocí standardu [302](#)
 - sledování změn [312](#)
 - spektrální kalibrace [301](#)
 - vložení destičky [309](#)
 - zásobník na anodový pufr [303](#)
 - zásobník na katodový pufr [304](#)
 - záznamy, prohledávání a používání [305](#)
 - zobrazení detailů senzorů přístroje [305](#)

S

- SAE modul
 - viz* sledování změn
 - viz* elektronický podpis
 - viz* zabezpečení
 - čtečka čárových kódů [321](#)
 - před spuštěním přístroje [317](#)
- samostatná instalace programu [19](#)
- sekundární analýza
 - fragmentace [193](#)
 - GeneMapper [193](#)
 - GeneMapper ID-X [195](#)
 - HID [195](#)
 - MicroSeq ID [191](#)
 - sekvenování [189, 191](#)
 - SeqScape [189](#)
- sekvenační analýza - reagencie, katalogová čísla a podmínky uchovávání [259](#)
- sekvenační analýza, soubor barev [261](#)
 - moduly běhů [263](#)
- sekvenační analýza, vytvoření protokolů [189](#)
 - definice [189](#)
 - export [141](#)
 - import [141](#)
 - v eseji [150](#)
- sekvenování, kontrola funkčnosti pomocí standardu [126](#)
 - běh [122](#)
 - co se děje [124](#)
 - destička, příprava [120](#)
 - historie [127](#)
 - kdy provádět [119](#)

- podpis 228
- pozice v destičce 120
- prahy 125
- příklady 127
- přístroj, příprava 119
- řešení problémů 302
- standardy 120
- zprávy 128
- Server Monitor 25
- servisní záznam 258
- sledování změn 209, 212
- sledování změn položek
 - továrně nastavené položky, datum vytvoření 142
 - v knihovně 142
- sledování změn, uživatelé
 - přehled 225
 - vyobrazení sledování změn - záznamy 142
 - zadání důvodu pro výměnu 227
- směsné báze
 - barva 37
 - nastavení 84
 - práh 176
 - QV rozsah 37
- Smoothing 181, 186
- soubor barev
 - definice 168
 - export 141
 - fragmentační analýza 261
 - HID analýza 262
 - import 141
 - kalibrovat 103
 - sekvenování 261
 - vlastní, kalibrovat 108
 - vlastní, vytvořit 169
 - vytvořit 168
- spotřební materiál
 - anodový pufr 9, 237
 - fragmentační analýza a HID 260
 - Hi-Di™ Formamid 12
 - kapilární sada 240, 252
 - katodový pufr 9, 238
 - limity použitelnosti v přístroji 30
 - polymer 10, 245, 247, 249
 - regenerační roztok 11, 250
 - sekvenační analýza 259
 - stav, ovládací panel 29, 236
- spuštění přístroje 69
- spuštění systému 21
- SQ (určení velikosti quality)
 - a normalizace 183, 188
 - a široké píky (broad peaks) 188
 - fragmentační analýza 183
 - fragmentační analýza, rozdíl vůči GeneMapper ID-X 183

HID analýza 188
monitorování běhu 64
vlaječka v monitorování běhu 64
vlaječka ve vyobrazení výsledků fragmentace/HID 90
standardní destička
držáky 53
typ destičky 44, 51, 105, 120, 145
standardy
bezpečnost 322
EMC 322
fragmentace/HID, kontrola funkčnosti pomocí standardu 130
sekvenování, kontrola funkčnosti pomocí standardu 120
spektrální kalibrace 104
stav
čelní panel, diody 23
program, ikony v liště Windows 24
spotřební materiál v ovládacím panelu 26
stupeň polynomu 182
symboly, bezpečnost 315
systém, popis 1
systém, spuštění 21

Š

školení, informace xvii

T

tabulka, vyobrazení, definice obsahu destičky, zobrazit/skrýt sloupce 72
používání 71
třídění 72
uživatel - definovaná pole 48

tabulky
laborant, uživatelská úloha 203
nastavení 72
nastavení, výchozí 35
třídění 97
třídění, podle více sloupců 72
výsledky, zobrazit/skrýt sloupce 81
zobrazit/skrýt sloupce 72

templát
destička 75
destička, import 73
knihovna 139
vytvořit destičku z 43

teplota pícky
předehřátí v ovládacím panelu 42
v protokolu přístroje 167

tisk
destička, vyobrazení 50
elektronický podpis, zpráva 222
fragmentace/HID, kontrola funkčnosti pomocí standardu 137
prostorová kalibrace, zpráva 102
sekvenování, kontrola funkčnosti pomocí standardu 128
sledování změn, zprávy 213

spektrální kalibrace 116
uživatel, zpráva 205
továrně nastavené položky v knihovnách 139
tíídění
 knihovna 142
 podle více sloupců 142
tučný text, používání xvi
týdenní údržba přístroje 231

U

účet
 inaktivace 199, 226
 nastavení 199
 neaktivní, aktivovat 203
 uživatel 201
údržba
 anodový pufr, výměna 237
 kapilární sada, kontrola uložené 240
 kapilární sada, výměna 252
 katodový pufr, výměna 238
 polymer, doplnění 245
 polymer, plnění kapilární sady 251
 polymer, uchování částečně použitého polymeru 249
 polymer, změna typu 247
údržba – kalendář, vytvořit záznamy 233
 doporučené záznamy 233
 F záznamy 233
 FR záznamy 233
 výchozí záznamy 233
 vyobrazení 232
údržba, oznámení o ukončení úkolu 28, 229
 neprovedený úkol 28, 229
 ovládací panel 28, 229
 připomínka, nastavení 33
 záznam 234, 257
údržba počítače
 datové soubory, archivovat 255
 defragmentace 257
 knihovna, položky, archivovat, vymazat, a obnovit 254
 odinstalování programu 254
 prostor na disku, monitorování 256
údržba, průvodce
 doplnit polymer 245
 instalace kapilární sady 252
 odstávka přístroje 253
 odstranit bubliny 251
 plnění kapilární sady polymerem 251
 přehled 244
 promytí pumpy a kanálků 249
 změna typu polymeru 247
údržba přístroje
 běžné čistění 242
 denní 230

- kvartální 231
- měsíční 231
- plánovaná 232
- plánování 229
- podle potřeby 232
- postup 17
- pumpa, odstranit bubliny 251
- pumpa, promytí komory a kanálků 249
- pumpy, promytí vodní pasti 241
- roční 232
- týdenní 231
- vypnutí 253
- ukazatel kvality
 - viz též* QV
 - pravděpodobnost chyby 84
 - spektrální kalibrace 109
- ukazatel kvality, nastavení
 - fragmentační analýza 183
 - HID analýza 188
 - sekvenační analýza 177
- ukazatel kvality, vlaječka
 - fragmentace/HID 62, 89
 - sekvenování 62, 81
- ukončit běh přístroje 69
- umístění souborů, výchozí 35
 - bez definice pojmenování souborů 50, 151
 - bez výsledkové skupiny 50, 155
 - s definicí pojmenování souborů 50, 151
 - s výsledkovou skupinou 50, 155
 - v definici pojmenování souborů 154
- určení velikosti 94
 - náhledy 94
 - řešení problémů 311
 - zvětšení 92
- uživatelem definovaná pole
 - určení pro vzorek 48
 - v tabulkách 48
 - zahrnutí do názvu souboru 154
- uživatelská úloha, vytvořit 203
- uživatelský účet
 - aktivovat neaktivní 203
 - inaktivovat 203
 - oprávnění 203
 - vymazat 203
 - vytvořit nebo upravit 201
- uživatel, zpráva 205
 - uživatel, omezení jména 199
 - uživatel. úloha 203

V

- validace, alelický žebřík 52
- VAROVÁNÍ, popis xiii
- vědec, úloha uživatele 203

- velikostní standardy
 - definice [171](#)
 - export [141](#)
 - import [141](#)
 - katalogová čísla [260](#)
 - normalizace [171](#)
 - v protokolu pro odečet velikostí [180](#)
 - v QC protokolu [186](#)
 - vytvořit [171](#)
- ventil anodového pufu [28](#)
- vlaječka
 - monitorování běhu [62](#)
 - opakovaný nástřík vzorku s [65](#)
 - zobrazení vlaječky, tabulka - monitorování běhu [62](#)
- vlastník destičky [145](#)
- vložení destičky pro běh [56](#)
- vložení destičky, řešení problémů [309](#)
- výchozí formát data [18](#)
- výchozí nastavení, určení [32, 33](#)
- vymazat
 - knihovna, položky [254](#)
 - sledování změn, záznamy [214](#)
- vyobrazení běhu
 - seznam nástříků [59](#)
 - spuštění běhu [61](#)
 - zdvojení nástříku [60](#)
- vypnout běh přístroje [69](#)
- vypnutí [253](#)
- vypůjčení
 - definice [112](#)
 - omezení [34](#)
- výsledky
 - viz* kontrola výsledků
 - viz* kontrola výsledků, fragmentace/HID, analýza
 - viz* kontrola výsledků, sekvenování, výsledková skupina
 - adresář [159](#)
 - definice [155](#)
 - export [141](#)
 - HID [52, 155, 161](#)
 - import [141](#)
 - vytvořit [156](#)
- VÝSTRAHA, popis [xiii](#)
- výstražné symboly. *viz* bezpečnostní symboly na přístrojích [315](#)
- vzorek název
 - alelický žebřík [49](#)
 - přiřazení [48, 71](#)
- vzorek, typ
 - destička, vyobrazení [48](#)
 - tabulka, vyobrazení [71](#)
 - vzorek, vyobrazení [77](#)

Z

- zabezpečení [199](#)
- zabezpečení, účet administrátor, nastavení [199](#)
 - export nastavení [224](#)
 - export, nastavení uživatelského účtu [224](#)
 - import nastavení [224](#)
 - import, nastavení uživatelského účtu [224](#)
 - mezery ve jménech uživatelů [200](#)
 - oznámení [199, 200](#)
 - přehled [197](#)
 - uživatelské účty [201](#)
 - zapnout či vypnout [198](#)
- zabezpečení, uživatelé
 - automatické odhlášení [226](#)
 - oprávnění [225](#)
 - přehled [225](#)
 - účet, vypnutí [226](#)
 - záznam v [225](#)
 - změna hesla [226](#)
- záložní zdroj [8](#)
- zdvojení nástřiku
 - viz též* opakovaný nástřik, definice [60](#)
 - vyobrazení běhu [60](#)
- zdvojení položky v knihovně [140](#)
- zelená stavová dioda [23](#)
- zkratky [xvi](#)
- změna typu polymeru, průvodce [247](#)
- zpětná klapka [28](#)
- zpracované destičky [76](#)
- zpráva o síle signálu, sekvenování [85](#)
- zprávy
 - CRL [85](#)
 - destička [50](#)
 - elektronický podpis [222](#)
 - export sekvenování [87](#)
 - fragmentace/HID, kontrola funkčnosti pomocí standardu [137](#)
 - fragmentace/HID, výsledky [95](#)
 - nastavení systému, historie [209, 211](#)
 - položka, historie sledování změn [209, 210](#)
 - prostorová kalibrace [102](#)
 - sekvenování, kontrola funkčnosti pomocí standardu [127](#)
 - sekvenování, výchozí [38](#)
 - sekvenování, výsledky [85](#)
 - sledování změn [213](#)
 - spektrální kalibrace [116](#)
 - uživatel [205](#)
 - výchozí nastavení [34](#)
 - výchozí nastavení, sekvenování [38](#)
 - vzorek, kvalita [95](#)
- zrušit nástřik [69](#)
- zvětšení
 - grafy fragmentace/HID [92](#)
 - destička, vyobrazení [71](#)

Sídlo společnosti

850 Lincoln Centre Drive | Foster City, CA 94404 USA
Tel. 650.638.5800 | Bezplatná linka (v USA)
800.345.5224 | www.appliedbiosystems.com

Celosvětová prodejní síť

Adresy našich obchodních zastoupení získáte
na internetové adrese
www.appliedbiosystems.com/about/offices.cfm