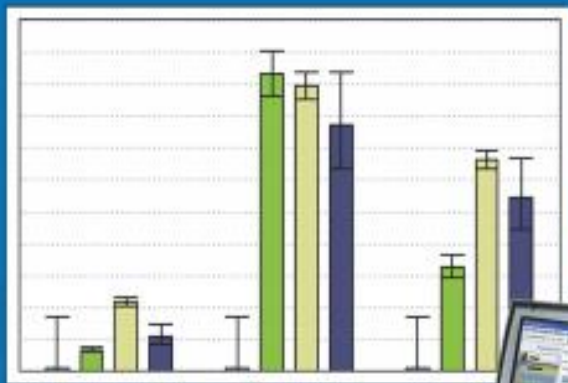


การบำรุงรักษาและสอบเทียบ

เครื่องขยายปริมาณสารพันธุกรรมชนิดปฏิกิริยาจริงอัตโนมัติ

## Applied Biosystems 7500 Fast Real-time PCR System



นายวันชนะ ปิ่นแก้ว นายสัตวแพทย์ชำนาญการ  
กลุ่มเบคทีเรียและเชื้อรา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

# เนื้อหา

- การบำรุงรักษา (maintenance)
- การทดสอบการทำงานของเครื่อง (Instrument Function Test)
- การตรวจสอบสถานะและการเปลี่ยนหลอดไฟ (Lamp status check/replacement)
- การสอบเทียบ (instrument calibration)
  - Region of Interest (ROI)
  - Background
  - Optical
  - Pure Dyes
  - Rnase P

# การบำรุงรักษา (maintenance)

## ตัวเครื่อง

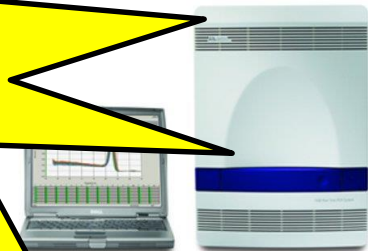
- เช็ดเครื่องภายนอกด้วยผ้าชนิดไร้ขุย (lint-free cloth)
- ปิดเครื่องหลังจากการใช้ทุกสัปดาห์
- สวมถุงมือขณะปฏิบัติงาน

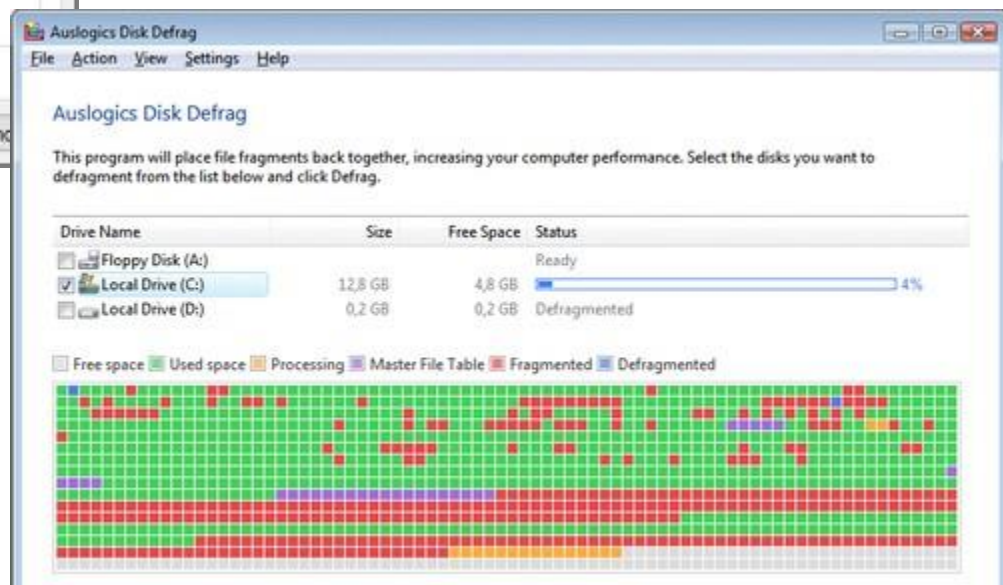
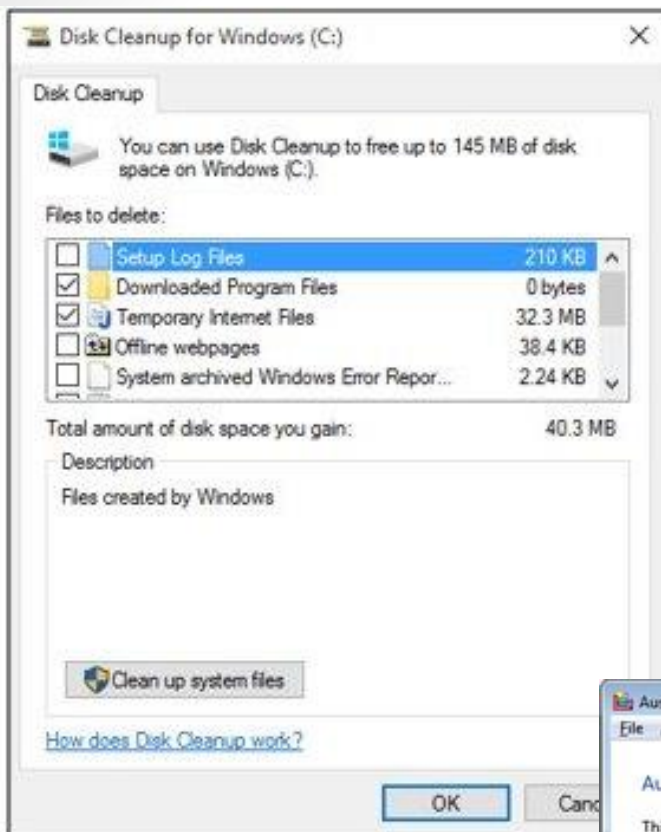
## คอมพิวเตอร์

- Disk cleanup และจัดเรียงข้อมูลฮาร์ดดิสก์
- ปิดเครื่องหลังจากการใช้ทุกสัปดาห์

ทำการสอบเทียบทุก

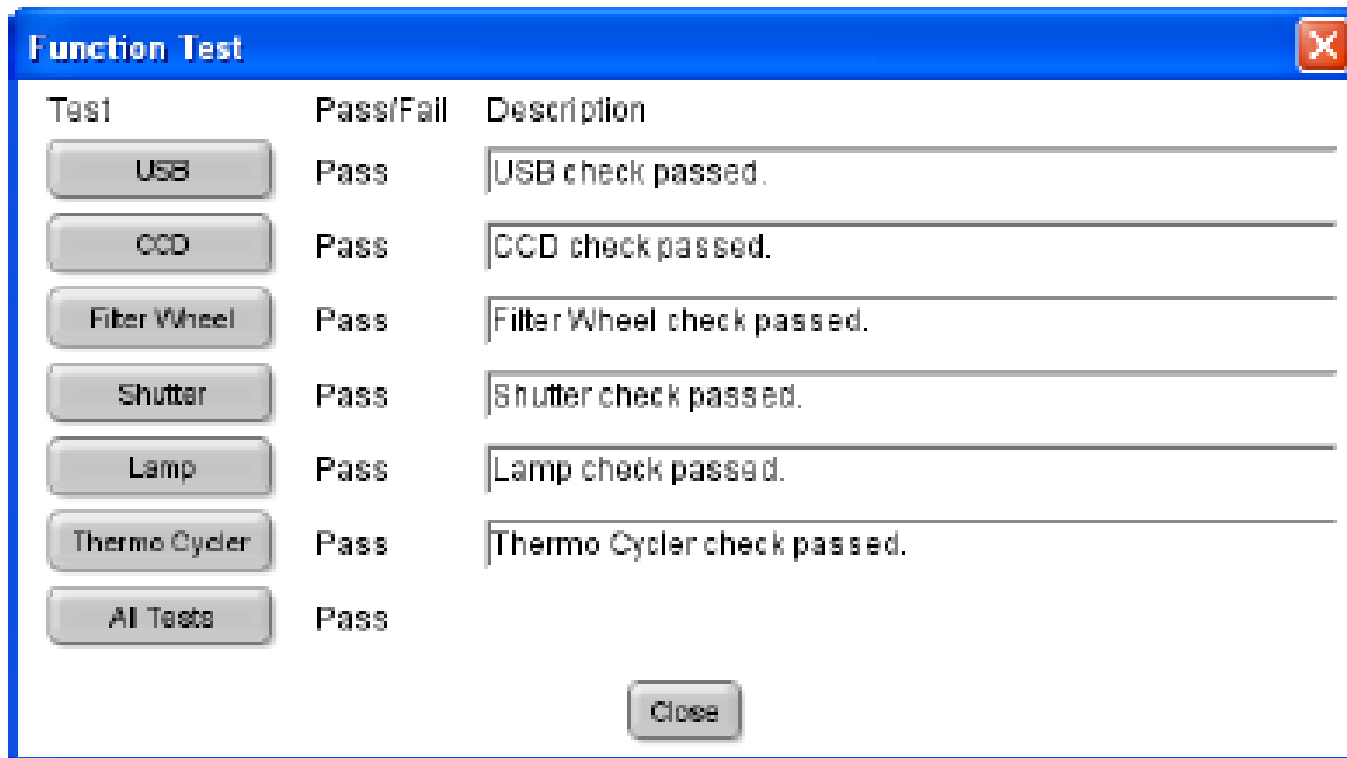
6 หรือ 12 เดือน





# การทดสอบการทำงานของเครื่อง (Instrument Function Test)

- เป็นการตรวจสอบการทำงานขององค์ประกอบ เครื่อง Applied Biosystems 7500 Fast Real-time PCR System



The screenshot shows a software window titled "Function Test" with a close button in the top right corner. The window contains a table with three columns: "Test", "Pass/Fail", and "Description". Each row represents a different component that has been tested and found to pass. At the bottom of the window, there is a "Close" button.

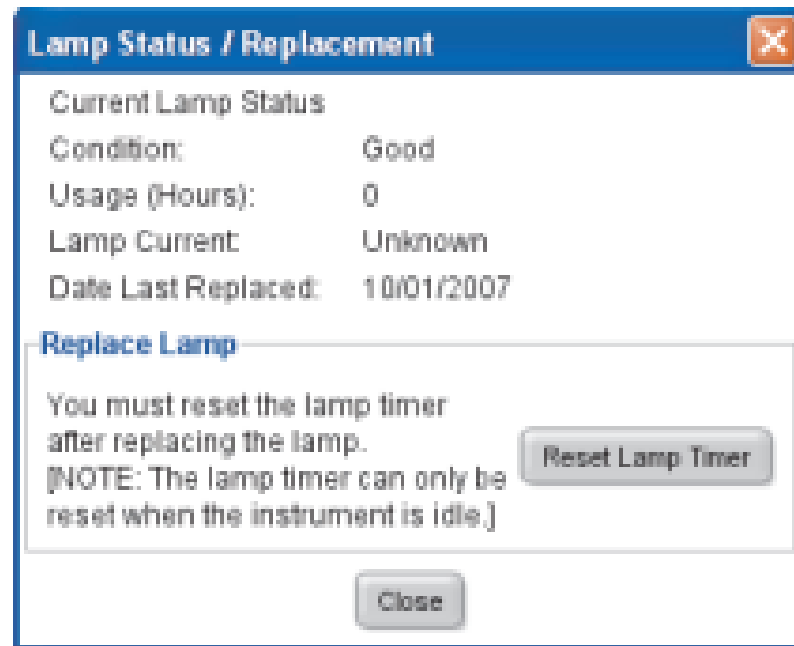
Test	Pass/Fail	Description
USB	Pass	USB check passed.
CCD	Pass	CCD check passed.
Fiber Wheel	Pass	Filter Wheel check passed.
Shutter	Pass	Shutter check passed.
Lamp	Pass	Lamp check passed.
Thermo Cycler	Pass	Thermo Cycler check passed.
All Tests	Pass	

# การตรวจสอบสถานะหลอดไฟ (Lamp status check)

- หลอดไฟ (Halogen lamp) มีอายุการใช้งาน 2,000 ชั่วโมง


วิธีการตรวจสอบสถานะ

1. เข้าเมนู Instrument
2. คลิก Lamp Status / Replacement



# การเปลี่ยนหลอดไฟ (lamp replacement)




**Lamp Status / Replacement** 


Current Lamp Status

Condition:	Good
Usage (Hours):	0
Lamp Current:	Unknown
Date Last Replaced:	10/01/2007

**Replace Lamp**

You must reset the lamp timer after replacing the lamp.  
[NOTE: The lamp timer can only be reset when the instrument is idle.]





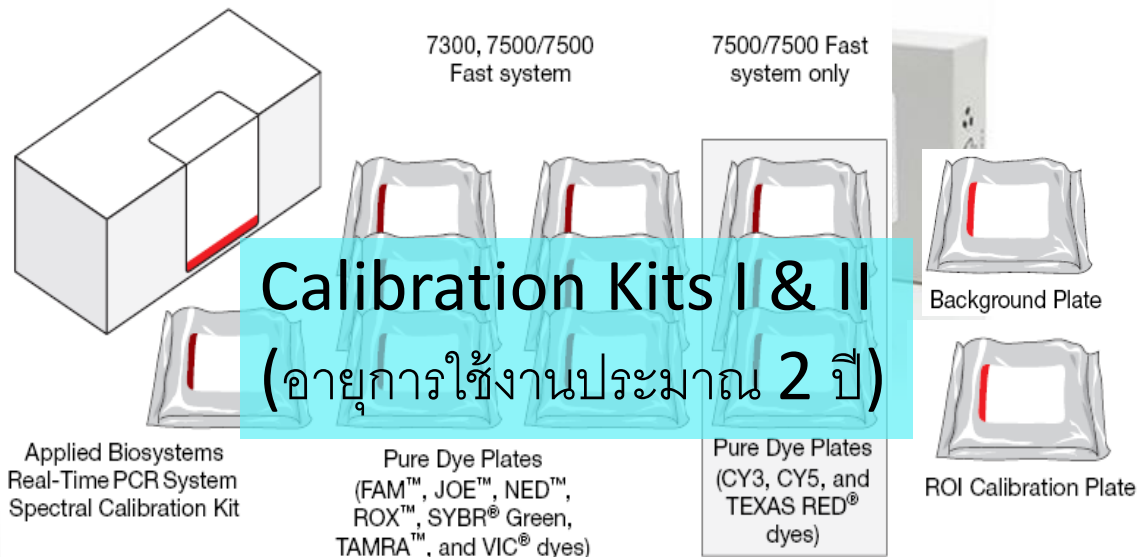
- VDO 1



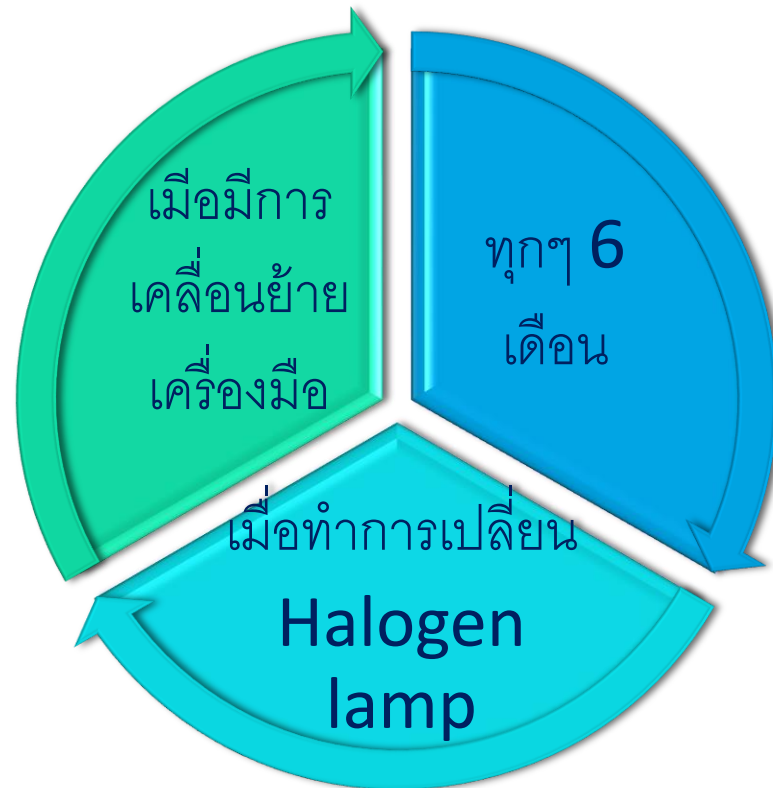
# การสอบเทียบ

## (instrument calibration)

- Region of Interest (ROI)
- Background
- Optical
- Dye
- RNase P\*



# เมื่อใดต้องทำการสอบเทียบ



ROI

Back  
ground

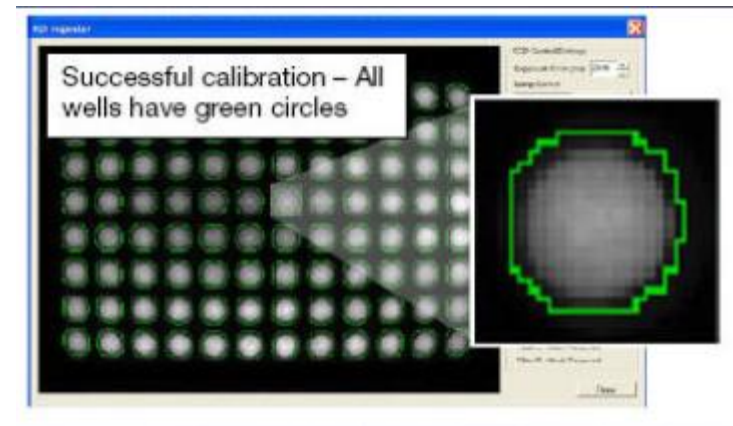
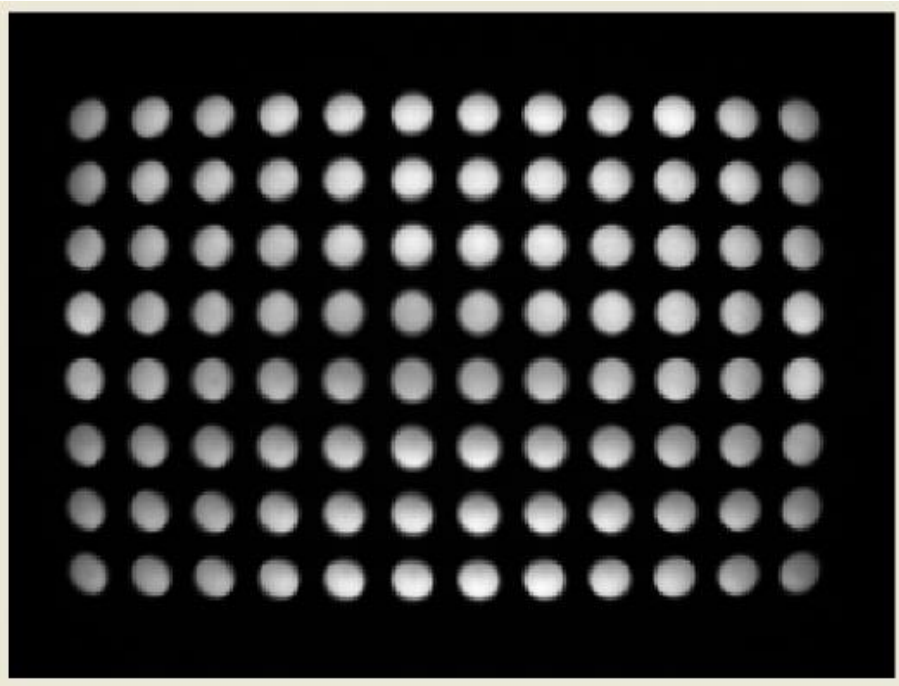
Optical

Dye

RNase  
P

# Region of Interest (ROI) calibration

- เป็นการสอบเทียบตำแหน่งของหลุมใน sample block
- ผลลัพธ์ที่ได้ คือ calibration image of the wells

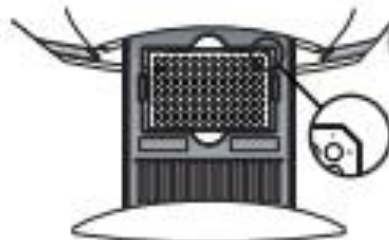


# Region of Interest (ROI) calibration



Load standard plates (7500 system) with the notched A12 position at the top-right of the tray.

Load Fast plates (7500 Fast system) with the notched A1 position at the top-left of the tray.



Close the tray door. Apply pressure to the right side of the tray door at an angle.

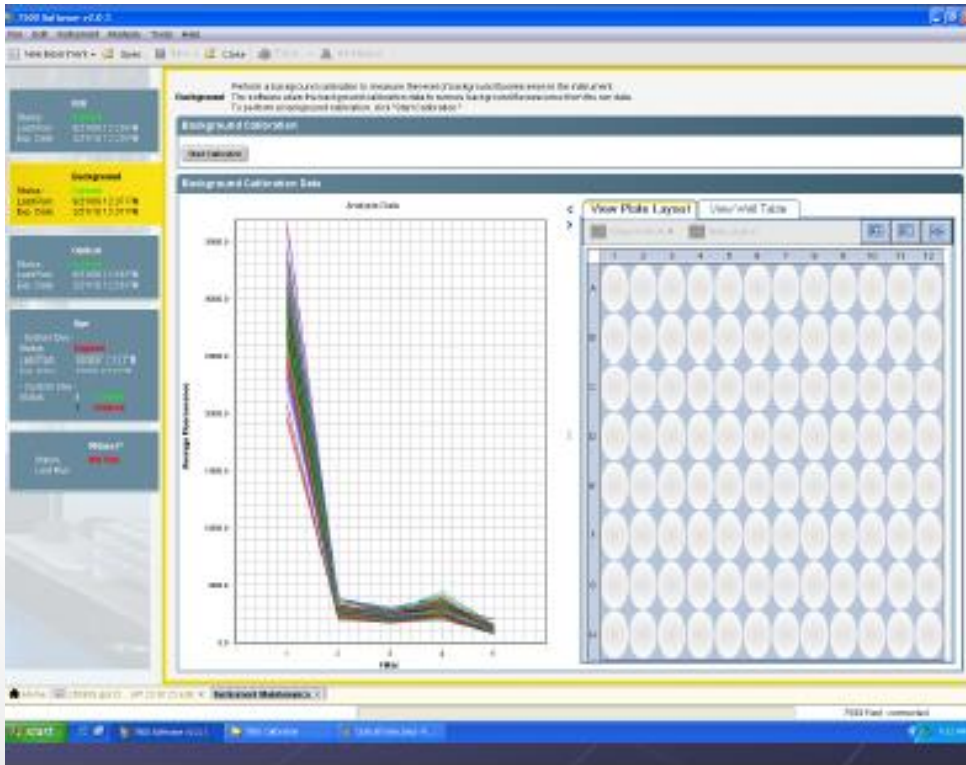


ผลการสอบเทียบ

- ผ่าน
- ไม่ผ่าน
- Manual calibration

# Background calibration

- เป็นการวัดระดับสัญญาณ **fluorescence** ภายในตัวเครื่องซึ่งจะบ่งชี้ถึง:
  - Background electronic signal
  - สิ่งปนเปื้อนจาก **sample block** หรือ เพลต

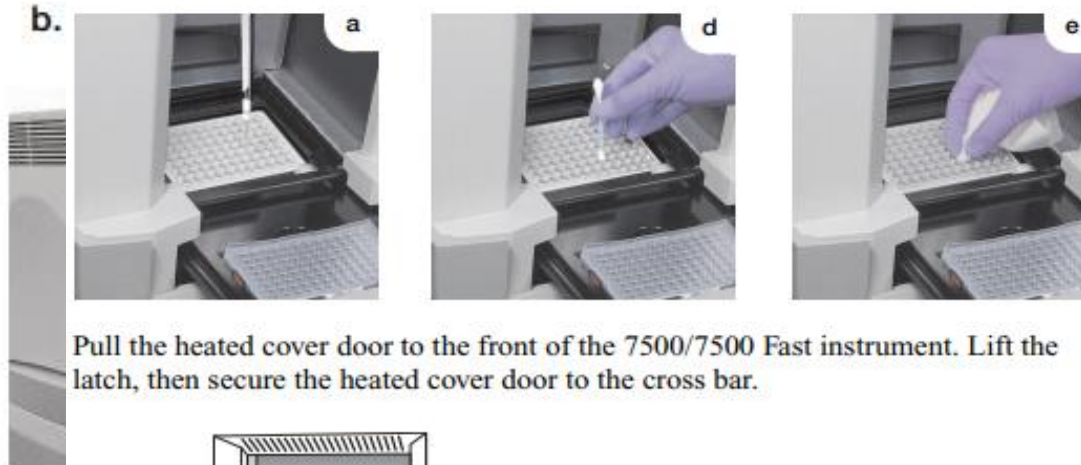


ผลการสอบเทียบ

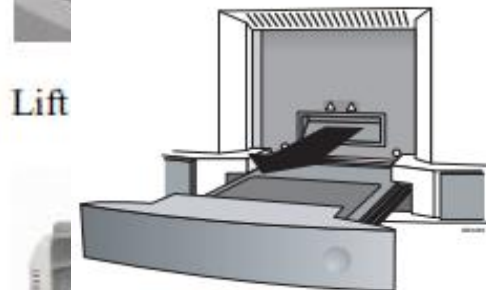
- ผ่าน
  - ไม่ผ่าน
    - Sample block decontamination
    - ติดต่อเจ้าหน้าที่
- ABI**

# Sample block decontamination

- d. Using a cotton swab, scrub inside of each contaminated well.
- e. Using a lint-free cloth, absorb the excess deionized water.



Pull the heated cover door to the front of the 7500/7500 Fast instrument. Lift the latch, then secure the heated cover door to the cross bar.



Lift

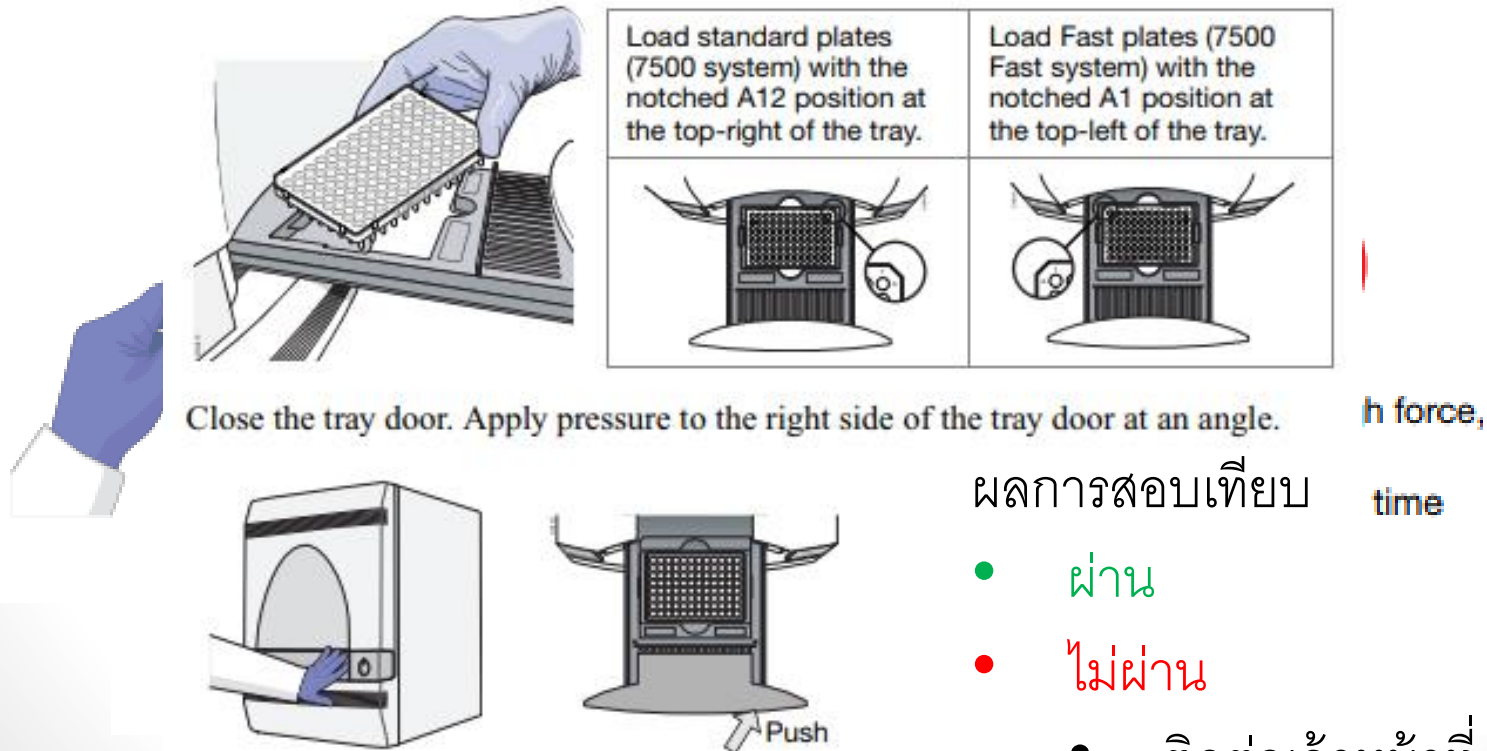
Close the access door to the 7500/7500 Fast inst



ล้างหลุมที่พบการปนเปื้อนด้วย  
deionised water ก่อน  
ถ้ายังปนเปื้อนให้ใช้  
95% ethanol  
ถ้าพบการปนเปื้อนอีกให้ใช้  
10% bleach

# Optical calibration

- optical calibration generates data that allows the 7500 software to compensate for the physical effects of the fifth filter in the 7500/7500 Fast system.
- **!!!** ใช้ ROI plate ในการสอบเทียบ



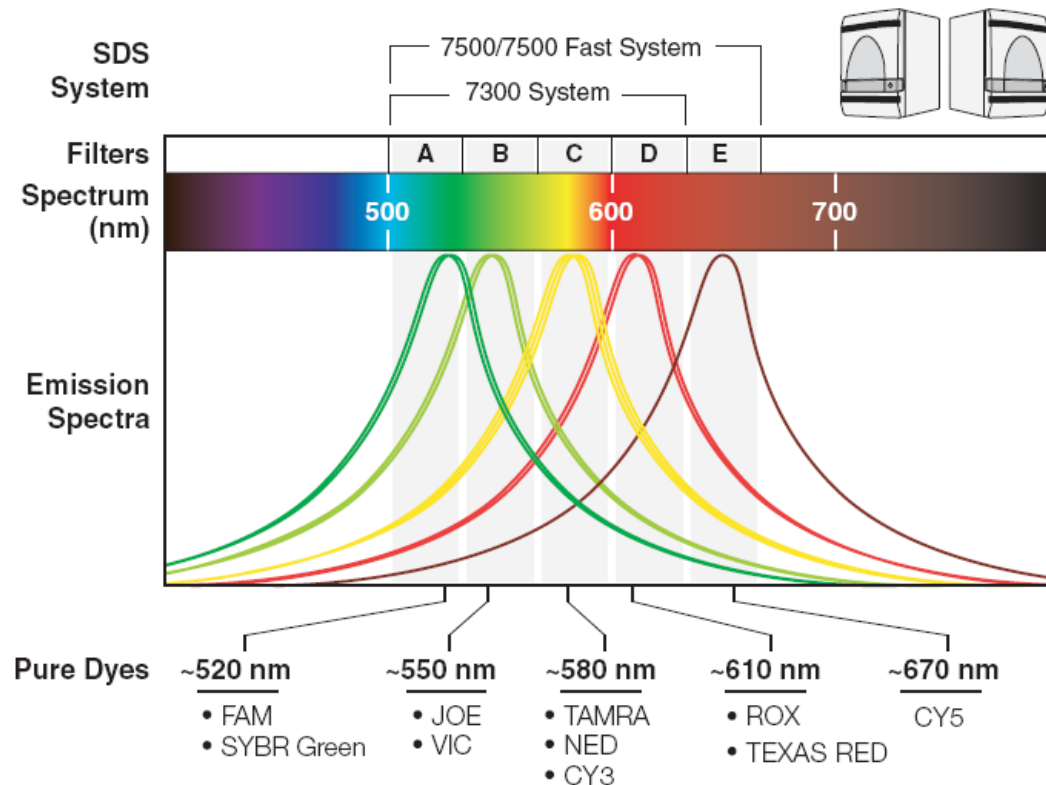
ผลการสอบเทียบ

- ผ่าน
- ไม่ผ่าน

- ติดต่อเจ้าหน้าที่ ABI

# Pure Dyes calibration

- Spectral Information for each of the pure dyes is stored
- Allows the instrument to determine the individual contribution of each dye from the fluorescence collected during a run containing multiple dyes

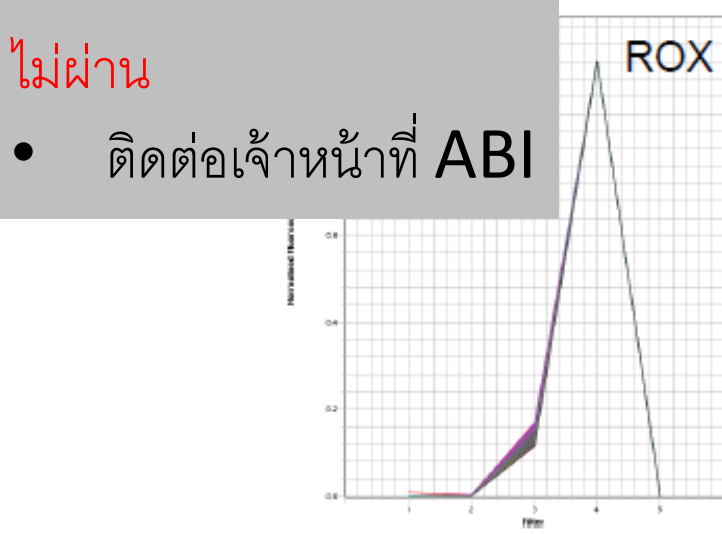
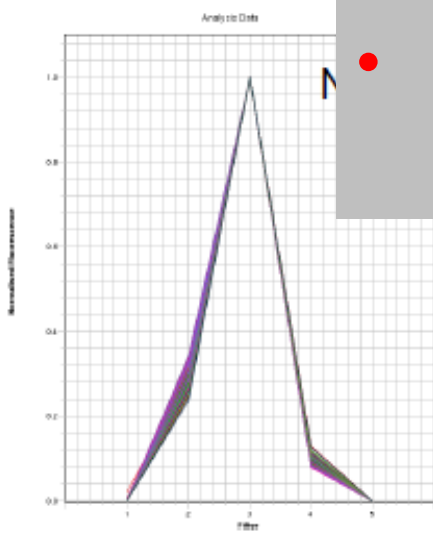
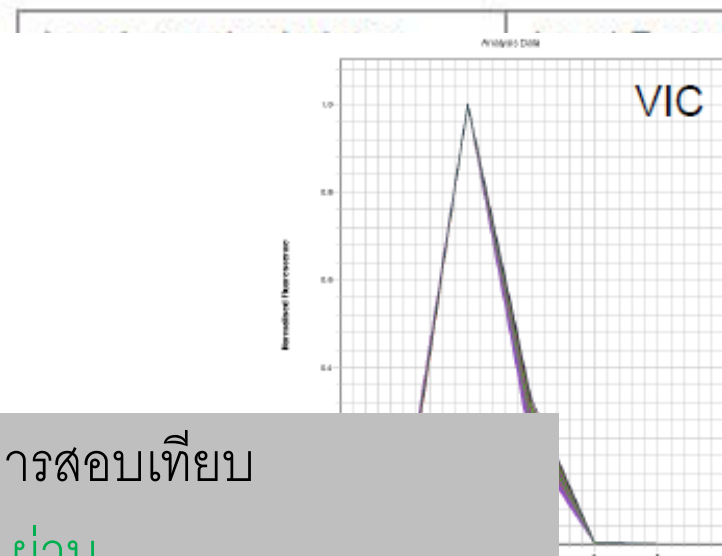
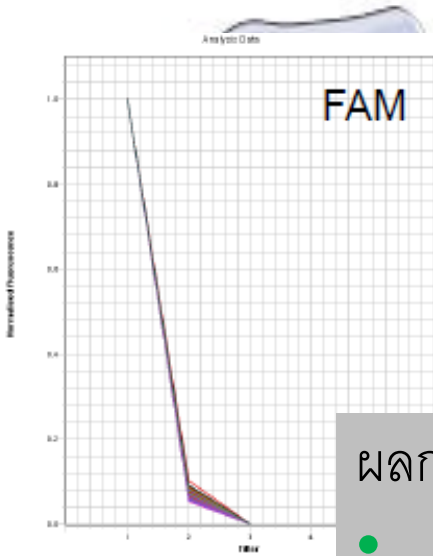




# Pure Dyes calibration



Close



- ผลการสอบเทียบ
- ผ่าน
  - ไม่ผ่าน
  - ติดต่อเจ้าหน้าที่ ABI

ates (7500  
with the  
position at  
f the tray.



an angle.



# RNase P calibration

- ใช้ RNase P plate ในการสอบเทียบ (Single use)
- เฟลตจะบรรจุน้ำยาเพื่อการตรวจหาและวัดปริมาณของ human RNase P gene
- เครื่องต้องสามารถแยกความแตกต่างระหว่าง 5000 และ 10000 copies ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.7% จึงถือว่าผ่านการสอบเทียบ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D		NTC				STD 1250				STD 2500		
E		STD 5000				STD 10000				STD 20000		
F												
G												
H												

5000-copy Unknown Population 1

10000-copy Unknown Population 2

GR2341

# RNase P calibration

**RNase P Run** Analysis Help

**Instructions:** Review the results from the RNase P run. If the run failed, omit outliers, then click "Reanalyze." Repeat until the run passes. Click **Finish** to save and apply the results.

Status: Passed

Buttons: Omit Reanalyze Analysis Settings

Amplification Plot Standard Curve

Plot Settings

Target: All Plot Color: Default

Save current settings as the default

View Plate Layout Results Table

Select Wells With: - Select Item - - Select Item -

Show in Wells View Legend

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
H	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U

Wells: U 72 Unknown S 20 Standard N 4 Negative Control 0 Empty

Cancel Previous Next Finish

ผลการสอบเทียบ

● ผ่าน

● ไม่ผ่าน

- Omit outlier(s)
- ติดต่อเจ้าหน้าที่ ABI

Target: RNase P Slope: -3.502 Y-Inter: 40.933  $R^2$ : 0.998 Eff%: 93.012

Legend

Standard Unknown Unknown (Flagged)

ขอขอบคุณสำหรับการรับฟัง

THANK  
YOU

MakeAGIF.com

- หากมีข้อสงสัยโปรดติดต่อ

Email : [wanchana80@gmail.com](mailto:wanchana80@gmail.com)

Tel : 0929515253