## Postup při vyhodnocování cytometrických dat:

Pokud jsou analýzy v pořádku (tzn. zřetelné píky a nevýrazné pozadí), tak je postup následovný:

V menu **Analysis** si otevřete položku **Peak analysis**, v otevřeném okně stiskněte **Fit Gauss Peaks** – software automaticky indikuje píky (alternativně lze využít ikonku na dolním panelu – č. 3). Hodnoty, které Vás zajímají, jsou podrženy červeně – násobek ke standardu (případně pokud je standard za vzorkem, jde o převrácenou hodnotu tohoto indexu, 1/x), CV vzorku a CV standardu (obojí by mělo být do 3%!!!). V našem případě je vzorek (č. 2) před standardem (č. 1), je tedy nutné hodnotu přepočítat (1/ 2,526 = 0,396), pak dostaneme poměr ke standardu.



Pokud jsou analýzy s výraznějším pozadím (šumem), je nutné použít alternativní metodu analyzování – pomocí tlačítka **4 (RN)** si přesně označíme jednotlivé píky, pod histogramem se poté objeví výsledky zvlášť pro každý pík. Poměr vzorku ke standardu je pak nutné vypočítat z hodnot **Mean-x**.



## Získané hodnoty zaznamenáváme do tabulky, tabulka by měla obsahovat:

-jméno vzorku (A)

-datum měření (B)

-násobek ke standardu (C; index)

-velikost genomu 2C v pg (D; vztahuje se index k velikosti standardu – ve druhém řádku)

-CV standardu (E)

-CV vzorku (F)

-procentuální rozdíl mezi minimální a maximální hodnotou měření daného vzorku (H; v cytometrické hantýrce tzv. Sudův vzorec – je vyznačen v obrázku ve vzorcovém řádku)

🔀 🗗 🕫 🤄 👻								Excel	
Sou	bor Domů Vložení Rozlože	ení stránky Vzorce	Data Revize Zo	brazení PDF					
Norr	nálně stránky zobrazení stránky zobrazení sešitů	ní Celá ení obrazovka	itko 🗑 Řádek vzorců ka 🗑 Záhlaví Zobrazit	Lupa 100% Pi	ejít na výběr	Uspořádat Ukotvit vše příčky *	Rozdělit Zobraz Skrýt B <sup>+</sup> Synchr Zobrazit BB Obnov Okno	tit vedle sebe conní posuv rit pozici okna Uložit praco prostor	vní Přepnout okna * Makra Makra
C1043 • ( fx									
C Lat	A	В	С	D	E	F	G	Н	T
1	2,37	3,38	1,96	9,090	26,90			Sudův vzorec	
2	Listy	označ.	datum měření	index	2C	cv standardu	cv vzorku	pg průměr	
31	XII Boswellia ameero		10.03.11	0,428	1,01	3,01	3,05	1,635514019	6
32			<mark>11.03.11</mark>	0,435	1,03	3,59	4,16	1,02	0
33			14.03.11	0,429	1,02	2,78	3,07		
34									
35	XI Boswellia dioscorides		11.03.11	0,458	1,09	2,99	3,45	0,438596491	
36	- <sup>1</sup>		14.03.11	0,456	1,08	4,06	4,73	1,08	
37			15.03.11	0,457	1,08	4,14	3,05		
38									
39	XIII Dorstenia gigas	Bellis	10.03.11	2,264	7,65	3,18	2,8	1,988510826	
40			11.03.11	2,308	7,80	4,7	4,24	7,70	
41			14.03.11	2,263	7,65	2,97	3,11		
42									
43	XIV Adenium obesum		10.03.11	0,843	2,00	3,59	3,58	0,833333333	
44			11.03.11	0,840	1,99	3,48	3,59	2,00	
45			14.03.11	0,847	2,01	3,62	4,63		
46									

## V menu Analysis – Gating Regions – Polygon Region

Na pravém horním grafu (FL vs. SSC) vyklikat jednotlivé linie jader a linie následně spojit (nejlépe jako čtyřúhelník nebo podkovu). Následně kliknout pravým myšidlem do levého histogramu – naskočí okno **Parameter Histogram**. V něm **Gating – gate**-nastavit **R1 –** pak **Apply** 





Šum se automaticky odfiltruje a píky vlevo se zanalyzují dle normálního postupu, tj. menu Analysis – Peak Analysis – Fit Gauss Peaks.