TECAN.

Návod k použití – základní návod

SPARK



Číslo dokumentu: 30246437

2026-07

Verze dokumentu: 2.5

30246437 03

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 nepřejímá 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
T +43 62 46 89 330
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.
Vytištěno v Rakousku

ES Prohlášení o shodě

Viz poslední stranu tohoto návodu k použití.

Oblast použití – určené použití

Viz kapitolu 2.2 Určené použití (přístroj a software).

Informace o návodu k použití přístroje

Původní pokyny. Tento dokument obsahuje popis vícefunkční čtečky mikrotitračních destiček SPARK. 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 k ochranným známkám

Následující ochranné známky jsou buď ochranné známky, nebo registrované ochranné známky společnosti Tecan Group Ltd., Männedorf, Švýcarsko, v hlavních zemích:

- Spark®
- Spark® Cyto
- SparkControl™
- Spark-Stack™
- Cell Chip™
- NanoQuant Plate™
- Image Analyzer™
- Te-Cool™
- Tecan®
- TECAN - Logo®

Registrované ochranné známky třetích stran viz https://www.tecan.com/intellectual_property/trademarks.

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 poukazuje na možnou přítomnost biologicky nebezpečného materiálu. Je nezbytné dodržovat příslušná laboratorní bezpečnostní opatření.



VÝSTRAHA: Tento symbol poukazuje na možnou přítomnost hořlavých materiálů a na riziko vzniku požáru. Je nezbytné dodržovat příslušná laboratorní bezpečnostní opatření.



POZOR: S manipulací s odpadem souvisejí negativní dopady na životní prostředí (OEEZ).

- Elektrický a elektronický odpad je zakázáno likvidovat společně s netříděným komunálním odpadem.
- Tříděný elektrický a elektronický odpad odevzdejte do sběrných surovin.



VÝSTRAHA: Laserový paprsek. Nedívejte se do paprsku!



POUZE PRO UŽIVATELE SE SÍDLEM V AMERICKÉM STÁTU KALIFORNIE:

VÝSTRAHA: Tento výrobek vás může vystavit působení 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.

Symboly

	Označení shody CE
	United Kingdom Conformity Assessed Značka shody s požadavky Spojeného království vyjadřuje, že jí označený výrobek vyhovuje příslušnému nařízení Velké Británie.
	Datum výroby
	Výrobce
	Objednací číslo
	Před použitím přístroje si přečtěte Návod k použití
	Symbol RoHS, Čína
	Výrobní číslo
	Pouze jednorázové použití
	TÜV SÜD MARK
	Symbol rozhraní USB
	Datum spotřeby
	Symbol směrnice o likvidaci elektrického a elektronického odpadu

TECAN.

Obsah

1 Bezpečnost 13
1.1 Úvod 13
2 Všeobecný popis 15
2.1 Přístroj 15
2.2 Určené použití (přístroj a software) 15
2.3 Uživatelský profil 15
2.3.1 Profesionální uživatel – úroveň Správce 15
2.3.2 Koncový uživatel nebo běžný uživatel 15
2.3.3 Servisní technik 16
2.4 Vícefunkčnost přístroje 16
2.4.1 Provedení přístroje SPARK CYTO 17
2.5 Požadavky na mikrotitrační destičky 18
2.5.1 Plnicí objemy / plynulý režim 19
2.5.2 Mikrotitrační destičky s čárovým kódem 20
2.6 Fyzická ovládací tlačítka 21
2.7 Diody přístroje 22
2.8 Zadní pohled 23
3 Instalace přístroje 25
3.1 Instalace přístroje SPARK 25
3.2 Požadavky na instalaci přístroje SPARK 25
3.2.1 Požadavky na pracoviště 25
3.3 Vybalení a kontrola přístroje 26
3.4 Dílčí balení 26
3.5 Volitelná balení 27
3.6 Aktualizace 28
3.7 Demontáž přepravních pojistek 28
3.7.1 Přepravní pojistka držáku destičky 28
3.8 Požadavky na napájení 30
3.9 Zapnutí přístroje 31
3.10 Vypnutí přístroje 32
3.11 Příprava přístroje k přepravě 32
3.11.1 Uvedení částí přístroje do parkovací polohy 33
3.11.2 Montáž přepravních zámků držáku destičky 33
4 Ovládání destičky 37
4.1 Poloha na ose Z 38
4.2 Třepání 38
4.3 Inkubační/chladicí poloha 38
4.4 Mechanismus otevírání víčka 38
4.5 Zajištění kultivačních láhví RoboFlask 39
5 Platforma SPARK 41
5.1 Přehled dostupných modulů a funkcí 41
6 Specifikace přístroje 43
7 Čištění a údržba 45
7.1 Úvod 45
7.2 Preventivní údržba 45
7.3 Rozlití kapalin 46
7.4 Dekontaminace/dezinfekce přístroje 47
7.4.1 Dezinfekční roztoky 47
7.4.2 Postup při dezinfekci 48
7.4.3 Osvědčení o bezpečnosti 48
7.5 Likvidace 49
7.5.1 Likvidace obalového materiálu 49

7.5.2 Likvidace provozního materiálu ... 49
7.5.3 Likvidace přístroje ... 50
8 Ovládání přístroje SPARK pomocí softwaru SparkControl ... 51
8.1 Oblast použití ... 51
8.2 Požadavky systému ... 51
8.3 Instalace softwaru ... 53
8.3.1 Odinstalování / Oprava instalace ... 53
8.3.2 Klient pro internet věcí (IoT Client) ... 54
8.4 Spuštění aplikace SparkControl ... 54
8.4.1 Připojení přístrojů ... 54
8.5 Editor metod ... 55
8.5.1 Struktura ... 55
8.6 Modul Dashboard ... 58
8.6.1 Struktura ... 58
8.6.2 Modul Dashboard ... 60
8.7 Spuštění metody ... 63
8.7.1 Editor metod ... 63
8.7.2 Modul Dashboard ... 63
8.7.3 Fyzické tlačítko Start ... 63
8.8 Nastavení softwaru SparkControl ... 63
8.8.1 Struktura ... 63
8.9 Výsledky měření ... 65
9 Luminiscence ... 67
9.1 Techniky měření ... 67
9.2 Luminiscenční specifikace ... 68
9.2.1 Všeobecné specifikace ... 68
9.2.2 Výkonové specifikace ... 68
9.3 Kontrola kvality luminiscenčního modulu ... 69
9.3.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality ... 69
9.3.2 Mez detekce ATP, 384jamková destička ... 69
9.3.3 Mez detekce ATP, 1536jamková destička ... 70
10 „Alpha“ technologie ... 73
10.1 Základní principy ... 73
10.2 Modul Alpha ... 73
10.2.1 Filtr ... 73
10.2.2 Optika ... 73
10.2.3 Laser ... 74
10.2.4 Detekce ... 74
10.2.5 Korekce teploty ... 75
10.3 Definice měření technologií Alpha ... 75
10.4 Optimalizace měření na bázi Alpha technologie ... 75
10.4.1 Integrační doba ... 75
10.4.2 Doba excitace ... 75
10.4.3 Tmavé kryty k ochraně před světlem ... 75
10.5 Specifikace Alpha technologie ... 76
10.5.1 Všeobecné a výkonové specifikace ... 76
10.6 Kontrola kvality modulu Alpha ... 76
10.6.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality ... 76
10.6.2 Mez detekce, AlphaScreen, kuličky Omnibeads, 384jamková destička ... 76
10.6.3 Uniformita, AlphaScreen, kuličky Omnibeads, 384jamková destička ... 78
11 Absorbance ... 81
11.1 Techniky měření absorbance ... 81
11.1.1 Absorbance ... 81
11.1.2 Absorbanční skenování ... 81

11.2 Modul na kyvety ... 81
11.2.1 Optika na kyvety ... 81
11.3 Výbava k měření ... 82
11.3.1 Mikrotitrační destičky ... 82
11.3.2 Adaptér na kyvety ... 82
11.3.3 Přihrádka na kyvety ... 83
11.4 Definice absorbančního měření ... 84
11.5 Aplikace NanoQuant ... 84
11.6 Specifikace absorbančního skenování ... 85
11.6.1 Všeobecné specifikace ... 85
11.6.2 Výkonové specifikace dle mikrotitračních destiček ... 85
11.6.3 Doba měření ... 85
11.6.4 Výkonové specifikace při měření kyvet (přihrádka na kyvetu) ... 86
11.7 Kontrola kvality absorbančního modulu ... 86
11.7.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality ... 86
11.7.2 Uniformita na 96jamkové destičce ... 86
11.7.3 Kontrola kvality měření destičky NanoQuant ... 87
12 Fluorescence ... 89
12.1 Modul fluorescenční intenzity ... 89
12.1.1 Doplňky k modulu pro fluorescenční měření zdola ... 89
12.2 Výbava k měření ... 89
12.2.1 Filtry ... 89
12.2.2 Kazety s filtry ... 89
12.2.3 Montáž a demontáž filtrů ... 90
12.2.4 Vložení kazety s filtry ... 91
12.2.5 Definice filtrů ... 92
12.2.6 Kazety na zrcadla ... 92
12.2.7 Montáž dichroického zrcadla na objednávku ... 94
12.2.8 Definice dichroického zrcadla na objednávku ... 95
12.3 Definice fluorescenčního měření ... 95
12.4 Modul fluorescenční polarizace ... 96
12.5 Optimalizace měření fluorescence a polarizační fluorescence ... 96
12.6 Inject and Read (Injekce a Čtení) ... 97
12.7 Specifikace měření fluorescence ... 98
12.7.1 Všeobecné specifikace měření fluorescenční intenzity (standardní a rozšířený modul) ... 98
12.7.2 Všeobecné specifikace měření fluorescenční polarizace (standardní a rozšířený polarizační modul) ... 102
12.7.3 Výkonové specifikace měření fluorescenční polarizace ... 103
12.8 Kontrola kvality fluorescenčního modulu ... 104
12.8.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality ... 104
12.8.2 Mez detekce, horní/dolní měření, 96jamková destička ... 104
12.8.3 Uniformita, horní/dolní měření, 96jamková destička ... 106
13 Buněčný modul ... 109
13.1 Techniky měření ... 109
13.1.1 Počítání buněk / Životaschopnost buněk ... 109
13.1.2 Konfluence buněk ... 109
13.2 Snímání metodou světlého pole ... 109
13.3 Výbava k měření ... 109
13.3.1 Buněčné čipy ... 109
13.3.2 Adaptér na buněčné čipy ... 109
13.3.3 Údržba a čištění adaptéru na buněčné čipy ... 110
13.4 Definice počítání buněk a konfluence buněk ... 110
13.5 Aplikace Počítání buněk ... 110
13.6 Optimalizace měření s počítáním buněk ... 111
13.6.1 Zvýšení počtu snímků ... 111

13.7 Optimalizace měření konfluence buněk 111
13.7.1 Použití detekce okrajů jamek 111
13.7.2 Live Viewer (Prohlížeč živého náhledu) 111
13.8 Specifikace buněčného modulu 112
13.8.1 Všeobecné specifikace 112
13.8.2 Specifikace počítání / měření životaschopnosti buněk 112
13.8.3 Doba měření 112
13.9 Kontrola kvality modulu pro počítání buněk 112
13.9.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality 112
13.9.2 Přesnost počítání buněk 113
14 Fluorescenční snímání (modul pro snímání buněk) 115
14.1 Snímání v jasném poli 115
14.1.1 Optika 115
14.1.2 Detekce 116
14.1.3 Aplikace pro snímání v jasném poli 116
14.2 Fluorescenční snímání 116
14.2.1 Fluorescenční kanály a jejich excitační a emisní profily 117
14.2.2 Pořizování snímků 117
14.3 Specifikace modulu pro snímání buněk 118
14.3.1 Všeobecné 118
14.3.2 Objektivy 118
14.3.3 Úplná sada vícepásmových filtrů 118
14.3.4 Doba měření 119
14.4 Standardní aplikace 119
14.5 Definice měření v jasném poli a fluorescenčního snímání 121
14.6 Optimalizace měření s fluorescenčním snímáním 123
14.6.1 Režim Live Viewer 123
14.6.2 Modul ImageAnalyzer 124
14.6.3 Analysis Plugins 127
15 Stohovací zásobník na mikrotitrační destičky Spark-Stack 129
15.1 Přístup k čelnímu panelu 130
15.1.1 Fyzická ovládací tlačítka 130
15.1.2 Analýzy citlivé na světlo a ochrana proti světlu / tmavé kryty 131
15.2 Požadavky na mikrotitrační destičky pro modul Spark-Stack 131
15.2.1 Vkládání vyššího počtu destiček do zásobníku na destičky 133
15.2.2 Vložení jedné destičky do zásobníku na destičky 135
15.2.3 Zajištění zásobníků v modulu Spark-Stack 136
15.2.4 Vkládání destiček přímo do čtečky SPARK 137
15.2.5 Jednotlivé vyjmutí zpracovaných destiček 139
15.2.6 Hromadné vyjmutí zpracovaných destiček 140
15.2.7 Čištění a údržba modulu Spark-Stack 141
15.3 Software 142
15.3.1 Spuštění chodu s využitím stohovacího modulu 143
15.3.2 Kinetická měření s využitím stohovacího modulu 144
15.3.3 Opětovné stohování 145
16 Injektory 147
16.1 Držák injektoru 147
16.1.1 Maketa injektoru 148
16.2 Plnění a proplach 149
16.2.1 Zpětný proplach reagentu 149
16.3 Čištění a údržba injektoru 150
16.4 Injektor: slučitelnost reagentů 151
16.5 Měření s využitím injektorů 152
16.6 Ohřev a magnetické míchátko 152
16.6.1 Laboratorní baňka a magnetické míchátko 152

16.7 Specifikace injektoru 153
16.7.1 Technické specifikace vstřikovače 153
16.7.2 Výkonové specifikace vstřikovače 153
16.7.3 Specifikace ohřevu/míchátka 153
16.8 Kontrola kvality modulu injektoru 154
16.8.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality 154
16.8.2 Přesnost injektoru 154
17 Regulace prostředí 157
17.1 Modul ohřevu 157
17.1.1 Softwarová nastavení regulace teploty 157
17.2 Systém chlazení 157
17.2.1 Nastavení kapalinového chladicího systému 158
17.2.2 Postup při připojení 159
17.2.3 Přepnutí na externí kapalinový chladicí modul 161
17.2.4 Provoz vestavěného chladicího modulu (Te-Cool) 162
17.2.5 Softwarová nastavení regulace chlazení 162
17.2.6 Funkce poplachu / Odstraňování potíží 163
17.2.7 Údržba 163
17.3 Regulace atmosféry 163
17.3.1 Bezpečnost při práci s plyny 164
17.3.2 Připojení plynu 164
17.3.3 Plynové láhve s CO_2 a N_2 (nejsou součástí dodávky přístroje) 166
17.3.4 Softwarová nastavení regulace atmosféry 167
17.3.5 Manuální regulace atmosféry 168
17.3.6 Regulace atmosféry prostřednictvím metody 168
17.3.7 Zvuková výstraha 170
17.4 Regulace vlhkosti 170
17.4.1 Vlhkostní kazeta: standardní/Cyto 171
17.4.2 Postup při manipulaci 172
17.4.3 Nastavení softwaru 173
17.5 Specifikace regulace prostředí 174
17.5.1 Ohřev 174
17.5.2 Chlazení 174
17.5.3 Regulace atmosféry 174
17.5.4 Regulace vlhkosti 174
18 Aplikace NanoQuant 175
18.1 Aplikace pro kvantifikaci nukleových kyselin (Nucleic Acid Quantitation App) 175
18.1.1 Validační kritéria pro výsledky blankování 176
18.1.2 Opakované zaslepení (Repeat Blanking) 176
18.1.3 Spuštění měření 176
18.2 Aplikace pro účinnost značení (Labeling Efficiency App) 176
18.3 Aplikace pro kvantifikaci proteinů (Protein Quantitation App) 177
18.3.1 Validační kritéria pro výsledky blankování 177
18.3.2 Opakované zaslepení (Repeat Blanking) 177
18.4 Údržba destiček NanoQuant 178
18.4.1 Čištění v ultrazvukové lázni 178
18.4.2 Čištění pomocí laboratorních ubrousků 178
19 Počítání buněk v buněčných čipech 179
20 Aplikace Kyveta 181
21 Odstraňování potíží 183
21.1 Chyby a výstrahy softwaru SparkControl 183
21.2 Spark Services Manager 194

Rejstřík **195**
Zákaznická podpora společnosti Tecan **197**

1 Bezpečnost

1.1 Úvod

- Při použití tohoto výrobku vždy dodržujte základní bezpečnostní opatření. Snížíte tak riziko poranění osob, vzniku požáru nebo úrazu elektrickým proudem.
- 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.
- Dodržujte veškeré pokyny v tomto dokumentu uvozené slovy VÝSTRAHA a POZOR.
- Je-li přístroj připojen ke zdroji elektrické energie, nikdy jej neotevírejte.
- Mikrotitrační destičky nevkládejte do přístroje násilím.
- Dodržujte vhodná laboratorní bezpečnostní opatření, jejichž součástí je používání ochranného oděvu (rukavice, laboratorní plášť, ochranné brýle apod.) a dodržování schválených bezpečných postupů v laboratoři.



POZOR: Zajištění optimálního provozu přístroje SPARK vyžaduje každoroční údržbu, kterou vykonává servisní technik společnosti Tecan.



VÝSTRAHA: Dodržujte pečlivě veškeré pokyny uvedené v tomto návodu. Pouze tak lze zajistit bezpečnost přístroje. Nesprávné vykonávání postupů může způsobit poškození přístroje.

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:

- místní oborové ochranné předpisy,
- předpisy k prevenci nehod,
- 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 povolané osoby. Při nutnosti provést servis přístroje, při jeho přemístění a likvidaci přístroj vždy dezinfikujte dle pokynů uvedených v tomto návodu.



VÝSTRAHA: Neotevírejte přístroj! Otevírat přístroj je dovoleno pouze povolaným servisním technikům společnosti Tecan. Sejmutí nebo porušení záruční pečeti způsobí ztrátu záruky.

2 Všeobecný popis

2.1 Přístroj

SPARK je vícefunkční čtečka mikrotitračních destiček, která je kompatibilní s robotickými systémy.

2.2 Určené použití (přístroj a software)

SPARK je víceřežimová čtečka mikrotitračních destiček s modulární konstrukcí, určená k použití ve výzkumných laboratořích. Dle konkrétní konfigurace je přístroj určen k měření a analýze dat absorbance, fluorescence, časově rozlišené fluorescence, fluorescenční polarizace a luminiscence vzorků biologického i nebiologického původu, jakož i k pořizování snímků v jasném poli a jejich analýze a pořizování a analýze fluorescenčních snímků.

Kromě toho lze čtečku používat i k měření v konečném bodě a k jednoznačkovým i víceznačkovým kinetickým měřením. Přístroj SPARK je vybaven softwarem SparkControl, který zajišťuje ovládání čtečky a redukci dat.

Uživatel je povinen posoudit přístroj a veškeré související programové vybavení k redukci dat na základě vlastních analýz, jakož i zajistit splnění všech předpokládaných výkonnostních vlastností analýz. Výkonnostní vlastnosti přístroje nebyly validovány pro konkrétní analýzy.

Víceřežimová čtečka SPARK je určena výhradně k výzkumným účelům.



Pozor: Provozovatel je povinen zajistit validaci systému. Povinností provozovatele je zajistit validaci přístroje SPARK pro každou analýzu, ke které bude přístroj používán.

2.3 Uživatelský profil

2.3.1 Profesionální uživatel – úroveň Správce

Správcem se rozumí osoba, která se může prokázat příslušným vzděláním technického směru, dovednostmi a zkušenostmi. Je-li výrobek používán v souladu se svým určením, je tato osoba schopna rozpoznat nebezpečné situace a účinně jim předcházet.

Správce disponuje rozsáhlými dovednostmi a je schopen poučit koncové uživatele nebo běžné uživatele v oblasti protokolů z analýzy v souvislosti s přístrojem Tecan a v rozsahu, který odpovídá určenému použití přístroje.

U této osoby se vyžaduje počítačová gramotnost a dobrá znalost anglického jazyka.

2.3.2 Koncový uživatel nebo běžný uživatel

Koncovým nebo běžným uživatelem se rozumí osoba, která se může prokázat příslušným vzděláním technického směru, dovednostmi a zkušenostmi. Je-li výrobek používán v souladu se svým určením, je tato osoba schopna rozpoznat nebezpečné situace a účinně jim předcházet.

U této osoby se vyžaduje počítačová gramotnost a dobrá znalost jazyka používaného v místě použití přístroje nebo anglického jazyka.

2.3.3 Servisní technik

Servisním technikem se rozumí osoba, která se může prokázat příslušným vzděláním technického směru, dovednostmi a zkušenostmi. Tato osoba je schopna rozpoznat nebezpečné situace související s vykonáváním servisu a údržby přístroje a těmto situacím účinně předcházet.

U této osoby se vyžaduje počítačová gramotnost a dobrá znalost anglického jazyka.



UPOZORNĚNÍ: Data, délku trvání a četnost školení získáte v Oddělení podpory zákazníků.

Adresa a telefonní číslo jsou uvedeny na internetu:
http://www.tecan.com/customersupport

2.4 Vícefunkčnost přístroje

Plně vybavený přístroj SPARK dokáže vykonávat následující techniky měření (podrobné informace získáte v kapitole 5 Platforma SPARK).

- Absorbance,
- Absorbanční skenování
- Absorpční kyveta
- Absorbanční skenování v kyvetách,
- Fluorescenční intenzita, čtení shora (FRET),
- Fluorescenční intenzita, čtení zdola,
- Časově rozlišená fluorescence (TRF, TR-FRET),
- Fluorescenční skenování,
- Fluorescenční polarizace,
- Inject and Read (Injekce a Čtení – Injekce včetně intenzity fluorescence zespodu)
- Luminiscence (typu flash, glow a multi-color),
- Luminiscenční skenování,
- Alpha technologie,
- Zobrazení v jasném poli (počítání buněk, konfluence buněk) nebo
- Fluorescenční zobrazení (konfigurace CYTO)

Přístroj může být vybaven až dvěma injektory, ohřívačem/míchátkem a stohovacím zásobníkem na destičky. Zvláštní funkce (například počítání buněk, přívod plynu, otevírání víčka destičky a regulace teploty – ohřev a chlazení – a vlhkosti) usnadňují zejména zkoušky na buněčné bázi.

2.4.1 Provedení přístroje SPARK CYTO

Veškeré přístroje vybavené fluorescenčním snímáním se označují jako SPARK CYTO a jsou k dispozici ve čtyřech různých provedeních, která jsou navržena pro potřeby různých zákazníků, od akademické obce až po biofarmaceutický průmysl:

SPARK CYTO 100	**SPARK CYTO 300**	**SPARK CYTO 400**	**SPARK CYTO 500**	**SPARK CYTO 600**
	Absorbance (standardní)	Absorbance (standardní)	Absorbance (zesílená)	Absorbance (zesílená)
	Absorbanční skenování	Absorbanční skenování	Absorbanční skenování	Absorbanční skenování
Fluorescenční snímání	Fluorescenční intenzita, horní čtení (standardní, filtr)	Fluorescenční intenzita, horní čtení (zesílená, monochromátor)	Fluorescenční intenzita, horní čtení (zesílená, filtr)	Fluorescenční intenzita, horní čtení (zesílená, spojná optika)
	Fluorescenční intenzita, dolní čtení (standardní, filtr)	Fluorescenční intenzita, dolní čtení (zesílená, monochromátor)	Fluorescenční intenzita, dolní čtení (zesílená, filtr)	Fluorescenční intenzita, dolní čtení (zesílená, spojná optika)
		Skenování fluorescenční intenzity		Skenování fluorescenční intenzity
	TRF a TR-FRET (filtr)	TRF a TR-FRET (monochromátor)	TRF a TR-FRET (filtr)	TRF a TR-FRET (zesílená, spojná optika)
		Fluorescenční polarizace	Fluorescenční polarizace	Fluorescenční polarizace
	Luminiscence (standardní, typ „multicolor)	Luminiscence (standardní, typ „multicolor“)	Luminiscence (zesílená, typ „multicolor“)	Luminiscence (zesílená, typ „ multicolor“)
	Luminiscenční skenování	Luminiscenční skenování	Luminiscenční skenování	Luminiscenční skenování
				Alpha technologie

Popis vlastností doplňkových modulů uvedených v tabulce výše je uveden v kapitole 5 Platforma SPARK.

Všechna provedení CYTO jsou vybavena regulací prostředí:

- Regulace teploty (do 42 ° C)
- Regulace CO_2 a O_2
- Vestavěný mechanismus otevírání víčka

Ke všem provedením přístroje CYTO jsou k dispozici níže uvedené volitelné funkce:

- Injektory
- Podavač
- Vlhkostní kazety



POZOR: SPARK CYTO je vybaven interním USB diskem, který obsahuje specifická kalibrační data pro optimální kvalitu fluorescenčních snímků. Tento disk je viditelný v Průzkumníku souborů pod názvem "USB DISK" nebo "SPARK CYTO". Nevysouvejte jej ani jej neupravujte, abyste se vyhnuli možné ztrátě funkčnosti pro SparkControl verze 4.0 nebo vyšší.

2.5 Požadavky na mikrotitrační destičky

Výše uvedené techniky měření lze používat ve spojení s libovolnými mikrotitračními destičkami, od 1jamkových do 384/1536jamkové, které jsou v souladu s níže uvedenými normami ANSI/SBS.

- ANSI/SBS 1-2004 (půdorysné rozměry)
- ANSI/SBS 2-2004 (výškové rozměry)
- ANSI/SBS 3-2004 (rozměry dolního vnějšího lemu)
- ANSI/SBS 4-2004 (rozmístění jamek)

Přístroj SPARK podporuje mikrotitrační destičky až s 384 jamkami; vybavenější moduly podporují mikrotitrační destičky až s 1 536 jamkami.

Přístroj podporuje destičky s výškou od 10 mm (bez víčka) do 24,5 mm (s víčkem). Při dolním měření se nesmí dno jamek nacházet výše než 5,5 mm nad podpůrným okrajem destičky.

Kromě uvedených formátů destiček a kyvet v adaptéru lze výše uvedené techniky měření používat bez omezení v kombinaci s destičkami Tecan NanoQuant, Tecan MultiCheck a s adaptérem Tecan na buněčné čipy.



POZOR: Společnost Tecan Austria GmbH postupovala při vytváření souborů definice destiček (.pdfx), které jsou dodávány společně s přístrojem, s maximální pozorností.

Společnost Tecan Austria učinila veškerá preventivní opatření k vyloučení chyb při definici hloubky jamek v jednotlivých typech definovaných destiček. Tyto parametry slouží ke stanovení minimální vzdálenosti mezi horní hranou destičky a stropem měřicí komory. Společnost Tecan Austria začlenila do definicí i velmi malou rezervní mezeru, jejímž účelem je předejít poškození, které by mohlo vzniknout v důsledku malého kolísání výšky destiček. Tato skutečnost nemá vliv na výkon přístroje.

Přesvědčte se, zda vybraný soubor definice destičky odpovídá používané mikrotitrační destičce. V opačném případě nebude rezervní mezera správně vypočítána a může dojít k poškození přístroje.



UPOZORNĚNÍ: Na přístroje vybavené modulem Spark-Stack se vztahují dodatečné požadavky na mikrotitrační destičky, viz kapitolu 15.2 Požadavky na mikrotitrační destičky pro modul Spark-Stack.

2.5.1 Plnicí objemy / plynulý režim

POZOR: Níže uvedené destičky lze zpracovávat **výhradně** s použitím těchto plnicích objemů:

- 1jamkové destičky <= 15 000 µl
- 4jamkové destičky <= 4 500 µl
- 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
- 1536jamkové destičky <= 10 µl

Větší plnicí objem může způsobit přetečení kapalin s následnou zkříženou kontaminací. Rozlité kapaliny navíc mohou způsobit poškození přístroje (kontaminaci optických členů a středicí úchytky).

Je-li pracovní objem v souboru definice destičky (pdfx) menší než objemy uvedené výše, je třeba použít menší plnicí objem, aby nedocházelo k rozlití kapalin (např. 384jamkové destičky Corning disponují pracovním objemem pouhých 80 µl).

Před použitím kapalin s nižší viskozitou než vodné roztoky doporučujeme provést i optimalizaci plnicího objemu v rámci validace metody.

Režim Smooth Mode (Plynulý režim) zpomaluje pohyby transportu destiček. Režim **Smooth Mode (Plynulý režim)** se aktivuje výběrem příslušného zaškrtávacího políčka na řádku **Plate (Destička)**. Je-li režim **Smooth Mode** (Plynulý režim) aktivní, může být dovoleno použít větší plnicí objemy, než objemy uvedené výše; během validace metody je však třeba optimalizovat nejvyšší plnicí objem každého typu destičky.

POZOR: Nejvyšší plnicí objem každého typu destičky a aplikaci je třeba optimalizovat i v případě, je-li použit režim **Smooth Mode** (Plynulý režim).

Režim Smooth Mode (Plynulý režim) je zvolen coby výchozí, je-li v metodě měření formát destičky větší než 96 jamek. Režim **Smooth Mode (Plynulý režim)** není k dispozici, je-li k zasunutí či vysunutí destičky použito tlačítko **Zasunout/Vysunout** na přístroji.

POZOR: Režim **Smooth Mode (Plynulý režim)** není k dispozici, je-li k zasunutí či vysunutí destičky použito tlačítko **Zasunout/Vysunout**.

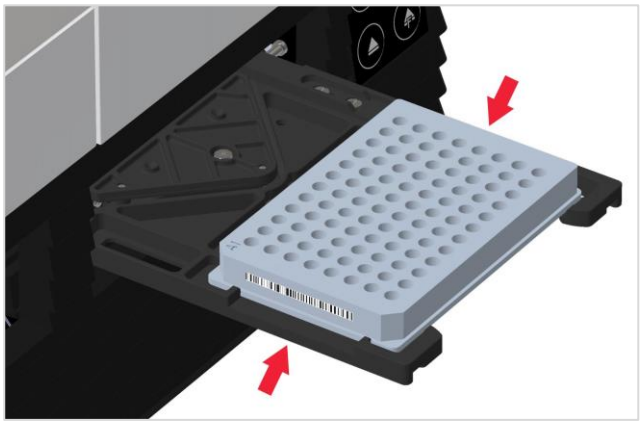
UPOZORNĚNÍ: Parametry plnicího objemu / plynulého režimu uvedené výše se vztahují i na mikrotitrační destičky vhodné k použití v modulu Spark-Stack, např. 6–1 536jamkové destičky (viz kapitolu 15.2 Požadavky na mikrotitrační destičky pro modul Spark-Stack).

2.5.2 Mikrotitrační destičky s čárovým kódem

Vícerežimová čtečka SPARK může být na přání vybavena snímačem čárových kódů, který se montuje vpravo či vlevo od přepravního mechanismu destiček. Například v případě 96jamkové destičky naneste čárový kód na levou (A) nebo pravou (H) stranu destičky (viz obrázek níže) v závislosti na tom, na které straně se nachází snímač čárových kódů. Nejmenší výška čárového kódu činí 3 mm.

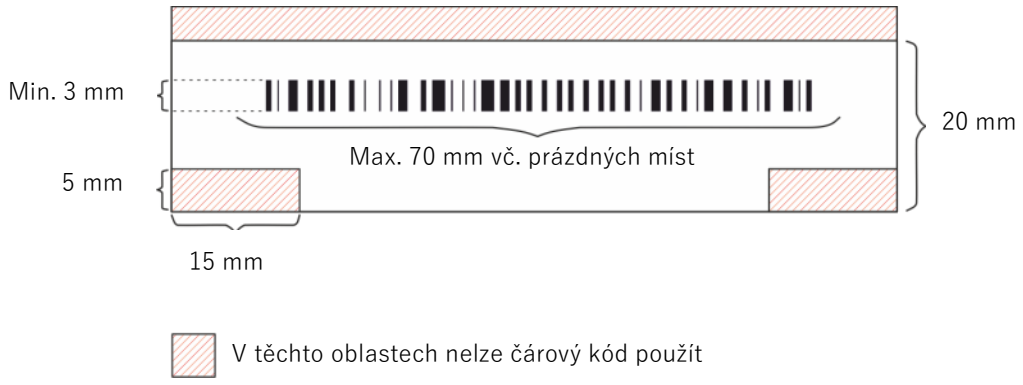
Před čárovým kódem a za ním se musí nacházet alespoň 2 mm prázdného místa. Maximální délka čárového kódu činí 70 mm, včetně prázdného místa po obou stranách kódu. Čárový kód musí být umístěn na kratší stranu destičky, a to alespoň ve vzdálenosti 15 mm od přední i zadní hrany a 5 mm nad spodní hranou destičky.

Mikrotitrační destička na držáku destiček:



Připevněte čárový kód na levou nebo pravou stranu destičky.

Boční pohled na destičku:





Pozor: Nepoužívejte zažloutlé, znečištěné, přeložené, vlhké a poškozené štítky s čárovým kódem. Samolepicí štítky musejí být ploché a bez oloupaných rohů. Kvalitu čárových kódů doporučujeme zajišťovat prostřednictvím standardního operačního postupu (SOP).



Pozor: Je-li zakrytý víčkem destičky, je čárový kód nečitelný.

Povoleny jsou tyto typy čárových kódů:

• CODE 39	• UPC A	• UPC E
• EAN 8	• EAN 13	• CODE 128
• CODE 2/5 Interleaved	• CODABAR	• CODE 93

2.6 Fyzická ovládací tlačítka

Přístroj SPARK je vybaven fyzickými ovládacími tlačítky, která usnadňují některé časté úkony.





	Tlačítko **On/Off** (Zap/Vyp) na přední straně přístroje slouží k přepnutí přístroje do POHOTOVOSTNÍHO režimu.
	**Fyzické tlačítko Start** slouží ke spouštění oblíbených metod SparkControl přímo na přístroji. Lze je rovněž používat k zastavení měření, potvrzení uživatelsky definovaných zásahů a k pokračování kinetických měření zastavených softwarově.
	Tlačítko **Retract/Eject (Zasunout/Vysunout)** umožňuje vkládat a vyjímat destičky z přístroje bez nutnosti aktivovat software.
	Tlačítko **Eject Filter (Vysunout filtr)** slouží k vysunutí kazety s filtrem. Při vsunutí kazety na filtry se kazeta zasune do přístroje automaticky.



POZNÁMKA: Chcete-li přístroj zcela vypnout, použijte hlavní vypínač na zadní straně přístroje.



UPOZORNĚNÍ: Informace o funkcích fyzických ovládacích tlačítek u přístroje s připojeným stohovacím modulem na mikrotitrační destičky jsou uvedeny v kapitole 15 Stohovací zásobník na mikrotitrační destičky Spark-Stack.

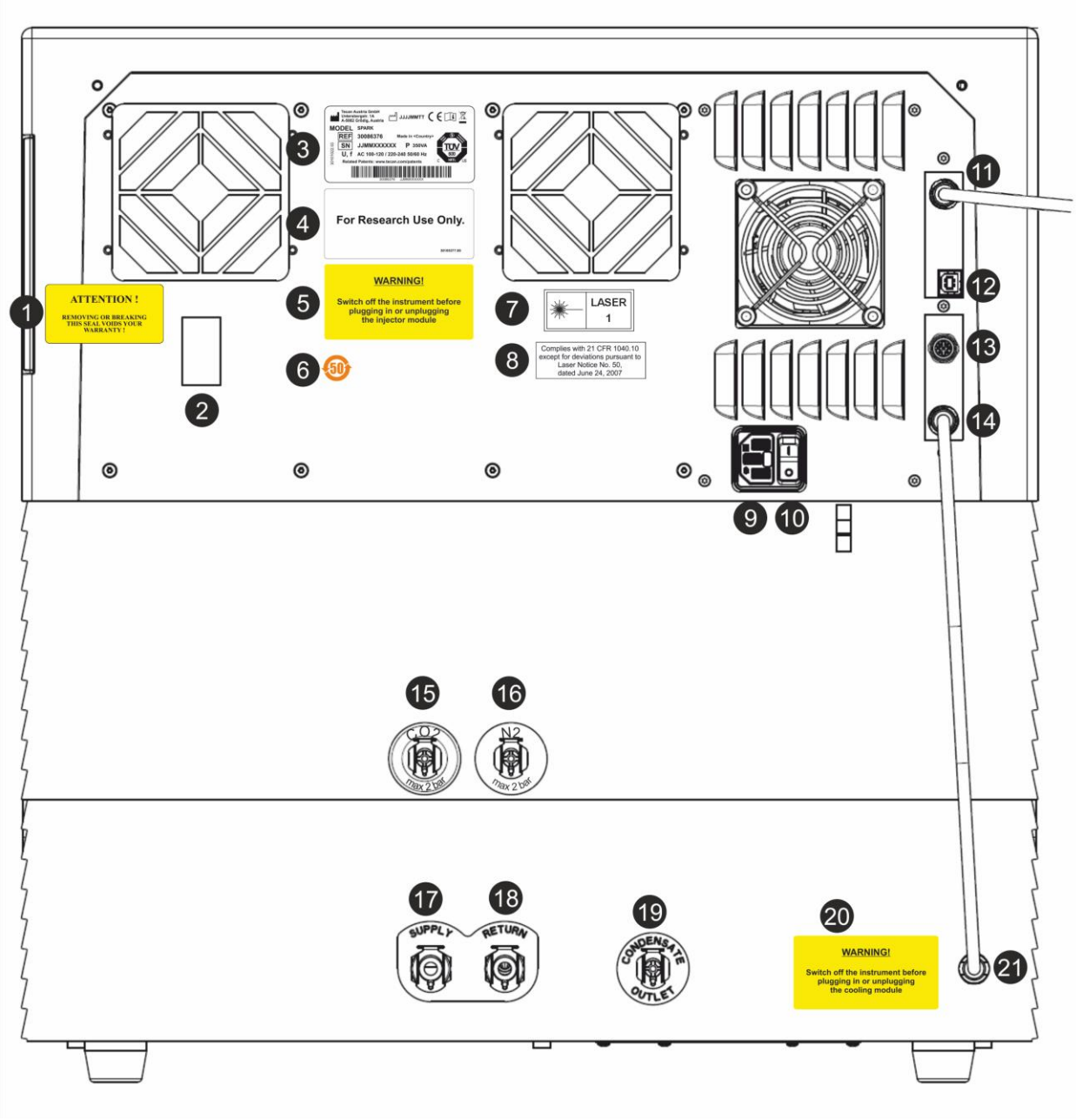
2.7 Diody přístroje

Přístroj SPARK je vybaven vícebarevnými diodami, které plní funkci optické signalizace provozu a stavu přístroje. Následující tabulka obsahuje přehled všech možných signálů, které vyjadřují funkce (fyzická tlačítka přístroje) u příslušných stavů přístroje.

Stav diody	**Stav přístroje**	**Fyzická ovládací tlačítka**		
		Zasunout/ Vysunout	Vysunout filtr	Fyzické tlačítko Start
-	VYP	O	O	O
-	POHOTOVOSTNÍ REŽIM	O	O	O
MODRÁ	NEČINNÝ (nepřipojen k softwaru SparkControl)	X	X	X
FIALOVÁ	NEČINNÝ (připojen k softwaru SparkControl)	X	X	X
ZELENÁ	SPUŠTĚNO	O	O	X
ČERVENÁ, PŘERUŠOVANĚ	CHYBA	O	O	O
ŽLUTÁ, PŘERUŠOVANĚ	ZÁSAH UŽIVATELE	X	O	X
ZELENÁ, PŘERUŠOVANĚ	POZASTAVENÍ	X	O	X
5 BLIKNUTÍ MODŘE	ČINNOST NELZE PROVÉST	O	O	O

Tabulka indikace stavů a funkcí diodami.
O = funkce není k dispozici. X = funkce je k dispozici.

2.8 Zadní pohled

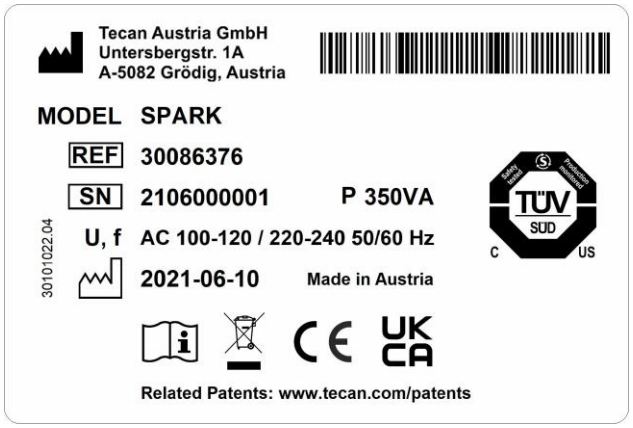


Obrázek 1: Pohled na zadní stranu přístroje

UPOZORNĚNÍ: Tento obrázek představuje pouze příklad. Provedení etiket na přístroji závisí na instalovaných doplňcích a na zemi použití.

1	Záruční etiketa: POZOR! ODSTRANĚNÍM NEBO NARUŠENÍM TÉTO PEČETI POZBÝVÁ ZÁRUKA NA PŘÍSTROJ PLATNOST! (umístěno i na spodní straně přístroje)
2	Kryt snímače teploty
3	Typový štítek (příklad)
4	Etiketa: Pouze pro výzkumné účely.
5	Etiketa: VÝSTRAHA! Před zapojením a odpojením modulu injektoru vypněte přístroj
6	Štítek: Čínský symbol směrnice RoHS
7	Etiketa: Laserový výrobek 1. třídy
8	Etiketa: V souladu s 21 CFR 1040.10 s výjimkou shody s IEC 60825-1 Ed.3, jak je popsáno v Oznámení o laseru č. 56 ze dne 8. května 2019.
9	Napájecí konektor
10	Hlavní vypínač
11	Konektor USB 3.0 pro kameru
12	USB konektor
13	Přípojka injektoru
14	Kabel CAN do vestavěného chladicího modulu (Te-Cool)
15	Přípojka přívodu CO_2 (max. 2 bar)
16	Přípojka přívodu N_2 (max. 2 bar)
17	Přívod: kapalinové chlazení
18	Zpětné vedení: kapalinové chlazení
19	Výpust kondenzátu
20	Etiketa: VÝSTRAHA! Před zapojením a odpojením chladicího modulu vypněte přístroj
21	Kabel CAN do přístroje

Příklad typového štítku



Obsah typového štítku (např. název MODEL a číslo výrobku REF) závisí na konkrétním typu.

3 Instalace přístroje

3.1 Instalace přístroje SPARK

Při umístění, přemísťování a připojování přístroje postupujte dle pokynů uvedených v tomto dokumentu. Společnost Tecan nepřejímá odpovědnost za poranění osob a škody na přístroji vzniklé v důsledku pokusu o vykonání těchto úkonů.

Přesvědčte se, zda laboratoř splňuje veškeré požadavky a podmínky uvedené v této kapitole.

3.2 Požadavky na instalaci přístroje SPARK

3.2.1 Požadavky na pracoviště

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 a mezi boky přístroje a jinými přístroji umístěnými vpravo a vlevo odstup alespoň 5 cm. Další informace o požadovaném provozním prostředí přístroje získáte v kapitole 6 Specifikace přístroje.

Výkon modulu pro snímání buněk čtečky Spark značně ovlivňují vibrace od vnějších zdrojů ve výzkumné laboratoři, které mohou způsobit rozmazání snímků a/nebo chyby při automatickém ostření. Proto je pro přístroj nezbytné zvolit vhodné umístění, kde jsou vibrace od vnějších zdrojů omezeny na naprosté minimum. Nejlepších výsledků lze dosáhnout použitím laboratorního stolu s izolací proti vibracím.

Zajistěte, aby při náhodném vysunutí držáku destičky a držáku injektoru nebylo možno o tyto součásti náhodně zavadit. Pokyny k instalaci injektoru a modulu ohřevu/míchátka jsou uvedeny v kapitole 16 Injektory.

Pokyny k instalaci chladicího modulu (Te-Cool) jsou uvedeny v kapitole 17.2 Systém chlazení.



UPOZORNĚNÍ: Montáž modulu na mikrotitrační destičky Spark-Stack je třeba svěřit servisnímu technikovi.

Zajistěte ničím neomezený a nepřetržitý přístup k hlavnímu vypínači a k napájecímu kabelu.



POZOR: Přístroj instalujte na ploché a rovné místo bez přítomnosti otřesů a mimo přímé sluneční záření. Místo nesmí být prašné a nesmí obsahovat rozpouštědla a kyselé výpary. Zajistěte, aby při náhodném vysunutí držáku destičky a držáku injektoru nebylo možno o tyto součásti náhodně zavadit.



POZOR: Mezi zadní částí přístroje a stěnou či jiným přístrojem zachovejte odstup alespoň 10 cm a mezi boky přístroje a jinými přístroji umístěnými vpravo a vlevo odstup alespoň 5 cm. Nezakrývejte přístroj za provozu.



POZOR: Na plášť přístroje neumísťujte těžké předměty. Nejvyšší přípustné zatížení pláště přístroje SPARK činí 20 kg. Tato zátěž však musí být rovnoměrně rozložena po celé ploše pláště.



POZOR: Používejte výhradně kabel USB dodaný společně s přístrojem. Přístroj byl podroben zkouškám při použití tohoto kabelu. Při použití jiného kabelu USB nemůže společnost Tecan Austria zaručit správnou funkci přístroje.

3.3 Vybalení a kontrola přístroje

1. Před otevřením balení proveďte zrakovou 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 a mezi boky přístroje a jinými přístroji umístěnými vpravo a vlevo odstup alespoň 5 cm. Zajistěte, aby při náhodném vysunutí držáku destičky a držáku injektoru nebylo možno o tyto součásti 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 obsah dílčích balení s položkami uvedenými na dodacím listu.
   Zjistíte-li jakékoli nesrovnalosti, neprodleně je ohlaste.
8. Obalové materiály a přepravní pojistky uschovejte pro potřeby budoucí přepravy přístroje.



VÝSTRAHA: Plně vybavený přístroj SPARK je přesné zařízení s přibližnou hmotností 50 kg. K opatrnému vyjmutí přístroje z přepravní krabice jsou třeba alespoň dvě osoby.



POZOR: Nepřetěžujte držák destičky. Nejvyšší přípustné zatížení přepravního mechanismu destičky činí 275 g. Přetížení držáku destičky může způsobit poškození přístroje vyžadující servisní zásah.

3.4 Dílčí balení



UPOZORNĚNÍ: Vždy porovnejte obsah dílčích balení s položkami uvedenými na dodacím listu. Zjistíte-li jakékoli nesrovnalosti, neprodleně je ohlaste.

Obal přístroje obsahuje tyto položky:

- kabely (USB 2.0 a napájecí),
- software (paměťové zařízení USB),
- návod k použití přístroje (volitelně),
- protokol kvality OOB,
- ES Prohlášení o shodě,
- protokol z výstupní zkoušky (COC),
- upozornění dle směrnice RoHS,
- adaptér na kyvety,
- pokyny k montáži a demontáži přepravních pojistek.

Přítomnost dalších dílčích balení závisí na instalovaných modulech:

- kovová přihrádka s kazetou na filtry (fluorescenční filtr / modul spojné optické soustavy),
- magnetická podložka (mechanismus otevírání víčka),

- sada hadic (regulace atmosféry),
- adaptér Tecan na buněčné čipy (lepenková krabice, včetně 15 buněčných čipů (počítadlo buněk)),
- maketa injektoru (injektor / injektor připraven),
- kovový box RoboFlask (středicí úchytka se stavěcím a náhradním šroubem),
- kovový box s uživatelským dichroickým zrcadlem (včetně montážního inbusového klíče).

3.5 Volitelná balení



UPOZORNĚNÍ: Vždy porovnejte obsah balení s položkami uvedenými na dodacím listu. Zjistíte-li jakékoli nesrovnalosti, neprodleně je ohlaste.

Jedno balení modulu injektoru (základní modul) obsahuje tyto položky:

- lepenková krabice s injektorem
- držák injektoru,
- držák láhve,
- PVC svorky,
- karbonová jehla,
- plnicí kádinky (2 x 1 ml; 1 x 50 ml),
- láhev s objemem 125 ml (neprůsvitná),
- láhev s objemem 15 ml (neprůsvitná).

Balení druhého modulu injektoru (rozšiřující modul) obsahuje tyto položky:

- lepenková krabice s injektorem
- držák láhve,
- PVC svorky,
- karbonová jehla,
- plnicí kádinky (2 x 1 ml),
- láhev s objemem 125 ml (neprůsvitná),
- láhev s objemem 15 ml (neprůsvitná).

Doplněk ohřev/míchátko obsahuje tyto položky:

- modul ohřevu/míchátka,
- hlavní kabel (základní modul),
- napájení (základní modul),
- skleněná kádinka 100 ml (základní a rozšiřující modul),
- magnetické míchátko (základní a rozšiřující modul),
- Inbusový klíč

Volitelná destička NanoQuant obsahuje tyto položky:

- ú ložný box NanoQuant (hliníkový kufřík)
- destička NanoQuant,
- pipetovací přípravek,
- osvědčení o bezpečnosti.

Volitelná standardní vlhkostní kazeta obsahuje tyto položky:

- vlhkostní kazeta (kazeta a víčko),
- magnetická podložka.

Volitelná vlhkostní kazeta pro snímání buněk obsahuje tyto položky:

- vlhkostní kazetu pro snímání buněk (kazeta a víčko),
- magnetickou podložku.

Volitelný modul TE-Cool obsahuje tyto položky:

- Externí kapalinové chladicí zařízení,
- sada hadic,
- hadice na kondenzát,
- kabel CAN,
- záslepky,
- koncentrát chladicí kapaliny.

Stohovací modul na mikrotitrační destičky Spark-Stack se skládá z těchto součástí (v závislosti na rozsahu objednávky):

- Volitelný stohovací zásobník
- Doplněk krátkého zásobníku
  - Sada 2 zásobníků na 30 destiček na jeden chod
  - Tmavé kryty a víčka
- Doplněk dlouhého zásobníku
  - Sada 2 zásobníků na 50 destiček na jeden chod
  - Tmavé kryty a víčka

Volitelný modul pro snímání buněk je vybaven samostatným počítačem.



UPOZORNĚNÍ: Montáž modulu na mikrotitrační destičky Spark-Stack je třeba svěřit servisnímu technikovi.



POZOR: Všechny položky dodávané s přístrojem, jakož i náhradní a doplňkové díly, jsou určeny výhradně k použití v přístroji, nikoli k všeobecnému použití.

3.6 Aktualizace

Přístroj se skládá z různých modulů a lze jej dle potřeby modernizovat. Další informace získáte u místního zastoupení společnosti Tecan.

3.7 Demontáž přepravních pojistek

3.7.1 Přepravní pojistka držáku destičky



POZOR: Před spuštěním přístroje demontujte přepravní pojistku.

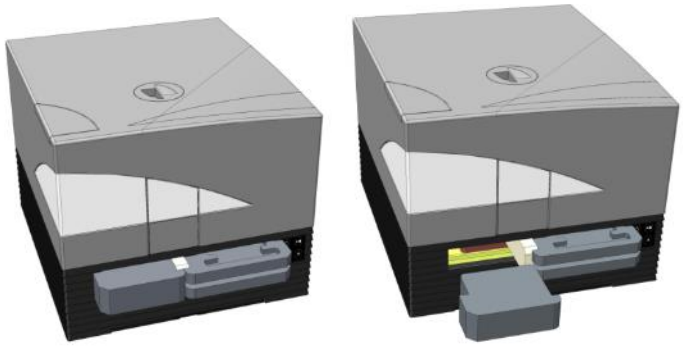
Přístroj je dodáván s držákem destičky zajištěným v přepravní poloze, aby nemohlo dojít k jeho poškození.

Nežli budete moci přístroj začít používat, je třeba dle níže uvedeného postupu demontovat přepravní pojistky (pěnové dílce):

1. Zkontrolujte, zda je přístroj odpojený od zdroje elektrické energie.
2. Sejměte pásku z dvířek přihrádky na filtr.



3. Sejměte pěnový dílec z levé přihrádky držáku destičky (viz obrázek níže).



4. Vysuňte manuálně držák destičky tahem za pěnové dílce v pravé přihrádce držáku destičky (viz obrázek níže).



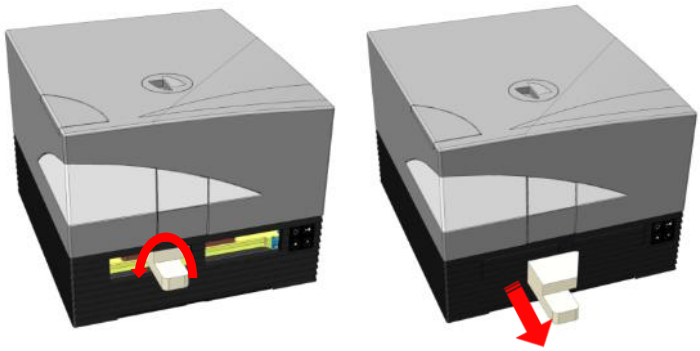
5. Nejprve sejměte horní a poté dolní pěnový dílec (viz obrázek níže).



6. Opatrně zasuňte držák destičky rukou zpět do přístroje. Držák je třeba zatlačit dostatečně daleko, aby se dvířka přihrádky s držákem dala zavřít (viz obrázek níže).



7. Otočte zbylý pěnový dílec o 90 ° proti směru hodinových ručiček a tahem jej vyjměte z přístroje (viz obrázek níže).





Pozor: Obalové materiály a přepravní pojistky (pěnové dílce) uschovejte pro potřeby budoucí přepravy přístroje. Přístroj je dovoleno přepravovat pouze v původním obalu a s namontovanými přepravními pojistkami.

3.8 Požadavky na napájení

Přístroj je vybaven samočinným zjištěním 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 a 220–240 V**. V případě jiného napětí se prosím obraťte na distributora společnosti Tecan.

Přístroj připojujte pouze k napájecí soustavě, která je vybavena ochranným zemnicím vodičem.



Pozor: Při nesprávném napětí přístroj nepoužívejte. Zapnutím přístroje s nesprávným napětím jej poškodíte.



Pozor: Je zakázáno namísto odpojovacích napájecích kabelů používat náhradu s nesprávnými jmenovitými hodnotami vodičů.

UPOZORNĚNÍ: Toto zařízení bylo testováno a shledáno vyhovujícím požadavkům na limity digitálního zařízení třídy A dle části 15 předpisů FCC a norem CISPR 11 / EN 55011. Účelem těchto limitů je zajistit přiměřenou ochranu osob proti vystavení nežádoucích účinků za provozu zařízení v komerčním prostředí. Toto zařízení vytváří, používá a může vyzařovat radiofrekvenční energii. Není-li instalováno a používáno v souladu s návodem k použití, může být způsobit rušení radiofrekvenčních komunikací. Je pravděpodobné, že provoz tohoto zařízení v rezidenčních oblastech způsobí rušení radiofrekvenčního signálu. V takovém případě je provozovatel povinen takové rušení odstranit na vlastní náklady.

3.9 Zapnutí přístroje

POZOR: Před prvním zapnutím přístroje vyčkejte alespoň tři hodiny. Umožníte tak odpaření případného kondenzátu, který by mohl uvnitř přístroje způsobit elektrický zkrat.

1. Přesvědčte se, zda se hlavní vypínač na zadním panelu přístroje nachází v poloze OFF (VYP).
2. K připojení počítače k přístroji používejte výhradně kabel USB dodaný společně s přístrojem.
3 Zasuňte konektor hlavního napájecího kabelu do zásuvky (vybavené ochranným zemnicím vodičem) na zadním panelu přístroje.
4. Připojte USB kabel kamery buněčného modulu (je veden přes zadní panel přístroje) k portu USB 3.0 na počítači.

POZOR: Kamera buněčného modulu, respektive kamera modulu pro snímání buněk, musí být připojena k počítačovému portu USB 3.0, aby byl zajištěn její plný výkon.

5. 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).
6. Dle potřeby připojte injektor.
7. Dle potřeby připojte modul ohřevu/míchátka.

POZOR: Před zapojením a odpojením modulu injektoru vypněte přístroj.

POZOR: Před zapojením a odpojením chladicího modulu vypněte přístroj.

8. Zapněte přístroj uvedením hlavního vypínače na zadním panelu do polohy ON (ZAP).
9. Spusťte software, který budete používat, a připojte se k přístroji. Pokyny k ovládání přístroje prostřednictvím softwaru jsou uvedeny v kapitole 8 Ovládání přístroje SPARK pomocí softwaru SparkControl.

VÝSTRAHA: Za provozu nezasahujte do přístroje!

3.10 Vypnutí přístroje

1. Zkontrolujte, zda je přepravní mechanismus destičky prázdný.
2. Odpojte přístroj od softwaru SparkControl: v části Method Explorer (Průzkumník metod) vyberte v nabídce File (Soubor) příkaz Exit (Konec; další informace naleznete v úplném návodu), nebo software zavřete z navigačního panelu, který se nachází v levé části modulu Dashboard (Ovládací panel).
3. Přístroj úplně vypněte hlavním vypínačem OFF na zadním panelu přístroje. Případně přístroj přepněte do POHOTOVOSTNÍHO režimu ovládacím tlačítkem (On/Off) na přední straně přístroje.



POZNÁMKA: Chcete-li přístroj na konci dne nebo po dokončení měření zcela vypnout, použijte hlavní vypínač na zadní straně přístroje.



POZOR: Po vypnutí vyčkejte před dalším zapnutím přístroje alespoň 5 sekund. V opačném případě mohou vznikat chyby.

3.11 Příprava přístroje k přepravě

Před expedicí přístroje s vestavěným chladicím modulem (Te-Cool) byla z chladicí soustavy odčerpána chladicí kapalina. Tento postup musí vykonávat pouze servisní technik.



POZOR: Nepřepravujte přístroj s vestavěným chladicím modulem! Připravit přístroj k přepravě je dovoleno pouze povolaným servisním technikům společnosti Tecan. Zbytky chladicí kapaliny mohou poškodit přístroj.

Před expedicí přístroje vybaveného modulem stohovacího zásobníku na mikrotitrační destičky (Spark-Stack) je třeba tento modul od přístroje demontovat. Tento postup musí vykonávat pouze servisní technik.



POZOR: Nepřepravujte přístroj s namontovaným modulem stohovacího zásobníku! Demontáž stohovacího modulu k přepravě přístroje nebo stohovacího modulu smí provést výhradně servisní technik pověřený společností Tecan.

Před zahájením přepravy je třeba uvést části přístroje do parkovací polohy, která předchází poškození optických součástí a přepravního mechanismu destiček (viz kapitolu 3.11.1 Uvedení částí přístroje do parkovací polohy). Po uvedení částí přístroje do parkovací polohy je třeba na přístroj namontovat přepravní pojistky (viz kapitolu 3.11.2 Montáž přepravních zámků držáku destičky).

Před zahájením přepravy je třeba přístroj důkladně dezinfikovat (týká se i injektorů, modulu ohřevu/míchátka, vlhkostní kazety, destičky NanoQuant a všech dalších volitelných součástí; viz kapitolu 7.4 Dekontaminace/dezinfekce přístroje). Pokyny k údržbě injektoru jsou uvedeny v kapitole 16.3 Čištění a údržba injektoru).



POZOR: Před zapojením a odpojením modulu injektoru vypněte přístroj.

POZOR: Před zapojením a odpojením chladicího modulu vypněte přístroj.

Přístroj je dovoleno přepravovat pouze v původním obalu (týká se i injektorů, modulu ohřevu/míchátka, vlhkostní kazety, destičky NanoQuant a všech dalších volitelných součástí).

VÝSTRAHA: Injektor a modul ohřevu/míchátka přemísťujte odděleně. Tyto dvě jednotky nejsou vzájemně propojené. Při společném přemísťování může některá z jednotek snadno upadnout a poškodit se.

3.11.1 Uvedení částí přístroje do parkovací polohy

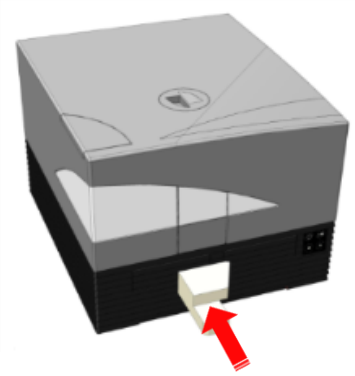
1. Zkontrolujte, zda je přepravní mechanismus destičky prázdný.
2. Zkontrolujte, zda je injektor (maketa) odpojen od portu.
3. Odpojte přístroj od softwaru SparkControl: v části Method Explorer (Průzkumník metod) vyberte v nabídce File (Soubor) příkaz Exit (Konec; další informace naleznete v úplném návodu), nebo software zavřete z navigačního panelu, který se nachází v levé části modulu Dashboard (Ovládací panel).
4. Stisknutím tlačítka na čelním panelu přístroje vyjměte kazety na filtry.
5. Stisknutím tlačítka na čelním panelu přístroje vysuňte přepravní mechanismus destičky.
6. Chcete-li zahájit odstavení, stiskněte tlačítko zapnutí/vypnutí na přední straně přístroje. Zahájení procesu odstavení může trvat několik sekund.
7. Vypněte přístroj uvedením hlavního vypínače na zadním panelu do polohy OFF (VYP).
8. Namontujte přepravní zámek držáku destičky (viz kapitolu 3.11.2 Montáž přepravních zámků držáku destičky).

POZOR: Parkovací sekvenci je třeba provést a přepravní zámek držáku destičky namontovat před zahájením přepravy přístroje. V případě přepravy přístroje bez těchto ochranných opatření pozbývá záruka na přístroj platnosti. K přepravě používejte původní obal.

3.11.2 Montáž přepravních zámků držáku destičky

Přístroj musí být přepravován s držákem destičky zajištěným v přepravní poloze, aby nemohlo dojít k jeho poškození. Před zahájením přepravy přístroje je třeba dle níže uvedeného postupu namontovat přepravní pojistky (pěnové dílce):

1. Zkontrolujte, zda je přístroj odpojený od zdroje elektrické energie.
2. Přidržte dvířka držáku destičky v dolní poloze a do levé přihrádky vložte bílý pěnový dílec (viz níže).



3. Po vložení dílce jím otočte o 90 ° ve směru hodinových ručiček tak, aby užší část dílce zasahovala do prostoru mezi otvory obou přihrádek. Tento pěnový dílec zajišťuje dveře přihrádky v otevřené poloze.



4. Opatrně rukou vysuňte držák destičky natolik, aby se zezadu dotýkal pěnového dílce a aby se držák destičky nemohl dále pohybovat směrem ven.



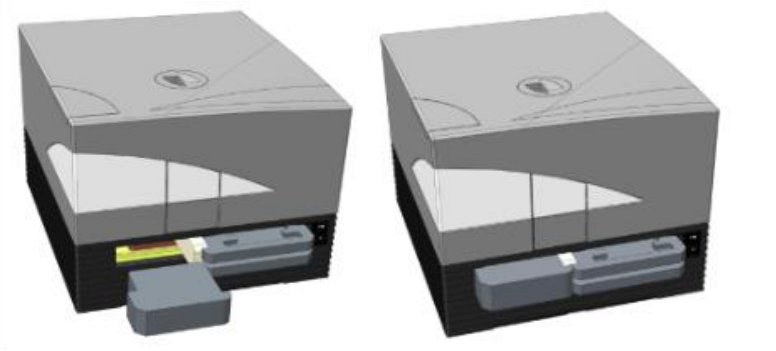
5. Nejprve zasuňte dolní pěnový dílec, který následně zajistíte ve správně poloze horním dílcem (viz obrázek níže).



6. Zatlačením na pěnové dílce připevněné k držáku destičky přemístěte držák nadoraz směrem k pravé přihrádce.



7. Zasuňte pěnový dílec do levé přihrádky držáku destičky (viz obrázek níže).



8. Lepicí páskou zajistěte dvířka přihrádky na filtr v zavřené poloze (viz obrázek níže).

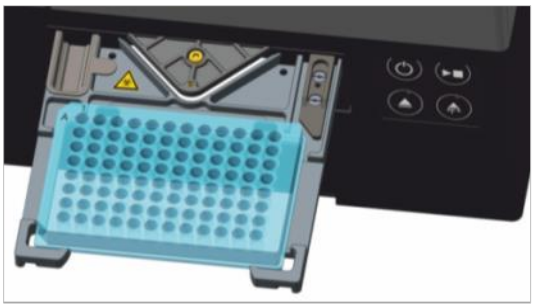


4 Ovládání destičky

Přepravní mechanismus destičky se pohybuje ve vodorovném (ve směru os x a y) i ve svislém (ve směru osy z) směru. Díky tomu lze u obou režimů měření, horního i dolního, dosáhnout optimální polohy bez ohledu na použitý typ destičky a objem náplně. Rychlost pohybu je vždy nastavena optimálně dle typu destičky a režimu detekce.

UPOZORNĚNÍ: Dodatečné požadavky na ovládání přístroje vybaveného modulem stohovacího zásobníku na mikrotitrační destičky jsou uvedeny v kapitole 15 Stohovací zásobník na mikrotitrační destičky Spark-Stack.

POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je mikrotitrační destička vložena správným směrem. Jamka A1 se musí nacházet v levém horním rohu držáku.



Obrázek 2: Mikrotitrační destička na držáku s jamkou A1 v levém horním rohu

POZOR: Společnost Tecan Austria GmbH postupovala při vytváření souborů definice destiček (.pdfx), které jsou dodávány společně s přístrojem, s maximální pozorností.

Společnost Tecan Austria učinila veškerá preventivní opatření k vyloučení chyb při definici hloubky jamek v jednotlivých typech definovaných destiček. Tyto parametry slouží ke stanovení minimální vzdálenosti mezi horní hranou destičky a stropem měřicí komory. Společnost Tecan Austria začlenila do definicí i velmi malou rezervní mezeru, jejímž účelem je předejít poškození, které by mohlo vzniknout v důsledku malého kolísání výšky destiček. Tato skutečnost nemá vliv na výkon přístroje.

Přesvědčte se, zda vybraný soubor definice destičky odpovídá používané mikrotitrační destičce. V opačném případě nebude rezervní mezera správně vypočítána a může dojít k poškození přístroje.

POZOR: Při práci s agresivními roztoky neponechávejte mikrotitrační destičky v přístroji přes noc. Kyseliny, zásady a čisticí roztoky (bělicí prostředky) se budou uvnitř čtečky odpařovat a způsobí korozi. Důsledkem může být závažné poškození přístroje, které znemožní jeho správné fungování. Společnost Tecan nepřejímá odpovědnost za poškození přístroje následkem nevhodné manipulace s destičkami.

POZOR: Je třeba zkontrolovat, zda se na povrchu destičky nenachází potenciální fluorescenční nebo luminiscenční kontaminanty. Současně je třeba pamatovat, že některé pojivé materiály zanechávají lepkavé zbytky, které je třeba před zahájením měření odstranit.

4.1 Poloha na ose Z

Výšku objektivu nad vzorkem lze upravit pomocí funkce Z-position (Poloha na ose Z). Jelikož budicí záření se odráží od kapalného vzorku, úprava polohy na ose Z pomáhá zvýšit poměr signálu k šumu na maximum. Podrobné informace o úpravě polohy na ose Z naleznete v příslušné kapitole úplného návodu.

4.2 Třepání

Přístroj SPARK je vybaven funkcí třepání destičkou, kterou lze využít před zahájením měření a mezi kinetickými cykly. K dispozici jsou tři režimy třepání: lineární, orbitální a dvojitý orbitální. Amplitudu třepání lze nastavit v rozmezí 1–6 mm v krocích po 0,5 mm. Kmitočet je funkcí amplitudy. Délku trvání třepání lze nastavit v rozmezí 3–3 600 sekund.

4.3 Inkubační/chladicí poloha

Přístroj SPARK je vybaven přednastavenou inkubační/chladicí polohou s optimální distribucí teploty. Tyto polohy lze při měření používat v období třepání a čekání.

4.4 Mechanismus otevírání víčka

Volitelný mechanismus otevírání víčka se skládá ze stálého magnetu a magnetické desky. Magnetickou desku lze připevnit k víčkům všech běžných typů mikrotitračních destiček s výškou do 11,5 mm. Magnetický mechanismus se ovládá prostřednictvím softwaru.

Chcete-li desku připevnit na víčko, sejměte papír z kovového kotouče a přilepte desku ke středu víčka.



POZOR: Víčko nesmí být vyšší než 11,5 mm.



POZOR: Před lepením magnetické desky očistěte víčko 70% roztokem etanolu.



POZOR: Je-li v metodě aktivní některá z možností **Removable Lid (Odnímatelné víčko)** nebo **Humidity Cassette (Vlhkostní kazeta)**, zkontrolujte, zda víčko destičky obsahuje magnetickou desku.



POZOR: Magnetickou desku je třeba připevnit ke středu víčka. V opačném případě nelze zajistit optimální funkčnost otevíracího mechanismu.

Volitelný mechanismus otevírání víčka slouží k dočasnému otevření víčka destičky, například ke vstříknutí kapaliny nebo k měření, v rámci dlouhodobého experimentu. Použití víčka předchází odpařování vzorku.

Mechanismus otevírání víčka ve spojení s volitelnou plynovou jednotkou může ve zkouškách na buněčné bázi rovněž sloužit ke zkvalitnění výměny plynů mezi médiem a okolním prostředím. Stačí do pracovního postupu zařadit ventilační kroky a nastavit příslušné časové úseky.

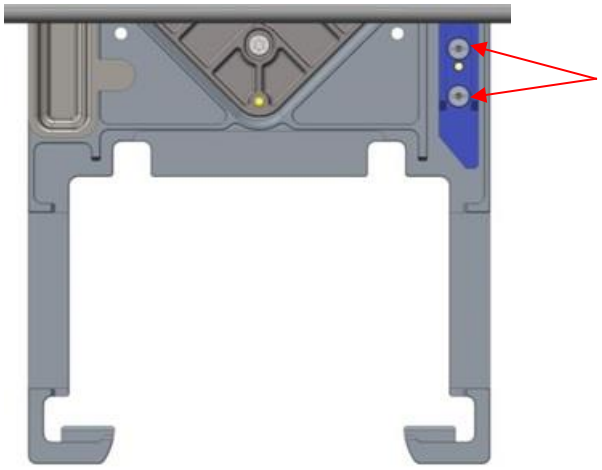
Volitelný mechanismus otevírání víčka lez používat i ve spojení s vlhkostní kazetou Tecan (viz kapitolu 17 Regulace prostředí).

4.5 Zajištění kultivačních láhví RoboFlask

K zajištění kultivačních láhví RoboFlask (společnost Corning, Inc.) je třeba použít středicí úchytku. Středicí úchytku je třeba namontovat před zahájením měření s využitím kultivačních láhví RoboFlask. Postupujte dle pokynů.

- Vysuňte přepravní mechanismus destičky.
- Umístěte středicí úchytku na upevňovací mechanismus destičky, jak je znázorněno na schématu níže.
- Utáhněte šroub a počínejte si opatrně, aby nedošlo k poškození držáku destičky.

POZOR: Při montáži středicí úchytky netlačte na držák destičky.
Ohnutá destička může negativně ovlivnit výkon přístroje, a to i natolik, že bude vyžadován servisní zásah.



Obrázek 3: Středicí úchytka na kultivační láhve RoboFlask

POZOR: Nepoužívejte kultivační láhve RoboFlask bez středicí úchytky.
Nepřesné dávkování může způsobit poškození přístroje.

UPOZORNĚNÍ: Při použití vyššího počtu záblesků a/nebo delší doby ustálení v rámci měření s láhvemi RoboFlask dosáhnete vyšší přesnosti výsledků.

5 Platforma SPARK

SPARK je platforma vícerežimových čteček. Každý přístroj lze vybavit mnoha moduly a funkcemi. Jejich přehled je uveden v následujících odstavcích.

5.1 Přehled dostupných modulů a funkcí

Přístroj SPARK je kompatibilní s destičkami obsahujícími 1–384 jamek; vybavenější moduly podporují formát mikrotitračních destiček až do 1 536 jamek.

Modul/funkce	Charakteristika
Absorbance	Absorbance (rychlé absorbanční skenování) nebo rozšířená absorbance (až 1 536 jamek)
Destička NanoQuant	Na vzorky nukleových kyselin s malým objemem; připravené aplikace pro kvantifikaci a značkování nukleových kyselin.
Modul na kyvety	K měření absorbance. K dispozici připravená aplikace.
Luminiscence, standardní	Funkce tlumení (OD1 a OD2) Až 384 jamek.
Luminiscence, rozšířená	Funkce tlumení (OD1, OD2 a OD3). Diskriminace vlnové délky. Součástí je funkce luminiscenčního skenování. Až 1 536 jamek
Alpha technologie	AlphaScreen, AlphaLISA a AlphaPlex Alpha rozšířená (až 1 536 jamek)
Fluorescence, standardní, horní měření	K dispozici jsou tyto možnosti: pouze filtry, pouze monochromátor, nebo spojná optická soustava. Až 384 jamek.
Fluorescence, standardní, dolní měření	K dispozici jsou tyto možnosti: pouze filtry, pouze monochromátor, nebo spojná optická soustava. Vlákno VIS nebo UV-VIS. Až 384 jamek.
Dolní standardní plošné fluorescenční skenování	Až 100 x 100 datových bodů na jamku
Fluorescence, standardní, polarizace	K dispozici jsou tyto možnosti: pouze filtry, pouze monochromátor, nebo spojná optická soustava. Vlákno >300 nm nebo >390 nm. Až 384 jamek.
Fluorescence rozšířená, horní skenování	K dispozici jsou tyto možnosti: pouze filtry, pouze monochromátor, nebo spojná optická soustava. Citlivější než standardní doplněk. Až 1 536 jamek.

Modul/funkce	Charakteristika
Fluorescence rozšířená, dolní skenování	K dispozici jsou tyto možnosti: pouze filtry, pouze monochromátor, nebo spojná optická soustava. Vybaven vláknem UV-VIS. Citlivější než standardní doplněk. Volitelně 1 536 jamek.
Dolní rozšířené plošné fluorescenční skenování	Až 100 x 100 datových bodů na jamku
Fluorescence rozšířená, polarizační	K dispozici jsou tyto možnosti: pouze filtry, pouze monochromátor, nebo spojná optická soustava. Vybaveno vláknem >360 nm. Citlivější než standardní doplněk. Až 1 536 jamek.
Buněčný modul: Počítání a konfluence buněk	Počítání a životaschopnost buněk v buněčných čipech Tecan (připravené aplikace). Konfluence buněk v mikrotitračních destičkách.
Modul pro snímání buněk	Snímání v jasném poli a fluorescenční snímání v destičkách.
Spark-Stack	Vestavěný zásobníkový, stohovací modul určený k automatickému vkládání, odebírání a opětovnému stohování mikrotitračních destiček.
Injektor (jeden nebo dva injektory)	Jeden nebo dva injektory s různými objemy stříkaček.
Modul ohřevu a míchátka	Oba injektory lze vybavit modulem ohřevu a míchátka.
Ohřev	3 °C nad okolní teplotou do 42 °C.
Chlazení (Te-Cool)	18 °C až 42 °C.
Regulace atmosféry	Jen CO_2 nebo CO_2 a O_2.
Regulace vlhkosti	Ochrana proti odpařování k destičkám různých formátů pro dlouhodobé studie (buněčné).
Mechanismus otevírání víčka	Interakce během dlouhodobých studií (výměna atmosféry, vstřikování).
Snímač čárových kódů	Automaticky načítá čárové kódy.

Doplňky pro standardní a rozšířenou fluorescenci nelze používat společně na jednom přístroji.

6 Specifikace přístroje



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

Následující tabulka obsahuje seznam technických specifikací základní jednotky přístroje bez volitelných rozšíření:

Všeobecné specifikace

Parametry	Vlastnosti
Měření	Řízené softwarem
Rozhraní	USB 2.0 nebo 3.0 (SPARK); 3.0 (SPARK CYTO)
Spojná optická soustava	Monochromátor a filtr (s externí výměnou filtru)
Mikrotitrační destičky	1jamkové až 1536jamkové destičky SBS
Regulace teploty	18 ° C až 42 ° C (v závislosti na použitých modulech)
Třepání destiček	Lineární, orbitální a dvojité orbitální
Světelný zdroj	Vysokoenergetická xenonová výbojka
Optika	Čočky z křemenného skla
Fluorescenční detektor	Fotonásobič s nízkou úrovní temného proudu
Luminiscenční detektor	Fotonásobič s nízkou úrovní temných detekcí
Absorbanční detektor	Křemíková fotodioda
Napájecí napětí	100–120 V a 220–240 V, samočinná detekce
Spotřeba elektrické energie	Provoz: 350 VA, Pohotovostní režim: 25 VA

Fyzikální vlastnosti

Parametry	Vlastnosti		
Vnější rozměry	Šířka:	494 mm	(19,5")
	Výška:	395 mm	(15,5")
	Výška (s modulem Te-Cool):	512 mm	(20,2")
	Výška (s modulem pro snímání buněk):	512 mm	(20,2")
	Výška (včetně držáku injektoru):	455 mm	(17,9")
	Hloubka:	557 mm	(21,9")
	Hloubka (bez držáku):	699 mm	(27,5")
	Hloubka (s modulem Spark-Stack):	786 mm	(30,9 in)

Hmotnost

Parametry	Vlastnosti	
Přístroj	40 kg	(88 lb)
Přístroj s modulem Te-Cool	50 kg	(110 lb)
Přístroj s modulem pro snímání buněk (pro CYTO600, nejtěžší konfigurace)	max. 50 kg	(max. 110 lb.)
Injektor (2kanálový)	4,0 kg	(8,8 lb)
Modul ohřevu/míchátka	2,7 kg	(6 lb)
Modul Spark-Stack		
Stohovací zásobník	8,5 kg	(18,7 lb)
Krátký zásobník (2 zásobníky destiček, včetně tmavých krytů a tmavých víček	4,5 kg	(9,9 lb)
Dlouhý zásobník (2 zásobníky destiček, včetně tmavých krytů a tmavých víček)	5 kg	(11 lb)

Požadavky na prostředí

Parametry	Vlastnosti	
Provozní teplota	+15 ° C až +35 ° C	59 ° F až 95 ° F
Provozní teplota s aktivním chlazením	+15 ° C až +30 ° C	59 ° F až 86 ° F
Přepravní teplota	-30 ° C až +60 ° C	-22 ° F až +140 ° F
Provozní vlhkost	20 % až 90 % (nekondenzující)	
Provozní vlhkost s aktivním chlazením	20 % až 80 % (nekondenzující)	
Přepravní vlhkost	20 % až 95 % (nekondenzující)	
Provozní tlak	700–1 050 hPa	
Přepravní tlak	500–1 100 hPa	
Kategorie přepětí	II	
Stupeň znečištění	2	
Způsob využití	Komerční	
Hladina hluku	< 60 dBA	
Způsob likvidace	Elektronický (infekční) odpad	

7 Čištění a údržba

7.1 Úvod

- Podrobnější informace k údržbě modulu NanoQuant naleznete v kapitole 18.4 Údržba destiček NanoQuant a v příslušné kapitole úplného návodu.
- Pokyny k údržbě injektoru jsou uvedeny v kapitole 16.3 Čištění a údržba injektoru.
- Podrobnější informace k údržbě adaptéru na buněčné čipy naleznete v kapitole 13.3.3 Údržba a čištění adaptéru na buněčné čipy a v příslušné kapitole úplného návodu.
- Pokyny k údržbě chladicího modulu jsou uvedeny v kapitole 17.2.7 Údržba.
- Informace o údržbě modulu Spark-Stack jsou uvedeny v kapitole 15.2.7 Čištění a údržba modulu Spark-Stack.

Postupy k čištění a údržbě jsou důležité z hlediska prodloužení životnosti přístroje a snížení potřeby servisního zásahu.

Tato kapitola obsahuje informace o následujících tématech:

- preventivní údržba (PÚ)
- rozlití kapalin,
- dezinfekce přístroje,
- postup při dezinfekci,
- osvědčení o bezpečnosti,
- likvidace.



POZOR: Přepravní mechanismus destičky udržujte v čistotě! Zvláštní péči věnujte mechanismu svorky, která zajišťuje destičky ve správné poloze. Nedostatečně pevné zajištění destičky může způsobit poškození přístroje. Odstranění nadměrného znečištění přístroje vyžaduje servisní zásah.

7.2 Preventivní údržba

Pro zajištění a udržení optimálního výkonu přístroje a minimalizaci opotřebení se důrazně doporučuje provádět každoroční preventivní údržbu (PÚ).

Postup PÚ zahrnuje (mimo jiné):

- Kontroly funkčnosti a přesnosti
- Čištění filtrů a ventilátorů
- Výměnu náhradních dílů
- Vyrovnání mechanických součástí



POZNÁMKA: Tato údržba musí být provedena certifikovaným servisním technikem společnosti Tecan.

7.3 Rozlití kapalin

1. Uniklou nebo rozlitou kapalinu ihned odstraňte pomocí absorpčního materiálu.
2. Kontaminovaný materiál správně zlikvidujte.
3. Očistěte povrch přístroje pomocí jemného detergentu.
4. V případě rozlití biologicky nebezpečného materiálu použijte k čištění přípravek B33 (Orochemie, Německo).
5. Všechny očištěné plochy otřete dosucha.



VÝSTRAHA: Před vysoušením rozlité kapaliny přístroj vždy vypněte. Rozlitou kapalinu je třeba považovat za potenciálně infekční. K prevenci kontaminace potenciálně infekčními onemocněními vždy dodržujte příslušná 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 7.5 Likvidace.

7.4 Dekontaminace/dezinfekce přístroje



VÝSTRAHA: Při dezinfekci postupujte v souladu s celostátními, regionálními či místními zákonnými předpisy.



VÝSTRAHA: Veškeré části přístroje, které přicházejí do styku s potenciálně infekčním nebo jinak nebezpečným materiálem, je třeba považovat za potenciálně infekční místa.

K prevenci kontaminace dodržujte při dezinfekci přístroje příslušná bezpečnostní opatření (včetně používání ochranných rukavic bez pudru, ochranných brýlí a ochranného oděvu).



VÝSTRAHA: Před přemístěním přístroje z laboratoře či před zahájením servisních úkonů na přístroji musí být přístroj důkladně dezinfikován.



VÝSTRAHA: Postup k dezinfekci injektoru uvedený v této kapitole se týká pouze pláště jednotky injektoru. Popis postupu při čištění a údržbě stříkaček, hadic a čerpadel je uveden v kapitole 16.3 Čištění a údržba injektoru.



POZOR: Před odesláním přístroje zkontrolujte, zda se v přístroji nenachází mikrotitrační destička. Ponecháte-li v přístroji destičku, může dojít k potřísnění optických součástí fluorescentním roztokem a následnému poškození přístroje.

Před navrácením přístroje distributorovi nebo jeho odesláním do servisního střediska je třeba dezinfikovat všechny vnější plochy a mechanismus přepravy destiček. Provozovatel přístroje je současně povinen vyplnit Osvědčení o bezpečnosti přístroje. Není-li k přístroji přiloženo Osvědčení o bezpečnosti, distributor a servisní středisko nemusí přístroj přijmout, popřípadě může být přístroj i zadržen celními orgány.

7.4.1 Dezinfekční roztoky

K dezinfekci přístroje (čelní část, kryt, přepravní mechanismus destičky) lze použít tento roztok:

- B33 (Orochemie, Německo)



POZOR: Dezinfekci přístroje je třeba vykonávat v dobře větrané místnosti. Tyto úkony smí vykonávat pouze povolané a proškolené osoby používající jednorázové ochranné rukavice, ochranné brýle a ochranný oděv.



VÝSTRAHA: Postup k dezinfekci injektoru se týká pouze pláště jednotky injektoru. Popis postupu při čištění a údržbě stříkaček je uveden v kapitole 16.3 Čištění a údržba injektoru.

7.4.2 Postup při dezinfekci



POZOR: Roztok k dezinfekci povrchu přístroje může při úmyslném použití i náhodném vniknutí do přístroje negativně ovlivnit jeho výkon.



POZOR: Před zahájením dezinfekce zkontrolujte, zda se v přístroji nenachází mikrotitrační destička.

Jestliže laboratoř nepoužívá vlastní dezinfekční postupy, postupujte při dezinfekci vnějšího povrchu přístroje dle níže uvedených pokynů:

1. Použijte ochranné rukavice, ochranné brýle a ochranný oděv.
2. Připravte si vhodnou nádobu k odložení použitého materiálu.
3. Odpojte přístroj od zdroje elektrické energie.
4. Odpojte od přístroje všechny používané externí moduly.
5. Pečlivě otřete vnější povrch přístroje papírovou utěrkou, která nezanechává odletky, namočenou v dezinfekčním roztoku.
6. Stejně postupujte i u držáku destičky.
7. Poté dezinfikujte veškeré externí moduly, které používáte společně s přístrojem.
8. Vyplňte Osvědčení o bezpečnosti a připevněte je na vnější stranu krabice, tak aby bylo snadno viditelné.

Níže uvádíme podrobné informace o Osvědčení o bezpečnosti přístroje, které je třeba vyplnit před navrácením přístroje distributorovi či jeho odesláním do servisního střediska.



POZOR: Ruční manipulace přepravním mechanismem destičky je dovolena pouze po odpojení přístroje od zdroje elektrické energie.

7.4.3 Osvědčení o bezpečnosti

Osvědčení o bezpečnosti přístroje si vyžádejte od místního Oddělení péče o zákazníky společnosti Tecan (kontaktní informace naleznete na adrese http://www.tecan.com/).

K zajištění bezpečnosti a zdraví zaměstnanců své zákazníky žádáme o laskavé vyplnění dvou výtisků **Osvědčení o bezpečnosti**. 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 přístroje je třeba vykonávat v dobře větrané místnosti. Tyto úkony smí vykonávat pouze povolané a vyškolené osoby používající jednorázové ochranné rukavice bez pudru, ochranné brýle a ochranný oděv.

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

Není-li k přístroji přiloženo Osvědčení o bezpečnosti, servisní středisko nemusí přístroj přijmout.

7.5 Likvidace

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

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



POZOR: Dodržujte veškeré celostátní i místní právní předpisy na ochranu životního prostředí.



POZOR: Směrnice 2012/19/EU o odpadních elektrických a elektronických zařízeních (OEEZ)

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.

7.5.1 Likvidace obalového materiálu

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

Navrácení obalového materiálu výrobci

Jestliže obalový materiál nehodláte uskladnit k budoucímu použití, např. pro účely skladování a přepravy přístroje, vraťte obal od přístroje, náhradních dílů a případných doplňků prostřednictvím servisního technika výrobci.

7.5.2 Likvidace provozního materiálu



VÝSTRAHA: S odpadem z provozu přístroje může souviset vznik odpadu (např. destičky), který může představovat nebezpečí biologické povahy.

S mikrotitračními destičkami, buněčnými čipy a dalším jednorázovým materiálem a látkami postupujte v souladu se směrnicemi pro správné laboratorní postupy.

Informujte se u příslušných orgánů státní správy nebo místní samosprávy o sběrných místech a o správném způsobu likvidace.

7.5.3 Likvidace přístroje

Před likvidací přístroje se prosím obraťte na zástupce servisu společnosti Tecan, který vám sdělí další informace.



POZOR: Před likvidací přístroje vždy proveďte 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. Zajistěte veškerou manipulaci s takovým materiálem v souladu s příslušnými bezpečnostními právními předpisy a normami.

Před likvidací přístroje vždy dekontaminujte všechny jeho součásti.

8 Ovládání přístroje SPARK pomocí softwaru SparkControl

8.1 Oblast použití

Software SparkControl představuje flexibilní nástroj se snadným ovládáním, který poskytuje uživatelům plnou kontrolu nad čtečkou Tecan SPARK.

UPOZORNĚNÍ: V závislosti na připojení přístroje a na používaných modulech nemusí být některé funkce softwaru SparkControl k dispozici nebo mohou být skryté.

8.2 Požadavky systému

UPOZORNĚNÍ: Přístroj SPARK s modulem pro snímání buněk se vždy dodává se samostatným počítačem, který vyhovuje požadavkům na operační paměť a grafickou kartu. Jazyk operačního systému v tomto počítači je nastaven na angličtinu.

UPOZORNĚNÍ: Přístroj SPARK s modulem pro snímání buněk se vždy dodává se samostatným počítačem, který vyhovuje požadavkům na operační paměť a grafickou kartu. Jazyk operačního systému v tomto počítači je nastaven na angličtinu.

POZOR: Je-li ovládací počítač připojen k internetu, je uživatel povinen přijmout nezbytná bezpečnostní opatření k ochraně systému proti ohrožení kybernetické bezpečnosti.

Abyste zabránili používání/úpravě systému neoprávněnými uživateli, doporučuje společnost Tecan používat systém správy uživatelů Windows. Při instalaci antivirového softwaru nebo aktualizací operačního systému souvisejících s bezpečností se řiďte doporučeními místního oddělení IT.

Používání softwaru SparkControl vyžaduje splnění těchto hardwarových a systémových požadavků:

	Podporovaná konfigurace	**Doporučená konfigurace**
Počítač	Osobní počítač kompatibilní s OS Windows vybavený procesorem kompatibilním s technologií Pentium a s taktovací frekvencí 2 GHz (dvě jádra)	2,4 GHz (čtyři jádra)
	Modul pro snímání buněk: > 3 GHz (8 jader) Grafická karta s pamětí 2 GB	
Operační systém	Windows 10 (64bitový) Windows 11 (64bitový) Edice: Pro, Enterprise **Operační systém Windows RT NENÍ podporován!**	

	Podporovaná konfigurace	Doporučená konfigurace
Velikost paměti	4 GB RAM	16 GB RAM
	Modul pro snímání buněk: 64 GB RAM	
Volné místo na pevném disku	6 GB Počítání buněk: 40 GB Měření konfluence buněk vyžaduje 500 GB.	10 GB Počítání buněk: 160 GB Pro měření konfluence buněk se doporučuje volný prostor 1 000 GB.
	Modul pro snímání buněk: 512 GB SSD (systém) + 8 TB HDD (archiv)	
Monitor	Grafická karta typu Super VGA	**Modul pro snímání buněk:** grafická karta s rozlišením 4 K
Rozlišení obrazovky	1 280 x 1 024	1 680 x 1 050 1 920 x 1 080
Barevná hloubka	256	
Myš	Myš Microsoft nebo kompatibilní ukazovací zařízení	
Komunikační rozhraní	USB 2.0 USB 3.0	Samostatný kabel buněčného modulu musí být připojen k portu USB 3.0, v ideálním případě k samostatnému řadiči. V opačném případě nelze zaručit jeho optimální výkon.
	Modul pro snímání buněk: USB 2.0 (přístroj) USB 3.0 (kamera)	**Modul pro snímání buněk:** USB 3.0 (přístroj) USB 3.0 (kamera)
Zařízení	Grafická karta kompatibilní s aplikačním rozhraním DirectX 9 a ovladačem WDDM 1.0 nebo novějším	
.NET	Microsoft.NET Framework 4.8 Požadovaná verze prostředí .NET se instaluje automaticky vedle všech dalších verzí prostředí .NET.	
Aplikace Microsoft Excel	2007, 2010, 2013, 2016, 2019, Excel 365 Exportní mechanismus ukládá soubory do formátu Office Open XML (.xlsx)	2019, Excel 365

8.3 Instalace softwaru

UPOZORNĚNÍ: Instalace softwaru vyžaduje oprávnění správce systému.

UPOZORNĚNÍ: Software instalujte před připojením přístroje k počítači.

UPOZORNĚNÍ: Před aktualizací softwaru **SparkControl** na vyšší verzi zkontrolujte, zda jsou kamera a veškeré příslušenství odpojeny od počítače.

POZOR: Před odinstalací a aktualizací softwaru vždy dokončete veškeré kinetické analýzy. V opačném případě budou data z otevřených kinetických analýz ztracena.

Při instalaci softwaru SparkControl postupujte takto:

1. Zasuňte do počítače paměťové zařízení USB.
2. Otevřete Průzkumníka Windows a najděte na instalačním médiu složku **Software/<číslo_výrobku>SparkControl Vx.y** . Dvojitým kliknutím na soubor **SparkControl <verze>_Setup.exe** spusťte instalaci.
3. Software se nainstaluje do složky C:¥Program Files¥Tecan. Cílovou složku instalace lze v případě potřeby změnit.
4. Kliknutím na tlačítko **Install (Instalovat)** zahajte instalaci softwaru.

8.3.1 Odinstalování / Oprava instalace

Je-li třeba aktuální verzi softwaru SparkControl přeinstalovat, postupujte takto:

1. Zasuňte do počítače paměťové zařízení USB.
2. Otevřete Průzkumníka Windows a najděte na instalačním médiu složku **Software**.
3. Dvojitým kliknutím na soubor **SparkControl <verze>_setup.exe** spusťte instalaci.

- Chcete-li aktuální verzi softwaru odinstalovat, vyberte v dialogovém okně možnost **Uninstall (Odinstalovat)**.
- Chcete-li opravit aktuální instalaci a obnovit původní soubory aplikace, vyberte možnost **Repair (Opravit)**.

8.3.2 Klient pro internet věcí (IoT Client)

Aplikace SparkControl umožňuje vzdálené sledování zaregistrovaného a připojeného přístroje (např. přístroje, stavu přístroje) v mobilní aplikaci Tecan Connect prostřednictvím aplikačního rozhraní, které zajišťuje klient Tecan pro internet věcí (IoT Client).

Klient pro internet věcí se instaluje automaticky, jestliže v nastavení aplikace SparkControl vyberete možnost „Install IoT Client“ (Instalovat klienta internetu věcí). Je-li klient nainstalován, aplikace SparkControl bude odesílat tyto zprávy:

Událost	**Zpráva**
Instrument state (Stav přístroje)	Idle (nečinný, připravený), not connected (nepřipojený) atd.
Measurement state (Stav měření)	Measurement started/paused/resumed/stopped (Měření spuštěno/pozastaveno/pokračuje/zastaveno)
Measurement progress (Průběh měření)	Aktuální označení dat nebo zpráva o průběhu Aktuální hodnota teploty a/nebo koncentrace plynu Index aktuálního cyklu (pouze kinetická měření) Index aktuální destičky (pouze měření se stohovacím modulem) Oznámení o požadovaném zásahu uživatele
Warnings/Errors (Výstrahy/Chyby)	Hlášení chyb a výstrah



POZOR: Je-li ovládací počítač připojen k internetu, je uživatel povinen přijmout nezbytná bezpečnostní opatření k ochraně systému proti ohrožení kybernetické bezpečnosti.

8.4 Spuštění aplikace SparkControl

Vyberte v nabídce Start položku Tecan > SparkControl Dashboard nebo Method Editor.

8.4.1 Připojení přístrojů



POZOR: Za provozu neotevírejte víko přístroje!

Každý připojený přístroj je na úvodní obrazovce modulu Dashboard zastoupen příslušnou dlaždicí (viz kapitolu 8.6 Modul Dashboard a příslušnou kapitolu v návodu SparkControl).

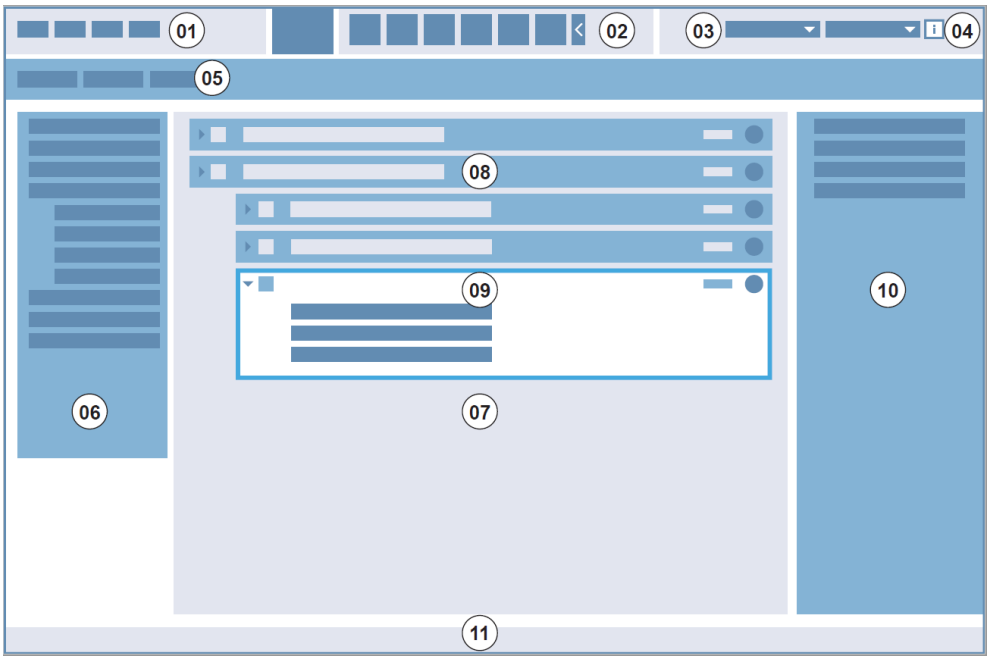


UPOZORNĚNÍ: Aplikace SparkControl podporuje připojení maximálně 4 přístrojů.

8.5 Editor metod

8.5.1 Struktura

Editor metod se používá k nastavení pracovních postupů.



01 Panel nabídek; 02 Panel nástrojů; 03 Rozevírací seznam;
04 Tlačítko otevření informačního podokna; 05 Karty s definicemi metod;
06 Ovládací panel; 07 Podokno Pracovní postupy; 08 Sbalený řádek;
09 Rozbalený řádek; 10 Informační podokno; 11 Stavový řádek

Panel nabídek	**01**	Obsahuje rozevírací nabídku s funkcemi editoru a čtečky (např. File (Soubor), Edit (Upravit), Settings (Nastavení)).
Panel nástrojů	**02**	Obsahuje ikony se zástupci často používaných funkcí (např. New (Nový), Save (Uložit)).
Rozevírací seznamy	**03**	Slouží k výběru a spouštění funkcí souvisejících s příslušnou softwarovou aplikací nebo připojeným přístrojem (např. Select app (Vybrat aplikaci)).
Karty s definicemi metod	**05**	Karty pro definici metod s dostupnými analytickými nástroji (např. metoda fluorescenčního zobrazování).
Ovládací panel	**06**	Obsahuje řádky k definici pracovních postupů.
Podokno Pracovní postupy	**07**	Do tohoto podokna lze vkládáním řádků definovat pracovní postupy. Současně zde lze upravit výchozí nastavení.
Informační podokno	**10**	Zobrazuje doplňující informace o pracovním postupu.
Stavový řádek	**11**	Zobrazuje informace o připojeném přístroji (např. název, teplotu apod.).

Pracovní postupy lze snadno vytvářet přetažením jednotlivých kroků procesu v postupu vyžadovaném konkrétní aplikací. Aplikační postup se poté zobrazí v podokně Pracovní postup a lze jej uložit k budoucímu použití.

Podrobný popis viz návod SparkControl:

- ovládacího panelu,
- podokna Pracovní postupy,
- panelu nabídek,

- panelu nástrojů,
- přístroje,
- komponent a aplikací.



UPOZORNĚNÍ: Při definici oblasti destičky s 1 536 jamkami použijte ovládací prvek **Fit to window (Přicyhtit k oknu)** u levého okraje destičky.



POZOR: Odklápěcí víčko se používá ve spojení s mechanismem otevírání víčka. Před použitím mechanismu otevírání víčka zkontrolujte, zda se na víčku destičky nachází magnetická deska.



UPOZORNĚNÍ: Při práci s adaptérem na kyvety Tecan vyberte příslušný soubor definice destičky v nabídce Plate strip (Strip destičky) a nastavte měření.



POZOR: Definujete-li hodnoty obsahující desetinná místa, vždy k oddělení desetinných míst používejte znak nastavený v nabídce Oblast a jazyk operačního systému počítače.



UPOZORNĚNÍ: Chcete-li aktivovat možnosti **Continuous shaking (Nepřetržité třepání)** a **Continuous waiting (Nepřetržité čekání)**, nastavte kinetické měření s délkou intervalu nastavenou na hodnotu **Fixed (Neměnná)**.



UPOZORNĚNÍ: V rámci řádku Well (Jamka) je dovoleno používat pouze měřicí kroky jediného detekčního režimu (např. dva absorbanční kroky s použitím různých vlnových délek). Výjimku tvoří víceznačková kinetická měření prováděná po jamkách (například kinetická smyčka / jamka / absorbance / fluorescenční intenzita).



UPOZORNĚNÍ: V řádcích typu **Well (Jamka)** nelze používat řádky akcí **Move plate (Přemístit destičku)** a **User intervention (Zásah uživatele)**.



UPOZORNĚNÍ: 3D skenování fluorescenční intenzity nelze používat v rámci kinetického měření.



UPOZORNĚNÍ: V kinetické měřicí smyčce nelze používat řádky akcí **Temperature** (Teplota) a **Gas** (Plyn), s výjimkou použití kinetické podmínky.



UPOZORNĚNÍ: Upozorňujeme uživatele, že před zahájením měření je třeba nastavit vhodné metody a že získání porovnatelných výsledků je třeba k podobným kinetickým měřením používat vždy jednu metodu.



UPOZORNĚNÍ: V zájmu zajištění optimální reprodukovatelnosti výsledků doporučujeme vkládat kinetické podmínky, například Shake (Třepání) a Inject (Vstříknutí) bezprostředně za řádek obsahující kinetickou smyčku.



UPOZORNĚNÍ: U měření po jamkách není k dispozici funkce **Multiple Reads per Well (Vícenásobné čtení jamky)**.



UPOZORNĚNÍ: Při použití funkce **Multiple Reads per Well (Vícenásobné čtení jamky)** nelze na řádku **Absorbance** použít referenční vlnovou délku.



UPOZORNĚNÍ: Měření se skenováním oblasti se doporučuje používat pouze jediný záblesk.

8.6 Modul Dashboard

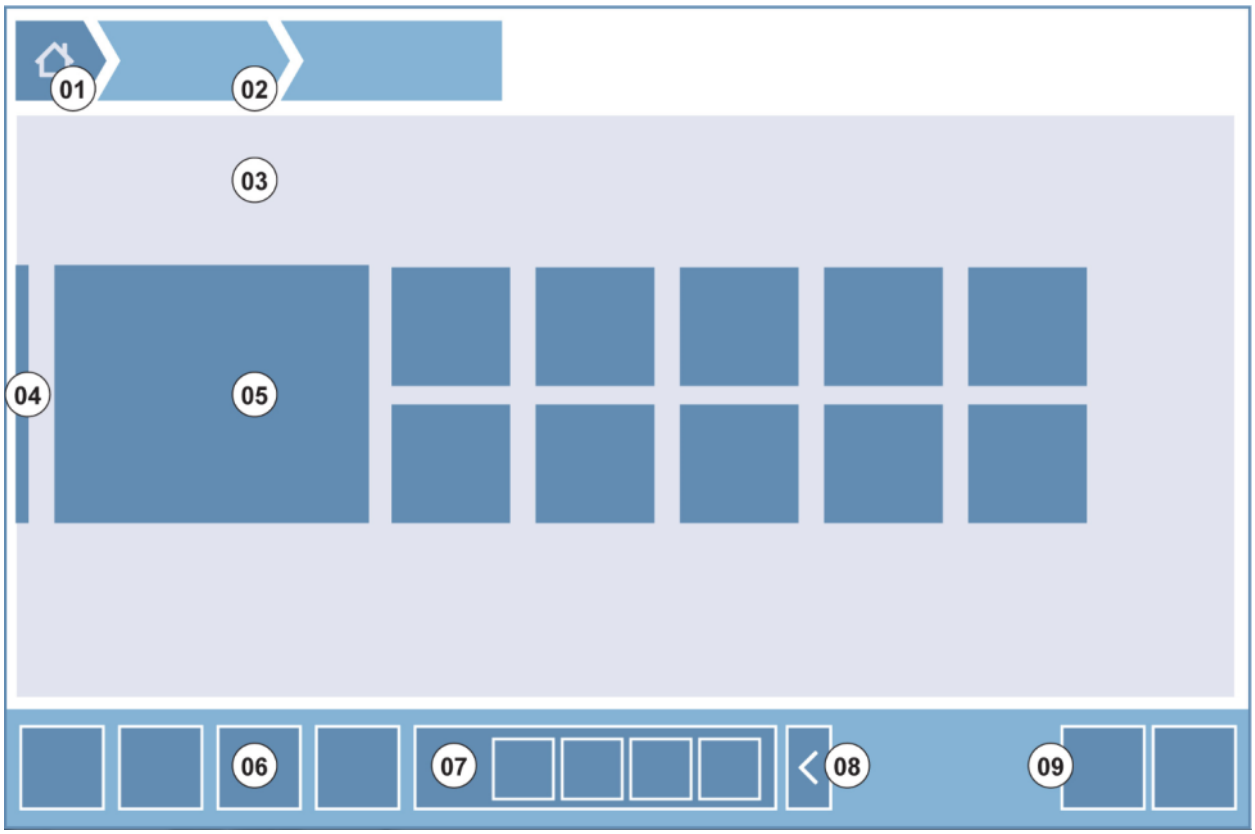
8.6.1 Struktura

Modul Dashboard aplikace SparkControl plní tyto funkce:

- komunikace s připojenými přístroji,
- spouštění měření,
- sledování průběhu měření.

Modul Dashboard je navržen k práci na dotykové obrazovce. K interakci s aplikací slouží prsty uživatele.

Modul Dashboard se skládá z těchto prvků:



Obrázek 4: Prvky modulu Dashboard

01	Tlačítko Home (Úvodní obrazovka)
02	Řádek s historií navigace
03	Podokno Pracovní postupy
04	Navigační podokno
05	Dlaždice
06	Panel akcí s akčními tlačítky
07	Rozbalovací akční tlačítko
08	Tlačítko Expand (Rozbalit; zobrazí vyšší počet akčních tlačítek)
09	Akční tlačítka (OK, Cancel (Storno), Stop)

Dlaždice

Dlaždice, slouží ke spouštění uživatelem vybraných procesních kroků; například **dlaždice Method (Metoda)** slouží ke spuštění vybrané metody.
Dlaždice lze aktivovat kliknutím na libovolnou část jejich plochy. Výjimku tvoří dlaždice obsahující několik funkcí.

U těchto dlaždic lze kliknout pouze na plochu označenou tmavší barvou, než je barva na pozadí.
Příklad: dlaždice Start (viz kapitolu 8.7 Spuštění metody a příslušnou kapitolu v návodu SparkControl).

Akční tlačítka

Skupina tlačítek, jejichž účelem je:

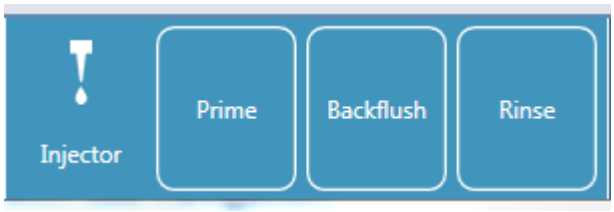
- úprava nastavení metody a přístroje,
- potvrzení/stornování/zastavení procesních kroků (OK / Cancel (Storno) / Stop),
- hledání/vyrovnání prvků v seznamu.

Rozbalovací akční tlačítka

Rozbalovací akční tlačítka se používají pro skupinu akčních tlačítek, která jsou sdružena ve stejné skupině akcí (např. Filtr, Injektor).

Klepnutím na rozbalovací akční tlačítko zobrazíte všechna akční tlačítka umístěná v příslušné skupině.

Příklad: Skupina akcí **Injector (Injektor)** obsahuje tlačítka dílčích akcí **Prime (Naplnit)**, **Backflush (Zpětný proplach)** a **Rinse (Proplach)**.



Tlačítka Expand (Rozbalit)

Tlačítka Expand (Rozbalit) slouží k rozbalení a sbalení seskupených prvků.

Panel akcí

Panel akcí v modulu Dashboard obsahuje akční tlačítka.

Navigační panel

Rozbalovací navigační panel v levé části modulu Dashboard se používá k přechodu do jiných součástí aplikace SparkControl (např. do editoru metod).

Řádek s historií navigace

Řádek s historií navigace usnadňuje orientaci v různých úrovních aplikace a nachází se v horní části obrazovky. Obsahuje historii procházení předchozích oken a tlačítko k přechodu na úvodní obrazovku. Kliknutím na tlačítko Home (Úvod) se navrátíte na úvodní obrazovku modulu Dashboard.

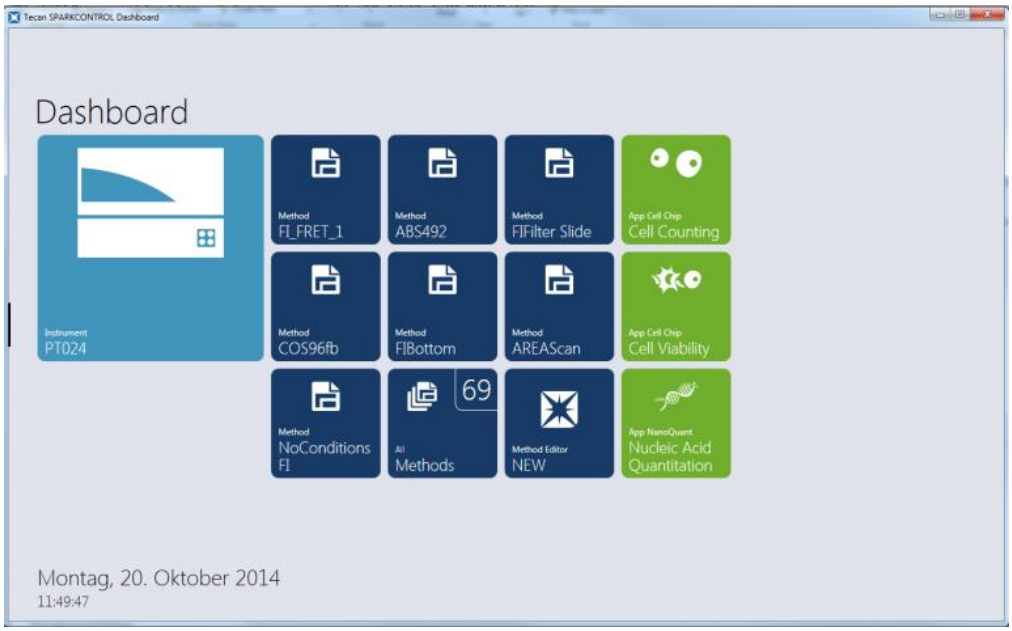
Příklad:



nejprve byla zvolena metoda ELISA, poté bylo otevřeno okno Temperature Control (Regulace teploty) pro změnu/kontrolu teploty před zahájením měření.

8.6.2 Modul Dashboard

Okno modulu Dashboard obsahuje tyto dlaždice:



Obrázek 5: Dlaždice Instrument (Přístroj), Method (Metoda) a App (Aplikace) v modulu Dashboard

Přístroj	**Instrument tiles (Dlaždice přístroje)** se světlemodrou barvou pozadí zastupují připojené přístroje. Chcete-li otevřít okno Instrument Control (Ovládání přístroje), vyberte dlaždici přístroje.
Metoda	**Method tiles (Dlaždice metod)** s tmavomodrou barvou pozadí zastupují metody související s připojeným přístrojem. Chcete-li některou metodu spustit, vyberte její dlaždici. Nejvyšší počet dlaždic s metodami je omezen na osm. Je-li k dispozici více než osm metod, vyberte dlaždici **All methods (Všechny metody)**. Otevře se seznam všech dostupných metod. Obsah dlaždic s metodami v zobrazené skupině je dynamický a řídí se těmito pravidly: • Každá nově nadefinovaná či upravená metoda se automaticky zobrazí v modulu Dashboard a je umístěna na první místo skupiny. • Každá spuštěná metoda se automaticky zobrazí v modulu Dashboard a je umístěna na první místo skupiny. • Zbývající dlaždice metod se posunou. Je-li k dispozici více než osm metod, poslední metoda ve skupině se z modulu Dashboard odstraní. Chcete-li přejít do Editoru metod a přímo zahájit definici nové metody, vyberte položku **NEW (NOVÁ)**.
Aplikace	Dlaždice aplikací se světlezelenou barvou jsou aplikace od společnosti Tecan. Chcete-li některou aplikaci spustit, vyberte její dlaždici.
Otevřené pracovní plochy	Olivově zelené dlaždice **Open Workspace** (Otevřená pracovní plocha) zastupuje nedokončená kinetická měření v důsledku otevřeného kinetického měření. Chcete-li pokračovat v kinetickém měření, vyberte některou otevřenou pracovní plochu. Maximální počet otevřených dlaždic pracovní plochy je omezen na osm. Je-li k dispozici více než osm metod, klepněte na dlaždici **All open workspaces** (Všechny otevřené pracovní plochy). Otevřete tak seznam všech metod.

UPOZORNĚNÍ: Chcete-li odstranit dlaždici otevřené pracovní plochy, a tudíž předčasně ukončit otevřenou kinetickou analýzu před jejím dokončením, klepněte na dlaždici **All open workspaces** (Všechny otevřené pracovní plochy) a označte pracovní plochy, které chcete odstranit.

Chcete-li přejít do částí **Metod Editor (Editor metod)**, **Settings (Nastavení)** nebo **Screencasts (Záznamy obrazovky)**, použijte rozbalovací navigační panel v levé části okna modulu Dashboard. Chcete-li aplikaci SparkControl zavřít, vyberte příkaz **Shut down (Konec)**.

UPOZORNĚNÍ: Dostupnost jednotlivých akčních tlačítek závisí na konfiguraci přístroje.

UPOZORNĚNÍ: Aplikace SparkControl podporuje připojení nejvýše 4 přístrojů. Nelze však pracovat se všemi přístroji souběžně. V jednom okamžiku lze aplikací ovládat pouze jeden přístroj.

UPOZORNĚNÍ: Metody lze vybírat v úvodním okně modulu **Dashboard** nebo v seznamu všech dostupných metod, který se zobrazí po kliknutí na dlaždici **All Methods (Všechny metody)**.

UPOZORNĚNÍ: Při změně nastavení teploty nebo plynů před zahájením měření nedojde k přepsání nastavení teploty a plynů v metodě.

Spuštění otevřeného kinetického měření

UPOZORNĚNÍ: Kinetická měření s dlouhým intervalem spouštějte jakožto otevřený kinetický cyklus. Proveďte optimalizaci použití přístroje a průběžně provádějte i krátkodobá měření.

UPOZORNĚNÍ: Coby otevřený kinetický cyklus lze spouštět pouze s typem smyčky **Number of cycles** (Počet cyklů).

UPOZORNĚNÍ: Coby otevřené kinetické měření lze spouštět pouze **celodestičková** měření. Výjimky z tohoto pravidla: víceznačková kinetická měření po jamkách (např. Kinetická smyčka / Jamka / Absorbance / Fluorescenční intenzita).

UPOZORNĚNÍ: Kinetická měření s použitím plynu/teploty na základě dosaženého času nebo hodnoty nelze spouštět coby otevřená kinetická měření.

UPOZORNĚNÍ: Otevřený kinetický cyklus lze spouštět pouze z modulu Dashboard.



UPOZORNĚNÍ: Chcete-li pokračovat v otevřeném kinetickém cyklu, vyberte v modulu Dashboard příslušnou otevřenou pracovní plochu. Otevřená pracovní plocha musí být zpracována stejným přístrojem, který byl použit ke zpracování prvního otevřeného kinetického měření. V opačném případě se nebude v modulu Dashboard zobrazovat.



UPOZORNĚNÍ: Změna metody použité v otevřeném kinetickém měření se ve spuštěném otevřeném kinetickém měření neprojeví. Původní metoda se ukládá společně s otevřenou pracovní plochou, a proto bude použita ve všech následujících otevřených kinetických cyklech.



POZOR: Přerušením kinetického cyklu stisknutím tlačítka Stop dojde nejen k přerušení aktuálního měření, ale i otevřeného kinetického měření jakožto celku. Po zastavení metody již nelze pokračovat ve zpracování otevřeného kinetického cyklu.



POZOR: Po servisní prohlídce jsou pracovní plochy otevřeného kinetického měření neplatné a je třeba je ručně odstranit.



POZOR: Změna cesty k pracovní ploše deaktivuje další zpracování otevřených pracovních ploch až do okamžiku obnovení původní pracovní plochy.



POZOR: Neodstraňujte složku otevřené pracovní plochy, dokud příslušná otevřená pracovní plocha není zpracovaná. Pracovní plocha obsahuje informace nezbytné k dalšímu zpracování metody.



POZOR: Před odinstalací a aktualizací softwaru vždy dokončete veškeré kinetické analýzy. V opačném případě budou data z otevřených kinetických analýz ztracena.

8.7 Spuštění metody



UPOZORNĚNÍ: Stisknutí tlačítka **Pause (Pozastavit)** nezpůsobí okamžité pozastavení aktuálního měření. Měření nebude pozastaveno před dokončením aktuálního kinetického cyklu. Pamatujte rovněž, že součástí cyklu je i doba intervalu. Kinetická měření s intervalem nebudou pozastavena, dokud nedojde k uplynutí doby intervalu.

8.7.1 Editor metod

Metodu lze spustit přímo v Editoru metod kliknutím na tlačítko **Start**. Po spuštění metody software přejde do modulu Dashboard.

8.7.2 Modul Dashboard

Metodu lze spustit přímo v modulu Dashboard kliknutím na dlaždici příslušné **metody**. Viz příslušnou kapitolu v návodu SparkControl.

8.7.3 Fyzické tlačítko Start

Metodu lze spustit přímo stisknutím **fyzického tlačítka Start** na přístroji.

Metodu, která se spustí po stisknutí fyzického tlačítka Start na přístroji, lze nastavit takto:

- Nadefinujte metodu a uložte ji.
- V Editoru metod vyberte v nabídce File (Soubor) položku **Onboard-Start (Fyzické tlačítko Start)**.

Nebo:

- Otevřete metodu.
- V Editoru metod vyberte v nabídce File (Soubor) položku **Onboard-Start (Fyzické tlačítko Start)**.

Chcete-li sledovat průběh měření spuštěného stisknutím fyzického tlačítka Start, otevřete modul Dashboard a vyberte dlaždici přístroje, ve kterém probíhá příslušné měření.

8.8 Nastavení softwaru SparkControl

8.8.1 Struktura

Cílem komponenty **Settings (Nastavení)** je umožnit uživatelům přizpůsobit výchozích nastavení systému vlastním potřebám. Nastavení lze upravovat u těchto částí:

- software: nastavte výchozí typ destičky a výchozí hodnoty korekce délky optické dráhy,
- přístroj: u přístrojů vybavených plynovým modulem lze zadat nadmořskou výšku umístění přístroje,



POZOR: Před prvním použitím plynového modulu zadejte nadmořskou výšku umístění přístroje.

- správa dat: určete nastavení výstupu naměřených dat do aplikace MS Excel,



UPOZORNĚNÍ: Cíle exportu **New worksheet (Nový sešit)** a **Existing workbook (Stávající sešit)** lze používat pouze s nastavením výsledků **Open on completion with Excel (Po dokončení otevřít v aplikaci Excel)**.



UPOZORNĚNÍ: Nastavení cíle exportu nebudou brána v potaz při zpracování analýz s využitím integrovaného podavače Spark-Stack. Každá analýza s podavačem vytvoří nový pracovní sešit s jednotlivými listy, z nichž každý bude obsahovat data naměřená na příslušných destičkách.



UPOZORNĚNÍ: U kinetických měření se doporučuje používat režim exportu **List (Seznam)**, který umožňuje snazší analýzu dat v aplikaci MS Excel.

- geometrie destičky: vytvořte nové definiční soubory destiček, nebo upravte některý ze stávajících souborů definice destičky.



UPOZORNĚNÍ: K měření používejte posuvné měřítko, či ještě lépe, použijte hodnoty uvedené výrobcem destičky na technickém výkresu.



POZOR: Při ručním měření výšky destičky pamatujte, že ruční měření nezohledňuje tolerance způsobené postupem použitým při výrobě destičky.



UPOZORNĚNÍ: Při nastavení hodnot µm a µl si počínejte s nejvyšší pečlivostí.

- Snímky



UPOZORNĚNÍ: Jestliže snímky nelze otevřít z důvodu zakázaného řízení uživatelských účtů (UAC) v operačním systému, aktivujte funkci řízení uživatelských účtů nebo k otevírání obrázků zvoleného formátu souboru vyberte jinou výchozí aplikaci.

- Složka



POZOR: Neupravujte názvy podsložek pracovních ploch. Změna názvu podsložek, zejména podsložky **Images (Snímky)** naruší kompatibilitu s modulem ImageAnalyzer v důsledku nemožnosti přiřadit snímky příslušnému souboru pracovní plochy.



UPOZORNĚNÍ: Při nastavení uživatelské cesty vždy dbejte, aby účet NETWORK SERVICE měl vždy k vybrané složce k dispozici úplné řízení, nebo alespoň zvláštní přístup.

Rozhraní komponenty **Settings (Nastavení)** je optimalizováno k použití na dotykových monitorech a používá dlaždice programů, karty a tlačítka (viz kapitolu 8.6 Modul Dashboard a příslušnou kapitolu v návodu SparkControl).

8.9 Výsledky měření

Exportní mechanismus ukládá soubory do formátu Office Open XML (.xlsx). Výsledky jsou automaticky ukládány a lze je najít ve výchozí cestě nebo v cestě definované uživatelem.

Výchozí cesta:
SparkControl verze < 4.0: C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControl¥Workspaces
SparkControl verze ≥ 4.0: C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControlStore¥Workspaces

V závislosti na nastavení položky Result presentation (Zobrazení výsledků; viz kapitolu Data Handling (Správa dat) v návodu SparkControl) lze výsledky po dokončení měření otevírat automaticky v aplikaci MS Excel.



UPOZORNĚNÍ: Není-li v okamžiku spuštění exportu dat přítomen editor metod nebo modul Dashboard (tj. software je zavřený) a metoda je spuštěna stisknutím **fyzického tlačítka Start** na přístroji, možnost **Existing workbook (Stávající sešit)** nebude zohledněna a bude použita jako možnost **New workbook (Nový sešit)**.



UPOZORNĚNÍ: Je-li v rámci měření použit vestavěný stohovací zásobníkový modul Spark-Stack, nebude na nastavení cílové složky brán zřetel. Při každé analýze s využitím stohovacího zásobníku se vytvoří nový sešit s jednotlivými listy, z nichž každý obsahuje data naměřená na příslušných destičkách.



UPOZORNĚNÍ: Při nastavení uživatelské cesty vždy dbejte, aby účet NETWORK SERVICE měl vždy k vybrané složce k dispozici úplné řízení, nebo alespoň zvláštní přístup.

9 Luminiscence



UPOZORNĚNÍ: Pojem **luminiscence** se často používá coby zastřešující termín pro všechny typy netermických emisí, jako jsou například fluorescence, fosforescence, bioluminiscence, chemiluminiscence apod.

Ve společnosti Tecan je však pojem **luminiscence** používán výhradně pro typy emisí, které vznikají bez excitace.

9.1 Techniky měření

V přístroji SPARK lze používat tyto techniky měření:

- luminiscence typu „glow“,
- luminiscence typu „flash“,
- luminiscence technikou „multi-color“
- luminiscenční skenování.

Standardní luminiscenční modul umožňuje měření luminiscenčního signálu bez rozlišení vlnových délek emitovaného záření. Standardní luminiscenční modul dokáže zpracovat destičky všech formátů do počtu 384 jamek.

Rozšířený luminiscenční modul dokáže zpracovat všechny dostupné aplikace typu „multi-color“ i rychlé luminiscenční skenování a skenování s vysokou citlivostí. Navíc dokáže měřit luminiscenční signály bez diskriminace vlnové délky a tlumit silné signály stejně jako standardní luminiscenční modul. Rozšířený luminiscenční modul dokáže zpracovat destičky všech formátů, které podporuje přístroj.

Software obsahuje pro definici parametrů měření tři samostatné řádky:

- Luminiscence,
- Luminescence Multicolor (Luminiscence typu „multi-color“),
- Luminescence Scan (Luminiscenční skenování).

Dostupnost jednotlivých řádků závisí na konfiguraci připojeného přístroje.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.



POZOR: Přístroj zapínejte nejméně 15 minut před zahájením luminiscenčního měření. Zajistíte tak stabilní podmínky měření.



UPOZORNĚNÍ: Luminiscenční signály naměřené s využitím tlumicích filtru OD1, OD2 a OD3 se automaticky upravují koeficientem 10, 100, respektive 1 000.



UPOZORNĚNÍ: Při práci s pásmově propustnými filtry se automaticky zobrazuje centrální vlnová délka, která je výsledkem nastavení příslušného filtru.



UPOZORNĚNÍ: Luminiscenční skenování se provádí na samostatných centrálních vlnových délkách, které jsou výsledkem kombinace použitých luminiscenčních filtrů. Rozsah vlnových délek závisí na první a poslední centrální vlnové délce, které současně vymezují počáteční a konečný bod skenování. Všechny ostatní body měření jsou automaticky odvozovány od nastavení rozsahu.

UPOZORNĚNÍ: Šířka pásma a velikost kroku luminiscenčního skenování jsou pevné a nelze je měnit.

UPOZORNĚNÍ: Je-li luminiscenční měření u jedné nebo několika jamek ukončeno s výsledkem **OVER (NADMĚRNÁ HODNOTA)** z důvodu příliš vysoké síly naměřeného signálu, může luminiscenční detektor vyžadovat určitou dobu na návrat do rovnovážného stavu.

9.2 Luminiscenční specifikace

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

9.2.1 Všeobecné specifikace

Parametry	Standardní luminiscenční modul	Rozšířený luminiscenční modul
Rozsah vlnových délek	370–700 nm	370–700 nm
Rozsah vlnových délek, luminiscenčního skenování	nerelevantní	390–660 nm
Diskriminace vlnové délky a luminiscence typu „multi-color“	nerelevantní	sadami filtrů
Integrační doba/jamku	10–60 000 ms	10–60 000 ms
Tlumení	1 OD, 2 OD	1 OD, 2 OD, 3 OD
Dynamický rozsah	10^7–10^9	10^7–10^{10}

9.2.2 Výkonové specifikace

Mez detekce „glow“ luminiscence (standardní a rozšířený modul)

Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
96jamková destička, bílá, 200 µl	Integrační doba/jamku: 1 000 ms	ATP: < 50 pM (< 10 fmol/jamku)
384jamková destička, bílá, 100 µl	Integrační doba/jamku: 1 000 ms	ATP: < 10 pM (< 1 fmol/jamku)
1536jamková destička, bílá, 10 µl	Integrační doba/jamku: 1 000 ms	ATP: < 1 nM (< 10 fmol/jamku)

Mez detekce „flash“ luminiscence (standardní a rozšířený modul)

Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
96jamková destička, bílá, 200 µl	Integrační doba/jamku: 10 000 ms	ATP: < 0,4 pM (< 80 amol/jamku)
384jamková destička, bílá, 100 µl	Integrační doba/jamku: 10000 ms	ATP: < 0,8 pM (< 80 amol/jamku)

9.3 Kontrola kvality luminiscenčního modulu

9.3.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality

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

Zkoušky, jejichž popis je uveden 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 významně ovlivňují chyby při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto dodržujte uvedené pokyny co nejpřesněji. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek v závislosti na intenzitě využití přístroje.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je mikrotitrační destička vložena správným směrem. Jamka A1 se musí nacházet v levém horním rohu držáku.



VÝSTRAHA: Níže uvedené pokyny se vztahují na provádění kontroly kvality s cílem zkontrolovat plnění specifikací přístroje. Jestliže výsledky těchto zkoušek nevyhoví specifikacím přístroje uvedeným v tomto návodu, obraťte se na místní servisní zastoupení výrobce, od kterého obdržíte další pokyny.

9.3.2 Mez detekce ATP, 384jamková destička

Mez detekce představuje nejnižší množství látky, které lze odlišit od blanku v rámci stanoveného intervalu spolehlivosti.

Před zahájením pipetování do destičky připravte přístroj k měření. Měření spouštějte bezprostředně po dokončení pipetování.



POZOR: Přístroj zapínejte nejméně 15 minut před zahájením luminiscenčního měření. Zajistíte tak stabilní podmínky měření.

Materiál:

- sada ATP Kit SL (BioThema AB, obj. č. 144-041),
- 384jamková destička Greiner s plochým dnem, bílá,
- pipety a špičky.

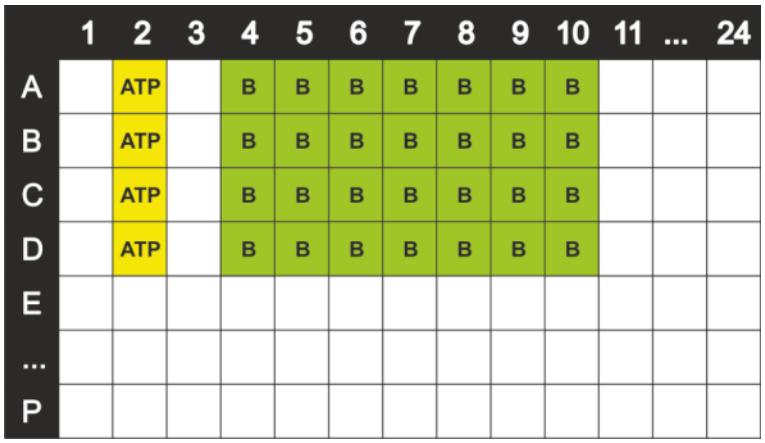
Postup:

Připravte reagenty dle pokynů výrobce. Upravte ATP standard na hodnotu 10^{-7} M.

Pipetujte 100 µl blanku do jamek A4–D10.

Pipetujte 20 µl ATP standardu 10^{-7} M do jamek A2–D2, přidejte 80 µl ATP reagentu a smíchejte v jamce (**na každou jamku použijte novou špičku**); **ATP reagent NESMÍ být kontaminován ATP standardem!**

Rozložení destičky:



ATP: 100 µl, 2*10-8 M ATP (konečná koncentrace v jamce)
B: 100 µl blanku

Parametry měření:

Režim měření:	Luminiscence
Integrační doba:	1 000 ms
Soubor definice destičky:	GRE384fw

Posouzení:

Mez detekce (DL) vypočítejte takto:

$$DL(\text{fmol / jamku}) = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * SD_B}{\text{stred}_{ATP} - \text{stred}_B} * 0{,}0001 * \frac{1}{1e^{-15}}$$

$2*10^{-8}$	Koncentrace ATP standardu [M]
SD_B	Směrodatná odchylka blanku (B: A4–D10)
$mean_{ATP}$	Střední hodnota jamek naplněných ATP standardem
$mean_B$	Střední hodnota jamek naplněných blankem (B: A4–D10)
0,0001	Převod na mol/jamku
$1/1e^{-15}$	Převod na fmol/jamku

9.3.3 Mez detekce ATP, 1536jamková destička

Mez detekce představuje nejnižší množství látky, které lze odlišit od blanku v rámci stanoveného intervalu spolehlivosti.

Před zahájením pipetování do destičky připravte přístroj k měření. Měření spouštějte bezprostředně po dokončení pipetování.



Pozor: Přístroj zapínejte nejméně 15 minut před zahájením luminiscenčního měření. Zajistíte tak stabilní podmínky měření.

Materiál:

- sada ATP Kit SL (BioThema AB, obj. č. 144-041),
- 1536jamková destička Greiner s plochým dnem, bílá,
- pipety a špičky.

Postup:

Připravte reagenty dle pokynů výrobce. Upravte ATP standard na hodnotu 10^{-7} M.

Pipetujte 10 µl blanku do jamek A4–D10.

Pipetujte 2 µl ATP standardu 10^{-7} M do jamek A2–D2, přidejte 8 µl ATP reagentu a smíchejte v jamce (na každou jamku použijte novou špičku); ATP reagent NESMÍ být kontaminován ATP standardem!

Rozložení destičky:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	...	24
A		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
B		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
C		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
D		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
E													
...													
P													

ATP: 10 µl, 2*10-8 M ATP (konečná koncentrace v jamce)
B: 10 µl blanku

Parametry měření:

Režim měření:	Luminiscence
Integrační doba:	1 000 ms
Soubor definice destičky:	GRE1536fw

Posouzení:

Mez detekce (DL) vypočítejte takto:

$$DL(\text{fmol / jamku}) = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * SD_B}{stred_{ATP} - stred_B} * 0{,}00001 * \frac{1}{1e^{-15}}$$

$2*10^{-8}$	Koncentrace ATP standardu [M]
SD_B	Směrodatná odchylka blanku (B: A4–D10)
$mean_{ATP}$	Střední hodnota jamek naplněných ATP standardem
$mean_B$	Střední hodnota jamek naplněných blankem (B: A4–D10)
0,0001	Převod na mol/jamku
$1/1e^{-15}$	Převod na fmol/jamku

10 „Alpha“ technologie

10.1 Základní principy

Homogenní analýza s využitím zesílené luminiscence (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assays; AlphaScreen a AlphaLISA) je kuličková, neradioaktivní, homogenní a citlivá analýza, která je obzvláště vhodná ke zkoumání biochemických interakcí. Interakce mezi přijímací a předávací kuličkou způsobuje světelný výstup: při ozáření zdrojem vysokoenergetického záření vytvářejí fotocitlivé molekuly obsažené v předávacích kuličkách vysoké množství oxyradikálů. Tyto oxyradikály jsou předány přijímacím kuličkám a vyvolávají sled reakcí, které v konečném důsledku vedou k vytvoření silného chemiluminiscenčního signálu.

Použitím několika přijímacích kuliček, které emitují signál při různých vlnových délkách, lze v jediné jamce detekovat různé analyty (AlphaPlex).

10.2 Modul Alpha

Modul Alpha se používá k analýzám založeným na technologii Alpha (AlphaScreen, AlphaLISA a AlphaPlex). Modul Alpha se skládá zejména z luminiscenčního a laserového modulu, který je propojen s bezkontaktním IČ snímačem teploty.

10.2.1 Filtr

Pro aplikace založené na technologii Alpha jsou k dispozici jsou předem nastavené filtry. Každý pásmově propustný filtr se skládá z kombinace filtrů propouštějících krátké a dlouhé vlnové délky, které jsou umístěny ve filtrovém kotouči luminiscenčního modulu. Následující tabulka obsahuje vlnové délky charakteristické pro předem nastavený pásmově propustný filtr:

Alpha technologie	Výběr filtru	Centrální vlnová délka / šířka pásma
AlphaScreen	Filtr s propustností dlouhých vln: 520 nm, filtr s propustností krátkých vln: 620 nm	570 nm / 100 nm
AlphaLISA	Filtr s propustností dlouhých vln: 610 nm, filtr s propustností krátkých vln: 635 nm	622,5 nm / 25 nm
AlphaPlex	Filtr s propustností dlouhých vln: 610 nm, filtr s propustností krátkých vln: 635 nm, filtr s propustností dlouhých vln: 535 nm, filtr s propustností krátkých vln: 560 nm	622,5 nm / 25 nm 547,5 nm / 25 nm

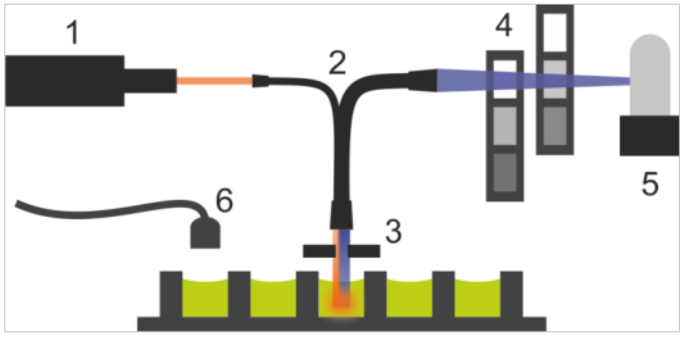
10.2.2 Optika

Coby zdroj excitačního záření je v analýzách založených na technologii Alpha použit vysoce výkonný laser [1]. Luminiscenční vlákno [2] vede světlo od vzorku do detektoru přes filtrový kotouč [4]. Na filtrovém kotouči se nachází filtry propouštějící záření s krátkou a dlouhou vlnovou délkou. Vhodnou kombinací filtrů se dosahuje jednotlivých pásmově propustných filtrů. Clonový kotouč [3] přizpůsobuje průměr paprsku velikosti měřených jamek.

Modul Alpha dokáže zpracovat destičky všech formátů, které podporuje přístroj.

Při nízké intenzitě záření se uplatňuje detektor jednotlivých fotonů [5].

Modul Alpha je spojen s IČ snímačem teploty [6], který umožňuje kompenzovat rozdíly v signálech způsobené teplotou mezi jednotlivými jamkami destičky.

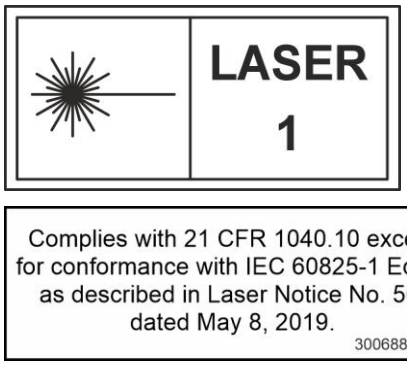


Obrázek 6: Optická soustava modulu Alpha:
[1] modul laseru; [2] luminiscenční vlákno; [3] clonový kotouč; [4] filtrové kotouče; [5] detekční jednotka; [6] IČ snímač teploty

10.2.3 Laser

Modul laseru používá vysoce výkonný laser (680 nm / 750 mW) coby zdroj excitačního záření. Přístroj SPARK vybavený modulem Alpha je výrobkem obsahujícím LASER TŘÍDY 1. Přístroj splňuje normy radiační výkonnosti FDA 21 CFR 1040.10 s výjimkou shody s IEC 60825-1 Ed.3, jak je popsáno v Oznámení o laseru č. 56 ze dne 8. května 2019.

V blízkosti přístroje musejí být rozmístěny tyto etikety:





VÝSTRAHA: Uvnitř přístroje se nachází laserové záření třídy IV. Během měření neotevírejte kryt přístroje.

10.2.4 Detekce



POZOR: Přístroj zapínejte nejméně 15 minut před zahájením měření. Zajistíte tak stabilní podmínky měření.

Luminiscenční modul a modul Alpha využívá měřicí techniku počítání jednotlivých fotonů. Tato technika je založena na samostatném luminiscenčním detektoru s vhodnou soustavou měřicích obvodů. Tato technika se vyznačuje odolností vůči šumům, a proto je hojně využívaná k měření za velmi nízké intenzity světla.



POZOR: K měření založenému na technologii Alpha používejte bílé nebo světlešedé destičky. Nepoužívejte černé destičky a vyvarujte se měření v prázdných jamkách. V opačném případě způsobíte škody v důsledku laserového záření.

10.2.5 Korekce teploty

Analýzy založené na technologii Alpha se vyznačují tepelnou citlivostí. Její kompenzaci zajišťuje soustava korekce teploty.

Bezkontaktní snímač teploty měří teplotu v jednotlivých jamkách a naměřené hodnoty jsou automaticky standardizovány na teplotu 22,5 ° C. Detekce teploty a signálu probíhají souběžně. Při použití funkce korekce teploty probíhá měření, v důsledku umístění snímače teploty, zprava doleva (A12 až A1, v případě 96jamkové destičky B12 až B1).



UPOZORNĚNÍ: Dosažení optimálního výkonu přístroje SPARK při analýzách založených na technologii Alpha by měření měla probíhat v prostředí s regulovanou teplotou (20–25 ° C, ±1 ° C).

10.3 Definice měření technologií Alpha

Software SparkControl obsahuje řádky pro měření pomocí technologií:

- AlphaScreen,
- AlphaLISA,
- AlphaPlex,
- měření definovaná uživatelem.

Řádek Alpha Technology (Alpha technologie) je k dispozici pouze u přístrojů vybavených modulem Alpha, který obsahuje rozšířený luminiscenční a laserový modul. Vyberte řádek k definici metod na základě Alpha technologie.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu a v příručce SparkControl.

10.4 Optimalizace měření na bázi Alpha technologie

10.4.1 Integrační doba

Nepravidelnosti ve fotonové statistice během integrace signálu znamenají, že čím delší integrační doba na jamku, tím přesnější hodnoty. Fotonový (výstřelový) šum nelze technicky redukovat, ale lze jej optimalizovat v experimentech před samotným měřením použitím různých délek integrační doby.



UPOZORNĚNÍ: Relevantní poměr signálu k (výstřelovému) šumu lze vylepšit delší integrační dobou na jamku, která však znamená i delší dobu měření celé destičky.

10.4.2 Doba excitace

Doba excitace určuje délku osvitu vzorku laserem. Optimalizace doby excitace může u analýzy na bázi Alpha technologie pomoci minimalizovat blednutí vzorků a zkvalitnit poměr signálu k šumu.

10.4.3 Tmavé kryty k ochraně před světlem

K čtečkám SPARK vybaveným volitelným modulem stohovacího zásobníku Spark-Stack je k dispozici sada tmavých krytů k ochraně před světlem (přední kryt a horní víko zásobníků na destičky). Tyto prvky se snadnou montáží pomáhají chránit destičky s obsahem citlivým na působení světla uvnitř zásobníků proti okolnímu světlu v laboratoři. Tyto tmavé kryty doporučujeme používat zejména při automatizaci měření technologií Alpha bez dozoru obsluhy za použití stohovacího zásobníku Spark-Stack (viz kapitolu 15.1.2 Analýzy citlivé na světlo a ochrana proti světlu / tmavé kryty).

10.5 Specifikace Alpha technologie

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

10.5.1 Všeobecné a výkonové specifikace

Parametry	Specifikace
Doba excitace/jamku	10–1 000 ms
Integrační doba/jamku	10–60 000 ms
Přednastavený filtr	AlphaScreen, AlphaLISA, AlphaPlex
Korekce teploty	k dispozici
Mez detekce, 384jamková destička, nízký objem (kuličky Omnibeads)	< 12,5 ng/ml
Uniformita, 384jamková destička, nízký objem (kuličky Omnibeads)	< 8 CV%

10.6 Kontrola kvality modulu Alpha

10.6.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality

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

Zkoušky, jejichž popis je uveden 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 významně ovlivňují chyby při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto dodržujte uvedené pokyny co nejpřesněji. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek v závislosti na intenzitě využití přístroje.

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

VÝSTRAHA: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je mikrotitrační destička vložena pozicí A1 správným směrem. Jamka A1 se musí nacházet v levém horním rohu držáku.

VÝSTRAHA: Tato kapitola obsahuje pokyny ke kontrole specifikací přístroje. Jestliže výsledky těchto zkoušek nevyhoví oficiálním specifikacím přístroje, obraťte se na místní servisní zastoupení výrobce, od kterého obdržíte další pokyny.

10.6.2 Mez detekce, AlphaScreen, kuličky Omnibeads, 384jamková destička

Mez detekce představuje nejnižší množství látky, které lze odlišit od blanku v rámci stanoveného intervalu spolehlivosti.

Před zahájením pipetování do destičky připravte přístroj k měření. Měření spouštějte bezprostředně po dokončení pipetování.

POZOR: Přístroj zapínejte nejméně 15 minut před zahájením měření. Zajistíte tak stabilní podmínky měření.

Materiál:

- kuličky AlphaScreen Omnibeads,
- 384jamková destička Greiner s plochým dnem, bílá,
- fosfátový pufr (PBS),
- pipety a špičky.

Postup:

Nařeďte původní roztok kuliček Omnibeads 1:500 v pufru PBS smícháním 3 µl původního roztoku (5 mg/ml) s 1 497 µl PBS, čímž získáte roztok s koncentrací 10 µg/ml. Připravte dalších 12 ředění v krocích 1:2 pipetováním 750 µl předchozího ředicího kroku na 750 µl PBS. Na každý ředicí krok použijte novou špičku.

Pipetujte 100 µl jednotlivých zředěných roztoků do 5 replikačních jamek dle rozložení destičky. Do jamek na blank dávkujte 100 µl PBS.

POZOR: Na každou koncentraci použijte novou špičku a dbejte zvýšené pozornosti, aby nedošlo ke kontaminaci blanku zředěným roztokem s kuličkami Omnibeads!

Rozložení destičky:

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	...	24
A		10.00 µg/ml											
B		5.00 µg/ml											
C		2.50 µg/ml											
D		1.25 µg/ml											
E		0.62 µg/ml											
F		0.31 µg/ml											
G		0.15 µg/ml											
H		0.08 µg/ml											
I		0.04 µg/ml											
J		0.02 µg/ml											
K		0.01 µg/ml											
L		0.005 µg/ml											
M		0.0025 µg/ml											
N		PBS											
O													
P													

100 µl jednotlivých koncentrací roztoku s kuličkami Omnibeads (do 5 replikačních jamek)
100 µl PBS = blank

Parametry měření:

Režim měření:	AlphaScreen
Doba excitace:	100 ms
Integrační doba:	300 ms
Korekce teploty:	aktivována
Soubor definice destičky:	GRE384fw

Posouzení:

Ke každé koncentraci roztoku s kuličkami Omnibeads vypočítejte průměr a směrodatnou odchylku. Proveďte redukci blanku odečtením průměrného signálu jamek s blankem od průměrného signálu jednotlivých koncentrací roztoku s kuličkami Omnibeads.

Průměrné hodnoty s korekcí blankem porovnejte s konečnou koncentrací roztoku s kuličkami Omnibeads na bodovém grafu. Narýsujte přímku vývojového trendu, která bude protínat bod 0, a vyřešte rovnici přímky (y = kx) za použití 3násobku hodnoty směrodatné odchylky blanku coby hodnoty y.

$$x = \frac{y}{k}$$

y = 3*směrodatná odchylka blanku

Extrapolujte mez detekce [ng/ml] za použití 3násobku směrodatné odchylky blanku coby hodnoty y.

10.6.3 Uniformita, AlphaScreen, kuličky Omnibeads, 384jamková destička

Uniformitou se rozumí kolísání hodnot mezi jamkami při měření na vícejamkové destičce. Uniformita se vypočítává coby procentuální odchylka od střední hodnoty.

Před zahájením pipetování do destičky připravte přístroj k měření. Měření spouštějte bezprostředně po dokončení pipetování.



POZOR: Přístroj zapínejte nejméně 15 minut před zahájením měření. Zajistíte tak stabilní podmínky měření.

Materiál:

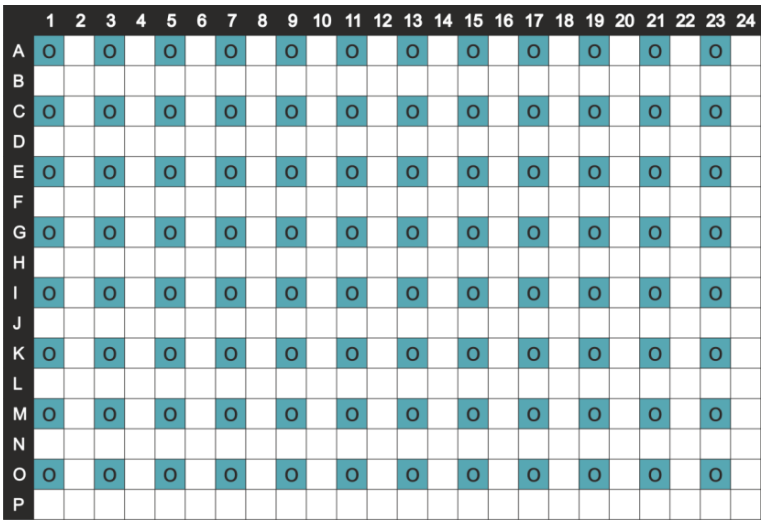
- kuličky AlphaScreen Omnibeads,
- 384jamková destička Greiner s plochým dnem, bílá,
- fosfátový pufr (PBS),
- pipety a špičky.

Postup:

Nařeďte původní roztok kuliček Omnibeads 1:2000 v pufru PBS smícháním 3 µl původního roztoku (5 mg/ml) s 5 997 µl PBS, čímž získáte roztok s koncentrací 2,5 µg/ml.

Pipetujte 100 µl zředěného roztoku kuliček Omnibeads jamek dle rozložení destičky.

Rozložení destičky:



O: Roztok kuliček Omnibeads 100 µl/jamku (2,5 µg/ml)

Parametry měření:

Režim měření:	AlphaScreen
Doba excitace:	100 ms
Integrační doba:	300 ms
Korekce teploty:	aktivována
Soubor definice destičky:	GRE384fw

Posouzení:

Uniformitu vypočítejte takto:

$$\text{Uniformity} \quad (\text{CV}\%) = \frac{\text{SD}_O * 100}{\text{mean}_O}$$

SD_O	Směrodatná odchylka jamek naplněných roztokem kuliček Omnibeads s koncentrací 2,5 µg/ml
střed$_O$ (**mean$_O$**)	Střední hodnota jamek naplněných roztokem kuliček Omnibeads s koncentrací 2,5 µg/ml

11 Absorbance

11.1 Techniky měření absorbance

11.1.1 Absorbance

Absorbanční signál je měřítkem zeslabení monochromatického světla přenášeného vzorkem.

11.1.2 Absorbanční skenování

Absorbanční skenování měří absorbanční chování zkoumaných sloučenin v rámci určitého rozsahu vlnových délek.

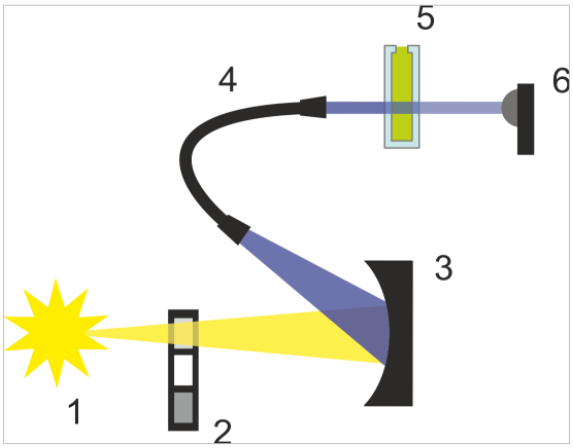
11.2 Modul na kyvety

Kyvetové aplikace lze používat při libovolné vlnové délce v rozsahu 200–1 000 nm. Optická dráha modulu na kyvety je obdobná jako optická dráha standardního absorbančního modulu. Optický svazek vede světlo z monochromátoru do absorbanční optiky, která zaostřuje světlo na kyvetu. Vysílané světlo je detekováno fotodiodou.

11.2.1 Optika na kyvety

Absorbanční modul na kyvety se skládá z výbojky, monochromátoru, absorbančního vlákna a fotodiody (viz schéma).

Světlo z xenonové výbojky [1] (světelný zdroj) prochází třídicím filtrem [2] a je zrcadlem kondenzoru zaostřen do vstupního otvoru jednomřížkového monochromátoru [3]. Pohybem mřížky optické soustavy se volí vlnová délka a současně se zaostřuje světlo na výstupní otvor monochromátoru. Zde světlo vstupuje do absorbančního vlákna [4], které světlo vede na vzorek v kyvetě [5]. Část světla je odrážena na referenční fotodiodu. Vyslané světlo je detekováno měřicí fotodiodou [6]. V ohnisku činí průměr světelného paprsku z absorbanční kyvety přibližně 1 mm.



Obrázek 7: Optická soustava absorbančního modulu na kyvety
Xenonová výbojka [1] (světelný zdroj), třídicí filtr [2], optická mřížka [3], absorbanční vlákno [4], kyveta [5], měřicí fotodioda [6]

Detekce

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.

11.3 Výbava k měření

11.3.1 Mikrotitrační destičky

K měření absorbance se zpravidla používají čiré destičky nebo destičky, které propouštějí ultrafialové záření. V případě vysokých hodnot OD se doporučují černé destičky s čirým dnem jamek. Všeobecně platí, že k získání přesných hodnot se nedoporučuje používat měření nad úrovní OD3, zejména při použití 1536jamkových destiček. Přesnějších dat lze dosáhnout zředěním měřených vzorků.



POZOR: K absorbančnímu měření v rozsahu ultrafialových vlnových délek používejte destičky vhodné k měření UV.



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.



UPOZORNĚNÍ: Chcete-li získat přesnější výsledky měření, nepoužívejte hodnoty OD vyšší než 3.

11.3.2 Adaptér na kyvety

Adaptér na kyvety Tecan umožňuje měřit čtyři kyvety v rámci jediného průchodu. Vhodné rozměry kyvet jsou uvedeny v tabulce níže. Při použití adaptéru na kyvety je třeba kyvety vkládat vodorovně a pevně je zajistit, aby nedocházelo k únikům kapaliny. Kyvety je dále třeba naplnit na maximální objem, aby nedocházelo k tvorbě vzduchových bublin u měřicího okna.

Adaptér na kyvety byl navržen tak, aby umožňoval měření pomocí kyvet s následujícími rozměry (viz tabulku):

Rozměry	Parametry
Absolutní výška (včetně uzávěru)	35–55 mm
Půdorysné rozměry (vnější rozměr)	12,5 x 12,5 mm
Délka optické dráhy	10 mm*

* Použití kyvety s odlišnou optickou dráhou vyžaduje příslušnou korekci výsledků měření.



POZOR: Při měření s využitím adaptéru na kyvety vždy používejte maximální plnicí objem kyvety, aby u měřicího okna nedocházelo k tvorbě vzduchových bublin. Kyvetu vždy pečlivě zavřete, aby nedocházelo k únikům kapaliny.

11.3.3 Přihrádka na kyvety

Namísto mikrotitrační destičky lze k měření absorbance použít kyvetu, která se vkládá do přihrádky na kyvety, kterou je přístroj vybaven. Přihrádka na kyvety byla navržena tak, aby umožňovala měření pomocí kyvet s následujícími rozměry (viz tabulku):

Rozměry	**Parametr**
Absolutní výška (včetně uzávěru)	35–55 mm
Půdorysné rozměry (vnější rozměr)	12,5 x 12,5 mm
Délka optické dráhy	10 mm*
Výška uprostřed	15 mm
Okno měření	> 2 x 2 mm

* Použití kyvety s odlišnou optickou dráhou vyžaduje příslušnou korekci výsledků měření.



POZOR: Vždy používejte platný objem náplně. Výška hladiny kapaliny v kyvetě musí být vždy vyšší než 20 mm. Nedostatečná výška hladiny kapaliny způsobuje chybné výsledky měření.



POZOR: Přihrádka na kyvetu je vybavena měřicím oknem s rozměry 2 x 2 mm. Výška přihrádky uprostřed činí 15 mm.



POZOR: Kyvetu je třeba vkládat do držáku tak, aby měřicí okno kyvety bylo vyrovnáno s měřicím oknem na držáku kyvety. Dodržujte směr šipky, která se nachází na přihrádce na kyvetu.



POZOR: Jestliže přihrádku na kyvetu nepoužíváte, ponechejte ji vždy zavřenou. Kontaminace způsobuje chybné výsledky měření.



POZOR: Jestliže přihrádku na kyvetu nepoužíváte, pečlivě ji zavřete. Kontaminace způsobuje chybné výsledky měření.



POZOR: Před zahájením měření kyvety zkontrolujte, zda je kyveta správně vložena do přihrádky. Nesprávný směr vložení kyvety způsobuje chybné výsledky měření.



UPOZORNĚNÍ: K zajištění nejvyšší možné rychlosti probíhá absorbanční skenování s jediným zábleskem. Až do velikosti kroku 4 nm lze očekávat přímo úměrné zvyšování rychlosti. Při použití větších velikostí kroku není zvyšování rychlosti nadále přímo úměrné zvolené velikosti kroku. Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



UPOZORNĚNÍ: Zvyšujte počet záblesků na jamku, dokud se míra šumu jamek s blankem nepřestane zlepšovat, nebo dokud doba měření jamky nepřestane být přijatelná.

UPOZORNĚNÍ: Chcete-li získat přesná data, použijte u destiček s 1 až 96 jamkami určitou dobu ustálení.

11.4 Definice absorbančního měření

Software SparkControl obsahuje dva samostatné řádky pro měření pomocí technologií:

- absorbance,
- absorbanční skenování.

Dostupnost jednotlivých řádků závisí na konfiguraci připojeného přístroje.

Korekce délky optické dráhy

Korekci délky optické dráhy lze použít ke korekci naměřených absorbančních hodnot u vzorků v mikrotitračních destičkách na délku dráhy 1 cm k porovnání výsledků měření s výsledky naměřenými v kyvetách nebo ke kvantitativní analýze vzorků na základě jejich koeficientu zhášení.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

UPOZORNĚNÍ: Absorpce vody závisí na teplotě. Zajistěte, aby všechna měření probíhala za shodné teploty.

UPOZORNĚNÍ: Složky analýzy se světelnou absorpcí v rozmezí 900–1 000 nm naruší korekci délky optické dráhy.

UPOZORNĚNÍ: Pamatujte, že pufry (koncentrace soli), organická rozpouštědla, jakož i vlastnosti prohnuté čočky a destičky mohou ovlivnit měření s korekcí délky optické dráhy.

POZOR: Zakalení vzorků může způsobit chybný odhad délky optické dráhy v důsledku rozptýlení světla. Korekce délky optické dráhy u kyvety nedokáže tento jev kompenzovat.

UPOZORNĚNÍ: Zajistěte, aby manuální korekční koeficient vyhovoval zvoleným zkušebním a referenčním vlnovým délkám vodného vzorku a byl stanoven pomocí pufru k příslušnému vzorku.

11.5 Aplikace NanoQuant

Společnost Tecan poskytuje aplikaci NanoQuant připravenou k okamžitému použití v oblastech:

- kvantifikace nukleových kyselin,
- efektivity značkování nukleových kyselin,
- kvantifikace proteinů

Při použití aplikace se výpočty obsahu nukleových kyselin, proteinů a barviv a kontroly čistoty provádějí automaticky.

Podrobné informace naleznete v kapitole Aplikace NanoQuant v návodu ke SparkControl.

11.6 Specifikace absorbančního skenování

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

11.6.1 Všeobecné specifikace

Parametry	Vlastnosti
Rozsah vlnových délek	200–1 000 nm, nastavitelná v krocích po 1 nm
Přesnost vlnové délky	≤ 0,8 nm
Reprodukovatelnost vlnové délky	≤ 0,5 nm
Vlnová délka s pevnou šířkou pásma	3,5 nm
Rozsah měření	0–4 OD

11.6.2 Výkonové specifikace dle mikrotitračních destiček

Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Specifikace	Kritéria
96jamková destička, čirá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 25	Přesnost 0–0,8 OD	+/- 0,008 OD
96jamková destička, čirá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 25	Přesnost 0,8-2,5 OD	< +/- 1,0 %
96jamková destička, čirá, 200 µl	Počet záblesků/jamku:	Přesnost 2,5-3,0 OD	< +/- 1,5%
96jamková destička, čirá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 25	Přesnost 0–1,2 OD	< +/- 0,006 OD
96jamková destička, čirá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 25	Přesnost 1,2-3,0 OD	< +/- 0,5%
96jamková destička, prostupná pro UV záření, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 25	Linearita 0–3 OD při 260 nm	R2 > 0,999
96jamková destička, čirá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 25	Uniformita při 1 OD	< 3 %

11.6.3 Doba měření

Parametry	Doba měření
Doba měření, 96 jamek, 1 záblesk	< 14 sekund
Doba měření, 384 jamek, 1 záblesk	< 30 sekund
Rychlé skenování (200–1 000 nm, kroky po 1 nm)	< 5 sekund

Krátká doba měření se stanovuje za použití jediného záblesku, do doby měření však není zahrnuta doba potřebná k zasunutí a vysunutí destičky.

11.6.4 Výkonové specifikace při měření kyvet (přihrádka na kyvetu)

Typ kyvety	Parametr	Specifikace	Kritéria
Kyveta z křemenného skla, dráha paprsku 1 cm	Počet záblesků: 25 Vlnová délka: 260 nm	Mez detekce (DNA)	< 0,2 ng/µl dsDNA
Kyveta z křemenného skla, dráha paprsku 1 cm	Počet záblesků: 25 Vlnová délka: 280 nm	Mez detekce (bílkovina: BSA, IgG, lysozym)	< 0,1 mg/ml
Kyveta z křemenného skla, dráha paprsku 1 cm	Počet záblesků: 1	Rychlé skenování (200–1 000 nm, kroky po 1 nm)	< 5 sekund

11.7 Kontrola kvality absorbančního modulu

11.7.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality

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

Zkoušky, jejichž popis je uveden 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 významně ovlivňují chyby při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto dodržujte uvedené pokyny co nejpřesněji. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek v závislosti na intenzitě využití přístroje.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je mikrotitrační destička vložena správným směrem. Jamka A1 se musí nacházet v levém horním rohu držáku.



VÝSTRAHA: Jestliže výsledky těchto zkoušek nevyhoví specifikacím přístroje uvedeným v tomto návodu, obraťte se na místní servisní zastoupení výrobce, od kterého obdržíte další pokyny.

11.7.2 Uniformita na 96jamkové destičce

Uniformita představuje měřítko kolísání hodnot mezi jamkami při měření na vícejamkové destičce. Uniformita se vypočítává coby procentuální odchylka od střední hodnoty.

Materiál:

- oranž G [60 mg/l] zředěná destilovanou vodou (Sigma-Aldrich, O3756),
- 96jamková destička Greiner, jamky s plochým dnem, čirá,
- pipety a špičky.

Postup:

Pipetujte 200 µl reagentu do jamek 96jamkové destičky Greiner (čirá, ploché dno jamek) dle uvedeného rozložení destičky.

Rozložení destičky:

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

OG: Oranž G [60 mg/l]

Parametry měření:

Režim měření:	Absorbance
Vlnová délka měření:	492 nm
Počet záblesků:	25
Doba ustálení:	300 ms
Soubor definice destičky:	GRE96ft

Posouzení:

Uniformitu (CV %) vypočítejte takto:

$$\text{Uniformita} \quad (\text{CV}\%) = \frac{SD_{OG} * 100}{\text{stred}_{OG}}$$

SD_{OG}	Směrodatná odchylka jamek naplněných oranží G
střed_{OG}	Střední hodnota jamek naplněných oranží G

11.7.3 Kontrola kvality měření destičky NanoQuant

Materiál:

- Tris-EDTA pufr (BioThema, obj. č. 21-103),
- destička Tecan NanoQuant,
- pipety a špičky.

Postup:

Pipetujte 2 µl reagentu do všech jamek na destičce NanoQuant.

Parametry měření:

Spusťte aplikaci NanoQuant a vykonejte proceduru stanovení průměru blanku na všech jamkách (16 pozic).

Posouzení:

Výsledek zkoušky vyhovuje, jestliže výsledek průměru blanku je při OD 260 v rozsahu 10 % (CV). Je-li průměr blanku mimo stanovený rozsah, zvýraznění nevyhovujících jamek indikuje znečištění odletky, otisky prstů apod.

12 Fluorescence

12.1 Modul fluorescenční intenzity

Fluorescenční modul je navržený coby spojná optická soustava. Výběr vlnových délek pro excitaci a emisi může zajišťovat buď monochromátor, nebo volitelný filtr. Režim monochromátoru a režim filtru lze pro excitaci a emise kombinovat nezávisle na sobě, čímž je dosažena maximální flexibilita detekčního systému a výstupu signálu. Fluorescenční signály lze navíc číst shora i zdola.

12.1.1 Doplňky k modulu pro fluorescenční měření zdola

Přístroj SPARK lze vybavit buď standardním fluorescenčním modulem, nebo rozšířeným fluorescenčním modulem. Všeobecně platí, že rozšířený modul je citlivější než standardní modul.

Standardní modul pro fluorescenční měření zdola lze vybavit vláknem VIS, nebo UV-VIS. Rozšířený modul pro fluorescenční měření zdola standardně vybaven vláken UV-VIS.

Podrobný popis rozdílů mezi standardním a rozšířeným fluorescenčním modulem jsou uvedeny v úplném návodu k obsluze v kapitole Fluorescence Top Module (Modul pro fluorescenční měření shora).

12.2 Výbava k měření

12.2.1 Filtry

Optické filtry (pásmově propustné filtry) jsou umístěny v kazetě na filtry. Spektrální propustnost 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.

12.2.2 Kazety s filtry

Dvě samostatné kazety s filtry, excitační a emisní kazeta, umožňuje práci s šesti nezávislými dvojicemi filtrů pro účely fluorescenčních měření. Informace o vložených filtrech jsou uloženy na mikročipu, který je součástí každé kazety.



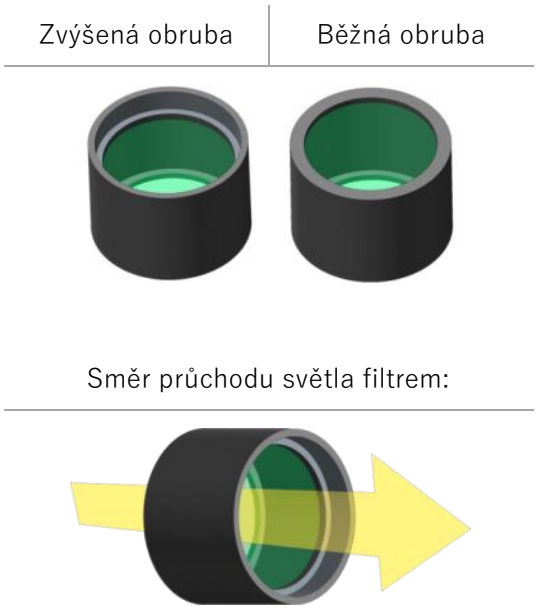
Pozor: K dispozici jsou dva typy filtrů. Je důležité, aby světelný paprsek procházel filtrem správným směrem. Před vložením nového filtru pečlivě zvažte orientaci filtru a směr průchodu světla kazetou s filtry.

Je-li filtr označen šipkou, světlo jím musí procházet ve směru šipky.

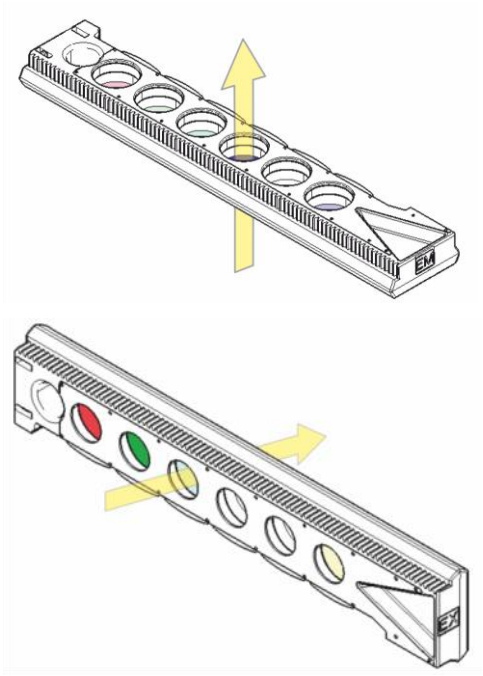


U filtrů, které nejsou označeny šipkou, musí být zvýšená obruba filtru odvrácena od zdroje světla:

filtry mají na obou stranách dvě různé obruby – jedna z nich je zvýšená, druhá nikoli.



Obrázek 8: Světlo prochází směrem od strany s běžnou obrubou ke straně se zvýšenou obrubou.



Obrázek 9: Směr průchodu světla kazetou s filtrem

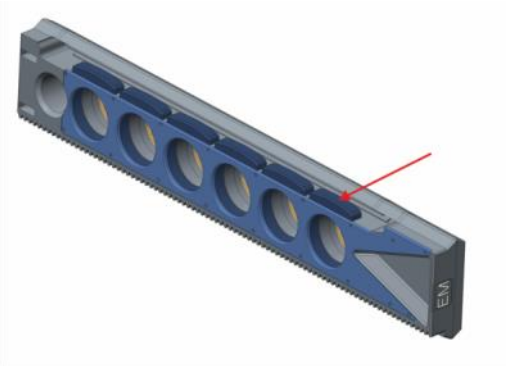
12.2.3 Montáž a demontáž filtrů

Montáž a demontáž filtrů pro excitační a emisní záření nevyžaduje použití nástrojů.

Chcete-li namontovat filtr, stiskněte a přidržte tlačítko vedle příslušného otvoru, zasuňte filtr a uvolněním tlačítka zajistěte filtr v otvoru. Zkontrolujte, zda je filtr pevně usazen na spodní části otvoru.

UPOZORNĚNÍ: Pečlivě zkontrolujte, zda jsou filtry vloženy správným směrem.

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.

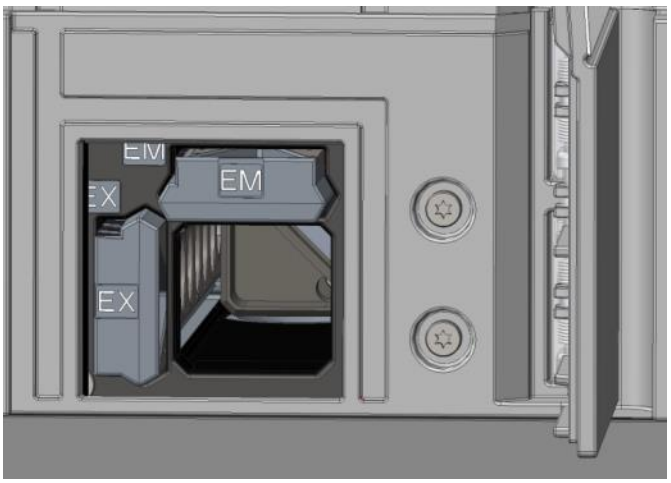


Obrázek 10: Chcete-li filtr vyjmout z kazety, stiskněte tlačítko vedle příslušného otvoru (viz obrázek výše), otočte kazetu a filtr se sám vysune z otvoru.

12.2.4 Vložení kazety s filtry

Chcete-li vložit kazetu s filtry, otevřete dvířka rukou. Z důvodu snadné identifikace jsou kazety s excitačními filtry označeny odlišně od kazet s emisními filtry. Opatrně zasuňte kazetu do příslušné přihrádky správným směrem (stranou s čipem) a zatlačte kazetu do přístroje natolik, až její zasouvání převezme pohon mechanismu.

POZOR: Jakmile pohon mechanismu převezme zasouvání kazety, nepokoušejte se na kazetu dále tlačit.



Obrázek 11: Vložení kazety s filtry

Kazetu s filtry lze vyjmout prostřednictvím softwaru nebo použitím fyzického tlačítka na čelní straně přístroje (viz kapitolu 2.6 Fyzická ovládací tlačítka).

12.2.5 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 jste však některé filtry v kazetě vyměnili nebo hodláte-li použít novou kazetu s vlastní sadou filtrů, je třeba nastavit definici nové kazety s filtrem.

Vlastní sadu filtrů lze definovat v modulu Dashboard nebo v editoru metod, v obou případech v okně **Filter Definition (Definice filtrů)**. Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.



UPOZORNĚNÍ: Lze používat alfanumerické znaky latinky, včetně mezery a některých speciálních znaků, například znaků ?, $, %, ., /.



POZOR: Před výměnou filtru doporučujeme manuálně zaznamenat poslední číslo počítadla záblesků. V opačném případě bude tato informace nenávratně ztracena.

12.2.6 Kazety na zrcadla

Zrcadla se používají ke všem fluorescenčním měřením shora k odrazu excitačního záření na vzorky. U standardního fluorescenčního modulu pro měření shora je kazeta na zrcadla osazena dvěma různými typy zrcadel, v případě rozšířeného modulu pro měření shora je k dispozici pět míst na zrcadla (jedno volitelné dichroické zrcadlo).

Vlastnosti různých zrcadel a jejich dostupnost pro standardní a rozšířený modul jsou uvedeny v následující tabulce: 50% zrcadlo lze používat ke všem fluorescenčním měřením, bez ohledu na zvolenou vlnovou délku.

Zrcadlo	Odraz (excitace)	Přenos (emise)	Dostupnost
50% zrcadlo	230–900 nm	230–900 nm	Fl. shora, standardní a rozšířený modul
510 dichroické (např. fluorescein, HTRF)	320-490 nm	515-750 nm	Fl. shora, standardní a rozšířený modul
560 dichroické (např. Cy3)	510-545 nm	575-620 nm	Fl. shora, rozšířený modul
625 dichroické (např. Cy5)	565-610 nm	640-700 nm	Fl. shora, rozšířený modul
Vlastní dichroické zrcadlo 410	360–395 nm	425–470 nm	Fl. shora, rozšířený modul
Vlastní dichroické zrcadlo 430	380–415 nm	445–490 nm	Fl. shora, rozšířený modul
Vlastní dichroické zrcadlo 458	350-450 nm	470-900 m	Fl. shora, rozšířený modul
Vlastní dichroické zrcadlo 593	350-585 nm	605-900 nm	Fl. shora, rozšířený modul

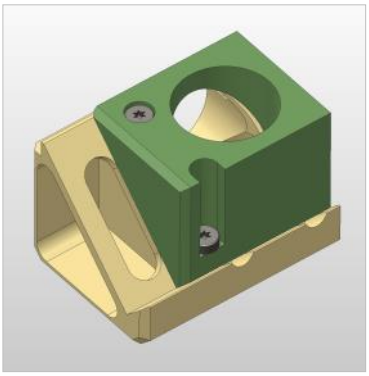
Zrcadlo	Odraz (excitace)	Přenos (emise)	Dostupnost
Vlastní dichroické zrcadlo	350-650 nm	670-900 nm	Fl. shora, rozšířený modul
Uživatelsky definované dichroické zrcadlo (dělič paprsku typu Polka Dot) Poměr rozdělení paprsku: 50 % ± 5 %	250-900 nm	250-900 nm	Fl. shora, rozšířený modul



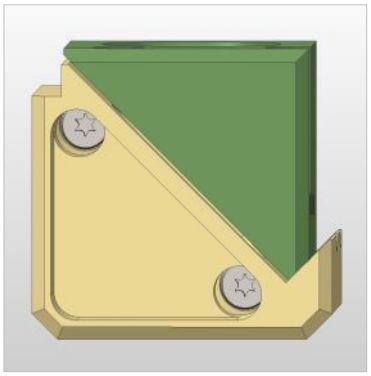
UPOZORNĚNÍ: Dichroické zrcadlo musí odpovídat zvolené vlnové délce excitačního a emisního záření.

12.2.7 Montáž dichroického zrcadla na objednávku

Kazetu na filtry lze dle potřeby rozšířit vlastním typem dichroického zrcadla na objednávku. Dichroické zrcadlo na objednávku se dodává samostatně v dílčím balení a před použitím je třeba je namontovat a nadefinovat.



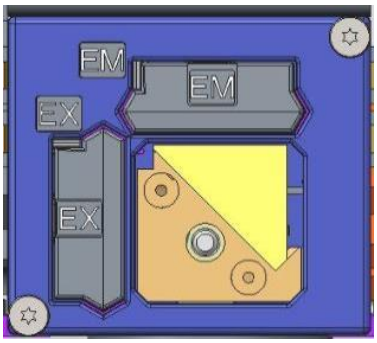
Šikmý vhled



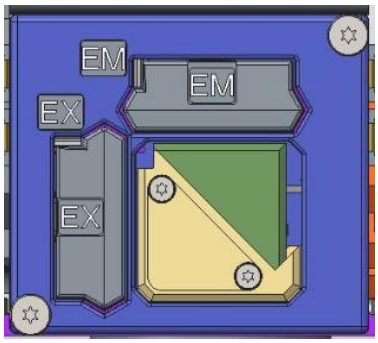
Čelní pohled

Při montáži vlastního dichroického zrcadla na objednávku postupujte takto:

1. V modulu Dashboard nebo v editoru metod otevřete okno Mirror Definition (Definice zrcadel) a klikněte na příkaz **Mirror Out (Vysunout zrcadlo)**. Kazeta na zrcadla se vysune do montážní polohy.
2. Při montáži vlastního dichroického zrcadla nejprve otevřete dvířka rukou. Zasuňte zrcadlo do držáku, jak je uvedeno na schématu níže. Umístěte a opatrně utáhněte montážní šrouby.



Montážní poloha



Namontované vlastní dichroické zrcadlo



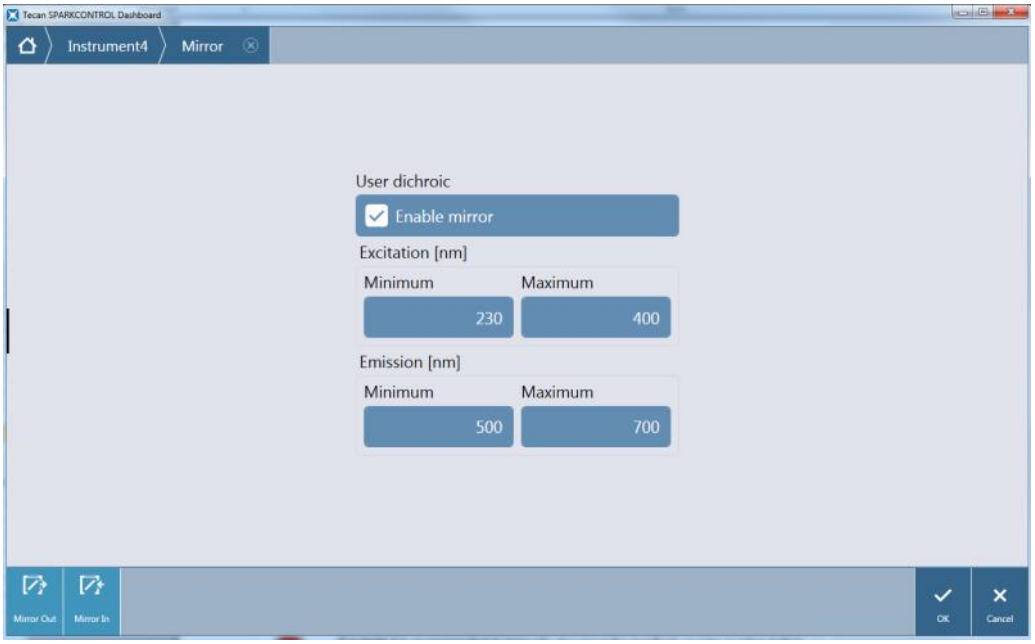
POZOR: Nepoškoďte kazetu se zrcadlem nadměrným tlakem.

3. Opatrně uvolněte dvířka a klikněte na příkaz **Mirror In (Zasunout zrcadlo)**. Kazeta se srcadlem se zasune zpět do přístroje.
4. Vlastní dichroické zrcadlo je nyní připraveno k definici (viz kapitolu 12.2.8 Definice dichroického zrcadla na objednávku).

12.2.8 Definice dichroického zrcadla na objednávku

POZOR: Hodláte-li použít nové, dosud nedefinované dichroické zrcadlo, je třeba je nejprve v softwaru definovat.

Vlastní dichroické zrcadlo lze definovat v modulu Dashboard nebo v editoru metod, v obou případech v okně Mirror Definition (Definice zrcadel):



Obrázek 12: Okno Mirror Definition (Definice zrcadel)

Aktivujte políčko **Enable mirror (Aktivovat zrcadlo)** a nastavte rozsah položek **Excitation (Excitace)** a **Emission (Emise)** zadáním příslušných vlnových délek do polí **Minimum** a **Maximum**.

12.3 Definice fluorescenčního měření

Software obsahuje pro definici parametrů měření tři samostatné řádky:

- řádek Fluorescence Intensity (Fluorescenční intenzita),
- řádek Time-Resolved Flurescence Intensity (Časově rozlišená fluorescenční intenzita),
- řádek Fluorescence Intensity Scan (Skenování fluorescenční intenzity).

Dostupnost jednotlivých řádků závisí na konfiguraci připojeného přístroje.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

UPOZORNĚNÍ: Společnost Tecan poskytuje seznam fluoroforů dostupných v obchodní síti, včetně údajů o jejich absorpčních a emisních spektrech. U fluoroforů se nezobrazují doporučené kombinace vlnových délek excitačního a emisního záření. Vlnové délky excitačního a emisního záření příslušného fluoroforu je třeba nastavit uživatelsky.

UPOZORNĚNÍ: Délka prodlevy je volitelná funkce, avšak integrační doba je povinný parametr, který určuje dobu záznamu signálu. Výchozími hodnotami pro standardní měření fluorescenční intenzity jsou délka prodlevy 0 µs a integrační doba 40 µs. Časově rozlišené měření fluorescence zpravidla vyžaduje nastavení délky prodlevy a prodloužení integrační doby dle konkrétní aplikace.

12.4 Modul fluorescenční polarizace

Modul fluorescenční polarizace je navržený coby spojná optická soustava. Výběr vlnových délek pro excitaci a emisi může zajišťovat buď monochromátor, nebo volitelný filtr. Režim monochromátoru a režim filtru lze pro excitaci a emise kombinovat nezávisle na sobě, čímž je dosažena maximální flexibilita detekčního systému a výstupu signálu. Volitelný modul fluorescenční polarizace je k dispozici pouze pro horní měření.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.

UPOZORNĚNÍ: Při použití více než jedné jamky naplněné referenčním roztokem a referenčním blankem se vypočítávají střední hodnoty, a proto bude výsledek kalibrace G-faktoru přesnější.

UPOZORNĚNÍ: Ke kalibraci G-faktoru se doporučuje použít volný fluorofor nebo fluorofor s nízkou hodnotou polarizace.

UPOZORNĚNÍ: Společnost Tecan poskytuje seznam fluoroforů dostupných v obchodní síti, včetně údajů o jejich absorpčních a emisních spektrech. U fluoroforů se nezobrazují doporučené kombinace vlnových délek excitačního a emisního záření. Vlnové délky excitačního a emisního záření příslušného fluoroforu je třeba nastavit uživatelsky. Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.

12.5 Optimalizace měření fluorescence a polarizační fluorescence

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

UPOZORNĚNÍ: Je-li některé zkoumané jamce přiřazen stav **OVER** (přetečení), můžete manuálně snížit výtěžek nebo vybrat možnost automatického výtěžku (optimální výtěžek, výtěžek z jamky).

UPOZORNĚNÍ: Zvyšujte počet záblesků na jamku, dokud se míra šumu jamek s blankem nepřestane zlepšovat, nebo dokud doba měření jamky nepřestane být přijatelná.

Skenování s nastavením polohy na ose Z

UPOZORNĚNÍ: Při použití možnosti **Max. S/B Ratio (Max. poměr vzorek/blank)** se nejprve měří jamka se vzorkem za použití optimálního výtěžku. K druhému měření jamky s blankem se poté použije shodná hodnota výtěžku. Křivky signálu a blanku tak lze přímo porovnat.

12.6 Inject and Read (Injekce a Čtení)

Režim měření **Inject and Read** je navržen tak, aby podporoval aplikace, které vyžadují současnou injekci a čtení fluorescence zespodu, jako je měření intracelulární koncentrace Ca^{2+} pomocí vápníkem citlivých neratiometrických barviv (např. Fluo-4).

Podrobné informace naleznete v manuálu SparkControl.



UPOZORNĚNÍ: Režim měření **Injekce a Čtení** není kompatibilní se Spark Cyto, a proto jej nelze použít v kombinaci s modulem Cell Imager.



UPOZORNĚNÍ: Společnost Tecan poskytuje seznam fluoroforů dostupných v obchodní síti, včetně údajů o jejich absorpčních a emisních spektrech. U fluoroforů se nezobrazují doporučené kombinace vlnových délek excitačního a emisního záření. Vlnové délky excitačního a emisního záření příslušného fluoroforu je třeba nastavit uživatelsky.



UPOZORNĚNÍ: Proužek **Injekce a Čtení** podporuje pracovní postupy pouze s neratiometrickými fluorescenčními barvivy.



UPOZORNĚNÍ: Pro urychlení čtení intenzity fluorescence zespodu je počet záblesků nastaven na 1 a uživatel jej nemůže změnit. Vícenásobné čtení na jamku není dále podporováno.



UPOZORNĚNÍ: Doplnění stříkačky se provádí vždy před každou injekcí.



UPOZORNĚNÍ: Měření **Injekce a Čtení** může obsahovat celkovou hodnotu 1000 měřicích bodů, tj. datových bodů na jamku. Počet datových bodů vyplývá z hodnot definovaných pro dobu trvání a interval. Pokud je hodnota 1000 bodů překročena, zvyšte interval a/nebo zkraťte dobu trvání.



UPOZORNĚNÍ: V závislosti na modulu fluorescence zespodu přístroje SPARK je **minimální hodnota intervalu** 10 ms (Fluorescence Enhanced) a 20 ms (Fluorescence Standard).



UPOZORNĚNÍ: Pokud je jakákoliv zajímavá jamka označena jako OVER (přetečení), snižte zesílení.

12.7 Specifikace měření fluorescence

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

12.7.1 Všeobecné specifikace měření fluorescenční intenzity (standardní a rozšířený modul)

Není-li uvedeno jinak, jsou uvedené hodnoty společné pro standardní i rozšířený modul.

Fluorescenční intenzita, horní měření:

Parametry	Monochromátor	Filtr
Rozsah vlnových délek	Excitace: 230–900 nm Emise: 280–900 nm, nastavitelná v krocích po 1 nm	Excitace: 230–900 nm Emise: 230–900 nm
Šířka pásma, standardní modul	20 nm	závisí na použitém filtru
Šířka pásma, rozšířený modul	5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	závisí na použitém filtru

Fluorescenční intenzita, dolní měření (volitelný monochromátor a filtr):

Parametry	Standardní VIS s dolním vláknem	UV-VIS rozšířené s dolním vláknem
Rozsah vlnových délek	**Monochromátor a filtr:** 390–900 nm, nastavitelná v krocích po 1 nm (jen monochromátor)	**Monochromátor:** Excitace: 230–900 nm Emise: 280–900 nm, nastavitelná v krocích po 1 nm **Filtr:** Excitace: 230–900 nm Emise: 230–900 nm
Šířka pásma, standardní modul – monochromátor	20 nm	
Šířka pásma, rozšířený modul – monochromátor	5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	
Šířka pásma, standardní a rozšířený modul – filtr	závisí na použitém filtru	

UPOZORNĚNÍ: Rozšířený UV-VIS modul s dolním vláknem je citlivější než standardní VIS modul s dolním vláknem. Použití hodnoty nižší než 400 nm u standardního VIS modulu s vláknem způsobí nižší citlivost.

Možnosti výtěžku

Nastavení výtěžku	Hodnoty
Manuální	1–255
Optimální	Automatický
Vypočítaný z jamky	Automatický
Rozšířený dynamický rozsah	Automatický
Použití regulace výtěžku	Automatický

Parametry časově rozlišené fluorescence (TRF)

Parametry	Vlastnosti
Integrační doba	20–2 000 µs
Délka prodlevy	0 µs–2 ms

Výkonové specifikace měření fluorescenční intenzity

Výkonové specifikace měření fluorescenční intenzity, horní měření, standardní modul

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Monochromátor	96jamková destička, černá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 20 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 20 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	96jamková destička, černá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 10 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 10 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor a filtr	96jamková destička, černá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 3 CV% (fluorescein 25 nM)
Monochromátor a filtr	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 5 CV% (fluorescein 25 nM)

Výkonové specifikace měření fluorescenční intenzity, horní měření, rozšířený modul

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Monochromátor	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 3 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor	1536jamková destička, černá, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 10 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 2 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	1536jamková destička, černá, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 7 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor a filtr	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 3 CV% (fluorescein 25 nM)
Monochromátor a filtr	1536jamková destička, černá, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 5 CV% (fluorescein 100 nM)

Výkonové specifikace měření fluorescenční intenzity, dolní měření, standardní modul

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Monochromátor	96jamková destička, černá, čiré dno jamek, 350 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 45 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor	384jamková destička, černá, čiré dno jamek, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 45 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	96jamková destička, černá, čiré dno jamek, 350 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 35 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	384jamková destička, černá, čiré dno jamek, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 35 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor a filtr	96jamková destička, černá, čiré dno jamek, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 3 CV% (fluorescein 25 nM)
Monochromátor a filtr	384jamková destička, černá, čiré dno jamek, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 5 CV% (fluorescein 25 nM)

Výkonové specifikace měření fluorescenční intenzity, dolní měření, rozšířený modul

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Monochromátor	96jamková destička, černá, čiré dno jamek, 350 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 30 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor	384jamková destička, černá, čiré dno jamek, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 30 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor	1536jamková destička, černá, čiré dno jamek, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 40 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	96jamková destička, černá, čiré dno jamek, 350 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 15 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	384jamková destička, černá, čiré dno jamek, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 17 pM (fluorescein 1 nM)
Filtr	1536jamková destička, černá, čiré dno jamek, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 40 pM (fluorescein 1 nM)
Monochromátor a filtr	384jamková destička, černá, čiré dno jamek, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 3 CV% (fluorescein 25 nM)
Monochromátor a filtr	1536jamková destička, černá, čiré dno jamek, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Uniformita: < 5 CV% (fluorescein 100 nM)

Výkonové specifikace časově rozlišené fluorescence (TRF), standardní modul

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Monochromátor	96jamková destička, bílá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 5 pM (europium 1 nM)
Monochromátor	384jamková destička, bílá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 5 pM (europium 1 nM)
Filtr	96jamková destička, bílá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 150 fM (europium 1 nM)
Filtr	384jamková destička, bílá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 150 fM (europium 1 nM)

Výkonové specifikace časově rozlišené fluorescence (TRF), rozšířený modul

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Monochromátor	96jamková destička, bílá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 750 fM (europium 1 nM)
Monochromátor	384jamková destička, bílá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 750 fM (europium 1 nM)
Monochromátor	1536jamková destička, bílá, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 900 fM (europium 1 nM)
Filtr	96jamková destička, bílá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 75 fM (europium 0,1 nM)
Filtr	384jamková destička, bílá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 75 fM (europium 0,1 nM)
Filtr	1536jamková destička, bílá, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Mez detekce: < 100 fM (europium 0,1 nM)

12.7.2 Všeobecné specifikace měření fluorescenční polarizace (standardní a rozšířený polarizační modul)

Není-li uvedeno jinak, jsou uvedené hodnoty společné pro standardní i rozšířený modul.

Parametry	Vlákno >390 nm	Polarizační vlákno >300 nm
Rozsah vlnových délek	**Monochromátor a filtr:** 400–850 nm, nastavitelná v krocích po 1 nm (jen monochromátor)	**Monochromátor a filtr:** 300–850 nm, nastavitelná v krocích po 1 nm (jen monochromátor)
Šířka pásma, standardní polarizační modul – monochromátor	20 nm	
Šířka pásma, rozšířený polarizační modul – monochromátor	5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	
Šířka pásma, standardní a rozšířený polarizační modul – filtr	závisí na použitém filtru	

12.7.3 Výkonové specifikace měření fluorescenční polarizace

Výkonové specifikace měření fluorescenční polarizace, standardní modul (>300 nm a >390 nm)

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Filtr	96jamková destička, černá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Přesnost: < 5 mP (fluorescein 1 nM)
Filtr	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Přesnost: < 5 mP (fluorescein 1 nM)

Výkonové specifikace měření fluorescenční polarizace, rozšířený modul (>300 nm a >390 nm)

Modul	Typ destičky / Plnicí objem	Parametr	Kritéria
Filtr	96jamková destička, černá, 200 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Přesnost: < 3 mP (fluorescein 1 nM)
Filtr	384jamková destička, černá, 100 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Přesnost: < 3 mP (fluorescein 1 nM)
Filtr	1536jamková destička, černá, 10 µl	Počet záblesků/jamku: 30	Přesnost: < 5 mP (fluorescein 1 nM)

Nejkratší doba měření

Nejkratší doba měření se stanovuje použitím jediného záblesku, manuálního nastavení výtěžku a manuálního nastavení polohy na ose Z. Do doby měření není zahrnuta doba potřebná k zasunutí a vysunutí destičky.

Standardní modul		
Technika měření	**Doba měření**	
Typ destičky	**96jamková**	**384jamková**
Fluorescenční intenzita, horní čtení, filtr	≤13 sekund	≤30 sekund
Fluorescenční intenzita, horní čtení, monochromátor	≤14 sekund	≤32 sekund
Fluorescenční intenzita, dolní čtení, monochromátor	≤21 sekund	≤35 sekund

Rozšířený modul

Technika měření	**Doba měření**		
Typ destičky	**96jamková**	**384jamková**	**1536jamková**
Fluorescenční intenzita, horní čtení, filtr	≤13 sekund	≤22 sekund	≤34 sekund
Fluorescenční intenzita, horní čtení, monochromátor	≤14 sekund	≤23 sekund	≤36 sekund
Fluorescenční intenzita, dolní čtení, monochromátor	≤19 sekund	≤24 sekund	≤42 sekund

12.8 Kontrola kvality fluorescenčního modulu

12.8.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality

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

Zkoušky, jejichž popis je uveden v úplném návodu, nenahrazují celkové posouzení výrobcem nebo jeho autorizovanými distributory. Tyto zkoušky však může pravidelně vykonávat uživatel coby kontrolu významných aspektů výkonu přístroje.

Výsledky významně ovlivňují chyby při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto dodržujte uvedené pokyny co nejpřesněji. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek v závislosti na intenzitě využití přístroje.

Následující dvě kapitoly obsahují popis mezí detekce a uniformity u horních a dolních měření v 96jamkových destičkách. Hodnoty mezí detekce a uniformity dalších typů destiček jsou uvedeny v úplném návodu.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je mikrotitrační destička vložena správným směrem. Jamka A1 se musí nacházet v levém horním rohu držáku.



VÝSTRAHA: Podrobný popis mezí detekce a uniformity různých typů destiček je uveden v úplném návodu. Pokyny uvedené v tomto návodu se vztahují na provádění kontroly kvality s cílem zkontrolovat plnění specifikací přístroje. Jestliže výsledky těchto zkoušek nevyhoví specifikacím přístroje uvedeným v tomto návodu, obraťte se na místní servisní zastoupení výrobce, od kterého obdržíte další pokyny.

12.8.2 Mez detekce, horní/dolní měření, 96jamková destička

Mez detekce představuje nejnižší množství látky, které lze odlišit od blanku v rámci stanoveného intervalu spolehlivosti.

Před zahájením pipetování do destičky připravte přístroj k měření. Měření spouštějte bezprostředně po dokončení pipetování.

Materiál:

- fluorescein, 1 nM v 10 mM NaOH (Fluorescein disodná sůl, Sigma),
- 10 mM NaOH = Blank (pelety NaOH),
- 96jamková destička, jamky s plochým dnem, černá (pro horní měření),
- 96jamková destička, jamky s plochým a čirým dnem, černá (pro dolní měření),
- pipety a špičky.

Postup:

Pro horní měření pipetujte 200 µl a pro horní měření 350 µl roztoku 1 nM fluoresceinu nebo roztoku blanku (10 mM NaOH) do příslušných jamek dle rozložení destičky.

Rozložení destičky:

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

F: 200/350 µl fluoresceinu, 1 nM
B: 200/350 µl blanku (10 mM NaOH)

Parametry měření:

	Monochromátor	**Filtr**
Režim měření	Fluorescence, horní/dolní měření	Fluorescence, horní/dolní měření
Excitace	485 nm	485 nm
Šířka pásma, excitační záření	20 nm	20 nm
Emise	535 nm	535 nm
Šířka pásma, emisní záření	20 nm	25 nm
Počet záblesků	30	30
Výtěžek	Optimální	Optimální
Zrcadlo	510 dichroické	510 dichroické
Poloha na ose Z	Výpočet z jamky A1	Výpočet z jamky A1
Soubor definice destičky	GRE96fb	GRE96fb

Posouzení:

Mez detekce (DL) vypočítejte takto:

$$DL(pM) = \frac{(3 * SD_B * 1000)}{(stred_F - stred_B)}$$

SD_B	Směrodatná odchylka jamek naplněných blankem (10 mM NaOH)
1 000	Koncentrace fluoresceinu v pM
$střed_F$	Střední hodnota jamek naplněných fluoresceinem 1 nM
$střed_B$	Střední hodnota jamek naplněných blankem (10 mM NaOH)

12.8.3 Uniformita, horní/dolní měření, 96jamková destička

Uniformitou se rozumí kolísání hodnot mezi jamkami při měření na vícejamkové destičce. Uniformita se vypočítává coby procentuální odchylka od střední hodnoty.

Před zahájením pipetování do destičky připravte přístroj k měření. Měření spouštějte bezprostředně po dokončení pipetování.

Materiál:

- fluorescein, 25 nM v 10 mM NaOH (Fluorescein disodná sůl, Sigma),
- 96jamková destička, jamky s plochým dnem, černá (pro horní měření),
- 96jamková destička, jamky s plochým a čirým dnem, černá (pro dolní měření),
- pipety a špičky.

Postup:

Pipetujte 200 µl roztoku fluoresceinu do příslušných jamek dle rozložení destičky.

Rozložení destičky:

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

F: 200 µl fluoresceinu

Parametry měření:

	Monochromátor	Filtr
Režim měření	Fluorescence, horní/dolní měření	Fluorescence, horní/dolní měření
Excitace	485 nm	485 nm
Šířka pásma, excitační záření	20 nm	20 nm
Emise	535 nm	535 nm
Šířka pásma, emisní záření	20 nm	25 nm
Počet záblesků	30	30
Výtěžek	Optimální	Optimální
Zrcadlo	510 dichroické	510 dichroické
Poloha na ose Z	Výpočet z jamky A1	Výpočet z jamky A1
Soubor definice destičky	GRE96fb	GRE96fb

Posouzení:

Uniformitu vypočítejte takto:

$$\text{Uniformita } (CV\%) = \frac{SD_F * 100}{stred_F}$$

SD_F	Směrodatná odchylka jamek naplněných fluoresceinem 25 nM
$střed_F$	Střední hodnota jamek naplněných fluoresceinem 25 nM

13 Buněčný modul

13.1 Techniky měření

13.1.1 Počítání buněk / Životaschopnost buněk

Společnost Tecan poskytuje dvě plně automatické aplikace pro počítání buněk a stanovení životaschopnosti buněk v jednorázových buněčných čipech. Obě aplikace jsou optimalizovány k vykonávání každodenní, rutinní kontroly kvality buněčných kultur.

13.1.2 Konfluence buněk

Konfluence vyjadřuje velikost plochy pokryté adherentními buňkami. Konfluence buněk se zobrazuje v procentuálním poměru vůči celé měřené ploše. Měření konfluence lze provádět na kultivačních destičkách obsahujících 6–96 jamek.

13.2 Snímání metodou světlého pole

Buněčný modul se skládá z osvětlovacího modulu a modulu kamery. Vzorky jsou ozařovány shora, obraz je pořizován zdola.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.

13.3 Výbava k měření

13.3.1 Buněčné čipy

Společnost Tecan dodává vhodné jednorázové buněčné čipy, které obsahují dvě komůrky na vzorek. Plnicí objem jedné komůrky na vzorek činí 10 µl. Komůrky lze plnit pomocí vhodné, standardní pipety. Dosažení optimálního výkonu vyžaduje, aby se během plnění v komoře netvořily vzduchové bubliny.



POZOR: Správný výkon lze zaručit pouze v případě, že k počítání buněk a k analýze životaschopnosti buněk jsou použity buněčné čipy Tecan. Při plnění komůrek buněčného čipu dbejte, aby se v komůrce netvořily vzduchové bubliny.



POZOR: Před použitím buněčných čipů vždy zkontrolujte jejich datum použitelnosti. Po uplynutí data použitelnosti nelze zaručit optimální výkon buněčných čipů.

13.3.2 Adaptér na buněčné čipy

Adaptér Tecan na buněčné čipy pojme až čtyři buněčné čipy. Rohy buněčných čipů jsou seříznuté, aby nedocházelo k vložení čipů nesprávným směrem a nebyla pořizována chybná data. Kazety je třeba vkládat správně, v opačném případě nelze adaptér řádně zavřít. Víčko se automaticky zajišťuje magnetickým mechanismem. Označení pozic vzorků (např. A1, A2) na adaptéru se shoduje s označením v softwaru. Před zahájením měření zkontrolujte, zda je buněčný čip vložen správným směrem. Otvor se musí nacházet vpředu a komůrka A1 vlevo nahoře.

Adaptér lze čistit 70% roztokem etanolu.



UPOZORNĚNÍ: Při objednání modulu SPARK Cell (Option Cell Counting + Imaging) je součástí dodávky adaptér pro čipy s buňkami a 15 čipů s buňkami.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je buněčný čip vložen správným směrem. Otvor se musí nacházet vpředu a komůrka A1 vlevo nahoře.

13.3.3 Údržba a čištění adaptéru na buněčné čipy

Adaptér na buněčné čipy lze čistit tímto postupem:

1. Použijte ochranné rukavice, ochranné brýle a ochranný oděv.
2. Vyprázdněte adaptér na buněčné čipy a opatrně vyjměte pružiny umístěné na vnitřní straně víčka adaptéru (podrobné informace najdete v úplném návodu).
3. Pečlivě otřete vnější povrch adaptéru a pružiny papírovou utěrkou, která nezanechává odletky, namočenou v 70% roztoku etanolu.
4. Adaptér a pružiny ponechejte oschnout.
5. Před použitím adaptéru nezapomeňte namontovat pružiny.



POZOR: Nepoužívejte adaptér na buněčné čipy bez pružin! Výsledkem takového počínání budou chybné výsledky měření.

13.4 Definice počítání buněk a konfluence buněk

Software SparkControl obsahuje dva samostatné řádky pro měření pomocí technologií:

- Počítání buněk,
- Konfluence buněk.

Dostupnost jednotlivých řádků závisí na konfiguraci připojeného přístroje.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

Automatické stanovení konfluence buněk je optimalizováno pro 96jamkové destičky pro tkáňové kultury. V závislosti na vlastnostech konkrétních destiček mohou prázdné jamky, tj. jamky neobsahující žádné buňky, vykazovat konfluenční signál větší než 10 %. Hodnota konfluence u těchto jamek závisí na složení jejich dna. Doporučujeme individuální vyhodnocení výsledku upřednostňované kombinace destičky pro tkáňové kultury a typu buněk.



UPOZORNĚNÍ: Hodnoty konfluence se na analyzovaných snímcích zobrazují v levém horním rohu. Hodnoty ≤10 % a ≥90 % se zobrazují červeně, všechny ostatní hodnoty žlutě. Hodnoty zobrazené červeně nemusejí být kompatibilní s křivkami lineárního růstu a s daty získanými pomocí alternativní metody.



POZOR: Výsledkem měření konfluence v jamkách, které neobsahují žádné buňky, mohou být hodnoty konfluence > 10 %. Při validaci systému je povinností provozovatele zohlednit signál konfluence prázdných jamek.

13.5 Aplikace Počítání buněk

Společnost Tecan poskytuje dvě připravené aplikace:

- Počítání buněk,
- Životaschopnost buněk.

Při použití těchto aplikacích se automaticky provádí výpočet koncentrace, velikosti a životaschopnosti buněk.

13.6 Optimalizace měření s počítáním buněk

13.6.1 Zvýšení počtu snímků

Stanovení počtu a životaschopnosti buněk se zpravidla provádí ve vzorcích s velmi malým objemem. Koncentrace buněk nižší než $1x10^5$ buněk/ml způsobuje nízký počet spočítaných objektů na snímku a často i nepravidelnou distribuci buněk ve vzorku. Chcete-li zvýšit rychlost počítání, a tedy i absolutní počet buněk na mililitr vzorku, přístroj umožňuje pořídit více snímků z jednoho vzorku a tyto snímky analyzovat s použitím aplikací Počítání buněk a Životaschopnost buněk. Vyberte 4–8 snímků na vzorek.

13.7 Optimalizace měření konfluence buněk

13.7.1 Použití detekce okrajů jamek

Detekce konfluence vyžaduje vysokou přesnost pohybu a umístění přepravního mechanismu. Software je dále vybaven funkcí detekce okrajů jamek, která kompenzuje kolísání rozměrů destiček. Tato funkce tudíž umožňuje přesnou analýzu konfluence adherentních buněk až k okraji jamky. Bez změny kontrastu s použitím funkce detekce okrajů jamek budou okraje zahrnuty do analýzy. Výsledkem mohou být chybné hodnoty konfluence.



POZOR: Pamatujte, že měření, jejichž součástí je detekce okraje jamky, trvají déle.

13.7.2 Live Viewer (Prohlížeč živého náhledu)

Live Viewer (**Prohlížeč živého náhledu**) lze spouštět z řádku konfluence buněk a počítání buněk v nabídce Instrument (Přístroj) v Editoru metod nebo prostřednictvím okna Check and Go (Kontrola a spuštění) v modulu Dashboard. **Live Viewer** (Prohlížeč živého náhledu) slouží ke kontrole nastavení automatického ostření před zahájením měření.

Kromě toho je **Live Viewer** (**Prohlížeč živého náhledu**) k dispozici i coby samostatná aplikace, kterou lze použít k rychlé kontrole kvality buněčné kultury na mikrotitrační destičce.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



POZOR: Vždy používejte mikrotitrační destičku shodnou s typem destičky v definici metody nebo s typem destičky zvoleným v aplikaci. V opačném případě může pořízení snímku skončit chybou.



UPOZORNĚNÍ: Tlačítko **Apply** (Použít), které slouží k potvrzení hodnoty automatického ostření, je k dispozici pouze v Prohlížeči živého náhledu, který je propojený s definicí/provedením metody. Tlačítko není k dispozici v samostatné aplikaci Live Viewer (Prohlížeč živého náhledu).



UPOZORNĚNÍ: Změníte-li offset zaostření na obrazovce Check and Go (Kontrola a spuštění) nebo v modulu Live Viewer (Prohlížeč živého náhledu), bude nová hodnota použita pouze v aktuálním měření, ale nepřepíše hodnotu uloženou v původní definici metody.

13.8 Specifikace buněčného modulu

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

13.8.1 Všeobecné specifikace

Ozáření	LED
Snímek	Světlé pole
Objektiv	4 x
Optické rozlišení	> 3 µm
Plocha/snímek	2,2 mm^2

13.8.2 Specifikace počítání / měření životaschopnosti buněk

Jednorázové	Buněčné čipy (značka Tecan)
Buněčné čipy	2 komůrky na vzorek na čipu
Adaptér na buněčné čipy	4 buněčné čipy na adaptér
Vyšší počet snímků na vzorek	1, 4, 8
Velikost buněk	4–90 µm
Koncentrace buněk	$1x10^4$–$1x10^7$ buněk/ml
Reprodukovatelnost	< 10 % (1 Sigma), buněčné řady HeLa a CHO
Přesnost	± 10 % při $1x10^6$ buněk/ml, buněčné řady HeLa a CHO

13.8.3 Doba měření

Do doby měření není zahrnuta doba potřebná k zasunutí a vysunutí destičky a inicializační úkony přístroje.

Technika měření	Doba měření
Počítání/životaschopnost buněk	< 30 sekund/vzorek
Konfluence, 96 jamek, snímání celé destičky	< 45 minut

13.9 Kontrola kvality modulu pro počítání buněk

13.9.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality

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

Zkoušky, jejichž popis je uveden v následující kapitole, nenahrazují celkové posouzení výrobcem nebo jeho autorizovanými distributory. Tyto zkoušky však může pravidelně vykonávat uživatel coby kontrolu významných aspektů výkonu přístroje.

Výsledky významně ovlivňují chyby při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto dodržujte uvedené pokyny co nejpřesněji. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek v závislosti na intenzitě využití přístroje.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je adaptér Tecan na buněčné čipy vložen správným směrem. Komůrka A1 se musí nacházet v levém horním rohu adaptéru.



VÝSTRAHA: Níže uvedené pokyny se vztahují na provádění kontroly kvality s cílem zkontrolovat plnění specifikací přístroje. Jestliže výsledky těchto zkoušek nevyhoví specifikacím přístroje uvedeným v tomto návodu, obraťte se na místní servisní zastoupení výrobce, od kterého obdržíte další pokyny.

13.9.2 Přesnost počítání buněk

Přesností se rozumí schopnost soustavy poskytovat výsledky, které se co nejvíce blíží skutečné hodnotě. Přesnost se vypočítává coby procentuální odchylka od skutečné hodnoty.

Materiál:

- buněčná suspenze, cca 1x10^6 buněk/ml,
- buněčný čip Tecan,
- adaptér Tecan na buněčné čipy,
- komůrka pro manuální počítání buněk (např. komůrka dle Neubauera),
- pipeta a špičky (10 µl).

Postup:

Upravte buněčnou suspenzi na koncentraci cca 1x10^6 buněk/ml. Proveďte manuální počítání buněk v suspenzi, například pomocí komůrky dle Neubauera. Pipetujte 10 µl buněčné suspenze do počítacích komůrek (komůrky A a B) v buněčném čipu Tecan a vložte čip do adaptéru (pozice 1). Spusťte aplikaci Počítání buněk.

Parametry měření:

Měření	Aplikace Počítání buněk
Pozice	A1, B1 (definujte coby duplicitní)
Velikost buněk	Závisí na buněčné řadě
Počet snímků	4

Posouzení:

Vypočítejte rozdíl mezi koncentrací buněk (počet buněk/ml) stanovený manuálním počítáním a automatickým počítáním. Přesnost vypočítejte takto:

$$\text{Presnost}\ (\%) = \frac{koncentrace_{\text{manualne}} - koncentrace_{automaticky}}{(\text{koncentrace}_{\text{manualne}}/100)}$$

Údaje o přesnosti byly stanoveny za použití buněčných řad HeLa a CHO. Buněčné řady s kolísavými vlastnostmi nemusí dosahovat shodné přesnosti.

14 Fluorescenční snímání (modul pro snímání buněk)

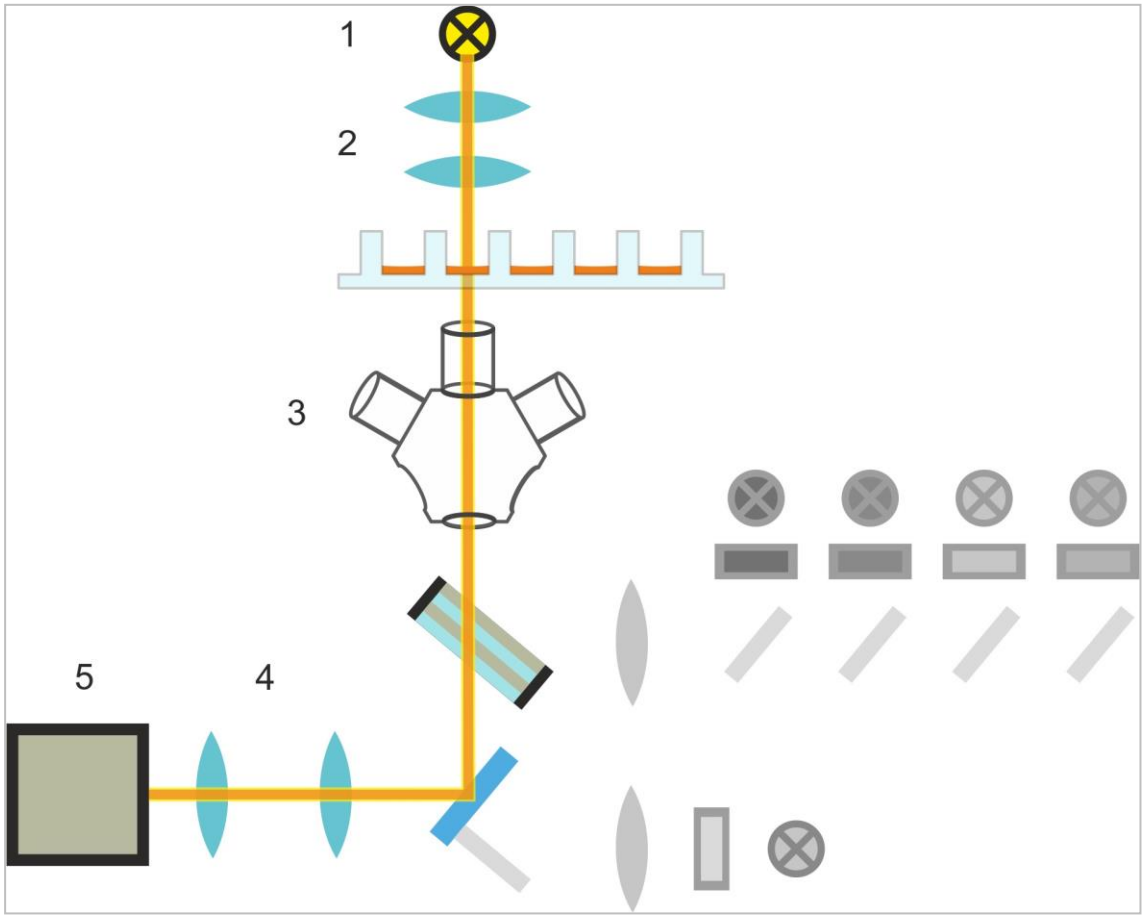
14.1 Snímání v jasném poli

Modul pro snímání buněk nabízí vylepšený systém osvětlování jasného pole, který zabírá celou plochu jamek na 96jamkové destičce na jediný snímek.

Detekce neoznačených buněk, které vykazují velmi nízkou optickou hustotu, a jsou tudíž takřka neviditelné, může být při snímání v jasném poli problematická. Modul pro snímání buněk umožňuje digitální fázové snímání, které nabízí velmi vysokou úroveň kontrastu a detailů a optimalizaci ostrosti. Jestliže si metoda vyžádá pořízení snímků v jasném poli, vytvoří se automaticky fázové snímky a software vypočítá digitální fázový kontrast. Nový způsob detekce s využitím nového laserového automatického astigmatického ostření navíc poskytuje rychlejší a plně optimalizované výsledky. Vzorky jsou ozařovány shora, obraz je pořizován zdola.

14.1.1 Optika

Systém osvětlení jasného pole se skládá ze světelné diody (LED) (1) a dvou čoček (2). Rovnoměrné osvětlení je dosaženo pořízením snímku se zaostřením na nekonečno, přičemž souběžně probíhá pořízení snímků s vysokým dynamickým rozsahem, který kompenzuje případné jevy související s blankou povrchového napětí kapaliny (meniskem). Rovina vzorku je snímána 2násobným, 4násobným nebo 10násobným objektivem mikroskopu, který je připevněn ke karuselu (3), a je dále vedena tubusem s čočkou (4) do kamery (5).

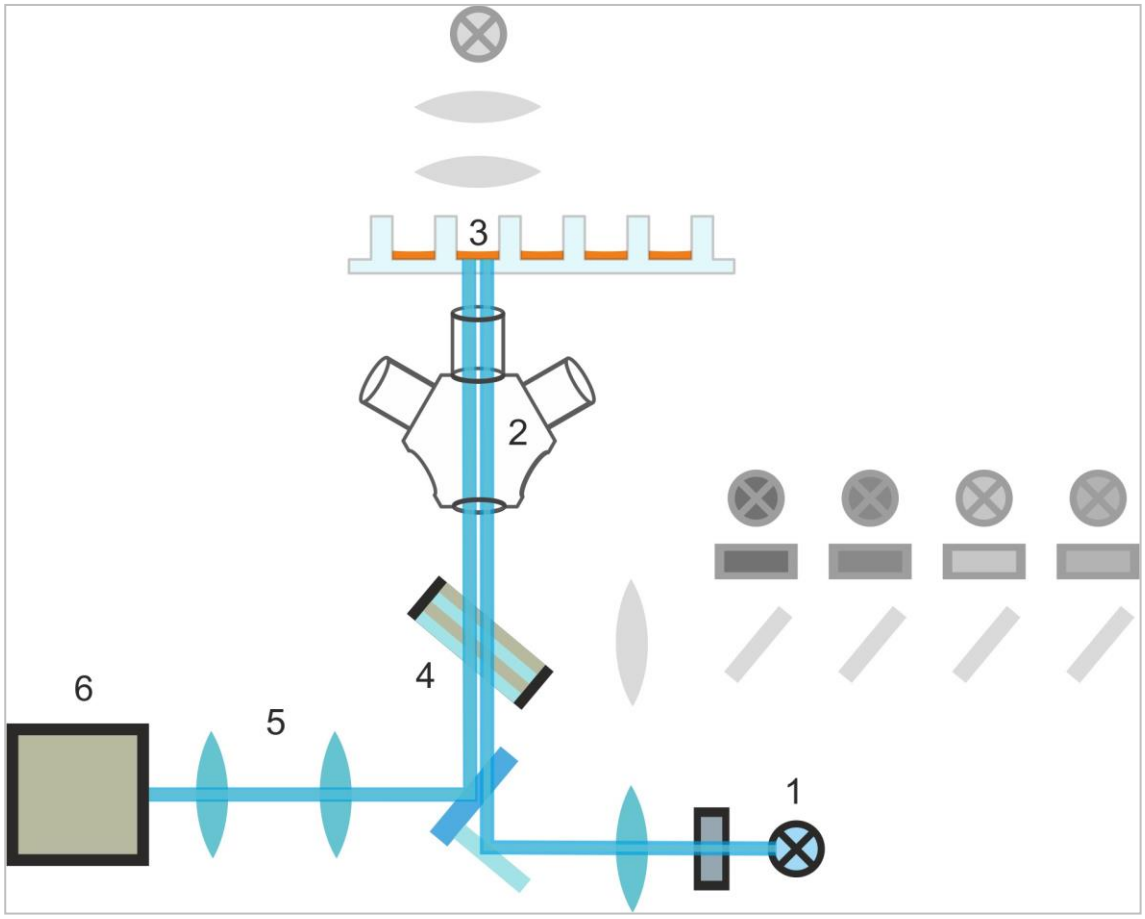


Obrázek 13: Schéma systému osvětlení jasného pole

14.1.2 Detekce

Vylepšený postup automatického astigmatického ostření (schéma systému automatického ostření je uveden níže) umožňuje stabilní, spolehlivou a časově efektivní detekci objektů na mikrotitrační destičce.

Dioda (1) vyzařuje světlo, které je vedeno do objektivu (2) a dále na vzorek (3). Částečný odraz automaticky zaostřeného světla od vzorku je snímán stejným objektivem, prochází vícepásmovým dichroickým filtrem (4) a je dále přenášen tubusem s čočkou (5) do kamery (6). U každého měření probíhá skenování podél optické osy s cílem najít optimální polohu.



Obrázek 14: Schéma systému automatického ostření

14.1.3 Aplikace pro snímání v jasném poli

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.

UPOZORNĚNÍ: Koeficient drsnosti poskytuje doplňující informace o buněčné struktuře v jamce. Změnu koeficientu drsnosti musí posoudit a interpretovat uživatel.

14.2 Fluorescenční snímání

Fluorescenční modul používá čtyři barevné kanály, které odpovídají nejčastěji používaným třídám barviv DAPI/Hoechst, FITC, TIRTC a Cy5.

Díky inovativní architektuře hardwaru modulu pro snímání buněk lze v rámci analýzy pořídit fluorescenční snímky i snímky pořízené metodou v jasném poli, a to za použití jediného astigmatického systému automatického ostření, shodných objektivů a jediné kamery. Narozdíl od modulu pro snímání v jasném poli probíhá osvětlování a snímání fluorescenčních vzorků zdola.

14.2.1 Fluorescenční kanály a jejich excitační a emisní profily

V softwaru SparkControl lze vybrat čtyři různé diody a k nim příslušné excitační filtry.

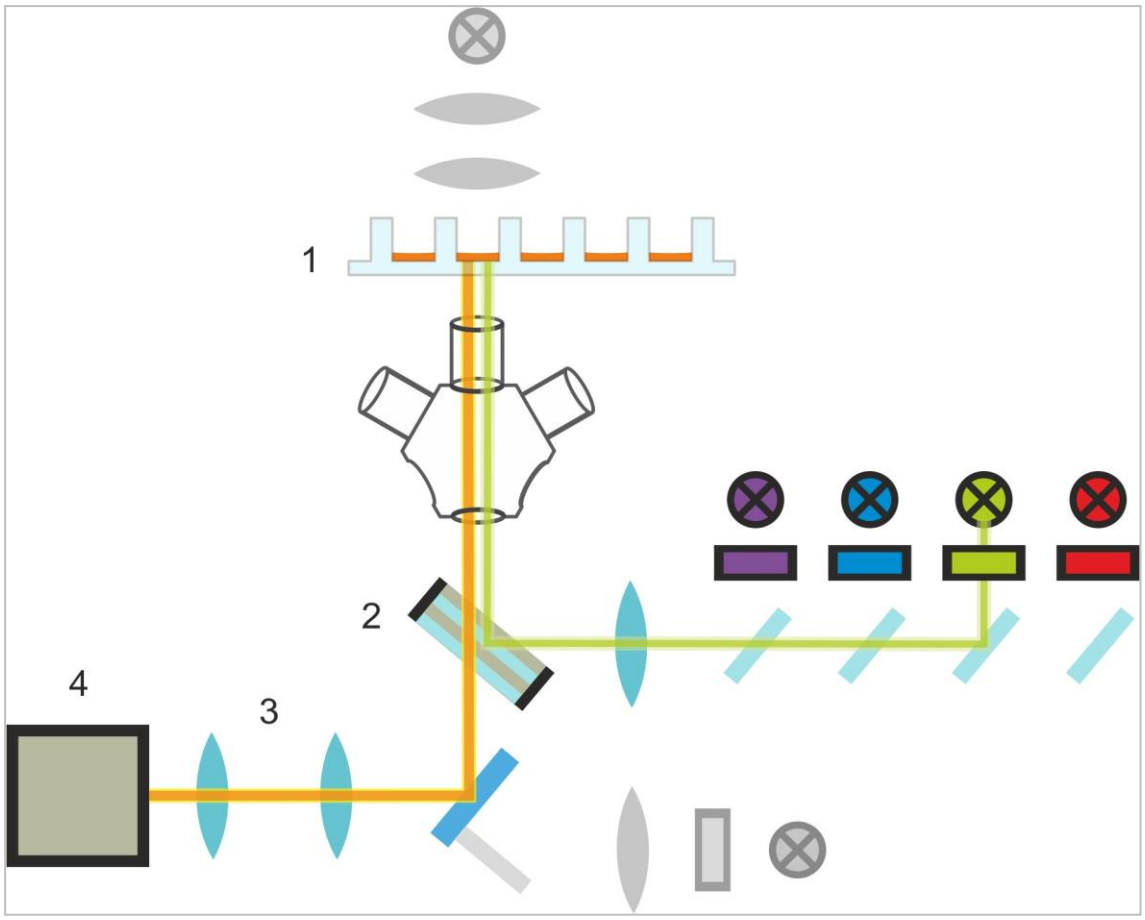
Následující tabulka obsahuje informace o excitačních a emisních vlnových délkách, které používá fluorescenční modul:

Kanál	λ_{ex}	λ_{em}
Modrá	381–400 nm	414–450 nm
Zelená	461–487 nm	500–530 nm
Červená	543–566 nm	580–611 nm
Červená ke konci viditelného spektra	626–644 nm	661–800 nm

Doba expozice a offset automatického ostření lze optimalizovat použitím mikroskopického režimu Live Viewer v softwaru SparkControl.

14.2.2 Pořizování snímků

Po excitaci vhodnou vlnovou délkou vyzařuje vzorek (1) fluorescenční signál, který prochází vícepásmovým dichroickým filtrem (2) a je dále přenášen tubusem s čočkou (3) do kamery (4).



Obrázek 15: Schéma systému fluorescenčního osvětlení

14.3 Specifikace modulu pro snímání buněk

14.3.1 Všeobecné

Kamera	Čip Sony IMX264 CMOS, 2 456 x 2 054 pixelů (= 5 megapixelů), velikost pixelu 3,45 µm
Osvětlování	Dioda jasného pole, čtyři sady (dioda + excitační filtr) s různými excitačními a emisními vlnovými délkami pro fluorescenční snímání
Snímek	Jasné a široké pole, digitální fázový kontrast a fluorescence širokého pole
Podporované formáty destiček	Destičky s 6, 12, 24, 48, 96 a 384 jamkami

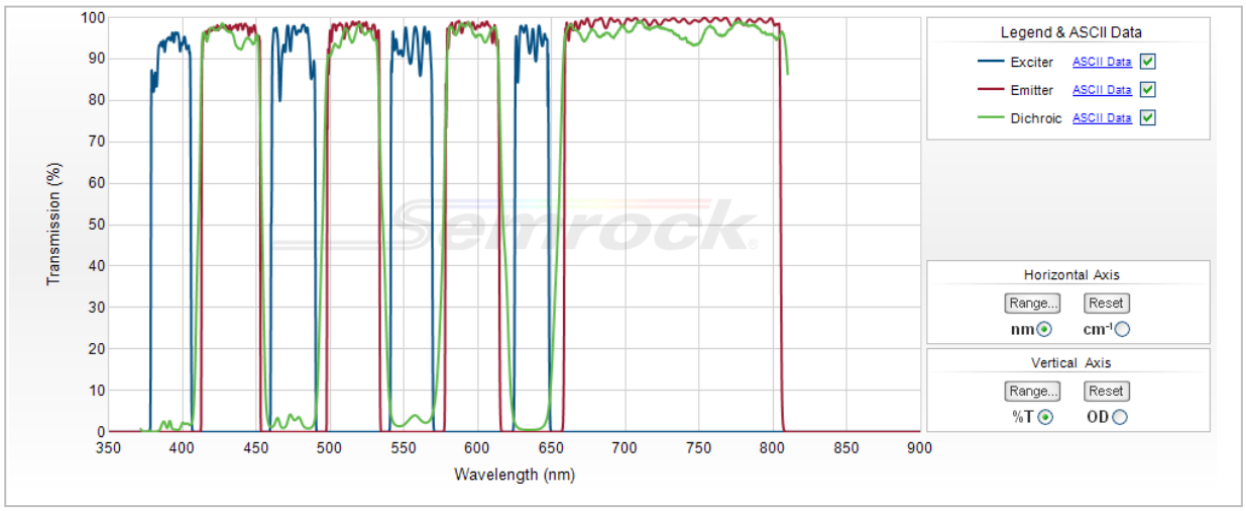
14.3.2 Objektivy

Následující tabulka obsahuje přehled optických vlastností různých volitelných objektivů Olympus:

Objektiv	**2x**	**4x**	**10x**
Numerická apertura	0,08	0,13	0,30
Rozlišení pixelů	3,45 µm	1,72 µm	0,69 µm
Optické rozlišení	4,50 µm	2,77 µm	1,20 µm
Zorné pole	8,47 mm x 7,09 mm	4,24 mm x 3,54 mm	1,69 mm x 1,42 mm

14.3.3 Úplná sada vícepásmových filtrů

Úplná sada vícepásmových filtrů Semrock obsahuje sadu vícepásmových dichroických filtrů (FF409/493/573/652-Di01) a sadu specifických emisních filtrů (FF01-432/515/595/730-25) a je ideální k použití ve spojení s barvivy Hoechst, FITC, GFP, TRITC a Cy5.



Obrázek 16: Transmisní profil úplné sady vícepásmových filtrů, vestavěný T-snímek (k dispozici na webu společnosti Semrock: www.semrock.com).

14.3.4 Doba měření

Pořizování snímku	Konkrétní doba měření
96 jamek, jasné pole v celé jamce a digitální fázové snímkování, 2x objektiv	≤12 min
96 jamek, střed, jasné pole, digitální fáze a jeden fluorescenční kanál, 10x objektiv, výchozí délka expozice	≤15 min
Pořizování snímků a analýza pro standardní aplikace	**Konkrétní doba měření**
Konfluence, 96 jamek, snímání celé jamky, 2x objektiv, vzorek v konfluenčním rozsahu 60–80 %	≤20 min (včetně analýzy)
Počítání jader, 384 jamek, snímání celé jamky, 4x objektiv, vzorek v konfluenčním rozsahu 60–80 %, optimalizovaná nastavení pořízení a analýzy snímku	≤45 min (včetně analýzy)
Životaschopnost, 24 jamek, snímání celé jamky, 10x objektiv, vzorek v konfluenčním rozsahu 60–80 %, optimalizovaná nastavení pořízení a analýzy snímku	≤10 min (včetně analýzy)

14.4 Standardní aplikace

Cell Imager podporuje širokou škálu aplikací v oblasti cytometrie založené na zobrazování. Podrobnosti naleznete v Referenční příručce. Podrobnosti o definování analýzy obrazu naleznete v návodu k zásuvnému modulu Analysis Plugin.

UPOZORNĚNÍ: Aby nedocházelo k zamlžení víček a neurčitým výsledkům, použijte temperaci přístroje SPARK, která zajistí regulaci okolní teploty destičky na podmínky před měřením.

UPOZORNĚNÍ: Uvedené pracovní koncentrace fluorescentních barviv představují pouze orientační hodnoty, které je třeba dále přizpůsobit příslušným buněčným řadám.

UPOZORNĚNÍ: U každé aplikace se doporučuje použít 30 minut inkubace, která zajistí optimální sílu signálů fluorescence z měřených buněk. Délku inkubační doby je třeba přizpůsobit příslušným buněčným řadám.

UPOZORNĚNÍ: Vzorky zpracovávejte zatemna, protože fluorescentní barviva mohou na světle blednout.

UPOZORNĚNÍ: Je-li použit 2x objektiv ve spojení s aplikací Konfluence na 96jamkové destičce, doporučuje se použít plnicí objem ≥200 µl, protože v opačném případě může meniskus způsobovat nežádoucí kruhové artefakty.

UPOZORNĚNÍ: Při konfluenční analýze celé jamky se doporučuje nastavit ofset od okraje 150 µm.

UPOZORNĚNÍ: Pokud se v kombinaci s počítáním buněk na snímku v jasném poli použije objektiv 2x, může dojít ke snížené detekci buněk v oblasti okraje jamky v důsledku snížené viditelnosti buněk v této oblasti. Podrobnosti naleznete v referenční příručce.

UPOZORNĚNÍ: Nízký kontrast neobarvených buněk je jednou z hlavních překážek pro počítání buněk v jasném poli. Lepších výsledků lze dosáhnout použitím speciálních zobrazovacích destiček.

UPOZORNĚNÍ: Experimentální podmínky, jako je médium (složení, objem/jamka), hodnoty posunu automatického zaostřování, artefakty na dně destičky, mohou mít vliv na obraz v jasném poli, a tím i na segmentaci buněk. Pro dosažení nejlepších výsledků použijte optimální experimentální a akviziční nastavení.

14.5 Definice měření v jasném poli a fluorescenčního snímání

U přístrojů vybavených modulem pro snímání buněk umožňuje software SparkControl samostatný detekční řádek, který lze použít k měření s využitím snímání v jasném poli nebo fluorescenčním snímání.

Dostupnost řádku závisí na konfiguraci připojeného přístroje. Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



POZOR: Chcete-li zajistit optimální výkon softwaru SparkControl, nepoužívejte software SparkControl a ImageAnalyzer souběžně.



POZOR: Po dobu průběhu fluorescenčního snímání nepřipojujte ani neodpojujte žádná zařízení USB (paměťová zařízení, externí disky SSD apod.).



POZOR: Základním předpokladem kvality měření se snímáním v jasném poli a fluorescenčním snímáním je použití správného souboru definice destičky. Vždy pracujte s destičkami, které odpovídají souboru definice destičky nastavenému na řádku Plate (Destička). Jestliže snímaná destička není mezi soubory definice destiček (.pdfx), které jsou součásti dodávky přístroje, použijte editor geometrie destiček a nastavte uživatelský soubor pdfx nebo se obraťte na společnost Tecan.



UPOZORNĚNÍ: Modul pro snímání buněk nepodporuje počítání buněk a analýzu životaschopnosti buněk na buněčných čipech na základě osvětlování jasného pole.



UPOZORNĚNÍ: Hraniční plocha je obdélníková plocha v jamce, ve které lze manuálně vybrat nejvýše 25 snímacích pozic. Rozsah výběru se mění dynamicky v závislosti na zvolených pozicích. Chcete-li zvolit pozice vně oblasti vymezené zvýrazněním, je nejprve třeba zrušit výběr některých zvolených snímacích pozic.



UPOZORNĚNÍ: Není-li vzor **Whole well (Celá jamka)** u aktuálního objektivu k dispozici, vyberte objektiv s nižším rozlišením, který zabere větší plochu snímku.



UPOZORNĚNÍ: V jedné aplikaci nelze souběžně používat kanály **Far-red** (Červená ke konci viditelného spektra) a **Red** (Červená).



UPOZORNĚNÍ: Jsou-li parametry **Exposure time (Doba expozice)** nebo **LED intensity (Intenzita LED)** nastaveny na příliš vysokou hodnotu, roste nebezpečí blednutí vzorků následkem působení světla a snímky mohou být přesvětlené, nebo naopak nedostatečně osvětlené.



POZOR: Je-li nastaven ofset zaostření, vždy jeho hodnotu zkontrolujte v režimu LiveViewer. Jestliže hodnota ofsetu zaostření překročí v průběhu měření platný vypočítaný rozsah, příslušné jamky budou označeny chybou automatického zaostření. V takovém případě upravte nastavenou hodnotu ofsetu.

UPOZORNĚNÍ: Při provádění 3D zobrazování v deskách ve tvaru U může rozsah automatického zaostřování (hlavně u objektivu 2x) překročit podporovaný rozsah přístroje. Obraz je sice pořízen, ale může být ovlivněna jeho kvalita. V takových případech se doporučuje použít objektiv 4x.

UPOZORNĚNÍ: Pořizování obrazu včetně analýzy dat v reálném čase bude mít za následek delší dobu měření. Pokud je čas měření omezen, proveďte analýzu obrazu pomocí nástroje ImageAnalyzer dodatečně.

UPOZORNĚNÍ: Chcete-li zajistit nejvyšší výkon systému, používejte disk C. Pro dlouhodobá kinetická měření s fluorescenčním snímáním se doporučuje používat disk DATADRIVE s větší kapacitou.

UPOZORNĚNÍ: Zvýšení citlivosti prodlužuje dobu měření (viz pokyny k zásuvným modulům Analysis Plugin).

UPOZORNĚNÍ: Při kinetickém měření se mohou časové intervaly mezi zaznamenanými časovými značkami mírně lišit v důsledku rostoucí velikosti databáze a kolísání vytížení operační paměti. Tento jev lze minimalizovat:

- nastavením dostatečně dlouhých intervalů,
- snížením počtu snímků na jamku,
- použitím výchozího nastavení citlivosti,
- odložením analýzy dat na pozdější dobu,
- zajištěním dostatečné volné kapacity operační paměti (v průběhu měření nespouštějte další aplikace, po každém dlouhém a rozsáhlém měření restartujte počítač).

UPOZORNĚNÍ: Generované protokoly v souborech PDF obsahují, dle potřeby, histogramy a teplotní mapy. Histogramy a teplotní mapy se neukládají do příslušného souboru aplikace MS Excel.

UPOZORNĚNÍ: Měření s více štítky s 2D zobrazením může obsahovat maximálně čtyři 2D zobrazovací proužky. Měření s více štítky s 3D zobrazením může obsahovat maximálně jeden 3D zobrazovací proužek. V jedné metodě nelze kombinovat 2D a 3D zobrazování.

UPOZORNĚNÍ: Pokud metoda obsahuje více než jeden vybraný zobrazovací kanál v rámci jednoho zobrazovacího proužku, příslušné pořízení obrazu se vždy provede v režimu well-wise.

14.6 Optimalizace měření s fluorescenčním snímáním

14.6.1 Režim Live Viewer

Režim Live Viewer poskytuje živý obraz buněk. Při použití režimu Live Viewer k definici metody nebo před jejím zpracováním, lze na příslušnou metodu použít optimalizaci nastavení pořizování snímků.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

Všimněte si, že program Live Viewer obsahuje možnost zvýšení kontrastu pro jednokanálové barevné snímky. Použitím této možnosti (Kontrast+) software zobrazí obraz se zvýšeným kontrastem. Tento snímek může odhalit objekty se slabým signálem, které v původním snímku mohou mít nižší kontrast, ale přesto jsou v procesu analýzy snímku rozpoznány.



POZOR: Vždy používejte mikrodestičku v souladu s definicí metody nebo výběrem formátu destičky v aplikaci Live Viewer, jinak může pořízení obrazu vést k chybám.



POZOR: Je-li nastaven ofset zaostření, vždy jeho hodnotu zkontrolujte v režimu LiveViewer. Jestliže hodnota ofsetu zaostření překročí v průběhu měření platný vypočítaný rozsah, příslušné jamky budou označeny chybou automatického zaostření. V takovém případě upravte nastavenou hodnotu ofsetu.



UPOZORNĚNÍ: Možnost zvýšeného kontrastu je k dispozici pouze v zobrazení Live Viewer pro jednokanálové snímky.



UPOZORNĚNÍ: Při práci v režimu Acquisition Settings (Nastavení akvizice) s aktivovaným digitálním zpracováním obrazu v nastavení Processing Settings (Nastavení zpracování) lze přepínat zobrazení příslušného obrazu mezi digitálně zpracovaným a nedigitálně zpracovaným obrazem, resp.



UPOZORNĚNÍ: Tlačítko **Apply (Použít)** pro přenos upravených nastavení pořizování snímků do nastavení metody je k dispozici rovněž pouze v režimu Live Viewer, který je připojen k definici/provedení metody, avšak není k dispozici v aplikaci Live Viewer.



UPOZORNĚNÍ: Při změně nastavení pořizování snímků na obrazovce Check and Go (Kontrola a spuštění) / Live Viewer, budou tyto nové hodnoty použity pouze v aktuálním průchodu měření a nebudou použity k přepsání původní definice metody.



UPOZORNĚNÍ: Při snímání s použitím vyššího počtu kanálů upravte nastavení pořizování snímků dle jednotlivých kanálech a následně proveďte korekci vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu.



UPOZORNĚNÍ: Při použití více než jednoho barevného kanálu se důrazně doporučuje provést v režimu Live Viewer korekci vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu.



UPOZORNĚNÍ: Korekce vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu vyžaduje použití kontrolních jamek s jediným fluoroforem.

UPOZORNĚNÍ: Korekce vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu závisí na použité intenzitě LED a délce expozice. Korekci vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu opakujte po každé změně nastavení intenzity LED nebo délky expozice.

UPOZORNĚNÍ: Korekci vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu lze provést pouze v případě vzájemného ovlivňování při excitaci. Barviva s širokým excitačním spektrem je třeba korigovat ve všech příslušných kanálech. Například propidium jodid může být kromě vlastního specifického červeného kanálu viditelný i v modrém a zeleném kanálu; korekci vzájemného ovlivňování je tedy třeba provést v modrém a zeleném kanálu, a to nastavením referenční jamky označené pouze propidium jodidem.

POZOR: Nadměrná hodnota korekce v % může způsobit překorigování příslušného kanálu. Překorigované oblasti jsou na snímcích zobrazeny bílou barvou. Chcete-li předejít překorigování, snižte příslušnou hodnotu korekce.

UPOZORNĚNÍ: Oblast zájmu (**Region Of Interest -** ROI) se použije na všechny měřicí kanály pouze pro analýzu obrazu. ROI neovlivňuje obrazový vzor definovaný v příslušném 3D zobrazovacím pásu.

UPOZORNĚNÍ: Při definování nastavení digitálního zpracování obrazu pro základní fluorescenční zobrazovací metodu použijte kartu Zpracování nebo odpovídající nastavení v pásu Zpracování obrazu.

Zapnutí a vypnutí ikony digitálního zpracování obrazu v grafické oblasti Image (Obraz) nemá žádný vliv na nastavení digitálního zpracování obrazu v samotné metodě. Poskytují pouze možnost rychlé vizuální kontroly.

POZOR: Při 3D zobrazování by zapnutí digitálního zpracování obrazu mohlo vést k nadměrné korekci protáhlých objektů (tj. sféroidů a organoidů).

14.6.2 Modul ImageAnalyzer

POZOR: Chcete-li zajistit optimální výkon modulu ImageAnalyzer, nepoužívejte software SparkControl a ImageAnalyzer souběžně.

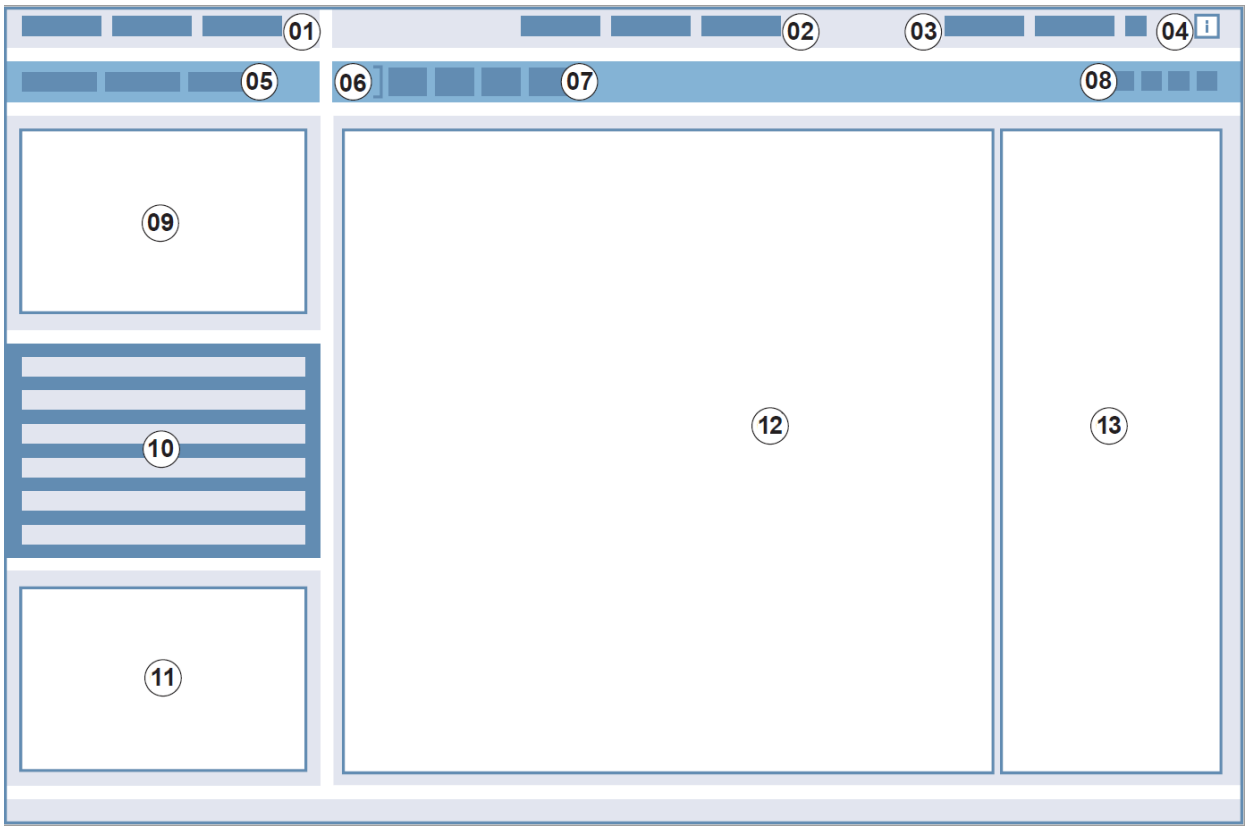
Software ImageAnalyzer slouží k otevírání snímků, nastavení parametrů analýzy a vyhodnocení obsahu snímků po provedení metody. Software ImageAnalyzer pracuje s **pracovními plochami**, které vytvoří software SparkControl jakožto výsledek snímacího měření.

Pracovní plochy

Otevřete modul ImageAnalyzer a vyberte **pracovní plochu**, se kterou chcete pracovat. Nejsou-li pracovní plochy k dispozici v předdefinovaném výchozím umístění (C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControl¥Workspaces), přejděte do nastavení **File/Directory (Soubor/Složka)** a nastavte nové výchozí umístění.

Po otevření pracovní plochy software zobrazí příslušný snímek a data z jeho analýzy, jsou-li k dispozici. Tato data se vždy vztahují na vybranou jamku, vybraný kanál a v případě kinetického měření i na vybraný kinetický cyklus.

Struktura



Obrázek 17: Strukturální prvky grafického uživatelského rozhraní ImageAnalyzer
01 Panel nabídek;02 Karty s definicemi metod; 03 Panel nástrojů;
04 Tlačítko Info podokno;
05 Rozbalovací seznamy; 06 Vybraná jamka; 07 Dynamické skládání snímků;
08 Kontextový panel nástrojů; 09–12 Oblast výsledků; 13 Rozdělená obrazovka

Panel nabídek	**01**	Obsahuje rozevírací nabídku s funkcemi editoru (File (Soubor), View (Zobrazení) a Help (Nápověda))
Karty s definicemi metod	**02**	Přepínání na měření (režim zobrazení), zpracování a analýzu (režim úprav) obrázků a výsledků analýzy
Panel nástrojů	**03**	Umožňuje přístup k funkcím souvisejícím s obrázky (např. export složených obrázků, zachycení obrázku a výběr měřítka).
Informační podokno k tlačítku	**04**	Otevře informační podokno a zobrazí informace o procesu
Rozbalovací seznamy	**05**	Vyberte např. štítek, podštítek, kinetický cyklus, číslo destičky pro zobrazení v oblasti výsledků
Vybraná jamka	**06**	Zobrazí vybranou jamku a při otevření i informace o nastavení metody (nastavení kamery a uložená nastavení analýzy)
Dynamické skládání snímků	**07**	Obsahuje ikony související s kanály pro generování uživatelsky definovaných složených obrazů
Kontextový panel nástrojů	**08**	Obsahuje ikony pro úpravu obrazu a oblast analýzy (např. oblast zájmu (ROI), časosběrná videa, jas a kontrast, obrys masky)

Oblast výsledků	**09** **10** **11** **12**	Obsahuje **Image(s) (Snímky)** vybrané jamky a výsledky analýzy v zobrazeních **Plate (Destička)**, **List (Seznam)** a **Graphic (Grafika)**. Obsahuje střední, zvětšenou oblast a tři minimalizované oblasti.
Rozdělená obrazovka	**13**	Otevře obrazovku pro definici/změnu nastavení zpracování/analýzy

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



UPOZORNĚNÍ: Přepočítávání dat lze stornovat pouze v případě, je-li úprava použita na destičku. Po stornování přepočtu budou již přepočítané jamky obsahovat nová, přepočítaná data, zatímco data zbylých jamek zůstanou beze změn.



UPOZORNĚNÍ: Při použití oblasti zájmu (ROI) v kombinaci s funkcí Náhled se vypočtené výsledky náhledu zobrazí pouze pro vybranou oblast zájmu v rámci obrazu vybrané jamky.



UPOZORNĚNÍ: Přepočítaná data se automaticky uloží při výběru možnosti **Apply to well (Použít na jamku)** / **Apply to plate (Použít na destičku)** / **Apply to all plates (Použít na všechny destičky)**. Funkce **Preview (Náhled)** způsobí pouze přepočítání, avšak nikoli uložení dat.



UPOZORNĚNÍ: Korekce vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu ovlivní i obsah snímku a doporučuje se ji provádět před úpravou nastavení analýzy a/nebo klíčování.



UPOZORNĚNÍ: Korekce vzájemného ovlivňování signálu sytosti a kanálu jasu vyžaduje použití kontrolních jamek s jediným fluoroforem.



POZOR: Nadměrná hodnota korekce v % může způsobit překorigování příslušného kanálu. Překorigované oblasti jsou na snímcích zobrazeny bílou barvou. Chcete-li předejít překorigování, snižte příslušnou hodnotu korekce.



UPOZORNĚNÍ: Brány modulu ImageAnalyzer mohou mít dva stavy: neaktivní (plná čára, klíčování nenastaveno), nebo aktivní (čárkovaná čára, brány jsou účinné). Tyto stavy je třeba zohlednit při aplikaci klíčování na jamky a/nebo na destičku (destičky).



UPOZORNĚNÍ: Chcete-li exportovat a uložit obrazy vytvořené dynamickou kompozicí obrazu, použijte funkci Uložit obraz. Funkce Export Result (Exportovat výsledek) vyexportuje pouze výsledky analýzy.

14.6.3 Analysis Plugins

Další informace naleznete v příslušných pokynech k zásuvnému modulu Analysis Plugin.



UPOZORNĚNÍ: Pro analýzu počítání s kanálem Bright field (Jasné pole) nejsou k dispozici funkce Sensitivity (Citlivost), Object length (Délka a šířka objektu).



UPOZORNĚNÍ: Použití vyšších hodnot citlivosti nad úrovní výchozích nastavení se doporučuje pouze v případě slabých signálů fluorescence. Algoritmus závisí na intenzitě signálu; při nadměrném zvýšení hodnot citlivosti dojde k zesílení šumu na pozadí, které může způsobit detekci artefaktů.



UPOZORNĚNÍ: Algoritmus nevykazuje lineární chování v celém předdefinovaném rozsahu. V závislosti na počtu objektů, intenzitě signálu a kontrastu může být nezbytné použít v rámci jedné pracovní plochy použít různá nastavení citlivosti.



UPOZORNĚNÍ: Zvýšení citlivosti způsobuje prodloužení doby měření, respektive opakované analýzy. Obsahují-li pracovní plochy více než jeden snímek na jamku, mohou hodnoty citlivosti vyšší než výchozí výrazně ovlivnit délku přepočítávání v modulu ImageAnalyzer.



UPOZORNĚNÍ: 3D analýza je založena na algoritmu hlubokého učení, jehož učení pro sféroidy bylo provedeno na čtyřech vybraných buněčných liniích (HeLa, A549, MCF-7 a MDA-MB-231). Byly natrénovány jednotlivé sféroidy a vícenásobné sféroidy pěstované s matricí (Matrigel) i bez ní, aby bylo možné získat co nejlepší výsledky pro tyto a podobné buněčné linie. Výuka s organoidy byla provedena s cílem identifikovat zejména organoidy tlustého střeva, plic a jater.



POZOR: SPARK CYTO podporuje 3D zobrazování pomocí destiček specializovaných na tvorbu velkého počtu uniformních sféroidů/organoidů (např. AggreWell™ Microwell Plates STEMCELL technologies, Corning® Elplasia® Plates). Při použití některého z těchto formátů destiček pro 3D zobrazování však není zaručena kvalita výsledků analýzy.

15 Stohovací zásobník na mikrotitrační destičky Spark-Stack

Spark-Stack je integrovaný modul stohovacího zásobníku na mikrotitrační destičky, který je k dispozici v podobě volitelného příslušenství k vícerežimové čtečce SPARK. Je určen k automatickému vkládání, odebírání a opětovnému stohování destiček pro účely automatizace provozu bez dozoru obsluhy. V jednom chodu tak lze využít až 50 nezavíčkovaných mikrotitračních destiček.



Obrázek 18: Vestavěný stohovací modul Spark-Stack k automatickému vkládání, odebírání a opětovnému stohování až 50 destiček na jeden chod.

Vestavěný modul k stohování destiček využívá sloupky (stohy) jakožto skladovací zásobníky. Zásobníky jsou kompatibilní s nezavíčkovanými 6–1 536jamkovými destičkami a jsou dodávány s ochrannými kryty pro zpracování analýz látek citlivých na světlo.

Mikrotitrační destičky v zásobníku umístěném na VSTUPNÍ pozici modulu Spark-Stack se postupně, jedna po druhé, vkládají do čtečky SPARK. Po dokončení měření se zpracované destičky shromažďují v zásobníku na VÝSTUPNÍ pozici.

Podavače v zásobnících jsou vybaveny pružinami, takže v případě výpadku napájení zůstávají zavřené a současně udržují destičky ve správné poloze uvnitř zásobníku.

K dispozici jsou zásobníky ve dvou různě vysokých provedeních:

- dva krátké zásobníky s kapacitou až 30 destiček (standardní 96jamkové destičky) na jeden chod přístroje,
- dva dlouhé zásobníky s kapacitou až 50 destiček (standardní 96jamkové destičky) na jeden chod přístroje.

15.1 Přístup k čelnímu panelu

Demontáží zásobníků na destičky ze stohovacího modulu získá obsluha plný přístup k čelnímu panelu vícerežimové čtečky SPARK k provedení těchto činností:

- výměna dichroických zrcadel,
- výměna kazety s filtry,
- manuální vložení jednotlivé destičky do držáku destičky ve čtečce Spark,
- manuální vložení destičky SPART MultiCheck-QC k provedení IQ/OQ.

15.1.1 Fyzická ovládací tlačítka



Nejsou-li k modulu Spark-Stack připojeny zásobníky na destičky, jsou aktivní všechna fyzická tlačítka přístroje; podrobné informace jsou uvedeny v kapitole 2.6 Fyzická ovládací tlačítka.

Je-li k modulu Spark-Stack připojen zásobník na destičky, zůstává aktivní pouze funkce „Zastavit“, která je součástí fyzického tlačítka Start . Všechna ostatní tlačítka jsou neaktivní. Stisknutí fyzického tlačítka Start za chodu stohovacího modulu způsobí zastavení stohovacího modulu po dokončení právě probíhající činnosti.



UPOZORNĚNÍ: Je-li chod stohovacího modulu přerušen stisknutím fyzického tlačítka Start, může ve čtečce zůstat zasunutá destička. Před spuštěním dalšího chodu stohovacího modulu proto vyjměte případnou destičku z čtečky.



UPOZORNĚNÍ: V případě výpadku napájení vyjměte mikrotitrační destičku z čtečky a všechny zpracované destičky z VÝSTUPNÍHO stohovacího zásobníku. Teprve poté lze zahájit další chod stohovacího modulu.

15.1.2 Analýzy citlivé na světlo a ochrana proti světlu / tmavé kryty

Stohovací modul na mikrotitrační destičky Spark-Stack obsahuje sadu čelních krytů a víček k ochraně proti světlu. Tyto kryty a víčka lze velmi rychle namontovat na zásobníky.

Tyto pomůcky pomáhají chránit mikrotitrační destičky s obsahem citlivým na světlo, například GFP transfekované buňky, destičky pro analýzy AlphaScreen, AlphaLISA, AlphaPlex apod, proti působení okolního světla v laboratoři.

		
1. Umístěte čelní kryt na magnetické pásky na zásobníku na destičky.	2. Zasuňte čelní kryt dolů do správné polohy.	3. Umístěte horní víko na zásobník.

15.2 Požadavky na mikrotitrační destičky pro modul Spark-Stack

Do modulu Spark-Stack lze vkládat libovolné (nezavíčkované) destičky s počtem jamek 6–1 536, které vyhovují normám ANSI/SLAS:

VÝSTRAHA: Do modulu Spark-Stack nevkládejte zavíčkované mikrotitrační destičky.

VÝSTRAHA: Do modulu Spark-Stack nevkládejte vlhkostní kazety.

UPOZORNĚNÍ: Zkontrolujte, zda se mikrotitrační destička shoduje s definicí nastavenou v metodě; v opačném případě může za chodu stohovacího modulu docházet k potížím. Vždy používejte destičky stejného typu a barvy.

Specifikace modulu Spark-Stack

Parametry	Vlastnosti
Mikrotitrační destičky (bez víčka)	6–1 536jamkové formáty vyhovující normám ANSI/SLAS
Doba stohování	15 sekund na destičku (96jamková destička bez plynulého režimu)

Požadované rozměry destiček

Parametry	Vlastnosti
Celková výška destičky	Od 10 mm do 23 mm
Půdorysné rozměry	Délka = 127,76 mm ± 0,5 mm Šířka = 85,48 mm ± 0,5 mm
Minimální rozdíl mezi výškou destičky a výškou okraje	≥ 6,7 mm



VÝSTRAHA: Za chodu stohovacího modulu nezasahujte dovnitř vstupního či výstupního zásobníku.



VÝSTRAHA: Za chodu stohovacího modulu nevkládejte ani nevyjímejte destičky manuálně.

Mikrotitrační destičky s čárovým kódem

Mikrotitrační destičky s čárovým kódem pro identifikaci destiček jsou obzvláště vhodné pro kinetickou analýzu s využitím stohovacího modulu.
Čtení čárových kódů vyžaduje přístroj SPARK vybavený modulem čtečky čárových kódů.

Další informace získáte v kapitole 2.5.2 Mikrotitrační destičky s čárovým kódem.

Automatické zpracování buněčných čipů v modulu Spark-Stack:

Zásobníky na destičky u modulu Spark-Stack jsou kompatibilní s adaptérem na buněčné čipy čtečky SPARK.

Umožňuje tak automatické vkládání buněčných čipů uchycených do adaptéru za pomoci stohovacího modulu Spark-Stack.

Další informace získáte v kapitole 19 Počítání buněk v buněčných čipech.

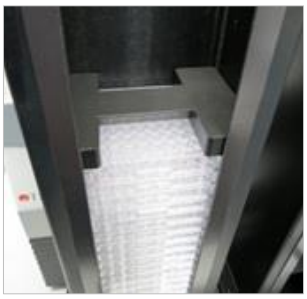
Stabilizační závaží

Stohovací modul je vybaven dvěma stabilizačními závažími tvaru H (jedním ke každému zásobníku na destičky). Závaží slouží k zatížení mikrotitračních destiček v zásobnících pro jejich spolehlivé stohování.

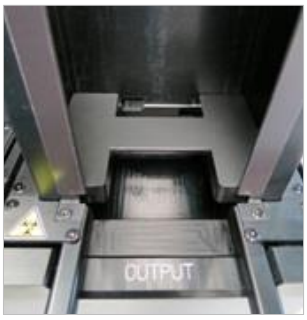


UPOZORNĚNÍ: Senzory destiček v zásobnících rozpoznávají stabilizační závaží, a proto nemůže dojít k jejich vložení do čtečky SPARK a při opětovném stohování destiček není třeba závaží vyjímat. Průběžně kontrolujte, zda se stabilizační závaží nachází vždy na svrchní destičce v zásobníku.

1. Umístěte stabilizační závaží na destičky ve vstupním zásobníku (prostřední část má tvar klínu; širší část klínu by měla z důvodu snazšího úchopu směřovat vzhůru).



2. Umístěte stabilizační závaží na dno výstupního zásobníku.



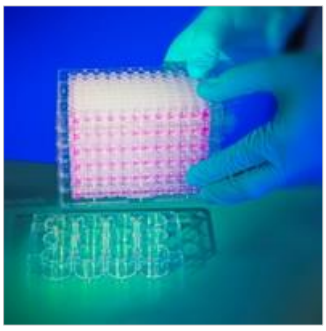
3. Modul Spark-Stack je nyní připraven k provozu.



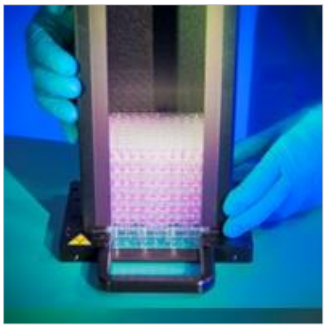
15.2.1 Vkládání vyššího počtu destiček do zásobníku na destičky

Systém umožňuje vkládat do zásobníku modulu Spark-Stack souběžně několik destiček, a to při použití standardní 6jamkové, 12jamkové, 24jamkové destičky, dvou 96jamkových destiček, nebo standardní destičky s polohlubokými nebo hlubokými jamkami coby základny pro destičky, které budou vkládány do zásobníku.

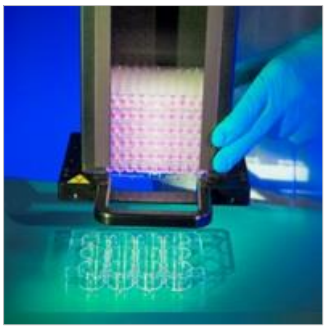
1. Připravte si úplné množství destiček, které hodláte vložit do zásobníku k následnému chodu.
2. Umístěte část těchto destiček na základnovou destičku. V našem příkladu plní funkcí základnové destičky 12jamková mikrotitrační destička. Zkontrolujte, zda jsou všechny destičky shodného typu a barvy a zda se jamka **A1** nachází v levém horním rohu (nejblíže k etiketě **A1** na zadním levém rohu zásobníku na destičky).



3. Nasuňte zásobník přes stoh destiček zcela dolů tak, aby se sloupek destiček dotýkal povrchu laboratorního stolu.



4. Zvedněte zásobník s destičkami. Stoh destiček je nyní vložen do zásobníku. Základnová destička stále spočívá na laboratorním stole.



Stejným postupem vložte i zbývající destičky.



UPOZORNĚNÍ: Zkontrolujte, zda některá destička není vložena dnem vzhůru.



UPOZORNĚNÍ: Zkontrolujte, zda jsou destičky vloženy tak, aby se etiketa **A1** nacházela v levém horním rohu.



UPOZORNĚNÍ: Při manuálním vkládání destiček do zásobníku vždy používejte rukavice. Otisky prstů a šmouhy na optickém povrchu destičky (dno destičky) mohou negativně ovlivnit výsledky měření.



UPOZORNĚNÍ: Používejte výhradně kompatibilní destičky. Flexibilní a nevyvážené destičky, například PCR destičky, jsou nevhodné.



UPOZORNĚNÍ: Nepoužívejte destičky, které vykazují jakékoli známky poškození.



UPOZORNĚNÍ: V modulu Spark-Stack nepoužívejte destičky s víčkem.



UPOZORNĚNÍ: Je-li před měřením třeba z destiček sejmout těsnicí filmy nebo fólie: zkontrolujte, zda povrch destiček nelepí, v opačném případě se mohou destičky přilepit k sobě a způsobovat potíže při svém odběru ze zásobníku.

Rovněž zkontrolujte, zda jsou destičky vyrovnané a zda se při odstraňování uzávěru neohnuly.



UPOZORNĚNÍ: K minimalizaci odpařování při zpracování dlouhých kinetických měření se stohovacím modulem umístěte na první a na poslední pozici (horní a dolní destička měřeného stohu) zásobníku prázdné destičky.



UPOZORNĚNÍ: Kvalitu měření může ovlivnit kondenzace. Chcete-li předejít vzniku podmínek pro kondenzaci na těsnicí fólii a/nebo na dně destičky, případně vliv kondenzace minimalizovat:

- pracujte v místnosti s regulovanou teplotou,
- aklimatizujte destičky na okolní teplotu,
- destičky s těsnicí fólií vložte do odstředivky,
- používejte volitelný ohřevný modul SPARK a pracovní postupy nastavte tak, aby obsahovaly inkubaci destičky před každým měřením.

15.2.2 Vložení jedné destičky do zásobníku na destičky

Před vložením jedné destičky do zásobníku na destičky zkontrolujte:

- zda se jamka **A1** na destičce nachází nejblíže etiketě **A1** na zadním levém rohu zásobníku na destičky,
- zda etiketu nevkládáte dnem vzhůru, zda její typ a barva odpovídají definici destičky v metodě,
- zda destička nevykazuje zjevná poškození.



UPOZORNĚNÍ: Při manuálním vkládání destiček do zásobníku vždy používejte rukavice. Otisky prstů a šmouhy na optickém povrchu destičky (dno destičky) mohou negativně ovlivnit výsledky měření.



1. Vložte manuálně destičku shora do zásobníku a opatrně ji posouvejte směrem ke spodní části zásobníku.



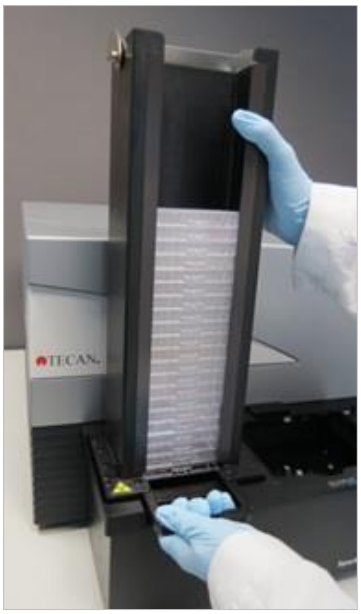
2. Ve spodní části zásobníku destičku šetrně uvolněte.

15.2.3 Zajištění zásobníků v modulu Spark-Stack

Uchopte zásobník za madlo ve spodní části zásobníku, jak je vyobrazeno níže.

Umístěte zásobník nad příslušnou pozici modulu Spark-Stack a zatlačte zásobník v přímém směru dolů.

1. Destičky určené ke zpracování vložte do zásobníku označeného nápisem INPUT (VSTUP).
2. Zatlačte pevně shora na zásobník; tím zásobník zajistíte ve správné poloze.



3. Prázdný zásobník na destičky připevněte na místo označené nápisem OUTPUT (VÝSTUP).



UPOZORNĚNÍ: Při nesprávném vložení zásobníku do modulu Spark-Stack bude tlačítko Start Stacker (Spustit stohovač) neaktivní. V takovém případě zatlačte pevně shora na zásobník a zajistěte jej tak ve správné poloze. Poté spusťte přístroj v režimu se stohovacím modulem.

UPOZORNĚNÍ: Jestliže výstupní zásobník není prázdný, zobrazí se při zahájení chodu se stohovacím modulem chybové hlášení. V takovém případě vyjměte destičky z výstupního zásobníku a pomocí softwaru spusťte opět chod v režimu se stohovacím modulem.

UPOZORNĚNÍ: Zůstane-li v držáku uvnitř čtečky SPARK zapomenutá destička, zobrazí se při zahájení chodu se stohovacím modulem chybové hlášení. V takovém případě demontujte oba zásobníky z modulu Spark-Stack. Vysuňte držák destičky z čtečky SPARK a vyjměte zapomenutou destičku. Poté zasuňte prázdný držák destičky zpět do čtečky SPARK. Zasuňte zásobníky na destičky zpět do modulu Spark-Stack a spusťte chod přístroje v režimu se stohovacím modulem.

UPOZORNĚNÍ: Za chodu v režimu se stohovacím modulem nevkládejte do vstupního zásobníku žádné další destičky.

15.2.4 Vkládání destiček přímo do čtečky SPARK

Odpojením obou zásobníků na destičky od modulu Spark-Stack lze provádět jednotlivá měření s využitím standardních destiček, destičky Spark MultiCheck nebo destičky NanoQuant.

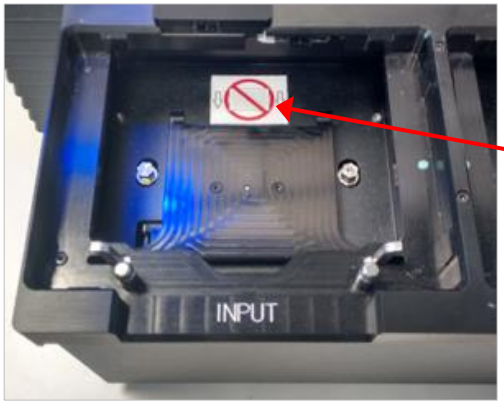
VÝSTRAHA: Před vložením destičky nejprve vysuňte přepravní mechanismus destičky. Umístěte destičku přímo na přepravní mechanismus čtečky SPARK. Neumísťujte destičku na zvedací plošinu stohovacího modulu, je-li odkryt nápis **No microplates (Žádné destičky)**. Tento nápis poukazuje na skutečnost, že přepravní mechanismus destičky se dosud nachází uvnitř čtečky. V opačném případě způsobíte kolizi s destičkou při vysouvání přepravního mechanismu z čtečky.

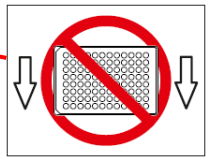
Jestliže k takové situaci dojde, stiskněte fyzické tlačítko Start/Stop  nebo stiskněte tlačítko Stop v ovládacím softwaru.

VÝSTRAHA: S biologicky nebezpečným odpadem zacházejte v souladu s bezpečnostními normami a předpisy.

Při ručním vkládání jednotlivé destičky:

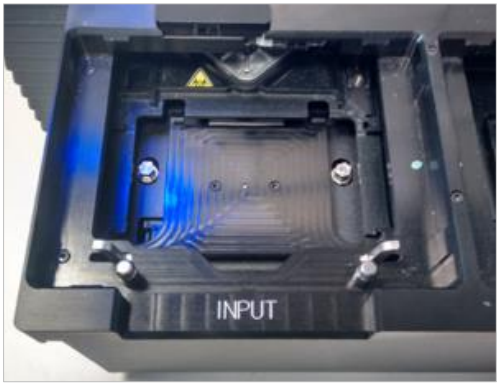
1. Je-li při ručním vkládání jednotlivé destičky viditelný nápis **No Microplates (Žádné destičky)**, nachází se držák destičky dosud uvnitř čtečky. Je-li tento nápis odkrytý, nevkládejte žádné další destičky!



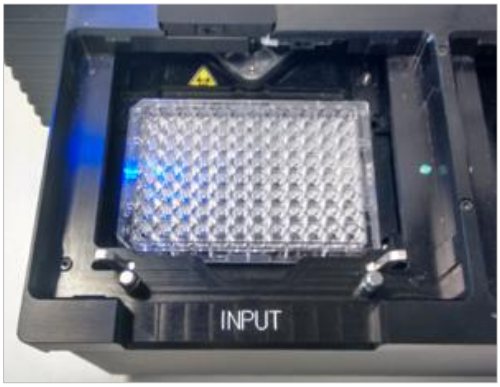


Nápis **No Microplates (Žádné destičky)**

2. Před vložením destičky nejprve vysuňte přepravní mechanismus destičky. Po vysunutí držáku destičky je nápis **No Microplates (Žádné destičky)** skrytý.



3. Umístěte destičku doprostřed přepravního mechanismu. Zkontrolujte, zda se etiketa **A1** na destičce nachází v levém horním rohu. Destičku umísťujte vždy na přepravní mechanismus – nikdy na zvedací plošinu stohovacího modulu.



15.2.5 Jednotlivé vyjmutí zpracovaných destiček



UPOZORNĚNÍ: Při vyjímání destiček ze zásobníku vždy používejte rukavice.

1. Opatrně odpojte zásobník od modulu Spark-Stack. Zásobník s destičkami nenaklánějte. Postavte zásobník na pracovní stůl.



2. Opatrně uchopte destičku v horní části stohu destiček v zásobníku.



3. Opatrně posunujte destičku směrem k horní části zásobníku. Poté destičku vyjměte ze zásobníku. Dbejte, aby nedošlo k rozlití obsahu destiček.

4. Destičku zlikvidujte v souladu s platnými laboratorními postupy.

15.2.6 Hromadné vyjmutí zpracovaných destiček

UPOZORNĚNÍ: Při vyjímání destiček ze zásobníku vždy používejte rukavice.

1. Opatrně odpojte zásobník od modulu Spark-Stack. Zásobník s destičkami nenaklánějte.
2. Postavte zásobník na pracovní stůl.



3. Jednu ruku opatrně zasuňte pod spodní destičku na dně zásobníku a druhou rukou stabilizujte polohu ostatních destiček, které chcete vyjmout ze zásobníku.



4. Opatrně posunujte skupinu destiček směrem k horní části zásobníku. Poté skupinu destiček vyjměte ze zásobníku. Dbejte, aby nedošlo k rozlití obsahu destiček.

5. Destičky zlikvidujte v souladu s platnými laboratorními postupy.

15.2.7 Čištění a údržba modulu Spark-Stack

Rozlití kapalin



VÝSTRAHA: Před vysoušením rozlité kapaliny na stohovacím modulu přístroj vždy vypněte. Rozlitou kapalinu je třeba považovat za potenciálně infekční. K prevenci kontaminace potenciálně infekčními onemocněními vždy dodržujte příslušná 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 7.5 Likvidace.

Postup při čištění a dezinfekci (včetně rozlití kapalin)

Při čištění a dezinfekci modulu Spark-Stack, včetně rozlití kapalin uvnitř zásobníku na destičky nebo na povrchu modulu Spark-Stack, postupujte takto:

1. Použijte ochranné rukavice, ochranné brýle a ochranný oděv.
2. Připravte si vhodnou nádobu k odložení materiálu použitého k dezinfekci.
3. Vypnutím čtečky SPARK vypněte přístroj i vestavěný modul Spark-Stack.
4. Demontujte zásobníky na destičky.
5. Vyjměte destičky ze zásobníku nebo ze zvedací plošiny modulu Spark-Stack.
6. Uniklou nebo rozlitou kapalinu ihned otřete pomocí absorpčního materiálu.
7. Očistěte povrchové plochy zásobníků na destičky a modulu Spark-Stack.
8. V případě úniku biologicky nebezpečných látek pečlivě otřete vnější povrch přístroje papírovou utěrkou, která nezanechává odletky, namočenou v dezinfekčním roztoku (B33 [Orochemie, Německo] nebo 70% líh).
9. Všechny očištěné plochy otřete dosucha.
10. Kontaminovaný materiál řádně zlikvidujte.

Preventivní údržba

Modul Spark-Stack nevyžaduje zvláštní preventivní údržbu. Další informace získáte v kapitole 7 Čištění a údržba.

15.3 Software

Je-li modul Spark-Stack připojen k softwaru SparkControl, bude nadefinovaná metoda v softwaru SparkControl provedena u všech destiček, které jsou vložené ve vstupním zásobníku.



UPOZORNĚNÍ: Do modulu Spark-Stack nevkládejte zavíčkované mikrotitrační destičky.



UPOZORNĚNÍ: Při použití čtečky SPARK s namontovaným modulem Spark-Stack nelze používat vlhkostní kazety. Je-li to v konkrétní analýze třeba, nastavte volbu „No humidity cassette (Žádná vlhkostní kazeta)“.



UPOZORNĚNÍ: Otevřená kinetická měření nejsou při použití modulu Spark-Stack podporována.



UPOZORNĚNÍ: Optimalizace polohy na ose Z prostřednictvím okna Z-Position (Poloha na ose Z), živé zobrazení a akce Gas (Plyn), User Request (Uživatelský požadavek) a Move Plate In/Out (Zasunout/Vysunout destičku) nejsou v měření s využitím stohovacího modulu podporovány.



UPOZORNĚNÍ: Aplikace Tecan nejsou v měření s využitím stohovacího modulu podporovány.



UPOZORNĚNÍ: Kinetická měření spuštěná v rámci chodu s využitím stohovacího modulu nelze pozastavit.



UPOZORNĚNÍ: Chod s využitím stohovacího modulu nelze spouštět stisknutím fyzického tlačítka Start na přístroji.



UPOZORNĚNÍ: Nastavenou teplotu lze udržet pouze u destičky, která se nachází uvnitř přístroje, nikoli u destiček umístěných ve vstupním a výstupním zásobníku.

15.3.1 Spuštění chodu s využitím stohovacího modulu

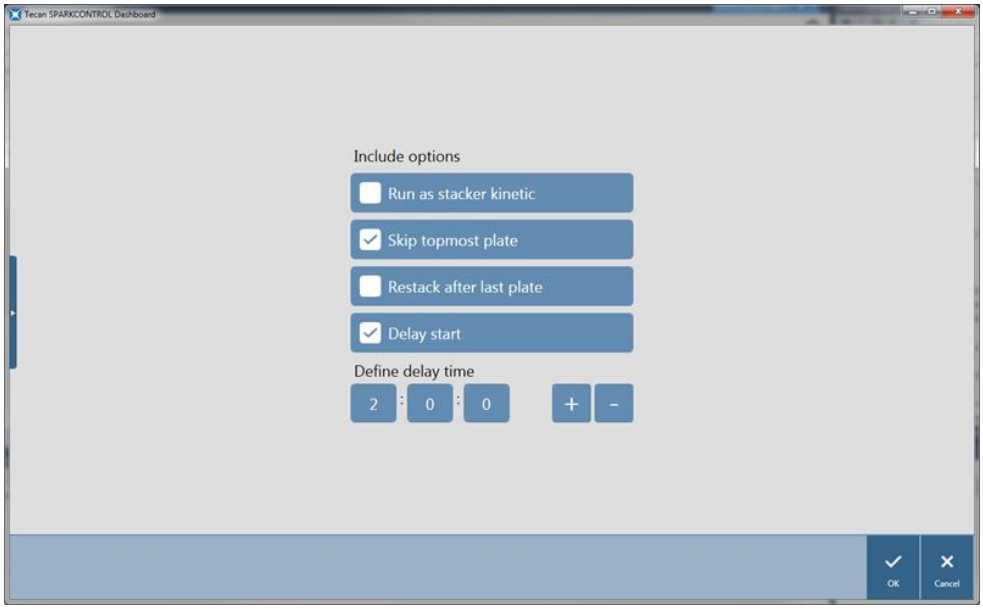
Jakmile nadefinujete metodu, lze v editoru metod spustit dávkové zpracování metody stisknutím **tlačítka Start Stacker (Spustit stohovací modul)** na panelu nástrojů. Chod lze spustit i z modulu Dashboard výběrem dlaždice s příslušnou **metodou a** klepnutím na **dlaždici Start Stacker (Spustit stohovací modul)** v okně Check-and-Go (Kontrola a spuštění) v modulu Dashboard. Výstupní zásobník modulu Spark-Stack musí být před spuštěním chodu s využitím tohoto modulu prázdný.

UPOZORNĚNÍ: Je-li vložen vstupní i výstupní zásobník, je v editoru metod aktivní tlačítko **Start Stacker (Spustit stohovací modul)**. Tlačítko **Start** je neaktivní. Chcete-li spustit měření bez stohovacího modulu, demontujte vstupní i výstupní zásobník.

UPOZORNĚNÍ: Zkontrolujte, zda se mikrotitrační destička shoduje s definicí nastavenou v metodě; v opačném případě může za chodu stohovacího modulu docházet k potížím. Vždy používejte destičky stejného typu a barvy.

Okno Stacker Operations (Operace stohovacího modulu)

Po spuštění chodu s využitím stohovacího modulu se otevře okno Stacker Operations (Operace stohovacího modulu):



Obrázek 19: Okno Stacker Operations (Operace stohovacího modulu)

Run as stacker kinetic (Spustit kinetické měření jako chod se stohovacím modulem)	Je-li toto zaškrtávací políčko aktivní, bude kinetické měření provedeno jako chod s využitím stohovacího modulu. Další informace získáte v kapitole 15.3.2 Kinetická měření s využitím stohovacího modulu.
Skip topmost plate (Vynechat horní destičku)	Nechcete-li u první horní destičky provést měření, aktivujte zaškrtávací políčko **Skip topmost plate (Vynechat horní destičku)**. bude přepravena čtečkou SPARK bez provedení měření a přímo do výstupního zásobníku.
Restack after last plate (Stohování po poslední destičce)	Chcete-li navrátit všechny zpracované destičky v původním pořadí do vstupního zásobníku, zaškrtněte políčko **Restack after last plate (Stohování po poslední destičce)**.

Delay start (Odložit start)	Nastavte délku prodlevy k odložení chodu s využitím stohovacího modulu. Spuštění stohovacího modulu bude odloženo o nastavenou dobu.
Number of plates (Počet destiček)	Chcete-li zkontrolovat volné místo na disku, zadejte počet destiček použitých k měření (pouze snímání metodou světlého pole a fluorescenční snímání).



UPOZORNĚNÍ: Odložení startu chodu s využitím stohovacího modulu: tuto funkci lze využít k provedení inkubace při okolní teplotě u destiček umístěných v zásobníku. K ochraně látek citlivých na světlo je k dispozici sada tmavých krytů a víček.

15.3.2 Kinetická měření s využitím stohovacího modulu

Narozdíl od kinetického měření jednotlivých destiček umožňuje kinetické měření s využitím stohovacího modulu časové zpracování analýzy vyššího počtu destiček. Po změření všech destiček ve vstupním zásobníku v cyklu 1 se destičky automaticky složí do zásobníku v původním pořadí k dalšímu měření. Tento postup se opakuje až do dosažení nastaveného počtu cyklu u všech destiček.

Pro snazší vyhodnocení dat je ke každé destičce vytvořen samostatný list s výsledky. Název listu se shoduje s číslem nebo čárovým kódem (je-li nainstalována čtečka čárových kódů a je-li čtení čárových kódů nastaveno v metodě) destičky. Výsledky dalších cyklů se automaticky uloží na příslušný list s výsledky.

Kinetická měření s využitím stohovacího modulu lze používat ve spojení s libovolným skriptem pro měření jednotlivých destiček a lze je kombinovat se všemi dostupnými podmínkami kinetických měření. Nejvyšší počet cyklů je omezen na 300.

K provedení kinetického měření s využitím stohovacího modulu stačí pracovní postup / metodu nastavit stejným způsobem jako běžné kinetické měření a následně měření spustit stisknutím tlačítka **Start Stacker (Spustit stohovací modul)**. Otevře se okno **Stacker Operations (Operace stohovacího modulu)**, které umožňuje přístup k doplňujícím funkcím, které lze použít pouze u měření s využitím stohovacího modulu. Vyberete-li položku **Run stacker kinetic (Spustit kinetické měření se stohovacím modulem)**, bude skript automaticky spuštěn jakožto kinetické měření s využitím stohovacího modulu.



UPOZORNĚNÍ: Kinetická měření celé destičky s jedním kinetickým řádkem a nejvýše 300 cykly lze spouštět jako kinetická měření s využitím stohovacího modulu.



UPOZORNĚNÍ: Jakožto kinetická měření s využitím stohovacího modulu lze spouštět pouze kinetická měření s typem smyčky **Number of cycles (Počet cyklů)**.



UPOZORNĚNÍ: Akce **Wait (Čekání)** a **Shake (Třepání)** lze používat v kinetickém měření s využitím stohovacího modulu; akce **Continuous Waiting (Průběžné čekán)** a **Continuous Shaking (Průběžné třepání)** NELZE v tomto typu měření používat, jelikož jednotlivé destičky nezůstávají mezi dvěma následnými kinetickými cykly zavřené v přístroji.

UPOZORNĚNÍ: Kinetická měření s využitím stohovacího modulu nepodporují fluorescenční snímání.

15.3.3 Opětovné stohování

Funkce Restack (Opětovné stohování) v softwaru SparkControl slouží k přeskládání destiček bez provedení měření. Opětovné stohování lze spustit v nabídce Instrument (Přístroj) v editoru metod, prostřednictvím ovládání přístroje nebo v modulu Dashboard v okně Check-and-Go (Kontrola a spuštění) stisknutím tlačítka **Stacker (Stohovací modul)**.

Před zahájením opětovného stohování nastavte formát destiček ve výstupním zásobníku. Dle formátu destičky vyberte režim **Smooth mode (Plynulý režim)**, nebo plnicí objem (viz kapitolu 2.5.1 Plnicí objemy / plynulý režim). Režim **Smooth mode (Plynulý režim)** se doporučuje při zpracování destiček s nízkou hmotností, například 1 536jamkových destiček.

16 Injektory

Modul injektoru se skládá z jedné nebo dvou stříkaček umístěných v externích jednotkách s neprůsvitným pláštěm. K dispozici jsou stříkačky s různým objemem, 500 µl, 1 000 µl a 2 500 µl. Jehly injektoru jsou navrženy tak, aby dokázaly vstřikovat kapalinu do libovolné jamky na 384jamkové destičce, která vyhovuje normám SBS (s výjimkou maloobjemových 384jamkových destiček).

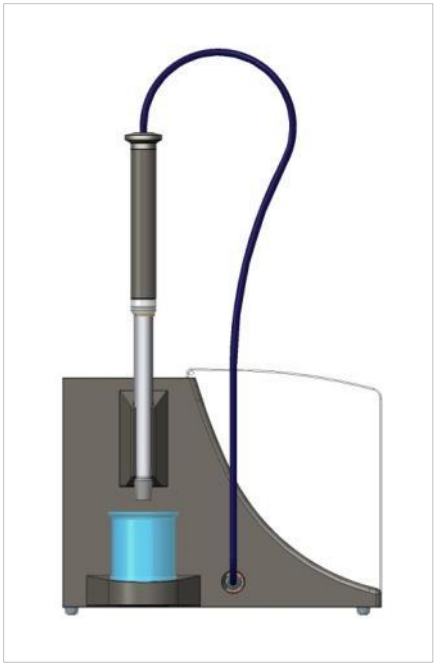
POZOR: Před zapojením a odpojením modulu injektoru vypněte přístroj.

16.1 Držák injektoru

Držák injektoru lze snadno demontovat (může provést zákazník) z přístroje, například pro účely naplnění či vypláchnutí injektoru a optimalizace rychlosti práce injektoru.

Při použití injektoru během měření musí být držák injektoru správně vložen do přístroje. Vyjměte maketu injektoru a zasuňte držák injektoru do otvoru. Mírným tlakem na držák injektoru zajistěte držák na místě.

Přístroj je vybaven snímačem přítomnosti injektoru, který kontroluje polohu držáku. V případě nesprávného zasunutí injektoru do přístroje snímač nerozpozná zasunutý držák a funkce vstřikování bude deaktivována. Některé činnosti, jako jsou například proplach a plnění, zůstanou k dispozici. Pamatujte, že proplach nebo plnění nesprávně zasunutého injektoru může způsobit poškození přístroje. Vždy se proto přesvědčte, zda se držák injektoru nachází v servisní poloze pro plnění a proplachování (viz schéma níže).



Obrázek 20: Držák injektoru v servisní poloze

POZOR: Nedotýkejte se stříkaček za provozu.



POZOR: Chcete-li provést plnění a proplachování, musí se držák injektoru nacházet v servisní poloze. Plnění a proplachování neprovádějte, je-li injektor zasunutý do přístroje. Pamatujte, že proplach nebo plnění nesprávně zasunutého injektoru může způsobit poškození přístroje.



POZOR: Držák injektoru musí být správně zasunutý do příslušného otvoru. V opačném případě přístroj nerozpozná přítomnost injektoru, přičemž funkce plnění a proplachu zůstanou k dispozici. Pamatujte, že proplach nebo plnění nesprávně zasunutého injektoru může způsobit poškození přístroje.

Rychlost vstřikování lze upravit v nastavení softwaru. Optimální rychlost vstřikování závisí na vlastnostech konkrétní analýzy, například na formátu destičky a na viskozitě a dalších vlastnostech měřené kapaliny. Vyjímatelný držák injektoru umožňuje optimální nastavení rychlosti mimo přístroj, kde lze snadno provést zrakovou kontrolu průběhu vstřikování.

16.1.1 Maketa injektoru

Všechny přístroje vybavené otvorem na injektor (přístroje s injektorem nebo přístroje s přípravou na injektor) jsou dodávány s maketou injektoru. Maketa nahrazuje injektor po dobu, kdy se injektor nepoužívá. V takových případech maketa zajišťuje stabilní udržení požadované atmosféry (teplota, koncentrace plynů).

Po demontáži držáku injektoru vždy zasuňte do otvoru maketu injektoru. Mírným tlakem na maketu ji zajistěte na místě a zavřete víčko. Maketa injektoru aktivuje snímač přítomnosti injektoru pouze v případě, je-li správně vložena do otvoru pro injektor.



POZOR: Vždy, když injektor nepoužíváte, přesvědčte se, zda je do přístroje vložena maketa.



POZOR: Pamatujte, že maketa injektoru aktivuje snímač přítomnosti injektoru pouze v případě, je-li správně vložena do otvoru pro injektor. Je-li vložena maketa injektoru, lez provádět vstřikovací kroky, avšak výsledky nebudou použitelné.

16.2 Plnění a proplach

POZOR: Chcete-li provést plnění a proplachování, musí se držák injektoru nacházet v servisní poloze. Plnění a proplach nelze provádět, je-li držák injektoru zasunut v otvoru na injektor.

Prvotní plnění (zavodnění) soustavy injektoru a její čištění (proplach) musí probíhat vně otvoru na injektor. K těmto účelům je třeba držák injektoru vyjmout z přístroje a umístit do servisní polohy modulu injektoru. K plnění a propláchnutí soustavy injektoru se používá výchozí nastavení rychlosti vstřikování a dávkovaného objemu. Je-li třeba, lze parametry plnění upravit v softwaru v okně Injector Control (Ovládání injektoru).

Plnicí objem závisí na délce vedení. K dispozici jsou dva typy vedení injektoru: **krátké** = 100 cm (39,37 in) a **dlouhé** = 200 cm (78,74 in).

Minimální plnicí objem injektoru s krátkým vedením činí 1 000 µl; minimální plnicí objem injektoru s dlouhým vedením činí 1 500 µl.

POZOR: Nedostatečný plnicí objem způsobuje nedokonalé naplnění soustavy, které negativně ovlivňuje výsledky analýzy.

POZOR: Nedotýkejte se jehel injektoru! Jehly se snadno ohnou a odchýlí od správného směrového nastavení. Důsledkem bývají potíže se vstřikováním, či dokonce poškození přístroje.

UPOZORNĚNÍ: Zvolená nastavení plnění lze uložit pod hardwarová tlačítka na modulu injektoru zvolením možnosti **Save as default (Uložit jako výchozí)**. Tato funkce je k dispozici pouze v editoru metod. Plnění zahájíte stisknutím tlačítka **Prime (Plnění)** na skříni injektoru.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.

16.2.1 Zpětný proplach reagentu

Před zahájením čištění soustavy injektoru lze použít funkci zpětného proplachu reagentu, která umožňuje odčerpání zbylého reagentu z kapalinové soustavy (jehly, stříkačky, ventily a vedení) zpět do zásobních láhví. Zpětný proplach představuje účinný způsob minimalizace spotřeby reagentu. Mrtvý objem vstřikovací soustavy činí přibližně 100 µl.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.

VÝSTRAHA: Držák injektoru přemísťujte pouze za rukojeť, která je k tomuto účelu určena.

POZOR: Chcete-li provést zpětný proplach, musí se injektor nacházet v poloze **Backflush (Zpětný proplach)**. Proceduru **Backflush (Zpětný proplach)** neprovádějte, jestliže se injektor nachází v přístroji.



UPOZORNĚNÍ: Zvolená nastavení proplachu lze uložit pod hardwarová tlačítka na modulu injektoru zvolením možnosti **Save as default (Uložit jako výchozí)**. Tato funkce je k dispozici pouze v editoru metod. Proplach zahájíte stisknutím tlačítka **Rinse (Proplach)** na skříni injektoru.



POZOR: Chcete-li provést proplach, musí se injektor nacházet v poloze **Rinse (Proplach)**. Proceduru **Rinse (Proplach)** neprovádějte, jestliže se injektor nachází v přístroji.



POZOR: K poslednímu proplachu použijte destilovanou vodu.



POZOR: O injektory pečujte s maximální pozorností! Poškození injektorů může ovlivnit přesnost dávkování. Nepřesné dávkování může způsobit poškození přístroje.

16.3 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 injektor/injektory mezi různými aplikacemi propláchněte.

Každodenní údržba:

Neuvádí-li výrobce používané sady jinak, níže uvedené úkony je třeba vykonávat denně:

- Zkontrolujte těsnost stříkaček a vedení.
- Po každém použití, a jestliže nepoužíváte stříkačku, důkladně celou soustavu propláchněte destilovanou nebo deionizovanou vodou. Neučiníte-li tak, budou reagenty v soustavě tvořit krystaly. Krystaly mohou poškodit těsnění stříkačky a kuželku ventilu, a tak způsobit netěsnost soustavy.



POZOR: Nedovolte, aby stříkačky byly používány nasucho po více než několik málo cyklů.

Týdenní/pravidelná údržba:

Soustava injektoru (vedení, stříkačky, vstřikovací jehly) je třeba čistit každý týden. Účelem čištění je odstranění sraženin, například solí, a prevence množení bakterií.

Při čištění soustavy stříkačky/injektoru 70% roztokem etanolu postupujte takto:

1. Dle aplikace nejprve důkladně vypláchněte soustavu pufrem nebo destilovanou vodou. Teprve poté přikročte k propláchnutí 70% roztokem etanolu.
2. Plně spuštěné stříkačky vyplachujte 70% roztokem etanolu po dobu 30 minut.
3. Po uplynutí 30 minut odčerpejte ze stříkačky a potrubí veškerou kapalinu do odpadní nádoby.
4. Vypláchněte soustavu stříkačky/injektoru 70% roztokem etanolu.

5. Vypláchněte soustavu stříkačky/injektoru destilovanou nebo deionizovanou vodou. Při uskladnění soustavy ponechejte kapalinovou soustavu napuštěnou.
6. Konce vstřikovacích jehel opatrně očistěte vatovým tamponem namočeným v 70% roztoku etanolu nebo isopropanolu.



VÝSTRAHA: Riziko vzniku požáru a exploze!
Etanol je hořlavý a při nevhodné manipulaci může způsobit explozi.
Je nezbytné dodržovat příslušná laboratorní bezpečnostní opatření.



POZOR: Výměnu stříkaček je třeba svěřit servisnímu technikovi.
V opačném případě nelze zaručit správný výkon přístroje.

16.4 Injektor: slučitelnost reagentů

Soustava injektoru je vyrobena z těchto materiálů:

- PTFE, TFE, FEP: vedení, kuželka ventilu, těsnění,
- PEEK: hlava jehly, spojovací vedení/injektor,
- KelF: těleso ventilu,
- parylenová vrstva: 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 používat. Tyto látky způsobí závažné poškození injektoru.

Chemické látky třídy A	Chemické látky třídy D
Kyselina octová < 60 %	Acetonitril
Dimethylformamid	Butylamin
Etanol	Chloroform
Metanol (metylalkohol)	Chlorid uhličitý (suchý)
Voda, deionizovaná	Dietyléter
Voda, destilovaná	Etanolamin
Voda, sladká	Etyléndiamin
Hydroxid draselný (draselný louh)	Furfal
Chlornan draselný (vodný)	Hexan
Hydroxid sodný (< 60 %, vodný)	Kyselina fluorovodíková
Chlornan sodný	Monoetanolamin
	Kyselina sírová (ředěná i koncentrovaná)
	Tetrahydrofuran



POZOR: V soustavě injektoru používejte výhradně reagenty třídy **A**. Reagenty třídy **D** je zakázáno v soustavě injektoru používat.

Informace uvedené v této tabulce sestavila společnost Tecan Austria na základě dostupných informací o slučitelnosti materiálů. Tato tabulka představuje pouze všeobecné vodítko pro výběr slučitelných reagentů.



VÝSTRAHA: Při skladování a manipulaci se schválenými chemikáliemi je třeba řádně dodržovat správné postupy. Vlivy prostředí, jakými jsou například teplota, tlak a koncentrace, mohou způsobit nežádoucí chemické jevy, které mohou poškodit přístroj.



VÝSTRAHA: Pamatujte, že nesprávná manipulace s chemikáliemi může způsobit závažné poškození zdraví osob. Při manipulaci s chemikáliemi dodržujte bezpečné laboratorní postupy a používejte vhodný ochranný oděv.

16.5 Měření s využitím injektorů

Injektory lze používat samostatně i ve spojení s těmito detekčními režimy: intenzita fluorescence, horní i dolní měření, časově rozlišená fluorescence, fluorescenční polarizace, absorbance, luminiscence a luminiscence technikou „multi-color“. Jelikož však poloha měření není shodná s polohou vstřikování, dochází mezi vstřikováním a čtením ke krátké prodlevě (cca 0,5 s). Pro výjimku viz kapitolu 12.6 Inject and Read (Injekce a Čtení).

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



POZOR: Přesvědčte se, zda vybraný soubor definice destičky odpovídá používané mikrotitrační destičce. V opačném případě může dojít k poškození přístroje.

16.6 Ohřev a magnetické míchátko

Modul injektoru lze dodatečně vybavit ohřevem a magnetickým míchátkem.

Podrobné informace jsou uvedeny v úplném návodu.



UPOZORNĚNÍ: Zvolená teplota se rovná teplotě na povrchu ohřevné desky. Teplotu vstřikovaného roztoku v nádobě je povinen kontrolovat uživatel.



POZOR: Je-li aktivován ohřev, pamatujte, že základní i expanzní modul jsou temperovány shodně!

16.6.1 Laboratorní baňka a magnetické míchátko

Ohřevná deska je navržena tak, aby mohla pracovat s laboratorními baňkami do objemu 100 ml. Standardní modul ohřevu a magnetického míchátka obsahuje i jednu 100ml laboratorní baňku a příslušné magnetické míchátko.

16.7 Specifikace injektoru



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

16.7.1 Technické specifikace vstřikovače

Parametry	Vlastnosti
Typy destiček	1jamkové až 384jamkové destičky
Objemy stříkaček ve vstřikovači	500 µl, 1 000 µl, 2 500 µl

16.7.2 Výkonové specifikace vstřikovače

Stříkačka 500 µl		
Vstřikovací objem	**Přesnost**	**Preciznost**
10 µl	≤10 %	≤10 %
100 µl	≤1 %	≤1 %
450 µl	≤0,5 %	≤0,5 %
Stříkačka 1 000 µl		
Vstřikovací objem	**Přesnost**	**Preciznost**
20 µl	≤10 %	≤10 %
200 µl	≤1 %	≤1 %
900 µl	≤0,5 %	≤0,5 %
Stříkačka 2 500 µl		
Vstřikovací objem	**Přesnost**	**Preciznost**
50 µl	≤10 %	≤10 %
500 µl	≤1 %	≤1 %
2 250 µl	≤0,5 %	≤0,5 %

16.7.3 Specifikace ohřevu/míchátka

Parametry	Vlastnosti
Napájení	24 V, max. 60 Wattů, externí zásuvka
Regulace teploty	20–42 ° C
Regulace otáček míchátka	50–1 000 ot./min.$^{-1}$

16.8 Kontrola kvality modulu injektoru

16.8.1 Pravidelné zkoušky kontroly kvality

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

Zkoušky, jejichž popis je uveden 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 významně ovlivňují chyby při pipetování a nastavení parametrů přístroje. Proto dodržujte uvedené pokyny co nejpřesněji. Uživatelům se doporučuje stanovit vhodné intervaly vykonávání zkoušek v závislosti na intenzitě využití přístroje.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je destička vložena správným směrem: jamka A1 se musí nacházet vlevo nahoře.



VÝSTRAHA: Níže uvedené pokyny se vztahují na provádění kontroly kvality s cílem zkontrolovat plnění specifikací přístroje. Jestliže výsledky těchto zkoušek nevyhoví specifikacím přístroje uvedeným v tomto návodu, obraťte se na místní servisní zastoupení výrobce, od kterého obdržíte další pokyny.

16.8.2 Přesnost injektoru

Přesností se rozumí schopnost soustavy poskytovat výsledky, které se co nejvíce blíží skutečné hodnotě. Přesnost se vypočítává coby procentuální odchylka od skutečné hodnoty.

Materiál:

- destilovaná voda,
- 96jamková destička Greiner, jamky s plochým dnem, čirá,
- váha s uvedenou přesností 1 mg.

Postup:

Naplňte injektor destilovanou vodou. Zvažte prázdnou destičku a naměřenou hmotnost si poznamenejte. Vstříkněte 20 µl do 20 jamek 96jamkové destičky Greiner 96 (čirá, jamky s plochým dnem) a ihned destičku opět zvažte (pozor na možnost odpařování kapaliny). Postup provádějte za pokojové teploty (25 ° C).

Parametry vstřikování:

Injektor	Vyberte injektor A nebo B
Rychlost	200 µl/s
Rychlost doplnění	Stejná jako rychlost vstřikování
Režim doplnění	Standardní
Objem doplnění	Výchozí
Soubor definice destičky	GRE96ft
Část destičky	D2–E10

Posouzení:

Hmotnost 400 µl destilované vody (20 x 20 µl) při 25 ° C činí 398,8 mg (měrná hmotnost vody činí 0,997 mg/µl). Přesnost (%) vypočítejte takto:

$$\text{Presnost } (\%) = \frac{398{,}8 - namereno}{(398{,}8/100\ )}$$

17 Regulace prostředí

Ohřev, regulace atmosféry a vlhkosti ve vícerežimové čtečce Tecan SPARK představuje optimální způsob regulace vnitřního prostředí po dobu měření.

17.1 Modul ohřevu

Modul ohřevu umožňuje regulaci teploty v rozsahu od 4 °C nad okolní teplotou do 42 °C. Ohřev měřicí komory na požadovanou teplotu okamžik trvá. Sledujte prosím displej regulace teploty. Není-li destička inkubována externě, měla by být před zahájením měření ponechána k vyrovnání teploty.



UPOZORNĚNÍ: S ohledem na udržení konstantní teploty a zajištění uniformity měření na celé destičce je třeba destičku během třepání a čekání přemístit do inkubační polohy. Je-li funkce ohřevu použita během třepání, může teplota mírně kolísat.

17.1.1 Softwarová nastavení regulace teploty

Regulaci teploty lze aktivovat manuálně v softwaru, nebo automaticky v rámci průběhu metody.



UPOZORNĚNÍ: Při spouštění metody obsahující regulaci teploty jsou – v případě neshod definicí – nastavení metody vždy nadřazená manuálnímu nastavení.



POZOR: Definujete-li hodnoty obsahující desetinná místa, vždy k oddělení desetinných míst používejte znak nastavený v nabídce Oblast a jazyk operačního systému počítače.



UPOZORNĚNÍ: Ohřev přístroje se spustí současně se spouštěním metody. Je-li vybrána možnost **Wait for temperature (Čekat na dosažení teploty)**, měření bude zahájeno teprve poté, kdy teplota v přístroji dosáhne nastaveného rozmezí. Informace o předehřevu přístroje naleznete v kapitole Ruční regulace teploty (Manual Temperature Control) v návodu ke SparkControl.

17.2 Systém chlazení

Systém chlazení vícerežimové čtečky SPARK umožňuje regulaci teploty v rozsahu od 18 °C do hodnoty okolní teploty.

Příprava přístroje k chlazení a samotné chlazení měřicí komory chvíli trvá. Dodržujte následující pokyny a průběžně kontrolujte displej regulace teploty. Není-li destička inkubována externě, měla by být před zahájením měření ponechána k vyrovnání teploty.

Chladicí systém se skládá z dvou hlavních součástí: externího kapalinového chladicího zařízení a z vestavěného chladicího modulu (Te-Cool). Tyto dvě součásti tvoří uzavřenou oběhovou soustavu.

Kapalinové chladicí zařízení je externí jednotka, která čerpá ochlazenou kapalinu do vestavěného chladicího modulu, kde ochlazuje vzduch, a teplá kapalina je vedena zpět do externího kapalinového chladicího zařízení k opětovnému zchlazení.

Vestavěný chladicí modul je umístěn na dně vícerežimové čtečky SPARK. Zajišťuje chlazení vzduchu, který je přiváděn do měřicí komory čtečky. Teplý vzduch je přiváděn zpět do vestavěného chladicího modulu k opětovnému zchlazení.

Společnost Tecan doporučuje a podporuje výhradně následující kapalinovou chladicí jednotku: **Termoelektrická oběhová kapalinová chladicí jednotka MRC 150/300 (Laird Technologies GmbH, Německo)**. Společnost Tecan nepřejímá odpovědnost za použití jiných výrobků nebo řešení kapalinového chlazení. Před použitím čtečky Spark ve spojení s vestavěným chladicím modulem a kapalinovou chladicí jednotkou si přečtěte a během používání dodržujte pokyny výrobce kapalinové chladicí jednotky (společnost Laird Technologies, Návod k obsluze).



VÝSTRAHA: Společnost Tecan nepřejímá odpovědnost za použití jiného systému kapalinového chlazení, než který je doporučen v tomto dokumentu.



VÝSTRAHA: Pečlivě si přečtěte a dodržujte pokyny uvedené v návodu k obsluze externí kapalinové chladicí jednotky.



POZOR: Zajištění optimálního provozu chladicího systému vyžaduje každoroční údržbu, kterou vykonává servisní technik společnosti Tecan.

17.2.1 Nastavení kapalinového chladicího systému



POZOR: Hodláte-li použít externí kapalinovou chladicí jednotku po dlouhodobé odstávce nebo přepravě, je třeba ji ponechat stát na místě alespoň po dobu 3 hodin k obnovení tepelné rovnováhy.

Před aktivací chladicího modulu se přesvědčte, zda příslušné pracoviště vyhovuje níže uvedeným požadavkům. Externí kapalinovou chladicí jednotku umístěte na plochém a rovném místě bez přítomnosti otřesů a mimo přímé sluneční záření a zdroje tepla. Prostředí nesmí být prašné a nesmí obsahovat rozpouštědla a kyselé výpary. Za přístrojem ponechejte dostatek volného prostoru k zajištění přístupu k zadnímu panelu.



UPOZORNĚNÍ: Snímač okolní teploty je umístěn na vnitřní straně zadního panelu přístroje. Blízké zdroje tepla mohou ovlivnit jeho měření.

Externí kapalinová chladicí jednotka je vybavena chladicím systémem s vzduchovým chlazením. Kapalinovou chladicí jednotku je třeba umístit tak, aby byl zajištěn volný přístup vzduchu. Přítoková a odtoková přípojka musejí být snadno přístupné a všechny hadice musejí být vedeny tak, aby nedocházelo k jejich lámání. Okolí 0,3 metru všech větracích otvorů musí zůstat volné, v opačném případě nelze zajistit dostatečné větrání.



POZOR: Mezi větracími otvory kapalinové chladicí jednotky a dalšími předměty ponechejte volné místo alespoň 0,3 metru. Nedostatečné větrání způsobí snížení chladicí schopnosti a nefunkčnost kompresoru.

Chladivo

Coby chladivo je dovoleno používat výhradně směs vody a propylenglykolu. Koncentrát propylenglykolu lze zakoupit u společnosti Tecan. Tento koncentrát (objem 0,25 l) je před použitím třeba zředit 0,75 l destilované vody. Tím získáte 1 l chladiva. Nepoužívejte jiné chladivo ani vodu z vodovodu. V opačném případě nelze vyloučit poškození přístroje v důsledku znečištění a koroze!



POZOR: V chladicím systému používejte výhradně doporučené chladivo, v opačném případě můžete způsobit poškození vestavěného chladicího modulu nebo externí kapalinové chladicí jednotky (vápenné usazeniny, neprůchodnost hadic).



POZOR: Kapalinovou chladicí jednotku nepoužívejte bez zásoby chladiva v nádržce!

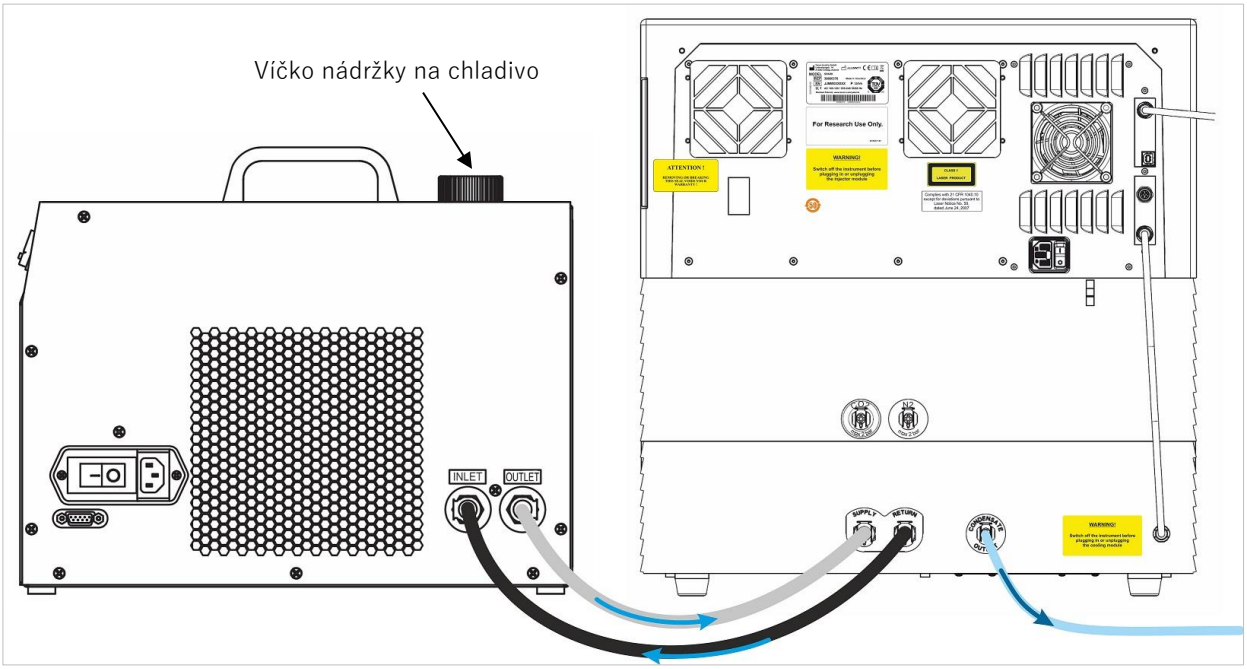
17.2.2 Postup při připojení



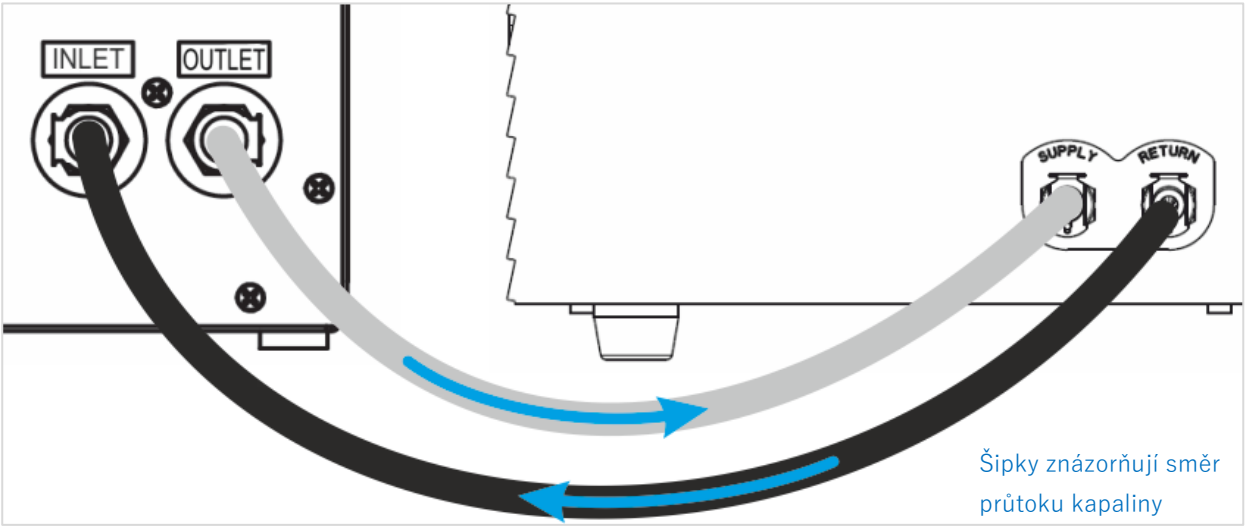
POZOR: Používejte pouze hadice, které nevykazují známky poškození.

Následující informace obsahují podrobný popis postupu při připojování:

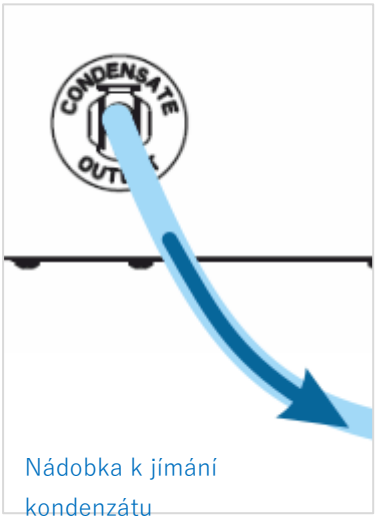
- Čtečka SPARK a externí kapalinová chladicí jednotka: Přesvědčte se, zda jsou napájecí kabely odpojené a zda se hlavní vypínač nachází v poloze OFF (VYP).
- Připojte ODTOK chladiva na externí kapalinové chladicí jednotce ke konektoru PŘÍTOK na zadní straně vestavěného chladicího modulu. Použijte přiloženou hadici. (Viz obrázky níže.)
- Připojte PŘÍTOK chladiva na externí kapalinové chladicí jednotce ke konektoru ZPĚT na zadní straně chladicího modulu. Použijte přiloženou hadici.
- Připojte vestavěný chladicí modul ke konektoru chlazení na čtečce SPARK pomocí přiloženého kabelu CAN. (Viz obrázky níže.)
- Připojte hadici na kondenzát, která vede z ODTOKU KONDENZÁTU na zadním panelu přístroje (vestavěný chladicí modul). Na konec hadice umístěte nádobu k jímání kondenzátu. Nádoba k jímání kondenzátu není součástí dodávky přístroje. (Viz obrázky níže.)
- Sejmutím víčka otevřete nádržku na chladivo v externí kapalinové chladicí jednotce. (Viz obrázek níže.)
- Naplňte nádržku na chladivo přibližně do 2/3 maximální hladiny chladivem.
- Nasazením víčka zavřete nádržku na chladivo v externí kapalinové chladicí jednotce. (Viz obrázek níže.)



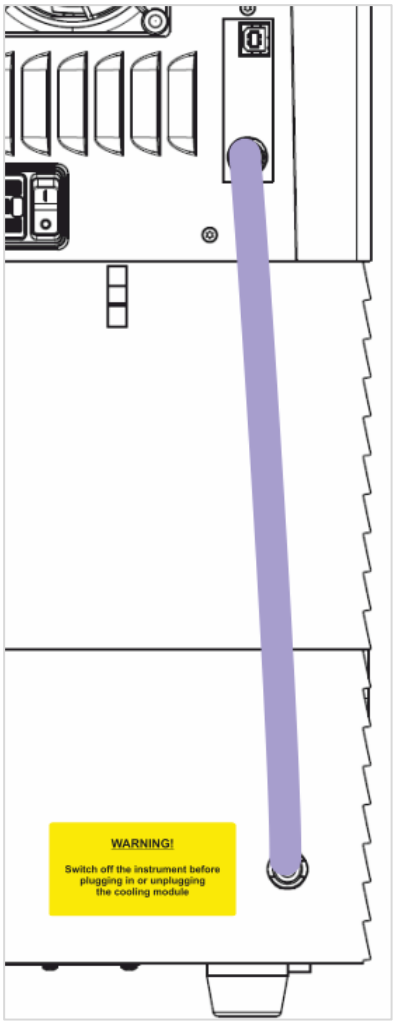
Obrázek 21: Přístroj SPARK s vestavěným chladicím modulem připojeným k externí kapalinové chladicí jednotce



Obrázek 22: Přípojky mezi vestavěným chladicím modulem a externím kapalinovým chlazením



Obrázek 23: Výpust kondenzátu



Obrázek 24: Kabel CAN

17.2.3 Přepnutí na externí kapalinový chladicí modul

1. Zkontrolujte, zda je nádržka na chladivo naplněna přibližně ze 2/3 chladivem.
2. Připojte kapalinovou chladicí jednotku k vhodnému zdroji elektrické energie.
3. Jednotku zapněte a ponechejte ji běžet přibližně 10 minut. Tím se systém naplní a odvzdušní. Během této operace průběžně kontrolujte hladinu náplně. V případě potřeby doplňte chladivo.
4. Zkontrolujte shodu s provozními parametry (viz návod k obsluze kapalinové chladicí jednotky).
5. Nastavte digitální regulátor na 12 ° C (viz návod k obsluze vodní chladicí jednotky).
6. Zavřete víčko nádržky na chladivo.
7. Nyní je zařízení připraveno k provozu.

UPOZORNĚNÍ: Při běžném používání zapínejte kapalinovou chladicí jednotku s vhodným předstihem před použitím, a to v závislosti na okolní teplotě v laboratoři.

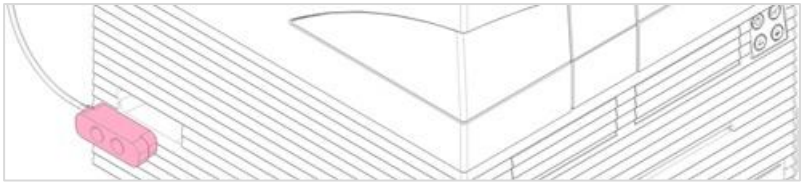
POZOR: Umístěte kapalinovou chladicí jednotku do blízkosti chlazeného přístroje, aby hadičky bylo možno vést rovně, tj. bez ohybů a smyček.

17.2.4 Provoz vestavěného chladicího modulu (Te-Cool)

Zapněte hlavní vypínač na externí kapalinové chladicí jednotce a nastavte cílovou teplotu 12 ° C. Postup k nastavení teploty naleznete v Návodu k obsluze termoelektrické oběhové kapalinové chladicí jednotce MRC 150/300 od společnosti Laird Technologies.

Před zahájením měření s využitím funkce chlazení v softwaru SparkControl vyčkejte na dosažení tepelné rovnováhy chladiva. V závislosti na nastavení cílové teploty, okolních podmínkách a aktuální teplotě může tento proces trvat 30–90 minut.

Společně s přístrojem jsou dodávány dvě záslepky k prevenci tvorby kondenzátu (viz schéma níže). Záslepky jsou určeny do otvorů na pravém a na levém boku vestavěného chladicího modulu. Záslepky by zpravidla neměly být používány. Jsou-li záslepky umístěny v otvorech, chladicí modul se bude zahřívat a nemusí dosáhnout požadovanou cílovou chladicí teplotu. Záslepky se používají v případě, že funkce chlazení běží na maximální výkon (tzn. velký rozdíl mezi okolní a cílovou teplotou). Jejich účelem je v tomto případě prevence tvorby kondenzátu. V opačném případě lze pozorovat hromadění vody.



Obrázek 25: Záslepky k prevenci tvorby kondenzátu (oba boky přístroje)

UPOZORNĚNÍ: Záslepky k prevenci tvorby kondenzátu je dovoleno používat pouze v případě očekávaného velkého rozdílu mezi okolní teplotou a nastavenou cílovou teplotou.

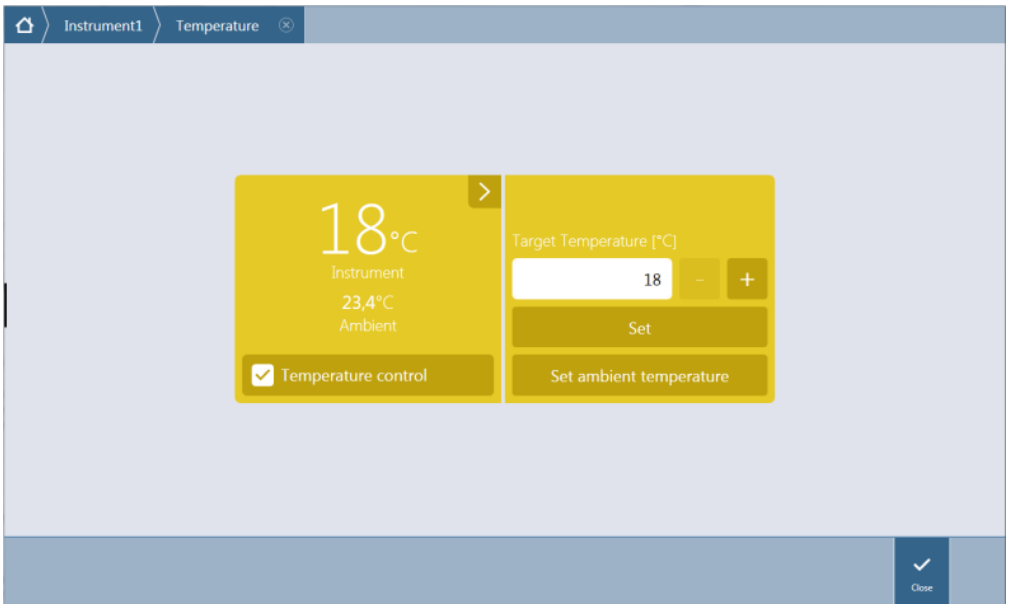
17.2.5 Softwarová nastavení regulace chlazení

UPOZORNĚNÍ: Při práci s regulací teploty vždy zapněte externí kapalinovou chladicí jednotku.

Softwarová nastavení jsou uvedena v kapitole 17.1 Modul ohřevu.

Režim chlazení na okolní teplotu

Tento režim je určen k rychlému nastavení cílové teploty v přístroji na úroveň okolní teploty. Lze jej aktivovat v modulu Dashboard nebo v editoru metod v okně **Temperature Control (Regulace teploty)**:



Obrázek 26: Okno Temperature Control (Regulace teploty) pro přístroje s chladicím modulem

Zaškrtněte políčko **Temperature control (Regulace teploty)** a klikněte na tlačítko **Set ambient temperature (Nastavit teplotu okolí)**. Aktuální teplota okolí se automaticky nastaví jakožto cílová teplota. Aktuální teplotu uvnitř přístroje můžete sledovat kliknutím na rozbalovací tlačítko v pravém horním rohu dlaždice Temperature Control (Regulace teploty). Chcete-li chlazení zastavit, zrušte zaškrtnutí políčka **Temperature control (Regulace teploty)**.

17.2.6 Funkce poplachu / Odstraňování potíží

Popis použití funkcí poplachu externí kapalinové chladicí jednotky a postupu při odstraňování potíží naleznete v Návodu k obsluze termoelektrické oběhové kapalinové chladicí jednotce MRC 150/300 (Laird Technologies GmbH).

Potřebujete-li technickou podporu nebo další služby, obraťte se na místního smluvního partnera společnosti Tecan.

17.2.7 Údržba

Popis údržby externí kapalinové chladicí jednotky naleznete v Návodu k obsluze termoelektrické oběhové kapalinové chladicí jednotce MRC 150/300 (Laird Technologies GmbH).

Součástí každodenní údržby je kontrola rovného vedení a správného připojení všech hadic.

Zkontrolujte, zda je externí kapalinová chladicí jednotka naplněna chladivem. Kontrolujte hladinu v nádobě k jímání kondenzátu a dle potřeby ji vyprázdněte.

17.3 Regulace atmosféry

Modul regulace atmosféry představuje komplexní řešení pro širokou škálu buněčných aplikací vícerežimové čtečky SPARK. Dva zabudované vstupy na plyn umožňují regulaci obsahu CO_2 a O_2 v atmosféře, a tak udržet pro kultury stabilní podmínky a zkvalitnit růst buněk. Koncentrace oxidu uhličitého se reguluje přívodem CO_2, zatímco snížení obsahu kyslíku se dosahuje přívodem N_2.

Je-li přístroj vybaven modulem regulace atmosféry, lze jej použít k in-vitro studiím eukaryotních buněčných řad i ke studiím anaerobních a fakultativně anaerobních bakterií.

Modul regulace atmosféry je k dispozici ve dvou konfiguracích:

Konfigurace CO_2	Uvnitř měřicí komory lze regulovat koncentraci CO_2.
Konfigurace CO_2 a O_2	Uvnitř měřicí komory lze regulovat koncentraci CO_2 a/nebo O_2.

17.3.1 Bezpečnost při práci s plyny

Dodržujte následující pokyny:

- Při použití modulu regulace atmosféry dodržujte základní bezpečnostní opatření. Snížíte tak riziko poranění osob, vzniku požáru nebo úrazu elektrickým proudem.
- Pečlivě si přečtěte veškeré informace uvedené v této kapitole. Je důležité, abyste veškeré informace pochopili. Jestliže si pokyny v této kapitole nepřečtete, nepochopíte jejich obsah nebo nebudete postupovat v souladu s nimi, můžete způsobit poškození či snížení výkonu přístroje a poranění jeho obsluhy.
- Dodržujte veškeré pokyny v této kapitole uvozené slovy VÝSTRAHA a POZOR. Zajistěte dostupnost těchto bezpečnostních informací všem zaměstnancům, kteří budou pracovat s modulem regulace atmosféry.
- Má se za to, že obsluha přístroje je na základě svého vzdělání a zkušeností obeznámena s nezbytnými bezpečnostními opatřeními pro manipulaci s plynnými a biologicky nebezpečnými látkami.
- Při práci s potenciálně infekčním materiálem je třeba dodržovat vhodná preventivní opatření. Při manipulaci s biologicky nebezpečným materiálem si počínejte v souladu s příslušnými bezpečnostními normami a předpisy, jakož i v souladu se zásadami správné laboratorní praxe.
- Při práci se stlačenými plyny mimo přístroj a při otevřeném přístroji používejte ochranné brýle.



VÝSTRAHA: Volitelný modul regulace atmosféry je určen výhradně k přívodu CO_2 (oxidu uhličitého) a N_2 (dusíku). Volitelný modul regulace atmosféry smí používat pouze řádně vyškolené osoby.

NEPOUŽÍVEJTE HOŘLAVÉ A KRYOGENNÍ PLYNY!



VÝSTRAHA: Při práci s CO_2 a N_2 je třeba zajistit řádné odvětrání pracoviště.



VÝSTRAHA: Při práci se stlačenými plyny (přeprava, uskladnění, manipulace a používání) dodržujte příslušná bezpečnostní opatření!

Láhve s CO_2 a N_2 musí být nepřetržitě a bezpečně připevněny ve svislé poloze k rozměrnému, nehybnému objektu.

Plynové láhve musí být zajištěny proti pádu! Při upadnutí se může z láhve obsahující stlačený plyn snadno stát smrtící projektil!

17.3.2 Připojení plynu

Modul regulace atmosféry používejte v dobře větrané místnosti s regulovanou teplotou a vlhkostí vzduchu (nejlépe klimatizovaná místnost). Před aktivací modulu regulace atmosféry se přesvědčte, zda příslušné pracoviště vyhovuje těmto požadavkům:

Teplota: 15 ° C (59 ° F) – 35 ° C (86 ° F)

Nevystavujte přístroj ani jej neumísťujte do blízkosti přímého slunečního světla a jiných zdrojů tepla. Přístroj neprovozujte v prašném prostředí. Nevystavujte přístroj vlivu kapalin a výparů.

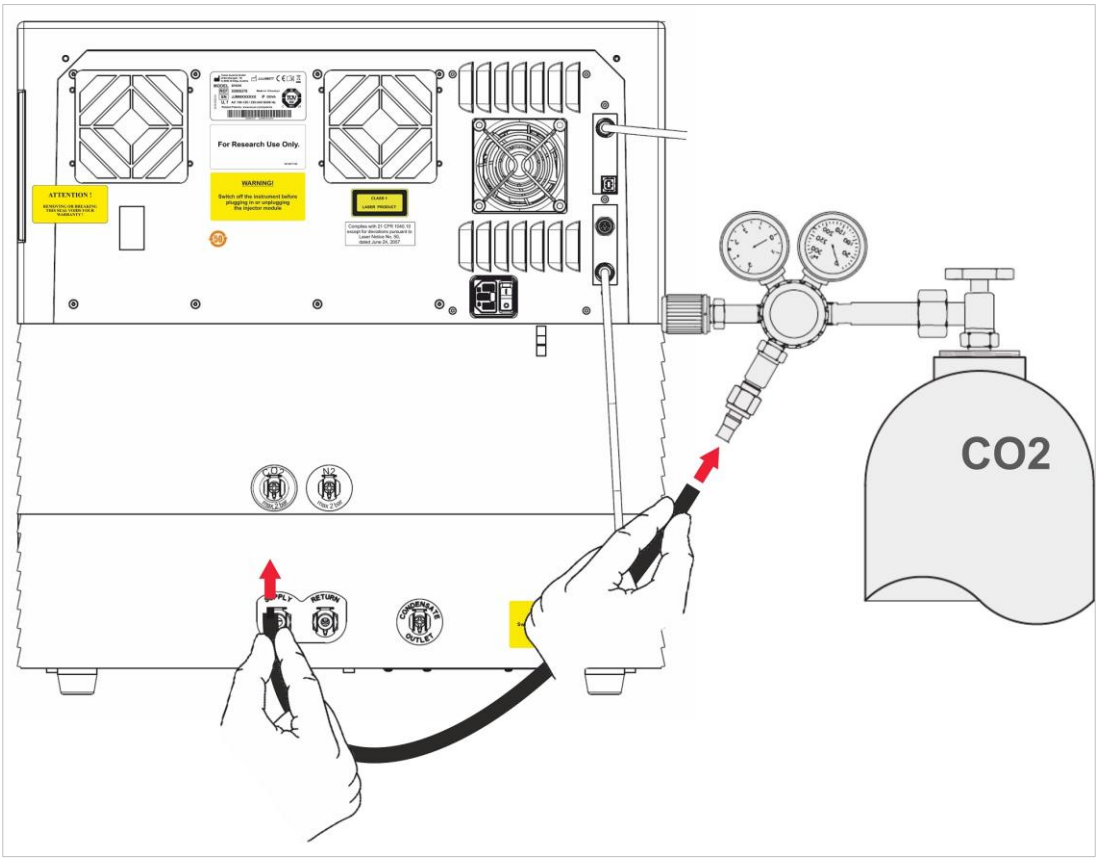
Za přístrojem ponechejte dostatek volného prostoru k zajištění přístupu k zadnímu panelu. Zajistěte ničím neomezenou přístupnost ke všem plynovým hadicím.

VÝSTRAHA: Při zavádění přívodu CO_2 a/nebo N_2 dodržujte vhodná preventivní opatření a bezpečnostní předpisy pro manipulaci s plyny. Pečlivě si prostudujte veškeré informace uvedené na etiketě a na bezpečnostním listu materiálu od výrobce či dodavatele.

VÝSTRAHA: Vždy používejte regulátor schválený k provozu s příslušným plynem a vybavený nízkotlakým a vysokotlakým měřidlem.

Následující informace obsahují podrobný popis postupu při připojování plynu:

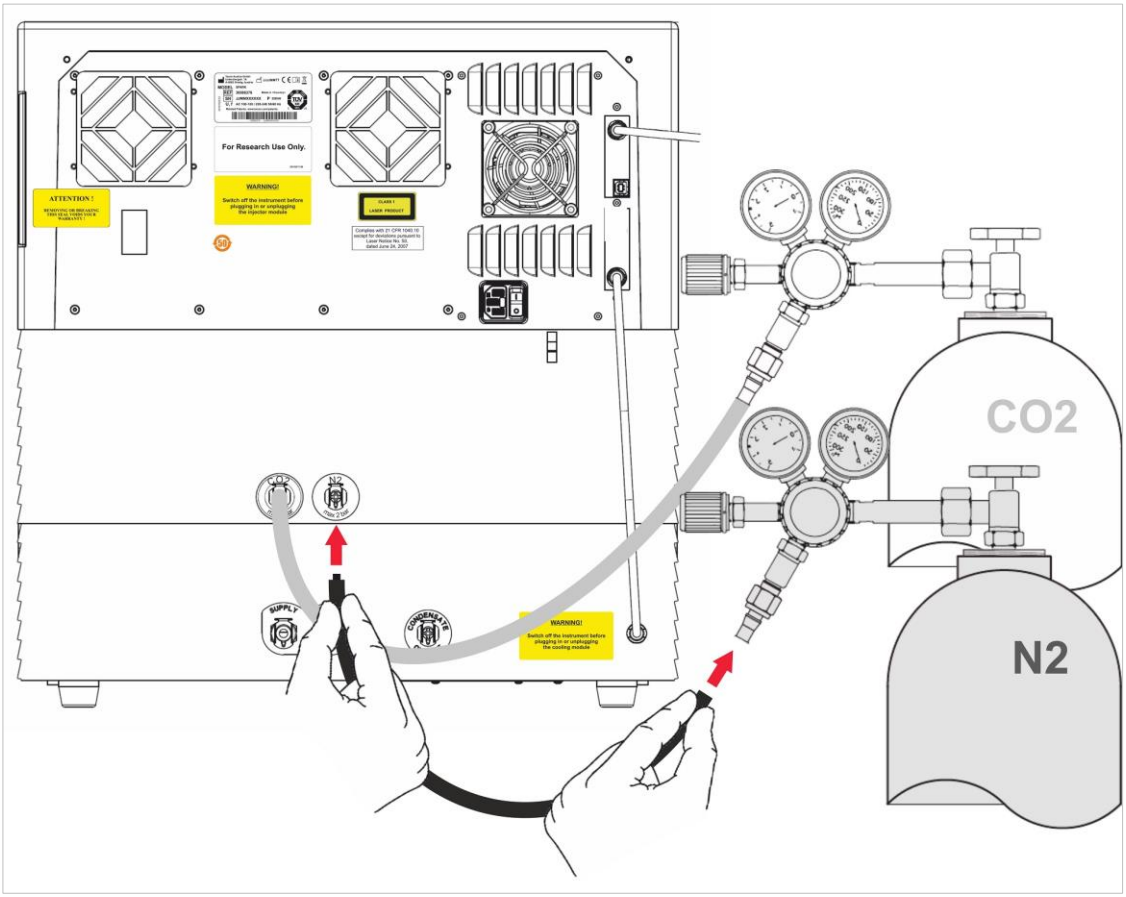
Připojte vývod regulátoru tlaku na láhvi s CO_2 nebo laboratorní plynové soustavě ke vstupu na zadní části přístroje (**CO_2**). Použijte dodanou hadici s rychlospojkou a připojte hadici k regulátoru na láhvi pomocí plastové spojky, jak je znázorněno na schématu níže.



Spusťte software SparkControl a zadejte svoji nadmořskou výšku (další podrobnosti naleznete v Referenční příručce a v návodu k použití SparkControl).

UPOZORNĚNÍ: Před zahájením práce s modulem regulace atmosféry je třeba do softwaru SparkControl uložit informaci o vaší nadmořské výšce.

Je-li modul regulace atmosféry nastaven na regulaci **CO_2 a O_2**, lze kromě regulace CO_2 regulovat prostřednictvím plynného dusíku i množství kyslíku. Připojte vývod regulátoru tlaku na láhvi s N_2 nebo laboratorní plynové soustavě ke vstupu na zadní části přístroje (N_2). Použijte dodanou hadici s rychlospojkou a připojte hadici k regulátoru na láhvi pomocí plastové spojky, jak je znázorněno na schématu níže.



17.3.3 Plynové láhve s CO_2 a N_2 (nejsou součástí dodávky přístroje)

Regulace koncentrace plynů vyžaduje použití plynových láhví nebo laboratorní plynové soustavy s redukčním ventilem.

Plyny: oxid uhličitý (CO_2) k regulaci koncentrace CO_2; dusík (N_2) k redukci koncentrace O_2 (např. láhev s objemem 50 litrů). Používané plyny by měly vyhovovat níže uvedeným požadavkům na čistotu.

Plyn	Čistota plynu
CO_2	≥99,0 %
N_2	≥99,9 %

Redukční ventil musí být vybaven dvěma měřidly: jedním k měření tlaku v láhvi (vysokotlaké měřidlo) a jedním k měření redukovaného tlaku, max. 2 bar (29 psi; nízkotlaké měřidlo). Zajistěte, aby displej pro regulaci tlaku disponoval rozsahem 5 bar (72,5 psi) nebo nejvýše 15 bar (217,5 psi) a umožňoval regulaci od tlaku 1–2 bar. Zajistěte, aby byl použitý redukční ventil určen k práci v biologických aplikacích (vyžádejte si informace od výrobce).

Přípojka mezi plynovou láhví a redukčním ventilem bývá v různých zemích odlišná. **Správný typ přípojky zjistíte u dodavatele plynových lahví!** Zkontrolujte, zda přípojka redukčního ventilu vyhovuje vnitřnímu průměru plynové hadice vedoucí k přístroji. Vnitřní průměr hadice činí přibližně 6 mm. Hadice na konektoru k redukčnímu ventilu musí být zajištěna plastovou svorkou. Tento úkon může vyžadovat použití kleští.

Hadice nesmí být ohnutá ani zlomená.

Dle potřeby proveďte převod jednotek bar na psi: bar x 14,5 = psi (libry na čtvereční palec), např. 2 bar = 29,0 psi.

Plynové láhve zajistěte proti upadnutí: použijte vhodný stojan, stolní držák (s bezpečnostním řetězem nebo páskem) nebo případně kolébkový stojan, které lze zakoupit u dodavatele plynových láhví či objednat z katalogů laboratorních pomůcek.



VÝSTRAHA: Před otevřením hlavního ventilu zkontrolujte, zda jsou regulační a uzavírací ventil zavřené.



VÝSTRAHA: Zajistěte, aby tlak plynů (CO_2 a N_2) přiváděných do přístroje nepřekročil nejvyšší přípustný tlak, který činí 2 bar.



VÝSTRAHA: Po dobu přívodu plynů ponechávejte otvor na injektor zavřený. Jestliže injektor právě nepoužíváte, nahraďte jej maketou.



VÝSTRAHA: Před spuštěním metody, která vyžaduje přívod plynu, zkontrolujte těsnost plynového potrubí a konektorů a jejich správné připevnění.

17.3.4 Softwarová nastavení regulace atmosféry

Regulaci atmosféry lze aktivovat manuálně, nebo může být součástí metody.



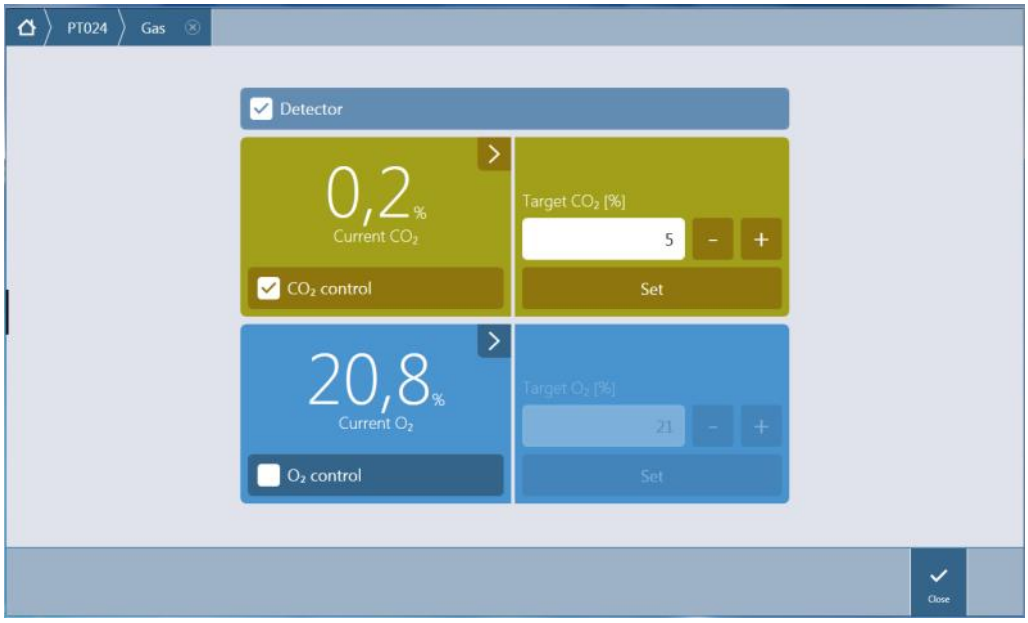
UPOZORNĚNÍ: Při spouštění metody obsahující regulaci atmosféry jsou – v případě neshod definicí – nastavení metody vždy nadřazená manuálnímu nastavení.



UPOZORNĚNÍ: Před zahájením práce s modulem regulace atmosféry je třeba do nastavení přístroje uložit informaci o vaší nadmořské výšce.

17.3.5 Manuální regulace atmosféry

Regulaci atmosféry lze manuálně aktivovat v okně **Gas Control (Regulace atmosféry)** v modulu **Dashboard** i v **editoru metod**.



Obrázek 27: Okno Gas Control (Regulace atmosféry)

Detektor/detektory plynů aktivujete výběrem položky **Detector (Detektor)**. Vyberte položky **CO_2 control (Regulace CO_2)** a/nebo **O_2 control (Regulace O_2)**. Zadejte požadovanou koncentraci plynů a kliknutím na tlačítko **Set (Nastavit)** spusťte regulaci plynů. Aktuální koncentraci plynů uvnitř přístroje můžete sledovat kliknutím na rozbalovací tlačítko v pravém horním rohu příslušné dlaždice. Chcete-li regulaci plynů zastavit, zrušte označení zaškrtávacích políček na dlaždici příslušných plynů. Chcete-li vypnout detektory plynů, zrušte označení zaškrtávacího políčka **Detector (Detektor)**.

POZOR: Definujete-li hodnoty obsahující desetinná místa, vždy k oddělení desetinných míst používejte znak nastavený v nabídce Oblast a jazyk operačního systému počítače.

UPOZORNĚNÍ: Zapnutí detektoru/detektorů plynů může několik minut trvat.

17.3.6 Regulace atmosféry prostřednictvím metody

UPOZORNĚNÍ: Regulace atmosféry započne společně se spuštěním metody. Je-li vybrána možnost **Wait for gas (Čekat na koncentraci plynů)**, měření bude zahájeno teprve poté, kdy koncentrace plynů v přístroji dosáhne nastaveného rozmezí. Informace o úpravě nastavení plynů před zahájením měření jsou uvedeny v kapitole 17.3.5 Manuální regulace atmosféry.

UPOZORNĚNÍ: Zapnutí detektoru/detektorů plynů může několik minut trvat. Před zahájením měření s regulací atmosféry doporučujeme zapnout detektor/detektory.

Řádek Gas (Plyn)

Tento řádek se používá k regulaci atmosféry.
Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



POZOR: Definujete-li hodnoty obsahující desetinná místa, vždy k oddělení desetinných míst používejte znak nastavený v nabídce Oblast a jazyk operačního systému počítače.



VÝSTRAHA: Zajistěte, aby během inkubace bylo do přístroje přiváděno dostatečné množství CO_2 nebo N_2. Jestliže spotřebujete celou zásobu plynů nebo dojde-li k závadě na jejich přívodu, tyto skutečnosti mohou negativně ovlivnit nebo poškodit buněčnou aplikaci.



VÝSTRAHA: Mikrotitrační destičku přikryjte prodyšnou přilnavou fólií, páskou nebo krytem. Přikrytí destičky usnadňuje kulturám výměnu plynů (ventilaci) a současně působí coby prevence odpařování během přívodu plynů.



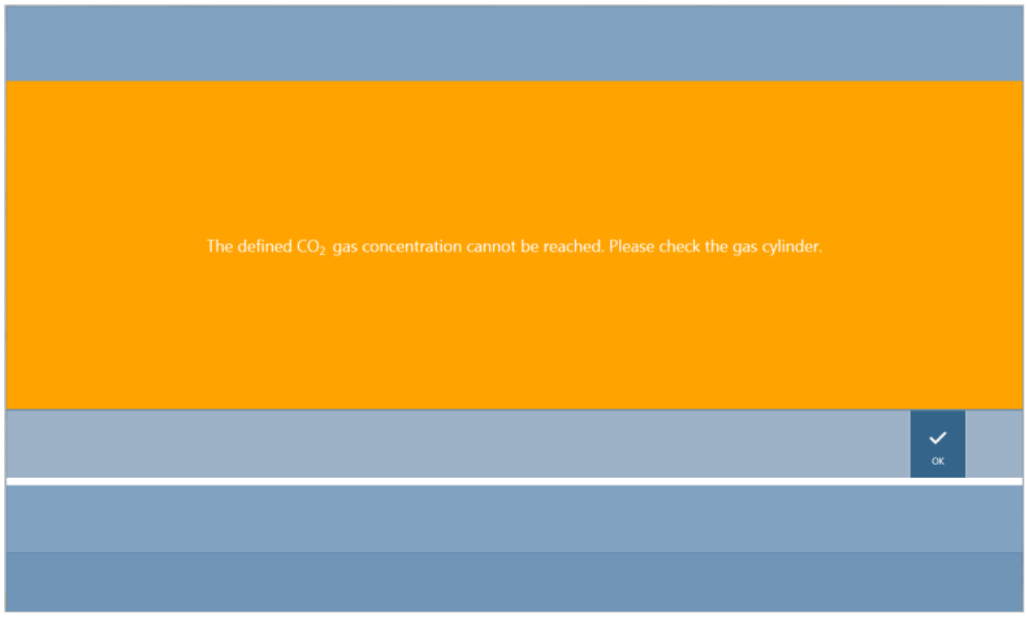
UPOZORNĚNÍ: Do každé analýzy zařaďte kladnou a/nebo zápornou regulaci, jejíž nastavení bude odrážet vliv na životaschopnost buněk během inkubace.



VÝSTRAHA: S biologicky nebezpečným odpadem zacházejte v souladu s bezpečnostními normami a předpisy.

17.3.7 Zvuková výstraha

Není-li do 20 minut po prvotní aktivaci režimu regulace atmosféry dosažena cílová koncentrace nebo dochází-li po dobu delší než 10 minut za provozu ke kolísání koncentrace, např. s odchylkou > +/- 20 %, zazní zvukový výstražný signál. Zvukový signál pomáhá například rozpoznat vyčerpání zásoby plynu (prázdnou láhev). Software zobrazí zprávu s informací, kterého plynu se výstraha týká, a pokynem ke kontrole příslušné plynové láhve. Kliknutím na tlačítko OK ztlumíte zvukový signál a můžete pokračovat ve zpracování metody.



Obrázek 28: Ztlumení výstražného zvukového signálu souvisejícího s plynem

Při ztrátě energie se plynové ventily automaticky uzavřou.

17.4 Regulace vlhkosti

Kapaliny se v největší míře odpařují při dlouhodobých studiích (3 dny a déle). Odpařování je nejvýraznější zejména v případě dlouhodobých experimentů s živými buňkami, přičemž ovlivňuje zvláště vnější jamky a především rohové jamky destičky. Odpařováním vody se zvyšuje koncentrace dalších látek v médiu. Tato skutečnost může ovlivnit růst buněk a výkon analýzy, a tak způsobit kolísání a nesprávnost výsledků.

Vlhkostní kazeta zajišťuje pasivní stabilizaci vlhkosti a snižuje míru odpařování během dlouhodobé inkubace. Vlhkostní kazetu lze použít ve spojení s destičkami všech formátů, od 1 do 384 jamek, které vyhovují normě SBS. Kazeta současně umožňuje souběžnou inkubaci a detekci signálu ve všech režimech měření. Výměna plynů (ventilace), detekce signálu a vstřikovací kroky lze v takovém případě využít ve spojení s volitelným mechanismem otevírání víčka. Režimy třepání se při použití vlhkostní kazety omezují na orbitální a dvojitý orbitální režim.

UPOZORNĚNÍ: Vlhkostní kazetu lze použít pouze ve spojení s volitelným mechanismem otevírání víčka.

Provedení SPARK CYTO vyžadují použití specifických vlhkostních kazet s upravenými rozměry, které jsou na etiketě označeny nápisem „Cyto“. V porovnání se standardními vlhkostními kazetami je zde odlišný maximální plnicí objem zásobníků. Lze je používat ve spojení s kompatibilními destičkami všech formátů (6jamkové až 384jamkové). Způsob manipulace se nikterak neliší od běžných vlhkostních kazet.

VÝSTRAHA: Vlhkostní kazety Cyto vždy používejte ve spojení s modulem pro snímání buněk. V opačném případě by mohlo dojít k poškození přístroje.

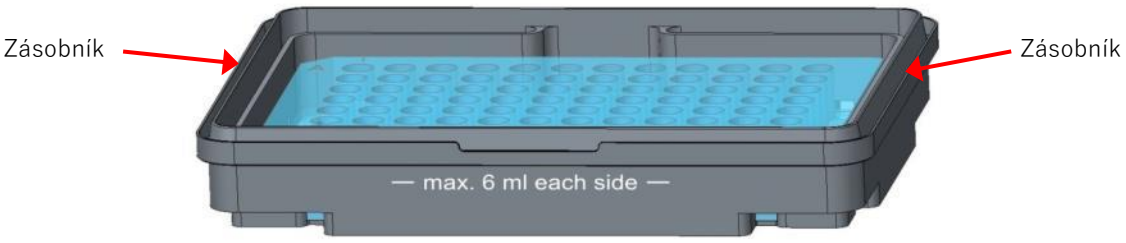
17.4.1 Vlhkostní kazeta: standardní/Cyto

Vlhkostní kazeta se skládá ze zásobníků na vodu a víčka s magnetickou fólií, která usnadňuje otevírání. Víčko se z důvodu prevence odpařování zavírá. Aby mohlo docházet k výměně plynů (ventilaci), je třeba v softwaru nejprve aktivovat volitelný mechanismus otevírání víčka.

VÝSTRAHA: Vlhkostní kazety nejsou kompatibilní s modulem Spark-Stack.



Obrázek 29: Vlhkostní kazeta



Obrázek 30: Základní část vlhkostní kazety, která obsahuje mikrotitrační destičku a zásobníky na vodu

Standardní vlhkostní kazety

K dispozici jsou dva typy kazety, malá a velká, které mohou pojmout různé typy mikrotitračních destiček.

Vlhkostní kazeta – malá: Tuto kazetu lze použít ve spojení s 96jamkovými a 384jamkovými destičkami bez víčka. Maximální přípustná výška destičky činí 16 mm. Při aktivaci mechanismu otevírání víčka v softwaru lze malou kazetu použít ve všech detekčních režimech. Maximální množství náplně jednotlivých zásobníků činí 4 ml.

Vlhkostní kazeta – velká: Tuto kazetu lze použít ve spojení s 6jamkovými až 384jamkovými destičkami, s víčkem i bez víčka, do maximální výšky destičky 23 mm (včetně víčka). Při aktivaci mechanismu otevírání víčka v softwaru lze velkou vlhkostní kazetu použít ve všech detekčních režimech s výjimkou luminiscence. Maximální množství náplně jednotlivých zásobníků činí 6 ml.

Vlhkostní kazety Cyto

Vlhkostní kazety dodávané společně s modulem pro snímání buněk disponují v porovnání se standardními vlhkostními kazetami odlišným maximálním plnicím objemem.

Vlhkostní kazeta – Cyto, malá: Tuto kazetu lze použít ve spojení s 96jamkovými a 384jamkovými destičkami bez víčka. Maximální přípustná výška destičky činí 16 mm. Při aktivaci mechanismu otevírání víčka v softwaru lze nízkou vlhkostní kazetu použít ve všech detekčních režimech. Maximální plnicí objem jednotlivých zásobníků činí 3 ml.

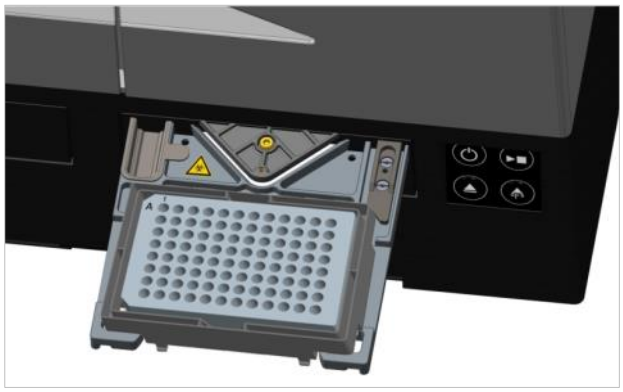
Vlhkostní kazeta – Cyto, velká: Tuto kazetu lze použít ve spojení s 6jamkovými až 384jamkovými destičkami, s víčkem i bez víčka, do maximální výšky destičky 23 mm (včetně víčka). Při aktivaci mechanismu otevírání víčka v softwaru lze velkou vlhkostní kazetu použít ve všech detekčních režimech s výjimkou luminiscence. Maximální plnicí objem jednotlivých zásobníků činí 5,2 ml.



VÝSTRAHA: Nezapomeňte v softwaru nastavit správný typ vlhkostní kazety (malá, nebo velká). V opačném případě může dojít k poškození přístroje.

17.4.2 Postup při manipulaci

1. V případě malé kazety naplňte jednotlivé zásobníky 3–4 ml destilované vody, v případě velké kazety naplňte zásobníky 6 ml destilované vody. K plnění použijte pipetu.
2. Vložte mikrotitrační destičku (s víčkem či bez něj) obsahující zkoumané vzorky do základny vlhkostní kazety. Zkontrolujte správnou orientaci destičky dle značení na kazetě.
3. Umístěte víčko na kazetu a pečlivě ji zavřete. Víčko umístěte tak, aby pozice A1 na destičce souhlasila s pozicí A1 označenou na víčku kazety.
4. Umístěte vlhkostní kazetu na držák destičky. Dbejte na správnou orientaci jamky A1, která se musí nacházet v levém horním rohu držáku.



Obrázek 31: Mikrotitrační destička na držáku s jamkou A1 v levém horním rohu

5. Spusťte metodu.



POZOR: Před zahájením měření s použitím vlhkostní kazety zkontrolujte, zda se pozice A1 na destičce i na kazetě nachází ve správné poloze. Jamka A1 se musí nacházet v levém horním rohu držáku.



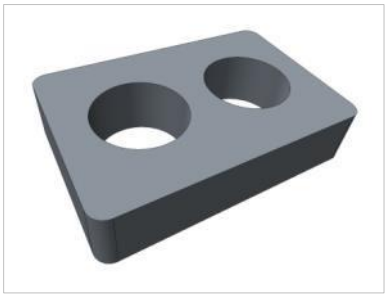
VÝSTRAHA: Zásobníky na vodu neplňte větším než doporučeným množstvím vody. Předejdete tak jejich přetečení.

VÝSTRAHA: Před umístěním vlhkostní kazety na přepravní mechanismus destičky zkontrolujte, zda je víčko kazety řádně zavřené.

6. Po dokončení analýzy a vysunutí držáku destičky lze vlhkostní kazetu obsahující mikrotitrační destičku snadno vyjmout z držáku. Sejměte víko z kazety a umístěte dolní část kazety s destičkou na uvolňovací přípravek, který umožňuje snadné vyjmutí destičky z kazety.

Vlhkostní kazetu lze čistit 70% roztokem etanolu a sterilizovat při nejvyšší teplotě 125 ° C.

Uvolňovací přípravek je součástí původního obalu vlhkostní kazety a je umístěn pod její dolní částí. Přípravek je vyřezán do obalového materiálu, avšak nikoli vylomen. Zatlačte na pěnový dílec a odstraňte jej.



Obrázek 32: Uvolňovací přípravek (součást obalu)

17.4.3 Nastavení softwaru

Vlhkostní kazetu lze vybrat coby součást řádku Plate (Destička).

UPOZORNĚNÍ: Vlhkostní kazeta se používá ve spojení s mechanismem otevírání víčka. Před použitím mechanismu otevírání víčka zkontrolujte, zda se na víku kazety nachází magnetická deska.

UPOZORNĚNÍ: Možnost **Removable Lid (Odnímatelné víčko)** nelze použít ve spojení s vlhkostní kazetou. Hodláte-li použít kryt destičky, vyberte v softwaru možnost **Lid (Víčko)**.

Ventilace

Nastavení ventilace, tj. délku trvání a délku intervalu, lze nastavit na řádcích **Shake (Třepání)** a **Wait (Čekání)**.

Třepání

Režimy třepání se při použití vlhkostní kazety omezují na orbitální a dvojitý orbitální režim. Tím je zabráněno přetečení kapaliny.

17.5 Specifikace regulace prostředí

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

17.5.1 Ohřev

Parametry	Vlastnosti
Rozsah ohřevu	+3 ° C nad teplotou okolí až +42 ° C
Rozsah ohřevu s aktivní regulací atmosféry	+3 ° C nad teplotou okolí až +42 ° C
Uniformita ohřevu	< 0,5 ° C v rozmezí 30 ° C až 37 ° C v inkubační poloze
Okolní provozní podmínky	+15 ° C až +35 ° C

17.5.2 Chlazení

Parametry	Vlastnosti
Rozsah chlazení	+18° C až +42° C
Uniformita chlazení na 96jamkové destičce	< 1° C při teplotě destičky v rozmezí 18° C až 37° C
Okolní provozní podmínky	+ 18° C nad teplotu okolí až +30° C

17.5.3 Regulace atmosféry

Parametry	Vlastnosti
Rozsah koncentrace CO_2	0,04 % až 10 % objemu
Přesnost koncentrace CO_2	< 1 %
Rozsah koncentrace O_2	0,1 % až 21 % obj. (nepřesná regulace pod úrovní 0,5 % a pod úrovní 0,8 % s aktivním chlazením)
Přesnost koncentrace O_2	< 0,5 %

UPOZORNĚNÍ: Citlivost senzoru CO_2 pod úrovní 0,1 % je nepřesná.

17.5.4 Regulace vlhkosti

Parametry	Vlastnosti
96jamková destička s víčkem, inkubace 4 dny při teplotě +37 ° C a obsahu 5 % CO_2	Odpařování <10 % (s výjimkou vnějších jamek; první a poslední sloupec, první a poslední řádek)
Provozní podmínky	+18 ° C až +42 ° C

18 Aplikace NanoQuant

Destička NanoQuant je určena ke kvantifikaci nukleových kyselin a proteinů ve vzorcích s objemem 2 µl za použití absorbance coby detekčního režimu.

Společnost Tecan dodává s přístrojem dvě aplikace pro rutinní analýzu nukleových kyselin: aplikaci NanoQuant Quantitation, která slouží ke stanovení množství nukleových kyselin při 260 nm a která současně umožňuje rychlý přístup k informacím o koncentraci a čistotě použitých vzorků.

Aplikace Labeling Efficiency (Účinnost značkování) poskytuje doplňující informace o koncentraci markeru/markerů použitých ke značkování.

Pro kvantitativní stanovení proteinů nabízí společnost Tecan aplikaci NanoQuant Protein Quantitation App. Kvantitativní stanovení proteinů se provádí měřením jejich specifické absorbance při vlnové délce 280 nm.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

18.1 Aplikace pro kvantifikaci nukleových kyselin (Nucleic Acid Quantitation App)

UPOZORNĚNÍ: Vzorky obsahující čistou DNA vykazují poměr 260/280 v rozmezí 1,8–1,9, zatímco poměr vzorků obsahujících čistou RNA činí přibližně 2,0. Nižší hodnoty poměru mohou poukazovat na přítomnost proteinů nebo jiných kontaminantů. Je-li tomu tak, doporučuje se přidat další purifikační krok.

UPOZORNĚNÍ: Čisté nukleové kyseliny vykazují poměr 260/230 v rozmezí 2,0–2,2. Je-li tento poměr výrazně nižší než očekávaný, může tato skutečnost poukazovat například na přítomnost solí nebo organických rozpouštědel. Je-li tomu tak, doporučuje se přidat další purifikační krok.

UPOZORNĚNÍ: Jednotlivé blankování vyžaduje blankování všech jamek, které budou použity k následnému měření. Korekce vzorků blankem se provádí za použití jediné blankovací hodnoty příslušné jamky na destičce NanoQuant. U blankování jednotlivých jamek je třeba vybrat alespoň jednu jamku.

UPOZORNĚNÍ: Průměr blanku: Vyžaduje se výběr alespoň dvou jamek, a to nezávisle na počtu jamek použitých v následném měření vzorku. Naměřené hodnoty blanku se průměrují a vypočítaná průměrná hodnota se následně použije ke korekci hodnot naměřených u vzorku.

UPOZORNĚNÍ: Výsledky blankování se uloží s ohledem na parametry blankování, nastavení vlnové délky a typ vzorku. Při změně libovolného z těchto parametrů je třeba blankování opakovat.

18.1.1 Validační kritéria pro výsledky blankování



UPOZORNĚNÍ: Blankování jednotlivých jamek nevyžaduje validační kritéria.



UPOZORNĚNÍ: Průměr blanku: Výsledek blankování je platný, je-li CV (variační koeficient) nezpracovaných hodnot OD při 260 nm nižší než mezní hodnota 10 %. Není-li toto kritérium splněno, je třeba blankování opakovat. Přístroj v takovém případě nedovolí spustit měření vzorků. Jamky vykazující hodnoty, které překračují přípustnou mez variačního koeficientu, se zvýrazní v softwaru.

18.1.2 Opakované zaslepení (Repeat Blanking)



UPOZORNĚNÍ: V případě chybných výsledků měření opakujte blankování. Blankování je třeba opakovat i v případě použití nových vzorků.



POZOR: Při opakovaném blankování přístroj odstraní aktuální výsledky blankování.



POZOR: Otevření a zavření aplikace NanoQuant nevede ke ztrátě výsledků blankování. Ke ztrátě výsledků blankování vede odpojení přístroje nebo restartování softwaru.

18.1.3 Spuštění měření

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



UPOZORNĚNÍ: Všechna data výsledků se automaticky exportují do aplikace Microsoft Excel.

18.2 Aplikace pro účinnost značení (Labeling Efficiency App)

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

18.3 Aplikace pro kvantifikaci proteinů (Protein Quantitation App)



UPOZORNĚNÍ: Výsledkem práce s výchozími vzorky je výpočet odpovídající koncentrace bílkovin v mol/l. Chcete-li získat hodnoty koncentrace v mg/ml, nahlédněte do kapitoly Edit Sample (Upravit vzorek) v návodu SparkControl.



UPOZORNĚNÍ: Individuální zaslepení vyžaduje zaslepení všech jamek, které mají být použity pro následná měření. Korekce slepých vzorků se provádí pomocí jedné hodnoty slepého měření příslušné jamky na destičce NanoQuant. Pro individuální blanking je vyžadován výběr alespoň jedné jamky.



UPOZORNĚNÍ: Výsledky blankování se uloží s ohledem na parametry blankování, nastavení vlnové délky a typ vzorku. Při změně libovolného z těchto parametrů je třeba blankování opakovat.

18.3.1 Validační kritéria pro výsledky blankování



UPOZORNĚNÍ: Blankování jednotlivých jamek nevyžaduje validační kritéria.



UPOZORNĚNÍ: Pokud byla překročena definovaná prahová hodnota, systém vydá varování. Měření vzorků lze ještě provést.

18.3.2 Opakované zaslepení (Repeat Blanking)



UPOZORNĚNÍ: V případě chybných výsledků měření opakujte blankování. Blankování je třeba opakovat i v případě použití nových vzorků.



POZOR: Při opakovaném blankování přístroj odstraní aktuální výsledky blankování.



POZOR: Otevření a zavření aplikace NanoQuant nevede ke ztrátě výsledků blankování. Ke ztrátě výsledků blankování vede odpojení přístroje nebo restartování softwaru.



UPOZORNĚNÍ: Všechna data výsledků se automaticky exportují do aplikace Microsoft Excel.

18.4 Údržba destiček NanoQuant

Čištění destiček NanoQuant představuje základní a nejdůležitější součást měření s ohledem na dosahování optimálních výsledků měření. Destičky NanoQuant lze čistit dvěma způsoby:

18.4.1 Čištění v ultrazvukové lázni

1. Naplňte ultrazvukovou lázeň vodou a umístěte do ní vhodnou kádinku naplněnou destilovanou vodou.
2. Zapněte ultrazvuk a ponořte víčko destičky NanoQuant do kádinky. Pohybujte destičkou nahoru a dolů přibližně po dobu 20 sekund. Dbejte, abyste nenamočili kloub destičky.
3. Stejný postup opakujte s dolní částí destičky NanoQuant.
4. Případné zbytky vody odstraňte z destičky NanoQuant suchým tlakovým vzduchem bez obsahu oleje.

18.4.2 Čištění pomocí laboratorních ubrousků

1. Namočte laboratorní ubrousek do 70% roztoku etanolu a očistěte povrch destičky NanoQuant z vnitřní i vnější strany.
2. Navlhčete bavlněný tampon nebo laboratorní ubrousek v destilované vodě a očistěte obě strany čočky destičky NanoQuant.
3. Zbytky kapalin otřete suchým laboratorním ubrouskem.

Po očištění destičku uložte na čisté a bezprašné místo. Na čočkách z křemenného skla se nesmí nacházet odletky, nečistoty, ani šmouhy. Jakákoli kontaminace může způsobit chybné výsledky měření. Při postupném měření různých vzorků lze jamky očistit (mokrým) laboratorním ubrouskem. Čištění a údržba jsou důležité z hlediska prodloužení životnosti destičky NanoQuant a snížení potřeby servisního zásahu. Očištění destičky NanoQuant skladujte v originálním zásobníku.



Pozor: Odletky, nečistoty a otisky prstů na čočkách mohou výrazně pozměnit hodnoty OD! Nedovolte znečištění distančních vložek: u destičky NanoQuant by mohlo způsobit změnu délky dráhy světelného paprsku, a tedy i změnu hodnot OD. Vzorky používejte pouze na čisté čočky!

19 Počítání buněk v buněčných čipech

K dispozici jsou dvě aplikace určené k okamžitému použití:

- **Životaschopnost buněk:** Počítání a stanovení životaschopnosti buněk se provádí souběžně, v rámci jediného měření. Kontrola životaschopnosti buněk vyžaduje přidání trypanové modři do buněčné suspenze v poměru 1:1. Při výpočtu výsledků se automaticky zohledňuje ředění.
- **Počítání buněk:** Tato aplikace vykonává samostatné počítání buněk a nevyžaduje přidání žádné látky do buněčného roztoku.



POZOR: Pamatujte, že roztok trypanové modři je homogenní. Nedovolte tvorbu částic barviva, které mohou ovlivnit analýzu dat.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.



POZOR: Buněčné čipy jsou jednorázové pomůcky a spotřební materiál. Nepoužívejte je po uplynutí data použitelnosti vyznačeného na dně obalu.



POZOR: Při manipulaci s buněčnými čipy vždy používejte ochranné rukavice. Chcete-li dosáhnout optimálních výsledků, vyvarujte se kontaminace a šmouh.



POZOR: Nepoužívejte adaptér na buněčné čipy bez pružin! Výsledkem takového počínání budou chybné výsledky měření.



POZOR: Před zahájením měření zkontrolujte, zda je adaptér na buněčné čipy vložen správně: otvor se musí nacházet vpředu a jamka A1 vlevo nahoře.



UPOZORNĚNÍ: Dobu analýzy lze zkrátit použitím menšího množství buněk.



UPOZORNĚNÍ: Při nízkých koncentracích (méně než $5x10^5$ buněk/ml), a tedy nižším počtu počítaných buněk na pořízeném snímku, se doporučuje pořídit vyšší počet snímků, který bude kompenzovat nepravidelnou distribuci buněk. Výsledky počítání buněk tak budou přesnější.



POZOR: Přepočítaná data se neukládají automaticky. Chcete-li po přepočítání data uložit, klikněte na panelu akcí na tlačítko **Export**.

20 Aplikace Kyveta

Aplikace Kyveta je navržena k rutinnímu absorbančnímu měření a k absorbančnímu skenování v koncovém bodě za použití kyvety.

Podrobný popis naleznete v návodu ke SparkControl.

UPOZORNĚNÍ: Při spouštění měření s novými parametry je vždy třeba provést měření Prepare Instrument (Připravit přístroj). Zkontrolujte, zda je přihrádka na kyvetu prázdná.

UPOZORNĚNÍ: Vyberete-li příkaz Edit parameters (Upravit parametry), aktuální relace měření se ukončí. Následně je třeba opakovat měření Prepare Instrument (Připravit přístroj).

21 Odstraňování potíží

21.1 Chyby a výstrahy softwaru SparkControl

Nelze-li některou chybu odstranit nebo vyskytuje-li se některá chyba opakovaně, obraťte se na zástupce servisu společnosti Tecan.

Další podporu naleznete také na této stránce:
https://www.tecan.com/knowledge-portal/microplate-reader#spark-troubleshooting.

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Chyby související se zařízením		
Initialization error for motor 'motor' (Chyba inicializace motoru „označení motoru“)	Chyba při inicializaci servopohonu	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte a znovu zapněte přístroj a opakujte předchozí postup.
Steploss error for motor 'motor' (Ztráta kroku motoru „označení motoru“)	Chyba servopohonu při kontrole po dokončení měření	Ohlaste chybu společnosti Tecan (výsledky nelze považovat za důvěryhodné). Vypněte a znovu zapněte přístroj a opakujte předchozí postup.
Motor 'motor' not initialized (Motor „označení motoru“ není inicializován)	Chyba servopohonu při kontrole před spuštěním měření	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte a znovu zapněte přístroj a opakujte předchozí postup.
Movement position 'position' not found (Poloha pohybu „označení polohy“ nebyla nalezena)	Nebyla nalezena logická poloha; chyba konfigurace	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Movement for motor 'motor' timed out! (Časový limit pro pohyb motoru „označení motoru“ vypršel!)	Chyba servopohonu	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Error reading temperature sensor (Chyba při čtení snímače teploty)	Závada snímače teploty	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Command 'command' is not valid (Příkaz „název příkazu“ není platný)	Chyba počítače – protokol pro komunikaci se zařízením	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Parameter 'parameter' is missing (Schází parametr „název parametru“)	Chyba počítače – protokol pro komunikaci se zařízením	Ohlaste chybu společnosti Tecan

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Module 'module' with number 'number' had an error|'add. text' (Modul „název modulu“ číslo „číslo“ zaznamenal chybu|„doplňující text“)	Chyba zařízení (modulu)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Submodule 'module' had an error|'add. text' (Dílčí modul „název modulu“ zaznamenal chybu|„doplňující text“)	Chyba zařízení (dílčího modulu)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
CAN Receive timeout from Module 'module' (Časový limit sběrnice CAN pro komunikaci s modulem „název modulu“ vypršel)	Chyba zařízení (vypršení časového limitu na sběrnici CAN)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
CAN communication error (Chyba komunikace na sběrnici CAN)	Chyba zařízení (sběrnice CAN)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
SPI timeout (Časový limit SPI vypršel)	Chyba zařízení (SPI)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
I2C timeout (Časový limit I2C vypršel)	Chyba zařízení (I2C)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
SCI timeout, Submodule 'sub-module' (Časový limit SCI vypršel, dílčí modul „název dílčího modulu“)	Chyba zařízení (SCI)	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Injector timeout (Časový limit injektoru vypršel)	Vypršel časový limit pro komunikaci s modulem injektoru	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte zařízení. Zkontrolujte kabeláž injektoru. Vypněte a znovu zapněte zařízení a opakujte předchozí postup.
Injector communication error (Chyba komunikace s injektorem)	Chyba komunikace mezi zařízením a modulem injektoru	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte zařízení. Zkontrolujte kabeláž injektoru. Vypněte a znovu zapněte zařízení a opakujte předchozí postup.
Answer 'answer' from internal Command 'command' wrong|'add. text' (Chybná odpověď „text odpovědi“ na interní příkaz „název příkazu“|„doplňující text“)	Chyba zařízení	Ohlaste chybu společnosti Tecan

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Buffer 'buffer' is out of memory|'add. text' (Nedostatečná kapacita vyrovnávací paměti „označení paměti“|„doplňující text“)	Chyba zařízení	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Buffer 'buffer' is out of memory|'add. text' (Nedostatečná kapacita vyrovnávací paměti „označení paměti“|„doplňující text“)	Chyba zařízení	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Sending the data over USB failed ('number' retries) (Odesílání dat přes port USB se nezdařilo („počet“ pokusů)	Chyba zařízení při odesílání dat přes kanál USB do počítače	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte zařízení. Zkontrolujte kabeláž USB. Vypněte a znovu zapněte zařízení a opakujte předchozí postup. Jedná-li se o chybu v důsledku nadměrného vytížení sběrnice USB nebo počítače, může pomoci zavřít ostatní aplikace.
Chyby související s komunikací (směr z počítače do zařízení)		
Not able to connect to the communication service (Nelze se připojit ke komunikační službě)	Nelze se připojit ke službě	Vypněte a zapněte zařízení. Restartujte služby kliknutím pravým tlačítkem myši na ikonu „SPARKCONTROL Agent“ v oznamovací oblasti (místní nabídka) a následným výběrem příkazu „Restart Services (Restartovat služby)“.
Lost connection to Instrument Server. (Došlo ke ztrátě spojení se serverem přístroje.) Terminate application (Ukončete aplikaci)	Spojení s přístrojem bylo přerušeno	Zavřete aplikaci (modul Dashboard nebo editor metod) Vypněte a zapněte zařízení. Restartujte služby kliknutím pravým tlačítkem myši na ikonu „SPARKCONTROL Agent“ v oznamovací oblasti (místní nabídka) a následným výběrem příkazu „Restart Services (Restartovat služby)“.
No instrument found (Přístroj nebyl nalezen)	Není přítomno žádné zařízení	Zapněte zařízení
Instrument not free (Přístroj není uvolněn)	Zařízení je vytíženo jiným procesem	Zkontrolujte, zda zařízení nevyužívá jiný program. Případně restartujte počítač.

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Instrument could not be acquired (Nelze získat kontrolu nad přístrojem)	Zařízení je vytíženo jiným procesem	Zkontrolujte, zda zařízení nevyužívá jiný program. Případně restartujte počítač.
Instrument is busy (Přístroj je zaneprázdněn)	Přístroj je zaneprázdněn	Vyčkejte, dokud se přístroj neuvolní
Error occurred: (Vyskytla se chyba:) 'command' („příkaz“)	Zařízení hlásí chybu příkazu „název příkazu“	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Unexpected message received: (Byla přijata neočekávaná zpráva:) 'response' („reakce“)	Zařízení odeslalo neočekávanou reakci	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Unexpected response format: (Neočekávaný formát reakce:) 'response' („reakce“)	Byl zjištěn neočekávaný formát reakce	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Checksum mismatch in received command (Chyba v kontrolním součtu přijatého příkazu)	Kontrolní součet odpovědní zprávy ze zařízení je chybný	Ohlaste chybu společnosti Tecan
No configuration found (Konfigurace nebyla nalezena)	Přístroj není správně nakonfigurován	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Chyby související s měřením		
Instrument has no lid lifter defined (V přístroji není nadefinován mechanismus otevírání víčka)	Přístroj není správně nakonfigurován	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Optimal Gain could not be found (Nelze najít nastavení optimálního výtěžku)	Nelze najít nastavení optimálního výtěžku	Použijte manuální nastavení výtěžku
Strongest well signal could not be found (Nelze najít nejsilnější signál jamky)	Nelze najít nastavení optimálního výtěžku	Použijte manuální nastavení výtěžku
Signal too low. (Nedostatečná síla signálu.) Gain could not be calculated (Nelze vypočítat výtěžek)	Nelze najít nastavení optimálního výtěžku	Použijte manuální nastavení výtěžku

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Unable to find optimal Z-position after n retries (Nelze najít optimální polohu na ose Z po n-tém počtu pokusů)	Nelze najít optimální polohu na ose Z	Použijte manuální nastavení polohy na ose Z
No reference blank selected (Nebyl vybrán referenční blank)	Není nastaven referenční blank pro měření fluorescenční polarizací	Vyberte jamku s referenčním blankem
Blank well 'Id' is not selected in the Plate strip (Jamka s blankem „označení jamky“ není na stripu destičky vybrána)	Není nastaven referenční blank pro měření fluorescenční polarizací	Vyberte jamku s referenčním blankem
No reference well selected (Nebyla vybrána referenční jamka)	Není nastavena referenční jamka pro měření fluorescenční polarizací	Vyberte referenční jamku
Signal well 'Id' is not selected in the Plate strip (Jamka signálu „označení jamky“ není na stripu destičky vybrána)	Není nastavena jamka signálu pro měření fluorescenční polarizací	Vyberte jamku signálu
Signal of reference well to low, choose another one (Nedostatečná síla signálu referenční jamky, vyberte jinou jamku)	Nedostatečná síla signálu referenční jamky	Použijte jinou jamku
Invalid G-Factor, signal of reference well is too low. (Neplatný G-faktor, nedostatečná síla signálu referenční jamky.)	Nelze stanovit G-faktor	Vyberte jinou jamku
Příliš vysoká úroveň temných detekcí	Příliš vysoká úroveň temných detekcí	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Dark value too high: (Příliš vysoká hodnota temných detekcí:) Darkvalue='value', Limit='limit' (Hodnota temných detekcí = „hodnota“, limit = „limit“)	Příliš vysoká úroveň temných detekcí	Ohlaste chybu společnosti Tecan
The lid check had an error! (Chyba kontroly víčka!)	Chyba kontroly víčka	Na přístroj dopadá nadměrné množství světla (z přímého slunečního svitu nebo ze vzorku)

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
The lid check had an error! (Chyba kontroly víčka!) Value='value', Limit='limit' (Hodnota = „hodnota“, limit = „limit“)	Chyba kontroly víčka	Na přístroj dopadá nadměrné množství světla (z přímého slunečního svitu nebo ze vzorku)
Low 'add. Text' signal error (Chyba: nízká úroveň signálu „doplňující text“)	Nízká úroveň světelného zdroje (nebo nedostatečná síla signálu)	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte a znovu zapněte přístroj a opakujte předchozí postup.
'Add. Text' signal overflow error (Chyba: přetečení signálu „doplňující text“)	Chyba přetečení	Nadměrná síla signálu; může se jednat o chybu zařízení. Případně: nadměrná síla signálu ze vzorku (snižte výtěžek)
Cancel of method failed (Storno metody se nezdařilo)	Nelze zastavit měření	Opakujte pokus
Pause of method failed. (Pozastavení metody se nezdařilo.)	Nelze pozastavit metodu (kinetické měření)	Opakujte pokus; ohlaste chybu společnosti Tecan.
Method can't be started because method 'method' is still pending on instrument 'device'. (Metodu nelze spustit, protože metoda „název metody“ čeká na zpracování v přístroji „název zařízení“.)	Metodu nelze spustit, protože jiná metoda čeká na zpracování	Vyčkejte, dokud se přístroj neuvolní
Method can't be started because instrument 'device' is in use. (Metodu nelze spustit, protože přístroj „název zařízení“ se používá.)	Metodu nelze spustit, protože přístroj se právě používá	Vyčkejte, dokud se přístroj neuvolní
Error occurred executing method 'method' (Chyba při vykonávání metody „název metody“)	Během vykonávání metody se vyskytla blíže neurčená chyba	Opakujte pokus; ohlaste chybu společnosti Tecan.
Lid already taken (Víčko je již zachyceno)	Víčko je již zachyceno mechanismem otevírání víčka	Vysuňte destičku a opět ji zasuňte
Autofocus Error: (Chyba automatického ostření:) No peak found! (Vrchol nebyl nalezen!)	Chyba aplikace/zařízení	Zkontrolujte destičku / Ohlaste chybu společnosti Tecan

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Všeobecné chyby		
Database doesn't exist! (Databáze neexistuje!)	Nelze otevřít databázi	Přeinstalujte aplikaci
WCF call failed after 'n' retries (Volání WCF se nezdařilo po n-tém pokusu)	Při odesílání zprávy z modulu Dashboard nebo z editoru metod do serveru se vyskytla blíže neurčená chyba	Zavřete aplikaci (modul Dashboard nebo editor metod) Vypněte a zapněte zařízení. Restartujte služby kliknutím pravým tlačítkem myši na ikonu „SPARKCONTROL Agent“ v oznamovací oblasti (místní nabídka) a následným výběrem příkazu „Restart Services (Restartovat služby)“.
Not able to find given printer (Zvolenou tiskárnu nelze najít)	Nelze najít tiskárnu	Zkontrolujte nastavení tiskárny
There is not enough memory available for image processing (Ke zpracování snímků není k dispozici dostatek paměti)	Chyba alokace paměti během zpracování snímku	Zavřete ostatní aplikace. Rozšiřte operační paměť počítače
Memory allocation failed (Alokace paměti se nezdařila)	Chyba alokace paměti během pořizování nebo zpracování snímku	Zavřete ostatní aplikace. Rozšiřte operační paměť počítače
Imaging Server not found (Server snímků nebyl nalezen)	Nelze se připojit k serveru snímků	Zavřete aplikaci (modul Dashboard nebo editor metod) Vypněte a zapněte zařízení. Restartujte služby kliknutím pravým tlačítkem myši na ikonu „SPARKCONTROL Agent“ v oznamovací oblasti (místní nabídka) a následným výběrem příkazu „Restart Services (Restartovat služby)“.
The PDFX directory: 'directory' doesn't exist (Složka se soubory PDFX: „název složky“ neexistuje)	Složka obsahující soubory definice destiček neexistuje (nebo není přístupná)	Přeinstalujte aplikaci

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Camera initialization failed (Inicializace fotoaparátu se nezdařila)	Nelze inicializovat modul fotoaparátu	Zavřete aplikaci (modul Dashboard nebo editor metod) Vypněte a zapněte zařízení. Restartujte služby kliknutím pravým tlačítkem myši na ikonu „SPARKCONTROL Agent“ v oznamovací oblasti (místní nabídka) a následným výběrem příkazu „Restart Services (Restartovat služby)“. Jestliže potíže přetrvávají, obraťte se na společnost Tecan.
Instrument 'device' is defective. (Závada přístroje „název zařízení“.)	Byla zjištěna přítomnost vadného zařízení	Ohlaste chybu společnosti Tecan
Chyby související s injektorem		
Injector carrier is inserted (Je přítomen držák injektoru)	Je přítomen držák injektoru (v situaci, kdy by neměl být zasunutý v přístroji)	Vyjměte držák injektoru
Injector carrier is not inserted (Není přítomen držák injektoru)	Není přítomen držák injektoru (v situaci, kdy by měl být zasunutý v přístroji)	Zasuňte držák injektoru
Plate is not inserted (Není vložena destička)	Přístroj nezjistil přítomnost destičky	Vložte destičku
The injection volume would be greater than the maximum capacity of the wells of the selected microplate. (Vstřikovací objem by byl větší než nejvyšší přípustná kapacita jamek na vybrané destičce.) Vstřikování je přerušeno.	Nadměrný plnicí objem	Snižte objem
Injection is not possible with a plate cover. (Při použití krytu destičky nelze použít vstřikování.)	Vstřikování nelze provést	Sejměte kryt z destičky (a upravte obsah řádku Plate (Destička))
Injector 'injector' is not primed. (Injektor „označení injektoru“ není naplněný.) Please prime the injector. (Naplňte injektor.)	Injektor není naplněný	Před použitím injektor naplňte

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Chyby související s filtry		
Filter 'filter' - Maximum characters of filter description is 'n' (Filtr „název filtru“ – Nejvyšší počet znaků v popisu filtru činí „n“)	Nadměrná délka popisu filtru	Zkraťte text
Maximum characters of filter slide description is 'n' (Nejvyšší počet znaků v popisu kazety s filtry činí „n“)	Nadměrná délka popisu filtru	Zkraťte text
Filter 'filter' - Bandwidth must be in the range of 5 - 100 nm (Filtr „název filtru“ – Šířka pásma se musí nacházet v rozmezí 5–100 nm)	Nastavená šířka pásma je mimo přípustný rozsah	Nastavte správnou šířku pásma
Filter 'filter' - Wavelength must be in the range of 230 - 900 nm (Filtr „název filtru“ – Vlnová délka se musí nacházet v rozmezí 230–900 nm)	Nastavená vlnová délka je mimo přípustný rozsah	Nastavte správnou vlnovou délku
Defined filter was not found. (Zvolený filtr nebyl nalezen.)	Požadovaný filtr nebyl nalezen	Do kazety s filtry umístěte příslušný filtr
Filter not found 'filter' (Filtr „název filtru“ nebyl nalezen)	Požadovaný filtr nebyl nalezen	Do kazety s filtry umístěte příslušný filtr
Filter 'filter' not inserted! (Není vložen filtr „název filtru“!)	Není vložen požadovaný filtr	Vložte správný filtr
Defined mirror was not found. (Zvolené zrcadlo nebylo nalezeno.)	Zrcadlo nebylo nalezeno	Ohlaste chybu společnosti Tecan (jedná-li se o uživatelsky nastavený filtr: použijte a nastavte správné zrcadlo)
Chyby související s modulem Spark-Stack		
Input magazine is empty (Vstupní zásobník je prázdný)	Při spouštění chodu s využitím stohovacího modulu se ve vstupním zásobníku nenacházejí žádné destičky.	Vložte destičku/destičky do vstupního zásobníku a poté spusťte chod s využitím stohovacího modulu. Opakujte pokus o spuštění chodu s využitím stohovacího modulu.

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Output magazine is not empty (Výstupní zásobník není prázdný)	Při spouštění chodu s využitím stohovacího modulu se ve vstupním zásobníku nenacházejí žádné destičky.	Vyjměte destičku z výstupního zásobníku. Opakujte pokus o spuštění chodu s využitím stohovacího modulu.
Plate carrier is not empty (Držák destičky není prázdný)	Před spuštěním chodu s využitím stohovacího modulu musí být držák destičky prázdný.	Vyjměte destičku z držáku. Opakujte pokus o spuštění chodu s využitím stohovacího modulu.
Start of method as stacker run not possible (Metodu nelze spustit jako metodu s využitím stohovacího modulu)	Do modulu není vložen žádný zásobník, popř. je vložený zásobník nakloněný.	Řádně namontujte vstupní zásobník (s destičkami) a výstupní zásobník (bez destiček). Zatlačte pevně shora na zásobník; tím zásobník zajistíte ve správné poloze.
No plate detected during stacker run in input column or for restacking in output column. (Error:...Stacker get/stack column_Input/Output …) Za chodu s využitím stohovacího modulu nebyla zjištěna přítomnost destičky ve vstupním zásobníku, popř. ve výstupním zásobníku v případě opětovného stohování. (Chyba:...Stacker get/stack magazine_Input/Output …)	Na zvedací plošině stohovacího modulu nebo v přepravním mechanismu destičky nebyla zjištěna přítomnost destičky.	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte přístroj. Demontujte vstupní i výstupní zásobník. Je-li třeba, vyjměte destičku ze zvedací plošiny stohovacího modulu. Vysuňte držák destičky z čtečky SPARK. Dle potřeby vyjměte destičku a prázdný držák zasuňte zpět do čtečky SPARK. Opět namontujte zásobníky na destičky do modulu Spark-Stack. Zkontrolujte, zda destičky nejsou poškozené. Opakujte pokus o spuštění chodu s využitím stohovacího modulu.
Initialization error (Chyba inicializace) Steploss error (Ztráta kroku)	Chyba servopohonu při inicializaci stohovacího modulu.	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte přístroj. Demontujte vstupní i výstupní zásobník. Je-li třeba, vyjměte destičku ze zvedací plošiny stohovacího modulu. Vysuňte držák destičky z čtečky SPARK. Dle potřeby vyjměte destičku a prázdný držák zasuňte zpět do čtečky SPARK. Opět namontujte zásobníky na destičky do modulu Spark-Stack. Opakujte pokus o spuštění chodu s využitím stohovacího modulu.

Chyba	Popis	Možné řešení / náhradní postup
Power Failure (Výpadek napájení)	Došlo k přerušení přívodu napájení	Ohlaste chybu společnosti Tecan. Vypněte přístroj. Demontujte vstupní i výstupní zásobník. Je-li třeba, vyjměte destičku ze zvedací plošiny stohovacího modulu. Po obnovení přívodu napájení: Vysuňte držák destičky z čtečky SPARK. Dle potřeby vyjměte destičku a prázdný držák zasuňte zpět do čtečky SPARK. Opět namontujte zásobníky na destičky do modulu Spark-Stack. Opakujte pokus o spuštění chodu s využitím stohovacího modulu.
Stacker communication error (Chyba komunikace se stohovacím modulem)	Přístroj se nedokáže připojit ke stohovacímu modulu; stohovací modul nekomunikuje.	Zavřete aplikaci (modul Dashboard nebo editor metod). Vypněte a opět zapněte přístroj. Restartujte služby (Restart services). Viz kapitola 21.2 Spark Services Manager.

21.2 Spark Services Manager

Spark Services Manager (Správce služeb Spark) lze nalézt v systémové liště Microsoft Windows. Systémová lišta poskytuje uživatelům rychlý přístup k systémovým funkcím, jako je síť, hlasitost, stav baterie a váš Tecan Spark Services Manager.

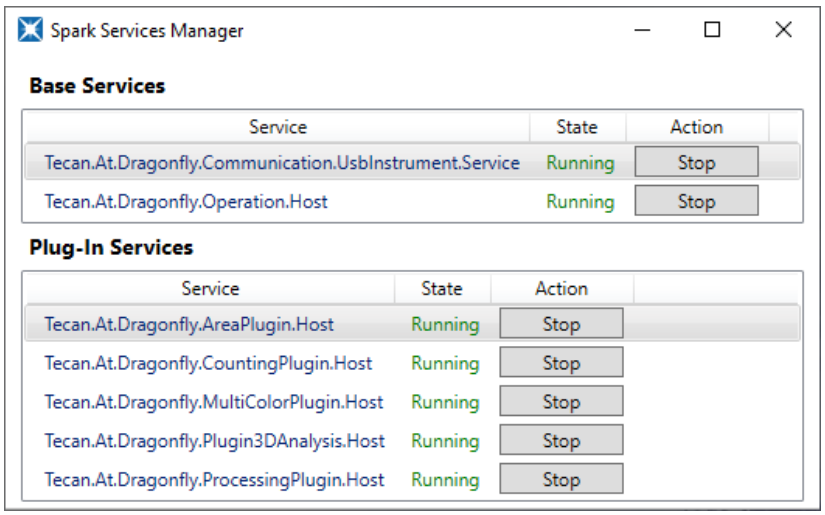
Ve Windows 10 a Windows 11 se systémová lišta (také známá jako oznamovací oblast) obvykle nachází na pravé straně hlavního panelu:



Obrázek 33: Příklad pro Spark Services Manager

Klikněte pravým tlačítkem na ikonu SparkControl pro otevření nabídky a poté vyberte Spark Services Manager:





Služby lze podle potřeby ručně spustit nebo zastavit.

Rejstřík

A

Absorbanční skenování 81
Absorbanční systém 81
Akční tlačítka 59
  Rozbalovací 59
Analysis Plugin 127
aplikace k počítání buněk v buněčných čipech 179
Aplikace Kyveta 181
Aplikace NanoQuant 175

B

Bezpečnostní opatření 13
Buněčné čipy 109

C

Čištění a údržba 45

D

Dezinfekce
  Osvědčení o bezpečnosti 48
  Postup 48
  Přístroj 47
Dezinfekční roztoky 47
Dílčí balení 26
Dlaždice 59
Držák destiček
  Přepravní pojistka 28

F

Fluorescenční snímání 115, 116
  Modul ImageAnalyzer 124
Fyzická ovládací tlačítka 21

I

Inject and Read 97
inkubační poloha 38, 157

K

kamera 31
Klient pro internet věcí (IoT Client) 54
konfluence buněk 109
Kontrola kvality
  Absorbance 86, 154
  Luminiscence 69
Korekce délky optické dráhy 84

L

Likvidace
  Obalový materiál 49
  Přístroj 50
  Provozní materiál 49
Live Viewer 111
Luminiscenční modul/rozšířený 67
Luminiscenční modul/standardní 67
Luminiscenční specifikace 68

M

Mechanismus otevírání víčka 38
Metoda
  Spuštění 63
Modul Dashboard 58
Modul fluorescenční intenzity 89
Modul fluorescenční polarizace 96
Modul ImageAnalyzer 124
Modul pro fluorescenční měření zdola 89
Modul pro snímání buněk 115
  Specifikace 118

N

Nastavení softwaru SparkControl 63
Navigační panel 59

O

Obalový materiál
  Likvidace 49
  Navrácení výrobci 49
Osvědčení o bezpečnosti 48
Ovládání destičky 37

P

Panel akcí 59
počítání buněk 109
Poloha na ose Z 38
Požadavky na napájení 30
Požadavky systému 51
Přeprava přístroje 33
Přepravní pojistky
  Demontáž 28
Přístroj
  Dekontaminace/dezinfekce 47
  Dezinfekční roztoky 47
  Osvědčení o bezpečnosti 48
  Postup při dezinfekci 48
  Požadavky na napájení 30
  Příprava k přepravě 33
  Specifikace 43
  Umístění a zapojení přístroje 26
  Vybalení a kontrola přístroje 26
  Zapnutí 31

R

Řádek s historií navigace 59
regulace atmosféry 163
Rozlití 46
Rozlití kapalin 46
Rozsah napětí 30

S

Smooth mode 19
Snímání v jasném poli 115
Software
  Instalace 53
  Odinstalování/oprava 53

Požadavky systému 51
Spuštění 54
Spark Services Manager 194
Spark-Stack 129, 141, 142, 143
Specifikace 43
Specifikace modulu pro snímání buněk 118
Systém chlazení (Te-Cool) 157

T

Tlačítko Expand (Rozbalit) 59
Třepání 38

U

Údržba
Přístroj 45
Uživatelský profil 15

V

Vícefunkčnost přístroje 16
vlhkostní kazeta 171
Vybalení a kontrola přístroje 26
Výsledky měření 65

Z

Zadní pohled 23
Zapnutí přístroje 31
životaschopnost buněk 109

Zákaznická podpora společnosti Tecan

Máte-li dotazy nebo potřebujete technickou podporu k výrobku Tecan, obraťte se na místního smluvního partnera společnosti Tecan. Kontaktní informace najdete na adrese http://www.tecan.com/customersupport.

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

- Modelové označení výrobku
- Výrobní číslo (SN) výrobku
- Software a verzi softwaru (je-li software použit)
- Popis potíží a jméno kontaktní osoby
- Datum a čas výskytu potíží
- Popis kroků, které jste již podnikli k nápravě potíží
- Vaše kontaktní informace (telefonní číslo, číslo faxu, e-mailovou adresu apod.)

TECAN AUSTRIA GMBH, Untersbergstrasse 1a, A-5082 Grödig / Salzburg, Austria
T +43 62 46 89 33, F +43 62 46 72 770, office.austria@tecan.com, www.tecan.com

Declaration of Conformity

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

Product Type: **Microplate Reader**
Model Designation: **SPARK**

Article Numbers: **30086376**

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.