



Návod k použití čteček řady

Infinite 200 PRO

Infinite M Nano
Infinite Lumi
Infinite M Nano+
Infinite M Plex
Infinite F Nano+
Infinite F Plex



Číslo dokumentu: 30160739

2021-06

Číslo revize dokumentu: 1.4



30160739 02



VÝSTRAHA
PŘED POUŽITÍM PŘÍSTROJE SI PEČLIVĚ PROSTUDUJTE POKYNY
UVEDENÉ V TOMTO DOKUMENTU.

Upozornění

Při sestavení této publikace byla vynaložena veškerá snaha k prevenci vzniku chyb v textu a grafech. Za případné chyby v publikaci nepřijímá společnost Tecan Austria GmbH odpovědnost.

Společnost Tecan Austria GmbH vynakládá velké úsilí na zlepšování svých výrobků v důsledku vývoje nových technologií a součástí. Společnost Tecan Austria GmbH si proto vyhrazuje právo změnit uvedené informace kdykoli a po předchozím příslušném ověření, validaci a udělením příslušných homologací.

Rádi přijmeme vaše připomínky k této publikaci.



Výrobce

Tecan Austria GmbH
 Untersbergstr. 1A
 A-5082 Grödig, Rakousko
 T +43 62 46 89 33
 F +43 62 46 72 770
 E-mail: office.austria@tecan.com
 www.tecan.com

Informace o autorských právech

Obsah tohoto dokumentu představuje duševní vlastnictví společnosti Tecan Austria GmbH a nesmí být bez předchozího písemného svolení společnosti Tecan Austria GmbH kopírován, reprodukován ani poskytnut třetím osobám.

Copyright © Tecan Austria GmbH
 Všechna práva vyhrazena.
 Vytlačeno v Rakousku

Prohlášení o shodě EU

Viz poslední stranu tohoto návodu k použití.

Informace o návodu k použití přístroje

Původní pokyny. Tento dokument obsahuje popis multifunkčních čteček mikrotitračních destiček řady Infinite 200 PRO. Je určen coby referenční dokument a návod k použití. Tento dokument obsahuje popis postupů při:

- instalaci přístroje,
- provozu přístroje,
- čištění a údržbě přístroje.

Poznámky ke snímkům obrazovek

Číslo verze aplikace uvedené na snímcích obrazovky nemusí vždy souhlasit s její nejnovější verzí. K aktualizaci snímků obrazovky přistupujeme pouze v případě změny jejich obsahu v souvislosti s aplikací.

Upozornění o ochranných známkách

Níže uvedené názvy výrobků a registrované i neregistrované ochranné známky jsou v tomto dokumentu použity pro účely identifikace a jsou výhradním vlastnictvím příslušných společností:

- Infinite®, i-control™, magellan™, NanoQuant Plate™, Tecan® a logo Tecan jsou registrované ochranné známky společnosti Tecan Group Ltd., Männedorf, Švýcarsko
- Windows® a Excel® jsou registrované ochranné známky společnosti Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA
- ChromaGlo™ Dual-Luciferase®, Enliten® a NanoBRET™ jsou registrované obchodní známky společnosti Promega Corporation Madison, WI, USA
- Starna® je registrovaná obchodní známka společnost Starna Scientific Limited, 52-54 Fowler Road, Hainault, Essex IG6 3UT, Anglie, Spojené království
- BRET2™, DeepBlueC® a PerkinElmer® jsou registrované obchodní známky společnosti PerkinElmer, Inc., Waltham, Massachusetts, USA

Výstražné, bezpečnostní a jiné pokyny

V této publikaci jsou použity níže uvedené druhy pokynů. Tyto pokyny zdůrazňují důležité informace či poskytují výstrahu před vznikem potenciálně nebezpečných situací:



Upozornění
Poukazuje na užitečné informace.



POZOR
UPOZORŇUJE NA MOŽNOST POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE ČI ZTRÁTY DAT V PŘÍPADĚ NERESPEKTOVÁNÍ UVEDENÝCH POKYNŮ.



VÝSTRAHA
POUKAZUJE NA MOŽNOST VZNIKU ZÁVAŽNÝCH PORANĚNÍ ČI DOKONCE ÚMRTÍ OSOB V PŘÍPADĚ NERESPEKTOVÁNÍ UVEDENÝCH POKYNŮ.



VÝSTRAHA
TENTO SYMBOL UPOZORŇUJE NA MOŽNOU PŘÍTOMNOST BIOLOGICKY NEBEZPEČNÉHO MATERIÁLU. JE TŘEBA DODRŽOVAT ŘÁDNÁ LABORATORNÍ BEZPEČNOSTÍ OPATŘENÍ.



VÝSTRAHA
TENTO SYMBOL POUKAZUJE NA MOŽNOU PŘÍTOMNOST HOŘLAVÝCH MATERIÁLŮ A NA RIZIKO VZNIKU POŽÁRU. JE TŘEBA DODRŽOVAT ŘÁDNÁ LABORATORNÍ BEZPEČNOSTÍ OPATŘENÍ.

**POZOR**

**S MANIPULACÍ S ODPADEM SOUVISEJÍ NEGATIVNÍ DOPADY
NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ.**

- **ELEKTRICKÝ A ELEKTRONICKÝ ODPAD JE ZAKÁZÁNO
LIKVIDOVAT SPOLEČNĚ S NETŘÍDĚNÝM KOMUNÁLNÍM
ODPADEM.**
- **TŘÍDĚNÝ ELEKTRICKÝ A ELEKTRONICKÝ ODPAD ODEVZDEJTE
DO SBĚRNÝCH SUROVIN.**








**POUZE PRO UŽIVATELE SE SÍDLEM V AMERICKÉM STÁTU
KALIFORNIE:
VÝSTRAHA**

**TENTO VÝROBEK VÁS MŮŽE VYSTAVIT PŮSOBNÍ CHEMICKÝCH
LÁTEK, JAKO JE OLOVO, O KTERÉM JE STÁTU KALIFORNIE
ZNÁMO, ŽE ZPŮSOBUJE NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ, VROZENÉ
VADY A JINÉ ŠKODY NA REPRODUKČNÍM ZDRAVÍ ČLOVĚKA.**

**DALŠÍ INFORMACE NALEZNETE NA ADRESE:
WWW.P65WARNINGS.CA.GOV/PRODUCT.**

Symbody

	Výrobce
	Datum výroby
	Označení shody CE
	United Kingdom Conformity Assessed Značka shody s požadavky Spojeného království vyjadřuje, že jí označený výrobek vyhovuje příslušnému nařízení Velké Británie.
	Viz návod k použití
	Katalogové číslo
	Výrobní číslo
	Unique Device Identification Jedinečné označení zařízení Symbol UDI označuje na etiketě datový nosič.
	Značka rozhraní USB
	Symbol směrnice o likvidaci elektrického a elektronického odpadu
	Čínský symbol RoHS
	TÜV SÜD MARK

Obsah

1.	Bezpečnost	9
1.1	Bezpečnost přístroje	9
2.	Všeobecný popis	11
2.1	Přístroj	11
2.1.1	Určené použití	11
2.1.2	Vícefunkčnost přístroje	12
2.1.3	Plnicí objemy	12
2.1.4	Činnost	13
2.1.5	Uživatelská přívětivost	13
2.1.6	Fyzické ovládací tlačítko	13
2.1.7	Zadní pohled	14
2.2	Software	15
2.3	Injektory (volitelná výbava)	15
2.3.1	Režimy měření s injektory	15
2.3.2	Schéma modulu s injektory	16
2.3.3	Možnosti čerpadel injektoru	16
2.3.4	Skladovací láhve a držáky láhví	16
2.3.5	Držák injektoru	17
2.4	Techniky měření	19
2.4.1	Fluorescence	19
2.4.2	Absorbance	21
2.4.3	Luminiscence	21
2.5	Optická soustava	22
2.5.1	Soustava pro měření fluorescenční intenzity (provedení Infinite M)	22
2.5.2	Soustava pro měření fluorescenční intenzity (provedení Infinite F)	27
2.5.3	Fluorescenční polarizační systém (pouze provedení Infinite F Plex)	30
2.5.4	Soustava pro měření absorbance (provedení Infinite F)	31
2.5.5	Soustava pro měření absorbance (provedení Infinite M)	32
2.5.6	Luminiscenční systém	35
2.5.7	Příhrádka na kyvetu (provedení Infinite M)	37
3.	Umístění a zapojení přístroje	41
3.1	Vybalení a kontrola přístroje	41
3.1.1	Postup při vybalení přístroje	41
3.2	Demontáž přepravních pojistek	43
3.3	Přeprava a uskladnění	44
3.3.1	Přeprava	44
3.3.2	Uskladnění	44
3.4	Požadavky na napájení	44
3.5	Zapnutí přístroje	45
4.	Provoz přístroje	47
4.1	Úvod	47
4.2	Všeobecné provozní funkce	48
4.2.1	Spuštění přístroje	48
4.3	Všeobecné možnosti nastavení	48
4.4	Definice kazet s filtry (provedení Infinite F)	50
4.4.1	Informace o filtrech	50
4.4.2	Kazeta s filtry a orientace filtrů	50
4.4.3	Montáž vlastního filtru	52

4.4.4	Definice filtrů	54
4.5	Optimalizace fluorescenčních měření	58
4.5.1	Parametry přístroje	58
4.5.2	Optimalizace nastavení na ose Z (pouze horní měření fluorescenční intenzity u provedení Infinite M).....	59
4.5.3	Režim FI poměru	63
4.6	Měření FP	64
4.6.1	Fluorescenční polarizace	64
4.6.2	Rozsah blanku měření	64
4.6.3	Nastavení faktoru G	64
4.6.4	Měření s nezkalibrovaným faktorem G	65
4.6.5	Měření se souběžnou kalibrací faktoru G	65
4.6.6	Měření s kalibrovaným faktorem G	66
4.6.7	Měření s manuálním faktorem G	67
4.6.8	Výpočet parametrů fluorescenční polarizace	68
4.7	Optimalizace absorbančních měření	69
4.7.1	Parametry měření	69
4.7.2	Režim poměru absorbance.....	69
4.8	Vícenásobné čtení jamky	70
4.8.1	Typ vícenásobného čtení jamky	70
4.8.2	Velikost při vícenásobném čtení jamky	71
4.8.3	Hranice vícenásobného čtení jamky	72
4.8.4	Zobrazení výsledků v aplikaci MS Excel	73
4.8.5	Různé funkce softwaru pro vícenásobné čtení jamky	73
4.9	Optimalizace luminiscenčních měření	74
4.9.1	Integrační doba	74
4.9.2	Tlumení hladiny světla	74
4.10	Měření s využitím injektorů	75
4.10.1	Naplnění a promývání čtečky Infinite	75
4.10.2	Promývání.....	79
4.10.3	Před zahájením měření s využitím injektoru	82
4.10.4	Režimy injektoru (software i-control).....	82
4.11	Měření s blankováním.....	87
4.12	Měření s kyvetou	88
4.12.1	Řádek Cuvette (Kyveta).....	88
4.12.2	Pohyby kyvety.....	88
4.12.3	Příklady měření kyvety v softwaru i-control.....	88
4.13	Příklady ze softwaru i-control	93
4.14	Dokončení relace měření	97
4.14.1	Odpojení přístroje	97
4.14.2	Vypnutí přístroje.....	97
5.	Vlastnosti a funkce přístroje	99
5.1	Úvod.....	99
5.2	Technické údaje přístroje	100
5.3	Fluorescenční intenzita a časově rozlišená fluorescence (TRF)	102
5.3.1	Vymezení pojmu „mez detekce“	102
5.3.2	Fluorescein (Fluorescenční intenzita), horní měření.....	102
5.3.3	Fluorescein (Fluorescenční intenzita), spodní měření	103
5.3.4	Europium (časově rozlišená fluorescence)	103
5.4	Fluorescenční polarizace (FP) – jen provedení Infinite F Plex	104
5.5	Absorbance	105
5.6	Luminiscence typu „glow“,	106

5.6.1	Luminiscence typu „glow“, ATP	106
5.7	Záblesková luminiscence	107
5.8	Dvojbarevná luminiscence (např. BRET)	108
5.9	Okamžitá měření	108
5.10	Funkce měření kyvety (pouze provedení Infinite M)	108
5.10.1	Specifikace kyvety	109
5.11	Specifikace injektoru	109
5.11.1	Slučitelnost reagentů s injektorem	110
5.12	Příslušenství k měření	111
5.12.1	Doporučené filtry (pouze provedení Infinite F)	111
5.12.2	Doporučené typy mikrotitračních destiček	111
5.12.3	Detekce luminiscence	115
6.	Kontrola jakosti	117
6.1	Pravidelné zkoušky kontroly jakosti	117
6.2	Specifikace – kritéria „Vyhovuje/Nevyhovuje“	118
6.3	Specifikace – pokyny ke zkouškám	119
6.3.1	Horní měření fluorescence	119
6.3.2	Fluorescence, spodní měření	123
6.3.3	časově rozlišená fluorescence,	126
6.3.4	Fluorescenční polarizace (pouze provedení Infinite F Plex)	128
6.3.5	Luminiscence typu „glow“	130
6.3.6	Přesnost absorbance	131
6.3.7	Absorbance, přesnost vlnové délky	131
6.3.8	Absorbance, plochost průběhu základní čáry (pouze provedení Infinite M)	132
6.3.9	Absorbance, plochost průběhu základní čáry (pouze provedení Infinite F)	132
6.3.10	Absorbance, měření v kyvetě (pouze provedení Infinite M)	133
7.	Čištění a údržba	135
7.1	Úvod	135
7.2	Úniky kapalin	136
7.3	Čištění a údržba injektoru	137
7.3.1	Každodenní údržba	137
7.3.2	Týdenní/pravidelná údržba	137
7.4	Dezinfekce přístroje	138
7.4.1	Dezinfekční roztoky	138
7.4.2	Postup při dezinfekci	139
7.4.3	Osvědčení o bezpečnosti	139
7.4.4	Likvidace	140
7.4.5	Likvidace obalového materiálu	140
7.4.6	Likvidace provozního materiálu	140
7.4.7	Likvidace přístroje	141
8.	Odstraňování potíží	143
	Rejstřík	147
	Zákaznická podpora společnosti Tecan	149

1. Bezpečnost

1.1 Bezpečnost přístroje

1. Při použití tohoto výrobku vždy dodržujte základní bezpečnostní opatření. Snížíte tak riziko poranění osob, vzniku požáru nebo úrazu elektrickým proudem.
2. Pečlivě si přečtěte veškeré informace v návodu k použití přístroje a přesvědčte se, zda jste porozuměli jeho obsahu. Jestliže si tento dokument nepřečtete, nepochopíte jeho obsah nebo nebudete postupovat v souladu s pokyny v něm uvedenými, můžete způsobit poškození či snížení výkonu přístroje a poranění jeho obsluhy.
3. Dodržujte veškeré pokyny v tomto dokumentu uvozené slovy VÝSTRAHA a POZOR.
4. Je-li přístroj Infinite 200 PRO připojen ke zdroji elektrické energie, nikdy jej neotevírejte.
5. Mikrotitrační destičky nevkládejte do přístroje násilím.
6. Přístroj Infinite 200 PRO je všeobecný laboratorní přístroj určený k odbornému použití. Dodržujte vhodná laboratorní bezpečnostní opatření, jejichž součástí je používání ochranného oděvu a dodržování schválených bezpečných postupů v laboratoři.

POZOR

SPOLEČNOST TECAN AUSTRIA GMBH POSTUPOVALA PŘI VYTVÁŘENÍ SOUBORŮ DEFINICE DESTIČEK, KTERÉ JSOU DODÁVÁNY SPOLEČNĚ SE SOFTWAREM PŘÍSTROJE, S MAXIMÁLNÍ PEČLIVOSTÍ. SPOLEČNOST TECAN AUSTRIA UČINILA VEŠKERÁ PREVENTIVNÍ OPATŘENÍ K VYLOUČENÍ CHYB PŘI DEFINICI HLOUBKY JAMEK V JEDNOTLIVÝCH TYPECH DEFINOVANÝCH DESTIČEK. TENTO PARAMETR SLOUŽÍ KE STANOVENÍ MINIMÁLNÍ VZDÁLENOSTI MEZI HORNÍ HRANOU DESTIČKY A STROPEM MĚŘICÍ KOMORY. SPOLEČNOST TECAN AUSTRIA NAVÍC ZAČLENILA DO DEFINICÍ I VELMI MALOU REZERVNÍ MEZERU, JEJÍMŽ ÚČELEM JE PŘEDEJÍT POŠKOZENÍ, KTERÉ BY MOHLO VZNIKOUT V DŮSLEDKU MALÉHO KOLÍSÁNÍ VÝŠKY DESTIČEK. TATO SKUTEČNOST NEMÁ VLIV NA VÝKON PŘÍSTROJE. UŽIVATELE JSOU POVINNI ZAJISTIT, ABY SE ZVOLENÝ SOUBOR DEFINICE DESTIČKY SHODOVAL S DESTIČKOU, KTERÁ BUDE V PŘÍSTROJI POUŽITA. JE ROVNĚŽ TŘEBA KONTROLOVAT, ZDA SE NA POVRCHU DESTIČKY NENACHÁZÍ POTENCIÁLNÍ FLUORESCENČNÍ NEBO LUMINISCENČNÍ KONTAMINANTY. PAMATUJTE, ŽE NĚKTERÉ POJIVÉ MATERIÁLY ZANECHÁVAJÍ LEPKAVÉ ZBYTKY, KTERÉ JE TŘEBA PŘED ZAHÁJENÍM MĚŘENÍ ZCELA ODSTRANIT.



POZOR

PŘED ZAHÁJENÍM MĚŘENÍ ZKONTROLUJTE, ZDA JE MIKROTRITRAČNÍ DESTIČKA VLOŽENA POZICÍ A1 SPRÁVNÝM SMĚREM. JAMKA A1 SE MUSÍ NACHÁZET V LEVÉM HORNÍM ROHU DRŽÁKU.



**POZOR**

**K ZAJIŠTĚNÍ OPTIMÁLNÍHO VÝKONU PŘÍSTROJŮ TECAN
DOPORUČUJEME DODRŽOVAT SERVISNÍ INTERVAL V DÉLCE 6 MĚSÍCŮ.**

Má se za to, že obsluha přístroje je na základě svého vzdělání a zkušeností obeznámena s nezbytnými bezpečnostními opatřeními pro manipulaci s chemickými a biologicky nebezpečnými látkami.

Dodržujte následující zákonné předpisy a směrnice:

1. místní oborové ochranné předpisy,
2. předpisy k prevenci nehod,
3. bezpečnostní listy výrobců reagentů.

**VÝSTRAHA**

V ZÁVISLOSTI NA ZPŮSOBU POUŽITÍ PŘÍSTROJE MOHLY NĚKTERÉ JEHO ČÁSTI PŘIJÍT DO STYKU MATERIÁLEM, KTERÝ JE INFEKČNÍ NEBO PŘEDSTAVUJE BIOLOGICKÉ NEBEZPEČÍ. ZAJISTĚTE, ABY PŘÍSTROJ MOHLY POUŽÍVAT POUZE KVALIFIKOVANÉ OSOBY. PŘI NUTNOSTI PROVÉST SERVIS PŘÍSTROJE, PŘI JEHO PŘEMÍSTĚNÍ A LIKVIDACI PŘÍSTROJ VŽDY DEZINFIKUJTE DLE POKYNŮ UVEDENÝCH V TOMTO NÁVODU.

2. Všeobecný popis

2.1 Příklad

Tecan Infinite 200 PRO je víceúčelová čtečka mikrotitračních destiček základní úrovně určená k vědeckým účelům. Příklad Infinite 200 PRO poskytuje vysoký výkon v naprosté většině současných aplikací mikrotitračních destiček a výzkumu a umožňuje i robotizaci.

Na základě technologické koncepce příslušné čtečky Infinite lze u řady čteček Infinite 200 vybírat z šesti konfigurací. Přehled těchto šesti konfigurací, přesněji řečeno jejich funkcí a dostupných doplňků, je uveden níže:

Funkční výbava	Provedení s monochromátorem (M)				Provedení s filtry (F)	
	M Nano	M Nano+	Lumi	M Plex	F Nano+	F Plex
Absorbance – monochromátor	x	x		x		
Absorbance – filtr					x	x
Fluorescence – monochromátor		x		x		
Fluorescence – filtr					x	x
Fluorescence – horní čtení		x		x	x	x
Fluorescence – spodní čtení		x		x	x	x
Fluorescenční polarizace – filtr						x
Luminiscence			x	x		x
Doplňky						
1 injektor	x	x	x	x	x	x
2 injektory	x	x	x	x	x	x
Kyveta	x	x		x		
Destička NanoQuant	x	x		x	x	x

2.1.1 Určené použití

Příklad Infinite 200 PRO je zkonstruován coby všeobecný laboratorní přístrojek určený k odbornému použití. Příklad podporuje obvyklé mikrotitrační destičky s 6–384 jamkami, které vyhovují normám ANSI/SBS (podrobnější informace jsou uvedeny v kapitole 5.12.2 Doporučené typy mikrotitračních destiček).



Upozornění

Provozovatel je povinen zajistit validaci systému. Příklad Infinite 200 PRO je z výroby validován pouze na vybrané analýzy. Povinností provozovatele je zajistit validaci přístroje Infinite 200 PRO pro každou analýzu, ke které bude přístrojek používán.

2.1.2 Vícefunkčnost přístroje

V závislosti na konfiguraci konkrétního přístroje podporuje čtečka Infinite tyto techniky měření:

- fluorescenční intenzita, čtení shora (FI),
- fluorescenční intenzita, čtení zdola (FI),
- časově rozlišená fluorescence (-TRF),
- fluorescenční rezonanční přenos energie (FRET),
- záblesková fluorescence (s injektory),
- fluorescenční polarizace (FP),
- absorbance,
- absorbance (s injektory),
- absorbance v kyvetách,
- luminiscence typu „glow“,
- záblesková luminiscence,
- bioluminiscenční rezonanční přenos energie (BRET).

Výše uvedené techniky měření lze používat ve spojení s běžnými mikrotitračními destičkami s 6–384 jamkami, které vyhovují normám ANSI/SBS (ANSI/SBS 1-2004; ANSI/SBS 2-2004, ANSI/SBS 3-2004 a ANSI/SBS 4-2004). Přepínání mezi technikami měření a formáty destiček zajišťuje software, a to zcela automaticky. Přepínání mezi jednotlivými čtecími režimy, které čtečka Infinite podporuje, nevyžaduje manuální změnu konfigurace optické soustavy.

2.1.3 Plnicí objemy



POZOR

NÍŽE UVEDENÉ MIKROTIČNÍ DESTIČKY MOHOU BÝT NAPLNĚNY POUZE UVEDENÝM OBJEMEM:

- | | | |
|-----------------------|----|----------|
| • 6JAMKOVÉ DESTIČKY | <= | 2 000 µL |
| • 12JAMKOVÉ DESTIČKY | <= | 1 200 µL |
| • 24JAMKOVÉ DESTIČKY | <= | 1 000 µL |
| • 48JAMKOVÉ DESTIČKY | <= | 400 µL |
| • 96JAMKOVÉ DESTIČKY | <= | 200 µL |
| • 384JAMKOVÉ DESTIČKY | <= | 100 µL |

VĚTŠÍ PLNICÍ OBJEM MŮŽE ZPŮSOBIT PŘETEČENÍ KAPALINY S NÁSLEDNOU ZKRŽIŽENOU KONTAMINACÍ. ROZLITÁ KAPALINA NAVÍC MŮŽE POŠKODIT I SAMOTNÝ PŘÍSTROJ

(NAPŘ. KONTAMINACÍ OPTICKÉ SOUSTAVY A STŘEDICÍ ÚCHYTKY).

JE-LI PRACOVNÍ OBJEM V SOUBORU DEFINICE DESTIČKY (PDFX) MENŠÍ NEŽ VÝŠE UVEDENÉ OBJEMY, JE TŘEBA Z DŮVODU PREVENCE ROZLITÍ KAPALIN POUŽÍT MENŠÍ PLNICÍ OBJEM

NAPŘ. 384JAMKOVÉ DESTIČKY CORNING DISPONUJÍ PRACOVNÍM OBJEMEM POUZE 80 µL).

PŘI POUŽITÍ KAPALIN S NIŽŠÍ VISKOZITOU NEŽ VODNÉ ROZTOKY JE TŘEBA PLNICÍ OBJEM DÁLE UPRAVIT V PRŮBĚHU VALIDACE METODY.

2.1.4 Činnost

Čtečka Infinite byla zkonstruována tak, aby vyhovovala nárokům kladeným na kategorii všeobecných laboratorních přístrojů.

Čtečka Infinite je vybavena rozsáhlou nabídkou parametrů, jejichž nastavením lze optimalizovat měření na základě specifické konfigurace, typu analýzy (buněčná nebo homogenní), typu mikrotitrační destičky, objemem dávkování do jamky a rychlostí dávkování.

2.1.5 Uživatelská přívětivost

Čtečky Infinite s monochromátorem nabízejí bezkonkurenční míru flexibility při výběru vlnové délky pro měření fluorescenční intenzity a absorpance. Libovolnou vlnovou délku lze v rámci uvedeného rozsahu vlnových délek nastavit prostřednictvím softwaru. Kromě měření pomocí jediné vlnové délky lze provést i záznam absorpance a fluorescenčních spekter. Při použití spektra neexistují žádná omezení v důsledku použití clonicích filtrů.

Čtečky Infinite s filtrovou konfigurací nabízejí vysokou úroveň flexibility pro úpravu fluorescenčních a absorbančních měření. Uživatel má snadno k dispozici jezdce pro úpravu fluorescenčních a absorbančních interferenčních filtrů.



Upozornění

Nesprávné dodržení pokynů uvedených v tomto dokumentu způsobí poškození přístroje nebo nesprávný průběh postupů. Současně nelze zaručit bezpečnost přístroje.

2.1.6 Fyzické ovládací tlačítko

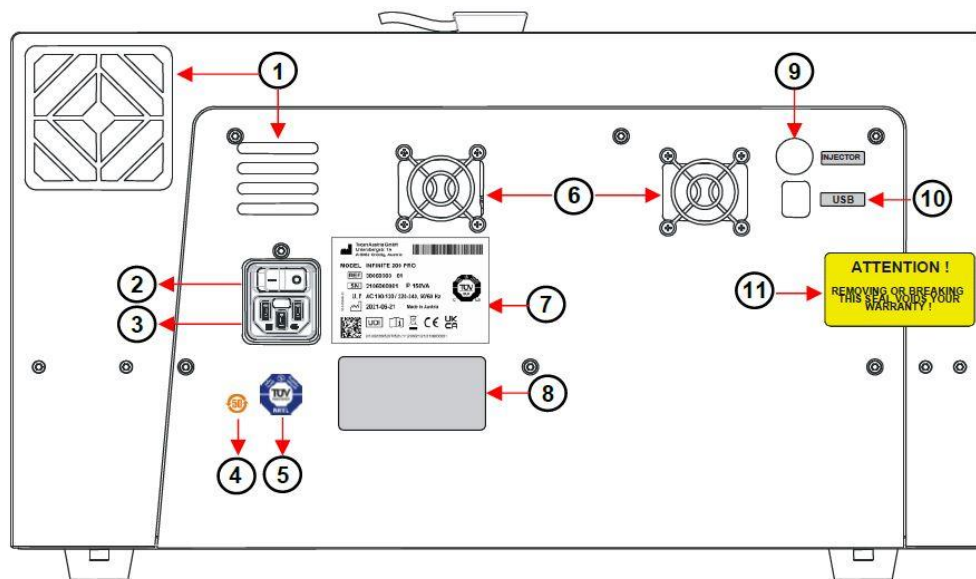
Čtečka Infinite je vybavena fyzickým ovládacím tlačítkem, které ovládá pohyby destičky, aniž by přístroj musel být připojen k softwaru. Po stisknutí tlačítka **Plate In/Out** (Zasunout/Vysunout destičku) přístroj automaticky rozpozná polohu držáku destičky a zasune nebo vysune destičku.



Tlačítko **Plate In/Out**
(Zasunout/Vysunout
destičku)

Obrázek 1: Na čtečce Infinite. Tlačítko **Plate In/Out** (Zasunout/Vysunout destičku) se nachází v pravém předním rohu krytu přístroje.

2.1.7 Zadní pohled



Obrázek 2: Zadní panel

1	Ventilátor přístroje	
2	Hlavní vypínač	
3	Napájecí konektor	
4	Etiketa – čínský symbol RoHS	
5	Etiketa – Technického zkušebního ústavu (TÜV)	
6	Ventilátor zdroje	
7	Typový štítek	
8	Etiketa – doplňky/konfigurace	
9	Konektor injektoru	
10	USB konektor	
11	Záruční štítek	POZOR ODSTRANĚNÍM NEBO NARUŠENÍM TÉTO PEČETI POZBÝVÁ ZÁRUKA NA PŘÍSTROJ PLATNOST!

**POZOR**

**OTEVÍRAT PŘÍSTROJ JE DOVOLENO POUZE POVOLANÝM SERVISNÍM
TECHNIKŮM SPOLEČNOSTI TECAN. SEJMUTÍ NEBO PORUŠENÍ ZÁRUČNÍ
PEČETI ZPŮSOBÍ ZTRÁTU ZÁRUKY.**

2.2 Software

Čtečka Infinite je dodávána se softwarem **i-control**, který zajišťuje ovládání přístroje a obsahuje soubor nápovědy, jakož i tištěný návod k použití. Software je dodáván v podobě samorozbalovacího archivu a je uložen na datovém nosiči. (Informace o systémových požadavcích jsou uvedeny v návodu k použití softwaru **i-control**. Návod k použití softwaru **i-control** je uložen na stejném datovém nosiči jako software.)

V případě potřeby použít rozšířené možnosti redukce dat lze k ovládání čtečky Infinite použít software **Magellan**. Software Magellan je vybaven veškerými funkcemi pro shodu s předpisem FDA 21 CFR, část 11 o vedení elektronických záznamů a podpisů (bližší informace vám sdělí místní zastoupení společnosti Tecan).

2.3 Injektory (volitelná výbava)

Čtečku Infinite lze na přání vybavit modulem s injektory, který obsahuje jednu nebo dvě vstřikovací čerpadla (XE-1000, Tecan Systems) umístěná v samostatné jednotce, která zásobují jednu nebo dvě injekční jehly.

Konstrukce injekčních jehel umožňuje vstříkovat kapalinu do všech jamek na destičkách vyhovujících normě SBS, na kterých je velikost jamky rovna nebo větší než na standardní 384jamkové SBS destičce.



Obrázek 3: Jednotka injektoru s držáky láhví

2.3.1 Režimy měření s injektory

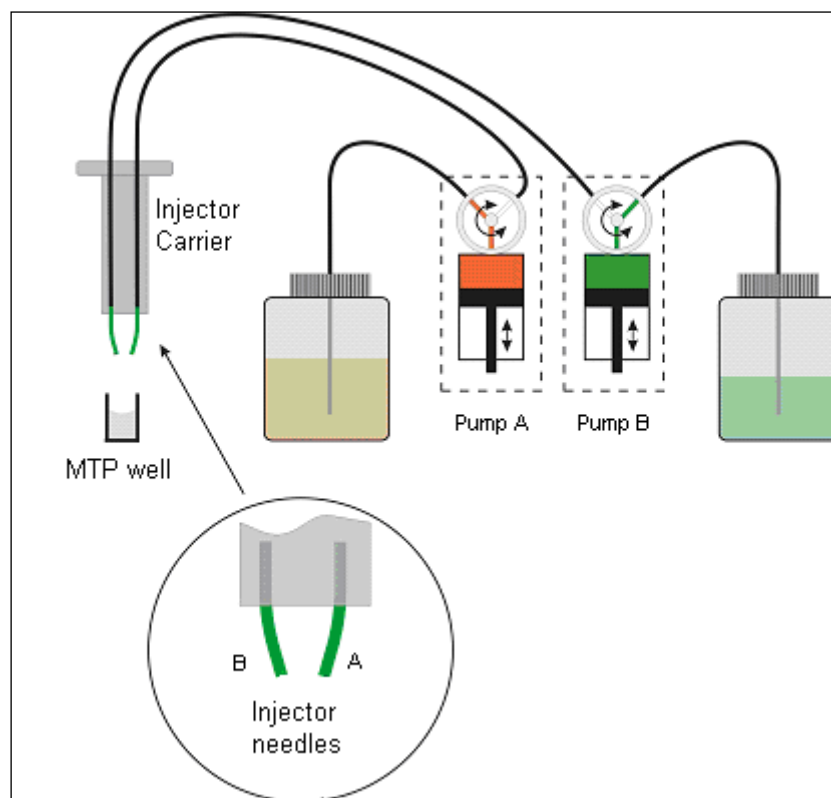
Injektory čtečky Infinite lze používat v těchto režimech měření:

- fluorescenční intenzita, horní i spodní měření,
- časově rozlišená fluorescence,
- absorbance,
- záblesková luminiscence,
- luminiscence typu „glow“,
- dvojbarevná luminiscence.

Jelikož poloha měření není shodná s polohou injektoru, dochází mezi nástřikem a čtením ke krátké prodlevě (cca <0,5 s).

Podrobné informace o nastavení měření s injektory jsou uvedeny v kapitole 4.10.4 Režimy.

2.3.2 Schéma modulu s injektory



Obrázek 4: Schematické vyobrazení modulu s injektory

2.3.3 Možnosti čerpadel injektoru

Ke čtečce Infinite lze objednat nejvýše dvě čerpadla (viz Obrázek 4 výše):

- čerpadlo A zásobuje injekční jehlu A,
- čerpadlo B zásobuje injekční jehlu B.

Čtečka Infinite může být vybavena jedním čerpadlem (čerpadlo A), nebo dvěma čerpadly (čerpadla A a B):

- **Volitelný jeden injektor (jedno čerpadlo):** Čtečka Infinite vybavená jedním čerpadlem umožňuje nastříkat kapalinu do všech jamek na destičkách vyhovujících normě SBS, na kterých je velikost jamky rovna nebo větší než na standardní 384jamkové SBS destičce.
- **Volitelné dva injektory (dvě čerpadla):** Některé aplikace, například záblesková luminiscence nebo duální analýzy reportérových genů, vyžadují nástřik dvou samostatných kapalin do jedné jamky. Společnost Tecan Austria proto doporučuje používat volitelné dva injektory.

2.3.4 Skladovací láhve a držáky láhví

Jednotka injektoru pojme nejvýše dvě láhve s objemem do 125 ml.

Sada láhví, která je standardně dodávána společně s injektorem, obsahuje:

- v případě **volby jednoho injektoru** (jednoho čerpadla) jednu láhev s objemem 125 ml a jednu láhev s objemem 15 ml, nebo
- v případě **volby dvou injektorů** (dvou čerpadel) jednu láhev s objemem 125 ml a dvě láhve s objemem 15 ml.

Injektor může obsahovat nejvýše dva držáky na láhve, které jsou navrženy pro zkumavky různých rozměrů a objemů. Láhve a zkumavky obsahující vstříkovanou

kapalinu lze pevně uchytit v držáku pomocí pružných spon z PVC. Hadičky vedoucí ze stříkačky injektoru lze zasunout do karbonové jehly, která se dotýká dna nádoby. Tak lze zajistit optimální průběh nabírání i velmi malých objemů kapaliny.



Obrázek 5: Držáky láhve

2.3.5 Držák injektoru

Držák injektoru, jehož součástí jsou vstřikovací jehly, lze snadno demontovat z přístroje pro účely naplnění či vypláchnutí systému a optimalizace rychlosti nástřiku.



Obrázek 6: Držák injektoru

Při použití injektoru během měření či pro samotné dávkování na destičku musí být držák injektoru správně vložen do přístroje. Vyjměte maketu injektoru a zasuňte držák do otvoru injektoru. Zatlačte opatrně držák do otvoru injektoru tak, abyste slyšeli klapnutí.

Přístroj je vybaven snímačem injektoru, který kontroluje správnou polohu držáku pro provedení **nástřiku a dávkování**.

Při nesprávném zasunutí držáku injektoru senzor nerozpozná přítomnost držáku a přístroj znemožní dávkování i nástřik.

Činnosti, jako jsou promývání a plnění, jsou k dispozici i při vloženém držáku. Proto při promývání a plnění vždy zkontrolujte, zda se držák injektoru nachází v servisní poloze.

Každý přístroj je z výroby dodáván tak, aby jej bylo možno později rozšířit o volitelný injektor.



POZOR

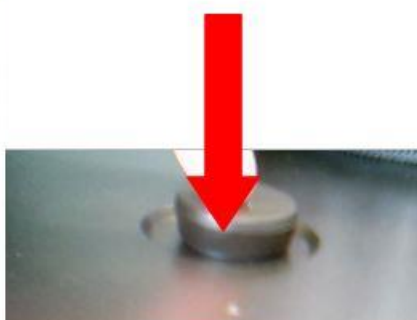
CHCETE-LI PROVÉST PLNĚNÍ A PROMÝVÁNÍ, MUSÍ SE DRŽÁK INJEKTORU NACHÁZET V SERVISNÍ POLOZE.

PLNĚNÍ A PROMÝVÁNÍ JE TŘEBA PROVÁDĚT S INJEKTOREM ZASUNUTÝM V PŘÍSTROJI!

Obrázek 7: Vložení držáku injektoru do otvoru na injektor



CLICK



POZOR

PŘI NESPRÁVNÉM ZASUNUTÍ DRŽÁKU INJEKTORU DO OTVORU NEBUDE SNÍMAČ INJEKTORU DETEKOVAT ZASUNUTÝ INJEKTOR. FUNKCE PROMÝVÁNÍ A PLNĚNÍ TAK BUDOU POVOLENY A JEJICH SPUŠTĚNÍ MŮŽE ZPŮSOBIT POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE.

2.4 Techniky měření

Následující kapitoly obsahují úvod do technik měření pomocí čtečky Infinite v provedení s plnou výbavou. Z důvodu stručnosti textu jsou některé oddíly poněkud zjednodušené. Podrobnosti jsou uvedeny v odkazech.

2.4.1 Fluorescence

Čtečka Infinite nabízí základní techniku měření fluorescence i některé sofistikovanější varianty měření:

- fluorescenční intenzita (FI, popř. pouze fluorescence),
- fluorescenční rezonanční přenos energie (FRET),
- časově rozlišená fluorescence (TRF),
- fluorescenční polarizace (FP – pouze provedení Infinite F Plex).

FI lze používat i k měření fluorescenčního rezonančního přenosu energie (FRET). V některých aplikacích s mikrotitračními destičkami nabízí technika FRET určité výhody v porovnání s technikami FI a TRF, protože zjednodušuje přípravu analýzy. Tyto výhody se týkají zejména vazebných studií prováděných metodou **směšování a měření**. V porovnání s FP vyžaduje FRET vhodné označení obou vazebných partnerů. Na druhou stranu FRET může používat TRF značky k dosažení vyšší citlivosti. V takovém případě se označuje jako HTRF (homogenní TRF).

Nezaměňujte TRF s měřením pomocí délky životnosti fluorescence.

Při působení světla kratších vlnových délek emitují fluorescentní molekuly světlo specifické vlnové délky (Stokesův posuv). Jedna fluorescentní molekula emituje jeden fluorescenční foton (množství světla). Jedná se o tu část energie, která byla dříve absorbována (elektronická excitace), avšak nemohla být uvolněna dostatečně rychle v podobě tepelné energie.

Průměrná délka doby mezi excitací a emisí se označuje pojmem životnost fluorescence. U mnoha specií fluorescenčních molekul se životnost fluorescence měří v řádu nanosekund (okamžitá fluorescence). Po excitaci dochází s určitou pravděpodobností (kvantový výtěžek) k emisi fluorescenčního záření, které závisí na speciích a okolních podmínkách.

Podrobné pojednání o technikách a aplikacích fluorescence:

Principles of Fluorescence Spectroscopy (Principy fluorescenční spektroskopie), Joseph R. Lakowicz, Plenum Press.

A) Fluorescenční intenzita (FI)

V mnoha aplikacích s mikrotitračními destičkami se intenzita fluorescenčního záření měří s cílem stanovit zastoupení fluorescenčně označených sloučenin. V případě analýzy tohoto druhu je třeba experimentálně regulovat vliv ostatních faktorů, které ovlivňují fluorescenční emise. Kvantový výtěžek, a tedy i výsledky měření, mohou zásadně ovlivnit teplota, hodnota pH, množství rozpuštěného kyslíku, druh použitého rozpouštědla apod.

B) Fluorescenční rezonanční přenos energie (FRET)

V některých aplikacích se používá sofistikovaná strategie dvojitého značkování. Jev FRET umožňuje měřit množství dvou různě označených sloučenin, které se nacházejí ve vzájemné bezprostřední blízkosti. Díky tomu je tato technika vhodná ke studiu molekulárních vazeb.

Technika FRET je v zásadě měření intenzity fluorescence jedné ze dvou fluorescenčních značek (akceptoru). Akceptor však není citlivý na excitační vlnovou délku používaného zdroje světla. Akceptor však může přijímat excitační energii z druhé fluorescenční značky (donor), jestliže se k ní nachází dostatečně blízko. Předpokladem je použít na donor jeho excitační vlnovou délku.

Spektrum, které donor emituje, musí být shodné s excitačním spektrem akceptoru (rezonanční podmínka). Přenos excitační energie z donoru na akceptor probíhá bez radiace.

Některé aplikace založené na technice FRET používají vhodné dvojice ze skupiny fluorescenčních proteinů, např. GFP/YFP (zelený/žlutý fluorescenční protein (viz **Using GFP in FRET-based applications (Použití GFP v aplikacích založených na technice FRET)**), Brian A. Pollok a Roger Heim – trendy v buněčné biologii [svazek 9], únor 1999). Přehled je uveden v článku – **Application of Fluorescence Resonance Energy Transfer in the Clinical Laboratory: Routine and Research (Využití fluorescenčního rezonančního přenosu energie v klinické laboratoři: rutinní využití a výzkum)**, J. Szöllösi a kol., kapitola Cytometrie 34, strany 159–179 (1998).

Jiné aplikace založené na technice FRET využívají výhod použití TRF značek coby donoru. Viz například **High Throughput Screening (Výkonný screening)** – Marcel Dekker Inc. 1997, New York, Basilej, Hong Kong, část 19 Homogeneous, Time-Resolved Fluorescence Method for Drug Discovery (Metoda homogenní, časově rozlišené fluorescence pro odhalování návykových látek), Alfred J. Kolb a kol.

C) Časově rozlišená fluorescence (TRF)

TRF se používá u třídy fluorescenčních značek (cheláty lanthanoidů, např. Europium [viz. **Europium and Samarium in Time-Resolved Fluoroimmunoassays (Europium a Samarium v časově rozlišených fluoroimunologických studiích)**], T. Ståhlberg a kol. – American Laboratory, prosinec 1993, strana 15]), z nichž některé se vyznačují životností fluorescence i delší než 100 mikrosekund. Čtečka Infinite používá coby zdroj světla bleskové světlo s délkou trvání záblesku mnohem kratší, než je životnost fluorescence těchto specií. Tato skutečnost umožňuje měřit fluorescenční emise v okamžiku, kdy rozptýlené světlo a okamžitá fluorescence již zanikly (délka prodlevy). Díky tomu lze výrazně utlumit pozadí při současném zvýšení citlivosti.

Výhody TRF lze využívat i u analýz, které využívají vyšší počet značek s různými délkami životnosti fluorescence.

D) Fluorescenční polarizace (FP)

Fluorescenční polarizace (FP) měří rotační pohyblivost sloučeniny označené fluorescenční látkou. FP je proto mimořádně vhodná technika pro studium vazeb, protože otáčivý pohyb malých molekul lze výrazněji zpomalit jejich navázáním na větší molekuly.

Měření s využitím fluorescenční polarizace fungují na principu detekce depolarizace fluorescenční emise po excitaci molekuly fluorescenční látky polarizovaným světlem. Fluorescenční molekulu lze vizualizovat jako anténu. Taková molekula dokáže absorbovat energii pouze a jedině za předpokladu, že polarizace excitačního světla souhlasí s orientací antény. Po dobu životnosti fluorescence, tj. po dobu, kdy se molekula nachází v excitovaném stavu, vykazují malé molekuly poměrně rychlou rotační difuzi. Před emisí svého fotonu proto změní svoji orientaci. V důsledku toho, jakož i v důsledku náhodnosti difuze, se lineárně polarizované excitační světlo převede na méně polarizované emisní světlo. Vysoká výsledná hodnota mP odráží pomalou rotaci označené molekuly, což značí, že vazba pravděpodobně proběhla. Nízká hodnota mP odráží rychlou rotaci molekuly, což značí, že vazba pravděpodobně neproběhla.

Výsledek měření FP se vypočítává ze dvou po sobě následujících měření intenzity fluorescence. Tato měření se vzájemně odlišují orientací polarizačních filtrů: jeden je umístěn za excitační filtr, druhý před emisní filtr. Zpracováním obou souborů údajů lze měřit rozsah změny orientace fluorescenční značky v časovém úseku mezi excitací a emisí.

2.4.2 Absorbance

Absorbance je měřítkem útlumu monochromatického světla přenášeného vzorkem. Absorbance se definuje takto:

$$A = \text{LOG}_{10} (I_0 / I_{\text{VZOREK}}),$$

Kde I_{VZOREK} je intenzita transmittovaného světla, I_0 je intenzita světla, které nebylo utlumen vzorkem. Měrnou jednotkou je optická hustota (OD)

Proto 2,0 OD znamená $10^{2.0}$ neboli 100násobné utlumení (1% transmisi),

1,0 OD znamená $10^{1.0}$ neboli 10násobné utlumení (10% transmisi),

0,1 OD znamená $10^{0.1}$ neboli 1,26násobné utlumení (79,4% transmisi).

Obsahuje-li vzorek pouze jednu specii, která absorbuje v daném úzkém pásmu vlnových délek, absorbance s korekcí pozadí (A) je přímo úměrná k příslušné koncentraci této specie (Lambert-Beerův zákon).

2.4.3 Luminiscence

Chemiluminiscence nebo bioluminiscence typu „glow“

Čtečka Infinite umožňuje měření chemiluminiscence nebo bioluminiscence typu „glow“. Typ „glow“ znamená, že luminiscenční analýza trvá mnohem déle než jednu minutu. K dispozici jsou luminiscenční substráty, které nabízejí dostatečně stabilní světelný výkon i po mnoho hodin.

Luminiscenci lze měřit například ke stanovení aktivity enzymem označené sloučeniny (-peroxidáza, -fosfatáza). Emise světla jsou důsledkem rozkladu luminiscenčního substrátu enzymem. V případě většího množství substrátu lze předpokládat, že signál luminiscence je přímo úměrný množství sloučeniny označené enzymem. Stejně jako ostatní enzymové analýzy je i zde třeba úzkostlivě dbát na podmínky prostředí (teplota, hodnota pH).

Praktická hlediska luminiscenčních analýz jsou popsána například zde:

Bioluminescence Methods and Protocols (Metody a protokoly bioluminiscence), ed. R.A. LaRossa, Methods in Molecular Biology 102, Humana Press, 1998

Bioluminiscenční rezonanční přenos energie (BRET)

BRET představuje moderní, nedestruktivní technologii buněčné analýzy, která je mimořádně vhodná pro aplikace v proteomice, včetně výzkumu receptorů a mapování transdukčních drah. Technika BRET je založena na přenosu energie mezi fúzními proteiny obsahující *Renilla luciferázu* (Rluc) a mutant zeleného fluorescenčního proteinu (GFP). Signál BRET je generován oxidací p. a. DeepBlue, derivátu coelenterazinu, který maximalizuje spektrální rozlišení z důvodu dosažení špičkové úrovně citlivosti. Tato homogenní analytická technologie představuje jednoduchou, robustní a všestrannou platformu pro aplikace v základním akademickém i aplikovaném výzkumu.

Záblesková luminiscence

V případě zábleskové luminiscence probíhá měření pouze po dobu dávkování aktivačního činidla nebo po krátké prodlevě (informace o měření pomocí zábleskové luminiscence čtečkou Infinite jsou uvedeny též v kapitole 2.3.1 Režimy měření).

V uplynulých letech došlo k výraznému zkvalitnění luminiscenčních substrátů, které v současnosti poskytují stabilnější signály. V luminiscenčních analýzách typu „glow“ je luminiscenční signál rozložen na delší časové měřítko (např. poločas rozpadu 30 min.).

2.5 Optická soustava

2.5.1 Soustava pro měření fluorescenční intenzity (provedení Infinite M)

Níže uvádíme schéma optické soustavy přístroje v provedení Infinite M pro horní a spodní fluorescenční měření.

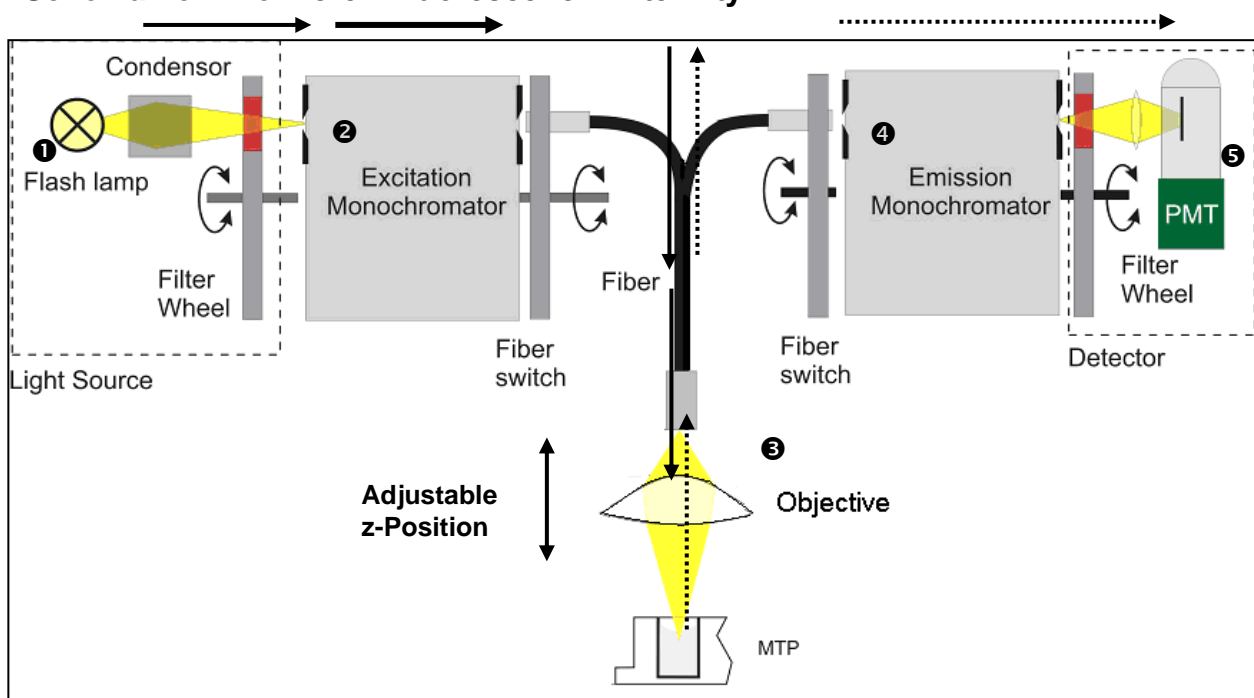
Soustava obsahuje tyto součásti:

- systém zdroje světla,
- excitační dvojitý monochromátor,
- optika pro horní fluorescenční měření,
- emisní dvojitý monochromátor,
- systém pro detekci fluorescence.

Plné šipky vyznačují dráhu excitačního světla, čárkované šipky dráhu emisního světla.

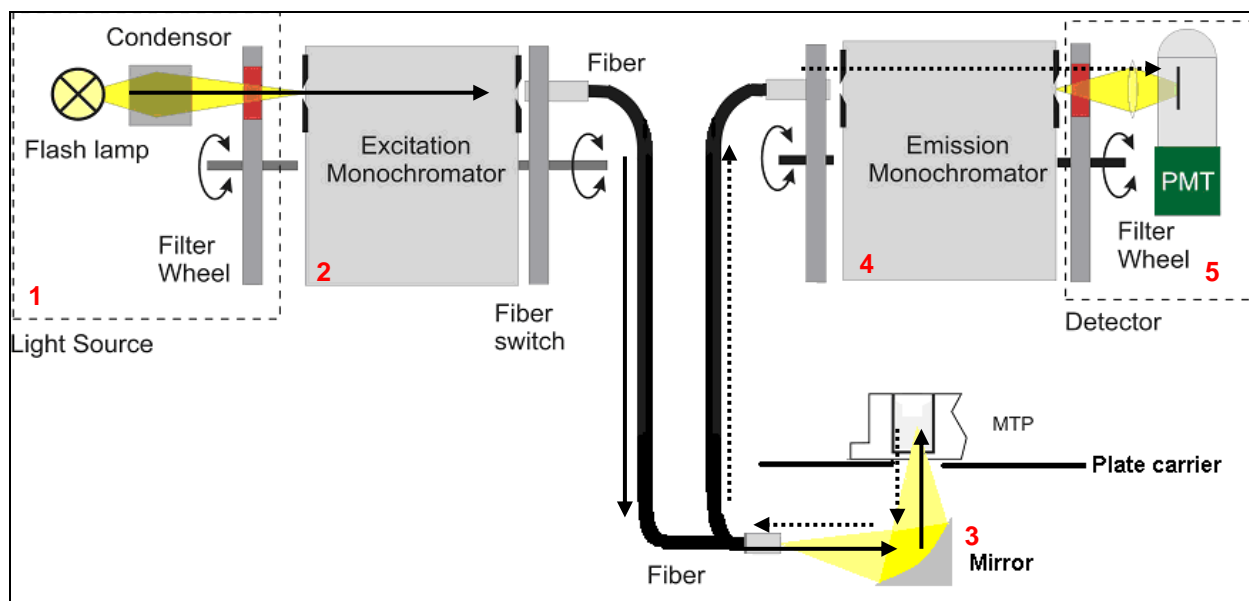
Monitor záblesků (viz Monitor záblesků na straně 25) není pro zjednodušení zobrazen. Oba monochromátory, č. (2) a (4), obsahují dvě mřížky a jejich podrobnější schémata jsou uvedena na obrázcích níže.

Schéma horního měření fluorescenční intenzity

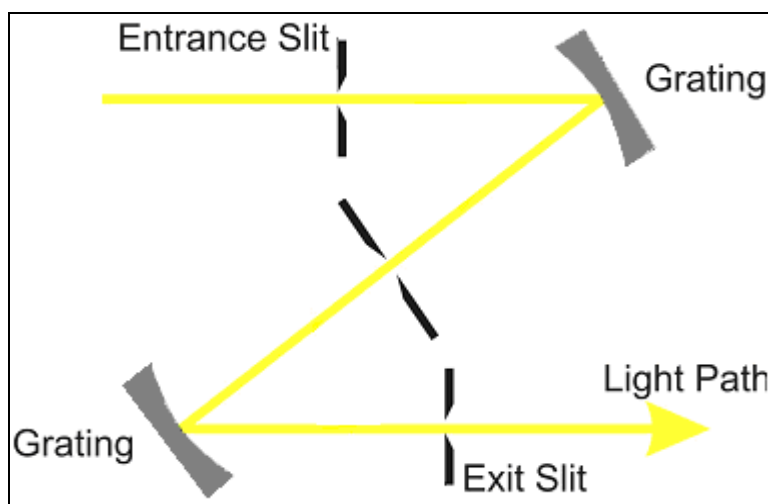


Obrázek 8: Optická soustava, horní fluorescenční měření

Schéma spodního měření fluorescenční intenzity



Obrázek 9: Optická soustava, spodní fluorescenční měření



Obrázek 10: Podrobný pohled na jednotku dvojitého excitačního a emisního monochromátoru

Systém zdroje světla pro měření fluorescenční intenzity

Fluorescenční aplikace zpravidla vyžadují specifický rozsah excitačních vlnových délek. Kromě toho mohou vyžadovat i pulsní excitační světlo (časově rozlišená fluorescence [TRF]).

Systém zdroje světla v přístroji Infinite v provedení M se skládá z těchto součástí:

- výbojka,
- spojná optika,
- filtrový kotouč,
- excitační dvojitý monochromátor,
- svazek optických vláken,
- monitor výbojky.

Výbojka

Přístroj Infinite v provedení M používá vysokoenergetickou xenonovou výbojku. Výboj vzniká v malé mezeře mezi dvěma elektrodami. Výbojka obsahuje vysokotlakou xenonovou atmosféru. Světelný výboj zhasíná v průběhu několika mikrosekund. Frekvence záblesku činí 40 Hz.

Přístroj Infinite M používá výbojku k měření fluorescence a absorbance, ačkoli pulsní osvětlení je nezbytné pouze k měření TRF. Hlavní výhody tohoto zdroje světla jsou:

vysoká intenzita v rozsahu od hlubokého UV záření takřka po infračervené,
velmi dlouhá životnost,

široká škála aplikací s použitím jediného druhu světelného zdroje,
nevyžaduje počáteční zahřívání.

Spojná optika

Optika spojitelného typu optiky z křemenného skla soustřeďuje světlo výbojky do vstupní štěrbině excitačního monochromátoru.

Filtrový kotouč

Filtrový kotouč se nachází mezi spojitelnou optikou a excitačním monochromátorem. Filtrový kotouč obsahuje optické filtry na specifické vlnové délky, jejichž účelem je zamezit průchodu nežádoucích difrakčních řádů, které vznikají působením optických mřížek. Filtry se nastavují automaticky.

Excitační dvojitý monochromátor

Ve fluorescenčních i absorbančních aplikacích se excitační dvojitý monochromátor používá k výběru požadované vlnové délky ze spektra výbojky, a to libovolně v rozsahu 230 až 850 nm (spektrálně zesílená verze) v případě měření fluorescenční intenzity a 230 nm až 1 000 nm v případě měření absorbance.

Fluorescenční emisní spektra v mnoha případech nezávisí na přesnosti excitační vlnové délky; proto se s ohledem na dosažení maximálního celkového fluorescenčního signálu doporučuje používat široké excitační pásmo.

Šířka pásma monochromátoru v přístrojích Infinite M činí <9 nm pro vlnové délky >315 nm a <5 nm pro vlnové délky ≤315 nm.

Podrobnější popis principu funkce monochromátoru je uveden v následujících odstavcích.

Popis principu funkce monochromátoru

Monochromátor je optický přístroj, který umožňuje výběr libovolné vlnové délky z definovaného optického spektra. Jeho provozní princip lze přirovnat k nastavitelnému optickému filtru, který umožňuje nastavit jak vlnovou délku, tak šířku pásma.

Monochromátor se skládá ze vstupní štěrbině, disperzního prvku a výstupní štěrbině. Disperzní prvek zajišťuje rozklad světla na optické spektrum a jeho směřování do výstupní mřížky. Disperzním prvkem může být skleněný hranol nebo optická mřížka. Moderní monochromátory, jakými jsou i monochromátory použité v přístrojích Infinite M, jsou vybaveny optickou mřížkou.

Otáčením optické mřížky okolo svislé osy dochází k pohybu spektra ve výstupní štěrbině, přičemž výstupní štěrbinou prochází pouze jeho část (pásmová propust). To znamená, že při osvětlení vstupní štěrbině bílým světlem bude výstupní štěrbinou procházet pouze světlo konkrétní vlnové délky (monochromatické světlo). Vlnová délka tohoto světla je určena úhlem natočení optické mřížky. Šířka pásma je určena šířkou výstupní štěrbině. Šířka pásma se definuje jako plná šířka v polovině maxima (FWHM).

Monochromátory blokují nežádoucí vlnové délky, zpravidla 10^3 . To znamená, že je-li monochromátor nastaven na světlo s vlnovou délkou 500 nm a detektor detekuje signál 10 000 dopadů, světlo s odlišnými vlnovými délkami vytvoří signál pouhých 10 dopadů. U aplikací ve fluorescenčním rozsahu nebývá toto blokování zpravidla dostatečné, protože detekované fluorescenční světlo bývá mnohem slabší než excitační světlo. K dosažení blokování vyšší úrovně se do řady zapojují dva monochromátory, tzn. že výstupní štěrbina prvního monochromátoru současně plní i funkci vstupní štěrby druhého monochromátoru. Toto uspořádání se označuje pojmem dvojitý monochromátor. V tomto případě blokování dosahuje faktoru 10^6 , což je hodnota, kterou běžně dosahují interferenční filtry.

V přístrojích Infinite M je použitý dvojitý monochromátor na excitační i detekční straně. Tato konfigurace umožňuje snadný výběr excitačních a fluorescenčních vlnových délek bez omezení, která kladou optické filtry.

Svazek optických vláken

Světlo z výstupní štěrby excitačního monochromátoru je svedeno do svazku optických vláken, které světlo vedou buď do optické soustavy pro horní měření, nebo do optické soustavy pro spodní měření. Dolní konec každého optického svazku plní funkci zdroje světla specifické barvy. V obou případech je vždy malá část světla vedena do diody monitoru výbojky.

Monitor záblesků

Světelná energie jednotlivých záblesků může mírně kolísat. Z důvodu zohlednění takového kolísání je přístroj vybaven křemíkovou fotodiodou, která monitoruje energii jednotlivých záblesků. Tím dochází k odpovídající kompenzaci výsledků měření fluorescence a absorbance.

Optika pro horní/spodní fluorescenční měření

Světlo záblesku vstupuje do soustavy optických čoček a je zaostřeno do vstupního otvoru excitačního monochromátoru. Vlnová délka excitačního světla se volí uvnitř monochromátoru. Po průchodu monochromátoru je excitační světlo spojeno do zavedeno do svazku, který světlo vede směrem k horní nebo spodní měřicí hlavě. Poté je světlo pomocí horní/spodní soustavy čoček zaostřeno do vzorku.

Horní/spodní soustava čoček poté zajistí zachycení fluorescenčního světla, které je svedeno do fluorescenčních optických vláken a přivedeno k detekčnímu systému.

Optika pro horní měření fluorescence se skládá z těchto součástí:

- soustava čoček pro horní měření fluorescenční intenzity,
- svazek vláken pro měření fluorescence.
- Spodní optika se skládá z těchto součástí:
- spodní fluorescenční zrcadlo,
- svazek vláken pro měření fluorescence.

Soustava čoček pro horní měření fluorescenční intenzity

Výstupní strana svazku plní funkci zdroje světla specifické barvy. Soustava čoček na konci horního excitačního vlákna je zkonstruována tak, aby zaostřovala excitační světlo do vzorku, odváděla fluorescenční světlo a zaostřovala je zpět do fluorescenčního svazku vláken.

Čočky objektivu jsou zhotoveny z křemenného skla. Tento materiál zajišťuje vysokou propustnost UV záření a takřka zcela postrádá autofluorescenci.

Velikost excitačního bodu

Velikost průřezu svazku vláken určuje průměr paprsku v jamce mikrotitrační destičky. U přístrojů řady M činí průměr paprsku cca 3 mm v případě horní optiky a 2 mm v případě spodní optiky.

Svazek vláken pro horní a spodní měření fluorescence

Svazek vláken připojený k horní/spodní měřicí hlavě obsahuje homogenní směs excitačních a emisních vláken. Emisní vlákna vedou fluorescenční světlo do hlavy emisního monochromátoru, kde soustava čoček zaostřuje světlo do vstupního otvoru emisního monochromátoru.

Spodní fluorescenční zrcadlo

Výstupní strana svazku plní funkci zdroje světla specifické barvy. Zrcadlo na konci dolního excitačního vlákna je zkonstruováno tak, aby zaostřovalo excitační světlo do vzorku, odvádělo fluorescenční světlo a zaostřovalo je zpět do fluorescenčního svazku vláken.

Nastavení polohy na ose Z (pouze svrchní fluorescenční měření v přístrojích Infinite M)

Výšku objektivu nad vzorkem lze upravit pomocí funkce Z-position (Poloha na ose Z). Jelikož excitační záření se odráží od kapalného vzorku, úprava polohy na ose Z pomáhá zvýšit odstup signálu od šumu na maximum. Podrobnější informace o nastavení výšky objektivu na ose Z jsou uvedeny v kapitole 4.5.2 Optimalizace nastavení na ose Z (pouze horní měření fluorescenční intenzity u provedení Infinite M).

Detekce fluorescenční intenzity

Fluorescenční detekční systém se používá v obou režimech měření: měření fluorescence nad jamkami destičky (horní měření) i pod jamkami destičky (spodní měření).

Fluorescenční světlo je soustředěno do vstupní štěrbině emisního monochromátoru. Po průchodu monochromátorem je světlo soustředěno na detektor (PMT). Mezi monochromátorem a PMT je umístěn filtrový kotouč.

Fluorescenční detekční systém se skládá z těchto součástí:

- emisní dvojitý monochromátor,
- filtrový kotouč PMT,
- detektor PMT.

Emisní dvojitý monochromátor

Obdobně jako excitační dvojitý monochromátor se i emisní dvojitý monochromátor používá k výběru libovolné vlnové délky fluorescenčního signálu. Funguje stejně jako nastavitelný filtr, který potlačuje rozptýl excitačního světla a nespecifickou fluorescenci. Ve spektrálně zesílených přístrojích lze rozsah vlnových délek nastavit v rozmezí 280–850 nm. Šířka pásma činí 20 nm.

Filtrový kotouč PMT

Filtrový kotouč obsahuje optické filtry na specifické vlnové délky, jejichž účelem je zamezit průchodu nežádoucích difrakčních řádů, které vznikají působením optických mřížek. Filtry se nastavují automaticky.

Detektor PMT

Detekci zajišťuje fotonásobič (PMT), který dokáže zachytit i velmi slabé světlo, které charakterizuje fluorescenci. PMT spektrálně zesílené verze přístrojů řady Infinite M vyniká citlivostí až do spektrální oblasti blízké infračervenému záření

(NIR) při současném nízkém temném proudu. Elektronické obvody používají konverzi výstupního proudu PMT z analogového na digitální signál. Nastavení výtěžku PMT umožňuje měření širokého rozsahu koncentrací v nízkých i vyšších koncentračních oblastech. Podrobnosti jsou uvedeny například v kapitole 4.5.1 Parametry přístroje.

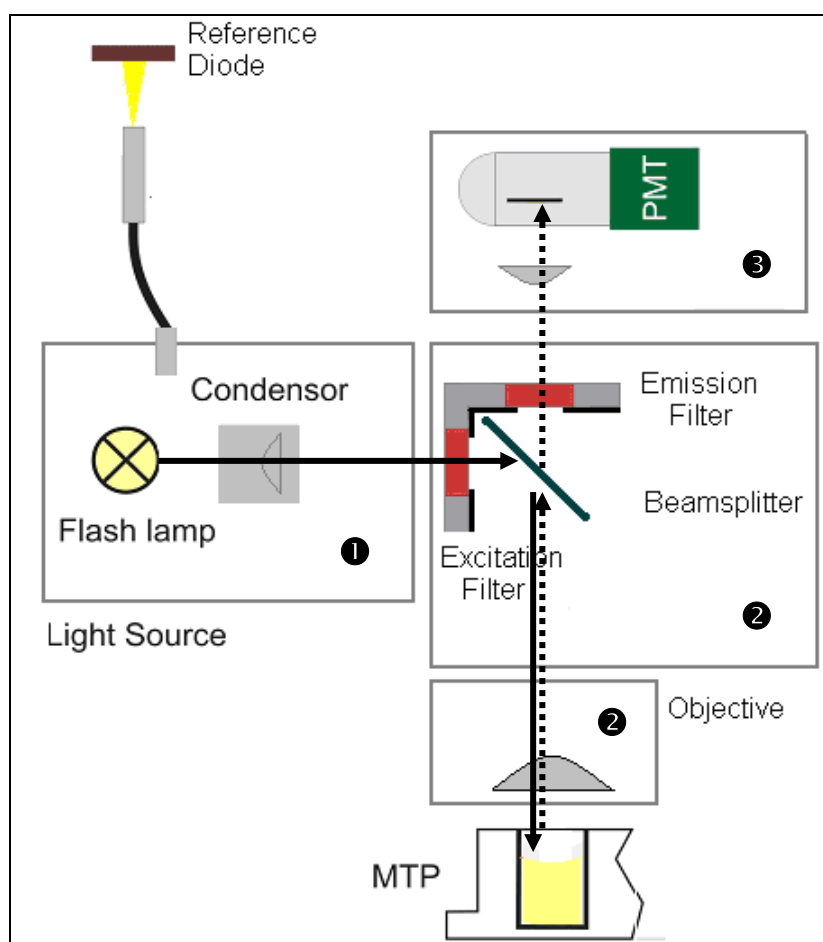
2.5.2 **Soustava pro měření fluorescenční intenzity (provedení Infinite F)**

Systém pro měření intenzity fluorescence v přístrojích řady Infinite F se skládá z těchto součástí:

- zdroj světla,
- optika pro měření fluorescence,
- systém detekce fluorescence.

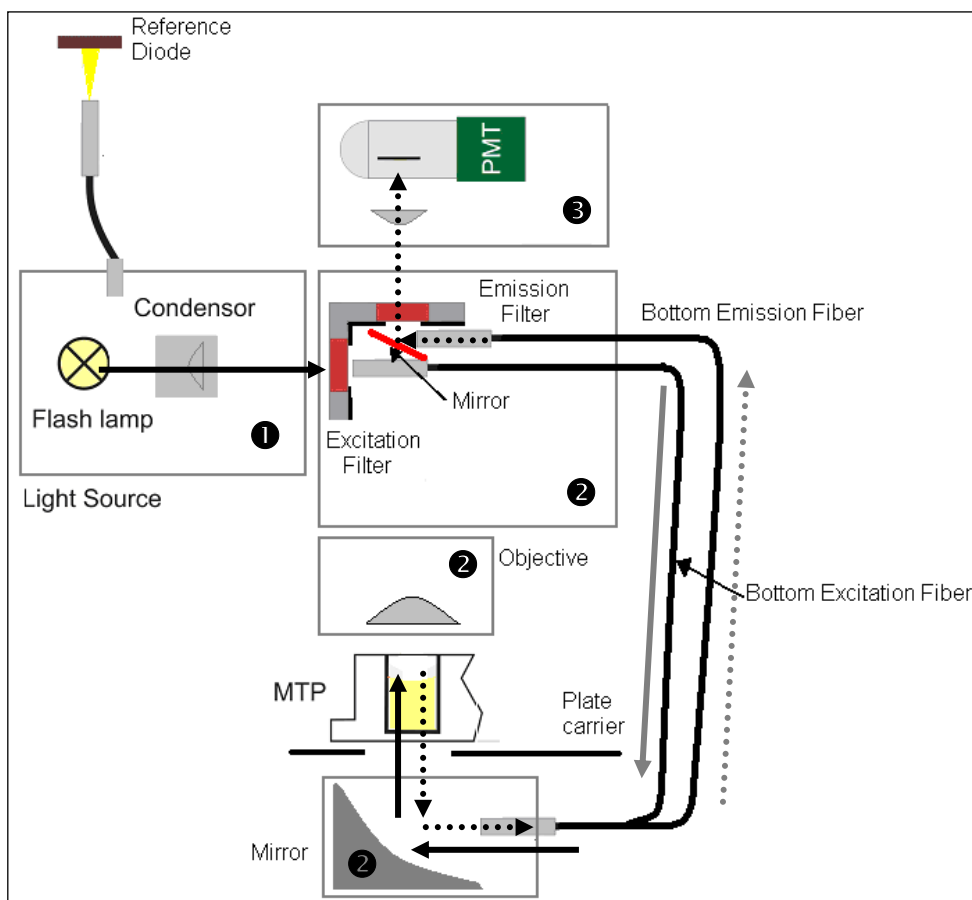
Systém pro horní měření fluorescence je uveden na Obrázek 11, systém pro spodní měření na Obrázek 12. Plné šipky vyznačují dráhu excitačního světla, čárkované šipky dráhu emisního světla.

Schéma horního měření fluorescenční intenzity



Obrázek 11: Systém pro horní měření fluorescenční intenzity, provedení Infinite F

Schéma spodního měření fluorescenční intenzity



Obrázek 12: Systém pro spodní měření fluorescenční intenzity, provedení Infinite F

Systém zdroje světla

Zábleskové světlo vstupuje do optické soustavy štěrbinou s filtrem. Tato štěrbinová plní funkci zdroje světla specifické barvy.

Systém zdroje světla v přístroji Infinite v provedení F se skládá z těchto součástí:
výbojka,
spojná optika,
excitační filtry,
monitor výbojky.

Výbojka

Přístroj Infinite v provedení F používá vysokoenergetickou xenonovou výbojku. Výboj vzniká v malé mezeře mezi dvěma elektrodami. Výboj obsahuje vysokotlakou xenonovou atmosféru. Světelný výboj zhasíná v průběhu několika mikrosekund.

Frekvence záblesku činí 40 Hz.

Přístroj Infinite F výbojku k měření fluorescence a absorbance, ačkoli pulsní osvětlení je nezbytné pouze k měření TRF. Hlavní výhody tohoto zdroje světla jsou:

- vysoká intenzita v rozsahu od hlubokého UV záření takřka po infračervené,
- velmi dlouhá životnost,
- široká škála aplikací s použitím jediného druhu světelného zdroje,
- nevyžaduje počáteční zahřívání.

Spojná optika

Optika spojného typu soustřeďuje světlo do vstupní štěrbině optického systému pro měření fluorescence.

Excitační filtr

Pásmově propustné filtry k propouštění specifických vlnových délek slouží k výběru požadovaného rozsahu vlnových délek z celého spektra excitačního světla přiváděného z výbojky. Filtry jsou umístěny ve vyjímatelných kazetách a uživatelé je mohou sami měnit.

Monitor záblesků

Světelná energie jednotlivých záblesků může mírně kolísat. Z důvodu zohlednění takového kolísání je přístroj vybaven referenční křemíkovou fotodiodou, která monitoruje energii jednotlivých záblesků. Tím dochází k odpovídající kompenzaci výsledků měření fluorescence.

Optika pro horní měření fluorescence

Zábleskové světlo vstupuje do optické soustavy štěrbinou a poté prochází excitačním filtrem. V závislosti na měřené vlnové délce se použije průsvitné (50 %) nebo speciální dichroické zrcadlo, které odráží světlo směrem k mikrotitrační destičce. Soustava čoček v objektivu zaostřuje světlo do vzorku.

Fluorescenční emise se měří v prostoru nad jamkou. Fluorescenční světlo je vedeno do objektivu, přes vhodné zrcadlo a zaostřeno do výstupní štěrbině k následné detekci.

Soustava čoček v objektivu

Účelem objektivu je odvádět fluorescenční světlo z jamky a zaostřit je přes výstupní štěrbinu do detekčního systému.

Čočky objektivu jsou zhotoveny z křemenného skla. Tento materiál zajišťuje vysokou propustnost UV záření a takřka zcela postrádá autofluorescenci.

Výběr zrcadla – horní fluorescenční měření (pouze provedení Infinite F)

Přístroje řady Infinite F jsou vybaveny držákem zrcadla, který slouží k uchycení 50% zrcadla i dichroického zrcadla 510.

Výhoda 50% zrcadla spočívá ve skutečnosti, že je lze použít ve spojení s libovolnou dvojicí excitační a emisní vlnové délky. Je však třeba pamatovat na ztrátu ve výši 50 % excitačního světla přiváděného ke vzorku, a tedy následně i 50 % emisního světla vycházejícího ze vzorku.

Dichroická zrcadla závisejí na vlnové délce a jsou zkonstruována tak, aby takřka zcela odrážela určitý rozsah vlnových délek. Dichroická zrcadla vykazují vysokou úroveň odrazivosti excitačního světla a transmise emisního světla a zpravidla poskytují větší odstup signálu od šumu v porovnání s 50% zrcadlem.

Jsou k dispozici k destičkám všech formátů do počtu 384 jamek.



Upozornění

Dichroické zrcadlo musí odpovídat zvoleným vlnovým délkám excitačního a emisního záření.

Typ zrcadla	Odrazivost (excitace)	Propustnost (emise)
50% zrcadlo	230–900 nm	230–900 nm
Dichroické 510 (např. fluorescein)	320–500 nm	520–780 nm

Jestliže excitační i emisní vlnová délka souhlasí s rozsahem konkrétního zrcadla a tyto vlnové délky jsou nastaveny ve skriptu měření, přístroj vybere dichroické zrcadlo automaticky. Jestliže excitační nebo emisní vlnová délka nevyhovuje rozsahu dichroického zrcadla, přístroj automaticky vybere k měření 50% zrcadlo.

Spodní měření fluorescence

Zábleskové světlo vstupuje do optické soustavy štěrbinou a poté prochází excitačním filtrem. Dolní excitační vlákno přivádí světlo do dolní optické sondy, která se skládá z eliptického zrcadla, jež zaostřuje světlo přes dno mikrotitrační destičky do jamky. Emitované světlo je zaostřeno do dolního excitačního vlákna, které je vede přes zrcadlo a emisní filtr do systému detekce fluorescence.

Detekce fluorescence

Emisní filtr

Pásmově propustné filtry k propouštění specifických vlnových délek slouží k odlišení nespecifických fluorescenčních signálů od žádoucího emisního světla vzorku. Filtry jsou umístěny ve vyjímatelných kazetách a uživatelé je mohou sami měnit.

Fluorescenční filtry lze používat jako excitační i emisní, a to v závislosti na požadavcích měření.

Průměr paprsku činí u provedení přístrojů Infinite F cca 2 mm.

Detektor PMT

Detekci zajišťuje fotonásobič (PMT), který dokáže zachytit i velmi slabé světlo, které charakterizuje fluorescenci. Podrobné informace jsou uvedeny v kapitole Detekce fluorescenční intenzity na straně 26.

2.5.3 Fluorescenční polarizační systém (pouze provedení Infinite F Plex)

Technické informace jsou uvedeny v kapitole 2.5.2 Soustava pro měření fluorescenční intenzity (provedení Infinite F).

Model Infinite F Plex, tj. Infinite F pro měření fluorescenční polarizace (FP), se dodává se standardní kazetou na FP filtry. Kazeta je osazena filtry a polarizátory pro excitaci a emisi při vlnových délkách 485, resp. 535 nm, a lze ji používat například k měření v FP aplikacích s fluoresceinem.

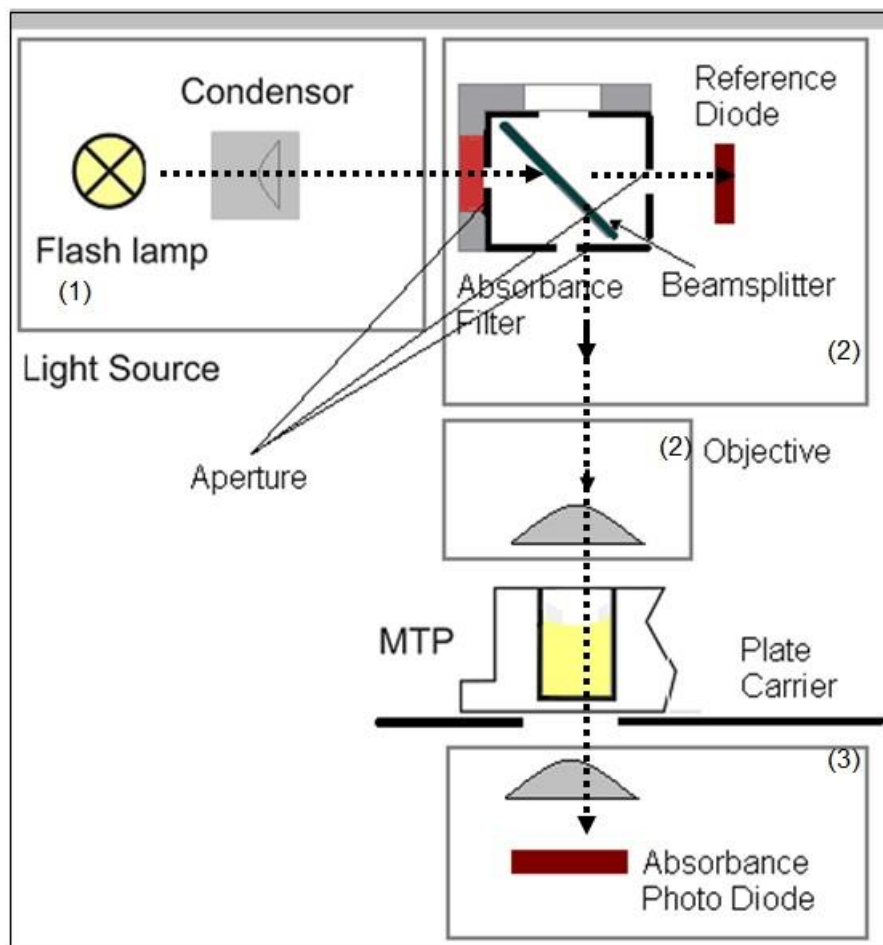
Podrobné informace o montáži polarizátorů a FP filtrů jsou uvedeny v kapitole 4.4 Definice kazet s filtry (provedení Infinite F).

2.5.4 Soustava pro měření absorbance (provedení Infinite F)

Měření absorbance využívá obdobnou optickou dráhu jako excitace pro fluorescenci. Modul pro měření absorbance se nachází pod držákem destiček. Měří množství světla, které prochází vzorkem. Před zahájením měření mikrotitrační destičky je provedeno referenční měření s držákem destiček v poloze mimo světelný paprsek (viz též kapitolu 2.4.2 Absorbance).

Systém pro měření absorbance je uveden na Obrázek 13 a skládá se z těchto součástí:

- zdroj světla,
- absorbanční optika,
- jednotka pro detekci absorbance.



Obrázek 13: Systém pro měření absorbance, provedení Infinite F

System zdroj světla

System zdroj světla pro měření absorbance je obdobný jako v případě systému pro horní měření fluorescence.

Pásmově propustný filtr

V aplikacích s měřením absorbance je třeba použít pásmově propustné filtry k výběru příslušných vlnových délek ze spektra výbojky. Filtry jsou umístěny ve vyjímatelných kazetách.

Absorbanční filtr

Absorbanční měření vyžadují použití pásmově propustných filtrů s poměrně úzkým rozsahem pásma (2–10 nm) se strmým sklonem.

Absorbanční optika

Držák zrcadla je vybaven polohou pro absorbanční měření. Dvojice úzkých štěrbin produkuje úzký a kolimovanější svazek světla v porovnání s fluorescenční excitací.

U světla zaostřeného přes dávkovanou kapalinu dochází k nepatrnému lomu na rozhraní mezi vzduchem, kapalinou a dnem destičky. K dosažení spolehlivých výsledků měření v případě přítomnosti blanky povrchového napětí kapaliny je přístroj vybaven ostřicí čočkou, která jímá světlo, které mohlo být lomem odkloněno příliš daleko od optické osy.

Průměr světelného paprsku pro měření absorbance činí 0,5 mm.

Detekce absorbance

Měření světelného svazku zajišťuje křemíková fotodioda. Tato dioda je citlivá na široký rozsah vlnových délek. Fotodioda je vhodná k měření absorbance při úrovni 4 OD a nižší.



Upozornění

K absorbančnímu měření malého objemu (2 µl) nukleových kyselin používejte destičky Tecan NanoQuant™.

Tento přístroj umožňuje měřit v rámci jediného průchodu 16 různých vzorků.

Další informace vám poskytne místní obchodní zastoupení, případně jsou uvedeny na adrese: www.tecan.com.

2.5.5 Soustava pro měření absorbance (provedení Infinite M)

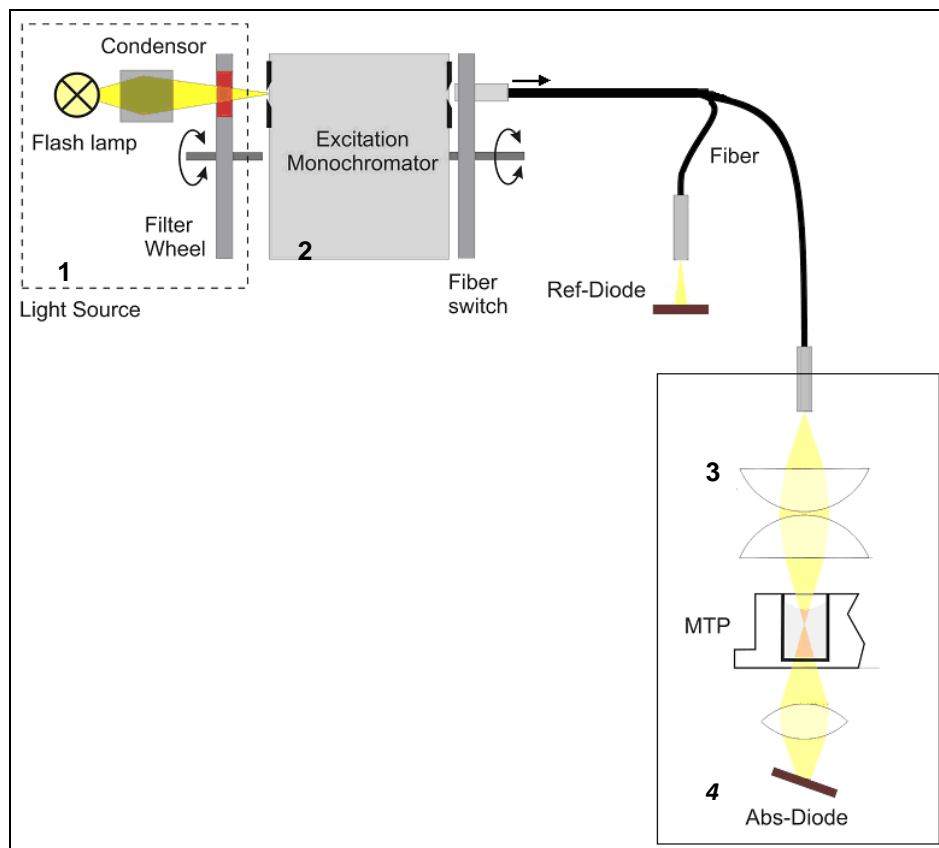
Měření absorbance využívá obdobnou optickou dráhu jako excitace pro fluorescenci.

Soustava pro měření absorbance obsahuje tyto součásti:

- zdroj světla,
- excitační monochromátor,
- absorbanční MTP optika,
- MTP modul pro měření absorbance.

Optika spojného typu soustřeďuje světlo tak, aby procházelo excitačními filtry a poté vstupní štěrbinou do excitačního monochromátoru. Optický svazek následně vede světlo z excitačního monochromátoru do optiky absorbančního MTP, která je zaostřuje do jamek. MTP modul pro měření absorbance se nachází pod držákem destiček. Tyto moduly měří množství světla, které prochází vzorkem.

Před zahájením měření mikrotitrační destičky (MTP) je provedeno referenční měření s držákem destiček v poloze mimo světelný paprsek.



Obrázek 14: Optická soustava pro měření absorbance, provedení Infinite M

Podrobné informace o zdroji světla (1) a excitačním monochromátoru (2) jsou uvedeny v kapitole Systém zdroje světla pro měření fluorescenční intenzity na straně 23.

Absorbanční MTP optika

Svazek vláken vede světlo ze systému excitačního monochromátoru do absorbanční MTP optiky.

Absorbanční optika obsahuje dvojici čoček, které zaostřují světelný paprsek do jamky na mikrotitrační destičce.

Průměr světelného paprsku pro měření absorbance činí 0,7 mm.

Detekce absorbance MTP

Měření světla zajišťuje křemíková fotodioda. Tato dioda je citlivá na široký rozsah vlnových délek. Fotodioda je vhodná k měření absorbance při úrovni 4 OD a nižší.



Upozornění

K absorbančnímu měření malého objemu (2 µl) nukleových kyselin používejte destičky Tecan NanoQuant™.

Tento přístroj umožňuje měřit v rámci jediného průchodu 16 různých vzorků.

Další informace vám poskytne místní obchodní zastoupení, případně jsou uvedeny na adrese: www.tecan.com

Korekce na délku optické dráhy

Funkce **Pathlength Correction** (Korekce na délku optické dráhy), kterou jsou vybaveny čtečky Infinite s monochromátorem, umožňuje upravit naměřené hodnoty absorbance u vzorků na destičkách na délku optické dráhy 1 cm, aby bylo možno porovnávat výsledky měření s výsledky získanými měřením v kyvetách, případně provádět kvantitativní analýzu vzorků na základě extinkčního koeficientu.

Dle Lambert-Beerova zákona je množství absorbovaného světla přímo úměrné koncentraci vzorku a délce dráhy, po kterou světlo prochází vzorkem. Narozdíl od standardní kyvety s délkou dráhy 1 cm není délka dráhy v případě mikrotitrační destičky známá a závisí na objemu kapaliny v jamkách. V případě vodných roztoků lze délku optické dráhy vypočítat z hodnot absorbance vody naměřených v rozsahu vlnových délek blízkému infračervenému záření (900 nm až 1 000 nm) za použití kyvety a příslušné mikrotitrační destičky.



Upozornění

Absorpce vody závisí na její teplotě. Zajistěte, aby všechna měření probíhala za naprosto shodné teploty.



Upozornění

Každá složka analýzy absorbující světlo v rozsahu 900–1 000 nm ovlivní korekci délky optické dráhy.



Upozornění

Pamatujte, že pufrý (koncentrace solí), organická rozpouštědla, blanka povrchového napětí vody (meniskus) a vlastnosti destičky mohou ovlivnit výsledky měření s korekcí délky optické dráhy.



POZOR

ZAKALENÉ VZORKY MOHOU ZPŮSOBIT ZKRÁCENÍ ODHAĐOVANÉ DÉLKY OPTICKÉ DRÁHY V DŮSLEDKU ROZPTYLU SVĚTLA. KOREKCE NA DÉLKU OPTICKÉ DRÁHY MĚŘENÍ S KYVETOU NEDOKÁŽE TENTO JEV KOMPENZOVAT.

Výpočet parametru **Pathlength** (Délka optické dráhy) vzorku probíhá dle tohoto vzorce:

$$\text{Délka dráhy}_{\text{vzorek}} = (A_{\text{TW}} - A_{\text{RW}}) / (A_{\text{voda}}) * 1 \text{ cm}$$

A_{TW} = absorpce vzorku vodného roztoku při zkušební vlnové délce

A_{RW} = absorpce vzorku vodného roztoku při referenční vlnové délce

A_{voda} = A_{TW} mínus A_{RW} vody v 1cm kyvetě (= korekční faktor)

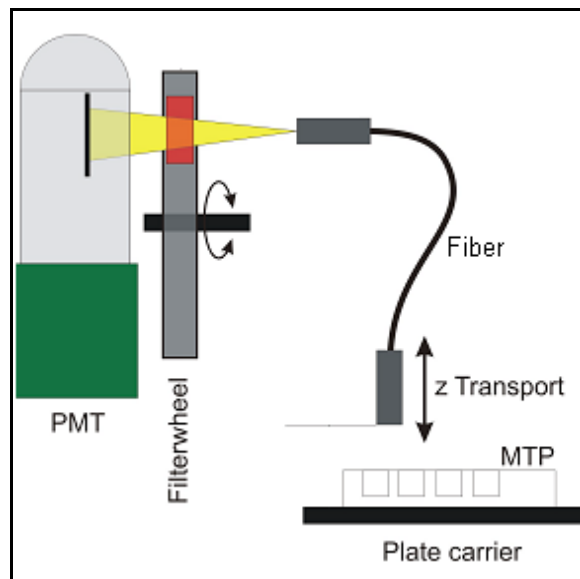
Vypočítaná délka dráhy se posléze použije ke korekci absorbance vzorku (A_{vzorek}) při specifické vlnové délce barviva na 1 cm ($A_{\text{korigovaný vzorek}}$):

$$A_{\text{korigovaný vzorek}} = A_{\text{vzorek}} / \text{délka dráhy}_{\text{vzorek}}$$

2.5.6 Luminiscenční systém

Luminiscenční systém čtečky Infinite se skládá z těchto součástí:

- optika luminiscence,
- detekční jednotka (PMT s počítáním jednotlivých fotonů),



Obrázek 15: Optická soustava, měření luminiscence

Luminiscenční svazek vede světlo od vzorku do detekční jednotky (PMT) přes filtrový kotouč. Fotonásobič s počítáním fotonů je navržen do aplikací chemiluminiscence a bioluminiscence a vyznačuje se velkým dynamickým rozsahem. Výjimečně nízká hladina šumu a vysoká citlivost umožňují detekci i v případě velmi nízké hladiny světla.

Polohu optického svazku, který je připevněn k držáku optiky, na ose Z upravuje software automaticky a závisí na zvoleném souboru definice destičky. Úprava polohy na ose Z pomáhá zvýšit odstup signálu od šumu na maximum a minimalizovat vzájemné ovlivňování v důsledku lomu světla na hladině kapalného vzorku.

Optika luminiscence

V luminiscenčním režimu měření používá čtečka Infinite neměnnou polohu destičky a pohyblivou měřicí hlavu (viz schéma na Obrázek 15: Optická soustava, měření luminiscence). Tloušťka destičky je určena výběrem příslušného typu destičky v softwaru (viz Návod k použití softwaru i-control).

Vlákno

Skleněné vlákno vede světlo od vzorku k detekční jednotce. Vlákno je zkonstruováno k měření 6jamkových až 384jamkových destiček.

Filtrový kotouč

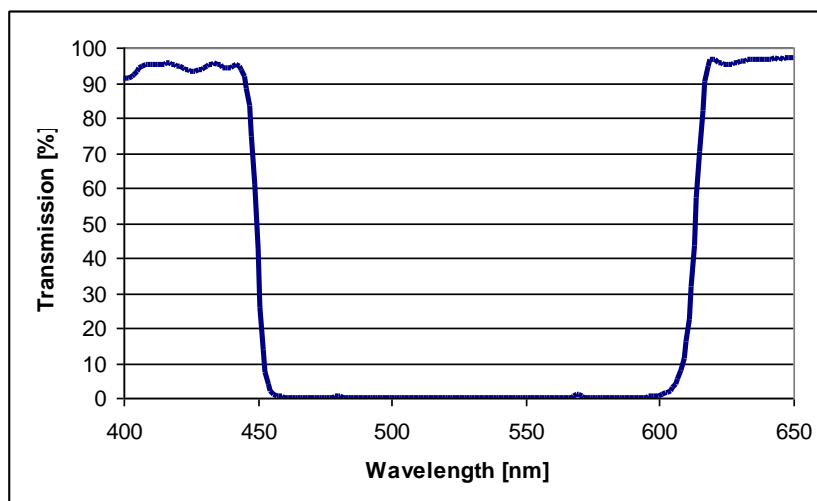
Filtrový kotouč se 6 pozicemi na filtry před oknem fotonásobiče se otáčí dle požadovaného luminiscenčního kanálu. Vysoká citlivost detekčního systému vyžaduje tlumení luminiscenčního světla vysoké intenzity, a proto se filtrový kotouč může otočit i do polohy s filtrem neutrální hustoty.

Poloha filtrového kotouče	Filtr
Poloha 1	Lumi zelená*
Poloha 2	Lumi purpurová*
Poloha 3	Filtr neutrální hustoty OD2
Poloha 4	Bez tlumení
Poloha 5	Červená NB **
Poloha 6	Modrá2 NB **

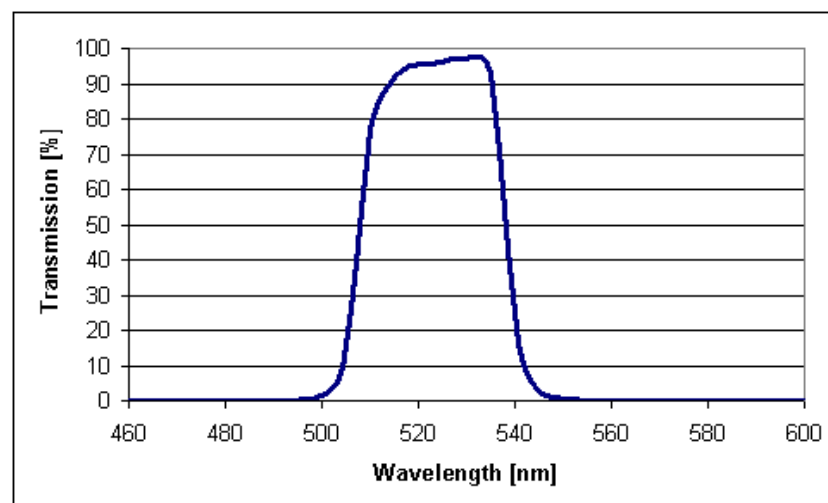
* doporučuje se k BRET² analýze a k analýze ChromaGlo – luciferázy

** doporučuje se k analýze NanoBRET™

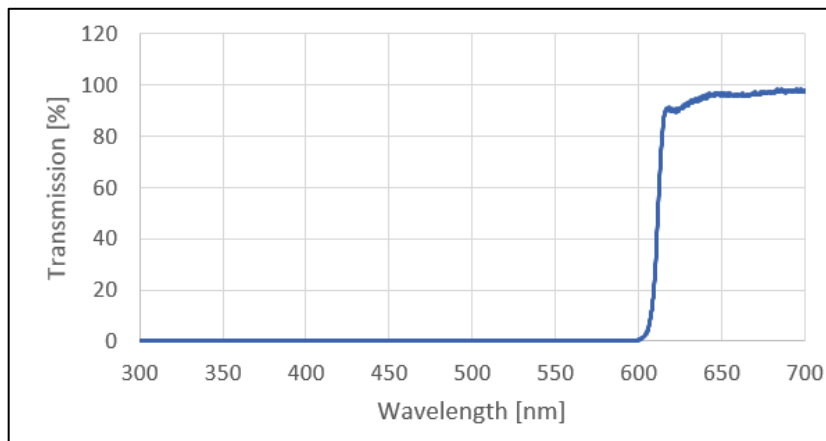
Neutrální filtr OD2 slouží k tlumení vysoké hladiny světla faktorem 100 (odpovídá absorptanci 2 OD). Výsledné hodnoty se automaticky převádějí na počet za sekundu a zobrazují se odpovídajícím způsobem i ve výsledcích v softwaru. Obrázek 16 až Obrázek 19 obsahují popis propouštěných spekter u jednotlivých luminiscenčních filtrů.



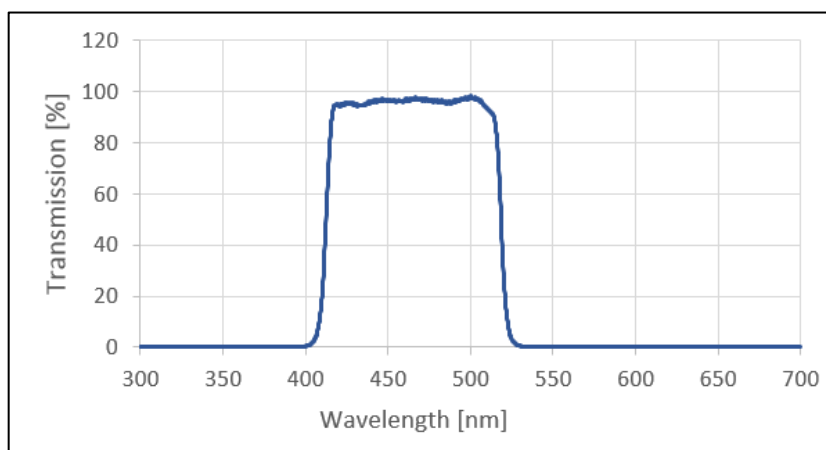
Obrázek 16: Propouštěné spektrum filtru **Lumi purpurová**



Obrázek 17: Propouštěné spektrum filtru **Lumi zelená**



Obrázek 18: Propouštěné spektrum filtru červená NB



Obrázek 19: Propouštěné spektrum filtru modrá2 NB

2.5.7 Příhrádka na kyvetu (provedení Infinite M)

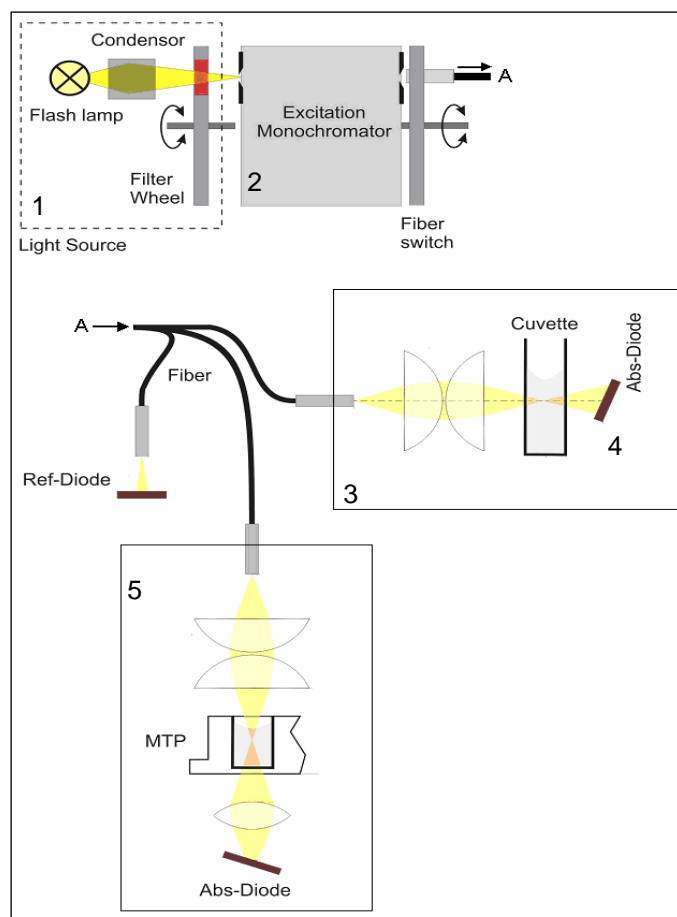
Přístroje v provedení Infinite M mohou být volitelně vybaveny i příhrádkou na kyvetu pro účely měření absorbance.

Měření absorbance v přístrojích Infinite M s příhrádkou na kyvetu využívá obdobnou optickou dráhu jako excitace pro fluorescenci.

Soustava pro měření absorbance obsahuje tyto součásti:

- zdroj světla,
- excitační monochromátor,
- modul pro měření absorbance pomocí kyvetu,
- modul na mikrotitrační destičku pro měření absorbance.

Optika spojného typu soustřeďuje světlo tak, aby procházelo excitačními filtry a poté vstupní štěrbinou do excitačního monochromátoru. Optický svazek následně vede světlo z excitačního monochromátoru do optiky pro měření absorbance pomocí kyvetu. Tato optika následně zaostřuje světlo přes kyvetu. Měření pro měření absorbance pomocí kyvetu se nachází přímo pod příhrádkou na kyvetu. Měření množství světla, které prochází vzorkem, zajišťuje křemíková fotodioda. Před měřením obsahu kyvetu se provádí referenční měření vzduchu, při kterém se příhrádka na kyvetu nachází mimo dráhu paprsku.



Obrázek 20: Optická soustava absorbančního modulu přístrojů Infinite M včetně přihrádky na kyvetu. Obrázek znázorňuje i dráhu světla při použití modulu pro měření absorbance v mikrotitrační destičce (5).

Podrobné informace o zdroji světla (1) a excitačním monochromátoru (2) jsou uvedeny v kapitole 2.4.1 Fluorescence/A) Fluorescenční intenzita (FI).



Upozornění

Přihrádku na kyvetu lze objednat pouze k provedení přístroje Infinite M. Tento doplněk není k dispozici k přístrojům v provedení Infinite F. V přístrojích Infinite F lze obsah kyvetu měřit při použití adaptéru na kyvetu Tecan, který se umísťuje na mechanismus pro přepravu destiček.

Optika pro měření absorbance v kyvetě

Svazek vláken vede světlo ze systému excitačního monochromátoru do optiky pro měření absorbance v kyvetě.

Optika obsahuje dvojici čoček, které zaostřují světelný paprsek do kyvetu.

Průměr světelného paprsku pro měření absorbance v ohnisku činí 1,9 mm.

Detekce při měření absorbance v kyvetě

Měření světla zajišťuje křemíková fotodioda. Tato dioda je citlivá na široký rozsah vlnových délek. Fotodioda je vhodná k měření absorbance při úrovni nižší než 4 OD. Naměřené hodnoty nad úrovní 4 OD jsou na výsledcích označeny popiskem **OVER** (PŘEKROČENO).

Typy kyvet

Příhrádka na kyvetu je kompatibilní s těmito kyvetami:

Typ kyvety	Šířka x hloubka	Maximální výška (včetně uzávěru)	Plnicí objem	Příklad
Standardní kyvety	12,5 x 12,5 mm	55 mm	2 ml	Hellma 110 QS, 10 mm*
Semi-makro kyvety	12,5 x 12,5 mm	55 mm	1 ml	Hellma 108-QS, 10 mm*
Mikrokyvety	12,5 x 12,5 mm	55 mm	0,5 ml	Hellma 104.002 QS, 10 mm*
Ultra-mikro kyvety	12,5 x 12,5 mm	55 mm	100 µl	Hellma 105.202, 10 mm*

Nelze používat kyvety s měřicím oknem <2 mm (průměr).

**POZOR**

VŽDY POUŽÍVEJTE PLATNÝ OBJEM NÁPLNĚ. VÝŠKA HLADINY KAPALINY V KYVETĚ MUSÍ BÝT VŽDY VYŠŠÍ NEŽ 20 MM. V OPAČNÉM PŘÍPADĚ BY DRÁHA SVĚTLA V KYVETĚ NEMUSELA BÝT ZCELA VYPLNĚNA KAPALINOU. DŮSLEDKEM TAKOVÉHO STAVU MOHOU BÝT CHYBNÉ VÝSLEDKY MĚŘENÍ.

**POZOR**

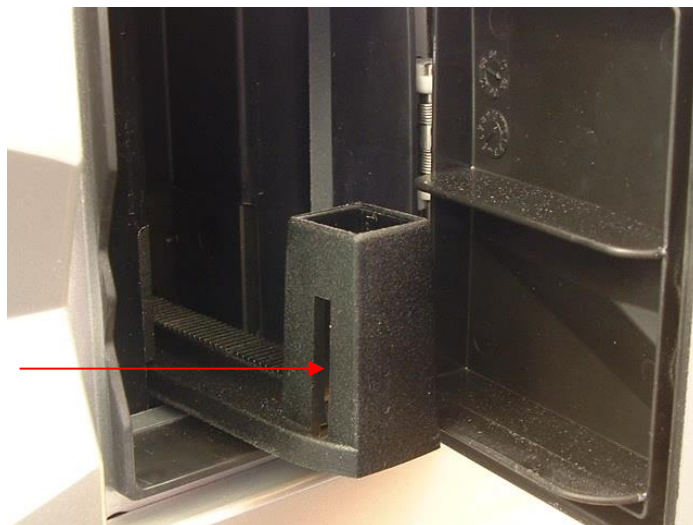
V PŘIHRÁDCE NA KYVETU V PŘÍSTROJÍCH INFINITE M NELZE POUŽÍVAT KYVETY S MĚŘICÍM OKNEM <2 MM (PRŮMĚR) A STŘEDOVOU VÝŠKOU NIŽŠÍ NEŽ 15 MM.

*Hellma GmbH & Co. KG, Německo; www.hellma-worldwide.com

Vložení kyvety

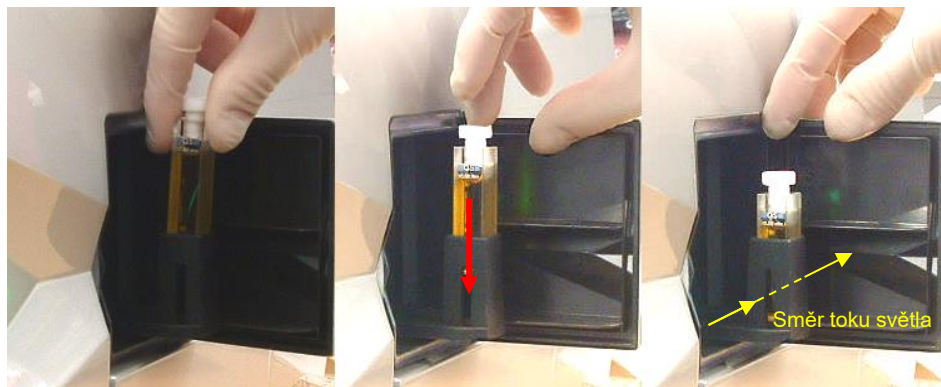
Držák kyvety je pevně spojen s nosičem kyvety a zajišťuje její zasunutí a vysunutí. Držák kyvety představuje nedílnou součást přístroje a nelze jej demontovat.

Měřicí okno



Obrázek 21: Příklad na kyvetu, provedení Infinite M

Kyvetu je třeba vkládat tak, aby měřicí okno kyvety bylo vyrovnáno s měřicím oknem na držáku kyvety:



Obrázek 22: Vložení kyvety do držáku

3. Umístění a zapojení přístroje

3.1 Vybalení a kontrola přístroje

Doručené balení přístroje obsahuje tyto položky:

- kabel USB 2.0 A/B 1.8 M, černý se schránkou na feritové jádro,
- v případě provedení Infinite F / Infinite M datový nosič se softwarem,
- protokol kvality OOB,
- přepravní pojistku (namontovanou),
- návod k použití,
- protokol z výstupní zkoušky.

Balení přístroje v provedení Infinite F obsahuje navíc i tyto položky:

- box s příslušenstvím,
- pojistné kroužky k filtrům (8),
- nástroj pro sestavení filtrů,
- plastovou pinzetu,
- kazetu na filtry.

Balení injekčního modulu s 1 injektorem obsahuje tyto položky:

- držák láhve,
- plnicí kádinku,
- hnědou láhev s objemem 125 ml,
- maketu injektoru (namontována),
- odpadní hadičku,
- láhev s objemem 15 ml.

Druhý injektor obsahuje tyto položky:

- držák láhve,
- plnicí kádinku,
- odpadní hadičku,
- láhev s objemem 15 ml.



POZOR

ČTEČKA INFINITE BYLA PODROBENA ZKOUŠKÁM PŘI POUŽITÍ PŘILOŽENÉHO KABELU USB. PŘI POUŽITÍ JINÉHO KABELU USB NEMŮŽE SPOLEČNOST TECAN AUSTRIA ZARUČIT SPRÁVNOU FUNKCI PŘÍSTROJE.

3.1.1 Postup při vybalení přístroje

1. Před otevřením balení proveďte vizuální kontrolu stavu přepravního obalu. *Zjistíte-li poškození, neprodleně je ohlaste.*
2. K umístění přístroje vyberte ploché a rovné místo bez přítomnosti otřesů a mimo přímé sluneční záření. Místo nesmí být prašné a nesmí obsahovat rozpouštědla a kyselé výpary. Mezi zadní částí přístroje a stěnou či jiným přístrojem zachovejte odstup alespoň 10 cm. Zajistěte, aby při vysunutí držáku destičky nebylo možno o tuto součást náhodně zavadit. Zajistěte ničím neomezený a nepřetržitý přístup k hlavnímu vypínači a k napájecímu kabelu.
3. Krabici s přístrojem umístěte horní částí vzhůru a otevřete ji.

4. Zvednutím vyjměte přístroj z krabice a umístěte jej na požadované místo. Při zvedání držte přístroj po obou stranách a počínejte si se zvýšenou opatrností.
5. Zkontrolujte, zda se na přístroji nenachází uvolněné, ohnuté nebo zlomené součásti.
Zjistíte-li poškození, neprodleně je ohlaste.
6. Porovnejte výrobní číslo uvedené na zadní straně přístroje s výrobním číslem uvedeným na dodacím listu.
Zjistíte-li jakékoli nesrovnalosti, neprodleně je ohlaste.
7. Porovnejte seznam příslušenství přístroje na dodacím listu s dodaným příslušenstvím.
8. Obalové materiály a přepravní pojistky (viz další kapitola) uschovejte pro potřeby budoucí přepravy přístroje.

**VÝSTRAHA**

**ČTEČKA INFINITE JE PŘESNÝ PŘÍSTROJ. HMOTNOST PLNĚ
VYBAVENÉHO PŘÍSTROJE ČINÍ CCA 16 KG.**

**POZOR**

**NEJVYŠŠÍ PŘÍPUSTNÉ ZATÍŽENÍ PLÁŠTĚ ČTEČKY INFINITE ČINÍ 16 KG,
AVŠAK TATO ZÁTĚŽ MUSÍ BÝT ROVNOMĚRNĚ ROZLOŽENA PO CELÉ
PLOŠE PLÁŠTĚ.**

**POZOR**

**NEJVYŠŠÍ PŘÍPUSTNÉ ZATÍŽENÍ PŘEPRAVNÍHO MECHANISMU
DESTIČKY ČINÍ 100 G. PŘETÍŽENÍ DRŽÁKU DESTIČKY MŮŽE ZPŮSOBIT
POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE VYŽADUJÍCÍ SERVISNÍ ZÁSAH.**

**POZOR**

**MEZÍ ZADNÍ ČÁSTÍ PŘÍSTROJE A STĚNOU ČI JINÝM PŘÍSTROJEM
ZACHOVEJTE ODSŤUP ALESPŮŇ 10 CM.**

**POZOR**

**PŘÍSTROJ MUSÍ BÝT UMÍSTĚN MIMO PŘÍMÉ SLUNEČNÍ ZÁŘENÍ.
OSVĚTLENÍ S INTENZITOU >500 LUX MŮŽE NEGATIVNĚ OVLIVNIT
MĚŘENÍ LUMINISCENCE.**

3.2 Demontáž přepravních pojistek



POZOR
PŘED SPUŠTĚNÍM PŘÍSTROJE
DEMONTUJTE PŘEPRAVNÍ POJISTKU.

Přístroj je dodáván s držákem destičky zajištěným v přepravní poloze, aby nemohlo dojít k jeho poškození. Nežli budete moci přístroj začít používat je třeba dle níže uvedeného postupu demontovat přepravní pojistku:

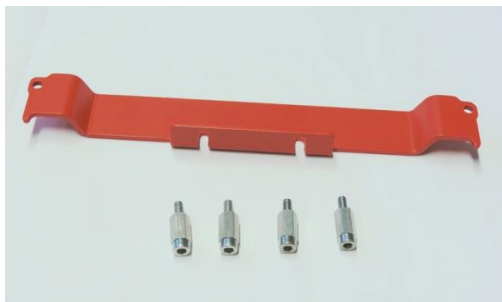
1. Zkontrolujte, zda je přístroj odpojený od zdroje elektrické energie.
2. Otevřete odklopný kryt přihrádky držáku destičky.
3. Vyjměte šrouby a vysuňte manuálně držák destičky.



4. Vyjměte šrouby z přepravní pojistky.



5. Vyjměte přepravní pojistku z držáku destičky.



6. Přepravní pojistky uschovejte pro potřeby budoucí přepravy přístroje.



POZOR
OBALOVÉ MATERIÁLY A PŘEPRAVNÍ POJISTKY USCHOVEJTE PRO
POTŘEBY BUDOUCÍ PŘEPRAVY PŘÍSTROJE. ČTEČKU INFINITE JE
DOVOLENO PŘEPRAVOVAT POUZE V PŮVODNÍM OBALU
A S NAMONTOVANÝMI PŘEPRAVNÍMI POJISTKAMI.

3.3 Přeprava a uskladnění

3.3.1 Přeprava

Čtečku Infinite je dovoleno přepravovat pouze v původním obalu a s namontovanými přepravními pojistkami. Před expedicí přístroje je třeba provést jeho důkladnou dezinfekci (viz kapitolu 7.4 Dezinfekce přístroje).

3.3.2 Uskladnění

Před uskladněním přístroje je třeba vypláchnout injektory za použití promývací procedury (viz kapitolu 4.10.1 Naplnění a promývání čtečky Infinite). K uskladnění přístroje vyberte ploché a rovné místo bez přítomnosti otřesů a mimo přímé sluneční záření. Místo nesmí být prašné a nesmí obsahovat rozpouštědla a kyselé výpary

Požadavky na skladovací prostředí

Teplota	- 20 °C až + 60 °C	-4 °F až + 140 °F
Relativní vlhkost	< 80 % nekondenzující	

3.4 Požadavky na napájení

Přístroj je vybaven funkcí samočinného zjištění napájecího napětí. Rozsah napájecího napětí tedy není třeba nikterak upravovat. Zkontrolujte specifikaci napětí uvedenou na zadním panelu přístroje a zajistěte, aby napětí přiváděné do přístroje odpovídalo této specifikaci.

Rozsah napětí činí 100–120 V / 220–240 V.

V případě jiného napětí se prosím obraťte na distributora společnosti Tecan.



POZOR

PŘI NESPRÁVNÉM NAPĚTÍ PŘÍSTROJ NEPOUŽÍVEJTE. ZAPNUTÍM PŘÍSTROJE S NESPRÁVNÝM NAPĚTÍM JEJ POŠKODÍTE.



VÝSTRAHA

NESPRÁVNÉ DODRŽENÍ POKYŇŮ UVEDENÝCH V TOMTO DOKUMENTU ZPŮSOBÍ POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE NEBO NESPRÁVNÝ PRŮBĚH POSTUPŮ. SOUČASNĚ NELZE ZARUČIT BEZPEČNOST PŘÍSTROJE.

3.5 Zapnutí přístroje



POZOR

PŘED PRVNÍM ZAPNUTÍM PŘÍSTROJE PO INSTALACI VYČKEJTE ALESPŇ TŘI HODINY. UMOŽNÍTE TAK ODPAŘENÍ PŘÍPADNÉHO KONDENZÁTU, KTERÝ BY MOHL UVNITŘ PŘÍSTROJE ZPŮSOBIT ELEKTRICKÝ ZKRAT.

1. Zkontrolujte, zda je počítač vypnutý a zda se hlavní vypínač na zadním panelu přístroje nachází v poloze OFF (VYP).
2. Pomocí kabelu USB dodaného společně s přístrojem připojte přístroj k počítači.
3. Zasuňte konektor hlavního napájecího kabelu do zásuvky (vybavené ochranným zemnicím vodičem) na zadním panelu přístroje.
4. Veškerá připojená zařízení musejí být schválena a uvedena v seznamu normy IEC 60950-1 Zařízení informační technologie – bezpečnost nebo obdobné národní normy (v ČR norma ČSN EN 60950-1).
5. Zapněte přístroj uvedením hlavního vypínače na zadním panelu do polohy ON (ZAP).



POZOR

ČTEČKA INFINITE BYLA PODROBENA ZKOUŠKÁM PŘI POUŽITÍ PŘILOŽENÉHO KABELU USB. PŘI POUŽITÍ JINÉHO KABELU USB NEMŮŽE SPOLEČNOST TECAN AUSTRIA ZARUČIT SPRÁVNOU FUNKCI PŘÍSTROJE.



POZOR

NAMÍSTO ODPOJITELNÉHO NAPÁJECÍHO KABELU NIKDY NEPOUŽÍVEJTE KABELY S NEVYHOVUJÍCÍMI VÝKONOVÝMI SPECIFIKACEMI.

4. Provoz přístroje

4.1 Úvod

K ovládání čtečky Infinite slouží osobní počítač vybavený příslušným softwarem. Coby uživatelské rozhraní lze použít software **i-control** nebo **Magellan**. Podrobné informace jsou uvedeny v návodu k použití příslušného softwaru. Účelem tohoto stručného úvodu je všeobecné pochopení použití parametrů a způsobu ovládání přístroje. Tato kapitola obsahuje též doporučení k optimalizaci parametrů přístroje s ohledem na vaše aplikace.

Výrobce přijal všechna opatření k zajištění správného fungování přístroje i v případě, že výchozí parametry nejsou vhodné pro konkrétní aplikaci. Existuje však jedna důležitá výjimka:



POZOR

PŘI UMÍSTĚNÍ MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY NA DRŽÁK DESTIČKY PŘED DALŠÍM POSTUPEM ZKONTROLUJTE, ZDA BYL V SOFTWARE ZVOLEN SPRÁVNÝ SOUBOR DEFINICE DESTIČKY (VÝŠKA DESTIČKY). NEJVYŠŠÍ PŘÍPUSTNÁ VÝŠKA DESTIČKY ČINÍ 23 MM (VČETNĚ VÍČKA).



POZOR

PŘED ZAHÁJENÍM MĚŘENÍ ZKONTROLUJTE, ZDA JE MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA VLOŽENA POZICÍ A1 SPRÁVNÝM SMĚREM. JAMKA A1 SE MUSÍ NACHÁZET V LEVÉM HORNÍM ROHU DRŽÁKU.



POZOR

V PŘÍPADĚ VÝRAZNÉHO ZNEČIŠTĚNÍ PŘEPRAVNÍHO MECHANISMU DESTIČKY NEMUSÍ PRUŽINOVÝ MECHANISMUS FUNGOVAT SPRÁVNĚ A MŮŽE ZPŮSOBIT NESPRÁVNÉ NASTAVENÍ POLOHY DESTIČKY. V TAKOVÉM PŘÍPADĚ SE OBRAŤTE NA MÍSTNÍ SERVISNÍ ZASTOUPENÍ.



DŮLEŽITÉ

PŘI POUŽÍVÁNÍ ČTEČKY INFINITE VŽDY POSTUPOJTE V SOULADU S POKYNY SPRÁVNÉ LABORATORNÍ PRAXE (GLP).



POZOR

V ZADNÍ ČÁSTI ČTEČKY INFINITE SE NACHÁZÍ VENTILÁTOR, KTERÝ SLOUŽÍ K SÁNÍ VZDUCHU. VZDUCHOVÝ FILTR JE TŘEBA KONTROLOVAT ALESPŇ JEDNOU ZA 4 TÝDNY. ZNEČIŠTĚNÝ FILTR JE TŘEBA VYMĚNIT. VZDUCHOVÝ FILTR JE TŘEBA VYMĚNIT VŽDY PO UPLYNUTÍ 6 MĚSÍCŮ.

4.2 Všeobecné provozní funkce

Čtečka Infinite disponuje některými vlastnostmi a možnostmi, které lze nastavit bez ohledu na aktuální zvolenou techniku měření.

4.2.1 Spuštění přístroje

Před zapnutím přístroje zkontrolujte připojení kabelu USB.

Zapnutí přístroje

Po zapnutí přístroj nevykonává žádné inicializační úkony.

Připojení k přístroji

Po připojení softwaru k přístroji dojde k navázání komunikace mezi přístrojem a uživatelským rozhraním.

Přístroj provede tyto úkony:

- inicializace kotouče s OS filtry (pouze provedení M),
- inicializace kotouče s luminiscenčními filtry,
- inicializace motorů k nastavení luminiscenční optiky na ose Z,
- inicializace přepravního mechanismu destičky, (Přepravní mechanismus destičky se nevysouvá automaticky.)
- zobrazí se aktuální verze firmwaru a softwaru.
- Přístroj je připraven k provozu.

4.3 Všeobecné možnosti nastavení

Níže uvedená nastavení lze provést odděleně od samotné techniky měření.



Upozornění

S ohledem na udržení konstantní teploty a zajištění uniformity měření na celé destičce je třeba destičku přemístit do inkubační polohy.

Je-li funkce ohřevu použita během třepání, může teplota mírně kolísat.

Regulace teploty

Některé analýzy vyžadují použití přesné provozní teploty. Čtečka Infinite dokáže udržovat konkrétní teplotu ve specifickém rozmezí nad celou destičkou a dokáže udržet stabilní teplotu nad úrovní okolní teploty. Hlavní chladicí ventilátory se zastaví.

Ohřev měřicí komory okamžik trvá. Sledujte prosím displej regulace teploty. Neměla-li destička inkubována externě, měla by být před zahájením měření ponechána k vyrovnání teploty.

Teplotní rozsah: 5 °C nad teplotou okolí až 42 °C.

Kinetická měření

Software i-control umožňuje opakované měření destičky v rovnoměrných časových intervalech. Zejména při použití menších objemů a v případě časosběrných studií může fluorescenční signál i výrazněji slábnout. V závislosti na množství odparu může meniskus klesnout, a způsobit tak mírné rozostření. Odpařování bývá zpravidla rychlejší u rohových jamek; následují jamky při okrajích destičky. Při měření fluorescence může být příčinou slábnutí signálu i fotobělení.

Třepání destiček

Čtečka Infinite umožňuje používat dva režimy třepání destiček: lineární a orbitální. Amplitudu třepání lze nastavit v rozmezí 1–6 mm v krocích po 0,5 mm. Frekvence je funkcí amplitudy. Délku trvání třepání lze nastavit v rozmezí 1–1 000 sekund.

Vícenásobné značkování

Software **i-control** obsahuje základní funkce pro potřeby vícenásobného značkování. Upravit lze až čtyři parametry přístroje. Přístroj provede příslušná měření destičky v nastaveném pořadí. Například při použití více než jedné fluorescenční značky lze používat různé kombinace filtrů. Víceznačková měření lze nastavit pomocí řádku destičky s řádkem **part of the plate** (část destičky) i bez něj a mohou obsahovat až 10 řádků měření (absorbance s pevnou vlnovou délkou, absorbanční skenování, fluorescenční intenzita, skenování fluorescenční intenzity, luminiscence).

4.4 Definice kazet s filtry (provedení Infinite F)

4.4.1 Informace o filtrech

Filtry pro měření fluorescence

Optické filtry (pásmově propustné) v kazetě na filtry jsou zkonstruované se zvláštním ohledem na potřeby fluorescenčních měření. Spektrální potlačení a šířka pásma fluorescenčních filtrů jsou navrženy pro dosažení špičkové citlivosti.

Základní sada filtrů je součástí kazet, které jsou dodávány společně s přístrojem. Potřebujete-li jiné filtry, obraťte se na společnost TECAN.

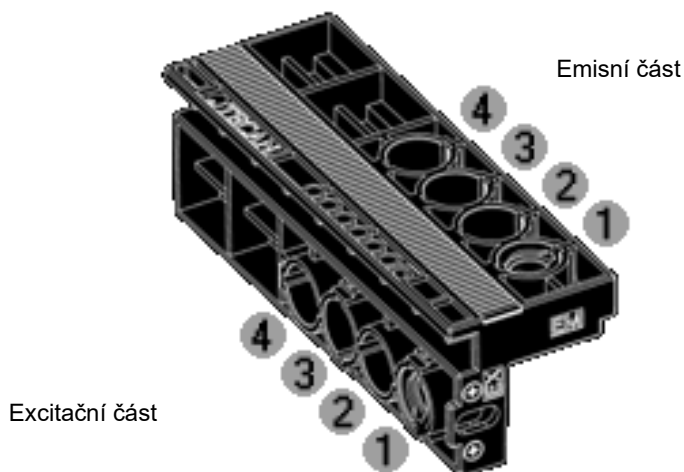
Absorbanční filtry

Pásmově propustné filtry, které se v čtečkách obvykle používají k absorbančnímu měření, zpravidla disponují šířkou pásma 10 nm. Proto se k absorbančnímu měření nedoporučuje používat fluorescenční filtry, jejichž šířka pásma (FWHM) činí zpravidla více než 10 nm. Jejich použití by mohlo způsobit chybu v důsledku nadměrné hodnoty jasu nebo nízké hodnoty OD při měření barviv s úzkým rozmezím vrcholu.

4.4.2 Kazeta s filtry a orientace filtrů

Kazeta s filtry

Kazeta s filtry v provedení Infinite F se skládá z excitační a emisní části. Kazeta umožňuje pracovat se čtyřmi samostatnými dvojicemi excitačního a emisního filtru, které lze definovat na pozicích 1–4. Informace o vložených filtrech jsou uloženy na mikročipu, který je součástí každé kazety.



Obrázek 23: Provedení Infinite F: Kazeta na filtry

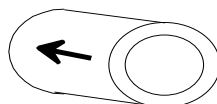
Typy filtrů



POZOR

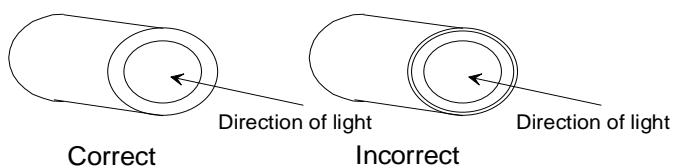
EXISTUJÍ DVA TYPY FILTRŮ. JE DŮLEŽITÉ, ABY SVĚTELNÝ PAPERSEK PROCHÁZEL OBĚMA TYPY FILTRŮ SPRÁVNÝM SMĚREM. PŘED VLOŽENÍM NOVÉHO FILTRU PEČLIVĚ ZVAŽTE TYP FILTRU A SMĚR PRŮCHODU SVĚTLA KAZETOU S FILTRY.

Filtry s šipkou na boku:

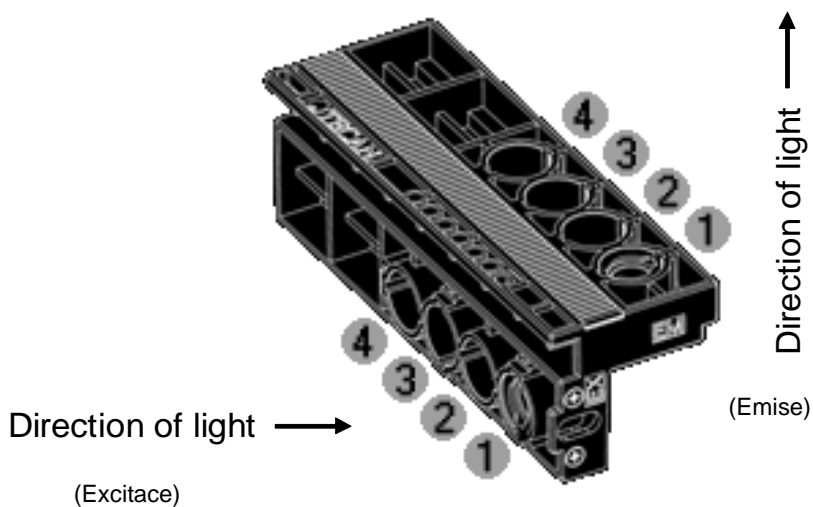


Světlo musí procházet ve směru, kterým ukazuje šipka.

Filtry bez šipky na boku:



Strana filtru s kovovou obrubou musí být odvrácena od zdroje světla.



Obrázek 24: Provedení Infinite F: Kazeta s filtry – směr toku světla

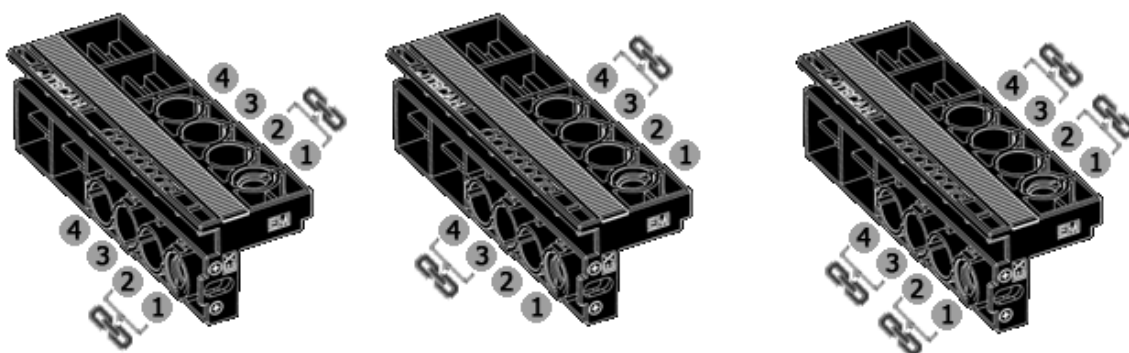
Pozice polarizačních filtrů



Upozornění

Měření fluorescenční polarizace ve čtečce Infinite F Plex vyžaduje použití dvou identických excitačních a emisních filtrů společně s polarizátory na pozicích 1 a 2, nebo 3 a 4.

Kazetu na filtry u provedení čtečky Infinite F Plex lze osadit nejvýše dvěma různými dvojicemi filtrů pro měření fluorescenční polarizace, neboť každé měření fluorescenční polarizace vyžaduje použití dvou identických excitačních a emisních filtrů, které se umísťují společně s polarizátory buď na pozice 1 a 2, nebo 3 a 4.



Obrázek 25: Infinite F Plex: Kazeta na filtry s označenými pozicemi pro filtry k měření fluorescenční polarizace a polarizátory.

4.4.3 Montáž vlastního filtru

Při montáži nového filtru použijte nástroj k sestavení filtru, který je přiložen v kufříku s příslušenstvím. K montáži polarizátorů použijte měkkou (plastovou) pinzetu.

Demontáž filtru

Vyrovnejte nástroj k sestavení filtru s výřezem v pojistném kroužku. Otočte nástroj a vytažením z otvoru vyjměte pojistný kroužek z otvoru na filtr.



Pojistný kroužek

Po otočení držáku filtr sám z otvoru vypadne. Nepoužívejte nástroj určený k sestavení filtrů k jejich demontáži.

Umístění vlastního filtru

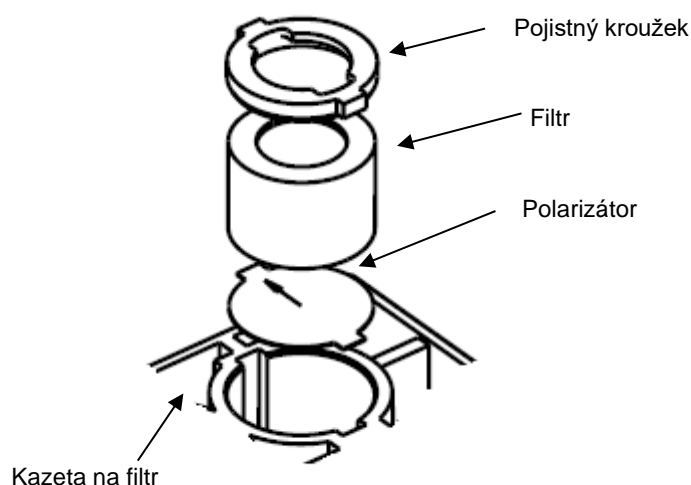
Nový filtr (a polarizátor) je třeba zasunout do kazety tak, jak je znázorněno níže.

**Upozornění**

Dbejte na správné zasunutí do kazety (viz oddíl Typy filtrů). S ohledem na řádnou funkčnost nepoužívejte pojistné kroužky více než pětkrát.

**POZOR**

PŘI PRÁCI S FLUORESCENČNÍ POLARIZACÍ NEZASOUVEJTE POLARIZÁTORY A FILTRY DO KAZETY.

**POZOR**

FILTRY PŘEDSTAVUJÍ PŘESNÉ OPTICKÉ SOUČÁSTI. PŘI MANIPULACI DRŽTE FILTR ZA OBRUBU. VYVARUJTE SE POŠKRÁBÁNÍ FILTRŮ A FILTRY NEPOKLÁDEJTE SKLEM DOLŮ. PO MONTÁŽI DO KAZETY JSOU FILTRY POMĚRNĚ DOBŘE CHRÁNĚNY, AVŠAK PŘESTO DOPORUČUJEME POČÍNAT SI PŘI JEJICH SKLADOVÁNÍ A MANIPULACI S NIMI S NEJVYŠŠÍ PEČLIVOSTÍ.

Při montáži vlastního filtru postupujte takto:

Dle potřeby za pomoci pinzety opatrně zasuňte polarizátor na excitační a emisní polovinu kazety a dbejte, abyste na polarizátoru nezanechali otisky prstů a aby nedošlo k jeho poškrábání.

Opatrně vložte filtr do otvoru a dbejte, abyste na filtru nezanechali otisky prstů a aby nedošlo k jeho poškrábání.

Umístěte pojistný kroužek na konec nástroje pro montáž filtrů a otočte jím tak, aby nemohl vypadnout.



Nástroj pro montáž filtrů s pojistným kroužkem

Pomocí nástroje pro montáž filtrů zatlačte pojistný kroužek do otvoru na filtr a pevně jej usadte na místě.

Otočte nástroj tak, aby výřez v pojistném kroužku byl zarovnan s koncem nástroje. Poté nástroj odpojte a sejměte.

Zůstanou-li po vložení požadovaných filtrů některé otvory neobsazené (např. emisní část absorbančního filtru), vložte do nevyplněných otvorů makety.

4.4.4 Definice filtrů



POZOR

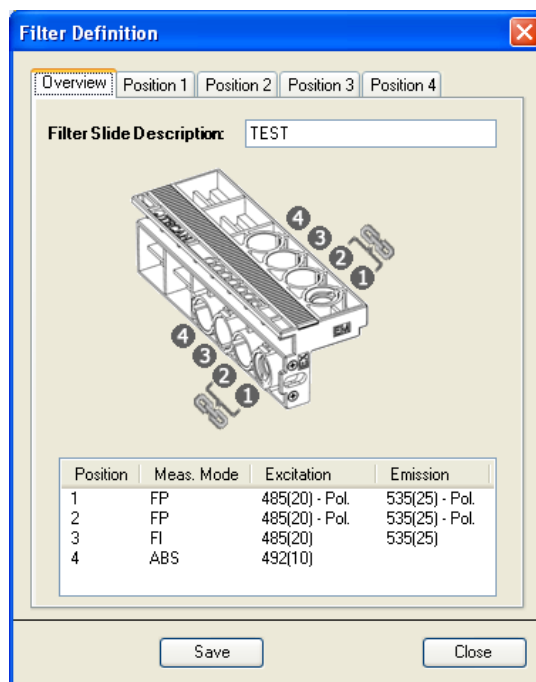
VÝMĚNU FILTRŮ V KAZETĚ SMÍ PROVÁDĚT POUZE VYŠKOLENÉ OSOBY! PŘÍSTROJ DOKÁŽE ROZPOZNAT PŘEDEM NADEFINOVANÉ KAZETY S FILTRY. HODNOTY FILTRŮ SE NEDOPORUČUJE JAKKOLI UPRAVOVAT. JESTLIŽE VŠAK NĚKTERÉ FILTRY V KAZETĚ BYLY VYMĚNĚNY (SERVISNÍM TECHNIKEM) NEBO HODLÁTE-LI POUŽÍT NOVOU KAZETU S VLASTNÍ SADOU FILTRŮ, JE TŘEBA NASTAVIT DEFINICI NOVÉ KAZETY S FILTREM.*

***V ZÁVISLOSTI NA POUŽITÉ FREKVENCI A PODMÍNKÁCH OKOLÍ MOHOU VLASTNOSTI OPTICKÝCH FILTRŮ DEGRADOVAT. PROTO PAMATUJTE, ŽE JEJICH ŽIVOTNOST JE OMEZENÁ.**

Při definici filtru (dvojice filtrů) postupujte takto:

V nabídce Settings (Nastavení) vyberte položku Filter Definitions (Definice filtrů).

Otevře se následující dialog, který obsahuje kartu s celkovým přehledem a čtyři karty s definicemi filtrů:



Overview (Přehled): Přehled poskytuje informace o aktuální definici kazety s filtry.

Filter Slide Description (Popis kazety s filtry): Zadejte popis kazety s filtry. Nezadáte-li žádný popis, software jej vytvoří automaticky.



Upozornění

V popisu kazety s filtry nelze používat speciální znaky (mezerník, ?, \$, %, ,, /, etc.) s výjimkou znaku podtržítka „_“.

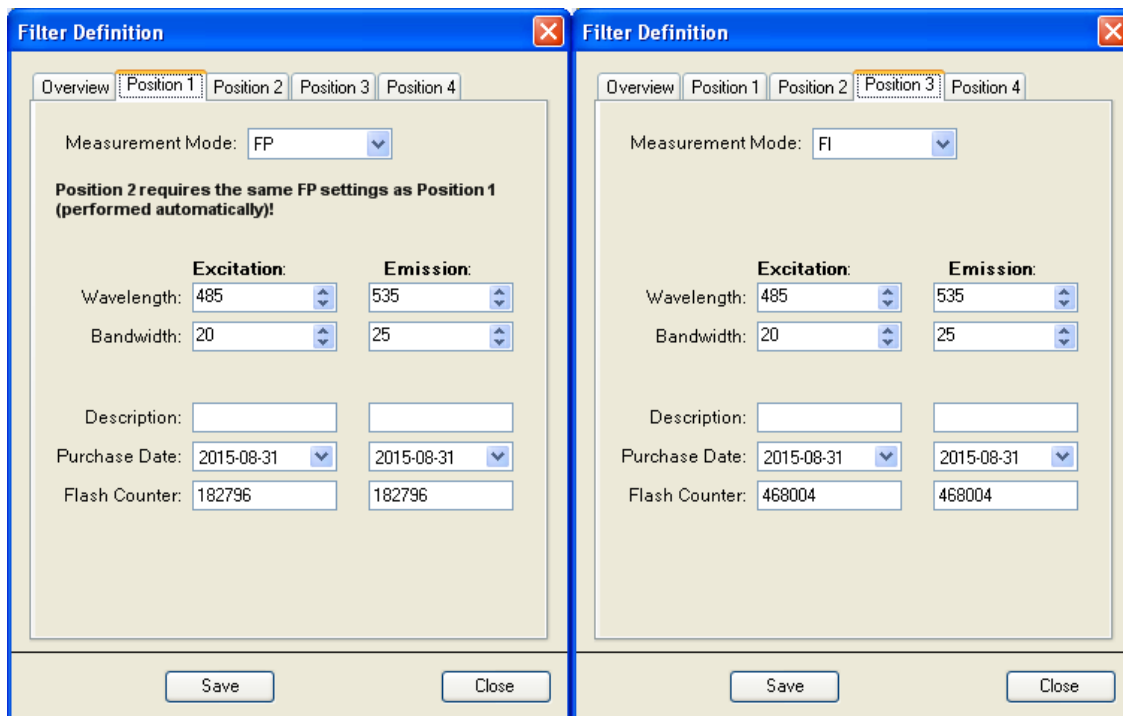


POZOR

POPIS KAZETY S FILTRY JE SOUČÁSTÍ DŮLEŽITÉ HODNOTY G-FACTOR (FAKTOR G). PŘI JEHO MANUÁLNÍM ZADÁNÍ SE PROTO VYVARUJTE POUŽÍVÁNÍ SHODNÝCH POPISŮ U RŮZNÝCH KAZET.

Position (Pozice) 1–4: Editor definice filtrů (dvojic filtrů) na pozicích 1, 2, 3 a 4. Vyberte příslušnou pozici filtru a u každého filtru zadejte novou vlnovou délku, šířku pásma a režim měření.

Measurement Mode (Režim měření): vyberte z rozevíracího seznamu **FI** pro měření fluorescenční intenzity, **ABS** pro měření absorbance, **FP** pro fluorescenční polarizaci, popř. **Empty** (Neobsazeno) v případě pozic bez filtru




Upozornění

Při výběru režimu fluorescenční polarizace na pozici 1 je třeba použít shodná nastavení filtru i na pozici 2 a naopak. Při výběru režimu fluorescenční polarizace na pozici 3 je třeba použít shodná nastavení filtru i na pozici 4 a naopak. Tento úkon je proveden automaticky.



POZOR

ZKONTROLUJTE, ZDA KAZETA S FILTRY OBSAHUJE KROMĚ FILTRŮ NASTAVENÝCH PRO FLUORESCENČNÍ POLARIZACI I PŘÍSLUŠNÉ POLARIZÁTORY.

Wavelength (Vlnová délka): Vlnovou délku zadejte v tomto rozsahu:

- (1) Režim měření fluorescenční intenzity: 230 až 850 nm (excitace) a 280 až 850 nm (emise)
- (2) Fluorescenční polarizace: 300 až 850 nm (excitace) a 330 až 850 nm (emise)
- (3) Absorbanční režim: 230 až 1 000 nm

Bandwidth (Šířka pásma): Zadejte šířku pásma filtru (v nm)

(4) Potvrďte zadání nových hodnot filtrů kliknutím na tlačítko **Save** (Uložit).

Po zavření dialogu Filter Definition (Definice filtrů) je systém připraven pořizovat data s použitím nových filtrů.

Description (Popis): Toto pole slouží k individuálním poznámkám uživatele o filtru, např. k zadání názvu filtru, popisu aplikace apod.



Upozornění

V popisu kazety s filtry nelze používat speciální znaky (mezerník, ?, \$, %, ,, /, etc.) s výjimkou znaku podtržítka „_“.

Purchase Date (Datum zakoupení): Do tohoto pole lze zadat datum zakoupení nebo montáže filtru.

Flash Counter (Počet záblesků): Počítadlo záblesků počítá záblesky, které procházejí filtrem. Počítadlo záblesků poskytuje uživateli doplňující údaj o používaném filtru. Hodnota počítadla záblesků se ukládá společně s ostatními informacemi o filtru na mikročip kazety.

Při výměně filtru dojde k nenávratné ztrátě této informace, ledaže by počet záblesků uživatel dokumentoval manuálně.

U zcela nového filtru nastavte hodnotu počítadla 0. V případě filtru, který byl již dříve používán, zadejte poslední známý počet záblesků, jestliže tento údaj máte k dispozici.

**POZOR**

PŘED VÝMĚNOU FILTRU DOPORUČUJEME MANUÁLNĚ ZAZNAMENAT POSLEDNÍ ČÍSLO POČÍTADLA ZÁBLESKŮ, V OPAČNÉM PŘÍPADĚ BUDE TATO INFORMACE NENÁVRATNĚ ZTRACENA.

**POZOR**

KAZETY S FILTRY NEVKLÁDEJTE, NENÍ-LI PŘÍSTROJ ZAPNUTÝ A PŘIPOJENÝ K POČÍTAČI.

4.5 Optimalizace fluorescenčních měření

Výsledky fluorescenčního měření lze optimalizovat jak jemným nastavením parametrů přístroje, tak výběrem vhodných materiálů.

4.5.1 Parametry přístroje

Gain Settings (Nastavení výtěžku)

Čtečka Infinite vybavená systémem pro detekci fluorescence využívá konverzi analogového signálu fotonásobiče na digitální (Analog Digital Converter; ADC). Nastavení výtěžku reguluje zesílení signálu fotonásobiče při konverzi fluorescenčního světla na hodnotu elektrického proudu. Dosažení správného odstupu signálu od šumu (Signal-To-Noise; S/N) na jedné straně a správné linearitě na straně druhé vyžaduje nastavení vhodného vstupního rozsahu proudu fotonásobiče pro potřeby ADC. Výtěžek by proto měl být nastaven tak, aby jamky s nejvyšší koncentrací na destičce poskytovaly nejsilnější možný signál. Údaje z jamek s nižší koncentrací jsou odděleny od pozadí, pakliže to úroveň šumu na pozadí dovolí.



Upozornění

Je-li některé zkoumané jamce přiřazen stav OVER (Přetečení), můžete manuálně snížit výtěžek nebo vybrat možnost automatického výtěžku (viz Návod k použití softwaru).

Vlastnosti fotonásobiče

Výtěžek fluorescenční intenzity lze nastavit v rozmezí 1–255. Výkon fotonásobiče závisí na velikosti napájecího napětí. Fotonásobiče čteček Infinite pracují s napájecím napětím 300–1 250 V. Vztah mezi nastavením výtěžku čtečky Infinite a napájecím napětím je popsán v rovnici Rovnice 1. Určené použití fotonásobiče čtečky Infinite je proto stanoveno k nastavení výtěžku v rozmezí 60–255. Lze pracovat i s nastavením výtěžku nižším než 60, avšak fotonásobič není určen k použití s napájecím napětím nižším než <300 V. Společnost Tecan proto nepřijímá odpovědnost za výsledky měření pořízené čtečkou Infinite při nižším nastavení výtěžku než 60.

$$U = \frac{\text{Gain}}{255} * 1250 \text{ V}$$

Rovnice 1:

Kde U je napětí, Gain je zvolené nastavení výtěžku, 255 je nejvyšší možný výtěžek a 1 250 V je nejvyšší napětí fotonásobiče.

Příklad:

Výtěžek 100 odpovídá napájecímu napětí 490 V:

$$U = \frac{100}{255} * 1250 = 490 \text{ V}$$

Rovnice 2:

4.5.2 Optimalizace nastavení na ose Z (pouze horní měření fluorescenční intenzity u provedení Infinite M)

Užitečnou vlastností provedení čtečky **Infinite M** je možnost optimalizace nastavení na ose Z. Optimalizace nastavení na ose Z je k dispozici pouze u horního měření fluorescenční intenzity u provedení Infinite M. Níže uvedený postup by měl být proveden u každé analýzy s cílem stanovit optimální pracovní vzdálenost mezi vzorkem na destičce a fluorescenční optikou.

Polohu na ose Z lze stanovit takto:

(1) Manual (Ručně):

Při použití možnosti **manual** (ručně) lze k řádku měření zadat číselnou polohu optiky na ose Z. Výchozí hodnota ručního nastavení činí 20 000 μm .

(2) Calculated from well (Vypočítaná z jamky):

Při použití možnosti **calculated from well** (vypočítaná z jamky) provede přístroj **Infinite M** automatické nastavení polohy optiky na ose Z na základě maximálního signálu zvolené jamky. Toto nastavení bude použito k dalším měřením.

(3) Same as (Stejná jako) v případě víceznačkových měření:

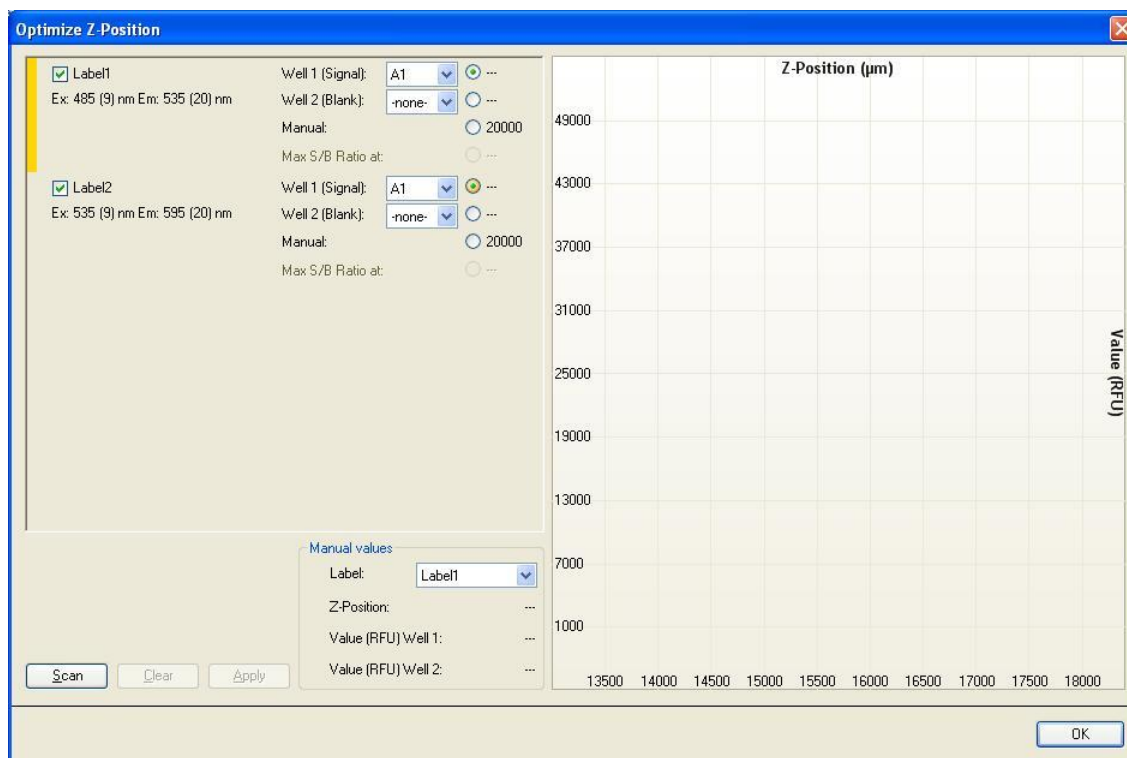
Při použití možnosti **same as** (stejná jako) použije konfigurace přístroje **Infinite M** automaticky stejnou polohu na ose Z jako předchozí definovaná značka.

Například ve skriptu se 2 značkami pro horní měření fluorescence s názvy Label 1 a Label 2 lze polohu na ose Z nastavenou u značky Label 1 použít i u značky Label 2 výběrem možnosti **Same as (Stejná jako) = Label 1**.

(4) Instrument (Přístroj) → Z-Position (Poloha na ose Z):

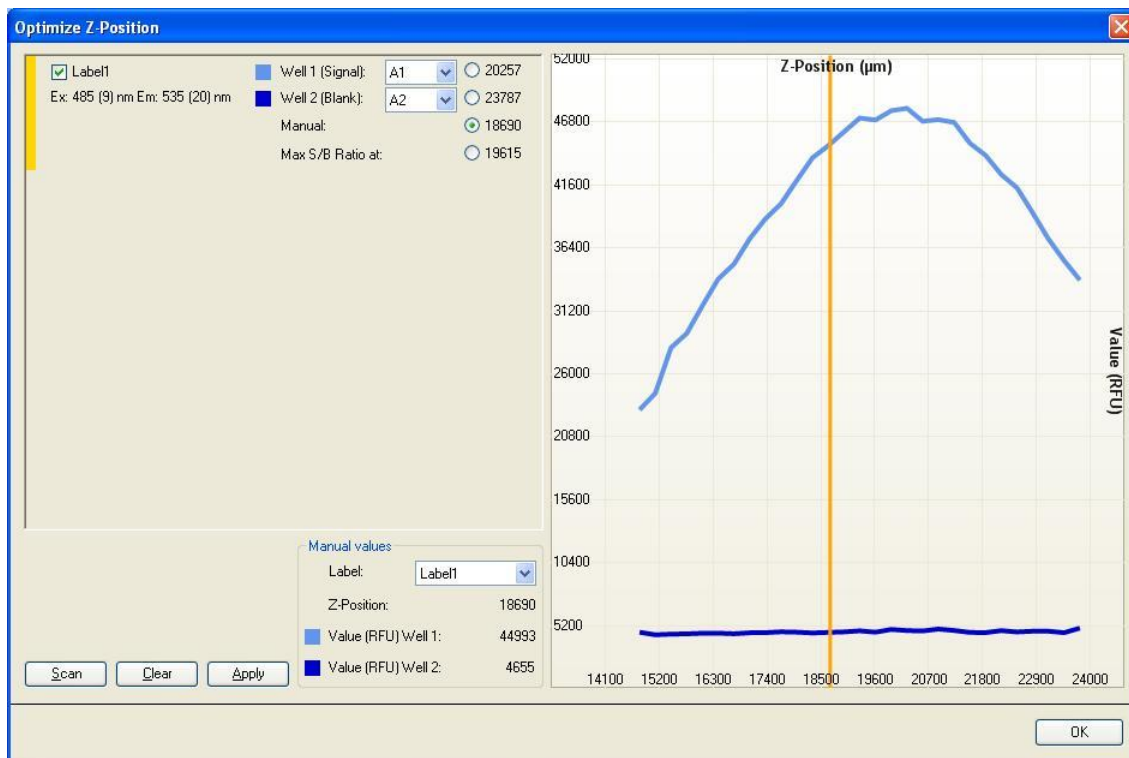
Při použití funkce **Z-position** (Poloha na ose Z) v nabídce Instrument (Přístroj) lze nastavit požadovanou polohu na ose Z prostřednictvím grafického znázornění jamek. Nastavená hodnota se použije k dalším měřením.

V nabídce **Instrument (Přístroj)** vyberte položku **Z-Position (Poloha na ose Z)**:

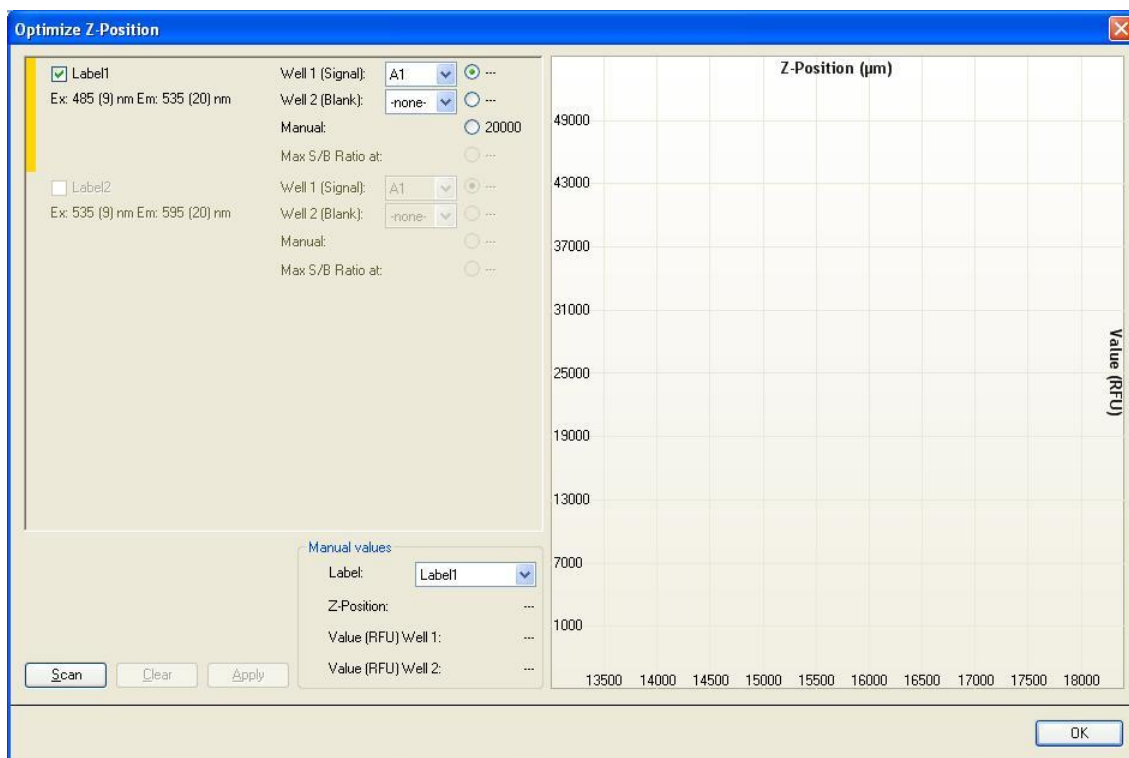


Vyberte značku (značky), u které chcete provést optimalizaci polohy na ose Z. Optimální polohu na ose Z lze souběžně nastavit až ke 4 značkám.

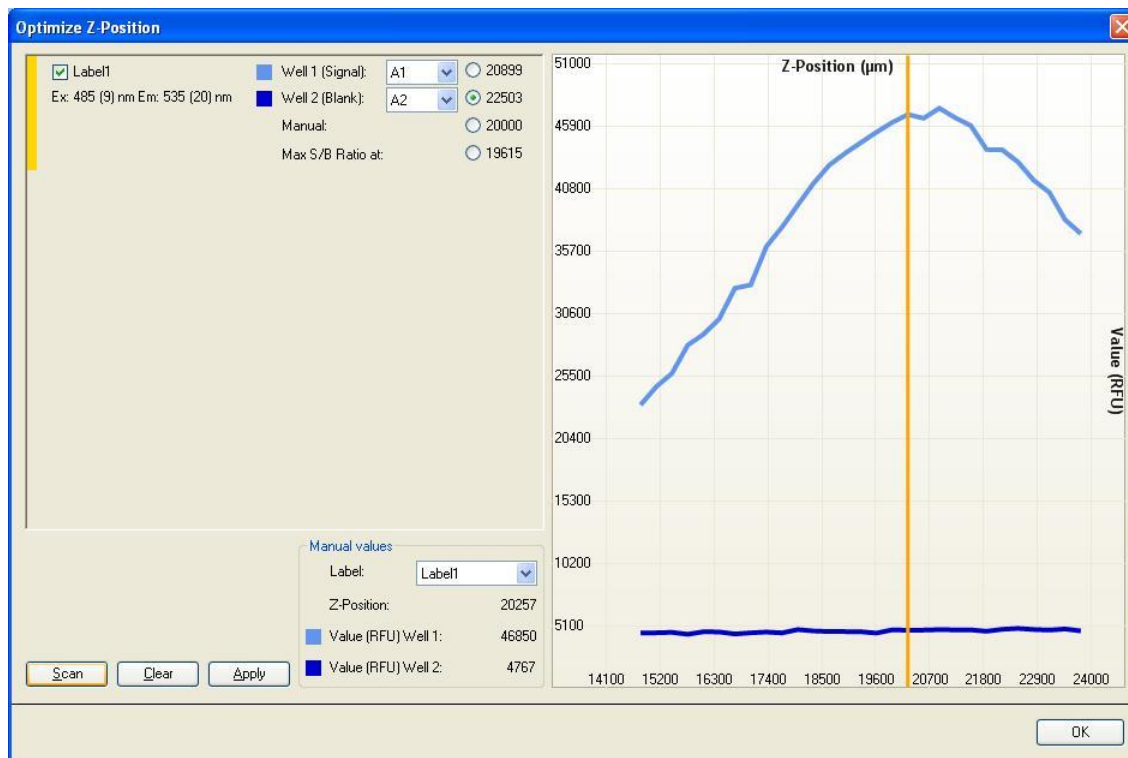
Výběr značky / počtu značek závisí na měřicím skriptu, který byl v předešlém kroku nastaven v softwaru i-control. Je-li poloha na ose Z některé u některé ze značek definována pomocí možnosti **Same as** (Stejná jako), tato značka se sice zobrazí, avšak nelze ji vybrat k optimalizaci polohy optiky na ose Z:



U každé vybrané značky lze k optimalizaci polohy optiky na ose Z zvolit v definovaném rozsahu destičky jednu nebo dvě jamky. Vyberte jamku (jamky) a kliknutím na tlačítko **Scan** (Skenovat) spustíte optimalizaci polohy optiky na ose Z:



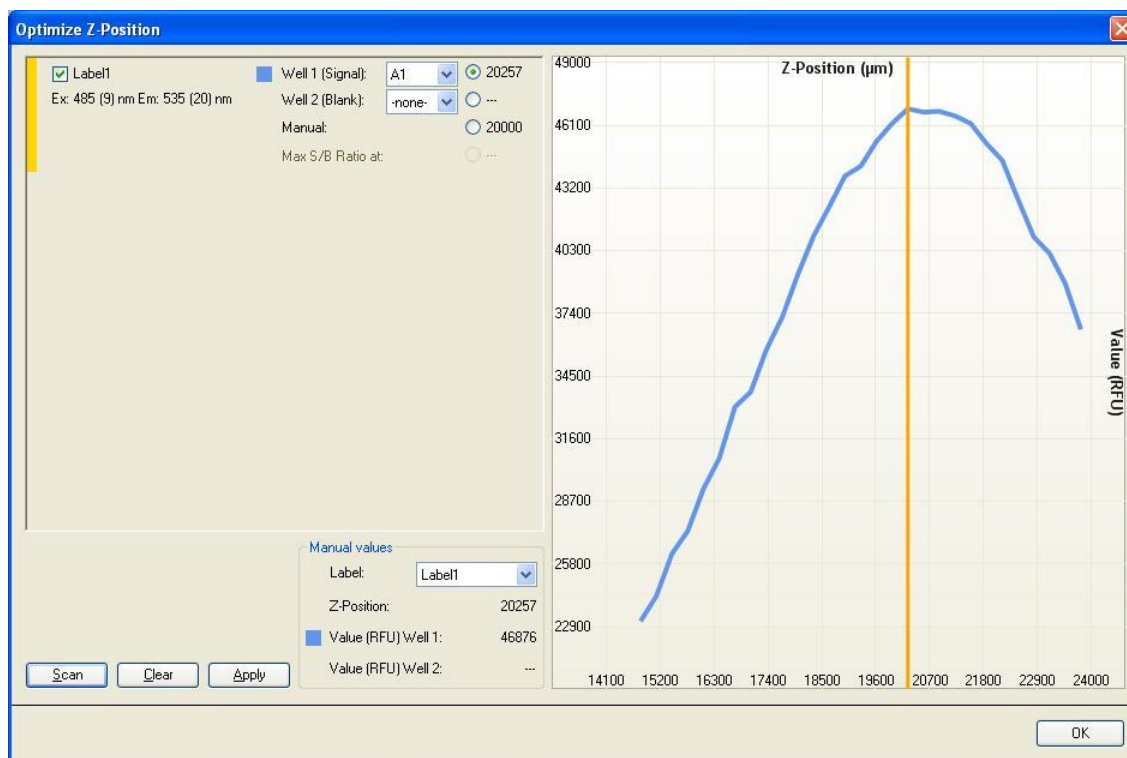
Polohovací možnost **Max S/B Ratio** (Max. poměr S/B) vyžaduje změření dvou jamek, z nichž jedna je naplněna požadovaným fluoroforem (signál) a jedna puřrem (blank). Přístroj provede sken obou jamek a výsledné křivky signálu a blanku se zobrazí v grafu. Nyní lze polohu optiky na ose Z nastavit na maximální poměr signálu k blanku (S/B):



Upozornění

Při použití možnosti Max S/B Ratio (Max. poměr S/B) se nejprve měří jamka se vzorkem za použití optimálního výtěžku a poté se stejná hodnota výtěžku použije i k druhému měření jamky s blankem. Křivky signálu a blanku tak lze přímo porovnat.

Polohu optiky na ose Z lze ke každé vybrané značce nastavit manuálně. V podokně s grafem lze svislou žlutou přímku přemístit do požadované polohy na ose Z.



Po kliknutí na tlačítko **Apply** (Použít) se vybraná hodnota polohy na ose Z automaticky uloží do skriptu softwaru i-control a použije k následnému měření.

Nastavení záblesků

Okamžitá měření s 1 zábleskem (čtením) na jamku lze používat u všech typů destiček. Přesnost měření při nízké hladině světla však závisí na době čtení v okamžiku, kdy přístroj dokáže přijímat signál fluorescence.



Upozornění
Zvyšujte počet záblesků (čtení) na jamku, dokud se míra šumu jamek s BLANKEM nepřestane zlepšovat, nebo dokud doba měření jamky přestane být přijatelná.

V případě okamžité fluorescence nepomáhá prodloužit výchozí dobu integrace, protože detektor po zhasnutí záblesku neobdrží větší množství signálu.

Časové parametry u časově rozlišené fluorescence

V případě časově rozlišené fluorescence (TRF) je třeba parametry integrace signálu přizpůsobit použité značce. Mezi počátkem doby integrace a předchozím zábleskem bude prodleva nastavená v parametru Lag Time (Délka prodlevy). Časové parametry TRF lze nastavit dle níže uvedeného postupu:

Coby výchozí bod lze použít hodnotu parametru Fluorescence Lifetime (Životnost fluorescence) značky v parametrech Integration Time (Integrační doba) a Lag Time (Délka prodlevy).

Přibližné nastavení: Úprava nastavení parametru Integration Time (Integrační doba) snižuje hodnotu parametru Lag Time (Délka prodlevy) s cílem maximalizovat odstup signálu od pozadí (S/B).

Jemné nastavení: Úprava nastavení parametru Lag Time (Délka prodlevy) prodlužuje integrační dobu; kontrolujte, zda se S/B dále zlepšuje.

Volitelné jemné nastavení: Úprava nastavení některého z parametrů časování může změnit nastavení i druhý parametrů; vždy kontrolujte, zda se S/B dále zlepšuje.

Doba ustálení

Systém umožňuje nastavit dobu ustálení před zahájením měření jamky. V důsledku pohybu a zastavení držáku destičky může meniskus nadávkované kapaliny v okamžiku integrace signálu ještě vibrovat. Může tak docházet ke kolísání naměřených hodnot. Tento jev byl pozorován u 96jamkových a větších destiček. Zásadně ovlivňuje zejména měření absorbance.

4.5.3 Režim FI poměru

Režim Ratio (Poměr)

Po jednotlivých jamkách lze měřit až 4 značky. Tento režim měření se označuje jako **režim poměru**. Pamatujte, že po dokončení tohoto měření neprobíhá žádný výpočet **poměru**. List aplikace MS Excel obsahuje výsledky v podobě primárních, nezpracovaných dat. Další výpočty provádí uživatel.

Filter Switch Time (Doba přepnutí filtru; provedení Infinite F) / Wavelength Switch Time (Doba přepnutí vlnové délky; provedení Infinite M)

Přístroje v provedení Infinite F dokáží přepínat mezi dvěma filtry za 250 ms v případě, že zvolené značky je třeba měřit se shodným výtěžkem. V ostatních případech činí doba přepnutí 400 ms. V tomto případě je třeba upravit hodnotu vysokého napětí fotonásobiče. Vysoké napětí přiváděné do fotonásobiče vyžaduje určitý stabilizační čas.

Přístroje v provedení Infinite M dokáží přepínat mezi dvěma vlnovými délkami do 150 ms v případě, že vybrané jamky se měří s použitím stejného výtěžku a že není nastaven přepínač třídění (OS; přepínače třídění – Tabulka 1:). V ostatních případech činí doba přepnutí 400 ms. V tomto případě je třeba upravit hodnotu vysokého napětí fotonásobiče. Vysoké napětí přiváděné do fotonásobiče vyžaduje určitý stabilizační čas. Kolo s filtry pro rozdělování řádů se musí pohybovat.

	Excitační vlnová délka	Emisní vlnová délka
1. přepínací bod filtrů pro rozdělování řádů	316 nm	401 nm
2. přepínací bod filtrů pro rozdělování řádů	386 nm	621 nm
3. přepínací bod filtrů pro rozdělování řádů	561 nm	-

Tabulka 1: Přepínací body filtru pro rozdělování řádů (Order Sorting Filter; OSF) (provedení Infinite M)

Příklad:

Fura-2: Tato aplikace používá přepnutí filtru / vlnové délky mezi 340 a 380 nm na straně excitace. Emise se měří přibližně při 510 nm. Součástí přepínače excitačních filtrů / vlnových délek není přepínač rozdělování řádů. Proto přístroje v provedení Infinite M dokáží přepínat do 150 ms a přístroje v provedení Infinite F do 250 ms.

4.6 Měření FP

4.6.1 Fluorescenční polarizace

Fluorescenční polarizace (FP, P) je definována následující rovnicí:

$$P = \frac{(I_{\parallel} - I_{\perp})}{(I_{\parallel} + I_{\perp})}$$

Rovnice 3:

kde I_{\parallel} a I_{\perp} se rovnají emisní intenzitě polarizovaného světla vodorovně a kolmo vůči rovině excitace. Polarizace je bezrozměrná jednotka, která se zpravidla vyjadřuje v jednotkách mP.

Spuštění měření FP vyžaduje, aby řádek programu obsahoval platné nastavení **Blank range** (Rozsah blanku) pro měření a platná nastavení **G-Factor** (Faktor G).

4.6.2 Rozsah blanku měření

Redukce měření blankem se provádí automaticky při každém měření fluorescenční polarizace; střední hodnota příslušných jamek s blankem se odečte od hodnoty jednotlivých vzorků (viz kapitolu 4.6.8).

Ve skupinovém rámečku **Measurement** (Měření) vyberte nastavení **Blank range** (Rozsah blanku) kliknutím na tlačítko **Change** (Změnit) a poté vyberte jamky vyplněné blankem.

4.6.3 Nastavení faktoru G

Daná rovnice pro výpočet fluorescenční polarizace předpokládá, že citlivost detekčního systému je ekvivalentní pro rovnoběžné i kolmé polarizované světlo. Jelikož tomu tak zpravidla nebývá, je třeba rovnoběžnou nebo kolmou intenzitu korigovat pomocí parametru **G-Factor** (Faktor G). Faktor G zajišťuje kompenzaci rozdílů optických součástí mezi rovnoběžným a kolmým měřením.

Faktor G je korekční faktor, který lze stanovit k vlnové délce fluoroforu změřením vzorku s předem známou polarizační hodnotou. Platná kalibrace přístroje, jejíž výsledkem je faktor G, představuje důležitý předpoklad pro každé měření fluorescenční polarizace.



POZOR

ZKONTROLUJTE, ZDA KAZETA S FILTRY OBSAHUJE KROMĚ FILTRŮ NASTAVENÝCH PRO FLUORESCENČNÍ POLARIZACI I PŘÍSLUŠNÉ POLARIZÁTORY. MĚŘENÍ BEZ POLARIZÁTORŮ ZPŮSOBÍ CHYBNOU HODNOTU FAKTORU G, A TUDÍŽ I CHYBNÁ NAMĚŘENÁ DATA.

4.6.4 Měření s nezkalibrovaným faktorem G

Není-li k dispozici kalibrovaný faktor G, zobrazí se výchozí hodnota 1 a označení **Uncalibrated G-Factor** (Nezkalibrovaný faktor G). Chcete-li povolit měření, potvrďte tuto hodnotu nebo zadejte novou kliknutím na šipky nahoru a dolů, popř. zadáním hodnoty do pole **G-Factor** (Faktor G).

Informace o kalibraci faktoru G jsou uvedeny v kapitole 4.6.5.

The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' control panel. Under the 'Wavelength' section, Excitation is set to 485 (20) nm and Emission to 535 (25) nm. The 'Read' section shows 25 flashes and 0 ms settle time. In the 'Measurement' section, the blank range is 'None'. Under 'G-Factor', the 'Manual' option is selected, with a G-Factor value of 1.000 and a warning icon. The 'Calibrate' option is unselected. The 'Gain' section has 'Optimal' selected. The 'Label' section shows 'Label1' as the name. A 'Show Details' button is at the bottom left.

4.6.5 Měření se souběžnou kalibrací faktoru G

The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' control panel with the 'Calibrate' option selected. Under 'Wavelength', Excitation is 485 (20) nm and Emission is 535 (25) nm. The 'Read' section shows 25 flashes and 0 ms settle time. In the 'Measurement' section, the blank range is 'A1:A12'. Under 'G-Factor', the 'Calibrate' option is selected, with a 'Reference value' of 20 mP. The 'Reference range' is 'B1:B12' and the 'Blank range' is 'A1:A12'. The 'Same as measurement blank' checkbox is checked. The 'Gain' section has 'Optimal' selected. The 'Label' section shows 'Label1' as the name. A 'Show Details' button is at the bottom left.

Vyberete-li přepínač **Calibrate** (Kalibrovat), bude faktor G stanoven pro aktuální parametry měření a bude použit i k následnému měření FP. Chcete-li provést kalibraci faktoru G, nastavte tyto položky:

Reference value (Referenční hodnota): vyberte polarizační hodnotu k použitému referenčnímu roztoku, např. 20 mP pro 1 nM roztoku fluoresceinu v 0,01 M NaOH.

Reference range (Referenční rozsah): klikněte na tlačítko **Change** (Změnit) a vyberte jamky naplněné referenčním roztokem.

Blank range (Rozsah blanku): klikněte na tlačítko **Change** (Změnit) a vyberte jamky naplněné referenčním blankem. Je-li referenční blank shodný s blankem použitým v měření, vyberte možnost **Same as measurement blank** (Shodný s blankem v měření).



Upozornění

Při použití více než jedné jamky naplněné polarizačním referenčním roztokem a referenčním blankem se vypočítávají střední hodnoty, a proto bude výsledek kalibrace přesnější.

Uložení faktoru G

Vypočítaný faktor G se automaticky uloží na pevný disk počítače. Každý záznam faktoru G odpovídá výběru dvojice filtrů a popisu kazety s filtry. K příslušné kombinaci dvojice filtrů a popisu kazety s filtry existuje vždy pouze jeden faktor G, ledaže by shodná dvojice filtrů byla použita v jiné kazetě, a tudíž uložena pod jinými popisy.



POZOR

POPIS KAZETY S FILTRY JE SOUČÁSTÍ DŮLEŽITÉ HODNOTY G-FACTOR (FAKTOR G). NEPOUŽÍVEJTE SHODNÝ POPIS U RŮZNÝCH KAZET S FILTRY. VÝSLEDKEM BY BYLO NESPRÁVNÉ ROZPOZNÁVÁNÍ SPRÁVNÉHO FAKTORU G.

4.6.6 Měření s kalibrovaným faktorem G



Upozornění

Po kalibraci se faktor G zobrazuje v softwaru, a jestliže souhlasí s dvojicí excitační a emisní vlnové délky a popisem kazety s filtry, lze jej ihned použít.

Kalibrovaný faktor G se zobrazuje automaticky, případně jej lze načíst kliknutím na tlačítko >>, avšak pouze za předpokladu, že vyhovuje zvolené kombinaci dvojice filtrů pro fluorescenční polarizaci a popisu kazety s filtry.

The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' control panel. Under 'Wavelength', Excitation is set to 485 (20) nm and Emission to 535 (25) nm. Under 'Read', Number of flashes is 25 and Settle time is 0 ms. Under 'Measurement', Blank range is A2:D2. Under 'G-Factor', the 'Manual' option is selected with a value of 0.939. Below this, it says 'Calibrated G-Factor, 18.01.2010 by kaff1au'. The 'Optimal' gain option is selected. The label name is 'Label1'. A 'Show Details' button is at the bottom left.

Kalibrováný faktor G je označen nápisem **Calibrated G-Factor** (Kalibrováný faktor G) a je opatřen datem a podpisem.

4.6.7 Měření s manuálním faktorem G

Jestliže zobrazený faktor G nesouhlasí s kalibrovanou hodnotou (např. po manuální změně faktoru G nebo jeho načtení společně s metodou), příslušná hodnota bude označena popiskem **Manual G-Factor** (Manuální faktor G).

This screenshot is identical to the previous one, but the 'Manual' option under 'G-Factor' is selected with a value of 0.985. Below the value, it says 'Manual G-Factor'. The 'Optimal' gain option is still selected.

Kalibrováný faktor G lze v takovém případě obnovit kliknutím na tlačítko >> vlevo od zobrazeného faktoru G.



Upozornění
 Úprava faktoru G prostřednictvím tlačítka >> je k dispozici pouze v případě, je-li k příslušné vlnové délce k dispozici odpovídající kalibrováný faktor G.

4.6.8 Výpočet parametrů fluorescenční polarizace

Faktor G:

$$G = \frac{(1 + P_{ref})(\overline{RFU}_{ref}^{cross} - \overline{RFU}_{buf}^{cross})}{(1 - P_{ref})(\overline{RFU}_{ref}^{par} - \overline{RFU}_{buf}^{par})}$$

P_{ref} ... Polarization value of reference [P]

\overline{RFU}_{ref} ... Averaged relative fluorescence units of reference

\overline{RFU}_{buf} ... Averaged relative fluorescence units of buffer

Redukce blankem:

Z každé hodnoty se odečte střední hodnota příslušných jamek s blankem.

$$\Delta RFU^{par} = \begin{cases} \overline{RFU}_{ref}^{par} - \overline{RFU}_{buf}^{par} \\ \overline{RFU}_{buf}^{par} - \overline{RFU}_{buf}^{par} \\ \overline{RFU}_{smp}^{par} - \overline{RFU}_{blk}^{par} \\ \overline{RFU}_{blk}^{par} - \overline{RFU}_{blk}^{par} \end{cases} \quad \text{for each well}$$

$$\Delta RFU^{cross} = \begin{cases} \overline{RFU}_{ref}^{cross} - \overline{RFU}_{buf}^{cross} \\ \overline{RFU}_{buf}^{cross} - \overline{RFU}_{buf}^{cross} \\ \overline{RFU}_{smp}^{cross} - \overline{RFU}_{blk}^{cross} \\ \overline{RFU}_{blk}^{cross} - \overline{RFU}_{blk}^{cross} \end{cases} \quad \text{for each well}$$

Intenzita:

Intenzita v rovnoběžném a kolmém směru se vypočítá pomocí následujících vzorců:

$$I^{par} = G * \Delta RFU^{par}$$

$$I^{cross} = \Delta RFU^{cross}$$

Polarizace:

$$P = \frac{I^{par} - I^{cross}}{I^{par} + I^{cross}}$$

Anizotropie:

$$A = \frac{I^{par} - I^{cross}}{I^{par} + 2 * I^{cross}}$$

Celková intenzita:

$$I_{tot} = I^{par} + 2 * I^{cross}$$

4.7 Optimalizace absorbančních měření

4.7.1 Parametry měření

Nastavení záblesků

Okamžitá měření s 1 zábleskem (čtením) na jamku lze používat u všech typů destiček. Přesnost měření při nízké hladině světla však závisí na době čtení, během níž přístroj dokáže přijímat signál fluorescence.



Upozornění

Zvyšujte počet záblesků (čtení) na jamku, dokud se míra šumu jamek s BLANKEM nepřestane zlepšovat, nebo dokud doba měření jamky přestane být přijatelná.

Doba ustálení

Zde lze nastavit dobu ustálení před zahájením měření jamky (zásadní při měření absorbance). V důsledku pohybu a zastavení držáku destičky může meniskus nadávkované kapaliny v okamžiku integrace signálu ještě vibrovat. Může tak docházet ke kolísání naměřených hodnot. Tento jev byl pozorován u 96jamkových a větších destiček.

4.7.2 Režim poměru absorbance

Režim Ratio (Poměr)

Na kartě **Standard** v softwaru i-control lze po jednotlivých jamkách měřit až 4 značky. Tento režim měření se označuje jako **režim poměru**. Pamatujte, že po dokončení tohoto měření neprobíhá žádný výpočet **poměru**. List aplikace MS Excel obsahuje výsledky v podobě primárních, nezpracovaných dat. Další výpočty provádí uživatel.

Při použití karty **Applications** (Aplikace) v softwaru i-control společně s destičkou NanoQuant se automaticky vypočítávají hodnoty **Quantifying Nucleic Acids** (Kvantifikace nukleových kyselin) a **Labeling Efficiency** (Efektivita značkování) pro potřeby výpočtů koncentrace nebo poměru v aplikaci MS Excel. Tyto hodnoty lze dle potřeby využít k dalším výpočtům.

Doba přepnutí vlnové délky (provedení Infinite M) / filtru (provedení Infinite F)

Přístroje v provedení Infinite F dokáží přepínat mezi dvěma sousedními filtry do 250 ms.

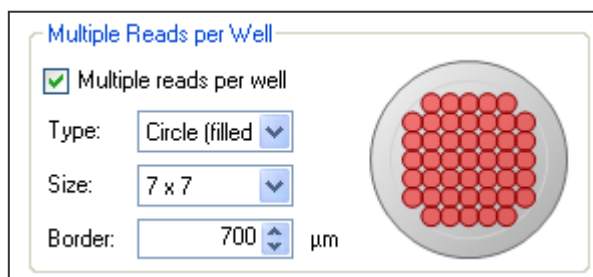
Přístroje v provedení Infinite M dokáží přepínat mezi dvěma vlnovými délkami do 150 ms.

Podmínky jsou uvedeny v kapitole 4.5.3 Režim FI poměru.

4.8 Vícenásobné čtení jamky

Software i-control umožňuje provádět v jamce i více než jedno měření (Multiple Reads per Well; MRW) v režimu absorbance, horní fluorescence i spodní fluorescence.

Funkce vícenásobného čtení jamky lze aktivovat na řádku programu absorbančního měření nebo měření fluorescenční intenzity výběrem zaškrtnutí políčka **Multiple Reads per Well** (Vícenásobné čtení jamky; viz Obrázek 26 níže).



Obrázek 26: Vícenásobné čtení jamky



Upozornění

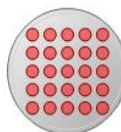
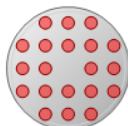
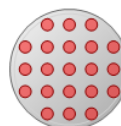
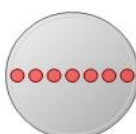
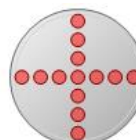
Funkce Multiple Reads per Well (Vícenásobné čtení jamky) je k dispozici pouze u režimů s pevnou vlnovou délkou při měření absorbance, horního měření fluorescenční intenzity a spodního měření fluorescenční intenzity. Funkce není k dispozici u skenovacích měření.

4.8.1 Typ vícenásobného čtení jamky

Typy vícenásobného čtení jamky určují, jaký vzor bude použit při čtení. Software nabízí výběr ze sedmi různých typů vícenásobného čtení jamky:

- Square (Čtverec),
- Square (filled) (Plný čtverec),
- Circle (Kruh),
- Circle (filled) (Plný kruh),
- X-line (Přímka X),
- Y-line (Přímka Y),
- XY-line (Přímka XY).

Příklady vzorů:

Square (Čtverec):**Square (filled) (Plný čtverec):****Circle (Kruh):****Circle (filled) (Plný kruh):****X-line (Přímka X):****Y-line (Přímka Y):****XY-line (Přímka XY):**

4.8.2 Velikost při vícenásobném čtení jamky

Velikost při vícenásobném čtení jamky určuje počet měřených bodů v jamce. V závislosti na typu destičky a provedení přístroje, tj. Infinite F nebo Infinite M, lze parametr **size** (velikost) nastavit v rozmezí 1 x 1 až nejvýše 15 x 15 bodů. Průměr jednotlivých měřicích bodů odpovídá teoreticky vypočítanému průměru světelného paprsku v ohnisku (viz Tabulka 2).

Režim měření	Provedení Infinite M	Provedení Infinite F
Fluorescenční intenzita, horní měření	3 mm	2 mm
Fluorescenční intenzita, spodní měření,	2 mm	2 mm
Absorbance (optika destičky)	0,7 mm	0,5 mm

Tabulka 2: Teoreticky vypočítaný průměr paprsku v ohnisku.

Typ vícenásobného čtení jamky zobrazený v softwaru proto představuje pouze schematický přehled vzoru měření. Při měření skutečných vzorků se může vzor odlišovat a i překrývání jednotlivých měřicích bodů může být mírně odlišné od zobrazeného vzoru. Proto se doporučuje nastavení vícenásobného čtení jamky u každé nové aplikace optimalizovat.

4.8.3 Hranice vícenásobného čtení jamky

Kromě nastavení **Size** (Velikost) a **Type** (Typ) je k dispozici též funkce **Border** (Hranice), která umožňuje nastavit vzdálenost mezi světelným paprskem a stěnou jamky na mikrotitrační destičce (vzdálenost v μm). Jak je uvedeno v kapitole 4.8.2, software zobrazuje pouze schematický přehled vzoru měření. Hranice se vypočítává z teoretického průměru paprsku. Při měření kapalných vzorků je však průměr paprsku ovlivněn typem a množstvím kapaliny v jamce. Vlastnosti světelného paprsku dále ovlivňuje i typ destičky (např. materiál dna destičky). Teoretická hranice, která se zobrazuje v softwaru, se proto nemusí shodovat se skutečnou hranicí při měření skutečného vzorku. Proto se důrazně doporučuje nastavení **Multiple Reads per Well** (Vícenásobného čtení jamky) u každé nové aplikace optimalizovat. Dbejte, aby nastavená hranice poskytovala dostatečnou vzdálenost mezi světelným paprskem a stěnou jamky na mikrotitrační destičce.



POZOR

VEŠKERÉ SPECIFIKACE PRO MĚŘENÍ ABSORBANCE A FLUORESCENČNÍ INTENZITY SE VZTAHUJÍ POUZE NA JEDNOBODOVÁ MĚŘENÍ (JEDEN MĚŘICÍ BOD NA JAMKU). PŘI POUŽITÍ FUNKCE MULTIPLE READS PER WELL (VÍČENÁSOBNÉ ČTENÍ JAMKY) JSOU UVEDENÉ SPECIFIKACE NEPLATNÉ.



POZOR

SOFTWARE ZOBRAZUJE POUZE SCHEMATICKÝ PŘEHLED VZORU MĚŘENÍ. PROTO JE TŘEBA NASTAVENÍ FUNKCE MULTIPLE READS PER WELL (VÍČENÁSOBNÉ ČTENÍ JAMKY) U KAŽDÉ NOVÉ APLIKACE OPTIMALIZOVAT. DBEJTE, ABY NASTAVENÁ HRANICE POSKYTOVALA DOSTATEČNOU VZDÁLENOST MEZI SVĚTELNÝM PAPSREM A STĚNOU JAMKY NA MIKROTITRAČNÍ DESTIČCE.

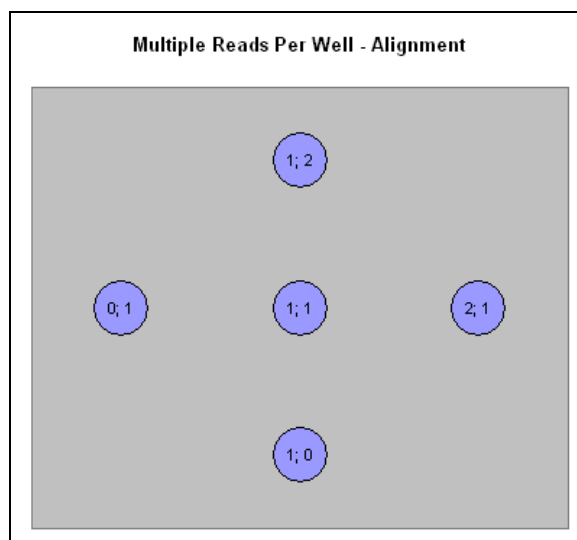


POZOR

PŘÍLIŠ NÍZKÁ HODNOTA PARAMETRU BORDER (HRANICE) MŮŽE BÝT PŘÍČINOU CHYBNÝCH VÝSLEDKŮ MĚŘENÍ V DŮSLEDKU PŘESAHU SVĚTELNÉHO PAPSREM NA STĚNU JAMKY NA MIKROTITRAČNÍ DESTIČCE.

4.8.4 Zobrazení výsledků v aplikaci MS Excel

List aplikace MS Excel, který generuje software i-control, obsahuje schematický grafický přehled měřicích bodů (**Multiple Reads per Well – Alignment** (Vícenásobné čtení jamky – Vyrovnání); viz Obrázek 28). Každému měřicímu bodu je přiřazeno číslo. Výsledky se zobrazují v podobě seznamu: číslo měřicího bodu a hodnota výsledku (OD nebo RFU; viz Obrázek 27: Grafické znázornění vyrovnání (přímky XY, 3 x 3), kde najdete informace o výsledku měření fluorescence). Kromě toho list obsahuje i hodnotu směrodatné odchylky (**Stdev**) a střední hodnotu (**Mean**) měřicích bodů dle jamek:



Obrázek 27: Grafické znázornění vyrovnání (přímky XY, 3 x 3)

Well	Mean	StDev	1;2	2;1	1;1	0;1	1;0
A1	30	4	26	35	29	27	31
A2	28	3	28	31	23	28	30
A3	28	6	31	31	27	18	32
B1	33	5	29	35	30	41	30
B2	36	4	40	36	30	37	35
B3	32	8	30	41	22	29	39
C1	30	6	28	35	21	31	36
C2	35	5	30	36	31	37	41
C3	38	7	40	41	25	40	41

Obrázek 28: Příklad seznamu výsledků v aplikaci MS Excel generovaného softwarem i-control.

4.8.5 Různé funkce softwaru pro vícenásobné čtení jamky

Vícenásobné čtení jamky lze využít pouze v režimech měření **absorbance**, **horního měření fluorescenční intenzity** a **spodního měření fluorescenční intenzity**.

Při měření po jamkách je funkce vícenásobného čtení jamky neaktivní.

Při použití funkce **Multiple Reads per Well** (Vícenásobné čtení jamky) není parametr **Reference Wavelength** (Referenční vlnová délka; nachází se na řádce absorbance) k dispozici.

4.9 Optimalizace luminiscenčních měření



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOSAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

4.9.1 Integrační doba

V případě velmi nízké hladiny světla nedosahuje fotonásobič stabilního výstupního proudu, který je nezbytným předpokladem pro spolehlivý převod analogového signálu na digitální. Namísto toho poskytuje sekvenci pulzů, jejichž průměrnou rychlost lze měřit pomocí počítadla. Výhoda techniky počítání fotonů při takto nízké hladině světla spočívá ve skutečnosti, že výběr výšky pulzu umožňuje potlačit elektronický šum.

Při velmi nízké hladině světla odpovídá naměřený počet pulzů za sekundu intenzitě světla. Z důvodu nepravidelného dopadu fotonů (fotonová statistika) umožňuje prodloužení doby měření jamky dosažení přesnějších hodnot. Fotonový (výstřelový) šum nelze redukovat technickými prostředky.



Upozornění

Odstup signálu od šumu (S/N) lze optimalizovat prodloužením integrační doby. Desetinásobné prodloužení integrační doby zkvalitní odstup signálu od šumu přibližně trojnásobně.

4.9.2 Tlumení hladiny světla

Při detekci pomocí počítání fotonů je třeba opticky tlumit vyšší hladiny luminiscenčního světla (>10 000 000 jednotek za sekundu). V takovém případě vstupuje do luminiscenčního detektoru souběžně přílišný počet fotonů, který již nelze rozlišit jakožto samostatné výstupní pulzy. Spočítané jednotky by dokonce byly nižší než hodnoty za nižší světelné hladiny.

Při počtu >10 000 000 jednotek za sekundu (bez tlumení) jsou proto výsledky označeny popisem **INVALID (NEPLATNÉ)**.

Optický luminiscenční systém čtečky **Infinite** dokáže utlumit světelnou hladinu pevným faktorem buď 1 (bez tlumení), nebo 100 (2 OD). Užitečný rozsah měření se tak posune do vyšší světelné hladiny <1 000 000 000 jednotek za sekundu).

4.10 Měření s využitím injektorů

4.10.1 Naplnění a promývání čtečky Infinite



POZOR

CHCETE-LI PROVÉST PLNĚNÍ A PROMÝVÁNÍ, MUSÍ SE DRŽÁK INJEKTORU NACHÁZET V SERVISNÍ POLOZE. PLNĚNÍ A PROMÝVÁNÍ JE TŘEBA PROVÁDĚT S INJEKTOREM ZASUNUTÝM V PŘÍSTROJI!

Prvotní naplnění (zavodnění) soustavy injektoru a její čištění (promývání) musejí probíhat vně přístroje.

K těmto účelům je třeba držák injektoru vyjmout z přístroje a umístit do servisní polohy modulu injektoru.



Tlačítka plnění/promývání injektorů A a V

Obrázek 29: SCHRÁNKA S INJEKTOREM V **servisní poloze**; injektory byly vyjmuty z otvoru v držáku a zasunuty do držáku nosného systému.

K plnění a promývání soustavy injektoru se používá výchozí nastavení rychlosti nástřiku a dávkovaného objemu. Je-li třeba, lze parametry plnění upravit v softwaru i-control, v okně Injector Control (Ovládání injektoru).

Plnicí objem závisí na délce vedení. K dispozici jsou dva typy vedení injektoru: **dlouhé**: 105 cm a **krátké**: 80 cm.

Minimální plnicí objem injektoru s krátkým vedením činí 700 µl; minimální plnicí objem injektoru s dlouhým vedením činí 850 µl.



POZOR

NEDOTÝKEJTE SE JEHEL INJEKTORU. JEHLY SE SNADNO OHNOU A ODCHÝLÍ OD SPRÁVNÉHO SMĚROVÉHO NASTAVENÍ. DŮSLEDKEM BÝVAJÍ POTÍŽE SE VSTŘIKOVÁNÍM, ČI DOKONCE POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE.

PŘI NESPRÁVNÉM ZASUNUTÍ DRŽÁKU INJEKTORU DO OTVORU NEBUDE SNÍMAČ INJEKTORU DETEKOVAT ZASUNUTÝ INJEKTOR. FUNKCE PROMÝVÁNÍ A PLNĚNÍ TAK BUDOU POVOLENY A JEJICH SPUŠTĚNÍ MŮŽE ZPŮSOBIT POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE. KROMĚ TOHO NEBUDE MOŽNO PROVÉST AKCE DÁVKOVÁNÍ A NÁSTŘIK.

Plnění

Nežli lze vstříkovací systém použít, je třeba z něj nejprve vypustit veškerý vzduch a zcela jej naplnit kapalinou (zavodnění).

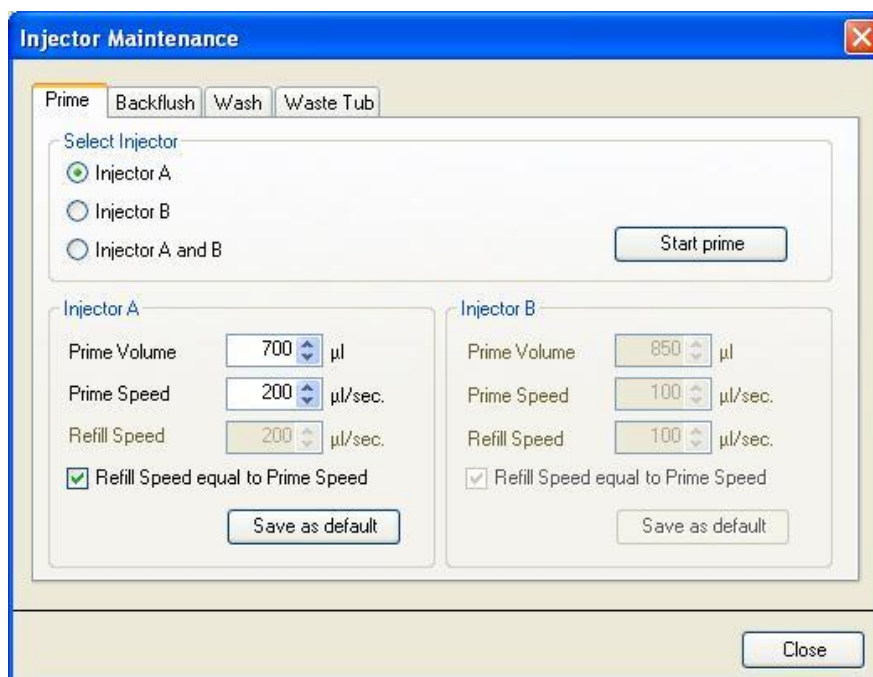
Před naplněním systému doporučujeme provést jeho promytí.

Promytí lze spustit ze softwaru i-control nebo stisknutím fyzických tlačítek na modulu injektoru:

1. Naplňte zásobní láhve příslušnými reagenty a zasuňte přívodní hadičku (hadičky). Zkontrolujte, zda hadičky dosahují na dno láhve.
2. Vyjměte injektor z otvoru v držáku a zasuňte jej do servisní polohy v modulu injektoru.
3. Pod injektor umístěte prázdnou nádobku.

Postup při plnění (software i-control):

1. V nabídce **Settings** (Nastavení) přejděte do dialogu **Injector Maintenance** (Údržba injektoru) a na kartě **Prime** (Plnění) upravte nastavení parametrů.
2. Kliknutím na tlačítko **Start prime** (Zahájit plnění) v dialogu Injector Maintenance (Údržba injektoru) spustíte plnění.
3. Vizually kontrolujte, zda se ve stříkačkách nacházejí vzduchové bubliny. Po dokončení plnění by se ve stříkačkách neměly nacházet žádné bubliny. V opačném případě nelze zaručit požadovanou kvalitu nástřiku.



4. Vyberte některý z injektorů: **Injector A** (Injektor A), nebo **Injector B** (Injektor B), nebo **Injector A and B** (Injektor A & B).
5. Vyberte nastavení položky **Prime Volume** (Objem plnění) (700–60 000 µl – krátká hadička), (850–60 000 µl – dlouhá hadička)
6. Nastavte parametr **Prime Speed** (Rychlost plnění) (100–300 µl/s).
7. Nastavte parametr **Refill Speed** (Rychlost doplňování) (100–300 µl/), nebo vyberte možnost **Refill Speed equal to Prime Speed** (Rychlost doplňování shodná s rychlostí plnění).
8. Spustíte plnění kliknutím na tlačítko **Start prime** (Zahájit plnění).

9. Kliknutím na tlačítko **Save as default** (Uložit jako výchozí) uložte zvolená nastavení k příslušnému fyzickému tlačítku (A nebo B) na plášti injektoru. Uložená nastavení se použijí při plnění stisknutím fyzických tlačítek.
10. Zavřete dialog kliknutím na tlačítko **Close** (Zavřít)

Postup při plnění (fyzické tlačítko):

Plnění lze spustit i bez použití softwaru. Parametry plnění lze uložit do injektoru kliknutím na tlačítko **Save as Default** (Uložit jako výchozí) na kartě **Prime** (Plnění) v dialogu **Injector Maintenance** (Údržba injektoru) v softwaru i-control (v nabídce **Settings** (Nastavení) klikněte na položku **Injectors...** (Injektory...) a otevře se dialog **Injector Maintenance** (Údržba injektoru)). Stisknutím tlačítka **Prime/Wash** (Plnění/Promývání) na plášti injektoru spustíte plnění s použitím výchozích parametrů (viz Obrázek 29: Schránka s injektorem v servisní poloze na straně 75). Injektor musí být připojen k přístroji a přístroj musí být zapnutý. Stisknutím tlačítka **Prime/Wash** (Plnění/Promývání) na dobu kratší než 3 sekundy spustíte plnění.

Vizuálně kontrolujte, zda se ve stříkačkách nacházejí vzduchové bubliny. Po dokončení plnění by se ve stříkačkách neměly nacházet žádné bubliny. V opačném případě nelze zaručit požadovanou kvalitu nástřiku.

Po úspěšném naplnění vložte injektor zpět do přístroje. Před zahájením měření zcela zavřete víko modulu čerpadla. Nyní jsou injektory připraveny k použití.

Při spuštění měření pomocí akcí **injection** (nástřik) nebo **dispense** (dávkování) přístroj nejprve nadávkuje 5 µl kapaliny do odpadní nádoby na držáku destičky. Teprve poté spustí akci **injection** (nástřik), respektive **dispense** (dávkování). Tento prvotní krok dávkování zajišťuje shodné podmínky nástřiku/dávkování ve všech jamkách.



POZOR

PŘED ZAHÁJENÍM MĚŘENÍ ZCELA ZAVŘETE VÍKO MODULU ČERPADLA (PLÁŠŤ INJEKTORU).

Zpětný proplach reagentu

Mrtvý objem vstříkovací soustavy (vstříkovací jehly, stříkačky, ventily a vedení) u každé stříkačky a po zpětném proplachu činí přibližně 100 µl. Účelem zpětného proplachu je navrátit nespotřebované reagenty zpět do zásobních láhví.

Rychlost nástřiku lze upravit v nastavení softwaru tak, aby umožňovala kvalitní směšování reagentů. Optimální rychlost nástřiku závisí na parametrech analýzy, jako jsou například viskozita kapalin, formát destičky a chování kapalin při měření.

Zpětný proplach reagentů umožňuje jejich odčerpání z vedení zpět do zásobních láhví. Doporučujeme tuto činnost provést před promýváním soustavy injektoru; mrtvý objem soustavy tak snížíte na minimum.

Před provedením procedury **Backflush** (Zpětný proplach):

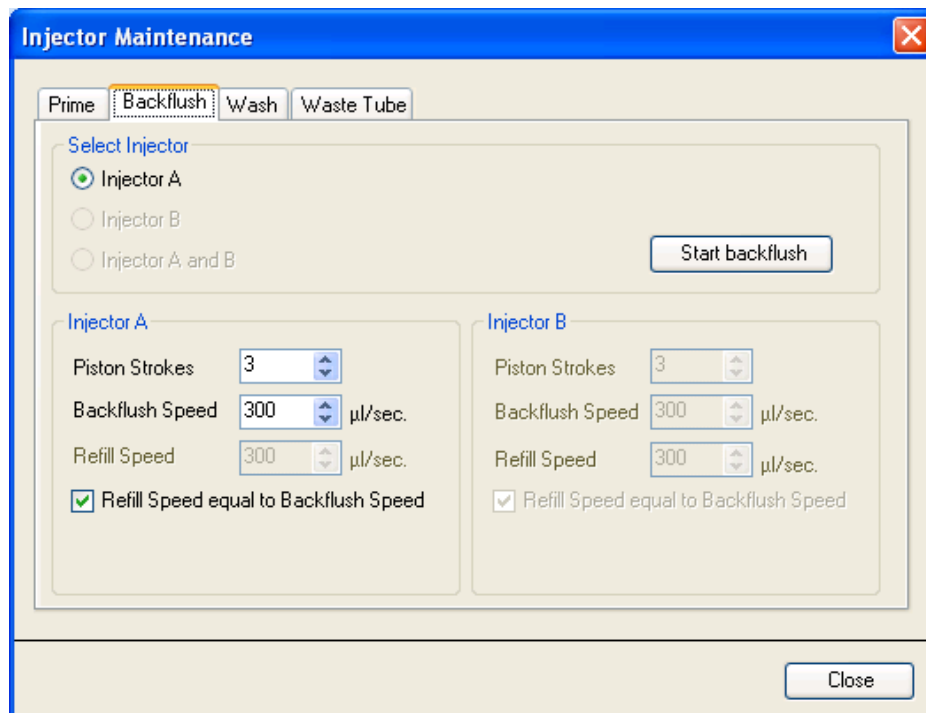
Vyjměte držák injektoru z přístroje a zasuňte jej do servisní polohy v modulu injektoru.

Zasuňte přívodní hadičku do příslušné zásobní láhve.

Zpětný proplach (software i-control):

V nabídce **Settings** (Nastavení) přejděte do dialogu **Injector Maintenance** (Údržba injektoru) a na kartě **Backflush** (Zpětný proplach) upravte nastavení parametrů.

Zpětný proplach reagentu spustíte kliknutím na tlačítko **Start backflush** (Spustit zpětný proplach).



1. Vyberte některý z injektorů: **Injector A** (Injektor A), nebo **Injector B** (Injektor B), nebo **Injector A and B** (Injektor A & B; k proceduře **Backflush** (Zpětný proplach) jsou k dispozici pouze naplněné injektory, tj. injektory, u kterých byla provedena procedura **Prime** (Plnění)).
2. Nastavte parametr **Piston Strokes** (Počet zdvihů pístu) (1–60; 1 zdvih se rovná 1 ml)
3. Nastavte parametr **Backflush Speed** (Rychlost zpětného proplachu) (100–300 µl/s).
5. Nastavte parametr **Refill Speed** (Rychlost doplňování) (100–300 µl/), nebo vyberte možnost **Refill Speed equal to Backflush Speed** (Rychlost doplňování shodná s rychlostí zpětného proplachu).
5. Spustěte zpětný proplach reagentu kliknutím na tlačítko **Start backflush** (Spustit zpětný proplach).
6. Zavřete dialog kliknutím na tlačítko **Close** (Zavřít).



POZOR

**CHCETE-LI PROVÉST AKCI BACKFLUSH (ZPĚTNÝ PROPLACH), MUSÍ SE INJEKTOR NACHÁZET V SERVISNÍ POLOZE.
ZPĚTNÝ PROPLACH NEPROVÁDĚJTE, JESTLIŽE SE INJEKTOR NACHÁZÍ V PŘÍSTROJI!**

4.10.2 Promývání

Před vypnutím přístroje se doporučuje provést proceduru promývání injekční soustavy.

Promývání lze spustit ze softwaru i-control nebo stisknutím fyzických tlačítek na modulu injektoru.

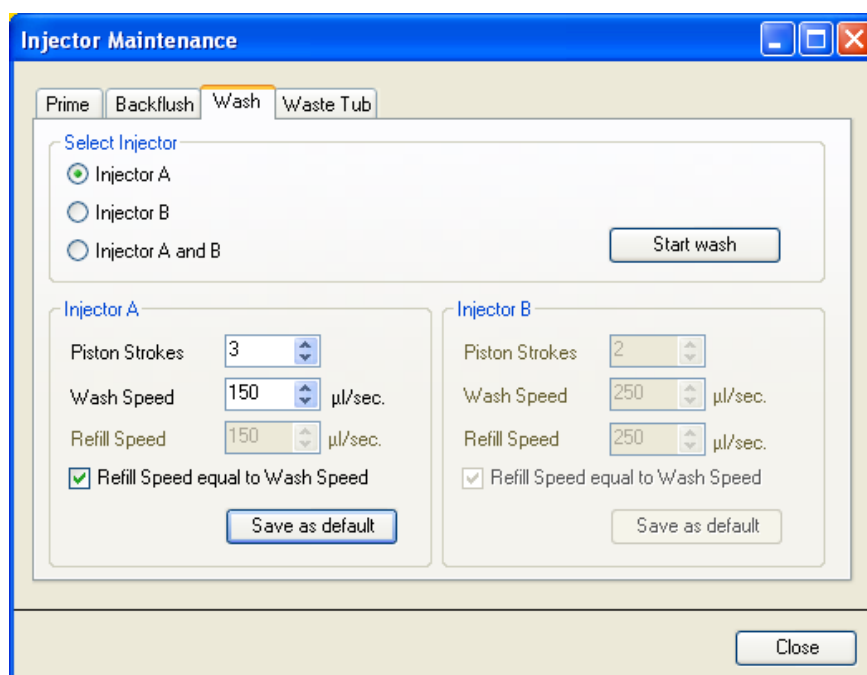
Před provedením procedury Wash (Promývání):

1. Naplňte zásobní láhve příslušnými promývacími reagenty (destilovanou vodou, 70% roztokem etanolu apod) a zasuňte do nich přívodní vedení. Zkontrolujte, zda hadičky dosahují na dno láhve.
2. Vyjměte injektor z otvoru v držáku a zasuňte jej do servisní polohy v modulu injektoru.
3. Pod injektor umístěte prázdnou nádobku.

Promývání (software i-control):

V nabídce **Settings** (Nastavení) přejděte do dialogu **Injector Maintenance** (Údržba injektoru) a na kartě **Wash** (Promývání) upravte nastavení parametrů.

1. Promývání spustíte stisknutím tlačítka **Start wash** (Spustit promývání).



2. Vyberte některý z injektorů: **Injector A** (Injektor A), nebo **Injector B** (Injektor B), nebo **Injector A and B** (Injektor A & B).
3. Nastavte parametr **Piston Strokes** (Počet zdvihů pístu) (1–60; 1 zdvih se rovná 1 ml)
4. Nastavte parametr **Wash Speed** (Rychlost promývání) (100–300 µl/s).
5. Nastavte parametr **Refill Speed** (Rychlost doplňování) (100–300 µl/), nebo vyberte možnost **Refill Speed equal to Wash Speed** (Rychlost doplňování shodná s rychlostí promývání).
6. Spusťte promývání kliknutím na tlačítko **Start wash** (Spustit promývání).
7. Zavřete dialog kliknutím na tlačítko **Close** (Zavřít).

Promývání (fyzická tlačítka):

Promývání lze spustit i bez použití softwaru. Parametry promývání lze uložit do injektoru kliknutím na tlačítko **Save as Default** (Uložit jako výchozí) na kartě **Wash** (Promývání) v dialogu **Injector Maintenance** (Údržba injektoru) v softwaru i-control (v nabídce **Settings** (Nastavení) klikněte na položku **Injectors...** (Injektory...)) a otevře se dialog **Injector Maintenance** (Údržba injektoru)). Stisknutím tlačítka **Prime/Wash** (Plnění/Promývání) na plášti injektoru spustíte promývání s použitím výchozích parametrů. (Viz Obrázek 29: Schránka s injektorem v servisní poloze na straně 75). Injektor musí být připojen k přístroji a přístroj musí být zapnutý. Stisknutím tlačítka Prime/Wash (Plnění/Promývání) na dobu delší než 3 sekundy spustíte promývání.



POZOR

**CHCETE-LI PROVÉST AKCI WASH (PROMÝVÁNÍ), MUSÍ SE INJEKTOR NACHÁZET V SERVISNÍ POLOZE.
PROMÝVÁNÍ NESPOUŠTĚJTE, JESTLIŽE SE INJEKTOR NACHÁZÍ V PŘÍSTROJI!**



DŮLEŽITÉ

K ZÁVĚREČNÉMU PROMÝVÁNÍ POUŽIJTE DESTILOVANOU VODU A POTÉ SOUSTAVU INJEKTORU VYPRÁZDNĚTE. S OHLEDEM NA ŘÁDNOU PÉČI A DLOUHOU ŽIVOTNOST PŘÍSTROJE NAPLNĚTE SOUSTAVU INJEKTORU PŘED VYPNUTÍM PŘÍSTROJE KAPALINOU (VODOU).



DŮLEŽITÉ

INFORMACE O ÚPLNÉM OČIŠTĚNÍ VEDENÍ OD SUBSTRÁTU NAJDETE U PŘÍSLUŠNÉ SOUPRAVY REAGENTŮ.



DŮLEŽITÉ

VĚNUJTE ŘÁDNOU PÉČI INJEKTORŮM. POŠKOZENÉ INJEKTORY MOHOU NEGATIVNĚ OVLIVNIT PŘESNOST DÁVKOVÁNÍ. NEPŘESNÉ DÁVKOVÁNÍ MŮŽE ZPŮSOBIT POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE.



Upozornění

Jehly injektoru lze vyměnit výměnou držáku injektoru společně s příslušnými hadičkami.



DŮLEŽITÉ

TLAČÍTKO/TLAČÍTKA NA PLÁŠTI INJEKTORU PLNÍ DVĚ FUNKCE:

- **STISKNUTÍM TLAČÍTKA NA MÉNĚ NEŽ 3 SEKUNDY SPUSTÍTE PLNĚNÍ.**
- **STISKNUTÍM TLAČÍTKA NA DÉLE NEŽ 3 SEKUNDY SPUSTÍTE PROMÝVÁNÍ.**

PARAMETRY OBOU FUNKCÍ JE TŘEBA NASTAVIT V SOFTWARU I-CONTROL.

Odpadní nádobka

Při spuštění měření pomocí akcí **injection** (nástřík) nebo **dispense** (dávkování) přístroj nejprve nadávkuje 5 µl kapaliny do odpadní nádobky na držáku destičky. Teprve poté spustí akci **injection** (nástřík), respektive **dispense** (dávkování).

Tento prvotní krok dávkování zajišťuje shodné podmínky nástřiku/dávkování ve všech jamkách. Tento samostatný dávkový krok závisí na režimu doplňování, který jste nastavili na řádku pro nástřík nebo dávkování (podrobné informace jsou uvedeny v kapitole 4.10.4 Režimy).

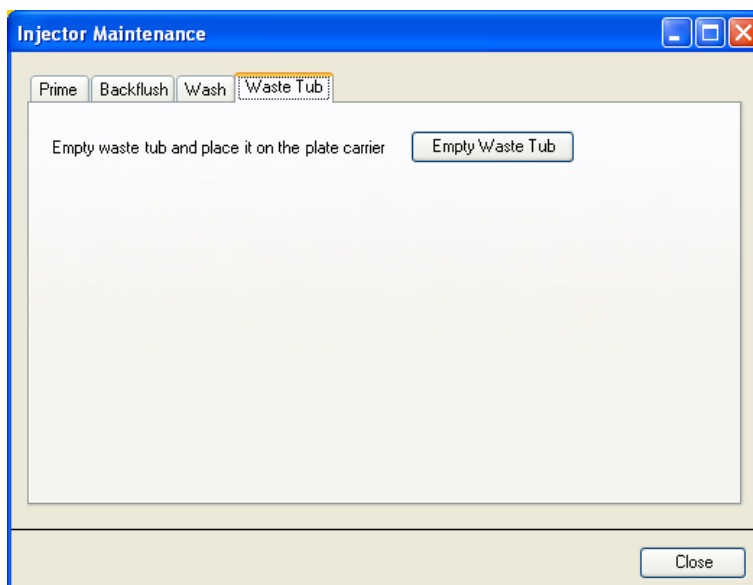
Při použití doplňovacího režimu **Standard** (Standardní) se dávkování spustí vždy po doplnění. Při použití doplňovacího režimu **Refill for every injection** (Doplňovat ke každému nástřiku) se dávkování spustí pouze jednou, a to na začátku měření.

Odpadní nádobku je proto třeba čas od času vyprázdnit. Její nejvyšší plnicí objem činí 1,5 ml. Vestavěný čítač kontroluje nadávkový objem kapaliny a software upozorní uživatele na nutnost vyprázdnit nádobku.



Obrázek 30: Odpadní nádobka na držáku destičky

Vyprázdnění odpadní nádobky (software i-control):



Klikněte na tlačítko **Empty Waste tub** (Vyprázdnit odpadní nádobku). Držák destičky se automaticky vysune. Sejměte odpadní nádobku z držáku a vyprázdněte její obsah. Po vyprázdnění umístěte odpadní nádobku zpět na držák destičky. Software i-control vás upozorní, až bude nádobku třeba opět vyprázdnit.

**POZOR**

NEŽLI SPUSTÍTE MĚŘENÍ AKCEMI INJECTION (NÁSTŘIK) A/NEBO DISPENSE (DÁVKOVÁNÍ), UMÍSTĚTE ODPADNÍ NÁDOBKU NA DRŽÁK DESTIČKY.

**POZOR**

ODPADNÍ NÁDOBKU SE DOPORUČUJE VYPRÁZDNIT VŽDY PŘED ZAHÁJENÍM MĚŘENÍ A ALESPŇ JEDNOU DENNĚ.

**VÝSTRAHA**

ODPADNÍ MATERIÁL (DESTIČKA) Z PROCESŮ SPOUŠTĚNÝCH NA ČTEČCE INFINITE MŮŽE BÝT ZDROJEM BIOLOGICKÝCH RIZIK. S MIKROTITRAČNÍMI DESTIČKAMI A DALŠÍM JEDNORÁZOVÝM MATERIÁLEM A LÁTKAMI POSTUPOJTE V SOULADU SE SMĚRNICEMI PRO SPRÁVNOU LABORATORNÍ PRAXI. INFORMUJTE SE U PŘÍSLUŠNÝCH ORGÁNŮ STÁTNÍ SPRÁVY NEBO MÍSTNÍ SAMOSPRÁVY O SBĚRNÝCH MÍSTECH A O SPRÁVNÉM ZPŮSOBU LIKVIDACE.

4.10.3 Před zahájením měření s využitím injektoru

Před spuštěním měření se přesvědčte, zda jsou splněny následující podmínky:

- Hadičky musejí být čisté. Jestliže nejsou, nahlédněte do kapitoly 4.10.1 Naplnění a promývání čtečky Infinite, kde získáte informace o postupu při čištění soustavy injektoru.
- Hadičky injektoru musejí být správně zasunuté do zásobních lahví a připevněné.
- Soustava injektoru musí být naplněná. Bez předchozího naplnění injektoru nelze spustit měření.

Při plnění injektoru:

- Před naplněním injektoru nákladnými reagenty vizuálně nebo za použití bezpečné kapaliny zkontrolujte těsnost hadiček.
- Před naplněním injektoru nákladnými reagenty vizuálně nebo za použití bezpečné kapaliny zkontrolujte, zda hadičky nejsou zlomené.
- Zkontrolujte, zda jehly injektoru nejsou ohnuté.
- Jestliže hadičky vyžadují z jakéhokoli důvodu vyměnit, po výměně a před zahájením měření nezapomeňte provést proplach a naplnění injektoru.

4.10.4 Režimy injektoru (software i-control)

Injektor umožňuje používat dva provozní režimy:

Dispense (Dávkování): Režim dávkování umožňuje dávkovat kapalinu do vybraných jamek na celé destičce

Injection (Nástřik): Tento režim je třeba používat ve spojení s řádkem měření. Vstřikování probíhá po jednotlivých jamkách.

Režim dávkování

Režim dávkování lze upravit v nastavení softwaru:

Dispense (Dávkování)

Select Injector (Vyberte injektor): Vybrat lze injektor A a/nebo injektor B.

Speed (Rychlost): Rychlost nástřiku lze u každého injektoru nastavit v rozmezí 100–300 µl/s.

U každého injektoru nastavte parametr **Refill speed** (Rychlost doplňování) v rozmezí 100–300 µl/s, nebo vyberte možnost **Refill Speed equal to Dispense Speed** (Rychlost doplňování shodná s rychlostí dávkování).

Chcete-li, aby doplňování probíhalo při prázdné stříkačce (před doplněním proběhne několik dávkování, k doplnění dochází po dávkování cca 800 µl), vyberte režim doplňování **Standard** (Standardní).

Chcete-li, aby doplňování probíhalo vždy ke každému dávkování, vyberte režim doplňování **Refill for every dispense** (Doplňovat ke každému dávkování).

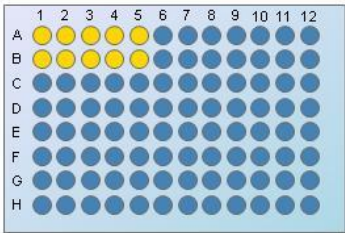
Použití řádku Dispense (Dávkování)

▼ Plate
1

Plate definition: [GRE96fb_chimney] - Greiner 96 Flat Black ▼ Details...

Plate with cover [Use a part of the plate](#)

▼ Part of Plate
2



Details...

▼ Dispense
3

Select Injector:

Injector A: Volume: µl Speed: µl/sec.

Refill Speed equal to Dispense Speed Refill Speed: µl/sec.

Injector B: Volume: µl Speed: µl/sec.

Refill Speed equal to Dispense Speed Refill Speed: µl/sec.

Refill mode

Standard

Injector A Refill Volume: µl

Injector B Refill Volume: µl

Refill for every dispense

Plate (Destička)	Vyberte vhodný typ destičky.
Part of plate (Část destičky)	Volitelně; Vyberte jamky, do kterých má být dávkována kapalina.
Dispense (Dávkování)	Nastavte parametry dávkování. Vyberete-li oba injektory, nejprve provede dávkování do všech jamek injektor A a poté injektor B. Použití řádku Dispense (Dávkování) nevyžaduje použití dalšího řádku Měření.
Dispense volume (Dávkovaný objem)	Objem nástřiku závisí na typu mikrotitrační destičky. Soubor definice destičky obsahuje tzv. pracovní objem. Pracovním objemem se rozumí největší možný objem, který lze do vybrané mikrotitrační destičky dávkovat. Proto vždy zkontrolujte, zda vybraný soubor definice destičky obsahuje správné nastavení pracovního objemu. Nejvyšší dávkovací objem činí 800 µl / řádek dávkování. Je-li dávkovaný objem větší než 800 µl (např. u 6jamkových destiček), je třeba použít více řádků dávkování.

Režim Injection (Nástřík)

Režim nástříku lze upravit v nastavení softwaru:

Injection (Nástřík)

Select Injector (Vyberte injektor):

Vybrat lze injektor A, nebo injektor B. Na jednom řádku nelze vybrat oba injektory současně. Je-li třeba provést měření s dvěma injektory, je nezbytné použít dva řádky.

Speed (Rychlost): Rychlost nástříku lze u každého injektoru nastavit v rozmezí 100–300 µl/s.

U každého injektoru nastavte parametr **Refill speed** (Rychlost doplňování) v rozmezí 100–300 µl/s, nebo zaškrtněte políčko **Refill Speed equal to Injection Speed** (Rychlost doplňování shodná s rychlostí nástříku).

Chcete-li, aby doplňování probíhalo při prázdné stříkačce (před doplněním proběhne několik nástříků, k doplnění dochází po dávkování cca 800 µl), vyberte režim doplňování **Standard** (Standardní). Chcete-li, aby doplňování probíhalo vždy ke každému nástříku, vyberte režim doplňování **Refill for every injection** (Doplňovat ke každému nástříku).

Injection volume (Objem nástříku)

Objem nástříku závisí na typu mikrotitrační destičky. Soubor definice destičky obsahuje tzv. pracovní objem. Pracovním objemem se rozumí největší možný objem, který lze do vybrané mikrotitrační destičky nanést. Proto vždy zkontrolujte, zda vybraný soubor definice destičky obsahuje správné nastavení pracovního objemu. Největší objem nástříku činí 800 µl / řádek nástříku. Je-li objem nástříku větší než 800 µl (např. u 6jamkových destiček), je třeba použít více stripů nástříku.

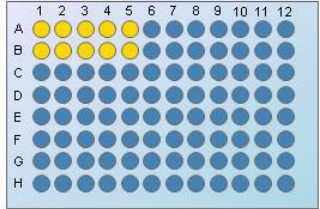
Použití řádku Injection (Nástřik)

▼ Plate
1

Plate definition: [IGRE96fb_chimney] - Greiner 96 Flat Black ▼ Details...

Plate with cover [Use a part of the plate](#)

▼ Part of Plate
2


Details...

▼ Well
3

▼ Injection
4

Select Injector:

Injector A: Volume: 100 µl Speed: 200 µl/sec.
 Refill Speed equal to Injection Speed Refill Speed: 100 µl/sec.

Injector B: Volume: 100 µl Speed: 200 µl/sec.
 Refill Speed equal to Injection Speed Refill Speed: 100 µl/sec.

Refill mode:

Standard
 Injector A Refill Volume: 500 µl
 Injector B Refill Volume: 500 µl

Refill for every injection [Wait after injection](#)

▼ Absorbance (Well-wise)
5

Wavelength Measurement: 400 nm (9) Read

Reference Number of flashes: 25

Multiple Reads per Well Settle time: 0 ms

Multiple reads per well Label Name: Label1

Plate (Destička)	Vyberte vhodný typ destičky.
Part of plate (Část destičky)	Volitelně; vyberte jamky, do kterých má být dávkována kapalina.
Well (Jamka)	Použití řádku Well (Jamka) je povinné. Nástřik lze provést pouze při použití řádku Well (Jamka). Díky použití tohoto řádku lze zajistit zpracování následujících řádků po jamkách.
Injection (Nástřik)	Nastavte parametry nástřiku. Na jednom řádku lze vybrat pouze jeden injektor. Je-li třeba použít oba injektory nebo má-li jeden injektor provést dva nástřiky, je třeba vložit další řádek Injection (Nástřik).
Řádek Measurement (Měření) (Příklad měření absorbance)	Ve spojení s řádkem pro nástřik je třeba použít alespoň jeden řádek Measurement (Měření). Poloha řádku (řádků) Měření (před a/nebo za řádkem pro nástřik) závisí na aplikaci, a proto ji lze nastavit uživatelsky.



Upozornění

Zkontrolujte, zda je hodnota parametru **Working Volume (Pracovní objem)** v souboru definice destičky vyšší než objem používaný při nástřiku.

Řádek Wait (Čekání)

Do procedury lze vložit řádek **Wait timer** (Časovač čekání; délka prodlevy nebo ustálení).

Wait time (Délka čekání)	Nastavte čas ve formátu hh:mm:ss a v rozmezí od 00:00:01 do 23:59:59
Options (Možnosti)	<p>Je-li vybrána možnost Wait for injection (Čekat na nástřik), bude součástí doby čekání i doba nástřiku.</p> <p>Jestliže možnost Wait for injection (Čekat na nástřik) vybrána NENÍ, doba čekání se bude přičítat k době nástřiku.</p>

4.11 Měření s blankováním

Software umožňuje měření s tzv. **blankováním**. Možnost **Blanking** (Blankování) je v nabídce **Instrument** (Přístroj) k dispozici pouze v případě, je-li otevřený měřicí skript obsahující měření s kyvetou. Je-li v nabídce **Instrument** (Přístroj) vybrána možnost **Blanking** (Blankování), aktivuje se měření absorbance s použitím přihrádky na kyvetu, a to v souladu s parametry (vlnová délka, počet záblesků, doba ustálení) nastavenými v aktivním skriptu. Obsluha je vyzvána k vložení kyvetu s blankem (např. roztokem pufru) a ke spuštění měření. Data blanku se uloží do tabulky aplikace MS Excel. Data se ukládají též do softwaru a lze je použít na následující měření kyvetu se shodnými parametry. Jestliže označíte zaškrťovací políčko **Apply Blanking** (Použít blankování) na řádku **Absorbance** nebo **Absorbance Scan** (Absorbanční skenování), data blanku se budou odečítat automaticky.

Data blanku zůstanou uložena v softwaru až do provedení dalšího měření s blankováním nebo zavření softwaru. Pamatujte, že při spuštění dalšího měření s blankováním se uložená data blanku přepíší novými daty, a to bez předchozího upozornění. Uložená data blanku budou bez předchozího upozornění odstraněna též při zavření softwaru.



POZOR

PŘI SPUŠTĚNÍ DALŠÍHO MĚŘENÍ S BLANKOVÁNÍM SE ULOŽENÁ DATA BLANKU PŘEPÍŠOU NOVÝMI DATY, A TO BEZ PŘEDCHOZÍHO UPOZORNĚNÍ. DATA BLANKU BUDOU BEZ PŘEDCHOZÍHO UPOZORNĚNÍ ODSTRANĚNA TĚŽ PŘI ZAVŘENÍ SOFTWARU I-CONTROL.

4.12 Měření s kyvetou

4.12.1 Řádek Cuvette (Kyveta)

Chcete-li provádět měření v kyvetě, je třeba nastavit řádek **Cuvette** (Kyveta).



Obrázek 31: Řádek Cuvette (Kyveta)

V některých aplikacích může být nezbytné spojit měření destičky s měřením kyvety. Software i-control proto umožňuje použití jednoho řádku Cuvette (Kyveta) a jednoho řádku Microplate (Destička) v jediném měřicím skriptu. Měření kyvety se musí být umístěno před měření destičky. Chcete-li provést přesné měření destičky, dvířka prostoru na kyvetu musejí být zavřena. Software proto neumožňuje použít příkaz **Move cuvette OUT** (Vysunout kyvetu) před měřením destičky (viz též kapitolu 4.12.3).

4.12.2 Pohyby kyvety

Kyvetu lze zasouvat a vysouvat stisknutím tlačítek pro **zasunutí** a **vysunutí kyvety**, případně též výběrem možností **Cuvette in/Cuvette out** (Zasunout/Vysunout kyvetu) v dialogu **Instrument/Movements** (Přístroj/Pohyby).



Obrázek 32: Tlačítka **Vysunout kyvetu** a **Zasunout kyvetu**

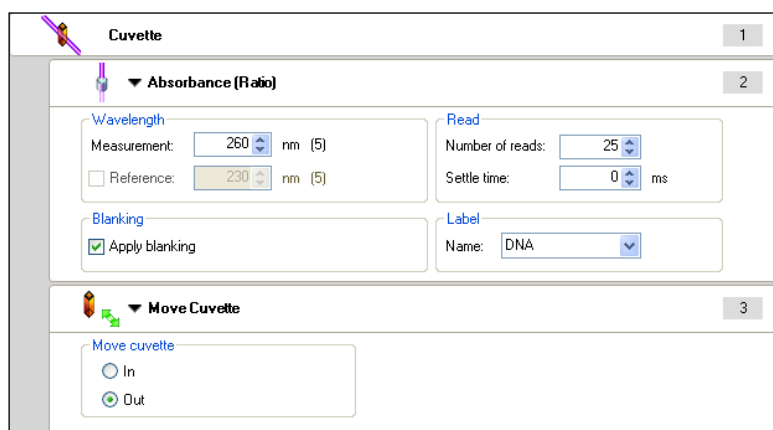
4.12.3 Příklady měření kyvety v softwaru i-control

Příklad 1:

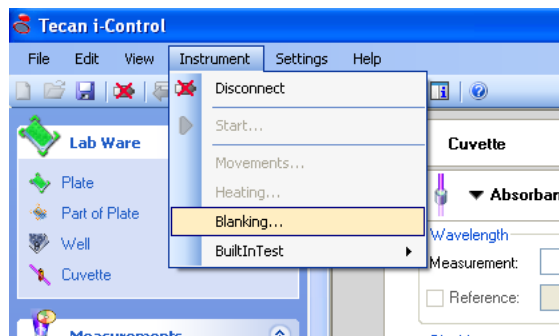
Příklad použití měření s **blankováním** při analýze vzorku DNA:

Připravte kyvetu se vzorkovým puřrem

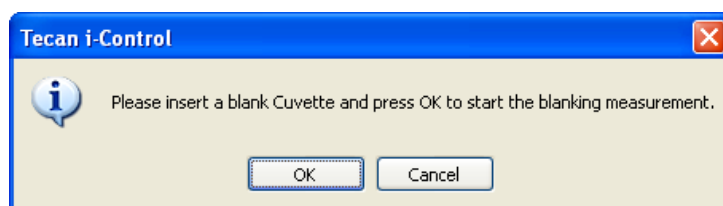
Nastavte měření DNA v softwaru i-control:



V nabídce **Instrument** (Přístroj) vyberte položku **Blanking** (Blankování):

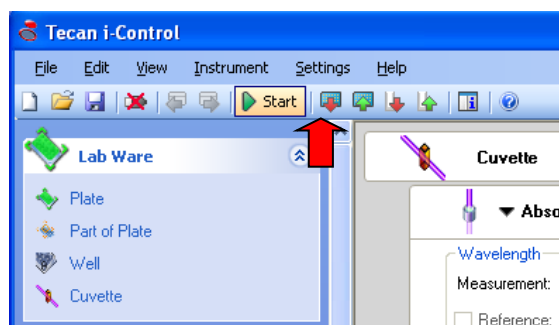


Přístroj provede inicializaci a vysune držák kyvety. Software uživatele vyzve k vložení kyvety s blankem:



Vložte kyvetu s blankem a kliknutím na tlačítko **OK** spustíte měření s blankem. Data naměřená z blanku se zobrazí na listu aplikace MS Excel. Držák kyvety se vysune.

Vyjměte kyvetu s blankem. Připravte kyvetu se vzorkem a položte ji na držák kyvety. Kliknutím na tlačítko **Start** spustíte měření:

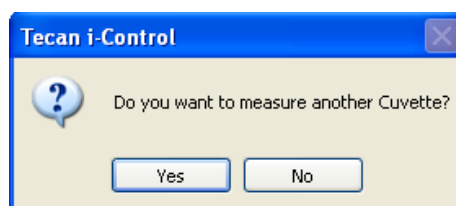


Držák kyvety se zasune a přístroj provede měření. Naměřená data (Value – Hodnota) a data blanku (Blank), jakož i měření s odpočtem blanku (Diff – Rozdíl) se zobrazí na listu aplikace MS Excel:

Příklad zobrazení dat v případě měření dvou kyvet:

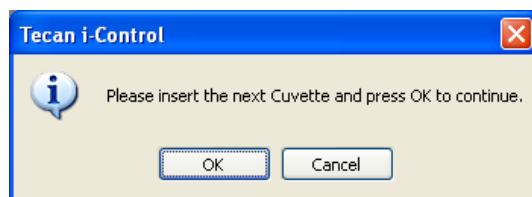
Info: Blank data from: 20.03.2006 15:34:31			
	Value	Blank	Diff
Cuv. 1	1.032	0.054	0.978
Cuv. 2	1.409	0.054	1.355

Po dokončení měření první kyvety (Cuv: 1) se zobrazí tato zpráva:



Kliknutím na tlačítko **No** (Ne) dokončíte měření.

Kliknutím na tlačítko **Yes** (Ano) lze pokračovat v měření:








Vložte další kyvetu se vzorkem a kliknutím na tlačítko **OK** pokračujte v měření.

Příklad 2:

Kombinované měření destičky a kyvety:

V některých aplikacích může být nezbytné porovnat data naměřená na mikrotitrační destičce s daty naměřenými v kyvetě. Následující příklad ilustruje, jak takové měření nastavit:

	Cuvette	1				
	Absorbance (Ratio)	2				
<table border="0"> <tr> <td> Wavelength Measurement: 400 nm (9) <input checked="" type="checkbox"/> Reference: 500 nm (9) </td> <td> Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms </td> </tr> <tr> <td> Blanking <input type="checkbox"/> Apply blanking </td> <td> Label Name: Label1 </td> </tr> </table>			Wavelength Measurement: 400 nm (9) <input checked="" type="checkbox"/> Reference: 500 nm (9)	Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms	Blanking <input type="checkbox"/> Apply blanking	Label Name: Label1
Wavelength Measurement: 400 nm (9) <input checked="" type="checkbox"/> Reference: 500 nm (9)	Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms					
Blanking <input type="checkbox"/> Apply blanking	Label Name: Label1					
	Plate [GRE96f] - Greiner 96 Flat Transparent	3				
	Absorbance	4				
<table border="0"> <tr> <td> Wavelength Measurement: 400 nm (9) <input checked="" type="checkbox"/> Reference: 500 nm (9) </td> <td> Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms </td> </tr> <tr> <td> Multiple Reads per Well <input type="checkbox"/> Multiple reads per well </td> <td> Label Name: Label8 </td> </tr> </table>			Wavelength Measurement: 400 nm (9) <input checked="" type="checkbox"/> Reference: 500 nm (9)	Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms	Multiple Reads per Well <input type="checkbox"/> Multiple reads per well	Label Name: Label8
Wavelength Measurement: 400 nm (9) <input checked="" type="checkbox"/> Reference: 500 nm (9)	Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms					
Multiple Reads per Well <input type="checkbox"/> Multiple reads per well	Label Name: Label8					
	Absorbance	5				
<table border="0"> <tr> <td> Wavelength Measurement: 260 nm (5) <input type="checkbox"/> Reference: 230 nm (5) </td> <td> Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms </td> </tr> <tr> <td> Multiple Reads per Well <input type="checkbox"/> Multiple reads per well </td> <td> Label Name: Label2 </td> </tr> </table>			Wavelength Measurement: 260 nm (5) <input type="checkbox"/> Reference: 230 nm (5)	Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms	Multiple Reads per Well <input type="checkbox"/> Multiple reads per well	Label Name: Label2
Wavelength Measurement: 260 nm (5) <input type="checkbox"/> Reference: 230 nm (5)	Read Number of reads: 25 Settle time: 0 ms					
Multiple Reads per Well <input type="checkbox"/> Multiple reads per well	Label Name: Label2					

Cuvette (Kyveta)

Nezbytná pro měření v kyvetě.

Absorbance (kyveta)

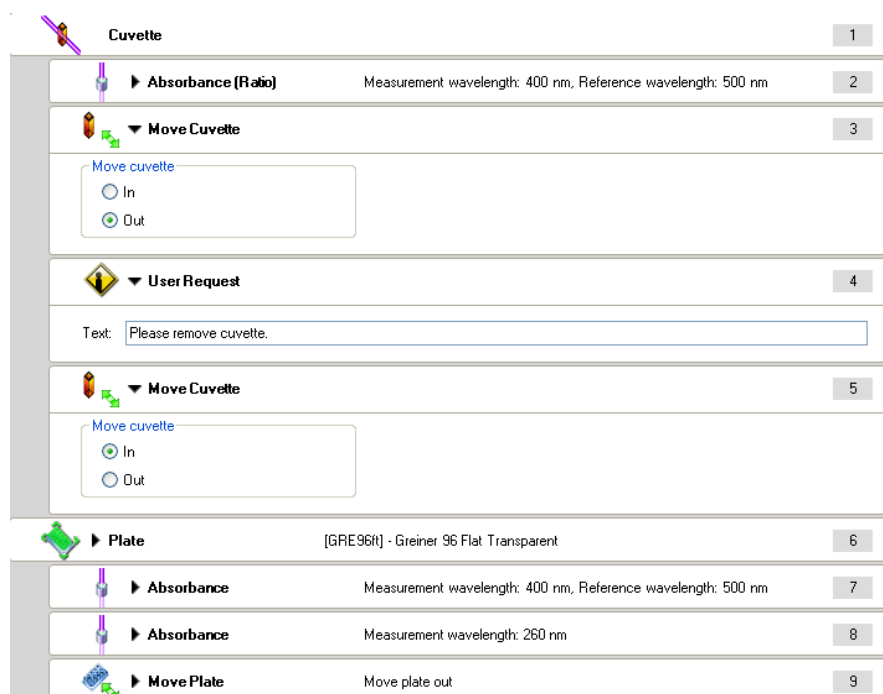
Software umožňuje nastavit až 4 řádky pro absorbanční měření s pevnou vlnovou délkou. Referenční vlnovou délku lze nastavit pouze v případě použití řádku pro měření absorbance s pevnou vlnovou délkou. Možnost **Apply blanking** (Použití blankování) je při výběru referenční vlnové délky zakázána.

Nastavte vhodné parametry měření (vlnovou délku, počet záblesků a dobu ustálení)

Plate (Destička)	Nezbytná pro měření mikrotitračních destiček. Vyberte vhodný typ destičky pro dané měření.
Part of Plate (Část destičky) (neobrazeno)	Volitelná možnost. řádek part of plate (část destičky) vyberte pouze v případě, chcete-li měřit pouze vymezenou část destičky.
Řádek Absorbance (mikrotitrační destička)	Software umožňuje nastavit až 10 řádky pro absorbanční měření s pevnou vlnovou délkou. Referenční vlnovou délku lze nastavit pouze na prvním řádku Absorbance. U řádků Absorbance č. 2–10 není možnost nastavit referenční vlnovou délku k dispozici. Nastavte vhodné parametry měření (vlnovou délku, počet záblesků a dobu ustálení) pro konkrétní aplikaci.

Příklad 3:

Použití řádku **Move Cuvette OUT** (Vysunout kyvetu) při kombinovaném měření destičky a kyvetu.



Cuvette (Kyveta)	Nezbytná pro měření v kyvetě
Řádek Absorbance (kyveta)	Software umožňuje nastavit až 4 řádky pro absorbanční měření s pevnou vlnovou délkou. Referenční vlnovou délku lze nastavit pouze v případě použití řádku pro měření absorbance s pevnou vlnovou délkou. Je-li vybrána referenční vlnová délka, možnost Apply blanking (Použití blankování) je zakázána. Nastavte vhodné parametry měření (vlnovou délku, počet záblesků a dobu ustálení)
Move Cuvette (Out) (Vysunout kyvetu)	Držák kyvetu se vysune .
User Request (Upozornění uživatele)	Upozornění přerušuje měření, a tak obsluze umožní vyjmout kyvetu z přihrádky. Měření pokračuje po potvrzení upozornění.

Move Cuvette (In) (Zasunout kyvetu)	Držák kyvety se zasune do přístroje.
Plate (Destička)	Nezbytná pro měření mikrotitračních destiček. Vyberte vhodný typ destičky pro dané měření.
Part of Plate (Část destičky) (nezobrazeno)	Volitelná možnost. Řádek part of plate (část destičky) vyberte pouze v případě, chcete-li měřit pouze vymezenou část destičky.
Řádek Absorbance (mikrotitrační destička)	<p>Software umožňuje nastavit až 10 řádky pro absorbanční měření s pevnou vlnovou délkou. Referenční vlnovou délku lze nastavit pouze na prvním řádku Absorbance. U řádků Absorbance č. 2–10 není možnost nastavit referenční vlnovou délku k dispozici.</p> <p>Nastavte vhodné parametry měření (vlnovou délku, počet záblesků a dobu ustálení) pro konkrétní aplikaci.</p>
Move plate (Přemístit destičku)	Volitelná možnost. Chcete-li po dokončení měření automaticky vysunout destičku z přístroje, vyberte možnost Move plate OUT (Vysunout destičku).

4.13 Příklady ze softwaru i-control

Příklad 1: Analýza Dual-Luciferase® (společnost Promega Corp.)

Informace o analýze najdete na adrese www.promega.com.










	▶ Plate	
	Well	
	▶ Injection	Injector A, Volume: 100, Speed: 200
	▶ Wait (Timer)	Wait: 00:00:02 (hh:mm:ss)
	▶ Luminescence (Ratio)	Attenuation: NONE
	▶ Injection	Injector B, Volume: 100, Speed: 200
	▶ Wait (Timer)	Wait: 00:00:02 (hh:mm:ss)
	▶ Luminescence (Ratio)	Attenuation: NONE
	▶ Move Plate	Move plate out

Plate (Destička)	Vyberte vhodný typ destičky. K luminiscenčnímu měření doporučujeme používat bílé mikrotitrační destičky. V tomto příkladu je použita bílá, 96jamková mikrotitrační destička.
Part of plate (Část destičky)	(Nezobrazeno); lze aktivovat, chcete-li zpracovat pouze část destičky.
Well (Jamka)	Povinný parametr u měření s nástřikem .
Injection (Nástřik) 1	Injektor A nastříkne 100 µl rychlostí 200 µl/s; režim doplňování: standard (standardní)
Wait (Timer) (Čekání (časovač))	Doba čekání 2 s
Luminescence (1)	Luminiscenční měření s integrační dobou 10 s, nastavení tlumení none (žádné)
Injection (Nástřik) 2	Injektor B nastříkne 100 µl rychlostí 200 µl/s; režim doplňování standard (standardní)
Wait (Timer) (Čekání (časovač))	Doba čekání 2 s
Luminescence (2)	Luminiscenční měření s integrační dobou 10 s, nastavení tlumení none (žádné)
Move plate (Přemístit destičku)	Po dokončení všech jamek se destička vysune z přístroje



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOZAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

Příklad 2: Sada Enliten® ATP Assay System Bioluminescence Detection Kit pro ATP (Promega Corp.)

Informace o analýze najdete na adrese www.promega.com.







	▶ Plate	
	Well	
	▶ Injection	Injector A, Volume: 100, Speed: 100
	▶ Wait (Timer)	Wait: 00:00:02 (hh:mm:ss)
	▶ Luminescence (Ratio)	Attenuation: NONE
	▶ Move Plate	Move plate out

Plate (Destička)	Vyberte vhodný typ destičky. K luminiscenčnímu měření doporučujeme používat bílé mikrotitrační destičky. V tomto příkladu je použita bílá, 96jamková mikrotitrační destička.
Part of plate (Část destičky)	(Nezobrazeno); lze aktivovat, chcete-li zpracovat pouze část destičky
Well (Jamka)	Povinný parametr u měření s nástřikem .
Injection (Nástřik)	Injektor A nastříkne 100 µl rychlostí 100 µl/s; režim doplňování: standard (standardní)
Wait (Timer) (Čekání (časovač))	Doba čekání 2 s
Luminescence	Luminiscenční měření s integrační dobou 10 s, nastavení tlumení none (žádné)
Move plate (Přemístit destičku)	Po dokončení všech jamek se destička vysune z přístroje.



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOZAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

Příklad 3: Měření Ca²⁺ senzitivních sond – Fura-2









 ▼ Plate	1
Plate definition: [GRE96fb] - Greiner 96 Flat Black	<input type="button" value="Details..."/>
<input type="checkbox"/> Plate with cover	Use a part of the plate
 Well	2
 ▶ Kinetic Cycle	20 cycles
 ▶ Kinetic Condition	Handling for cycle 5
 ▶ Injection	Injector A, Volume: 20, Speed: 200
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio)	Excitation wavelength: 380 nm, Emission wavelength: 510 nm
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio)	Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 510 nm
 ▶ Move Plate	Move plate out

Plate (Destička)	Vyberte vhodný typ destičky. K fluorescenčnímu měření doporučujeme používat černé mikrotitrační destičky. V tomto příkladu je použita černá, 96jamková mikrotitrační destička.
Part of plate (Část destičky)	(Nezobrazeno), aktivovat, chcete-li zpracovat pouze část destičky
Well (Jamka)	Povinný parametr u měření s nástřikem .
Kinetic Cycle (Kinetický cyklus)	Vyberte požadovaný počet cyklů
Kinetic condition (Kinetická podmínka)	Tento řádek umožňuje provedení akce jednou za kinetické měření v určitém cyklu. Řádek nástřiku pod tímto řádkem se ve zvoleném cyklu zpracovává pouze jednou.
Injection (Nástřik)	Injektor A provede nástřik 20 µl rychlostí 200 µl/s, režim doplňování: nelze nastavit; nástřik se provádí v 5. cyklu (nastaveno řádkem Kinetic condition (Kinetická podmínka))
Fluorescence Intensity (Fluorescenční intenzita) (1)	Vyberte vhodné parametry pro první značku: Excitační vlnová délka: 380 nm, Emisní vlnová délka: 510 nm; Počet záblesků: 25; Integrovaná doba: 40; Výtěžek: manuálně
Fluorescence Intensity (Fluorescenční intenzita) (2)	Vyberte vhodné parametry pro druhou značku: Excitační vlnová délka: 340 nm, Emisní vlnová délka: 510 nm; Počet záblesků: 25; Integrovaná doba: 40; Výtěžek: manuálně
Move plate (Přemístit destičku)	Po dokončení všech jamek se destička vysune z přístroje

Příklad 4: Měření Ca²⁺ senzitivních sond – Indo-1









 ▶ Plate	1	
 Well	2	
 ▶ Kinetic Cycle	20 cycles	3
 ▶ Kinetic Condition	Handling for cycle 5	4
 ▶ Injection	Injector A, Volume: 20, Speed: 200	5
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio)	Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 410 nm	6
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio)	Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 480 nm	7
 ▶ Move Plate	Move plate out	8

Plate (Destička)	Vyberte vhodný typ destičky. K fluorescenčnímu měření doporučujeme používat černé mikrotitrační destičky. V tomto příkladu je použita černá, 96jamková mikrotitrační destička.
Part of plate (Část destičky)	(Nezobrazeno); lze aktivovat, chcete-li zpracovat pouze část destičky
Well (Jamka)	Povinný parametr u měření s nástřikem .
Kinetic Cycle (Kinetický cyklus)	Vyberte požadovaný počet cyklů
Kinetic condition (Kinetická podmínka)	Tento řádek umožňuje provedení akce jednou za kinetické měření v určitém cyklu. Řádek nástřiku pod tímto řádkem se ve zvoleném cyklu zpracovává pouze jednou.
Injection (Nástřik)	Injektor A provede nástřik 20 µl rychlostí 200 µl/s, režim doplňování: nelze nastavit; nástřik se provádí v 5. cyklu (nastaveno řádkem Kinetic condition (Kinetická podmínka))
Fluorescence Intensity (Fluorescenční intenzita) (1)	Vyberte vhodné parametry pro první značku: Excitační vlnová délka: 340 nm, Emisní vlnová délka: 410 nm; Počet záblesků: 25; Integrační doba: 40; Výtěžek: manuálně
Fluorescence Intensity (Fluorescenční intenzita) (2)	Vyberte vhodné parametry pro druhou značku: Excitační vlnová délka: 340 nm, Emisní vlnová délka: 480 nm; Počet záblesků: 25; Integrační doba: 40; Výtěžek: manuálně
Move plate (Přemístit destičku)	Po dokončení všech jamek se destička vysune z přístroje.

4.14 Dokončení relace měření

4.14.1 Odpojení přístroje

Při odpojení přístroje dojde k přerušení komunikace mezi přístrojem a počítačem.



Upozornění
Před odpojením přístroje od počítače vyjměte z přístroje mikrotitrační destičku a/nebo kyvetu.

4.14.2 Vypnutí přístroje

Při vypnutí přístroj okamžitě ukončí činnost. V obvyklých případech přístroj nejprve odpojte od počítače a poté jej vypněte. Ve vzácných případech neočekávané mechanické chyby lze okamžitým vypnutím přístroje předejít jeho případnému poškození.

5. Vlastnosti a funkce přístroje

5.1 Úvod



Upozornění

Výrobce si vyhrazuje právo změnit veškeré uvedené specifikace bez předchozího upozornění.

Níže uvedené typy měření jsou k dispozici u plně vybavené čtečky Infinite:

Typ měření	Popis
Fluorescenční intenzita, horní/spodní	Viz kapitolu 5.3 Fluorescenční intenzita a časově rozlišená fluorescence (TRF)
Fluorescence, časově rozlišená	Viz kapitolu 5.3 Fluorescenční intenzita a časově rozlišená fluorescence (TRF)
Fluorescenční polarizace	Viz kapitolu 5.4 Fluorescenční polarizace (FP) – jen provedení Infinite F Plex
Absorbance	Viz kapitolu 5.5 Absorbance
Luminiscence typu „glow“	Viz kapitolu 5.6 Luminiscence typu „glow“,
Dvojbarevná luminiscence	Viz kapitolu 5.8 Dvojbarevná luminiscence (např. BRET)
Záblesková luminiscence	Viz kapitolu 5.7 Záblesková luminiscence

Výše uvedené typy měření dokáží zpracovat všechny standardní mikrotitrační destičky, 6–384 jamek, které vyhovují níže uvedeným normám:

- ANSI/SBS 1-2004;
- ANSI/SBS 2-2004;
- ANSI/SBS 3-2004;
- ANSI/SBS 4-2004.

Přístroj umožňuje provádět kinetická měření.

Čtení lze omezit jen na určitou část destičky.

5.2 Technické údaje přístroje

Následující tabulka obsahuje seznam technických specifikací přístroje:

Parametry	Vlastnosti
Všeobecné specifikace	
Měření	Řízené softwarem
Rozhraní	USB
Manipulace s filtry:	
Provedení Infinite F	Externí výměna filtrů
Provedení Infinite M	Výběr vlnové délky monochromátorem – nevyžaduje použití filtrů
Měřitelné destičky	6jamkové až 384jamkové destičky (Standardní formáty SBS)
Definice destičky	Prostřednictvím čtecího softwaru
Regulace teploty	Od 5 °C nad teplotou okolí do 42 °C
Třepání destiček	Lineární a orbitální třepání, nastavitelná amplituda v rozmezí 1–6 mm v krocích po 0,5 mm
Zdroj světla	Vysokoenergetická xenonová výbojka, životnost: 10 ⁸ záblesků
Optika	Čočky z křemenného skla
Detektory:	
Fluorescence	Spektrálně zesílený fotonásobič: fotonásobič citlivý na červené spektrum
Luminiscence	Fotonásobič s nízkou úrovní temných detekcí Elektronika pro počítání fotonů
Absorbance	Křemíková fotodioda
Napájecí napětí	Automatické rozpoznávání: 100–120 V / 220–240 V, 50–60 Hz
Spotřeba elektrické energie	150 VA

Parametry	Vlastnosti	
Fyzikální vlastnosti		
Vnější rozměry:		
Přístroj bez příslušenství	Šířka: 425 mm Výška: 253 mm Hloubka: 457 mm	16,73 palce 9,96 palce 17,99 palce
Modul čerpadla	Šířka: 250 mm Výška: 155 mm Hloubka: 156 mm	9,84 palce 6,10 palce 6,14 palce
Hmotnost:		
Provedení Infinite F	14,0 kg	
Provedení Infinite M	15,8 kg	
Modul čerpadla	3,4 kg	
Požadavky na prostředí		
Okolní teplota:		
Za provozu	+15 °C až +30 °C	(+59 °F až +86 °F)
Mimo provoz	-20 °C až +60 °C	(-4 °F až +140 °F)
Relativní vlhkost:		
Za provozu	<80 % nekondenzující	
Kategorie přepětí	II	
Způsob využití	Všeobecný laboratorní přístroj	
Hladina hluku	<60 dBA	
Stupeň znečištění	2	
Způsob likvidace	Elektronický odpad (infekční odpad)	

5.3 Fluorescenční intenzita a časově rozlišená fluorescence (TRF)

Parametry	Vlastnosti
Rozsah vlnových délek – provedení Infinite M	Excitace: 230–850 nm Emise: 280–850 nm
	nastavitelná v krocích po 1 nm
Rozsah vlnových délek – provedení Infinite F	Excitace a emise: 230–850 nm
Standardní filtr:	Irelevantní – přístroje jsou vybaveny filtry, které objednal uživatel

Nastavení výtěžku	Hodnoty	Rozsah měření
Manuálně	1–255	0–60 000 RFU
Optimálně	automaticky	0–60 000 RFU
Výpočet z jamky	automaticky	0–60 000 RFU

Parametry časově rozlišené fluorescence (TRF)	Vlastnosti
Integrační doba	10–2 000 μ s
Délka prodlevy	0–2 000 μ s

5.3.1 Vymezení pojmu „mez detekce“

Mezí detekce se rozumí koncentrace fluoroforů, při které se signál po odečtení pozadí rovná trojnásobku směrodatné odchylky šumu na pozadí.

Při nastavení 1 záblesku na jamku se držák destičky v místě měření nezastaví. Použití většího počtu záblesků může zlepšit mez detekce, avšak celé měření bude trvat déle.

5.3.2 Fluorescein (Fluorescenční intenzita), horní měření

Typ destičky (počet jamek)	96
Dávkovaný objem [μ l]	200
Počet záblesků (čtení) na jamku	25
Mez detekce fluoresceinu [pM]	<20 pM
Uniformita u fluoresceinu 25 nM	<3 % CV
Reprodukovatelnost u fluoresceinu 25 nM	<2 %

5.3.3 Fluorescein (Fluorescenční intenzita), spodní měření

Typ destičky (počet jamek)	96
Dávkovaný objem [μ l]	200
Počet záblesků (čtení) na jamku	25
Mez detekce fluoresceinu [pM]	100 pM
Uniformita u fluoresceinu 25 nM	<3 % CV
Reprodukovatelnost u fluoresceinu 25 nM	<2 %

5.3.4 Europium (časově rozlišená fluorescence)

Typ destičky (počet jamek)	96
Dávkovaný objem [μ l]	200
Počet záblesků (čtení) na jamku	25
Mez detekce europa (Provedení Infinite F)	<150 fM
Mez detekce europa (Provedení Infinite M)	<5 pM (typická hodnota)

5.4 Fluorescenční polarizace (FP) – jen provedení Infinite F Plex



Upozornění
Doplňěk fluorescenční polarizace je k dispozici pouze k provedení Infinite F Plex. Tento modul nelze připojit k jiným provedením čtečky Infinite.

Parametry	Vlastnosti	
Rozsah vlnových délek	Excitace: 300–850 nm	
	Emise: 330–850 nm	
Standardní filtr	Konfigurace výchozí kazety na filtry: Exc 485 (20) nm Pozice na kazetě s excitačními filtry: Exc1: 485 (20) – rovnoběžně Exc2: 485 (20) – kolmo Em 535 (25) nm Pozice na kazetě s emisními filtry: Em1: 535 (25) – rovnoběžně Em2: 535 (25) – rovnoběžně	
Nastavení výtěžku	Hodnoty	Rozsah měření
Manuálně	1–255	0–60 000 RFU
Optimálně	automaticky	0–60 000 RFU
Výpočet z jamky	automaticky	0–60 000 RFU
Parametry FP	Vlastnosti	
Integrační doba	20–2 000 μ s	
Délka prodlevy	0–2 000 μ s	
Náhodná chyba FP (pouze provedení Infinite F)	<5 mP při 1 nM fluoresceinu	

5.5 Absorbance

Parametry	Typ přístroje	Vlastnosti
Rozsah vlnových délek	Provedení Infinite F	230–1 000 nm
	Provedení Infinite M	230–1 000 nm nevyžaduje použití filtru, výběr nastavitelný v krocích po 1 nm
Rozsah měření	Oba	0–4 OD

Následující specifikace se vztahují na rozsah vlnových délek 300–700 nm u provedení Infinite.

Typ destičky (počet jamek)	96
Přesnost 0–2 OD	$<\pm (1 \% + 10 \text{ mOD})$
Přesnost 2–3 OD	$<\pm 2,5 \%$
Plochosť průběhu základní čáry	$\pm 10 \text{ mOD (1 sigma)}$
Provedení Infinite M	
Přesnost vlnové délky	$\leq \pm 1,5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm};$ $\leq \pm 0,8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Provedení Infinite F	
Přesnost vlnové délky	Závisí na použitých filtrech

Uvedené specifikace se vztahují na měření s 25 záblesky (čteními) na jamku.

5.6 Luminiscence typu „glow“,



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOSAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

Detekce luminiscence funguje na principu počítání dopadů fotonů.

Parametry	Vlastnosti
Rozsah vlnových délek	380–600 nm
Lineární dynamický rozsah	6 řádů
Integrační doba/jamku	100–20 000 ms
Vzájemné ovlivňování vzorků v % (černá destička)	<0,01 %
Rozsah měření	>6 řádů 8 řádů (rozšířený dynamický rozsah)
Tlumení světla	100 (tlumicí filtr OD2), 1 (bez tlumení)

5.6.1 Luminiscence typu „glow“, ATP

Typ destičky (počet jamek)	96
Celkový dávkovaný objem [μl]	200
Integrační doba/jamku [ms]	1 000
Mez detekce ATP	3 fmol/jamku



POZOR

UVEDENÉ SPECIFIKACE PLATÍ POUZE V PŘÍPADĚ, JESTLIŽE SE PŘÍSTROJ NACHÁZÍ V MÍSTĚ S INTENZITOU OSVĚTLENÍ <500 LUX.

5.7 Záblesková luminiscence



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOSAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

Detekce luminiscence funguje na principu počítání dopadů fotonů.

Parametry	Vlastnosti
Rozsah vlnových délek	380–600 nm
Rozsah měření	>6 řádů 8 řádů (rozšířený dynamický rozsah)
Integrační doba/jamku	100–20 000 ms
Vzájemné ovlivňování vzorků v % (černá destička)	<0,01 %
Tlumení světla	100 (tlumicí filtr OD2), 1 (bez tlumení)
Mez detekce ATP	<80 amol/jamku



POZOR

UVEDENÉ SPECIFIKACE PLATÍ POUZE V PŘÍPADĚ, JESTLIŽE SE PŘÍSTROJ NACHÁZÍ V MÍSTĚ S INTENZITOU OSVĚTLENÍ < 500 LUX.

5.8 Dvojbarevná luminiscence (např. BRET)



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOSAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

Parametry	Vlastnosti
Vestavěná vlnová délka:	Viz kapitolu 2.5.4 Soustava pro měření absorbance (provedení Infinite F)
Integrační doba:	100–20 000 ms. Ke každé vlnové délce lze nastavit různé integrační doby.
Typ destičky:	96jamkové a 384jamkové destičky
Dynamický rozsah	6 dekad

5.9 Okamžitá měření

Okamžitá měření představuje nejrychlejší možné měření, jakého lze u čtečky Infinite dosáhnout. Tato měření se zpracovávají pomocí jediného záblesku (parametr Number of Flashes – Počet záblesků).

Doba měření 96jamkových destiček (FI, TRF, absorbance): <20 s

Doba měření 384jamkových destiček (FI, TRF, absorbance): <30 s

(Součástí doby měření nejsou zasunutí a vysunutí destičky.)

5.10 Funkce měření kyvety (pouze provedení Infinite M)



Upozornění

Doplněk Kyveta je k dispozici pouze k provedení Infinite M. Tento modul nelze připojit k provedení Infinite F.

Doplněk Kyveta umožňuje zpracovávat absorbanční měření v režimech pevné vlnové délky a skenování.

Parametry	Vlastnosti
Rozsah vlnových délek	230–1 000 nm (nevyžaduje použití filtru, výběr nastavitelný v krocích po 1 nm)
Rozsah měření	0–4 OD

5.10.1 Specifikace kyvety

Následující specifikace se vztahují na rozsah vlnových délek 300–700 nm při 25 záblescích.

Kyveta	Hellma 110-QS, 10 mm
Přesnost 0–2 OD	< ± (1 % + 18 mOD)
Přesnost 2–3 OD	< ± 2,5 %
Reprodukovatelnost 0–2 OD	< ± (1 % + 10 mOD)
Reprodukovatelnost 2–3 OD	< ± 2,5 %
Linearita 0–2 OD	$R^2 > 0,998$
Plochost průběhu základní čáry	± 10 mOD (1 sigma)



POZOR

V PŘIHRÁDCE NA KYVETU U PROVEDENÍ AN INFINITE M NELZE POUŽÍVAT KYVETY S MĚŘICÍM OKNEM <2 MM (PRŮMĚR) A STŘEDOVOU VÝŠKOU NIŽŠÍ NEŽ 15 MM.

5.11 Specifikace injektoru

Parametry	Vlastnosti
Přesnost	<10 % při objemu nástřiku 10 µl
	<2 % při objemu nástřiku 100 µl
	<0,7 % při objemu nástřiku 450 µl
Náhodná chyba	<10 % při objemu nástřiku 10 µl
	<2 % při objemu nástřiku 100 µl
	<0,7 % při objemu nástřiku 450 µl

5.11.1 Slučitelnost reagentů s injektorem

Soustava injektoru u provedení Infinite F a Infinite M obsahuje tyto materiály:

- Teflon (PTFE): vedení, kuželka ventilu, těsnění,
- KelF: těleso ventilu,
- SC05: jehly injektoru.

Slučitelnost reagentů je uvedena v následujícím seznamu. Chemické látky třídy **A** jsou se soustavou injektoru plně slučitelné. Chemické látky třídy **D** je zakázáno v soustavě injektoru Infinite používat. Látky této třídy způsobí závažné poškození soustavy injektoru.

Chemické látky stupně A	Chemické látky stupně D
Kyselina octová <60 %	Butylamin
Acetonitril	Chlorid uhličitý (suchý)
Chloroform	Dietyléter
Dimethylformamid	Etanolamin
Etanol	Etyléndiamin
Hexan	Furfal
Metanol (metylalkohol)	Kyselina fluorovodíková
Kyselina sírová, zředěná (koncentrace ≤1 N)	Monoetanolamin
Tetrahydrofuran	Hydroxid draselný (draselný louh)
Voda, deionizovaná	Chlornan draselný
Voda, destilovaná	Hydroxid sodný
Voda, sladká	Chlornan sodný
	Koncentrovaná kyselina sírová



POZOR

INFORMACE UVEDENÉ V TÉTO TABULCE POSKYTLY SPOLEČNOSTI TECAN AUSTRIA DŮVĚRYHODNÉ ZDROJE. TYTO INFORMACE LZE POUŽÍVAT VÝHRADNĚ COBY VODÍTKO PRO VÝBĚR ZAŘÍZENÍ S VHODNOU CHEMICKOU SLUČITELNOSTÍ MATERIÁLŮ. PŘED STÁLOU INSTALACÍ VYZKOUŠEJTE ZAŘÍZENÍ S POUŽITÍM CHEMICKÝCH LÁTEK A ZA PODMÍNEK KONKRÉTNÍ POŽADOVANÉ APLIKACE.



VÝSTRAHA

KOLÍSÁNÍ CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ BĚHEM MANIPULACE V DŮSLEDKU FAKTORŮ, JAKÝMI JSOU NAPŘÍKLAD TEPLOTA, TLAK A KONCENTRACE, MŮŽE ZPŮSOBIT ZÁVADU ZAŘÍZENÍ, NAVZDORY ÚSPĚŠNÉMU PRŮBĚHU PRVOTNÍ ZKOUŠKY. DŮSLEDKEM MŮŽE BÝT I TĚŽKÁ ÚJMA NA ZDRAVÍ OSOB. PŘI MANIPULACI S CHEMICKÝMI LÁTKAMI POUŽÍVEJTE VHODNÉ KRYTY A/NEBO OSOBNÍ OCHRANNÉ PRACOVNÍ POMŮCKY.

5.12 Příslušenství k měření

5.12.1 Doporučené filtry (pouze provedení Infinite F)

O doporučené sadě filtrů se poraďte s místním obchodním zastoupením společnosti Tecan. Filtry určené pro jiný typ přístroje nemusejí nezbytně fungovat správně v přístrojích Infinite F.



Upozornění

Jestliže se excitační a emisní maximum fluorescenční specie nacházejí ve vzájemné blízkosti, neměly by být přímo přenášeny do středových vlnových délek fluorescenčních filtrů.

Zajištění přijatelné úrovně pozadí zpravidla vyžaduje vzájemné oddělení horních mezních vlnových délek excitace a spodních mezních vlnových délek emise. Tento kompromis závisí na stínících vlastnostech filtrů. U mnoha fluorescenčních molekul lze signál zkvalitnit použitím filtru se vzdálenější šířkou pásma od druhé středové vlnové délky.

5.12.2 Doporučené typy mikrotitračních destiček



POZOR

VYVARUJTE SE POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE A ROZLITÍ VZORKU: ZKONTROLUJTE, ZDA TYP MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY, KTERÝ HODLÁTE POUŽÍT K MĚŘENÍ, SOUHLASÍ SE ZVOLENÝM SOUBOREM DEFINICE DESTIČKY (PDFX).

Všeobecně platí, že v aplikacích s vysokou fluorescenční citlivostí se doporučuje používat černé destičky. U nízkých koncentrací TRF značek vykazují lepší vlastnosti bílé destičky. Vhodnost bílých destiček lze zkontrolovat pomocí excitačních vlnových délek v UV spektru.

Nedoporučujeme používat objemy menší, než činí třetina maximálního objemu. Při použití menších objemů zkontrolujte dostupnost vhodného typu destičky.

K zajištění kvalitního výkonu při fluorescenčním měření se spodním čtením se doporučuje používat černé destičky s průhledným dnem.

Přístroj dokáže zpracovat všechny standardní mikrotitrační destičky formátu 6–384 jamek (maximální přípustná výška 23 mm včetně víka), které vyhovují níže uvedeným normám:

- ANSI/SBS 1-2004,
- ANSI/SBS 2-2004;
- ANSI/SBS 3-2004;
- ANSI/SBS 4-2004.

Při instalaci ovládacího softwaru (i-control nebo Magellan) se instalují též předdefinované soubory definice destiček. Příslušná objednávací čísla destiček jsou uvedena v seznamu níže. Mikrotitrační destičky objednávejte u svého místního dodavatele.

Výrobce / název souboru Pdff	Kat. č.		Č. výkresu:
Greiner			
GRE6ft	657 160	657 185	AC-9909
GRE12ft	665 180	665 102	AC-9910
GRE24ft	662 160	662 102	AC-9911
GRE48ft	677 180	677 102	AC-9912
GRE96ft	655 101	655 161	AC-9701
GRE96fb_chimney	655 079 655 086	655 077 655 076	AC-65507x
GRE96fw_chimney	655 073 655 083	655 074 655 075	AC-65507x
GRE96ut	650 101 650 161 650 160	650 180 650 185	AC-6501xx
GRE96vt	651 101 651 161	651 160 651 180	AC-6511xx
GRE384fb	781 079 781 086 781 077	781 076 781 094 781 095	AC-0205
GRE384ft	781 061 781 101 781 162 781 185	781 186 781 165 781 182	AC-0205
GRE384fw	781 073 781 080 781 074	781 075 781 097 781 096	AC-0205
GRE384sb	784 209		AC-8808
GRE384st	784 201		AC-8808
GRE384sw	784 207		AC-8808
GRE96ft_half area	675 161 675 101	675 801	AC-675801
GRE96fw_half area	675 074 675 075	675 094 675 095	AC-675801
GRE96fb_half area	675 077 675 076	675 097 675 096	AC-675801
Corning			
COS6ft	3506	3516	DWG00673
COS12ft	3512	3513	DWG00674
COS24ft	3524 3526	3527	DWG01261

Výrobce / název souboru Pdfx	Kat. č.		Č. výkresu:
COS48ft	3548		DWG00676
COS96fb	3916 3915	3925	DWG00120
COS96ft	3370	3628	DWG00120
COS96fw	3362 3912	3922	DWG00120
COS96rt	3360 3367 3788	3795 3358	DWG01123
COS96ft_half area	3690 3695	3697	DWG00122
COS384fb	3708 3709	3710	DWG00679
COS384ft	3680 3700	3701 3702	DWG00679
COS384fw	3703 3704	3705	DWG00679
COR96fb, čiré dno	3631		DWG00678
COR96fw, čiré dno	3632		DWG00678
COR96fb_half area	3694		DWG00123
COR96fw_half area	3693		DWG00123
COR96fb_half area, čiré dno	3880		DWG01471
COR96fw_half area, čiré dno	3883		DWG01471
COR96fc, UV průsvitná	3635		DWG00678
COR96fc_half area, UV průsvitná	3679		DWG00678
COR384fb, čiré dno	3711		DWG00682
COR384fw, čiré dno	3706		DWG00682
COR384fc, UV průsvitná	3675		DWG01479
Nunclon			
NUN96ft	439 454 442 404 475 094	269 620 269 787	MTP-0001
NUN384ft	242 765 242 757 164 688	464 718 265 196	MTP-0002
NUN384fb	264 556 164 564	460 518	MTP-0002
NUN384fw	264 572	460 372	MTP-0002

Výrobce / název souboru Pdffx	Kat. č.	Č. výkresu:
	164 610	
NUN96ut	143 761 262 162 163 320 475 434 262 170 449 824	MTP-0003
NUN96fb_LumiNunc FluoroNunc	137 101 237 108 137 103 437 111 237 105 437 112 237 107	MTP-0004
NUN96fw_LumiNunc FluoroNunc	136 101 236 108 136 102 436 110 236 105 436 111 236 107	MTP-0004
BD Falcon		
BD24_FluoroBlok	351155 351157 351156 351158	MTP-0005
BD96_FluoroBlok	351161 351163 351162 351164	MTP-0006
Tecan		
TEC96fb: Tecan 96, plochá, černá	30122298	—
TEC384fb: Tecan 384, plochá, černá	30122299	—
TEC96fw: Tecan 96, plochá, bílá	30122300	—
TEC384fw: Tecan 384, plochá, bílá	30122301	—
TEC24ft_cell: Tecan 24 pro buněčné kultury, plochá, průhledná	30122302	—
TEC48ft_cell: Tecan 48 pro buněčné kultury, plochá, průhledná	30122303	—
TEC96ft_cell: Tecan 96 pro buněčné kultury, plochá, průhledná	30122304	—
TEC384ft_cell: Tecan 384 pro buněčné kultury, plochá, průhledná	30122305	—
TEC96fb_cell_clear: Tecan 96 pro buněčné kultury, plochá, čiré dno	30122306	—
TEC384fb_cell_clear: Tecan 384 pro buněčné kultury, plochá, čiré dno	30122307	—

Výrobce / název souboru Pdfx	Kat. č.	Č. výkresu:
NanoQuantPlate	—	MTP-0007
PerkinElmer		
PE96fw_OptiPlate	6005290	http://www.perkinelmer.com/Catalog/Product/ID/6005290
PE96fw_ProxiPlate	6006290	http://www.perkinelmer.com/Catalog/Product/ID/6006290
PE384fg_AlphaPlate	6008350	TechnicalDataSheet_DimensionsOfProxiplate-384Plus
PE384fg_ProxiPlate	6008270	
PE384fw_ProxiPlate	6008280	
PE384fw_OptiPlate	6008290	TechnicalDrawing2: Rozměry se vztahují na 384jamkové destičky OptiPlate

Tabulka 1: Soubory definice destičky a příslušná katalogová čísla

5.12.3 Detekce luminiscence



POZOR

PŘÍSTROJ ZAPÍNEJTE NEJMÉNĚ 15 MINUT PŘED ZAHÁJENÍM LUMINISCENČNÍHO MĚŘENÍ. DOSAŽENÍ STABILNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ VYŽADUJE ZAHŘÁTÍ NĚKTERÝCH SOUČÁSTÍ PŘÍSTROJE.

Detekční systém luminiscence ve čtečce Infinite využívá měřicí techniku počítání jednotlivých fotonů. Tato technika je založena na samostatném luminiscenčním fotonásobiči s vhodnou soustavou měřicích obvodů. Tato technika se vyznačuje vysokou odolností vůči šumům. Upřednostňuje se při měření velmi nízké intenzity světla.

K dosažení maximálního výkonu se v případě luminiscenčních měření doporučuje používat bílé destičky. Podrobnosti jsou uvedeny v kapitole 4.9 Optimalizace luminiscenčních měření.



Upozornění

Výsledky luminiscenčních měření se vždy zobrazují v počtu dopadů za sekundu (cps).



POZOR

PŘÍSTROJ MUSÍ BÝT UMÍSTĚN MIMO PŘÍMÉ SLUNEČNÍ ZÁŘENÍ. OSVĚTLENÍ S INTENZITOU >500 LUX MŮŽE NEGATIVNĚ OVLIVNIT MĚŘENÍ LUMINISCENCE.

6. Kontrola jakosti

6.1 Pravidelné zkoušky kontroly jakosti

V závislosti na aplikaci a způsobu využití přístroje doporučujeme provádět jeho pravidelnou kontrolu přístroje v místě použití odborníkem společnosti Tecan Austria.

Zkoušky uvedené v následujících kapitolách, nenahrazují celkové posouzení výrobcem nebo jeho autorizovanými distributory. Tyto zkoušky však může pravidelně vykonávat uživatel coby kontrolu významných aspektů výkonu přístroje.

Výsledky zkoušek mohou být značně ovlivněny chybami při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto pečlivě dodržujte všechny pokyny. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek na základě intenzity využití přístroje.

Tyto zkoušky a akceptační kritéria doporučujeme přizpůsobit vlastnostem primární aplikace laboratoře. V ideálním případě by tyto zkoušky měly být vykonávány s využitím vlastních laboratorních destiček, fluoroforu, pufrů, objemů a všech vhodných nastavení (filtry, záblesky, délka prodlev atd.).



POZOR

PŘED ZAHÁJENÍM MĚŘENÍ ZKONTROLUJTE, ZDA JE MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA VLOŽENA POZICÍ A1 SPRÁVNÝM SMĚREM. JAMKA A1 SE MUSÍ NACHÁZET V LEVÉM HORNÍM ROHU DRŽÁKU.



POZOR

TATO KAPITOLA OBSAHUJE POKYNY KE KONTROLE SPECIFIKACÍ PŘÍSTROJE. JESTLIŽE SE VÝSLEDKY TĚCHTO KONTROLNÍCH ZKOUŠEK ODCHYLJÍ OD TECHNICKÝCH SPECIFIKACÍ PŘÍSTROJE, OBRAŤTE SE NA MÍSTNÍ SERVISNÍ ZASTOUPENÍ.

6.2 Specifikace – kritéria „Vyhovuje/Nevyhovuje“



Upozornění
Výrobce si vyhrazuje právo změnit veškeré uvedené specifikace bez předchozího upozornění.

Níže uvedená tabulka obsahuje přehled kritérií „Vyhovuje/Nevyhovuje“ ke specifikačním zkouškám čtečky Infinite.

Specifikace	Kritéria „Vyhovuje/Nevyhovuje“
Citlivost fluorescence, horní měření	<20 pM fluoresceinu
Stejnorodost fluorescence, horní měření	<3 % CV
Náhodná chyba fluorescence, horní měření	<2 % CV
Citlivost fluorescence, spodní měření	100 pM
Stejnorodost fluorescence, spodní měření	<3 % CV
Náhodná chyba fluorescence, spodní měření	<2 % CV
Citlivost časově rozlišené fluorescence (pouze provedení Infinite F)	<150 fM (s dichroickým zrcadlem 510) <3 pM (s 50% zrcadlem)
Náhodná chyba časově rozlišené fluorescence (pouze provedení Infinite F)	<2 % CV
Náhodná chyba FP (pouze provedení Infinite F)	<5 mP
Citlivost luminiscence typu „glow“	<3 fmol/jamku
Citlivost zábleskové luminiscence	<80 amol/jamku
Přesnost absorbance	0–2 OD: $\leq \pm 1 \% + 10 \text{ mOD}$ 2–3 OD: $\leq \pm 2,5 \%$
Absorbance, plochost průběhu základní čáry (1 sigma)	$< \pm 10 \text{ mOD}$
Absorbance, přesnost vlnové délky	$\leq \pm 1,5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm};$ $\leq \pm 0,8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Specifikace měření v kyvetě (pouze provedení Infinite M)	Kritéria „Vyhovuje/Nevyhovuje“
Přesnost absorbance	0–2 OD: $\leq \pm 1 \% + 10 \text{ mOD}$ 2–3 OD: $\leq \pm 2,5 \%$
Absorbance, plochost průběhu základní čáry (1 sigma)	$< \pm 10 \text{ mOD}$

6.3 Specifikace – pokyny ke zkouškám

6.3.1 Horní měření fluorescence

U čtečky Infinite s doplňkem pro **horní měření fluorescence** lze k ověření specifikací provést následující zkoušky:

- Citlivost
- Stejnorodost
- Náhodná chyba

Tyto zkušební pokyny se vztahují na čtečku Infinite:

- Provedení Infinite F
- Provedení Infinite M
- Spektrálně zesílená verze

Citlivost

Pro stanovení detekčního limitu fluoresceinu proveďte následující měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Horní měření fluorescence
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 485 (20) nm Provedení Infinite M: 485 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 535 (25) nm Provedení Infinite M: 535 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb

Rozložení destičky:

Pipetujte 200 µl 1nM fluoresceinu nebo roztoku blanku (0,01 NaOH) do příslušných jamek v souladu s rozložením destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Materiály/reagenty:

- 1 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)
- 0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)
- 1 černá destička Greiner, 96 jamek
- Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet meze detekce (citlivost):

$$\text{Detection Limit} = \frac{\text{Concentration}_F}{(\text{mean}_F - \text{mean}_B)} * 3 * \text{Stdev}_B$$

Concentration _F	Koncentrace fluoroforu v jednotkách pM
mean _F	Průměrná hodnota RFU v jamkách naplněných fluoroforem
mean _B	Průměrná hodnota RFU v jamkách naplněných blankem
stdev _B	Směrodatná odchylka hodnot RFU v jamkách naplněných blankem

Výsledek vzorce **mez detekce** stanoví citlivost v jednotkách pM.

Stejnorodost

Stejnorodost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Horní měření fluorescence
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 485 (20) nm Provedení Infinite M: 485 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 535 (25) nm Provedení Infinite M: 535 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb

Rozložení destičky:

Pipetujte 200 µl 1 nM fluoresceinu nebo roztoku blanku (0,01 NaOH) do příslušných jamek v souladu s rozložením destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Materiály/reagenty:

1 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)

0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)

1 černá destička Greiner, 96 jamek

Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet stejnorodosti:

$$\text{Uniformity (\%)} = \frac{\text{stdev}_F * 100}{\text{mean}_F}$$

střed _F	Průměrná hodnota RFU v jamkách naplněných fluoroforem
stdev _F	Směrodatná odchylka hodnot RFU v jamkách naplněných fluoroforem

Výsledek vzorce stanoví stejnorodost měření v % CV.

Náhodná chyba

Náhodnou chybu / reprodukovatelnost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Horní měření fluorescence
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 485 (20) nm Provedení Infinite M: 485 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 535 (25) nm Provedení Infinite M: 535 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb
Část destičky	A1
Kinetické měření	20 cyklů
Délka intervalu	Minimální

Rozložení destičky:

Pipetujte 200 μ l 1 nM fluoresceinu nebo roztoku blanku (0,01 NaOH) do příslušných jamek v souladu s rozložením destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Materiály/reagenty:

1 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)
 0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)
 1 96jamková destička Greiner, černá
 Pipeta s objemem 200 μ l + špičky

Výpočet náhodné chyby:

$$\text{Precision (CV\%)} = \frac{\text{stdev}_{\text{wellA1}} * 100}{\text{mean}_{\text{wellA1}}}$$

$\text{mean}_{\text{wellA1}}$	Průměrná hodnota RFU v jamce A1 z 20 kinetických měření
$\text{Stdev}_{\text{wellA1}}$	Směrodatná odchylka hodnot RFU v jamce A1 z 20 kinetických měření

Výsledek vzorce stanoví náhodnou chybu měření v % CV.

6.3.2 Fluorescence, spodní měření

U čtečky Infinite s doplňkem pro **spodní měření fluorescence** lze k ověření specifikací provést následující zkoušky:

- Citlivost
- Stejnorodost
- Náhodná chyba / opakovatelnost

Tyto zkušební pokyny se vztahují na čtečku Infinite:

- Provedení Infinite F
- Provedení Infinite M
- Spektrálně zesílená verze

Citlivost

Pro stanovení detekčního limitu fluoresceinu proveďte následující měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Fluorescence, spodní měření
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 485 (20) nm Provedení Infinite M: 485 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 535 (25) nm Provedení Infinite M: 535 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb

Rozložení destičky

Pipetujte 200 μ l 25nM fluoresceinu nebo roztoku blanku (0,01 NaOH) do příslušných jamek v souladu s rozložením destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Materiály/reagenty:

25 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)
 0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)
 1 96jamková destička Greiner μ Clear, černá s průhledným dnem
 Pipeta s objemem 200 μ l + špičky

Výpočet meze detekce (citlivost):

Viz kapitolu 6.3.1 Horní měření fluorescence: Citlivost.

Stejnorodost

Stejnorodost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Fluorescence, spodní měření
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 485 (20) nm Provedení Infinite M: 485 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 535 (25) nm Provedení Infinite M: 535 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb

Rozložení destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Plnicí objem: 200 µl

Materiály/reagenty:

25 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)
 0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)
 1 96jamková destička Greiner µClear, černá s průhledným dnem
 Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet stejnorodosti:

Viz kapitolu 6.3.1 Horní měření fluorescence: Stejnorodost.

Náhodná chyba

Náhodnou chybu / reprodukovatelnost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Fluorescence, spodní měření
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 485 (20) nm Provedení Infinite M: 485 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 535 (25) nm Provedení Infinite M: 535 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb
Část destičky	A1
Kinetické měření	20 cyklů
Délka intervalu	Minimální

Rozložení destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank	Fluorescein 25 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Plnicí objem: 200 µl

Materiály/reagenty:

25 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)

0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)

1 96jamková destička Greiner µClear, černá s průhledným dnem

Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet náhodné chyby:

Viz kapitolu 6.3.1 Horní měření fluorescence: Náhodná chyba.

6.3.3 časově rozlišená fluorescence,U čtečky Infinite s doplňkem pro **horní měření fluorescence** lze k ověření specifikací provést následující zkoušky:

- Citlivost
- Náhodná chyba / opakovatelnost

Tyto zkušební pokyny se vztahují na čtečku v provedení Infinite F.

Citlivost

Citlivost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Horní měření fluorescence
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 340 (35) nm Provedení Infinite M: 340 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 612 (10) nm Provedení Infinite M: 617 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	400
Délka prodlevy	100
Doba ustálení	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fw

Rozložení destičky:

Pipetujte 200 µl 1nM roztoku europia nebo roztoku blanku (zesilující roztok) do příslušných jamek v souladu s rozložením destičky:

<>	1	2	3	4	5	...
A	Europium 1 nM	Blank	Blank	Blank	Blank	
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

Materiály/reagenty:

Europium 1 nM (B119-100, HVD Live Sciences)
Zesilující roztok (= blank) (1244-105, HVD Live Sciences)
1 bílá destička Greiner, 96 jamek
Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet meze detekce (citlivost):

Viz kapitolu 6.3.1 Horní měření fluorescence: Citlivost.

Náhodná chyba

Náhodnou chybu / reprodukovatelnost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Horní měření fluorescence
Ex vlnová délka	Provedení Infinite F: 340 (35) nm Provedení Infinite M: 340 nm
Em vlnová délka	Provedení Infinite F: 612 (10) nm Provedení Infinite M: 617 nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	400
Délka prodlevy	100
Prodleva mezi pohybem a zábleskem	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fw
Part of plate (Část destičky)	A1
Kinetické měření	20 cyklů
Délka intervalu	Minimální

Rozložení destičky:

Viz kapitolu 6.3.3 časově rozlišená fluorescence, Náhodná chyba.

Výpočet náhodné chyby:

Viz kapitolu 6.3.1 Horní měření fluorescence: Náhodná chyba.

6.3.4 Fluorescenční polarizace (pouze provedení Infinite F Plex)

U čtečky Infinite F Plex s doplňkem pro **fluorescenční polarizaci** lze k ověření specifikací provést následující zkoušky:

- Náhodná chyba / opakovatelnost

Tyto zkušební pokyny se vztahují pouze na čtečku v provedení Infinite F Plex:

- Spektrálně zesílená verze

Náhodná chyba

Náhodnou chybu lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Fluorescenční polarizace
Ex vlnová délka	485 (20) nm
Em vlnová délka	535 (25) nm
Počet záblesků	25
Integrační doba	40
Délka prodlevy	0
Prodleva mezi pohybem a čtením	0
Výtěžek	Optimálně
Typ destičky	GRE96fb
Reference od/do	A1–D1
Referenční blank od/do	A2–D2
Referenční hodnota	20 mP
Měřený blank od/do	shodný jako referenční blank

Rozložení destičky:

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank	Fluorescein 1 nM	Blank
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Plnicí objem: 200 µl/jamku

Materiály/reagenty:

- 1 nM fluoresceinu (v 0,01 M NaOH) (sodná sůl fluoresceinu, Sigma F6377)
- 0,01 M NaOH (= blank) (granulát NaOH, obj. číslo společnosti Merck 6495 nebo Sigma S8045)
- 1 černá destička Greiner, 96 jamek, ploché dno
- Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet náhodné chyby:

Náhodná chyba se vypočítává z jamek naplněných fluoresceinem. Náhodná chyba je vyjádřena jako jednonásobek směrodatné odchylky hodnot mP v jamkách s fluoresceinem.

6.3.5 Luminiscence typu „glow“

U čtečky Infinite s doplňkem pro měření fluorescence lze k ověření specifikací citlivosti provést následující zkoušky:

Citlivost

Citlivost lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Luminiscence
Integrační doba	1 000 ms
Doba ustálení	0
Typ destičky	GRE96fw
Část destičky	A1–D10

Rozložení destičky:

Pipetujte 200 µl ATP reagentů do příslušných jamek v souladu s rozložením destičky:

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

ATP	2*10 ⁻⁸ M ATP (konečná koncentrace v jamce)
B	Blank (ATP reagent: Tris-EDTA=1:5)
Bx	Blank (jamky použité k výpočtu vzájemného ovlivňování)

Materiály/reagenty:

Sada BioThema ATP Kit (ATP-Kit SL 144-041, BioThema AB)

1 bílá destička Greiner, 96 jamek

Pipeta s objemem 200 µl + špičky

Výpočet citlivosti (mez detekce):

$$\text{Detection Limit (fmol / well)} = \frac{2 \cdot 10^{-8} \cdot 3 \cdot \text{Stdev}_B \cdot 0.0002 \cdot \frac{1}{1e^{-15}}}{\text{mean}_{ATP} - \text{mean}_B}$$

$2 \cdot 10^{-8}$	Koncentrace ATP standardu [M]
Stdev _B	Směrodatná odchylka blanku
mean _{ATP}	Průměrná hodnota jamek naplněných ATP standardem
mean _B	Průměr jamek s blankem
0,0002	Konverze na mol/jamku
$1/1e^{-15}$	Konverze na fmol/jamku

Výsledek vzorce stanoví mez detekce ve fmol/jamku.

6.3.6 Přesnost absorbance

Použijte destičku MultiCheck – podrobné informace jsou uvedeny v návodu k použití destičky MultiCheck.

6.3.7 Absorbance, přesnost vlnové délky

Přesnost vlnové délky určuje odchylku vlnových délek nastavených u měření od nominální vlnové délky. Tato zkouška se vztahuje pouze na čtečku v provedení Infinite M.

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Absorbanční skenování
Vlnová délka měření od/do	300–850 nm
Velikost kroku	1 nm
Počet záblesků	25
Doba ustálení	0
Typ destičky	Destička MultiCheck

Materiály/reagenty:

Destička MultiCheck

Výpočet přesnosti vlnové délky:

Nahlédněte do technických informací v návodu k použití destičky MultiCheck.

$$\text{Wavelength Accuracy} = \text{Max}_t - \text{Max}_m$$

Max _t	teoretické maximum
Max _m	naměřené maximum

6.3.8 Absorbance, plochost průběhu základní čáry (pouze provedení Infinite M)

Plochost průběhu základní čáry lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	absorbance,
Vlnová délka měření od/do	300–700 nm
Počet záblesků	25
Doba ustálení	0
Typ destičky	GRE96ft
Část destičky	A1

Rozložení destičky:

Měření nevyžaduje použití destičky – držák destiček musí být před zahájením měření prázdný.

Materiály/reagenty:

Tato zkouška nevyžaduje použití dalších materiálů a reagentů.

Výpočet plochosti průběhu základní čáry:

Vypočítejte směrodatnou odchylku.

6.3.9 Absorbance, plochost průběhu základní čáry (pouze provedení Infinite F)

Plochost průběhu základní čáry při použití příslušného filtru lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Absorbance
Vlnová délka měření	340 nm 405 nm 492 nm 590 nm 620 nm 700 nm
Počet záblesků	25
Doba ustálení	0
Typ destičky	GRE96ft
Část destičky	A1
Počet kinetických cyklů	20, Minimální délka intervalu

Rozložení destičky:

Měření nevyžaduje použití destičky – držák destiček musí být před zahájením měření prázdný.

Materiály/reagenty:

Tato zkouška nevyžaduje použití dalších materiálů a reagentů.

Výpočet plochosti průběhu základní čáry:

U každé vlnové délky vypočítejte směrodatnou odchylku z 20 cyklů.

6.3.10 Absorbance, měření v kyvetě (pouze provedení Infinite M)

U čtečky v provedení Infinite M s doplňkem pro **měření v kyvetě** lze k ověření specifikací přesnosti provést následující zkoušku:

Přesnost

Přesnost absorbance lze stanovit pomocí následujícího měření:

Parametry měření:

Parametr:	Nastavení
Režim čtení	Absorbance
Vlnová délka měření	1) 440 nm 2) 635 nm
Počet záblesků	25
Prodleva mezi pohybem a čtením	0
Typ kyvety	Kalibrovaná kyveta, např. Starna RM-N1N35N + kyveta D3

Materiál:

Referenční materiál Starna® RM-N1N35N + kyveta D3
(další informace naleznete na adrese www.starna.co.uk)

Výpočet přesnosti:

Vypočítejte odchylku naměřené hodnoty od referenční hodnoty dodané společně s kalibrovanou kyvetou.

7. Čištění a údržba

7.1 Úvod



POZOR

PŘED PŘÍPRAVOU PŘÍSTROJE K ODESLÁNÍ ZKONTROLUJTE, ZDA SE V PŘÍSTROJI NENACHÁZÍ MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA. PONECHÁTE-LI V PŘÍSTROJI DESTIČKU, MŮŽE DOJÍT K POTŘÍSNĚNÍ OPTICKÝCH SOUČÁSTÍ FLUORESCENČNÍM ROZTOKEM A NÁSLEDNÉMU POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE.

Čištění a údržba přístroje jsou důležité z hlediska prodloužení jeho životnosti i z hlediska snížení četnosti servisu.

Tato kapitola obsahuje postupy pro následující situace:

- rozliti kapalin,
- dezinfekce přístroje,
- potvrzení o dezinfekci,
- likvidace přístroje a materiálů.



VÝSTRAHA

VEŠKERÉ ČÁSTI PŘÍSTROJE, KTERÉ PŘICHÁZEJÍ DO STYKU S POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍM MATERIÁLEM, JE TŘEBA POVAŽOVAT ZA POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍ MÍSTA.

K PREVENCI KONTAMINACE POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍM ONEMOCNĚNÍM PROTO PŘI ČIŠTĚNÍ I SEŘIZOVÁNÍ PŘÍSTROJE DODRŽUJTE VHODNÁ BEZPEČNOSTÍ PREVENTIVNÍ OPATŘENÍ (VČETNĚ POUŽÍVÁNÍ OCHRANNÝCH RUKAVIC BEZ PUDRU, OCHRANNÝCH BRÝLÍ A OCHRANNÉHO ODĚVU).

7.2 Úniky kapalin

1. Vypněte přístroj.
2. Uniklou nebo rozlitou kapalinu ihned odstraňte pomocí absorpčního materiálu.
3. Kontaminovaný materiál vhodně zlikvidujte.
4. Očistěte povrch přístroje pomocí šetrného rozpouštědla.
5. V případě úniku biologicky nebezpečného materiálu použijte k čištění přípravek B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27, 70806 Kornwestheim, SRN).
6. Všechny očištěné plochy otřete dosucha.



VÝSTRAHA

PŘED VYSOUŠENÍM UNIKLÉ KAPALINY PŘÍSTROJ VŽDY VYPNĚTE. VEŠKERÉ ÚNIKY JE TŘEBA POVAŽOVAT ZA POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍ. K PREVENCI KONTAMINACE POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍM ONEMOCNĚNÍM PROTO VŽDY DODRŽUJTE PŘÍSLUŠNÁ PREVENTIVNÍ BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ (VČETNĚ POUŽÍVÁNÍ OCHRANNÝCH RUKAVIC BEZ PUDRU, OCHRANNÝCH BRÝLÍ A OCHRANNÉHO ODĚVU).

ZA INFEKČNÍ JE TŘEBA POVAŽOVAT I VEŠKERÝ ODPAD Z ČIŠTĚNÍ PŘÍSTROJE. ODPAD Z ČIŠTĚNÍ PŘÍSTROJE PROTO LIKVIDUJTE V SOULADU S POKYNY UVEDENÝMI V KAPITOLE 7.4.4 LIKVIDACE. KAŽDÝ ÚNIK KAPALINY UVNITŘ PŘÍSTROJE VYŽADUJE ZÁSAH SERVISNÍHO TECHNIKA.



VÝSTRAHA

PŘED PŘÍPRAVOU PŘÍSTROJE K ODESLÁNÍ ZKONTROLUJTE, ZDA SE V PŘÍSTROJI NENACHÁZÍ MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA. PONECHÁTE-LI V PŘÍSTROJI DESTIČKU, MŮŽE DOJÍT K POTŘÍSNĚNÍ OPTICKÝCH SOUČÁSTÍ FLUORESCENČNÍM ROZTOKEM A NÁSLEDNÉMU POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE.

7.3 Čištění a údržba injektoru

Nároky na údržbu se mohou lišit v závislosti na konkrétní aplikaci. K dosažení optimálního výkonu a maximální životnosti soustavy injektoru se doporučuje vykonávat níže uvedené postupy.



POZOR

CHCETE-LI PŘEDEJÍT SMĚŠOVÁNÍ REAGENTŮ A ZKŘÍŽENÉ KONTAMINACI, DŮKLADNĚ CELOU SOUSTAVU INJEKTORU MEZI RŮZNÝMI APLIKACEMI, KTERÉ INJEKTOR VYUŽÍVAJÍ, PROPLÁCHŇETE.

7.3.1 Každodenní údržba

Neuvádí-li výrobce používané soupravy jinak, níže uvedené úkony je třeba vykonávat alespoň jednou denně:

- Zkontrolujte těsnost čerpadla (čerpadel) a vedení.
- Po každém použití, a jestliže nepoužíváte čerpadlo, propláchněte důkladně celou soustavu destilovanou nebo deionizovanou vodou. V opačném případě budou reagenty v soustavě tvořit krystaly. Krystaly mohou poškodit těsnění stříkačky a kuželku ventilu, a tak způsobit netěsnost soustavy.



POZOR

NEDOVOLTE CHOD ČERPADLA (ČERPDEL) NASUCHO PO VÍCE NEŽ NĚKOLIK MÁLO CYKLŮ.

7.3.2 Týdenní/pravidelná údržba

Soustava injektoru (vedení, stříkačky a jehly) vyžadují týdenní údržbu, jejímž cílem je odstranit sraženiny a vyloučit množení bakterií:

Při čištění soustavy čerpadla/injektoru 70% roztokem EtOH (etanol) postupujte takto:

1. Dle aplikace nejprve důkladně vypláchněte soustavu pufrem nebo destilovanou vodou. Teprve poté přikročte k propláchnutí 70% roztokem EtOH.
2. Zaplňte čerpadlo 70% roztokem EtOH. Stříkačky musejí být po dobu 30 minut zcela spuštěné.
3. Po uplynutí 30 minut odčerpejte ze stříkačky a vedení veškerou kapalinu do odpadní nádoby.
4. Propláchněte soustavu čerpadla/injektoru 70% roztokem EtOH.
5. Propláchněte soustavu čerpadla/injektoru destilovanou nebo deionizovanou vodou.
6. Zaplňte soustavu čerpadla/injektoru destilovanou vodou. Při uskladnění soustavy ponechejte kapalinovou soustavu napuštěnou.
7. Očistěte konce jehel injektoru bavlněným smotkem namočeným v 70% roztoku etanolu nebo isopropanolu.



VÝSTRAHA
NEBEZPEČÍ POŽÁRU A EXPLOZE!
ETANOL JE HOŘLAVÝ A PŘI NEVHODNÉ MANIPULACI MŮŽE
ZPŮSOBIT EXPLOZÍ. JE TŘEBA DODRŽOVAT ŘÁDNÁ LABORATORNÍ
BEZPEČNOSTÍ OPATŘENÍ.

7.4 Dezinfekce přístroje

Veškeré části přístroje, které přicházejí do styku se vzorky odebranými pacientům, pozitivními kontrolními vzorky nebo nebezpečným materiálem je třeba považovat za potenciálně infekční místa.



VÝSTRAHA
PŘI DEZINFEKCI POSTUPUJTE V SOULADU S CELOSTÁTNÍMI,
REGIONÁLNÍMI A MÍSTNÍMI ZÁKONNÝMI PŘEDPISY.



VÝSTRAHA
VEŠKERÉ ČÁSTI PŘÍSTROJE, KTERÉ PŘICHÁZEJÍ DO STYKU
S POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍM MATERIÁLEM, JE TŘEBA POVAŽOVAT
ZA POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍ MÍSTA.
K PREVENCI KONTAMINACE POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍM
ONEMOCNĚNÍM PROTO PŘI DEZINFEKCI PŘÍSTROJE DODRŽUJTE
VHODNÁ BEZPEČNOSTÍ PREVENTIVNÍ OPATŘENÍ (VČETNĚ
POUŽÍVÁNÍ OCHRANNÝCH RUKAVIC BEZ PUDRU, OCHRANNÝCH
BRÝLÍ A OCHRANNÉHO ODĚVU).

Před navrácením přístroje distributorovi k provedení servisu je třeba přístroj dezinfikovat a vyplnit potvrzení o dezinfekci. Servisní středisko nemusí přístroj bez potvrzení o dezinfekci převzít, případně může být přístroj zadržen celními orgány.

7.4.1 Dezinfekční roztoky

K dezinfekci přístroje použijte tento roztok:

- B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27; 70806 Kornwestheim, SRN)

7.4.2 Postup při dezinfekci



VÝSTRAHA

DEZINFEKCI PROVÁDĚJTE V DOBŘE VĚTRANÉ MÍSTNOSTI. DEZINFEKCI SMÍ PROVÁDĚT POUZE POVOLANÉ A ŘÁDNĚ VYŠKOLENÉ OSOBY. PŘI DEZINFEKCI PLATÍ POVINNOST POUŽÍVAT JEDNORÁZOVÉ OCHRANNÉ RUKAVICE BEZ PUDRU, OCHRANNÉ BRÝLE A OCHRANNÝ ODĚV.

Jestliže laboratoř nepoužívá nastavené vlastní dezinfekční postupy, postupujte při dezinfekci vnějších povrchových ploch přístroje dle níže uvedených pokynů:

1. Odpojte přístroj od napájecího zdroje.
2. Od přístroje odpojte veškeré připojené příslušenství.
3. Pečlivě otřete všechny vnější povrchové plochy přístroje bavlněným tamponem namočeným v dezinfekčním roztoku.
4. Stejný dezinfekční postup použijte i u držáku destičky.
5. Tento dezinfekční postup opakujte i u veškerého příslušenství, které se chystáte odeslat společně s přístrojem.
6. Po dokončení dezinfekce vyplňte potvrzení o dezinfekci.
7. Vyplňte osvědčení o bezpečnosti a připevněte je na vnější stranu přepravní krabice tak, aby bylo snadno viditelné.

Příklad osvědčení o bezpečnosti, které je třeba vyplnit před odesláním přístroje do servisního střediska k provedení servisu nebo opravy, je uveden v kapitole 7.4.3 Osvědčení o bezpečnosti.

7.4.3 Osvědčení o bezpečnosti

K zajištění bezpečnosti a zdraví zaměstnanců své zákaznický žádáme o laskavé vyplnění dvou výtisků **Osvědčení o bezpečnosti** (jsou dodány společně s přístrojem). Před odesláním přístroje do servisního střediska k provedení servisu či opravy jednu kopii laskavě připevněte na horní stranu přepravní krabice použité k navrácení přístroje (viditelně zevně obalu!) a druhou kopii přiložte k zásilkové dokumentaci.

Přístroj musí být před odesláním důkladně dekontaminován a dezinfikován v provozovně provozovatele (viz kapitolu 7.4.2 Postup při dezinfekci).

Dekontaminaci a dezinfekci provádějte v dobře větrané místnosti. Dekontaminaci a dezinfekci smí provádět pouze povolané a řádně vyškolené osoby. Při dezinfekci platí povinnost používat jednorázové ochranné rukavice bez pudru, ochranné brýle a ochranný oděv.

Při dekontaminaci a dezinfekci postupujte v souladu s celostátními, regionálními a místními zákonnými předpisy.

Servisní středisko nemusí převzít přístroj, ke kterému není přiloženo osvědčení o bezpečnosti.

Potřebujete-li další výtisk osvědčení o bezpečnosti, obraťte se na místní zákaznickou podporu společnosti Tecan.

7.4.4 Likvidace

Postupujte dle platných celostátních a místních právních předpisů, kterými se stanoví podmínky pro likvidaci biologicky nebezpečného odpadu.

Tato kapitola obsahuje pokyny k zákonné likvidaci odpadu vzniklého v souvislosti s používáním přístroje.



POZOR

**DODRŽUJTE VEŠKERÉ CELOSTÁTNÍ I MÍSTNÍ PRÁVNÍ PŘEDPISY
NA OCHRANU ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ.**



POZOR

SMĚRNICE 2002/96/ES O ODPADNÍCH ELEKTRICKÝCH A ELEKTRONICKÝCH ZAŘÍZENÍCH
(OEEZ)

**S MANIPULACÍ S ELEKTRICKÝM A ELEKTRONICKÝM ODPADEM
SOUVISEJÍ NEGATIVNÍ DOPADY NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ**

- **ELEKTRICKÝ A ELEKTRONICKÝ ODPAD JE ZAKÁZÁNO
LIKVIDOVAT SPOLEČNĚ S NETŘÍDĚNÝM KOMUNÁLNÍM ODPADEM.**
- **TŘÍDĚNÝ ELEKTRICKÝ A ELEKTRONICKÝ ODPAD ODEVZDEJTE
DO SBĚRNÝCH SUROVIN.**

7.4.5 Likvidace obalového materiálu

Dle směrnice 94/62/ES o obalech a obalových odpadech odpovídá za likvidaci obalů výrobce.

Navrácení obalového materiálu

Jestliže si nehodláte obalový materiál ponechat k budoucímu použití, např. z důvodu budoucí přepravy a uskladnění přístroje, vraťte obal přístroje, náhradních dílů a doplňků prostřednictvím servisního technika výrobci.

7.4.6 Likvidace provozního materiálu



VÝSTRAHA

**S PROVOZEM PŘÍSTROJE MŮŽE SOUWISET VZNIK ODPADNÍHO
MATERIÁLU (DESTIČKY), KTERÝ MŮŽE
PŘEDSTAVOVAT NEBEZPEČÍ BIOLOGICKÉ POVAHY.**

**S MIKROTITRAČNÍMI DESTIČKAMI A DALŠÍM JEDNORÁZOVÝM
MATERIÁLEM A LÁTKAMI POSTUPOJTE V SOULADU
SE SMĚRNICEMI PRO SPRÁVNOU LABORATORNÍ PRAXI.**

**INFORMUJTE SE U PŘÍSLUŠNÝCH ORGÁNŮ STÁTNÍ SPRÁVY NEBO
MÍSTNÍ SAMOSPRÁVY O SBĚRNÝCH MÍSTECH A O SPRÁVNÉM
ZPŮSOBU LIKVIDACE.**

7.4.7 Likvidace přístroje

Před likvidací přístroje se prosím obraťte na místní servisní zastoupení společnosti Tecan.



POZOR

PŘED LIKVIDACÍ PŘÍSTROJE VŽDY PŘEVEĎTE JEHO DEZINFEKCI.

Stupeň znečištění

2 (IEC/EN 61010-1)

Způsob likvidace

Kontaminovaný odpad



VÝSTRAHA

V ZÁVISLOSTI NA ZPŮSOBU POUŽITÍ PŘÍSTROJE MOHLY NĚKTERÉ JEHO ČÁSTI PŘIJÍT DO STYKU MATERIÁLEM, KTERÝ PŘEDSTAVUJE BIOLOGICKÉ NEBEZPEČÍ.

- **PŘI MANIPULACI S BIOLOGICKY NEBEZPEČNÝM MATERIÁLEM SI POČÍNEJTE V SOULADU S PŘÍSLUŠNÝMI BEZPEČNOSTNÍMI NORMAMI A PŘEDPISY.**
- **VŠECHNY SOUČÁSTI PŘED LIKVIDACÍ VŽDY DEKONTAMINUJTE (TJ. VYČIŠTĚNÍ A DEZINFEKCE).**

8. Odstraňování potíží

Číslo chyby	Text chyby	Popis
1	Command is not valid (Příkaz není platný)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
2	Parameter out of range (Parametr je mimo rozsah)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
3	Wrong number of parameters (Chybný počet parametrů)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
4	Invalid parameter (Neplatný parametr)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
5	Invalid Parameter at pos (Neplatný parametr na pozici)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
6	[prefix] is missing (Schází [prefix])	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
7	RS485 Timeout at module [module descr] (RS485: Časový limit u modulu [označení modulu] vypršel)	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
8	Invalid module number [Nr] (Neplatný modul číslo [číslo modulu])	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
9	Binary Transfer command: [cmd] at module [n] (Příkaz binárního přenosu: [text příkazu] u modulu [n])	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
10	Error at command [cmd] at module [n] (Chyba příkazu [text příkazu] u modulu [n])	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
11	LID open (VÍKO je otevřené)	V průběhu měření bylo otevřené víko přepravního mechanismu destičky nebo kazety s filtry, popř. mohl být přístroj používán v prostředí s velmi vysokou intenzitou světla (<< 500 LUX). Zkontrolujte, zda se víko řádně zavírá a zda okolní prostředí není příliš jasné.
12	LUMI FIBER broken (LUMINISCENČNÍ VLÁKNO je zlomené)	Mechanická závada luminiscenčního modulu. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
13	Z Motor out of Safety-Range (Motor polohování na ose Z je mimo bezpečný rozsah)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlase prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.

Číslo chyby	Text chyby	Popis
14	Filter is not defined (Není definován filtr)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
15	X drive init error (Chyba inicializace motoru polohování na ose X)	Mechanická závada přepravního modulu destičky. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
16	Y drive init error (Chyba inicializace motoru polohování na ose Y)	Mechanická závada přepravního modulu destičky. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
17	Z drive init error (Chyba inicializace motoru polohování na ose Z)	Mechanická závada modulu s motorem polohování na ose Z. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
18	Injector A not available (Injektor A není k dispozici)	Mechanická závada injektoru A. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
19	Injector B not available (Injektor B není k dispozici)	Mechanická závada injektoru B. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
20	Injector Init Error: (Chyba inicializace injektoru:)	Mechanická závada v modulu injektoru. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
21	Invalid Command: [cmd] (Neplatný příkaz: [příkaz])	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
22	Invalid Operand: [cmd] (Neplatný operand: [příkaz])	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
23	Invalid Command Sequence: [cmd] (Neplatná sekvence příkazů: [příkaz])	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
24	N/A	N/A
25	Injector not init.: [cmd] (Injektor není inicializován: [příkaz])	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
26	Plunger Overload: (Přetížení pístu:)	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
27	Valve Overload: (Přetížení ventilu:)	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
28	Plunger Move not allowed: (Pohyb pístu není dovolen:)	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
29	Command Overflow (Přetečení příkazu)	Nespecifikovaná chyba interní komunikace. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
30	Prepare: [s]: Gain:[g], Counts: [cts] (Příprava: [s]: Výtěžek: [g], Počet: [počet])	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.

Číslo chyby	Text chyby	Popis
31	[ERR] at module [mod] (cmd:[cmd]) [CHYBA] v modulu [modul] (příkaz: [příkaz])	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
32	MTP is in Out-Position (Destička je ve vysunuté poloze)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
33	[val] ... not set at (Ratiolabel [n]) ([hodnota] ... není nastavena u (značka [n])	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
34	Injectors are not enabled (Používání injektorů je zakázáno)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
35	Invalid Parameter Length (max: [n] char allowed) (Neplatná délka parametru: (max. dovolený počet znaků: [n])	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
36	Checksum Error (Chyba kontrolního součtu)	Chyba komunikace na rozhraní USB. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře.
37	Init Error at module [mod#] (Chyba inicializace u modulu [č. modulu])	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
38	Instrument Initialization Error (Chyba inicializace přístroje)	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
39	Injector A Communication Timeout (Časový limit pro komunikaci injektoru A vypršel)	Chyba komunikace na rozhraní injektoru. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře.
40	Injector B Communication Timeout (Časový limit pro komunikaci injektoru B vypršel)	Chyba komunikace na rozhraní injektoru. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře.
41	Prime Wash Error (Chyba plnění nebo promývání)	U injektorů stále probíhá plnění nebo promývání. Počkejte na dokončení plnění, resp. promývání.
42	Instrument is locked (Přístroj je zamknutý)	Přístroj je zamknutý v důsledku výskytu závažné mechanické závady. Odemknutí přístroje vyžaduje jeho vypnutí a opětovné zapnutí. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře.
43	Prepare: [channel]: Wavelength:[lambda] Gain:[g], Counts: [cts] (Příprava: [kanál]: Vlnová délka: [lambda] Výtěžek: [g], Počet: [počet])	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
44	Steploss Error (Chyba ztráty kroku)	Závada servomotoru. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
45	Sync Scan: Number of EX-Steps does not match EM-Steps (Kontrola synchronizace: počet excitačních kroků nesouhlasí s počtem emisních kroků)	Nespecifikovaná chyba v komunikačním protokolu mezi přístrojem a počítačem. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.

Číslo chyby	Text chyby	Popis
46	Handshake timeout at module (Časový modul pro ověření typu handshake vypršel)	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
47	Motor Timeout (Časový limit motoru vypršel)	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
48	[Value] is not in defined a Range ([Hodnota] není definována v rozsahu)	Neupřesněná mechanická závada. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.
49	Sensor is broken (Závada senzoru)	Závada senzoru. Ohlaste prosím tuto chybu místní zákaznické podpoře společnosti Tecan.

Rejstřík

A	
Absorbance	21, 105
Absorbanční filtr	31
absorbanční optika,	32
Plochosť průběhu základní čáry	132
Plochosť průběhu základní čáry při použití filtru	132
Absorbanční optika	33
Absorbanční systém	31
Anizotropie	68
B	
Bezpečnost	9
C	
Časové parametry	62
Časově rozlišená fluorescence (TRF)	20
Celková intenzita	68
Citlivost	
Časově rozlišená fluorescence	126
Luminiscence typu	130
D	
Detekce absorbance	33
Detekce fluorescenční intenzity	26
Detekce při měření absorbance v kyvetě	38
Dezinfekce	138
Osvědčení o bezpečnosti	139
Doba přepnutí filtru	63
Doba přepnutí vlnové délky	63
Doba ustálení	63
Dokončení relace měření	97
E	
Emisní filtr	30
Excitace	29
F	
Faktor G	68
Filtrový kotouč PMT	26
Filtry	
doporučené	111
Fluorescence	19
Optika pro horní měření fluorescence	29
Optika pro měření fluorescence	25
Fluorescence, časově rozlišená (TRF)	20
Fluorescenční polarizace	64
Fluorescenční rezonanční přenos energie	
(FRET)	19
FRET	19
Funkce softwaru pro vícenásobné	
čtení jamky	73
H	
Hranice vícenásobného čtení jamky	72
I	
Injektory	15
Integrační doba	74
Intenzity	68
J	
jednotka pro detekci luminiscence.	35
K	
Kinetická měření	48
Kontrola jakosti	117
křemíková fotodioda	25
Kyveta	
vložení	40
L	
Likvidace	
Obalový materiál	140
Přístroj	140
Provozní materiál	140
Luminiscence	21
Luminiscence typu	106, 107
Luminiscenční systém	35
M	
Mikrotitrační destičky	
doporučené typy	111
Monitor záblesků	25
Monochromátor	24
N	
Náhodná chyba	
Časově rozlišená fluorescence	127
Fluorescence s horním měřením	122
Fluorescence se spodním měřením	125
Fluorescenční polarizace	129
Nastavení faktoru G	64
Nastavení záblesků	62
Nezkalibrovaný faktor G	65
O	
Obalový materiál	
Likvidace	140
Navrácení	140
Odpojení	97
Okamžitý	108
Optická soustava	22
Optická soustava, horní fluorescenční	
měření	22
Optická soustava, měření absorbance	33
Optická soustava, měření luminiscence	35
Optická soustava, přihrádka na kyvetu	38
Optická soustava, spodní fluorescenční	
měření	23

Optika luminiscence.....	35	Spodní měření fluorescence	30
Optika pro měření absorbance v kyvetě.....	38	Spojná optika.....	24, 29
Osvědčení o bezpečnosti	139	Spuštění přístroje	48
OVER.....	58	Stejnorodost	
P		Fluorescence s horním měřením	120
Pásmově propustný filtr	31	Fluorescence se spodním měřením.....	124
Pokyny ke zkouškám specifikací	119	Svazek vláken pro měření fluorescence	26
Polarizace	68	Systém zdroje světla	28
Požadavky na napájení	44	T	
Přepavní pojistky	43	Techniky měření	19
Přesnost		Třepání	49
Měření absorbance v kyvetě.....	133	Typ vícenásobného čtení jamky.....	70
Přesnost vlnové délky.....	131	Typy kyvet	39
přetečení.....	58	U	
Příhrádka na kyvetu	37	Údržba	135
Příklad ze softwaru i-control	93	Umístění a zapojení přístroje	41
Příklady měření kyvety		V	
i-control.....	88	Velikost excitačního bodu.....	26
Příslušenství	111	Velikost při vícenásobném čtení jamky	71
R		Vícenásobné čtení jamky	70
redukce blankem	64	Vícenásobné značkování	49
Redukce blankem	68	Vlastnosti a funkce přístroje	99
Regulace teploty	48	Vlastnosti fotonásobiče	58
Režim dávkování	83	Všeobecný popis	11
Režim Ratio (Poměr)	63	Výbojka	24
Rozsah blanku	64	Vypnutí	97
rozsah napětí	44	Výtěžek.....	58
S		Z	
Sensitivity		Záblesková luminiscence	21
Fluorescence s horním měřením	119	Zapnutí přístroje	48
Fluorescence se spodním měřením.....	123	Zobrazení výsledků vícenásobného	
Software i-control a injektorů	82	měření jamky	73
Soustava čoček pro měření fluorescenční			
intenzity	25		
Spodní fluorescenční zrcadlo	26		

Zákaznická podpora společnosti Tecan

Máte-li dotazy nebo potřebujete-li technickou podporu k výrobkům Tecan, obraťte se na místního smluvního partnera společnosti Tecan, který zajišťuje zákaznickou podporu. Kontaktní informace najdete na adrese <http://www.tecan.com/>.

Nežli budete kontaktovat společnost Tecan s žádostí o podporu k výrobku, připravte si následující informace (viz typový štítek):

- modelové označení výrobku,
- výrobní číslo (SN) výrobku,
- název softwaru a jeho verzi (je-li software použit),
- popis potíží a jméno kontaktní osoby,
- datum a čas výskytu potíží,
- popis kroků, které jste již podnikli k nápravě potíží,
- své kontaktní informace (telefonní číslo, číslo faxu, e-mailovou adresu apod.).

Declaration of Conformity

We, TECAN Austria GmbH herewith declare under our sole responsibility that the product identified as:

Product Type: Microplate Absorbance Reader

Model Designation: *INFINITE 200 PRO*

Article Number(s): 30050303

Address: Tecan Austria GmbH
Untersbergstr. 1A
A-5082 Grödig, Austria

is in conformity with the provisions of the following European Directive(s) when installed in accordance with the installation instructions contained in the product documentation:

- **EMC Directive**
- **Machinery Directive**
- **RoHS Directive**

is in conformity with the relevant U.K. legislation for UKCA-marking when installed in accordance with the installation instructions contained in the product documentation:

- **Electromagnetic Compatibility (EMC) Regulations**
- **Supply of Machinery (Safety) Regulations**
- **The Restriction of the Use of Certain Hazardous Substances in Electrical and Electronic Equipment Regulations**

The current applicable versions of the directives and regulations as well as the list of applied standards which were taken in consideration can be found in separate CE & UK declarations of conformity.

These Instructions for Use and the included Declaration of Conformity are valid for all INFINITE 200 PRO instruments with the article numbers listed above. The model designation varies depending on the specific model with different article number.