

2018. gada septembris

Rotor-Gene[®] Q lietotāja rokasgrāmata

IVD

CE

MAT 1114365LV



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VÄCIJA

R3



Sample & Assay Technologies

Pārskatīšanas vēsture

Pārskatījuma Nr.	Izmaiņu apraksts
R3 09/2018	Ar Microsoft Windows XP saistītie norādījumi ir aizstāti ar norādījumiem par Windows 10 lietošanu. Pievienota informācija par Windows 7 drošības konfigurācijas parametriem. Pārskatīti norādījumi par pretvīrusu skenēšanas programmām, ugunsdzēsības un tīkliem.

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 vai tā meitasuzņēmumi); Bluetooth® (Bluetooth SIG, Inc.); CAL Fluor®, Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.); Core™, Intel® (Intel Corporation); Cy® (GE Healthcare); EvaGreen® (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.). Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes u. c. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

TeeChartOffice: Autortiesības 2001.–2013. pieder Deividam Berneda (David Berneda). Visas tiesības aizsargātas.

Attiecīgo valstu ievērbai

Šis reālā laika termoprocesors ir licencēts saskaņā ar iesniegtā ASV patenta tiesībām par aparāturu vai sistēmām, kas ietver automatiskos termoprocesorus ar fluorescences detektoriem, un tam ir prioritāte uz ASV sērijas Nr. 07/695,201 un attiecīgajām prasībām uz jebkādiem ārzemju līdzvērtīgiem patentiem, kas pieder Applied Biosystems LLC visās nozarēs, tostarp pētniecībā un izstrādē, visas attiecīgās jomās, kā arī cilvēku un dzīvnieku izcelsmes paraugu in vitro diagnostikā. Skaidri vai pēc saskaņīgas rīcības principa (estoppel) nav noteiktas neviena patenta par reāllaika metodi, tostarp (bet ne tikai) 5' nukleāzes analīzi, vai jebkura patenta, kas nosaka reaģenta vai komplekta piederību, īpašumtiesības. Lai iegūtu sīkāku informāciju par papildu tiesību iegādi, sazinieties ar Applied Biosystems Licencēšanas nodaļas direktoru, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, ASV.

Attiecīgo valstu ievērbai

Šī izstrādājuma iegāde ietver ierobežotu, nenododamu licenci uz vienu vai vairākiem ASV patentiem 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; ASV patenta pieteikuma Nr. 2003-0224434 un 2006-0019253, PCT patenta pieteikuma Nr. WO 2007/035806, visi turpmāk pieteiktie un dalāmie patenti, kā arī attiecīgās pieteiktās prasības ārpus ASV iesniegtos tādos patentos un patenti pieteikumos, kas pieder Jutas Universitātes Pētniecības fondam, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH, un/vai Roche Diagnostics GmbH un kas attiecas tikai uz cilvēku un dzīvnieku izcelsmes paraugu in vitro diagnostiku. Skaidri vai pēc saskaņīgas rīcības principa (estoppel) nav noteiktas reaģenta vai komplekta vai saskaņā ar jebkura cita patenta vai prasības par patentu, kas pieder Jutas Universitātes Pētniecības fondam, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH vai jebkurai citai pusei, noteiktas īpašumtiesības. Šo izstrādājumu drīkst lietot tikai kopā ar apstiprinātiem reaģentiem, piemēram, ar pilnībā licencētiem QIAGEN komplektiem un analīzēm. Lai iegūtu sīkāku informāciju par in-vitro diagnostikas programmu vai reaģentu licencēm, sazinieties ar Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, ASV.

Jaunāko informāciju par licencēšanu un konkrētā izstrādājuma juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja rokasgrāmatas skatiet vietnē www.qiagen.com vai tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

© 2005–2018 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas. HB-1760-003 1114365 09/2018.

Saturš

1.	Drořības informācija	1-1
1.1.	Pareiza lietošana	1-2
1.2.	Elektriskā drořība	1-4
1.3.	Vide	1-5
1.4.	Bioloģiskā drořība	1-5
1.5.	Ķīmikālijas	1-7
1.6.	Atkritumu likvidēšana	1-7
1.7.	Bīstamas detaļas	1-8
1.8.	Augstas temperatūras risks	1-9
1.9.	Tehniskā apkope	1-10
1.10.	Apzīmējumi uz Rotor-Gene Q MDx korpusa	1-11
2.	Ievads	2-1
2.1.	Vispārīga informācija	2-1
2.1.1.	Tehniskais atbalsts	2-1
2.1.2.	Politikas nostādne	2-2
2.1.3.	Informācija par versiju	2-2
2.2.	Rotor-Gene Q MDx paredzētais lietošanas veids	2-2
3.	Vispārīgs apraksts	3-1
3.1.	Termiskā veikspēja	3-1
3.2.	Optiskā sistēma	3-3
4.	Uzstādīšanas procedūras	4-1
4.1.	Uzstādīšanas vietas prasības	4-1
4.2.	Maiņstrāvas pieslēgums	4-2
4.3.	Personālā datora prasības	4-2

4.4.	Windows 7 drošības konfigurēšana	4-4
4.5.	Rotor-Gene Q MDx iekārtas izsaiņošana	4-6
4.6.	Piederumi	4-7
4.7.	Aparatūras uzstādīšana	4-7
4.8.	Programmatūras instalēšana	4-9
4.9.	Programmatūras versija	4-13
4.10.	Papildu programmatūra Rotor-Gene Q MDx iekārtām pieslēgtajiem datoriem	4-14
4.10.1.	Vīrusu skeneri	4-14
4.10.2.	Ugunsdzēsības un tīrīšanas	4-15
4.10.3.	Sistēmas rīki	4-19
4.10.4.	Operētājsistēmas atjauninājumi	4-19
4.11.	Programmatūras atjaunināšana	4-22
5.	Lietošanas procedūras — aparatūra	5-1
5.1.	Rotora tipi	5-1
5.2.	Reakcijas iestatīšana	5-4
5.3.	Rotora diska iestatīšana	5-9
6.	Lietošanas procedūras — programmatūra	6-1
6.1.	Quick Start (ātrā sākšana) vednis	6-1
6.1.1.	Rotora izvēle	6-4
6.1.2.	Profila apstiprināšana	6-5
6.1.3.	Izpildes saglabāšana	6-5
6.1.4.	Parauga iestatīšana	6-6
6.2.	Advanced (detalizēti) vednis	6-7
6.2.1.	New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 1	6-9
6.2.2.	New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 2	6-9
6.2.3.	New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 3	6-10
6.2.4.	Profila rediģēšana	6-11
6.2.5.	New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 4	6-30

6.2.6.	New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 5	6-31
7.	Analīzes lietotāja saskarne	7-1
7.1.	Darbavieta	7-1
7.2.	Rīkjosla	7-1
7.3.	Skatīt jēldatu kanālus	7-1
7.4.	Paraugu pārslēgšana	7-3
7.5.	File (faila) izvēlne	7-6
7.5.1.	New (jauns)	7-6
7.5.2.	Open (atvērt) un Save (saglabāt)	7-8
7.5.3.	Reports (ziņojumi)	7-10
7.5.4.	Setup (iestatīšana)	7-11
7.6.	Analysis (analīze) izvēlne	7-12
7.6.1.	Analysis (analīze)	7-12
7.6.2.	Quantitation (kvantitācija)	7-14
7.6.3.	Two standard curve (divas standarta līknes)	7-33
7.6.4.	Delta delta C _T relative quantitation (relatīvā kvantitācija)	7-38
7.6.5.	Melt curve analysis (kušanas līknes analīze)	7-42
7.6.6.	Comparative quantitation (salīdzinošā kvantitācija)	7-46
7.6.7.	Allelic discrimination (alēļu selekcija)	7-49
7.6.8.	Scatter graph analysis (izkliedētā grafika analīze)	7-52
7.6.9.	EndPoint analysis (galapunkta analīze)	7-55
7.6.10.	Concentration analysis (koncentrācijas analīze)	7-63
7.6.11.	High Resolution Melt analysis (augstas izšķirtspējas kušanas analīze)	7-66
7.7.	Run (izpilde) izvēlne	7-68
7.7.1.	Start Run (sākt izpildi)	7-68
7.7.2.	Pause Run (pauzēt izpildi)	7-68
7.7.3.	Stop Run (apturēt izpildi)	7-68
7.8.	View (skatīt) izvēlne	7-69
7.8.1.	Run Settings (izpildes iestatījumi)	7-69
7.8.2.	Temperature Graph (temperatūras grafiks)	7-73

7.8.3.	Profile Progress (profila progress)	7-74
7.8.4.	Edit Samples (rediģēt paraugus)	7-75
7.8.5.	Display Options (displeja opcijas)	7-85
7.9.	Rotor-Gene Q programmatūras aizsardzība pret piekļuvi	7-86
7.9.1.	Konfigurēšana Windows 7 vidē	7-87
7.9.2.	Konfigurēšana Windows 10 vidē	7-94
7.9.3.	Vairāki lietotāji vienā datorā	7-96
7.9.4.	Auditācijas pieraksti	7-98
7.9.5.	Izpildes paraksti	7-99
7.9.6.	Parauga slēgšana	7-101
7.9.7.	Slēgtas veidnes	7-103
7.10.	Gain (pastiprinājuma) izvēlne	7-104
7.11.	Window (logs) izvēlne	7-105
7.12.	Help (palīdzība) funkcija	7-105
7.12.1.	Send Support E-Mail (sūtīt atbalsta e-pastu)	7-106
8.	Papildu funkcijas	8-1
8.1.	Analīzes veidnes	8-1
8.2.	Otras izpildes atvēršana	8-1
8.3.	Mērogošanas opcijas	8-1
8.4.	Grafiku eksportēšana	8-2
8.5.	Uzgriežņatslēgas ikona	8-6
8.6.	Atlasītā apgabala opcijas	8-8
9.	Tehniskās apkopes procedūras	9-1
10.	Optiskā temperatūras verifikācija	10-1
10.1.	OTV pamata princips	10-1
10.2.	Rotora diska OTV kita komponenti	10-2
10.3.	OTV procedūra	10-2

11.	High Resolution Melt (HRM) analīze	11-1
11.1.	Instrumentācija	11-3
11.2.	Ķīmikālija	11-3
11.3.	SNP genotipēšanas piemērs	11-3
11.4.	Metilācijas analīzes paraugs	11-5
11.5.	Sekmīgas HRM analīzes vadlīnijas	11-7
11.6.	Parauga sagatavošana	11-9
11.7.	Programmatūras iestatīšana	11-9
11.8.	Reāllaika PCR datu analīze	11-17
11.9.	HRM datu analīze	11-19
12.	Traucējummeklēšana	12-1
12.1.	Žurnāla arhīvi	12-1
12.2.	HRM traucējummeklēšana	12-1
12.3.	Vispārīgas iekārtas kļūdas	12-3
12.4.	Rotor-Gene Q programmatūras ziņojumi	12-10
13.	Vārdnīca	13-1
	Pielikums A	A-1
	Tehniskie dati	A-1
	Vides prasības	A-1
	FCC deklarācija	A-4
	Atbilstības deklarācija	A-6
	Elektrisko un elektronisko iekārtu atkritumi (EEIA)	A-7
	Pielikums B	B-1
	Kvantitācija	B-1



Saturs

Pielikums C	C-1
Rotor-Gene Q MDx produkti, piederumi un izejvielas	C-1
Pielikums D	D-1
Atbildības klauzula	D-1
Indekss	Indekss-1

1. Drošības informācija


Pirms Rotor-Gene Q MDx lietošanas ļoti svarīgi ir rūpīgi izlasīt šo lietotāja rokasgrāmatu, pievēršot īpašu uzmanību drošības informācijai. Lai nodrošinātu iekārtas drošu lietošanu un uzturētu iekārtu labā tehniskajā stāvoklī, jāievēro lietotāja rokasgrāmatā aprakstītās instrukcijas un drošības informācija.


Rokasgrāmatā ir izmantotas turpmāk aprakstītās drošības informācijas norādes.


<p>BRĪDINĀJUMS</p> 	<p>Termins „BRĪDINĀJUMS” tiek lietots, lai brīdinātu par situācijām, kas rada traumu risku Jums vai citiem cilvēkiem.</p> <p>Sīkāka informācija par attiecīgajiem apstākļiem ir izklāstīta šāda veida lodziņā.</p>
<p>UZMANĪBU</p> 	<p>Termins „UZMANĪBU” tiek lietots, lai brīdinātu par situācijām, kas rada bojājumu risku iekārtai vai citam aprīkojumam.</p> <p>Sīkāka informācija par attiecīgajiem apstākļiem ir izklāstīta šāda veida lodziņā.</p>


Šajā rokasgrāmatā izklāstītie drošības ieteikumi papildina, nevis aizstāj lietotāja valstī spēkā esošos drošības noteikumus.

1.1. Pareiza lietošana


BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU 	Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W1] Nepareiza Rotor-Gene Q MDx iekārtas lietošana rada personīgo traumu vai iekārtas bojājumu risku. Rotor-Gene Q MDx iekārtu drīkst lietot tikai kvalificēts personāls, kas ir atbilstoši apmācīts. Rotor-Gene Q MDx tehnisko apkopi drīkst veikt tikai QIAGEN lauka tehniskās apkopes speciālisti.
---	---


BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU 	Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W2] Rotor-Gene Q MDx ir smaga iekārta. Lai novērstu personīgo traumu vai iekārtas bojājumu risku, pārvietojiet iekārtu uzmanīgi.
---	---


BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU 	Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W3] Lietošanas laikā Rotor-Gene Q MDx nedrīkst pārvietot.
---	--


UZMANĪBU 	Iekārtas bojājumi [C1] Rotor-Gene Q MDx iekārtu nedrīkst pakļaut ūdens vai ķīmikāliju iedarbībai. Ūdens vai ķīmikāliju bojājumu gadījumā garantija zaudēs spēku.
---	--


Piezīme: avārijas gadījumā izslēdziet Rotor-Gene Q MDx iekārtas aizmugurē izvietoto strāvas slēdzi un izraujiet strāvas vadu no kontaktrozetes.


BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU 	Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W4] Eksperimenta vai Rotor-Gene Q MDx iekārtas rotora rotācijas laikā vāku nedrīkst atvērt. Pretējā gadījumā, attaisot vāka slēdzi un ievietojot iekārtā rokas, pastāv risks saskarties ar karstām, elektrizētām vai kustīgām detaļām, kas radīs personīgo traumu vai iekārtas bojājumu risku.
---	---

<p>BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU</p> 	<p>Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W5]</p> <p>Ja eksperimentu ir nepieciešams pēkšņi pārtraukt, atvienojiet iekārtu no elektroapgādes avota un tikai pēc tam atveriet vāku. Ļaujiet kamerai atdzist un tikai pēc tam izņemiet tajā ievietotos paraugus. Pretējā gadījumā, pieskaroties karstām detaļām, pakļausit sevi traumu riskam.</p>
---	---

<p>BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU</p> 	<p>Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W6]</p> <p>Izmantojot aprīkojumu ražotāja neparedzētā veidā, aprīkojuma drošība tiks pakļauta riskam.</p>
---	--

<p>BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU</p> 	<p>Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W7]</p> <p>Dažādi zem Rotor-Gene Q MDx iekārtas izvietoti priekšmeti var traucēt dzesēšanas sistēmai. Virsmai, uz kuras ir uzstādīta iekārta, jābūt tīrai un kārtīgai.</p>
---	---


<p>UZMANĪBU</p> 	<p>Iekārtas bojājumi [C2]</p> <p>Vienmēr izmantojiet rotora fiksācijas gredzenu. Šādi eksperimenta laikā mēģeņu vāki ir stingri nostiprināti. Nemiet vērā, ka vāku nokrišanas gadījumā kamera var tikt sabojāta.</p>
--	---

<p>UZMANĪBU</p> 	<p>Iekārtas bojājumi [C3]</p> <p>Pirms katra eksperimenta rūpīgi aplūkojiet rotoru, vai tas nav bojāts vai deformēts.</p>
--	--

Ja eksperimenta laikā Jūsu apģērbs ir elektrostātiski uzlādēts, un Jūs pieskarsities Rotor-Gene Q MDx iekārtai, tā var tikt atiestatīta uz noklusējuma iestatījumiem. Šādā gadījumā programmatūra restartēs Rotor-Gene Q MDx iekārtu, un eksperiments varēs turpināties.

1.2. Elektriskā drošība

Pirms tehniskās apkopes iekārtas strāvas vads ir jāizrauj no kontaktrozetes.


BRĪDINĀJUMS 	Elektriskās strāvas trieciena risks [W8] Aizsargājošā vadītāja (zemējuma/zemes vada) bojājumi iekārtas iekšpusē vai ārpusē vai aizsargājošā vadītāja spaiļes atvienošana padarīs iekārtu bīstamu. Aizsargājošo vadītāju ir aizliegts atvienot. Iekārtas iekšpusē ir komponenti, kas ir pakļauti dzīvībai bīstamiem spriegumiem. Pieslēdzot iekārtu elektroapgādes avotam, tās spaiļes elektrizēsies. Noņemot iekārtas pārsegus vai izņemot detaļas, elektriskās detaļas būs brīvi pieejamas un radīs paaugstinātu bīstamību.
---	---

Lai nodrošinātu pareizu un drošu Rotor-Gene Q MDx lietošanu, ņemiet vērā turpmāk minētos ieteikumus:

- strāvas vadu drīkst pieslēgt kontaktrozetei, kas ir aprīkota ar aizsargājošo vadītāju (zemējumu/zemi);
- iekārtas iekšējās detaļas nedrīkst regulēt vai mainīt;
- iekārtu ar noņemtiem pārsegumiem vai daļām nedrīkst darbināt;
- ja iekārtas iekšpusē ir iekļūvis šķidrums, izslēdziet iekārtu, atvienojiet no elektroapgādes avota un sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.


Ja iekārta rada elektriskās strāvas trieciena risku, brīdiniet citus darbiniekus, ka ar iekārtu ir aizliegts strādāt, un sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu. Iekārta var radīt elektriskās strāvas trieciena risku turpmāk minētajos gadījumos:


- iekārta vai strāvas vads ir bojāts;
- iekārta ir ilgstoši uzglabāta nelabvēlīgos apstākļos;
- iekārta transportēšanas laikā ir pakļauta spēcīgiem mehāniskajiem triecieniem.

BRĪDINĀJUMS 	Elektriskās strāvas trieciena risks [W9] Iekārtai ir elektriskās atbilstības marķējums, uz kura norādīts elektroapgādes avota spriegums un frekvence, kā arī drošinātāju klase. Iekārtu drīkst pieslēgt elektroapgādes avotam, kas atbilst uz marķējuma norādītajām prasībām.
---	---

1.3. Vide

Ekspluatācijas apstākļi

BRĪDINĀJUMS 	Sprādzienbīstama atmosfēra [W10] Rotor-Gene Q MDx iekārta nav piemērota lietošanai sprādzienbīstamā vidē.
---	---


UZMANĪBU 	Iekārtas bojājumi [C4] Tieša saulesgaisma var padarīt gaišākas atsevišķas iekārtas daļas un sabojāt plastmasas detaļas. Rotor-Gene Q MDx nedrīkst uzstādīt vietās, kas ir pakļautas tiešas saulesgaismas iedarbībai.
--	--

1.4. Bioloģiskā drošība

Ar paraugiem un reaģentiem, kas satur materiālus no bioloģiskiem avotiem, jāstrādā kā ar potenciāli infekcioziem materiāliem. Strādājiet saskaņā ar drošām laboratorijas procedūrām, kā aprakstīts, piemēram, „*Biodrošība mikrobioloģiskajās un biomedicīniskajās laboratorijās*”, HHS (www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm).

Paraugi

Paraugi var saturēt infekciju izraisītājus. Jums jāņem vērā šādu ierosinātāju radītos draudus veselībai, un jāuzglabā, jālieto un jālikvidē attiecīgie paraugi atbilstoši spēkā esošajiem drošības noteikumiem.


<p>BRĪDINĀJUMS</p> 	<p>Infekciju ierosinātājus saturoši paraugi ^[W11]</p> <p>Daži ar šo iekārtu lietotie paraugi var saturēt infekciju ierosinātājus. Strādājiet ar šiem paraugiem ļoti uzmanīgi un saskaņā ar nepieciešamajiem drošības noteikumiem.</p> <p>Vienmēr lietojiet aizsargbrilles, divus cimdu pārus, kā arī laboratorijas mēteli.</p> <p>Atbildīgajai personai (piemēram, laboratorijas uzraugam) jāveic visi nepieciešamie pasākumi, lai garantētu drošu darbavietu. Iekārtas lietotājiem jābūt atbilstoši apmācītiem. Eksperimenta laikā saskaņā ar spēkā esošajām drošības datu lapām (SDSs) vai OSHA*, ACGIH†, vai COSHH‡ dokumentiem iekārtas lietotāji nedrīkst tikt pakļauti veselībai bīstamai infekcijas ierosinātāju koncentrācijai.</p> <p>Izgarojumu tvaiku vēdināšana un atkritumu likvidēšana jānodrošina saskaņā ar viesiem nacionālajiem, valsts un vietējiem veselības un drošības noteikumiem un likumiem.</p>
---	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Darba drošības un veselības administrēšana) (Amerikas Savienotās Valstis).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Valdības rūpniecisko higiēnistu Amerikas konference) (Amerikas Savienotās Valstis).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Veselībai bīstamu vielu kontrole) (Apvienotā Karaliste).

1.5. Ķīmikālijas

<p>BRĪDINĀJUMS</p> 	<p>Bīstamas ķīmikālijas</p> <p>[W12]</p> <p>Dažas ķīmikālijas, kas tiek lietotas ar šo iekārtu, var būt bīstamas vai kļūt bīstamas pēc protokola izpildes pabeigšanas.</p> <p>Vienmēr lietojiet aizsargbrilles, cimdus, kā arī laboratorijas mēteli.</p> <p>Atbildīgajai personai (piemēram, laboratorijas uzraugam) jāveic visi nepieciešamie pasākumi, lai garantētu darbavietas drošību un iekārtas lietotāji netiktu pakļauti indīgo vielu (ķīmisko vai bioloģisko) veselībai kaitīgai koncentrācijai, kā noteikts spēkā esošajās drošības datu lapās (SDSs) vai OSHA*, ACGIH†, vai COSHH‡ dokumentos.</p> <p>Izgarojumu tvaiku vēdināšana un atkritumu likvidēšana jānodrošina saskaņā ar viesiem nacionālajiem, valsts un vietējiem veselības un drošības noteikumiem un likumiem.</p>
---	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Darba drošības un veselības administrēšana) (Amerikas Savienotās Valstis).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Valdības rūpniecisko higiēnistu Amerikas konference) (Amerikas Savienotās Valstis).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Veselībai bīstamu vielu kontrole) (Apvienotā Karaliste).

Indīgo izgarojumu tvaiki


Strādājot ar gaistošiem šķīdumiem vai indīgām vielām, laboratorijā jānodrošina efektīva ventilācijas sistēma radušos tvaiku atsūkņēšanai.


1.6. Atkritumu likvidēšana


Izlietotie materiāli un plastmasas izstrādājumi var saturēt bīstamas ķīmikālijas vai infekciju ierosinātājus. Šādi atkritumi ir jāsavāc un jālikvidē saskaņā ar vietējiem drošības noteikumiem.


1.7. Bīstamas detaļas


Rotor-Gene Q MDx iekārtas lietošanas laikā vākam jābūt aizvērtam.


BRĪDINĀJUMS	Kustīgās daļas [W13]
	Lai <i>Rotor-Gene Q MDx</i> iekārtas lietošanas laikā novērstu risku saskarties ar kustīgajām detaļām, vākam jābūt aizvērtam.

BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU	Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W14]
	Lai neiespiestu pirkstus vai apģērbu, atveriet un aizveriet <i>Rotor-Gene Q MDx</i> iekārtas vāku uzmanīgi.


UZMANĪBU	Iekārtas bojājumi [C5]
	Pārbaudiet, vai rotors un fiksācijas gredzens ir uzstādīti pareizi. Ja rotoram vai fiksācijas gredzenam ir novērojamas mehānisko bojājumu vai korozijas pazīmes, <i>Rotor-Gene Q MDx</i> iekārtu nedrīkst lietot. Sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.


UZMANĪBU	Iekārtas bojājumi [C6]
	Ieslēdzot aukstā vidē glabātu <i>Rotor-Gene Q MDx</i> iekārtu, tās mehāniskās detaļas var nobloķēties. Tāpēc pirms iekārtas lietošanas ļaujiet tai vismaz stundu pielāgoties istabas temperatūrai.

BRĪDINĀJUMS	Kustīgās daļas [W15]
	Ja strāvas padeves traucējumu gadījumā iekārta sabojājas, izraujiet iekārtas stāvas vadu no kontakrozetes, pagaidiet desmit minūtes un atveriet iekārtas vāku.

BRĪDINĀJUMS 	Pārkaršanas risks [W16] Lai <i>Rotor-Gene Q MDx</i> iekārtai nodrošinātu pietiekamu ventilāciju, tās sānos un aizmugurē jābūt vismaz 10 cm brīvai telpai. <i>Rotor-Gene Q MDx</i> ventilācijas spraugas un atveres nedrīkst aizsegt.
---	--





1.8. Augstas temperatūras risks

BRĪDINĀJUMS 	Karsta virsma [W17] Rotor-Gene Q MDx kamera var uzkarst līdz 120°C (248°F) vai augstākai temperatūrai. Esiet piesardzīgi un nepieskarieties virsmai, kad tā ir karsta.
---	---










BRĪDINĀJUMS 	Karsta virsma [W18] Izpildes pauzēšanas gadījumā Rotor-Gene Q MDx iekārta nepaspēs pilnībā atdzist. Pieskaroties rotoram vai mēģenēm, esiet piesardzīgi.
---	---

1.9. Tehniskā apkope


Tehniskā apkope jāveic saskaņā ar instrukcijām, kas izklāstītas 9. sadaļā. *QIAGEN* nesedz izmaksas, kas saistītas ar nepareizas tehniskās apkopes radīto bojājumu novēršanu.

<p>BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU</p> 	<p>Personīgo traumu un materiālo zaudējumu risks [W19]</p> <p>Lietotājs drīkst veikt tikai šajā lietotāja rokasgrāmatā aprakstītos tehniskās apkopes darbus.</p>
<p>BRĪDINĀJUMS</p> 	<p>Ugunsgrēka risks [W20]</p> <p>Tīrot Rotor-Gene Q MDx iekārtu ar spirta bāzes dezinfekcijas līdzekli, lai neļautu iekārtā uzkrāties viegli uzliesmojošiem tvaikiem, atveriet Rotor-Gene Q MDx vāku.</p> <p>Tīriet Rotor-Gene Q MDx iekārtu tikai tad, kad kamera ir atdzisusi.</p>
<p>BRĪDINĀJUMS/ UZMANĪBU</p> 	<p>Elektriskās strāvas trieciena risks [W21]</p> <p>Rotor-Gene Q MDx iekārtu nedrīkst izjaukt.</p>
<p>UZMANĪBU</p> 	<p>Iekārtas korpusa bojājumi [C7]</p> <p>Iekārtas korpusu nedrīkst tīrīt ar spirtu vai spirta bāzes šķīdumiem. Spirts sabojās iekārtas korpusu. Korpusu drīkst tīrīt tikai ar destilētu ūdeni.</p>

1.10. Apzīmējumi uz Rotor-Gene Q MDx korpusa

Apzīmējums	Atrašanās vieta	Apraksts
	Parauga kameras tuvumā (redzams, kad vāks ir atvērts)	Augstas temperatūras risks — kamera var uzkarst līdz 120°C (248°F) vai augstākai temperatūrai
	Iekārtas aizmugure	Skatīt lietošanas instrukcijas
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Eiropas atbilstības CE marķējums
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	<i>In vitro</i> diagnostikas medicīnas ierīce
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Kanādas un ASV CSA saraksta zīme
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Legāls ražotājs
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Eiropas WEEE zīme
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Savienoto Valstu Federālās komunikāciju komisijas FCC zīme
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Austrālijas C ķeksīša zīme (piegādātāja identifikācija N17965)

Drošības informācija

Apzīmējums	Atrašanās vieta	Apraksts
	Tehnisko datu plāksnīte iekārtas aizmugurē	Ķīnas RoHS zīme (aizliegums noteiktas bīstamas vielas lietot ar elektrisko un elektronisko aprīkojumu)

2. Ievads

Paldies, ka izvēlējāties Rotor-Gene Q MDx izstrādājumu. Mēs esam pārliecināti, ka tas kļūs par neatņemamu jūsu laboratorijas daļu.

Pirms Rotor-Gene Q MDx lietošanas ļoti svarīgi ir rūpīgi izlasīt šo lietotāja rokasgrāmatu, pievēršot īpašu uzmanību drošības informācijai. Lai nodrošinātu iekārtas drošu lietošanu un uzturētu iekārtu labā tehniskajā stāvoklī, jāievēro lietotāja rokasgrāmatā aprakstītās instrukcijas un drošības informācija.

Ņemiet vērā, ka ir pieejamas vairākas Rotor-Gene Q MDx konfigurācijas. Lai iegūtu sīkāku informāciju, tostarp informāciju par pasūtīšanu, skatiet C pielikumu.

2.1. Vispārīga informācija

2.1.1. Tehniskais atbalsts

QIAGEN uzņēmums lepojas ar sava tehniskā atbalsta kvalitāti un pieejamību. Mūsu tehniskā atbalsta nodaļās strādā pieredzējuši zinātnieki ar bagātīgu praktisko un teorētisko pieredzi molekulārās bioloģijas un QIAGEN izstrādājumu jomās. Ja Jums ir kādi jautājumi vai grūtības saistībā ar Rotor-Gene Q MDx iekārtu vai citiem QIAGEN izstrādājumiem, droši sazinieties ar mums.

QIAGEN klienti ir mūsu galvenais informācijas avots par QIAGEN izstrādājumu specifisko pielietojumu. Šī informācija ir noderīga gan citiem zinātniekiem, gan QIAGEN pētniekiem. Tādēļ mēs aicinām Jūs sazināties ar mums ikreiz, kad Jums ir jautājumi par mūsu izstrādājumu darbību vai jauniem pielietojuma veidiem un metodēm.

Tehniskajam atbalstam un papildu informācijai, lūdzu, sazinieties ar kādu no QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļām vai vietējiem izplatītājiem (skatīt rokasgrāmatas aizmugurējo vāku).

Jaunākajai informācijai par *Rotor-Gene Q MDx* izstrādājumu apmeklējiet www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

2.1.2. Politikas nostādne

QIAGEN uzņēmuma politika ir uzlabot savus izstrādājumus ikreiz, kad ir pieejamas jaunas metodes un detaļas. QIAGEN uzņēmums patur tiesības mainīt izstrādājumu tehniskās specifikācijas jebkurā brīdī.

Lai nodrošinātu noderīgu un atbilstošu dokumentāciju, mēs labprāt uzklausīsim Jūsu komentārus par šo lietotāja rokasgrāmatu. Lūdzu, sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

2.1.3. Informācija par versiju

Šis dokuments ir *Rotor-Gene Q MDx lietotāja rokasgrāmata* (versija 2.0, izdevums R1), kas paredzēta Rotor-Gene Q MDx iekārtām ar Rotor-Gene Q 2.3.4 vai jaunāku programmatūras versiju.

2.2. Rotor-Gene Q MDx paredzētais lietošanas veids

Rotor-Gene Q MDx iekārta ir paredzēta lietošanai medicīnas nozarē reāllaika termociklēšanai, detekcijai un/vai kvantitācijai ar polimerāzes ķēdes reakciju (PCR).

Rotor-Gene Q MDx iekārta ir paredzēta lietošanai ar QIAGEN piederumiem, kas paredzēti lietošanai ar Rotor-Gene Q iekārtām, lai veiktu procedūras, kas minētas attiecīgo QIAGEN piederumu rokasgrāmatās.

Ja Rotor-Gene Q MDx iekārta tiek izmantota ar komplektu, ko nav ražojis QIAGEN, lietotājs pats atbild par šādas kombinācijas atbilstību konkrētajam pielietojumam.

Rotor-Gene Q MDx iekārta ir paredzēta in vitro diagnostikas procedūrām.

Rotor-Gene Q MDx iekārtas ir paredzētas profesionāliem lietotājiem (piemēram, laborantiem un ārstiem), kas ir apmācīti molekulārās bioloģijas metodēs un darbā ar Rotor-Gene Q MDx iekārtu.

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu.

3. Vispārīgs apraksts

Rotor-Gene Q MDx ir novatoriska iekārta, kas ļauj veikt augstas precizitātes, reāllaika PCR un ir teicami piemērota in vitro diagnostikas procedūrām, kas veicamas kopā ar QIAGEN IVD marķētajiem kitiem.

Jaudīgā un lietotājam draudzīgā programmatūra ir vienkārši lietojama un atvērta eksperimentālā platforma.



3.1. Termiskā veiktspēja

Lai nodrošinātu optimālus reakcijas apstākļus, Rotor-Gene Q MDx iekārta ir aprīkota ar modernām sildīšanas un dzesēšanas tehnoloģijām. Unikālais rotācijas formāts nodrošina vienmērīgu termisko un optisko īpašību sadalījumu starp paraugiem, kas ir īpaši svarīgi precīzām un uzticamām analīzēm.

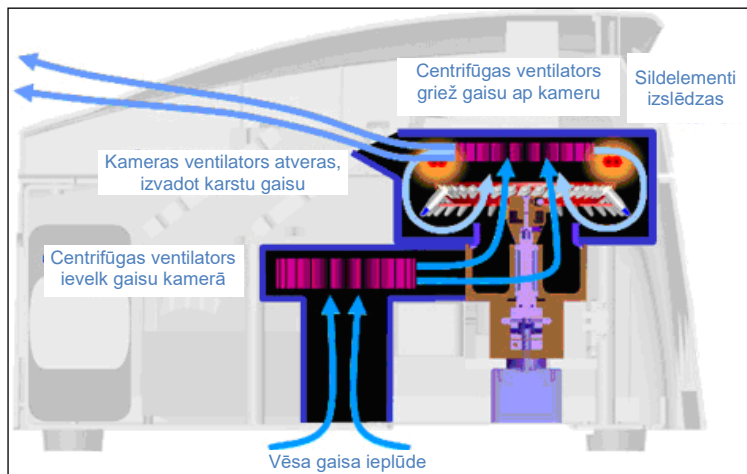
Izpildes laikā paraugu rotācijas ātrums ir 400 apgr./min. Centrifugēšana novērš kondensēšanos un likvidē gaisa burbulīšus, bet neapšauda ar lodītēm DNS. Papildus paraugus pirms izpildes nav nepieciešams apgriezt otrādi.

Paraugi tiek sildīti un dzesēti zemas masas gaisa krāsnī. Sildīšanu nodrošina vākā iebūvētais niķeļa hroma elements. Kameras dzesēšanas laikā karstais gaiss tiek izvadīts pa kameras augšpusi, bet aukstais gaiss – iesūknēts pa iekārtas apakšpusi.

Sildīšana



Dzesēšana

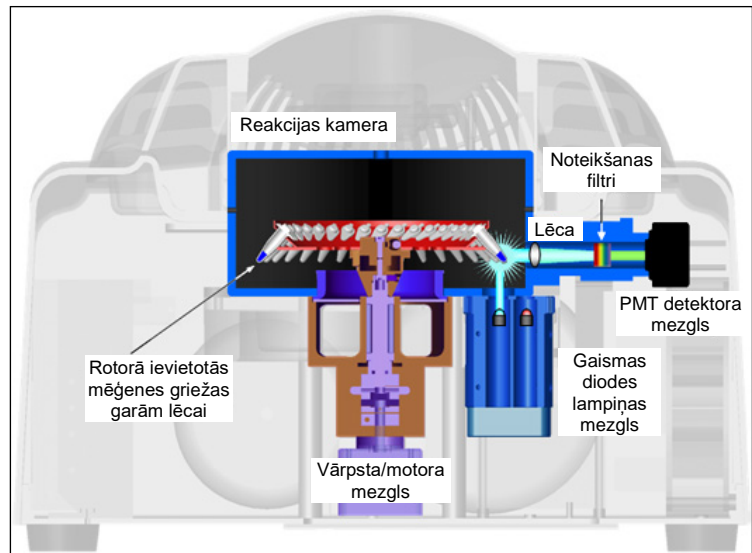


Sildīšanas un dzesēšanas procedūras attēlojums

3.2. Optiskā sistēma

Seši ierosināšanas avoti un seši detekcijas filtri kopā ar Īsu, fiksētu optisko kanālu ļauj Rotor-Gene Q MDx izmantot dažādām reakcijām, nodrošinot minimālas fluorescences izmaiņas starp paraugiem un likvidējot kalibrēšanas vai kompensēšanas nepieciešamību.

Paraugus ierosina kameras apakšā izvietota gaismas diode. Enerģija tiek pārraidīta caur plānajām sienām mēģenes apakšpusē. Izstarotā fluorescence iziet cauri kameras malās izvietotajiem emisijas filtriem un pēc tam tiek uztverta ar fotomultiplikatoru. Fiksētais optiskais kanāls katram paraugam nodrošina vienmērīgu ierosināšanu, tāpēc nav nepieciešams izmantot pasīvo iekšējo atsauces krāsu (piemēram, ROX™).



Optiskās sistēmas attēlojums.

Pieejamie kanāli

Kanāls	Ierosināšana (nm)	Detekcija (nm)	Noteikto fluoroforu paraugi
Zils	365±20	460±20	Marina Blue [®] , Edans Bothell Blue, Alexa Fluor [®] 350, AMCA-X, ATTO 390
Zaļš	470±10	510±5	FAM [®] , SYBR [®] Green I, Fluorescein, EvaGreen [®] , Alexa Fluor 488
Dzeltens	530±5	557±5	JOE [□] , VIC [®] , HEX [™] , TET [™] , CAL Fluor [®] Gold 540, Yakima Yellow [®]
Oranžs	585±5	610±5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy [®] 3.5, Texas Red [®] , Alexa Fluor 568
Sarkans	625±10	660±10	Cy5, Quasar [®] 670, LightCycler [®] Red640, Alexa Fluor 633
Tumšsarkans	680±5	712 un augstāk	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
High resolution melt (HRM)	460±20	510±5	SYBR Green I, SYTO [®] 9, LC Green [®] , LC Green Plus+, EvaGreen

Piezīme: QIAGEN kiti, kas ir paredzēti lietošanai ar Rotor-Gene Q MDx iekārtām, ir optimizēti noteiktām krāsu kombinācijām. Sīkākai informācijai skatīt attiecīgo kitu rokasgrāmatas.

4. Uzstādīšanas procedūras



4.1. Uzstādīšanas vietas prasības

Rotor-Gene Q MDx iekārtas nedrīkst uzstādīt vietās, kas atrodas tiešā saulesgaismā, tuvu siltuma, vibrāciju un elektriskās interferences avotiem. Sīkākai informācijai par ekspluatācijas apstākļiem (temperatūru un mitrumu) skatīt A pielikumu. Uzstādīšanas vieta nedrīkst būt pakļauta pārmērīgai velkmei, mitrumam, putekļiem un lielām temperatūras svārstībām.

Informācijai par Rotor-Gene Q MDx iekārtu svaru un izmēru skatīt A pielikumu. Darbvirsmai jābūt sausai, tīrai un jānodrošina vieta piederumiem. Sīkākai informācijai par darbvirsmas specifikācijām, lūdzu, sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Piezīme: Rotor-Gene Q MDx iekārta jāuzstāda uz stabilas virsmas, kas ir līdzena un nevibrē. Sīkākai informācijai skatīt A pielikumu.

Rotor-Gene Q MDx iekārta jāuzstāda apmēram 1,5 m attālumā no pareizi iezemētas maiņstrāvas kontaktrozetes.

<p>BRĪDINĀJUMS</p> 	<p>Sprādzienbīstama atmosfēra [W10]</p> <p>Rotor-Gene Q MDx iekārta nav piemērota lietošanai sprādzienbīstamā vidē.</p>
<p>BRĪDINĀJUMS</p> 	<p>Pārkaršanas risks [W16]</p> <p>Lai Rotor-Gene Q MDx iekārtai nodrošinātu pietiekamu ventilāciju, iekārtas aizmugurē jābūt vismaz 10 cm brīvai telpai.</p> <p>Rotor-Gene Q MDx iekārtas ventilācijas spraugas un atveres nedrīkst aizsegt.</p>

4.2. Maiņstrāvas pieslēgums

Elektroapgādes avota prasības

Rotor-Gene Q MDx iekārtas strāvas prasības:

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

Pārbaudiet, vai Rotor-Gene Q MDx iekārta ir piemērota uzstādīšanas vietā pieejamajam maiņstrāvas spriegumam. Elektrotīkla sprieguma svārstības nedrīkst pārsniegt 10% no nominālā sprieguma.

Zemējuma prasības

Lai aizsargātu personālu, QIAGEN uzņēmums iesaka Rotor-Gene Q MDx iekārtu pareizi iezemēt. Iekārta ir aprīkota ar trīs vadītāju maiņstrāvas vadu, kas, pieslēgts pie atbilstošas maiņstrāvas kontaktrozetes, nodrošina zemējumu. Lai nodrošinātu zemējumu, iekārtu nedrīkst darbināt no maiņstrāvas kontaktrozetes bez zemējuma savienojuma.

Maiņstrāvas vada uzstādīšana

Iespraudiet vienu maiņstrāvas vada galu Rotor-Gene Q MDx iekārtas aizmugurē izvietotajā ligzdā, bet otru – maiņstrāvas kontaktrozetē.

4.3. Personālā datora prasības

Klēpjdatars, kas pieejams kā Rotor-Gene Q MDx iekārtas izvēles piederums, atbilst Rotor-Gene Q programmatūras prasībām, kas aprakstītas turpmāk redzamajā tabulā:

Personālā datora sistēmas prasības

Apraksts	Minimālās prasības
Operētājsistēma	Microsoft® Windows® 10 Professional edition (64 bitu); Microsoft Windows 7 Profesionālā versija (32 bitu vai 64 bitu)* (1. servisa pakotne)
Procesors†	Intel® Core 2 Duo 1,66 GHz vai jaudīgāks
Pamata atmiņa†	RAM vismaz 1 GB
Cietais disks†	HDD vismaz 10 GB
Grafika	Adapters un ekrāns ar vismaz 1200x800 pikseļu izšķirtspēju
Pieslēgvietas†	RS-232 seriālā pieslēgvietā vai USB pieslēgvietā
DVD-ROM diskdzinis	1
Rādītājiērcē	Nepieciešams skārienpaliktnis vai pele, vai līdzīgs aprīkojums
Bluetooth®	Jāizslēdz
PDF vai līdzīgs skatītājs	Jāinstalē; nav iekļauts programmatūras instalēšanas pakotnēs
Jauda	Nekādā gadījumā nedrīkst izslēgt cietos diskus; hibernēt vai pārslēgties gaidstāves režīmā

* Microsoft Windows 10 or Windows 7 Profesionālais izdevums nepieciešams, lai varētu izmantot Rotor-Gene Q programmu un tās drošības līdzekļus (sk. 7.9 nodaļu). Ja tiek lietota Windows 10 vai Windows 7 Home versija, drošības līdzekļi nebūs pieejami.

† Izmantojot Rotor-Gene AssayManager® versijas 1.0 vai 2.1 programmatūru, datoram nepieciešamās minimālās prasības atšķiras. Nepieciešams Intel Core i3-380M procesors, galvenā atmiņa RAM 4 GB, brīvā vieta cietajā diskā 250 GB un USB pieslēgvietā.

4.4. Windows 7 drošības konfigurēšana

QIAGEN nodrošinātajos klēpj datoros darbam ar konkrēto Rotor-Gene Q MDx iekārtu iepriekš ir instalēta operētājsistēma Microsoft Windows 7, kas ir konfigurēta ar standarta Windows lietotāja (kas nav administrators) kontu un administratora kontu. Darbam ar sistēmu ikdienā tiek izmantots standarta konts, jo Rotor-Gene Q programmatūru un Rotor-Gene AssayManager versiju 1.0 vai 2.1 ir paredzētas izmantot bez administratora tiesībām. Administratora kontu izmanto tikai Rotor-Gene Q vai Rotor-Gene AssayManager versijas 1.0 vai 2.1 programmatūras un pretvīrusu programmatūras instalēšanai (sk. sadaļu "Pretvīrusu programmatūra"). Par administratora konta izmantošanu norāda sarkans darbvirsmas fons. Pieteikšanos iekārtas ikdienas lietošanai obligāti veiciet standarta lietotāja statusā.

Administratora konta noklusējuma parole ir Q1a#g3n!A6. Pirmo reizi piesakoties, nomainiet administratora paroli. Obligāti nodrošiniet, lai parole tiek glabāta drošā vietā un tā nenozūd. Operatora kontam parole nav nepieciešama.

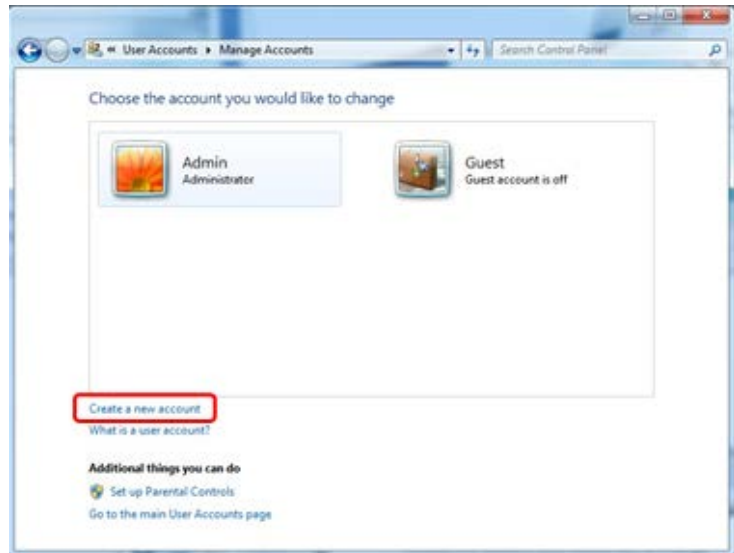
Ja ir zaudēta klēpj datora administratora parole, ieteicams sazināties ar Microsoft un lūgt palīdzību.

Ja konkrētā konfigurācija atšķiras un tā ietver kontu, kas nav administratora konts, sistēmas administrators iestata standarta Windows lietotāja papildkontu, lai novērstu piekļuvi svarīgām sistēmas zonām, piemēram, programmas failiem, Windows direktorijām (piemēram, piekļuvi instalēšanas vai atinstalēšanas funkcijai, tostarp lietojumprogrammām, operētājsistēmas komponentiem, datuma/laika iestatījumiem, Windows atjauninājumiem, ugunsdrošībai, lietotāja tiesībām un lomām, pretvīrusu programmas aktivizēšanai) vai ar veikspēju saistītiem iestatījumiem, piemēram, enerģijas taupīšanas funkcijai.

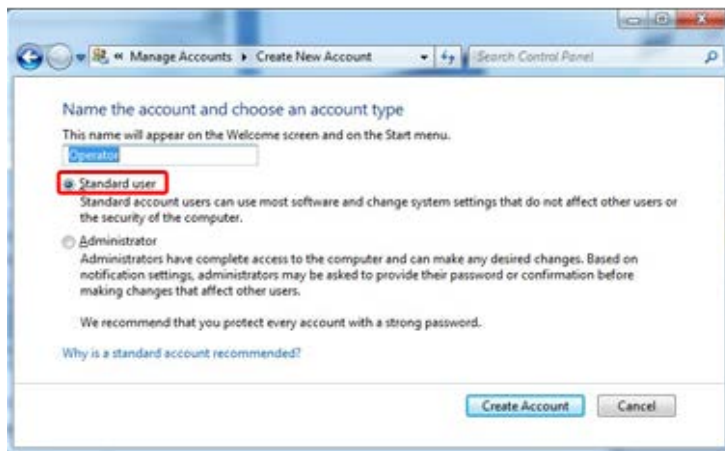
Lai izveidotu standarta lietotāja kontu operētājsistēmā Windows 7, izpildiet sadaļā “Jauna lietotāja konta izveide” aprakstītās darbības.

Izmantojot izvēlni Start (Sākt), atveriet Windows sadaļu Control Panel (Vadības panelis) un atlasiet User Accounts > Manage Accounts (Lietotāju konti > Pārvaldīt kontus).

1. Atlasiet Create a new account (Izveidot jaunu kontu).



2. Piešķiriet kontam nosaukumu un kā konta tipu atlasiet opciju Standard User (Standarta lietotājs).



3. Noklikšķiniet uz Create Account (Izveidot kontu).

4.5. Rotor-Gene Q MDx iekārtas izsaiņošana

Rotor-Gene Q MDx iekārta ir piegādāta ar visiem iestatīšanai un darbināšanai nepieciešamajiem komponentiem. Iekārtas kastē ir iekļauts saraksts ar visiem piegādātajiem komponentiem.

Piezīme: pārbaudiet, vai iepakojumā ir iekļauti visi sarakstā minētie komponenti.

Piezīme: pārbaudiet, vai iekārta un piegādātie piederumi transportēšanas laikā nav bojāti.

Piederumu kaste atrodas putuplasta iepakojuma virspusē.

Piederumu kaste iekļauj:

- instalēšanas rokasgrāmata (angļu valodā; tulkojumi iekļauti kompaktdiskā ar rokasgrāmatām);
- kompaktdisks (programmatūra);
- kompaktdisks (rokasgrāmatas);
- ielādes bloks 96x0,2 ml mēģenēm;
- ielādes bloks 72x0,1 ml mēģenēm;
- rotora turētājs (demontēts drošai transportēšanai);
- 36 ligzdu rotors (šis rotors ir sarkanā krāsā);

- 36 ligzdu rotora fiksācijas gredzens

Turpmāk minētie komponenti ir iepakoti katrā putuplasta iepakojuma malā:

- USB un RS-232 seriālais kabelis;
- starptautisko strāvas vada uzgaļu komplekts;
- PCR mēģenes, 0,2 ml (1000);
- virknes mēģenes un vāciņi, 0,1 ml (1000).

Kad visi iepriekš minētie komponenti ir izņemti no kastes, noņemiet virs Rotor-Gene Q MDx uzstādīto putuplasta iepakojumu. Uzmanīgi izņemiet Rotor-Gene Q MDx iekārtu no kastes un noņemiet plastmasas iesaiņojumu. Lai piekļūtu reakciju kamerai, atveriet vāku, pabīdot uz aizmuguri.

Rotor-Gene Q MDx iekārtā ir uzstādīti turpmāk minētie komponenti:

- 72 ligzdu rotors (šis rotors ir zilā krāsā);
- 72 ligzdu rotora fiksācijas gredzens


Atkarībā no pasūtījuma kastē var būt iekļauts arī klēpjdators.

4.6. Piederumi

Rotor-Gene Q MDx iekārtas rotorus un piederumus var pasūtīt atsevišķi. Sīkākai informācijai skatīt C pielikumu.

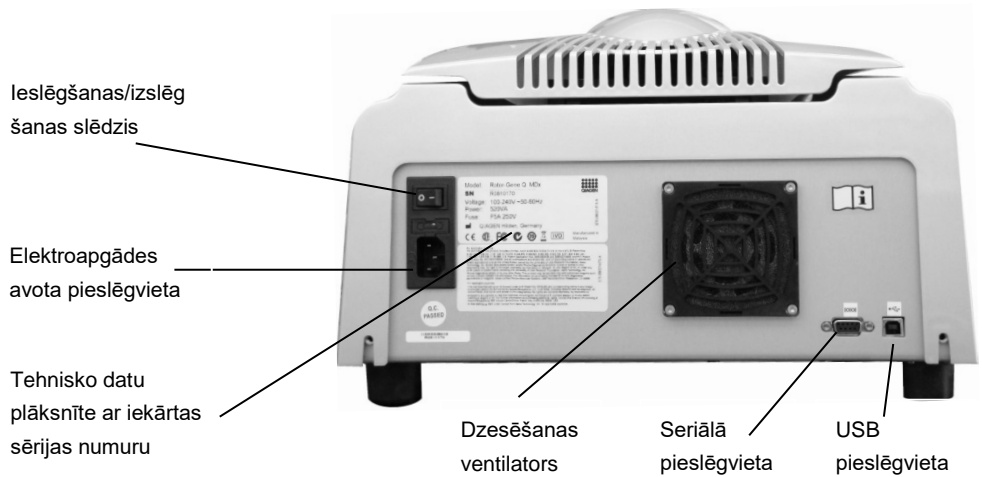
4.7. Aparatūras uzstādīšana

Kad Rotor-Gene Q MDx iekārta ir izsaiņota, uzstādiet iekārtu saskaņā ar turpmāk aprakstītajām instrukcijām.

<p>UZMANĪBU</p> 	<p>Iekārtas bojājumi [C6]</p> <p>Ieslēdzot aukstā vidē glabātu Rotor-Gene Q MDx iekārtu, tās mehāniskās detaļas var nobloķēties. Tāpēc pirms iekārtas lietošanas ļaujiet tai vismaz stundu pielāgoties istabas temperatūrai.</p>
--	--

Rīkojieties sekojoši:

1. Novietojiet Rotor-Gene Q MDx iekārtu uz līdzenas virsmas.
2. Lai iekārtas vāku varētu pilnībā atvērt, pārbaudiet, vai aiz iekārtas ir pietiekami daudz brīvas vietas.
3. Pārbaudiet, vai iekārtas aizmugurē izvietotais strāvas slēdzis ir vienkārši aizsniedzams.
4. Iekārtas aizmuguri nedrīkst nobloķēt. Pārbaudiet, vai nepieciešamības gadījumā strāvas vads ir vienkārši atvienojams.
5. Pieslēdziet kopā ar iekārtu piegādāto USB kabeli vai RS-232 seriālo kabeli datora USB vai komunikāciju pieslēgvietai.
6. Pieslēdziet otru USB vai RS-232 seriālā kabeļa galu Rotor-Gene Q MDx iekārtas aizmugurē izvietotajai pieslēgvietai
7. Pēc tam pieslēdziet Rotor-Gene Q MDx iekārtu elektroapgādes avotam. Iespraudiet vienu maiņstrāvas vada galu Rotor-Gene Q MDx iekārtas aizmugurē izvietotajā ligzdā, bet otru – maiņstrāvas kontaktozetē.

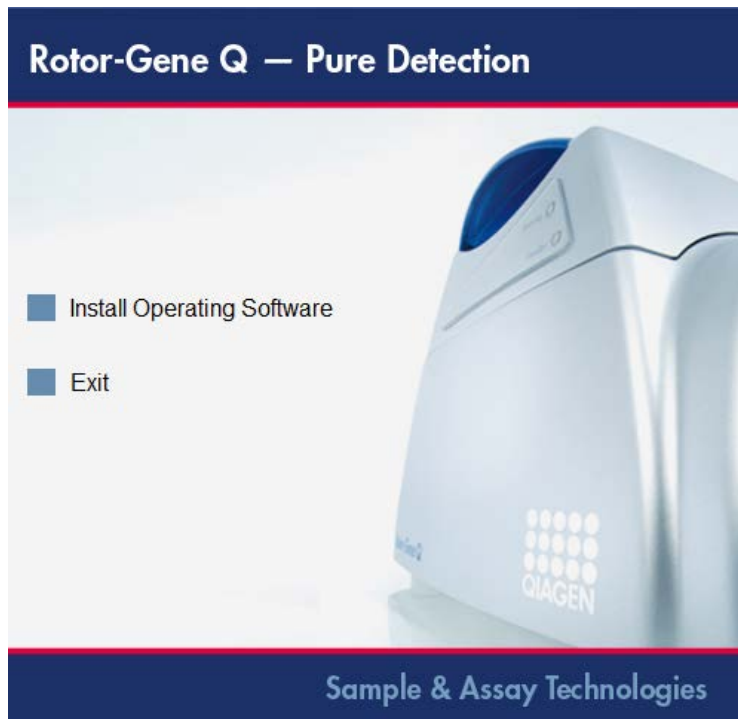


Piezīme: Rotor-Gene Q MDx iekārtu drīkst pieslēgt datoram tikai ar iekārtas komplektā iekļautajiem USB un seriālajiem kabeļiem. Citus kabeļus nedrīkst izmantot.

4.8. Programmatūras instalēšana

1. Lai instalētu Rotor-Gene Q programmatūru, ievietojiet datora kompaktdisku diskdzinī kopā ar iekārtu piegādāto programmatūras kompaktdisku.
2. Kad parādīsies logs, atlasiet Install Operating Software (instalēt lietojumprogrammatūru).

Piezīme: programmatūras instalēšanas procedūras atvieglošanai un sīkākai informācijai par instalēšanas soļiem, lūdzu, skatītkopā ar iekārtu piegādāto *Rotor-Gene Q instalēšanas rokasgrāmatu*.



3. Kad programma būs ieinstalēta, automātiski tiks izveidota atbilstoša ikoniņa darbvirsnā
4. Kad programmatūras instalēšanas ir pabeigta, ieslēdziet Rotor-Gene Q MDx iekārtu, pabīdot slēdzi, kas atrodas iekārtas aizmugurējā paneļa kreisajā pusē, uz „I” pozīciju. Zilā „Standby” (dīkstāve) gaismiņa uz Rotor-Gene Q MDx iekārta priekšējā paneļa norāda, ka iekārta ir gatava lietošanai.

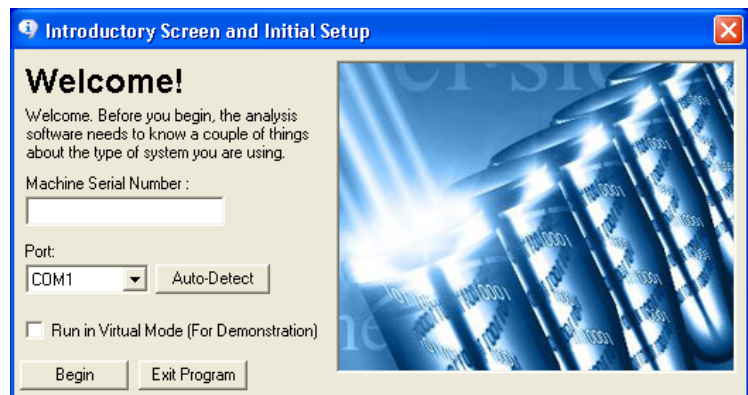
Piezīme: pirmo reizi ieslēdzot datoram pievienotu Rotor-Gene Q MDx, operētājsistēma iekārtu atpazīs un displejā parādīsies vairāki paziņojumi. Detalizētu informāciju jūs atradīsiet *Rotor-Gene Q Installation Guide*, kas iekļauts ierīces komplektrācijā (kompaktdisks un grāmata).



5. Lai palaistu programmatūru, divreiz noklikšķiniet uz Rotor-Gene Q Series Software darbvirsmas ikonās.

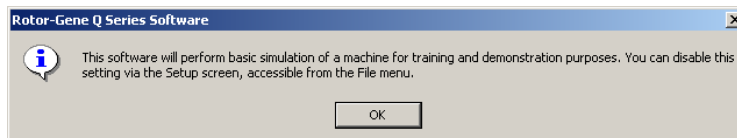


6. Pirmoreiz palaižot programmatūru, parādīsies Welcome (esiet sveicināti) logs. Pēc programmatūras atjauninājumiem šis logs neparādīsies.



Uzstādīšanas procedūras

- Machine Serial number: (Iekārtas sērijas numurs:) Ievadiet sērijas numuru (septiņi cipari), kas redzams Rotor-Gene Q MDx iekārtas aizmugurē.
- Port: (Pieslēgvietā:) Izvēlieties vai nu USB, vai arī seriālo kabeli. Atlasiet atbilstošo komunikāciju pieslēgvietu vai noklikšķiniet uz Auto-Detect (automātiskā noteikšana) pogas.
- Auto-Detect (automātiskā noteikšana) Izvēloties šo opciju, atbilstošā USB vai seriālā pieslēgvietā tiks noteikta automātiski un parādīta Port (pieslēgvietā) nolaižamajā sarakstā.
- Run in Virtual Mode (for demonstration) (Darbināt virtuālajā režīmā (demonstrēšanas nolūkos)): Atzīmējot šo rūtiņu, Rotor-Gene Q programmatūru var uzinstalēt uz datora, kas nav pieslēgts Rotor-Gene Q MDx iekārtai. Programmatūra ir pilnībā funkcionāla un ļauj simulēt izpildes. Piezīme: ja šī rūtiņa ir atzīmēta, bet Rotor-Gene Q MDx iekārta ir pieslēgta datoram, pirms izpildes parādīsies turpmāk redzamais ziņojums: You are about to run in Virtual mode (aktivizēts virtuālais režīms). Lai veiktu īstu izpildi, jāmaina iestatījumi Setup (iestatīšana) logā (skatīt 7.5.4. sadaļu).
- Begin (sākt): Kad ievadīta visa nepieciešamā informācija, noklikšķiniet uz Begin (sākt). Pagaidiet, kamēr tiek pabeigta inicializācija, kas var ilgt dažas sekundes. Ja esat izvēlējušies virtuālo režīmu, parādīsies turpmāk redzamais ziņojums:

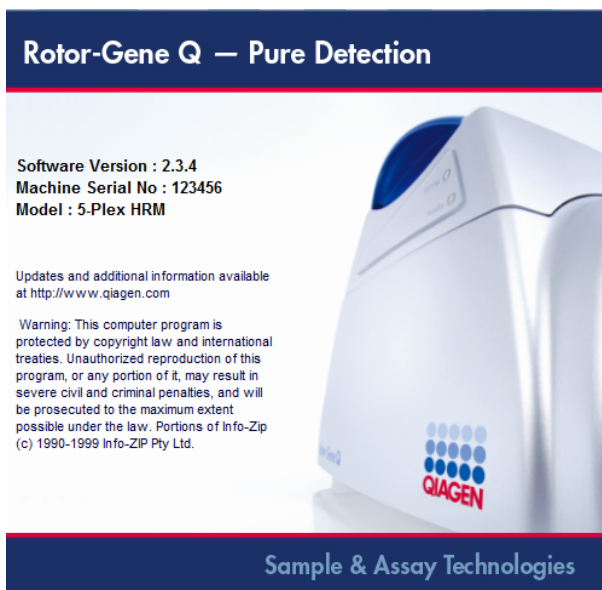


Ja Run in Virtual Mode (strādāt virtuālajā režīmā) rūtiņa nav atzīmēta, programmatūra inicializējas un atveras automātiski.

Exit Program (iziet no programmas):
Lai izietu no programmas, noklikšķiniet uz šī pogas.

4.9. Programmatūras versija

Lai noskaidrotu programmatūras versijas numuru, noklikšķiniet uz Help (palīdzība) un pēc tam uz About This Software... (par šo programmatūru).



Šajā logā ir redzama vispārīga informācija par programmatūru, tostarp programmatūras versija, sērijas numurs un iekārtas modelis.

Programmatūru drīkst brīvi izplatīt uzņēmumā, kas ir iegādājies Rotor-Gene Q MDx iekārtu. Programmatūru nedrīkst izplatīt ārpus attiecīgā uzņēmuma.

4.10. Papildu programmatūra Rotor-Gene Q MDx iekārtām pieslēgtajiem datoriem

Rotor-Gene Q programmatūra PCR izpildē un datu iegūšanas procesā pārvalda laikā ierobežotus procesus. Šā iemesla dēļ ir svarīgi nodrošināt, lai netiktu palēnināta Rotor-Gene Q programmatūras darbība, citiem procesiem izmantojot ievērojamus sistēmas resursus. Ļoti svarīgi ir turpmāk minētie punkti.

Sistēmas administratoriem pirms papildus programmatūras uzstādīšanas jāņem vērā potenciālo sistēmas modifikāciju ietekme uz resursiem.

4.10.1. Vīrusu skeneri

QIAGEN apzinās draudus, kādus vīrusi rada jebkuram datoram, kas veic datu apmaiņu ar citiem datoriem. Pārsvārā Rotor-Gene AssayManager versijas 1.0 vai 2.1 programmatūru ir paredzēts instalēt vidē, kur ir apstiprinātas lokālas procedūras šo draudu mazināšanai. Tomēr QIAGEN iesaka jebkurā gadījumā izmantot pretvīrusu programmatūru.

Par atbilstoša vīrusu skenēšanas līdzekļa izvēli un instalēšanu atbild klients. Tomēr, lai nodrošinātu saderību, uzņēmums QIAGEN ir apstiprinājis Rotor-Gene Q programmatūras un Rotor-Gene AssayManager versijas 1.0 un 2.1 izmantošanu QIAGEN klēpj datoros kopā ar šādām divām pretvīrusu programmatūrām:

- Symantec® Endpoint Protection V12.1.6;
- Microsoft Security Essentials V4.10.209.¹

Informāciju par jaunākajām pretvīrusu programmatūras versijām, kas ir apstiprinātas izmantošanai kopā ar Rotor-Gene Q programmatūru un Rotor-Gene AssayManager versiju 1.0 vai 2.1, skatiet vietnē QIAGEN.com.

¹ Piezīme. Pabeidzot pretvīrusu programmatūras Microsoft Security Essentials instalēšanu, ir jāpārbauda, vai ir deaktivizēti Windows atjauninājumi, jo instalēšanas laikā šis iestatījums var tikt aktivizēts (skatīt nodaļu "Operētājsistēmas atjauninājumi").

Ja ir atlasīta pretvīrusa programmatūra, pārbaudiet, vai to var konfigurēt tā, lai skenēšanā var neiekļaut datu bāzes mapes ceļu. Pretējā gadījumā pastāv savienojuma izveides ar datu bāzi kļūdu risks. Tā kā Rotor-Gene AssayManager versija 1.0 un 2.1 dinamiski izveido jaunus datu bāzes arhīvus, ir nepieciešams neiekļaut mapes ceļu uz failiem, bet ne uz atsevišķiem failiem. Mēs neiesakām izmantot pretvīrusu programmatūru, kuras pieļauj tikai atsevišķu failu neiekļaušanu, piemēram, McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Ja dators tiek izmantots vidē bez piekļuves tīklam, pārbaudiet arī to, vai pretvīrusu programmatūra atbalsta atjauninājumus bezsaistes režīmā.

Lai pēc pretvīrusu programmatūras instalēšanas iegūtu stabilu darbību, sistēmas administratoram jānodrošina tālāk norādīto prasību izpildi.

- Kā norādīts iepriekš, failu skenēšanā nedrīkst iekļaut Rotor-Gene AssayManager versijas 1.0 un 2.1 datu bāzes mapes ceļu (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA).
- Ja tiek izmantota Rotor-Gene AssayManager versija 1.0 vai 2.1, vīrusu datu bāzes atjaunināšana netiek veikta.
- Veicot PCR datu iegūvi reālajā laikā, pārbaudiet, vai ir atspējota pilnīga vai daļēja cietā diska skenēšana. Pretējā gadījumā pastāv nevēlamas ietekmes uz iekārtas darbību risks.

Lai iegūtu informāciju par konfigurēšanas datiem, skatiet izvēlētās pretvīrusu programmatūras rokasgrāmatu.

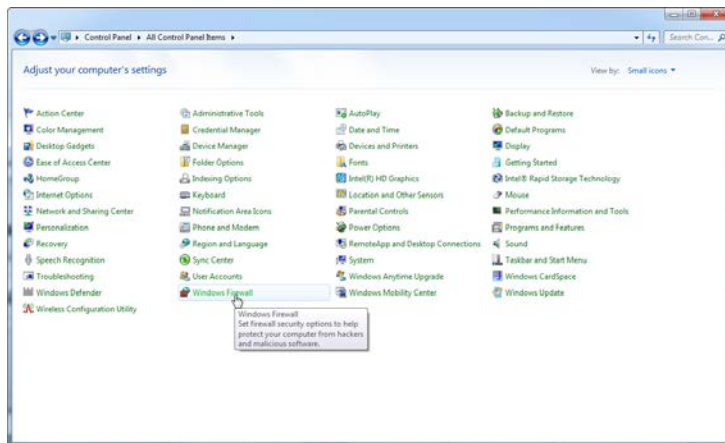
4.10.2. Uguns mūris un tīkls

Rotor-Gene Q programmatūra var darboties vai nu datorā bez piekļuves tīklam, vai tīkla vidē, ja tiek izmantots attāls datu bāzes serveris. QIAGEN nodrošinātā klēpj datorā ar piekļuvi tīklam uguns mūris ir konfigurēts tā, ka ienākošā datu plūsma tiek bloķēta visās pieslēgvietās, izņemot tās, kuras nepieciešamas savienojuma ar tīklu izveidei.

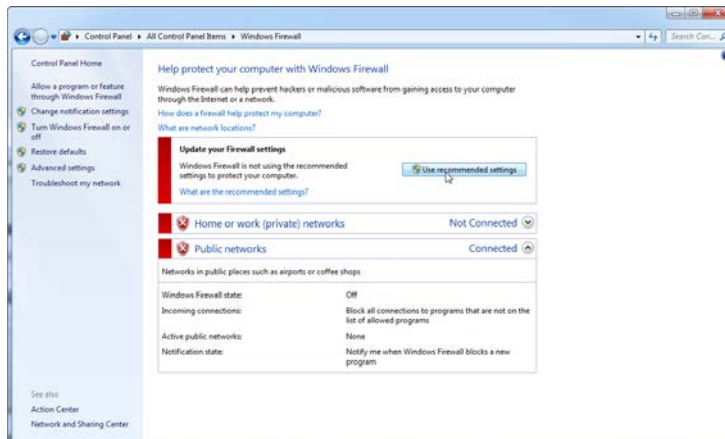
Ņemiet vērā, ka ienākošās datu plūsmas savienojumu bloķēšana neietekmē reaģēšanu uz lietotāja aktivizētajiem pieprasījumiem. Izejošās datu plūsmas savienojumi ir atļauti, jo tie var būt nepieciešami atjauninājumu izgūšanai.

Ja konkrētā konfigurācija atšķiras, QIAGEN iesaka konfigurēt ugunsmūri tā, kā aprakstīts iepriekš. Šim nolūkam sistēmas administratoram ir jāpiesakās un jāveic šādi soļi:

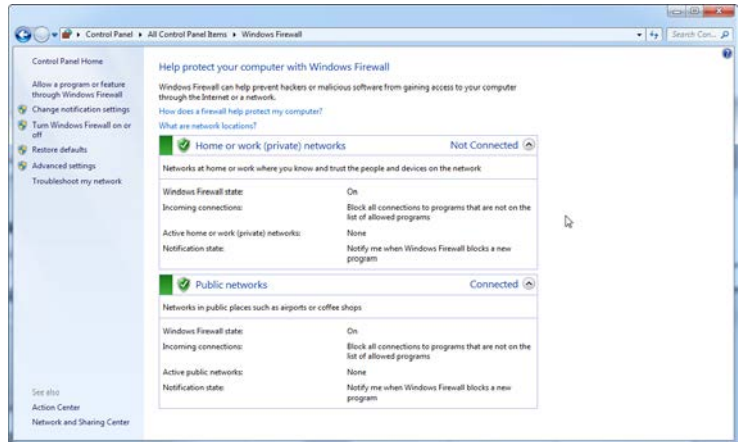
1. Atveriet sadaļu Control Panel (Vadības panelis) un atlasiet opciju Windows Firewall (Windows ugunsmūris).



2. Atlasiet opciju Use recommended settings (Izmantot ieteiktos iestatījumus).

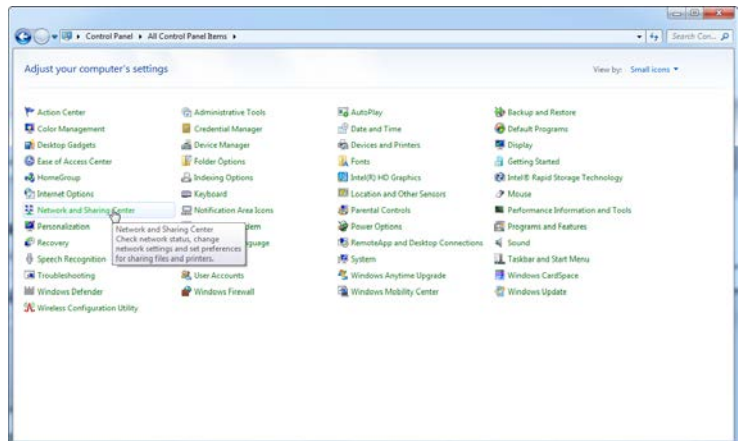


3. Pārbaudiet, vai ir aktivizēti norādītie iestatījumi.

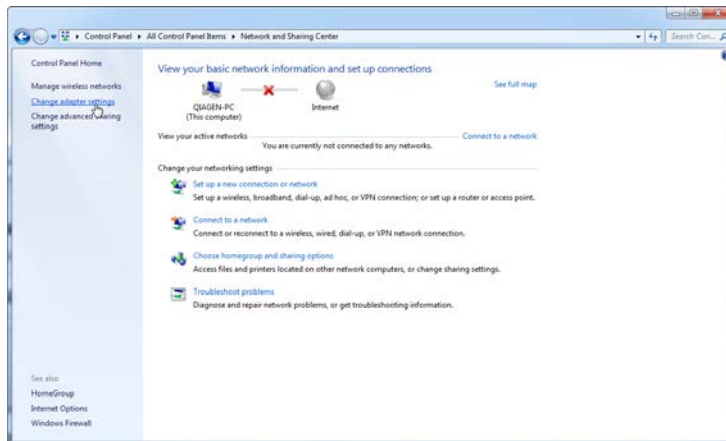


Drošības un uzticamības nolūkā ir jāizmanto ar kabeli nodrošināta piekļuve tīklam, nevis Wi-Fi sakari. QIAGEN nodrošinātajos klēpj datoros Wi-Fi adapters ir atspējots. Ja konkrētā konfigurācija atšķiras, sistēmas administratoram manuāli ir jāatspējo Wi-Fi adapters, veicot šādus soļus:

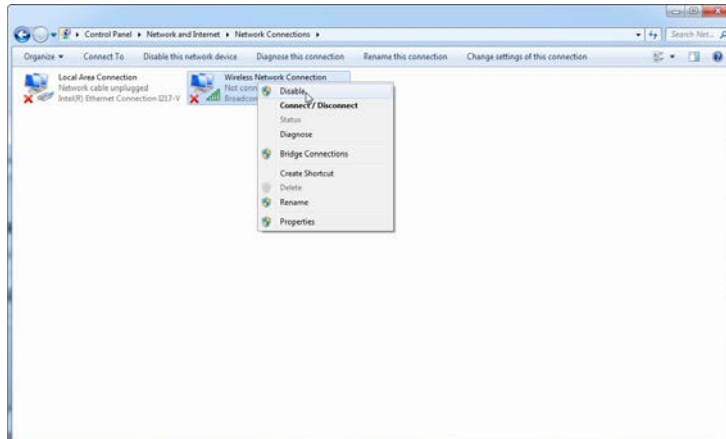
1. Atveriet sadaļu Control Panel (Vadības panelis) un atlasiet opciju Network and Sharing Center (Tīkls un koplietošanas centrs).



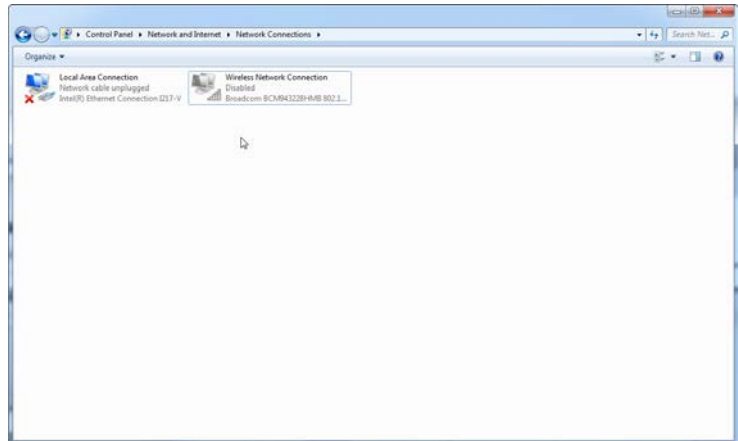
- Atlasiet Change adapter settings (Mainīt adaptera iestatījumus).



- Novietojiet peles kursoru virs opcijas Wireless Network Connection (Bezvadu savienojums ar tīklu), nospiediet peles labo pogu un konteksta izvēlnē atlasiet Disable (Atpējot).



4. Pārbaudiet, vai bezvadu savienojums ar tīklu ir atspējots.



4.10.3. Sistēmas rīki

Dažādi sistēmas rīki var ievērojami noslogot sistēmu pat tad, kad lietotājs tos nelieto. Turpmāk minēti daži piemēri:

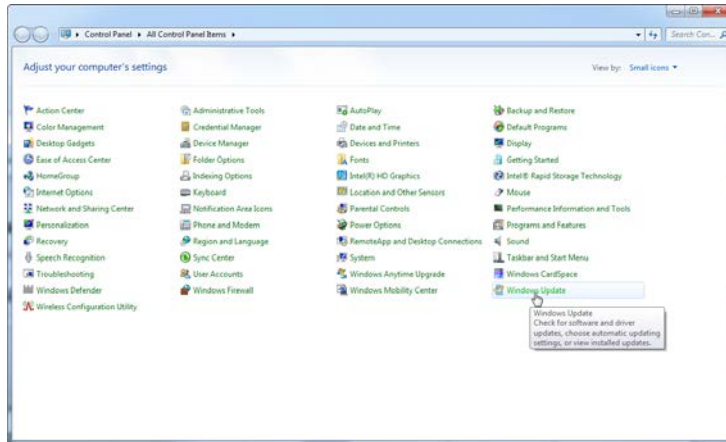
- failu indeksēšana, ko daudzas mūsdienu biroja lietotnes veic fonā;
- diska defragmentēšana, kas arī nereti tiek veikta fonā;
- jebkura programmatūra, kas internetā meklē atjauninājumus;
- attālās uzraudzīšanas un pārvaldības rīki.

Lūdzu, ņemiet vērā, ka informāciju tehnoloģiju straujās attīstības dēļ šis saraksts var nebūt pilnīgs un lietotājiem var būt pieejami rīki, kas šīs rokasgrāmatas rakstīšanas laikā vēl nebija zināmi. Sistēmas administratoru pienākums ir nodrošināt, lai PCR izpildes laikā šie rīki ir deaktivēti.

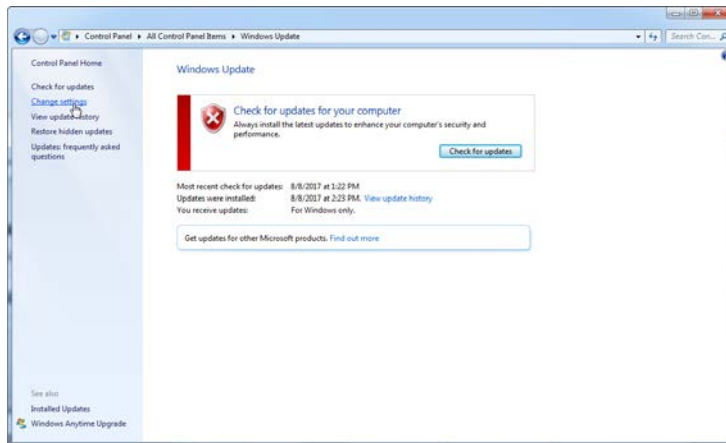
4.10.4. Operētājsistēmas atjauninājumi

QIAGEN nodrošinātie klēpjatori ir konfigurēti tā, ka operētājsistēmas automātiska atjaunināšana ir atspējota. Ja konkrētā konfigurācija atšķiras, sistēmas administratoram ir jāatspējo operētājsistēmas automātiskās atjaunināšanas process, veicot šādus soļus:

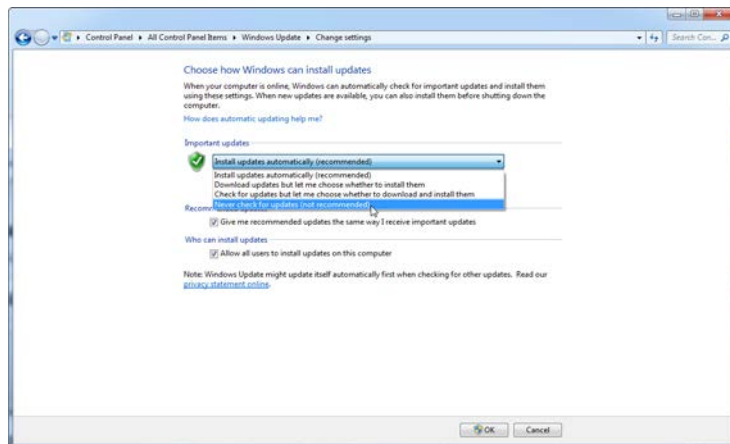
1. Atveriet sadaļu Control Panel (Vadības panelis) un atlasiet opciju Windows Update (Windows atjaunināšana).



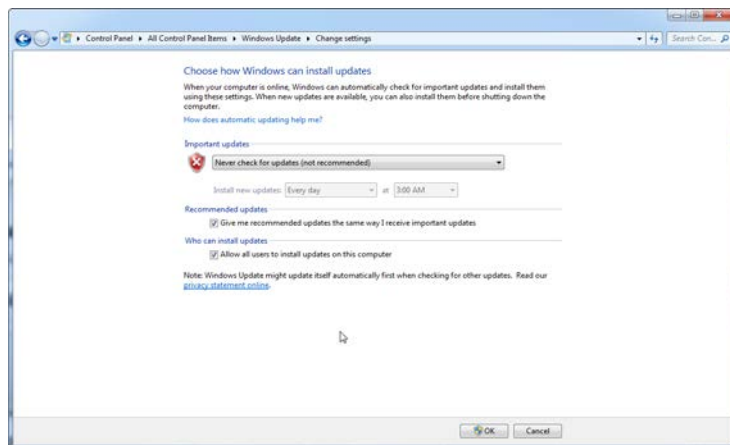
2. Atlasiet Change settings (Mainīt iestatījumus).



3. Atlasiet Never check for updates (Nepārbaudīt, vai nav atjauninājumu).



4. Pārbaudiet, vai ir aktivizēta vienuma Important updates (Svarīgi atjauninājumi) opcija Never check for updates (Nepārbaudīt, vai nav atjauninājumu).



Ja atjauninājumi ir nepieciešami neparedzētu drošības nepilnību dēļ, QIAGEN nodrošina mehānismus apstiprinātu Windows drošības ielāpu noteikta līdzekļa instalēšanai vai nu tiešsaistē (ja ir pieejams QIAGEN klēpjdatars ar interneta savienojumu), vai bezsaistes pakotnes veidā, kas sagatavota citā datorā ar interneta savienojumu.

Lai iegūtu sīkāku informāciju, apmeklējiet izstrādājuma lapu vietnē QIAGEN.com.

4.11. **Programmatūras atjaunināšana**

Programmatūras atjauninājumi ir pieejami QIAGEN uzņēmuma tīmekļa vietnē www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx, kurai var piekļūt no programmatūras *Help* (palīdzība) izvēlnes. Lai lejupielādētu programmatūru, nepieciešams reģistrēties tiešsaistē.

5. Lietošanas procedūras — aparatūra

Šajā sadaļā aprakstīta *Rotor-Gene Q MDx* iekārtas lietošana.


5.1. Rotorā tipi

Izvēlieties atbilstošā veida mēģeni un rotoru. Jūsu izvēlei ir pieejami četri rotoru veidi, kas atbilst attiecīgā veida mēģenēm.

Piezīme: kopā ar iekārtu ir piegādāti 36 ligzdu un 72 ligzdu rotorī. Rotor-Disc® rotorī ir pieejami kā piederumi.

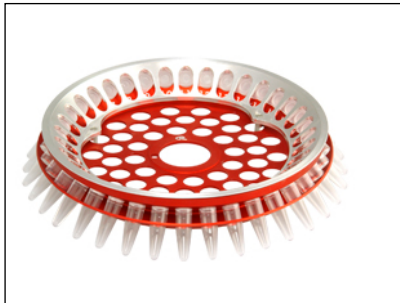
SVARĪGI: vienas izpildes laikā lietojiet tikai identiskas mēģenes. Nelietojiet vienlaikus dažādu veidu vai ražotāju mēģenes, jo tas ietekmēs optisko viendabīgumu. Ieteicams izmantot QIAGEN mēģenes, jo tās ir īpaši konstruētas lietošanai ar Rotor-Gene Q MDx iekārtām (skatīt C pielikumu). Citu ražotāju mēģenes var fluorescēt, kas ietekmēs rezultātu nolasāmību. Papildus dažādu ražotāju mēģenes var atšķirties pēc garuma un biezuma, kas novirzīs Rotor-Gene Q MDx optisko kanālu un mēģenē notiekošo reakciju. QIAGEN patur tiesības atteikt tehnisko atbalstu gadījumā, ja problēmu cēlonis ir QIAGEN nesertificētu plastmasas materiālu izmantošana Rotor-Gene Q MDx iekārtā.

SVARĪGI: QIAGEN nesertificētu plastmasas materiālu izmantošanas gadījumā Rotor-Gene Q MDx iekārtas garantija zaudēs spēku.

<p>UZMANĪBU</p> 	<p>Iekārtas bojājumi [C3]</p> <p>Pirms katra eksperimenta rūpīgi aplūkojiet rotoru, vai tas nav bojāts vai deformēts.</p>
--	---

36 ligzdu rotors

36 ligzdu rotors ir sarkanā krāsā. 36 ligzdu rotors un 36 ligzdu rotora fiksācijas gredzens ļauj izmantot 0,2 ml mēģenes. Mēģenēm nav nepieciešami optiski caurspīdīgi vāciņi, jo Rotor-Gene Q MDx iekārta fluorescences mērījumus nolasa mēģenes apakšā. Drīkst lietot arī mēģenes ar kupolveidīgiem vāciņiem.



72 ligzdu rotors

72 ligzdu rotors ir zilā krāsā. 72 ligzdu rotoru un 72 ligzdu rotora fiksācijas gredzenu lieto ar virknes mēģenēm un vāciņiem (0,1 ml), kas ir piemēroti ļoti sīkām šķidruma tilpumiem vienībām (līdz pat 20 µl). Vāciņi uzticami un droši noslēdz mēģini.



Rotora diska 72 rotors

Rotora diska 72 rotors ir tumši pelēkā krāsā. Rotora diska 72 rotors un rotora diska 72 fiksācijas gredzens ļauj lietot rotora disku 72. Rotora disks 72 ir disks ar 72 ligzdām augstas darba efektivitātes nodrošināšanai. Lai noblīvētu rotora disku 72, uz tā tiek uzklāta polimēra plēve un termiski hermetizēta. Plēve ir ātri uzklājama un nodrošina izturīgu, ilgi kalpojošu un drošu aizsardzību pret piesārņotājiem. Papildu informācijai par rotora disku 72 skatīt 5.3. sadaļu.



Rotora diska 100 rotors

Rotora diska 100 rotors ir zeltainā krāsā. Rotora diska 100 rotors un rotora diska 100 fiksācijas gredzens ļauj lietot rotora disku 100. Rotora disks 100 ir disks ar 100 ligzdām augstas darba efektivitātes nodrošināšanai. Rotora disks 100 ir 96 ligzdu plates rotējošs ekvivalents, bet ar četrām papildu ligzdām. Šādi *Rotor-Gene Q MDx* iekārtu ir iespējams ērti izmantot laboratorijas darbos, kuros tiek strādāts ar 96 ligzdu platēm. Papildu ligzdas ir teicami piemērotas papildu paraugiem, papildu kontroles reakcijām vai orientācijas reakcijām, neaizņemot nevienu no standarta 96 ligzdām. Rotora diska 100 ērtai iekļaušanai laboratorijas darbos, kuros tiek izmantotas 96 ligzdu plates, tas ir marķēts atbilstoši 96 ligzdu plates standartiem, proti, no A1–A12 līdz H1–H12. Četras papildu atsauces ligzdas ir marķētas kā R1–R4. Papildu informācijai par rotora disku 100 skatīt 5.3. sadaļu.



Rotora specifikācijas

Rotora tips	Ligzdas tilpums	Parauga Nr.	Mēģenes tips	Ieteicamais reakcijas tilpums
36 ligzdu rotors	200 µl	36	PCR mēģenes (0,2 ml)	20-50 µl
72 ligzdu rotors	100 µl	72	Virknes mēģenes un vāciņi (0,1 ml)	20-50 µl
Rotora diska 72 rotors	100 µl	72	Rotora disks 72	20-25 µl
Rotora diska 100 rotors	30 µl	100	Rotora disks 100	15–20 µl

Piezīme: 36 un 72 ligzdu rotorus, kas paredzēti darbam ar Rotor-Gene Q MDx iekārtu, optiskās izlīdzināšanas nesavietojamības dēļ nedrīkst lietot ar Rotor-Gene 3000 iekārtām. Lūdzu, lietojiet ar Rotor-Gene 3000 iekārtām vecā tipa 36 ligzdu un 72 ligzdu rotorus.

5.2. Reakcijas iestatīšana

SVARĪGI: Lai iegūtu uzticamus rezultātus, katrā izpildē jānodrošina atbilstoši kontroles pasākumi.

Reakcijas var sagatavot ar turpmāk minētajiem laboratorijas piederumiem: ielādes bloks 96x0,2 ml mēģenes (PCR

mēģenēm, 0,2 ml), ielādes bloks 72x0,1 ml mēģenes (virknes mēģenēm un vāciņiem, 0,1 ml iestatījums ar vienkanāla pipeti), ielādes bloks 72x0,1 ml daudzkanāls (virknes mēģenēm un vāciņiem, 0,1 ml iestatījums ar daudzkanālu pipeti), rotora diska 72 ielādes bloks (rotora diskam 72) vai rotora diska 100 ielādes bloks (rotora diskam 100). Visi bloki ir izgatavoti no alumīnija un ir piemēroti sākotnējai atdzesēšanai.

72x0,1 ml mēģeņu ielādes blokā (skatīt attēlu) var ievietot 18 virknes mēģenes, astoņas 0,5 ml mēģenes, kas ir piemērotas pamata maisījuma sagatavošanai, un 16 0,2 ml mēģenes, kas ir piemērotas standarta līkņu iestatīšanai. Turpmāk ir aprakstīta reakcijas iestatīšana ar 72 ligzdu rotoru. Tāda pati procedūra ir spēkā, kad reakciju iestata 36 ligzdu rotoram un atbilstošajiem piederumiem.

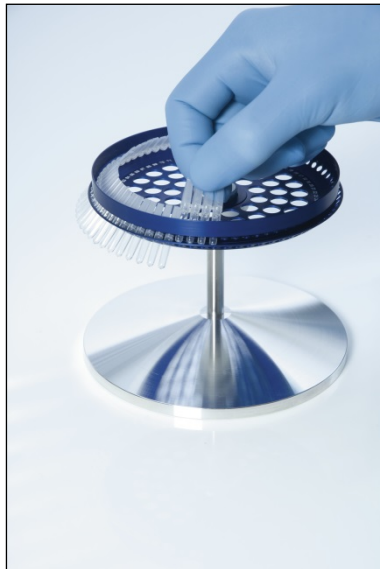
1. Ievietojiet virknes mēģenes ielādes blokos un vienmērīgi sadaliet reakcijas komponentus.



2. Aiztaisiet virknes mēģenes ar vāciņiem un vizuāli pārbaudiet, vai vāciņi ir cieši aiztaisīti.

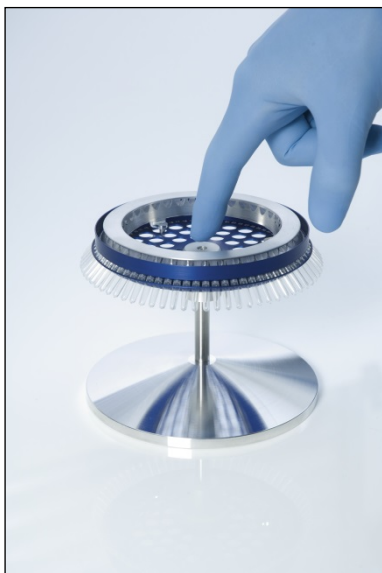


3. Ievietojiet virknes mēģenes 72 ligzdu rotorā un pārbaudiet, vai katra mēģene ir pareizi ievietota – orientēta pareizajā virzienā.
Ja mēģenes būs nepareizi ievietotas rotorā, paraugu centralizācija detekcijas sistēmā nebūs optimāla. Tas var pavājināt uztverto fluorescences signālu un detekcijas jutību. Kopā ar iekārtu ir piegādāts rotora turētājs, kas nodrošina vienkāršu mēģeņu ielādēšanu.



SVARĪGI: Lai nodrošinātu optimālu temperatūras viendabīgumu, katrā rotora pozīcijā jāatrodas pa mēģenei. Tas katrai mēģenei nodrošina arī vienmērīgu gaisa pievadi. Neizmantojamās rotora pozīcijas ievietojiet tukšas mēģenes.

4. Lai 72 ligzdu rotora fiksācijas gredzenu ievietotu 72 ligzdu rotorā, izbīdīet cauri rotora ārējām atverēm trīs tapiņas.
Fiksācijas gredzens neļauj izpildes laikā attaisīties mēģeņu vāciņiem.



5. Ievietojiet mēģeņu disku Rotor-Gene Q MDx kamerā un ar tapiņu palīdzību nofiksējiet uz rotora rumbas (atskanēs klikšķis). Lai mēģeņu disku izņemtu, vienkārši piespiediet rotora rumbu un izņemiet mēģeņu disku.



6. Aizveriet analizatora vāku un iestatiet izpildes profilu ar Rotor-Gene Q programmatūru..

5.3. Rotora diska iestatīšana

Rotora disks 72 vai rotora disks 100 iekļauj attiecīgi 72 vai 100 ligzdas, kas izvietotas uz viengabala diska, šādi nodrošinot augstu darba efektivitāti. Rotora disks 72 un rotora disks 100 netiek lietoti kopā ar vāciņiem. Tie tiek pārklāti ar rotora diska termiskās hermetizācijas plēvi un termiski hermetizēti rotora diska termiskās hermetizācijas ierīcē. Plēve nodrošina izturīgu, ilgi kalpojošu un drošu aizsardzību pret piesārņotājiem. Rotora diska termiskā hermetizācija ir aprakstīta turpmāk.

SVARĪGI: pirms procedūras, lūdzu, izlasiet kopā ar rotora diska termiskās hermetizācijas ierīci piegādāto produkta datu lapu.

1. Ieslēdziet rotora diska termiskās hermetizācijas ierīci, nospiežot slēdzi kreisajā pusē. Iedegsies sarkana *Power* (ieslēgts) gaismiņa. Apmēram desmit minūšu laikā rotora diska termiskās hermetizācijas ierīce uzsils līdz darba temperatūrai, un iedegsies Ready (gatavs) gaismiņa.
2. Izvēlieties pastāvīgu vai noņemamu hermetizāciju.

Piezīme: kad rotora diska termiskās hermetizācijas ierīce ir uzsilusi līdz darba temperatūrai, to drīkst darbināt nepārtraukti.

3. Ievietojiet rotora disku rotora diska ielādes blokā atbilstoši rotora diska pozicionēšanas atzīmei un mēģeņu vadības caurumiem, kas redzami uz rotora diska ielādes bloka.
4. Uzpildiet rotora diska mēģenes ar pipeti vai automātisko šķidrums dozēšanas sistēmu.



5. Noņemiet rotora diska termiskās hermetizācijas plēves sloksnes vidusdaļu, maigi pārlokot plēvi uz pusēm, satverot centrālo daļu un uzmanīgi izplēšot.
6. Uzlieciet plēvi uz rotora diska atbilstoši SIDE UP (augšpusē) marķējumam. Pārbaudiet, vai SIDE UP (augšpusē) marķējums ir rotora diska ielādes bloka apakšpusē.
Plēves vidusdaļas caurumam viegli jāpārslīd pāri rotora diska ielādes bloka cilindram un jāuzslīd uz rotora diska augšpusē.



7. Izmantojot rotora diska ielādes bloka malās redzamās sliedītes, iebīdiet ielādes bloku rotora diska termiskās hermetizācijas ierīcē. Pārbaudiet, vai rotora diska ielādes bloks ir iebīdīts termiskās hermetizācijas ierīcē pilnībā.



8. Lai aktivizētu hermetizācijas mehānismu, vispirms nospiediet zilo anodizēto stieni termiskās hermetizācijas ierīces augšpusē, bet pēc tam pabīdiet melno aizslēgu.



9. Kad hermetizācijas mehānisms ir nolaists, iedegsies oranža *Sealing* (hermetizācija) gaismiņa. Ja rotora diska ielādes bloks ir ievietots nepareizi, atskanēs brīdinājuma signāls.
10. Kad hermetizācija ir pabeigta, atskanēs nepārtraukts signāls un sāks mirgot oranža *Sealing* (hermetizācija) gaismiņa. Lai paceltu un nofiksētu hermetizācijas mehānismu sākuma pozīcijā, nospiediet zilo anodizēto stieni.

SVARĪGI: hermetizāciju nedrīkst turpināt pēc skaņas signāla, jo pretējā gadījumā rotora diska deformēsies.

Piezīme: lai brīdinātu par to, ka nav atbūdīts vietā hermetizācijas mehānisms, oranžā mirgojošā gaismiņa “Sealing” sāks spīdēt nemirgojot, bet skaņas signāls sāks skanēt ar pārtraukumiem.

11. Izvelciet rotora diska ielādes bloku no rotora diska termiskās hermetizācijas ierīces. Ļaujiet plēvei apmēram desmit sekundes atdzist. Atdaliet liekos plēves fragmentus, pavelkot tos uz leju. Nevelciet plēvi uz augšu.
12. Noņemiet rotora disku no rotora diska ielādes bloka.
13. Ievietojiet rotora disku rotorā atbilstoši rotora diska pozicionēšanas atzīmei.

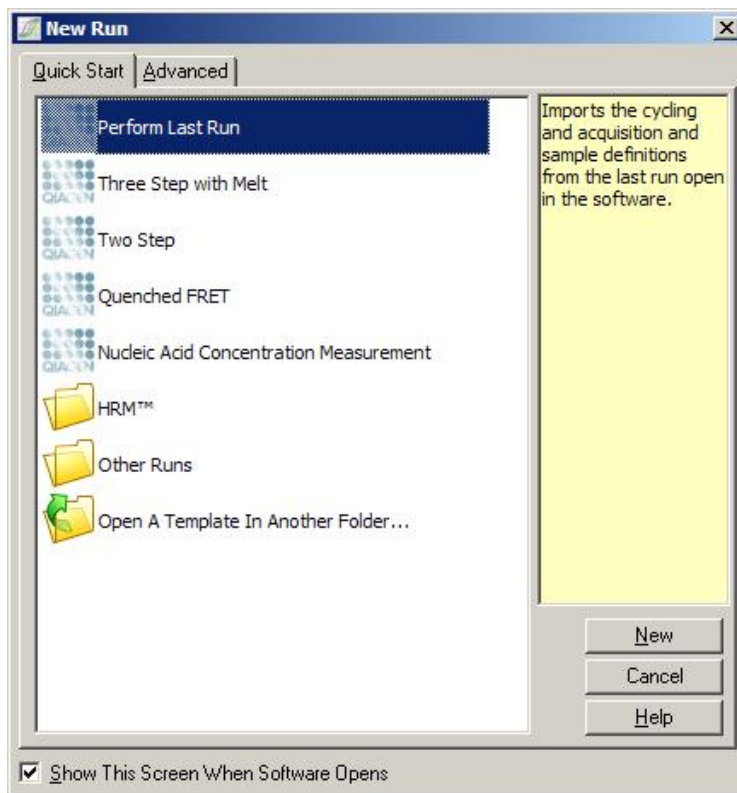
6. Lietošanas procedūras — programmatūra

Jaunas izpildes var iestatīt ar Quick Start (ātrā sākšana) vai Advanced (detalizēti) vedni, kas parādās programmatūras palaišanas brīdī. Quick Start (ātrā sākšana) vednis ļauj lietotājam ātri sākt izpildi. Turpretim Advanced (detalizēti) vednis ļauj iestatīt vairākas opcijas, piemēram, optimāli noregulēt pastiprinājuma un tilpuma iestatījumus. Lietošanas atvieglošanai vedņiem ir vairākas veidnes ar noklusējuma cikla izpildes nosacījumiem un iegūšanas kanāliem. Lai mainītu vedņa tipu, izvēlieties atbilstošo cilni New Run (jauna izpilde) loga augšdaļā.

6.1. Quick Start (ātrā sākšana) vednis

Quick Start (ātrā sākšana) vednis ļauj lietotājam ātri sākt izpildi. Lietojot šo vedni, lietotājam ir tikai jāizvēlas kāda no visbiežāk lietotajām veidnēm un jāievada izpildei nepieciešamie pamata parametri. Quick Start (ātrā sākšana) vednī ir pieņemts, ka reakcijas tilpums ir 25 μ l. Citiem reakcijas tilpumiem jāizvēlas Advanced (detalizēti) vednis (skatīt 6.2. sadaļu).

Vispirms izvēlieties izpildei vispiemērotāko veidni, divreiz noklikšķinot uz attiecīgās veidnes, kas redzama New Run (jauna izpilde) logā.



Perform Last Run (veikt pēdējo izpildi): Perform Last Run (veikt pēdējo izpildi) opcijas izvēles gadījumā tiek izmantotas cikla izpildes, iegūšanas un paraugu definīcijas no pēdējās izpildes.

Three Step with Melt (trīs soļi ar kušanu): Šis ir trīs soļu cikla izpildes profils un kušanas līkne ar datu iegūšanu zaļajā kanālā.

Two Step (divi soļi): Šis ir divu soļu cikla izpildes profils ar datu iegūšanu zaļajā, dzeltenajā, oranžajā un sarkanajā kanālā.

Quenched FRET (slāpēts FRET): Šis ir trīs soļu cikla izpildes profils ar kušanas līkni. Atšķirībā no trīs soļu ar kušanu režīma datu iegūšana notiek atdzesēšanas soļa beigās.

Nucleic Acid Concentration Measurement (nukleīnskābes koncentrācijas mērījums): Šī ir noklusējuma veidne nukleīnskābes koncentrācijas mērīšanai ar interpolētām krāsām.

HRM: Šī mape iekļauj HRM profilus.

Other Runs (citas izpildes): Šī mape iekļauj papildu profilus.

Ar vedni var mainīt visu veidņu cikla izpildes un iegūšanas profilus.

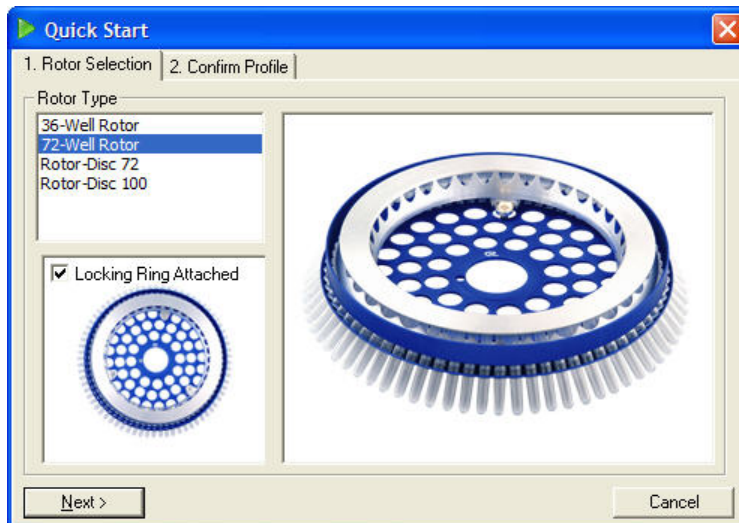
Piezīme: lai lietotāja definētās veidnes pievienotu *Quick Start* (ātrā sākšana) vedņa veidņu sarakstam, pārkopējiet vai saglabājat *.ret failus mapē **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. Kad fails ir iekopēts iepriekš norādītajā mapē, veidne sarakstā parādīsies kā ikona. Ja vēlaties veidnēm piešķirt individuālas ikonas, izveidojiet *.ico attēlu ar tādu pašu faila nosaukumu kā veidnei.

Saistītām veidnēm var izveidot apakšmapes. Šādi ir iespējams ērti organizēt veidnes gadījumā, kad vienu un to pašu iekārtu lieto vairāki lietotāji.

6.1.1. Rotora izvēle

Nākamajā logā no saraksta izvēlieties rotora tipu.

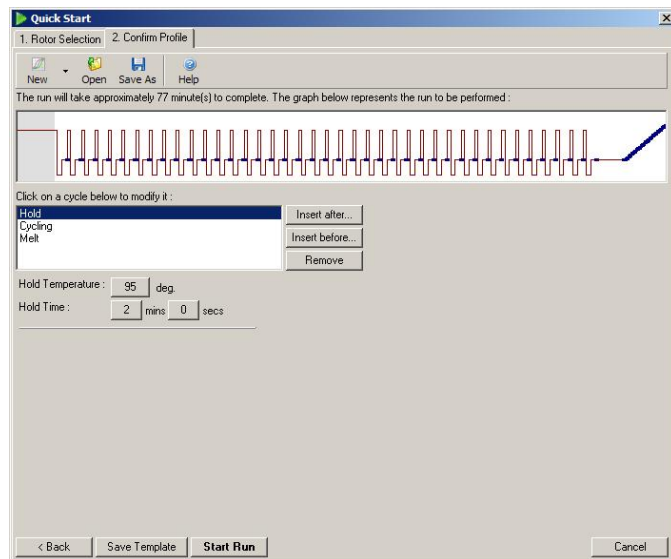
Atzīmējiet Locking Ring Attached (fiksācijas gredzens piestiprināts) rūtiņu un noklikšķiniet uz Next (tālāk).



6.1.2. Profila apstiprināšana

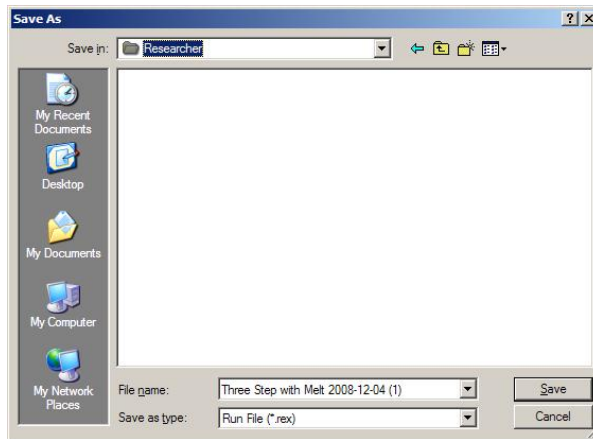
Tiek importēti izvēlētajās veidnes cikla izpildes nosacījumi un datu iegūšanas kanāli. Šos iestatījumus var mainīt Edit Profile (redīgēt profilu) logā (skatīt 6.2.4. sadaļu).

Lai sāktu izpildi, noklikšķiniet uz Start Run (sākt izpildi) pogas. Lai pirms izpildes veidni saglabātu, noklikšķiniet uz Save Template (saglabāt veidni) pogas.



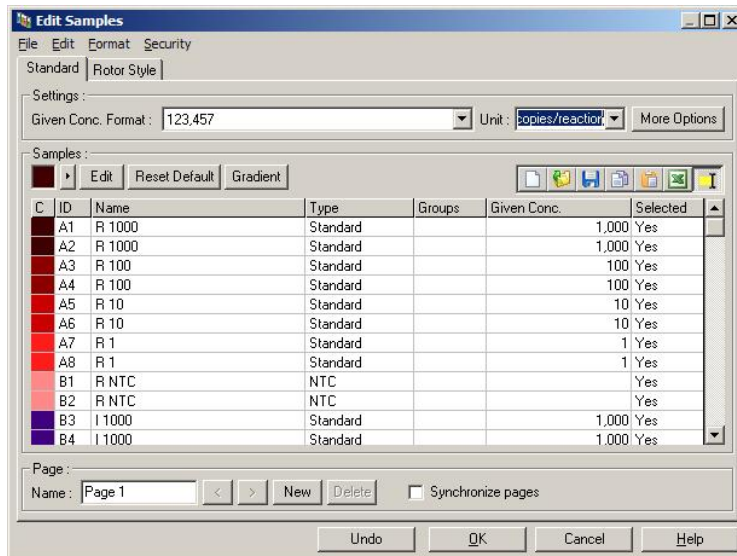
6.1.3. Izpildes saglabāšana

Noklikšķinot uz Start Run (sākt izpildi) pogas, parādīsies Save As (saglabāt kā) logs. Lietotājs izpildi var saglabāt sev vēlamā vietā. Izpildei tiek piešķirts faila nosaukums, kas iekļauj izmantoto veidni un izpildes datumu. Lai atšķirtu vairākas izpildes, kas bāzētas uz vienas un tās pašas veidnes un veiktas vienā dienā, faila nosaukumā ir iekļauts arī kārtas numurs (1, 2 utt.).



6.1.4. Parauga iestatīšana

Pēc izpildes sākšanas Edit Samples (redīgēt paraugus) logā paraugus var definēt un aprakstīt.



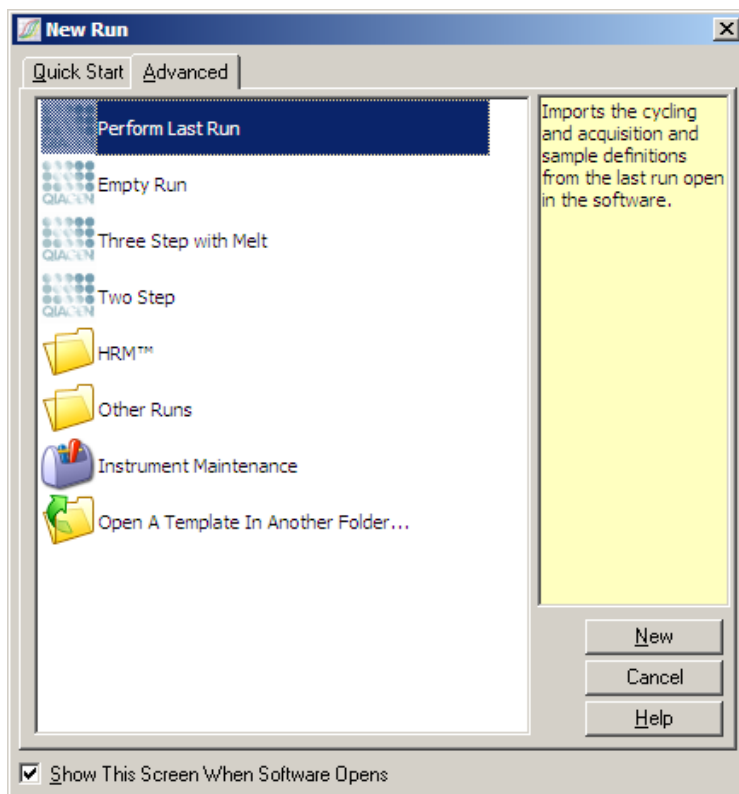
Edit Samples (redīgēt paraugus) logs parādās pēc izpildes sākšanas, lai lietotājs varētu ievadīt parauga nosaukumus izpildes laikā. Ja procedūras izpildes laikā paraugu nosaukumus ievada ļoti ātri (piemēram, lietojot svītrkodu

skeneri), paraugu nosaukumos esošie burti var tikt apmainīti vietām. Tāpēc ieteicams nelietot svītrkodu skeneri un, ja iespējams, ievadīt paraugu nosaukumus pēc procedūras izpildes. Sīkākai informācijai par paraugu definīciju iestatīšanu Edit Samples (redīgēt paraugus) logā skatīt 7.8.4. sadaļu.

6.2. Advanced (detalizēti) vednis

Advanced (detalizēti) vednis iespējo opcijas, kas nav pieejams Quick Start (ātrā sākšana) vednī, piemēram, pastiprinājuma optimizēšanas konfigurāciju.

Lai lietu Advanced (detalizēti) vedni, New Run (jauna izpilde) loga Advanced (detalizēti) cilnes sarakstā divreiz noklikšķiniet uz attiecīgās veidnes nosaukuma.



Šajā logā pieejamās veidnes opcijas ir līdzīgas tām, kas pieejamas Quick Start (ātrā sākšana) vednī (6.1. sadaļa).

Perform Last Run (veikt pēdējo izpildi):	Perform Last Run (veikt pēdējo izpildi) opcija importē cikla izpildes, iegūšanas un paraugu definīcijas no pēdējās izpildes.
Empty Run (tukša izpilde):	Tukšā izpilde ļauj lietotājam definēt visus profila parametrus.
Three Step with Melt (trīs soļi ar kušanu):	Šis ir trīs soļu cikla izpildes profils un kušanas līkne ar datu iegūšanu zaļajā kanālā.
Two Step (divi soļi):	Šis ir divu soļu cikla izpildes profils ar datu iegūšanu tikai zaļajā kanālā, šādi samazinot izpildes ilgumu.
HRM:	Šī mape iekļauj divus HRM profilus.
Other Runs (citas izpildes):	Šī mape iekļauj papildu profilus.
Iekārtas tehniskā apkope:	Šī opcija iekļauj veidni, ko izmanto optiskās temperatūras verifikācijas (OTV) laikā. Sīkākai informācijai skatīt 10. sadaļu. Lai nodrošinātu profila pareizu darbību, šī veidne ir bloķēta.

Piezīme: lai lietotāja definētās veidnes pievienotu veidņu sarakstam, pārkopējiet vai saglabājat *.ret failus mapē **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates**. Kad fails ir iekopēts iepriekš norādītajā mapē, veidne sarakstā parādīsies kā ikona.

6.2.1. New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 1

Nākamajā logā no saraksta izvēlieties rotora tipu.

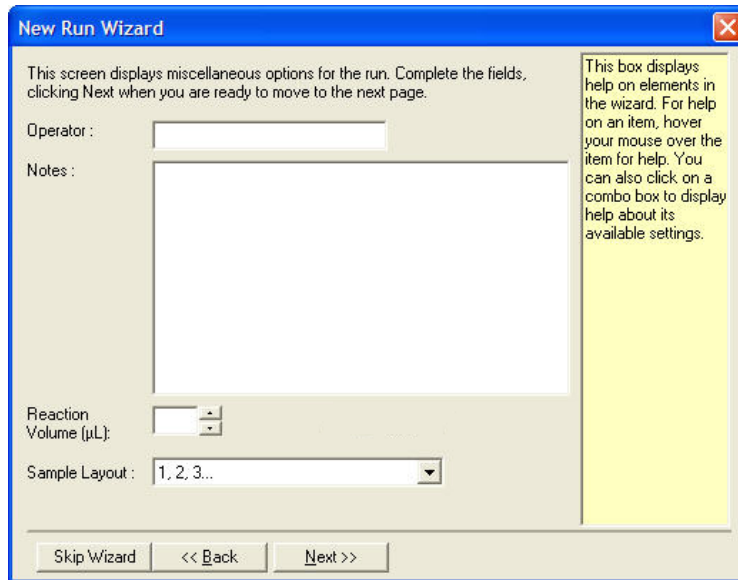
Lai turpinātu, atzīmējiet Locking Ring Attached (fiksācijas gredzens piestiprināts) rūtiņu un noklikšķiniet uz Next (tālāk).



6.2.2. New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 2

Nākamajā logā ievadiet lietotāja vārdu un piezīmes par izpildi. Norādiet arī reakcijas tilpumu.

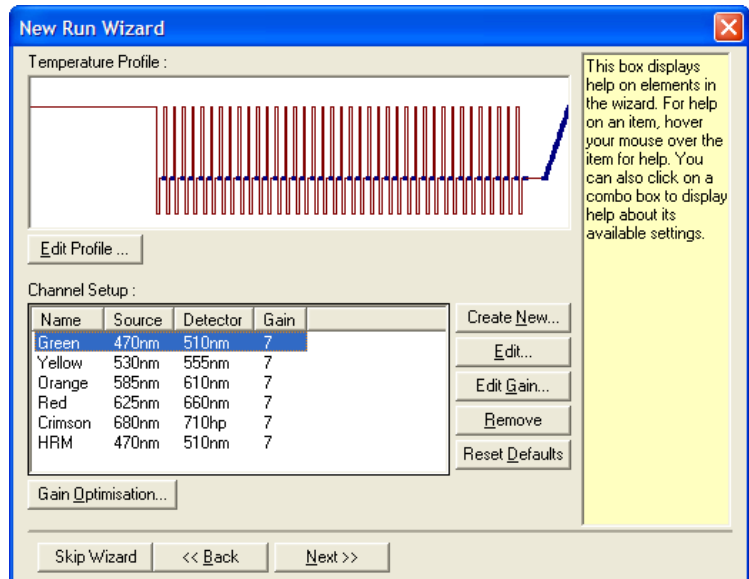
Ja logā Nr. 1 izvēlējāties 72 ligzdu rotoru, nolaižamajā izvēlnē būs pieejamas trīs Sample Layout (parauga izkārtojums) opcijas. "1, 2, 3..." ir noklusējuma opcija. Vairums lietotāju izvēlas šo opciju. „1A, 1B, 1C...” jāizvēlas tad, ja paraugi ir ievietoti blakusesošās 0,1 ml virknes mēģenēs, izmantojot daudzkanālu pipeti ar astoņiem kanāliem. Ja nepieciešams, var izvēlēties arī „A1, A2, A3...” izkārtojumu.



6.2.3. New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 3

Šajā logā var mainīt Temperature Profile (temperatūras profils) un Channel Setup (kanāla iestatījums) parametrus. Noklikšķinot uz Edit Profile... (redīgēt profilu) pogas, parādīsies Edit Profile (redīgēt profilu) logs, kurā var mainīt cikla izpildes nosacījumus un izvēlēties datu iegūšanas kanālus (6.2.4. sadaļa).

Pēc profila iestatīšanas, noklikšķinot uz Gain Optimisation... (pastiprinājuma optimizēšana) pogas, atvērsies Gain Optimisation (pastiprinājuma optimizēšana) logs (skatīt 6-23. lapu).



6.2.4. Profila rediģēšana

Edit Profile (rediģēt profilu) logs ļauj norādīt cikla izpildes nosacījumus un datu iegūšanas kanālus. Sākotnējais profils ir bāzēts uz izpildes iestatīšanas laikā izvēlēto veidni (skatīt 6-1. lapa). Profils ir attēlots grafiski. Profila segmentu saraksts ir redzams zem grafiskā attēlojuma. Šis saraksts iekļauj Hold (aizturēt) (6-12. lapa), Cycling (izpildīt ciklu) (6-13. lapa), Melt (kausēt) (6-16. lapa) vai HRM komandas, ja iekārtai ir HRM kanāls (6-17. lapa).

Katru profila posmu var rediģēt, noklikšķinot uz atbilstošās grafiskā attēlojuma vietas vai saraksta vienuma un pēc tam mainot attiecīgos iestatījumus.

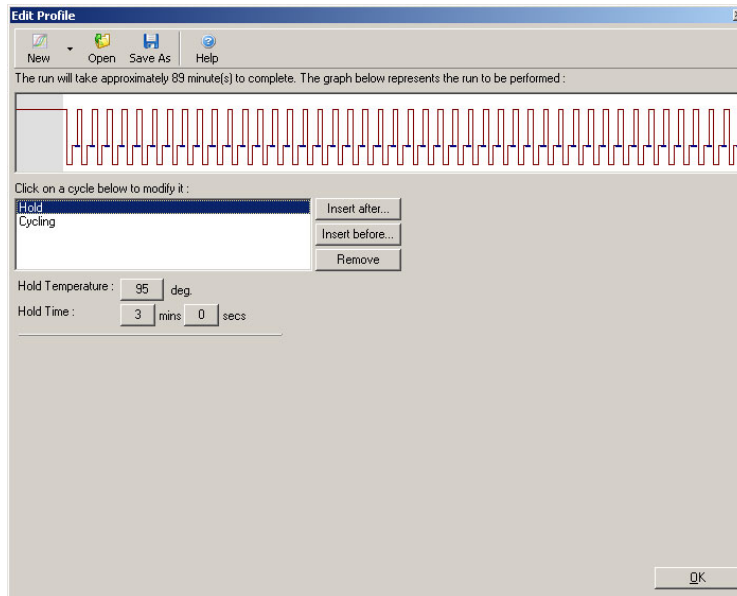
Insert after... (ievietot pēc): Šī poga ļauj pēc izvēlētā cikla pievienot jaunu ciklu.

Insert before... (ievietot pirms): Šī poga ļauj pirms izvēlētā cikla pievienot jaunu ciklu.

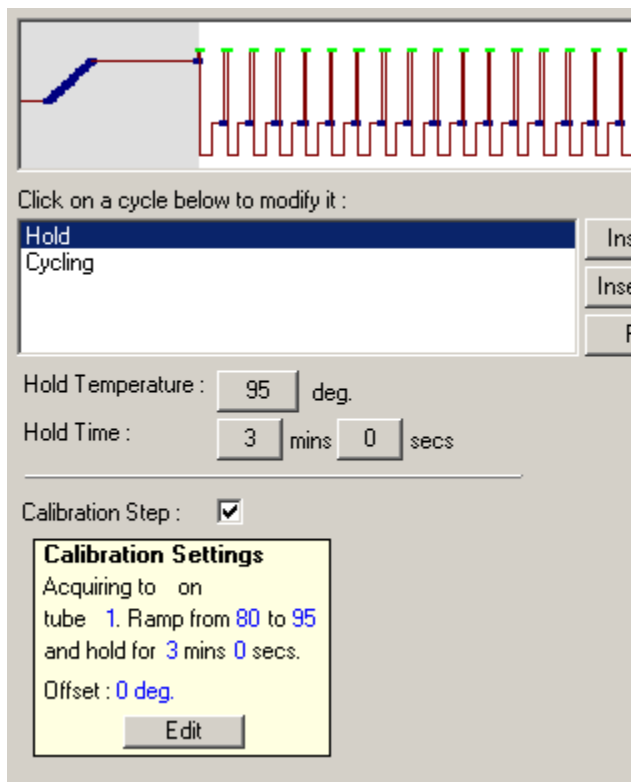
Remove (noņemt): Šī poga ļauj noņemt no profila izvēlēto ciklu.

Hold (aizturēt)

Hold (aizturēt) komanda liek Rotor-Gene Q MDx iekārtai noteiktu laiku uzturēt konkrētu temperatūru. Lai mainītu temperatūru, noklikšķiniet uz Hold Temperature (aizturēt temperatūru) pogas un ievadiet vai ar slīdošo joslu iestatiet vēlamo temperatūru. Ja nepieciešams, mainiet Hold (aizture) ilgumu ar Hold Time (aiztures laiks), mins (minūtes) un secs (sekundes) pogām.



Optiskās denaturācijas cikla izpildes laikā Hold (aizturēt) komandu var izmantot kā kalibrēšanas soli. Šajā gadījumā kalibrēšana kušana tiek veikta pirms aiztures. Pēc noklusējuma šis iestatījums attiecas uz pirmo izpildes aizturi. Ja nepieciešams, to var mainīt.



Sīkākai informācijai par optiskās denaturācijas cikla izpildi skatīt 6-17. lapu.

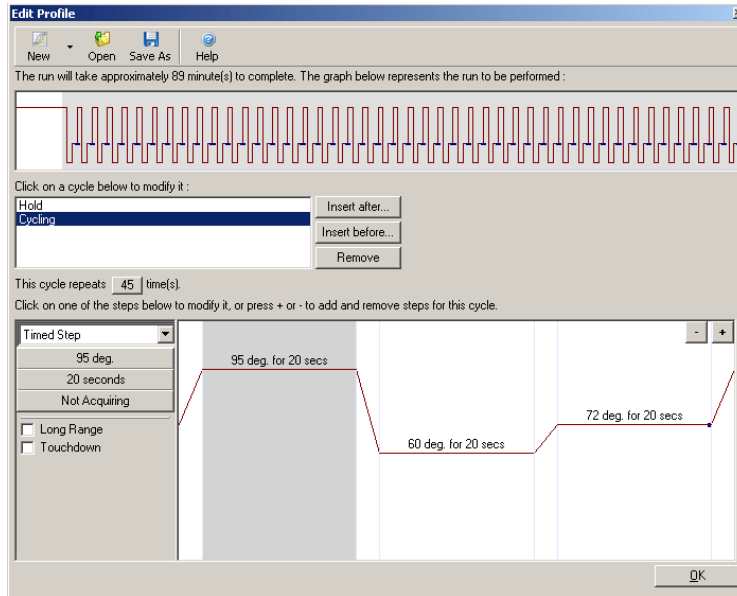
Cycling (cikla izpilde)

Cycling (cikla izpilde) komanda atkārtoti iestatītās temperatūras un laika soli noteiktu reižu skaitu. Atkārtojumu skaitu iestata ar This cycle repeats X time(s) (šis cikls atkārtojas X reizes) pogu.

Viens cikls ir attēlots grafiski (skatīt turpmāk redzamo ekrānu uzņēmumu). Katru cikla soli var mainīt. Lai mainītu temperatūru, velciet diagrammā redzamo temperatūras līniju augšup vai lejup. Lai mainītu soļa izpildes laiku, velciet diagrammā redzamo temperatūras robežu pa kreisi vai labi. Var rīkoties arī šādi – noklikšķiniet uz soļa un izmantojiet

diagrammas kreisajā pusē redzamās temperatūras un laika pogas.

Lai ciklam pievienotu noņemtus soļus, lietojiet attiecīgi + un - pogas, kas redzama diagrammas augšējā labajā stūrī.



Long Range Atzīmējot šo rūtiņu, atlasītā soļa aiztures (garš diapazons): laiks katrā jaunā ciklā palielinās par vienu sekundi.

Touchdown Ja ir atzīmēta šī rūtiņa, temperatūra (nolaišanās): noteiktā skaitā sākotnējo ciklu palielināsies par iestatītajiem grādiem. Temperatūras pieaugums tiks attēlots diagrammā.

Acquisition (iegūšana)

Datus var iegūt jebkurā kanālā visos cikla izpildes soļos. Lai iestatītu datu iegūšanas kanālu, noklikšķiniet uz Not Acquiring (neiegūst) pogas (ja kanāls jau ir iestatīts kā datu iegūšanas kanāls, tad šeit ir redzams saraksts ar iegūšanas kanāliem).



Noklikšķinot uz Not Acquiring (neiegūst) pogas, parādīsies Acquisition (iegūšana) logs.

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 [®]

Lai iestatītu datu iegūšanas kanālu, atlasiet kanālu un pārvietojiet to no Available Channels (pieejamie kanāli) saraksta uz Acquiring Channels (iegūšanas kanāli) sarakstu

ar  pogu. Lai atlasīto kanālu noņemtu no Acquiring Channels (iegūšanas kanāli) saraksta, izmantojiet  pogu.  poga ļauj no Acquiring Channels (iegūšanas kanāli) saraksta noņemt visus kanālu. Noklikšķinot uz Don't Acquire (neiegūt) pogas, no soļa tiek noņemtas visas ieguves.

Ja profilā ir iekļauta vairāk kā viena cikla izpildes sekvence, iegūtos datus var pievienot datiem, kas ir iegūti no iepriekšējiem cikliem. Lai atlasītu cikla izpildes soli, kuram attiecīgos datus pievienot, lietojiet Same as Previous (tāpat kā iepriekš) nolaižamo izvēlni.

Dye Channel Selection Chart (krāsu kanāla atlasē tabula) palīdzēs lietotājam izvēlēties krāsai vispiemērotāko kanālu. Tabulā ir parādītas tikai visbiežāk lietotās krāsas, un tā neatspoguļo visas iekārtas iespējas.

Iepriekš aprakstītās datu iegūšanas opcijas attiecas arī uz Melt (kušana) soļiem. Tomēr šeit nav iespējams papildināt iegūšanas datus no Same as Previous (tāpat kā iepriekš) izvēlnes.

Melt (kušana) un hybridisation (hibridizācija)

Melt (kušana) ir slīpne, kas savieno divas temperatūras. Atļautais temperatūras diapazons ir 35–99°C.

Lai iestatītu Melt (kušana), norādiet sākuma temperatūru, beigu temperatūru, temperatūras pieaugumu, laiku, cik ilgi aizturēt pirmo temperatūras nolasījumu pirms slīpnes attēlošanas sākšanas, laiku, cik ilgi aizturēt katru pieaugumu, kā arī datu iegūšanas kanālus.

Divas atšķirīgas temperatūras tiks savienotas ar slīpni. Ja sākuma temperatūra ir augstāka par beigu temperatūru, soļa nosaukums tiks mainīts uz Hybridisation (hibridizācija). Acquiring To (iegūšana uz) opciju, kas tālāk redzamajā ekrānuzņēmumā iestatīta Melt A (kušana A), var mainīt, noklikšķinot uz pogas. Parādīsies Acquisition (iegūšana) logs un varēsīt atlasīt kanālus.

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	

Veicot standarta kausēšanu, temperatūra palielinās par 1°C, un datu iegūšana notiek ik pēc piecām sekundēm. Rotor-Gene Q MDx iekārtai var iestatīt arī 0,02°C temperatūras pieaugumu. Minimālais aiztures laiks starp temperatūras soļiem mainās atkarībā no katra soļa temperatūru starpības.

High Resolution Melt (HRM)

High resolution melt (HRM) analīze raksturo divpavedienu DNS paraugus uz attiecībā pret to disociāciju (kušanu). Šī analīze ir līdzīga klasiskajai kušanas līknes analīzei, bet nodrošina daudz vairāk informācijas. Paraugus var sašķirot pēc sekvenēšanas, garuma, GC satura vai pavediena komplementaritātes līdz pat viena pamata pāra izmaiņām.

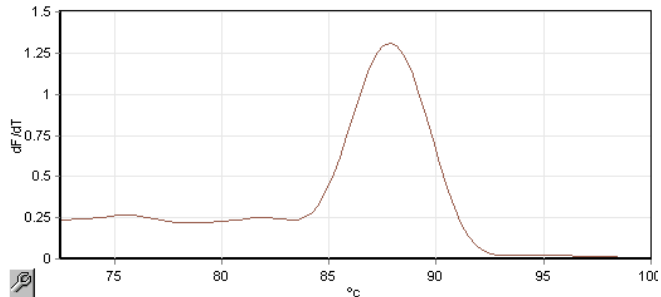
HRM analīzi var veikt tikai ar iekārtām, kas iekļauj HRM aparatūru un programmatūru. Dati tiek iegūti ar speciāliem HRM avotiem un detektoriem. HRM analīze iekļauj arī opciju, kas ļauj veikt Gain Optimisation (pastiprinājuma optimizāciju) tieši pirms kušanas. Pēc HRM datus var analizēt ar HRM analīzes programmatūru (11. sadaļa).

Optiskās denaturācijas cikla izpilde

Optiskās denaturācijas cikla izpilde ir vērtīga Rotor-Gene Q MDx metode, kuras laikā tiek veikta reāllaika kušanas analīze, lai noteiktu atsaucis parauga kušanas maksimumu. Šādi PCR produkta denaturācija tiek uzrādīta ar augstāku precizitāti nekā gadījumā, kad denaturāta temperatūrai iestata aiztures laiku. Lai izmantotu šo metodi, vienkārši ievietojiet PCR produkta atsaucis mēģeni

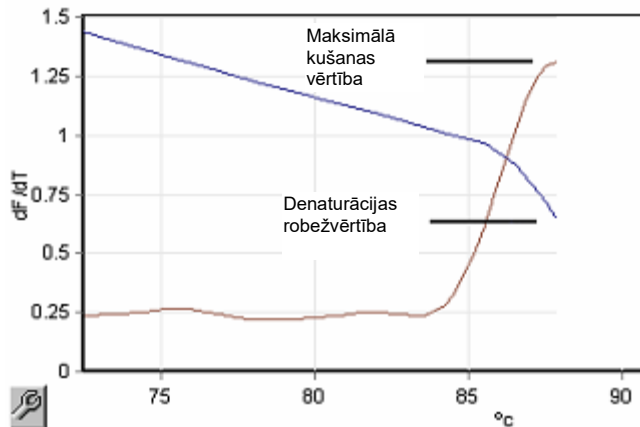
rotora 1. pozīcijā. Atsauces mēģenei jāsaturs arī noteikšanas ķīmikālijas, kas nodrošina pavediena disociācijas detekciju.

Sildot līdz sākotnējais denaturācijai temperatūrai, kušana pēc noklusējuma notiek zaļajā kanālā pie temperatūras no 80°C līdz 95°C. Lietotājs sākotnējās kušanas parametrus var mainīt. Šie dati tiek izmantoti kušanas līknes ģenerēšanai un automātiski analizēti.



Lai iegūtu denaturācijas sliekšni, kušanas maksimums tiek atgriezts jēldatiem. Pēc tam ikvienā optiskās denaturācijas cikla izpildes solī iekārta tiek strauji uzsildīta, un dati tiek iegūti nepārtraukti. Kad atsauces mēģene ir sasniegusi denaturācijas sliekšņa fluorescences līmeni, iekārta tiek strauji atdzesēta un pāriet pie nākamā cikla soļa. Cikla izpildes laikā maksimumu neapņēina. Kušanas maksimumam tiek atgriezts fluorescences līmenis, kas nosaka denaturācijas sliekšni.

Tālāk redzamajā diagrammā ir pārklāti neapstrādātie fluorescences lasījumi un pirmais derivāts. Diagrammā ir redzama atbilstība starp kalibrēšanas laikā iegūto denaturācijas sliekšni un kušanas maksimumu.



Optiskās denaturācijas cikla izpildei ir nepieciešams turpmāk minētais:

- sākotnēji pastiprināts PCR produkts, ko ievietot rotora 1. pozīcijā. Šim paraugam jāsaturs tāds pats PCR produkts kā pētāmajiem paraugiem un detekcijas ķimikālija PCR produkta disociācijas uzraudzīšanai;
- optiskās denaturācijas profils. Var izveidot jaunu profilu vai mainīt jau izveidotu profilu (skatīt detaļas zemāk).

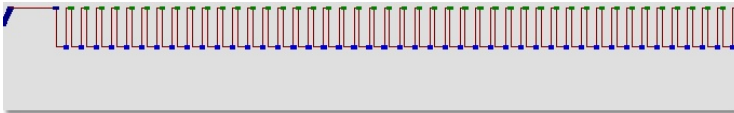
Optiskās denaturācijas cikls ir ļoti līdzīgs citiem cikliem. Galvenās atšķirības iekļauj kušanas soļa automātisku ieviešanu profila sākumā, kā arī denaturācijas soļa asu profilu cikla izpildes laikā. Optiskās denaturācijas ciklam nav nepieciešami noteikti aiztures laiki, jo produkta disociācija tiek uzraudzīta katrā ciklā.

Lai strādātu ar šo metodi, jābūt zināmai turpmāk minētajai informācijai:


- sākotnējās denaturācijas temperatūra. Šī temperatūra ir tāda pati kā standarta cikla izpildes profila denaturācijas solī;
- PCR parauga, kas nodrošinās kušanas līkni zaļajā kanālā, mēģenes pozīcija;
- optiskās denaturācijas cikla profils (jābūt noteiktam).

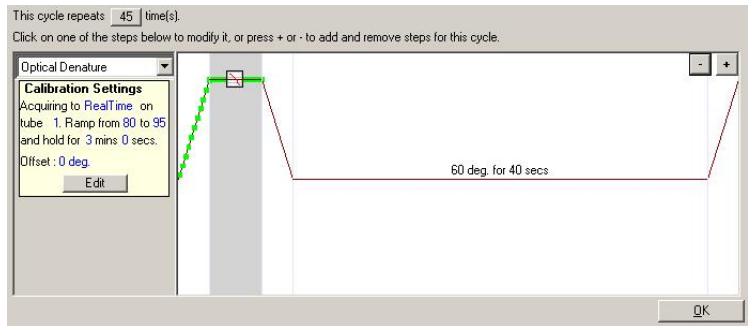
Lai izveidotu jaunu optiskās denaturācijas ciklu, rīkojieties saskaņā ar turpmāk aprakstītajiem soļiem.

1. Atveriet Edit Profile (rediģēt profilu) logu. Noklikšķiniet uz New (jauns). Atvērtajā loga noklikšķiniet uz Insert after (ievietot pēc) pogas un izvēlnē atlasiet New Cycling (jauna cikla izpilde). Lai atlasītu vienu no temperatūras soļiem, ieklikšķiniet diagrammā. Nolaizāmajā izvēlnē nomainiet Timed Step (laikā regulēts solis) uz Optical Denature (optiskā denaturācija) Parādīsies noklusējuma profils, kas iekļauj denaturācijas un optiskās denaturācijas cikla soļus.

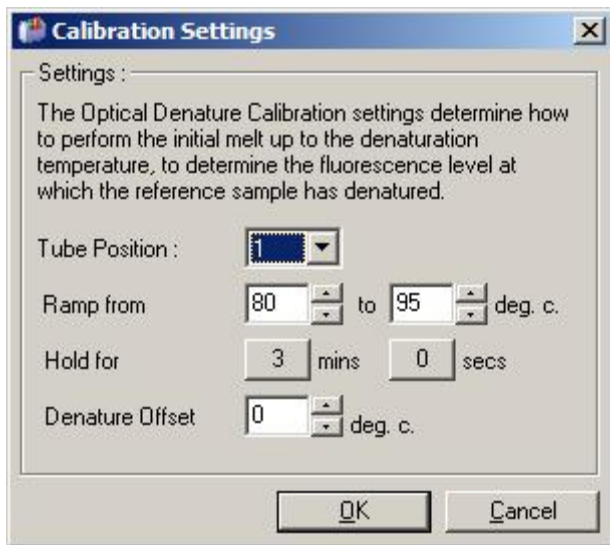


Izpildes sākumā redzamā slīpne attēlo kalibrēšanas procesu. Zaļie punktiņi attēlo datu iegūšanu katrā ciklā sildīšanas laikā. Zilie punktiņi attēlo datu iegūšanu atdzesēšanas soļa beigās pie 60°C. Ņemiet vērā, ka profilā katrs solis ir redzams ar vienādu denaturācijas temperatūru, bet šis nosacījums ne vienmēr var būt spēkā. Paraugam izpildes beigās var būt nepieciešams nedaudz ilgāks kušanas laiks, tāpēc optiskās denaturācijas procesā kušana notiek atbilstoši fluorescences datiem, nevis laikam. Šā iemesla dēļ temperatūras trase katrā ciklā var atšķirties.

2. Noklikšķiniet uz diagrammas pirmās daļas optiskās denaturācijas simbola . Ekrāna kreisajā pusē parādīsies Calibration Settings (kalibrēšanas iestatījumi) informācija.



3. Calibration Settings (kalibrēšanas iestatījumi) informācija parasti ir precīza. Ja tomēr šo informāciju nepieciešams mainīt, noklikšķiniet uz Edit (rediģēt). Parādīsies Calibration Settings (kalibrēšanas iestatījumi) logs.



4. Pārlicinieties, ka:
 - mēģene, kas atrodas Tube Position (mēģenes pozīcija), satur PCR produktu, kas uzrādīs kušanas maksimumu zaļajā kanālā;
 - beigu temperatūras līkne nesadedzinās paraugu, tomēr vienlaikus būs pietiekami augsta, lai nodrošinātu kušanu;

- aiztures laiks ir pietiekams parauga denaturācijai;
 - denaturācijas nobīde ir iestatīta pareizi.
- Noklusējuma iestatījums 0°C ir piemērots vairumam kušanas gadījumu. Ja kušanā pārejas ir ļoti straujas, kušanas pārejas detekcijai var būt nepieciešama -0,5°C līdz -2°C denaturācijas nobīde.

Denaturācijas soli var noteikt arī ar jaunu aiztures soli. Noklikšķiniet uz Insert before (ievietot pirms) un pēc tam no saraksta atlasiet New Hold at Temperature (jauna aizture pie temperatūras). Parādīsies kalibrēšanas iestatījumi.

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.

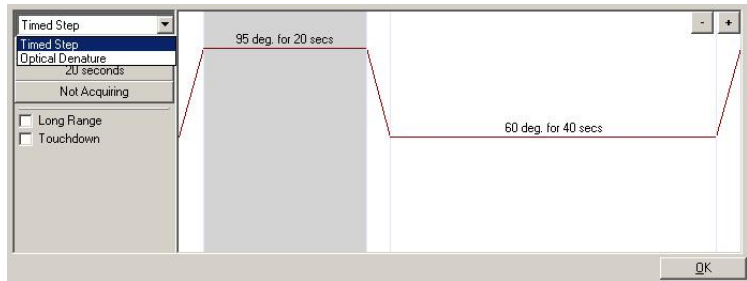
Offset : 0 deg.


Edit

Kalibrēšanas iestatījumi ir sinhronizēti ar denaturācijas iestatījumiem, tāpēc izmaiņas denaturācijas soļa aiztures laikā automātiski tiks piemērotas arī kalibrēšanas aiztures laikam. Sinhronizācija ir iespējama tāpēc, ka kalibrēšanas process un denaturācija optiskās denaturācijas cikla izpildē ir ekvivalenti procesi.

Soļa mainīšana lietošanai optiskās denaturācijas cikla izpildē

Lai cikla izpildes sekvenēšanā mainītu jau izveidotu denaturācijas soli, Edit Profile (redīgēt profilu) logā atlasiet no saraksta ciklu. Pēc tam, lai atlasītu denaturācijas soli, noklikšķiniet uz tā.



Noklikšķiniet uz nolaižamās izvēlnes un atlasiet Optical Denature (optiskā denaturācija). Temperatūra un aiztures laiks tiks noņemti, un parādīsies Optical Denature (optiskā denaturācija)  ikona.

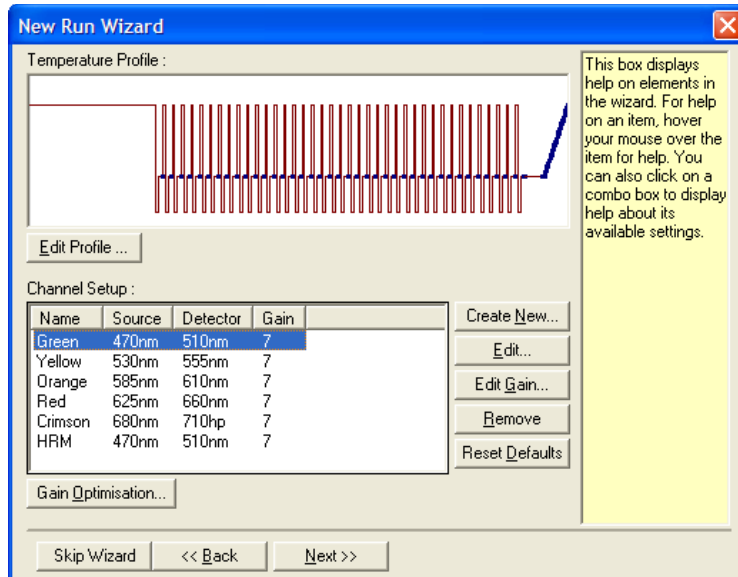
Pastiprinājuma optimizēšana

Jaunas izpildes iestatīšanas laikā ieteicams izmantot *Gain Optimisation* (pastiprinājuma optimizēšana) funkciju. Šī funkcija ļauj optimizēt pastiprinājumu līdz iestatījumam, kas nodrošinās vēlamo sākuma fluorescences diapazonu pie noteiktās temperatūras (parasti tā ir temperatūra, pie kuras tiek iegūti dati) katrā datu iegūšanas kanālā. *Gain Optimisation* (pastiprinājuma optimizēšana) funkcijas mērķis ir nodrošināt visu datu apkopošanu detektora dinamiskajā diapazonā. Ja signāls ir pārāk vājš, tas pazudīs fona troksnī. Ja signāls ir pārāk spēcīgs, tas neiekļausies mērīšanas diapazonā (piesātināts signāls).

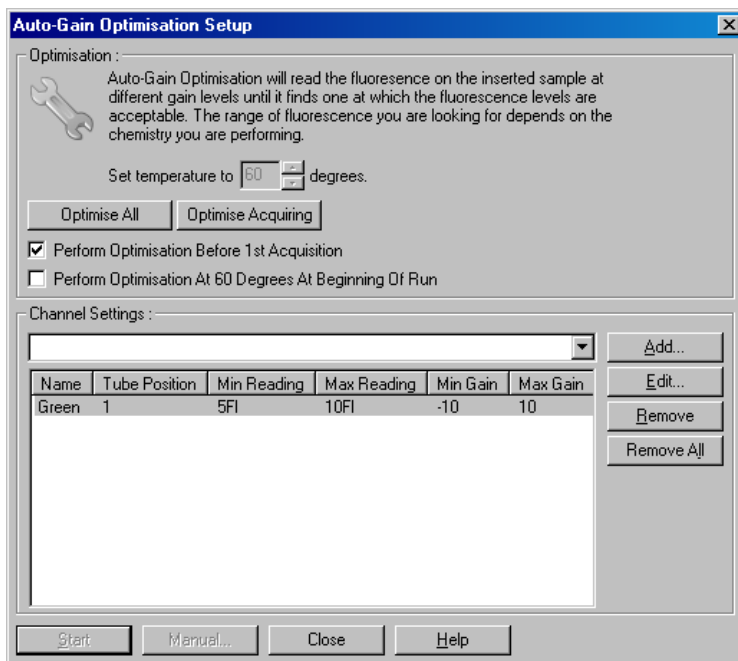
Katra kanāla pastiprinājuma diapazons ir no –10 līdz 10, kur –10 ir viszemākā jutība, bet 10 – visaugstākā.

Pirmoreiz strādājot ar reakcijām, ieteicams sagatavot testa paraugu, kas satur visus reakcijas komponentus. Ievietojiet testa paraugu Rotor-Gene Q MDx iekārtā un ar *Gain Optimisation* (pastiprinājuma optimizēšana) palīdzību nosakiet labāko pastiprinājuma iestatījumu. Ja pēc *Gain Optimisation* (pastiprinājuma optimizēšana) signāls ir vājš, palieliniet Target Sample Range (mērķa parauga diapazons) Ja signāls ir piesātināts, tad Target Sample Range (mērķa parauga diapazons) ir jāsamazina.

Lai veiktu pastiprinājuma optimizēšanu, noklikšķiniet uz Gain Optimisation... (pastiprinājuma optimizēšana) pogas, kas redzama New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logā Nr. 3 (skatīt 6.2.3. sadaļu).



Parādīsies Auto-Gain Optimisation Setup (automātiskā pastiprinājuma optimizēšanas iestatīšana) logs. Šajā logā ir iespējams veikt optimizēšanu, automātiski regulējot pastiprinājuma iestatījumus tīkmēr, kamēr visu atlasīto kanālu lasījumi iekļaujas noteikta sliekšņa robežās.



Set temperature to (iestatīt temperatūru uz):

Pirms nolasīšanas Rotor-Gene Q MDx iekārta tiks uzsildīta vai atdzesēta līdz norādītajai temperatūrai. Pēc noklusējuma šī temperatūra ir vienāda ar datu iegūšanas temperatūru.

Optimise All/Optimise Acquiring (optimizēt visu/optimizēt iegūšanu):

Optimise All (optimizēt visu) komanda mēģinās optimizēt visus programmatūrai zināmos kanālus. Optimise Acquiring (optimizēt iegūšanu) komanda optimizēs tikai tos kanālus, kas tiek izmantoti izpildē noteiktajā termiskajā profilā (cikla izpilde un kušana).

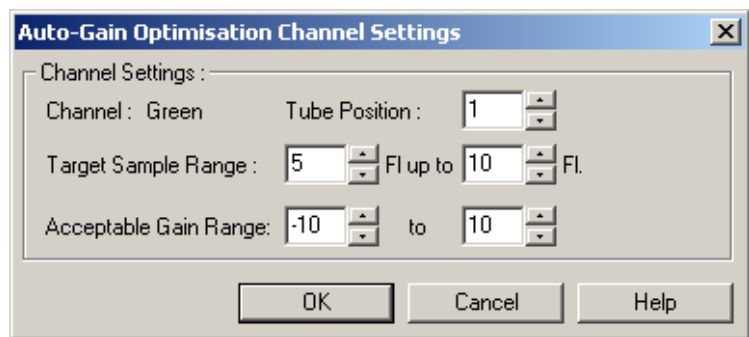
Perform Optimisation Before 1st Acquisition (veikt optimizēšanu pirms pirmās iegūšanas):

Ja pastiprinājuma optimizēšanu vēlaties veikt pirmajā datu iegūšanas ciklā, atzīmējiet šo rūtiņu. Šo rūtiņu ieteicams atzīmēt automātiskās pastiprinājuma optimizēšanas gadījumā.

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (veikt optimizēšanu pie [x] grādiem izpildes sākumā):	Ja pastiprinājuma optimizēšanu vēlaties veikt pirms katras izpildes, atzīmējiet šo rūtiņu. Rotor-Gene Q MDx iekārta tiek uzsildīta līdz norādītajai temperatūrai un veikta pastiprinājuma optimizēšana. Pēc tam līdz ar pirmo soli (parasti denaturācijas soli) sākas cikls. Šo opciju var izvēlēties gadījumā, kad pastiprinājuma optimizēšana izpildes laikā varētu pārmērīgi palielināt sākotnējā soļa izpildes laiku. Parasti priekšroka tiek dota Perform Optimisation Before 1st Acquisition (veikt optimizēšanu pirms pirmās iegūšanas) opcijai, jo šādā gadījumā pastiprinājuma optimizēšana tiek veikta maksimāli tuvu izpildes nosacījumiem.
Channel Settings (kanāla iestatījumi):	Šī nolaižamā izvēlne ļauj pievienot kanālus. Izvelieties kanālu un noklikšķiniet Add (pievienot).

Edit...
(rediģēt):

Šī poga atver logu, kurā iestatīt Target Sample Range (mērķa parauga diapazons). Target Sample Range (mērķa parauga diapazons) ir sākotnējās fluorescences diapazons, kas jāiestata attiecīgajā mēģenē ievietotajam paraugam. Automātiskā pastiprinājuma optimizēšanas funkcija, izmantojot Acceptable Gain Range (pieļaujamais pastiprinājuma diapazons) iestatītos pastiprinājuma iestatījumus, nolasa katru kanālu. Šī funkcija izvēlas pirmo pastiprinājuma iestatījumu, kas uzrāda fluorescences lasījumu Target Sample Range (mērķa parauga diapazons) robežās. Attēlā redzamajā piemērā Auto-Gain Optimisation (automātiskā pastiprinājuma optimizēšana) funkcija meklē pastiprinājuma iestatījumu diapazonā no -10 līdz 10, kas uzrāda lasījumu diapazonā no 5 līdz 10 fl mēģenē, kas atrodas 1. pozīcijā. Kopumā interpolētām krāsām ir piemērots Target Sample Range (mērķa parauga diapazons), kas atrodas robežās no 1 līdz 3 fl. Savukārt 5–10 fl diapazons ir piemērots zondes ķimikālijām.

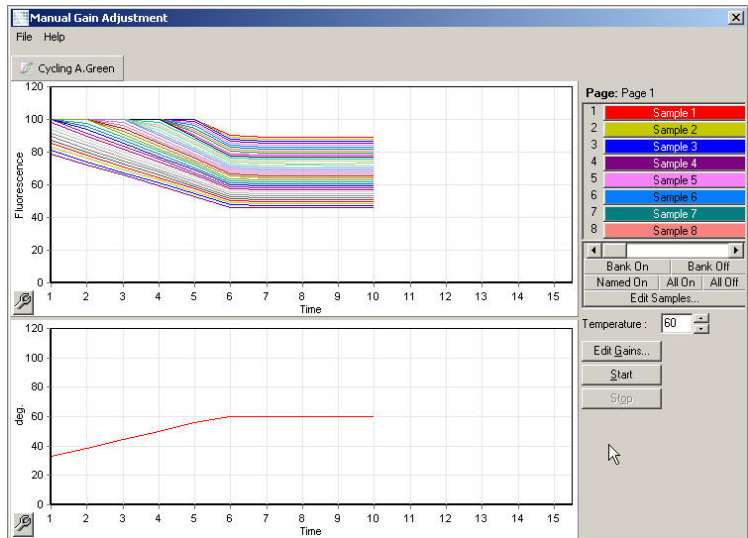


Remove/ Remove All (noņemt/noņemt visu):	Remove (noņemt) poga noņem iezīmēto kanālu. Remove All (noņemt visu) poga noņem visus kanālus.
Start (sākt):	Start (sākt) poga sāk pastiprinājuma optimizēšanu. Tiek izvēlēts pastiprinājums, kas dod noteiktajā diapazonā esošos fluorescences signāla līmeņus. Ja fluorescences ir ārpus noteiktā diapazona, pastiprinājums tiek iestatīts uz vistuvāko vērtību.
Manual (manuāli):	Noklikšķinot uz šīs pogas, atveras Manual Gain Adjustment (manuālā pastiprinājuma regulēšana) logs (skatīt 6-28. lappu).
Changing Gain During a Run (pastiprinājuma maiņa izpildes laikā):	Ja pastiprinājums izpildes sākumā bija pārāk augsts vai zems, to pirmo desmit ciklu laikā var mainīt. Pastiprinājuma maiņas vietā parādīsies vertikāla līnija. Cikli pirms maiņas tiek izslēgti no analīzes.

Piezīme: pastiprinājuma optimizēšanas funkcija var izvēlēties iestatījumu, kas neiekļaujas noteiktajā diapazonā. Cēlonis var būt fluorescences izmaiņas pēc pirmā aiztures soļa. Tomēr pastiprinājuma optimizēšanas rezultāts nodrošina uzticamu izpildes sākuma fluorescences līmeņa radījumu.

Manuāla pastiprinājuma regulēšana

Lai veiktu Manual Gain Adjustment (manuālā pastiprinājuma regulēšana), Auto-Gain Optimisation Setup (automātiskā pastiprinājuma optimizēšanas iestatīšana) logā noklikšķiniet uz Manual...(manuāli) pogas. Atvērsies Manual Gain Adjustment (manuālā pastiprinājuma regulēšana) logs. Šajā logā reālajā laikā ir redzami fluorescences lasījumi pie jebkuras temperatūras. Šo opciju lieto, kad parauga fons ir nezināms un ir nepieciešams noteikt pastiprinājumu, lai pārliecinātos, vai parauga signāls ir pietiekami stiprs.



Pēc noklusējuma displejā ir redzami visi paraugi. Paraugus var noņemt vai pievienot displejam ar labajā pusē izvietoto pārslēgu. Pārslēgs ir veidots no krāsainām šūnām, kas atbilst displejā redzamajam paraugam. Paraugi ar spilgtas krāsas šūnām ir redzami, bet paraugi ar bezkrāsainām šūnām – ne. Lai paraugus ieslēgtu vai izslēgtu, noklikšķiniet uz attiecīgās šūnas vai velciet kursoru pāri vairākām šūnām.

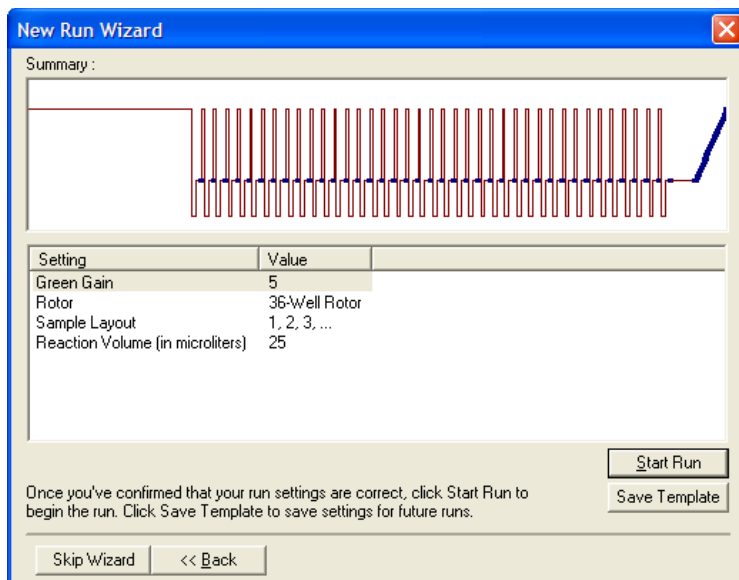
Manuālo pastiprinājuma regulēšanu ieteicams veikt saskaņā ar turpmāk aprakstītajām instrukcijām.

1. Noregulējiet temperatūru Manual Gain Adjustment (manuālā pastiprinājuma regulēšana) logā atbilstoši attiecīgās izpildes datu iegūšanas temperatūrai.
Piezīme: temperatūru nevar noregulēt Rotor-Gene Q MDx iekārtas darbības laikā. Lai temperatūras izmaiņas stātos spēkā, restartējiet Rotor-Gene Q MDx iekārtu.
2. Noklikšķiniet uz Start (sākt). Sākas izpilde. Rotor-Gene Q MDx iekārtas temperatūra tiek noregulēta atbilstoši logā iestatītajai temperatūrai. Logā redzamās diagrammas sāk rādīt datus.
3. Pagaidiet, kamēr temperatūra nostabilizējas.
4. Nolasiet beigu punkta fluorescences (FI) lasījumu.

5. Ja FI lasījums neatbilst nepieciešamajam līmenim, noklikšķiniet uz Edit Gains... (redīgēt pastiprinājumu) un veiciet atbilstošās korekcijas. Process var aizņemt noteiktu laiku, jo Rotor-Gene Q MDx iekārtai katrā kanālā katra punkta iegūšanai ir nepieciešamas apmēram četras sekundes, un šajā laikā lietotāja saskarne ir dezaktivēta.
6. Atkārtojiet procedūru tikmēr, kamēr FI ir vēlamajā līmenī.
7. Noklikšķiniet uz Stop (pārtraukt). Ja Stop (pārtraukt) poga tiek noklikšķināta datu iegūšanas laikā, Rotor-Gene Q MDx pabeigs datu iegūšanu un tikai pēc tam pārtraukt darbu. Šis process katram datu iegūšanas kanālam var ilgt apmēram piecas sekundes.

6.2.5. New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 4

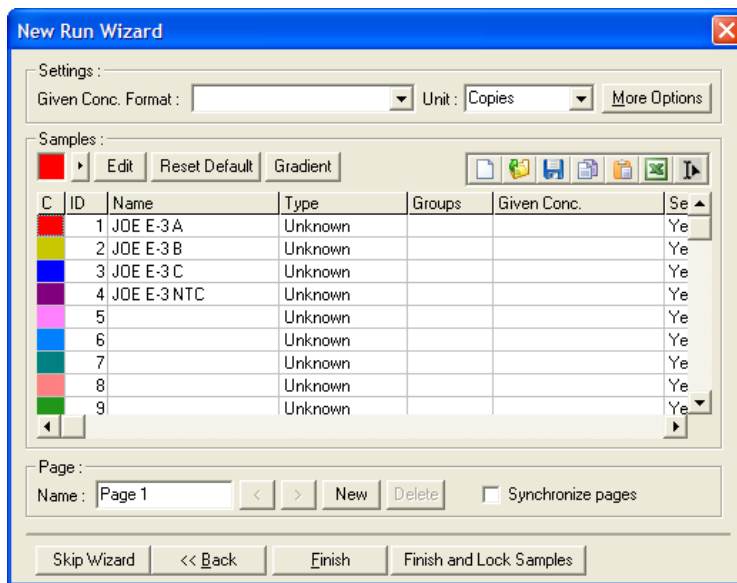
Šajā logā ir redzams izpildes kopsavilkums. Ja logā redzami parametri ir pareizi, noklikšķiniet uz Start Run (sākt izpildi) pogas. Programmatūra vaicās pēc faila nosaukuma. Lai izpildes iestatījumus saglabātu kā veidni turpmākām lietošanas vajadzībām, noklikšķiniet uz Save Template (saglabāt veidni) pogas.



6.2.6. New Run Wizard (jaunas izpildes vednis) logs Nr. 5

Izpildes laikā ievadiet šajā logā paraugu tipus un aprakstus. Šī loga funkcijas ir identiskas Edit Samples (rediģēt paraugus) loga funkcijām (7-75. lapa). Informāciju par paraugiem var ievadīt arī pēc izpildes beigām.

Poga Finish and Lock Samples (Beigt un bloķēt paraugus) ļauj aizvērt ekrānu un aizsargā paraugu nosaukumus pret turpmākām modifikācijām. Lai iegūtu sīkāku informāciju par šo un citām drošības funkcijām, skatiet sadaļu "Rotor-Gene Q programmatūras aizsardzība pret piekļuvi" (7-86. lpp.).

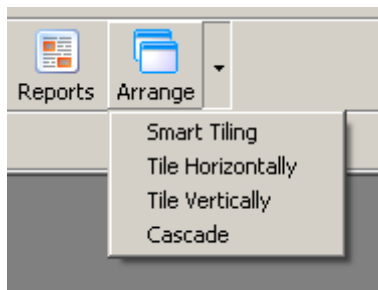


7. Analīzes lietotāja saskarne

Šajā nodaļā ir aprakstīta Rotor-Gene Q programmatūras lietotāja saskarne.

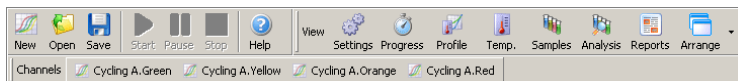
7.1. Darbavieta

Darbavieta ir galvenā loga fons. Darbavietā var atvērt jēldatu diagrammas un analīzes rezultātus. Ja vienlaicīgi ir atvērti vairāki logi, tos var sakārtot ar rīkjoslās Arrange (sakārtot) pogu. Logus var sakārtot vairākos veidos. Lai izvēlētos logu sakārtošanas veidu, noklikšķiniet uz lejupvērstās bultiņas, kas redzama blakus Arrange (sakārtot) pogai.



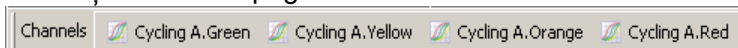
7.2. Rīkjoslā

Šīs pogas ir īsinājumi uz bieži lietotām komandām. Šīm komandām var piekļūt arī no nolaižamajām izvēlnēm.



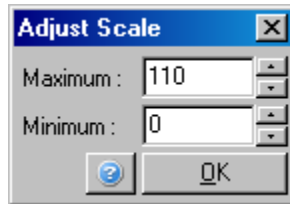
7.3. Skatīt jēldatu kanālus

Lai skatītu attiecīgā kanāla jēldatus (neanalizētos datus), noklikšķiniet uz šīm pogām.



Jēldatus var attēlot vairākos veidos, kā arī pielāgot dažādām analīzes vajadzībām.

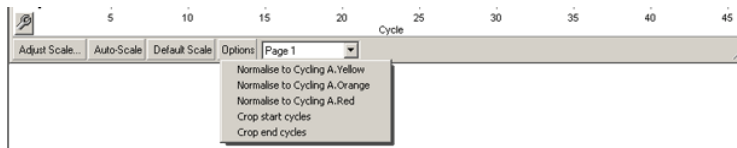
Adjust Scale (mēroga korekcija): Lai atlasītu Adjust Scale (mēroga korekcija), noklikšķiniet ar peles labo pogu uz atbilstošā loga. Adjust Scale (mēroga korekcija) poga atver mēroga iestatīšanas logu.



Autoscale (automātiskais mērogs): Autoscale (automātiskais mērogs) mēģina pielāgot mērogu datu maksimālajam un minimālajam lasījumam.

Default Scale (noklusējuma mērogs): Default Scale (noklusējuma mērogs) atiestata mērogu tā, lai attēlotu no 0 līdz 100 fluorescences vienībām.

Uzgriežņatslēgas ikona: Sīkākai informācijai skatīt 8.5. sadaļu.



Options (opcijas): Parāda iepriekš redzamo nolaižamo izvēlni, kas iekļauj jēldatu pārveidošanas opcijas.

Normalise to ... (normalizēt uz):	Šī komanda normalizē amplifikācijas datus uz datiem no pasīvās atsaucēs krāsas (piemēram, ROX), kas iegūta citā kanālā.
Crop start cycles (saīsināt sākuma ciklus):	Šī komanda izveido jauna kanāla datu kopu, kurā daži sākuma cikli ir noņemti. Tas ir noderīgi, ja noteiktu ķīmikāliju lietošanas gadījumā sākuma ciklos ir novērojami lieli lēcieni.
Crop end cycles (saīsināt beigu ciklus):	Šī komanda izveido jauna kanāla datu kopu, kurā daži beigu cikli ir noņemti.
Page 1 (1. lapa):	Šī opcija atlasītajā lapā parāda jēldatu diagrammas. Edit Sample (redīgēt paraugu) logā ir iespējams izveidot vairākas paraugu definīcijas. Piemēram, datus var skatīt ar dažāda biezuma līnijām, parauga definīcijām un citām attēlojuma opcijām. Šī opcija ir īpaši noderīga gadījumā, ja relatīvā kvantitācija tiek veikta vienā kanālā, jo lietotājs, nosakot divas paraugu lapas, var vienkārši pārslēgties starp pētāmā gēna un housekeeper paraugu skatiem.

7.4. Paraugu pārslēgšana

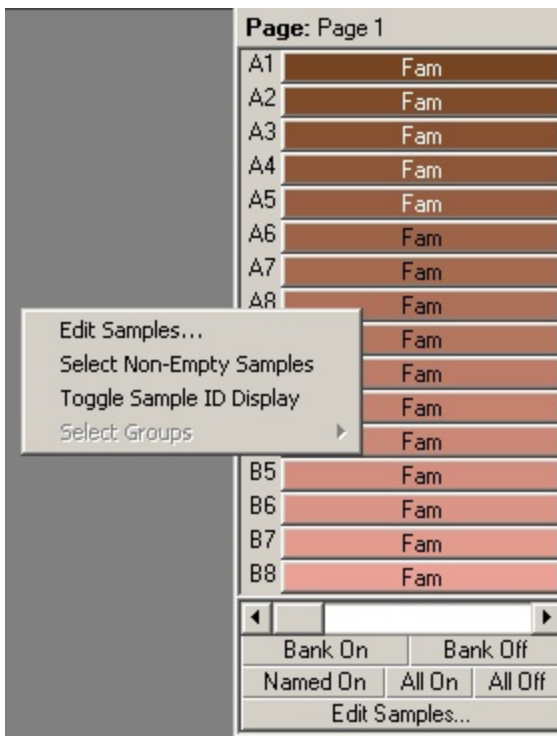
Galvenā loga labajā pusē ir pārslēgs, kas iekļauj sarakstu ar saīsinātiem paraugu nosaukumiem. Pārslēgs ir veidots no krāsainām šūnām, kas atbilst displejā redzamajam paraugam. Pārslēgu izmanto displejā redzamo paraugu kontrolēšanai. Paraugi ar spilgtas krāsas šūnām ir redzami, bet paraugi ar bezkrāsainām šūnām – ne. Lai paraugus ieslēgtu vai izslēgtu, noklikšķiniet uz attiecīgās šūnas vai velciet kursoru pāri vairākām šūnām.

Pogas Bank On (fonds ieslēgts) un Bank Off (fonds izslēgts) vai nu parāda, vai paslēpj paraugu sarakstu. Lai skatītu nākamo paraugu grupu, izmantojiet ritjoslu.

Piezīme: sarakstā redzamo paraugu daudzums ir dinamisks lielums, un tas ir atkarīgs no logā pieejamās vietas.

Lai skatītu tikai paraugus ar nosaukumu, noklikšķiniet uz Named On (rādīt ar nosaukumu) pogas. Šis ir ātrs veids, kā skatīt tikai saistošos paraugus. Lai rādītu visus vai nerādītu nevienu rotorā ievietoto paraugu, noklikšķiniet attiecīgi uz All On (rādīt visus) vai All Off (nerādīt nevienu) pogas. Noklikšķinot uz Edit Samples... (rediģēt paraugus) pogas, atvēršies Edit Samples (rediģēt paraugus) logs, kurā var rediģēt paraugu nosaukumus, tipus un standarta koncentrācijas (skatīt 7.8.4. sadaļu).

Pārslēgs ir redzams attēlā. Lai skatītu papildu opcijas, noklikšķiniet peles labo pogu uz pārslēga.



Page (lapa): Šī norāde pārslēga augšpusē rāda, kura paraugu lapa tiek skatīta. Lapas atbalsta viena kanāla datu kopas dažādas neatkarīgas analīzes. Piemēram, zaļajā kanālā var palaist divas standarta līknes un ģenerēt neatkarīgus ziņojumus. Papildu informācijai par parauga lapu iestatīšanu skatīt 7.8.4. sadaļu.

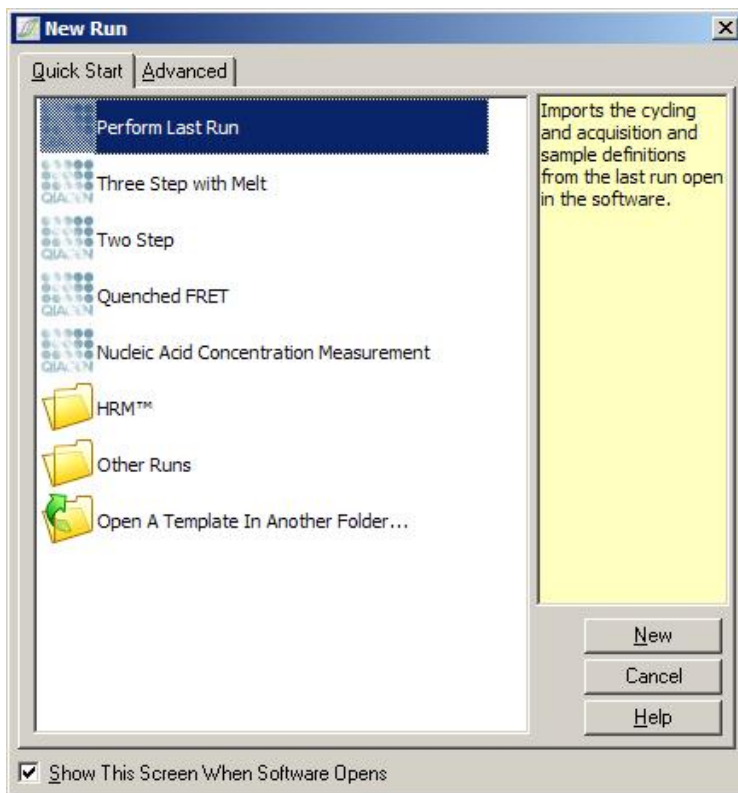
Toggle Sample ID Display (pārslēgt parauga identifikācijas attēlojumu): Ja lietojat 72 ligzdu rotoru, paraugu tiek rādīti A1 līdz A8, B1 līdz B8, utt. formātā. Toggle Sample ID Display (pārslēgt parauga identifikācijas attēlojumu) opcija ļauj lietotājam pārslēgties uz paraugu numuru sarakstu (1 līdz 72).

- Select Non-Empty Samples (atlasīt paraugus, kas nav tukši): Šī opcijas ļauj noņemt atzīmi no paraugiem, kam Edit Samples (rediģēt paraugus) logā Type (tips) laukā ir norādīts None (nekāds). Tas ļauj parādīt tikai analīzei nozīmīgus paraugus.
- Select Groups (atlasīt grupas): Ja lietotājs ir definējis grupas, šī funkcijas pārslēgs (ieslēgs/izslēgts) paraugu attēlojumu grupās. Grupas ir patvaļīgas paraugu kolekcijas, kas nodrošina detalizētākus statistiskos rezultātus. Lietotājs, piemēram, var definēt ārstēto un neārstēto pacientu paraugu grupas. Grupas var iestatīt Edit Samples (rediģēt paraugus) logā.

7.5. File (faila) izvēlne

7.5.1. New (jauns)

Atlasot File (fails) un New (jauns), atvērsies New Run (jauna izpilde) logs. Šajā logā ir pieejamas visbiežāk lietotās veidnes, kas sakārtotas Quick Start (ātrā sākšana) un Advanced (detalizētas opcijas) cilnēs. Kad veidne ir atlasīta, vednis palīdzēs pabeigt izpildes iestatīšanu, kā arī mainīt iestatījumus un profilus.



Papildu informācijai par veidnēm skatīt 6.1. un 6.2. sadaļu.

New Run (jauna izpilde)

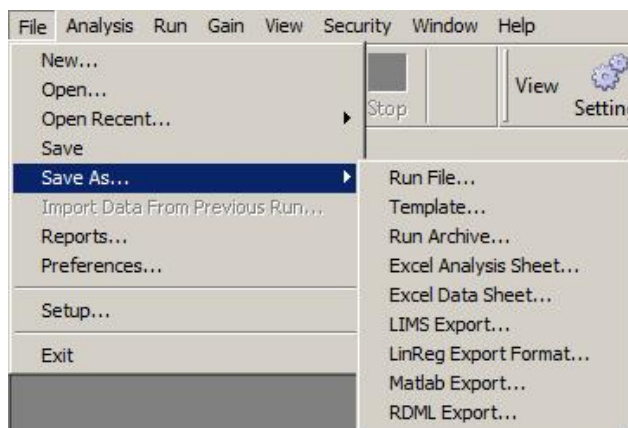
- | | |
|---|--|
| New... (jauns): | Inicializē izpildes iestatīšanu ar atlasīto veidni. |
| Cancel (atcelt): | Aizver logu. |
| Help (palīdzība): | Atver tiešsaistes palīdzību. |
| Show This Screen When Software Opens (parādīt šo ekrānu, palaižot programmatūru): | Ja šī rūtiņa ir atzīmēta, tad, palaižot programmatūru, atvērsies New Run (jauna izpilde) logs. |

7.5.2. Open (atvērt) un Save (saglabāt)

Open... (atvērt): Atver iepriekš saglabāto Rotor-Gene Q izpildes failu (*.rex) vai Rotor-Gene Q izpildes arhīvu (*.rea fails).

Open Recent... Parāda pēdējos četrus atvērtos vai (atvērt jaunākos):saglabātos failus.

Save (saglabāt): Saglabā visas izpildes failā veiktās izmaiņas.



Save As... (saglabāt Šī funkcija ļauj saglabāt izpildes failu kā): vai datus dažādos formātos. Opcijas ir aprakstītas turpmākajās sadaļās.

Run File... (izpildes fails): Saglabā faila kopiju. Lietotājs var mainīt nosaukumu un saglabāšanas vietu. Šis ir noklusējuma formāts.

Template... (veidne): Saglabā profila iestatījumu un saistītos iestatījumus, bet ne izpildes datus. Veidni var izmantot kā pamatu turpmākajām izpildēm.

Run Archive... (izpildes arhīvs):	Saglabā datus kompaktākā faila formātā. Saglabājiet šajā formātā pa e-pastu sūtāmos failus. Tas samazina faila sūtīšanas laiku un aizsargā failus pret e-pasta klientu radītiem bojājumiem.
LIMS Export (LIMS eksports):	Saglabā analīzi LIMS savietojamos formātos atbilstoši lietotāja vajadzībām. Papildu informācijai sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.
Excel Data Sheet... (Excel datu lapa):	Eksportē visu kanālu jēldatus uz Excel® lapu. Eksportēti tiek tikai atlasītie paraugi.
Excel Analysis Sheet... (Excel analīzes lapa):	Eksportē visas pašreizējās izpildes analīzes vienā Excel lapā.
LinReg Export Format... (LinReg eksporta formāts):	Eksportē viss kanāla jēldatus LinReg atbalstītā formātā. LinReg ir efektīvs analizēšanas rīks. Papildu informācijai skatīt „Eksportēšana uz LinReg” sadaļu.
Matlab Export... (Matlab eksports):	Eksportē datus Matlab zinātniskās programmatūras pakotnes formātā (šī programmatūra ir Octave atvērtā pirmkoda ekvivalents). Šī opcija ir noderīga dažādu metožu pētījumiem.
RDML Export (RDML eksports):	Eksportē datus RDML v1.1a atbalstītā failu formātā. Izveidotais RDML eksporta fails ir ZIP formātā arhivēts XML fails ar paplašinājumu *.rdml un tas atbilst RDML shēmas dokumentācijai (http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd), kas atrodama internet vietnē http://www.rdml.org/files.php .

Eksportēšana uz LinReg

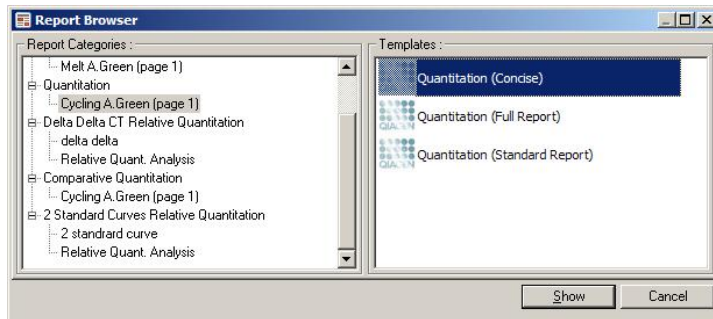
LinReg ir C. Ramakers un līdzstrādnieku izstrādāts rīks.*
LinReg rīks ir pieejams: <http://LinRegPCR.nl>.

Rotor-Gene Q programmatūra nodrošina jēldatu eksportu LinReg rīka formātā.

1. Atveriet Rotor-Gene Q un palaidiet jēldatus saturošo failu.
2. Lai datus eksportētu LinReg formātā, noklikšķiniet uz Save As... (saglabāt kā) un pēc tam izvēlieties LinReg Export Format... (LinReg eksporta formāts).
3. Microsoft Excel automātiski parādīs eksportētos jēldatus.
4. Palaidiet LinReg rīku. Rīks liks atlasīt šūnas, kas satur jēldatus. Rīks var vienlaicīgi analizēt tikai vienu jēldatu kanālu, tāpēc dati Excel lapā ir jāatlasa pareizi.

7.5.3. Reports (ziņojumi)

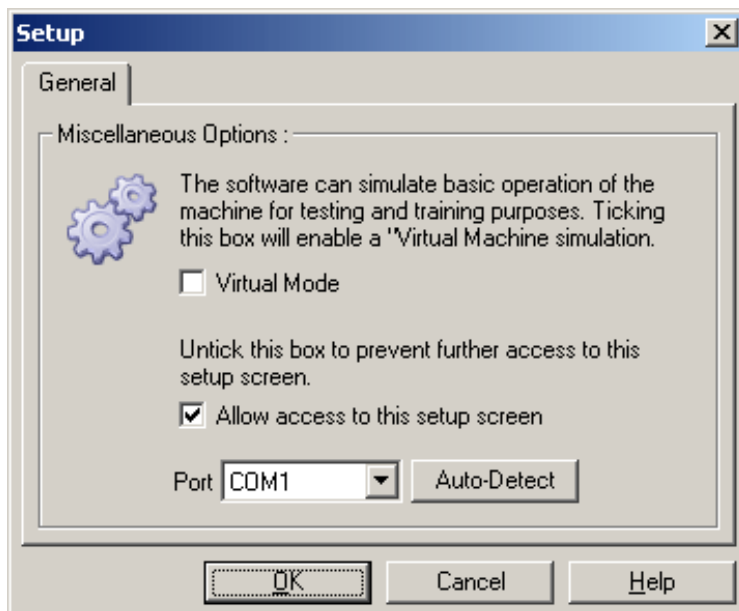
Atlasot Reports (ziņojumi) opciju, atvēršies Report Browser (ziņojuma pārliuks) logs. Ja dati jau ir izanalizēti, Report Browser (ziņojuma pārliuks) logā var skatīt analīzes ziņojumu. Lietotājam ir pieejami vairāki ziņojumu tipi, kas atšķiras pēc iekļautās informācijas apjoma.



* 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 (iestatīšana)

Rotor-Gene Q MDx iekārtas sākotnējā iestatīšana tiek pabeigta programmatūras instalēšanas laikā. Tomēr šī opcija ļauj mainīt Rotor-Gene Q MDx iekārtas savienojumam iestatītos parametrus.



Virtual mode (virtuālais režīms):

Ja programmatūru lietojat bez savienojuma ar Rotor-Gene Q MDx iekārtu, atlasiet šo opciju. Programmatūra iekļaus visas funkcijas. Šis režīms ir noderīgs demonstrēšanas, datu analīzes un veidņu iestatīšanas vajadzībām.

Allow access to this setup screen (atļaut piekļuvi šim iestatīšanas ekrānam):

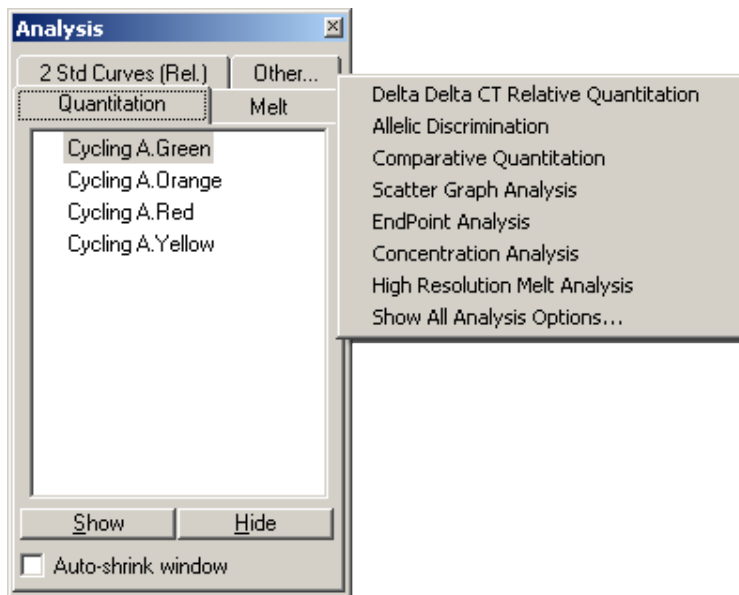
Ja iestatīšanas laikā šī opcija nav atzīmēta, tad pēc iestatīšanas šim logam tiek liegta piekļuve. Šis drošības līdzeklis neļauj lietotājiem vēlāk mainīt programmatūras iestatījumus. Lai atjaunotu piekļuvi, sazinieties ar izplatītāju.

Port (pieslēgvietā):	Lai iespējotu komunikāciju starp datoru un Rotor-Gene Q MDx iekārtu, atlasiet pareizo komunikāciju pieslēgvietu.
Auto-Detect (automātiskā noteikšana)	Ja neesat pārliecināti, kuru pieslēgvietu atlasīt, noklikšķiniet uz Auto-Detect (automātiskā noteikšana), kas meklēs visas pieejamās pieslēgvietas.

7.6. Analysis (analīze) izvēlne

7.6.1. Analysis (analīze)

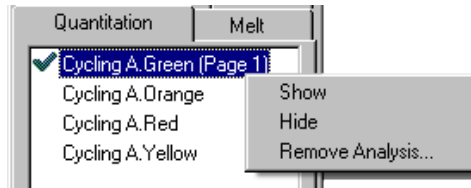
Noklikšķinot uz Analysis (analīze), atvēršies Analysis (analīze) logs. Šajā logā varat izveidot jaunas un skatīt jau izveidotās analīzes. Analīzes metodi atlasa ar cilnēm. Parādās saraksts ar kanāliem, kas ir analizējami ar attiecīgo metodi. Vairākas pārbaudes, kas tiek veiktas vienā kanālā, var analizēt neatkarīgi. Tomēr šādā gadījumā attiecīgajām pārbaudēm Edit Samples (rediģēt paraugus) logā jābūt iestatītām kā atsevišķām lapām. Izanalizētās lapas ir atzīmētas ar zaļu ķeksīti. Tas nozīmē, ka šīm analīzēm ir saglabāti sliekšņa un normalizācijas iestatījumi. Divreiz noklikšķiniet uz kanāla, kuru vēlaties skatīt vai analizēt. Atvēršies attiecīgās analīzes logs.



Auto-shrink window (automātiski samazināt logu): Ja ir atzīmēta Auto-shrink window (automātiski samazināt logu) rūtiņa, tad logs, kad tas netiek lietots, tiks automātiski samazināts. Novietojot kursoru uz loga, tas atkal palielināsies.

Darbavietas organizēšana

Katru reizi, kad tiek sākota jauna analīze, analīzes logi tiek izkārtoti atbilstoši ekrānā redzamajiem logiem. Ja ir atvērti vairāki logi, tas var būt neērti. Aizveriet visus nevajadzīgos logus un noklikšķiniet uz rīkjoslā redzamās Arrange (sakārtot) pogas. Logi tiek automātiski atkārtoti saskaņā ar Smart Tiling (režģu) metodi. Lai izvēlētos citu sakārtošanas metodi, noklikšķiniet uz Arrange (sakārtot) pogai blakus redzamās bultīņas. Lai skatītu papildu opcijas, noklikšķiniet ar peles labo pogu uz analīzes nosaukuma.



Show (rādīt): Parāda atlasītās analīzes.

Hide (paslēpt): Paslēpj atlasītās analīzes.

Remove Analysis... Pilnībā noņem atlasītās analīzes. Šādā gadījumā visi analīzes normalizācijas vai (noņemt analīzi): kušanas iestatījumi tiks neatgriezeniski dzēsti.

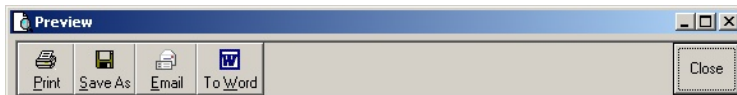
7.6.2. Quantitation (kvantitācija)

Atlasiet Quantitation (kvantitācija) cilni Analysis (analīze) logā un divreiz noklikšķiniet uz kanāla nosaukuma vai atlasiet kanālu un pēc tam, lai atvērtu attiecīgo kanālu, noklikšķiniet uz Show (parādīt) pogas. Parādīsies trīs logi: galvenais ekrāns, standarta līkne un rezultāti.

Reports (ziņojumi)

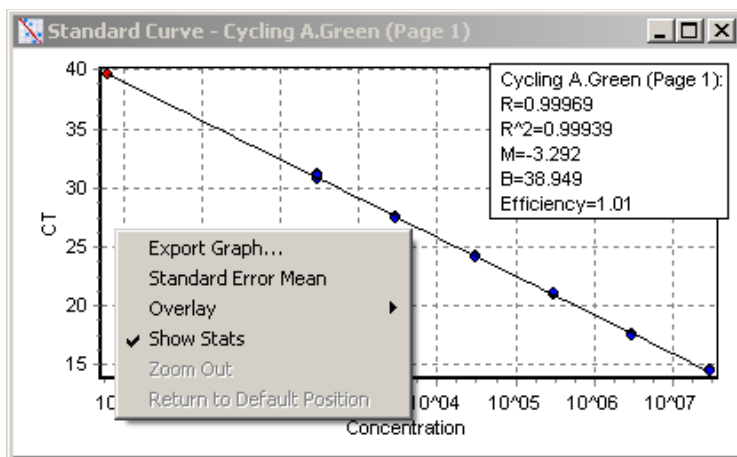
Reports (ziņojumi): Reports (ziņojumi) atver Report Browser (ziņojuma pārlūks) logu, kurā var ģenerēt pašreizējās analīzes ziņojumu. Lietotājam ir pieejamas trīs opcijas: standarta ziņojums, pilns ziņojums un saīsināts ziņojums. Lai atvērtu ziņojumu Preview (priekšskatījums) logā, divreiz noklikšķiniet uz vēlamās opcijas.

Kad ziņojums ir uzģenerēts, Preview (priekšskatījums) loga augšpusē redzamās pogas var izmantot ziņojuma drukāšanai, saglabāšanai vai nosūtīšanai pa e-pastu, kā arī ziņojuma eksportēšanai uz Word teksta redaktoru.



Standarta līkne

Std. Curve Šī poga atvērt Standard Curve (standarta līkne): līkne) logu. Pēc noklusējuma šis logs tiek atvērts kopā ar analīzi. Ja logu aizvērsit, to var atvērt ar šo komandu.



Standarta līknes vērtības tiek aprēķinātas dinamiski, proti, sliekšņa maiņas laikā. Lai mainītu sliekšņa līmeni, noklikšķiniet uz sliekšņa līnijas un pārvelciet to vēlamajā pozīcijā.

Zilie punkti ir paraugi, kas ir definēti kā standarti, bet sarkanie punkti ir nezināmo paraugu datu punkti.

Piezīme: Ja standarta līknes pārrēķināšanas vajadzībām tiek atkārtoti definēti standarti, tad standarta parauga redzamības pārslēgšana, izmantojot pārslēgu ekrāna labajā pusē, uz „izslēgts” pozīciju, izslēgs standartu no standarta līknes aprēķina. Standartu noņemšana no grafika R^2 vērtības palielināšanai nav zinātniski pieļaujama prakse. Neizdevies standarts norāda, ka paraugi iespējams arī ir neizdevušies, un rezultāti ir jāpārrēķina.

Efficiency
(efektivitāte):

Reakcijas efektivitāte izpildes laikā. Šis parametrs ir sīkāk aplūkots 7-31. lapā.

R^2 vērtība
(korelācijas
koeficients):

R^2 vai R^2 vērtība ir datu procentuāla attiecība, kas atbilst hipotēzei, ka standarti veido standarta līkni. Ja R^2 vērtība ir zema, tad standarti nav vienkārši iekļaujami labākās atbilstības līnijā. Tas nozīmē, ka rezultāti (t. i., aprēķinātās koncentrācijas) var nebūt uzticamas. Labs R^2 rezultāts atbilst apmēram 0,999.

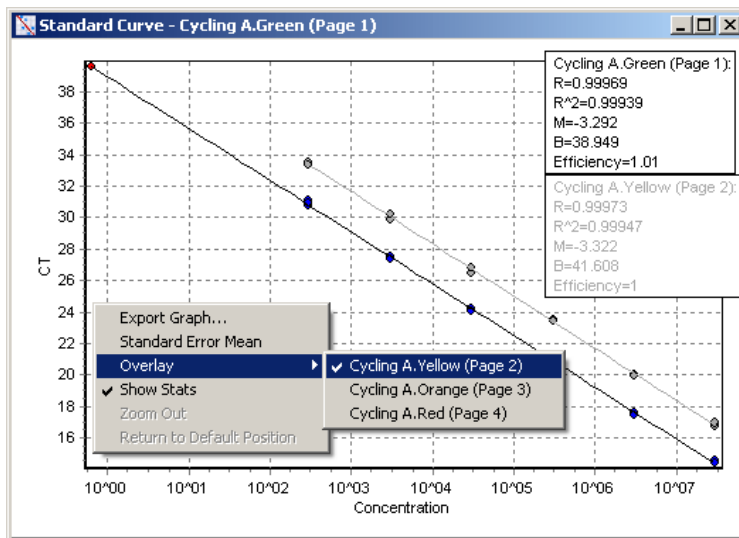
Piezīme: slikta standarta līkne var dot augstu R^2 vērtību, ja ir izmantots nepietiekams standartu skaits. Standartu skaitam samazinoties, R^2 vērtība uzlabojas. Augstākai rezultātu uzticamībai izmantojiet kā vadotnes aprēķināto koncentrāciju uzticamības robežas.

R vērtība (kvadrātsakne no Vispārīgā gadījumā R² vērtība ir korelācijas koeficienta): R vērtība ir kvadrātsakne no R² vērtības. (kvadrātsakne no Vispārīgā gadījumā R² vērtība ir noderīgāka korelācijas noteikšanai).

M un B: Standarta līknes virziena koeficientu (M) un krustpunktu (B) aprēķina pēc formulas $y = Mx + B$, un tie ir redzami Standard Curve (standarta līkne) logā.

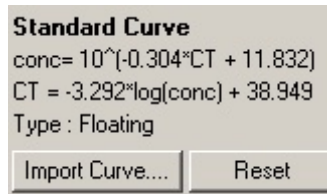
Export Graph... (eksportēt grafiku): Grafika eksportēšanas opcija parādās, kad noklikšķina peles labo pogu uz standarta līknes (skatīt 8.4. sadaļu).

Overlay (pārklājums): Ja vienas izpildes laikā ir veiktas vairākas kvantitācijas, standarta līknes var pārklāt vienā logā. Šī opcija ļauj uzskatāmi pārskatīt atšķirību starp atšķirīgiem sliekšņiem. Šī iespēja ir parādīta zemāk redzamajā ekrānu uzņēmumā.



Standarta līknes aprēķināšana

“ $\text{conc} = \dots * C_T + \dots$ ” un “ $C_T = \dots$ ” ir divos veidos uzdots vienādojums, ko izmanto C_T vērtību sasaistīšanai ar koncentrāciju. Publikācijās parasti izmanto “ $C_T = \dots$ ” formulu. Standarta līkne var būt Floating (peldoša) vai Fixed (fiksēta). Ja ir atlasīta Floating (peldoša) opcija, tad, ikreiz pārvietojot sliekšni, tiek aprēķināts optimālais standarta līknes vienādojums. Ja ir atlasīta Fixed (fiksēta) opcija, tad vienādojums nemainās, jo tas ir importēts no citas izpildes.



Līknes importēšana

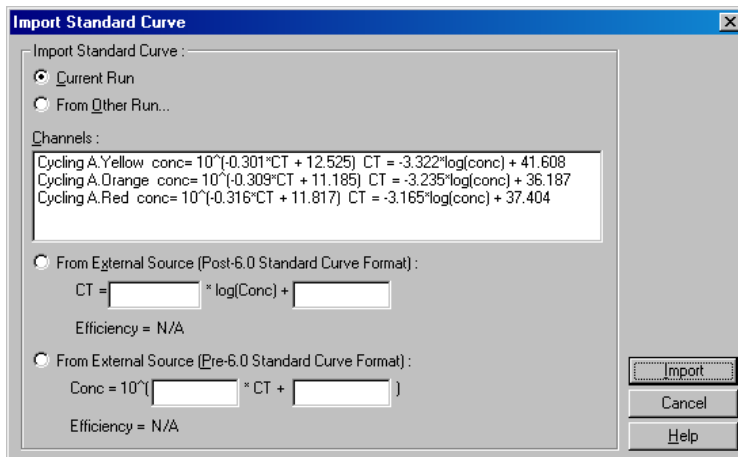
Standarta līknes importēšana ļauj noteikt koncentrācijas, kad konkrētajai izpildei standarta līkne nav pieejama un reakcijas efektivitāte divu izpilžu laikā nav mainījusies. Līknes var importēt no cita kanāla vai citas izpildes, noklikšķinot uz Import Curve (importēt līkni).

Ja nepieciešams, standarta līkni var koriģēt. Standarta līknes koriģēšana nozīmē, ka pašreizējā izpildē tiek importēta tikai avota standarta līknes efektivitāte. Standarta līknes korekcijas nepieciešamība ir atkarīga no lietotās ķīmikālijas.

Lai koriģētu standarta līkni, izmantojiet jaunās izpildes atsauci ar zināmu koncentrāciju. Nosakiet atsauci, iestatot parauga tipu uz Standard (standarts) un Edit Samples (rediģēt paraugus) logā ievadot koncentrācijas vērtību. Lai uzlabotu precizitāti, drīkst ievadīt vairākas vienas un tās pašas atsauces kopijas. Ņemiet vērā, ka nav iespējams definēt vairāk kā vienu atsauces koncentrāciju vai standartu. Piemēram, 1000 kopijām ir iespējams izveidot trīs replikāta atsauces, bet vienā izpildē nav iespējams izveidot vienu 1000 kopiju atsauci un 100 papildu kopijas.

Kad standarta līkne ir importēta, standarta līknes tips tiek nomainīts uz Fixed (fiksēts). Lai standarta līknes tipu nomainītu atpakaļ uz Floating (peldošs), noklikšķiniet uz Reset (atiestaīt).

Tālāk ir redzams Import Standard Curve (importēt standarta līkni) loga ekrānuuzņēmums.



Šajā logā pieejamās opcijas ļauj importēt standarta līkni no cita pašreizējā vai citā izpildē analizētā kanāla.

Current Run (pašreizējā izpilde): Šī opcija sakārto konkrētās izpildes citu kanālu standarta analīzes ar atbilstošajām standarta līknēm.

From Other Run... (no citas izpildes): Šī opcija atver dialoglogu, kurā var atlasīt atveramo izpildes failu. Ja izpildei ir veikta kvantitācijas analīze, katram analizētajam kanālam tiek parādītas standarta līknes.

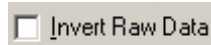
Piezīme: kvantitācijas analīzes iestatījumiem jābūt saglabātiem izpildes failā.

Channels (kanāli): Parāda analizētos kanālus un to standarta līkņu formulas.

From External Source (no ārēja avota): Šeit var ievadīt M un B vērtības. tas ir noderīgi gadījumos, kad vērtība ir no ārējā avota, piemēram, Excel izklājlapas.

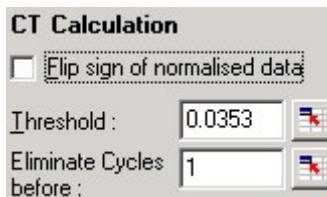
C_T aprēķināšana

Invert raw data (invertēt jēldatus): Dažu ķīmikāliju fluorescences signāls eksponenciāli pavājinās, nevis kļūst stiprāks. Šos datus ir iespējams analizēt ar Quantitation (kvantitācija) funkciju, bet šādā gadījumā jāatzīmē Invert Raw Data (invertēt jēldatus) rūtiņa. Citu kvantitācijas analīžu gadījumā šai opcijai jābūt neatzīmētai.



C_T Calculation (C_T aprēķināšana): C_T vērtība ir cikla numurs vietā, kur amplifikācijas līkne šķērso detekcijas sliekšni. Iestatot sliekšņa līniju un aprēķinot krustojšanās punktu ar citām līknēm, tiek noteikta katra parauga C_T vērtība.

Threshold (sliekšnis): Lai iestatītu sliekšni, noklikšķiniet uz ikonas (režģis ar sarkanu bultiņu), pēc tam ieklikšķiniet grafikā un, turot peles kreiso pogu nospiestu, aizvelciet līniju uz vēlamo līmeni. Logaritma vērtību var arī ievadīt. Sliekšni var noteikt arī automātiski ar Auto-Find Threshold (automātiski meklēt sliekšni) komandu. Iestatot sliekšni manuāli, tas jāiestata izpildes eksponenciālajā fāzē ievērojami virs fona līmeņa, jo tas ļaus novērst trokšņus, un zem vēlāko ciklu signāla plaknes sākuma.



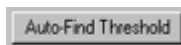
Eliminate Cycles before (likvidēt ciklus pirms): Lai veiktu iestatīšanu, noklikšķiniet uz ikonas (režģis ar sarkanu bultiņu), pēc tam ieklikšķiniet grafikā un, turot peles kreiso pogu nospiestu, aizvelciet līniju uz labo pusi. Šādi tiek likvidēts sliekšnis cikliem ar zemu kārtas numuru.

Piezīme: tas ir noderīgi, ja sākotnējos ciklos ir trokšņi, piemēram, paraugu maisīšanas dēļ.

Auto-Find Threshold (automātiskā sliekšņa meklēšana):

Šī funkcija skenē atlasīto grafika daļu un meklē sliekšņa iestatījumu, kas nodrošina optimālus doto koncentrāciju aprēķinus. Lai mainītu atlasīto daļu, teksta lodziņos ievadiet jaunu augšējo un apakšējo robežu.

Vairumam analīžu noklusējuma augšējās un apakšējās robežas vērtības ir piemērotas. Lai nodrošinātu vislabāko standarta līknes atbilstību, pamatojoties uz paraugiem, kas ir definēti kā standarts (t. i., R vērtība ir vistuvākā 1,0), tiek skenēts sliekšņu kopums.



Rezultāti

Atver Quantitation Results (kvantitācijas rezultāti) logu. Pēc noklusējuma šis logs tiek atvērts kopā ar analīzi. Ja logs ir aizvērts, to var atvērt ar šo komandu.

Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1)														
Analysis	No.	Color	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc.	Calc Conc (c)	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct (Std)	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc. Conc.	Rep. Calc. Conc. (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	10a0	Standard		3.73		1.00E+00	7.15E+07	28.1%	3.73				
Cycling A.Green (Page 1)	2	10a8	Standard		3.74		1.00E+08	7.17E+07	28.3%				7.15E+07	(1.31E+07, 4.26E+08)
Cycling A.Green (Page 1)	3	10a8	Standard		3.74		1.00E+08	7.16E+07	28.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	10a7	Standard		6.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.08			1.43E+07	(3.29E+06, 6.73E+07)
Cycling A.Green (Page 1)	5	10a7	Standard		6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	10a7	Standard		5.99		1.00E+07	1.50E+07	55.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	10a6	Standard		10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.38			8.00E+05	(2.62E+05, 2.44E+06)
Cycling A.Green (Page 1)	8	10a6	Standard		10.27		1.00E+06	8.98E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	10a6	Standard		10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	10a5	Standard		13.45		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65			8.74E+04	(2.86E+04, 2.59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	10a5	Standard		13.79		1.00E+05	8.13E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	10a5	Standard		13.68		1.00E+05	9.48E+04	15.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	10a4	Standard		15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.48			2.50E+04	(7.82E+03, 8.30E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	10a4	Standard		15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	10a4	Standard		15.18		1.00E+04	3.09E+04	208.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	10a3	Standard		21.36		1.00E+03	4.71E+02	62.9%	21.09			5.69E+02	(8.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	10a3	Standard		20.85		1.00E+03	6.47E+02	36.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	10a3	Standard		21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	10a2	Standard			NEG (Multi Ct)								
Cycling A.Green (Page 1)	20	10a2	Standard		23.90		1.00E+02	7.90E+01	20.1%					
Cycling A.Green (Page 1)	21	10a2	Standard			NEG (Multi Ct)								
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 (kvantitācijas rezultāti) logā izpildes rezultāti ir apkopoti tabulā. Lai rezultātus eksportētu Excel tabulā, noklikšķiniet ar peles labo pogu un izvēlieties Export to Excel (eksportēt uz Excel). Excel programma atvērsies automātiski. Lai datus pārkopētu izklājlapā, izvēlieties Copy (kopēt) opciju, atveriet izklājlapu un noklikšķiniet Paste (ielīmēt).

Quantitation Results (kvantitācijas rezultāti logā) ir iekļautas turpmāk aprakstītās kolonnas.

Analysis (analīze) Pašreizējā datu kopa (datu iegūšanas kanāls un parauga lapa).

No (Nr.) Parauga numurs.

Color (krāsa) Parauga grafikam piešķirtā krāsa.

Type (tips) Definētais parauga tips.

Ct Noteiktā C_T vērtība.

Ct Comment (Ct komentārs)	<p>C_T noteikšanas automātiska anotācija, ja C_T vērtības ir izslēgtas. Pieejami ir turpmāk minētie karodziņi:</p> <p>NEG (Multi Ct): sliekšnis krusto fluorescences līkni vismaz divas reizes (divkāršs krustpunkts). Viennozīmīgu C_T vērtību nav iespējams noteikt.</p> <p>NEG (NTC): kopējais fluorescences pieaugums neizpilda prasības, kas noteiktas Outlier Removal (novirzes likvidēšana) izvēlnes (skatīt turpmāk) NTC threshold (NTC sliekšnis) funkcijā. Piemēram, fluorescences līkne krusto doto sliekšni, bet neliela slīpuma palielināšanās liecina par veidnei neatbilstošu kontroli un C_T vērtība nav dota.</p> <p>NEG (R.Eff): kopējais fluorescences pieaugums neizpilda prasības, kas noteiktas Outlier Removal (novirzes likvidēšana) izvēlnes (skatīt turpmāk) Reaction efficiency threshold (reakcijas efektivitātes sliekšnis) funkcijā. Paraugi, kam nav noteikta reakcijas efektivitāte ir izslēgti un C_T vērtība nav dota. Šis karodziņš parādās tikai tad, ja atbilstošā funkcija ir iespējota.</p>
%Var:	<p>Aprēķinātās un zināmās koncentrācijas starpība procentuālā izteiksmē.</p> $\%Var = \text{Abs}(\text{aprēķināts/dots} - 1)$
Rep. Ct:	<p>Visu paraugu (ar tādu pašu nosaukumu kā šim paraugam) vidējā C_T vērtība.</p>
Rep. Ct Std. Dev.:	<p>Visu paraugu (ar tādu pašu nosaukumu kā šim paraugam) C_T vērtības standarta novirze.</p>

Rep. Ct 95% C.I.: A C_T diapazons, kas statistiski ir cēlonis 95% izmaiņu C_T vērtībā. Šis ir konservatīvs statistiskais mērījums, ko var izmantot kā kvalitātes kritēriju. Lai šo diapazonu sašaurinātu, jānodrošina vairāk replikātu vai jāsamazina replikātu variācijas.

Rep. Calc. Conc: Visu paraugu ar vienādu nosaukumu aprēķinātā koncentrācija.

Piezīme: šī nav vienkārša aprēķināto koncentrāciju vidējā vērtība. Tā ir ģeometriskā vidējā vērtība, kas reāllaika amplifikācijas eksponenciālo īpatnību dēļ matemātiski ir piemērotāka.

Rep. Calc. Conc. 95% C.I.: Koncentrāciju, kas nosaka 95% atsevišķa parauga variāciju, diapazons, kā arī lineārās regresijas modelis, uz kura tās bāzētas. Šis mērījums parāda koncentrāciju, kādas var sagaidīt 95% gadījumu, ja izpilde tiktu veikta atkārtoti ar tādu pašu variāciju, diapazonu. Šis ir konservatīvs aprēķins, un jebkuras reāllaika analīzes variāciju dēļ diapazons var būt visai plašs. Šis diapazons var būt plašs, ja standarti tiek iegūti ar koncentrāciju, kas atšķiras no nezināmajiem paraugiem, tiek lietots pārāk maz replikātu vai eksistē ievērojamas variācijas.

SVARĪGI: šī mērījuma uzrādītās variācijas ir raksturīgas reāllaika amplifikācijas eksponenciālajam procesam un nav atkarīgas no Rotor-Gene Q MDx iekārtas. Līdzīgi testi bloku bāzes cilindros bloku bāzes sistēmu zemāka temperatūras viendabīguma dēļ uzrādītu augstāku variāciju. Cilindru salīdzināšana gadījumā ieteicams salīdzināt C_T vērtības standarta novirzes.

Piezīme: sīkāka informācija par uzticamības robežām ir pieejama B pielikumā.

Piezīme: katru kolonnu, izņemot Color, Name, Ct, un Ct Comment, var parādīt vai paslēpt, ja ar peles labo pogu noklikšķina uz loga un pēc tam atzīmē vai noņem atzīmi no attiecīgās kolonnas nosaukuma.

Analīzes lietotāja saskarne

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%

Papildu ērtībām AutoStat (automātiskā statistika) funkcija automātiski aprēķina pētāmo paraugu vidējo un standartnovirzi, kā arī minimālo un maksimālo vērtību. Atlasiet rezultātus, noklikšķinot peles kreiso pogu, un ekrāna labajā pusē redzamajā tabulā parādīsies atbilstošās vērtības.

Šajā ekrānuzņēmumā ir redzama vairāku paraugu koncentrāciju analīze.

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%
24.20	30000	30286	1.0%

Maximum :	28730050
Minimum :	25142920
Count :	3
Mean :	27328521
Std. Dev :	1.07537
(Orders of Mag.)	

Copy

SVARĪGI: AutoStat (automātiskā statistika) funkcija ņem vērā kontekstu. Tas nozīmē, ka šīs funkcija nodrošina tikai nodrošīgu informāciju.

Piemēram:

- atlasītās aprēķinātas koncentrācijas nevar nodrošināt 95% uzticamības robežu, jo jāņem vērā arī regresijas modelis;
- aprēķinātajai koncentrācijai tiek uzrādīta Orders of Magnitude (lielumu secība) standartnovirze, nevis absolūtā vērtība. Tā ir procentuāla variācija. Piemēram, vērtība 1,07537 reprezentē 7,54% variāciju ($278\,974 - 322\,611 = (300\,000 / 1,07537 - 300\,000) * 1,07537$). Standarta līknei nav jēga uzrādīt absolūto vērtību. Lai nodrošinātu zemu kļūdu (± 3 kopijas) vai augstu koncentrāciju ($\pm 3\,000\,000$ kopijas), vērtība jāuzrāda pie zemākās koncentrācijas. Šā iemesla dēļ tiek uzrādīta Orders of Magnitude (lieluma secība) standartnovirze;
- aprēķinātajai koncentrācijai tiek izmantota ģeometriskā, nevis aritmētiskā vidējā vērtība. Šādi ir ņemta vērā reāllaika PCR eksponenciālās īpatnības. Piemēram, divkārsu šķīdumu ar vienu, divām, astoņām un 16 kopijām gadījumā vidējai vērtībai vajadzētu būt četri, jo tā ir šķīdumu sēriju vidējā vērtība. Tomēr aritmētiskā vidējā vērtība ir 6,75. Ģeometriskā vidējā vērtība ir $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ kopijas.

Dynamic tube normalization (dinamiskā mēģenes normalizācija)

Dynamic Tube (dinamiskā mēģene) opcija ir atlasīta pēc noklusējuma. To izmanto, lai noteiktu katra parauga vidējo fonu pirms amplifikācijas.

Standarta normalizācija vienkārši ņem pirmos piecus ciklus un izmanto tos kā katra parauga fona līmeņa indikatoru. Pēc tam datu normalizēšanas vajadzībām visi parauga datu punkti tiek dalīti ar šo vērtību. Tomēr šī metode var dot neprecīzus rezultātus, jo daži paraugi, kuriem fona līmenis ir augstāks nekā pirmajiem pieciem cikliem, netiks iekļauti fona līmeņa aprēķinos pirms amplifikācijas. Turpretim dinamiskā mēģenes normalizācija katra parauga sākuma

punkta noteikšanai izmanto katru parauga otro derivātu. Pēc tam katram paraugam, sākot ar pirmo ciklu līdz pat sākuma ciklam, tiek aprēķināta vidējā fona līmeņa vērtība. Tas nodrošina visprecīzākos kvantitācijas rezultātus.

Ņemiet vērā, ka dažām datu kopām fona fluorescences ciklos pirms amplifikācijas nav saskanīga. Šajos gadījumos dinamiskās mēģenes normalizācijas kvantitācijas rezultāti var būt neprecīzi un to nepieciešams atspējot, noklikšķinot uz Dynamic Tube (dinamiskā mēģene).

Noise slope correction (trokšņu slīpnes korekcija)

Parauga fona fluorescences (FI) ideālā gadījumā pirms amplifikācijas jābūt nemainīgai. Tomēr dažreiz izmantotās ķimikālijas dēļ FI dažos ciklos nedaudz samazinās vai palielinās. Tas uzrādās kā trokšņu līmeņa slīpne. Trokšņu slīpnes korekcija trokšņu līmeni nosaka ar vislabākās atbilstības līniju, nevis vidējo vērtību. Pēc tam trokšņi tiek normalizēti atbilstoši šai līnijai. Šī funkcija, ko aktivizē ar Slope Correct (slīpnes korekcija) pogu, uzlabo replikātu datus gadījumos, kad parauga bāzes līnijas ir acīmredzami slīpas. Trokšņu slīpnes korekcija uzlabo datus gadījumos, kad datu foni pirms sākuma punkta veido augšupejošas vai lejupejošas slīpnes (C_T).

Ja slīpne nav vienmērīga vai bāzes līnija pirmajos ciklos uzrāda ievērojamu signāla pieaugumu vai samazinājumu salīdzinājumā ar pārējo līknes daļu, trokšņu slīpnes korekcija var izraisīt dažādus nevēlamus efektus, piemēram to, ka kontroles līknes šķērso sliekšni pie negatīvām vērtībām, jo notikusi kontroles līknes aproksimācija līdz vispiemērotākajām vērtībām un atbilstoša jēlo datu normalizēšana. Tā rezultātā šī funkcija ne vienmēr uzlabo datu kvalitāti un to vajadzētu izmantot tikai tad, ja jēlo datu līknes slīpums ir vienmērīgs.

Takeoff point adjustment (sākumpunkta regulēšana)

Sākumpunkta regulēšanas algoritmu var izmantot, lai definētu minimālo bāzes līnijas garumu, kurš tiek izmantots normalizēšanai. Lai pielietotu sākumpunkta regulēšanu,

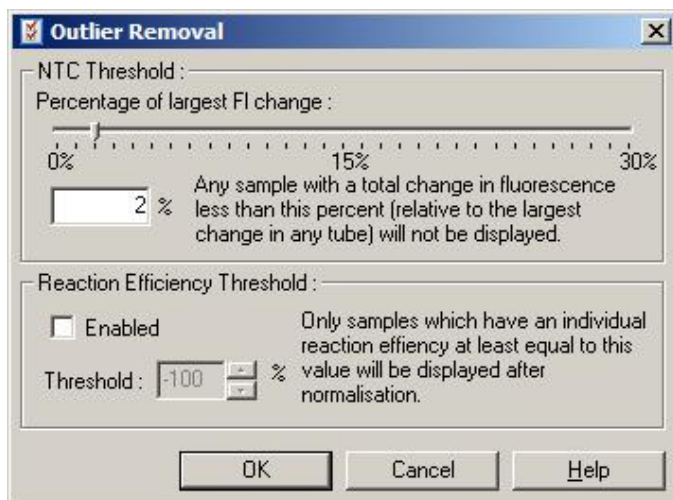
jādefinē divi parametri. Ja sākumpunkts, kas aprēķināts ar "Dynamic Tube" (dinamiskās mēģenes) metodi, ir zemāks par pirmo parametru, otrais parametrs tiek izmantots kā sākuma punkts. Sākumpunkta regulēšanu var izmantot tikai kopā ar "Dynamic Tube" (dinamiskās mēģenes) normalizēšanu.

Ignore First (neievērot pirmo)

Fluorescences signāls no pirmajiem izpildes cikliem var sniegt maldinošu priekšstatu par pārējiem izpildes cikliem. Šā iemesla dēļ labākus rezultātus var iegūt tad, ja pirmos ciklus neievēro. Šī opcijas ļauj neievērot līdz pat desmit cikliem. Tomēr gadījumos, kad pirmie cikli ir līdzīgi turpmākajiem cikliem, labāki rezultāti tiks iegūti tad, ja Ignore First (neievērot pirmo) opcija ir atspējota (šādi normalizācijas algoritmam būs vairāk darba datu).

Outlier Removal (novirzes likvidēšana)

Lai gadījumos, kad netiek izmantotas veidnes (NTCs), atšķirtu sīkas izmaiņas fluorescencē un īstas reakcijas, tiek nodrošināti divi mērījumi: NTC Threshold (NTC sliekšnis) un Reaction Efficiency Threshold (reakcijas efektivitātes sliekšnis). Opcija NTC Threshold (NTC sliekšnis) ir ieteicama vairumā gadījumu. Lietoto pieeju ir jāapstiprina.



NTC Threshold (NTC sliekšnis): Ļauj izslēgt no analīzes paraugus vai NTCs ar nelielu paaugstinājumu. Paraugi, kuru izmaiņas nepārsniedz NTC Threshold (NTC sliekšnis), netiks iekļauti ziņojumā, un CT Comment (CT komentārs) kolonnā parādīsies NEG (NTC) karodziņš.

Procentuālā attiecība atbilst lielākajām izmaiņām jebkurā mēģenē. Piemēram, ja kāda parauga sākotnējais fons bija 2 FI un analīzes laikā tas palielinājās līdz 47 FI, tad 45 FI pieaugums reprezentē 100%. Ja NTC Threshold (NTC sliekšnis) ir 10%, tad jebkurš paraugs, kura fons ir mazāks par 4,5 FI, tiktu uzskatīts par troksni.

Reaction Efficiency Threshold (reakcijas efektivitātes sliekšnis):

Reaction Efficiency Threshold (reakcijas efektivitātes sliekšnis) ir alternatīva metode, kā analīzi attīrīt no trokšņa. Šis normalizēšanas algoritms izmanto reakcijas efektivitātes noteikšanas metodes no salīdzinošās kvantitācijas (skatīt 7.6.6. sadaļu). Visi paraugi, kuru reakcijas efektivitāte neatbilst attiecīgajam līmenim, tiks izslēgti un CT Comment (CT komentārs) logā parādīsies NEG (R.Eff) karodziņš.

0% līmenis norāda, ka eksponenciālajā fāzē nav notikusi neviena reakcija. 100% norāda, ka eksponenciālajā fāzē ir notikusi pilnīgi efektīva reakcija. Negatīva procentuālā attiecība norāda, ka eksponenciālajā fāzē fluorescences signāls ir pavājinājies.

Šobrīd pētījumi vēl nav devuši viennozīmīgus rezultātus par precīziem efektivitātes līmeņiem, kas nepieciešami īstu reakciju nošķiršanai no piesārņojumiem vai citiem efektiem. Tādēļ

šo opciju ieteicams izmantot piesardzīgi, pieņemot, ka jebkurš paraugs ar īstu reakciju uzrādīs redzamu eksponenciālo fāzi un noteiktu fluorescences signāla pastiprinājumu. Ja šī vērtība ir iestatīta virs 0%, daži paraugi ar nepietiekamu, bet ievērojamu fluorescences signāla pieaugumu tiks izslēgti. Turpretim, ja tā ir iestatīta zem 0%, tad rezultātos parādīsies paraugi, kuru fluorescences signāls eksponenciālajā fāzē ir samazinājies un kurus šā iemesla dēļ bija jāizslēdz.

Piezīme: ja kādas iepriekš minētās metodes dēļ vērtība ir izslēgta, tad atbilstošā C_T vērtība Quantitation Results (kvantitācijas ziņojumi) logā neparādīsies. Vienlaikus Ct Comment (Ct komentārs) kolonnā, parādīsies izslēgšanas karodziņš. Šā iemesla dēļ Ct Comment (Ct komentārs) kolonnai vienmēr jābūt redzamai.

Tālāk redzamajā attēlā Reaction Efficiency Threshold (reakcijas efektivitātes sliekšnis) dēļ ir izslēgti paraugi Nr. 7, 8 un 9.

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

Slīpne, amplifikācija un reakcijas efektivitāte

Reakcijas slīpni (M) (redzama Standard Curve (standarta līkne) logā) var izmantot, lai ar turpmāk minēto aprēķinu palīdzību noteiktu eksponenciālo amplifikāciju un reakcijas efektivitāti:

eksponenciālā amplifikācija = $10^{(-1/M)}$;

reakcijas efektivitāte = $[10^{(-1/M)}] - 1$.

M, eksponenciālās amplifikācijas un reakcijas efektivitātes optimālās vērtības atbilstoši ir -3,322, 2 un 1. Reakcijas efektivitāte ir redzama ziņojumā (pilnajā un standarta ziņojumā, skatīt 7-14. sadaļu), kā arī *Standard Curve* (standarta līkne) logā.

Slīpni aprēķina kā C_T izmaiņas attiecību pret logaritma ievades izmaiņu (piem., kopijas numuru). 100% efektīva amplifikācija nozīmē amplifikācijas produkta divkārtšanos katrā ciklā, kas nodrošina M vērtību -3,322, amplifikācijas faktoru 2 un reakcijas efektivitāti 1.

Ja M vērtība ir -3,322, aprēķini ir šādi:

eksponenciālā amplifikācija: $10^{(-1/-3,322)} = 2$

reakcijas efektivitāte: $[10^{(-1/-3,322)}] - 1 = 1$

Cits piemērs: M vērtība 3,8 nozīmē, ka reakcijas eksponenciālā amplifikācija ir apmēram 1,83 un reakcijas efektivitāte ir 0,83 (vai 83%).

Nobīde

Formulā, kas apraksta divu mainīgo attiecības, nobīde ir apzīmēta ar B ($y = Mx + B$). Nobīdi dažreiz sauc arī par krustpunktu. B reprezentē C_T dotajai vienas vienības koncentrācijai. Ja formulā ievieto vērtību 1:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

Rezultāts ir $C_T = B$.

Krustpunkts dažādās izpildēs var mainīties (tas ir mainās straujāk nekā virziena koeficients). Šā iemesla dēļ virziena koeficientu analizē biežāk nekā krustpunktu.

Galvenais logs

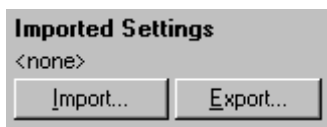
Galvenajā logā ir redzamas amplifikācijas diagrammas logaritmu skalā.

Lai logaritma skalu pārslēgtu uz lineāro skalu un otrādi, noklikšķiniet uz Linear Scale (lineāra skala) pogas, kas atrodas loga apakšā. Skalu maiņa ietekmē tikai grafiku veidu, nevis aprēķinus. To var pārbaudīt ar rādītāja rīku, proti, ar peles labo pogu ieklikšķinot grafikā un atlasot Show pinpointer (rādīt rādītāju) Logaritma skala ļauj grafikā labāk saskatīt mazas vērtības, bet lineārā skala – pārskatīt visu reakciju.

Piezīme: amplifikācijas diagrammas atjauninās reāllaikā, Rotor-Gene Q MDx iekārtai nolasot datus. Datu reāllaika uzraudzīšana ļauj lietotājam skatīt rezultātus tiklīdz līknēs parādās eksponenciālais pieaugums. Šādi ir iespējams izdarīt sākotnējos secinājumus un pieņemt lēmumus par nākamajām izpildēm.

Kvantitācijas analīzes veidnes

Kvantitācijas analīzes veidnes ļauj lietotājam eksportēt normalizācijas un sliekšņa iestatījumus kā vienu *.qut failu. Šo failu pēc tam var importēt un izmantot citos eksperimentos. Sīkākai informācijai skatīt 8.1. sadaļu.



7.6.3. Two standard curve (divas standarta līknes)

Divu standarta līkņu metode ļauj veikt relatīvās gēna ekspresijas analīzi ar normalizācijas gēnu.

Šīs metodes ietvaros katram gēnam ir nepieciešama standarta līkne. Katra gēna koncentrāciju kvantificē atbilstoši tā standarta līknei. Pētāmā gēna ekspresiju pēc tam normalizē ar normalizācijas gēnu (bieži housekeeping gēns).

Svarīgi standartus un replikātu paraugus parauga iestatīšanas laikā apzīmēt pareizi (skatīt 6.1.4. sadaļu). Īpaši svarīgi ir ņemt vērā, ka atbilstošajiem paraugiem katrā analīzē jābūt vienam un tam pašam nosaukumam. Multipleksā reakcijā, kur pētāmā gēna un normalizējošā gēna mēģenes pozīcija ir viena un tā pati, pietiek ar vienu paraugu definīciju kopu. Ja relatīvā analīze tiek veikta ar normalizējošo gēnu un vienu kanālu (proti, reakcijas tiek veiktas atsevišķās mēģenēs ar vienu fluoroforu), tad jāizveido divas paraugu lapas. Pirmajā pētāmā gēna mēģenes pozīcijas jāmarķē ar parauga nosaukumiem, bet pārējās pozīcijas jāatstāj bez nosaukumiem. Otrajā jāmarķē normalizējošā gēna pozīcijas. Programmatūra pēc tam salīdzinās abu analīžu paraugus atbilstoši nosaukumiem.

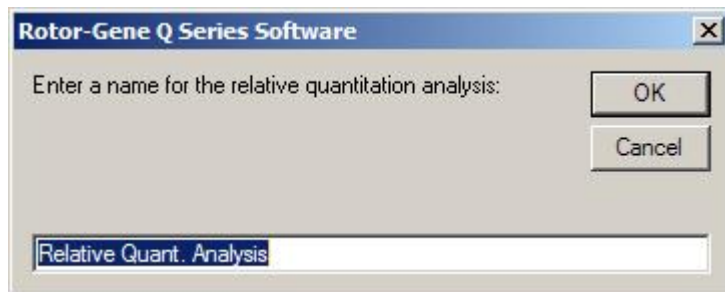
Ekspresijas analīze ar divu standarta līkņu metodi

Katra gēna datus var analizēt ar kvantitācijas analīzi. Pretējā gadījumā katra gēna rezultāti tiks automātiski noteikti ar Autofind Threshold (automātiski meklēt sliekšni) rīku.

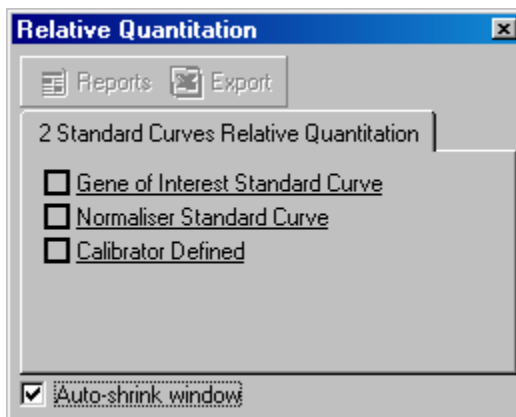
1. Analysis (analīze) logā atlasiet 2 Std Curve (Rel.) cilni. Noklikšķiniet uz New Analysis... (jauna analīze).

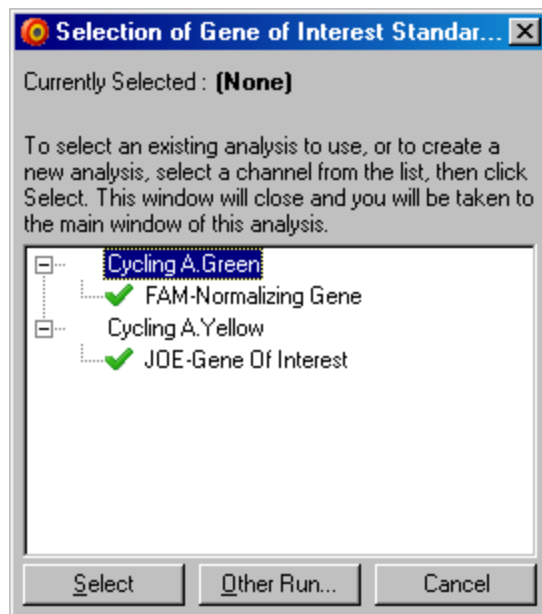


2. Ievadiet analīzes nosaukumu.

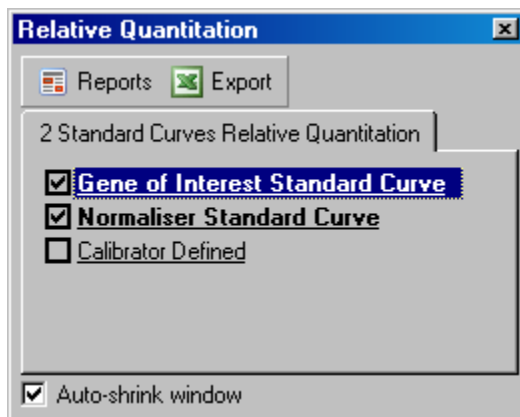


3. Norādiet lapas, kas tiek izmantotas gēna analīzes normalizēšanai un pētāmā gēna analīzei. Piemēram, noklikšķinot uz Gene of Interest Standard Curve (pētāmā gēna standarta līkne), atveras Selection of Gene of Interest Standard... (pētāmā gēna standarta atlase) logs. Atlasiet lapu, kurā tika kvantitēts pētāmais gēns. Atkārtojiet gēna normalizēšanas procedūru. Ja nepieciešams, var definēt kalibratoru. Ja ir atlasīta šī opcija, kalibratoram piešķir vērtību 1 un pārējās parauga koncentrācijas aprēķina attiecībā pret šo paraugu.



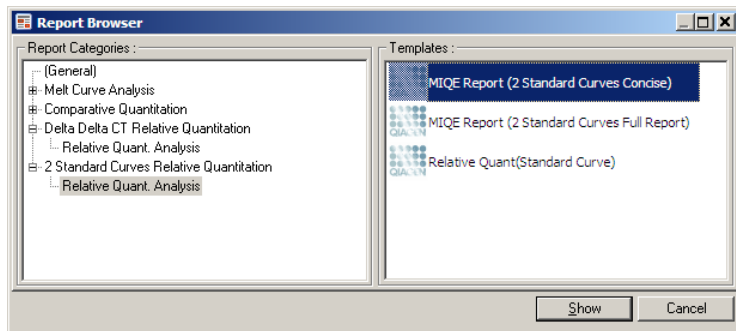


Pēc atlasu pabeigšanas opcijas tiks atzīmētas ar ķeksīti, kā redzams attēlā.

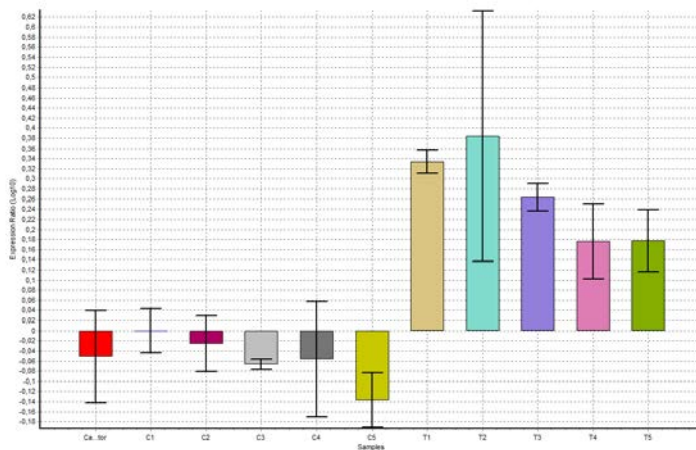


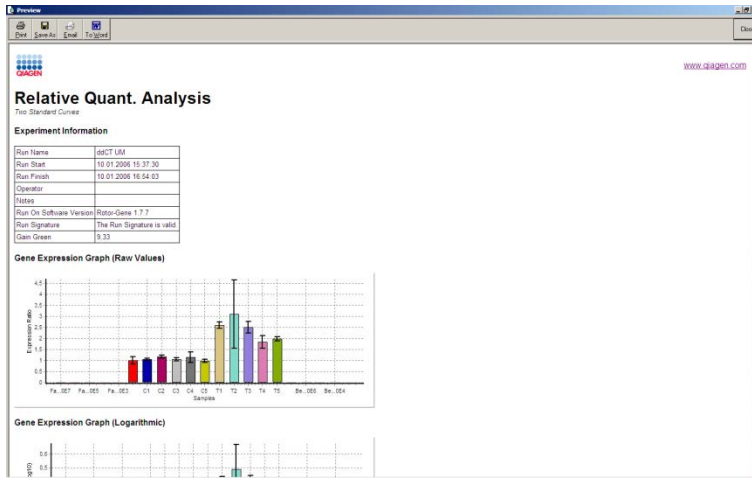
- Lai atvērtu Report Browser (ziņojuma pārlūks), noklikšķiniet uz Reports (ziņojumi) pogas. Izvēlieties no saraksta analīzi ar pareizo nosaukumu. Lai skatītu atbilstošo kvantitācijas ziņojumu, noklikšķiniet uz Show (rādīt) pogas. Export (eksportēt) opcija eksportē rezultātus jaunā Excel izklājlappā. Ja kalibrators ir

iekļauts, rezultātus aprēķina atbilstoši kalibratora paraugam, kam ir piešķirta vērtība 1.



5. Pētāmā gēna (GOI Conc.) un normalizējošā gēna (Norm. Conc.) koncentrācijas tiek nolasītas no standarta līknēm, kā arī parādīta relatīvā koncentrācija (Relative Conc.). Rezultātus var saglabāt kā Word failu.





6. Rel Min un Rel Max vērtības iegūtas, aprēķinot attiecības tipveida novirzi no tipveida GOI attiecības pret normalizēto vērtību pēc sekojošas formulas:

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

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

7.6.4. Delta delta C_T relative quantitation (relatīvā kvantitācija)

Delta delta C_T metode ļauj veikt relatīvā gēna ekspresijas analīzi. Tā ir detalizēti aprakstīta Livaka un Šmitgēna (Livak and Schmittgen) publikācijā, kas izdota 2001. gadā*.

Šīs metodes gadījumā nav nepieciešams katrā izpildē iekļaut standarta līknes. Katru paraugu vispirms normalizē atbilstoši veidnei, kas pievienota salīdzinājumā ar normalizēšanas gēnu. Normalizētās vērtības papildus normalizē atbilstoši kalibratora procedūrai. Kalibrators var

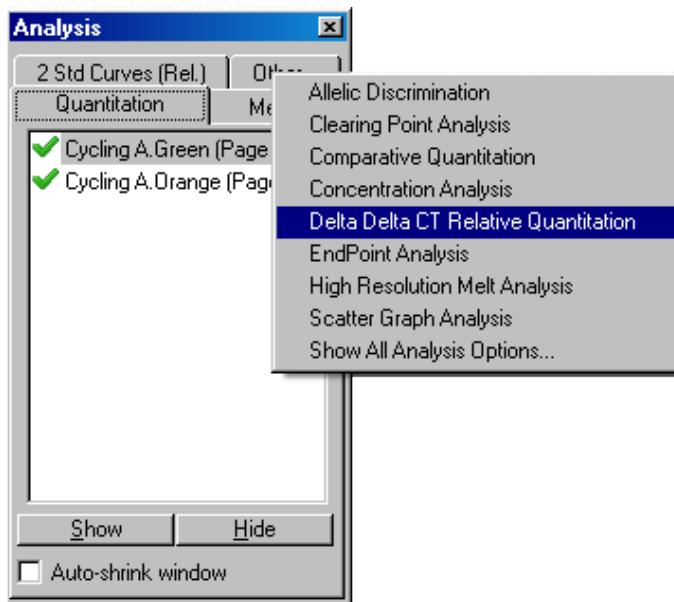
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{−[delta delta C(T)]} method. *Methods* **25**, 402.

būt, piemēram, savvaļas, neapstrādātas kontroles vai nulles laika paraugs.

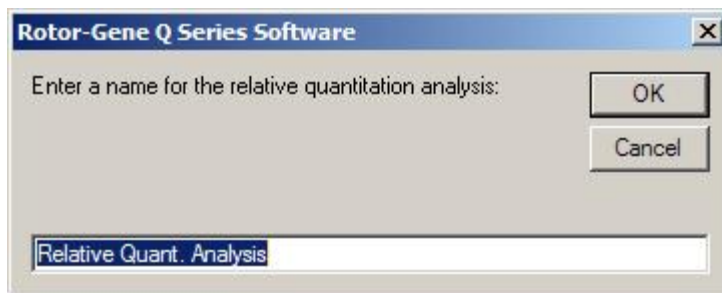
Pētāmā gēna un normalizēšanas gēna amplifikācijas efektivitātei jābūt vienādai. Tas jāpārbauda atbilstoši Livaka un Šmitgena darbā izklāstītajām norādēm.

Edit Samples (rediģēt paraugu) logā paraugu nosaukumiem jābūt pareizi ievadītiem. Vienādiem paraugiem katrā kompozīta kvantitācijas analīzē jābūt identiski marķētiem.

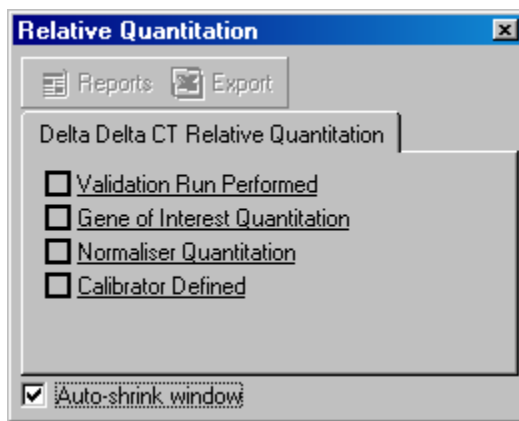
1. Analizējiet datus ar Quantitation (kvantitācija) funkciju. Pēc validācijas standarta līknes noteikšana vairs nav nepieciešama.
2. Analysis (analīze) loga Other (cits) cilnē atlasiet Delta Delta C_T Relative Quantitation (Delta Delta C_T relatīvā kvantitācija). Izvēlieties New Analysis (jauna analīze).

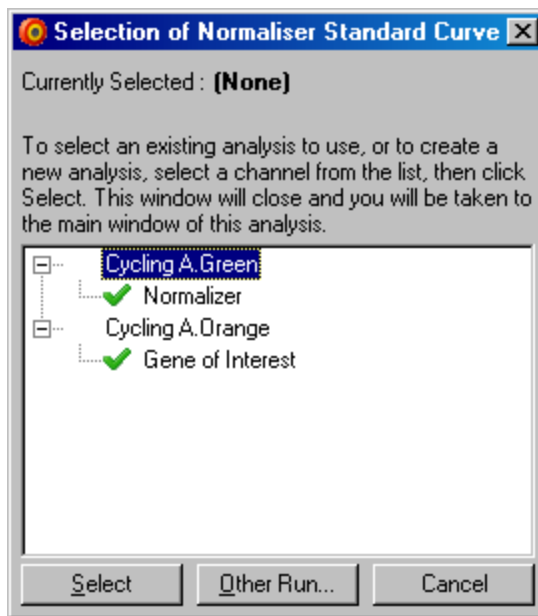


3. Ievadiet analīzes nosaukumu.

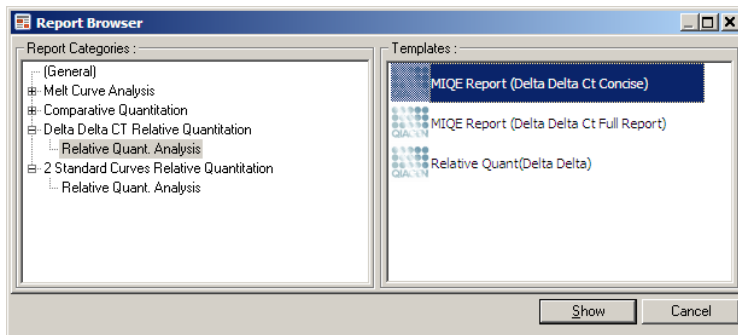


4. Lai turpinātu analīzi, jāatzīmē Validation Run Performed (validācijas izpilde pabeigta) rūtiņu. Nosakiet lapas, kurās ir analizēts pētāmais gēns un normalizācijas gēns.





5. Lai atvērtu Report Browser (ziņojuma pārliks), noklikšķiniet uz Reports (ziņojumi) pogas. Izvēlieties no saraksta analīzi ar pareizo nosaukumu. Lai skatītu atbilstošo kvantitācijas ziņojumu, noklikšķiniet uz Show (rādīt) pogas. Export (eksportēt) opcija eksportē rezultātus jaunā Excel izklājlappā. Ja kalibrators ir iekļauts, rezultāti ir atbilstoši kalibratora paraugam ar vērtību 1.



Zemāk redzamajā attēlā ir parādīti analīzes rezultātu piemēri. Attēlā ir redzamas C_T vērtības pētāmajam

gēnam (GOI CT), C_T vērtības normalizēšanas gēnam (Norm. CT), Delta C_T , Delta Delta C_T , un relatīvā koncentrācija (Relative Conc.). Ekspresija atbilst kalibratora paraugam, kam ir piešķirta vērtība 1. Sīkāku informāciju par Rel Min un Rel Max aprēķiniem sk. Litvak and Schmittgen (2001).*

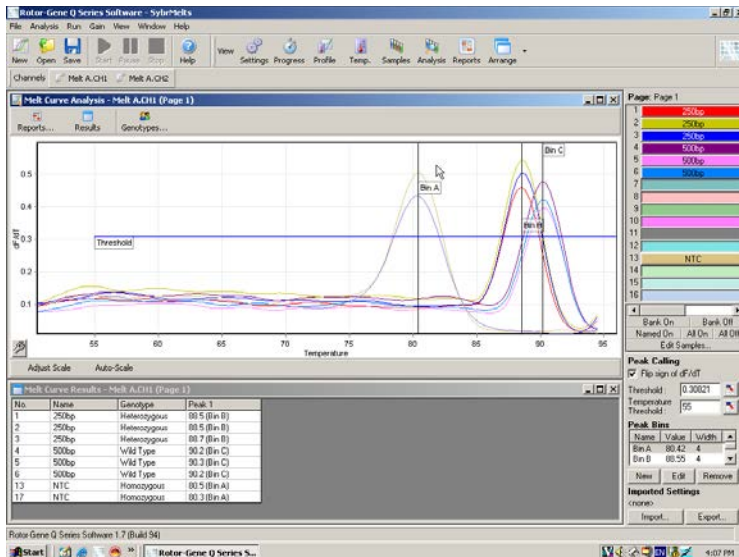
C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	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	0.03957	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. Melt curve analysis (kušanas līknes analīze)

Kušanas līknes analīzē tiek analizēti jēdatu derivāti pēc izlīdzināšanas. Šo analīzi parasti izmanto genotipēšanai un alēļu selekcijai. Līknes maksimālās vērtības tiek apkopotas iecirkņos, bet maksimālās vērtības zem sliekšņa – atmestas. Iecirkņus pēc tam var piešķirt genotipiem ar Genotypes (genotipi) komandu.

Kad izpilde ir pabeigta, lai vizualizētu amplificēto produktu disociācijas ātrumu, dažas ķīmikālijas var pievienot kā kušanas soli. Temperatūra pieaug lineāri, un tiek reģistrēta katra parauga fluorescences. Tipiska kušanas līknes analīze ir redzama zemāk.

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



Peak Calling

Flip sign of dF/dT

Threshold :

Temperature Threshold :

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 (dF/dT apvērsta zīme):

Pirms maksimālo vērtību noteikšanas pārbaudiet, vai datu kopas dF/dT zīme ir pareiza un uzrādīsies pozitīvās maksimālās vērtības.


Defining peaks (maksimālo vērtību noteikšana): Kušanas līknes analīzē maksimālās vērtības var noteikt un iekļaut ziņojumā dažādos veidos. Viena metode iekļauj automātiski katra parauga maksimālo vērtību nosaukšanu. Cita metode iekļauj maksimālo vērtību apkopošanu iecirkņos. Šī metode ir noderīga genotipēšanai.


Iecirkņi definē apgabalu, kurā ir sagaidāmas maksimālās vērtības. Kušanas līknes analīzes programmatūra, pamatojoties uz līknes faktiskajām maksimālajām vērtībām, apkopo tās iecirkņu grupās. Ja nepieciešams, iecirkņus var rediģēt.

Iecirknī tiks iekļauta katra maksimālā vērtība, kas atrodas iecirkņa diapazonā. Ja divi iecirkņi atrodas ļoti tuvu, maksimālā vērtība tiks iekļauta tuvākajā iecirknī.

Piezīme: iecirkņus nedrīkst vizuāli novietot maksimuma pozīciju noteikšanai. Iestatiet iecirkņus aptuvenā pētāmajā apgabalā. Precīzākiem rezultātiem izmantojiet rezultātu tabulas vērtības.

Peak Bins (maksimālo vērtību iecirkņi): Lai definētu iecirkni, noklikšķiniet uz New Bin (jauns iecirknis) pogas. Lai definētu iecirkņa centru, ieklikšķiniet grafikā. Lai pievienotu vēl vienu iecirkni, atkārtojiet procedūru. Lai iecirkni dzēstu, noklikšķiniet uz Remove (noņemt) pogas.

Threshold (sliekšnis): Lai iestatītu sliekšni (y ass), noklikšķiniet uz  ikonas, ieklikšķiniet grafikā, turiet peles pogu nospiestu un pārvelciet sliekšņa līniju uz vēlamo pozīciju.

Temperature Threshold (temperatūras sliekšnis): Lai temperatūras sliekšni (x ass), noklikšķiniet uz  ikonas, ieklikšķiniet grafikā, turiet peles pogu nospiestu un pārvelciet sliekšņa līniju pa labi. Šādi tiek likvidēta zemo temperatūru sliekšņa līnija.

Piezīme: tas ir noderīgi gadījumā, kad pie zemām temperatūrām signālam ir trokšņi.

Reports (ziņojumi)

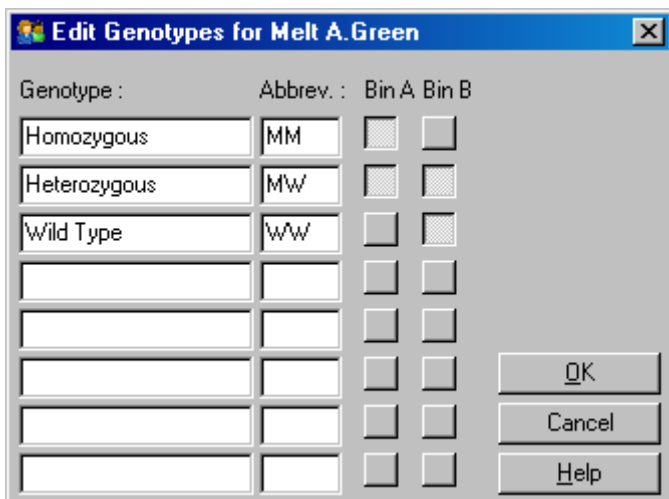
Atver Report Browser (ziņojumu pārlūks) logu, kurā var priekšskatīt ziņojumu. Var ģenerēt vai nu ziņojumu uz šobrīd atlasītā kanāla bāzes, vai arī daudzkanālu genotipēšanas ziņojumu.

Results (rezultāti)

Parāda Melt Curve Results (kušanas līknes rezultāti) logu, kurā redzamas parauga maksimālās vērtības.

Genotypes (genotipi)

Noklikšķiniet uz Genotypes... (genotipi) un atlasiet genotipus, kā parādīts turpmāk.

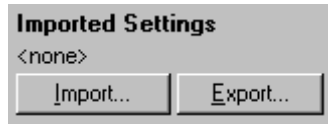


Šajā logā genotipus var piešķirt atbilstoši iecirkņu maksimālo vērtību biežumam. Noklusējuma genotipa konfigurācija ir redzama ekrānuzņēmumā, kur heterozigotiem paraugiem ir divas maksimālās vērtības, homozigotiem paraugiem maksimālā vērtība ir pirmajā iecirknī, bet savvaļas tipa paraugiem – maksimālā vērtība ir otrajā iecirknī. Katra genotipa nosaukumam blakusesošajā laukā var ievadīt saīsinājumu. Saīsinājumu izmanto, kad drukā daudzkanālu genotipēšanas ziņojumus, jo šādi var ērti pārskatīt vairāku kanālu rezultātus.

Multipleksu analīžu gadījumā genotipi jāiestata katrā kanālā. Ja, piemēram, tiek veikta divkanālu slāpētā FRET analīze, kurā savvaļas un heterozigotais genotips tiek prognozēts katrā kanālā, iecirkņa parametri jāiestata katram kanālam. Rezultāti tiks parādīti multipleksā ziņojumā.

Melt analysis templates (kušanas analīzes veidnes)

Kušanas analīzes veidnes ļauj lietotājam eksportēt normalizācijas, sliekšņa, genotipa un iecirkņa iestatījumus kā vienu *.met failu. Šo failu pēc tam var importēt un izmantot citos eksperimentos. Sīkākai informācijai skatīt 8.1. sadaļu.



7.6.6. Comparative quantitation (salīdzinošā kvantitācija)

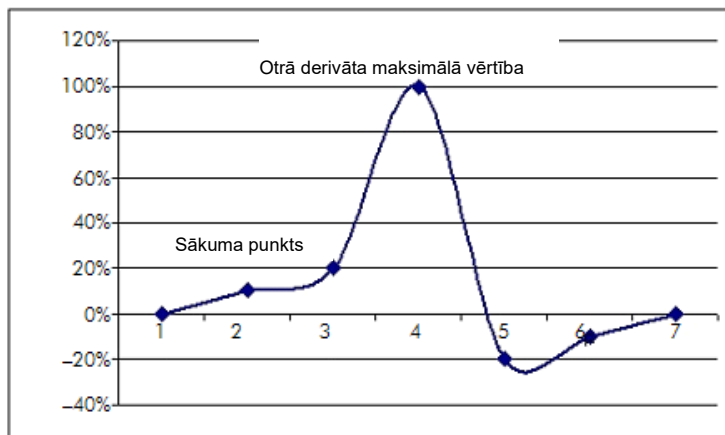
Salīdzinošā kvantitācija salīdzina paraugu relatīvo ekspresiju ar kontroles paraugu gadījumos, kad nav pieejama standarta līkne. Šo metode bieži izmanto mikromatricas analīzē. Metodes piemērs ir aprakstīts Vartona (Warton) un līdzstrādnieku publikācijā, kas izdota 2004. gadā*.

1. Lai veiktu analīzi, Analysis (analīze) logā atlasiet Other (cits) un pēc tam Comparative quantitation (salīdzinošā kvantitācija). Divreiz noklikšķiniet uz analizējamā kanāla.
2. Nolaižamajā izvēlnē, kas atrodas ekrāna labajā pusē zem pārslēga, izvēlieties kontroles paraugu.
3. Rezultāti tiek aprēķināti automātiski un parādīti zem grafika redzamajā Comparative Quantitation Results (salīdzinošās kvantitācijas rezultāti) logā.

* 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.

Comparative Quantitation Results (salīdzinošās kvantitācijas rezultāti) loga pirmajās kolonnās ir redzams parauga numurs un nosaukums. *Takeoff* (sākums) kolonnā ir redzams parauga sākuma punkts. Amplifikācijas diagrammas otrais derivāts dod maksimālās vērtības, kas atbilst reakcijas fluorescences pieauguma maksimālajam ātrumam. Sākuma punkts tiek definēts kā cikls, kurā otrais derivāts ir sasniedzis 20% no maksimālā līmeņa. Sākuma punkts norāda uz trokšņu beigām un pāreju pie eksponenciālās fāzes.

Šajā grafikā ir redzams amplifikācijas diagrammas otrais derivāts, kas uzrāda otrā derivāta maksimālo vērtību relatīvās pozīcijas un sākuma punktu.

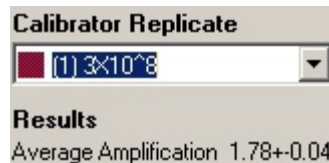


Amplification (amplifikācija) kolonnā ir redzama parauga efektivitāte. 100% efektīvā reakcijā katra parauga amplifikācijas vērtība ir 2, kas nozīmē, ka amplifikons katrā ciklā ir divkārtšojies. Jēldatos signāla divkārtšošānās notiek eksponenciālajā fāzē. Piemēram, gadījumā, ja 12. ciklā signāls bija 50 fluorescences vienības, bet 13. ciklā 51 fluorescences vienība, tad 14. ciklā tam jāpalielinās līdz 53 fluorescences vienībām. Ņemot katra parauga amplifikācijas vērtības, tiek aprēķināta vidējā vērtība, kas redzama ekrāna labajā pusē zem pārslēga. Jo lielāka ir katra parauga amplifikācijas vērtību variācija, jo lielāka ir uzticamības

robeža (vērtība aiz \pm zīmes). Lielam paraugu skaitam (N) uzticamības robeža dod 68,3% iespējamību, ka paraugu patiesā amplifikācija ir šajā diapazonā (viena standarta novirze). Divkāršojot \pm intervālu, lielam N tiek iegūts 95,4% uzticamības intervāls.

Calibrator Replicate (kalibrators replikāts)

Tāpat kā delta delta C_T metodē ir nepieciešams kalibrators paraugs, un mērījumi tiek veikti attiecībā pret šo kalibrators paraugu. Kalibrators replikātus var analizēt, jo gadījumā, ja vairākām paraugu pozīcijām ir vienāds nosaukums, tiks izmantota šo paraugu sākuma punktu vidējā vērtība. Lai funkcija darbotos pareizi, pārbaudiet, vai replikātiem ir identiski nosaukumi.



Ekspresijas aprēķinam izmanto vidējo amplifikāciju. Piemēram, paraugam ar zemu amplifikācijas vērtību būs nepieciešams ilgāks laiks, lai sasniegtu noteiktu absolūto kopijas vērtību nekā paraugam ar augstāku amplifikācijas vērtību. Comparative Quantitation Results (salīdzinošās kvantitācijas rezultāti) loga Rep. Conc. kolonnā ir redzama relatīvā koncentrācija. Katra parauga, kas tiek salīdzināts ar kalibrators paraugu, relatīvo koncentrāciju aprēķina pēc sākuma punkta un reakcijas efektivitātes. Tas ir noteikts zinātniskajā piezīmē.

Piezīme: vērtība, kas redzama pa labi no Average Amplification (vidējā amplifikācija) pēc \pm zīmes, ir vidējās amplifikācijas standartnovirze, kad novirzes amplifikācijas vērtības ir noņemtas. Ja šī vērtība ir liela, tad kopējās aprēķināto koncentrāciju vērtības var saturēt lielu kļūdu.

Relatīvās koncentrācijas programmatūra aprēķina šādi:

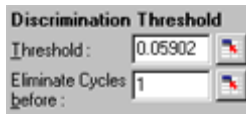
1. katra parauga sākuma punktu aprēķina, ņemot vērā otrā derivāta maksimālās vērtības;
2. aprēķina jēldatau vidējo pieaugumu četros ciklos pēc sākuma. Tiek iegūta parauga amplifikācijas vērtība;
3. noņem novirzes amplifikācijas, lai ņemtu vērā fona fluorescences troksni;
4. atlikušajām amplifikācijām aprēķina vidējo vērtību. Šī ir vidējā amplifikācija;
5. katram kalibratora replikātam aprēķina vidējo sākuma punktu;
6. parauga relatīvo koncentrāciju aprēķina saskaņā ar formulu $\text{amplifikācija}^{\frac{1}{n}}$ (kalibratora sākums – parauga sākums);
7. rezultātu parādā Comparative Quantitation Results (salīdzinošās kvantitācijas rezultāti) loga Rep. Conc. kolonnas zinātniskajā piezīmē.

7.6.7. Allelic discrimination (alēļu selekcija)

Alēļu selekcija paraugu genotipa noteikšanai izmanto reāllaika kinētiskos datus no diviem vai vairāk kanāliem. Lai veiktu šo analīzi, Analysis (analīze) logā atlasiet Other (cits) un pēc tam izvēlieties Allelic Discrimination (alēļu selekcija). Alēļu selekcijas gadījumā analīzes sākšanai nepietiek tikai ar dubultklikšķi uz analizējamā kanāla, jo šajā analīzē vienlaicīgi tiek izmantoti vairāki kanāli. Lai veiktu šo analīzi, vai nu nospiediet CTRL taustiņu un noklikšķiniet uz katra analizējamā kanāla, vai ar peli iezīmējiet visus analizējamos kanālus. Kad kanāli ir iezīmēti, noklikšķiniet uz Show (rādīt). Saraksts atjaunināsies, un kanāli parādīsies vienā rindā. Katram kanālam blakus būs redzams ķeksītis. Ķeksītis norāda, ka visi atzīmētie kanāli tiks izmantoti vienā analīzē. Lai vienu vai vairākus kanālus noņemtu, noklikšķiniet uz analīzes un atlasiet Remove Analysis... (noņemt analīzi). Attiecīgos kanālus pēc tam var iekļaut citā alēļu selekcijas

analīzē. Kanālu vienlaicīgi drīkst izmantot tikai vienā analīzē.

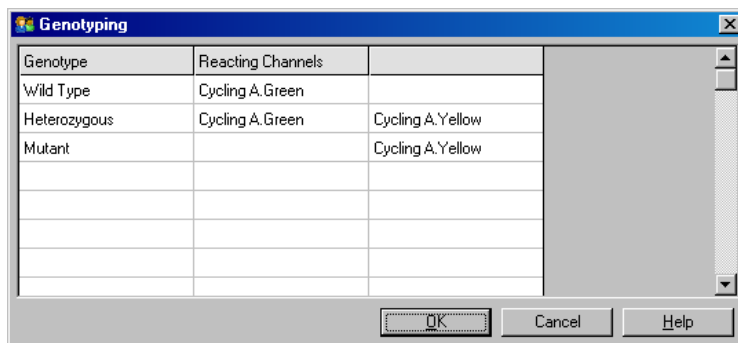
Reports (ziņojumi):	Atver priekšskatījumam Allelic Discrimination Analysis (alēļu selekcijas analīze) ziņojumu.
Results (rezultāti):	Atver Allelic Discrimination Results (alēļu selekcijas rezultāti) logu. Pirmoreiz skatot analīzi, šis logs atveras pēc noklusējuma.
Normalization options (normalizācijas opcijas):	<p>Jēldatu normalizācijas optimizēšanai ir pieejamas vairākas opcijas:</p> <ul style="list-style-type: none">■ Dynamic Tube (dinamiskā mēģenes normalizācija);■ Slope Correct (trokšņu slīpnes korekcijas)■ Ignore First x cycles (trokšņu korekcija sākuma ciklos).■ Takeoff point adjustment (sākumpunkta regulēšana). <p>Sīkākai informācijai skatīt 7-27. lapu.</p>
Discrimination Threshold (selekcijas sliekšnis):	Šajos lodziņos ievadītās vērtības nosaka selekcijas sliekšņa pozīciju. Visas līknes, kas krusto šo sliekšni, tiek uzskatītas par genotipēšanas paraugiem. Lai iestatītu vērtības vizuāli, noklikšķiniet uz ikonas, kas atrodas pa labi no katra lodziņa, un pārvelciet grafikā redzamo sliekšni uz vēlamo pozīciju.



Genotypes
(genotipi)

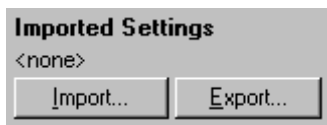
Atver Genotyping (genotipēšana) logu, ko izmanto katrā kanālā noteikto genotipu definēšanai. Šajā logā genotipus var piešķirt kanāliem alēļu selekcijas analīzes vajadzībām.

Turpmāk redzamajā piemērā paraugs ir heterozigots, ja lasījumi Cycling A.Green (Cikla izpilde A. Zaļš) un Cycling A.Yellow (Cikla izpilde A. Dzeltens) kanālos šķērso sliekšni.



Allelic analysis
templates (alēļu
analīzes
veidnes):

Alēļu analīzes veidnes ļauj eksportēt normalizācijas, sliekšņa un genotipa iestatījumus vienā *.alt failā. Šo failu pēc tam var importēt un izmantot citos eksperimentos. Sīkākai informācijai skatīt 8.1. sadaļu.



7.6.8. Scatter graph analysis (izklīdētā grafika analīze)

Izklīdētā grafika analīze nodrošina genotipēšanu uz divu kanālu amplifikācijas diagrammu relatīvās ekspresijas bāzes. Atšķirībā no alēļu selekcijas genotipu nosaka atkarībā no apgabaliem, kas ir definēti atbilstoši izklīdes grafikam, nevis viena sliekšņa. Lai veiktu šo analīzi, Analysis (analīze) logā atlasiet Other (cits) un pēc tam izvēlieties Scatter Graph Analysis (izklīdētā grafika analīze).

Izklīdētā grafika analīzes gadījumā analīzes sākšanai nepietiek ar dubultklikšķi uz analizējamā kanāla, jo šajā analīzē vienlaicīgi tiek izmantoti divi kanāli. Lai veiktu šo analīzi, vai nu nospiediet SHIFT taustiņu un noklikšķiniet uz katra analizējamā kanāla, vai ar peli iezīmējiet visus analizējamās kanālus. Kad kanāli ir iezīmēti, noklikšķiniet uz Show (rādīt).

Saraksts atjaunināsies, un kanāli parādīsies vienā rindā. Katram kanālam blakus būs redzams ķeksītis. Ķeksītis norāda, ka visi atzīmētie kanāli tiks izmantoti vienā analīzē. Lai vienu vai vairākus kanālus noņemtu, noklikšķiniet uz analīzes un atlasiet Remove Analysis... (noņemt analīzi). Attiecīgos kanālus pēc tam var iekļaut citā izklīdētā grafika analīzē. Kanālu vienlaicīgi drīkst izmantot tikai vienā analīzē.

Reports (ziņojumi):	Atver priekšskatījumam Scatter Analysis (izklīdētā analīze) ziņojumu.
Results (rezultāti):	Atver Scatter Analysis Results (izklīdētās analīzes rezultāti) logu. Katra parauga genotipu nosaka ar izklīdētajā grafikā lietotāja noteiktiem apgabaliem.

Normalization options (normalizācijas opcijas):

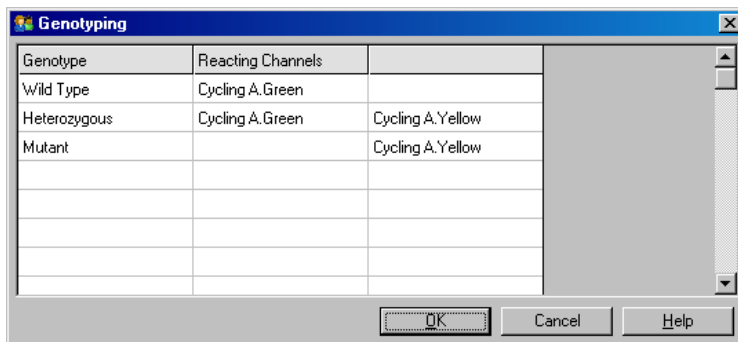
Jēdātu diagrammu normalizēšanas optimizēšanai ir pieejamas vairākas opcijas:

- Dynamic Tube (dinamiskā mēģenes normalizācija);
- Slope Correct (trokšņu slīpnes korekcijas)
- Ignore First x cycles (trokšņu korekcija sākuma ciklos).
- Takeoff point adjustment (sākumpunkta regulēšana)

Sīkākai informācijai skatīt 7-27. lapu.

Genotypes... (genotipi):

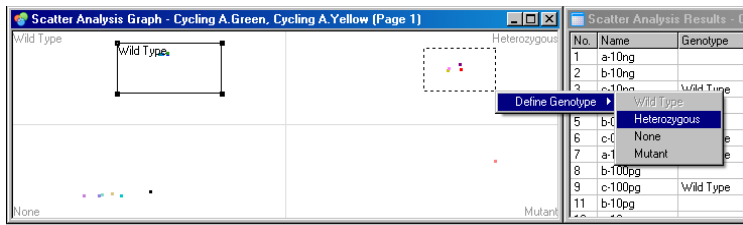
Atver Genotyping (genotipēšana) logu, ko izmanto katrā kanālā noteikto genotipu definēšanai. Šajā logā genotipus var piešķirt uz paraugu reakcijas kanālu bāzes. Atlasītie kanāli tiks izmantoti izklaidētā grafika stūru marķēšanai, un tie norādīs lietotājam izklaidētā grafika pamata laukumu, kurā jānosaka apgabali.



Scatter Graph (izkliedētais grafiks):

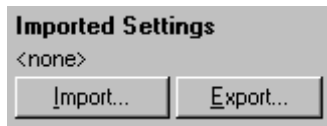
Izkliedētais grafiks parāda divu atlasīto kanālu relatīvo ekspresiju. Lai ņemtu vērā atšķirīgos izliekumus katrā kanālā, attēlojums ir normalizēts. Logaritms ir transformēts tā, lai uzsvētu paraugu ekspresiju atšķirības.

Lai veiktu genotipēšanu, lietotājam ar peli jādefinē reģioni un jāizvelk atlasītais apgabals uz grafiku. Atlasi pēc tam var marķēt, pamatojoties uz Genotyping (genotipēšana) logā konfigurētajiem genotipiem.



Scatter graph analysis templates (izkliedētā grafikam var importēt un izmantot citos analīzes veidnes):

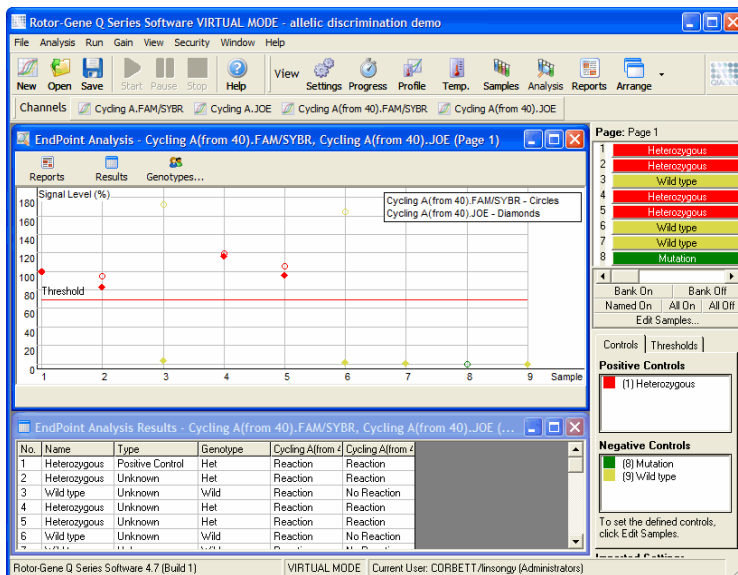
Izkliedētā grafika analīzes veidnes ļauj genotipa un apgabala iestatījumus eksportēt kā vienu *.sct failu. Šo failu pēc eksperimentos. Sīkākai informācijai skatīt 8.1. sadaļu.



7.6.9. EndPoint analysis (galapunkta analīze)

Galapunkta analīze izpildes beigās ļauj nošķirt amplificētos un neamplificētos paraugus. Rezultāti ir pieejami kvalitatīvā (pozitīvs/negatīvs) formā.

Galapunkta analīze ir parādīta zemāk redzamajā ekrānuzņēmumā.



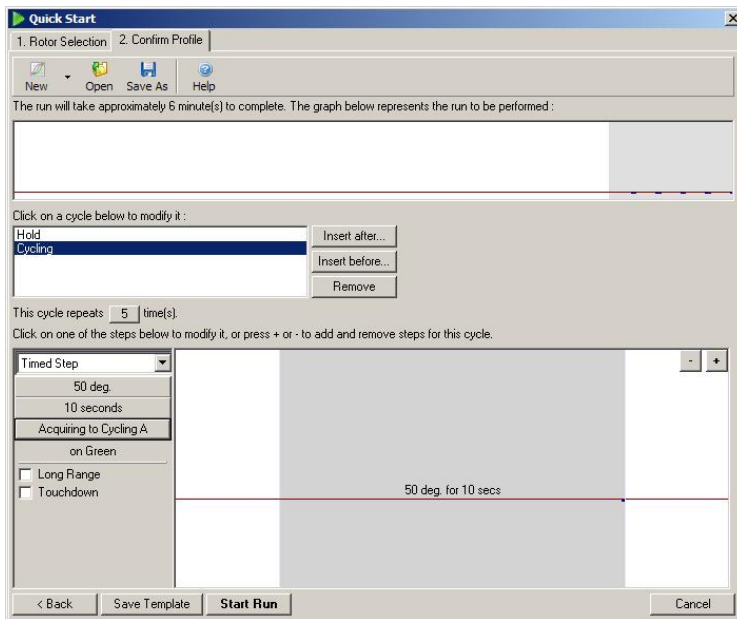
Galapunkta analīze ir līdzīga alēļu selekcijai, jo tās rezultāti ir kvalitatīvi, un dažādu kanālu reakciju permutācijām var piešķirt nosaukumus. Tomēr galapunkta analīzes gadījumā atšķirībā no alēļu selekcijas ir iespējams tikai viens lasījums, kurā katram paraugam tiek izmantots „cikls pēc cikla” lasījums. Tas nozīmē, ka lietotājam analīzes veicināšanai jānosaka pozitīvās un negatīvās kontroles. Jēdatu gadījumā signāla līmeņi katram kanālam tiek normalizēti atbilstoši zināmajām pozitīvajām un negatīvajām kontrolēm. Lietotājs pēc tam iestata signāla līmeņa procentuālo attiecību kā sliekšni.

Galapunkta analīzē lietotie termini

Turpmāk ir paskaidroti daži galapunkta analīzē lietotie termini.

Positive control (pozitīvā kontrole):	Paraugs, kas nodrošina amplifikāciju.
Negative control (negatīvā kontrole):	Paraugs, kas nenodrošina amplifikāciju. Tas rada tipisku fona signālu.
Threshold (sliexsnis):	Sliexsnis ir signāla līmenis, virs kura paraugs ir pozitīvs (amplificēts). Šo iestatījumu koriģē lietotājs pirms katras izpildes.
Signal level (signāla līmenis):	Fluorescences signāla procentuālā attiecība, kas iestatīta tā, ka pozitīvo kontroļu augstākais signāls ir 100%, bet negatīvo kontroļu zemākais signāls – 0%.
Genotype (genotips):	Dažādu reakciju permutāciju interpretācija dažādos kanālos. Piemēram, genotipu „heterozygous” (heterozigots) var piešķirt paraugiem, kas reaģē gan zaļajā, gan dzeltenajā kanālā. Genotipu var izmantot arī reakciju ar iekšējām kontrolēm paziņošanai. Piemēram, rezultātā atkarībā no tā, vai reakcija bija vērojama tikai atsevišķos kanālos vai visos, var norādīt „inhibited” (kavēts), „positive” (pozitīvs) vai „negative” (negatīvs).

Profile configuration (profila konfigurēšana)



Lai veiktu galapunkta analīzi, palaidiet profilu ar dažas minūtes ilgu aizturi pie 50°C, pēc tam izpildes cikla soli ar vienu soli (50°C uz desmit sekundēm), veicot datu iegūšanu nepieciešamajā kanālā. Iestatiet atkārtojumu skaitu uz 5, kā parādīts iepriekš. Laika iestatījumi ir minēti tikai kā piemērs un konkrētajam gadījumam var būt atšķirīgi. Jo vairāk profilā ir atkārojumu, jo vairāk informācijas pieejams analīzes veikšanai. Analīze automātiski aprēķinās visu lasījumu vidējo vērtību, nodrošinot katram paraugam tikai vienu vērtību. Noteikts atkārtojumu skaits nav nepieciešams. Ja vien nav nepieciešams īpaši augsts precizitātes līmenis, pieci atkārtojumi parasti ir pietiekami.

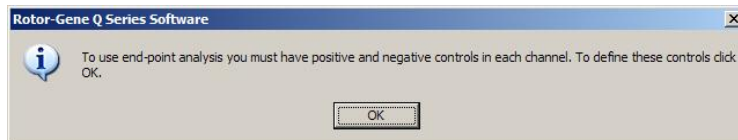
Analysis (analīze)

Galapunkta analīzi var vienlaicīgi veikt vairākos kanālos. Lai izveidotu jaunu analīzi, noklikšķiniet uz EndPoint (galapunkts) cilnes, atlasiet ar peļi kanālus un noklikšķiniet Show (rādīt).



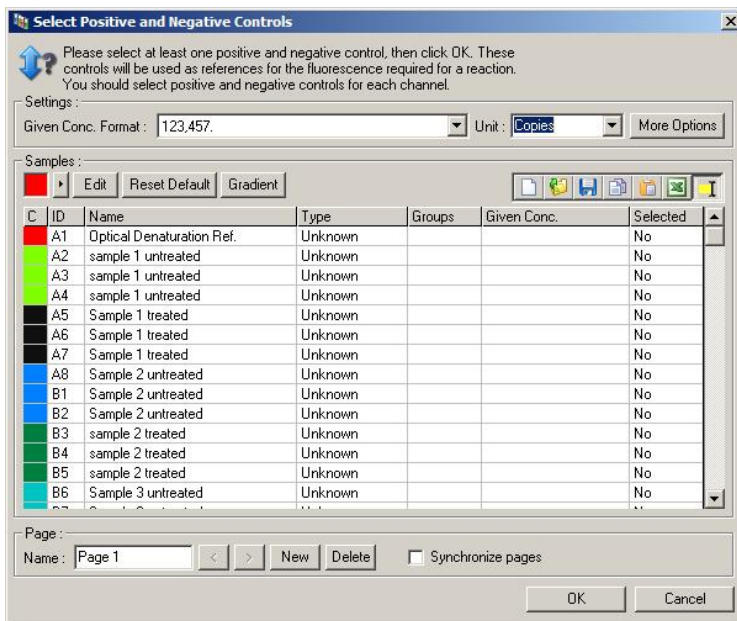
Define controls (definēt kontroles)

Pirmoreiz veicot galapunkta analīzi, ja pozitīvās un negatīvās kontroles nav definētas, parādīsies turpmāk redzamais ziņojums.



Noklikšķiniet OK (labi). Parādīsies Edit Samples (rediģēt paraugus) logs ar pozitīvo un negatīvo kontroļu definēšanas laukiem. Lai definētu paraugu kā pozitīvo vai negatīvo kontroli, noklikšķiniet uz parauga tipa šūnas un atlasiet nolaižamajā izvēlnē atbilstošo kontroles tipu.

Piezīme: lai veiktu analīzi, kontroles jāaktivizē ar galvenā loga labajā pusē redzamo pārslēgu.



Šis ekrāns darbojas tāpat kā Edit Samples (redīgēt paraugus) logs (6.1.4. sadaļa).

Normalization (normalizācija)

Galapunkta analīzes datu normalizācija pārveido visus signāla līmeņus 0–100% diapazonā. Jābūt atlasītai vismaz vienai pozitīvai un vienai negatīvai kontrolei vai vairākām, ja tiek analizēti vairāki kanāli un standarti nav multipleksēti. Ja pastāv risks, ka pozitīvā kontrole var neamplificēt, jāatlasa vairākas pozitīvās un negatīvās kontroles.

1. Katram kanālam tiek izanalizētas visas pozitīvās kontroles, un kontrole ar visaugstāko fluorescenci tiek pieņemta par 100% vērtību. Tas nozīmē, ka gadījumā, ja tiek izmantotas divkāršas kontroles, vienas pozitīvās kontroles kļūdas gadījumā izpildes rezultāti netiks ietekmēti.
2. Katram kanālam tiek izanalizētas visas negatīvās kontroles, un kontrole ar viszemāko fluorescences līmeni tiek pieņemta par 0% vērtību.

3. Pārējo paraugu fluorescences vērtības tiek novērtētas attiecībā pret augstāko pozitīvo kontroli un zemāko negatīvo kontroli.

Piemēram:

Paraugs	Tips	Fluorescence
1	Pozitīvā kontrole	56.3
2	Pozitīvā kontrole	53.0
3	Negatīvā kontrole	4.5
4	Negatīvā kontrole	4.3
5	Paraugs	48.1
6	Paraugs	6.4

Šī izpilde ir sekmīga, jo abas pozitīvās un abas negatīvās kontroles atšķiras nedaudz, kā arī nesakrīt ar paraugu fluorescences vērtībām.

Normalizētās vērtības ir šādas:

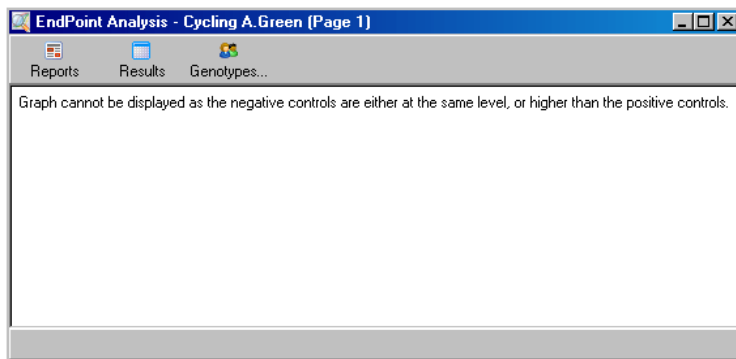
Paraugs	Tips	Ekspresija (%)
1	Pozitīvā kontrole	100.0
2	Pozitīvā kontrole	93.7
3	Negatīvā kontrole	0.4
4	Negatīvā kontrole	0.0
5	Paraugs	84.2
6	Paraugs	4.0

Paraugs 1 ir pozitīva kontrole ar visaugstāko fluorescenci, tāpēc tas ir pieņemts par 100% vērtību. Otra pozitīvā kontrole ir nedaudz zemāka. Paraugs 4 ir viszemākā negatīvā kontrole, tāpēc tas ir pieņemts par 0% vērtību. Tagad ir skaidri redzams, ka paraugs 5 visticamāk ir amplificēts, bet paraugs 6 – nav amplificēts.

Piezīme: atkarībā no atlasītajām pozitīvajām un negatīvajām kontrolēm ir iespējams iegūt ekspresijas līmeņus, kas ir augstāki par 100% vai zemāki par 0%.

Rezultātu, kas ir augstāks par 100%, var skaidrot ar to, ka paraugs ir augstāk ekspresēts nekā pozitīvās kontroles. Rezultātu, kas ir zemāk par 0%, var skaidrot ar to, ka paraugs visticamāk ir mazāk amplificēts nekā negatīvās kontroles. Šie rezultāti neliecina par kļūdu, jo analīze ir kvalitatīva.

Ja negatīvās kontroles uzrāda augstāku fluorescenci nekā pozitīvās kontroles, paraugi ir nepareizi iestatīti, un parādīsies turpmāk redzamais ziņojums.



Normalization in multiple channels (normalizācija vairākos kanālos)

Signāla datus var analizēt vairākos kanālos, bet šādā gadījumā paraugu iestatīšanas ir sarežģītāka. Galapunkta analīzē tiek pieņemts, ka ir veikta multipleksēšana un katrai mēģenei var būt tikai viena mēģenes pozīcija. Šobrīd nav iespējams analizēt iestatījumu, kurā parauga pozīcija ir pozitīvā kontrole vienam kanālam, bet negatīvā – citam.

Lai gan Edit Samples (rediģēt paraugus) logā ir dota tikai viena parauga definīcija uz mēģenes pozīciju, normalizācija katram kanālam notiek neatkarīgi.

Ja mēģenes pozīcija ir pozitīvā kontrole vismaz vienam kanālam, tas jānorāda Edit Samples (rediģēt paraugus) loga Type (tips) kolonnā. Pretējā gadījumā jāatlasa Sample (paraugs) tips. Tas attiecas arī uz negatīvajām kontrolēm.

Piemēram, ja paraugs ir pozitīvā kontrole zaļajā kanālā, bet ne dzeltenajā kanālā, tas joprojām jādefinē kā pozitīvā kontrole. Tā kā tiek izmantota katra kanāla augstākā pozitīvā kontrole, ja dzeltenajā kanālā ir vismaz viena amplificējoša pozitīvā kontrole, parauga kā zaļā kanāla kontroles definīcija netiek ņemta vērā.

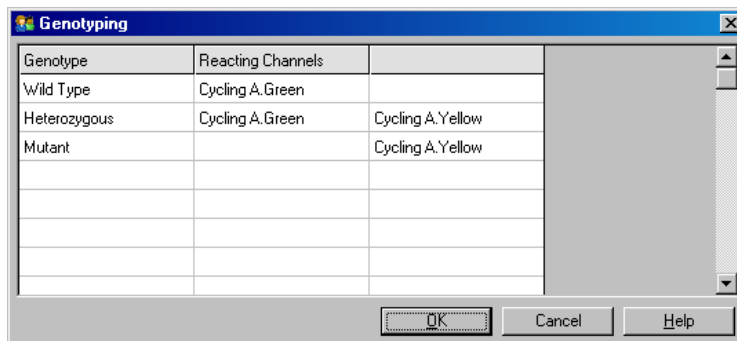
Threshold (sliekšnis)

Sliekšnis ļauj noteikt katra kanāla reakcijai nepieciešamo procentuālo ekspresiju. Kad pozitīvās un negatīvās kontroles ir definētas, visi kanāli tiks normalizēti līdz 0–100% mērogam. Šā iemesla dēļ ir nepieciešams tikai viens sliekšnis pat tad, kad analizē vairākus kanālus.

Noklikšķiniet un velciet sliekšņa līniju uz apgabalu, kas atrodas robežās no 0 līdz 100. Sliekšnis nevienā pusē nedrīkst atrasties pārāk tuvu paraugiem, jo šādā gadījumā izpildes rezultāti nebūs galīgi. Atšķirība starp amplificēto un neamplificēto paraugu ir tikai daži procenti, un tas nozīmē, ka gadījumā, ja reakciju atkārtotu, paraugam būtu jāparādās sliekšņa otrā pusē.

Genotypes (genotipi)

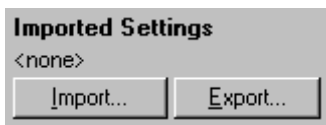
Šī opcija atver Genotyping (genotipēšana) logu, ko izmanto katrā kanālā noteikto genotipu definēšanai.



Šajā logā genotipus var piešķirt kanāliem. Iepriekš redzamajā piemērā paraugs ir heterozigots, ja lasījumi Cycling A.Green (Cikla izpilde A. Zaļš) un Cycling A.Yellow (Cikla izpilde A. Dzeltens) kanālos šķērso sliekšni.

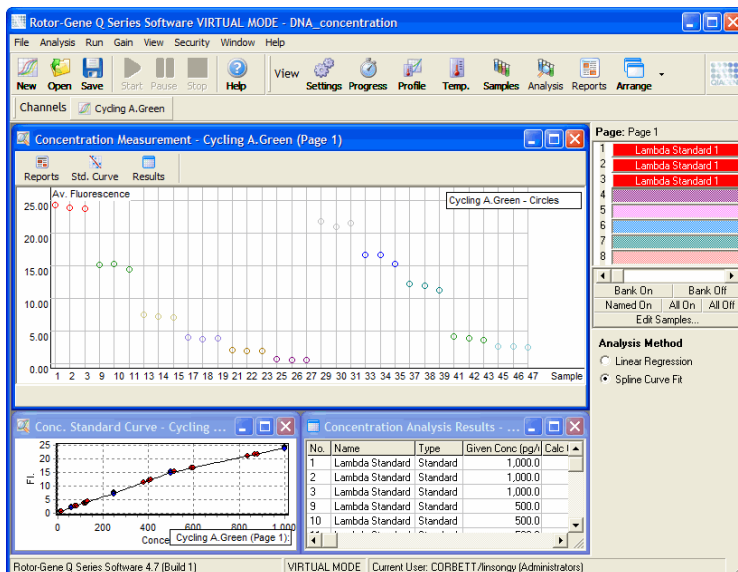
EndPoint analysis templates (galapunkta analīzes veidnes)

Galapunkta analīzes veidnes ļauj lietotājam eksportēt genotipa un sliekšņa iestatījumus kā vienu *.ent failu. Šo failu pēc tam var importēt un izmantot citos eksperimentos. Sīkākai informācijai skatīt 8.1. sadaļu.



7.6.10. Concentration analysis (koncentrācijas analīze)

Koncentrācijas analīze ļauj Rotor-Gene Q MDx iekārtu izmantot DNS koncentrāciju mērījumiem vai fluorometra lasījumiem. Zemāk redzamajā ekrānuzņēmumā ir parādīta šāda veida analīze.



Izpildes sagatavošana

Lai veiktu koncentrācijas analīzi, vispirms sagatavojiet fluorescences standartus un paraugus (vēlams trīs kopijas).

Standartu sagatavošana

Katra parauga DNS koncentrācijas noteikšanai izmanto standarta līkni.

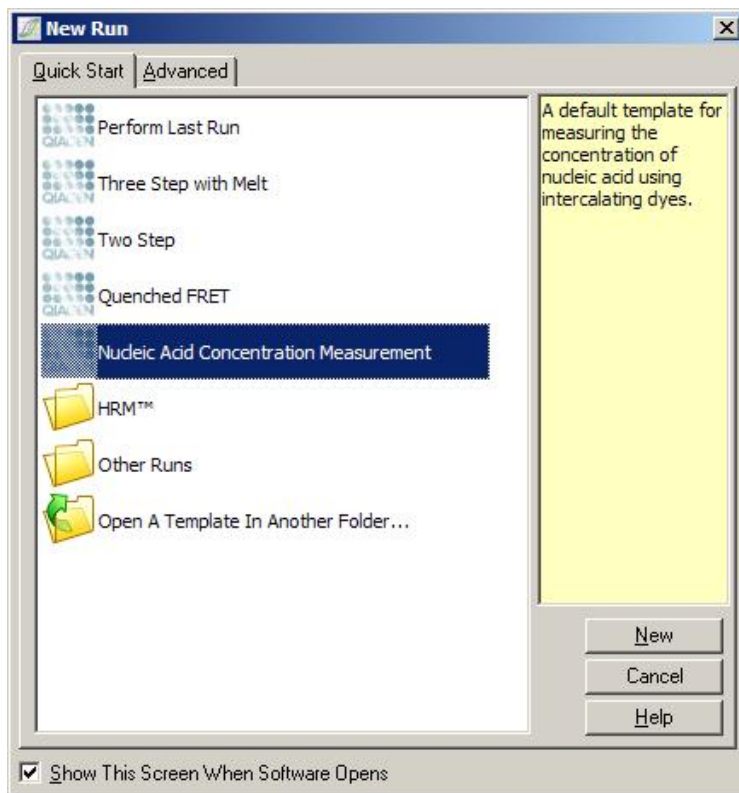
Standarta līknē izmantotā DNS tipam jābūt līdzīgam mērāmo paraugu DNS tipam. Vismaz viena DNS parauga koncentrācija jānosaka ar ultravioleto spektrofotometriju, un šis paraugs jāizmanto par standartu. Jāizmanto vismaz trīs standarti (ar replikātiem). Svarīgi ņemt vērā, ka DNS standarti fluorescences noteikšanai ir tikai lineāri 1–100 ng/μl diapazonā. Šajā diapazonā, ja DNS koncentrāciju sadala uz pusēm, sadalās arī fluorescences lasījums. Ķīmiskā nelinearitātes dēļ jebkuras koncentrācijas ārpus šā diapazona uzticamības intervāli ir ļoti plaši.

Mērāmā DNS tips

Dažādu DNS veidu (piemēram, genomiskā DNS un plazmīda DNS) mērījumos ir novērotas atšķirības. Tādēļ kopā drīkst mērīt tikai līdzīgus DNS tipus, un plazmīda DNS nedrīkst izmantot kā standartu genomiskā DNS mērījumos.

Izpildes iestatīšana

Lai iestatītu izpildi, Quick Start (ātrā sākšana) vednī atlasiet Nucleic Acid Concentration Measurement (nukleīnskābes koncentrācijas mērījums).



Piezīme: pārbaudiet, vai pozitīvā kontrole (piemēram, augstas koncentrācijas standarts) ir ievietota mēģenes 1. pozīcijā. Bez pozitīvās kontroles programmatūra nespēs optimizēt pastiprinājuma iestatījumus atbilstoši maksimālai jutībai. Pirms katras izpildes parādīsies atbilstoša atgāadne.

Analīze

Koncentrācijas analīzes pamatā ir fluorescences līmeņa un koncentrācijas vērtības attiecība. Pieejami ir divi analīzes modeļi. Optimālais analīzes modelis ir atkarīgs no ķīmikālijas un izmantošanas veida.

Linear Regression (lineārā regresija) datu analizēšanā pieņem lineāru attiecību un aprēķina nezināmās vērtības uz ģenerētā lineārā modeļa bāzes. Lai noteiktu mērījuma kļūdu, tiek pētīta lasījumu novirze no lineārā modeļa. Ja

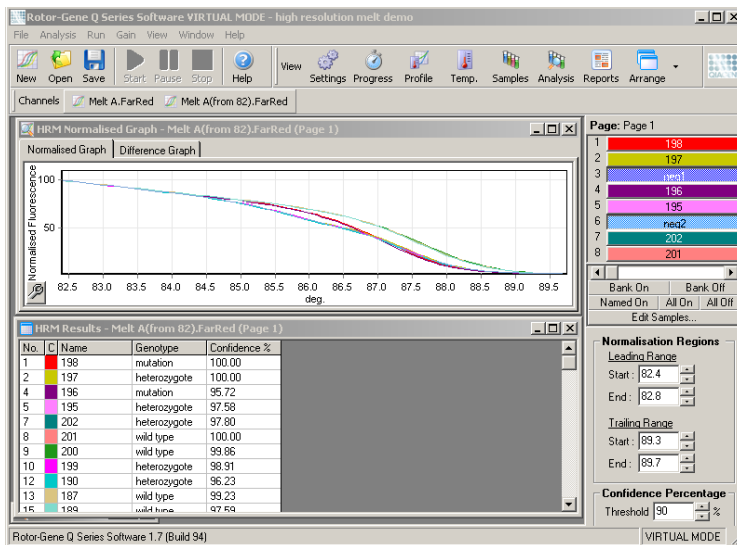
koncentrācijas lasījumi ir lineāri, tad šī ir vispiemērotākā analīzes metode, jo lietotājam nodrošina variāciju statistisko analīzi (ANOVA).

Spline Curve Fit (mezglu līknes atbilstība) metodē tiek pieņemts, ka koncentrācijas vērtības palielinās kopā ar fluorescenci. Lai gan šī metode ļauj precīzāk noteikt nelineārus datus, tomēr, atsakoties no lineārā modeļa, tā nenodrošina ANOVA.

7.6.11. **High Resolution Melt analysis (augstas izšķirtspējas kušanas analīze)**

Augstas izšķirtspējas kušanas (HRM) analīze paraugus raksturo pēc sekvences garuma, GC satura un komplementaritātes. HRM analīzi izmanto genotipēšanā, piemēram, gēnu mutāciju vai atsevišķu nukleotīdu polimorfismu (SNPs) analīzē, kā arī epiģenētiskā DNS metilācijas statusa analīzei. HRM analīze nodrošina precīzus rezultātus un salīdzinājumā ar citām metodēm ļauj ietaupīt, jo nav nepieciešams iegādāties zondes un birkas.

Lai veiktu šo analīzi, Analysis (analīze) logā atlasiet Other (cits) un izvēlieties High Resolution Melt Analysis (augstas izšķirtspējas kušanas analīze). Dubult-klikšķis uz analizējamā kanāla. Jēldatu kanāla kušanas līkņu normalizēšanā nosaka visu sākuma un beigu fluorescences vērtību vidējo vērtību un liek katra parauga galapunktiem pielāgoties vidējai vērtībai.



Lai paraugus automātiski izsauktu, noklikšķiniet uz Genotypes (genotipi). Lai automātiski izsauktu nezināmos paraugus, ievadiet genotipa nosaukumu un parauga, ko izmanto par pozitīvo kontroli, numuru.

The screenshot shows the 'HRM Genotypes' dialog box. It contains a table with 'Genotype' and 'Control' columns. The 'Control' column has input fields for sample numbers. Below the table are 'Clear', 'OK', 'Cancel', and 'Help' buttons.

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

Sīkākai informācijai par HRM analīzi skatīt 11. sadaļu.

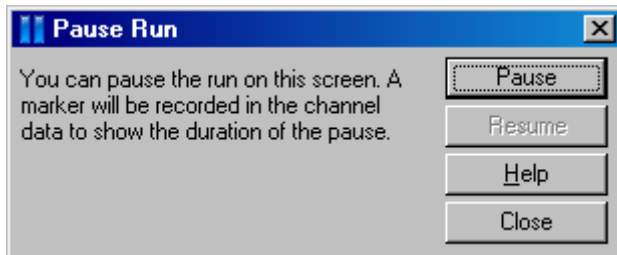
7.7. Run (izpilde) izvēlne

7.7.1. Start Run (sākt izpildi)

Šī opcija palaiž definēto temperatūras profilu ar pašreizējiem pastiprinājuma iestatījumiem. Pirms izpildes parādīsies Profile Run Confirmation (profila izpildes apstiprinājums) logs. Šajā logā ir redzama temperatūras profila grafiska reprezentācija un katra kanāla pastiprinājuma iestatījumi.

7.7.2. Pause Run (pauzēt izpildi)

Šī opcija ļauj pauzēt un atsākt izpildi. Pauzēšana un atsākšana var būtiski ietekmēt izpildes rezultātus. Tādēļ tiek izmantots īpašs marķieris, kas norāda, cik ilgi izpilde ir pauzēta. Run Settings (izpildes iestatījumi) logā ziņojuma cilnē tiek ievietots arī ziņojums (skatīt 7.8.1. sadaļu).



BRĪDINĀJUMS



Karsta virsma

[W18]

Izpildes pauzēšanas gadījumā Rotor-Gene Q MDx iekārta nepaspēs pilnībā atdzist. Pieskaroties rotoram vai mēģenēm, esiet piesardzīgi.

7.7.3. Stop Run (apturēt izpildi)

Ja ir atlasīta šī opcija, parādīsies ziņojums, kas pieprasīs apstiprināt izpildes apturēšanu.

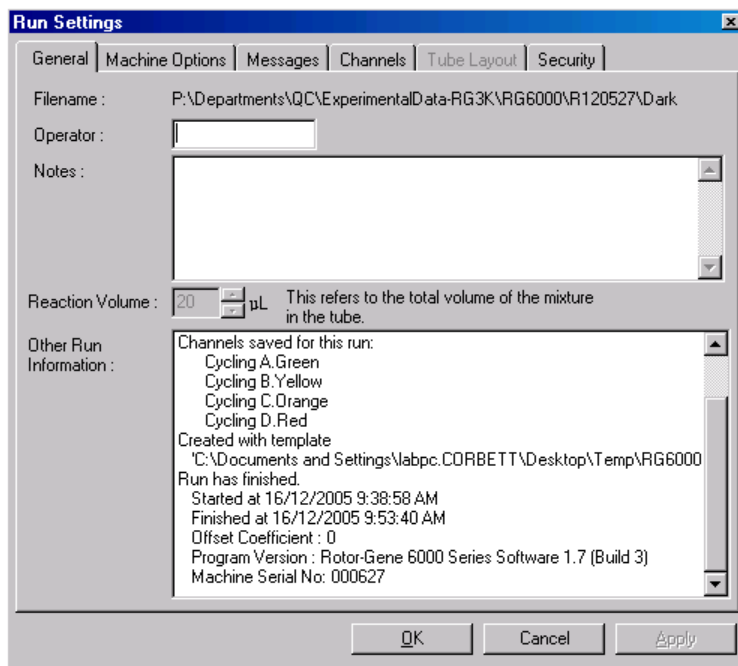
7.8. View (skatīt) izvēlne

7.8.1. Run Settings (izpildes iestatījumi)

General (vispārīgi)

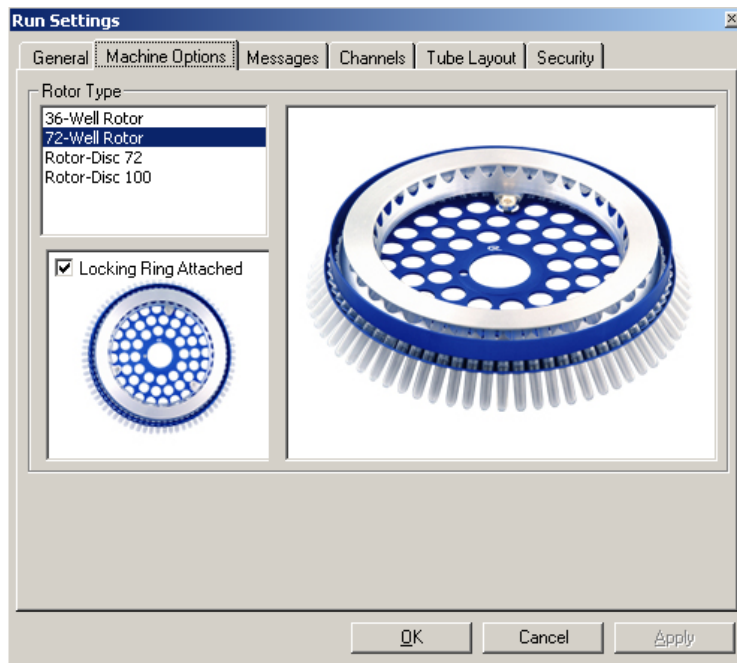
Šajā logā var ievadīt izpildes informāciju, izpildes faila nosaukumu, analīzes datus, informāciju par operatoru un saistītās piezīmes.

Logā ir iekļauta visa informācija, izņemot profila informāciju, kas nepieciešama izpildes konfigurēšanai. Pēc izpildes pabeigšanas logā parādās turpmāk minētā informācija: izmantotais ciklotājs, pastiprinājuma iestatījumi, kanālu skaits, kā arī sākuma un beigu laiks.



Machine Options (iekārtas opcijas)

Šajā cilnē ir pieejami Rotor-Gene Q MDx iekārtas konfigurācijas iestatījumi.



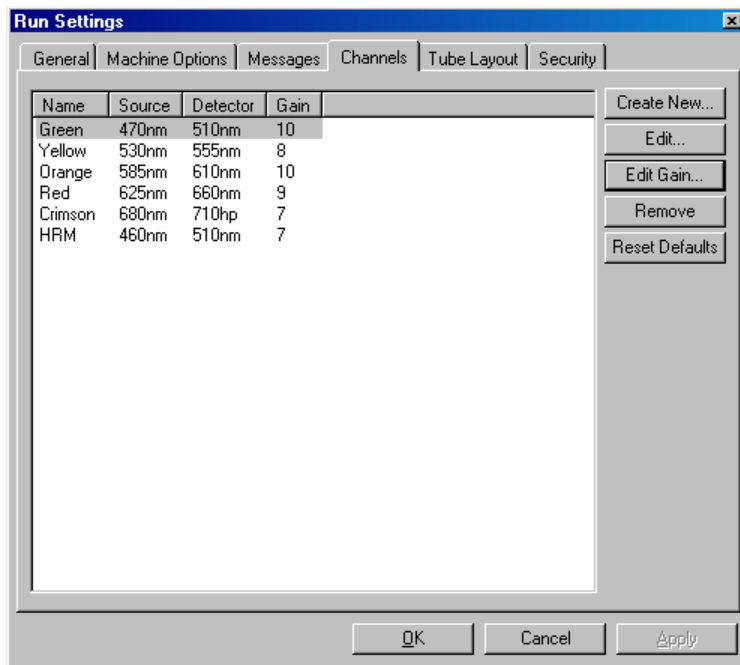
Rotora laukā jānorāda Rotor-Gene Q MDx iekārtā šobrīd uzstādītais rotors. Jau eksistējošas izpildes atvēršanas gadījumā šis iestatījums uzrādīs rotoru, kas attiecīgajā brīdī bija uzstādīts ciklotājā.

Messages (ziņojumi)

Šajā cilnē ir redzami ziņojumi par lietotāja veiktajām izmaiņām, piemēram, ciklotāja pauzēšanu vai ciklu izlaišanu. Šeit ir redzami arī izpildes laikā saņemtie brīdinājumi. Ja iegūtie rezultāti nav tādi, kādus gaidījāt, ieteicams skatīt šo cilni.

Channels (kanāli)

Konfigurējot jaunu izpildi, kanālu cilnē ir redzama pieejamo kanālu pašreizējā konfigurācija. Konfigurējot jau eksistējošu izpildi, šeit ir redzama kanālu konfigurācija pēdējās izpildes laikā. Ja izpilde sabojā kanāla iestatījumus, lai atjaunotu noklusējuma iestatījumus, noklikšķiniet uz Reset Defaults (atjaunot noklusējumu).



Name (nosaukums): Šeit ir redzams kanāla nosaukums.

Source (avots): Šeit ir redzams avota LED ierosināšanas viļņa garums.

Detector (detektors): Šeit ir redzams detekcijas viļņa garums un filtra tips (nm=joslas caurlaide, hp=augsta caurlaide).

Gain (pastiprinājums): Šeit ir redzams konkrētā kanāla pastiprinājums.

Create New... (izveidot jaunu):	Šī funkcija ļauj izveidot jaunus kanālus. Noklikšķinot uz Create New... (izveidot jaunu), atveras logs, kurā jāievada jaunais nosaukums, avots un detekcijas filtrs. Filtrus var izvēlēties no nolaižamās izvēlnes, kas redzama blakus katram logam.
Channels (kanāli):	Četru kanālu multipleksai detekcijai zaļais, dzeltenais, oranžais un sarkanais kanāls ir standarta konfigurācija.

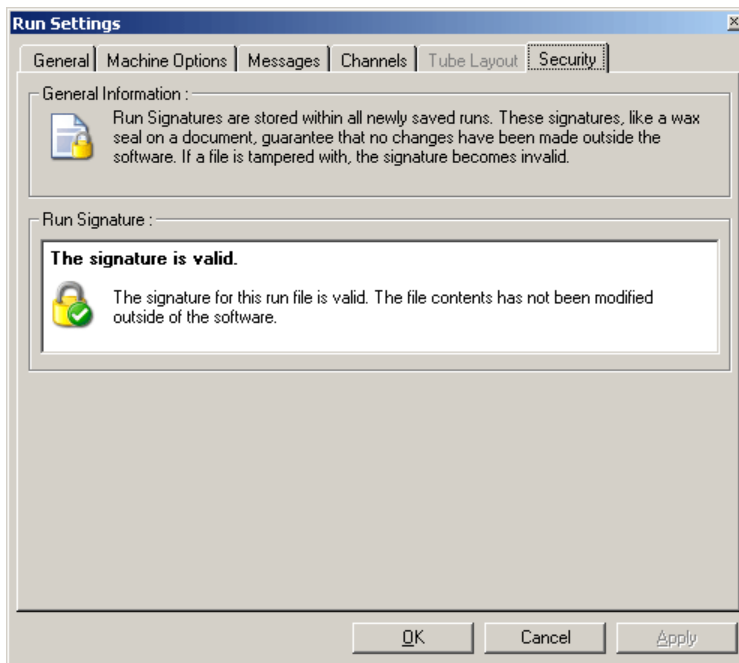
Tube Layout (mēģenes izvietojums)

Ja lietojat 72 ligzdu rotoru, paraugus var izvietoti atbilstoši marķējumam uz 9x8 bloka. Pēc noklusējuma mēģenes izvietošanas cilne paraugus ļauj marķēt secīgi (proti, 1, 2, 3 utt.). Tas nozīmē, ka paraugi ir marķēti atbilstoši tam, kādā secībā tie ir ievietoti Rotor-Gene Q MDx iekārtā. Paraugus var marķēt arī šādi: 1A, 1B, 1C, utt. Šis marķēšanas veids ir noderīgs, ja paraugi ir iestatīti ar daudzkanālu pipeti.

Security (drošība)

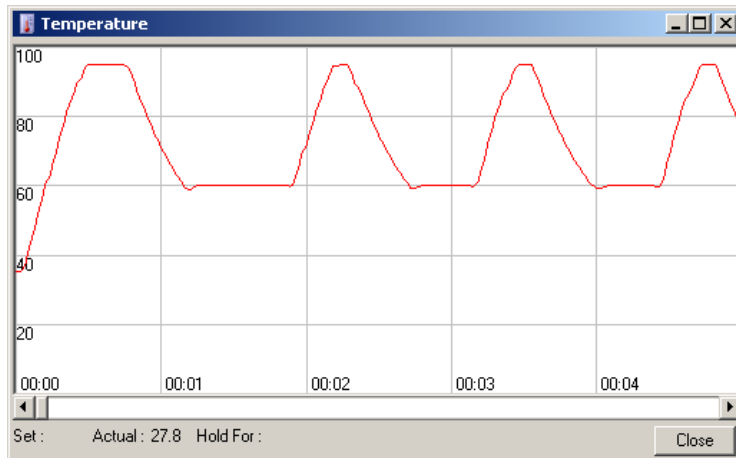
Drošības cilnē ir pieejama informācija par izpildes parakstu. Izpildes paraksts ir nemaināma atslēga, kas tiek ģenerēta ikreiz, kad fails tiek mainīts. Ja kāda *.rex faila daļa ir modificēta ārpus programmatūras, paraksts un fails vairs nesakrītīs. Paraksta pārbaude ļauj pārlicināties, ja jēldati nav modificēti ārpus lietotnes, profils nav ļaunprātīgi mainīts un temperatūras grafiks ir derīgs. Paraksts nodrošina aizsardzību arī pret failu sistēmas kļūdām.

Piezīme: ja *.rex failus sūta pa e-pastu, vēstuļu šifrēšanas dēļ paraksts var kļūt nederīgs. Tāpēc pirms sūtīšanas faili ir jāsaarhivē (piemēram, *.zip formātā).



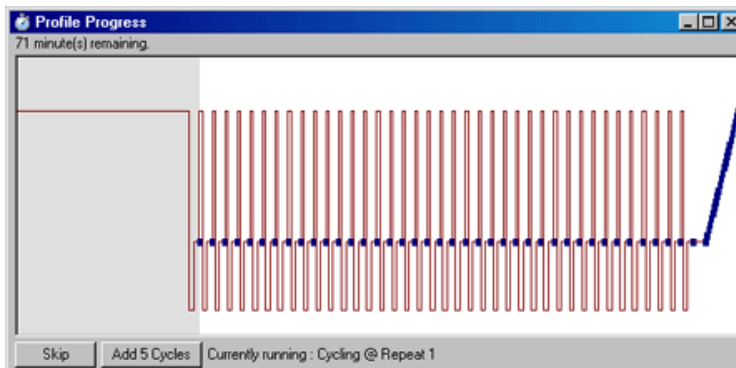
7.8.2. Temperature Graph (temperatūras grafiks)

Lai atvērtu Temperature (temperatūra) logu, View (skats) izvēlnē atlasiet Temperature Graph (temperatūras grafiks) vai noklikšķiniet uz Temp. (temperatūra) pogas. Grafikā ir redzamas iestatīto temperatūru izmaiņas cikla izpildes laikā. Grafiks neuzrāda reāllaika temperatūras mērījumu. Izpildes laikā katram programmas solim tiek parādīts Set (iestatītais), Actual (faktiskais) un Hold (aiztures) laiks. Izpildes failam izpildes laikā Temperature (temperatūra) logā ir redzama temperatūras vēsture. Vertikālā skala ir temperatūras skala, bet horizontālā - laika. Lai pārvietotos pa Temperature (temperatūra) logu, lietojiet rītojsslu.



7.8.3. Profile Progress (profila progress)

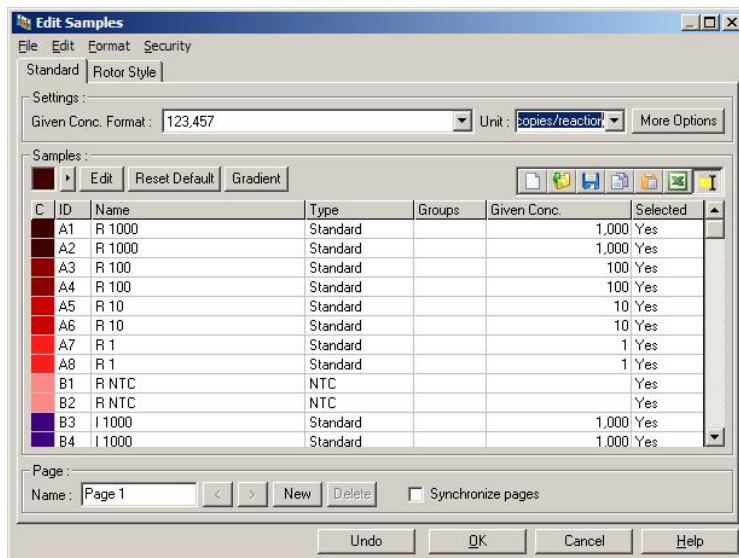
Lai atvērtu Profile Progress (profila progress) logu, View (skats) izvēlnē atlasiet Profile Progress (profila progress) vai noklikšķiniet uz Progress (progress) pogas. Šajā logā ir redzama izpildes termiskā profila grafiska reprezentācija. Izpildes laikā loga pelēkā daļa rāda pabeigto ciklu daudzumu. Šajā logā ir redzams arī līdz izpildes beigām atlikušais laiks.



Skip (izlaist): Poga *Skip* (izlaist) ļauj izlaist jebkuru profila soli.

Add 5 Cycles Poga Add 5 Cycles (pievienot piecus (pievienot piecus ciklus) piecas reizes atkārtoto attiecīgo cikla ciklus): izpildes soli.

7.8.4. Edit Samples (rediģēt paraugus)



Lai atvērtu Edit Samples (rediģēt paraugus) logu, noklikšķiniet uz Samples (paraugi) loga. Edit Samples (rediģēt paraugus) logam var piekļūt arī ar labo klikšķi uz paraugu saraksta ekrāna labajā pusē. Šā loga funkcijas ir tādas pašas kā Edit Samples (rediģēt paraugus) logam, bet File (fails) un Edit (rediģēt) izvēlnēs ir pieejamas arī rīkjoslas funkcijas.

Loga augšpusē ir redzamas četras izvēlnes: File (fails), Edit (rediģēt), Format (formatēt) un Security (drošība). File (fails) izvēlni izmanto jauna (tukša) Edit Samples (rediģēt paraugus) loga izveidošanai, parauga veidnes atvēršanai vai parauga nosaukuma kā veidnes saglabāšanai turpmākām vajadzībām. Šo veidņu failu paplašinājums ir ***.smp**. Edit (rediģēt) izvēlne ļauj kopēt un ielīmēt rindas. Security (drošība) izvēlne ļauj aizslēgt parauga definīcijas.

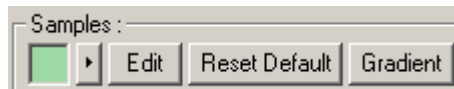
Piezīme. Ja procedūras izpildes laikā paraugu nosaukumus ievada ļoti ātri (piemēram, lietojot svītrkodu skeneri), paraugu nosaukumos esošie burti var tikt apmainīti vietām. Tāpēc ieteicams nelietot svītrkodu skeneri un, ja iespējams, ievadīt paraugu nosaukumus pēc procedūras izpildes.



Šī nolaižamā izvēlne ļauj izvēlēties koncentrācijas formātu. Koncentrācijas tiek automātiski formatētas atbilstoši atlasītajai atrašanās vietai.



Šajā nolaižamajā izvēlnē tiek iestatītas pārbaudes mērījumu mērvienības.



Poga

Funkcija

Line style
(līnijas stils):

Lai uzlabotu grafiku salasāmību melnbaltajās izdrukās, līniju stilu var mainīt. Dažas līnijas ar stila maiņas palīdzību var izcelt. Lai piekļūtu šai opcijai, noklikšķiniet uz Edit (redīgēt) pogai blakusesošā labā bulttaustiņa.



Lai atvērtu krāsu selektoru, noklikšķiniet uz Edit (redīgēt). Mēģeņu krāsu piešķiršanas laikā var atlasīt vairākas rindas.



Lai visas atlasītās krāsu šūnas atiestatītu uz noklusējuma krāsām, noklikšķiniet uz Reset Default (atiestatīt uz noklusējumu).



Gradient (gradients) ļauj no pirmās līdz pēdējai atlasītajai krāsai izvēlēties gradientu. Parauga iestatīšanas laikā var definēt vairākus gradientus.



Poga

Funkcija



New (jauns) ikona datu ievades vajadzībām nodzēš Edit Samples (redīgēt paraugus) logu.



Open (atvērt) ikona atver dialoga lodziņu importējamā Rotor-Gene Q MDx faila atlasīšanai.

Piezīme: paraugu skaitam atvērtajā logā un importējamajā failā ir jāsakrīt.



Save (saglabāt) ikona atver dialoga lodziņu, kurā var ievadīt nosaukumu un norādīt mapi, kurā saglabāt pašreizējo paraugu definīcijas.



Copy (kopēt) ikona nokopē atlasītās šūnas.



Paste (ielīmēt) ikona ielīmē nokopētās šūnas atlasītajā režģa pozīcijā.



Excel ikona atver dialoga lodziņu, kas pieprasa ievadīt faila nosaukumu un norādīt mapi, kurā saglabāt parauga informāciju. Noklikšķinot Save (saglabāt), Excel fails atveras automātiski.



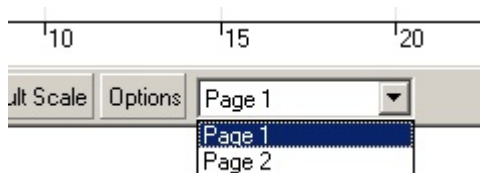
Append/Overwrite (pievienot/pārrakstīt) ikona ļauj Edit Samples (redīgēt paraugus) logā mainīt redīgējamās šūnas. Ja ir atlasīta Overwrite (pārrakstīt) opcija, tad redīgēšanas laikā dati tiek pārrakstīti. Ja ir atlasīta Append (pievienot) opcija, tad redīgēšanas laikā dati tiek pievienoti jau esošajiem datiem.

Sample Types (parauga tipi): Paraugus var definēt, kā vienu no vairākiem tipiem, kas minēti turpmāk redzamajā tabulā.

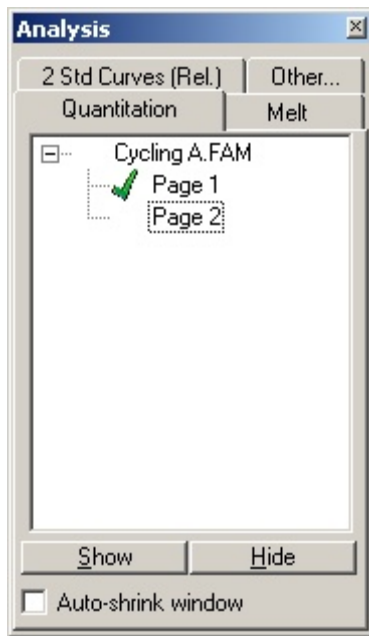
Parauga tips	Apraksts
None (nekāds)	Šajā pozīcijā nav parauga
NTC	Nav veidnes kontroles
Negative Control (negatīva kontrole)	Negatīvā kontrole
Positive Control (pozitīva kontrole)	Pozitīvā kontrole
Unknown (nezināms)	Tiks analizēts nezināms paraugs
Standard (standarts)	Lai aprēķinātu nezināmā parauga koncentrācijas, standarta līknes konstruēšanā tiks izmantotas standarta vērtības
Calibrator (kalibrators) (RQ)	Kalibratoram ir piešķirta vērtība 1, un visas pārējās parauga koncentrācijas tiek aprēķinātas atbilstoši šim paraugam.

Page (lapa): Šī funkcija ļauj lietotājam vienā izpildē izmantot vairākas paraugu definīcijas un veikt atsevišķus eksperimentus. Tā ir noderīga gadījumā, kad dažādos kanālos analizē dažādus produktus. Lai pārvietotos pa paraugu lapām, lietojiet bulttaustiņus. Lapas var izveidot un dzēst ar New (jauns) un Delete (dzēst) pogām. Lai bez multiplēksēšanas iegūtu vairākas standarta līknes, vienam kanālam var piešķirt vairākas parauga definīcijas. Vienkārši definējiet pētāmos paraugus un to standarta līknes atsevišķās lapās. Pēc tam katru kanālu var neatkarīgi analizēt ar katru definīciju kopu. Parauga lapām var piešķirt nosaukumu Page 1 (1. lapa), Page 2 (2. lapa) vai arī jebkuru citu nosaukumu (piemēram, Housekeeper). Šis nosaukums parādīsies ziņojumos.

Jēldatu skatīšanas laikā datu attēlošanai izmantotās parauga definīcijas var atlasīt ar nolaižamo izvēlni, kas atrodas blakus Options (opcijas) pogai:



Analīzē izmantojamo parauga lapu var atlasīt Analysis (analīze) logā (skatīt 7.6.1. sadaļu).



Given Conc.
(dotā
koncentrācija):

Uzrāda koncentrāciju katram paraugam. Mērvienības var definēt decimālā vai logaritma formātā. Ja standarti ir šķīdumu sērija, nepieciešams ievadīt tikai pirmos divus standartus. Nospiežot ENTER taustiņu, programma automātiski sērijai pievieno nākamo loģisko šķīdumu.

Line style
(līnijas stils):

Lai uzlabotu grafiku salasāmību melnbaltajās izdrukās, līniju stilu var mainīt. Dažas līnijas ar stila maiņas palīdzību var izcelt. Lai piekļūtu šai opcijai, noklikšķiniet uz Edit (redīgēt) blakusesošā labā bul'ttaustiņa.



Rīkjoslā noklusējuma stils ir Solid (nepārtraukts). Šo stilu var nomainīt uz Dashed (domuzīmju līnija), Dotted (punktu līnija), Hairline (sākuma punkta līnija), Thin (šaura līnija) Thick (trekna līnija). Kad stila iestatīšana ir pabeigta, lai atgrieztos Edit (rediģēt), Reset Default (atiestatīt noklusējumu) un Gradient (gradients) skatā, noklikšķiniet uz kreisā bulthaustiņa.



Multiple row entry (vairāku rindu ievade):

Ja viena un tā pati informācija jāievada vairākās rindās, atlasiet attiecīgās rindas un ierakstiet nepieciešamo informāciju. Attiecīgā informācija ierakstīsies katrā rindā. Tas pats attiecas uz paraugu tipu atlasīšanu, krāsu izvēlēšanos vai koncentrāciju ievadīšanu.

Sample type hotkey (parauga tipa karstais taustiņš):

Lai ātri atlasītu parauga tipu, ievadiet parauga tipa nosaukuma pirmo burtu. Piemēram, lai pieciem paraugiem piešķirtu NTC tipu, atlasiet parauga tipa kolonnā attiecīgos paraugus un nospiediet N taustiņu. Visi atlasītie paraugi tiks konvertēti uz NTC tipu.

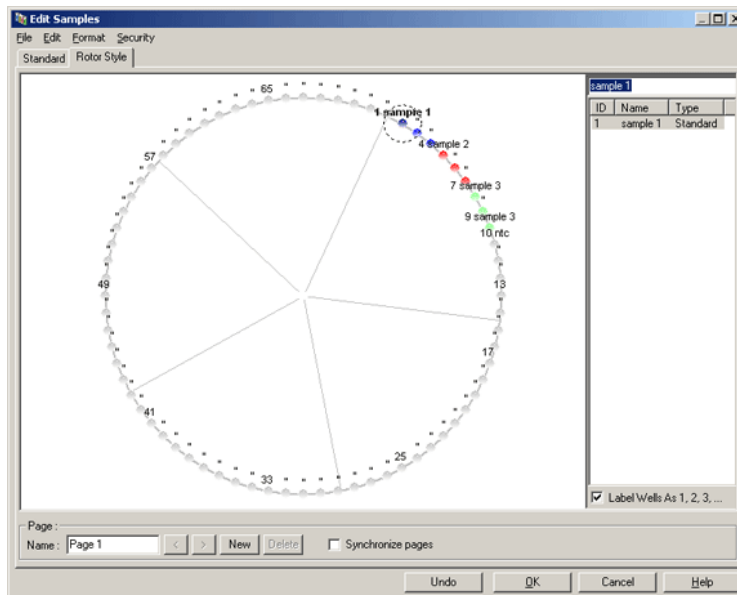
Save it, reuse it (saglabāt un izmantot atkārtoti):

Pilnīgu parauga aprakstu var saglabāt kā parauga failu (*.smp) un ielādēt turpmākajās izpildēs ar tādu pašu parauga konfigurāciju.

Rotor Style (rotora stils)

Šī cilne Edit Samples (rediģēt paraugus) logā nodrošina alternatīvu parauga nosaukumu ievadīšanas veidu. Lai atlasītu replikātus, noklikšķiniet un velciet peles rādītāju pāri rotora attēlam. Loga labajā pusē redzamais saraksts atjaunināsies. Ievadītais parauga nosaukums tiks piešķirts

pašreizējai atlasei. Programmatūra šīs ligzdas atpazīs kā replikātus.



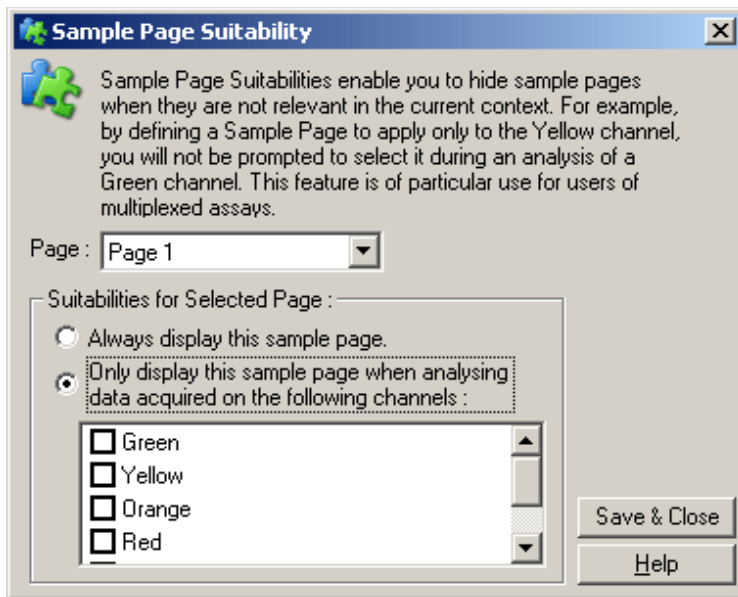
Rotor Style (rotora stils) cilne ir Standard (standarts) cilnes nepilnīga versija. Tā ir paredzēta lietotājiem, kuri vēlas ātri iestatīt parauga nosaukumus un krāsas. Šajā cilnē nav iespējams definēt atsevišķus iestatījumus, piemēram, norādīt, vai paraugs reprezentē standartu vai katra standarta zināmu koncentrāciju. Ja ir nepieciešams norādīt iepriekš minēto informāciju, jāizmanto Standard (standarts) cilne.

Sample Page Suitability (parauga lapas atbilstība)

Lai piekļūtu Sample Page Suitability (parauga lapas atbilstība) logam, Edit Samples (rediģēt paraugus) logā noklikšķiniet uz More Options (vairāk opcijas) un pēc tam izvēlieties Define Suitabilities (definēt atbilstības). Sample Page Suitability (parauga lapas atbilstība) logā lietotāji kanāliem var piešķirt parauga lapas. Piemēram, pētāmā gēna parauga lapa var attiekties uz zaļo kanālu, bet housekeeper gēna – dzelteno kanālu. Šajā piemērā parauga lapas atbilstības iestatīšana samazina pieejamo

analīzes iespēju skaitu un iekļauj tikai tās, kas attiecas uz konkrēto pārbaudi.

Sample Page Suitability (parauga lapas atbilstība) logs ir redzams zemāk.

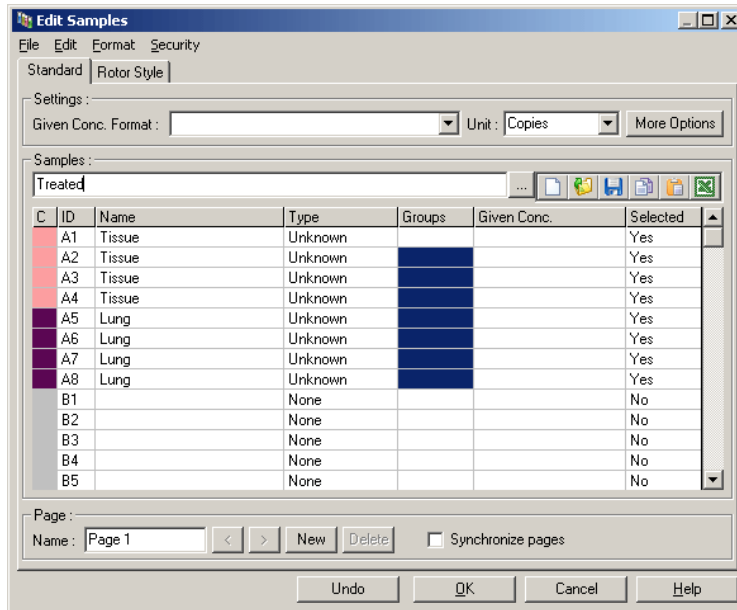


Piezīme: pārbaudes iestatīšanas laikā izveidojiet visas parauga lapas un parauga lapas atbilstības, bet pēc tam saglabājiet tās kā veidni. Šādi samazināsiet katrai izpildei nepieciešamo iestatīšanas laiku.

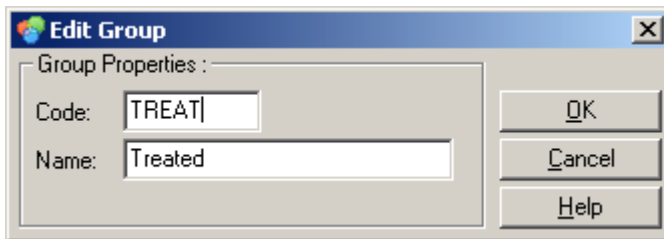
Groups (grupas)

Parauga grupas ļauj patvaļīgi izraudzītai paraugu kolekcijai aprēķināt statistiku. Atšķirībā no replikātiem, kam jābūt identiskiem nosaukumiem, paraugus var nosaukt brīvi, novietot jebkurā rotora pozīcijā un iekļaut jebkurā grupā.

1. Lai definētu grupu, paraugam blakusesošajā logā ievadiet pilnu grupas nosaukumu un nospiediet ENTER taustiņu.



2. Atvērsies Edit Group (rediģēt grupu) logs.

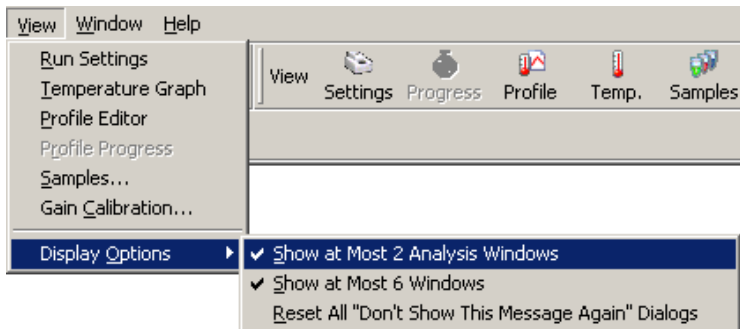


3. Definējiet piemērotu saīsinājumu un noklikšķiniet OK (labi). Tagad saīsinājumu var izmantot grupu iestatīšanai. Kopējie rezultāti (piemēram, vidējā vērtība un 95% uzticamības intervāli) analizējamām grupām tiek aprēķināti automātiski.

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. Display Options (displeja opcijas)

Displeja opciju izvēlne ir parādīta zemāk redzamajā attēlā.



Show at Most 2 Analysis Windows (rādīt ne vairāk kā divus analīzes logus):

Ja ir atzīmēta šī opcija, vienlaikus ir redzami ne vairāk kā divi analīzes logi. Ja ir atvērti vairāki logi, datus ir grūti nolasīt. Šīs opcijas atzīmēšanas gadījumā pirmais analīzes logs aizveras, un atveras pēdējais atvērtais analīzes logs. Ja šī opcija nav atzīmēta, vienlaicīgi var atvērt vairāk divus analīzes logus.

Show at Most 6 Analysis Windows (rādīt ne vairāk kā sešus analīzes logus):

Lai uzlabotu datu nolasāmību, programmatūra, atverot jaunus logus, aizvērs nelietotos logus. Šī opcija ir iespējota pēc noklusējuma, jo tā aizver visus liekos logus un uztur Rotor-Gene Q programmatūras displeju kārtīgu un pārredzamu. Ja vienlaikus ir nepieciešams lietot vairāk kā sešus logus, atspējojiet šo opciju.

Reset All “Don't Show This Message Again” Dialogs (atiestatīt again” (vairāk nerādīt šo ziņojumu) rūtiņa. visus „Nerādīt šo ziņojumu” dialogus):

Ja ir atzīmētā šī opcija, programmatūra atkal rādīs visus dialoga lodziņus, kuros tika atzīmēta “Do not display this message” (vairāk nerādīt šo ziņojumu) rūtiņa. Tas iekļauj arī visus aizdomīgu iestatījumu ziņojumus, kuru turpmāku parādīšanos lietotājs var būt atspējojis. Šī opcija ir noderīga jauniem lietotājiem, kuru vēl nav pilnībā iepazīnuši Rotor-Gene Q MDx iekārtu vai Rotor-Gene Q programmatūru.

7.9. Rotor-Gene Q programmatūras aizsardzība pret piekļuvi

Piezīme. Šajā nodaļā ir sniegta informācija par Rotor-Gene Q programmatūras aizsardzību pret piekļuvi. Lai iegūtu attiecīgo informāciju par Rotor-Gene AssayManager programmatūru, skatiet Rotor-Gene AssayManager v1.0 pamata lietojumprogrammas lietotāja rokasgrāmatu (Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application User Manual) vai Rotor-Gene AssayManager v2.1 pamata lietojumprogrammas lietotāja rokasgrāmatu (Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application User Manual).

Rotor-Gene Q programmatūra iekļauj funkcijas, kas nodrošina tās drošu darbību. Pareizas konfigurācijas gadījumā Rotor-Gene Q nodrošinās turpmāk minēto:

- piekļuve Rotor-Gene Q MDx vai analīzes programmatūrai ir atļauta tikai lietotāju grupām;
- izpildes failu modifikāciju reģistrēšanu;
- neatļautu modifikāciju konstatēšanu ar parakstu palīdzību;
- izpildē izmantoto veidņu reģistrēšanu;
- paraugu nosaukumu aizsargāšanu.

Integrācija ar Windows drošību

Lai nodrošinātu augstu uzskatāmību, Rotor-Gene Q programmatūra nenodrošina iekšēju drošības pārvaldību.

Konti, grupas un parole pārvalda ar Windows iebūvēto drošības modeli (Windows Security). Integrācija ļauj, piemēram, uzraudzīt piekļuvi Rotor-Gene Q programmatūrai ar to pašu paroli, kas nodrošina piekļuvi tīkla failiem un programmām, šādi atvieglojot administrēšanu. Šādi lielās organizācijās centralizētā drošības modeļa dēļ tīkla administratori var vienkārši noņemt bijušo lietotāju piekļuves atļaujas.

Tādēļ Rotor-Gene Q programmatūras droša iestatīšana pamatā ir saistīta ar pareizu Windows drošības nokonfigurēšanu.

Priekšnoteikumi

Lai lietotu programmatūras drošības funkcijas, personālajam datoram jābūt Windows 10 vai Windows 7 Professional operētājsistēmai. Drošības funkcijas nedarbosies ar Windows 10 vai Windows 7 Home, jo šīs operētājsistēmas neatbalsta programmatūrai nepieciešamo piekļuves modeli. Programmatūra jāuzstāda ar Force authentication through Windows domain (autentifikācija ar Windows domēnu) opciju.

Piezīme: piesakoties Linux Samba domēnā, drošības izvēlne neparādīsies. Lai lietotu drošības funkcijas, jāpiesakās vai nu lokāli, vai arī ar Windows servera starpniecību.

7.9.1. Konfigurēšana Windows 7 vidē

Šajā sadaļā aprakstīti sistēmas iestatījumi drošai programmas Rotor-Gene Q lietošanai.

Lai izmantotu drošības līdzekļus, programmatūras instalācijai jāizmanto opcija “Force authentication through Windows domain (piespiedu autentificēšana ar Windows domēnu)”. Tā rezultātā Windows domēns prasīs ievadīt jūsu piekļuves līmeni un identifikatorus, kas ir būtisks faktors uzskaites un drošības nodrošināšanai.

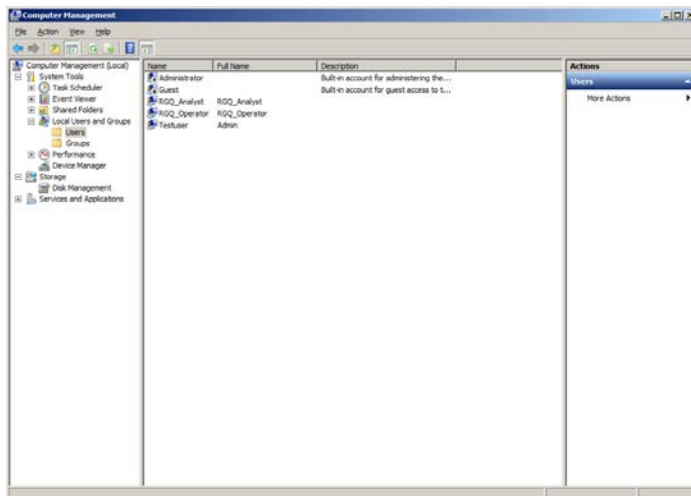
Administratora pilnvaras

Daudzi lietotāji datorus lieto ar administratora pilnvarām, kuras neaizsargā parole. Lai gan tas ir ērti, tomēr šādi nav iespējams noteikt, kurš konkrētajā brīdī ir datora lietotājs. Šādi tiek likvidēta uzskatāmība, un Rotor-Gene Q programmatūras drošības funkcijas ir deaktivētas. Strādājot ar administratora pilnvarām, visas drošības funkcijas ir iespējotas. Tādēļ strādāšana ar administratora pilnvarām ļauj lietotājiem, kuriem nav nepieciešamas drošības funkcijas, piekļūt visām programmatūras iespējām.

Jauna lietotāja konta izveide

Katram programmatūras lietotājam izveidojiet atsevišķu kontu. Katram lietotājam izpildiet visas zemāk norādītās darbības, līdz izveidoti visi konti.

1. Lai izveidotu jaunu lietotāju, atlasiet: “Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management” (Sākt/Vadības panelis/Administratīvie rīki/Datora pārvaldība). Pēc tam kreisajā malā pārejiet uz “Local Users and Groups” (Lokālie lietotāji un grupas).
2. Logā, kurš atvēršies, izvēlieties mapi Users (lietotāji). Labajā logā noklikšķiniet peles labo pogu un izvēlieties New User (jauns lietotājs).



3. Ievadiet lietotājevārdu un paroli. Pēc noklusējuma lietotājs tiks izveidots ar normālas piekļuves tiesībām. Tas nozīmē, ka viņš varēs izmantot programmatūru, bet nevarēs instalēt jaunas programmas vai mainīt sistēmas iestatījumus.

4. Noklikšķiniet Create (izveidot). Tagad jūs varat pieteikties kā šis lietotājs.

Pilnvaru piešķiršana katram lietotājam

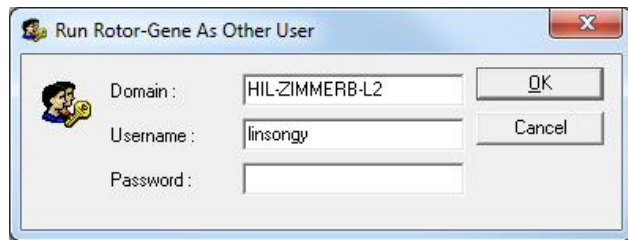
Katram lietotājs jāpiešķir pilnvaras. Pilnvaras ir iedalītas turpmāk aprakstītajās grupās:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q operators) — var veikt izpildes, bet nevar ģenerēt ziņojumus vai veikt analīzes;
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q analītiķis) — var analizēt izpildes datus un ģenerēt ziņojumus, bet nevar veikt jaunas izpildes;

- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q operators un analītiķis) — pieejamas abu grupu pilnvaras;
- Administrator (administrators) — var atbloķēt paraugu nosaukumus un pieejamas visas analītiķu un operatoru pilnvaras;
- None (nekādas) — piekļuve programmatūra ir liegta.

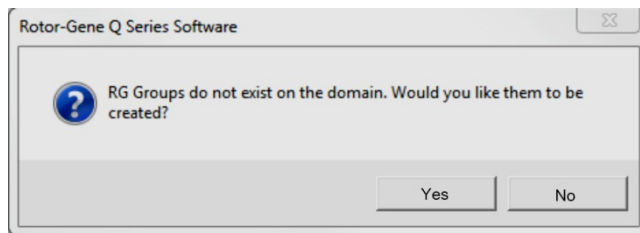
Lai piešķirtu pilnvaras:

1. Piesakieties Windows ar administratora pilnvarām vai izmantojiet ikonu Rotor-Gene Q Software Login, lai atvērtu programmu un pieteiktos.

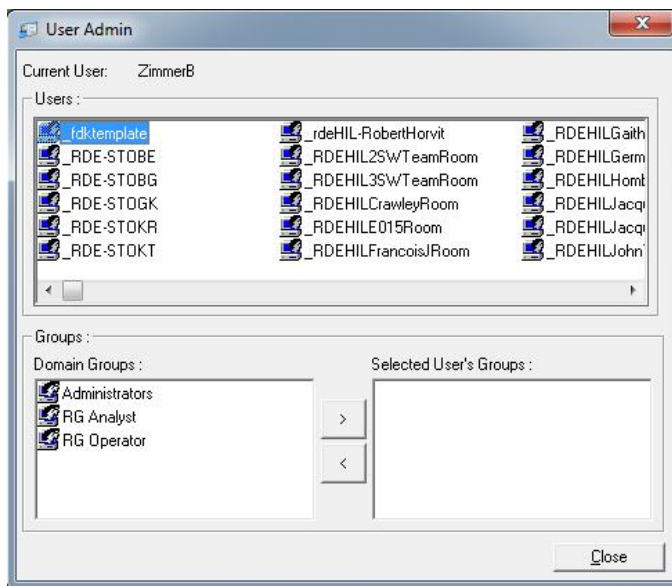


Piezīme: lai ar Rotor-Gene Q programmas palīdzību veidotu RG grupas, nepieciešams programmu darbināt ar administratora pilnvarām. Lai to izdarītu, uz ikonas darbvirsmā jānoklikšķina peles labā poga u jāizvēlas Run as administrator (lietot ar administratora pilnvarām) no konteksta izvēlnes.

2. kad programma darbojas, noklikšķiniet uz izvēlnes Security (drošība). Pirmo reizi atverot izvēlni Security, programma Rotor-Gene Q konfigurēs vairākas sistēmas grupas, kas kontrolēs piekļuvi programmai.



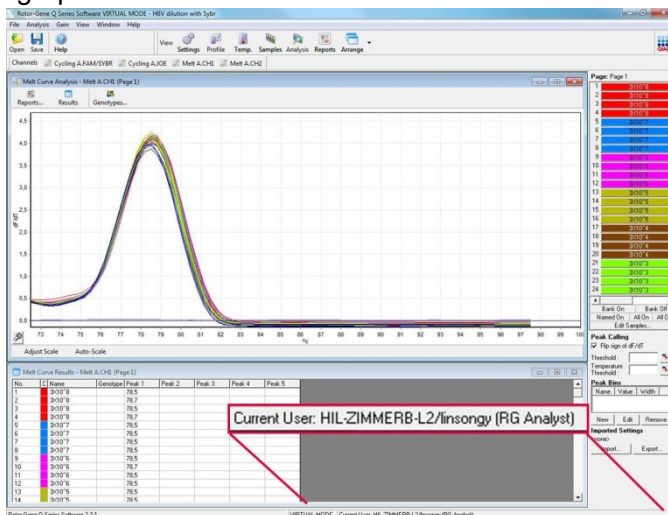
3. Noklikšķiniet Yes (jā). Atvērsies logs User Admin (lietotāju administrēšana). Augšējā loga daļā būs redzami visi datora lietotāji. Dažus kontus lieto sistēma un tādēļ tie nebūs pazīstami. Apakšējā panelī būs redzamas lietotājam piešķirtās grupas.



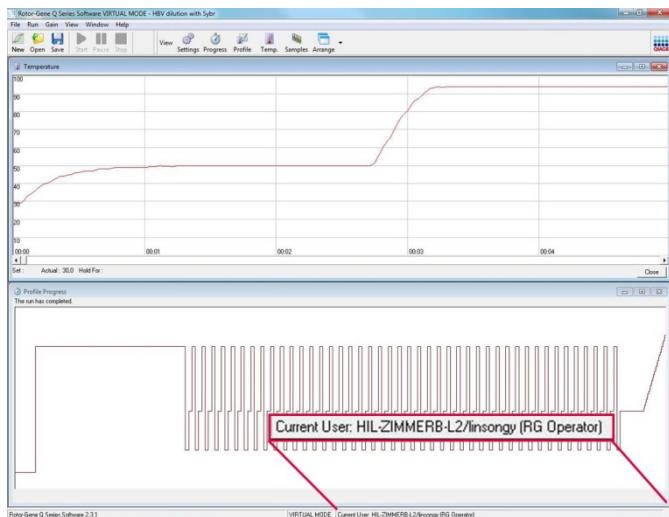
4. Lai lietotājam piešķirtu grupu, atlasiet no saraksta lietotāja vārdu. Apakšējais panelis atjaunināsies. Nevienai grupai nepiederošs lietotājs nevarēs lietot programmatūru. Zemāk redzamajā piemērā lietotājs „linsongy” ir iekļauts RG Analyst grupā, atlasot kreisajā pusē redzamo grupu un noklikšķinot uz „>” pogas. Lai grupu noņemtu, atlasiet to un noklikšķiniet uz „<” pogas.



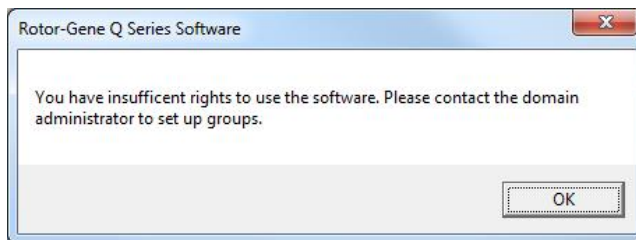
5. Piesakieties kā attiecīgais lietotājs. Attiecīgajam lietotājam kā RG Analyst grupas dalībniekam nav pieejama Run (izpilde) izvēlne un Profile (profils) poga. Tomēr esošos failus var atvērt un analizēt, kā parādīts zemāk redzamajā ekrānuzņēmumā. Statusa rīkjoslā redzams, ka lietotājs „linsongy” ir iekļauts RG Analyst grupā.



6. Vēlreiz piesakoties kā administrators, tiesības RG operators var piešķirt lietotājam „linsongy” un tiesības RG analītiķis tiesības var atkārtoti noņemt. Pēc tam vēlreiz palaidiet programmatūru. Vēlreiz palaižot programmatūru, lietotājam nebūs pieejama Analysis (analīze) izvēlne un Reports (ziņojumi) poga, bet Run (izpilde) izvēlne būs iespējota. Statusa joslā redzams, ka lietotājs „linsongy” pievienots grupai RG Operator (RG operators).



7. Ja kā administrators esat lietotājam „linsongy” noņēmis visas grupas, tad „linsongy” lietotājam, nākamreiz palaižot programmatūru, parādīsies turpmāk redzamais ziņojums.



7.9.2. Konfigurēšana Windows 10 vidē

Šajā sadaļā ir sniegta informācija par to, kā iestatīt sistēmu drošai RotorGene Q programmatūras lietošanai.

Lai izmantotu drošības līdzekļus, programmatūra jāinstalē kopā ar opciju Force authentication through Windows domain (Piespiedu autentifikācija, izmantojot Windows domēnu). Tādējādi Windows domēnam tiek nosūtīts vaicājums par jūsu piekļuves līmeni un akreditācijas datiem, kas ir būtisks kritērijs uzskaites un drošības funkciju nodrošināšanai.

Administratora pilnvaras

Daudzi lietotāji datorus lieto ar administratora pilnvarām, kuras neaizsargā parole. Lai gan tas ir ērti, tomēr šādi nav iespējams noteikt, kurš konkrētajā brīdī ir datora lietotājs. Šādi tiek likvidēta uzskatāmība, un Rotor-Gene Q programmatūras drošības funkcijas ir deaktivētas.

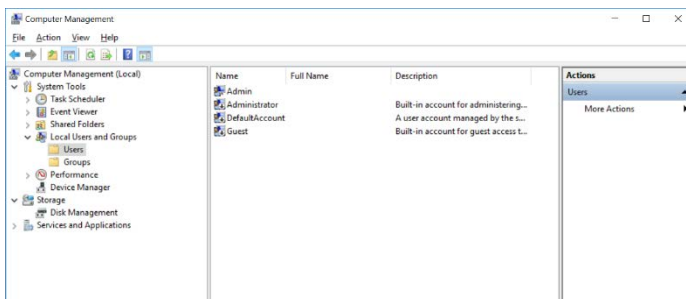
Strādājot ar administratora pilnvarām, visas drošības funkcijas ir iespējotas. Tādēļ strādāšana ar administratora pilnvarām ļauj lietotājiem, kuriem nav nepieciešamas drošības funkcijas, piekļūt visām programmatūras iespējām.

Jauna lietotāja konta izveidošana

Katram programmatūras lietotājam izveidojiet atsevišķu kontu. Katram lietotājam izpildiet visas zemāk norādītās darbības, līdz izveidoti visi konti.

1. Lai izveidotu jaunu lietotāju, atlasiet Start (Sākt), atveriet sadaļu Computer Management (Datora pārvaldība), nospiediet taustiņu Enter (Ievadīt) un pārejiet uz sadaļu Local Users and Groups (Lokālie lietotāji un grupas) kreisajā pusē.

2. Parādītajā logā atlasiet mapi Users (Lietotāji).
Noklikšķiniet ar peles labo pogu uz labās puses loga un atlasiet New User... (Jauns lietotājs..).



3. Ievadiet lietotājvārdu un paroli. Pēc noklusējuma lietotāji tiek izveidoti ar normālas piekļuves tiesībām. Tas nozīmē, ka lietotāji var izmantot programmatūru, bet nevar instalēt jaunas programmas vai mainīt sistēmas iestatījumus.

4. Noklikšķiniet uz Create (Izveidot). Tagad šis lietotājs var pieteikties sistēmā.

Pilnvaru piešķiršana katram lietotājam

Katram lietotājs jāpiešķir pilnvaras. Pilnvaras ir iedalītas turpmāk aprakstītajās grupās:

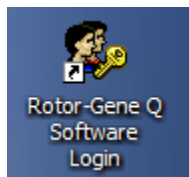
- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q operators) — var veikt izpildes, bet nevar ģenerēt ziņojumus vai veikt analīzes;
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q analītiķis) — var analizēt izpildes datus un ģenerēt ziņojumus, bet nevar veikt jaunas izpildes;
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q operators un analītiķis) — pieejamas abu grupu pilnvaras;
- Administrator (administrators) — var atbloķēt paraugu nosaukumus un pieejamas visas analītiķu un operatoru pilnvaras;
- None (nekādas) — piekļuve programmatūra ir liegta.

Piezīme. Microsoft Windows 10 neatbalsta lietotāju grupu izveidi Rotor-Gene Q programmatūrā. Domēna administratoram domēnā ir jāizveido grupas un jāpiešķir lietotāji konkrētai grupai. Izvēlne Run (Izpilde) ir iespējota. Statusa joslā ir norādīts, ka lietotājs “linsongy” ir iekļauts grupā RG Operator (RG operators).

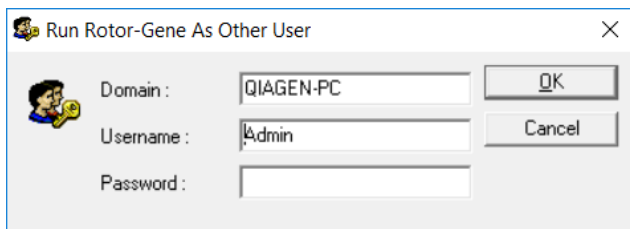
7.9.3. Vairāki lietotāji vienā datorā

Lai Rotor-Gene Q programmatūru varētu lietot vairāki lietotāji, jāizveido lietotāja konts tiem lietotājiem, kam nav piekļuve Rotor-Gene Q programmatūrai. Lai Rotor-Gene Q MDx iekārtu nevarētu lietot anonīmi, lietotājiem Windows jāpiesakās ar savu kontu.

1. Lai atvērtu savu lietotāja kontu, lietotājam vienkārši jānoklikšķina uz Rotor-Gene Q Software Login (Rotor-Gene Q programmatūras pieteikšanās) ikonas.



2. Parādāmajā lodziņā ievadiet lietotājvārdu un paroli (obligātā darbība).



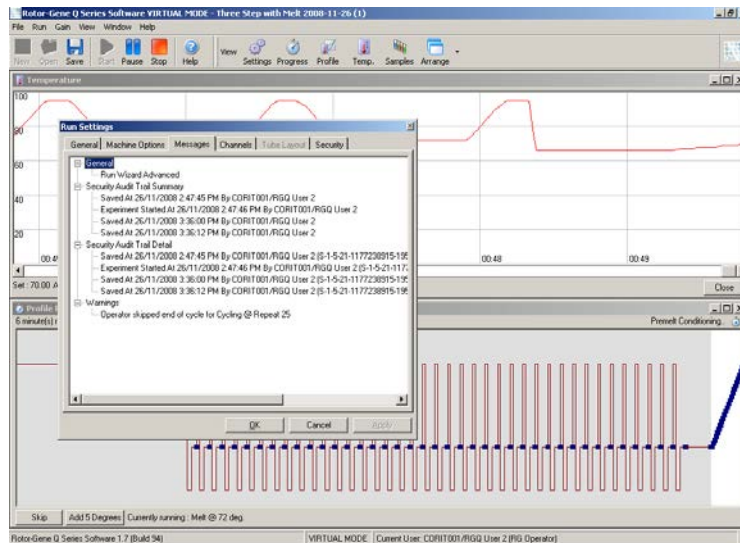
3. Domēns ir dators, kurā piesakāties, vai lokālā tīklā nosaukums kopā ar resursdatora nosaukumu. Ja šaubāties par domēnu, sazinieties ar tīkla administratoru.

Piezīme: lietotāja personīgie faili būs pieejami pēc pieteikšanās. Katrs lietotājs var saglabāt failus noteiktā vietā. Tas nodrošina augsta līmeņa drošību.

Piezīme: lai citi lietotāji nevarētu izmantot svešu lietotāja vārdu, katram lietotājam pēc darba pabeigšanas ir jāatsakās no sistēmas.

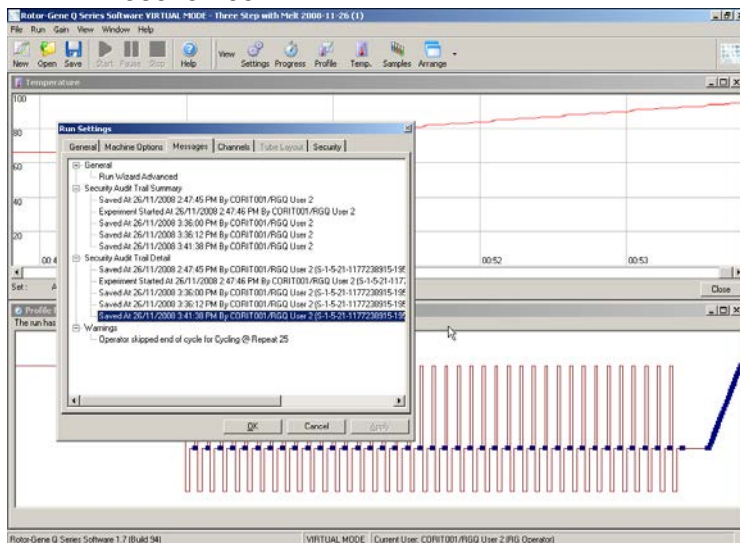
7.9.4. Auditācijas pieraksti

Ikreiz, kad lietotājs saglabā failu, lietotāja informācija tiek ierakstīta Messages (ziņojumi) cilnes Run Settings (izpildes iestatījumi) kā Security Audit Trail Summary (drošības auditācijas pieraksta kopsavilkums) un Security Audit Trail Detail (drošības auditācijas pieraksta detaļas).



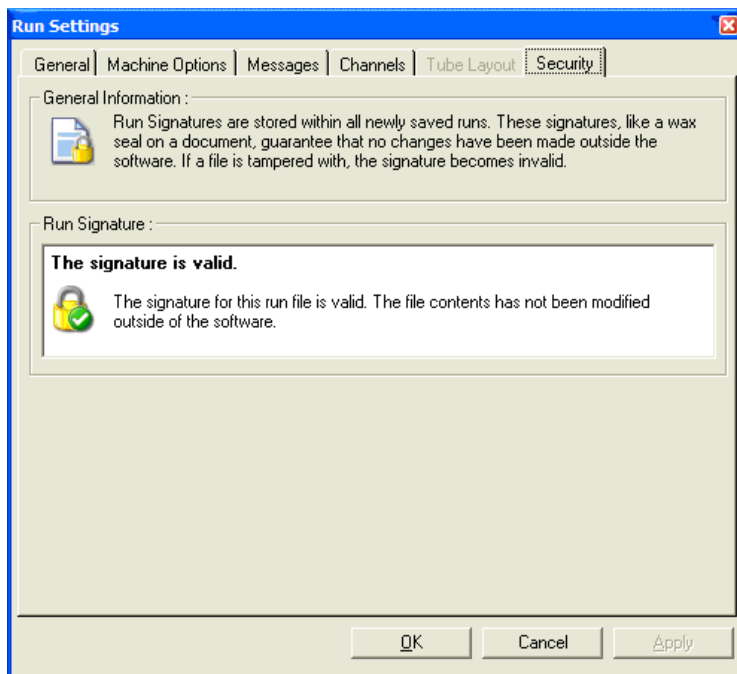
Tas ļauj uzraudzīt, kā lietotāji ir mainījuši faila saturu. Security Audit Trail Detail (drošības auditācijas pieraksta detaļas) satur vairāk informācijas, piemēram, lietotāja unikālo identifikatoru. Šis identifikators ir svarīgs drošības elements, kas neļauj attiecīgajam lietotājam izveidot kontu citā datorā un šādā veidā uzdoties par citu lietotāju. Gadījumā, kad lietotāja vārdi ir vienādi, lietotājus var atšķirt pēc konta identifikācijas numuriem.

Konta CORIT001/RGQ lietotāja Nr. 2 identifikators ir S-1-5-21-1177238915-195.

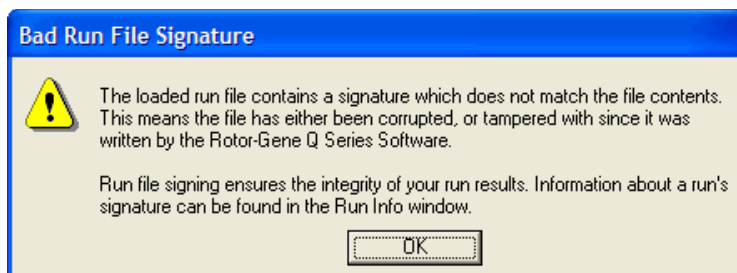


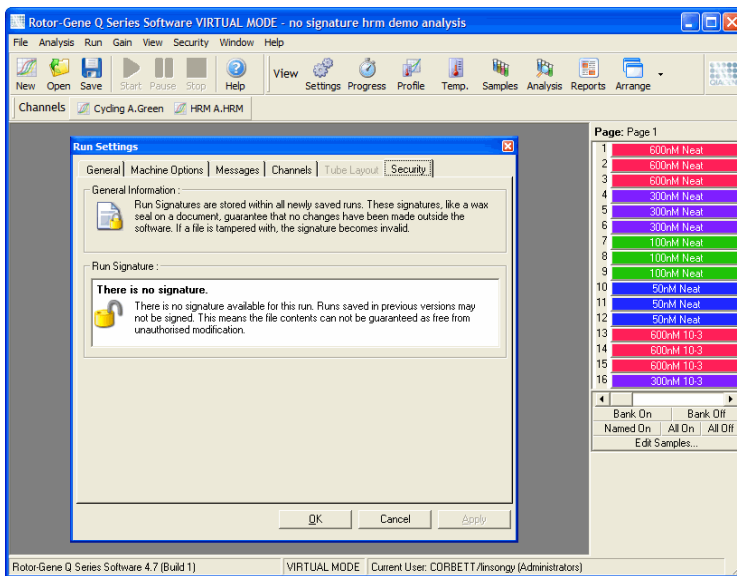
7.9.5. Izpildes paraksti

Auditācijas pieraksts glabājas Rotor-Gene Q izpildes failā. Lai aizsargātu šo failus pret neatļautām modifikācijām, tie glabājas drošā vietā, kurai var piekļūt tikai noteikti Windows lietotāji. Tomēr gadījumos, kad faili glabājas koplietotā vietā, izpildes paraksti nodrošina papildu drošību. Ekrānuzņēmumā ir redzama faila ar Run Signature (izpildes paraksts) Security (drošība) cilne, kas atrodas Run Settings (izpildes iestatījumi).



Izpildes paraksts ir garš vārds, kas tiek ģenerēts katrā faila saglabāšanas reizē un ir saistīts ar faila saturu. Piemēram, šā faila paraksts ir 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Atverot failu teksta redaktorā Notepad un veicot izmaiņas (piemēram, nomainot izpildes datumu uz trīs dienas vecāku datumu), nākamajā faila atvēršanas reizē parādīsies turpmāk redzamais ziņojums.





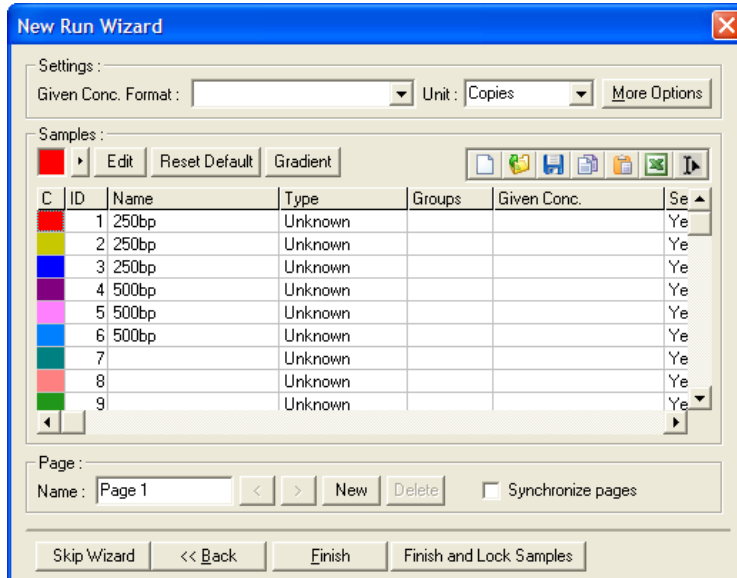
Piezīme: ja failus sūta pa e-pastu, vēstuļu šifrēšanas dēļ paraksts var kļūt nederīgs. Tāpēc pirms sūtīšanas pa e-pastu faili ir jāsaarhivē (piemēram, *.zip formātā).

7.9.6. Parauga slēgšana

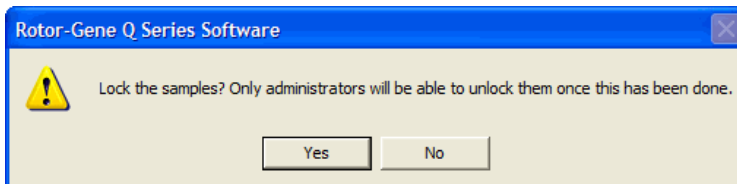
Kad lietotājs ir sācis izpildi, svarīgi nodrošināt, lai paraugu nosaukumi netiktu nejauši vai tīšuprāt sajaukti. Šīs iemesla dēļ Rotor-Gene Q programmatūra nodrošina paraugu slēgšanas iespēju. Paraugus var slēgt jebkurš lietotājs, bet atslēgt – tikai administrators. Lietotājiem, kuri strādā ar datoru administrēšanas režīma, šai opcijai nav būtiska nozīme. Lai lietotu šo opciju, datoram jābūt droši nokonfigurētam atbilstoši iepriekš aprakstītajām instrukcijām.

Piezīme: ja vēlaties slēgt paraugus, nestrādājiet ar programmatūru kā administrators. Izveidojiet kontu ar RG Operator un RG Analyst grupām un uzglabājiet administratora paroli drošā vietā. Lai atslēgtu failus, lietotājiem būs nepieciešama administratora atļauja.

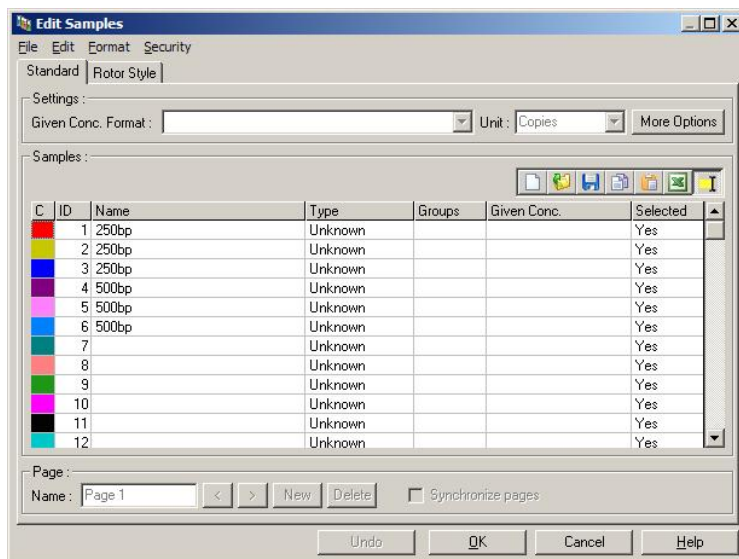
Paraugus var aizslēgt pirms izpildes, ja Advanced (detalizēti) vednī noklikšķina uz Finish and Lock Samples (beigt un aizslēgt paraugus).



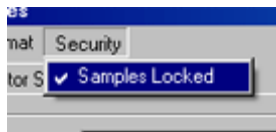
Parādīsies turpmāk redzamais brīdinājums. Lai apstiprinātu, noklikšķiniet Yes (jā).



Kad paraugi ir slēgti, Edit Samples (redīgēt paraugus) logā paraugu nosaukumus nevar mainīt.



Paraugus var slēgt un atslēgt arī Edit Samples (rediģēt paraugus) logā. Tomēr ņemiet vērā, ka paraugus var atslēgt tikai administrators.

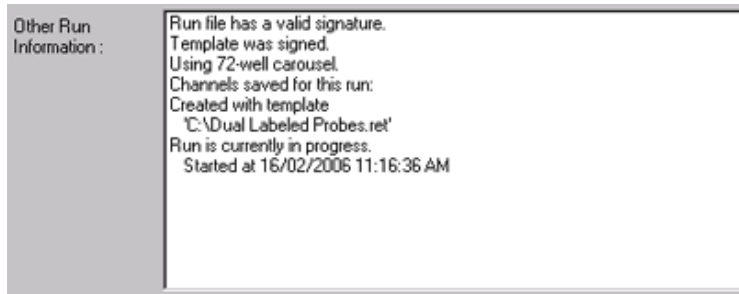


Jebkādas neatļautas faila izmaiņas izpildes parakstu padarīs nederīgu.

7.9.7. Slēgtas veidnes

Šobrīd lietotājs nevar ar Rotor-Gene Q programmatūru izveidot tikai lasāmus veidnes failus. Tomēr, ja nepieciešams, var norādīt, ka visas izpildes jāveic ar noteiktu veidnes failu. Lai attiecīgajai veidnei nodrošinātu tikai lasāmu piekļuvi, tā jāuzglabā tīkla diskierīce, kurā lietotāji nevar mainīt datus. Šādā veidā lietotāji var palaist un modificēt savus profilus, bet tīkla diskierīcē saglabātā veidne ir aizsargāta. Lai uzzinātu, kura veidne ir izmantota, Rotor-Gene Q programmatūra saglabā sarakstu ar izmantoto veidņu failu nosaukumiem. Šī informācija ir

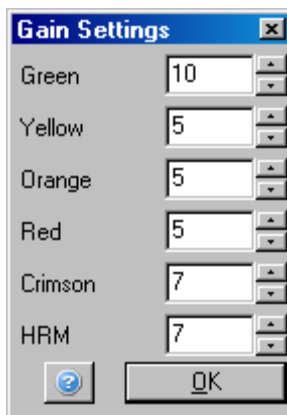
pieejama, ja noklikšķina uz Settings (iestatījumi) pogas, kas ļauj atvērt Run Settings (izpildes iestatījumi) logu. Veidnes informācija ir saglabāta zem Other Run Information (cita izpildes informācija).



7.10. Gain (pastiprinājuma) izvēlne

Lai skatītu pašreizējās izpildes Gain Settings (pastiprinājuma iestatījumi), noklikšķiniet uz Gain (pastiprinājums) izvēlnes. Šādi pirms izpildes kanālam var iestatīt pastiprinājumu. Pēdējās izpildes pastiprinājuma iestatījumi saglabājas. Pastiprinājuma iestatījumus var mainīt, kad izpilde nav sāкта vai atrodas sākotnējos ciklos. Lai mainītu lauku vērtības, klikšķiniet uz augšup vai lejup vērstajiem bulttaustiņiem. Pēc tam noklikšķiniet OK (labi).

Pastiprinājumu var mainīt sākotnējo ciklu laikā. Attiecīgais kanāls tiks iezīmēts ar sarkanu līniju, kas norāda uz pastiprinājuma izmaiņām. Cikli, kas atrodas pirms pastiprinājuma maiņas, no analīzes tiks izslēgti.



7.11. Window (logs) izvēlne

Šī izvēlne ļauj izvietot logus vertikāli, horizontāli vai sakārtot citu virs cita. Papildu opcijas ir pieejamas, ja noklikšķina uz bultiņas, kas atrodas Arrange (sakārtot) pogas labajā pusē.

7.12. Help (palīdzība) funkcija

Izmantojot pogu Help (palīdzība) vai izvēlni Help , atvērsies zemk parādītā nolaižamā izvēlne.

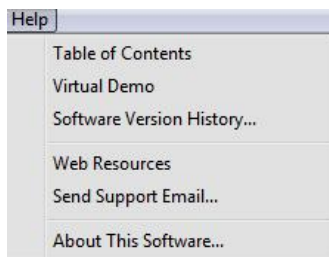


Table of Contents
(Saturs)

Atver funkciju Help (palīdzība).

Virtual Demo
(Virtuālā
demonstrācija)

Izveido savienojumu ar QIAGEN interneta vietni, kur pieejama interaktīva programmas demonstrācija.

Software Version History... (Programmas versiju vēsture...)	Sniedz īsu pārskatu par jaunām funkcijām, kas pievienotas pēdējā programmatūras versijā.
Web Resources (Interneta resursi)	Atver QIAGEN internet vietnes lapu jaunā pārlūka logā, kurā redzama svarīga informācija par Rotor-Gene Q MDx rīkiem un atbilstošajiem reaģentiem.
About This Software... (Par šo programmu...)	Parāda informāciju par pieslēgto iekārtu, Rotor-Gene Q MDx sērijas numuru un programmatūras versiju.

7.12.1. **Send Support E-Mail (sūtīt atbalsta e-pastu)**

Help (palīdzība) izvēlnē pieejamā Send Support Email (sūtīt atbalsta e-pastu) opcija ļauj nosūtīt QIAGEN uzņēmumam atbalsta e-pastu, kas iekļauj nepieciešamo tehnisko informāciju par izpildi. Ja datorā, kas ir savienots ar Rotor-Gene Q MDx iekārtu, nav piekļuve e-pastam, Save As (saglabāt kā) opcija saglabās visu informāciju vienā failā, kuru var pārkopēt uz datu nesēju vai tīkla mapi.

Ja jūs pirmo reizi izmantojat atbalsta e-pasta funkciju, kas kā instalēta klēpj datorā, kas iegādāts kopā ar Rotor-Gene Q MDx (atkarībā no mītnes zemes), jums nāksies konfigurēt e-pasta iestatījumus.

Piezīme: šo konfigurāciju var ievadīt jūsu uzņēmuma inženiertehnisko resursu pārvaldnieks.

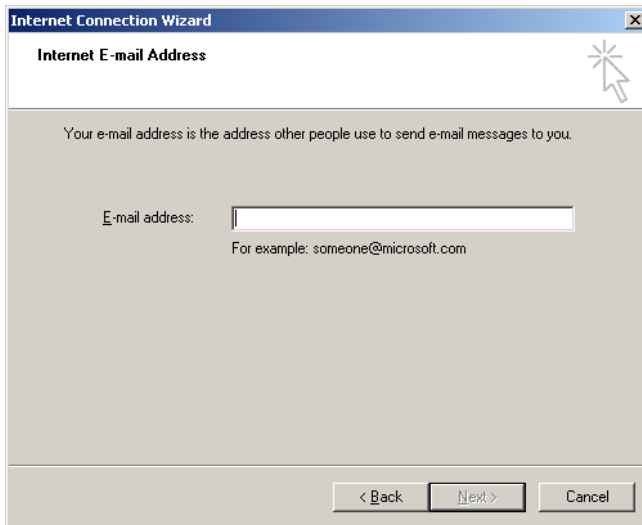
Konfigurējiet e-pasta iestatījumus

1. Noklikšķiniet uz opcijas Send Support Email... (nosūtīt atbalsta e-pastu). Atvērsies zemāk redzmais logs.



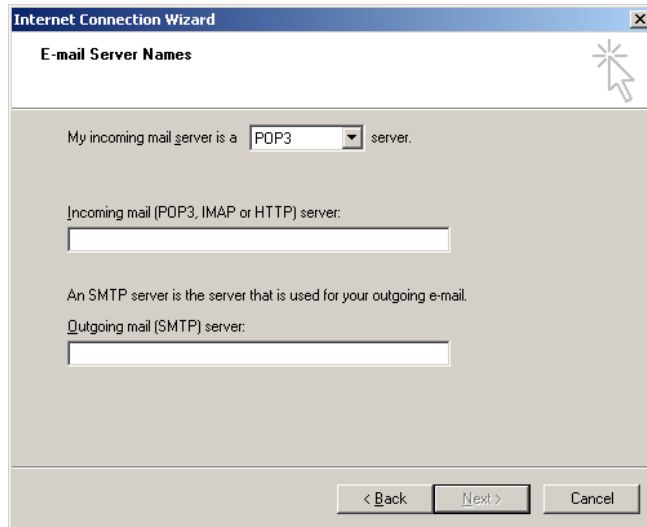
The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a close button (X) in the top right corner. The main heading is "Your Name". Below the heading, there is a text box with a mouse cursor icon. The text reads: "When you send e-mail, your name will appear in the From field of the outgoing message. Type your name as you would like it to appear." Below this text is a label "Display name:" followed by an empty text input field. Underneath the input field, it says "For example: John Smith". At the bottom of the window, there are three buttons: "< Back", "Next >", and "Cancel".

2. Ierakstiet savu vārdu un noklikšķiniet Next (tālāk).
Atvērsies logs Internet E-mail Address (intereneta e-pasta adrese).



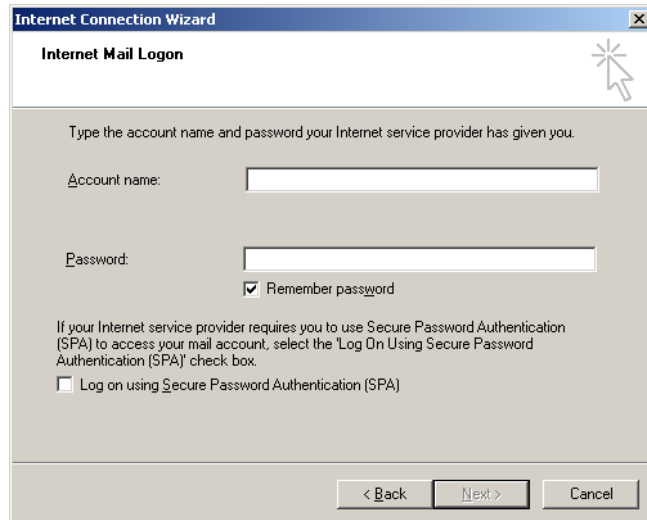
The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a close button (X) in the top right corner. The main heading is "Internet E-mail Address". Below the heading, there is a text box with a mouse cursor icon. The text reads: "Your e-mail address is the address other people use to send e-mail messages to you." Below this text is a label "E-mail address:" followed by an empty text input field. Underneath the input field, it says "For example: someone@microsoft.com". At the bottom of the window, there are three buttons: "< Back", "Next >", and "Cancel".

3. Ierakstiet savu e-pasta adresi un nospiediet Next (tālāk).
Atvērsies logs E-mail Server Names (e-pasta serveru nosaukumi).



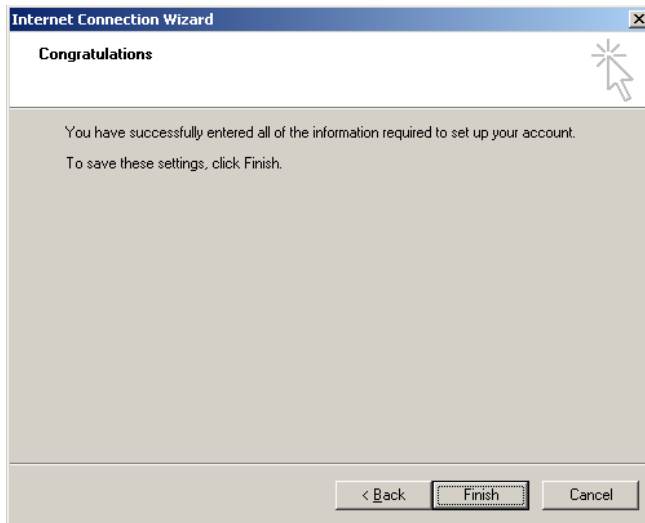
The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' dialog box with the title 'E-mail Server Names'. It contains a dropdown menu for 'My incoming mail server is a' set to 'POP3'. Below it are two text input fields: 'Incoming mail (POP3, IMAP or HTTP) server:' and 'Outgoing mail (SMTP) server:'. At the bottom are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

4. Izvēlieties ienākošo sūtījumu servera veidu un ierakstiet ienākošo un izejošo e-pasta sūtījumu serveru nosaukumus. Pēc tam nospiediet Next (tālāk). Atvēršies logs Internet Mail Logon (pieteikšanās internet pastā).



The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' dialog box with the title 'Internet Mail Logon'. It contains two text input fields: 'Account name:' and 'Password:'. Below the password field is a checked checkbox labeled 'Remember password'. At the bottom are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

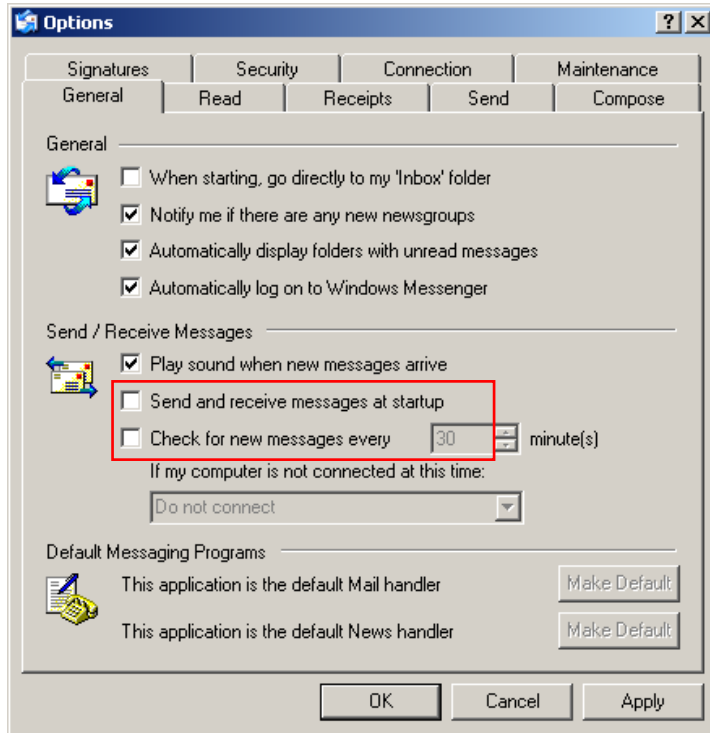
5. Ievadiet sava e-pasta konta nosaukumu un paroli, ja jūsu serveris izmanto drošu identifikāciju ar paroļu palīdzību. Pēc tam nospiediet Next (tālāk). Atvēršies logs Congratulations (apsveicam!).



6. Apstipriniet, noklikšķinot uz Finish (pabeigt), lai pabeigtu e-pasta konta konfigurēšanu.

Outlook iestatījumi

1. No izvēlnes Start atveriet Outlook Express (Start, All programs, Outlook Express).
2. Izvēlieties Tools (rīki) un pēc tam Options (opcijas).
Atvērsies zemāk redzamais logs.



Svarīgi: lai izvairītos no e-pastu pienākšanas PCR izpildes laikā, atspējojiet iestatījumus pēc noklusējuma logā Send/Receive Messages (sūtīt/saņemt ziņojumus).

3. Atspējojiet Send and receive messages at startup (nosūtīt un saņemt ziņojumus sistēmas starta brīdī)
4. Atspējojiet Check for new messages every 30 minutes (pārbaudīt jaunus ziņojumus reizi 30 minūtēs).
5. Izmaiņas apstipriniet, noklikšķinot OK.

8. Papildu funkcijas

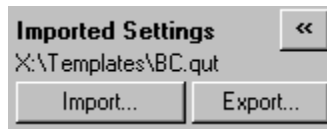
8.1. Analīzes veidnes

Dažās analīzēs lietotājam ir nepieciešams definēt sliekšņus, normalizācijas iestatījumus un genotipa iestatījumus. Nereti šie iestatījumi tiek izmantoti vairākos eksperimentos.

Analīzes veidnes ļauj lietotājam šos iestatījumus saglabāt un vēlāk izmantot atkārtoti. Tas ļauj ietaupīt laiku, kas nepieciešams atkārtotai iestatījumu ievadīšanai, un samazina kļūdu risku.

Analīzes veidnes atbalsta kvantitācijas, kušanas, alēļu selekcijas, izklaidētā grafika un galapunkta analīzes. Šīs analīzes ļauj lietotājam eksportēt analīzei unikālu veidni (piemēram, kvantitācijas analīze ļauj eksportēt un importēt *.qut failus, kas satur kvantitācijas iestatījumus).

Kad analīzes veidne ir importēta un eksportēta, veidnes faila nosaukums parādās turpmākām atsaucēm.

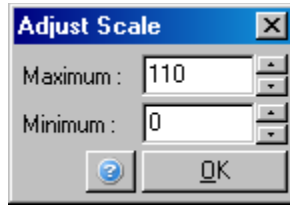


8.2. OTRAS izpildes atvēršana

Izpildes laikā ir iespējams atvērt un analizēt iepriekš pabeigtās izpildes. Otrā logā nav pieejamas vairākas funkcijas (piemēram, New (jauns) un Start Run (sākt izpildi) pogas). Jaunu izpildi var sākt no pirmā loga, kad pirmā izpilde ir pabeigta.

8.3. Mērogošanas opcijas

Lai piekļūtu Adjust Scale (mēroga maiņa), noklikšķiniet uz Adjust Scale...(mēroga maiņa), kas atrodas galvenā loga apakšā, vai ar peles labo pogu ieklikšķiniet grafikā un atlasiet Adjust Scale (mēroga maiņa). Atvēršies logs, kurā mērogu var ievadīt manuāli.



Lai piekļūtu Adjust Scale (mēroga maiņa), noklikšķiniet uz Adjust Scale...(mēroga maiņa), kas atrodas galvenā loga apakšā, vai ar peles labo pogu ieklikšķiniet grafikā un atlasiet Adjust Scale (mēroga maiņa). Auto-Scale (automātiskais mērogs) opcija mēģina pielāgot mērogu datu maksimālajam un minimālajam lasījumam.

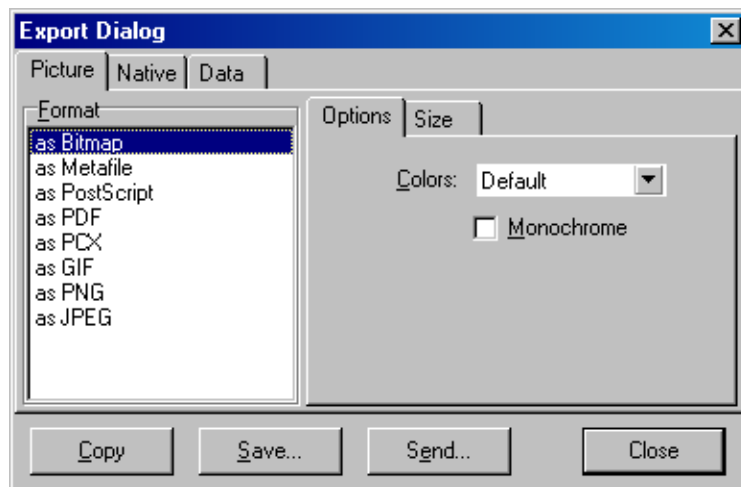
Lai piekļūtu Default Scale (noklusējuma mērogs), noklikšķiniet uz Default Scale...(noklusējuma mērogs), kas atrodas galvenā loga apakšā, vai ar peles labo pogu ieklikšķiniet grafikā un atlasiet Default Scale (noklusējuma mērogs). Default Scale (noklusējuma mērogs) atiestata mērogu tā, lai attēlotu no 0 līdz 100 fluorescences vienībām.

8.4. Grafiku eksportēšana

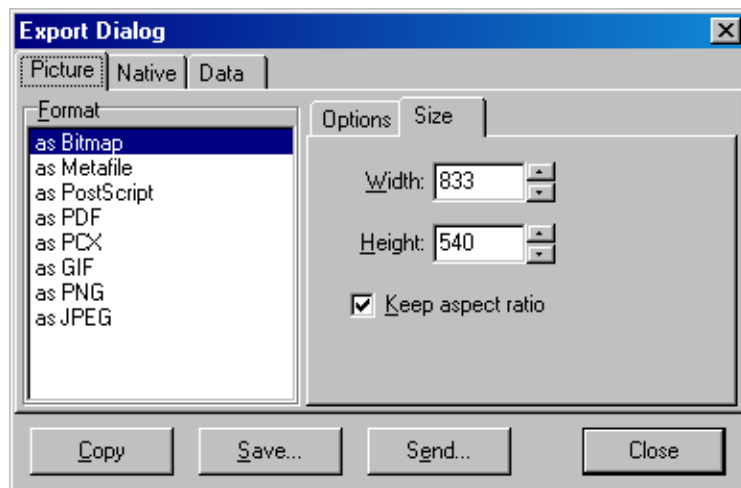
Attēla eksportēšana

Turpmāk ir aprakstīta attēla eksportēšanas soļi.

1. Noklikšķiniet ar peles labo pogu uz attēla un atlasiet Export (eksportēt).
2. Atvērsies Export Dialog (eksportēšanas dialogs) logs. Format (formāts) sarakstā izvēlieties vēlamo formātu.



3. Atveriet Size (izmērs) cilni un norādiet vēlamu izmēru.



4. Lai attēla izmēra koriģēšanas laikā saglabātu attēla proporcijas, atzīmējiet Keep aspect ratio (saglabāt attēla samēru) rūtiņu.
5. Noklikšķiniet Save (saglabāt) un dialoga lodziņā atlasiet faila nosaukumu un faila atrašanās vietu.

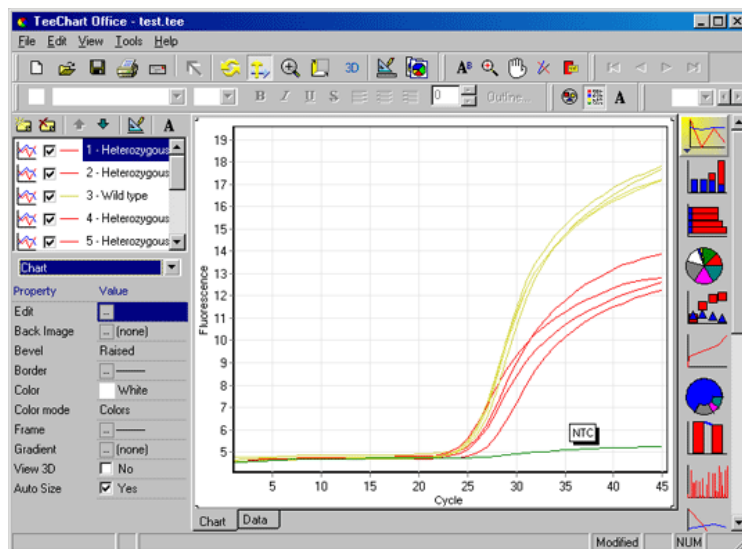
Ja nepieciešama augstāka izšķirtspēja, iesakām palielināt attēla izmēru vai saglabāt grafiku kā metafailu (*.emf, *.wmf). Tas ir vektoru formāta attēls, kuru var atvērt, piemēram, Adobe® Illustrator® lietojumprogrammā. Šis formāts ļauj lietotājam izveidot jebkuras izšķirtspējas attēlu.

Vietējā formāta eksportēšana

Rotor-Gene Q programmatūras grafikos ir izmantots trešās puses TeeChart® komponents, ko izstrādā Steema programmatūras uzņēmums. Lai saglabātu grafiku vietējā formāta, atlasiet Native (vietējs) cilni, kas atrodas Export Dialog (eksportēšanas dialogs) logā (skatīt iepriekšējo ekrānu uzņēmumu), un noklikšķiniet Save (saglabāt). Vietējais formāts ir standarta TeeChart faila formāts. Šādi lietotājs var izmantot Steema uzņēmuma izstrādāto TeeChart Office programmatūru. TeeChart Office ir bezmaksas programmatūra, kas ir iekļauta Rotor-Gene Q programmatūras pakotnē. Lai piekļūtu programmatūrai, noklikšķiniet uz TeeChart ikonas, kas atrodas uz darbvirsmas.

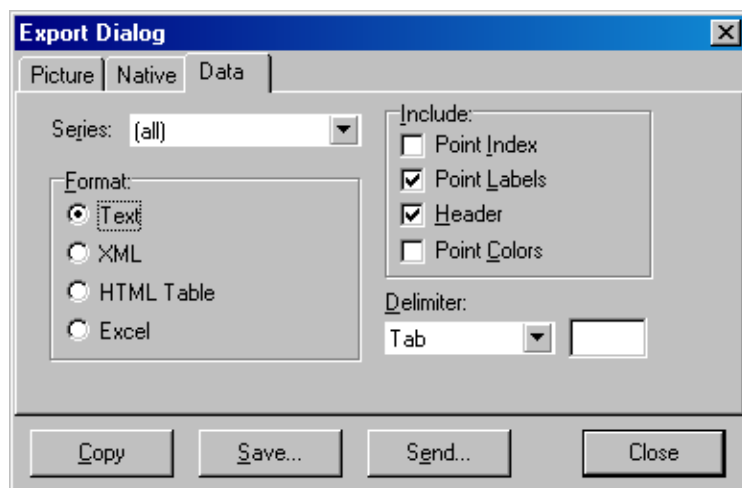


TeeChart Office programmatūra ļauj apstrādāt eksportētos grafikus, tostarp mainīt līkņu krāsas, pievienot anotācijas, mainīt fontus un koriģēt datu punktus.




Datu eksportēšana

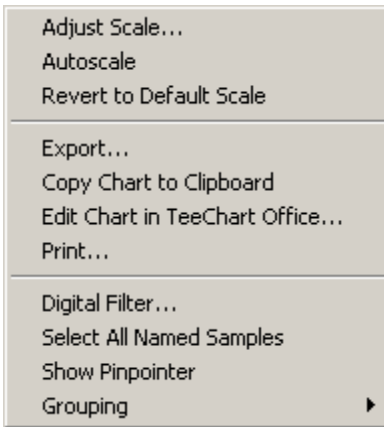
Lai datus eksportētu dažādos formātos, Export Dialog (eksportēšanas dialogs) logā atlasiet Data (dati) cilni. Eksportētais fails saturēs grafikā izmantotos jēdatu punktus.



Jēldatus un analīzes datus var eksportēt arī šādi: atlasīt File (fails) izvēlnē Save As (saglabāt kā) (skatīt 7.5. sadaļu).

8.5. Uzgriežņatslēgas ikona

Uzgriežņatslēgas ikona  ir redzama galvenā loga kreisajā apakšējā stūrī. Klikšķis uz uzgriežņatslēgas ikonas iespējo vairākas opcijas. Šīm opcijām var piekļūt arī ar peles labo pogu noklikšķinot uz grafika.



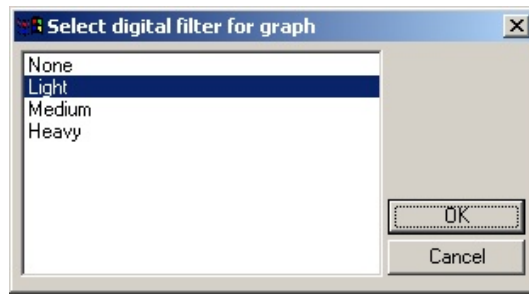
Adjust Scale (mēroga maiņa), Autoscale (automātiskais mērogs), Revert to Default Scale (atiestaīta noklusējuma mērogu):

Skatīt 8.3. sadaļu.

Export... (eksportēt):

Saglabā grafiku dažādos formātos (skatīt 8.4. sadaļu).

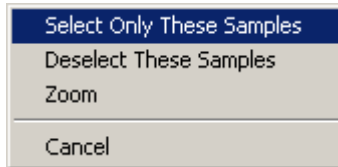
Copy Chart to Clipboard (kopēt diagrammu uz starpliktuvi):	Kopē grafika attēlu uz starpliktuvi.
Edit Chart in TeeChart Office... (rediģēt diagrammu TeeChart Office):	Atver grafiku TeeChart Office programmā (skatīt 8.4. sadaļu).
Print (drukāt):	Drukā grafiku.
Digital Filter... (ciparu filtrs):	Modificē atlasīto grafika ciparu filtru. Ciparu filtrs nolīdzina datus ar slīdošu punktu logu.



Show Pinpointer (rādīt rādītāju):	Atver logu, kas parāda peles rādītāja precīzas atrašanās vietas koordinātes.
Grouping (grupēšana):	Vizuāli sagrupē paraugus ar vienādiem nosaukumiem. Šī opcija ir noderīga pie pilnām rotora izpildēm. Šī opcija neietekmē aprēķinus.

8.6. Atlasītā apgabala opcijas

Lai atlasītu grafika apgabalu, ieklikšķiniet grafikā ar peles kreiso pogu un apvelciet ar peles rādītāju attiecīgo apgabalu. Parādīsies turpmāk aprakstītās opcijas.



Select Only These Samples (atlasīt tikai šos paraugus): Paraugiem, kas atrodas ārpus atlasītā apgabala, tiek noņemta atzīme.

Deselect These Samples (noņemt atzīmi šiem paraugiem): Paraugiem, kas atrodas atlasītajā apgabalā, tiek noņemta atzīme.

Zoom (tālummaiņa): Šī opcija ļauj mainīt tālummaiņu attiecībā pret atlasīto grafika apgabalu. Lai attālinātu, noklikšķiniet uz Default Scale (noklusējuma mērogs) pogas.

9. Tehniskās apkopes procedūras

Uzturēt Rotor-Gene Q MDx iekārtu labā tehniskajā stāvoklī ir vienkārši. Iekārtas optiskās sistēmas tehniskā apkope iekļauj emisijas un detekcijas avotu lēcu tīrīšanu. Lēcas jātīra ar vates kociņu, kas samitrināts etanolā vai izopropanolā*.

Piezīme: lēcas atkarībā no lietošanas intensitātes jātīra vismaz reizi mēnesī. Vienlaikus notīriet arī rotora kameru.

Darbavietai jābūt tīrai un kārtīgai (notīriet putekļus un aizvēciet papīra lapas). Rotor-Gene Q MDx gaisa ieplūdes atveres ir izvietotas iekārtas apakšpusē, un papīrs vai putekļi negatīvi ietekmēs iekārtas darbību.



Lai novērstu putekļu uzkrāšanos, kad Rotor-Gene Q MDx iekārtu nelieto, tās vākam jābūt aizvērtam.

Rotora kameru drīkst tīrīt ar bezplūksnu drāniņu, kas nedaudz samitrināta 0,1% (v/v) balināšanas šķīdumā.* Lai likvidētu balināšanas šķīduma pārpalikumus, tīriet rotora kameru ar bezplūksnu drāniņu, kas samitrināta PCR klases ūdenī.

* Strādājot ar ķīmikālijām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas virsvalku, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Detalizētu informāciju jūs varat uzzināt no attiecīgās drošības datu lapas (SDSs), ko var saņemt no materiāla izgatavotāja.

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu

10. Optiskā temperatūras verifikācija

Optiskā temperatūras verifikācija (OTV) ir metode, ar kuru pārbauda Rotor-Gene Q MDx iekārtas mēģenes iekšējo temperatūru. Sertificētās laboratorijās mēģenes iekšējās temperatūras validācija ir svarīga procedūra. OTV veic ar rotora diska OTV kitu (skatīt C pielikumu). Turpmāk ir īsi aprakstīts OTV pamata princips. OTV procedūra ir paskaidrota Rotor-Gene Q MDx programmatūrā. Sīkākai informācijai par OTV procedūru, tostarp traucējummeklēšanu, lūdzu, skatīt Rotora diska OTV rokasgrāmata.

10.1. OTV pamata princips

OTV par absolūtajām temperatūras atsaucēm izmanto trīs termohromatisko šķidro kristālu (TLC)* optiskās īpašības. Sildīšanas laikā TLC kļūst gaismu caurlaižoši pie ļoti precīzām temperatūrām (50°C, 75°C un 90°C). TLC paši par sevi nefluorescē. Tādēļ ierosināšanas avotu ir nepieciešams pārklāt ar fluorescentu ieliktni tā, lai Rotor-Gene Q MDx optiskā sistēma varētu noteikt TLC pārejas punktus. Zem pārejas temperatūras esošie TLC ir necaurspīdīgi un atstaro gaismu. Daļa atstarotās gaismas nokļūst detektorā un paaugstina fluorescenci. Kad mēģenes iekšējā temperatūra sasniedz TLC pārejas punktu, TLC kļūst caurspīdīgi, un gaisma plūst cauri paraugam, nevis atstarojas detektora virzienā, šādi pazeminot fluorescenci. Fluorescences izmaiņas ļauj noteikt katra TLC precīzu pārejas temperatūru. Pārējās temperatūra tiek salīdzināta ar OTV rotora diska ražotnes kalibrēšanas faila datiem, kas ļauj pārbaudīt, vai Rotor-Gene Q MDx atbilst temperatūras specifikācijām.

* Strādājot ar ķīmikālijām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas virsvalku, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Detalizētu informāciju jūs varat uzzināt no attiecīgās drošības datu lapas (SDSs), ko var saņemt no materiāla izgatavotāja.

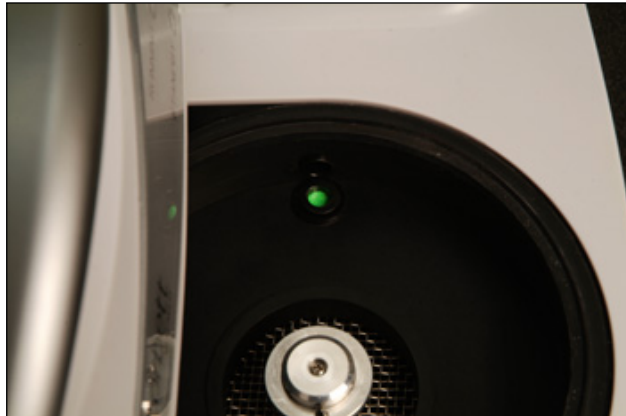
10.2. Rotora diska OTV kita komponenti

OTV ir nepieciešami turpmāk minētie komponenti:

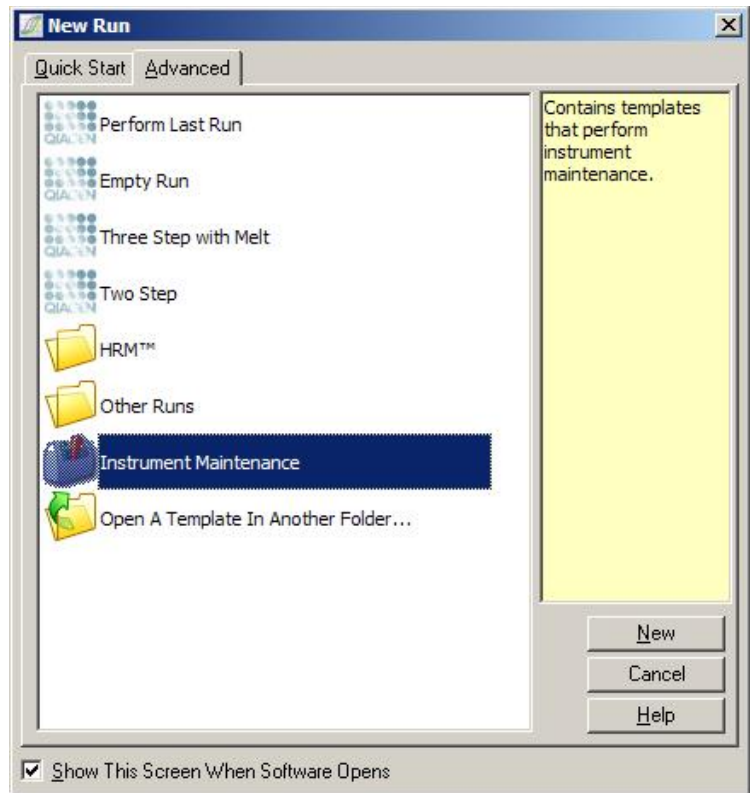
- rotora diska OTV kits, kas iekļauj:
 - noblīvētu rotora diska 72 OTV rotoru (iekļauj TLC);
 - fluorescences izkliedēšanas plātes ieliktni (Rotor-Gene 3000 vai Rotor-Gene Q/6000 iekārta);
 - kompaktdisku, kas satur turpmāk minētos failus: OTV rotora sērijas numura un derīguma termiņa failu (*.txt); OTV pārbaudes veidnes failu (*.ret); produktu lapu (*.pdf); ražotnes kalibrēšanas failu (*.rex);
 - produktu lapu;
- Rotor-Gene Series programmatūras versija 1,7 vai jaunāka, kas iekļauj OTV rotora vedni;
- rotora diska 72 rotors;
- rotora diska 72 fiksācijas gredzens.

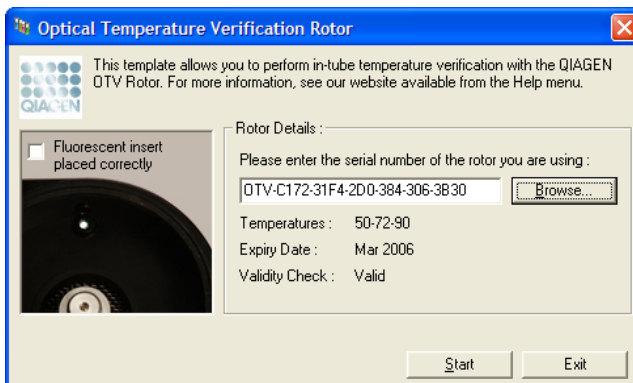
10.3. OTV procedūra

1. Uzstādi fluorescences ieliktni uz emisijas lēcas Rotor-Gene Q MDx kameras apakšā.
2. Ievietojiet OTV rotora disku rotora diska 72 rotorā. Nofiksējiet ar rotora diska 72 fiksācijas gredzenu. Ievietojiet samontēto detaļu Rotor-Gene Q MDx iekārtā un ar klikšķi nofiksējiet. Aizveriet Rotor-Gene Q MDx iekārtas vāku.

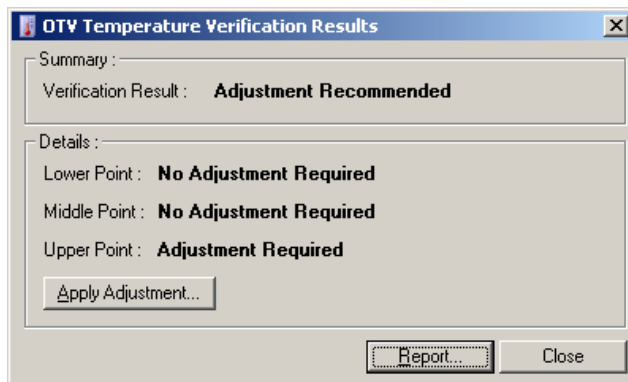


3. Lai piekļūtu Advanced (detalizēti) vednim, New Run (jauna izpilde) logā atveriet Advanced (detalizēti) cilni. Advanced (detalizēti) vednī, noklikšķiniet uz Instrument maintenance (iekārtas tehniskā apkope) un pēc tam noklikšķiniet uz OTV. Vednis pieprasīs ievadīt OTV sērijas numuru. Šo numuru var nolasīt no OTV rotora diska etiķetes vai importēt no kompaktdiska, noklikšķinot uz Browse (pārlūkot) un izvēloties kompaktdiskā iekļauto *.otv failu. Kad numurs ir ievadīts, noklikšķiniet uz Start (sākt).





4. Programmatūra pieprasīs ievadīt izpildes faila nosaukumu. Sāksies izpilde.
5. Izpildes laikā, lai noteiktu Rotor-Gene Q MDx iekārtas termiskās īpašības, tiek veiktas vairākas kušanas procedūras.



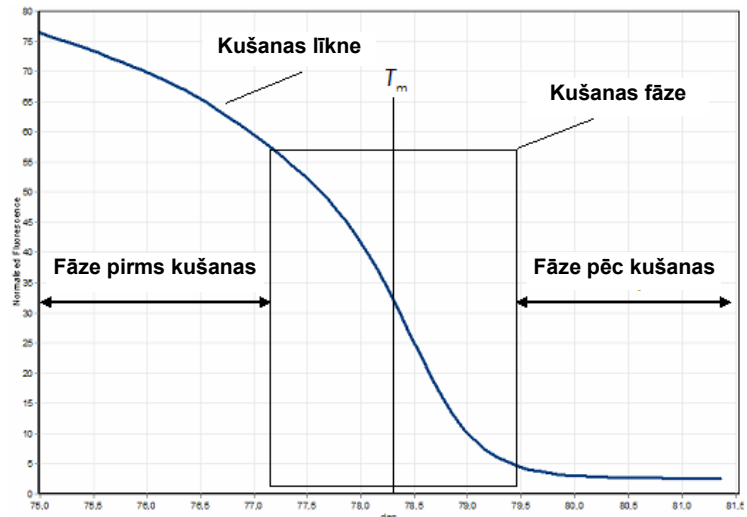
6. Kad izpilde ir pabeigta, programmatūra paziņo, vai Rotor-Gene Q MDx iekārta atbilst tehniskajām specifikācijām.
7. Ja nepieciešamas korekcijas, lietotājam jānoklikšķina uz Apply Adjustment (veikt korekcijas). Šādā gadījumā lietotājam jāveic verifikācijas izpilde. Pēc verifikācijas izpildes pabeigšanas iekārtai jāatbilst tehniskajām specifikācijām. Ja tomēr ir nepieciešamas papildu korekcijas, sazinieties ar iekārtas izplatītāju.

8. Ja Rotor-Gene Q MDx iekārta atbilst tehniskajām specifikācijām, lietotājs var skatīt un izdrukāt ziņojumu par izpildi.

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu

11. High Resolution Melt (HRM) analīze

High resolution melt (HRM) analīze ir novatoriska metode, kas izstrādāta uz DNS kušanas analīzes bāzes. HRM raksturo DNS paraugus atbilstoši to disociācijas īpatnībām, pārejot no divpavedienu DNS (dsDNS) uz vienpavediena DNS (ssDNS) pie paaugstinātas temperatūras (skatīt turpmāk redzamo attēlu). HRM iekārta apkopo fluorescences signālus ar ļoti augstu optisko un termisko precizitāti, nodrošinot iegūto datu plašu pielietojumu.



Tipiska HRM diagramma. Kušanas līkne parāda pāreju no augsta fluorescences līmeņa sākotnējās pirms-kušanas fāzē caur fluorescences pazemināšanos kušanas fāzē pie fluorescences bāzes līmeņa pēc-kušanas fāzē. Fluorescences pazeminās, kad divpavedienu DNS pārejas laikā uz vienpavediena DNS no dsDNA atbrīvojas interpolētā krāsa. Kušanas fāzes viduspunkts, kurā fluorescences izmaiņas ir visstraujākās, nosaka analizējamās DNS kušanas temperatūru (T_m).

Pirms HRM analīzes mērķa sekvenci nepieciešams amplificēt līdz lielam kopiju skaitam. Tas parasti tiek veikts ar PCR, klātesot dsDNS interpolācijas fluorescences krāsai. Krāsa nereaģē ar ssDNS, bet aktīvi interpolē ar dsDNS un interpolētā stāvoklī intensīvi fluorescē. Fluorescences

izmaiņas ļauj PCR laikā mērīt DNS koncentrācijas paaugstināšanos un pēc tam ar HRM tieši mērītu termiski stimulētās DNS kušanu. HRM laikā fluorescence sākotnēji ir augsta, jo procedūras sākumā paraugs ir kā dsDNS. Temperatūrai pieaugot, fluorescence samazinās un DNS disociējas vienpavedienos. Novērojamās kušanas īpašības ir partikulārā DNS parauga īpatnība.

HRM ļauj Rotor-Gene Q MDx raksturot paraugus pēc sekvenču garuma, GC satura un DNS sekvenču komplementaritātes. HRM var izmantot genotipēšanā, piemēram, iespraušanas/izņemšanas vai atsevišķu nukleotīdu polimorfismu (SNPs) analizēšanai, kā arī nezināmu ģenētisko mutāciju pārbaudīšanai. Tāpat HRM var izmantot arī epigenētiskā DNS metilācijas statusa noteikšanai un analizēšanai. HRM ir piemērota arī variantas DNS neliela daudzuma kvantitatīvai detekcijai savvaļas tipa sekvenču fonā pie jutībām, kas ir tuvas 5%. Tas ļauj, piemēram, pētīt somatiski iegūtas mutācijas vai izmaiņas CpG salu metilācijas stāvoklī.

Rotor-Gene Q MDx iekārtas HRM ļauj veikt vairākas procedūras, tostarp:

- kandidāta predispozīcijas gēnu identificēšanu;
- asociāciju pētījumus (salīdzināt gadījumus un kontroles, genotipu un fenotipu);
- alēļu dominēšanas noteikšanu populācijā vai apakšgrupā;
- SNP skrīningošanu un validāciju;
- heterozigositātes zuduma skrīningošanu;
- DNS identificēšanu;
- haplotipa bloku raksturošanu;
- DNS metilācijas analīzi;
- DNS kartēšanu;
- sugu identificēšanu;
- mutāciju pētīšanu;
- somatiski iegūtu mutāciju noteikšanu;
- HLA tipēšanu.

HRM ir vienkāršāka un ekonomiski izdevīgāka par zondes bāzes genotipēšanas pārbaudēm. Turklāt, atšķirībā no

standarta metodēm, tā ir slēgtas mēģenes sistēma, kas novērš PCR produktu piesārņošanas risku. Rezultāti ir salīdzināmi ar standartu metodēm, piemēram, SSCP, DHPLC, RFLP un DNS sekvenēšanu.*

11.1. Instrumentācija

Rotor-Gene Q MDx iekārta nodrošina turpmāk minētās HRM nepieciešamās reāllaika un termooptiskās iespējas:

- augstas intensitātes apgaismojums;
- augstas jutības optiskā detekcija;
- ātrdatu iegūšana;
- precīza parauga temperatūras kontrolēšana;
- minimālas paraugu termiskās un optiskās variācijas.

11.2. Ķīmikālija

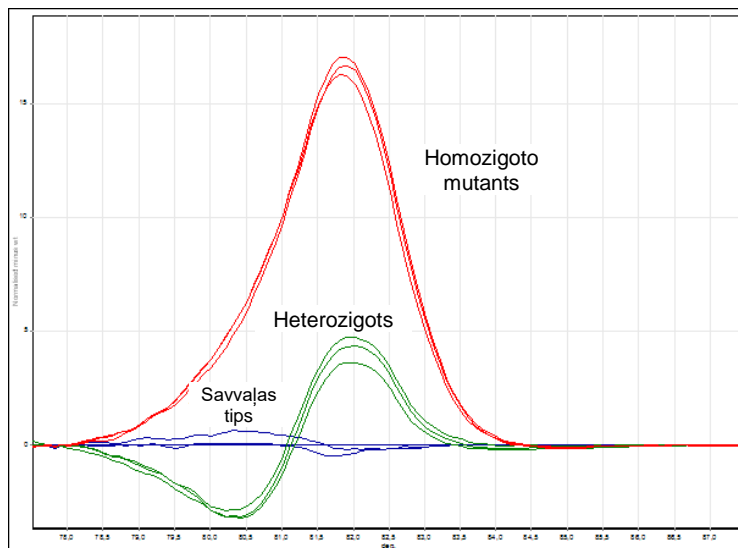
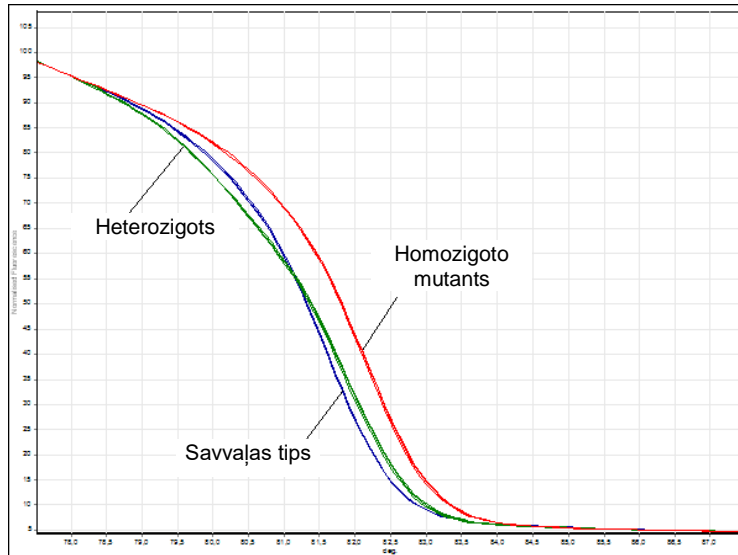
QIAGEN uzņēmums piedāvā Type-it® HRM PCR kitu SNPs un mutāciju analizēšanai ar HRM, bet EpiTect® HRM PCR kitu metilācijas analizēšanai. Abi kiti iekļauj trešās paaudzes, interpolācijas fluorescences krāsu EvaGreen. Kiti kombinē optimizētu HRM buferi un HotStarTaq® Plus DNS polimerāzi, kas ļauj novērst nespecifiskus amplifikācijas produktus un nodrošina uzticamus rezultātus.

Piezīme: visi QIAGEN uzņēmuma HRM kiti un reaģenti ir paredzēti lietošanai ar Rotor-Gene Q iekārtām tikai procedūrām, kas aprakstītas atbilstošo QIAGEN kitu rokasgrāmatās.

11.3. SNP genotipēšanas piemērs

Piemērā, lai nošķirtu cilvēka SNP rs60031276 homozigoto savvaļas tipa, homozigoto mutanta un heterozigoto formu, HRM analīzē ir izmantots Type-it HRM PCR kits Tehniskām detaļām skatīt Type-it HRM PCR rokasgrāmatu.

High Resolution Melt (HRM) analyze

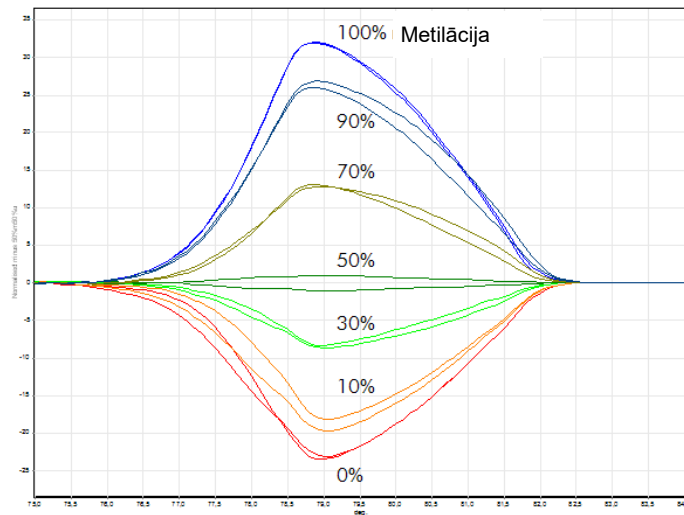
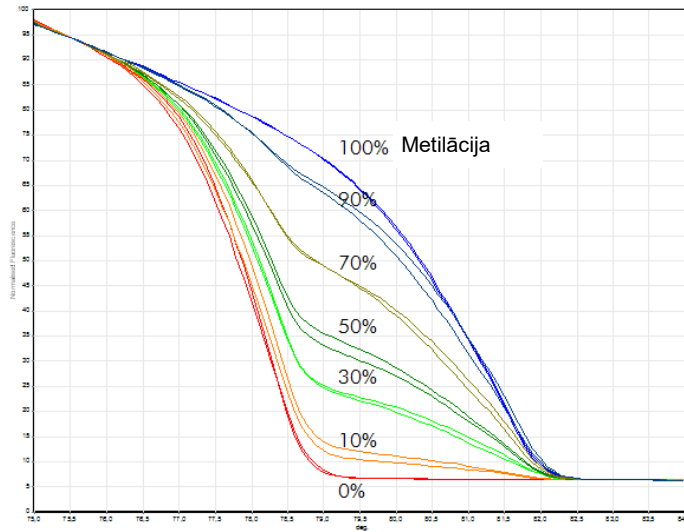


HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22		AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23		unknown	homo AA	99,49
24		unknown	homo AA	99,76
28		AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29		unknown	hetero AG	99,49
30		unknown	hetero AG	98,47
34		GG Human SNP rs60031276	homo GG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

SNP genotipēšana ar HRM. Cilvēka SNP rs60031276 (A līdz G substitūcija) PPP1R14B gēnā (proteīna fosfatāze 1, regulējošā (inhibitora) apakšvienība 14B) tika analizēta ar Rotor-Gene Q, izmantojot dažādu genotipu 10 ng genomu DNS, un Type-it HRM kitu. Homozigotā savvaļas tipa (AA), homozigotā mutanta (GG) un heterozigotie (AG) paraugi ir parādīti standarta normalizētā kušanas līknē un differences diagrammā, kas normalizēta atbilstoši savvaļas tipa paraugiem. nezināmo paraugu genotipus piešķīra Rotor-Gene Q programmatūra.

11.4. Metilācijas analīzes paraugs

Piemērā, lai sašķīrotu dažādas metilētā un nemetilētā DNS attiecības, HRM analīzē tika izmantots EpiTect HRM PCR kits. Tehniskām detaļām skatīt EpiTect HRM PCR rokasgrāmatu.



Kvantitatīvā metilācijas analīze ar HRM. HRM metilācijas analīzē, izmantojot Rotor-Gene Q iekārtu un EpiTect HRM kitu, tika analizētas un sašķīrotas dažādas metilētā un nemetilētā DNS-APC (resnās zarnas adenomatozes polipoze) attiecības. Attēlā ir redzama standarta normalizēta kušanas līkne un diferences diagramma, kas normalizēta atbilstoši 50% metilētā parauga.

11.5. Sekmīgas HRM analīzes vadlīnijas

HRM analīzes rezultāts lielā mērā ir atkarīgs no pētāmās sekvences. Rezultātus var ietekmēt noteikti sekvences motīvi (piemēram, kāšīša cilpas vai citas sekundāras struktūras, kas lokalizētas neparasti augsta vai zema GC satura apgabalos) vai atkārtotas sekvences. QIAGEN standartizēto kitu un optimizēto protokolu izmantošana var palīdzēt novērst vairākus potenciālos riskus. Zemāk ir aprakstītas dažas vienkāršas vadlīnijas sekmīgai procedūras īstenošanai.

Analizējiet nelielus DNS fragmentus

Analizējiet fragmentus, kas nav lielāki par 250 bp. Lai gan var sekmīgi analizēt arī lielākus produktus, tomēr šādi tiks iegūta zemāka izšķirtspēja, jo vienas bāzes variācijai ir lielāka ietekme uz 100 bp nekā 500 bp amplikona kušanas īpatnībām.

Nodrošiniet, ka PCR satur tikai specifisko produktu

Paraugi, kas ir piesārņoti ar pēc-PCR artefaktiem (piemēram, praimera dimēriem vai nespecifiskiem produktiem), var apgrūtināt HRM rezultātu interpretēšanu. QIAGEN kiti HRM analīzei nodrošina maksimālu specifiku bez optimizēšanas nepieciešamības.

Lietojiet pietiekamu preamplifikācijas veidni

Reāllaika PCR datu analīze var būt ļoti noderīga HRM analīžu traucējummeklēšanā. Amplifikācijas diagrammām C_T (sliekšņa ciklam) jābūt mazākam vai vienādam ar 30 cikliem. Produkti, kas amplificē vēlāk (zema sākuma veidnes daudzuma vai veidnes degradācijas dēļ) parasti PCR artefaktu dēļ dod mainīgus HRM rezultātus.

Normalizējiet veidnes koncentrāciju

Reakcijai pievienotajam veidnes daudzumam jābūt nemainīgam. Normalizējiet sākuma koncentrācijas tā, lai visas amplifikācijas diagrammas ir 3 C_T vērtību robežās

attiecībā cita pret citu. Šādi ievades koncentrācijas būs 10 izliekumu diapazonā.

Pārbaudiet, vai nav konstatējamas no normāltipa novirzītas diagrammas

Pirms HRM sākšanas rūpīgi pārbaudiet, vai amplifikācijas diagrammas datus nav konstatējamas nenormālas formas amplifikācijas diagrammas. Ja diagrammas ar mērenu logaritmiski lineāru fāzi ir izrobotas vai sasniedz zemu signāla plakni salīdzinājumā ar citām reakcijām, tas var liecināt par sliktu amplifikāciju vai pārāk zemu fluorescences signālu (cēlonis var būt, piemēram, pārāk zema praimera koncentrācija). Reakcijas inhibitori vai nepareiza reakcijas iestatīšana radīs sliktus reakcijas rezultātus. Šādu paraugu HRM dati būs nenoteikti vai ar zemu izšķirtspēju. Lai novērstu neuzticamus rezultātus, ieteicams izmantot QIAGEN kitus, kas paredzēti paraugu sagatavošanai un HRM analīzei.

Pēc-amplifikācijas parauga koncentrācijas jāuztur līdzīgas

DNS fragmenta koncentrācija ietekmē tā kušanas temperatūru (T_m). Tādēļ parauga DNS koncentrācijām jābūt pēc iespējas līdzīgām. Analizējot PCR produktus, pārlicinieties, ka katra reakcija ir amplificēta līdz plaknes fāzei. Plaknē visas reakcijas būs amplificētas vienādā pakāpē neatkarīgi no to sākuma daudzuma. Ņemiet vērā, ka sliktas reakcijas ar vienādu amplificēto daudzumu var nesasniegt plakni, piemēram, nekoncekventas pārbaudes iestatīšanas dēļ (piemēram, praimera koncentrācija ir pārāk zema).

Nodrošiniet paraugu vienveidīgumu

Visiem paraugiem jābūt vienādā tilpumā un ar vienādu krāsas koncentrāciju. DNS kušanu ietekmē sāļu klātesamību. Tāpēc svarīgi nodrošināt, ka bufera, Mg un citu sāļu koncentrācija visos paraugos ir pēc iespējas līdzīgāka. Tāpat lietojiet identiskas viena ražotāja reakcijas

mēģenes, jo šādi novērsīs rezultātu variācijas, piemēram, plastmasas biezuma un autofluorescences īpašību dēļ.

Nodrošiniet pietiekamu datu daudzumu gan pirmskušanas, gan pēc-kušanas fāzēs

Fiksējiet HRM datu punktus apmēram 10°C diapazonā un izkārtojiet ap novēroto T_m (skatīt attēlu 11-1. lapā). Šādi nodrošināsiet pietiekamu daudzumu bāzes līnijas datu punktu efektīvai līknes normalizēšanai, kā arī iegūsit reproducējamākus replikātus un vieglāku datu interpretāciju.

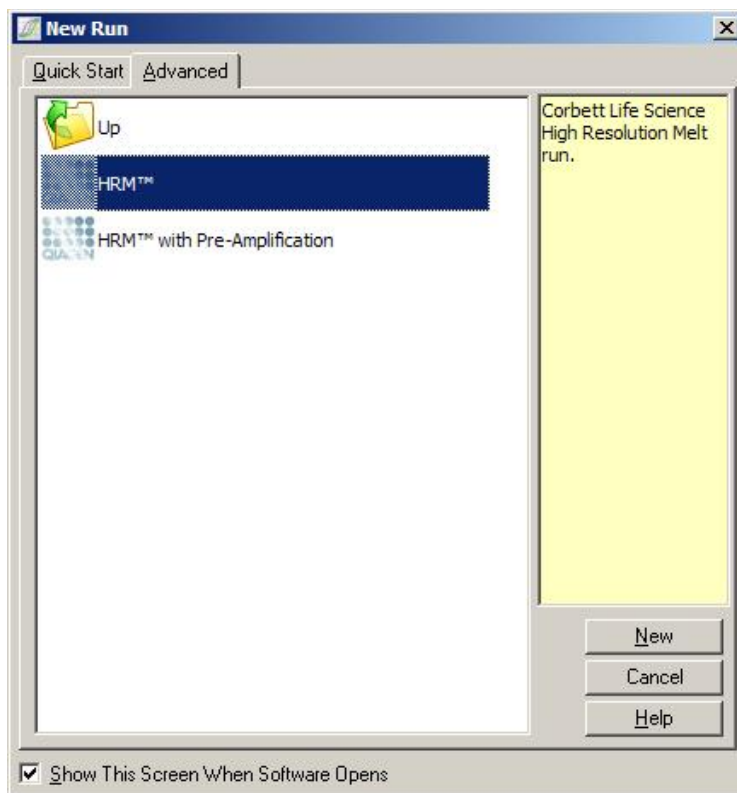
11.6. Parauga sagatavošana

Attīrīšanas un glabāšanas laikā jānovērš parauga degradācija. Novērsiet pārmērīgu inhibitoru daudzumu (piemēram, etanola pārņemšanas dēļ). Lai uzlabotu HRM rezultātus, paraugiem ieteicams nodrošināt vienādu veidnes daudzumu. Lai noteiktu DNS koncentrāciju un tīrību, ieteicams veikt spektrofotometrisko analīzi. Parauga sagatavošanai ieteicams izmantot QIAGEN kitus.

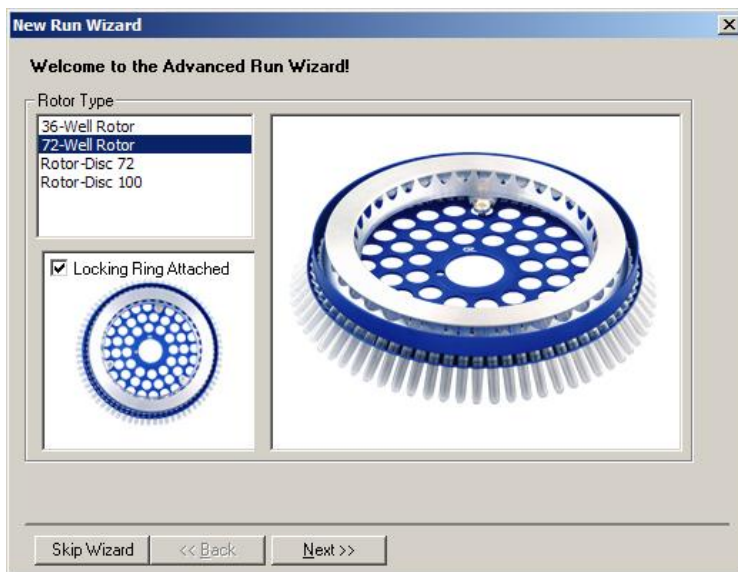
Piezīme: 260 nm viena absorbcijas vienība ir ekvivalenta 50 µg/mL DNS. Tīrs DNS nodrošinās 260 nm līdz 280 nm attiecību 1,8.

11.7. Programmatūras iestatīšana

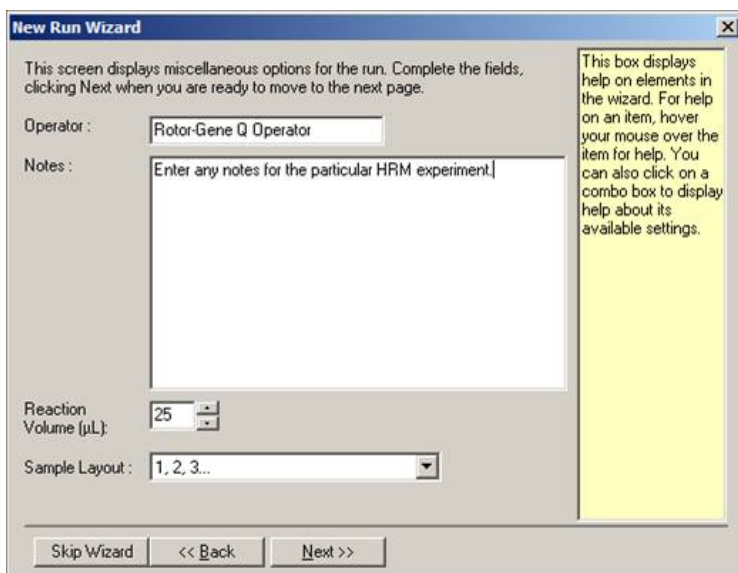
1. Lai atvērtu jaunu izpildes failu, File (fails) izvēlnē noklikšķiniet uz New... (jauns) Advanced (detalizēti) vednī atlasiet HRM.



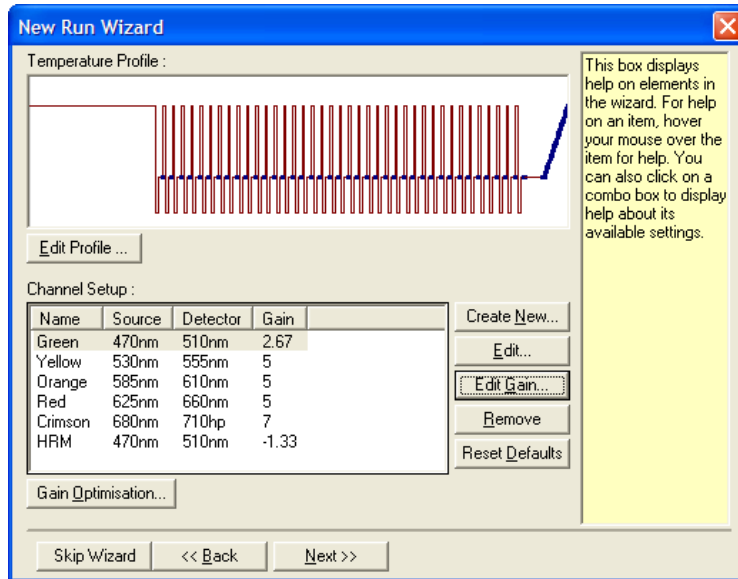
2. Iestatiet rotora tipu (piemērā ir izmantots 72 ligzdu rotors). Pirms pārejat pie nākamā soļa, pārbaudiet, vai fiksācijas gredzens ir vietā un Locking Ring Attached rūtiņa ir atzīmēta.



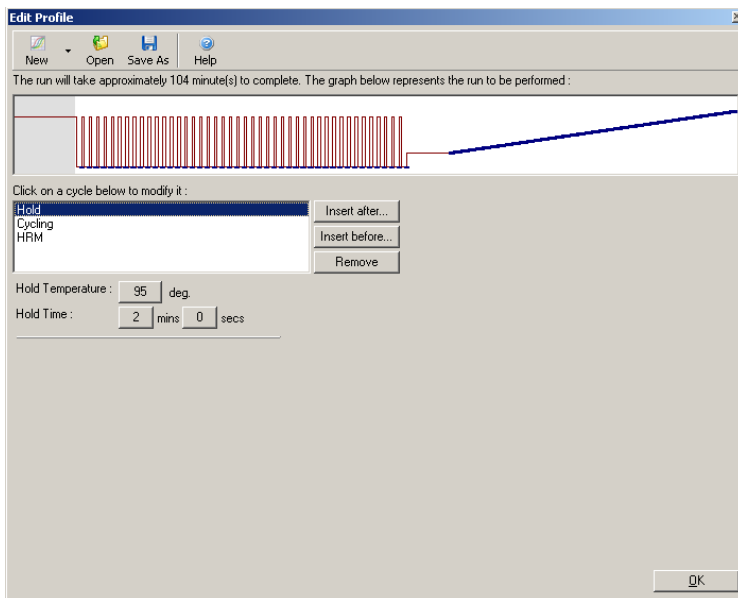
3. Iestatiet detalizētu izpildes informāciju. Ievadiet operatora vārdu (nav obligāti) un pievienojiet piezīmes par eksperimentu (nav obligāti). Atlasiet reakcijas tilpumu (obligāti) un vēlamo parauga izkārtojumu.



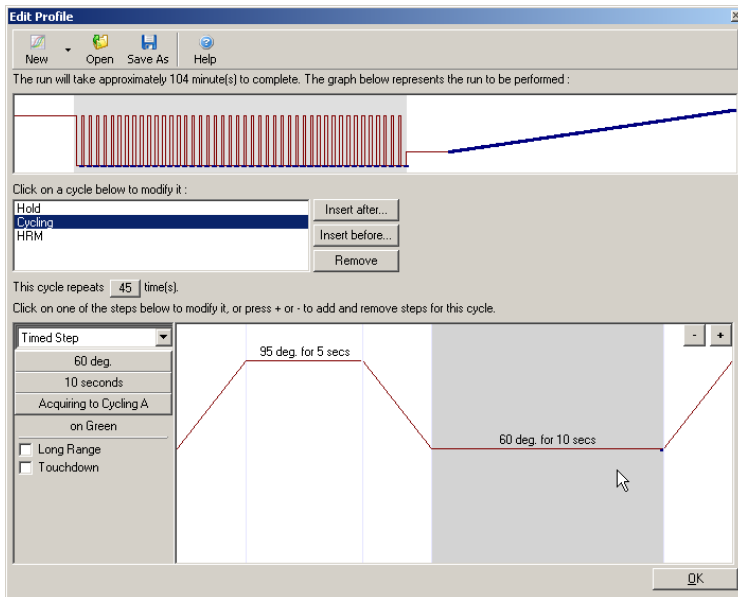
4. Lai mainītu reakcijas reižu skaitu un temperatūru, noklikšķiniet uz Edit Profile... (rediģēt profilu) pogas.



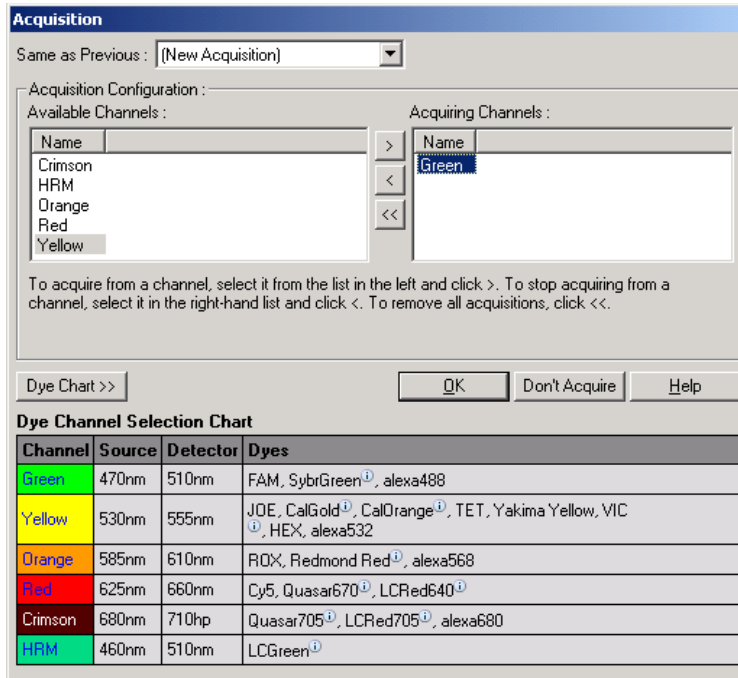
5. Iestatiet atbilstošo sākotnējās aiztures laiku. Laiks ir atkarīgs no DNS polimerāzes tipa. Type-it HRM PCR un EpiTect HRM PCR kitiem ir nepieciešams piecu minūšu aktivizācijas laiks. Noklusējuma aktivizācijas laiks ir desmit minūtes.



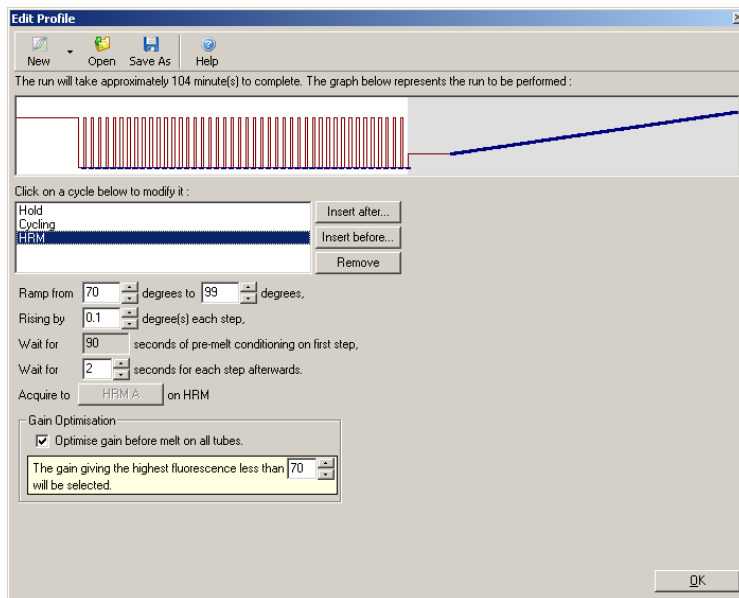
6. Modificējiet cikla izpildi atbilstoši amplikonam.



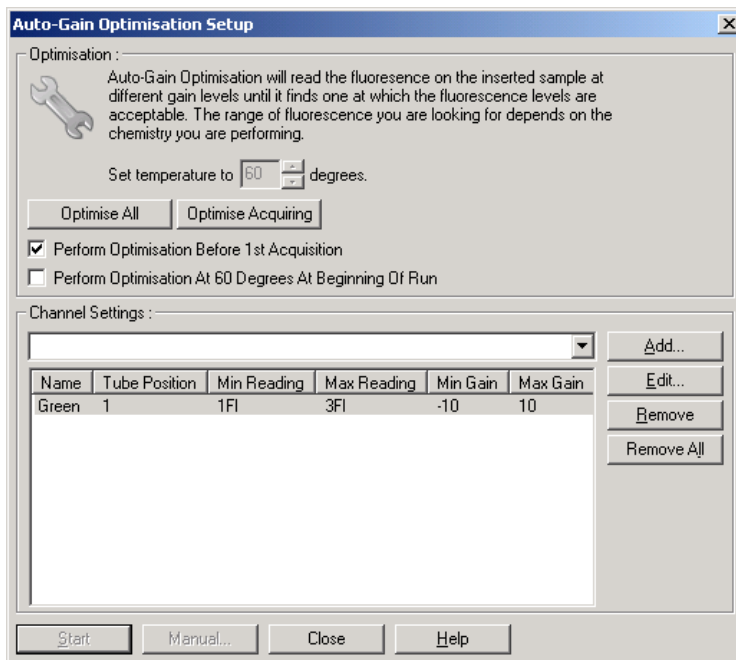
7. Pārliecinieties, ka fluorescences dati tiks iegūti. Atdzesēšanas soļa beigās dati tiek iegūti zaļajā kanālā.



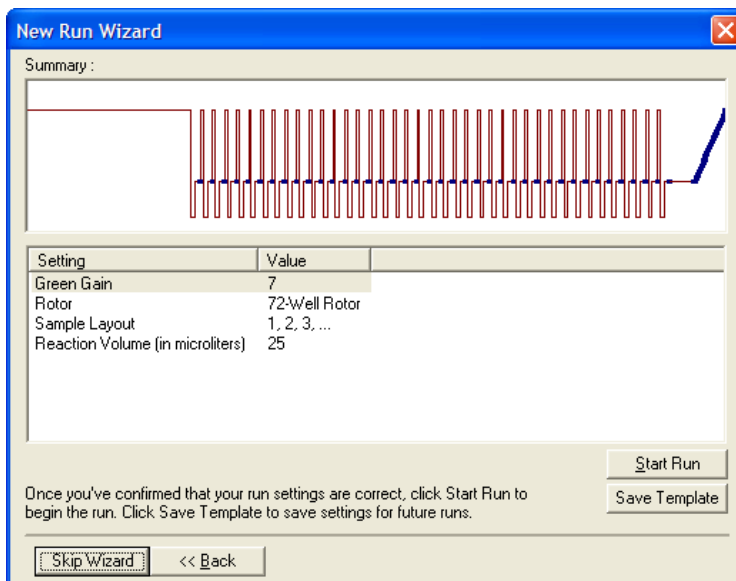
- Iestatiet HRM izpildes nosacījumus. Modificējiet nosacījumus atbilstoši amplikonam. Pirmajā eksperimentu grupā nodrošiniet plašu kušanas diapazonu. Piemēroto diapazonu aprēķiniet atbilstoši teorētiskajai T_m vērtībai. Kad esat noteikuši produkta kušanas punktu, samaziniet kušanas diapazonu līdz 10°C . Nodrošiniet kušanas sākšanos 5°C pirms pirmās kušanas pārejas. Noklusējuma slīpne ir iestatīta uz $0,1^\circ\text{C}$ ar divu sekunžu ilgu soli. Minimālā slīpnes pāreja ir $0,05^\circ\text{C}$ ar sekundi ilgu aizturi pie katra soļa. Dati tiek automātiski iegūti HRM kanālā. Pēc noklusējuma tiek veikta automātiskā pastiprinājuma optimizācija. Programmatūra meklēs optimālo pastiprinājuma iestatījumi tā, lai augstākā fluorescences vērtība 100 vienību mērogā nepārsniegtu 70 vienības. Ņemiet vērā, ka pastiprinājumu var palielināt līdz pat 100.



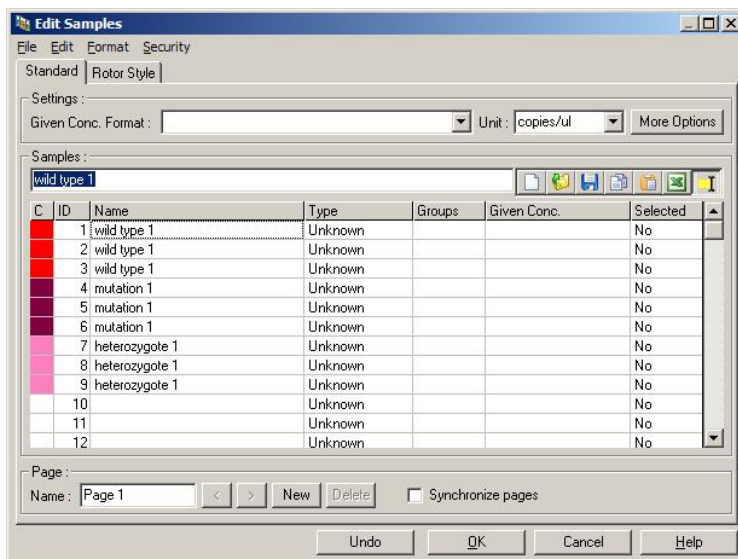
9. Ja nepieciešams: iestatiet automātisko pastiprinājuma optimizēšanu. Tas attiecas tikai uz reāllaika amplifikācijas soli un zaļo kanālu. Lai optimizētu tikai izpildē izmantotos kanālus, noklikšķiniet uz Optimize Acquiring (optimizēt iegūšanu) pogas. Optimizēšana norit vislabāk pirms pirmā datu iegūšanas soļa, tāpēc atzīmējiet Perform Optimization Before First Acquisition (veikt optimizēšanu pirms pirmās iegūšanas) rūtiņu. Interpolācijas krāsu vēlamais fona fluorescences diapazons ir viena līdz trīs fluorescences vienības. Lai mainītu šo iestatījumu, vispirms noklikšķiniet uz kanāla nosaukuma, bet pēc tam – Edit (rediģēt) pogas.



10. Lai sāktu izpildi, noklikšķiniet Start Run (sākt izpildi) un saglabāiet izpildes failu.



11. Rediģējiet parauga nosaukumus (ja nepieciešams).
Parauga nosaukumus var rediģēt gan izpildes laikā, gan pēc tās.

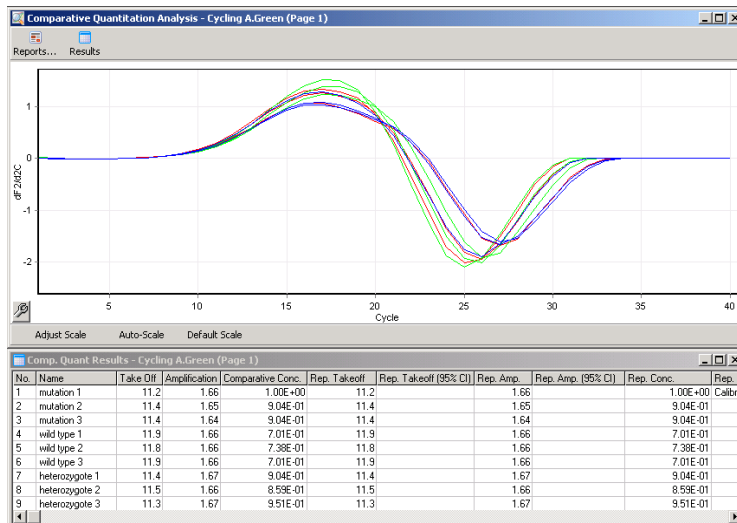


11.8. Reāllaika PCR datu analīze

Reāllaika PCR datu analīzi ir ieteicams veikt pirms HRM datu analīzes. Reāllaika PCR dati var uzrādīt slikti veiktas pārbaudes. Noviržu noteikšana un izslēgšana no turpmākās HRM analīzes ievērojami uzlabos HRM analīzes kopējo efektivitāti, jo nekvalitatīvu PCR produktu analizēšana dos nekvalitatīvus HRM rezultātus. Mēs iesakām kvantitatīvos reāllaika PCR datus analizēt, kā aprakstīts turpmāk.

1. Analizējiet reāllaika datus ar Quantitation (kvantitācija) opciju, kas pieejama Analysis (analīze) logā. Ja C_T vērtības ir 30 vai augstākas, atbilstošās reakcijas ir amplificētas pārāk vēlu. Šie paraugi no analīzēs jāizslēdz kā novirzes vai arī to analīzes dati jāuzskata par apšaubāmiem. Vēlas amplifikācijas cēlonis parasti ir nepietiekams sākuma veidnes daudzums un/vai augsta parauga degradācijas pakāpe.

- Novērtējiet galapunkta fluorescences līmeni. Ja galapunkta fluorescences jebkurā amplifikācijas diagrammā ir zema salīdzinājumā ar vairumu datu kopas diagrammu, šie paraugi no analīzes jāizslēdz pat tad, ja to C_T vērtība ir zemāka par 30. Zema galapunkta fluorescences var nozīmēt nepareizu krāsas daudzumu, nepareizu reakcijas komponentu (piemēram, praimeru) līmeni vai inhibitoru aktivitāti.
- Lai iegūtu katra parauga reakcijas efektivitāti, izmantojiet Comparative Quantitation (salīdzinošā kvantitācija) opciju, kas pieejama Analysis (analīze) logā. Ja efektivitāte nav līdzīga citām reakcijām vai ir zemāka par apmēram 1,4, izslēdziet reakciju kā novirzi.



Salīdzinošās kvantitācijas rezultāti. Reakcijas efektivitāte ir redzama Amplification (amplifikācija) kolonnā kā vērtība diapazonā līdz 2, kur 2 = 100% efektivitāte).

Piezīme: ja ir aizdomas par praimera dimēru vai nespecifisku produktu klātesamību, pārbaudiet reakcijas ar derivāta grafiku (Analysis (analīze) logā Melt (kušana) opcija). Pārlicinieties, vai ir redzama viena virsotne, kas norāda uz vienu produktu. Ja iespējams, ar gelu pārlicinieties par vienu amplifikācijas produktu.

Ja konstatējat vairākus produktus, reakciju nepieciešams atkārtot vai vēlreiz optimizēt.

11.9. HRM datu analīze

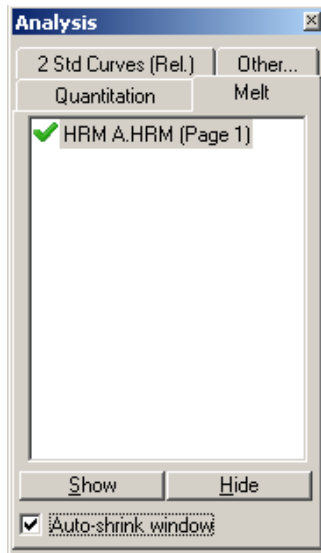
HRM analīze nodrošina gan vizuālu, gan automātisku genotipu izsaukšanu. Rezultātus var skatīt gan normalizētas kušanas diagrammas, gan diferences diagrammas veidā. Normalizētas līknes, pamatojoties uz līknes pārbīdi (homozigotu gadījumā) un līknes formas izmaiņām (heterozigotu gadījumā), nodrošina dažādu genotipu pamata reprezentāciju.

Diferences diagrammas ir vizuālās interpretācijas palīglīdzekļi. Tie uzrāda parauga fluorescences atšķirību attiecībā pret atlasīto kontroli katrā temperatūras pārejā. Diferences diagrammas nodrošina citu skatījumu uz kušanas līknes pāreju atšķirībām.

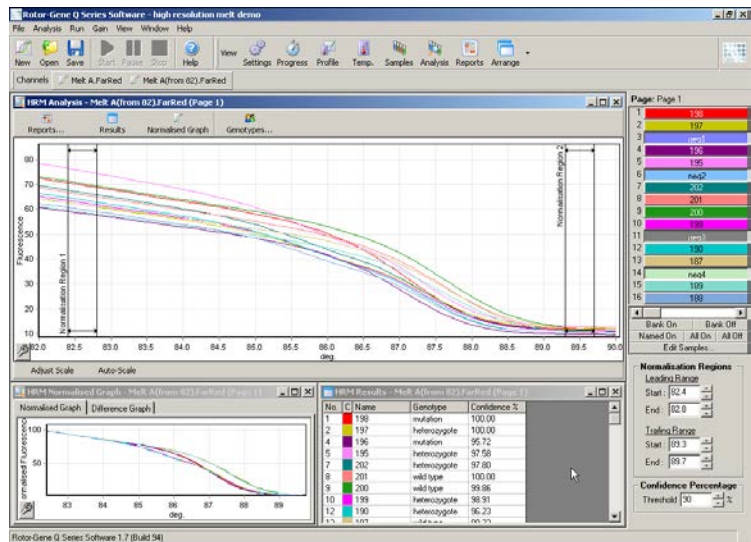
Piezīme: Pirmā derivāta kušanas līknes analīze (kas tiek izmantota Analysis (analīze) loga standarta Melt (kušana) opcijas gadījumā) tiek uzskatīta par HRM analīzei nepiemērotu, jo ikviena datu derivācija paaugstina mākslīgā trokšņa līmeni un apgrūtina datu interpretāciju.

Turpmāk aprakstīta HRM rezultātu analizēšana ar Rotor-Gene Q programmatūru.

1. Atlasiet Analysis (analīze) logā HRM opciju.



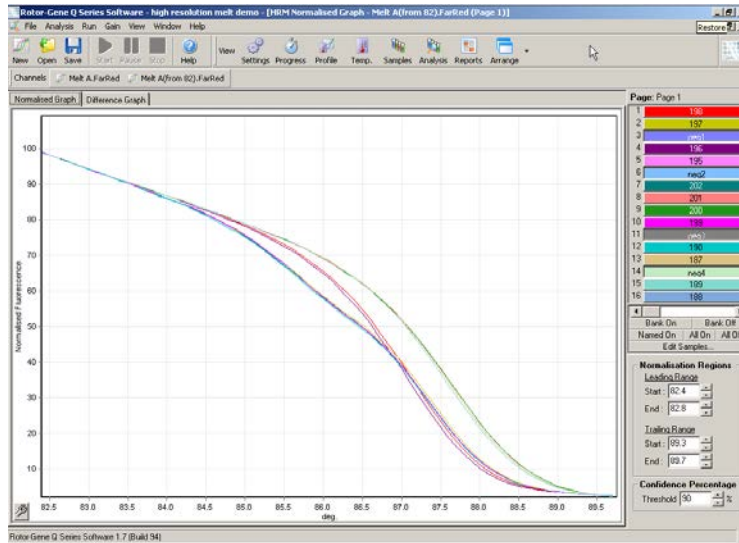
2. Atvērsies vairāki logi, kuros ir redzami jēldati, normalizētais grafiks un rezultāti. Jēldatu logā var koriģēt normalizācijas apgabalus. Normalizācija ļauj visas līknes salīdzināt ar vienu un to pašu sākuma un beigu fluorescences signāla līmeni, atvieglojot datu interpretāciju un analīzi. Katram apgabalam ir nodrošināti divi kursi, kas pēc noklusējuma atrodas līknes galos. Apgabalos esošie datu punkti tiek izmantoti kušanas diagrammas sākuma apgabala (1. apgabals) un beigu apgabala (2. apgabals) fluorescences normalizēšanai (tikai y ass). Ārpus apgabaliem esošie datu netiek ņemti vērā. Koriģējiet apgabalus tā, lai tie iekļautu pirms-kušanas un pēc-kušanas fāžu reprezentatīvos bāzes līnijas datus. Ja apgabalus paplašina (noklikšķiniet uz apgabala un velciet ar peli), programmatūra var koriģēt bāzes līnijas slīpumu. Lai nodrošinātu efektīvu līkņu normalizāciju, normalizācijas apgabali nedrīkst pārklāties ar kušanas fāzi.



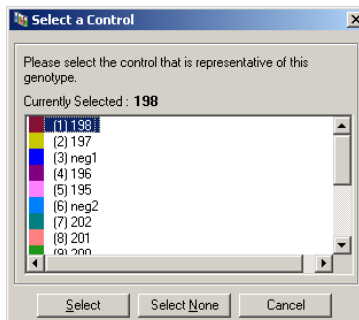
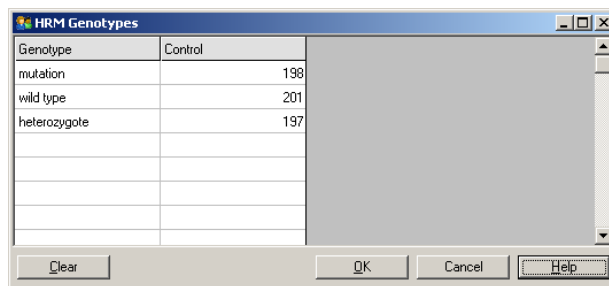
Piezīme: kursoru pozīciju ieteicams mainīt tikai tad, ja vēlaties izvairīties no kušanas līknes apgabaliem. Kursoru pārvietošana uz kušanas fāzes pārejām var ietekmēt atņemšanas diagrammas un uzticamības procentu attiecības.

3. Normalised Graph (normalizēts grafiks) logā ir redzamas normalizētās kušanas līknes. Paraugus var skatīt arī kā differences diagrammas attiecībā pret vienu no kontrolēm.

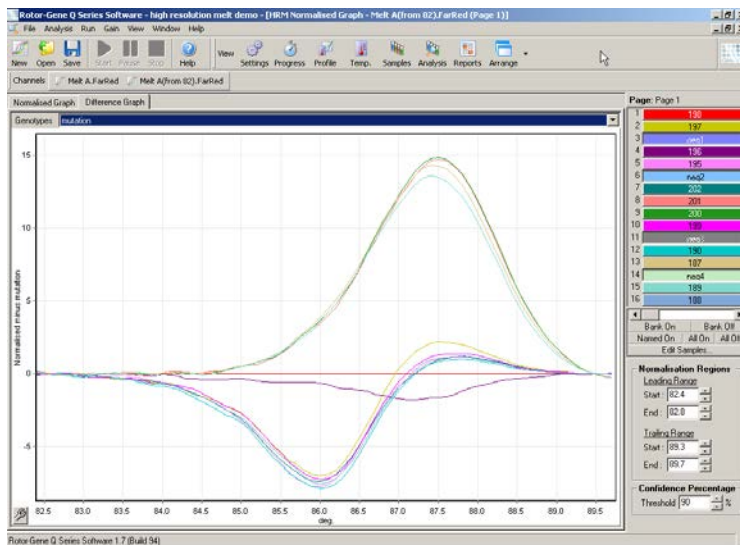
High Resolution Melt (HRM) analyze



4. Lai noteiktu genotipus, noklikšķiniet uz Genotypes... (genotipi) pogas. Ievadiet katras genotipa kategorijas nosaukumu un no paraugu saraksta atlasiet reprezentatīvo paraugu.



- Lai skatītu diferences diagrammu, atlasiet Difference Graph (diferences grafiks) cilni. Pēc tam, lietojot loga augšpusē redzamo nolaižamo izvēlni, atlasiet genotipu, kuru vēlaties salīdzināt ar pārējiem paraugiem. Piemērā visas paraugu diagrammas ir atvasinātas no Mutation 1 (mutācija 1) paraugu vidējās diagrammas.



- Programmatūra genotipus izsauks automātiski Results (rezultāti) logā. Uzticamības vērtība nodrošina automātiski izsaukto rezultātu integritātes pārbaudi. Sliekšņa vērtību, virs kuras tika veikti automātiskie izsaukumi, var mainīt. Zem iestatītā sliekšņa esošie paraugi tiks atzīmēti kā variācija detalizētākiem pētījumiem vai atkārtotai testēšanai.

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

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu.

12. Traucējummeklēšana

12.1. Žurnāla arhīvi

Log Archive (žurnāla arhīvs) repozitorijā programmatūra glabā nemodificētus katras izpildes, tostarp diagnostikas informācijas, reģistrus. Help (palīdzība), Send Support Email (sūtīt atbalsta e-pastu) opcija ļauj QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļai nosūtīt e-pastu ar visu nepieciešamo diagnostikas informāciju (skatīt 7.12.1. sadaļu).

Lai neaizņemtu pārāk daudz vietas, žurnāla arhīvos glabājamā informācija tikai par pēdējām 60 izpildēm. Jaunākie žurnāla arhīvi pārraksta vecākos.

12.2. HRM traucējummeklēšana

Komentāri un ieteikumi

Nevar palaist HRM

Rotor-Gene Q MDx iekārtas modelis nav aprīkots ar HRM Sazinieties ar vietējo QIAGEN izplatītāju.

Netiek iegūti HRM dati

Nepareiza iestatīšana Pārbaudiet filtra iestatījumus.
Pārbaudiet, vai rotora tips ir pareizs.
Pārbaudiet, vai tiek izmantoti pareizie reaģenti.
Pārbaudiet, vai reakcija ir iestatīta pareizi.
Veiciet pozitīvās kontroles eksperimentu (proti, eksperimentu ar zināmiem rezultātiem).

Komentāri un ieteikumi

Diagrammas izskatās izrobotas

Amplifikācija ir vāja vai tās nav vispār

Pārbaudiet, vai tiek izmantoti pareizie protokoli un reaģenti. HRM analīzei ieteicams izmantot QIAGEN kitus.

Pārbaudiet, vai reakcija ir iestatīta pareizi.

Pārbaudiet cikla izpildes nosacījumus.

Pārbaudiet veidnes sākuma kvalitāti un daudzumu. Parauga sagatavošanai ieteicams izmantot QIAGEN kitus.

Amplifikācijas vai kušanas diagrammas ir piesātinātas

Iestatīts pārāk augsts pastiprinājums

Lietojiet automātisko pastiprinājuma optimizēšanu (skatīt 6-23. lapu).

Uzticamības procentuālā attiecība ir mainījusies

Normalizācijas apgabalu pozīcija ir mainīta

Mainiet normalizācijas apgabalu pozīciju tikai tad, ja tas nepieciešams pārklāšanās ar kušanas līkni novēršanai.

Dati iekļauj novirzes

Nekonsekventa reakcijas iestatīšana

Pārbaudiet, vai tiek izmantoti pareizie reaģenti.

Pārbaudiet, vai mēģenes ir vienādas.

Paraugā ir klātesoši inhibitori

Pārbaudiet, vai visiem paraugiem ir izmantots viens un tas pats pamata maisījums.

Veidne ir degradēta vai tās nav pietiekami daudz

Pārbaudiet veidnes sākuma kvalitāti un daudzumu.

12.3. Vispārīgas iekārtas kļūdas

Kļūdas ziņojums	Komentāri un ieteikumi
<p>Can't open the serial port <COMPORT> (Nevar atvērt seriālo pieslēgvietu <COMPORT>)</p>	<p>Šī kļūda atgadās pie programmatūras palaišanas, ja programmatūra nevar sazināties ar iekārtu caur konfigurēto COM pieslēgvietu. Kļūdas cēlonis parasti ir bojāts kabelis, atvienojies kabelis, bojāta seriālā pieslēgvietā, bojātas USB pieslēgvietas, USB draivera problēmas vai konvertēra, kas USB signālu pārveido seriālajā signālā, draivera problēmas.</p> <p>Pārbaudiet kabeļa savienojumu vai nomainiet kabeli. Uzinstalējiet atbilstošos draiverus. Lai atiestatītu konfigurēto COM pieslēgvietu, palaidiet programmatūru Virtual Mode (virtuālais režīms), File (fails) izvēlnē noklikšķiniet uz Setup/Auto-Detect (iestatīt/automātiski noteikt) pogas.</p>
<p>Chamber lid open (Atvērts kameras vāks)</p> <p>Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Nevar turpināt izpildi, jo izpildes laikā atvērts kameras vāks. Lūdzu, atiestatiet iekārtu un restartējiet programmatūru.)</p>	<p>Šī kļūda atgadās, ja programmatūra konstatē, ka izpildes laikā ir atvērts iekārtas vāks.</p> <p>Atiestatiet iekārtu un restartējiet programmatūru.</p>

Kļūdas ziņojums

Komentāri un ieteikumi

Chamber lid open

(Atvērts kameras vāks)

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

(Instrumenta kameras vāks ir atvērts. Lūdzu, aizveriet vāku un noklikšķiniet Continue (turpināt).)

Šī kļūda atgadās, ja lietotājs mēģina sākt izpildi ar atvērtu iekārtas vāku.

Aizveriet iekārtas kameras vāku un noklikšķiniet Continue (turpināt).

Communication corrupted

(Komunikācija ir bojāta)

Šī kļūda atgadās, kad no iekārtas saņemto datu struktūra ir neatbilstoša.

Šādā gadījumā iekārta jānodod QIAGEN lauka tehniskās apkopes speciālistam iekārtas problēmu precīzai identificēšanai.

Sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Communication out of sequence

(Komunikācijas secība nav pareiza)

Instrument has received data from the machine that is out of sequence.

(Iekārta ir saņēmusi datus, kuru secība nav pareiza.)

Šī kļūda atgadās, kad iekārtas sūtīto datu secība ir nepareiza.

Šādā gadījumā iekārta jānodod QIAGEN lauka tehniskās apkopes speciālistam iekārtas problēmu precīzai identificēšanai.

Sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Communication protocol error

(Komunikāciju protokola kļūda)

A communication protocol error occurred with this run.

(Izpildes laikā atgadījās komunikāciju protokola kļūda.)

Šī kļūda atgadās, kad programmaparatūrā konfigurētais komunikāciju protokols nav tāds pats kā gaidītais protokols.

Šādā gadījumā iekārta jānodod QIAGEN lauka tehniskās apkopes speciālistam komunikāciju protokola vai iekārtas problēmu precīzai identificēšanai.

Kļūdas ziņojums

Komentāri un ieteikumi

Detector motor jam, stopped machine

(Detektora motora saķīlējums, iekārtas darbība apturēta)

Šī kļūda var atgadīties, ja ieslēdz Rotor-Gene Q MDx iekārtu, kas tikko piegādāta no telpas ar zemu temperatūru.

Šādā gadījumā pirms iekārtas lietošanas ļaujiet tai vismaz stundu pielāgoties istabas temperatūrai.

Ja kļūda atkārtojas, sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Fatal hardware malfunction

(Fatāli aparatūras darbības traucējumi)

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. (Iekārta ir konstatējusi fatālus aparatūras darbības traucējumus. Iekārtu nedrīkst lietot, kamēr izplatītāja tehniskais darbinieks nav veicis tehnisko apkopi.)

Šī kļūda atgadās, kad programmatūra konstatē fatālus aparatūras darbības traucējumus un, aktivizējot paš aizsardzības procedūru, sagatavo iekārtu izslēgšanai.

Nekavējoties izslēdziet iekārtu un sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Machine error (Iekārtas kļūda)

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. (Izpilde ir apturēta, jo atgadījās neatkopjamas iekārtas kļūdas. Ja šīs kļūdas atkārtojas, sazinieties ar izplatītāju un nododiet atbilstošo arhīva failu.)

Šī kļūda atgadās, kad programmatūra konstatē neatkopjamas iekārtas kļūdas. Šādā gadījumā programmatūra pārtrauc darboties.

Mēģiniet veikt citu izpildi. Ja kļūda atkārtojas, sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu un nododiet atbilstošo arhīva failu.

Kļūdas ziņojums

Machine unplugged

(iekārta atslēgta)

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.

(Iekārta nereaģē un pārtrauca darboties ar ziņojumu <ERROR MESSAGE>. Šī ir neatkopjama kļūda, lūdzu, atiestatiet iekārtu un restartējiet programmatūru.)

Machine unplugged

(iekārta atslēgta)

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.

(Iekārta nav pieslēgta datora pieslēgvietai <PORT NAME>. Pieslēdziet seriālo kabeli datora aizmugurē izvietotajai pieslēgvietai un noklikšķiniet Continue (turpināt).)

Komentāri un ieteikumi

Šī kļūda atgadās, ja instruments nevar sazināties ar programmatūru pēc noteikta noildzes intervāla. Kļūdas cēlonis parasti ir iekārtas kļūme vai pārmērīgi noslogots personālais dators, kas izraisa paketes zaudēšanu.

Standarta ar programmatūru saistīti cēloņi iekļauj procesoru noslogojošus uzdevumus (piemēram, antivīrusa pastāvīgo aizsardzību vai regulārās skenēšanas), bezvadu kartes vai infrasarkanās kartes.

Atspējojiet vai atinstalējiet programmatūru/uzdevumu, kas pārmērīgi noslogo procesoru.

Atiestatiet iekārtu un restartējiet programmatūru.

Sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Šī kļūda atgadās, ja seriālais vai USB savienojums ar iekārtu tiek pārtraukts.

Pieslēdziet seriālo vai USB kabeli datora aizmugurē izvietotajai pieslēgvietai un noklikšķiniet uz Continue (turpināt) pogas.

Kļūdas ziņojums**Komentāri un ieteikumi**

Object variable or with block variable not set (Objekta mainīgais vai bloka mainīgais nav iestatīts)

Šī kļūda atgadās programmatūra palaišanas laikā, ja noklusējuma eksperimenta veidnes fails ir bojāts. Šīs kļūdas cēlonis var būt programmatūras/datora nepareiza izslēgšana, piemēram, elektroapgādes traucējumu dēļ.

Izdzēsiet **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret** un restartējiet programmatūru.

Rotor speed failure
(Rotora ātruma kļūme)

Šī kļūda atgadās, ja programmatūra mēģina iestatīt rotora ātrumu, bet noteiktā noildzes periodā nespēj iestatīt mērķa ātrumu.

Time out while setting the rotor speed.
(Noildze rotora ātruma iestatīšanas laikā.)

Šādā gadījumā iekārta jānodod QIAGEN lauka tehniskās apkopes speciālistam iekārtas problēmu precīzai identificēšanai.

Sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Serial port in use
(Seriālais ports tiek lietots)

Šī kļūda atgadās, kad programmatūra mēģina pieslēgties iekārtai caur konfigurētu COM pieslēgvietu, kad attiecīgo pieslēgvietu jau izmanto cita programmatūra.

The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry.
(Seriālo pieslēgvietu šobrīd izmanto cita lietotne. Aizveriet visas lietotnes (piemēram, komunikāciju vai sinhronizācijas programmatūru) un mēģiniet vēlreiz.)

Aizveriet visas lietotnes (piemēram, komunikāciju vai sinhronizācijas programmatūru) un mēģiniet vēlreiz.

Kļūdas ziņojums

Komentāri un ieteikumi

Shutdown timeout (Izslēgšanas noildze)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software.

(Iekārta ir pārsniegusi noteikto izslēgšanas laiku. Lūdzu, atiestatiet iekārtu un programmatūru.)

Šī kļūda atgadās, kad programmatūra ir devusi iekārtas izslēgšanas komandu, bet iekārta pēc noteiktā noildzes laika joprojām sūta datus.

Atiestatiet iekārtu un restartējiet programmatūru.

Temperature protection activated

(Aktivizēta temperatūras aizsardzība)

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.

(Iekārtas kameras temperatūra ir pārsniegusi drošības līmeni, un iekārta ir ieslēgsies paš aizsardzības režīmā. Lūdzu, izslēdziet iekārtu un, ja problēma atkārtojas, sazinieties ar izplatītāju.)

Šī kļūda atgadās, kad programmatūra ir noteikusi, ka kameras temperatūra ir pārsniegusi drošības līmeni, un iekārta ir ieslēgsies paš aizsardzības režīmā.

Nekavējoties izslēdziet iekārtu un sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Kļūdas ziņojums**Komentāri un ieteikumi****Thermistor is open**

(Termistors ir atvērts)

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. (Iekārta ir noteikusi, ka termistors ir atvērts. Lai novērstu bojājumus, iekārta ir izslēgusies. Ja problēma atkārtojas, lūdzu, sazinieties ar izplatītāju.)

Šī kļūda atgadās, kad programmatūra ir noteikusi, ka termistors ir atvērts un tādēļ nevar nolasīt temperatūru. Lai izslēgtu iekārtu, programmatūra ir aktivizējusi paš aizsardzības režīmu.

Nekavējoties izslēdziet iekārtu un sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

Unrecoverable errors occurred

(Atgadījušās neatkopjamas kļūdas)

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. (Izpilde ir apturēta, jo atgadījās neatkopjamas iekārtas kļūdas. Ja šīs kļūdas atkārtojas, sazinieties ar izplatītāju un nododiet atbilstošo arhīva failu.)

Šī kļūda atgadās izpildes laikā, ja programmatūra ir mēģinājusi atkopties, bet tas nav izdevies.

Šādā gadījumā iekārta jānodod QIAGEN lauka tehniskās apkopes speciālistam iekārtas problēmu precīzai identificēšanai.

Sazinieties ar izplatītāju vai QIAGEN tehniskā atbalsta nodaļu.

12.4. Rotor-Gene Q programmatūras ziņojumi

Turpmāk ir redzams saraksts ar lietošanas, brīdinājuma un citiem ziņojumiem, kas var parādīties Rotor-Gene programmatūrā aparatūras un programmatūras lietošanas laikā. Visas pieejamās ziņojuma daļas, piemēram, kļūdas standarta apraksti ir norādīti iekavās (piemēram, < ERROR DESCRIPTION >).

Ziņojuma teksts

Vispārīgie ziņojumi

- 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. (Lapai jau ir izveidots jēldatu kanāls. Ja vēlaties lapu izveidot vēlreiz, vispirms izdzēsiet jēldatu kanālu ar Options (opcijas) pogu un mēģiniet vēlreiz.)
- 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. (Atgadījusies nopietna problēma, kas pieprasa programmatūras izslēgšanu. Pēc noklikšķināšanas uz OK (labi) pašreizējais darbs tiks saglabāts un, ja iespējams, iekārta izslēgsies. Ja problēma atkārtojas, lūdzu, sazinieties ar izplatītāju)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Lapu nevar dzēst. Vienmēr jābūt vismaz vienai parauga lapai.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry. (Nevar pieslēgties iekārtai caur seriālo pieslēgvietu <COMPORT>. Pārbaudiet, vai iekārta ir pareizi pieslēgta datora aizmugurē izvietotajai pieslēgvietai, un mēģiniet vēlreiz)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Nevar atvērt seriālo pieslēgvietu <COMPORT>, lai pieslēgtos iekārtai. Aizveriet datorā atvērto komunikāciju programmatūru un mēģiniet vēlreiz.)

Ziņojuma teksts

- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Nevar saglabāt, lai sāktu izpildi, jo daži dati ir nepareizi. Lūdzu, vēlreiz pārbaudiet visas ievades.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Nevar saglabāt failu. Pārlicinieties, vai cietajā diskā ir pietiekami daudz vietas, un cietais disks nesatur kļūdas).
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Nevar palaist e-pasta lietotni. Pārbaudiet, vai e-pasta lietotne ir pareizi uzinstalēta).
- 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. (Izpildes laikā atgadījās kļūda: <KĻŪDAS APRAKSTS>. Izpilde turpināsies, un ziņojums saglabāsies Run Info (izpildes informācija) ziņojumu cilnē).
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Instruments nav atrasts. Lūdzu, pārlicinieties, ka tas ir pareizi pievienots un ieslēgts).
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Iepriekšējās kļūdas dēļ reģistru ierakstīšana ir atspējota. Arhīva ierakstus varēs skatīt tikai pēc programmatūras restartēšanas).
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Pārāk zema fluorescences līmeņa dēļ ne visi paraugi ir normalizēti).
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Drīkst importēt izpildes ar tādu pašu rotoru kā pašreizējai izpildei).
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Lūdzu, ņemiet vērā, ka pašreizējās izpildes reģistra faili būs pieejami tikai pēc izpildes pabeigšanas).

Ziņojuma teksts

- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Lūdzu, ievadiet derīgu atkārtojamo reižu skaitu. Tam jābūt lielākam par 0).
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Reģistra datu atjaunināšanas laikā atgadījās kļūda. Šobrīd reģistru ierakstīšana ir atspējota. Reģistru ierakstīšana būs pieejama nākamajā izpildē.)
- 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. (Izpildes faila parakstīšana nodrošina izpildes rezultātu integritāti. Informācija par izpildes parakstu ir pieejama Run Info (izpildes informācija) logā).
- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (Parauga identifikācija ir slēgta. Ielīmēšana slēgtos paraugos nav iespējama).
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (Datorā nav uzinstalēta TeeChart Office programmatūru. Lūdzu, pārinstalējiet Rotor-Gene programmatūru).
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (Nav atlasīta iekārtai nokonfigurētā COM pieslēgvietā. Atlasiet COM pieslēgvietu).
- 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. (Ielādētais izpildes fails satur parakstu, kas neatbilst faila saturam. Tas nozīmē, ka fails, kopš tā izveidošanas ar Rotor-Gene programmatūru, ir bojāts vai ļaunprātīgi modificēts).
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Ielādētajam izpildes failam nav paraksta. Šā faila satura atbilstību nav iespējams nodrošināt).
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Iekārtas sērijas numurs nav derīgs. Sērijas numurā jābūt vismaz sešiem cipariem).

Ziņojuma teksts

- 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. (Iekārta tiks atdzesēta līdz <TEMPERATŪRA> grādiem. Atverot iekārtu, kamera un virsmas joprojām būs ļoti karstas. Lūdzu, strādājiet uzmanīgi. Ja nepieciešams pieskarties virsmām vai mēģenēm, uzvelciet aizsargcimdus).
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Datora reģionālie iestatījumi ir konfliktā. Pārbaudiet valūtas un ciparu decimālo vietturu atbilstību).
- 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. (Sākuma ekrānā ievadītais sērijas numurs <SĒRIJAS NUMURS 1> neatbilst pievienotās iekārtas sērijas numuram <SĒRIJAS NUMURS 2>). Datora sērijas numurs ir atjaunināts atbilstoši pieslēgtās iekārtas sērijas numuram.
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Komunikācija ar komunikāciju plati ir traucēta. Restartējiet datoru un mēģiniet vēlreiz).
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Komunikācijā ar iekārtu atgadījusies noildze. Pārbaudiet, vai datora un iekārtas savienojums ir pareizs).
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Šī funkcijas virtuālajā režīmā nav pieejama).
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Šis profila fails ir izveidots ar jaunāku Rotor-Gene programmatūras versiju. Dažas funkcijas var nedarboties pareizi).

Ziņojuma teksts

- 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. (Šis izpildāmais fails ir izveidots ar jaunāku Rotor-Gene programmatūras versiju. Daži izpildes elementi var ielādēties nepareizi).
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Šis parauga fails ir izveidots ar jaunāku Rotor-Gene programmatūras versiju. Daži elementi var ielādēties nepareizi).
- 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. (Šī programmatūra apmācības un demonstrācijas nolūkos veiks iekārtas darbības pamata simulāciju. Šo iestatījumu var atspējot Setup (iestatīšana) ekrānā, kas pieejams File (fails) izvēlnē).
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Šī veidne ir izveidota ar jaunāku Rotor-Gene programmatūras versiju. Daži veidnes elementi var ielādēties nepareizi).
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Šo parauga failu nevar ielādēt, jo mēģenes izkārtojums neatbilst. Ielādējiet šos paraugus pirms izpildes sākšanas).
- 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. (Komunikācija ar iekārtu nav iespējama, jo <COMPORT> izmanto cita lietotne. Aizveriet visas lietotnes, kas izmanto attiecīgo seriālo pieslēgvietu, un mēģiniet vēlreiz).
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Faila ielādes laikā atgadījās neatkopjamas kļūdas. Fails neielādējās).
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Izpildes laikā programmu nevar apturēt).

Ziņojuma teksts

- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Jums nav programmas lietošanai nepieciešamo tiesību. Lai iestatītu grupas, lūdzu, sazinieties ar domēna administratoru).
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Lai eksportētu paraugus, jābūt veiktai kvantitācijas analīzei).
- 41 You must select a COM port before continuing. (Lai turpinātu, atlasiet COM pieslēgvietu).
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Izpildes failu nav iespējams saglabāt noklusējuma vietā. Turpmāk redzamajā logā atlasiet citu izpildes faila saglabāšanas vietu).
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Jūsu iestatījumi ir saglabāti. Lai aizvērtu programmatūru, noklikšķiniet OK (labi)).
- 44 You must select a rotor before continuing. (Lai turpinātu, atlasiet rotoru).
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Lai sāktu izpildi, atzīmējiet, ka fiksācijas gredzens ir uzstādīts).

Automātiskā pastiprinājuma regulēšanas ziņojumi

- 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. (Manuālā pastiprinājuma regulēšana izmanto profilā definētos kanālus. Manuālā pastiprinājuma regulēšana ir atspējota, jo profilā nav definēti iegūšanas punkti).
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Ievadītā temperatūra nav saglabāta, jo tā ir ārpus iekārtas diapazona. Ievadiet derīgu temperatūru).

Ziņojuma teksts

Rediģētāja ziņojumi

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Lūdzu, ievadiet derīgu grupas kodu. Grupas koda maksimālais garums ir piecas rakstzīmes, un tas nedrīkst saturēt atstarpes vai komatus).
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Lūdzu, ievadiet derīgu grupas nosaukumu. Grupas nosaukumi nedrīkst saturēt komatus vai būt tukši).

Optiskās denaturācijas kalibrēšanas ziņojumi

- 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. (Kalibrēšanas kļūmes dēļ nevar iestatīt kā optiskās denaturācijas punktu. Lūdzu, ievadiet derīgu aiztures sekunžu skaitu. Tai jābūt pozitīvai vērtībai).
- 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. (Optiskās denaturācijas kalibrēšanas laikā nevar noteikt kušanas maksimumu. Cēlonis var būt kalibrēšanai nepiemērota mēģene vai paraugam nepiemērota ķīmikālija. Tā vietā ir izpildīts laikā regulēta soļa profils).

OTV ziņojumi

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Lai veiktu izpildi, jāievada derīgs OTV sērijas numurs).
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Šis temperatūras verifikācijas fails ir bojāts. Lai novērtu šo kļūdu, lūdzu, atinstalējiet un pārinstalējiet Rotor-Gene programmatūru).
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed. (Šis izpildes fails nav pareizi parakstīts. Rezultātus nevar parādīt).

Ziņojuma teksts

- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Jūs nevarat sākt darbu, kamēr nav atzīmēta rūtiņa, ka fluorescences ieliktnis ir ievietots pareizi).
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Rotora derīguma termiņš ir beidzies. Lai iegūt maiņas rotoru, lūdzu, sazinieties ar izplatītāju).

Drošības izvēlnes ziņojumi

- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Nevar atvērt Windows lietotāja/grupas pārvaldnieku).
- 58 Could not create groups. (Nevar izveidot grupas).
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Nevar modificēt piekļuvi iebūvētajiem kontiem).

Analīzes izvēlne

- 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. (Analīzei ir atlasīts tikai viens kanāls. Lai atlasītu vairākus kanālus, iezīmējiet ar peli kanālus, kurus vēlaties skatīt analīzes atlasēs logā).
- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Analīzei ir atlasīti vairāki kanāli. Šī analīzes metode ļauj analizēt tikai vienu kanālu).

Koncentrācijas mērījumu ziņojumi

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Koncentrācijas mērījumā automātiskā pastiprinājuma optimizēšana tiek veikta pirmajā rotora pozīcijā. Pārbaudiet, vai pirmajā rotora pozīcijā ir visaugstākās koncentrācijas standarts).

Ziņojuma teksts

Galapunkta analīzes ziņojumi

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (Lai lietotu galapunkta analīzi, katrā kanālā jābūt pozitīvām un negatīvām kontrolēm. Lai noteiktu šīs kontroles, klikšķiniet uz OK (labi)).
- 64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Nav noteikta neviena pozitīvā kontrole. Pozitīvā kontrole jānosaka katram analizējamajam kanālam).
- 65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Nav noteikta neviena negatīvā kontrole. Negatīvā kontrole jānosaka katram analizējamajam kanālam).
- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Nav noteikta neviena NTC kontrole. NTC kontrole jānosaka katrai grupai).

HRM analīzes ziņojumi

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Genotipam <GENOTIPA NOSAUKUMS> nav noteikta kontrole).
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Genotipa kombināciju dublikāti nav pieļaujami).
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Šī iekārta neatbalsta HRM. Sīkākai informācijai sazinieties ar izplatītāju).

Kušanas analīzes ziņojumi

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Kamēr nav izvietoti iecirkņi, genotipus nevar noteikt. Lūdzu, nosakiet visus iecirkņus un mēģiniet vēlreiz).
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Genotipam <GENOTIPA NOSAUKUMS> jāievada saīsinājums).

Ziņojuma teksts

Izkliedētā grafika analīzes ziņojumi

- 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. (Izkliedētā grafika analīzei ir nepieciešams atlasīt vismaz divus kanālus. Lai atlasītu vairākus kanālus, iezīmējiet ar peles kanālus, kurus vēlaties skatīt analīzes atlasēs logā, vai nospiediet SHIFT taustiņu un noklikšķiniet uz katra kanāla).

Kvantitācijas analīzes ziņojumi

- 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...” (Sliekšņa automātiskās meklēšanas funkcijai ir nepieciešams noteikt vismaz divus atlasītos standartus. Noklikšķiniet ar peles labo pogu uz paraugu saraksta un atlasiet Edit Samples... (rediģēt paraugus)).

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu.

13. Vārdnīca

Termins	Apraksts
legūšana	legūšana ir fluorescences datu apkopošana. Katra no kanāla iegūtā fluorescences datu kopa programmatūrā parādās kā neanalizēti dati Raw channel (jēldatu kanāls) logā. Šos datus var analizēt ar Analysis (analīze) izvēlnes opcijām.
Iecirkņi	Kušanas analīzē iecirkņi nosaka apgabalu, kurā tiek gaidīta kušanas maksimālā vērtībā. Genotipus var noteikt pēc maksimālajām vērtībām noteiktos iecirkņos vai iecirkņu grupās.
CE-IVD	Atbilstība in vitro diagnostikas medicīnisko ierīču Eiropas direktīvai 98/79/EK.
Kanāls	Kanāls iekļauj gaismas diodi (LED), ierosināšanas filtru un emisijas filtru. LED un ierosināšanas filtrs ierosina paraugus pie noteikta viļņa garuma. Paraugu izstarotā fluorescences vispirms iziet caur emisijas filtru un pēc tam to uztver fotomultiplikators.
Pastiprinājums	Rotor-Gene Q MDx iekārta ar fotomultiplikatoru apkopotos fluorescences fotonus konvertē elektroniskajos signālos. Pastiprinājums ir iestatījums, kas nosaka fotomultiplikatora jutību. Ja pastiprinājums ir pārāk augsts, signāls ir pārsātināts. Ja pastiprinājums ir pārāk zems, signālu nav iespējams atšķirt no fona trokšņiem.
Pastiprinājuma optimizēšana	Pastiprinājuma optimizēšana ir process, kas dinamiski neregulē pastiprinājuma iestatījumus un nodrošina optimālu signāla noteikšanu.
Ielādēšanas bloks	Ielādēšanas bloki ir dažāda formāta alumīnija bloki, kuros reakcijas iestatīšanas laikā nofiksē mēģenes vai rotora diskus. Rotora diska ielādēšanas blokus lieto arī kopā ar rotora diska termiskās hermetizācijas ierīci, kas nodrošina rotora disku termisko hermetizāciju.

Termins	Apraksts
Fiksācijas gredzens	Fiksācijas gredzeni ir metāla gredzeni, kas tiek uzstādīti uz rotora un Rotor-Gene Q MDx iekārtas darbināšanas laikā nofiksē mēģenes un vāciņus. Nenofiksēti vāciņi un mēģenes var sabojāt iekārtu.
Rotors	Metāla rotors mēģenes vai rotora diskus nofiksē Rotor-Gene Q MDx iekārtā. Tas ļauj paraugus griezt iekārtas kamerā, nodrošinot paraugu pareizu iecentrēšanu optiskajā sistēmā. Rotors ir nofiksēts ar fikācijas gredzenu.
Rotora disks	Rotora diski ir apaļas plātes ar vertikāli izvietotām reakcijas ligzdām. Izvēlei ir pieejami rotora diski ar 72 un 100 reakciju ligzdām. Rotora diskus noblīvē ar rotora diska termiskās hermetizācijas plēvi un rotora diska termiskās hermetizācijas ierīci.

Pielikums A

Tehniskie dati

QIAGEN uzņēmums patur tiesības mainīt tehniskās specifikācijas jebkurā brīdī.

Vides prasības

Ekspluatācijas apstākļi

Elektroapgādes avots	100–240 V AC, 50–60 Hz, 520 VA (maksimums)
	Elektroenerģijas patēriņš 60 VA (dīkstāve)
	Elektrotīkla sprieguma svārstības nedrīkst pārsniegt 10% no nominālā sprieguma.
Drošinātājs	F5A 250 V drošinātājs
Siltuma izkļiedēšana/ termiskā slodze	Vidēji: 0,183 kW (632 BTU/stundas) Maksimums: 0,458 kW (1578 BTU/stundas)
Pārsprieguma kategorija	II
Gaisa temperatūra	18 līdz 30°C (64 līdz 86°F)
Relatīvais mitrums	10–75% (bez kondensācijas)
Augstums	Līdz 2000 m
Ekspluatācijas vide	Tikai lietošanai iekšelpās
Piesārņojuma līmenis	2
Apkārtējās vides klase	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

Transportēšanas prasības

Gaisa temperatūra –25°C līdz 60°C oriģinālajā iepakojumā

Relatīvais mitrums Maks. 75% (bez kondensācijas)

Apkārtējās vides klase 2K2 (IEC 60721-3-2)

Glabāšana prasības

Gaisa temperatūra 15°C līdz 30°C oriģinālajā iepakojumā

Relatīvais mitrums Maks. 75% (bez kondensācijas)

Apkārtējās vides klase 1K2 (IEC 60721-3-1)

Mehāniskie datu un aparatūras īpašības

Izmēri	Platums:	370 mm
	Augstums:	286 mm
	Dziļums (bez kabeliem):	420 mm
	Dziļums (durtiņas atvērtas):	538 mm
Svars	12,5 kg (standarta konfigurācija)	
Tilpums	Līdz pat 100 paraugiem ar rotora disku 100	
Programmatūra	Rotor-Gene Q programmatūra (versija 2.3.4 vai jaunāka)	

Termiskās specififikācijas

Apraksts	Specifikācijas
Temperatūras diapazons	no 35°C līdz 99°C (50°C līdz 99°C centrālās pielietojumiem)
Temperatūras precizitāte	±0,5°C (kalibrēta, pielietojot Rotor-Disc OTV procedūru)
Temperatūras mazākā iedaļa	±0,02°C (mazākā ieprogrammējamā iedaļa)
Temperatūras viendabīgums	±0,02°C

Optiskās specififikācijas

Apraksts	Specifikācijas
Ierosināšanas avoti	Augstas enerģijas gaismas diodes
Detektors	Fotomultiplikators
Iegūšanas laiks	4 sek.

FCC deklarācija

Savienoto Valstu Federālā komunikāciju komisija (USFCC) (47 CRF 15. 105) paziņo, ka šā produkta lietotājiem jābūt informētiem par turpmāk minētajiem faktiem un apstākļiem.

‘Šī ierīce atbilst FCC deklarācijas 15. daļas prasībai, ka ierīces ekspluatācija ir pakļauta turpmāk minētajiem diviem nosacījumiem: (1) ierīce nedrīkst radīt kaitīgu interferenci, un (2) ierīcei jāiztur jebkura saņemtā interference, tostarp interference, kas var izraisīt nevēlamu ierīces darbību.’

Šīs B klases ciparu ierīce atbilst Kanādas standartam ICES-0003.

Turpmāk minētais paziņojums, ja vien nav norādīts citādi, attiecas uz šajā rokasgrāmatā aplūkotajiem produktiem. Citu produktu paziņojumi ir iekļauti papildu dokumentācijā.

Piezīme: šī iekārta ir pārbaudīta, un tā atbilst B klases ciparu ierīces ierobežojumiem, kas minēti FCC noteikumu 15. daļā un Kanādas standarta prasībām.

Interferences avota aprīkojuma standarts ICES-003 ciparu ierīcēm. Šo ierobežojumu mērķis ir nodrošināt aizsardzību pret veselībai kaitīgu interferenci dzīvojamās telpās. Šī iekārta ģenerē, patērē un izstaro radiofrekvences enerģiju un nepareizas uzstādīšanas un lietošanas gadījumā var radīt radiosakaru traucējumus. Tomēr nav iespējams garantēt, ka radiosakaru traucējumi neradīsies arī pie pareizas uzstādīšanas un lietošanas. Ja šī iekārta rada radio vai televīzijas signāla traucējumus (par to var pārliecināties iekārtu ieslēdzot un izslēdzot), traucējumu var mēģināt novērst, veicot kādu no turpmāk minētajiem pasākumiem:

- mainiet antenas virzienu vai atrašanās vietu;
- palieliniet atstatumu starp aprīkojumu un uztvērēju;
- pieslēdziet iekārtu un uztvērēju pie atšķirīgu elektrisko ķēžu kontaktrozetēm;

konsultējieties ar izplatītāju vai profesionālu elektriķi.

QIAGEN GmbH Germany uzņēmums nav atbildīgs par radio un televīzijas signāla traucējumiem, kuru cēlonis ir nepilnvarotas aprīkojuma modifikācijas, nomaiņa vai QIAGEN GmbH, Germany nenorādītu savienojuma kabeļu un aprīkojuma pieslēgšana. Atbildību par šādu nepilnvarotu modifikāciju, nomaiņu vai pieslēgšanu radīto interferenci uzņemas lietotājs.

Atbilstības deklarācija

Juridiskā ražotāja nosaukums un adrese

QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden

Vācija

Aktuālo atbilstības deklarāciju var pieprasīt, sazinoties ar QIAGEN tehniskā atbalsta dienestu.

Elektrisko un elektronisko iekārtu atkritumi (EEIA)

Šajā sadaļā ir izklāstīta informācija par elektrisko un elektronisko iekārtu atkritumu likvidēšanu.

Pārsvītrotās atkritumu tvertnes simbols (skatīt zemāk) nozīmē, ka šo produktu nedrīkst likvidēt kopā ar citiem mājsaimniecības atkritumiem, un tas jānogādā atkritumu pārstrādes vai pieņemšanas punktā, kas nodrošinās šo atkritumu pārstrādi atbilstoši viuetējai likumdošanai un noteikumiem.

Elektronisko iekārtu atsevišķa savākšana un pārstrādāšana palīdz taupīt dabas resursus un nodrošina produkta pārstrādi cilvēka veselībai un apkārtējai videi drošā veidā.



QIAGEN var nodrošināt pārstrādi par atsevišķu samaksu Eiropas Savienībā gadījumā, ja maiņas ražojumu piegādājis QIAGEN, tas nodrošina EEIA marķēto elektronisko iekārtu bezmaksas pārstrādi. Lai elektronisko iekārtu nodotu pārstrādei, sazinieties ar vietējo QIAGEN tirdzniecības vietu, kas izsniegs iekārtas nodošanai nepieciešamo veidlapu. Pēc veidlapas iesniegšanas ar jums sazināsies QIAGEN uzņēmuma pārstāvis, lai vienotos par iekārtas savākšanu vai informētu par pakalpojuma maksu.

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu

Pielikums B

Šajā pielikumā ir detalizēti aprakstītas darbam ar iekārtu nepieciešamās matemātisko aprēķinu metodes.

Kvantitācija

Koncentrāciju aprēķiniem izmanto vienkāršu lineārās regresijas modeli, kur zināmās vērtības ir reģistrētās koncentrācijas un eksperimentālās C_T vērtības (y).

Reģistrētās koncentrācijas un standartu C_T vērtības ļauj konstruēt modeli, ko raksturo šāda vienādtība:

$$y = Mx + B$$

Aprēķināto koncentrāciju uzticamības intervāli

Lai no standarta līknes aprēķinātu jaunu novērojumu x_0 , tiek izmantots turpmāk aprakstītais uzticamības intervāls $100(1-\alpha)\%$.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Tas ir uzticamības intervāls viena nezināmā koncentrācijai. Pieņemsim, ka mums ir k papildu novērojumi pie $x = x_0$ un vidējā vērtība ir apzīmēta ar \bar{Y}_0 . Tad:

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

un līdzīgi mainīgie dod:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Šī formula ļauj aprēķināt replikāta nezināmo koncentrāciju uzticamības intervālus.

Standartu aprēķināšana ļauj iegūt precīzāku uzticamības intervālu:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Šīs formulas implikācija ir tāda, ka replikātu pievienošana standarta individuālai koncentrācijai samazina visu aprēķinu intervāla platumu, jo n vērtība palielinās. Liela daudzuma replikātu pievienošana nezināmajam samazina tā nenoteiktību līdz vienam standartam. Papildu replikāti samazina nenoteiktību, jo nezināmais nav lineārā modeļa daļa.

C_T vērtību uzticamības intervāli

Tiek pieņemts, ka replikāta C_T vērtību kļūda ir lineāra un normāli sadalīta.

Tādēļ ir izmantots viena parauga t uzticamības intervāls. Ja

μ ir replikāta C_T vērtību vidējā vērtība, $(x_0 \dots x_{n-1})$ tad C_T vērtības μ 100(1- α)% uzticamības intervāls ir:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Mēs vēlamies pateikties Pīteram Kukam (Peter Cook) no Sidnejas NSW Universitātes Matemātikas fakultātes, kurš palīdzēja pārbaudīt matemātiskās metodes.

Pielikums C

Rotor-Gene Q MDx produkti, piederumi un izejvielas

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex	Reāllaika PCR ciklotājs ar 2 kanāliem (zaļš, dzeltens), klēpjdators, programmatūra, piederumi, viena gada garantija detaļām un darbam	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM	Reāllaika PCR ciklotājs un High Resolution Melt analizators ar diviem kanāliem (zaļš, dzeltens) un HRM kanālu, klēpjdators, programmatūra, piederumi, viena gada garantija detaļām un darbam	9002012
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Reāllaika PCR ciklotājs ar pieciem kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans), klēpjdators, programmatūra, piederumi, viena gada garantija detaļām un darbam	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Reāllaika PCR ciklotājs un High Resolution Melt analizators ar pieciem kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans) un HRM kanālu, klēpjdators, programmatūra, piederumi, viena gada garantija detaļām un darbam	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Reāllaika PCR ciklotājs ar sešiem kanāliem (zils, zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans), klēpjdators, programmatūra, piederumi, viena gada garantija detaļām un darbam	9002042

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
Piederumi		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Kits iekļauj: 2 rotora diska 100 pakas, rotora diska termiskās hermetizācijas ierīci, rotora diska termiskās hermetizācijas plēvi, rotora diska 100 rotoru un fiksācijas gredzenu, rotora diska 100 ielādēšanas bloku, rotora diska pipetes palīgļīdzekli	Jautāt
Rotor-Disc 100 (30)	30 atsevišķi iepakoti diski 3000 reakcijām	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10x30 atsevišķi iepakoti diski 30000 reakcijām	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Rotora diska 100 disku nofiksēšanai Rotor-Gene Q MDx iekārtā; nepieciešams rotora diska 100 fiksācijas gredzens	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Rotora disku 100 nofiksēšanai rotora diska 100 rotorā	9018896
Rotor-Disc 100 Loading Block	Alumīnija bloks manuālai un automātiskai reakcijas iestatīšanai rotora diska 100 diskos	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Palīgļīdzeklis ligzdas marķēšanai, veicot manuālo reakcijas iestatīšanu rotora diska ielādēšanas blokā	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Termiskās hermetizācijas ierīce lietošanai ar rotora diskus; nepieciešams rotora diska 72 vai 100 ielādēšanas bloks	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 plēves rotora diska 100 vai rotora diska 72 disku hermetizēšanai	981601

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10x60 plēves rotora diska 100 vai rotora diska 72 disku hermetizēšanai	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Kits iekļauj: 3 rotora diska 72 pakas, rotora diska termiskās hermetizācijas ierīci, rotora diska termiskās hermetizācijas plēvi, rotora diska 72 rotoru un fiksācijas gredzenu, rotora diska 72 ielādēšanas bloku, rotora diska pipetes palīg līdzekli	Jautāt
Rotor-Disc 72 (24)	24 atsevišķi iepakoti diski 1728 reakcijām	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10x24 atsevišķi iepakoti diski 17280 reakcijām	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Rotora diska 72 disku nofiksēšanai Rotor-Gene Q MDx iekārtā; nepieciešams rotora diska 72 fiksācijas gredzens	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Rotora diska 72 nofiksēšanai rotora-diska 72 rotorā	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Alumīnija bloks manuālai un automātiskai reakcijas iestatīšanai rotora diska 72 diskos	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 virknes no četrām mēģenēm un vāciņiem 1000 reakcijām	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10x250 virknes no četrām mēģenēm un vāciņiem 10000 reakcijām	981106
72-Well Rotor	Virknes mēģeņu un vāciņu nofiksēšanai, 0,1 ml; nepieciešams 72 ligzdu rotora bloķēšanas gredzens	9018903

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
Locking Ring 72-Well Rotor	Virknes mēģeņu un vāciņu (0,1 ml) nofiksēšanai 72 ligzdu rotorā	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Alumīnija bloks manuālai reakcijas iestatīšanai ar vienkanāla pipeti 72x0,1 ml mēģenēs	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Alumīnija bloks reakcijas iestatīšanai ar daudzkanāla pipetēm 72x0,1 ml mēģenēs	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 šaursienu mēģenes 1000 reakcijām	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10x1000 šaursienu mēģenes 10000 reakcijām	981008
36-Well Rotor	PCR mēģeņu (0,2 ml) fiksēšanai; nepieciešams 36 ligzdu rotora fiksēšanas gredzens	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	PCR mēģeņu (0,2 ml) fiksēšanai 36-ligzdu rotorā	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Alumīnija bloks manuālai reakcijas iestatīšanai standarta 8x12 masīvā ar 96x0,2 ml mēģenēm	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Kits Rotor-Gene sistēmu optiskās temperatūras verifikācijai, iekļauj rotora disku ar termohromatiskiem šķidrājiem kristāliem, fluorescences ieliktņiem, kompaktdisku ar kalibrēšanas failiem; nepieciešams rotora diska 72 rotors un fiksācijas gredzens vai rotora diska 72 sākuma kits	981400
Rotor Holder	Metāla autonomas turētājs mēģeņu un rotora disku ievietošanai rotoros	9018908

Lai iepazītos ar visjaunāko, ar Rotor-Gene Q MDx saderīgo QIAGEN komplektu uzskaitījumu, lūdzu, apmeklējiet interneta lapu adresē www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu.

Pielikums D

Atbildības klauzula

QIAGEN uzņēmuma garantija zaudē spēku gadījumā, ja iekārtu remontē vai modificē personas, kas nav QIAGEN uzņēmuma personāls, izņemot gadījumus, kad QIAGEN uzņēmums attiecīgajām personām ir devis šādiem remontdarbiem vai modifikācijām nepieciešamo rakstveida atļauju.

Visiem garantijas ietvaros nomainītajiem materiāliem ir spēkā tikai oriģinālais garantijas periods. Nomainīto materiālu garantijas periods var pārsniegt oriģinālās garantijas periodu tikai ar uzņēmuma pārstāvja rakstveida paziņojumu. Mērierīču, saskarnes ierīču un saistītās programmatūras garantijas periods atbilst garantijas periodam, kādu šiem izstrādājumiem noteicis oriģinālais ražotājs. Jebkuras personas pārstāvības un garantijas, tostarp QIAGEN uzņēmuma pārstāvības, kas ir nesaskanīgas vai konfliktē ar šīs garantijas nosacījumiem, QIAGEN uzņēmumam nav saistošas, ja vien QIAGEN uzņēmuma pārstāvis ar apstiprinātu rakstveida ziņojumu nav apliecinājis.

Šī lapa ir atstāta tukša ar nodomu

Indekss

A

Acquisition (iegūšana), 6-14
 Adjust scale (mēroga korekcija):, 7-2
 Advanced (detalizēti) vednis, 6-7
 Allelic discrimination (alēļu selekcija), 7-49
 Apzīmējumi, 1-11
 Atbilstības, 7-82
 Atkritumu likvidēšana, 1-7
 Auditācijas pieraksti, 7-98
 Auto-find threshold (automātiskā sliekšņa meklēšana), 7-21
 Autoscale (automātiskais mērogs), 7-2
 AutoStat (automātiskā statistika), 7-26

B

Brīdinājumi, 1-1

C

Calibrator replicate (kalibratora replikāts), 7-48
 Channels (kanāli), 7-70
 Comparative quantitation (salīdzinošā kvantitācija), 7-46
 Concentration analysis (koncentrācijas analīze), 7-63
 C_T aprēķināšana, 7-20
 Ct Comment (Ct komentārs), 7-23
 Cycling (cikla izpilde), 6-13

D

Default scale (noklusējuma mērogs), 7-2
 Delta delta C_T relative quantitation (relatīvā kvantitācija), 7-38
 Detekcijas parametri, 3-4
 Divu standarta līkņu metode, 7-33
 Drošība
 atkritumu likvidēšana, 1-7
 augstas temperatūras risks, 1-9

bioloģiskā, 1-5
 bīstamas detaļas, 1-8
 elektriskā, 1-4
 indīgo izgarojumu tvaiki, 1-7
 ķīmikālijas, 1-7
 paraugi, 1-5
 pareiza lietošana, 1-2
 rotors, 1-8
 tehniskā apkope, 1-10
 Win7 konfigurēšana, 7-87
 Dynamic tube normalization (dinamiskā mēģenes normalizācija), 7-27, 7-53

E

Edit profile (rediģēt profilu) logs, 6-5, 6-11
 Edit samples (rediģēt paraugus) logs, 6-6, 6-31, 7-75
 rotora stils, 7-81
 Efektivitāte, 7-31
 Efficiency (efektivitāte), 7-16
 Eksploatācija
 apstākļi, 1-5, 1
 Eksponenciālā amplifikācija, 7-31
 Eksportēšana
 dati, 8-5
 grafiki, 8-2
 vietējais formāts, 8-4
 Eksportēt
 uz LinReg, 7-10
 Empty run (tukša izpilde), 6-8
 EndPoint analysis (galapunkta analīze), 7-55

F

Fiksācijas gredzens
 36 ligzdu rotors, 5-2
 72 ligzdu rotors, 5-2
 rotora disks 100, 5-3
 rotora disks 72, 5-3

G

- Gain settings (pastiprinājuma iestatījumi), 7-104
- Galapunkta analīze
 - kontroles, 7-58
- Genotipi
 - alēļu selekcija, 7-51
 - galapunkta analīze, 7-56, 7-62
 - izklidētā grafika analīze, 7-53
 - kušanas līknes analīze, 7-45
- Glabāšana, 2
- Groups (grupas), 7-83

H

- Hold (aizturēt), 6-12
- HRM
 - analīze, 7-66, 11-1, 11-19
 - ātrās sākšanas vednis, 6-3
 - cikls, 6-17
 - detalizētais vednis, 6-8
 - kiti, 11-3
 - metilācijas analīze, 11-5
 - parauga sagatavošana, 11-9
 - programmatūra, 11-9
 - reāllaika PCR, 11-17
 - SNP genotipēšana, 11-3
 - traucējummeklēšana, 12-1
 - vadlīnijas, 11-7
- Hybridisation (hibridizācija), 6-16

I

- Ielādēšanas bloks, 5-4
- Ierosināšanas parametri, 3-4
- Ignore first (ignorēt pirmo), 7-53
- Ignore first (neievērot pirmo), 7-29
- Izplide
 - apturēt, 7-68
 - atvērt, 7-8
 - iestatījumi, 7-69
 - jauna, 7-7
 - paraksti, 7-99
 - pauze, 7-68
 - saglabāt, 7-8
 - sākt, 7-68
- Izsaiņošana, 4-6

Izvēlne

- analīze, 7-12
- displeja opcijas, 7-85
- drošība, 7-86
- fails, 7-6
- izpilde, 7-68
- logs, 7-105
- palīdzība, 7-105
- pastiprinājums, 7-104
- skatīt, 7-69

J

- Jēldatu kanāli, 7-1

K

- Kanāli, 3-4
- Kļūdas ziņojums, 12-3
- Koncentrācijas analīze
 - standarti, 7-64
- Korelācijas koeficients, 7-16
- Kušanas līknes analīze
 - iecirņi, 7-44
 - maksimālās vērtības, 7-44
- Kvantitācija, 1
- Kvantitācijas rezultātu logs, 7-21

L

- Lapa, 7-3
- Lietošana
 - aparātūra, 5-1
 - programmatūra, 6-1
- lietotājs
 - pilnvaru piešķiršana Win7 vidē, 7-89
- Lietotājs
 - konta izveide Win7 vidē, 7-88, 7-94
 - pilnvaru piešķiršana Win7 vidē, 7-96
 - vairāki konti, 7-96
- LinReg
 - eksportēšana, 7-10
- Long Range (garš diapazons), 6-14

M

- Machine options (iekārtas opcijas), 7-69
- Melt (kušana), 6-16

Melt curve analysis (kušanas līknes analīze), 7-42

Melt curve results (kušanas līknes rezultāti) logs, 7-45

Mērogošana, 8-1

Messages (ziņojumi), 7-70

N

Noise slope correction (trokšņu slīpnes korekcija), 7-28, 7-53

Normalizācija, 7-3

dinamiska mēģenes, 7-27, 7-53

galapunkta analīze, 7-59

Noteikti fluorofori, 3-4

Nucleic acid concentration

measurement (nukleīnskābes koncentrācijas mērījums), 6-3

Nukleīnskābes koncentrācijas mērījums, 7-63

O

Optiskā sistēma, 3-3

Optiskā temperatūras verifikācija, 10-1

Optiskās denaturācijas cikla izpilde, 6-17

OTV, 10-1

Outlier removal (novirzes likvidēšana), 7-29

Outlook, 7-110

P

Page (lapa), 7-5, 7-79

Paredzētais lietošanas veids, 2-2

Pārslēgs, 7-3

Pastiprinājuma optimizēšana, 6-10, 6-23 manuāli, 6-28

Perform last run (veikt pēdējo izpildi), 6-2, 6-8

Pieslēgvietā, 4-12

Port (pieslēgvietā), 7-12

Praimera dimēri, 11-18

Profile progress (profila progress), 7-74

Programmatūra

atjauninājumi, 4-22

kļūdas ziņojumi, 12-10

versija, 4-13

Q

Quantitation (kvantitācija), 7-14

Quenched FRET (slapēts FRET), 6-2

Quick start (ātrā sākšana) vednis, 6-1

R

Reakcijas iestatīšana, 5-4

Report browser (ziņojuma pārlūks) logs, 7-10, 7-14, 7-45

Rīkjosla, 7-1

Rotora diska OTV kita komponenti, 10-2

Rotora disks

iestatīšana, 5-9

termiskā hermetizācija, 5-9

Rotora disks 100, 5-3

Rotora disks 72, 5-3

Rotors

36 ligzdas, 5-2

72 ligzdas, 5-2

izvēle, 6-4, 6-9

rotora disks 100, 5-3

rotora disks 72, 5-3

specifikācijas, 5-4

tipi, 5-1

S

Saīsināt ciklus, 7-3

Sample page suitability (parauga lapas atbilstība) logs, 7-82

Sample types (parauga tipi);, 7-78

Scatter graph analysis (izklaidētā grafika analīze), 7-52

Security (drošība), 7-72, 7-86

Sērijas numurs, 4-12

Setup (iestatīšana) logs, 7-11

Slēgšana

paraugi, 7-101

Slēgt

veidnes, 7-103

Slīpne, 7-31

Specifikācijas

aparātūra, 2

optiskās, 3

Standarta līkne, 7-15
aprēķināšana, 7-18
divu standarta līkņu metode, 7-33
eksports, 7-17
formula, 7-17, 7-32
importēšana, 7-18
pārklājums, 7-17
Support (atbalsts), 7-106

T

Takeoff point adjustment (sākumpunkta regulēšana), 7-28
TeeChart Office, 8-4, 8-7
Tehniskā apkope, 9-1
 detalizētais vednis, 6-8
Tehniskais atbalsts, 2-1
Temperature graph (temperatūras grafiks), 7-73
Termiskā veikspēja, 3-1
Three step with melt (trīs soļi ar kušanu), 6-2, 6-8
Threshold (sliexnis), 7-20
Touchdown (nolaišanās), 6-14
Transportēšana, 2
Traucējummeklēšana, 12-1
 HRM, 12-1
 Rotor-Gene Q MDx, 12-3
Tube layout (mēģenes izvietojums), 7-72
Two step (divi soļi), 6-2, 6-8

U

Uzgrīžņatslēgas ikona, 8-6
Uzgrīžņatslēgas ilona, 8-6
Uzmanību, 1-1
Uzstādīšana, 4-1
 aparātūra, 4-7
 elektroapgādes avota prasības, 4-2
 personālā datora prasības, 4-2
 programmatūra, 4-9
 uzstādīšanas vietas prasības, 4-1
 zemējuma prasības, 4-2
Uzticamības intervāli, 2

V

Veidnes
 alēļu selekcija, 7-51, 8-1
 galapunkta analīze, 7-63, 8-1
 izklīdētā grafika analīze, 7-54, 8-1
 kušanas analīze, 7-46, 8-1
 kvantitācija, 7-33, 8-1
 pievienošana ātrās sākšanas vednim, 6-3
 pievienošana detalizētajam vednim, 6-8
Versija, 2-2
Vide, 1-5
Virtual mode (virtuālais režīms), 4-12, 7-11

Z

Žurnāla arhīvi, 12-1

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

Pasūtīšana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalsts support.qiagen.com | Tīmekļa vietne www.qiagen.com

