

5200, 5300 e 5400 Fragment Analyzer

## Manuale del sistema



# Avvisi

## Informazioni sul documento

N. documento: D0002110it Rev. C.00  
Versione 04/2025

## Copyright

© Agilent Technologies, Inc. 2020-2025

Nessuna parte di questo manuale può essere riprodotta in alcun formato o con alcun mezzo (inclusa l'archiviazione e la scansione elettroniche o la traduzione in una lingua straniera) senza previo consenso scritto di Agilent Technologies, Inc. secondo le disposizioni di legge sul diritto d'autore degli Stati Uniti, internazionali e locali applicabili.

Agilent Technologies, Inc.  
5301 Stevens Creek Blvd.  
Santa Clara, CA 95051

## Dichiarazioni sui marchi

Fragment Analyzer è un marchio di Agilent Technologies, Inc.

Il software ProSize è un marchio registrato di Agilent Technologies, Inc.

Agilent Administration Software Security Module è un marchio di Agilent Technologies, Inc.

Windows è un marchio registrato di Microsoft Corporation.

## Revisioni e aggiornamenti

Il presente manuale è soggetto a modifiche senza preavviso. Il presente manuale può essere oggetto di revisioni e aggiornamenti periodici in seguito a modifiche apportate ai componenti e/o alle procedure di manutenzione. Tali aggiornamenti saranno forniti a tutti gli utenti registrati in possesso del manuale. Contattare Agilent in caso di domande relative alla disponibilità di aggiornamenti. Assicurarsi di tenere aggiornati i propri dati di contatto affinché Agilent possa distribuire tempestivamente revisioni e aggiornamenti.

## Garanzia

Le informazioni contenute in questo documento sono fornite allo stato corrente e sono soggette a modifiche senza preavviso nelle edizioni future. Agilent non rilascia alcuna altra garanzia, esplicita o implicita, comprese le garanzie implicite di commerciabilità ed idoneità ad un uso specifico, relativamente al presente manuale e alle informazioni in esso contenute. Salvo il caso di dolo o colpa grave, Agilent non sarà responsabile di errori o danni diretti o indiretti relativi alla fornitura o all'uso di questo documento o delle informazioni in esso contenute. In caso di separato accordo scritto tra Agilent e l'utente con diverse condizioni di garanzia relativamente al contenuto di questo documento in conflitto con le condizioni qui riportate, prevarranno le condizioni dell'accordo separato.

## Licenze di tecnologia

I componenti hardware e/o software descritti in questo documento vengono forniti con licenza e possono essere utilizzati o copiati solo in conformità ai termini di tale licenza.

## Legenda diritti limitati

Diritti limitati per il governo statunitense. I diritti sul software e sui dati tecnici accordati al governo federale includono solo i diritti normalmente concessi all'utente finale. Agilent fornisce la presente licenza commerciale usuale per il software e i dati tecnici come prescritto dalle normative FAR 12.211 (Technical Data) e 12.212 (Computer Software) e, per il Dipartimento della Difesa, DFARS 252.2277015 (Technical Data - Commercial Items) e DFARS 227.72023 (Rights in Commercial Computer Software or Computer Software Documentation).

## Fabbricanti legali

Il fabbricante legale è:  
Agilent Technologies Singapore  
(International) Pte. Ltd.  
No. 1 Yishun Ave 7, Singapore 768923  
SINGAPORE

Referente con sede nell'UE autorizzato a livello comunitario a compilare il dossier tecnico o i documenti tecnici pertinenti:

Agilent Technologies Deutschland GmbH  
Hewlett-Packard Strasse 8  
76337 Waldrbronn, Germania

## Indicazioni di sicurezza

### ATTENZIONE

La dicitura **ATTENZIONE** segnala un pericolo. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analogo operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare danni al prodotto o la perdita di dati importanti. In presenza della dicitura **ATTENZIONE** interrompere l'attività finché le condizioni indicate non siano state perfettamente comprese e soddisfatte.

### AVVERTENZA

L'indicazione **AVVERTENZA** segnala un rischio. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analogo operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare lesioni personali o morte. Non eseguite mai alcuna operazione ignorando l'**AVVERTENZA**, fatelo solo dopo aver compreso e applicato completamente le indicazioni di Agilent.

# In questa guida

Agilent ha redatto il presente manuale come riferimento tecnico per i sistemi 5200/5300/5400 Fragment Analyzer.

Il presente documento include panoramiche di sistema, procedure di installazione e qualificazione operativa, metodi analitici, procedure di manutenzione, funzionamento del software, guida alla risoluzione dei problemi e procedure di spegnimento dello strumento. Sono inoltre inclusi riferimenti bibliografici, specifiche dello strumento e requisiti delle utenze, elenchi dei componenti e delle parti di consumo, schede delle specifiche di prodotto e informazioni sulla garanzia del sistema.

Il presente documento è destinato all'uso da parte di personale tecnico competente nel funzionamento e nella manutenzione di strumentazione analitica. Poiché si presuppone un determinato livello di formazione e competenze, i concetti fondamentali esulano dallo scopo del presente documento. Le procedure sono illustrate in un formato passo-passo con il ricorso a foto e screenshot. Se dopo aver esaminato una determinata procedura sussistono ancora domande, non esitare a rivolgersi al proprio rappresentante delle vendite/dell'assistenza Agilent.

## 1 Panoramica del sistema

In questo capitolo viene illustrata una panoramica dello strumento.

## 2 Sicurezza

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive sulla sicurezza.

## 3 Condizioni legali e normative

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive in merito a aspetti legali e normativi.

## 4 Software Fragment Analyzer: menu File

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu File.

## 5 Software Fragment Analyzer: menu Administration (Amministrazione)

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu Administration (Amministrazione).

## **6 Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità)**

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu Utilities (Utilità).

## **7 Software Fragment Analyzer: menu Help (Guida)**

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu Help (Guida).

## **8 Software Fragment Analyzer: scheda Operation (Funzionamento)**

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda la scheda Operation (Funzionamento).

## **9 Software Fragment Analyzer: scheda Run Status (Stato dell'analisi)**

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda la scheda Run Status (Stato dell'analisi).

## **10 Fragment Analyzer Capillary Array**

In questo capitolo sono descritti i parametri operativi fondamentali del capillary array.

## **11 Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni**

In questo capitolo sono fornite informazioni su come immettere i nomi dei campioni nel software Fragment Analyzer.

## **12 Fragment Analyzer: analisi automatizzata**

In questo capitolo è spiegata la procedura di analisi automatizzata con il Fragment Analyzer.

## **13 Manutenzione e risoluzione dei problemi**

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive su codici, procedure di manutenzione e impostazioni del sistema.

# Contenuto

<b>1</b>	<b>Panoramica del sistema</b>	<b>4</b>
	Informazioni sul sistema	5
	Specifiche fisiche	7
	Installazione	8
	Gestione del PC	10
	Informazioni sul software	13
	Installazione del software	14
	Connessioni del Fragment Analyzer System	15
	Armadietto esterno del Fragment Analyzer	17
	Comparto superiore	18
	Comparto laterale	20
	Cassetti	22
	Caricamento e orientamento di piastre a 96 pozzetti nel Fragment Analyzer	24
	Caricamento di campioni nel Fragment Analyzer	25
<b>2</b>	<b>Sicurezza</b>	<b>26</b>
	Guida generale sulla sicurezza	27
	Informazioni generali sulla sicurezza	29
<b>3</b>	<b>Condizioni legali e normative</b>	<b>30</b>
	Emissioni sonore	31
	Direttiva sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)	32
<b>4</b>	<b>Software Fragment Analyzer: menu File</b>	<b>33</b>
	Apertura del software Fragment Analyzer	34
	Barra degli strumenti della schermata principale	35
	Menu File	36

## Contenuto

- 5 Software Fragment Analyzer: menu Administration (Amministratozione) 40**
  - Menu Administration (Amministratozione) 41
- 6 Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità) 50**
  - Menu Utilities (Utilità) 51
- 7 Software Fragment Analyzer: menu Help (Guida) 67**
  - Menu Help (Guida) 68
- 8 Software Fragment Analyzer: scheda Operation (Funzionamento) 69**
  - Panoramica della scheda Operation (Funzionamento) 70
  - Caratteri consentiti 85
- 9 Software Fragment Analyzer: scheda Run Status (Stato dell'analisi) 86**
  - Panoramica della scheda Run Status (Stato dell'analisi) 87
- 10 Fragment Analyzer Capillary Array 94**
  - Parti del capillary array 95
  - Rimozione del capillary array 96
  - Disimballaggio di un capillary array nuovo 106
  - Installazione del capillary array 109
- 11 Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni 119**
  - Immissione dei nomi dei campioni 120
- 12 Fragment Analyzer: analisi automatizzata 126**
  - Analisi automatizzata tramite Fragment Analyzer 127

<b>13</b>	<b>Manutenzione e risoluzione dei problemi</b>	<b>134</b>
	Piastre e provette compatibili per i Fragment Analyzer System	135
	Programma di manutenzione preventiva	139
	Pulizia del capillary array	140
	Pulizia della valvola di spurgo del serbatoio	150
	Pulizia della finestra del capillary array	151
	Conservazione a lungo termine del capillary array	153
<b>14</b>	<b>5400 Fragment Analyzer System</b>	<b>158</b>
	5400 Fragment Analyzer System	159

# 1

## Panoramica del sistema

Informazioni sul sistema	5
Uso previsto del Fragment Analyzer System	6
Specifiche fisiche	7
Installazione	8
Gestione del PC	10
Configurazione del PC	11
Informazioni sul software	13
Installazione del software	14
Connessioni del Fragment Analyzer System	15
Armadietto esterno del Fragment Analyzer	17
Comparto superiore	18
Comparto laterale	20
Cassetti	22
Stato dei cassette	23
Caricamento e orientamento di piastre a 96 pozzetti nel Fragment Analyzer	24
Caricamento di campioni nel Fragment Analyzer	25

In questo capitolo viene illustrata una panoramica dello strumento.

## Informazioni sul sistema

Il Fragment Analyzer System è uno strumento per elettroforesi capillare (CE) multiplex impiegato per la separazione e la quantificazione automatizzate a elevata produttività di acidi nucleici a doppio filamento (DNA e/o RNA). La separazione si ottiene applicando un campo elettrico attraverso un capillary array narrow bore (d.i. 50 µm) in silice fusa riempito con varie matrici di gel conduttivo che funge da setaccio per separare molecole di DNA/RNA aventi dimensioni comprese in un determinato intervallo. In seguito all'applicazione di un'alta tensione al capillary array, il DNA/RNA iniettato migra attraverso la matrice di gel in base alla lunghezza o alle dimensioni; in particolare, i frammenti più piccoli eluiscono più velocemente rispetto ai frammenti di dimensioni maggiori.

La rivelazione del DNA/RNA separato, in un punto in prossimità dell'estremità più lontana del capillary array, avviene misurando la fluorescenza di un colorante intercalante sensibile presente nella matrice del gel di separazione, che emette fluorescenza quando è legato a molecole di DNA o RNA a doppio filamento. Il Fragment Analyzer System utilizza come sorgente luminosa di eccitazione un diodo a emissione di luce (LED) ad alta intensità focalizzato sulla finestra di rivelazione del capillary array; per l'imaging si impiega un rivelatore CCD (dispositivo a carica accoppiata) bidimensionale sensibile. Monitorando l'intensità in unità di fluorescenza relativa (RFU) in funzione del tempo durante la separazione CE si ottengono elettroferogrammi digitali rappresentativi del contenuto di DNA/RNA di 12, 48 o 96 campioni in un'unica analisi.

## Uso previsto del Fragment Analyzer System

Il Fragment Analyzer System (M53XAA) separa gli acidi nucleici mediante elettroforesi capillare.

Il sistema è progettato per rilevare:

- DNA a doppio filamento reso fluorescente, incluso DNA genomico e cfDNA
- RNA totale reso fluorescente (eucarioti e procarioti)

Il Fragment Analyzer System è progettato per l'uso professionale ed è compatibile unicamente con i kit di reagenti Agilent Fragment Analyzer e con i prodotti di consumo specificati.

*Solo per scopi di ricerca. Non utilizzabile per procedure diagnostiche.*

Non utilizzare questo prodotto in modo non conforme a quanto specificato dal produttore. Le funzioni di protezione di questo prodotto potrebbero essere compromesse se viene utilizzato in modo non conforme a quanto specificato nelle istruzioni operative.

## Specifiche fisiche

**Tabella 1 Specifiche fisiche**

Tipo	Specifiche
Peso	39,0 kg (86,0 lb)
Dimensioni (l×p×a)	101,6 × 61 × 86,4 cm (40,0 × 24,0 × 34 pollici)
Tensione di rete	100–200 VCA
Frequenza di rete	50–60 Hz (200–230 VCA; 50–60 Hz disponibile)
Consumo elettrico	~110 VA/90 W
Temperatura ambiente operativa*	15–25 °C (59–77 °F)
Umidità operativa*	<80% (senza condensa)
Standard di sicurezza	IEC, EN, CSA, UL, categoria di sovratensione II, grado di inquinamento 2, per l'uso esclusivamente in ambienti interni
Classificazione ISM	ISM Gruppo 1 Classe A Secondo CISPR 11
Pressione sonora	<70 dB (A) secondo ISO 7779, 1988/EN 27779/1991

\* L'intervallo operativo indicato riguarda lo strumento in sé. Molte velocità di migrazione dei campioni diminuiscono in misura significativa a temperature inferiori a 20 °C

## Installazione

In questo capitolo è fornita una panoramica di base dell'installazione e del funzionamento dell'hardware del Fragment Analyzer System. In **Figura 1** è mostrata una vista esterna di un Fragment Analyzer System completamente configurato, caratterizzato da un ingombro su banco di soli 40" e un peso di 39 kg (86 lb).



**Figura 1** Fragment Analyzer System configurato con workstation computerizzata

L'installazione del Fragment Analyzer System deve essere eseguita esclusivamente da rappresentanti autorizzati e Channel Partner approvati Agilent. Le installazioni non devono essere portate a termine direttamente dai clienti.

Assicurarsi che lo spazio disponibile in laboratorio soddisfi i criteri specificati nella lista di controllo per la preparazione del sito dello strumento (5200/5300 Site Prep Guide (D0029169) o 5400 Site Prep Guide (D0029173)). In tale lista di controllo sono inclusi i requisiti di spazio, le condizioni ambientali, il consumo elettrico e i vari prodotti di consumo operativi necessari.

**AVVERTENZA****Peso elevato**

Lo strumento è pesante.

- ✓ Evitare stiramenti e lesioni alla schiena adottando le precauzioni relative al sollevamento di oggetti pesanti.
- ✓ Assicurarsi che il carico sia il più vicino possibile al corpo.
- ✓ Assicurarsi di essere in grado di sostenere il peso del carico.

---

Se è necessario trasferire uno strumento in un altro luogo, rivolgersi ai rappresentanti locali dell'assistenza per indicazioni specifiche per lo strumento.

## Gestione del PC

Per eseguire il software è necessario un PC dotato di Microsoft Windows 10 o versione successiva e dei seguenti requisiti (**Tabella 1**):

**Tabella 2** Requisiti minimi del computer

Tipo	Specifiche
Processore	Intel i5 o superiore
Video SVGA	Risoluzione dello schermo 1280 x 1024 o 1280 x 800
Di memoria	8 gigabyte
Spazio su disco disponibile	500 gigabyte
Porte seriali USB	6 porte (2 per strumento, tastiera, mouse)

### NOTA

L'uso di PC non Agilent è consentito sebbene "a proprio rischio". Si consiglia l'uso di PC desktop; l'uso di laptop è sconsigliato.

## Configurazione del PC

### ATTENZIONE

#### Impostazioni errate

Il PC consigliato per l'uso è fornito come pacchetto con Fragment Analyzer.

Se le impostazioni del computer per l'esecuzione del software Fragment Analyzer non corrispondono a quelle riportate di seguito possono verificarsi problemi di comunicazione con lo strumento, con conseguenti perdite di tempo e produttività.

- ✓ Se si intende utilizzare un diverso PC o qualora si apportino modifiche al PC esistente, verificare le impostazioni che seguono e abilitare/disabilitare le impostazioni del PC affinché corrispondano alla configurazione consigliata.

#### Impostazioni di data e ora

- 1 Andare a **Date and Time Settings** > **Set to Local Date & Time** (Impostazioni di data e ora > Imposta su data e ora locali).
- 2 Andare a **Settings** > **Time & Language** > **Date & Time** (Impostazioni > Ora e lingua > Data e ora) e disattivare l'opzione **Adjust for daylight saving time automatically** (Passa automaticamente all'ora legale).

#### Impostazioni di gestione dell'alimentazione USB

- 1 Andare a **Device Manager** > **Universal Serial Bus Controllers** > **USB Root Hub (USB 3.0)** (Gestione dispositivi > Controller USB (Universal Serial Bus) > Hub radice USB (USB 3.0)).
- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse su **Properties** > **Power Management** (Proprietà > Risparmio energia) e deselezionare la casella di controllo **Allow the computer to turn off this device to save power** (Consenti al computer di spegnere il dispositivo per risparmiare energia).

## Impostazioni di gestione dell'alimentazione USB

- 1 Andare a **Device Manager** > **Universal Serial Bus Controllers** > **Intel® USB 3.1 eXtensible Host Controller** (Gestione dispositivi > Controller USB (Universal Serial Bus) > Controller host eXtensible Intel® USB 3.1).
- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse su **Properties** > **Power Management** (Proprietà > Risparmio energia) e deselezionare la casella di controllo **Allow the computer to turn off this device to save power** (Consenti al computer di spegnere il dispositivo per risparmiare energia).
- 3 Andare a **Settings** > **System** > **Power & Sleep** (Impostazioni > Sistema > Alimentazione e sospensione) e selezionare **Never** (Mai).
- 4 Andare a **Additional Power Setting** (Impostazioni di alimentazione aggiuntive) e selezionare **High Performance** (Alte prestazioni).
- 5 Andare a **Settings** > **System** > **Notification** (Impostazioni > Sistema > Notifiche) e impostare tutto su **Off** (Disattivato).
- 6 Andare a **Settings** > **Gaming** (Impostazioni > Giochi) e disattivare la barra dei giochi Xbox:
  - a Deselezionare **Open Xbox Game Bar** (Apri la barra dei giochi Xbox).
  - b Impostare **Game Mode** (Modalità gioco) su **Off** (Disattivato).
- 7 Andare a **Settings** > **Privacy** (Impostazioni > Privacy) e impostare tutto su **Off** (Disattivato).
- 8 Andare a **Settings** > **Updates** (Impostazioni > Aggiornamenti) e impostare tutto su **Off** (Disattivato).
- 9 Andare a **Security** > **Windows Security** > **Virus & Threat Protection Settings** (Sicurezza > Sicurezza di Windows > Protezione da virus e minacce) e impostare tutto su **Off** (Disattivato).
- 10 Andare a **Settings** > **Windows Update** (Impostazioni > Windows Update) e selezionare **Check Now/Refresh** (Verifica ora/Aggiorna) per aggiornare all'ultima versione disponibile.

## Informazioni sul software

Il Fragment Analyzer System utilizza un software proprietario per il funzionamento e l'analisi dei dati.

Tale software è preinstallato nello strumento e verificato prima della spedizione nell'ambito della qualifica dello strumento.

Il software non richiede licenze e il programma di installazione della versione più recente è disponibile gratuitamente sul sito web Agilent.

**<https://www.agilent.com>**

## Installazione del software

Per installare il software Fragment Analyzer:

- 1** Accedere al programma di installazione di Fragment Analyzer sul sito web Agilent. Scaricare il programma di installazione e fare doppio clic su setup.exe.
- 2** Seguire le istruzioni di configurazione della procedura guidata di installazione. La directory di installazione predefinita è C:\Agilent Technologies\Fragment Analyzer.

## Connessioni del Fragment Analyzer System

Il retro del Fragment Analyzer System contiene il pannello per le comunicazioni sul quale si effettuano le connessioni necessarie al computer dello strumento e alla presa elettrica per il funzionamento (**Figura 2** e **Figura 3**).

Si consiglia vivamente di utilizzare un dispositivo di protezione da sovratensione a doppia conversione o un gruppo di continuità (UPS). Rivolgersi al proprio rappresentante delle vendite/dell'assistenza Agilent per informazioni sugli specifici modelli consigliati.

Per collegare lo strumento, il computer e gli accessori è necessario disporre di almeno tre prese elettriche a muro standard; se necessario, tuttavia, è possibile utilizzare una presa multipla anziché prese a muro separate.

Ciascuna connessione è identificata tramite etichetta sul PC. Di seguito è riportato un riepilogo delle varie connessioni tra il sistema e il Fragment Analyzer System:

- Connessione in **Figura 2**: retro del PC
  - Due connessioni USB al Fragment Analyzer System  
Questi cavi possono essere configurati in un ordine/una posizione qualsiasi; si consiglia tuttavia di collegarli a porte non adiacenti quale misura preventiva nei confronti delle interruzioni della comunicazione.
  - Cavo di alimentazione collegato a una presa elettrica dotata di messa a terra
  - Connessione a monitor, tastiera, mouse ecc.
  - Cavo Ethernet (opzionale)

Connessione a monitor, tastiera, mouse ecc.

- Connessione in **Figura 3**: dal Fragment Analyzer System
  - Due cavi USB collegati alle porte USB del PC
  - Cavo di alimentazione collegato a una presa elettrica dotata di messa a terra

### NOTA

L'uso di mouse e tastiera cablati può dare luogo a problemi di connessione. Si consiglia sempre l'uso di mouse e tastiera senza fili come quelli forniti in dotazione con il pacchetto dello strumento.

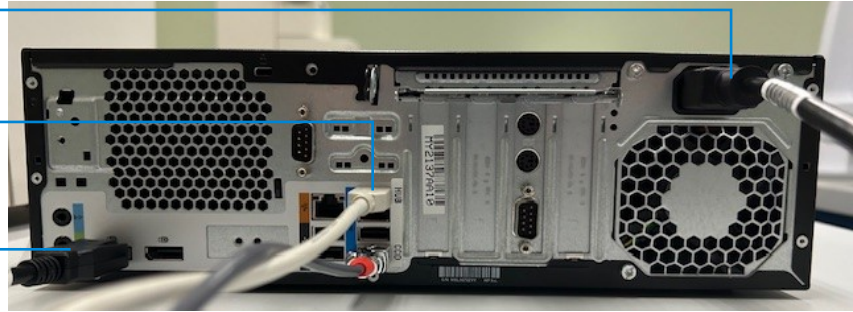
## NOTA

Quando si spengono e riaccendono lo strumento e il PC, scollegare sempre i cavi USB dello strumento dal PC in quanto vari componenti/schede sono alimentati tramite questi cavi.

Connessione  
all'alimentazione CA

Connessioni USB con etichetta

Connessione del monitor  
del computer



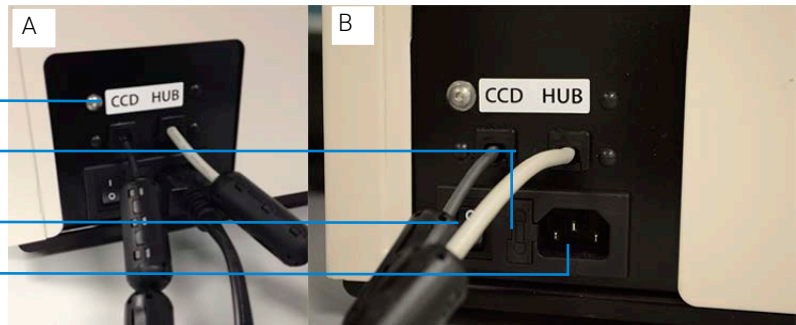
**Figura 2** Retro del PC con tutte le connessioni elettriche

Cavi USB con etichetta

Supporto fusibili

Interruttore di alimentazione

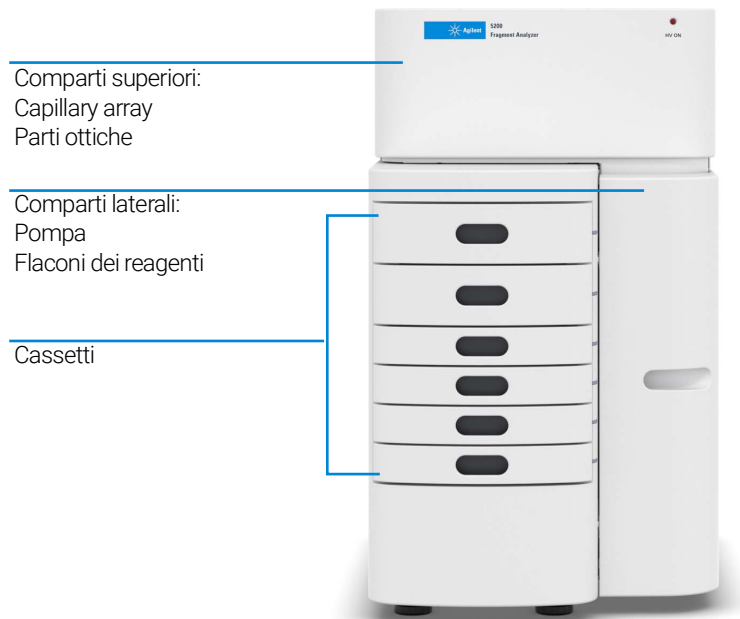
Connessione all'alimentazione CA



**Figura 3** Retro dello strumento con tutte le connessioni elettriche

## Armadietto esterno del Fragment Analyzer

I principali punti di accesso all'interno del Fragment Analyzer System sono tre: il comparto superiore, lo sportello di accesso del comparto laterale e i cassetti (sei in totale) (**Figura 4**).



**Figura 4** Punti di accesso del Fragment Analyzer System

## Comparto superiore

Spia indicatrice  
HV ON



Figura 5 Comparto superiore

### ATTENZIONE

#### Operazione interrotta

L'apertura del comparto superiore quando la spia HV ON è accesa comporta l'interruzione dell'operazione in corso, l'arresto della coda dei metodi e la perdita di dati.

- ✓ Assicurarsi che la spia sia accesa per qualsiasi operazione che prevede l'uso della fonte di alimentazione ad alta tensione, incluse le iniezioni e separazioni sotto tensione.

Il *comparto superiore* permette di accedere alla piattaforma di rivelazione ottica e a una capillary array cartridge da 12, 48 o 96 capillari. Un comparto inaccessibile sul retro dello strumento contiene la fonte di alimentazione ad alta tensione e i componenti elettronici collegati all'array cartridge e al sistema di interblocco di sicurezza. Il sistema di interblocco di sicurezza disattiva l'alta tensione se si apre lo sportello mentre lo strumento è in funzione.

La *capillary array cartridge da 12, 48 o 96 capillari* è un componente modulare sostituibile del Fragment Analyzer System. L'utente può sostituire facilmente la capillary array cartridge (per maggiori informazioni fare riferimento al **Capitolo 6**, "Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità)").

### NOTA

Il sistema 5200 Fragment Analyzer è compatibile esclusivamente con capillary array cartridge da 12 capillari. Il sistema 5300 Fragment Analyzer è compatibile con capillary array cartridge da 48 e 96 capillari.

Il sistema 5400 Fragment Analyzer è compatibile esclusivamente con capillary array cartridge da 96 capillari.

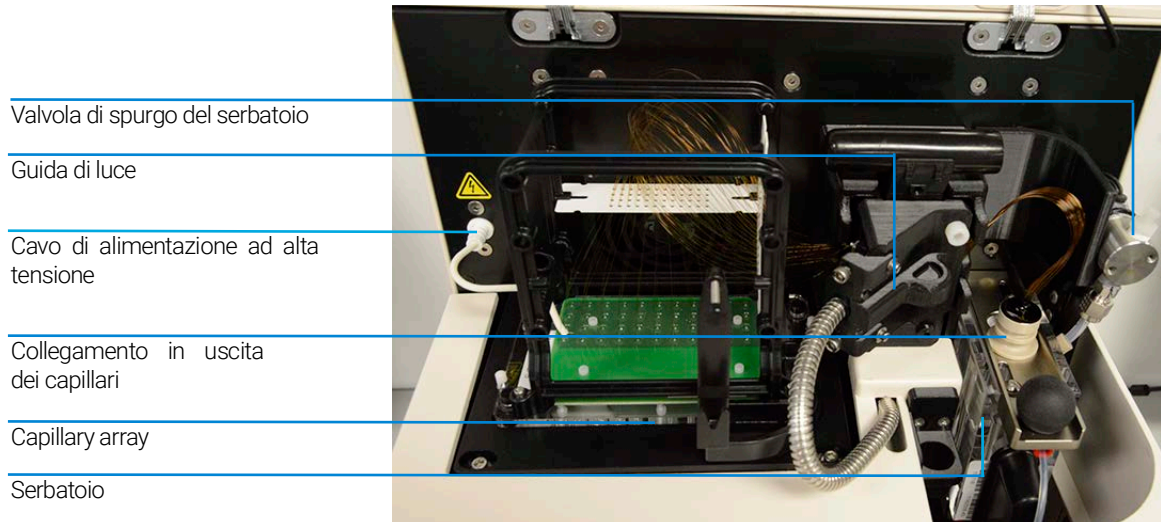


Figura 6 Comparto superiore aperto dell'unità principale del Fragment Analyzer

## AVVERTENZA

### Alta tensione

Il Fragment Analyzer è dotato di cavo di alimentazione ad alta tensione. Tale cavo è contrassegnato da un adesivo indicante una tensione pericolosa. Il cavo eroga elettricità ai capillari durante le operazioni che impiegano alta tensione (preanalisi, iniezioni, separazione). Se il comparto superiore non è chiuso correttamente, la fonte di alimentazione ad alta tensione non eroga alimentazione al cavo.

- ✓ Assicurarsi che il coperchio sia chiuso correttamente prima di mettere in funzione lo strumento.

## Comparto laterale

Il *comparto laterale* consente di accedere alla pompa ad alta pressione, alla siringa, al flacone di scarico, alla soluzione di condizionamento e alle soluzioni dei gel (gel 1 e gel 2).

Il sistema di pompaggio con pompa a siringa ad alta pressione permette il lavaggio e il riempimento automatizzati del capillary array con la soluzione di condizionamento e il gel di separazione tra analisi CE sperimentali, con la pressurizzazione dei capillari fino a 280 psi.

Il design del sistema consente l'iniezione sotto vuoto (iniezione idrodinamica) dei campioni oltre all'iniezione elettrocinetica (tensione) tradizionale dei campioni, una caratteristica esclusiva della piattaforma Fragment Analyzer e vantaggiosa quando si trattano campioni in matrici ad alto tenore salino.

Due diverse soluzioni sono erogate e pompate attraverso il capillary array nel corso delle operazioni di routine:

- **soluzione di condizionamento capillari**
- **gel di separazione** (gel 1 o gel 2)

La selezione della soluzione adeguata da pompare avviene tramite una valvola di distribuzione a 6 vie.

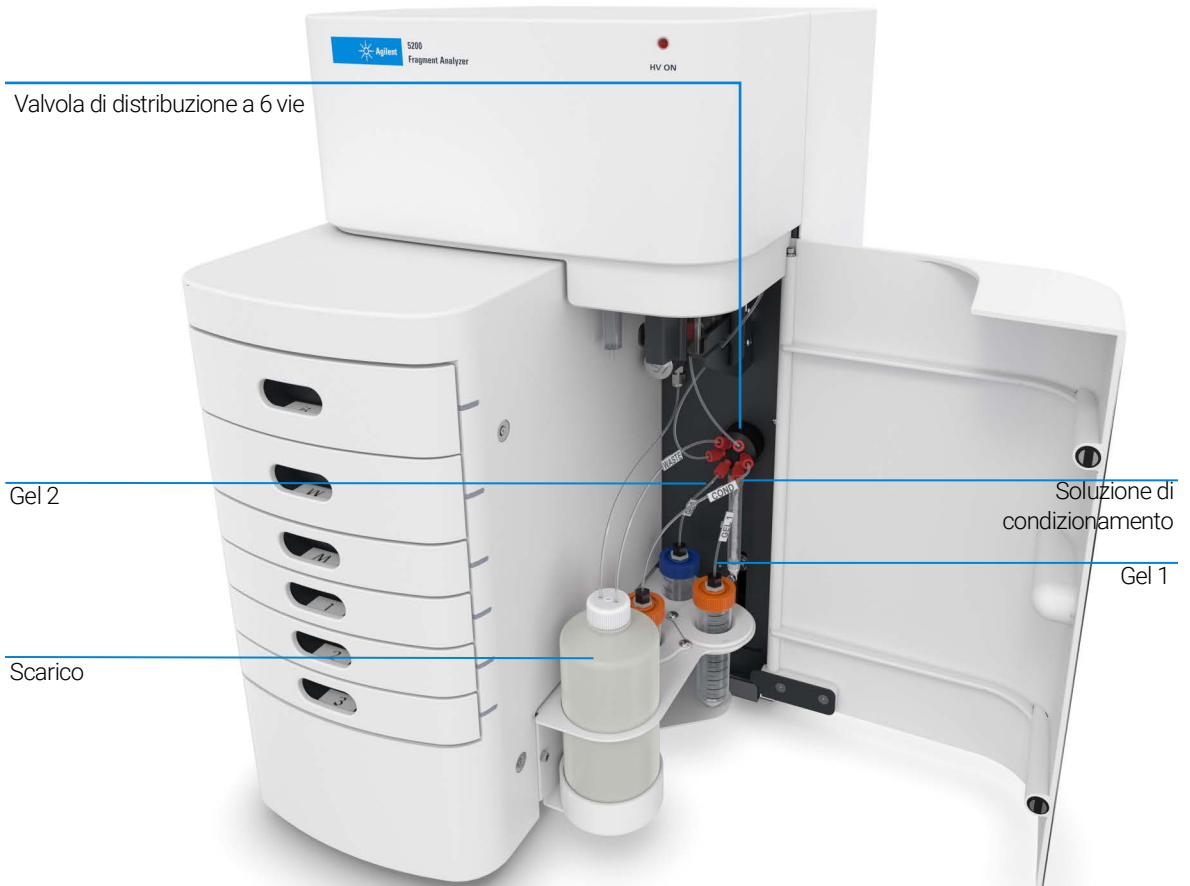
Il sistema è dotato anche di un flacone di scarico, in cui si raccolgono le soluzioni pompate attraverso la linea di scarico dal serbatoio del capillary array nel corso del processo di riempimento.

### AVVERTENZA

#### **Solventi, campioni e reagenti tossici, infiammabili e pericolosi**

**La manipolazione di solventi, campioni e reagenti può comportare rischi per la salute e la sicurezza.**

- ✓ **Quando si opera con queste sostanze, rispettare le procedure di sicurezza opportune (per esempio indossare occhiali di protezione, guanti di sicurezza e indumenti di protezione) come descritto nella scheda dei dati di sicurezza e manipolazione dei materiali fornita dal venditore e seguire le buone pratiche di laboratorio.**
- ✓ **Il volume delle sostanze deve essere ridotto al minimo necessario per l'analisi.**
- ✓ **Non utilizzare lo strumento in atmosfera esplosiva.**



**Figura 7** Comparto laterale con sportello

Di seguito sono descritti i collegamenti tra la multivalvola a 6 vie e le sei linee di fluido all'interno del Fragment Analyzer System:

- Linea al flacone di scarico: posizione valvola A
- Linea di riempimento del serbatoio: posizione valvola B
- Linea di condizionamento: posizione valvola C
- Linea del gel 1: posizione valvola D
- Linea del gel 2: posizione valvola E
- Linea della porta F: posizione valvola F

## Cassetti

I cassetti sul pannello anteriore del Fragment Analyzer fungono da interfaccia per caricare nel sistema la soluzione tampone, il marcatore e le piastre per campioni a 96 pozzetti o le provette per PCR.

- Cassetto B (cassetto più in alto): questa posizione è utilizzata per il *vassoio del tampone iniettore* impiegato nel corso della separazione CE. Il cassetto in questa posizione è utilizzato anche per la *soluzione per conservazione capillari* nello strumento a 12 capillari.
- Cassetto W (secondo cassetto dall'alto): questa posizione è utilizzata per un *vassoio per gli scarti* quando si esegue il lavaggio del capillary array.
- Cassetto M (terzo cassetto dall'alto): questa posizione è utilizzata per caricare il *vassoio del marcatore* o il *tampone di risciacquo*.
- Cassetto 1 (quarto cassetto dall'alto): questa posizione è utilizzata per la *piastra per campioni numero 1*.
- Cassetto 2 (quinto cassetto dall'alto): questa posizione è utilizzata per la *piastra per campioni numero 2*.
- Cassetto 3 (sesto cassetto dall'alto): questa posizione è utilizzata per la *piastra per campioni numero 3*. Inoltre, è la posizione predefinita per una piastra a 96 pozzetti contenente la *soluzione per conservazione capillari*.

### NOTA

Il cassetto del marcatore (cassetto M) è utilizzato per un'iniezione separata di marcatore quando si utilizza un kit qualitativo. È impiegato per una fase di risciacquo TE (immersione delle punte dei capillari) con ogni kit quantitativo.

## Stato dei cassette

### Stato

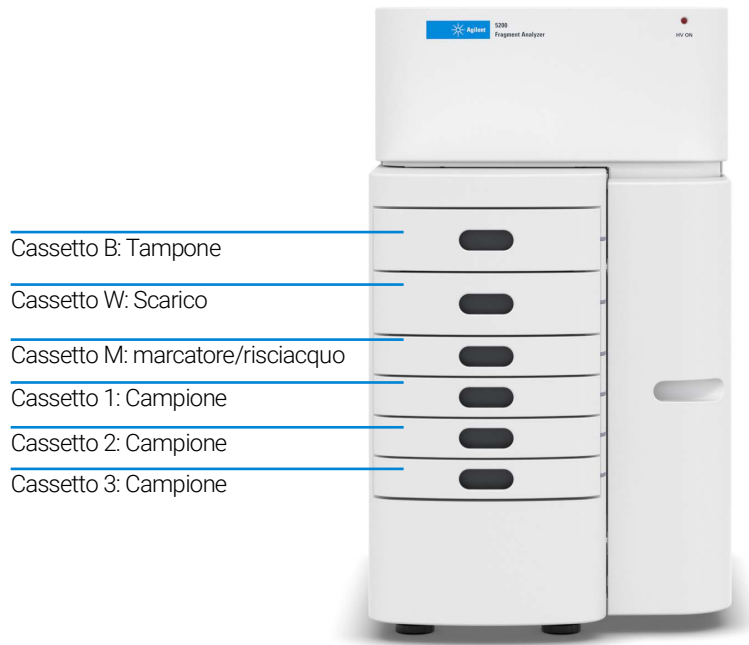
I cassette B e W sono sottoposti a interblocco

I cassette M, 1, 2 e 3 non sono sottoposti a interblocco

### Descrizione

Quando uno dei due cassette più in alto è aperto, l'alta tensione (per l'elettroforesi) viene disattivata automaticamente. La tensione deve essere applicata solo durante una verifica della tensione preanalisi, le fasi di iniezione sotto tensione e la separazione. Questa condizione è segnalata dall'accensione di un LED nell'angolo in alto a destra della calotta del comparto superiore.

I vassoi portacampioni possono essere sostituiti mentre lo strumento è in funzione.

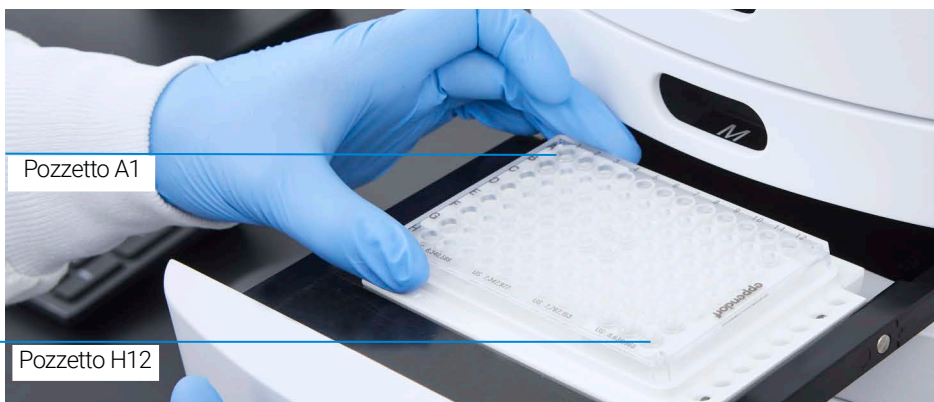


**Figura 8** Posizioni dei cassette dello strumento

## Caricamento e orientamento di piastre a 96 pozzetti nel Fragment Analyzer

Il Fragment Analyzer System è un sistema per CE multiplex equipaggiato con un capillary array da 12, 48 o 96 capillari e progettato per interfacciarsi direttamente con una singola riga o un'intera piastra a 96 pozzetti standard. Ciascun capillare dell'array corrisponde a uno specifico pozzetto di una determinata riga della piastra per campioni da 96 pozzetti. Quelli che seguono sono solo alcuni esempi: l'orientamento del capillary array è indicizzato in modo che il capillare n. 1 corrisponda al pozzetto A1 e il capillare n. 12 al pozzetto A12.

Il pozzetto A1 della piastra a 96 pozzetti deve essere sempre orientato nella posizione posteriore sinistra del cassetto dello strumento per assicurarsi che la posizione dei pozzetti del campione sia assegnata e riportata correttamente nel software.



**Figura 9** Orientamento corretto durante il caricamento delle piastre a 96 pozzetti del marcatore e dei campioni per un sistema a 12 capillari

Nella posizione di ciascun cassetto è alloggiato un supporto per vassoi dotato di perni di allineamento per garantire il corretto allineamento della piastra a 96 pozzetti quando viene collocata sul capillary array.

Il Fragment Analyzer System è stato progettato per funzionare con piastre aventi dimensioni e caratteristiche specifiche.

È possibile utilizzare piastre di dimensioni simili; tenere presente, tuttavia, che l'uso di piastre per PCR di scarsa qualità può comportare danni ai capillari.

Fare riferimento a **“Piastre e provette compatibili per i Fragment Analyzer System”** a pagina 135 per un elenco di piastre per PCR compatibili.

## Caricamento di campioni nel Fragment Analyzer

Per eseguire correttamente l'iniezione il Fragment Analyzer System richiede un volume minimo di 20  $\mu\text{L}$ /pozzetto nella piastra per campioni.

Quando si preparano le piastre inferiore/superiore dei marcatori del DNA per l'uso ripetuto, si consiglia di impiegare un volume di 30  $\mu\text{L}$ /pozzetto con una sovrapposizione di 20  $\mu\text{L}$  di olio minerale.

### NOTA

Se si utilizza il flacone contagocce per olio minerale in dotazione con alcuni kit di reagenti Fragment Analyzer, una goccia è sufficiente.

Assicurarsi che il campione sia stato miscelato adeguatamente con il marcatore diluente o con il tampone di diluizione prima del caricamento sullo strumento.

L'agitazione del campione in vortex è la pratica ottimale per garantire un'adeguata miscelazione prima dell'analisi.

Controllare i pozzetti delle piastre per campioni dopo la pipettatura per assicurarsi che sul fondo degli stessi non siano intrappolate bolle d'aria. La presenza di bolle d'aria intrappolate può dare luogo a errori di iniezione.

È possibile rimuovere le bolle d'aria dalle piastre tramite una breve fase di centrifugazione prima di collocare le piastre nel supporto per vassoi.

Nella guida di ciascun kit sono fornite indicazioni specifiche a titolo di riferimento.



## 2

# Sicurezza

Guida generale sulla sicurezza 27

Simboli di sicurezza 28

Informazioni generali sulla sicurezza 29

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive sulla sicurezza.

## Guida generale sulla sicurezza







La guida generale sulla sicurezza è accessibile all'indirizzo <https://www.agilent.com> tramite la funzione di ricerca generica

e contiene tutti i simboli, le avvertenze ecc., nonché le informazioni su come reperire le dichiarazioni di conformità.

Nella tabella che segue sono riportati nuovamente tutti i simboli per i Fragment Analyzer System tratti dalla guida generale sulla sicurezza.

## Simboli di sicurezza

Tabella 3 Simboli

Simbolo	Sede	Descrizione
	Comparto superiore	Indica tensioni pericolose.
	Pompa a siringa	Indica un pericolo di schiacciamento.
	Serbatoio	Indica il terminale della struttura o del telaio, che è collegato alle parti conduttrici di un'apparecchiatura a fini di sicurezza.
	Etichetta del numero di serie	Rispettare i voltaggi specifici indicati.
	Comparto superiore	Lo strumento è dotato di interblocchi per l'alta tensione per la sicurezza dell'utilizzatore. Per un funzionamento corretto, il coperchio superiore deve essere chiuso. Gli interblocchi non devono mai essere aggirati.
	Sportello interno dei reagenti	Avvisa dell'uso di e dell'esposizione a sostanze chimiche potenzialmente pericolose e/o corrosive. Consultare le guide dei kit di reagenti e le schede dei dati di sicurezza per l'elenco delle precauzioni e delle informazioni per la manipolazione.
	Etichetta del numero di serie	Garantisce la conformità del prodotto a tutte le direttive della Comunità europea applicabili al prodotto stesso. La dichiarazione di conformità europea è disponibile al seguente indirizzo: <a href="http://regulations.corporate.agilent.com/DoC/search.html">http://regulations.corporate.agilent.com/DoC/search.html</a>
	Interruttore di alimentazione	Il simbolo di alimentazione indica che lo strumento è acceso.
	Interruttore di alimentazione	Il simbolo di alimentazione indica che lo strumento è spento. Quando l'interruttore di alimentazione è in posizione OFF, l'apparecchiatura è ancora collegata all'alimentazione principale.

## Informazioni generali sulla sicurezza

Le seguenti precauzioni generali di sicurezza devono essere osservate durante tutte le fasi di utilizzo, manutenzione e riparazione dello strumento. Il mancato rispetto di tali norme o di avvertenze specifiche riportate altrove nel presente manuale viola gli standard di sicurezza relativi a progettazione, produzione ed uso previsto dello strumento. Agilent Technologies non si assume nessuna responsabilità per la mancata osservanza di questi requisiti da parte del cliente.

**AVVERTENZA****Peso elevato**

Lo strumento è pesante.

- ✓ Evitare stiramenti o lesioni alla schiena adottando le precauzioni relative al sollevamento di oggetti pesanti.
- ✓ Assicurarsi che il carico sia il più vicino possibile al corpo.
- ✓ Assicurarsi di essere in grado di sostenere il peso del carico.

**AVVERTENZA****Uso non previsto dei cavi di alimentazione**

L'utilizzo dei cavi di alimentazione per scopi non previsti può comportare lesioni personali o danni alle apparecchiature elettroniche.

- ✓ Non usare mai cavi di alimentazione diversi da quelli spediti da Agilent insieme allo strumento.
- ✓ Non usare mai i cavi di alimentazione spediti da Agilent Technologies insieme allo strumento per altri dispositivi.
- ✓ Utilizzare esclusivamente cavi forniti da Agilent Technologies per assicurare il funzionamento corretto e la conformità alle norme di sicurezza o alle normative EMC.

**AVVERTENZA****Reagenti**

Reagenti tossici e pericolosi e liquidi infiammabili. La manipolazione di reagenti può comportare rischi per la salute.

- ✓ Quando si opera con reagenti, rispettare le procedure di sicurezza opportune (per esempio indossare occhiali di protezione, guanti di sicurezza e indumenti di protezione) come descritto nella scheda di dati di sicurezza fornita per i kit di reagenti, in particolare in caso di utilizzo di solventi tossici o pericolosi e liquidi infiammabili.



## 3

### Condizioni legali e normative

Emissioni sonore 31

Direttiva sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE) 32

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive in merito a aspetti legali e normativi.

## Emissioni sonore

### Dichiarazione del produttore

Questa dichiarazione viene fornita per la conformità ai requisiti della direttiva tedesca sulle emissioni sonore del 18 gennaio 1991.

L'emissione di pressione sonora di questo prodotto (alla postazione dell'operatore) è <70 dB.

- Lp pressione sonora <70 dB (A)
- Alla postazione dell'operatore
- Funzionamento normale
- Secondo la normativa ISO 7779:1988/EN 27779/1991 (prova di tipo)

#### NOTA

Questo è un prodotto ISM Gruppo 1 Classe A destinato all'uso in ambienti industriali. Se utilizzato in ambiente domestico, può provocare interferenze radio e in tal caso l'utilizzatore può essere tenuto a rimediare a tale fenomeno.

## Direttiva sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)

Questo prodotto è conforme ai requisiti di marcatura della direttiva RAEE europea. L'etichetta indica che questo prodotto elettrico/elettronico non deve essere smaltito come normale rifiuto domestico.

**NOTA**

Non smaltire con i rifiuti domestici.

Per effettuare il reso di prodotti indesiderati, rivolgersi all'ufficio Agilent locale o consultare la pagina <https://www.agilent.com> per ottenere maggiori informazioni.



## 4 Software Fragment Analyzer: menu File

Apertura del software Fragment Analyzer 34

Barra degli strumenti della schermata principale 35

Menu File 36

File Manager (Gestore file) 36

Exit (Esci) 39

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu File.

## Apertura del software Fragment Analyzer

1 Per aprire il software, selezionare l'icona del software Fragment Analyzer.



Figura 10 Icona di Fragment Analyzer

Si apre la schermata principale.

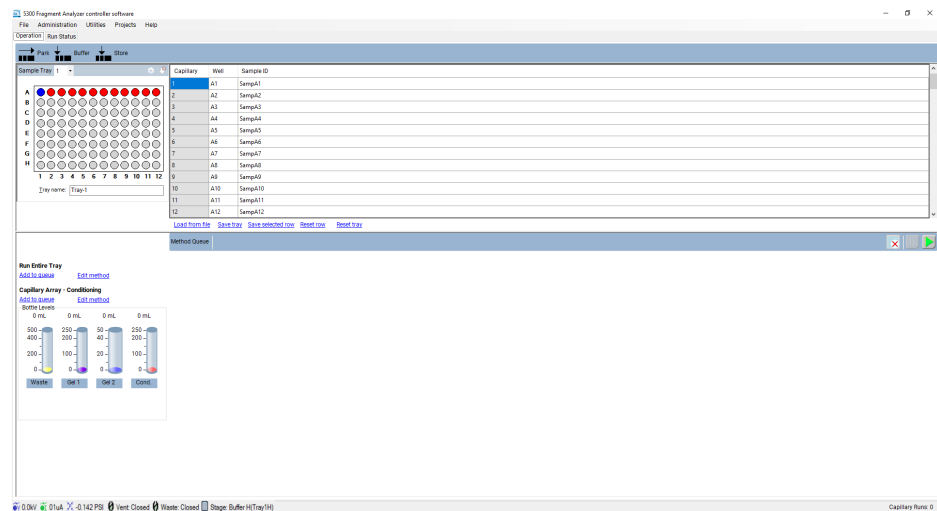


Figura 11 Finestra della schermata principale del software Fragment Analyzer (nell'esempio è mostrato il software per uno strumento 5300 Fragment Analyzer)

### NOTA

Se non si scarica e configura il software indipendente Agilent Administration, non sarà visibile una richiesta di accesso per il software di controllo Fragment Analyzer versione 5.0 e successive.

Ulteriori informazioni sulle diverse autorizzazioni e sull'accesso al software sono disponibili nel manuale del software Agilent Administration.

## Barra degli strumenti della schermata principale

La barra degli strumenti della schermata principale si trova in alto nella schermata principale del software Fragment Analyzer, come mostrato in **Figura 11**.

## Menu File

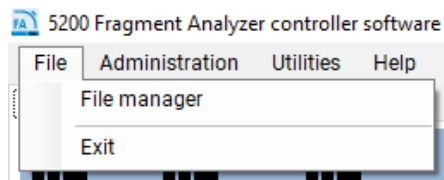


Figura 12 Comandi del menu File

## File Manager (Gestore file)

La funzione File Manager (Gestore file) consente di esaminare i dati degli elettroferogrammi nell'ambiente del programma *Fragment Analyzer*.

I file in genere sono analizzati tramite ProSize data analysis software, trattato nel *ProSize software User Manual*.

File Manager (Gestore file) consente inoltre di correggere l'allineamento dei capillari per un singolo file di dati.

Selezionando la funzione **File Manager** (Gestore file) si apre una finestra che consente di passare a un file di dati. Una volta selezionato un file, compare la schermata File Manager (Gestore file) (**Figura 13**).



**Figura 13** Finestra File Manager (Gestore file)

Le funzioni **File** della schermata File Manager (Gestore file) sono esaminate nella **Tabella 4**.

**Tabella 4 File Manager (Gestore file): funzioni File.**

Campo	Descrizione
Open (Apri)	Apre una finestra di dialogo di Windows che consente di passare al file di dati desiderato.
Cap. Alignment (Allineamento capillari)	Consente di visualizzare e manipolare l'allineamento dei capillari solo per il file di dati aperto. L'allineamento dei capillari da un file è trattato nel relativo capitolo.
Merge Files (Unisci file)	Disponibile per gli utilizzatori che utilizzano un intero vassoio a 96 pozzetti su un sistema con meno di 96 capillari. Questa operazione genera quanto segue: un file con un unico nome del campione, un unico file di dati grezzi, un unico file del metodo.
Print (Stampa)	Consente di stampare dodici elettroferogrammi in una pagina.
Exit (Esci)	Chiude la finestra File Manager (Gestore file).

Le funzioni della barra degli strumenti **Current** (Corrente), **Method Summary** (Riepilogo del metodo) e **Sample Info** (Informazioni sul campione) sono discusse nella Tabella 5.

**Tabella 5 Opzioni della barra degli strumenti File manager (Gestore file).**

Campo	Descrizione
Current (Corrente)	Selezionando Current (Corrente) è possibile visualizzare la corrente utilizzata per la separazione durante l'analisi.
Method Summary (Riepilogo del metodo)	Selezionando l'opzione Method Summary (Riepilogo del metodo) viene visualizzato un riepilogo del metodo utilizzato per la separazione.
Sample Information (Informazioni sul campione)	Selezionando l'opzione Sample Information (Informazioni sul campione) vengono visualizzati i nomi dei campioni immessi per il file di separazione.
View Array Window (Visualizza finestra array)	Selezionando l'opzione View Array Window (Visualizza finestra array) viene visualizzata l'immagine della fotocamera della finestra del capillary array.

Una volta aperto il file di dati in File Manager (Gestore file), è possibile visualizzare i dati in gruppi di 12 (per riga) se è selezionata la scheda **Group** (Gruppo). In fondo alla schermata è possibile selezionare la pagina per spostarsi su tutte le righe di una piastra (nell'ipotesi che si scelgano dati di un capillary array a 48 o 96 capillari).

Per visualizzare un unico elettroferogramma alla volta, fare doppio clic con il pulsante sinistro del mouse sul pozzetto desiderato o selezionare la scheda **Single** (Singolo). In fondo alla schermata è possibile selezionare la pagina e il pozzetto per spostarsi su tutte le righe e tutti i pozzetti della piastra.

È possibile eseguire una panoramica, ingrandire o rimpicciolire i dati degli elettroferogrammi facendo clic con il pulsante destro del mouse sul grafico e selezionando la funzione di interesse.

## Exit (Esci)

Il comando Exit (Esci) consente di chiudere il programma Fragment Analyzer. In alternativa, è possibile uscire dal programma selezionando la **X** rossa nell'angolo in alto a destra della schermata principale.

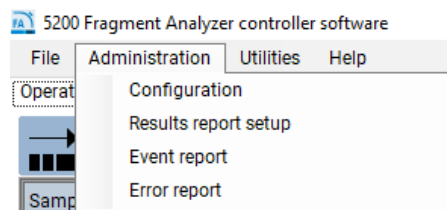
## 5

# Software Fragment Analyzer: menu Administration (Amministrazione)

Menu Administration (Amministrazione)	41
Configuration (Configurazione)	42
Results Report Setup (Configurazione report risultati)	45
Event Report (Report eventi)	46
Error Report (Report errori)	48

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu Administration (Amministrazione).

## Menu Administration (Amministrazione)



**Figura 14** Comandi del menu Administration (Amministrazione)

## Configuration (Configurazione)

Selezionando l'opzione **Configuration** (Configurazione) dal menu a discesa si apre la finestra **Configuration Settings** (Impostazioni di configurazione). In questa finestra è possibile modificare **Device Settings** (Impostazioni dispositivo) e **Bottle Volumes** (Volumi dei flaconi) per il sistema.

La scheda **Device Settings** (Impostazioni dispositivo) permette la modifica delle impostazioni del dispositivo (**Figura 15**).

Aggiornare le impostazioni ogni volta che si installa una capillary array cartridge nuova.

Aggiornare il campo del numero di serie del capillary array ogni volta che si installa una capillary array cartridge nuova.

Assicurarsi che il campo del numero di serie dello strumento corrisponda accuratamente al numero riportato sull'adesivo affisso sullo strumento.

Un riepilogo delle opzioni di configurazione della scheda **Device Settings** (Impostazioni dispositivo) è disponibile nella **Tabella 6**.

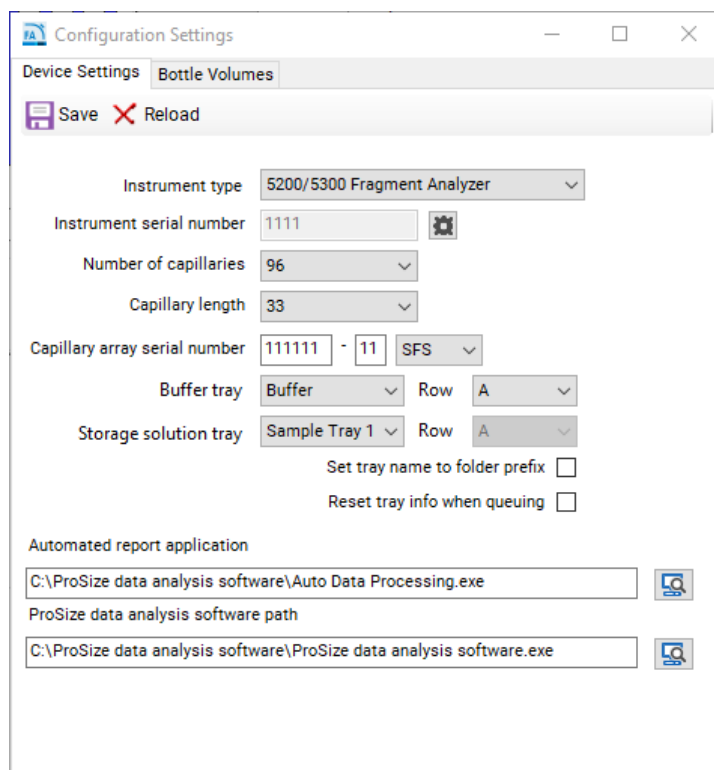


Figura 15 Configurazione: scheda Device Settings (Impostazioni dispositivo)

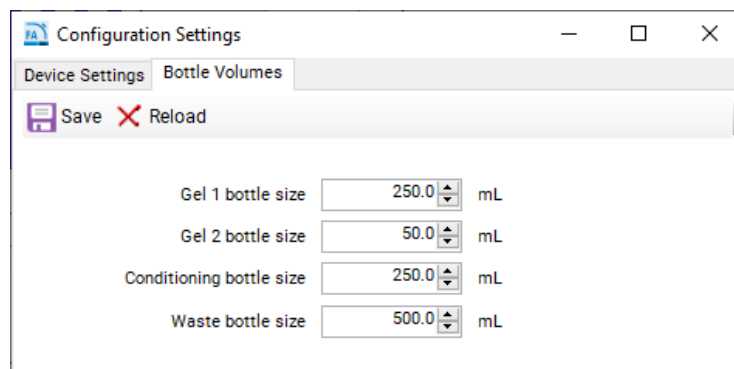
## Opzioni di configurazione

**Tabella 6** Configurazione: funzioni della scheda Device Settings (Impostazioni dispositivo)

Parametro	Descrizione
Number of Capillaries (Numero di capillari)	Valori: 12, 48 o 96 Nota: se si seleziona il valore 12 o 48 quando è installato un array a 96 capillari possono verificarsi problemi di natura hardware e danni all'array.
Capillary Length (Lunghezza dei capillari)	22, 33 o 55 Nota: si riferisce alla lunghezza effettiva dei capillari in uso. Selezionando una lunghezza dei capillari si forza il sistema all'uso esclusivo dei metodi corrispondenti. I capillari con lunghezza effettiva pari a 22 cm sono disponibili soltanto con gli strumenti a 12 capillari.
Capillary Array Serial Number (Numero di serie del capillary array)	È obbligatorio utilizzare il formato xxxxxx-xx-xxxx.
Buffer Tray (Vassoio del tampone)	La selezione predefinita è bloccata.
Storage Solution Tray (Vassoio della soluzione di conservazione)	Consente di selezionare il vassoio e la riga per il vassoio della soluzione di conservazione.
Set Tray Name to Folder Prefix (Imposta nome del vassoio sul prefisso della cartella)	Imposta il nome del vassoio sul prefisso della cartella utilizzata durante il caricamento dei vassoi portacampioni.
Reset Tray Info when Queuing (Reimposta informazioni vassoio nella coda)	Reimposta le informazioni per ciascun nuovo vassoio che viene caricato.
Automated report application (Applicazione report automatizzata)	Consente di cambiare il percorso dei file utilizzato per l'applicazione automatizzata dei report.
ProSize data analysis software path (Percorso di ProSize data analysis software)	Consente di cambiare il percorso dei file utilizzato per aprire ProSize data analysis software.
Save (Salva)	Salva le impostazioni scelte.
Reload (Ricarica)	Ricarica le impostazioni salvate in precedenza.

La scheda **Bottle Volumes** (Volumi dei flaconi) permette la modifica dei volumi dei flaconi dei reagenti (**Figura 16**).

I flaconi di gel 1, gel 2, condizionamento e scarico possono essere impostati nell'intervallo compreso tra 50 mL e 5.000 mL immettendo i volumi opportuni. Tali impostazioni dipendono dai tipi di recipienti utilizzati nel sistema. Per esempio, la maggior parte dei sistemi a 12 capillari utilizza tubi per centrifuga da 50 mL per il gel 1 e il gel 2 e un tubo per centrifuga da 250 mL per la soluzione di condizionamento. Nel caso dei sistemi a 96 capillari i volumi possono essere pari a 250 mL per il gel 1, 250 mL per il condizionamento e 50 mL per il gel 2. Volumi maggiori possono essere utilizzati se il sistema è configurato con recipienti di maggiore capacità.



**Figura 16** Configurazione: scheda Bottle Volumes (Volumi dei flaconi)

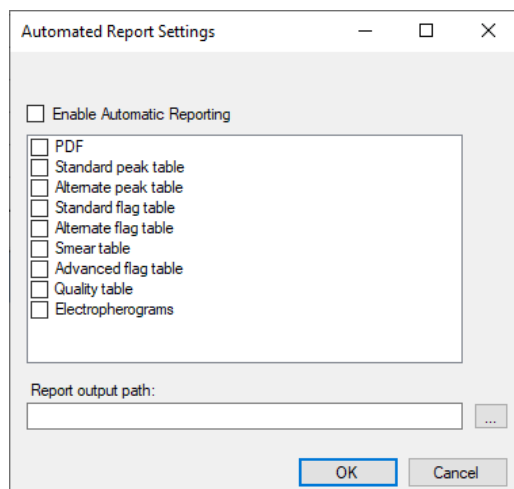
## Results Report Setup (Configurazione report risultati)

Selezionando l'opzione **Results Report Setup** (Configurazione report risultati) si apre la finestra **Automated Report Settings** (Impostazioni report automatici) (Figura 17).

Le impostazioni consentono all'amministratore di:

- abilitare l'elaborazione automatica; e
- selezionare i tipi di report generati dall'operazione di elaborazione automatica.

Fare riferimento al **Capitolo 12**, "Fragment Analyzer: analisi automatizzata" per ulteriori informazioni sull'elaborazione automatica.



**Figura 17** La schermata Automated Report Settings (Impostazioni report automatici)

Selezionando **Enable Automatic Reporting** (Abilita report automatici) si attiva/disattiva la funzione di elaborazione automatica. Se la funzione di elaborazione automatica è selezionata, il programma richiama un file eseguibile ProSize, elabora i dati e quindi esporta i risultati desiderati (PDF, tabella dei picchi standard, ecc.). Per una descrizione completa di ciascun tipo di dati, fare riferimento al manuale di ProSize data analysis software o al **Capitolo 12**, "Fragment Analyzer: analisi automatizzata" in cui è descritta in dettaglio l'elaborazione automatica.

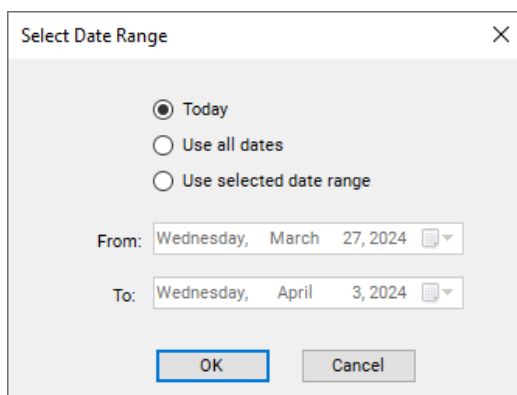
### NOTA

Affinché l'elaborazione automatica funzioni correttamente, il nome del metodo di Fragment Analyzer deve corrispondere esattamente al nome del file di configurazione di ProSize. Fare riferimento al **Capitolo 12**, "Fragment Analyzer: analisi automatizzata" per ulteriori dettagli.

## Event Report (Report eventi)

Il comando **Event Report** (Report eventi) fornisce un report in formato tabulare dell'audit trail degli eventi verificatisi nel programma Fragment Analyzer.

Selezionando il comando **Event Report** (Report eventi) dal menu **Administration** (Amministrazione) si apre la finestra **Select Date Range** (Seleziona intervallo di date) in cui l'utente può scegliere **Use all dates** (Usa tutte le date) o **Use selected date range** (Usa intervallo di date selezionate) (**Figura 18**).



**Figura 18** Finestra a comparsa Event Report (Report eventi)

Gli utenti con privilegi di amministratore e utente possono visualizzare l'**Event Report** (Report eventi).

Il report degli eventi contiene le seguenti informazioni per ciascuna voce del registro degli eventi:

- User Name (Nome utente): l'utente che era collegato.
- Computer Name (Nome del computer): nome del computer in rete in cui si è verificato l'evento.
- Event Date (Data dell'evento)
- Event Code Action (Azione del codice evento)
- Description (Descrizione)

Una volta selezionato l'intervallo di date opportuno nella finestra **Select Date Range** (Seleziona intervallo di date) e aver fatto clic su **OK**, viene generato un report degli eventi (**Figura 19**).

User Name	Computer Name	Event Date	Action	Description
Default User	AG-5CG1458R24	3/13/2024 11:08:57 AM	Method	Method: Storage Started
Default User	AG-5CG1458R24	3/13/2024 11:08:58 AM	Method	Storage aborted, run error
Default User	AG-5CG1458R24	3/13/2024 11:08:58 AM	Method	Method: Run Error
Default User	AG-5CG1458R24	3/14/2024 4:03:25 PM	Config	Device settings edited: Number of caps, from: 96 to: 12 Capillary SN, from: to: -USFS
Default User	AG-5CG1458R24	3/21/2024 2:07:23 PM	Config	Device settings edited: Instrument serial number changed from to 2893 Capillary SN, from: to: 112923-26SFS
Default User	AG-5CG1458R24	3/21/2024 2:11:33 PM	Capillary Alignment	Capillary Alignment modified.

**Figura 19** Esempio di report degli eventi

Le icone in alto nell'**Event Report** (Report eventi) seguono la nomenclatura standard delle funzioni di Windows; un riepilogo di tali icone è riportato nella **Tabella 7**.

Tabella 7 Icone del Report Event (Report eventi) e relative descrizioni

Icona	Descrizione
	Selezione della pagina
	Torna al report iniziale
	Arresta il rendering (ossia arresta la generazione del report)
	Aggiorna
	Stampa
	Layout di stampa
	Configurazione della pagina
	Salva
	Zoom
	Cerca

## Error Report (Report errori)

Il comando **Error Report** (Report errori) è utilizzato per la risoluzione avanzata dei problemi.

Selezionando il comando **Error Report** (Report errori) dal menu Administration (Amministrazione) si apre la finestra **Select Date Range** (Seleziona intervallo di date) in cui l'utente può scegliere **Use all dates** (Usa tutte le date) o **Use selected date range** (Usa intervallo di date selezionate) (Figura 20).

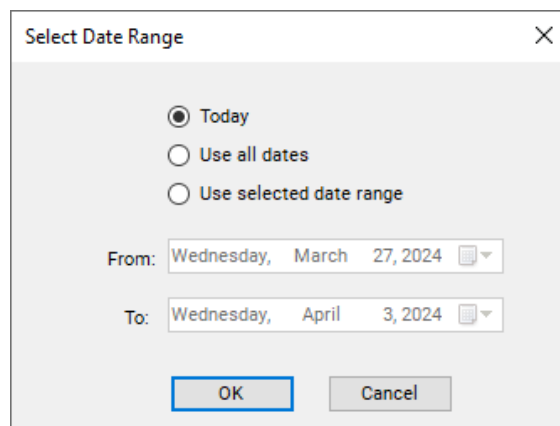


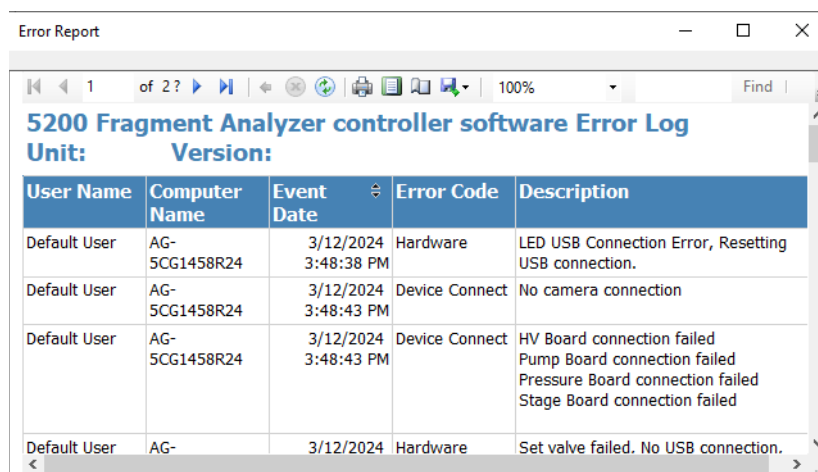
Figura 20 Finestra a comparsa Error Report (Report errori)

Il report degli errori acquisisce le seguenti informazioni:

- eccezioni software ed errori hardware rilevabili dal software
- User Name (Nome utente): l'utente che era collegato quando si è verificato l'errore
- Computer Name (Nome del computer): nome del computer in rete in cui si è verificato l'errore
- Event Date (Data dell'evento)
- Error Code (Codice di errore)
- Description (Descrizione)

Una volta selezionato l'intervallo di date opportuno nella finestra **Select Date Range** (Seleziona intervallo di date) e aver fatto clic su **OK**, viene generato un **Error Report** (Report errori) (**Figura 21**).

Le icone in alto nel report seguono la nomenclatura standard delle funzioni di Windows; un riepilogo di tali icone è riportato nella **Tabella 7**.



User Name	Computer Name	Event Date	Error Code	Description
Default User	AG-5CG1458R24	3/12/2024 3:48:38 PM	Hardware	LED USB Connection Error, Resetting USB connection.
Default User	AG-5CG1458R24	3/12/2024 3:48:43 PM	Device Connect	No camera connection
Default User	AG-5CG1458R24	3/12/2024 3:48:43 PM	Device Connect	HV Board connection failed Pump Board connection failed Pressure Board connection failed Stage Board connection failed
Default User	AG-	3/12/2024	Hardware	Set valve failed. No USB connection.

**Figura 21** Esempio di report degli errori

## 6

# Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità)

Menu Utilities (Utilità)	51
Capillary Alignment (Allineamento capillari)	52
Hardware Testing Screen (Schermata di test hardware)	60
Prime (Adescamento)	62
Solution Levels (Livelli delle soluzioni)	64
Clean Reservoir Vent Valve (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio)	65
Results Dashboard (Dashboard dei risultati)	66

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu Utilities (Utilità).

## Menu Utilities (Utilità)

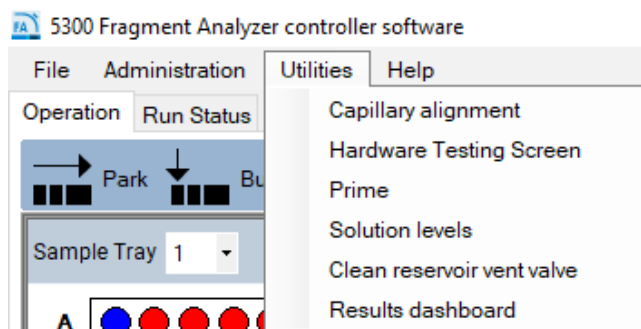


Figura 22 Comandi del menu Utilities (Utilità)

## Capillary Alignment (Allineamento capillari)

Quando si installa un nuovo capillary array è necessario eseguire il comando del menu **Capillary alignment** (Allineamento capillari). Questo comando può essere eseguito anche per risolvere problemi nell'ambito della risoluzione dei problemi.

L'allineamento dei capillari può essere effettuato in due modi diversi, sebbene il Metodo A sia considerato il più accurato. Il Metodo B può essere il più veloce:

**A)** Allineamento da un file: è la scelta ottimale quando si installa un capillary array nuovo a 96 capillari o si esegue la regolazione fine di un allineamento senza colorante.

**B)** Allineamento senza un file (solo 12 o 48 capillari)

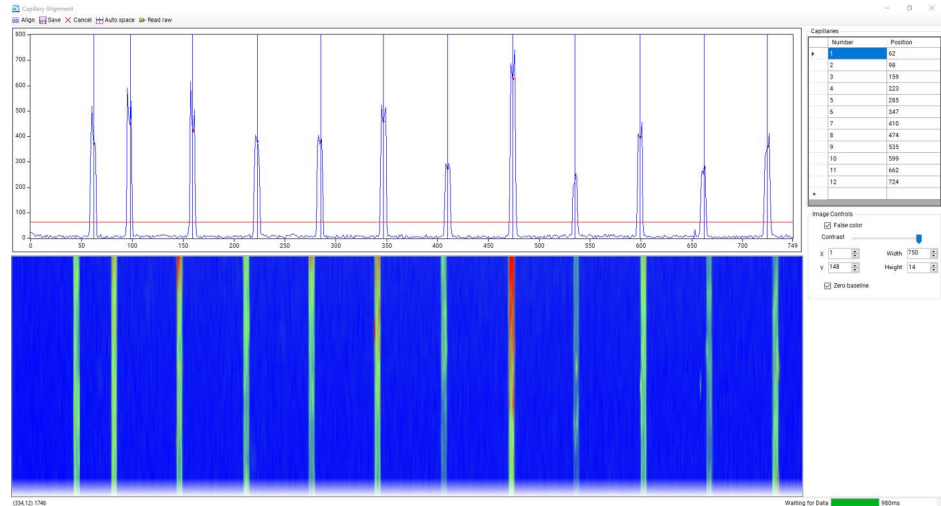
I metodi discussi in questo capitolo sono innanzitutto illustrati con immagini relative a capillary array da 12 capillari. Le immagini relative ai capillary array da 96 capillari sono discusse alle fine di questo capitolo.

Salvo diversa indicazione, tutte le fasi del metodo illustrate per eseguire l'allineamento dei capillari sono identiche per un capillary array da 96 capillari.

#### Metodo A: allineamento dei capillari da un file

- 1 Selezionare **Capillary Alignment** (Allineamento capillari) dal menu a discesa **Utilities** (Utilità).

Si apre la finestra *Capillary Alignment* (Allineamento capillari) (vedere **Figura 23**).



**Figura 23** Finestra a comparsa dell'allineamento dei capillari in tempo reale (l'esempio riguarda il caso a 12 capillari)

- 2 Se è necessario ritracciare la finestra dei capillari, fare riferimento ai passaggi 2–6 della procedura relativa al Metodo B illustrata in una sezione successiva di questo documento.

#### NOTA

Se una finestra è già tracciata come mostrato nell'esempio, dovrà essere ritracciata solo su richiesta dell'assistenza Agilent o se alcuni dei capillari fisici non sono visibili nella finestra di visualizzazione. Si consiglia sempre di tracciare la finestra di visualizzazione alla massima larghezza possibile come mostrato nel Metodo B.

#### NOTA

Andare al passaggio 5 se la finestra non richiede modifiche ed è già stata completata un'analisi con il capillary array attualmente installato.

- 3 Una volta tracciata una finestra, procedere a innalzare la linea orizzontale rossa al di sopra del rumore di fondo e fare clic su **Align** (Allinea).

- 4 Fare clic su **Auto Space** (Spaziatura automatica) per assicurarsi che tutte le linee verticali blu siano distanziate uniformemente tra il primo e l'ultimo segnale dei picchi dei capillari.

**NOTA**

In questa fase è normale che le linee verticali blu non corrispondano ai picchi dei capillari. La funzione **Auto Space** (Spaziatura automatica) serve a far sì che tutte le linee verticali possiedano una coordinata X univoca. Se alcune di tali linee possiedono la stessa **Cap Position** (Posizione del capillare) nella tabella in alto a destra, quando si tenta di salvare viene visualizzato un messaggio di errore.

- 5 Fare clic su **Save** (Salva) per chiudere la schermata di allineamento dei capillari. Eseguire una separazione di prova con una soluzione di bianco o un marcatore diluente in ciascun pozzetto. L'analisi deve generare un picco per ciascun capillare.

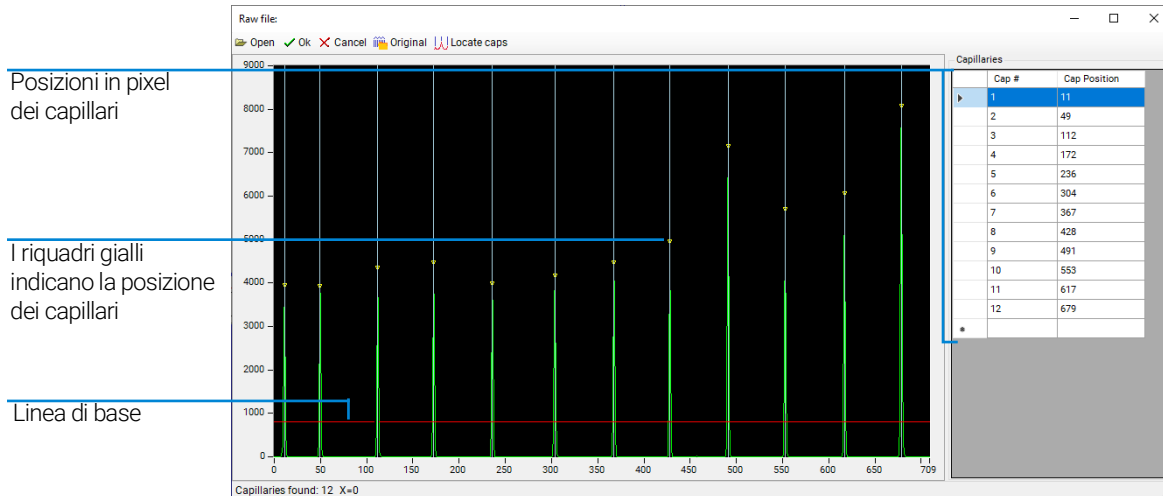
Questo file sarà utilizzato per l'allineamento.

- 6 Dalla barra del menu in alto nella finestra *Capillary Alignment* (Allineamento capillari), selezionare **Read raw** (Leggi dati grezzi).
- 7 Accedere alla posizione in cui sono salvati i file dei dati grezzi seguendo le indicazioni di Windows.

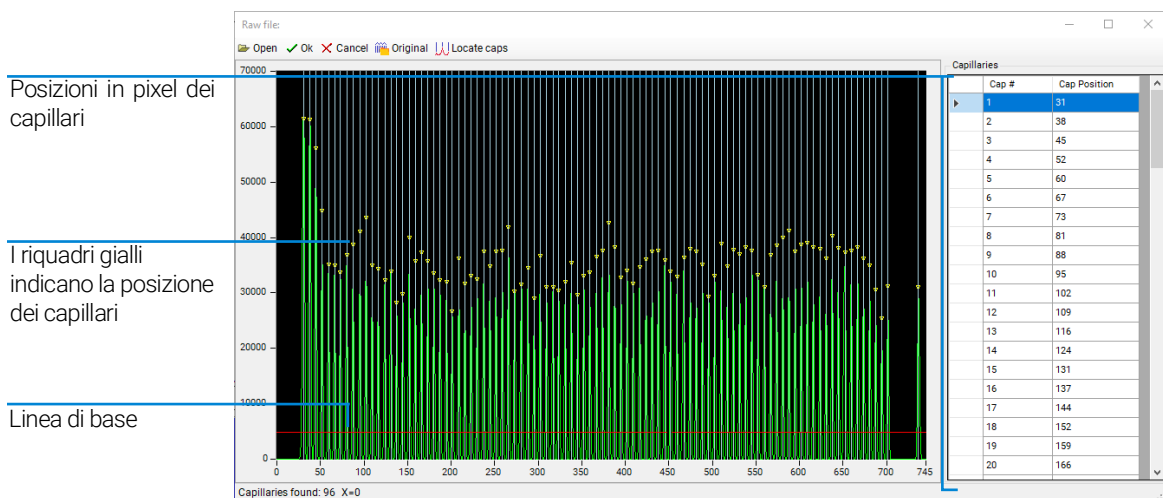
La posizione di salvataggio predefinita dei dati grezzi è:  
 C:/Agilent Technologies/Data/(Data: AAAA MM GG)/(Ora: XXH XXM).

- 8 Selezionare l'ultimo file dei dati grezzi (ossia l'ultimo file di analisi).

Si apre la finestra *Align from File* (Allinea da file) (in **Figura 24** è mostrato un esempio per un sistema a 12 capillari e in **Figura 25** per uno a 96 capillari) in cui è possibile allineare i capillari dal file di analisi selezionato. La barra degli strumenti della finestra *Align from File* (Allinea da file) è descritta nella **Tabella 8**.








**Figura 24** Finestra a comparsa Align from file (Allinea da file) per un sistema a 12 capillari



**Figura 25** Finestra a comparsa Align from file (Allinea da file) per un sistema a 96 capillari

**Tabella 8** Funzioni della barra degli strumenti **Align from file** (Allinea da file)

Icona	Descrizione
 Open	Apre un nuovo file.
 Ok	Accetta le modifiche apportate al file (ossia, posizioni dei capillari).
 Cancel	Annulla le eventuali azioni eseguite e chiude il file.
 Original	Individua le posizioni originali dei capillari utilizzate al momento dell'esecuzione del file selezionato.
 Locate caps	Individua i capillari in base alle posizioni dei picchi nel file aperto selezionato. Nota: spostare verso l'alto la linea di base rossa in modo da integrare soltanto i picchi di interesse e non il rumore della linea di base.

- 9 Fare clic con il pulsante sinistro del mouse sulla linea di base rossa e trascinarla verso l'alto dal fondo del grafico senza però oltrepassare la sommità dei picchi dei capillari, come mostrato in **Figura 24** e **Figura 25**.
- 10 Selezionare **Locate caps** (Individua capillari) dalla barra degli strumenti della finestra *Align from File* (Allinea da file).

I picchi dei capillari vengono individuati e sull'apice dei capillari selezionati viene collocato un riquadro giallo a indicare la posizione in pixel dei capillari.

Nell'angolo in basso a sinistra della finestra è riportato il numero di capillari rilevati. Tale numero deve essere pari a 12, 48 o 96 a seconda della configurazione dello strumento e del tipo di array in uso.

Se necessario, regolare le posizioni dei capillari:

- Per regolare manualmente la posizione di un capillare, fare clic con il pulsante sinistro del mouse sulla linea bianca che ne mostra la posizione e trascinarla a sinistra o a destra nella posizione desiderata.
- Per eseguire lo zoom alla risoluzione desiderata, fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare **Zoom** (e trascinare l'area opportuna).
- Se il numero dei capillari non è indicato in quanto sono state scelte troppe o troppo poche posizioni dei capillari, regolare la linea di base rossa e ripetere i passaggi precedenti.
- Per inserire o eliminare la posizione di un capillare, fare clic con il pulsante destro del mouse sull'area nera del grafico o sulla tabella delle posizioni in pixel dei capillari alla destra del grafico.

## Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità) Capillary Alignment (Allineamento capillari)

- 11 Una volta individuato il numero corretto di capillari, selezionare **OK** dalla barra degli strumenti *Align from File* (Allinea da file). Questa operazione salva le modifiche, chiude la finestra corrente e riporta alla finestra *Capillary Alignment* (Allineamento capillari) attiva. A questo punto le linee verticali blu dovrebbero corrispondere alla posizione del picco di ciascun capillare.
- 12 Selezionare **Save** (Salva) dalla finestra *Capillary Alignment* (Allineamento capillari).

A questo punto lo strumento utilizzerà per tutte le analisi future le posizioni in pixel salvate.

### Metodo B: allineamento dei capillari senza un file

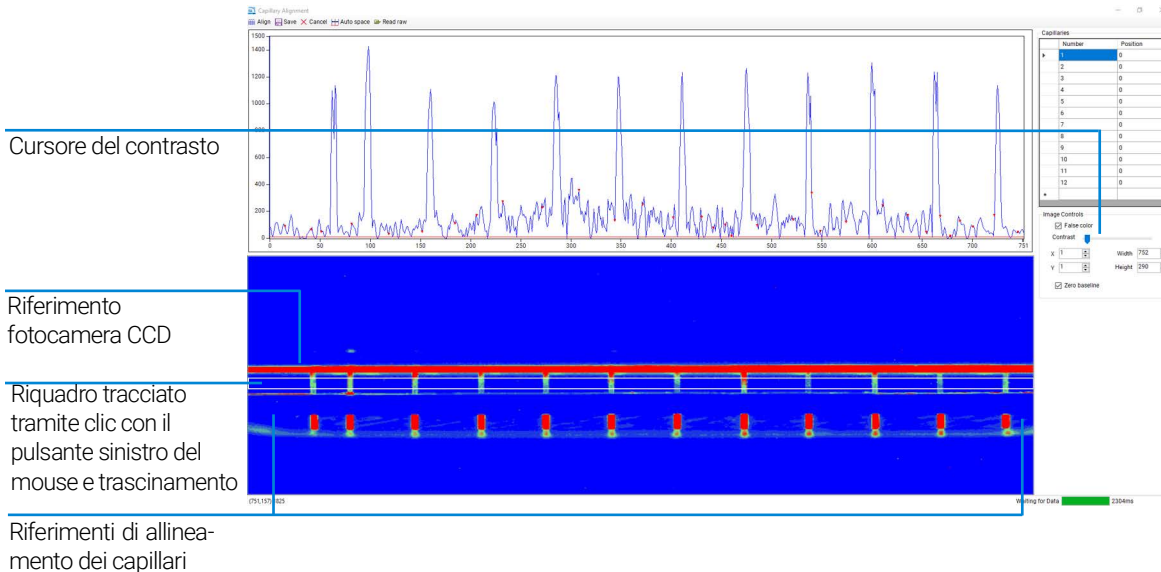
#### NOTA

Un allineamento dei capillari senza un file può essere eseguito soltanto con capillary array da 12 o 48 capillari. Nel caso dei capillary array da 96, lo spazio tra i capillari non è fisicamente sufficiente per poter eseguire in modo affidabile la procedura di allineamento nel software.

- 1 Selezionare **Capillary Alignment** (Allineamento capillari) dal menu a discesa **Utilities** (Utilità).  
Si apre la finestra *Capillary Alignment* (Allineamento capillari) con la vista in tempo reale (vedere **Figura 23**).
- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'area visualizzata in blu e selezionare **Reset All** (Reimposta tutto) per reimpostare la finestra dell'array della fotocamera.
- 3 Regolare la barra di scorrimento del contrasto verso sinistra per aumentare la luminosità (**Figura 26**).
- 4 Tracciare un riquadro intorno all'area di visualizzazione del capillary array. Fare clic con il pulsante sinistro del mouse e trascinare l'area opportuna (**Figura 26**).

#### NOTA

Evitare l'area di riferimento rossa in alto della fotocamera CCD e i riferimenti di allineamento dei capillari.



**Figura 26** Reimpostazione della finestra di visualizzazione dell'allineamento dei capillari

- Una volta tracciato il riquadro, fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare **Set Camera Window** (Imposta finestra fotocamera).
- Regolare l'altezza a 14.

**Tabella 9** Opzioni del menu di visualizzazione dell'allineamento dei capillari

Icona	Descrizione
	Allinea i cursori ai picchi.
	Salva le modifiche apportate all'allineamento e chiude la finestra.
	Annulla le eventuali azioni eseguite e chiude il file.
	Individua automaticamente le posizioni dei capillari sulla base della posizione del primo capillare. Sarà necessario regolare manualmente le posizioni.
	Apri la finestra <b>Align from File</b> (Allinea da file) che consente all'utente di completare l'allineamento dei capillari tramite un file eseguito in precedenza.

- 7 Fare clic e trascinare la linea di base rossa visibile in **Figura 26** fino a osservare un triangolo rosso sul picco di ciascun capillare. Il triangolo determina dove saranno assegnate le linee verticali blu nel passaggio successivo. È importante assicurarsi che questa linea rossa si trovi sopra la linea di base.
- 8 Selezionare **Align** (Allinea) dal menu dell'area di visualizzazione dell'allineamento dei capillari in alto. Una linea verticale blu viene tracciata al centro di ogni capillare. Se le linee blu non si trovano esattamente al centro di ciascun picco, regolarle facendo clic con il pulsante sinistro del mouse e trascinandole nella posizione desiderata.
- 9 Selezionare **Align** (Allinea) ogni volta che si sposta la linea di base rossa. Ciò assicura che lo strumento abbia selezionato il picco per l'integrazione e collochi la linea di allineamento verticale blu al centro di ciascun picco (nella posizione corrispondente ai punti rossi).

**NOTA**

Ogni volta che si seleziona **Align** (Allinea), questa operazione sposta le linee verticali blu sul primo insieme di picchi in cui sono presenti i triangoli rossi. Per esempio: se il software cerca 12 capillari, colloca 12 linee verticali sulla schermata di allineamento in cui sono presenti i primi 12 triangoli rossi dal lato sinistro della schermata.

- 10 Selezionare **Save** (Salva) dal menu in alto della finestra *Capillary Alignment* (Allineamento capillari) per salvare le posizioni correnti dei capillari e chiudere la finestra.

## Hardware Testing Screen (Schermata di test hardware)

Il comando **Hardware Testing Screen** (Schermata di test hardware) è utilizzato per la risoluzione dei problemi dello strumento.

Selezionando il comando **Hardware Testing Screen** (Schermata di test hardware) dal menu **Utilities** (Utilità) si apre la finestra **Hardware Testing Screen** (Figura 27).

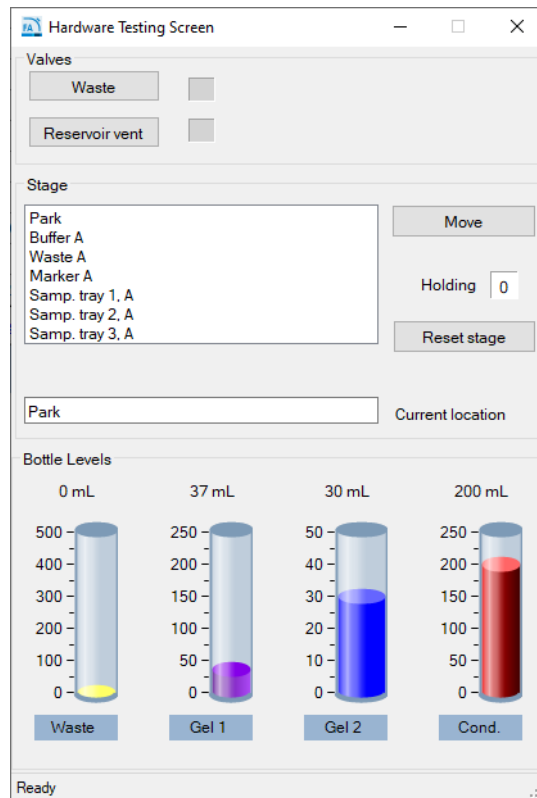


Figura 27 Hardware Testing Screen (Schermata di test hardware)

Nella **Tabella 10** è riportata una panoramica delle funzioni disponibili in Hardware Testing Screen (Schermata di test hardware).

**Tabella 10** Funzioni di Hardware Testing Screen (Schermata di test hardware)

Funzione	Descrizione
Valve > Waste (Valvola > Scarico)	Attiva l'apertura (cerchio aperto) o la chiusura (cerchio scuro) della valvola.
Valve > Reservoir Vent (Valvola > Spurgo del serbatoio)	Attiva l'apertura (cerchio aperto) o la chiusura (cerchio scuro) della valvola.
Stage > Move (Piatto > Sposta)	Consente di spostare il piatto nella posizione selezionata.
Stage > Reset Stage (Piatto > Reimposta piatto)	Consente all'utente di indicare al software che il piatto si trova nella posizione di parcheggio (forza il numero Holding sul valore "0"). Questa operazione non sposta il piatto fisico. Deve essere utilizzata solo se le posizioni digitale e fisica del piatto non corrispondono; può trattarsi di un errore generato dall'utente se si apre un cassetto prima che lo strumento abbia registrato che una piastra e un adattatore sono tornati nella posizione del cassetto corrispondente.
Bottle Levels (Livelli dei flaconi)	Fornisce un'indicazione visiva (simulazione in base all'uso calcolato) della quantità di reagenti disponibili nel sistema.

## Prime (Adescamento)

Il comando **Prime** (Adescamento) consente all'utente di adescare una qualsiasi delle tre linee disponibili dei flaconi dei reagenti. Ciò è utile quando un utente desidera spurgare una linea contenente gel o fluido usato sostituendolo con gel o fluido fresco (qualora si aggiunga una soluzione fresca allo strumento). Per esempio, se un utente scambia gel per RNA con gel per NGS, è possibile eseguire un adescamento con gel per spurgare il fluido usato prima di iniziare un'analisi. Un altro motivo per eseguire l'adescamento è rimuovere le bolle d'aria che potrebbero trovarsi nelle linee dei reagenti dopo periodi prolungati di inattività.

Selezionando il comando **Prime** (Adescamento) dal menu **Utilities** (Utilità) si apre la finestra **Prime** (Figura 28). Le funzioni di adescamento sono discusse nella Tabella 11.

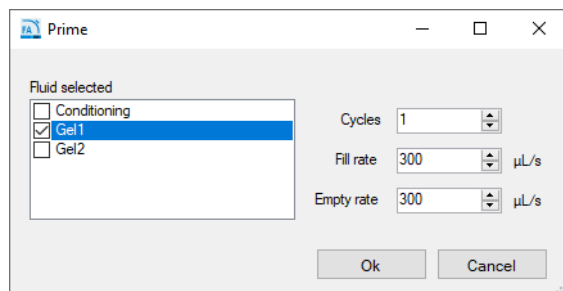


Figura 28 Finestra Prime (Adescamento)

Tabella 11 Funzioni della finestra Prime (Adescamento)

Funzione	Descrizione
Fluid selected (Fluido selezionato)	Consente all'utente di selezionare la linea di reagente da adescare.
Cycles (Cicli)	Si riferisce al numero di cicli (1–10) della siringa da completare. In genere 1 ciclo è sufficiente.
Fill rate (Velocità di riempimento)	Consente all'utente di regolare la velocità di riempimento aumentandola o diminuendola nell'intervallo 0–1.000; l'impostazione predefinita è 300 μL/s.
Empty rate (Velocità di svuotamento)	Consente all'utente di regolare la velocità di riempimento aumentandola o diminuendola nell'intervallo 0–1.000; l'impostazione predefinita è 300 μL/s.

**NOTA**

La funzione di adescamento non riguarda il serbatoio/i capillari.  
È semplicemente una singola aspirazione di 2,5 mL della siringa dalla linea del liquido scelto che viene spinta direttamente nella linea di scarico.

---

## Solution Levels (Livelli delle soluzioni)

Il comando **Solution levels** (Livelli delle soluzioni) consente all'utente di regolare i volumi aggiunti ai flaconi dei reagenti e il livello del flacone di scarico quando viene svuotato.

Il software Fragment Analyzer tiene traccia dei livelli delle soluzioni durante l'utilizzo dello strumento. Ciò assicura che lo strumento disponga di una quantità sufficiente di fluidi per tutte le analisi programmate.

Se i livelli delle soluzioni sono bassi, il programma genera un'avvertenza e chiede all'utente di regolare i livelli delle soluzioni prima di procedere con una separazione.

Selezionando il comando **Solution levels** (Livelli delle soluzioni) dal menu **Utilities** (Utilità) si apre la finestra **Check Solution Volumes** (Controlla volumi delle soluzioni) (Figura 29).

Check the fluid volumes before proceeding. Ensure that the waste is empty and that the gel and conditioning solutions are full.

Record the solution volumes here:

	Volume (mL)	Solution name
Gel 1	50.0	910
Gel 2	50.0	NaOH
Conditioning solution	50.0	
Waste	0.0	

Ok Cancel

**Figura 29** Finestra Check Solutions Volumes (Controlla volumi delle soluzioni)

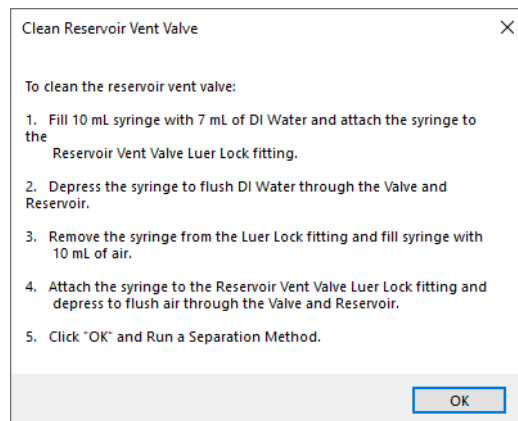
- Quando si rabboccano le soluzioni, aprire questa finestra e immettere i livelli di soluzione corretti (in mL) per ciascun recipiente:
  - Utilizzare le frecce su e giù o digitare il livello di soluzione in ciascun campo di immissione per regolare i livelli delle soluzioni.
  - Selezionare **OK** per salvare le modifiche apportate ai livelli delle soluzioni.

Affinché il programma funzioni correttamente (ossia generi l'avvertenza corretta), è importante immettere i livelli delle soluzioni nel programma ogni volta che si collocano soluzioni fresche nello strumento.

## Clean Reservoir Vent Valve (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio)

Il comando **Clean Reservoir Vent Valve** (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio) consente all'utente di pulire manualmente la valvola di spurgo del serbatoio.

Selezionando questo comando dal menu **Utilities** (Utilità) si aprono la valvola di spurgo del serbatoio e la valvola di scarico; viene inoltre visualizzata la finestra **Clean Reservoir Vent Valve** (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio) (**Figura 30**).



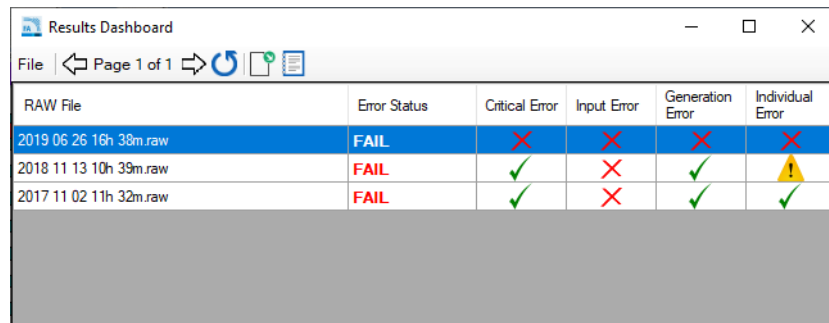
**Figura 30** Schermata Clean Reservoir Vent Valve (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio)

Seguire i passaggi illustrati in **Figura 30** per pulire la valvola di spurgo del serbatoio. Qualora si possieda un sistema meno recente privo di siringa e raccordo Luer Lock della valvola di spurgo del serbatoio, rivolgersi al proprio rappresentante delle vendite Agilent per ottenere informazioni su come procurarseli.

## Results Dashboard (Dashboard dei risultati)

Il comando **Results dashboard** (Dashboard dei risultati) consente all'utente di visualizzare rapidamente lo stato dei dati elaborati automaticamente.

In **Figura 31** è mostrato un esempio nella finestra **Results Dashboard** (Dashboard dei risultati).



RAW File	Error Status	Critical Error	Input Error	Generation Error	Individual Error
2019 06 26 16h 38m.raw	FAIL	✗	✗	✗	✗
2018 11 13 10h 39m.raw	FAIL	✓	✗	✓	⚠
2017 11 02 11h 32m.raw	FAIL	✓	✗	✓	✓

**Figura 31** Output di Results Dashboard (Dashboard dei risultati)

Per maggiori informazioni sul **Results dashboard** (Dashboard dei risultati) e sulla barra degli strumenti della finestra, fare riferimento al **Capitolo 12**, "Fragment Analyzer: analisi automatizzata".

## 7

# Software Fragment Analyzer: menu Help (Guida)

Menu Help (Guida) 68

User Manual (Manuale utente) 68

About (Informazioni) 68

About Firmware (Informazioni sul firmware) 68

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda i comandi del menu Help (Guida).

## Menu Help (Guida)

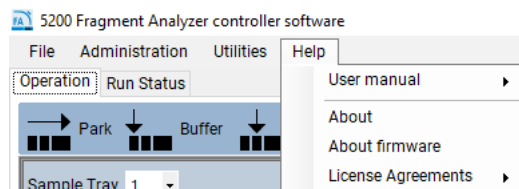


Figura 32 Comandi del menu Help (Guida)

## User Manual (Manuale utente)

Passando al comando **User manual** (Manuale utente) si accede a un collegamento alla versione completa del manuale in formato PDF.

## About (Informazioni)

Il comando **About** (Informazioni) apre la finestra **About Fragment Analyzer** (Informazioni su Fragment Analyzer) in cui sono visualizzati il numero di versione del software, il numero di serie dell'hardware e le informazioni sul copyright.

## About Firmware (Informazioni sul firmware)

Il comando **About firmware** (Informazioni sul firmware) apre una finestra in cui sono visualizzati i numeri di versione del firmware della scheda ad alta tensione, della scheda di controllo della pompa, della scheda della pressione e della scheda di controllo del movimento del piatto.

## 8

# Software Fragment Analyzer: scheda Operation (Funzionamento)

Panoramica della scheda Operation (Funzionamento) 70

Icone delle posizioni 71

Selezione del vassoio e ID campione 72

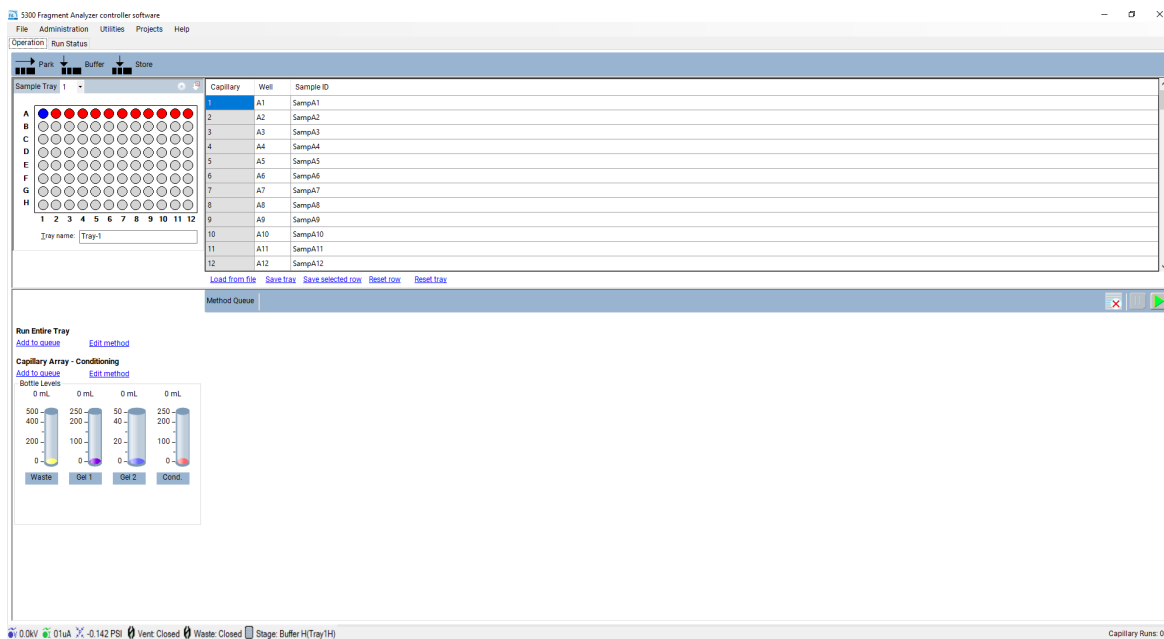
Aggiunta di metodi alla coda 75

Method Queue (Coda dei metodi) 82

Caratteri consentiti 85

In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda la scheda Operation (Funzionamento).

## Panoramica della scheda Operation (Funzionamento)

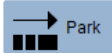
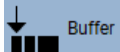
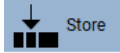


**Figura 33** Schermata principale di Fragment Analyzer

## Icone delle posizioni

In alto nella scheda **Operation** (Funzionamento) sono presenti le tre icone di posizionamento, come mostrato in **Figura 33**. Le icone e le relative funzioni sono discusse nella **Tabella 12**.


**Tabella 12** Funzioni delle icone delle posizioni

Icona	Descrizione
	Questo comando è utilizzato per riportare nel rispettivo cassetto il vassoio attualmente alloggiato nel piatto robotico e spostare la piattaforma del piatto sul fondo dello strumento.
	Questo comando è utilizzato per prelevare il vassoio del tampone dal relativo cassetto e spostarlo sul capillary array.
	Questo comando è utilizzato per riportare nel rispettivo cassetto il vassoio attualmente alloggiato nel piatto robotico e prelevare quindi il vassoio della soluzione di conservazione per spostarlo sul capillary array.

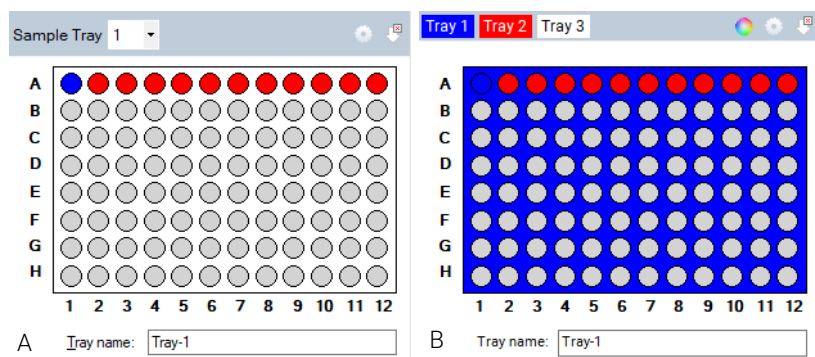
## Selezione del vassoio e ID campione

Selezionare il vassoio portacampioni da utilizzare o dall'elenco a discesa **Sample Tray** (Vassoio portacampioni) o dalla selezione dei vassoi tramite scheda a colori, a seconda della configurazione impostata (**Figura 34**).


NOTA

È possibile impostare la configurazione selezionando l'icona  nell'angolo in alto a destra della finestra mostrata in **Figura 34**.

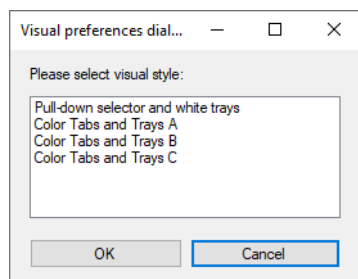
### Configurare l'aspetto della finestra di selezione dei vassoi



**Figura 34** Selezione classica dei vassoi tramite menu a discesa (sinistra) e selezione tramite scheda a colori (destra).



1 Nella finestra dei vassoi, selezionare .

Si apre la finestra di dialogo **Visual preferences** (Preferenze visive) (**Figura 35**).



**Figura 35** Finestra di dialogo Visual preferences (Preferenze visive).

2 Scegliere tra l'elenco a discesa dei vassoi portacampioni e la selezione dei vassoi tramite scheda a colori come mostrato in **Figura 34**.

- 3 Se si utilizza la finestra di selezione dei vassoi tramite scheda a colori, selezionare  per cambiare il colore di ciascun vassoio portacampioni nella finestra **Color selection** (Selezione del colore).
- 4 Per selezionare una riga dalla piastra a 96 pozzetti illustrata nella finestra del campione/vassoio portacampioni, fare una volta clic con il pulsante sinistro del mouse in tale riga (**Figura 34**). Per selezionare una nuova riga, fare clic con il pulsante sinistro del mouse su un'altra riga.
- 5 Per annullare la selezione di una riga, selezionare  (**Figura 34**).

Nel campo **Tray name** (Nome del vassoio) è possibile immettere un nome per il vassoio oggetto dell'analisi (**Figura 34**). In alternativa, selezionare il campo e utilizzare un lettore di codici a barre per importare i nomi dei campioni per la piastra oggetto dell'analisi (fare riferimento al **Capitolo 11**, "Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni" per maggiori informazioni).

Immettere le informazioni sul campione nella sezione **Sample ID** (ID campione) della schermata principale (**Figura 36**).

Nel caso di un sistema a 96 capillari è necessario selezionare ciascuna riga separatamente per immettere manualmente i dati (righe A-H). È possibile salvare o caricare i nomi e le informazioni sui campioni anche tramite file .txt o .csv. Tali funzioni sono discusse nella **Tabella 13**.

Capillary	Well	Sample ID
1	A1	SampA1
2	A2	SampA2
3	A3	SampA3
4	A4	SampA4
5	A5	SampA5
6	A6	SampA6
7	A7	SampA7
8	A8	SampA8
9	A9	SampA9
10	A10	SampA10
11	A11	SampA11
12	A12	SampA12

[Load from file](#)
[Save tray](#)
[Save selected row](#)
[Reset row](#)
[Reset tray](#)

**Figura 36** Editor delle informazioni sul campione

Tabella 13 Funzioni dell'editor delle informazioni sul campione

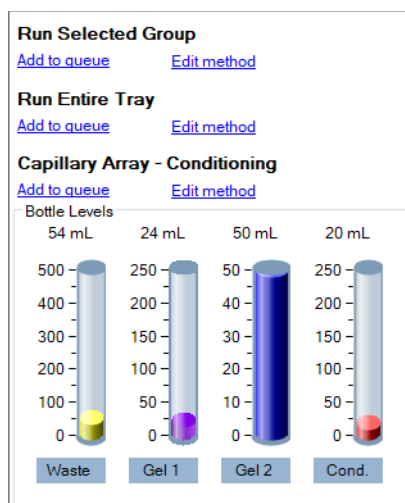
Voce	Descrizione
Load From File (Carica da file)	Permette di caricare i nomi dei campioni da un file di tipo .txt o .csv. Vedere il Capitolo 10 per maggiori informazioni.
Save Tray (Salva vassoio)	Consente di salvare le informazioni immesse per un intero vassoio portacampioni.
Save Selected Row (Salva riga selezionata)	Consente di salvare le informazioni immesse per la riga selezionata di un vassoio portacampioni.
Reset Row (Reimposta riga)	Reimposta la riga selezionata sull'impostazione ID campione predefinita.
Reset Tray (Reimposta vassoio)	Reimposta l'intero vassoio portacampioni sulle impostazioni ID campione predefinite.

## Aggiunta di metodi alla coda

Il software Fragment Analyzer mette a disposizione metodi precaricati sia per il condizionamento dei capillary array sia per la separazione per ciascun kit di analisi fornito da Agilent.

I comandi dell'analisi di separazione mostrati in **Figura 37** riportano le impostazioni per **Run Selected Row** (Analizza riga selezionata; solo sistemi a 12 capillari), **Run Entire Tray** (Analizza intero vassoio) e **Capillary Array - Conditioning** (Capillary array - condizionamento). L'opzione **Run Selected Group** (Analizza gruppo selezionato) è disponibile solo per un 5200 Fragment Analyzer (12 capillari) o 5300 Fragment Analyzer (configurazione a 48 capillari). Non è visibile né per il 5300 Fragment Analyzer (configurazione a 96 capillari) né per il 5400 Fragment Analyzer.

Sono inoltre mostrati i livelli dei reagenti nei flaconi.



**Figura 37** Comandi dell'analisi di separazione

### Run Selected Group (Analizza gruppo selezionato) o Run Entire Tray (Analizza intero vassoio) di Edit Method (Modifica metodo)

Selezionando **Edit method** (Modifica metodo) si apre la finestra a comparsa dell'editor dei metodi per entrambi i metodi di separazione **Figura 38**.

**Figura 38** Editor dei metodi di separazione

Nella finestra dell'editor dei metodi è possibile personalizzare i parametri dell'analisi per una separazione CE.

Le funzioni di condizionamento completo, adescamento con gel e adescamento con gel nel tampone non sono modificabili e non possono essere disabilitate.

Selezionando la casella di controllo accanto a un singolo parametro è possibile abilitare diversi passaggi e parametri. I singoli parametri sono discussi nella **Tabella 14**.

I valori ottimali per il condizionamento dei capillari sono precaricati e definiti per ciascun metodo. Fare riferimento alla guida del kit di ciascun metodo di interesse (per esempio NGS, DNA genomico e così via) per un'ulteriore definizione di tali valori.

Tabella 14 Funzioni della finestra dell'editor dei metodi

Voce	Descrizione
Gel selection (Selezione del gel)	Utilizzando il menu a discesa è possibile selezionare la posizione del flacone di reagente del <b>Gel 1</b> o del <b>Gel 2</b> .
Prerun (Preatalisi)	Si consiglia di eseguire una breve preanalisi per normalizzare e condizionare il gel all'interno dei capillari.
Rinse (Risciacquo)	L'opzione di risciacquo consente di immergere le punte dei capillari nella posizione selezionata, operazione che risciacqua sia le punte dei capillari sia gli elettrodi tra la preanalisi e l'iniezione del campione o del marcatore. È possibile modificare anche la posizione del vassoio per il risciacquo del campione (riga) e il numero di immersioni (Dip count (Conteggio immersioni)).
Marker injection (Iniezione del marcatore)	L'iniezione del marcatore è abilitata se si utilizzano i kit qualitativi. L'utente può scegliere l'iniezione sotto tensione o sotto vuoto tramite la selezione dei parametri <b>Voltage</b> (Tensione), <b>Pressure</b> (Pressione) e <b>Time</b> (Tempo). Nel caso di un'unità a 12 capillari, l'utente può selezionare quale <b>Row</b> (Riga) usare per l'iniezione del marcatore.
Rinse (Risciacquo)	L'opzione di risciacquo consente di immergere le punte dei capillari nella posizione selezionata, operazione che risciacqua sia le punte dei capillari sia gli elettrodi tra l'iniezione del marcatore e quella del campione (in alternativa, se non è selezionata l'iniezione del marcatore, questo passaggio è un secondo risciacquo tra la preanalisi e l'iniezione di campione). È possibile modificare anche la posizione del vassoio per il risciacquo del campione (riga) e il numero di immersioni (Dip count (Conteggio immersioni)).
Sample injection (Iniezione di campione)	Selezione di <b>Voltage</b> (Tensione), <b>Pressure</b> (Pressione) e <b>Time</b> (Tempo) per l'iniezione sotto tensione o sotto vuoto.
Separation (Separazione)	Consente di immettere <b>Voltage</b> (Tensione) e <b>Time</b> (Tempo) della separazione CE.

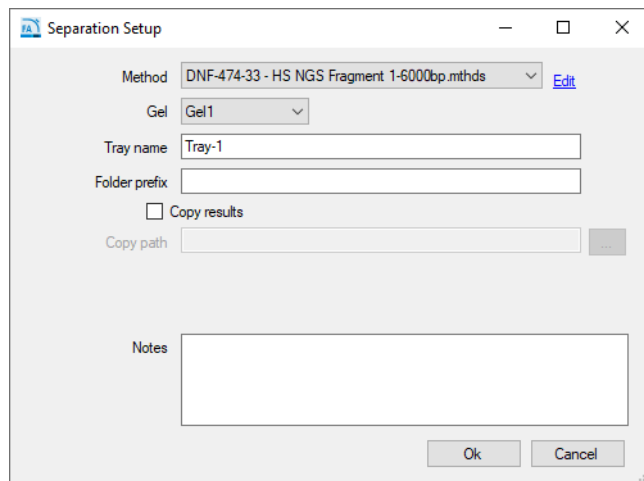
L'utente può eseguire le seguenti operazioni: **Load** (Carica) per caricare un nuovo metodo, **Save as** (Salva con nome) per salvare un nuovo metodo con un nome univoco, selezionare **Save** (Salva) per accettare le modifiche e chiudere la finestra o selezionare **Cancel** (Annulla) per chiudere la finestra dell'editor dei metodi senza accettare le modifiche apportate.

**NOTA**

Quando si crea un nuovo metodo con un nome univoco è necessario creare una configurazione globale corrispondente in ProSize data analysis software con un nome corrispondente; consultare il manuale utente del software ProSize per istruzioni più esaustive.

### Run Selected Group (Analizza gruppo selezionato) o Run Entire Tray (Analizza intero vassoio) di Add to Queue (Aggiungi alla coda)

Selezionando l'opzione **Add to queue** (Aggiungi alla coda) si apre la finestra **Separation Setup** (Configurazione della separazione) come mostrato in **Figura 39**.



**Figura 39** Finestra Separation Setup (Configurazione della separazione)

Le impostazioni della finestra **Separation Setup** (Configurazione della separazione) sono discusse nella **Tabella 15**.

**Tabella 15** Funzioni della finestra Separation Setup (Configurazione della separazione)

Voce	Descrizione
Method (Metodo)	È possibile selezionare i metodi dal menu a discesa. Un utente con privilegi di amministratore può selezionare anche <b>Edit</b> (Modifica) per modificare qualsiasi parametro del metodo aprendo la finestra dell'editor dei metodi in <b>Figura 38</b> . L'accesso a livello di utente consente soltanto di <b>visualizzare</b> il file del metodo selezionato.
Gel	L'utente può impostare la posizione desiderata per il flacone di gel da utilizzare per il metodo di separazione senza dover alterare un metodo predefinito.
Tray name (Nome del vassoio)	Il nome del vassoio appare così come immesso dall'utente nella schermata principale oppure come nome predefinito. L'utente può modificare questo campo digitando nella relativa casella.
Folder prefix (Prefisso della cartella)	Questo campo consente di aggiungere un prefisso al nome della cartella in cui saranno scritti i file dei risultati.
Copy results (Copia risultati)/Copy path (Copia percorso)	La posizione predefinita della directory per i dati è C:\Agilent Technologies\Data. È possibile selezionare l'opzione <b>Copy Results</b> (Copia risultati) e scegliere di copiare i dati salvati in una diversa posizione selezionando l'opzione [...].

Tabella 15 Funzioni della finestra Separation Setup (Configurazione della separazione)

Voce	Descrizione
Create Size Calibration File (Crea file di calibrazione delle dimensioni)	Questa opzione è utilizzata per l'analisi automatizzata ( <b>Capitolo 12</b> , "Fragment Analyzer: analisi automatizzata"). Se è selezionata (e l'elaborazione automatica è abilitata), l'analisi viene utilizzata per creare un file di calibrazione delle dimensioni da usare per calibrare le dimensioni dei frammenti nei file successivi. Una volta completata l'analisi, al file di calibrazione delle dimensioni viene assegnato un nome e il file viene inserito nella directory dei file definita nella sezione "Size Cal. file" (File di calibrazione delle dimensioni). Nota: se sono deselezionate entrambe le caselle <b>Create Size Calibration File</b> (Crea file di calibrazione delle dimensioni) e <b>Use Size Calibration File</b> (Usa file di calibrazione delle dimensioni), il sistema presuppone che nei pozzetti A12 o H12 sia presente il ladder, così come definito nei manuali dei kit.
Use Size Calibration File (Usa file di calibrazione delle dimensioni)	Questa opzione è utilizzata per l'analisi automatizzata ( <b>Capitolo 12</b> , "Fragment Analyzer: analisi automatizzata"). Se è selezionata (e l'elaborazione automatica è abilitata), il programma utilizza il file di calibrazione delle dimensioni definito nella sezione <b>Size Cal. file</b> (File di calibrazione delle dimensioni) per definire le dimensioni dei frammenti di DNA.
Size Cal. File (File di calibrazione delle dimensioni)	Questa opzione è utilizzata per l'analisi automatizzata ( <b>Capitolo 12</b> , "Fragment Analyzer: analisi automatizzata"). L'utente definisce il nome e la posizione del file di calibrazione delle dimensioni. Se è selezionata l'opzione <b>Create Size Calibration File</b> (Crea file di calibrazione delle dimensioni), il programma scrive un file .SCAL con il nome definito nella posizione definita. Se è selezionata l'opzione <b>Use Size Calibration File</b> (Usa file di calibrazione delle dimensioni), il programma importa e utilizza il file .SCAL disponibile nella posizione definita. Nota: le impostazioni di calibrazione delle dimensioni sono visibili nella finestra Separation Setup (Configurazione della separazione) solo se è selezionata la casella di controllo Enable Automatic Reporting (Abilita report automatici) nella finestra Automated Report Settings (Impostazioni report automatici) ( <b>Figura 23</b> ).
Notes (Note)	Questa sezione consente di aggiungere eventuali altre informazioni che potrebbero essere necessarie per un set di campioni.
Merge rows (Unisci righe)	Se è selezionata, questa opzione unisce 8 righe di "analisi" a 12 capillari o 2 set a 48 capillari in un singolo file di analisi. Le righe originali prima dell'unione restano comunque disponibili per l'elaborazione dei dati. Questa funzione è utile quando si analizzano 8 righe di 12 capillari e l'utente desidera visualizzare il file di dati come un unico file a 96 pozzetti. Nota: la funzione <b>Merge rows</b> (Unisci righe) è disponibile solo se si seleziona <b>Run Entire Tray &gt; Add to queue</b> (Analizza intero vassoio > Aggiungi alla coda) per un 5200 Fragment Analyzer o un 5300 Fragment Analyzer nella configurazione a 48 capillari.

Una volta scelto il metodo opportuno dal menu a discesa, selezionare **OK** per aggiungerlo a **Method Queue** (Coda dei metodi) o **Cancel** (Annulla) per chiudere la finestra.

## Condizionamento dei capillary array

Il software Fragment Analyzer offre una serie di metodi programmati di condizionamento dei capillari per la pulizia e manutenzione del capillary array.

È inoltre possibile creare un metodo personalizzato selezionando l'opzione **Edit Method** (Modifica metodo) mostrata in **Figura 40**.

Selezionando la casella di controllo accanto a un singolo parametro è possibile abilitare i diversi flaconi da utilizzare per il condizionamento. I singoli parametri sono discussi nella **Tabella 16**.

Conditioning Method: Default Conditioning

Step #1      Solution: Conditioning

Fill pressure: 280 PSI      Time: 3.0 min.

Flow rate: 200  $\mu$ L/s      Tray: Waste      Row: A

Step #2      Solution: Gel 1

Fill pressure: 280 PSI      Time: 3.0 min.

Flow rate: 200  $\mu$ L/s      Tray: Waste      Row: A

Step #3      Solution: Conditioning

Fill pressure: 0 PSI      Time: 1.0 min.

Flow rate: 1  $\mu$ L/s      Tray: Waste      Row: A

Methods: Default Conditioning      Method Name: Default Conditioning

Import new method      Save      Cancel

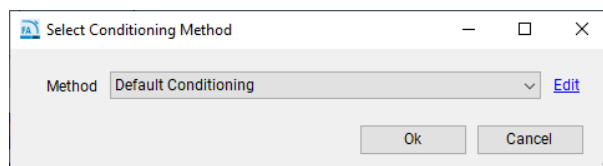
Figura 40 Editor dei metodi di condizionamento

Tabella 16 Funzioni della finestra dei metodi di condizionamento

Voce	Descrizione
Step #1 (Fase n. 1), 2 o 3	Abilita/disabilita la fase da usare.
Solution (Soluzione)	Consente di selezionare per l'uso i flaconi dei reagenti per la soluzione <b>Conditioning</b> (Condizionamento), il <b>Gel 1</b> o il <b>Gel 2</b> .
Fill Pressure (Pressione di riempimento)	Il valore predefinito è impostato su 280 psi. Può essere modificato nell'intervallo 1-300 psi.
Flow Rate (Velocità di flusso)	Il valore predefinito è impostato su 200 uL/s. Può essere regolato nell'intervallo 1-1.000 uL/s.
Time (Tempo)	È impostato in minuti nell'intervallo 1-240.
Tray (Vassoio)	Consente di selezionare il vassoio e la riga (solo unità a 12 capillari) in cui eseguire il pompaggio quando si effettua il condizionamento (l'impostazione predefinita, oltre che quella ottimale per la maggior parte degli utenti, è il vassoio per gli scarti).

L'utente può eseguire le seguenti operazioni: **Load** (Carica) per caricare un nuovo metodo, **Save as** (Salva con nome) per salvare un nuovo metodo con un nome univoco, selezionare **OK** per accettare il metodo e chiudere la finestra o selezionare **Cancel** (Annulla) per chiudere la finestra dell'editor dei metodi e ignorare le modifiche.

Selezionando la funzione **Add to queue** (Aggiungi alla coda) si apre la finestra **Select Conditioning Method** (Seleziona metodo di condizionamento) (**Figura 41**).



**Figura 41** Finestra Select Conditioning Method (Seleziona metodo di condizionamento)

È possibile selezionare un metodo creato in precedenza dal menu a discesa o fare clic su **Edit** (Modifica) per visualizzare la finestra dell'editor dei metodi di condizionamento mostrata in **Figura 40**.

Una volta scelto il metodo opportuno dal menu a discesa, selezionare **OK** per aggiungerlo a **Method Queue** (Coda dei metodi) o **Cancel** (Annulla) per chiudere la finestra.

#### NOTA

Questi metodi di condizionamento indipendenti possono essere di ausilio alla manutenzione e alle attività di risoluzione dei problemi di base. Ulteriori informazioni dettagliate sono discusse nella sezione **"Pulizia del capillary array"** a pagina 140.

## Method Queue (Coda dei metodi)

Una volta selezionati un vassoio portacampioni o una riga/un gruppo e aggiunti alla coda, vengono mostrati il nome del metodo e la posizione del vassoio (Figura 42).

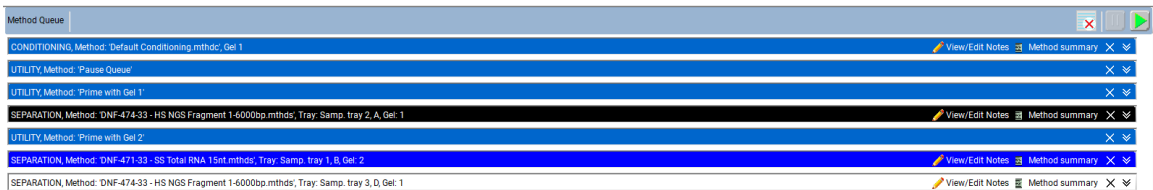


Figura 42 Method Queue (Coda dei metodi)

In Figura 42 sono mostrate tre analisi di campioni dai vassoi portacampioni 1, 2 e 3 seguite da una pausa nella coda dei metodi e da un metodo di adescamento.

È possibile inserire una **pausa** o un **adescamento** nella coda dei metodi facendo clic con il pulsante destro del mouse nell'area Method Queue (Coda dei metodi) della schermata. Quando si seleziona **Insert Prime** (Inserisci adescamento), compare la finestra **Select Solution** (Seleziona soluzione) che richiede all'utente di scegliere il fluido di adescamento da un menu a discesa (Figura 43).

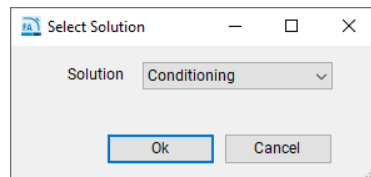
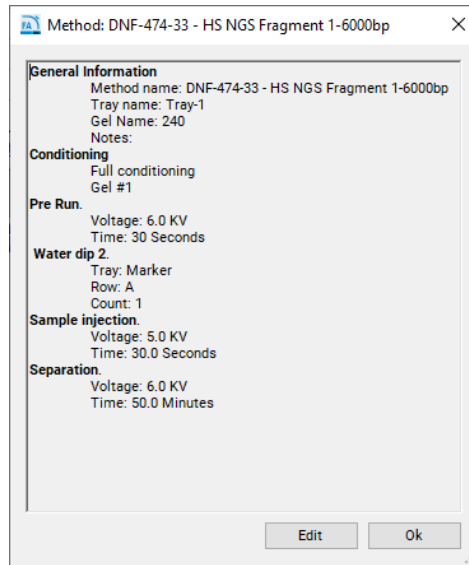


Figura 43 Finestra a comparsa Select Solution (Seleziona soluzione)

I metodi caricati nella coda possono essere spostati in alto o in basso a seconda delle esigenze dell'utente facendo clic con il pulsante sinistro del mouse sul metodo e trascinandolo nella posizione desiderata all'interno della coda.

Per visualizzare i parametri del metodo di separazione nella coda dei metodi, selezionare l'icona **Method Summary** (Riepilogo del metodo) accanto al metodo di separazione. Viene visualizzato un riepilogo del metodo, come mostrato in Figura 44.



**Figura 44** Finestra a comparsa di riepilogo del metodo




Selezionando l'opzione **Edit** (Modifica) dalla finestra **Method Summary** (Riepilogo del metodo) è possibile apportare le modifiche finali al metodo se necessario.

Per eliminare una voce specifica nella coda, selezionare l'icona **X** accanto al metodo di separazione. Per eliminare tutte le voci dalla coda, selezionare **Clear** (Cancella) dalla barra del menu di Method Queue (Coda dei metodi).

Per visualizzare un riepilogo dettagliato dei parametri di analisi associati a un metodo per una voce nella coda, selezionare l'icona **frecche giù** accanto al metodo di separazione.

Sono disponibili tre comandi di analisi per la coda dei metodi: **Clear the Method Queue** (Cancella la coda dei metodi), **Pause the Method Queue** (Metti in pausa la coda dei metodi) e **Start the Method Queue** (Avvia la coda dei metodi). Tali comandi di analisi sono discussi nella **Tabella 17** riportata di seguito.

Tabella 17 Comandi di analisi della coda dei metodi

Voce	Descrizione
	<b>Clear</b> (Cancella): selezionando questa icona si cancellano dalla coda tutti i metodi di separazione, le pause e gli adescamenti.
	<b>Pause</b> (Metti in pausa): selezionando questa icona si mette in pausa la coda dei metodi. Il metodo attualmente in esecuzione viene comunque completato. Per riavviare la coda, selezionare <b>Start</b> (Avvia); vedere sotto.
	<b>Start</b> (Avvia): selezionando questa icona si avvia la coda dei metodi. Una volta avviata, il metodo più in alto scompare e la schermata passa alla scheda <b>Run Status</b> (Stato dell'analisi). Il metodo successivo si sposta verso l'alto nella coda. Nota: quando si aggiunge un metodo o una voce alla coda, è necessario selezionare <b>Start</b> (Avvia) per avviare il funzionamento dello strumento.

## Caratteri consentiti

Nelle tabelle che seguono sono riportati i caratteri consentiti (**Tabella 18**) e non consentiti (**Tabella 19**) per il nome di un file.

**Tabella 18** Caratteri consentiti per il nome di un file

Caratteri	
~	`
!	@
#	€
%	^
&	(
)	-
-	+
=	{
}	[
]	;
,	.

**Tabella 19** Caratteri non consentiti per il nome di un file

Caratteri	
*	
\	:
"	'
<	>
?	/

## 9

# Software Fragment Analyzer: scheda Run Status (Stato dell'analisi)

Panoramica della scheda Run Status (Stato dell'analisi) 87

Animazione del movimento del piatto 88

Animazione del condizionamento 89


Vista preanalisi/iniezione 90

Vista della separazione in tempo reale 91

Status Bar (Barra di stato) 93

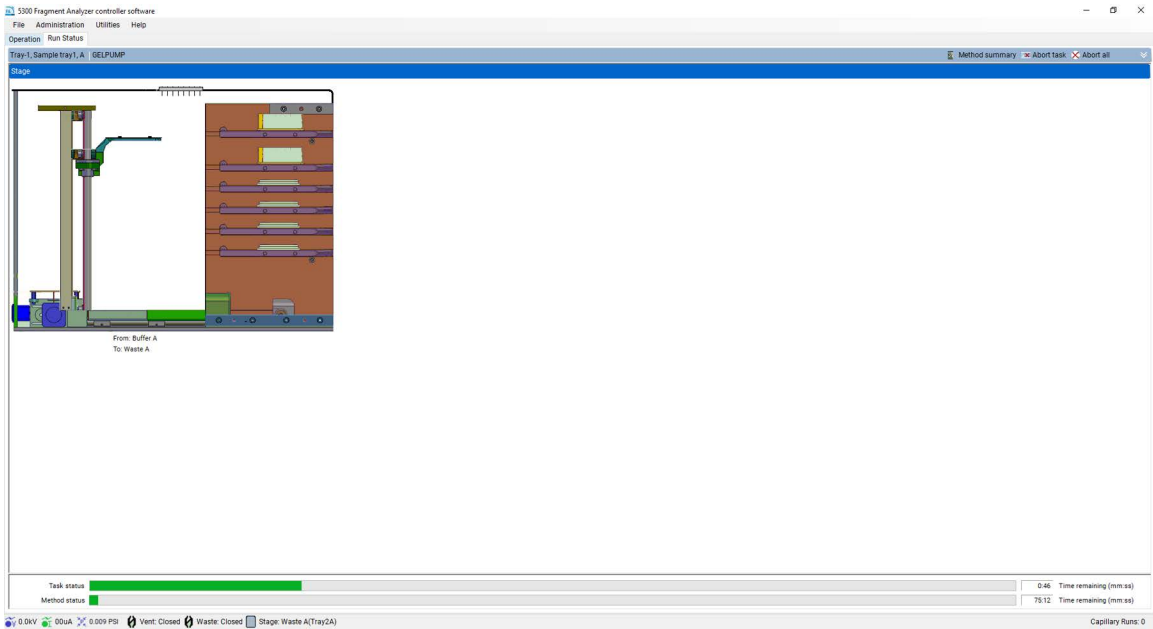
In questo capitolo è descritto in maggiore dettaglio il software Fragment Analyzer per quanto riguarda la scheda Run Status (Stato dell'analisi).

## Panoramica della scheda Run Status (Stato dell'analisi)

Una volta selezionato un comando Start (Avvia)  (fare riferimento alla sezione **Method Queue (Coda dei metodi)** a pagina 82 per maggiori informazioni), la visualizzazione passa dalla scheda **Operation** (Funzionamento) alla scheda **Run Status** (Stato dell'analisi). La scheda **Run Status** (Stato dell'analisi) presenta svariate funzioni che sono illustrate nel seguito.

## Animazione del movimento del piatto

Ogni volta che il piatto si sposta da una posizione a un'altra, l'animazione della **Figura 45** mostra le posizioni tra le quali si sposta il piatto del Fragment Analyzer per offrire all'utente una panoramica in tempo reale dell'operazione in corso.



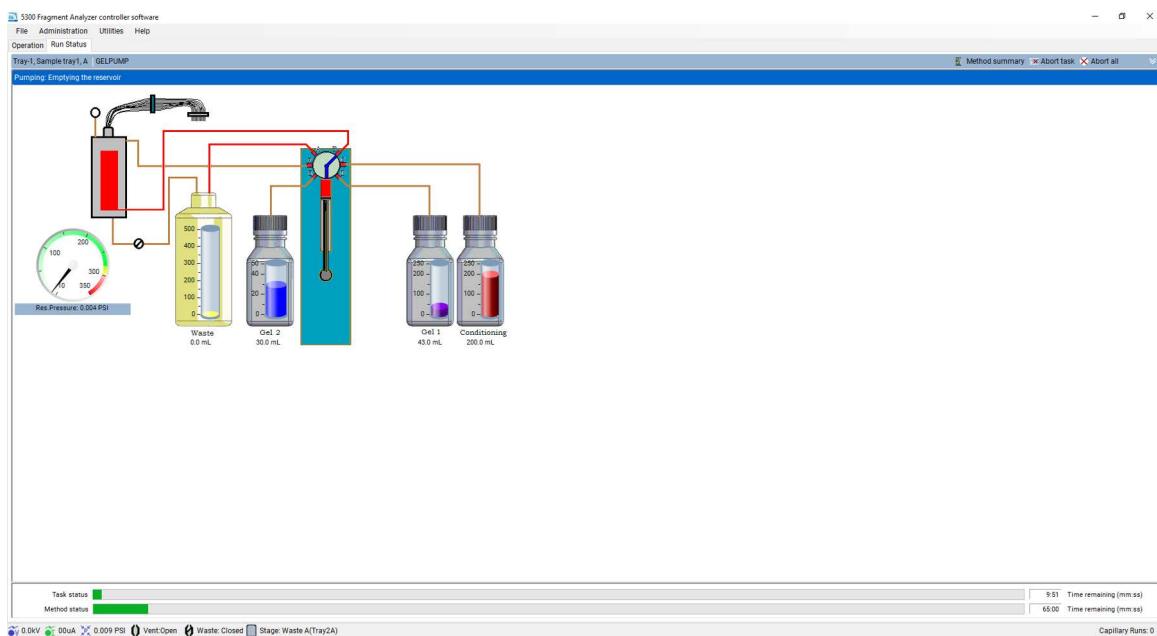
**Figura 45** Animazione del movimento del piatto

### NOTA

L'animazione non è sincronizzata perfettamente con i movimenti fisici del piatto. Si consiglia di confermare che tutti i movimenti del piatto siano stati portati a termine controllando le spie dei cassettei. Se si apre un cassetto prima che sia stato completato un movimento del piatto, l'analisi viene interrotta.

### Animazione del condizionamento

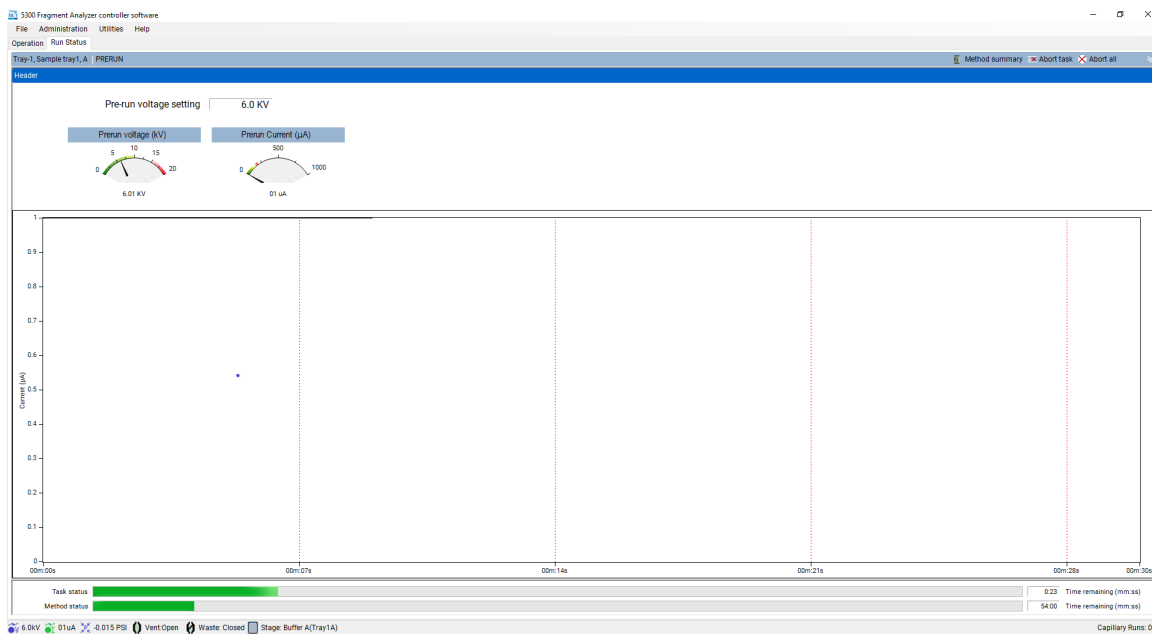
Quando lo strumento Fragment Analyzer pompa soluzione di condizionamento o gel, viene mostrata la seguente animazione (**Figura 46**). L'animazione offre una panoramica in tempo reale delle operazioni eseguite dallo strumento durante una sequenza di condizionamento (inclusi flussi dei fluidi, commutazioni delle valvole, ecc.).



**Figura 46** Animazione del condizionamento

### Vista preanalisi/iniezione

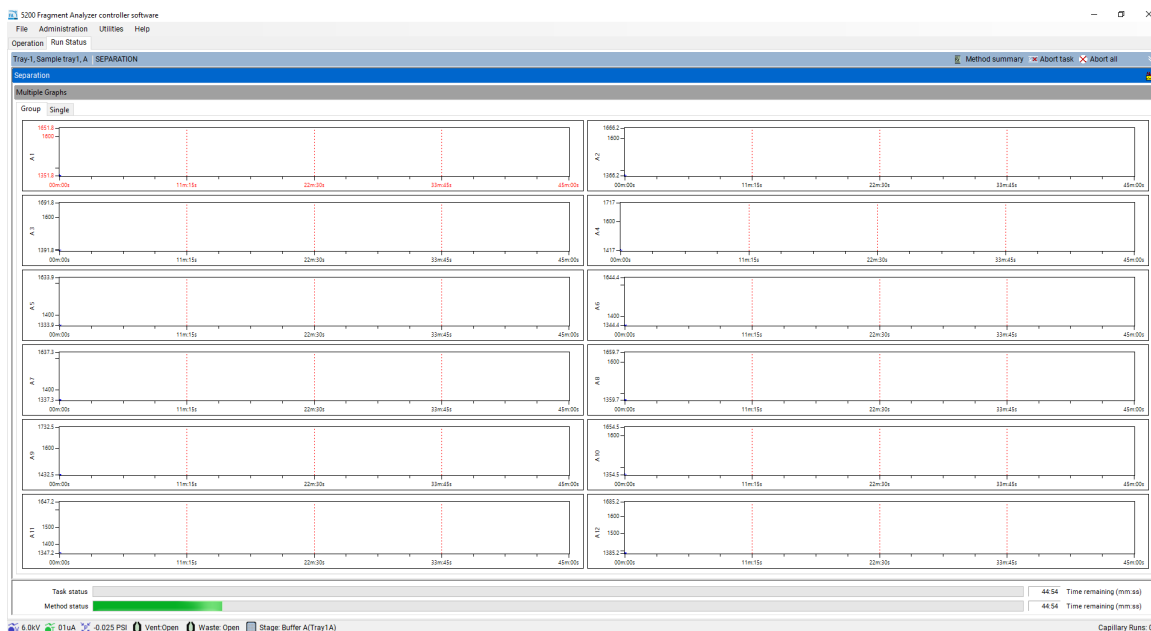
Quando il Fragment Analyzer System sta completando una preanalisi o un'iniezione viene visualizzata la schermata mostrata in **Figura 47**.



**Figura 47** Schermata di preanalisi/iniezione

## Vista della separazione in tempo reale

Quando il Fragment Analyzer System esegue una separazione, viene visualizzata la schermata in **Figura 48**, che mostra una panoramica in tempo reale della separazione.



**Figura 48** Finestra della separazione in tempo reale





È possibile visualizzare l'analisi in un gruppo di 12 elettroferogrammi (come mostrato in **Figura 48**) o visualizzare i singoli elettroferogrammi selezionando la scheda **Single** (Singolo) in alto. Se è in funzione un sistema a 96 capillari, è possibile scegliere tra gruppi di 12 o singoli elettroferogrammi selezionando la riga/il capillare opportuni tramite le schede **Group** (Gruppo) o **Single** (Singolo).

### NOTA

Per visualizzare correttamente i dati della separazione in tempo reale è necessario allineare il capillary array prima di avviare la separazione. Fare riferimento al **Capitolo 7**, "Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità)" per istruzioni sull'allineamento del capillary array.

Le altre opzioni disponibili tramite la scheda **Run Status** (Stato dell'analisi) sono descritte nella **Tabella 20**.







Tabella 20 Opzioni della scheda Run Status (Stato dell'analisi)

Icona	Descrizione
 Method summary	Apri una finestra a comparsa che mostra il riepilogo del metodo per il metodo attualmente in esecuzione.
 Abort Task	Interrompe solo la singola attività in corso, ossia movimento del piatto, pompaggio o iniezione.
 Abort All	Interrompe l'intero metodo in esecuzione e avvia il metodo successivo nella coda. Se non viene trovato alcun metodo, ritorna alla posizione di conservazione. Quando si seleziona questa opzione, viene visualizzata una finestra a comparsa che richiede all'utente di confermare l'interruzione dell'analisi in corso.
	Mostra la corrente per la separazione in corso.
Task Status (Stato delle attività)	Mostra la barra di stato e la durata residua di ogni singola attività in corso, ossia movimento del piatto, pompaggio o iniezione.
Method Status (Stato del metodo)	Mostra la barra di stato e la durata residua per il completamento dell'intero metodo.

## Status Bar (Barra di stato)

La barra in basso del software Fragment Analyzer è una barra di stato in tempo reale contenente informazioni importanti sullo stato dello strumento. Le icone e le relative funzioni sono discusse nella **Tabella 21**.

**Tabella 21** Informazioni sullo stato dello strumento

Icona	Descrizione
 6.0kV	Facendo clic con il pulsante sinistro del mouse su questa icona viene visualizzato il livello di tensione per gli ultimi 5 minuti.
 44uA	Facendo clic con il pulsante sinistro del mouse su questa icona viene visualizzato il livello di corrente per gli ultimi 5 minuti.
 0.0 PSI	Facendo clic con il pulsante sinistro del mouse su questa icona viene visualizzato il livello di pressione per gli ultimi 5 minuti.
 Vent: Open	Indica se la valvola di spurgo del serbatoio è aperta o chiusa.
 Waste: Closed	Indica se la valvola di scarico è aperta o chiusa.
 Stage: Buffer A(Tray1A)	Indica la posizione del piatto nello specifico istante.

## 10

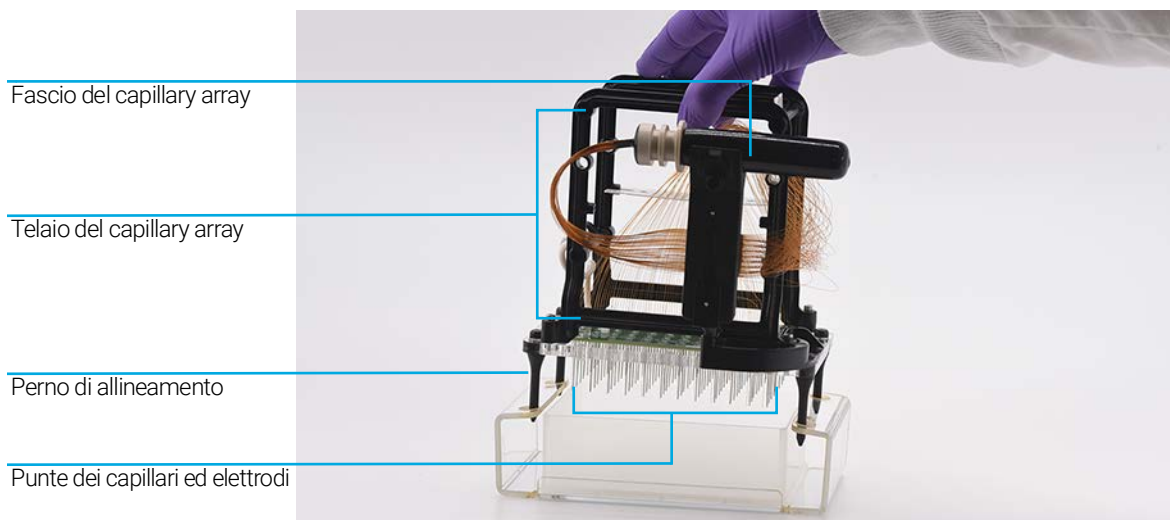
# Fragment Analyzer Capillary Array

- Parti del capillary array 95
- Rimozione del capillary array 96
- Disimballaggio di un capillary array nuovo 106
- Installazione del capillary array 109

In questo capitolo sono descritti i parametri operativi fondamentali del capillary array.

## Parti del capillary array

Il capillary array dello strumento Fragment Analyzer consente l'iniezione e la separazione parallele dirette e simultanee di 12, 48 o 96 campioni.



**Figura 49** Parti del capillary array (è mostrato il capillary array da 96 capillari)

## Rimozione del capillary array

Questa sezione illustra con immagini i passaggi necessari per rimuovere fisicamente una capillary array cartridge dallo strumento Fragment Analyzer.

Prima di procedere con la rimozione del capillary array, selezionare l'icona **Park** (Parcheggio) dalla schermata principale per riportare il vassoio nel rispettivo cassetto e spostare il piatto in una posizione di riposo.

**1** Aprire lo sportello dei reagenti e la calotta superiore dello strumento:

Innanzitutto, aprire lateralmente lo sportello dei reagenti.

Una volta aperto lo sportello dei reagenti, la calotta superiore scatta verso l'alto.



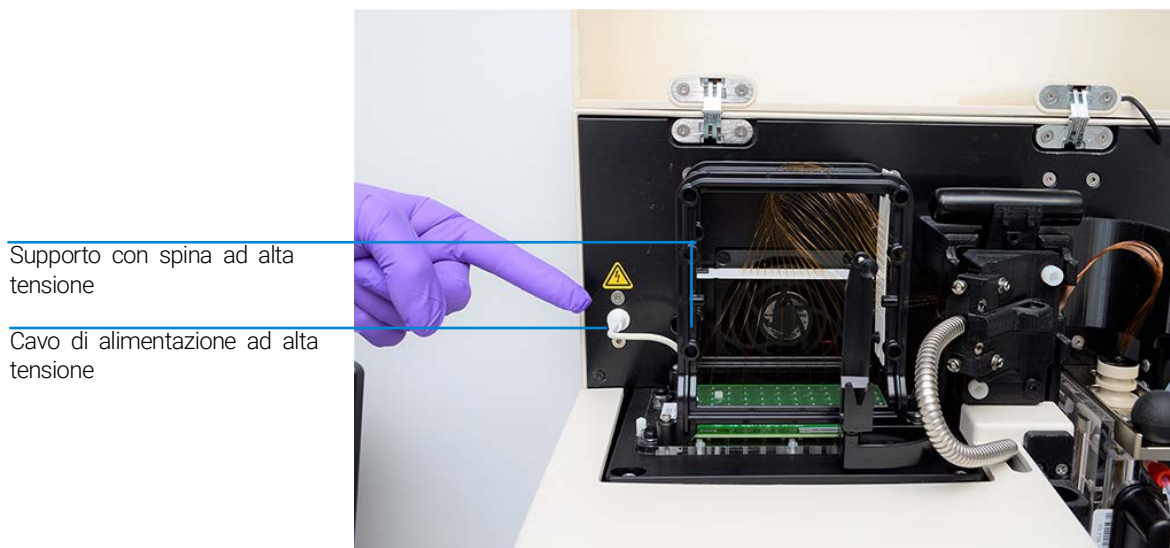
**Figura 50** Strumento Fragment Analyzer

**AVVERTENZA****Alta tensione**

Il Fragment Analyzer è dotato di cavo di alimentazione ad alta tensione. Tale cavo è contrassegnato da un adesivo indicante una tensione pericolosa. Il cavo eroga elettricità ai capillari durante le operazioni che impiegano alta tensione (preanalisi, iniezioni, separazione). Se il comparto superiore non è chiuso correttamente, la fonte di alimentazione ad alta tensione non eroga alimentazione al cavo.

- ✓ Assicurarsi che il coperchio sia chiuso correttamente prima di mettere in funzione lo strumento.

- 2 Scollegare il cavo di alimentazione ad alta tensione bianco dal pannello anteriore in alto e collocarlo nel supporto del telaio del capillary array.



**Figura 51** Comparto superiore dello strumento: cavo di alimentazione ad alta tensione

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Rimozione del capillary array

- 3 Utilizzare la chiave a brugola in dotazione per rimuovere le due viti bianche che fissano la guida di luce alla finestra dell'array.



Figura 52 Comparto superiore dello strumento: svitamento della guida di luce

- 4 Rimuovere la guida di luce.

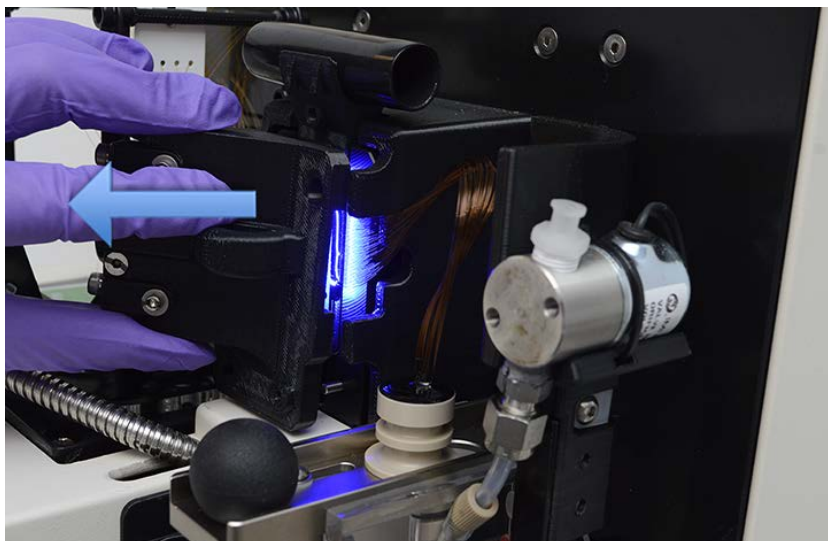


Figura 53 Comparto superiore dello strumento: rimozione della guida di luce

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Rimozione del capillary array

Una volta rimossa, la guida di luce può rimanere sospesa verticalmente nel comparto dello sportello dei reagenti. Si consiglia di chiudere lo sportello dei reagenti per ridurre al minimo la possibilità che la luce abbagli gli occhi.

#### NOTA

Non guardare direttamente la luce LED.

- 5 Ritrarre la slitta del connettore del serbatoio dei capillari.

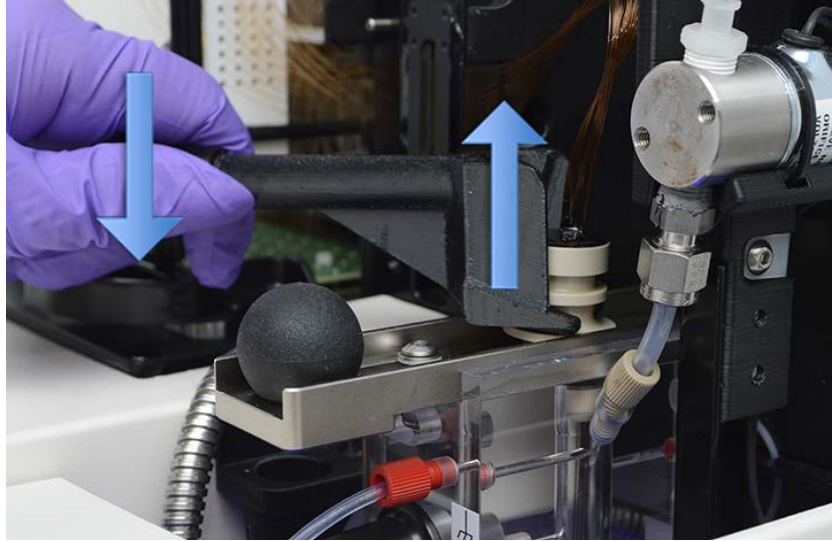


**Figura 54** Comparto superiore dello strumento: slitta del connettore del serbatoio dei capillari

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Rimozione del capillary array

- 6 Utilizzare l'attrezzo per connettore del serbatoio dei capillari per allentare il fascio del capillary array facendo leva sullo stesso.



**Figura 55** Comparto superiore dello strumento: attrezzo per connettore del serbatoio dei capillari

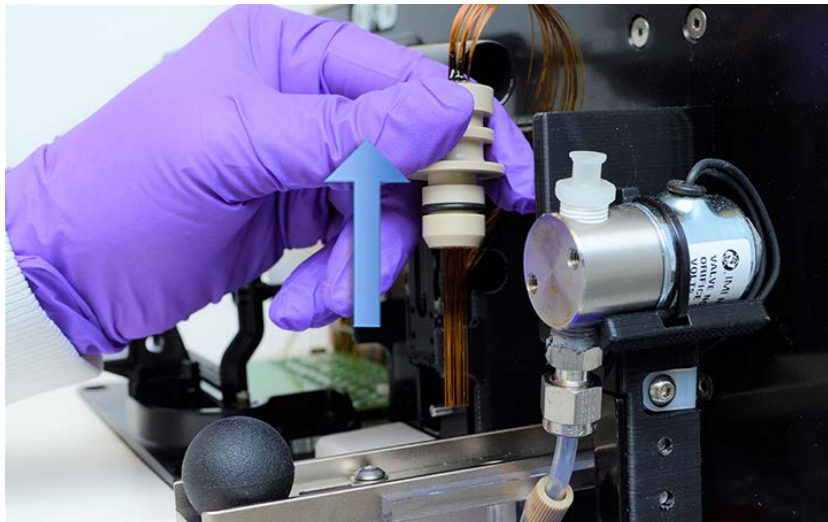
## Fragment Analyzer Capillary Array

### Rimozione del capillary array

7 Rimuovere il fascio del capillary array tirando con cautela verso l'alto.

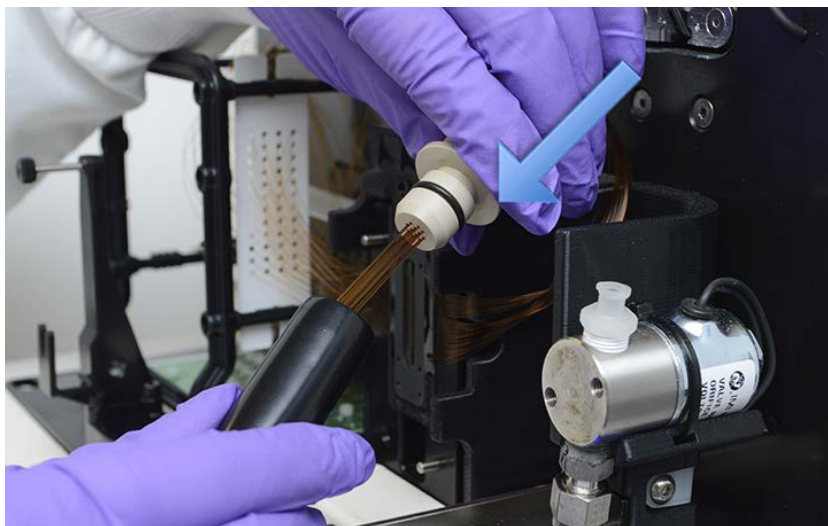
NOTA

Non tirare con una forza eccessiva per non rompere i capillari.



**Figura 56** Comparto superiore dello strumento: rimozione del fascio del capillary array

8 Inserire con cautela la copertura di protezione sul fascio dei capillari.

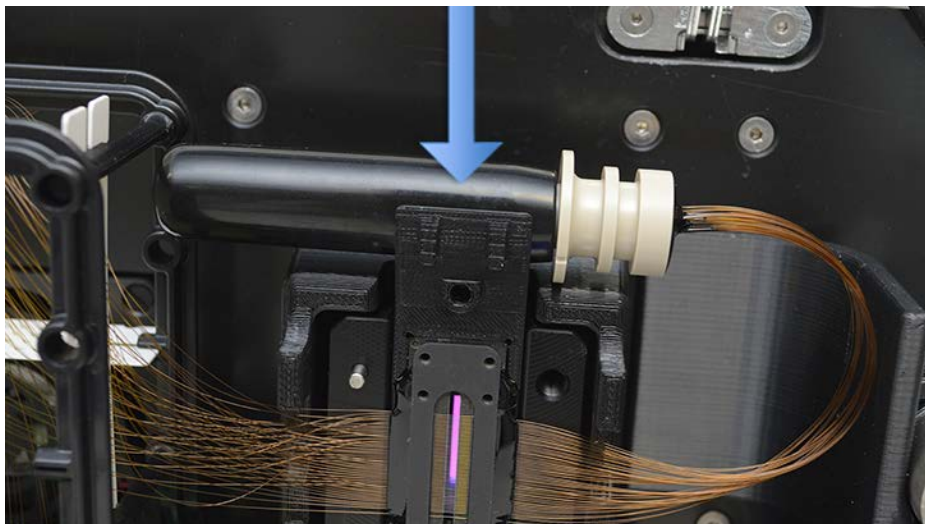


**Figura 57** Comparto superiore dello strumento: installazione della copertura di protezione

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Rimozione del capillary array

- 9 Collocare il fascio del capillary array sul supporto superiore della finestra del capillary array.



**Figura 58** Comparto superiore dello strumento: conservazione del fascio del capillary array con la copertura

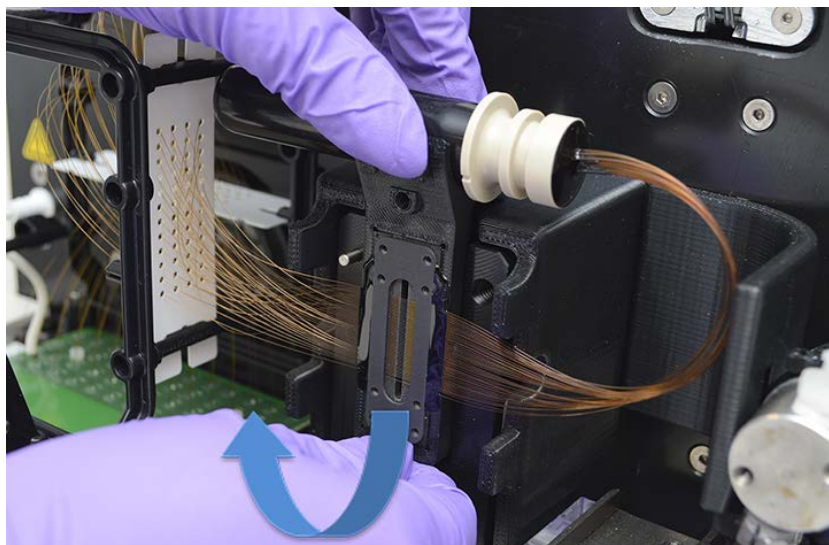
**ATTENZIONE****Forza eccessiva**

Durante la rimozione o l'installazione della finestra del capillary array i capillari possono rompersi.

- ✓ **Procedere con estrema cautela per evitare di esercitare una forza eccessiva durante la manipolazione della finestra del capillary array.**

**10** Rimuovere la finestra del capillary array dal relativo supporto. Non premere né toccare i capillari.

Capovolgere la finestra dell'array dopo la rimozione in modo che il fascio del capillary array sia orientato dal lato destro a quello sinistro del telaio dell'array.

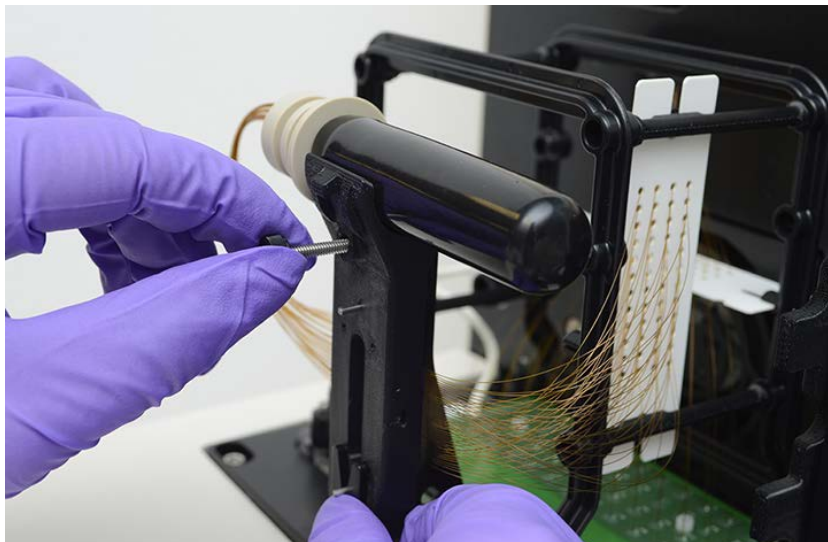


**Figura 59** Comparto superiore dello strumento: rimozione della finestra del capillary array

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Rimozione del capillary array

- 11 Fissare la finestra dell'array al telaio del capillary array tramite la vite di fissaggio.



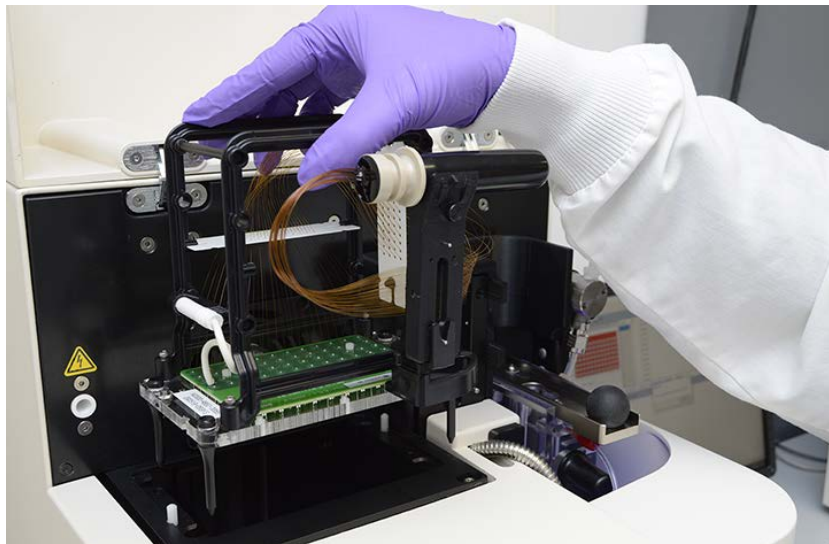
**Figura 60** Comparto superiore dello strumento: fissaggio della finestra dell'array al telaio del capillary array

- 12 Utilizzare la chiave a brugola in dotazione per rimuovere le due viti bianche che fissano in sede il capillary array.



**Figura 61** Comparto superiore dello strumento: rimozione delle viti di fissaggio dell'array

- 13** Sollevare con cautela in verticale l'array per rimuoverlo dallo strumento Fragment Analyzer.



**Figura 62** Comparto superiore dello strumento: rimozione del capillary array

Una volta rimossa dallo strumento, la capillary array cartridge è pronta per lo smaltimento o lo stoccaggio nella stazione umida del Fragment Analyzer (“**Conservazione a lungo termine del capillary array**” a pagina 153).

## Disimballaggio di un capillary array nuovo

Questa sezione illustra con immagini i passaggi necessari per disimballare fisicamente un capillary array nuovo dal contenitore di spedizione e dall'imballaggio.

- 1 Disimballare il capillary array nuovo:
  - a Aprire la confezione.
  - b Rimuovere la copertura in materiale espanso.
  - c Estrarre l'array dall'imballaggio.
  - d Rimuovere l'array dal sacchetto di plastica.



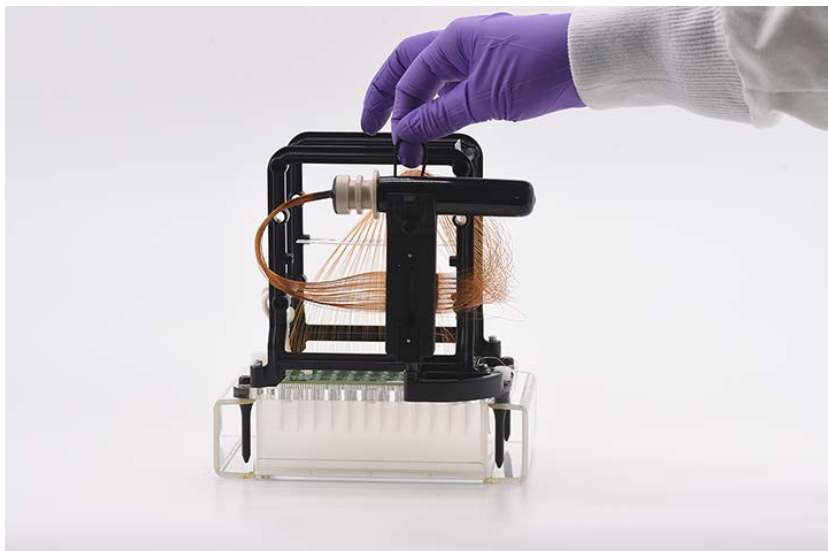
**Figura 63** Scatola di spedizione del capillary array

Prestare attenzione a non rompere i capillari o a non toccare la finestra dell'array quando si rimuove l'imballaggio. Reggere l'array dal telaio in plastica nera durante la manipolazione.

## Fragment Analyzer Capillary Array

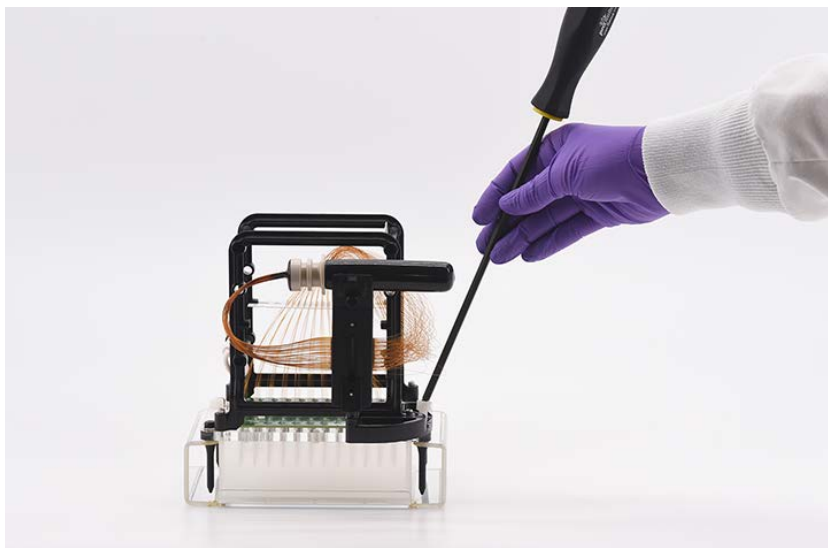
### Disimballaggio di un capillary array nuovo

- 2 Rimuovere l'elastico che fissa il fascio del capillary array.



**Figura 64** Rimozione dell'elastico che fissa il fascio del capillary array

- 3 Rimuovere le due viti bianche in nylon che fissano l'array al telaio di spedizione.

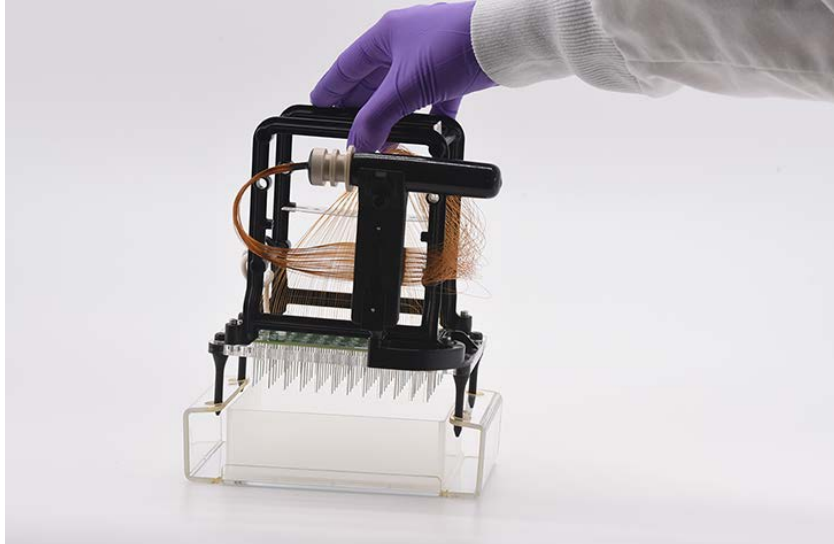


**Figura 65** Scatola di spedizione del capillary array

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Disimballaggio di un capillary array nuovo

- 4 Sollevare con cautela in verticale l'array per rimuoverlo dal telaio di spedizione.



**Figura 66** Scatola di spedizione del capillary array: rimozione dell'array dal telaio di spedizione

## Installazione del capillary array

Questa sezione illustra con immagini i passaggi necessari per installare fisicamente una capillary array cartridge nello strumento Fragment Analyzer.

Prima di procedere con l'installazione, assicurarsi che lo strumento si trovi nella posizione **Park** (Parcheggio). Se non si trova nella posizione **Park** (Parcheggio), selezionare l'icona **Park** (Parcheggio) dalla schermata principale per riportare il vassoio nel rispettivo cassetto e spostare il piatto nella posizione di riposo.

- 1 Aprire lo sportello dei reagenti e la calotta superiore dello strumento:

Innanzitutto, aprire lateralmente lo sportello dei reagenti.

Una volta aperto lo sportello dei reagenti, la calotta superiore scatta verso l'alto.



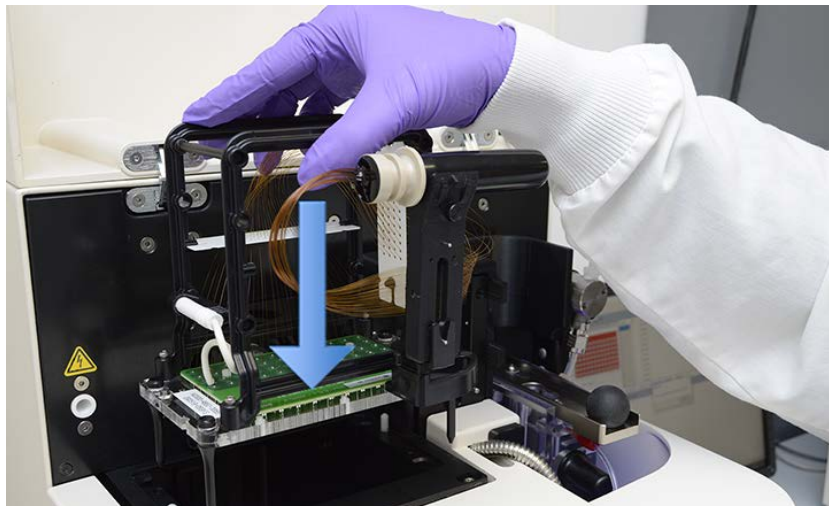
**Figura 67** Strumento Fragment Analyzer

## Fragment Analyzer Capillary Array

### Installazione del capillary array

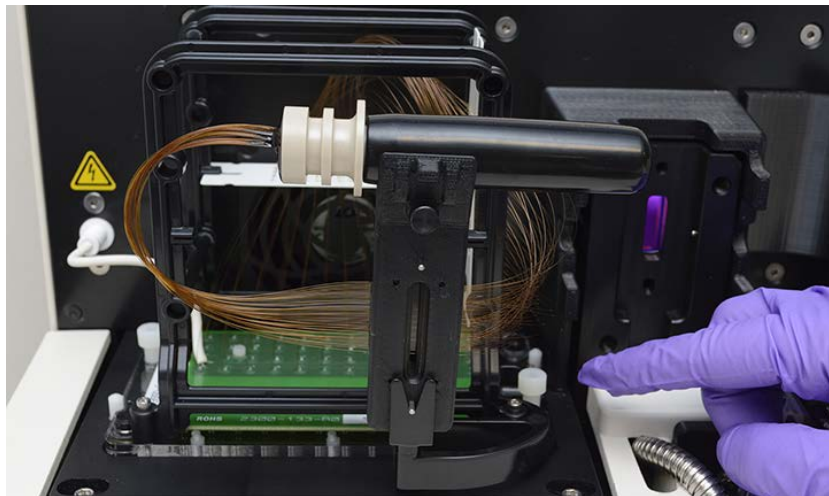
- 2 Collocare con cautela il capillary array nel comparto superiore dello strumento rivolgendo verso l'esterno la finestra dell'array.

I quattro perni di allineamento devono allinearsi ai fori di allineamento nello strumento.



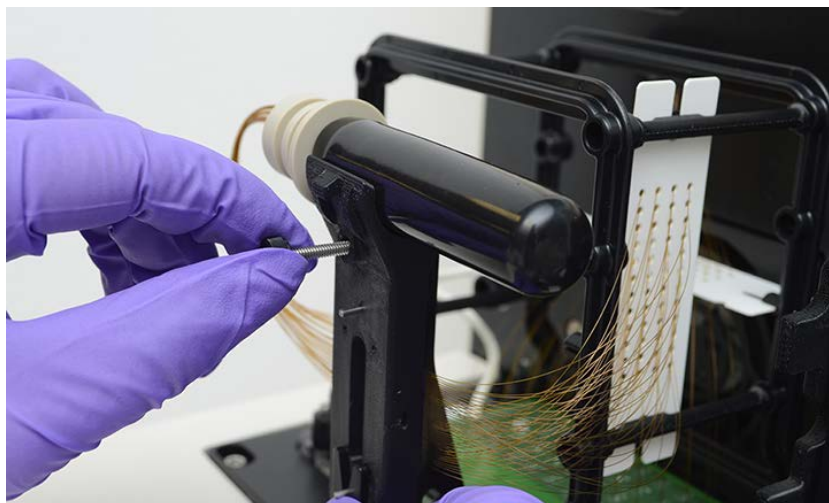
**Figura 68** Comparto superiore dello strumento: installazione del capillary array; l'esempio si riferisce a un sistema a 48 capillari

- 3 Utilizzare la chiave a brugola in dotazione per installare le due viti bianche che fissano in sede il capillary array.



**Figura 69** Comparto superiore dello strumento: installazione delle viti di fissaggio dell'array; nell'immagine è indicata una delle viti

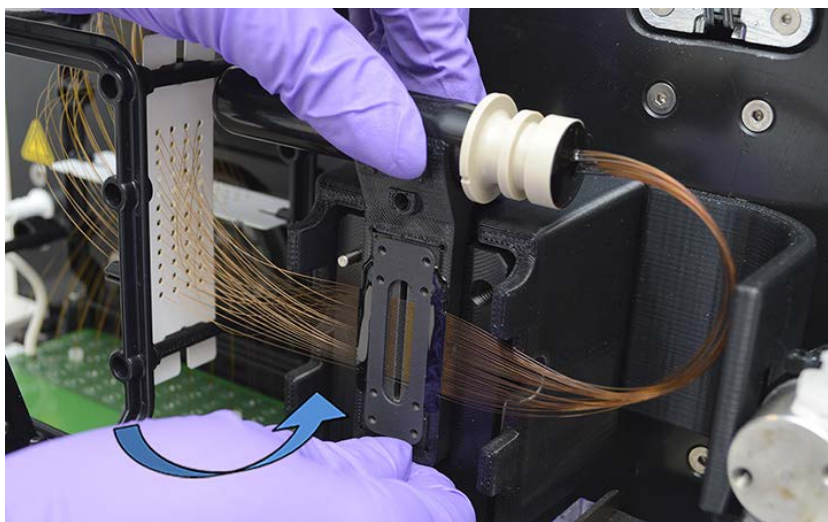
- 4 Rimuovere la vite di fissaggio della finestra dell'array.



**Figura 70** Comparto superiore dello strumento: rimozione della finestra dell'array

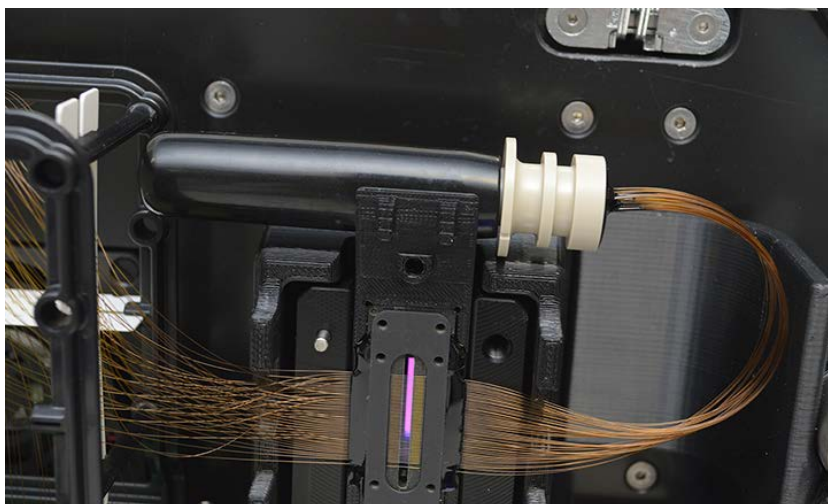
- 5 Capovolgere con cautela la finestra dell'array in modo che il fascio del capillary array sia orientato dal lato sinistro a quello destro dello strumento.  
Collocare la finestra del capillary array nel supporto e inserirla saldamente in sede.

Non premere né toccare i capillari.



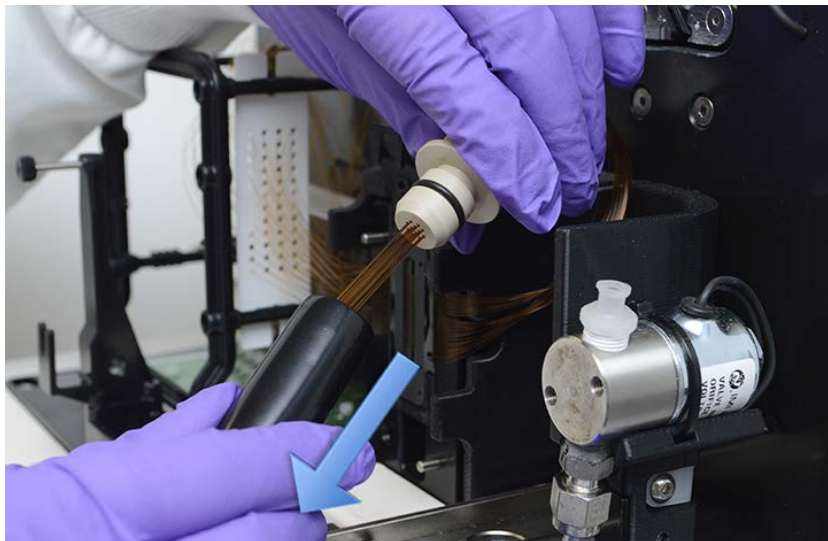
**Figura 71** Comparto superiore dello strumento: installazione della finestra dell'array

- 6 Rimuovere il fascio del capillary array dal supporto superiore della finestra del capillary array.



**Figura 72** Comparto superiore dello strumento: finestra del capillary array installata; è mostrato il fascio

- 7 Rimuovere con cautela la copertura di protezione dal fascio dei capillari e inserirla nuovamente nel supporto sopra la finestra.



**Figura 73** Comparto superiore dello strumento: rimozione della copertura di protezione

- 8 Installare il fascio del capillary array premendolo saldamente nell'apertura del serbatoio fino a percepire chiaramente uno scatto.



**Figura 74** Comparto superiore dello strumento: installazione del fascio del capillary array

**ATTENZIONE****Fissaggio inadeguato del fascio del capillary array**

Se il fascio del capillary array non è ben fissato, si danneggia in seguito alla pressurizzazione.

✓ Verificare che il fascio del capillary array sia ben fissato.

- 9 Spingere verso l'interno la slitta del connettore del serbatoio dei capillari per fissare il fascio del capillary array.



**Figura 75** Comparto superiore dello strumento: slitta del connettore del serbatoio dei capillari

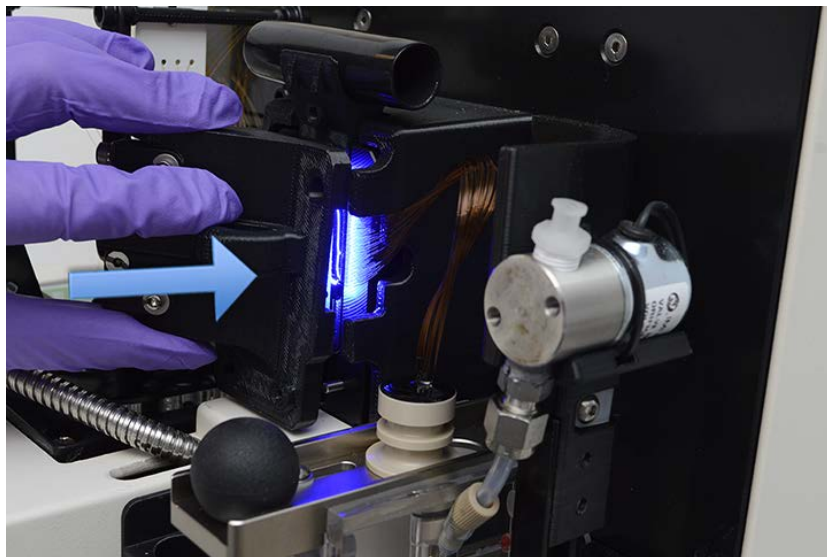
## Fragment Analyzer Capillary Array

### Installazione del capillary array

**10** Collocare la guida di luce sulla finestra dell'array utilizzando i due perni di allineamento.

La presa per le dita deve essere rivolta verso il lato destro dello strumento.

Il cavo ottico in acciaio deve trovarsi a sinistra.



**Figura 76** Comparto superiore dello strumento: posizionamento della guida di luce

- 11** Utilizzare la chiave a brugola in dotazione per installare le due viti bianche in nylon che fissano la guida di luce alla finestra dell'array.



**Figura 77** Comparto superiore dello strumento: installazione della guida di luce

#### ATTENZIONE

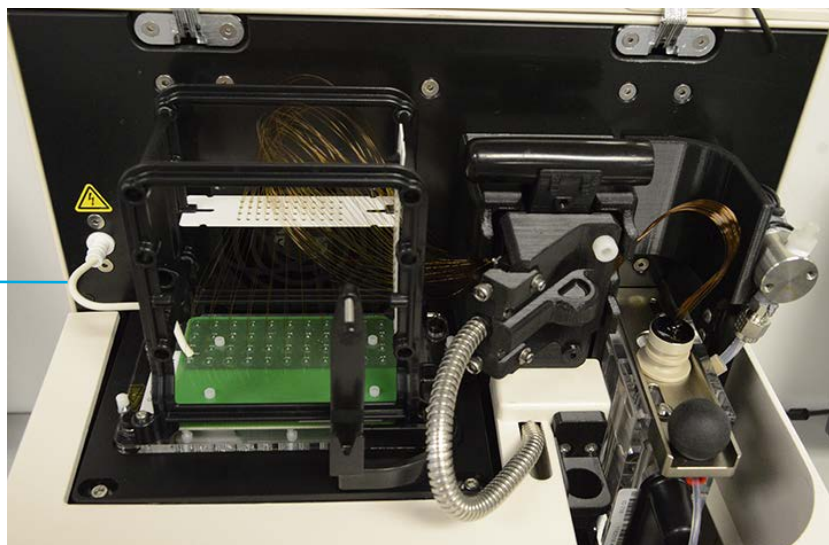
#### Sprechi di tempo e reagenti

Se il cavo di alimentazione ad alta tensione dei capillari è scollegato dallo strumento, le fasi di condizionamento e quelle che fanno uso di gel verranno comunque completate prima che il software interrompa il metodo e segnali un errore.

- ✓ Assicurarsi che il cavo di alimentazione ad alta tensione sia collegato prima di avviare un metodo.

12 Rimuovere il cavo ad alta tensione dal supporto del telaio dell'array e inserirlo saldamente nel relativo collegamento.

Cavo di alimentazione ad alta tensione



**Figura 78** Comparto superiore dello strumento: è mostrato un capillary array da 48 capillari completamente installato

13 Controllare una seconda volta tutti i punti di installazione sul capillary array:

- ✓ Base dell'array fissata con due viti in nylon
- ✓ Installazione della finestra dell'array
- ✓ Guida di luce installata con due viti in nylon
- ✓ Fascio dei capillari installato nel serbatoio
- ✓ Slitta del serbatoio nella posizione di blocco
- ✓ Cavo per alta tensione (HV) installato

**14** Chiudere lo sportello dei reagenti e la calotta superiore dello strumento.



**Figura 79** Strumento Fragment Analyzer

Dopo l'installazione di un array, il Fragment Analyzer richiede l'allineamento dei capillari come descritto nel **Capitolo 6**, "Software Fragment Analyzer: menu Utilities (Utilità)".

# 11

## Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni

Immissione dei nomi dei campioni 120

Immissione manuale dei nomi dei campioni 120

Importazione dei nomi dei campioni 121

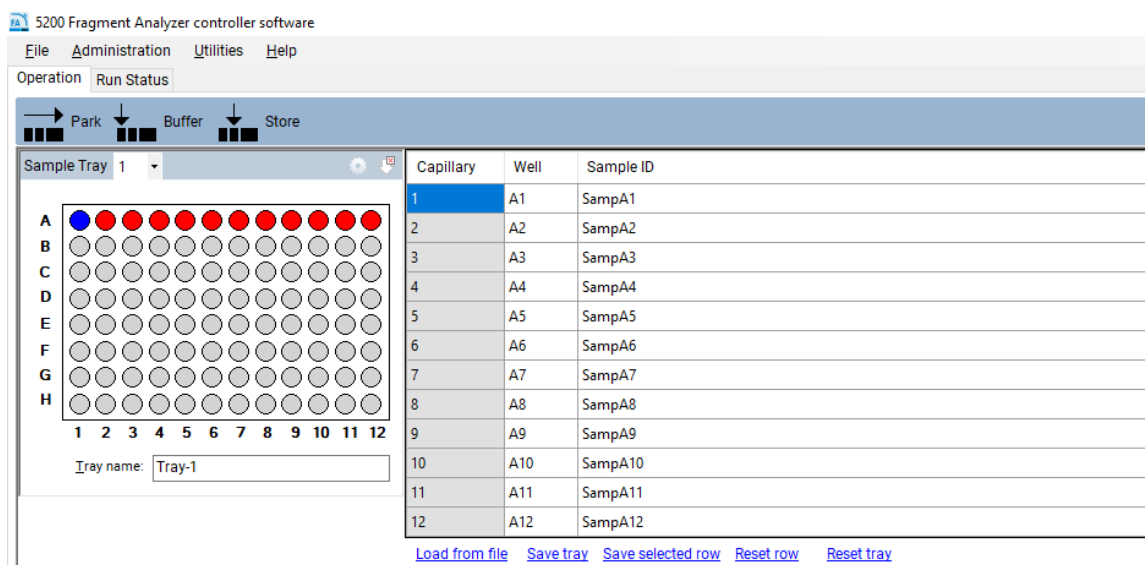
Importazione dei nomi dei campioni con un lettore di codici a barre 123

In questo capitolo sono fornite informazioni su come immettere i nomi dei campioni nel software Fragment Analyzer.

## Immissione dei nomi dei campioni

### Immissione manuale dei nomi dei campioni

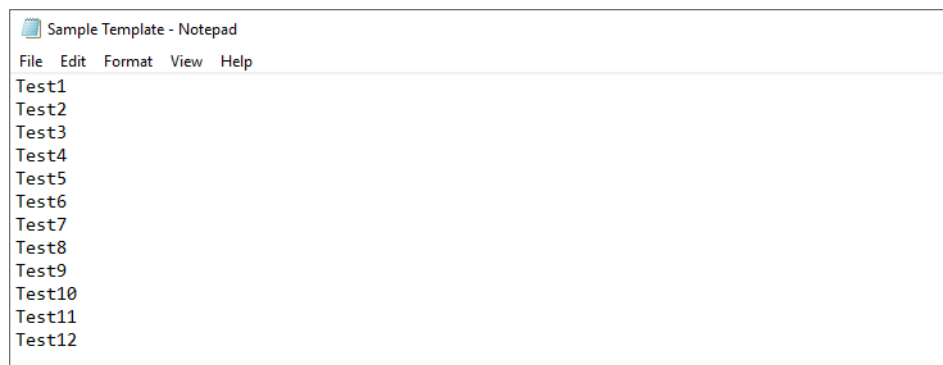
- 1 Dalla scheda **Operation** (Funzionamento), selezionare il numero del vassoio, la riga desiderata e la cella del campione.
- 2 Nel campo **Sample ID** (ID campione), immettere i nomi desiderati dei campioni.
- 3 Selezionare **Save tray** (Salva vassoio) o **Save selected row** (Salva riga selezionata) per salvare il file in formato .txt o .csv (**Figura 80**).



**Figura 80** Aggiunta manuale dei nomi dei campioni

## Importazione dei nomi dei campioni

- ✓ I file devono essere disponibili nel formato .txt o .csv.
  - ✓ Il formato dei dati deve essere conforme al formato descritto di seguito affinché il sistema legga correttamente i file.
- 1 Nella scheda **Operation** (Funzionamento), selezionare **Load from file** (Carica da file) per caricare un set di nomi dei campioni salvati o creati in precedenza.
    - Nel caso di un file .txt, i nomi dei campioni devono essere disposti in una singola colonna (**Figura 81**).

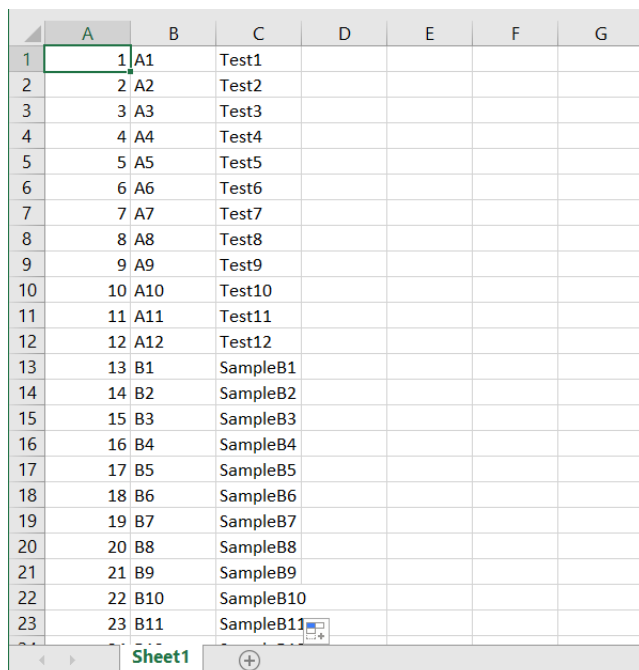


**Figura 81** Formato file .txt (singola colonna di nomi, senza numeri dei pozzetti o numeri delle righe).

## Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni

### Immissione dei nomi dei campioni

- Nel caso di un file .csv, il formato delle colonne è numero della riga, numero del pozzetto e nome del campione (**Figura 82**).



	A	B	C	D	E	F	G
1	1	A1	Test1				
2	2	A2	Test2				
3	3	A3	Test3				
4	4	A4	Test4				
5	5	A5	Test5				
6	6	A6	Test6				
7	7	A7	Test7				
8	8	A8	Test8				
9	9	A9	Test9				
10	10	A10	Test10				
11	11	A11	Test11				
12	12	A12	Test12				
13	13	B1	SampleB1				
14	14	B2	SampleB2				
15	15	B3	SampleB3				
16	16	B4	SampleB4				
17	17	B5	SampleB5				
18	18	B6	SampleB6				
19	19	B7	SampleB7				
20	20	B8	SampleB8				
21	21	B9	SampleB9				
22	22	B10	SampleB10				
23	23	B11	SampleB11				

**Figura 82** Formato file .csv: numero della riga, numero del pozzetto e nome del campione

## Importazione dei nomi dei campioni con un lettore di codici a barre

Ai fini dell'importazione dei nomi dei campioni, un lettore di codici a barre è equivalente a una tastiera. Quando si legge un codice a barre, il programma cerca nella cartella *Samples* (Campioni) un nome identico a quello del codice a barre. Se trova un nome, il file viene importato (insieme ai nomi dei campioni corrispondenti).

### NOTA

Il Fragment Analyzer System non viene fornito con un lettore di codici a barre.

- 1 Inserire i file dei nomi dei campioni nella cartella C:\Agilent Technologies\Samples (**Figura 83**). Se la cartella non esiste, creare una cartella *Samples* (Campioni) nuova. Il file dei nomi dei campioni può essere di tipo .txt o .csv (con i formati descritti nella sezione **"Importazione dei nomi dei campioni"** a pagina 121).

I file dei nomi dei campioni possono essere creati da un utente o automaticamente da un sistema LIMS.

<input type="checkbox"/> Name	Date modified	Type	Size
Data	11/28/2023 4:25 PM	File folder	
Fragment Analyzer	4/10/2024 3:04 PM	File folder	
Methods	5/2/2023 12:58 PM	File folder	
Samples	7/12/2022 2:29 PM	File folder	
User Manual	10/10/2022 9:06 AM	File folder	

**Figura 83** Cartella Samples (Campioni)

È essenziale che il nome del file sia identico a quello letto dal lettore di codici a barre.

Esempio:

In **Figura 84**, il nome associato al codice a barre è 00060065.

## Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni

### Immissione dei nomi dei campioni



Figura 84 Nome del codice a barre 00060065

Pertanto è necessario assegnare al file .csv o .txt il nome 00060065 e inserire tale file nella cartella *Samples* (Campioni) (Figura 85).

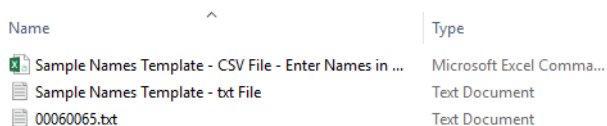


Figura 85 Nome del file

- 2 Nel campo **Tray name** (Nome del vassoio) della scheda **Operation** (Funzionamento), evidenziare il nome del vassoio utilizzando il cursore del mouse (Figura 86).

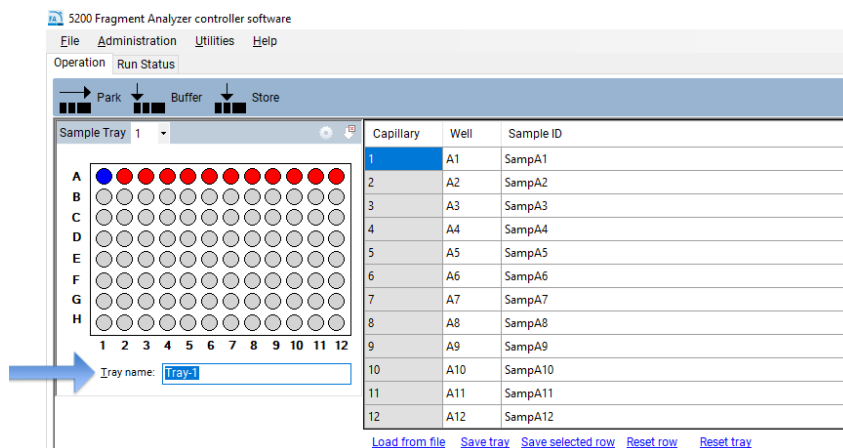


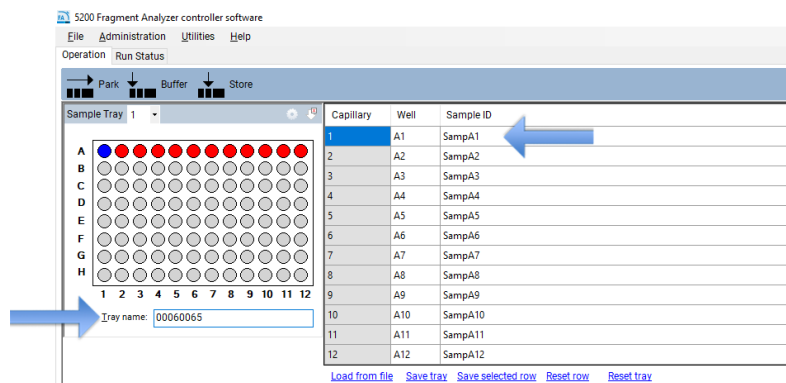
Figura 86 Evidenziazione del nome del vassoio

## Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni

### Immissione dei nomi dei campioni

- Utilizzare il lettore di codici a barre per eseguire la scansione del codice a barre sulla piastra.

Il nome del file e i nomi dei campioni vengono importati automaticamente dal file .txt o .csv della cartella *Samples* (Campioni) (**Figura 87**).



**Figura 87** Nomi dei campioni importati

## 12

# Fragment Analyzer: analisi automatizzata

Analisi automatizzata tramite Fragment Analyzer 127

Abilitazione dell'analisi automatizzata 128

Monitoraggio dello stato dei dati processati automaticamente 132

In questo capitolo è spiegata la procedura di analisi automatizzata con il Fragment Analyzer.

## Analisi automatizzata tramite Fragment Analyzer

L'analisi automatizzata viene eseguita dal software Fragment Analyzer al termine di un'analisi mediante ProSize. Anziché aprire manualmente un file ed esportare i risultati (per esempio pdf, tabella dei picchi, tabella delle tracce, ecc.), queste operazioni vengono eseguite automaticamente alla fine di ogni analisi.

L'analisi automatizzata trova applicazione nei laboratori che analizzano sempre lo stesso tipo di campione.

L'analisi automatizzata si presta perfettamente a collegare il Fragment Analyzer a un sistema LIMS. I nomi dei campioni possono essere generati dal sistema LIMS e importati tramite codifica a barre delle piastre (fare riferimento al **Capitolo 11**, "Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni"). I risultati dei campioni sono esportati automaticamente tramite l'analisi automatizzata. I registri degli errori dell'analisi automatizzata si trovano in file .txt che possono essere monitorati dal sistema LIMS.

L'analisi automatizzata non è indicata nel caso di matrici di campioni dai risultati imprevedibili (ampi picchi poco definiti, miscele complesse, bassa quantità di campione, ecc.).

## Abilitazione dell'analisi automatizzata

- 1 Dal menu a discesa **Administration** (Amministrazione), selezionare **Results Report Setup** (Configurazione report risultati) (**Figura 88**).

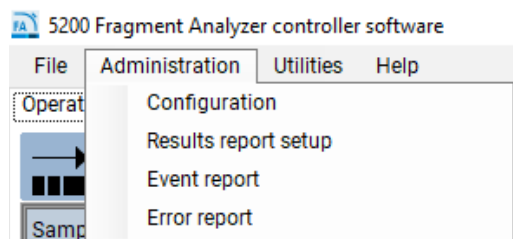


Figura 88 Menu Administration (Amministrazione)

Si apre la finestra **Automated Report Settings** (Impostazioni report automatici) (**Figura 89**).

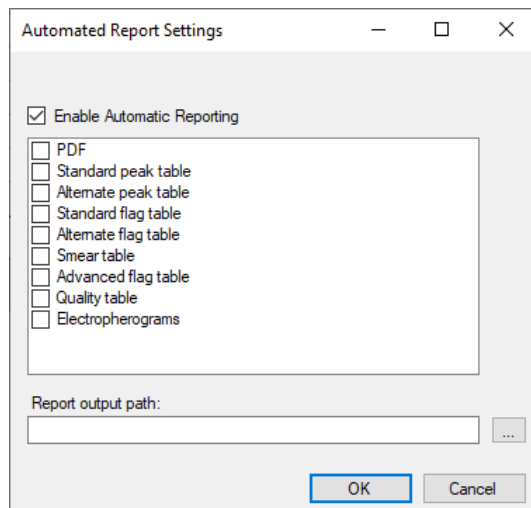


Figura 89 Finestra Automated Report Settings (Impostazioni report automatici)

- 2 Per abilitare l'analisi automatizzata, selezionare **Enable Automatic Reporting** (Abilita report automatici).

- 3 Selezionare le opzioni di esportazione desiderate (PDF, ecc.).

Ciascuna delle opzioni di esportazione (PDF, tabella dei picchi standard, ecc.) è descritta nel capitolo 7 "Exporting Data from ProSize" (Esportazione di dati da ProSize) e nel capitolo 8 "Generating Reports from ProSize" (Generazione di report da ProSize) del *ProSize Data Analysis Software User Manual*.

**Report output path** (Percorso di output dei report) consente di definire la posizione di esportazione dei dati. Se si lascia vuoto questo campo, i dati esportati vengono inseriti nella cartella dei dati originali. Se necessario, creare una cartella di output in una posizione desiderata diversa dalla cartella dei dati.

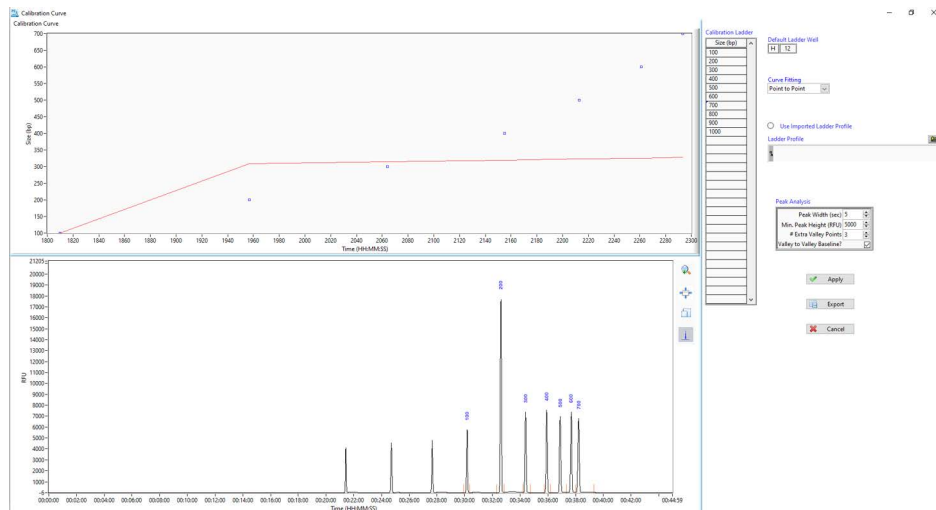
Affinché l'analisi automatizzata funzioni correttamente devono essere soddisfatti due criteri principali:

- Il nome del metodo nel Fragment Analyzer System (utilizzato per acquisire i dati) deve corrispondere esattamente al nome del file di configurazione in ProSize.

Per esempio, se per analizzare il campione si impiega il metodo **DNF-905-33 - DNA 1-500bp**, il nome del file di configurazione in ProSize deve essere **DNF-905-33 - DNA 1-500bp**.

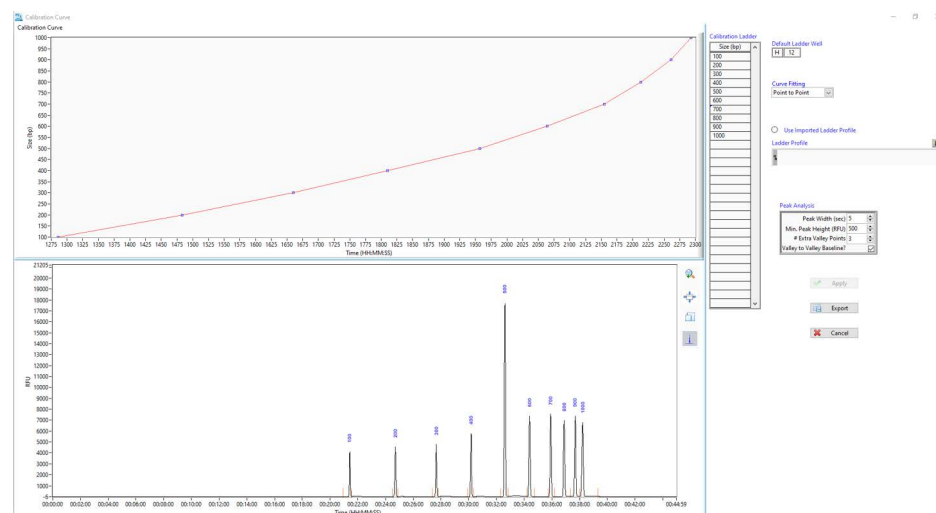
- Se non si utilizza un ladder importato, il pozzetto del ladder deve poter essere elaborato da ProSize. Se il pozzetto del ladder non viene letto correttamente, i dati non vengono processati. Ciò significa che il file di configurazione in ProSize deve essere impostato correttamente affinché il pozzetto del ladder sia letto correttamente. Inoltre, il ladder deve essere di alta qualità, senza picchi anomali o mancanti.

Per esempio, si consideri il caso in cui il pozzetto H12 contiene un ladder da 100 bp, ma il file di configurazione in ProSize è impostato in modo che l'altezza del picco minima per l'integrazione del ladder è pari a 5.000 unità. In questo caso, il ladder non viene letto correttamente da ProSize (ossia molti elementi del ladder risultano mancanti) e il file non verrà processato automaticamente dal Fragment Analyzer System (**Figura 90**).



**Figura 90** Configurazione della curva di calibrazione ProSize

Se il file di configurazione è impostato con un'altezza del picco minima pari a 500, il ladder viene processato correttamente da ProSize e tutti gli elementi del ladder vengono riconosciuti (**Figura 91**).



**Figura 91** Configurazione della curva di calibrazione ProSize

### **Importazione di un file del ladder per l'analisi automatizzata**

Il Fragment Analyzer System utilizza ProSize per eseguire il processamento automatizzato. Pertanto, è necessario utilizzare ProSize per modificare i file di configurazione che definiscono il modo in cui i dati vengono processati. Nell'esempio di cui sopra, sarebbe necessario modificare (e salvare) il parametro riguardante l'*altezza del picco minima* da 5.000 a 500 nel file di configurazione tramite ProSize.

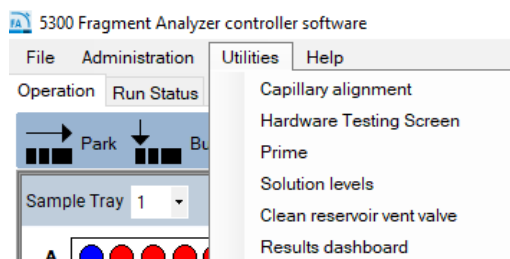
Sia ProSize sia il software Fragment Analyzer offrono la possibilità di utilizzare un file del ladder importato. Nel caso del processamento in lotto o automatizzato, l'uso di ladder importati presenta svariati vantaggi:

- Si possono utilizzare tutti i 96 pozzetti della piastra per campioni, senza dover riservare il pozzetto H12 al ladder.
- Un file del ladder salvato di alta qualità consente di processare molti file successivi senza dover ripetere la calibrazione.
- Un file del ladder di alta qualità elimina il rischio di errori nel processamento automatizzato del file dovuti alla scarsa qualità del ladder nella piastra per campioni (ossia un pozzetto del ladder con un segnale inadeguato, con picchi mancanti o con una risoluzione insufficiente).

## Monitoraggio dello stato dei dati processati automaticamente

**Results Dashboard** (Dashboard dei risultati) consente di determinare rapidamente lo stato dei dati dopo che sono stati processati.

- 1 Dal menu a discesa **Utilities** (Utilità), selezionare **Results dashboard** (Dashboard dei risultati) (**Figura 92**).



**Figura 92** Menu Utilities (Utilità)

Si apre la finestra **Results Dashboard** (Dashboard dei risultati). È visualizzato l'elenco dei file di dati (**Figura 93**).

- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse su un file.

RAW File	Error Status	Critical Error	Input Error	Generation Error	Individual Error
2017 11 14 12h 07m..raw	OK	✓	✓	✓	✓
2012 08 17 14h 35m..raw	ISSUES	✓	✓	✗	✓

**Figura 93** Results Dashboard (Dashboard dei risultati)

- a Dal menu, selezionare **View with ProSize** (Visualizza con ProSize) per aprire ed esaminare il file in ProSize.
- b Selezionare **Error Log** (Registro degli errori) per visualizzare i messaggi di errore.

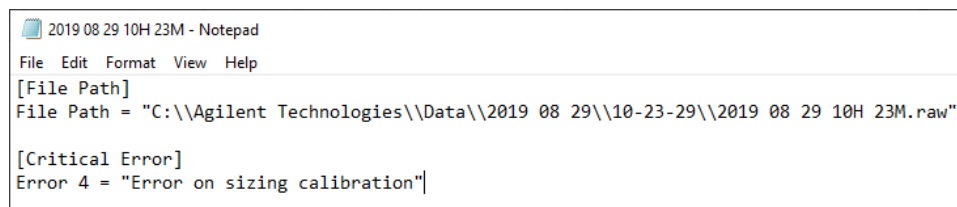
Un riepilogo dei messaggi di errore è riportato nella **Tabella 22**.

**Tabella 22 Messaggi di errore in Results Dashboard (Dashboard dei risultati)**

Messaggio	Descrizione
Error Status (Stato dell'errore)	Fornisce un'indicazione dello stato del processamento. In caso di problemi, viene visualizzata la dicitura <i>ISSUES</i> (PROBLEMI).
Critical Error (Errore critico)	Vi sono due possibilità: a) il nome del metodo non corrispondeva al nome del file di configurazione, oppure b) non è stato possibile processare correttamente il file del ladder.
Input Error (Errore di input)	Un utente ha richiesto un output che non poteva essere generato, per esempio un riepilogo delle condizioni verificatesi senza che fossero state impostate condizioni oppure una tabella delle tracce quando il file di configurazione non contiene condizioni per le tracce.
Generation Error (Errore di generazione)	Si è verificato un problema nel generare un file (.csv, .pdf o .txt) (in genere associato a errori del sistema operativo).
Individual Error (Singolo errore)	Si è verificato un problema riguardante un singolo capillare, per esempio un marcatore superiore o inferiore mancante o picchi del marcatore insolitamente ampi.

I messaggi di errore sono registrati anche in C:\ProSize data analysis software\Error Log. Un esempio di file di registro degli errori è mostrato in **Figura 94**.

Poiché si tratta di un file .txt, l'errore può essere monitorato da un sistema LIMS per segnalare lo stato o l'accuratezza del processamento automatizzato.



```

2019 08 29 10H 23M - Notepad
File Edit Format View Help
[File Path]
File Path = "C:\Agilent Technologies\Data\2019 08 29\10-23-29\2019 08 29 10H 23M.raw"

[Critical Error]
Error 4 = "Error on sizing calibration"

```

**Figura 94** Esempio di messaggio di errore

## 13

# Manutenzione e risoluzione dei problemi

Piastre e provette compatibili per i Fragment Analyzer System	135
Piastre per campioni/marcatori con bordo parziale: solo 5200 e 5300	135
Striscia di provette da 0,2 mL: solo 5200 e 5300	136
Piastre per tampone/scarti: 5200, 5300 e 5400	137
Piastre per campioni/marcatori con bordo completo: 5200, 5300 e 5400	138
Programma di manutenzione preventiva	139
Manutenzione giornaliera	139
Manutenzione mensile	139
Secondo necessità per ripristinare le prestazioni di separazione	139
Pulizia del capillary array	140
Metodo A: controllo del flusso con acqua di grado CE	141
Metodo B: immersione di elettrodi/punte del capillary array in acqua calda (60 °C - 95 °C)	144
Metodo C: pulizia di punte dei capillari, elettrodi e pareti dei capillari	145
Lavaggio di condizionamento prolungato	149
Pulizia della valvola di spurgo del serbatoio	150
Pulizia della finestra del capillary array	151
Conservazione a lungo termine del capillary array	153
Utilizzo della stazione di alloggiamento dell'array	153

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive sulle procedure di manutenzione e sulle impostazioni del sistema.

Se si necessita di assistenza, rivolgersi al rappresentante locale Agilent.

NOTA

## Piastre e provette compatibili per i Fragment Analyzer System

**NOTA**

Per le piastre elencate in questa sezione è stata confermata la compatibilità al completamento della revisione del presente manuale. Tenere presente che i produttori potrebbero apportare modifiche alle piastre, con conseguente incompatibilità.

### Piastre per campioni/marcatori con bordo parziale: solo 5200 e 5300

Gli strumenti 5200 e 5300 Fragment Analyzer System funzionano con piastre per PCR Eppendorf twin.tec a 96 pozzetti di dimensioni specifiche, con bordo parziale (Eppendorf codice 951020303 (vari colori)).

**NOTA**

Le piastre per PCR senza bordo non sono consigliate per l'uso con i Fragment Analyzer System in quanto tendono a deformarsi o curvarsi e, pertanto, possono interferire con la corretta iniezione del campione.

**ATTENZIONE**

#### Dimensioni errate delle piastre

Il Fragment Analyzer richiede piastre delle seguenti dimensioni:

123,7 × 82,2 × 19,7 mm (lunghezza × profondità × altezza). Piattaforma a bordo parziale: 9,1 mm.

L'uso di piastre per PCR aventi dimensioni differenti può ridurre la qualità e l'uniformità delle iniezioni. Sono inoltre possibili danni alle punte della capillary array cartridge.

- ✓ Usare esclusivamente piastre dalle dimensioni corrette.
- ✓ Se si utilizzano piastre diverse da quelle approvate di cui sopra, assicurarsi di eseguirne la qualificazione.

## Striscia di provette da 0,2 mL: solo 5200 e 5300

Gli strumenti 5200 e 5300 Fragment Analyzer System sono stati progettati per la compatibilità con specifiche strisce di provette quando si utilizza il supporto per vassoio F1300-107 - striscia per 12 vial (venduto separatamente). Un elenco delle strisce di provette approvate è riportato nella **Tabella 23**.

### NOTA

L'uso di strisce di provette per PCR aventi dimensioni differenti rispetto alle provette consigliate di seguito potrebbe ridurre la qualità e l'uniformità delle iniezioni. Sono inoltre possibili danni alle punte della capillary array cartridge.

**Tabella 23** Elenco di strisce di provette approvate

Articolo	Venditore/codice	Descrizione
Striscia di 12 provette per PCR da 0,2 mL	Fisher Scientific codice AB-1113	Striscia di provette da 0,2 mL Thermo Scientific ABgne > striscia di 12 provette
Striscia di 8 provette per PCR da 0,2 mL	Fisher Scientific codice AB-266	Striscia di provette da 0,2 mL Thermo Scientific ABgne > striscia di 8 provette

## Piastrre per tampone/scarti: 5200, 5300 e 5400

Gli strumenti 5200, 5300 e 5400 Fragment Analyzer System utilizzano una specifica piastra a 96 pozzetti profondi (altezza 31 mm) fornita da Fisher Scientific (codice 12-566-120) per il tampone e gli scarti. Questa specifica piastra deve essere usata con lo strumento (due piastrre sono fornite al momento dell'installazione; vedere la **Tabella 24**).

Non utilizzare piastrre a 96 pozzetti profondi da 1 mL, metà altezza standard né a pozzetti quadrati da 1 mL per il tampone/gli scarti con il Fragment Analyzer System per evitare di danneggiare il capillary array.

La stessa piastra per tampone/scarti con tali specifiche è disponibile anche presso Agilent, qualora non sia possibile procurarsi tali piastrre direttamente dal produttore.

**Tabella 24** Elenco di piastrre per tampone/scarti

Articolo	Venditore/codice	Descrizione
Piastrre a 96 pozzetti profondi per tampone/scarti	Fisher Scientific codice 12-566-120	Micropiastrre in polipropilene a 96 pozzetti profondi Fisherbrand: capacità pozzetto 1 mL

## Piastrre per campioni/marcatori con bordo completo: 5200, 5300 e 5400

Il 5400 Fragment Analyzer System è stato progettato per essere compatibile esclusivamente con piastrre per PCR a bordo completo. Lo strumento viene spedito con un set di adattatori speciali per piastrre: **F1350-001 – Full Skirt Tray Carrier**.

### NOTA

Lo strumento 5400 Fragment Analyzer non funziona correttamente con le piastrre a bordo parziale. Gli strumenti 5200 e 5300 Fragment Analyzer possono invece utilizzare entrambi i tipi di piastrre, ossia a bordo completo e parziale, purché sia presente l'opportuno inserto adattatore per cassette.

Se si utilizza un modello 5200 o 5300, è possibile acquistare adattatori per piastrre a bordo completo per sostituire gli adattatori predefiniti a bordo parziale in dotazione con lo strumento. In tal caso, è necessario acquistare il set completo in modo che lo strumento utilizzi esclusivamente l'uno o l'altro tipo. Il codice degli adattatori è: **M1300-109 – DRAWER ADAPTER-FULL SKIRT 96 WELLPLATES**.

Piastrre a bordo completo supportate:

Piastrre per PCR a 96 pozzetti Eppendorf twin.tec LoBind, con bordo (Fisher Scientific codice E0030129512)

### NOTA

L'uso di piastrre per PCR aventi dimensioni differenti rispetto alle piastrre sopra consigliate potrebbe ridurre la qualità e l'uniformità delle iniezioni. Sono inoltre possibili danni alle punte della capillary array cartridge.

## Programma di manutenzione preventiva

### Manutenzione giornaliera

- ✓ Svuotare il flacone di scarico e il vassoio per gli scarti.
- ✓ Sostituire il tampone iniettore nella posizione del vassoio del tampone.
- ✓ Sostituire la soluzione tampone di risciacquo se pertinente.
- ✓ Assicurarsi che nella posizione del flacone di soluzione per condizionamento sia presente la soluzione per condizionamento capillari.
- ✓ Assicurarsi che nella posizione del flacone di gel sia presente il gel/colorante.

### Manutenzione mensile

- ✓ Sostituire le piastre del tampone e per gli scarti con piastre nuove.
- ✓ Sostituire la soluzione per conservazione capillari e la piastra.\*
- ✓ Sostituire i flaconi di gel e di soluzione di condizionamento con flaconi nuovi.
- ✓ Pulire i coperchi delle soluzioni di gel e di condizionamento con isopropanolo o etanolo.
- ✓ Ispezionare la valvola di spurgo del serbatoio per individuare l'eventuale presenza di gel essiccato e pulire se necessario.

### Secondo necessità per ripristinare le prestazioni di separazione

- ✓ Versare 0,6 mL di NaOH 0,5 N in ciascun pozzetto di una piastra a pozzetti profondi (riga A se a 12 capillari, righe A–D se a 48 capillari, tutte le righe se a 96 capillari). Collocare tale piastra nella posizione del vassoio per gli scarti, lavare la capillary array cartridge con NaOH 0,5 N e quindi con soluzione per condizionamento capillari come descritto nella sezione **“Pulizia del capillary array”** a pagina 140.\*\*

\* Può essere necessario procedere alla sostituzione con maggiore frequenza (ossia ogni 1–2 settimane) in ambienti di laboratorio caldi o caratterizzati da bassa umidità.

\*\* È accettabile eseguire questa procedura di pulizia anche nell'ambito del normale programma di manutenzione settimanale o quindicinale.

## Pulizia del capillary array

In alcune circostanze può essere necessario effettuare la risoluzione dei problemi del capillary array. Tale procedura può riguardare problemi di varia natura, tra cui intasamenti fisici, ritardi nelle migrazioni (inadeguatezza del condizionamento) e contaminazione.

In genere vi sono quattro procedure di pulizia/lavaggio di un capillary array volte a migliorare le prestazioni in seguito ai problemi di cui sopra.

### NOTA

Nella maggior parte dei casi, l'intasamento è causato dalla presenza di reagenti essiccati sulle punte dei capillari lato piastra. Le procedure di immersione delle punte riportate di seguito sono i metodi ottimali per rimuovere queste ostruzioni.

- Metodo A: controllo del flusso con acqua di grado CE
- Metodo B: immersione degli elettrodi/delle punte del capillary array in acqua calda (60 °C - 95 °C)
- Metodo C: lavaggio e immersione in NaOH 0,5 N per pulire le punte dei capillari, gli elettrodi e le pareti dei capillari
- Lavaggio di condizionamento prolungato: in genere 10–20 minuti di lavaggio con soluzione per condizionamento per favorire il rivestimento delle pareti dei capillari e facilitare l'uniformità delle migrazioni (questo metodo non è predefinito nel software FA).

In alcuni casi può essere necessario abbinare tra loro due o più dei metodi descritti di seguito.

## Metodo A: controllo del flusso con acqua di grado CE

Se si ha ragione di ritenere che in un capillary array siano presenti capillari intasati, la prima operazione da eseguire consiste nel lavare l'array con acqua di grado CE.

- 1 Dalla scheda Operation (Funzionamento) nella schermata principale, selezionare **Add to queue** (Aggiungi alla coda) nel menu Capillary Array - Conditioning (Capillary Array - Condizionamento).
- 2 Dalla finestra **Select Conditioning Method** (Seleziona metodo di condizionamento), selezionare **Method A Flush - Water - 10 min 200 psi.mthdc** dal menu a discesa.
- 3 Selezionare **Edit** (Modifica) per assicurarsi che i parametri del metodo corrispondano a quelli mostrati in **Figura 95**.

Conditioning Method: Method A Flush - Water - 10 min 200 psi

Step	Enabled	Solution	Fill pressure	Unit	Time	Unit	Flow rate	Unit	Tray	Row
Step #1	<input checked="" type="checkbox"/>	Gel 2	200	PSI	10.0	min.	200	µL/s	Waste	A
Step #2	<input type="checkbox"/>	Conditioning	200	PSI	10.0	min.	200	µL/s	Waste	A
Step #3	<input type="checkbox"/>	Conditioning	0	PSI	1.0	min.	1	µL/s	Waste	A

Buttons: Ok, Cancel, Restore defaults

**Figura 95** Parametri di condizionamento **Method A Flush – Water - 10 min 200 psi.mthdc**

- 4 Se necessario, regolare il metodo come indicato in **Figura 95** (su uno strumento a 96 capillari il parametro **Row** (Riga) non è modificabile).
- 5 Selezionare **OK**.

- 6 Selezionare nuovamente **OK** per aggiungere il metodo alla coda dei metodi.
- 7 Aprire il cassetto di scarico (secondo cassetto dall'alto) e collocare una piastra a 96 pozzetti profondi vuota sul supporto per piastra.
- 8 Aprire il comparto laterale del Fragment Analyzer System per sostituire il flacone del gel 2 con un flacone contenente acqua di grado CE.

Volume minimo di soluzione necessario per eseguire un lavaggio con il Metodo A:

- $\geq 12$  mL per un capillary array da 12 capillari
- $\geq 27$  mL per un capillary array da 48 capillari
- $\geq 43$  mL per un capillary array da 96 capillari

- 9 Chiudere lo sportello del comparto laterale dello strumento e selezionare l'icona di avvio dalla coda dei metodi per eseguire il metodo di condizionamento dei capillari.
- 10 Una volta completato il metodo di condizionamento del capillary array, aprire il cassetto di scarico e rimuovere la piastra a 96 pozzetti profondi.
- 11 Controllare il volume di acqua presente in ciascuno dei pozzetti utilizzati per il lavaggio.

Nel caso di un lavaggio di 10 minuti, ciascun pozzetto dovrebbe contenere  $\sim 150$   $\mu$ L di acqua di grado CE.

Se la quantità di acqua presente in un pozzetto è significativamente inferiore o nulla, si consiglia di proseguire con il Metodo B o C.

### Se in ciascun pozzetto della piastra per gli scarti sono presenti quantità simili di acqua:

- 1 Rimuovere la piastra a 96 pozzetti profondi dal cassetto di scarico e sostituirla con la vaschetta di scarico aperta.
- 2 Aprire il comparto laterale dello strumento Fragment Analyzer e assicurarsi che la soluzione di condizionamento e il gel di separazione presenti siano sufficienti a eseguire un metodo di condizionamento completo.

Conditioning Method: Full Conditioning

Step #1      Solution: Conditioning

Fill pressure: 280 PSI      Time: 3.0 min.

Flow rate: 200 µL/s      Tray: Waste      Row: A

Step #2      Solution: Gel 1

Fill pressure: 280 PSI      Time: 3.0 min.

Flow rate: 200 µL/s      Tray: Waste      Row: A

Step #3      Solution: Conditioning

Fill pressure: 0 PSI      Time: 1.0 min.

Flow rate: 1 µL/s      Tray: Waste      Row: A

Ok      Cancel

Restore defaults

Figura 96 Editor dei metodi di condizionamento

- 3 Eseguire un'analisi di separazione per confermare che tutti i capillari forniscano un segnale.

## Metodo B: immersione di elettrodi/punte del capillary array in acqua calda (60 °C - 95 °C)

- 1 Selezionare l'icona **Park** (Parcheggio) nella schermata principale per riportare nel rispettivo cassetto la piastra attualmente alloggiata e spostare la piattaforma del piatto sul fondo dello strumento.
- 2 Riempire una piastra a 96 pozzetti profondi con 1 mL di acqua calda (60 °C - 95 °C) per immergervi le punte del capillary array.
  - Nel caso di un capillary array da 12 capillari, riempire ciascun pozzetto nella riga A di una piastra a 96 pozzetti profondi con 1 mL di acqua calda.
  - Nel caso di un capillary array da 48 capillari, riempire ciascun pozzetto nelle righe A-D di una piastra a 96 pozzetti profondi con 1 mL di acqua calda.
  - Nel caso di un capillary array da 96 capillari, riempire ciascun pozzetto di una piastra a 96 pozzetti profondi con 1 mL di acqua calda.
- 3 Aprire il cassetto del tampone (primo cassetto dall'alto) e collocare la piastra a 96 pozzetti profondi riempita con acqua sul distanziatore per piastre.
- 4 Chiudere saldamente il cassetto del tampone.
- 5 Dalla schermata principale, individuare le icone di posizionamento nella scheda **Operation** (Funzionamento). Selezionare l'icona **Buffer** (Tampone) per posizionare la piastra sotto il capillary array.
- 6 Lasciare il capillary array in immersione per un periodo compreso tra 15 minuti e un'ora.
- 7 Selezionare l'icona **Park** (Parcheggio) per riportare la piastra a 96 pozzetti profondi nel cassetto del tampone e collocare il piatto in posizione di riposo sul fondo dello strumento.
- 8 Eseguire il Metodo A come descritto in questo Capitolo per controllare il flusso di soluzione attraverso ciascun capillare o passare direttamente al Metodo C.

## Metodo C: pulizia di punte dei capillari, elettrodi e pareti dei capillari

### AVVERTENZA

#### Solvente pericoloso

Il solvente NaOH 0,5 N è corrosivo e la sua manipolazione può comportare rischi per la salute e la sicurezza. Provoca gravi ustioni oculari e cutanee.

- ✓ Evitare il contatto con gli occhi, la pelle o gli indumenti.
- ✓ Proteggere gli occhi e indossare guanti resistenti.
- ✓ Fare riferimento alla scheda dei dati di sicurezza per le avvertenze e precauzioni prima di procedere.

### NOTA

Il protocollo di pulizia del Metodo C serve a diversi scopi, tra cui la rimozione di intasamenti, la decontaminazione e il ripristino/la pulizia delle pareti dei capillari. È importante che la soluzione di NaOH non resti a contatto coi capillari per periodi prolungati in quanto possono derivarne danni ai capillari stessi. Per questa ragione, il lavaggio con il Metodo C predefinito nel software include un lavaggio di condizionamento successivo al passaggio in cui si impiega NaOH.

**Method C – 0.5 N NaOH – 10 min 200 psi.mthdc** è il metodo ottimale per liberare i capillari intasati e riportare la separazione alle normali condizioni, oltre che per rimuovere la contaminazione dai Fragment Analyzer System. La fase di immersione delle punte in NaOH di questa procedura di pulizia è molto importante per rimuovere la contaminazione presente sulle punte dei capillari, in particolare la contaminazione da ribonucleasi potenzialmente presente se si utilizzano sia kit per RNA sia kit per DNA.

- 1 Pulire i tappi dei flaconi di soluzione di condizionamento, gel 1 e gel 2 con isopropanolo o etanolo.
- 2 Aprire il comparto laterale del Fragment Analyzer e sostituire il flacone del gel 2 con un flacone contenente NaOH 0,5 N.

I volumi minimi di soluzione necessari elencati di seguito riguardano soltanto il primo passaggio del lavaggio con il Metodo C (una pressurizzazione di 10 minuti con NaOH nella linea del gel 2). Se si esegue il passaggio di adescamento con NaOH delle linee dei liquidi, aggiungere 2,5 mL per ciascun adescamento abilitato:

- ≥12 mL per un capillary array da 12 capillari
- ≥27 mL per un capillary array da 48 capillari
- ≥43 mL per un capillary array da 96 capillari

## NOTA

In assenza di problemi di contaminazione e se si utilizza il Metodo C per favorire il ripristino delle prestazioni dei capillari, è possibile saltare i passaggi di adescamento 3 e 4 e proseguire immediatamente con il passaggio 5.

- 3 Dal menu **Utilities** (Utilità), selezionare **Prime** (Adescamento). Selezionare le caselle di controllo accanto alle linee da adescare. Per la decontaminazione, si consiglia di eseguire l'adescamento di tutte e tre le linee dei liquidi. Ogni linea che deve essere adescata con NaOH può essere collocata in un unico flacone di NaOH 0,5 N senza avvitare il tappo. Questa operazione è più semplice rispetto a riempire con NaOH tre flaconi separati.
- 4 Selezionare **OK** per sottoporre ad adescamento con NaOH le linee dei liquidi scelte.
- 5 Collocare un flacone nuovo con soluzione di condizionamento fresca nella posizione della soluzione di condizionamento.

I volumi minimi di soluzione necessari riguardano soltanto il secondo passaggio del lavaggio con il Metodo C (una pressurizzazione di 10 minuti con la soluzione di condizionamento nella linea di condizionamento). Assicurarsi di aggiungere almeno altri 2,5 mL di soluzione di condizionamento a questa linea se si esegue un passaggio di adescamento prima del lavaggio.

Volumi minimi di soluzione:

- ≥12 mL per un capillary array da 12 capillari
  - ≥27 mL per un capillary array da 48 capillari
  - ≥43 mL per un capillary array da 96 capillari
- 6 Dalla scheda **Operation** (Funzionamento) nella schermata principale, selezionare **Add to queue** (Aggiungi alla coda) nel menu dei comandi Capillary Array - Conditioning (Capillary Array - Condizionamento).
  - 7 Dalla finestra **Select Conditioning Method** (Seleziona metodo di condizionamento), selezionare **Method C Flush - 0.5 N NaOH - 10 min 200 psi.mthdc** dal menu a discesa.
  - 8 Selezionare **Edit** (Modifica) per assicurarsi che i parametri del metodo corrispondano a quelli mostrati in **Figura 97**.

Conditioning Method: Method C Flush - 0.5 N NaOH - 10 min 200 psi

<input checked="" type="checkbox"/> Step #1	Solution	Gel 2		
Fill pressure	200	PSI	Time	10.0 min.
Flow rate	200	µL/s	Tray	Waste
			Row	A
<input checked="" type="checkbox"/> Step #2	Solution	Conditioning		
Fill pressure	200	PSI	Time	10.0 min.
Flow rate	200	µL/s	Tray	Waste
			Row	A
<input type="checkbox"/> Step #3	Solution	Conditioning		
Fill pressure	0	PSI	Time	1.0 min.
Flow rate	1	µL/s	Tray	Waste
			Row	A

Ok Cancel

Restore defaults

**Figura 97** Parametri di condizionamento di **Method C Flush - 0.5 N NaOH - 10 min 200 psi.mthdc**

**9** Se necessario, regolare il metodo come indicato in **Figura 97** (su uno strumento a 96 capillari non è possibile selezionare Row (Riga)).

**10** Selezionare **OK**.

**11** Selezionare nuovamente **OK** per aggiungere il metodo alla coda dei metodi.

#### NOTA

La fase di immersione delle punte in NaOH di questa procedura di pulizia è molto importante per rimuovere la contaminazione presente sulle punte dei capillari, in particolare la contaminazione da ribonucleasi potenzialmente presente se si utilizzano sia kit per RNA sia kit per DNA.

**12** Aprire il cassetto di scarico (secondo cassetto dall'alto) e collocare sul supporto per piastra una piastra a 96 pozzetti profondi riempita con 0,6 mL per pozzetto di NaOH 0,5 N nella riga A per un capillary array da 12 capillari, nelle righe A-D per un capillary array da 48 capillari o in tutti i 96 pozzetti per un capillary array da 96 capillari.

**13** Chiudere lo sportello del comparto laterale dello strumento e selezionare l'icona di avvio verde dalla coda dei metodi per eseguire il metodo di condizionamento dei capillari.

**14** Una volta completato il metodo di condizionamento del capillary array, aprire il cassetto di scarico e rimuovere la piastra a 96 pozzetti profondi. Controllare il volume di soluzione presente in ciascuno dei pozzetti.

I pozzetti del vassoio per gli scarti saranno pieni. Assicurarsi che in tutti i pozzetti sia presente una quantità simile di scarti.

**15** Svuotare la piastra a 96 pozzetti profondi nell'opportuna area di smaltimento degli scarichi acquosi e riportarla nel cassetto di scarico (secondo cassetto dall'alto).

**ATTENZIONE**

**La soluzione di NaOH 0,5 N è corrosiva.**

**La soluzione di NaOH 0,5 N può danneggiare il capillary array.**

- ✓ **Una volta portati a termine i protocolli di pulizia, eseguire un lavaggio di condizionamento completo (con gel nell'ultimo passaggio) o passare al successivo metodo di separazione. Il gel di separazione è il reagente ottimale da tenere all'interno dei capillari per periodi prolungati.**

**NOTA**

Nei casi in cui si consigliano i lavaggi di condizionamento, è importante utilizzare la soluzione di condizionamento alla concentrazione 1x. L'uso di un reagente diverso dalla soluzione di condizionamento per preparare i capillari può compromettere la qualità della separazione.

## Lavaggio di condizionamento prolungato

In caso di ritardo della migrazione o di migrazioni poco definite, eseguire un lavaggio di condizionamento prolungato della durata di 10–20 minuti oltre al lavaggio con il Metodo C.

Questo metodo non è preimpostato ma può essere aggiunto manualmente.

- 1 Andare al menu **Capillary Array > Conditioning Edit Method** (Capillary Array > Condizionamento, Modifica metodo).
- 2 Collocare un volume sufficiente di *soluzione di condizionamento* nella posizione corrispondente.
- 3 Assicurarsi che nella posizione di *scarico* sia presente una vaschetta vuota.
- 4 Aggiungere alla coda il metodo con soltanto la soluzione di condizionamento per 10–20 minuti.
- 5 Eseguire il metodo.

### NOTA

Questa procedura potrebbe cambiare le impostazioni predefinite del metodo di condizionamento che si sta modificando (condizionamento predefinito, Metodo A, ecc.).

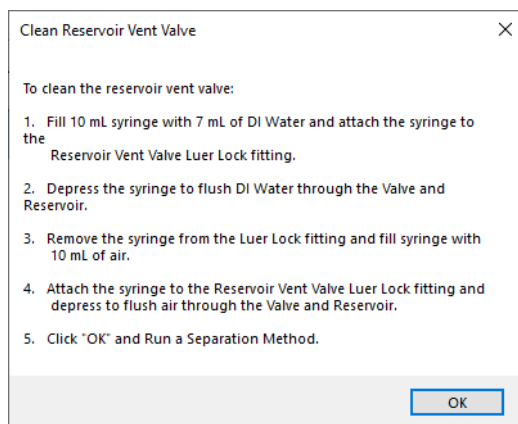
Se non si conoscono le impostazioni originali, fare clic su **Restore Defaults** (Ripristina impostazioni predefinite) prima del successivo utilizzo di questi metodi di condizionamento.

## Pulizia della valvola di spurgo del serbatoio

Con l'andare del tempo la valvola di spurgo del serbatoio può intasarsi e dover essere sottoposta a interventi di pulizia. Lo strumento Fragment Analyzer è dotato di siringa e raccordo Luer Lock della valvola di spurgo del serbatoio, che consentono di lavare la valvola tramite il comando **Clean Reservoir Vent Valve** (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio) dal menu **Utilities** (Utilità).

- 1 Dal menu **Utilities** (Utilità), selezionare **Clean Reservoir Vent Valve** (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio).

Si apre la finestra **Clean Reservoir Vent Valve** (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio) (**Figura 98**).



**Figura 98** Finestra Clean Reservoir Vent Valve (Pulisci valvola di spurgo del serbatoio).

- 2 Seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo per pulire la valvola di spurgo del serbatoio.

### NOTA

Quando si esegue il lavaggio consigliato della valvola di spurgo, talvolta può essere necessario effettuare la procedura di lavaggio più di una volta. Riempire più siringhe con acqua prima del lavaggio finale con aria può favorire la frammentazione di eventuali detriti nella valvola. Inoltre, in casi particolarmente difficili, può essere consigliato includere nel lavaggio una soluzione di NaOH 0,5 N prima del lavaggio con acqua e aria.

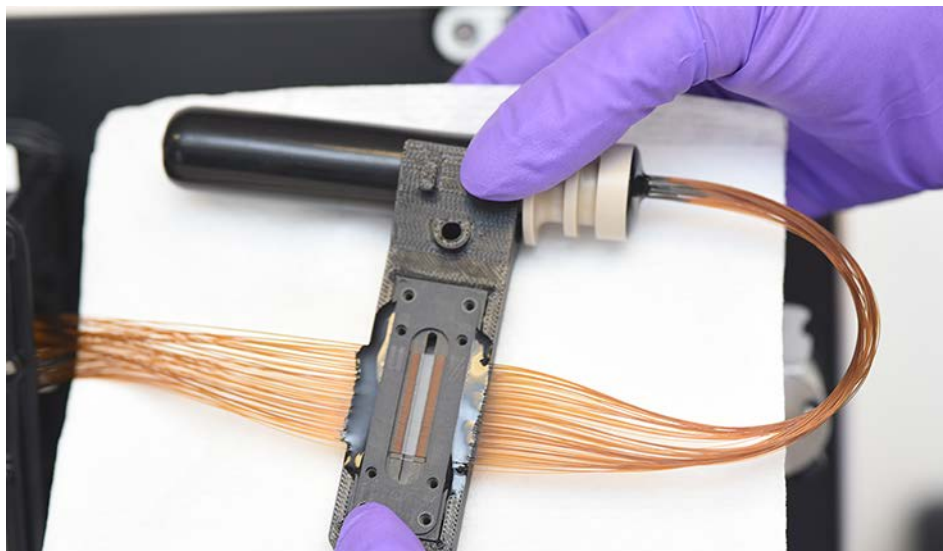
## Pulizia della finestra del capillary array

- 1 Aprire lo sportello laterale e la calotta dello strumento Fragment Analyzer.
- 2 Rimuovere la guida di luce dalla finestra dell'array.
- 3 A finestra asciutta, usare un pennellino in nylon o una salvietta Kim-Wipe per rimuovere delicatamente la polvere dalla finestra. Spazzolare la finestra da sinistra a destra o da destra a sinistra, ma non verso l'alto e il basso.

**NOTA**

La polvere sui capillari in genere si deve all'adesione statica ed è possibile rimuoverla piuttosto facilmente eseguendo questo passaggio. Se è necessaria una pulizia più profonda, procedere con i passaggi 4–9.

- 4 Rimuovere l'estremità del fascio del capillary array utilizzando l'attrezzo di rimozione del fascio del capillary array. Collocare il fascio nella copertura di protezione in dotazione.
- 5 Rimuovere la finestra del capillary array dal relativo supporto. Non toccare la finestra dell'array.
- 6 Collocare un panno di carta dietro la finestra del capillary array come mostrato in **Figura 99**.



**Figura 99** Finestra del capillary array poggiata su un panno di carta

- 7 Utilizzando una spruzzetta riempita con una soluzione di etanolo o isopropanolo al 70%, spruzzare delicatamente la finestra del capillare array.
- 8 Usare un pennellino in nylon per spazzolare delicatamente i capillari in un'unica direzione mentre sono ancora bagnati. In alternativa è possibile utilizzare una salvietta Kim-Wipe per asciugare tamponando la finestra dell'array.

**NOTA**

È importante lasciar asciugare all'aria i capillari prima di ricollegare la guida di luce. La guida di luce può far evaporare la soluzione di alcol che quindi può condensarsi sul filtro in vetro dietro la finestra dell'array.

- 9 Rimontare la finestra del capillary array, il fascio e la guida di luce.
- 10 Eseguire una separazione sullo strumento Fragment Analyzer.
- 11 Al termine, controllare l'allineamento dei capillari andando a **Utilities > Capillary alignment** (Utilità > Allineamento dei capillari). Ripetere l'allineamento se necessario.

## Conservazione a lungo termine del capillary array

Per conservazione a lungo termine si intende un periodo di inutilizzo di durata superiore a due settimane. Esistono due metodi per la conservazione a lungo termine del capillary array.

- Lasciare il capillary array installato nello strumento (consigliato nella maggior parte dei casi).

Sostituire mensilmente la soluzione per conservazione capillari; in climi più secchi potrebbe essere necessario sostituire la soluzione per conservazione capillari con maggiore frequenza, ossia ogni una–due settimane.

- Utilizzare la stazione di alloggiamento dell'array esterna in dotazione con tutti i nuovi strumenti Fragment Analyzer disponibile nel kit di accessori dello strumento.

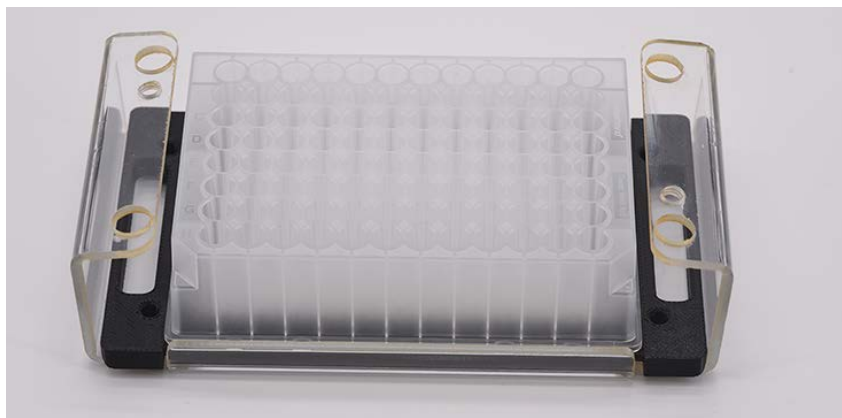
### Utilizzo della stazione di alloggiamento dell'array

- 1 Rimuovere il capillary array dallo strumento. Fare riferimento al **Capitolo 10**, "Fragment Analyzer Capillary Array" per istruzioni dettagliate.
- 2 Collocare la base per vassoio all'interno della stazione di alloggiamento dell'array come mostrato in **Figura 100**.



**Figura 100** Stazione di alloggiamento dell'array con base per vassoio installata

- 3** Collocare un vassoio a 96 pozzetti profondi (codice Agilent P60-20 o codice Fisher 12-566-120) nella stazione di alloggiamento dell'array con la base per vassoio (**Figura 101**).
- Capillary array da 12 capillari: riempire solo la riga A con 1,0 mL di soluzione di conservazione.
  - Capillary array da 48 capillari: riempire solo le righe A-D con 1,0 mL di soluzione di conservazione.
  - Capillary array da 96 capillari: riempire tutti i pozzetti con 1,0 mL di soluzione di conservazione.



**Figura 101** Stazione di alloggiamento dell'array con vassoio a 96 pozzetti profondi

## Manutenzione e risoluzione dei problemi

### Conservazione a lungo termine del capillary array

- 4 Collocare il capillary array nella stazione di alloggiamento dell'array servendosi dei quattro fori per le gambe come guide. Nel caso dei capillary array da 12 e 48 capillari, assicurarsi che le punte dei capillari si trovino nel lato del vassoio contenente la soluzione di conservazione, anziché esposte all'aria.
- 5 Inserire le due viti bianche come mostrato in **Figura 102** per serrare in posizione il capillary array.



**Figura 102** Stazione di alloggiamento dell'array con capillary array installato

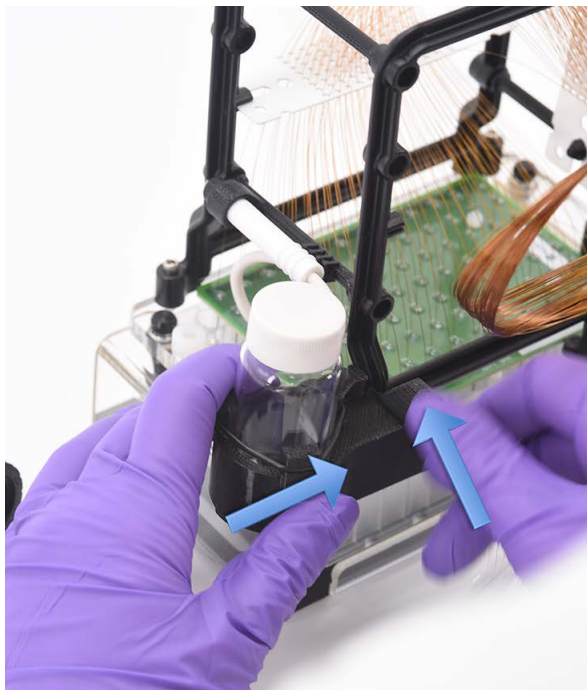
- 6 Riempire il vial in vetro in dotazione con 20 mL di soluzione per conservazione capillari e collocarlo nel dispositivo di conservazione del fuso dell'array.



**Figura 103** Dispositivo di conservazione del fuso dell'array; il vial dell'esempio non contiene soluzione di conservazione

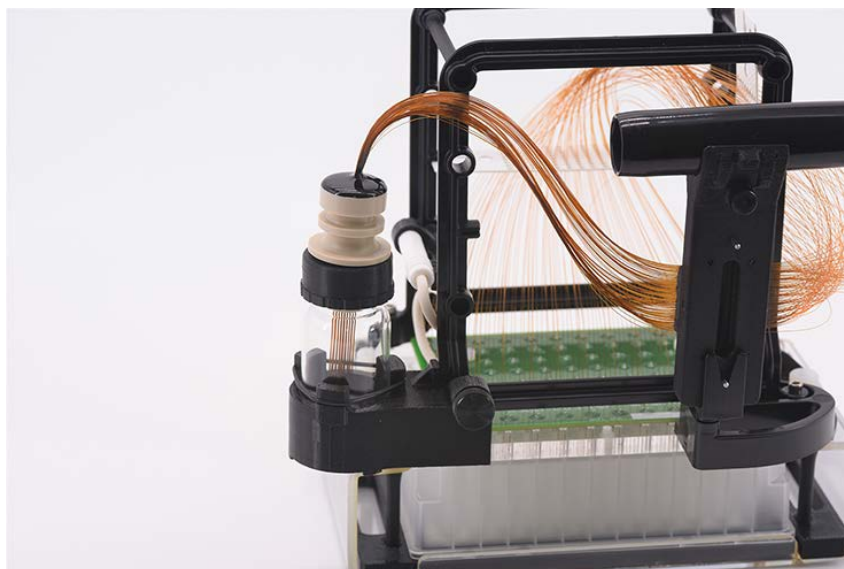
- 7 Inserire il dispositivo di conservazione del fuso dell'array sul braccio laterale del capillary array, situato a sinistra della finestra del capillary array, e avvitare in sede la vite di serraggio come mostrato in **Figura 104**.

Vedere la **Figura 105** per un'immagine completa dell'array con installato il dispositivo di conservazione del fuso dell'array.



**Figura 104** Installazione del dispositivo di conservazione del fuso dell'array

- 8 Rimuovere il fuso in uscita del capillary array dal tappo di conservazione nero e collocarlo nel dispositivo di conservazione del fuso dell'array come mostrato in **Figura 105**.



**Figura 105** Stazione di alloggiamento dell'array con array installato

- 9 Sostituire mensilmente la soluzione per conservazione capillari; in climi più secchi potrebbe essere necessario sostituire la soluzione di conservazione con maggiore frequenza, ossia ogni una–due settimane.

#### NOTA

A seconda delle dimensioni del capillary array sono disponibili due tappi di dimensioni diverse per il vial in vetro sul dispositivo di conservazione del fuso dell'array. Il tappo con un'apertura più piccola è utilizzato per i capillary array da 12 capillari; quello con l'apertura più grande per i capillary array da 48 o 96 capillari.

5400 Fragment Analyzer System	159
Assegnazioni dei cassettei	160
Considerazioni importanti sul sistema e sul flusso di lavoro	161
5400 Fragment Analyzer: analisi dei dati automatizzata	164
5400 Fragment Analyzer: specifiche di comunicazione	165
5400 Fragment Analyzer: configurazione per l'automazione	166
5400 Fragment Analyzer: comandi di automazione e messaggi di errore	169
5400 Fragment Analyzer: modalità di simulazione	172
5400 Fragment Analyzer: esempio di sequenza operativa	174
5400 Fragment Analyzer: assistenza tecnica	175

**NOTA**

In questo capitolo vengono fornite informazioni aggiuntive su codici, procedure di manutenzione e impostazioni del sistema.

## 5400 Fragment Analyzer System

Questo capitolo riguarda esclusivamente i clienti che hanno acquistato il 5400 Fragment Analyzer System.

Il modello 5400 Fragment Analyzer è progettato per consentire a un sistema robotico esterno di interfacciarsi con il Fragment Analyzer. Ciascun singolo cassetto del 5400 Fragment Analyzer System viene espulso o reintrodotto tramite comandi seriali remoti. Tutti i metodi, le fasi di condizionamento e i movimenti del piatto del Fragment Analyzer possono essere controllati tramite comandi remoti, il che consente un prolungato funzionamento senza operatore dello strumento.

Il 5400 Fragment Analyzer System può inoltre essere utilizzato in modalità di funzionamento normale come Fragment Analyzer autonomo. Per l'uso nella modalità autonoma non sono richiesti né una configurazione specifica né comandi speciali; è sufficiente utilizzare il sistema come un Fragment Analyzer standard. Tenere presente, tuttavia, che vi sono alcune lievi differenze nelle assegnazioni dei cassette dello strumento rispetto a un Fragment Analyzer standard; tali differenze sono descritte nelle sezioni che seguono.

### NOTA

Le informazioni riportate nella sezione **5400 Fragment Analyzer System** sono valide anche per questo sottotipo di Fragment Analyzer.

## Assegnazioni dei cassettei

Il 5400 Fragment Analyzer System possiede specifiche assegnazioni dei cassettei, come mostrato di seguito in **Figura 106**.

I cassettei sono contrassegnati dall'alto in basso come segue:

- B (soluzione tampone)
- W (scarico)
- M (marcatore; utilizzato anche come cassetto di risciacquo con i kit quantitativi Fragment Analyzer)
- S (conservazione)
- 1 (vassoio portacampioni 1; unico cassetto per il caricamento delle piastre per campioni)



**Figura 106** Punti di accesso del Fragment Analyzer System

## Considerazioni importanti sul sistema e sul flusso di lavoro

In questa sezione sono trattati alcuni aspetti importanti del funzionamento del 5400 Fragment Analyzer System da tenere in considerazione quando si configurano i flussi di lavoro sperimentali nel sistema.

### Informazioni sulle piastre per tampone

Il 5400 Fragment Analyzer System utilizza le stesse specifiche piastre per tampone a 96 pozzetti profondi (altezza 31 mm) utilizzate sullo strumento Fragment Analyzer. Le piastre possono essere acquistate da Fisher Scientific o direttamente da Agilent. Con lo strumento deve essere utilizzata questa specifica piastra (due piastre sono fornite al momento dell'installazione).

Tabella 25 Elenco di piastre per tampone

Articolo	Fornitore approvato/codice	Descrizione
Piastra a 96 pozzetti per tampone	Fisherbrand codice 12-566-120	Micropiastre in polipropilene a 96 pozzetti profondi Fisherbrand; capacità pozzetto: 1 mL
	Agilent codice P60-20	Vassoio del tampone a 96 pozzetti Fragment Analyzer, confezione da 50

### Informazioni sulle piastre per gli scarti

Il 5400 Fragment Analyzer System utilizza uno specifico serbatoio aperto in polipropilene come piastra per gli scarti. Questa piastra offre una robusta struttura per la manipolazione robotica e, allo stesso tempo, un volume sufficiente per cicli di analisi ripetuti prima dello svuotamento/della sostituzione.

**Tabella 26** Elenco di piastre per gli scarti

Articolo	Fornitore approvato/codice	Descrizione
Piastre per gli scarti	Seahorse Bioscience codice 200686-100 oppure Fisher Scientific codice NC0254486	Serbatoio in polipropilene a singola cavità Seahorse, 170 mL, geometria della base a 12 colonne, altezza 30,6 mm, confezione da 25

### Informazioni sulle piastre per campioni

Il 5400 Fragment Analyzer System è configurato per essere compatibile esclusivamente con micropiastre per PCR con bordo completo. Si devono utilizzare le stesse piastre per il campione, la soluzione di marcatore/risciacquo e conservazione. Di seguito sono elencate le piastre attualmente disponibili.

**Tabella 27** Elenco di piastre per PCR

Articolo	Fornitore approvato/codice	Descrizione
Piastre per PCR per campione/marcatore/conservazione (con bordo completo)	Eppendorf codice 951020401 (vari colori)	Piastre per PCR Eppendorf* twin.tec* a 96 pozzetti, con bordo completo

#### NOTA

L'uso di piastre per PCR aventi dimensioni differenti rispetto alle piastre sopra consigliate potrebbe ridurre la qualità e l'uniformità delle iniezioni. Sono inoltre possibili danni alle punte della capillary array cartridge.

### Intervalli di sostituzione delle piastre per tampone, scarti, marcatore/risciacquo e conservazione

Quando si utilizza il 5400 Fragment Analyzer System nella modalità di controllo robotico senza operatore si consiglia di sostituire le piastre ai seguenti intervalli (l'operazione può essere eseguita manualmente o con un robot):

- **Piastra per tampone, metodi/kit per DNA:** aggiungere un volume iniziale di 1,0 mL/pozzetto alla piastra per tampone. Il tampone nel relativo vassoio deve essere sostituito una volta ogni 24 ore o una volta ogni 24 analisi (a seconda della condizione che si verifica per prima).
- **Piastra per tampone, metodi/kit per RNA:** aggiungere un volume iniziale di 1,0 mL/pozzetto alla piastra per tampone. Poiché tutti i metodi per RNA pompano matrice di gel nel vassoio del tampone, il tampone nel relativo vassoio deve essere sostituito una volta ogni otto analisi.
- **Piastra per gli scarti:** il vassoio per gli scarti deve essere svuotato al massimo ogni sei analisi.
- **Piastra di risciacquo (kit quantitativi):** collocare nella piastra di risciacquo un volume pari a 200 µL/pozzetto. La piastra di risciacquo deve essere sostituita ogni 24 ore.
- **Piastra del marcatore (kit qualitativi):** fare riferimento al manuale del kit di analisi corrispondente per indicazioni sulla preparazione delle piastre e sugli intervalli di utilizzo.
- **Piastra di conservazione:** il vassoio di conservazione deve essere riempito con 100 µL/pozzetto di soluzione per conservazione capillari, codice Agilent GP-440-0100. La piastra di conservazione deve essere sostituita almeno una volta al mese; una sostituzione più frequente (ogni una-due settimane) può essere necessaria qualora si operi in ambienti caldi o caratterizzati da bassa umidità.

#### NOTA

Le piastre per il tampone e gli scarti, in particolare, devono essere sostituite attenendosi agli intervalli suggeriti per prevenire il potenziale traboccamento e danni alla capillary array cartridge o allo strumento.

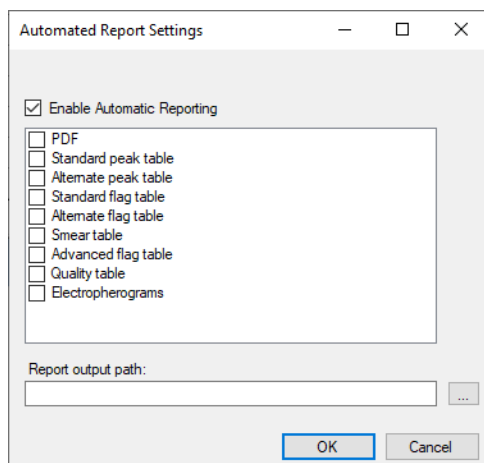
## 5400 Fragment Analyzer: analisi dei dati automatizzata

Il software 5400 Fragment Analyzer include gli strumenti necessari per eseguire l'analisi dei dati automatizzata post-analisi, in maniera analoga al Fragment Analyzer System.

### Attivare le funzioni di analisi dei dati automatizzata

- 1 Dal menu principale, selezionare **Administration-Results Report Setup** (Amministrazione-Configurazione report risultati).

Viene visualizzata la finestra **Automated Report Settings** (Impostazioni report automatici) (**Figura 107**).



**Figura 107** Finestra Automated Report Settings (Impostazioni report automatici) del 5400 Fragment Analyzer

- 2 Selezionare **Enable Automatic Reporting** (Abilita report automatici) per attivare la funzione di analisi dei dati automatizzata.
- 3 Selezionare i tipi di report da generare contrassegnando la casella opportuna nel menu (per esempio se si seleziona **PDF** viene generato automaticamente un report PDF post-analisi).

#### NOTA

Il report, i campi esportati o le impostazioni utilizzate in **Result output path** (Percorso di output dei risultati) corrispondono a quelli salvati per ultimi nel programma di analisi dei dati ProSize.

Le impostazioni dell'analisi dei dati automatizzata devono essere configurate una sola volta nel software durante il processo di integrazione robotica. Fare riferimento al **Capitolo 12**, "Fragment Analyzer: analisi automatizzata" per ulteriori informazioni su come eseguire l'analisi dei dati automatizzata.

## 5400 Fragment Analyzer: specifiche di comunicazione

Il 5400 Fragment Analyzer System può essere interfacciato a un sistema di manipolazione robotica delle piastre tramite una porta seriale o una porta TCP/IP. Le relative specifiche sono elencate di seguito.

### Comunicazione tramite porta seriale

Il sistema di gestione campioni robotico host comunica con il computer del 5400 Fragment Analyzer tramite una porta di comunicazione seriale utilizzando le seguenti impostazioni per la porta seriale:

<b>Baud rate</b>	9.600
<b>Bit di dati</b>	8
<b>Parità</b>	Nessuno
<b>Bit di stop</b>	1
<b>Controllo del flusso</b>	Nessuno

### Comunicazione tramite porta TCP/IP

Il sistema di gestione campioni robotico host comunica con il computer del 5400 Fragment Analyzer tramite una porta di comunicazione TCP/IP utilizzando le seguenti impostazioni:

<b>Indirizzo IP</b>	Utilizzare l'indirizzo IP del computer del 5400 Fragment Analyzer
<b>Numero di porta</b>	3000 (consigliata)

Poiché il sistema richiede l'accesso a livello Amministratore per impostare l'indirizzo IP, il computer del 5400 Fragment Analyzer deve essere configurato con un indirizzo IP statico.

## 5400 Fragment Analyzer: configurazione per l'automazione

### Configurare il sistema per il funzionamento automatizzato

- 1 Aprire il software Fragment Analyzer.
- 2 Andare a **Configuration > Device Settings** (Configurazione > Impostazioni dispositivo) nel menu a discesa **Administrator** (Amministratore).
- 3 Assicurarsi che il tipo di strumento elencato sia il 5400 Fragment Analyzer. Se necessario, modificarlo in questo tipo e confermare che il numero di serie corrisponda a quello riportato sull'etichetta dello strumento.
- 4 Se si è modificato il tipo di strumento:
  - a Salvare eventuali modifiche.
  - b Chiudere e riaprire il software.
- 5 Dal menu **Administration** (Amministrazione), selezionare **Configuration** (Configurazione).  
Si apre la finestra **Configuration Settings** (Impostazioni di configurazione) (**Figura 108**).
- 6 Selezionare la scheda **Automation** (Automazione).

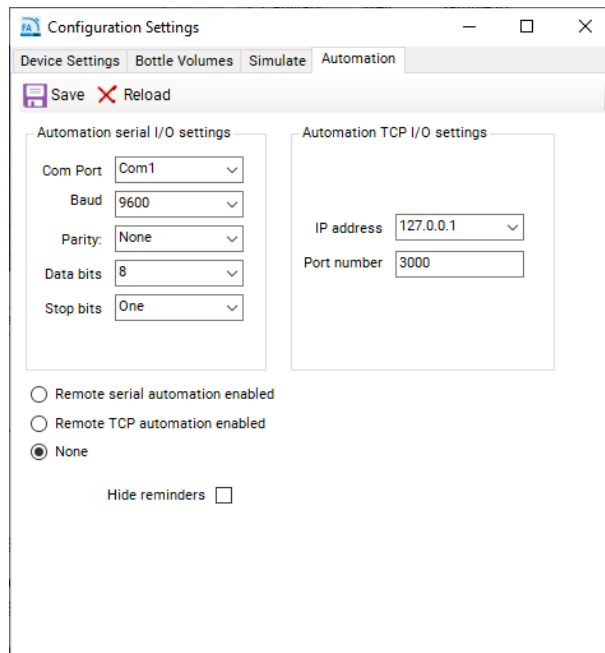


Figura 108 Menu di configurazione Automation (Automazione) del 5400 Fragment Analyzer

- 7 Per abilitare la comunicazione tramite porta seriale, selezionare **Remote serial automation enabled** (Automazione seriale remota abilitata) e assicurarsi che i parametri siano impostati su quelli specificati nella sezione **“5400 Fragment Analyzer: specifiche di comunicazione”** a pagina 165 e mostrati in **Figura 108**.
- 8 Selezionare la porta Com adeguata (in genere Com1).

#### NOTA

Le seguenti porte Com non devono essere utilizzate in quanto sono già assegnate sul 5400 Fragment Analyzer System:

- Com3 (alta tensione)
- Com4 (trasduttore di pressione)
- Com5 (pompa); Com6 (piatto)

- 9 Se si utilizza TCP, selezionare **Remote TCP automation enabled** (Automazione TCP remota abilitata) e impostare il computer per l'uso di un indirizzo IP statico in quanto gli indirizzi IP dinamici potrebbero non consentire una comunicazione uniforme con il 5400 Fragment Analyzer System.
- 10 Per disabilitare l'automazione remota, selezionare **None** (Nessuna).

**NOTA**

Anche se è abilitata l'automazione seriale o l'automazione TCP, il 5400 Fragment Analyzer può essere utilizzato come sistema autonomo senza interfaccia robotica (ossia può essere usato come un normale strumento Fragment Analyzer).

- 
- 11** Una volta immesse le impostazioni opportune, selezionare **Save** (Salva) per applicarle e chiudere la finestra.

## 5400 Fragment Analyzer: comandi di automazione e messaggi di errore

I comandi in assenza di un sistema robotico possono essere testati tramite una qualsiasi delle numerose applicazioni di emulazione di terminali, per esempio Tera Term o Hercules.

- Tera Term: <https://github.com/TeraTermProject/teraterm/releases>
- Hercules: [http://www.hw-group.com/products/hercules/index\\_en.html](http://www.hw-group.com/products/hercules/index_en.html)

Tutti i comandi sono inviati come testo ASCII e terminano con un ritorno a capo (ASCII 13) o una nuova riga (ASCII 10). I comandi non distinguono tra maiuscole e minuscole.

Quando il Fragment Analyzer riceve un comando valido, restituisce una **conferma** costituita da un asterisco (\*) seguito dal comando riconosciuto. Una volta eseguito un comando di spostamento, il Fragment Analyzer restituisce la stringa **\*COMPLETE (\*COMPLETO)**. Se il comando di esecuzione non riesce per qualsiasi motivo viene restituita la stringa **!4, Command failed**.

L'applicazione 5400 Fragment Analyzer riconosce i seguenti comandi elencati nella **Tabella 28**.

Tabella 28 Comandi del 5400 Fragment Analyzer

Command	Funzione	Esempio
STATUS	Recuperare lo stato dell'analisi. Lo stato può includere quanto segue: Ready (Pronto), Running (In esecuzione) ed Error (Errore)	Invio: status Ricezione: *STATUS: Ready (Pronto)
OUT	Espellere il vassoio portacampioni (cassetto 1).	Invio: out Ricezione: *OUT Ricezione: *COMPLETE <b>Nota:</b> il Fragment Analyzer sposta il vassoio portacampioni (cassetto 1) nella posizione esterna, purché non sia in funzione quando riceve il comando.
OUT#	Espellere il vassoio selezionato, in cui # indica il numero del vassoio, numerato dall'alto verso il basso: 1 = tampone (cassetto B) 2 = scarico (cassetto W) 3 = marcatore (cassetto M) 4 = conservazione (cassetto S) 5 = campione (cassetto 1)	Invio: out1 Ricezione: *OUT1 Ricezione: *COMPLETE <b>Nota:</b> il Fragment Analyzer sposta il vassoio del tampone (cassetto B) nella posizione esterna, purché non sia in funzione quando riceve il comando.
STORE	Spostare il vassoio della soluzione per conservazione capillari (situato nel cassetto S) nel capillary array. <b>Nota:</b> quando non sono utilizzati, i capillari devono essere sempre alloggiati nella soluzione per conservazione capillari per evitare che le punte degli stessi si asciughino.	Invio: store Ricezione: *STORE Ricezione: *COMPLETE <b>Nota:</b> il Fragment Analyzer sposta il vassoio di conservazione nel capillary array.
TRAY	Specifica il nome del vassoio per l'analisi successiva.	Invio: tray agilent0216A Ricezione: *TRAY <b>Nota:</b> il Fragment Analyzer imposta il nome del vassoio su <b>agilent0216A</b> e carica i nomi dei campioni se per tale vassoio trova un file .txt o .csv del nome dei campioni nella directory C:\AATI\Samples. Fare riferimento al <b>Capitolo 11</b> , "Fragment Analyzer: immissione dei nomi dei campioni" per ulteriori informazioni.
ANALISI	Eseguire il metodo di separazione specificato di Fragment Analyzer. Il comando di esecuzione deve essere seguito da uno spazio a sua volta seguito dal nome del metodo da eseguire.	Invio: run DNF-930-33 - DNA 75-20000bp.mthds Ricezione: *RUN Ricezione: *COMPLETE <b>Nota:</b> il Fragment Analyzer avvia l'esecuzione del metodo di separazione <b>DNF-930-33</b> . Deve essere presente un file valido da eseguire per il metodo di separazione.
CAL	Eseguire e creare il file di calibrazione delle dimensioni (.scal) specificato nel programma di analisi dei dati ProSize. Il file specificato viene scritto nella cartella delle calibrazioni.	Invio: cal DNF-930-33 - DNA 75-20000bp.mthds, calfile.scal Ricezione: *CAL Ricezione: *COMPLETE <b>Nota:</b> il Fragment Analyzer esegue il metodo di separazione specificato e restituisce il file .scal specificato denominato <b>calfile.scal</b> .

Command	Funzione	Esempio
LAD-FILE	Utilizzare il file del ladder di calibrazione delle dimensioni (.scal) specificato per le analisi successive.	Invio: lad-file calfile.scal Ricezione: *LAD-FILE Nota: il file .scal specificato viene utilizzato come riferimento per il ladder di calibrazione delle dimensioni. L'utilizzo di un file di calibrazione delle dimensioni creato in precedenza consente l'uso di tutti i 96 pozzetti per i campioni di una piastra per campioni. Affinché i risultati del dimensionamento siano validi si devono utilizzare lo stesso metodo di separazione e gli stessi parametri dell'analisi per la calibrazione e per le successive piastre per campioni.
ABORT	Utilizzato per interrompere un'analisi.	Invio: abort Ricezione: *ABORT: Running Ricezione: !10, ABORTED: remote abort command <b>Nota:</b> l'interruzione del metodo può richiedere un minuto.

L'applicazione 5400 Fragment Analyzer restituisce i seguenti messaggi di errore elencati nella **Tabella 29**.

**Tabella 29 Comandi di gestione degli errori del 5400 Fragment Analyzer**

Comando	Descrizione
!1, Invalid command	Il comando ricevuto non è stato riconosciuto.
!2, No method	Il comando di esecuzione è stato ricevuto senza un metodo.
!3, Method not found	Il comando di esecuzione specificava un metodo non presente nell'opportuna directory dei metodi. Assicurarsi che il metodo di separazione sia presente nella directory C:\Agilent\Methods\33cm se si utilizza un array da 33 cm o nella cartella C:\Agilent\Methods\55cm se si utilizza un array da 55 cm.
!4, Command failed	Un comando di esecuzione non è riuscito per qualche motivo.
!5, Low solution	Non è stato possibile eseguire un comando di esecuzione a causa dei livelli delle soluzioni: gel o soluzione di condizionamento insufficienti o fiasco di scarico pieno.
!6, Stage error	L'analisi non è riuscita a causa di un errore di posizione del piatto.
!7, Pump command error	L'analisi non è riuscita a causa di un errore di posizione della pompa.
!8, Pressure error	L'analisi non è riuscita a causa dell'incapacità di aumentare la pressione durante un'operazione di pompaggio.
!9, Camera Connection error	L'analisi non è riuscita poiché è stato riscontrato un errore di connessione della fotocamera.
!10, Other	L'analisi non è riuscita a causa di un errore di altro tipo. È riportato anche un messaggio di errore.

## 5400 Fragment Analyzer: modalità di simulazione

A scopi dimostrativi e di test è possibile simulare le funzioni tipiche del 5400 Fragment Analyzer System senza un capillary array installato e/o senza pompare fluidi attraverso il sistema. Il software consente di simulare singoli componenti (per esempio piatto, pompa, valvole, ecc.) o il funzionamento dello strumento nel suo complesso.

### Abilitare il sistema 5400 per la simulazione del funzionamento

- 1 Aprire il software di controllo Fragment Analyzer e assicurarsi che il tipo di strumento sia elencato come 5400 Fragment Analyzer.
- 2 Dal menu **Administration** (Amministrazione), selezionare **Configuration** (Configurazione).

Si apre la finestra **Configuration Settings** (Impostazioni di configurazione).

- 3 Selezionare la scheda **Simulate** (Simula) **Figura 109**.

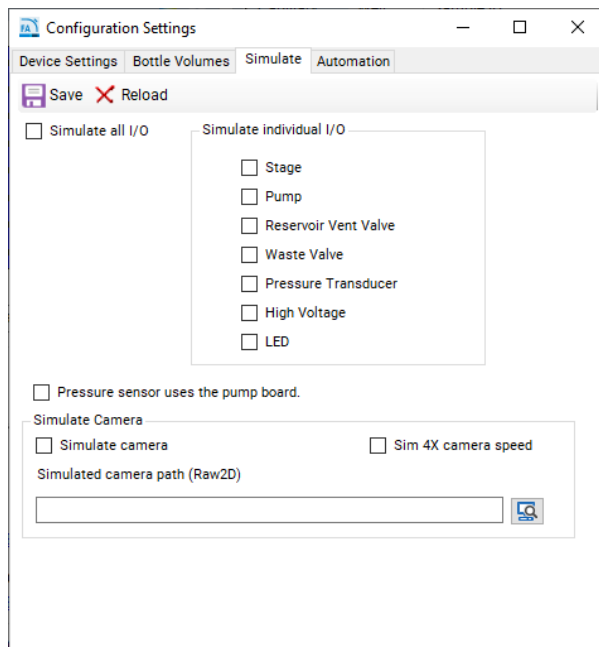


Figura 109 Menu di configurazione Simulate (Simula) del 5400 Fragment Analyzer

- 4 Per simulare la funzionalità di uno o più singoli componenti, selezionare la casella di controllo accanto ai componenti pertinenti in **Simulate Individual I/O** (Simula singoli I/O). Per abilitare la simulazione di tutti i componenti, selezionare **Simulate all I/O** (Simula tutti gli I/O). Per simulare la fotocamera, selezionare la casella **Simulate camera** (Simula fotocamera). L'impostazione **Pressure sensor uses the pump board** (Il sensore della pressione utilizza la scheda della pompa) in genere non è selezionata e riguarda esclusivamente gli strumenti Fragment Analyzer meno recenti (numero di serie <2600).

In **Figura 109** sono simulati tutti i singoli componenti con l'eccezione del meccanismo del piatto, il che consente di testare il movimento del piatto mentre si simulano il pompaggio e i metodi di separazione ad alta tensione.

- 5 Premere **Save** (Salva) per applicare le modifiche.

## 5400 Fragment Analyzer: esempio di sequenza operativa

Di seguito è riportato l'esempio di una sequenza operativa. Utilizzando l'elenco di comandi riportati nella **Tabella 28** è possibile programmare svariate opzioni.

### Esempio di sequenza per il 5400 Fragment Analyzer, funzionamento automatizzato

- 1 Il vassoio portacampioni preparato è pronto (2 secondi circa in tutto)
  - c Comando **Status** inviato all'API del Fragment Analyzer
  - d Messaggio dal Fragment Analyzer **\*STATUS: Ready** GOTO Step 2
  - e Messaggio dal Fragment Analyzer **\*STATUS: Busy** GOTO Step 1
- 2 Analizzare il campione
  - a Comando **Out** (20-40 secondi) inviato all'API del Fragment Analyzer
  - b Messaggio dal Fragment Analyzer **\*Complete**
  - c Il robot colloca il vassoio portacampioni sul cassetto del piatto
  - d Comando **RUN [NOME METODO]** (45–85 minuti a seconda del metodo) inviato all'API del Fragment Analyzer
    - i. Pompaggio, preanalisi sotto tensione, iniezione di campione (20-25 minuti)
    - ii. Separazione (in genere 20–60 minuti)
    - iii. Analisi dei dati e generazione di report in 3–15 minuti (a seconda dei criteri di report)
  - e Messaggio dal Fragment Analyzer **\*Complete**
  - f Comando **Status** inviato all'API del Fragment Analyzer
  - g Messaggio dal Fragment Analyzer **\*STATUS: Ready** GOTO Step 2i
  - h Messaggio dal Fragment Analyzer **!<codice errore>** Notify operator, GOTO Step 2m
  - i Comando **Out** (20-40 secondi) inviato all'API del Fragment Analyzer
  - j Messaggio dal Fragment Analyzer **\*Complete**
  - k Il robot rimuove il vassoio portacampioni
  - l Un altro campione? Sì: GOTO Step 2c; No: GOTO Step 2m
  - m Comando **Store** (20-40 secondi) inviato all'API del Fragment Analyzer
  - n Messaggio dal Fragment Analyzer **\*Complete**

## 5400 Fragment Analyzer: assistenza tecnica

Rivolgersi al proprio rappresentante delle vendite/dell'assistenza Agilent in caso di domande sul funzionamento del 5400 Fragment Analyzer System.

**NOTA**

Se si effettua l'integrazione con un sistema robotico, rivolgersi al proprio rappresentante dell'assistenza Agilent per ottenere informazioni sulle dimensioni dei cassettei del 5400 Fragment Analyzer.

**NOTA**

L'integrazione con un sistema robotico è di esclusiva responsabilità del cliente e di qualsiasi gruppo di automazione di terzi appaltato dal cliente. Rivolgersi al proprio rappresentante delle vendite/dell'assistenza Agilent per ulteriori informazioni.

## In questo manuale

Il presente manuale contiene le informazioni di sistema per i modelli 5200/5300/5400 di Fragment Analyzer.

Il manuale descrive quanto segue:

- Panoramica del sistema
- Sicurezza
- Condizioni legali e normative
- Comandi dei menu del software
- Schede del software
- Capillary array
- Immissione dei nomi dei campioni
- Analisi automatizzata
- Manutenzione e risoluzione dei problemi
- 5400 Fragment Analyzer System

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

© Agilent Technologies, Inc. 2020-2025

Publicato in Germania  
04/2025

N. documento: D0002110it Rev. C.00

