

Rotor-Gene[®] Q MDx Naudotojo vadovas

IVD

CE

MAT 1114365LT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VOKIETIJA

R3



Peržiūros istorija

| Peržiūros Nr. | Pakeitimo aprašas |
|---------------|---|
| R3 09/2018 | Microsoft Windows XP instrukcijos pakeistos Windows 10 instrukcijomis. Pridėtos Windows 7 saugos konfigūracijos. Patikslintos antivirusinių paieškos priemonių, užkardų ir tinklų instrukcijos. |

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 arba filialai); 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.). Šiame dokumente naudojami įregistruoti pavadinimai, prekių ženklai ir t.t. neturėtų būti laikomi neapsaugoti įstatymo, net tada, kai jie nėra specialiai atitinkamai pažymėti.

TeeChartOffice: David Berneda autorinės teisės 2001-2013. Visos teisės saugomos.

Šalims, kurioms taikoma:

Šis realaus lauko termocikleris yra licenzijuotas pagal laukiančias patvirtinimo pirmenybines JAV Patentų teises aparatams ar sistemoms, serijos Nr. 07/695,201, apimančias automatinius termociklerius su fluorescencijos detektoriais, ir atitinkamos pretenzijos bet kokiame užsienio patente priklauso Applied Biosystems LLC visose srityse, įskaitant mokslinius tyrimus ir plėtrą visose taikomose srityse, bei žmonių ir gyvūnų in-vitro diagnostiką. Jokios teisės negali būti perduotos aiškiai, netiesiogiai ar nušalinimo būdu bet kokiems realaus liko metodikos patentams, įskaitant, bet neapsiribojant 5' nukleazės tyrimus, arba bet kokiam patentui, pretenduojančiam į reagentą ar rinkinį. Dėl išsamesnės informacijos apie papildomų teisių pirkimą, kreipkitės į Applied Biosystems Licenzijavimo direktorių, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, JAV.

Šalims, kurioms taikoma:

Šio produkto pirkimas apima ribotą, neperduodamą licenziją vienam ar daugiau JAV patentų 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; JAV patentų aplikacijų Nr. 2003-0224434 ir 2006-0019253; ir PCT patentų aplikacijų Nr. WO 2007/035806, ir visi pratešimai bei padalinimai, bei atitinkamos pretenzijos patentuose ir patentų taikymuose už JAV ribų, priklauso University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH, ir/arba Roche Diagnostics GmbH tik žmogaus ar gyvūnų in-vitro diagnostikai. Jokios teisės negali būti perduotos aiškiai, netiesiogiai ar nušalinimo būdu bet kokiam reagentui ar rinkiniui, arba pagal bet kokį kitą patentą ar patento pretenziją priklausančią University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH, ar bet kokiai kitai šaliai. Šį produktą galima naudoti tik su autorizuotais reagentais, tokiais kaip pilnai licenzijuoti QIAGEN rinkiniai ir tyrimai. Dėl in-vitro diagnostinių aplikacijų ar reagentų licenzijų įsigijimo prašome susisiekti su Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, JAV.

Dėl naujausios licenzijavimo informacijos ir konkrečių prekių aprašymų, žiūrėkite atitinkamo QIAGEN rinkinio vadovą ar naudojimo instrukciją. QIAGEN rinkinio vadovus ir naudojimo instrukcijas galite rasti www.qiagen.com arba galima paprašyti iš QIAGEN Technical Services ar jūsų vietinių platintojų.

© 2005-2018 QIAGEN, visos teisės saugomos. HB-1760-003 1114365 09/2018

Turinys

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | Saugumo informacija | 1-1 |
| 1.1 | Tinkamas naudojimas | 1-2 |
| 1.2 | Su elektros srove susijusios saugumo priemonės | 1-4 |
| 1.3 | Aplinka | 1-5 |
| 1.4 | Biologinio saugumo priemonės | 1-5 |
| 1.5 | Cheminės medžiagos | 1-7 |
| 1.6 | Atliekų pašalinimas | 1-7 |
| 1.7 | Mechaninės kilmės rizikos veiksniai | 1-8 |
| 1.8 | Karščio keliami pavojai | 1-9 |
| 1.9 | Prietaiso priežiūra | 1-9 |
| 1.10 | Rotor-Gene Q MDx simbolių reikšmės | 1-10 |
| 2 | Ižanga | 2-1 |
| 2.1 | Bendroji informacija | 2-1 |
| 2.1.1 | Techninė pagalba | 2-1 |
| 2.1.2 | Veiklos nuostatos | 2-2 |
| 2.1.3 | Prietaiso variantas | 2-2 |
| 2.2 | Rotor-Gene Q MDx naudojimo aplinkybės | 2-2 |
| 3 | Bendroji informacija | 3-1 |
| 3.1 | Šiluminės charakteristikos | 3-1 |
| 3.2 | Optinė sistema | 3-3 |
| 4 | Prietaiso įdiegimo tvarka | 4-1 |
| 4.1 | Vietos reikalavimai | 4-1 |
| 4.2 | Kintamosios elektros srovės jungtys | 4-2 |
| 4.3 | Reikalavimai kompiuteriui | 4-2 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 4.4 | Windows 7 saugos konfigūracija | 4-4 |
| 4.5 | Rotor-Gene Q MDx išpakavimas | 4-6 |
| 4.6 | Papildomi priedai | 4-7 |
| 4.7 | Prietaiso įdiegimas | 4-7 |
| 4.8 | Programinės įrangos įdiegimas | 4-9 |
| 4.9 | Programinės įrangos versija | 4-13 |
| 4.10 | Papildoma programinė įranga kompiuteriuose, sujungtuose su Rotor-Gene Q MDx prietaisais | 4-13 |
| 4.10.1 | Antivirusinė programinė įranga | 4-14 |
| 4.10.2 | Užkarda ir tinklai | 4-15 |
| 4.10.3 | Sisteminiai įrankiai | 4-19 |
| 4.10.4 | Operacinės sistemos atnaujinimai | 4-19 |
| 4.11 | Programinės įrangos atnaujinimas | 4-22 |
| 5 | Prietaiso valdymo tvarka – Techninė įranga | 5-1 |
| 5.1 | Rotorių tipai | 5-1 |
| 5.2 | Reakcijos nustatymas | 5-4 |
| 5.3 | Rotorinių diskų paruošimas | 5-9 |
| 6 | Prietaiso valdymo tvarka – Programinė įranga | 6-1 |
| 6.1 | Greitos pradėties vedlys | 6-1 |
| 6.1.1 | Rotoriaus pasirinkimas | 6-4 |
| 6.1.2 | Profilio patvirtinimas | 6-4 |
| 6.1.3 | Eksperimento išsaugojimas | 6-5 |
| 6.1.4 | Mėginio nustatymas | 6-6 |
| 6.2 | Pažangusis vedlys | 6-6 |
| 6.2.1 | Naujo eksperimento vedlio Pirmasis langas | 6-8 |
| 6.2.2 | Naujo eksperimento vedlio 2 langas | 6-9 |
| 6.2.3 | Naujo eksperimento vedlio 3 langas | 6-10 |
| 6.2.4 | Profilio redagavimas | 6-11 |
| 6.2.5 | Naujo eksperimento vedlio 4 langas | 6-31 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 6.2.6 | Naujo eksperimento vedlio 5 langas | 6-32 |
| 7 | Naudotojo analizės sąsaja | 7-1 |
| 7.1 | Darbinė erdvė | 7-1 |
| 7.2 | Įrankių juosta | 7-1 |
| 7.3 | Neapdorotų duomenų peržiūra | 7-1 |
| 7.4 | Mėginių rūšiavimas | 7-3 |
| 7.5 | Bylos pasirinkčių meniu | 7-6 |
| 7.5.1 | Naujas | 7-6 |
| 7.5.2 | Atidaryti ir išsaugoti | 7-8 |
| 7.5.3 | Ataskaitos | 7-11 |
| 7.5.4 | Nustatymas | 7-11 |
| 7.6 | Analizės meniu | 7-13 |
| 7.6.1 | Analizė | 7-13 |
| 7.6.2 | Kiekybinis įvertinimas | 7-15 |
| 7.6.3 | Dviejų standartų kreivė | 7-36 |
| 7.6.4 | Delta delta CT santykinis kiekybinis įvertinimas | 7-41 |
| 7.6.5 | Lydimosi kreivės analizė | 7-45 |
| 7.6.6 | Lyginamasis kiekybinis įvertinimas | 7-50 |
| 7.6.7 | Alelinis diskriminavimas | 7-53 |
| 7.6.8 | Išbarstytų duomenų grafiko analizės modulis | 7-56 |
| 7.6.9 | EndPoint analizės modulis | 7-59 |
| 7.6.10 | Koncentracijų analizės modulis | 7-68 |
| 7.6.11 | Didelės skiriamosios gebos lydimosi analizės modulis | 7-71 |
| 7.7 | Eksperimento meniu | 7-73 |
| 7.7.1 | Pradėti eksperimentą | 7-73 |
| 7.7.2 | Laikinas eksperimento sustabdymas | 7-73 |
| 7.7.3 | Eksperimento sustabdymas | 7-74 |
| 7.8 | Peržiūros meniu | 7-74 |
| 7.8.1 | Eksperimento nustatymai | 7-74 |
| 7.8.2 | Temperatūriniai grafikai | 7-78 |
| 7.8.3 | Profilio vystymasis | 7-79 |

| | | |
|-----------|---|-------------|
| 7.8.4 | Mėginių redagavimas | 7-80 |
| 7.8.5 | Vaizdavimo ekrane parinktys | 7-90 |
| 7.9 | Rotor-Gene Q programinės įrangos prieigos apsauga | 7-91 |
| 7.9.1 | Windows 7 konfigūravimas | 7-93 |
| 7.9.2 | Windows 10 konfigūracija | 7-100 |
| 7.9.3 | Kelių asmenų naudojimas tuo pačiu kompiuteriu | 7-102 |
| 7.9.4 | Kontrolinis stebėjimas | 7-103 |
| 7.9.5 | Ekspertimentų parašai | 7-105 |
| 7.9.6 | Mėginių apsaugojimas | 7-107 |
| 7.9.7 | Apsaugoti ruošiniai | 7-109 |
| 7.10 | Įgijimo parametro meniu | 7-110 |
| 7.11 | Langų išdėstymo meniu | 7-111 |
| 7.12 | Pagalbos funkcija | 7-111 |
| 7.12.1 | Pagalbos el. laiško siuntimas | 7-112 |
| 8 | Papildomos funkcijos | 8-1 |
| 8.1 | Ruošinių analizė | 8-1 |
| 8.2 | Gretutinio eksperimento analizė | 8-1 |
| 8.3 | Skalės nustatymas | 8-2 |
| 8.4 | Grafikų išskėlimas | 8-2 |
| 8.5 | “Veržliarakčio“ piktograma | 8-6 |
| 8.6 | Pasirinktos srities vizualizavimo galimybės | 8-8 |
| 9 | Prietaiso priežiūra | 9-1 |
| 10 | Optinis temperatūrinių savybių tikrinimas | 10-1 |
| 10.1 | OTV principas | 10-1 |
| 10.2 | Rotor-Disc OTV Kit rinkinio sudėtis | 10-2 |
| 10.3 | OTV atlikimo eiga | 10-2 |



| | | |
|-----------|---|-------------|
| 11 | Didelės skiriamosios gebos lydimosi analizė | 11-1 |
| 11.1 | Instrumento aprūpinimas | 11-3 |
| 11.2 | Cheminiai reagentai | 11-3 |
| 11.3 | SNP genotipavimo pavyzdys | 11-3 |
| 11.4 | DNR metilinimo būsenos analizės pavyzdys | 11-5 |
| 11.5 | Instrukcijos sėkmingai HRM analizei | 11-7 |
| 11.6 | Mėginių paruošimas | 11-9 |
| 11.7 | Programinės įrangos nustatymas | 11-10 |
| 11.8 | Tikrojo laiko PGR duomenų analizė | 11-17 |
| 11.9 | HRM duomenų analizė | 11-19 |
| 12 | Problemų sprendimo būdai | 12-1 |
| 12.1 | Duomenų saugojimas | 12-1 |
| 12.2 | HRM problemų sprendimo būdai | 12-1 |
| 12.3 | Standartiniai prietaiso sutrikimai | 12-3 |
| 12.4 | Rotor-Gene Q programinės įrangos įspėjamieji pranešimai | 12-15 |
| 13 | Specialiųjų terminų žodynas | 13-1 |
| | Priedas A | A-1 |
| | Techniniai duomenys | A-1 |
| | Aplinkos sąlygos | A-1 |
| | FCC Deklaracija | A-5 |
| | Atitikties deklaracija | A-7 |
| | Elektroninės atliekos ir elektroninė įranga (WEEE) | A-8 |
| | Priedas B | B-1 |
| | Kiekybinis įvertinimas | B-1 |

| | |
|--|------------------|
| Priedas C | C-1 |
| Rotor-Gene Q MDx gaminiai, priedai ir kiti reikmenys | C-1 |
| Priedas D | D-1 |
| Rodyklė | Rodyklė-1 |

1 Saugumo informacija





Prieš pradėdant naudoti Rotor-Gene Q MDx, būtina įdėmiai perskaityti šį naudotojo vadovą, ypač atkreipiant dėmesį į pateiktą saugumo informaciją. Griežtas šioje dalyje esančių nurodymų laikymąsis užtikrins saugų naudojimąsi šiuo prietaisu bei tinkamą jo veikimą ir priežiūrą.

Toliau naudotojo vadove bus pateikiami šie, apie saugų naudojimąsi prietaisu informaciją suteikiantys, terminai:







| | |
|---|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Terminas ĮSPĖJIMAS naudojamas informuoti apie situacijas, kurios gali lemti asmeninius sužeidimus naudotojui ar kitiems asmenims. Detalesnės šių situacijų aplinkybės pateikiamos tokio pavidalo langeliuose.</p> |
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Terminas PERSPĖJIMAS naudojamas informuoti apie situacijas, kurios gali lemti prietaiso ar kitos įrangos pažeidimus. Detalesnės šių situacijų aplinkybės pateikiamos tokio pavidalo langeliuose.</p> |

Visi patarimai, nurodyti šiame naudotojo vadove, papildo (bet ne pakeičia) naudotojo šalyje nustatytus ir visuotinai priimtus saugumo reikalavimus.

1.1 Tinkamas naudojimas

| | |
|--|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W1]</p> <p>Netinkamas Rotor-Gene Q MDx naudojimas gali lemti naudotojo fizinį sužalojimą ar prietaiso pažeidimus. Rotor-Gene Q MDx prietaisą naudoti gali tik kvalifikuotas personalas, kuris prieš naudojimą buvo tinkamai apmokytas. Rotor-Gene Q MDx prietaiso techninį aptarnavimą privalo atlikti tik kvalifikuoti QIAGEN Techninio aptarnavimo specialistai.</p> |
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W2]</p> <p>Rotor-Gene Q MDx yra sunkus instrumentas. Tam, kad išvengtumėte sužeidimų ar prietaiso pažeidimų, kelkite jį labai atsargiai.</p> |
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W3]</p> <p>Nejunkite Rotor-Gene Q MDx prietaiso jam veikiant.</p> |
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaisą [C1]</p> <p>Venkite vandens ar cheminių medžiagų išsiliejimo ant Rotor-Gene Q MDx. Bet kokie pažeidimai, nulemti išsiliejusio vandens ar cheminių medžiagų, panaikina galiojančią garantiją.</p> |


Pastaba: kritiniu atveju, išjunkite Rotor-Gene Q MDx prietaisą pagrindiniu įjungimo/išjungimo jungikliu, esančiu nugarinėje prietaiso pusėje, ir atjunkite maitinimo laidą nuo elektros srovės tinklo.

| | |
|--|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W4]</p> <p>Nebandykite atidaryti prietaiso eksperimento metu arba Rotor-Gene Q MDx rotoriumi besisukant. Priešingu atveju, įveikus dangčio užraktą ir atidarius jį, jūs rizikuojate prisiliesti prie prietaiso dalių, kurios yra karštos, elektrai laidžios ar greitai besisukančios. Tokiu būdu galite pažeisti prietaisą arba susižaloti patys.</p> |
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W5]</p> <p>Jei jūs norite nedelsiant nutraukti eksperimentą, prietaisą išjunkite ir tik tada atidarykite dangtį. Leiskite prietaiso kamerasi atvėsti. Priešingu atveju jūs rizikuojate prisiliesti prie karštų prietaiso detalių.</p> |
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W6]</p> <p>Jei naudojate prietaisą kitu būdu, nei nurodo gamintojas, prietaiso apsaugos priemonės gali būti pažeistos.</p> |
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W7]</p> <p>Palaidas popierius ir pan., esantis po Rotor-Gene Q MDx, gali trukdyti prietaisui atvėsti. Rekomenduojame erdvėje po prietaisu nelaikyti jokių pašalinių objektų.</p> |
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaisą [C2]</p> <p>Visada ant rotoriaus uždėkite užrakinamąjį žiedą. Eksperimento metu jis neleidžia mėgintuvėlių dangteliams išlėkti iš rotoriaus. Priešingu atveju, dangtelių išlėkimas gali pažeisti prietaiso kamerą.</p> |
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaisą [C3]</p> <p>Prieš kiekvieną paleidimą vizualiai patikrinkite ir įsitikinkite, kad nėra pažeistas ar defomuotas rotorius.</p> |

Eksperto metu jums prisilietus prie Rotor-Gene Q MDx ir esant įkrautam statiniam elektriniam laukui, ypač retais atvejais Rotor-Gene Q MDx gali pakartotinai persikrauti. Vis dėlto, persikrovusi Rotor-Gene Q MDx programinė įranga tęsia eksperimentą toliau.

1.2 Su elektros srove susijusios saugumo priemonės

Prieš atliekant bet kokius remonto ar priežiūros darbus, išjunkite prietaisą iš elektros srovės tinklo.

| | |
|---|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Elektros srovės sukelti pavojai [W8]</p> <p>Bet kokie apsauginio laidininko pertraukimai (įžeminimo) prietaiso viduje ir išorėje, taip pat apsauginio laidininko atjungimas, daro prietaisą potencialiai pavojingu naudotis. Bet koks tyčinis pertraukimas yra draudžiamas.</p> <p>Mirtina įtampa prietaiso viduje</p> <p>Prietaisui esant įjungtam į elektros srovės tinklą, galinėse prietaiso dalyse gali būti įtampa. Atidarius gaubtus ir išimant detales kyla rizika prisliesti prie įtampą turinčių dalių.</p> |
|---|---|


Norėdami užtikrinti patogų ir saugų naudojimąsi Rotor-Gene Q MDx, rekomenduojame vadovautis žemiau pateiktais patarimais:

- Prietaiso maitinimo laidas turi būti įjungtas į elektros srovės tinklo lizdą, turintį apsauginį laidininką (įžeminimą).
- Savavališkai nereguliuokite ir nekeiskite vidinių prietaiso detalių.
- Nenaudokite prietaiso, jei nuimtas bet koks gaubtas ar pašalinta kuri nors jo dalis.
- Jei prietaiso viduje išsiliejo skystis, prietaisą išjunkite, atjunkite maitinimo laidą iš elektros srovės tinklo lizdo ir kreipkitės į QIAGEN techninį aptarnavimą.

Jei elektros srovės atžvilgiu prietaisas tapo nesaugiu naudojimui, įspėkite apie tai kitus prietaisu pasinaudoti


galinčius asmenis ir nedelsiant kreipkitės į QIAGEN techninį aptarnavimą; prietaisas gali būti nesaugus naudoti, jeigu:


- Prietaisas ar jo maitinimo laidas atrodo pažeistas.
- Ilgą laiką prietaisas buvo laikomas netinkamomis sąlygomis.
- Prietaisas buvo pažeistas transportavimo metu.

| | |
|---|---|
| ĮSPĖJIMAS  | Elektros srovės sukeliami pavojai Prietaisas turi elektros srovės tinkamumą nurodantį žymeklį, kuriame pateiktos prietaisui tinkamos elektros srovės įtampos ir dažnio reikšmės bei saugikliai. Prietaisas privalo būti naudojamas tik esant nurodytoms sąlygoms. |
|---|---|

1.3 Aplinka

Veikimo sąlygos

| | |
|---|--|
| ĮSPĖJIMAS  | Sprogimą sukelti galinti atmosfera [V] Rotor-Gene Q MDx nėra pritaikytas naudoti bet kokioje sprogimą sukelti galinčioje atmosferoje. |
|---|--|


| | |
|---|---|
| PERSPĖJIMAS  | Rizika pažeisti prietaisą [C4] Tiesioginiai saulės spinduliai gali išblukinti kai kurias prietaiso dalis bei pažeisti plastikines jo detales. Rotor-Gene Q MDx turi būti laikomas vengiant tiesioginių saulės spindulių. |
|---|---|

1.4 Biologinio saugumo priemonės


Mėginiai ar reagentai, savo sudėtyje turintys bet kokias biologinės kilmės medžiagas, turi būti laikomi potencialiai užkrečiamaisias. Remkitės saugaus darbo laboratorijoje taisyklėmis, aprašytomis tokiose publikacijose kaip *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm).

Mėginiai

Mėginių sudėtyje gali būti užkrečiamųjų medžiagų. Jūs turite būti susipažinę su tokių medžiagų keliamu pavojumi sveikatai ir imtis atitinkamų nustatytų saugumo reikalavimų šias medžiagas ar mėginius naudojant, saugojant ar kitaip jais disponuojant.

| | |
|---|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Mėginių, turinčių užkrečiamųjų medžiagų, keliami pavojai [W11]</p> <p>Naudojantis šiuo prietaisu, kai kurių mėginių sudėtyje gali būti užkrečiamųjų medžiagų. Su tokiais mėginiais elkitės ypač atsargiai, besilaikydami nustatytų saugumo reikalavimų.</p> <p>Visada dėvėkite apsauginius akinius, 2 poras pirštinių ir laboratorinį chalatą.</p> <p>Atsakingas asmuo (pvz., laboratorijos vedėjas) privalo imtis visų reikiamų atsargumo priemonių palaikant saugią darbinę aplinką, taip pat užtikrinant, kad prietaiso naudotojas yra tinkamai apmokytas ir nepatenka į užkrečiamųjų medžiagų sukeltą pavojaus lygmenį kaip nurodyta taikomuose Saugos Duomenų Lapuose (SDS) ar OSHA,* ACGIH,[†] ar COSHH[‡] dokumentuose.</p> <p>Dūmų/garų išleidimas ir atliekų pašalinimas privalo atitikti visus valstybinius, regioninius ir vietinius nustatytus sveikatos ir saugumo reikalavimus bei įstatymus.</p> |
|---|--|

1.5 Cheminės medžiagos

| | |
|---|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Pavojingos cheminės medžiagos [W12]</p> <p>Kai kurios su šiuo instrumentu naudojamos cheminės medžiagos gali būti pavojingos arba tapti tokiomis pabaigus eksperimentą.</p> <p>Visada dėvėkite apsauginius akinius, pirštines ir laboratorinį chalata.</p> <p>Atsakingas asmuo (pvz., laboratorijos vedėjas) privalo imtis visų reikiamų atsargumo priemonių palaikant saugią darbinę aplinką, taip pat užtikrinant, kad prietaiso naudotojas yra tinkamai apmokytas ir nepatenka į užkrečiamųjų medžiagų sukeltą pavojaus lygmenį kaip nurodyta taikomuose Saugos Duomenų Lapuose (SDS) ar OSHA,* ACGIH,† ar COSHH‡ dokumentuose.</p> <p>Dūmų/garų išleidimas ir atliekų pašalinimas privalo atitikti visus valstybinius, regioninius ir vietinius nustatytus sveikatos ir saugumo reikalavimus bei įstatymus.</p> |
|---|--|

* OSHA: Darbuotojų saugos ir sveikatos administracija (Jungtinės Amerikos Valstijos).

† ACGIH: Vyriausybė Amerikos pramonės higienos specialistų konferencija (Jungtinės Amerikos Valstijos).

‡ COSHH: Sveikatai pavojingų medžiagų kontrolė (Jungtinė Karalystė).

Toksiniai garai


Dirbdami su lakiais tirpikliais ar kitomis toksinėmis medžiagomis, susidariusių galimai pavojingų garų pašalinimui privalote pasirinkti tinkama laboratorijos ventiliacijos sistema.


1.6 Atliekų pašalinimas


Naudoti reikmenys ir plastiko gaminiai savo sudėtyje gali turėti pavojingų cheminių medžiagų. Tokias atliekas privalote surinkti ir pašalinti pagal galiojančius vietinius reikalavimus.


1.7 Mechaninės kilmės rizikos veiksniai


Prietaisui veikiant, Rotor-Gene Q MDx dangtis privalo būti uždarytas.


| | |
|---|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Judančios detalės [W13]</p> <p>Tam, kad prietaisui veikiant išvengtumėte sąlyčio su judančiomis Rotor-Gene Q MDx dalimis, prietaiso dangtis jam veikiant privalo būti uždarytas.</p> |
|---|---|

| | |
|--|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W14]</p> <p>Atidarykite ir uždarykite Rotor-Gene Q MDx dangtį labai atsargiai, stenkitės išvengti pirštų ar drabužių prispaudimo dangčiu.</p> |
|--|--|


| | |
|---|---|
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaisą [C5]</p> <p>Įsitikinkite, kad rotorius ir užrakinamasis žiedas yra teisingai įstatyti. Jei ant rotoriaus ar užrakinamojo žiedo pastebėjote mechaninių pažeidimų ar korozijos požymius, Rotor-Gene Q MDx nenaudokite; kreipkitės į QIAGEN techninį aptarnavimą.</p> |
|---|---|


| | |
|--|---|
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaisą [C6]</p> <p>Jei įjungiate Rotor-Gene Q MDx iš karto po gabenimo šaltoje aplinkoje, gali užsiblokuoti kai kurios jo mechaninės detalės.</p> <p>Prieš įjungiant prietaisą, palaikykite jį mažiausiai vieną valandą kambario temperatūroje.</p> |
|--|---|

| | |
|---|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Judančios detalės [W15]</p> <p>Esant elektros srovės sutrikimo sukeltam gedimui, atjunkite maitinimo laidą ir palaukite 10 minučių prieš bandydami atidaryti dangtį rankiniu būdu.</p> |
|---|---|

| | |
|---|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Perkaitimo pavojus [W16]</p> <p>Tam, kad užtikrintumėte tinkamą prietaiso ventiliaciją, nuo Rotor-Gene Q MDx šonų ir galinės dalies išlaikykite mažiausiai 10 cm atvirus atstumus. Plyšiai ir ertmės, užtikrinančios tinkamą Rotor-Gene Q MDx ventiliaciją, privalo būti neuždengti.</p> |
|---|---|


1.8 Karščio keliami pavojai


| | |
|---|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Karštas paviršius [W17]</p> <p>Temperatūra Rotor-Gene Q MDx kameros viduje gali viršyti 120°C (248°F) laipsnių. Stenkitės išvengti prisilietimo prie karštų kameros paviršių.</p> |
|---|--|


| | |
|---|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Karštas paviršius [W18]</p> <p>Laikina sustabdžius prietaisą, Rotor-Gene Q MDx pilnai neatvėsta iki kambario temperatūros. Atsargiai elkitės su rotoriumi ar bet kokiais mėgintuvėliais, esančiais prietaise.</p> |
|---|--|


1.9 Prietaiso priežiūra

Atlikite prietaiso priežiūrą kaip aprašyta Skyriuje 9. QIAGEN apmokestina bet kokį prietaiso remontą, kuris yra reikalingas dėl netinkamos jo priežiūros.







| | |
|--|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika susižeisti ar sugadinti prietaisą [W19]</p> <p>Atlikite prietaiso priežiūrą tik taip, kaip nurodyta šiame naudotojo vadove.</p> |
|--|---|





| | |
|---|---|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Gaisro pavojus [W20]</p> <p>Valydami Rotor-Gene Q MDx alkoholio turinčiomis dezinfekavimo priemonėmis, palikite Rotor-Gene Q MDx dangtį atvirą tam, kad pasišalintų degūs garai. Rotor-Gene Q MDx valykite tik tada, kai jo kamera yra atvėsusi.</p> |
|---|---|

| | |
|--|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS/ PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Elektros šoko pavojus [W21] Neardykite Rotor-Geno Q MDx.</p> |
|--|--|

| | |
|---|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaiso korpusą [C7] Niekada nevalykite prietaiso korpuso alkoholiu arba jo turinčiomis medžiagomis. Alkoholis gali pažeisti prietaiso korpusą. Valydami prietaiso korpusą, naudokite tik distiliuotą vandenį.</p> |
|---|--|

1.10 Rotor-Geno Q MDx simbolių reikšmės

| Simbolis | Vieta | Aprašymas |
|---|--|---|
|  | <p>Netoli mėginių kameros, matomas, kai dangtis atidarytas</p> | <p>Karščio keliami pavojai — temperatūra kameroje gali viršyti 120°C (248°F) laipsnių</p> |
|  | <p>Prietaiso nugarinėje pusėje</p> | <p>Remkitės naudojimo instrukcijomis</p> |
|  | <p>Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje</p> | <p>CE Europos Suderinamumo žymė</p> |
|  | <p>Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje</p> | <p>Medicininis prietaisas, skirtas diagnostikai <i>in vitro</i></p> |
|  | <p>Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje</p> | <p>CSA Kanados ir JAV žymė</p> |
|  | <p>Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje</p> | <p>Teisėtas gamintojas</p> |

| Simbolis | Vieta | Aprašymas |
|---|---|--|
|  | Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje | WEEE Europos žymė |
|  | Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje | FCC JAV Federalinės Komunikacijų Komisijos žymė |
|  | Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje | RCM Australijos žymė (tiekėjo identifikacijos Nr. N17965) |
|  | Plokštelėje prietaiso nugarinėje pusėje | RoHS Kinijos žymė (apribojimas naudoti tam tikras pavojingas medžiagas elektros ir elektroniniuose prietaisuose) |

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias.

2 Ižanga

Dėkojame Jums, kad pasirinkote Rotor-Gene Q MDx. Esame įsitikinę, kad šis prietaisas taps neatsiejama Jūsų laboratorijos dalimi.

Prieš naudodamiesi Rotor-Gene Q MDx, būtina atidžiai perskaityti šį naudotojo vadovą, ypač atkreipiant dėmesį į pateiktą saugumo informaciją. Griežtas šioje dalyje esančių nurodymų laikymasis užtikrins saugų naudojimą šiuo prietaisu bei tinkamą jo veikimą ir priežiūrą.

Atkreipkite dėmesį, kad Rotor-Gene Q MDx gali būti kelių konfigūracijų. Daugiau informacijos, įskaitant užsakymo informaciją, rasite C priede.

2.1 Bendroji informacija

2.1.1 Techninė pagalba

Būdami QIAGEN, didžiuojamės galėdami Jums pasiūlyti kokybišką ir prieinamą techninę pagalbą. Mūsų techninio aptarnavimo departamentuose dirba kompetetingi mokslininkai, sukaukę gausią teorinę ir praktinę patirtį molekulinės biologijos srityje bei QIAGEN gaminių naudojime. Jei turite bet kokių klausimų ar Jums iškyla kokios nors problemos naudojantis Rotor-Gene Q MDx ar kitais QIAGEN gaminiais, nedvejodami kreipkitės į mus.

QIAGEN klientai yra pagrindinis mūsų informacijos šaltinis, kaupiant duomenis apie mūsų gaminamų prietaisų naudojimo ypatybes. Ši informacija labai pravarti ir naudinga kitiems mokslininkams, taip pat tyrėjams, dirbantiems QIAGEN. Todėl norime padėkoti Jus kreiptis į mus, jei tik turite bet kokių pasiūlymų, susijusių su mūsų gaminių naudojimu ar naujomis pritaikymo galimybėmis.

Norėdami gauti techninę pagalbą ar sužinoti daugiau, skambinkite vienam iš QIAGEN techninio aptarnavimo departamentų arba vietiniams platintojams (žr. informaciją naudotojo vadovo galiniame viršelyje).

Norėdami sužinoti bet kokią atnaujintą Rotor-Gene Q MDx informaciją, apsilankykite tinklapyje www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

2.1.2 Veiklos nuostatos

Šiuo pareiškimu norime užtikrinti, kad QIAGEN patobulinti gaminiai, komponentai ar naujos metodikos taptų kiek įmanoma greičiau prieinami naudojimui. QIAGEN užsitikrina teisę bet kuriuo metu pakeisti technines specifikacijas.

Norėdami Jums suteikti tinkamą ir naudingą dokumentaciją, labai vertintumėme bet kokius Jūsų atsiliepimus apie šį naudotojo vadovą. Prašome kreiptis į QIAGEN techninį aptarnavimą.

2.1.3 Prietaiso variantas

Šis dokumentas yra *Rotor-Gene Q MDx Naudotojo Vadovas*, versija 2.0, pataisytas leidimas R2, skirtas Rotor-Gene Q MDx naudojimui su Rotor-Gene Q programinės įrangos versija 2.3.4 arba aukštesne.

2.2 Rotor-Gene Q MDx naudojimo aplinkybės

Rotor-Gene Q MDx yra klinikiniuose pritaikymuose naudojamas prietaisas, skirtas atlikti tikrojo laiko termines pasikartojančias reakcijas, detekciją ir/arba kiekybinį įvertinimą, pasitelkiant polimerazinę grandininę reakciją (PGR).

Rotor-Gene Q MDx yra skirtas naudoti tik kartu su QIAGEN rinkiniais, kurie nurodomi kaip tinkami naudojimui kartu su Rotor-Gene Q prietaisais, pritaikymuose, aprašytuose atitinkamuose QIAGEN rinkinių naudojimo vadovuose.

Jeigu Rotor-Gene Q MDx prietaisas naudojamas su kitais nei QIAGEN rinkiniais, tuomet kiekvienam konkrečiam taikymui už tokių produktų kombinacijos vartojimo rezultatų patvirtinimą yra atsakingas vartotojas.

Rotor-Gene Q MDx yra prietaisas, skirtas naudoti *in vitro* diagnostikai.

Rotor-Gene Q MDx prietaisas yra skirtas profesionaliems naudotojams - laborantams ar gydytojams – apmokytiems molekulinės biologijos metodikomis, taip pat susipažinusiems su Rotor-Gene Q MDx veikimo principu

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias.

3 Bendroji informacija

Rotor-Gene Q MDx yra novatoriškas prietaisas, leidžiantis atlikti didelio tikslumo tikrojo laiko PGR, todėl jis ypač tinkamas diagnostikai *in vitro*, naudojant jį kartu su QIAGEN CE-IVD žymėtais rinkiniais.

Labai efektyvi, bet tuo pačiu ir labai paprasta naudojimui programinė įranga yra tinkama pradedančiajam naudotojui, o taip pat suteikia atvirą eksperimentinę platformą patyrusiam mokslininkui.



3.1 Šiluminės charakteristikos

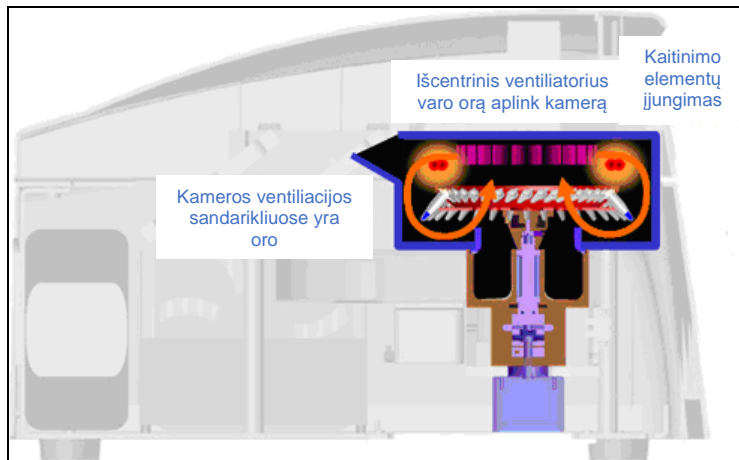
Rotor-Gene Q MDx naudoja modernų kaitinimo ir vėsinimo modelį, tokiu būdu pasiekdamas optimalias reakcijos sąlygas. Unikalus rotacinis formatas užtikrina optimalų šiluminį ir optinį vienodumą tarp skirtingų mėginių, kas yra labai svarbu tiksliai ir patikimai analizei atlikti.

Mėginiai tyrimo metu yra nuolat sukami 400 rpm greičiu. Centrifugavimas leidžia išvengti kondensato susidarymo ir pašalina susiformavusius oro burbulus, bet nenusodina mėginio DNR. Taip pat pastovus mėginių centrifugavimas tyrimo metu leidžia išvengti mėginių centrifugavimo prieš vykdomą reakciją.

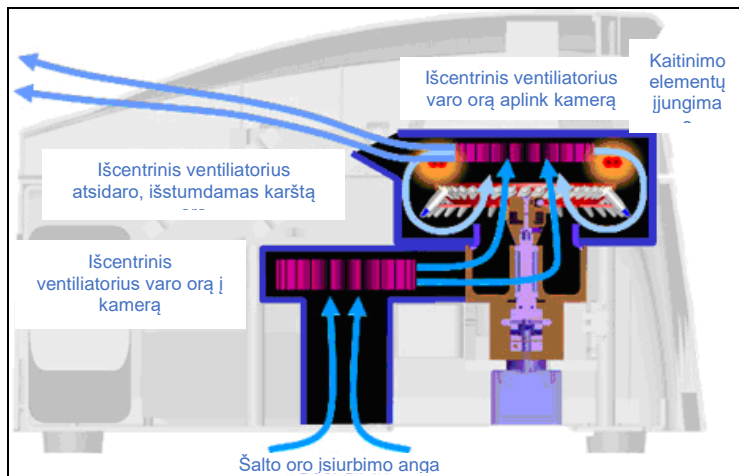
Mėginiai yra kaitinami ir vėsinami mažo tankio oro kaitintuve. Kaitinimui naudojamas dangtyje esantis nikelio-chromo elementas. Prietaiso kamera vėsinama išleidžiant

karštą orą per prietaiso viršuje esančias angas, tuo pačiu metu įpučiant aplinkos temperatūros orą per angas, esančias prietaiso pagrinde.

Kaitinimas



Vėsinimas

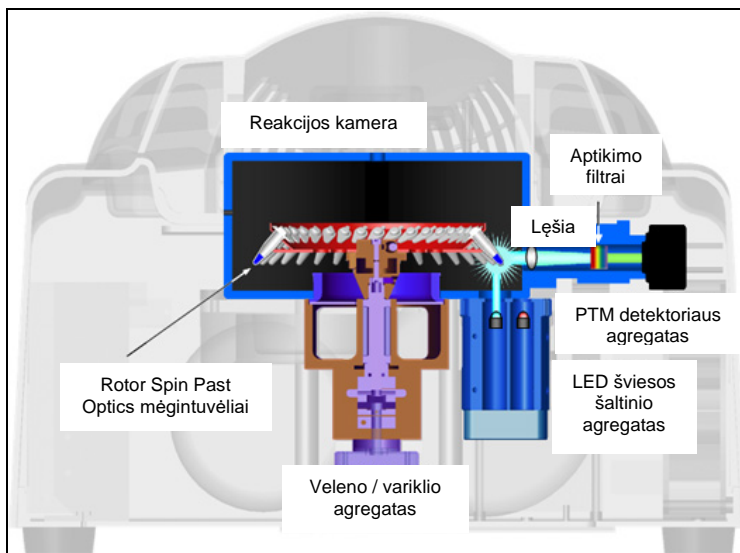


Prietaiso kaitinimo ir vėsinimo sistemos schema.

3.2 Optinė sistema

Kadangi galima pasirinkti iki 6 sužadavimo šaltinių ir 6 detekcijos filtrų, derinant juos su trumpu ir fiksuotu optiniu keliu, Rotor-Gene Q MDx gali būti naudojamas sudėtinėse reakcijose, užtikrinant tarp mėginių minimalų fluorescencijos kintamumą bei išvengiant kalibravimo ir balansavimo.

Mėginiai sužadunami kameros dugne esančiu šviesą skleidžiančiu diodu. Energija perduodama plonomis mėgintuvėlių pagrindo sienelėmis. Išspinduliuota fluorescencijos šviesa pereina kameros šonuose esančius emisijos filtrus ir fotodaugintuvo pagalba yra surenkama. Fiksuotas optinis kelias užtikrina pastovų kiekvieno mėginio sužadimą, o tai reiškia, kad nėra būtina naudoti pasyvaus vidinio etaloninio dažo (pvz., ROX™).



Optinės sistemos schema.

Galimi kanalai

| Kanalas | Sužadinančios šviesos bangos ilgis (nm) | Detektuojamos šviesos bangos ilgis (nm) | Detektuojamų fluoroforų pavyzdžiai |
|--|---|---|--|
| Mėlynas | 365±20 | 460±20 | Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390 |
| Žalias | 470±10 | 510±5 | FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488 |
| Geltonas | 530±5 | 557±5 | JOE™, VIC®, HEX™, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow® |
| Oranžinis | 585±5 | 610±5 | ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568 |
| Raudonas | 625±10 | 660±10 | Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633 |
| Tamsiai raudonas | 680±5 | 712 | Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680 |
| Aukštos skiriamosios gebos lydimasis (HRM) | 460±20 | 510±5 | SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen |

Pastaba: QIAGEN rinkiniai, skirti naudoti kartu su Rotor-Gene Q MDx prietaisais, yra optimizuoti, atsižvelgiant į atitinkamo dažo rinkinį. Prašome vadovautis atitinkamo rinkinio naudotojo vadove pateiktomis instrukcijomis.

4 Prietaiso įdiegimo tvarka



4.1 Vietos reikalavimai

Rotor-Gene Q MDx laikykite vietoje, kurioje nėra tiesioginių saulės spindulių, toliau nuo šilumos, vibracijos ar elektrinių trukdžius sukelti galinčių šaltinių. Atsižvelkite į Priede A nurodytas veikimo sąlygas (temperatūra ir drėgmė). Vieta, kurioje bus laikomas šis prietaisas, turi būti švari, ne dulkieta, ne drėgna, joje neturėtų būti didelių temperatūros svyravimų.

Norėdami sužinoti Rotor-Gene Q MDx svorį ar kitus jo išmatavimus, skaitykite Priedą A. Užtikrinkite, kad paviršius ant kurio bus laikomas prietaisas, būtų švarus, sausas, aplinkui būtų pakankamai erdvės kitiems priedams. Jeigu norite sužinoti daugiau apie darbinei vietai keliamus reikalavimus, kreipkitės į QIAGEN techninį aptarnavimą.

Pastaba: labai svarbu, kad Rotor-Gene Q MDx būtų laikomas ant stabiliaus paviršiaus, apsaugoto nuo svyravimų ir pašalinių vibracijų. Norėdami sužinoti daugiau apie veikimo sąlygas — skaitykite Priedą A.

Rotor-Gene Q MDx turi būti laikomas maždaug 1,5 m (59 colių) atstumu nuo tinkamai įžeminto elektros srovės lizdo.

| | |
|---|--|
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Sprogimą sukelti galinti atmosfera [W10]</p> <p>Rotor-Gene Q MDx nėra pritaikytas naudoti bet kokioje sprogimą sukelti galinčioje atmosferoje.</p> |
| <p>ĮSPĖJIMAS</p>  | <p>Perkaitimo pavojus [W16]</p> <p>Tam, kad užtikrintumėte tinkamą prietaiso ventiliaciją, nuo Rotor-Gene Q MDx galo išlaikykite mažiausiai 10 cm (3,94 colių) neuždengtą atstumą. Plyšiai ir ertmės, užtikrinančios tinkamą Rotor-Gene Q MDx ventiliaciją, privalo būti neuždengti.</p> |

4.2 Kintamosios elektros srovės jungtys

Elektros srovės reikalavimai

Rotor-Gene Q MDx veikia, naudojant tokią elektros srovę:

- Kintamosios elektros srovės įtampa - 100–240 V;
dažnis 50–60Hz, 520 VA (maksimalus)

Įsitikinkite, kad Rotor-Gene Q MDx reikalinga elektros srovės įtampa yra suderinama su įtampa kintamosios elektros srovės šaltinio, esančio prietaiso buvimo vietoje. Elektros srovės įtampos svyravimai neturi viršyti 10% nominalios įtampos reikšmės.

Įžeminimo reikalavimai

Tam, kad būtų apsaugotas prietaisu besinaudojantis personalas, QIAGEN rekomenduoja tinkamai įžeminti Rotor-Gene Q MDx. Prietaisas turi trijų laidininkų kintamosios elektros srovės maitinimo laidą. Įjungus šį laidą į tinkamą kintamosios elektros srovės lizdą, prietaisas yra įžeminamas. Niekada nesinaudokite prietaisu, jam esant prijungtam prie neįžeminto kintamosios elektros srovės lizdo.

Maitinimo laido prijungimas

Prijunkite vieną maitinimo laido galą į lizdą, esantį Rotor-Gene Q MDx galinėje pusėje, kitą laido galą įjunkite į kintamosios elektros srovės lizdą.

4.3 Reikalavimai kompiuteriui

Nešiojamasis kompiuteris, laisvai pasirenkamai parduodamas kartu su Rotor-Gene Q MDx, pilnai patenkina Rotor-Gene Q programinės įrangos keliamus reikalavimus, detalai išdėstytus žemiau esančioje lentelėje.

Kompiuteriui keliami reikalavimai

| Aprašymas | Minimalūs reikalavimai |
|----------------------------------|--|
| Operacinė sistema | Microsoft® Windows® 10 Professional edition (64 bit); Microsoft Windows 7 Professional edition (32 bit ar 64 bit)* (1 pataisų paketas) |
| Procesorius† | Intel® Core™ 2 Duo 1.66GHz arba geresnis |
| Operatyvioji atmintis† | Min. 1 GB RAM |
| Kietojo disko talpa† | Min. 10 GB HDD |
| Grafika | Suderintuvas ir ekranas mažiausiai 1200 x 800 pikselių |
| Jungtys† | RS-232 serijinė jungtis arba USB jungtis |
| DVD diskų įrenginys | 1 |
| Žymiklio valdymo įrenginys | Reikalingas jutiklinis pultas, pelė ar lygiavertis įrenginys |
| Bluetooth® | Turi būti išjungtas |
| PDF peržiūros ar panaši programa | Turi būti įdiegta – nėra programinės įrangos diegimo paketo dalis |
| Maitinimo galimybės | Niekada neišjunkite standžiuųjų diskų, nejunkite užmigdymo ar budėjimo režimo |

* Microsoft Windows 10 or Windows 7 Professional edition yra reikalinga, norint paleisti Rotor-Gene Q programinę įrangą su apsauginėmis savybėmis (žr. 7.9 skyrių). Naudojant Windows 10 Home edition ar Windows 7, apsauginių savybių nėra.

† Naudojant Rotor-Gene AssayManager® 1.0 ar 2.1 versijos programinę įrangą, skiriasi toliau pateikti minimalūs reikalavimai kompiuteriui. Reikalingas Intel Core i3-380M procesorius, 4 GB RAM pagrindinė atmintis, 250 GB standžiojo disko talpa, USB jungtis.

4.4 Windows 7 saugos konfigūracija

Nešiojamuose kompiuteriuose, kuriuos QIAGEN teikia naudoti su Rotor-Gene Q MDx instrumentu, yra iš anksto įdiegta Microsoft Windows 7 ir sukonfigūruota standartinė (neadministracinė) Windows naudotojo ir administratoriaus paskyra. Įprastai naudojant sistemą, bus reikalinga standartinė paskyra, nes Rotor-Gene Q programinė įranga ir 1.0 ar 2.1 versijos Rotor-Gene AssayManager sukurtos veikti be administratoriaus teisių. Administratoriaus paskyra bus naudojama tik Rotor-Gene Q arba Rotor-Gene AssayManager 1.0 ar 2.1 versijos programinei įrangai ir antivirusinei programinei įrangai diegti (žr. skyrių „Antivirusinė programinė įranga“). Naudojant administratoriaus paskyrą, darbalaukio fonas yra raudonas. Įsitikinkite, kad įprastam naudojimui visada prisijungiate kaip standartinis naudotojas.

Q1a#g3n!A6 yra numatytasis administratoriaus paskyros slaptažodis. Po pirmojo prisijungimo pakeiskite administratoriaus slaptažodį. Pasirūpinkite, kad slaptažodis būtų saugus ir nebūtų pamestas. Operatoriaus paskyros slaptažodžio nėra.

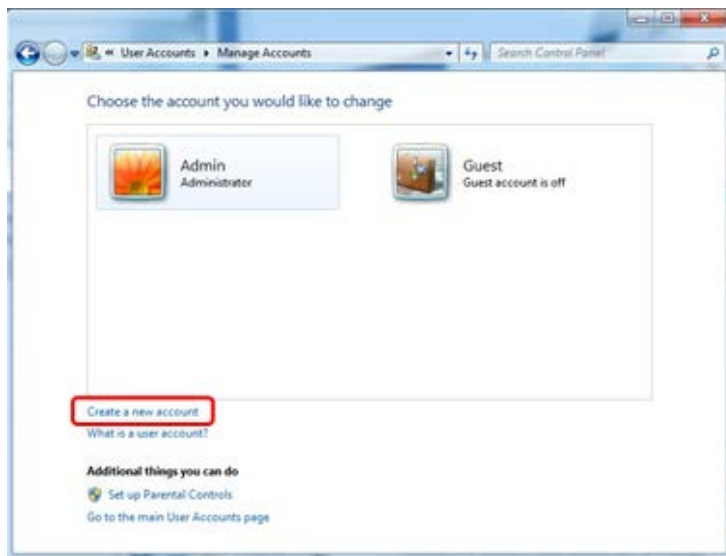
Jei pametėte nešiojamojo kompiuterio administratoriaus slaptažodį, rekomenduojame pagalbos kreiptis į Microsoft.

Jei jūsų konfigūracija yra kitokia ir nėra jokios neadministracinės paskyros, sistemos administratoriai sukuria papildomą standartinę Windows naudotojo paskyrą, kad užkirstų priegą prie tokių svarbių sistemų sričių, kaip Program Files (Programų failai), Windows directory (Windows katalogas) (pvz., prieiga prie diegimo arba pašalinimo funkcijos, įskaitant programas, operacinės sistemos komponentus, datos / laiko nustatymus, Windows atnaujinimus, užkardą, naudotojo teises ir vaidmenis, antivirusinės programinės įrangos aktyvinimą) arba su našumu susiję parametrai, pvz., energijos taupymas.

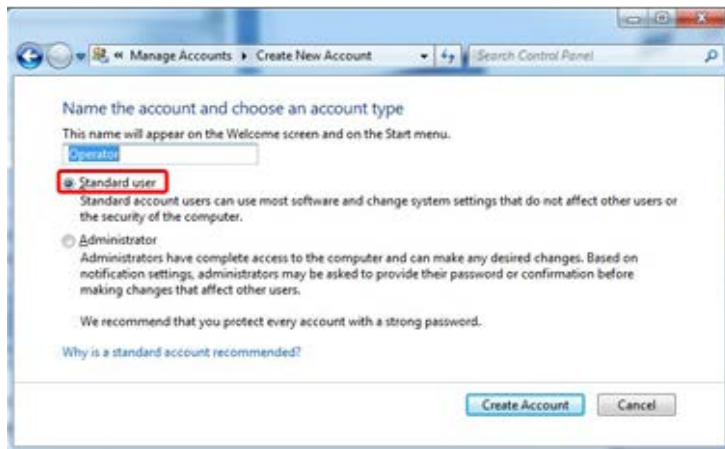
Norėdami sukurti standartinę Windows 7 naudotojo paskyrą, atlikite toliau pateiktus žingsnius, aprašytus skyriuje „Naujos naudotojo paskyros kūrimas“.

Naudodami meniu „Start“ (Pradžia) atidarykite Windows Control Panel (Windows valdymo skydas) ir pasirinkite „User Accounts > Manage Accounts“ (Naudotojo paskyros > Valdyti paskyras).

1. Pasirinkite „Create a new account“ (Sukurti naują paskyrą).



2. Pavadinkite paskyrą ir pasirinkite „Standard User“ (Standartinis naudotojas) paskyros tipą.



3. Spustelėkite „Create Account“ (Sukurti paskyrą).

4.5 Rotor-Gene Q MDx išpakavimas

Rotor-Gene Q MDx pristatomas kartu su visais komponentais ir priedais, reikalingais prietaiso įdiegimui ir naudojimui. Dėžėje taip pat yra visų pristatomų komponentų sąrašas.

Pastaba: patikrinkite, ar tikrai gavote visus komponentus, nurodytus sąrašė.

Pastaba: prieš įdiegiant, patikrinkite, ar transportavimo metu prietaisas ir jo priedai nebuvo pažeisti.

Priedų dėžė turėtų būti ant putplasčio karkaso viršaus. Priedų dėžėje turėtų būti:

- Įdiegimo vadovas (anglų k.; vertimai prieinami CD pavidalu kartu su naudotojo vadovu)
- CD (programinė įranga)
- CD (naudotojo vadovai)
- Mėgintuvėlių blokas, 96 x 0,2 ml
- Mėgintuvėlių blokas, 72 x 0,1 ml
- Rotoriaus laikiklis (dėl saugaus transportavimo pateikiamas išardytas)

- 36-šulinėlių rotorius (šis rotorius yra raudonos spalvos)
- 36-šulinėlių rotoriaus užrakinamasis žiedas

Žemiau nurodyti komponentai yra supakuoti putplasčio karkaso šonuose:

- USB ir RS-232 jungčių laidas
- Maitinimo laidų rinkinys
- PGR mėgintuvėliai, 0,2 ml (1000)
- Mėgintuvėlių juostelės ir jų dangteliai, 0,1 ml (1000)

Išėmus visus šiuos komponentus iš dėžės, pašalinkite viršutinę putplasčio karkaso dalį nuo Rotor-Gene Q MDx. Atsargiai ištraukite Rotor-Gene Q MDx iš dėžės ir išvyniokite iš plastiko pakuotės. Atidarykite dangtį, pastumdami jį atgal, tokiu būdu pasieksite reakcijos kamerą.

Žemiau nurodyti komponentai jau yra įstatyti į Rotor-Gene Q MDx:

- 72-šulinėlių rotorius (šis rotorius yra mėlynos spalvos)
- 72-šulinėlių rotoriaus užrakinamasis žiedas


Priklausomai nuo Jūsų užsakymo, pakuotėje taip pat gali būti ir nešiojamasis kompiuteris.

4.6 Papildomi priedai

Rotoriaus diskai ir kiti papildomi priedai gali būti užsakomi atskirai. Norėdami sužinoti daugiau, skaitykite Priedą C.

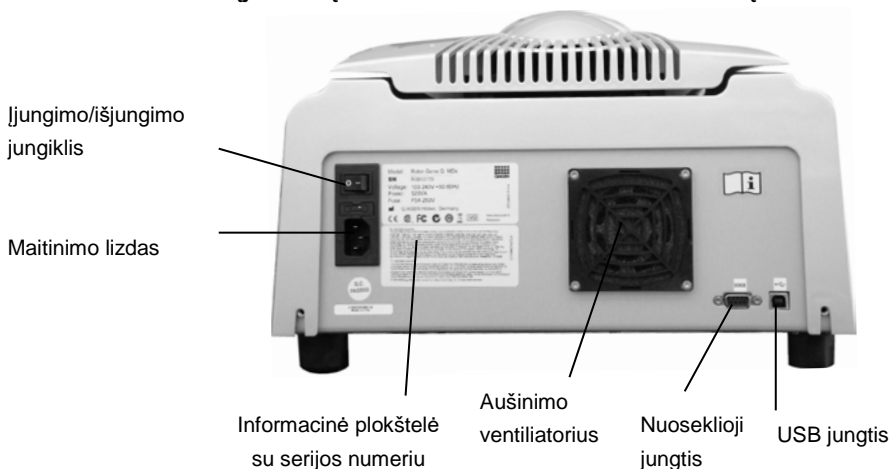
4.7 Prietaiso įdiegimas

Kai tik išpakuosite Rotor-Gene Q MDx, jį įdiekite kaip aprašyta žemiau esančiuose skyriuose.

| | |
|---|--|
| <p>PERSPĖJIMAS</p>  | <p>Rizika pažeisti prietaisą [C6]</p> <p>Jei įjungiate Rotor-Gene Q MDx iš karto po gabenimo šaltoje aplinkoje, gali užsiblokuoti kai kurios jo mechaninės detalės.</p> <p>Prieš įjungiant prietaisą, palaikykite jį mažiausiai vieną valandą kambario temperatūroje</p> |
|---|--|

Atlikite tokius veiksmus:

1. Pastatykite Rotor-Gene Q MDx ant lygaus paviršiaus.
2. Įsitikinkite, kad yra pakankamai erdvės už prietaiso tam, kad jo dangtis pilnai atsidarytų.
3. Įsitikinkite, kad prietaiso įjungimo/išjungimo jungiklis, esantis nugarinėje pusėje, yra lengvai pasiekiamas.
4. Užtikrinkite laisvą priėjimą prie prietaiso nugarinės pusės. Įsitikinkite, kad esant reikalui maitinimo laidas yra lengvai atjungiamas nuo prietaiso.
5. Prijunkite USB ar RS-232 jungčių laidą prie atitinkamos jungties kompiuterio nugarinėje pusėje.
6. Prijunkite USB ar RS-232 laidą prie Rotor-Gene Q MDx nugarinės pusės.
7. Prijunkite Rotor-Gene Q MDx prie srovės šaltinio. Prijunkite vieną maitinimo laido galą į lizdą, esantį Rotor-Gene Q MDx galinėje pusėje, kitą laido galą įjunkite į kintamosios elektros srovės lizdą.



Pastaba: Rotor-Gene Q MDx sujungimui su kompiuteriu naudokite tik kartu su prietaisu gautus USB ar kitos atitinkamos jungties laidus. Nenaudokite jokių kitų laidų.

4.8 Programinės įrangos įdiegimas

1. Norėdami įdiegti Rotor-Gene Q programinę įrangą, įdėkite kartu su prietaisu gautą kompaktinį diską (CD, programinė įranga) į kompiuterio CD skaitytuvą.
2. Pasirodžiusiame lange pasirinkite “Install Operating Software”.

Pastaba: norėdami palengvinti programinės įrangos įdiegimą, vadovaukitės *Rotor-Gene Q Įdiegimo vadovu*, gautu kartu su prietaisu.



3. Kai tik programinė įranga bus įdiegta, darbastalyje bus automatiškai sukurta piktograma.
4. Įjunkite Rotor-Gene Q MDx, paspausdami jungiklį, esantį prietaiso nugarinėje kairėje pusėje, į poziciją “I”. Užsidegusi mėlyna “Standby” lemputė Rotor-Gene Q

MDx priekyje rodo, kad prietaisas yra paruoštas naudojimui.

Pastaba: Pradedant darbą, pirmą kartą prijungus prie kompiuterio Rotor-Gene Q MDx atpažins operacinė sistema ir bus rodoma daug pranešimų. Tolesnio elgesio rekomendacijų prašome ieškoti *Rotor-Gene Q Installation. Guide*, kuris tiekiamas kartu su instrumentu (CD ir atspausdinta versija).



5. Du kartus spragtelėkite virš darbastalyje esančio simbolio "Rotor-Gene Q Series Software", tokiu būdu aktyvosite programinę įrangą.



6. Pirmą kartą įjungus programą, pasirodo langas "Welcome", tačiau jis daugiau neberodomas vėlesniais programinės įrangos atnaujinimo atvejais.



Machine Serial Number: (Prietaiso serijos numeris) Irašykite serijos numerį (7 skaitmenų), jį rasite Rotor-Gene Q MDx nugarinėje pusėje.

Port: (Jungtis) Pasirinkite USB arba serijinį kabelį. Pasirinkite atitinkamą ryšio jungtį arba paspauskite mygtuką "Auto-Detect".

Auto-Detect: (Automatinė paieška) Pasirinkus šią galimybę, automatiškai bus surasta atitinkama USB arba serijinė jungtis ir rezultatas bus rodomas sąrašo "Port".

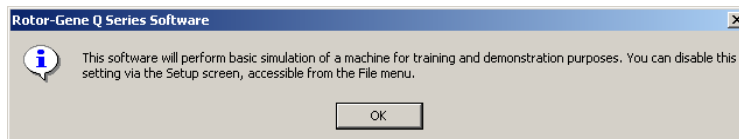
Run in Virtual Mode:
(Dirbti virtualiame režime)

Pažymėjus šį langelį, Rotor-Gene Q programinė įranga bus įdiegta kompiuteryje, kuris nėra sujungtas su Rotor-Gene Q MDx. Ši programinė įranga yra pilnai funkcionali ir gali imituoti vykdomas reakcijas.

Pastaba: jei šis langelis pažymimas kompiuteryje, kuris yra prijungtas prie Rotor-Gene Q MDx, prieš pradėdant reakciją pasirodo ši žinutė: “You are about to run in Virtual mode”. Tam, kad atliktumėte tikrą reakciją, turi būti pakeisti nustatymai lange “Setup” (žiūrėti Skyrių 7.5.4).

Begin:
(Pradėti)

Suvedus visą reikiamą informaciją, spauskite “Begin”. Palaukite, kol pasibaigs pirminis parengimas, tai gali užtrukti keletą sekundžių. Jei buvo pasirinktas virtualus modelis, pasirodo tokio pobūdžio žinutė:



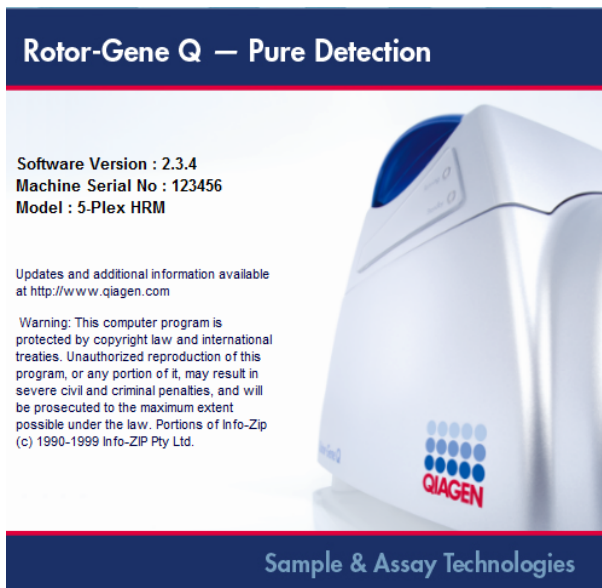
Jei “Run in Virtual Mode” langelis nebuvo pažymėtas, programos įsijungia automatiškai.

Exit Program:
(Programą išjungti)

Paspaudę šį mygtuką, išjungsite programą.

4.9 Programinės įrangos versija

Norėdami sužinoti savo programinės įrangos versijos numerį, spauskite “Help”, tada “About This Software...”.



Pasirodžiusiame lange matyti bendroji programinės įrangos informacija, kurioje nurodyti programinės įrangos versijos numeris, taip pat prietaiso modelis ir jo serijos numeris.

Šios programinės įrangos kopijos gali būti laisvai naudojamos visoje institucijoje, besinaudojančioje Rotor-Gene Q MDx, tačiau ši programinė įranga negali būti platinama už institucijos ribų.

4.10 Papildoma programinė įranga kompiuteriuose, sujungtuose su Rotor-Gene Q MDx prietaisais

Rotor-Gene Q programinė įranga geba valdyti laiko atžvilgiu kritiškus duomenų kaupimo procesus PGR metu. Tačiau, yra labai svarbu užtikrinti, kad jokie kiti procesai reikšmingai neiekvotų sistemos resursų, tokiu būdu lėtindami

Rotor-Gene Q programinės įrangos veikimą. Labai svarbu atsižvelgti į žemiau pateiktas pastabas.

Sistemų administratoriams patariame iš anksto įvertinti atliekamų sistemos modifikacijų galimą įtaką programinės įrangos veikimui prieš atliekant šias modifikacijas.

4.10.1 Antivirusinė programinė įranga

QIAGEN supranta virusinių programų keliamą grėsmę kompiuteriams, kurie tarpusavyje keičiasi duomenimis. Siekiant sumažinti šią grėsmę, tikimasi, kad Rotor-Gene AssayManager 1.0 arba 2.1 versijos programinė įranga pirmiausia bus įdiegta aplinkose, kuriose taikoma vietinė politika. Tačiau QIAGEN rekomenduoja bet kuriuo atveju naudoti antivirusinę programinę įrangą.

Tinkamo virusų žvalgyimo įrankio pasirinkimas ir įdiegimas yra kliento atsakomybė. Tačiau siekdami parodyti suderinamumą, QIAGEN patvirtino Rotor-Gene Q programinę įrangą ir Rotor-Gene AssayManager 1.0 ir 2.1 versijas, naudojamas QIAGEN nešiojamame kompiuteryje kartu su šiomis dviem antivirusinėmis programinėmis įrangomis:

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

Naujausias antivirusinės programinės įrangos versijas, kurios buvo patvirtintos kartu su Rotor-Gene Q programine įranga ir Rotor-Gene AssayManager 1.0 arba 2.1 versijomis rasite QIAGEN.com produktų puslapyje.

¹ Pastaba: įdiegę „Microsoft Security Essentials“, patikrinkite, ar Windows atnaujinimai yra išjungti, nes diegimas gali suaktyvinti šį nustatymą (žr. skyrių „Operacinės sistemos atnaujinimai“).

Jei pasirinkta antivirusinė programinė įranga, įsitikinkite, kad ji gali būti sukonfigūruota taip, kad duomenų bazės aplanko kelias būtų pašalintas iš nuskaitymo. Priešingu atveju kyla duomenų bazių ryšio klaidų rizika. Kadangi Rotor-Gene AssayManager 1.0 ir 2.1 versijos dinamiškai kuria naujus duomenų bazių archyvus, reikia pašalinti ne atskiras bylas, o aplanko kelią į bylas. Nerekomenduojame naudoti antivirusinės programinės įrangos, kurioje galima pašalinti tik atskiras bylas, pvz., McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Jei kompiuteris naudojamas aplinkoje, kurioje nėra prieigos prie tinklo, taip pat įsitikinkite, kad antivirusinė programinė įranga palaiko neprisijungus atliekamus atnaujinimus.

Siekiant po antivirusinės programinės įrangos įdiegimo užtikrinti nuoseklius rezultatus, sistemos administratoriai turėtų pasirūpinti, kad būtų atlikti toliau išvardyti žingsniai.

- Kaip paaiškinta anksčiau, bylų nuskaitymo metu reikia pašalinti Rotor-Gene AssayManager 1.0 ir 2.1 (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) duomenų bazės aplanko kelią.
- Virusų duomenų bazės atnaujinimai neatliekami, kai Rotor-Gene AssayManager 1.0 arba 2.1 yra naudojama.
- Įsitikinkite, kad tikruoju laiku atliekant PGR duomenų rinkimą, išjungti visiški ar daliniai standžiojo disko nuskaitymai. Priešingu atveju kyla pavojus, kad bus daromas neigiamas poveikis prietaiso veikimui.

Konfigūravimo informaciją rasite pasirinktos antivirusinės programinės įrangos vadove.

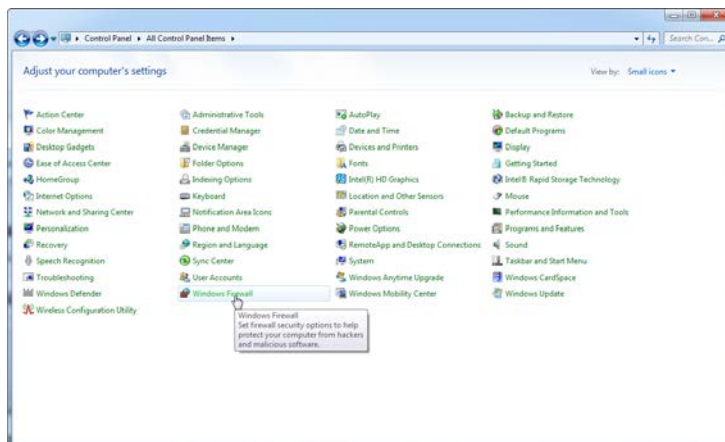
4.10.2 Užkarda ir tinklai

Rotor-Gene Q programinė įranga gali veikti be prieigos prie tinklo arba tinklo aplinkoje naudojamuose kompiuteriuose, jei naudojamas nuotolinis duomenų bazės serveris. Tinklo operacijoms QIAGEN teikiamo nešiojamojo kompiuterio užkarda sukonfigūruota taip, kad būtų užblokuotos visos įeinančio srauto jungtys, išskyrus tas, kurios reikalingos tinklo ryšiui sukurti.

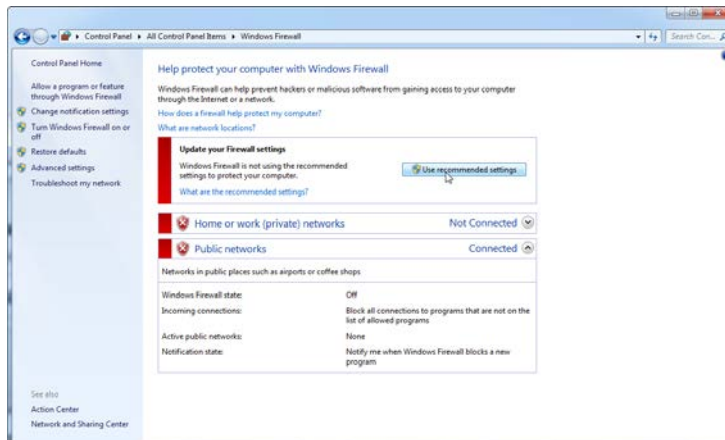
Atminkite, kad įeinančių ryšių blokavimas neturi įtakos atsakymams į naudotojo pateiktas užklausas. Išeinantys ryšiai leidžiami, nes jie gali būti reikalingi atnaujinant duomenis.

Jei jūsų konfigūracija yra kitokia, QIAGEN rekomenduoja sukonfigūruoti užkardą taip, kaip aprašyta anksčiau. Norėdamas tai padaryti, sistemos administratorius turi prisijungti ir atlikti toliau nurodytus veiksmus:

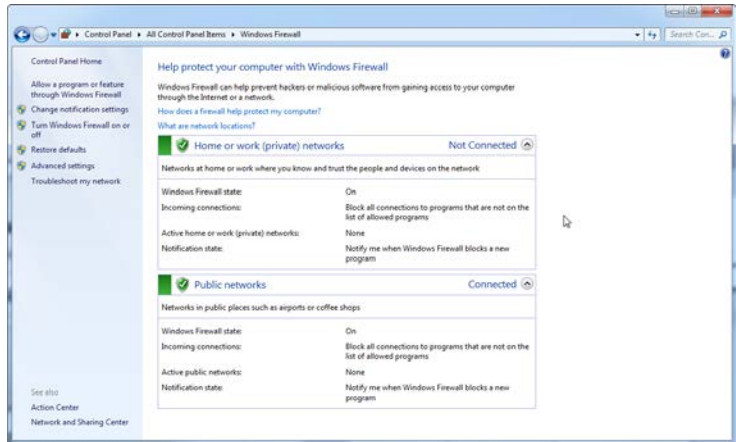
1. Atidaryti „Control Panel“ (Valdymo skydas) ir pasirinkti „Windows Firewall“ (Windows užkarda).



2. Pasirinkti „Use recommended settings“ (Naudoti rekomenduojamus parametrus).

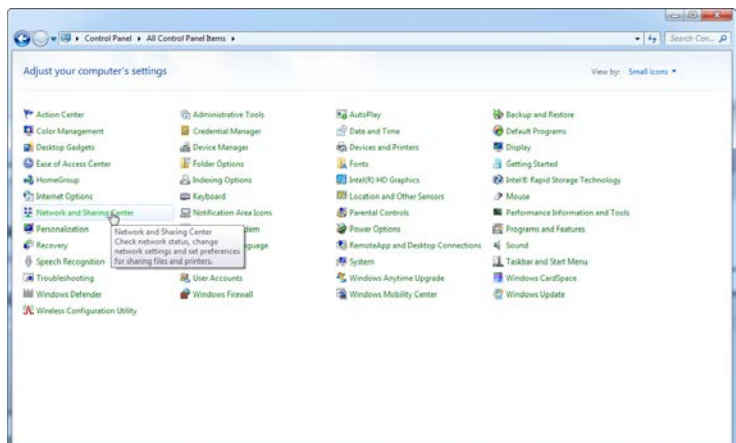


3. Patikrinti, ar toliau nurodyti parametrai yra aktyvūs.

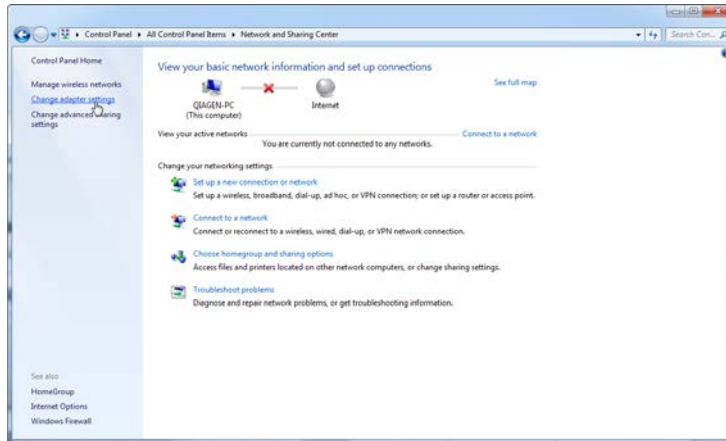


Saugumo ir patikimumo tikslais bus naudojama kabelinė tinklo prieiga, o ne Wi-Fi. QIAGEN pateiktuose nešiojamuosiuose kompiuteriuose Wi-Fi adapteris yra išjungtas. Jei jūsų konfigūracija yra kitokia, sistemos administratorius turi rankiniu būdu išjungti Wi-Fi adapterį, atlikdamas toliau nurodytus veiksmus:

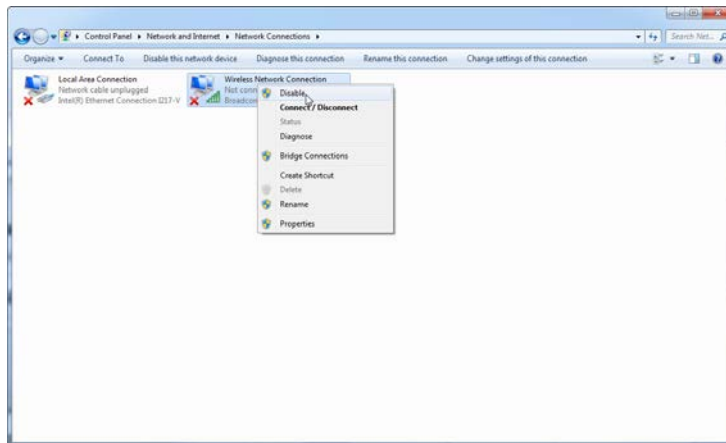
1. Atidaryti „Control Panel“ (Valdymo skydas) ir pasirinkti „Network and Sharing Center“ (Tinklo ir bendrinimo centras).



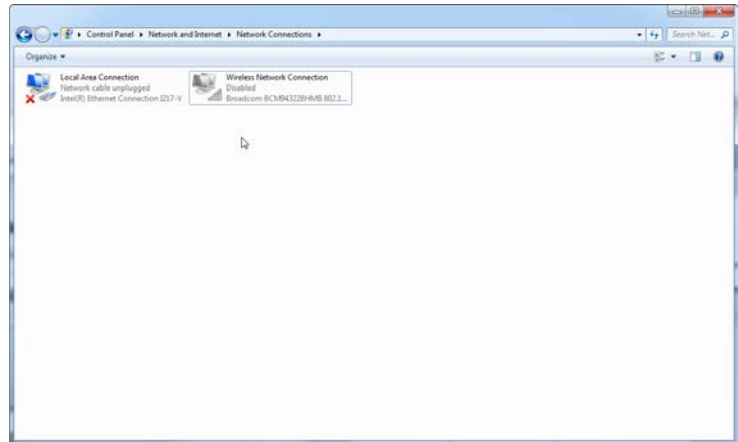
2. Pasirinkti „Change adapter settings“ (Keisti tinklo plokštės parametrus).



3. Palaikyti žymeklį virš „Wireless Network Connection“ (Belaidžio tinklo ryšys), paspausti dešinįjį pelės klavišą ir kontekstiniame meniu pasirinkti „Disable“ (Išjungti).



4. Patikrinkite, ar belaidžio tinklo ryšys yra išjungtas.



4.10.3 Sisteminiai įrankiai

Dauguma sisteminių įrankių gali turėti reikšmingos įtakos kompiuterio resursams, netgi be aktyvaus naudotojo įsikišimo:

- Bylų žymėjimas, atliekamas kaip foninė užduotis daugumos dabartinių biuro programų
- Disko defragmentacija, dažnai atliekama taip pat kaip foninė užduotis
- Dauguma programinių įrangų, kurios internete ieško atnaujinimų
- Nuotolinio stebėjimo ir valdymo įrankiai

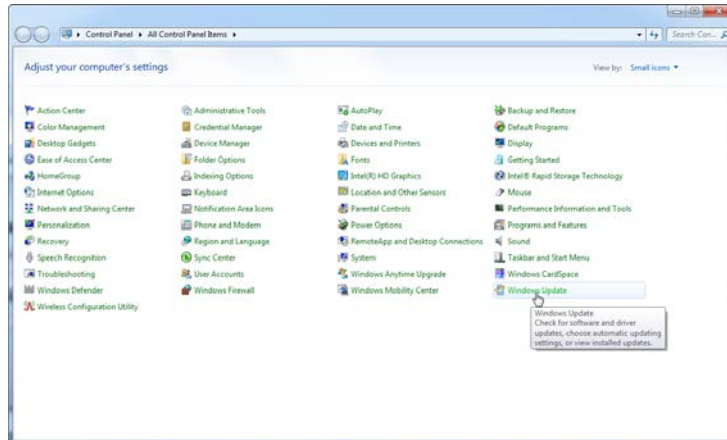
Supraskite, kad IT erdvė labai sparčiai vystosi, todėl dalis programų ar sisteminių įrankių dar galėjo būti nežinomi tuo metu, kai buvo ruošiamas šis naudotojo vadovas. Labai svarbu, kad sistemų administratoriai pasirūpintų, kad visi šie įrankiai būtų inaktyvuoti PGR metu.

4.10.4 Operacinės sistemos atnaujinimai

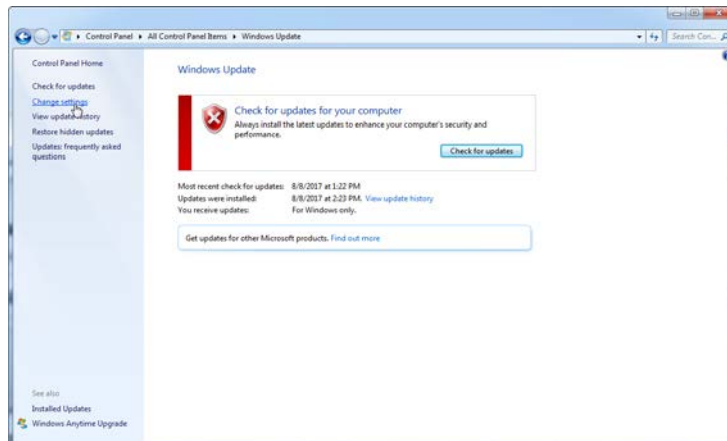
QIAGEN teikiami nešiojamieji kompiuteriai sukonfigūruoti taip, kad automatiniai operacinės sistemos atnaujinimai būtų išjungti. Jei jūsų konfigūracija yra kitokia, sistemos administratorius turi išjungti bet kokią automatinę operacinės

sistemos atnaujinimo procesą, atlikdamas toliau nurodytus veiksmus:

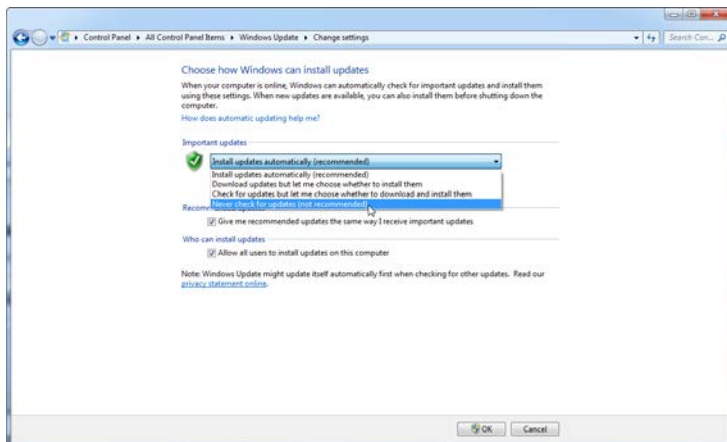
1. Atidaryti „Control Panel“ (Valdymo skydas) ir pasirinkti „Windows Update“ (Windows atnaujinimas).



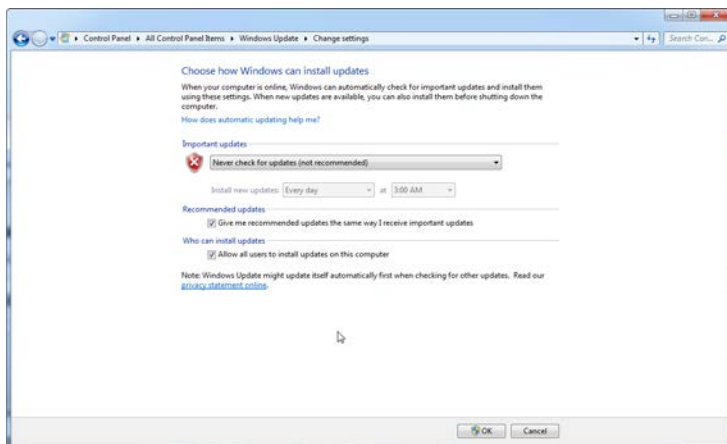
2. Pasirinkti „Change settings“ (Keisti parametrus).



3. Pasirinkti „Never check for updates“ (Niekada netikrinti, ar yra naujinių).



4. Patikrinti, ar suaktyvinta „Important updates“ (Svarbūs naujinimai) parinktis „Never check for updates“ (Niekada netikrinti, ar yra naujinių).



Jei dėl saugos spragų reikalingi atnaujinimai, QIAGEN pateikia mechanizmus, kaip įdiegti nustatytą patvirtintų Windows saugos pataisų rinkinį prisijungus (jei QIAGEN nešiojamajame kompiuteryje yra interneto ryšis) arba kaip neprijungus pasiekiamą paketą, paruoštą kitame kompiuteryje su prieiga prie interneto.

Jei norite gauti daugiau informacijos, apsilankykite QIAGEN.com produktų puslapyje.

4.11 Programinės įrangos atnaujinimas

Programinės įrangos atnaujinimai yra prieinami QIAGEN interneto tinklapyje www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx, kuris gali būti pasiekiamas paspaudus programos “Help” mygtuką. Norėdami atsisiųsti programinę įrangą, turite užsiregistruoti šiame tinklapyje.

5 Prietaiso valdymo tvarka – Techninė įranga

Šiame skyriuje aprašomas Rotor-Gene Q MDx valdymas.

5.1 Rotorių tipai

Pirmiausia išsiaiškinkite, kokį mėgintuvėlių ir rotoriaus tipą naudosite. Galima rinktis iš 4 rotorių, kurių kiekvienas pritaikytas skirtingiems mėgintuvėlių tipams.

Pastaba: 36-šulinėlių rotorius ir 72-šulinėlių rotorius yra pristatomi kartu su prietaisu. Rotor diskiniai rotoriai yra pateikiami kaip papildomi priedai.

SVARBU: eksperimento metu naudokite tik identiškus mėgintuvėlius. Vienu metu nenaudokite skirtingų tipų arba skirtingų gamintojų mėgintuvėlius, kadangi tai gali iškreipti optinės analizės rezultatus. Mes rekomenduojame naudoti tik QIAGEN mėgintuvėlius, kurie yra sukurti naudoti būtent Rotor-Gene Q MDx prietaisais (žiūrėti Priedą C). Kitų gamintojų mėgintuvėliai gali pasižymėti autofluorescencija, o tai gali neigiamai lemti rezultatų patikimumą. Taip pat kitų gamintojų mėgintuvėliai gali skirtis ilgiu ar sienelių storiu, kas lemia optinio kelio nesutapimą Rotor-Gene Q MDx ir iškreiptą reakcijos rezultatą. QIAGEN pasilieka sau teisę neteikti techninės pagalbos, jei jos reikia problemų sprendimui, kurias sukėlė ne QIAGEN sertifikuotų plastikinių komponentų naudojimas dirbant su Rotor-Gene Q MDx.

SVARBU: bet koks ne QIAGEN sertifikuotų plastikinių komponentų naudojimas dirbant su Rotor-Gene Q MD gali panaikinti galiojančią prietaiso garantiją.

PERSPĖJIMAS



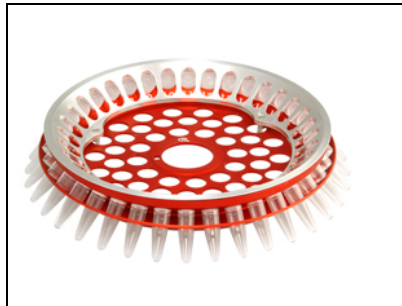
Rizika pažeisti prietaisą

[C3]

Prieš kiekvieną paleidimą vizualiai patikrinkite ir įsitikinkite, kad nėra pažeistas ar defomuotas rotorius.

36-šulinėlių rotorius

36-šulinėlių rotorius yra raudonos spalvos. 36-šulinėlių rotorius ir 36-šulinėlių rotoriaus užrakinamasis žiedas leidžia naudoti 0,2 ml tūrio mėgintuvėlius. Pasirinkus šiuos mėgintuvėlius, nereikia naudoti optiškai skaidrių dangtelių, kadangi Rotor-Gene Q MDx fiksuoja fluorescencija ne nuo mėgintuvėlio viršaus, o nuo mėgintuvėlio dugno. Kupolo formos dengti mėgintuvėliai taip pat gali būti naudojami.



72-šulinėlių rotorius

72-šulinėlių rotorius yra mėlynos spalvos. 72-šulinėlių rotorius ir 72-šulinėlių rotoriaus užrakinamasis žiedas leidžia naudoti 0,1 ml tūrio mėgintuvėlių juosteles su jų dangteliais, tokiu būdu Jūs galite manipuluoti tūriais, apytiksliai lygiais 20 µl. Dangteliai užtikrina saugų ir patikimą mėgintuvėlių sandarumą.



Rotor-Disc 72 rotorinis diskas

Rotor-Disc 72 rotorinis diskas yra tamsiai pilkos spalvos. Rotor-Disc 72 rotorinis diskas ir Rotor-Disc 72 užrakinamasis žiedas leidžia Jums naudoti Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 yra 72-jų šulinėlių didelio našumo diskas. Norėdami užsandarinti Rotor-Disc 72, naudokite švrią polimerinę plėvelę, kuria šilumos pagalba užspauskite disko viršutinę dalį. Šią plėvelę patogu ir lengva naudoti, patvarus ir ilgalaikis užsandarinimas apsaugo mėginius nuo užteršimo pavojaus. Norėdami sužinoti daugiau apie Rotor-Disc 72, skaitykite Skyrių 5.3.



Rotor-Disc 100 rotorinis diskas

Rotor-Disc 100 rotorinis diskas yra auksinės spalvos. Rotor-Disc 100 rotorinis diskas ir Rotor-Disc 100 užrakinamasis žiedas leidžia Jums naudoti Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 yra didelio našumo 100 šulinėlių diskas. Rotor-Disc 100 rotaciniu požiūriu yra ekvivalentiškas 96-šulinėlių plokštelei, tačiau turi papildomus 4 šulinėlius, skirtus kontroliniams mėginiams. Tai leidžia Rotor-Gene Q MDx naudoti kaip standartinį 96 tyrimų laboratorinį prietaisą. Papildomi šulinėliai gali būti naudojami tiesiog įprastiems mėginiams, kontrolinėms reakcijoms, orientacinėms reakcijoms, tokiu būdu neužimant standartinį 96 šulinėlių pozicijų. Užtikrinant standartinį 96 tyrimų rinkinį, Rotor-Disc 100 šulinėliai pažymėti 96-šulinėlių plokštelei įprastu būdu, t.y., nuo A1–A12 iki H1–H12. Papildomi 4 kontroliniai šulinėliai pažymėti R1–R4. Norėdami sužinoti daugiau apie Rotor-Disc 100, skaitykite Skyrių 5.3.



Rotorių charakteristikos

| Rotoriaus tipas | Šulinėlių talpa | Mėginių skaičius | Mėgintuvėlio tipas | Rekomenduojamas reakcijos tūris |
|-------------------------|-----------------|------------------|--|---------------------------------|
| 36-šulinėlių rotorius | 200 µl | 36 | PGR mėgintuvėliai, 0,2 ml | 20–50 µl |
| 72-šulinėlių rotorius | 100 µl | 72 | Mėgintuvėlių juostelės ir dangteliai, 0,1 ml | 20–50 µl |
| Rotor-Disc 72 Rotorius | 100 µl | 72 | Rotor-Disc 72 | 20–25 µl |
| Rotor-Disc 100 Rotorius | 30 µl | 100 | Rotor-Disc 100 | 15–20 µl |

Pastaba: Rotor-Gene Q MDx 36-šulinėlių rotorius ir 72-šulinėlių rotorius nėra skirti naudoti su Rotor-Gene 3000 serijos prietaisais dėl skirtingų optinių charakteristikų. Šiems prietaisams yra skirti senesnio tipo 36-pozicijų ir 72-pozicijų Rotor-Gene 3000 skirti rotorai.

5.2 Reakcijos nustatymas

SVARBU: tam, kad užtikrintumėte patikimus rezultatus, kiekvieno eksperimento metu naudokite atitinkamus kontrolinius mėginius.

Paruošti reakcijų mišinius galite naudodami mėgintuvėlių bloku 96 x 0,2 ml mėgintuvėliams (0,2 ml PGR mėgintuvėliai), mėgintuvėlių bloku 72 x 0,1 ml

mėgintuvėliams (mėgintuvėlių juostelių ir jų dangtelių rinkinys, 0,1 ml, naudodamiesi vienkanale pipete), mėgintuvėlių bloku 72 x 0,1 ml daugiakanale (mėgintuvėlių juostelių ir jų dangtelių rinkinys, 0,1 ml, naudodamiesi daugiakanale pipete), Rotor-Disc 72 mėgintuvėlių bloku (skirtas Rotor-Disc 72) arba Rotor-Disc 100 mėgintuvėlių bloku (skirtas Rotor-Disc 100). Visi blokai yra pagaminti iš aliuminio ir esant reikalui gali būti atšaldomi.

Mėgintuvėlių bloke 72 x 0,1 ml mėgintuvėliams (paveikslėlyje) yra 18 mėgintuvėlių juostelių, taip pat iki 8 pozicijų 0,5 ml tūrio mėgintuvėliams, kuriuos galima naudoti ruošiant pagrindinį reakcijos mišinį bei iki 16 pozicijų 0,2 ml tūrio mėgintuvėliams, kurie gali būti naudojami reakcijoms, ruošiant standartines kreives. Žemiau pateiktas aprašas nurodo reakcijos paruošimo eilės tvarką naudojant 72-šulinėlių rotorių. Ta pati procedūra gali būti pritaikoma, naudojant ir 36-šulinėlių rotorių, taip pat ir atitinkamus kitus priedus.

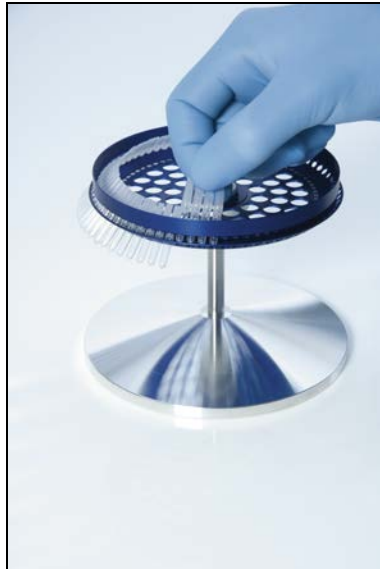
1. Įstatykite mėgintuvėlių juostelę į mėgintuvėlių bloką ir išpilstykite reikiamus reakcijos komponentus.



2. Ant mėgintuvėlių juostelės uždėkite dangtelius ir įsitikinkite, kad mėgintuvėliai yra sandariai uždaryti.



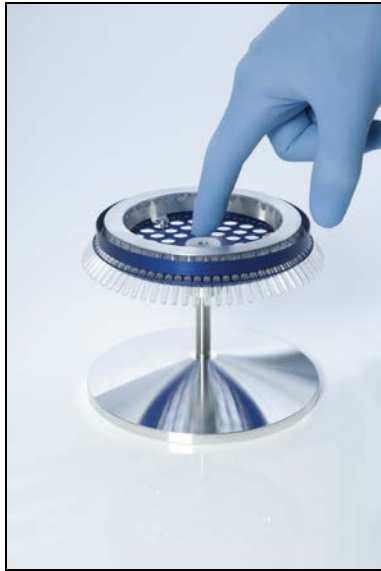
3. Įstatykite mėgintuvėlių juostelę į 72-šulinėlių rotorių, įsitikindami, kad mėgintuvėliai yra taisyklingai įstatyti savo vietoje ir teisingai orientuoti. Jiems būnant neteisingoje padėtyje, optinė sistema juos užfiksuos skirtingai. Tai gali nulemti sumažėjusį fluorescencijos signalą ir detekcijos jautrumą. Rotoriaus laikiklis, palengvinantis mėgintuvėlių įstatymą į rotorių, yra pristatomas kartu su prietaisu.



SVARBU: norėdami pasiekti maksimalų temperatūros vienodumą tarp mėginių, kiekvienoje rotoriaus pozicijoje įstatykite po mėgintuvėlį. Tokiu būdu bus užtikrintas tinkamas oro srautas apie kiekvieną mėgintuvėlį. Visada turėkite pasiruošę uždengtų tuščių mėgintuvėlių rinkinį, kuriuos galėsite panaudoti, įstatydami juos į neužimtas rotoriaus pozicijas.

4. Įstatykite 72-šulinėlių rotoriaus užrakinamąjį žiedą į 72-šulinėlių rotorių, paspausdami 3 smeigtus per išorines rotoriaus skyles.

Užrakinamasis žiedas užtikrina, kad mėgintuvėliai eksperimento metu visada liks uždengti.



- Įdėkite visą rinkinį į Rotor-Gene Q MDx kamerą, įstatydami and smeigto per rotoriaus stebulę. Norėdami išimti, paprasčiausiai spustelėkite rotoriaus stebulę, atpalaiduokite ją ir ištraukite.



- Uždarykite prietaiso dangtį ir nustatykite norimą reakcijos profilį, naudodamiesi Rotor-Gene Q programine įranga.

5.3 Rotorinių diskų paruošimas

Rotor-Disc 72 arba Rotor-Disc 100 diskai, kuriuos sudaro atitinkamai 72 arba 100 šulinėliai, yra skirti didelio našumo laboratoriniams tyrimams. Pasirinkus Rotor-Disc 72 ir Rotor-Disc 100 diskus, nereikia naudoti mėgintuvėlių dangtelių. Mėgintuvėlių uždengimui naudojama Rotor-Disc Heat Sealing Film plėvelė, kuria uždengiama disko viršutinė dalis ir Rotor-Disc Heat Sealer pagalba šiluminiu būdu užsandarinami mėgintuvėliai. Šią plėvelę patogiu ir lengva naudoti, patvarus ir ilgalaikis užsandarinimas apsaugo mėginius nuo užteršimo pavojaus. Instrukcijos, kaip šiluminiu būdu užsandarinti Rotor-diską, pateiktos žemiau esančioje pastraipoje.

SVARBU: prieš pradėdami dirbti su rotorinio disko šiluminiu sandarintuvu, perskaitykite gaminio informacinį lapą.

1. Įjunkite Rotor-Disc Heat Sealer jungiklius, esančius nugarinėje kairėje prietaiso pusėje. Turėtų užsidegti raudonos spalvos “Power” indikatorius. Tam, kad rotorinio disko šiluminis sandarintuvas pasiektų optimalią darbinę temperatūrą, gali užtrukti iki 10 minučių, ją pasiekus užsidega žalios spalvos “Ready” indikatorius.
2. Pasirinkite ilgalaikį ar nuimamą uždengimą.
Pastaba: kai tik rotorinio disko šiluminis sandarintuvas yra parengtas naudoti, jį yra saugu palikti veikiančią ilgesnį laiką.
3. Įdėkite rotorinį diską į rotorinio disko įkėlimo bloką (Rotor-Disc Loading Block), pasinaudodami rotorinio disko pozicionavimo ašele bei tinkamai įterpdami mėgintuvėlius į skylutes, esančias rotorinio disko įkėlimo bloke.
4. Paruoškite reakcijų mišinius mėgintuvėliuose, esančiuose rotoriniuose diskuose, rankiniu būdu pipetuodami arba naudodamiesi QIAgility™ automatizuota skysčių paskirstymo sistema.



5. Paimkite centrinę rotorinio disko šiluminio sandarinimo plėvelės dalį švelniai išvyniodami ją pusiau, suspauskite centrinę dalį ir atsargiai atplėškite ją.
6. Uždėkite plėvelę ant rotorinio disko teisinga orientacija, kaip nurodo užrašas “Viršutinė pusė” (“SIDE UP”). Įsitikinkite, kad užrašas “SIDE UP” yra rotorinio disko įkėlimo bloko apatinėje pusėje. Centrinė plėvelės skylė turėtų švelniai užslėsti ant rotorinio disko įkėlimo bloko cilindro ir ant pačio rotorinio disko viršutinės dalies.



7. Įstumkite visą rinkinį į rotorinio disko šiluminį sandarintuvą, naudodamiesi strypeliais, esančiais

rotorinio disko įkėlimo bloko šonuose. Įsitikinkite, kad rotorinio disko įkėlimo blokas yra pilnai įsitvirtinęs.



8. Norėdami pradėti sandarinimo procedūrą, pirmiausia paspauskite šiluminio sandarintuvo viršutinėje dalyje esančią mėlynos spalvos anodizuotą juostą, vėliau atstumkite juodos spalvos skląstį.



9. Sandarinimo mechanizmui šiek tiek nusileidus, užsidegs oranžinės spalvos indikatorius “Sandarinimas” (“Sealing”). Jei rotorinio disko įkėlimo blokas yra neteisingoje padėtyje, nuskambės įspėjamasis garsinis signalas.
10. Sandarinimui pasibaigus, nuskamba tęstinis garsinis signalas ir pradeda blyksėti oranžinės spalvos indikatorius “Sealing”. Paspauskite mėlyną anodizuotą juostą, tokiu būdu pakelsite ir atstatarsite sandarinimo mechanizmą į jo pradinę padėtį.
SVARBU: Niekada netęskite sandarinimo po garsinio signalo, reiškiančio sandarinimo pabaigą, kadangi tai gali deformuoti rotorinį diską.
Pastaba: Jeigu jums netyčia nepavyksta atstatyti fiksavimo mechanizmo, įspėjimui blyksintis oranžinės spalvos “Sealing” indikatorius pradės degti pastoviai, o nuolatinis pypsėjimas pasikeis į garsą su pertrūkiu.
11. Išstumkite rotorinio disko įkėlimo bloką iš rotorinio disko šiluminio sandarintuvo. Leiskite plėvelei atvėsti apie 10 sekundžių. Sandarinimo plėvelės perteklių pašalinkite traukdami žemyn ir nuplėšdami. Netraukite perteklinės plėvelės į viršų.
12. Išimkite rotorinį diską iš rotorinio disko įkėlimo bloko.
13. Įstatykite rotorinį diską į rotorijų teisinga padėtimi, kaip orientyru naudodamiesi nukreipiamąja ašele.

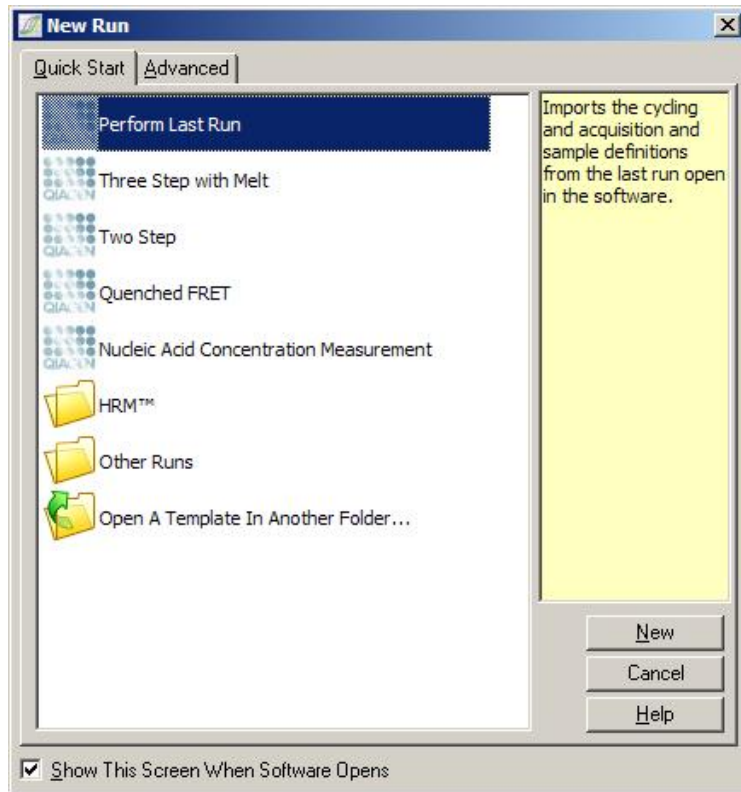
6 Prietaiso valdymo tvarka – Programinė įranga

Nauji eksperimentai gali būti nustatomi naudojantis greitos pradėties vedliu (Quick Start wizard) arba pažangiuoju vedliu (Advanced wizard), kurie pasirodo įjungus programinę įrangą. Greitos pradėties vedlys leidžia naudotojui pradėti eksperimentą kiek įmanoma greičiau, tuo tarpu pažangusis vedlys suteikia daugiau pasirinkimo galimybių, tokių, kaip įgijimo parametro optimizavimo (Gain Optimization) ar tūrio nustatymo funkcijų. Naudotojo patogumui, vedliuose yra įvesti keletas ruošinių su standartinėmis ciklų sąlygomis ir kanalų parinktimis. Norėdami pakeisti vedlio tipą, pasirinkite atitinkamą skyrelį lange “New Run”.

6.1 Greitos pradėties vedlys

Greitos pradėties vedlys leidžia naudotojui pradėti eksperimentą kiek įmanoma greičiau. Naudotojas gali pasirinkti vieną iš dažniausiai naudojamų ruošinių, įvesti minimalius parametrus ir pradėti eksperimentą. Greitos pradėties vedlys priima, kad reakcijos tūris yra 25 µl. Norėdami naudoti kitus reakcijos mišinio tūrius, naudokite pažangųjį vedlį (žiūrėkite Skyrių 6.2).

Pirmiausia pasirinkite norimą ruošinį, du kartus spragtelėdami virš ruošinio simbolio lange “New Run”.



- | | |
|---|--|
| Perform Last Run: (Atlikti paskutinį vykdytą eksperimentą) | Pasirinkus “Perform Last Run” bus pasirinkta paskutinio vykdyto eksperimento ciklų sąlygos, mėginių apibūdimas ir kaupimo būdas. |
| Three Step with Melt: (3 etapai su lydymusi) | Trijų etapų ciklo profilis ir lydymasis, naudojant duomenų kaupimą žaliuoju kanalu. |
| Two Step: (2 etapai) | Dviejų etapų ciklo □profilis, naudojant duomenų kaupimą žaliuoju, geltonuoju, oranžiniu ir raudonuoju kanalais. |

| | |
|---|---|
| Quenched FRET: (Slopinamasis FRET) | Trijų etapų ciklo profilis su lydymusi. Skirtingai nuo “Three Step with Melt”, duomenų kaupimas yra prisilydimo (anneal) etapo pabaigoje. |
| Nucleic Acid Concentration Measurement: (Nukleorūgščių koncentracijos matavimas) | Šis standartinis ruošinys yra skirtas nukleorūgščių koncentracijos matavimui, naudojant interkaliuojančius dažus. |
| HRM: | Šiame aplanke yra didelės skiriamosios gebos lydymosi profiliai. |
| Other Runs: (Kiti eksperimentai) | Šiame aplanke yra papildomi profiliai. |

Naudojantis vedliu, galima keisti visų ruošinių ciklą ir duomenų kaupimo profilius.

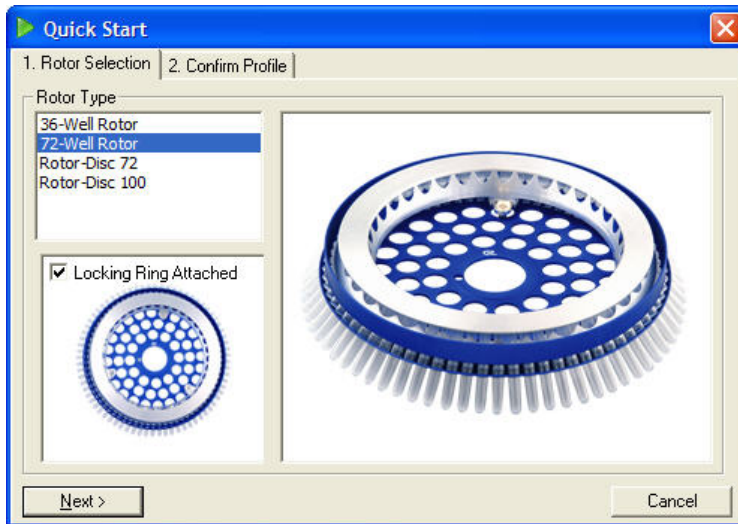
Pastaba: naudotojo paruošti ruošiniai gali būti įterpiami į standartinių ruošinių sąrašą greitosios pradėties vedlio pagalba kopijuojant arba išsaugojant *.ret formato bylas į direktoriją **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. Nukopijavus bylas šiuo būdu, sąrašė atsiranda ruošinio simbolis. Jei norite pasižymėti Jūsų įprastų ruošinių simbolius, sukurkite *.ico formato paveikslų bylas, tuo pačiu, kaip ruošinys, pavadinimu.

Taip pat galima sukurti smulkesnius aplankus, kuriuose būtų grupuojami norimi ruošiniai. Tai ypač patogiu, kuomet tuo pačiu prietaisu naudojasi keletas skirtingų asmenų.

6.1.1 Rotoriaus pasirinkimas

Kitame lange, pateiktame rotorių sąrašė, pasirinkite norimą rotoriaus tipą.

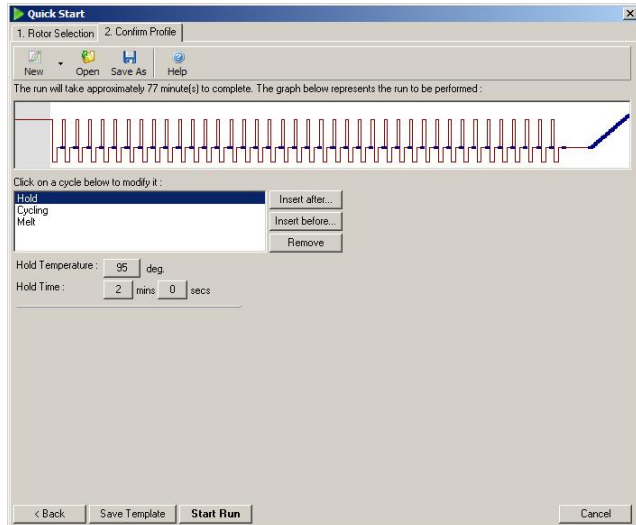
Pažymėkite langelį “Locking Ring Attached” ir spustelėkite “Next”.



6.1.2 Profilio patvirtinimas

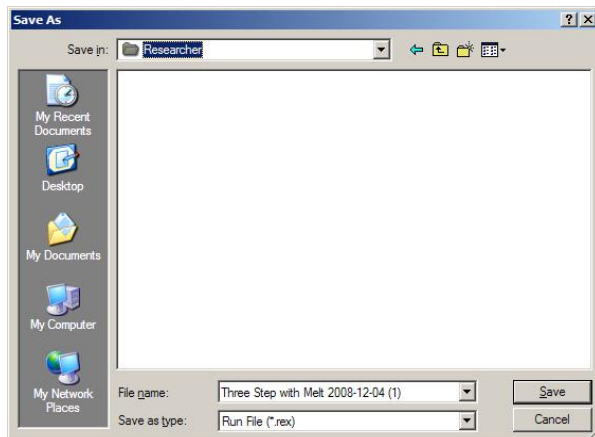
Pasirinkto ruošinio ciklų sąlygos ir duomenų kaupimo kanalai jau yra nustatyti. Šie parametrai gali būti keičiami, naudojantis langu “Edit Profile” (žr. Skyrių 6.2.4).

Norėdami pradėti eksperimentą, spustelėkite “Start Run”. Taip pat yra įmanoma išsaugoti pasirinktą ruošinį, spaudžiant “Save Template”.



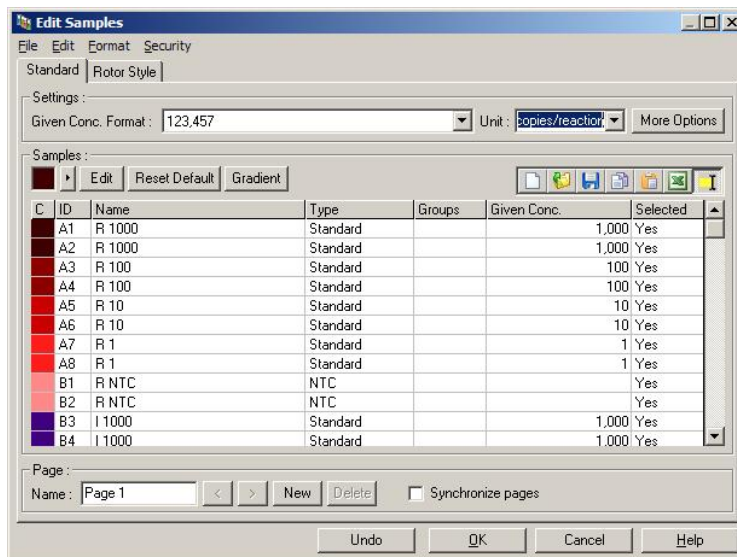
6.1.3 Eksperimento išsaugojimas

Paspaudus “Start Run” mygtuką, pasirodo langas “Save As”. Eksperimentas gali būti išsaugotas pageidaujamoje vietoje. Eksperimentui suteikiamas bylos pavadinimas, sudarytas iš ruošinio pavadinimo ir eksperimento datos. Serijos numeris (1, 2 ir tt.) taip pat gali būti įtrauktas į pavadinimą, automatiškai numeruojant vykdytus kelis eksperimentus tuo pačiu ruošiniu tą pačią dieną.



6.1.4 Mėginio nustatymas

Eksperimentui prasidėjus, lange “Edit Samples” suteikiama galimybė apibūdinti tiriamuosius mėginius.

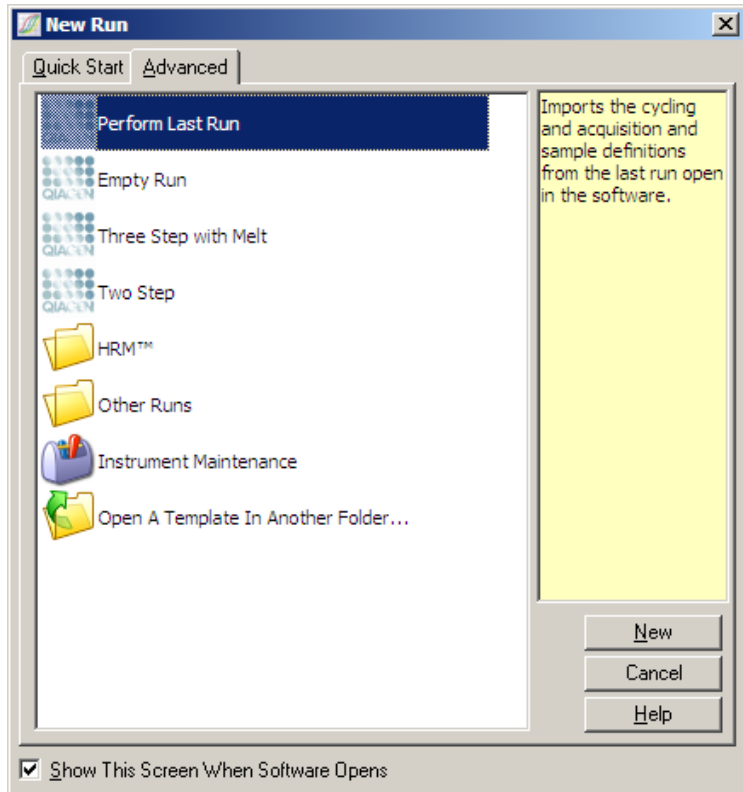


Langas “Edit Samples” pasirodo eksperimentui prasidėjus, taigi tyrėjas turi pakankamai laiko įvesti mėginių pavadinimus. Jeigu eksperimento metu mėginių pavadinimai įvedami labai greitai (pvz., naudojant bar kodų skaitytuvą), tai gali sukelti raidžių perkėlimus mėginių pavadinimuose. Todėl rekomenduojama vengti naudoti bar kodų skaitytuvą, ir jeigu galima, įvesti mėginių pavadinimus pasibaigus eksperimentui. Norėdami daugiau sužinoti apie mėginių apibūdinimo įvedimą lange “Edit Samples”, skaitykite Skyrių 7.8.4.

6.2 Pažangusis vedlys

Pažangusis vedlys suteikia platesnes pasirinkimo galimybes, kurios nėra prieinamos greitos pradėties vedlyje (pvz., įgijimo parametro optimizavimo konfigūracija).

Norėdami naudotis pažangiuoju vedliu, pasirinkite norimą ruošinį du kartus spragtelėdami virš ruošinio simbolio skyrelyje “Advanced”, esančiame lange “New Run”.



Šiame lange pateiktos ruošinio parinktys yra panašios kaip ir greitos pradėties vedlio atveju (Skyrius 6.1).

Perform Last Run (Atlikti paskutinį vykdytą eksperimentą) Pasirinkus “Perform Last Run” bus pasirinkta paskutinio vykdyto eksperimento ciklą sąlygos, mėginių apibūdinimas ir kaupimo būdas.

Empty Run: (Neparuoštas eksperimentas) Pasirinkus “Empty run”, naudotojas gali laisvai pasirinkti ir keisti visus eksperimento profilio parametrus.

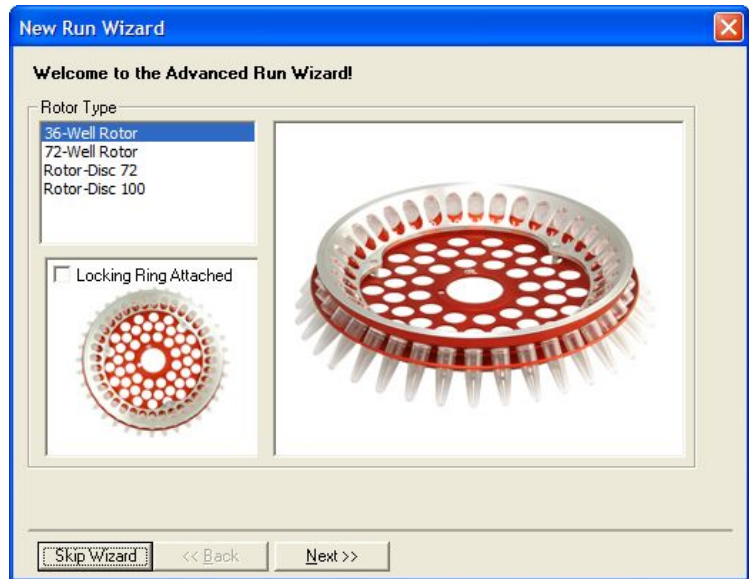
| | |
|--|--|
| Three Step with Melt: (3 etapai su lydymosi kreive) | Trijų etapų ciklo profilis ir lydymasis, naudojant duomenų kaupimą žaliuoju kanalu. |
| Two Step: (2 etapai) | Dviejų etapų ciklo profilis, naudojant duomenų kaupimą tik žaliuoju kanalu, skirtas spartesniam eksperimentui. |
| HRM: | Šiame aplanke yra 2 didelės skiriamosios gebos lydymosi profiliai. |
| Other Runs: (Kiti eksperimentai) | Šiame aplanke yra papildomi eksperimentų profiliai. |
| Instrument Maintenance: (Prietaiso priežiūra) | Pasirinkus “Instrument maintenance”, bus atliekamas optinis temperatūrinių savybių tikrinimas - Optical Temperature Verification (OTV). Norėdami apie tai sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 10. Šis ruošinys turi papildomas apsaugos priemones tam, kad būtų tinkamai naudojamas. |

Pastaba: naudotojo paruošti ruošiniai gali būti įterpiami į standartinių ruošinių sąrašą kopijuojant arba išsaugojant *.ret formato bylas į direktoriją **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates**. Nukopijavus bylas šiuo būdu, sąrašė atsiranda ruošinio simbolis.

6.2.1 Naujo eksperimento vedlio Pirmasis langas

Atsiradus kitam langui, pateiktame sąrašė pasirinkite rotoriaus tipą.

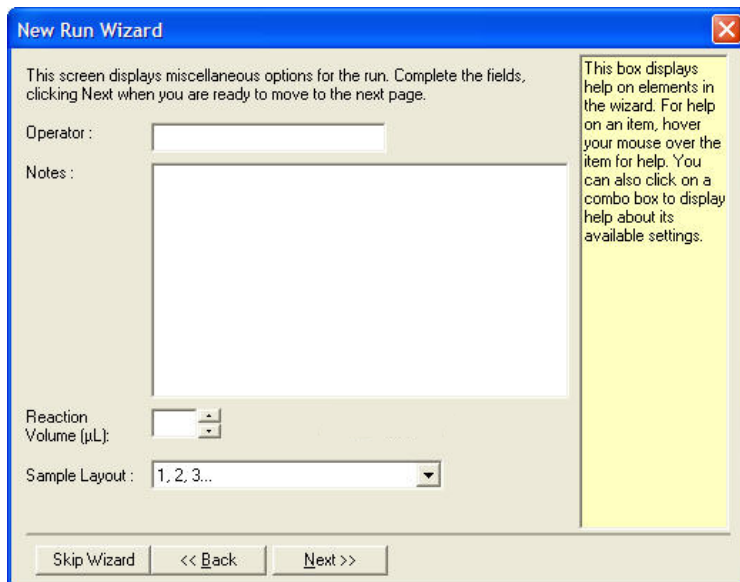
Pažymėkite langelį “Locking Ring Attached” ir spustelėkite “Next”.



6.2.2 Naujo eksperimento vedlio 2 langas

Kitame lange galima įvesti naudotojo vardą ir pastabas apie vykdomą eksperimentą. Taip pat turi būti įvestas vykdomos reakcijos mišinio tūris.

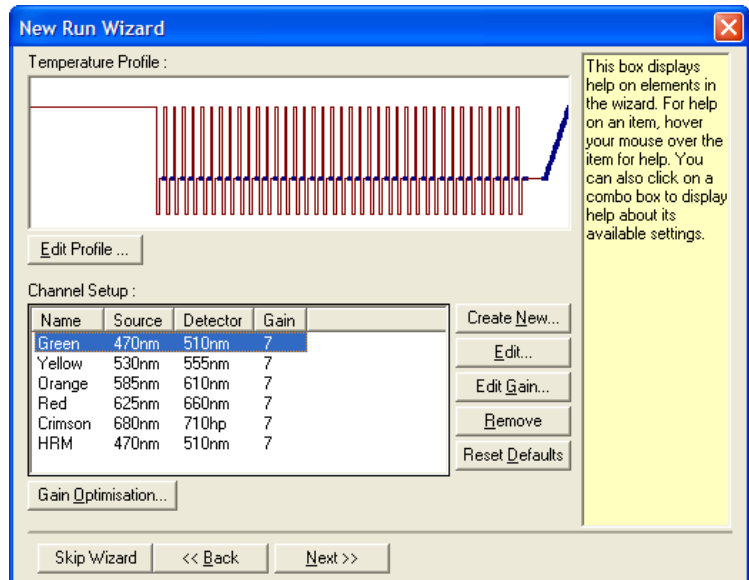
Jei pirmame lange buvo pasirinktas 72-šulinėlių rotorius, trys “Sample Layout” pasirinkimo galimybės pateikiamos naujai pasirodžiusiame lange. “1, 2, 3...” yra standartinė pasirinkimo galimybė. Dauguma naudotojų renkaši būtent ją. “1A, 1B, 1C...” pasirinkimo galimybė yra renkamasi tuomet, kai mėginiai yra išpilstyti gretimose 0,1 ml tūrio mėgintuvėlių juostelėse, naudojantis daugiakanale (8 kanalų) pipete. Esant reikalui, galite pasirinkti ir “A1, A2, A3...” pasirinkimo galimybę.



6.2.3 Naujo eksperimento vedlio 3 langas

Šiame lange gali būti keičiami šie parametrai: “Temperature Profile” ir “Channel Setup”. Paspaudus mygtuką “Edit Profile...”, atsiranda naujas “Edit Profile” langas, kuriame galite keisti ciklą temperatūrinės sąlygas ir duomenų kaupimo kanalus (Skyrius 6.2.4).

Suformavę norimą profilį, spragtelėkite “Gain Optimisation...” mygtuką, tokiu būdu atidarysite langą “Gain Optimisation” (žr. psl. 6-23).



6.2.4 Profilio redagavimas

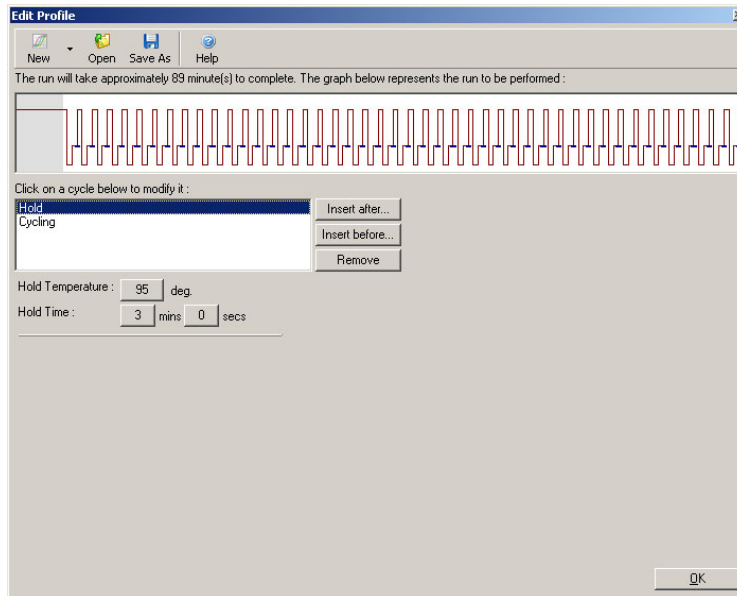
“Edit Profile” lange galite patikslinti ciklų sąlygas ir duomenų kaupimo kanalus. Pradiniai profilio parametrai yra tokie, kaip pasirinkto ruošinio (žr. psl. 6-1). Visas eksperimento profilis yra vaizduojamas grafiškai. Kiekvienas profilio segmento sąlygų sąrašas rodomas žemiau grafinio paveikslo. Sąrašas yra šie parametrai: Hold (Užlaikymas) (psl.6-12), Cycling (Ciklinis režimas) (psl.6-13), Melt (Lydymasis) (psl. 6-16) ir HRM (jei prietaisas turi HRM kanalą) (psl. 6-17).

Kiekviena profilio stadija gali būti redaguojama spragtelėjus atitinkamoje profilio grafinio vaizdo srityje arba virš stadijos pavadinimo sąrašė:

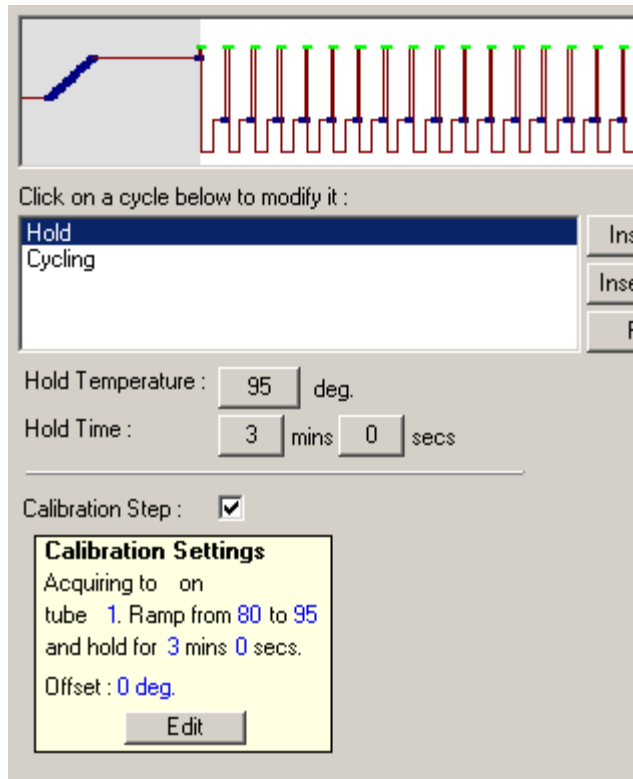
- | | |
|--------------------------------------|---|
| Insert after...: (Įterpti po) | Po pasirinkto ciklo, galima įterpti naują ciklą. |
| Insert before...: (Įterpti prieš) | Prieš pasirinktą ciklą, galima įterpti naują ciklą. |
| Remove: (Pašalinti) | Iš profilio galima pašalinti pasirinktą ciklą. |

Užlaikymas (Hold)

Komanda “Hold” nurodo Rotor-Gene Q MDx palaikyti pastovią norimą temperatūrą nustatytą laiko tarpą. Norėdami pakeisti temperatūros reikšmę, spagtelėkite mygtuką “Hold Temperature” ir slinkdami valdymo juostele, nustatykite arba rankiniu būdu įveskite norimą temperatūros reikšmę. Norėdami pakeisti užlaikymo trukmę, spragtelėkite mygtukus “Hold Time”, “mins” ir “secs”.



Jei vykdomas Optical Denature Cycling (Optinis denatūracinis ciklinis režimas), užlaikymas gali būti naudojamas kaip kalibracinis etapas. Šiuo atveju, kalibracinė lydymosi kreivė atliekama prieš užlaikymą. Pagal standartinę nustatymą, tai yra sukonfigūruota pirmam užlaikymui eksperimente, bet, esant poreikiui, gali būti keičiama.



Norėdami daugiau sužinoti apie optinį denatūracinį ciklinį režimą, skaitykite psl. 6-17.

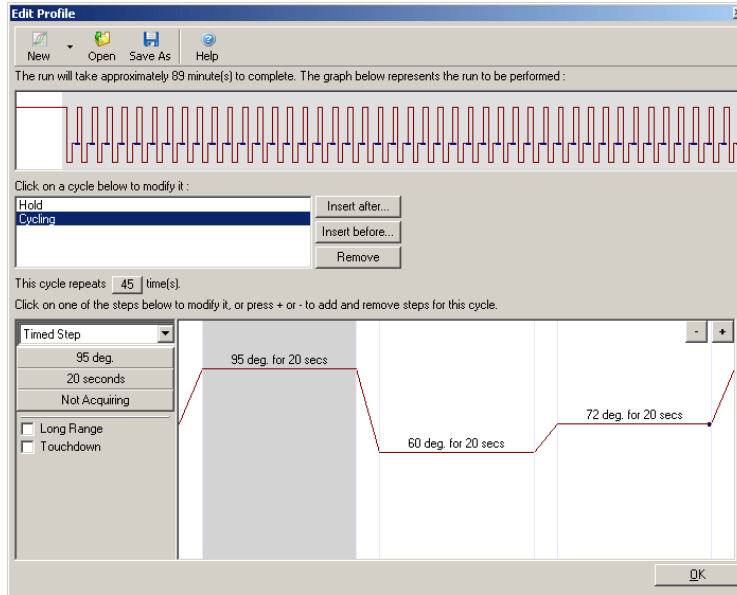
Ciklinis režimas

Ciklinis režimas – tai naudotojo nustatyti atitinkamą kartų skaičių pasikartojantys ciklai su naudotojo parinktais temperatūriniais etapais. Pasikartojimų skaičius nustatomas spustelėjus mygtuką “This cycle repeats X time(s)”.

Vieno ciklo etapų schema rodoma grafiniu pavidalu (kaip parodyta žemiau esančiame paveikslėlyje). Kiekvienas ciklo etapas gali būti keičiamas. Temperatūros reikšmė gali būti keičiama koreguojant temperatūros kreivės padėtį grafike aukštyn-žemyn. Kiekvieno etapo trukmė gali būti keičiama patempus grafiko kraštus į kairę arba dešinę. Taip pat visa tai galima atlikti spragtelėjus virš norimo etapo srities ir

pasinaudojus grafiko kairėje pusėje esančiais temperatūros ir laiko nustatymo mygtukais.

Naujų etapų įtraukimas arba nereikalingų pašalinimas cikle gali būti atliekamas mygtukais “-“ ir “+”, esančiais viršutinėje dešinėje grafiko pusėje.



Long Range
(Ilgalaikis
modelis):

Pažymėję šį langelį, pailginsite etapo užlaikymo trukmę viena sekunde kiekviename naujame cikle.

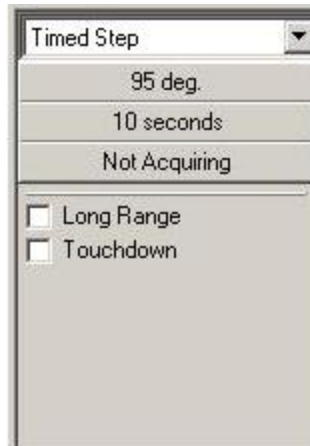
Touchdown
(Mažinimas):

Pažymėję šį langelį, sumažinsite temperatūrą norimu skaičiumi laipsnių pageidaujame pradinį ciklų skaičiuje. Tai bus rodoma ekrane.

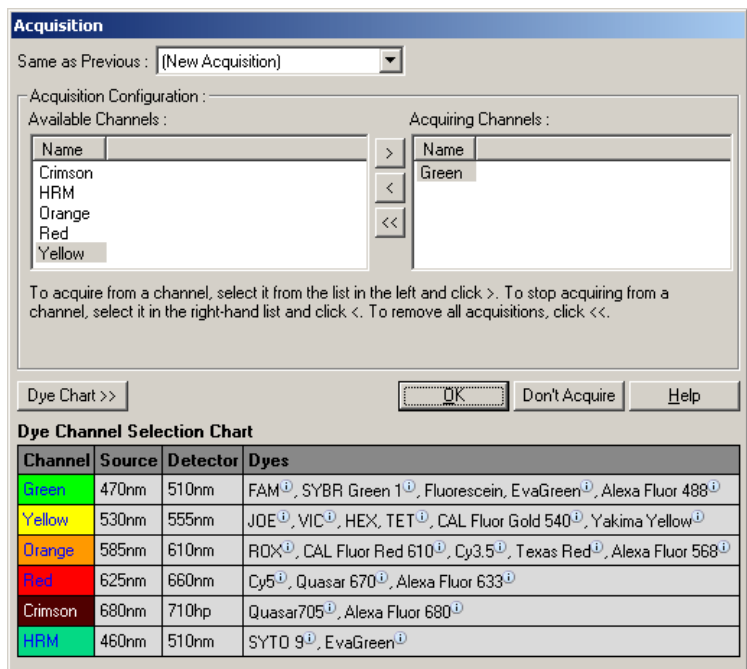
Duomenų kaupimas




Duomenys gali būti kaupiami bet koku kanalu bet kokiame ciklo etape. Norėdami nustatyti kanalą duomenų kaupimui, spragtelėkite mygtuką “Not Acquiring” (jei kanalas jau buvo pasirinktas duomenų kaupimui šiame etape, tuo metu

pasirenkamų kanalų sąrašas yra pateikiamas pasirodžiusiame lange).



Paspaudus mygtuką “Not Acquiring”, pasirodo langas “Acquisition”.



Norėdami nustatyti kanalą duomenų kaupimui, pasirinkite ir įtraukite norimą kanalą iš sąrašo “Available Channels” į sąrašą “Acquiring Channels” naudodamiesi mygtuku . Norėdami pašalinti pasirinktą kanalą iš sąrašo “Acquiring Channels”, naudokite mygtuką . Mygtuku  pašalinami visi kanalai iš sąrašo “Acquiring Channels”. Spragtelėdami mygtuką “Don't Acquire”, panaikinsite etapo duomenų kaupimo funkciją.

Jei profilyje yra daugiau nei viena ciklinio režimo seka, sukauptais duomenimis galima papildyti prieš tai buvusio ciklo sukauptus duomenis. Lange “Same as Previous” pasirinkite ciklo etapą, kurio sukaupti duomenys bus papildyti.

Dažų kanalo pasirinkimo schema (Dye Channel Selection Chart) padės Jums pasirinkti tinkamą kanalą, atsižvelgiant į naudojamus dažus. Lentelėje pateikti dažai yra dažniausiai naudojami, tačiau dirbant šiuo prietaisu galima naudoti ir kitus dažus.

Visos šios aprašytos duomenų kaupimo pasirinkimo galimybės tinka ir lydymosi etapams, išskyrus duomenų kaupimo papildymą, naudojantis funkcija “Same as Previous”.

Lydimasis ir hibridizacija

Lydimasis (Melt) yra rampa (nuožulnioji plokštuma) tarp dviejų temperatūrų – nuo mažesnės link aukštesnės. Leidžiamas temperatūrų intervalas yra 35–99°C.

Norėdami nustatyti lydymosi funkciją, pažymėkite pradinę, galutinę temperatūrą, jos prieaugį, pirmojo duomenų kaupimo užlaikymo trukmę, temperatūros prieaugio užlaikymo trukmę ir kaupimo kanalus.

Rampa (nuožulnioji plokštuma) formuojama tarp dviejų temperatūros reikšmių. Jei pradinė temperatūra aukštesnė už galutinę, etapo pavadinimas pasikeis į “Hybridisation”. Pasirinkimo galimybė “Acquiring To” (Melt A žemiau pateiktame paveikslėlyje) gali būti keičiama spustelėjus šį

mygtuką. Pasirodžius langui “Acquisition”, galima pasirinkti norimą kanalą.

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

Atliekant standartinę lydymosi kreivę, temperatūros reikšmė didėja kas 1°C, su 5 sekundžių užlaikymu prieš kiekvieną kaupimą. Rotor-Gene Q MDx gali būti nustatomas taip, kad lydymosi kreivės temperatūros reikšmė didėtų kas 0,02°C. Minimali užlaikymo trukmė tarp temperatūrinių etapų priklauso nuo kiekvieno etapo temperatūros reikšmės.

Didelės skiriamosios gebos lydymosi kreivė

Didelės skiriamosios gebos lydymosi kreivė (angl., HRM) charakterizuoja dvigrandės DNR mėginius, atsižvelgiant į jų disociacijos (lydymosi) būdą. Tai labai panašu į klasikinę lydymosi kreivės analizę, bet suteikia žymiai daugiau informacijos, naudingos platesniam pritaikymui. Mėginiai gali būti vertinami pagal jų DNR nukleotidų seką, jos ilgį, GC sąstatą, grandinių komplementarumą, vienos bazių poros pokytį.

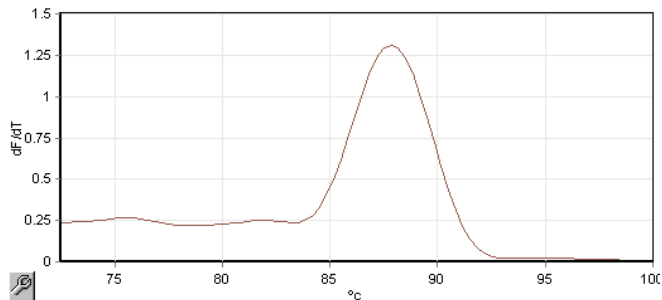
HRM analizė gali būti atliekama tik tais prietaisais, kuriuose įdiegta HRM techninė ir programinė įranga. Duomenys kaupiami specialiais HRM šaltiniais ir detektoriais. HRM analizė taip pat leidžia įgijimo parametro optimizaciją (Gain Optimisation) prieš prasidedant lydymuisi. HRM analizės rezultatai gali būti analizuojami HRM programine įranga (Skyrius 11).

Optinis denatūracinis ciklinis režimas

Optinis denatūracinis ciklinis režimas yra ypatinga Rotor-Gene Q MDx metodika, leidžianti atlikti tikrojo laiko lydymosi analizę, nustatant lydymosi pikus kontroliniuose

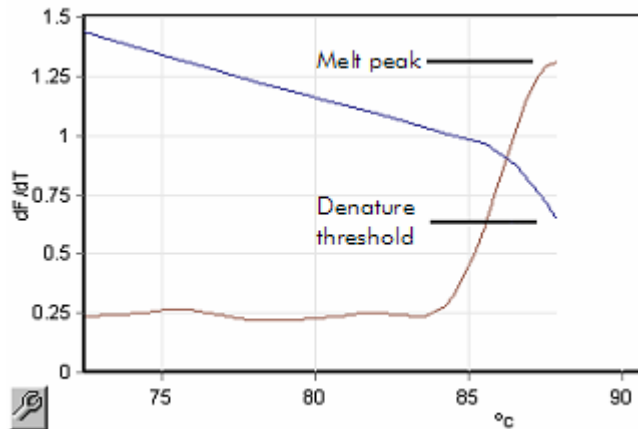
mėginiuose. Tai žymiai tiksliau pažymi PGR produktų denatūracijos temperatūrą nei tam tikros denatūracinės temperatūros įvedimas. Norėdami pasinaudoti šia funkcija, paprasčiausiai į pirmąją rotoriaus poziciją įstatykite kontrolinį PGR produkto mėgintuvėlį. Kontroliniame mėgintuvėlyje taip pat turi būti detekcijai reikalingų cheminių medžiagų, leidžiančių užfiksuoti grandinių disociaciją.

Pagal standartinį nustatymą, vykstant kaitinimui iki pradinės denatūracinės temperatūros, lydymasis atliekamas žaliuoju kanalu nuo 80°C iki 95°C. Naudotojas gali pats pasirinkti lydymosi parametrus. Naudojantis šiais duomenimis, formuojama ir analizuojama lydymosi kreivė.



Lydymosi pikas naudojamas kaip kontrolinis denatūracijos slenkstis nežinomiems mėginiams. Taigi, ties kiekvienu optinio denatūracinio ciklo etapu, prietaisas vykdo kaitinimą kiek įmanoma greičiau ir pastoviai vyksta duomenų kaupimas. Kai tik kontrolinis mėgintuvėlis pasiekia denatūracijos slenkščio fluorescencijos lygį, prietaisas nedelsiant vykdo vėsinimą ir pereina prie kito ciklo užprogramuoto etapo. Vykstant cikliniam režimui pikai nėra apskaičiuojami. Vietoje to, fluorescencijos lygis nukreipiamas į lydymosi piką ir nustatomas denatūracijos slenkstis.

Žemiau pateiktame grafike matyti kaip neapdoroti fluorescencijos signalų nuskaitymai persidengia su pirmojo darinio kreive. Tai rodo atitikimą tarp denatūracijos slenkščio ir kalibracijos metu gauto lydymosi piko.



Norint atlikti optinį denatūracinį ciklinį režimą (Optical Denature Cycling), Jums reikės:

- Iš anksto padauginto PGR produkto mėgintuvėlyje, įstatytame pirmoje rotoriaus pozicijoje. Šiame mėginyje turi būti tas pats PGR produktas kaip ir tiriamuosiuose mėginiuose, taip pat detekcijai reikalingų cheminių medžiagų, kurių pagalba nustatoma PGR produkto disociacija.
- Optinio denatūracinio profilio. Gali būti sukuriamas naujas arba redaguojamas jau esantis profilis (toliau bus pateikta detalesnė informacija).

Optinis denatūracinis ciklas (Optical Denature Cycle) yra labai panašus į kitus ciklus. Principinis skirtumas yra toks, kad lydymosi etapas automatiškai įterpiamas profilio pradžioje ir yra ryškus profilio denatūracijos etapo ciklinio režimo metu. Optiniam denatūraciniam ciklui nereikia nustatyti užlaikymo trukmės, kadangi produkto disociacija stebima kiekviename cikle.

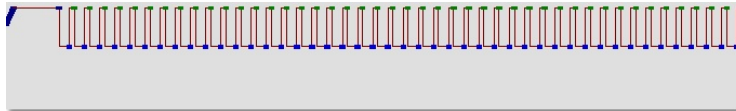
Naudojantis šiuo metodu, eksperimento nustatymuose reikia pateikti šią informaciją:

- Pradinė denatūracijos temperatūra. Tai tokia pati temperatūra kaip ir denatūracijos (Denaturation) etape standartinio ciklinio režimo profilyje.
- Mėgintuvėlio, kurio PGR produktas naudojamas lydymosi kreivės formavimui žaliuoju kanalu, pozicija.


- Apibūdinti optinio denatūracinio ciklinio režimo profilį.

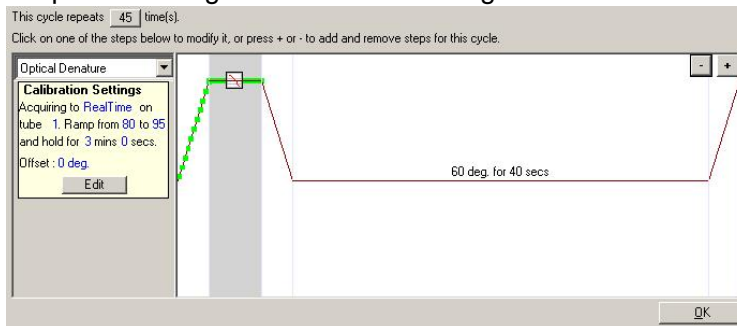
Norint sukurti naują optinį denatūracinį ciklą, reikia:

1. Atidaryti langą “Edit Profile”, spragtelėti “New”. Pasirodžiusiame lange spragtelėti mygtuką “Insert after” ir pasirinkti “New Cycling”. Spragtelėdami virš grafiko, pasirinkite norimą temperatūrinį etapą. Pasirodžiusiame lange pakeiskite “Timed Step” į “Optical Denature”. Pasirodo standartinis profilis, turintis denatūracijos ir optinio denatūracinio ciklo etapus.

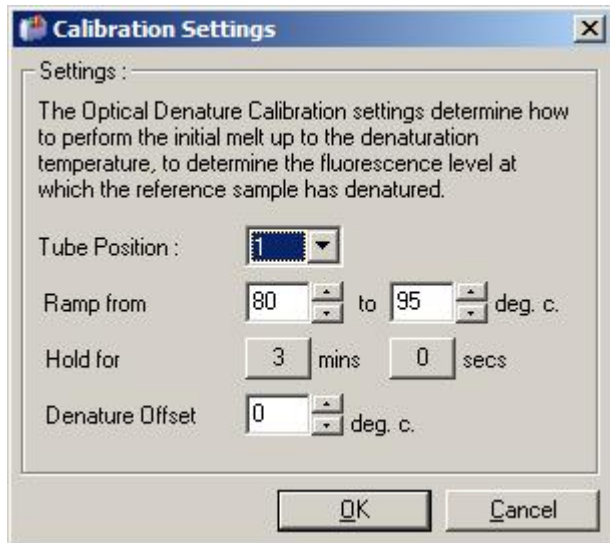


Eksperimento pradžioje pasirodžiusi nuožulni sritis reiškia vykstančią kalibraciją. Žali taškai reiškia kiekviename cikle esant kaitinimui vykdomą duomenų kaupimą. Mėlyni taškai reiškia duomenų kaupimą prilydimo etapo pabaigoje 60°C temperatūroje. Pažymėtina, kad profilyje matomi vienodi denatūracijos etapai. Jei eksperimento pabaigoje mėginiams reikia truputį ilgesnės lydymosi trukmės, optinė denatūracija užlaikoma remiantis fluorescencijos duomenimis, ne pagal laiką. Dėl šios priežasties temperatūrinė žymė gali kisti kiekviename cikle.

2. Spragtelėkite pirmoje grafiko pusėje esantį optinės denatūracijos simbolį . Kairėje ekrano pusėje pasirodo langas “Calibration Settings”.

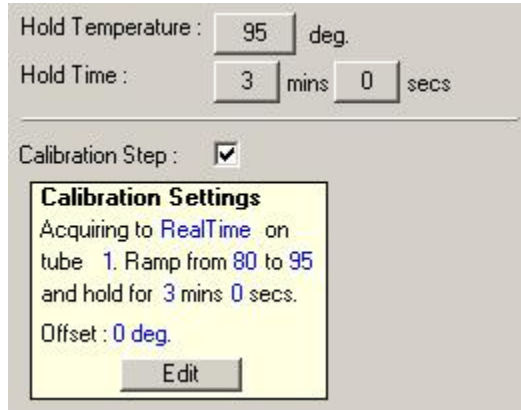


3. Lange “Calibration Settings” pateikta informacija dažniausiai yra teisinga. Esant reikalui, ją galima modifikuoti, spragtelėjus “Edit”. Pasirodo langas “Calibration Settings”.



4. Įsitikinkite, kad:
- Mėgintuvėlyje, kuris įstatytas pažymėtoje pozicijoje “Tube Position”, yra PGR produktas, pagal kurį lydymosi pikas bus rodomas žaliuoju kanalu.
 - Galutinė rampos temperatūrą neperkaitins mėginio, tačiau ji turi būti pakankama jam išlydyti.
 - Užlaikymo trukmė yra pakankama denatūruoti mėginiui.
 - Tinkamai subalansuota denatūracija. 0°C laipsnių standartas yra tinkamas daugeliui lydymusi. Labai ryškaus perėjimo lydymams gali būti reikalingas nuo –0,5°C iki –2°C laipsnių balansavimas, nustatomas naudotojo, taip užtikrinant lydymosi perėjimo detekciją.

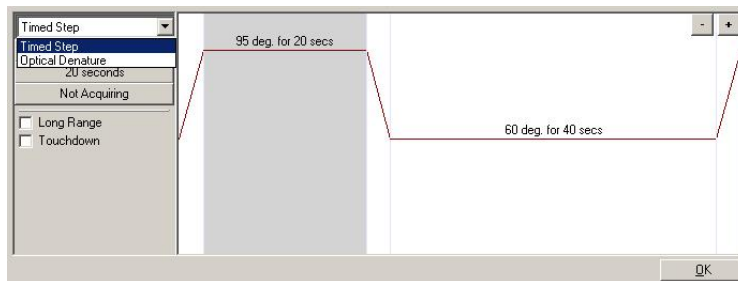
Denatūracijos (Denaturation) etapą taip pat galima nustatyti įterpiant naują užlaikymo (Hold) etapą. Spragtelėkite “Insert before” ir pasirodžiusiame lange pasirinkite “New Hold at Temperature”. Pasirodo kalibravimo nustatymai.




Kalibravimo nustatymai sinchronizuojami kartu su denatūracijos nustatymais, taigi užlaikymo trukmės keitimas denatūracijos (Denature) etape lems automatinį kalibravimo užlaikymo trukmės atnaujinimą. Taip yra todėl, kad kalibravimo ir denatūracijos procesai yra ekvivalentūs optinio denatūravimo cikliniame režime.

Esančio etapo keitimas, naudojantis optinio denatūravimo cikliniu režimu

Norėdami pakeisti jau esantį denatūracijos (Denature) etapą ciklinio režimo sekoje, lange "Edit Profile" esančiame sąrašė pasirinkite ciklą. Toliau, spragtelėdami pasirinkite denatūracijos (Denature) etapą.



Pasirodžiusiame lange pasirinkite "Optical Denature". Temperatūros ir užlaikymo reikšmės panaikinamos ir ekrane rodomas "Optical Denature" simbolis .

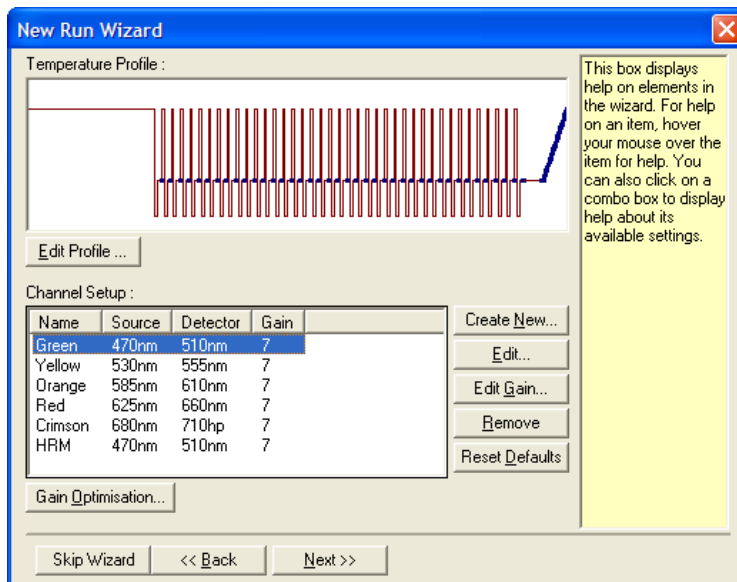
Įgijimo parametro optimizavimas

Nustatant parametrus naujam eksperimentui, naudinga pasinaudoti funkcija "Gain Optimisation". Tai suteikia galimybę optimizuoti įgijimo (Gain) parametą, kurio dėka nustatomas pradinės fluorescencijos bangų intervalas pasirinktoje temperatūroje (temperatūroje, kurioje vyksta duomenų kaupimas) kiekviename duomenis kaupiančiame kanale. Įgijimo optimizavimo funkcijos tikslas yra užtikrinti, kad būtų užfiksuoti ir surinkti visi į detektoriaus dinaminį intervalą patenkantys duomenys. Jei įgijimo parametro reikšmė per žema, gautą signalą sunku atskirti nuo foninių trukdžių. Jei šio parametro reikšmė per aukšta, signalas viršija matavimo skalę (įsotinimas).

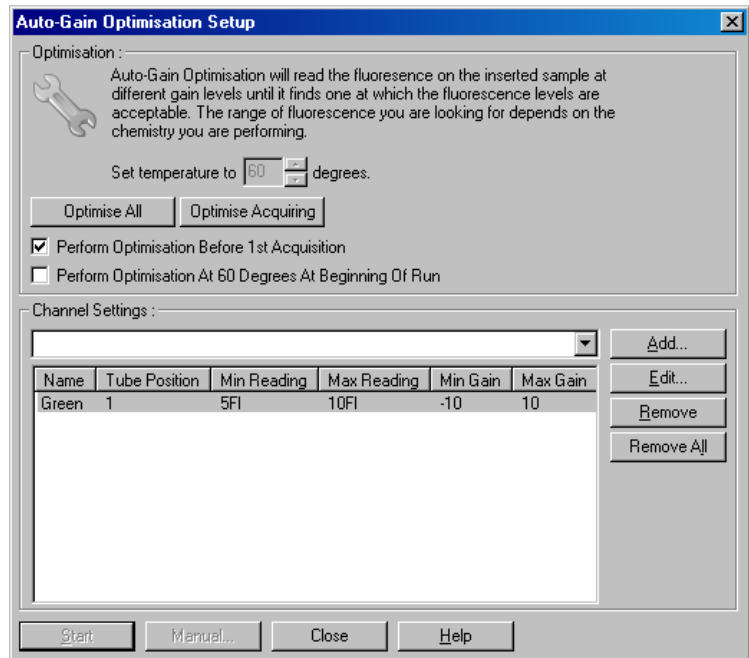
Kiekvieno kanalo įgijimo parametro reikšmių intervalas yra nuo -10 iki 10; -10 reiškia mažiausią, o 10 – didžiausią jautrumą.

Vykdamas reakcijas pirmą kartą, rekomenduojame paruošti kontrolinį mėginį, kuriame būtų visi reakcijai reikalingi komponentai. Įstatykite kontrolinį mėginį į Rotor-Gene Q MDx ir naudodamiesi įgijimo parametro optimizavimo (Gain Optimisation) funkcija, nustatykite optimaliausią įgijimo parametro reikšmę. Jei šia funkcija pasirinkus tam tikrą parametro reikšmę gaunamas silpnas signalas, "Target Sample Range" reikšmė turi būti padidinta; jei gaunamas signalas yra įsotintas – ši reikšmė turi būti sumažinta.

Norėdami atlikti įgijimo parametro optimizavimą, spragtelėkite mygtuką "Gain Optimisation...", esantį Naujo eksperimento vedlio (New Run Wizard) Trečiame lange (skaitykite Skyrių 6.2.3).



Pasirodo langas “Auto-Gain Optimisation Setup”. Šiame lange galima atlikti optimizavimą, automatiškai suderinus įgijimo parametro reikšmes, kai visų pasirinktų kanalų nuskaitymai patenka žemiau tam tikros slenkstinės vertės.



Set temperature to:
(Nustatyti temperatūrą)

Prieš nuskaitymą Rotor-Gene Q MDx vykdo kaitinimą ar vėsinimą tam, kad būtų pasiekta reikiama temperatūra. Standartiniu nustatymu parinkta temperatūra, kurioje vykdomas duomenų kaupimas.

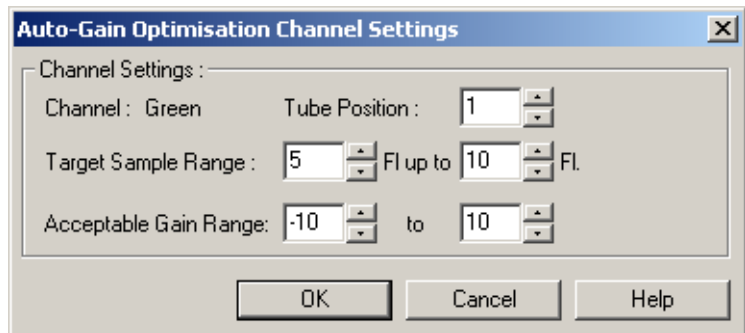
Optimise All/Optimise Acquiring:
(Optimizuoti visus/Optimizuoti kaupiančius)

“Optimise All” funkcija yra bandoma optimizuoti visus programinės įrangos atpažintus kanalus. “Optimise Acquiring” funkcija yra optimizuojami tik tie kanalai, kurie naudojami eksperimento šiluminiame profilyje (ciklinio režimo ir lydymosi metu).

| | |
|--|--|
| Perform Optimisation Before 1st Acquisition: (Atlikti optimizavimą prieš pirmąjį kaupimą) | Pažymėjus šį langelį, įgijimo parametro optimizavimas yra atliekamas pirmame cikle, kuriame vykdomas duomenų kaupimas. Tai rekomenduojama automatinio įgijimo parametro optimizavimo atveju. |
| Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run: (Atlikti optimizavimą (X) laipsnių temperatūroje prieš vykdant eksperimentą) | Pažymėjus šį langelį, įgijimo parametro optimizavimas atliekamas prieš vykdant eksperimentą. Rotor-Gene Q MDx atlieka kaitinimą iki pasirinktos temperatūros, vykdomas įgijimo parametro optimizavimas, o jam pasibaigus prasideda įprastas ciklinis režimas (paprastai nuo denatūracijos etapo). Ši galimybė gali būti pasirenkama tuomet, kai įgijimo parametro optimizavimas gali užtrukti per ilgai eksperimento pradžioje etape. Įprastai, dažniausiai renkamosi “Perform Optimisation Before 1st Acquisition”, kadangi įgijimo optimizavimą stengiamasi atlikti kiek įmanoma arčiau tikro eksperimento sąlygų. |
| Channel Settings: (Kanalų nustatymas) | Šiame lange galima įtraukti papildomus kanalus. Pasirinkite norimą kanalą ir spustelėkite “Add”. |

Edit...:
(Redaguoti)

Šiame lange galima keisti “Target Sample Range” parametą. Šis parametras yra pradinės fluorescencijos šviesos spektras, nustatomas atitinkamai pasirinktam mėginiui. Automatinio įgijimo parametro optimizavimo funkcijos pagalba nuskaitomas kiekvienas kanalas, nustatytas pagal įgijimo parametro reikšmę pagal funkciją “Acceptable Gain Range”. Pasirenkama pirmoji įgijimo parametro reikšmė, atitinkanti fluorescencijos nuskaitymą “Target Sample Range”. Kaip parodyta žemiau pateiktame pavyzdyje, automatinio įgijimo optimizavimo funkcija ieško įgijimo parametro reikšmės tarp –10 ir 10, leidžiančios vykdyti 1 mėgintuvėlio nuskaitymą tarp 5 ir 10 FI. Apskritai, interkaliojantiems dažams tinkama “Target Sample Range” reikšmė yra 1–3 FI, tuo tarpu 5–10 FI labiau tinkama cheminiams zondams.



Remove/
Remove All:
(Pašalinti/Pašalinti
visus)

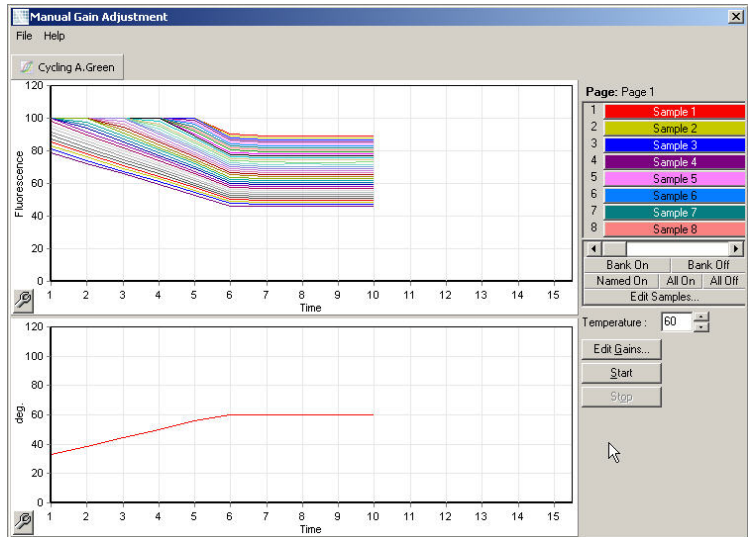
Funkcija “Remove” pašalina pasirinktus kanalus. Funkcija “Remove All” pašalina visus kanalus.

| | |
|---|---|
| Start: (Pradžia) | Funkcija “Start” pradeda įgijimo parametro optimizavimą. Įgijimo parametro reikšmė parenkama pagal fluorescencijos signalo lygį pasirinktame intervale. Jei fluorescencijos signalas patenka už pasirinkto intervalo ribų, parenkama artimiausia įmanoma įgijimo parametro reikšmė. |
| Manual: (Rankinis valdymas) | Ši funkcija atidaro “Manual Gain Adjustment” langą (žr. psl. 6-28). |
| Changing Gain During a Run: (Įgijimo parametro keitimas eksperimento metu) | Jei eksperimento pradžioje įgijimo parametro reikšmė yra per aukšta ar per žema, ji gali būti keičiama pirmųjų 10 ciklų eigoje. Toje vietoje, kur buvo pakeista šio parametro reikšmė, atsiranda vertikali linija. Anksčiau įvykę ciklai pašalinami iš analizės duomenų. |

Pastaba: įgijimo parametro optimizavimo metu gali būti parenkami nustatymai, nepatenkantys į pasirinktą intervalą. Tai gali lemti fluorescencijos pakitimai po pirmojo užlaikymo (Hold) etapo. Vis dėlto, įgijimo parametro optimizavimas suteikia naudingų fluorescencijos lygio išvalgų prieš pradedant eksperimentą.

Rankinis įgijimo parametro derinimas (Manual Gain Adjustment)

Norėdami atlikti rankinį įgyjimo derinimą, spragtelėkite mygtuką “Manual...”, esantį lange “Auto-Gain Optimisation Setup”. Pasirodo langas “Manual Gain Adjustment”. Šiame lange tikroju laiku pateikiami fluorescencijos nuskaitymų duomenys bet kokioje temperatūroje. Ši funkcija naudojama, kai nėra žinoma mėginio prigimtis, dėl ko reikia apibrėžti įgijimo parametro reikšmę užtikrinant pakankamą signalo detekciją.



Pagal standartinį nustatymą, ekrane rodomi visi mėginiai. Mėginius galima panaikinti ar papildyti naujais, naudojant ekrano dešinėje esančią tvarkyklę. Tvarkyklę sudaro skirtingų spalvų langeliai, kurių kiekvienas ekrane atitinka atskirą mėginį. Ryškių spalvų langelius atitinkantys mėginiai rodomi ekrane, tuo tarpu blankių spalvų langelių mėginiai nerodomi. Norimi mėginiai gali būti aktyvuojami/inaktyvuojami spragtelėjus arba patempus atitinkamus langelius kompiuterio pelės žymekliu.

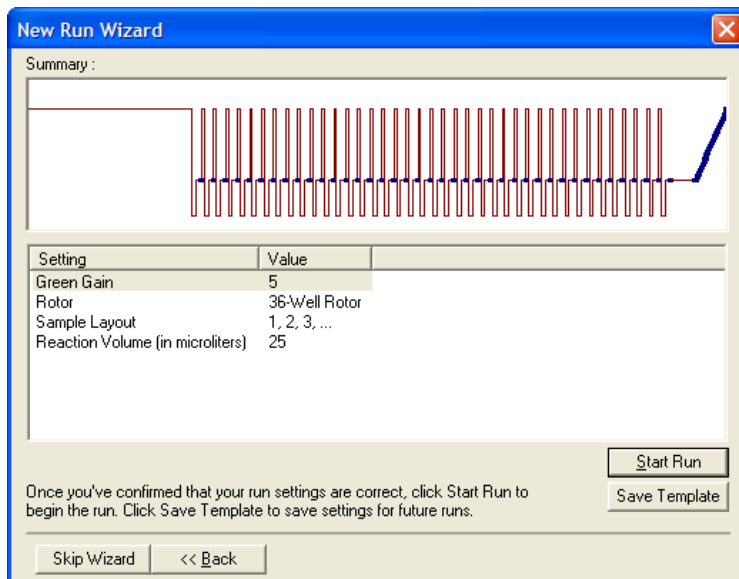
Rekomenduojame atlikti rankinį įgijimo parametro derinimą kaip aprašyta:

1. Lange “Manual Gain Adjustment” suderinkite eksperimento vykdymui reikalingą duomenų kaupimo temperatūrą.
Pastaba: veikiant Rotor-Gene Q MDx, temperatūros derinimas negalimas. Norėdami patvirtinti temperatūros pakeitimus, iš naujo paleiskite Rotor-Gene Q MDx.
2. Spragtelėkite mygtuką “Start”. Eksperimentas prasideda. Rotor-Gene Q MDx suderina temperatūrą, kaip nustatyta lange. Ekrane matomame grafike pateikiami gaunami duomenys.

3. Luktelėkite, kol temperatūra stabilizuosis.
4. Pažymėkite galutinį fluorescencijos nuskaitymo tašką (FI).
5. Jei FI nepatenka į norimą lygį, spragtelėkite mygtuką “Edit Gains...” ir pataisykite taip, kaip pageidaujate. Tai gali įvykti ne iš karto, kadangi Rotor-Gene Q MDx užtrunka ~4 sekundes tam, kad sukauptų kiekvieno kanalo duomenis kiekviename taške. Tuo metu laikinai inaktyvuojama naudotojo prieiga.
6. Pakartokite šį procesą kol FI pasieks norimą lygį.
7. Spragtelėkite mygtuką “Stop”. Jei paspaudus mygtuką “Stop” duomenys vis dar kaupiami, Rotor-Gene Q MDx pirmiausia baigia duomenų kaupimą, ir tik tada sustabdo eksperimentą. Tai gali užtrukti iki 5 sekundžių kiekvienam kaupiančiajam kanalui.

6.2.5 Naujo eksperimento vedlio 4 langas

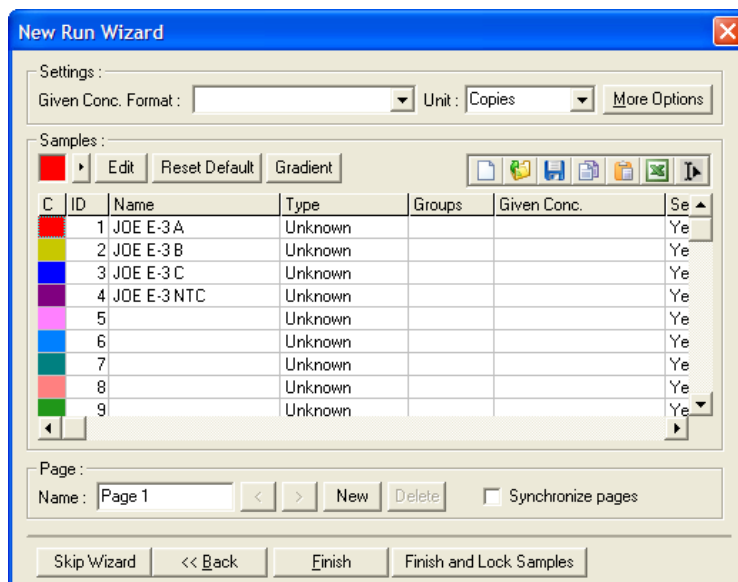
Šiame lange apibendrinami naujo eksperimento parametrai. Patikrinkite juos, ir jei jie yra teisingi, spragtelėkite mygtuką “Start Run”. Jums bus pasiūlyta suteikti bylai pavadinimą. Jūs taip pat galite išsaugoti eksperimento nustatymus kaip ruošinį tolimesniems eksperimentams. Tam reikia naudoti mygtuką “Save Template”.



6.2.6 Naujo eksperimento vedlio 5 langas

Vykstant eksperimentui, šiame lange galite suvesti mėginių tipus ir jų aprašymus. Tai padaryti galima taip pat kaip ir lange “Edit Samples” (psl. 7-80). Informacija apie mėginius taip pat gali būti suvedama ir eksperimentui pasibaigus.

Mygtukas “Finish and Lock Samples” leidžia apsaugoti mėginių pavadinimus nuo atsitiktinio jų pakeitimo. Daugiau informacijos apie šią ir kitas saugumo funkcijas rasite skyriuje „Rotor-Gene Q programinės įrangos prieigos apsauga“ (7-91 psl.).

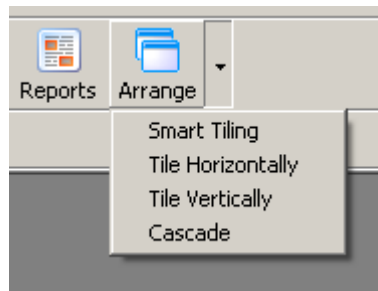


7 Naudotojo analizės sąsaja

Šiame skyriuje aprašoma Rotor-Gene Q programinės įrangos naudotojo sąsaja.

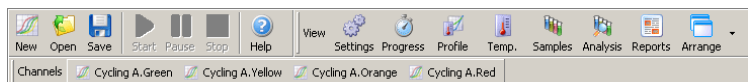
7.1 Darbinė erdvė

Darbinė erdvė yra pagrindinio lango fonas. Šioje srityje galima atidaryti neapdorotų duomenų grafikus ir analizuotų duomenų paketus. Jei tuo pačiu metu aktyvuoti keli langai, juos galima organizuoti spragtelėjus įrankių juostoje esanti mygtuką “Arrange”. Yra keletas langų išdėstymo variantų, kuriuos galima pasirinkti spragtelėjus greta “Arrange” esanti mygtuką.



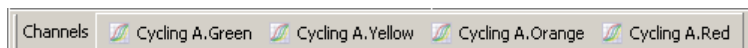
7.2 Įrankių juosta

Šioje juostoje pateikiami dažniausiai naudojamų operacijų greitos prieigos simboliai. Šios operacijos taip pat gali būti pasiekiamos naujai pasirodančiuose languose.



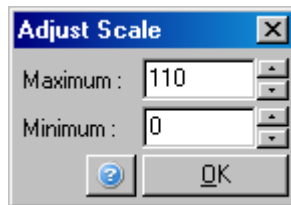
7.3 Neapdorotų duomenų peržiūra

Spragtelėjus šiuos mygtukus, yra įmanoma konkrečių eksperimento kanalų neapdorotų (neanalizuotų) duomenų peržiūra.



Peržiūrint duomenis, įmanomi keli duomenų pateikimo variantai. Taip pat neapdorotus duomenis galima transformuoti, taip palengvinant skirtingų jų tipų analizę.

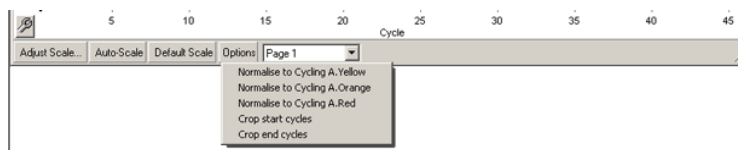
Adjust Scale: (Skalės suderinimas) Norėdami pasirinkti “Adjust Scale”, spragtelėkite dešiniuoju pelės mygtuku atitinkamą langą. Lange “Adjust Scale” galite patikslinti skalę.



Autoscale: (Automatinis skalės parinkimas) “Autoscale” funkcija mėgina automatiškai pritaikyti skalę, atsižvelgdama į duomenų nuskaitymo minimumus ir maksimumus.

Default Scale: (Standartinė skalė) “Default Scale” vėl atstato skalę nuo 0 iki 100 fluorescencijos vienetų.

“Veržliarakčio” simbolis Norėdami sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 8.5.



Options: (Parinktys) Kaip parodyta viršuje, paspaudus šį mygtuką pasirodo naujas langas, suteikiantis neanalizuotų duomenų transformacijos galimybes.

| | |
|--|---|
| Normalise to ...: (Normalizuoti pagal) | Ši funkcija leidžia padauginimo duomenų normalizavimą pagal pasyvaus kontrolinio dažo (pvz., ROX) kitame kanale sukauptus duomenis. |
| Crop start cycles: (Pradinių ciklų pašalinimas) | Ši funkcija leidžia sukurti naujo kanalo sukauptų duomenų rinkinį, pagal kurį gali būti pašalinami kai kurie pradiniai ciklai. Tai naudinga tuo atveju, jei pradiniuose cikluose stebimi dideli šuoliai, atsirandantys dėl tam tikrų cheminių reagentų naudojimo. |
| Crop end cycles: (Galutinių ciklų pašalinimas) | Ši funkcija leidžia sukurti naujo kanalo sukauptų duomenų rinkinį, pagal kurį gali būti pašalinami kai kurie galutiniai ciklai. |
| Page 1: (Blokas 1) | Rodomas blokas, kuriame vaizduojami tuo metu neanalizuotų duomenų grafikai. Lange "Edit Sample" galima sukurti sudėtinis mėginių apibrėžimus. Pavyzdžiui, duomenys gali būti vaizduojami skirtingo storio linijomis, skirtingais mėginių apibrėžimais ir kt. Tai ypač naudinga, jei vieninteliu kanalu atliekama santykinė kiekybinė analizė, kadangi tyrėjas gali lengvai perjungti pateikiamus dominančio geno ir bendrųjų mėginio duomenų vaizdus, pasirinkus mėginio bloką 2. |

7.4 Mėginių rūšiavimas

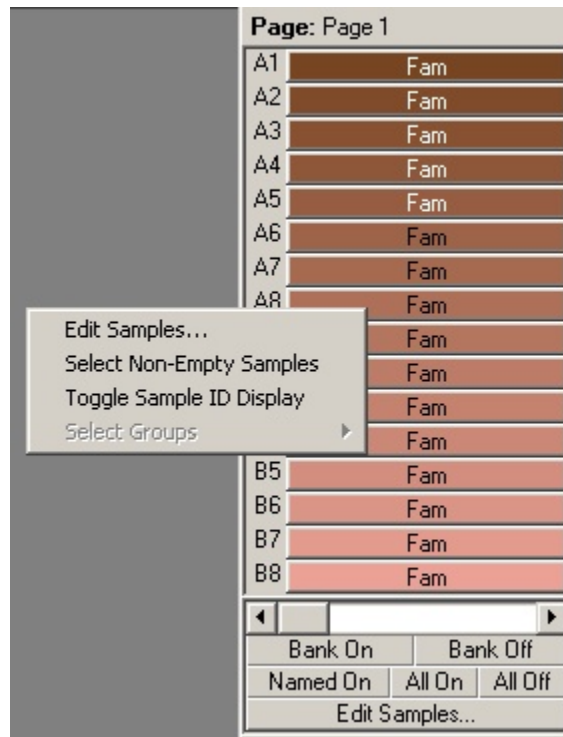
Dešinėje pagrindinio lango pusėje matyti mėginių tvarkyklė, kurioje pateikiami mėginių aprašai. Tvarkyklę sudaro spalvoti langeliai, kurių kiekvienas ekrane atitinka konkretų mėginį. Tvarkyklė gali būti naudojama pasirenkant, kuriuos mėginius vaizduoti ekrane. Ryškių spalvų langelius atitinkantys mėginiai rodomi ekrane, tuo tarpu blankių spalvų langelių mėginiai nerodomi. Norimi mėginiai gali būti

aktyvuojami/inaktyvuojami spragtelėjus arba patempus atitinkamus langelius kompiuterio pelės žymekliu. Mygtukai “Bank On” ir “Bank Off” leidžia tuo metu atitinkamai paslėpti ar vaizduoti visą mėginių sąrašą. Slenkamoji juosta gali būti naudojama, norint pavaizduoti kitas mėginių grupes.

Pastaba: ekrane vaizduojamas mėginių sąrašas yra dinamiškas, pateikiamų mėginių skaičius priklauso nuo ekrano erdvės.

Spragtelėjus mygtuką “Named On”, ekrane vaizduojami tik tie mėginiai, kuriems suteikti pavadinimai. Tai yra greitas būdas vaizduoti tik aktualius mėginius. Spragtelėjus mygtukus “All On” arba “All Off”, vaizduojami atitinkamai visi arba nei vienas rotoruje esantys mėginiai. Spustelėjus mygtuką “Edit Samples...”, atidaromas langas “Edit Samples”, kuriame galima redaguoti mėginių pavadinimus, tipus ir jų standartines koncentracijas (skaitykite Skyrių 7.8.4).

Toliau esančiame paveikslėlyje vaizduojama tvarkyklė. Papildomos rodomos parinktys atsiranda paspaudus dešinią pelės klavišą virš tvarkyklės.



Page:
(Blokas)

Šis užrašas nurodo, koks mėginio blokas vaizduojamas. Blokuose leidžiama atlikti vieno kanalo duomenų rinkinių nepriklausomas analizių variacijas. Pavyzdžiui, žaliuoju kanalu Jūs galite vykdyti dvi standartines kreives ir generuoti nepriklausomas ataskaitas. Daugiau informacijos apie mėginių blokų nustatymą galite rasti Skyriuje 7.8.4.

Toggle Sample ID Display:
(Mėginių ID vaizdavimo perjungimas)

Jei naudojamas 72-šulinėlių rotorius, mėginiai vaizduojami tokiu formatu: nuo A1 iki A8, nuo B1 iki B8 ir tt. Funkcija "Toggle Sample ID Display" leidžia tyrėjui perjungti mėginių žymėjimą į skaitmeninį formatą (nuo 1 iki 72).

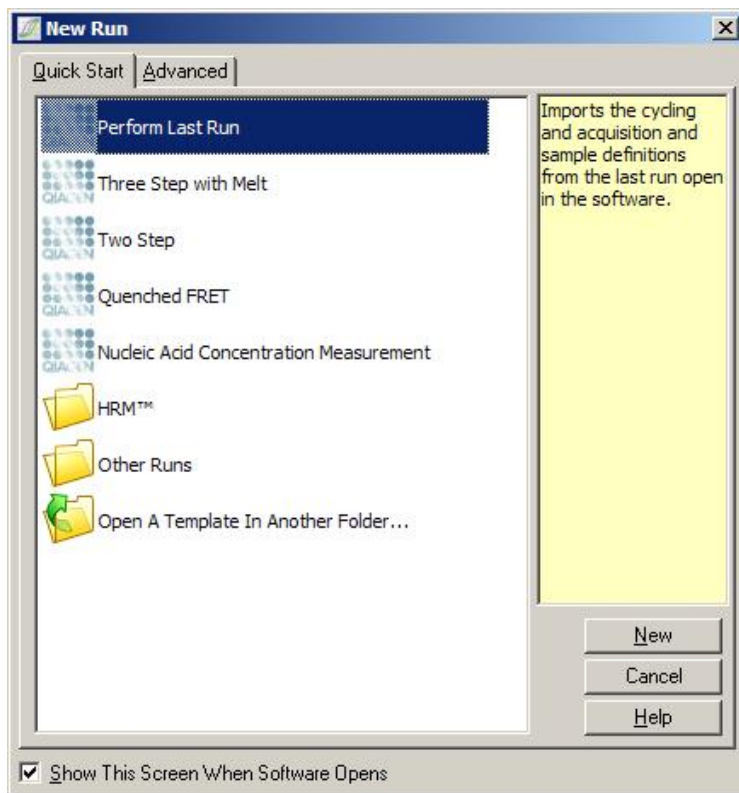
Select Non-Empty Samples: Ši funkcija leidžia nesirinkti mėginių, kurie lange "Edit Samples", stulpelyje "Type" yra (Pasirinkti ne vaizduojami kaip "None". Tokiu būdu tuščius mėginius) užtikrinama, kad bus vaizduojami tik analizei aktualūs mėginiai.

Select Groups: Jei esate nustatę tam tikras mėginių grupes, (Pasirinkti grupes) ši funkcija leidžia perjungti (aktyvinti/inaktyvinti) mėginių vaizdavimą grupėse. Grupėmis vadinami sutartinai pasirinkti mėginių rinkiniai, įgalinantis pažangesnę statistinę analizę. Pavyzdžiui, galima formuoti gydytų ir negydytų pacientų mėginių grupes. Konkrečios grupės gali būti nustatomos lange "Edit Samples".

7.5 Bylos pasirinkčių meniu

7.5.1 Naujas

Spustelėjus mygtukus "File", o po to "New", atsidaro langas "New Run". Šis langas suteikia galimybę pasirinkti dažniausiai naudojamus ruošinius, esančius meniu "Quick Start" ir "Advanced". Pasirinkus norimą ruošinį, vedlio pagalba galėsite atlikti eksperimento parametrų nustatymą arba jų modifikacijas.



Norėdami sužinoti daugiau apie galimus ruošinius, skaitykite Skyrių 6.1 ir Skyrių 6.2.

Naujas eksperimentas

| | |
|------------------------|--|
| New...: (Naujas) | Pradedą eksperimento parametrų nustatymą pagal pasirinktą ruošinį. |
| Cancel: (Nutraukti) | Uždaro langą. |
| Help: (Pagalba) | Atidaro tiesioginę pagalbos liniją. |

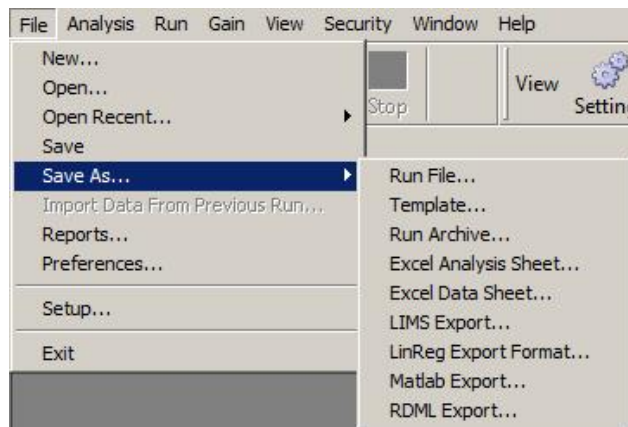
Show This Screen When Software Opens: (Rodyti šį ekraną, esant aktyvuotai programai) Pažymėjus šį langelį, aktyvavus programą yra rodomas langas “New Run”.

7.5.2 Atidaryti ir išsaugoti

Open...: (Atidaryti) Šios funkcijos pagalba atidaroma ankčiau išsaugota Rotor-Gene Q vykdyto eksperimento byla (*.rex) arba Rotor-Gene Q archyvo byla (*.rea byla).

Open Recent...: (Atidaryti paskutinį) Šios funkcijos pagalba vaizduojamos paskutinės 4 bylos, kurios buvo išsaugotos arba atidarytos.

Save: (Išsaugoti) Šios funkcijos pagalba išsaugomi bet kokie pakeitimai, atlikti eksperimento byloje.



Save As...: (Išsaugoti kaip) Šios funkcijos pagalba eksperimento byla arba duomenys gali būti išsaugomi įvairiais formatais. Žemiau parodytos pasirinkimo galimybės.

| | |
|---|--|
| Run File...: (Paleisti bylą) | Šios funkcijos pagalba išsaugoma bylos kopija. Tyrėjas gali keisti pavadinimą ir išsaugojimo vietą. Tai yra standartinis formatas. |
| Template...: (Ruošinys) | Išsaugomi profilio nustatymai ir susiję parametrai, bet ne eksperimento duomenys. Šis ruošinys gali būti naudojamas tolimesniems eksperimentams. |
| Run Archive...: (Paleisti archyvą) | Byla išsaugoma kompaktiškesniu formatu. Prieš siunčiant bylas elektroniniu paštu, išsaugokite bylas būtent šiuo formatu. Tai leidžia sutrumpinti bylos siuntimui reikalingą laiką ir apsaugo bylą nuo pažeidimų. |
| LIMS Export (Perkėlimas LIMS formatu) | Analizės duomenys išsaugomi LIMS atitinkančiu formatu, pagal tyrėjo pageidavimą. Norėdami sužinoti daugiau, kreipkitės į QIAGEN techninį aptarnavimą. |
| Excel Data Sheet...: (Duomenų perkėlimas į Excel) | Perkelia neapdorotus duomenis į Excel® programą. Perkeliama tik pasirinktų mėginių duomenys. |
| Excel Analysis Sheet...: (Analizės duomenų perkėlimas į Excel) | Perkelia visų eksperimento analizių duomenis į Excel programą. |
| LinReg Export Format... (Perkėlimas LinReg formatu): | Perkelia visus neapdorotus duomenis formatu, atpažįstamu LinReg (efektyvus analizės įrankis). Norėdami sužinoti daugiau, žiūrėkite žemiau pateiktą "Exporting To LinReg". |

- Matlab Export...: Perkelti duomenis formatu, atpažįstamu programinės įrangos Matlab paketu (arba (Perkėlimas jos atviros prieigos ekvivalentu, Octave). Matlab formatu)
- RDML Export: Eksportuoja su RDML v1.1 suderinamą (Perkėlimas byla. RDML exporto byla yra sukuriama RDML formatu) kaip ZIP suspausta XML formato byla su *.rdml išplėtimu, ir yra suderinama su RDML schemas dokumentu (http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd) esančiu adresu <http://www.rdml.org/files.php>.

Perkėlimas į LinReg

LinReg yra įrankis, sukurtas C. Ramakers ir jo bendradarbių.* LinReg įrankį galite rasti tinklapyje: <http://LinRegPCR.nl>.

Rotor-Gene Q programinė įranga leidžia naudotojui perkelti neapdorotus duomenis formatu, kuris gali būti naudojamas perkeltiant duomenis LinReg įrankiu analizės tikslais.

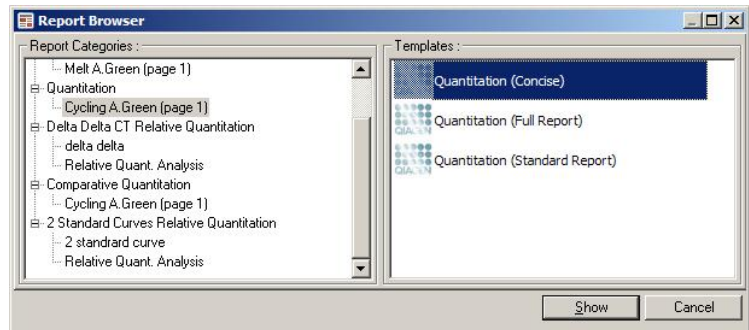
1. Atidarykite Rotor-Gene Q eksperimento bylą, kurioje yra neapdoroti duomenys.
2. Perkelti duomenis į LinReg perkėlimo formatą, pasirinkdami "Save As..." ir "LinReg Export Format...".
3. Microsoft Excel automatiškai rodo perkeltus neapdorotus duomenis.
4. Įjunkite LinReg įrankį.

Įrankis paprašys Jūsų pasirinkti duomenų elementų sritį, kurioje patalpinti neapdoroti duomenys. Šis įrankis vienu metu gali analizuoti tik vieno kanalo neapdorotus duomenis, todėl Excel lape turi būti pasirinkta atitinkama sritis.

* 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.

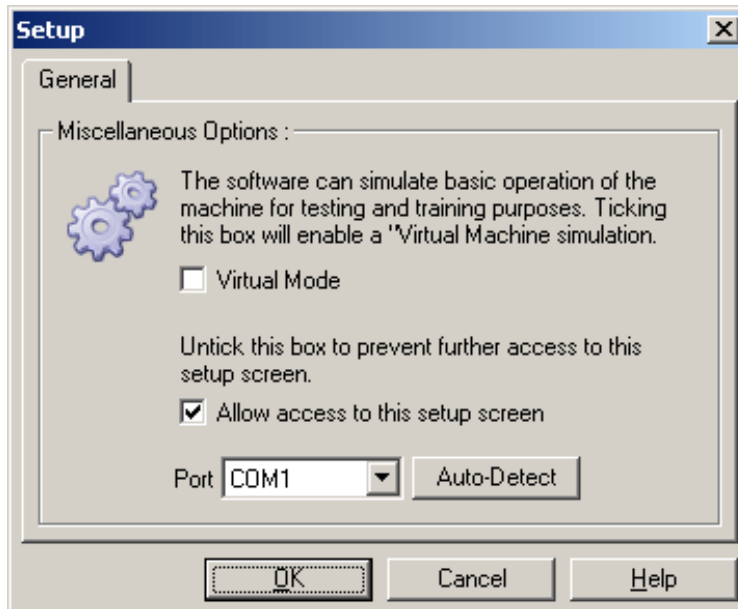
7.5.3 Ataskaitos

Pasirinkus “Reports”, pasirodo langas “Report Browser”. Jei duomenys jau yra buvę analizuoti, šios analizės ataskaitos gali būti matomos lange “Report Browser”. Siūloma keletas ataskaitų variantų, priklausomai nuo jų detalumo.



7.5.4 Nustatymas

Pradinis Rotor-Gene Q MDx nustatymas turi būti baigtas įdiegimo metu. Vis dėlto, ši pasirinkimo galimybė leidžia Jums keisti Rotor-Gene Q MDx jungties nustatymus, jei Jūs tai pageidaujate atlikti ir po prietaiso įdiegimo.



Virtual Mode: (Virtualus režimas) Pasirinkite šią galimybę, jei norite naudoti programinę įrangą neprisijungus prie Rotor-Gene Q MDx. Programinė įranga išlaiko visas funkcijas. Šis režimas naudingas parodomaisiais tikslais, duomenų analizei, ruošinių parametų nustatymui.

Allow access to this setup screen: (Leistina prieiga prie nustatymo lango) Nepasirinkus šios galimybės nustatymo metu, šis langas daugiau nebebus prieinamas. Apsaugos priemonės apsaugo naudotoją nuo netyčinio nustatymo parametų pakeitimo. Norėdami iš naujo nustatyti prieigą, kreipkitės į vietinį platintoją.

Port: (Jungtis) Pasirinkite tinkamą ryšių jungtį tam, kad užtikrintumėte sąsają tarp kompiuterio ir Rotor-Gene Q MDx.

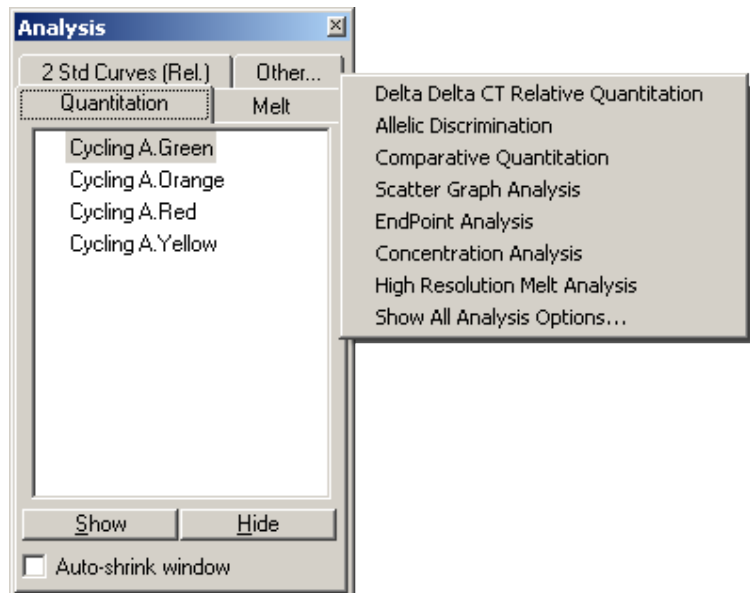
Auto-Detect
(Automatinė
paieška)

Jei nesate įsitikinę, kurią jungtį pasirinkti, spragtelėkite “Auto-Detect” tam, kad būtų surastos visos įmanomos jungtys.

7.6 Analizės meniu

7.6.1 Analizė

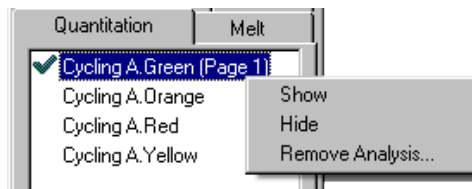
Spragtelėjus “Analysis”, pasirodo langas “Analysis”. Šiame lange galima sukurti naujas analizes, taip pat jame rodomos jau esančios analizės. Analizės metodas pasirenkamas, naudojant atitinkamus skyrelius. Rodomas kanalų, kuriuos galima analizuoti, sąrašas. Sudėtiniai eksperimentai, atliekami vienu kanalu, gali būti analizuojami nepriklausomai, jei “Edit Samples” lange jie buvo nustatyti atskirais blokais. Greta blokų, kurie jau buvo analizuoti, rodomas žalios spalvos žymeklis. Tai reiškia, kad šiai analizei yra išsaugoti normalizavimo parametrai ir slenkstinė vertė. Norėdami peržiūrėti arba analizuoti kanalą, spragtelėkite du kartus virš atitinkamo kanalo užrašo. Pasirodo atitinkamas analizės langas.



| | |
|--|---|
| Auto-shrink window: (Automatiškai susitraukiantis langas) | Pasirinkus “Auto-shrink window”, langas susitraukia, jam esant nenaudojamam. Pajudinus pelės žymeklį ties langu, jis vėl išsiskleidžia. |
|--|---|

Darbo erdvės kompiuterio ekrane organizavimas

Kiekvieną kartą prasidėjus naujai analizei, jos informaciniai langai kompiuterio ekrane išsidėsto taip, kad derintusi su jau esančiais. Jei vienu metu rodoma daug langų, gali būti pakankamai sudėtinga jais naudotis. Uždarykite tuos langus, kurių Jums tuo metu nereikia, tuomet spragtelėkite “Arrange” mygtuką įrankių juostoje. Visi langai automatiškai išdėstomi pagal “Smart Tiling” (Sumanus išdėstymas) principą. Taip pat galite pasirinkti ir kitą langų išdėstymo metodą, spragtelėdami šalia mygtuko “Arrange” esančią rodyklę. Spragtelėjus dešiniuoju pelės mygtuku virš analizės pavadinimo, taip pat yra suteikiamos keletas papildomų pasirinkimo galimybių.



| | |
|-------------------|-------------------------------|
| Show: (Rodyti) | Rodomas pasirinktos analizės. |
|-------------------|-------------------------------|

| | |
|-------------------|---------------------------------|
| Hide: (Slėpti) | Pasirinktos analizės nerodomas. |
|-------------------|---------------------------------|

| | |
|--|--|
| Remove Analysis...: (Analizės panaikinimas) | Visiškai panaikinama pasirinkta analizė. Tai reiškia, kad prarandami bet kokie analizėje nustatyti parametrai ar lydimosi “aruodai”. |
|--|--|

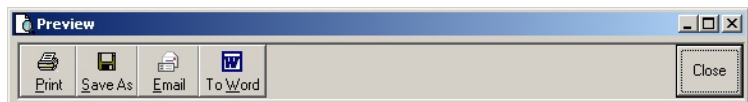
7.6.2 Kiekybinis įvertinimas

Lange “Analysis” pasirinkite skyrelį “Quantitation”, tuomet du kartus spragtelėkite virš kanalo pavadinimo arba tiesiog pasirinkite kanalą ir spustelėkite mygtuką “Show” tam, kad atidarytumėte dominantį kanalą. Pasirodo 3 langai: pagrindinis ekranas, standartinė kreivė ir rezultatai.

Ataskaitos

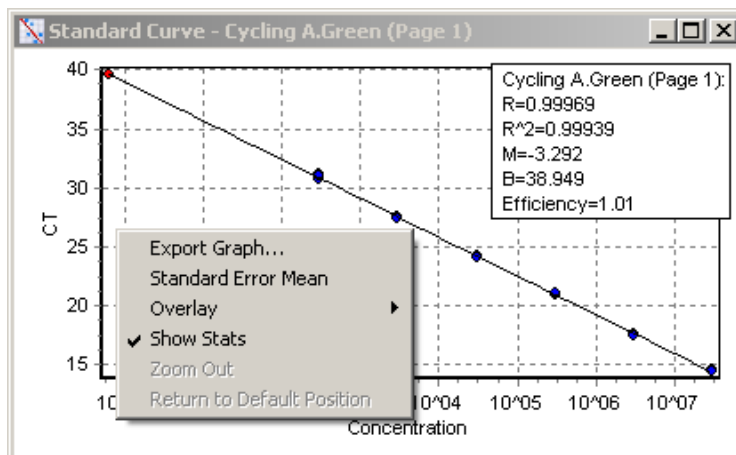
Reports: “Reports” atidaro langą “Report Browser”,
(Ataskaitos) kuriame galima sukurti einamosios analizės ataskaitą. Yra 3 pasirinkimo galimybės: standartinė ataskaita, pilna ataskaita ir glausta ataskaita. Du kartus spragtelėjus virš pasirinktos galimybės, atidarysite ataskaitą lange “Preview”.

Viršutinėje lango “Preview” dalyje esančiais mygtukais galite sukurtą ataskaitą atspausdinti, išsaugoti, siųsti elektroniniu paštu ar perkelti į Word programą.



Standartinė kreivė

Std. Curve: Šiuo mygtuku atidaromas langas
(Standartinė "Standard Curve". Pagal standartinę
kreivė) nustatymą šis langas atidaromas tuomet,
kai atidaromas analizės langas. Uždarius
šį langą, jis gali būti atidaromas pagal
minėtą komandą.



Standartinės kreivės vertės yra dinamiškai perskaičiuojamos, kuomet pagrindiniame lange spragtelėjus ir timptelėjus slenkstinės vertės liniją yra keičiamos slenkstinės vertės. Kreivėje esantys mėlyni taškai vaizduoja standartinius mėginius, tuo tarpu raudoni taškai – nežinomų mėginių duomenis.

Pastaba: jei iš naujo nustatant standartus yra perskaičiuojama standartinė kreivė, dešinėje ekrano pusėje esančiu jungikliu yra panaikinamas standartinių mėginių matomumas, tokiu būdu pašalinant juos iš standartinės kreivės apskaičiavimo. Grafike panaikinus standartus, padidėja R^2 vertė, tačiau ji nėra reikšmingai pagrįsta. Nepavykęs standartas gali reikšti klaidingus mėginių rezultatus, į tai turėtų būti atsižvelgiama vertinant rezultatus.

Efficiency:
(Efektyvumas)

Pateikiamas eksperimento reakcijos efektyvumas. Ši vertė plačiau nagrinėjama puslapyje 7-33.

R² vertė
(koreliacijos
koeficientas):

R² (arba R²) vertė yra procentinis dydis, atspindintis duomenų atitikimą hipotezei, kad standartiniai mėginiai formuoja standartinę kreivę. Jei R² reikšmė maža, tai reiškia, kad standartiniai mėginiai pakankamai sunkiai atitinka kreivę, kurią galėtų atitikti geriausiai. Galima daryti išvadą, kad gauti rezultatai (t.y., apskaičiuotos koncentracijos) gali būti nepatikimi. Tinkama R² reikšmė lygi apytiksliai 0,999.

Pastaba: įmanoma pasiekti pakankamai aukštą R² reikšmę, naudojant prastos kokybės standartinę kreivę, jei yra atliekamas nepakankamo standartinių mėginių skaičiaus tyrimas. Kuo mažiau standartinių mėginių naudojama, tuo didesnė R² reikšmė. Dėl tikslesnio gautų rezultatų patikimumo pateikimo, apskaičiuotoms koncentracijoms naudokite pasikliauties intervalus.

R reikšmė
(koreliacijos
koeficiento
kvadratinė
šaknis):

R reikšmė yra kvadratinė šaknis iš R² reikšmės. Paprastai įvertinant koreliaciją, žymiai naudingiau naudoti R² reikšmę

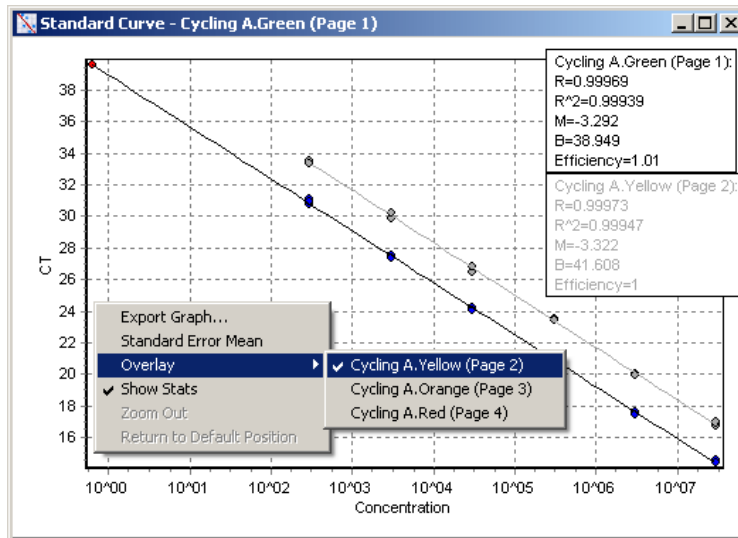
M ir B:

Standartinės kreivės nuolydis (M) ir sankirtos taškas (B) yra automatiškai apskaičiuojami, naudojantis formule $y = Mx + B$, jų reikšmės yra pateikiamos lange "Standard Curve".

Export Graph...:
(Iškelti grafiką)

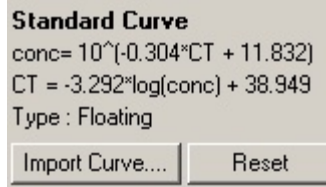
Virš standartinės kreivės spragtelėjus dešiniuoju pelės mygtuku, atsiranda pasirinkimo galimybė iškelti grafiką (žr. Skyrių 8.4).

Overlay: Atliekant sudėtinius kiekybinius įvertinimus vieno eksperimento metu, tame pačiame lange yra įmanoma perdengti kelias standartines kreives. Tai naudinga tuo atžvilgiu, kad grafiniu pavidalu galima matyti skirtumus tarp skirtingų slenkstinių verčių: ši savybė parodyta žemiau pateiktame paveikslėlyje.



Standartinės kreivės apskaičiavimas

“ $\text{conc} = \dots * C_T + \dots$ ” ir “ $C_T = \dots$ ” yra du lygčių variantai, skirti susieti C_T reikšmės ir koncentracijas. Literatūroje dažniausiai pateikiama “ $C_T = \dots$ ” formulė. Standartinė kreivė gali būti laisvai kintanti (“Floating”) arba pastovi (“Fixed”). Jei ji yra kintanti (“Floating”), standartinės kreivės optimali lygtis apskaičiuojama kiekvieną kartą, kuomet pagrindiniame lange pakeičiama slenkstinė reikšmė. Jei standartinė kreivė yra pastovi (“Fixed”), lygtis nėra keičiama, kadangi ji yra paimta iš kito eksperimento.



Kreivės įkėlimas

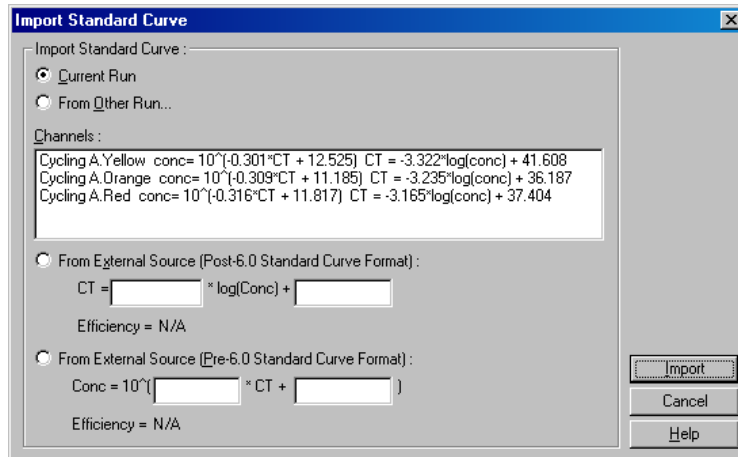
Standartinės kreivės įkėlimas leidžia koncentracijų apskaičiavimą, kai vykdant tam tikrą eksperimentą yra neįmanoma suformuoti standartinės kreivės arba kai dviejų eksperimentų efektyvumai nesiskiria. Kreivės gali būti įkeliamos iš kito kanalo arba iš kito eksperimento, spragtelėjus “Import Curve”.

Esant reikalui, yra įmanoma standartinę kreivę pakoreguoti. Standartinės kreivės koregavimas reiškia, kad į einamąjį eksperimentą įkeliama tik pradinės standartinės kreivės efektyvumo reikšmė. Bet koku atveju standartinė kreivė gali būti koreguojama priklausomai nuo naudojamų cheminių reagentų.

Norėdami koreguoti standartinę kreivę, naujame eksperimente naudokite žinomos koncentracijos kontrolinį mėginį. Charakterizuokite kontrolinį mėginį, nustatydami jo tipą kaip “Standard” ir lange “Edit Samples” įvesdami jo koncentracijos vertes. Tam, kad padidintumėte tikslumą, gali būti įvedamos kelios to pačio kontrolinio mėginio kopijos. Pažymėtina, kad negalima nustatyti daugiau nei vienos kontrolinio mėginio koncentracijos arba standarto. Pavyzdžiui, galima turėti 3 kartotines kontroles (1000 kopijų), bet neįmanoma turėti vienos kontrolės (1000 kopijų) ir kitos kontrolės (100 kopijų) to paties eksperimento metu.

Vos tik įkėlus standartinę kreivę, jos būsenos tipas pasikeičia į pastovų (“Fixed”). Norėdami pakeisti jos būseną į kintamąją (“Floating”), spragtelėkite “Reset”.

Žemiau pateiktame paveikslėlyje pavaizduotas langas “Import Standard Curve”.



Naudojantis šiuo langu, standartinė kreivė gali būti įkeliamą iš einamajame eksperimente analizuoto kito kanalo arba iš kito eksperimento.

Current Run: (Einamasis eksperimentas) Pasirinkus šią galimybę, einamojo eksperimento kitų kanalų kiekybinio įvertinimo analizės pateikiamos kartu su atitinkamomis standartinėmis kreivėmis.

From Other Run...: (Iš kito eksperimento) Pasirinkus šią galimybę, pateikiama užklausa norimo eksperimento bylai atidaryti. Jei eksperimente buvo atliekama bet kokia kiekybinio įvertinimo analizė, pateikiamos kiekvieno analizuoto kanalo standartinės kreivės.

Pastaba: kiekybinio įvertinimo analizės parametrai turi būti išsaugoti eksperimento byloje.

Channels: (Kanalai) Analizuotų kanalų sąrašas ir jų standartinių kreivių formulės.

From External Source: (Iš išorinio šaltinio) Šioje srityje M ir B reikšmės gali būti įvedamos tiesiogiai. Tai naudinga tais atvejais, kai šios reikšmės pateikiamos išoriniuose šaltiniuose (pvz., Excel formatu).

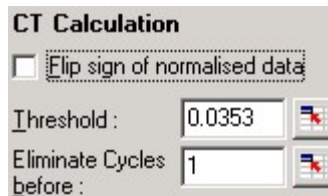
CT apskaičiavimas

Invert raw data: (Neapdorotų duomenų perversimas) Kai kurios cheminės medžiagos lemia eksponentiškai mažėjantį (ne didėjantį) fluorescencinį signalą. Tokius duomenis įmanoma analizuoti, naudojantis funkcija "Quantitation", bet prieš tai turi būti pažymėtas langelis "Invert Raw Data". Visoms kitoms kiekybinio įvertinimo analizėms šis langelis turi būti nepažymėtas.

Invert Raw Data

C_T Calculation: (C_T apskaičiavimas) C_T reikšmė yra ciklų skaičius taške, kuriame padauginimo kreivė kerta detekcijos slenkstinę kreivę. Kiekvieno mėginio C_T reikšmė įvertinama, charakterizuojant slenkstinę liniją ir apskaičiuojant susikirtimo tašką su kiekviena iš kreivių.

Threshold: Norėdami nustatyti slenkstinę vertę, (Slenkstinė vertė) spragtelėkite virš piktogramos (grotelės su raudona rodykle), tuomet spragtelėkite ir nuspaudę palaikykite pelės žymeklį virš grafiko bei tempdami liniją pasirinkite norimą vertę. Taip pat galite įvesti ir log vertę. Be to, galima naudoti funkciją "Auto-Find Threshold", kurios pagalba slenkstinė vertė nustatoma automatiškai. Įvedant slenkstinę reikšmę rankiniu būdu, ji turi būti nustatoma eksperimento eksponentinėje fazėje, reikšmingai didesnė už foninį lygį (kad būtų išvengta foninių trukdžių) ir žemiau vėlesnių ciklų signalo plato lygmens.



CT Calculation

Flip sign of normalised data

Threshold : 0.0353

Eliminate Cycles before : 1

Eliminate Cycles before: Spragtelėkite virš piktogramos (grotelės su raudona rodykle), tuomet spragtelėkite ir nuspaudę palaikykite pelės žymeklį virš grafiko bei patempkite liniją į dešinę pusę. Tokiu būdu panaikinsite slenkstinę vertę pirminiams ciklams. (Eliminuoti prieš tai buvusius ciklus)

Pastaba: tai naudinga tuo atveju, kai stebimi foniniai trukdžiai pirminiuose cikluose (pvz., dėl mėginio maišymo efekto).

Auto-Find Threshold:
(Slenkstinės vertės automatinė paieška)

Šios funkcijos pagalba automatiškai peržiūrima pasirinkta grafiko sritis ir nustatomas optimalus slenkstinės vertės parametras pasirinktoms koncentracijoms. Pasirenkama sritis gali būti keičiama, teksto langeliuose įvedant viršutinę ir apatinę ribas.

Daugumai analizių yra tinkamos standartiškai nustatytos apatinė ir viršutinė ribos. Yra peržiūrimas slenkstinių verčių intervalas ir tokiu būdu randama vertė, geriausiai atitinkanti kontrolinių mėginių standartinę kreivę (R reikšmė yra artima 1,0).



Rezultatai

Atidaromas langas “Quantitation Results”. Pagal standartinį nustatymą, šis langas atidaromas kartu atidarant analizės langą. Jei analizės langas uždarytas, “Quantitation Results” langas atidaromas atskiru nurodymu.

| Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1) | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----|--------|------|----------|-------|----------------|-------------|---------------|--------|---------|---------------------|-------------------|----------------|-------------------------------|
| Analysis | No. | Color | Name | Type | Ct | Ct Comment | Given Conc. | Calc Conc (c) | S: Var | Rep. Ct | Rep. Ct Std | Rep. Ct (95% CI) | Rep. Calc Conc | Rep. Calc Conc (95% CI) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 1 | Red | 10e9 | Standard | 3.73 | | 1.00E+09 | 7.15E+07 | 28.1% | 3.73 | | 0.00 (3.73, 3.74) | | 7.17E+07 (7.17E+07, 4.29E+08) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 2 | Red | 10e8 | Standard | 3.74 | | 1.00E+08 | 7.17E+07 | 28.3% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 3 | Red | 10e8 | Standard | 3.74 | | 1.00E+08 | 7.18E+07 | 28.4% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 4 | Orange | 10e7 | Standard | 6.11 | | 1.00E+07 | 1.44E+07 | 44.0% | 6.06 | 0.06 (5.91, 6.21) | | 1.49E+07 | (3.29E+06, 6.73E+07) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 5 | Orange | 10e7 | Standard | 6.08 | | 1.00E+07 | 1.47E+07 | 46.5% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 6 | Orange | 10e7 | Standard | 5.93 | | 1.00E+07 | 1.50E+07 | 55.9% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 7 | Green | 10e6 | Standard | 10.43 | | 1.00E+06 | 7.72E+05 | 22.8% | 10.38 | 0.09 (10.15, 10.63) | | 8.00E+05 | (2.62E+05, 2.44E+06) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 8 | Green | 10e6 | Standard | 10.27 | | 1.00E+06 | 8.58E+05 | 14.2% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 9 | Green | 10e5 | Standard | 10.43 | | 1.00E+06 | 7.71E+05 | 22.9% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 10 | Green | 10e5 | Standard | 13.49 | | 1.00E+05 | 9.69E+04 | 3.2% | 13.65 | 0.13 (13.31, 13.98) | | 8.74E+04 | (2.96E+04, 2.59E+05) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 11 | Green | 10e5 | Standard | 13.75 | | 1.00E+05 | 8.13E+04 | 18.7% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 12 | Green | 10e5 | Standard | 13.63 | | 1.00E+05 | 8.46E+04 | 15.2% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 13 | Blue | 10e4 | Standard | 15.66 | | 1.00E+04 | 2.24E+04 | 123.7% | 15.46 | 0.25 (14.94, 16.00) | | 2.59E+04 | (7.62E+03, 8.38E+04) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 14 | Blue | 10e4 | Standard | 15.54 | | 1.00E+04 | 2.42E+04 | 141.7% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 15 | Blue | 10e4 | Standard | 15.18 | | 1.00E+04 | 3.09E+04 | 208.8% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 16 | Blue | 10e3 | Standard | 21.36 | | 1.00E+03 | 4.71E+02 | 52.9% | 21.09 | 0.24 (20.49, 21.69) | | 5.65E+02 | (1.91E+01, 3.50E+03) |
| Cycling A.Green (Page 1) | 17 | Blue | 10e3 | Standard | 20.89 | | 1.00E+03 | 6.47E+02 | 36.3% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 18 | Blue | 10e3 | Standard | 21.02 | | 1.00E+03 | 5.94E+02 | 40.6% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 19 | Black | 10e2 | Standard | | NEG (Multi Ct) | | | | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 20 | Black | 10e2 | Standard | 23.96 | | 1.00E+02 | 7.99E+01 | 20.1% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 21 | Black | 10e2 | 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” lange eksperimento rezultatai pateikiami lentelės pavidalu. Spragtelėjus dešiniuoju pelės mygtuku ir pasirinkus “Export to Excel”, lentelė perkeliama į Excel programą. Excel programa atsidaro automatiškai. Norėdami nukopijuoti duomenis į jau esantį Excel

skaičiuoklės langą, pasirinkite funkciją “Copy”, atidarykite skaičiuoklės langą bei spragtelėkite funkciją “Paste”.

“Quantitation Results” lange yra šie stulpeliai.

| | |
|-----------------------|---|
| Analysis (Analizė) | Einamasis duomenų rinkinys (kaupiamasis kanalas ir mėginių blokas). |
| No (Nr.) | Mėginio numeris. |
| Colour (Spalva) | Nustatyta individualaus mėginio grafiko spalva. |
| Type (Tipas) | Apibrėžtas mėginio tipas |
| Ct | Nustatyta C_T reikšmė. |

| | |
|----------------------------|---|
| Ct Comment (Ct pastaba) | <p>Automatiškai pateikiama C_T įvertinimo anotacija, jei C_T reikšmės yra neįtrauktos. Galimi žemiau pateikti pranešimai:</p> <p>NEG (Multi Ct): slenkstinė kreivė kerta fluorescencijos kreivę mažiausiai du kartus (dvigubas perkirtimas). Vienareikšmiškai C_T reikšmė negali būti nustatoma.</p> <p>NEG (NTC): bendras fluorescencijos padidėjimas netenkina funkcijoje “NTC threshold” numatytų sąlygų lange “Outlier Removal” (žr. žemiau). Pavyzdžiui, fluorescencijos kreivė kerta duotąją slenkstinę kreivę, bet nedidelis bendrojo nuolydžio padidėjimas reiškia nemodelinę kontrolę ir C_T reikšmė nėra pateikiama.</p> <p>NEG (R.Eff): bendras fluorescencijos padidėjimas netenkina funkcijoje “Reaction efficiency threshold” numatytų sąlygų lange “Outlier Removal” (žr. žemiau). Mėginiai, pasižymintys abejotinu reakcijos efektyvumu, yra pašalinami ir C_T reikšmė nėra pateikiama. Šis pranešimas rodomas tik tuomet, jei yra aktyvuota atitinkama funkcija.</p> |
| %Var: | <p>Svyravimų, tarp apskaičiuotos ir žinomos koncentracijos, procentinis dydis.</p> $\%Var = \text{Abs}(\text{Apskaičiuota} / \text{Duota} - 1)$ |
| Rep. Ct: | Visų, to paties pavadinimo mėginių, C _T vidurkis. |
| Rep. Ct Std. Dev.: | Visų, to paties pavadinimo mėginių, C _T reikšmės standartinis nuokrypis. |

Rep. Ct 95%
C.I.: Statistinis C_T intervalas įskaičiuoja 95% C_T vertės svyravimus. Tai konservatyvus statistinis matas, kurį galima naudoti vertinant matavimų kokybę. Šį intervalą galima susiaurinti, atliekant eksperimentą su didesniu mėginių replikų skaičiumi, taip pat esant mažesniems replikų rezultatų svyravimams.

Rep. Calc. Conc: Visų to paties pavadinimo mėginių apskaičiuota koncentracija.

Pastaba: tai nėra tik apskaičiuotas koncentracijų vidurkis. Tai yra geometrinis vidurkis, kuris matematiškai labiau tinkamas, dėl tikrojo laiko eksponentinio DNR padauginimo pobūdžio.

Rep. Calc. Conc. Koncentracijų intervalas, kuriame
95% C.I.: įskaičiuoti individualaus mėginio 95%
dydžio svyravimai, taip pat tiesinės
regresijos modelis, kuriuo šis intervalas
yra grindžiamas. Šis matas reiškia, kad tai
yra koncentracijų intervalas, tikėtinas 95%
atveju, jei eksperimentas atliekamas
pakartotinai tuo pačiu variacijų skaičiumi.
Tai yra apytikris įvertinimas, koncentracijų
intervalas gali būti pakankamai didelis dėl
tikrojo laiko analizei būdingoms
variacijoms. Taip pat šis intervalas gali būti
didelis, jei naudojamų standartinių mėginių
koncentracijos gerokai skiriasi nuo
tiriamųjų mėginių, jei naudojamas mažas
replikų skaičius arba jei yra reikšmingų
svyravimų.

SVARBU: variacijos, apie kurias
informuoja šis matas, yra būdingos tikrojo
laiko DNR padauginimo eksponentiniams
vyksmams ir nėra įtakojamos pačio
prietaiso Rotor-Gene Q MDx. Atlikus
panašius tyrimus cikleriais bloko pagrindu,
gaunami žymiai didesni svyravimai, ką
apsprendžia blokinių sistemų žemas
temperatūrinis vienodumas. Jei norite
palyginti skirtingus ciklerius,
rekomenduojame lyginti C_T verčių
standartinius nuokrypius.

Pastaba: Detalesnė informacija apie pasikliauties intervalus
yra pateikiama Priede B.

Pastaba: Kiekvienas lentelės stulpelis, išskyrus Color,
Name, Ct ir Ct Comment, gali būti vaizduojamas arba
paslepiamas dešiniuju pelės klavišu spragtelėjus virš lango
ir pasirinkus ar nepasirinkus norimo stulpelio pavadinimą.

| 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% |

Siekiant didesnio patogumo, funkcija “AutoStat” automatiškai apskaičiuoja dominančių mėginių vidurkį, standartinį nuokrypį, minimalias ir maksimalias jų vertes. Dominančius rezultatus galite pasirinkti patempiant paspaudus kairiuoju pelės mygtuku, norimų verčių lentelė pasirodo dešinėje ekrano pusėje.

Šiame paveikslėlyje pateikiamos kelių analizuotų mėginių koncentracijų pavyzdys.

| 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% |

Statistics

Maximum : 28730050

Minimum : 25142920

Count : 3

Mean : 27328521

Std. Dev : 1.07537
(Orders of Mag.)

Copy

SVARBU: funkcija “AutoStat” pasižymi intuityvumu. Tai reiškia, kad kai tik įmanoma, ji pateikia tuo metu naudingą informaciją.

Pavyzdžiui:

- Neįmanoma pasiekti 95% pasikliautinį intervalą, naudojant pasirinktų apskaičiuotų koncentracijų rinkinį, kadangi į skaičiavimus būtina įtraukti regresijos modelį.
- Dažniau pateikiamas "Orders of Magnitude" standartinis nuokrypis apskaičiuotoms koncentracijoms, negu absoliutinė jų vertė. Tai yra procentinė variacijų išraiška. Pavyzdžiui, reikšmė 1,07537 atspindi 7,54% variaciją $(278,974 - 322,611) = (300,000 / 1.07537 - 300,000 * 1.07537)$. Absoliutinių reikšmių pateikimas neturi prasmės standartinei kreivei. Reikšmė gali būti pateikiama kaip žemiausia koncentracija, sukurianti suvokiamą žemąją paklaidą (± 3 kopijos) arba aukščiausia koncentracija ($\pm 3,000,000$ kopijos). Todėl yra pateikiamas “Orders of Magnitude” standartinis nuokrypis.
- Apskaičiuotoms koncentracijoms naudojamas geometrinis, bet ne aritmetinis vidurkis. Tokiu būdu įskaičiuojama tikrojo laiko PGR eksponentinė prigimtis. Pavyzdžiui, esant dvigubo skiedimo atvejui 1, 2, 8, ir 16 kopijų, vidurkis yra 4 kopijos, kadangi tai yra skiedimo serijos vidurys. Aritmetinis vidurkis būtų 6,75. Geometrinis vidurkis yra $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ kopijos.

Dinaminis mėgintuvėlių normalizavimas

Standartiškai pasirinkus “Dynamic Tube” galimybę, prieš pradėdant padauginimą yra nustatomas kiekvieno mėginio vidutinis fonas. Standartinis normalizavimas paprastai trunka pirmuosius 5 ciklus ir naudoja juos kaip kiekvieno mėginio foninio lygmens indikatorių. Visi mėginio duomenų taškai dalijami iš šios vertės. Vis dėlto tai gali būti nepakankamai tikslu, kadangi kai kurių mėginių atveju pagal pirmuosius 5 ciklus prieš padauginimą negalima spręsti apie foninį lygį. Priešingai, dinaminio mėgintuvėlių normalizavimo metu naudojami kiekvieno mėginio antrinio darinio pėdsakai, tokiu būdu nustatant kiekvieno mėginio “kilimo”

tašką. Mėginio foninis lygis įvertinamas vidurkinant duomenis nuo pirmo iki “kilimo” taško ciklo. Tai suteikia tiksliausius kiekybinio vertinimo rezultatus.

Pažymėtina, kad kai kurių duomenų rinkinių atvejais foninė fluorescencija nėra pastovi pirmuju prieš padauginimą ciklų metu. Tokiais atvejais būtų pravartu inaktyvuoti dinaminio mėgintuvėlių normalizavimo funkciją, spragtelėjus virš “Dynamic Tube”, kadangi tai gali lemti mažesnę kiekybinio vertinimo rezultatų tikslumą.

Trukdžių nuolydžio koregavimas

Foninė mėginių fluorescencija (FI) idealiu atveju turėtų išlikti pastovi prieš prasidedant DNR padauginimui. Tačiau kartais, priklausomai nuo naudojamų cheminių medžiagų, FI lygis laipsniškai padidėja arba sumažėja kelių ciklų eigoje. Tai lemia “nuožulnių trukdžių” lygį. Trukdžių nuolydžio koregavime yra naudojama geriausiai atitinkanti kreivė, apibūdinanti trukdžių lygį, vietoje vidutinės ir normalizuotos kreivės. Pasirinkus šią galimybę spragtelėjus mygtuką “Slope Correct”, galima pagerinti replikų duomenis, jei mėginio pagrindinė linija yra pastebimai nukrypusi. Trukdžių nuolydžio korekcija pagerina duomenų kokybę, kuomet pastebimas neapdorotų duomenų nuolydžio kilimas arba kritimas prieš “kilimo” tašką (C_T).

Jeigu nuolydis nėra stabilus, arba jeigu pradiniai bazinės linijos ciklai pasižymi dideliu signalo padidėjimu ar sumažėjimu, lyginant su likusia kreivės dalimi, Trukdžių nuolydžio koregavimas gali sukelti kai kuriuos nepageidaujamus poveikius, tokius kaip neigiamos kontrolės kreivė, kertanti ribinę vertę dėl bazinės linijos, kaip labiausiai tinkamos kreivės priartinimo ir atitinkamo neapdorotų duomenų normalizavimo. Ko pasekoje, ši funkcija ne visada pagerina duomenų kokybę, ir turėtų būti naudojama tik jeigu neapdorotų duomenų kreivės pasižymi pastoviu nuolydžiu.

Startinio taško (Takeoff point) nustatymas

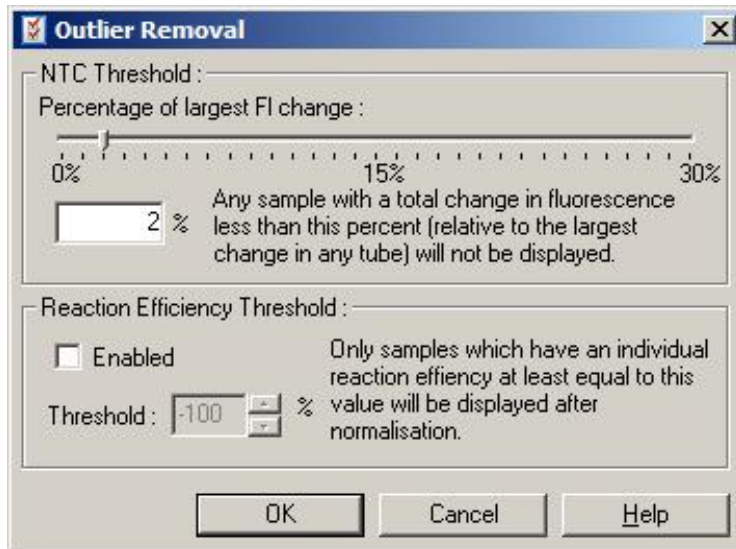
Startinio taško nustatymo algoritmas gali būti naudojamas minimaliam bazinės linijos, naudojamos normalizavimui, ilgio nustatymui. Norint pritaikyti Startinio taško nustatymą, reikia nustatyti dviejų paramentūrų reikšmę. Jeigu Startinis taškas skaičiuojamas pagal Dinaminį mėgintuvėlį, kuris randasi žemiau negu pirmasis parametras, tuomet antrasis parametras yra naudojamas kaip startinis taškas. Startinio taško nustatymą galima naudoti tik kartu su Dinaminio mėgintuvėlių normalizavimu.

Pirmojo ciklo ignoravimas

Pirmųjų kelių ciklų fluorescencijos signalai gali būti nereprezentatyvūs viso eksperimento atžvilgiu. Todėl geresni rezultatai pasiekiami atmetus pirmųjų ciklų duomenis. Galima ignoruoti iki 10 pirmųjų ciklų. Vis dėlto, jei pirmųjų ciklų rezultatai panašūs į tolimesniųjų, patartina funkciją "Ignore First" inaktyvuoti, kadangi normalizavimo algoritmas yra pernelyg apkraunamas.

Pašalinių signalų eliminavimas

Norint atskirti nežymius fluorescencijos pokyčius nuo autentiškų reakcijų kontroliniuose mėginiuose be matricos (NTCs), atliekami 2 matavimai: "NTC Threshold" ir "Reaction Efficiency Threshold". "NTC Threshold" rekomenduojamas daugumai pritaikymų. Naudotas metodas turi būti patvirtintas.



NTC Threshold: Šios funkcijos pagalba galima iš analizės pašalinti mėginius ar NTCs, turinčius poslinkį į viršų. Visi mėginiai su pokyčiu žemiau "NTC Threshold" vertės nebus pateikiami ir stulpelyje "CT Comment" bus rodomas pranešimas "NEG (NTC)".

Procentinis dydis yra atitinkamas didžiausiam maksimaliam pokyčiui, aptiktame bet kokiame mėgintuvėlyje. Pavyzdžiui, jei mėginio fonas prasideda ties 2 FI ir padidėja iki 47 FI, tuomet 45 FI simbolizuoja 100%. Remiantis "NTC Threshold" 10% reikšme, bet kokio mėginio fluorescencijos signalas, mažesnis nei 4,5 FI, bus traktuojamas kaip foninis trukdis.

Reaction Efficiency Threshold: (Reakcijos efektyvumo "Reaction Efficiency Threshold" yra alternatyvus metodas, leidžiantis iš analizės pašalinti trukdžius. Šis normalizuotas algoritmas naudoja palyginamajame kiekybiniame įvertinime

slenkstinė vertė) taikomą reakcijos efektyvumo įvertinimo metodiką (žr. Skyrių 7.6.6). Visi mėginiai, nepasižymintys bent mažiausiu reakcijos efektyvumu, yra pašalinami iš analizės ir žymimi pranešimu “NEG (R.Eff)” stulpelyje “CT Comment”.

0% lygmuo rodo, kad eksponentinės fazės metu reakcija nevyko. 100% lygmuo rodo, kad eksponentinės fazės metu vyko pilno efektyvumo reakcija. Neigiama procentinė išraiška rodo, kad eksponentinės fazės metu, fluorescencijos signalas sumažėjo.

Einamojo tyrimo efektyvumo lygmuo nėra įtikinamo tikslumo tam, kad būtų galima atskirti tikrąją reakciją nuo užteršimo ar kitų efektų. Todėl rekomenduojame naudoti šią funkciją labai atsargiai su prielaida, kad bet kurių mėginių tikrosios reakcijos eksponentinė fazė pasižymi padidėjusia fluorescencija. Nustatant šį parametą, aukštesnį už 0%, iš analizės pašalinami visi neefektyvūs (nors su pastebima fluorescencija) mėginiai. Nustatant šį parametą, žemesnį už 0%, pateikiami mėginiai su sumažėjusia eksponentinės fazės fluorescencija, kurie akivaizdžiai turėtų būti pašalinti iš analizės.

Pastaba: jei dėl vienos iš šių metodikų vertė yra pašalinama, atitinkama C_T vertė lange “Quantitation Results” yra neberodoma, tačiau stulpelyje “Ct Comment” rodomas žymuo, reiškiantis, kad vertė buvo pašalinta.

Žemiau pateiktame paveiksle yra pašalintos mėginių 7, 8, ir 9 vertės, atsižvelgiant į “Reaction Efficiency Threshold”.

| 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 |

Nuolydžio, DNR padauginimo, reakcijos efektyvumas

Reakcijos nuolydis (M) (rodomas lange "Standard Curve") gali būti naudojamas apskaičiuojant reakcijos efektyvumą ir eksponentinį DNR padauginimą, pagal žemiau pateiktas formules:

Eksponentinis DNR padauginimas = $10^{(-1/M)}$

Reakcijos efektyvumas = $[10^{(-1/M)}] - 1$

Optimalios M, eksponentinio DNR padauginimo ir reakcijos efektyvumo vertės atitinkamai yra –3,322, 2 ir 1. Reakcijos efektyvumo reikšmė rodoma (pilnoje ir standartinėje ataskaitoje, žr. psl. 7-15) ir lange "Standard Curve".

Nuolydžio reikšmė apskaičiuojama C_T pokyčių padalinus iš pokyčio logaritminės reikšmės (t.y., kopijų skaičiaus). 100% DNR padauginimo efektyvumas reiškia padaugintos DNR kiekio padvigubėjimą kiekviename cikle, tokiu atveju M vertė yra lygi –3,322, padauginimo faktorius 2 ir reakcijos efektyvumas 1.

Jei M vertė yra lygi –3,322, tai:

Eksponentinis DNR padauginimas: $10^{(-1/-3,322)} = 2$

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

Kitas pavyzdys: jei M vertė lygi 3,8, tai reakcijos eksponentinis DNR padauginimas apytiksliai lygus 1,83, o reakcijos efektyvumas - 0,83 (arba 83%).

Atsvara (kompensacija)

Formulėje, aprašančioje 2 kintamųjų tarpusavio ryšį, atsvaros reikšmė išreiškiama raide B ($y = Mx + B$). Atsvaros reikšmė kartais yra nurodoma kaip sankirtos (intercept) reikšmė. B yra lygi C_T , jei duotoji koncentracijos reikšmė lygi 1. Įstačius 1 į koncentracijos apskaičiavimo formulę, gauname:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

$$\text{ir } C_T = B$$

Sankirtos taškas gali kisti kiekviename eksperimente, ir yra žymiau mažiau pastovus matavimo vienetas, lyginant jį su gradientu. Todėl, gradientas yra analizuojamas žymiai dažniau nei sankirtos taškas.

Pagrindinis langas

Pagrindiniame lange yra rodoma DNR padauginimo kreivė, pateikta logaritminėje skalėje.

Spragtelėjus lango apačioje esantį mygtuką “Linear Scale”, galima keisti skalę iš logaritminės į tiesinę arba atvirkščiai. Keičiant skalės formatą, keičiasi tik kreivės vaizdavimo pateikimas, bet ne skaičiavimai. Tai gali būti patikrinama dešiniuuoju pelės mygtuku spragtelėjus virš grafiko ir pasirinkus funkciją “Show pinpointer”. Naudojant logaritminę skalę, grafike yra geriau matomos mažesnės vertės, tačiau tiesinė skalė gerokai palengvina visos reakcijos peržiūrą.

Pastaba: DNR padauginimo grafikai atnaujinami realiuoju laiku, kadangi eksperimento metu Rotor-Gene Q MDx nuolat kaupia naujus duomenis. Tikrojo laiko stebėsenos duomenys leidžia naudotojui kiek įmanoma greičiau pastebėti momentą, kuomet kreivė pereina į eksponentinio augimo fazę. Tokiu būdu gali būti suformuojamos preliminarios išvados ir priimami sprendimai dėl tolesnių eksperimentų.

Kiekybinio įvertinimo analizės ruošiniai

Kiekybinio įvertinimo analizės ruošiniai suteikia naudotojui galimybę iškelti normalizavimo ir slenkstinių verčių nustatymų parametrus *.qut formato bylos pavidalu. Ši byla gali būti įkeliama ir pakartotinai naudojama kitiems pritaikymams. Norėdami sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 8.1.



7.6.3 Dviejų standartų kreivė

Santykinę genų raiškos analizę naudojant kontrolinį geną gali būti atliekama pasitelkiant 2 standartų kreivės metodą.

Naudojant šį metodą, yra reikalingos kiekvieno geno standartinės kreivės. Kiekvieno geno DNR koncentracija kiekybiškai įvertinama pagal jo standartinę kreivę. Tuomet dominančio geno raiška yra normalizuojama pagal kontrolinio geno raišką (dažnai naudojami bendriniai genai). Labai svarbu, kad standartiniai ir replikų mėginiai būtų teisingai pažymėti mėginių nustatymo metu (skaitykite Skyrių 6.1.4). Ypač svarbu, kad kiekvienoje analizėje atitinkamiems mėginiams būtų priskirti tie patys pavadinimai. Vykdamas sudėtingas reakcijas, kuomet dominančio geno ir kontrolinio geno mėgintuvėlių pozicijos yra tokios pačios, pakanka nustatyti vieną mėginių apibrėžimų rinkinį. Jei atliekate santykinę raiškos analizę pagal kontrolinio geno raišką, naudodamiesi vienu kanalu (t.y., reakcija atliekama skirtinguose mėgintuvėliuose naudojant tą patį fluoroforą), tuomet turite suformuoti du mėginio blokus. Pirmasis turi žymėti tiriamųjų genų mėgintuvėlių pozicijas su mėginių pavadinimais, likusios pozicijos turi būti paliktos neįvardintos. Antrasis blokas turi žymėti kontrolinių genų mėgintuvėlių pozicijas. Programinė įranga suderins dviejų analizių mėginius, atsižvelgiant į jų pavadinimus.

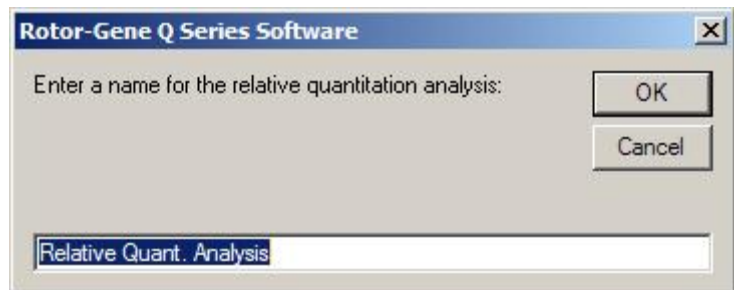
Raiškos analizė, naudojant dviejų standartų kreivės metodą

Pirmiausia, kiekvieno geno duomenys gali būti analizuojami naudojant kiekybinio įvertinimo analizę. Kitu atveju, kiekvieno geno rezultatai automatiškai apskaičiuojami naudojant funkciją “Autofind Threshold”.

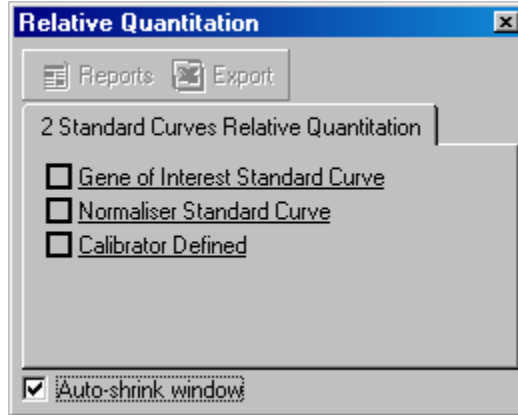
1. Lango “Analysis” pasirinkite skyrelį “2 Std Curve (Rel.)”. Spragtelėkite “New Analysis....”

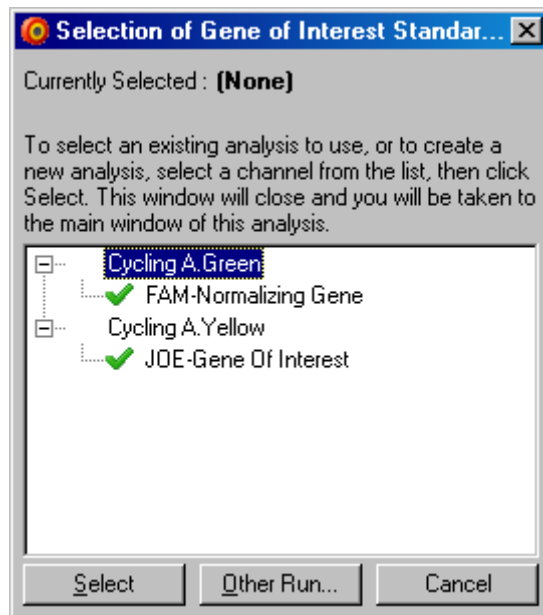


2. Įveskite analizės pavadinimą.

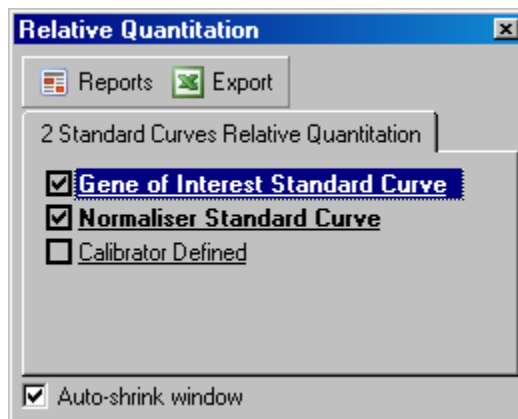


3. Pažymėkite blokus, naudojamus kontrolinių genų ir tiriamųjų genų analizei. Pavyzdžiui, spragtelėjus mygtuką "Gene of Interest Standard Curve", atidaromas langas "Selection of Gene of Interest Standard.....". Pasirinkite bloką, kuriame tiriamasis genas buvo kiekybiškai įvertintas. Tą patį atlikite ir su kontroliniu genu. Taip pat gali būti nustatomas kalibratorius (nebūtina). Pasirinkus šią galimybę, kalibratoriumi priskiriama vertė lygi 1, ir visų likusių mėginių koncentracijos yra apskaičiuojamos pagal šį mėginį.



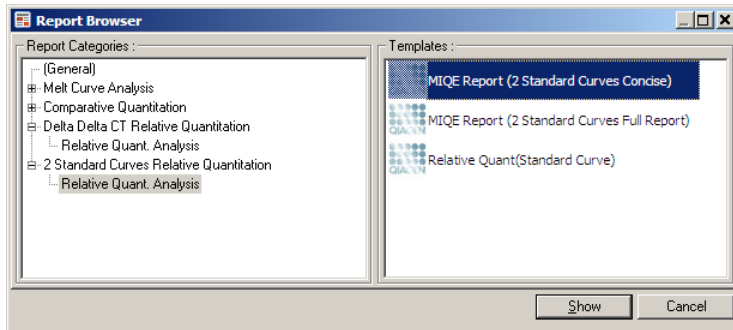


Atlikus visus šiuos pasirinkimus, šios galimybės bus pažymėtos varnele (žr. paveikslėlį apačioje).

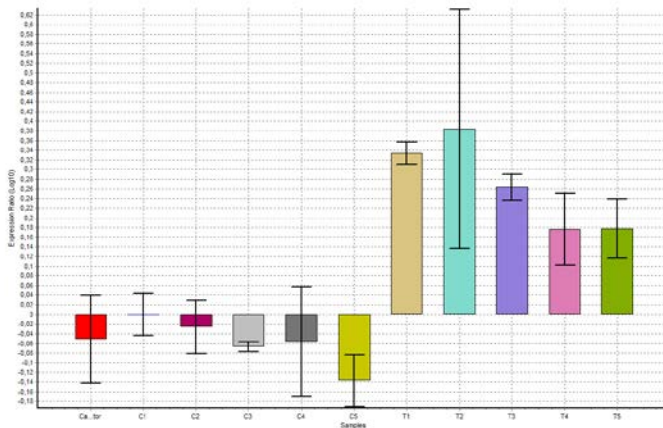


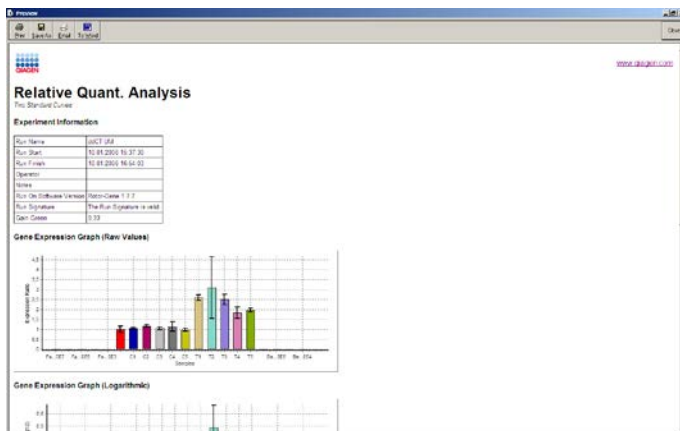
4. Spragtelėkite mygtuką "Reports", atidaromas langas "Report Browser". Sąraše pasirinkite reikiamą analizę. Spustelėjus mygtuką "Show", bus rodoma atitinkamo kiekybinio įvertinimo ataskaita. Funkcijos "Export" pagalba, šie rezultatai gali būti iškeliami naujos Excel bylos pavidalu. Jei į analizę buvo įtrauktas kalibratorius,

visų mėginių rezultatai apskaičiuojami pagal kalibratorinį mėginį, kuriam priskirta vertė lygi 1.



5. Pateikiamos iš standartinių kreivių nustatytos tiriamojo geno (GOI Conc.) ir kontrolinio geno (Norm. Conc.) koncentracijos vertės, taip pat santykinės koncentracijos (Relative Conc.) vertė. Šie rezultatai gali būti išsaugomi Word bylos pavidalu.





6. Rel Min ir Rel Max vertės generuojamos apskaičiuojant standartinį koeficiento nuokrypį nuo standartinių GOI ir Normalizer nuokrypių naudojant sekančią formulę:

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

kur:

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

7.6.4 Delta delta CT santykinis kiekybinis įvertinimas

Delta delta C_T metodas suteikia galimybę atlikti santykinės genų raiškos analizę, aprašytą Livak'o ir Schmittgen'o (2001)*.

Šiam metodui eksperimento metu nereikia įtraukti standartinių kreivių. Pirmiausia, kiekvienas mėginys yra normalizuojamas pagal įdėtos DNR matricos kiekį, lyginant su kontroliniu genu. Šios normalizuotos vertės toliau yra

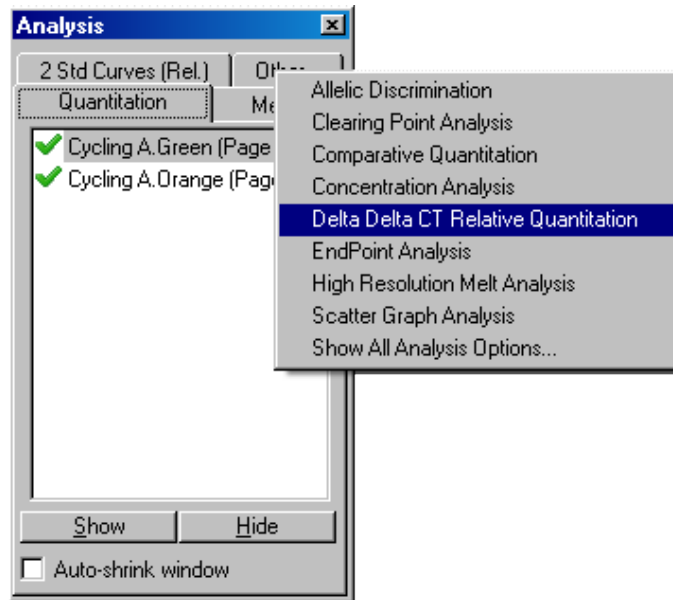
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method. *Methods* **25**, 402.

normalizuojamos, atsižvelgiant į naudojamą kalibratorių. Naudojami kalibratoriai gali būti laukinio tipo, neapdorotos kontrolės arba nulinio laiko mėginiai.

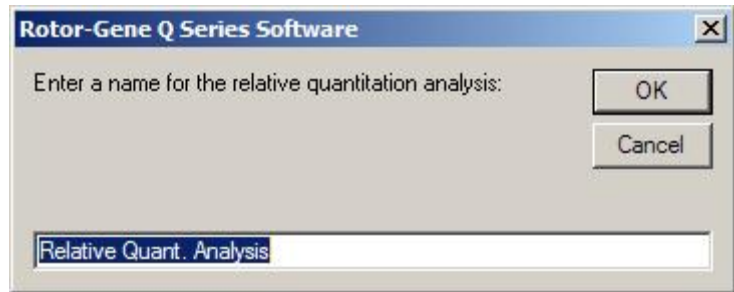
Labai svarbu, kad tiriamojo geno ir kontrolinio geno DNR padauginimo efektyvumai būtų vienodi, tai yra nustatoma, vadovaujantis Livak'o ir Schmittgen'o pateiktais nurodymais.

Taip pat būtina lange "Edit Samples" teisingai apibūdinti mėginius, t.y., kiekvienoje mišrioje analizėje vienodi mėginiai turi būti pažymėti identišškai.

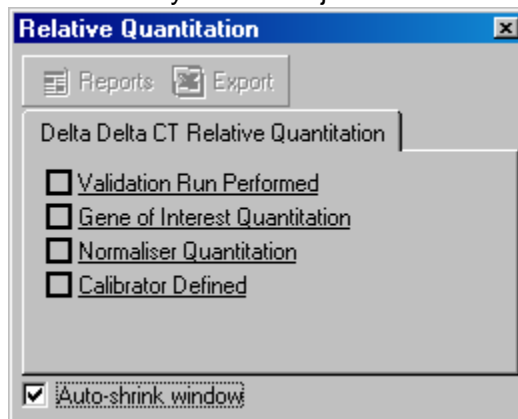
1. Duomenis analizuokite, naudodamiesi funkcija "Quantitation". Atlikus patvirtinimą, standartinės kreivės suformuoti nereikia.
2. Skyrelyje "Other", esančiame lange "Analysis", pasirinkite "Delta Delta C_T Relative Quantitation". Toliau pasirinkite "New Analysis".

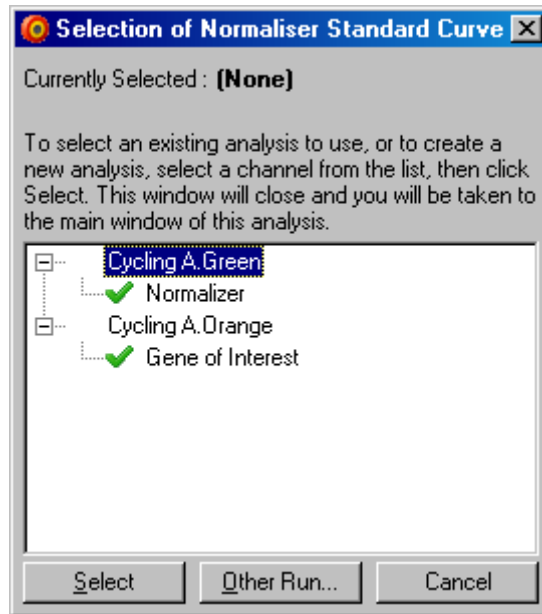


3. Įveskite analizės pavadinimą.

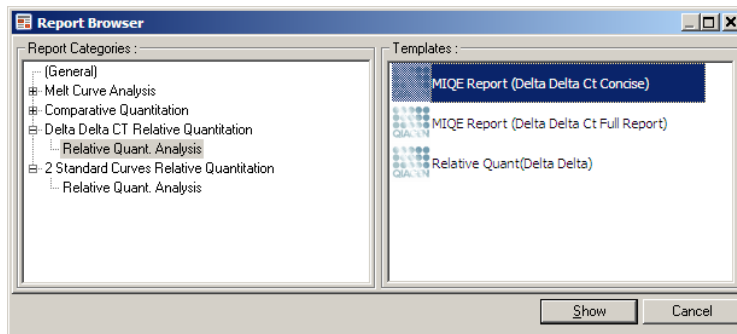


4. Norint tęsti analizę, turi būti pažymėtas langelis "Validation Run Performed". Nustatykite blokus, kuriuose yra analizuojami tiriamasis ir kontrolinis genai.





5. Spragtelėkite mygtuką “Reports”, atidaromas langas “Report Browser”. Sąrašė pasirinkite tinkamą analizę. Spragtelėjus mygtuką “Show”, yra pateikiama kiekybinio įvertinimo ataskaita. Funkcijos “Export” pagalba, šie rezultatai gali būti iškeliami naujos Excel bylos pavidalu. Jei į analizę buvo įtrauktas kalibratorius, visų likusių mėginių vertės apskaičiuojamos pagal kalibracinį mėginį, kuriam priskirta vertė lygi 1.



Žemiau esančiame paveikslėlyje yra pateikiamas šios analizės rezultatų pavyzdys. Rodomos tiriamųjų genų C_T vertės (GOI C_T) ir kontrolinių genų C_T vertės (Norm. C_T), taip pat Delta C_T , Delta Delta C_T ir santykinės koncentracijos vertė (Relative Conc.). Raiškos vertės pateikiamos, atsižvelgiant į kalibratoriniam mėginiui priskirtą santykinę raišką, lygią 1.

Dėl papildomos informacijos apie Rel Min and Rel Max skaičiavimų išvedimą, žr. Litvak ir Schmittgen (2001) straipsnį.*

| C | Replicate Name | GOI C_T | Norm. C_T | Delta C_T | Delta Delta C_T | 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 | 0.15228 | 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/ μ l | | 28.11 | | | | | | |
| | 0.316 IU/ μ l | 37.62 | 28.10 | 9.51 | 4.70 | 0.03857 | 0.03633 | 0.04094 | |
| | 1 IU/ μ l | 36.84 | 28.15 | 8.69 | 3.88 | 0.06805 | 0.04415 | 0.10489 | |
| | 3.16 IU/ μ l | 34.45 | 28.05 | 6.40 | 1.59 | 0.33305 | 0.28206 | 0.39325 | |
| | QS4 | 32.67 | 28.29 | 4.38 | -0.43 | 1.34525 | 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 | |

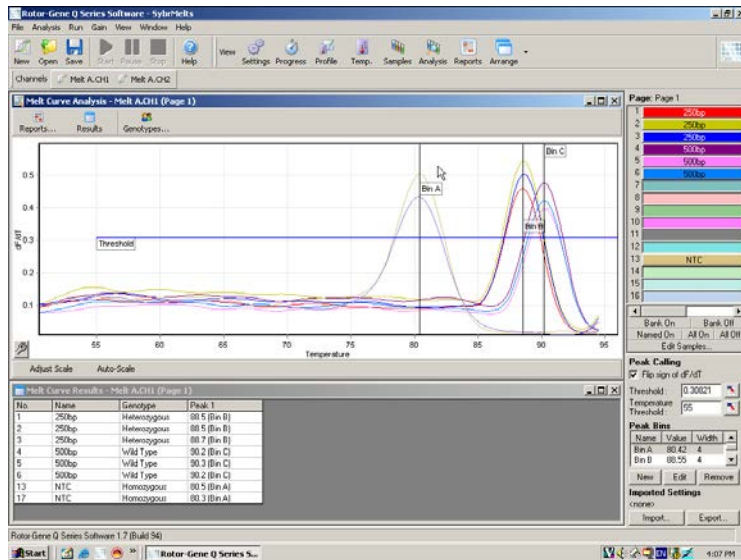
7.6.5 Lydymosi kreivės analizė

Lydymosi kreivės analizė yra naudojama neapdorotų duomenų rinkinio analizei po jų išlyginimo. Ši analizė naudinga atliekant genotipavimą ir alelinį diskriminavimą. Kreivės pikai yra sugrupuojami į “aruodus”, o visi pikai, kurių reikšmės yra mažesnės už slenkstinę reikšmę, yra pašalinami iš analizės. Naudojantis komanda “Genotypes”, suformuoti “aruodai” gali būti priskiriami atitinkamiems genotipams.

Pasibaigus eksperimentui, naudojant tam tikrus cheminius reagentus, galima įtraukti lydymosi etapą tam, kad būtų vizualiai pateikta padauginto produkto disociacijos kinetika. Šiuo atveju yra tiesiškai didinama temperatūra ir fiksuojami kiekvieno mėginio fluorescencijos signalai. Žemiau

* 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.

esantiame paveikslėlyje pateikiamas tipinės lydymosi kreivės analizės pavyzdys.



Flip sign of dF/dT: (dF/dT simbolis)

Prieš apibūdinami pikus, įsitinkinkite, kad duomenų rinkiniui yra nustatytas teisingas dF/dT simbolis.


Defining peaks: (Pikų nustatymas) Lydymosi kreivės analizės metu, lydymosi pikai gali būti nustatomi skirtingais metodais. Vienas iš metodų leidžia automatiškai parodyti visus kiekvieno mėginio pikus, kitu metodu pikai yra priskiriami “aruodams”, kurie ypač naudingi atliekant genotipavimą.


“Aruodai” apibūdina sritį, kurioje yra tikėtina užfiksuoti pikus. Lydymosi kreivės analizės metu, programinė įranga sugrupuoja pikus į “aruodų” grupes, atsižvelgdama į aktualaus piko vertę kreivėje. Esant reikalui, šie “aruodai” gali būti redaguojami.

Bet koks pikas, patenkantis į apibrėžtą intervalą, yra priskiriamas nustatytam “aruodui”. Jei šalia vienas kito yra du “aruodai”, pikas priskiriamas arčiausiai esančiam “aruodui”.

Pastaba: “aruodų” padėtis neturėtų būti vizualiai keičiama, įvertinant pikų pozicijas. Tam, kad pasiektumėte tikslius rezultatus, nustatykite “aruodus” apytikslėje dominančioje srityje ir naudokitės rezultatų lentelėje pateiktomis aktualiomis vertėmis.

Peak Bins: (Pikų “aruodai”) Norėdami nustatyti “aruodą”, spragtelėkite mygtuką “New Bin”, tada spragtelėkite pelės žymekliu virš grafiko ir užlaikykite pelės žymeklį, tokiu būdu nustatysite “aruodo” centrą. Jei norite pridėti kitą “aruodą”, visa tai pakartokite dar kartą. Jei norite panaikinti “aruodus”, naudokite mygtuką “Remove”.

Threshold: (Slenkstinė vertė) Norėdami nustatyti slenkstinę vertę (y ašyje), spragtelėkite piktogramą , tada spragtelėkite ir palaikykite pelės žymeklį virš grafiko bei patempkite slenkstinės vertės liniją iki norimo lygio.

Temperature Threshold: (Temperatūros slenkstinė vertė) Norėdami nustatyti temperatūros slenkstinę vertę (x ašyje), spragtelėkite piktogramą , tada spragtelėkite ir palaikykite pelės žymeklį virš grafiko bei patempkite slenkstinės vertės liniją į dešinę. Tokiu būdu yra eliminuojamos žemesnės temperatūros vertės.

Pastaba: ši funkcija yra naudinga, esant padidėjusiam foniniam trukdžiams žemose temperatūrose.

Ataskaitos

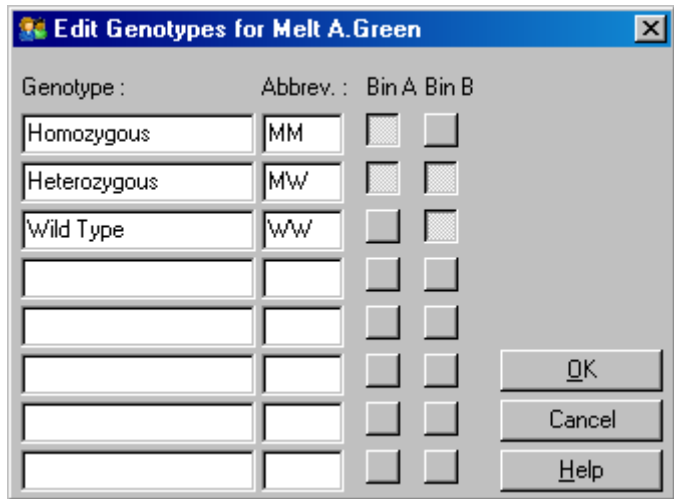
Atidaromas langas “Report Browser”, kuriame galima peržiūrai pasirinkti norimą ataskaitą. Galima sukurti ataskaitą, remiantis tuo metu pasirinktu kanalu, taip pat įmanoma sukurti daugiakanalio genotipavimo ataskaitą.

Rezultatai

Rodomas langas “Melt Curve Results”, kuriame pateikiami mėginių pikai.

Genotipai

Spragtelėkite mygtuką “Genotypes...” ir pasirinkite norimus genotipus (žr. paveikslėlį apačioje).

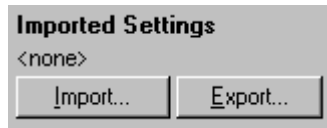


Šiame lange suteikiama galimybė priskirti genotipams dažniausiai pasitaikantių pikų „aruodus“. Pavyzdyje rodoma standartiškai nustatyto genotipo konfigūracija, kurioje heterozigotiniai mėginiai turi du pikus, homozigotiniai mėginiai – vieną piką pirmame „aruode“, o laukinio tipo mėginys – vieną piką antrame „aruode“. Šalia kiekvieno genotipo pavadinimo esančiame laukelyje galima įvesti sutrumpinimą. Ši savybė yra naudinga tuomet, kai atliekamas daugiakanalis genotipavimas, tokiu atveju santrumpos palengvina šios analizės rezultatų ataskaitos peržiūrą.

Atliekant sudėtinę analizę, kiekvienam kanalui turi būti nustatytas genotipas. Pavyzdžiui, jei atliekama slopinamojo FRET analizė dviem kanalais, kuomet kiekviename kanale tikėtini atitinkamai laukinio tipo ir heterozigotiniai genotipai, kiekvienam kanalui turi būti nustatyti „aruodų“ parametrai. Tokiu atveju yra pateikiama sudėtinė rezultatų ataskaita.

Lydymosi analizės ruošiniai

Lydymosi analizės ruošiniai suteikia naudotojui galimybę išskelti normalizavimo, slenkstinių verčių, genotipų ir „aruodų“ parametrus *.met formato bylos pavidalu. Ši byla gali būti įkeliama ir pakartotinai pritaikoma kitiems eksperimentams. Norėdami sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 8.1.



7.6.6 Lyginamasis kiekybinis įvertinimas

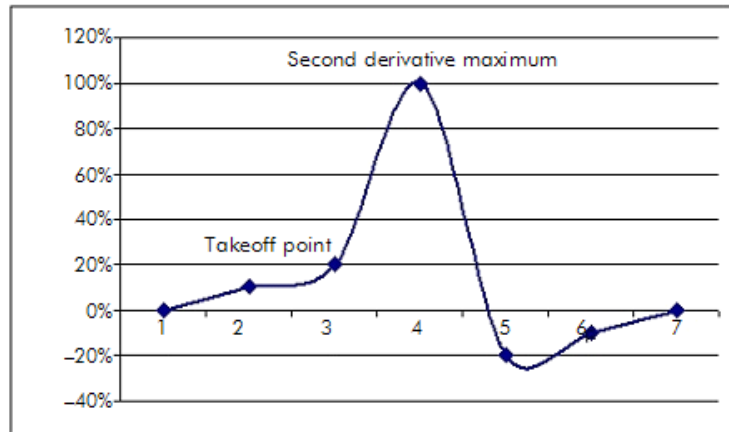
Lyginamasis kiekybinis įvertinimas atlieka mėginių santykinės raiškos palyginimą su kontroliniais mėginiais, kuomet eksperimento metu nėra prieinama standartinė kreivė. Šis metodas dažnai naudojamas atliekant mikrogardelių analizę. Šios metodikos pavyzdys pateikiamas Warton'o ir bendraautorių (2004)* publikacijoje.

1. Norėdami atlikti šią analizę, lange "Analysis" pasirinkite "Other", tada "Comparative quantitation". Du kartus spragtelėkite virš analizuojamo kanalo.
2. Žemiau dešinėje apatinėje ekrano pusėje esančios tvarkyklės rodomame lange pasirinkite kontrolinius mėginius.
3. Rezultatai automatiškai apskaičiuojami ir pateikiami lange "Comparative Quantitation Results", esančiame žemiau grafiko.

Pirmuosiuose lango "Comparative Quantitation Results" stulpeliuose pateikiami mėginių numeriai ir jų pavadinimai. Stulpelyje "Takeoff" pateikiamos mėginių "kilimo" (takeoff) taškų vertės. Antrasis padauginimo grafiko darinys rodo pikus, atitinkančius maksimalų fluorescencijos signalo padidėjimą. Mėginių "kilimo" taškas yra apibūdinamas kaip ciklas, kuriame antrinis darinys (second derivative) pasiekia 20% maksimalaus lygio vertės, o tai rodo, kad padauginimas pereina į eksponentinę fazę (foniniai trukdžiai nebeturi prasmės).

Šiame grafike pateikiamas padauginimo grafiko antrinis darinys, rodomi atitinkamai antrinio darinio pikas bei "kilimo" taškas.

* 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.



Stulpelyje “Amplification” yra pateikiamos mėginių reakcijos efektyvumo vertės. 100% reakcijos efektyvumas atitinka kiekvieno mėginio DNR padauginimo vertę 2, o tai reiškia, kad kiekviename cikle padauginamos DNR kiekis padvigubėja. Neapdorotų duomenų atveju, fluorescencijos signalo vertė dvigubėja eksponentinėje fazėje. Pavyzdžiui, 12 cikle fluorescencijos signalo vertė lygi 50 fluorescencijos vienetų, 13 cikle - 51 fluorescencijos vienetas, 14 cikle fluorescencija turėtų pasiekti 53 fluorescencijos vienetus. Visos kiekvieno mėginio DNR padauginimo vertės yra suvidurkinamos, o ši suvidurkinta padauginimo vertė yra rodoma dešinėje ekrano pusėje žemiau tvarkyklės. Kuo didesni kiekvieno mėginio apskaičiuotų padauginimo verčių svyravimai, tuo platesni pasikliauties intervalai (kiekvienai vertei, rodomi ženklų \pm). Didelio mėginių skaičiaus (N) pasikliauties intervalai suteikia 68,3% tikimybę, kad tikrosios mėginių padauginimo vertės pakliūna į nustatytą intervalą (standartinis nuokrypis 1). Padvigubinus \pm intervalą, pasiekiamas 95,4% pasikliauties intervalas dideliame mėginių skaičiui N.

Kalibratoriaus replikos

Kaip ir delta delta C_T metodo atveju, šios analizės metu yra reikalingas kalibratorinis mėginys, ir visi matavimai yra atliekami būtent pagal kalibratorinį mėginį. Jeigu keletas mėginių pozicijų turi vienodus pavadinimus, analizei galima

naudoti kalibratorinių mėginių replikas, tokiu atveju bus naudojamas mėginių “kilimo” taškų vidurkis. Norint tinkamai pasinaudoti šia funkcija, įsitikinkite, kad replikos turi identiškus pavadinimus.



Apskaičiuojant raišką, yra naudojamos vidutinės padauginimo vertės. Pavyzdžiui, mėginiams, kurių padauginimo vertė yra žema, užtrunka žymiai ilgiau pasiekti tam tikrą amplikonų kopijų skaičių, lyginant su mėginiais, kurių padauginimo vertė yra aukšta. Lange “Comparative Quantitation Results” esančiame stulpelyje “Rep. Conc.” yra pateikiamos santykinės koncentracijos vertės. Santykinės kiekvieno mėginio koncentracijos, palygintos su kalibratoriniu mėginiu, yra apskaičiuojamos remiantis “kilimo” tašku ir reakcijos efektyvumu.

Pastaba: vertės, pateikiamos skyrelyje “Average Amplification”, esančiame dešinėje ± pusėje, atspindi vidutinių padauginimo verčių standartinius nuokrypius, pašalinus netipines padauginimo vertes. Jei šios vertės yra didelės, tai gali reikšti, kad visuose koncentracijų skaičiavimuose gali būti įsivėlusį klaida.

Programinė įranga santykinės koncentracijas apskaičiuoja tokiu būdu:

1. Kiekvieno mėginio “kilimo” taškai apskaičiuojami atsižvelgiant į antrinio padauginimo darinio pikus.
2. Apskaičiuojamas vidutinis 4 ciklų po “kilimo” taško DNR padauginimo padidėjimas. Ši vertė atitinka mėginio DNR padauginimo vertę.
3. Netipiniai (išsišokantys) DNR padauginimo rezultatai pašalinami iš analizės, priskiriant juos foniniams fluorescencijos trukdžiams.

4. Likusios padauginimo vertės yra suvidurkinamos. Gauta reikšmė atitinka vidutinę padauginimo vertę.
5. Kiekvienai kalibratorinio mėginio replikai yra apskaičiuojami vidutiniai “kilimo” taškai.
6. Santykinė mėginio koncentracija apskaičiuojama tokiu būdu: Padauginimo vertė / (Kalibratoriaus “kilimo” taškas – Mėginio “kilimo” taškas).
7. Rezultatas pateikiamas stulpelyje “Rep. Conc.”, esančiame lange “Comparative Quantitation Results”.

7.6.7 Alelinis diskriminavimas

Alelinio diskriminavimo metu atliekamas mėginių genotipavimas, naudojant tikrojo laiko dviejų ar daugiau kanalų kinetinius duomenis. Norėdami atlikti šią analizę, lange “Analysis” pasirinkite “Other”, tada “Allelic Discrimination”. Atliekant alelinį diskriminavimą, nepakanka du kartus spragtelėti virš vieno kanalo, kadangi šios analizės metu yra naudojami keli kanalai tuo pačiu metu. Atliekant šią analizę, laikydami nuspaudę mygtuką CTRL, pelės žymekliu spragtelėkite virš kiekvieno pageidaujamo kanalo arba patempkite nuspaudę pelės žymeklį virš šių kanalų. Pasirinkus norimus kanalus, spragtelėkite “Show”. Atnaujintame sąraše visi kanalai yra rodomi vienoje linijoje, šalia jų yra pažymėtos varnelės. Varnelėmis pažymėti kanalai reiškia, kad jie yra naudojami vienoje analizėje. Norėdami pašalinti vieną ar kelis kanalus, spragtelėkite dešiniuoju pelės mygtuku ir pasirinkite “Remove Analysis...”. Šie kanalai taip pat gali būti įtraukti ir į kitą alelinio diskriminavimo analizę. Vienu metu kanalas gali būti naudojamas tik vienoje analizėje.

| | |
|--------------------------|---|
| Reports: (Ataskaitos) | Peržiūrai atidaroma “Allelic Discrimination Analysis” ataskaita. |
| Results: (Rezultatai) | Atidaromas langas “Allelic Discrimination Results”. Pagal standartinį nustatymą, šis langas atidaromas, kai pirmiausia atidaroma analizė. |

Normalization options:
(Normalizavimo parinktys)

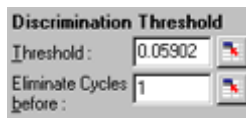
Neapdorotų duomenų normalizavimo optimizavimui yra prieinamos keletas galimybių:

- Dynamic Tube (dinaminis mėgintuvėlių normalizavimas)
- Slope Correct (trukdžių nuolydžio korekcija)
- Ignore First x cycles (trukdžių korekcija pradinuose cikluose)
- Takeoff point adjustment (Takeoff taško reguliavimas)

Norėdami sužinoti daugiau, žr. psl. 7-29.

Discrimination Threshold:
(Diskriminavimo slenkstinės vertės)

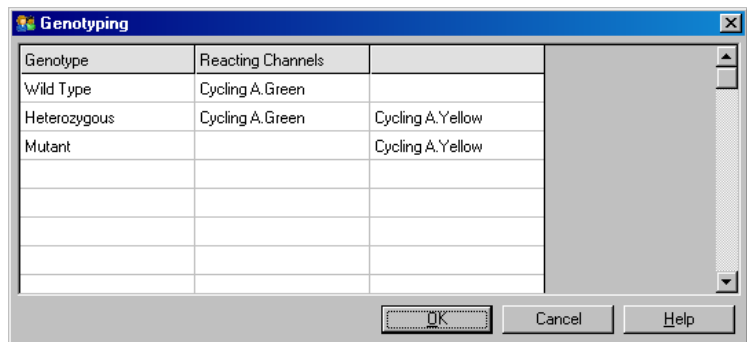
Tekstiniuose laukeliuose įveskite diskriminavimo slenkstines vertes. Visos kreivės, viršijančios šias slenkstines vertes, yra laikomos kaip priklausančios genotipavimui tinkamiems mėginiams. Taip pat slenkstinę vertę galima nustatyti spragtelėjus dešinėje tekstinio laukelio pusėje esančią piktogramą ir grafike pelės žymekliu patempus slenkstinės vertės liniją.



Genotypes:
(Genotipai)

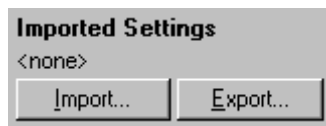
Atidaromas langas “Genotyping”, padedantis apibrėžti, kuris genotipas yra detektuojamas kiekvienu kanalu. Alelinio diskriminavimo analizei šis langas suteikia galimybę kanalams priskirti norimus genotipus.

Žemiau pateiktame pavyzdyje, mėginys laikomas heterozigotiniu, jei jis yra nuskaitomas kanalais Cycling A.Green ir Cycling A.Yellow.



Allelic analysis
templates:
(Alelinės analizės
ruošiniai)

Alelinės analizės ruošiniai suteikia galimybę iškelti normalizavimo, slenkstinės (Alelinės analizės) vertės ir genotipų parametrus *.alt formato bylos pavidalu. Ši byla gali būti įkeliamą ir pakartotinai pritaikoma kitiems eksperimentams. Norėdami sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 8.1.



7.6.8 Išbarstytų duomenų grafiko analizės modulis

Išbarstytų duomenų grafiko analizė suteikia galimybę atlikti genotipavimą, remiantis santykinę padauginimo kreivių išraišką per du kanalus. Skirtingai nuo alelinio diskriminavimo, šiuo atveju genotipas nustatomas pagal sritis, charakterizuotas išbarstytų duomenų grafikuose, o ne pagal vienintelę slenkstinę vertę. Norėdami atlikti šią analizę, lange “Analysis” pasirinkite “Other”, tada “Scatter Graph Analysis”.

Atliekant išbarstytų duomenų analizę, nepakanka du kartus spragtelėti virš vieno kanalo pavadinimo, kadangi vykstant šiai analizei vienu metu yra naudojami du kanalai. Norėdami pažymėti šiuos kanalus, laikykite nuspaudę mygtuką SHIFT ir pelės žymekliu spragtelėkite virš pageidaujimų kanalų pavadinimų. Juos pasirinkę, spragtelėkite “Show”.

Atsinaujinus sąrašui, visi varnelėmis pažymėti kanalai yra rodomi vienoje linijoje. Tai reiškia, kad jie visi yra naudojami vienos analizės metu. Norėdami pašalinti vieną ar kelis kanalus, spragtelėkite dešiniuoju pelės mygtuku ir pasirinkite “Remove Analysis...”. Šie kanalai taip pat gali būti įtraukiami ir į kitą išbarstytų duomenų grafiko analizę. Vienu metu tas pats kanalas gali būti naudojamas tik vienoje analizėje.

Reports: Peržiūrai atidaroma “Scatter Analysis”
(Ataskaitos) ataskaita.

Results: Rodomas langas “Scatter Analysis
(Rezultatai) Results”. Kiekvieno mėginio genotipas nustatomas pagal naudotojo apibrėžtas sritis išbarstytų duomenų grafikuose.

Normalization options:
(Normalizavimo parinktys)

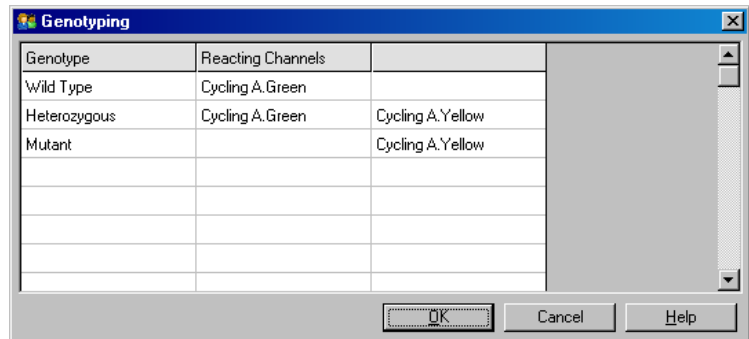
Suteikiama keletas galimybių optimizuoti neapdorotų duomenų grafikų normalizavimą:

- Dynamic Tube (dinaminis mėginių normalizavimas)
- Slope Correct (trikdžių nuolydžio korekcija)
- Ignore First x cycles (trikdžių korekcija pradinuose cikluose)
- Takeoff point adjustment (Takeoff taško reguliavimas)

Norėdami sužinoti daugiau, žr. psl. 7-29.

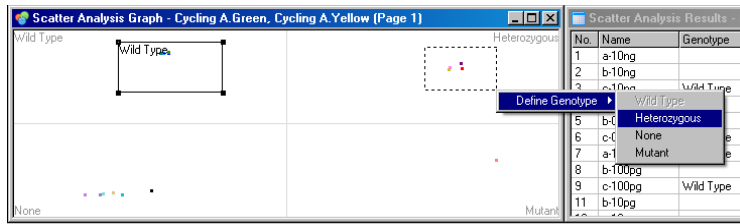
Genotypes...:
(Genotipai)

Atidaromas langas "Genotyping", kuriame charakterizuojamas kiekvieno kanalo detektuojamas genotipas. Šiame lange genotipai mėginiams priskiriami pagal kanalus, kuriais vyksta mėginių analizė. Pasirinkti kanalai pažymimi išbarstytu duomenų grafiko kampuose, pagal kuriuos naudotojas orientuojamas bendrame grafiko, kuriame apibrėžiamos sritys, plotyje.

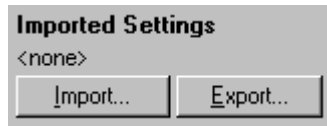


Scatter Graph: Išbarstyčių duomenų grafike pateikiama santykinė dviejų pasirinktų kanalų išraiška. (Išbarstyčių duomenų grafikas) Grafikas yra normalizuojamas, siekiant atsižvelgti į skirtingo laipsnio kiekvieno kanalo signalo padidėjimą ir yra paverčiamas į logaritminę skalę, norint išryškinti mėginių raiškos skirtumus.

Atliekant genotipavimą, naudotojas grafike pasirenka norimas sritis, spragtelėjus virš jų ir patempus pelės žymekliu. Šios sritys gali būti pažymimos, pasinaudojant lange "Genotyping" sukonfigūruotais genotipais.

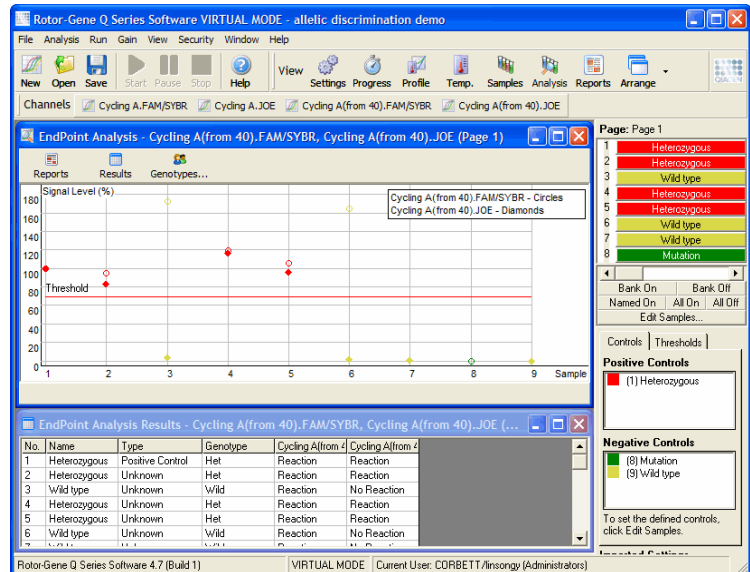


Scatter graph analysis templates: (Išbarstyčių duomenų grafiko analizės ruošiniai) Išbarstyčių duomenų grafiko analizės ruošiniai suteikia galimybę iškelti genotipų ir sričių nustatymus *.sct formato bylos pavidalu. Ši byla gali būti įkeliamą ir pakartotinai pritaikoma kitiems eksperimentams. Norėdami sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 8.1.



7.6.9 EndPoint analizės modulis

EndPoint analizės modulis suteikia galimybę eksperimento pabaigoje atskirti, kuriuose mėginiuose vyko DNR padauginimas, o kuriuose – nevyko. Čia remiamasi kokybiniais (teigiamas/neigiamas), bet ne kiekybiniais rezultatais. Žemiau pateiktame paveiksle rodomas EndPoint analizės pavyzdys.



EndPoint analizė panaši į alelinį diskriminavimą tuo atžvilgiu, kad rezultatas yra kokybinis, taip pat, kad skirtingų kanalų reakcijų tam tikriems deriniams gali būti priskiriami atitinkami pavadinimai. Vis dėlto EndPoint analizės metu yra galimas tik vienintelis nuskaitymas, skirtingai nuo alelinio diskriminavimo, kuomet kiekvieno mėginio nuskaitymai atliekami ciklas po ciklo. Tai reiškia, kad norint palengvinti analizę, naudotojas turi nustatyti teigiamą ir neigiamą kontrolinį mėginį. Neapdorotų duomenų atveju, kiekvienam kanalui mėginių signalai yra normalizuojami atsižvelgiant į žinomus teigiamus ir neigiamus kontroles. Naudotojas kaip slenkstinę vertę pasirenka procentinę signalo išraiškos vertę.

Sąvokos, naudojamose EndPoint analizės metu

Žemiau pateikiamos ir paaiškinamos kai kurios EndPoint analizės metu naudojamos sąvokos.

Positive control: Standartinis mėginys, kuriame vyksta DNR (Teigiama kontrolė) padauginimas.

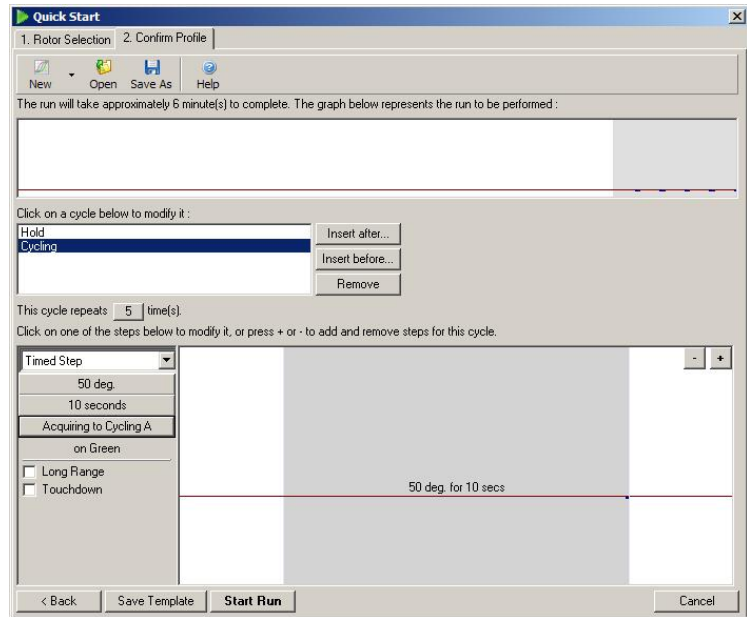
Negative control: Mėginys, kuriame nevyksta DNR (Neigiama kontrolė) padauginimas. Atspindi įprastą foninį signalo lygį.

Threshold: Tai signalo lygis, virš kurio mėginys (Slenkstinė vertė) laikomas teigiamu (vyksta DNR padauginimas). Šį parametą naudotojas turi pritaikyti kiekvienam eksperimentui.

Signal level: Procentinė fluorescencijos signalo (Signalų lygis) išraiška, normalizuota taip, kad didžiausia teigiamos kontrolės signalo vertė lygi 100%, o žemiausia neigiamos kontrolės signalo vertė lygi 0%.

Genotype: Skirtingais kanalais analizuotų skirtingų (Genotipas) reakcijų derinių interpretavimo rezultatai. Pavyzdžiui, genotipas "heterozigotinis" priskiriamas mėginiams, kurių reakcija vyko tiek žaliame, tiek geltoname kanaluose. Ši funkcija taip pat gali būti naudojama pateikiant vidinių kontrolių reakcijų rezultatus. Pavyzdžiui, priklausomai nuo to, ar tam tikrame kanale buvo stebima reakcija, rezultatai gali būti pateikiami kaip "nuslopinta", "teigiama" ar "neigiama".

Profilio konfigūravimas



Atliekant EndPoint analizę, yra vykdomas temperatūrinis profilis, sudarytas iš keletą minučių truncančio užlaikymo 50°C temperatūroje ir 1 ciklinio režimo etapo (50°C 10 sekundžių), duomenis kaupiant reikiamu kanalu. Nustatomas pakartojimų skaičius yra 5 (žr. paveikslą viršuje). Šie nustatymai yra rekomendacinio pobūdžio, konkrečiam pritaikymui jie gali kisti. Kuo daugiau profilyje atliekama pakartojimų, tuo daugiau informacijos suteikiama duomenų analizei. Analizės metu automatiškai suvidurkinami visų nuskaitymų rezultatai, taip kiekvienam mėginiui gaunamos vienintelės vertės. Nėra griežtai apibrėžtas konkretus pakartojimų skaičius, vis dėlto jei pageidaujamas ypatingas tikslumas, paprastai pakanka 5 pakartojimų.

Analizė

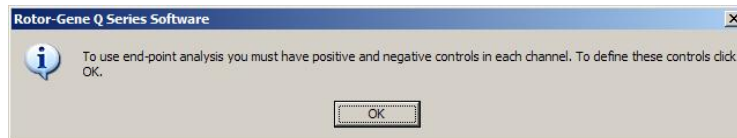
EndPoint analizė gali būti atliekama tuo pačiu metu iš karto keliais kanalais. Norėdami sukurti naują analizę, spragtelėkite virš skyrelio “EndPoint”, pasirinkite norimus

kanalus pažymėję juos pelės žymekliu ir spragtelėkite “Show”.



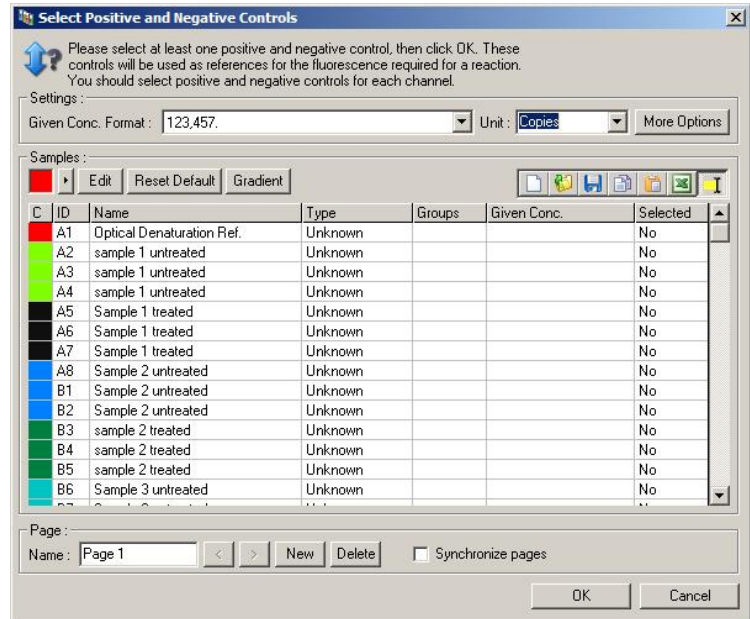
Kontrolių nustatymas

Atliekant EndPoint analizę pirmą kartą, jei nėra apibrėžtos teigiamos ir neigiamos kontrolės, yra rodomas žemiau pateiktas informacinis pranešimas.



Spragtelėkite “OK”. Pasirodžiusiame lange “Edit Samples” suteikiama galimybė nustatyti teigiamas ir neigiamas kontroles. Norėdami tai atlikti, spragtelėkite virš mėginio tipo langelio, ir naujai pasirodžiusiame lange pasirinkite pageidaujamą kontrolės tipą.

Pastaba: norint atlikti analizę, kontrolės privalo būti pažymėtos statusu “on”, naudojant dešinėje pagrindinio lango pusėje esančiu perjungėju.



Šis funkcinis langas veikia tokiu pačiu principu, kaip ir “Edit Samples” (Skyrius 6.1.4).

Normalizavimas

EndPoint analizės normalizavimo metu visų užfiksuotų signalų vertės pateikiamos 0–100% diapazone. Turi būti pasirinktos mažiausiai viena teigiama ir viena neigiama kontrolės, arba daugiau – jei analizuojama keliais kanalais ir standartiniai mėginiai nėra sudėtiniai. Jei yra rizika, kad teigiamos kontrolės mėginyje nevyks DNR padauginimas, turėtų būti naudojamos daugiau nei viena teigiama ir neigiama kontrolės.

1. Kiekvienam kanalui yra analizuojamos visos teigiamos kontrolės, užfiksuotas stipriausias fluorescencijos signalas pateikiamas kaip 100%. Jei yra atliekamas keletos identiškų kontrolių tyrimas, vienos teigiamos

kontrolės neveiknumas neturi įtakos viso eksperimento rezultatams.

2. Analizuojamos visos neigiamos kontrolės, užfiksuotas silpniausias fluorescencijos signalas pateikiamas kaip 0%.
3. Visų kitų mėginių neapdorotos fluorescencijos signalų vertės pateikiamos 0–100% intervale, atsižvelgiant į aukščiausią teigiamos kontrolės ir žemiausią neigiamos kontrolės fluorescencijos signalų vertes.

Pavyzdys:

| Mėginys | Tipas | Fluorescencija |
|----------------|-------------------|-----------------------|
| 1 | Teigiama kontrolė | 56,3 |
| 2 | Teigiama kontrolė | 53,0 |
| 3 | Neigiama kontrolė | 4,5 |
| 4 | Neigiama kontrolė | 4,3 |
| 5 | Mėginys | 48,1 |
| 6 | Mėginys | 6,4 |

Čia pateikiamas sėkmingo eksperimento pavyzdys, kadangi 2 teigiamų ir 2 neigiamų kontrolių fluorescencijos rezultatai yra labai artimi atitinkamai vienas kitam bei viršija maksimalią ir minimalią tiriamųjų mėginių fluorescencijos signalo vertes.

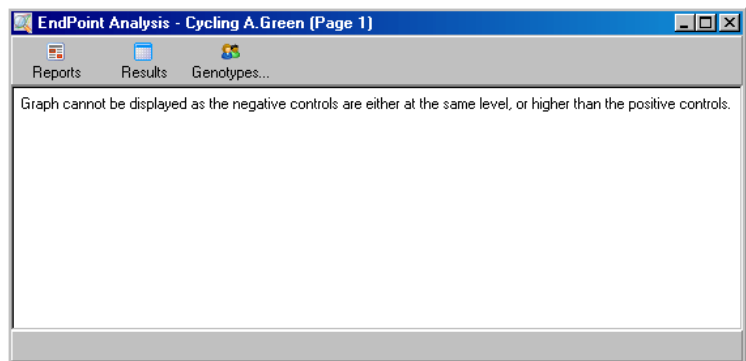
Normalizuotos vertės:

| Mėginys | Tipas | Išraiška (%) |
|----------------|-------------------|---------------------|
| 1 | Teigiama kontrolė | 100,0 |
| 2 | Teigiama kontrolė | 93,7 |
| 3 | Neigiama kontrolė | 0,4 |
| 4 | Neigiama kontrolė | 0,0 |
| 5 | Mėginys | 84,2 |
| 6 | Mėginys | 4,0 |

Mėginys 1 buvo teigiama kontrolė su aukščiausia fluorescencijos signalo verte, taigi ji buvo paversta į 100%. Kitų teigiamų kontrolių fluorescencijos signalai buvo šiek tiek silpnesni. Mėginys 4 buvo neigiama kontrolė su žemiausia fluorescencijos signalo verte, taigi ji buvo paversta į 0%. Akivaizdu, kad mėginyje 5 vyko DNR padauginimas, tuo tarpu mėginyje 6 jis buvo labai silpnas.

Pastaba: priklausomai nuo pasirinktų teigiamos ir neigiamos kontrolių, įmanoma pasiekti mėginių fluorescencijos išraišką, didesnę nei 100% arba mažesnę už 0%. Jei gaunami rezultatai viršija 100%, tai reiškia, kad mėginio DNR padauginimas viršija teigiamos kontrolės padauginimą. Jei gaunami rezultatai yra mažesni už 0%, tai reiškia, kad mėginių DNR padauginimas silpnesnis nei neigiamos kontrolės. Kadangi tai yra kokybinė analizė, į šiuos rezultatus nereikėtų kreipti dėmesio.

Jei neigiamos kontrolės fluorescencijos signalas yra stipresnis už teigiamos kontrolės signalą, tai gali reikšti neteisingai paruoštus mėginius (žemiau pateiktas apie tai informuojantis pranešimas).



Normalizavimas analizuojant sudėtiniais kanalais

Yra įmanoma analizuoti gautus signalų duomenis keliais kanalais, tačiau tokiu atveju mėginių nustatymas yra sudėtingesnis. EndPoint priima, kad analizė atliekama keliais kanalais ir kiekvienas mėgintuvėlis gali būti tik vienintelėje mėgintuvėlio pozicijoje. Šiuo metu nėra įmanoma analizė, kada toje pačioje pozicijoje esantis

mėgintuvėlis yra kaip teigiama kontrolė analizuojant vienu kanalu, ir kaip neigiama kontrolė analizuojant kitu kanalu. Nors lange “Edit Samples” vienai mėgintuvėlio pozicijai galimas tik vieno mėginio nustatymas, kiekvienam kanalui normalizavimas atliekamas nepriklausomai.

Jei mėgintuvėlio pozicijoje yra teigiama kontrolė daugiau nei vienam kanalui, ji turi būti apibūdinama kaip teigiama kontrolė stulpelyje “Type”, esančiame lange “Edit Samples”. Kitu atveju, šios pozicijos tipas gali būti “Sample”. Tai taip pat pritaikoma ir neigiamoms kontrolėms.

Pavyzdžiui, jei mėginys yra teigiama kontrolė žaliajam kanalui (bet ne geltonajam kanalui), šis mėginys vis tiek turi būti apibūdinamas kaip teigiama kontrolė. Kadangi kiekvienam kanalui naudojama aukščiausia teigiamos kontrolės signalo vertė, tai reiškia, kad jei geltonajam kanalui bus bent viena teigiama kontrolė, kurioje vyks DNR padauginimas, žaliojo kanalo kontrolės apibrėžimas bus ignoruojamas geltonojo kanalo atžvilgiu.

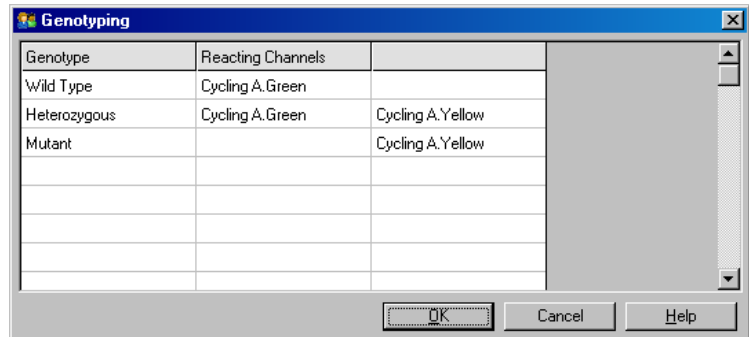
Slenkstinė vertė

Slenkstinė vertė yra naudojama nustatant procentinę išraišką, reikalingą reakcijai kiekvienam kanalui. Kai tik teigiamos ir neigiamos kontrolės yra apibrėžiamos, visų kanalų rezultatai normalizuojami tame pačiame 0–100% intervale. Todėl yra reikalinga tik viena slenkstinė vertė, netgi analizuojant keliais kanalais.

Spragtelėkite ir patempkite slenkstinės vertės liniją srityje nuo 0 iki 100. Slenkstinė vertė neturėtų būti per arti mėginių signalų reikšmių, kadangi tokiu atveju galutiniai eksperimento rezultatai gali būti nepatikimi. Jei skirtumas tarp esamo mėginio DNR padauginimo ir jo nebuvimo siekia tik kelis procentus, tai reiškia, kad pakartojus reakciją dar kartą, mėginio rezultatai gali patekti į priešingą slenkstinės vertės pusę.

Genotipai

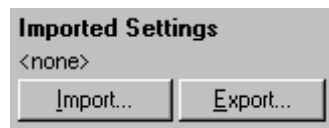
Pasirinkus šią galimybę, atidaromas langas “Genotyping”, kuris naudojamas kiekvieno kanalo detektuojamų genotipų charakterizavimui.



Šiame lange suteikiama galimybė priskirti genotipus kanalams. Viršuje pateiktame pavyzdyje mėginys pripažįstamas kaip heterozigotinis, analizuojant kanalais Cycling A.Green ir Cycling A.Yellow, kurie kerta slenkstinę vertę.

EndPoint analizės ruošiniai

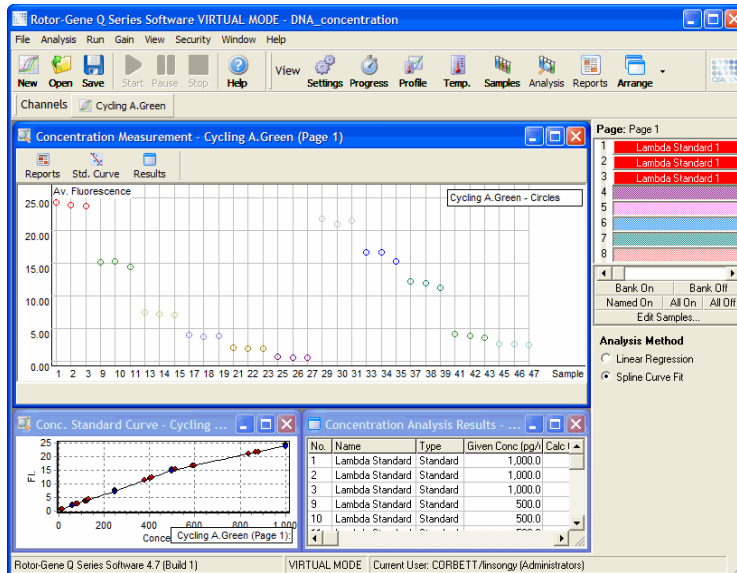
EndPoint analizės ruošiniai suteikia naudotojui galimybę išskirti genotipus ir slenkstinės vertės nustatymus ***.ent** formato bylos pavidalu. Ši byla gali būti įkeliama iš naujo ir pritaikoma kitiems eksperimentams. Norėdami apie tai sužinoti daugiau, skaitykite Skyrių 8.1.



7.6.10 Koncentracijų analizės modulis

Koncentracijų analizės modulis leidžia prietaisą Rotor-Gene Q MDx naudoti DNR koncentracijos matavimui arba gauti fluorometrinį nuskaitymų rezultatus.

Žemiau pateikiamas šios analizės pavyzdys.



Pasiruošimas prieš eksperimentą

Norėdami atlikti koncentracijų analizę, pirmiausia pasiruoškite fluorescencinius standartinius mėginius ir tiriamuosius mėginius (rekomenduojame pasirinkti trimis identiškomis kopijomis).

Standartinių mėginių paruošimas

Kiekvieno mėginio DNR koncentracijai išmatuoti yra naudojama standartinė kreivė.

DNR, kuri yra naudojama standartinės kreivės sukūrimui, turi būti tokio paties tipo kaip ir tiriamųjų mėginių DNR. Mažiausiai vieno mėginio DNR koncentracija turi būti nustatyta spektrofotometrinio būdu (ultravioletinio spektro bangos ilgiais), ir šis mėginys turi būti naudojamas kaip

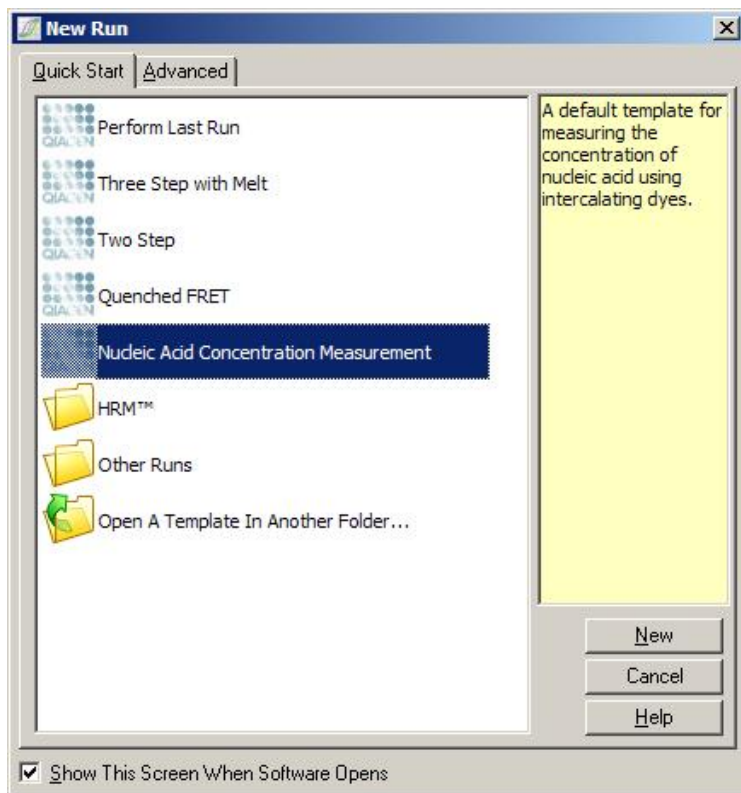
standartas. Turi būti naudojami mažiausiai 3 standartiniai mėginiai (kartu su replikomis). Pažymėtina, kad DNR standartai, naudojami fluorescencijos detekcijai, intervale 1–100 ng/μl yra išdėstomi tiesiškai. Šiame intervale DNR koncentracijai sumažėjus pusiau, yra fiksuojamas fluorescencijos nuskaitymas. Visų koncentracijos reikšmių, nepatenkančių į šį intervalą, pasikliauties intervalai yra labai platūs (dėl cheminių reagentų apsprendžiamo netiesiškumo).

Tiriamosios DNR tipai

Pastebimi reikšmingi skirtumai, matuojant skirtingų tipų DNR koncentraciją (pvz., genominės DNR arba plazmidinės DNR). Todėl, tik panašių tipų DNR koncentracija gali būti matuojama kartu. Nenaudokite plazmidinės DNR standartinių mėginių, matuodami genominės DNR koncentraciją.

Eksperimento nustatymas

Norėdami nustatyti eksperimentą, pasirinkite “Nucleic Acid Concentration Measurement”, esantį greitos pradėties vedlyje.



Pastaba: įsitikinkite, kad teigiama kontrolė (didžiausios koncentracijos standartinis mėginys), yra įstatyta į pirmą mėgintuvėlio poziciją. Nesant teigiamai kontrolei, programinė įranga nesugebės optimizuoti įgijimo parametro vertę maksimaliam nustatymo jautrumui. Prieš eksperimentą yra paraginama nustatyti teigiamą kontrolę.

Analizė

Mėginių koncentracijų analizė atliekama susiejant mėginių fluorescencijos signalo lygį su jų nukleorūgščių koncentracija. Galimi du analizės moduliai. Priklausomai nuo pritaikymo ir naudojamų cheminių medžiagų, pasirenkama optimalus analizės modulis.

“Linear Regression” modelis analizuoja duomenis laikant, kad egzistuoja tiesinė priklausomybė, ir apskaičiuoja

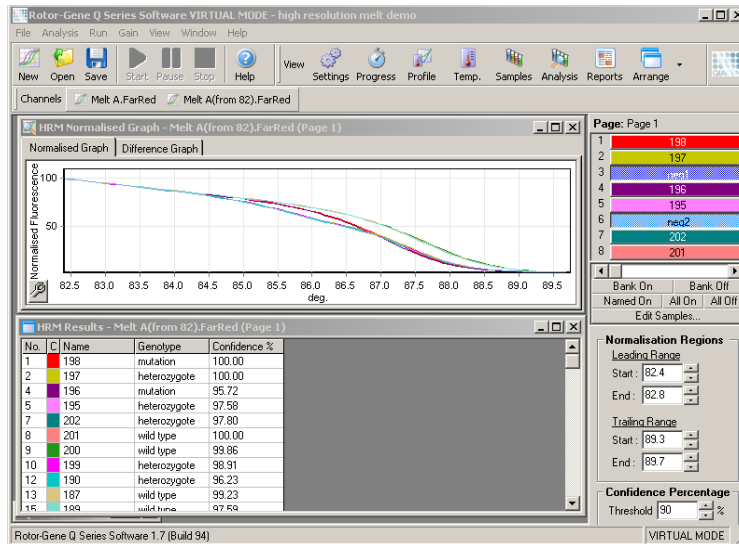
nežinomas vertes remiantis būtent tiesiniu modeliu. Šis modelis apskaičiuoja matavimų paklaidą atsižvelgiant į nuskaitymų nuokrypį tiesiniame modelyje. Jei koncentracijų nuskaitymų rezultatai yra tiesiniai, šis modelis yra pats tinkamiausias, kadangi naudotojui suteikia statistinių nuokrypų analizės galimybę (ANOVA).

“Spline Curve Fit” modelis analizuoja duomenis laikant, kad koncentracijų vertės didėja tik didėjant fluorescencijos signalo reikšmei. Nors šis modelis leidžia tiksliau įvertinti netiesinius rezultatus, tačiau jis nesuteikia ANOVA galimybės, kadangi neatitinka tiesinės priklausomybės modelio.

7.6.11 Didelės skiriamosios gebos lydimosi analizės modulis

Didelės skiriamosios gebos lydimosi analizės modulis (angl., HRM) charakterizuoja mėginius, remiantis jų nukleotidų sekos ilgiu, GC sąstatu ir sekos komplimentarumu. HRM analizė yra naudojama genotipavimo pritaikymams, pvz., genų mutacijų ir vieno nukleotido polimorfizmo (angl., SNP) tyrimams, taip pat epigenetiniams pritaikymams (pvz., DNR metilinimo statuso įvertinimui). HRM analizė suteikia tikslius rezultatus bei yra sąlyginai pigesnė, lyginant ją su zondų ir žymenų naudojimu.

Norėdami atlikti analizę, lange “Analysis” pasirinkite “Other”, tada “High Resolution Melt Analysis”. Du kartus spragtelėkite virš analizuojamo kanalo. Neapdorotų duomenų lydimosi kreivės normalizuojamos pagal suvidurkintas pradines ir galutines fluorescencijos signalo vertes, galutiniai kiekvieno mėginio duomenų taškai prilyginami šiam vidurkiui.



Mėginių automatinis iššaukimas pasiekiamas spragtelėjus virš "Genotypes". Įveskite genotipo pavadinimą, sekdami mėginio numeriu, kuris naudojamas kaip teigiama kontrolė nežinomų mėginių automatiniam iššaukimui.

HRM Genotypes

| Genotype | Control |
|--------------|---------|
| mutation | 198 |
| wild type | 201 |
| heterozygote | 197 |
| | |
| | |
| | |

Buttons: Clear, OK, Cancel, Help

Norėdami sužinoti daugiau apie HRM analizę, skaitykite Skyrių 11.

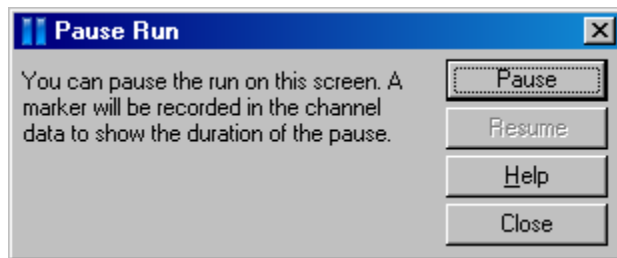
7.7 Eksperimento meniu

7.7.1 Pradėti eksperimentą

Šiuo pasirinkimu pradedamas apibrėžtas temperatūrinis profilis su tuo metu nustatyta įgijimo parametro reikšme. Prieš pradėdant eksperimentą, pasirodo langas “Profile Run Confirmation”. Kiekvienam kanalui yra rodomas grafinis temperatūrinio profilio vaizdas kartu su įgijimo parametro reikšme.

7.7.2 Laikinas eksperimento sustabdymas

Šiuo pasirinkimu eksperimentas gali būti laikinai sustabdytas ir vėliau pratęstas. Pažymėtina, kad laikinas jo sustabdymas ir vėlesnis atnaujinimas gali ypač paveikti eksperimento rezultatus. Todėl, gautuose duomenyse yra pažymima, kad eksperimentas buvo sustabdytas ir nurodoma pauzės trukmė. Pranešimų skyrelyje, esančiame lange “Run Settings”, taip pat patalpinamas apie tai informuojantis pranešimas. (žr. Skyrių 7.8.1).



ĮSPĖJIMAS



Karštas paviršius

[W18]

Laikinei sustabdžius eksperimentą, Rotor-Gene Q MDx neatlieka pilno vėsinimo iki kambario temperatūros. Ypač atsargiai elkitės, besiliesdami prie rotoriaus ar jame esančių mėgintuvėlių.

7.7.3 Eksperimento sustabdymas

Jei pasirenkama ši galimybė, pasirodo pranešimas, raginantis patvirtinti, kad tikrai norite sustabdyti eksperimentą.

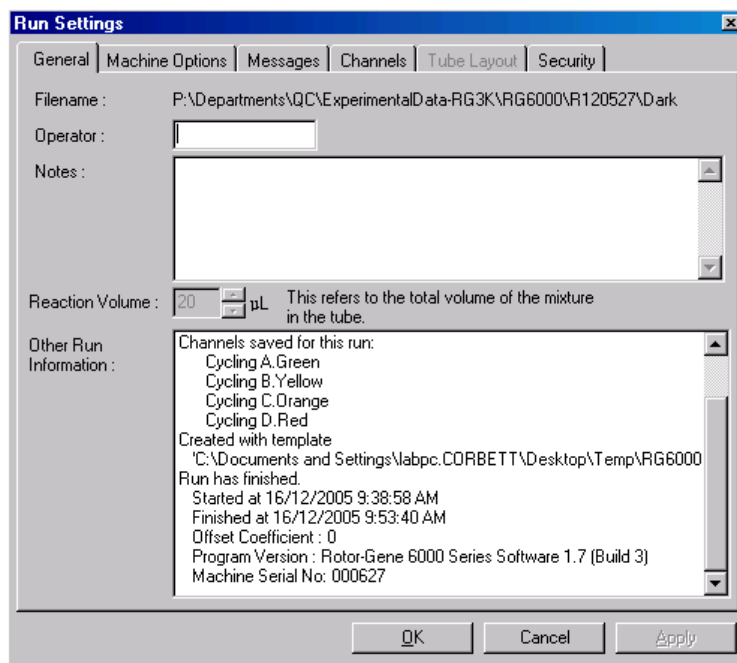
7.8 Peržiūros meniu

7.8.1 Eksperimento nustatymai

Bendra informacija

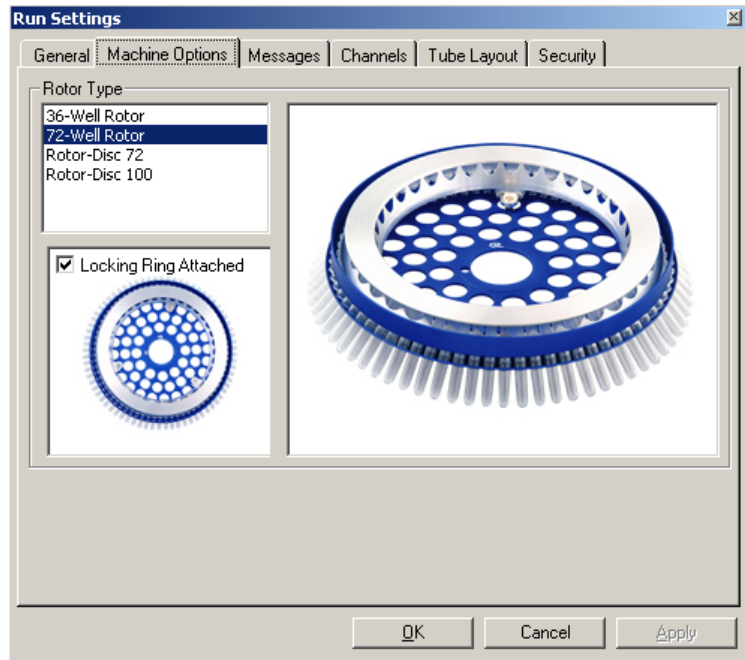
Šiame lange galima įvesti eksperimento pavadinimą, analizės datą, operatoriaus vardą ir kitas su eksperimentu susijusias pastabas.

Šiame lange pateikiama visa informacija, išskyrus eksperimento konfigūravimui reikiamą profilį. Pasibaigus eksperimentui, šiame lange pateikiama tokia informacija: naudotas cikleris, įgijimo parametro reikšmė, kanalų skaičius, eksperimento pradžios ir pabaigos laikai.



Prietaiso parinktys

Šiame skyrelyje pateikiami Rotor-Gene Q MDx konfigūracijos nustatymai.



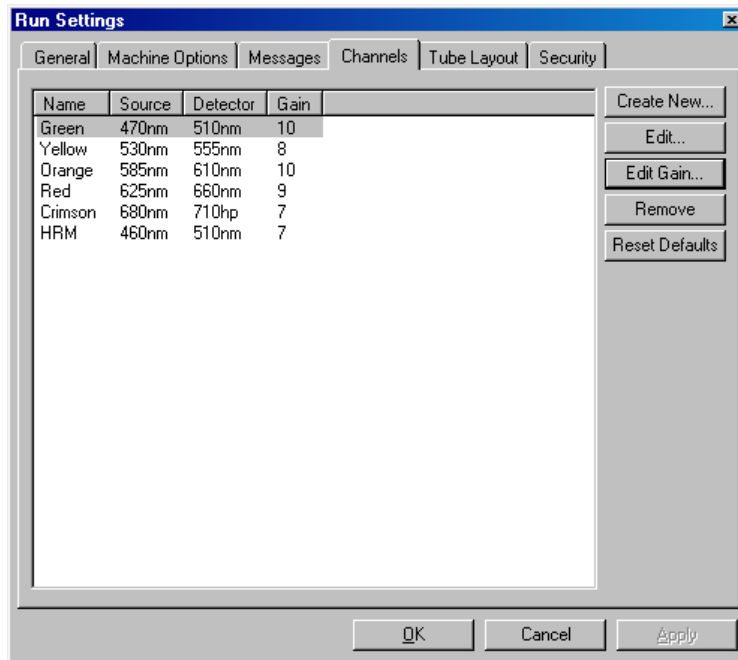
Rotoriaus nustatymas turi atitikti tą rotorių, kuris tuo metu yra įstatytas Rotor-Gene Q MDx. Jei atidarote jau esančio eksperimento nustatymus, yra pažymėtas tas rotorius, kuris buvo įstatytas prieš ankstesnį eksperimentą.

Pranešimai

Šiame skyrelyje rodomi informaciniai pranešimai, jei naudotojas atliko kokius nors pakeitimus – pvz., eksperimento metu laikinai sustabdė ciklerį ar praleido keletą ciklų. Taip pat rodomi eksperimento metu gauti pranešimai. Šio skyrelio informaciją reikėtų patikrinti, jei gavote ne tokius, kaip tikėjotės eksperimento rezultatus.

Kanalai

Konfigūruojant naujo eksperimento parametrus, šiame skyrelyje pateikiama tuo metu galimų naudoti kanalų konfigūracija. Peržiūrint jau esančių eksperimentų duomenis, pateikiama kanalų konfigūracija eksperimento vykdymo metu. Jei eksperimento metu yra iškraipomi kanalų nustatymai, standartinius kanalų parametrus galima atstatyti spragtelėjus “Reset Defaults”.



Name: Kanalo pavadinimas.
(Pavadinimas)

Source: Sužadinimo šaltinio LED bangos ilgio reikšmė.
(Šaltinis)

Detector: Detektuojamos šviesos bangos ilgio reikšmė ir filtro tipas (nm=apriboto pralaidumo, hp=aukšto pralaidumo).
(Detektorius)

| | |
|-----------------------------------|--|
| Gain: (Igjijimo parametras) | Konkrečiau kanalo įgjijimo parametro reikšmė. |
| Create New...: (Sukurti naują) | Ši funkcija leidžia sukurti naują kanalą. Spragtelėjus "Create New...", atidaromas langas, kuriame įvedami naujo kanalo pavadinimas, šaltinis ir detekcijos filtras. Filtrai gali būti pasirenkami naujai pasirodžiusiame meniu šalia kiekvieno lango. |
| Channels: (Kanalai) | Žalias, geltonas, oranžinis ir raudonas kanalai yra standartinė 4 kanalų konfigūracija sudėtinei detekcijai. |

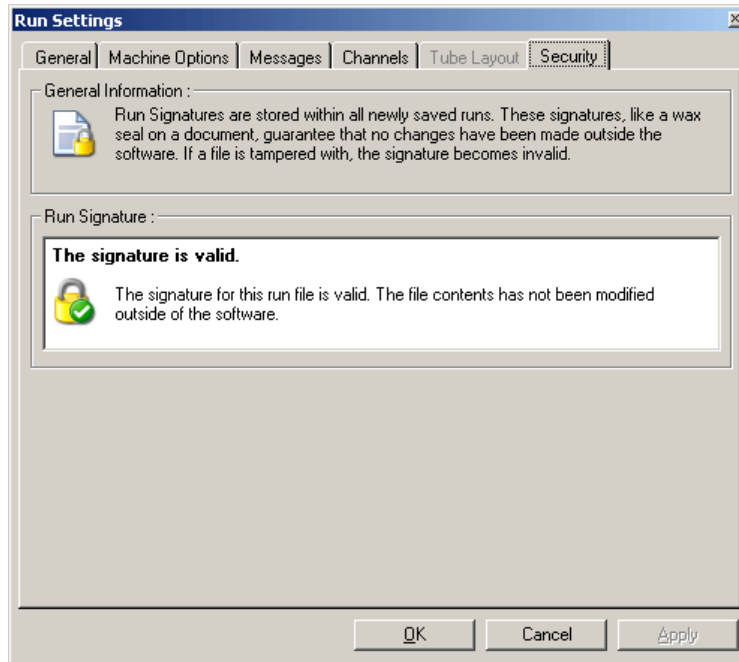
Mėgintuvėlių išdėstymas

Naudojant 72-šulinėlių rotorių, mėginiai pagal atitinkamą žymėjimą gali būti išdėstomi 9 x 8 dydžio bloke. Pagal standartinį nustatymą, mėgintuvėlių išdėstymo skyrelyje mėginiai gali žymimi nuosekliai (t.y., 1, 2, 3...). Tai reiškia, kad jie žymimi nuoseklia tvarka pagal tai, kaip jie yra išdėstyti Rotor-Gene Q MDx rotoriuje. Taip pat mėginiai gali būti žymimi 1A, 1B, 1C ir tt. pavidalu. Ši galimybė naudinga tuomet, kai mėginiai yra išpilstomi daugiakanale pipete.

Saugumas

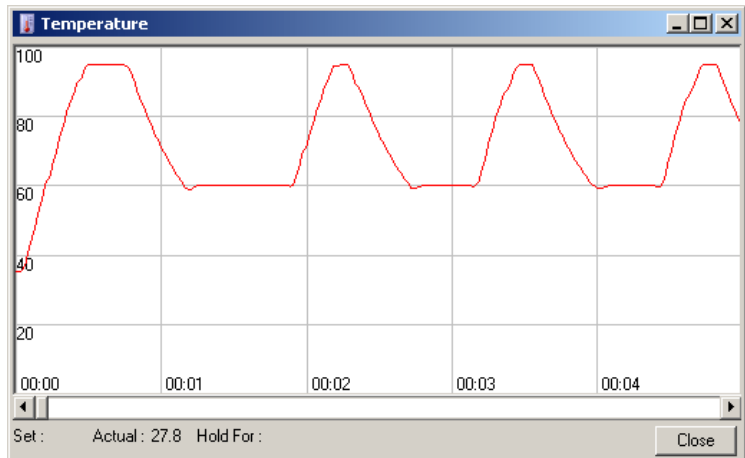
Saugumo skyrelyje pateikiama informacija apie eksperimento parašus. Eksperimento parašas yra nepakeičiamas ir nepanaikinamas žymuo, generuojamas kiekvieną kartą, kai eksperimento byla yra keičiama. Jei bet kuri *.rex formato bylos dalis yra keičiama naudojant kitą programinę įrangą, byla ir jos parašas nebeatitiks vienas kito. Tikrinant eksperimento parašus, galima įsitikinti, kad neapdoroti duomenys nebuvo keisti, naudotas profilis nebuvo pažeistas ir temperatūriniai grafikai yra galiojantys. Parašai taip pat apsaugo nuo sisteminių sutrikimų sukulto bylų iškraipymo.

Pastaba: jei *.rex formato bylos yra siunčiamos elektroniniu paštu, parašai gali būti pažeisti šifravimo metu. Norėdami to išvengti, prieš siunčiant, rekomenduojame bylas suarchyvuoti.



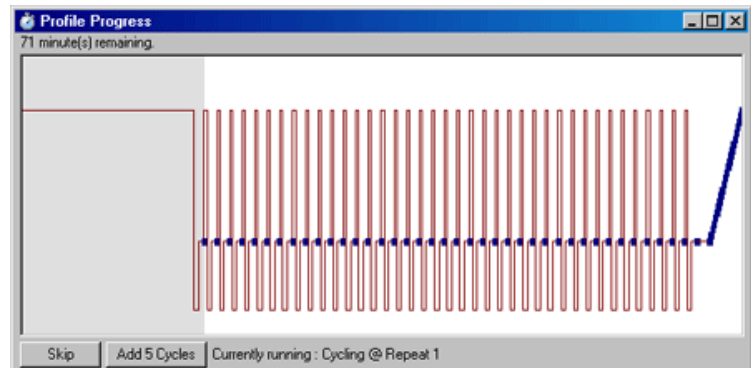
7.8.2 Temperatūriniai grafikai

Pasirinkę funkciją “Temperature Graph”, esančią meniu “View” arba spustelėję mygtuką “Temp.”, atidarysite langą “Temperature”. Grafike matyti nustatyta temperatūrinė eiga ciklinio režimo metu, tačiau neatspindi tikrojo laiko temperatūrinius matavimus. Eksperimentui tęsiantis, “Set”, “Actual” ir “Hold” laikai rodomi kiekviename programos etape. Peržiūrint jau esančio eksperimento bylą, lange “Temperature” yra rodoma įvykusio eksperimento temperatūrinės eigos istorija. Reikšmės vertikaliajoje ašyje atspindi temperatūrą, o reikšmės horizontaliojoje ašyje – laiką. Naudodamiesi slankiąja juosta, lange “Temperature” galite slinkti į priekį arba atgal.



7.8.3 Profilio vystymasis

Pasirinkę funkciją “Profile Progress”, esančią meniu “View” arba spustelėję mygtuką “Progress”, atidarysite langą “Profile Progress”. Šiame lange grafiniu pavidalu yra vaizduojama su eksperimentu susijęs šiluminis profilis. Vykstant eksperimentui, tamsesnė lango dalis vaizduoja jau įvykusius ciklus. Taip pat apytiksliai apskaičiuojama, kiek minučių liko iki eksperimento pabaigos.

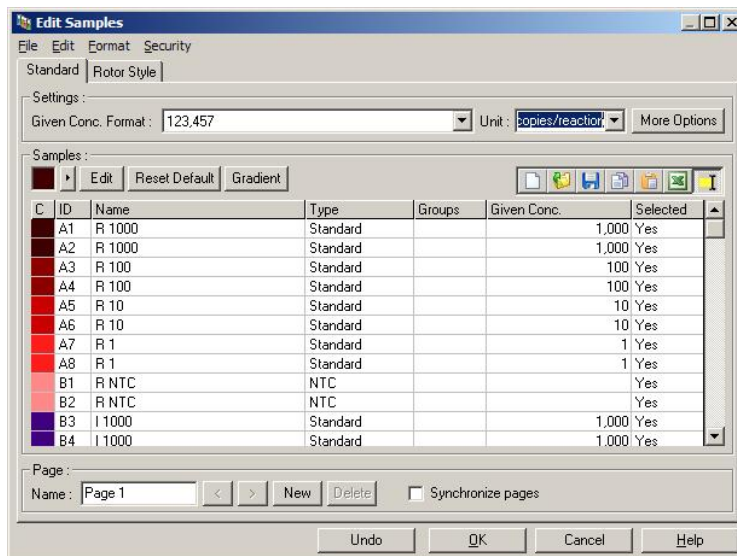


Skip:
(Praleisti)

Funkcija “Skip” suteikia galimybę praleisti keletą profilio ciklų.

Add 5 Cycles: Funkcija “Add 5 Cycles” suteikia galimybę (Pridėti 5 ciklus) pridėti 5 pakartojimus tuo metu vykstančiam ciklinio režimo etapui.

7.8.4 Mėginių redagavimas



Spragtelėję mygtuką “Samples”, atidarysite langą “Edit Samples”. Šį “Edit Samples” langą taip pat galite atidaryti spragtelėjus dešiniuoju pelės mygtuku virš dešinėje ekrano pusėje esančio mėginių sąrašo. Šiame lange pateikiamos tokios pačios funkcinės galimybės kaip ir vedliuose esančiame lange “Edit Samples”, išskyrus tai, kad funkcinių galimybių įrankių juosta taip pat yra prieinama “File” ir “Edit” meniu.

Viršutinėje lango dalyje matyti keturi meniu – “File”, “Edit”, “Format” ir “Security”. Meniu “File” naudojamas norint sukurti naują (tuščią) langą “Edit Samples”, atidaryti jau esantį mėginio ruošinį arba išsaugoti mėginių pavadinimus kaip ruošinius tolimesniam naudojimui. Šių ruošinių bylų formatas yra *.smp. Meniu “Edit” suteikia galimybę kopijuoti ir įklijuoti eilutes. Meniu “Security” pagalba galima apsaugoti mėginių aprašus.



Naujai pasirodžiusiame lange pasirenkamas tinkamas rodomy koncentracijų formatas. Koncentracijos yra automatiškai apipavidalinamos pagal tuo metu pasirinktą formatą.



Naujai pasirodžiusiame lange nustatomi tyrimo matavimo vienetai.

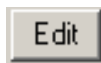


Mygtukas

Svarbumas

Line style:
(Linijų tipai)

Pakeitus linijų tipą, galima pagerinti grafikų vaizdavimą, spausdinant jų paveikslus juodai-baltai. Kai kurios linijos gali būti akcentuojamos, keičiant jų tipą. Norėdami aktyvuoti šią funkciją, spragtelėkite šalia “Edit” mygtuko esantį dešinę rodyklės mygtuką.



Spustelėję “Edit”, galite pasirinkti spalvas. Sudėtinės eilutės gali būti pasirenkamos mėgintuvėliams priskiriant atskirą spalvą.



Spragtelėję “Reset Default”, atstatysite standartines spalvines reikšmes.



Funkcija “Gradient” suteikia galimybę pasirinkti spalvinį gradientą nuo pirmos iki paskutinės pasirinktos spalvos. Mėginių nustatymui galima apibrėžti keletą spalvinių gradientų.



Mygtukas

Svarbumas



Piktograma “New” atidaro tuščią langą “Edit Samples”, paruoštą naujų duomenų įvedimui.



Piktograma “Open” atidaro langą, kuriame galima pasirinkti įkėlimui Rotor-Gene Q MDx bylas.

Pastaba: mėginių skaičius atidarytame lange ir įkeliamos bylos turi sutapti.



Piktograma “Save” atidaro langą, kuriame įvedami mėginio ir aplanko, kuriame bus saugomi mėginio apibrėžimai, pavadinimai.



Piktograma “Copy” leidžia kopijuoti pasirinktus langelius.



Piktograma “Paste” leidžia pasirinktoje pozicijoje įklijuoti prieš tai kopijuotus langelius.



Piktograma “Excel” atidaro langą, kuriame siūloma įvesti bylos ir aplanko, kuriame bus saugoma mėginio informacija, pavadinimus. Paspaudus “Save”, Excel byla atidaroma automatiškai.



Piktograma “Append/Overwrite” keičia langelių redagavimą lange “Edit Samples”. Pasirinkus perrašymą (overwrite), redagavimo metu jau esantys duomenys yra perrašomi. Pasirinkus papildymą (append), redagavimo metu nauji duomenys pridedami prie jau esančių duomenų.

Mygtukas Svarbumas

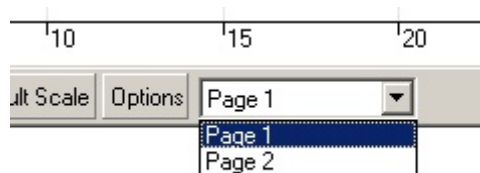
Sample Types: Mėginiai gali būti apibrėžti vienu iš kelių galimų tipų (žr. lentelę apačioje).
(Mėginių tipai)

| Mėginio tipas | Aprašymas |
|---|---|
| None (Nėra mėginio) | Pozicijoje nėra jokio mėginio. |
| NTC | Pozicijoje yra kontrolė be matricos. |
| Negative Control (Neigiama kontrolė) | Pozicijoje yra neigiama kontrolė. |
| Positive Control (Teigiama kontrolė) | Pozicijoje yra teigiama kontrolė. |
| Unknown (Nežinomas) | Pozicijoje analizuojamas nežinomas mėginys. |
| Standard (Standartinis) | Standartinei kreivei, pagal kurią apskaičiuojama nežinomo mėginio koncentracija, suformuoti naudojamos standartinės vertės. |
| Calibrator (RQ) (Kalibratorius) | Kalibratoriaus priskirta reikšmė yra 1 ir visų mėginių koncentracijos apskaičiuojamos atitinkamai pagal šį mėginį. |

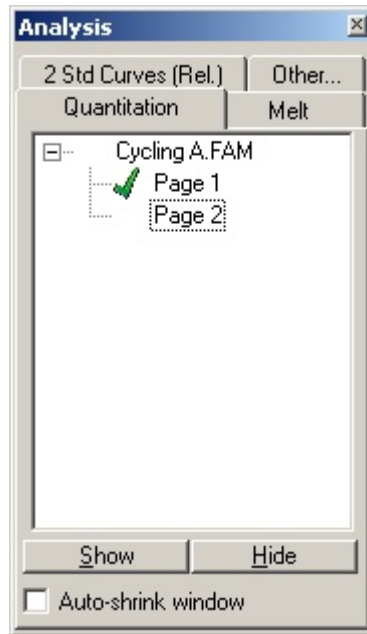
Page:
(Blokas)

Ši funkcija naudotojui suteikia galimybę turėti skirtingus mėginio aprašymus ir atskirti tyrimus to paties eksperimento metu. Tai naudinga skirtingų produktų analizei skirtingais kanalais. Norėdami peržiūrėti mėginio blokus, naudokite rodyklių mygtukus. Norėdami sukurti naujus arba panaikinti nereikalingus blokus, atitinkamai naudokite mygtukus "New" ir "Delete". Tam pačiam kanalui yra įmanoma turėti sudėtinius mėginio aprašymus tam, kad nubrėžtumėte sudėtinės standartines kreives, išvengiant daugkartinio eksperimento vykdymo. Paprasčiausiai apibūdinkite dominančius mėginius ir jų standartines kreives atskiruose blokuose. Tuomet vieninteliu kanalu galės būti analizuojamas kiekvienas apibrėžimų rinkinys nepriklausomai. Mėginių blokai gali būti žymimi "Page 1", "Page 2" ir tt., arba jiems gali būti suteikiami bet kokie kiti pavadinimai (pvz., "Housekeeper"). Šie pavadinimai bus rodomi ataskaitose.

Peržiūrint neapdorotus duomenis, naudojamų mėginių apibrėžimų blokai gali būti pasirenkami naujai pasirodžiusiame lange, esančiame šalia mygtuko "Options":



Atliekant analizę, norimas mėginio blokas gali būti pasirenkamas lange “Analysis” (žr. Skyrių 7.6.1).



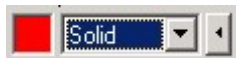
Given Conc.: Rodomos kiekvieno standartinio mėginio (Koncentracijos) koncentracijos. Koncentracijos reikšmių vienetai gali būti pasirenkami dešimtainiai arba logaritminiai. Jei naudojama skiestų standartinių mėginių seriją, pakanka įvesti tik pirmuosius du standartinius mėginius. Spustelėjus mygtuką ENTER, programa automatiškai pridės kitą standartinį mėginį, einantį skiedimo serijos eilėje.

Line style:
(Linijų tipai)

Pakeitus linijų tipą, galima pagerinti grafikų vaizdavimą, spausdinant jų paveikslus juodai-baltai. Kai kurios linijos gali būti akcentuojamos, keičiant jų tipą. Norėdami aktyvuoti šią funkciją, spragtelėkite dešiniąjį rodyklės mygtuką, esantį šalia mygtuko "Edit".



Įrankių juostoje rodomas standartinis linijų tipas "Solid". Šį tipą galima pakeisti į "Dashed", "Dotted", "Hairline", "Thin" arba "Thick". Pakeitus tipą, spragtelėkite kairinį rodyklės mygtuką, taip grįšite į "Edit", "Reset Default" ir "Gradient" meniu peržiūrą.



Multiple row entry:
(Sudėtinių eilučių įrašai)

Jei tą pačią informaciją norite įvesti iš karto keliose eilutėse, pasirinkite norimas eilutes ir pradėkite įvedinėti informaciją. Duomenys bus įvedami kiekvienoje eilutėje. Tai taip pat galima atlikti pasirenkant mėginių tipus, spalvas arba įvedant koncentracijas.

Sample type hotkey:
(Mėginių tipų greitis įvedimas)

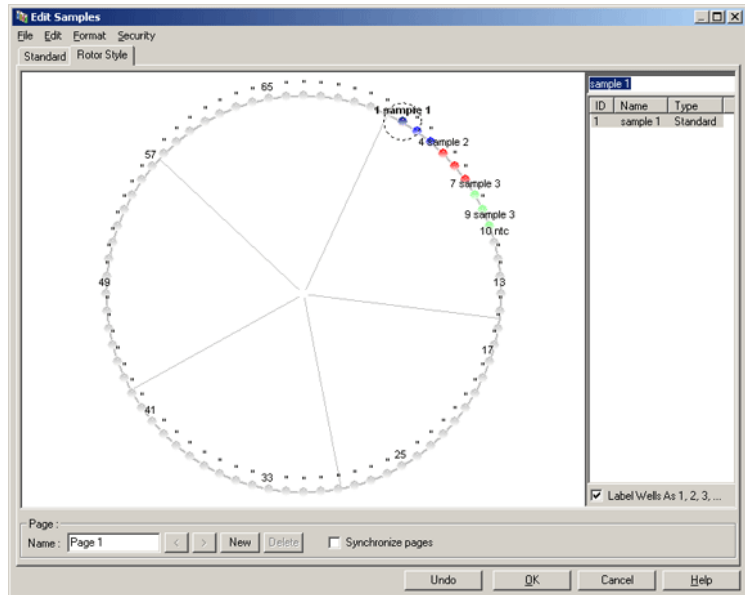
Norėdami greitai pasirinkti mėginio tipą, įveskite pirmąją jo pavadinimo raidę. Pavyzdžiui, nustatant penkis mėginius kaip matricos neturinčias kontroles, pasirinkite juos mėginių tipo kolonoje ir paspauskite raidę N (NTC). Visi mėginiai bus pakeisti į NTC.

Save it, reuse it: Pilnas mėginio aprašas gali būti išsaugomas mėginio bylos (*.smp) pavidalu ir naudojamas tolimesniems eksperimentams su ta pačia mėginių konfigūracija.

(Išsaugoti, pakartotinai naudoti)

Rotoriaus tipas

Šis skyrelis, esantis lange “Edit Samples”, suteikia galimybę įvesti mėginių pavadinimus kitu būdu. Pasirinkite replikas, spragtelėdami virš rotoriaus paveikslo esančių jų pavadinimų ir pelės žymekliu vilkite į norimą poziciją. Dešinėje lango pusėje esantis sąrašas atsinaujina. Galima įvesti mėginių pavadinimus, kurie bus priskirti esamiems pasirinkimams. Programinė įranga atpažįsta šiuos šulinėlius kaip replikas.



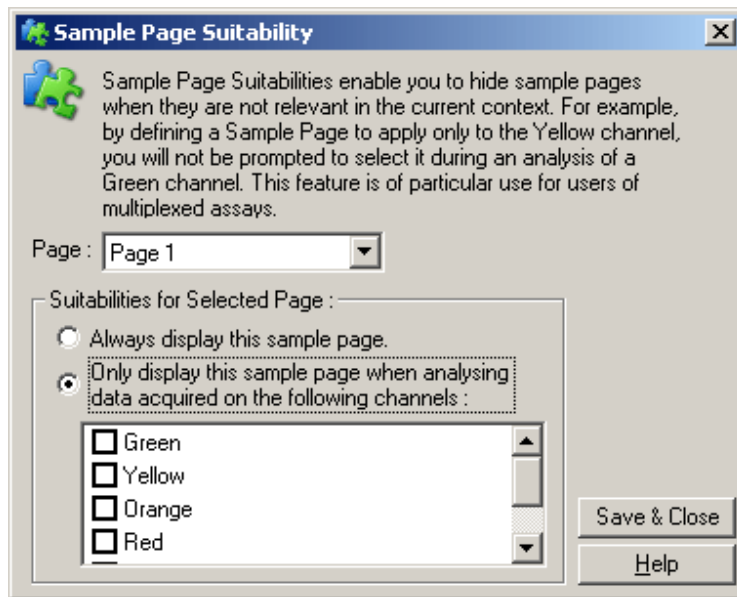
Skyrelyje “Rotor Style” yra sutrumpinta “Standard” skyrelio versija, skirta naudotojams, kurie pageidauja greitai įvesti mėginių pavadinimus ir spalvas. Tačiau šiame skyrelyje neįmanoma nustatyti kai kurių parametrų, pvz., ar mėginys

atitinka žinomos koncentracijos standartinį mėginį. Norėdami tai atlikti, naudokitės skyreliu “Standard”.

Mėginio bloko tinkamumas

Norėdami pasiekti langą “Sample Page Suitability”, spragtelėkite virš “More Options”, esančiame lange “Edit Samples”, tuomet spragtelėkite virš “Define Suitabilities”. “Sample Page Suitability” lange naudotojui suteikiama galimybė pritaikyti mėginių blokus prie kanalų. Pavyzdžiui, mėginio blokas, skirtas dominančio geno analizei, gali būti priskiriamas žaliajam kanalui, o mėginio blokas, skirtas bendrinio geno (housekeeping) analizei – geltonajam kanalui. Šiame pavyzdyje, mėginio bloko tinkamumo nustatymas sumažina galimų analizių skaičių, įtraukia tik konkrečiam tyrimui aktualias analizes.

Žemiau pateikiamas lango “Sample Page Suitability” pavyzdys.



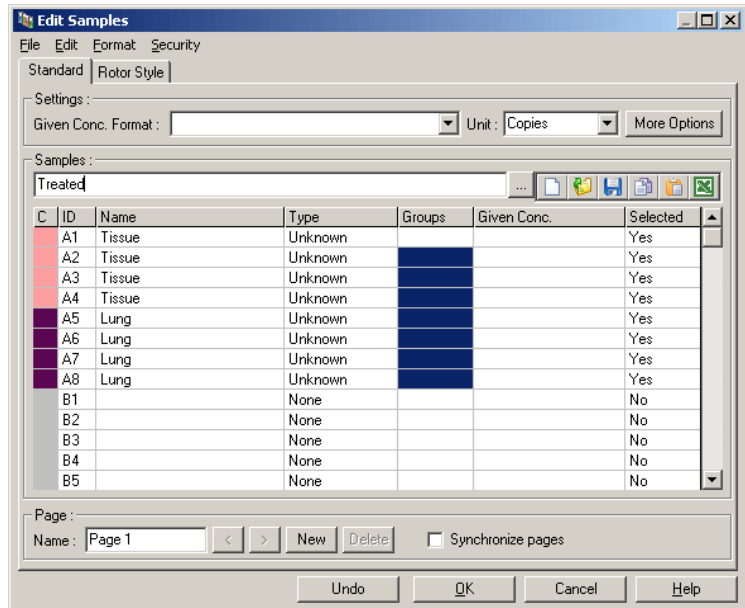
Pastaba: nustatinėdami tyrimo parametrus, sukurkite visus mėginio blokus ir jų tinkamumus bei išsaugokite juos kaip

ruošinį. Tai sumažina kiekvienam eksperimentui nustatyti reikiamų parametrų skaičių.

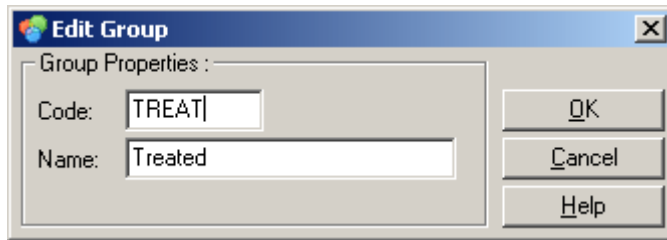
Grupės

Mėginių grupės suteikia galimybę statistškai suskaičiuoti sutartinai pasirinkto rinkinio mėginius. Skirtingai nuo replikų, kurios privalo turėti identiškus pavadinimus, mėginiai gali turėti bet kokius pavadinimus, gali būti išdėstyti bet kuriose rotoriaus pozicijose ir priklausyti sudėtinėms mėginių grupėms.

1. Norėdami apibrėžti grupę, įveskite pilną grupės pavadinimą laukelyje, esančiame šalia mėginio ir paspauskite ENTER.



2. Pasirodo langas "Edit Group".

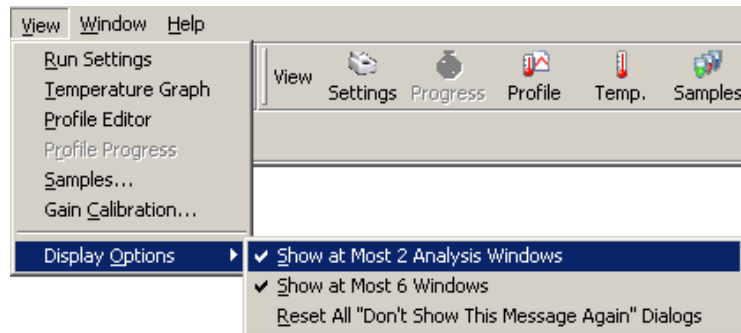


- Įveskite tinkamą santrumpą ir spragtelėkite "OK". Ši santrumpa galės būti naudojama nustatinėjant grupes. Bendrieji rezultatai, tokie kaip vidurkinė vertė ir 95% pasikliauties intervalai, kiekvienai grupei apskaičiuojami automatiškai bet kurios analizės metu.

| 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 | 18.92 | | | | | | | |
| 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 Vaizdavimo ekrane parinktys

Žemiau pateiktas vaizdavimo ekrane parinkčių meniu.



| | |
|--|---|
| Show at Most 2 Analysis Windows: (Rodyti daugiausia 2 analizių langus) | Pažymėjus šį pasirinkimą, vienu metu rodomi daugiausia dviejų analizių langai. Esant atidarytiems sudėtiniais langams, gali būti apsunkintas skaitomumas. Norėdami patikrinti, ar veikia ši funkcija, uždarykite pirmosios analizės langą ir pakeiskite jį paskutiniu atidarytu langu. Jei ši funkcija yra neaktyvuota, ekrane gali būti rodomi daugiau nei dviejų analizių langai. |
| Show at Most 6 Windows: (Rodyti daugiausia 6 analizių langus) | Siekiant pagerinti skaitomumą, atidarant naujus langus, programinė įranga uždaro likusius nenaudojamus langus. Ši funkcija yra aktyvuota standartiniu nustatymu, kurios pagalba Rotor-Gene Q programinės įrangos ekranas palaikomas laisvas nuo nenaudojamų langų. Jei Jūs norite matyti daugiau nei 6 langus vienu metu, šią funkciją inaktyvuokite. |
| Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs: | Pasirinkus šią funkciją, programinė įranga iš naujo parodo visus langelius, kuriuose buvo pažymėtas laukelis "Do not display this message again", tarp jų ir pranešimų langus, kuriais buvo bandoma įspėti apie įtartinus nustatymus, bet jų pakartotinis demonstravimas buvo inaktyvuotas. Tai gali būti naudinga pradedančiajam naudotojui, kuris yra detaliai nesusipažinęs su Rotor-Gene Q MDx ar Rotor-Gene Q programine įranga. |

7.9 Rotor-Gene Q programinės įrangos prieigos apsauga

Pastaba: šiame skyriuje aprašoma Rotor-Gene Q programinės įrangos prieigos apsauga. Informacijos apie atitinkamą Rotor-Gene AssayManager programinę įrangą rasite Rotor-Gene AssayManager v1.0 pagrindinės

programos naudotojo vadove (Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application User Manual) arba Rotor-Gene AssayManager v2.1 pagrindinės programos naudotojo vadove (Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application User Manual).

Rotor-Gene Q programinės įrangos ypatybės leidžia naudoti dirbti ja saugiai. Teisingai sukonfigūruota, Rotor-Gene Q programinė įranga užtikrina:

- Prieiga prie Rotor-Gene Q MDx arba analizės programinės įrangos yra suteikiama tik naudotojų grupėms.
- Eksperimento bylų apsauga nuo bet kokių pakeitimų.
- Neteisėtų modifikacijų aptikimas (parašai).
- Apsaugoti eksperimentų vykdymo ruošiniai.
- Apsaugoti mėginių pavadinimai.

Integracija į Windows operacinės sistemos apsaugines funkcijas

Siekiant suteikti aukšto lygio atskaitomybę, Rotor-Gene Q programinė įranga neatlieka saugumo funkcijų vien tik atskirai nuo operacinės sistemos. Paskyros, grupės, slaptažodžiai tvarkomi ir valdomi naudojantis Windows sukurtu apsaugos modeliu (Windows Security). Ši integracija leidžia naudoti tą patį slaptažodį, kuris suteikia prieigą prie tinklo bylų ir programų, kontroliuojamų Rotor-Gene Q programinės įrangos. Pavyzdžiui, didelėse institucijose tinklo administratorius gali lengvai panaikinti buvusiems naudotojams suteiktą prieigą, pasitelkiant centralizuotą saugumo modelį.

Dėl šios priežasties, saugiai įdiegiant Rotor-Gene Q programinę įrangą, pirmiausia sukonfigūruojamos Windows operacinės sistemos saugos funkcijos.

Būtinės sąlygos

Norint dirbti saugiai, Jūs privalote naudoti Windows 10 arba Windows 7 Professional edition operacinę sistemą. Windows 10 ar Windows 7 Home edition versija nesuteikia kai kurių saugumui reikalingų funkcijų, nes Home edition

versijose nėra programinės įrangos naudojamo *fine-grained* prieigos modelio. Programinė įranga turi būti įdiegiama pasirenkant “Force authentication through Windows domain” variantą.

Pastaba: jei esate įsiregistravę į Linux Samba domeną, saugumo meniu nėra rodomas. Norėdami naudotis saugumo ypatybėmis, privalote turėti vietinę prieigą arba Windows serverį.

7.9.1 Windows 7 konfigūravimas

Šiame skyriuje aprašoma, kaip reikia nustatyti sistemą, kad būtų saugiai paleista Rotor-Gene Q programinė įranga.

Norint naudoti apsaugines savybės, programinė įranga turi būti įdiegta naudojant “Force authentication through Windows domain” parinktį. Tokiu būdu Windows domenui yra siunčiama užklausa apie jūsų prieigos lygį ir įgaliojimus ir tai yra būtina atskaitomybei ir saugumo funkcijoms užtikrinti.

Naudojimas administratoriaus režime

Daugelis vartotojų naudoja savo kompiuterius administratoriaus režime, nenaudodami slaptažodžio. Nors tai yra patogu, yra neįmanoma nustatyti, kas naudoja kompiuterį. Tai pašalina atskaitomybę, ir neleidžia aktyvuoti daug Rotor-Gene Q programinės įrangos saugumo funkcijų. Naudojant administratoriaus režime, visos programinės įrangos funkcijos yra įjungtos. Todėl paleidimas administratoriaus režime užtikrina, kad vartotojai, kuriems nereikalingos apsaugos funkcijos, gali naudoti visas programinės įrangos funkcijas.

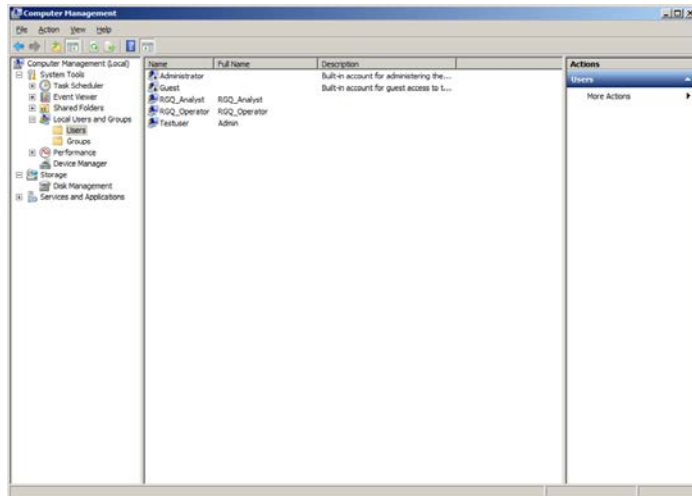
Naujo vartotojo paskyros sukūrimas

Sukurkite vartotojo paskyras kiekvienam programinės įrangos naudotojui. Pakartokite žemiau nurodytus veiksmus kiekvienam vartotojui, kol bus sukurtos visos paskyros.

1. Norėdami sukurti naują vartotoją, pasirinkite “Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer

Management” ir kairėje pusėje pasirinkite "Local Users and Groups".

2. Atsiradusiame lange pasirinkite “Users” aplanką. Paspauskite dešinį pelės klavišą dešiniame lange ir pasirinkite “New User”.



3. Įveskite vartotojo pavadinimą ir slaptažodį. Pagal nustelėjimą bus sukurtas vartotojas su normaliomis priegigos teisėmis. Tai reiškia, kad jie gali naudoti programinę įrangą, bet negali įdiegti naujų programų ar pakeisti sistemos nustatymų.

4. Paspauskite “Create”. Dabar galite prisijungti kaip šis vartotojas.

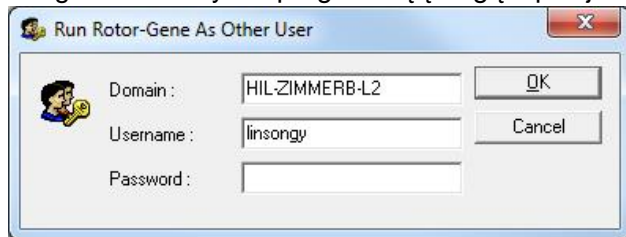
Kiekvieno vartotojo teisių priskyrimas

Dabar jūs turėtumėte kiekvienam vartotojui priskirti teises. Prieiga yra padalinta į šias sritis:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q Operatorius) - gali atlikti paleidimą, bet negali generuoti ataskaitų ar atlikti analizę
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q Analitikas) - gali analizuoti darbo rezultatus ir generuoti ataskaitas, bet negali atlikti naujų darbų
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q Operatorius ir Analitikas) - turi abiejų rolių galimybes
- Administrator (Administratorius) - gali atrakinti mėginių pavadinimus ir atlikti visas Analitikų Operatorių veiksmus
- None (Nėra) — prieiga prie programinės įrangos negalima.

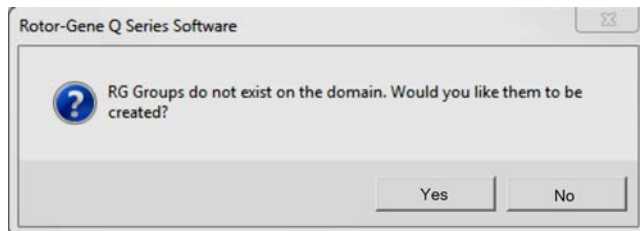
Norėdami priskirti teises:

1. Prisijunkite prie Windows administratoriaus vardu, arba naudodamiesi “Rotor-Gene Q Software Login” piktograma atidarykite programinę įrangą ir prisijunkite.

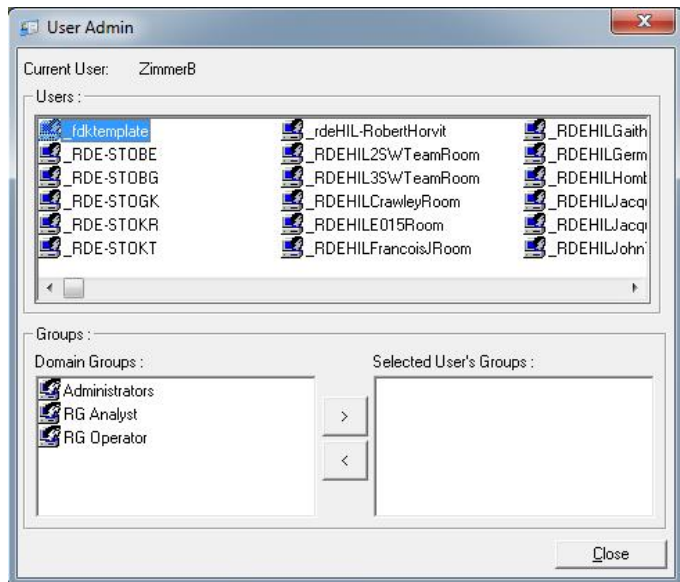


Pastaba: Norint su Rotor-Gene Q programine įranga sukurti RG Groups, būtina paleisti programinę įrangą su administratoriaus teisėmis. Tai padaroma su dešiniu pelės klavišu paspaudus darbalaukyje esančią piktogramą ir kontekstiniame meniu pasirinkus “Run as administrator”.

2. Kai programinė įranga atsidaro, paspauskite “Security” meniu. Pirmą kartą prisijungus prie “Security” meniu, Rotor-Gene Q programinė įranga sukonfigūruoja sistemos grupių, kontroliuojančių prieigą prie programos, skaičių.



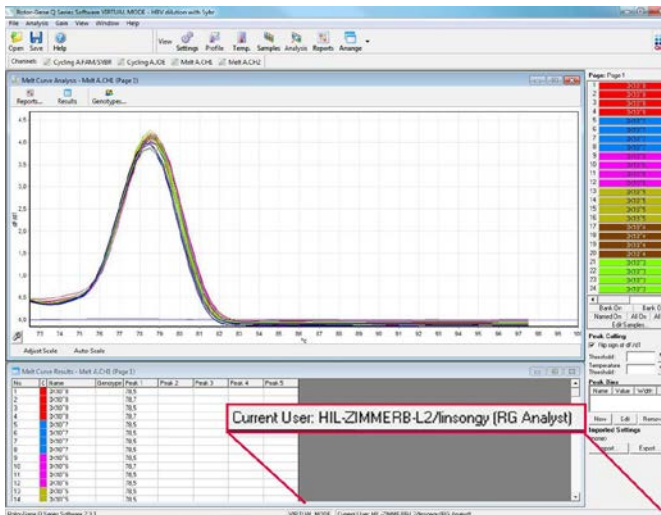
3. Paspauskite “Yes”. Atsidarys “User Admin” langas. Viršutiniame lange rodomi visi kompiuterio vartotojai. Kai kurias paskyras naudoja sistema, taigi jos bus nepažįstamos. Apatiniame lange rodomos vartotojui priskirtos grupės.



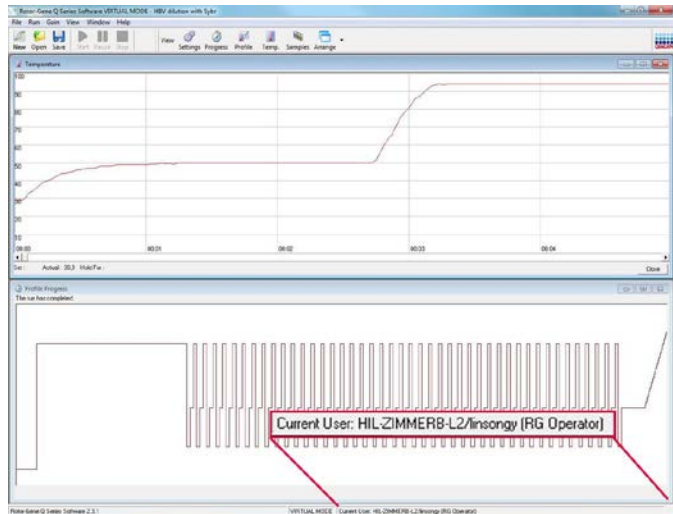
4. Norėdami priskirti vartotojui grupę, iš sąrašo pasirinkite vartotojo pavadinimą. Apatinis langas bus atnaujintas. Jeigu vartotojas neturi jokių grupių, jis negali paleisti programos. Žemiau esančiame pavyzdyje, mes priskiriame vartotoją "linsongy" RG Analitikų grupei, pasirenkant grupę kairėje pusėje, tuomet paspaudus ">" mygtuką. Grupės galima pašalinti, pasirinkus jas ir tuomet paspaudus "<" mygtuką.



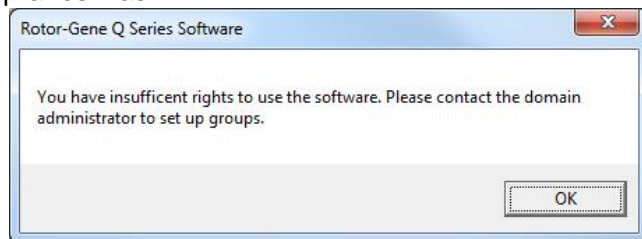
5. Dabar prisijunkite kaip šis vartotojas. RG Analitikui Paleidimo meniu ir "Profile" mygtukas yra nematomi. Visgi, egzistuojančias bylas galima atidaryti ir analizuoti, kaip parodyta momentinėje ekrano kopijoje žemiau. Parinkties juostoje matoma, kad vartotojas "linsongy" yra RG Analitikas.



6. Vėl prisijungus administratoriaus vardu, vartotojui “linsongy” galima priskirti RG Operatoriaus teises ir vėl nuimti RG Analitiko teises. Tuomet reikia programą paleisti iš naujo. Šį kartą Analysis menu ir “Reports” mygtuko nėra, ir matomas Paleidimo meniu. Parinkties juostoje matoma, kad vartotojas “linsongy” priklauso RG Operatorių grupei.



7. Jeigu jūs prisijingsite administratoriaus vardu ir vartotojui “linsongy” pašalinsite visas grupes, “linsongy” įjungus programą, atsiras žemiau parodytas pranešimas.



7.9.2 Windows 10 konfigūracija

Šiame skyriuje aprašoma, kaip reikia nustatyti sistemą, kad būtų saugiai paleista Rotor Gene Q programinė įranga. Norint naudotis saugiu režimu, programinė įranga turi būti įdiegta pasirinkus funkciją “Force authentication through Windows domain”. Tokiu būdu Windows domenui yra siunčiama užklausa apie jūsų prieigos lygį ir įgaliojimus ir tai yra būtina atskaitomybei ir saugumo funkcijoms užtikrinti.

Paleidimas administratoriaus teisėmis

Daugelis vartotojų naudoja savo kompiuterius administratoriaus režime, nenaudodami slaptažodžio. Nors tai yra patogiu, tačiau tokiu būdu neįmanoma nustatyti, koks konkretus asmuo naudojasi kompiuteriu. Taip išvengiama naudojimo atskaitomybės, dauguma Rotor-Gene Q programinės įrangos apsauginių funkcijų yra inaktyvuotos.

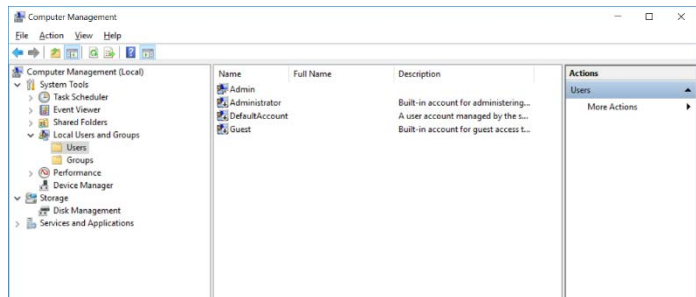
Naudojant administratoriaus režime, visos programinės įrangos funkcijos yra įjungtos. Todėl paleidimas administratoriaus režime užtikrina, kad vartotojai, kuriems nereikalingos apsaugos funkcijos, gali naudoti visas programinės įrangos funkcijas.

Naujo vartotojo paskyros sukūrimas

Sukurkite vartotojo paskyras kiekvienam programinės įrangos naudotojui. Pakartokite toliau nurodytus veiksmus kiekvienam vartotojui, kol bus sukurtos visos paskyros.

1. Norėdami sukurti naują vartotoją, pasirinkite „Start“ (Pradėti), įveskite „Computer Management“ (Kompiuterio valdymas), paspauskite „Enter“ (Įvesti) ir kairėje pusėje pasirinkite „Local Users and Groups“ (Vietiniai vartotojai ir grupės).

2. Atsiradusiame lange pasirinkite aplanką „Users“ (Vartotojai). Dešinėje rodomame lange paspauskite dešiniąją pelės klavišą ir pasirinkite „New User...“ (Naujas vartotojas...).



3. Įveskite vartotojo vardą ir slaptažodį. Pagal numatytuosius nustatymus bus sukurti vartotojai, turintys įprastas prieigos teises. Tai reiškia, kad jie gali naudoti programinę įrangą, bet negali įdiegti naujų programų ar pakeisti sistemos nustatymų.

New User

User name: newuser

Full name: New User

Description:

Password: ●●●●●

Confirm password: ●●●●●

User must change password at next logon

User cannot change password

Password never expires

Account is disabled

Help Create Close

4. Paspauskite “Create” (Kurti). Dabar galite prisijungti kaip šis vartotojas.

Kiekvieno vartotojo teisių priskyrimas

Dabar turėtumėte kiekvienam vartotojui priskirti teises.

Prieiga yra padalinta į šias sritis:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q Operatorius) - gali atlikti paleidimą, bet negali generuoti ataskaitų ar atlikti analizę
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q Analitikas) - gali analizuoti darbo rezultatus ir generuoti ataskaitas, bet negali atlikti naujų darbų
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q Operatorius ir Analitikas) - turi abiejų rolių galimybes
- Administrator (Administratorius) - gali atrakinti mėginių pavadinimus ir atlikti visus Analitikų Operatorių veiksmus
- None (Nėra) — prieiga prie programinės įrangos negalima.

Pastaba: Microsoft Windows 10 neįmanoma sukurti vartotojų grupių, naudojant Rotor-Gene Q programinę įrangą. Grupės domene turi kurti domeno administratorius, taip pat jis turi konkrečiai grupei priskirti vartotojus. Įjungtas paleidimo meniu. Būsenos juostoje rodoma, kad vartotojas „linsongy“ priklauso RG Operator (RG operatoriaus) grupei.

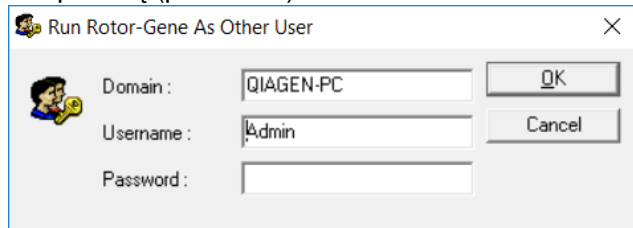
7.9.3 Kelių asmenų naudojimas tuo pačiu kompiuteriu

Tam, kad Rotor-Gene Q programine įranga dirbti galėtų keletas naudotojų, sukurkite naudotojo paskyrą, kuriai būtų negalima prieiga prie Rotor-Gene Q programinės įrangos. Įsiregistruokite Windows operacinėje sistemoje naudodamiesi šia paskyra, tokiu būdu kiti asmenys negalės anonimiškai naudotis Rotor-Gene Q MDx.

1. Naudodamiesi piktograma “Rotor-Gene Q Software Login”, Rotor-Gene Q programinės įrangos naudotojai gali atsidaryti savo asmeninę paskyrą.



2. Pasirodžiuos lango laukeliuose įveskite naudotojo vardą ir slaptažodį (privaloma).



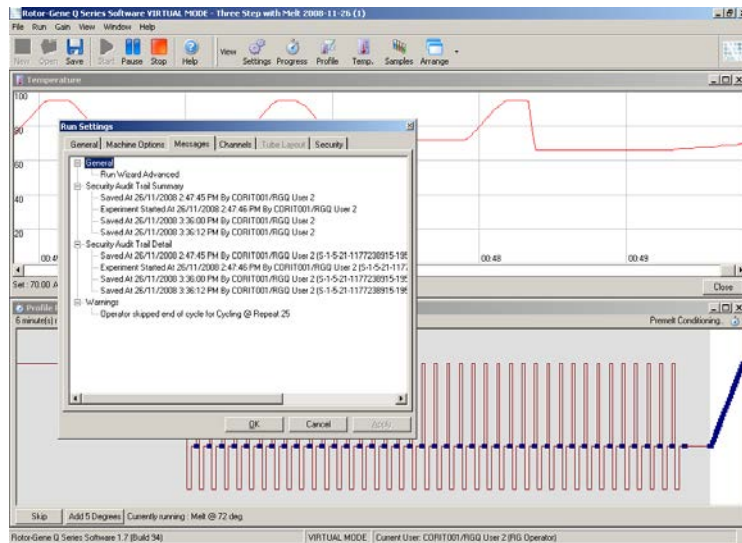
3. Domenas yra arba kompiuteris, prie kurio jūs prisijungiate, arba jūsų vietinio tinklo pavadinimas, o (domain) langelyje rodomas kompiuterio arba vietinio kompiuterių tinklo pavadinimas, kartu su pagrindinio kompiuterio vardu. Jei nesate įsitikinę, prie kurio domeno reikia jungtis, kreipkitės į vietinį tinklo administratorių.

Pastaba: prisijungus, naudotojui yra prieinamos visos jo saugomos bylos. Kiekvienas naudotojas savo bylas gali saugoti pasirinktoje asmeninėje srityje, tokiu būdu užtikrinant bylų saugumą.

Pastaba: pabaigus eksperimentus, kiekvienas naudotojas turi išsiregistruoti iš savo paskyros tam, kad jo vardu nebūti vykdomi kiti eksperimentai.

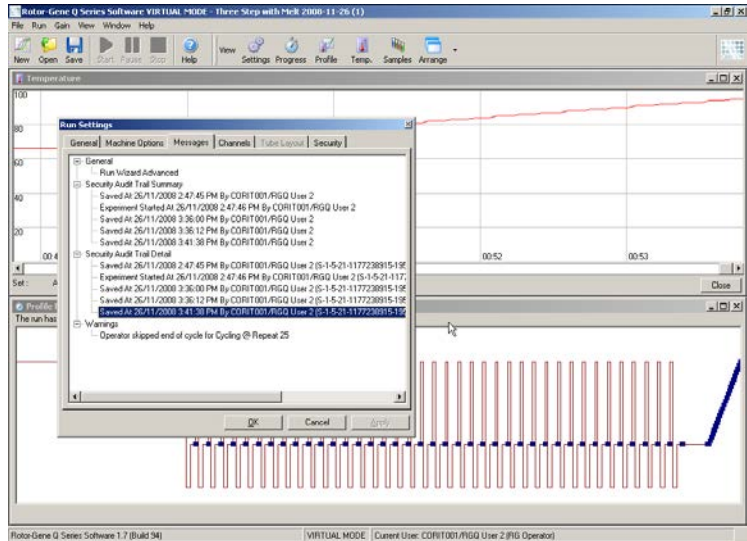
7.9.4 Kontrolinis stebėjimas

Kiekvieną kartą naudotojui išsaugojus bylą, apie tai informuojantis detalizuotas įrašas paliekamas skyrelyje "Run Settings", esančiame meniu "Messages" kaip pranešimas "Security Audit Trail Summary and Security Audit Trail Detail" (Kontrolinio stebėjimo santrauka Apsauginio kontrolinio stebėjimo detalės).



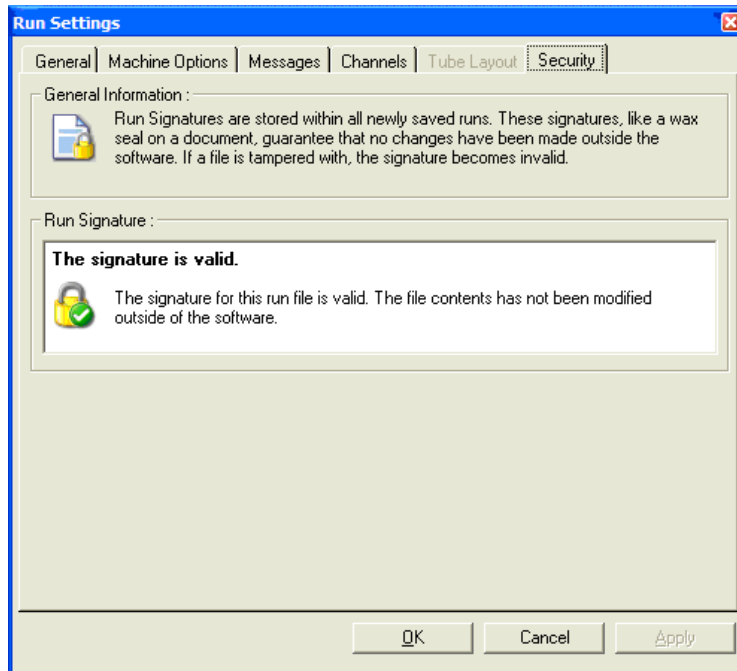
Tokiu būdu galima stebėti, kas keičia bylų turinį. “Security Audit Trail Detail” byloje patalpinama detali informacija apie unikalius naudotojus. Taip galima atsekti to paties vardo kito kompiuterio naudotojus, kadangi nors naudotojo vardas ir yra tas pats, tačiau naudotojo paskyros identifikacinis numeris skiriasi.

Paskyros CORIT001/RGQ Naudotojo 2 identifikacinis numeris yra S-1-5-21-1177238915-195 (žr. paveikslėlį apačioje).

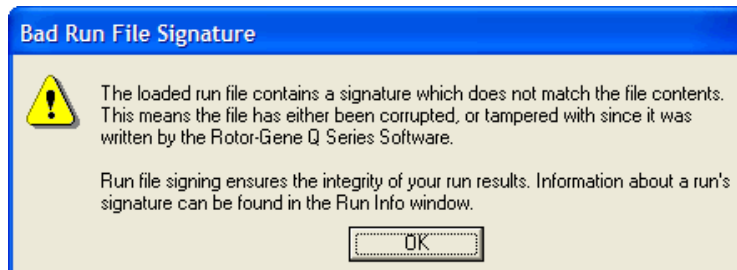


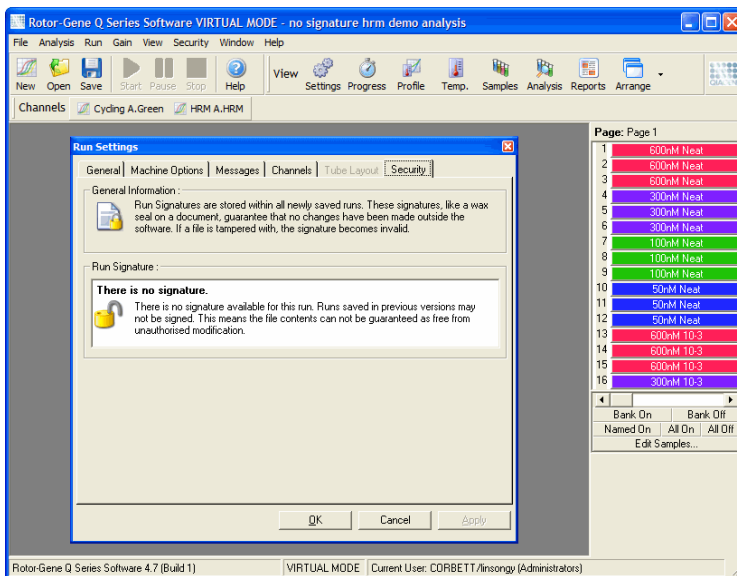
7.9.5 Eksperimentų parašai

Kontrolinio stebėjimo duomenys saugomi Rotor-Gene Q eksperimento byloje. Norint išvengti bet kokių nepageidaujamų šių bylų modifikacijų, jas reikėtų saugoti patikimoje disko vietoje, prieinamoje tik nustatytoms Windows paskyroms. Vis dėlto, jei šios bylos saugomos bendrai naudojamoje disko vietoje, eksperimentų parašai (Run Signatures) suteikia papildomą apsaugą joms. Žemiau pateiktame paveiksle rodomas bylos su eksperimento parašu skyrelis “Security”, esantis meniu “Run Settings”.



Eksperimento parašas yra ilga skaičių ir raidžių kombinacija, kiekvieną kartą bylai išsaugojant generuojama iš naujo ir priskiriama tos bylos turiniui. Pavyzdžiui, šios bylos parašas yra 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Jei byla atidaroma Notepad programa ir atliekamos kokios nors korekcijos (pvz., eksperimento data paankstinama 3 dienomis), bylą atidarius iš naujo, bus rodomas tokio pobūdžio įspėjamasis pranešimas:





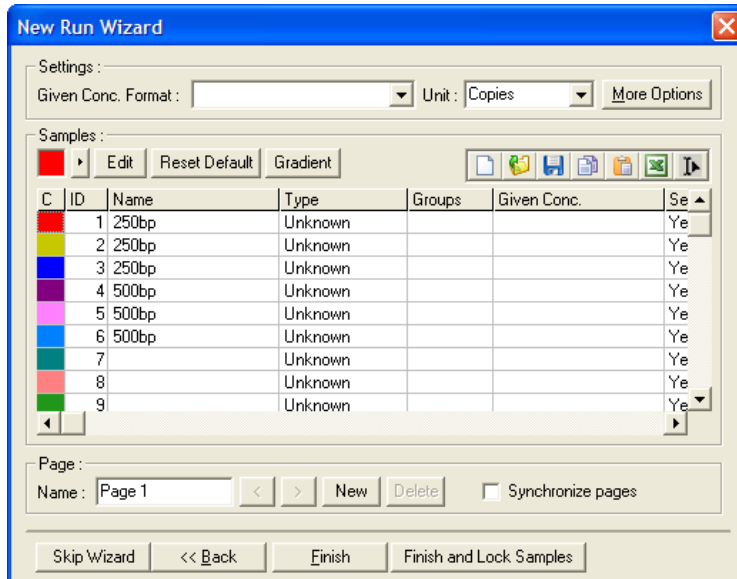
Pastaba: jei bylos yra siunčiamos elektroniniu paštu, parašai gali būti pažeidžiami šifravimo metu. Prieš siunčiant bylas, rekomenduojame jas suarchyvuoti.

7.9.6 Mėginių apsaugojimas

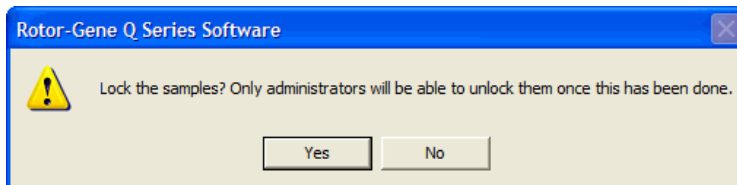
Labai svarbu, kad prieš eksperimentą įvesti mėginių pavadinimai vėliau atsitiktinai (arba tyčia) nebūtų pakeisti. Dėl šios priežasties Rotor-Gene Q programinė įranga suteikia galimybę mėginius apsaugoti. Mėginių apsauginį režimą gali įvesti bet kuris naudotojas, tačiau jį panaikinti gali tik administratorius. Naudotojams, kurių kompiuteriai veikia administratoriaus režime, ši funkcija yra apribota. Norint naudotis šia funkcija, kompiuteris turi būti sukonfigūruotas atsižvelgiant į saugumo reikalavimus, kaip aprašyta ankstesniuose skyriuose.

Pastaba: jei norite apsaugoti mėginius, nenaudokite programinės įrangos administratoriaus režime. Sukurkite paskyrą RG Operatoriaus ir RG Analitiko grupėse, administratoriaus slaptažodį laikykite paslapyje. Norint panaikinti mėginių apsaugą, naudotojui prireiks administratoriaus įgaliojimo.

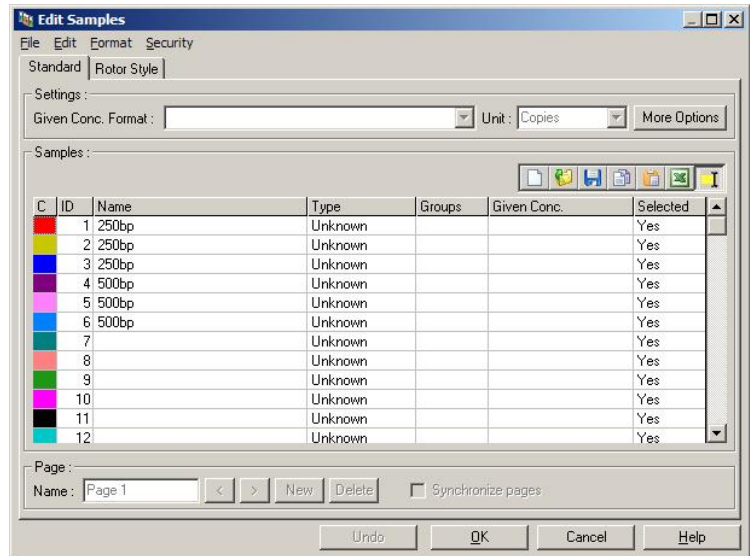
Mėginiai gali būti apsaugojami prieš pradėdant eksperimentą, naudojantis pažangiųjų vedlių. Tam reikia spragtelėti “Finish and Lock Samples”.



Pasirodžius žemiau pateiktam įspėjamajam langui, spragtelėkite “Yes”.



Tuomet, kai mėginiai bus apsaugoti, nebebus galimybės koreguoti jų parametrus lange “Edit Samples”.



Taip pat mėginių apsaugos režimas gali būti aktyvuojamas/panaikinamas ir lange “Edit Samples”. Vis dėlto, teisės panaikinti mėginių apsaugą yra suteiktos tik administratoriui.

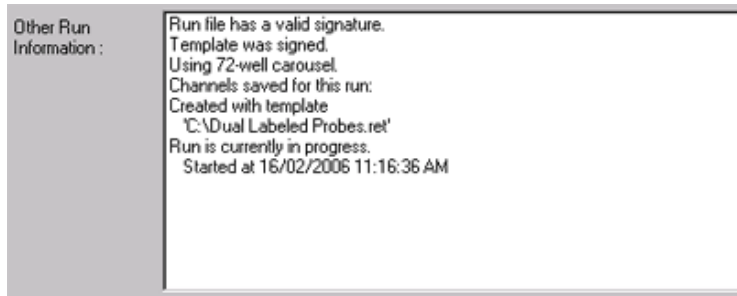


Bet koks neteisėtas pakeitimas eksperimento parašą padarys negaliojančiu.

7.9.7 Apsaugoti ruošiniai

Šiuo metu Rotor-Gene Q programinė įranga nesuteikia naudotojams galimybės sukurti nuo pakeitimų apsaugotų eksperimentų ruošinių. Vis dėlto, esant reikalui galima įvesti sąlygą, kad visi atliekami eksperimentai būtų vykdomi pagal specifinio ruošinio bylą. Tam, kad šis ruošinys būtų apsaugotas nuo pakeitimų, jis turi būti saugomas kompiuterių tinklo diske, kur naudotojams nesuteikiamos galimybės keisti duomenis. Naudotojai gali keisti tik savo profilius, pagal juos vykdyti eksperimentus, tuo tarpu tinklo

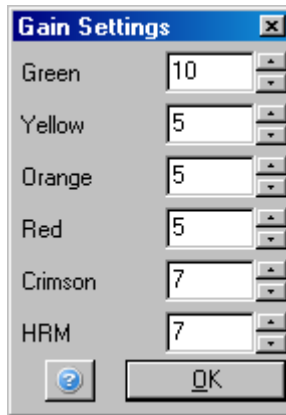
diske esantys ruošiniai išlieka apsaugoti. Siekiant stebėti, kokie ruošiniai buvo naudojami, Rotor-Gene Q programinė įranga išsaugo pavadinimus tų ruošinių, pagal kuriuos buvo vykdomi eksperimentai. Šią informaciją galima sužinoti spragtelėjus mygtuką “Settings”, esantį lange “Run Settings”. Ruošinių informacija saugoma skyrelyje “Other Run Information”.



7.10 Įgijimo parametro meniu

Pasirinkus įgijimo parametro meniu, pateikiami einamojo eksperimento įgijimo parametro nustatymai “Gain Settings”, įvesti atitinkamam kanalui prieš pradėdant eksperimentą. Paprastai yra išsaugomi paskutinio vykdyto eksperimento nustatyti parametrai. Jie gali būti keičiami prieš pradėdant naują eksperimentą arba pradiniuose jo cikluose. Naudokite viršutinę/apatinę rodyklėmis, esančiomis greta tekstinių laukelių, taip pakeisdami jų turinį ir spragtelėkite “OK”.

Įgijimo parametras gali būti keičiamas pradinių ciklų metu. Atitinkame kanale rodoma raudona linija žymi poziciją, kur jis buvo pakeistas. Prieš parametro pakeitimą buvę ciklai yra pašalinami iš tolimesnės analizės.

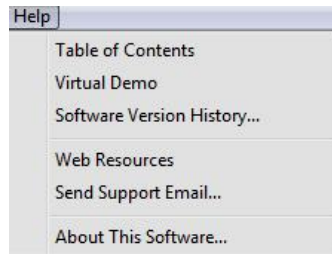


7.11 Langų išdėstymo meniu

Šiame meniu galima pasirinkti langų išdėstymo ekrane pobūdį – vertikaliai, horizontaliai ar pakopomis. Kitos galimybės pasiekiamos spragtelėjus rodyklę, esančią dešinėje mygtuko “Arrange” pusėje.

7.12 Pagalbos funkcija

Paspaudus Help mygtuką arba Help meniu, atsidarys išsiskleidžiantis meniu.



Turinys

Per jį pasiekama Pagalbos funkcija.

Virtual Demo
(Virtuali demonstracija)

Nukreipia į QIAGEN svetainės puslapį, kuriame interaktyviai pademonstruojama programa.

| | |
|---|--|
| Software Version History... (Programos versijos istorija...) | Joje trumpai apžvelgiamos naujos įdiegtos funkcijos, lyginant su prieš tai įdiegta programos versija. |
| Web Resources (Interneto ištekliai) | Naujame naršyklės lange atidaromas QIAGEN svetainės puslapis su pateikta naujausia vertinga informacija apie Rotor-Gene Q MDx prietaisus ir atitinkamus reagentus. |
| About This Software... (Apie šią programinę įrangą...) | Pateikia informaciją apie prijungtą prietaisą, Rotor-Gene Q MDx serijos numerį ir programinės įrangos versiją. |

7.12.1 Pagalbos el. laiško siuntimas

Pasirinkus funkciją “Send Support Email”, esančią pagalbos meniu lange, Jūs galite kreiptis pagalbos į QIAGEN elektroniniu laišku, kartu įtraukiant reikiamas eksperimento informacines bylas. Funkcijos “Save As” pagalba, Jūs galite išsaugoti visą informaciją byloje, kurios kopiją galite saugoti kietajame arba tinklo diske (tokiu atveju, jei kompiuteryje, kuriame veikia Rotor-Gene Q MDx, nėra elektroninio pašto prieigos).

Prieš pirmą kartą naudojant Pagalbos el. laiško siuntimo funkciją nešiojamame kompiuteryje, pasirinktinai tiekiamame su Rotor-Gene Q MDx (priklauso nuo šalies), reikia sukonfigūruoti jūsų el. Pašto nustatymus

Pastaba: Jūs galite pateikti savo kompanijos IT menedžerio įrašus.

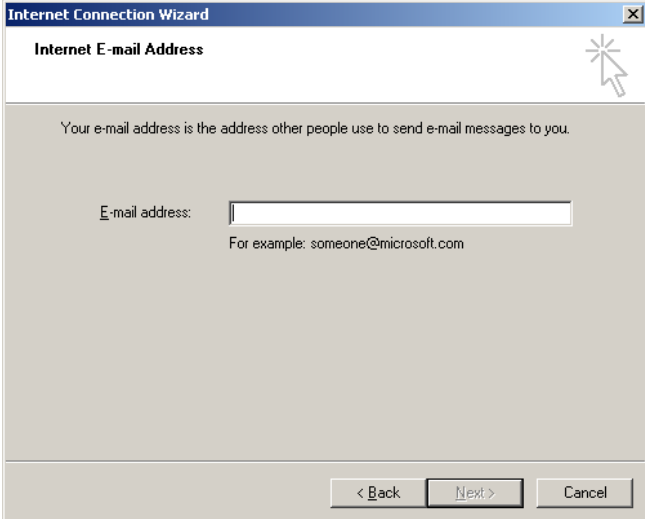
El. pašto nustatymų konfigūravimas

1. Paspauskite parinktį “Send Support Email...”. Atsidarys sekantis langas.



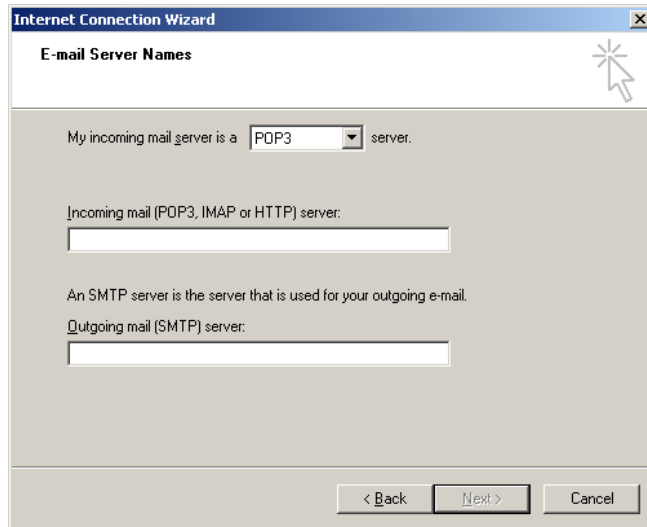
The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' dialog box with the title bar 'Internet Connection Wizard' and a close button (X). The main heading is 'Your Name'. Below the heading is a mouse cursor icon. The text reads: 'When you send e-mail, your name will appear in the From field of the outgoing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

2. Įrašykite savo vardą ir paspauskite "Next". Atsidarys "Internet E-mail Address" langas.

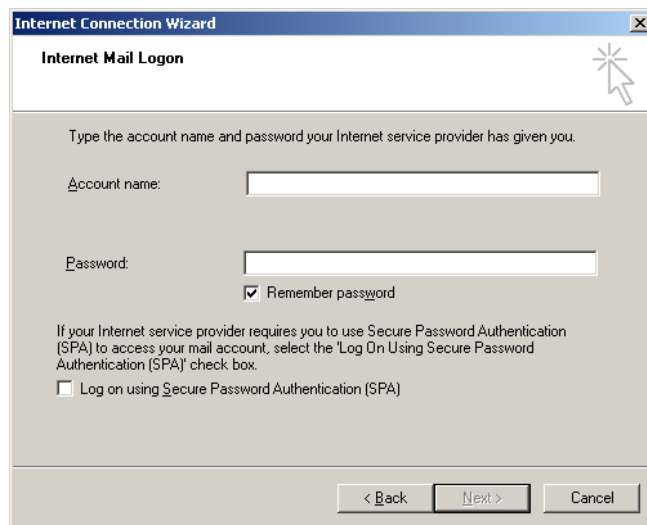


The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' dialog box with the title bar 'Internet Connection Wizard' and a close button (X). The main heading is 'Internet E-mail Address'. Below the heading is a mouse cursor icon. The text reads: 'Your e-mail address is the address other people use to send e-mail messages to you.' There is a text input field labeled 'E-mail address:' with the example text 'For example: someone@microsoft.com' below it. At the bottom, there are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

3. Įrašykite savo el. pašto adresą ir paspauskite "Next". Atsidarys "E-mail Server Names" langas.

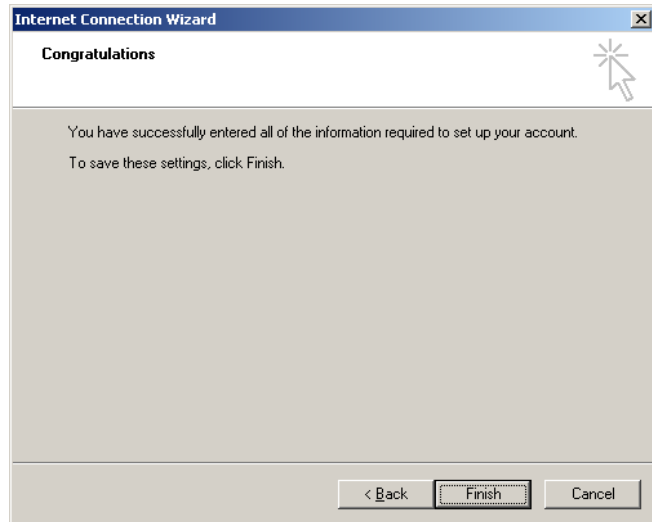


4. Pasirinkite gaunamų laiškų pašto serverio tipą ir nurodykite gaunamų ir išsiunčiamų laiškų serverio pavadinimus. Tuomet paspauskite "Next". Atsidarys "Internet Mail Logon" langas.



5. Įveskite savo el. pašto paskyros pavadinimą ir slaptažodį, jeigu jūsų serveris naudoja saugų

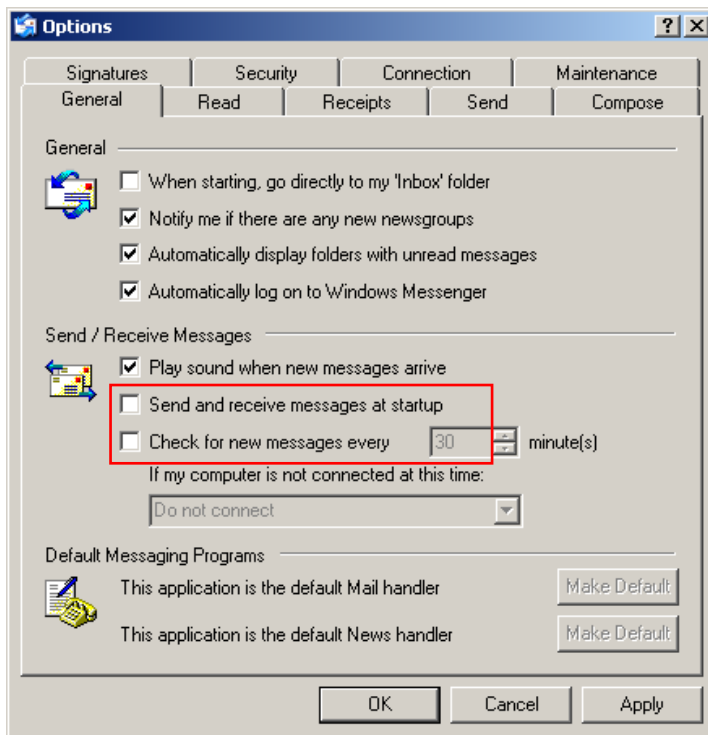
slaptažodžio autentifikavimą. Tuomet paspauskite “Next”. Atsidarys “Congratulations” langas.



6. Paspauskite “Finish” ir užbaikite el. pašto paskyros sukūrimą.

Outlook nustatymai

1. Iš Start meniu atidarykite “Outlook Express” (Spauskite Start, All programs, Outlook Express).
2. Pasirinkite Tools ir tuomet Options. Atsidarys žemiau esantis langas.



Svarbu: Siekiant išvengti el. laiškų gavimo PGR proceso metu, išjunkite numatytuosius įrašus “Send/Receive Messages” lange.

3. Išjunkite “Send and receive messages at startup”
4. Išjunkite “Check for new messages every 30 minutes”.
5. Patvirtinkite pakeitimus, paspausdami “OK”.

8 Papildomos funkcijos

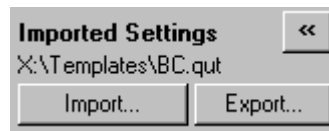
8.1 Ruošinių analizė

Norint atlikti kai kurias analizes, būtina apibrėžti slenkstines vertes, nustatyti normalizavimo, genotipų parametrus. Dažnai visi šie nustatymai pakartotinai naudojami sudėtiniuose eksperimentuose.

Ruošinių analizė leidžia naudotojui išsaugoti ir pakartotinai naudoti šiuos parametrus. Taip palengvinama eksperimentų vykdymo procedūra, išvengiama klaidų įvedimo rizikos.

Kiekybinio įvertinimo, lydymosi, alelinio diskriminavimo, išbarstytų duomenų grafiko, EndPoint analizės palaiko šią Ruošinių analizės funkciją. Naudojantis minėtomis analizėmis, naudotojas gali iškelti unikalų atitinkamos analizės ruošinį (pvz., Kiekybinio įvertinimo analizė leidžia iškelti/jkelti *.qut formato bylas, kuriose aprašyti kiekybinio įvertinimo parametrai).

Po atitinkamos analizės iškėlimo/jkėlimo, ruošinio bylos pavadinimas rodomas tolimesne nuoroda.



8.2 Gretutinio eksperimento analizė

Vykstant eksperimentui, yra galimybė analizuoti anksčiau vykdytų eksperimentų rezultatus. Vis dėlto, keletas funkcijų (pvz., "New" arba "Start Run") yra neaktyvios atidarytame antriniame lange. Naujas eksperimentas gali būti pradamas tik pirmajame lange, pasibaigus prieš tai vykdytam eksperimentui.

8.3 Skalės nustatymas

Norėdami pasiekti funkciją “Adjust Scale”, spragtelėkite mygtuką “Adjust Scale...”, esantį pagrindinio lango apatinėje dalyje arba spragtelėkite dešiniuoju pelės mygtuku virš grafiko ir pasirodžiusiame lange pasirinkite “Adjust Scale...”. Pageidaujamos skalės minimalios ir maksimalio vertės gali būti rankiniu būdu įvedamos pasirodžiusiame lange.



Norėdami pasiekti funkciją “Auto-Scale”, spragtelėkite mygtuką “Auto-Scale...”, esantį pagrindinio lango apatinėje dalyje arba spragtelėkite dešiniuoju pelės mygtuku virš grafiko ir pasirodžiusiame lange pasirinkite “Auto-Scale...”. “Auto-Scale” funkcija bando automatiškai pritaikyti skalę prie gautų duomenų maksimalios ir minimalios reikšmės.

Norėdami pasiekti funkciją “Default Scale”, spragtelėkite mygtuką “Default Scale...” esantį pagrindinio lango apatinėje dalyje arba spragtelėkite dešiniu pelės mygtuku virš grafiko ir pasirodžiusiame lange pasirinkite “Default Scale...”. “Default Scale” funkcija atstato standartinę skalės nustatymą nuo 0 iki 100 fluorescencijos vienetų.

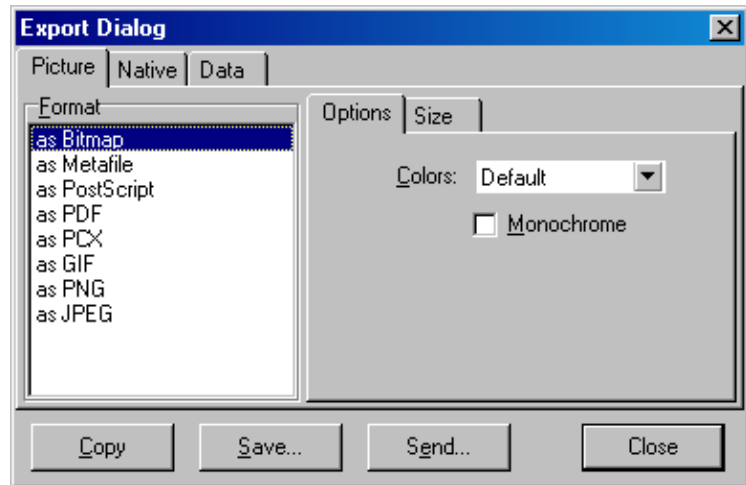
8.4 Grafikų iškėlimas

Paveikslėlio iškėlimas

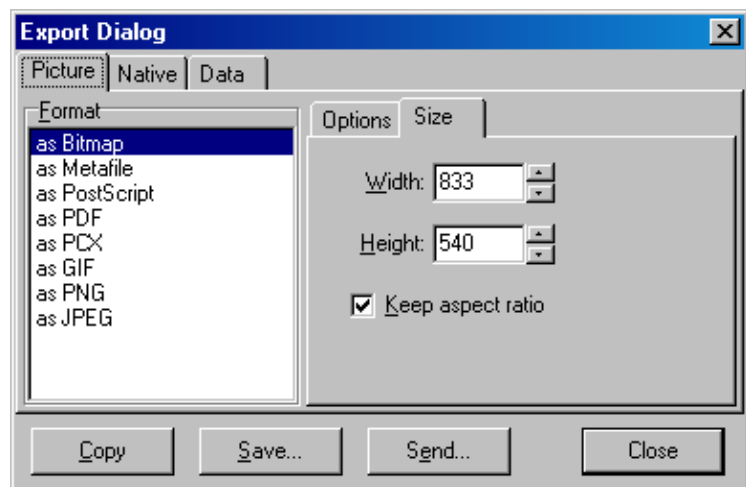
Norėdami išsaugoti paveikslėlį, vadovaukitės žemiau pateiktais nurodymais.

1. Dešiniuoju pelės mygtuku spragtelėkite virš paveikslėlio ir pasirodžiusiame lange pasirinkite funkciją “Export”.

2. Pasirodžiusiame lange “Export Dialog” pasirinkite pageidaujamą paveikslėlio išsaugojimo formatą sąrašė “Format”.



3. Pasirinkę skyrelį “Size”, detalizuokite pageidaujamą paveikslėlio dydį.



4. Pažymėkite langelį “Keep aspect ratio”, tokiu būdu keičiant paveikslėlio dydį, bus išlaikomos teisingos jo proporcijos.

5. Spragtelėkite “Save”, pasirodžiusiame lange pasirinkite bylos pavadinimą ir bylos saugojimo vietą.

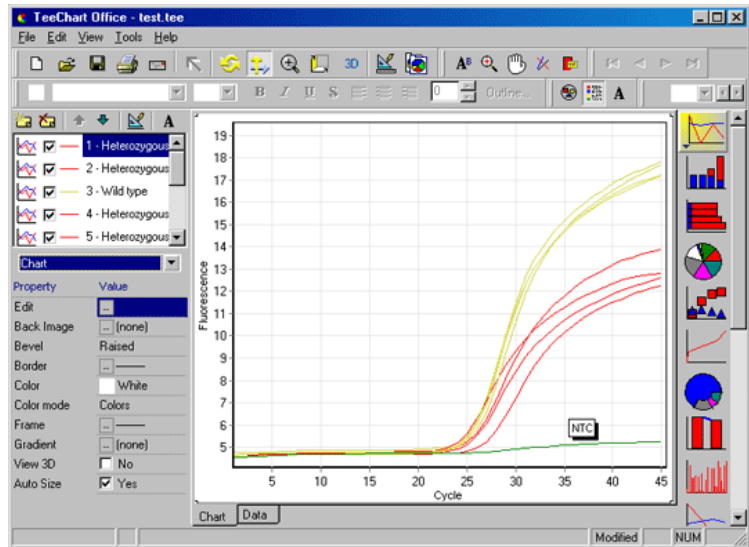
Jeigu pageidaujate didesnės skiriamosios gebos paveikslėlio, rekomenduojame padidinti jo dydį iki kol jis atitiks Jūsų nustatytus reikalavimus arba išsaugoti paveikslėlį Metafile (*.emf, *.wmf) formatu. Šis vektorinis formatas (pvz., gali būti atidaromas Adobe® Illustrator® programa) leidžia naudotojui sukurti bet kokios norimos skiriamosios gebos paveikslus.

Grafikų iškėlimas įprastu (natyviu) formatu

Rotor-Gene Q programinėje įrangoje sukurti grafikai naudoja TeeChart® programos komponentus (Steema programinė įranga). Norėdami išsaugoti grafiką natyviu formatu, lange “Export Dialog” pasirinkite skyrelį “Native” (žr. aukščiau pateiktą paveikslą) ir spragtelėkite “Save”. Natyvus formatas yra standartinis TeeChart bylos formatas. Tai suteikia galimybę naudoti TeeChart Office programa (Steema programinė įranga). TeeChart Office priinama kaip nemokama programa ir yra įdiegiama kartu su Rotor-Gene Q programinės įrangos paketu. Norėdami pasiekti šią programą, spragtelėkite darbastalyje esančią piktogramą “TeeChart”.

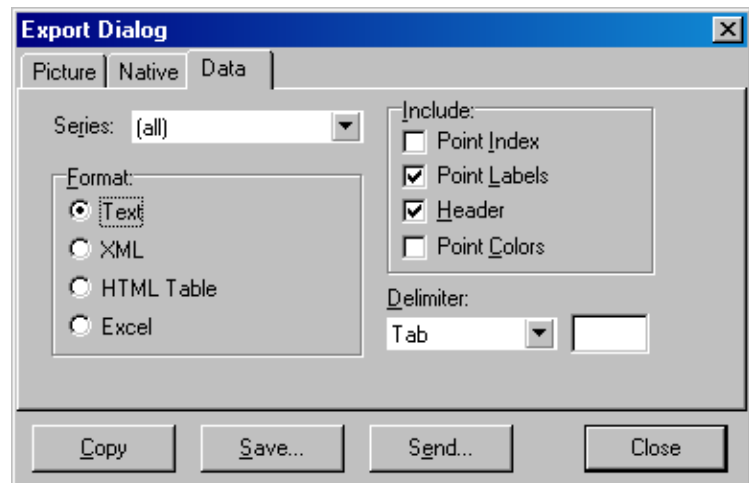


TeeChart Office programos pagalba galite vykdyti įvairias manipuliacijas su įkeltais grafikais – keisti kreivių spalvas, pridėti pastabas, keisti užrašų šriftus, derinti duomenų taškus.




Duomenų iškėlimas

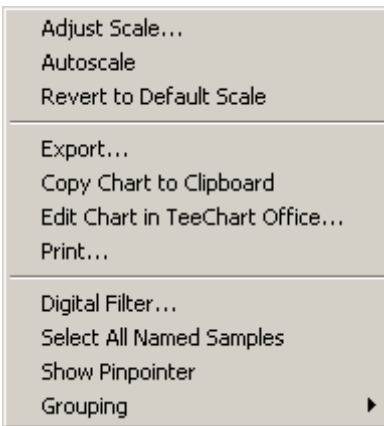
Norėdami įvairiais formatais iškelti duomenis, lange “Export Dialog” pasirinkite skyrelį “Data”. Iškėltoje byloje pateikiami grafike naudojami neapdorotų duomenų taškai.



Neapdorotų duomenų ir analizės duomenų iškėlimas taip pat gali būti atliekamas pasirinkus funkciją “Save As”, esančią lange “File” (žr. Skyrių 7.5).

8.5 “Veržliarakčio“ piktograma

“Veržliarakčio”  piktograma yra rodoma pagrindinio lango apatinėje kairėje pusėje. Spragtelėjus virš jos, naudotojas gali pasirinkti iš kelių galimybių. Taip pat šios galimybės gali būti prieinamos, dešiniuoju pelės mygtuku spragtelėjus virš grafiko.



Adjust Scale, Autoscale, Revert to Default Scale: (Skalės derinimas, automatiškai nustatoma skalė, grįžti į standartinį skalės nustatymą) Žr. Skyrių 8.3.

Export...: (Duomenų iškėlimas) Grafikų išsaugojimas įvairiais formatais (žr. Skyrių 8.4).

Copy Chart to
Clipboard:
(Grafiką kopijuoti
iškarpoje)

Grafiko paveikslo kopijavimas
iškarpoje.

Edit Chart in TeeChart
Office...:
(Grafiką koreguoti
TeeChart Office
programos pagalba)

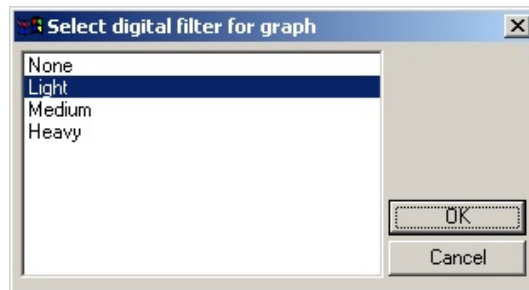
Grafikas atidaromas programoje
TeeChart Office, kurios pagalba jį
galima redaguoti (žr. Skyrių 8.4).

Print:
(Spausdinti)

Grafiko spausdinimas.

Digital Filter...:
(Skaitmeninis filtras)

Grafike pasirinkto skaitmeninio filtro
modifikavimas. Skaitmeninis filtras
išlygina duomenis, naudodamas
slankųjį taškų langą.

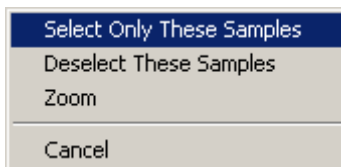


Show Pinpointer: Atidarytame lange pateikiamos tikslios
(Žymeklio pelės žymeklio pozicijos koordinatės.
koordinatčių rodymas)

Grouping: (Grupavimas) Identiškus pavadinimus turinčių mėginių vizualinis grupavimas. Ši funkcija naudinga, eksperimento metu esant visiškai užpildytam rotorui. Šios funkcijos pasirinkimas neturi jokios įtakos apskaičiuojamoms koncentracijoms.

8.6 Pasirinktos srities vizualizavimo galimybės

Pageidaujama grafiko sritis gali būti pasirenkama virš grafiko spragtelėjus ir laikant nuspaustą pelės kairįjį mygtuką bei velkant pelės žymeklį ekrane. Žemiau aprašomos šios pasirinkimo galimybės:



Select Only These Samples: Mėginiai, esantys už pasirinktos srities ribų, yra atmetami. (Pasirinkti tik šiuos mėginius)

Deselect These Samples: Visi mėginiai, esantys pasirinktoje srityje, yra atmetami. (Atmesti šiuos mėginius)

Zoom: (Vaizdo mastelio padidinimas) Pasirinktos srities grafiko vaizdo padidinimas. Spragtelėjus mygtuką "Default Scale", vaizdas gražinamas į pradinę būseną.

9 Prietaiso priežiūra

Rotor-Gene Q MDx eksploatacinių dalių priežiūra yra labai paprasta. Optinės sistemos priežiūrai yra svarbu, kad būtų palaikomi švarūs lęšiai, esantys ties emisijos ir detekcijos šaltiniais. Lęšius reiktų švelniai šluostyti medvilnine servetėle, sudrėkinta etanoliu ar izopropanoliu*.

Pastaba: priklausomai nuo prietaiso naudojimo intensyvumo, lęšius valykite maždaug vieną kartą per mėnesį. Tuo pačiu metu išvalykite ir rotoriaus kamerą.

Nuo darbinio stalo reguliariai valykite dulkes, atokiau nuo prietaiso laikykite įvairius popieriaus lapus. Rotor-Gene Q MDx apačioje yra oro įsiurbimo angos, todėl į jas patekę popieriaus lapeliai ar dulkės gali sukelti prietaiso gedimus.



Nenaudojant prietaiso, Rotor-Gene Q MDx dangtį laikykite uždarytą, taip apsaugosite rotoriaus kamerą nuo dulkių.

Nešvarų (užterštą) rotorių galima valyti šluostant 0,1% (v/v) baliklio tirpalu sudrėkinta (bet ne šlapia) pluoštelių neturinti medžiagine šluoste*. Taip pat po valymo rotoriaus kamerą iššluostykite PGR naudojamu vandeniu sudrėkinta

* Dirbdami su cheminėmis medžiagomis, visada dėvėkite laboratorinę aprangą, vienkartinės pirštines, apsauginius akinius. Norėdami sužinoti daugiau, naudokitės atitinkamais saugos duomenų lapais (SDL), kuriuos galite gauti iš tiekėjo.

medžiagine šluoste, tokiu būdu pašalinsite baliklio pėdsakus.

10 Optinis temperatūrinių savybių tikrinimas

Optine temperatūrinių savybių patikros (angl., OTV) pagalba yra stebima ir tikrinama Rotor-Gene Q MDx temperatūra mėgintuvėliuose. Temperatūros mėgintuvėliuose patvirtinimas yra svarbi procedūra sertifikuotose laboratorijose. OTV atliekamas naudojant Rotor-Disc OTV Kit rinkinį (žr. Priedą C). Žemiau pateikiamas trumpas supažindinimas su OTV veikimo principu. OTV procedūros eiga paaiškinama ir Rotor-Gene Q MDx programinėje įrangoje. Norėdami sužinoti daugiau apie OTV atlikimą ir problemų sprendimą, skaitykite *Rotor-Disc OTV Handbook*.

10.1 OTV principas

OTV kaip absoliučias temperatūrinės kontrolės naudoja 3-jų termochromatinių skystos fazės kristalų (angl., TLC)* optines savybes. Pakaitinus, TLC spalva keičiasi iš matinės į permatomą labai tiksliai apibrėžtose temperatūros reikšmėse (50°C, 75°C ir 90°C). TLC patys savaime nefluorescuoja, taigi tam, kad Rotor-Gene Q MDx optinė sistema galėtų užfiksuoti TLC perėjimo taškus, būtina fluorescuojančiu intarpu uždengti sužadavimo šaltinį. TLC, kurių temperatūra yra žemesnė nei jų perėjimo temperatūra, yra matiniai ir atspindi šviesą. Dalis atspindėtos šviesos yra išsklaidoma detektoriaus link, tokiu būdu yra sustiprinama fluorescencija. Kuomet temperatūra mėgintuvėlyje pasiekia TLC perėjimo tašką, TLC tampa skaidrūs, šviesa pereina mėginius ir nėra atspindima, fluorescencija susilpnėja. Fluorescencijos pokytis naudojamas apibrėžiant kiekvieno TLC perėjimo temperatūrų vertes. Šios vertės lyginamos su vertėmis, pateikiamomis gamyklinio OTV Rotor-Disc kalibravimo duomenų byloje. Tokiu būdu yra patvirtinama,

* Dirbdami su cheminėmis medžiagomis, visada dėvėkite laboratorinę aprangą, vienakrtines pirštines, apsauginius akinius. Norėdami sužinoti daugiau, naudokitės atitinkamais saugos duomenų lapais (SDL), kuriuos galite gauti iš tiekėjo.

ar Rotor-Gene Q MDx temperatūrinis režimas atitinka nustatytas specifikacijas.

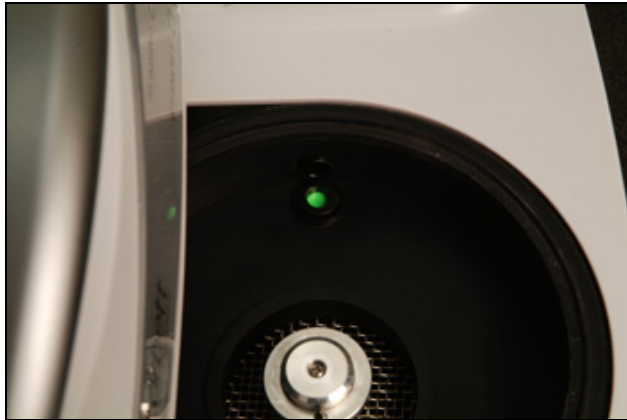
10.2 Rotor-Disc OTV Kit rinkinio sudėtis

Žemiau aprašyti komponentai yra reikalingi atliekant OTV:

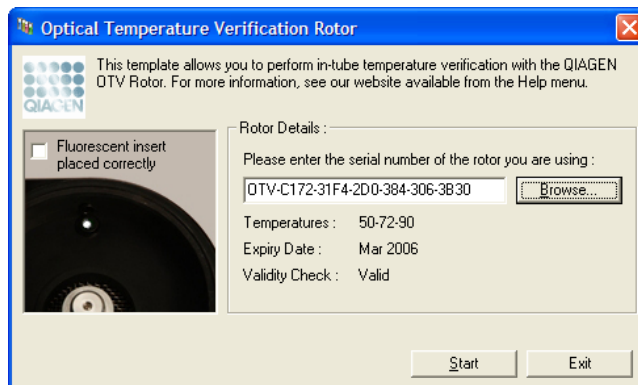
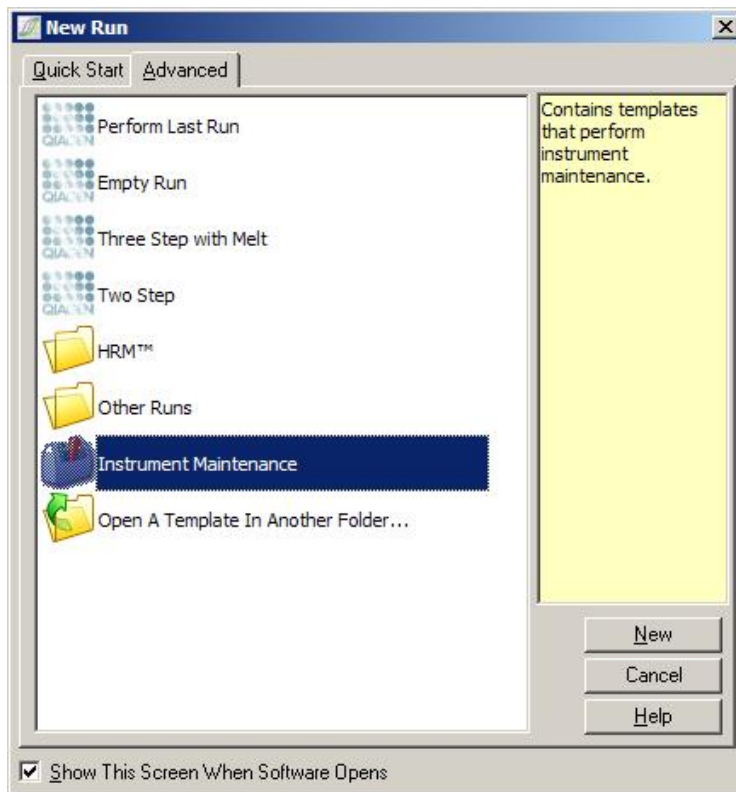
- Rotor-Disc OTV Kit rinkinys, kurio sudėtyje yra:
 - Sandarintas rotorinis diskas Rotor-Disc 72 OTV (jo viduje yra TLC)
 - Fluorescuojančios sklaidos tarpinė plokštelė (Rotor-Gene 3000 arba Rotor-Gene Q/6000 modeliams)
 - Kompaktinis diskas (CD), kuriame yra šios bylos: OTV Rotor serijos numerio ir galiojimo datos byla (*.txt); OTV testo ruošinio byla (*.ret); gaminio informacinis lapas (*.pdf); gamyklinio kalibravimo byla (*.rex)
 - Gaminio informacinis lapas
- Rotor-Gene Series programinės įrangos versija 1.7 arba aukštesnė, kurioje yra supaprastinto naudojimo OTV Rotor vedlys
- Rotor-Disc 72 rotorius
- Rotor-Disc 72 užrakinamasis žiedas

10.3 OTV atlikimo eiga

1. Fluorescuojantį tarpą įstatykite virš Rotor-Gene Q MDx kameros dugne esančių emisijos lęšių.
2. Į Rotor-Disc 72 rotorius įstatykite OTV Rotor-Disc rotorinį diską. Įstatykite Rotor-Disc 72 užrakinamąjį žiedą. Visą suformuotą rinkinį patalpinkite į Rotor-Gene Q MDx. Uždarykite Rotor-Gene Q MDx dangtį.

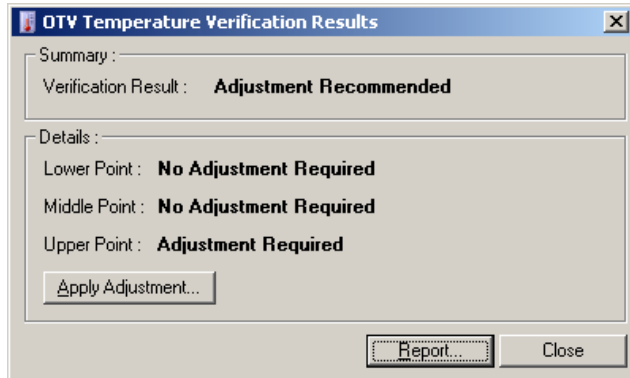


3. Skyrelyje “Advanced”, esančiame lange “New Run”, pasirinkite pažangųjį vedlį (Advanced wizard). Šiame vedlyje spragtelėkite “Instrument maintenance” ir “OTV”. Vedlys paragina įvesti OTV serijos numerį. Šį numerį galite rasti ant OTV Rotor-Disc rotorinio disko arba jį įkelti iš kompaktinio disko, spragtelėjus mygtuką “Browse” bei pasirinkus **.otv** formato bylą, esančią CD. Įvedę serijos numerį, spragtelėkite “Start”.



4. Programinė įranga paragina įvesti patikros pavadinimą. Patikra prasideda.

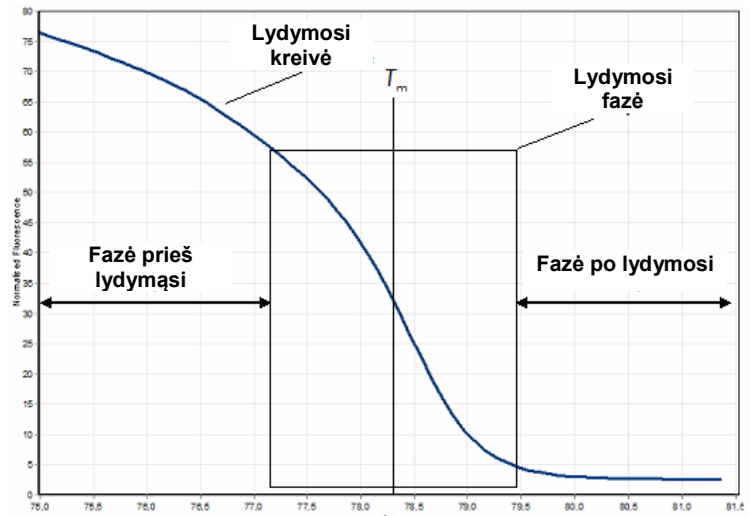
5. Patikros metu atliekama serija lydymosi reakcijų, kurių pagalba apibrėžiamos Rotor-Gene Q MDx šiluminės charakteristikos.



6. Patikrai pasibaigus, programinė įranga nurodo, ar Rotor-Gene Q MDx atitinka nustatytas specifikacijas.
7. Jei reikalingas koregavimas, spragtelėkite mygtuką "Apply Adjustment". Programinė įranga paragina naudotoją atlikti patikrą. Patikrai visiškai pasibaigus, tolimesnio koregavimo turėtų nebereikėti. Jei vis dar reikalingas derinimas, kreipkitės į vietinį platintoją.
8. Rotor-Gene Q MDx atitinkant nustatytas specifikacijas, patikros ataskaita gali būti peržiūrima ir atspausdinama. Šis puslapis specialiai paliktas tuščias.

11 Didelės skiriamosios gebos lydymosi analizė

Didelės skiriamosios gebos lydymosi (angl., HRM) analizė yra pažangi metodika, besiremianti DNR grandinės lydymosi (denatūracijos) principais. HRM charakterizuoja DNR mėginius pagal jų disociacijos profilį; kylant temperatūrai, dvigrandei DNR (dsDNR) pereinant į viengrandės DNR būseną (ssDNR) (žr. žemiau pateiktą paveikslą). HRM modulis, fiksuojantis fluorescencijos signalus, pasižymi ypač aukštu optiniu ir šiluminiu tikslumu, tokiu būdu suteikiantis plačias pritaikymo galimybes.



Tipinis HRM grafikas. Lydymosi kreivė (melt curve) rodo perėjimą iš pirminės priešlydymosi fazės (pre-melt phase) aukšto fluorescencijos lygio į žemesnio fluorescencijos lygio lydymosi fazę (melt phase) bei į bazinio fluorescencijos lygio polydymosi fazę (post-melt phase). Lydymosi metu fluorescencijos signalas silpnėja, dsDNR abiem grandinėm atsiskiriant į pavienes grandines, tokiu būdu išlaisvinant DNR interkaliojančius dažus. Lydymosi fazės mediana, ties kuria fluorescencijos pokyčio greitis didžiausias, apibrėžiama kaip DNR lydymosi temperatūra (T_m).

Prieš atliekant HRM analizę, būtina turėti didelį padaugintą tikslinės DNR sekos kopijų skaičių. Tai paprastai atliekama

PGR pagalba, naudojant dsDNR interkaliuojančius dažus. Šie dažai nesąveikauja su ssDNR, tačiau aktyviai interkaliuoja dsDNR, dėl ko yra stebima ryški fluorescencija. Fluorescencijos pokytis gali būti naudojamas PGR metu matuojant DNR koncentraciją, taip pat pasitelkiant HRM, tiesiogiai išmatuojamas termiškai inicijuotas DNR lydymasis. HRM metu, pradinės fluorescencijos lygis yra aukštas (dėl dsDNR mėginyje). Temperatūrai kylant, dsDNR atsiskiria į grandines, fluorescencijos lygis mažėja. Konkrečiam DNR mėginiui stebimas charakteringas DNR lydymosi profilis.

Naudojant HRM, Rotor-Gene Q MDx gali charakterizuoti mėginius, remiantis jų DNR sekos ilgiu, GC sąsastu ir sekos komplementarumu. HRM gali būti naudojamas genotipavimui, insercijų/delecijų analizei, vieno nukleotido polimorfizmo (angl., SNP) tyrimams, taip pat nežinomų genetinių mutacijų paieškai. Taip pat ši metodika yra tinkama epigenetiniams tyrimams, pvz., DNR metilinimo būsenos įvertinimui. Be to, HRM pagalba galima kiekybiškai įvertinti mažus skirtingos DNR kiekius laukinio tipo DNR fone (iki 5% jautrumas). Pavyzdžiui, tokiu būdu galima tirti įgytas somatines mutacijas, CpG salų metilinimo būsenas.

Rotor-Gene Q MDx prietaise esantis HRM modulis yra tinkamas šiems pritaikymams:

- Kandidatinių genų identifikavimas
- Ryšių ir sąsajų tyrimai (lyginant konkrečius atvejus su kontrolėmis, genotipus ir fenotipus)
- Alelių egzistavimo populiacijoje ar pogrupyje nustatymas
- SNP paieška ir patvirtinimas
- Heterozigotiškumo netekimo nustatymas
- DNR "pirštų atspaudų" tyrimai
- Haplotipų blokų charakterizavimas
- DNR metilinimo analizė
- DNR kartografavimas
- Rūšių nustatymas
- Mutacijų atradimas
- Somatinių mutacijų įgijimo spartos nustatymas
- HLA tipavimas

HRM yra paprastesnis ir pigesnis metodas, lyginant jį su genotipavimo, naudojant zondus, tyrimais. Skirtingai nuo įprastų metodų, HRM yra uždara sistema, leidžianti išvengti PGR produktų užteršimo. Gaunami rezultatai yra panašūs į įprastais metodais, pvz., SSCP, DHPLC, RFLP, DNR sekoskaita, pasiekiamus rezultatus.

11.1 Instrumento aprūpinimas

Rotor-Gene Q MDx prietaise yra visi HRM reikalingi tikrojo laiko ir šiluminės-optinės funkcijas suteikiantys moduliai.

- Didelio intensyvumo iliuminavimo modulis
- Ypač jautri optinės detekcijos sistema
- Greito duomenų kaupimo modulis
- Mėginių temperatūrą kontroliuojantis modulis
- Minimalius mėginių šiluminius ir optinius svyravimus užtikrinantis modulis

11.2 Cheminiai reagentai

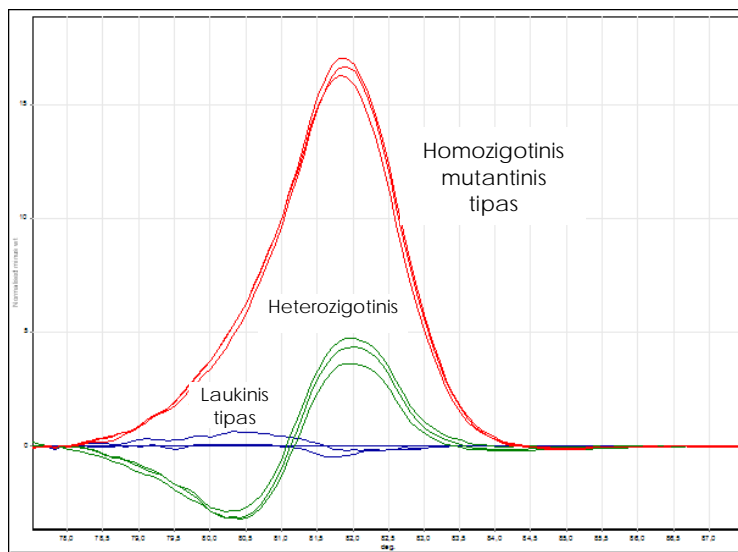
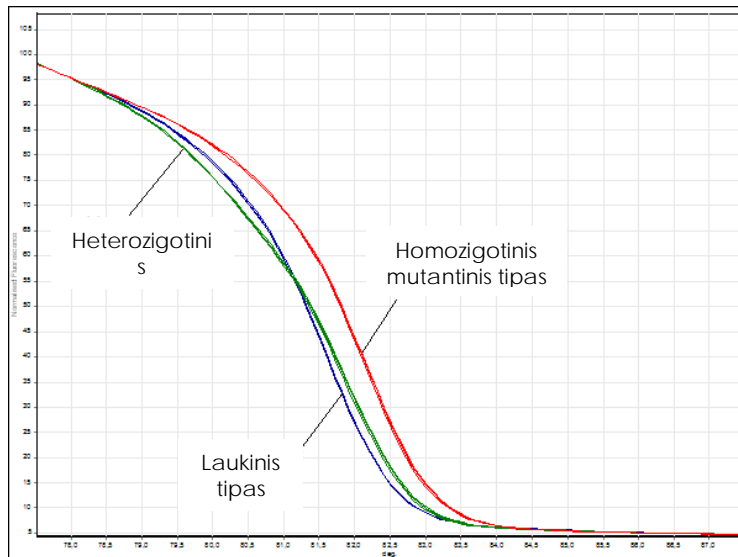
SNP analizei QIAGEN rekomenduoja naudoti Type-it[®] HRM PCR Kit, o DNR metilinimo tyrimams - EpiTect[®] HRM PCR Kit rinkinius. Abiejų rinkinių sudėtyje yra trečios kartos interkaliuojantys fluorescuojantys dažai EvaGreen. Rinkiniai derinami kartu su optimizuotais HRM buferiniais tirpalais ir HotStarTaq[®] Plus DNR polimeraze, tokiu būdu išvengiant nespecifinių DNR padauginimo produktų bei pasiekiant patikimus rezultatus.

Pastaba: visi QIAGEN HRM rinkiniai ir reagentai, skirti naudoti kartu su Rotor-Gene Q prietaisais, yra tinkami naudoti tik atitinkame QIAGEN rinkinio darbo vadove aprašytiems pritaikymams.

11.3 SNP genotipavimo pavyzdys

Pateikiamame pavyzdyje buvo naudotas Type-it HRM PCR Kit rinkinys. Naudojant jį, HRM analizės pagalba buvo stengiamasi atskirti žmogaus SNP rs60031276 homozigotinį laukinį tipą, homozigotinį mutantinį tipą ir heterozigotines jo

formas. Šio tyrimo techninės detalės pateiktos naudotojo vadove *Type-it HRM PCR Handbook*.

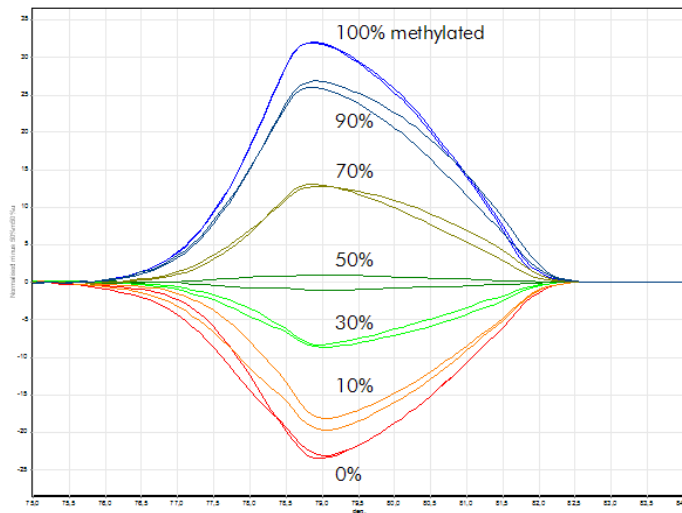
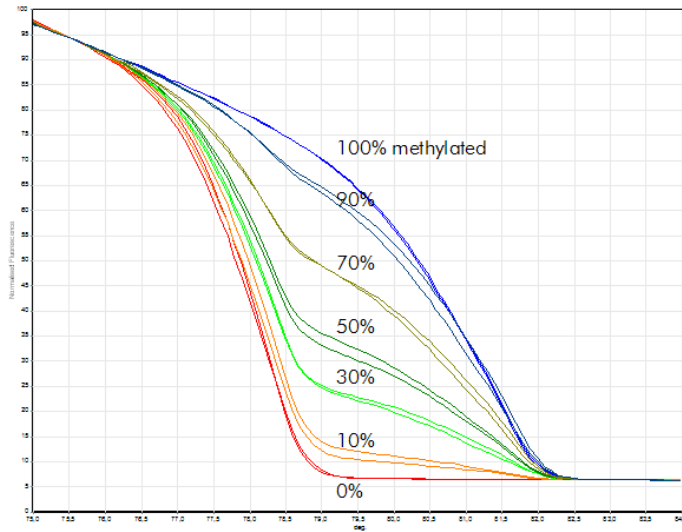


| HRM Results - HRM A.HRM (Page 1) | | | | |
|----------------------------------|---|-------------------------|-----------|--------------|
| No. | C | Name | Genotype | Confidence % |
| 22 | | AA Human SNP rs60031276 | homo AA | 100,00 |
| 23 | | unknown | homo AA | 99,49 |
| 24 | | unknown | homo AA | 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 genotipavimas, remiantis HRM. Žmogaus SNP rs60031276 (A keičiamas į G), esantis gene PPP1R14B (koduoja baltymo fosfatazės 1 reguliacinį (inhibitorinį) subvienetą 14B) buvo analizuojamas naudojantis Rotor-Gene Q ir rinkiniu Type-it HRM Kit, naudojant 10 ng skirtingų genotipų genominę DNR. Homozigotinis laukinis tipas (AA), homozigotinis mutantinis tipas (GG) ir heterozigotinė forma (AG) pavaizduoti paveiksle pateiktoje standartinėje normalizuotoje lydimosi kreivėje ir paveiksle pateiktame skirtuminiame grafike, lyginant su laukinio tipo mėginiais. Paveiksle pateikti mėginiai, kuriuos Rotor-Gene programinė įranga priskyrė prie nežinomųjų.

11.4 DNR metilinimo būsenos analizės pavyzdys

Pateikiamame pavyzdyje buvo naudotas EpiTect HRM PCR Kit rinkinys. Naudojant jį, HRM analizės pagalba buvo stengiamasi atskirti įvairius metilintos ir nemetilintos DNR santykius. Šio tyrimo techninės detalės pateiktos naudotojo vadove *EpiTect HRM PCR Handbook*.



Kiekybinė DNR metilinimo įvertinimo analizė, remiantis HRM.

Naudojantis Rotor-Gene Q ir rinkiniu EpiTect HRM Kit, HRM būdu buvo analizuota įvairiais santykiškai metilinta ir nemetilinta DNR-APC (adenomatosio polyposis coli baltymą koduojantis genas). paveiksle vaizduojama standartinė normalizuota lydimosi kreivė, paveiksle pateikiamas 50% metilinto mėginio skirtuminis grafikas.

11.5 Instrukcijos sėkmingai HRM analizei

HRM analizės sėkmė ypač priklauso nuo tyrime naudojamų nukleotidų sekos. Tam tikri sekos motyvai, pvz., „plaukų segtuko“ struktūra, kitos antrinės struktūros, neįprastai didelis/ mažas GC sąstatas, pasikartojančios sekos gali ypač paveikti analizės rezultatus. Naudodamiesi QIAGEN stantartizuotus rinkinius ir optimizuotus tyrimo protokolus, galite išvengti daugumos galimų sunkumų. Žemiau pateikiami nurodymai padės Jums sėkmingai atlikti analizę.

Analizuokite mažus DNR fragmentus

Analizuokite fragmentus, kurių ilgis ne didesnis nei 250 bp. Nors didesni fragmentai taip pat gali būti sėkmingai analizuojami, tačiau paprastai yra gaunama mažesnė skiriamoji geba. To priežastis yra tai, kad, pvz., vienos bazių poros pokytis 100 bp amplikone suteikia žymiai didesnę poveikį fragmento lydymuisi nei vienos bazių poros pokytis 500 bp amplikone.

Įsitikinkite, kad PGR mišinyje yra tik specifinis produktas

Mėginių, kurių sudėtyje yra PGR artefaktų (pvz., pradmenų dimerų ar nespecifinių produktų), HRM rezultatų analizė gali būti komplikauta. QIAGEN rinkiniai, skirti HRM analizei, užtikrina maksimalų specifiškumą be papildomo optimizavimo.

Naudokite pakankamą iš anksto padaugintos DNR matricos kiekį

Tikrojo laiko PGR duomenų analizė gali būti labai naudinga, iškilus HRM analizės problemoms. Padauginimo grafiko C_T (slenkstinio ciklo) turėtų būti mažesnė arba lygi 30 ciklų. Produktai, padauginami vėlesniais ciklais (dėl per mažo pradinės DNR kiekio arba jos degradacijos), paprastai nulemia kintamus HRM rezultatus.

Normalizuokite DNR matricos koncentraciją

Reakcijos mišinyje naudojamos DNR matricos koncentracija turi išlikti pastovi. Normalizuokite pradinę koncentraciją taip, kad visi padauginimo grafikai būtų tarp 3 C_T verčių kiekvienam. Tą užtikrina naudojamų pradinių koncentracijų vertės 1-10 kartų ribose.

Patikrinkite netipinius DNR padauginimo grafikus

Prieš atliekant HRM analizę, atidžiai patikrinkite DNR padauginimo grafikų duomenis, ypač atkreipdami dėmesį į neįprastus nukrypimus. Grafikų logaritminės fazės nelygios (dantytos) sritys, mažo signalo plato sritys, lyginant jas su kitų reakcijų grafikais, gali reikšti silpną DNR padauginimą arba per mažą fluorescencinį signalą (pvz., taip gali nutikti esant per mažai pradmenų koncentracijai). Silpnai vykstančios reakcijos gali būti nulemtos slopiklių arba netinkamo reakcijos mišinio paruošimo. Tokių mėginių HRM duomenys gali būti nepatikimi arba mažos skiriamosios gebos. Norint išvengti nepatikimų rezultatų, rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius, skirtus mėginių paruošimui ir HRM analizei.

Išlaikykite panašią mėginių padaugintos DNR koncentraciją

Padaugintų DNR fragmentų koncentracija apsprendžia jų lydimosi temperatūrą (T_m). Todėl, turi būti palaikoma kiek įmanoma panaši mėginių DNR koncentracija. Analizuojant PGR produktus, įsitikinkite, kad kiekvienoje reakcijoje DNR būtų dauginama iki plato fazės. Plato fazėje, nepriklausomai nuo pradinio DNR kiekio, visų reakcijų padaugintos DNR kiekis yra panašus. Vis dėlto pažymėtina, kad silpnai vykstančių reakcijų metu, plato fazėje gali nebūti toks pat DNR kiekis, pvz., dėl nevienodo reakcijos mišinio paruošimo (pvz., per maža pradmenų koncentracija).

Užtikrinkite visų mėginių vienodumą

Turi būti užtikrintas vienodas visų mėginių tūris ir vienodą dažų koncentracija. DNR fragmentų lydimuisi įtakos turi druskos, esančios reakcijos mišinyje, taigi svarbu, kad visuose mėginiuose būtų kiek įmanoma vienodesnė buferinio tirpalo, Mg ir kitų druskų koncentracija. Taip pat naudokite tik identiškus to paties gamintojo mėgintuvėlius, taip išvengsite rezultatų svyravimų, susijusių su ne vienodu mėgintuvėlių sienelių storiumi ar autofluorescencinėmis jų savybėmis.

Suakaupti pakankamai duomenų prieš-lydimosi ir po-lydimosi fazių metu

Fiksuokite HRM taškus apytiksliai 10°C intervale ties stebima T_m (žr. paveikslėlį psl. 11-1). Tai suteikia pakankamai duomenų efektyviam kreivės normalizavimui, lemia atkartojamus replikų rezultatus ir paprastesnį duomenų interpretavimą.

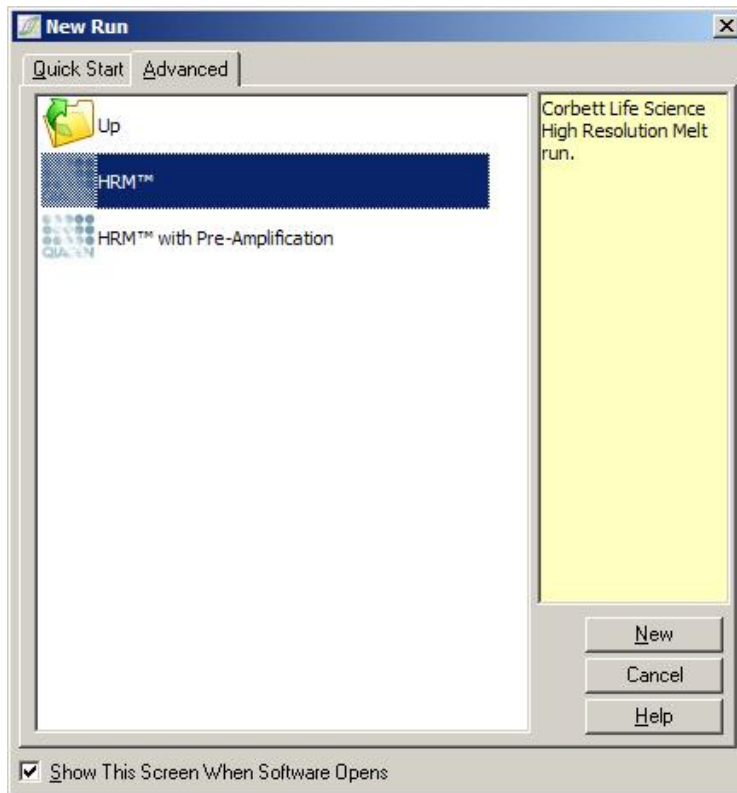
11.6**Mėginių paruošimas**

Stenkitės išvengti mėginių degradacijos jų gryninimo ir saugojimo metu. Stenkitės išvengti pernelyg didelio slopiklių, tokių kaip etanolis, kiekio pernešimo. Norint pagerinti HRM rezultatus, rekomenduojame mėginiams naudoti tą patį DNR matricos kiekį. DNR koncentracijos ir grynumo įvertinimui, yra ypač rekomenduojama spektrofotometrinė analizė. Mėginių paruošimui rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius.

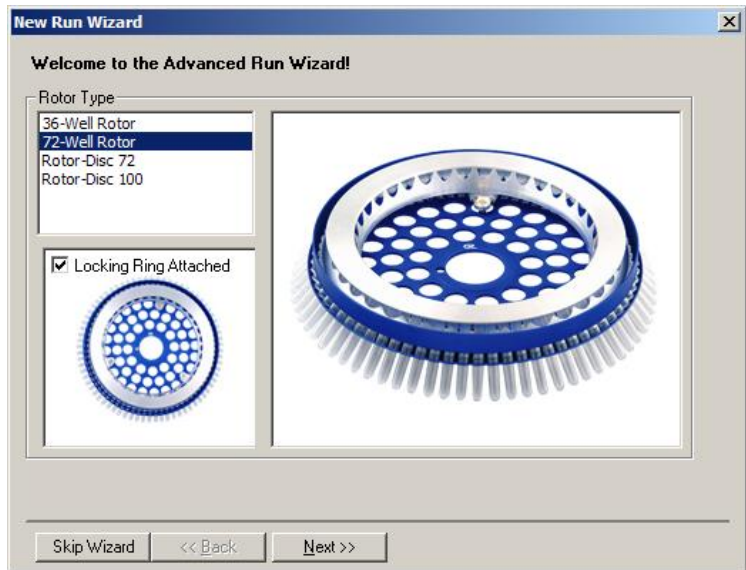
Pastaba: ties 260 nm bangos ilgiu, vienas sugerties vienetas yra lygus 50 µg/ml DNR. Grynos DNR 260 nm/280 nm sugerties santykis yra lygus 1,8.

11.7 Programinės įrangos nustatymas

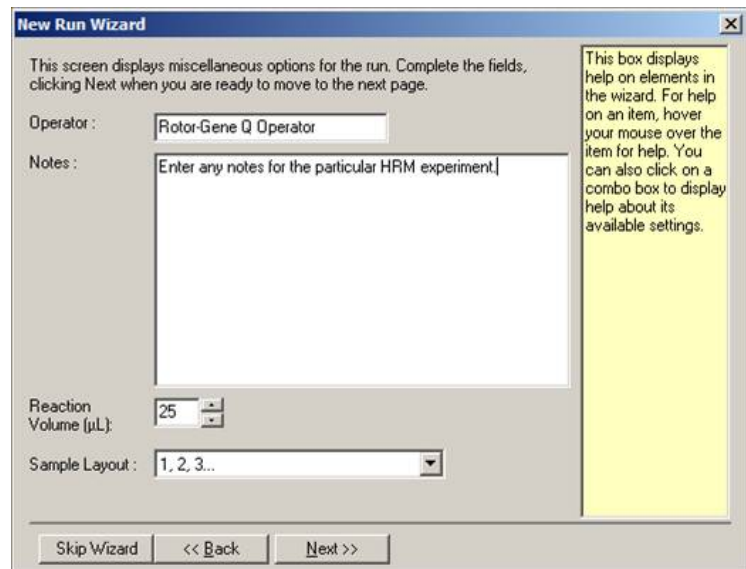
1. Naujo eksperimento bylą atidarykite pasirinkdami funkciją “New...”, esančią meniu File. Naudojantis Pažangiuoju vedliu, pasirinkite “HRM”.



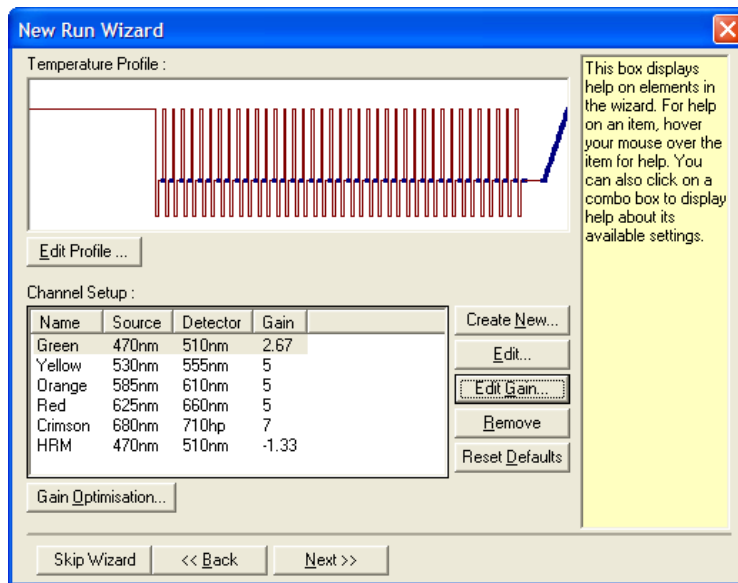
2. Nustatykite rotoriaus tipą (šiuo pavyzdyje naudojamas 72-šulinėlių rotorius). Prieš pradėdami kitą etapą, įsitikinkite, kad yra įstatytas užrakinamasis žiedas ir pažymėtas tai patvirtinantis langelis “Locking Ring Attached”.



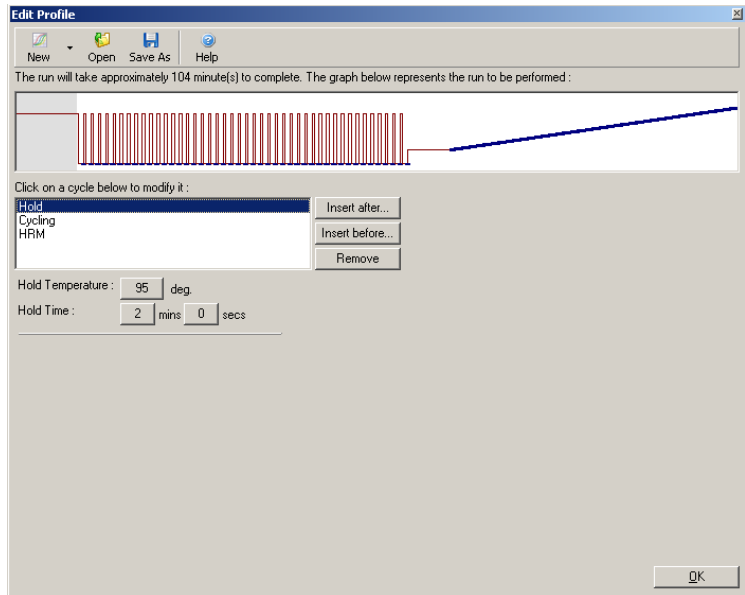
3. Nustatykite eksperimento parametrus. Įveskite naudotojo tapatybę (pasirinktinai) ir pridėkite papildomas eksperimento pastabas (pasirinktinai). Pasirinkite vykdomos reakcijos tūrį (būtina) ir pageidaujama mėginių išdėstymo tvarką.



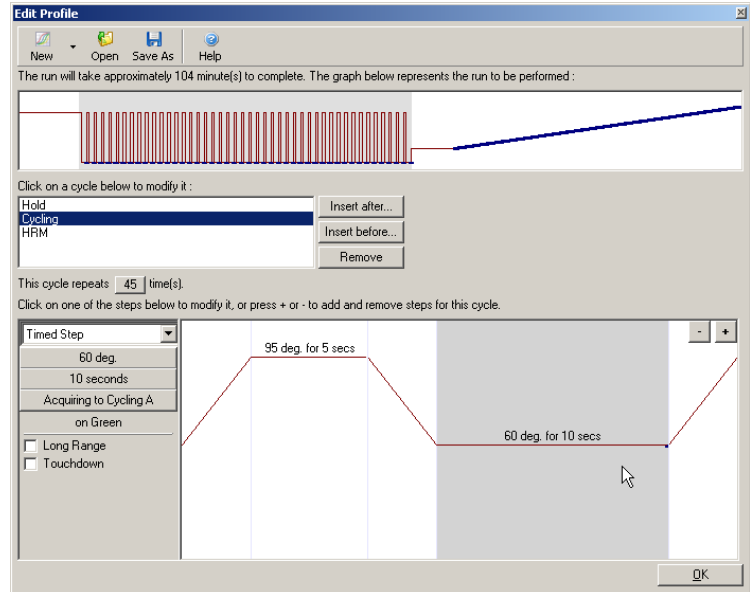
4. Spragtelėkite mygtuką "Edit Profile...", norėdami pakeisti reakcijos laikus ir temperatūras.



5. Nustatykite atitinkamą pradinio užlaikymo trukmę. Šis laikas yra priklausomas nuo naudojamos DNR polimerazės tipo. Rinkiniams Type-it HRM PCR Kit ir EpiTect HRM PCR Kit reikia 5 minučių aktyvavimo trukmės. Nustatyta standartinė aktyvavimo trukmė yra 10 minučių.



6. Nustatykite amplitonui tinkantį ciklinį režimą.



7. Nustatykite fluorescencijos duomenų kaupimą. Pradmenų prisilydymosi etapo pabaigoje duomenų kaupimas vyksta žaliajame kanale.

Acquisition

Same as Previous : (New Acquisition)

Acquisition Configuration :

Available Channels :

| Name |
|---------|
| Crimson |
| HRM |
| Orange |
| Red |
| Yellow |

Acquiring Channels :

| Name |
|-------|
| Green |

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

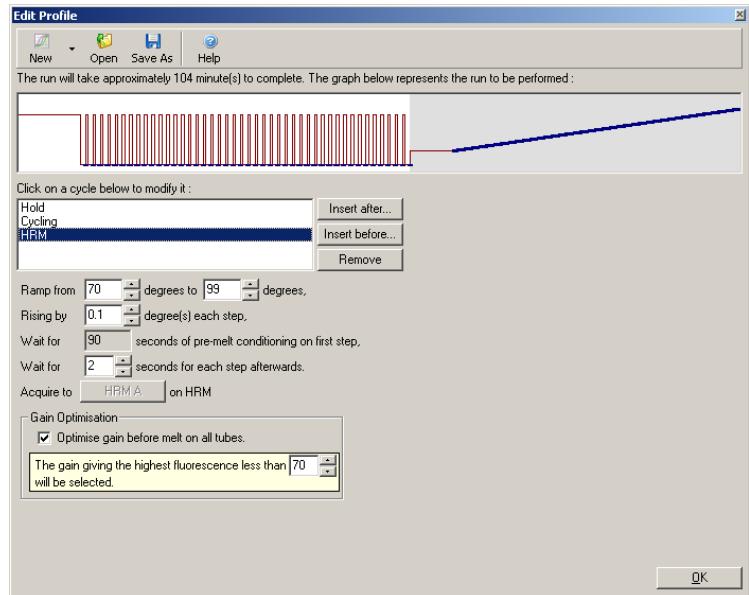
Dye Chart >>

Dye Channel Selection Chart

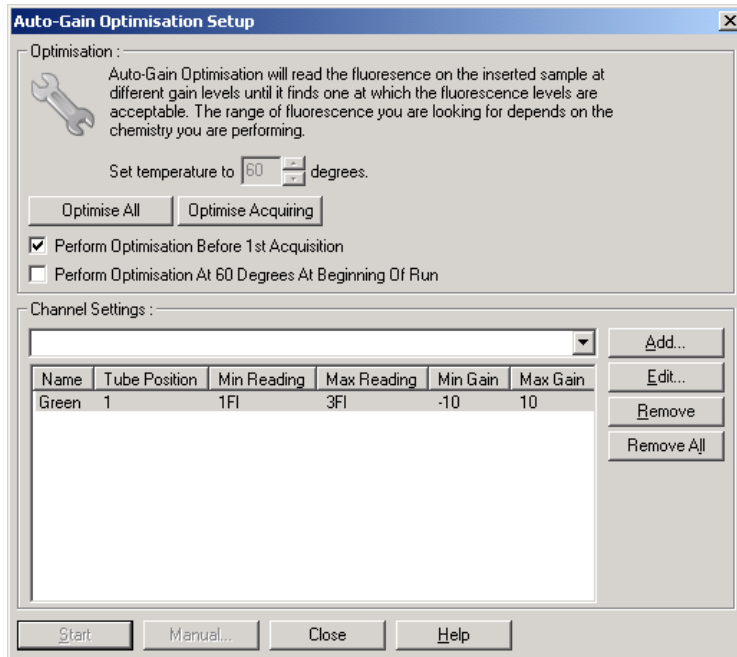
| Channel | Source | Detector | Dyes |
|---------|--------|----------|---|
| Green | 470nm | 510nm | FAM, SybrGreen [®] , alexa488 |
| Yellow | 530nm | 555nm | JOE, CalGold [®] , CalOrange [®] , TET, Yakima Yellow, VIC [®] , HEX, alexa532 |
| Orange | 585nm | 610nm | ROX, Redmond Red [®] , alexa568 |
| Red | 625nm | 660nm | Cy5, Quasar670 [®] , LCRed640 [®] |
| Crimson | 680nm | 710hp | Quasar705 [®] , LCRed705 [®] , alexa680 |
| HRM | 460nm | 510nm | LCGreen [®] |

8. Nustatykite HRM eksperimento sąlygas. Keiskite sąlygas taip, kad jos tiktų norimam amplikonui. Pirmam eksperimentų rinkiniui leidžiama plati lydymosi sritis. Naudokite teorinę T_m reikšmę, pasirinkdami tinkamą temperatūros intervalą. Nustatę produkto lydymosi tašką, sumažinkite lydymosi temperatūros intervalą ne daugiau nei 10°C. Užtikrinkite, kad lydymosi pradžia vyktų 5°C prieš pirmąjį lydymosi perėjimą. Pagal standartinį nustatymą, temperatūrinė rampa yra 0,1°C su 2 sekundžių užlaikymu prieš kiekvieną etapą. Minimalus rampos perėjimas yra 0,05°C su vienos sekundės užlaikymu prieš kiekvieną etapą. Duomenys yra automatiškai kaupiami HRM kanalu. Pagal standartinį nustatymą yra atliekamas automatinis įgijimo parametro optimizavimas. Programinė įranga ieško optimalios įgijimo parametro vertės, taigi fiksuojama

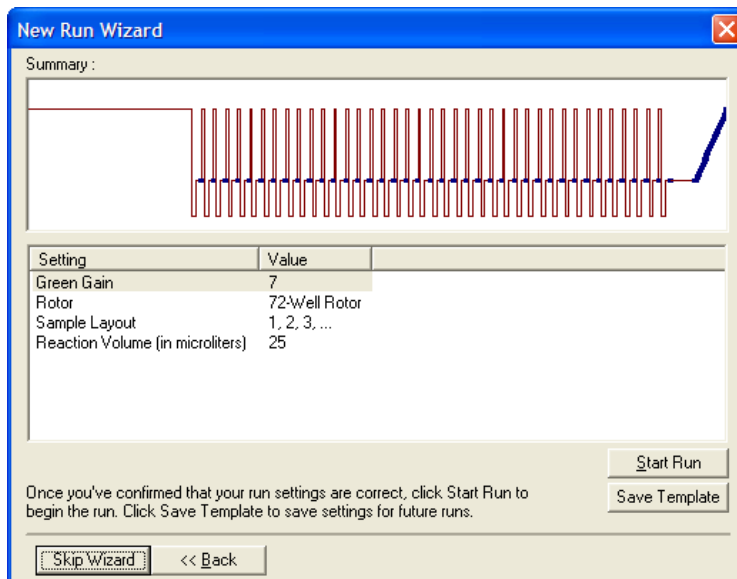
didžiausia fluorescencijos signalo vertė yra ne didesnė nei 70 vienetų iš 100. Maksimali signalo vertė gali būti 100.



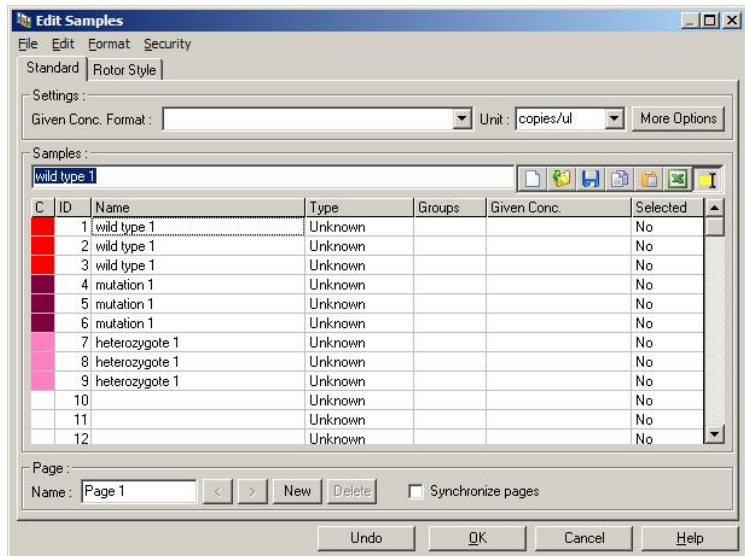
9. Pasirinktina: automatinio įgijimo parametro optimizavimo nustatymas. Ši funkcija taikoma tik tikrojo laiko DNR padauginimui ir nustatoma žaliajam kanalui. Spragtelėkite mygtuką "Optimize Acquiring" (optimizuokite tik eksperimente naudojamus kanalus). Geriausia optimizavimą atlikti prieš pirmąjį duomenų kaupimo etapą, taigi pažymėkite tai nurodantį langelį "Perform Optimization Before First Acquisition". Rekomenduojama interkaliojančių dažų foninė fluorescencija turėtų būti 1 - 3 fluorescencijos vienetai. Norėdami pakeisti šį nustatymą, pasirinkite kanalą sąrašė, spragtelėdami jo pavadinimą, ir paspauskite mygtuką "Edit".



10. Eksperimentą pradėkite spragtelėdami “Start Run” ir kompiuteryje išsaugokite jo bylą.



11. Redaguokite mėginių pavadinimus (pasirinktina).
Mėginių pavadinimai gali būti redaguojami eksperimento metu arba jam pasibaigus.



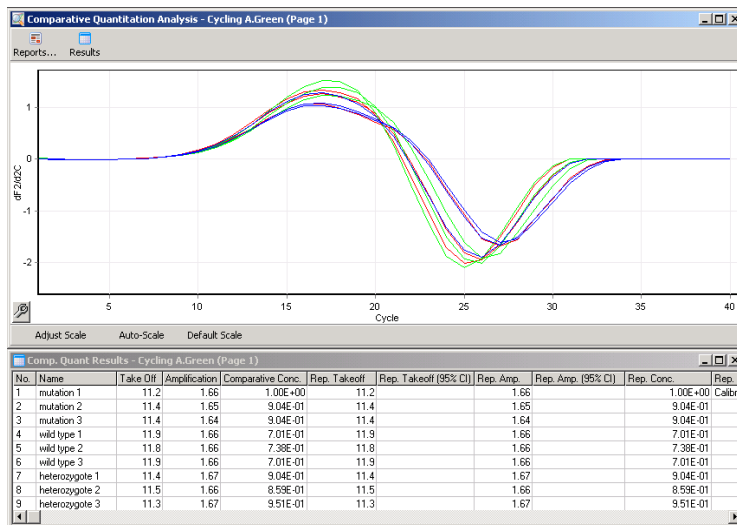
11.8 Tikrojo laiko PGR duomenų analizė

Prieš atliekant HRM duomenų analizę, yra labai naudinga panagrinėti tikrojo laiko PGR duomenis. Tikrojo laiko PGR duomenys gali išryškinti silpnai vykstančias reakcijas. Iš anksto identifikavus ir atmetus tokias reakcijas, ypač išauga galutinės HRM analizės efektyvumas, kadangi prastos kokybės PGR produktai neigiamai veikia HRM rezultatus. Rekomenduojame atlikti kiekybinį tikrojo laiko PGR duomenų įvertinimą, kaip nurodyta žemiau pateiktose instrukcijose:

1. Tikrojo laiko PGR duomenis analizuoti galite naudodamiesi funkcija "Quantitation", esančia lange "Analysis". Jei bet kokios reakcijos C_T vertė yra didesnė už 30 ciklą, atitinkamos reakcijos produktai padauginami per vėlai. Šie mėginiai turi būti analizuojami labai atsargiai ir įtariai arba tiesiog pašalinami iš tolimesnės analizės. Vėlyvas DNR

padauginimas paprastai susijęs su per mažu pradinės DNR kiekiu ir/arba jos degradacija.

- Įvertinkite galutinio taško fluorescencijos lygį. Jei duomenų rinkinyje bet kurio padauginimo grafiko galutinis fluorescencijos taškas yra žemas, lyginant jį su dauguma kitų grafikų, šiuos mėginius į analizę neįtraukite, net jei jų C_T vertės yra mažesnės nei 30. Žemas galutinio taško fluorescencijos lygis gali reikšti netinkamą dažų kiekį, neteisingas reakcijos komponentų proporcijas (pvz., pradmenų) arba reakcijos slopiklių poveikį.
- Norėdami įvertinti kiekvieno mėginio reakcijos efektyvumą, naudokite funkciją "Comparative Quantitation", esančią lange "Analysis". Jei kurios nors reakcijos efektyvumas reikšmingai skiriasi nuo kitų eksperimente vykdomų reakcijų efektyvumų arba jis yra žemesnis nei apytiksliai 1,4, šiuos mėginius praleiskite.



Palyginamojo kiekybinio įvertinimo rezultatai. Reakcijos efektyvumas parodytas skyrelyje "Amplification", kaip rezultatas <2 ($2 = 100\%$ efektyvumas).

Pastaba: jei įtariate susiformavus pradmenų dimerams ar esant nespecifiniams produktams, įvertinkite

reakcijas brėžiant darinių grafikus, naudodamiesi funkcija “Melt”, esančią lange “Analysis”. Įsitikinkite, kad yra tik vienas pikas, rodantis vienintelio produkto padauginimą. Jei yra galimybė, atlikite PGR produktų elektroforezę, taip įsitikindami, kad yra tik vienas padaugintas PGR produktas. Jei yra daugiau nei vienas produktas, reakciją reikia kartoti, iš naujo ją optimizuojant.

11.9 HRM duomenų analizė

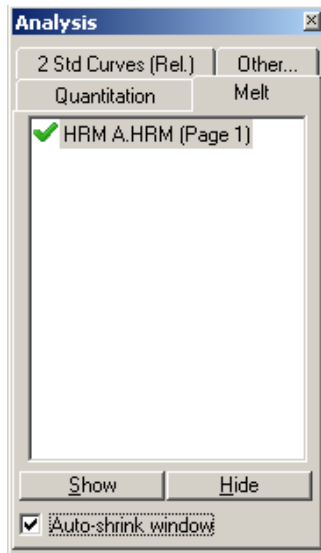
HRM rezultatai įgalina tiek vizualinę, tiek automatinę genotipų įvardijimo analizę. Rezultatai gali būti pateikiami normalizuoto lydimosi grafiko arba skirtuminio grafiko pavidalu. Normalizuotos kreivės pateikia bazinį skirtingų genotipų vaizdavimą, besiremiantį kreivių poslinkiu (homozigotų atveju) arba kreivės formos pokyčiu (heterozigotų atveju).

Skirtuminiai grafikai atlieka pagalbinę vizualinės interpretacijos funkciją. Šiuose grafikuose pateikiami mėginių ir pasirinktų kontrolių fluorescencijos signalų skirtumai kiekviename temperatūriniame perėjime. Skirtuminiai grafikai pateikia kitą skirtumų tarp lydimosi kreivių perėjimų vaizdavimo būdą.

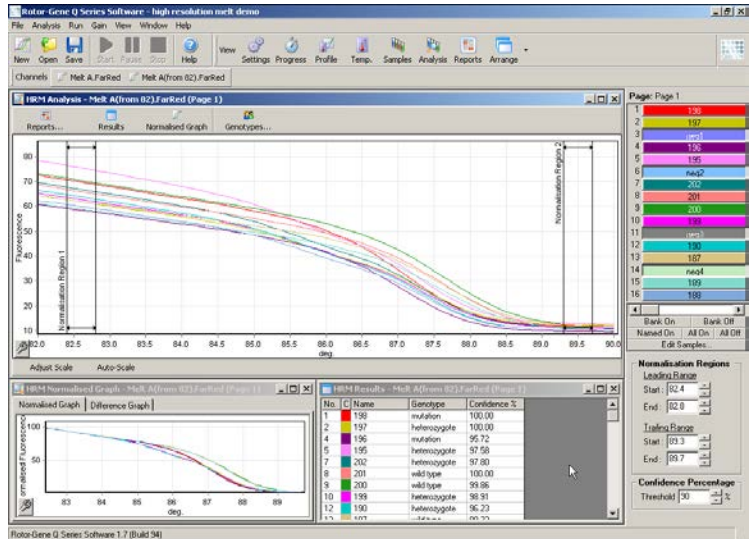
Pastaba: pirmojo darinio lydimosi kreivės analizė (naudojama kaip standartas funkcijoje “Melt”, esančioje lange “Analysis”) įprastai laikoma netinkama HRM analizei. To priežastis yra tai, kad bet kokia duomenų derivacija sukelia dirbtinių trukdžių, dėl ko duomenų interpretacija tampa komplikauta.

Žemiau pateiktuose punktuose aprašomos HRM rezultatų analizės, naudojant Rotor-Gene Q programinę įrangą, procedūros:

1. Pasirinkite funkciją “HRM”, esančią lange “Analysis”.

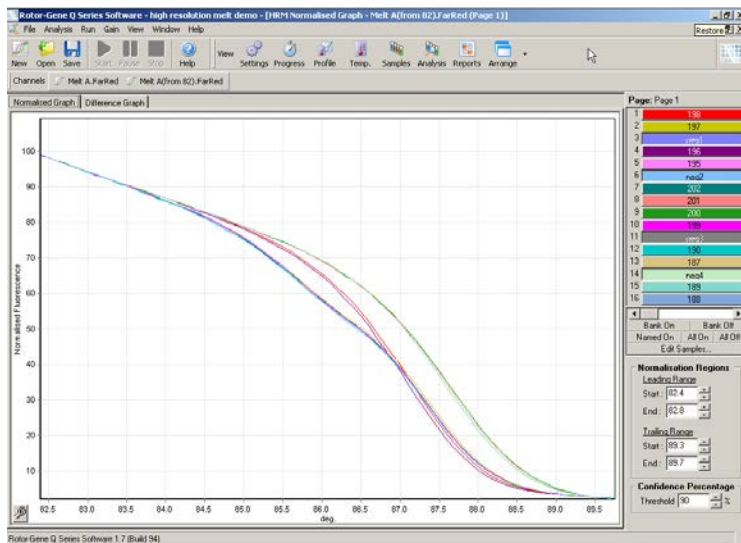


2. Pasirodžiusiuose languose pateikiami neapdoroti duomenys, normalizuotas grafikas ir rezultatai. Neapdorotų duomenų lange galimas normalizavimo sričių koregavimas. Normalizavimo dėka, įmanoma palyginti visas kreives su tuo pačiu pradinio ir galutinio fluorescencijos signalo lygiu, tokiu būdu palengvinant rezultatų interpretavimą ir jų analizę. Zonoje pateikiami du žymekliai, apibrėžiantys kreivės galus. Normalizavimo srityje esantys duomenų taškai naudojami fluorescencijos (tik y ašis) lydimosi kreivės pradžioje (Sritis 1) ir pabaigoje (Sritis 2) normalizavimui. Į duomenis, esančius už nustatytų sričių, yra neatsižvelgiama. Pakoreguokite normalizavimo sritis taip, kad būtų apimami visi pagrindiniai reprezentatyvūs priešlydimosi ir polydimosi fazių duomenys. Sričių praplėtimas (spragtelint virš jų ir patempiant ribas) leidžia programinei įrangai suderinti bazinės kreivės nuolydį. Tam, kad užtikrintumėte efektyvų normalizavimą, stenkitės išvengti normalizavimo sričių išplėtimo į lydimosi fazę.

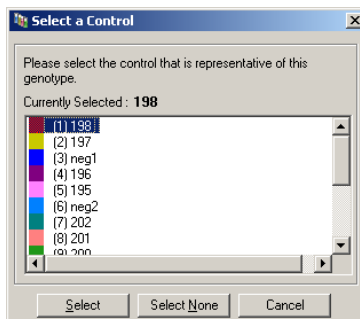
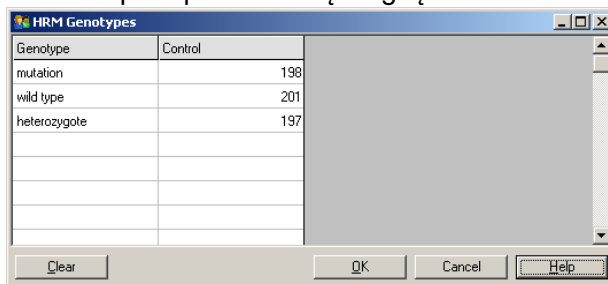


Pastaba: žymeklių padėties keitimą rekomenduojame atlikti tik tuomet, jei norite išvengti lydymosi fazės. Žymeklių postūmis link lydymosi fazės gali lemti grafikų ir pasikliauties procentinės išraiškos sumažėjimą.

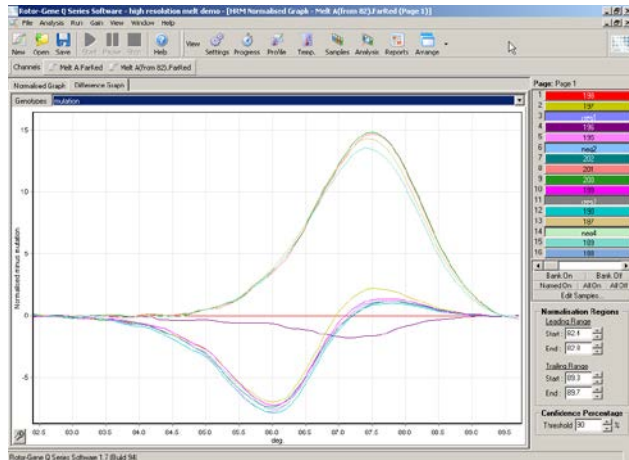
3. Lange "Normalised Graph" yra pateikiamos normalizuotos lydymosi kreivės. Taip pat gali būti vaizduojami mėginių skirtuminiai grafikai, lyginant juos su viena iš kontrolių.



4. Tam, kad apibūdintumėte genotipus, spragtelėkite mygtuką “Genotypes...” Įveskite kiekvieno genotipo kategorijos pavadinimą ir iš kiekvienos kategorijos pasirinkite po reprezentacinį mėginį.



- Norėdami pamatyti skirtingų grafikų vaizdavimą, pasirinkite skyrelį “Difference Graph”. Pasirinkite norimą genotipą, kurį pageidaujate lyginti su visais kitais mėginiais naujai pasirodančiame meniu, esančiame lango viršutinėje dalyje. Parodytame pavyzdyje visų mėginių nubrėžti grafikai yra atimti iš visų mėginių vidurkinio grafiko, pažymėto “Mutation 1”.



- Lange “Results” programinė įranga automatiškai įvardija genotipus. Automatiškai įvardijamiems rezultatams suteikiamos pasikliauties vertės, taip užtikrinant jų integralumą. Slenkstinė vertė, virš kurios automatiškai apskaičiuojami rezultatai, gali būti keičiama. Mėginiai, kurių rezultatai pakliūna žemiau nustatytos vertės, pažymimi kaip svyruojantys, jiems reikia detalesnio arba pakartotinio tyrimo.

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

| Normalisation Regions | |
|------------------------------|------|
| Leading Range | |
| Start: | 82.4 |
| End: | 82.8 |
| Trailing Range | |
| Start: | 89.3 |
| End: | 89.7 |
| Confidence Percentage | |
| Threshold: | 90 % |

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias.

12 Problemų sprendimo būdai

12.1 Duomenų saugojimas

Programinė įranga išsaugo nepakeistus kiekvieno eksperimento įrašus, diagnostinę informaciją talpykloje “Log Archive”. Pasirinkę funkciją “Help” ir pasinaudoję “Send Support Email” galimybe, Jūs galite QIAGEN techninio aptarnavimo skyriui išsiųsti elektroninį laišką su visa diagnostikai reikalinga informacija (skaitykite Skyrių 7.12.1).

Taupant kietojo disko talpą, duomenų archyve yra saugoma tik iki 60 naujausių eksperimentų duomenų. Senesniųjų eksperimentų duomenys yra perrašomi naujesniais.

12.2 HRM problemų sprendimo būdai

Komentarai ir patarimai

Nepavyksta vykdyti HRM

Turimame Rotor-Gene Q MDx modelyje nėra HRM funkcijos. Kreipkitės į vietinio QIAGEN platintojo atstovą.

Negaunami HRM duomenys

Netinkamas
nustatymas

Patikrinkite filtro nustatymą.

Patikrinkite, ar yra pasirinktas tinkamas rotoriaus tipas.

Patikrinkite, ar naudojami tinkami reagentai.

Patikrinkite, ar reakcijos mišinys buvo tinkamai paruoštas.

Atlikite kontrolinio mėginio eksperimentą (t.y., mėginio, kuris garantuotai lemia teigiamą rezultatą).

Komentarai ir patarimai

Nelygi (dantyta) kreivė

Silpnas DNR padauginimas arba jis iš viso nevyksta

Patikrinkite, ar naudoti tinkami reagentai ir darbo eigos protokolai. HRM analizei mes rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius.

Patikrinkite, ar reakcijos mišinys buvo paruoštas tinkamai.

Patikrinkite ciklinio režimo sąlygas.

Patikrinkite pradinį DNR matricos kiekį ir jos kokybę. Mėginių paruošimui mes rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius.

Išotintos lydymosi arba DNR padauginimo kreivės

Per aukšta įgijimo (Gain) parametro reikšmė.

Pasinaudokite automatine įgijimo optimizavimo (Auto-Gain Optimisation) funkcija (žr. psl. 6-23).

Pakitusi pasikliauties procentinio parametro reikšmė

Pakeista normalizavimo sričių padėtis.

Normalizavimo sričių padėtį keiskite tik tuo atveju, jei reikia išvengti lydymosi kreivės dalių.

Duomenyse pateikiami neadekvatūs rezultatai

Nevienodas reakcijos mišinio paruošimas.

Patikrinkite, ar naudoti tinkami reagentai.

Patikrinkite, ar naudoti vienodi mėgintuvėliai.

Mėginyje yra slopiklių.

Patikrinkite, ar tas pats bendras reakcijų mišinys buvo naudotas visų mėginių tyrimui.

Per mažai DNR matricos arba ji yra degradavusi.

Patikrinkite pradinį DNR matricos kiekį ir jo kokybę.

12.3 Standartiniai prietaiso sutrikimai

Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas

Komentarai ir patarimai

Can't open the serial port <COMPORT>

(Neįmanoma prisijungti prie standartinės jungties <COMPORT>)

Šis sutrikimas nutinka programinės įrangos paleidimo metu, jei programinė įranga negali prisijungti prie prietaiso per sukonfigūruota COM jungtį. Tai dažniausiai nulemia atsilaisvinę ar pažeisti laidai, pažeistos standartinės arba USB jungtys, USB jungties tvarkyklės, USB-standartinio keitiklio tvarkyklės problemos.

Pakeiskite arba iš naujo perjunkite laidus. Iš naujo įdiekite atitinkamas tvarkykles. Įjunkite programą "Virtual Mode" ir pasirinkite "Setup/Auto-Detect" mygtuką, esantį meniu "File" tam, kad iš naujo sukonfigūruotumėte COM jungtį.

Chamber Lid Open

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

(Atidarytas kameros dangtis

Ekspimento tęsti negalima; kameros dangtis yra atidarytas ekspimento metu. Pakartotinai nustatykite prietaisą ir perkraukite programinę įrangą)

Programinė įranga užfiksavo, kad ekspimento metu yra atidarytas kameros dangtis.

Pakartotinai nustatykite prietaisą ir perkraukite programinę įrangą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Chamber Lid Open

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

Šis pranešimas informuoja, kad naudotojas bando pradėti eksperimentą, neuždaręs prietaiso dangčio.

Uždarykite prietaiso kameros dangtį ir spragtelėkite "Continue".

(Atidarytas kameros dangtis

Prietaiso kameros dangtis yra atidarytas. Uždarykite dangtį ir spragtelėkite "Continue")

Communication Corrupted

(Nepatikimas duomenų perdavimas)

Šis pranešimas informuoja, kad iš prietaiso gaunami duomenys neatitinka tikėtino modelio.

Tam, kad būtų išsisaiškintos šio sutrikimo priežastys, būtinas QIAGEN aptarnavimo specialistų detalesnis prietaiso patikrinimas.

Kreipkitės į vietinį platintoją ar į QIAGEN techninį aptarnavimą.

Communication Out Sequence

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

Šis pranešimas informuoja, kad iš prietaiso gaunami duomenys yra pateikiami klaidinga eilės tvarka.

Tam, kad būtų išsisaiškintos šio sutrikimo priežastys, būtinas QIAGEN aptarnavimo specialistų detalesnis prietaiso patikrinimas.

Kreipkitės į vietinį platintoją ar į QIAGEN techninį aptarnavimą.

(Netinkamos eilės tvarkos duomenų perdavimas

Prietaiso gaunami duomenys yra pateikiami klaidinga eilės tvarka)

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

**Communication
Protocol Error**

A communication protocol error occurred with this run.

**(Ryšių protokolo
sutrikimas**

Eksperimento metu sutriko ryšių protokolas)

Sutrikimas, kuomet mikroprogramos pavidalu sukonfigūruotas ryšių protokolas neatitinka reikiamo ryšių protokolo.

Tam, kad būtų išaiškintos šio sutrikimo priežastys, būtinas QIAGEN aptarnavimo specialistų detalesnis prietaiso ryšių protokolo patikrinimas.

**Detector motor jam,
stopped machine**

**(Detektoriaus
motorinės dalies
užsikirtimas,
prietaisas neveikia)**

Šis sutrikimas nutinka tuomet, kai Rotor-Gene Q MDx yra įjungiamas iš karto po gabenimo šaltame ore.

Tokiu atveju, prieš įjungimą leiskite prietaisui pabūti kambario temperatūroje mažiausiai valandą.

Jei sutrikimas kartojasi, kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

**Fatal Hardware
Malfunction**

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.

**(Lemtingas prietaiso
techninės įrangos
sutrikimas.**

Nustatyta, kad prietaiso techninė įranga veikia netinkamai.
Nebandykite toliau naudoti prietaiso, kol jis nebus apžiūrėtas vietinio platintojo atstovų)

Šis pranešimas informuoja apie sutrikimą, kuomet programinė įranga aptinka ypač rimtą techninės įrangos gedimą ir aktyvuoja apsaugos sistemą, kuri prietaisą išjungia.

Nedelsiant išjunkite prietaisą ir kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Machine Error

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.

Šis pranešimas informuoja apie sutrikimą, kuomet programinė įranga aptinka prietaiso sutrikimą, kurio negali išspręsti. Eksperimentas yra sustabdomas.

Bandykite dar kartą. Jei problema išlieka, kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą, kartu pateikite pagalbines archyvines bylas.

(Prietaiso sutrikimas.

Eksperimentas sustabdytas, kadangi buvo užfiksuotas prietaiso sutrikimas. Jei tai kartojasi, kreipkitės į vietinį platintoją, kartu pateikdami pagalbines archyvines bylas)

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Machine Unplugged

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.

(Prietaisas yra išsijungęs.

Prietaisas nereaguoja, rodomas pranešimas<ERROR MESSAGE >.

Nustatykite prietaisą pakartotinai ir perkraukite programinę įrangą)

Šis sutrikimas nutinka tuomet, kai neaptinkamas prietaiso ir programinės įrangos ryšys po nustatyto laiko tarpo. Tai dažniausiai nulemia prietaiso gedimas arba pernelyg intensyvus kompiuterio darbas.

Dažniausiai su programine įranga susijusius sutrikimus sukelia pernelyg apkrautas kompiuterio procesorius, priešvirusinių programų veikimas, bevielio ryšio arba infraraudonųjų spindulių ryšio kortelių naudojimas.

Išjunkite arba inaktyvuokite bet kokius procesorių apkraunančius procesus.

Nustatykite prietaisą iš naujo ir perkraukite programinę įrangą.

Jei problema išlieka, kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Machine Unplugged

The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME>. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue.

Šis sutrikimas nutinka tuomet, kai yra pažeista prietaiso serijinė arba USB ryšių jungtis.

Iš naujo prijunkite laidą į kompiuterio serijinę arba USB jungtį ir spragtelėkite mygtuką "Continue".

(Prietaisas yra išsijungęs.

Prietaisas nėra prijungtas prie kompiuterio per <PORT NAME>. Prijunkite prietaiso laidą prie kompiuterio ir spragtelėkite "Continue")

Object variable or with block variable not set

(Kintamas objektas arba nenustatytas bloko kintamumas)

Šis sutrikimas įvyksta programinės įrangos paleisties metu, esant pažeistai standartinio eksperimento ruošinio bylai. To priežastis gali būti netinkamas programinės įrangos/ kompiuterio išjungimas, pvz., nutraukiant elektros srovės tiekimą.

Panaikinkite bylą direktorijoje **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret** ir perkraukite programinę įrangą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Rotor Speed Failure

Time out while setting the rotor speed.

(Rotoriaus sukimo greičio sutrikimas.
Uždelsimas nustatant rotoriaus greitį)

Apie šį sutrikimą pranešama tuomet, kai programinė įranga bando nustatyti norimą rotoriaus sukimo greitį, tačiau to nepavyksta atlikti per nustatytą laikotarpį.

Tam, kad būtų išaiškintos šio sutrikimo priežastys, būtina QIAGEN aptarnavimo specialistų detalesnė prietaiso apžiūra.

Kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

Serial Port In Use

The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry.

(Naudojama serijinė jungtis.

Šiuo metu serijinė jungtis yra naudojama kitos taikomosios programos. Išjunkite visas kitas programas, pvz., ryšių ir sinchronizacijos programines įrangas, ir bandykite dar kartą)

Apie šį sutrikimą pranešama tuomet, kai programinė įranga nesėkmingai bando prisijungti prie prietaiso per sukonfigūruotą COM jungtį, kurią naudoja kita programinė įranga.

Išjunkite visas kitas programas, pvz., ryšių ir sinchronizacijos programines įrangas, ir bandykite dar kartą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Shutdown timeout

The instrument has exceeded the expected time to shutdown.

Please reset the machine, and reset the software.

Apie šį sutrikimą pranešama tuomet, kai pagal programinės įrangos nurodymą stengiamasi išjungti prietaisą, tačiau to padaryti nepavyksta ir prietaisas vis dar veikia.

Iš naujo nustatykite prietaisą ir perkraukite programinę įrangą.

**(Uždėstas
išjungimas.**

Prietaiso išjungimas užtrunka ilgiau nei numatyta. Iš naujo nustatykite prietaisą ir perkraukite programinę įrangą)

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

**Temperature
Protection Activated**

The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists.

**(Aktyvuota
temperatūrinė
apsauga.**

Nustatyta, kad prietaiso kameroje temperatūra viršija nustatytą saugią ribą, todėl aktyvuojamas apsauginis režimas. Prietaisą išjunkite, problemai kartojantis – kreipkitės į vietinį platintoją)

Apie šį sutrikimą pranešama tuomet, kai programinė įranga užfiksuoja, kad prietaiso kameroje temperatūra viršija nustatytą saugią ribą, todėl yra aktyvuojamas apsauginis režimas.

Nedelsiant išjunkite prietaisą ir kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

**Apie sutrikimą
įspėjantis pranešimas**

Komentarai ir patarimai

Thermistor Is Open

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

Apie šį sutrikimą pranešama tuomet, kai programinė įranga užfiksuoja atvirą termistorių, dėl ko nepavyksta įvertinti temperatūros; programinė įranga aktyvuoja apsaugines procedūras, kurių metu prietaisas yra išjungiamas.

Nedelsiant išjunkite prietaisą ir kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

(Atviras termistorius.

Prietaisas užfiksavo, kad termistorius yra atviras. Tam, kad būtų išvengta prietaiso pažeidimo, jis yra išjungiamas.

Pasikartojus problemai, kreipkitės į vietinį platintoją)

Unrecoverable errors occurred

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

(Nepataisomi sutrikimai.

Eksperimentas sustabdytas, kadangi užfiksuoti nepataisomi sutrikimai. Problemai pasikartojus, kreipkitės į vietinį platintoją, kartu pateikdami pagalbines archyvines bylas)

Apie šį sutrikimą informuojama eksperimento metu, kuomet programinei įrangai nepavyksta pašalinti neaiškios kilmės trukdžių.

Tam, kad būtų išaiškintos šio sutrikimo priežastys, būtina QIAGEN aptarnavimo specialistų detalesnė prietaiso apžiūra.

Kreipkitės į vietinį platintoją arba į QIAGEN techninį aptarnavimą.

12.4 Rotor-Gene Q programinės įrangos įspėjamieji pranešimai

Žemiau pateiktame sąrašė nurodomi įspėjamieji pranešimai ir žinutės, kurie gali būti pateikiami Rotor-Gene programinės įrangos prietaiso veikimo metu. Bet kokia kintama žinutės dalis, pvz., charakteristinis sutrikimo aprašymas, pateikiama skliaustuose (pvz., < ERROR DESCRIPTION >).

Pranešimo tekstas

Bendrojo pobūdžio pranešimai

- | | | |
|---|--|--|
| 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. | Šiam blokui jau yra priskirtas kanalas. Norėdami sukurti bloką iš naujo, pirmiausia panaikinkite esamą kanalą (funkcija "Options") ir bandykite iš naujo. |
| 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. | Nustatyti rimti sutrikimai, dėl kurių būtina išjungti programinę įrangą. Spragtelėjus "OK", einamieji dokumentai yra išsaugomi, ir jei įmanoma, prietaisas yra išjungiamas. Jei problema kartojasi, kreipkitės į vietinį platintoją. |
| 3 | Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. | Negalimas bloko panaikinimas. Turi būti mažiausiai vienas mėginio blokas. |
| 4 | Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry | Negalimas prietaiso prijungimas per serijinę jungtį <COMPORT>. Patikrinkite, ar prietaisas tinkamai prijungtas prie kompiuterio ir bandykite iš naujo. |

Pranešimo tekstas

- | | | |
|----|--|--|
| 5 | Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. | Negalimas serijinės jungties <COMPORT> aktyvavimas prietaiso prijungimui prie kompiuterio. Patikrinkite, ar nėra kitų aktyvuotų programinės įrangos ryšių ir bandykite iš naujo. |
| 6 | Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. | Negalimas eksperimento išsaugojimas, kadangi kai kurie formoje pateikti duomenys yra klaidingi. Patikrinkite įrašus ir bandykite iš naujo. |
| 7 | Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. | Negalimas bylos išsaugojimas. Patikrinkite, ar kietajame diske yra pakankamai talpos. |
| 8 | E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. | Negalimas elektroninio pašto pritaikymas. Patikrinkite, ar jo protokolas tinkamai įdiegtas Jūsų kompiuteryje. |
| 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. | Eksperimento metu pateikiama informacija apie įvykusį sutrikimą: <SUTRIKIMO APRAŠYMAS>. Eksperimentas yra tęsiamas, pranešimas išsaugomas skyrelyje "Run Info". |
| 10 | Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. | Prietaisas neaptinkamas. Įsitinkinkite, kad prietaisas yra tinkamai sujungtas ir įjungtas. |
| 11 | Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. | Duomenų įrašymas laikinai inaktyvuotas dėl anksčiau įvykusio sutrikimo. Archyvuotų įrašų peržiūra negalima, kol nebus perkrauta programinė įranga. |

Pranešimo tekstas

- | | | |
|----|--|---|
| 12 | Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. | Ne visų mėginių galimas normalizavimas, kadangi fiksuojamas per žemas fluorescencijos lygis. |
| 13 | Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. | Galimas tik eksperimentų, atliktų tuo pačiu rotoriumi kaip ir dabartinis eksperimentas, duomenų įkėlimas. |
| 14 | Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. | Pažymėtina, kad einamojo eksperimento duomenų bylos bus prieinamos tik eksperimentui visiškai pasibaigus. |
| 15 | Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. | Įveskite tinkamą pakartojimų skaičių. Jis turėtų būti didesnis nei 0. |
| 16 | Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. | Susiduriama su problemomis, atnaujinant įrašytus duomenis. Duomenų įrašymas inaktyvuotas, bet bus iš naujo aktyvuotas kitam eksperimentui. |
| 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. | Eksperimento bylų parašai užtikrina eksperimento rezultatų vientisumą. Detalesnė informacija apie eksperimento parašus pateikiama lange "Run Info". |
| 18 | Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. | Mėginio identifikavimo įrašas yra apsaugotas. Negalimas apsaugotų mėginių įterpimas. |
| 19 | TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. | TeeChart Office nėra įdiegtas šiame kompiuteryje. Iš naujo įdiekite Rotor-Gene programinę įrangą. |
| 20 | The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. | Nėra pasirinkta prietaisui skirta sukonfigūruota COM jungtis. Privalote pasirinkti COM jungtį. |

Pranešimo tekstas

- | | | |
|----|--|---|
| 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. | Įkrautose eksperimentų bylose esantys parašai neatitinka bylų turinio. Tai reiškia, kad byla buvo pažeista arba klaidingai įrašyta Rotor-Gene programinės įrangos. |
| 22 | The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. | Įkrautose eksperimentų bylose nėra parašų. Nepatikimas bylų turinys. |
| 23 | The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. | Negaliojantis prietaiso serijos numeris. Serijos numeris turi būti sudarytas iš mažiausiai 6 skaitmenų. |
| 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. | Prietaisas vėsinamas iki <TEMPERATURE> nustatytos temperatūros. Atidarius prietaisą, kamerą arba jos paviršius vis dar gali būti karštas. Liesdami paviršių ir mėgintuvėlius, naudokite apsaugines pirštines ir elkitės ypač atsargiai. |
| 25 | The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. | Nesutampantys Jūsų kompiuterio regioniniai nustatymai. Įsitikinkite, kad nustatyti tinkami valiutos ir skaitmenų rašymo parametrai. |
| 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. | Pradiniame lange įvestas serijos numeris <SERIAL NUMBER1> neatitinka prietaise saugomo serijos numerio <SERIAL NUMBER2>. Kompiuterio serijos numeris atnaujinamas tam, kad atitiktų prijungto prietaiso serijos numerį. |

Pranešimo tekstas

- | | | |
|----|---|---|
| 27 | There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. | Nustatytos ryšių problemos, susijusios su kompiuterio ryšių valdymo bloku. Perkraukite kompiuterį ir bandykite iš naujo. |
| 28 | There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. | Užfiksuotas uždelsimas, bandant susisiekti su prietaisu. Patikrinkite, ar prietaisas yra prijungtas tinkamai. |
| 29 | This feature cannot be used in virtual mode. | Ši funkcija negali būti naudojama virtualiame režime. |
| 30 | This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. | Šio profilio byla sukurta ankstesnėje Rotor-Gene programinės įrangos versijoje. Kai kuriais aspektais ši byla gali būti įkraunama netinkamai. |
| 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. | Šio eksperimento byla sukurta ankstesnėje Rotor-Gene programinės įrangos versijoje. Kai kuriais aspektais ši byla gali būti įkraunama netinkamai. |
| 32 | This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. | Šio mėginio byla sukurta ankstesnėje Rotor-Gene programinės įrangos versijoje. Kai kuriais aspektais ši byla gali būti įkraunama netinkamai. |
| 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. | Programinė įranga veikia simuliaciniu režimu demonstraciniais ir apmokymo tikslais. Galite inaktyvuoti šį nustatymą "Setup" lange, meniu "File". |
| 34 | This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. | Šis ruošinys sukurtas ankstesnėje Rotor-Gene programinės įrangos versijoje. Kai kuriais aspektais ši byla gali būti įkraunama netinkamai. |

Pranešimo tekstas

- | | | |
|----|--|--|
| 35 | Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. | Mėginio bylos įkrovimas negalimas, kadangi mėgintuvėlių išdėstymas yra netinkamas. Prieš pradėdant eksperimentą, įstatykite mėginus. |
| 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. | Negalimas ryšys su prietaisu, kadangi kito pritaikymo metu naudojama jungtis <COMPORT>. Įsitikinkite, kad ta pačia serijine jungtimi nevykdomi kiti pritaikymai ir bandykite iš naujo. |
| 37 | Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. | Bandant įkrauti bylą, susiduriama su neišsprendžiamais sutrikimais. Bylos įkrovimas neįvyko. |
| 38 | You cannot stop the program while the run is in progress. | Eksperimento metu programos sustabdymas negalimas. |
| 39 | You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. | Jums suteiktos nepakankamos teisės naudotis programine įranga. Kreipkitės į domeno administratorių dėl papildomų teisių suteikimo. |
| 40 | You must have performed a quantitation analysis to export samples. | Norėdami iškelti mėginus, turite atlikti kiekybinio įvertinimo analizę. |
| 41 | You must select a COM port before continuing. | Prieš tęsdami, turite pasirinkti COM jungtį. |
| 42 | Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. | Jūsų eksperimento duomenys negali būti išsaugomi standartinėje vietoje. Tolimesniame lange pasirinkite kitą eksperimento duomenų išsaugojimo vietą. |
| 43 | Your settings have been saved. Click OK to close the software. | Jūsų nustatymai išsaugoti. Norėdami išjungti programinę įrangą, spragtelėkite "OK". |

Pranešimo tekstas

- | | | |
|----|--|---|
| 44 | You must select a rotor before continuing. | Prieš tęsdami, turite pasirinkti rotorių. |
| 45 | You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. | Negalite pradėti eksperimento, prieš tai nepažymėję langelio, informuojančio, kad užrakinamasis žiedas yra įstatytas. |

Automatinio įgijimo parametro derinimo pranešimai

- | | | |
|----|---|--|
| 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. | Rankinis įgijimo parametro derinimas naudoja tuos kanalus, kurie apibrėžti Jūsų eksperimento profilyje. Neapibrėžę jokių kaupimo taškų savo profilyje, negalite atlikti rankinio įgijimo parametro derinimo. |
| 47 | The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. | Jūsų įvesta temperatūros reikšmė neišsaugota, kadangi ji viršija nustatytas prietaiso ribas. Įveskite ribas atitinkančią temepratūrą. |

Redagavimo pranešimai

- | | | |
|----|--|--|
| 48 | Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. | Įveskite tinkamą grupės kodą. Grupės kodą turi sudaryti ne daugiau nei 5 simboliai, be tarpelių ir kablelių. |
| 49 | Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. | Įveskite tinkamą grupės pavadinimą. Grupės pavadinime negali būti tarpelių ir kablelių. |

Optinio keitimo kalibravimo pranešimai

- | | | |
|----|--|---|
| 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. | Dėl kalibravimo sutrikimo negalimas optinio keitimo taško nustatymas. Įveskite tinkamą užlaikymo sekundžių skaičių (teigiama vertė) |
|----|--|---|

Pranešimo tekstas

- 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.
- Optinio keitimo kalibravimo metu neaptinkamas lydymosi pikas. Tai gali lemti kalibravimui pasirinkti netinkami mėgintuvėliai arba mėginyje naudojamos netinkamos cheminės medžiagos. Vietoje to, vykdomas profilio laikinis etapas.

OTV pranešimai

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run.
- Norėdami atlikti eksperimentą, turite įvesti tinkamą OTV serijos numerį.
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error.
- Pažeista temperatūros tikrinimo byla. Panaikinkite ir iš naujo įdiekite Rotor-Gene programinę įrangą.
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed.
- Eksperimento byla netinkamai pažymėta. Rezultatų pateikimas negalimas.
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly.
- Negalite pradėti eksperimento, prieš tai nepažymėję langelio, informuojančio, kad fluorescencinis įdėklas įstatytas tinkamai.
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement.
- Šio rotoriaus galiojimo laikas pasibaigė. Norėdami jį pakeisti, kreipkitės į vietinį platintoją.

Saugumo meniu pranešimai

- 57 Could not open the Windows user/group manager.
- Window naudotojo/grupės tvarkyklės įjungimas negalimas.
- 58 Could not create groups.
- Grupių sukūrimas negalimas.
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts.
- Neatskiriamų paskyrų keitimas negalimas.

Pranešimo tekstas

Analizės meniu

- | | | |
|----|--|--|
| 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. | Analizei pasirinktas tik vienas kanalas. Norėdami pasirinkti kelis kanalus, ištempkite stačiakampį virš tų kanalų, kuriuos norite matyti analizės lange. |
| 61 | You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. | Analizei pasirinkti keli kanalai. Ši analizės metodika leidžia naudoti tik vieną kanalą. |

Koncentracijos matavimų pranešimai

- | | | |
|----|---|--|
| 62 | Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. | Koncentracijos matavimo metu atliekamas automatinis įgijimo parametro optimizavimas pirmoje rotoriaus pozicijoje. Įsitikinkite, kad aukščiausios koncentracijos standartas yra pirmoje rotoriaus pozicijoje. |
|----|---|--|

Galutinio taško analizės pranešimai

- | | | |
|----|--|---|
| 63 | To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. | Norėdami atlikti galutinio taško analizę, kiekviename kanale privalote turėti teigiamą ir neigiamą kontroles. Nustatę šias kontroles, spragtelėkite "OK". |
| 64 | You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. | Neapibrėžta jokia teigiama kontrolė. Kiekviename analizuojamame kanale turi būti nustatytos teigiamos kontrolės. |
| 65 | You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. | Neapibrėžta jokia neigiama kontrolė. Kiekviename analizuojamame kanale turi būti nustatytos neigiamos kontrolės. |

Pranešimo tekstas

- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. Neapibrėžta jokia NTC kontrolė. Kiekvienoje grupėje privalote nustatyti NTC kontroles.

HRM analizės pranešimai

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. Genotipas <GENOTYPE NAME> neturi apibrėžtos kontrolės
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. Neleidžiamos identiškų genotipų kombinacijos.
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. Šiame prietaise didelės skiriamosios gebos lydimosi kreivių funkcija negalima.

Lydimosi analizės pranešimai

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. Nenustačius "aruodų", negalima apibrėžti genotipų. Nustatykite visus "aruodus" ir bandykite dar kartą.
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. Privalote įvesti santrumpą genotipui <GENOTYPE NAME>.

Pranešimo tekstas

Taškinio grafiko analizės pranešimai

- 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.
- Išbarstytų duomenų grafiko analizei būtina pasirinkti 2 kanalai. Norėdami pasirinkti kelis kanalus, ištempkite stačiakampį virš tų kanalų, kuriuos norite matyti analizės lange arba laikydami nuspaudę SHIFT mygtuką, spragtelėkite virš pageidaujamų kanalų.

Kiekybinio įvertinimo analizės pranešimai

- | | | |
|----|---|--|
| 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...” | Automatinei slenkstinės vertės paieškos funkcijai reikalinga, kad būtų apibrėžti mažiausiai 2 pasirinkti standartai. Norėdami juos nustatyti, dešiniuoju pelės mygtuku spragtelėkite virš mėginių sąrašo ir pasirinkite “Edit Samples....” |
|----|---|--|

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias

13 Specialiųjų terminų žodynas

| Terminas | Aprašymas |
|---|---|
| Kaupimas (Acquisition) | Kaupimu vadinamas fluorescencijos šviesos bangų fiksavimas ir surinkimas. Neanalizuoti kiekvieno kaupimo kanale duomenys (fluorescencijos duomenų rinkinys) programoje gali būti matomi lange “Raw channel”. Šie duomenys gali būti analizuojami, pasirinkus galimybę “Analysis”. |
| “Aruodai” (Bins) | Lydimosi analizės atveju, “aruodais” vadinamos sritys, kuriose yra tikėtini lydimosi pikai. Atskirus genotipus galima apibūdinti būtent pagal lydimosi pikų buvimą tam tikruose “aruoduose” arba jų kombinacijose. |
| CE-IVD | Laikymasis Europos Direktyvos 98/79/EC (European Directive 98/79/EC), dirbant šiuo medicininės <i>in vitro</i> diagnostikos prietaisu. |
| Kanalas (Channel) | Kanalą sudaro šviesą skleidžiantis diodas (angl. LED), taip pat sužadavimo filtras, suporuotas su emisijos filtru. LED ir sužadavimo filtro pagalba mėginiai yra sužadunami tam tikro bangos ilgio šviesa. Fluorescencijos šviesos bangos, kurią skleidžia mėginiai, pereina pro emisijos filtrą ir yra užfiksuojami fotodaugintuvu. |
| Įgijimas (Gain) | Rotor-Gene Q MDx esantis fotodaugintuvas surenka fluorescencijos bangų fotonus ir paverčia juos į elektroninį signalą. Įgijimas (Gain) yra parametras, apibūdinantis fotodaugintuvo jautrumą. Jei nustatoma per aukšta šio parametro reikšmė, signalas yra per daug įsotintas. Jei parametro reikšmė yra per žema, neįmanoma atskirti signalo nuo foninių trukdžių. |
| Įgijimo parametro optimizavimas (Gain Optimisation) | Įgyjimo parametro optimizavimu vadinamas procesas, kuomet dinamiškai suderinamas įgijimo parametras, leidžiantis pasirinkti tinkamą jo reikšmę optimaliai signalo detekcijai. |

| Terminas | Aprašymas |
|--|--|
| Įkrovimo blokas (Loading Block) | Įkrovimo blokais vadinami įvairaus dydžio aliuminio blokai, naudojami mėgintuvėlių arba rotorinio disko laikymui, ruošiant reakcijos mišinius. Rotorinio disko įkrovimo blokai (Rotor-Disc Loading Blocks) taip pat naudojami dirbant su rotorinio disko šiluminiu sandarintuvu (Rotor-Disc Heat Sealer), sandarinant rotorinius diskus. |
| Užrakinamasis žiedas (Locking Ring) | Užrakinamaisiais žiedais vadinami ant rotoriaus užsidedantys metaliniai žiedai, skirti apsaugoti mėgintuvėlius ir jų dangtelius nuo atsilaisvinimo iš savo pozicijų eksperimento metu. Nepritvirtinti mėgintuvėliai ir dangteliai gali pažeisti prietaisą. |
| Rotorius | Metaliname rotoriuje yra tvirtai įstatomi mėgintuvėliai arba rotoriniai diskai prietaise Rotor-Gene Q MDx. Tai leidžia prietaiso kameroje mėginius sukuti, taip užtikrinant mėginių teisingą sulygiavimą optinės sistemos atžvilgiu. Rotorius yra fiksuojamas užrakinamuoju žiedu. |
| Rotorinis diskas (Rotor-Disc) | Rotoriniai diskai yra apvalios formos plokštelės, kuriose yra vertikaliai orientuoti šulinėliai. Rotoriniai diskai gali būti skirti atlikti 72 arba 100 reakcijų. Rotoriniai diskai sandarinami rotorinio disko šiluminio sandarinimo plokštele, naudojant rotorinio disko šiluminį sandarintuvą. |

Priedas A

Techniniai duomenys

QIAGEN pasilieka sau teisę bet kuriuo metu keisti technines prietaiso specifikacijas.

Aplinkos sąlygos

Ekspluatacinės sąlygos

| | |
|---|---|
| Energija | 100–240 V kintamoji srovė, dažnis 50–60Hz, 520 VA (pikas) Energijos suvartojimas - 60 VA (Veikimo režimu) Srovės šaltinio įtampos svyravimai neturi viršyti 10% nominalios įtampos vertės |
| Saugiklis | F5A 250 V saugiklis |
| Šiluminis išsklaidymas/Šiluminė apkrova | Vidutinis: 0,183 kW (632 BTU/per valandą) Pikas: 0,458 kW (1578 BTU/per valandą) |
| Įtampos viršijimo II kategorija | |
| Oro temperatūra | Nuo 18 iki 30°C (nuo 64 iki 86°F) |
| Vidutinis drėgnumas | 10–75% (nevykstanti kondensacija) |
| Aukštis virš jūros lygio | Iki 2000 m (6500 pėdų) |
| Ekspluatacijos vieta | Tik uždaroje patalpose |
| Taršos lygis | 2 |

Priedas A

Aplinkos klasė 3K2 (IEC 60721-3-3)
3M2 (IEC 60721-3-3)

Transportavimo sąlygos

Oro temperatūra Nuo –25°C iki 60°C (nuo –13°F iki 140°F) gamintojo pakuotėje

Santykinis drėgnumas Maks. 75% (nevykstanti kondensacija)

Aplinkos klasė 2K2 (IEC 60721-3-2)

Saugojimo sąlygos

Oro temperatūra Nuo 15°C iki 30°C (nuo 59°F iki 86°F) gamintojo pakuotėje

Santykinis drėgnumas Maks. 75% (nevykstanti kondensacija)

Aplinkos klasė 1K2 (IEC 60721-3-1)

Techniniai duomenys ir techninės įrangos savybės

| | |
|-------------|--|
| Išmatavimai | Plotis: 370 mm (14,6 colių) Aukštis: 286 mm (11,3 colių) Aukštis (be laidų): 420 mm (16,5 colių) Aukštis (atviromis durelėmis): 538 mm (21,2 colių) |
| Svoris | 12,5 kg (27,6 svarų.) (Standartinė konfigūracija) |

| | |
|-------|---|
| Talpa | Iki 100 mėginių vieno eksperimento metu, naudojantis rotoriniu disku Rotor-Disc 100 |
|-------|---|

| | |
|-------------------|---|
| Programinė įranga | Rotor-Gene Q programinė įranga (versija 2.3.4) arba aukštesnė |
|-------------------|---|

Šiluminės savybės

Aprašymas

Specifikacijos

Temperatūrinis intervalas

Nuo 35°C iki 99°C (Nuo 95°F iki 210,2°F)

(Nuo 50°C iki 99°C ciklinimo taikymams)

Priedas A

| | |
|-------------------------------|--|
| Temperatūrinis tikslumas | $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Kalibruota naudojant Rotor-Disc OTV procedūrą) |
| Temperatūrinė skiriamoji geba | $\pm 0,02^{\circ}\text{C}$ (mažiausias programuojamas prieaugis) |
| Temperatūrinis vienodumas | $\pm 0,02^{\circ}\text{C}$ |

Optinės savybės

Aprašymas

Specifikacija

| | |
|----------------------|---|
| Sužadinimo šaltiniai | Didelės energijos šviesos bangas skleidžiantys diodai |
| Detektoriai | Fotodaugintuvas |
| Kaupimo trukmė | 4 s |

FCC Deklaracija

„JAV federalinė komunikacijų komisija“ (USFCC) (47 CRF 15. 105) nustato, kad šio gaminio naudotojai privalo būti supažindinti su žemiau išvardintais faktais.

„Prietaisas atitinka 15-ą FCC punktą:

Prietaiso naudojimas tenkina šias dvi sąlygas: (1) Prietaisas nesukelia žalingų trikdžių, ir (2) Šis prietaisas turi sutikti su bet kokiais trikdžiais, įskaitant trikdžius, kurie gali turėti nepageidaujamos įtakos prietaiso veikimui.”

“Šis B klasės skaitmeninis prietaisas atitinka Kanados ICES-0003.”

Pateikti atitikmenys taikomi visiems šiame naudotojo vadove minėtiems produktams, nebent būtų nurodyta kitaip. Kitiems gaminiams taikomos sąlygos pateikiamos juos lydinčiuose dokumentuose.

Pastaba: šis prietaisas buvo testuotas ir pripažinta, kad atitinka B kategorijos skaitmeninių prietaisų deklaracijoje nustatytas ribas, atitinka 15-ojo FCC Nuostatų punkto reikalavimus bei tenkina visus Kanados

trikdžius galinčios sukelti įrangos reglamento ICES-003 reikalavimus. Šie nustatymai leidžia pasirinkti tinkama apgyvendintų patalpų, kuriose gali būti įdiegtas šis prietaisas, apsauga nuo galimai neigiamų trikdžių. Šis prietaisas generuoja, naudoja bei gali spinduliuoti radijo bangų dažnio spinduliuotę ir, jei yra įdiegtas ir naudojamas nesilaikant pateiktų instrukcijų, gali lemti trikdžius kitiems komunikacijų prietaisams. Vis dėlto, negalima jokia garantija, kad šie trikdžiai nebus nulemti ir tinkamo prietaiso naudojimo. Jei šio prietaiso naudojimas sukelia žalingus trikdžius radijo ar televizijos bangų priėmimui (trikdžiai identifikuojami prietaisą įjungiant/išjungiant), naudotojams rekomenduojame atlikti šiuos veiksmus:

- Pakeisti priimančiosios antenos orientaciją ar jos poziciją
- Prietaisą laikyti atokiau nuo imtuvo
- Prijungti prietaisą prie skirtingo elektros srovės šaltinio nei yra prijungtas imtuvas

Kreipkitės į patyrusį radijo/TV techninės įrangos specialistą.

QIAGEN GmbH Germany nėra atsakinga dėl bet kokių radijo/TV bangų trikdžių, sukeltų naudojantis nesankcionuotai modifikuotais prietaisais arba prietaisais, papildytais QIAGEN GmbH Germany nereglamentuotais priedais ar kitomis detalėmis. Tokiais atvejais sukeltų trikdžių korekcija lieka prietaiso naudotojo atsakomybėje.

Atitikties deklaracija

Teisėto gamintojo pavadinimas ir adresas

QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden

Vokietija

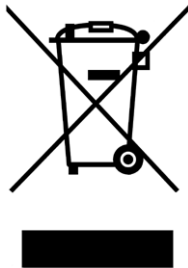
Norint gauti naujausią atitikties deklaraciją, galima kreiptis į QIAGEN techninės pagalbos tarnybą.

Elektroninės atliekos ir elektroninė įranga (WEEE)

Šiame skyriuje pateikiama informacija apie elektroninių atliekų šalinimą ir perdirbimą.

Žemiau pateiktas simbolis reiškia, kad juo žymėti gaminiai negali būti šalinami kartu su įprastomis atliekomis; vadovaujantis vietiniais įstatymais ir reglamentais, turi būti vykdomi elektroninių atliekų perdirbimo reikalavimai.

Šių atliekų tinkamas surinkimas ir jų perdirbimas yra būtini išsaugojant natūralius gamtinius resursus, taip pat užtikrina, kad nebus pakenkta visuomenės sveikatai ir aplinkai.



Prereikęs, QIAGEN gali suteikti perdirbimo paslaugą už papildomą mokestį. Europos Sąjungoje, laikantis konkrečių WEEE perdirbimo reikalavimų, bei ten, kur QIAGEN tiekia pakaitinį produktą, numatomas nemokamas WEEE-žymėtos elektroninės įrangos perdirbimas.

Norėdami perdirbti elektroninį prietaisą, kreipkitės į vietinį QIAGEN pardavimų biurą dėl reikiamos prietaiso grąžinimo užpildymo formos. Pateikus užpildytą formą, su Jumis susisieks QIAGEN atstovas, atsižvelgdamas į parengtą elektroninių atliekų surinkimo grafiką arba pagal individualų sutarimą.

Priedas B

Šiame skyriuje detaliau aprašomos naudojamos matematinės metodikos.

Kiekybinis įvertinimas

Apskaičiuotos koncentracijos gaunamos paprastos tiesinės regresijos modeliu, žinant logaritmines koncentracijų vertes (x) ir eksperimentines C_T vertes (y).

Logaritminės koncentracijų vertės ir kontrolinių mėginių C_T vertės naudojamos suformuojant šį modelį:

$$y = Mx + B$$

Pasikliauties intervalai apskaičiuotoms koncentracijoms

Naudojami šie pasikliauties intervalai $100(1 - \alpha)\%$ naujo tyrimo įvertinimui x_0 pagal standartinę kreivę.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Čia pateikta pasikliauties intervalų apskaičiavimo formulė vieno tiriamojo mėginio koncentracijai.

Tarkime, kad turime k reikšmę, kai $x = x_0$, pažymime jų vidurkį \bar{Y}_0 . Tada,

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

Ir nepriklausomas kintamasis dydis, panašus į aprašytą viršuje

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Ši formulė apibrėžia, kaip yra nustatomi tiriamųjų mėginių replikų koncentracijų pasikliauties intervalai.

Vertinant standartinius mėginius, gaunami griežtesni pasikliauties intervalai:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Šios formulės prasmė yra tokia, kad įtraukus papildomų replikų, standartinė individuali koncentracija sumažina visų apskaičiavimų pasikliauties intervalų plotį (n parametru didėjant). Įtraukus ypač didelį replikų skaičių, sumažinamas nežinomų mėginių neapibrėžtumas pagal vieną standartinį mėginį. Papildomos replikos sumažina neapibrėžtumą tokiu būdu, kad nežinomieji nebeformuoja tiesinio modelio dalies.

C_T verčių pasikliauties intervalai

Tarkime, kad replikų C_T verčių paklaida yra tiesinė, atitinkanti normalųjį pasiskirstymą.

Todėl naudojamas vieno mėginio t vertės pasikliauties intervalas. Tarkime, kad μ yra replikų C_T verčių vidurkinė reikšmė.

$(x_0 \dots x_{n-1})$. Tada, 100(1- α)% pasikliauties intervalas C_T vertei μ yra:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Ypač dėkojame Peter Cook (NSW Universitetas, Matematikos departamentas, Sidnėjus, Australija), suteikusiam neįkainojamą pagalbą patvirtinant naudotą matematinę metodiką.

Priedas C

Rotor-Gene Q MDx gaminiai, priedai ir kiti reikmenys

| Gaminys | Sudėtis | Kat. Nr. |
|----------------------------|---|----------|
| Rotor-Gene Q MDx 2plex | Tikrojo laiko PGR cikleris, turintis 2 kanalus (žalią ir geltoną), nešiojamą kompiuterį, programinę įrangą, priedus. Suteikiama vienerių metų garantija eksploatacinėms prietaiso dalims. | 9002002 |
| Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM | Tikrojo laiko PGR cikleris su didelės skiriamosios gebos lydymosi (High Resolution Melt) analizatoriumi, 2 kanalais (žalias ir geltonas) ir papildomu HRM kanalu, nešiojamuoju kompiuteriu, programine įranga, priedais. Suteikiama vienerių metų garantija eksploatacinėms prietaiso dalims. | 9002012 |
| Rotor-Gene Q MDx 5plex | Tikrojo laiko PGR cikleris, turintis 5 kanalus (žalią, geltoną, oranžinį, raudoną, tamsiai raudoną), nešiojamą kompiuterį, programinę įrangą, priedus. Suteikiama vienerių metų garantija eksploatacinėms prietaiso dalims. | 9002022 |
| Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM | Tikrojo laiko PGR cikleris ir didelės skiriamosios gebos analizatorius, turintis 5 kanalus (žalią, geltoną, oranžinį, raudoną, tamsiai raudoną) ir papildomą HRM kanalą, nešiojamą kompiuterį, programinę įrangą, priedus. Suteikiama vienerių metų garantija eksploatacinėms prietaiso dalims. | 9002032 |

| Gaminys | Sudėtis | Kat. Nr. |
|------------------------------|---|-----------------|
| Rotor-Gene Q MDx 6plex | Tikrojo laiko PGR cikleris, turintis 6 kanalus (mėlyną, žalią, geltoną, oranžinį, raudoną, tamsiai raudoną), nešiojamą kompiuterį, programinę įrangą, priedus. Suteikiama vienerių metų garantija eksploatacinėms prietaiso dalims. | 9002042 |
| Priedai | | |
| Rotor-Disc 100 Starter Kit | Rinkinio sudėtis: 2 rotorinio disko (Rotor-Disc 100) pakuotės, rotorinio disko šiluminis sandarintuvas (Rotor-Disc Heat Sealer), rotorinio disko šiluminio sandarinimo plėvelė (Rotor-Disc Heat Sealing Film), rotorinis diskas Rotor-Disc 100, užrakinamasis žiedas, Rotor-Disc 100 įkrovimo blokas, Rotor-Disc Pipetavimo pagalbinės priemonės. | Teirautis |
| Rotor-Disc 100 (30) | 30 atskirai supakuotų diskų, skirtų 3000 reakcijų. | 981311 |
| Rotor-Disc 100 (300) | 10 x 30 atskirai supakuotų diskų, skirtų 30 000 reakcijų. | 981313 |
| Rotor-Disc 100 Rotor | Skirtas diskų Rotor-Disc 100 tvirtinimui Rotor-Gene Q MDx; reikalingas Rotor-Disc 100 Locking Ring (Užrakinamasis žiedas). | 9018895 |
| Rotor-Disc 100 Locking Ring | Skirtas disko Rotor-Disc 100 fiksavimui rotoriuje Rotor-Disc 100 Rotor. | 9018896 |
| Rotor-Disc 100 Loading Block | Aliuminis blokas, skirtas rankiniam ar automatiniam reakcijų paruošimui Rotor-Disc 100 diskuose. | 9018909 |
| Rotor-Disc Pipetting Aid | Pagalbinės priemonės, skirtos tinkamam ženklinimui rankinio reakcijų paruošimo metu rotorinio disko įkrovimo bloke (Rotor-Disc Loading Block). | 9018897 |

| Gaminys | Sudėtis | Kat. Nr. |
|------------------------------------|--|-----------------|
| Rotor-Disc Heat Sealer | Šiluminio sandarinimo instrumentas, naudojamas kartu su Rotor-Discs; reikalingi Rotor-Disc 72 arba 100 įkrovimo blokai (Loading Block). | 9018898 |
| Rotor-Disc Heat Sealing Film (60) | 60 plėvelių, skirtų Rotor-Disc 100 arba Rotor-Disc 72 diskų sandarinimui. | 981601 |
| Rotor-Disc Heat Sealing Film (600) | 10 x 60 plėvelių, skirtų Rotor-Disc 100 arba Rotor-Disc 72 diskų sandarinimui. | 981604 |
| Rotor-Disc 72 Starter Kit | Rinkinio sudėtis: 3 rotorinio disko Rotor-Disc 72 pakuotės, rotorinio disko šiluminis sandarintuvas (Rotor-Disc Heat Sealer), rotorinio disko šiluminio sandarinimo plėvelė (Rotor-Disc Heat Sealing Film), rotorinis diskas Rotor-Disc 72, užrakinamasis žiedas, Rotor-Disc 72 įkrovimo blokas, Rotor-Disc Pipetavimo pagalbinės priemonės. | Inquire |
| Rotor-Disc 72 (24) | 24 atskirai supakuoti diskai, skirti 1728 reakcijoms. | 981301 |
| Rotor-Disc 72 (240) | 10 x 24 atskirai supakuoti diskai, skirti 17 280 reakcijų. | 981303 |
| Rotor-Disc 72 Rotor | Skirtas diskų Rotor-Disc 72 tvirtinimui Rotor-Gene Q MDx; reikalingas Rotor-Disc 72 Locking Ring (Užrakinamasis žiedas). | 9018899 |
| Rotor-Disc 72 Locking Ring | Skirtas disko Rotor-Disc 72 fiksavimui rotoriuje Rotor-Disc 72 Rotor. | 9018900 |
| Rotor-Disc 72 Loading Block | Aliuminis blokas, skirtas rankiniam ar automatiniam reakcijų paruošimui Rotor-Disc 72 diskuose. | 9018910 |
| Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) | 250 juostelių po 4 mėgintuvėlius ir jų dangteliai, skirti 1000 reakcijų. | 981103 |

Priedas C

| Gaminys | Sudėtis | Kat. Nr. |
|---|---|-----------------|
| Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500) | 10 x 250 juostelių po 4 mėgintuvėlius ir jų dangteliai, skirti 10 000 reakcijų. | 981106 |
| 72-Well Rotor | Skirtas mėgintuvėlių (0,1 ml) juostelių su dangteliais įstatymui; reikalingas 72-šulinėlių rotoriaus užrakinamasis žiedas. | 9018903 |
| Locking Ring 72-Well Rotor | Skirtas mėgintuvėlių (0,1 ml) juostelių su dangteliais fiksavimui 72-šulinėlių rotoriuje. | 9018904 |
| Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes | Aliuminis blokas, skirtas rankiniam reakcijų paruošimui 72 x 0,1 ml mėgintuvėliuose, naudojantis vienkanałe pipete. | 9018901 |
| Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel | Aliuminis blokas, skirtas reakcijų paruošimui 72 x 0,1 ml mėgintuvėliuose, naudojantis daugiakanale pipete. | 9018902 |
| PCR Tubes, 0.2 ml (1000) | 1000 plonasienių mėgintuvėlių, skirtų 1000 reakcijų. | 981005 |
| PCR Tubes, 0.2 ml (10000) | 10 x 1000 plonasienių mėgintuvėlių, skirtų 10 000 reakcijų. | 981008 |
| 36-Well Rotor | Skirtas mėgintuvėlių (0,2 ml) juostelių su jų dangteliais įstatymui; reikalingas 36-šulinėlių rotoriaus užrakinamasis žiedas. | 9018907 |
| 36-Well Rotor Locking Ring | Skirtas mėgintuvėlių (0,2 ml) juostelių su dangteliais fiksavimui 36-šulinėlių rotoriuje. | 9018906 |
| Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes | Aliuminis blokas, skirtas rankiniam reakcijų paruošimui 96 x 0,2 ml mėgintuvėliuose standartiniu 8 x 12 rinkiniu. | 9018905 |

| Gaminys | Sudėtis | Kat. Nr. |
|--------------------|--|----------|
| Rotor-Disc OTV Kit | Rinkinys, skirtas Rotor-Gene sistemų optiniam temperatūrinių savybių tikrinimui; sudėtis: rotorinis diskas Rotor-Disc su termochromatinias skystos fazės kristalais, fluorescenciniai papildai, kalibracinių bylų kompaktinis diskas (CD); reikalingi - rotorius Rotor-Disc 72 Rotor ir jo užrakinamasis žiedas arba Rotor-Disc 72 pradedančiojo rinkinys. | 981400 |
| Rotor Holder | Metalinis laikiklis, naudojamas mėgintuvėlių ar rotorinių diskų įstatymui į rotorį. | 9018908 |

Naujausią QIAGEN rinkinių, skirtų naudoti su Rotor-Gene Q MDx, sąrašą galima rasti tinklapyje www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias

Priedas D

Atsakomybės sąlygos

QIAGEN atsiriboja nuo visų garantinių įsipareigojimų, jei bet kokie prietaiso pažeidimai, gedimai ar modifikacijos yra sukelti ne jų personalo, išskyrus tuos atvejus, kai Bendrovė yra davusi savo raštišką sutikimą atlikti remonto ar kitus darbus.

Visų šios garantijos reglamentuojamų detalių keitimas vykdomas tik garantinio aptarnavimo metu, nebent Bendrovė yra raštiškai įsipareigojusi kitaip. Nuskaitymo prietaisams, sąsajų prietaisams ir programinei įrangai taikoma jų gamintojų nustatyta garantija. QIAGEN atsisako taikyti bet kokias kitas garantijas (siūlomas įgaliotųjų atstovų ar kitų asmenų), jei jų sąlygos prieštarauja šiai garantijai, nebent Bendrovė būtų įsipareigojusi tai atlikti raštu.

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias.

Rodyklė

A

Acquisition, 6-14
Adjust scale, 7-2
Advanced wizard, 6-6
Auto-find threshold, 7-23
Autoscale, 7-2
AutoStat, 7-28

C

Channels, 3-4, 7-76
Correlation coefficient, 7-17
Crop cycles, 7-3
CT calculation, 7-21
Ct Comment, 7-25
Cycling, 6-13

D

Default scale, 7-2
Delta delta CT relative quantitation, 7-41
Detection parameters, 3-4
Dynamic tube normalization, 7-57

E

Edit profile window, 6-4, 6-11
Edit samples window, 6-6, 6-32, 7-80
 rotor style, 7-87
Efficiency, 7-16
Empty run, 6-7
EndPoint analysis, 7-59
Environment, 1-5
Error message, 12-3
Excitation parameters, 3-4
Export
 data, 8-5
 graphs, 8-2
 native format, 8-4
 to LinReg, 7-10

F

Fluorophores detected, 3-4

G

Gain optimisation, 6-10, 6-23
 manual, 6-28
Genotypes
 allelic discrimination, 7-55
 endpoint analysis, 7-60, 7-67
 melt curve analysis, 7-48
 scatter graph analysis, 7-57

H

Hold, 6-12
HRM
 advanced wizard, 6-8
 analysis, 7-71, 11-19
 cycle, 6-17
 guidelines, 11-7
 quick start wizard, 6-3
 sample preparation, 11-9
 SNP genotyping, 11-3
 software, 11-10
 troubleshooting, 12-1
Hybridisation, 6-16

I

Ignore first, 7-57
Installation, 4-1
 grounding requirements, 4-2
 hardware, 4-7
 PC requirements, 4-2
 power requirements, 4-2
 software, 4-9
Intended use, 2-2

L

LinReg
 exporting to, 7-10
Loading Block, 5-4
Locking Ring
 36-Well Rotor, 5-2
 72-Well Rotor, 5-2

Rotor-Disc 100, 5-3
Rotor-Disc 72, 5-3
Log Archives, 12-1
Long Range, 6-14

M

Machine options, 7-75
Maintenance
 advanced wizard, 6-8
Melt, 6-16
Melt curve analysis
 bins, 7-47
 peaks, 7-47
Melt curve results window, 7-48
Menu
 analysis, 7-13
 display options, 7-90
 file, 7-6
 help, 7-111
 run, 7-73
 window, 7-111
Messages, 7-75

N

Noise slope correction, 7-30, 7-57
Normalization, 7-3
 dynamic tube, 7-57
 endpoint analysis, 7-63
Nucleic acid concentration
 measurement, 6-3

O

Operation
 conditions, 1-5, 1
 hardware, 5-1
 software, 6-1
Optical denature cycling, 6-17
Optical system, 3-3
Optical temperature verification, 9-1, 10-1
OTV, 10-1
Outlook, 7-115

P

Page, 7-3, 7-5, 7-84

Perform last run, 6-2, 6-7
Port, 4-11, 7-12
Primer-dimers, 11-18
Profile progress, 7-79

Q

Quantitation, 7-15, 1
Quantitation results window, 7-23
Quenched FRET, 6-3
Quick start wizard, 6-1

R

Raw channels, 7-1
Reaction setup, 5-4
Report browser window, 7-11, 7-15
Rotor
 36-Well, 5-2
 72-Well, 5-2
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-3
 selection, 6-4, 6-8
 types, 5-1
Rotor-Disc
 heat sealing, 5-9
 setup, 5-9
Rotor-Disc 100, 5-3
Rotor-Disc 72, 5-3
Rotor-Disc OTV Kit, 10-2
Run
 new, 7-7
 open, 7-8
 pause, 7-73
 save, 7-8
 settings, 7-74
 start, 7-73
 stop, 7-74

S

Safety
 biological, 1-5
 chemicals, 1-7
 heat hazard, 1-9
 maintenance, 1-9
 mechanical hazards, 1-8
 proper use, 1-2

- samples, 1-6
- toxic fumes, 1-7
- waste disposal, 1-7
- Sample page suitability window, 7-88
- Sample types, 7-83
- Scaling, 8-2
- Security, 7-77
 - configuration Win7, 7-93
- Serial number, 4-11
- Setup window, 7-11
- Software
 - updates, 4-22
 - version, 4-13
- Specifications
 - hardware, 3
 - optical, 4
 - thermal, 3
- Standard curve, 7-15
 - calculation, 7-18
 - export, 7-17
 - formula, 7-17
 - import, 7-19
 - overlay, 7-18
- Storage, 2
- Suitabilities, 7-88
- Support, 7-112
- Symbols, 1-10

T

- Takeoff point adjustment, 7-31
- Technical assistance, 2-1
- TeeChart Office, 8-4, 8-7
- Temperature graph, 7-78
- Templates
 - adding to advanced wizard, 6-8

- adding to quick start wizard, 6-3
- allelic discrimination, 7-55, 8-1
- endpoint analysis, 7-67, 8-1
- melt analysis, 8-1
- quantitation, 8-1
- scatter graph analysis, 7-58, 8-1
- Thermal performance, 3-1
- Three step with melt, 6-2, 6-8
- Threshold, 7-22
- Toggle, 7-3
- Toolbar, 7-1
- Touchdown, 6-14
- Transportation, 2
- Troubleshooting, 12-1
 - HRM, 12-1
 - Rotor-Gene Q MDx, 12-3
- Tube layout, 7-77
- Two step, 6-2, 6-8

U

- Unpacking, 4-6
- User
 - assigning roles Win7, 7-95, 7-102
 - creating account Win7, 7-93, 7-100

V

- Version, 2-2
- Virtual mode, 4-12, 7-12

W

- Warnings, 1-1
- Waste disposal, 1-7

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

Užsakymai www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com

