



**NanoDrop 3300
Fluorospektrometr**

V2.8 Uživatelská příručka

Podklady uvedené v tomto dokumentu mají informativní charakter, veškeré obsažené informace jsou považovány za správné a úplné. Společnost Thermo Fisher Scientific neodpovídá za chyby v tomto dokumentu ani za náhodné nebo následné škody v souvislosti s poskytnutím, výkonem nebo použitím tohoto dokumentu. Veškeré specifikace výrobku a informace obsažené v tomto dokumentu se mohou změnit bez předchozího upozornění. Tento dokument může obsahovat nebo odkazovat na informace a produkty chráněné autorskými právy nebo patenty a nesděluje žádné licenci v rámci našich patentových práv ani práva ostatních. Nepřebíráme žádnou odpovědnost vyplývající z porušení patentů nebo jiných práv třetích osob.

V souvislosti s tímto dokumentem neposkytujeme žádnou záruku včetně nikoliv však výhradně předpokládaných záruk vztahujících se k obchodovatelnosti a vhodnosti pro určitý účel. Zákazníci jsou zodpovědní za validaci svých systémů.

© 2010 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena. Žádná část této publikace nesmí být ukládána, přenášena nebo reprodukována jakýmkoliv způsobem včetně, ale neomezuje se na fotokopie, fotografie, magnetický činný typ záznamu, bez našeho předchozího písemného svolení.

Technická podpora:
Thermo Fisher Scientific
3411 Silverside Road
Bancroft Building, Suite 100
Wilmington, DE 19810 U.S.A.
Telephone: 302-479-7707
Fax: 302-792-7155
E-mail: info@nanodrop.com
www.nanodrop.com

Kontakt na lokálního distributora: **M.G.P. spol. s r.o.**, Kvítková 1575, 760 01 Zlín, tel: 577 212 140, e-mail: mgp@mgp.cz

Microsoft, Windows, Windows NT a Excel jsou ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami společnosti Microsoft Corporation v USA a/nebo v jiných zemích.

Adobe a Acrobat jsou začleněnými ochrannými známkami společnosti Adobe Systems. Všechny ostatní ochranné známky vlastní společnost Thermo Fisher Scientific Inc. a její dceřinné společnosti.

NanoDrop je ochranná známka společnosti Thermo Fisher Scientific.

Datum revize: 07/2019

OBSAH

1.Přehled	1-1
Popis přístroje	1-1
Virtualní filtrování - bílá LED dioda.....	1-1
Provoz	1-2
2.Počáteční nastavení	2-1
Požadavky na počítač.....	2-1
Instalace softwaru	2-1
3.Provoz přístroje	3-1
Systém nanášení vzorku	3-1
Čištění nanášecího systému	3-1
Požadavky na množství vzorku.....	3-1
Struktura softwaru a funkce	3-2
Aplikační moduly	3-2
Správa účtu	3-3
4.Metoda Create/Edit	4-1
Vytvoření nové metody /Create New Method/.....	4-1
Editace existující metody /Edit Existing Method/.....	4-3
5.Uživatelské nastavení /User Preferences/	5-1
Obecné nastavení /General Settings/	5-1
Archivace dat /Archiving Data/.....	5-2
Protokoly /Reports/.....	5-2
6.Modul Fluorescence Profiler	6-1
7.Základní modulové funkce	7-1
Společné funkce	7-1
Vygenerování standardní křivky /Generating a Standard Curve/.....	7-3
8.Kvantifikace nukleových kyselin	8-1
dsDNA 33258 Hoechst	8-1
dsDNA PicoGreen® (barvivo).....	8-1
RNA RiboGreen® (barvivo).....	8-2
Quant-iT™ DNA BR.....	8-2
Quant-iT™ DNA HS.....	8-2
Sybr® Green I.....	8-3
9.Kvantifikace bílkovin	9-1
Fluorescamine	9-1
FluoroProfile®	9-1
Fluoraldehyde™ OPA.....	9-2
Quant-iT™ Protein Assay	9-2
10. Jiné fluorofory	10-1
Metody s modrou LED diodou	10-1
Metody s UV LED diodou	10-1
Metody s bílou diodou.....	10-2
11. Archived Data and Data Viewer	11-1
Vytvoření datového souboru /Archive File Creation/	11-1
Prohlížeč Data Viewer	11-1
12. Kontrola zdroje /Source Check/	12-1
13. Řešení problémů	13-1
Chybová hlášení a zprávy.....	13-1
Chyby připojení /Connection Errors/.....	13-1
Sampling Concerns.....	13-4
14. Údržba a záruka	14-1
Čištění... ..	14-1
Záruka	14-1
15. Přílohy	15-1
Specifikace přístroje	15-1


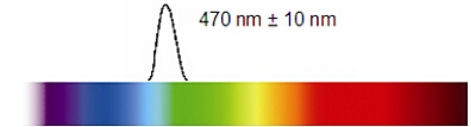
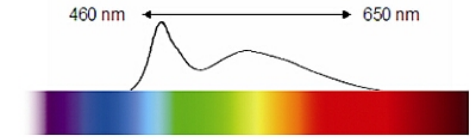
Referenční tabulka klávesových zkratk.....	15-1
Kompatibilita s rozpouštědly.....	15-1

1. Přehled

Popis přístroje

Fluorospektrometr Thermo Scientific NanoDrop™ 3300 využívá patentovanou technologii retence vzorků (povrchovým napětím) k měření fluorescence mikrobjemových vzorků. Unikátně čistá optika retenčního systému, v kombinaci s vhodným zpracováním signálu pro bílé LED diodové aplikace, umožňuje měření vzorku v široké škále vlnových délek s objemy vzorků 1-2 μ l bez použití kyvety a nákladné výměny filtrů.

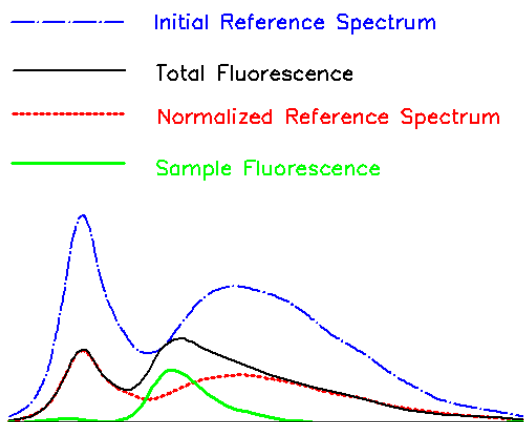
Zdrojem excitace záření je jedna ze tří elektroluminiscenčních LED diod, které jsou orientovány kolmo k detektoru. Detektor CCD s 2048 prvky pokrývající spektrum 400 - 750 nm, je propojen optickým vláknem s optickou měřicí plochou. Spektrometr je konfigurován s ořezovým filtrem pro eliminaci šíření světla pod 395 nm. Na obrázku níže jsou uvedeny některé běžné fluorofory, které mohou být měřeny přístrojem NanoDrop™ 3300 spolu s nejvhodnější excitací LED diodou.

<p>UV LED max=365 nm; s ořezovým filtrem eliminujícím excitaci nad 400 nm.</p> 	<p>Příklady aplikací:</p> <ul style="list-style-type: none"> • GFP wt Em509 • Quinine Sulfate Em450 • Hoechst 33258 Em450 • 4-MU Em450 • Q Dots různé
<p>Modrá LED dioda max= 470 nm; s ořezovým filtrem eliminujícím excitaci nad 495 nm.</p> 	<p>Příklady aplikací:</p> <ul style="list-style-type: none"> • GFP wt Em509 • EGFP Em509 • FITC-FAM Em515 • Alexa 488 Em520 • PicoGreen Em525 • RiboGreen Em525 • Alexa 555 Em565 • B-Phycoerythrin Em575 • Q Dots různé
<p>Bílá LED dioda rozmezí = 460-650 nm; využívá virtuální filtrování.</p> 	<p>Příklady aplikací:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cy3, Alexa 555 Em565 • Alexa 568 Em600 • Cy5, Alexa 647 Em667 • Sulforhodamine 101 Em 600 • 5-CMTREm570 • Q Dots různé • TET Em535 • HEX Em555

Virtuální filtrování – bílá LED dioda

Aby bylo možné excitovat širší spektrum fluoroforů (rozsahem 460 až 650 nm), je vybrán zdroj bílé LED diody. Bílá LED dioda se skládá z modré LED diody a žluto-oranžového fosforu, který je excitován modrou LED diodou, tak aby se vytvořilo přibližně bílé spektrum (typicky namodralého vzhledu). Metoda virtuálního filtrace (v patentovém řízení) využívá jako referenční spektrum mapu intenzit vlnových délek bílé LED diody žlutého píku, měření vzorku, a následně matematicky stanoví reprezentativní vzorek signálu z celkového signálu.

Zbytkový signál (s odstraněným pozadím) je vypočítán a zobrazen přes příslušné vlnové délky, které jsou určeny virtuálním emisním filtračním intervalem ($\Delta\lambda$). $\Delta\lambda$ je symetricky aplikován okolo vybrané analýzy nm (emisní vlnová délka). Všechna fluorescenční čtení mimo interval virtuálního filtru jsou nastavena na nulu.



Jedním z faktorů, který umožňuje extrahovat fluorescenci vzorku odečtením reprezentativního úseku od zdrojového signálu, jsou inherentní vlastnosti odrazu světla v optickém vlákně a redukce rozptylu světla z přímo navlhčených optických povrchů. Dalším prvkem, který tuto metodu umožňuje, je vysoká reprodukovatelnost relativní intenzity spektrálního výstupu v závislosti na vlnové délce LED. V praxi je pro každou vytvořenou metodu, která používá bílou LED diodu, nastaven „Virtuální interval filtrování emise“ ($\Delta\lambda$). Další informace o parametru $\Delta\lambda$ naleznete v části Společné funkce modulu.

Provoz

Vzorek o objemu 1-2 μl se napipetuje na spodní část měřicího podstavce (přijímacího vlákna). Nereflexní „průchodka“ připojená k ramenu přístroje je pak uvedena do kontaktu s kapalným vzorkem, což způsobí překlenutí mezery mezi vzorkem a přijímacím vláknem. Tato mezera resp. délka dráhy je regulována na vzdálenost 1 mm. Po excitaci jednou ze tří LED diod je spektrometrem zachyceno emitované světlo ze vzorku procházejícího přijímacím vláknem. Přístroj NanoDrop™ 3300 se řídí softwarem z PC. Všechna data jsou zaznamenána a ukládána do adresáře *C:\IND-3300 Data* a zároveň na uživatelsky definované místo.

Externí napájení není nutné. Provozní napájení se provádí přes USB port na PC.

Patenty

Technologie retence vzorků použitá v přístroji Thermo Scientific NanoDrop 1000 Spectrophotometer a v přístroji Fluorospectrometer Thermo Scientific NanoDrop 3300 je ochráněna patenty USA 6,628,382 a 6,809,826.

2. Počáteční nastavení

Požadavky na počítač

Operační software bude fungovat pouze na IBM kompatibilním PC, které splňuje níže uvedená kritéria. Verze softwaru pro Mac nejsou v současné době k dispozici.

Microsoft Windows, kompatibilní s Windows 2000, XP, Vista (32 bit pouze), Windows 7 Professional (32 and 64 bit)

- 233 MHz nebo vyšší
- CD ROM mechanika
- 1GB paměti RAM s operačním systémem 32-bitovým nebo 2 GB RAM s 64-bitovým operačním systémem
- 40 MB volného místa na pevném disku
- Dostupný port USB (přístroj lze připojit pouze přes port USB)

Instalace softwaru

UPOZORNĚNÍ: Systémový software musí být načten do počítače před připojením kabelu USB. Pro instalaci softwaru je nutný administrátorský přístup na PC.

Správný postup instalace operačního softwaru:

1. Ukončete všechny programy a ujistěte se, zda je kabel USB odpojen.
2. Vložte disk CD s operačním softwarem do CD mechaniky. Automaticky se zobrazí nabídka instalace softwaru. Pokud se nabídka softwaru neobjeví, vyberte možnost „Tento počítač“ a zobrazte obsah disku CD. Dvakrát klikněte na soubor s názvem „nd3300- [version] -install.exe“.
3. Po instalaci softwaru odstraňte nálepku na zadní straně přístroje a připojte kabel USB. Průvodce nově rozpoznaným hardwarem by se měl objevit dle obrázku níže. Operační systém Windows XP SP2 bude požadovat umožnění vyhledání správného softwaru na internetu. Zvolte „Ne, tentokrát ne“. Postupujte podle pokynů pro automatickou instalaci softwaru.



Úvodní okno:
Windows XP- SP2



Všechny operační
systémy Windows

Váš přístroj NanoDrop 3300 by měl být nyní připraven k provozu. Pokud se software nespustí správně, vyhledejte možná řešení v kapitole Řešení problémů.

Konfigurace systémového písma

Software je navržen tak, aby nejlépe vypadal s fontem MS Sans Serif, 8 bodů. Zda je systémové písmo nastaveno na správný výběr zkontrolujete následovně:

- Otevřete menu „*Displays Properties*“ kliknutím pravým tlačítkem myši na plochu a zvolte *Properties* → *Appearance*. (Další krok pro Windows XP: klikněte na tlačítko „*Advanced*“).
- Ze seznamu položek vyberte „*icon*“.
- Vyberte písmo „*MS Sans Serif (western)*“ a velikost 8 bodů („*8 point*“).
- Klikněte na tlačítko „*OK*“.

Volba alternativního písma může mít za následek oříznutí textu v okně operačního softwaru.

Upgrade softwaru

Pravidelné aktualizace operačního softwaru jsou k dispozici ke stažení. Nejnovější verzi softwaru naleznete na [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.

Připojení přístroje / PC

Chcete-li provést měření s přístrojem, jednoduše připojte kabel USB k zadní straně přístroje i počítače.

Registrace vašeho přístroje

Prosím zaregistrujte váš přístroj! Náš software pravidelně aktualizujeme a zdarma přidáváme nové funkce. Chtěli bychom mít aktuální seznam uživatelů, abychom vás mohli upozornit na nové aktualizace a všechny poskytované služby. Váš nástroj můžete zaregistrovat na [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.

3. Provoz přístroje

System nanášení vzorku

Základní kroky pro měření jsou popsány níže:



1. Při otevřeném výklopném rameni přístroje napipetujte vzorek na spodní část podstavce.



2. Přiklopte výklopné rameno a proveďte inicializaci měření pomocí softwaru na PC. Automaticky se vytvoří sloupec vzorku mezi horním pouzdem (na rameni) a spodním měřicím podstavcem. Měření je hotové. Další informace o zahájení měření naleznete v kapitole Společné funkce modulu.



3. Jakmile je měření hotové, vyklopte rameno přístroje a setřete vzorek z horního pouzdra (na rameni) a spodního podstavce pomocí laboratorního ubrousku, která nezanechává vlákna.

Čištění nanášecího systému

Po ukončení každého měření, k zabránění přenosu vzorku a nahromadění zbytků vzorku, je obvykle dostačující otřít vzorek z horního pouzdra a spodního podstavce. Případnou dekontaminaci podstavce přístroje (po zaschnutí vzorku) je možno provést pomocí napipetování přibližně 5 μ l 0,5 M HCl na podstavec, následně rameno sklopit a ponechat na podstavci po dobu 1-2 minuty. Otřete roztok laboratorním ubrouskem a napipetujte roztok 5 μ l deionizované vody, rameno sklopte a následně tuto vodu otřete laboratorním ubrouskem.

Přestože to obecně není nutné, pro čištění měřicích ploch po zvláště vysoce koncentrovaných vzorcích, je možno použít 2 μ l deionizované vody. Tímto opatřením se zajistí, aby žádný zbytek vzorku nezůstal na podstavci ani v pouzdru ramene. Čištění deionizovanou vodou horního pouzdra i spodního podstavce se doporučuje provádět po měření většího počtu vzorků. Tak se zabrání nežádoucímu přenosu případných zbytků předchozího vzorku na měřicích plochách v případě provádění měření se vzorky o nízké koncentraci. Konečné čištění všech povrchů deionizovanou vodou se doporučuje také když jednotlivý uživatel dokončí poslední měření souboru vzorků.

Dekontaminace měřicích podstavců

Pro případnou dekontaminaci je možné použít dezinfekční roztok jako např. 0,5% roztok chlornanu sodného (běžné komerční bělidlo naředěné v poměru 1:10, čerstvě připravené), aby se zajistilo, že na měřicích podstavcích nezůstane žádný biologicky aktivní materiál. Kovové uchycení optických vláken je vyrobeno z nerezové oceli AISI 303 (1.4305) a je odolné vůči většině běžných laboratorních rozpouštědel (viz dodatková kapitla Kompatibilita s rozpouštědly).

Požadavky na množství vzorku

Ačkoli objem vzorku není kritickým parametrem, je nezbytné, aby se vytvořil sloupec kapaliny vzorku a aby došlo k přemostění se vzorkem mezerou mezi spodním měřicím podstavcem a horním pouzdrum na rameni.

Optimální je použít přesnou pipetu (0-2 μl) s přesnými špičkami, aby se zajisto dostatečné množství vzorku (1-2 μl). Pipety s menší přesností (0-10 μl a více) nejsou moc vhodné pro nenesení optimálního objemu (1 μl) na měřicí podstavec. Pokud si nejste jisti vlastnostmi vzorku nebo přesností pipety, doporučuje se vzorek nanést vzorek s objemem 2 μl .

Křížová kontaminace

Jednoduché stírání horního pouzdra a spodního měřicího podstavce suchou laboratorní utěrkou je vysoce účinné jako prevence proti křížové kontaminaci. Toto opatření funguje, protože měřicí podstavec je ve skutečnosti vysoce leštěný konec optického kabelu bez nežádoucích trhlin, ve kterých by se případně mohly zachytit zbytky vzorku.

Homogenita vzorku

Odběr z nehomogenních roztoků, zejména při použití malých objemů, může způsobit významné odchylky ve výsledcích v různých měřicích technologiích včetně fluorescenční spektrometrie. Rovněž je třeba zamezit vzniku bublin, které mohou způsobit chybné signály. Při dávkování vzorků se doporučuje nerozptýlit celý obsah kapaliny (vzorku) z hrotu pipety protože hrozí riziko vzniku nežádoucích bublin v měřeném vzorku.

Vliv odpařování a těkavých rozpouštědel

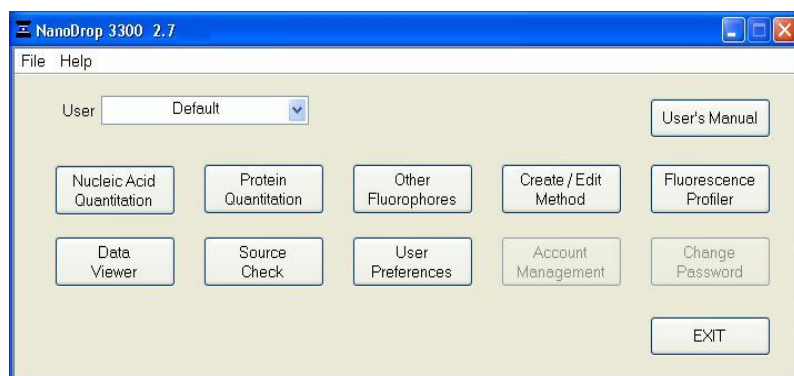
Běžné odpařování vzorku během měřicího cyklu má obvykle jen minimální vliv na výsledky měření. Vysoce těkavá rozpouštědla, jako např. hexan, se pravděpodobně vypaří než skončí měření. Méně těkavá rozpouštědla, jako např. DMSO, mohou být bezproblému použita.

Struktura softwaru a funkce

Main menu

Se sklopeným ramenem přístroje spusťte software v souborovém systému následovně:

Start → Programs → NanoDrop → ND-3300 [version]



Aplikační moduly

Tento software byl navržen pro potřeby vědců, obsahuje následující předdefinované aplikační moduly:

- **Nucleic Acid Quantitation /kvanfikace nukleových kyselin/** - barivo 33258 Hoechst, barvivo PicoGreen[®], barvivo RiboGreen[®], metody Quant-it[™] DNA HS a Quant-It[™] DNA BR.
- **Protein Quantitation /kvanfikace bílkovin/** - Quant-iT[™] Protein, Fluorescamine, Fluoraldehyde[™] OPA a FluoroProfile[™] čip
- **Other Fluorophores /ostatní flouorofory/** - FITC (Fluorescein) (metody pro použití modré nebo bílé LED diody), Cy3-Alexa Fluor[®] 555 a Cy5-Alexa Fluor[®] 647, 4-methyl umbelliferone, quinine sulfate, DyLight 405, DyLight 488, DyLight 549, DyLight 633, DyLight 649 a DyLight 680.

Metoda Create/Edit

Tlačítko Create/Edit Method, které je přístupné z hlavního menu, dává uživateli možnost konfigurovat nová fluorescenční barviva a metody a přidat je k předdefinovaným metodám. Toto tlačítko také umožňuje uživateli upravovat existující metody. Poznámka: Symbol diamantu označuje předdefinované metody, které nelze upravovat. Podrobněji viz kapitola 4.

Modul Fluorescence Profiler

Příslušný modul je navržen tak, aby poskytoval pokyny pro výběr excitace LED, když si uživatel není jistý excitací / emisí specifického nebo neznámého fluoroforu. Podrobněji viz kapitola 6.

Modul Data Viewer

Tento modul je navržen tak, aby uživateli umožňoval přizpůsobit strukturu výstupních dokumentů, importovat archivovaná data a zpětně zobrazit archivovaná data. Podrobněji viz kapitola 11.

Uživatelská příručka

Verze této uživatelské příručky (Ctrl + M) ve formátu PDF je přístupná z položky Main manu. Je také přístupná výběrem z rozbalovací nabídky Help v libovolném aplikačním modulu nebo výběrem souborové cesty *Start* → *Programs* → *NanoDrop* → *ND-3300 (version)*

Uživatelské nastavení /User Preferences/

Každý uživatel si může vybrat výchozí nastavení pro několik funkcí společných pro každý aplikační modul. Podrobněji viz kapitola 5.

Funkce Source Check

Tento modul slouží k ověření funkčnosti příslušných LED diod.

Funkce Duplicate data storage

Duplicitní ukládání dat je možno nastavit výběrem okna User Preferences a označit souborovou cestu sekundárního úložiště dat.

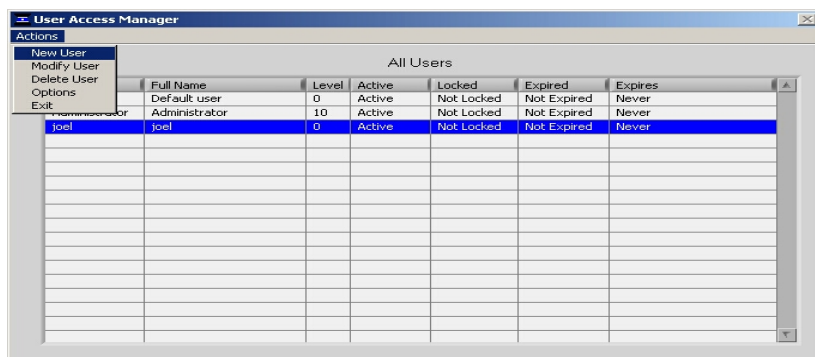
Správa účtu

Modul poskytuje možnost nastavení cesty k uloženým datům a umožňuje uživatelům ukládat svá data do samostatných specifikovaných osobních složek. Modul *Account Management* je přístupný pouze administrátorovi a uživatelům s úrovní 10. Pro ostatní uživatele zůstane tento modul zobrazen jako „šedý“.

Typ účtu

Existují tři typy uživatelských účtů:

- **Level 10-** je nejvyšší nastavení zabezpečení a každý uživatel úrovně 10 může přidávat nové uživatele, upravovat uživatelský profil, mazat uživatelský účet a nastavit zabezpečení heslem. V době instalace softwaru je jediným účtem úrovně 10 „Administrátor“, jehož počáteční heslo je „nanodrop“. Doporučujeme toto heslo změnit bezprostředně po nastavení výchozího účtu. Jakýkoli uživatel může být nastaven na úroveň 10, i když se toto nedoporučuje (viz nižší úroveň Level 5). Poznámka: Účet správce (nebo posledního uživatele úrovně 10) nemůže být smazán.
- **Level 5-** je nastavení zabezpečení doporučené pro běžný uživatelský účet. Účet s tímto přístupem bude chráněn heslem a bude moci vybrat konkrétní uživatelské předvolby. Všechna vygenerovaná data budou automaticky archivována do uživatelského účtu souborové cesty *c:\ND-3300* (a do příslušného úložiště určeném uživatelem, pokud je tato předvolba zvolena).
- **Default-** (Level 0 security) je úroveň přístupu vyhrazená pouze pro výchozí účet. Tento typ účtu umožňuje každému uživateli, který nemá svůj přístup ke všem aktivním modulům softwaru. Není chráněn heslem, pro tento účet však lze nastavit uživatelské předvolby. Všechna vygenerovaná data budou automaticky archivována do výchozí složky dat *c:\nanodrop*. Poznámka: Správce může zakázat výchozí uživatelské účty pro laboratoř, kde jsou vyžadovány jedinečné uživatelské účty.



Account Log-in/Log-out and Time Out

Uživatelský účet zůstane aktivní dokud: 1) se uživatel neodhlásí ze svého účtu, a to pomocí rozevíracího seznamu v okně Main menu a vybere buď položku Default nebo vybere jiné uživatelské jméno; nebo 2) Uživatel software ukončí. K odhlášení uživatelského účtu také dojde, pokud se překročí časový limit „System idle timeout“. Po 4 hodinách nečinnosti se softwarový účet automaticky přepne zpět na výchozího uživatele /default-/. Předtím se objeví se upozornění označující, že čas do automatického odhlášení vyprší za 30 s. Pokud uživatel zvolí CANCEL, časový limit se resetuje a uživatelský účet a aplikační modul zůstanou aktivní po dobu dalších 4 hodin. Pokud čas vyprší, automaticky dojde k ukončení příslušného aplikačního modulu, program se přepne do základního menu /Main menu/ a automaticky se nastaví výchozí uživatel /default-/.

Account Lockout

Účty jednotlivých uživatelů se mohou uzamknout těmito způsoby:

- Nepodaří se změnit heslo ve stanoveném čase
- Nesprávně se zadá heslo 99x za sebou.
- Správce uzamkne konkrétní účet

Uzamčený účet může odemknout pouze správce (úroveň 10). Odemknutí účtu se provádí pomocí položky Modify user v modulu *Account Management*. Poznámka: Všechny účty i ten správčův se uzamknou, pokud dojde k nesprávnému zadání hesla, jak je popsáno výše.

Change Password

Tento modul umožňuje každému uživateli, s vytvořeným autorizovaným účtem, změnit si své heslo. Tato možnost není aktivní (na obrazovce bude "šedá") pro výchozího uživatele. Poznámka: Správce pomocí v položce Options dostupné v modulu *Account Management* určí, zda uživatelská hesla vyprší a pokud ano nastaví příslušný počet dní do vypršení hesla.

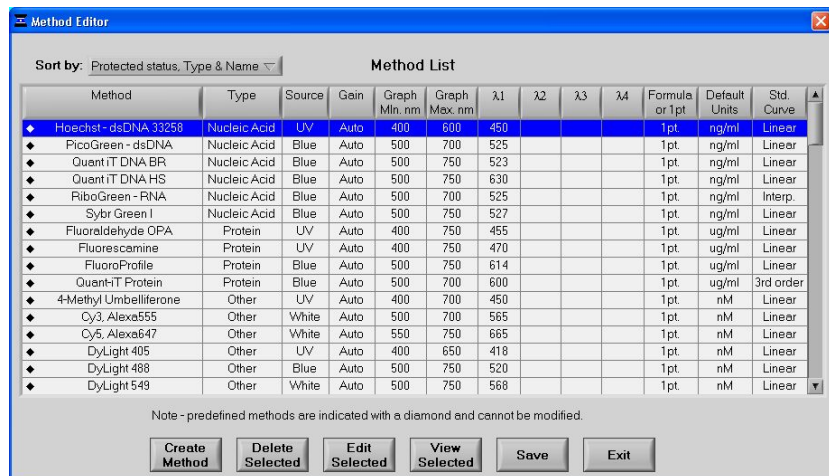
Passwords.log file

Tento soubor obsahuje ID uživatele a heslo všech zřízených účtů a je čitelný pouze softwarem. Naleznete jej ve složce *C:\WD-3300 Data\log files*. Doporučujeme, aby správce při každém přidání nového uživatelského účtu nebo při změně hesla uložil kopii tohoto souboru a uložil jej do stejné složky souborů protokolu, jak je popsáno výše. Pokud se uzamkne účet správce, může se aktualizovaná kopie souboru přejmenovat a použít jako nový soubor password.log.

4. Metoda Create/Edit

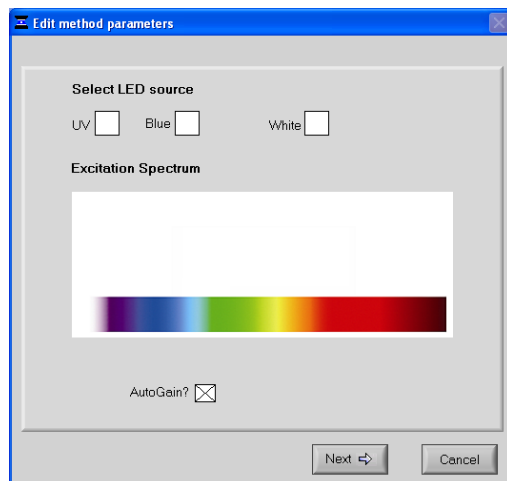
Název metody /Method Name/

Metoda má přidělen jedinečný název, která se používá jak pro inherentní fluorofory (např. FITC), tak pro pojmenované aplikace (např. PicoGreen). Pět tlačítek nacházejících se ve spodní části seznamu metod /Method List/ v okně *Method Editor* se používá ke konfiguraci, změně, smazání a uložení nově vytvořených metod. Poznámka: Symbolem diamantu jsou označeny předdefinované metody, které nelze měnit (viz obrázek níže).



Vytvoření nové metody /Create New Method/

Chcete-li přidat novou metodu, vyberte libovolnou existující metodu a klepněte na *Create Method*. Poté se objeví nové okno, které vyžaduje aby uživatel vybral požadovanou zdrojovou LED diodu.



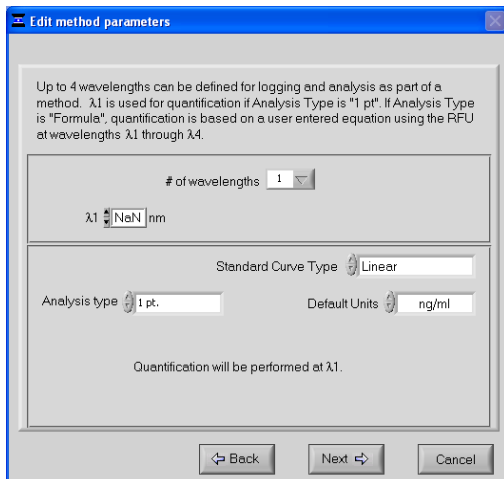
Dostupné volby pro výběr zdrojové LED diody:

- **UV LED:** excitační maximum 365 nm
- **Blue LED:** excitační maximum 470 nm
- **White LED:** 460-650 nm excitate

Kromě toho může uživatel zapnout nebo vypnout funkci *Auto Gain* tj. automatické zesílení, která řídí délku zesílení signálu na základě intenzity fluorescenčního signálu. Doporučuje se použít aktuální - výchozí nastavení s automatickým zesílením.

Poznámka: Doporučuje se, aby uživatel pro výchozí nastavení zvolil funkci *Auto Gain*. Jinou možností je funkce *Fixed Gain* t.j. pevná hodnota zesílení u které je možné nastavit faktor zesílení mezi 0 a 10. Podrobněji viz kapitola 7. Alternativou k automatickému zesílení je Pevný zisk, který nastavuje zisk buzení pomocí faktoru mezi 0 a 10. Další informace o zesílení naleznete v části Funkce společného modulu.

Výběrem tlačítka Next se zobrazí následující obrazovka:



Tato obrazovka slouží k výběru požadovaných vlnových délek, nastavení typu standardní křivky, výchozích jednotek a typu analýzy.

Standard Curve Type: Určuje výchozí metodu aproximace standardní křivky. Dostupné funkce:

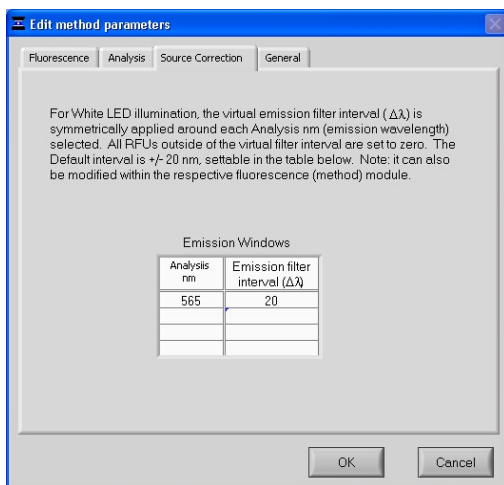
- **Interpolation:** lineární interpolace mezi sousedními hodnotami.
- **Linear**
- **2nd or 3rd order Polynomials**

Poznámka: Uživatel může také změnit typ aproximace standardní křivky pomocí přepínacího tlačítka na obrazovce standardní křivky v dílčích modulech softwaru.

Default Units: V program je možno nastavit jednu ze šesti předem nakonfigurovaných jednotek koncentrace. Nastavení jiného typu jednotek se provede pomocí položky Add New.

Analysis type: K dispozici je nastavení 1 point nebo Formula. Je-li vybrána položka 1 point, hodnota fluorescence získaná z fluorescenčního modulu je jednoduše flourescenční jednotkou (RFU) při jedné vlnové délce. Pokud se zvolí položka Formula, bude zobrazená, archivovaná a hodnota fluorescence používaná pro výpočty koncentrace určena vztahem mezi 2-4 vlnovými délkami dle definovaného vzorce.

Pokud se jako zdroj excitace zvolí bílá LED dioda, objeví se následující obrazovka:



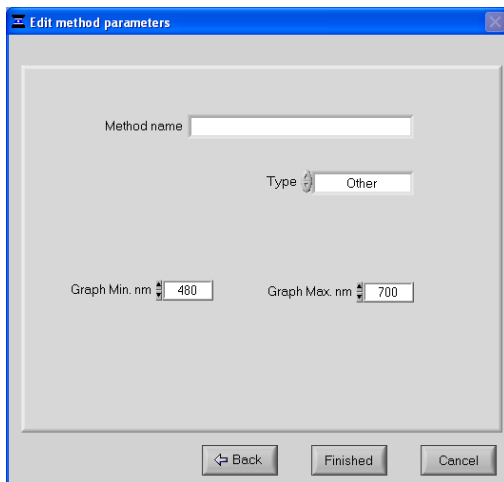
$\Delta\lambda$

Interval virtuálního emisního filtru ($\Delta\lambda$) je příslušná část spektra, nad kterou se zobrazí a vypočte zbytkový signál (o odstranění kompenzace pozadí). Aplikuje se symetricky kolem analýzy (emisní vlnová délka).

Všechny hodnoty fluorescence mimo interval virtuálního filtru jsou nastaveny na nulu. Výchozí interval je ± 20 nm.

Poznámka: Kurzor analýzy vlnové délky lze manuálně nastavit o ± 20 nm analyzované vlnové délky v měřené aplikaci. Toto lze provést i v uzamčených metodách.

Konečné okno pro veškeré výběry zdrojů excitace je zobrazeno níže:

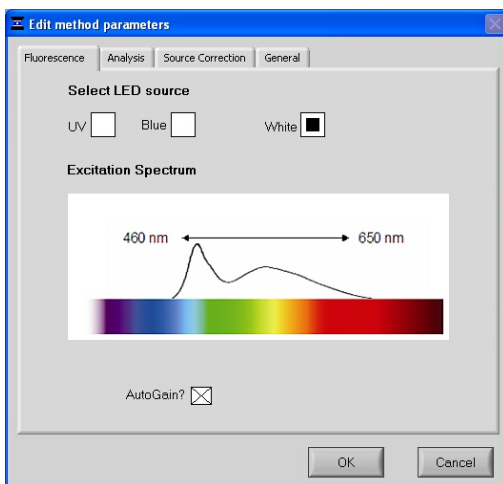


Tato obrazovka slouží k pojmenování metody, její přiřazení ke kategorii a umožňuje nastavení následujících dvou možností:

- **Graph Min. nm:** minimum vlnové délky (nm) na ose x fluorescenčního spektrálního grafu.
- **Graph Max nm:** maximum vlnové délky (nm) na ose x fluorescenčního spektrálního grafu.

Editace existující metody /Edit Existing Method/

Metody označené symbolem černé diamantu jsou chráněny a nelze je upravovat. Všechny ostatní metody lze kdykoliv upravit zvýrazněním v seznamu metod a stisknutím tlačítka *Edit Selected*. Zobrazí se následující obrazovka.



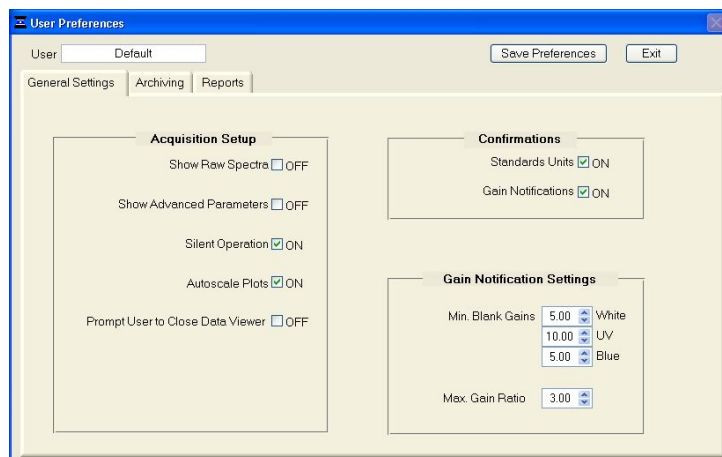
Uživatel může přejít do příslušného okna pomocí horních záložek a upravovat pouze parametry, které jsou předmětem jeho zájmu. Uživatel může také upravit metodu jejím výběrem v rozevřacím seznamu a následnou volbou položky Edit.

View Selected

Předmětné tlačítko umožňuje uživateli zkontrolovat parametry metody, avšak žádné změny neuloží.

5. Uživatelské nastavení /User Preferences/

Výběrem modulu *User Preferences* se zobrazí okno se třemi hlavními záložkami.



Obecné nastavení /General Settings/

Okno *General Settings* zobrazuje několik parametrů, které může uživatel definovat jako výchozí parametry.

• Acquisition Set-up

Umožňuje uživateli výběr jedné z následujících možností:

- Zobrazení surových dat každého měření.
- Zobrazení pokročilých parametrů, jako je saturace nm, minimální zisk zesílení a maximální zisk při každém měření.
- Aktivace zvukového signálu (pípnutí) spojeného s měřicím cyklem.
- Automatické měřítko osy y po každém měření.
- Před zavřením prohlížeče *Data Viewer* upozorní uživatele.

• Confirmations

Umožňuje uživateli zvolit, zda má software zobrazovat následující dialogová okna:

- Potvrzení jednotek veličin pro standardy
- Oznámení o měřeních, která nesplňují hodnoty specifikovaného blanku nebo specifikovaného maximálního doby excitace vzorku, jak je definováno v okně *Gain Notification Settings box*.

• Gain Notification Settings

Tento parametr se používá k označení doby, po kterou je vzorek excitován. Čas se proto používá k maximalizaci signálu v CCD detektoru a zároveň zabráňuje jeho saturaci. Například hodnota 10,0 odpovídá maximální době excitace 1 s (1000 milisekund). Poznámka: Nastavení lze také měnit v každém modulu aplikace zobrazením rozšířených parametrů a nastavením požadované doby excitace. Úprava nastavení v modulu aplikace nezmění výchozí nastavení použité v jiných metodách nebo v aktuální metodě pokud je modul zavřený.

• Min. Blank Gain- samostatné nastavení pro každou LED diodu

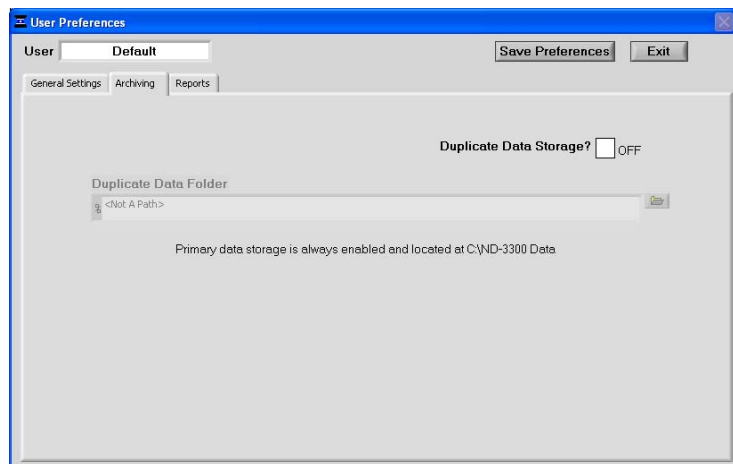
Toto nastavení určuje minimální dobu excitace, který bude software používat pro referenční měření nebo měření blanku, aniž by zobrazil vyskakující okno *Low Blank Gain*. Obvykle je nejvhodnější výchozí nastavení "5" pro modrou a bílou LED diodu a "10" pro UV LED diodu. Zvýšení hodnoty parametru *Min. Blank Gain* pro modrou nebo bílou LED diodu je vhodné, pokud uživatel chce zajistit vyšší dobu excitace vzorku pro měření prázdných hodnot. Snížení parametru *Min. Blank Gain* pod hodnotu 5 může být upřednostněno pokud uživatel zjistí, že měření blanku vykazuje nízké hodnoty a to i v případě, že je plocha podstavce očištěna od prachu nebo nečistot.

• Max. Gain Ratio

Tento faktor porovnává skutečnou dobu excitace měřeného vzorku s měřenou hodnotou blanku. Pokud tento poměr překročí nastavený parametr *Max. Gain Ratio*, zobrazí se výzva, zda chce uživatel při měření vzorků s nízkou fluorescencí přijmout nebo odmítnout získané výsledky. Při rozhodování může pomoci vizuální kontrola emisního spektra vzorku. Výchozí hodnota parametru *Max. Gain Ratio* je 3.

Note: Poznámka: Funkce Gain Notifications musí být povolena pro nastavení, která mají být použita.

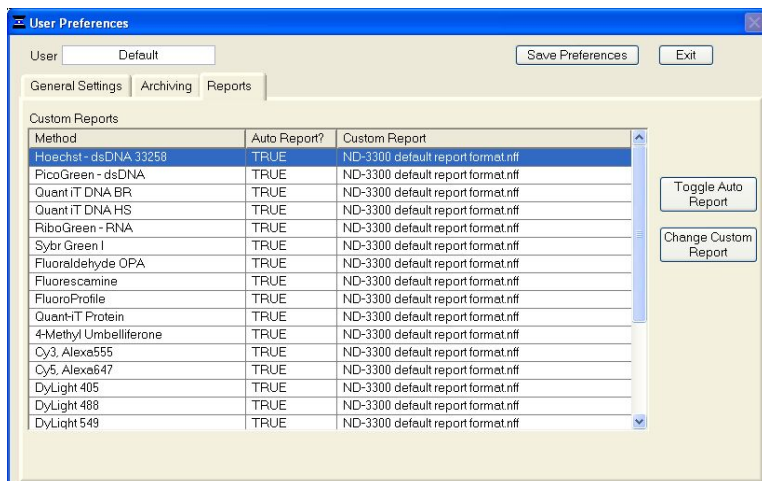
Před zavřením okna *User Preferences* uložte všechny nastavené volby kliknutím na tlačítko *Save Preferences*.



Archivace dat /Archiving Data/

Všechna data se automaticky archivují do adresáře *C:\WD-3300 Data* → *User name* → *Application Module* (Hoechst dsDNA, PicoGreen dsDNA, RiboGreen RNA, atd.

Kromě primárního úložiště dat si mohou uživatelé zvolit ukládání/archivování svých dat do dalšího složky pomocí položky *Archiving*. Toho dosáhnete nastavením "On" v zálohovacím poli *Duplicate data* s následným nastavením souborové cesty na ikonu složky souboru v položce *Duplicate Data Folder*. Alternativní cestu uložte kliknutím na tlačítko *Save Preferences* před ukončením okna *User Preferences*.



Protokoly /Reports/

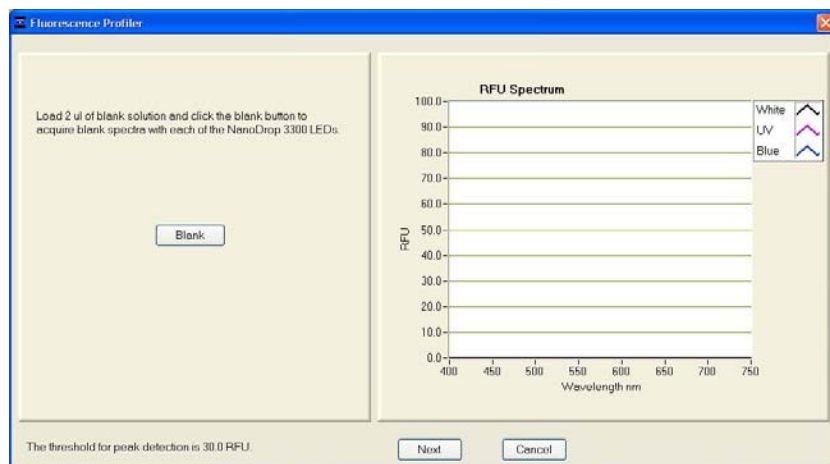
Výchozí nastavení pro ukládání dat do protokolu je povoleno v položce *Auto Report*. Uživatel může tuto možnost zrušit pomocí tlačítka *Change Settings*. Stejně tlačítko také umožňuje uživateli vybrat dříve uložené protokoly jako výchozí pro jednotlivé metody. Tato funkce je k dispozici pouze v případě, že byly uloženy protokoly v jiných formátech ze kterých je možné vybírat.

Před ukončením okna *User Preferences* uložte všechny nastavené parametry kliknutím na tlačítko *Save Preference*.

6. Modul Fluorescence Profiler

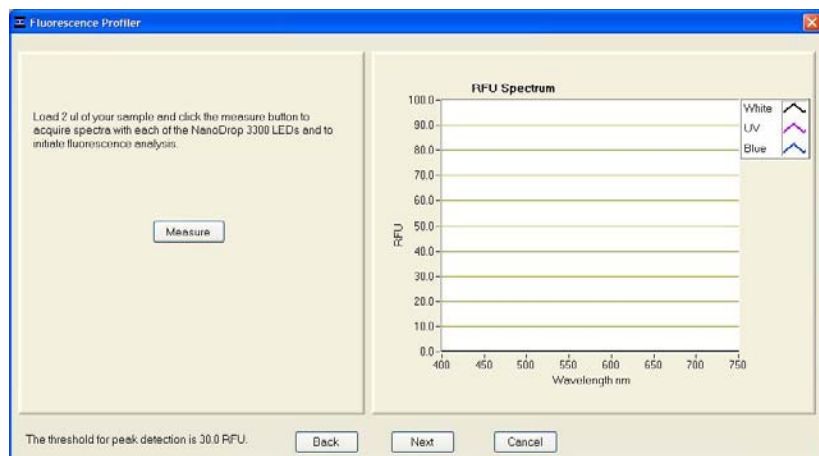
Modul *Fluorescence Profiler* poskytuje pokyny pro výběr excitace LED, v případě když si uživatel není jistý jaké jsou charakteristiky zdroje excitace/emise specifického nebo neznámého fluoroforu.

Výběrem modulu *Fluorescence Profiler* z okna *Main Menu* se zobrazí následující okno:

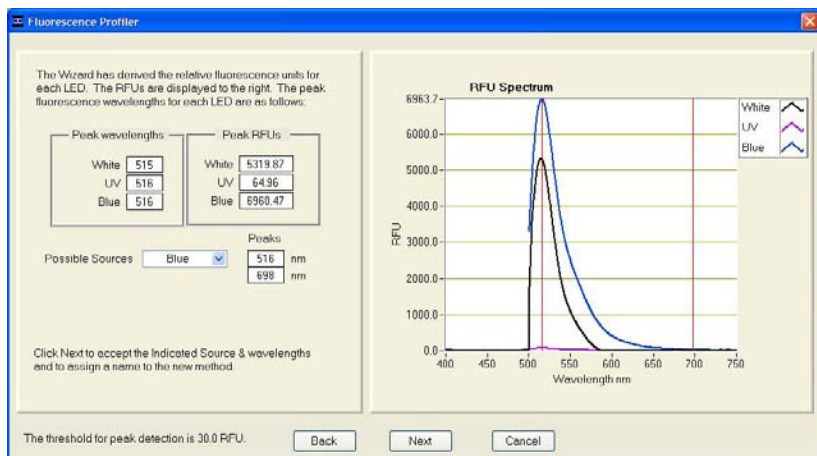


Jak je znázorněno na levém panelu okna - uživatel začíná měřením blanku s vodou nebo s příslušným pufovacím roztokem. Po uložení záznamů o blanku software automaticky spustí vlastní okno měření (*Measure window*).

Setřete z měřících částí příslušný blankovací roztok pomocí suchého laboratorního ubrousku a poté nanese 1-2 μl požadovaného vzorku. Klikněte na tlačítko *Measure* aby došlo k automatické excitaci vzorku postupně třemi LED diodami a poté se zobrazí emisní profily diod. Poznámka: Pro detekci je nutný prahová hodnota min. 30 RFU.



Software následně zobrazí výrazné píky nad specifikovanou hodnotou min. RFU a automaticky vybere LED diodu, která poskytne nejvyšší fluorescenční signál - bude optimální zdrojem světla LED.



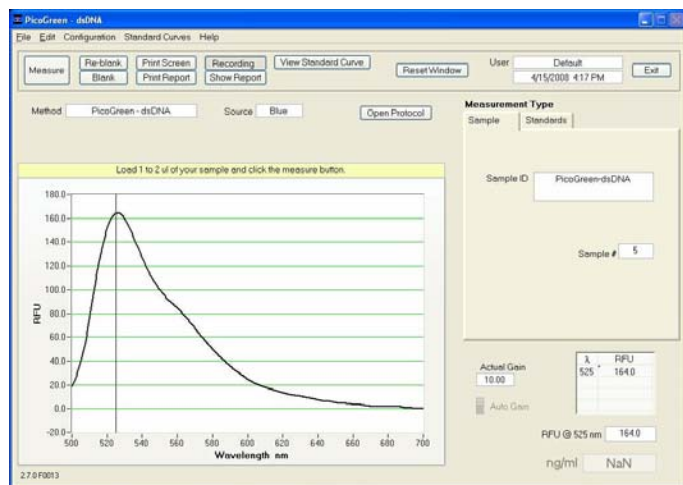
Pokud je získána výnamná fluorescence z více LED diod, software automaticky vybere diodu, která produkuje největší signál RFU. Uživatel může si prohlížet různé emisní píky posouváním v rámečku označeném Possible Sources. Pokud fluorescenční signál generuje více LED diod, má uživatel možnost uložit odpovídající počet metod s jedinečným názvem.

Šipky Back a Next je možno použít k vytvoření nového blanku, provedení nového měření nebo posunu vpřed pro uložení informací nové metody (viz obrázek níže).

7. Základní modulové funkce

Module Startup

Každý modul nebo aplikace je přístupný z hlavního okna Main Menu. Všechna měřená data se budou automaticky ukládat do příslušného souboru. Záznamové okno uvedené níže reprezentuje všechny aplikační moduly, ve kterých software může sestavit výsledný protokol. Pokud protokol není k dispozici, tlačítko Open Protocol se nezobrazí.



Společné funkce

- **Blank (F3)**

Před fluorescenčním měřením je nutné změřit a uložit blank (použít vodu nebo pufr, rozpouštědlo nebo příslušnou nosnou kapalinu ve které je rozpuštěn zkoumaný vzorek). Je nutné měřit blank před každým měřením.

- **Measure (F1)**

Pokaždé, když se spustí softwarový modul, je tlačítko Measure neaktivní a má šedou barvu. Tlačítko Measure se aktivuje až po změření blanku. Tlačítko Measure se používá k zahájení měření všech zkoumaných vzorků (ne blanků). Aktivuje se stisknutím klávesy F1 nebo kliknutím na tlačítko Measure.

- **Re-blank (F2)**

Tlačítko (F2) umožňuje vytvořit znovu referenční blank, který se použije pro následujících analýzy vlastních vzorků. Na rozdíl od funkce Blank (F3), funkce Re-blank přepočítá fluorescenční spektrum aktuálního vzorku a zobrazí jej na obrazovce.

- **Print Screen (F4)**

Tlačítko Print Screen umožňuje vytisknout kopii aktuální obrazovky na výchozí tiskárně, která je připojena ovládacímu počítači.

- **Print Report (F5)**

Výběrem tlačítka Print Report (F5) se vytiskne výsledkový protokol aktuálně změřeného vzorku. Obsah protokolu se vymaže. Uživatel může si nastavit zda se protkol automaticky zruší po tisku, zobrazí výzvu před vymazáním atd. Podrobněji viz kapitola 11. Všechna data se ukládají do složky C:ND3300 Data -User name-Application Module (Hoechst dsDNA, PicoGreen ds DNA, Ribo Green RNA, atd.)

- **Recording (F6)**

Při výchozím nastavení je aktivována funkce nahrávání, která automaticky zaznamenává do výstupního protokolu. Podrobněji viz kapitola 11. Poznámka: Chcete-li tuto funkci zrušit, stlačte Recording - zůstane tlačítko s označením *Start Report*.

- **~~Show Report (F7)**

Uživatel může kdykoliv zobrazit položky obsahující aktuální protokol výsledků prostřednictvím tlačítka *Show Report*. Tuto funkce aktivuje prohlížeč *Data Viewer* popsany v kapitole 11. Specifické parametry jednotlivých aplikačních modulů jsou přiřazeny ke každému jednotlivému ID vzorku.

- **View Standard Curve**

Všechny aplikace nebo moduly obsahují volitelnou standardní křivku. Kromě naměřeného výstupu RFU je možno vygenerovat standardní křivku pomocí reference s až 7 standardními koncentracemi (1 až 5 opakování na bod).

- **Open Protocol**

Výběrem tohoto tlačítka se otevře protokol metody přímo ze stránky měření dat. Toto tlačítko se bude zobrazovat pouze na těch stránkách metod, pro které existuje příslušný protokol.

- **Reset Window**

Kliknutí na toto tlačítko je možnost resetovat hodnoty všech standardů pro aktuální měření. Vymazání všech bodů také umožní uživateli změnit měrné jednotky.

- **Method**

Název metody ukazuje, která aplikace se právě používá.

- **Source**

Předmětné pole určuje zdroj excitace použitý pro zvolenou metodu. Poznámka: Zdroj excitace nelze změnit pro předdefinované, uzamčené metody.

- **Measurement Type**

Volba *Reference* se používá pro ne-analytický roztok, volba *standard* pro známou koncentraci činidla a volba *Sample* neznámou koncentraci zkoumaného vzorku. Poznámka: Modul bude vždy produkovat hodnoty RFU i když nebude generována standardní křivka.

- **Sample ID**

ID vzorku je zvýrazněno pro volitelné označení nebo naskenování čárového kódu. Uživatel může zadat ID vzorku, které bude se použije k identifikaci měření při tisku výsledků a uchová se v archivovaném datovém souboru. Zadání ID vzorku je klíčové pro další postup, což znamená že na výchozí obrazovce a bude blikat textový kurzor, když přístroj čeká na nové měření. Poznámka: Název vzorku ID lze změnit pouze pomocí rozevíracího seznamu *Data dropdown box* na stránce protokolu.

- **Dilution Factor**

Tento parametr se zobrazí v okně *Measurement Type*, jakmile se vygeneruje standardní křivka. Koncentrace automaticky vypočtená ze standardní křivky se vynásobí uvedeným faktorem ředění a zobrazí se v pravém dolním rohu okna. Výchozí hodnota faktoru ředění je 1.

Measurement Type

Sample Standards

Sample ID RNA

Dilution Factor 5.00

Sample # 31

Actual Gain 10.00

λ	RFU
535	509.4

Auto Gain

RFU @ 535 nm 509.4

ng/ml 504.0

Measurement Type

Sample Standards

Sample ID RNA

Dilution Factor 1.00

Sample # 33

Actual Gain 10.00

λ	RFU
535	517.5

Auto Gain

RFU @ 535 nm 517.5

ng/ml 103.4

- **Sample #**

Toto okno uchovává informaci o počtu měřených vzorků.

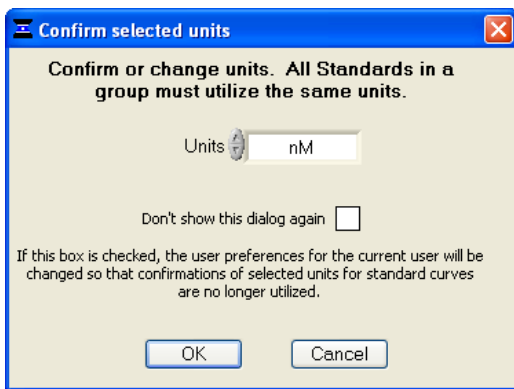
Vygenerování standardní křivky /Generating a Standard Curve/

- **Measurement Type: Standards tab**

Pokud zvolíte položku Standards tab v okně Measurement Type, zobrazí se uživateli pouze jedna dostupná volba: Reference s parametrem Standard 1. Zobrazí se také možnost změny jednotek měření z dříve definovaných jednotek.

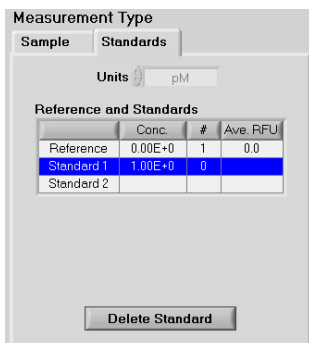
- **Units Confirmation**

Pokud jste nezměnili jednotky měření, pokud byla původně vybrána karta *Standarda*, zobrazí se před měřením první reference nebo standardu následující okno:



- **Additional Standards**

Po provedení počátečního měření s volbou *Standard 1* se může uživatel rozhodnout zda bude pokračovat v měření s funkcí *Standard 1* nebo vybere, nadefinuje a změří další standard. Možnost vrátit se ke standardu a provést další měření je pokaždé k dispozici.



Když se změří minimum referenčního a jednoho nebo standardů, oranžové tlačítko na horním panelu se rozsvítí zeleně. Toto pouze indikuje, že byl změřen minimální počet standardů pro zobrazení správné křivky.

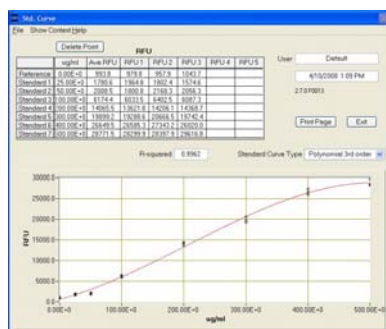
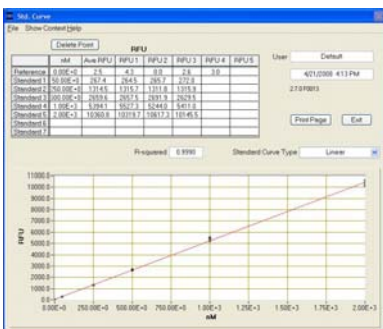
Ecluding or Deleting Standard Curve Data Points

Uživatel může odstranit zobrazované body standardní křivky výběrem příslušného datového bodu, který má být smazán, a následným kliknutím na tlačítko Delete Point bod odstranit.

- **Standard Curve Types**

K dispozici jsou tři možnosti typu standardní křivky

- Lineární
- Polynomiální 2 nebo 3 stupně
- Interpolace: Lineární interpolace mezi nejbližšími standardy.



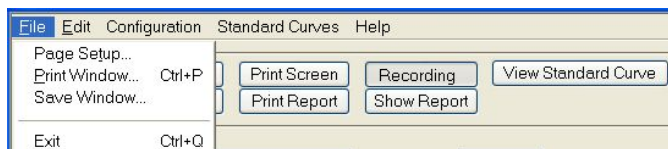
Typ standardní křivky lze změnit pomocí přepínače Standard Curve Type, který je umístěn v okně standardní křivky každé aplikace.

Linear Curve

Polynomial Curve

File

Panel *File tool* poskytuje tři volby v rozbalovací nabídce.



- **Page Setup**

Zobrazí možnosti přizpůsobení nastavení stránky pro tisk protokolu.

- **Print Window**

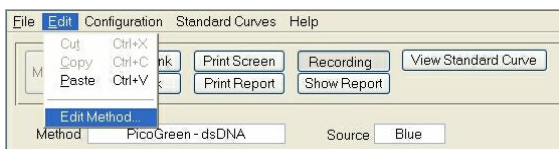
Okno pro tiskovou službu lze spustit z rozbalovací nabídky *File* nebo pomocí kláves *Ctrl + P*. V dialogovém okně je možno určit požadovanou síťovou tiskárnu. Pokud není počítač připojen k tiskárně, zobrazí se příslušná chybová zpráva.

- **Save Window**

Aktuální obrazovku lze uložit jako soubor typu .jpg výběrem položky *Save Window*, které je dostupná v rozbalovacím okně *File*.

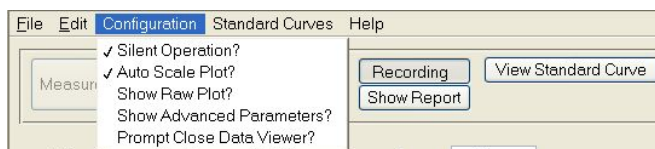
Edit

Volby pro úpravy editovatelných metod, obdobně jako odstraňování a vkládání informací o vzorcích jsou dostupné z rozbalovací nástrojovou lišty *Edit tool bar*.



Configuration

Pro konfiguraci poskytuje panel nástrojů pět možností, jak je zobrazeno níže: každou tuto položku je možno nastavit i pomocí menu *General Settings* v uživatelském modulu.



- **Silent Operation**

Při výchozím nastavení přístroje se ozve pípnutí na konci každého měření. Tuto funkci může uživatel vypnout v menu *Configuration*.

- **Auto Scale Plot**

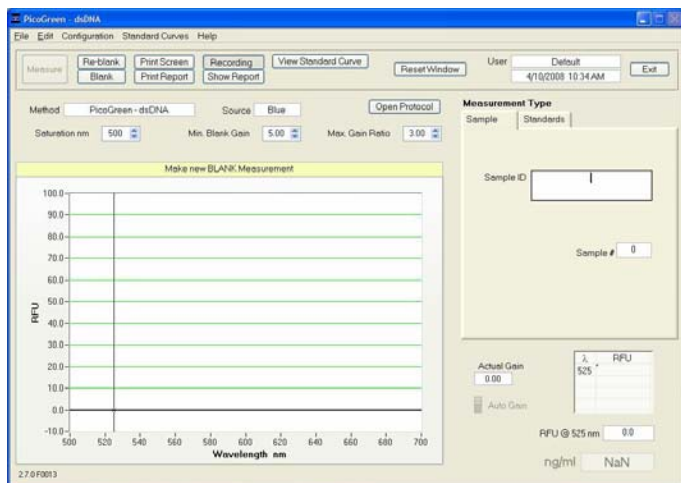
Rozevírací nabídka umožňuje softwaru automaticky přizpůsobit graf na obrazovce.

- **Show Raw Plot**

Další možností, která je k dispozici v rozevřacím seznamu okna *Configuration*, je volba pro zobrazení pouze grafu RFU nebo zobrazení spektra blanku, hrubých grafů a RFU grafů. Poznámka: Pro zobrazení spektra syrových dat se používají dvě měřítka. Pravá stupnice zobrazuje počty a používá se jak pro blank, tak i pro hrubá data. Levá stupnice znázorňuje rozdíl mezi blankem a surovými daty a udává se jako RFU. Obě tyto stupnice je možné nezávisle upravovat přepsáním nejvyšší hodnoty.

- **Show Advanced Parameters**

Tato volba umožňuje volbu zobrazení všech dostupných parametrů na hlavní obrazovce. Pokud jsou zobrazeny pokročilé parametry, zobrazí se hlavní stránka dle obrázku níže:



Pokročilé parametry tvoří následující položky:

- **Min Blank Gain**- Individuálně nastaveno pro každou LED. Tento parametr určuje minimální dobu excitace potřebné pro měření "blanku". Obvykle je nejhodnější výchozí nastavení je "5" pro modré i bílé LED diody. Pro UV LED diody je nejhodnější výchozí nastavení „10“.
- **Max Gain Ratio**- Tento parametr porovnává získanou hodnotu s hodnotou získanou z měření blanku. Pokud poměr překročí nastavenou hodnotu parametru *Max Gain*, zobrazí se zpráva s výzvou pro přijetí nebo odmítnutí dat. Pokud je spektrální obraz obzvláště deformovaný nebo má velmi úzké emisní profily, je vhodné data odmítnout a měření opakovat s novým čerstvě připraveným vzorkem. Signál (RFU) se zobrazí vždy a je možné ho použít pro ověření může být použit k posouzení platnosti zprávy. Výchozí nastavení je 3.
- **Saturation nm** Software přístroje automaticky omezuje dobu po kterou je LED dioda zapnuta, aby se zabránilo příliš velkému množství světla, které by přesytilo detektor spektrometru ve všech vlnových délkách nad uživatelem nastavením s názvem „*Saturation nm*“. Výchozí nastavení je 25 μm pod zvolenou emisní vlnovou délkou pro modré diody Blue a UV LED diody a 40 nm pod emisní vlnovou délkou pro bílé LED diody. Pro konkrétní aplikaci je možno pozorovat, že při výběru parametru "*Saturation nm*" blízké hodnotě zkoumaného emisního spektra může mít za následek delší doby excitace a vyšší hodnoty fluorescence vzorku. Software nezabrání saturaci vlnových délek pod zvolenou hodnotou parametru "*Saturation nm*".

Poznámka 1: Nastavení parametru "*Saturation nm*" se zobrazí pouze v případě, že je zvoleno. Uživatel může tuto možnost vybrat pomocí rozevřacího konfiguračního seznamu.

Poznámka 2: Fluorescenční signál z fluoroforu vzorku (emisní vlnová délka) nesmí nikdy saturovat detektor, když je aktivní funkce *Auto Gain*.

Poznámka 3: Je-li aktivní parametr *Fixed Gain* (tj. když uživatel definuje excitační dobu), nahrazuje nastavení parametru "*Saturation nm*". To může mít za následek nasycení při jakékoliv vlnové délce spektra včetně zkoumaného fluoroforu.

- **Prompt Close Data Viewer**

Poslední funkce v rozevřacím konfiguračním menu je volba, která bude vyzvána před zavřením prohlížeče Data viewer.

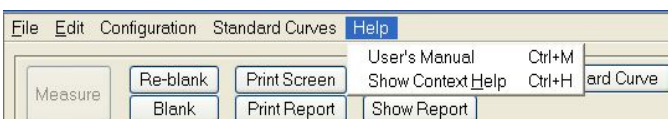
Standard Curves

Použijte tuto rozbalovací nabídku a vyberte buď Save As (Ctrl + A) pro uložení standardní křivky nebo Load (Ctrl + L) pro načtení dříve uložené křivky.



Show Context Help (Ctrl+H)

Kontextová nápověda je dostupná v hlavním okně *Main Menu*, ve všech funkčních modulech i ve všech aplikačních modulech. Nápovědu lze spustit volbou *Show Context Help* z menu *Help* nebo stisknutím Ctrl + H. Po spuštění nápovědy se umístěním kurzoru na jednotlivé prvky softwaru automaticky vygenerují příslušné vysvětlivky. Kontextová nápověda zůstane aktivní, dokud ji uživatel nezruší.



Gain

Zdroje excitace jsou aktivovány po určitou dobu, aby se maximalizovala jejich příslušná emise. Termín *gain* se používá k označení doby, po kterou je vzorek excitován. Čas se proto používá k maximalizaci signálu do CCD detektoru a zároveň zabraňuje saturaci detektoru.

- **Auto/Fixed Gain**

Auto / Fixed Gain jsou dvě možnosti pro nastavení doby excitace a jsou dostupné v modulu *Create / Edit*. Je-li zvolen výchozí režim automatického zesílení (*Auto Gain*), optimalizuje se pro vzorek doba osvětlení (excitace) zdroje (LED). V tomto režimu se pro příslušný vzorek zobrazí hodnota skutečné doby excitace. Hodnota 10,0 odpovídá maximální době excitace 1 sekundu (1000 milisekund).

Volba parameru *Fixed Gain* se vyber pokud se vyžaduje aby každý vzorek měl konstantní dobu excitace. Parametr *Fixed Gain* má hodnotu v rozmezí 0,1 až 10,0 s krokem po 0,1.

Poznámka: Signály RFU pro všechna nastavení doby excita jsou normalizovány vzhledem k aktuálnímu času měření. Funkci *Auto Gain* je možno aktivovat nebo deaktivovat prostřednictvím modulu *Method Editor*.

RFU at XXX nm

Jedná se o relativní fluorescenční výstup při vlnové délce specifikované pro metodu (uživatelsky nastavitelný kurzor). Uživatel může pohybovat kurzorem v rozsahu +/-20 nm vlnové délky analýzy.

$\lambda\Delta$

Pro excitaci s bílou LED diodou je interval virtuálního emisního filtru ($\Delta\lambda$) příslušným rozsahem vlnových délek, nad kterým se zobrazuje a vypočítává zbytkový signál (s odstraněnou korekcí kompenzace pozadí). Je symetricky aplikován kolem zvolené analýzy nm (emisní vlnová délka). Všechny hodnoty fluorescence mimo interval virtuálního filtru jsou nastaveny na nulu. Výchozí interval je ± 20 nm a může být upraven buď pomocí modulu *Method Editor* nebo v rámci příslušného modulu fluorescence (metody). Další podrobnosti naleznete v kapitole 4.

Poznámka: Základní hodnota pro ne-analytické (nefluorescenční) vzorky může vykazovat významnou nerovnoměrnost a nepravidelnost při aplikaci virtuálního filtrovacího algoritmu. Největší vliv je na detekční limity (citlivost) pro fluorofory s nízkou koncentrací. Fluorescence koncentrovaných roztoků, kde intenzita fluorescence je významně vyšší než fluorescence pozadí bez roztoku, může být měřena s dobrou reprodukovatelností. Práce s koncentrovanějšími roztoky pro fluorofory jako např. Cy3 nebo Alexa Fluor 555, kde maximální excitační maximum (555 nm) odpovídá maximální emisí bílé LED diody, může překlenout nerovnoměrnost referenční křivky.

Units

Tento parametr ukazuje jakým způsobem je koncentrace vzorku vyjádřena na základě standardní křivky. Má význam pouze při použití standardní křivky. Uživatel si může zvolit, kterou konfigurační jednotku má použít různými způsoby. Modul *Create/Edit* umožňuje volbu jednotky pro výchozí volbu, zatímco okno metody umožňuje interaktivní změny ve výběru.

Escape Key (ESC)

Klávesa ESC se používá pro opuštění ze všech oken. Dvojným kliknutím na tuto klávesu dojde k odhlášení uživatele z aplikačního modulu.

Exit (Ctrl+Q)

Tento příkaz zavře všechny aplikační moduly a podpůrné funkce. Po kliknutí na tlačítko *Exit* má uživatel 10 sekund na zrušení tohoto příkazu. Pokud do 10 sekund nedojde k žádné akci, provede se příkaz k opuštění. Poznámka: Všechna naměřená data se automaticky ukládají do archivního souboru a nevyžadují žádný zásah ze strany uživatele.

8. Kvantifikace nukleových kyselin

Předdefinované aplikace

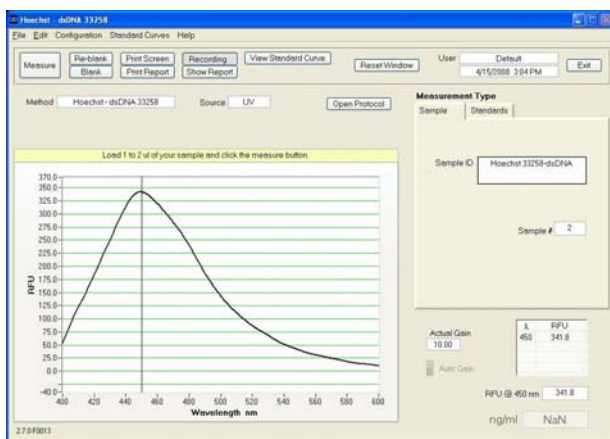
V tomto modulu je těchto šest předdefinovaných aplikací pro stanovení koncentrací vzorků nukleových kyselin:

- barvivo dsDNA 33258 Hoechst
- barvivo dsDNA PicoGreen®
- Quant-It™ DNA BR
- Quant-It™ DNA HS
- barvivo RiboGreen® dye
- Sybr® Green I

Po výběru a spuštění předdefinované aplikace, můžete přistupovat k odpovídajícímu protokolu přímo ze stránky sběru dat. Kromě máte možnost vytvořit a uložit další metody pro kvantifikaci nukleových kyseliny pomocí modulu *Create Method*. Podrobnější viz kapitola 4.

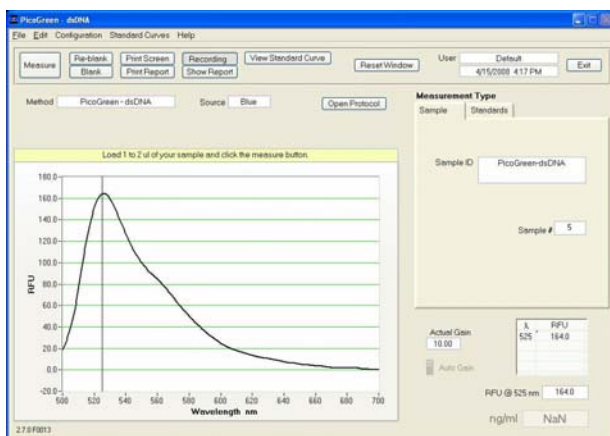
dsDNA 33258 Hoechst

Tato aplikace je konfigurována pro měření fluorescence barviva Hoechst, která je značně zvýšena vlivem vazby dvouřetězcové (ds) DNA. Fluorescenci komplexu Hoechst-dsDNA lze měřit při emisním maximu 450 ± 20 nm po excitaci UV LED. Při použití 2 μ l vzorků je citlivost komplexu Hoechst přibližně 150 pikogramů a lineární rozmezí činí 75 až 1500 ng/ml. Další údaje o tomto testu naleznete našich [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.



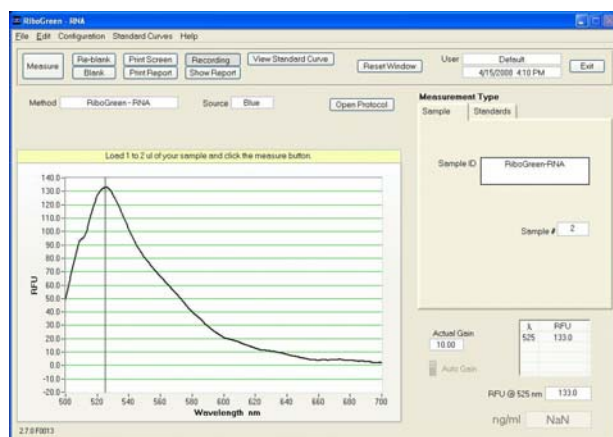
Barvivo dsDNA PicoGreen®

Tato aplikace je konfigurována pro měření fluorescence barviva PicoGreen®, která je značně zvýšena vlivem vazby dvouřetězcové DNA. Fluorescence komplexu PicoGreen® dsDNA lze měřit při 525 \pm 20 nm za použití excitace modré LED diody. Při použití 2 μ l vzorků je citlivost testu PicoGreen® přibližně 2 pikogramy a lineární rozsah činí 1 až 1000 ng/ml. Další údaje o tomto testu naleznete na [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.



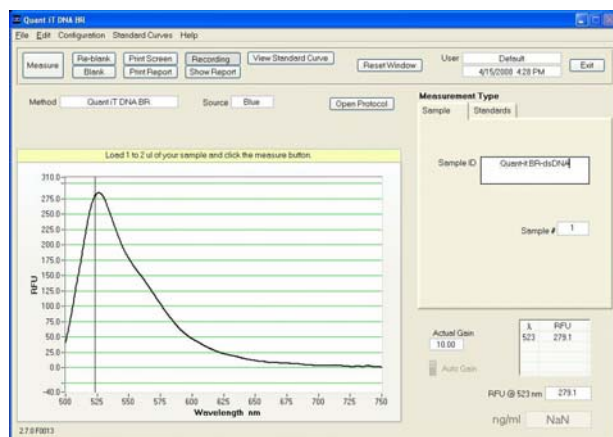
Barvivo RNA RiboGreen®

Tato aplikace je navržena pro měření fluorescence barviva RiboGreen®, které se preferenčně váže na RNA. Fluorescenci komplexu RiboGreen® RNA lze měřit při 525 ± 20 nm za použití excitace modré LED diody. Při použití 2 μ l vzorků je citlivost testu RiboGreen® přibližně 10 pikogramů. Nejvhodnější je použít dvě odlišné pracovní koncentrace barviva pro pokrytí lineárního rozmezí 5 až 1000 ng/ml. Další údaje o tomto testu naleznete na [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.



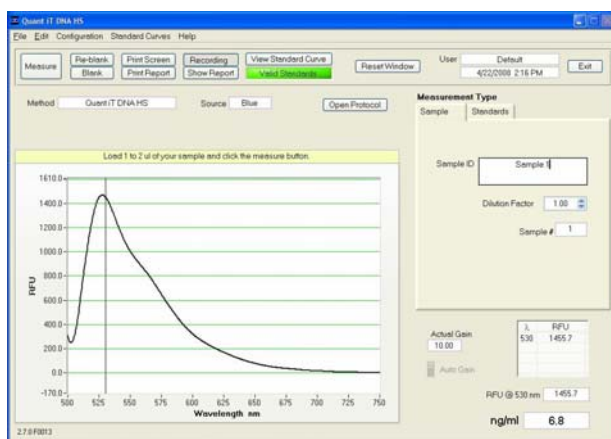
Quant-iT™ DNA BR

Aplikace Quant-iT™ dsDNA Broad Range je fluorescenční barvení nukleové kyseliny pro kvantifikaci min. množství dvouřetězcové DNA (dsDNA). Při použití s přístrojem NanoDrop 3300 tato aplikace poskytuje vysoce citlivé způsoby kvantifikace dsDNA s minimální spotřebou vzorku. Fluorescenci komplexu Quant-iT™ dsDNA BR lze měřit při 523 ± 20 nm za použití excitace modré LED diody. Při použití 2 μ l vzorků je citlivost testu Quant-iT™ dsDNA Broad Range přibližně 20 pikogramů a lineární rozsah činí 10 až 5000 ng/ μ l.



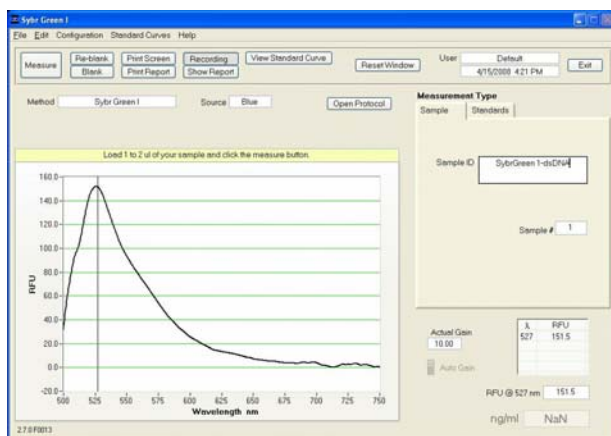
Quant-iT™ DNA HS

Aplikace Quant-iT™ dsDNA High Sensitivity Assay je fluorescenční barvení nukleové kyseliny pro kvantifikaci min. množství dvouřetězcové DNA (dsDNA). Při použití s přístrojem NanoDrop 3300 tato aplikace poskytuje vysoce citlivé způsoby kvantifikace dsDNA s minimální spotřebou vzorku. Fluorescenci komplexu Quant-iT™ dsDNA BR lze měřit při 530 ± 20 nm za použití excitace modré LED diody. Při použití 2 μ l vzorků je citlivost testu Quant-iT™ dsDNA High Sensitivity přibližně 2 pikogramy a lineární rozsah činí 1 až 500 ng/ml.



Sybr® Green I

Barvivo Sybr® Green I je fluorescenční barvivo nukleové kyseliny pro kvantifikaci dvouřetězcové DNA (dsDNA). Při použití s přístrojem NanoDrop 3300 tato aplikace poskytuje vysoce citlivé způsoby kvantifikace dsDNA s minimální spotřebou vzorku. Fluorescenci komplexu Sybr® Green I dsDNA lze měřit při 527 ± 20 nm pomocí modré LED diody. Při použití 2 μ l vzorků je citlivost Sybr® Green I přibližně 2 pikogramy a lineární rozsah činí 1 až 1000 ng/ml.



9. Kvantifikace bílkovin

Předdefinované aplikace

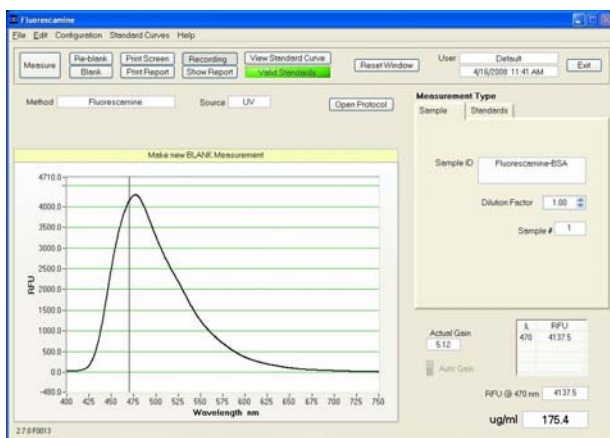
V tomto modulu jsou k dispozici čtyři předdefinované aplikace pro stanovení koncentrací vzorků bílkovin:

- Fluorescamine
- FluoroProfile®
- Fluoraldehyde™ OPA
- Quant-iT™ Protein

Po výběru a otevření příslušné předdefinované aplikace, můžete přistupovat k odpovídajícímu protokolu přímo ze stránky sběru dat. Navíc je možno vytvořit a uložit další metody pro kvantifikaci nukleové kyseliny pomocí modulu *Create Method*. Podrobněji viz kapitola 4.

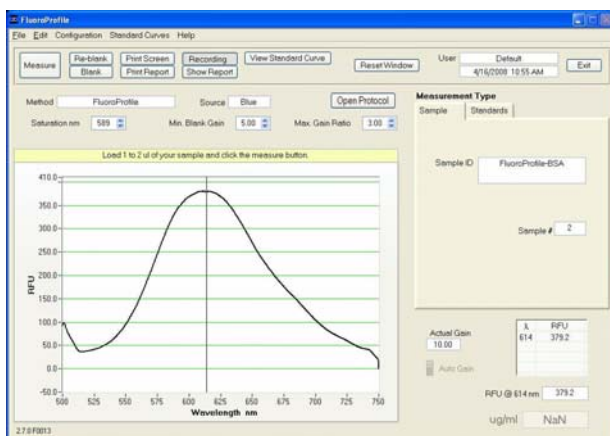
Fluorescamine

Fluorescamine je fluorescenční barvivo pro kvantifikaci min. množství bílkovin a peptidů v roztoku. Fluorescamine reaguje rychle s primárními aminy. Použití této aplikace s přístrojem NanoDrop 3300 poskytne vysoce citlivý způsob kvantifikace bílkoviny s minimální spotřebou vzorku. Při aktivaci UV LED (365 nm) má fluorescence komplexu protein-barvivo emisní vlnovou délku 470 ± 20 nm. Citlivost testu fluorescenčního proteinu je $8 \mu\text{g/ml}$ a lineární rozmezí činí 8 až $500 \mu\text{g/ml}$.



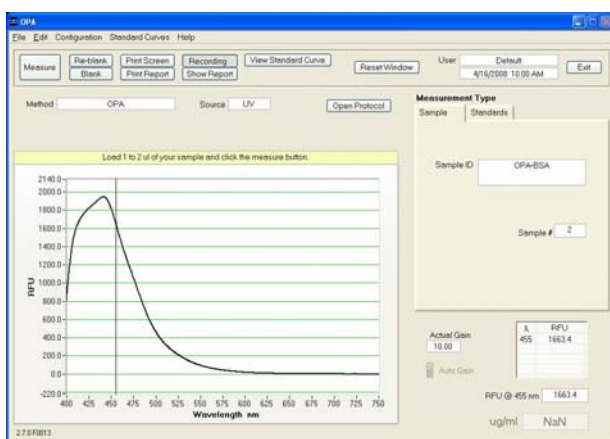
FluoroProfile®

FluoroProfile® je fluorescenční barvivo pro kvantifikaci min. množství bílkovin v roztoku. Použití tohoto testu s přístrojem NanoDrop 3300 poskytne vysoce citlivý způsob kvantifikace bílkoviny s minimální spotřebou vzorku. Barvivo FluoroProfile se skládá z přírodního produktu epikokonu. Při aktivaci modrou LED diodou (470 nm) má fluorescence komplexu bílkovina-epikokon emisní vlnovou délku $614 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$. Citlivost tohoto testu je $3 \mu\text{g}$ a lineární rozmezí činí 3 až $100 \mu\text{g/ml}$. Větší rozsahy mohou vyžadovat použití polynomiální křivky třetího stupně, zatímco prodloužené inkubační doby mohou zvýšit linearitu při vyšších koncentracích proteinu.



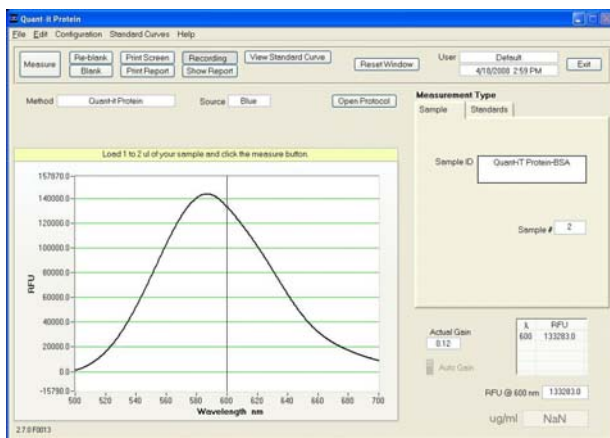
Fluoraldehyde™ OPA

Aplikace Fluoraldehyd™ OPA nabízí rychlou fluorescenční detekci nepatrných množství vzorků bílkovin a peptidů v roztoku. Při použití s přístrojem NanoDrop 3300 tato aplikace poskytuje vysoce citlivý způsob kvantifikace bílkovin s minimální spotřebou vzorku. Fluorescenci lze měřit při 455 ± 20 nm pomocí UV LED. Široký dynamický rozsah testu se získává použitím dvou odlišných objemů vzorku s reakčním činidlem. Při použití 2 μ l vzorku smíchaného s 20 μ l činidla se dosáhne citlivost 15 μ g/ml a dynamický rozsah 15 až 1000 μ g/ml. Citlivost testu se zvýší na 1 μ g/ml a lineární rozmezí se rozšíří na rozsah 1 až 50 μ g/ml, pokud se použije vyšší objem vzorku s reakčním činidlem. Podrobněji o specifikách ředění viz [protokol pole](#).



Quant-iT™ Protein Assay

Aplikace Quant-iT™ protein assay je proteinový čip sloužící ke stanovení minutového množství bílkoviny v roztoku. Při použití s přístrojem NanoDrop 3300 tento test poskytuje vysoce citlivý způsob kvantifikace bílkoviny s minimální spotřebou vzorku. Fluorescenci lze měřit při 600 ± 20 nm pomocí modré LED diody. Je nezbytné použít dvě odlišné pracovní koncentrace barviva a aplikovat polynomiální křivku třetího stupně aby mohl být dosažen dynamický rozsah 5 až 500 μ g/ml. Použitím 2 μ l vzorků se při aplikaci proteinového čipu Quant-iT™ protein assay dosáhne přesnost přibližně 10 nanogramů. Další údaje o tomto testu naleznete na [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.



10. Jiné fluorofory

K dispozici je následujících jedenáct předpřipravených metod:

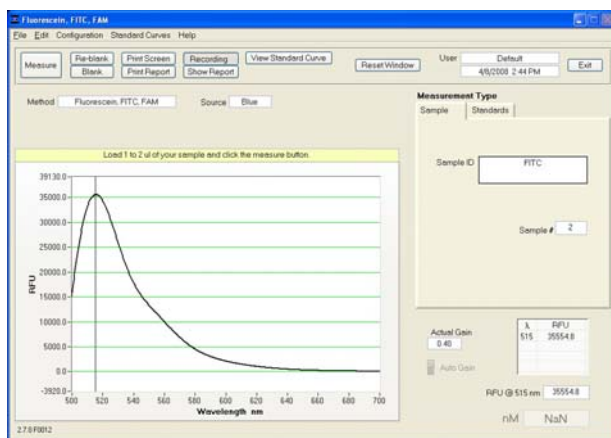
- Fluorescein, FITC, FAM
- Cy3, Alexa Fluor[®] 555
- Cy5, Alexa Fluor[®] 647
- Quinine Sulfate
- 4-methyl umbelliferone
- DyLight 405
- DyLight 488
- DyLight 549
- DyLight 633
- DyLight 649
- DyLight 680

Tato možnost je k dispozici k vytvoření a uložení jiných metod pomocí funkce *Create Method* dostupné v modulu modulu *Create/Edit Method Module*. Detailněji viz kapitola 3 sekce *Create/Edit*.

Metody s modrou LED diodou

- **DyLight 488** - Tato aplikace je určena k měření fluorescence DyLight 488 při $518 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$, když je navázána na zkoumanou molekulu. Spektrálně je podobná Alexa Fluor 488 a Cy2.
- **Fluorescein, FITC, FAM** - Tato aplikace je vytvořena pro měření fluorescence Fluoresceinu (FITC) při $515 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$. Na rozdíl od předchozích výše popsaných barviv pro nukleové kyseliny a bílkoviny má Fluorescein přirozené fluorescenční vlastnosti. Po kovalentním navázání FITC na zkoumanou molekulu, se musí před vlastním měřením oddělit činidlo označkové fluoresceinem (FITC) od nevázaného fluoroforu.

Na snímku níže je uveden vzorový příklad spektra s použitím FITC excitovaným **modrou LED diodou**:

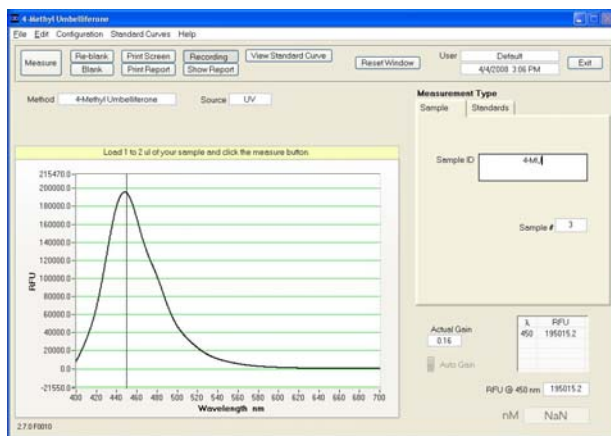


Metody s UV LED diodou

- **DyLight 405** - Tato metoda je určena k měření fluorescence barviva DyLight 405 při $400 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$, pokud je navázána na zkoumanou molekulu. Spektrálně je podobná Alexa Fluor 405.
- **Quinine Sulfate** - Tato metoda je určena k měření inherentní fluorescence chinin sulfátu. Fluorescence chinin sulfátu se měří při $450 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$
- **4-Methyl Umbelliferone, (4-MU)** - Tato metoda měří fluorescenci produktů enzymatického štěpení obsahujících 4-methyl umbelliferon při $450 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$. Detekce 4-methyl umbelliferonu může být použita jako citlivý kvantitativní test pro β – galaktosidázu nebo jiné enzymy, které štěpí substráty spojené s 4-MU. Odštěpením 4-methyl-umbelliferyl- β -D-galaktosidu β -galaktosidasou se získá fluorescenční molekula 4-methyl umbelliferonu (7-hydroxy-4-methylkumarin, 4-MU).

Poznámka: 4-methyl umbelliferon je fluorescenční pouze nad pH 8.

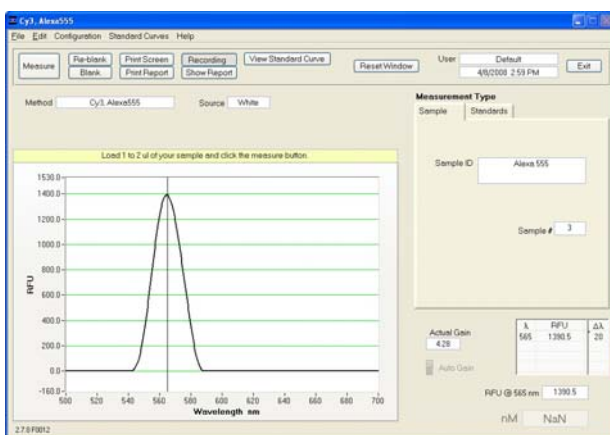
Na obrázku níže je uvedeno vzorové spektrum s použitím 4 MU excitované **UV LED diodou**:



Metody s bílou LED diodou

- **Cy5 Alexa Fluor® 647** - Tato metoda měří fluorescence Cy5 nebo Alexa Fluoru 647 při $670 \text{ nm} \pm 30 \text{ nm}$. Na rozdíl od dříve popsaných barviv pro stavení nukleových kyselin a bílkovin jsou mají tyto fluorofory přirozeně fluorescenční vlastnosti. Po kovalentním navázání fluoroforu na zkoumanou molekulu, se před vlastním měřením musí oddělit činidlo značené fluoroforem od nenavázaného fluoroforu.
- **DyLight 549** - Metoda DyLight 549 je určena k měření fluorescence DyLight 549 at $568 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$, pokud je navázána na zkoumanou molekulu. Spektrálně je podobná Alexa Fluor 555 a Cy3
- **DyLight 633** - Barvivo DyLight 633 je spektrálně podobné Alexa Fluor 633. Při této metodě se měří fluorescence DyLight 633 při $658 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$, pokud je navázána na zkoumanou molekulu.
- **DyLight 649** - Tato metoda slouží pro měření fluorescence DyLight 649 při $674 \text{ nm} \pm 30 \text{ nm}$, pokud je navázána na zkoumanou molekulu. Spektrálně je podobná Alexa Fluor 647 a Cy5.
- **DyLight 680** - Metoda DyLight 680 je nakonfigurována pro měření fluorescence DyLight 680 při $715 \text{ nm} \pm 30 \text{ nm}$, pokud je navázána na zkoumanou molekulu. Spektrálně je podobná Alexa Fluor 680.
- **Cy3, Alexa Fluor® 555** - Metoda Cy3, Alexa Fluor 555 je nakonfigurována pro měření fluorescence Cy3 nebo Alexa Fluor® 555 při $565 \pm 20 \text{ nm}$. Na rozdíl od dříve popsaných barviv pro analýzu nukleových kyseliny a bílkovin jsou tyto fluorofory přirozeně fluorescenční. Po kovalentním navázání fluoroforu na zkoumanou molekulu, se před vlastním měřením musí oddělit činidlo značené fluoroforem od nenavázaného fluoroforu.

Na obrázku níže je uvedeno vzorové spektrum s použitím Alexa 555 excitované **bílou LED diodou**:



Další údaje o použití flouoroforů jsou k dispozici na [webových stránkách](#) Thermo Fischer Scientific.

11. Archivovaná data a prohlížeč Data Viewer

Vzorová data ze všech aplikačních modulů se automaticky archivují do datových souborů a lze je otevřít buď integrovaným softwarovým programem *Data Viewer* nebo pomocí tabulkovými programů např. MS Excel.

Vytvoření datového souboru /Archive File Creation/

Pokaždé, když se spustí modul příslušné aplikace, automaticky se vytvoří specifický datový soubor přihlášeného uživatele. Všechna měření provedená příslušným uživatelem (v daném aplikačním modulu) za daný kalendářní den se ukládají do jediného archivního souboru. Tyto soubory nesou název příslušného aplikačního modulu s připojeným datem vytvoření. Příklad: Vzorový soubor s názvem „PicoGreen-dsDNA 2006 10 10.nfd“ se vztahuje k softwarové aplikaci PicoGreen® a byl vytvořena 10. října 2006. Tyto soubory mají přidělenou koncovku (.nfd) pro automatické spuštění v tabulkovém formátu nebo pro import do prohlížeče Data Viewer viz dále v textu.

Data lze editovat a/nebo přeformátovat a následně uživatelem uložit pod vybraným jménem. Spektrum je možno opakovaně vykreslit z dat o vlnových délkách pokud je třeba další rozbor.

Poznámka 1: Fluorescenční data obsažená v archivovaných souborech se zobrazují na obrazovce.

Poznámka 2: Pro data ze všech modulů je zahrnut sloupec s názvem *Measurement Type*. Pro každé měření bude tento sloupec obsahovat slovní označení *Measure*, *Blank* nebo *Re-blank*. Označení *Measure* znamená, že hodnoty v příslušném řádku pochází z normálního měření, které využilo blank. Označení *Blank* znamená, že záznam tvoří měření prvotního blanku. Pokud nese označení *Re-blank*, jedná se o zpětnou analýzu předchozího měření s novým blankem.

Sample ID	User ID	Date	Time	Measure	T	Gain	Conc.	Units	Min Gain	Max gain	Dilution fac	Norm. coe	Formula	RFU	nm1	
1	Method:	Fluorescein, FITC, FAM														
2	Software:	2.6.0														
4	Blank	Default	11/13/2006	8:20 AM	Blank	10	NaN	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	0	515	
5	Blank	Default	11/13/2006	8:22 AM	Blank	10	NaN	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	0	515	
6	Standard	Default	11/13/2006	8:26 AM	Measure	10	0.00E+00	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	0	515	
7	Standard	Default	11/13/2006	8:31 AM	Measure	10	5.00E-01	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	11.4	515	
8	Standard	Default	11/13/2006	8:33 AM	Measure	10	5.00E-01	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	11.5	515	
9	Standard	Default	11/13/2006	8:34 AM	Measure	10	5.00E-01	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	12.8	515	
10	Standard	Default	11/13/2006	8:41 AM	Measure	10	5.00E+00	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	188.4	515	
11	Standard	Default	11/13/2006	8:44 AM	Measure	10	5.00E+00	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	188.9	515	
12	Test samp	Default	11/13/2006	8:46 AM	Measure	10	5.4	1.00E+00	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	38.6	515
13	Test samp	Default	11/13/2006	8:48 AM	Measure	10	8.45E-01	nM	10	3	1.00E+00	1.74	nm1	28.9	515	

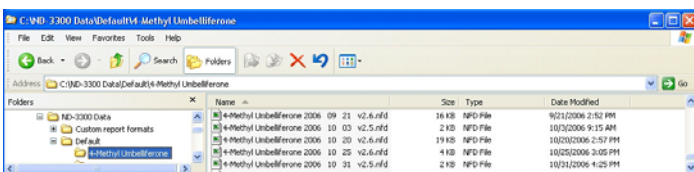
Data Storage Hierarchy

Struktura cesty archivovaných souborů je následující:

C:\ND-3300 Data → User name → Application Module (Hoechst dsDNA, PicoGreen dsDNA, RNA RiboGreen, atp.)

User-Defined Archive File Location

Kromě primárního úložiště dat mohou uživatelé uložit svá data do jiného úložiště. Toto lze provést v záložce *Archiving Tab* pod předvolbou *User Preferences* v hlavním okně *Main Menu*, volbou "On" v položce *Duplicate data storage box* a následně vybrat cestu k adresáři souborů kliknutím na jeho ikonu pod *Duplicate Data Folder*. Zvolenou alternativní cestu uložte kliknutím na tlačítko *Save Preferences*, než zavřete okno *User Preferences*.



Všechna data se ihned po dokončení měření automaticky zapisou do souboru. Případný neočekávaný výpadek softwaru nebo PC by archivovaný soubor neměl poškodit.

Prohlížeč Data Viewer

Prohlížeč *Data Viewer* je univerzální softwarový program zahrnutý v operačním softwaru, který umožňuje přizpůsobit strukturu reportů, import uložených data a opakované vykreslování z dříve vytvořených dat. Prohlížeč *Data Viewer* se využívá pro kontrolu dat. K této funkci lze přistupovat během měření z funkce *Show Report*, která se nachází v každém modulu metod. Prohlížeč je přístupný v průběhu měření z položky *Show Report* v rámci každého modulu dílčích metod.

Spuštění prohlížeče z hlavního menu /Main Menu/ se používá k importu a prohlížení dříve uložených dat. Může být také spuštěn samostatně i když je přístroj NanoDrop 3300 není připojen k PC.

Funkce prohlížeče Data Viewer

Prohlížeč dat obsahuje dvě nebo tři okna ve formě tabulek, která obsahují grafy, protokoly a standardní křivky (pokud se použily). Uživatelé je kliknutím dostupné kterékoliv z těchto oken.

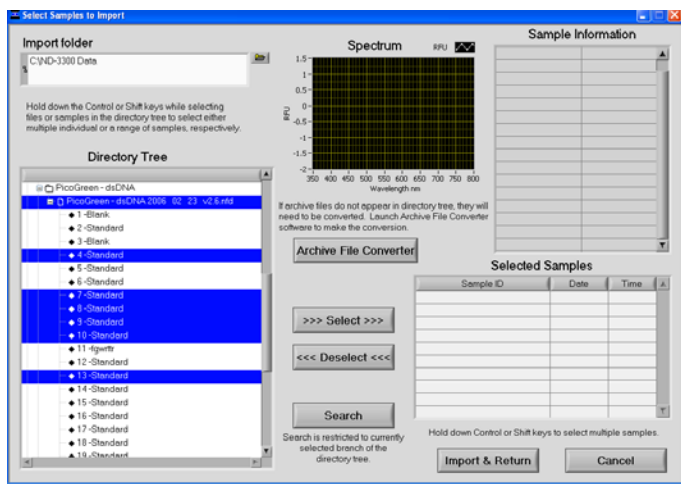
Software spustí okno *Plots* (viz sekce *Plots* dále v textu), ať už přístupem z hlavní nabídky *Main Menu* nebo z položky *Show Report*. Poznámka: Aby bylo možné přistupovat k prohlížeči *Data Viewer* z položky *Show Report*, musí být namísto *Start Report* zvoleno *Recording*.

Tool Bar Features společně pro všechny tři stránky:

- **Configuration:** Tato položka zahrnuje nástroj *Auto Scale* (automatické měřítko), *Include graph in inprint* (zahrnout graf do výtisku) a obsahuje standardy pro výtisky.
- **Data:** Zahrnuje možnost importu dat (Ctrl + I), přejmenování vzorků (Ctrl + N) a odstranění vzorových dat (Ctrl + D). Poznámka: Po odstranění všech vzorků je důležité opustit modul *Data Viewer* a znovu zadat, pokud importujete data pro jiný typ aplikace.
- **Report:** Tato funkce panelu nástrojů umožňuje vybrat sloupce, které mají být zahrnuty do protokolu. Podrobněji viz dále v textu pod označením "*Reports Page*"
- **File Page Set-up:** Umožňuje uživateli definovat stránku nastavenou pro tisk spektra, protokolu a standardní křivky.
- **Print Window:** Aktuální obrazovku *Plot*, *Report* nebo *Standards* lze vytisknout kliknutím na *Print Window* nebo klávesami Ctrl + P.
- **Save Window:** Uloží soubory ve formátu .jpgs.
- **Help/Context Help:** Tato funkce dostupná v hlavním menu *Main Menu*, ve všech funkčních modulech a aplikačních modulech. Funkce nápovědy se povolí volbou *Show Context Help* z rozbalovací nabídky nápovědy nebo pomocí kláves Ctrl + H. Po inicializaci a umístění kurzoru na prvek obrazovky se automaticky vygeneruje příslušná nápověda. Kontextová nápověda zůstane aktivní, dokud ji uživatel nezruší.

Import

Přístup k Prohlížeči dat prostřednictvím hlavního menu *Main Menu* umožňuje uživateli importovat archivovaná data. Pomocí rozbalovacího nástroje *Data* na horním panelu nabídek vyberte možnost *Import Folder* box (Ctrl + I). Tímto se otevře nové okno se složkou *Import Folder* a adresářovou strukturou *Directory Tree*.



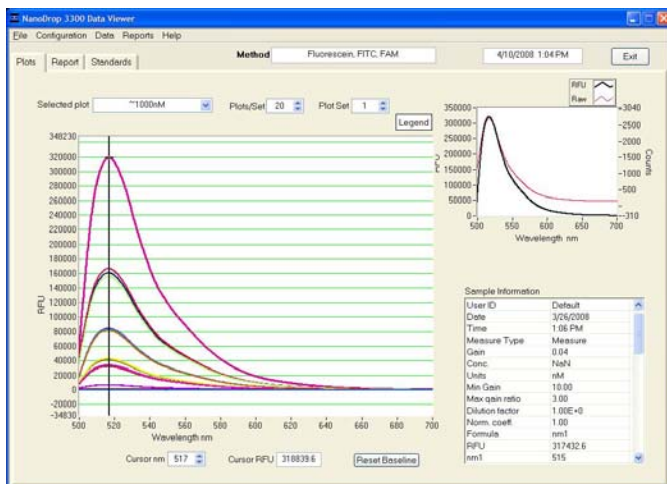
Zahrnuté funkce:

- **Import Folder:** Slouží k výběru složky odkud mají být data importována. Výběr složky musí být ve stejné adresářové úrovni nebo v úrovni vyšší.

- **Directory Tree:** Slouží k výběru konkrétních dat, která mají být nainportována. Kliknutím na čtvereček vlevo u názvu souboru získáte další podrobnosti pro každou úroveň. Uživatel si může vybrat buď jednotlivé vzorky v rámci souboru dat nebo celý datový soubor. Všechny volby při importu musí být jednotné aplikace nebo jednotného typu metody.
- **>>> or <<<:** Slouží k přesunutí zvýrazněných voleb do nebo z pole *Selected Samples box*.
- **Search:** Funkce umožňující vyhledávat specifická data pomocí ID označení. Poznámka: Rozlišují se velká a malá písmena.
- **Sample Information and Spectrum:** Obsahuje informace související s naposledy zvýrazněným vzorkem.
- **Import and Return:** Použije vybraná data k sestavení oken *Plots a Reports* a následně se vrátí do okna *Plots*. Poznámka: Pomocí klávesy SHIFT nebo funkčních kláves PC je možno vybrat více vzorků a/nebo souborů pro import. Tyto klávesy lze také použít k odznačení více vzorků, jak je znázorněno na obrázku výše.

Plots

Okno *Plots* zobrazuje vybraná spektra vzorků.

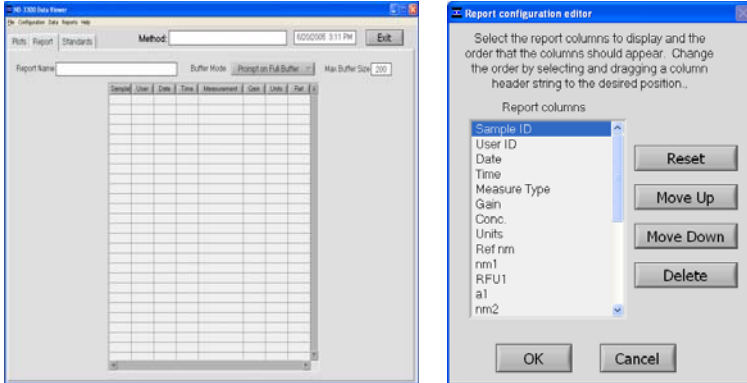


Zahrnuté funkce:

- **Method:** Automaticky přiřadí název modulu.
- **Date:** Automaticky přidá datum a čas protokolu.
- **Selected Plot:** Existují dva způsoby výběru nebo zvýraznění jednotlivých dat vzorku. Uživatel může jednoduše přesunout kurzor na požadovanou část grafu a kliknout nebo použít rozevírací pole Selected Plot (které rovněž zobrazí legendu). Vybraný vzorek bude zobrazen tlustou čarou.
- **Plots/Sets:** Uživatel může zvolit maximální počet (až 20) jednotlivých grafů na jednu stránku. Ačkoli zpráva může obsahovat data pro neomezený počet vzorků, stránka s grafy je omezena počtem 20 grafů. Další spektra vzorků jsou zobrazena na nových stránkách. Každá stránka je pak označována jako množina.
- **Legend:** Umístěním kurzoru nad pole s legendou se zobrazí název vzorku v barvě odpovídající grafu. Nelze provést výběr nebo zvýraznění vzorku v legendě.
- **Sample information:** Automaticky vyplní data zvoleného vzorku. Zobrazená data odpovídají zvolenému typu dat. Poznámka: Zobrazení informace odpovídají údajům v době vytvoření vzorku (a tedy neodpovídají reálnému času při změně kurzoru pohybem v okně *Data Viewer*).
- **Movable x and y axis:** Funce dostupná pro všechny typy dat. Pokud se kurzor v obou směrech nachází mimo zobrazenou oblast, změňte měřítko osy zadáním jednoho z krajních limitních čísel. Hodnoty RFU zobrazované kurzorem v dolní části obrazovky jsou určeny polohou pohyblivých kurzorů. Pohyblivá část X určuje základní linii, ze které se vypočítá vrchol polohy Y. Po resetování základní linie /base line/ se nastaví poloha osy x zpět na nulu.

Reports

Stránka s protokoly zobrazuje data vybraných vzorků ve formátu tabulky. Uživatel může upravit konfiguraci sloupců pro každý typ metody a uložit více uživatelských formátů pomocí možností v rozevřacím seznamu.



Report tool bar drop down options include:

- **Configure Report (Ctrl+F):** Slouží k výběru parametrů, které budou zahrnuty do protokolu.
- **Sort Report (Ctrl+T):** Umožňuje uživatelům třídit data podle sloupců (dle data nebo názvu vzorku).
- **Save Report Format:** Uloží specifikovaný protokol do složce příslušného typu dat. Všechny soubory budou uloženy s příponou .nfd, i když je vybráno „all files“. Chcete-li uložit tento formát do přehledu jako výchozí formát, ukončete hlavní nabídku /Main Menu/, vyberte položku *Users Preferences* a klikněte na položku *Change settings*. Zobrazí se seznam různých uložených formátů příslušného typu metody.
- **Load Report Format (Ctrl+G):** Umožňuje načtení uložených formátů protokolu buď před importem dat anebo následně.
- **Print Report (Ctrl+R):** Standardně vytiskne pouze stránku *Protokol*. Uživatel může zvolit, zda se také vytisknou standardy nebo vykreslí grafické stránky a to výběrem těchto možností v rozevřacím seznamu *Configure* na panelu nástrojů.
- **Save Report (Ctrl+S) and Load Report (Ctrl+L):** Pro tuto možnost existuje několik variant, jak znázorňuje následující obrázek:



Funkce *Full Report* umožní uživateli použít prohlížeč *Data Viewer* k pozdějšímu načtení protokolu. Uložený protokol může být vyvolán pomocí funkce *Load Report* (Ctrl + L) v okně. Pokud používáte funkci *Load Report*, zobrazí se protokol s výchozí konfigurací sloupců. Poznámka: Pokud potřebujete upravit a uložit preferovanou výchozí konfiguraci, otevřete v hlavním menu /Main Menu/ modul *User Preferences*. Protokoly se ukládají ve formátu .nfr.

Další dvě možnosti jsou určeny pro protokoly, u nichž se předpokládá, že budou dále využity tabulkové procesoru typu Excel. Chcete-li tyto protokoly otevřít, přejděte do složky *C:\IND-3300 Data\Reports* a klikněte pravým tlačítkem na požadovaný soubor.

Additional features of the Report page:

- **Method:** Automaticky přiřadí typ datové metody.
- **Date and time:** Automaticky přidá datum a čas.
- **Report Name:** Uživatelské označení pro aktuální protokol.
- **Report Mode:** Rozbalovací pole definující možnosti správy protokolů.
- **Max Report size:** Výchozí velikost je nastavena na max. 200.

Po dosažení specifikované velikosti prokolu má uživatel volbu čtyř možností: zahodit */Ignore/*, uložit */Save/*, tisknout */Print/* a uložit a tisknout */Save and Print/*.

Výběrem položky Show Report se uživatel dostane na stránku protokolu. Všechna data se archivují uložením do souborů a lze je zpětně načíst pomocí funkce *Import* v prohlížečí modulu *Data Viewer*.

Standards

V okně *Standards* se zobrazí aktuální referenční standardy aplikované v době měření na každý konkrétní vzorek.

Sample ID	Ref conc.	Ref RFU	Std 1 conc.	Std 1 RFU	Std 2 conc.	Std 2 RFU	Std 3 conc.	Std 3 RFU	Std 4 conc.	Std 4 RFU	Std 5 conc.	Std 5 RFU	A

Opening Archived Data with Spreadsheet Programs

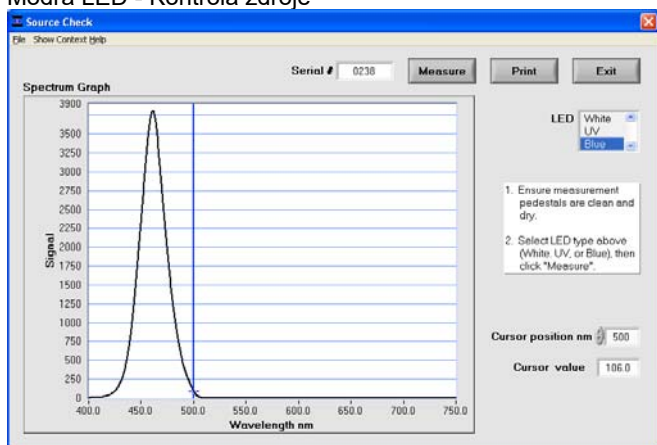
Soubory jsou ve formátu s hodnotami oddělenými tabulátory a lze je otevřít v aplikaci Microsoft Excel nebo jiném obdobném tabulkovém procesoru.

12. Kontrola zdroje /Source check/

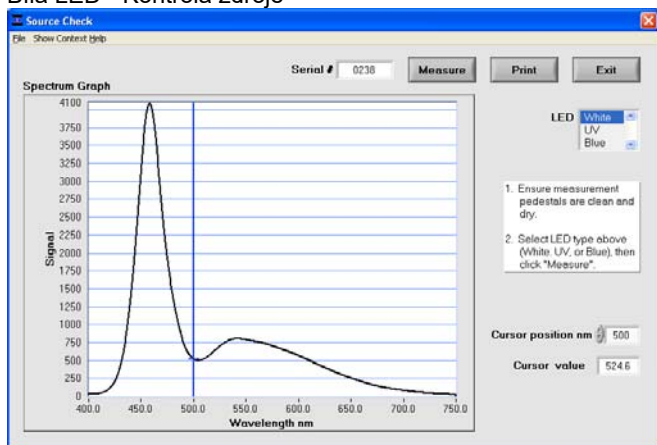
Modul *Source Check* slouží k ověření funkčnosti příslušných LED diod.

Níže uvedná spektra jsou typickými příklady kontroly zdrojů - modré a bílé LED diody. Uživatel může jednoduše vybrat požadovanou LED diodu a pak klikne na tlačítko pro změření. Poznámka: Měření by se mělo provádět s čistým a suchým podstavcem. Vkládání vzorku nebo pufru na podstavec při provádění kontroly zdroje není nutné provádět. Pokud se modulem *Source Check* takto změřené spektrum nepodobá příkladu uvedenému na obráku níže, vyčistěte podstavec a proveďte nové měření. Další informace vám poskytne místní distributor nebo kontaktuje technickou podporu.

Modrá LED - Kontrola zdroje

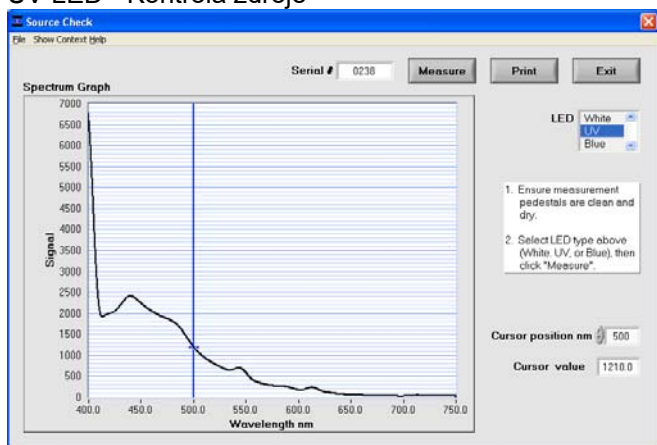


Bílá LED - Kontrola zdroje



I když UV zdroj není detekovatelný lidským okem, fluorescence aktivovaná UV zářením je možné pozorovat tak, že umístíte laboratorní ubrousek na spodní podstavec, sklopíte rameno přístroje až do kontaktu s ubrouskem. Výsledná modrá fluorescence může být pozorovatelná při pohledu přes boční štěrbinu štítu zakrývajícího podstavec. Takovéto spektrální snímky vytvořené pomocí laboratorního ubrousku s UV LED se budou značně lišit. Příklad je uveden na obrázku níže:

UV LED - Kontrola zdroje



Obrázky se automaticky ukládají na pevný disk počítače do adresáře: *C:\WD-3300 Data\Operation & Performance Images*.

13. Řešení problémů

Chybová hlášení a zprávy

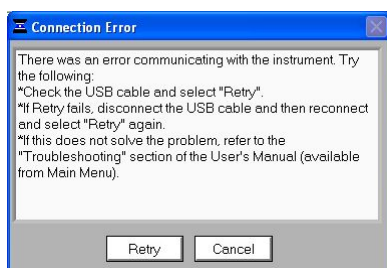
Error USB2000



Toto chybové hlášení se může zobrazit při spuštění softwaru a obvykle znamená, že USB kabel není správně připojený nebo že software se správně nenačetl. Postup pro odstranění problému:

1. Zkontrolujte, zda je kabel USB připojen k počítači a zároveň k přístroji.
2. Odpojte a znovu připojte kabel USB. Pokud se zobrazí Průvodce nalezením nového hardwaru, postupujte podle pokynů pro automatickou instalaci ovladačů softwaru.
3. Restartujte operační software; pokud již funguje správně, problém je vyřešen. Pokud nefunguje postupte ke kroku 4.
4. Vyhledejte ikonu **Tento počítač /My Computer/** nebo **Počítač /Computer/** na ploše nebo otevřete nabídku Start systému Windows a klikněte na ni pravým tlačítkem.
5. Zvýrazněte a vyberte položku **Spravovat /Manage/**.
6. Klikněte na ikonu **Správce zařízení /Device Manager/** v levém podokně se zobrazí panel s připojenými zařízeními.
7. V pravém podokně vyhledejte zařízení Thermo Scientific NanoDrop a otevřete jej kliknutím na znak "+". Vedle názvu tohoto zařízení (NanoDrop 3300) bude zobrazen žlutý vykřičník nebo otazník indikující nesprávnou instalaci ovladače. Poznámka: Pokud zařízení Thermo Scientific NanoDrop není uvedeno ve Správci zařízení, vyhledejte v tomto seznamu všechna zařízení, která jsou označena žlutou vlajkou. Hledané zařízení může být uvedeno jako neznámé zařízení, generické zařízení, zařízení Visa NI nebo může být obsaženo ve výpisu řadiče USB.
8. Zvýrazněte zařízení se žlutým označením a pravým tlačítkem jej odinstalujte.
9. Odpojte kabel USB a napájení; počkejte 5 sekund a zařízení znovu připojte, začněte nejprve napájecím kabelem.
10. Vyzkoušejte jiný port USB nebo nainstalujte přístroj na jiný počítač, proto abyste vyloučili chybu rozbočovače/portu USB na původním počítači. Pokud se žádným z výše uvedených kroků příslušný problém nevyřeší, obraťte se na technickou podporu nebo na místního distributora produktů NanoDrop.

Chyby připojení /Connection Errors/

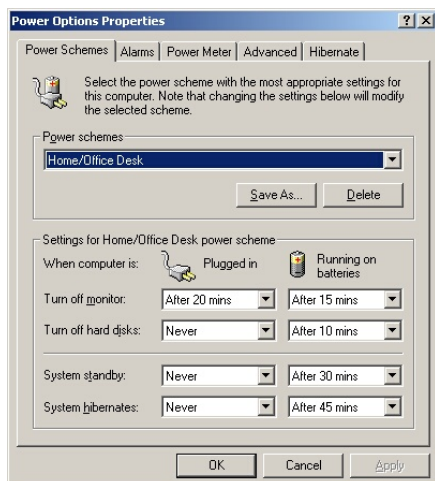


K této chybě dochází pokud nastane přerušování připojení USB během provozu softwarového modulu. Ve většině případů pomůže zvolit *Opakovat /Retry/* aby se zařízení správně připojilo. Níže jsou uvedeny některé možné příčiny a řešení:

Power management scheme on the PC:

Komunikace přes USB port se ztratí vždy, když se počítač automaticky přepne do pohotovostního režimu nebo režimu spánku. Volba *Opakovat /Retry/* v tomto případě nepomůže přístroj připojit. Pokud tato situace nastane, je třeba USB kabel odpojit a než zvolíte *Opakovat /Retry/* jej znovu připojit.

Otevřením stránky *Vlastnosti napájení /Power Options Properties/* můžete potvrdit správné nastavení řízení spotřeby a to výběrem položky *Start → Ovládací panel → Možnosti napájení /Start → Control Panel → Power Options/*. V kolonce připojených zařízení by pro systémový pohotovostní režim i režim hibernace měly být nastaveny hodnoty „nikdy“ / „never“ viz obrázek níže:



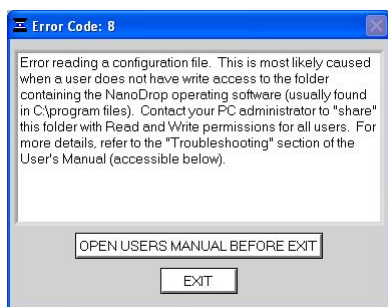
Static Electricity Discharge

Při kontaktu osoby s přístrojem může ve velmi suchém prostředí může docházet ke vzniku elektrostatického výboje t.j. vznikne "rána" když se dotknete přístroje. Tomu lze zabránit různými způsoby - vyrušením elektrického náboje např. nosením zemnicího pásku, obuv s vhodnou antistatickou úpravou apod.

Defective USB Port on PC

Pokud váš přístroj po většinu času pracuje správně, ale chyba připojení se objevuje nepravidelně, může být chyba způsobena USB portem na počítači. Pokud toto nastane, nainstalujte software a pracujte na jiném počítači. Když se na druhém počítači chyba neobjeví, bude na původním PC pravděpodobně nutné vyměnit kartu USB.

Error: Code 8

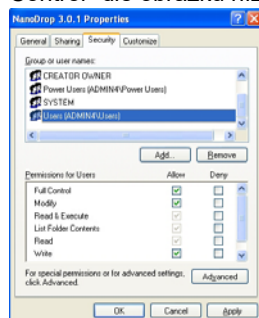


Tato chyba nastane, pokud byl odepřen přístup k některému ze tří souborů „.log“ („*dye list.log*“, „*passwords.log*“ nebo „*user preferences.log*“). K tomu obvykle dochází, když uživatel bez přístupu správcovských práv spouští software. Pokud se jedná o tento případ, musí oprávněný správce nastavit úroveň oprávnění v složce souborů operačního programu (C:\WD-3300 Data Files) tak, aby všichni uživatelé měli přístup ke souborům ve složce. Chcete-li nastavit oprávnění, postupujte následovně:

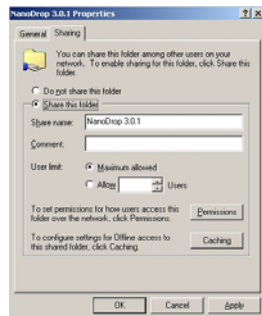
1. Přihlaste se pomocí administrátorského účtu.
2. Klikněte pravým tlačítkem na adresář C:\WD-3300 Data\Log Files.
3. Zvolte "Sdílení a zabezpečení" / "Sharing and Security", nebo "Sdílení" / "Sharing".
4. Nastavte zabezpečení dle operačního systému/sítě podle následujícího obrázku:

Windows XP Professional s Domain Networking (využívající server).

Na kartě *Zabezpečení / Security tab* nastavte oprávnění pro "Uživatelé"/"Users" na „Úplné" / "Full Control" dle obrázku níže

**Windows 2000 Professional**

Na kartě *Sdílení / Sharing tab* vyberte možnost Sdílet tuto složku podle následujícího obrázku:

**Windows XP Home a Windows XP Professional s Workgroup Networking**

Na kartě *Sdílení / Sharing tab* nastavte nastavení *Sdílení sítě / Network Sharing* a zabezpečení podle obrázku níže:



Poznámka 1: Pokud se objevuje zpráva, že systém Windows zakázal vzdálený přístup k tomuto počítači, bude nutné spustit Průvodce nastavením sítě (*Network Setup Wizard*), aby bylo možné nastavit úrovně oprávnění ve složce.

Poznámka 2: Tato chyba může rovněž nastat, pokud jsou soubory .log nastaveny pouze pro čtení. Pro potvrzení klikněte pravým tlačítkem na každý soubor .log a vyberte *Vlastnosti/Properties*. Zrušte zaškrtnutí políčka *Pouze ke čtení / Read only* pro každý soubor .log.

Nesprávné parametry příkazového řádku...

Tato chyba může vzniknout při počáteční instalaci softwaru a je po spuštění doprovázena zprávou „**Nelze najít LabView Runtime Engine**“/ „**Unable to locate the LabView Runtime Engine**“ když se poprvé spustí operační software.

Chcete-li nainstalovat chybějící soubor, přejděte do složky C:\Program Files\NanoDrop\Utilities\Run Time Installers spustíte program Time Installers a dvakrát klikněte na soubor LVRUNTIMEENG.msi. Při instalaci ve výchozím umístění postupujte podle všech pokynů..

Další chybové zprávy softwaru**An Error Occurred: Code: 7 Source: Open file in.....**

K této chybě dochází, když některý ze tří souborů ".log" ("dye list.log", "passwords.log", "user preferences.log") byl odstraněn ze složky, do které byly nainstalovány soubory programů (C:\NanoDrop Data\Log Files). Příslušné soubory musí být přítomny v této složce, aby software mohl správně fungovat.

Can't find file OOIDRV.INI.....

K této chybě dochází při pokusu o instalaci softwaru bez oprávnění správce. Informace o instalaci softwaru získáte od správce systému.

Error 7 Occurred at New File.....

K tomu dochází, pokud se odstraní adresář "C:\ND-3300 Data" z jednotky C: nebo pokud je složka poškozena. Pokud se zobrazí tato zpráva, klepněte na tlačítko *Stop* v okně chyby. Zavřete operační software. Otevřete *Průzkumník Windows / Windows Explorer* a vytvořte na disku "C:" nový adresář s názvem "ND-3300 Data" (rozlišují se velká a malá písmena) a zavřete Průzkumník Windows. Restartujte operační software NanoDrop 3300.

Can't Find LabView RunTime Engine.....

Tato chybová zpráva pravděpodobně znamená, že některá ze softwarových součástí byla odstraněna nebo poškozena. Pokud toto nastane, přeinstalujte operační software pomocí instalačního CD nebo jej stáhněte z [webových stránek výrobce](#).

EZUSB.SYS Cannot Be Found.....

Pokud se zobrazí tato chybová zpráva, postupujte následovně:

Windows 2000: do stavového řádku zadejte C:\WINNT\INF .

Windows XP: do stavového řádku zadejte C:\WINDOWS\INF

To by mělo umožnit úspěšné dokončení instalace.

Driver X Configuration Failed - You Must Manually Edit the Registry

Příslušná chybová zpráva (nebo obdobná chybová zpráva) se zobrazí při pokusu o instalaci operačního softwaru v počítači se systémem Windows 2000 nebo XP. K tomu dochází, kdy uživatel nemá potřebná práva k instalaci softwaru do počítače. Pokud se tato zpráva zobrazí, obraťte se na vašeho správce systému.

Error 8 Occurred at Open File.....

Toto chybové hlášení se objeví, když se uživatel pokusí provést měření, zatímco je datový soubor otevřen. Zavřete příslušný datový soubor a následně již bude možné pokračovat normálně s měřením.

Error 9000

K této chybě dochází, pokud soubor *passwords.log* chybí nebo je poškozen. Přinstalujte operační software a po zobrazení výzvy přepište existující kopii. Nová kopie souboru *passwords.log* by se měla zobrazit ve složce C:\ND-3300 Data\Log Files.

Insufficient Memory.....

Tato chybová zpráva (nebo obdobná chybová zpráva) se vyskytuje při pokusu o instalaci operačního softwaru v počítači, který nemá požadovaných min. 40 MB volného místa na pevném disku.

No Printer Connected.....

Tato chyba se zobrazí při pokusu o tisk, v případě když tiskárna není připojena k počítači. Nejedná se o zásadní chybu a která nezpůsobí tzv. spadnutí systému.

Sampling Concerns

Sample Homogeneity

Při měření fluorescence musíte mít jistotu, že je roztok vzorku homogenní. Odběr mikrovzorků z nehomogenních roztoků může způsobit významné odchyly ve vygenerovaných fluorescenčních datech.

Sample Accuracy and Reproducibility

Pokud získáváte nepřesné nebo nereprodukovatelné výsledky, může to být způsobeno nehomogenitou vzorku nebo přetřžením můstku kapaliného sloupce. Pro zajištění reprezentativních výsledků může být užitečné vyzkoušet následující postup:

- **Clean the Surface**

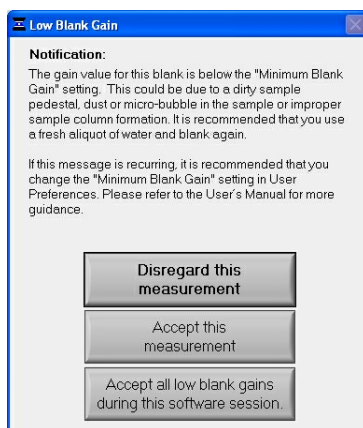
Před spuštěním softwarového modulu se ujistěte, zda jsou vzorkovací povrchy čisté. Znečištěný podstavec při startu může způsobit chybná fluorescenční měření (i záporné hodnoty) a chybnou saturaci signálu. Doporučuje se vždy čistit povrch vzorku deionizovanou vodou, aby se odstranily případné zbytky zaschnutého vzorku.

- **Increase Sample Size**

Velmi nepříznivé výsledky vzniknou, když se nevytvoří dokonale sloupec kapaliny. Během měření vizuálně ověřte, že se tento sloupec vytvoří. Pokud je to nutné, zkuste objem vzorků 1,5-2 μ l, aby se zajistilo vytvoření tohoto kapalinového sloupce. Je známo, že bílkoviny a roztoky obsahující povrchově aktivní látky „narušují“ povrchy měřicích podstavců takže se kapalný sloupec se netvoří. Pokud k tomu dojde, otřete povrch měřicího podstavce suchým laboratorním ubrouskem 40-50 krát. Tímto způsobem bude povrch znovu očištěn a připraven ke správné tvorbě kapalinového sloupce. Je nezbytné odstranit jakýkoliv zbytková vlákna z podstavců zanechaná po laboratorním ubrousku. Toto lze provést pomocí vlhkého ubrousku nebo stlačeného vzduchu.

Low Blank Gain Notification

Tato zpráva se automaticky zobrazí, pokud je skutečná doba excitace blanku menší než nastavená výchozí hodnota. Doporučuje se odstranit příslušný pufr nebo deionizovanou vodu, vyčistit měřicí plochy od prachu a zbytkových vláken po ubrousku a následně změřit nový blank. Pokud se tato zpráva objeví po úspěšném změření vzorku, doporučuje se toto měření přijmout a resetovat nastavení výchozího parametru *Min. Blank Gain* Prázdné pro příslušnou LED diodu.



Poznámka 1: Nastavení parametru *Min Blank Gain* lze provést výběrem položky *Advanced Parameters* z rozevíracího seznamu *Configuration* nebo v modulu *User Preferences*. Změna tohoto parametru pomocí položky *Advanced Parameters* bude platit pouze pro aktuální měření. Chcete-li změny uložit, upravte nastavení z nabídky *Users Preferences*.

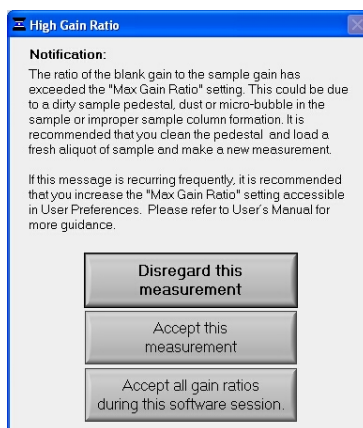
Poznámka 2: Obecným pravidlem je přezkoumat nastavení doby excitace blanku v archivovaných datech a vybrat hodnotu odpovídající zaznamenaným datům. Hodnota menší než 1 není přijatelná pro nastavení parametru *Min Blank Gain*.

Další informace vám poskytne místní distributor nebo kontaktujte [technickou podporu](#).

High Gain Ratio Notification

Tato zpráva se automaticky zobrazí, když poměr skutečné zisku vzorku k zisku z blanku je větší než poměr zadaný ve výchozím nastavení. Pokud je spektrální obraz zvláště zkreslený nebo má velmi úzký emisní profil, je nejvhodnější měření zahodit, odstranit kapalinu (vodu) nebo pufru, vyčistit podstavce od prachu a zbytků, načíst další vzorek a provést nové měření.

Poznámka 1: Nastavení parametru *Max Gain Ratio* lze změnit výběrem položky *Advanced Parameters* z rozevíracího seznamu *Configuration* nebo v modulu *User Preferences*. Změna tohoto parametru pomocí položky *Advanced Parameters* bude platit pouze pro aktuální měření. Chcete-li změny uložit, upravte nastavení z nabídky *Users Preferences*.



Technical Support

Pokud výše uvedený postup nevede k vyřešení problému, obraťte se na [technickou podporu](#) nebo na kontaktujte místního distributora. Kromě sériového čísla vašeho přístroje budou velmi užitečné následující informace:

- **Visual inspection of the light sources:** Použijte modul *Source Check* k ověření zda zdroje BÍLÉHO a MODRÉHO světla vyzařují při měření. Pozor: Při měření se nedívejte přímo do zdroje UV světla. Chcete-li zkontrolovat zdroj UV LED diod, umístěte na podstavce kus bílého papíru, sklopte rameno přístroje, klepněte na tlačítko měření a podívejte se na modrý odstín vzniklý na bílém pozadí.

- **Application Module Screen Captures:** Snímek obrazovky s aktuálním spektrem, jak je vidět na vašem PC, může sloužit pro diagnostiku problémů. Vytvoření snímku obrazovky je velmi snadné. Jednoduše zvolte příkaz *Save File* z rozbalovací nabídky v záhlaví příslušné obrazovky (modulu). Obraz se uloží ve formátu .jpg do složky příslušného modulu, ve kterém uživatel pracuje. Tento soubor odešlete jako přílohu e-mailem svému místnímu distributorovi nebo technické podpoře.
- **Data Archive Files:** Máte-li dotazy týkající se vašich dat, pošlete archivovaný soubor obsahující příslušná data jako přílohu e-mailu svému místnímu distributorovi nebo technické podpoře. Archivovaný soubor naleznete v adresáři:
C:\WD-3300 data → Username → Application Module

14. Údržba a záruka

Údržba

Prvotním požadavkem pro údržbu přístroje NanoDrop 3300 je udržování čistoty měřicích a optických ploch. Po dokončení každého měření vzorku otřete vzorek z horního pouzdra i spodního ramene podstavce, aby se zabránilo přenosu zbytků vzorku a křížové kontaminace. Rovněž se doporučuje, aby se obě měřicí plochy po dokončení pokusů (měření) vyčistily deionizovanou vodou. Jiná pravidelná údržba není nutná.

Dekontaminace povrchu pro měření

Pro případnou dekontaminaci je možné použít dezinfekční roztok jako např. 0,5% roztok chlornanu sodného (běžné komerční bělidlo naředěné v poměru 1:10, čerstvě připravené), aby se zajistilo, že na měřicích podstavcích nezůstane žádný biologicky aktivní materiál. Kovové uchycení optických vláken je vyrobeno z nerezové oceli AISI 303 (1.4305) a je odolné vůči většině běžných laboratorních rozpouštědel (viz dodatková kapitola "Kompatibilita s rozpouštědly").

Záruka

Všechny fluorospektrometry a příslušenství vyráběné společností Thermo Fisher Scientific mají záruku na výrobní vady dílů po dobu jednoho roku. K dispozici je také preventivní údržba a možnost prodloužení záruky o jeden, dva nebo tři roky. Další informace naleznete na [webových stránkách](#) výrobce.

15. Přílohy

Specifikace přístroje

- Velikost vzorku: 1-2 μ l
- Zdroje světla: 3 LED diody vyzařující světlo (LED)
- Excitační maxima světla UV LED: 365 nm, modré: 470 nm, bílé: 460-650 nm
- Zdroj světla: tři světelné diody (LED)
- Detektor: lineární křemíkový CCD čip s 2048 prvky
- Rozsah vlnových délek: 400-750 nm
- Přesnost vlnové délky: 1 nm
- Rozlišení vlnové délky: 8 nm (FWHM při Hg 546 m)
- Přesnost fluorescence: < 5% CV (10 nM Fluorescein)
- Doba měření cyklu: Méně než 10 sekund
- Rozměry: 20 cm X 15 cm x 12 cm
- Hmotnost: 3 Kg
- Materiál podstavce: nerezová ocel 303 a křemíková vlákna
- Provozní napětí: 5 vdc (veškeré napájení z portu USB)
- Provozní spotřeba energie: 2 W
- Spotřeba energie ve standby režimu: 1 W
- Certifikace CE a UL / CSA
- Součásti systému: software kompatibilní s Windows 2000 nebo Windows XP

Referenční tabulka klávesových zkratk

Function	Key	Function	Keys	Function	Keys
Measure	F1	Save as	Ctrl+A	User's Manual	Ctrl+M
Re-blank	F2	Delete sample Data	Ctrl+D	Rename Samples	Ctrl+N
Blank	F3	Configure Report	Ctrl+F	Print Window	Ctrl+P
Print Screen	F4	Load Report Format	Ctrl+G	Print Report	Ctrl+R
Print Report	F5	Help Menu	Ctrl+H	Exit	Ctrl+Q
Recording	F6	Import	Ctrl+I	Save Report	Ctrl+S
Show Report	F7	Load Report Format	Ctrl+L	Sort Report	Ctrl+T

Kompatibilita s rozpouštědly

Přístroj NanoDrop 3300 je kompatibilní s většinou obvyklých rozpouštědel, které se používají ve vědeckých biologických laboratořích. Jedná se zejména o tyto rozpouštědla: metanol, etanol, n-propanol, izopropanol, butanol, aceton, éter, chloroform, tetrachlormethan, DMSO, DMF, acetonitril, THF, toluen, hexan, benzen, hydroxid sodný, chlornan sodný (bělidlo), zředěná HCl, zředěná kyselina octová.

Všechny formy kyseliny fluorovodíkové (HF) nejsou kompatibilní, protože fluoridový iont rozpouští křemíkové optické vlákno.