

September 2018

Rotor-Gene[®] Q MDx kasutusjuhend

IVD

CE

MAT 1114365 ET



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden , SAKSAMAA

R3



Sample & Assay Technologies

Redaktsioonialugu

Redaktsiooni nr	Muudatuse kirjeldus
R3 09/2018	Microsoft Windows XP jaoks mõeldud juhised asendati Windows 10 jaoks mõeldus juhistega. Lisati Windows 7 turvaseadete konfigureerimisvalikud. Muudeti viirusetõrjeskannereid, tulemüüre ja võrke käsitlevaid juhiseid.

QIAGEN[®], EpiTect[®], HotStarTaq[®], QuantiTect[®], Rotor-Disc[®], Rotor-Gene[®], Rotor-Gene AssayManager[®], Type-it[®] (QIAGEN Group); Adobe[®], Illustrator[®] (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor[®], FAM[™], HEX[™], JOE[™], Marina Blue[®], ROX[™], SYBR[®], SYTO[®], TET[™], Texas Red[®], VIC[®] (Thermo Fisher Scientific või selle tütarettevõtted); Bluetooth[®] (Bluetooth SIG, Inc.); CAL Fluor[®], Quasar[®] (Biosearch Technologies, Inc.); Core[™], Intel[®] (Intel Corporation); Cy[®] (GE Healthcare); Eva Green[®] (Biotium, Inc.); Excel[®], Microsoft[®], Windows[®] (Microsoft Corporation); LC Green[®] (Idaho Technology, Inc.); LightCycler[®] (Roche Group); Symantec[®] (Symantec Corporation); TeeChart[®] (Steema Software SL); Yakima Yellow[®] (Nanogen, Inc.). Käesolevas dokumendis kasutatud registreeritud nimetusi, kaubamärke jne ei arvestata seaduse poolt mittekaitstuks, ka juhul kui need pole kaubamärkidena tähistatud.

TeeChartOffice: Autoriõigus 2001-2013 – David Berneda. Kõik õigused kaitstud.

Kohaldamisriikides:

See reaallaja termotsükler on litsentsitud menetluses olevate seadme või süsteemi USA patendiõiguste kohaselt, mis hõlmavad fluorestsentsdetektoriga termotsüklereid ning taotlevad prioriteetsust USA seerianumbri 07/695,201 ja kõigis välismaistes vastavates patentides esitatud vastavate väidete suhtes, mille omanik on Applied Biosystems LLC, kõigis valdkondades, sealhulgas teadus- ja arendustegevus, kõik kohaldatavad valdkonnad ning inimeste ja loomade in vitro diagnostika. Ühtki õigust ei anta otseselt, kaudselt ega estoppeli põhimõttel ühelegi patendile reaallajas meetodi kohta, kaasa arvatud, kuid mitte ainult 5' nukleaaasianalüüsid, või mis tahes patendinõudlusele reaktiivi või komplekti kohta. Lisateavet täiendavate õiguste ostmiseks võtke ühendust litsentsimisosakonna direktoriga aadressil Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, USA.

Kohaldamisriikides:

Selle toote ostmise sisaldab piiratud mitteüleantavat litsentsi ühele või mitmele USA patendile nr 6,787,338; 7,238,321; 7,081,226; 6,174,670; 6,245,514; 6,569,627; 6,303,305; 6,503,720; 5,871,908; 6,691,041; 7,387,887; 7,273,749; 7,160,998; USA patenditaotlustele nr 2003-0224434 ja 2006-0019253 ja PCT patenditaotlusele nr WO 2007/035806 ning kõikidele järgedele ja eraldustele ning vastavatele väidetele patentides ja patenditaotlustes väljaspool Ameerika Ühendriike, mille omanik on University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH, ja/või Roche Diagnostics GmbH ainult inimese või loomade in vitro diagnostika jaoks. Ühtki õigust ei anta otseselt, kaudselt ega estoppeli põhimõttel ühegi reaktiivi või komplekti kohta või mis tahes muu patendi või patendinõudluse alusel, mille omanik on University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH või mis tahes muu isik. Seda toodet tohib kasutada ainult koos lubatud reaktiividega (nt täislitsentsiga QIAGENi komplektid ja analüüsid). Teavet litsentside ostmise kohta in vitro diagnostika rakenduste või reaktiivide jaoks võtke ühendust aadressil Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, USA.

Ajakohase litsentsiteabe ja tootepõhised lahtütlemised leiate vastavast QIAGENi komplekti käsiraamatust või kasutusjuhendist. QIAGENi komplekti käsiraamatud ja kasutusjuhendid on saadaval veebilehel www.qiagen.com või tellimisel QIAGENi tehnilisel toelt või kohalikel müügiesindajatel.

Sisukord

1	Ohutusinfo	1-1
1.1	Korrektne kasutamine	1-1
1.2	Elektriline ohutus	1-3
1.3	Keskkond	1-6
1.4	Bioloogiline ohutus	1-6
1.5	Kemikaalid	1-7
1.6	Jäätmetest vabanemine	1-8
1.7	Mehhaanilised ohud	1-8
1.8	Kuuma oht	1-9
1.9	Hooldamine	1-9
1.10	Sümbolid Rotor-Gene Q MDx seadmel	1-11
2	Sissejuhatus	2-1
2.1	Üldinfo	2-1
2.1.1	Tehniline abi	2-1
2.1.2	Poliitika	2-2
2.1.3	Versioonid	2-2
2.2	Rotor-Gene Q MDx sihtotstarbeline kasutamine	2-2
3	Üldine kirjeldus	3-1
3.1	Termosüsteem	3-1
3.2	Optiline süsteem	3-2
4	Installeerimine	4-1
4.1	Nõuded asukohale	4-1
4.2	Vahelduvvoolu ühendus	4-2
4.3	Nõuded arvutile	4-2
4.4	Windows 7 turvaseadete konfigureerimine	4-4

4.5	Rotor-Gene Q MDx lahti pakkimine	4-6
4.6	Lisad	4-7
4.7	Riistvara installeerimine	4-7
4.8	Tarkvara installeerimine	4-9
4.9	Tarkvara versioon	4-12
4.10	Lisatarkvara Rotor-Gene Q MDx instrumentidega ühendatud arvutitel	4-13
4.10.1	Viirusetõrjetarkvara	4-14
4.10.2	Tulemüür ja võrgud	4-15
4.10.3	Süsteemi seadistused	4-19
4.10.4	Operatsioonisüsteemi uuendused	4-20
4.11	Tarkvara uuendamine	4-22
5	Kasutamine — Riistvara	5-1
5.1	Rootoritüübid	5-1
5.2	Reaktsiooni ettevalmistamine	5-4
5.3	Rotor-Disc ettevalmistamine	5-9
6	Kasutamine — Tarkvara	6-1
6.1	Kiire startaken (Quick Start)	6-1
6.1.1	Rootori valik	6-4
6.1.2	Profilli kinnitamine	6-5
6.1.3	Eksperimendi salvestamine	6-6
6.1.4	Proovide andmed	6-7
6.2	Edasijõudnute startaken (Advanced)	6-7
6.2.1	“New Run Wizard” aken 1	6-9
6.2.2	“New Run Wizard” aken 2	6-10
6.2.3	“New Run Wizard” aken 3	6-11
6.2.4	Profilli muutmine	6-12
6.2.5	“New Run Wizard” aken 4	6-32
6.2.6	“New Run Wizard” aken 5	6-32

7	Analüüsimise kasutajaliides	7-1
7.1	Tööruum	7-1
7.2	Tööriistariba	7-1
7.3	Vaata toorandmeid	7-1
7.4	Proovide valimine	7-3
7.5	Faili menüü (File menu)	7-6
7.5.1	New (Uus)	7-6
7.5.2	Open (Ava) ja Save (Salvesta)	7-8
7.5.3	Reports (Raportid)	7-10
7.5.4	Setup (Seaded)	7-11
7.6	Analüüsimise menüü (Analysis menu)	7-12
7.6.1	Analüüs (Analysis)	7-12
7.6.2	Kvantifitseerimine (Quantitation)	7-14
7.6.3	Kaks standardkõverat (Two standard curve)	7-35
7.6.4	Delta delta C _T suhteline kvantifitseerimine	7-40
7.6.5	Sulamiskõvera analüüs	7-44
7.6.6	Võrdlev kvantifitseerimine (Comparative quantitation)	7-49
7.6.7	Alleelne eristamine (Allelic discrimination)	7-52
7.6.8	Hajuvusgraafiku analüüs (Scatter graph analysis)	7-54
7.6.9	Lõpp-punkti analüüs (EndPoint analysis)	7-57
7.6.10	Kontsentratsiooni analüüs	7-65
7.6.11	Kõrge lahutavusega sulamisanalüüs	7-68
7.7	Eksperimendi menüü (Run menu)	7-70
7.7.1	Eksperimendi alustamine (Start Run)	7-70
7.7.2	Paus eksperimendis (Pause Run)	7-70
7.7.3	Eksperimendi peatamine (Stop Run)	7-70
7.8	Vaate menüü (View menu)	7-71
7.8.1	Eksperimendi seaded (Run Settings)	7-71
7.8.2	Temperatuuri graafik (Temperature Graph)	7-75
7.8.3	Profili edenemine (Profile Progress)	7-76
7.8.4	Proovide redigeerimine (Edit Samples)	7-77
7.8.5	Kuvamise võimalused (Display Options)	7-87

7.9	Rotor-Gene Q tarkvara juurdepääsukaitse	7-88
7.9.1	Windows 7 turvaseadete konfigureerimine	7-89
7.9.2	Windows 10 seadete konfigureerimine	7-96
7.9.3	Mitu kasutajat samas arvutis	7-99
7.9.4	Auditi rajad (Audit trails)	7-100
7.9.5	Eksperimendi signatuurid (Run Signatures)	7-101
7.9.6	Proovide lukustamine	7-103
7.9.7	Lukustatud vormid (Templates)	7-105
7.10	Tundlikkuse menüü (Gain menu)	7-106
7.11	Akende menüü (Window menu)	7-107
7.12	Abi funktsioon (Help function)	7-107
7.12.1	Saada toele E-kiri (Send Support E-Mail)	7-108
8	Lisafunktsioonid	8-1
8.1	Analüüsivormid (Analysis templates)	8-1
8.2	Teise eksperimendi avamine	8-1
8.3	Skaala valikud (Scaling options)	8-2
8.4	Graafikute eksportimine	8-2
8.5	Mutrivõtme ikoon	8-6
8.6	Valitud piirkonna võimalused	8-7
9	Hooldamine	9-1
10	Optiline temperatuuri kontroll	10-1
10.1	OTV põhimõte	10-1
10.2	Rotor-Disc OTV kiti komponendid	10-2
10.3	OTV läbiviimine	10-2
11	Kõrge lahutavusega sulamisanalüüs	11-1
11.1	Instrumendid	11-3
11.2	Keemia	11-3
11.3	SNP genotüpiseerimise näide	11-4


11.4	Metülatsioonianalüüsi näide	11-6
11.5	Juhised edukaks HRM analüüsiks	11-7
11.6	Proovi degradeerumine	11-10
11.7	Analüüsi ettevalmistamine tarkvaras	11-10
11.8	Reaalaja PCR andmete analüüs	11-18
11.9	HRM andmete analüüs	11-20
12	Vigade otsimine	12-1
12.1	Logi arhiivid	12-1
12.2	HRM vigade otsimine	12-1
12.3	Instrumendi üldised vead	12-3
12.4	Rotor-Gene Q tarkvara teated	12-9
13	Sõnastik	13-1
	Lisa A	A-1
	Tehnilised andmed	A-1
	Keskkonnatingimused	A-1
	FCC deklaratsioon	A-4
	Vastavuse deklaratsioon	A-6
	Elektri- ja elektroonikaseadmete jäätmed (WEEE)	A-7
	Lisa BB-1	
	Kvantifitseerimine	B-1
	Lisa C	C-1
	Rotor-Gene Q MDx tooted, lisad ja kuluvahendid	C-1
	Lisa D	D-1
	Vastutuse klausel	D-1
	Indeks	Indeks-1


See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

1 Ohutusinfo

Enne Rotor-Gene Q MDx kasutamist tuleb hoolikalt lugeda käesolevat kasutusjuhendit, pöörates erilist tähelepanu ohutusinfole. Tuleb järgida kasutusjuhendis olevaid juhiseid ja ohutusinfot, et kindlustada instrumendi ohutu kasutamine ja säilitada instrumenti ohutus olekus.


Käesolevas kasutusjuhendis on järgmist tüüpi ohutusinfo.


<p>HOIATUS</p> 	<p>Terminit HOIATUS kasutatakse, et teid informeerida olukordadest, mis võivad lõppeda teie või teiste inimeste vigastustega. Detailid selliste olukordade kohta antakse selle kastiga sarnases kastis.</p>
--	---


<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Terminit ETTEVAATUST kasutatakse, et teid informeerida olukordadest, mis võivad lõppeda instrumendi või muude seadmete kahjustustega. Detailid selliste olukordade kohta antakse selle kastiga sarnases kastis.</p>
--	--


Käesolevas juhendis toodud nõuanded on mõeldud täiendada, mitte asendada, kasutaja riigis kehtivaid tavalisi ohutusnõudeid.

1.1 Korrektn kasutamine


<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht ^[W1] Rotor-Gene Q MDx väärkasutus võib põhjustada kasutajale vigastusi või seadmele kahjustusi. Rotor-Gene Q MDx instrumenti võib kasutada kvalifitseeritud personal, kes on saanud vastava väljaõppe. Rotor-Gene Q MDx tehnilist hooldust võib läbi viia ainult QIAGENi hooldus-spetsialist.</p>
---	---


<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W2] Rotor-Gene Q MDx on raske instrument. Kasutaja vigastuse ja seadme kahjustuste vältimiseks tõstke instrumenti ettevaatlikult.</p>
---	--





<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W3] Ärge üritage Rotor-Gene Q MDx instrumenti töötamise ajal liigutada.</p>
---	--

<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Seadme kahjustamise oht [C1] Vältige vee või kemikaalide sattumist Rotor-Gene Q MDx instrumendile. Vee või kemikaalide põhjustatud kahjustused muudavad garantii kehtetuks.</p>
--	---

Märkus: Hädaolukorras lülitage Rotor-Gene Q MDx instrumendi tagaosas oleva lüliti kaudu välja ja eemaldage seade vooluvõrgust.

<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W4] Ärge üritage kaant avada eksperimendi ajal või siis, kui Rotor-Gene Q MDx rootor ringleb. Vastasel juhul, kui lähete mööda kaane lukust ja jõuate seadme sisemusesse, on teil oht puudutada osiseid, mis on kuumad, elektrivoolu all või liiguvad suure kiirusega, ning te võite ennast vigastada või instrumenti kahjustada.</p>
---	--


<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W5] Kui teil on vaja eksperiment kiiresti lõpetada, eemaldage instrument vooluvõrgust ja seejärel avage kaas. Enne kambri puudutamist laske sisemusel jahtuda. Vastasel juhul võite ennast vigastada puudutades osiseid, mis on kuumad.</p>
---	--

HOIATUS/ ETTEVAATUST 	Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W6] Kui kasutate seadet tootja poolt mitte ette nähtud viisil, võib seadme kaitse olla häiritud.
HOIATUS/ ETTEVAATUST 	Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W7] Lahtine paber Rotor-Gene Q MDx all segab instrumendi jahutamist. Soovitav on instrumendi alune puhas hoida.
ETTEVAATUST 	Seadme kahjustamise oht [C2] Kasutage rootoril alati lukustusrõngast. See väldib eksperimendi ajal tuubide kaante lahti tulemist. Kui kaaned tulevad eksperimendi ajal ära, võivad need kambrit kahjustada.
ETTEVAATUST 	Seadme kahjustamise oht [C3] Rootorit tuleb enne iga kasutuskorda visuaalselt kontrollida veendumaks, et see ei ole kahjustatud ega deformeerunud.

Kui puudutate Rotor-Gene Q MDx eksperimendi ajal ja olete samal ajal staatilise elektriga laetud, siis raskematel juhtudel võib Rotor-Gene Q MDx algeadistuda. Sellegipoolest taaskäivitab tarkvara Rotor-Gene Q MDx ja jätkab eksperimenti.

1.2 Elektriline ohutus

Enne hooldamist eemaldage juhe vooluallikast.


<p>HOIATUS</p> 	<p>Elektriline oht [W8]</p> <p>Kaitse-maanduse igasugune katkestamine instrumendi sees või väljas või maanduse klemmi lahti ühendamine muudab instrumendi suure tõenäosusega ohtlikuks. Tahtlik katkestamine on keelatud.</p> <p>Letaalne pinge instrumendi sees</p> <p>Kui instrument on ühendatud vooluvõrku, võivad klemmid olla voolu all ja katete avamine või osade eemaldamine paljastab suure tõenäosusega elektrivoolu all olevaid osi.</p>
--	---

Rotor-Gene Q MDx rahuldavaks ja turvaliseks kasutamiseks järgige järgmisi nõuandeid:

- Voolujuhe peab olema ühendatud maandusega pistikusse.
- Ärge kohandage ega asendage instrumendi sisemisi osi.
- Ärge kasutage instrumenti nii, et mingid katted või osad on eemaldatud.
- Kui instrumendi sisse on sattunud vedelikke, lülitage instrument välja, eemaldage see vooluvõrgust ja kontakteeruge QIAGENi tehnilise toega.


Kui instrument muutub elektriliselt ebaturvaliseks, ärge laske muul personalil seda kasutada ja kontakteeruge QIAGENi tehnilise toega; instrument võib olla elektriliselt ebaturvaline kui:


- Seade või voolujuhe tundub olevat kahjustatud.
- Seadet on pikka aega hoitud ebasoodsates tingimustes.
- Seade on kannatanud tõsiseid transpordipingeid.

<p>HOIATUS</p> 	<p>Elektriline oht [W9]</p> <p>Instrumendil on elektrilise sobivuse märk, mis näitab ära vooluallika sobiva pinge ja sageduse, samuti kaitsmete klassi. Seadet tuleks kasutada ainult nendel tingimustel.</p>
--	--

1.3 Keskkond

Kasutustingimused

HOIATUS 	Plahvatusohtlik atmosfäär Rotor-Gene Q MDx ei ole disainitud plahvatusohtlikus atmosfääris kasutamiseks. [W10]
--	--


ETTEVAATUST 	Seadme kahjustamise oht Otsene päikesevalgus võib instrumendi osi pleegitada ja plastikust osi kahjustada. Rotor-Gene Q MDx peab asuma otsesest päikesevalgusest eemal. [C4]
--	--

1.4 Bioloogiline ohutus


Bioloogilistest allikatest pärinevat materjali sisaldavaid proove ja reagente tuleb kohelda kui potentsiaalselt nakkusohtlikke. Kasutage publikatsioonides nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm) kirjeldatud ohutuid laboratoorse töö praktikaid.

Proovid

Proovid võivad sisaldada nakkusohtlikke tegureid. Peaksite olema nende tegurite poolt põhjustatud ohtudest teadlik ja selliseid proove kasutama, säilitama ning ära viskama vastavalt nõutavatele ohutusregulatsioonidele.

<p>HOIATUS</p> 	<p>Nakkusohtlikke tegureid sisaldavad proovid [W11] Mõned selles instrumendis kasutatavatest proovidest võivad sisaldada nakkusohtlikke tegureid. Käsitsege neid proove suurima ettevaatusega ja vastavalt nõutavatele ohutusregulatsioonidele. Kandke alati kaitseprille, 2 paari kindaid ja laborikitlit. Vastutav isik (nt laborijuhataja) peab kasutusele võtma vajalikud ettevaatusabinõud kindlustamaks, et ümbritsev töökeskkond on ohutu ja et instrumendi kasutajad on saanud vastava väljaõppe ega puutu kokku nakkusohtlike tegurite ohtlike tasemetega nagu defineeritud vastavates ohutuse infolehtedes (Safety Data Sheets (SDS)) või OSHA,* ACGIH,† või COSHH‡ dokumentides. Aurude ventileerimine ja jäätmetest vabanemine peavad olema kooskõlas kõikide riiklike ja kohalike regulatsioonide ning seadustega.</p>
--	---

1.5 Kemikaalid

<p>HOIATUS</p> 	<p>Ohtlikud kemikaalid [W12] Mõned selles instrumendis kasutatavatest kemikaalidest võivad olla ohtlikud või muutuda ohtlikuks pärast eksperimendiprotokolli läbiviimist. Kandke alati kaitseprille, kindaid ja laborikitlit. Vastutav isik (nt laborijuhataja) peab kasutusele võtma vajalikud ettevaatusabinõud kindlustamaks, et ümbritsev töökeskkond on ohutu ja et instrumendi kasutajad ei puutu kokku toksiliste ainete ohtlike tasemetega nagu defineeritud vastavates ohutuse infolehtedes (Safety Data Sheets (SDS)) või OSHA,* ACGIH,† või COSHH‡ dokumentides. Aurude ventileerimine ja jäätmetest vabanemine peavad olema kooskõlas kõikide riiklike ja kohalike regulatsioonide ning seadustega.</p>
--	--

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (United States of America).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (United States of America).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (United Kingdom).

Toksilised aarud


Kui töotate lenduvate lahustite või toksiliste ainetega, peab laboris olema efektiivne ventilatsioonisüsteem, et eemaldada tekkida võivad aarud.


1.6 Jäätmetest vabanemine


Kasutatud kuluvahendid ja plastik võivad sisaldada ohtlikke kemikaale või nakkusohtlikke tegureid. Sellised jäätmed tuleb koguda ja neist vabaneda vastavalt kohalikele ohutusregulatsioonidele.


1.7 Mehhaanilised ohud


Rotor-Gene Q MDx kaas peab instrumendi töös olemise ajal olema suletud.


<p>HOIATUS</p> 	<p>Liikuvad osad [W13] Vältimaks kontakti liikuvate osadega Rotor-Gene Q MDx töötsükli ajal, peab instrumendi kaas töötamise ajal kinni olema.</p>
--	--

<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W14] Avage ja sulgege Rotor-Gene Q MDx kaant ettevaatlikult, et vältida sõrmede või riiete jäämist kaane vahele.</p>
---	--

<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Seadme kahjustamise oht [C5] Veenduge, et rootor ja lukustusrõngas on korrektelt paigaldatud. Kui rootoril või lukustusrõngal on mehhaaniliste kahjustuste või korrosiooni märke, ärge kasutage Rotor-Gene Q MDx; kontakteeruge QIAGENi tehnilise toega.</p>
--	---


<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Seadme kahjustamise oht [C6] Kui külmas kliimas käivitatakse Rotor-Gene Q kohe pärast kohale toimetamist, võivad mehhaanilised osad blokeeruda. Laske instrumendil toatemperatuuril kohaneda vähemalt tund aega enne kui te selle sisse lülitate.</p>
--	---

<p>HOIATUS</p> 	<p>Liikuvad osad [W15] Voolukatkestusest põhjustatud rikke korral eemaldage voolujuhe ja oodake 10 minutit enne kui proovite kaant käsitsi avada.</p>
--	---

<p>HOIATUS</p> 	<p>Ülekuumenemise oht [W16] Korraliku ventilatsiooni kindlustamiseks kindlustage minimaalselt 10 cm suurune vaba ruum Rotor-Gene Q MDx külgedel ja taga. Pilud ja avad, mis tagavad Rotor-Gene Q MDx ventilatsiooni, ei tohi olla kaetud.</p>
--	--





1.8 Kuuma oht

<p>HOIATUS</p> 	<p>Kuum pind [W17] Rotor-Gene Q MDx kamber võib kuumeneda üle 120°C (248°F). Vältige selle puudutamist siis, kui see on kuum.</p>
---	---





<p>HOIATUS</p> 	<p>Kuum pind [W18] Protokolilis pausi tehes ei jahtu Rotor-Gene Q MDx täielikult toatemperatuurini. Olge rootori või tuubide käsitlemisel eriti ettevaatlik.</p>
--	--

1.9 Hooldamine

Igapäevast hooldust viige läbi vastavalt peatükile 9. QIAGEN esitab arve nende parandustööde eest, mis on vajalikud ebakorrekse hooldamise tõttu.

<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Vigastuste ja seadme kahjustamise oht [W19] Viige läbi ainult käesolevas kasutusjuhendis kirjeldatud hooldamistegevusi.</p>
<p>HOIATUS</p> 	<p>Tuleoht [W20] Kui puhastate Rotor-Gene Q MDx alkoholil põhinevate desinfektsioonivahenditega, jätke Rotor-Gene Q MDx kaas lahti seniks kuni tuleohtlikud aaurud on hajunud. Puhastage Rotor-Gene Q MDx ainult siis, kui kamber on jahtunud.</p>
<p>HOIATUS/ ETTEVAATUST</p> 	<p>Elektrišoki oht [W21] Ärge võtke Rotor-Gene Q MDx instrumenti koost lahti.</p>
<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Instrumenti korpuse kahjustused [C7] Ärge kunagi puhastage instrumenti korpust alkoholi või alkoholil põhinevate lahustega. Alkohol kahjustab korpust. Kasutage korpuse puhastamiseks ainult destilleeritud vett.</p>

1.10 Sümbolid Rotor-Gene Q MDx seadmel

Sümbol	Asukoht	Kirjeldus
	Reaktsioonikambri lähedal, nähtav siis, kui kaas on avatud	Kuuma oht — temperatuur kambri võib tõusta üle 120°C (248°F)
	Instrumendi tagaosas	Kasutamiseks lugege juhendit
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Euroopa vastavuse CE märk
	Infoplaat instrumendi tagaosas	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Kanada ja USA CSA loetelu märk
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Legaalne tootja
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Euroopa WEEE märk
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Ameerika Ühendriikide Riikliku Kommunikatsioonide Komisjoni FCC märk
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Austraalia C-Tick märk (tootja tunnus N17965)
	Infoplaat instrumendi tagaosas	Hiina RoHS märk (keeld kasutada elektrilistes ja elektroonilistes seadmetes teatud ohtlike aineid)

2 Sissejuhatus

Aitäh, et valisite Rotor-Gene Q MDx. Oleme kindlad, et sellest saab teie labori oluline osa.

Enne Rotor-Gene Q MDx kasutamist on oluline hoolikalt lugeda käesolevat kasutusjuhendit, pöörates erilist tähelepanu ohutusinfole. Turvaliseks kasutamiseks ja instrumendi heas korras hoidmiseks tuleb järgida kasutusjuhendis olevaid juhiseid ning ohutusinfot.

Arvestage, et Rotor-Gene Q MDx on saadaval mitme konfiguratsiooniga. Üksikasjaliku teabe (sh tellimisteabe) leiate lisast C.

2.1 Üldinfo

2.1.1 Tehniline abi

QIAGENis on kvaliteet ja tehnilise toe kättesaadavus väga tähtsad. Meie tehnilise toe osakondades töötavad kogenud teadlased, kellel on ulatuslikud praktilised ja teoreetilised kogemused molekulaarbioloogias ning QIAGENi toodete kasutamises. Kui Teil on küsimusi või tuleb ette probleeme Rotor-Gene Q instrumendi või muude QIAGENi toodete kasutamisel, palun võtke meiega ühendust.

QIAGENi toodete kasutajad on meie jaoks oluline informatsiooniallikas kui asi puudutab meie toodete keerulist või spetsialiseeritud kasutamist. See informatsioon on abiks nii teistele teadlastele kui ka QIAGENi teadlastele. Seega julgustame Teid meiega kontakteeruma, kui Teil on ettepanekuid toote toimimise, uute kasutusvalade või tehnikate kohta.

Tehnilise abi ja lisainformatsiooni saamiseks palun helistage QIAGENi tehnilise toe osakonda või kohalikule edasimüüjale (vt tagakaas).

Uusima info Rotor-Gene Q MDx kohta saate www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

2.1.2 Poliitika

QIAGENi poliitika on uute tehnikate ja osiste kättesaadavaks muutumisel oma toodete täiustamine. QIAGEN jätab endale õiguse igal ajal spetsifikatsioone muuta.

Kuna püüame alati pakkuda kasulikku ja sobivat dokumentatsiooni, oleme tänulikud teie kommentaaride eest käesoleva kasutusjuhendi kohta. Palun kontakteeruge QIAGENi tehnilise toega.

2.1.3 Versioonid

See dokument on *Rotor-Gene Q MDx Kasutusjuhend*, versioon 2.0, redigeeritud variant R1 Rotor-Gene Q MDx instrumentidele, mis kasutavad Rotor-Gene Q tarkvara versioone 2.3.4 või kõrgemad.

2.2 Rotor-Gene Q MDx sihtotstarbeline kasutamine

Rotor-Gene Q MDx instrument on disainitud kliinilistes rakendustes reaalaja termotsükleerimise, detektsiooni ja/või kvantifitseerimise läbiviimiseks polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) abil.

Rotor-Gene Q MDx on mõeldud kasutamiseks ainult koos Rotor-Gene Q instrumentide jaoks disainitud QIAGENi kittidega vastavates QIAGENi kittide kasutusjuhendites kirjeldatud rakendusteks.

Kui Rotor-Gene Q MDx instrumenti kasutatakse muude kui QIAGENi kittidega, kohustub kasutaja valideerima nimetatud tootekombinatsiooni jõudluse mis tahes konkreetse rakenduse puhul.

Rotor-Gene Q MDx instrument on mõeldud *in vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.

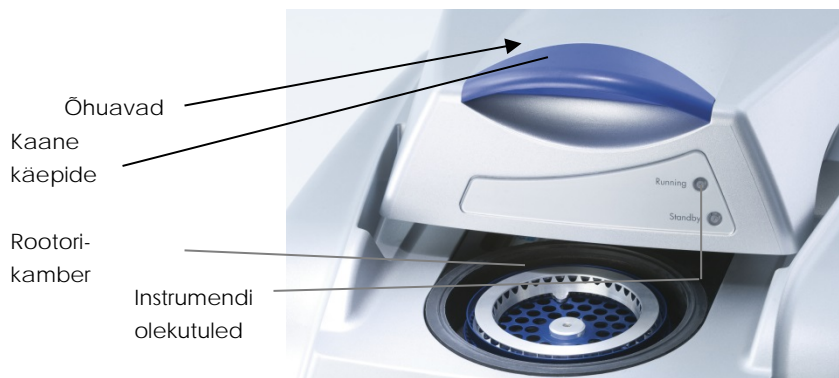
Rotor-Gene Q MDx instrumendiga peavad töötama professionaalsed kasutajad, nagu näiteks tehnikud ja raviarstid, kes on saanud väljaõppe

molekulaarbioloogiliste tehnikate ja Rotor-Gene Q MDx instrumendi kasutamise osas.

3 Üldine kirjeldus

Rotor-Gene Q MDx on uuenduslik instrument, mis võimaldab läbi viia suure täpsusega reaalaaja PCR-i ja mis kombineerituna QIAGENi IVD markeeritud kittidega on väga sobiv *in vitro* diagnostilisteks rakendusteks.

Võimas ja kasutajasõbralik tarkvara pakub algajatele lihtsust ning kogunud kasutajatele avatud eksperimentaalset platvormi.



3.1 Termosüsteem

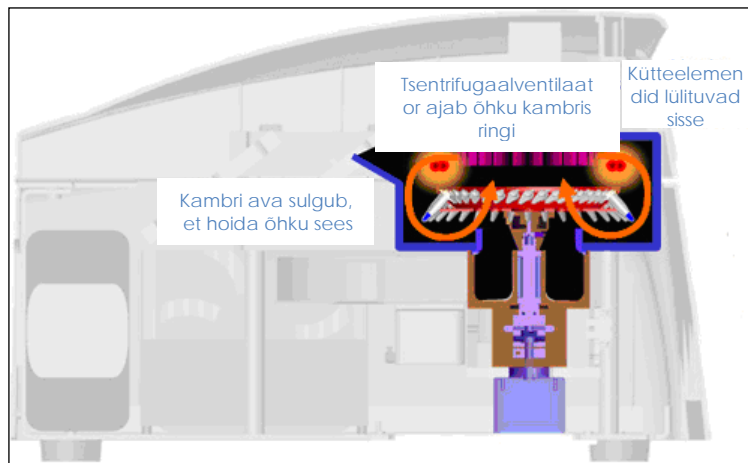
Rotor-Gene Q MDx kasutab keerulist kuumutamise ja jahutamise süsteemi optimaalsete reaktsioonitingimuste saavutamiseks. Unikaalne rootorformaad kindlustab proovide vahel optimaalse termilise ja optilise ühtsuse, mis on vajalik täpseks ja usaldusväärseks analüüsiks.

Proovid tiirlevad eksperimendi ajal kogu aeg kiirusel 400 rpm. Tsentrifuugimine välistab kondensatsiooni ja eemaldab õhumullid, kuid samas ei sadesta DNA-d. Lisaks ei ole vaja proove enne eksperimendi käivitamist põhja tsentrifuugida.

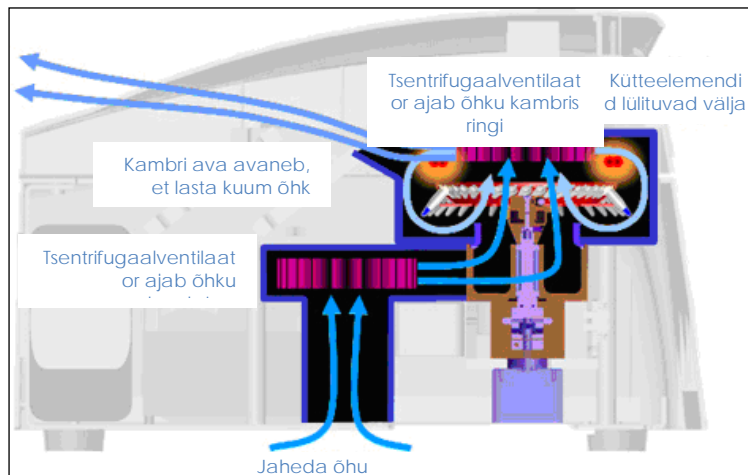
Proove kuumutatakse ja jahutatakse õhu kaudu. Kuumutamiseks on kaanes nikkel-kroom element.

Kamber jahutatakse lastes kuuma õhku kambri ülaosa kaudu välja, samal ajal kui toatemperatuuril õhk altpoolt siseneb.

Kuumutamine



Jahutamine



Joonis kuumutamise ja jahutamise süsteemist.

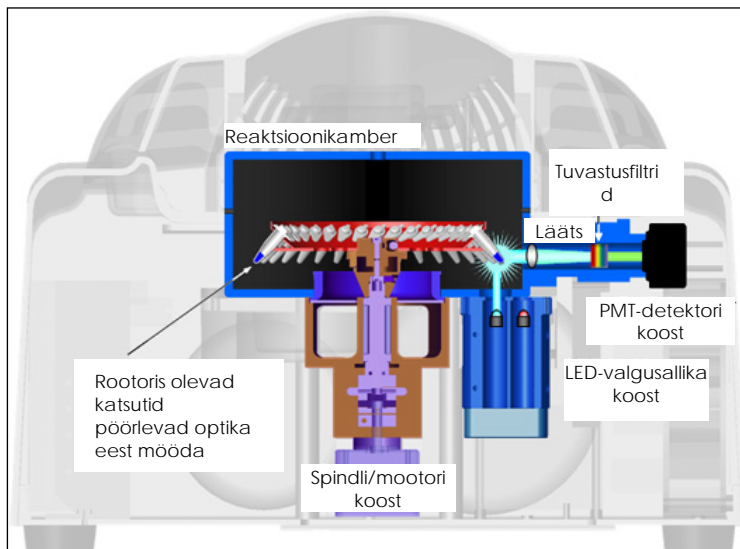
3.2

Optiline süsteem

Rotor-Gene Q MDx instrumendil on kuni 6 ergastuskanalit ja 6 detektsioonifiltrit ning lühike

fikseeritud optiline teekond. See muudab Rotor-Gene Q MDx sobivaks multiplex reaktsioonide jaoks, sest proovide-vaheline fluorestsentsi varieeruvus on minimaalne ega nõua kalibreerimist või kompenseerimist.

Kambri põhjas asuv valgusdiod (LED) ergastab proovi. Energia kantakse üle läbi tuubi õhukese põhja. Eralduv fluorestsents liigub läbi kambri küljel asuvate emissioonifiltrite ja kogutakse seejärel fotokordisti abil. Fikseeritud optiline teekond kindlustab iga proovi jaoks samasuguse ergastuse, mistõttu ei ole vaja kasutada passiivset referentsvärvi nagu ROX™.



Joonis optilisest süsteemist.

Kasutatavad kanalid

Kanal	Ergastus (nm)	Detektsioon (nm)	Näited detekteeritavatest fluorofooridest
Sinine	365±20	460±20	Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390
Roheline	470±10	510±5	FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488
Kollane	530±5	557±5	JOE™, VIC®, HEX™, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow®
Oranž	585±5	610±5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568
Punane	625±10	660±10	Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633
Tulipunane	680±5	712 high pass	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
Kõrge lahutavusega sulamine (HRM)	460±20	510±5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Märkus: Rotor-Gene Q MDx instrumentidel kasutamiseks mõeldud QIAGENi kitid on optimeeritud kindlate värvikombinatsioonide suhtes. Lisainfo saamiseks palun lugege vastava kiti kasutusjuhendit.

4 Installeerimine



4.1 Nõuded asukohale

Rotor-Gene Q MDx instrumendid peavad asuma eemal otsesest päikesevalgusest, kuumkehadest, vibratsioonist ja elektrilistest häiretest. Lisas A on toodud nõuded kasutamiskeskkonnale (temperatuur ja niiskus). Paigaldamise kohas ei tohiks olla suurt tuuletõmbust, liigset niiskust, liigset tolmu ning temperatuur ei tohiks suurel määral kõikuda.

Lisas A on toodud Rotor-Gene Q MDx instrumentide kaal ja mõõtmed. Veenduge, et tööpind on kuiv, puhas ning sellel on ruumi lisade jaoks. Lisainfot tööpinna kehtivate nõuete kohta saate QIAGENi tehnilisest toest.

Märkus: On väga oluline, et Rotor-Gene Q MDx instrument paigaldataks stabiilsele pinnale, mis on loodis ja vibratsioonivaba. Lugege töökeskkonna kohta — vaadake Lisa A.

Rotor-Gene Q MDx instrument peab asuma umbes 1.5 m kaugusel korrektselt maandatud vahelduvvoolupistikust.

<p>HOIATUS</p> 	<p>Plahvatusohtlik atmosfäär [W10] Rotor-Gene Q MDx ei ole disainitud plahvatusohtlikus atmosfääris kasutamiseks.</p>
<p>HOIATUS</p> 	<p>Ülekuumenemise oht [W16] Korraliku ventilatsiooni kindlustamiseks kindlustage minimaalselt 10 cm suurune vaba ruum Rotor-Gene Q MDx külgedel ja taga. Pilud ja avad, mis tagavad Rotor-Gene Q MDx ventilatsiooni, ei tohi olla kaetud.</p>

4.2 Vahelduvvoolu ühendus

Voolunõuded

Rotor-Gene Q MDx töötab:

- 100–240 V AC, 50–60Hz, 520 VA (tipp)

Veenduge, et Rotor-Gene Q MDx instrumendil märgitud pingeline vastab paigaldamise kohta vahelduvvoolu pingele. Vooluvõrgu pingeline kõikumine ei tohi ületada 10% nominaalsest väärtusest.

Maanduse nõuded

Töötava personali kaitseks soovib QIAGEN Rotor-Gene Q MDx korrektselt maandada. Instrumendiga kaasas 3-haruline voolujuhe, mis sobivasse pistikusse ühendades instrumendi maandab. Selle kaitsefunktsiooni säilitamiseks ärge ühendage instrumenti maanduseta voolupistikusse.

Voolujuhtme paigaldamine

Ühendage voolujuhtme üks ots Rotor-Gene Q MDx instrumendi tagaosas asuvasse pesasse ja teine ots voolupistikusse.

4.3 Nõuded arvutile

Sülearvuti, mille saate koos Rotor-Gene Q MDx-ga tellida, vastab Rotor-Gene Q tarkvara nõuetele. Detailid on toodud järgmises tabelis.

Nõuded arvutile

Kirjeldus	Minimaalne nõue
Operatsioonisüsteem	Microsoft® Windows® 10 Professional edition (64-bitine); Microsoft Windows 7 Professional edition (32-bitine või 64-bitine)* (hoolduspakett 1)
Protsessor†	Intel® Core™ 2 Duo 1.66GHz või parem
Põhimälu†	Vähemalt 1 GB RAM
Kõvakettaruum†	Vähemalt 10 GB HDD
Graafika	Adapter ja ekraan vähemalt 1200 x 800 pikslit
Pordid†	RS-232 jadaport või USB port
DVD-ROM-seade	1
Osutusseade	Nõutav on puuteplaat või hiir või samaväärne
Bluetooth®	Peab olema välja lülitatud
PDF-vaatur vms	Peab olema installitud; ei kuulu tarkvara installipakettidesse
Toitevalikud	Ärge kunagi lülitage välja kõvakettaid ega seadke arvutit une- või ooterežiimi

* Operatsioonisüsteemi Microsoft Windows 10 või Windows 7 Professional edition kasutamisel tuleb koos Rotor-Gene Q tarkvaraga käivitada ka turvameetmed (vt lõik 7.9). Operatsioonisüsteemide Home edition of Windows 10 või Windows 7 kasutamisel ei ole turvameetmed saadaval.

† Tarkvara Rotor-Gene AssayManager® versiooni 1.0 või 2.1 kasutamise korral on järgmised miinimumnõuded arvutile erinevad: nõutav on Intel Core i3-380M protsessor, 4 GB RAM põhimälu, 250 GB kõvakettaruumi, USB-port.

4.4 Windows 7 turvaseadete konfigureerimine

QIAGENi tarnitavatesse sülearvutitesse, mis on ette nähtud kasutamiseks teie instrumendiga Rotor-Gene Q MDx, on eelinstallitud Microsoft Windows 7 ja need on konfigureeritud Windowsi (mitteadministraatori) standardkonto ja administraatori kontoga. Süsteemi tavapäraseks kasutamiseks kasutatakse standardkontot, sest tarkvara Rotor-Gene Q ja Rotor-Gene AssayManager versioon 1.0 või 2.1 on loodud kasutamiseks ilma administraatori õigusteta. Administraatori kontot kasutatakse ainult tarkvara Rotor-Gene Q või Rotor-Gene AssayManager versiooni 1.0 või 2.1 ja viirusetõrjetarkvara installimiseks (vt jaotis „Viirusetõrjetarkvara“). Administraatori konto kasutamisest annab märku punane töölauataust. Veenduge, et logite tavapäraseks kasutamiseks alati sisse standardkasutajana.

Administraatori konto vaikeparool on Q1a#g3n!A6. Vahetage administraatori parool pärast esimest sisselogimist välja. Veenduge, et parool on turvaline ja ei lähe kaduma. Kasutajakontol parooli ei ole.

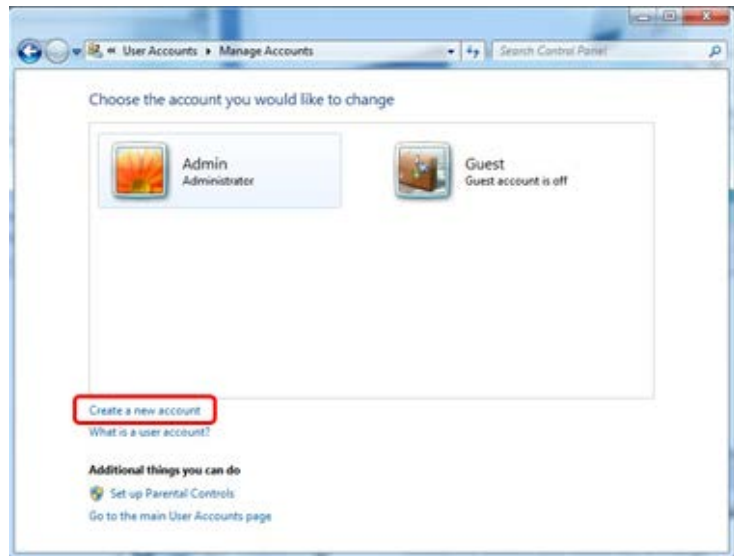
Kui sülearvuti administraatori parool läheb kaduma, soovitame teil toe saamiseks võtta ühendust Microsoftiga.

Kui teie konfiguratsioon on erinev ja mitteadministraatori konto puudub, saavad süsteemiadministraatorid seadistada täiendava Windowsi tavakasutaja konto, et välistada juurdepääs kriitilise tähtsusega süsteemi piirkondadesse, nagu kataloogid Programmifailid, Windows (nt juurdepääs installimis- või desinstallimisfunktsioonile, sh rakendused, opsüsteemi komponendid, kuupäeva/kellaaja seaded, Windowsi värskendused, tulemüür, kasutajaõigused ja -rollid, viirusetõrje aktiveerimine) või jõudlusega seotud seaded (nt energiasääst).

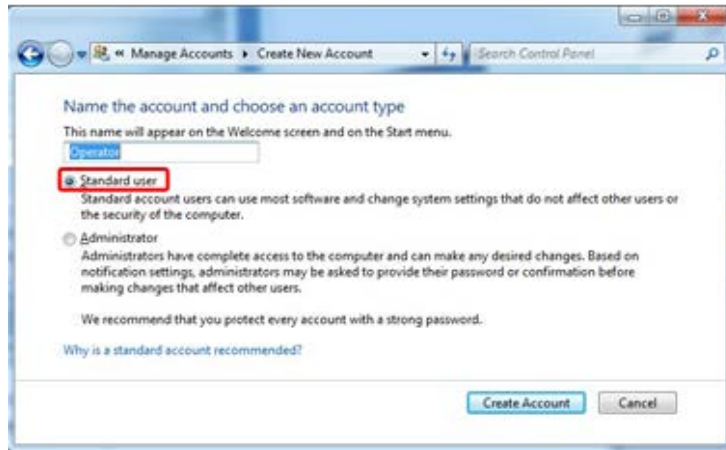
Standkardkasutajakonto loomiseks opsüsteemis Windows 7 järgige jaotises „Uue kasutajakonto loomine“ kirjeldatud toiminguid.

Avage menüü Start kaudu Windows Control Panel (Windowsi juhtpaneel) ja valige üksused "User Accounts > Manage Accounts" (Kasutajakontod > Kontode haldamine).

1. Valige "Create a new account" (Loo uus konto).



2. Andke kontole nimi ja valige kontotüübiks "Standard User" (Standardkasutaja).



3. Klõpsake "Create Account" (Loo konto).

4.5 Rotor-Gene Q MDx lahti pakkimine

Rotor-Gene Q tarnitakse koos kõigi vajalike lisadega instrumendi paigaldamiseks ja analüüsi läbiviimiseks. Kastis on ka nimekiri kaasasolevatest lisadest.

Märkus: Kontrollige selle nimekirja järgi, kas kõik lisad on kaasas.

Märkus: Enne installeerimist kontrollige, et instrument ja tarnitud lisad ei oleks transpordi käigus kahjustada saanud.

Lisade karp on vahtplastist pakendi peal. Lisade karpis on:

- Installeerimisjuhend (inglise keeles; tõlked on kasutusjuhendite CD-l)
- CD (tarkvara)
- CD (kasutusjuhendid)
- Laadimisalus 96 x 0.2 ml tuubile
- Laadimisalus 72 x 0.1 ml tuubile
- Rootori hoidja (ohutu transportimise huvides lahti võetud)

- 36 tuubi rootor (see rootor on värvilt punane)
- 36 tuubi rootori lukustusrõngas

Järgmised tarbed on asetatud kummalegi poole vahtplastist pakendit:

- USB ja RS-232 jadakaabel
- Rahvusvaheliste pistikute/juhtmete komplekt
- PCR tuubid, 0.2 ml (1000)
- Tuubiribad ja korgid, 0.1 ml (1000)

Kui olete kõik need lisad kastist eemaldanud, võtke Rotor-Gene Q MDx pealt ära vahtplastist pakend. Eemaldage Rotor-Gene Q ettevaatlikult kastist ja eemaldage plastikkate. Reaktsioonikambri avamiseks libistage kaas tahapoole.

Järgmised tarbed on juba Rotor-Gene Q MDx sees:

- 72 tuubi rootor (see rootor on värvilt sinine)
- 72 tuubi rootori lukustusrõngas


Pakendis võib olla kaasas sülearvuti, olenevalt teie tellimuse detailidest.

4.6 Lisad

Rotor-Disc rootoreid ja lisasid saab Rotor-Gene Q MDx instrumendil kasutamiseks eraldi tellida. Lisainfot saate Lisast C.

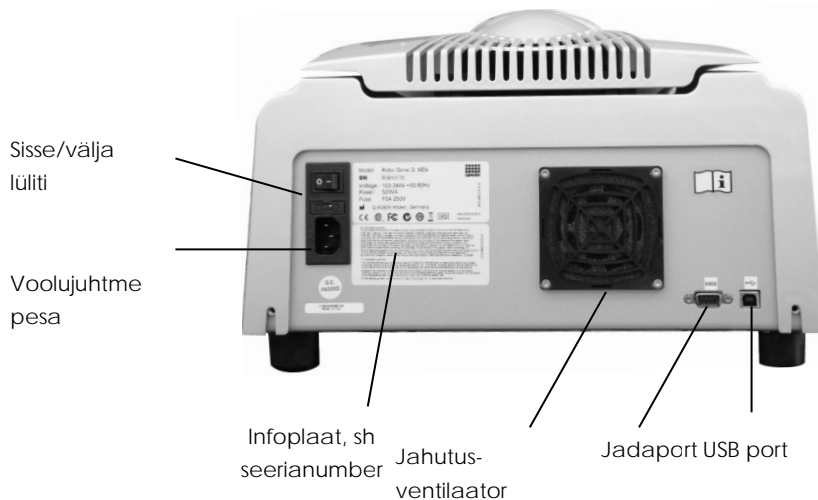
4.7 Riistvara installeerimine

Kui olete Rotor-Gene Q lahti pakkinud, jätkake installeerimisega nagu allpool kirjeldatud.

<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Seadme kahjustamise oht [C6]</p> <p>Kui külmas kliimas käivitatakse Rotor-Gene Q kohe pärast kohale toimetamist, võivad mehhaanilised osad blokeeruda. Laske instrumendil toatemperatuuril kohaneda vähemalt tund aega enne kui selle sisse lülitate</p>
--	--

Toimige järgnevalt:

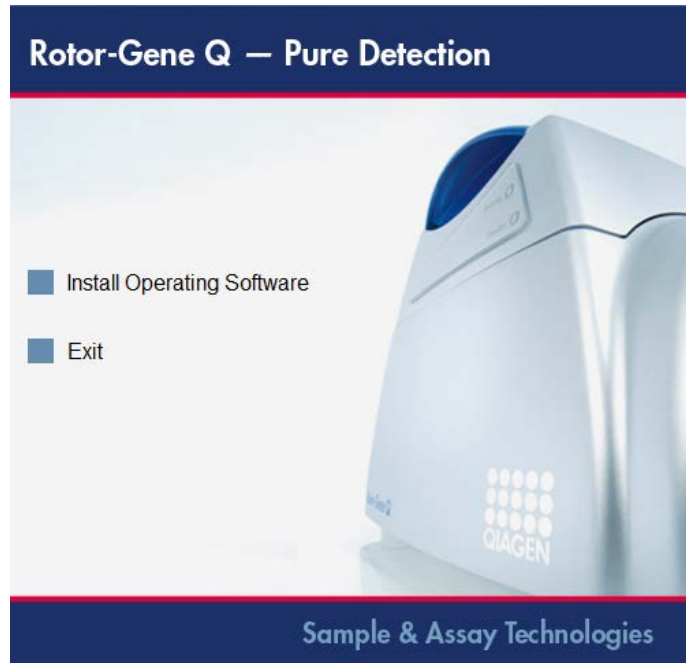
1. Asetage Rotor-Gene Q MDx loodis tasapinnale.
2. Veenduge, et instrumendi taga on piisavalt ruumi kaane täielikuks avamiseks.
3. Veenduge, et instrumendi tagaosas olevale voolulülile on võimalik kergesti ligi pääseda.
4. Ärge takistage ligipääsu instrumendi tagaosale. Veenduge, et vajadusel on võimalik kergesti voolujuhet lahti ühendada, et eemaldada instrument vooluvõrgust.
5. Ühendage kaasasolev USB kaabel või RS-232 jadakaabel USB või jadaporti arvuti tagaosas.
6. Ühendage USB kaabel või RS-232 jadakaabel Rotor-Gene Q MDx tagaosaga.
7. Seejärel ühendage Rotor-Gene Q MDx vooluvõrku. Ühendage voolujuhtme üks ots Rotor-Gene Q MDx instrumendi tagaosas asuvasse pesasse ja teine ots voolupistikusse.



Märkus: Ühendage Rotor-Gene Q MDx arvutiga kasutades ainult instrumendiga kaasasolevaid USB ja jadakaableid. Ärge kasutage muid kaableid.

4.8 Tarkvara installeerimine

1. Rotor-Gene Q tarkvara installeerimiseks sisesta instrumendiga kaasasolev CD (tarkvara) arvuti CD draivi.
2. Valige ilmuvas aknas "Install Operating Software".
Märkus: Lihtsaks installeerimiseks ja järgnevate tarkvara installeerimise etappide tutvumiseks palun lugege instrumendiga kaasasolevat *Rotor-Gene Q Installeerimisjuhendit*.



3. Kui tarkvara on installeeritud, luuakse automaatselt töölauaikoon.

4. Lülitage Rotor-Gene Q MDx instrumendi taga vasakul pool asuva lüliti abil sisse, liigutades selle "1" positsiooni. Rotor-Gene Q MDx esipaneelil kuvatav sinine "Standby" tuli näitab, et instrument on kasutamiseks valmis.

Märkus: Esmakordsel käivitamisel arvutiga ühendatuna tunneb operatsioonisüsteem Rotor-Gene Q MDx instrumendi ära ja kuvatakse rida teateid. Suunised leiate instrumendiga kaasapandud Rotor-Gene Q installeerimisjuhises (*Rotor-Gene Q Installation. Guide* – CD ja trükiväljaanne).



5. Topelt-klõpsake "Rotor-Gene Q Series Software" töölaua ikoonil, et tarkvara käivitada.

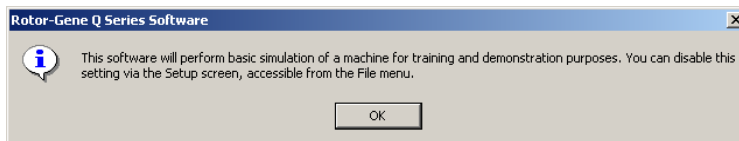


6. Esimest korda tarkvara käivitades kuvatakse "Welcome" aken, aga järgnevate tarkvara uuenduste puhul enam mitte.



- Machine Serial Number:** Trükkige sisse masina seerianumber (7 numbrit), mille leiab Rotor-Gene Q MDx tagant.
- Port:** Valige kas USB või jadakaabel. Valige sobiv port või klõpsake "Auto-Detect" nuppu.
- Auto-Detect** Seda valikut kasutades tuvastatakse vastav USB või jadaport automaatselt ja kuvatakse see "Port" rippmenüüs.
- Run in Virtual Mode (for demonstration):** Selle kasti äramärgimine võimaldab installeerida Rotor-Gene Q tarkvara arvutile, mis ei ole Rotor-Gene Q MDx instrumendiga ühendatud. Tarkvara on igati funktsionaalne ja võimaldab eksperimentide simuleerimist.
- Märkus: Kui see kast on märgitud ja Rotor-Gene Q MDx on arvutiga ühendatud, ilmub enne eksperimendi algust järgmine teade: "You are about to run in Virtual mode" (alustate eksperimenti virtuaalses režiimis). Reaalse eksperimendi läbiviimiseks tuleb seadeid "Setup" aknas muuta (vt peatükk 7.5.4).

Begin: Kui kogu info on sisestatud, klõpsake "Begin". Oodake, kuni toimub initsieerimine, see võib võtta mõned sekundid aega. Kui valiti virtuaalne režiim, ilmub järgmine teade:

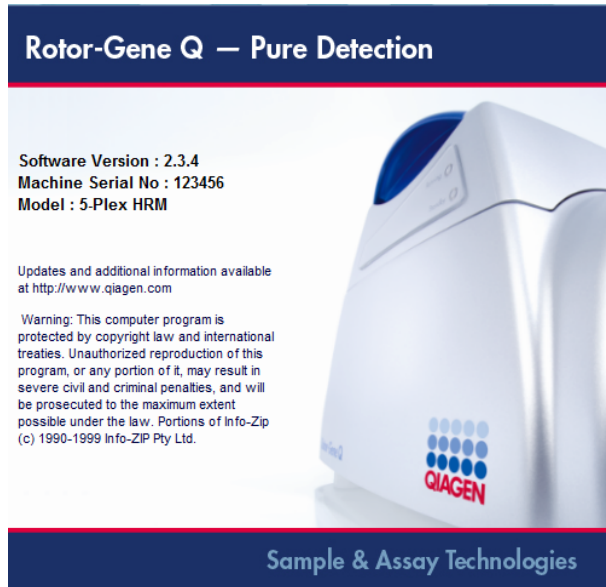


Kui "Run in Virtual Mode" kast on märkimata, käivitub ja avaneb tarkvara automaatselt.

Exit Program: Selle nupu klõpsamisel väljute programmist.

4.9 Tarkvara versioon

Tarkvara versiooni teada saamiseks klõpsake "Help" ja seejärel "About This Software...".



Selles aknas kuvatakse üldine info tarkvara kohta, sealhulgas tarkvara versioon, instrumendi mudel ja seerianumber.

Tarkvara võib Rotor-Gene Q MDx omavas organisatsioonis vabalt kopeerida ja kasutada. Tarkvara ei või kopeerida ja jagada väljaspool seda organisatsiooni.

4.10 Lisatarkvara Rotor-Gene Q MDx instrumentidega ühendatud arvutitel

Rotor-Gene Q tarkvara haldab PCR analüüsi ja andmete kogumise vältel ajakriitilisi protsesse. Sellel põhjusel on oluline veenduda, et muud protsessid ei kasutaks olulist osa süsteemi ressurssidest ja seega ei aeglustaks Rotor-Gene Q tarkvara. Eriti tähtis on pöörata tähelepanu allpool toodud punktidele.

Süsteemi administraatoritel on soovitatav enne iga muutuse sisseviimist kaaluda muutuse võimalikku mõju süsteemi ressurssidele.

4.10.1 Viirusetõrjetarkvara

QIAGEN on teadlik ohust, mida arvutiviirused põhjustavad teiste arvutitega andmeid vahetavale arvutile. Tarkvara Rotor-Gene AssayManager versioon 1.0 või 2.1 on ette nähtud installimiseks eelkõige keskkondadesse, kus kehtib kohalik poliitika selle ohu minimeerimiseks. QIAGEN soovib siiski igal juhul kasutada viirusetõrjetarkvara.

Sobiva viirusekannimistöõriista valimise ja installimise vastutus on kliendil. QIAGEN on ühilduvuse tõestamiseks siiski valideerinud tarkvara Rotor-Gene Q ja Rotor-Gene AssayManager versioonid 1.0 ja 2.1 QIAGENi sülearvutiga koos järgmise kahe viirusetõrjetarkvaraga:

- Symantec® Endpoint Protection V12.1.6
- Microsoft Security Essentials V4.10.209¹

Teavet viirusetõrjetarkvara uusimate versioonide kohta, mis on valideeritud koos tarkvara Rotor-Gene Q ja Rotor-Gene AssayManager versiooniga 1.0 või 2.1, leiate veebisaidi QIAGEN.com tootelehel.

¹ Märkus Pärast tarkvara „Microsoft Security Essentials“ installimist peate kontrollima, kas Windowsi värskendused on desaktiveeritud, sest installimine võib selle seade aktiveerida (lugege läbi peatükk „Operatsioonisüsteemi uuendused“).

Kui viirusetõrjetarkvara on valitud, veenduge, et selle saab konfigurierida nii, et andmebaasikausta tee saab skannimisest välja jätta. Vasatsel juhul tekib andmebaasivigade oht. Kuna Rotor-Gene AssayManager versioonid 1.0 ja 2.1 loovad dünaamiliselt uued andmebaasiarhiivid, tuleb välistada kaustatee failideni, mitte üksikfailid. Me ei soovita kasutada viirusetõrjetarkvara, kus välistada saab ainult üksikfaile (nt McAfee Antivirus Plus V16.0.5). Kui arvutit kasutatakse võrgujuurdepääsuta keskkonnas, veenduge, et viirusetõrjetarkvara toetab võrguühendusega värskendusi.

Järjepidevate tulemuste saamiseks pärast viirusetõrjetarkvara installimist peaksid süsteemiadministraatorid seepärast tagama järgmist.

- Nagu eespool selgitatud, tuleb tarkvara Rotor-Gene AssayManager 1.0 ja 2.1 andmebaasikausta (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) failiskannidest välja jätta.
- Kui kasutusel on Rotor-Gene AssayManager 1.0 või 2.1, ei toimu viiruseandmebaasi uuendusi.
- Veenduge, et reaajas PCR andmete kogumise ajal on kõvaketta täis- või osalised skannid keelatud. Vastasel juhul võib instrumendi jõudlus olla pärsitud.

Konfiguratsiooni üksikasjad leiab valitud viirusetõrjetarkvara juhendist.

4.10.2 Tulemüür ja võrgud

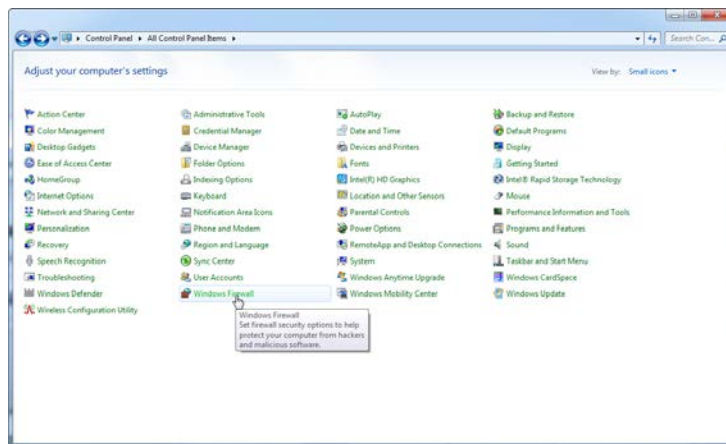
Tarkvara Rotor-Gene Q saab kasutada kas võrguühendusega arvutites või võrgukeskkonnas, kui kasutatakse kaugandmebaasiserverit.

Võrguühendusega kasutamiseks konfigureeritakse QIAGENi tarnitud sülearvuti tulemüür nii, et sissetulev liiklus blokeeritakse kõikidest portidest, välja arvatud võrguühenduse loomiseks vajalikest portidest.

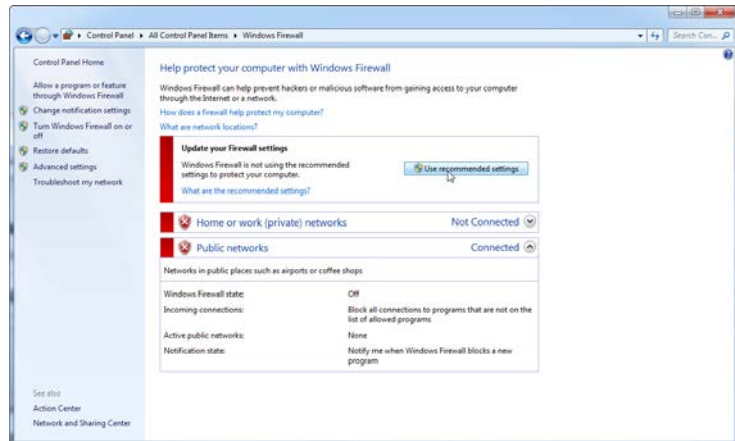
Võtke arvesse, et sissetulevate ühenduste blokeerimine ei mõjuta vastuseid kasutaja algatatud taotlustele. Väljaminevad ühendused on lubatud, sest need võivad olla vajalikud uuenduste toomiseks.

Kui teie konfiguratsioon on erinev, soovib QIAGEN konfigurereida tulemüüri eespool kirjeldatud viisil. Selleks peab süsteemiadministraator sisse logima ja tegema järgmised toimingud.

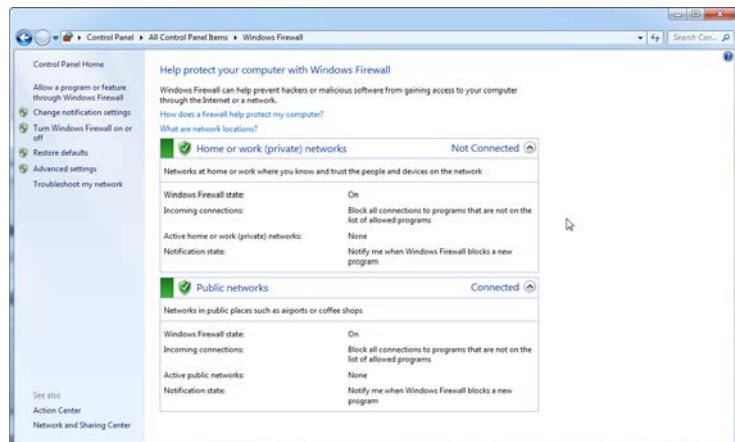
1. Avage "Control Panel" (Juhtpaneel) ja valige "Windows Firewall" (Windowsi tulemüür).



- Valige "Use recommended settings" (Kasuta soovitatud sätteid).

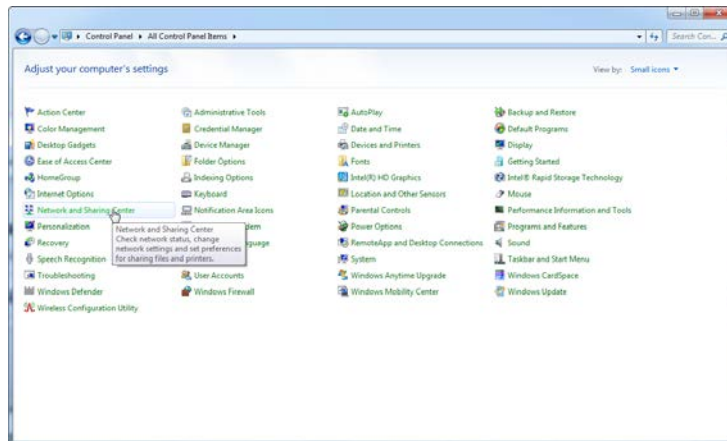


- Veenduge, et järgmised seaded on aktiivsed:

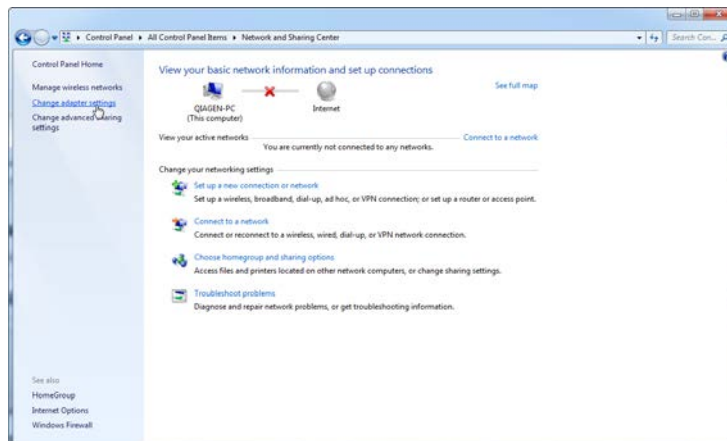


Turbe ja töökindluse kaalutlustel tuleb Wi-Fi asemel kasutada kaablipõhist võrgujuurdepääsu. OIAGENI tarnitud sülearvutites on Wi-Fi-adapter keelatud. Kui teie konfiguratsioon on erinev, peab süsteemiadministraator Wi-Fi-adapteri käsitsi keelama järgmistele toimingutega.

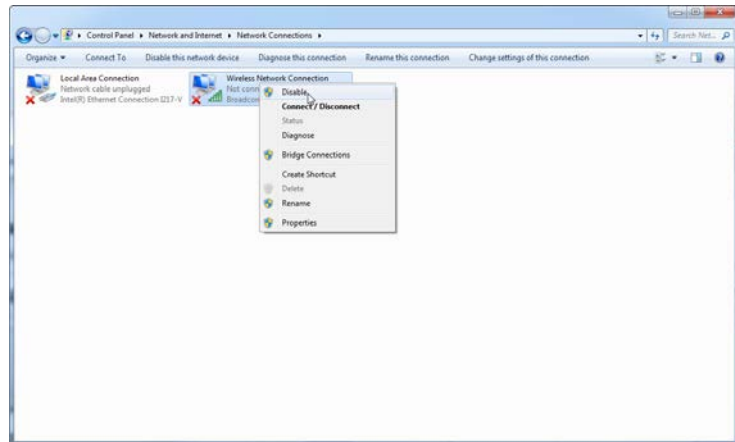
1. Avage "Control Panel" (Juhtpaneel) ja valige "Network and Sharing Center" (Võrgu- ja ühiskasutuskeskus).



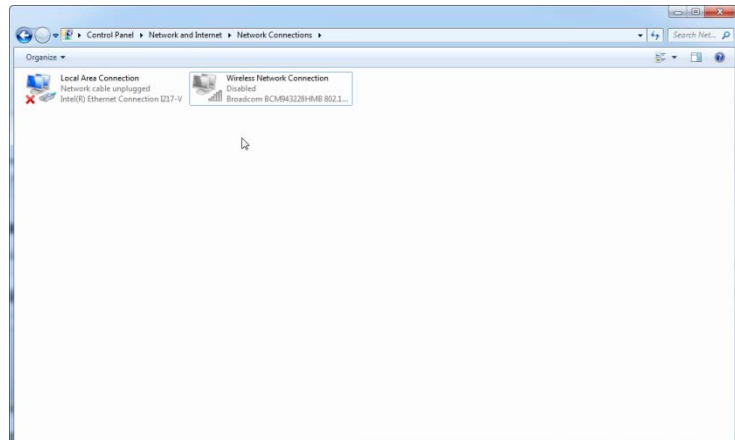
2. Valige "Change adapter settings" (Muuda adapteri sätteid).



3. Seadke hiirekursor üksusele "Wireless Network Connection" (Traadita võrguühendus), vajutage paremat hiirenuppu ja valige kontekstimenüüst käsk "Disable" (Keela).



4. Veenduge, et traadita võrguühendus on keelatud.



4.10.3 Süsteemi seadistused

Mitmed süsteemi seadistused kasutavad isegi kasutajapoolse sekkumiseta olulist osa süsteemi ressurssidest. Selliste seadistuste tavalisemad näited on:

- Failide indekseerimine, mida viiakse läbi paljude kaasaegsete kontorirakenduste puhul

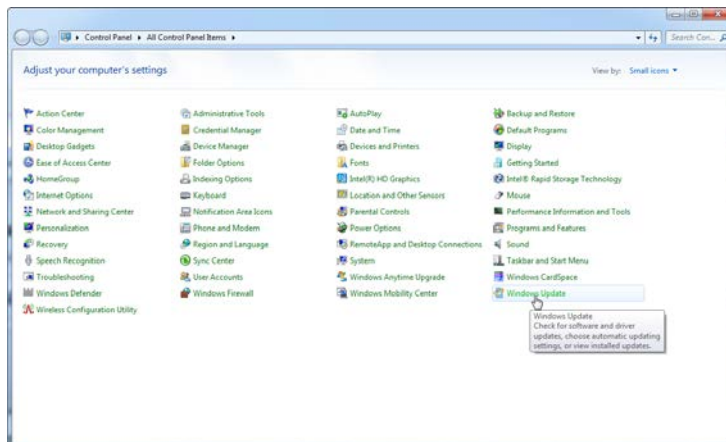
- Kõvaketta defragmenteerimine, mis on sageli taustülesandeks
- Igasugune tarkvara, mis otsib internetist uuendusi
- Kaugseire ja -juurdepääsu programmid

Palun teadke, et IT maailma dünaamilise iseloomu tõttu ei pruugi see nimekiri täielik olla ja välja võib olla lastud programme, mida ei ole kirjutamise hetkel teada. On oluline, et süsteemi administraatorid veenduksid, et sellised programmid ei oleks PCR eksperimendi ajal aktiivsed.

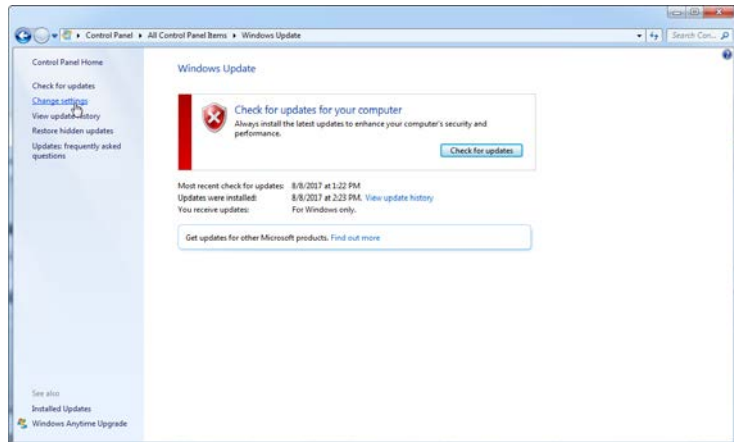
4.10.4 Operatsioonisüsteemi uuendused

QIAGENi tarnitud sülearvutid on konfigureeritud nii, et opsüsteemi automaatsed värskendused on keelatud. Kui teie konfiguratsioon on erinev, peab süsteemadministraator keelama kõik opsüsteemi automaatse värskendamise protsessid järgmiste toimingutega.

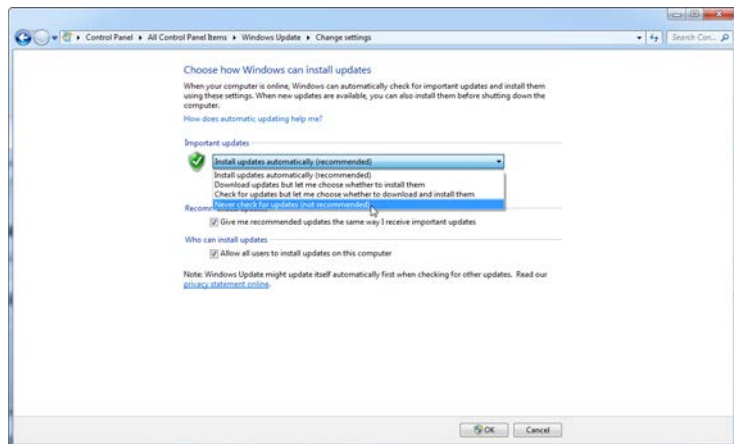
1. Avage "Control Panel" (Juhtpaneel) ja valige üksus "Windows Update".



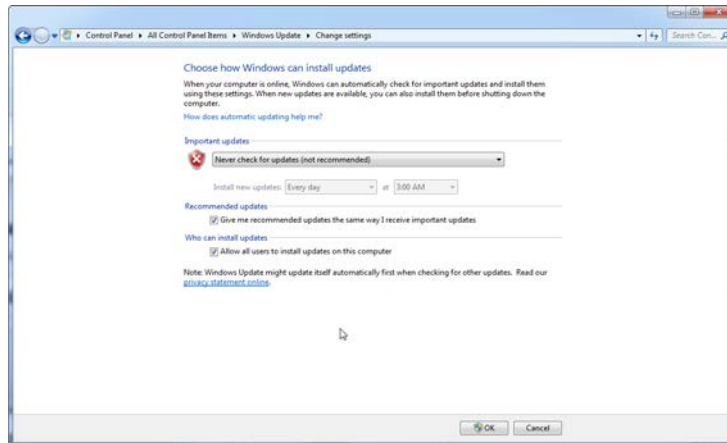
2. Valige "Change settings" (Muuda sätteid).



3. Valige "Never check for updates" (Ära kunagi kontrolli värskendusi).



4. Veenduge, et jaotise "Important updates" (Olulised värskendused) suvand "Never check for updates" (Ära kunagi kontrolli värskendusi) on aktiivne.



Kui värskendused on avastatud turbealaste haavatavuste tõttu vajalikud, pakub QIAGEN mehhanisme määratletud Windowsi turbeaugupaikade komplekti installimiseks kas võrguühendusega (kui internetiühendus on QIAGENi sülearvutis saadaval) või võrguühenduseta pakatina, mis on ette valmistatud eraldi arvutis, millel on internetiühendus.

Lisateavet leiate veebisaidi QIAGEN.com tootelehelt.

4.11 Tarkvara uuendamine

Tarkvara uuendused on kättesaadavad QIAGENi veebilehelt www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx, millele saab samuti ligi tarkvara "Help" menüüst. Tarkvara alla laadimiseks on vajalik ennast kodulehel registreerida.

5 Kasutamine — Riistvara

Selles peatükis kirjeldatakse Rotor-Gene Q MDx kasutamist.


5.1 Rootoritüübid

Kõigepealt valige, millist tuubitüüpi ja rootorit kasutada. Erinevate tuubitüüpide jaoks on saadaval 4 rootoritüüpi.

Märkus: 36 tuubi rootor ja 72 tuubi rootor on instrumendiga kaasas. Rotor-Disc® rootorid on lisad.

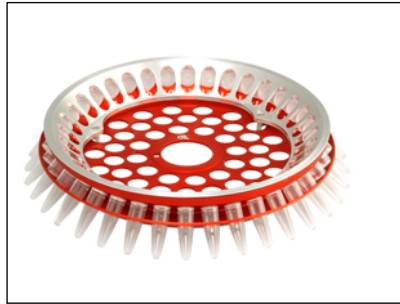
TÄHTIS: Kasutage eksperimendis ühesuguseid tuube. Ärge kasutage ühes eksperimendis erinevaid tuubitüüpe või erinevate tootjate tuube, sest see mõjutab optilist ühtsust. Me soovime kasutada QIAGENi tuube, mis on disainitud Rotor-Gene Q MDx instrumendil kasutamiseks (vt Lisa C). Erinevate tootjate tuubid võivad autofluorestseeruda, mis võib mõjutada tulemuste usaldusväärsust. Lisaks võivad erinevate tootjate tuubid olla erineva pikkuse ja paksusega, mis võib põhjustada Rotor-Gene Q MDx optilise teekonna ja reaktsiooni muutumist. QIAGEN jätab endale õiguse keelduda tehnilise abi andmisest juhul, kui probleemi põhjustajaks on mitte QIAGENi poolt sertifitseeritud plastimaterjalide kasutamine Rotor-Gene Q MDx instrumendil.

TÄHTIS: Mitte QIAGENi poolt sertifitseeritud plastimaterjalide kasutamine Rotor-Gene Q MDx instrumendil võib muuta instrumendi garantii kehtetuks.

<p>ETTEVAATUST</p> 	<p>Seadme kahjustamise oht</p> <p>[C3]</p> <p>Rootorit tuleb enne iga kasutuskorda visuaalselt kontrollida veendumaks, et see ei ole kahjustatud ega deformeerunud.</p>
--	---

36 tuubi rootor

36 tuubi rootor on värvilt punane. 36 tuubi rootor ja 36 tuubi rootori lukustusrõngas võimaldavad kasutada 0.2 ml tuube. Tuubidel ei pea olema optiliselt läbipaistvaid kaasi, sest Rotor-Gene Q MDx loeb fluorestsentsi tuubi põhjalt, mitte läbi kaane. Kumera kaanega tuube on samuti võimalik kasutada.



72 tuubi rootor

72 tuubi rootor on värvilt sinine. 72 tuubi rootor ja 72 tuubi rootori lukustusrõngas võimaldavad kasutada tuubiribasid ja korke, 0.1 ml, mis võimaldavad proovi mahtu vähendada kuni 20 µl-ni. Korgid sulevad tuubiribad turvaliselt ja usaldusväärselt.



Rotor-Disc 72 rootor

Rotor-Disc 72 rootor on värvilt hall. Rotor-Disc 72 rootor ja Rotor-Disc 72 rootori lukustusrõngas võimaldavad

Rotor-Disc 72 kasutamist. Rotor-Disc 72 on 72 pesaga ketas suure läbilaskega kasutamiseks. Rotor-Disc 72 sulgemiseks kasutatakse läbipaistvat polümeerkiilet, mis asetatakse ketta peale ja kuumsuletakse. Kilet saab kiiresti peale kanda ja see väldib kontaminatsiooni andes tuubidele tugeva, vastupidava ja rikkumis-kindla katte. Lisainfot Rotor-Disc 72 kohta saate peatükist 5.3.



Rotor-Disc 100 rootor

Rotor-Disc 100 rootor on värvilt kuldne. Rotor-Disc 100 rootor ja Rotor-Disc 100 rootori lukustusrõngas võimaldavad Rotor-Disc 100 kasutamist. Rotor-Disc 100 on 100 pesaga ketas suure läbilaskega kasutamiseks. Rotor-Disc 100 on rootorformaadis vaste 96-pesalisele plaadile, kuid lisaks on sellel 4 referentspesa. See võimaldab Rotor-Gene Q MDx integreerimist 96-pesalistesse laboratoorsesesse tööprotsessidesse. Lisapesasid saab kasutada lisaproovide, lisakontrollreaktsioonide või orientatsioonireaktsioonide jaoks ilma, et oleks vaja kasutada mõnda 96 standardsest pesast. Sujuvaks tööprotsesside integreerimiseks on Rotor-Disc 100 pesade nimetamisel kasutusel 96-pesalise plaadi nimetamisviis, s.o., A1–A12 kuni H1–H12. Neli referentspesa kannavad nimesid R1–R4. Lisainfot Rotor-Disc 100 kohta saate peatükist 5.3.



Rotorite spetsifikatsioonid

Rooritüüp	Pesa mahutavus	Proovide arv	Tuubitüüp	Soovitav reaktsioonimaht
36 tuubi rootor	200 µl	36	PCR tuubid, 0.2 ml	20–50 µl
72 tuubi rootor	100 µl	72	Tuubiribad ja korgid, 0.1 ml	20–50 µl
Rotor-Disc 72 rootor	100 µl	72	Rotor-Disc 72	20–25 µl
Rotor-Disc 100 rootor	30 µl	100	Rotor-Disc 100	15–20 µl

Märkus: Rotor-Gene Q MDx 36 tuubi roorit ja 72 tuubi roorit ei saa kasutada Rotor-Gene 3000 instrumentidel, sest optiline joondus ei ühti. Palun kasutage Rotor-Gene 3000 instrumentidel jätkuvalt vanemaid 36 tuubi ja 72 tuubi rooreid.

5.2 Reaktsiooni ettevalmistamine

TÄHTIS: Usaldusväärsete tulemuste saamiseks tuleb igas eksperimendis kasutada sobivaid kontrollid.

Reaktsioone saab ette valmistada kasutades laadimisalust 96 x 0.2 ml tuubile (PCR tuubidele, 0.2 ml), laadimisalust 72 x 0.1 ml tuubile (tuubiribadele ja korkidele, 0.1 ml, pipeteerimine ühe-kanalise pipetiga), laadimisalust 72 x 0.1 ml Multi-channel (tuubiribadele ja

korkidele, 0.1 ml, pipeteerimine mitme-kanalise pipetiga), Rotor-Disc 72 laadimisalust (Rotor-Disc 72 jaoks) või Rotor-Disc 100 laadimisalust (Rotor-Disc 100 jaoks). Kõik alused on tehtud alumiiniumist ja neid saab eelnevalt jahutada.

Laadimisalus 72 x 0.1 ml tuubidele (pildil) mahutab 18 tuubiriba ja kuni kaheksa 0.5 ml tuubi, mida saab kasutada mastermiksi ettevalmistamiseks, ja kuni kuusteist 0.2 ml tuubi, mida saab kasutada standardkõverate ettevalmistamiseks. Alltoodud protseduur iseloomustab reaktsioonide ettevalmistamist kasutades 72 tuubi rootorit. Sama protseduur kehtib 36 tuubi rootori ja vastavate lisade abil reaktsioonide ettevalmistamise puhul.

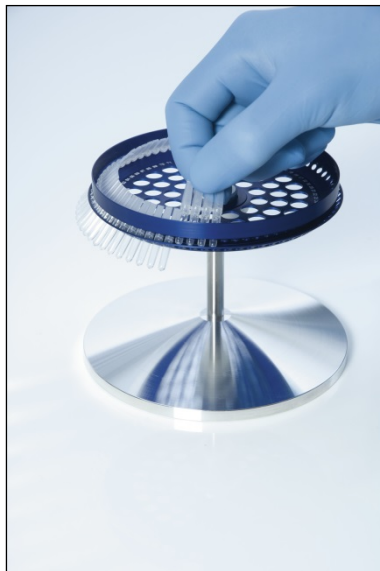
1. Asetage tuubiribad laadimisalusele ja pipeteerige reaktsioonikomponendid tuubidesse.



2. Asetage korgid kindlalt tuubiribadele ja veenduge visuaalselt selles, et tuubid on tihedalt suletud.

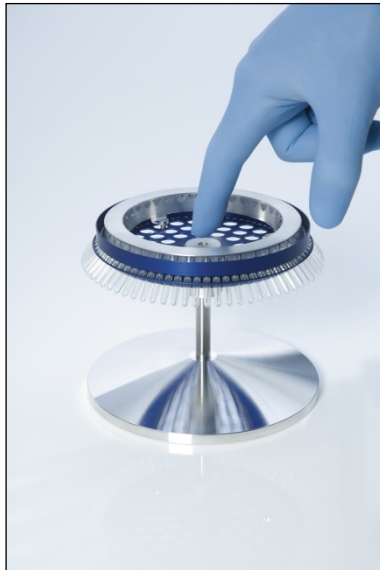


3. Sisestage tuubiribad 72 tuubi rootorisse, veendudes, et iga tuub asetub kindlalt ja õigetpidi kohale. Kui proovid ei ole korrektselt rootorisse sisestatud, ei ole need detektsioonisüsteemi suhtes optimaalselt joondatud. See võib põhjustada salvestatava fluorestsentsignaali ja detektsioonitundlikkuse vähenemist. Rotorihoidja, mis lihtsustab tuubide sisestamist, on instrumendiga kaasas.



TÄHTIS: Maksimaalse temperatuuriühtsuse saavutamiseks peab igas rootori positsioonis olema tuub. Rotori kõikide positsioonide täitmine kindlustab selle, et iga tuubini jõuab võrdne õhuvoog. Hoidke käepärast komplekt kasutamata, korkidega suletud tuube, mida saab kasutada võimalike tühjade positsioonide täitmiseks.

4. Asetage 72 tuubi rootori lukustusrõngas rootorile vajutades 3 positsioneerimisoga rootori välimistest aukudest läbi. Lukustusrõngas hoiab tuubidel analüüsi ajal korgid kindlalt peal.



5. Sisestage kogu komplekt Rotor-Gene Q MDx kambrisse klõpsates selle paika rootori teljel oleva positsioneerimisoga abil. Eemaldamisel vajutage rootori teljele, et rootor vabastada, ja võtke rootor välja.



6. Sulgege kaas ja seadke Rotor-Gene Q tarkvara abil valmis eksperimentiprofiil.

5.3 Rotor-Disc ettevalmistamine

Rotor-Disc 72 või Rotor-Disc 100 kujutavad endast vastavalt 72 või 100 pesa, mis on ühendatud üheks kettaks ja disainitud suure läbilaskega kasutamiseks. Rotor-Disc 72 ja Rotor-Disc 100 ei kasuta korke. Selle asemel kantakse ketta peale Rotor-Disc Heat Sealing Film ja kuumsuletakse kasutades Rotor-Disc Heat Sealer instrumenti. Kile väldib kontaminatsiooni andes tugeva, vastupidava ja rikkumis-kindla katte. Rotor-Disc ketta kuumsulgemine toimub nii nagu järgnevalt kirjeldatud.

TÄHTIS: Palun lugege Rotor-Disc Heat Sealer instrumendiga kaasasolevat tooteinfot enne, kui protseduuriga alustate.

1. Lülitage Rotor-Disc Heat Sealer sisse instrumendi taga vasakul pool asuva lüliti abil. Süttib punane "Power" tuli. Rotor-Disc Heat Sealer vajab töötemperatuurile jõudmiseks umbes 10 minutit, seejärel süttib roheline "Ready" tuli.
2. Valige alaline või eemaldatav kattekile.

Märkus: Kui Rotor-Disc Heat Sealer on valmis, on ohutu see pidevalt tööle jätta.

3. Asetage Rotor-Disc Rotor-Disc laadimisalusele arvestades Rotor-Disc kettal märgitud esimest positsiooni ja Rotor-Disc laadimisaluse tuubide märkeid.
4. Pipeteerige reaktsioonid Rotor-Disc ketta tuubidesse kas manuaalselt või kasutades automaatset pipeteerimissüsteemi.



5. Eemaldage ühelt Rotor-Disc Heat Sealing Film kile lehelt keskmine osa voltides kile keskelt pooleks, torgates keskmise osa välja ja tõmmates selle ettevaatlikult välja.
6. Asetage kile Rotor-Disc kettale õiges orientatsioonis nagu näidatud "SIDE UP" (see pool üleval) märkega. Veenduge, et "SIDE UP" märge on Rotor-Disc laadimisaluse allosas. Kile keskmises olev auk peaks kergesti üle Rotor-Disc laadimisaluse silindri Rotor-Disc ketta peale libisema.



7. Libistage kogu komplekt Rotor-Disc Heat Sealer instrumenti kasutades selleks Rotor-Disc laadimisalusel küljel olevaid rööpaid. Veenduge, et Rotor-Disc laadimisalus on täielikult sisse lükatud.



8. Sulgemismehhanismi aktiveerimiseks vajutage esmalt alla sinine kang Heat Sealer instrumendi peal, seejärel lükake must konks tagasi.



9. Kui sulgemismehhanism on alla laskunud, süttib oranž "Sealing" tuli. Kui Rotor-Disc laadimisalus ei ole õiges positsioonis, kõlab hoiatuseks piiks.
10. Kui sulgemine on lõpetatud, kõlab pidev piiks ja oranž "Sealing" tuli hakkab vilkuma. Vajutage sinine kang alla, et sulgemismehhanism tõsta ja algsesse positsiooni vabastada.

TÄHTIS: Ärge jätkake sulgemist kui piiks on juba kõlanud, vastasel juhul võib Rotor-Disc deformeeruda.

Märkus: Hoiatamaks, et te ei jäta sulgemismehhanismi kogemata vabastamata, jääb vilkuv oranž "Sealing" tuli püsivalt põlema ning pidev piiks muutub katkendlikuks helisignaaliks.

11. Libistage Rotor-Disc laadimisalus Rotor-Disc Heat Sealer instrumendist välja. Laske kilel umbes 10 sekundit jahtuda. Eemaldage üleliigne kattedkile seda allapoole lükates. Ärge tõmmake üleliigset kilet ülespoole.
12. Eemaldage Rotor-Disc laadimisaluselt.
13. Asetage Rotor-Disc rootorisse arvestades ketta paigutamisel sellele märgitud esimest positsiooni.

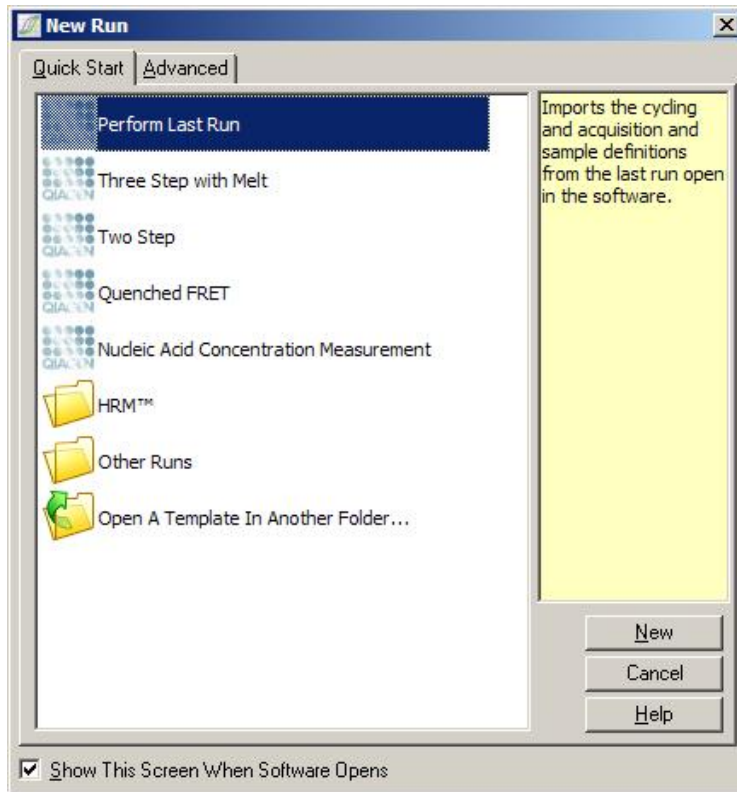
6 Kasutamine — Tarkvara

Uusi eksperimente saab ette valmistada kasutades Kiiret startakent või Edasijõudnute startakent, mis ilmuvad tarkvara käivitamisel. Kiire startaken on disainitud selleks, et kasutaja saaks võimalikult kiiresti eksperimenti käivitada. Edasijõudnute startaknas on rohkem valikuid, nagu näiteks detektori optimeerimine (*gain optimisation*) ja reaktsioonimahu valimine. Mugavuse suurendamiseks on mõlemas startaknas mitmed vormid (*template*), milles on vaikimisi tsükleerimise ja kogumiskanalite seaded. Startakna tüübi muutmiseks valige sobiv sakk "New Run" akna ülaosas.

6.1 Kiire startaken (Quick Start)

Kiire startaken lubab kasutajal võimalikult kiiresti eksperimenti käivitada. Kasutaja saab valida mitme tavakasutuses oleva vormi vahel ja käivitamiseks sisestada minimaalse hulga parameetreid. Kiire startaken eeldab, et reaktsioonimaht on 25 µl. Muude reaktsioonimahtude puhul kasutage Edasijõudnute startakent (vt peatükk 6.2).

Esimesena tuleb "New Run" aknas valida eksperimendiks soovitud vorm topelt-klõpsates nimekirjas soovitud vormil.



- | | |
|-----------------------|---|
| Perform Last Run: | Kasutage samu tsükleerimise, andmete kogumise ja proovide seadeid kui tarkvaras viimati avatud failis. |
| Three Step with Melt: | See on kolme-etapiline tsükleerimise profiil ja sulamiskõver, andmed kogutakse rohelises kanalis. |
| Two Step: | See on kahe-etapiline tsükleerimise profiil, andmed kogutakse rohelises, kollases, oranžis ja punases kanalis. |
| Quenched FRET: | See on kolme-etapiline tsükleerimise profiil ja sulamiskõver. Erinevalt "Three Step with Melt" vormist kogutakse andmed seondumise etapi lõpus. |

Nucleic Acid See on vaikimisi vorm nukleiinhapete
Concentration kontsentratsiooni mõõtmiseks
Measurement: interkaleeruvate värvide abil.

HRM: Selles kaustas on kõrge lahutavusega
 sulamise profiilid.

Other Runs: Selles kaustas on lisaprofiilid.

Kõikide profiilide tsükleerimise ja andmete kogumise seadeid saab startaknas muuta.

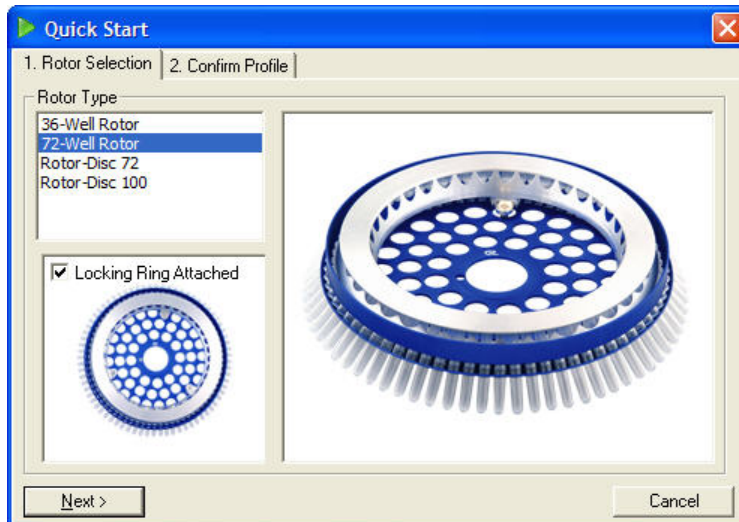
Märkus: Kiire startakna vormide nimekirja saab lisada kasutaja poolt defineeritud vorme. Selleks kopeerige või salvestage *.ret failid C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates. Pärast sellesse kausta kopeerimist ilmub vorm ikoonina nimekirja. Kui soovite oma vormidele ise ikoonid määrata, siis looge vormi nimega *.ico pildifail.

Seotud vormidele saab luua alamkatalooge. See võimaldab vormide organiseerimist, mis on mugav kui näiteks mitu kasutajat töötab sama instrumendiga.

6.1.1 Rootori valik

Järgmises aknas valige nimekirjast rootori tüüp.

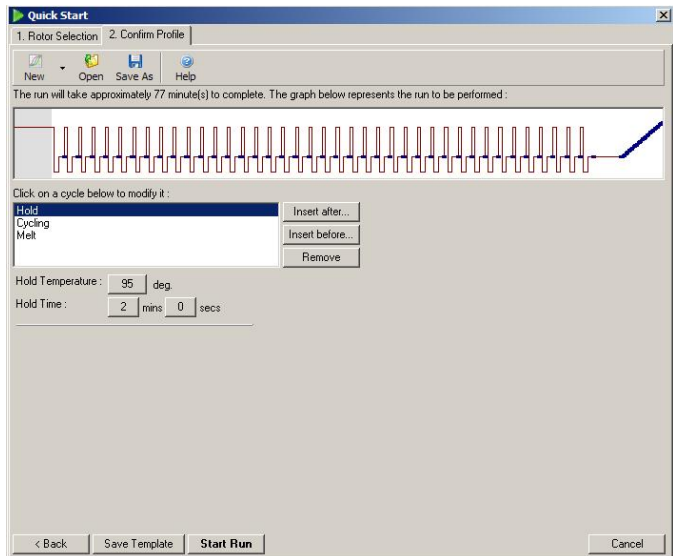
Märkige “Locking Ring Attached” kast ja seejärel klõpsake “Next”.



6.1.2 Profilli kinnitamine

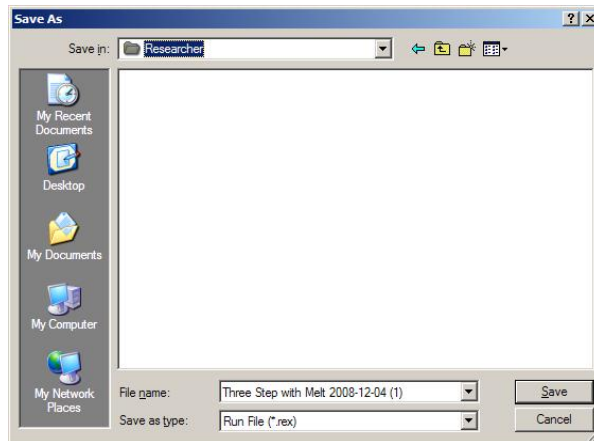
Valitud vormi tsükleerimise tingimused ja kogumiskanalid imporditakse. Neid saab muuta kasutades “Edit Profile” akent (vt peatükk 6.2.4).

Ekspriimendi alustamiseks klõpsake “Start Run” nuppu. Samuti on võimalik enne eksperimendi alustamist vorm salvestada – klõpsake “Save Template”.



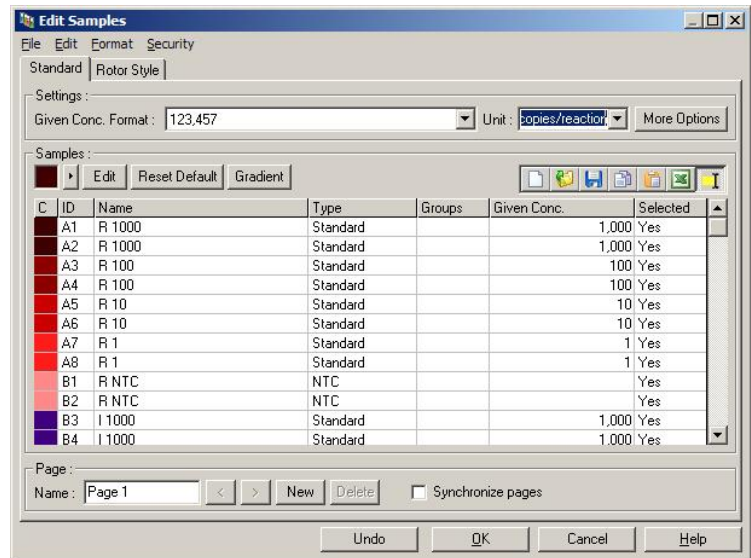
6.1.3 Eksperimendi salvestamine

Pärast "Start Run" nupu klõpsamist ilmub "Save As" aken. Eksperimendi saab salvestada kasutaja poolt määratud kohta. Eksperimendile antakse failinimi, mis koosneb kasutatud vormist ja eksperimendi kuupäevast. Samuti lisatakse failinimele seerianumber (1, 2 jne.), mis võimaldab automaatselt nimetada mitmeid samal päeval sama vormiga tehtud eksperimente.



6.1.4 Proovide andmed

Kui eksperiment on käivitatud, ilmub “Edit Samples” aken, mis võimaldab proovid defineerida ja neid kirjeldada.

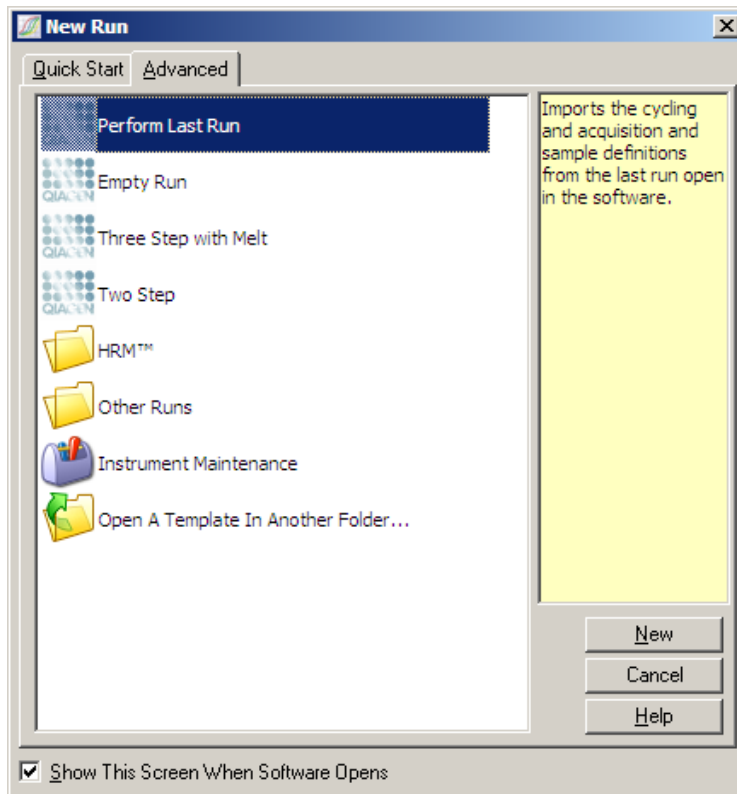


“Edit Samples” aken ilmub pärast seda, kui eksperiment on käivitatud. Kui proovide nimesid sisestatakse seadme (nt vötkoodi skanneri) kasutamise ajal väga kiiresti, võivad proovide nimedes olevad tähed valesse järjekorda sattuda. Seetõttu on soovitatav hoiduda vötkoodi skanneri kasutamisest ja sisestada proovide nimesid võimaluse korral pärast seadme kasutamist. Seega saab kasutaja sellel ajal proovide nimesid sisestada. “Edit Samples” aknas proovide defineerimise kohta saate infot peatükis 7.8.4.

6.2 Edasijöudnute startaken (Advanced)

Edasijöudnute startaknas on valikuid, mis Kiires startaknas ei ole kättesaadavad, nagu näiteks detektori optimeerimise konfigureerimine.

Edasijõudnute startakna kasutamiseks valige “New Run” akna “Advanced” saki nimekirjast topletklõpsates soovitud vorm.



Selles aknas kättesaadavate vormide valik on sarnane Kiire startakna valikule (peatükk 6.1).

Perform Last Run: Kasutage samu tsükleerimise, andmete kogumise ja proovide seadeid kui tarkvaras viimati avatud failis.

Empty Run: See on tühi profiil, mis võimaldab kasutajal defineerida kõik parameetrid.

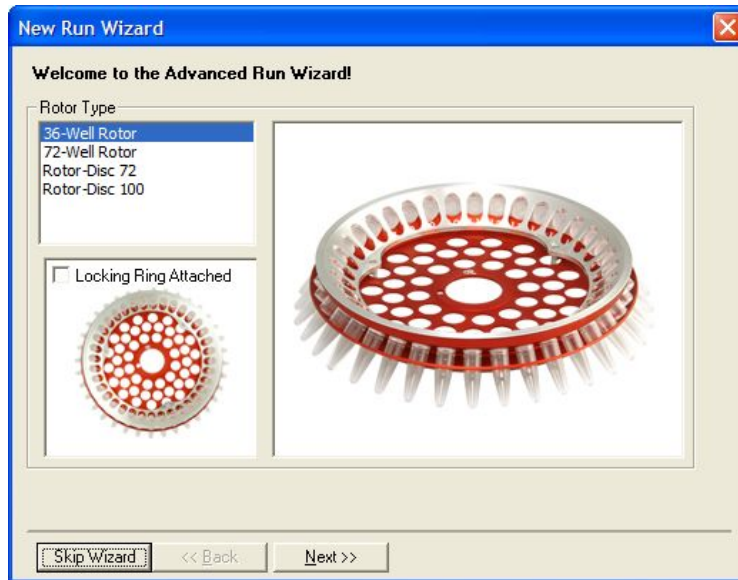
Three Step with Melt:	See on kolme-etapiline tsükleerimise profiil ja sulamisköver, andmed kogutakse rohelises kanalis.
Two Step:	See on kahe-etapiline tsükleerimise profiil, andmed kogutakse ainult rohelises kanalis, et analüüsi kiirendada.
HRM:	Selles kaustas on 2 kõrge lahutavusega sulamise profiili.
Other Runs:	Selles kasutas on lisaprofiilid.
Instrument Maintenance:	Selles kaustas on vorm Optiliseks temperatuuri kontrolliks (OTV). Lisainfot saate peatükist 10. See vorm on lukustatud, et kindlustada alati korrektne toimimine.

Märkus: Vormide nimekirja saab lisada kasutaja poolt defineeritud vorme. Selleks kopeerige või salvestage *.ret failid C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\. Pärast faili kopeerimist ilmub vorm ikoonina nimekirja.

6.2.1 “New Run Wizard” aken 1

Järgmises aknas valige nimekirjast rootori tüüp.

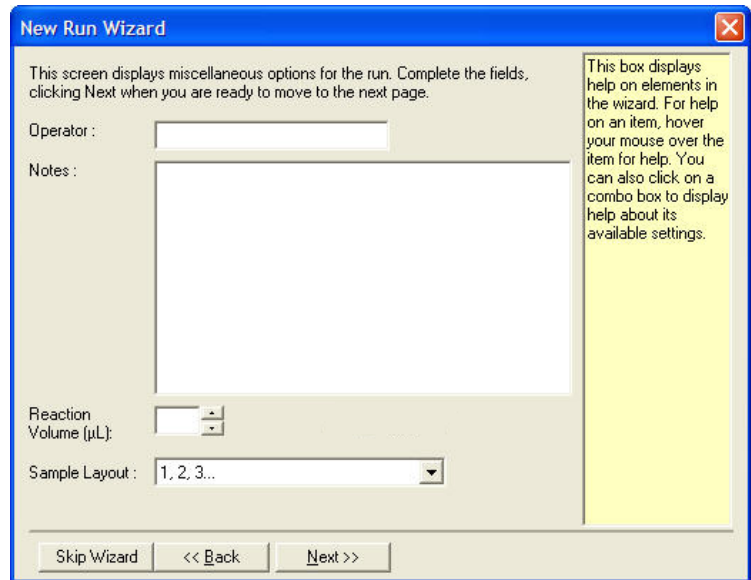
Märkige “Locking Ring Attached” kast ja jätkamiseks klõpsake “Next”.



6.2.2 “New Run Wizard” aken 2

Järgmises aknas saab sisestada kasutaja nime ja märkmed sisestatava eksperimendi kohta. Samuti tuleb sisestada reaktsioonimaht.

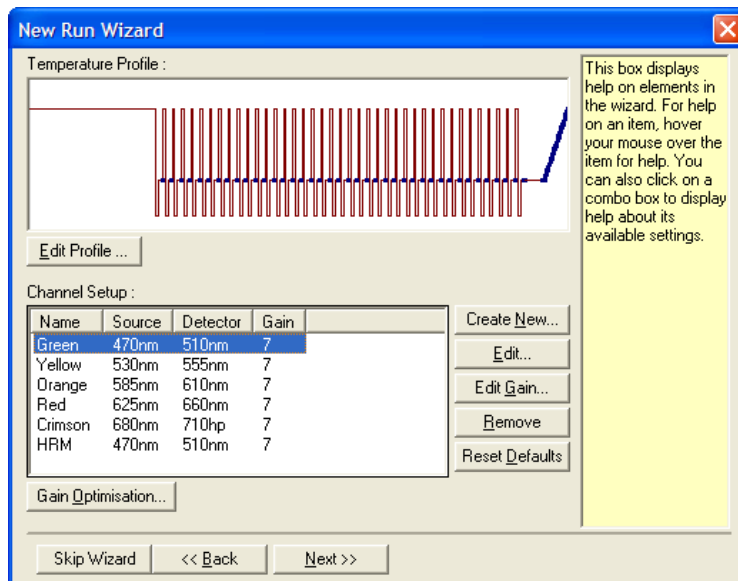
Kui valisite aknas 1 72 tuubi rootori, on rippmenüüs saadaval kolm “Sample Layout” valikut. “1, 2, 3...” on vaikumisi valik. Enamik kasutajaid valib selle võimaluse. “1A, 1B, 1C...” tuleks valida siis, kui proovid laaditi kõrvuti asetsevatesse 0.1 ml tuubiribadesse 8-kanalise pipetiga. “A1, A2, A3...” võib valida siis, kui see on kohane.



6.2.3 "New Run Wizard" aken 3

Selles aknas saab muuta "Temperature Profile" (temperatuuriprofiil) ja "Channel Setup" (kanalid) seadeid. Kui klõpsate "Edit Profile..." nuppu, ilmub "Edit Profile" aken, mis võimaldab tsükleerimise tingimuste muutmist ja kogumiskanalite valimist (peatükk 6.2.4).

Pärast profiili kohandamist klõpsake "Gain Optimisation..." nuppu, et avada "Gain Optimisation" aken (vt lk 6-24).



6.2.4 Profiili muutmine

“Edit Profile” aken võimaldab määrata tsükleerimise tingimusi ja kogumiskanaleid. Algselt kuvatav profiil sõltub analüüsi ettevalmistamisel valitud vormist (vt lk 6-1). Profiil kuvatakse graafiliselt. Profiili osade nimekiri on graafilise displei all. Selles nimekirjas võib olla Hold (lk 6-13), Cycling (lk 6-14), Melt (lk 6-17) või HRM kui instrumendil on HRM kanal (lk 6-18).

Profiili igat etappi on võimalik muuta klõpsates kas graafilise displei sobival piirkonnal või nimekirja nimel ja seejärel ilmuvaid seadeid kohandades.

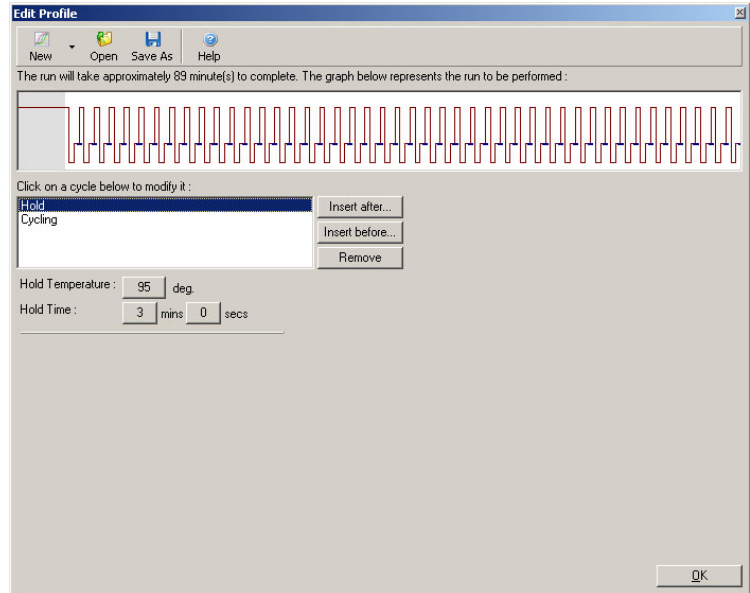
Insert after...: See võimaldab uue tsükli lisamise valitud tsükli järele.

Insert before...: See võimaldab uue tsükli lisamise valitud tsükli ette.

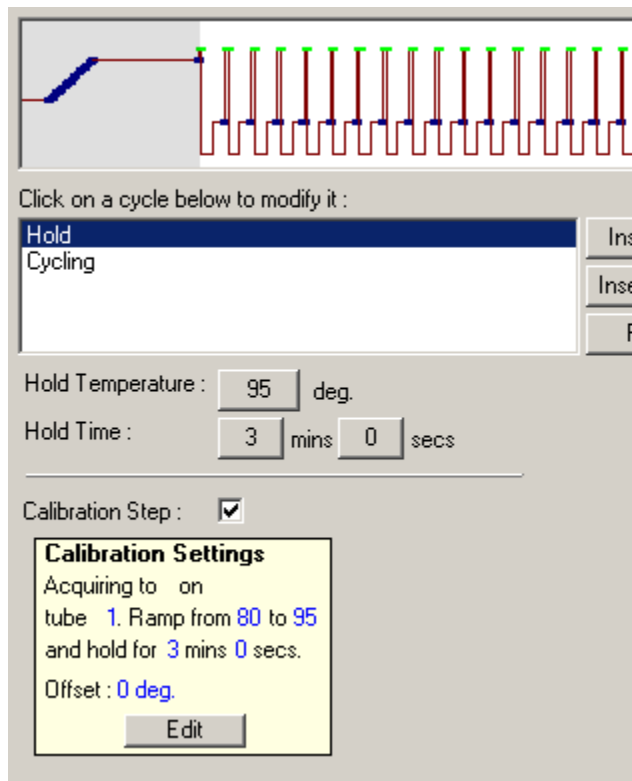
Remove: See eemaldab valitud tsükli profiilist.

“Hold” etapp

“Hold” instrueerib Rotor-Gene Q MDx jääma määratud temperatuurile määratud ajaks. Temperatuuri muutmiseks klõpsake “Hold Temperature” nuppu ja trükkige või kasutage liugkangi, et valida soovitud temperatuur. “Hold” etapi kestvuse muutmiseks klõpsake “Hold Time”, “mins” ja “secs” nuppe.



Kui viite läbi optilise denatureerimisega tsükleerimist (Optical Denature Cycling) võib “Hold” etappi kasutada kalibreerimisetapina. Sel juhul viiakse enne “Hold” etappi läbi kalibreerimissulamine. Vaikimisi on see konfigureeritud eksperimendi esimeseks “Hold” etapiks, kuid seda võib vajadusel muuta.



Rohkem infot optilise denatureerimisega tsükleerimise kohta saate leheküljelt 6-18.

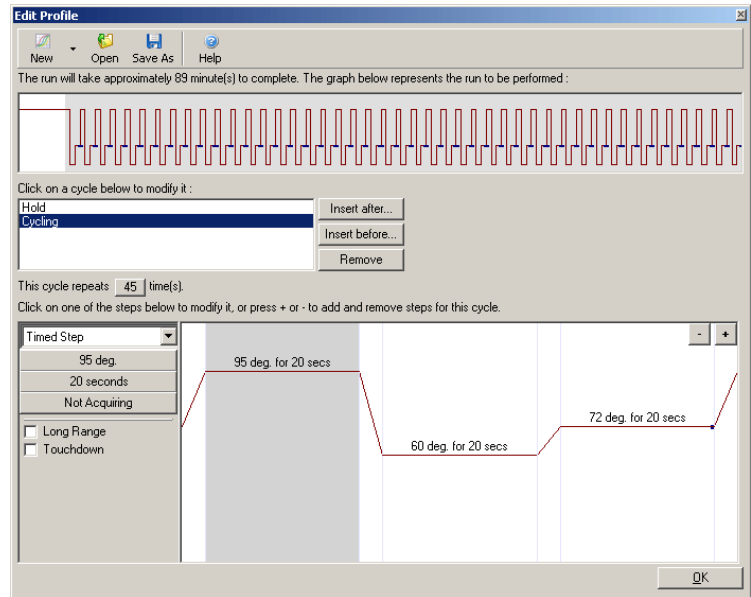
“Cycling” etapp

“Cycling” etapis (tsükleerimine) korratakse kasutaja poolt defineeritud temperatuuri ja aja etappe määratud hulga kordi. Korduste arv määratakse “This cycle repeats X time(s).” nupu abil.

Üks tsükkel on graafilisel kujul toodud (nagu näidatud alltoodud ekraanipildil). Tsükli igat etappi on võimalik muuta. Temperatuuri saab muuta tirdes graafikul temperatuurijoont üles või alla. Etapi pikkust on võimalik muuta tirdes temperatuuri piirjoont graafikul vasakule või paremale. Alternatiivina klõpsake etapil ja

kasutage graafikust vasakul pool asuvaid temperatuuri ja aja nuppe.

Tsüklisse saab etappe lisada või neid eemaldada kasutades “-” ja “+” nuppe graafiku üleval paremas nurgas.



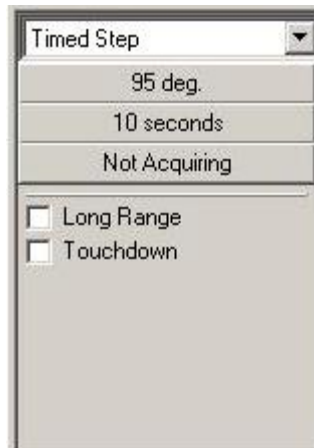
Long Range: Selle kasti märkimisel pikendatakse valitud etapis olemise aega igas tsüklis ühe sekundi võrra.

Touchdown: Selle kasti märkimisel vähendatakse temperatuuri kindla arvu kraadide võrra kindla arvu esmaste tsüklite jooksul. See kuvatakse seejärel ekraanil.

Andmete kogumine (Acquisition)

Andmeid võib koguda igas tsükleerimise etapis ükskõik, millises kanalis. Andmete kogumiseks kanali seadmiseks klõpsake “Not Acquiring” nuppu (kui selles etapis on

juba andmete kogumiseks kanal valitud , siis on siin andmeid koguvate kanalite nimekiri).



Pärast “Not Acquiring” nupu klõpsamist ilmub “Acquisition” aken.

Acquisition

Same as Previous : (New Acquisition)

Acquisition Configuration :

Available Channels :

Name
Crimson
HRM
Orange
Red
Yellow

Acquiring Channels :




Name
Green

To acquire from a channel, select it from the list in the left and click >. To stop acquiring from a channel, select it in the right-hand list and click <. To remove all acquisitions, click <<.

Dye Chart >> OK Don't Acquire Help

Dye Channel Selection Chart

Channel	Source	Detector	Dyes
Green	470nm	510nm	FAM [®] , SYBR Green 1 [®] , Fluorescein, EvaGreen [®] , Alexa Fluor 488 [®]
Yellow	530nm	555nm	JOE [®] , VIC [®] , HEX, TET [®] , CAL Fluor Gold 540 [®] , Yakima Yellow [®]
Orange	585nm	610nm	ROX [®] , CAL Fluor Red 610 [®] , Cy3.5 [®] , Texas Red [®] , Alexa Fluor 568 [®]
Red	625nm	660nm	Cy5 [®] , Quasar 670 [®] , Alexa Fluor 633 [®]
Crimson	680nm	710hp	Quasar705 [®] , Alexa Fluor 680 [®]
HRM	460nm	510nm	SYTO 9 [®] , EvaGreen [®]

Andmete kogumisel kasutatava kanali määramiseks valige kanal ja liigutage see "Available Channels" nimekirjast "Acquiring Channels" nimekirja kasutades  nuppu. Valitud kanali eemaldamiseks andmeid koguvate kanalite hulgast ("Acquiring Channels" nimekirjast) kasutage  nuppu.  nupp eemaldab "Acquiring Channels" nimekirjast kõik kanalid. "Don't Acquire" nupu klõpsamine eemaldab samuti antud etapist andmete kogumise.

Kui profiilis on enam kui üks tsükleerimise etapp, saab kogutud andmed lisada eelmises tsükleerimise etapis kogutud andmetele. Kasutage "Same as Previous" rippmenüüd, et valida tsükleerimise etapp, millele andmed tuleks lisada.

Kanalite-värvide valiku tabel (Dye Channel Selection Chart) aitab kasutajal otsustada, milline kanal on sobiv tema kasutatava värvi puhul. Tabelis toodud värvid on enamkasutatavad värvid ning ei näita instrumendi piiranguid.

Ülalkirjeldatud kogumiskanalite valikud kehtivad ka "Melt" etappidele, kuid kogutud andmeid ei ole võimalik lisada "Same as Previous" menüü abil.

Sulamine ja hübriidiseerimine (Melt and hybridisation)

"Melt" etapp on teekond kahe temperatuuri vahel, madalamalt kõrgemale temperatuurile. Lubatud temperatuurivahemik on 35–99°C.

"Melt" etapi seadmiseks määrake algtemperatuur; lõpptemperatuur; temperatuuri muutmise samm; aeg, mille jooksul instrument hoiab esimest andmete kogumise temperatuuri enne kui temperatuur hakkab tõusma; aeg, mille jooksul instrument hoiab igat temperatuuri määratud temperatuurivahemikus ja kogumiskanalid.

Teekond on 2 temperatuuri vahel. Kui algtemperatuur on kõrgem kui lõpptemperatuur, muutub etapi nimi

hübridiseerimiseks (“Hybridisation”). “Acquiring To” valikut, mis alltoodud ekraanivaates on Melt A, saab muuta seda nuppu klõpsates. Ilmub “Acquisition” aken ja kanaleid on võimalik valida.

Ramp from 50 degrees to 90 degrees,
 Rising by 1 degree(s) each step,
 Wait for 90 seconds of pre-melt conditioning on first step,
 Wait for 5 seconds for each step afterwards.
 Acquire to Melt A on Green

Standardse sulamise läbiviimisel suureneb temperatuur 1°C kaupa, enne andmete kogumist oodatakse iga sammu juures 5 sekundit. Rotor-Gene Q MDx saab konfigurereida nii, et temperatuuri muutmise samm on 0.02°C. Minimaalne temperatuuri hoidmise aeg sammude vahel on erinev olenevalt sammu suurusest.

Kõrge lahutavusega sulamine (High Resolution Melt)

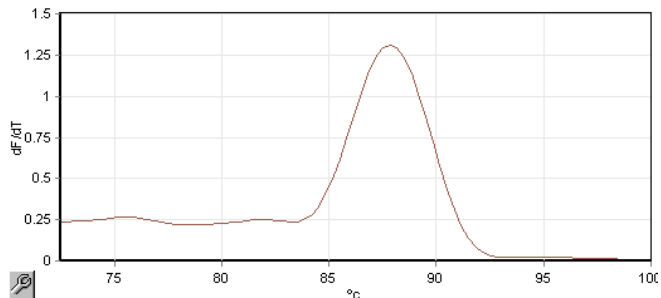
Kõrge lahutavusega sulamise (HRM) analüüs iseloomustab kahe-ahelalisi DNA proove nende dissotsiatsiooni (sulamise) järgi. See on sarnane klassikalisele sulamiskõvera analüüsile, kuid annab palju rohkem informatsiooni ja sobib suurema hulga rakenduste puhul. Proove saab eristada nende järjestuse, pikkuse, GC sisalduse või ahelate komplementaarsuse alusel, eristatavad on kuni ühe aluspaarilised muutused.

HRM analüüsi saab läbi viia ainult nendel instrumentidel, millel on HRM riistvara ja installeeritud tarkvara. Andmed kogutakse kasutades spetsiaalseid HRM ergastusallikaid ja detektoreid. HRM analüüsil on samuti võimalus enne sulamise algust detektor optimeerida (Gain Optimisation). Pärast HRM eksperimendi lõppu saab andmeid analüüsida HRM analüüsi tarkvaraga (peatükk 11).

Optilise denatureerimisega tsükleerimine

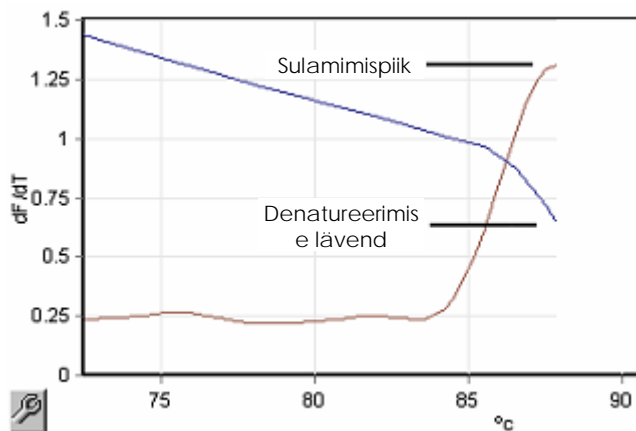
Optilise denatureerimisega tsükleerimine (Optical Denature Cycling) on huvitav Rotor-Gene Q MDx võimaldatav tehnika, mille jooksul viiakse läbi reaajas sulamisanalüüs, et määrata referentsproovi sulamispiik. See näitab PCR produkti denatureerimist suurema täpsusega kui lihtsalt kindla denatureerimis-temperatuuriga "Hold" etapi määramine. Selle analüüsi läbiviimiseks asetage rootori 1 positsiooni referentstuub PCR produktiga. Referentstuubis peab olema detektsioonikeemia, mis võimaldab ahelate lahknemist detekteerida.

Algsele temperatuurile jõudmiseks kuumutades viiakse läbi sulamisanalüüs temperatuuridel 80°C kuni 95°C ja andmed kogutakse rohelises kanalises (vaikimisi). Selle algse sulamise parameetreid saab kasutaja muuta. Nende andmete alusel luuakse sulamiskõver ja analüüsitakse see automaatselt.



Sulamispik seotakse toorandmetega, et saada denatureerumise lävend (*denature threshold*). Seejärel soojendatakse igas optilise denatureerimisega tsükleerimise etapis instrument nii kiiresti kui võimalik ja andmeid kogutakse pidevalt. Kui referentstuub on jõudnud denatureerimise lävendi fluorestsentsi tasemele, jahutatakse instrument koheselt ja tsükkel jätkub järgmise programmeeritud etapiga. Tsükleerimise ajal piiki ei arvutata. Selle asemel seotakse fluorestsentsi tase sulamispiigiga ja see näitab denatureerumise lävendit.

Järgmisel joonisel on kohakuti asetatud toorfluoretsentsandmed ja esimene tuletis. See näitab seost denatureerimise lävendi ja kalibreerimisel saadud sulamispäigi vahel.



Optilise denatureerimisega tsükleerimise läbiviimiseks on teil vaja:

- Eelnevalt amplifitseeritud PCR produkti, mis tuleb asetada rootori 1 positsiooni. Selles proovis peaks olema sama PCR produkt kui uuritavates proovides ning detektsioonikeemia PCR produkti dissotsiatsiooni jälgimiseks.
- Optilise denatureerimise profilli. Saab luua uue profilli või muuta olemasolevat profilli (detailid allpool).

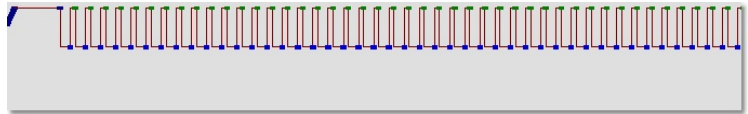
Optilise denatureerimise tsükkel on peaaegu sama kui teised tsüklid. Peamised erinevused on profilli algusesse automaatselt sisestatud sulamisetapp ja denatureerimise etapi terav profiil tsükleerimise ajal. Optilise denatureerimise tsükklis ei ole vaja määratud temperatuuri hoidmise aegu, sest produkti dissotsiatsiooni jälgitakse igas tsükklis.

Selle analüüsi läbiviimiseks on vaja järgmist informatsiooni:

- Algne denatureerimistemperatuur. See vastab tavalises tsükleerimise profiilis denatureerimise etapile.
- Rohelises kanalis sulamiskõvera andva PCR proovi positsioon rootoris.
- Tuleb defineerida optilise denatureerimisega tsükleerimise profiil.

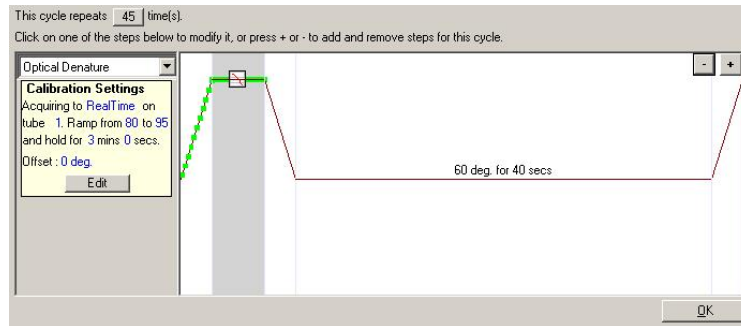
Looge uus optilise denatureerimisega tsükkel järgnevalt.

1. Avage "Edit Profile" aken. Seejärel klõpsake nuppu "New". Avanevas aknas klõpsake "Insert after" nuppu ja valige menüüst "New Cycling". Valige graafikul klõpsates üks temperatuurietappidest. Muutke rippmenüüs "Timed Step" "Optical Denature" valikuks. Ilmub vaikimisi profiil, mis sisaldab denatureerimisetappi ja optilise denatureerimisega tsükli etappi.

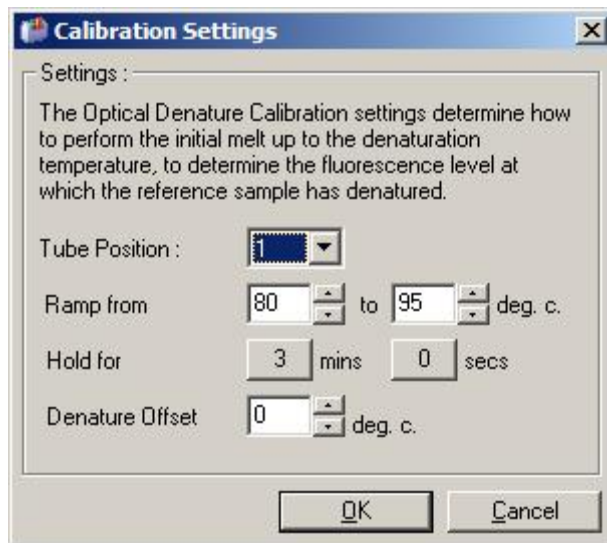


Temperatuuri kasvu regioon eksperimendi alguses on kalibreerimisprotsess. Rohelised täpid tähistavad kuumutamise ajal igas tsükli kogutud andmeid. Sinised täpid tähistavad andmete kogumist seondumise etapi lõpus temperatuuril 60°C. Teadke, et kuigi profiilis on igas etapis sama denatureerimistemperatuur, ei pruugi see nii olla. Kui eksperimendi lõpu poole läheb proovil sulamiseks veidi kauem aega, oodatakse optilise denatureerimise protsessis sulamist fluorestsentsandmete alusel, mitte aja alusel. Sel põhjusel võib reaalne temperatuur igas tsükli erineda.

2. Klõpsake graafiku esimesel poolel, millel on optilise denatureerimise sümbol . Vasakule ilmub "Calibration Settings" info.



3. "Calibration Settings" info on tavaliselt korrektne. Vajadusel saate seda muuta klõpsates "Edit". Avaneb "Calibration Settings" aken.



4. Veenduge, et:
 - "Tube Position" kastis määratud tuub sisaldab PCR produkti, mis annab rohelises kanalis sulamisiigi.
 - Temperatuurikasvu lõpptemperatuur ei põleta proovi, kuid on piisavalt kõrge, et seda sulatada.
 - Temperatuuri hoidmise aeg on piisav proovi denatureerimiseks.

- Denatureerimise nihe on sobivalt määratud. Vaikimisi nihe 0°C on enamiku sulamise korral sobiv. Väga järsu üleminekuga sulamiste puhul võib olla vajalik seada nihe -0.5°C kuni -2°C, mille määrab kasutaja, et kindlustada ülemineku detekteerimine.

Denatureerimise etappi saab defineerida ka uut "Hold" etappi sisestades. Klõpsake "Insert before" ja valige menüüst "New Hold at Temperature". Ilmuvad kalibreerimisseaded.

Hold Temperature : 95 deg.

Hold Time : 3 mins 0 secs

Calibration Step :

Calibration Settings

Acquiring to RealTime on
tube 1. Ramp from 80 to 95
and hold for 3 mins 0 secs.

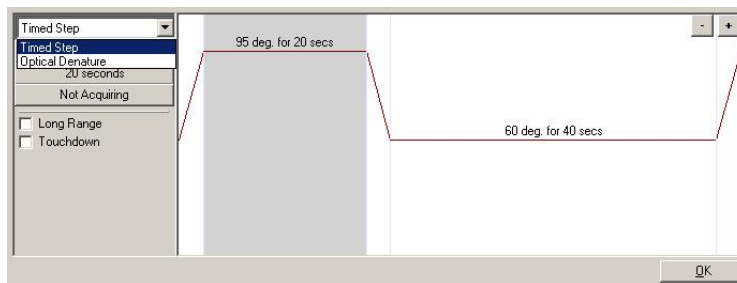
Offset : 0 deg.


Edit

Kalibreerimisseaded on sünkroniseeritud denatureerimise seadetega, seega muutub denatureerimise etapis hoidmise aja muutmisel automaatselt ka kalibreerimise hoidmise aeg. See toimub seetõttu, et kalibreerimisprotsess ja denatureerimine on optilise denatureerimisega tsükleerimisel samaväärsed.

Olemasoleva etapi muutmise optilise denatureerimisega tsükleerimiseks

Olemasoleva denatureerimise etapi muutmiseks valige tsükkel "Edit Profile" akna nimekirjas. Seejärel valige denatureerimise etapp selle klõpsates.



Klõpsake rippmenüül ja valige "Optical Denature".
Temperatuur ja selle hoidmise aeg kaovad ning
kuvatakse optilise denatureerimise ikoon .

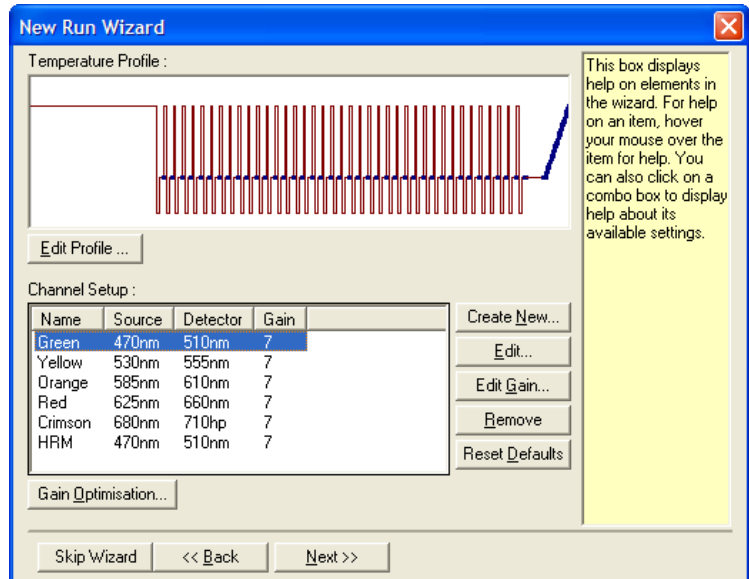
Detektori optimeerimine (Gain Optimisation)

Uue eksperimendi ülesseadmisel on abi "Gain Optimisation" funktsiooni kasutamisest. See võimaldab teil optimeerida detektori tundlikkus väärtusele, mis annaks määratud temperatuuril (tavaliselt andmete kogumise temperatuur) soovitud algse fluorestsentsivahemiku igas andmete kogumiseks kasutatavas kanalis. Detektori optimeerimise eesmärk on kindlustada, et kõik kogutud andmed mahuvad detektori dünaamilisse piirkonda. Kui tundlikkus on liiga madal, kaob uuritav signaal taustamürasse. Kui see on liiga kõrge, kaob signaal möötkavast välja (signaal on küllastatud).

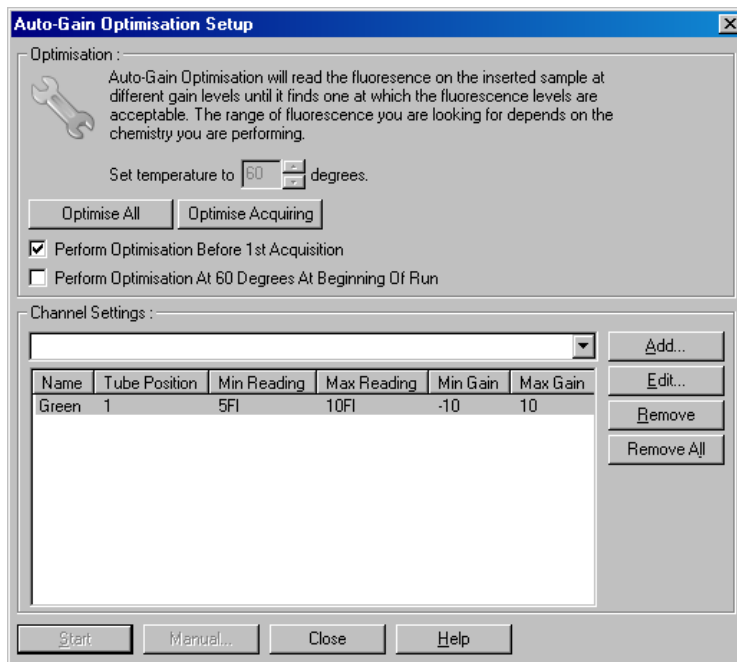
Iga kanali tundlikkuse vahemik -10 kuni 10, kus -10 on kõige vähem tundlik ja 10 on kõige tundlikum.

Kui analüüsitate reaktsioone esimest korda, soovitame ette valmistada testproovi, mis sisaldab kõiki reaktsiooni komponente. Asetage testproov Rotor-Gene Q MDx instrumenti ja kasutage detektori optimeerimist (Gain Optimisation), et leida parim tundlikkuse määr. Kui optimeerimise tulemusena saate kehva signaali, tuleks "Target Sample Range" väärtust suurendada. Kui saate tulemuseks küllastatud signaali, tuleks "Target Sample Range" väärtust vähendada.

Detektori optimeerimiseks klõpsake "Gain Optimisation..." nuppu "New Run Wizard" aknas 3 (vt peatükk 6.2.3).



Ilmub "Auto-Gain Optimisation Setup" aken. Selles aknas on võimalik detektori tundlikkust automaatselt optimeerida, kuni kõikide valitud kanalite väärtused jäävad kindla lävendi piiridesse või sellest allapoole.



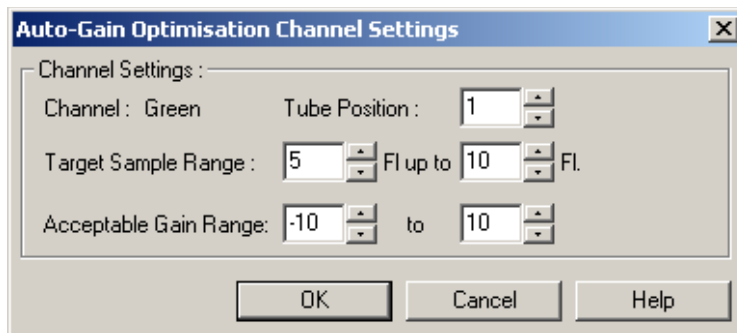
Set temperature to: Enne fluorestsentslugemi võtmist saavutab Rotor-Gene Q MDx siin määratud temperatuuri. Vaikimisi on selleks andmete kogumise temperatuur.

Optimise All/Optimise Acquiring: "Optimise All" üritab optimeerida kõik tarkvarale tuntud kanalid. "Optimise Acquiring" optimeerib ainult need kanalid, mis on defineeritud analüüsi termoprofiilis (tsükleerimine ja sulamine).

Perform Optimisation Before 1st Acquisition: Märkige see kast, et esimeses andmete kogumise tsüklis detektor optimeerida. See valik on soovituslik automaatseks optimeerimiseks (Auto-Gain Optimisation).

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run:	Märkige see kast, et vahetult enne eksperimendi algust detektor optimeerida. Rotor-Gene Q MDx soojeneb määratud temperatuurini, detektor optimeeritakse ja seejärel algab tsükleerimine esimese etapiga, tavaliselt denatureerimisega. Seda valikut võib kasutada juhul, kui eksperimendi ajal detektori optimeerimise puhul veedetaks liiga kaua aega algetapis. Tavaliselt eelistatakse "Perform Optimisation Before 1st Acquisition" valikut sellepärast, et detektor optimeeritakse võimalikult sarnastel tingimustel eksperimenditingimustega.
Channel Settings:	Selles rippmenüüs on võimalik kanaleid lisada. Valige huvipakkuv kanal ja klõpsake "Add".

Edit...: See nupp avab akna, milles on võimalik määrata "Target Sample Range". "Target Sample Range" on algse fluorestsentsi vahemik, mis tuleks määrata kindlas tuubis olevale proovile. Automaatsel detektori optimeerimisel loetakse igat kanalit arvestades "Acceptable Gain Range" kastides määratud tundlikkuse vahemikku. Valitakse esimene tundlikkuse määr, mis annab fluorestsentslugemi "Target Sample Range" vahemikus. Toodud näites otsib Auto-Gain Optimisation tundlikkust vahemikus -10 and 10, mis annaks tuubis 1 lugemi 5 kuni 10 FI. Üldiselt on interkaleeruvate värvide puhul sobiv "Target Sample Range" 1–3 FI, proov-oligote puhul on sobivam vahemik 5–10 FI.



Remove/
Remove All: "Remove" eemaldab esiletoodud kanali. "Remove All" eemaldab kõik kanalid.

Start: "Start" alustab detektori optimeerimist. Valitakse tundlikkus, mis annab määratud vahemikus fluorestsentssignaali. Kui fluorestsents jääb väljapoole määratud piire, valitakse tundlikkus, mis annab parima võimaliku tulemuse.

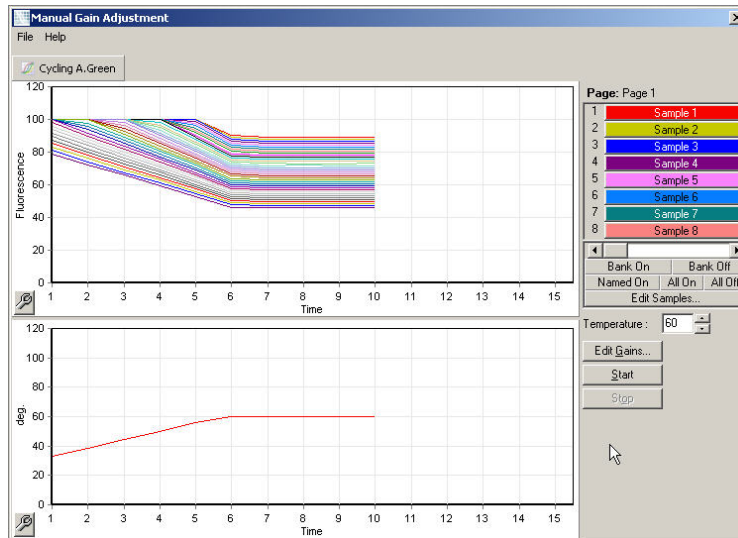
Manual: See avab "Manual Gain Adjustment" akna (vt lk 6-29).

Changing Gain During a Run: Kui eksperimendi alguses on tundlikkus liiga kõrge või liiga madal, saab seda esimese kümne tsükli jooksul muuta. Tundlikkuse muutmise kohta ilmub vertikaalne joon. Muutusele eelnevad tsüklid jäetakse analüüsimisel välja.

Märkus: Detektori optimeerimisel võidakse valida väärtus, mis ei ole määratud vahemikus. Selle võivad põhjustada muutused fluorestsentsis pärast esimest "Hold" etappi. Sellegipoolest annab detektori optimeerimise tulemus hea hinnangu fluorestsentsi tasemest, millel analüüsi alustatakse.

Detektori käsitsi kohandamine (Manual Gain Adjustment)

"Manual Gain Adjustment" läbi viimiseks klõpsake "Auto-Gain Optimisation Setup" aknas "Manual...". Ilmub "Manual Gain Adjustment" aken. Selles aknas kuvatakse reaajas fluorestsentslugemid igal temperatuuril. Seda kasutatakse siis, kui proovi taust ei ole teada ja seega tuleb määrata tundlikkus, et kindlustada detektsiooniks piisavalt tugev proovi signaal.



Vaikimisi kuvatakse kõikide proovide andmed. Proove saab eemaldada või lisada kasutades paremal asuvat proovide valikut. Valik koosneb värvilistest kastidest, millest igäüks vastab proovile ekraanil. Proovid, mille kastid on eredalt värvunud, kuvatakse, samas kui proove, mille kastid on tuhmid, ei kuvata. Proove saab sisse või välja lülitada vastaval kastil klõpsates või tirides hiirega samaaegselt üle mitme kasti.

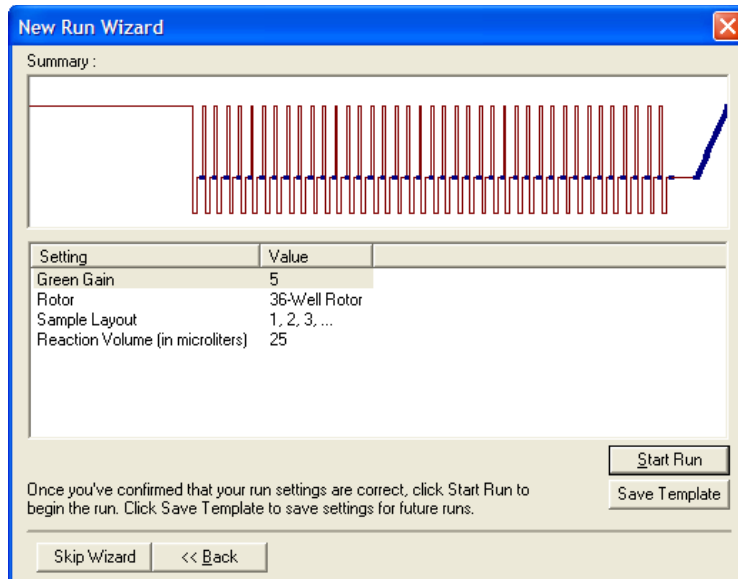
Soovitame detektori käsitsi kohandamiseks toimida järgnevalt.

1. Kohandage "Manual Gain Adjustment" aknas temperatuuri nii, et see vastaks eksperimendi andmete kogumise temperatuurile.
Märkus: Temperatuuri ei ole võimalik kohandada Rotor-Gene Q MDx töötamise ajal. Taaskäivitage Rotor-Gene Q MDx, et temperatuurimuutused rakenduksid.
2. Klõpsake "Start". Eksperiment käivitub. Rotor-Gene Q MDx temperatuur viiakse aknas määratud väärtusele. Aknas kuvatavale graafikule hakkavad ilmuma andmed.

3. Oodake, et temperatuur stabiliseeruks.
4. Vaadake fluorestsentsi (FI) lõpplugemit.
5. Kui FI lugem ei ole vajalikul tasemel klõpsake "Edit Gains..." ja viige sisse vajalikud muutused. See protsess ei pruugi olla kohene, sest Rotor-Gene Q MDx instrumendil läheb ~4 sekundit aega, et iga punkti igas kanalis lugeda ja sellel ajal on kasutajaliides deaktiveeritud.
6. Korrake protsessi, kuni FI on soovitud tasemel.
7. Klõpsake "Stop". Kui "Stop" nupu vajutamise ajal eksperimendis andmeid kogutakse, lõpetab Rotor-Gene Q MDx kõigepealt andmete kogumise ja seejärel seiskub. See protsess võib iga kogumiskanali kohta aega võtta kuni 5 sekundit.

6.2.5 “New Run Wizard” aken 4

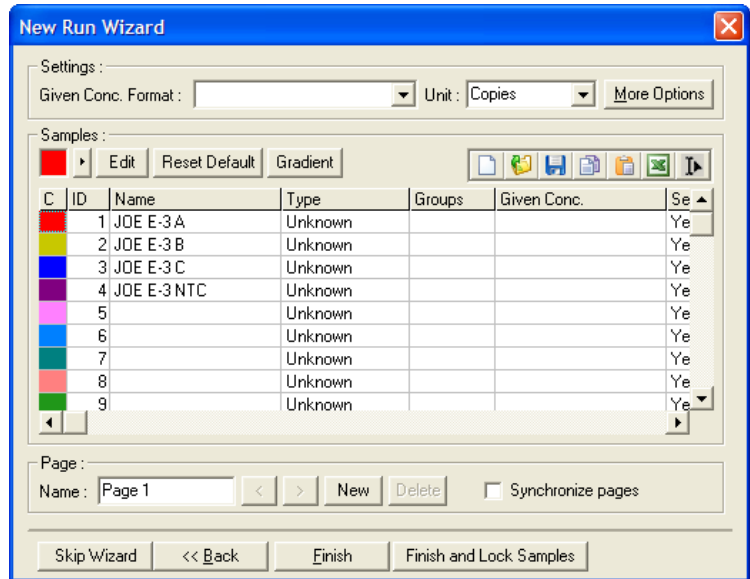
Selles aknas on eksperimendi kokkuvõte. Kontrollige parameetreid ja kui need on õiged, klõpsake “Start Run”. Teilt küsitakse failinime. Võite eksperimendi seaded “Save Template” nupu abil vormina salvestada, et neid järgnevatel eksperimentides kasutada.



6.2.6 “New Run Wizard” aken 5

Sisestage selles aknas eksperimendi töös olemise ajal proovide tüübid ja kirjeldused. Selle akna võimalused on samad kui “Edit Samples” aknas (lk 7-74). Proovide info võib samuti sisestada pärast eksperimendi lõppu.

“Finish and Lock Samples button” nupp sulgeb selle akna ega luba proovide nimesid muuta. Selle ja muude turvaseadete kohta saate lisainfot “Rotor-Gene Q tarkvara juurdepääsukaitse” (lk 7-88).

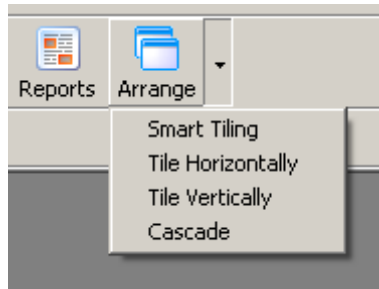


7 Analüüsimise kasutajaliides

Selles peatükis kirjeldatakse Rotor-Gene Q tarkvara kasutajaliidest.

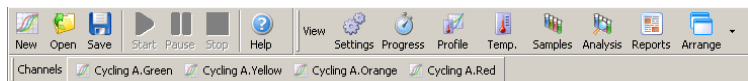
7.1 Tööruum

Tööruum on põhiakna fooniks. Selles alas saab avada toorandmete graafikuid ja analüüsitulemusi. Kui korraga avatakse mitu akent, saab neid organiseerida tööriistaribal asuvat "Arrange" nuppu klõpsates. Valida saab mitmete akende korraldamise võimaluste vahel, valiku tegemiseks klõpsake allpoolse noole nuppu "Arrange" nupu kõrval.



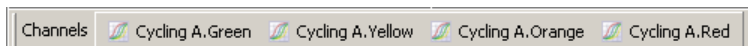
7.2 Tööriistariba

Need nupud annavad juurdepääsu enamkasutatavatele funktsioonidele. Neid funktsioone saab avada ka rippmenüüde kaudu.



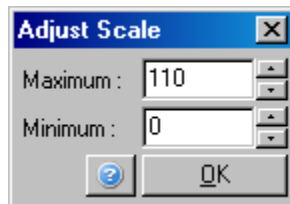
7.3 Vaata toorandmeid

Klõpsake neid nuppe, et näha toorandmeid (analüüsimata) eksperimendi kindlate kanalite puhul.



Nende andmete vaatamisel on võimalik valida mitmeid viise, kuidas andmeid esitada. Toorandmeid võib ka teisendada, et lihtsustada erinevate analüüside läbiviimist.

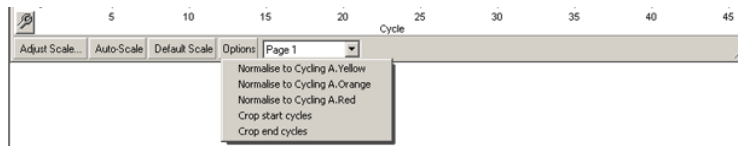
Adjust Scale: "Adjust Scale" valimiseks klõpsake hiire parema nupuga sobival aknal. "Adjust Scale" aknas saab skaalat määrata.



Autoscale: "Autoscale" üritab panna andmed minimaalse ja maksimaalse väärtuse järgi skaalasse.

Default Scale: "Default Scale" taastab skaala 0 ja 100 fluorestsentsühiku vahel.

Mutrivõtme ikoon: Lisainfot saate peatükist 8.5.



Options: Võimaluste avamisel ilmub ülaltoodud rippmenüü, milles on valikud toorandmete teisendamiseks.

Normalise to ...:	See võimaldab amplifikatsioonandmete normaliseerimist passiivse referentsvärvi andmete suhtes, nagu ROX, mis on kogutud teises kanalis.
Crop start cycles:	See loob uue kanali andmekogu, millest mõned algusetsüklid on eemaldatud. See on kasulik siis, kui start-tüklites on suured muutused fluorestsentsis (võib mõne keemia puhul ette tulla).
Crop end cycles:	See loob uue kanali andmekogu, millest mõned lõputüklid on eemaldatud.
Page 1:	See näitab toorandmete kuvamiseks parajasti valitud lehekülge. "Edit Sample" aknas on võimalik luua mitmeid proovide definitsioone. Näiteks võib andmeid vaadata erineva paksusega joontena, erinevate definitsioonide ja muude kuvamisvalikutena. See on eriti kasulik siis, kui ühes kanalis viiakse läbi suhtelist kvantifitseerimist, sest 2 proovi lehekülje defineerimisel saab kasutaja kergesti vahetada uuritava geeni ja <i>housekeeper</i> geeni proovide vahel.

7.4 Proovide valimine

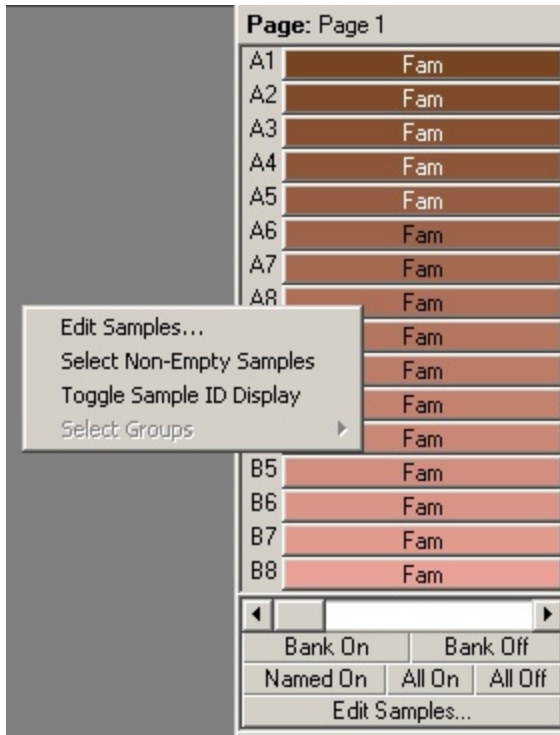
Põhiakna paremal küljel on proovide valik, sh proovide legend. See koosneb värvilistest kastidest, millest igaüks vastab ühele kuvatavale proovile. Proovivalikut kasutatakse kuvatavate proovide valimiseks. Proovid, mille kastid on eredalt värvunud, kuvatakse, samas kui proove, mille kastid on tuhmid, ei kuvata. Proove saab sisse või välja lülitada vastaval kastil klõpsates või tirdes

hiirega samaaegselt üle mitme kasti. "Bank On" ja "Bank Off" nupud peidavad või kuvavad vastavalt kõik nimekirjas hetkel nähtaval olevad proovid. Kasutage kerimisriba, et näha järgmist proovide gruppi.

Märkus: Kuvatavate proovide arv on dünaamiline ja sõltub aknas olevast ruumist.

"Named On" klõpsamisel näete ainult neid proove, millele on antud nimi. See on kiire viis ainult oluliste proovide vaatamiseks. "All On" või "All Off" klõpsamisel kuvatakse vastavalt kõik või mitte ühtegi rotoris olevatest proovidest. "Edit Samples..." nupu klõpsamisel avaneb "Edit Samples" aken, kus saab muuta proovide nimesid, tüüpe ja standardkontsentratsioone (vt peatükk 7.8.4).

Proovide valik on allpool näidatud. Kuvatavad lisavalikud ilmuvad siis, kui parem-klõpsate proovide valikul.



Page: See silt proovide valiku ülal näitab, millist proovide lehekülge kuvatakse. Lehekülgede abil on võimalik ühe kanali andmete hulgas läbi viia erinevaid analüüse. Näiteks saate luua rohelises kanalis kaks standardköverat ja genereerida eraldiseisvad raportid. Proovide lehekülgede seadmise kohta saate lisainfot peatükis 7.8.4.

Toggle Sample ID Display: Kui kasutate 76 tuubi rootorit, kuvatakse proovid formaadis A1 kuni A8, B1 kuni B8 jne. "Toggle Sample ID Display" valimisel kuvatakse proovid numbrilisena (1 kuni 72).

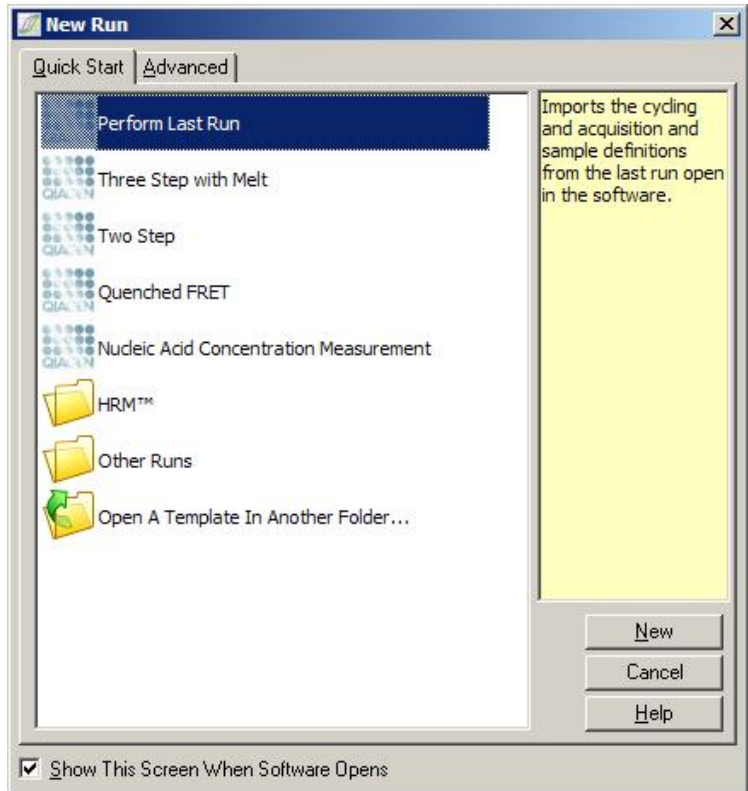
Select Non-Empty Samples: Selle valiku abil saab välja jätta kõik proovid, millel on "Edit Samples" aknas proovi tüübiks "Type" määratud "None". See kindlustab ainult analüüsi oluliste proovide kuvamise.

Select Groups: Kui olete defineerinud grupid, saab selle valiku abil proovi gruppide kuvamist sisse ja välja lülitada. Grupid on suvalised proovide kogumid, mis võimaldavad statistiliste tulemuste edasijõudnumat raporteerimist. Näiteks saab defineerida töödeldud ja töötlemata proovide grupid. Gruppe saab määrata "Edit Samples" aknas.

7.5 Faili menüü (File menu)

7.5.1 New (Uus)

Pärast "File" ja seejärel "New" valimist avaneb "New Run" aken. Selles aknas on toodud enamkasutatavad vormid, mis on organiseeritud "Quick Start" ja "Advanced" sakkide alla. Kui olete valinud sobiva vormi, ilmub vastav startaken, mis võimaldab analüüsi häälestada, seadeid ja profile muuta.



Saadaval olevate vormide kohta saate lugeda peatükkidest 6.1 ja 6.2.

New Run (Uus eksperiment)

New...: See nupp algatab uue eksperimendi häälestamise valitud vormi alusel.

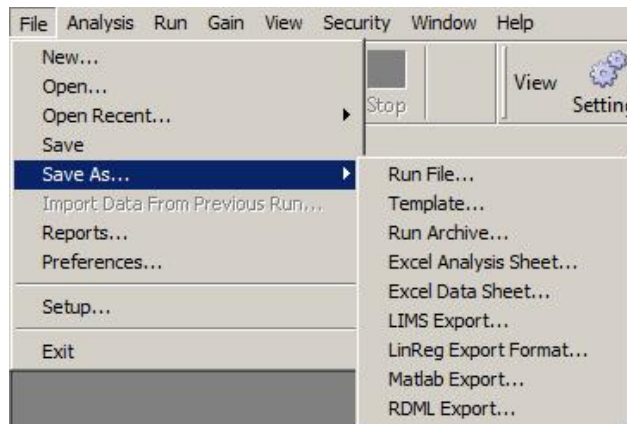
Cancel: See nupp sulgeb akna.

Help: See nupp avab *online* abi.

Show This Screen When Software Opens: Kui see kast on märgitud, avaneb tarkvara avamisel "New Run" aken.

7.5.2 Open (Ava) ja Save (Salvesta)

- Open...: See avab eelnevalt salvestatud Rotor-Gene Q eksperimendifaili (*.rex) või Rotor-Gene Q eksperimendiarhiivi (*.rea fail).
- Open Recent...: See kuvab viimased 4 faili, mis on avatud on salvestatud.
- Save: See salvestab kõik muutused, mis eksperimendifaili tehti.



- Save As...: Kasutage seda funktsiooni, et salvestada eksperimendifaili või andmeid erinevates formaatides. Valikud on toodud allpool.
- Run File...: See salvestab koopia eksperimendifailist. Kasutaja saab muuta nime ja salvestamise sihtkohta. See on vaikumisi formaat.
- Template...: See salvestab profiili häälestuse ja seaded, aga mitte eksperimendi andmeid. Vormi saab kasutada tulevaste eksperimentide alustamiseks.

Run	See salvestab eksperimendi
Archive...:	kompaktsemas failiformaadis. Salvesta failid selles formaadis enne E-kirjaga saatmist. See võimaldab kiirema saatmise ja kindlustab, et failid ei saa saatmise käigus kahjustatud.
LIMS Export	See salvestab analüüsi LIMS-ühilduvas formaatides vastavalt kasutaja vajadustele. Lisainfot saate QIAGENi tehnilisest toest.
Excel Data Sheet...:	See ekspordib kõikide kanalite toorandmed Excel® faili. Eksporditakse ainult valitud proovid.
Excel Analysis Sheet...:	See ekspordib kogu käesoleva eksperimendi Excel faili.
LinReg Export Format...:	See ekspordib kõikide kanalite toorandmed formaati, mis on loetav LinReg (efektiivsuse analüüsimise tööriist) abil. Lisainfot saate "LinReg eksportimine" lõigust allpool.
Matlab Export...:	See ekspordib andmed formaati, mis on loetav teaduspaketi Matlab (või selle vabakasutuses ekvivalendi Octave) abil. See võib olla kasulik meetodite uurimisel.
RDML Export...:	See võimaldab RDML v1.1 nõuetele vastavate failide ekspordi. Loodud RDML eksportfail on kokku pakitud (zip) XML formaadis fail, pikendusega *.rdml, mis vastab RDML dokumendiskeemi nõuetele (http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd), mille leiate veebilehelt http://www.rdml.org/files.php .

LinReg eksportimine

LinReg on C. Ramakers'i ja tema kolleegide arendatud tööriist. * LinReg tööriist on saadaval siit:
<http://LinRegPCR.nl>.

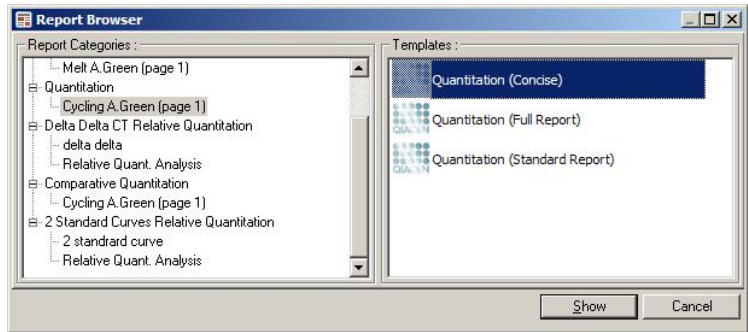
Rotor-Gene Q tarkvara võimaldab kasutajal eksportida toorandmeid formaati, mida saab seejärel analüüsimiseks importida LinReg tööriista.

1. Avage Rotor-Gene Q eksperimendifail, mis sisaldab toorandmeid.
2. Eksportige andmed LinReg ekspordiformaati valides "Save As..." ja seejärel "LinReg Export Format...".
3. Microsoft Excel kuvab automaatselt eksporditud toorandmed.
4. Käivitage LinReg tööriist. Tööriist palub teil määrata ruutude kogum, kus toorandmed asuvad. Tööriist analüüsib ainult ühe kanali toorandmeid korraga, seega tuleks Excel failis valida sobiv ala.

7.5.3 Reports (Raportid)

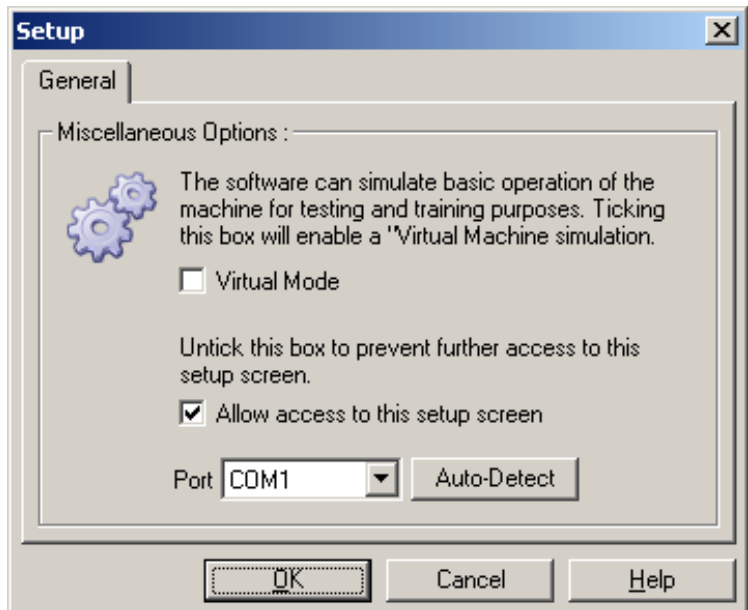
Pärast "Reports" valimist ilmub "Report Browser" aken. Kui andmed on juba analüüsitud, saab selle analüüsi kohta raporti kuvada "Report Browser" akna kaudu. Valida on mitme detailsusega raportitüüpide vahel.

* Ruijter, J.M., Ramakers, C., Hoogaars, W.M., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M.J., and Moorman, A.F. (2009) Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* 37, e45.



7.5.4 Setup (Seaded)

Rotor-Gene Q MDx esmane häälestamine peaks toimuma installeerimisel. Sellegipoolest on selle valiku abil võimalik muuta Rotor-Gene Q MDx ühenduse seadeid, kui soovite seda teha pärast paigaldamist.



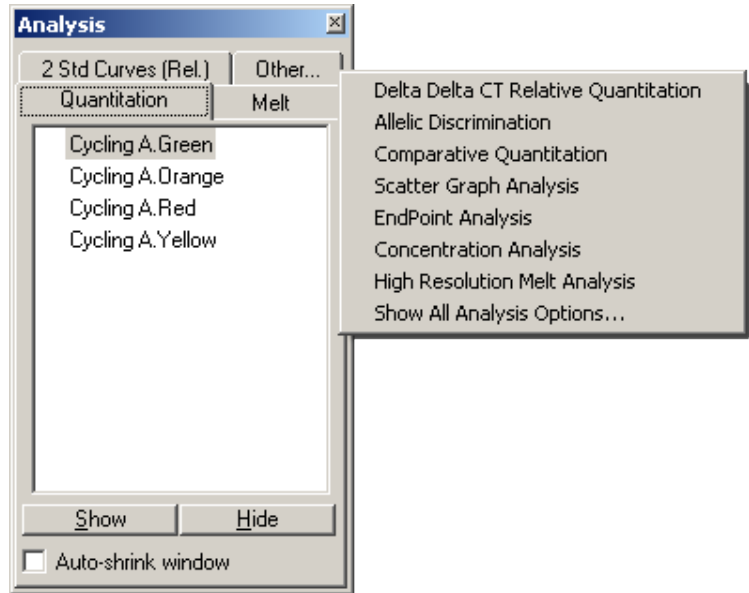
- Virtual Mode:** Valige virtuaalne režiim kui tarkvara kasutatakse ilma ühendatud Rotor-Gene Q MDx-ta. Tarkvaral säilivad kõik funktsioonid. See režiim on kasulik demonstratsioonidel, andmete analüüsil ja vormide ettevalmistamisel.
- Allow access to this setup screen:** Kui selle valiku kast ei ole märgitud, siis sellele aknale enam ligi ei pääse. See turvameede takistab kasutajatel seadete muutmist. Uuesti ligipääsemiseks kontakteeruge oma edasimüüjaga.
- Port:** Valige korrektne kommunikatsiooniport, et võimaldada ühendus arvuti ja Rotor-Gene Q MDx vahel.
- Auto-Detect** Kui te ei ole kindel, millist porti valida, klõpsake "Auto-Detect", et otsida kõikide saadavalolevate portide hulgast.

7.6 Analüüsimise menüü (Analysis menu)

7.6.1 Analüüs (Analysis)

Pärast "Analysis" klõpsamist ilmub "Analysis" aken. Selles aknas saab luua uusi analüüse ja kuvada olemasolevaid analüüse. Analüüsimetod valitakse sakkide abil. Kuvatakse valitud meetodi puhul võimalike analüüsitavate kanalite nimekiri. Samas kanalis saab analüüsida eraldi mitmeid eksperimente kui need on "Edit Samples" aknas defineeritud eraldiseisvate proovi lehekülgedena. Juba analüüsitud leheküljed on märgitud rohelise linnukesega. See tähendab, et selle analüüsi jaoks on salvestatud lävendi ja normaliseerimise seaded. Kanali andmete

vaatamiseks ja analüüsimiseks topelt-klõpsake sellel. Ilmub vastav analüüsiaken.

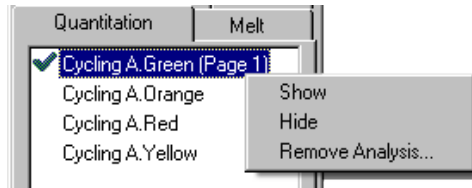


Auto-shrink window:

“Auto-shrink window” valimisel tehakse aken väikeseks sel ajal, kui seda ei kasutata. Kursorit üle akna liigutades saate akna jälle suureks teha.

Tööruumi organiseerimine

Iga kord kui alustate uue analüüsiga, organiseeritakse selle aknad nii, et need mahuksid koos eelnevate akendega ekraanile. Paljude akende puhul võib see olla tülikas. Sulgege aknad, mida te ei vaja, seejärel klõpsake tööriistaribal “Arrange”. Aknad organiseeritakse automaatselt vastavalt “Smart Tiling” meetodile. Alternatiivselt saab valida muu organiseerimise meetodi klõpsates “Arrange” nupu kõrval olevat noolt. Analüüsi nimel parem-klõpsamine annab samuti lisavõimalusi.



- Show: See kuvab valitud analüüsi.
- Hide: See peidab valitud analüüsi.
- Remove Analysis...: See eemaldab valitud analüüsi täielikult. See tähendab, et analüüsis seatud normaliseerimise seaded või sulamiskastid (*melt bins*) lähevad kaduma.

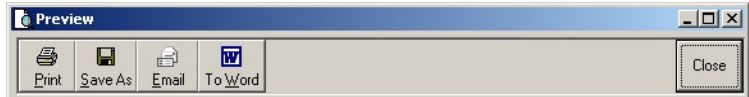
7.6.2 Kvantifitseerimine (Quantitation)

Valige "Analysis" aknas "Quantitation" sakk ja topeltklõpsake kanali nimel või valige kanal ja vajutage "Show" nuppu, et avada soovitud kanal. Ilmub kolm akent: põhiaken, standardköver ja tulemused.

Raportid (Reports)

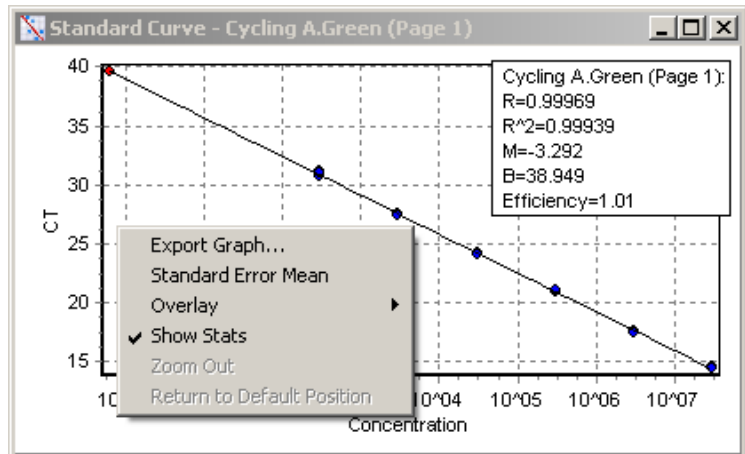
Reports: "Reports" avab "Report Browser" akna, kus saab genereerida raporti käesoleva analüüsi kohta. On 3 valikut: standardraport (*standard report*), täielik raport (*full report*) ja lühike raport (*concise report*). Topeltklõpsates soovitud valikul avaneb raport "Preview" aknas.

Pärast genereerimist saab kasutada "Preview" akna üleosas asuvaid nuppe, et raportit printida, salvestada või E-kirjana saata või seda Word-faili eksportida.



Standardkõver (Standard Curve)

Std. Curve: See nupp avab "Standard Curve" akna. Vaikimisi avaneb see aken alati, kui avate analüüsi. Kui te selle akna sulgete, saab seda uuesti avada kasutades Std. Curve käsku.



Standardkõvera väärtused arvutatakse dünaamiliselt ümber kui põhiaknas klõpsamise ja tirmise teel lävendijoont nihutada.

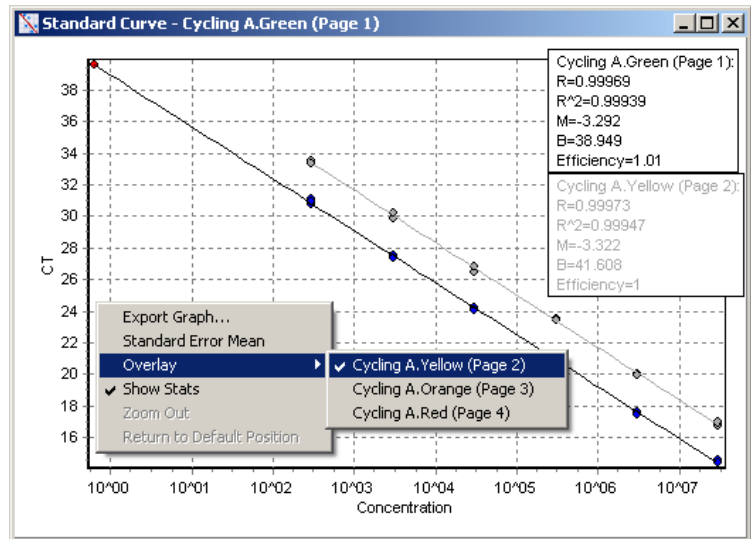
Kõveral märgitud sinised punktid on standarditena määratud proovid ja punased punktid tähistavad tundmatuid proove.

	<p>Märkus: Kui paremal asuva proovide valiku abil standard-proov välja lülitada, siis eemaldatakse see standardkõvera arvutustest. Graafikult standardite eemaldamine selleks, et R^2 väärtust suurendada, ei ole teaduslikult vastuvõetav. Ebaõnnestunud standard viitab, et ka proovid võisid ebaõnnestuda, ja seega tuleks seda tulemustes arvestada.</p>
Efficiency:	<p>See on eksperimendi reaktsiooniefektiivsus. Seda väärtust seletatakse pikemalt leheküljel 7-30.</p>
R^2 value (korrelatsiooni-koefitsient):	<p>R^2 väärtus või R^2 väärtus on andmete protsent, mis sobivad hüpoteesiga, et standardid moodustavad standardkõvera. Kui R^2 väärtus on madal, siis ei lange standardid kergesti ühisele sirgele. See tähendab, et tulemused (s.o. arvutatud kontsentratsioonid) ei pruugi olla usaldusväärsed. Hea R^2 väärtus on umbes 0.999.</p> <p>Märkus: Kehv standardkõver võib anda kõrge R^2 väärtuse siis, kui eksperimendis on ebapiisav arv standardeid. R^2 väärtus paraneb kui standardite arv väheneb. Tulemuste usaldusväärseuse kohta annavad parema ülevaate arvutatud kontsentratsioonide usaldusintervallid.</p>
R value (korrelatsiooni-koefitsiendi ruutjuur):	<p>R väärtus on R^2 väärtuse ruutjuur. Üldiselt on R^2 väärtus korrelatsiooni määramisel kasulikum.</p>

M ja B: Standardkõvera kalle (M) ja ristumispunkt (B) arvutatakse automaatselt kasutades valemit $y = Mx + B$ ja kuvatakse "Standard Curve" aknas.

Export Graph...: Kui klõpsate parema hiirenupuga standardkõveral, ilmub võimalus graafikut eksportida (vt peatükk 8.4).

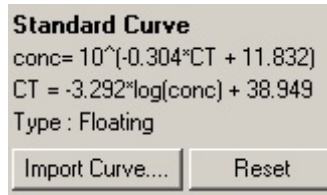
Overlay: Kui ühes eksperimendis viidi läbi mitu kvantifitseerimise eksperimenti, on võimalik standardkõverad samas aknas kohakuti asetada. See on kasulik erinevate lävendite erinevuse graafiliseks vaatamiseks. See võimalus on illustreeritud alloleval joonisel.



Standardkõvera arvutamine

"conc = ...*C_T + ..." ja "C_T = ..." on C_T väärtuste ja kontsentratsioonide sidumise valemi 2 versiooni. Publikatsioonides kasutatakse enamasti "C_T = ..."

valemit. Standardkõver võib olla kas "Floating" või "Fixed". Kui "Floating", siis arvutatakse standardkõverale optimaalne võrand iga kord kui põhiaknas lävendit liigutatakse. Kui "Fixed", siis võrand ei muutu, sest see on imporditud teisest eksperimendist.



Standardkõvera importimine (Import Curve)

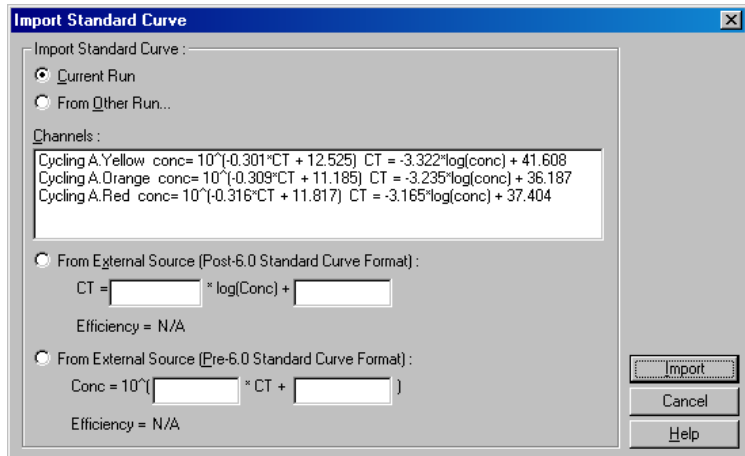
Standardkõvera importimine võimaldab kontsentratsioonide hindamist olukorras kui standardkõver ei ole eksperimendis saadaval ja 2 eksperimendi reaktsiooniefektiivsus ei ole muutunud. Kõveraid saab importida teisest kanalist või teisest eksperimendist, selleks tuleb klõpsata "Import Curve".

Standardkõverat on võimalik kohandada, kui vaja. Standardkõvera kohandamine tähendab, et ainult allikaks oleva standardkõvera efektiivsus imporditakse käesolevasse eksperimenti. Kas standardkõverat on vaja kohandada või mitte, sõltub kasutatavast keemiast.

Standardkõvera kohandamiseks kasutage uues eksperimendis teadaoleva kontsentratsiooniga referentsi. Defineerige referents seades "Edit Samples" aknas proovi tüübiks "Standard" ja sisestades kontsentratsiooni väärtuse. Sama referentsi võib lisada mitmes koopias, et parandada täpsust. Pange tähele, et ei ole võimalik defineerida rohkem kui ühte referentskontsentratsiooni või standardit. Näiteks on võimalik defineerida 3 kordusreferentsi koopiaarvuga 1000, kuid samas eksperimendis ei ole võimalik defineerida ühte referentsi koopiaarvuga 1000 ja teist koopiaarvuga 100.

Kui standardkõver on imporditud, on standardkõvera tüüp "Fixed". Klõpsake "Reset", et muuta standardkõvera tüüp tagasi "Floating" variandiks.

"Import Standard Curve" aken on toodud alloleval joonisel.



Selles aknas on võimalik importida standardkõver analüüsitava eksperimendi teisest kanalist või teisest eksperimendist.

Current Run: Kui see on valitud, lisatakse nimekirja teiste kanalite kvantifitseerimise analüüsid koos vastavate standardkõveratega.

From Other Run...: Selle valimisel ilmub dialoogiaken, millest saate valida avatava eksperimendifaili. Kui eksperimendis on läbi viidud kvantifitseerimise analüüs, on nimekirjas iga analüüsitud kanali standardkõverad.

Märkus: Kvantifitseerimise analüüsi seaded peavad olema eksperimendifailis salvestatud.

Channels: See teeb nimekirja analüüsitud kanalitest ja nende standardkõvera võrranditest.

From External Source: Siin saate sisestada M ja B väärtused. See on kasulik juhul kui väärtused on pärit välisest allikast, nt Excel failist.

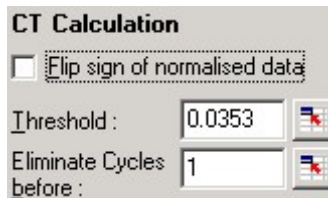
C_T arvutamine

Invert raw data: Mõnede keemiate puhul fluorestsentsignaali väheneb eksponentsiaalselt, mitte ei kasva. Neid andmeid on võimalik "Quantitation" abil analüüsida, kuid "Invert Raw Data" kast peaks olema märgitud. Kõikide teiste kvantifitseerimise analüüside jaoks peaks see valik jääma märkimata.

Invert Raw Data

C_T Calculation: C_T väärtus on tsükli number, milles amplifikatsioonikõver ületab detektsiooniläveni. Seades lävendijoone ja arvutades iga kõvera ristumiskoha sellega, saate kõikide proovide C_T väärtused.

Threshold: Lävendi seadmiseks klõpsake ikoonil (ruudustik punase noolega) ja seejärel klõpsake ja hoidke graafikul ning tirige joon sobivale tasemele. Alternatiivina sisestage log väärtus. Alternatiivina saab lävendi automaatseks määramiseks kasutada "Auto-Find Threshold". Lävendi manuaalsel seadmisel tuleks see asetada eksperimendi eksponentsiaalsesse faasi, oluliselt kõrgemale taustatasemest, et vältida müra, ja allapoole signaali platood hilisemates tsüklites.



Eliminate Cycles before: Seadmiseks klõpsake ikoonil (ruudustik punase noolega), seejärel klõpsake ja hoidke graafikul ning tirige joont paremale. See eemaldab algtsüklite puhul lävendi.

Märkus: See on kasulik siis, kui algtsüklites on palju müra, näiteks proovi segunemise efekti tõttu.

Auto-Find Threshold: See funktsioon skaneerib graafikul valitud piirkonda, et leida ländend, mis annab teadaolevatele kontsentratsioonidele optimaalse hinnangu. Valitud piirkonda saab muuta sisestades ilmuvates tekstikastides uue alumise ja ülemise piiri.

Enamiku analüüside jaoks sobivad vaikimisi ülemised ja alumised piirid. Ländendi tasemetega vahemikku skaneeritakse, et leida parim sobivus standardkõveraga arvestades standarditena defineeritud proove (s.o. mille puhul on R väärtus lähim 1.0-le).



Tulemused (Results)

See avab "Quantitation Results" akna. Vaikimisi avaneb see aken analüüsi avamisel. Kui see on suletud, saate selle "Results" käsu abil uuesti avada.

Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1)													
Analysis	No.	Colour Name	Type	Cl	Cl Comment	Given Conc	Calc Conc (c)	% Var	Rep. Cl	Rep. Cl Std	Rep. Cl (95% CI)	Rep. Calc. Conc	Rep. Calc. Conc (95%)
Cycling A.Green (Page 1)	1	10e9	Standard	3.72		1.00E+08	7.15E+07	26.1%	3.73	0.00	[3.73, 3.74]	7.17E+07	[4.39E+06]
Cycling A.Green (Page 1)	2	10e6	Standard	3.74		1.00E+08	7.17E+07	26.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	3	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.16E+07	26.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	10e7	Standard	6.11		1.00E+07	1.64E+07	44.0%	6.06	0.06	[5.91, 6.21]	1.49E+07	[1.29E+06, 6.73E+07]
Cycling A.Green (Page 1)	5	10e7	Standard	6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	10e7	Standard	5.98		1.00E+07	1.56E+07	55.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.30	0.03	[10.15, 10.60]	8.00E+05	[2.62E+05, 2.44E+06]
Cycling A.Green (Page 1)	8	10e6	Standard	10.27		1.00E+06	8.58E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	10e5	Standard	13.65		1.00E+05	8.68E+04	3.2%	13.65	0.13	[13.30, 13.90]	8.74E+04	[2.96E+04, 2.59E+05]
Cycling A.Green (Page 1)	11	10e5	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	10e5	Standard	13.65		1.00E+05	8.40E+04	15.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	10e4	Standard	15.65		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25	[14.84, 16.00]	2.56E+04	[7.80E+03, 8.30E+04]
Cycling A.Green (Page 1)	14	10e4	Standard	15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	10e4	Standard	15.18		1.00E+04	3.09E+04	208.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	10e3	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	52.9%	21.09	0.24	[20.49, 21.69]	5.85E+02	[9.13E+01, 3.50E+03]
Cycling A.Green (Page 1)	17	10e3	Standard	20.85		1.00E+03	4.47E+02	35.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	10e3	Standard	21.02		1.00E+03	5.54E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	10e2	Standard		NEG (Multi Cl)								
Cycling A.Green (Page 1)	20	10e2	Standard	23.90		1.00E+02	7.99E+01	20.1%					
Cycling A.Green (Page 1)	21	10e2	Standard		NEG (Multi Cl)								
Cycling A.Green (Page 1)	22	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	23	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	24	NTC	NTC		NEG (NTC)								

"Quantitation Results" aknas on eksperimendi tulemused koondatud tabelisse. Klõpsates hiire paremat nuppu ja valides "Export to Excel", saate tabeli Excelisse eksportida. Excel avaneb automaatselt. Andmete kopeerimiseks olemasolevasse

Excel faili, valige "Copy", avage fail ja seejärel valige "Paste".

"Quantitation Results" aknas on järgmised tulbad.

Analysis	Käesolev andmete kogum (andmeid koguv kanal ja proovi lehekülg).
No	Proovi number.
Color	Defineeritud proovi värv graafikul.
Type	Defineeritud proovitüüp.
Ct	Määratud C _T väärtus.

Ct Comment	<p>C_T määramise automaatne annotatsioon, kui C_T väärtusi ei ole. Võimalikud on järgmised märged:</p> <p>NEG (Multi Ct): Lävend lõikab fluorestsentsköverat vähemalt kaks korda (topelt-ristumine). C_T väärtust ei ole võimalik üheselt määrata.</p> <p>NEG (NTC): Fluorestsentsi üldine kasv ei vasta tingimustele, mis on defineeritud "Outlier Removal" menüü "NTC threshold" funktsioonis (vt allpool). Näiteks lõikab fluorestsentsköver antud lävendit, kuid üleüldine väike fluorestsentsi kasv viitab tühjale kontrollile (NTC) ning C_T väärtust ei anta.</p> <p>NEG (R.Eff): Fluorestsentsi üldine kasv ei vasta tingimustele, mis on defineeritud "Outlier Removal" menüü "Reaction Efficiency threshold" funktsioonis (vt allpool). Proovid, millel ei ole kindlat reaktsiooniefektiivsust, välistatakse ja C_T väärtust ei anta. See mäрге kuvatakse ainult siis, kui vastav funktsioon on võimaldatud.</p>
%Var:	<p>Varieeruvuse protsent arvatud ja teadaoleva kontsentratsiooni vahel. $\%Var = \text{Abs}(\text{Arvatud} / \text{Antud} - 1)$</p>
Rep. Ct:	<p>Kõikide antud prooviga sama nime kandvate proovide keskmine C_T.</p>
Rep. Ct Std. Dev.:	<p>Kõikide antud prooviga sama nime kandvate proovide C_T väärtuste standardhälve.</p>

Rep. Ct 95%
C.I.: C_T vahemik, mis statistiliselt hõlmab 95% C_T väärtuste variatsioonidest. See on konservatiivne statistiline mõõdik, mida saab kasutada kvaliteedi hindamiseks. Seda vahemikku saab kitsendada pannes eksperimenti rohkem kordusi või vähendades korduste varieeruvust.

Rep. Calc.
Conc: Kõikide sama nimega proovide arvutatud kontsentratsioon.

Märkus: See ei ole lihtsalt arvutatud kontsentratsioonide keskmine. See on geomeetriline keskmine, mis on matemaatiliselt sobivam reaalaja amplifikatsiooni eksponentsiaalse iseloomu tõttu.

Rep. Calc. Kontsentratsioonide vahemik, mis
Conc. 95% C.I.: hõlmab 95% individuaalse proovi
varieeruvusest ja lineaarse regressiooni
mudelit, millel see põhineb. Seda
möödikut tõlgendatakse kui
kontsentratsioonide vahemikku, mida
võiks oodata 95% ajast kui seda
eksperimenti viidaks korduvalt läbi
sama varieeruvuse tasemega. See on
konservatiivne hinnang ja vahemik
võib reaalseks eksperimentide sisemise
varieeruvuse tõttu olla üsna lai. See
vahemik võib olla lai, kui standardite
kontsentratsioonid on tundmatute
proovide kontsentratsioonidest
erinevad, kui kasutatakse vähest arvu
kordusi või kui esineb oluline
varieeruvus.

TÄHTIS: Selle möödiku antav
varieeruvus sõltub reaalseks
amplifikatsiooni eksponentsiaalsest
protsessist ning seda ei põhjusta Rotor-
Gene Q MDx. Blokk-tsükleritel läbi
viidavad sarnased testid annaksid
suurema varieeruvuse, sest blokk-
süsteemidel on madalam temperatuuri
ühsus. Kui soovite tsüklereid võrrelda,
soovitame selleks võrrelda C_T väärtuse
standardhälvet.

Märkus: Usalduspiiride kohta saate rohkem infot Lisast
B.

Märkus: Igat tulpa, v.a Color, Name, Ct ja Ct
Comment, saab kuvada või peita parem-klõpsates
aknal ja seejärel valides tulba nime.

Quant. Results - Cycling A.FAM/SYBR (Page 1)

No.	Ct	Name	Ct Comment	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var
1	3x10 ⁸	Analysis		300.000.000	324.345.068	8,1%
2	3x10 ⁸	✓ No.		300.000.000	301.264.230	0,4%
3	3x10 ⁸	✓ Color		300.000.000	308.453.920	2,8%
4	3x10 ⁸	✓ Name		300.000.000	298.576.301	0,5%
5	3x10 ⁷	Type		30.000.000	27.524.578	8,3%
6	3x10 ⁷	✓ Ct		30.000.000	26.405.444	12,0%
7	3x10 ⁷	✓ Ct Comment		30.000.000	28.701.296	4,3%
8	3x10 ⁷	✓ Given Conc (Copies)		30.000.000	23.847.613	20,5%
9	3x10 ⁶	✓ Calc Conc (Copies)		3.000.000	3.392.142	13,1%
10	3x10 ⁶	✓ % Var		3.000.000	3.170.880	5,7%
11	3x10 ⁶	✓ Rep. Ct		3.000.000	3.130.752	4,4%
12	3x10 ⁶	✓ Rep. Ct Std. Dev.		3.000.000	3.166.396	5,5%
13	3x10 ⁵	✓ Rep. Ct (95% CI)		300.000	321.913	7,3%
14	3x10 ⁵	Rep. Calc. Conc.		300.000	305.744	1,9%
15	3x10 ⁵	Rep. Calc. Conc. (95% CI)		300.000	312.045	4,0%
16	3x10 ⁵			300.000	324.696	8,2%
17	3x10 ⁴	19,47		30.000	32.420	8,1%
18	3x10 ⁴	19,59		30.000	29.872	0,4%
19	3x10 ⁴	19,53		30.000	31.102	3,7%
20	3x10 ⁴	19,52		30.000	31.301	4,3%
21	3x10 ³	22,93		3.000	2.850	5,0%
22	3x10 ³	22,96		3.000	2.793	6,9%
23	3x10 ³	22,94		3.000	2.825	5,8%
24	3x10 ³	22,91		3.000	2.888	3,7%
25	3x10 ²	26,03		300	322	7,5%
26	3x10 ²	26,11		300	305	1,6%
27	3x10 ²	26,26		300	275	8,5%
28	3x10 ²	26,18		300	291	3,1%

Mugavuse suurendamiseks arvutab "AutoStat" funktsioon automaatselt huvipakkuvate proovide keskmise, standardhälbe ning minimaalse ja maksimaalse väärtuse. Valige huvipakkuvad tulemused vasaku hiirenupuga vedades ja väärtused kuvatakse tabelina ekraani paremas ääres.

Alloleval pildil on analüüsitud mitmete proovide kontsentratsioonid.

Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1)

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var
14.42	30000000	28255064	5.8%
14.59	30000000	25142920	16.2%
14.40	30000000	28730050	4.2%
17.44	3000000	3422624	14.1%
17.58	3000000	3103391	3.4%
17.42	3000000	3467111	15.6%
20.99	300000	285353	4.9%
20.92	300000	298898	0.4%
21.04	300000	275802	8.1%
21.20	300000	307286	1.0%

Statistics

Maximum : 28730050
 Minimum : 25142920
 Count : 3

Mean : 27328521
 Std. Dev : 1.07537
 (Orders of Mag.)

Copy

TÄHTIS: "AutoStat" funktsioon on kontekstipõhine. See tähendab, et kui võimalik, genereerib see ainult kasulikku infot.

Näiteks:

- Valitud arvutatud kontsentratsioonidest ei ole võimalik saada 95% usalduspiire, sest arvestada tuleb ka regressioonimudelit.
- "Orders of Magnitude" standardhälve edastatakse arvutatud kontsentratsioonide, mitte absoluutväärtuse kohta. See on variatsioon protsentides. Näiteks esindab väärtus 1.07537 7.54% variatsiooni $(278,974 - 322,611) = (300,000/1.07537 - 300,000 * 1.07537)$. Standardkövera kohta ei ole mõttekas avaldada absoluutväärtust. Väärtust saaks avaldada madalaimal kontsentratsioonil, et saada madalat tajutavat viga (± 3 koopiat) või kõrgel kontsentratsioonil ($\pm 3,000,000$ koopiat). Sel põhjusel avaldatakse "Orders of Magnitude" standardhälve.
- Arvutatud kontsentratsioonide puhul kasutatakse aritmeetilise keskmise asemel geomeetrilist keskmist. See võtab arvesse reaalaja PCR eksponentsiaalset iseloomu. Näiteks peaks 1, 2, 8 ja 16 koopia kahekordsete lahjenduste puhul keskmine olema 4 koopiat, sest see on lahjendusseeria keskel. Aritmeetiline keskmine on aga 6.75. Geomeetriline keskmine on $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ koopiat.

Dünaamilise toru normaliseerimine (Dynamic tube normalization)

"Dynamic Tube" võimalus on vaikumisi valik ja seda kasutatakse iga proovi keskmise tausta määramiseks just enne amplifikatsiooni algust.

Standardsel normaliseerimisel võetakse lihtsalt 5 esimest tsükli ja kasutatakse neid iga proovi tausta hindamisel indikaatorina. Kõik proovi andmepunktid jagatakse seejärel selle väärtusega, et andmeid normaliseerida. See võib olla ebatäpne, sest mõnede proovide puhul ei ole esimese 5 tsükli taust sama kui

just enne amplifikatsiooni algust. Seevastu kasutatakse dünaamilise toru normaliseerimisel iga proovi raja teist tuletist, et määrata iga proovi stardipunkti. Tausta puhul arvutatakse siis iga proovi jaoks keskmine tsüklist 1 kuni startpunkti tsüklinumbrini. See annab kõige täpsemad kvantifitseerimise tulemused.

Pange tähele, et mõnede andmete puhul ei ole taustfluorestsents tsüklites enne amplifikatsiooni algust ühtlane. Neil juhtudel võib olla vajalik dünaamilise toru normaliseerimise välja lülitamine klõpsates "Dynamic Tube", sest see võib vähendada kvantifitseerimise täpsust.

Taustakalde korrigeerimine (Noise slope correction)

Ideaalis on proovi taustfluorestsents (FI) enne amplifikatsiooni algust konstantne. Vahel aga FI kasvab või kahaneb järk-järgult mitme tsükli vältel, sõltuvalt kasutatavast keemiast. Seetõttu on taust moonutatud. Taustakalde korrigeerimise puhul kasutatakse tausta määramiseks keskmise asemel trend-joont (*line-of-best-fit*) ja normaliseeritakse selle joone suhtes. Selle võimaluse valimine "Slope Correct" nuppu klõpsates võib korduste puhul andmeid parandada kui taustajooned on märgatavalt kallutatud. Taustakalde korrigeerimine parandab andmeid siis, kui toorandmete taustad kalduvad enne startpunkti (C_T) üles- või allapoole.

Kus kalle ei ole püsiv või kus esialgsed algtaseme tsüklid näitavad ülejäänud kurviga võrreldes signaali märkimisväärset kasvu või kahanemist, võivad taustakalde korrigeerimisel olla soovimatud tagajärjed, nagu näiteks negatiivsete kontrollkurvide piiridest väljumine algtaseme trend-joonele lähendamise ning sellele vastava toorandmete normaliseerimise tõttu. Seetõttu ei parenda see funktsioon alati andmete kvaliteeti ning seda tuleks kasutada ainult siis, kui toorandmete kurvid on püsiva kaldega.

Stardipunkti kohandamine (Takeoff point adjustment)

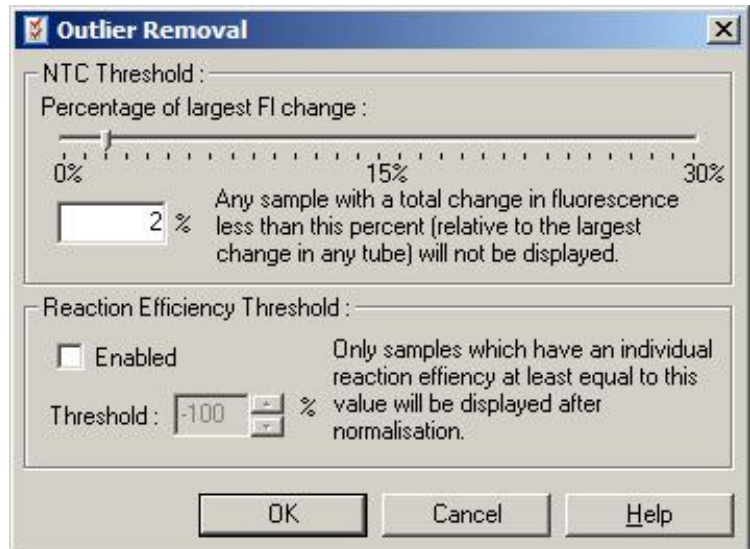
Stardipunkti kohandamise algorütm võib kasutada normaliseerimiseks kasutatava algtaseme miinimumpikkuse määratlemiseks. Stardipunkti kohandamise rakendamiseks tuleb määratleda kaks parameetrit. Kui stardipunkti kalkuleerimisel kasutatakse "Dynamic Tube" valikut, mis on esimesest parameetrist madalam, siis kasutatakse stardipunktina teist parameetrit. Stardipunkti kohandamist saab kasutada ainult koos "Dynamic Tube" normaliseerimisega.

Ignoreeri esimesi (Ignore First)

Ekspirimendi esimeste tsüklite fluorestsentsisignaal ei pruugi vastata ülejäänud eksperimendi omale. Sel põhjusel võib saada paremaid tulemusi esimesi tsükleid ignoreerides. Ignoreerida saab kuni 10 tsüklit. Samas kui esimesed tsüklid näevad sarnased järgmistele, saate paremad tulemused "Ignore First" valiku deaktiveerimisel, sest normaliseerimise algoritmil on töötamiseks rohkem andmeid.

Eemalasuujate kõrvaldamine (Outlier Removal)

Fluorestsentsi pisimuutuste ja tõeliste reaktsioonide eristamiseks NTC proovides on 2 mõõdikut: "NTC Threshold" ja "Reaction Efficiency Threshold". Enamiku rakenduste jaoks soovitatakse "NTC Threshold" mõõdikut. Kasutatav lähenemine tuleks valideerida.



NTC Threshold: See võimaldab analüüsist eemaldada proove või NTC-sid, mille fluorestsents kergelt kasvab. Proove, mille fluorestsentsi muutus jääb alla "NTC Threshold" määra, ei raporteerita ja "CT Comment" tulbas kuvatakse teade "NEG (NTC)".

Protsent sõltub tuubides leiduvast suurimast maksimaalsest muutusest. Näiteks kui ühe proovi fluorestsents algas tausta väärtusel 2 FI ja suurenes 47 FI-ni, siis 45 FI on 100%. "NTC Threshold" määr 10% tähendaks seda, et alla 4.5 FI fluorestsentsimuutusega proovi loetakse müraks.

Reaction Efficiency Threshold:

"Reaction Efficiency Threshold" on alternatiivne meetod analüüsist müra eemaldamiseks. See normaliseerimise algoritm kasutab võrdlevas kvantifitseerimises (vt peatükk 7.6.6) kasutatavaid reaktsiooniefektiivsuse

hindamise tehnikaid. Kõik proovid, mille reaktsiooniefektiivsus ei ole vähemalt sellel tasemel, jäetakse välja ja "CT Comment" tulbas kuvatakse teade "NEG (R.Eff)".

Määr 0% viitab, et eksponentsiaalses faasis reaktsiooni ei toimunud. 100% tähendab, et eksponentsiaalses faasis toimus täielikult efektiivne reaktsioon. Negatiivne protsent tähendab, et eksponentsiaalses faasis fluorestsentsignaali kahanes.

Praeguste teadustööde tulemusena ei ole võimalik lõplikult öelda, millise reaktsiooniefektiivsuse määra põhjal saab tõelisi reaktsioone kontaminatsioonist ja muudest efektidest eristada. Sel põhjusel soovitame seda valikut konservatiivselt kasutada ja eeldada, et tõelise reaktsiooniga proovis on nähtav eksponentsiaalne faas mõningase fluorestsentsikasvuga. Selle määra seadmisel kõrgemale kui 0% jäetakse välja proovid, mille fluorestsentsikasv on ebaefektiivne, kuid siiski tajutav, samas määra seadmisel alla 0% kuvatakse proovid, mille fluorestsents eksponentsiaalses faasis kahanes ja mille peaks kindlasti välja jätma.

Märkus: Kui väärtus jäetakse välja kummagi valiku aktiveerimise tõttu, siis vastavat C_T väärtust "Quantitation Results" aknas ei kuvata. Samaaegselt kuvatakse "Ct Comment" tulbas info väljajätmise kohta. Seetõttu on oluline, et "Ct Comment" tulp oleks alati nähtaval.

Alloleval joonisel jäeti proovid 7, 8 ja 9 välja "Reaction Efficiency Threshold" kriteeriumi alusel.

No.	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc (copies/reaction)
7	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
8	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
9	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
10	10e5	Standard	15,04		1,00E+05
11	10e5	Standard	15,03		1,00E+05
12	10e5	Standard	15,05		1,00E+05

Kalle, amplifikatsioon, reaktsiooni efektiivsus

Reaktsiooni kallet (M) (kuvatakse "Standard Curve" aknas) saab kasutada eksponentsiaalse amplifikatsiooni ja reaktsiooni efektiivsuse määramiseks kasutades järgmisi valemeid:

Ekspponentsiaalne amplifikatsioon = $10^{(-1/M)}$

Reaktsiooni efektiivsus = $[10^{(-1/M)}] - 1$

M, eksponentsiaalse amplifikatsiooni ja reaktsiooni efektiivsuse optimaalsed väärtused on vastavalt -3.322, 2 ja 1. Reaktsiooni efektiivsus kuvatakse raportis (täielikus ja standardraportis, vt lk 7-13) ja "Standard Curve" aknas.

Kalle arvutatakse kui C_T muutus jagatud log sisendi (nt. koopianumber) muutus. 100% efektiivse amplifikatsiooni korral kahekordistub amplifikatsiooniproducti hulk igas tsükli, sellisel juhul on M väärtus -3.322, amplifikatsioonifaktor 2 ja reaktsiooni efektiivsus 1.

Kui M väärtus on -3.322, siis on arvutuskäigud järgmised:

Ekspponentsiaalne amplifikatsioon: $10^{(-1/-3.322)} = 2$

Reaktsiooni efektiivsus: $[10^{(-1/-3.322)}] - 1 = 1$

Alternatiivse näitena: M väärtus 3.8 tähendab, et reaktsiooni ekspponentsiaalne amplifikatsioon on umbes 1.83 ja reaktsiooni efektiivsus on 0.83 (või 83%).

Kõrvalekalle (Offset)

Kahe muutuja vahelist suhet kirjeldavas valemis tähistatakse kõrvalekallet tähega B ($y = Mx + B$). Kõrvalekallet (*offset*) nimetatakse vahel ka ristumispunktiks (*intercept*). B tähistab antud kontsentratsiooni 1 ühiku C_T . Asendades 1 kontsentratsioonivalemissse nagu allpool näidatud:

$$C_T = \log(1) * M + B$$

$$C_T = 0 * M + B$$

Saame tulemuseks $C_T = B$

Ristumispunkt võib eksperimenditi erineda ja on vähem stabiilne mõõdik kui gradient. Sel põhjusel analüüsitakse gradient sagedamini kui ristumispunkti.

Põhiaken

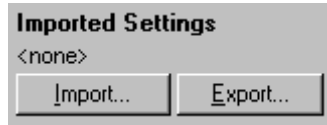
Põhiaknas kuvatakse amplifikatsioonigraafikud logaritmilisel skaalal.

Akna allosas "Linear Scale" klõpsamine muudab skaala logaritmisest lineaarseks ja vastupidi. Skaalade muutmine muudab ainult graafikut, mitte arvutusi. Selles saab veenduda graafikul parem-klõpsates ja "Show pinpointer" valides. Logaritmilises skaalas on väiksemad väärtused paremini nähtavad, samas kui lineaarses skaalas on parem vaadata kogu reaktsiooni.

Märkus: Amplifikatsioonigraafikud uuenevad reaajas kogu aeg kui Rotor-Gene Q MDx eksperimendi vältel andmeid kogub. Andmete reaajas jälgimine võimaldab kasutajal tulemusi näha niipea kui kõverad näitavad ekspponentsiaalset kasvu. Saab teha järeldusi ja võtta vastu otsuseid järgmiseks eksperimendiks.

Kvantifitseerimise analüüsi vormid (Quantitation analysis templates)

Kvantifitseerimise analüüsi vormid võimaldavad kasutajal normaliseerimise ja lävendi seadeid eksportida *.qut faili. Seda faili saab importida ja teistes eksperimentides kasutada. Rohkem infot saate peatükist 8.1.



7.6.3 Kaks standardkõverat (Two standard curve)

Suhtelist geeniekspressiooni analüüsi normaliseeriva geeni abil saab läbi viia 2 standardkõvera meetodil.

Selleks meetodiks on vaja igale geenile standardkõverat. Iga geeni kontsentratsioon kvantifitseeritakse vastavalt selle standardkõverale. Uuritava geeni ekspressioon normaliseeritakse seejärel normaliseeriva geeni (tihti *housekeeping* geen) suhtes.

On oluline, et standardid ja proovide kordused oleksid kirjeldamisel õigesti määratud proovide (vt peatükk 6.1.4). Eelkõige peab vastavatel proovidel olema igas analüüsis sama nimi. Multiplex reaktsioonis, kus uuritava geeni ja normaliseeriva geeni tuubipositsioonid on samad, piisab ühest komplektist proovidefinitionidest. Kui viite läbi suhtelist kvantifitseerimist normaliseeriva geeni abil ühes kanalis (s.o. reaktsioonid on eraldi tuubides ja kasutavad sama fluorofoori), tuleks luua 2 proovi lehekülge. Esimesel leheküljel peaksid olema uuritavat geeni sisaldavad tuubid ja ülejäänud positsioonid jätke nimetamata. Teisel peaksid olema normaliseerivat geeni sisaldavad tuubid. Tarkvara viib proovid 2 analüüsist nimede põhjal kokku.

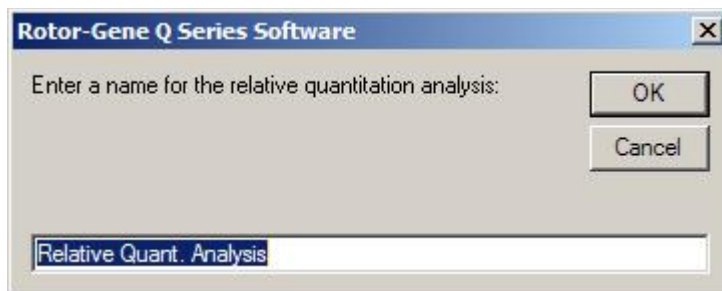
Ekspressiooni analüüs kahe standardkõvera meetodil

Iga geeni andmeid saab esmalt analüüsida kvantifitseerimise analüüsi abil. Vastasel juhul määratakse iga geeni tulemused automaatselt "Autofind Threshold" tööriista abil.

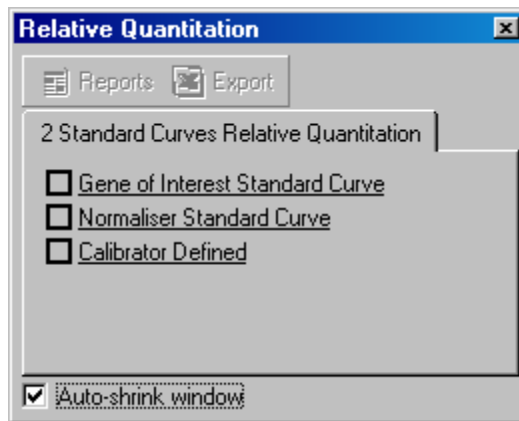
1. Valige "Analysis" aknas "2 Std Curve (Rel.)" sakk. Klõpsake "New Analysis..." .

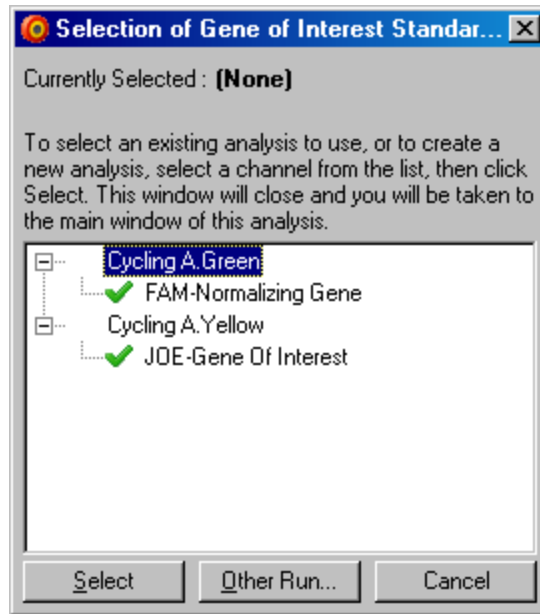


2. Sisestage analüüsi nimi.

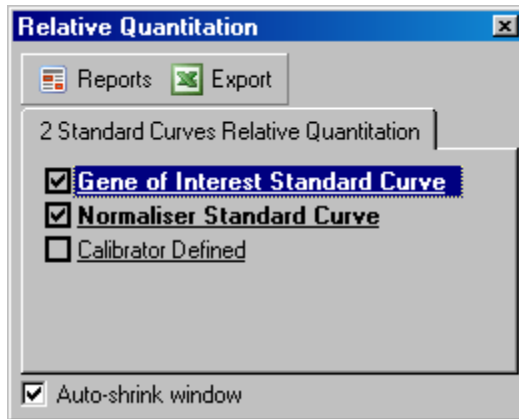


3. Määrake proovi leheküljed normaliseeriva geeni ja uuritava geeni analüüsi jaoks. Näiteks "Gene of Interest Standard Curve" klõpsamisel ilmub "Selection of Gene of Interest Standard..." aken. Valige lehekülg, millel uuritav geen kvantifitseeriti. Korra ke protseduuri normaliseeriva geeni jaoks. Valikuliselt saab defineerida kalibraatori. Kui see valik on aktiveeritud, antakse kalibraatorile väärtus 1 ja kõik teised proovi kontsentratsioonid arvutatakse selle suhtes.



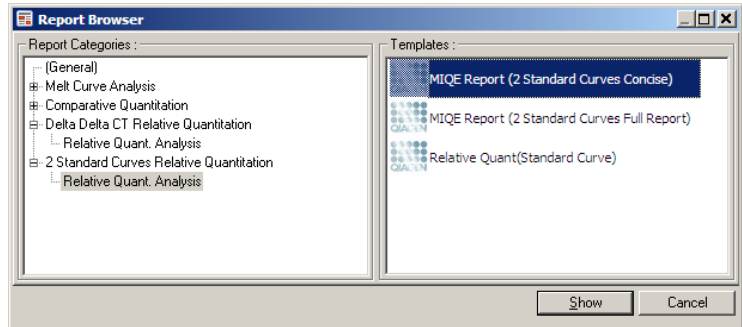


Pärast valikute määramist märgitakse valikud linnukesega nagu allpool näidatud.

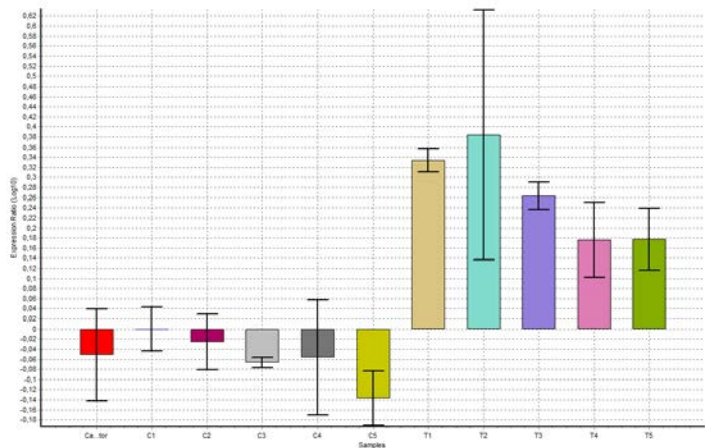


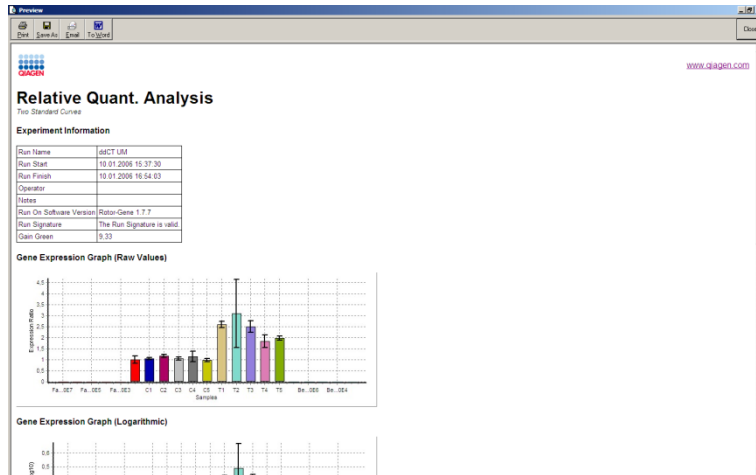
4. Klõpsake "Reports" nuppu, et kuvada "Report Browser" aken. Valige nimekirjast õige nimega analüüs. Klõpsake "Show" nuppu, et kuvada suhtelise kvantifitseerimise raport. "Export" valikuga saate tulemused Excel tabelisse eksportida. Kui

kalibraator on kaasatud, arvutatakse tulemused kalibraatori suhtes, mille väärtuseks arvestatakse 1.



5. Kuvatakse standardkõverate abil arvatud uuritava geeni (GOI Conc.) ja normaliseeriva geeni (Norm. Conc.) kontsentratsioonid ja samuti suhtelised kontsentratsioonid (Relative Conc.). Tulemused saab salvestada Wordi faili.





6. Suhtelise miinimumi (Rel Min) ja suhtelise maksimumi (Rel Max) väärtuste genereerimisel kalkuleeritakse GOI ja normaliseerija standardhälvete jagatise standardhälve, milleks kasutatakse järgmist valemit:

$$CV_{relconc} = \sqrt{CV_{GOI}^2 + CV_{Norm}^2}$$

kus:

$$cv = \frac{s}{X} = \frac{stddev}{meanvalue}$$

7.6.4

Delta delta C_T suhteline kvantifitseerimine

Delta delta C_T meetod võimaldab suhtelist geeniekspressiooni analüüsi. Seda kirjeldasid Livak ja Schmittgen (2001)*.

Selle meetodi puhul ei ole vaja igasse eksperimenti standardkõveraid kaasata. Igat proovi normaliseeritakse esmalt lisatud proovimaterjali koguse suhtes võrreldes normaliseeriva geeniga. Need

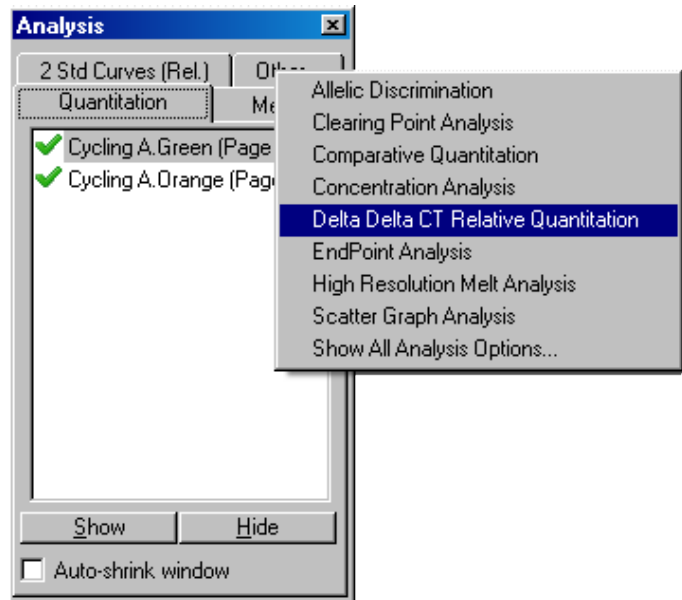
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method. Methods 25, 402.

normaliseeritud väärtused normaliseeritakse seejärel kalibraatori suhtes. Kalibraatoriks võivad olla näiteks metsik-tüüpi, töötlemata või ajalise null-punkti proovid.

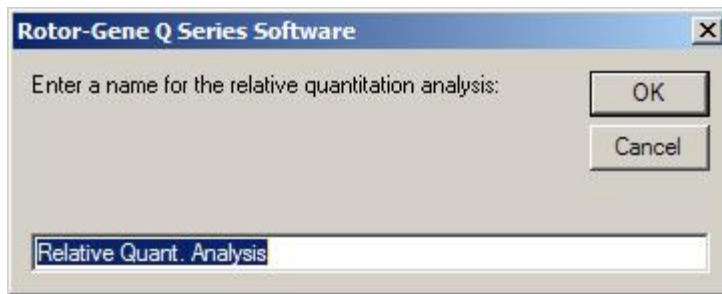
On hädavajalik, et uuritava geeni ja normaliseeriva geeni amplifikatsiooni efektiivsused on identsed ja see on valideeritud Livaki ja Schmittgeni juhiste.

On hädavajalik, et proovide nimed on "Edit Samples" aknas korrektselt defineeritud, samad proovid peavad olema igas kvantifitseerimise analüüsis identselt defineeritud.

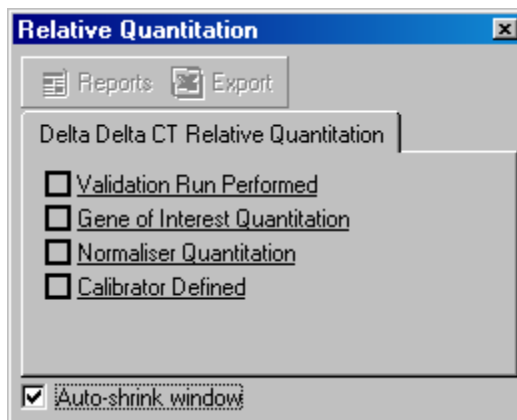
1. Analüüsige andmed kasutades "Quantitation" analüüsi. Kui valideerimine on läbi viidud, ei ole standardkövera kaasamine vajalik.
2. Valige "Analysis" akna "Other" sakist "Delta Delta C_T Relative Quantitation". Valige "New Analysis".

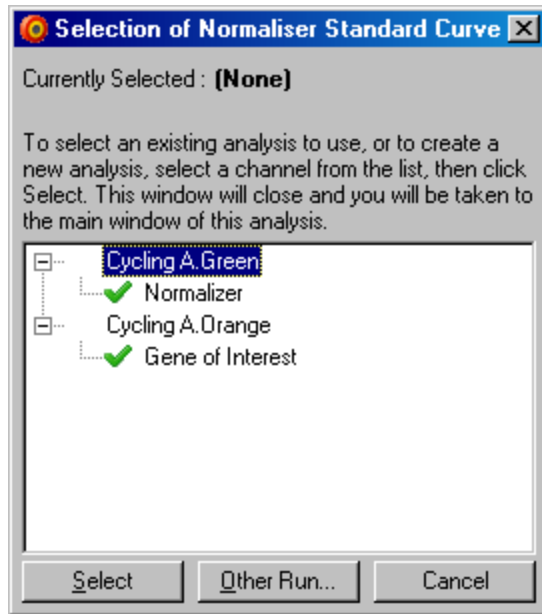


3. Sisestage analüüsi nimi.

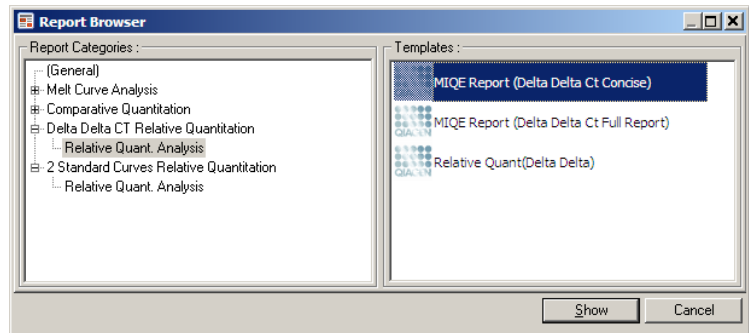


4. Analüüsiga jätkamiseks peab "Validation Run Performed" olema märgitud. Defineerige leheküljed, kus uuritav geen ja normaliseeriv geen on analüüsitud.





5. Klõpsake "Reports" nuppu, et kuvada "Report Browser". Valige nimekirjast õige nimega analüüs. Klõpsake "Show" nuppu, et kuvada suhtelise kvantifitseerimise raport. "Export" valikuga saab tulemused Excel tabelisse ekspordida. Kui kalibraator on kaasatud, arvutatakse tulemused kalibraatori suhtes, mille väärtuseks arvestatakse 1.



Allpool on toodud näide selle analüüsi tulemustest. Kuvatakse uuritava geeni (GOI CT) ja normaliseeriva geeni (Norm. CT) C_T väärtused, Delta C_T , Delta Delta C_T ja suhteline kontsentratsioon (Relative Conc.). Ekspressioon on arvutatud kalibraatori suhtes, mille suhteliseks ekspressiooniks arvestatakse 1.

Edasise teabe saamiseks suhtelise miinimumi ja suhtelise maksimumi kalkulatsioonide tuletiste kohta vt Litvak and Schmittgen (2001).*

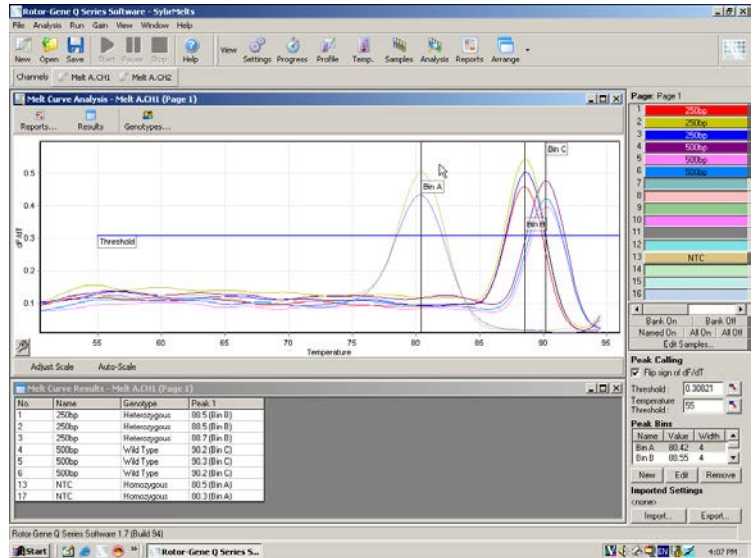
C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	-4.12	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0,1 IU/µl		28.11						
	0,316 IU/µl	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03857	0.03633	0.04094	
	1 IU/µl	36.84	28.15	8.69	3.88	0.06805	0.04415	0.10489	
	3,16 IU/µl	34.45	28.05	6.40	1.59	0.33305	0.28206	0.39325	
	QS4	32.67	28.29	4.38	-0.43	1.34925	1.09820	1.65770	
	QS3	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	QS2	26.88	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	QS1	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

7.6.5 Sulamiskõvera analüüs

Sulamiskõvera analüüsis analüüsitakse toorandmete tuletist pärast silumist. Seda analüüsi kasutatakse tavaliselt genotüpiseerimiseks ja alleelseks eristamiseks. Kõvera piigid grupeeritakse kastidesse (*bin*) ja kõik alla lävendi jäävad piigid jäetakse välja. Kastid saab seejärel siduda genotüüpidega kasutades "Genotypes" käsku.

Pärast eksperimendi lõppu saab mõnede keemiate puhul lisada sulamisetapi, et visualiseerida amplifikatsiooni produktide dissotsiatsiooni kineetikat. Temperatuuri tõstetakse lineaarse kiirusega ja iga proovi fluorestsents salvestatakse. Allpool on toodud tüüpiline sulamiskõver.

* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta[\text{-delta delta C(T)]}$ method. Methods 25, 402.



Peak Calling

Flip sign of dF/dT

Threshold : 0.30821

Temperature Threshold : 55

Peak Bins

Name	Value	Width
Bin A	80.42	4
Bin B	88.55	4

New Edit Remove

Imported Settings

<none>

Import... Export...

Flip sign of dF/dT:

Enne piikide defineerimist veenduge, et dF/dT märk on andmete suhtes korrektne ja annab positiivsed piigid.


Defining peaks: Sulamiskövera analüüsis saab piike defineerida ja raporteerida erinevate meetodite abil. Üks võimalus on iga proovi kõik piigid automaatselt defineerida. Teine võimalus on määrata piigid kastidesse, see on kasulik genotüpiseerimiseks.


Kastid defineerivad piirkonna, milles piike oodatakse. Sulamiskövera analüüsi tarkvara grupeerib piigid kastidesse (*bin*) arvestades kövera tegelikke piigiväärtusi. Kaste saab vajadusel muuta.

Iga piik, mis asub kasti defineeritud piirkonnas, määratakse sinna kasti. Kui 2 kasti on teineteisele lähedal, siis määratakse piik lähimasse kasti.

Märkus: Kaste ei tohiks visuaalselt positsioneerida piigipositsioonide hindamiseks. Seadke kastid ligikaudselt huvipakkuvasse piirkonda, seejärel kasutage tegelikke raporteeritud väärtusi tulemuste tabelis, et saada täpsem tulemus.

Peak Bins: Kasti defineerimiseks klõpsake "New Bin" nuppu, seejärel klõpsake ja hoidke graafikul, et defineerida kasti kese. Järgmise kasti lisamiseks korrake protseduuri. Kasutage "Remove" nuppu kastide kustutamiseks.

Threshold: Lävendi seadmiseks (y telg), klõpsake  ikooni, seejärel klõpsake ja hoidke graafikul ning vedage lävendijoon soovitud tasemele.

Temperature Threshold: Temperatuurilävendi seadmiseks (x telg), klõpsake  ikooni, seejärel klõpsake ja hoidke graafikul ning vedage lävendijoont paremale. See elimineerib lävendijoone madalamate temperatuuride juures.

Märkus: See on kasulik siis, kui madalatel temperatuuridel on signaalis palju müra.

Raportid (Reports)

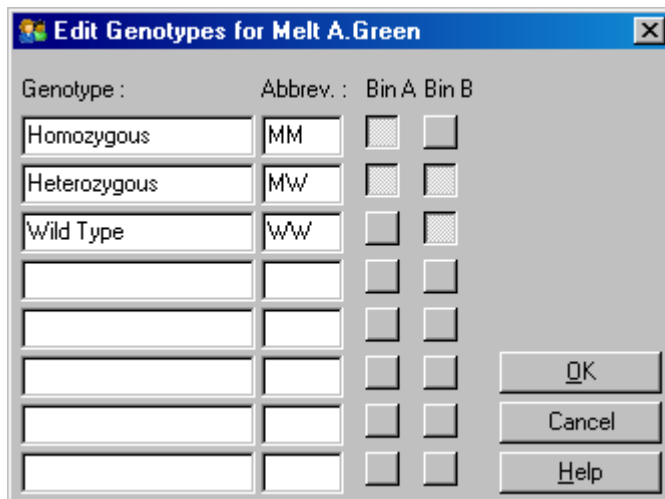
“Reports” avab “Report Browser” akna, kus saab valida raporti eelvaate. Raporti saab genereerida hetkel valitud kanali põhjal, samas saab genereerida ka mitme kanali genotüpiseerimise raporti.

Tulemused (Results)

“Results” kuvab “Melt Curve Results” akna, milles on näidatud proovide piigid.

Genotüübid (Genotypes)

Klõpsake “Genotypes...” ja valige genotüübid, nagu allpool näidatud.

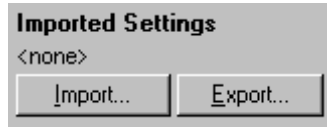


See võimaldab kastides piikide esinemise korral genotüüpe määrata. Vaikimisi genotüübi konfiguratsioon on näidatud joonisel, heterosügootsetel proovidel on 2 piiki, homosügootsetel proovidel on piik esimeses kastis ja metsiktüüpi proovidel on piik teises kastis. Iga genotüübi nime kõrval asuvasse kasti on võimalik trükkida lühend (Abbrev). Seda kasutatakse mitme kanaliga genotüpiseerimise raportite printimisel, sest siis on kõikide kanalite andmeid lihtne vaadata.

Multiplex analüüside puhul tuleb igas kanalis genotüübid määrata. Kui näiteks viiakse läbi kahes kanalis summutatud (*quenched*) FRET analüüs, mille puhul oodatakse igas kanalis metsiktüüpi ja heterosügootset genotüüpi, tuleb kastiparameetrid määrata iga kanali jaoks. Tulemused antakse siis multiplex raportis.

Sulamisanalüüsi vormid (Melt analysis templates)

Sulamisanalüüsi vormide abil on võimalik eksportida normaliseerimise, lävendi, genotüübi ja kastiseadeid *.met faili. Seda faili saab importida ja kasutada teist es eksperimentides. Lisainfot saate peatükist 8.1.



7.6.6 Võrdlev kvantifitseerimine (Comparative quantitation)

Võrdleva kvantifitseerimise puhul võrreldakse eksperimendis proovide suhtelist ekspressiooni kontrollprooviga, kui standardkõver ei ole saadaval. Seda kasutatakse tihti mikrokiipide analüüsis. Warton ja kolleegid (2004)* toovad sellest tehnikast näite.

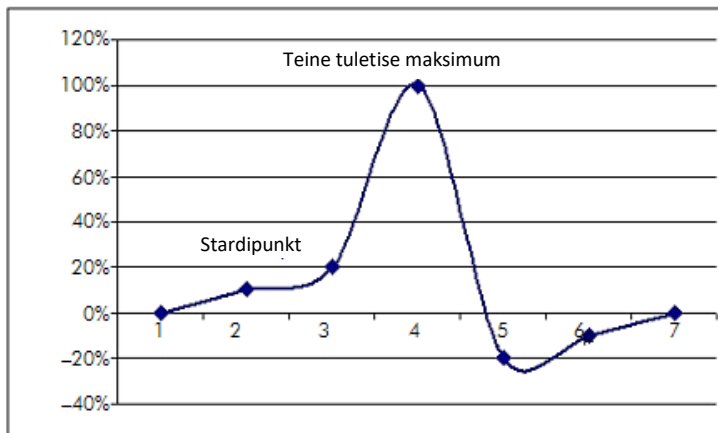
1. Analüüsi läbiviimiseks valige "Analysis" aknas "Other" ja seejärel "Comparative quantitation". Analüüsimiseks topelt-klõpsake kanalil.
2. Valige ekraani paremal ääres asuvast rippmenüüst kontrollproov.
3. Tulemused arvutatakse automaatselt ja kuvatakse "Comparative Quantitation Results" aknas graafiku all.

"Comparative Quantitation Results" akna esimestes tulpades on proovi number ja nimi. "Takeoff" tulbas on punkt, kus proovi fluorestsents ületab läve.

Amplifikatsioonigraafiku teine tuletis annab piigid, mis vastavad reaktsiooni maksimaalsele fluorestsentsi juurdekasvu kiirusele. Läve ületamise punkt (*takeoff point*) defineeritakse kui tsükkel, milles teine tuletis on 20% maksimaalsest tasemest, ja see tähistab müra lõppu ja üleminekut eksponentsiaalsesse faasi.

Sellel joonisel on amplifikatsioonigraafiku teine tuletis, näidatud on teise tuletise piigi ja läve ületamise punkti suhtelisi positsioone.

* Warton, K., Foster, N.C., Gold, W.A., and Stanley, K.K. (2004) A novel gene family induced by acute inflammation in endothelial cells. *Gene* 342, 85.



“Amplification” tulbas on proovi efektiivsus. 100% efektiivse reaktsiooni puhul on iga proovi amplifikatsiooniväärtus 2, mis tähendab, et amplikoni hulk on igas tsükli kahekordistunud. Toorandmetes peaks signaal eksponentsiaalses faasis kahekordistuma. Näiteks kui signaal oli 12. tsükli 50 fluorestsentsiühikut ja 51 fluorestsentsiühikut 13. tsükli, peaks see suurenema 53 fluorestsentsiühikuni 14. tsükli. Iga proovi kõikidest amplifikatsiooniväärtustest arvutatakse keskmine amplifikatsiooniväärtus, mis kuvatakse ekraani paremal ääres. Mida suuremad on erinevused iga proovi hinnanguliste amplifikatsiooniväärtuste vahel, seda laiemad on usalduspiirid (näidatakse väärtuse kõrval \pm märgi järel). Suure prooviarvu (N) korral annavad usalduspiirid 68.3% tõenäosuse, et proovide tõeline amplifikatsioon on selles vahemikus (1 standardhälve). \pm vahemiku kahekordistamisel saadakse suure N jaoks 95.4% usalduspiirid.

Kalibraatori kordused (Calibrator Replicate)

Nagu ka delta delta C_T meetodi puhul, on vaja kalibraatorproovi ja mõõtmised on võrdluses selle kalibraatorprooviga. Analüüsida saab kalibraatori kordusi, sest kui mitme proovi nimi on sama, kasutatakse nende proovide keskmist läve ületamise

punkti (*takeoff point*). See funktsiooni korrektseks kasutamiseks veenduge, et kordustel on identsed nimed.



Keskmi amplifikatsiooni kasutatakse ekspressiooni arvutamiseks. Näiteks võtab madala amplifikatsiooniväärtusega proovil kindla koopiaarvuni jõudmine kauem aega kui kõrgema amplifikatsiooniväärtusega proovil. "Comparative Quantitation Results" aknas "Rep. Conc." tulbas on suhteline kontsentratsioon. Iga proovi kontsentratsioon kalibraatorproovi suhtes arvutatakse läve ületamise punkti ja reaktsiooniefektiivsuse põhjal. See väljendatakse teaduslikus kirjaviisis.

Märkus: "Average Amplification" väärtusest paremal \pm märgi järel kuvatakse keskmise amplifikatsiooni standardhälve pärast eemalasujate amplifikatsiooniväärtuste eemaldamist. Kui see väärtus on suur, siis võib arvutatud kontsentratsiooniväärtustes olla suur viga.

Tarkvara arvutab suhtelised kontsentratsioonid järgnevalt:

1. Iga proovi läve ületamise punkt (*takeoff point*) arvutatakse teise tuletise piikide alusel.
2. Arvutatakse toorandmete keskmine kasv 4 tsükli jooksul pärast läve ületamist. See on proovi amplifikatsiooniväärtus.
3. Eemaldatakse eemalasujate amplifikatsioonid, et selgitada tausta fluorestsentsi.

4. Järelejäävatest amplifikatsioonidest arvutatakse keskmine. See on keskmine amplifikatsioon.
5. Iga kalibraatori korduse jaoks arvutatakse läve ületamise punkt.
6. Proovi suhteline kontsentratsioon arvutatakse nii:
 $\text{Amplification}^{\text{Calibrator takeoff}} - \text{Sample takeoff}$.
7. Tulemus kuvatakse teaduslikus kirjaviisis
"Comparative Quantitation Results" aknas "Rep. Conc." tulbas.

7.6.7 Alleelne eristamine (Allelic discrimination)

Alleelset eristamisel kasutatakse 2 või enama kanali reaajas kineetilisi andmeid proovide genotüpiseerimiseks. Selle analüüsi läbi viimiseks valige "Analysis" aknas "Other" ja seejärel "Allelic Discrimination". Alleelse eristamise puhul ei piisa analüüsimiseks ühel kanalil topelt-klõpsamisest, sest selle analüüsi puhul kasutatakse samaaegselt mitmeid kanaleid. Selle analüüsi läbiviimiseks kas hoidke CTRL klahvi all ja klõpsake kõikidel kanalitel, mida soovite analüüsida, või vedage hiirega üle nende kanalite. Kui soovitud kanalid on esile tõstetud, klõpsake "Show". Nimekiri värskendatakse, kõik kanalid kuvatakse ühel joonel ja on märgitud linnukesega. See näitab, et neid kõiki kasutatakse ühes analüüsis. Neist ühe või mitme kanali eemaldamiseks parem-klõpsake analüüsil ja valige "Remove Analysis...". Neid kanaleid saab seejärel kasutada teises alleelse eristamise analüüsis. Kanalit saab korrigeerida ainult ühes analüüsis kasutada.

Reports: See avab "Allelic Discrimination Analysis" raporti eelvaate.

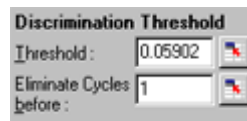
Results: See kuvab "Allelic Discrimination Results" akna. See aken avaneb vaikselt, kui analüüs esmakordselt kuvatakse.

Normalization options: Toorandmete normaliseerimise optimeerimiseks on mitu võimalust:

- Dynamic Tube (dünaamilise toru normaliseerimine)
- Slope Correct (taustakalde korrigeerimine)
- Ignore First x cycles (esmaste tsüklite müra korrigeerimine)
- Takeoff point adjustment (stardipunkti kohandamine)

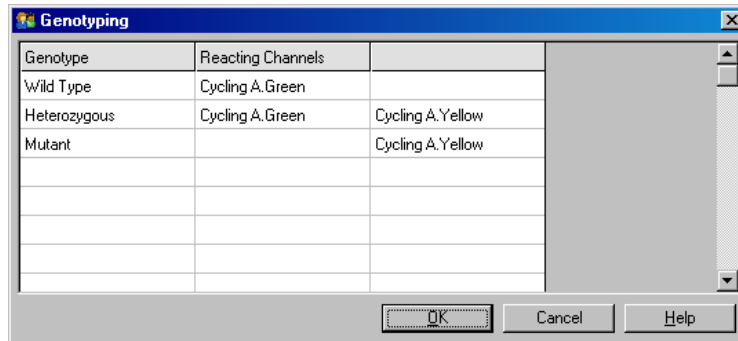
Lisainfot saate leheküljelt 7-25.

Discrimination Threshold: Sisestage nendesse kastidesse väärtused eristamise lävendi määramiseks. Kõik seda lävendit läbivad kõverad loetakse genotüpiseerimise proovideks. Väärtuste visuaalseks seadmiseks klõpsake iga kasti paremal küljel olevat ikooni ja seejärel vedage graafikul lävendit.

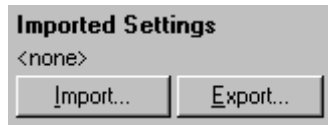


Genotypes: See avab "Genotyping" akna, mida kasutatakse defineerimaks, millist genotüüpi detekteeritakse millises kanalis. Selles aknas saab alleelseks eristamiseks kanalitele genotüübid määrata.

Alltoodud näites on proov heterosügootne kui signaalid kanalites Cycling A.Green ja Cycling A.Yellow ületavad lävendi.



Allelic analysis templates: Alleelse analüüsi vormide abil on võimalik eksportida normaliseerimise, lävendi ja genotüübi seaded *.alt faili. Seda faili saab importida ja teistes eksperimentides kasutada. Lisainfot saate peatükist 8.1.



7.6.8 Hajuvusgraafiku analüüs (Scatter graph analysis)

Hajuvusgraafiku analüüs võimaldab 2 kanali amplifikatsioonigraafikute suhtelise ekspresiooni põhjal genotüpiseerimist. Erinevalt alleelsest eristamisest määratakse genotüüp hajuvusgraafiku defineeritud regioonide mitte ühe lävendi põhjal. Selle analüüsi läbiviimiseks valige "Analysis" aknas "Other" ja seejärel "Scatter Graph Analysis".

Hajuvusgraafiku analüüsi läbiviimisel ei piisa ühel kanalil topelt-klõpsamisel, sest seda analüüsi viiakse läbi üheaegselt 2 kanalil. Selle analüüsi läbiviimiseks kas hoidke all SHIFT nuppu ja klõpsake soovitud kanalitel, et neid esile tuua, või vedage hiirega üle kanalite. Kui soovitud kanalid on esile toodud, klõpsake "Show".

Nimekiri uuendatakse nii, et valitud kanalid kuvatakse ühel real ja on märgitud linnukesega. See tähendab, et neid kõiki kasutatakse ühes analüüsis. Ühe või mitme kanali eemaldamiseks parem-klõpsake analüüsil ja valige "Remove Analysis...". Neid kanaleid saab seejärel kasutada teises hajuvusgraafiku analüüsis. Kanalit saab korraka kasutada ainult ühes analüüsis.

Reports: See avab "Scatter Analysis" raporti eelvaate.

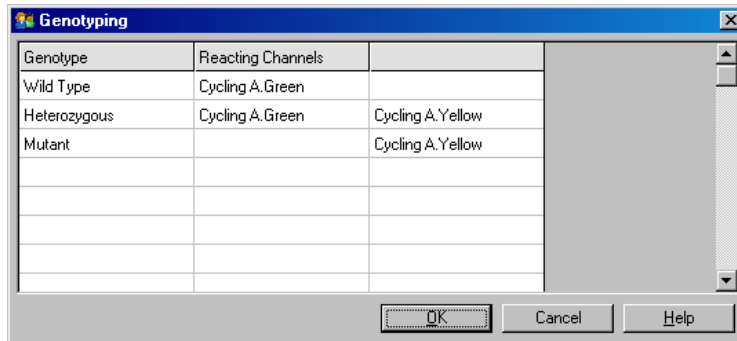
Results: See kuvab "Scatter Analysis Results" akna. Iga proovi genotüüp määratakse kasutaja defineeritud regioonide abil hajuvusgraafikul.

Normalization options: Toorandmete graafikute normaliseerimise optimeerimiseks on mitu võimalust:

- Dynamic Tube (dünaamilise toru normaliseerimine)
- Slope Correct (taustakalde korrigeerimine)
- Ignore First x cycles (esimeste tsüklite müra korrigeerimine)
- Takeoff point adjustment (stardipunkti kohandamine)

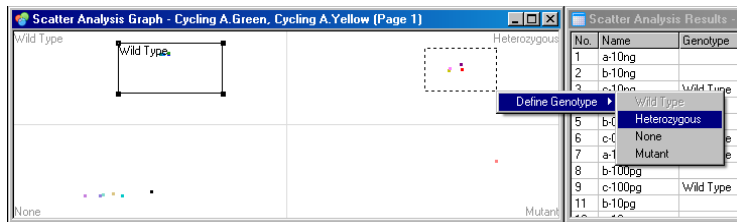
Lisainfot saate leheküljelt 7-25.

Genotypes...: See avab "Genotyping" akna, milles defineeritakse, millist genotüüpi igas kanalis detekteerida. Selles aknas saab määrata genotüübid vastavalt sellele kanalile, milles proov reageerib. Valitud kanaleid kasutatakse hajuvusgraafiku nurkade märkimiseks ja need juhivad kasutaja hajuvusgraafiku üldisele alale, kus tuleks regioonid defineerida.



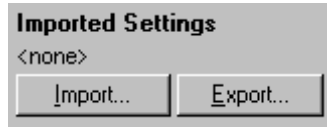
Scatter Graph: Hajuvusgraafikul kuvatakse 2 valitud kanali suhtelist ekspressiooni. Displei on normaliseeritud, et selgitada iga kanali erineva kordusega juurdekasvusi, ja logaritmitud, et rõhutada proovidevahelisi erinevusi ekspressioonis.

Genotüpiseerimiseks defineerib kasutaja graafikul klõpsates ja tirides regioonid. Valiku saab seejärel märgistada "Genotyping" aknas konfigureeritud genotüüpide põhjal.



Scatter graph analysis templates:

Hajuvusgraafiku analüüsi vormid võimaldavad genotüübi- ja regiooniseadeid ekspordida *.sct faili. Seda faili saab importida ja teistes eksperimentides kasutada. Lisainfot saate peatükist 8.1.

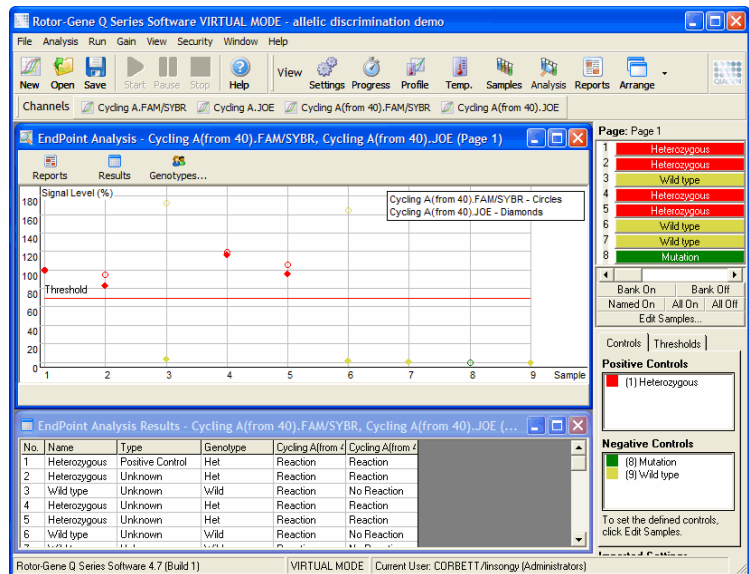


7.6.9

Lõpp-punkti analüüs (EndPoint analysis)

Lõpp-punkti analüüsi abil on võimalik eksperimendi lõpus eristada amplifitseerunud ja mitte-amplifitseerunud proove. Tulemused on kvalitatiivsed (positiivne/negatiivne), mitte kvantitatiivsed.

Alloleval joonisel on toodud lõpp-punkti analüüs.



Lõpp-punkti analüüs sarnaneb alleelsele eristamisele selle poolest, et tulemused on kvalitatiivsed, ja, et nime saab määrata kindlatele reaktsiooni kombinatsioonidele erinevates kanalites. Siiski on lõpp-punkti analüüsis kasutada ainult üks lugem, alleelse eristamise puhul aga kasutatakse iga proovi puhul lugemeid igast tsüklist. See tähendab, et kasutaja peab analüüsi lihtsustamiseks identifitseerima positiivsed ja negatiivsed kontrollid. Toorandmete iga

kanali signaalid on normaliseeritud teadaolevate positiivsete ja negatiivsete kontrollide suhtes. Kasutaja valib seejärel lävendiks protsendi signaalitasemest.

Lõpp-punkti analüüsis kasutatavad mõisted

Allpool seletatakse mõnesid lõpp-punkti analüüsis kasutatavaid mõisteid.

Positive control: Positiivne kontroll – proov, mis teadaolevalt amplifitseerub.

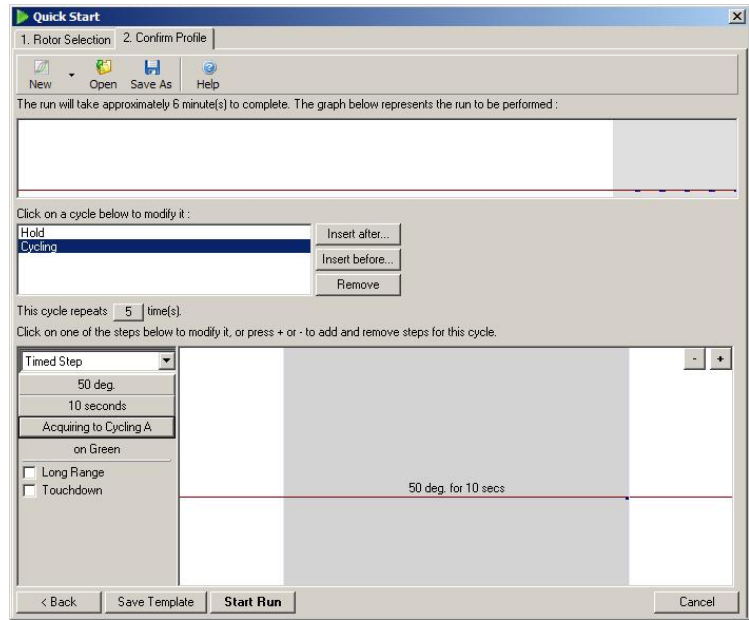
Negative control: Negatiivne kontroll – proov, mis teadaolevalt ei amplifitseeru. See esindab tüüpilist taustasignaali.

Threshold: Lävend – signaalitase, mida ületav proov loetakse positiivseks (amplifitseerunud). Seda seadet peab kasutaja igas eksperimendis kohandama.

Signal level: Signaalitase – protsent fluoretsentssignaalist, normaliseeritud nii, et positiivsete kontrollide kõrgeim signaal on 100% ja negatiivsete kontrollide madalaim signaal on 0%.

Genotype: Genotüüp – erinevate kanalite reaktsioonide erinevate kombinatsioonide tõlgendus. Näiteks võib genotüüp "heterosügoot" olla määratud proovidele, mis reageerisid korraga kanalites roheline ja kollane. Genotüüpi saab kasutada ka sisemiste kontrollide reaktsioonide tulemuste raporteerimiseks. Näiteks võivad tulemused olla "inhibeeritud", "positiivsed" või "negatiivsed" olenevalt sellest, kas reaktsiooni kindlates kanalites nähti või mitte.

Profiili konfiguratsioon



Lõpp-punkti analüüsi läbiviimiseks tuleb defineerida profiil, millel on mitme minuti pikkune Hold etapp temperatuuril 50°C, seejärel 1-sammuline Cycling etapp (50°C, 10 sekundit), andmete kogumisega vajalikus kanalis. Seadke korduste arv 5, nagu ülal näidatud. Need ajad on ainult suunavad ja võivad konkreetse rakenduse puhul varieeruda. Mida rohkem on profiilis kordusi, seda rohkem on analüüsi läbiviimiseks andmeid. Analüüsis arvutatakse automaatselt kõikide lugemite keskmine, et saada iga proovi kohta üks väärtus. Ei ole kindlat arvu vajalikke kordusi. Kui just ei ole vaja väga kõrget täpsust, piisab tavaliselt 5 kordusest.

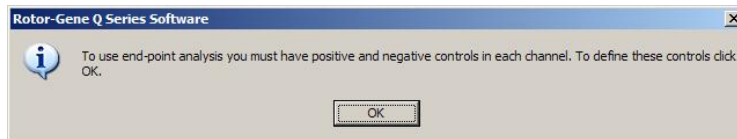
Analüüs

Lõpp-punkti analüüsi saab samaaegselt läbi viia mitmes kanalis. Uue analüüsi loomiseks klõpsake "EndPoint" sakil, valige kanalid hiirega üle nende tirdes ja seejärel klõpsake "Show".



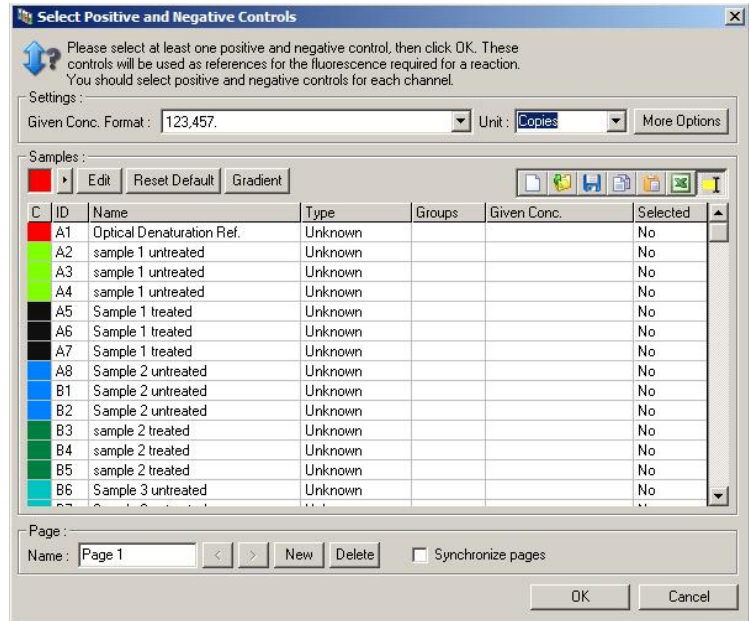
Defineeri kontrollid

Kui lõpp-punkti analüüs avatakse esmakordselt ning positiivsed ja negatiivsed kontrollid ei ole defineeritud, kuvatakse järgmine teade.



Klõpsake "OK". Ilmub "Edit Samples" aken, mis võimaldab positiivsed ja negatiivsed kontrollid defineerida. Proovi positiivseks või negatiivseks kontrolliks määramiseks klõpsake proovi tüübi kastil, seejärel valige rippmenüüst vajalik kontrollitüüp.

Märkus: Analüüsi läbiviimiseks peavad kontrollid olema sisse lülitatud kasutades põhiaknas paremal asuvat proovide valikut.



See aken toimib samamoodi kui "Edit Samples" aken (peatükk 6.1.4).

Normaliseerimine

Lõpp-punkti analüüsi andmete normaliseerimisel pannakse kõik signaalitasemed skaalavahemikku 0–100%. Valitud peab olema vähemalt üks positiivne ja üks negatiivne kontroll või rohkem kui analüüsimisel on mitmed kanalid ja standardid ei ole multipleksitud. Kui on oht, et positiivne kontroll ei amplifitseeru, tuleks kasutada rohkem kui ühte positiivset ja negatiivset kontrolli.

1. Iga kanali puhul analüüsitakse kõiki positiivseid kontrolle ja kõige kõrgema fluorestsentsiga kontroll arvestatakse 100%. See tähendab, et kui kontrolle kasutatakse kordustes, siis võib üks positiivse kontrolli reaktsioon ebaõnnestuda ilma, et see eksperimenti mõjutaks.

2. Kõiki negatiivseid kontrolle analüüsitakse ja kõige madalama fluorestsentsiga kontroll arvestatakse 0%.
3. Ülejäänud proovide toorfluorestsentsi väärtused pannakse skaalale kõrgeima positiivse kontrolli ja madalaima negatiivse kontrolli suhtes.

Näiteks:

Proov	Tüüp	Fluorestsents
1	Positiivne kontroll	56.3
2	Positiivne kontroll	53.0
3	Negatiivne kontroll	4.5
4	Negatiivne kontroll	4.3
5	Proov	48.1
6	Proov	6.4

See eksperiment oli edukas, sest 2 positiivset ja 2 negatiivset kontrolli on teineteisele lähedal ning väljaspool proovide fluorestsentsi väärtusi.

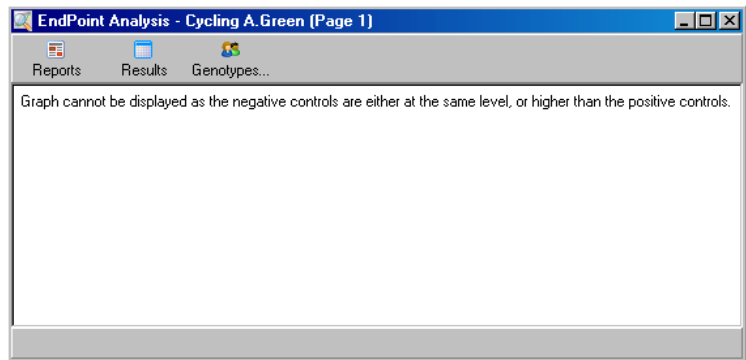
Normaliseeritud väärtused on:

Proov	Tüüp	Ekspressioon (%)
1	Positiivne kontroll	100.0
2	Positiivne kontroll	93.7
3	Negatiivne kontroll	0.4
4	Negatiivne kontroll	0.0
5	Proov	84.2
6	Proov	4.0

Proov 1 oli kõrgeima fluorestsentsiga positiivne kontroll, seega määrati see 100%. Teine positiivne kontroll oli veidi madalam. Proov 4, madalaim negatiivne kontroll määrati 0%. On selge, et proov 5 on ilmselt amplifitseerunud, samas aga proov 6 ilmselt ei ole amplifitseerunud.

Märkus: Olenevalt valitud positiivsetest ja negatiivsetest kontrollidest on võimalik saada ekspressioonitasemeid üle 100% või alla 0%. Tulemust suurem kui 100% saab tõlgendada nii, et proov on kõrgemini ekspresseerunud kui positiivsed kontrollid. Tulemust vähem kui 0% saab tõlgendada nii, et proovi amplifitseerumine on vähem tõenäoline kui negatiivsete kontrollide amplifitseerumine. Kuna tegemist on kvalitatiivse analüüsiga, ei pea selliste tulemuste pärast muretsema.

Kui negatiivsed kontrollid annavad kõrgema fluoretsentsi kui positiivsed kontrollid, on proovid valesti üles seatud ning ilmub järgmine teade.



Normaliseerimine mitmes kanalis

On võimalik analüüsida mitme kanali signaalide andmeid, kuid proovide üles seadmine on keerukam. Lõpp-punkti analüüsis eeldatakse multipleksimist ja seega saab igal tuubil olla vaid üks tuubipositsioon. Antud hetkel ei ole võimalik analüüsida eksperimenti, milles proovi positsioon on ühes kanalis positiivne kontroll ja teises kanalis negatiivne kontroll.

Kuigi "Edit Samples" aknas on tuubile lubatud vaid üks definitsioon, toimub normaliseerimine igas kanalis eraldi.

Kui tuub on vähemalt ühes kanalis positiivne kontroll, tuleks see määrata "Edit Samples" aknas "Type" tulbas positiivseks kontrolliks. Vastasel juhul peaks proovi tüüp

olema "Sample". See käib ka negatiivsete kontrollide kohta.

Näiteks kui proov on positiivne kontroll rohelises kanalis, aga mitte kollases kanalis, tuleks proov defineerida ikkagi positiivseks kontrolliks. Kasutatakse iga kanali kõrgeima väärtusega positiivset kontrolli, seega kui kollases kanalis on vähemalt üks amplifitseerunud positiivne kontroll, siis ignoreeritakse rohelises kanalis proovi kontrolliks defineerimist.

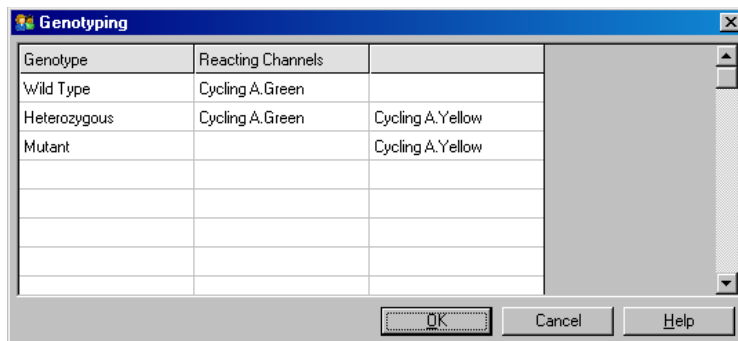
Lävend (Threshold)

Lävendit kasutatakse reaktsiooniks vajaliku ekspressiooni protsendi määramiseks igas kanalis. Kui positiivsed ja negatiivsed kontrollid on defineeritud, normaliseeritakse kõik kanalid samale 0–100% skaalale. Sel põhjusel on vaja ainult ühte lävendit, isegi mitme kanali analüüsimisel.

Klõpsake ja tirige lävendijoont 0 ja 100 vahel. Lävend ei tohiks kummalgi pool joont olla proovidele liiga lähedal, sest see näitab, et eksperiment ei olnud otsustav. Kui erinevus proovi defineerimisel amplifitseerunuks või mitte-amplifitseerunuks on vaid mõni protsent, tähendab see, et reaktsiooni kordamisel võib proov olla kummalgi pool lävendit.

Genotüübid (Genotypes)

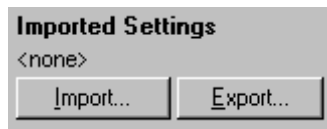
See valik avab "Genotyping" akna, mida kasutatakse igas kanalis detekteeritava genotüübi defineerimiseks.



See aken võimaldab kanalitele genotüpe määrata. Ülaltoodud näites on proov heterosügootne siis, kui lugemid kanalites Cycling A.Green ja Cycling A.Yellow ületavad lävendi.

Lõpp-punkti analüüsi vormid

Lõpp-punkti analüüsi vormide abil on võimalik eksportida genotüübi ja lävendi seadeid *.ent faili. Seda faili saab importida ja teistes eksperimendites kasutada. Lisainfot saate peatükist 8.1.

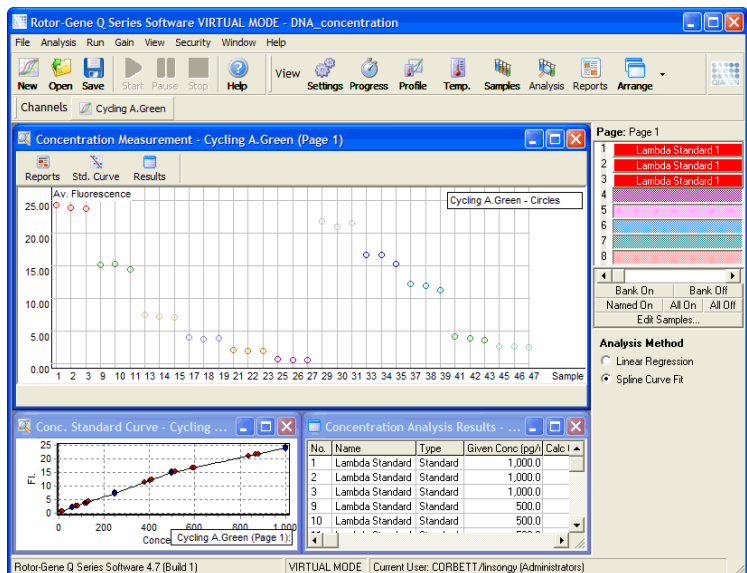


7.6.10

Kontsentratsiooni analüüs

Kontsentratsiooni analüüsi abil on võimalik Rotor-Gene Q MDx kasutada DNA kontsentratsioonide mõõtmiseks või fluoromeetri lugemite saamiseks.

See analüüs on toodud alloleval pildil.



Ekspirimendi ettevalmistamine

Kontsentratsiooni analüüsi läbiviimiseks valmistage esmalt ette fluorestseeruvad standardid ja proovid, ideaalis kolmes korduses.

Standardite ettevalmistamine

Iga mõõdetud proovi DNA kontsentratsiooni määramiseks kasutatakse standardkõverat.

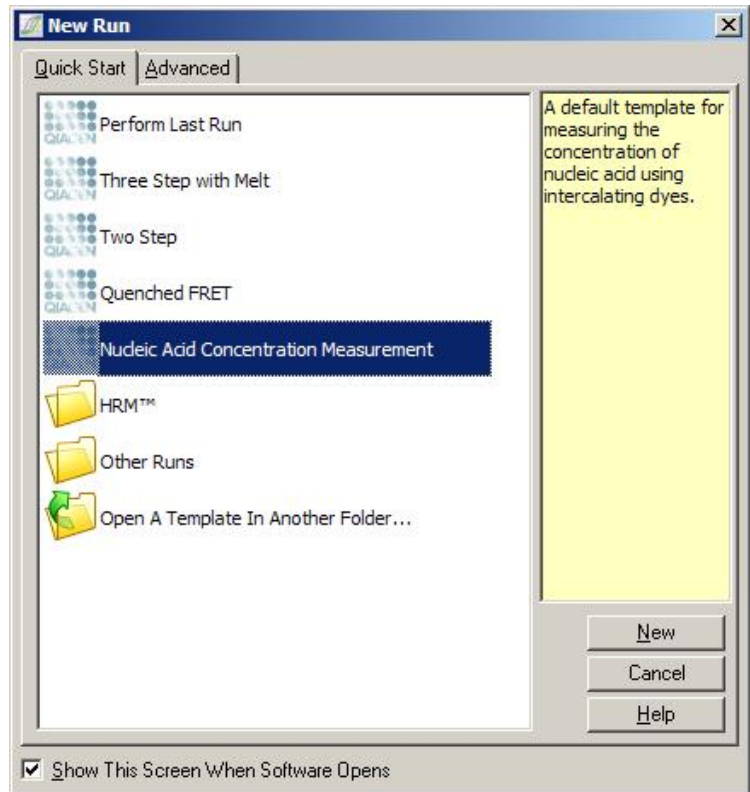
Standardkõveraks kasutatav DNA peaks olema sarnast tüüpi DNA kui mõõdetavates proovides. Vähemalt ühe DNA proovi kontsentratsioon tuleks määrata ultraviolet-spektrofotomeetria abil ja seda proovi tuleks kasutada standardina. Kasutada tuleks minimaalselt 3 standardit (kordustes). On oluline teada, et fluorestsents-detekteerimisel kasutatavad DNA standardid on lineaarsed vahemikus 1–100 ng/µl. selles vahemikus on fluorestsentslugem poole väiksem siis, kui DNA kontsentratsioon on poole väiksem. Sellest vahemikust väljaspool asuva kontsentratsiooni puhul on veapiirid väga laiad keemia mittelineaarsuse tõttu.

Mõõdetava DNA tüüp

Erinevate DNA vormide (nt. genoomne DNA võrreldes plasmiidse DNA-ga) mõõtmisel on täheldatud erinevusi. Seega tuleks koos mõõta ainult sarnast tüüpi DNA-sid ja genoomse DNA mõõtmisel tuleks vältida plasmiidse DNA kasutamist standardina.

Ekspirimendi ülesseadmimine

Ekspirimendi üles seadmiseks valige Kiires startaknas "Nucleic Acid Concentration Measurement".



Märkus: Veenduge, et esimeses positsioonis on tuub positiivse kontrolliga, nagu kõrge kontsentratsiooniga standard. Ilma positiivse kontrollita ei suuda tarkvara detektori tundlikkust maksimaalselt optimeerida. Tarkvara palub enne iga eksperimendi algust selles veenduda.

Analüüs

Kontsentratsiooni analüüsis seotakse fluoretsentsi tase kontsentratsiooniväärtusega. Saadaval on kaks analüüsimudelit. Optimaalne analüüs sõltub keemiast ja rakendusest.

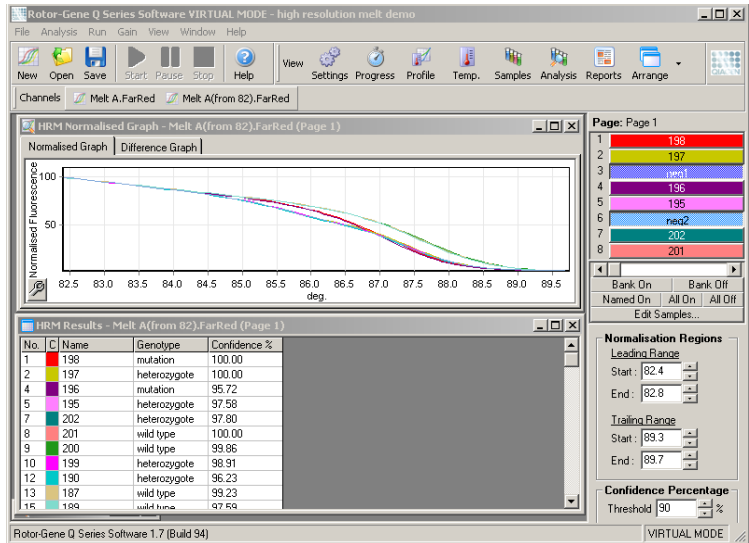
“Linear Regression” mudel analüüsib andmeid eeldades lineaarset seost ja hinnates tundmatuid väärtusi loodud lineaarse mudeli põhjal. See teeb mõõtmisvea kindlaks uurides lugemite kõrvalekallet lineaarsest mudelist. Kui kontsentratsiooni lugemid on lineaarsed, on see kõige sobivam analüüs, sest see annab kasutajale variatsioonist statistilise analüüsi (ANOVA).

“Spline Curve Fit” eeldab ainult kontsentratsiooniväärtuste kasvumist fluorestsentsi kasvuga. Kuigi see lähenemine teeb mittelineaarsete andmete hindamise täpsemaks, ei suuda see pakkuda ANOVA-t, sest see ei eelda lineaarset mudelit.

7.6.11 Kõrge lahutavusega sulamisanalüüs

Kõrge lahutavusega sulamisanalüüs (HRM) iseloomustab proove järjestuse pikkuse, GC sisalduse ja komplementaarsuse alusel. HRM analüüsi kasutatakse genotüüpiseerimisel, nagu näiteks geenmutatsioonide või ühe aluspaariliste polümorfismide (SNP) analüüsimisel, ja epigeneetilistes rakendustes DNA metülatsioonioleku analüüsimiseks. HRM analüüs annab võrreldes muude meetoditega täpsed tulemused ning kokkuhoiu proov-oligote ning märgete kuludelt.

HRM analüüsi läbiviimiseks valige “Analysis” aknas “Other” ja seejärel “High Resolution Melt Analysis”. Analüüsimiseks topelt-klõpsake kanalil. Kanali toorandmete sulamiskõverad normaliseeritakse nii, et arvutatakse kõikide alg- ja lõppfluorestsentsiväärtuste keskmised, ja surutakse iga proovi kõvera lõpp-punkt keskmisega samale tasemele.



Proovide automaatselt määramiseks klõpsake "Genotypes". Sisestage genotüübi nimi ja sellele vastava positiivse kontrolli proovinumber, et tundmatuid proove automaatselt määrata.

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

Rohkem infot HRM analüüsi kohta saate peatükist 11.

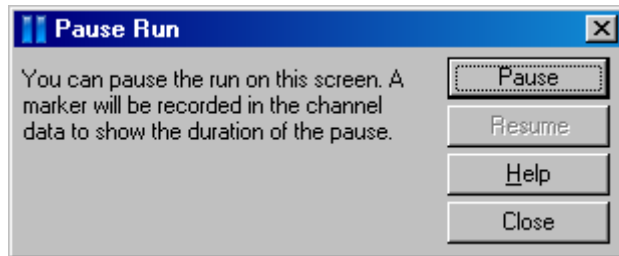
7.7 Eksperimendi menüü (Run menu)

7.7.1 Eksperimendi alustamine (Start Run)

See valik käivitab defineeritud temperatuuriprofiili käesolevate detektori tundlikkuse seadetega. Enne käivitumist ilmub "Profile Run Confirmation" aken. Kuvatakse temperatuuriprofiili graafiline esitus ja iga kanali detektori tundlikkuse seaded.

7.7.2 Paus eksperimendis (Pause Run)

See valik võimaldab eksperimendis pausi teha ja seejärel eksperimenti jätkata. See võib eksperimendi tulemusi tõsiselt mõjutada. Sel põhjusel näitab marker andmetes pausi tegemist ja pausi pikkust. Lisaks kuvatakse "Run Settings" akna teadete sakis teade pausi kohta (vt lõik 7.8.1).



HOIATUS	Kuum pind [W18] Protokollis pausi tehes ei jahtu Rotor-Gene Q MDx täielikult toatemperatuurini. Olge rootori või tuubide käsitlemisel eriti ettevaatlik.
---------	--



7.7.3 Eksperimendi peatamine (Stop Run)

Kui valite selle võimaluse, ilmub aken, milles tuleb kinnitada eksperimendi peatamise soov.

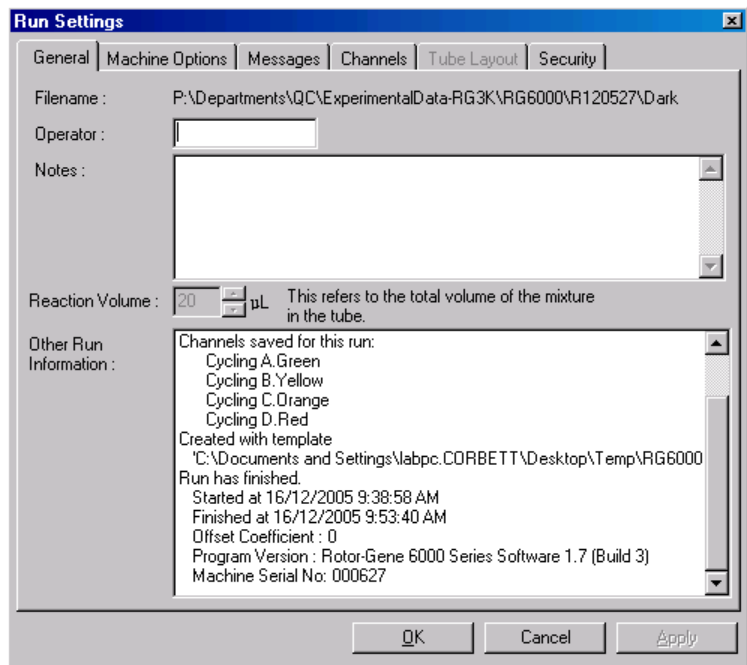
7.8 Vaate menüü (View menu)

7.8.1 Eksperimendi seaded (Run Settings)

Üldine (General)

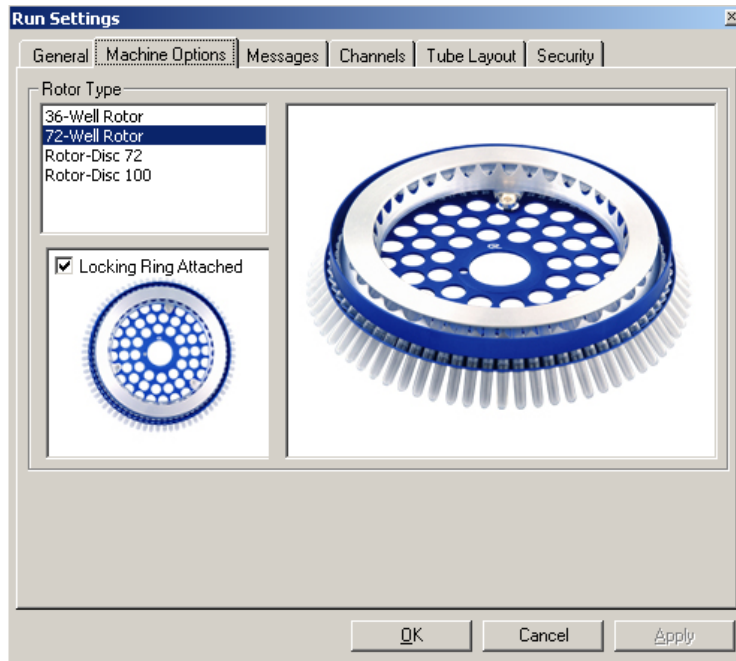
See aken võimaldab eksperimendi info, failinime, analüüsi kuupäeva, operaatori ja muude märkuste seadmist.

Aken sisaldab kogu eksperimendi konfigureerimiseks vajalikku informatsiooni, välja arvatud profiil. Pärast eksperimendi lõppu kuvatakse selles aknas järgmine info: kasutatud tsükler, detektori seaded, kanalite arv, alguse ja lõpu aeg.



Instrumendi valikud (Machine Options)

Selles sakis kuvatakse Rotor-Gene Q MDx konfiguratsiooni seaded.



Valitud rootor peaks vastama parasjagu Rotor-Gene Q MDx sisestatud rootorile. Kui avate olemasoleva eksperimendifaili, näitab see seade rootorit, mis eksperimendi ajal tsüklerisse oli sisestatud.

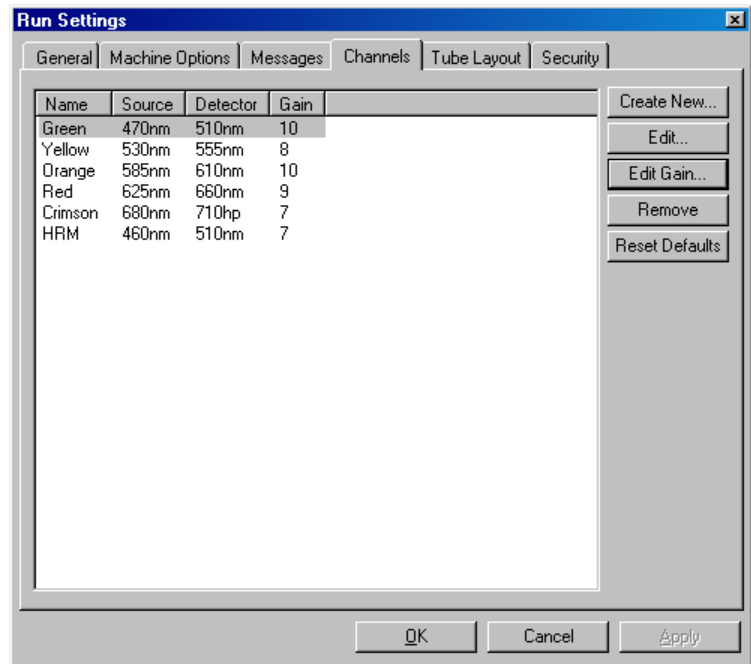
Teated (Messages)

Selles sakis kuvatakse teated selle kohta, kas kasutaja on teinud eksperimendi jooksul muudatusi, nagu näiteks paus eksperimendis või tsükli vahetamine. Kuvatakse ka eksperimendi jooksul antud hoiatused. Selle saki infot tuleks kontrollida kui tulemused ei ole sellised nagu oodatud.

Kanalid (Channels)

Uue eksperimendi konfigureerimisel kuvatakse selles sakis saadavalolevate kanalite konfiguratsioon. Kui avate olemasoleva eksperimendifaili, näitab kuvatav info kanalite konfiguratsiooni eksperimendi läbiviimise

ajal. Kui eksperiment rikub kanalite seaded, saab vaikimisi seaded taastata klõpsates “Reset Defaults”.



Name: Nimi – kanali nimi.

Source: Allikas – ergastamise LED ergastuslainepikkus.

Detector: Detektor – detektsiooni lainepikkus ja filtritüüp (nm=band pass, hp=high pass).

Gain: Tundlikkus – kanali tundlikkus.

Create New...: See valik võimaldab uute kanalite loomist. “Create New...” klõpsamisel avaneb aken, kus tuleb määrata uus nimi, ergastuslainepikkus ja detektsioonifilter. Filtreid saab valida iga akna kõrval olevast rippmenüüst.

Channels: 4-kanaliga multiplex reaktsiooni puhul on standard-konfiguratsioonis roheline, kollane, oranž ja punane kanal.

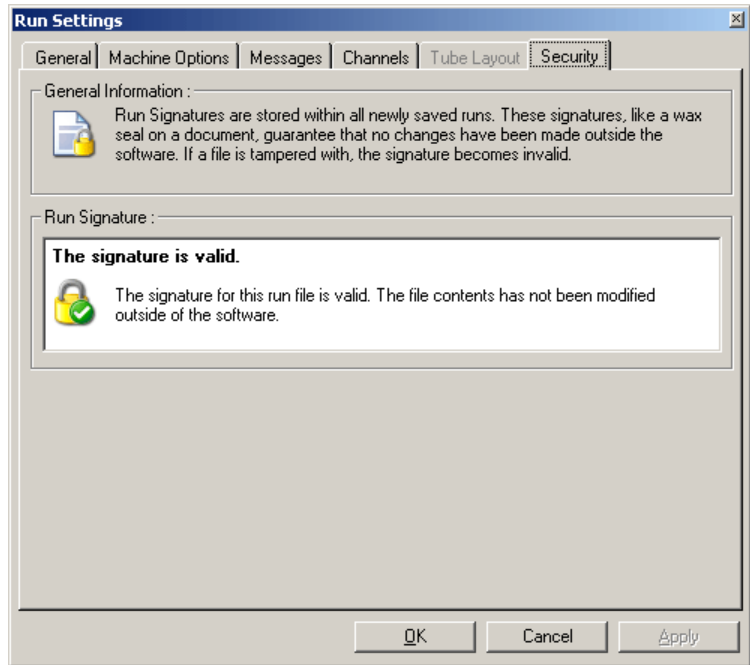
Tuubide paigutus (Tube Layout)

72 tuubi rootorit kasutades saab proovid paigutada nii, et see meenutab 9 x 8 plaadi numeratsiooni. Vaikimisi on tuubid nummerdatud järjest (s.o. 1, 2, 3...). See tähendab, et proovid nummerdatakse järjestikuselt Rotor-Gene Q MDx asetamise järjekorras. Alternatiivselt saab proove nummerdada 1A, 1B, 1C jne. See valik on kasulik siis, kui proovid pipeteeriti mitmekanalise pipetiga.

Turvalisus (Security)

Selles sakis kuvatakse info eksperimendi signatuuri kohta. Eksperimendi signatuur on pöördumatu kood, mis faili muutmisel iga kord uuesti luuakse. Kui osa *.rex failist muudetakse väljaspool tarkvara, siis ei sobi signatuur ja fail enam omavahel. Signatuuri kontrollimine võimaldab kontrollida, ega toorandmeid pole väljaspool rakendust muudetud, ega profiili pole muudetud, ning kas temperatuuri graafik on kehtiv. Signatuur kaitseb ka rikkumise vastu, nagu näiteks failisüsteemi vead.

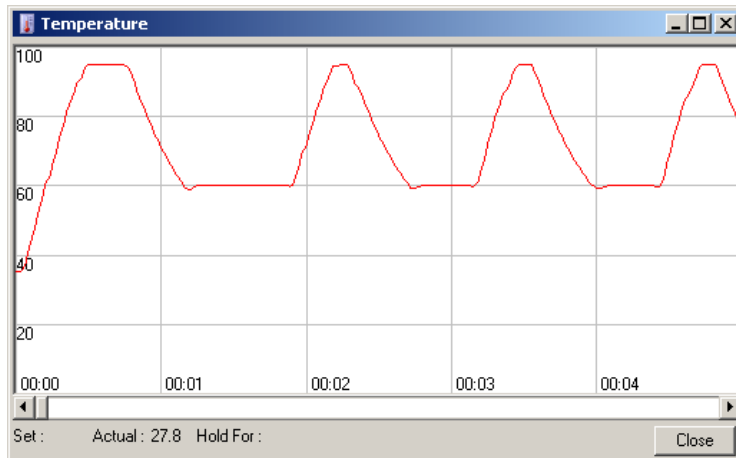
Märkus: *.rex failide E-kirjana saatmisel võib krüptimise protsess faili signatuuri kehtetuks muuta. Selle vältimiseks pakkige fail enne saatmist kokku (zip).



7.8.2

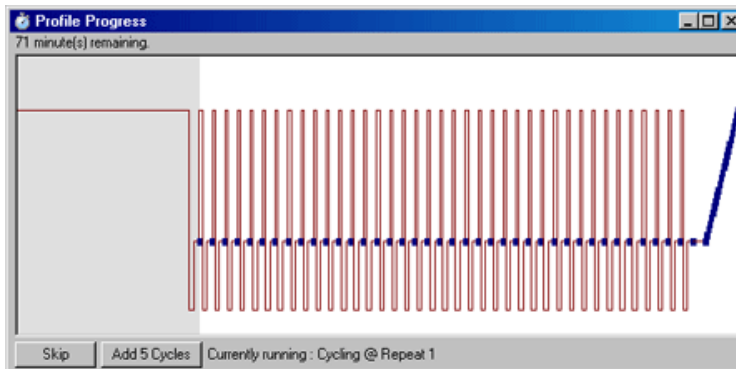
Temperatuuri graafik (Temperature Graph)

Valige "View" menüüs "Temperature Graph" või klõpsake "Temp." nuppu, et avada "Temperature" aken. Graafik näitab määratud temperatuuride jada tsükleerimise ajal. See ei ole reaajas temperatuuri mõõtmine. Eksperimendi käigus kuvatakse programmi iga etapi kohta "Set" (määratud), "Actual" (tegelik) ja "Hold" ajad. Olemasolevas eksperimendifailis näidatakse "Temperature" aknas temperatuuri ajalugu eksperimendi ajal. Vertikaalsel skaalal on temperatuur ja horisontaalsel skaalal aeg. "Temperature" aknas edasi ja tagasi liikumiseks kasutage kerimisriba.



7.8.3 Profilli edenemine (Profile Progress)

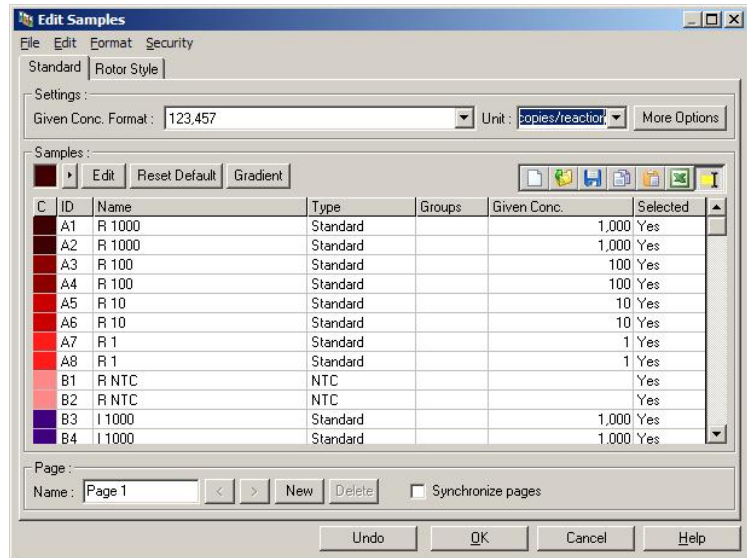
Valige "View" menüüs "Profile Progress" või klõpsake "Progress" nupule, et avada "Profile Progress" aken. Selles aknas kuvatakse eksperimendi termoprofiili graafiline esitus. Eksperimendi jooksul näitab akna hall osa lõpetatud tsükleid. Samuti kuvatakse hinnanguliselt aeg eksperimendi lõpetamiseni.



Skip: "Skip" võimaldab profiili etappe vahele jätta.

Add 5 Cycles: "Add 5 Cycles" lisab käesolevale tsüklerimise etapile 5 kordust.

7.8.4 Proovide redigeerimine (Edit Samples)



Klõpsake "Samples" nupul, et avada "Edit Samples" aken. "Edit Samples" akent saab avada ka ekraani paremal ääres asuval proovide nimekirjal paremklõpsates. Selles aknas on identsed funktsioonid kui startakende "Edit Samples" akendes, välja arvatud see, et tööriistariba funktsioonid on samuti kättesaadavad File ja Edit menüüdes.

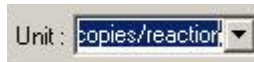
Ekraani üleosas ilmub neli menüüd – File, Edit, Format ja Security. File menüüd kasutatakse uue (tühja) "Edit Samples" akna avamiseks, olemasoleva proovi vormi avamiseks või proovi nimede vormina salvestamiseks, et neid tulevikus kasutada. Nende vormifailide laiend on *.smp. Edit menüü võimaldab ridade kopeerimist ja kleppimist. Security menüü võimaldab proovide definitsioonide lukustamist.

Märkus. Kui proovide nimesid sisestatakse seadme (nt võotkoodi skanneri) kasutamise ajal väga kiiresti, võivad proovide nimedes olevad tähed valesse järjekorda sattuda. Seetõttu on soovitatav hoiduda

vötkoodi skanneri kasutamisest ja sisestada proovide nimed võimaluse korral pärast seadme kasutamist.



Seda rippmenüüd kasutatakse kontsentratsiooni displeile sobiva formaadi valimiseks. Kontsentratsioonid formaaditakse automaatselt vastavalt valikule.



Selles rippmenüüs saab valida mõotmisühikud.



Nupp

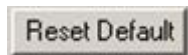
Tähtsus

Line style:

Joone stiili saab kohandada, et graafikute loetavus oleks must-valgete printerite puhul parem. Kindlaid jooni saab rõhutada nende stiili muutes. Selle funktsiooni avamiseks klõpsake paremale osutava noole nupule Edit nupu kõrval.



Vajutades "Edit" avaneb värvide valik. Tuubidele värvi määramisel saab valida mitu rida.



Klõpsake "Reset Default", et taastada kõigi valitud värviliste ruutude vaikumisi värvid.



“Gradient” võimaldab valida gradiendi esimesest viimase valitud värvini. Proovide ülesseadmisel saab defineerida mitu gradienti.



Nupp

Tähtsus



“New” ikoon tühjendab “Edit Samples” akna, et saaks andmeid sisestada.



“Open” ikoon avab dialoogiakna, milles saab valida importimiseks Rotor-Gene Q MDx faili.

Märkus: Proovide arv avatud aknas ja imporditavas failis peab olema sama.



“Save” ikoon avab dialoogiakna, milles saab sisestada nime ja kausta, kuhu salvestatakse koopia käesolevatest proovide definitsioonidest.



“Copy” ikoon kopeerib valitud ruudud.



“Paste” ikoon kleebib kopeerimise käsuga valitud ruudud hetkel valitud positsiooni ruudustikus.



“Excel” ikoon avab dialoogiakna, mis küsib failinime ja kausta, millesse proovide info salvestada. Pärast “Save” vajutamist avaneb Excel fail automaatselt.



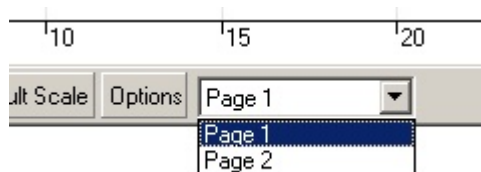
“Append/Overwrite” (lisa/kirjuta üle) ikoon muudab ruutude muutmise korda “Edit Samples” aknas. Kui valitud on üle kirjutamine, siis kirjutatakse muutmisel olemasolevad andmed üle. Kui valitud on lisamine, siis lisatakse uued andmed muutmisel olemasolevate andmete lõppu.

Sample Types: Proovidele saab anda mitmeid definitsioone, mis on toodud järgmises tabelis.

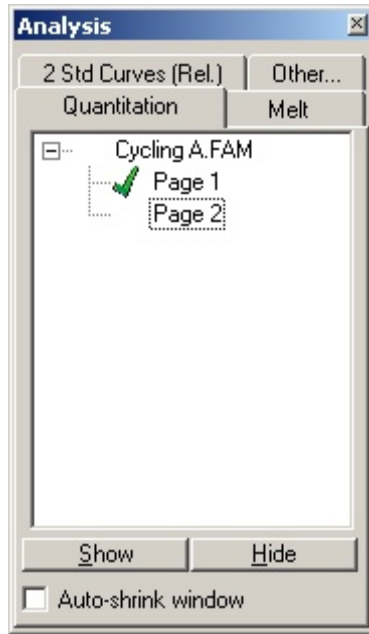
Proovi tüüp	Kirjeldus
None	Selles positsioonis ei ole proovi
NTC	Ilma nukleinhappeta kontroll
Negative Control	Negatiivne kontroll
Positive Control	Positiivne kontroll
Unknown	Analüüsitav tundmatu proov
Standard	Standardite väärtusi kasutatakse standardkövera loomiseks, et arvutada tundmatute proovide kontsentratsioone
Calibrator (RQ)	Kalibraatorile antakse väärtus 1 ja kõikide teiste proovide kontsentratsioonid arvutatakse selle proovi suhtes

Page: See funktsioon võimaldab kasutajal instrumendi samas töotsüklis kasutada erinevaid proovi definitsioone ja erinevaid eksperimente. See on kasulik erinevate produktide analüüsimiseks erinevates kanalites. Kasutage noolenuppe proovi lehekülgede vahel liikumiseks. Kasutage "New" ja "Delete" nuppe lehekülgede loomiseks ja kustutamiseks. Samas kanalis on võimalik defineerida mitut proovi, et saaks ilma multipleksimata tekitada mitu standardkõverat. Selleks tuleb uuritavad proovid ja nendega seotud standardkõverad defineerida erinevatel lehekülgedel. Ühes kanalis saab siis analüüsida igat definitsioonide kogumit eraldi. Proovi lehekülgi saab nimetada "Page 1", "Page 2" jne või saab neile anda muu nime (nt. "Housekeeper"). See nimi ilmub ka raportites.

Toorandmete vaatamisel saab kasutatavaid proovide definitsioone valida "Options" nupu kõrval asuvast rippmenüüst:



Analüüsi läbiviimiseks saab proovi lehekülge valida "Analysis" aknas (vt peatükk 7.6.1).

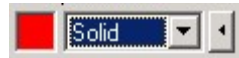


Given Conc.: See näitab iga standardi kontsentratsiooni. Ühikuid saab defineerida kui kümnend- või log-numbreid. Kui standardid moodustavad lahjendusseeria, on vajalik sisse trükkida ainult esimesed 2 standardit. Vajutades ENTER lisab programm automaatselt järgmise loogilise lahjenduse seerias.

Line style: Joone stiili saab kohandada, et graafikute loetavus oleks must-valgete printerite puhul parem. Kindlaid jooni saab rõhutada nende stiili muutes. Selle funktsiooni avamiseks klõpsake paremale osutava noole nupule Edit nupu kõrval.



Tööriistaribal on vaikimisi stiiliks "Solid" (pidev). Seda saab muuta "Dashed", "Dotted", "Hairline", "Thin" või "Thick". Kui olete lõpetanud, klõpsake vasakule osutavat noolt, et naasta Edit, Reset Default ja Gradient vaatesse.



Mitmele reale sisestamine:

Kui sama info on vaja sisestada mitmele reale, valige kõik read ja seejärel alustage trükkimist. Info sisestatakse igale reale. See töötab ka proovi tüüpide ja värvide valimisel või kontsentratsioonide sisestamisel.

Proovi tüübi kiirklahv:

Proovi tüübi kiireks sisestamiseks sisestage selle nime esimene täht. Näiteks 5 proovi NTC-deks muutmiseks valige need proovid proovi tüübi tulbas ja seejärel vajutage N. Kõik proovid muudetakse NTC-deks.

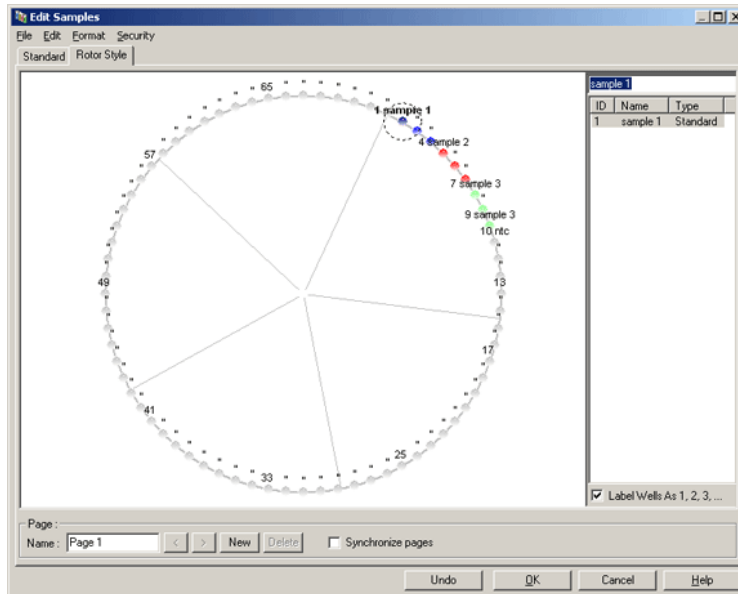
Salvesta, kasuta uuesti:

Proovide täieliku kirjelduse saab salvestada proovi failina (*.smp) ja seda kasutada järgmistes eksperimentides, milles on sama proovide konfiguratsioon.

Rootori stiil (Rotor Style)

See sakk "Edit Samples" aknas võimaldab alternatiivselt proovide nimesid sisestada. Valige kordused klõpsates ja tirides hiirega rootori pildil. Akna paremas ääres olev nimikiri uuendatakse. Proovi nime saab sisse trükkida ja see on valitud proovide puhul

sama. Tarkvara tunneb need positsioonid ära kui kordused.

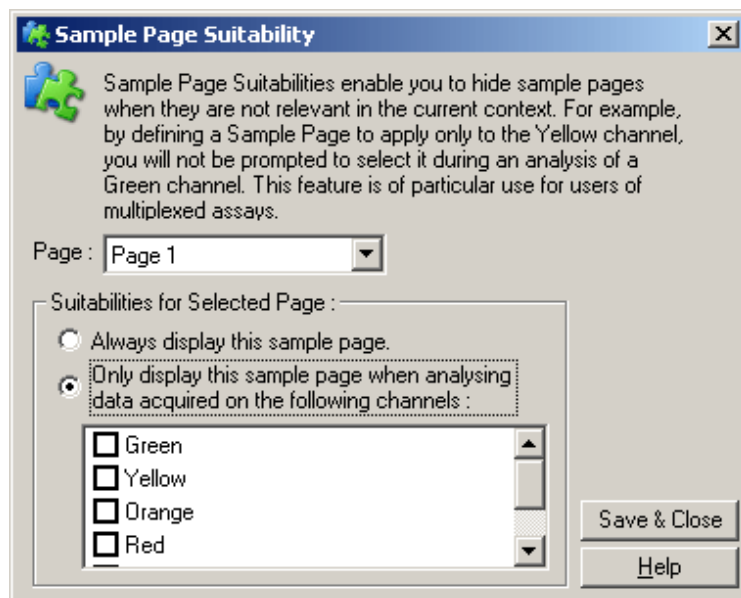


“Rotor Style” sakk on lihtsustatud versioon “Standard” sakist ja mõeldud kasutajatele, kes tahavad proovide nimesid ja värve kiiresti sisestada. Selles sakis ei ole mõnesid seadeid võimalik määrata, nagu näiteks kas proov on standard või iga standardi kontsentratsiooni. Kui neid on vaja defineerida, siis tuleks kasutada “Standard” sakk.

Proovi lehekülje vastavus (Sample Page Suitability)

“Sample Page Suitability” akna avamiseks klõpsake “Edit Samples” aknas “More Options” ja siis klõpsake “Define Suitabilities”. “Sample Page Suitability” aknas on võimalik siduda proovi lehekülgi kanalitega. Näiteks võib uuritava geeni proovi lehekülg olla rohelises kanalis ja *housekeeper* geeni proovi lehekülg kollases kanalis. Selles näites vähendab proovi lehekülje vastavuse seadmine saadavalolevate analüüsivõimaluste arvu, kaasates ainult need, mis on antud analüüsis olulised.

All on toodud "Sample Page Suitability" aken.

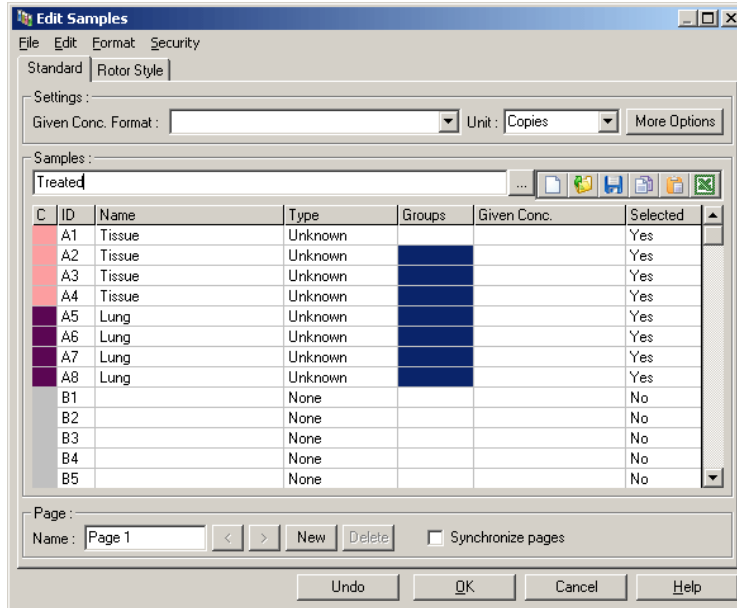


Märkus: Analüüsi ülesseadmisel looge kõik proovi leheküljed ja vastavused ning salvestage need vormina. See vähendab iga eksperimendi jaoks kuluvat ettevalmistusaega.

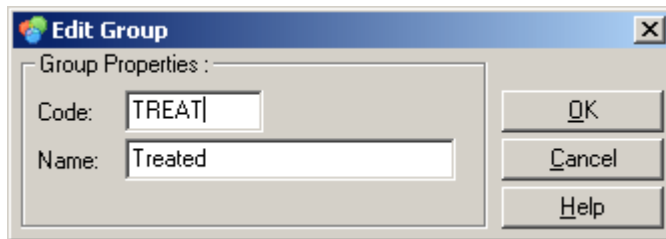
Grupid (Groups)

Proovide gruppide abil on võimalik arvutada statistilisi väärtusi suvalise proovide kogumi kohta. Erinevalt kordustest, millel peavad olema identsed nimed, võivad proovidel olla igasugused nimed, need võivad asuda rootoris ükskõik kus ja võivad kuuluda mitmesse gruppi.

1. Grupi defineerimiseks trükkige proovi kõrvale grupi täisnimi ja vajutage ENTER.



2. Ilmub "Edit Group" aken.

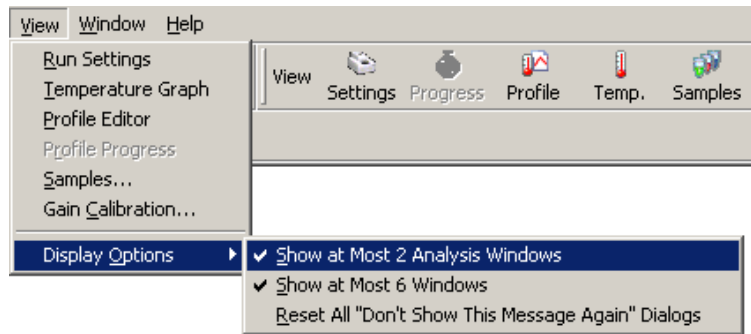


3. Valige sobiv lühend ja klõpsake "OK". Lühendit saab seejärel kasutada gruppide loomiseks. Koondtulemused, nagu keskmine väärtus ja 95% usalduspiirid, arvutatakse gruppidele igas analüüsis automaatselt.

No.	Name	Type	Ct	Given Conc [Cop]	Calc Conc [Copie]	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Stc	Rep. Ct (95% CI)	Rep.
A1	Tissue	Unknown	18.82				18.75	0.17	[18.48 , 19.02]	
A2	Tissue	Unknown	18.75							
A3	Tissue	Unknown	18.32							
A4	Tissue	Unknown	18.52							
A5	Lung	Unknown	18.73				18.70	0.09	[18.55 , 18.85]	
A6	Lung	Unknown	18.62							
A7	Lung	Unknown	18.81							
A8	Lung	Unknown	18.63							
A1-A8	Treated	Group					18.72	0.13	[18.62 , 18.83]	

7.8.5 Kuvamise võimalused (Display Options)

Allpool on toodud kuvamise võimaluste menüü.



Show at Most 2 Analysis Windows: Kui see valik on märgitud, kuvatakse maksimaalselt 2 analüüsiakent korraga. Kui avatakse mitu akent, võib loetavus olla raskendatud. Selle valiku märkimine sulgeb esimese analüüsiakna ja asendab selle viimasena avatud aknaga. Kui see valik on märkimata, saab korraga kuvada rohkem kui 2 analüüsiakent.

Show at Most 6 Windows: Loetavuse parandamiseks eemaldab tarkvara kasutamata aknad siis, kui uued aknad avatakse. See valik on vaikimisi aktiveeritud, sest see hoiab Rotor-Gene Q tarkvara akna arusaadavana. Kui on vajalik korraga rohkem kui 6 akna nägemine, eemaldage valikult märged.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs: Kui see on valitud, kuvab tarkvara uuesti kõik dialoogiaknad, milles "Do not display this message again" kastike oli märgitud. Siia kuuluvad teated kahtlaste seadete kohta, mis võisid eelnevalt olla märgitud enam mitte korduma. See võib olla kasulik uuele kasutajale, kelle jaoks on Rotor-Gene Q MDx või Rotor-Gene Q tarkvara harjumatu.

7.9 Rotor-Gene Q tarkvara juurdepääsukaitse

Märkus: Selles peatükis kirjeldatakse Rotor-Gene Q tarkvara juurdepääsukaitset. Teavet Rotor-Gene AssayManager asjakohase tarkvara kohta leiate Rotor-Gene AssayManager v1.0 põhirakenduse kasutusjuhendist ("Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application User Manual") või Rotor-Gene AssayManager v2.1 põhirakenduse kasutusjuhendist ("Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application User Manual").

Rotor-Gene Q tarkvaras on funktsioonid, mis võimaldavad turvalist kasutamist. Korrektselt konfigureerituna kindlustab Rotor-Gene Q tarkvara järgmise:

- Juurdepääs Rotor-Gene Q MDx või analüüsi tarkvarale on piiratud kasutajagruppidega
- Eksperimendifailide muutused salvestatakse logides
- Autoriseerimata muudatused tuvastatakse (signatuurid)
- Eksperimendis kasutatud vormid salvestatakse logides
- Proovide nimed on kaitstud

Integreerimine Windows turvaseadetes

Vastutuse huvides ei halda Rotor-Gene Q tarkvara turvalisust sisemiselt. Kontosid, grupe ja salasõnu hallatakse Windowsi sisseehitatud turvamudeli abil (Windows Security). Integreerimise tõttu saab sama salasõna kasutada võrgufailidele ligipääsemiseks ja Rotor-Gene Q tarkvara juurdepääsu kontrollivates programmides, seetõttu on vähem administreerimist. Suuremates asutustes saavad võrguadministraatorid tsentraliseeritud turvamudeli abil näiteks lihtsasti lõpetada endiste kasutajate juurdepääsu.

Sel põhjusel sisaldab Rotor-Gene Q tarkvara turvaliselt seadistamine peamiselt Windows turvarollide konfigureerimist vastavalt parimale praktikale.

Eeltingimused

Turvaseadete kasutamiseks peab teil olema versioon Windows 10 või Windows 7 Professional. Turvaseadeid ei saa kasutada versioonide Windows 10 või Windows 7 Home puhul, sest Home versioonidel ei ole tarkvara kasutatavat peent ligipääsu mudelit. Tarkvara tuleb installida koos "Force authentication through Windows domain" valikuga.

Märkus: Turvamenüü ei ilmu kui olete logitud Linux Samba domeeni. Turvaseadete kasutamiseks peab teil olema kas lokaalne autentimine või Windowsi server.

7.9.1 Windows 7 turvaseadete konfigureerimine

Selles peatükis kirjeldatakse, kuidas süsteemi seadistada, et Rotor-Gene Q tarkvara turvaliselt kasutada.

Turvaseadete kasutamiseks peab tarkvara olema installeeritud koos "Force authentication through Windows domain" valikuga. See esitab Windows domeenile päring teie ligipääsutaseme ja tõendavate dokumentide ning on hädavajalik aruandluse ja turvalisuse seisukohalt.

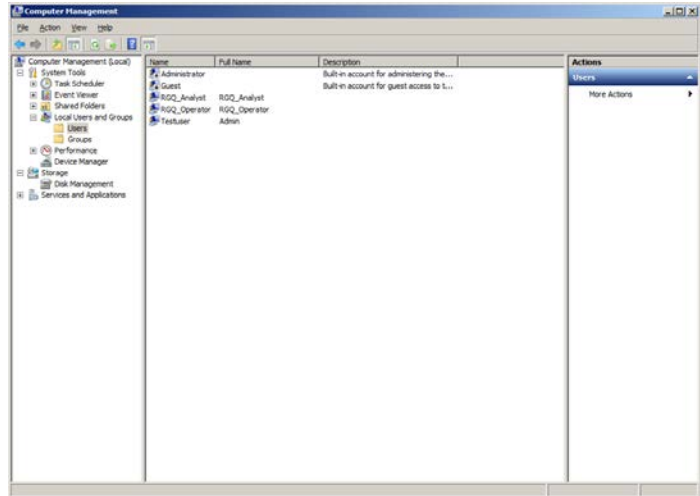
Administraatorina kasutamine

Paljud kasutajad kasutavad oma arvuteid administraatorina, ilma salasõnata. Kuigi see on mugav, ei ole sel juhul võimalik kindlaks teha, kes arvutit kasutab. Seega ei ole võimalik kasutajat tuvastada ja mitmed Rotor-Gene Q tarkvara turvaseaded ei aktiveeru. Administraatorina kasutades on kõik tarkvara funktsioonid võimaldatud. Seega kasutajatele, kes ei vaja turvaseadeid, annab administraatorina kasutamine juurdepääsu kõikidele tarkvara funktsioonidele.

Uue kasutajakonto loomine

Looge igale tarkvara kasutajale kasutajakonto. Iga kasutaja jaoks korrake alltoodud etappe.

1. Uue kasutaja loomiseks valige "Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management" (Start/Juhtpaneel/Haldusriistad/Arvutihaldus) ja liikuge vasakul asuva valiku "Local Users and Groups" (Kohalikud kasutajad ja rühmad) juurde.
2. Avanevas aknas valige "Users" kaust. Paremklopsake parempoolsel aknal ja valige "New User".



3. Sisestage kasutajanimi ja salasõna. Vaikimisi luuakse kasutaja tavaliste ligipääsu õigustega. See tähendab, et nad saavad tarkvara kasutada, kuid ei saa uusi programme installeerida ega süsteemi seadeid muuta.

User name: newuser

Full name: New User

Description:

Password: ●●●●●

Confirm password: ●●●●●

User must change password at next logon

User cannot change password

Password never expires

Account is disabled

Buttons: Help, Create, Close

4. Klõpsake "Create". Nüüd saate selle kasutajana sisse logida.

Kasutajatele rollide määramine

Nüüd tuleks igale kasutajale roll määrata. Ligipääs on jagatud järgmisteks valdkondadeks:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q kasutaja) — saab eksperimente läbi viia, aga ei saa raporteid genereerida ega analüüsi läbi viia
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q analüütik) — saab andmeid analüüsida ja raporteid luua, kuid ei saa uusi eksperimente läbi viia
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q kasutaja ja analüütik) — mõlema rolli võimalused
- Administrator (Administraator) — saab proovide nimesid lukust lahti teha, lisaks Analysti (analüütiku) ja Operatori (kasutaja) õigused
- None (Puudub)— ligipääs tarkvarale keelatud

Rollide määramiseks:

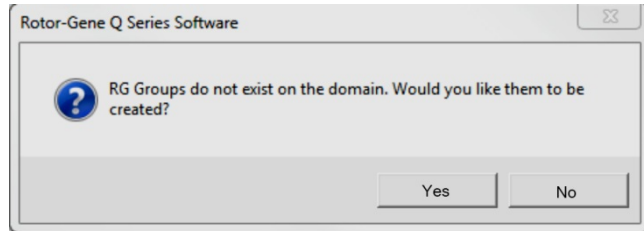
1. Logige Windowsi administraatorina sisse või kasutage "Rotor-Gene Q Software Login" ikooni, et tarkvara avada ja sisse logida.



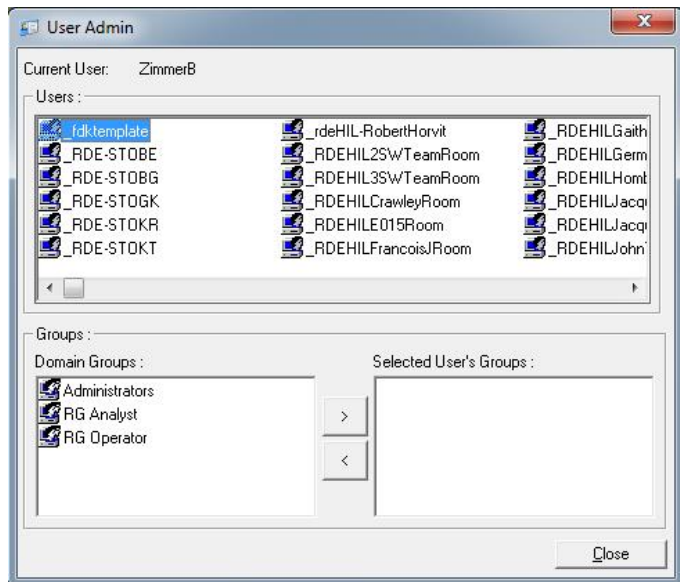
Märkus: Rotor-Gene Q tarkvara abil RG gruppide loomiseks tuleb tarkvara kasutamisel rakendada administraatori õigusi. Selleks tuleb parem-klõpsata töölaua ikoonil ning valida kontekstimenüüst "Run as administrator".

2. Kui tarkvara on avatud, klõpsake "Security" menüül. "Security" menüü esmakordsel avamisel konfigureerib Rotor-Gene Q tarkvara mitmed

süsteemigrupid, mis kontrollivad ligipääsu tarkvarale.

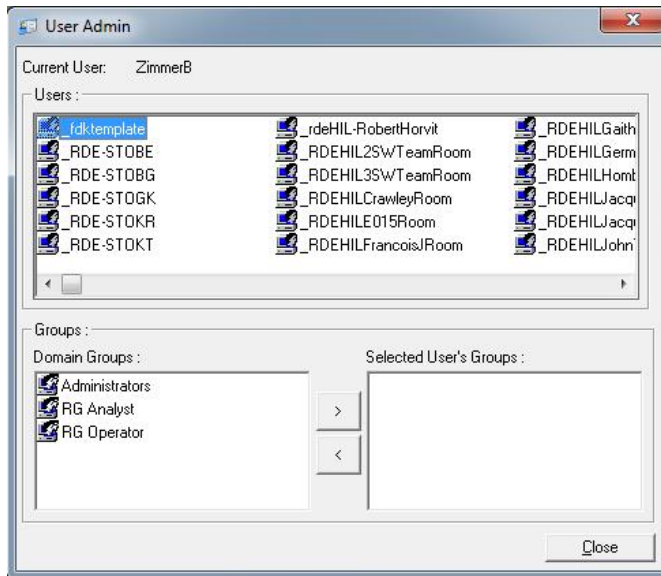


3. Klõpsake "Yes". Ilmub "User Admin" aken. Ülemises paneelis kuvatakse kõik arvuti kasutajad. Mõnesid kontosid kasutab süsteem ja need on teile seetõttu tundmatud. Alumises paneelis kuvatakse kasutajale määratud grupid.

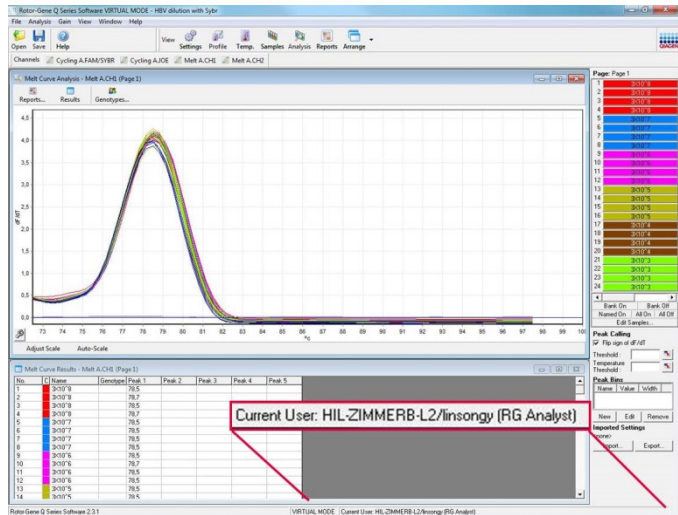


4. Kasutajale grupi määramiseks valige nimekirjast kasutaja nimi. Alumist paneeli uuendatakse. Kui kasutajale ei ole grupe määratud, ei saa ta tarkvara käivitada.
Alltoodud näites antakse kasutajale "linsongy" RG Analyst grupp, valides grupi vasakul pool ja seejärel

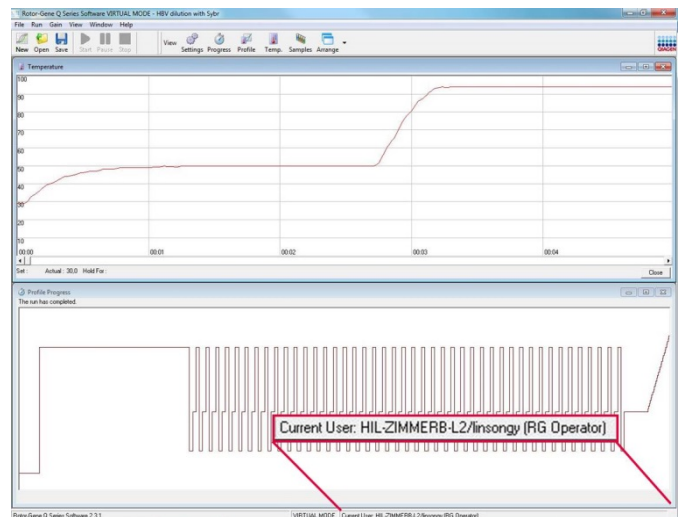
klõpsates ">" nuppu. Gruppe saab eemaldada neid valides ja seejärel "<" nuppu klõpsates.



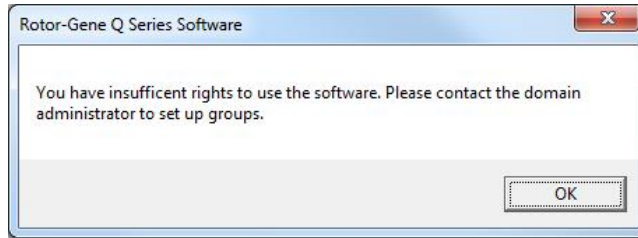
5. Logige nüüd selle kasutajana sisse. RG Analyst puhul ei ole Run menüü ja "Profile" nupp kättesaadavad. Sellegipoolest saab olemasolevaid faile avada ja analüüsida, nagu allpool näidatud. Olekuribal kuvatakse, et kasutaja "linsongy" on RG Analyst.



- Kui logite taas administraatorina sisse, saab RG operatori õigused määrata "linsongy" ja RG analüüsi õigused võib uuesti eemaldada. Seejärel tuleb tarkvara taaskäivitada. Olekuribal kuvatakse, et kasutaja "linsongy" kuulub RG Operator gruppi.



7. Kui logite administraatorina sisse ja eemaldate kasutajalt "linsongy" kõik grupid, kuvatakse siis, kui "linsongy" tarkvara avab, järgmine teade.



7.9.2

Windows 10 seadete konfigureerimine

Selles jaotises kirjeldatakse süsteemi seadistamist RotorGene Q tarkvara turvaliseks kasutamiseks. Turvaseadete kasutamiseks peab tarkvara olema installeeritud koos "Force authentication through Windows domain" (Sundautentimine Windowsi domeeni kaudu) valikuga. See esitab Windows domeenile päring teie ligipääsutaseme ja tõendavate dokumentide ning on hädavajalik aruandluse ja turvalisuse seisukohalt.

Administraatorina kasutamine

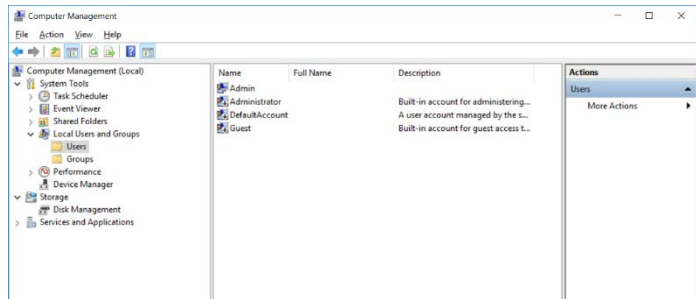
Paljud kasutajad kasutavad oma arvuteid administraatorina, ilma salasõnata. Kuigi see on mugav, ei ole sel juhul võimalik kindlaks teha, kes arvutit kasutab. Seega ei ole võimalik kasutajat tuvastada ja mitmed Rotor-Gene Q tarkvara turvaseaded ei aktiveeru.

Administraatorina kasutades on kõik tarkvara funktsioonid võimaldatud. Seega kasutajatele, kes ei vaja turvaseadeid, annab administraatorina kasutamine juurdepääsu kõikidele tarkvara funktsioonidele.

Uue kasutajakonto loomine

Looge igale tarkvara kasutajale kasutajakonto. Iga kasutaja jaoks korrake alltoodud etappe.

1. Uue kasutaja loomiseks valige "Start", sisestage "Computer Management" (Arvutihaldus), vajutage sisestusklahvi "Enter" ja liikuge vasakul valiku "Local Users and Groups" (Kohalikud kasutajad ja rühmad) juurde.
2. Avanevas aknas valige kaust "Users" (Kasutajad). Paremklopsake parempoolsel aknal ja valige "New User..." (Uus kasutaja).



3. Sisestage kasutajanimi ja salasõna. Vaikimisi luuakse kasutajad tavaliste juurdepääsuõigustega. See tähendab, et nad saavad tarkvara kasutada, kuid ei saa uusi programme installeerida ega süsteemi seadeid muuta.

New User

User name: newuser

Full name: New User

Description:

Password: ●●●●●●

Confirm password: ●●●●●●

User must change password at next logon

User cannot change password

Password never expires

Account is disabled

Help Create Close

4. Klõpsake "Create" (Loo). Nüüd saate selle kasutajana sisse logida.

Kasutajatele rollide määramine

Nüüd peaksite määrama rollid igale kasutajale. Ligipääs on jagatud järgmisteks valdkondadeks:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q kasutaja) — saab eksperimente läbi viia, aga ei saa raporteid genereerida ega analüüsi läbi viia
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q analüütik) — saab andmeid analüüsida ja raporteid luua, kuid ei saa uusi eksperimente läbi viia
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q kasutaja ja analüütik)— mõlema rolli võimalused
- Administrator (Administraator) — saab proovide nimesid lukust lahti teha, lisaks Analysti (analüütiku) ja Operatori (kasutaja) õigused

- None (Puudub) — ligipääs tarkvarale keelatud

Märkus: Opsüsteemis Microsoft Windows 10 ei ole tarkvara Rotor-Gene Q abil kasutajarühmi võimalik luua. Rühmad peab domeenis looma domeeni administraator, ka peab ta määrama kasutajad konkreetsesse rühma. Menüü Käivita on lubatud. Olekuribal kuvatakse, et kasutaja "linsongy" kuulub RG Operator (RG kasutaja) gruppi.

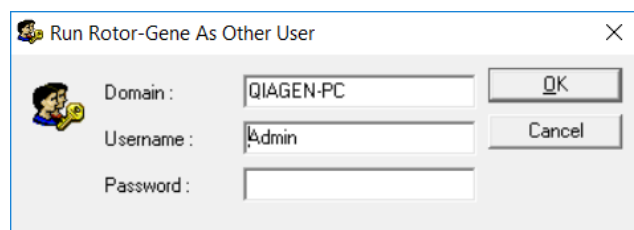
7.9.3 Mitu kasutajat samas arvutis

Mitme kasutajaga Rotor-Gene Q tarkvara kasutamiseks looge kasutajakonto, millel ei ole ligipääsu Rotor-Gene Q tarkvarale. Logige Windowsi selle konto kaudu, nii et kasutajad ei saaks anonüümselt Rotor-Gene Q MDx kasutada.

1. Kasutades "Rotor-Gene Q Software Login" ikooni saavad kasutajad avada oma konto Rotor-Gene Q tarkvaras.



2. Sisestage kuvatavasse kasti kasutajanimi ja parool (kohustuslik).



3. Domeeni nime moodustab selle arvuti nimi, millesse sisse logite, või kohaliku võrgu nimi koos hosti nimega. Kui te ei ole kindel, millist domeeni sellele

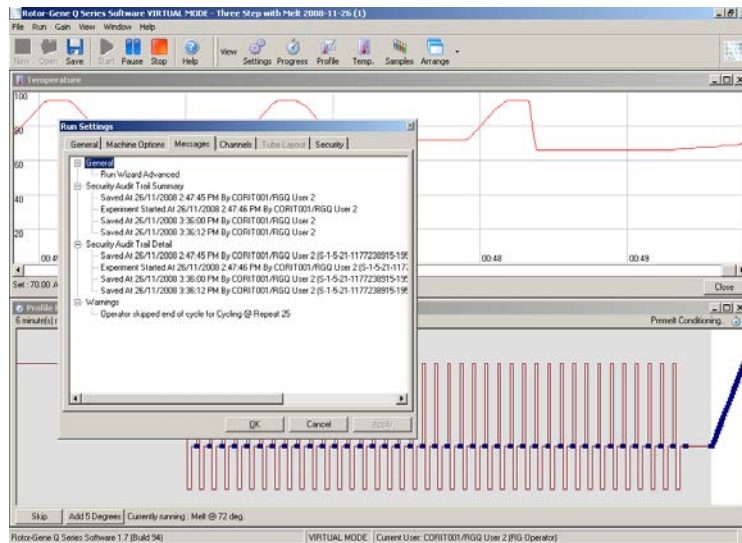
väljale sisestada, küsige oma võrguadministraatorilt.

Märkus: Pärast sisse logimist on kõik kasutaja failid sellele kasutajale kättesaadavad. Iga kasutaja saab oma alale faile salvestada. See kindlustab kõrge turvalisuse.

Märkus: Iga kasutaja peaks pärast oma eksperimendi lõppu välja logima, et teised kasutajad ei saaks nende nime all eksperimenti läbi viia.

7.9.4 Auditi rajad (Audit trails)

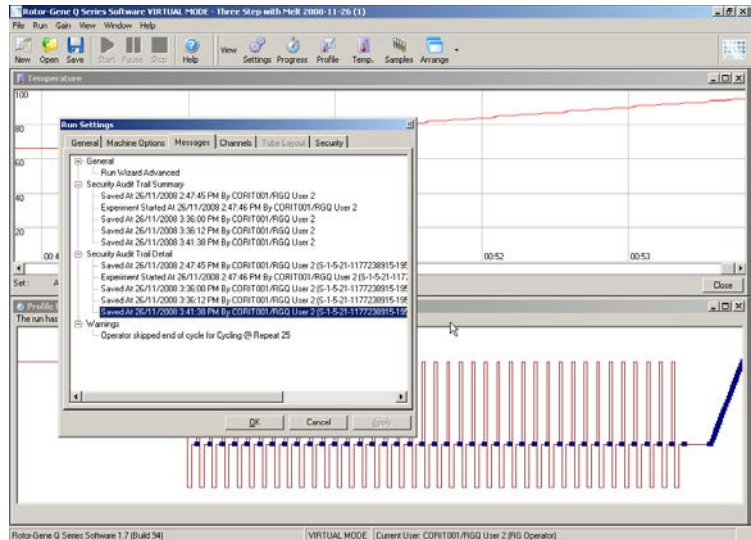
Iga kord kui kasutaja faili salvestab, salvestatakse detailid "Run Settings" andmete alla "Messages" sakis nimedega "Security Audit Trail Summary" ja "Security Audit Trail Detail".



Seda saab kasutada siis, kui on vaja teada, kes faili sisu muutis. "Security Audit Trail Detail" sisaldab rohkem detaile, nagu näiteks kasutaja unikaalne identifikaator. See identifikaator on oluline selleks, et vältida olukorda, mil kasutaja loob sama nimega konto teises arvutis ja

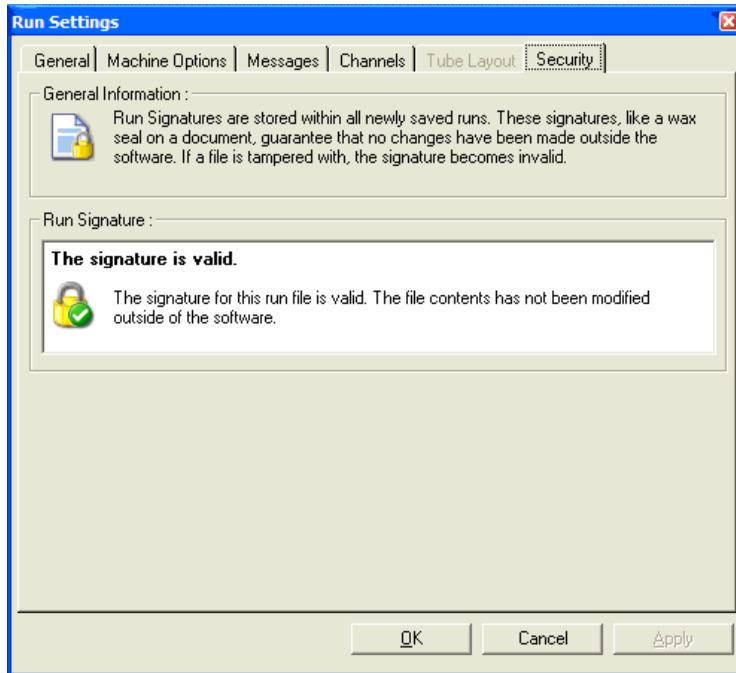
teeskleb teist kasutajat. Sel juhul on nende nimed küll samad, kuid kontode ID-d on erinevad.

Detailides on näidatud konto CORIT001/RGQ User 2 identifikaator S-1-5-21-1177238915-195.

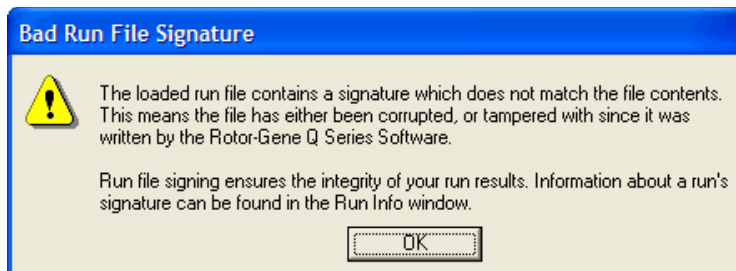


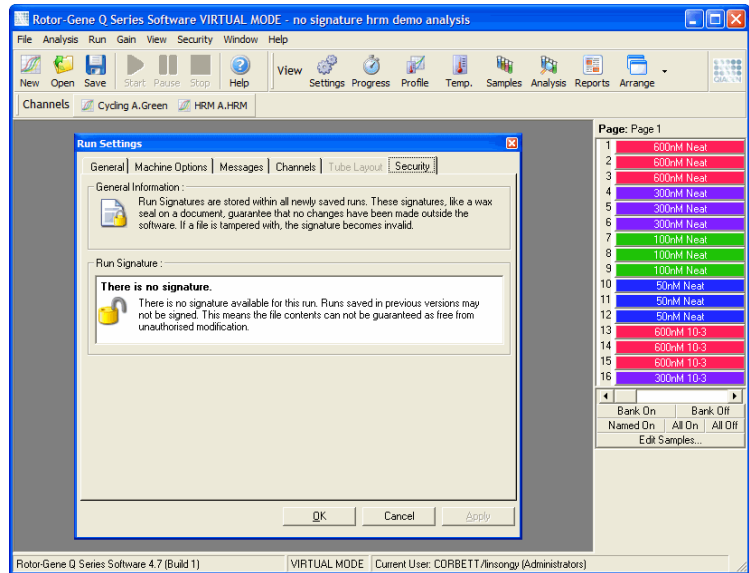
7.9.5 Eksperimendi signatuurid (Run Signatures)

Auditi rada salvestatakse Rotor-Gene Q eksperimendifaili. Vältimaks nende failide soovimatut muutmist, tuleks neid hoida turvalises kohas, millele pääseb ligi ainult kindlatelt Windows kontodelt. Kui faile hoitakse jagatud alal, annavad eksperimendi signatuurid (Run Signatures) turvalisust lisaks. Järgmisel pildil on eksperimendi signatuuriga faili "Security" sakk "Run Settings" aknas.



Ekspõrimendi signatuur on pikk sõna, mis luuakse iga kord, kui faili salvestatakse, ning on seotud faili sisuga. Nõiteks on selle faili signatuur 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Kui fail avatakse Notepad programmis ja seda muudetakse (nt. ekspõrimendi kuupõavev muudetakse 3 põaveva varasemaks), ilmub faili uuesti avamisel jõrgmine teade.





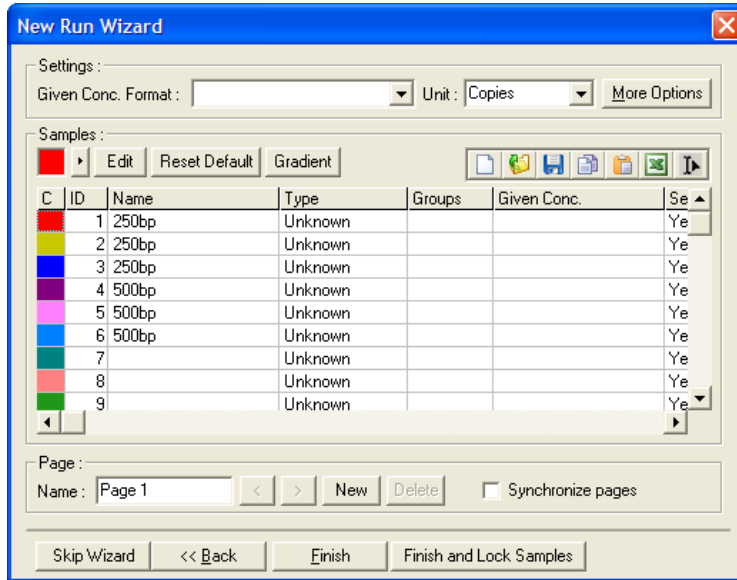
Märkus: Kui faile saadetakse E-kirjana, võib krüptimisprotsess signatuuri kehtetuks muuta. Selle vältimiseks pakkige fail enne saatmist.

7.9.6 Proovide lukustamine

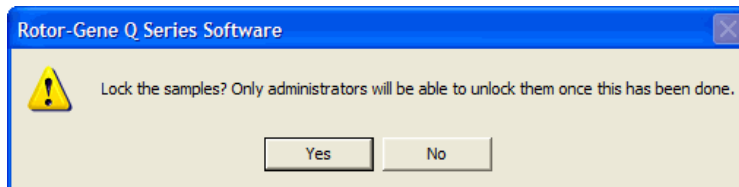
Pärast eksperimendi käivitamist on oluline kindlustada, et proovi nimesid kogemata või meelega ei muudetak. Sel põhjusel on Rotor-Gene Q tarkvaras võimalik proovid lukustada. Proovi nimesid saab lukustada iga kasutaja, kui lukust lahti teha saab neid ainult administraator. Kasutajatele, kes kasutavad oma arvuteid administraatorina, on sellest funktsioonist vähe kasu. Selle võimaluse kasutamiseks peab arvuti olema turvaliselt konfigureeritud, nagu eelnevates peatükkides kirjeldatud.

Märkus: Kui soovite proove lukustada, ärge kasutage tarkvara administraatorina. Looge konto RG Operator ja RG Analyst gruppidega ning hoidke administraatori salasõna peidetuna. Kasutajatel on siis failide lukust lahti saamiseks vaja administraatori-poolselt autoriseerimist.

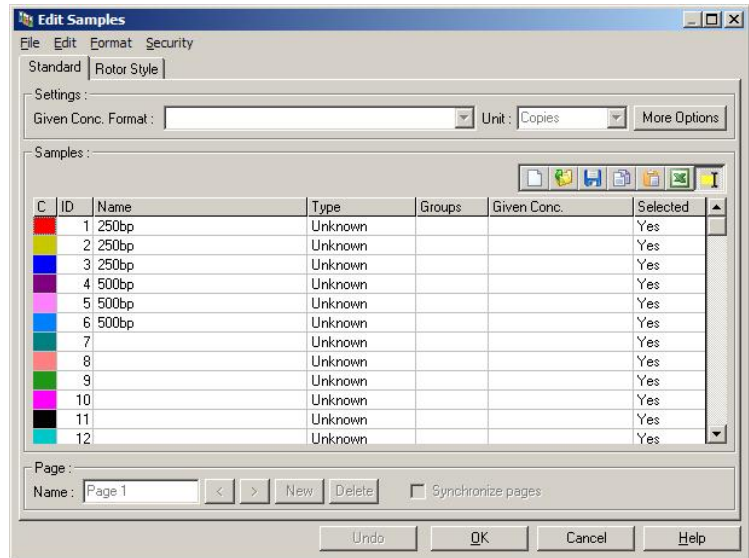
Proove saab lukustada enne eksperimendi alustamist klõpsates "Finish and Lock Samples" Edasijõudnute startaknas (Advanced).



Ilmub järgmine hoiatus. Kinnitamiseks klõpsake "Yes".



Kui proovid on lukustatud, ei ole võimalik "Edit Samples" aknas proove muuta.



Proove saab lukustada ja lukust lahti teha ka "Edit Samples" aknas. Lukustatud proove saab lukust lahti teha ainult administraator.



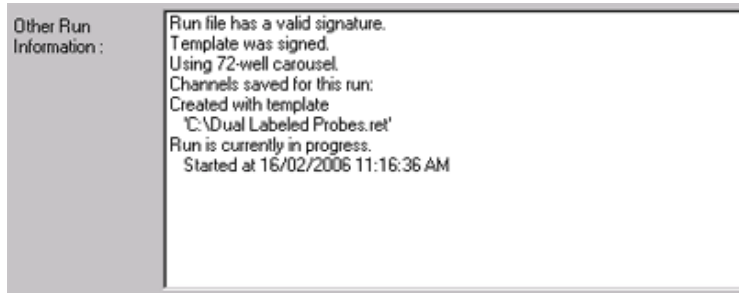
Iga autoriseerimata muutus failis toob kaasa eksperimendi signatuuri kehtetuks muutumise.

7.9.7

Lukustatud vormid (Templates)

Praegu ei ole kasutajal võimalik Rotor-Gene Q tarkvaras luua kirjutuskaitsega (*read-only*) vormifaile. Sellegipoolest on võimalik defineerida nõue, et kõik eksperimendid viiakse läbi kindla vormifaili alusel. Kirjutuskaitsega ligipääsuks sellele vormile peaks see olema salvestatud võrgukettale, kus kasutajad ei saa andmeid muuta. Kasutajad saavad läbi viia ja modifitseerida nende enda profile, kuid vormifaili võrgukettal on kaitstud. Jälgimaks, millist vormi kasutati, salvestab Rotor-Gene Q tarkvara kasutatud vormifaili

nime. Seda infot saab vaadata klõpsates "Settings" nuppu, mis kuvab "Run Settings" akna. Info vormi kohta salvestatakse "Other Run Information" alla.



7.10 Tundlikkuse menüü (Gain menu)

Klõpsake Gain menüül, et näha käesoleva eksperimendi "Gain Settings" infot. See määrab enne eksperimenti kindla kanali tundlikkuse. Tundlikkuse seaded säilitatakse eelmisest eksperimentist. Seadeid saab muuta, siis kui eksperiment ei ole veel alanud, või esimestes tsüklites. Kasutage tekstiväljade muutmiseks nende kõrval asuvaid üles/alla nooli. Seejärel klõpsake "OK".

Tundlikkust saab esimeste tsüklite jooksul muuta. Sobivasse kanalisse tõmmatakse punane joon, mis näitab, kus tundlikkust muudeti. Enne tundlikkuse muutust jäävad tsüklid eemaldatakse analüüsist.



7.11 Akende menüü (Window menu)

See menüü võimaldab aknaid organiseerida vertikaalselt või horisontaalselt või seada need kaskaadina. Rohkem valikuid ilmub siis kui klõpsate "Arrange" nupust paremal asuvat noolt.

7.12 Abi funktsioon (Help function)

Abi nupu või abi menüü kasutamisel avaneb järgmine rippmenüü.

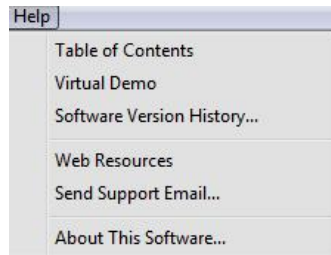


Table of Contents Tagab ligipääsu abi funktsioonile.

Virtual Demo Viib OIAGENi veebilehele, kust leiab tarkvara interaktiivse demo.

Software Version History...	Siit leiate kiire ülevaate uutest funktsioonidest, mis on lisatud eelnevalt installeeritud tarkvara versioonist alates.
Web Resources	Avab uues brauseriaknas QIAGENi veebilehekülje, kus antakse olulist uuemat infot Rotor-Gene Q instrumentide ja vastavate reagentide kohta.
About This Software...	Annab infot ühendatud instrumendi, Rotor-Gene Q MDx seerianumbri ja tarkvara versiooni kohta.

7.12.1 Saada toele E-kiri (Send Support E-Mail)

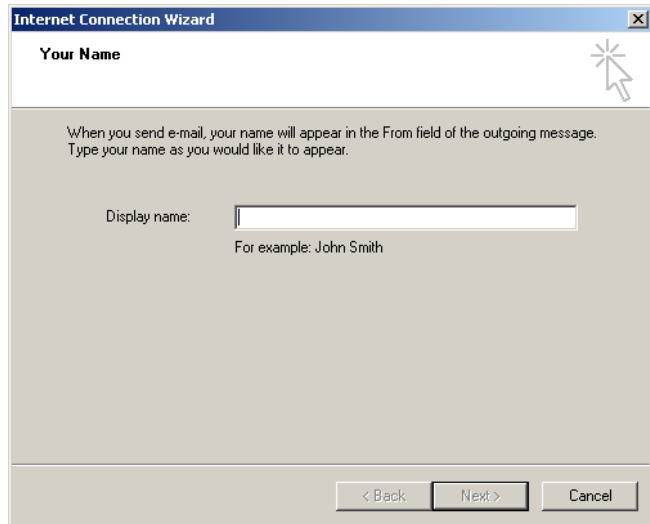
Abi menüü "Send Support Email" valik võimaldab saata QIAGENi tehnilisele toele E-kirja, milles on kogu oluline info eksperimendi kohta. "Save As" valik salvestab kogu info faili, mille saate kopeerida plaadile või võrgukettale, juhul kui Rotor-Gene Q MDx instrumendiga ühendatud arvutis ei ole ligipääsu E-kirjadele.

Kui te kasutate esmakordselt sülearvutitele pakutavat valikulist Rotor-Gene Q MDx tehnilise toe E-kirja funktsiooni (sõltub riigist), tuleb eelnevalt konfigurereida E-kirja seadistused.

Märkus: Te võite teha oma ettevõtte IT-juhataja sissekandeid.

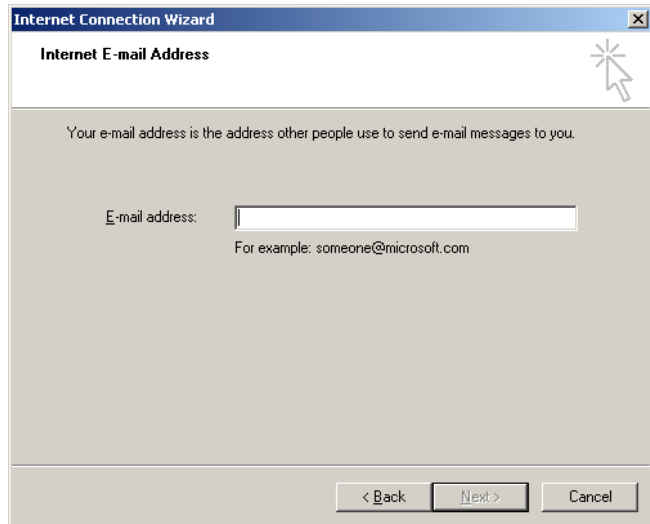
E-kirja seadistuste konfigurimine

1. Klõpsake valikul "Send Support Email...". Avaneb järgmine aken.



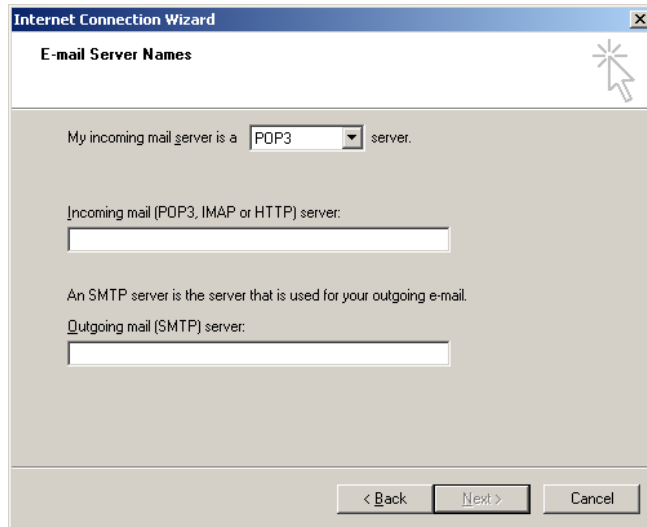
The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' window with the title bar 'Internet Connection Wizard' and a close button. The main heading is 'Your Name'. Below the heading, there is a text box with the instruction: 'When you send e-mail, your name will appear in the From field of the outgoing message. Type your name as you would like it to appear.' Below this text is a text input field labeled 'Display name:' with the example text 'For example: John Smith' underneath it. At the bottom of the window, there are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

2. Sisestage oma nimi ja klõpsake "Next". Avaneb aken "Internet E-mail Address".

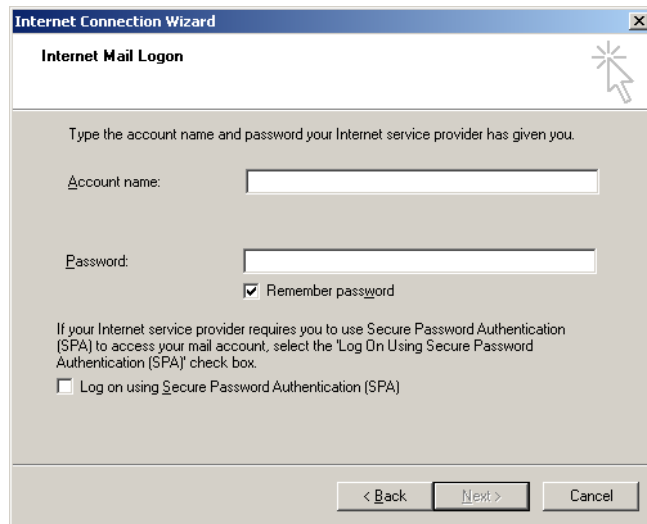


The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' window with the title bar 'Internet Connection Wizard' and a close button. The main heading is 'Internet E-mail Address'. Below the heading, there is a text box with the instruction: 'Your e-mail address is the address other people use to send e-mail messages to you.' Below this text is a text input field labeled 'E-mail address:' with the example text 'For example: someone@microsoft.com' underneath it. At the bottom of the window, there are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

3. Sisestage oma e-kirja aadress ja vajutage "Next". Avaneb aken "E-mail Server Names".

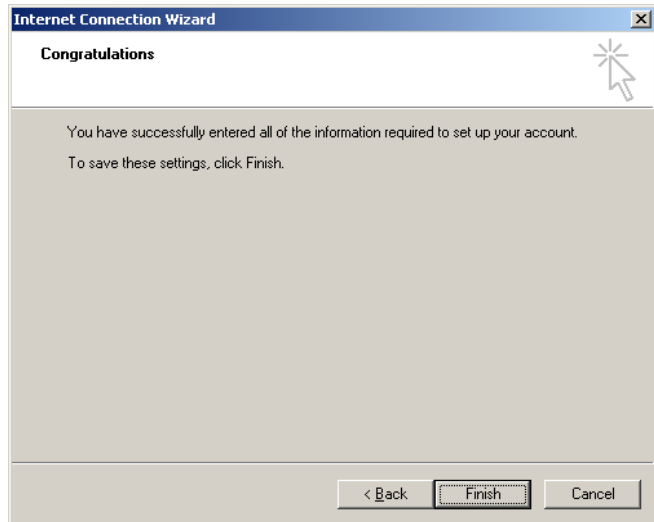


4. Valige sissetulevate e-kirjade meiliserveri tüüp ja määrake sissetulevate ja väljaminevate e-kirjade serverite nimed. Seejärel vajutage "Next". Avaneb aken "Internet Mail Logon".



5. Sisestage oma e-kirjade konto nimi ja, kui te server kasutab turvalist salasõnaga autentimist, ka

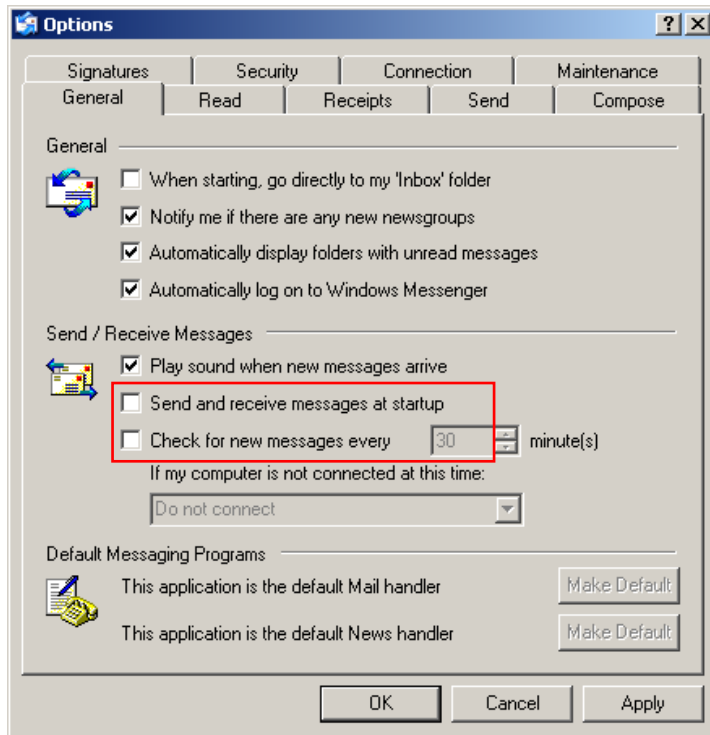
salasõna. Seejärel klõpsake "Next". Avaneb aken "Congratulations".



6. E-kirjade konto seadistamise lõpetamiseks klõpsake "Finish".

Seadistamine Outlookis

1. Avage Start menüüst "Outlook Express" (Start, All programs, Outlook Express).
2. Valige Tools ja seejärel Options. Ilmub allolev aken.



Tähtis: Vältimaks e-kirjade hankimist PCR eksperimentide ajal, desaktiveerige vaikinisi kirjed ekraanil "Send/Receive Messages".

3. Desaktiveerige "Send and receive messages at startup"
4. Desaktiveerige "Check for new messages every 30 minutes".
5. Kinnitage muudatused vajutades "OK"

8 Lisafunktsioonid

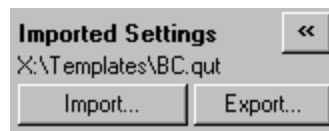
8.1 Analüüsivormid (Analysis templates)

Mõnede analüüsivormide puhul peab kasutaja defineerima lävendid, normaliseerimise ja genotüübi seaded. Sageli kasutatakse neid seadeid uuesti mitmetes eksperimentides.

Analüüsivormide abil saab kasutaja neid seadeid salvestada ja uuesti kasutada. See vähendab seadete uuesti sisestamise vaeva ja vähendab vigade tekkimise ohtu.

Analüüsivormi saab salvestada kvantifitseerimise, sulamise, alleelse eristamise, hajuvusgraafiku ja lõpppunkti analüüsivormide puhul. Nende analüüsivormide puhul saab kasutaja eksportida analüüsi suhtes unikaalse analüüsivormi (nt. kvantifitseerimise analüüsi puhul saab eksportida ja importida *.qut faile, mis sisaldavad kvantifitseerimise seadeid.

Pärast analüüsivormi importimist või eksportimist, kuvatakse vormi failinimi hilisemaks kasutamiseks.

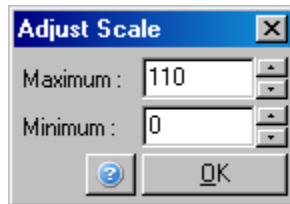


8.2 Teise eksperimendi avamine

Eksperimendi töösoleku ajal on võimalik avada ja analüüsida varem läbiviidud eksperimente. Teises aknas ei ole mitmed funktsioonid, nagu "New" või "Start Run" nupud, aktiveeritud. Uut eksperimenti saab käivitada esimeses aknas siis, kui käesolev eksperiment on lõppenud.

8.3 Skaala valikud (Scaling options)

“Adjust Scale” akna avamiseks klõpsake “Adjust Scale...” nuppu põhiakna allosas või parem-klõpsake graafikul ja valige ilmuvast menüüs “Adjust Scale...”. Ilmuvast aknas on võimalik skaala käsitsi sisestada.



“Auto-Scale” valimiseks klõpsake “Auto-Scale...” nuppu põhiakna allosas või parem-klõpsake graafikul ja valige ilmuvast menüüs “Auto-Scale...”. “Auto-Scale” üritab skaala sättida andmete minimaalse ja maksimaalse väärtuse vahele.

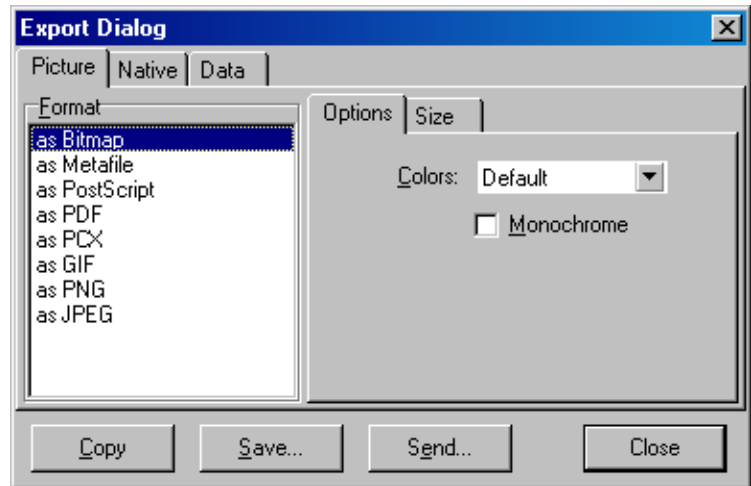
“Default Scale” valimiseks klõpsake “Default Scale...” nuppu põhiakna allosas või parem-klõpsake graafikul ja valige ilmuvast menüüs “Default Scale...”. “Default Scale” taastab skaala, mis jääb 0 ja 100 fluorestsentsiühiku vahele.

8.4 Graafikute eksportimine

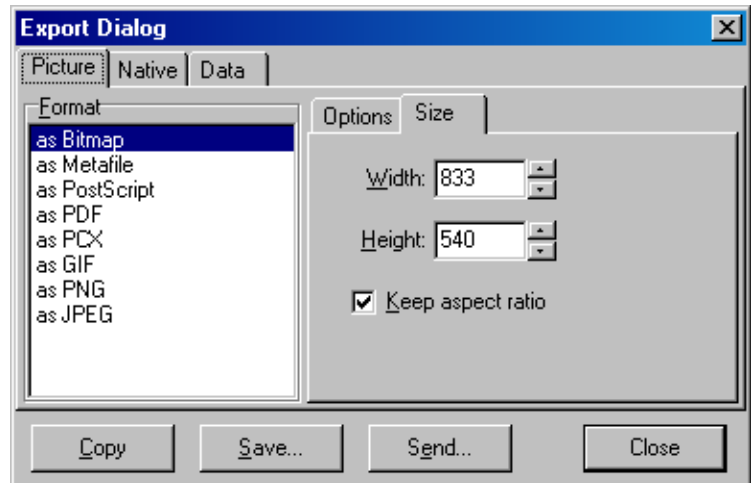
Pildi eksportimine

Järgmised sammud kirjeldavad pildi salvestamist.

1. Parema-klõpsake pildil ja valige ilmuvast menüüs “Export”.
2. Ilmub “Export Dialog” aken. Valige “Format” nimekirjast sobiv formaat.



3. Valige "Size" sakk ja täpsustage soovitud suurus.



4. Märkige "Keep aspect ratio" kast, et suuruse kohandamisel säilitataks pildi korrektsed proportsioonid.
5. Klõpsake "Save" ja valige ilmuvast dialoogiaknas failile nimi ja salvestamise koht.

Kui teil on vaja suurema resolutsiooniga pilti, soovitame kas suurendada pildi suurust, kuni see vastab teie

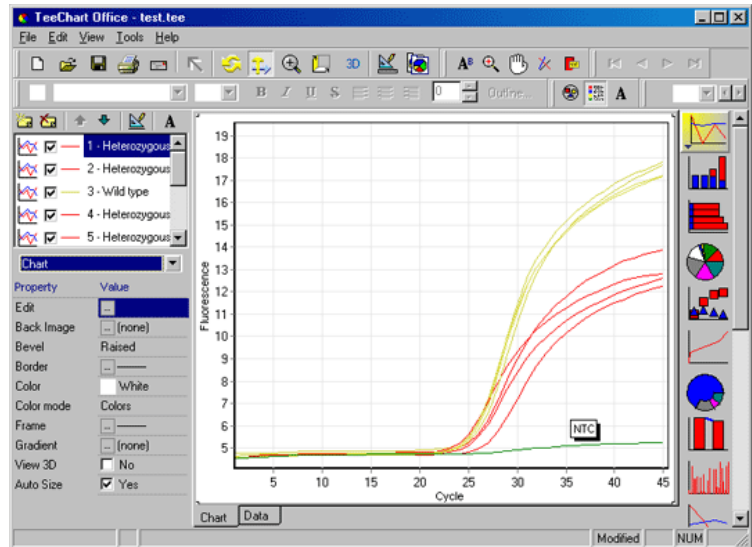
vajadustele või salvestada pilt Metafailina (*.emf, *.wmf). See on vektor-põhine formaat, mida saab avada tarkvaras nagu Adobe® Illustrator®, ja mis lubab kasutajal luua iga resolutsiooniga pilte.

Natiivse formaadi eksportimine (Native format export)

Rotor-Gene Q tarkvara graafikud kasutavad kolmanda osapoole TeeChart® komponenti, mille on välja töötanud Steema tarkvara. Graafiku natiivses formaadis salvestamiseks valige "Export Dialog" aknas "Native" sakk (vt eelmist joonist) ja seejärel klõpsake "Save". Natiivne formaat on standardne TeeChart failiformaat. See võimaldab kasutada Steema tarkvara TeeChart Office't. TeeChart Office on saadaval vabavarana ja installeeritakse kui osa Rotor-Gene Q tarkvara paketest. Tarkvara avamiseks klõpsake TeeChart töölauaikoonil.

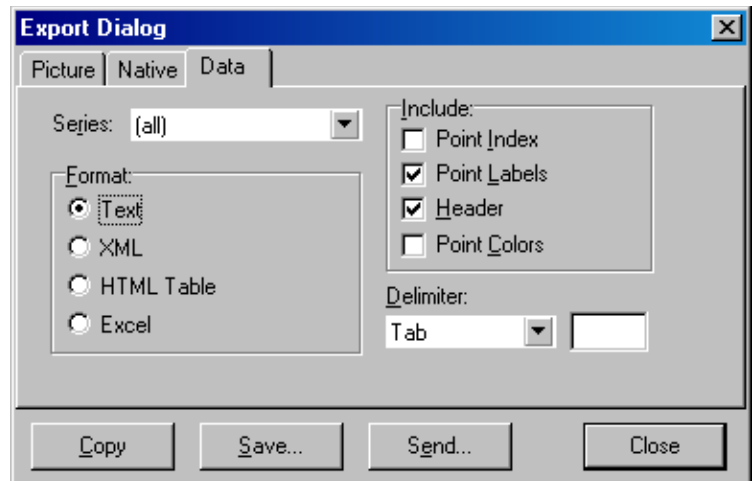


TeeChart Office võimaldab eksporditud graafikute manipuleerimist, sealhulgas kõverate värvilahenduste muutmist, annotatsioonide lisamist, fontide muutmist ja andmepunktide kohandamist.




Andmete ekspordimine

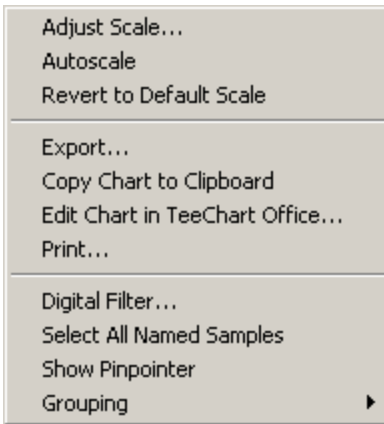
Andmete mitmes formaadis ekspordimiseks valige "Export Dialog" aknas "Data" sakk. Eksporditud fail sisaldab graafikus kasutatud toorandmete punkte.



Toorandmeid ja analüüsiandmeid saab ekspordida ka valides "File" menüüs "Save As" (vt peatükk 7.5).

8.5 Mutrivõtme ikoon

Mutrivõtme ikoon  on põhiaknas all vasakul. Mutrivõtme ikoonil klõpsamine võimaldab mitmeid valikuid. Neid valikuid näete ka graafikul paremklõpsates.



Adjust Scale,
Autoscale,
Revert to
Default Scale: Vaadake peatükk 8.3.

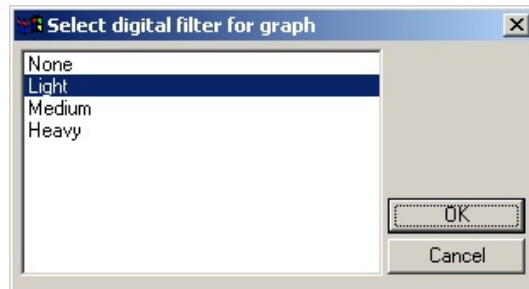
Export...: See salvestab graafiku mitmes formaadis (vt peatükk 8.4).

Copy Chart to
Clipboard: See kopeerib graafiku.

Edit Chart in
TeeChart
Office...: See avab graafiku muutmiseks TeeChart Office's (vt peatükk 8.4).

Print: See prindib graafiku.

Digital Filter...: See kohandab graafiku parasjagu valitud digitaalset filtrit. Digitaalne filter tasandab andmeid kasutades libisevat akent punktidega.

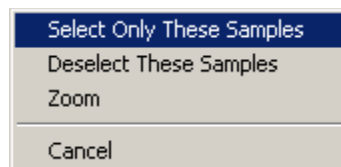


Show Pinpointer: See avab akna, milles kuvatakse hiire kursori asendi täpsed koordinaadid.

Grouping: See grupeerib identsete nimedega proovid visuaalselt. See võib olla kasulik täis rootori puhul. Selle võimaluse valimine ei mõjuta arvutatud väärtusi.

8.6 Valitud piirkonna võimalused

Graafikul saab valida piirkonna vasakut hiirenuppu klõpsates ja all hoides ning kursorit tirides. Ilmuvad järgmised valikud.



Select Only These Samples: Väljaspool valitud piirkonda asuvad proovid jäetakse valikust välja.

Deselect These Samples: Kõik proovid valitud piirkonnas jäetakse valikust välja.

Zoom: See suurendab graafikul valitud piirkonda. Vähendamiseks klõpsake "Default Scale" nuppu.

See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

9 Hooldamine

Rotor-Gene Q MDx töökorras hoidmine on lihtne. Optiline toimimine säilib, kui kindlustate, et nii emissiooni kui ka detektsiooni allikate juures asuvad läätsed on puhtad. Selleks pühkige läätsesid õrnalt etanoolis või isopropanoolis* niisutatud puuvillase vatitikuga.

Märkus: Puhastage läätsesid vähemalt korra kuus, olenevalt kasutamise tihedusest. Samal ajal pühkige ka rootori kamber üle.

Hoidke tööpind puhtana ja tolmuwabana ning ärge hoidke seal lahtisi paberilehti. Rotor-Gene Q MDx õhu sisselaske auk on instrumendi all ja lahtised materjalid nagu paber või tolm võivad instrumendi toimimist häirida.



Tolmu kogunemise vältimiseks hoidke Rotor-Gene Q MDx kaas suletuna, kui instrument ei ole kasutuses.

Kui rootorikamber saastub, saab seda puhastada pühkides pindasid ebemevaba lapiga, mis on niisutatud (kuid mitte tilkuv) 0.1% (v/v) valgendi lahuses.* Valgendi jääkide eemaldamiseks pühkige

* Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordseid kindaid ja kaitseprille. Lisainfot saate vastavate ohtu infolehtedelt (SDS), mis on kättesaadavad toote müüjalt.

kambrit ebemevaba lapiga, mis on niisutatud PCR-puhtas vees.

See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

10 Optiline temperatuuri kontroll

Optiline temperatuuri kontroll (Optical Temperature Verification - OTV) on meetod, mis kontrollib tuubisisest temperatuuri Rotor-Gene Q MDx instrumendil.

Tuubisisese temperatuuri valideerimine on sertifitseeritud laborites oluline protseduur. OTV viiakse läbi Rotor-Disc OTV kiti abil (vt Lisa C). järgnevalt tehakse lühike sissejuhatus OTV põhimõttele. OTV protseduuri toimimist selgitatakse Rotor-Gene Q MDx tarkvaras. Kui soovite OTV protseduurist detailsemat ülevaadet, sealhulgas vigade avastamise juhust, palun lugege *Rotor-Disc OTV Kasutusjuhendit*.

10.1 OTV põhimõte

OTV kasutab absoluutsete temperatuurietalonidena 3 termokromaatilise vedelikkristalli (TLC)* optilisi omadusi. Kuumutamisel muutuvad TLC-d matist läbipaistvaks väga täpselt määratud temperatuuridel (50°C, 75°C ja 90°C). TLC-d ise ei fluorestseeru. Seega tuleb ergastusallikas katta fluorestseeruva vahekihiga nii, et Rotor-Gene Q MDx optiline süsteem saaks TLC üleminekupunkte detekteerida. TLC-d on allpool oma üleminekutemperatuuri matid ja peegeldavad valgust. Osa peegeldunud valgusest hajub detektorini, suurendades fluorestsentsi. Kui tuubisisene temperatuur jõuab TLC üleminekupunktini, muutub TLC läbipaistvaks ja valgus läbib proovi, mitte ei peegeldu detektorisse, vähendades fluorestsentsi. Fluorestsentsi muutust kasutatakse iga TLC täpse üleminekutemperatuuri määramiseks. Üleminekutemperatuuri võrreldakse OTV Rotor-Disc tehase poolt seadistatud kalibreerimisfalli temperatuuriga, et teha kindlaks, kas Rotor-Gene Q MDx mahub temperatuuri spetsifikatsioonidesse.

* Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordseid kindaid ja kaitseprille. Lisainfot saate vastavatelt ohutuse infolehtedelt (SDS), mis on kättesaadavad toote müüjalt.

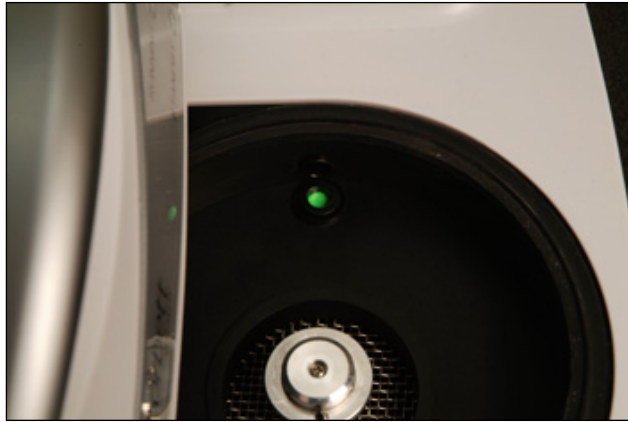
10.2 Rotor-Disc OTV kiti komponendid

OTV läbiviimiseks on vajalikud järgmised komponendid:

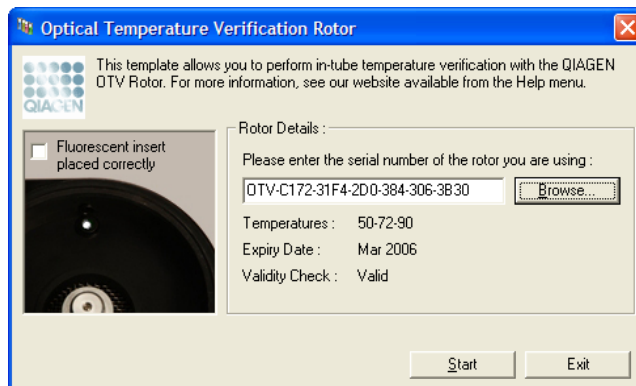
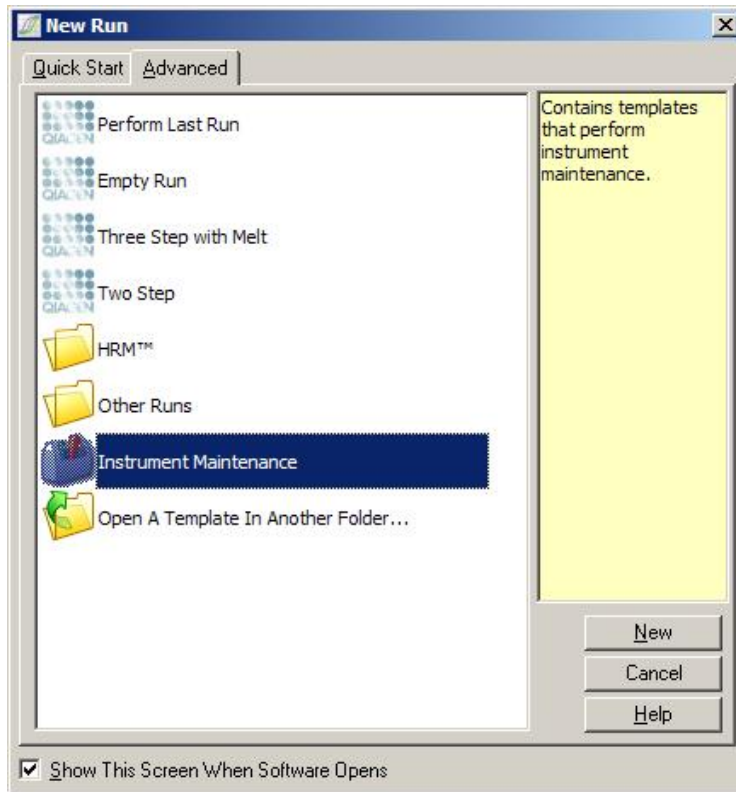
- Rotor-Disc OTV kitt, mis sisaldab:
 - Suletud Rotor-Disc 72 OTV rootor (sisaldab TLC-sid)
 - Fluorestseeruv hajusplaadi vahekiht (Rotor-Gene 3000 instrument või Rotor-Gene Q/6000 instrumendid)
 - CD, millel on järgmised failid: OTV rootori seerianumbri ja säilivustähtaja fail (*.txt); OTV testi vormifail (*.ret); toote leht (*.pdf); tehase kalibratsioonifail (*.rex)
 - Toote leht (Product Sheet)
- Rotor-Gene seeria tarkvara versioon 1.7 või kõrgem, mis sisaldab lihtsalt kasutatavat OTV rootori startakent
- Rotor-Disc 72 rootor
- Rotor-Disc 72 lukustusrõngas

10.3 OTV läbiviimine

1. Asetage fluorestseeruv vahekiht Rotor-Gene Q MDx kambri allosas asuvale emissiooniläätsele.
2. Asetage OTV Rotor-Disc Rotor-Disc 72 rootorisse. Kinnitage Rotor-Disc 72 lukustusrõnga abil. Asetage rootor Rotor-Gene Q MDx instrumenti ja vajutage klõpsuga kinni. Sulgege Rotor-Gene Q MDx kaas.

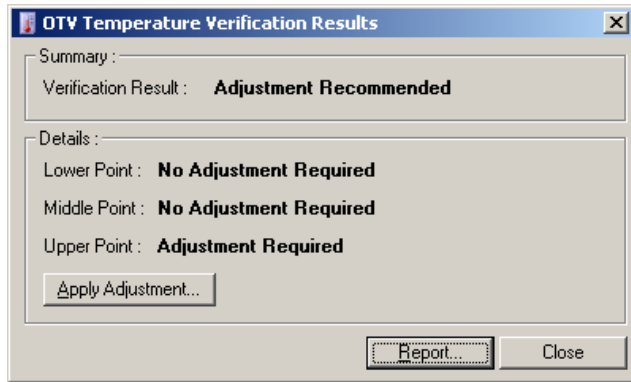


3. Sisenege Edasijõudnute startaknasse valides "New Run" aknas "Advanced" saki. Edasijõudnute startaknas klõpsake "Instrument maintenance" ja seejärel "OTV". Küsitakse OTV seerianumbrit. Seda numbrit saate vaadata OTV Rotor-Disc peal olevalt market või importida selle CD-lt klõpsates "Browse" ja valides CD-l oleva .otv faili. Kui number on sisestatud, klõpsake "Start".



4. Tarkvara küsib eksperimendile failinime. Seejärel alustatakse eksperimendiga.

5. Eksperimendis viiakse läbi rida sulamiskõveraid, mis on vajalikud Rotor-Gene Q MDx temperatuuri iseloomustamiseks.



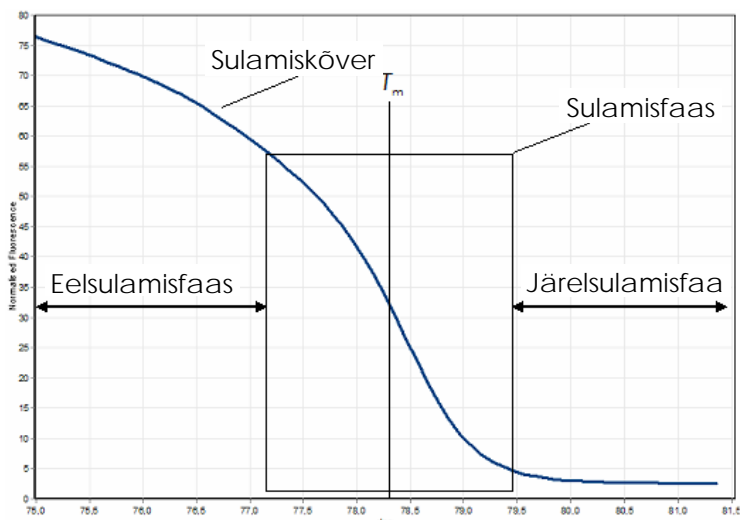
6. Kui eksperiment lõppeb, kuvatakse tarkvaras, kas Rotor-Gene Q MDx mahub spetsifikatsioonidesse.
7. Kui on vaja kohandamist, peaks kasutaja klõpsama "Apply Adjustment". Seejärel peab kasutaja läbi viima verifitseerimiseksperimendi. Pärast verifitseerimiseksperimendi lõppu ei tohiks kohandamist vaja olla. Kui kohandamist on siiski vaja, kontakteeruge oma edasimüüjaga.
8. Kui Rotor-Gene Q MDx mahub spetsifikatsioonidesse, saab eksperimendi raportit vaadata ja printida.

See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

11

Kõrge lahutavusega sulamisanalüüs

Kõrge lahutavusega sulamisanalüüs (High resolution melt - HRM) on uuenduslik tehnika, mis põhineb DNA sulamise analüüsimisel. HRM iseloomustab DNA proove vastavalt nende dissotsiatsiooni käitumisele temperatuuri kasvades kui proovid lähevad kaheaahelalisest DNA-st (dsDNA) üle üheaaheliseks DNA-ks (ssDNA) (vt alltoodud joonist). HRM instrument kogub fluorestsentssignaale väga kõrge optilise ja termilise täpsusega, mis annab meetodile mitmeid rakendusi.



Tüüpiline HRM graafik. Sulamiskõver näitab üleminekut eelsulamisfaasi kõrgele fluorentsentsile läbi sulamisfaasis toimuva fluorentsentsi vähenemise järelsulamisfaasis basaalseks fluorentsentsiks. Fluorentsents väheneb kui DNA interkaleeruv värv vabaneb dsDNA ahelate lahti sulamisel. Sulamisfaasi keskpunkt, mil fluorentsentsi muutumise kiirus on maksimaalne, määrab uuritava DNA sulamistemperatuuri (T_m).

Enne HRM analüüsi läbiviimist tuleb uuritav järjestus kõrge koopiaarvuni amplifitseerida. Seda tehakse tavaliselt PCR meetodil koos dsDNA-ga interkaleeruva fluorestsentsseeruva värviga. Värv ei seondu ssDNA-ga, kuid

interkaleerub aktiivselt dsDNA-ga ja interkaleerunud olekus fluorestseerub eredalt. Fluorestsentsmuutust saab kasutada DNA kontsentratsiooni tõusu mõõtmiseks PCR ajal ja seejärel termo-indutseeritud DNA sulamise mõõtmiseks HRM ajal. HRM ajal on fluorestsents algselt kõrge, sest proov on alguses dsDNA. Fluorestsents väheneb temperatuuri tõstmisel, sest DNA dissotsieerub. Jälgitav sulamiskäitumine on iseloomulik uuritavale DNA proovile.

HRM kasutades saab Rotor-Gene Q MDx abil iseloomustada proove järjestuse pikkuse, GC sisalduse ja DNA järjestuse komplementaarsuse alusel. HRM-i saab kasutada genotüpiseerimise rakendustes nagu insertioonide/deletsioonide või ühenukleotiidsete muutuste analüüs (SNP) või tundmatute geneetiliste mutatsioonide otsimine. Seda saab kasutada ka epigeneetilistes rakendustes DNA metülatsioonioleku detekteerimisel ja analüüsil. Seda saab kasutada ka väga väikse osa mutantse DNA kvantitatiivseks detekteerimiseks metsik-tüüpi järjestuste taustal, tundlikkus on kuni 5%. Seda saab kasutada näiteks somaatiliste mutatsioonide või CpG saarte metülatsioonioleku muutuste uurimiseks.

HRM Rotor-Gene Q MDx instrumendil hõlbustab mitmeid rakendusi, sealhulgas:

- Eelsoodumuse kandidaatgeenide identifitseerimine
- Assotsiatsiooniuringud (patsientide ja kontrollide, genotüübi ja fenotüübi võrdlemine)
- Populatsiooni või alamgrupi alleelide valdavuse määramine
- SNP otsimine ja valideerimine
- Heterosügootsuse kadumise otsimine
- DNA sõrmejäljed (*fingerprinting*)
- Haplotüübi blokkide iseloomustamine
- DNA metülatsioonianalüüs
- DNA kaardistamine (*mapping*)
- Liikide identifitseerimine
- Mutatsioonide avastamine

- Somaatiliste mutatsioonide koguse määramine
- HLA tüpiseerimine

HRM on lihtsam ja odavam kui proov-oligotel põhinevad genotüpiseerimise analüüsid ja erinevalt tavameetoditest on tegemist suletud tuubi süsteemiga, mis välistab PCR produktidega saastumist. Tulemused on võrreldavad tavameetoditega nagu SSCP, DHPLC, RFLP ja DNA sekveneerimine.

11.1 Instrumendid

Rotor-Gene Q MDx instrumendil on HRM-ks järgmised vajalikud reaalaja ja termo-optilised omadused.

- Suure intensiivsusega ergastamine
- Väga tundlik optiline detekteerimine
- Kiire andmete kogumine
- Peenelt kontrollitud proovi temperatuur
- Minimaalne proovidevaheline termiline ja optiline erinevus

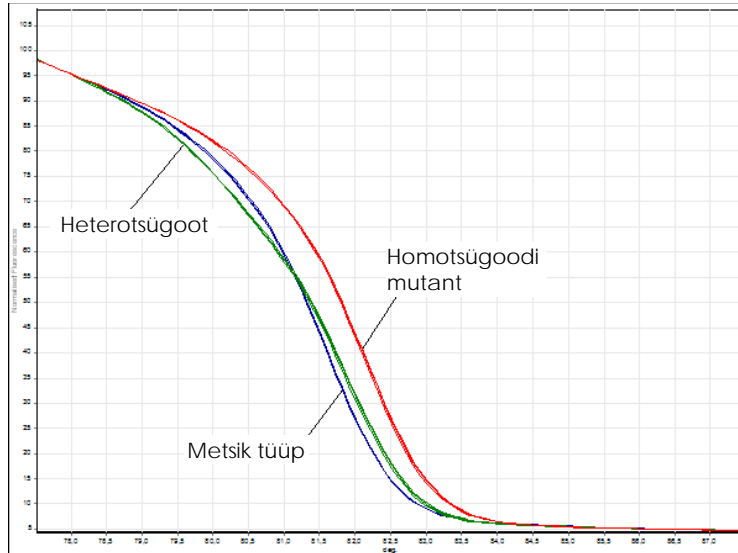
11.2 Keemia

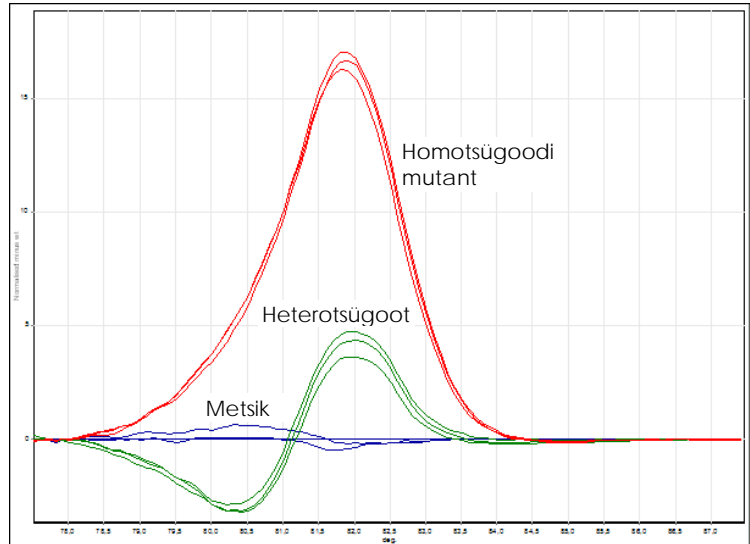
QIAGEN pakub SNP-de ja mutatsioonide analüüsimiseks HRM abil Type-it® HRM PCR kitti ning metüülatsioonianalüüsiks EpiTect® HRM PCR kitti. Mõlemad kitid sisaldavad kolmanda generatsiooni interkaleeruvat fluorestsentsvärvi EvaGreen. Kittides on optimeeritud HRM puhver ja HotStarTaq® Plus DNA polümeraas, et vältida mittespetsiifilisi amplifikatsiooniprodukte ja anda usaldusväärsed tulemused.

Märkus: Kõik QIAGENi HRM kitid ja reagentid on mõeldud kasutamiseks Rotor-Gene Q instrumentidel ainult vastavates QIAGENi kiti kasutusjuhendites kirjeldatud rakendusteks.

11.3 SNP genotüüpiseerimise näide

Toodud näites kasutati HRM analüüsiks Type-it HRM PCR kitti, et eristada inimese SNP rs60031276 homosügootset metsik-tüüpi, homosügootset mutantset ja heterosügootset vormi. Tehnilisi detaile saate *Type-it HRM PCR Kasutusjuhendist*.





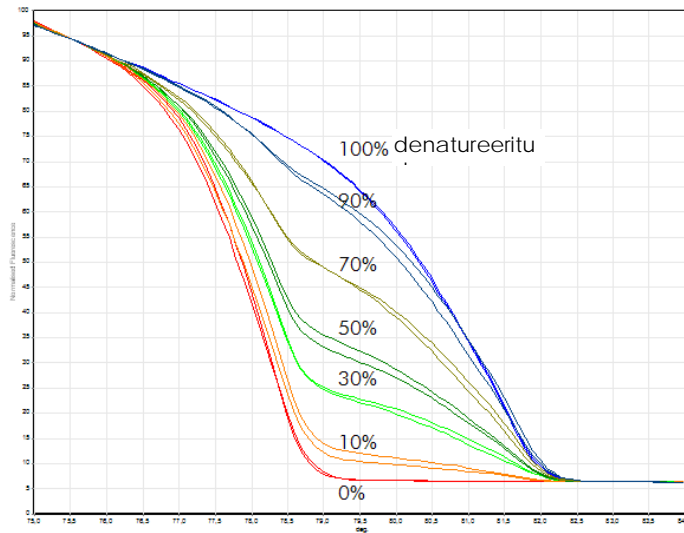
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	■	AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	■	unknown	homo AA	99,49
24	■	unknown	homo AA	99,76
28	■	AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	■	unknown	hetero AG	99,49
30	■	unknown	hetero AG	98,47
34	■	GG Human SNP rs60031276	homo GG	100,00
35	■	unknown	homo GG	98,80
36	■	unknown	homo GG	99,53

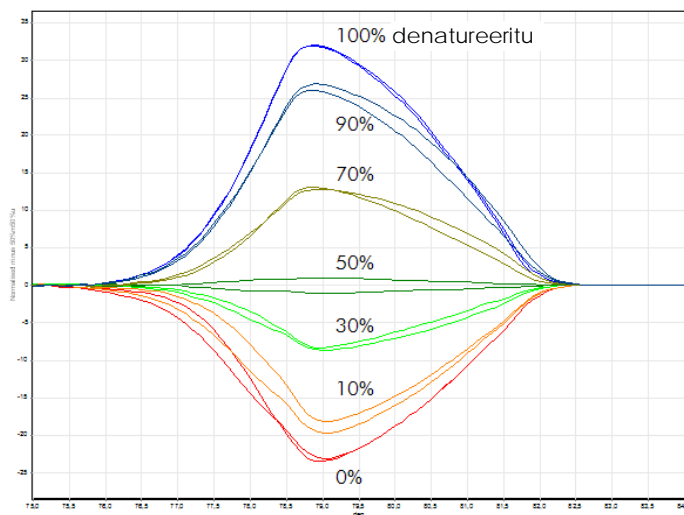
SNP genotüüpiseerimine HRM abil. Inimese SNP rs60031276 (A > G asendus) PPP1R14B geenis (proteiini fosfataas 1, regulaatorne (inhibiitor) allühik 14B) analüüsiti Rotor-Gene Q instrumendil kasutades 10 ng genoomset erinevate genotüüpide DNA-d ja Type-it HRM kitti. Homosügootsed metsiktüüpi (AA), homosügootsed mutantsed (GG) ja heterosügootsed (AG) proovid kuvatakse standardsel normaliseeritud sulamiskõveral ja diferentsiaalgraafikul, mis on normaliseeritud metsiktüüpi

proovide järgi. Tundmatute proovide genotüübid määras Rotor-Gene Q tarkvara.

11.4 Metülatsioonianalüüsi näide

Toodud näites kasutati HRM analüüsiks EpiTect HRM PCR kitti, et eristada metüleeritud ja metüleerimata DNA erinevaid suhteid. Tehnilisi detaile saate *EpiTect HRM PCR Kasutusjuhendist*.





Kvantitatiivne metülatsioonianalüüs HRM abil. HRM metülatsioonianalüüsis analüüsiti ja eristati erinevaid metüleeritud ja metüleerimata DNA-APC (*adenomatosis polyposis coli*) suhteid Rotor-Gene Q instrumendil kasutades EpiTect HRM kitti. Kuvatakse standardne normaliseeritud sulamiskõver ja diferentsiaalgraafik normaliseerutuna 50% metüleeritud proovi suhtes.

11.5 Juhised edukaks HRM analüüsiks

HRM analüüsi edukus sõltub suurel määral uuritavast järjestusest. Kindlad järjestuse motiivid, nagu juuksenõela- või muud sekundaarsed struktuurid, lokaalne ebaharilikult kõrge või madal GC sisaldus või kordusjärjestused, võivad tulemust mõjutada. Lisaks saab QIAGENi optimeeritud kittide ja protokollidega mitmest potentsiaalsest probleemist üle saada. Allpool on toodud mõned lihtsad juhised edukaks HRM analüüsiks.

Analüüsi väikesi DNA fragmente

Analüüsigi fragmente, mis pole suuremad kui umbes 250 bp. Suuremaid produkte saab edukalt analüüsida,

kuid nende puhul on lahutavus tavaliselt väiksem. Näiteks on ühe-nukleotiidsel erinevusel 100 bp amplokoni sulamiskäitumisele suurem mõju kui 500 bp amplokoni omale.

Veendu, et PCR sisaldab ainult spetsiifilist produkti

Proovid, mis on saastunud post-PCR artefaktidega nagu praimerid dimeerid või mitte-spetsiifilised produktid, võivad HRM tulemuste tõlgendamise raskeks teha. QIAGENi HRM kitid kindlustavad maksimaalse spetsiifilisuse ilma, et oleks vaja optimeerida.

Kasuta piisavalt algmaterjali

Reaalaja PCR andmete analüüs võib HRM analüüsil vigade otsimisel väga kasulik olla. Amplifikatsioonide C_T (lävitsükkel) peaks olema 30 tsükli või vähem. Produktid, mis amplifitseeruvad sellest hiljem (vähese algmaterjali või algmaterjali degradatsiooni tõttu), annavad tavaliselt muutlikke HRM tulemusi PCR artefaktide tõttu.

Normaliseeri algmaterjali kontsentratsioon

Reaktsiooni lisatava algmaterjali kogus peaks olema järjepidev. Normaliseerige algkontsentratsioonid nii, et kõik amplifikatsioonid on üksteisest 3 C_T väärtuse kaugusel. Seega jäävad sisendkontsentratsioonid 10-kordse erinevusevahemikku.

Kontrolli ebatüüpilisi amplifikatsioone

Enne HRM alustamist uurige ega amplifikatsiooniandmetes ei ole ebanormaalse kujuga amplifikatsiooni graafikuid. Graafikud, mille log-lineaarne faas ei ole järsk, on sakiline või mille signaali platoo on võrreldes teiste reaktsioonidega madal, võivad viidata kehvale amplifikatsioonile või liiga madalale fluorestsentssignaalile (nt. see võib juhtuda kui praimerite kontsentratsioon on liiga madal). Kehvasid reaktsioone võivad põhjustada reaktsiooni inhibiitorid või ebakorrekne reaktsiooni ettevalmistamine. Selliste

proovide HRM andmed võivad olla ebaveenvad või madala lahutavusega. Ebausaldusväärsete tulemuste vältimiseks soovitame proovide ettevalmistamiseks ja HRM analüüsiks kasutada QIAGENi kitte.

Hoia post-amplifikatsiooni proovide kontsentratsioonid sarnased

DNA fragmendi kontsentratsioon mõjutab selle sulamistemperatuuri (T_m). Sel põhjusel peaksid proovide DNA kontsentratsioonid olema võimalikult sarnased. PCR produktide analüüsimisel veenduge, et kõik reaktsioonid on jõudnud platoole. Platoon on kõikide reaktsioonide kontsentratsioon ligikaudu sama olenemata algmaterjali hulgast. Pidage seejuures silmas, et kehvad reaktsioonid ei pruugi platoole jõuda sama kontsentratsiooni juures, näiteks reaktsiooni ebakorrekse ettevalmistamise tõttu (nt. liiga madal praimer kontsentratsioon).

Kindlusta proovidevaheline ühtsus

Kõik proovid peavad olema samas ruumalas ja sisaldama sama värvikontsentratsiooni. DNA sulamiskäitumist mõjutavad soolad reaktsioonisegus, seega on oluline hoida puhvri, Mg ja muude soolade kontsentratsioon kõikides proovides nii ühtlane kui võimalik. Samuti kasutage vaid identseid sama tootja reaktsioonituube, et vältida plastiku paksusest ja autofluorestsentsist tekkivat varieeruvust.

Piisav andmete kogumine pre-sulamis- ja post-sulamis-faasis

Koguge HRM andmeid umbes 10°C vahemikus, mille keskele jääb T_m (vt joonist lk 11-1). See annab piisavalt andmeid tausta jaoks, et oleks võimalik kõvera efektiivne normaliseerimine, ning reprodutseeritavamad kordused ja lihtsama andmete tõlgendamise.

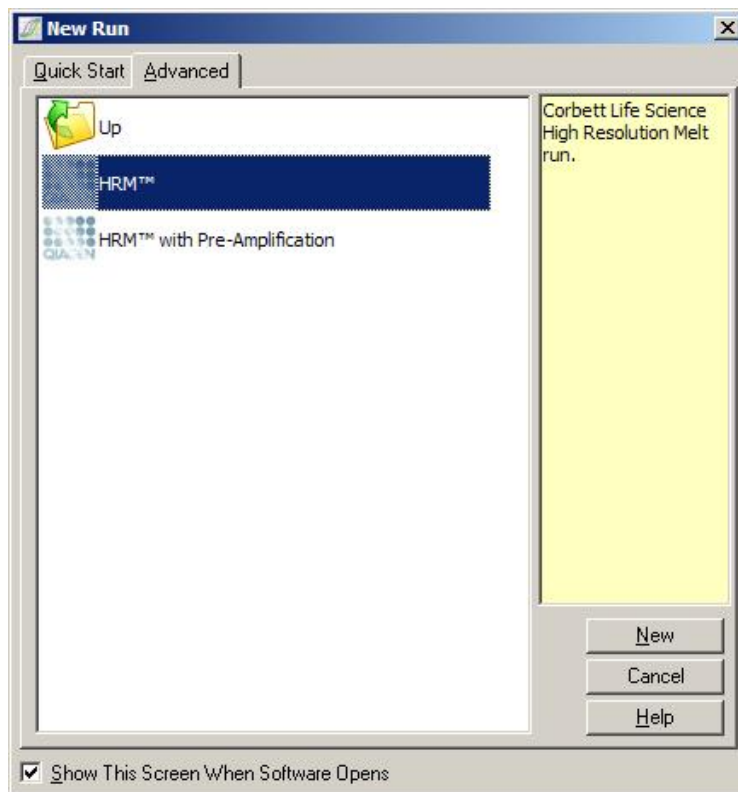
11.6 Proovi degradeerumine

Puhastamise ja säilitamise ajal tuleks vältida proovi degradeerumist. Vältige liigset hulka inhibiitoreid, nagu etanool. HRM tulemuste parandamiseks soovitame proovide algmaterjali hulka ühtsena hoida. DNA kontsentratsiooni ja puhtuse hindamiseks soovitame spektrofotomeetrilist analüüsi. Proovide ettevalmistamiseks soovitame QIAGENi kitte.

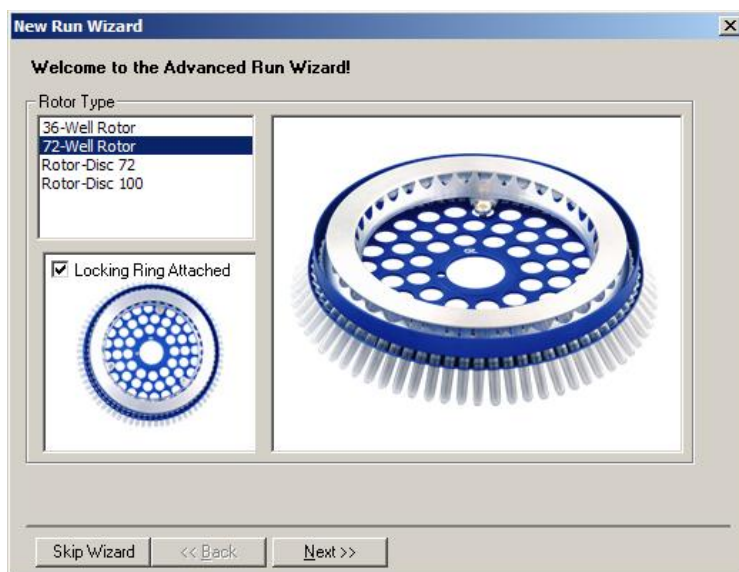
Märkus: Lainepikkusel 260 nm on neelduvusühik võrdne 50 µg/ml DNA. Puhta DNA 260 nm/280 nm suhe on 1.8.

11.7 Analüüsi ettevalmistamine tarkvaras

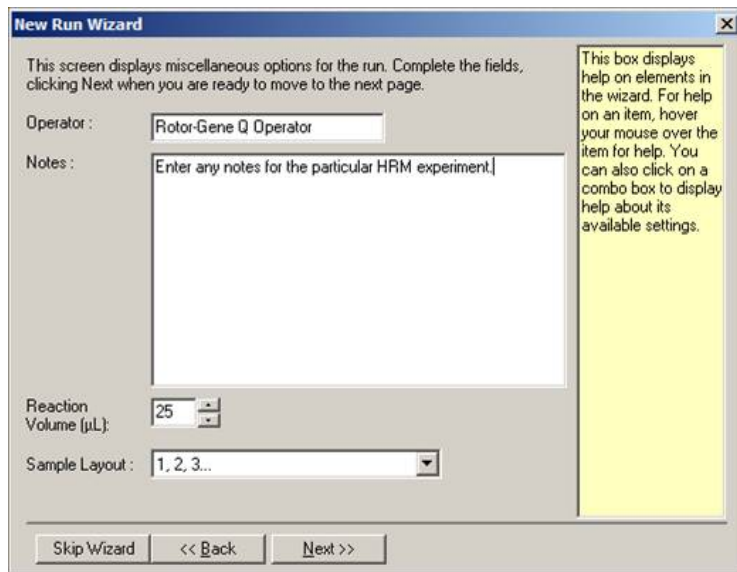
1. Avage uus eksperimendifail valides File menüüs "New...". Edasijõudnute startaknas valige "HRM".



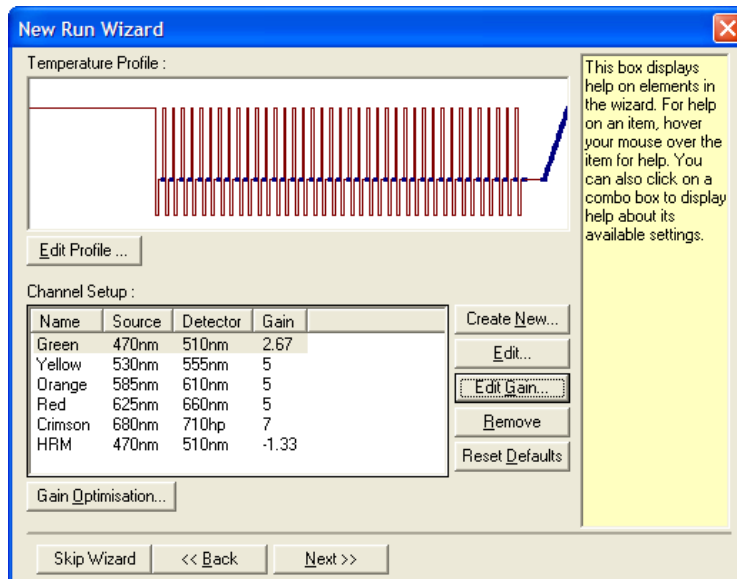
2. Valige rootori tüüp (selles näites kasutatakse 72 tuubi rootorit). Enne järgmise etapi juurde minemist veenduge, et lukustusrõngas on paigas ja "Locking Ring Attached" kast on märgitud.



3. Seadke eksperimendi detailid. Sisestage operaatore nimi (valikuline) ja lisage märkmeid eksperimendi kohta (valikuline). Valige reaktsiooni ruumala (vajalik) ja soovitud proovide numbrerdamise viis.

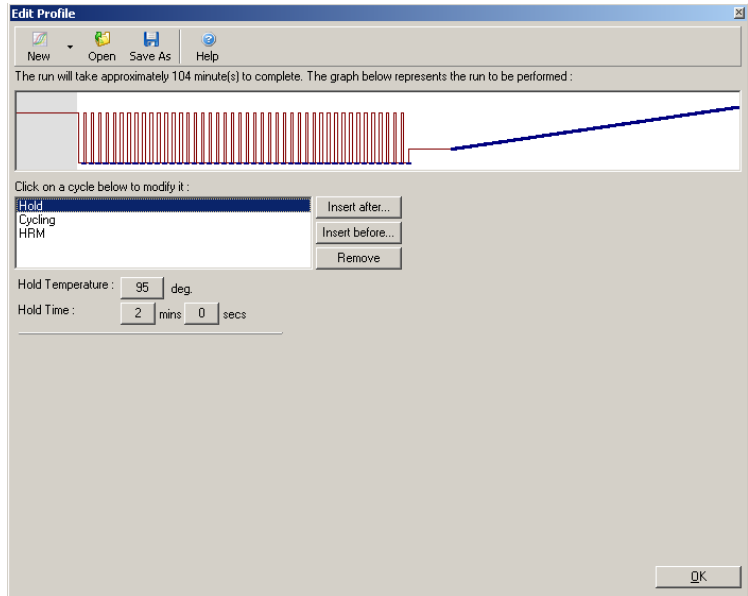


4. Klõpsake “Edit Profile...” nappu, et muuta reaktsiooni aegasid ja temperatuure.

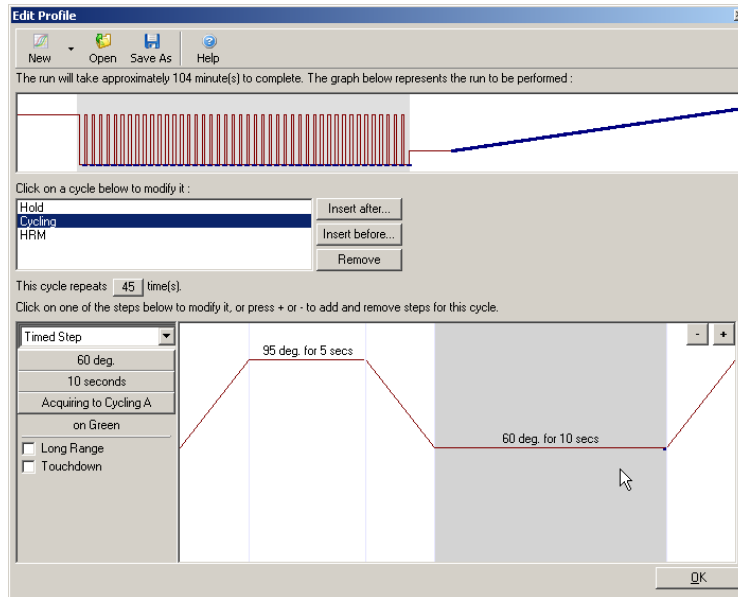


5. Seadke sobiv esialgne inkubeerimisaeg. See aeg sõltub kasutatavast DNA polümeraasi tüübist. Type-

it HRM PCR kiti ja EpiTect HRM PCR kiti puhul on vaja 5 minuti pikkust aktivatsiooniaega. Vaikimisi aktivatsiooniaeg on 10 minutit.



6. Modifitseerige tsükleerimist nii, et see sobiks amplikonile.



7. Veenduge, et fluorestsentsandmeid kogutakse. Koguge andmeid rohelises kanalis seondumise etapi lõpus.

Acquisition

Same as Previous : (New Acquisition)

Acquisition Configuration :

Available Channels :

Name
Crimson
HRM
Orange
Red
Yellow

Acquiring Channels :

Name
Green

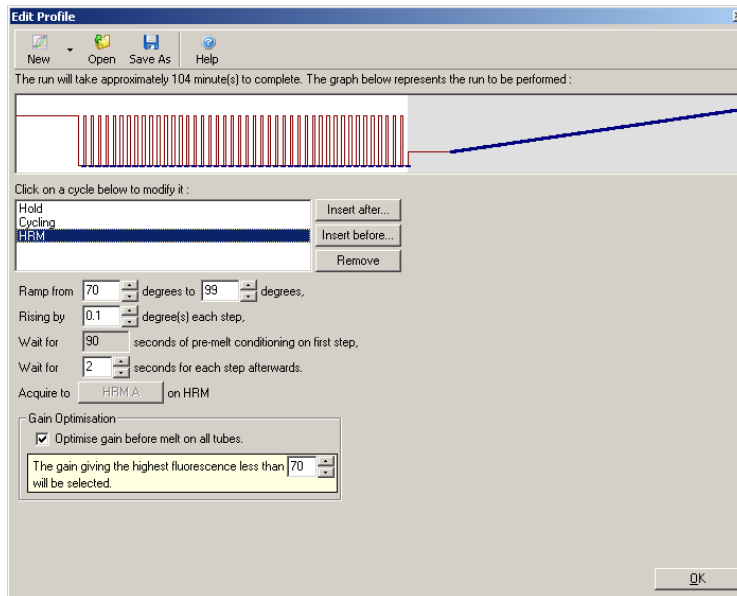
To acquire from a channel, select it from the list in the left and click >. To stop acquiring from a channel, select it in the right-hand list and click <. To remove all acquisitions, click <<.

Dye Chart >>

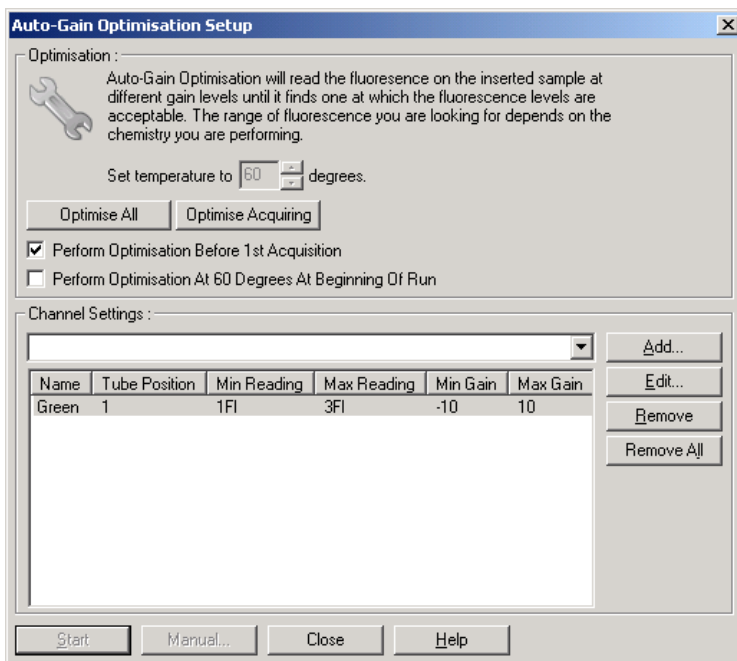
Dye Channel Selection Chart

Channel	Source	Detector	Dyes
Green	470nm	510nm	FAM, SybrGreen [®] , alexa488
Yellow	530nm	555nm	JOE, CalGold [®] , CalOrange [®] , TET, Yakima Yellow, VIC [®] , HEX, alexa532
Orange	585nm	610nm	RQX, Redmond Red [®] , alexa568
Red	625nm	660nm	Cy5, Quasar670 [®] , LCRred640 [®]
Crimson	680nm	710hp	Quasar705 [®] , LCRred705 [®] , alexa680
HRM	460nm	510nm	LCGreen [®]

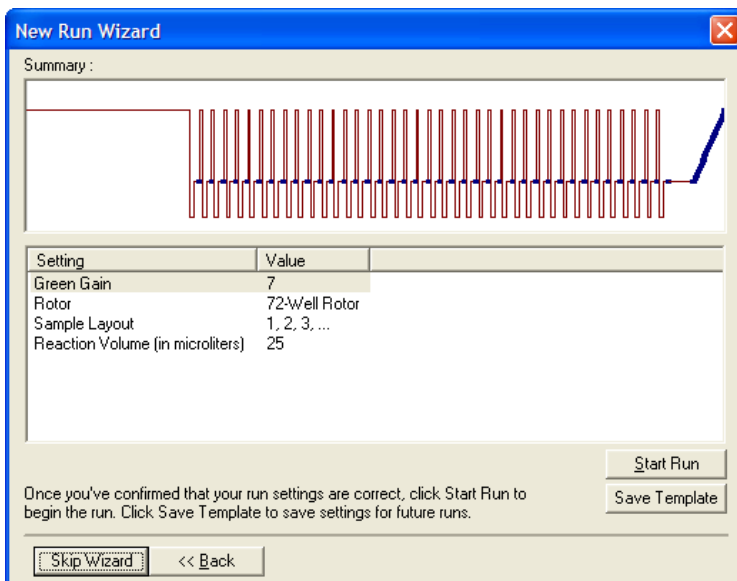
8. Seadke HRM tingimused. Modifitseerige tingimusi nii, et need sobiksid amplikonile. Esimesteks eksperimentideks valige lai sulamiskiirkond. Sobiva vahemiku määramiseks kasutage teoreetilist T_m väärtust. Kui olete kindlaks teinud, millal produkt sulab, vähendage sulamisvahemikku umbes 10°C- ni. Veenduge, et sulamise algus on 5°C enne esimest sulamis-üleminekut. Vaikimisi temperatuurikasv on 0.1°C, iga etapi inkubeerimisaeg on 2 sekundit. Minimaalne temperatuurikasv on 0.05°C, iga etapi inkubeerimisajaga 1 sekund. Andmed kogutakse automaatselt HRM kanalis. Vaikimisi viiakse läbi automaatne tundlikkuse optimeerimine (*gain optimization*). Tarkvara otsib optimaalset tundlikkust nii, et kõrgeim fluorestsentsväärtus ei oleks suurem kui 70 ühikut skaalal 100. Seda saab suurendada maksimaalselt 100-ni.



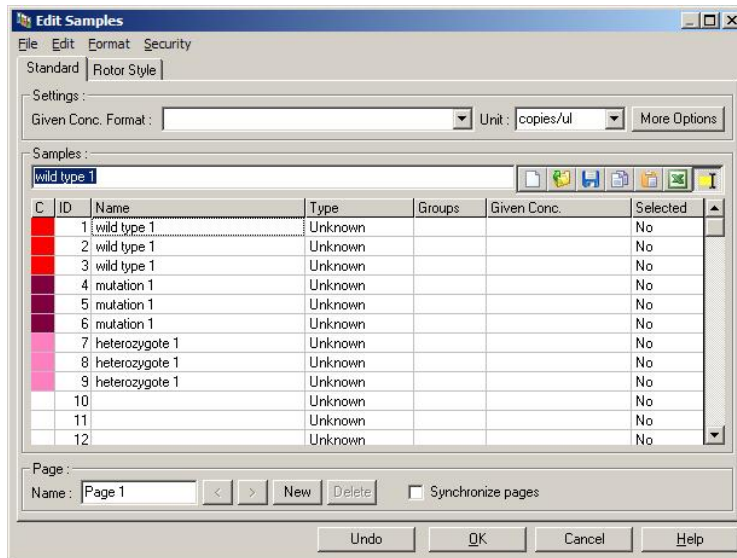
9. Valikuline: Seadke "Auto-Gain Optimisation". See käib ainult reaalaja amplifikatsiooni etapi kohta ja seatakse rohelisele kanalile. Klõpsake "Optimize Acquiring" nuppu (et optimeerida ainult eksperimendis kasutatavad kanalid). Optimeerimist on parim läbi viia just enne esimest andmete kogumise etappi, seega märkige "Perform Optimization Before First Acquisition" kast. Interkaleerivate värvide soovituslik taustfluorestsents on 1 kuni 3 fluorestsents-ühikut. Selle seade muutmiseks klõpsake nimekirjas kanali nimel, et seda valida ja seejärel klõpsake "Edit" nuppu.



10. Käivitage eksperiment klõpsates “Start Run” ja salvestades eksperimentifaili oma arvutisse.



- Redigeerige proovide nimed (valikuline). Proovide nimesid saab sisestada eksperimendi ajal või pärast selle lõppu.



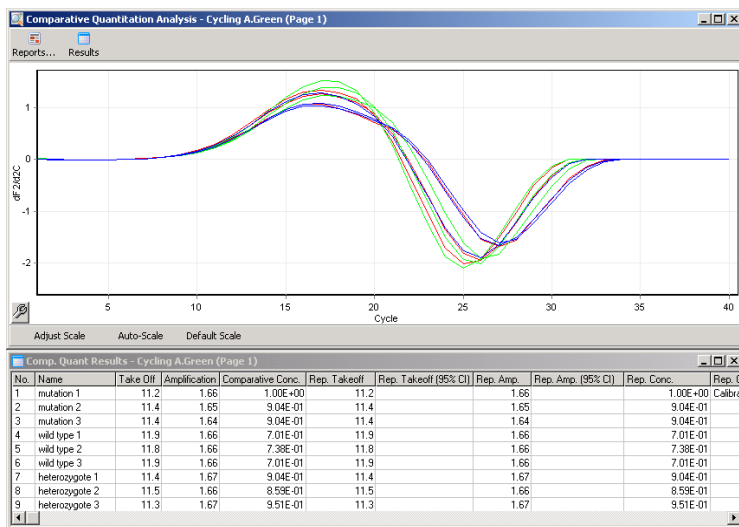
11.8 Reaalaja PCR andmete analüüs

Enne HRM andmete analüüsi on kasulik analüüsida reaalaja PCR andmeid. Reaalaja PCR andmeid võivad välja tuua kehvadid proovid. Nende eemaldasujate identifitseerimine ja järgnevalt HRM analüüsist eemaldamine parandab märgatavalt HRM analüüsi üldist efektiivsust, sest halva kvaliteediga PCR produkti analüüsimine annab kehvad HRM tulemused. Soovitame reaalaja PCR kvantitatiivseid andmeid analüüsida järgnevalt.

- Analüüsige reaalaja andmeid kasutades "Analysis" akna "Quantitation" valikut. Kui mõni C_T väärtus on 30 või kõrgem, loetakse vastavad reaktsioonid liiga hilja amplifitseerunuks. Neid proove tuleb analüüsida kahtlevalt või eemaldada need analüüsist kui eemaldasjad. Liiga hilist amplifitseerumist põhjustavad tavaliselt liiga

vähene algmaterjali hulk ja/või oluline proovi degradatsioon.

- Hinnake fluorestsentsi lõpptaset. Kui mõne amplifikatsioonigraafiku lõpp-fluorestsents on teiste proovidega võrreldes madal, jätke need proovid analüüsist välja isegi siis, kui nende C_T väärtus on alla 30. Madal fluorestsentsi lõpptase võib viidata ebakorrektssele värvihulgale, ebakorrektssele reaktsioonikomponentide (nagu praimerid) tasemele või inhibiitorite olemasolule.
- Kasutage "Analysis" akna "Comparative Quantitation" valikut, et saada iga proovi reaktsiooniefektiivsus. Kui efektiivsus ei ole eksperimendi teistele reaktsioonidele sarnane või on vähem kui ligikaudu 1.4, jätke proov välja kui eemalasuja.



Võrdleva kvantitseerimise tulemused. Reaktsiooniefektiivsus on toodud "Amplification" tulbas, maksimaalne väärtus on 2 (2 = 100% efektiivsus).

Märkus: Kui kahtlustate praimerid dimeeride või mitespetsiifiliste produktide esinemist, hinnake reaktsioone "Analysis" akna "Melt" valiku graafiku

abil. Veenduge, et graafikul on üks piik, mis viitab ühele produktile. Kui võimalik, kontrollige ühe amplifikatsiooniproducti esinemist geelil. Kui esineb rohkem kui üks produkt, tuleks reaktsiooni korrata või uuesti optimeerida.

11.9 HRM andmete analüüs

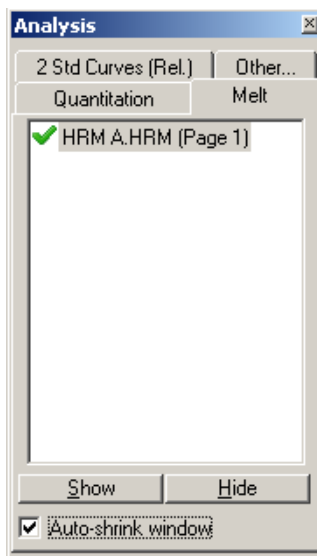
HRM analüüsil on võimalik genotüüpe määrata nii visuaalselt kui automaatselt. Tulemusi saab vaadata kas normaliseeritud sulamiskõverana või diferentsiaalgraafikuna. Normaliseeritud kõverad on erinevate genotüüpide põhiline vaatamisviis põhinedes kõvera nihkumisel (homosügootide puhul) ja kõvera kuju muutusel (heterosügootide puhul).

Diferentsiaalgraafikud kergendavad visuaalset tõlgendamist. Sellel graafikul kuvatakse proovi fluorestsentsi muutus valitud kontrolli suhtes igal temperatuuri üleminekul. Diferentsiaalgraafik pakub alternatiivset viisi sulamiskõverate üleminekute erinevuste vaatamiseks.

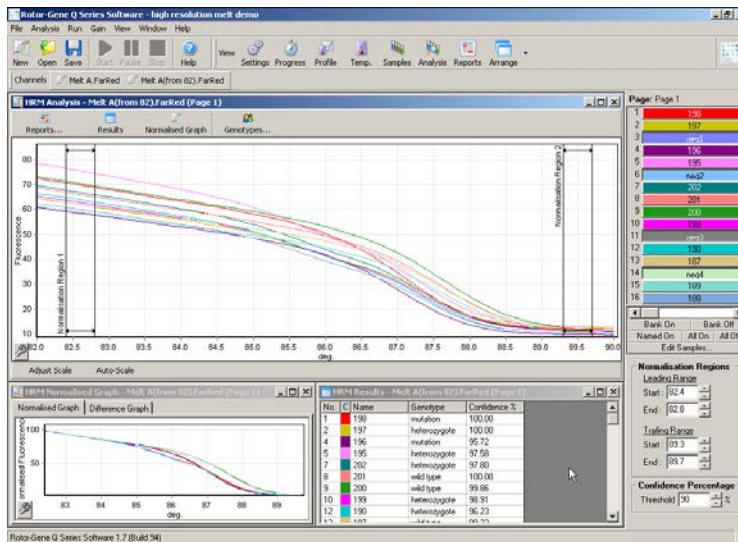
Märkus: Sulamiskõvera analüüsi esimene tuletis (nagu kasutatakse "Analysis" akna standardse "Melt" valiku puhul) ei ole HRM analüüsiks sobiv. Iga andmete tuletis lisab kunstlikku müra ja muudab andmete tõlgendamise keerulisemaks.

Järgmised sammud kirjeldavad HRM tulemuste analüüsi Rotor-Gene Q tarkvaras.

1. Valige "Analysis" aknas "HRM" valik.

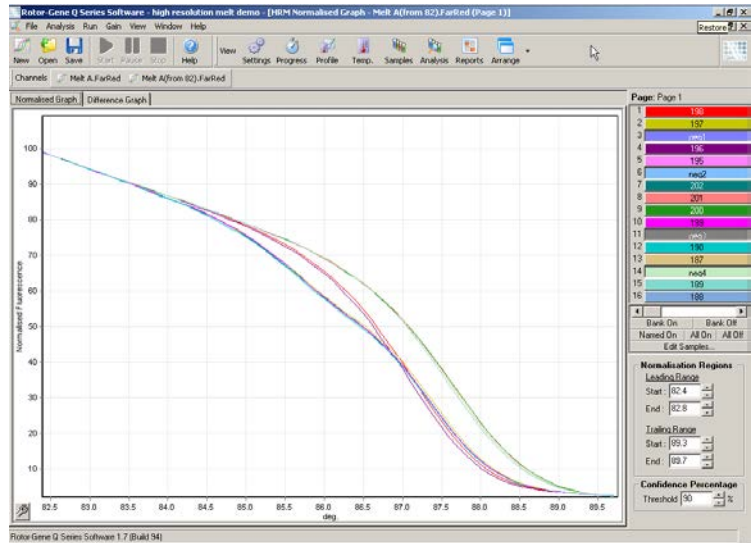


- Ilmuvad aknad toorandmete, normaliseeritud graafiku ja tulemustega. Toorandmete aken võimaldab normaliseerimise regioonide kohandamist. Normaliseerimise tulemusena on võimalik kõiki kõveraid võrrelda sama alg- ja lõpp-fluorestsentsignaali tasemel, et hõlbustada tõlgendamist ja analüüsi. Regioonis on kaks kursorit, mis vaikinisi asuvad kõvera servades. Regioonide andmepunkte kasutatakse fluorestsentsi (ainult y-telg) sulamiskõvera alguse (Region 1) ja lõpu (Region 2) normaliseerimiseks. Määratud regioonidest väljaspool asuvaid andmeid ignoreeritakse. Kohandage andmeid nii, et need hõlmaksid vastavaid taust-andmeid pre-sulamis- ja post-sulamis faasis. Regioonide laiendamine (klõpsates ja tirdes) võimaldab tarkvaral kohaneda tausta kaldega. Efektivse normaliseerimise huvides vältige normaliseerimise regioonide laiendamist sulamisfaasi.



Märkus: Kursoreid peaks liigutama ainult siis, kui soovite vältida sulamiskõvera osi. Kursorite liigutamine sulamisfaasi üleminekute suunas võib mõjutada graafikuid ja usaldusprotsente.

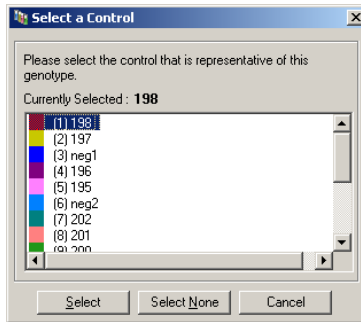
3. "Normalised Graph" aknas kuvatakse normaliseeritud sulamiskõverad. Proove saab vaadata ka diferentsiaalgraafikuna ühe kontrolli suhtes.



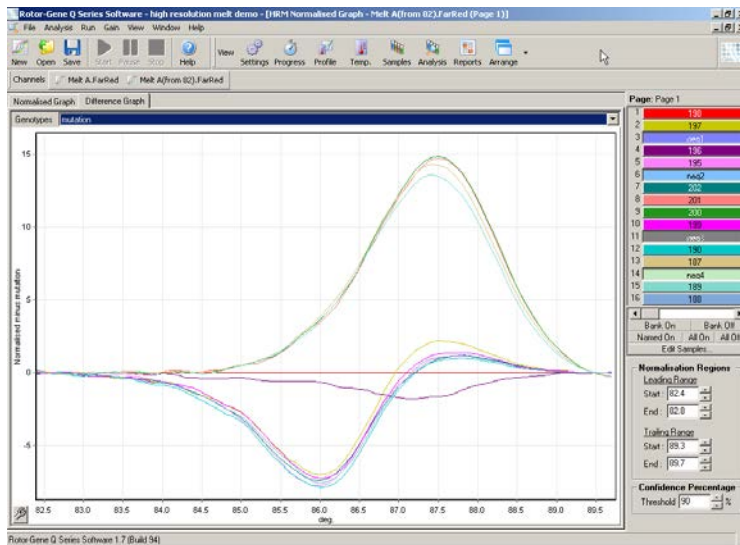
4. Klõpsake “Genotypes...” nupul, et defineerida genotüübid. Sisestage iga genotüübi-kategooria nimi ja valige sellele vastav proov proovide nimekirjast.

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

Clear OK Cancel Help

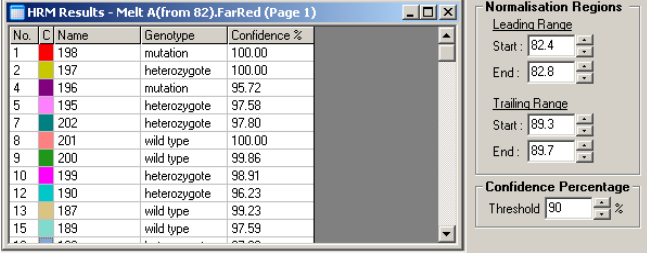


5. Vaadake diferentsiaalgraafikut valides "Difference Graph" saki. Seejärel valige akna ülaosas asuvast rippmenüüst genotüüp, millega soovite kõiki teisi proove võrrelda. Toodud näites on kõik proovid kuvatud proovide "Mutation 1" keskmise kõvera suhtes.



6. "Results" aknas kuvab tarkvara automaatselt määratud genotüübid. Automaatselt määratud tulemustele antakse usaldusprotsent. Lävendväärtust, üle mille genotüüp automaatselt määratakse, saab muuta. Proovid, mis jäävad allapoole määratud lävendväärtust, märgitakse

varieeruvateks (*variation*), neid peaks lähemalt uurima või uuesti testima.



The screenshot shows a software window titled "HRM Results - Melt A(from 82),FarRed (Page 1)". It contains a table with columns for "No.", "C", "Name", "Genotype", and "Confidence %". To the right of the table is a "Normalisation Regions" panel with input fields for "Leading Range" (Start: 82.4, End: 82.8), "Trailing Range" (Start: 89.3, End: 89.7), and "Confidence Percentage" (Threshold: 90%).

No.	C	Name	Genotype	Confidence %
1		198	mutation	100.00
2		197	heterozygote	100.00
4		196	mutation	95.72
5		195	heterozygote	97.58
7		202	heterozygote	97.80
8		201	wild type	100.00
9		200	wild type	99.86
10		199	heterozygote	98.91
12		190	heterozygote	96.23
13		187	wild type	99.23
15		189	wild type	97.59

Normalisation Regions

Leading Range
Start: 82.4
End: 82.8

Trailing Range
Start: 89.3
End: 89.7

Confidence Percentage
Threshold: 90 %

See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

12 Vigade otsimine

12.1 Logi arhiivid

Tarkvara hoiab logi arhiivis iga eksperimendi kohta modifitseerimata raportit koos diagnostilise infoga. Kasutades Abi (Help) Send Support Email võimalust saate QIAGENi tehnilisele toele saata E-kirja, milles on kogu vajalik diagnostiline info (vt peatükk 7.12.1).

Kettaruumi säästmiseks hoitakse logi arhiivis 60 viimase eksperimendi andmeid. Vanemad logid kirjutatakse uute eksperimentide logi arhiivi salvestamisel üle.

12.2 HRM vigade otsimine

Kommentaariid ja soovitusid

Ei saa HRM läbi viia

Rotor-Gene Q MDx mudel ei võimalda HRM analüüsi	Kontakteeruge oma kohaliku QIAGENi esindajaga.
---	--

HRM andmeid ei koguta

Ebakorrektne ettevalmistamine	<p>Kontrollige filtriseadeid.</p> <p>Kontrollige, kas rootori tüüp on õige.</p> <p>Kontrollige, kas kasutati õigeid reagente.</p> <p>Kontrollige, kas reaktsioon pipeteeriti korrektselt.</p> <p>Viige läbi positiivne kontroll-eksperiment (nt. analüüs, mis teadaolevalt annab tulemusi).</p>
-------------------------------	---

Kommentaariid ja soovitused

Graafikud on sakilised

Amplifitseerumine on kehv või pole toimunud

Kontrollige, kas kasutati korrektseid protokolle ja reagente. Soovitame HRM analüüsiks QIAGENi kitte.

Kontrollige, kas reaktsioon pipeteeriti korrektset.

Kontrollige tsükleerimise tingimusi.

Kontrollige algmaterjali kvaliteeti ja kvantiteeti. Soovitame proovi ettevalmistamiseks QIAGENi kitte.

Amplifikatsiooni- või sulamiskõverad on küllastatud

Tundlikkus (Gain) liiga kõrge

Kasutage "Auto-Gain Optimisation" võimalust (vt lk 6-24).

Usaldusprotsendid on muutunud

Normaliseerimise regioone liigutati klõpsates ja tirides

Liigutage normaliseerimise regioone ainult siis, kui see on vajalik mõne sulamiskõvera osa vältimiseks.

Andmetes on eemalasujad (*outliers*)

Ebakorrektne reaktsiooni ettevalmistus

Kontrollige, kas kasutati korrektseid reagente.
Kontrollige, kas tuubid on ühtsed.

Inhibiitorid proovis

Kontrollige, kas kõikide proovide puhul kasutati sama mastermiksi.

Algmaterjali liiga vähe või algmaterjal degradeerunud

Kontrollige algmaterjali kvaliteeti ja kvantiteeti.

12.3 Instrumendi üldised vead

Veateade

Kommentaarid ja soovitused

Can't open the serial port <COMPORT>

See viga esineb tarkvara käivitamisel, kui tarkvara ei saa konfigureeritud COM pordi kaudu instrumendiga ühendust. Seda põhjustavad sageli vigased või lahtised kaablid, vigased jadapordid, vigased USB-pordid, USB draiveri probleem või USB-seeria ülemineku draiveri probleem.

Ühendage kaabel uuesti või vahetage see välja. Installeerige vastavad draiverid uuesti. Avage tarkvara virtuaalses režiimis ja valige "File" menüüs "Setup/Auto-Detect button", et konfigureeritud COM port algseadistada.

Chamber lid open

See viga esineb siis, kui tarkvara tuvastab eksperimendi käigus, et kaas on avatud.

Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software.

Taaskäivitage masin ja avage tarkvara uuesti.

Chamber lid open

See viga esineb siis, kui kasutaja üritab eksperimenti käivitada nii, et instrumendi kaas on avatud.

The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue.

Sulgege instrumendi kambri kaas ja seejärel klõpsake "Continue".

Communication corrupted

See viga esineb siis, kui instrumendist saadavad andmed ei vasta oodatud seaduspärale.

Instrumendi probleemi tuvastamiseks on vaja QIAGENi tehniku poolset edasist uurimist.

Palun kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.

Veateade	Kommentaariid ja soovitused
Communication out of sequence	See viga esineb siis, kui instrumendist saadavad andmed ei ole korrektses järjekorras.
Instrument has received data from the machine that is out of sequence.	Instrumenti probleemi tuvastamiseks on vaja QIAGENi tehniku poolset edasist uurimist. Palun kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.
Communication protocol error	See viga esineb siis, kui riistvaras konfigureeritud kommunikatsiooniprotokoll ei ole sama kui eeldatav protokoll.
A communication protocol error occurred with this run.	Kommunikatsiooniprotokolli või instrumendi probleemi tuvastamiseks on vaja QIAGENi tehniku poolset edasist uurimist.
Detector motor jam, stopped machine	See viga võib esineda siis, kui Rotor-Gene Q MDx käivitatakse külmas kliimas kohe pärast kohale transportimist. Sellisel juhul tuleb lasta instrumendil toatemperatuuril aklimatiseeruda vähemalt tund aega enne kui instrumendi sisse lülitate. Kui viga kordub, palun kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.
Fatal hardware malfunction	See viga esineb siis, kui tarkvara tuvastab eluliselt tähtsa riistvara talitlushäire ja aktiveerib turvalise protseduuri instrumendi välja lülitamiseks.
The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction. Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor.	Lülitage instrument koheselt välja ja kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.

Veateade	Kommentaariid ja soovitused
<p>Machine error</p> <p>This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file.</p>	<p>See viga esineb siis, kui tarkvara tuvastab instrumendil vigu, millest ei suudeta taastuda. Tarkvara peatas eksperimendi.</p> <p>Proovige järgmist eksperimenti. Kui probleem kordub kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega ning lisage vastav arhiivifail.</p>
<p>Machine unplugged</p> <p>The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE >. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software.</p>	<p>See viga esineb siis, kui instrument ei suhtle tarkvaraga pärast defineeritud aega. Seda põhjustab sageli instrumendi viga või PC liigne aktiivsus, mis viib paketi kaotamiseni.</p> <p>Tavalised tarkvaraga seotud põhjused on suurt protsessori mahtu nõudvad ülesanded, nagu pidevad või planeeritud antiiviruse skaneeringud, <i>wireless</i> kaardid või infrapuna-kaardid.</p> <p>Inaktiveerige või desinstalleerige asjassepuutuv protsessor-intensiivne tarkvara/ülesanne.</p> <p>Taaskäivitage instrument ja avage tarkvara uuesti.</p> <p>Probleemi kordumisel palun kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.</p>

Veateade	Kommentaariid ja soovitused
Machine unplugged The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME>. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue.	See viga esineb siis, kui jada- või USB-ühendus instrumendiga kaob. Ühendage jada- või USB-kaabel uuesti arvuti tagaosaga ja seejärel klõpsake "Continue" nuppu.
Object variable or with block variable not set	See viga esineb tarkvara käivitamisel kui vaikumisi eksperimendivorm on rikutud. See võib juhtuda siis, kui tarkvara/arvuti lülitus välja ilma korrektselt väljumata, näiteks voolukatkestuse ajal. Kustutage fail C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret ja seejärel taaskäivitage tarkvara.
Rotor speed failure Time out while setting the rotor speed.	See viga esineb siis, kui tarkvara üritas rootori kiirust seada, kuid ei saavutanud ettenähtud ajaga määratud kiirust. Instrumendi probleemi tuvastamiseks on vaja QIAGENi tehniku poolset edasist uurimist. Palun kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.

Veateade	Kommentaariid ja soovitused
Serial port in use The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry."	See viga esineb siis, kui tarkvara üritab konfigureeritud COM pordi kaudu instrumendiga ühendust saada, kuid porti kasutab muu tarkvara. Sulgege kõik rakendused nagu kommunikatsiooni või sünkroniseerimise tarkvarad ja proovige uuesti.
Shutdown timeout The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software.	See viga esineb siis, kui tarkvara on andnud käsu instrument välja lülitada, kuid instrument saadab siiski infot pärast eeldatavat ajapikendust. Taaskäivitage instrument ja avage tarkvara uuesti.
Temperature protection activated The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists.	See viga esineb siis, kui tarkvara tuvastab, et kambri temperatuur on tõusnud üle turvalise piiri, ja aktiveerib turva-protseduuri. Lülitage instrument koheselt välja ja kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.

Veateade

Kommentaariid ja soovitused

Thermistor is open

The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off. Please contact your distributor if this occurs again.

See viga esineb siis, kui tarkvara tuvastab, et termistor on avatud ja seega ei suuda temperatuuri lugeda; tarkvara algatas turva-protseduuri instrumendi välja lülitamiseks.

Lülitage instrument koheselt välja ja kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.

Unrecoverable errors occurred

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file.

See viga esineb eksperimendi kestel, kui tarkvara on igati püüdnud taastuda ning see pole õnnestunud.

Instrumendi probleemi tuvastamiseks on vaja QIAGENi tehniku poolset edasist uurimist.

Palun kontakteeruge oma edasimüüja või QIAGENi tehnilise toega.

12.4 Rotor-Gene Q tarkvara teated

Järgmises nimekirjas on kasutus-, hoiatus- ja muud teated, mis võivad Rotor-Gene tarkvaras riistvara ja tarkvara kasutamise ajal ilmuda. Teate varieeruvad osad, st. iseloomulikud veakirjeldused, on toodud nurksulgudes (nt. < VEAKIRJELDUS >).

Teate tekst	Tõlge
Üldteated	
1. A raw channel already exists for this page. If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again.	Sellele leheküljele on juba olemas toorandmete kanal. Kui soovite seda lehekülge uuesti luua, peate esmalt Options nupu abil toorkanali kustutama ja uuesti proovima.
2. A serious problem has occurred which requires shutting down the software. After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible. If this problem persists, please contact your distributor.	Esineb tõsine probleem, mis vajab tarkvara sulgemist. Pärast OK klõpsamist salvestatakse teie praegune töö ja masin lülitub võimalusel välja. Kui probleem kordub, kontakteeruge oma edasimüüjaga.
3. Cannot delete this page. There must always be at least one sample page.	Ei saa seda lehekülge kustutada. Alati peab olema vähemalt üks proovi lehekülg.
4. Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry	Ei saa instrumendiga ühendust jadaporti <COMPORT> kaudu. Kontrollige, kas masin on korrektselt arvutiga ühenduses, ja siis proovige uuesti.

Teate tekst	Tõlge
5. Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry.	Ei saa avada jadaporti <COMPORT>, et instrumendiga ühenduda. Kontrollige, et kommunikatsioonitarkvara poleks avatud ja proovige uuesti.
6. Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again.	Ei saanud eksperimenti salvestada, sest osa andmeid oli vigane. Kontrollige oma sisestused ja proovige uuesti.
7. Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors.	Ei saanud faili salvestada. Veenduge, et kettal on piisavalt ruumi ja sellel pole vigu.
8. E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer.	E-kirja rakendust ei suudetud käivitada. Veenduge, et see on arvutisse korrektselt installeeritud.
9. Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION>. The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info.	Eksperimendis tuli ette viga: <ERROR DESCRIPTION>. Eksperiment jätkub ja teade salvestatakse „Run Info“ teadete sakis.
10. Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on.	Instrumenti ei tuvastatud. Veenduge, et instrument on korrektselt ühendatud ja sisse lülitatud.
11. Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted.	Logid on eelneva vea tõttu desaktiveeritud. Arhiveeritud logide vaatamiseks tuleb tarkvara taaskäivitada.

Teate tekst	Tõlge
12. Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low.	Kõiki proove ei suudetud normaliseerida, sest fluorestsents oli liiga madal.
13. Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported.	Importida saab ainult sama rootoriga läbi viidud eksperimente.
14. Please note that log files for the current run will not be available until it has completed.	Käesoleva eksperimendi kohta ei saa logifaile vaadata enne kui eksperiment on lõppenud.
15. Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0.	Palun sisestage kehtiv korduste arv. See peaks olema enam kui 0.
16. Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run.	Logi andmete uuendamisel tekkis probleem. Logid on desaktiveeritud, kuid aktiveeritakse järgmiseks eksperimendiks.
17. Run file signing ensures the integrity of your run results. Information about a run's signature can be found in the Run Info window.	Ekspirimendifailide signatuur kindlustab eksperimendi tulemuste terviklikkuse. Infot signatuuri kohta saate "Run Info" aknast.
18. Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples.	Proovide ID on lukustatud. Ei saa kleepida lukustatud proove.
19. TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software.	TeeChart Office ei ole sellel arvutil installeeritud. Palun installeerige Rotor-Gene uuesti.
20. The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port.	Instrumendile konfigureeritud COM port ei ole valitud. Peate valida COM pordi.

Teate tekst	Tõlge
21. The loaded run file contains a signature which does not match the file contents. This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software.	Avatud eksperimendifaili signatuur ei sobi selle sisuga. Fail on kas rikutud või muudetud pärast Rotor-Gene tarkvaras salvestamist.
22. The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed.	Avatud eksperimendifailil pole signatuuri. Selle faili sisu ei saa garanteerida.
23. The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long.	Instrumendi seerianumber ei ole kehtiv. Seerianumbrid peavad olema vähemalt 6 numbri pikkused.
24. The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees. The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine. Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes.	Instrument jahutatakse nüüd temperatuurini <TEMPERATURE> kraadi. Kamber ja pinnad on endiselt väga kuumad, kui masina avate. Palun olge ettevaatlik ja kandke pindade või tuubide puudutamisel kaitsekindaid.
25. The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching.	Arvuti regionaalsed seaded on vastukäivad. Veenduge, et valuuta ja kümnendkohad on sobivad.

Teate tekst	Tõlge
26. The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2>. The computer's serial number has now been updated to match the connected machine.	Algekraanil sisestatud seerianumber <SERIAL NUMBER1> ei vasta ühendatud instrumendi seerianumbrile <SERIAL NUMBER2>. Arvuti seerianumber uuendati, et see sobiks ühendatud instrumendiga.
27. There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry.	Oli probleem kommunikatsioonipaneeliga suhtlemisel. Võite arvuti taaskäivitada ja siis uuesti proovida.
28. There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in.	Instrumendiga suhtlemise katse võttis liiga kaua aega. Kontrollige, kas see on õigesti sisse lülitatud.
29. This feature cannot be used in virtual mode.	Seda funktsiooni ei saa virtuaalses režiimis kasutada.
30. This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly.	See profiilifail loodi Rotor-Gene tarkvara uuemas versioonis. Mõned aspektid ei pruugi korrektselt avaneda.
31. This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the run may not load correctly.	See eksperimendifail loodi Rotor-Gene tarkvara uuemas versioonis. Mõned aspektid ei pruugi korrektselt avaneda.

Teate tekst	Tõlge
32. This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly.	See proovifail loodi Rotor-Gene tarkvara uuemas versioonis. Mõned aspektid ei pruugi korrektselt avaneda.
33. This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes. You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu.	See tarkvara viib läbi masina simulatsiooni õppe- ja demonstratsioonieesmärgil. Selle seade saate desaktiveerida Setup aknas, mille saate avada File menüüs.
34. This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly.	See vorm loodi Rotor-Gene tarkvara uuemas versioonis. Mõned aspektid ei pruugi korrektselt avaneda.
35. Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run.	Seda proovifaili ei saa laadida, sest tuubide paigutus ei kattu. Laadige need proovid enne eksperimendi käivitamist.
36. Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT>. Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry.	Instrumendiga ei saa kontakti, sest muu rakendus kasutab <COMPORT>. Kontrollige, et sama jadaporti kasutavad rakendused poleks aktiivsed, ja proovige uuesti.
37. Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded.	Faali laadimisel tuli ette taastumatuid vigu. Faali ei laetud.
38. You cannot stop the program while the run is in progress.	Eksperimendi jooksul ei saa programmi peatada.

Teate tekst	Tõlge
39. You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups.	Teil ei ole tarkvara kasutamiseks piisavalt õigusi. Palun kontakteeruge gruppide määramiseks võrguadministraatoriga.
40. You must have performed a quantitation analysis to export samples.	Proovide eksportimiseks peab olema tehtud kvantifitseerimise analüüs.
41. You must select a COM port before continuing.	Enne jätkamist peate valima COM pordi.
42. Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run.	Eksperimenti ei saanud salvestada vaikimisi asukohta. Järgmises aknas valige faili salvestamiseks alternatiivne koht.
43. Your settings have been saved. Click OK to close the software.	Teie seaded on salvestatud. Klõpsake OK, et tarkvara sulgeda.
44. You must select a rotor before continuing.	Enne jätkamist peate valima rootori.
45. You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached.	Eksperimenti ei saa käivitada enne, kui olete märkinud kasti, et lukustusrõngas on kinnitatud.
"Autogain" kohandamise teated	
46. Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile. As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment.	Manuaalsel tundlikkuse kohandamisel kasutatakse teie profiilis defineeritud kanaleid. Kui te pole profiilis andmete kogumise punkte defineerinud, ei saa manuaalselt tundlikkust kohandada.

Teate tekst	Tõlge
47. The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature.	Teie sisestatud temperatuuri ei salvestatud, sest see jäi masina lubatud piiridest välja. Sisestage kehtiv temperatuur.
"Editor" teated	
48. Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas.	Palun sisestage kehtiv grupi kood. Grupi kood on maksimaalselt 5 tähemärki ega tohi sisaldada tühikuid ega komasid.
49. Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty.	Palun sisestage kehtiv grupi nimi. Grupi nimi ei tohi sisaldada komasid ega olla tühi.
Optilise denatureerimisega kalibreerimise teated	
50. Unable to set as optical denature point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value.	Ei saa seada optilise denatureerumise punktiks kalibreerimise nurjumise tõttu. Palun sisestage kehtiv inkubeerimise aeg sekundites. See peaks olema positiivne väärtus.
51. A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration. This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample. A timed step profile was run instead.	Optilise denatureerimisega kalibreerimisel ei detekteeritud sulamispiiki. Selle põhjuseks võib olla kalibreerimiseks vale tuubi valimine või selle proovi jaoks ebasobiva keemia kasutamine. Eksperimendis kasutati ajatatud etappi.
OTV teated	

Teate tekst	Tõlge
52. You must enter a valid OTV serial number to perform the run.	Eksperimendi käivitamiseks tuleb sisestada kehtiv OTV seerianumber.
53. This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error.	See temperatuuri kontrollimise fail on rikutud. Vea parandamiseks palun desinstalleerige Rotor-Gene tarkvara.
54. This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed.	Sellel eksperimendifailil ei ole korrektset signatuuri. Tulemusi ei saa kuvada.
55. You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly.	Alustada ei saa enne kui kast fluorestseeruva vahekihi korrektse paigaldamise kohta on märgitud.
56. This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement.	Rootor on aegunud. Palun kontakteeruge oma edasimüüjaga asenduse saamiseks.
Turvamenüü teated	
57. Could not open the Windows user/group manager.	Ei saanud avada Windows kasutaja/grupi akent.
58. Could not create groups.	Ei saanud gruppe luua.
59. Cannot modify access of inbuilt accounts.	Sisseehitatud kontode ligipääsu ei saa muuta.
Analüüsi menüü	
60. You have only selected one channel for analysis. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window.	Olete analüüsiks valinud ainult ühe kanali. Mitme kanali valimiseks tirige nelinurk nende kanalite ümber, mida soovite analüüsi valimise aknas kuvada.

Teate tekst	Tõlge
61. You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed.	Olete analüüsiks valinud mitu kanalit. Selle analüüsimeetodi puhul on võimalik ainult ühe kanali analüüsimine.
Kontsentratsiooni mõõtmise teated	
62. Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position.	Kontsentratsiooni mõõtmisel viiakse rootori esimeses positsioonis läbi automaatne tundlikkuse kohandamine. Veenduge, et kõrgeima kontsentratsiooniga standard on esimeses positsioonis.
Lõpp-punkti analüüsi teated	
63. To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK.	Lõpp-punkti analüüsi kasutamiseks peavad igas kanalis olema positiivsed ja negatiivsed kontrollid. Nende kontrollide defineerimiseks klõpsake OK.
64. You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing.	Te pole defineerinud positiivseid kontrole. Peate defineerima positiivsed kontrollid iga analüüsitava kanali jaoks.
65. You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing.	Te pole defineerinud negatiivseid kontrole. Peate defineerima negatiivsed kontrollid iga analüüsitava kanali jaoks.
66. You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group.	Te pole defineerinud NTC kontrole. Peate defineerima NTC kontrollid iga grupi jaoks.

Teate tekst	Tõlge
HRM analüüsi teated	
67. Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined.	Genotüübile <GENOTYPE NAME> ei ole defineeritud kontrolli.
68. Duplicate genotype combinations are not allowed.	Dubleeritud genotüübi kombinatsioonid ei ole lubatud.
69. High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information.	Instrument ei toeta kõrge lahutavusega sulamisanalüüsi. Lisainfot saate oma edasimüüjalt.
Sulamisanalüüsi teated	
70. The genotypes cannot be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again.	Genotüüpe ei saa enne defineerida kui kastid (<i>bin</i>) on defineeritud. Defineerige kastid ja proovige uuesti.
71. You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype.	Peate sisestama genotüübile <GENOTYPE NAME> lühendi.

Teate tekst

Tõlge

Hajuvusgraafiku analüüsi teated

72. Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window, or click while holding the SHIFT key on each channel.
- Hajuvusgraafiku analüüsiks on vaja valida täpselt 2 kanalit. Mitme kanali valimiseks tirige nelinurk nende kanalite ümber, mida soovite analüüsi valimise aknas kuvada, või klõpsake igal kanalil samal ajal SHIFT nuppu all hoides.

Kvantifitseerimise analüüsi teated

73. The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards. To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..."
- Lävendi automaatse määramise funktsiooniks on vaja defineerida vähemalt 2 standardit. Selle seadmiseks parem-klõpsake proovide nimekirjal ja valige "Edit Samples..."

13 Sõnastik

Termin	Kirjeldus
Andmete kogumine - <i>Acquisition</i>	Andmete kogumine on fluorestsents-andmete kogumine. Igas kanal is kogutud andmed (fluorestsents-andmete kogumik) kuvatakse tarkvaras analüüsimate andmetena "Raw channel" aknas. Neid andmeid saab analüüsida kasutades "Analysis" menüü võimalusi.
CE-IVD	Vastavus <i>in vitro</i> diagnostilise meditsiiniseadme Euroopa Direktiivile 98/79/EC.
Kanal - <i>Channel</i>	Kanal koosneb valgusdiodist (LED) koos paaris ergastus- ja emissioonifiltriga. LED ja ergastusfilter ergastavad proove kindlal lainepikkusel. Proovidest eralduv fluorestsents liigub läbi emissioonifiltri ja seejärel detekteeritakse fotokordisti abil.
Kastid - <i>Bins</i>	Sulamisanalüüsis määratakse kastid selle regiooni defineerimiseks, kus eeldatakse sulamispigi esinemist. Genotüüpe saab defineerida piikide esinemise alusel kindlates piikides või piikide kombinatsioonides.
Laadimisalus - <i>Loading Block</i>	Laadimisalused on mitmes formaadis alumiiniumist blokid, mida kasutatakse tuubide või Rotor-Disc'ide hoidmiseks reaktsiooni pipeteerimise ajal. Rotor-Disc laadimisaluseid kasutatakse koos Rotor-Disc Heat Sealer instrumendiga Rotor-Disc'ide sulgemiseks.
Lukustusrõngas - <i>Locking Ring</i>	Lukustusrõngad on metallist rõngad, mis kinnitatakse rootori peale vältimaks tuubide avanemist Rotor-Gene Q MDx töötsükli ajal. Lahtised korgid ja tuubid võivad instrumenti kahjustada.

Termin	Kirjeldus
Rooror	Metallist roooror hoiab Rotor-Gene Q MDx instrumendis tube või Rotor-Disc'e. see võimaldab proovidel instrumendi kambris tiirelda ja kindlustab proovide korrektse joondamise optilise süsteemi suhtes. Roororile käib peale lukustusrõngas.
Rotor-Disc	Rotor-Disc'id on tsirkulaarsed plaadid, mis koosnevad vertikaalsetest proovipesadest. Saadaval on Rotor-Disc formaadid 72 ja 100 reaktsioonile. Rotor-Disc'id suletakse Rotor-Disc Heat Sealing Film (kuumsulgemis-kile) ja Rotor-Disc Heat Sealer instrumendi abil.
Tundlikkus - <i>Gain</i>	Rotor-Gene Q MDx kasutab fluorestsentsi footonite kogumiseks ja elektroonilisteks signaalideks muutmiseks fotokordistit. Tundlikkus on seade, mis määrab fotokordisti tundlikkuse. Kui tundlikkus on liiga kõrge, on signaal üleküllastatud. Kui tundlikkus on liiga madal, ei ole signaali võimalik taustamürast eristada.
Tundlikkuse optimeerimine - <i>Gain</i> <i>Optimisation</i>	Tundlikkuse optimeerimine on protsess, mille käigus tundlikkust dünaamiliselt kohandatakse, võimaldades valida sobiv seade, mis annab optimaalse signaali.

Lisa A

Tehnilised andmed

QIAGEN jätab endale õiguse igal ajal spetsifikatsioone muuta.

Keskkonnatingimused

Töötingimused

Vool	100–240 V AC, 50–60Hz, 520 VA (tipp) Voolu tarbimine 60 VA (ootel) Võrgutoite pinge kõikumine ei tohi ületada 10% nominaalsest pingest.
Kaitse	F5A 250 V kaitse
Kuumuse hajumine/ termokoormus	Keskmine: 0.183 kW (632 BTU/tunnis) Tipp: 0.458 kW (1578 BTU/tunnis)
Ülepinge kategooria	II
Õhutemperatuur	18 kuni 30°C (64 kuni 86°F)
Suhteline niiskus	10–75% (mittekondenseeruv)
Kõrgus	Kuni 2000 m (6500 ft.)
Kasutamise koht	Ainult siseruumides kasutamiseks
Saastetase	2
Keskkonnaklass	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

Transporditingimused

Õhutemperatuur -25°C kuni 60°C tootja pakendis

Suhteline niiskus Max. 75% (mittekondenseeruv)

Keskonnaklass 2K2 (IEC 60721-3-2)

Hoiustamise tingimused

Õhutemperatuur 15°C kuni 30°C tootja pakendis

Suhteline niiskus Max. 75% (mittekondenseeruv)

Keskonnaklass 1K2 (IEC 60721-3-1)

Mehhaanilised andmed ja riistvara omadused

Mõõtmed Laius: 370 mm
 Kõrgus: 286 mm
 Sügavus (ilma juhtmeteta): 420 mm
 Sügavus (kaas avatud): 538 mm

Kaal 12.5 kg standard-konfiguratsioonis

Läbilaskevõime Kuni 100 ühes analüüsis, kasutades Rotor-Disc 100

Tarkvara Rotor-Gene Q tarkvara (versioon 2.3.4)

Termo-spetsifikatsioonid

Kirjeldus	Spetsifikatsioon
Temperatuurivahemik	35°C kuni 99°C (50°C kuni 99°C tsükliliste rakenduste puhul)
Temperatuuri täpsus	$\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (kalibreeritud Rotor-Disc OTV protseduuriga)
Temperatuuri lahutavus	$\pm 0.02^{\circ}\text{C}$ (vähim programmeeritav samm)
Temperatuuri ühtsus	$\pm 0.02^{\circ}\text{C}$

Optilised spetsifikatsioonid

Kirjeldus	Spetsifikatsioon
Ergastusallikad	Suure energiaga valgusdiodid (LED)
Detektor	Fotokordisti
Andmete kogumise aeg	4 s

FCC deklaratsioon

“United States Federal Communications Commission” (USFCC) (47 CRF 15. 105) teatas, et selle toote kasutajad peavad olema teadlikud järgmistest faktidest ja tingimustest.

“See seade vastab FCC osale 15:
Kasutamine allub järgmistele kahele tingimusele: (1) See seade ei või põhjustada kahjulikku vahelesegamist, ja (2) see seade peab aktsepteerima igasuguse vahelesegamise, sealhulgas sellise, mis võib põhjustada ebasoovitavat talitlust.”

“See Klass B digitaalne aparatuur vastab Kanada standardile ICES-0003.”

Järgmine väide käib selles kasutusjuhendis kaetud toodete kohta, juhul kui siin pole teisiti öeldud. Teiste toodete kohta on väited kaasasolevas dokumentatsioonis.

Märkus: Seda aparatuuri on testitud ja leitud oleva vastava Klass B digitaalse seadme piiridega, vastavalt FCC reeglite Osale 15 ja vastab kõigile Canadian

Interference-Causing Equipment Standard ICES-003 nõuetele digitaalse aparatuuri kohta. Need piirid on mõeldud pakkuma elamupiirkonnas kasutamisel mõistlikku kaitset kahjuliku vahelesegamise vastu. Seade tekitab, kasutab ja võib kiirata raadiolaineid ning juhistele mitte vastava installeerimise ja kasutamise korral võib põhjustada kahjulikke häireid raadiosides. Sellegipoolest ei ole garantiid, et vahelesegamist ei tule ette konkreetse installatsiooni puhul. Kui seade põhjustab kahjulikke häireid raadio- või tele-vastuvõtul, mida saab kindlaks teha seadet sisse ja välja lülitades, võiks kasutaja proovida häireid vähendada ühe või mitme järgmise meetme abil:

- Muutke vastuvõtva antenni suunda või asukohta
- Suurendage vahet seadme ja vastuvõtja vahel
- Ühendage seade teises vooluringis olevasse pistikusse kui vastuvõtja

Pöörduge abi saamiseks edasimüüja või kogunud raadio/TV tehniku poole.

QIAGEN GmbH Germany ei ole vastutav raadio- või teleside häirete eest, mida põhjustab seadme autoriseerimata modifitseerimine või muude ühenduskaablite ja seadmete asendamine või ühendamise kui QIAGEN GmbH, Germany määratud. Selliste autoriseerimata modifitseerimise, asendamise või ühendamise tõttu tekkinud häirete kõrvaldamise eest vastutab kasutaja.

Vastavuse deklaratsioon

Seadusliku tootja nimi ja aadress

QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden

Saksamaa

Kehtivat vastavusdeklaratsiooni saate taotleda
QIAGENi tehnilisest toest.

Elektri- ja elektroonikaseadmete jäätmed (WEEE)

Selles peatükis on info elektri- ja elektroonikaseadmete jäätmete käitlemise kohta.

Läbikriipsutatud prügikasti sümbol (vt allpool) näitab, et seda toodet ei tohi koos muude jäätmetega ära visata; see tuleb viia heakskiidetud töötlemiskeskusesse või kindlasse taaskasutuse kogumispunkti, vastavalt kohalikele õigus- ja haldusnormidele.

Elektroonikaseadmete jäätmete eraldi kogumine ja taaskasutamine aitab säästa looduslikke ressursse ja kindlustab toote taaskasutamise inimeste tervist ja keskkonda kaitsval viisil.



QIAGEN võib soovi alusel lisatasu eest taaskasutusteenust pakkuda. Euroopa liidus võtab QIAGEN vastavalt WEEE taaskasutuse nõuetele vastutuse ja juhul, kui asendusseadme tarnijaks on QIAGEN, pakutakse WEEE-märgiga elektroonikaseadmetele tasuta taaskasutust.

Elektroonikaseadmete taaskasutamiseks kontakteeruge oma QIAGENi edasimüüjaga, et saada vajalik tagastamise vorm. Kui vorm on sisse antud, kontakteerub teiega QIAGEN kas elektroonikaseadme äraviimiseks aja kokku leppimiseks või individuaalse hinnapakumise tegemiseks.

See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

Lisa B

Selles lisas kirjeldatakse detailsemalt kasutatud matemaatilisi tehnikaid.

Kvantifitseerimine

Arvutatud kontsentratsioonid saadakse lihtsa lineaarse regressiooni mudeli abil, teadaolevad väärtused on log kontsentratsioonid (x) ja katselised väärtused C_T väärtused (y).

Standardite log kontsentratsioone ja C_T väärtusi kasutatakse järgmises formaadis mudeli loomiseks:

$$y = Mx + B$$

Arvutatud kontsentratsioonide usalduspiirid

Me kasutame uue vaatluse x_0 erinevuse hindamiseks standardkõverast järgmist usalduspiiri $100(1 - \alpha)\%$.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

See on ühe tundmatu kontsentratsiooni usalduspiir.

Oletame, et meil on k järgnevat vaatlust $x = x_0$ ja me tähistame nende keskmise \bar{Y}_0 . Siis,

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

ja ülaltoodud argumentidele sarnaselt saame

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

See valem määrab, kuidas tundmatute proovide korduste kontsentratsioonide usalduspiire määratakse.

Standardite hindamiseks saab võtta kitsama usalduspiiri:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

See valem tähendab, et standardse individuaalse kontsentratsiooni korduste lisamisel väheneb n suurenemisel kõikide hinnangute intervall. Tundmatule suure arvu korduste lisamisel väheneb selle ebakindlus ühe standardi omale. Lisakordused vähendavad ebakindlust, sest need ei ole osa lineaarsest mudelist.

C_T väärtuste usalduspiirid

Eeldame, et korduste C_T väärtuste viga on lineaarne ja normaalselt jaotunud.

Seega kasutame Ühe-Proovi t Usalduspiire. Las μ

tähistab korduste C_T väärtuste $(x_0 \dots x_{n-1})$ keskmist väärtust. Siis on C_T väärtuse μ usalduspiir $100(1 - \alpha)\%$:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Tahame tänada Peter Cook'i NSW Ülikooli (Sydney, Australia) Matemaatika teaduskonnast, kelle abi oli kasutatud matemaatiliste lähenemiste verifitseerimisel hindamatu.

Lisa C

Rotor-Gene Q MDx tooted, lisad ja kuluvahendid

Toode	Sisu	Kat. nr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex	Reaalaja PCR termotsükler 2 kanaliga (roheline, kollane), sülearvuti, tarkvara, lisad, 1-aastane garantii	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM	Reaalaja PCR termotsükler ja HRM analüsaator 2 kanaliga (roheline, kollane) pluss HRM kanal, sülearvuti, tarkvara, lisad, 1-aastane garantii	9002012
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Reaalaja PCR termotsükler 5 kanaliga (roheline, kollane, oranž, punane, tulipunane), sülearvuti, tarkvara, lisad, 1-aastane garantii	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Reaalaja PCR termotsükler ja HRM analüsaator 5 kanaliga (roheline, kollane, oranž, punane, tulipunane) pluss HRM kanal, sülearvuti, tarkvara, lisad, 1-aastane garantii	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Reaalaja PCR termotsükler 6 kanaliga (sinine, roheline, kollane, oranž, punane, tulipunane), sülearvuti, tarkvara, lisad, 1-aastane garantii	9002042
Lisad		
Rotor-Disc 100 Starter-kitt	Kitt sisaldab: 2 pakki Rotor-Disc 100, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 rootor ja lukustusrõngas, Rotor-Disc 100 laadimisalus, Rotor-Disc Pipetting Aid	Tehke päring

Toode	Sisu	Kat. nr.
Rotor-Disc 100 (30)	30 eraldi pakitud ketast 3000 reaktsioonile	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 eraldi pakitud ketast 30,000 reaktsioonile	981313
Rotor-Disc 100 rootor	Rotor-Disc 100 ketaste kasutamiseks Rotor-Gene Q MDx-s; vajab Rotor-Disc 100 lukustusrõngast	9018895
Rotor-Disc 100 lukustusrõngas	Rotor-Disc 100 Rotor-Disc 100 rootorisse lukustamiseks	9018896
Rotor-Disc 100 laadimisalus	Alumiiniumblokk reaktsioonide manuaalseks ja automatiseeritud ettevalmistamiseks Rotor-Disc 100 ketastes	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Pipeteerimisabi pesade märkimiseks manuaalsel reaktsioonide ettevalmistamisel Rotor-Disc laadimisalusel	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Kuumsulgemise instrument Rotor-Disc'idega kasutamiseks; vajab Rotor-Disc 72 või 100 laadimisalust	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 kilet Rotor-Disc 100 või Rotor-Disc 72 ketaste kuumsulgemiseks	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 kilet Rotor-Disc 100 või Rotor-Disc 72 ketaste kuumsulgemiseks	981604
Rotor-Disc 72 Starter-kitt	Kitt sisaldab: 3 pakki Rotor-Disc 72, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 rootor ja lukustusrõngas, Rotor-Disc 72 laadimisalus, Rotor-Disc Pipetting Aid	Tehke päring

Toode	Sisu	Kat. nr.
Rotor-Disc 72 (24)	24 eraldi pakitud ketast 1728 reaktsioonile	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 eraldi pakitud ketast 17,280 reaktsioonile	981303
Rotor-Disc 72 rootor	Rotor-Disc 72 ketaste kasutamiseks Rotor-Gene Q MDx-s; vajab Rotor-Disc 72 lukustusrõngast	9018899
Rotor-Disc 72 lukustusrõngas	Rotor-Disc 72 Rotor-Disc 72 rootoris	9018900
Rotor-Disc 72 laadimisalus	Alumiiniumblokk reaktsioonide manuaalseks ja automatiseeritud ettevalmistamiseks Rotor-Disc 72 ketastes	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 4-tuubilist riba ja korki 1000 reaktsioonile	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 4-tuubilist riba ja korki 10,000 reaktsioonile	981106
72 tuubi rootor	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, hoidmiseks; vajab 72 tuubi rootori lukustusrõngast	9018903
72 tuubi rootori lukustusrõngas	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, lukustamiseks 72 tuubi rootoris	9018904
72 x 0.1 ml tuubi laadimisalus	Alumiiniumblokk reaktsioonide manuaalseks ettevalmistamiseks ühe-kanalise pipetiga 72 x 0.1 ml tuubis	9018901
72 x 0.1 ml laadimisalus, Multi-channel	Alumiiniumblokk reaktsioonide ettevalmistamiseks mitme-kanalise pipetiga 72 x 0.1 ml tuubis	9018902

Toode	Sisu	Kat. nr.
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 õhukest tuubi 1000 reaktsioonile	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 õhukest tuubi 10,000 reaktsioonile	981008
36 tuubi rootor	PCR Tubes, 0.2 ml, hoidmiseks; vajab 36 tuubi rootori lukustusrõngast	9018907
36 tuubi rootori lukustusrõngas	PCR Tubes, 0.2 ml, lukustamiseks 36 tuubi rootorisse	9018906
96 x 0.2 ml tuubi laadimisalus	Alumiiniumblokk reaktsioonide manuaalseks ettevalmistamiseks standardses 8 x 12 paigutuses kasutades 96 x 0.2 ml tuubi	9018905
Rotor-Disc OTV Kitt	Rotor-Gene süsteemide optilise temperatuuri verifitseerimise kitt, sisaldab termokromaatiliste vedelik-kristallidega Rotor-Disc ketast, fluorestseeruvaid vahekihte, kalibreerimisfailidega CD-d; vajab Rotor-Disc 72 rootorit ja lukustusrõngast või Rotor-Disc 72 Starter-kitti	981400
Rootorihoidja	Metallist hoidja tuubide ja Rotor-Disc'ide rootoritesse paigutamiseks	9018908

Uusima loetelu QIAGENi kittide kohta, mis on ettenähtud kasutamiseks Rotor-Gene Q MDxiga, külastage palun www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

Lisa D

Vastutuse klausel

QIAGEN ei anna instrumendile garantiid kui parandusi või modifikatsioone on teinud inimesed, kes ei ole QIAGENi töötajad, välja arvatud juhtudel kui Firma on selliste paranduste või modifikatsioonide läbiviimiseks andnud kirjaliku nõusoleku.

Kõigile garantii korras vahetatud osadele kehtib garantii ainult esialgse garantii ulatuses ja mitte kauem kui originaal-garantii aegumistähtaeg, välja arvatud siis kui Firma ametnik on selle kirjalikult autoriseerinud. Väljund-seadmetele, liiteseadetele ja ühendatud tarkvarale kehtiv garantii ainult nende toodete tootja antud perioodiks. Ükskõik kelle, ka QIAGENi esindaja, tehtud vastuolulised või selle garantii tingimustega konfliktised representatsioonid ja garantiid ei ole Firmale siduvad, kui just neid kirjalikul kujul QIAGENi ametniku poolt heaks ei kiideta.

See lehekülg jäeti tahtlikult tühjaks

Indeks

—A—

Alleelne eristamine, 7-47
 Andmete kogumine, 6-15
 Auditi rajad, 7-95
 Automaatne lävendi otsimine, 7-20
 Automaatne skaala, 7-2
 AutoStat funktsioon, 7-24

—C—

C_T arvutamine, 7-18
 Ct märkus, 7-21

—D—

Delta delta C_T suhteline
 kvantifitseerimine, 7-36
 Detekteerimisparameetrid, 3-4
 Detekteeritavad fluorofoorid, 3-4
 Detektori optimeerimine, 6-11, 6-24
 käsitsi, 6-28
 Dünaamilise toru normaliseerimine,
 7-25, 7-50

—E—

Edasijõudnute startaken, 6-7
 Eemalasujate kõrvaldamine, 7-27
 Efektiivsus, 7-15, 7-29
 Eksperiment
 ava, 7-7
 paus, 7-66
 salvesta, 7-7
 seaded, 7-67
 signatuurid, 7-96
 start, 7-66
 stopp, 7-66
 uus, 7-6
 Eksponentsiaalne amplifikatsioon, 7-
 29

Eksportimine

andmed, 8-5
 graafikud, 8-2
 LinReg'i, 7-9
 nativne formaat, 8-4
 Ergastusparameetrid, 3-4
 Ettevaatust, 1-1

—G—

Genotüübid

alleelne eristamine, 7-49
 hajuvusgraafiku analüüs, 7-51
 lõpp-punkti analüüs, 7-54, 7-60
 sulamiskõvera analüüs, 7-43
 Grupid, 7-81

—H—

Hajuvusgraafiku analüüs, 7-49

Hoiatused, 1-1
 Hoiustamine, 2
 Hooldamine, 9-1
 edasijõudnute startaken, 6-9
 HRM
 analüüs, 7-64, 11-1, 11-19
 edasijõudnute startaken, 6-9
 juhised, 11-7
 kiire startaken, 6-3
 kitid, 11-3
 metüleerimisanalüüs, 11-5
 proovi degradeerumine, 11-9
 reaallaja PCR, 11-17
 SNP genotüpiseerimine, 11-3
 tarkvara, 11-9
 tsükkel, 6-18
 vigade otsimine, 12-1
 Hübridiseerimine, 6-17

—I—

Ignoreeri esimesi, 7-27, 7-50

Instrumendi valikud, 7-67

—J—

Jäätmetest vabanemine, 1-7

Jäta tsükleid välja, 7-3

—K—

Kahe standardkövera meetod, 7-31

Kahe-etapiline, 6-2, 6-9

Kalibraatori kordused, 7-46

Kalle, 7-29

Kanalid, 3-4, 7-68

Kasutaja

mitu kontot, 7-94

rollide määramine Win7, 7-93

Kasutamine

riistvara, 5-1

tarkvara, 6-1

tingimused, 1-5, 1

Keskkond, 1-5

Kiire startaken (Quick Start), 6-1

Kohanda skaalat, 7-2

Kolme-etapiline pluss sulamisköver, 6-2, 6-8

Kontsentratsiooni analüüs, 7-61

standardid, 7-62

Korrelatsioonikoefitsent, 7-15

Kvantifitseerimine, 7-13, 1

Kvantifitseerimise tulemuste aken, 7-20

—L—

Laadimisalus, 5-4

Lahti pakkimine, 4-6

Lävend, 7-19

Lehekülg, 7-3, 7-4, 7-77

LinReg

eksportimine, 7-9

Logi arhiivid, 12-1

Long Range, 6-15

Löpp-punkti analüüs, 7-53

kontrollid, 7-56

Lukustamine

proovid, 7-98

vormid, 7-100

Lukustusrõngas

36-tuubi rootor, 5-1

72-tuubi rootor, 5-2

Rotor-Disc 100, 5-3

Rotor-Disc 72, 5-2

—M—

Menüü

abi, 7-102

aken, 7-102

analüüsimine, 7-11

eksperiment, 7-66

fail, 7-5

kuvamise võimalused, 7-83

tundlikkus, 7-101

turvalisus, 7-84

vaade, 7-67

Mutrivõtme ikoon, 8-6

—N—

Normaliseerimine, 7-2

dünaamiline toru, 7-25, 7-50

lõpp-punkti analüüs, 7-57

Nukleiinhapete kontsentratsiooni

mõõtmine, 6-3, 7-61

—O—

Ohutus

bioloogiline, 1-5

elektriline, 1-3

hooldamine, 1-8

jäätmetest vabanemine, 1-7

kemikaalid, 1-6

korrektne kasutamine, 1-1

kuuma oht, 1-8

mehhaanilised ohud, 1-7

proovid, 1-5

toksilised aurud, 1-7

Optiline süsteem, 3-2

Optiline temperatuuri kontroll, 10-1
 Optilise denatureerimisega
 tsükleerimine, 6-18
 OTV, 10-1
 Outlook, 7-106

—P—

Paigaldamine, 4-1
 maanduse nõuded, 4-2
 nõuded arvutile, 4-2
 nõuded asukohale, 4-1
 riistvara, 4-7
 tarkvara, 4-9
 voolunõuded, 4-2
 Port, 4-11, 7-11
 Praimeri dimeerid, 11-18
 Profiili edenemine, 7-72
 Profiili muutmise aken, 6-5, 6-12
 Proovi lehekülje vastavuse aken, 7-80
 Proovide muutmise aken, 6-7, 6-31,
 7-73
 rootori stiil, 7-79
 Proovitüübid, 7-75

—R—

Raporti vaatamise aken, 7-9, 7-13, 7-
 43
 Reaktsiooni ettevalmistamine, 5-4
 Rotor
 36-tuubi, 5-1
 72-tuubi, 5-2
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-2
 spetsifikatsioonid, 5-4
 tüübid, 5-1
 valik, 6-4, 6-9
 Rotor-Disc
 ettevalmistamine, 5-9
 kuumsulgemine, 5-9
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-2
 Rotor-Disc OTV kitt, 10-2

—S—

Seadete aken, 7-10
 Security
 configuration Win7, 7-85
 Seerianumber, 4-11
 Sihtotstarbeline kasutamine, 2-2
 Skaala, 8-1
 Spetsifikatsioonid
 optilised, 3
 riistvara, 2
 termo, 2
 Standardkõver, 7-14
 arvutamine, 7-16
 eksportimine, 7-15
 importimine, 7-16
 kahe standardkõvera meetod, 7-
 31
 kohakuti asetamine, 7-15
 valem, 7-15, 7-30
 Sulamine, 6-17
 Sulamiskõvera analüüs, 7-40
 kastid, 7-42
 piigid, 7-42
 Sulamiskõvera tulemuste aken, 7-43
 Sümbolid, 1-10
 Summutatud FRET, 6-2

—T—

Tarkvara
 uuendused, 4-22
 veateated, 12-8
 versioon, 4-12
 Taustakalde korrektsioon, 7-26, 7-50
 Teated, 7-68
 TeeChart Office, 8-4, 8-6
 Tehniline abi, 2-1
 Temperatuuri graafik, 7-71
 Temperatuuri hoidmine, 6-13
 Termosüsteem, 3-1
 Toorandmed, 7-1
 Tööriistariba, 7-1
 Touchdown, 6-15
 Transportimine, 2
 Tsükleerimine, 6-14

Tugi, 7-103
Tühi eksperiment, 6-8
Tundliikkuse seaded, 7-101
Turvalisus, 7-70, 7-84
Tuubide paigutus, 7-70

—U—

Usalduspiirid, 2
User
 creating account Win7, 7-85, 7-92

—V—

Vahetaja, 7-3
Vaikimisi skaala, 7-2
Vastavused, 7-80
Veateade, 12-3

Versioon, 2-2
Vigade otsimine, 12-1
 HRM, 12-1
 Rotor-Gene Q MDx, 12-3
Viige läbi eelmine eksperiment, 6-2,
 6-8
Virtuaalne režiim, 4-11, 7-10
Võrdlev kvantifitseerimine, 7-44
Vormid
 alleelne eristamine, 7-49, 8-1
 edasijõudnute startaknasse
 lisamine, 6-9
 hajuvusgraafiku analüüs, 7-52, 8-1
 kiirese startaknasse lisamine, 6-3
 kvantifitseerimine, 7-31, 8-1
 lõpp-punkti analüüs, 7-61, 8-1
 sulamisanalüüs, 7-44, 8-1

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

Tellimline www.qiagen.com/shop | Tehniline tugi support.qiagen.com | Veebisait www.qiagen.com

