

September 2018

Brukerhåndbok for Rotor-Gene[®] Q MDx

IVD

CE

MAT 1114365NO



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

R3



Sample & Assay Technologies

Endringshistorikk

Revisjonsnr.	Beskrivelse av endring
R3 09/2018	Instruksjoner for Microsoft Windows XP ble erstattet med instruksjoner for Windows 10. Konfigurasjoner for Windows 7-sikkerhet ble lagt til. Instruksjoner for antivirusprogrammer, brannmur og nettverk ble revidert.

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 eller deres datterselskaper); Bluetooth® (Bluetooth SIG, Inc.); CALFluor®, 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.). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, også når de ikke er spesifikt angitt som dette, skal ikke anses som ubeskyttet av loven.

TeeChartOffice: Copyright 2001-2013 av David Berneda. Med enerett.

I aktuelle land:

Denne sanntidstermosykleren er lisensiert under amerikansk patentsøknad for et apparat eller system som dekker automatiserte termosyklere med fluorescensdetektorer, og søker om prioritet foran det amerikanske serienummeret 07/695,201 og tilsvarende krav i eventuelle patenter eid av Applied Biosystems LLC i andre land, på alle felt, inkludert forskning og utvikling, alle anvendte felt og in vitro-diagnostikk hos mennesker og dyr. Ingen rettigheter er formidlet uttrykkelig, underforstått eller ved berettiget antakelse, til noe patent på sanntidsmetoder, inkludert, men ikke begrenset til, 5' nuklease-analyser, eller til noe patent med krav tilknyttet en reagens eller et sett. For ytterligere informasjon om anskaffelse av tilleggsrettigheter, kontakt Director of Licensing ved Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, USA.

I aktuelle land:

Kjøpet av dette produktet inkluderer en begrenset, ikke-overførbar lisens til én eller flere av amerikanske patentnumre 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; amerikanske patentsøknadnumre 2003-0224434 og 2006-0019253 og PCT-patentsøknadnummer WO 2007/035806 og alle utvidelser og inndelinger, og tilhørende krav i patenter og patentsøknader utenfor USA, eid av University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH og/eller Roche Diagnostics GmbH kun for in vitro-diagnostikk hos mennesker og dyr. Ingen rettighet er formidlet uttrykkelig, underforstått eller ved berettiget antakelse, for en reagens eller et sett, eller i henhold til noen annen patent eller patentkrav som eies av University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH, eller av noen annen part. Dette produktet kan brukes kun med godkjente reagenser slik som fullt lisensierte QIAGEN-sett og -analyser. For informasjon om kjøp av lisenser for applikasjoner eller reagenser til in-vitro diagnostikk, kontakt Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, USA.

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken for QIAGEN-settet. Brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller på forespørsel fra QIAGENs tekniske tjenester eller dine lokale distributører.

Innhold

1	Sikkerhetsinformasjon	1-1
1.1	Riktig bruk	1-2
1.2	Elsikkerhet	1-4
1.3	Miljø	1-5
1.4	Biologisk sikkerhet	1-5
1.5	Kjemikalier	1-6
1.6	Deponering av avfall	1-7
1.7	Mekaniske farer	1-7
1.8	Varmefare	1-8
1.9	Vedlikehold	1-9
1.10	Symboler på Rotor-Gene Q MDx	1-10
2	Introduksjon	2-1
2.1	Generelle opplysninger	2-1
2.1.1	Teknisk assistanse	2-1
2.1.2	Policyerklæring	2-2
2.1.3	Versjonsadministrasjon	2-2
2.2	Bruksområde for Rotor-Gene Q MDx	2-2
3	Generell beskrivelse	3-1
3.1	Termisk ytelse	3-1
3.2	Optisk system	3-2
4	Installasjonsprosedyre	4-1
4.1	Krav til plassering	4-1
4.2	Tilkobling til strømmettet	4-2
4.3	PC-krav	4-2
4.4	Konfigurasjon for Windows 7-sikkerhet	4-3
4.5	Pakke ut Rotor-Gene Q MDx	4-6

4.6	Tilbehør	4-7
4.7	Maskinvareinstallasjon	4-7
4.8	Programvareinstallasjon	4-9
4.9	Programvareversjon	4-12
4.10	Annen programvare på datamaskiner som er koblet til Rotor-Gene Q MDx-instrumenter	4-13
4.10.1	Antivirusprogram	4-14
4.10.2	Brannmur og nettverk	4-15
4.10.3	Systemverktøy	4-19
4.10.4	Oppdateringer av operativsystem	4-19
4.11	Oppdatere programvare	4-22
5	Driftsprosedyrer — Maskinvare	5-1
5.1	Rotortyper	5-1
5.2	Reaksjonsoppsett	5-4
5.3	Oppsett av Rotor-Disc	5-9
6	Driftsprosedyrer — Programvare	6-1
6.1	Hurtigveiviser	6-1
6.1.1	Velge rotor	6-4
6.1.2	Bekreft profil	6-4
6.1.3	Lagre kjøring	6-5
6.1.4	Oppsett av prøver	6-6
6.2	Avansert veiviser	6-6
6.2.1	Veiviser for ny kjøring, vindu 1	6-8
6.2.2	Veiviser for ny kjøring, vindu 2	6-9
6.2.3	Veiviser for ny kjøring, vindu 3	6-10
6.2.4	Redigere en profil	6-11
6.2.5	Veiviser for ny kjøring, vindu 4	6-29
6.2.6	Veiviser for ny kjøring, vindu 5	6-31

7	Brukergrensesnitt for analyse	7-1
7.1	Arbeidsområde	7-1
7.2	Verktøylinje	7-1
7.3	Vise råkanaler	7-1
7.4	Velge mellom prøver	7-3
7.5	Fil-menyen	7-5
7.5.1	Ny	7-5
7.5.2	Åpne og lagre	7-7
7.5.3	Rapporter	7-9
7.5.4	Oppsett	7-10
7.6	Analyse-menyen	7-11
7.6.1	Analyse	7-11
7.6.2	Kvantitering	7-13
7.6.3	To-standardkurve	7-34
7.6.4	Delta delta C_T relativ kvantitering	7-39
7.6.5	Smeltekurveanalyse	7-42
7.6.6	Komparativ kvantitering	7-48
7.6.7	Allelisk diskriminering	7-51
7.6.8	Analyse med punktdiagram	7-53
7.6.9	EndPoint-analyse	7-56
7.6.10	Konsentrasjonsanalyse	7-65
7.6.11	High Resolution Melt-analyse	7-68
7.7	Menyen "Run" (Kjøring)	7-70
7.7.1	"Start Run" (Start kjøring)	7-70
7.7.2	"Pause Run" (Sett kjøring på pause)	7-70
7.7.3	"Stop Run" (Stopp kjøring)	7-70
7.8	Menyen "View" (Vis)	7-71
7.8.1	"Run Settings" (Innstillinger for kjøring)	7-71
7.8.2	"Temperature Graph" (Temperaturgraf)	7-75
7.8.3	"Profile Progress" (Profil fremdrift)	7-76
7.8.4	Vinduet "Edit Samples"	7-77
7.8.5	"Display Options" (Visningsalternativer)	7-86
7.9	Tilgangssvern for Rotor-Gene Q-programvare	7-87

7.9.1	Konfigurasjon for Windows 7	7-89
7.9.2	Konfigurasjon for Windows 10	7-95
7.9.3	Kjøre flere brukere på samme datamaskin	7-98
7.9.4	Revisjonsspor	7-100
7.9.5	Kjøresignaturer	7-101
7.9.6	Låsing av prøver	7-103
7.9.7	Låste maler	7-105
7.10	Menyen "Gain" (Økning)	7-106
7.11	Menyen "Window" (Vindu)	7-107
7.12	Hjelpesfunksjon	7-107
7.12.1	"Send Support E-Mail" (Send e-post til brukerstøtte)	7-108
8	Tilleggsfunksjoner	8-1
8.1	Analysemaler	8-1
8.2	Åpne en andre kjøring	8-1
8.3	Alternativer for skalering	8-1
8.4	Eksportere grafer	8-2
8.5	Skiftenøkkel-ikon	8-6
8.6	Alternativer for valgt område	8-7
9	Vedlikeholdsprosedyrer	9-1
10	Optisk temperaturverifisering	10-1
10.1	OTV-prinsippet	10-1
10.2	Komponenter i Rotor-Disc OTV-sett	10-2
10.3	Utføre en OTV	10-2
11	High Resolution Melt-analyse	11-1
11.1	Instrumentering	11-3
11.2	Kjemi	11-3
11.3	Eksempel på SNP-genotyping	11-3
11.4	Eksempel på metyleringsanalyse	11-5



11.5	Retningslinjer for vellykket HRM-analyse	11-7
11.6	Prøveklargjøring	11-9
11.7	Programvareoppsett	11-9
11.8	Analyse av sanntids PCR-data	11-17
11.9	Analyse av HRM-data	11-19
12	Feilsøking	12-1
12.1	Loggarkiver	12-1
12.2	Feilsøking for HRM	12-1
12.3	Generelle instrumentfeil	12-3
12.4	Rotor-Gene Q-programvaremeldinger	12-12
13	Ordliste	13-1
	Tillegg A	A-1
	Tekniske spesifikasjoner	A-1
	Miljøforhold	A-1
	FCC-erklæring	A-4
	Samsvarserklæring	A-6
	Avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr (WEEE)	A-7
	Tillegg B	B-1
	Kvantitering	B-1
	Tillegg C	C-1
	Produkter, tilbehør og forbruksvarer for Rotor-Gene Q MDx	C-1
	Tillegg D	D-1
	Ansvarserklæring	D-1
	Indeks	Indeks-1

Denne siden er tom med hensikt

1 Sikkerhetsinformasjon


Før du bruker RotorGene Q MDx, er det viktig at du leser brukerhåndboken nøye og er ekstraoppmerksom på sikkerhetsinformasjonen. Instruksjonene og sikkerhetsinformasjonen i brukerhåndboken må følges for å sikre at instrumentet brukes på riktig måte og holdes i forsvarlig stand.


Følgende typer sikkerhetsinformasjon brukes i håndboken.


<p>ADVARSEL</p> 	<p>Ordet ADVARSEL brukes for å informere deg om situasjoner som kan påføre deg eller andre personskader . Du finner mer informasjon om disse forholdene i en rute som denne.</p>
<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Ordet FORSIKTIG brukes for å informere deg om situasjoner som kan føre tilskade på instrumentet eller annet utstyr. Du finner mer informasjon om disse forholdene i en rute som denne.</p>


Rådene som gis i denne håndboken, skal utfylle, ikke erstatte, de normale kravene til sikkerhet som gjelder i brukerens land.

1.1 Riktig bruk


<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for personskader og materielle skader [W1] Uriktig bruk av Rotor-Gene Q MDx kan forårsake personskader eller skade på instrumentet. Rotor-Gene Q MDx må kun betjenes av kvalifisert personale som har blitt tilstrekkelig opplært. Service på RotorGene Q MDx må kun utføres av QIAGEN feltservicespesialister.</p>
--	---




<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for personskader og materielle skader [W2] Rotor-Gene Q MDx er et tungt instrument. Vær forsiktig ved løft for å unngå personskader eller skade på instrumentet.</p>
--	--

<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for personskader og materielle skader [W3] Ikke forsøk å flytte på RotorGene Q MDx mens den er i bruk.</p>
--	--

<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Skade på instrumentet [C1] Unngå å søle vann eller kjemikalier på RotorGene Q MDx. Skader forårsaket av vann eller kjemikaliesøl ugyldiggjør garantien.</p>
---	--

Merk : Hvis det oppstår et nødstilfelle, må du slå av Rotor Gene Q MDx med strømbryteren på baksiden av instrumentet og ta strømledningen ut av stikkontakten.


<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for personskader og materielle skader [W4] Ikke forsøk å åpne lokket mens det pågår et eksperiment eller Rotor-Gene Q MDx spinner. Hvis du likevel får opp lokket og stikker hånden inn, risikerer du å komme i kontakt med deler som er varme, strømførende eller i rask bevegelse, og du kan skade deg selv og instrumentet.</p>
--	--

ADVARSEL/ FORSIKTIG 	Risiko for personskader og materielle skader [W5] Hvis du må stoppe eteksperiment raskt, slår du av strømmen til instrumentet og åpner lokket etterpå. La kammeret kjøle seg ned før du stikker hånden inn. Hvis ikke kan du skade deg ved å berøre deler som er varme.
ADVARSEL/ FORSIKTIG 	Risiko for personskader og materiell e skader [W6] Hvis utstyret brukes på en måte som ikke er spesifisert av produsenten, kan det oppstå en svekkelse i den beskyttelsen utstyret gir.
ADVARSEL/ FORSIKTIG 	Risiko for personskader og materielle skader [W7] Løse papirer under RotorGene Q MDx forstyrrer instrumentkjølingen. Det anbefales at området under instrumentet holdes fritt for rot.
FORSIKTIG 	Skade på instrumentet [C2] Bruk alltid en låsering på rotoren. Dette hindrer at hetter kan løsne fra rør under et eksperiment.Hvis hetterløsner under et eksperiment, kan de skade kammeret.
FORSIKTIG 	Skade på instrumentet [C3] Før hver kjøring må du kontrollere rotoren visuelt og forsikre deg om at den ikke er skadet eller deformert.

Hvis du berører RotorGene Q MDx under en eksperiment og samtidig er ladet med statisk elektrisitet, kan RotorGene Q MDx i verste fall bli tilbakestilt. Programvaren vil imidlertid starte RotorGene Q MDx på nytt og fortsette eksperimentet.

1.2 Elsikkerhet

Ta strømledningen ut av stikkontakten før det utføres service.


<p>ADVARSEL</p> 	<p>Elektrisk fare [W8]</p> <p>Ethvert brudd i beskyttelseslederen (jord/jordleder) inne i eller utenfor instrumentet, eller frakobling av jordlederterminalen, vil kunne gjøre instrumentet farlig. Tilsiktede brudd er forbudt.</p> <p>Dødelig spenning i instrumentet</p> <p>Når instrumentet er koblet til strømmettet, kan terminalene være strømførende. Å åpne deksler eller fjerne deler vil kunne avdekke strømførende deler.</p>
---	--

For å sikre tilfredsstillende og trygg bruk av RotorGene Q MDx må rådene nedenfor følges:

- Strømledningen må være koblet til et strømuttak med beskyttelsesleder (jord).
- Ikke juster eller skift deler inne i instrumentet.
- Ikke bruk instrumentet med deksler eller deler fjernet.
- Hvis det er sølt væske inne i instrumentet, må du slå av instrumentet, koble det fra strømuttaket og kontakte Q IAGENs tekniske tjenester.


Hvis instrumentet blir elektrisk utrygt, må du hindre annet personale i å bruke det og kontakte Q IAGENs tekniske tjenester. Instrumentet kan være elektrisk utrygt i følgende tilfeller:


- Instrumentet eller strømledningen har tegn på skader.
- Instrumentet er blitt oppbevart under ugunstige forhold over lengre tid.
- Instrumentet er blitt utsatt for hard belastning under transport.

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Elektrisk fare [W9]</p> <p>Instrumentet har en etikett for elektrisk samsvar som angir strømforsyningens spenning og frekvens samt sikringsverdier. Utstyret skal kun brukes under disse forholdene.</p>
---	--

1.3 Miljø

Driftsforhold

ADVARSEL 	Eksplosjonsfarlig atmosfære [W10] Rotor-Gene Q MDx er ikke konstruert for bruk i en eksplosjonsfarlig atmosfære.
--	--


FORSIKTIG 	Skade på instrumentet [C4] Direkte sollys kan bleke deler av instrumentet og forårsake skade på plastdeler. Rotor-Gene Q MDx må plasseres på et sted som ikke får direkte sollys.
---	--

1.4 Biologisk sikkerhet


Prøver og reagenser som inneholder materialer fra biologiske kilder, bør behandles som potensielt smittefarlige. Følg sikker laboratoriepraksis som beskrevet i utgivelser som *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (Biosikkerhet i mikrobiologiske og biomedisinske laboratorier) fra HHS (det amerikanske helse og omsorgsdepartementet), www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm).

Prøver

Prøver kan inneholde smittestoffer. Du må være klar over helse risikoen ved slike stoffer, og du må bruke, oppbevare og deponere prøver i henhold til gjeldende sikkerhetsforskrifter.

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Prøver som inneholder smittestoffer [W11] Enkelte prøver som brukes med dette instrumentet, kan inneholde smittestoffer. Slike prøver må behandles med særlig stor forsiktighet og i henhold til gjeldende sikkerhetsforskrifter. Bruk alltid vernebriller, 2 par hansker og laboratoriefrakk. Ansvarshavende (f.eks. laboratorielederen) må treffe de tiltak som er nødvendige for å sikre at arbeidsområdet er trygt og at instrumentoperatørene har fått egnet opplæring og ikke eksponeres for farlige nivåer av smittestoffer, som definert i de aktuelle sikkerhetsdatabladene (HMS-blader) eller i dokumenter fra OSHA,* ACGIH† eller COSHH‡. Utlufting av damp og deponering av avfall må skje i henhold til alle nasjonale og lokale helse- og sikkerhetsforskrifter og -regler.</p>
---	--

1.5 Kjemikalier

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Farlige kjemikalier [W12] Enkelte kjemikalier som brukes med dette instrumentet, kan være farlige eller bli farlige etter at protokollkjøringen er fullført. Bruk alltid vernebriller, hansker og laboratoriefrakk. Ansvarshavende (f.eks. laboratorielederen) må treffe de tiltak som er nødvendige for å sikre at arbeidsområdet er trygt og at instrumentoperatørene har fått egnet opplæring og ikke eksponeres for farlige nivåer av giftige stoffer, som definert i de aktuelle sikkerhetsdatabladene (HMS-blader) eller i dokumenter fra OSHA,* ACGIH† eller COSHH‡. Utlufting av damp og deponering av avfall må skje i henhold til alle nasjonale og lokale helse- og sikkerhetsforskrifter og -regler.</p>
---	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (det amerikanske arbeidstilsynet) (USA).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (amerikansk organisasjon for yrkeshygienikere) (USA).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (kontroll av helsefarlige stoffer) (Storbritannia).

Giftig røyk




Når du arbeider med flyktige løsemidler eller giftige stoffer, må du sørge for at laboratoriet har et effektivt ventilasjonssystem som kan fjerne gass og damp.




1.6 Deponering av avfall

Brukte forbruksvarer og plastdeler kan inneholde farlige kjemikalier eller smittestoffer. Avfall av denne typen må samles og deponeres på riktig måte i henhold til lokale sikkerhetsforskrifter.



1.7 Mekaniske farer

Lokket på RotorGene Q MDx må holdes lukket så lenge instrumentet er i bruk.

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Bevegelige deler [W13] For å unngå kontakt med bevegelige deler når RotorGene Q MDx er i bruk, må instrumentet brukes med lokket igjen.</p>
<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for personskader og materielle skader [W14] Åpne og lukke lokket på RotorGene Q MDx forsiktig for å unngå å sette fast fingre eller klær.</p>
<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Skade på instrumentet [C5] Påse at rotoren og låseringen er riktig installert. Hvis rotoren eller låseringen viser tegn på mekanisk skade eller korrosjon, må du ikke bruke RotorGene Q MDx, men kontakte QIAGENS tekniske tjenester.</p>





<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Skade på instrumentet [C6] Når Rotor-Gene Q MDx startes opp umiddelbart etter levering i kalde klimaer, kan mekaniske deler bli blokkert. La instrumentet akklimatisere seg til romtemperatur i minst én time før du slår instrumentet på.</p>
<p>ADVARSEL</p> 	<p>Bevegelige deler [W15] I tilfelle driftsstans som følge av strømbrudd, må du ta ut strømledningen og vente i 10 minutter før du forsøker å åpne lokket manuelt.</p>
<p>ADVARSEL</p> 	<p>Risiko for overoppheting [W16] For å sikre riktig ventilasjon må det være minst 10cm klaring på sidene av og bak Rotor-Gene Q MDx. Spalter og åpninger som sørger for ventilasjonen av Rotor Gene Q MDx, må ikke tildekkes.</p>

1.8 Varmefare

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Varm overflate [W17] Rotor-Gene Q MDx-kammeret kan nå temperaturer på over 120°C. Ikke rør overflaten når den er varm.</p>
<p>ADVARSEL</p> 	<p>Varm overflate [W18] Når en kjøring settes på pause, blir ikke RotorGene Q MDx avkjølt helt ned til romtemperatur. Utvis forsiktighet når du håndterer rotoren eller noen av rørene i instrumentet.</p>

1.9 Vedlikehold

Utfør vedlikeholdet som beskrevet i kapitteØ. QIAGEN fakturerer for reparasjoner som skyldes feil vedlikehold.

<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for personskader og materielle skader [W19] Utfør kun vedlikehold som er spesifikt beskrevet i denne brukerhåndboken.</p>
<p>ADVARSEL</p> 	<p>Brannfare [W20] Når Rotor-Gene Q MDx rengjøres med et alkoholbasert desinfeksjonsmiddel, må lokket til RotorGene Q MDx stå åpent for å luften ut brannfarlige gasser. Rengjør kun Rotor-Gene Q MDx når kammeret er blitt avkjølt.</p>
<p>ADVARSEL/ FORSIKTIG</p> 	<p>Fare for elektrisk støt [W21] Rotor-Gene Q MDx-instrumentet må aldri demonteres.</p>
<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Skade på instrumenthuset [C7] Instrumenthuset må aldri rengjøres med alkohol eller alkoholbaserte midler. Alkohol skader instrumenthuset. Instrumenthuset skal kun rengjøres med destillert vann.</p>

1.10 Symboler på Rotor -Gene Q MDx

Symbol	Plassering	Beskrivelse
	I nærheten av prøvekommeret, synlig når lokket er åpent	Varmefare — temperaturen i kammeret kan stige til over 120 °C
	Baksiden av instrumentet	Se bruksanvisningen
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	CE-merke for europeisk samsvar
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	Medisinsk utstyr til in vitro-diagnostikk
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	Merke for CSA-oppføring i Canada og USA
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	Juridisk produsent
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	WEEE-merke for Europa
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	FCC-merke fra Federal Communications Commission i USA
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	C-Tick-merke for Australia (leverandør-ID N17965)
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	RoHS-merke for Kina (begrenset bruk av visse farlige stoffer i elektrisk og elektronisk utstyr)

2 Introduksjon

Takk for at du valgte RotorGene Q MDx. Vi er sikker på at den vil bli en viktig del av laboratoriet.

Før du bruker RotorGene Q MDx, er det viktig at du leser brukerhåndboken nøye og er ekstra oppmerksom på sikkerhetsinformasjonen. Instruksjonene og sikkerhetsinformasjonen i brukerhåndboken må følges for å sikre at instrumentet brukes på riktig måte og holdes i forsvarlig stand.

Vær oppmerksom på at RotorGene Q MDx finnes i flere konfigurasjoner. Detaljert informasjon og bestillingsinformasjon er angitt i vedlegg C.

2.1 Generelle opplysninger

2.1.1 Teknisk assistanse

I QIAGEN er vi stolte over å kunne tilby god teknisk støtte når du trenger det. I avdelingene for tekniske tjenester sitter det erfarne forskere med bred praktisk og teoretisk kunnskap om molekylærbiologi og bruk av QIAGEN-produkter. Hvis du har spørsmål eller får problemer med RotorGene Q MDx eller QIAGEN-produkter generelt, må du ta kontakt.

QIAGEN-kunder er en viktig kilde til informasjon om avanserte eller spesialiserte bruksområder for produktene våre. Dette er informasjon som er nyttig for andre fagfolk og for forskerne i QIAGEN. Vi oppfordrer deg derfor til å ta kontakt med oss hvis du har forslag til produktforbedringer eller til nye bruksområder og teknikker.

Hvis du ønsker teknisk assistanse og mer informasjon, kan du ringe en av avdelingene i QIAGENS tekniske tjenester eller en lokal forhandler (se baksiden).

For oppdatert informasjon om RotorGene Q MDx, se www.qia.gen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

2.1.2 Policyerklæring

Det er QIAGENS policy å forbedre produkter etter hvert som nye teknikker og komponenter blir tilgjengelige. QIAGEN forbeholder seg retten til å endre spesifikasjoner når som helst.

Vi ønsker å produsere nyttig og egnet dokumentasjon og setter pris på dine kommentarer til denne brukerhåndboken. Ta kontakt med QIAGENS tekniske tjenester.

2.1.3 Versjonsadministrasjon

Dette dokumentet er Brukerhåndbok for RotorGene Q MDx (*RotorGene Q MDx UserManual*), versjon 2.0, revisjon R1 for RotorGene Q MDx-instrumenter som bruker versjon 2.3.4 eller høyere av programvaren RotorGene Q.

2.2 Bruksområde for Rotor -Gene Q MDx

RotorGene Q MDx-instrumentet er konstruert for å utføre sanntids termosykling, deteksjon og/eller kvantifisering ved hjelp av polymerasekjedereaksjonen (PCR) i kliniske applikasjoner.

RotorGene Q MDx er beregnet på bruk kun i kombinasjon med QIAGEN-sett som er indisert for bruk med RotorGene Q-instrumenter i applikasjoner som er beskrevet i de respektive håndbøkene for QIAGENsettene.

Hvis RotorGene Q MDx-instrumentet brukes med andre sett enn QIAGEN-sett, er det brukerens ansvar å validere ytelsen til en slik produktkombinasjon for det aktuelle bruksområdet.

RotorGene Q MDx-instrumentet er beregnet på bruk i forbindelse med in vitro-diagnostikk.

RotorGene Q MDx-instrumentet er beregnet på bruk av profesjonelle brukere, f.eks. teknikere og leger som har fått opplæring i teknikker innen molekylærbiologi og i bruken av RotorGene Q MDx-instrumentet.

3 Generell beskrivelse

Rotor-Gene Q MDx er et innovativt instrument for sanntids PCR med høy presisjon og er svært godt egnet til applikasjoner innenfor in vitro-diagnostikk i kombinasjon med QIAGEN IVD-merkede sett.

Den kraftige og brukervennlige programvaren er enkel for nybegynnere, men har også en åpen, eksperimentell plattform for avanserte brukere.



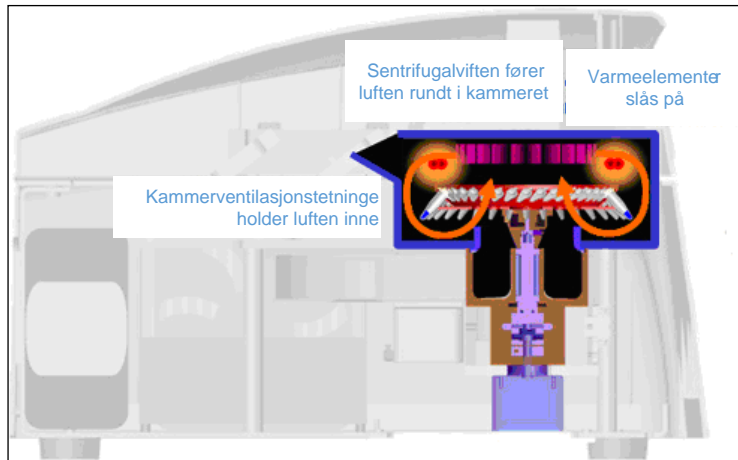
3.1 Termisk ytelse

Rotor-Gene Q MDx bruker en sofistikert varme og kjølemetode for å oppnå optimale reaksjonsforhold. Det unike rotasjonsformatet sikrer optimal termisk og optisk ensartethet mellom prøver, en forutsetning for presise og pålitelige analyser.

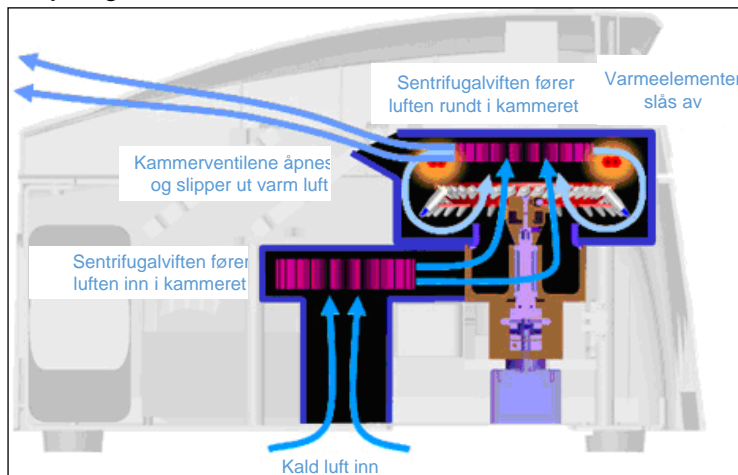
Prøver spinner kontinuerlig ved 400 opm under kjøringen. Sentrifugering hindrer kondens og fjerner luftbobler, men gir ingen DNA-pellet. Prøvene trenger heller ikke å spinnes ned før kjøring.

Prøvevarmes og kjøles i en ovn med lav termisk masse. Oppvarming skjer via et nikkel/krom-element i lokket. Kammeret avkjøles ved at luften slippes ut i overkant av kammeret, samtidig som det blåses inn omgivelsesluft fra undersiden.

Oppvarming



Avkjøling

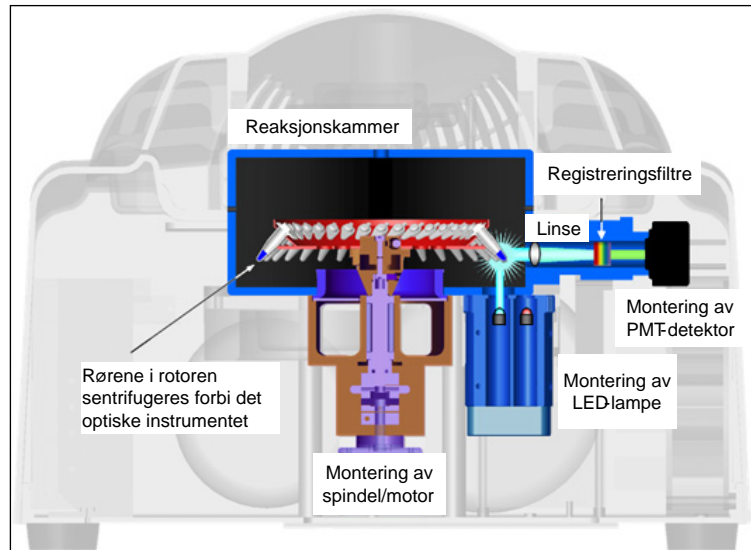


Illustrasjon av systemet for oppvarming og avkjøling.

3.2 Optisk system

Med opptil 6 eksitasjonskilder og 6 deteksjonsfiltre, kombinert med en kort, fast optisk bane, kan Rotor-Gene Q MDx brukes til multiplekse reaksjoner, noe som sikrer minst mulig variabilitet i fluorescens mellom prøver og fjerner behovet for kalibrering eller kompensering.

Prøver eksiteres fra bunnen av kammeret med en lysemitterende diode. Energi overføres gjennom de tynne veggene nederst i røret. Emittert fluorescens passerer gjennom emisjonsfiltre på siden av kammeret og samles deretter av en fotomultiplikator. Den faste optiske banen sikrer at alle prøver eksiteres på samme måte, og det er derfor ikke behov for en passiv intern referansefarge, som ROX™.



Illustrasjon av det optiske systemet.

Tilgjengelige kanaler

Kanal	Eksitasjon (nm)	Deteksjon (nm)	Eksempler på detekterte fluoroforer
Blå	365±20	460±20	Marina Blue [®] , Edans Bothell Blue, Alexa Fluor [®] 350, AMCA-X, ATTO 390
Grønn	470± 10	510± 5	FAM [®] , SYBR [®] Green I, Fluorescein, Eva Green [®] , Alexa Fluor 488
Gul	530± 5	557± 5	JOE [™] , VIC [®] , HEX [™] , TET [™] , CAL Fluor [®] Gold 540, Yakima Yellow [®]
Oransje	585± 5	610± 5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy [®] 3.5, Texas Red [®] , Alexa Fluor 568
Rød	625± 10	660± 10	Cy5, Quasar [®] 670, LightCycler [®] Red640, Alexa Fluor 633
Mørkerød	680± 5	712 høypass	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
High Resolution Melt (HRM)	460± 20	510± 5	SYBR Green I, SYTO [®] 9, LC Green [®] , LC Green Plus+, EvaGreen

Merk: QIAGEN-sett som er beregnet på bruk med Rotor-Gene Q MDx-instrumenter, er optimalisert for visse fargekombinasjoner. Se håndbøkene for de aktuelle settene for mer informasjon.

4 Installasjonsprosedyre


4.1 Krav til plassering


Rotor-Gene Q MDx-instrumenter må plasseres på et sted som er skjermet mot direkte sollys og i god avstand fra varmekilder og kilder til vibrasjon og elektrisk interferens. Se tillegg A for mer informasjon om driftsforhold (temperatur og fuktighet). Installasjonsstedet bør være skjermet mot overdrevne mengder med trekk, fuktighet og støv, og ikke være utsatt for store temperatursvingninger.

Se tillegg A for mer informasjon om vekt og mål på Rotor-Gene Q MDx-instrumenter. Påse at arbeidsbenken er tørr og ren og har ekstra plass til tilbehør. For mer informasjon om spesifikasjonene for arbeidsbenken, kontakt QIAGENs tekniske tjenester.

Merk : Det er ekstremt viktig at Rotor-Gene Q MDx-instrumentet står på en stabil overflate som er i vater og ikke vibrerer. Se avsnittet om driftsforhold i tillegg A.

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet må plasseres ikke mer enn ca. 1,5 m fra en forskriftsmessig jordet stikkontakt.

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Eksplisjonsfarlig atmosfære [W10] Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er ikke konstruert for bruk i en eksplisjonsfarlig atmosfære.</p>
--	--

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Risiko for overoppheting [W16] For å sikre riktig ventilasjon må det være minst 10cm klaring på baksidene av og bak RotorGene Q MDx-instrumentet. Spalter og åpninger som sørger for ventilasjonen av Rotor-Gene Q MDx, må ikke tildekkes.</p>
---	--

4.2 Tilkobling til strømmettet

Strømbehov

Rotor-Gene Q MDx har følgende strømbehov ved drift:

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

Påse at spenningsklassen til Rotor-Gene Q MDx er kompatibel med AC-spenningen på installasjonsstedet. Spenningsavvik i hovedstrømmettet må ikke overstige 10 % av den nominelle spenningen som leveres.

Krav til jording

For å beskytte operatørene anbefaler QIAGEN at Rotor-Gene Q MDx er forskriftsmessig jordnet. Instrumentet er utstyrt med en 3-leder strømkabel. Når denne kobles til en egnet stikkontakt, jorder den instrumentet. For å opprettholde denne beskyttelsen må instrumentet ikke brukes hvis det er koblet til en stikkontakt som ikke har jording.

Montering av strømkabel

Koble den ene enden av strømkabelen til kontakten på baksiden av Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, og den andre enden til stikkontakten.

4.3 PC-krav

Den bærbare datamaskinen som på forespørsel leveres med Rotor-Gene Q MDx, oppfyller kravene til Rotor-Gene Q-programvaren, beskrevet i neste tabell.

Systemkrav til PC

Beskrivelse	Minstekrav
Operativsystem	Microsoft® Windows® 10 Professional (64 bit); Microsoft Windows 7 Professional (32-biter eller 64-biter)* (servicepakke 1)
Prossessor†	Intel® Core™2 Duo 1,66 GHz eller bedre
Hovedminne†	Minimum 1 GB RAM
Harddiskplass†	Minimum 10 GB HDD
Grafikk	Adapter og skjerm med minst 1200 x 800 piksler
Porter†	RS-232 serieport eller USB-port
DVD-ROM-stasjon	1
Pekeenhet	Styreplate eller mus eller tilsvarende er nødvendig
Bluetooth®	Må være slått av
PDF-visningsprogram eller lignende	Må være installert, ikke del av programvareinstallasjonspakkene
Strømalternativer	Aldri slå av harddisker, sett dem i dvale eller gå til standby

* Microsoft Windows 10 eller Windows 7 Professional kreves for å kjøre Rotor-Gene Q-programvaren med sikkerhetsfunksjoner (se avsnitt 7.9). Sikkerhetsfunksjoner er ikke tilgjengelige hvis Home-utgaven av Windows 10 eller Windows 7 benyttes.

† Når Rotor-Gene AssayManager®-programvareversjon 1.0 eller 2.1 brukes, er følgende minimumskrav til PC forskjellige: Intel Core i3-380M-prosessor, 4 GB RAM hovedminne, 250 GB harddiskplass, USB-port kreves.

4.4 Konfigurasjon for Windows 7-sikkerhet

De bærbare PC-ene som leveres av QIAGEN for bruk med Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, har Microsoft Windows 7 forhåndsinstallert og er konfigurert med en standard (ikke-administrativ) Windows-brukerkonto og en

administratorkonto. I rutinemessig bruk av systemet skal standardkontoen brukes, fordi RotorGene Q-programvaren og Rotor-Gene AssayManagerversjon 1.0 eller 2.1 er beregnet på å kjøre uten administratorrettigheter. Administratorkontoen skal kun brukes til installering av Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene AssayManager, programvareversjon 1.0 eller 2.1, og et antivirusprogram (se avsnittet om "Antivirusprogram"). Bruk av administratorkontoen er angitt med en rød skrivebordsbakgrunn. Kontroller at du alltid kan logge på som standardbruker for rutinemessig bruk.

Q1a#g3n!A6 er standardpassordet til administratorkontoen. Du må endre administratorpassordet etter første pålogging. Påse at passordet er sikkert og ikke blir borte. Det er ingen passord for operatørkontoen.

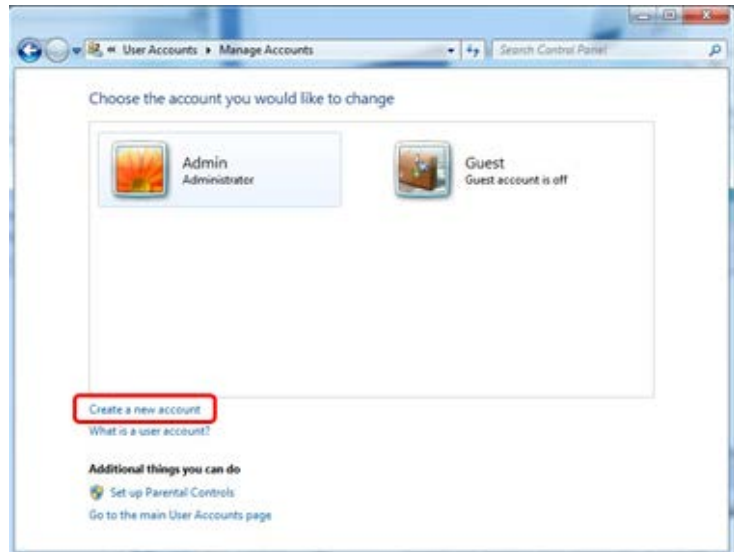
Hvis administratorpassordet for den bærbare PGen går tapt, vil vi anbefale deg å kontakte Microsoft for å få hjelp.

Hvis konfigurasjonen din er ulik og ingen ikke-administrativ konto er inkludert, skal en systemadministrator sette opp en ytterligere standard Windowsbrukerkonto for å hindre tilgang til kritiske systemområder, f.eks. programfiler, Windows-katalog (f.eks. tilgang til installerings- eller avinstalleringsfunksjoner, herunder applikasjoner, operativsystemkomponenter, dato/klokkeslettinnstillinger, Windows-oppdateringer, brannmur, brukerrettigheter og -roller, aktivering av antivirus) eller ytelsesrelevante innstillinger som strømsparing.

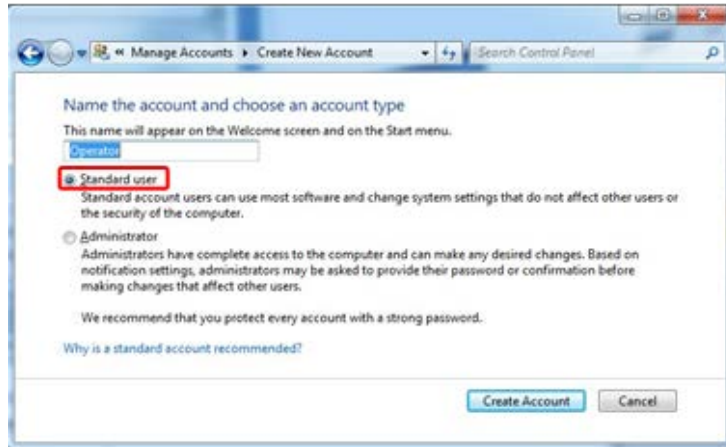
Hvis du vil opprette en standard brukerkonto i Windows7, må du følge trinnene angitt i avsnittet "Opprette en ny brukerkonto":

Åpne Windows Control Panel(kontrollpanelet i Windows) i Start-menyen, og velg "User Accounts" (Brukerkontoer) > "Manage Accounts" (Behandle kontoer).

1. Velg "Create a new account" (Opprett en ny konto).



2. Gi kontoen navn, og velg "Standard User" (Standardbruker) som kontotype.



3. Klikk på "Create Account" (Opprett konto).

4.5 Pakke ut Rotor - Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx leveres med alle komponenter som er nødvendige for å sette opp og kjøre instrumentet. Esken inneholder også en liste over alle komponentene som følger med.

Merk : Gjennomgå listen og kontroller at alle komponentene er levert.

Merk : Kontroller at instrumentet og tilbehøret ikke er blitt skadet under transport, før du installerer det.

Esken med tilbehør ligger oppå skumemballasjen. Esken med tilbehør inneholder følgende:

- Installasjonsveiledning (engelsk – oversettelser tilgjengelig på CD-en med håndbøker)
- CD (programvare)
- CD (håndbøker)
- Lastebrett for 96 x 0,2 ml rør
- Lastebrett for 72 x 0,1 ml rør
- Rotorholder (demontert for trygg transport)
- 36-brønners rotor (denne rotoren er rød)

- Låsering for 36-brønners rotor

Følgende deler er pakket på hver side av skumemballasjen:

- USB-kabel og RS-232-seriekabel
- Internasjonalt strømkaabelsett
- PCR-rør, 0,2 ml (1000)
- Rørstrips og hetter, 0,1 ml (1000)

Når du har tatt ut disse delene av esken, fjerner du skumemballasjen oppå Rotor-Gene Q MDx. Løft Rotor-Gene Q MDx forsiktig ut av esken, og ta av plasten. Åpne lokket ved å skyve det bakover for å få tilgang til reaksjonskammeret.

Følgende deler er allerede installert i Rotor-Gene Q MDx:

- 72-brønners rotor (denne rotoren er blå)
- Låsering for 72-brønners rotor


Forsendelsen kan omfatte en bærbar datamaskin, avhengig av ordren.

4.6 Tilbehør

Rotor-Disc-plater og tilbehør til Rotor-Gene Q MDx kan bestilles separat. For mer informasjon, se tillegg C.

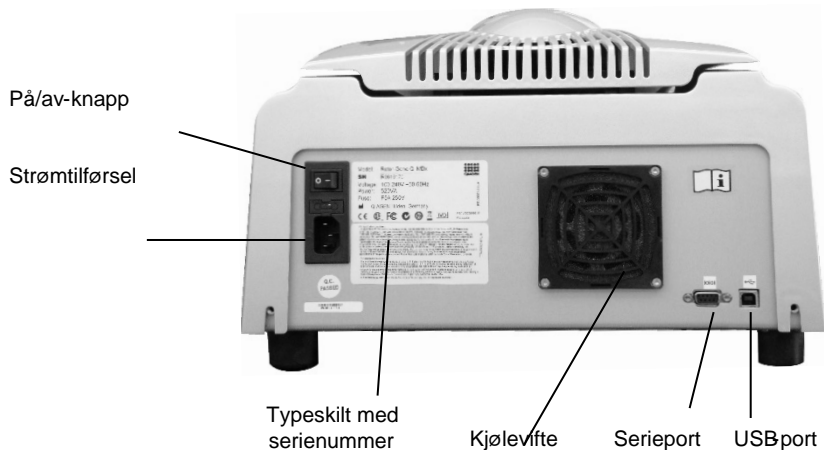
4.7 Maskevareinstallasjon

Når du har pakket ut Rotor-Gene Q MDx, fortsetter du installasjonen som beskrevet nedenfor.

<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Skade på instrumentet [C6]</p> <p>Når Rotor-Gene Q MDx startes opp umiddelbart etter levering i kalde klimaer, kan mekaniske deler bli blokkert. La instrumentet akklimatisere seg til romtemperatur i minst én time før du slår instrumentet på.</p>
---	---

Følg denne fremgangsmåten:

1. Sett RotorGene Q MDx på en plan overflate.
2. Påse at det er tilstrekkelig med plass bak instrumentet til å kunne åpne lokket helt.
3. Påse at det er lett å nå av/på-knappen på baksiden av instrumentet.
4. Baksiden av instrumentet må være lett tilgjengelig. Påse at det er enkelt å løsne strømkabelen ved behov, i tilfelle strømmen til instrumentet må kobles fra.
5. Koble USBkabelen eller RS232-kabelen til en USBport eller en kommunikasjonsport på baksiden av datamaskinen.
6. Koble USBkabelen eller RS232-kabelen til baksiden av RotorGene Q MDx.
7. Koble deretter RotorGene Q MDx til strømforsyningen. Koble den ene enden av strømkabelen til kontakten på baksiden av RotorGene Q MDx, og den andre enden til stikkontakten.

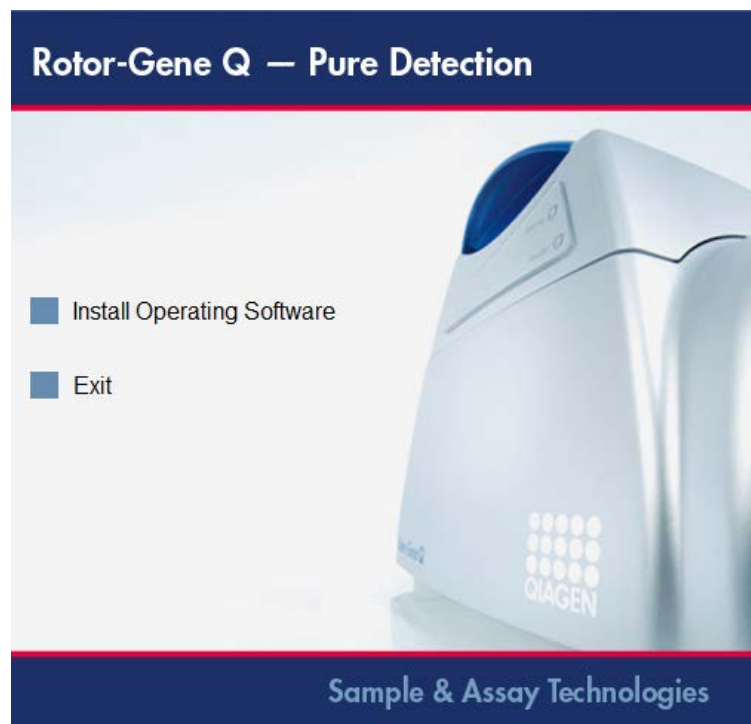


Merk : RotorGene Q MDx skal kun kobles til datamaskinen med USB og seriekablene som fulgte med instrumentet. Ikke bruk andre kabler.

4.8 Programvareinstallasjon

1. For å installere RotorGene Q-programvaren setter du programvare-CD-en som fulgte med instrumentet, inn i datamaskinens CD-stasjon.
2. Velg "Install Operating Software" (Installer programvare) i vinduet som vises.

Merk : Den medfølgende Installasjonsveiledning for RotorGene Q (*RotorGene Q Installation Guide*) gjør installasjonen enklere og inneholder en veiviser til de neste trinnene i programvareinstallasjonen.



3. Når programvaren er installert, lages det automatisk et ikon på skrivebordet.
4. Slå RotorGene Q MDx på ved å sette knappen bak til venstre i "I"-stilling. Et blått "Standby"-lys foran på RotorGene Q MDx viser at instrumentet er klart til bruk.

Merk : Når instrumentet er koblet til en datamaskin og starter for første gang, gjenkjennes RotorGene Q MDx av operativsystemet og det vises en rekke meldinger. Se Installasjonsveiledning for RotorGene Q (*RotorGene Q Installation Guide*) som fulgte med instrumentet (CD og papirversjon) for mer informasjon.



5. Dobbelklikk på skrivebordsikonet "RotorGene Q Series Software" (Programvare for RotorGene Q-serien) for å starte programvaren.

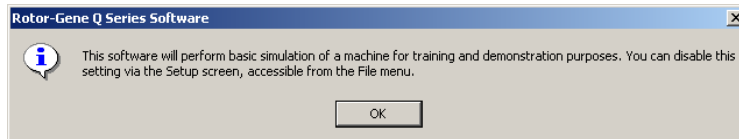


6. Vinduet "Welcome" (Velkommen) vises første gang programvaren starter, men ikke ved senere programvareoppdateringer.



- "Machine Serial Number" (Maskinens serienummer): Skriv inn serienummeret (7 sifre) som du finner på baksiden av RotorGene Q MDx.
- "Port" (Port): Velg enten USB eller seriekabel. Velg ønsket kommunikasjonsport, eller klikk på knappen "Auto-Detect".
- "Auto-Detect" (Oppdag automatisk): Hvis du bruker dette alternativet, oppdages den aktuelle USB eller serieporten automatisk og vises i nedtrekksliste "Port".
- "Run in Virtual Mode (for demonstration)" (Kjør i virtuell modus [kun demo]): Hvis du merker av for dette, kan du installere RotorGene Q-programvaren på en datamaskin som ikke er koblet til en RotorGene Q MDx. Programvaren er fullt funksjonell og kan simulere kjøring.
- Merk : Hvis du har merket av i denne ruten og en RotorGene Q MDx er koblet til datamaskinen, vises følgende melding før kjøringen starter: "You are about to run in Virtual mode" (Kjøringen vil skje i virtuell modus). Hvis du vil foreta en ekte kjøring, må oppsettet endres i vinduet "Setup" (Oppsett) (se avsnitt 7.5.4).

"Begin" (Begynn): Når all informasjon er angitt, klikker du på "Begin". Vent til initialiseringen er ferdig, dette kan ta noen sekunder. Hvis virtuell modus ble valgt, vises følgende melding:

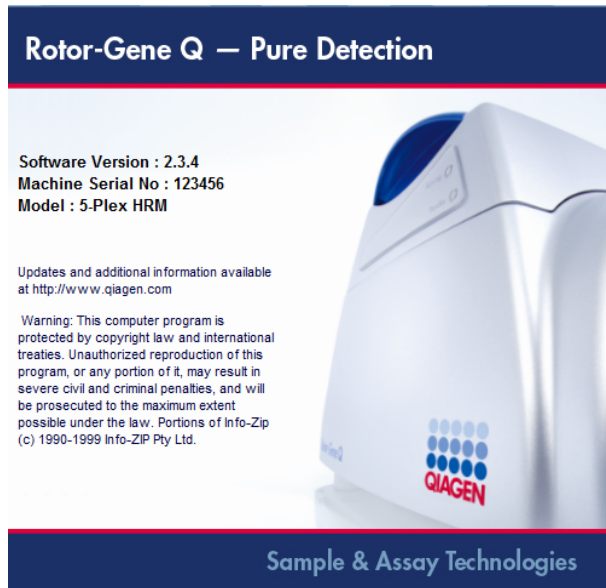


Hvis det ikke er merket av i ruten "Run in Virtual Mode", blir programvaren initialisert og åpnet automatisk.

"Exit Program" Klikk på denne knappen for å avslutte (Avslutt program): programmet.

4.9 Programvareversjon

For å finne versjonsnummeret klikker du på "Help" (Hjelp) og deretter på "About This Software..." (Om denne programvaren...).



Dette vinduet viser generell informasjon om programvaren, deriblant programvareversjon og instrumentets serienummer og modell.

Programvaren kan kopieres og brukes fritt innenfor en organisasjon som eier en RotorGene Q MDx. Programvaren kan ikke kopieres og distribueres til andre utenfor organisasjonen.

4.10 Annen programvare på datamaskiner som er koblet til Rotor -Gene Q MDx - instrumenter

Rotor-Gene Q-programvare styrer tidskritiske prosesser under PCRkjøringen og datainnsamlingen. Det er derfor viktig å sikre at ingen andre prosesser opptar betydelige systemressurser og dermed hemmer RotorGene Q-programvaren. Det er spesielt viktig å være oppmerksom på punktene nedenfor.

Systemadministratorer må vurdere nøye hvilke konsekvenser en systemendring kan få for ressursene før den implementeres.

4.10.1 Antivirusprogram

QIAGEN er oppmerksom på trusselen som datavirus utgjør for alle datamaskiner som bytter data med andre datamaskiner. RotorGene AssayManager programvareversjon 1.0 eller 2.1 forventes primært å bli installert i miljøer der lokale regler allerede er på plass, slik at denne trusselen blir begrenset. QIAGEN anbefaler imidlertid bruk av et antivirusprogram for sikkerhets skyld.

Valget og installasjonen av et egnet viruskanningsverktøy er kundens ansvar. QIAGEN har imidlertid validert RotorGene Q-programvaren og RotorGene AssayManager versjon 1.0 og 2.1 med QIAGEN bærbar PC i kombinasjon med følgende to antivirusprogrammer for å vise kompatibilitet:

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

Se produksiden på QIAGEN.com for de siste versjonene av antivirusprogrammer som er validert i kombinasjon med RotorGene Q-programvare og RotorGene AssayManager versjon 1.0 eller 2.1.

Hvis et antivirusprogram er valgt, påse at det er konfigurert slik at databasens mappebane kan utelukkes fra skanningen. Hvis ikke er det en risiko for tilkoblingsfeil til databasen. Siden RotorGene AssayManager versjon 1.0 og 2.1 oppretter nye databasearkiver dynamisk, er man nødt til å utelukke mappebanen til filene og ikke enkeltfiler. Vi anbefaler ikke bruk av antivirusprogram hvor kun enkeltfiler kan utelukkes, f.eks. McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Hvis datamaskinen brukes i et miljø uten nettverkstilgang, må du

¹ Merk: Etter installeringen av "Microsoft Security Essentials" bør du kontrollere at Windows-oppdateringer er deaktivert, fordi installasjonen kan aktivere denne innstillingen (les kapittelet "Operativsystemoppdateringer").

også påse at antivirusprogrammet støtter frakoblede oppdateringer.

For å få konsekvente resultater etter installasjon av et antivirusprogram skal systemadministratorer påse følgende:

- Som forklart ovenfor må databasens mappebane til Rotor-Gene AssayManager 1.0 og 2.1 (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) utelukkes fra filskanninger.
- Oppdateringer av virusdatabasen utføres ikke når Rotor-Gene AssayManager 1.0 eller 2.1 er i bruk.
- Kontroller at fullstendige eller delvise skanninger av harddisken er deaktivert under PCR-datainnhenting i sanntid. Ellers er det en risiko for negativ innvirkning på instrumentets ytelse.

Les håndboken for ditt valgte antivirusprogram for konfigurasjonsinformasjon.

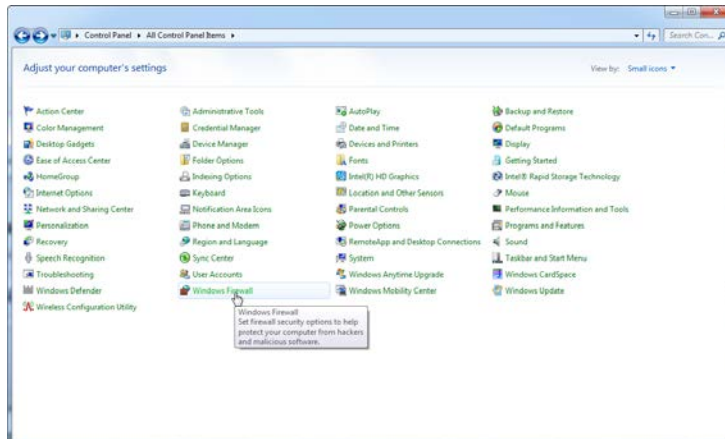
4.10.2 Brannmur og nettverk

Rotor-Gene Q-programvaren kan kjøre enten på datamaskiner uten nettverkstilgang eller i et nettverksmiljø hvis en ekstern databaseserver brukes. Når det gjelder nettverksbasert drift, er brannmuren på den bærbare PC-en fra QIAGEN konfigurert slik at innkommende trafikk er blokkert for alle porter, bortsett fra de som kreves for å opprette en nettverkstilkobling.

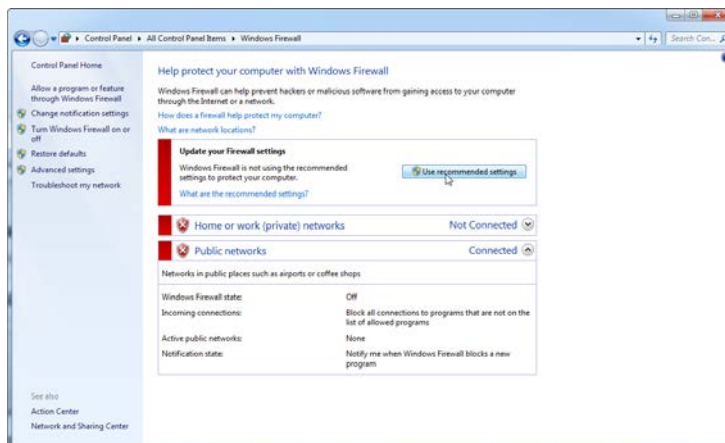
Vær oppmerksom på at blokkering av inngående tilkoblinger ikke påvirker svar på forespørsler som utløses av brukeren. Utgående tilkoblinger er tillatt, ettersom dette kan være påkrevd for å gjenfinne oppdateringer.

Hvis konfigurasjonen er annerledes, anbefaler QIAGEN å konfigurere brannmuren på samme måte som beskrevet ovenfor. Til dette formålet må en systemadministrator logge seg på og utføre følgende trinn:

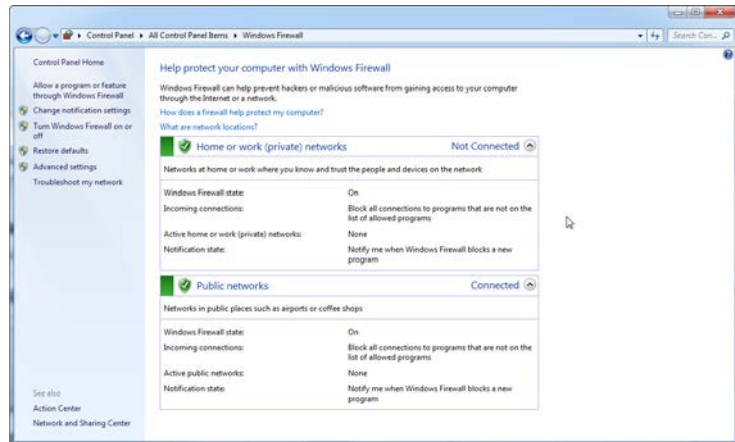
1. Åpne "Control Panel" (Kontrollpanel) og velg "Windows Firewall" (Windowsbrannmur).



2. Velg "Use recommended settings" (Bruk anbefalte innstillinger).

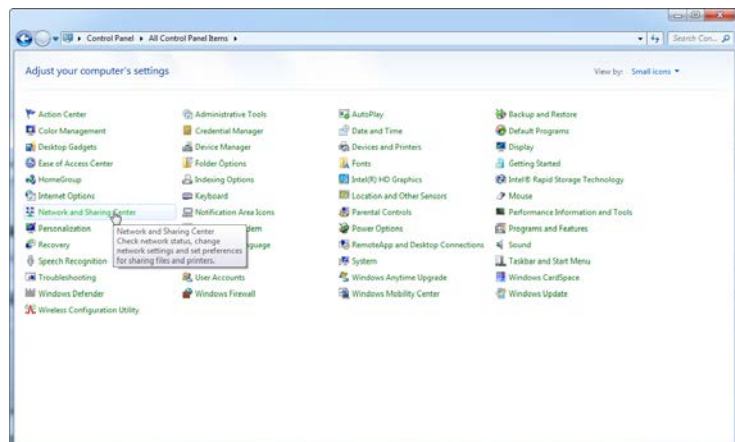


3. Kontroller at følgende innstillinger er aktive:

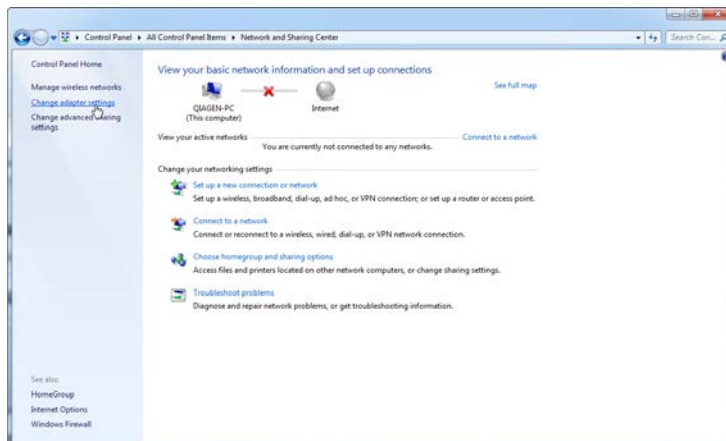


Av sikkerhets og pålitelighetshensyn skal kabelbasert nettverkstilgang benyttes i stedet for WiFi. De bærbare PG ene fra QIAGEN har en deaktivert WiFi-adapter. Hvis konfigurasjonen er annerledes, må en systemadministrator deaktivere WiFi-adapteren manuelt ved hjelp av følgende trinn:

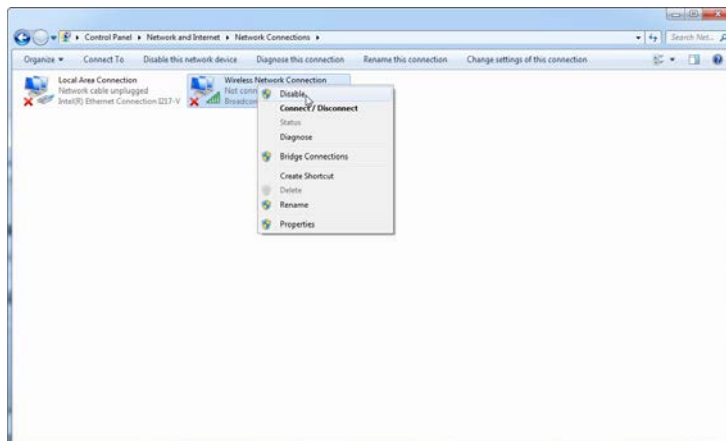
1. Åpne "Control Panel" (Kontrollpanel), og velg "Network and Sharing Center" (Nettverks og delingscenter).



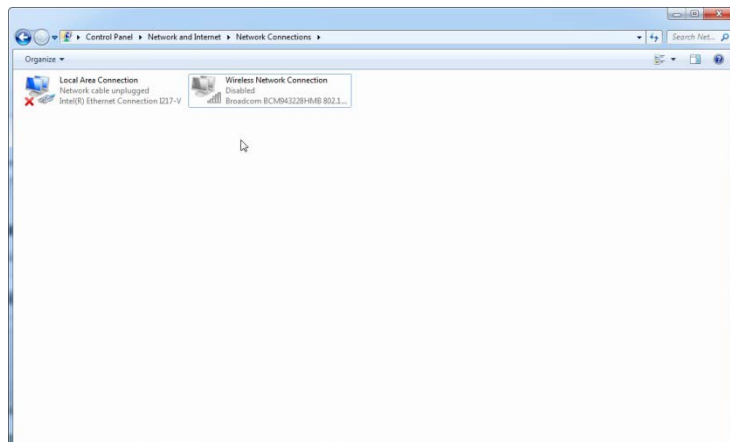
2. Velg "Change adapter settings" (Endre adapterinnstillinger).



3. Hold musepekeren over "Wireless Network Connection" (Trådløs nettverkstilkobling), og tryk på høyre museknapp. Velg "Disable" (Deaktiver) fra hurtigmenyen.



4. Kontroller at trådløs nettverkstilkobling er deaktivert.



4.10.3 Systemverktøy

Mange systemverktøy kan bruke betydelige systemressurser selv uten aktive inngrep fra brukere. Her er noen vanlige eksempler på slike verktøy:

- Filindeksing, som utføres som en bakgrunnsoppgave av mange moderne kontorapplikasjoner
- Diskdefragmentering, som også ofte foregår i bakgrunnen
- All programvare som søker etter oppdateringer på Internett
- Verktøy for fjernovervåking og fjernstyring

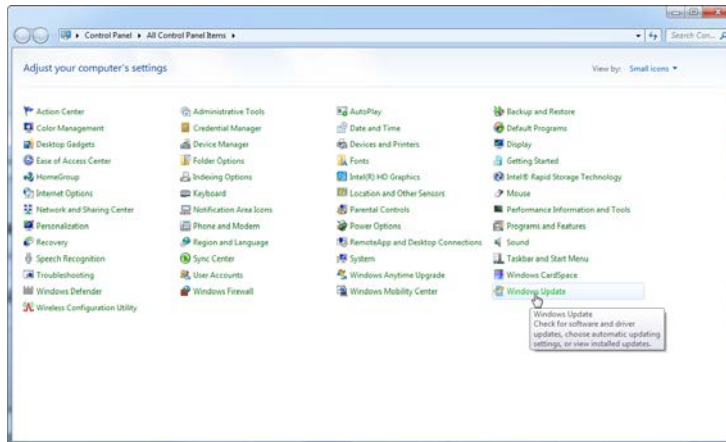
Vær oppmerksom på at den raske utviklingen i IT-sektoren gjør at listen kanskje ikke er fullstendig, og at det kan være utgitt nye verktøy som ikke var kjent da dette ble skrevet. Det er viktig at systemadministratorer passer på at slike verktøy ikke er aktive under en PCR-kjøring.

4.10.4 Oppdateringer av operativsystem

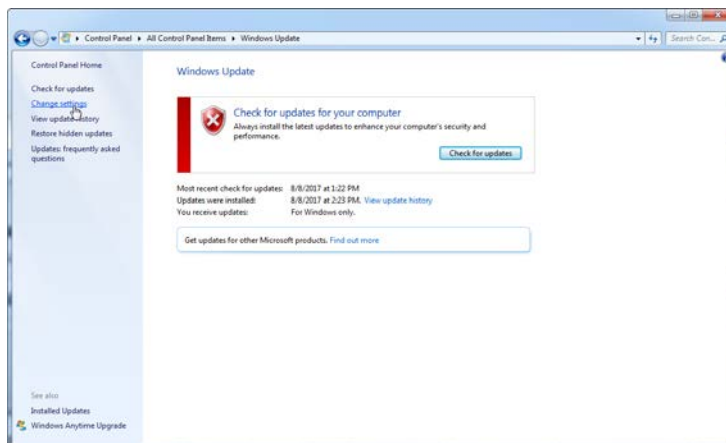
De bærbare PC-ene som leveres av Q IAGEN, er konfigurert slik at automatiske oppdateringer av operativsystemet er deaktivert. Hvis konfigurasjonen din er forskjellig, må en systemadministrator deaktivere en eventuell automatisk

oppdateringsprosess av operativsystemet, noe som kan gjøres med følgende trinn:

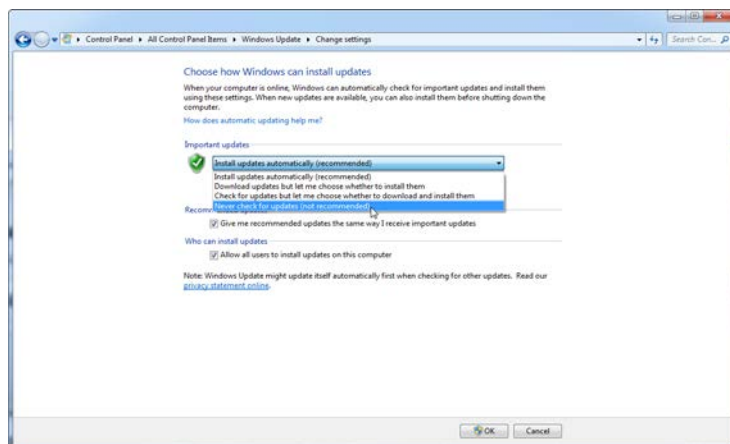
1. Åpne "Control Panel" (Kontrollpanel) og velg "Windows Update" (Windowsoppdatering).



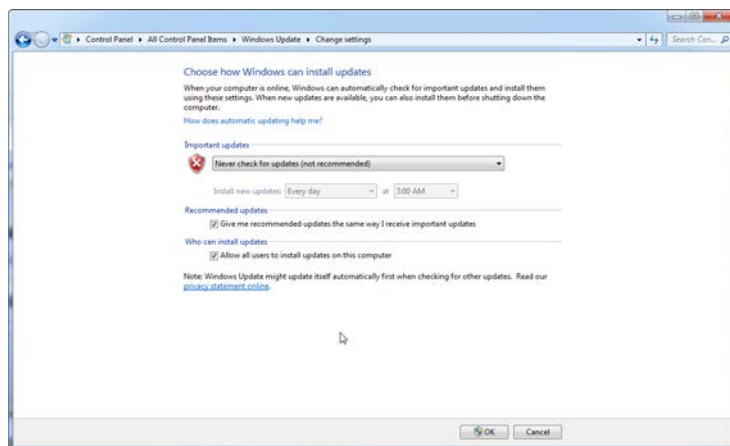
2. Velg "Change settings" (Endre innstillinger).



3. Velg "Never check for updates" (Aldri se etter oppdateringer).



4. Kontroller at alternativet "Never check for updates" (Aldri se etter oppdateringer) er aktivert under "Important updates" (Viktige oppdateringer).



Hvis oppdateringer kreves på grunn av usikre sikkerhetssårbarheter, tilbyr QIAGEN mekanismer for å installere et definert sett med validerte Windows sikkerhetsoppdateringer enten online (hvis en internettforbindelse er tilgjengelig på QIAGEN bærbar PC) eller offline som en pakke klagtjort på en egen datamaskin med internettforbindelse.

4.11 Oppdatere programvare

Programvareoppdateringer er tilgjengelige på QIAGENs nettsted på www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx. Du får også tilgang til siden fra menyen "Help" i programvaren. For å laste ned programvare må du registrere deg på nettstedet.

5 Driftsprosedyrer — Maskinvare

Denne delen beskriver bruken av RotorGene Q MDx.


5.1 Rotortyper

Først må du velge hvilken rørtype og rotor som skal brukes. Det er 4 rotorer for ulike typer rør.

Merk: Instrumentet leveres med en 36-brønners rotor og en 72-brønners rotor. Rotor-Disc[®]-rotorene er tilbehør.

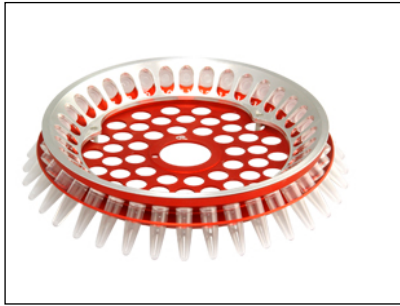
VIKTIG: Bruk identiske rør i kjøring. Ikke bland ulike rørtypen eller rør fra forskjellige produsenter, da dette kan påvirke den optiske ensartetheten. Vi anbefaler at du bruker rør fra QIAGEN som er spesielt utformet for bruk med RotorGene Q MDx (se tillegg C). Med rør fra andre produsenter kan det oppstå autofluorescens, som kan påvirke resultatenes pålitelighet. I tillegg kan rør fra andre produsenter ha ulik lengde og tykkelse og føre til feilinnretting av den optiske banen til RotorGene Q MDx og reaksjonen i røret. QIAGEN forbeholder seg retten til å avstå fra å gi teknisk støtte ved problemer som oppstår fordi RotorGene Q MDx-instrumentet er brukt sammen med plastmaterialer som ikke er sertifisert av QIAGEN.

VIKTIG: Hvis RotorGene Q MDx brukes sammen med plastmaterialer som ikke er sertifisert av QIAGEN, kan instrumentets garanti bli ugyldig.

FORSIKTIG 	Skade på instrumentet [C3] Før hver kjøring må du kontrollere rotoren visuelt og forsikre deg om at den ikke er skadet eller deformert.
---	---

36-brønners rotor

Rotoren med 36 brønner er rød. Rotoren med 36 brønner og den tilhørende låseringen kan ta 0,2 ml rør. Rørene trenger ikke optisk klare hetter ettersom RotorGene Q MDx registrerer fluorescens fra bunnen av røret og ikke fra toppen. Rør med kulelokk kan også brukes.



72-brønners rotor

Rotoren med 72 brønner er blå. Rotoren med 72 brønner og den tilhørende låseringen kan brukes med rørstrips med hetter, 0,1 ml, og kan ta volumer helt ned til 20 µl. Hettene sørger for trygg og pålitelig forsegling.



Rotor-Disc 72-rotor

Rotor-Disc 72-rotoren er mørk grå. Rotor-Disc 72-rotoren og den tilhørende låseringen gjør det mulig å bruke RotorDisc 72. Rotor-Disc 72 er en plate med 72 brønner for høy arbeidsbelastning. RotorDisc 72 forsegles ved å legge over en transparent polymerfilm og varmeforsegle. Filmen er rask å bruke og hindrer kontaminering ved å skape en sterk og holdbar forsegling som ikke kan tukles med. For mer informasjon om Rotor-Disc 72, se avsnitt 5.3.



Rotor-Disc 100 -rotor

Rotor-Disc 100-rotoren er gullfarget. Rotor-Disc 100-rotoren og den tilhørende låseringen gjør det mulig å bruke Rotor Disc 100. Rotor-Disc 100 er en plate med 100 brønner for høy arbeidsbelastning. RotorDisc 100 er det roterende motstykket til en 96-brønners plate, med 4 ekstra referansebrønner. Den gjør at RotorGene Q MDx kan integreres i arbeidsflyter med 96 brønner. De ekstra brønnene er praktiske til f.eks. flere prøver, ytterligere kontrollreaksjoner, eller retningsbestemte reaksjoner, uten at man må bruke noen av de 96 standardbrønnene. For sømløs kompatibilitet med arbeidsflyter med 96 brønner følger Rotor-Disc 100-brønner samme merking som en 96-brønners plate, dvs. A1-A12 til H1-H12. De ekstra 4 referansebrønnene er merket R4R4. For mer informasjon om Rotor-Disc 100, se avsnitt 5.3.



Rotorspesifikasjoner

Rotortype	Brønncapacitet	Prøveant.	Rørtype	Anbefalt reaksjonsvolum
36-brønners rotor	200 µl	36	PCRRør, 0,2 ml	20–50 µl
72-brønners rotor	100 µl	72	Rørstrips og hetter, 0,1 ml	20–50 µl
Rotor-Disc 72-rotor	100 µl	72	Rotor-Disc 72	20–25 µl
Rotor-Disc 100-rotor	30 µl	100	Rotor-Disc 100	15–20 µl

Merk : 36-brønners rotor og 72-brønners rotor for RotorGene Q MDx skal ikke brukes på RotorGene 3000-instrumenter på grunn av uforlikeligheter i den optiske justeringen. Du må fortsatt bruke de eldre rotorene med 36 og 72 posisjoner sammen med RotorGene 3000-instrumenter.

5.2 Reaksjonsoppsett

VIKTIG: Det må foretas egnede kontroller i hver kjøring for å sikre pålitelige resultater.

Reaksjoner kan forberedes med lastebrett for 96 x 0,2ml rør (for PCRRør, 0,2 ml), lastebrett for 72 x 0,1 ml rør (for rørstrips med hetter, 0,1 ml satt opp med enkanals pipette), lastebrett for 72 x 0,1 ml flerkanal (for rørstrips med hetter, 0,1 ml satt opp med en flerkanals pipette), lastebrett for Rotor-Disc 72 (for Rotor-Disc 72), eller lastebrett for Rotor Disc 100 (for Rotor-Disc 100). Alle brett er laget av aluminium og kan forhåndskjøles.

Lastebrettet for 72 x 0,1 ml rør (avbildet) tar 18 rørstrips samt opptil åtte 0,5 ml rør, som kan brukes til å forberede mastermix, og opptil seksten 0,2ml rør som kan brukes til å sette opp standardkurver. Fremgangsmåten nedenfor

beskriver reaksjonsoppsett ved bruk av en 72-brønners rotor. Samme fremgangsmåte kan brukes til reaksjonsoppsett ved bruk av en 36-brønners rotor og egnet tilbehør.

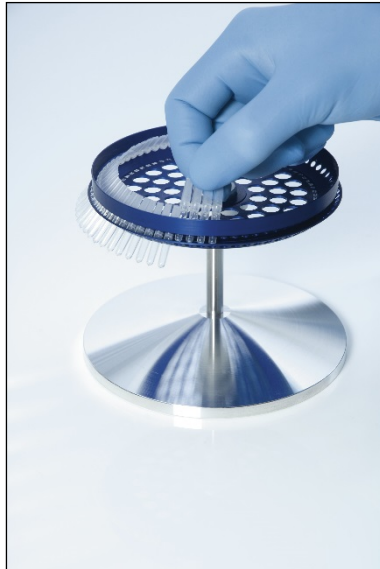
1. Plasser rørstripsene i lastebrettet og fordel reaksjonskomponentene.



2. Fest hettene godt på rørstripsene og søyе etter om forseglingen er tett.

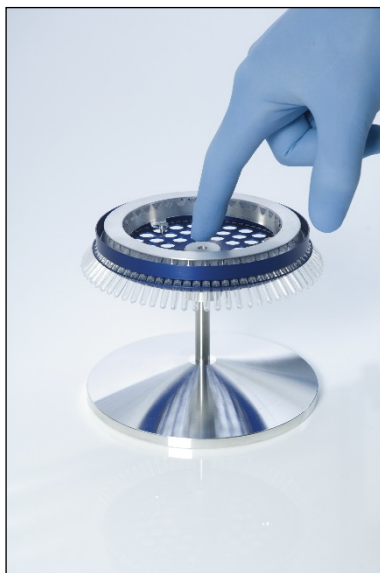


3. Sett rørstripsene i rotoren med 72 brønner, og pass på at hvert rør står på riktig plass og er plassert i riktig retning. Hvis prøvene ikke er riktig plassert i rotoren, blir de ikke optimalt justert i forhold til deteksjonssystemet. Det kan medføre redusert registrering av fluorescenssignaler og nedsatt deteksjonsfølsomhet. En rotorholder som gjør det enklere å laste rør, følger med instrumentet.



VIKTIG: For å oppnå en mest mulig jevn temperatur må alle posisjoner i rotoren inneholde et rør. Ved å fylle alle posisjoner i rotoren sikres en jevn luftstrøm til alle rørene. Ha et sett med tomme rør med hette for hånden som kan brukes til å fylle eventuelle ubrukte posisjoner.

4. Sett låseringen for rotoren med 72 brønner på den tilhørende rotoren ved å trykke de 3 tappene gjennom hullene på rotoren.
Låseringen sikrer at hettene blir sittende på rørene under kjøringen



5. Sett det ferdige brettet inn i Rotor-Gene Q MDx-kammeret ved å klikke det på plass ved hjelp av tappen på rotorfestet. Brettet fjernes enkelt ved å trykke rotorfestet nedover for å frigjøre brettet og trekke det ut.



6. Lukk lokket og angi profilen for kjøringen ved hjelp av Rotor-Gene Q-programvaren.

5.3 Oppsett av Rotor -Disc

Rotor-Disc 72 og Rotor-Disc 100 har henholdsvis 72 og 100 brønner i én enkelt plate utformet for høy arbeidsbelastning. Rotor-Disc 72 og Rotor-Disc 100 bruker ikke hetter. I stedet legges en Rotor-Disc varmeforseglingsfilm over rørene, som varmeforsegles med en Rotor-Disc-varmeforsegler. Filmen hindrer kontaminering ved å skape en sterk og holdbar forsegling som ikke kan tukles med. Fremgangsmåten for å varmeforsegle Rotor-Disc er beskrevet nedenfor.

VIKTIG: Les produktarket som fulgte med Rotor-Disc-varmeforsegleren, før du begynner.

1. Slå på Rotor-Disc-varmeforsegleren med bryteren til venstre på enhetens bakside.
Det røde lyset "Power" (På) tennes. Rotor-Disc-varmeforsegleren bruker ca. 10 minutter på å nå driftstemperatur, og da tennes det grønne lyset "Ready" (Klar).

2. Velg permanent eller avtagbar forsegling.

Merk : Etter at Rotor-Disc-varmeforsegleren er klar til bruk, kan den trygt være påslått kontinuerlig.

3. Sett Rotor-Disc inn i Rotor-Disc-lastebrettet ved å bruke posisjon én-tappen på Rotor-Disc og rørføringshullene på Rotor-Disc-lastebrettet.
4. Klargjør reaksjoner i Rotor-Disc ved manuell pipettering eller ved bruk av et system for automatisk væskebehandling.



5. Fjern midtdelen fra ett ark med RotorDisc varmforselingsfilm ved å brette filmen forsiktig i to, klype i midten og rive delen forsiktig ut.
6. Legg filmen over RotorDisc med riktig side opp, som vist av etiketten "SIDE UP" (Denne side opp). Påse at etiketten "SIDE UP" er plassert i bunnen av RotorDisc-lastebrettet.

Hullet midt i filmen skal enkelt kunne føres over sylindere i RotorDisc-lastebrettet og legges oppå Rotor Disc.



7. Skyv det ferdige brettet inn i RotorDisc-varmforselgeren ved hjelp av styreskinnene på siden av RotorDisc-

lastebrettet. Sørg for at RotorDisc-lastebrettet er skjøvet helt inn.



8. For å aktivere forseglingsmekanismen må du først trykke ned det blå metalldekslet øverst på forsegleren og deretter skyve den svarte låsehaken bakover.



9. Når forseglingsmekanismen er senket, tennes det oransje lyset "Sealing" (Forsegler). Hvis RotorDisc-

lastebrettet ikke er i riktig posisjon, spilles det av et varselsignal.

10. Når forseglingen er ferdig, høres et uavbrutt lydsignal og det oransje ”Sealing”-lyset begynner å blinke. Trykk ned det blå dekslet for å heve og løse ut forseglingsmekanismen til utgangsstilling.
VIKTIG: Forseglingen må ikke vare lenger enn lydsignalet angir, hvis ikke kan Rotor-Disc-platen bli deformert.
Merk: For å advare deg hvis du skulle glemme å løse ut låsemekanismen, vil det blinkende ”Sealing”-lyset begynne å lyse permanent, og lydsignalet endres fra uavbrutt til pipende.
11. Skyv Rotor-Disc-lastebrettet ut av Rotor-Disc-varmeforsegleren. La filmen avkjøles i ca. 10 sekunder. Fjern overflødig film ved å skyve nedover til den løsner. Ikke dra overflødig film oppover.
12. Fjern Rotor-Disc fra Rotor-Disc-lastebrettet.
13. Last Rotor-Disc-platen i rotoren og bruk tappen som markerer posisjon én, som veiledning til riktig plassering.

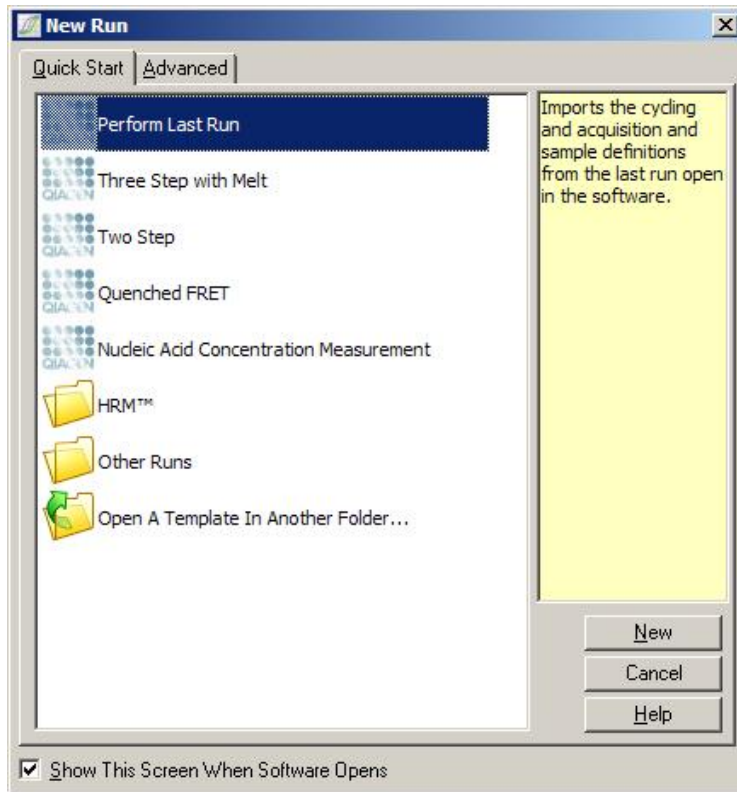
6 Driftsprosedyrer — Programvare

Nye kjøringar kan settes opp med hurtigveiviseren eller den avanserte veiviseren som vises når programvaren starter. Hurtigveiviseren er utformet slik at brukere kan starte kjøringar så raskt som mulig. Den avanserte veiviseren har flere alternativer, som konfigurering av optimalisert økning og voluminnstillingar. For enkelhets skyld inneholder veiviserne en rekke maler med standard syklerforhold og innsamlingskanalar. Hvis du vil endre veiviserstype, bytter du fane øverst i vinduet "New Run" (Ny kjøring).

6.1 Hurtigveiviser

Hurtigveiviseren lar brukeren starte kjøringen så raskt som mulig. Brukeren kan velge fra et sett med ofte brukte maler og legge inn et minimum med parametrar for å komme i gang. Hurtigveiviseren forutsetter at reaksjonsvolumet er 25 µl. Andre reaksjonsvolumer krever at du bruker den avanserte veiviseren (se avsnitt 6.2).

Som første trinn velger du ønsket mal for kjøringen ved å dobbeltklikke på malen i listen i vinduet "New Run".



”Perform Last Run” Dette alternativet bruker definisjonene (Utfør siste kjøring): for syklus, innsamling og prøver fra siste kjøring som var åpen i programvaren.

”Three Step with Melt” Dette er en tretrinns syklusprofil og en (Tre trinn med smelting): smeltekurve med datainnsamling i grønn kanal.

”Two Step” (To trinn): Dette er en totrinns syklusprofil med datainnsamling i grønn, gul, oransje og rød kanal.

"Quenched FRET": Dette er en tretrinns syklusprofil og en smeltekurve. I motsetning til "Three Step with Melt" skjer innsamlingen mot slutten av annealing-trinnet.

"Nucleic Acid Concentration Measurement" (Konsentrasjonsmåling av nukleinsyre): Dette er en standardmal for å måle konsentrasjon av nukleinsyre ved hjelp av interkalerende fargestoff.

"HRM": Denne mappen inneholder High Resolution Meltprofiler.

"Other Runs" (Andre kjøring): Denne mappen inneholder ekstra profiler.

Syklus og innsamlingsprofilene for alle maler kan endres med veiviseren.

Merk : Du kan legge til brukerdefinerte maler i mallisten i hurtigveiviseren ved å kopiere eller lagre*.ret -filer i C:\Programfiler \Rotor-Gene Q

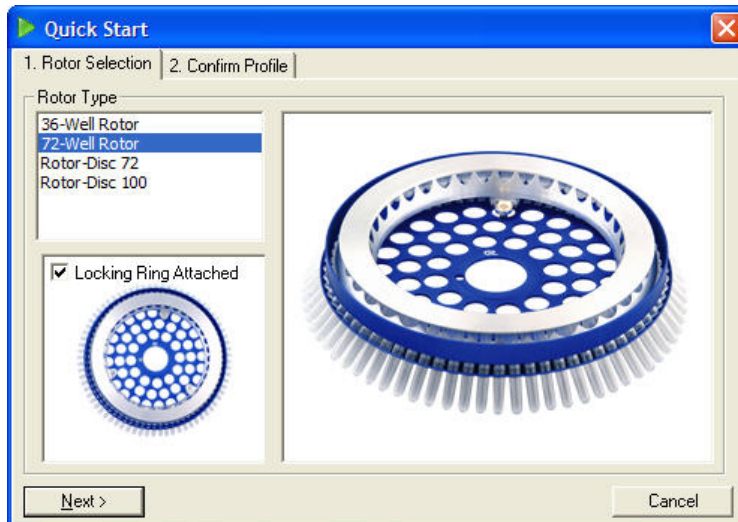
Software\Templates\Quick Start Templates . Når du har kopiert en fil til denne mappen, vises den som et ikon på listen. Hvis du vil lage et egendefinert ikon for malene dine, oppretter du et *.ico -bilde med samme filnavn som malen.

Du kan lage undermapper for å gruppere maler. En slik organisering av maler kan være nyttig hvis for eksempel flere brukere benytter samme instrument.

6.1.1 Velge rotor

I neste vindu velger du rotortypen fra listen.

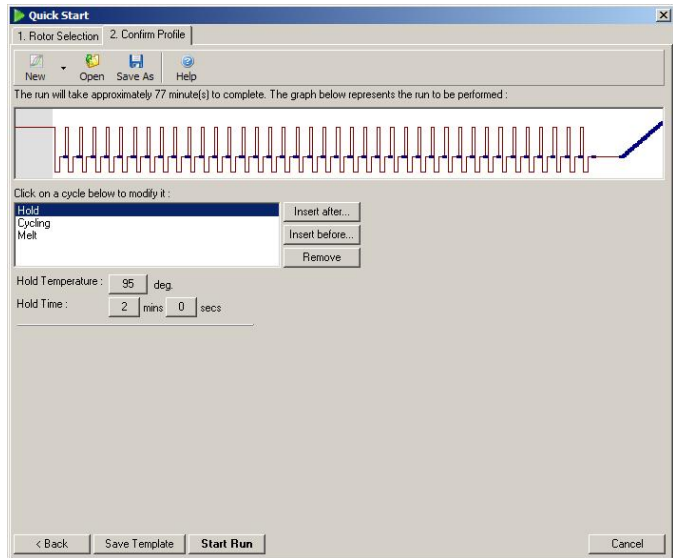
Merk av i ruten for "Locking Ring Attached" (Låsering f etet) og klikk på "Next" (Neste).



6.1.2 Bekrefte profil

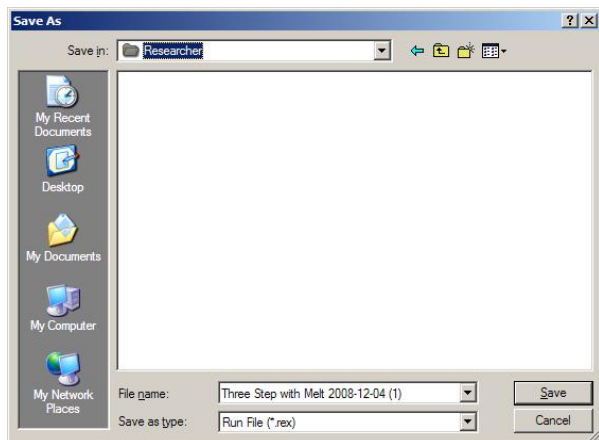
Syklusforholdene og innsamlingskanalene i den valgte malen importereres. Du kan endre disse i vinduet "Edit Profile" (Rediger profil) (se avsnitt 6.2.4).

Klikk på knappen "Start Run" (Start kjøring) for   starte kjøringen. Du kan også lagre malen f r du starter kjøringen, ved   klikke på "Save Template" (Lagre mal).



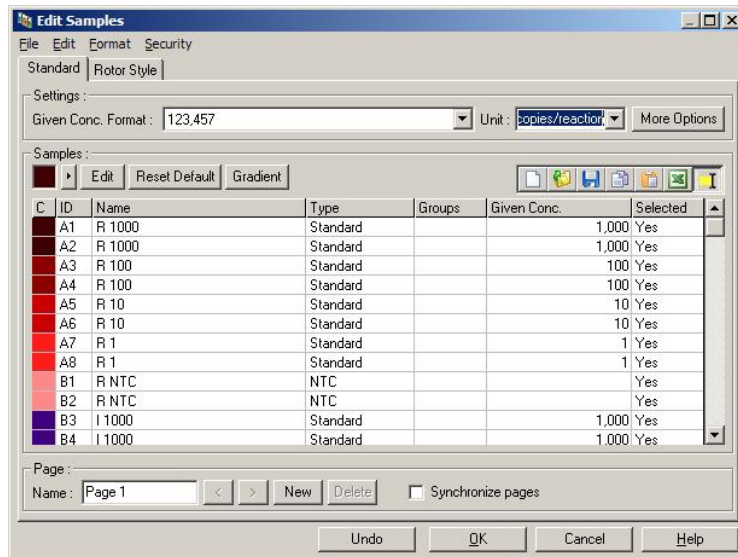
6.1.3 Lagre kjøring

Når du har klikket på knappen "Start Run", vises vinduet "Save As" (Lagre som). Kjøringen kan lagres der brukeren ønsker. Kjøringen gis et filnavn som består av malen og datoen for kjøringen. Et serienummer (1, 2 osv.) legges også til i filnavnet for kunne gi navn automatisk til flere kjøringar som bruker samme mal på samme dag.



6.1.4 Oppsett av prøver

Når kjøringen har startet, kan du bruke vinduet "Edit Samples" (Rediger prøver) til å definere og beskrive prøver.

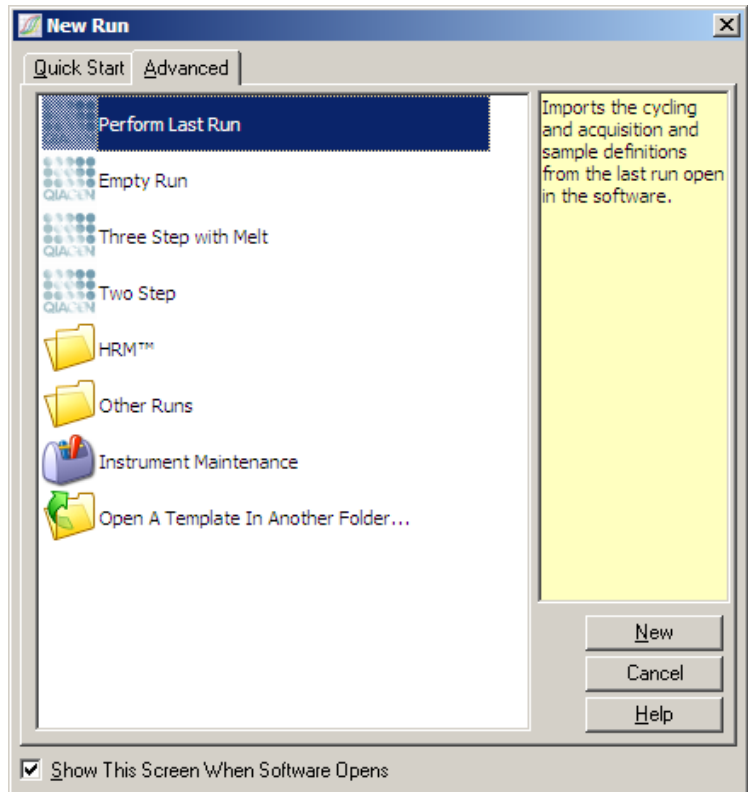


"Edit Samples"-vinduet vises etter at kjøringen har startet slik at brukeren kan bruke denne tiden til å angi prøvenavn. Hvis prøvenavnene legges inn svært hurtig under kjøringen (for eksempel ved bruk av strekkodeleser), kan det føre til omstokking av bokstaver i prøvenavnene. Derfor anbefales det å unngå bruk av strekkodeleser, og ved behov heller skrive inn prøvenavnene når kjøringen er fullført. For mer informasjon om oppsett av prøvedefinisjoner i "Edit Samples"-vinduet, se avsnitt 7.8.4.

6.2 Avansert veiviser

Den avanserte veiviseren har flere alternativer som ikke er tilgjengelige i hurtigveiviseren, som konfigurering av optimalisert økning.

Hvis du vil bruke den avanserte veiviseren, velger du en mal ved å dobbeltklikke på malnavnet i listen på fanen "Advanced" (Avansert) i vinduet "New Run".



Alternativene for maler i dette vinduet ligner på de som er tilgjengelige når du bruker hurtigveviseren (avsnitt 6.1).

- ”Perform Last Run”: Dette alternativet importerer definisjonene for syklus, innsamling og prøver fra siste kjøring som var åpen i programvaren.
- ”Empty Run” (Tom kjøring): Dette er en tom kjøring der brukeren kan definere alle parametrene i profilen.
- ”Three Step with Melt”: Dette er en tretrinns syklusprofil og en smeltekurve med datainnsamling i grønn kanal.

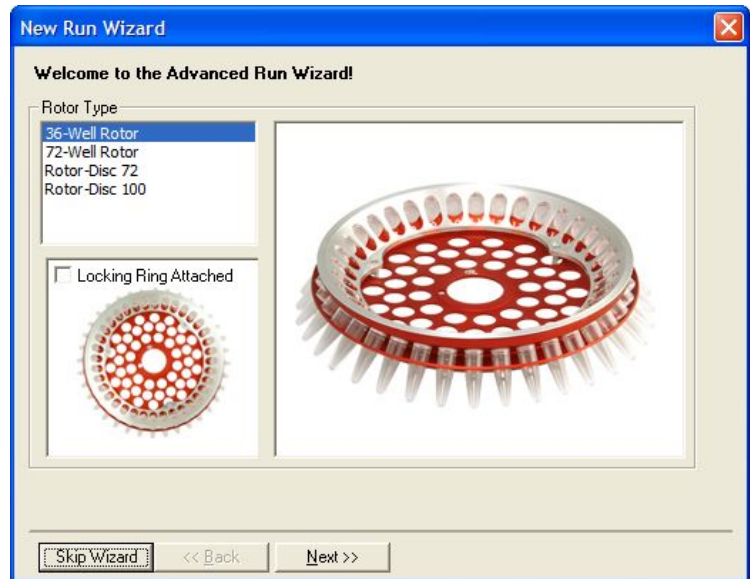
"Two Step":	Dette er en totrinns syklusprofil med datainnsamling kun i grønn kanal, for å øke hastigheten på kjøringen.
"HRM":	Denne mappen inneholder 2 High Resolution Meltp profiler.
"Other Runs":	Denne mappen inneholder ekstra profiler.
"Instrument Maintenance"	Dette inneholder malen som brukes under optisk temperaturverifisering (Instrumentvedlikehold)(OTV). For mer informasjon, se avsnitt 10. Denne malen er låst for å sikre at profilen alltid fungerer på riktig måte.

Merk : Du kan legge til brukerdefinerte maler i mallisten ved å kopiere eller lagre *.ret -filer i C:\Programfiler \Rotor-Gene Q Software \Templates \. Når du har kopiert en fil til denne mappen, vises den som et ikon på listen.

6.2.1 Veiviser for ny kjøring, vindu 1

I neste vindu velger du rotortypen fra listen.

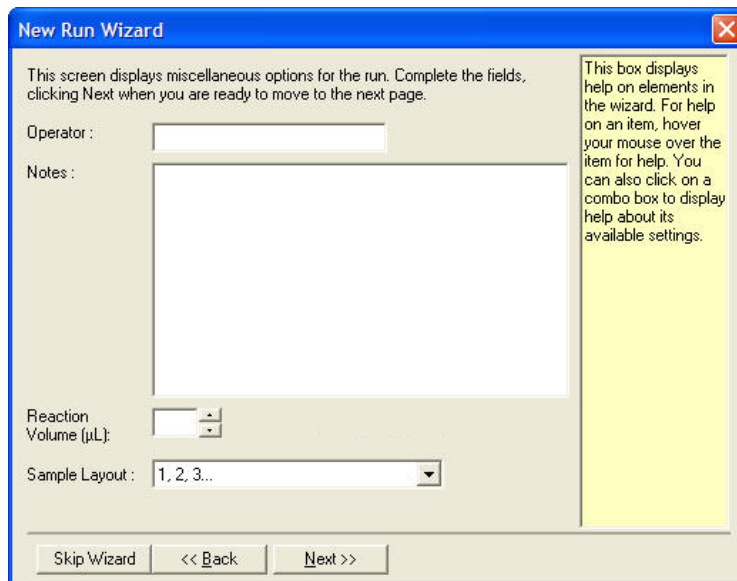
Merk av i ruten for "Locking Ring Attached" og klikk på "Next" for å fortsette.



6.2.2 Veiviser for ny kjøring, vindu 2

I neste vindu kan du legge inn brukernavn og merknader om kjøringen. Reaksjonsvolumet må også angis.

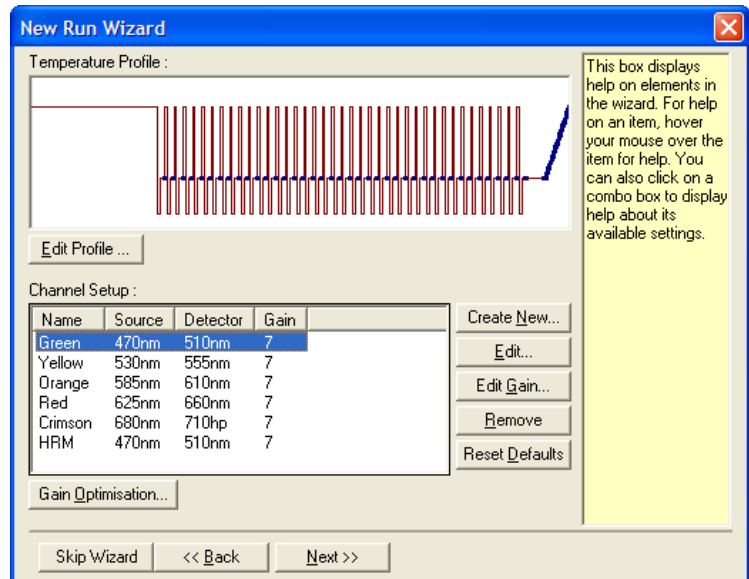
Hvis du valgte 72-brønners rotor i vindu 1, får du tre alternativer for "Sample Layout" (Prøvelayout) i nedtrekksmenyen. "1, 2, 3..." er standardinnstilling. De fleste brukere velger denne innstillingen. "1A, 1B, 1C..." bør velges når prøvene lastes i tilstøtende 0,1ml rørstrips ved hjelp av en flerkanals pipette med 8 kanaler. Layouten "A1, A2, A3..." brukes når det er hensiktsmessig.



6.2.3 Veiviser for ny kjøring, vindu 3

I dette vinduet kan du endre "Temperature Profile" (Temperaturprofil) og "Channel Setup" (Kanaloppsett). Hvis du klikker på knappen "Edit Profile...", vises vinduet "Edit Profile" hvor du kan endre syklusforhold og velge innsamlingskanaler (avsnitt 6.2.4).

Når du er ferdig med profiloppsettet, klikker du på knappen "Gain Optimisation..." (Optimalisering av økning) for å åpne vinduet "Gain Optimisation" (se side 6-23).



6.2.4 Redigere en profil

I vinduet "Edit Profile" kan du angi syklusforholdene og innsamlingskanalene. Profilen som vises innledningsvis, er basert på malen som ble valgt under oppsettet av kjøringen (se side 6-1). Profilen vises grafisk. Listen over segmentene i profilene vises under grafikken. Listen kan blant annet omfatte "Hold" (Holde) (side 6-12), "Cycling" (Sykluser) (side 6-13), "Melt" (Smelting) (side 6-16) eller "HRM" hvis instrumentet har en HRMkanal (side 6-17).

Hvert stadium i profilen kan redigeres ved å klikke på det aktuelle området i grafikken eller på navnet i listen, og deretter endre innstillingene som vises.

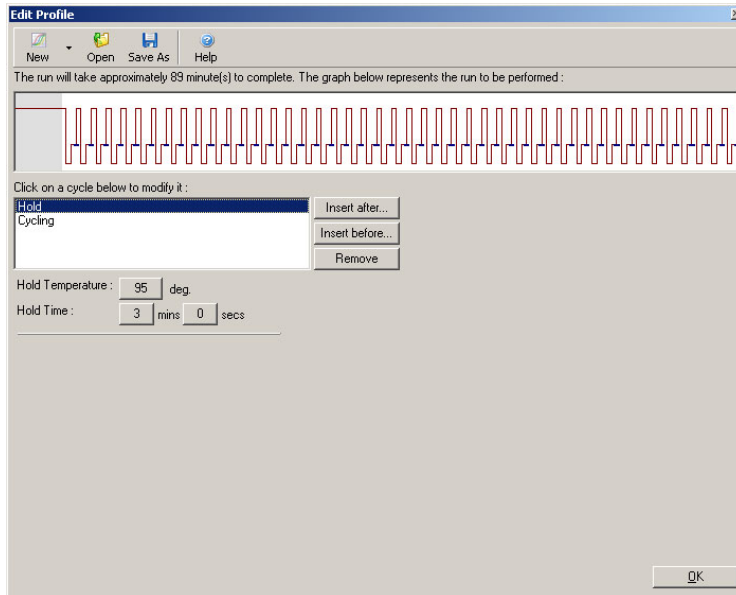
"Insert after..." Med dette alternativet kan du sette inn en (Sett inn etter...): ny syklus etter valgt syklus.

"Insert before..." Med dette alternativet kan du sette inn en (Sett inn før...): ny syklus før valgt syklus.

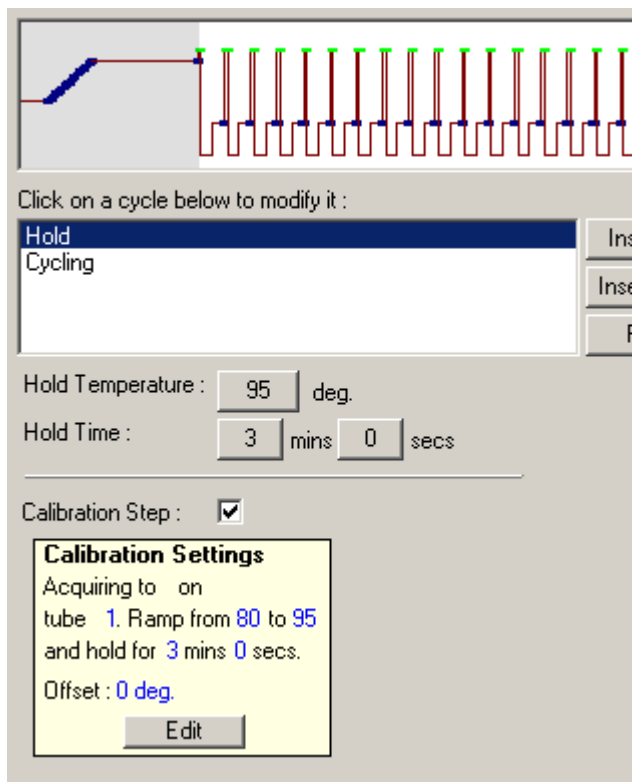
"Remove" (Fjern): Fjerner valgt syklus fra profilen.

Holde

En holde-kommando forteller Rotor-Gene Q MDx at den skal forbli ved angitt temperatur i et gitt tidsrom. Hvis du vil endre temperaturen, klikker du på knappen "Hold Temperature" (Holdetemperatur) og skriver inn eller bruker glidebryteren for å velge ønsket temperatur. Hvis du vil endre holdevarigheten, klikker du på knappene "Hold Time" (Holdetid), "mins" (minutter) og "secs" (sekunder).



Hvis du utfører sykluser med optisk denaturering, kan holding brukes som et kalibreringstrinn. I så fall utføres det en kalibreringssmelting før holdingen. Som standarder dette konfigurert for den første holdingen i kjøringen, men kan endres ved behov.



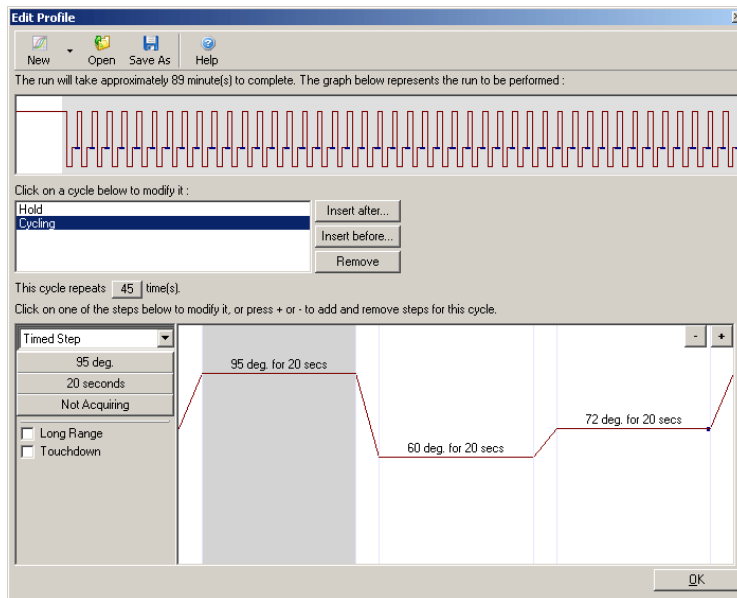
For mer informasjon om sykluser med optisk denaturering, se side 6-17.

Sykluser

Sykluser repeterer de brukerdefinerte temperaturog tidsinnstillingene et gitt antall ganger. Antall repetisjoner stilles inn med knappen "This cycle repeats X time(s)." (Denne syklusen repeteres X gang(er)).

Det vises én syklus grafisk (som vist i skjermbildet nedenfor). Hvert trinn i syklusen kan endres. Temperaturen kan endres ved å dra temperaturstrecken i grafen opp eller ned. Trinnets varighet kan endres ved å dra temperaturskillet i grafen mot venstre eller høyre. Endringene kan også utføres ved å klikke på trinnet og bruke knappene for temperatur og tid til venstre for grafen.

Trinn kan legges til eller fjernes fra syklusen med knappene ”-” og ”+” øverst til høyre i grafen.



”Long Range”
(Langt hold):

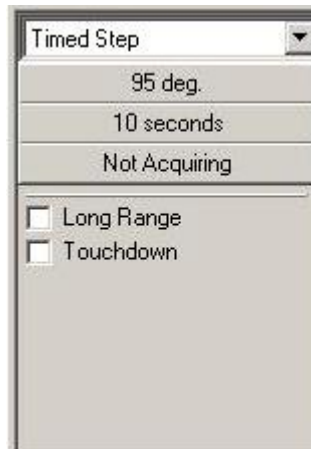
Merk av for dette for å øke holdetiden for det valgte trinnet med ett sekund for hver ny syklus.

”Touchdown”
(Landing):

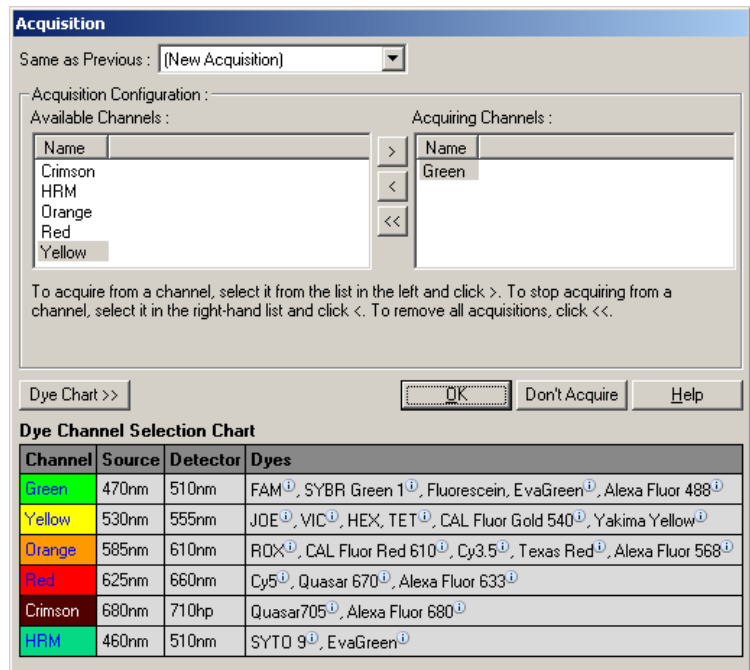
Merk av for dette for å senke temperaturen med et angitt antall grader for et angitt antall innledende sykluser. Dette gjenspeiles i displayet.

Innsamling




Data kan innsamles i alle kanaler i alle syklustrinn. For å angi at en kanal skal innsamle data klikker du på knappen ”Not Acquiring” (Ingen innsamling) (hvis du allerede har angitt at en kanal skal innsamle data i dette trinnet, vises innsamlingskanalene her).



Når du har klikket på knappen "Not Acquiring", vises vinduet "Acquisition" (Innsamling).



For å angi at en kanal skal innsamle data velger du kanalen og flytter den fra listen "Available Channels" (Tilgjengelige

kanaler) til listen "Acquiring Channels" (Innsamlende kanaler) ved hjelp av -knappen. For å fjerne en valgt kanal fra listen "Acquiring Channels" bruker du -knappen. -knappen fjerner alle kanalene fra listen "Acquiring Channels". Du kan også klikke på knappen "Don't Acquire" (Ikke samle inn) for å fjerne alle innsamlinger fra trinnet.

Hvis profilen inneholder mer enn én syklussekvens, kan de innsamlede dataene legges til dataene som ble innsamlet i de tidligere syklusene. Bruk nedtrekksmenyen "Same as Previous" (Samme som forrige) for å velge hvilket syklustrinn dataene skal legges til.

Tabellen "Dye Channel Selection Chart" (Tabell for valg av fargestoff og kanal) hjelper brukeren å bestemme hvilken kanal som er egnet til fargestoffet som skal brukes. Fargestoffene i tabellen er de som vanligvis brukes, og er ikke en indikasjon på instrumentets begrensninger.

Innsamlingsalternativene beskrevet ovenfor gjelder også trinnene i "Melt", med unntak av at det ikke er mulig å legge til innsamlede data ved hjelp av menyen "Same as Previous".

Smelting og hybridisering

En smelting er en stigning mellom 2 temperaturer, fra en lavere til en høyere temperatur. Tillatt temperaturområde er 35–99 °C.

For å sette opp en smelting må du angi starttemperaturen, sluttemperaturen, temperaturøkningene, hvor lenge den første innsamlingstemperaturen skal holdes før stigningen innledes, hvor lenge hver økning skal holdes samt innsamlingskanalene.

Stigningen lages mellom de 2 temperaturene. Hvis starttemperaturen er høyere enn sluttemperaturen, endres navnet på trinnet til "Hybridisation". Alternativet "Acquiring To" (Samler inn til), angitt til "Melt A" i skjermbildet nedenfor, kan endres ved å klikke på knappen. Vinduet "Acquisition" vises og du kan velge kanalene.

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		

Når du utfører en vanlig smelting, øker temperaturen i trinn på 1 °C, og det går 5 sekunder før hver innsamling. Rotor Gene Q MDx kan konfigureres til å utføre smeltinger med økninger på 0,02 °C. Minste holdetid mellom temperaturtrinn varierer avhengig av antall grader mellom hvert trinn.

High Resolution Melt

Analysen High Resolution Melt (HRM) karakteriserer dobbeltrådede DNA-prøver basert på hvordan de separeres (smelter). Det kan minne om den klassiske smeltekurveanalysen, men gir langt mer informasjon til flere bruksområder. Prøver kan skilles fra hverandre etter sekvens, lengde, GC-innhold eller trådenes komplementaritet, helt ned til endringer i enkelte basepar.

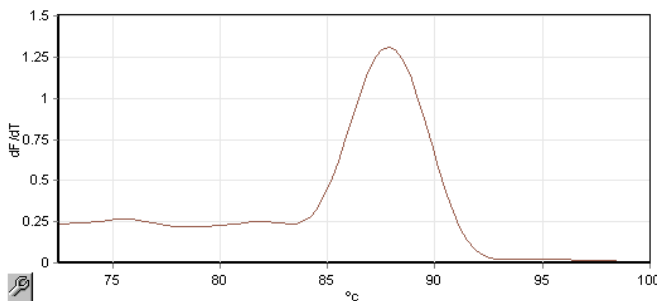
HRM-analyse kan kun utføres med instrumenter hvor HRM maskinvare og -programvare er installert. Data innsamles med spesialiserte HRMkilder og -detektorer. HRManalyse omfatter også muligheten til å utføre optimalisering av økning rett før smeltingen begynner. Etter en HRM kan dataene analyseres med programvare for HRManalyse (avsnitt 11).

Sykluser med optisk denaturering

Sykluser med optisk denaturering er en spennende teknikk, tilgjengelig på Rotor-Gene Q MDx, som utfører sanntids smelteanalyse for å bestemme smeltetoppunktet for en referanseprøve. Dette gir denaturering av PCR-produkt med høyere presisjon enn når det angis en særskilt denatureringstemperatur for en holdetid. For å utføre denne teknikken plasserer du ganske enkelt et referanserør med

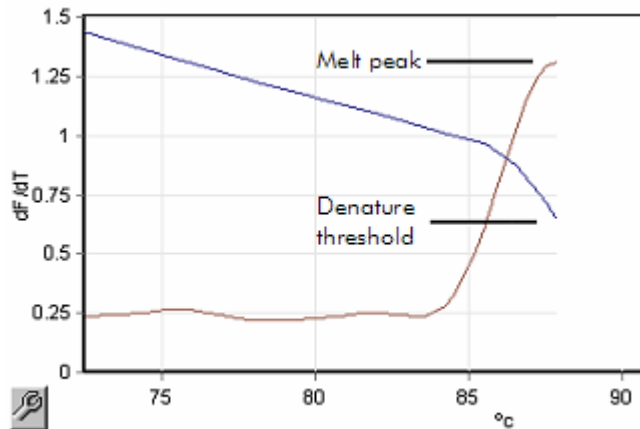
PCRprodukt i posisjon 1 i rotoren. Referanserøret må dessuten inneholde deteksjonskjemisom muliggjør deteksjon av separate tråder.

Under oppvarmingen til den innledende denatureringstemperaturen utføres det som standard en smelting i den grønne kanalen fra 80 °C til 95 °C. Parametrene for den innledende smeltingen kan justeres av brukeren. På grunnlag av disse dataene blir det automatisk laget en smeltekurve som analyseres.



Smelte-toppunktet sammenstilles med rådataene for å utlede en terskelverdi for denaturering. I hvert påfølgende trinn av syklusene med optisk denaturering varmes instrumentet opp så raskt som mulig, og data innsamles kontinuerlig. Når referanserøret når fluorescensnivået for terskelverdien for denaturering, kjøles instrumentet umiddelbart ned og fortsetter med neste programmerte trinn i syklusen. Det beregnes ikke noe toppunkt under syklusene. I stedet blir fluorescensnivået sammenstilt med smelte-toppunktet, og dette gir terskelverdien for denaturering.

I følgende graf er målingene for rå fluorescensdata og førstederiverte lagt over hverandre. Dette viser sammenhengen mellom terskelverdien for denaturering og smelte-toppunktet som ble funnet under kalibreringen.



For å utføre sykluser med optisk denaturering trenger du følgende:

- Et preamplifisert PCR-produkt som plasseres i posisjon 1 i rotoren. Denne prøven bør inneholde samme PCR-produkt som de aktuelle prøvene og deteksjonskjemi for å overvåke separasjonen av PCR-produkt.
- En profil for optisk denaturering. Du kan lage en ny profil eller redigere en eksisterende (se forklaring nedenfor).

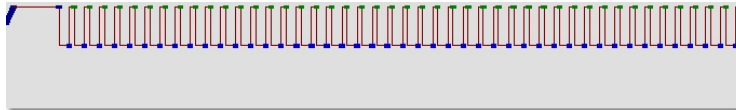
En syklus med optisk denaturering kan virke nesten identisk med andre sykluser. Hovedforskjellene er smeltrinnene som settes inn automatisk i begynnelsen av profilen, og den skarpe profilen til denatureringstrinnet under syklusene. Syklusen med optisk denaturering krever ikke definerte holdetider siden separasjonen av produktet overvåkes i hver enkelt syklus.

For å utføre denne teknikken kreves følgende informasjon om kjøringen:


- Den innledende denatureringstemperaturen. Dette er samme temperatur som denatureringstrinnet i en standard syklusprofil.
- Rørposisjonen til PCR-prøven som vil produsere en smeltekurve i den grønne kanalen.
- En profil for optisk denaturering må være definert.

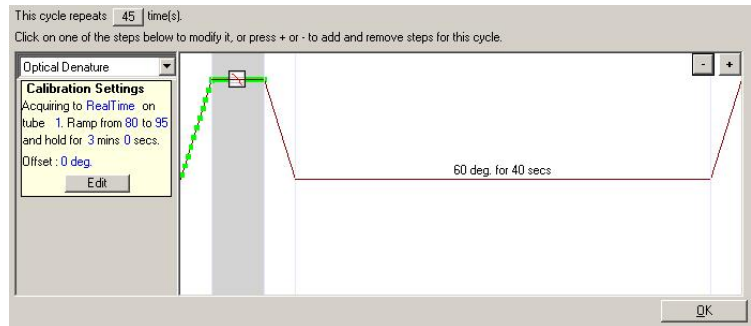
Opprett en ny profil for optisk denaturering på følgende måte:

1. Åpne vinduet "Edit profile". Klikk på "New" (Ny). I vinduet som vises, klikker du på knappen "Insert after" og velger "New Cycling" (Nye sykluser) fra menyen. Velg ett av temperaturtrinnene ved å klikke på grafen. I nedtrekksmenyen endrer du "Timed Step" (Tidsbestemt trinn) til "Optical Denature" (Optisk denaturering). En standardprofil som inneholder et trinn for denaturering og et trinn for syklus med optisk denaturering, vises.

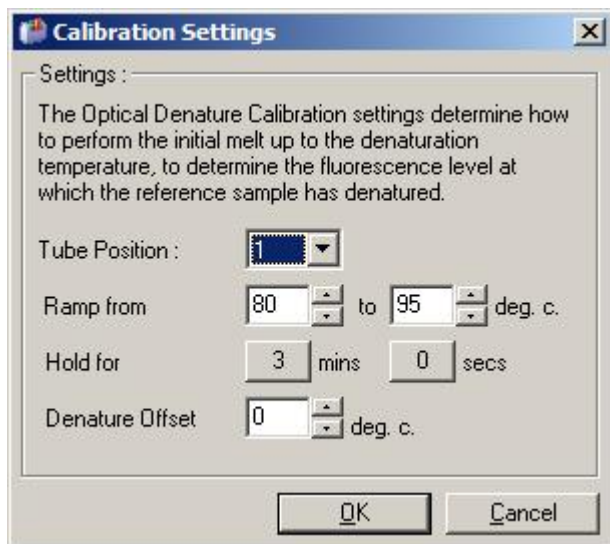


Området i begynnelsen av kjøringen representerer kalibreringsprosessen. De grønne prikkene representerer innsamlingene som tas i hver syklus under oppvarming. De blå prikkene representerer innsamlingen på slutten av anneal-trinnet ved 60 °C. Vær oppmerksom på at selv om profilen viser hvert trinn med samme denatureringstemperatur, er dette kanskje ikke tilfelle. Hvis prøven trenger noe lenger tid på å smelte mot slutten av kjøringen, venter den optiske denatureringsprosessen på smeltingen i henhold til fluorescensdataene, ikke i henhold til tid. Av den grunn kan temperatursporet variere for hver syklus.

2. Klikk på første halvdel av grafen med symbolet for optisk denaturering . Opplysningene "Calibration Settings" (Kalibreringsinnstillinger) vises til venstre i skjermbildet.



- Opplysningene i "Calibration Settings" er vanligvis riktig. De kan eventuelt endres ved å klikke på "Edit" (Rediger). Vinduet "Calibration Settings" vises.



- Kontroller følgende:
 - Røret som er angitt i "Tube Position" (Rørposisjon), må inneholde et PCR-produkt som kommer til å vise et smelte-toppunkt i den grønne kanalen.
 - Den øverste temperaturen i stigningen må ikke føre til at prøven blir brent, men være høy nok til at den smelter.
 - Holdetiden må være tilstrekkelig til å denaturere prøven.

- Denaturerings-offset må være riktig innstilt. Standardverdien 0 °C er egnet for de fleste smeltinger. Smeltinger med svært raske overganger kan kreve en denaturerings-offset på -0,5 °C til -2 °C, angitt av brukeren, for å sikre at smelteovergangen blir oppdaget.

Du kan også definere et denatureringstrinn ved å innføre et nytt holdetrinn. Klikk på "Insert before" og velg "New Hold at Temperature" (Ny holding ved temperatur) fra menyen. Kalibreringsinnstillingene vises.

Hold Temperature : 95 deg.
Hold Time : 3 mins 0 secs

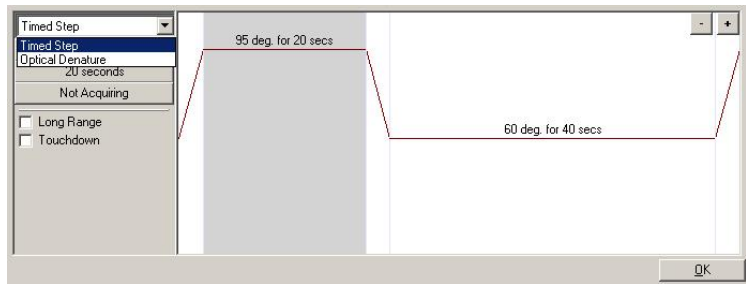
Calibration Step :


Calibration Settings
Acquiring to RealTime on
tube 1. Ramp from 80 to 95
and hold for 3 mins 0 secs.
Offset : 0 deg.
Edit

Kalibreringsinnstillingene er synkronisert med denatureringsinnstillingene, slik at en endring i holdetiden i denatureringstrinnet automatisk vil oppdatere holdetiden under kalibrering. Dette skyldes at kalibreringsprosessen og denatureringen er ekvivalente i sykluser med optisk denaturering.

Endre et eksisterende trinn til å bruke sykluser med optisk denaturering

For å endre et eksisterende denatureringstrinn i en syklussekvens, velger du syklusen på listen i vinduet "Edit Profile". Velg deretter denatureringstrinnet ved å klikke på det i visningen.



Klikk på nedtrekksmenyen og velg "Optical Denature". Temperaturen og holdetiden fjernes, og ikonet "Optical Denature"  vises.

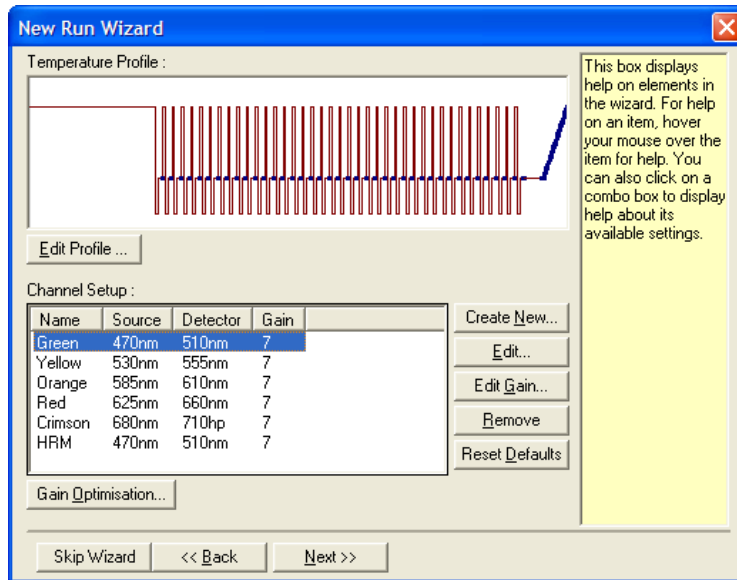
Optimalisering av økning

Når du setter opp en ny kjøring, kan det være nyttig å bruke funksjonen "Gain Optimisation". På denne måten kan du optimalisere økningen til en innstilling som vil gi ønsket rekkevidde for innledende fluorescens ved en gitt temperatur (som regel temperaturen der datainnsamling skjer) i hver av kanalene med innsamling. Målet med økning av optimalisering er å sikre at alle data innsamles innenfor detektorens dynamiske rekkevidde. Hvis økningen er for lav, forsvinner signalet i bakgrunnsstøyen. Hvis det er for høyt, forsvinner signalet helt utenfor skalaen (metning).

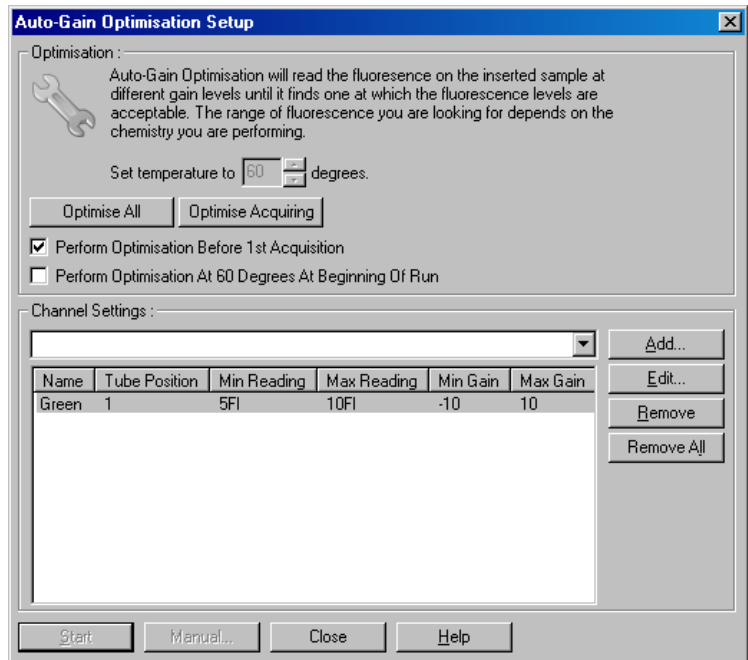
Økningsområdet for hver kanal er -10 til 10 , der -10 er minst sensitiv og 10 er mest sensitiv.

Når du kjører reaksjoner for første gang, anbefaler vi at du klargjør en testprøve der alle reaksjonskomponenter inngår. Sett testprøven i RotøGene Q MDx og bruk optimalisering av økning for å bestemme beste innstilling for økning. Hvis økningen som angis for optimalisering fører til et dårlig signal, bør verdien i "Target Sample Range" (Måltrekkvidde for prøve) økes. Hvis det fører til et signal som er mettet, bør verdien i "Target Sample Range" reduseres.

For å utføre optimalisering av økning klikker du på knappen "Gain Optimisation..." i veiviseren for ny kjøring, vindu 3 (se avsnitt 6.2.3).



Vinduet "Auto-Gain Optimisation Setup" (Oppsett av optimalisering av automatisk økning) vises. Dette vinduet muliggjør optimalisering gjennom automatisk justering av innstillingene for økning inntil målingene for alle valgte kanaler faller innenfor eller under visse grenseverdier.

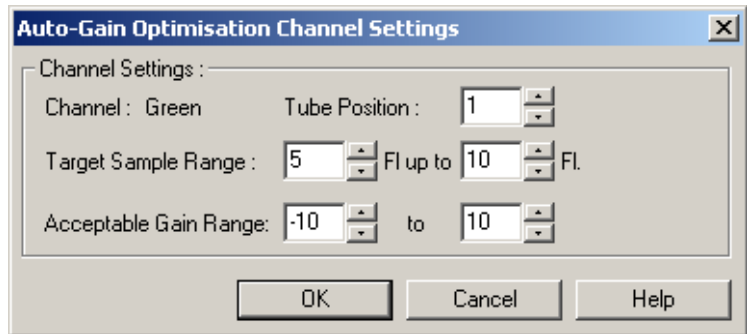


"Set temperature to" (Still inn temperatur på): Før måling blir Rotor-Gene Q MDx varmet opp eller nedkjølt til angitt temperatur. Standardverdien for dette er innsamlingstemperaturen.

"Optimise All" (Optimaliser alle) / "Optimise Acquiring" (Optimaliser innsamlende): "Optimise All" vil forsøke å optimalisere alle kanalene programvaren kjenner til. "Optimise Acquiring" vil kun optimalisere kanalene som brukes i den termiske profilen som er definert i kjøringen (sykluser og smelting).

"Perform Optimisation Before 1st Acquisition" (Utfør optimalisering før 1. innsamling): Merk av for dette for å utføre optimalisering av økning i første syklus med datainnsamling. Dette anbefales for optimalisering av automatisk økning.

- "Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run" (Utfør optimalisering ved [x] grader i begynnelsen av kjøring): Merk av for dette for å utføre optimalisering av økning like før kjøringen starter. RotorGene Q MDx varmes opp til angitt temperatur, deretter begynner syklusene med første trinn, som regel denaturering. Dette alternativet kan velges hvis optimalisering av økning under kjøring vil føre til at det brukes for mye tid på det innledende trinnet. Vanligvis foretrekkes "Perform Optimisation Before 1st Acquisition" fordi optimalisering av økning da utføres så nær kjøreforholdene som mulig.
- "Channel Settings" (Kanalinnstillinger): Med denne nedtrekksmenyen kan du legge til kanaler. Velg ønsket kanal og klikk på "Add" (Legg til).
- "Edit...": Dette åpner et vindu der "Target Sample Range" kan stilles inn. "Target Sample Range" er rekkevidden for innledende fluorescens som bør stilles inn for prøven det angitte røret. Optimalisering av automatisk økning leser av hverkanal ved hjelp av økningsinnstillinger i området angitt av "Acceptable Gain Range" (Akseptabel rekkevidde for økning). Den velger den første økningsinnstillingen som gir en fluorescensmåling innenfor "Target Sample Range". I eksemplet som vises, søker optimalisering av automatisk økning etter en økningsinnstilling på mellom -10 og 10 som gir en måling på mellom 5 og 10 FI i rør 1. For interkalerende fargestoff er en "Target Sample Range" på 1-3 FI generelt sett passende, mens en rekkevidde på 5-10 FI er mer egnet ved probekjemi.



"Remove" /
"Remove All"
(Fjern alle):

"Remove" fjerner merket kanal. "Remove All" fjerner alle kanaler.

"Start":

"Start" begynner optimalisering av økning. Det velges en økning som fører til fluorescenssignaler med nivåer som er innenfor den angitte rekkevidden. Hvis fluorescensen faller utenfor den angitte rekkevidden, stilles økningen inn for å oppnå noe som er mest mulig likt.

"Manual"
(Manuell):

Dette åpner vinduet "Manual Gain Adjustment" (Manuell justering av økning) (se side6-28).

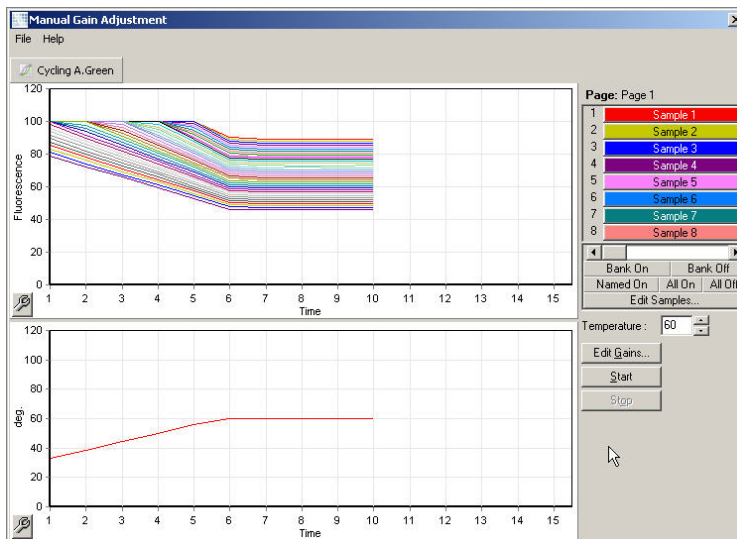
"Changing Gain
During a Run"
(Endre økning
under en
kjøring):

Hvis økningen i begynnelsen av kjøringen var for høy eller lav, kan den endres i løpet av de første ti syklusene. En loddrett strek markerer hvor økningen er endret. Syklusene forut for endringen ekskluderes fra analysen.

Merk : Optimalisering av økning kan velge en innstilling som ikke faller innenfor angitt rekkevidde. Dette kan skyldes endringer i fluorescens etter første holdetrinn. Optimalisering av økning gir likevel et resultat som er en god indikasjon på hvilket fluorescensnivå kjøringen vil starte på.

Manuell justering av økning

For å utføre en manuell justering av økning klikker du på "Manual..." i vinduet "Auto -Gain Optimisation Setup". Vinduet "Manual Gain Adjustment" vises. I dette vinduet vises fluorescensmålingene for en hvilken som helst gitt temperatur i sanntid. Dette brukes nå bakgrunnen til en prøve er ukjent og økningen derfor må bestemmes for å sikre at prøvesignalet er tilstrekkelig for deteksjon.



Som standard vises alle prøver i dette displayet. Prøver kan fjernes fra eller legges til i displayet ved hjelp av velgeretill høyre. Velgeren består av fargede celler, der hver enkelt celle tilsvarer en prøve i displayet. Prøver som har sterk celfarge, vises i displayet, mens prøver med nedtonet celfarge, ikke vises. Prøver kan slås av eller på ved å klikke på cellen eller ved å dra musepekeren over flere celler samtidig.

Vi anbefaler at manuell justering av økning utføres på følgende måte:

1. Juster temperaturen i vinduet "Manual Gain Adjustment" til innsamlings temperaturen for kjøringen.

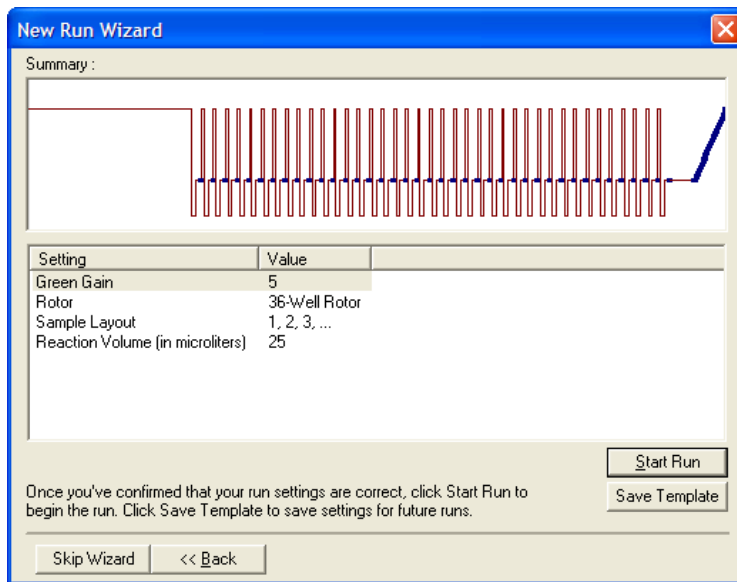
Merk : Temperaturen vil ikke bli justert mens RotorGene Q MDx er i bruk. Start RotorGene Q MDx på nytt for å ta i bruk temperaturendringene.

2. Klikk på "Start". Kjøringen starter. RotorGene Q MDx-temperaturen justeres til temperaturen angitt i vinduet. Grafene i vinduet begynner å vise data
3. Vent til temperaturen stabiliserer seg.
4. Noter målingen for fluorescens ved endepunktet (FI).
5. Hvis FI-målingen ikke har det nødvendige nivået, klikker du på "Edit Gains..." (Rediger økninger...) og redigerer etter behov. Prosessen vil kanskje ikke være umiddelbar, ettersom RotorGene Q MDx bruker ~4 sekunder på å samle hvert punkt i kanalen, og i dette tidsrommet er brukergrensesnittet deaktivert.
6. Gjenta prosessen til FI er på ønsket nivå.
7. Klikk på "Stop" (Stopp). Hvis en kjøring fortsatt samler inn data når du klikker på "Stop"-knappen, gjør RotorGene Q MDx seg ferdig med innsamlingen først og stopper etterpå. Denne prosessen kan ta inntil 5 sekunder for hver innsamlingskanal.

6.2.5 Veiviser for ny kjøring, vindu 4

Dette vinduet oppsummerer kjøringen. Kontroller parametrene, og hvis de stemmer, klikker du på "Start Run". Du vil bli bedt om et filnavn. Du kan også lagre

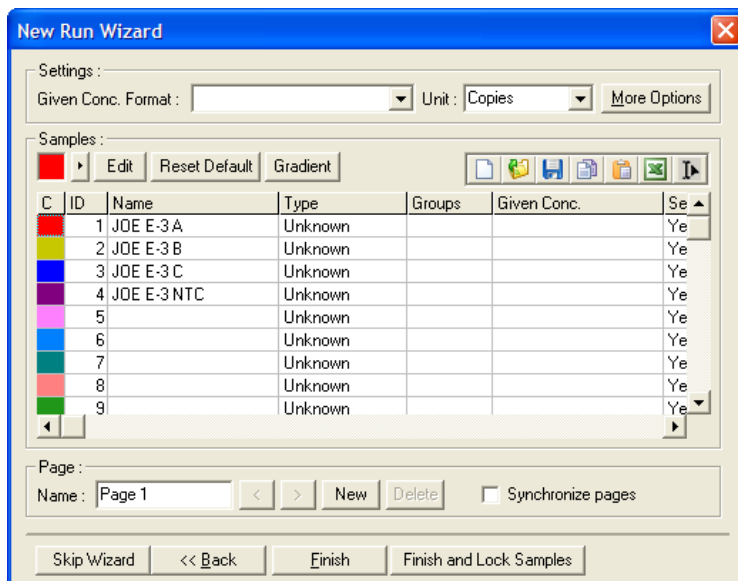
kjøreinstillingene som en mal for fremtidige kjøring ved å bruke knappen "Save Template".



6.2.6 Veiviser for ny kjøring, vindu 5

I dette vinduet kan du legge inn prøvetyper og beskrivelser mens kjøringen pågår. Funksjonaliteten i dette vinduet er identisk med vinduet "Edit Samples" (side 7-77). Du kan også legge inn informasjon om prøvene etter at kjøringen er ferdig.

Knappen "Finish and Lock Samples" (Fullfør og lås prøver) lukker skjermbildet og hindrer at prøvenavn kan endres. For mer informasjon om dette og andre sikkerhetsfunksjoner, se "Tilgangsvern for RotorGene Q-programvare" (side 7-87).



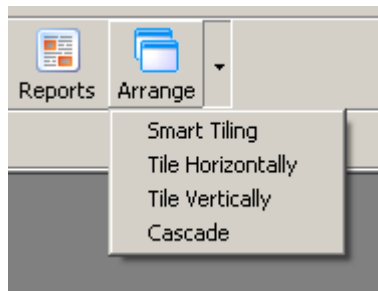
Denne siden er tom med hensikt

7 Brukergrensesnitt for analyse

Dette kapittelet beskriver grensesnittet i RotøGene Q-programvaren.

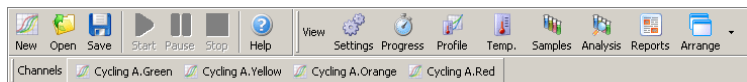
7.1 Arbeidsområde

Arbeidsområdet er bakgrunnen i hovedvinduet. I dette området kan du åpne diagrammer med rådata og analyseresultater. Hvis flere vinduer er åpne samtidig, kan du organisere dem ved å klikke på knappen "Arrange" (Ordne) på verktøylinjen. Det er flere måter å ordne vinduene på, og disse kan velges ved å klikke på ned-pilen ved siden av "Arrange"-knappen.



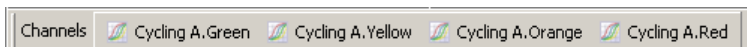
7.2 Verktøylinje

Disse knappene er snarveier til ofte brukte handlinger. Du får også tilgang til handlingene fra nedtrekksmenyene.



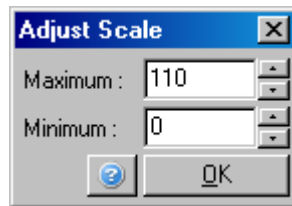
7.3 Vise råkanaler

Klikk på disse knappene for å vise rådataene (ikke analyserte data) fra bestemte kanaler i kjøringen.



Når du viser slike data, har du flere alternativer for å endre datavisningen. Rådataene kan også transformeres for å tilrettelegge for ulike analysetyper.

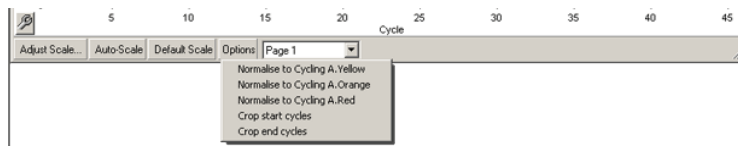
"Adjust scale" (Juster skala): For å velge "Adjust Scale" klikker du med høyre museknapp over det aktuelle vinduet. "Adjust Scale" viser et vindu der du kan spesifisere en skala.



"Autoscale" (Autojustering): "Autoscale" forsøker å tilpasse skalaen til dataenes maksimums og minimumsmålinger.

"Default Scale" (Standardskala): "Default Scale" tilbakestillter skalaen slik at den viser fra 0 til 100 fluorescens-enheter.

Skiftenøkkelikon: Se avsnitt 8.5 for mer informasjon.



"Options" (Alternativer): Viser nedtrekksmenyen ovenfor, som gir alternativer for transformering av rådata.

"Normalise to ..." (Normaliser til): Gjør det mulig å normalisere amplifiseringsdata til data fra et passivt referansecolorstoff, som ROX, innsamlet i en annen kanal.

"Crop start cycles" (Beskjær startsykluser):	Oppretter et nytt kanaldatasett der noen startsykluser er blitt fjernet. Dette er nyttig hvis det observeres store hopp i de innledende syklusene, noe som kan skje ved bruk av visse kjemier.
"Crop end cycles" (Beskjær sluttsykluser):	Oppretter et nytt kanaldatasett der noen sluttsykluser er blitt fjernet.
"Page 1" (Side 1):	Angir siden som for tiden er angitt til å vise diagrammene med rådata. I vinduet "Edit Samples" kan det opprettes flere prøvedefinisjoner. Data kan for eksempel vises med ulik strektykkelse, prøvedefinisjoner og andre visningsalternativer. Dette er særlig nyttig hvis relativ kvantitering utføres i én enkelt kanal, ettersom brukeren da lett kan bytte visning mellom det aktuelle genet og husholdningsprøver ved å definere 2 prøvesider.

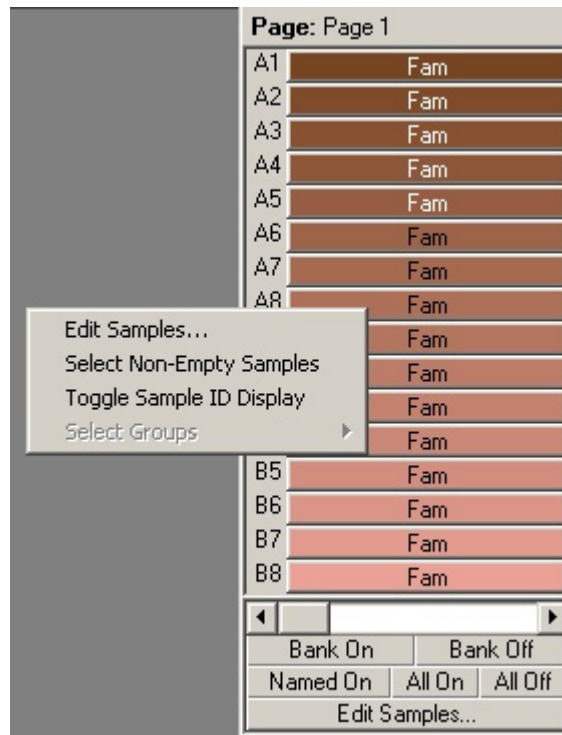
7.4 Velge mellom prøver

Høyre side av hovedvinduet har en velger, som inneholder en forklarende prøveoversikt. Velgeren består av fargede celler, der hver enkelt celle tilsvare en prøve i displayet. Velgeren brukes til å bestemme hvilke prøver som kan ses i displayet. Prøver som har sterk cellefarge, vises i displayet, mens prøver med nedtonet cellefarge, ikke vises. Prøver kan slås av eller på ved å klikke på cellen eller ved å dra musepekeren over flere celler samtidig. Knappene "Bank On" (Skjul på) og "Bank Off" (Skjul av) henholdsvis skjuler eller viser alle prøver som for tiden vises i listen. Rullefeltet kan brukes til å vise neste gruppe med prøver.

Merk : Antall prøver som vises, er dynamisk og avhengig av tilgjengelig plass i vinduet.

Ved å klikke på "Named On" (Navngitt på) vises kun prøver som er tildelt et navn. Dette er en rask metode for å vise kun relevante prøver. Ved å klikke på "All On" (Alle på) eller "All Off" (Alle av) vises henholdsvis alle eller ingen av prøvene i rotoren. Ved å klikke på knappen "Edit Samples..." åpnes vinduet "Edit Samples" hvor du kan redigere prøvenavn, typer og standardkonsentrasjoner (se avsnitt 7.8.4).

Velgeren vises nedenfor. Tilleggsmenyen på bildet vises når du høyreklikker med musen over velgeren.



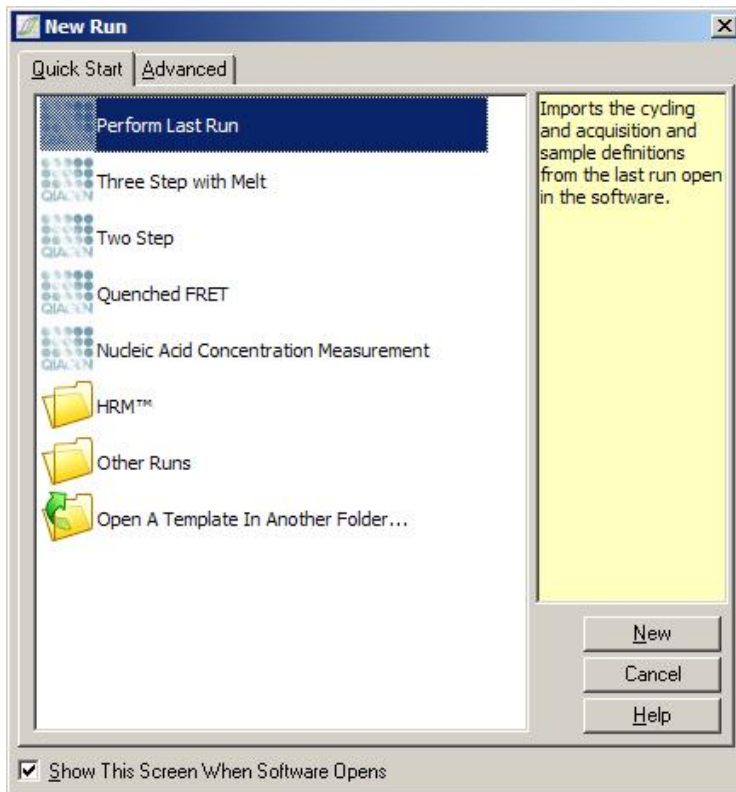
- "Page": Denne etiketten øverst i velgeren angir hvilken prøveside som vises. Sidefunksjonen gjør det mulig å opprette forskjellige uavhengige analyser fra ett kanaldatasett. Du kan for eksempel kjøre to standardkurver i den grønne kanalen og opprette uavhengige rapporter. Du finner mer informasjon om oppsett av prøvesider i avsnitt 7.8.4.
- "Toggle Sample ID Display" (Bytt visning av prøve ID): Hvis det benyttes en 72brønners rotor, vises prøvene i formatet A1 til A8, B1 til B8 osv. Med alternativet "Toggle Sample ID Display" kan brukeren bytte til en numerisk prøverekkefølge (1 til 72).
- "Select Non-Empty Samples" (Velg prøver som ikke er tomme): Dette alternativet opphever valget av prøver hvor "Type" (Type) er angitt til "None" (Ingen) i vinduet "Edit Samples". Dette sikrer at det kun vises prøver som er relevante for analysen.
- "Select Groups" (Velg grupper): Hvis du har definert grupper, kan du bruke denne funksjonen til å bytte (slå på/av) visningen av prøvene i gruppen. Grupper er vilkårlige samlinger av prøver som muliggjør avansert rapportering av statistiske resultater. For eksempel kan man definere grupper med prøver fra behandlede og ubehandlede pasienter. Grupper kan opprettes i vinduet "Edit Samples".

7.5 Fil-menyen

7.5.1 Ny

Etter at du har valgt "File" (Fil) og deretter "New" vises vinduet "New Run". Dette vinduet inneholder de mest brukte malene, samlet under fanene "Quick Start" (Hurtigstart) og

"Advanced". Når du har valgt mal, tar veiviseren deg gjennom oppsettet av kjøringen og du kan endre innstillinger og profiler.



For mer informasjon om malene, se avsnitt 6.1 og avsnitt 6.2.

Ny kjøring

"New...": Starter oppsettet av kjøringen med valgt mal.

"Cancel" (Avbryt): Lukker dette vinduet.

"Help" (Hjelp): Åpner den elektroniske hjelpen.

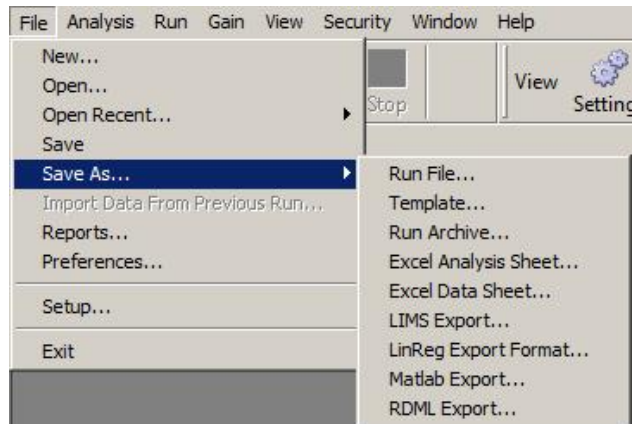
"Show This Screen When Software Opens"
(Vis dette skjermbildet når programvaren åpner):
Hvis du merker av for dette, vises vinduet "New Run" når programvaren starter.

7.5.2 Åpne og lagre

"Open..." (Åpne...): Åpner en tidligere lagret RotorGene Q kjørefil (*.rex) eller et RotorGene Q kjøreakriv (*.rea -fil).

"Open Recent..." (Åpne siste...): Åpner de 4 siste filene som er blitt åpnet eller lagret.

"Save" (Lagre): Lagrer eventuelle endringer i en kjørefil.



"Save As...": Bruk denne funksjonen til å lagre kjørefilen eller kjøredataene i ulike formater. Alternativene er forklart nedenfor.

"Run File..." (Kjørefil...):	Lagrer en kopi av filen. Brukeren kan endre navn og plassering. Dette er standardformatet.
"Template..." (Mal...):	Lagrer profiloppsettet og tilknyttede innstillinger, men ikke kjøredataene. Malen kan brukes til å starte fremtidige kjøringer.
"Run Archive..." (Kjørearkiv...):	Lagrer filen i et mer kompakt filformat. Lagre filer i dette formatet før de sendes med e-post. Sendetiden vil bli redusert, og det sikrer at filer ikke korrumpes av e-postklienter.
"LIMS Export..." (LIMSeksport...):	Lagrer analysen i LIMSkompatible formater i henhold til brukerens behov. Ta kontakt med QIAGENs tekniske tjenester for mer informasjon.
"Excel Data Sheet..." (Excel dataark...):	Eksporerer alle råkanalene til et Excel®-ark. Kun valgte prøver eksporteres.
"Excel Analysis Sheet..." (Excel-analyseark...):	Eksporerer alle analysene i gjeldende kjøring til ett Excel-ark.
"LinReg Export Format..." (Eksportformat for LinReg...):	Eksporerer alle råkanaldata i et format som kan leses av LinReg (et verktøy for effektivitetsanalyse). Se "Eksportere til LinReg" nedenfor for mer informasjon.
"Matlab Export..." (Matlab-eksport...):	Eksporerer dataene i et format som kan leses av det vitenskapelige programmet Matlab (eller Octave, et tilsvarende program med åpen kildekode). Dette kan være nyttig i metodeforskning.

"RDML Export..." Lager en fileksport som er i samsvar med (RDML-eksport...): RDML v1.1. RDML-eksportfilen som opprettes, er en XML-fil i komprimert ZIP-format, med filendelsen *.rdml, som samsvarer med RDML-skjemadokumentet (http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd) som finnes på nettstedet <http://www.rdml.org/files.php>.

Eksportere til LinReg

LinReg er et verktøy utviklet av C. Ramakers og kollegaer.* LinReg-verktøyet er tilgjengelig på: <http://LinRegPCR.nl>.

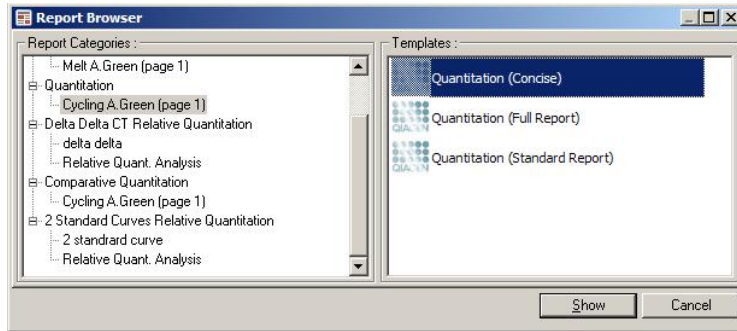
Med Rotor-Gene Q-programvaren kan brukeren eksportere rådata i et format som siden kan importeres av LinReg-verktøyet for analyse.

1. Åpne Rotor-Gene Q-kjørefilen som inneholder rådataene.
2. Eksporter dataene i LinReg-eksportformat ved å velge "Save As..." og deretter "LinReg Export Format...".
3. Microsoft Excel viser automatisk de eksporterte rådataene.
4. Start LinReg-verktøyet.
Verktøyet ber deg om å velge celleområdet som inneholder rådataene. Verktøyet kan kun analysere én rådatakanal om gangen, så du må velge et hensiktsmessig område i Excel-arket.

7.5.3 Rapporter

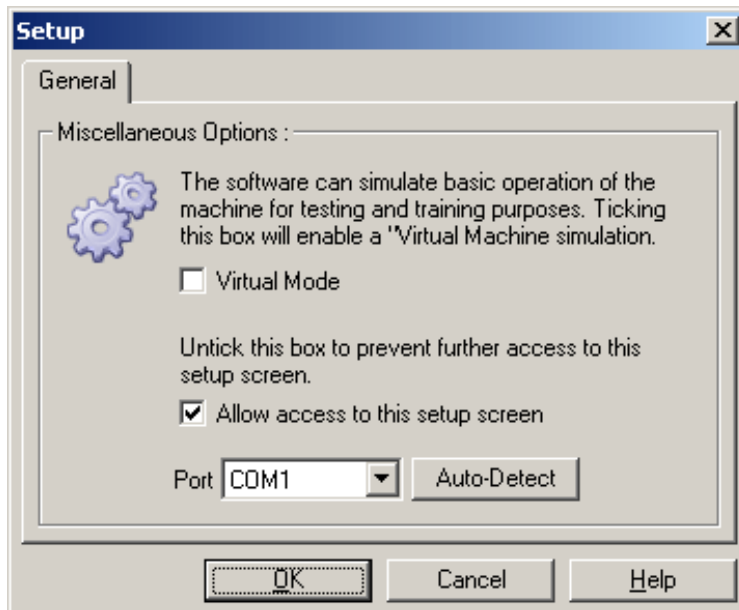
Etter at du har valgt "Reports" (Rapporter), vises vinduet "Report Browser" (Rapportoversikt). Hvis dataene er blitt analysert, kan rapporten for denne analysen vises fra vinduet "Report Browser". Det tilbys flere rapporter med ulik detaljgrad.

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



7.5.4 Oppsett

Det innledende oppsettet av RotorGene Q MDx bør fullføres under installasjonen. Med dette alternativet kan du imidlertid endre tilkoblingsoppsettet for RotorGene Q MDx, hvis du trenger å gjøre det etter installasjonen.

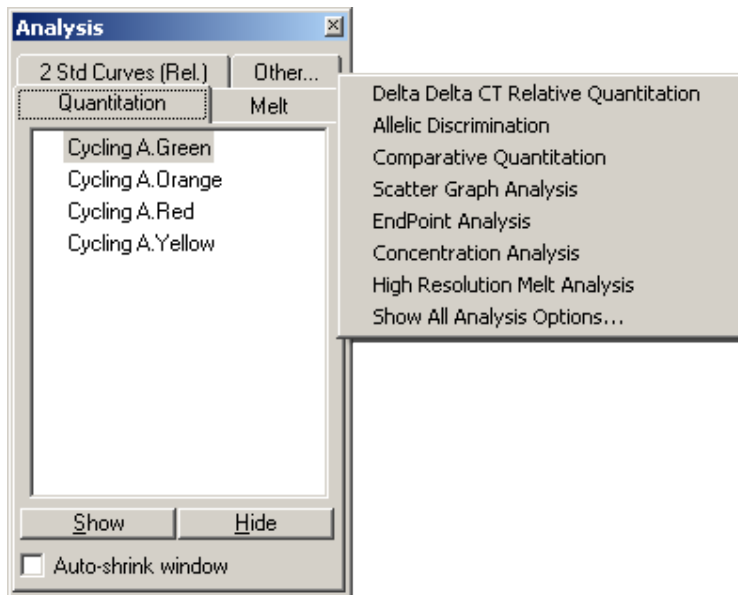


- "Virtual Mode"
(Virtuell modus): Velg dette alternativet hvis programvaren skal brukes uten å være tilkoblet en RotorGene Q MDx. Programvaren har alle funksjoner intakt. Denne modusen er nyttig for demonstrasjonsformål, dataanalyse og oppsett av maler.
- "Allow access to this setup screen" (Tillat tilgang til dette oppsettskjermbildet): Hvis du ikke merker av for dette alternativet under oppsettet, mister du tilgangen til dette vinduet. Dette er et sikkerhetstiltak som hindrer brukere i å endre innstillinger. For å gjenopprette tilgangen må du ta kontakt med distributøren.
- "Port": Velg riktig kommunikasjonsport for kommunikasjonen mellom datamaskinen og RotorGene Q MDx.
- "Auto-Detect": Hvis du er usikker på hvilken port du bør velge, klikker du på "Auto-Detect" for å søke etter alle tilgjengelige porter.

7.6 Analyse -menyen

7.6.1 Analyse

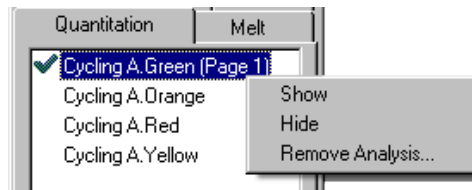
Etter at du har klikket på "Analysis" (Analyse), vises vinduet "Analysis". Her kan du opprette nye analyser og vise eksisterende analyser. Analysemetoden velges ved hjelp av fanene. En liste over kanalene som kan analyseres med valgt metode, vises. Når flere analyser kjøres i samme kanal, kan disse analyseres uavhengig av hverandre, forutsatt at de er satt opp som separate sider i vinduet "Edit Samples". Sider som allerede er analysert, har en grønn hake ved siden av seg. Dette betyr at innstillinger for terskelverdi og normalisering er blitt lagret for denne analysen. For å vise eller analysere en kanal dobbeltklikker du på den. Vinduet for den spesifikke analysen vises.



"Auto-shrink window" (Minimer vindu automatisk): Hvis du merker av for "Auto-shrink window", minimeres vinduet når det ikke er i bruk. Ved å flytte markøren over vinduet, forstørres det igjen.

Organisere arbeidsområdet

Hver gang en ny analyse startes, ordnes de aktuelle vinduene slik at de passer til dem som finnes på skjermen fra før. Hvis det vises mange vinduer, kan det bli tungvint. Lukk vinduene du ikke trenger, og klikk på "Arrange" på verktøylinjen. Vinduene ordnes automatisk etter metoden "Smart Tiling" (Smart vindusoppsett). Velg eventuelt en annen metode ved å klikke på pilen ved siden av "Arrange"-knappen. Ved å høyreklikke med musen på et analysenavn, får du flere valg.



- "Show" (Vis): Viser valgt analyse.
- "Hide" (Skjul): Skjuler valgt analyse.
- "Remove Analysis..." (Fjerrinnebærer at alle analyse...): Fjerner valgt analyse fullstendig. Dette normaliseringsinnstillinger eller bin-områder for smelting som er satt opp i analysen, blir borte.

7.6.2 Kvantitering

Velg fanen "Quantitation" (Kvantitering) i vinduet "Analysis" og dobbeltklikk deretter på kanalnavnet eller velg kanalen og klikk på knappen "Show" for å åpne ønsket kanal. Det vises trevinduer: hovedskjermbildet, standardkurven og resultatene.

Rapporter

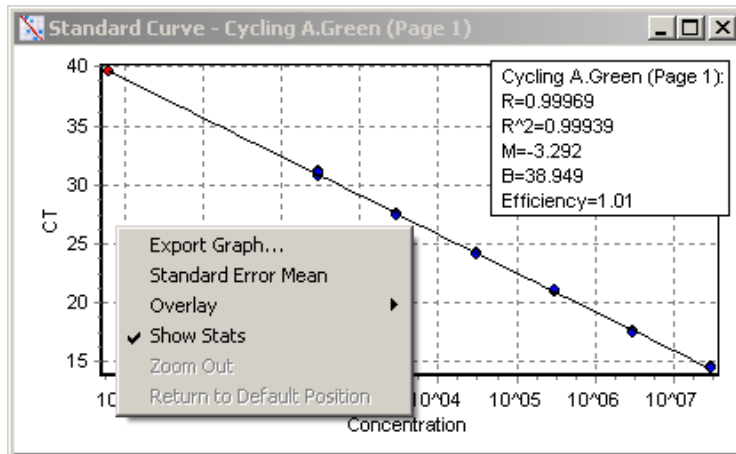
"Reports": "Reports" åpner vinduet "Report Browser", der du kan generere en rapport av gjeldende analyse. Det er 3 alternativer: standardrapport, full rapport og kortfattet rapport. Dobbeltklikk på ønsket alternativ for å åpne rapporten i vinduet "Preview" (Forhåndsvisning).

Når rapporten er blitt generert, kan du bruke knappene øverst i "Preview"-vinduet til å skrive ut, lagre eller sende rapporten med e-post, eller eksportere den til Word.



Standardkurve

"Std. Curve" Denne knappen åpner vinduet "Standard (Standardkurve): Curve". Som standard blir dette vinduet åpnet når du åpner en analyse. Hvis du lukker vinduet, kan du åpne det igjen med denne knappen.



Verdiene i standardkurven blir dynamisk omregnet i takt med at terskelnivået endres når du klikker og drar terskellinjen i hovedvinduet.

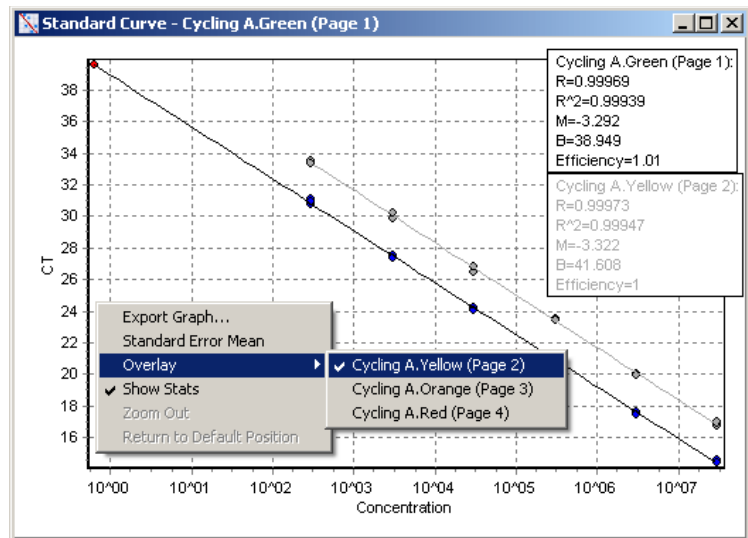
Blå prikker på kurven representerer prøvene som er definert som standarder, og røde prikker representerer datapunktene for ukjente prøver.

Merk : Hvis du omdefinerer standarder for å omregne standardkurven, vil du ved å sette synligheten for standardprøven til "av" med velgeren til høyre i skjermbildet, fjerne den fra beregningen av standardkurven. Å fjerne standarder fra grafen for å øke R^2 -verdien, er ikke vitenskapelig gyldig. En underkjent standard er en indikasjon på at prøvene også kan være underkjent, og bør derfor inkluderes i resultatene.

"Efficiency" (Effektivitet) Dette er kjøringens reaksjonseffektivitet. Denne verdien beskrives i mer detalj på side 7-29.

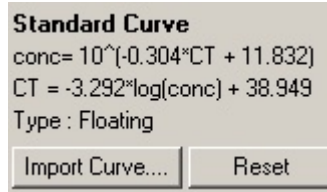
R ² -verdi (korrelasjonskoeffisient)	R ² 2-verdien, eller R ² -verdien, er prosentandelen av dataene som er konsistente med hypotesen om at standardene danner en standardkurve. Hvis R ² -verdien er lav, er det vanskelig å plassere standardene på en rett linje med beste tilpasning. Det kan bety at resultatene (dvs. de beregnede konsentrasjonene) kanskje ikke er pålitelige. En god R ² -verdi ligger på rundt 0,999. Merk: Det er mulig å oppnå en høy R ² 2-verdi med en dårlig standardkurve hvis det er kjørt et utilstrekkelig antall standarder. R ² 2-verdien blir bedre etter hvert som antallet standarder synker. For en mer nøyaktig indikasjon på resultatenes pålitelighet kan du bruke konfidensintervallene for de beregnede konsentrasjonene som grunnlag.
R-verdi (kvadrattrot av korrelasjonskoeffisient):	R-verdien er kvadrattroten av R ² 2-verdien. Generelt sett er R ² 2-verdien mer nyttig når det gjelder å bestemme korrelasjon.
M og B:	Stigningstallet (M) og skjæringspunktet (B) til standardkurven beregnes automatisk ved hjelp av formelen $y = Mx + B$, og vises i vinduet "Standard Curve".
"Export Graph..." (Eksporterer graf...):	Hvis du høyreklikker med musen over standardkurven, vises alternativet for å eksportere grafen (se avsnitt 8.4).

”Overlay” (Overlegg): Når flere kvantiteringskjøringer er utført i samme kjøring, kan standardkurvene legges over hverandre i samme vindu. Dette er nyttig for å kunne vise forskjellen mellom ulike terskelverdier grafisk. Funksjonen vises i skjærbildet nedenfor.



Beregning av standardkurve

” $\text{conc} = \dots * C_T + \dots$ ” og ” $C_T = \dots$ ” er 2 versjoner av ligningen som brukes for å relatere C_T -verdier og konsentrasjoner. I utgivelser er det vanligst å bruke formelen ” $C_T = \dots$ ”. Standardkurven kan være enten ”Floating” (Flytende) eller ”Fixed” (Fast). Ved ”Floating” blir det beregnet en optimal ligning for standardkurven hver gang terskelen flyttes i hovedvinduet. Ved ”Fixed” endres ikke ligningen ettersom den er blitt importert fra en annen kjøring.



Importere en kurve

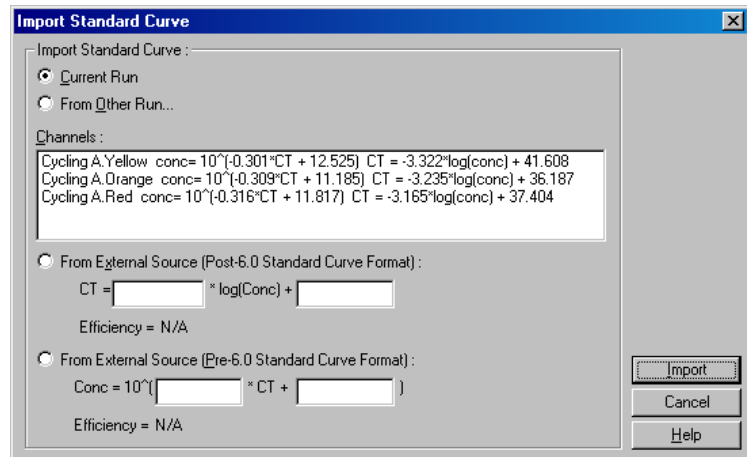
Ved å importere en standardkurve er det mulig å estimere konsentrasjoner når en standardkurve ikke er tilgjengelig i en bestemt kjøring og reaksjonseffektiviteten ikke har variert mellom 2 kjøringer. Kurver kan importeres fra en annen kanal eller en annen kjøring ved å klikke på "Import Curve" (Importer kurve).

Ved behov kan standardkurven justeres. Å justere standardkurven betyr at kun effektiviteten til kildestandardkurven importeres til gjeldende kjøring. Om standardkurven bør justeres eller ikke, er avhengig av kjemien som brukes.

For å justere standardkurven bruker du en referanse i den nye kjøringen med en kjent konsentrasjon. Definer en referanse ved å angi prøvetyper til "Standard" og legg inn en konsentrasjonsverdi i vinduet "Edit Samples". Du kan legge inn flere kopier av samme referanse for å øke nøyaktigheten. Vær oppmerksom på at det ikke er mulig å definere mer enn én referansekonsentrasjon eller standard. Du kan for eksempel ha 3 replikate referanser på 1000 kopier, men det er ikke mulig å ha én referanse med 1000 kopier og en annen med 100 kopier i samme kjøring.

Når standardkurven er blitt importert, endres standardkurvetypen til "Fixed". Klikk på "Reset" (Tilbakestill) for å endre standardkurvetypen tilbake til "Floating".

Et skjermbilde av vinduet "Import Standard Curve" (Importer standardkurve) vises nedenfor.



Med dette vinduet kan du importere en standardkurve fra en annen kanal som er analysert i gjeldende kjøring, eller fra en annen kjøring.

”Current Run” (Gjeldende kjøring): Når du velger dette alternativet, vises kvantiteringsanalyser på andre kanaler fra denne kjøringen, sammen med de korresponderende standardkurvene.

”From Other Run...” (Fra annen kjøring): Når du velger dette alternativet, vises en dialogboks der du kan velge en kjørefil som skal åpnes. Hvis det er utført kvantiteringsanalyser for kjøringen, vises standardkurver for hver analyserte kanal.

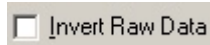
Merk : Innstillingene for kvantiteringsanalyse må ha blitt lagret i kjørefilen.

”Channels” (Kanaler): Viser en liste med de analyserte kanalene og formlene for standardkurvene deres.

”From External Source” (Fra ekstern kilde): I disse feltene kan M og B-verdier legges inn direkte. Dette kan være nyttig når verdiene kommer fra en ekstern kilde, f.eks. et Excelregneark.

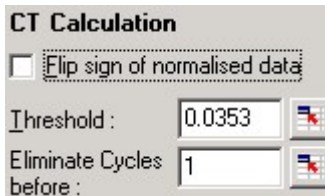
C_T-beregning

"Invert raw data" Noen kjemier produserer et fluorescerende (Inverter rådata): signal som avtar eksponentielt i stedet for å øke. Det er mulig å analysere disse dataene med "Quantitation", men da bør det merkes av for "Invert Raw Data". For alle andre kvantiteringsanalyser bør dette alternativet ikke være merket av.



"C_T Calculation" C_T-verdien er syklusnummeret på det (C_T-beregning): punktet hvor amplifikasjonskurven krysser en deteksjonsterskel. Ved å angi en terskellinje og beregne krysningspunktet for hver kurve, fastsettes C_T-verdien for hver prøve.

"Threshold" For å angi terskelen klikker du på ikonet (Terskel): (et rutenett med en rød pil), klikker og holder grafen og drar linjen til ønsket nivå. Du kan også angi en log-verdi. Som et alternativ kan funksjonen "Auto-Find Threshold" (Finn terskel automatisk) brukes til å bestemme terskelen automatisk. Når du fastsetter en terskel manuelt, bør den angis i den eksponentielle fasen av kjøringen, betydelig over bakgrunnsnivået for å unngå støy og under starten på signalplataet i senere sykluser.



"Eliminate Cycles before" (Fjern sykluser før): Stilles inn ved å klikke på ikonet (et rutenet med en rød pil), klikke og holde grafen og dra linjen mot høyre. Dette fjerner terskeler for lave syklusnumre.

Merk : Dette er nyttig når det forekommer støy i de innledende syklusene, for eksempel på grunn av virkninger av prøveblanding.

"Auto-Find Threshold":

Denne funksjonen skanner det valgte området i grafen for å finne en terskelinnstilling som gir optimale estimater av gitte konsentrasjoner. Du kan endre det valgte området ved å angi nye øvre og nedre grenser i tekstfeltene som vises.

For de fleste analyser passer øvre og nedre standardgrenser. Området for terskelnivået blir skannet for å finne standardkurvens beste tilpasning basert på de prøvene som er definert som standarder (dvs. hvor R verdien er nærmest 1,0).

A rectangular button with a thin border and a light gray background, containing the text "Auto-Find Threshold".

"Results" (Resultater)

Dette åpner vinduet "Quantitation results" (Kvantiteringsresultater). Som standard blir dette vinduet åpnet når du åpner en analyse. Hvis vinduet er blitt lukket, kan du åpne det igjen med denne knappen.

Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1)														
Analysis	No.	Color	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc.	Calc Conc (c)	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Std	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc. Conc.	Rep. Calc. Conc. (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	Red	10e5	Standard	3.73		1.00E+08	7.17E+07	28.1%	3.73	0.00	(3.73, 3.74)	7.17E+07	(1.17E+07, 4.35E+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	7.16E+07	28.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	Red	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	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	Orange	10e7	Standard	5.99		1.00E+07	1.56E+07	56.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	Orange	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	2.72E+05	22.8%	10.38	0.05	(10.15, 10.60)	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	10e6	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	9.68E+04	3.2%	13.65	0.11	(13.21, 13.90)	8.74E+04	(2.90E+04, 2.50E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	Green	10e5	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	16.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	Green	10e5	Standard	13.89		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)	2.56E+04	(7.82E+03, 8.36E+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	15.10		1.00E+04	3.09E+04	200.0%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	Blue	10e3	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	62.9%	21.09	0.24	(20.49, 21.69)	5.69E+02	(9.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	Black	10e3	Standard	20.89		1.00E+03	6.47E+02	35.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	Black	10e3	Standard	21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	Black	10e2	Standard		NEG (Multi Ct)	1.00E+02							
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)	1.00E+02							
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)								

I vinduet "Quantitation Results" oppsummeres resultatene av kjøringen i en tabell. Ved å høyreklikke med musen og velge "Export to Excel" (Eksporter til Excel), eksporteres tabellen til Excel. Excel åpner automatisk. Hvis du vil kopiere dataene inn i et eksisterende regneark, velger du "Copy" (Kopier) istedenfor, åpner regnearket og velger "Paste" (Lim inn).

Vinduet "Quantitation results" inneholder følgende kolonner:

- "Analysis" Gjeldende datasett (innsamlingskanal og prøveside).
- "No." (Nr.) Prøvenummeret.
- "Color" (Farge) Den definerte fargen på grafen til en individuell prøve.
- "Type" Den definerte prøvetypen.
- "Ct" Den fastsatte C_T -verdien.

"Ct Comment" (Ct-kommentar)	<p>En automatisk merknad til C_T-fastsettelsen, hvis C_T-verdier er ekskludert. Følgende flagg kan benyttes:</p> <p>"NEG (Multi Ct)": Terskelen krysser fluorescenskurven minst to ganger (dobbelt snitt). Det er ikke mulig å fastsette en entydig C_T-verdi.</p> <p>"NEG (NTC)": Den samlede fluorescensøkningen oppfyller ikke vilkårene som er angitt i funksjonen "NTC threshold" (NTC-terskel) i menyen "Outlier Removal" (Fjerning av uteliggere) (se nedenfor). En fluorescenskurve kan for eksempel krysse den gitte terskelen, men den minste samlede økningen i stigningstall tyder på en ikke-templat kontroll og en C_T-verdi er ikke oppgitt.</p> <p>"NEG (REff)": Den samlede fluorescensøkningen oppfyller ikke vilkårene som er angitt i funksjonen "Reaction efficiency threshold" (Terskel for reaksjonseffektivitet) i menyen "Outlier Removal" (se nedenfor). Prøver som ikke har en bestemt reaksjonseffektivitet, er ekskludert, og C_T-verdien er ikke oppgitt. Dette flagget vises kun hvis den korresponderende funksjonen er aktivert.</p>
"%Var":	<p>Den prosentmessige variansen mellom den beregnede og den kjente konsentrasjonen.</p> $\%Var = \text{Abs}(\text{Beregnet}/\text{Gitt}-1)$
"Rep. Ct":	<p>Gjennomsnittlig C_T for alle prøver med samme navn som denne prøven.</p>
"Rep. Ct Std. Dev.":	<p>Gjennomsnittlig avvik for C_T-verdien for alle prøver med samme navn som denne prøven.</p>

"Rep. Ct 95%:
C.I.": Et C_T -område som statistisk sett står for 95 % av variansen i C_T -verdien. Dette er et konservativt statistisk mål, som kan brukes som et kvalitetsmål. Området kan avgrenses ytterligere ved å kjøre flere replikater eller ved å ha mindre varians i replikatene.

"Rep. Calc.
Conc": Den beregnede konsentrasjonen for alle prøvene med samme navn.

Merk: Dette er ikke et enkelt gjennomsnitt av de beregnede konsentrasjonene. Det er det geometriske gjennomsnittet, som matematisk sett er et mer hensiktsmessig gjennomsnitt på grunn av den eksponentielle karakteren til amplifikasjon i sanntid.

”Rep. Calc. Conc.Et område med konsentrasjoner som står for 95 % C.I.”: for 95 % av variansen i de individuelle prøvene samt den lineære regresjonsmodellen som det bygger på. En tolkning av dette målet er at det er dette området med konsentrasjoner som kan forventes 95 % av tiden hvis denne kjøringen blir utført gjentatte ganger med samme grad av varians. Dette er et konservativt estimat, og området kan være nokså stort på grunn av variansen som er iboende i enhver sanntidsanalyse. Området kan være stort hvis standarder kjøres med andre konsentrasjoner enn de ukjente prøvene, hvis det benyttes et lavt antall replikater, eller hvis det er betydelig varians.

VIKTIG: Variansen som rapporteres av dette målet er iboende i den eksponentielle prosessen i amplifikasjon i sanntid og skyldes ikke RotorGene Q MDx. Lignende tester utført på blokkbaserte syklere vil gi større varians fordi blokkbaserte systemer har lavere temperaturensartethet. For å sammenligne syklere anbefaler vi å sammenligne standardavviket for C_T -verdien.

Merk: Du finner mer informasjon om konfidensintervaller i tillegg B.

Merk: Med unntak av ”Color”, ”Name”, ”Ct” og ”Ct Comment” kan alle kolonnene vises eller skjules ved å høyreklikke i vinduet og enten merke av eller fjerne merket for kolonnena vnet.

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

For økt brukervennlighet beregner "AutoStat"funksjonen automatisk gjennomsnittet, standardavviket og minimums og maksimumsverdier for utvalgte prøver. Velg de aktuelle resultatene ved å dra med venstre museknapp. Verdiene vises i en tabell på høyre side i skjermbildet.

I dette skjermbildet er konsentrasjonen til flere prøver analysert.

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var
14.42	30000000	28255064	5.8%
14.59	30000000	25142920	16.2%
14.40	30000000	28730050	4.2%
17.44	3000000	3422624	14.1%
17.58	3000000	3103391	3.4%
17.42	3000000	3467111	15.6%
20.99	300000	285353	4.9%
20.92	300000	298898	0.4%
21.04	300000	275802	8.1%
24.20	30000	30286	1.0%

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

Copy

VIKTIG: "AutoStat"-funksjonen er kontekstsensitiv. Det betyr at den så vidt mulig kun genererer informasjon som er nyttig.

For eksempel:

- Det er ikke mulig å oppnå et konfidensintervall på 95 % fra et sett med utvalgte beregnede konsentrasjoner fordi det også må tas hensyn til regresjonsmodellen.
- Standardavviket "Orders of Magnitude" (Størrelsesordener) rapporteres for beregnede konsentrasjoner i stedet for en absolutt verdi. Dette er en prosentvarians. For eksempel: En verdi på 1,07537 representerer en varians på 7,54 % ($278\,974 - 322\,611 = (300\,000/1,07537 - 300\,000 * 1,07537)$). Å rapportere en absolutt verdi gir ingen mening for en standardkurve. Verdien kan rapporteres ved den laveste konsentrasjonen for å lage en antatt lav feil (± 3 kopier) eller ved den høye konsentrasjonen ($\pm 3\,000\,000$ kopier). Av den grunn er det standardavviket "Orders of Magnitude" som rapporteres.
- For beregnede konsentrasjoner brukes det geometriske gjennomsnittet i stedet for det aritmetiske gjennomsnittet. Da tas det hensyn til de eksponentielle sidene ved sanntids-PCR. For eksempel: Ved to gangers fortynninger med 1, 2, 8 og 16 kopier, skal gjennomsnittet være 4 kopier fordi dette er midt i fortynningsserien. Det aritmetiske gjennomsnittet er imidlertid 6,75. Det geometriske gjennomsnittet er $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ kopier.

Dynamisk rørnormalisering

Alternativet "Dynamic Tube" (Dynamisk rør) er valgt som standard og brukes for å bestemme gjennomsnittsbakgrunnen for hver prøve like før amplifikasjonen starter.

Vanlig normalisering tar kun de første 5 syklusene og bruker disse som en indikator for bakgrunnsnivået for hver prøve. Alle datapunktene for prøven deles deretter på denne verdien for å normalisere dataene. Metoden kan være unøyaktig fordi bakgrunnsnivået for visse prøver i de første 5 syklusene, ikke er en indikasjon på bakgrunnsnivået like før

amplifikasjon. Dynamisk rørnormalisering bruker derimot den andrederiverte av hvert prøvespor for å bestemme et takeoff-punkt for hver prøve. Det tas så et gjennomsnitt av bakgrunnsnivået fra syklus 1 og opp til syklusnummeret for takeoff, for hver prøve. Dette gir de mest nøyaktige kvantiteringsresultatene.

Vær oppmerksom på at for visse datasett er ikke bakgrunnsfluorescensen konsistent i syklusene før amplifikasjonen starter. I disse tilfellene kan det være nødvendig å oppheve valget av dynamisk rørnormalisering ved å klikke på "Dynamic Tube", fordi dette ellers vil føre til en mindre nøyaktig kvantitering.

Korrigerings av stigningstall for støy

Bakgrunnsfluorescensen (FI) til en prøve bør ideelt sett være konstant før amplifikasjon. Noen ganger kan imidlertid FI vise en gradvis økning eller reduksjon over flere sykluser på grunn av kjemien som benyttes. Dette fører til et skjevt støynivå. Korrigerings av stigningstall for støy bruker en linje med beste tilpasning, ikke et gjennomsnitt, for å bestemme støynivået, og normaliserer til den linjen. Hvis du velger dette alternativet ved å klikke på knappen "Slope Correct" (Korrigerer stigningstall), kan du forbedre data fra replikater hvis prøvenes grunnlinjer har en tydelig helning. Korrigerings av stigningstall for støy forbedrer dataene i tilfeller der rådatabakgrunnen heller oppover eller nedover før takeoff-punktet (C_T).

Når stigningstallet ikke er stabilt eller de innledende syklusene i grunnlinjen viser en tydelig økning eller reduksjon i signalet sammenlignet med resten av kurven, kan korrigerings av stigningstall for støy føre til uønskede effekter, som at negative kontrollkurver krysser terskelen fordi grunnlinjen tilnærmes som en linje med beste tilpasning og normaliserer rådataene i samsvar med dette. Konsekvensen er at denne funksjonen ikke alltid forbedrer kvaliteten på dataene og at den kun bør brukes når rådatakurvene har et stabilt stigningstall.

Justering av takeoff -punkt

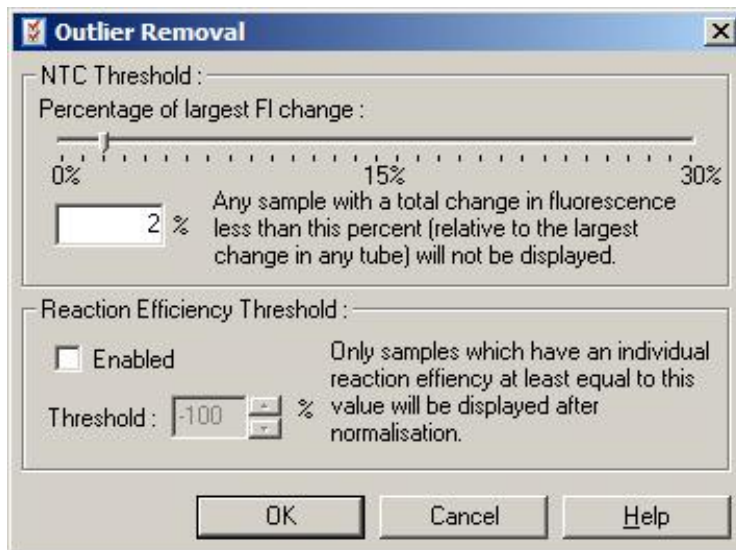
Algoritmen for justering av takeoff-punkt kan brukes til å definere en minimumslengde på den grunnlinjen som brukes til normalisering. For å bruke justering av takeoff-punkt må du definere to parametere. Hvis et takeoffpunkt som er beregnet av "Dynamic Tube", er lavere enn den første parameteren, brukes den andre parameteren som takeoff punkt. Justering av takeoffpunkt kan kun brukes i kombinasjon med "Dynamic Tube"-normalisering.

Ignorerer første

Fluorescenssignalet fra de aller første syklusene i en kjøring er kanskje ikke representative for resten av kjøringen. Det vil derfor være mulig å oppnå bedre resultater hvis de første syklusene ignoreres. Opptil 10sykluser kan ignoreres. Hvis de første syklusene ligner på påfølgende sykluser, vil man imidlertid oppnå bedre resultater ved å oppheve valget av "Ignore First" (Ignorer første), i og med at normaliseringsalgoritmen da vil ha flere data å arbeide med.

Fjerning av ute liggere

Det finnes 2 mål for å skille mellom mindre endringer i fluorescens og genuine reaksjoner i ikketemplat-kontroller (NTC): "NTC Threshold" og "Reaction Efficiency Threshold". "NTC Threshold" anbefales for de fleste bruksområder. Metoden som brukes, bør valideres.



"NTC Threshold": Med denne funksjonen blir prøver eller NTC-er med en svak oppadgående drift, ekskludert fra analyse. Prøver der endringen ligger under "NTC Threshold", vil ikke bli rapportert, og flagget "NEG (NTC)" vil bli vist i kolonnen "CT Comment".

Prosentandelen er relativ til den største maksimale endring funnet i et rør. For eksempel: Hvis én prøve startet med en bakgrunn på 2 FI og økte til 47 FI, vil 45 FI representere 100%. En "NTC Threshold" på 10 % vil da vurdere alle prøver under 4,5 FI som støy.

"Reaction Efficiency Threshold":

"Reaction Efficiency Threshold" er en alternativ metode for å ekskludere støy fra analyser. Denne normaliseringsalgoritmen bruker teknikkene for beregning av reaksjonseffektivitet som brukes ved komparativ kvantitering (se avsnitt 7.6.6). Alle prøver som ikke har en

reaksjonseffektivitet på minst dette nivået, vil bli ekskludert, og flagget "NEG (R.Eff)" vil bli vist i kolonnen "CT Comment".

Et nivå på 0 % indikerer at ingen reaksjon fant sted i den eksponentielle fasen. 100% indikerer at en fullstendig effektiv reaksjon fant sted i den eksponentielle fasen. Negative prosenter indikerer at det fluorescerende signalet avtok i den eksponentielle fasen

Nåværende forskning er ikke entydig når det gjelder de nøyaktige effektivitetsnivåene som kreves for å skille genuine reaksjoner fra kontaminering og andre effekter. Av den grunn anbefaler vi at denne funksjonen brukes med forsiktighet, med den forutsetning at enhver prøve med en genuin reaksjon vil ha en viss synlig eksponentiell fase med en viss økning i fluorescens. Ved å angi en verdi som er høyere enn 0 %, ekskluderer du enkelte prøver med en ineffektiv, men merkbar økning i fluorescens, mens en innstilling som er lavere enn 0 %, vil vise prøver som avtok i fluorescens i den eksponentielle fasen, som åpenbart bør ekskluderes.

Merk : Hvis en verdi ekskluderes som følge av at en av disse teknikkene blir aktivert, vil det ikke bli vist en korresponderende C_T -verdi i vinduet "Quantitation Results". Samtidig vil det bli vist et flagg som indikasjon på ekskluderingen i kolonnen "Ct Comment". Det er derfor viktig å passe på at kolonnen "Ct Comment" alltid er synlig.

I bildet nedenfor har prøve 7, 8 og 9 blitt ekskludert på grunn av "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

Stigningstall, amplifikasjon, reaksjonseffektivitet

Stigningstallet (M) til en reaksjon (vises i vinduet "Standard Curve") kan brukes til å bestemme den eksponentielle amplifikasjonen og effektiviteten til en reaksjon ved hjelp av følgende utregninger:

$$\text{Eksponentiell amplifikasjon} = 10^{(-1/M)}$$

$$\text{Reaksjonseffektivitet} = 10^{(-1/M)}$$

Optimale verdier for M, eksponentiell amplifikasjon og reaksjonseffektivitet er henholdsvis $-3,322$; 2 og 1.

Reaksjonseffektiviteten vises i rapporten (i fulle rapporter og standardrapporter, se side 7-13) og i vinduet "Standard Curve".

Stigningstallet beregnes som endringen i C_T delt på endringen i logaritmiske inndata (f.eks. kopiantall). En 100 % effektiv amplifikasjon betyr en dobling i amplifikasjonsprodukt i hver syklus, hvilket gir en M-verdi på $-3,322$, en amplifikasjonsfaktor på 2 og en reaksjonseffektivitet på 1.

Gitt en M-verdi på $-3,322$ blir utregningene som følger:

$$\text{Eksponentiell amplifikasjon: } 10^{(-1/-3,322)} = 2$$

$$\text{Reaksjonseffektivitet: } [10^{(-1/-3,322)}] - 1 = 1$$

Et annet eksempel: En M-verdi på 3,8 betyr at reaksjonen har en eksponentiell amplifikasjon på ca. 1,83 og en reaksjonseffektivitet på 0,83 (eller 83 %).

Offset:

I en formel som beskriver forholdet mellom 2 variabler uttrykkes offset med bokstaven B ($y = Mx + B$). Offset kalles også i blant skjæringspunktet. B representerer C_T for en gitt konsentrasjon på 1 enhet. Ved å sette inn 1 i konsentrasjonsformelen nedenfor:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

Resultatet blir $C_T = B$

Skjæringspunktet kan endre seg fra kjøring til kjøring og er et mindre stabilt mål enn gradienten. Av den grunn analyserer man oftere gradienten enn skjæringspunktet.

Hovedvindu

Hovedvinduet viser amplifikasjonsdiagrammene i en logaritmisk skala.

Hvis du klikker på "Linear Scale" (Lineær skala) nederst i vinduet, endres skalaen fra logaritmisk til lineær og motsatt. Når du skifter mellom skalaene, endres kun visningen av grafene, ikke beregningene. Du kan verifisere dette med pekeverktøyet ved å høyreklikke på grafen og velge "Show pinpointer" (Vis pekeverktøy). Med en logaritmisk skala blir små verdier mer synlige i grafen, mens en lineær skala gjør det mulig å se reaksjonen i sin helhet.

Merk: Amplifikasjonsdiagrammer oppdateres i sanntid når Rotor-Gene Q MDx aktivt innsamler data under en kjøring. En slik sanntidsovervåking av data gjør at brukeren får se resultater med én gang kurvene viser eksponentiell vekst. Det kan trekkes foreløpige konklusjoner og tas beslutninger for neste kjøring.

Maler for kvantiteringsanalyse

Maler for kvantiteringsanalyse gjør at brukeren kan eksportere normaliserings- og terskelinnstillinger til én enkelt *.qut-fil. Filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 8.1 for mer informasjon.



7.6.3 To-standardkurve

Relativgenuttrykksanalyse med normaliseringsgen kan utføres med metoden 2-standardkurve.

Metoden krever en standardkurve for hvert gen. Konsentrasjonen for hvert gen kvantifiseres i henhold til genets standardkurve. Uttrykket til det aktuelle genet normaliseres deretter med normaliseringsgenet (ofte et husholdningsgen).

Det er viktig at standardene og replikate prøver har fått riktige betegnelser under prøveoppsettet (se avsnitt 6.1.4). Særlig må korresponderende prøver ha samme navn i hver analyse. I en multipleks reaksjon, hvor det aktuelle genet og normaliseringsgenet har samme rørposisjoner, er ett sett med prøvedefinisjoner tilstrekkelig. Hvis du utfører en relativ analyse med et normaliseringsgen ved bruk av en enkelt kanal (dvs. at reaksjoner kjøres i separate rør som bruker samme fluorofor), må du opprette 2 prøvesider. Den første skal merke rørposisjonene med prøvenavnene til det aktuelle genet, mens de andre posisjonene forblir uten navn. Den andre skal merke posisjonene som brukes til normaliseringsgenet. Programvaren vil deretter bruke navnene til å matche prøver på tvers av de 2 analysene.

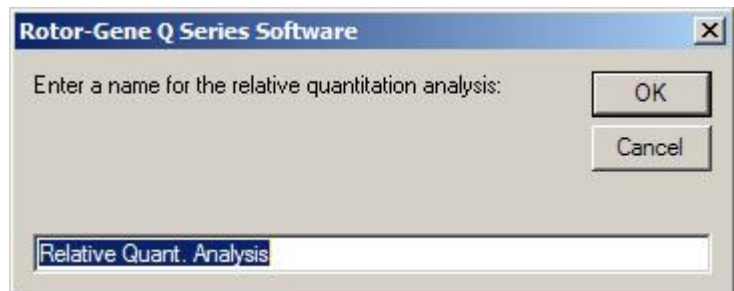
Uttrykksanalyse med metoden to -standardkurve

Data kan først analyseres for hvert gen med kvantiteringsanalyse. Hvis ikke vil resultatene for hvert gen automatisk bli bestemt med verktøyet "Autofind Threshold".

1. I vinduet "Analysis" velger du fanen "2 Std Curve (Rel.)".
Klikk på "New Analysis..." (Ny analyse...).

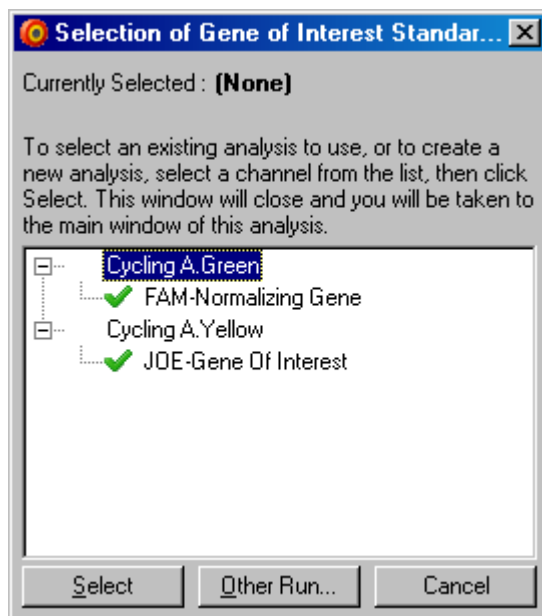
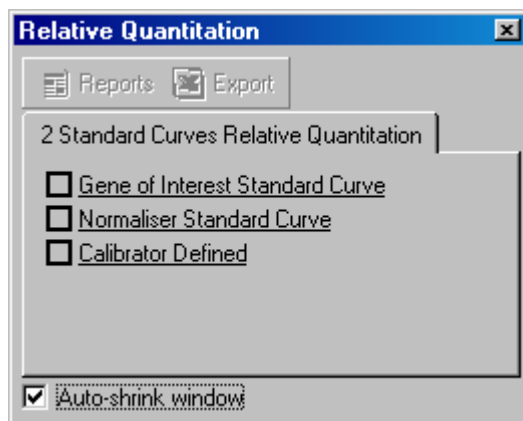


2. Angi et navn på analysen.

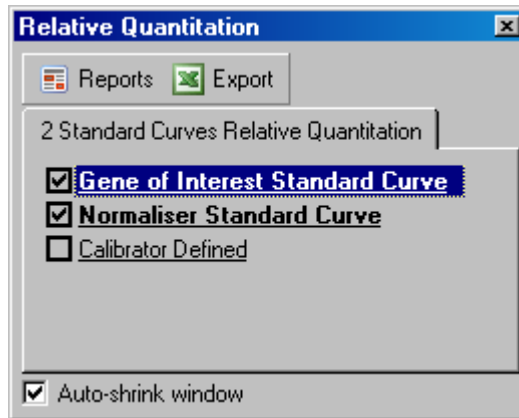


3. Angi sidene som skal brukes til analyse av normaliseringsgen og analyse av det aktuelle genet. Hvis du for eksempel klikker på "Gene of Interest Standard Curve" (Standardkurve for aktuelt gen), åpnes vinduet "Selection of Gene of Interest Standard..." (Valg av standard for aktuelt gen...). Velg siden der det aktuelle genet ble kvantitert. Gjenta prosedyren for normaliseringsgenet. Det er også mulig å definere en kalibrator. Hvis du velger dette alternativet, tildeles kalibratoren verdien 1, og alle andre

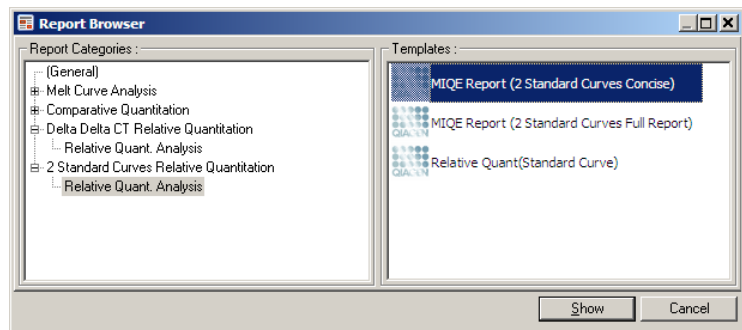
prøvekonsentrasjoner beregnes i forhold til denne prøven.



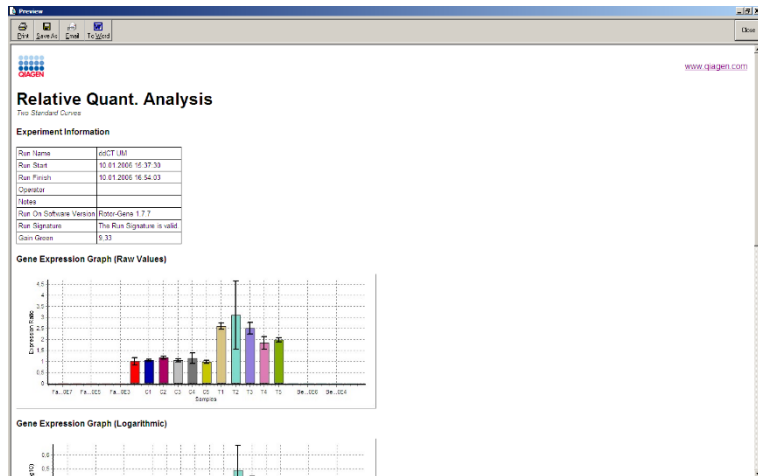
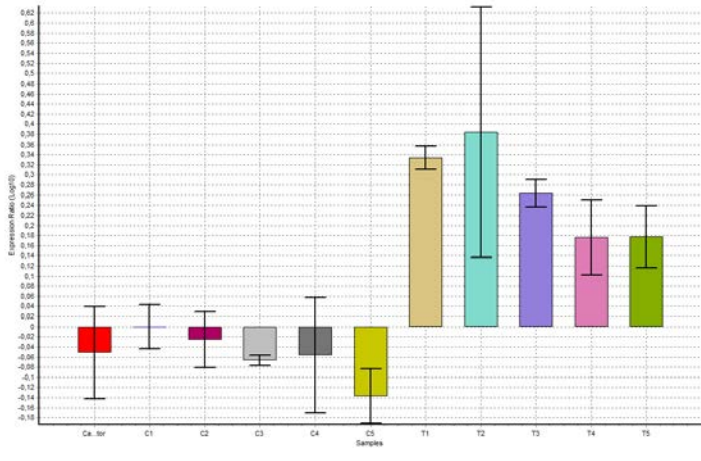
Når du er ferdig med å velge, vises det et merke i ruten ved siden av alternativene du har valgt.



4. Klikk på knappen "Reports" for å vise "ReportBrowser". Velg analysen med riktig navn fra listen. Klikk på knappen "Show" for å vise rapporten over relativ kvantitering. Alternativet "Export" (Eksport) eksporterer resultatene til et nytt Excelegneark. Hvis du har inkludert en kalibrator, blir resultatene beregnet i forhold til kalibratorprøven, som er tildelt verdien 1.



5. Konsentrasjonene slik de blir avlest fra standardkurvene for det aktuelle genet ("GOI Conc.") og normaliseringsgenet ("Norm. Conc."), samt den relative konsentrasjonen ("Relative Conc."), vises. Resultatene kan lagres som en Word-fil.



6. ”Rel Min”- og ”Rel Max”-verdiene genereres ved å beregne standardavviket for kvotienten ut fra standardavvikene for det aktuelle genet og normaliseringsgenet med følgende formel:

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

der:

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

7.6.4 Delta delta C_T relativ kvantitering

Metoden delta delta C_T gjør det mulig å analysere relativt genuttrykk. Den er beskrevet av Livak og Schmittgen (2001)*.

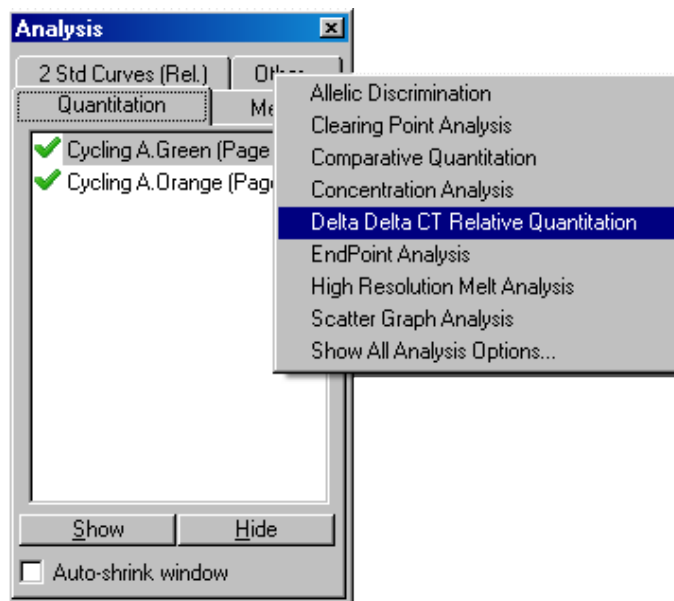
Med denne metoden er det ikke nødvendig å inkludere standardkurver i hver kjøring. Hver prøve blir først normalisert for mengden tilsatt templat ved å sammenligne med normaliseringsgenet. De normaliserte verdiene normaliseres ytterligere i forhold til en kalibratorbehandling. Kalibratoren kan for eksempel være prøver av typen villtype, ubehandlet kontroll eller null-tid.

Det er avgjørende at amplifikasjonseffektiviteten for det aktuelle genet og for normaliseringsgenet er identisk, og at dette valideres i henhold til retningslinjene fra Livak og Schmittgen.

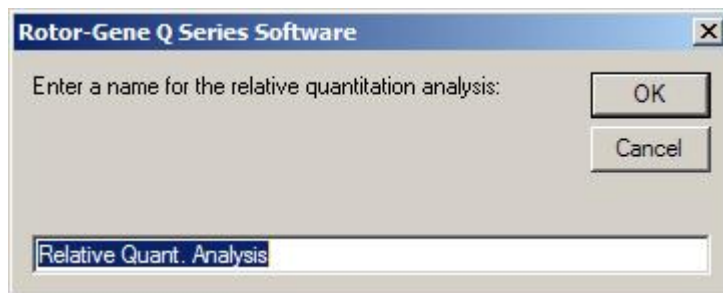
Det er avgjørende at prøvenavnene er definert riktig i vinduet "Edit Samples", slik at de samme prøvene har identisk merking i hver sammensatte kvantiteringsanalyse.

1. Analyser dataene via fanen "Quantitation". Det er ikke nødvendig å kjøre en standardkurve etter at det er utført validering.
2. Fra fanen "Other" (Annen) i vinduet "Analysis" velger du "Delta Delta C_T Relative Quantitation" (Delta Delta C_T relativ kvantitering). Velg "New Analysis".

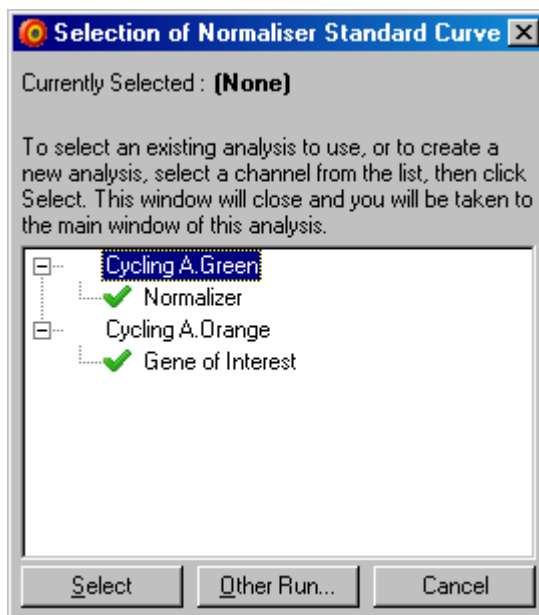
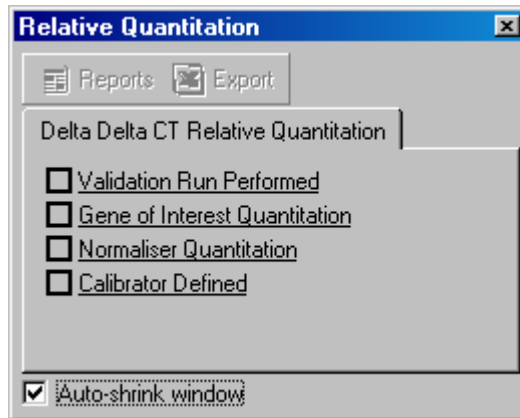
* Livak, K.J. og Schmittgen, T.D. (2001) "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method." Methods 25, 402.



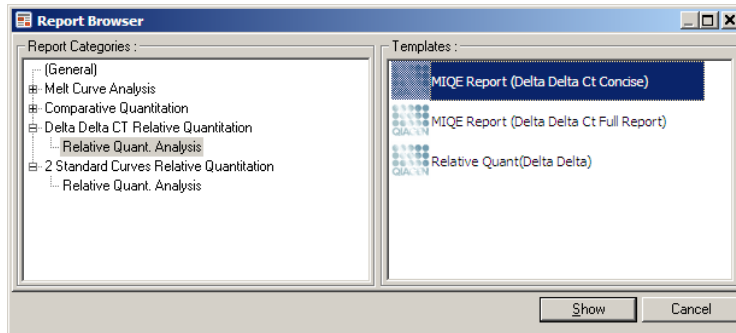
3. Angi et navn på analysen.



4. Du må merke av for "Validation Run Performed" (Valideringskjøring utført) for å fortsette analysen. Definer sidene der det aktuelle genet og normaliseringsgenet er blitt analysert.



5. Klikk på knappen "Reports" for å vise "Report Browser". Velg analysen med riktig navn fra listen. Klikk på knappen "Show" for å vise rapporten over relativ kvantitering. Alternativet "Export" (Eksport) eksporterer resultatene til et nytt Excelgnetark. Hvis du har inkludert en kalibrator, blir resultatene beregnet i forhold til kalibratorprøven, som har verdien 1.



Et eksempel på resultater fra denne analysen vises nedenfor. C_T -verdiene for det aktuelle genet ("GOICT"), C_T -verdiene for normaliseringsgenet ("Norm. CT"), Delta C_T , Delta Delta C_T og relativ konsentrasjon ("Relative Conc."), vises. Uttrykket er relativt til kalibratorprøven, som er tildelt verdien 1. For mer informasjon om deriveringen av "Rel Min"- og "Rel Max"-beregningene, se Litvak og Schmittgen (2001).*

C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	-4.12	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0.1 IU/ 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	1.34925	1.09820	1.65770	
	QS3	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	QS2	26.88	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	QS1	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

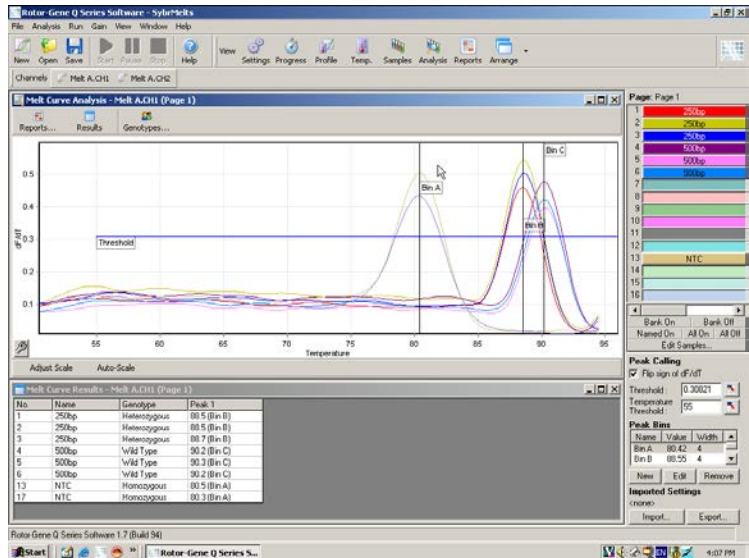
7.6.5 Smeltekurveanalyse

Smeltekurveanalysen analyserer derivatet av rådataene etter utjevning. Denne analysen brukes ofte til bestemmelse av genotype og allelisk diskriminering. Toppene i kurven grupperes i bin-områder, og alle topper under terskelen

* Livak, K.J. og 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.


forkastes. Binområder kan deretter tilordnes til genotyper med kommandoen "Genotypes" (Genotyper).


Etter at en kjøring er ferdig og ved bruk av visse kjemier, kan det legges til et smeltetrinn for å visualisere dissosiasjonskinetikken i det amplifiserte produktet. Temperaturen øker i lineær hastighet og fluorescensen for hver prøve blir registrert. En typisk smeltekurveanalyse vises nedenfor.





Peak Calling

Flip sign of dF/dT

Threshold : 

Temperature Threshold : 

Peak Bins

Name	Value	Width	
Bin A	80.42	4	
Bin B	88.55	4	

Imported Settings

<none>

"Flip sign of dF/dT" Før du definerer toppunkter, må du (Bytt fortegn på dF/dT): kontrollere at dF/dT-tegnet er riktig slik at datasettet gir positive toppunkter.

Definere
toppunkter:

I smeltekurveanalyser kan toppunkter defineres og rapporteres med ulike metoder. En av metodene er å hente alle toppunkter for hver prøve automatisk. En annen er å tilordne toppunkter til bin-områder, som er nyttig ved bestemmelse av genotype.



Bin-områder definerer områder der toppunkter forventes å forekomme. Programvaren for smeltekurveanalyse samler toppunkter i bin-områder, basert på faktiske toppverdier i kurven. Bin-områder kan redigeres ved behov.

Alle toppunkter som ligger innenfor det definerte bin-området, blir tilordnet dette området. Hvis 2 bin-områder ligger tett sammen, blir toppunktet tilordnet nærmeste bin-område.

Merk : Bin-områdene bør ikke posisjoneres visuelt når toppunktene plassering skal anslås. Angi bin-områdene i et omtrentlig aktuelt område, og bruk deretter de rapporterte verdiene resultattabellen for et mer nøyaktig resultat.

"Peak Bins" (Bin-områder for toppunkter):

For å definere et bin-område klikker du på knappen "New Bin" (Nytt bin-område), og deretter klikker og holder du på grafen for å definere midtpunktet i bin-området. Gjenta prosessen for å legge til et nytt bin-område. Bruk knappen "Remove" for å slette bin-områder.

- "Threshold": For å angi terskelen (yakse) klikker du på -ikonet, klikker og holder på grafen og drar terskellinjen til ønsket nivå.
- "Temperature Threshold" (Temperaturterskel) For å angi en temperaturterskel (xakse) klikker du på -ikonet, klikker og holder på grafen og drar terskellinjen til ønsket nivå. Dette eliminerer terskellinjer for de lavere temperaturene.
- Merk : Dette er nyttig når det er støy i signalet ved lave temperaturer.

"Reports"

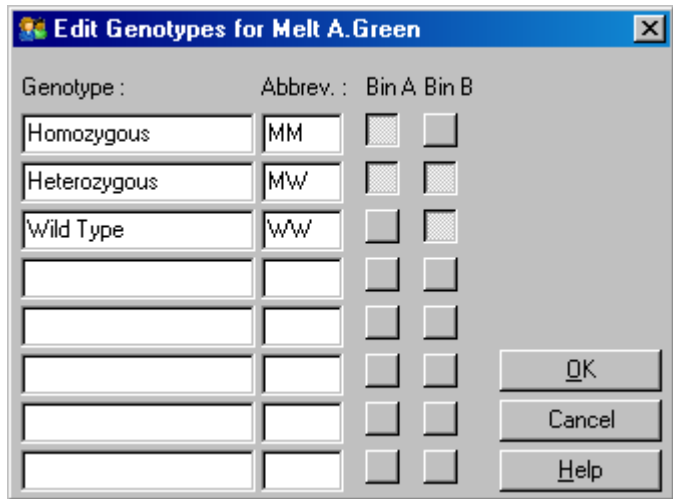
Dette åpner vinduet "Report Browser", der du kan velge en rapport for forhåndsvisning. Du kan generere en rapport basert på gjeldende valgte kanal, men det er også mulig å generere en flerkanals genotyperapport.

"Results"

Dette viser vinduet "Melt Curve Results" (Smeltekurveresultater), som viser toppunktene for prøvene.

"Genotypes"

Klikk på "Genotypes..." og velg genotypene, som vist nedenfor.



I dette vinduet kan genotyper tilordnes til forekomsten av toppunkter i bin-områder. Skjermbildet viser standard genotYPEkonfigurasjon, der heterozygote prøver har 2 topper, homozygote prøver en topp i første binområde, og villtype-prøver en topp i andre bin-område. Det er mulig å legge inn en forkortelse i feltet ved siden av navnet på hver genotype. Forkortelsen benyttes ved utskrift av flerkannels genotyperapporter, for at det skal være enkelt å lese resultatene fra alle de ulike kanalene.

Ved multiplekse analyser må genotyper settes opp i hver kanal. Hvis det for eksempel kjøres en tokanals Quenched FRETanalyse, der en villtype og en heterozygot genotype forventes i hver kanal, må bin-parameterne angis for hver kanal. Resultatene vil deretter bli oppført i en multipleksrapport.

Maler for smelt eanalyse

Maler for smelteanalyse gjør at brukeren kan eksportere innstillinger for normalisering, terskel, genotype og bin-område til én enkelt *.met -fil. Filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 8.1 for mer informasjon.



7.6.6 Komparativ kvantitering

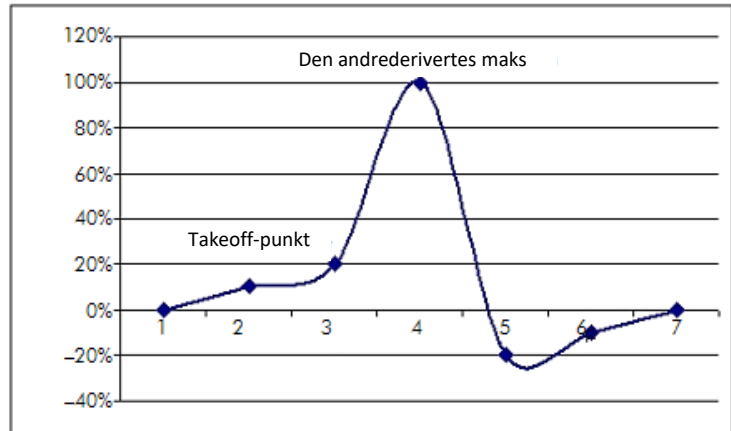
Komparativ kvantitering sammenligner det relative uttrykket i prøver, med en kontrollprøve i kjøring hvor en standardkurve ikke er tilgjengelig. Dette brukes ofte i mikroarray-analyse. Warton og kollegaer (2004)* gir et eksempel på denne teknikken.

1. For å utføre analysen velger du "Other" og deretter "Comparative quantitation" (Komparativ kvantitering) i "Analysis"-vinduet. Dobbelklikk på kanalen for å analysere den.
2. Velg en kontrollprøve ved hjelp av nedtrekksmenyen på høyre side i skjermbildet, under velgeren.
3. Resultatene beregnes og vises automatisk i vinduet "Comparative Quantitation Results" (Resultater for komparativ kvantitering) under grafen.

De første kolonnene i vinduet "Comparative Quantitation Results" viser prøvenummer og prøvenavn. Kolonnen "Takeoff" gir prøvens takeoff-punkt. Den andrederiverte av amplifikasjonsdiagrammet produserer toppunkter som tilsvarer maksimumshastigheten for reaksjonens fluorescensøkning. Takeoff-punktet er definert som den syklusen der den andrederiverte befinner seg på 20 % av maksimumsnivået, og indikerer slutten på støyen og overgangen til den eksponentielle fasen.

Denne grafen viser en andrederivert av et amplifikasjonsdiagram, og viser de relative posisjonene til den andrederivertes toppunkt og takeoff-punktet.

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



Kolonnen "Amplification" (Amplifikasjon) viser prøvens effektivitet. En 100% effektiv reaksjon vil gi en amplifikasjonsverdi på 2 for hver prøve, som betyr at amplikonet er blitt doblet i hver syklus. I rådataene bør signalet doble seg i den eksponentielle fasen. Hvis signalet for eksempel var 50 fluorescenseenheter ved syklus 2 og deretter 51 fluorescenseenheter ved syklus 3, burde det øke til 53 fluorescenseenheter ved syklus 4. Det tas et gjennomsnitt av alle amplifikasjonsverdiene for hver enkelt prøve, og dette gir amplifikasjonsverdien som vises til høyre på skjermen under velgeren. Jo større variasjon mellom de estimerte amplifikasjonsverdiene for hver enkelt prøve, jo større blir konfidensintervallet (angitt ved verdien etter \pm -tegnet). Konfidensintervallet, for et stort prøveantall (N), gir en sannsynlighet på 68,3% for at prøvenes sanne amplifikasjon ligger innenfor dette området (1 standardavvik). Ved å doble \pm -intervallet oppnås et konfidensintervall på 95,4% for et stort N.

Kalibratorreplikat

I likhet med delta delta C_T -metoden er det påkrevd med en kalibratorprøve, og målinger er relative til denne kalibratorprøven. Replikater av kalibratoren kan analyseres, for hvis flere prøveposisjoner har samme navn, vil gjennomsnittet for takeoff-punktene til disse prøvene bli

brukt. For å bruke denne funksjonen på riktig måte må du sørge for at replikater har identiske navn.



Gjennomsnittlig amplifikasjon benyttes til å beregne uttrykk. En prøve med lav amplifikasjonsverdi vil for eksempel bruke lenger tid på å nå et bestemt absolutt kopiantall, enn en prøve med høyere amplifikasjonsverdi. Kolonnen "Rep. Conc." i vinduet "Comparative Quantitation Results" viser den relative konsentrasjonen. Den relative konsentrasjonen for hver prøve sammenlignet med kalibratorprøven, blir beregnet med utgangspunkt i takeoff-punktet og reaksjonseffektiviteten. Dette uttrykkes i vitenskapelig notasjon.

Merk : Verdien som vises i "Average Amplification" (Gjennomsnittlig amplifikasjon) til høyre for \pm , representerer standardavviket til den gjennomsnittlige amplifikasjonen, etter at uteliggende amplifikasjonsverdier er blitt fjernet. Hvis denne verdien er høy, kan det være en stor feil i de samlede beregnede konsentrasjonsverdiene.

Relative konsentrasjoner beregnes av programvaren på følgende måte:

1. Takeoff-punktet for hver prøve blir beregnet ved å se på toppunktene for andrederiverte.
2. Den gjennomsnittlige økningen i rådata 4 sykluser etter takeoff blir beregnet. Dette er prøvens amplifikasjonsverdi.
3. Uteliggende amplifikasjoner fjernes for å ta hensyn til støy i bakgrunnsfluorescens.
4. Det tas et gjennomsnitt av de resterende amplifikasjonene. Dette er den gjennomsnittlige amplifikasjonen.
5. Det gjennomsnittlige takeoffpunktet blir beregnet for hver kalibratorreplikate.

6. Den relative konsentrasjonen til enprøve blir beregnet som $\text{Amplifikasjon}^{\wedge}(\text{Kalibrator} - \text{takeoff} - \text{Prøvetakeoff})$.
7. Resultatet vises i vitenskapelig notasjon i kolonnen "Rep. Conc." i vinduet "Comparative Quantitation Results".

7.6.7 Allelisk diskriminering

Allelisk diskriminering benytter sanntids kinetiske data fra 2 eller flere kanaler for å bestemme genotype i prøver. For å utføre denne analysen velger du "Other" og deretter "Allelic Discrimination" (Allelisk diskriminering) i "Analysis"-vinduet. Når du utfører allelisk diskriminering, er det ikke tilstrekkelig å dobbeltklikke på en kanal for analysere den, fordi denne analysen utføres ved bruk av flere kanaler samtidig. For å utføre denne analysen må du enten holde nede CRL-tasten og merke hver kanal du ønsker å analysere, eller dra musepekeren over disse kanalene. Når ønskede kanaler er blitt merket, klikker du på "Show". Listen oppdateres og viser alle kanalene på én linje, med en hake ved siden av. Det betyr at alle vil inngå i én analyse. For å fjerne én eller flere av kanalene høyreklikker du på analysen og velger "Remove Analysis...". Disse kanalene kan da bli inkludert i en annen analyse med allelisk diskriminering. En kanal kan kun brukes i én analyse av gangen.

"Reports": Åpner rapporten "Allelic Discrimination Analysis" (Analyse med allelisk diskriminering) for forhåndsvisning.

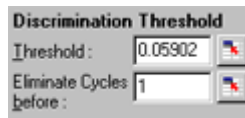
"Results": Viser vinduet "Allelic Discrimination Results" (Resultater for allelisk diskriminering). Som standard blir dette vinduet åpnet når analysen vises første gang.

”Normalization Options” (Alternativer for normalisering): Det finnes en rekke alternativer for å optimalisere normalisering av rådata:

- ”Dynamic Tube” (dynamisk rørnormalisering)
- ”Slope Correct” (korrigerer av stigningstall for støy)
- ”Ignore First x cycles” (korrigerer av støy i innledende sykluser)
- ”Takeoff point adjustment” (justering av takeoff-punkt)

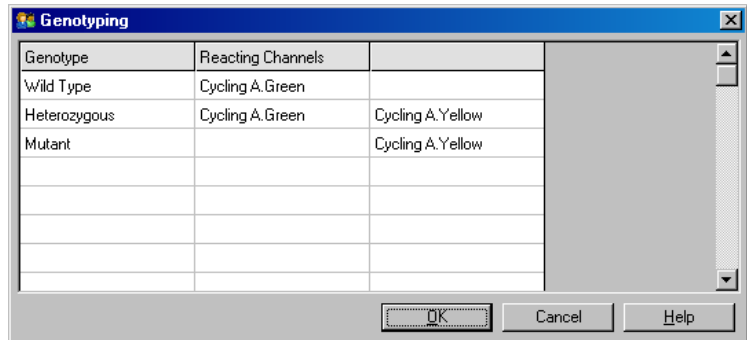
For mer informasjon, se side 7-27.

”Discrimination Threshold” (Diskrimineringsterskel): Angi verdier i disse feltene for å plassere diskrimineringsterskelen. Alle kurver som passerer denne terskelen, anses som genotype-prøver. Klikk på ikonet til høyre for hvert felt, og dra deretter terskelen i grafen for å angi verdiene visuelt.

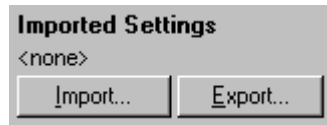


”Genotypes”:
Åpner vinduet ”Genotyping” (Bestemmelse av genotype) som brukes til å definere hvilken genotype som blir registrert i hver kanal. I dette vinduet kan genotyper tilordnes til kanaler for analyse med allelisk diskriminering.

I eksemplet nedenfor er en prøve heterozygot hvis målte verdier i kanalene Cycling A.Green og Cycling A.Yellow krysser terskelen.



Maler for allelisk analyse: Maler for allelisk analyse gjør det mulig å eksportere innstillinger for normalisering, terskel og genotype til én enkelt*.alt -fil. Filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 8.1 for mer informasjon.



7.6.8 Analyse med punktdiagram

Analyse med punktdiagram gjør det mulig å bestemme genotype basert på det relative uttrykket i amplifikasjonsdiagrammer over 2 kanaler. I motsetning til allelisk diskriminering blir genotypen bestemt på grunnlag av definerte områder i punktdiagrammet, og ikke på grunnlag av én terskelverdi. For å utføre denne analysen velger du "Other" og deretter "Scatter Graph Analysis" (Analyse med punktdiagram) i "Analysis"-vinduet.

Når du utfører en analyse med punktdiagram, er det ikke tilstrekkelig å dobbeltklikke på en kanal for å analysere den, fordi denne analysen utføres ved bruk av 2 kanaler samtidig. For å utføre denne analysen må du enten holde nede SHIFT-tasten og merke kanalene du ønsker å analysere, eller dra

musepekeren over kanalene. Når ønskede kanaler er blitt merket, klikker du på "Show".

Listen oppdateres og viser alle kanalene på én linje, med en hake ved siden av. Det betyr at alle vil inngå i én analyse. For å fjerne én eller flere av kanalene høyreklikker du på analysen og velger "Remove Analysis...". Disse kanalene kan da bli inkludert i en annen analyse med punktdiagram. En kanal kan kun brukes i én analyse av gangen.

"Reports": Åpner rapporten "Scatter Analysis" (Punktanalyse) for forhåndsvisning.

"Results": Viser vinduet "Scatter Analysis Results" (Resultater for punktanalyse). Genotypen for hver prøve bestemmes ved hjelp av områdene som er definert av brukeren i punktdiagrammet.

"Normalization Options": Det finnes en rekke alternativer for å optimalisere hvordan diagrammer med rådata normaliseres:

- "Dynamic Tube" (dynamisk rørnormalisering)
- "Slope Correct" (korrigerer av stigningstall for støy)
- "Ignore First x cycles" (korrigerer av støy i innledende sykluser)
- Justering av takeoff-punkt

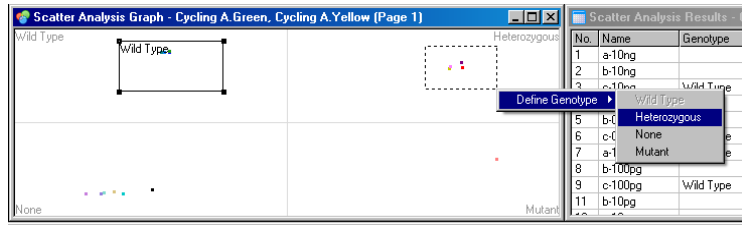
For mer informasjon, se side 7-25.

”Genotypes...”: Åpner vinduet ”Genotyping” som brukes til å definere hvilken genotype som blir registrert i hver kanal. I dette vinduet kan genotyper tilordnes på grunnlag av hvilke kanaler en prøve reagerer i. De valgte kanalene vi bli brukt til å merke hjørnene i punktdiagrammet og gir brukeren en pekepinn om det generelle området i punktdiagrammet der områder må defineres.

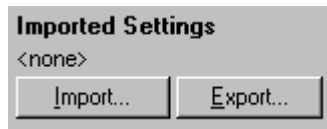


”Scatter Graph” (Punktdiagram): Punktdiagrammet viser det relative uttrykke til de 2 valgte kanalene. Displayet normaliseres for å ta hensyn til ulike fold-økninger i hver kanal og log-transformeres for å fremheve forskjellene i uttrykk mellom prøver.

For å bestemme genotype må brukeren definere områdene ved å klikke og dra et område i grafen. Området kan deretter navngis basert på de konfigurerte genotypene i ”Genotyping”-vinduet.



Maler for analyse Maler for analyse med punktdiagram gjør det mulig å eksportere innstillinger for genotype og område til én enkelt *.sct-fil. Filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 8.1 for mer informasjon.



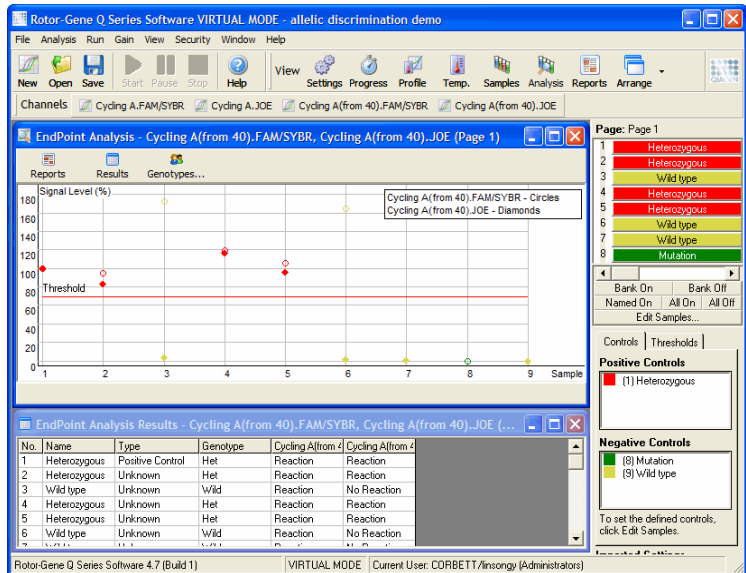
7.6.9

EndPoint-analyse

EndPointanalyse gjør det mulig å diskriminere mellom amplifiserte og ikke-amplifiserte prøver på slutten av en

kjøring. Resultatene er kvalitative (positive/negative), ikke kvantitative.

EndPointanalyse vises i skjermbildet nedenfor.



EndPointanalyse kan minne om allelisk diskriminering ettersom resultatene er kvalitative og fordi det kan tilordnes navn til visse permutasjoner av reaksjoner over ulike kanaler. I en EndPointanalyse er imidlertid bare én måling tilgjengelig, i motsetning til allelisk diskriminering, som bruker en syklustil-syklusmåling for hver prøve. Det betyr at brukeren må identifisere positive og negative kontroller for å kunne utføre analysen. For rådataene blir signalnivåene normalisert i forhold til de kjente positive og negative kontrollene for hver kanal. Brukeren velger deretter et prosentmessig signalnivå som terskelverdi.

Begreper i EndPoint -analyse

Noen av begrepene i EndPointanalyse er forklart nedenfor.

Positiv kontroll: En prøve som man vet amplifiserer.

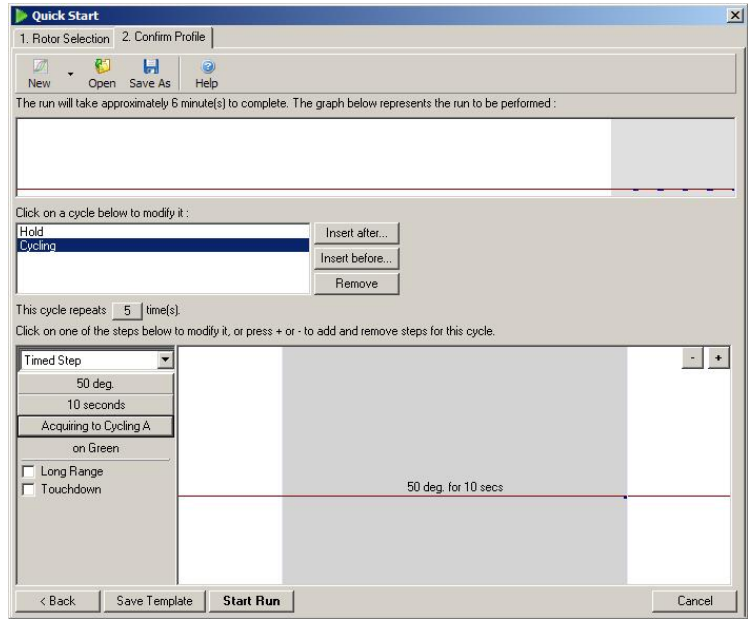
Negativ kontroll: En prøve som man vet ikke amplifiserer.
Representerer det typiske bakgrunnssignalet.

Terskel: Terskelen er et signalnivå som en prøve må overskride for å regnes som positiv (amplifisert). Denne innstillingen må justeres av brukeren for hver kjøring.

Signalnivå: En prosentandel fluorescerende signal, normalisert slik at det høyeste signalet til de positive kontrollene er 100 % og det laveste signalet til de negative kontrollene er 0%.

Genotype: En tolkning av ulike permutasjoner av reaksjoner i ulike kanaler. Genotypen "heterozygot" kan for eksempel tilordnes prøver som reagerte i både grønn og gul kanal. Genotypen kan også brukes til å rapportere resultatene til reaksjoner med interne kontroller. Resultater kan for eksempel rapporteres som "inhiberte", "positive" eller "negative", avhengig av om en reaksjon forekom i bestemte kanaler eller ikke.

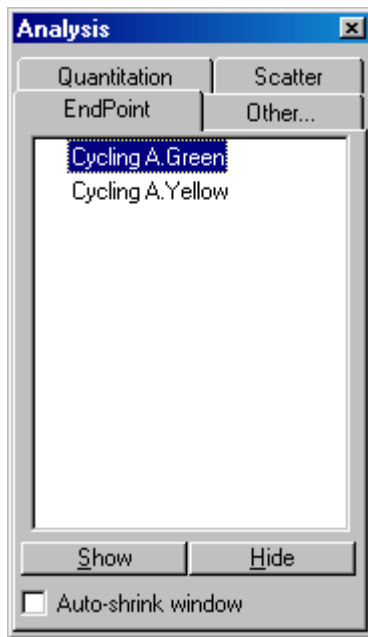
Konfigurering av profil



For å utføre en EndPointanalyse må du kjøre en profil med holding ved 50 °C i flere minutter, deretter et syklustrinn med 1 trinn (50 °C i 10 sekunder), med innsamling i ønsket kanal. Angi antall repetisjoner til 5, som vist ovenfor. Disse tidene er kun en veiledning og kan være annerledes for ditt bestemte bruksområde. Jo flere repetisjoner i profilen, jo mer informasjon blir tilgjengelig for å utføre analysen. Analysen tar automatisk et gjennomsnitt av alle målingene og oppnår én verdi for hver prøve. Det er ingen krav til et minste antall repetisjoner. Med mindre det er behov for svært høy grad av nøyaktighet, er 5 repetisjoner som regel nok.

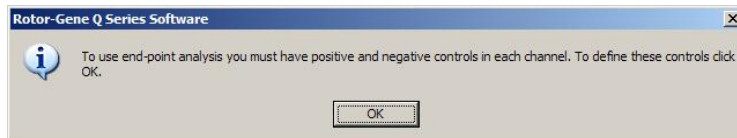
Analyse

EndPointanalyse kan utføres i flere kanaler samtidig. For å opprette en ny analyse klikker du på fanen "EndPoint" (Endepunkt), velger kanalene ved å dra over dem med musepekeren, og klikker på "Show".



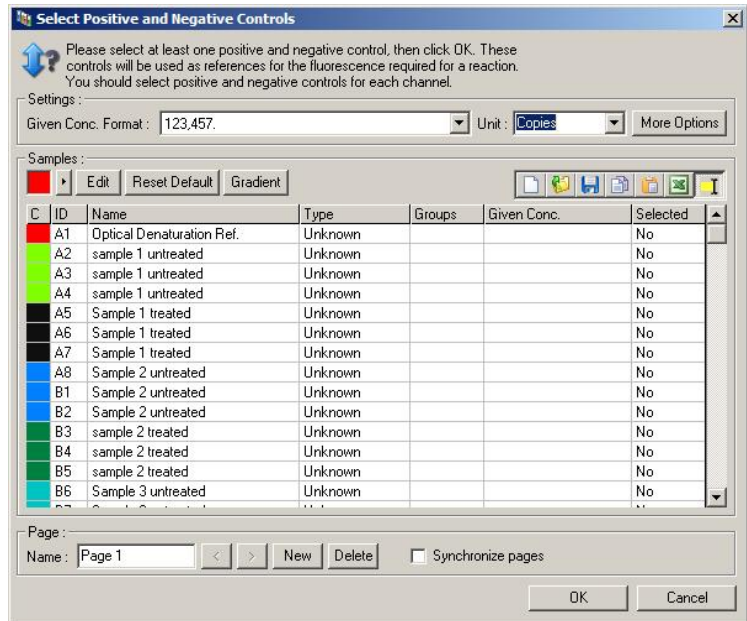
Definere kontroller

Når en EndPointanalyse åpnes for første gang, vises følgende melding hvis det ikke er definert positive og negative kontroller.



Klikk på "OK". Vinduet "Edit Samples" vises, der du kan definere positive og negativekontroller. For å definere en prøve som en positiv eller negativ kontroll klikker du på cellen med prøvetypen og velger den aktuelle kontrolltypen fra nedtrekksmenyen.

Merk : For at analysen skal bli utført må kontrollene settes til "på" med velgeren til høyre i hovedvinduet.



Dette skjermbildet fungerer på samme måte som "Edit Samples"-vinduet (avsnitt 6.1.4).

Normalisering

Normalisering av EndPointanalysedata skalerer alle signalnivåer slik at de faller innenfor området 0–100 %. Minst én positiv og én negativ kontroll må være valgt, eller flere dersom flere kanaler skal analyseres og standardene ikke er multiplekse. Det bør kjøres mer enn én positiv og én negativ kontroll hvis det er en risiko for at en positiv kontroll ikke vil amplifisere.

1. Alle de positive kontrollene for hver kanal blir analysert, og kontrollen med høyest fluorescens settes til 100%. Hvis det kjøres duplikate kontroller, kan dermed en positiv kontroll bli underkjent, uten at det påvirker kjøringen.
2. Alle de negative kontrollene blir analysert, og kontrollen med lavest fluorescens settes til 0%.

3. De rå fluorescensverdiene til de resterende prøvene skaleres i forhold til den høyeste positive kontrollen og den laveste negative kontrollen.

For eksempel:

Prøve	Type	Fluorescens
1	Positiv kontroll	56,3
2	Positiv kontroll	53,0
3	Negativ kontroll	4,5
4	Negativ kontroll	4,3
5	Prøve	48,1
6	Prøve	6,4

Denne kjøringen var vellykket ettersom de 2 positive og de 2 negative kontrollene ligger tett opptil hverandre og er utenfor prøvenes fluorescensverdier.

De normaliserte verdiene er som følger:

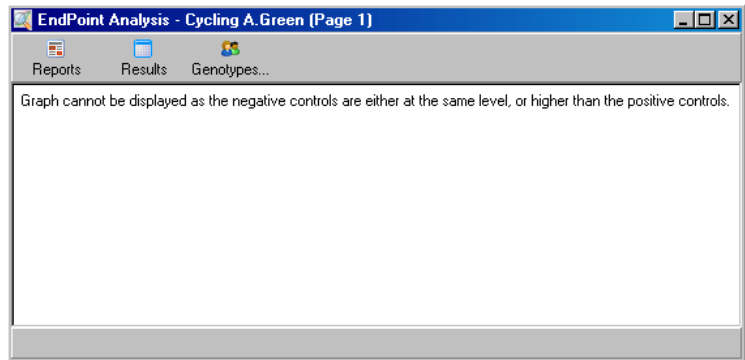
Prøve	Type	Uttrykk (%)
1	Positiv kontroll	100,0
2	Positiv kontroll	93,7
3	Negativ kontroll	0,4
4	Negativ kontroll	0,0
5	Prøve	84,2
6	Prøve	4,0

Prøve 1 var den positive kontrollen med høyest fluorescens og ble satt til 100 %. Den andre positive kontrollen var noe lavere. Prøve 4, den laveste negative kontrollen, ble satt til 0 %. Det er nå tydelig at prøve 5 sannsynligvis ble amplifisert, mens prøve 6 sannsynligvis ikke ble amplifisert.

Merk : Avhengig av de positive og negative kontrollene som er valgt, vil det være mulig å oppnå uttrykksnivåer på over 100 % eller under 0 %. Et resultat på over 100% kan tolkes dithen at prøven uttrykkes i høyere grad enn de positive

kontrollene. Et resultat på under 0% kan tolkes dithen at det er mindre sannsynlig at prøven ble amplifisert enn at de negative kontrollene ble amplifisert. Ettersom analysen er kvalitativ, er det ikke nødvendig å ta hensyn til resultater av denne typen.

Hvis de negative kontrollene gir høyere fluorescens enn de positive kontrollene, er det en feil i oppsettet av prøvene og følgende melding vises.



Normalisering i flere kanaler

Det er mulig å analysere signaldata over flere kanaler, men prøveoppsettet er da mer komplekst. EndPoint analysen forutsetter at det utføres multipleksing, og hvert rør kan derfor bare ha en enkelt rørposisjon. Det er for tiden ikke mulig å analysere et oppsett der en prøveposisjon er en positiv kontroll for én kanal og en negativ kontroll for en annen.

Selv om det bare gis én prøvedefinisjon per rørposisjon i vinduet "Edit Samples", skjer normalisering separat for hver kanal.

Hvis en rørposisjon er en positiv kontroll for minst én kanal, bør den angis som positiv kontroll i kolonnen "Type" i vinduet "Edit Samples". Hvis ikke skal typen være "Sample" (Prøve). Dette gjelder også for negative kontroller.

Hvis en prøve for eksempel er en positiv kontroll i den grønne kanalen, men ikke i den gule kanalen, skal prøven likevel defineres som en positiv kontroll. Siden det er den

høyeste positive kontrollen i hver kanal som benyttes, vil definisjonen av prøven som en kontroll for den grønne kanalen, hvis minst én positiv kontroll i den gule kanalen amplifiseres, bli ignorert.

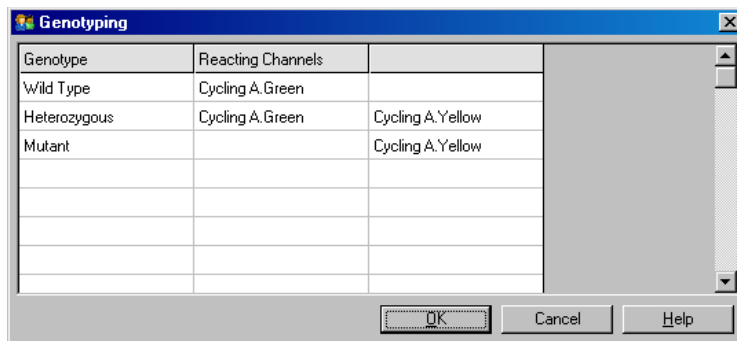
Terskel

Terskelen brukes til å fastsette det prosentvise uttrykket som kreves for en reaksjon i hver kanal. Når de positive og negative kontrollene er definert, blir alle kanaler normalisert etter samme 0–100 %-skala. Dermed er det kun behov for én terskel, også når det analyseres flere kanaler.

Klikk og dra terskellinjen til et område mellom 0 og 100. Terskelen bør ikke være for nær prøver på noen side av linjen, fordi dette vil indikere at kjøringen ikke var konkluderende. Hvis differansen mellom at en prøve defineres som amplifisert eller ikke, bare er noen få prosent, betyr det at dersom reaksjonen gjentas, vil prøven muligens dukke opp på andre siden av terskelen.

Genotyper:

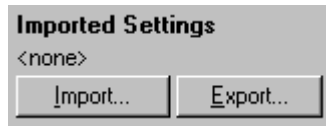
Dette alternativet åpner vinduet "Genotyping" som brukes til å definere hvilken genotype som registreres i hver kanal.



I dette vinduet kan genotyper tilordnes til kanaler. I eksemplet ovenfor er en prøve heterozygot hvis målte verdier i kanalene Cycling A.Green og Cycling A.Yellow krysser terskelen.

Maler for EndPoint -analyse

Maler for EndPoint-analyse gjør at brukeren kan eksportere genotype- og terskelinnstillinger til én enkelt*.ent -fil. Filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 8.1 for mer informasjon.

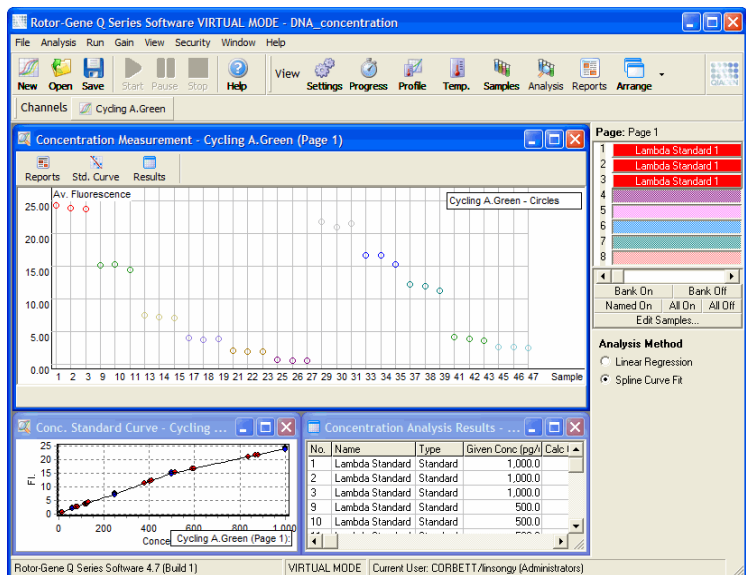


7.6.10

Konsentrasjonsanalyse

Med konsentrasjonsanalyse kan RotorGene Q MDx brukes til å måle DNA-konsentrasjoner eller fremskaffe fluorometermålinger.

Skjermbildet nedenfor viser denne analysen.



Klargjøre en kjøring

Når du skal utføre en konsentrasjonsanalyse, må du først klarlegge fluorescerende standarder og prøver, helst i triplikat.

Klargjøre standarder

Det brukes en standardkurve til å bestemme konsentrasjonen av DNA fra hver målte prøve.

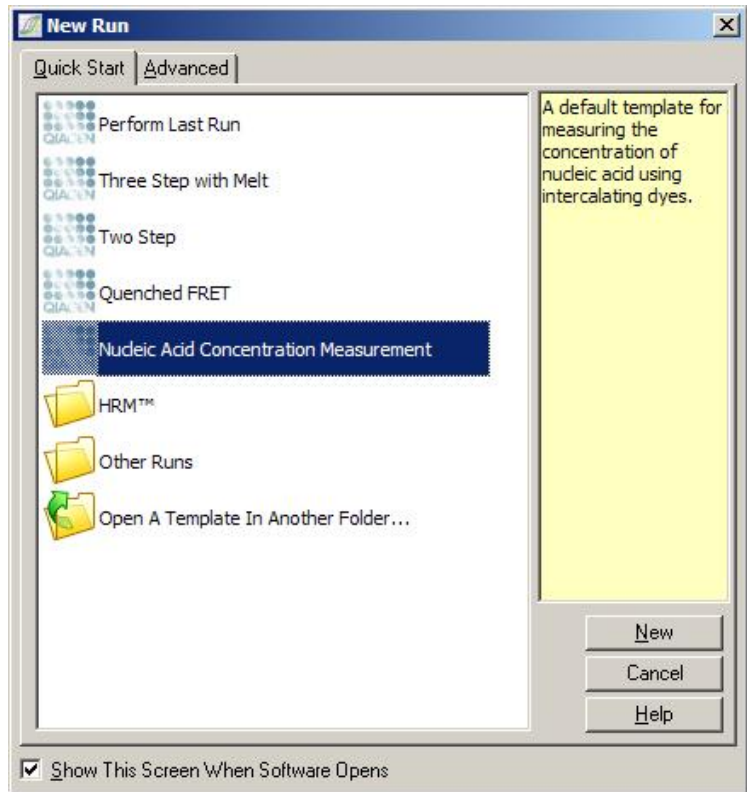
DNA-et som brukes til standardkurven, bør være en lignende type DNA som i prøvene som måles. Konsentrasjonen for minst én DNA-prøve bør bestemmes ved hjelp av ultrafiolett spektrofotometri, og denne prøven bør benyttes som standarden. Minst 3 standarder (med replikater) bør benyttes. Det er viktig å huske at DNA-standarder som brukes ved deteksjon av fluorescens, kun er lineære i området 1–100 ng/μl. Hvis konsentrasjonen av DNA halveres i dette området, halveres også fluorescensmålingen. Konfidensintervallene for alle konsentrasjoner utenfor dette området, er svært store ettersom kjemien er ikkelineær.

DNA -type som måles

Det er observert forskjeller i målingene av ulike former for DNA (f.eks. genomisk DNA sammenlignet med plasmid DNA). Derfor bør kun lignende DNA-typer måles sammen, og bruk av plasmid-DNA som standard bør unngås når det måles genomisk DNA.

Oppsett av kjøring

For å sette opp kjøringen velger du "Nucleic Acid Concentration Measurement" fra hurtigveiviseren.



Merk : Påse at en positiv kontroll, f.eks. en høy konsentrasjonsstandard, blir kjørt i rørposisjon1. Uten en positiv kontroll vil ikke programvaren klare å optimalisere økningsinnstillingene for maksimal følsomhet. Du vil bli bedt om å gjøre dette før hver kjøring.

Analyse

Konsentrasjonsanalyse fungerer ved at fluorescensnivået relateres til en konsentrasjonsverdi. Det finnes to analysemodeller. Hvilken analyse som er optimal, vil være avhengig av kjemien og bruksområdet.

"Linear Regression" (Lineær regresjon) analyserer data ved å forutsette et lineært forhold og estimere ukjente verdier på grunnlag av en generert lineær modell. Metoden bestemmer målefeil ved å undersøke målingenes avvik fra

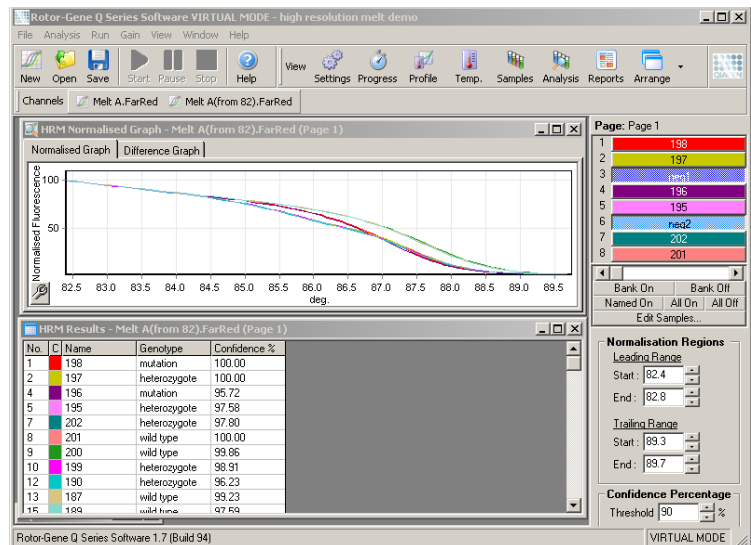
en lineær modell. Hvis konsentrasjonsmålingene er lineære, er denne analysen bestegnet ettersom den gir brukeren en statistisk variansanalyse (ANOVA).

"Spline Curve Fit" (Tilpasset splinekurve) forutsetter kun at konsentrasjonsverdiene øker med fluorescensen. Metoden foretar estimerer av ikke-lineære data mer nøyaktige, men kan ikke lage en ANOVA, ettersom den ikke forutsetter en lineær modell.

7.6.11 High Resolution Melt -analyse

Analysen High Resolution Melt (HRM) karakteriserer prøver basert på sekvenslengde, GGinnhold og komplementaritet. HRM-analyse brukes i applikasjoner for genotypebestemmelse, f.eks. til analyser av genmutasjoner eller enkle nukleotide polymorfismer (SNP), og i epigenetiske applikasjoner for å analysere DNA-metyleringsstatus. Med HRM-analyse får man nøyaktige resultater og kan spare kostnader til prober og merking sammenlignet med andre metoder.

For å utføre analysen velger du "Other" og deretter "High Resolution Melt Analysis" (Analyse med høyoppløselig smelting) i "Analysis"-vinduet. Dobbeltklikk på kanalen som skal analyseres. Smeltekurve fra råkanalen normaliseres ved at det tas et gjennomsnitt av alle start og sluttverdier for fluorescens og deretter tvinges endepunktene for hver prøve til å være det samme som gjennomsnittet.



Du kan hente prøver automatisk ved å klikke på "Genotypes". Angi navnet på genotypen, etterfulgt av prøvenummeret, som brukes som en positiv kontroll for å hente ukjente prøver automatisk.

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

For mer informasjon om HRM-analyse, se avsnitt 1.

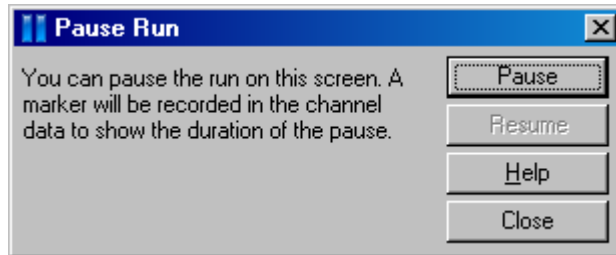
7.7 Menyen "Run" (Kjøring)


7.7.1 "Start Run" (Start kjøring)

Dette alternativet starter den definerte temperaturprofilen med gjeldende økningsinnstillinger. Før kjøringen starter vises vinduet "Profile Run Confirmation" (Bekreftelse på kjøring av profil). En grafisk fremstilling av temperaturprofilen vises sammen med økningsinnstillingene for hver kanal.

7.7.2 "Pause Run" (Sett kjøring på pause)

Dette alternativet gjør det mulig å sette en kjøring på pause og gjenoppta den. Å sette på pause og gjenoppta kan påvirke resultatene dramatisk. En markør i dataene vil derfor markere at kjøringen ble satt på pause og pausens varighet. Det vises også en melding i meldingsfanø i vinduet "Run Settings" (Innstillinger for kjøring) (se avsnitt 7.8.1).



ADVARSEL 	Varm overflate [W18] Når en kjøring settes på pause, blir ikke Rotor-Gene Q MDx avkjølt helt ned til romtemperatur. Utvis forsiktighet når du håndterer rotoren eller noen av rørene i instrumentet.
--	---

7.7.3 "Stop Run" (Stopp kjøring)

Hvis du velger dette alternativet, vil du bli bedt om å bekefte at kjøringen skal stoppe.

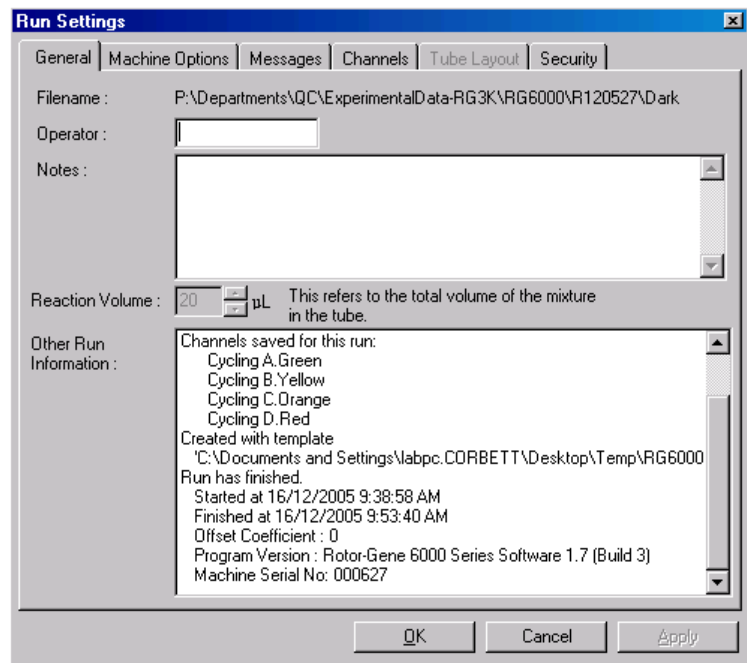
7.8 Menyen "View" (Vis)

7.8.1 "Run Settings" (Innstillinger for kjøring)

"General" (Generelt)

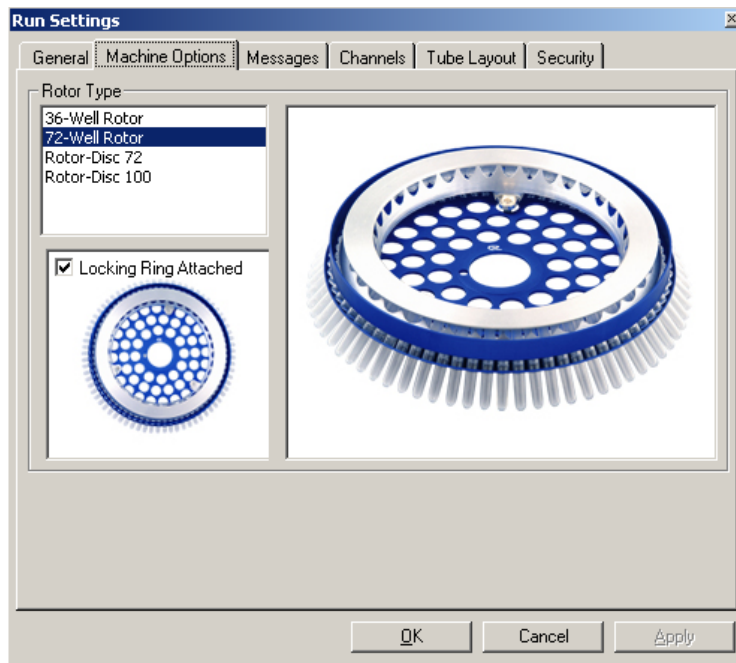
I dette vinduet kan du legge inn informasjon om kjøringen, filnavnet for kjøringen, analysedato, operatør og kommentarer.

Vinduet inneholder all informasjon, med unntak av profilen, som er nødvendig for å konfigurere en kjøring. Når en kjøring er fullført, vises følgende informasjon i dette vinduet: syklere som ble brukt, økningsinnstillinger, antall kanaler og start- og sluttidspunkt.



"Machine Options" (Alternativer for maskin)

Denne fanen viser innstillinger for konfigurering av Rotor-Gene Q MDx.



Rotoren må stilles inn på samme type som installert i Rotor-Gene Q MDx. Hvis du åpner en eksisterende kjøring, vil denne innstillingen vise rotoren som var installert i syklere på det tidspunktet.

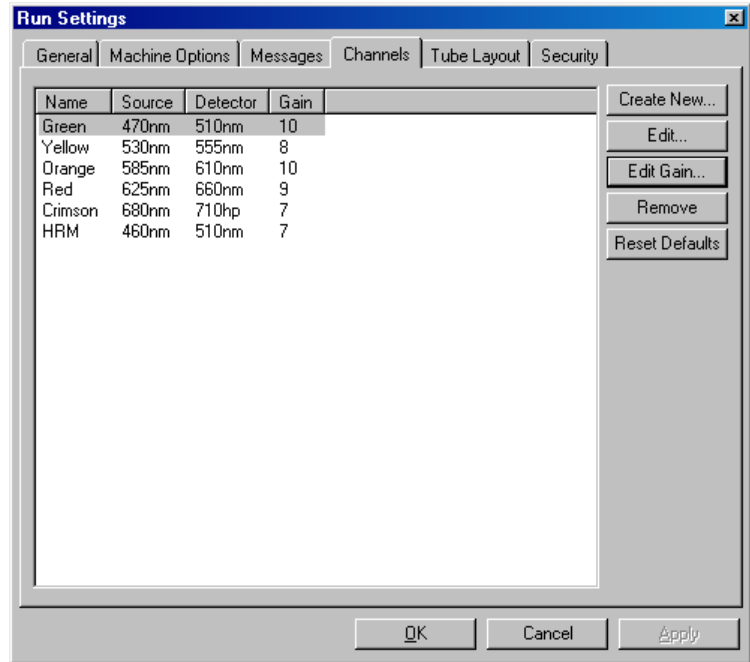
"Messages" (Meldinger)

Denne fanen viser meldinger dersom brukeren har gjort endringer, som å sette syklere på pause eller hoppe over sykluser under en kjøring. Den viser også advarsler som mottas under kjøringen. Du bør sjekke denne fanen hvis resultatene ikke er som forventet.

"Channels" (Kanaler):

Hvis du konfigurerer en ny kjøring, viser fanen gjeldende konfigurasjon av tilgjengelige kanaler. Hvis du viser en eksisterende kjøring, gjelder informasjonen i skjermbildet konfigurasjonen av kanalene da kjøringen ble utført. Hvis en kjøring fører til korrupte kanalinnstillinger, kan du

gjenopprette standardkanalene ved å klikke på "Reset Defaults" (Gjenopprett standardinnstillinger).



"Name" (Navn): Navnet på kanalen.

"Source" (Kilde): Angir eksitasjonsbølgelengden til kilde LEDen.

"Detector" (Detektor): Angir deteksjonsbølgelengden og filtertypen (nm=båndpass, hp=høypass).

"Gain" (Økning): Angir økningen for den aktuelle kanalen.

"Create New..." (Opprett ny...): En funksjon for å opprette nye kanaler. Ved å klikke på "Create New..." åpnes et vindu som ber om et nytt navn, kilde og deteksjonsfilter. Filtrene kan velges med nedtrekksmenyen ved siden av hvert vindu

"Channels" (Kanaler): Grønn, gul, oransje og rød kanal er standard konfigurasjoner for 4-kanals multipleks deteksjon.

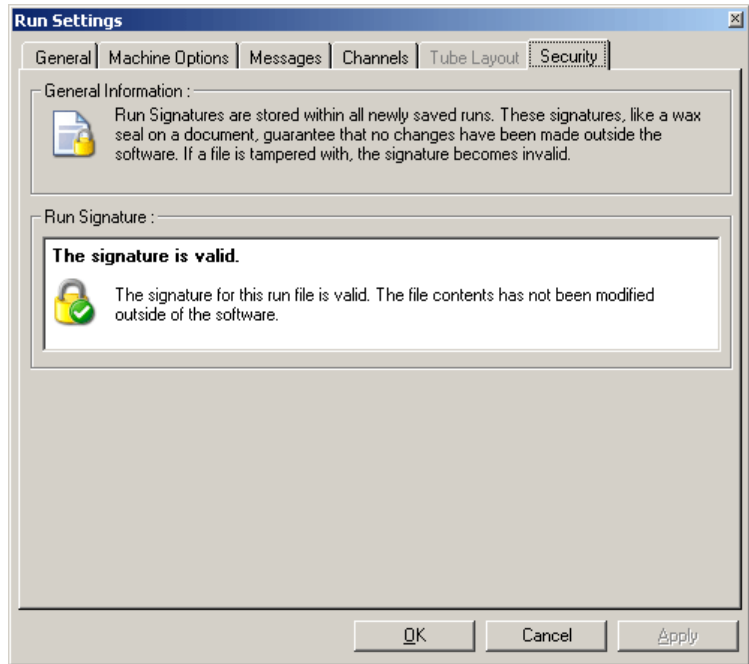
"Tube Layout" (Rørlayout)

Hvis du bruker en 72-brønners rotor, kan prøvene ordnes slik at de er svært like merkingen på en 9 x 8blokk. Standard i fanen for rørlayout er at prøvene merkes sekvensielt (dvs. 1, 2, 3...). Det betyr at prøver merkes fortløpende i den rekkefølgen de plasseres i RotoGene Q MDx. Alternativt kan prøvene merkes 1A, 1B, 1C osv. Dette alternativet er nyttig hvis prøvene er blitt satt opp med en flerkanals pipette.

"Security" (Sikkerhet)

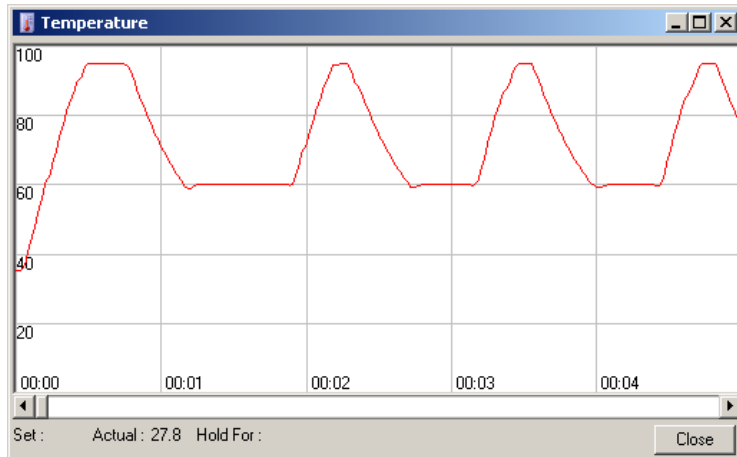
Sikkerhetsfanen viser informasjon om kjøringens signatur. Kjøringens signatur er en irreversibel nøkkel som genereres hver gang filen endres. Hvis noe i *.rex -filen blir endret utenfor programvaren, vil ikke signaturen og filen samsvare lenger. Ved å sjekke signaturen kan man få bekreftelse at rådataene ikke er blitt endret utenfor applikasjonen, at profilen ikke er blitt klusset med og at temperaturgrafene er gyldige. Signaturen beskytter i tillegg mot korrupte data, som feil i filsystemet.

Merk : Hvis *.rex -filer sendes med epost, kan det hende at krypteringsprosessen ugyldiggjør signaturen. For å unngå dette bør filen zip-komprimeres før sending.



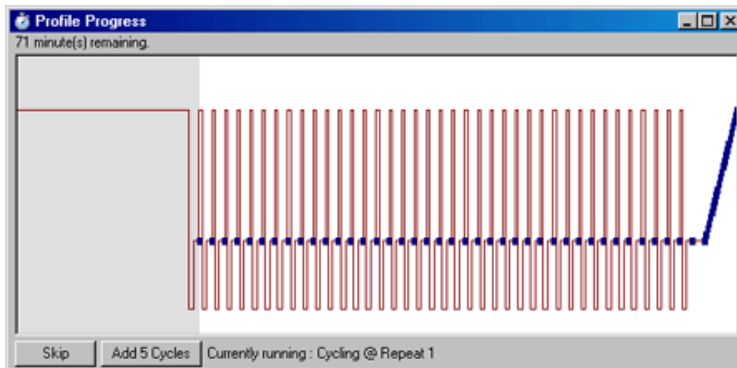
7.8.2 "Temperature Graph" (Temperaturgraf)

Velg "Temperature Graph" fra "View"-menyen, eller klikk på "Temp."-knappen for å åpne vinduet "Temperature" (Temperatur). Grafen viser traseen til de angitte temperaturene under syklusene. Den gjenspeiler ikke en sanntids temperaturmåling. Underveis i kjøringen vises tidene for "Set" (Angitt), "Actual" (Faktisk) og "Hold" for hvert trinn i programmet. For en eksisterende kjørefil viser "Temperature"-vinduet temperaturhistorikken under kjøringen. Den vertikale skalaen representerer temperatur og den horisontale representerer tid. Bruk rullefeltet til å rulle bakover og forover gjennom "Temperature"-vinduet.



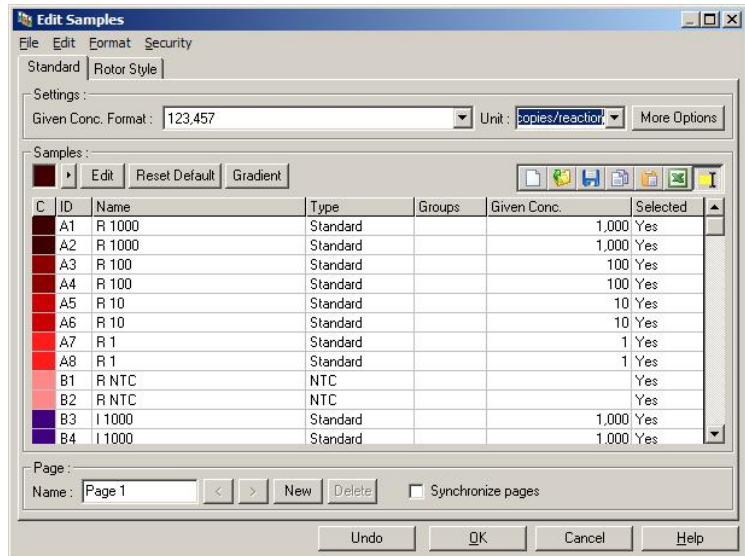
7.8.3 "Profile Progress" (Profilm fremdrift)

Velg "Profile Progress" fra "View"-menyen, eller klikk på "Progress"-knappen for å åpne vinduet "Profile Progress". Dette vinduet viser en grafisk fremstilling av dertermiske profilen som er tilknyttet kjøringen. Når en kjøring utføres, viser den skraverte delen av vinduet hvor mange sykluser som er fullført. Du kan også se en beregning av hvor mange minutter som gjenstår av kjøringen.



- "Skip" (Hopp over): Gjør det mulig å hoppe over et hvilket som helst trinn i profilen.
- "Add 5 Cycles" (Legg til 5 sykluser): Legger til 5 repetisjoner i gjeldende syklustrinn.

7.8.4 Vinduet "Edit Samples"



Klikk på knappen "Samples" (Prøver) for å åpne vinduet "Edit Samples". Du kan også åpne vinduet "Edit Samples" ved å høyreklikke over prøvelisten til høyre i skjermbildet. Dette vinduet har samme funksjonalitet som "Edit Samples" vinduet i veiviserne, bortsett fra at verktøylinjefunksjonene i tillegg er tilgjengelige i "File"- og "Edit"-menyene.

Det vises fire menyer øverst i vinduet: "File", "Edit", "Format" og "Security". "File"-menyen brukes til å opprette et nytt (tomt) "Edit Samples"-vindu, åpne en eksisterende prøvemal eller lagre prøvenavn som maler for fremtidig bruk. Filendelsen for disse malene er *.smp. "Edit"-menyen brukes til å kopiere og lime inn rader. "Security"-menyen brukes til å låse prøvedefinisjonene.

Merk: Hvis prøvenavnene legges inn svært hurtig under kjøringen (for eksempel ved bruk av strekkodeleser), kan det føre til omstokking av bokstaver i prøvenavnene. Derfor anbefales det å unngå bruk av strekkodeleser, og ved behov heller skrive inn prøvenavnene når kjøringen er fullført.


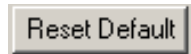



Denne nedtrekksmenyen brukes til å velge et passende format for konsentrasjonsvisningen. Konsentrasjoner formateres automatisk i henhold til gjeldende valgt plassering.










Denne nedtrekksmenyen angir måleenhetene for analysen.



Knapp	Betydning
Linjestil:	Linjens stil kan endres for å gjøre det lettere å lese grafene på svart/hvitt-skrivere. Visse linjer kan utheves ved å endre stilen. For å bruke denne funksjonen klikker du på pil-høyre-knappen ved siden av "Edit"-knappen.
	Ved å klikke på "Edit" åpnes fargevelgeren. Du kan velge flere rader når du tilordner en farge til rør.
	Klikk på "Reset Default" for å tilbakestille alle valgte fargeceller til standard fargeverdier.
	Med "Gradient" kan du velge en gradient fra første til sist valgte farge. Flere gradienter kan defineres i et prøveoppsett.

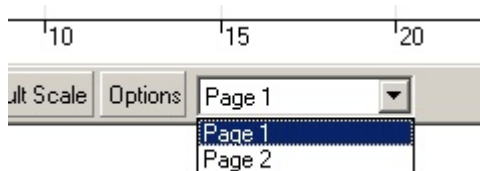


Knapp	Betydning
	"Ny" -ikonet tømmer feltene i "Edit Samples" vinduet i påvente av nye data.
	"Åpne"-ikonet henter en dialogboks der du kan velge å importere en RotorGene Q MDx-fil. Merk : Antall prøver i det åpne vinduet og i den importerte filen må stemme overens.
	"Lagre"-ikonet henter en dialogboks der du kan angi navnet og mappen der en kopi av de gjeldende prøvedefinisjonene vil bli lagret.
	"Kopier"-ikonet kopierer de valgte cellene.
	"Lim inn"-ikonet limer inn celler som er blitt valgt med kopi-kommandoen, i gjeldende valgte posisjon i rutenettet.
	"Excel"-ikonet henter en dialogboks der du blir bedt om et filnavn og en mappe der prøveinformasjonen skal lagres. Når du klikker på "Save", åpnes Excel-filen automatisk.
	"Legg til/Overskriv"-ikonet endrer hvordan celler redigeres i "Edit Samples"-vinduet. Hvis du velger å overskrive, blir eksisterende data overskrevet når du redigerer. Hvis du velger å legge til, blir nye data lagt til etter de eksisterende dataene når du redigerer.
"Sample Types" (Prøvetyper)	Prøver kan defineres som én av flere typer, som beskrevet i følgende tabell.

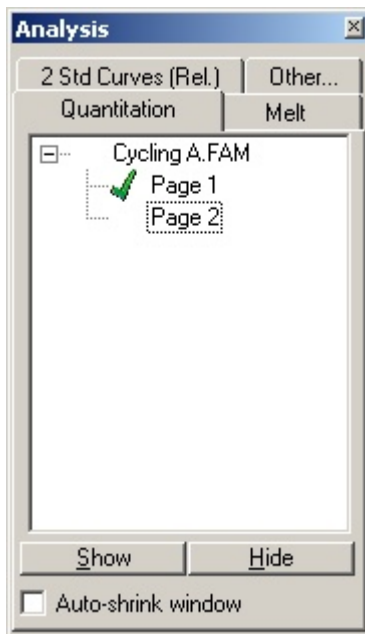
Prøvetype	Beskrivelse
"None"	Ingen prøve i posisjonen
"NTC"	Ingen templatkontroll
"Negative Control"	Negativ kontroll
"Positive Control"	Positiv kontroll
"Unknown"	Ukjent prøve som skal analyseres
"Standard"	Standardverdier brukes for å opprette en standardkurve for beregning av ukjente prøvekonsentrasjoner
"Calibrator (RQ)"	En kalibrator tildeles verdien 1, og alle andre prøvekonsentrasjoner beregnes i forhold til denne prøven

"Page": Med denne funksjonen kan brukeren ha forskjellige prøvedefinisjoner, samt separate eksperimenter, i samme kjøring. Dette er nyttig for å kunne analysere ulike produkter i ulike kanaler. Bruk pil-knappene for å bytte mellom prøvesidene. Bruk knappene "New" og "Delete" (Slett) for å opprette og slette sider. Det er mulig å ha flere prøvedefinisjoner for samme kanal for å kunne kjøre flere standardkurver uten multipleksing. Du må da definere de aktuelle prøvene og deres relaterte standardkurver på separate sider. Den enkelte kanalen kan deretter analyseres med hvert sett med definisjoner hver for seg. Prøvesider kan kalles "Side 1", "Side 2" osv., eller de kan gis et hvilket som helst navn (f.eks. "Husholdning"). Det er dette navnet som vises i rapporter.

Når rådataene vises, kan prøvedefinisjonene som brukes til å vise dataene, velges fra nedtrekksmenyen ved siden av "Options"-knappen:



Prøvesiden som skal brukes når det utføres en analyse, kan velges i "Analysis"-vinduet (se avsnitt 7.6.1).



"Given Conc." (Gitt konsentrasjon): Viser konsentrasjonen for hver av standardene. Enhetene kan defineres som et desimal- eller log-tall. Hvis standardene utgjør en fortyningsserie, er det tilstrekkelig å skrive inn de første 2 standardene. Ved å trykke på ENTER legger programmet automatisk til den neste logiske fortyningen i serien.

Linjestil: Linjens stil kan endres for å gjøre det lettere å lese grafene på svart/hvitt-skrivere. Visse linjer kan utheves ved å endre stilen. For å bruke denne funksjonen klikker du på pil-høyre-knappen ved siden av "Edit"-knappen.



Verktøylinjen viser standardstilen "Solid" (Heltrukken). Dette kan endres til "Dashed" (Stiplet), "Dotted" (Prikket), "Hairline" (Hårfin), "Thin" (Tynn) eller "Thick" (Tykk). Når du er ferdig, klikker du på pil-venstre-knappen for å gå tilbake til visningene for "Edit", "Reset Default" og "Gradient".



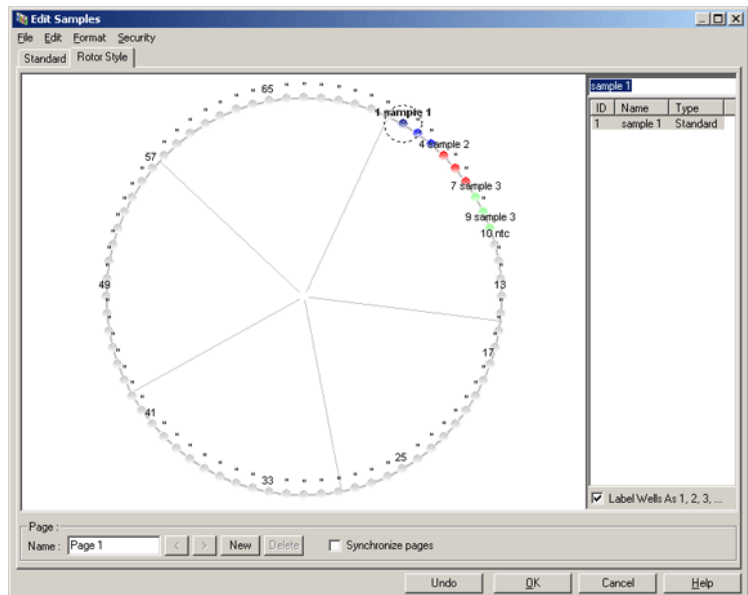
Inndata i flere rader: Hvis du må legge inn samme informasjon i flere rader samtidig, velger du alle radene før du begynner å skrive. Informasjonen vil da bli lagt til i alle radene. Dette fungerer også når du velger prøvetyper og farger, eller legger inn konsentrasjoner.

Hurtigtast for prøvetype For å velge en prøvetype raskt skriver du første bokstav i navnet. Hvis du for eksempel vil angi 5 prøver som ingen templatkontroll, velger du dem i kolonnen for prøvetype og trykker på N for NTC. Alle prøvene konverteres da til NTC.

Lagre og bruk på nytt: En fullstendig prøvebeskrivelse kan lagres som en prøvefil (*.smp) og lastes inn ved fremtidige kjøring med samme prøvekonfigurasjon.

”Rotor Style” (Rotorstil)

Denne fanen i ”Edit Samples”-vinduet har en annen måte å navngi prøvenavn på. Velg replikater ved å klikke og dra musepekeren over rotorbildet. Listen i høyre side av vinduet vil da bli oppdatert. Prøvenavnet kan skrives inn, og dette vil gi samme navn til gjeldende utvalg. Programvaren gjenkjenner disse brønnene som replikater.

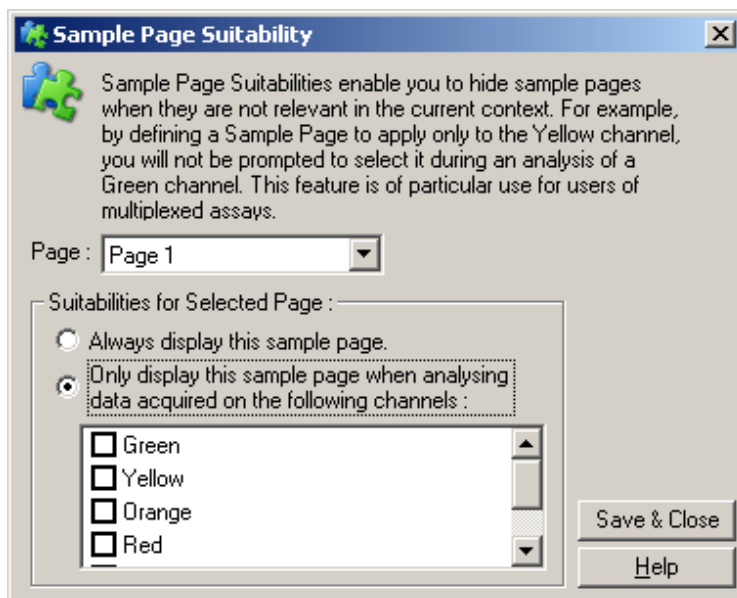


Fanen "Rotor Style" er en kortfattet versjon av "Standard" fanen og er beregnet på brukere som vil sette opp prøvenavn og farger raskt. Visse innstillinger kan ikke defineres i denne fanen, for eksempel om prøven representerer en standard eller den kjente konsentrasjonen for hver standard. Hvis du trenger å definere dette, må du bruke "Standard"-fanen.

"Sample Page Suitability" (Egnethet for prøveside)

For å åpne vinduet "Sample Page Suitability" klikker du på "More Options" (Flere alternativer) i "Edit Samples"-vinduet og deretter på "Define Suitabilities" (Definer egnethet). I vinduet "Sample Page Suitability" kan brukeren matche prøvesider mot kanaler. Prøvesiden til det aktuelle genet kan for eksempel gjelde den grønne kanalen, og prøvesiden for husholdningsgenet kan gjelde den gule kanalen. I dette eksemplet innebærer bruken av denne funksjonen at antallet tilgjengelige analysealternativer reduseres til kun de som er relevante for den bestemte analysen.

Vinduet "Sample Page Suitability" vises nedenfor.

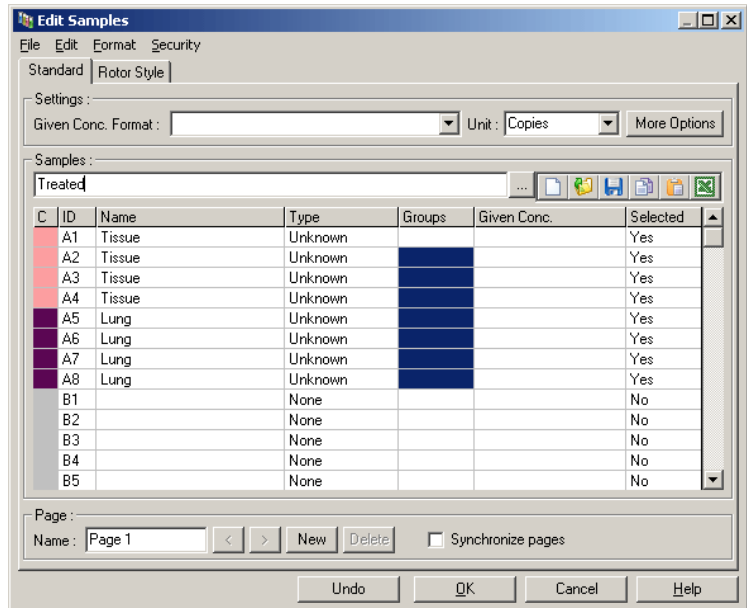


Merk : Når du setter opp en analyse, bør du opprette alle prøvesidene og prøvesidenes egnetheter, og deretter lagre dem som en mal. På den måten reduserer du oppsettet som kreves for hver kjøring.

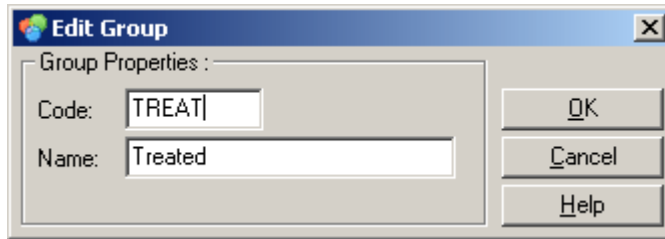
”Groups” (Grupper)

Grupper med prøver gjør det mulig å beregne statistikk for et tilfeldig utvalg av prøver. I motsetning til replikater, som må ha identiske navn, kan prøver ha helt ulike navn, være plassert hvor som helst i rotoren og tilhøre flere grupper.

1. For å definere en gruppe skriver du det fullstendige navnet på gruppen ved siden av en prøve og trykker på ENTER.



2. Vinduet ”Edit Group” vises.

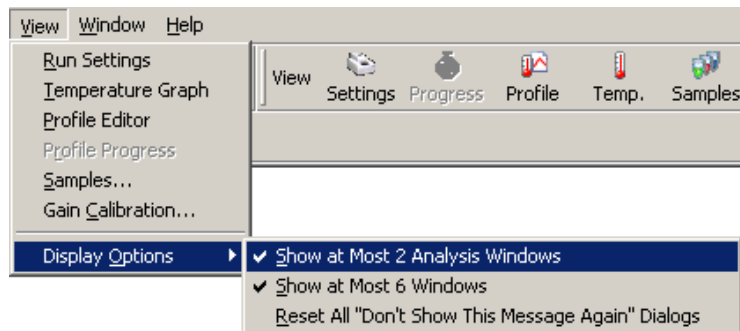


- Lag en egnet forkortelse og klikk på "OK". Forkortelsen kan nå brukes til å sette opp grupper. Aggregerte resultater, som gjennomsnittsverdi og 95% konfidensintervall, beregnes automatisk for grupper i alle analyser.

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 "Display Options" (Visningsalternativer)

Menyen med visningsalternativer vises nedenfor.



"Show at Most 2 Analysis Windows" (Vis høyst 2 analysevinduer): Hvis du merker av for dette, vises maksimalt 2 analysevinduer samtidig. Hvis du åpner flere vinduer, kan lesbarheten bli dårligere. Å merke av for alternativet lukker det første analysevinduet og erstatter det med det sist åpnete vinduet. Hvis alternativet ikke er merket av, kan mer enn 2 analysevinduer vises.

"Show at Most 6 Analysis Windows" (Vis høyst 6 analysevinduer): For økt lesbarhet fjerner programvaren ubrukte vinduer når nye vinduer blir åpnet. Dette er standardalternativet, ettersom det holder orden på skjermbildet i Rotor-Gene Q-programvaren. Hvis du trenger å vise mer enn 6 vinduer samtidig, fjerner du merket for dette alternativet.

"Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs" (Tilbakestill alle dialogbokser av typen "Ikke vis denne meldingen igjen")): Hvis du merker av for dette, vil programvaren på nytt vise alle dialogbokser hvor det er blitt merket av for "Ikke vis denne meldingen igjen". Dette kan omfatte meldinger om mistenkelige innstillinger som tidligere er blitt merket for ikke å bli vist på nytt. Dette kan være praktisk for en ny bruker som ikke er kjent med Rotor-Gene Q MDx eller Rotor-Gene Q-programvaren.

7.9 Tilgangsvern for Rotor -Gene Q - programvare

Merk : Dette kapittelet beskriver tilgangsvern for RotorGene Q-programvare. Se "brukerhåndboken for RotorGene AssayManager v1.0 Core Application" (RotorGene AssayManager v1.0 Core Application User Manual) eller "brukerhåndboken for RotorGene AssayManager v2.1 Core Application" (RotorGene AssayManager v2.1 Core Application User Manual) for informasjon om den relevante Rotor-Gene AssayManagerprogramvaren.

Rotor-Gene Q-programvaren har funksjoner som sørger for sikker drift. Når den er riktig konfigurert, kan Rotor-Gene Q-programvaren sikre følgende:

- Tilgang til Rotor-Gene Q MDx eller analyseprogramvaren er begrenset til brukergrupper
- Endringer i kjørefiler blir loggført
- Uautoriserte endringer blir oppdaget (signaturer)
- Maler som brukes når kjøring utføres, blir loggført
- Prøvenavn er beskyttet

Integrering med Windows-sikkerhet

For størst mulig etterrettelighet håndterer ikke Rotor-Gene Q-programvaren sikkerhet internt. Både kontoer, grupper og passord blir håndtert med den innebygde sikkerhetsmodellen i Windows (Windows Security). Integrering innebærer at det samme passordet som gir tilgang til nettfleksfiler og programmer, kan styre tilgangen til Rotor-Gene Q-programvaren, for mindre administrering. På grunn av den sentraliserte sikkerhetsmodellen er det enkelt for nettverksadministratorer, for eksempel i større organisasjoner, å fjerne tilgang for tidligere brukere.

Et sikkert oppsett av Rotor-Gene Q-programvaren handler derfor først og fremst om å konfigurere sikkerhetsrollene i Windows i henhold til beste praksis.

Forutsetninger

For å bruke sikkerhetsfunksjonene må du kjøre Windows 10 Professional eller Windows 7 Professional.

Sikkerhetsfunksjonene kan ikke brukes med Windows 10 Home eller Windows 7 Home, siden Home-utgavene ikke har den avanserte tilgangsmodellen programvaren bruker. Programvaren må installeres via alternativet "Force authentication through Windows domain" (Tving autentisering gjennom Windows-domene).

Merk: "Security"-menyen vises ikke hvis du er logget inn på et Linux Samba-domene. Du må ha enten lokal pålogging eller en Windows-server for å bruke sikkerhetsfunksjonene.

7.9.1 Konfigurasjon for Windows 7

Dette avsnittet beskriver hvordan du setter opp systemet for sikker drift av RotorGene Q-programvaren.

For å kunne bruke sikkerhetsfunksjonene må programvaren være installert via alternativet "Force authentication through Windows domain". Da vil Windows-domenet bli spurt om ditt tilgangsnivå og din påloggingsinformasjon, noe som er avgjørende for å kunne tilby rapporterings- og sikkerhetsfunksjoner.

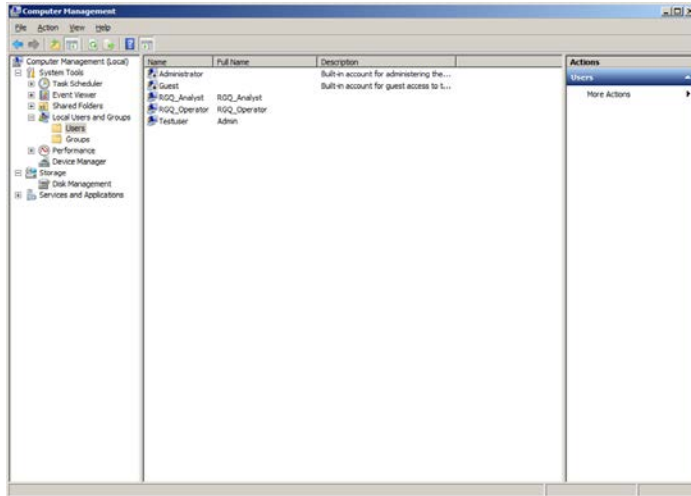
Bruke datamaskinen som administrator

Mange brukere benytter datamaskinen i egenskap av administrator, uten passord. Selv om dette er praktisk, blir det umulig å vite hvem som bruker datamaskinen. Det fjerner etterretteligheten og hindrer aktivering av mange av sikkerhetsfunksjonene i RotorGene Q-programvaren. Når du bruker datamaskinen som administrator, er alle programvarefunksjoner aktivert. Administratorrollen sikrer derfor at brukere som ikke trenger sikkerhetsfunksjoner, får tilgang til alle programvarefunksjonene.

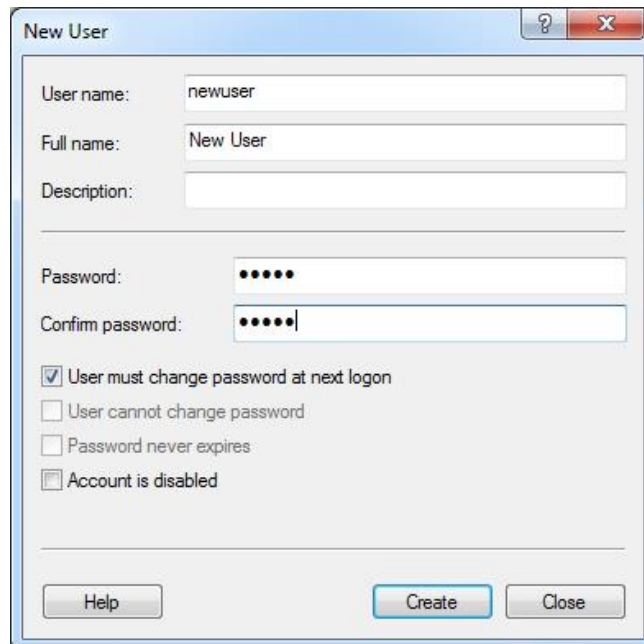
Opprett en ny brukerkonto

Det må opprettes en brukerkonto for hver bruker av programvaren. For hver bruker gjentar du trinnene nedenfor til alle kontoene er opprettet.

1. Du oppretter en ny bruker ved å velge "Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management" (Start/Kontrollpanel/Administrative verktøy/Datamaskinbehandling) og navigere til "Local Users and Groups" (Lokale brukere og grupper) på venstre side.
2. I vinduet som vises, velger du mappen "Brukere". Høyreklikk i høyre del av vinduet og velg "Ny bruker".



3. Angi et brukernavn og passord. Som standard opprettes brukeren med vanlige tilgangsrettigheter. Det betyr at de kan kjøre programvaren, men ikke installere nye programmer eller endre systeminnstillinger.



4. Klikk på "Opprett". Du kan nå logge på som denne brukeren.

Tilordne roller til hver bruker

Du bør nå tilordne roller til hver bruker. Tilgang deles inn i følgende områder:

- "Rotor-Gene Q Operator" (Operatør) — kan utføre kjøring, men ikke generere rapporter eller utføre analyser
- "Rotor-Gene Q Analyst" (Analytiker) — kan analysere kjøredata og generere rapporter, men ikke utføre nye kjøring
- "Rotor-Gene Q Operator and Analyst" (Operatør og analytiker) — har egenskapene til begge rollene
- "Administrator" — kan låse opp prøvenavn og utføre alle oppgavene til analytikere og operatører
- None (Ingen) — ingen tilgang til programvaren

Slik tilordner du roller:

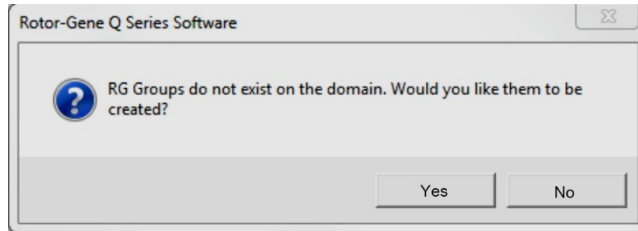
1. Logg deg på Windows som administrator, eller bruk ikonet "Rotor-Gene Q Software Login" for å åpne programvaren og logge på.



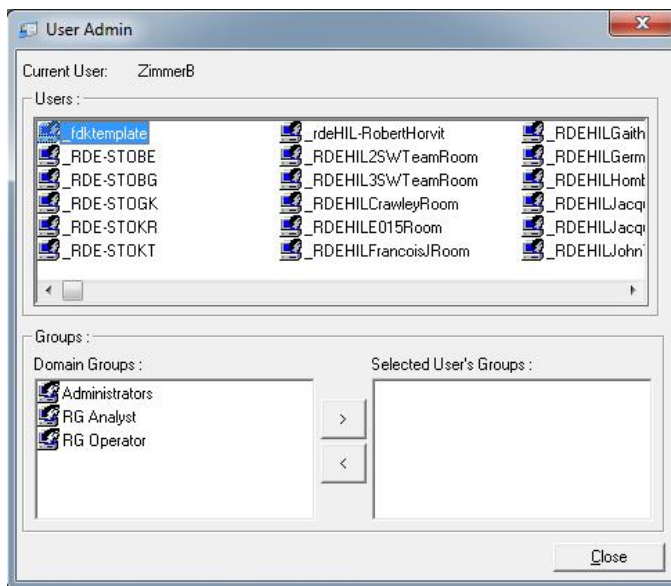
Merk: For å opprette RG Groups med Rotor-Gene Q-programvaren må du kjøre programvaren med administratorrettigheter. Dette gjør du ved å høyreklikke på skrivebordsikonet og velge "Run as administrator" (Kjør som administrator) i hurtigmenyen.

2. Når programvaren er åpnet, klikker du på "Security"-menyen. Første gang "Security"-menyen åpnes, konfigurerer Rotor-Gene Q-programvaren flere

systemgrupper som skal styre tilgangen til programvaren.

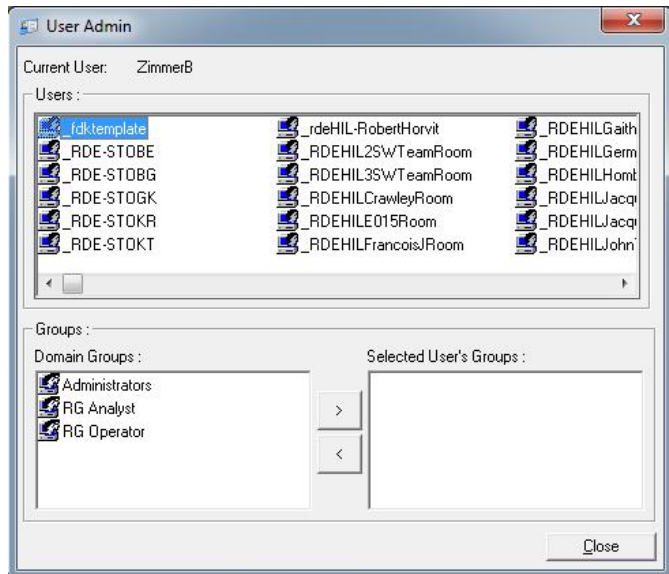


3. Klikk på "Yes" (Ja). Vinduet "User Admin" (Brukeradministrasjon) vises. I den øverste delen vises alle brukerne av datamaskinen. Noen kontoer brukes av systemet og vil være ukjente. Den nederste delen viser gruppene som er tilordnet brukeren.

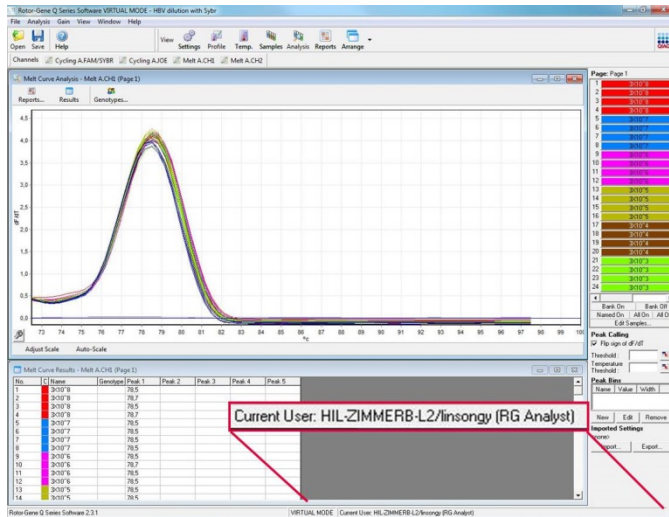


4. For å tilordne en gruppe til en bruker velger du brukerens navn på listen. Den nederste ruten blir oppdatert. Hvis brukeren ikke har noen grupper, kan ikke vedkommende starte programvaren. I eksemplet nedenfor tilordner vi brukeren "linsongy" til gruppen RG Analyst ved å velge gruppen på venstre side

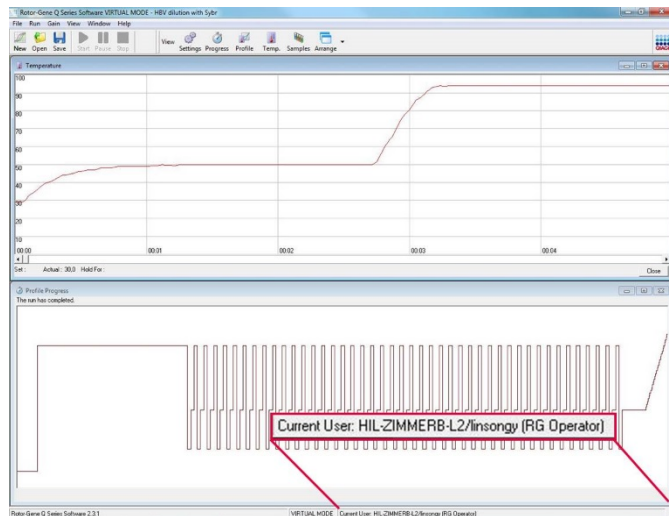
og deretter klikke på ">" -knappen. Du kan fjerne grupper ved å velge dem og deretter klikke på "<" -knappen.



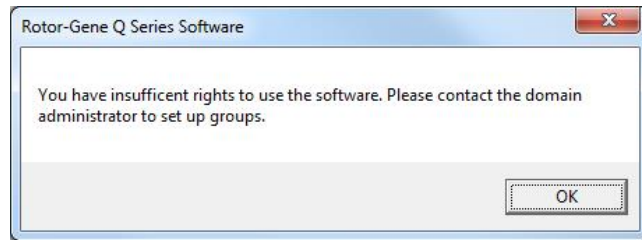
5. Logg deg på som denne brukeren. Som RG Analyst har du ikke tilgang til "Run"-menyen og "Profile"-knappen. Eksisterende filer kan imidlertid åpnes og analyseres, som vist i skjermbildet nedenfor. Statuslinjen angir at brukeren "linsongy" er en RG Analyst.



- Ved å logge på som administrator igjen kan RG operatørrettigheter tilordnes til "linsongy" og RG analytikerrettighetene kan fjernes igjen. Deretter må programvaren startes på nytt. Statuslinjen angir at brukeren "linsongy" tilhører RG Operator-gruppen.



7. Hvis du logger deg på som administrator og fjerner alle grupper fra brukeren "linsongy", vil følgende melding bli vist når "linsongy" åpner programvaren.



7.9.2

Konfigurasjon for Windows 10

Dette avsnittet beskriver hvordan du setter opp systemet for sikker drift av Rotor Gene Q-programvaren.

For å kunne bruke sikkerhetsfunksjonene må programvaren være installert via alternativet "Force authentication through Windows domain" (Tving autentisering gjennom Windows domene). Da vil Windows-domenet bli spurt om ditt tilgangsnivå og din påloggingsinformasjon, noe som er avgjørende for å kunne tilby rapporterings- og sikkerhetsfunksjoner.

Bruke datamaskinen som administrator

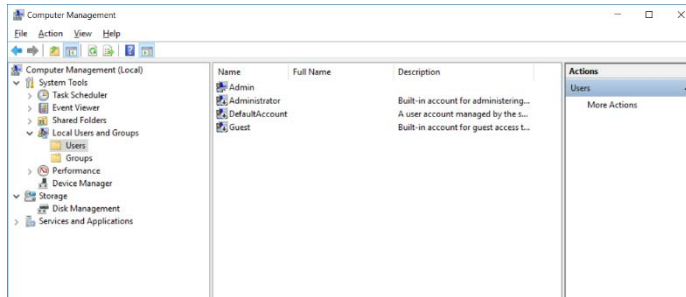
Mange brukere benytter datamaskinen i egenskap av administrator, uten passord. Selv om dette er praktisk, blir det umulig å vite hvem som bruker datamaskinen. Det fjerner etterretteligheten og hindrer aktivering av mange av sikkerhetsfunksjonene i RotorGene Q-programvaren.

Når du bruker datamaskinen som administrator, er alle programvarefunksjoner aktivert. Administratorrollen sikrer derfor at brukere som ikke trenger sikkerhetsfunksjoner, får tilgang til alle programvarefunksjonene.

Opprette en ny brukerkonto

Det må opprettes en brukerkonto for hver bruker av programvaren. For hver bruker gjentar du trinnene nedenfor til alle kontoene er opprettet.

1. Opprett en ny bruker ved å velge "Start" og deretter "Computer Management" (Datamaskinbehandling). Trykk på "Enter", og naviger til "Local Users and Groups" (Lokale brukere og grupper) på venstre side.
2. I vinduet som vises, velger du mappen "Users" (Brukere). Høyreklikk i det høyre vinduet, og velg "New User..." (Ny bruker...).



3. Angi et brukernavn og passord. Som standard vil brukere bli opprettet med normale tilgangsrettigheter. Det betyr at de kan kjøre programvaren, men ikke installere nye programmer eller endre systeminnstillinger.

The screenshot shows a 'New User' dialog box with the following fields and options:

- User name: newuser
- Full name: New User
- Description: (empty)
- Password: (masked with 6 dots)
- Confirm password: (masked with 6 dots)
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons at the bottom: Help, Create (highlighted), Close.

4. Klikk på "Create" (Opprett) Du kan nå logge på som denne brukeren.0.

Tilordne roller til hver bruker

Du bør nå tilordne roller til hver bruker. Tilgang deles inn i følgende områder:

- "Rotor-Gene Q Operator" (Operatør) — kan utføre kjøring, men ikke generere rapporter eller utføre analyser
- "Rotor-Gene Q Analyst" (Analytiker) — kan analysere kjøredata og generere rapporter, men ikke utføre nye kjøring

- ”Rotor-Gene Q Operator and Analyst” (Operatør og analytiker) — har egenskapene til begge rollene
- ”Administrator” — kan låse opp prøvenavn og utføre alle oppgavene til analytikere og operatører
- None (Ingen) — ingen tilgang til programvaren

Merk: I Microsoft Windows 10 er det ikke mulig å opprette brukergrupper med Rotor-Gene Q-programvaren. Grupper må opprettes i domenet av en domeneadministrator. Dette gjelder også tildeling av brukere til en bestemt gruppe. Menyen Run (Kjør) er aktivert. Statuslinjen angir at brukeren ”linsongy” tilhører RG Operator-gruppen.

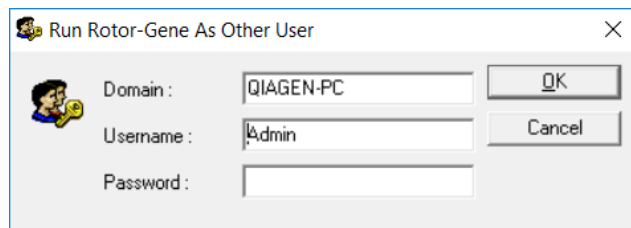
7.9.3 Kjøre flere brukere på samme datamaskin

Hvis du skal bruke Rotor-Gene Q-programvaren sammen med flere brukere, må du opprette en brukerkonto som ikke har tilgang til Rotor-Gene Q-programvaren. Logg deg på Windows med denne kontoen slik at brukere ikke kan få tilgang til Rotor-Gene Q MDx anonymt.

1. Brukere kan benytte ikonet ”Rotor-Gene Q Software Login” til å åpne brukerkontoen i Rotor-Gene Q-programvaren.



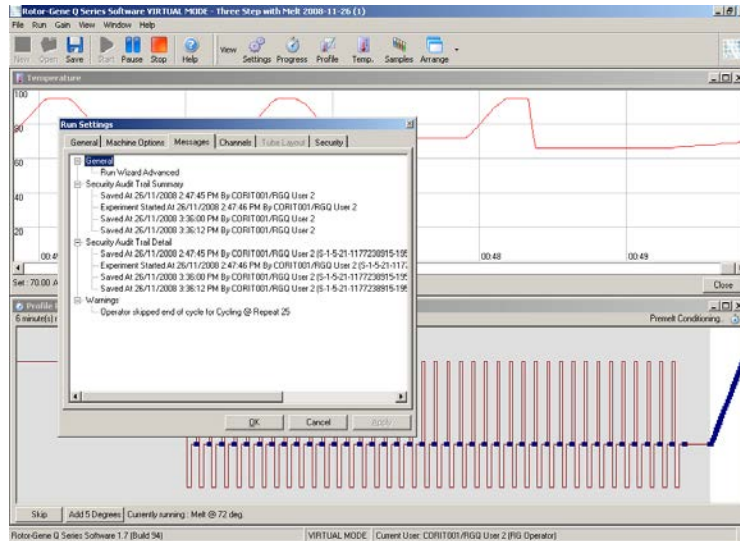
2. Skriv inn brukernavn og passord (obligatorisk) i boksen som vises.



3. Domenet er enten datamaskinen du logger på, eller navnet på det lokale nettverket sammen med vertsnavnet. Kontakt din lokale nettverksadministrator hvis du er usikker på hvilket domene du skal angi.
Merk : Etter pålogging vil alle brukerfilene være tilgjengelige for denne brukeren. Hver bruker kan lagre filer på sitt eget område. Dette gir en høy grad av sikkerhet.
Merk : Alle brukere bør logge av etter at kjøringene er fullført for å hindre at andre brukere utfører kjøring i deres navn.

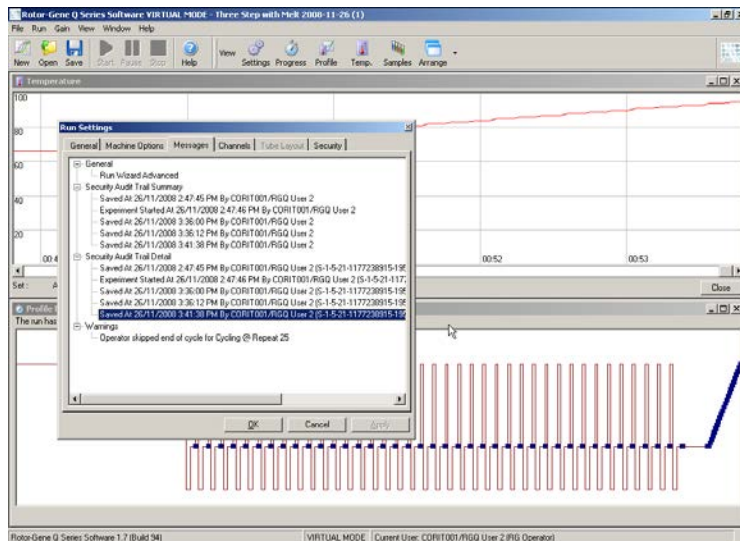
7.9.4 Revisjonsspor

Hver gang en bruker lagrer en fil, registreres handlingene i "Run Settings" under "Messages"-fanen som "Security Audit Trail Summary" (Oppsummering av sikkerhetsrelatert revisjonsspor) og "Security Audit Trail Detail" (Detaljer om sikkerhetsrelatert revisjonsspor).



Dette gjør det mulig å overvåke hvem som har endret innholdet i en fil. "Security Audit Trail Detail" inneholder nærmere opplysninger, som brukerens unike identifikator. Identifikatoren er viktig for å unngå at en bruker oppretter en konto med samme navn på en annen datamaskin og på den måten utgir seg for en annen bruker. I et slikt tilfelle vil brukernavnene bli like, mens konto-ID-ene blir ulike.

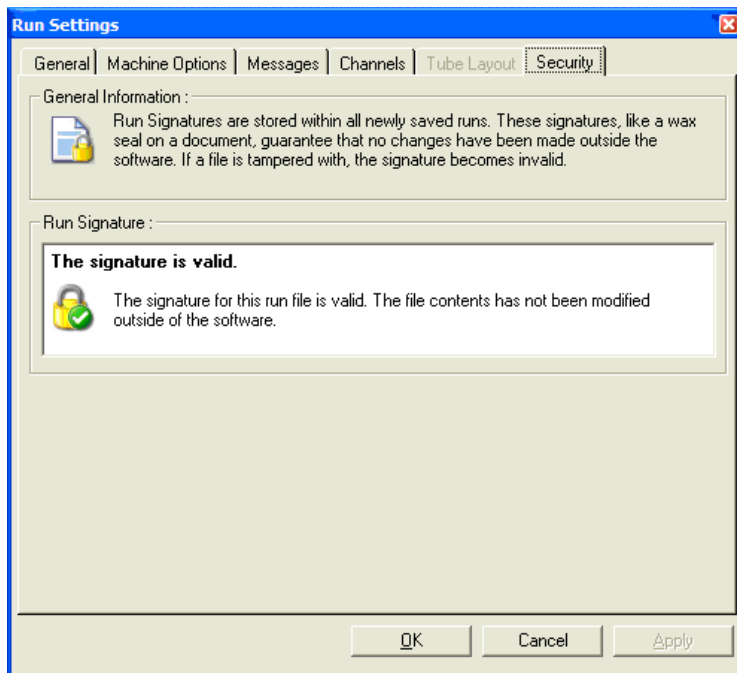
Identifikatoren for kontoen CORIT001/RGQ User 2, S1-5-21-1177238915 -195, vises i detaljene.



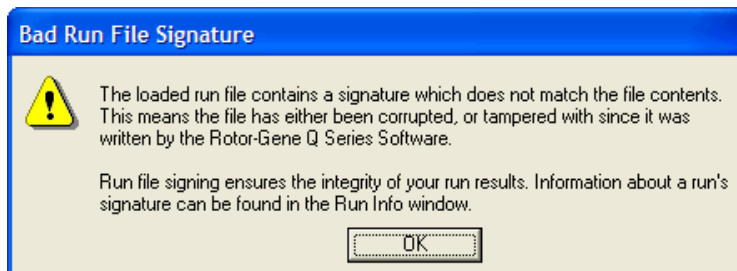
7.9.5

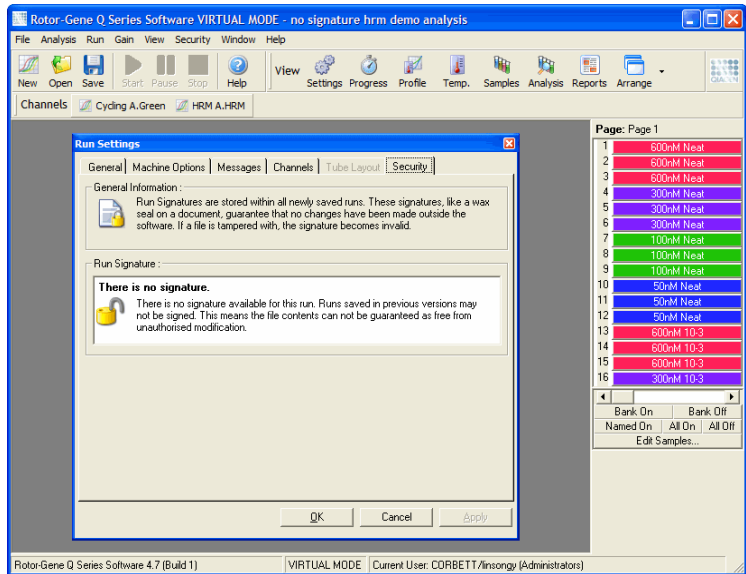
Kjøresignaturer

Revisjonssporet lagres i RotorGene Q-kjørefilen. For å unngå uønskede endringer i disse filene, bør de lagres på et trygt sted som kun er tilgjengelig for utvalgte Windows kontoer. Hvis filene lagres på et delt område, kan kjøresignaturer imidlertid gi ekstra sikkerhet. Skjermbildet viser fanen "Security" i vinduet "Run Settings" for en fil som har en kjøresignatur.



Kjøresignaturen er en lang tegnrekke som genereres hver gang filen lagres, og den er koblet til innholdet i filen. Signaturen for denne filen er for eksempel 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Hvis filen åpnes og redigeres i Notepad (hvis f.eks. kjøredatoen fremskyndes 3 dager), vises følgende melding neste gang filen åpnes.





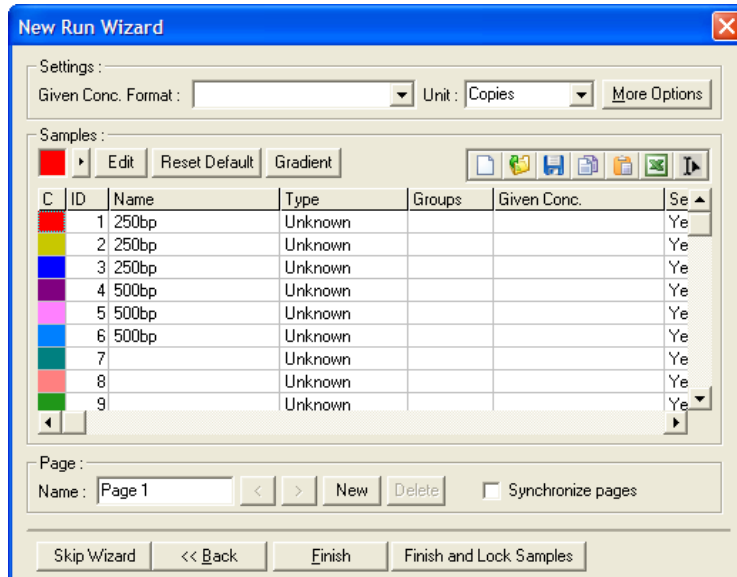
Merk : Hvis filer sendes med epost, kan det hende at krypteringsprosessen gjør signaturen ugyldig. For å unngå dette bør filen zip-komprimeres før sending.

7.9.6 Låsing av prøver

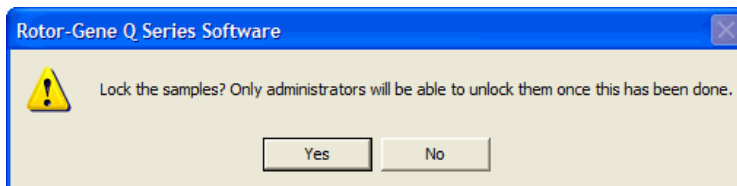
Det er viktig å sikre at det ikke skjer utilsiktede eller tilsiktede endringer i prøvenavn etter at brukeren har startet en kjøring. Rotor-Gene Q-programvaren har derfor en funksjon for å låse prøver. Alle brukere kan låse prøvenavn, men kun en administrator kan låse dem opp. For brukere som bruker datamaskinen i administratormodus har dette alternativet begrenset verdi. For å bruke dette alternativet må datamaskinen være sikkert konfigurert som beskrevet i avsnittene ovenfor.

Merk : Hvis du ønsker å låse prøver, må du la være å bruke programvaren som administrator. Opprett en konto med RG Operator- og RG Analystgrupper, og hold administratorpassordet hemmelig. Brukere vil dermed trenge godkjenning fra administratoren for å kunne låse opp filer.

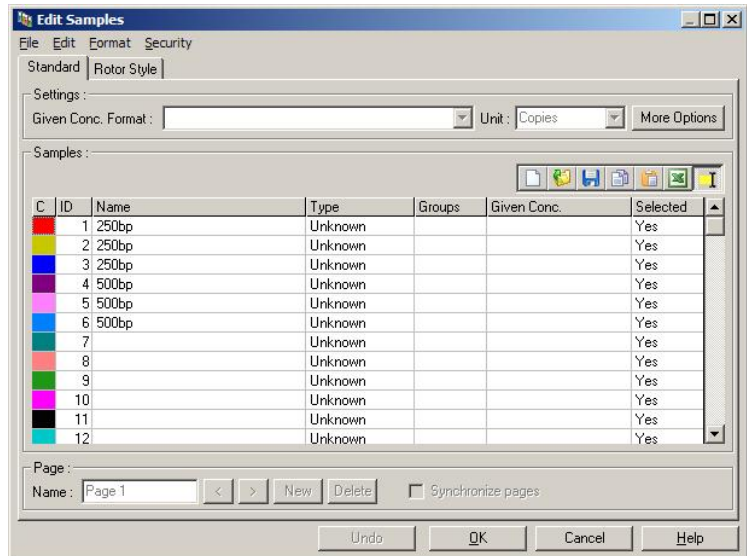
Prøver kan låses før kjøringen starter ved hjelp av den avanserte veiviseren, ved å klikke på "Finish and Lock Samples".



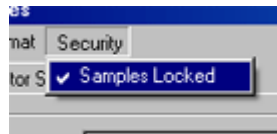
Følgende advarsel vises. Klikk på "Yes" for å bekrefte.



Etter at prøvene er låst, er det ikke lenger mulig å redigere prøver i "Edit Samples"-vinduet.



Prøver kan også låses og låses opp i "Edit Samples" vinduet. Imidlertid er det kun en administrator som kan låse opp prøver etter at de er blitt låst.

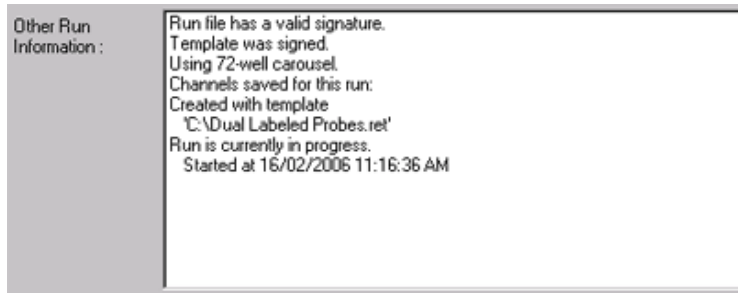


Alle uautoriserte endringer i filen vil ugyldiggjøre kjøresignaturen.

7.9.7 Låste maler

Det er for tiden ikke mulig for en bruker å opprette skrivebeskyttede malfiler med RotorGene Q-programvaren. Ved behov kan man imidlertid sette som krav at alle kjøringene utføres med en spesifikk malfil. For å sikre at malen er skrivebeskyttet bør den lagres på en nettverksstasjon der brukere ikke kan endre data. Brukere kan fremdeles kjøre og endre sine egne profiler, men malen på nettverksstasjonen er beskyttet. For å spore hvilke maler som er blitt brukt, lagrer RotorGene Q-programvaren navnet på malfilen som er kjørt. Denne informasjonen finner

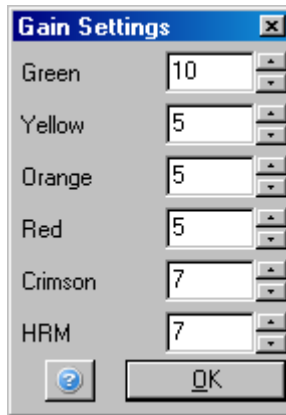
du ved å klikke på knappen "Settings" (Innstillinger), som gjør at vinduet "Run Settings" vises. Informasjonen om malen er lagret under "Other Run Information" (Annen informasjon om kjøringen).



7.10 Menyen "Gain" (Økning)

Klikk på "Gain" -menyen for å vise "Gain Settings" (Innstillinger for økning) for gjeldende kjøring. Dette angir økningen til den spesifiserte kanalen før en kjøring. Innstillingen for økning er de samme som for forrige kjøring. De kan endres hvis kjøringen ikke har startet ennå eller befinner seg i de innledende syklusene. Bruk opp og ned-pilene ved siden av hvert felt for å endre dem. Klikk på "OK".

Økningen kan endres under de innledende syklusene. Det tegnes en rød linje i den aktuelle kanalen som viser hvor økningen ble endret. Syklusene før økningsendringene blir ekskludert fra analysen.

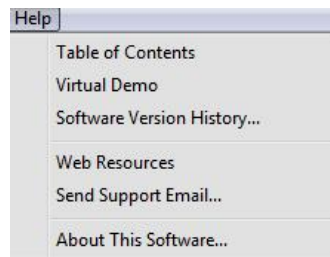


7.11 Menyen "Window" (Vindu)

Med denne menyen kan vinduene plasseres side ved side vertikalt eller horisontalt, eller oppå hverandre i kaskade. Du får tilgang til flere alternativer ved å klikke på pilen til høyre for "Arrange"-knappen.

7.12 Hjelpesfunksjon

Når du bruker menyen eller knappen "Help", åpnes følgende nedtrekksmeny.



"Table of Contents" (Innholdsfortegnelse) Gir tilgang til hjelpesfunksjonen.

"Virtual Demo" (Virtuell demo) Kobler til en side på QIAGENS nettsted som inneholder en interaktiv demonstrasjon av programvaren.

"Software Version History..." (Versjonshistorikk for programvare...)	Gir en kort oversikt over nye funksjoner som er lagt til siden forrige installerte programvareversjon.
"Web Resources" (Nettressurser):	Åpner en side på QIAGENS nettsted i et nytt vindu i nettleseren med verdifull oppdatert informasjon om Rotor-Gene Q MDx-instrumenter og tilhørende reagenser.
"About This Software..."	Gir informasjon om maskinen som er koblet til, serienummeret til Rotor Gene Q MDx og programvareversjonen.

7.12.1 "Send Support E -Mail" (Send e -post til brukerstøtte)


Med alternativet "Send Support Email" på "Help"-menyen kan du sende en forespørsel om brukerstøtte til QIAGEN som inneholder all relevant informasjon fra en kjøring. Alternativet "Save As" lagrer all informasjonen i en fil som du kan kopiere til en harddisk eller et nettverk hvis du ikke har tilgang til e-post på datamaskinen som kjører RotorGene Q MDx.

Hvis det er første gang du bruker epostfunksjonen for brukerstøtte på den bærbare datamaskinen som i noen tilfeller følger med RotorGene Q MDx (avhengig av land), må du konfigurere e-postinnstillingene dine.

Merk : Du kan legge inn oppføringene for selskapets ITsjef.

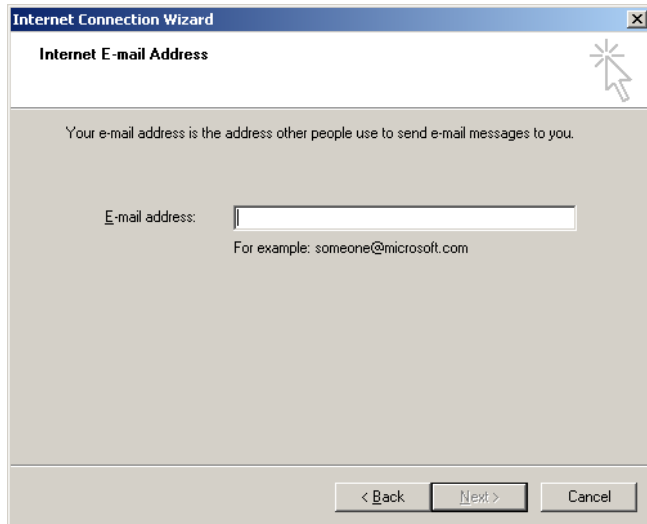
Konfigurere e -postinnstillingene

1. Klikk på alternativet "Send Support Email...".Følgende vindu åpnes.



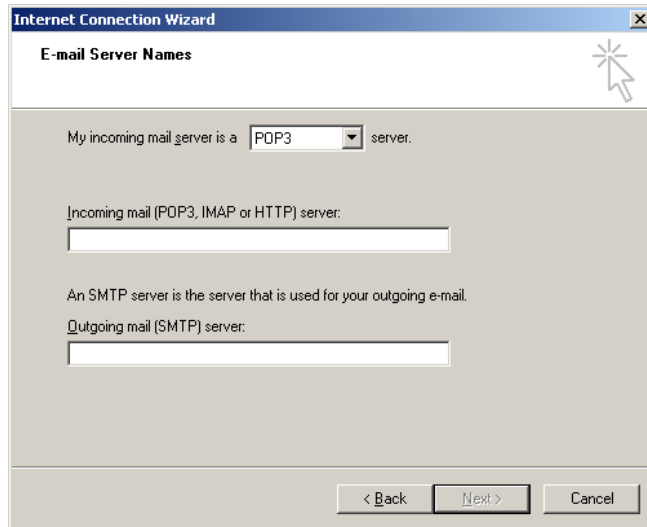
The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' dialog box with the title bar 'Internet Connection Wizard'. The main heading is 'Your Name'. Below the heading, there is a text box for the display name. The text inside the dialog reads: 'When you send e-mail, your name will appear in the From field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

2. Skriv inn navnet ditt og klikk på "Neste". Vinduet "E-postadresse på Internett" åpnes.

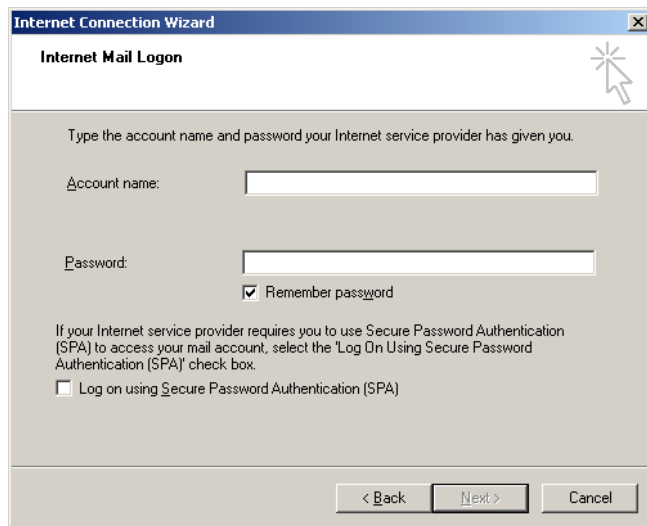


The screenshot shows the 'Internet Connection Wizard' dialog box with the title bar 'Internet Connection Wizard'. The main heading is 'Internet E-mail Address'. Below the heading, there is a text box for the e-mail address. The text inside the dialog reads: 'Your e-mail address is the address other people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

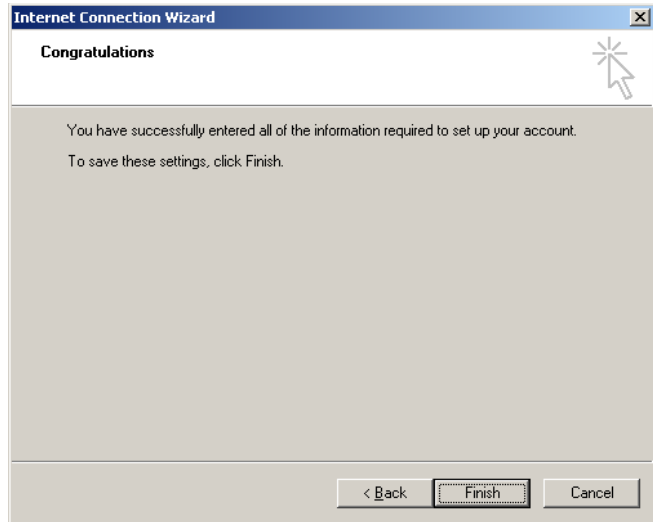
3. Skriv inn e-postadressen din og klikk på "Neste". Vinduet "Navn på e-postservere" åpnes.



4. Velg type e-postserver for inngående epost og angi servernavnene for inngående og utgående epost. Klikk på "Neste". Vinduet "Internet Mail-pålogging" åpnes.



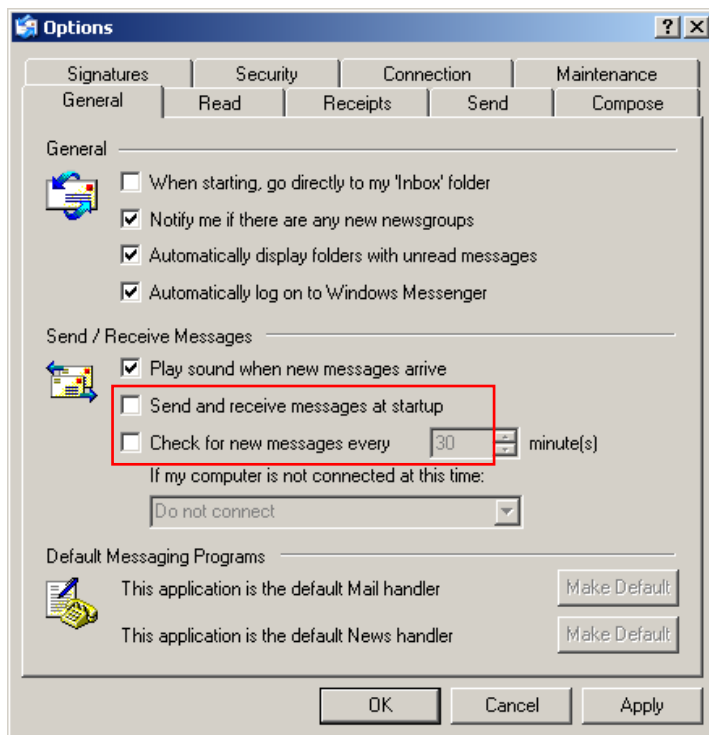
5. Legg inn kontonavnet og passordet for epostkontoen, hvis serveren din bruker sikker passordgodkjenning. Klikk på "Neste". Vinduet "Gratulerer" åpnes.



6. Bekreft med "Fullfør" for å ferdigstille oppsettet av e postkontoen.

Oppsett i Outlook

1. Åpne "Outlook Express" fra Startmenyen (Start, Alle programmer, Outlook Express).
2. Velg "Verktøy" og deretter "Alternativer". Vinduet nedenfor vises.



Viktig : For å unngå at det lastes ned epost under PCR kjøring, bør du oppheve standardinnstillingene under overskriften "Sende/motta meldinger".

3. Fjern merket for "Send og motta meldinger ved oppstart"
4. Fjern merket for "Se etter nye meldinger hvert 30 minutt".
5. Bekreft endringene med "OK".

8 Tilleggsfunksjoner

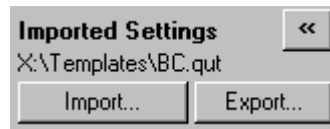
8.1 Analysemaler

I noen analyser må brukeren definere terskelverdier, normaliseringsinnstillinger og genotypeinnstillinger. Disse innstillingene blir ofte brukt på nytt i mange eksperimenter.

Med analysemaler kan brukeren lagre innstillingene og bruke dem på nytt. Dette er tidsbesparende og begrenser risikoen for feil.

Kvantitering, smelting, allelisk diskriminering, analyse med punktdiagram og EndPoint-analyse har støtte for analysemaler. I disse analysene kan brukeren eksportere en mal som er unik for analysen (i f.eks. en kvantiteringsanalyse kan brukeren eksportere og importere *.qut -filer som inneholder kvantiteringsinnstillinger).

Etter at en analysemal er blitt importert eller eksportert, vises malens filnavn som en påminnelse ved senere bruk.

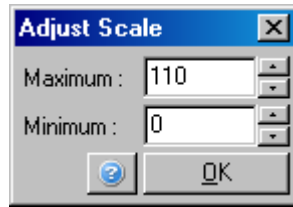


8.2 Åpne en andre kjøring

Når du utfører en kjøring, er det mulig å åpne og analysere kjøringene som er utført tidligere. Flere funksjoner, som knappene "New" og "Start Run", er ikke aktivert i det andre vinduet. Du kan starte en ny kjøring fra det første vinduet når den første kjøringen er fullført.

8.3 Alternativer for skalering

For å få tilgang til "Adjust Scale" må du klikke på "Adjust Scale..." nederst i hovedvinduet eller høyreklikke på grafen og velge "Adjust Scale..." på menyen som vises. Du kan angi en skala manuelt i vinduet som vises.



For å få tilgang til "Auto-Scale" må du klikke på "Auto-Scale..." nederst i hovedvinduet eller høyreklikke på grafen og velge "Auto-Scale..." på menyen som vises. "AutoScale" forsøker å tilpasse skalaen til dataenes maksimumsog minimumsmålinger.

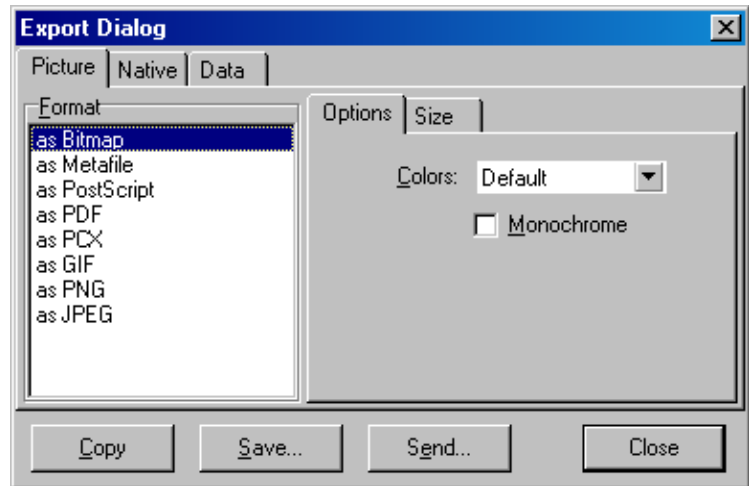
For å få tilgang til "Default Scale" må du klikke på "Default Scale..." nederst i hovedvinduet eller høyreklikke på grafen og velge "Default Scale..." på menyen som vises. "Default Scale" tilbakestillerskalaen slik at den viser fra 0 til 100 fluorescensenheter.

8.4 Eksportere grafer

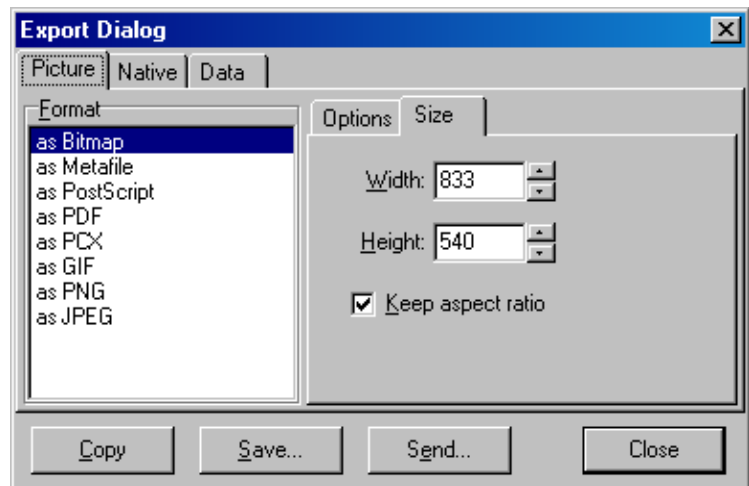
Bildeeksport

Følgende trinn forklarer hvordan du lagrer et bilde.

1. Høyreklikk på bildet og velg "Export" på menyen som vises.
2. Vinduet "Export Dialog" (Dialogboks for eksport) vises. Velg ønsketformat fra listen "Format" (Format).



3. Velg fanen "Size" (Størrelse) og angi ønsket størrelse.



4. Merk av for "Keep aspect ratio" (Behold størrelsesforhold) for at bildet skal beholde riktige proporsjoner når du justerer størrelsen.
5. Klikk på "Save" og velg filnavn og plassering for filen i dialogboksen som vises.

Hvis du trenger et bilde med høyere oppløsning, anbefaler vi at du enten øker størrelsen på bildet til det tilfredsstillende kravene, eller at du lagrer grafen som "Metafile" (*.emf ,

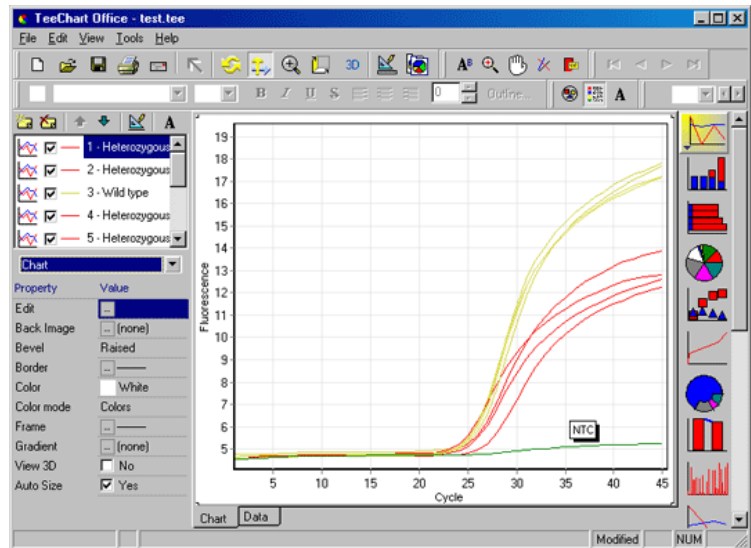
*.wmf). Dette er et vektorbasert format som kan åpnes med programvare av typen Adobe® Illustrator®, der brukeren kan opprette et bilde med en hvilken som helst oppløsning.

Eksport i opprinnelig format

Grafer i Rotor-Gene Q-programvaren bruker tredjepartskomponenten TeeChart®, utviklet av Steema Software. Hvis du vil lagre en graf i opprinnelig format, velger du fanen "Native" (Opprinnelig) i vinduet "Export Dialog" (se forrige skjermbilde), og klikker på "Save". Det opprinnelige formatet er standardformatet for TeeChart-filer. Dette gjør det mulig å bruke TeeChart Office fra Steema Software. TeeChart Office er tilgjengelig som gratisprogram og er installert som en del av Rotor-Gene Q-programvarepakken. Du får tilgang til programvaren ved å klikke på TeeChart-ikonet på skrivebordet.

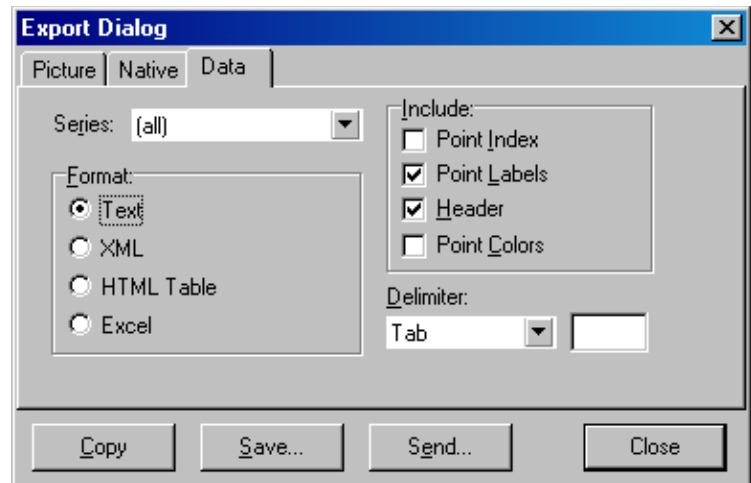


I TeeChart Office kan du bearbeide eksporterte grafer, blant annet endre farger på kurver, legge til kommentarer, endre skrifttyper og justere datapunkter.




Dataeksport

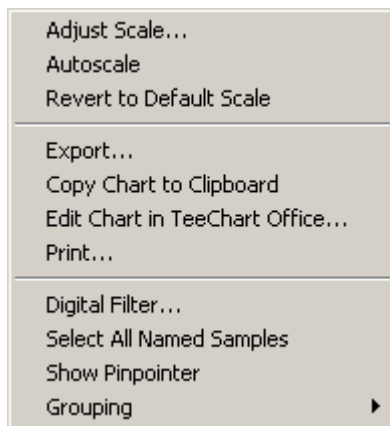
For å eksportere data i ulike formater velger du fanen "Data" i vinduet "Export Dialog". Den eksporterte filen inneholder rådatapunktene som inngikk i grafen.



Du kan også eksportere rådata og analysedataved å velge "Save As" på "File"-menyen (se avsnitt 7.5).

8.5 Skiftenøkkel -ikon

Skiftenøkkelikonet  vises nederst til venstre i hovedvinduet. Når du klikker på skiftenøkkelikonet, får du flere alternativer. Disse alternativene får du også hvis du høyreklikker på grafen.



"Adjust Scale", Se avsnitt 8.3.

"Autoscale",

"Revert to
Default Scale":

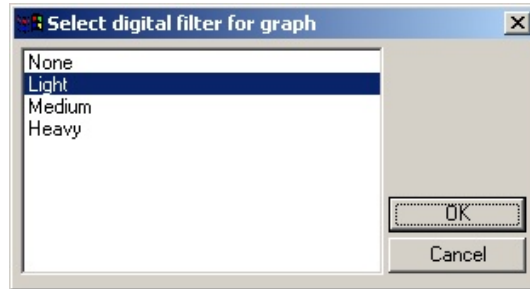
"Export...": Lagrer grafen i ulike formater (se avsnitt 8.4).

"Copy Chart to
Clipboard": Kopierer bildet av grafen til utklippstavlen.

"Edit Chart in
TeeChart
Office...": Åpner grafen for redigering direkte i TeeChart Office (se avsnitt 8.4).

"Print": Skriver ut grafen.

"Digital
Filter...": Endrer gjeldende valgte digitale filter på grafen. Det digitale filteret jevner ut data ved hjelp av et glidende vindu med punkter.

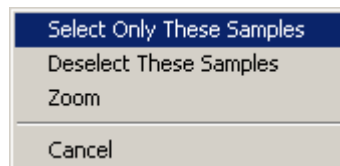


"Show Pinpointer": Åpner et vindu som viser de nøyaktige koordinatene til musepekerens posisjon.

"Grouping": Grupperer visuelt prøver med identiske navn. Dette kan være nyttig ved fulle rotorkjøringer. Bruk av dette påvirker ikke beregnede verdier.

8.6 Alternativer for valgt område

Du kan velge et område i grafen ved å klikke og holde nede venstre museknapp og dra musepekeren. Følgende alternativer vises.



"Select Only These Samples": Prøver som er utenfor det valgte området, oppheves.

"Deselect These Samples": Alle prøver i det valgte området, oppheves.

"Zoom": Zoomer inn på det valgte området i grafen. Klikk på "Default Scale"-knappen for å zoome ut.

Denne siden er tom med hensikt

9 Vedlikeholdsprosedyrer

Det er enkelt å holde RotorGene Q MDx i god fungerende stand. Den optiske ytelsen opprettholdes ved å sikre at lensene er rene, både ved emisjons og deteksjonskilden. Tørk forsiktig av lensene med en bomullspinne fuktet med etanol eller isopropanol*.

Merk: Rengjør lensene minst én gang i måneden, avhengig av bruk. Tørk av rotorkammeret på samme tid.

Sørg for å ha en ren arbeidsbenk, uten støv og løse ark. Luftinntaket befinner seg nederst på Rotor-Gene Q MDx, og løse materialer, som papir eller støv, kan svekke ytelsen.



Unngå støvansamlinger ved å holde lokket på Rotor-Gene Q MDx lukket når instrumentet ikke er i bruk.

Hvis rotorkammeret blir kontaminert, kan det rengjøres ved å tørke av overflatene med en lofri klut fuktet (ikke dryppende) med en 0,1 % (v/v) blekemiddelløsning.* Tørk av kammeret med en lofri klut fuktet med PCR-gradig vann for å fjerne spor etter blekemiddel.

* Når du arbeider med kjemikalier, må du alltid bruke egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller. Du finner mer informasjon i de aktuelle HMS-databladene fra produktleverandøren.

Denne siden er tom med hensikt

10 Optisk temperaturverifisering

Optisk temperaturverifisering ("Optical Temperature Verification", OTV) er en metode som verifiserer rørtemperaturen i en RotorGene Q MDx. Validering av rørtemperatur kan være en viktig prosedyre i sertifiserte laboratorier. OTV utføres ved hjelp av et RotorDisc OTV-sett (se tillegg C). Nedenfor følger en kort innføring i OTV-prinsippet. Fremgangsmåten for å utføre OTV-prosedyren er forklart i Rotor-Gene Q MDx-programvaren. For en mer detaljert beskrivelse av OTV-prosedyren, herunder en feilsøkingssguide, kan du se i håndboken for RotorDisc OTV (*RotorDisc OTV Handbook*).

10.1 OTV-prinsippet

OTV benytter de optiske egenskapene til 3 termokromatiske flytende krsyaller (TLC)* som absolutte temperaturreferanser. Ved oppvarming endres TLC-ene fra opak til transparent ved helt eksakte temperaturer (50 °C, 75 °C og 90 °C). TLC-ene i seg selv fluorescerer ikke. Eksitasjonskilden må derfor dekkes med et fluorescerende innlegg slik at TLC-overgangspunktene kan oppdages av det optiske systemet i Rotor-Gene Q MDx. TLC-er som ligger under overgangstemperaturen, er opake og reflekterer lys. Noe av det reflekterte lyset spres mot detektoren, og øker fluorescensen. Når rørtemperaturen når TLC-overgangspunktet, blir TLC-en transparent, og lyset passerer gjennom prøven i stedet for å bli reflektert mot detektoren, noe som gir en reduksjon i fluorescens. Endringen i fluorescens brukes til å bestemme den nøyaktige overgangstemperaturen for hver TLC.

Overgangstemperaturen sammenlignes med temperaturen som er angitt i fabrikkens kalibreringsfil for OTV Rotor-Disc for å verifisere at Rotor-Gene Q MDx befinner seg innenfor temperaturspesifikasjonen.

* Når du arbeider med kjemikalier, må du alltid bruke egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller. Du finner mer informasjon i de aktuelle HMS-databladene fra produktleverandøren.

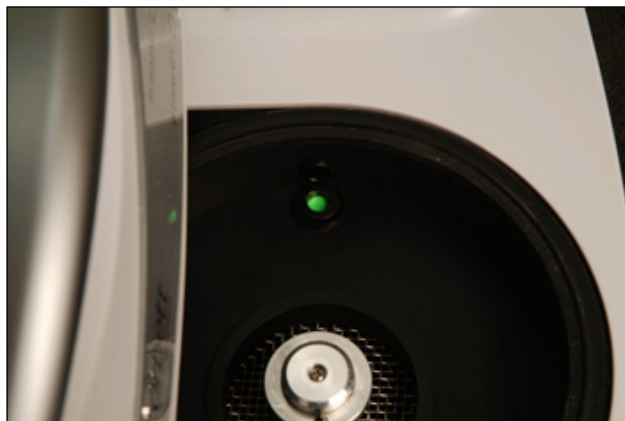
10.2 Komponenter i Rotor-Disc O TV-sett

Du trenger følgende komponenter for å utføre en O TV:

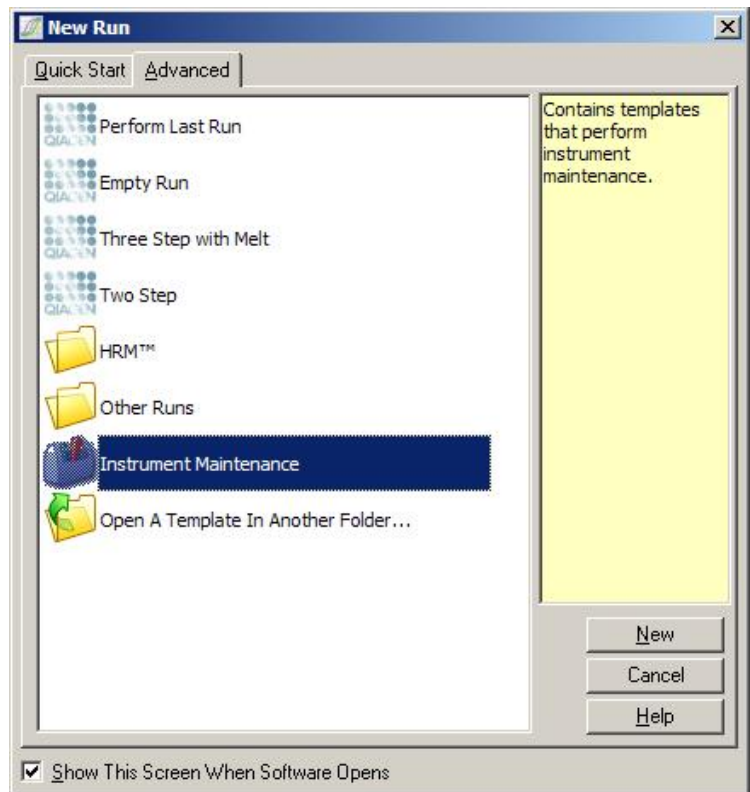
- Et Rotor-Disc O TV-sett, som inneholder:
 - Forseglet Rotor-Disc 72 O TV-rotor (inneholder TLC-er)
 - Fluorescerende spredningsplate (Rotor-Gene 3000-instrument eller Rotor-Gene Q/6000-instrumenter)
 - En CD med følgende filer: Fil med serienummer og utløpsdato for O TV-rotor (*.txt); malfil for O TV-test (*.ret); produktark (*.pdf); fabrikkens kalibreringsfil (*.re x)
 - Produktark
- Rotor-Gene Series-programvare versjon 1.7 eller høyere, som inneholder den brukervennlige O TV Rotor-veviseren
- Rotor-Disc 72-rotor
- Låsering for Rotor-Disc 72

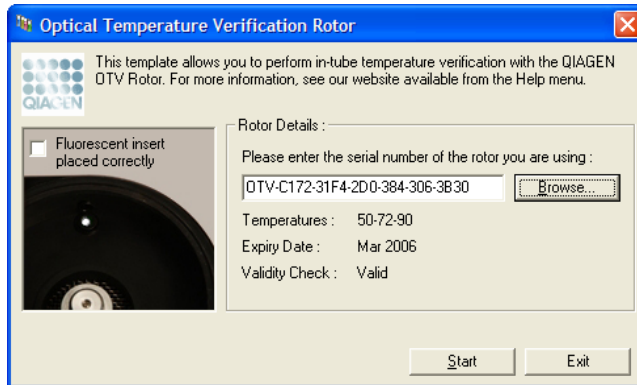
10.3 Utføre en O TV

1. Plasser det fluorescerende innlegget over emisjonslinsen nederst i Rotor-Gene Q MDx-kammeret.
2. Plasser O TV Rotor-Disc i en Rotor-Disc 72-rotor. Sikre med en Rotor-Disc 72-låsering. Sett montasjen inn i Rotor-Gene Q MDx-kammeret og klikk den på plass. Lukk Rotor-Gene Q MDx-lokket.

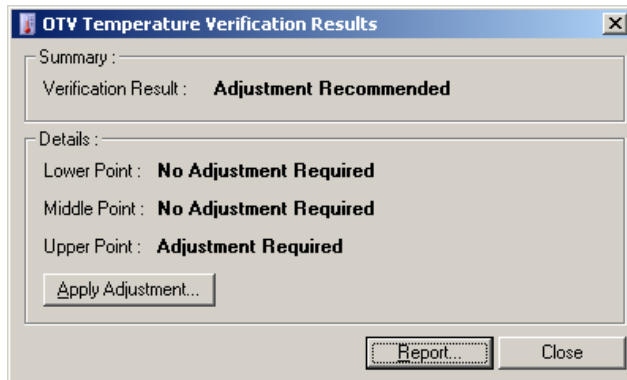


3. Åpne den avanserte veiviseren ved å velge fanen "Advanced" i vinduet "New Run". I den avanserte veiviseren klikker du på "Instrument maintenance" og deretter på "OTV". Veiviseren ber om OTV serienummeret. Dette nummeret finner du på etiketten på OTV RotorDisc eller du kan importere det fra CD-en ved å klikke på "Browse" (Bla gjennom) og velge.otv-filen på CD-en. Når du har lagt inn nummeret, klikker du på "Start".





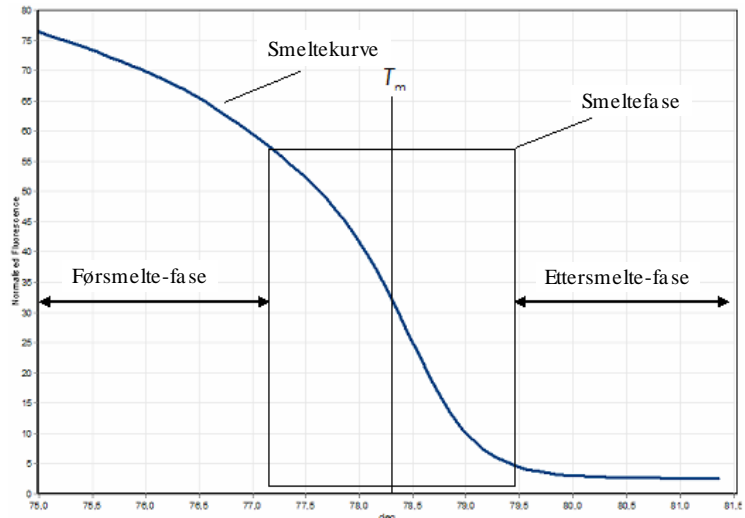
4. Programvaren ber om et filnavn for kjøringen. Kjøringen starter.
5. Kjøringen utfører en rekke smeltinger for å bestemme de termiske egenskapene til RotorGene Q MDx.



6. Når kjøringen er ferdig, angir programvaren om RotorGene Q MDx ligger innenfor spesifikasjonen.
7. Hvis det er behov for justering, må brukeren klikke på "Apply Adjustment" (Bruk justering). Brukeren blir bedt om å utføre en verifiseringskjøring. Etter verifiseringskjøringen skal det ikke være behov for ytterligere justering. Hvis det er behov for ytterligere justering, må du kontakte distributøren.
8. Når RotorGene Q MDx ligger innenfor spesifikasjonen, kan du vise og skrive ut en rapport fra kjøringen.

11 High Resolution Melt -analyse

High Resolution Meltanalyse (HRM) er en innovativ teknikk basert på analyse av DNA-smelting. HRM karakteriserer DNA-prøver i forhold til hvordan de dissosierer under overgangen fra dobbeltrådet DNA (dsDNA) til enkeltrådet DNA (ssDNA) under økende temperatur (se figuren nedenfor). Et HRMinstrument samler fluorescerende signaler med ekstremt høy optisk og termisk presisjon, som har mange anvendelsesområder.



Et vanlig HRM -diagram. Smeltekurven plottet overgangen fra høy fluorescens i den innledende førsmeltefasen, via reduksjonen i fluorescens i smeltefasen til det laveste nivået av fluorescens i ettersmeltefasen. Fluorescensen minker ettersom DNA-terkalere fargestoff frigjøres fra dsDNA når det smelter til enkeltråder. Midtpunktet i smeltefasen, når endringshastigheten i fluorescens er størst, definerer smeltetemperaturen (T_m) til det analyserte DNA-et.

Før det utføres en HRM-analyse, må målsekvensen amplifiseres til et høyt kopi-tall. Dette skjer som regel med PCR og ved hjelp av dsDNA-interkalere fluorescerende fargestoff. Fargestoffet samvirker ikke med ssDNA, men interkalere aktivt med dsDNA og fluorescerer sterkt når det interkaleres. Endring i fluorescens kan brukes til å måle

økningen i DNA-konsentrasjon under PCR og deretter til å direkte måle termisk-indusert DNA-smelting gjennom HRM. Under HRM er fluorescens innledningsvis høy ettersom prøven starter som dsDNA. Fluorescensen synker ettersom temperaturen øker og DNA dissosierer til enkelttråder. Den observerte smelteatferden er typisk for en bestemt DNA-prøve.

Med HRM kan RotorGene Q MDx karakterisere prøver basert på sekvenslengde, GC-innhold og komplementaritet i DNA-sekvens. HRM kan brukes i applikasjoner for genotypebestemmelse, f.eks. til analyser av insersjon/delesjon eller enkle nukleotide polymorfismer (SNP), eller til å screene for ukjente genmutasjoner. Det kan også brukes i epigenetiske applikasjoner for å oppdage og analysere DNA-metyleringsstatus. Et annet bruksområde er kvantitativ registrering av en liten andel DNA-varianter i en bakgrunn med villtypesekvens med følsomheter ned mot 5 %. Dette kan for eksempel brukes til å studere somatisk ervervede mutasjoner eller endringer i metyleringsstatusen til CpG-øyer.

HRM på RotorGene Q MDx har mange bruksområder, blant annet:

- Identifisering av kandidatgener for predisposisjon
- Assosiasjonsstudier (case-control-studier, genotype mot fenotype)
- Bestemmelse av allel-forekomst i en populasjon eller undergruppe
- SNP-screening og validering
- Screening for tap av heterozygositet
- DNA-fingerastrykk
- Karakteristikk av haplotypeblokker
- DNA-metyleringsanalyse
- DNA-kartlegging
- Artsidentifisering
- Mutasjonsfunn
- Bestemmelse av forholdstallet mellom somatisk ervervede mutasjoner
- HLA-typing

HRM er enklere og mer kostnadseffektivt enn analyser med probebasert genotyping, og i motsetning til konvensjonelle metoder er det et lukket rør-system som hindrer kontaminering med PCRprodukter. Resultater er sammenlignbare med konvensjonelle metoder som SSCP, DHPLC, RFLP og DNA-sekvensering.

11.1 Instrumentering

Rotor-Gene Q MDx utfører følgende krevende sanntids og termo-optiske funksjoner i forbindelse med HRM.

- Illuminering med høy intensitet
- Optisk deteksjon med høy følsomhet
- Rask datainnsamling
- Finjustert prøvetemperatur
- Minimal termisk og optisk variasjon mellom prøver

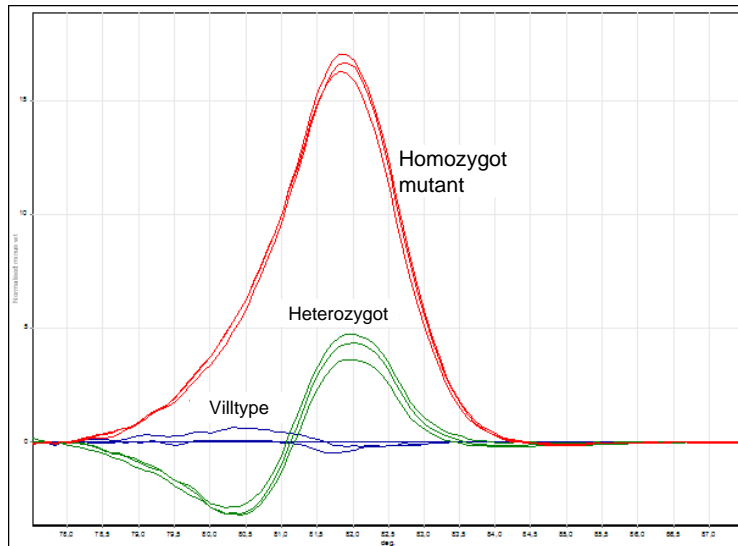
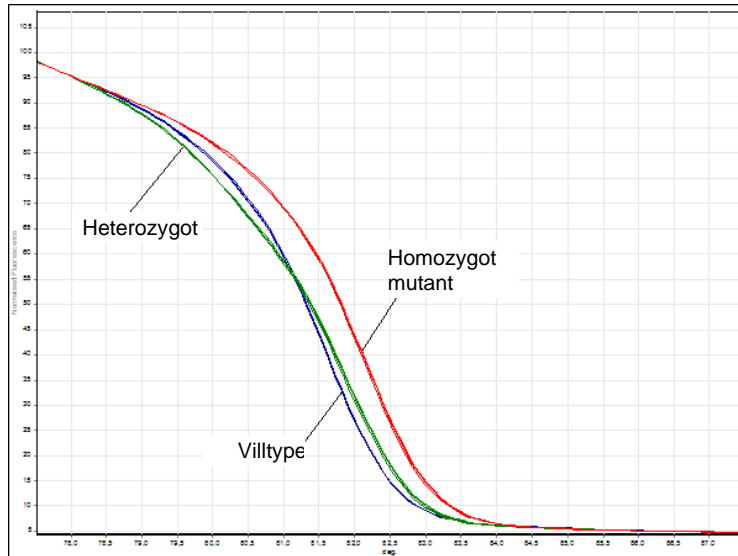
11.2 Kjem i

QIAGEN tilbyr Type-it[®] HRM PCR-sett til analyse av SNP-er og mutasjoner med HRM og EpiTect[®] HRM PCR-sett til metyleringsanalyse. Begge settene inneholder det tredje generasjons interkalerende fluorescerende fargestoffet EvaGreen. Settene kombinerer optimalisert HRM-buffer og HotStarTaq[®] PlusDNA Polymerase for å unngå uspesifiserte amplifikasjonsprodukter og gi pålitelige resultater.

Merk: Alle QIAGEN HRM-sett og reagenser er beregnet på bruk med Rotor-Gene Q-instrumenter kun i applikasjoner som er beskrevet i de respektive håndbøkene for QIAGEN-settene.

11.3 Eksempel på SNP -genotyping

I eksemplet nedenfor ble Typeit HRM PCRsettet brukt i HRM-analyse for å differensiere mellom homozygot villtype, homozygot mutant og heterozygote former av human SNP rs60031276. For tekniske detaljer se håndboken for Typeit HRM PCR *Type-it HRM PCR Handbook*

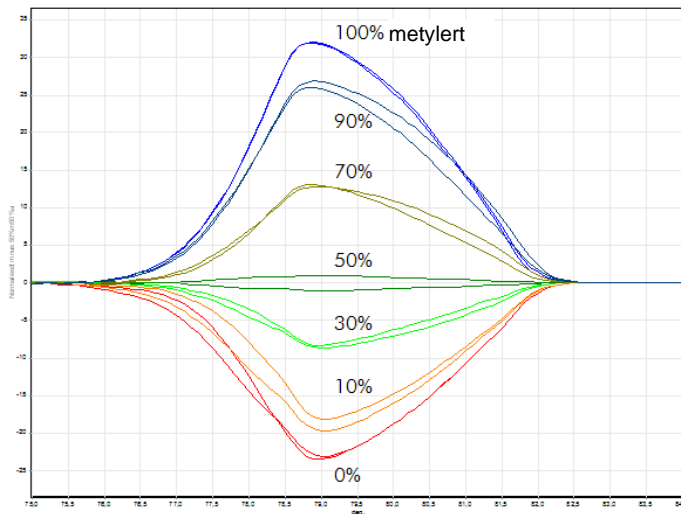
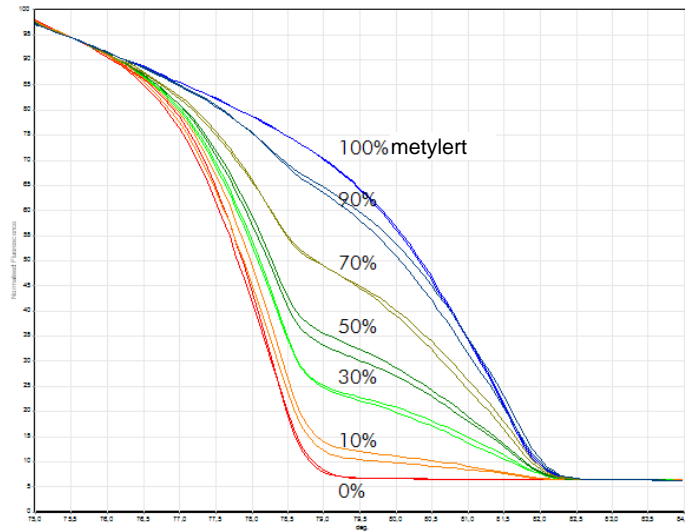


HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22		AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23		unknown	homo AA	99,49
24		unknown	homo AA	99,76
28		AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29		unknown	hetero AG	99,49
30		unknown	hetero AG	98,47
34		GG Human SNP rs60031276	homo GG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

SNP-genotyping med HRM. Human SNP rs60031276 (A til G substitusjon) i PPP1R14B genen (proteinfosfatase 1, regulerende (inhibitor) underenhet 14B) ble analysert på RotorGene Q med 10 ng genomisk DNA av ulike genotyper og Typeit HRM-settet. Prøver av typen homozygot villtype (AA), homozygot mutant (GG) og heterozygot (AG) vises i en vanlig normalisert smeltekurve og et differansediagram normalisert til villtypeprøver. Genotyper for de ukjente prøvene ble tilordnet av RotorGene Q-programvaren.

11.4 Eksempel på metyleringsanalyse

I eksemplet nedenfor ble EpiTect HRM PCR settet brukt i HRM-analyse for å skille mellom ulike prosentandeler av metylert og ikke-metylert DNA. For tekniske detaljer se håndboken for EpiTect HRM PCR (*EpiTect HRM PCR Handbook*).



Kvantitativ metyleringsanalyse med HRM. Ulike prosentandeler med metylert og ikke-metylert DNA-APC (adenomatosis polyposis coli) ble analysert og diskriminert med HRM-metyleringsanalyse på Rotor Gene Q ved hjelp av EpiTect HRM-settet. En vanlig normalisert smeltekurve og et differansediagram normalisert til den 50 % metylerte prøven, vises.

11.5 Retningslinjer for vellykket HRM -analyse

Hvor godt man lykkes med en HRManalyse, vil i stor grad avhenge av den bestemte sekvensen som undersøkes. Visse sekvensmotiver, som hairpinlooper eller andre sekundære strukturer, lokaliserte områder med uvanlig høyt eller lavt GC-innhold, eller gjentatte sekvenser, kan alle påvirke resultatet. Bruk av standardiserte sett og optimaliserte protokoller fra QIAGEN kan imidlertid bidra til å løse mange av nevnte utfordringer. Nedenfor følger noen enkle retningslinjer for å sikre et mest mulig vellykket resultat.

Analyser små DNA -fragmenter

Analyser fragmenter som ikke er større enn ca. 250 bp. Større produkter lar seg også analysere, men gir som regel lavere oppløsning. Dette kan for eksempel skyldes at en enkelt basevariasjon har større innvirkning på smelteatferden til en 100 bp-amplikon enn en 500 bp-amplikon.

Kontroller at PCR kun inneholder det spesifikke produktet

Prøver kontaminert med postPCRartefakter, som primer-dimere eller uspesifikke produkter, kan gjøre det vanskelig å tolke HRM-resultater. QIAGEN-sett for HRManalyse sikrer maksimal spesifisitet, uten behov for optimalisering.

Bruk tilstrekkelig primeramplifikasjonstemplat

Analyse av sanntids PCR-data kan være svært nyttig ved feilsøking av HRManalyser. Amplifikasjonsdiagrammer bør ha en C_T (terskelsyklus) på mindre enn eller lik 30 sykluser. Produkter som amplifiserer senere enn dette (på grunn av lite templat i starten eller templatdegradering), fører som regel til variable HRM-resultater som et resultat av PCR-artefakter.

Normaliser templatkonsentrasjon

Templattmengden som tilsettes reaksjonen, bør være konsistent. Normaliser startkonsentrasjonene slik at alle amplifikasjonsdiagrammer er innenfor 3 C_T -verdier av

hverandre. Dette sikrer at de angitte konsentrasjonene er innenfor et 10-doblet område.

Se etter avvikende amplifikasjonsdiagrammer

Før en HRM må du undersøke dataene i amplifikasjonsdiagrammene nøye og se etter unormale former i diagrammene. Diagrammer der den log-lineære fasen ikke er bratt, er hakkete eller når et lavt signalplata sammenlignet med andre reaksjoner, kan tyde på dårlig amplifikasjon eller et fluorescenssignal som er for lavt (kan f.eks. oppstå hvis primerkonsentrasjonen var for lav). Dårlige reaksjoner kan skyldes reaksjonshemmere eller feil i reaksjonsoppsettet. HRM data fra slike prøver kan være usikre eller ha lav oppløsning. For å unngå upålitelige resultater anbefaler vi QIAGEN-sett til prøveklargjøring og HRM-analyse.

Sørg for lignende prøvekonsentrasjoner etter amplifikasjon

Konsentrasjonen til et DNAfragment påvirker smeltetemperaturen (T_m). Av den grunn må prøvens DNA-konsentrasjoner være så like som mulig. Når du analyserer PCR-produkter, må du sikre at alle reaksjonene har amplifisert til platået. Ved platået vil alle reaksjoner ha amplifisert i lignende utstrekning, uavhengig av opprinnelig mengde. Vær imidlertid oppmerksom på at svake reaksjoner kanskje ikke når platået med samme amplifiserte mengde, f.eks. på grunn av inkonsekvent analyseoppsett (hvis f.eks. primerkonsentrasjonen var for lav).

Sørg for ensartethet mellom prøver

Alle prøver må ha samme volum og bør inneholde samme konsentrasjon av fargestoff. DNA-smelteatferd påvirkes av salter i reaksjonsblandingen, så det er viktig at konsentrasjonen av buffer, Mg og andre salter er mest mulig lik i alle prøver. Videre bør du kun bruke identiske reaksjonsrør fra samme produsent for å unngå variasjoner som skyldes ulik plasttykkelse og egenskaper for autofluorescens.

Sørg for nok datainnsamling i fasene før og etter smelting

Registrer HRM-datapunkter i et område på ca. 10 °C, sentrert rundt det observerte T_m (se figur på side 11-1). Du vil da få tilstrekkelig med grunnleggende datapunkter med tanke på en effektiv kurvenormalisering, samt mer reproducerbare replikater og enklere data tolkning.

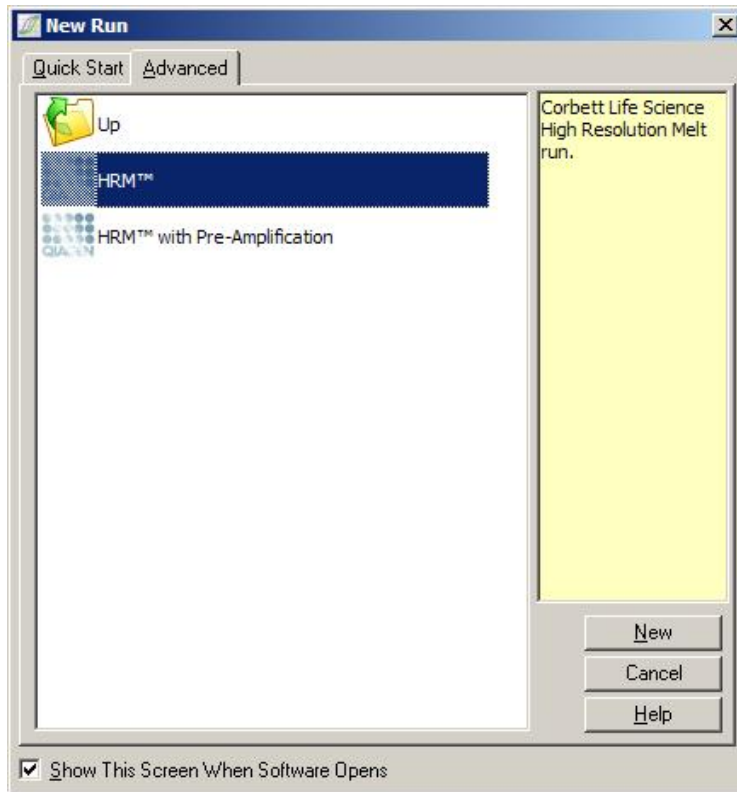
11.6 Prøveklargjøring

Degradering av prøver bør unngås under rensing og oppbevaring. Unngå store mengder inhibitorer, f.eks. fra etanolkontaminering. For å oppnå bedre HRM-resultater anbefaler vi at det brukes samme mengde templat i alle prøver. Spektrofotometrisk analyse til bestemmelse av DNA-konsentrasjon og -renhet er anbefalt. Vi anbefaler QIAGEN-sett til prøveklargjøring.

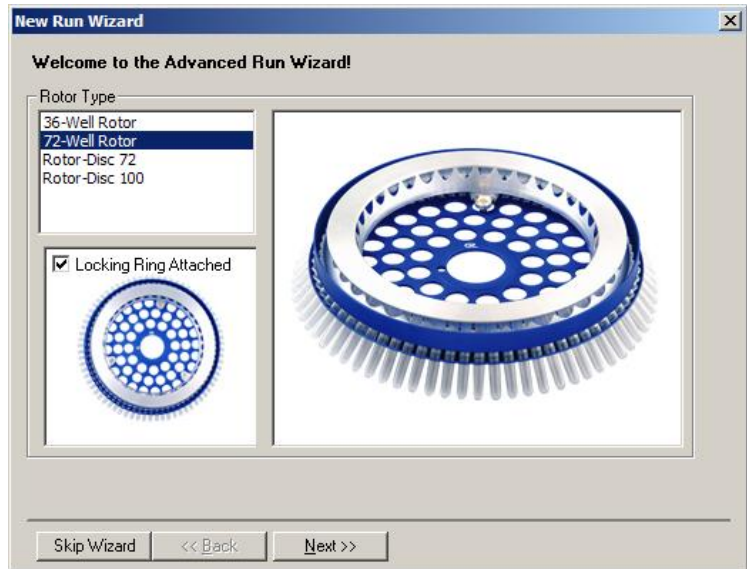
Merk: Ved 260 nm er én absorbans-enhet lik 50 µg/ml DNA. Rent DNA vil gi et 260 nm til 280 nm forhold på 1,8.

11.7 Programvareoppsett

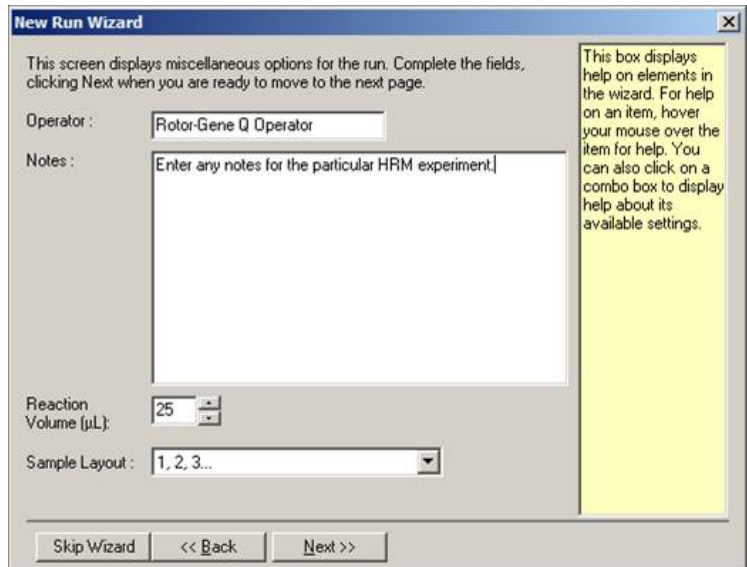
1. Åpne en ny kjørefil ved å velge "New..." fra "File"-menyen. I den avanserte veiviseren velger du "HRM".



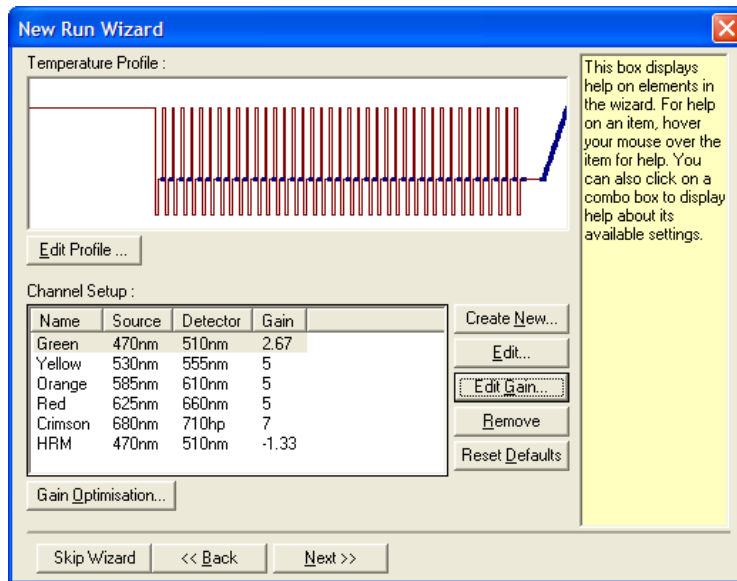
2. Angi rotortype (i dette eksemplet brukes en 72brønners rotor). Kontroller at låseringen er på plass og at det er merket av for "Locking Ring Attached" før du går videre til neste trinn.



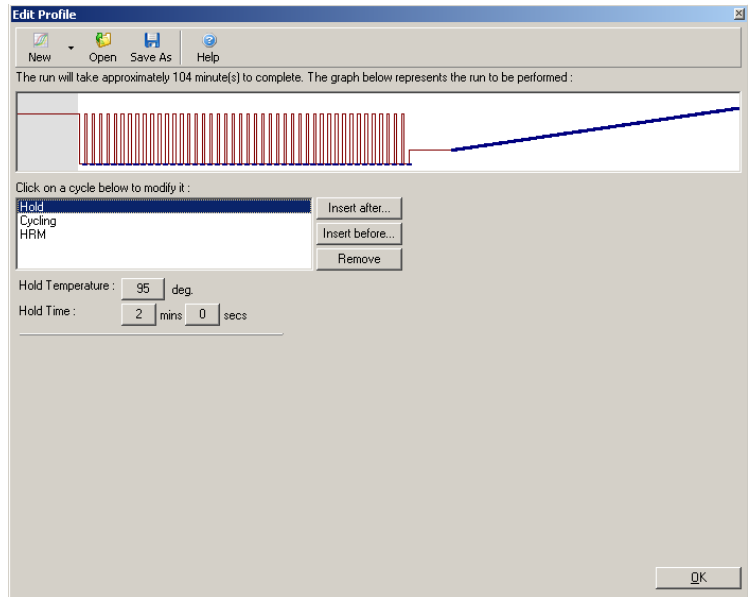
3. Legg inn informasjon om kjøringen. Angi operatørens navn (valgfritt) og eventuelle kommentarer om eksperimentet (valgfritt). Angi reaksjonsvolumet (obligatorisk) og ønsket prøvelayout.



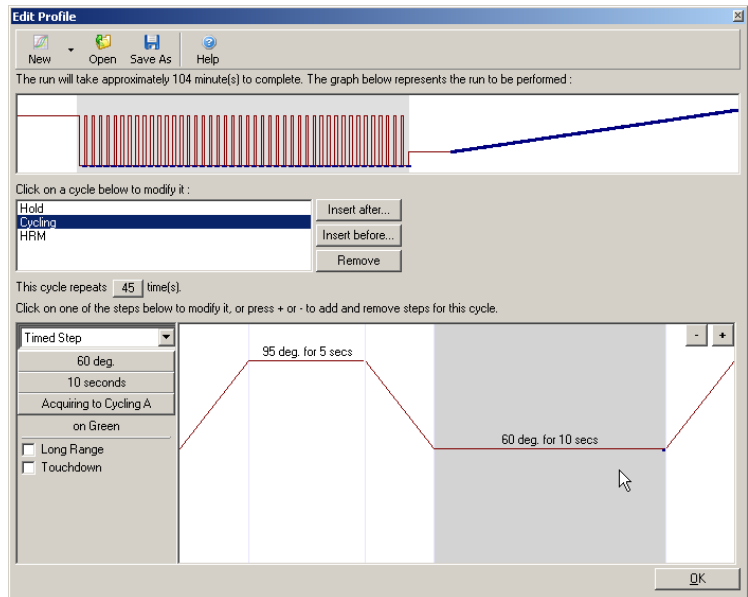
- Klikk på knappen "Edit Profile..." for å endre reaksjonens tider og temperaturer.



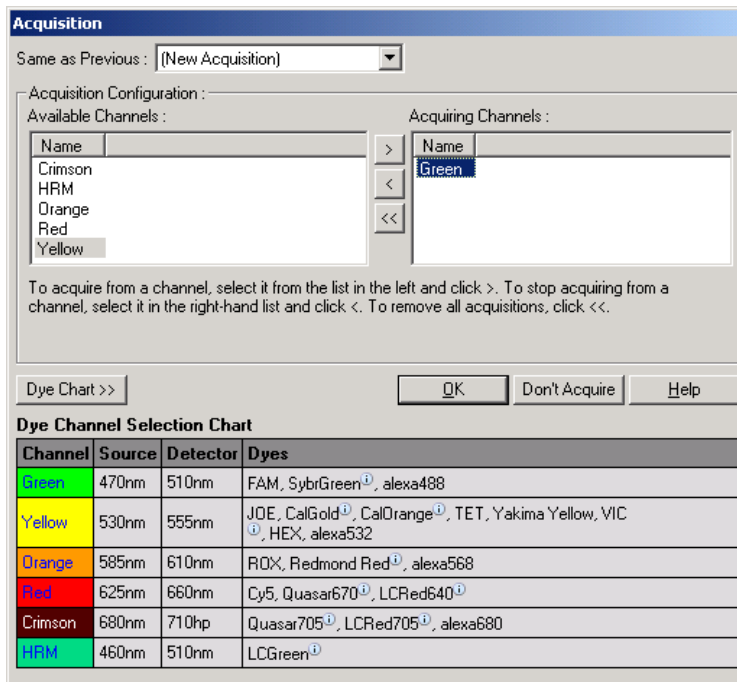
- Angi en passende innledende holdetid. Denne tiden avhenger av typen DNA-polymerase som brukes. Type it HRM PCRsettet og EpiTect HRM PCRsettet har en aktiveringstid på 5 minutter. Standard aktiveringstid er 10 minutter.



6. Endre syklusen for å tilpasse den til amplitikonet.

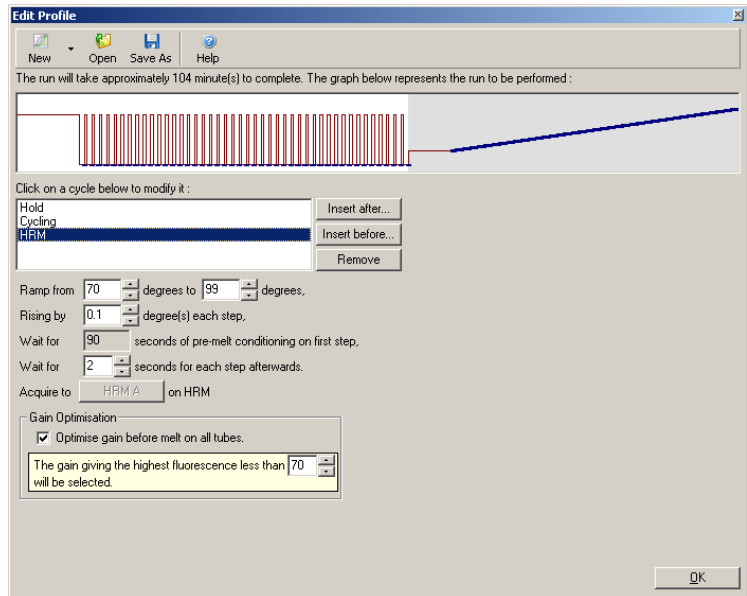


7. Kontroller at det vil bli innsamlet fluorescensdata. Samle inn data til den grønne kanalen mot slutten av annealing-trinnet.

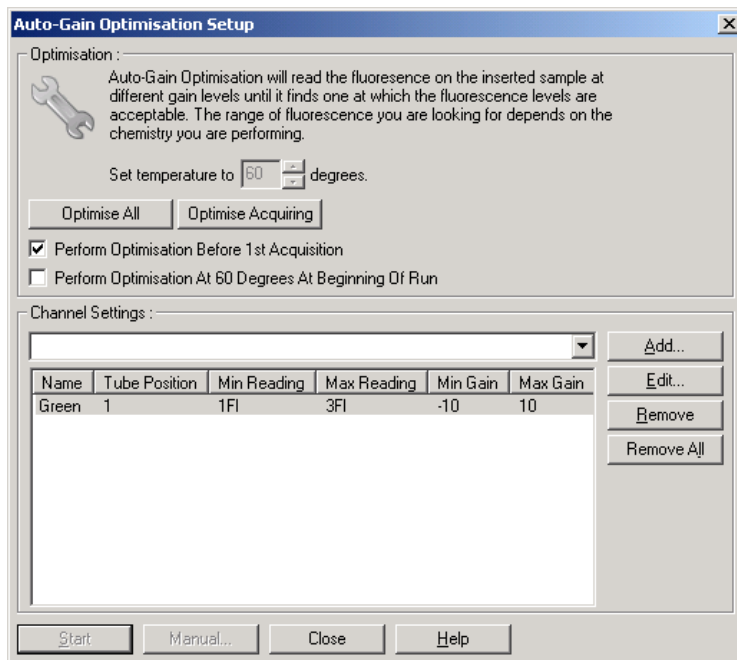


8. Angi innstillinger for HRM-kjøringen. Endre innstillingene slik at de passer til amplikonet. For det første eksperimentsettet bør du ha et bredt smelteområde. Bruk det teoretiske T_m som rettesnor for et egnet område. Når du har bestemt hvor produktet vil smelte, reduserer du smelteområdet til høyst 10 °C. Påse at starten på smeltingen skjer 5 °C forut for den første smelteovergangen. Standard stigning er satt til 0,1 °C med en holdetid på 2 sekunder på hvert trinn. Minste stigningstrinn er 0,05 °C med en holdetid på ett sekund på hvert trinn. Data innsamles automatisk til HRM-kanalen. Automatisk optimalisering av økning utføres som standard. Programvaren søker etter den optimale økningsinnstillingen slik at den høyeste fluorescensverdien som rapporteres, ikke er høyere enn

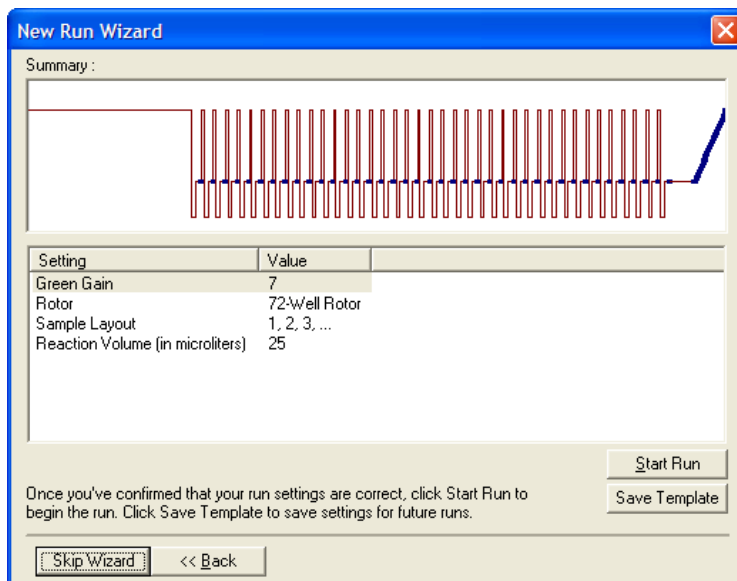
70 enheter på en skala på 100. Vær oppmerksom på at dette kan økes til maksimalt 100.



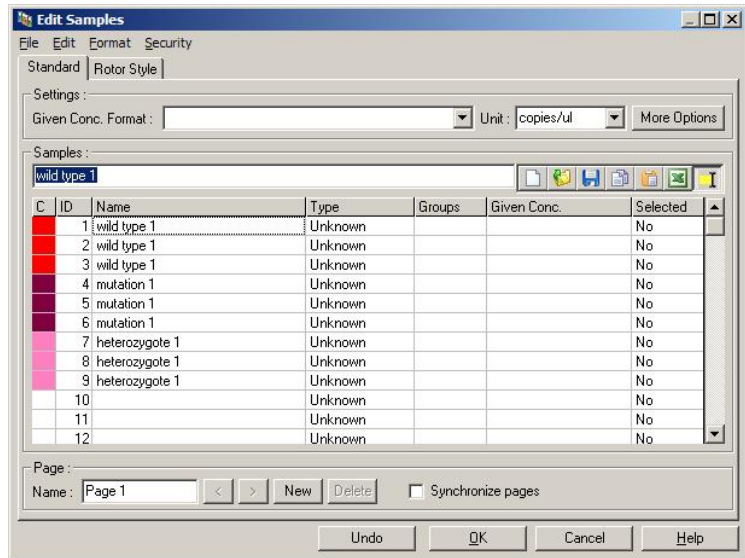
9. Valgfritt: Still inn optimalisering av automatisk økning. Dette gjelder kun trinnet med sanntids amplifikasjon og er innstilt på den grønne kanalen. Klikk på knappen "Optimize Acquiring" (for å optimalisere kun kanalene som brukes i en kjøring). Det er best å utføre optimalisering like før første innsamlingstrinn, derfor bør du merke av for "Perform Optimization Before First Acquisition". Anbefalt område for bakgrunnsfluorescens for interkalerende fargestoffer er mellom 1 og 3 fluorescenseenheter. For å endre denne innstillingen klikker du på kanalnavnet for å velge den på listen og deretter på "Edit"-knappen.



10. Start kjøringen ved å klikke på "Start Run" og lagre kjørefilen på datamaskinen.



11. Rediger prøvenavnene (valgfritt). Prøvenavnene kan redigeres under eller etter en kjøring.

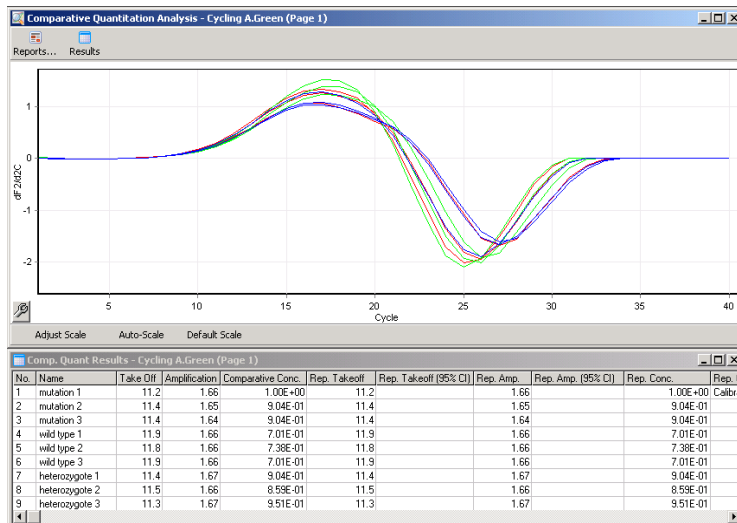


11.8 Analyse av sanntids PCR -data

Det er fordelaktig å analysere sanntidsPCRdata forut for en HRM-dataanalyse. Sanntids PCRdata kan fremheve analyser med svak ytelse. Å identifisere disse uteliggerne og filtrere dem ut av den påfølgende HRManalysen, vil i svært stor grad forbedre den samlede effektiviteten til HRManalysen, siden det å analysere et lavkvalitets PCRprodukt vil resultere i dårlige HRM-resultater. Vi anbefaler å analysere kvantitative sanntids PCRdata på følgende måte.

1. Analyser sanntidsdataene med alternativet "Quantitation" i "Analysis"-vinduet. Hvis noen av C_T -verdiene er 30 eller høyere, anses de korresponderende reaksjonene for å ha amplifisert for sent. Slike prøver må analyseres med skepsis eller fjernes fra analysen som en uteligger. Sen amplifikasjon skyldes vanligvis for lite templat i starten og/eller et høyt nivå av prøvedegradasjon.

2. Vurder fluorescensnivået ved endepunktet. Hvis endepunkt-fluorescensen i noen av amplifikasjonsdiagrammene er lav sammenlignet med de fleste andre diagrammene i datasettet, bør disse prøvene utelukkes fra analysen, selv om C_T -verdien er under 30. Lav endepunkt-fluorescens kan tyde på feil mengde fargestoff, feil nivå av reaksjonskomponenter (f.eks. primere) eller på virkning fra inhibitorer.
3. Bruk alternativet "Comparative Quantitation" i "Analysis"-vinduet for å finne reaksjonseffektiviteten for hver prøve. Hvis effektiviteten ikke ligner på andre reaksjoner i eksperimentet, eller er mindre enn ca. 1,4, må reaksjonen utelukkes som en uteligger.



Resultater av komparativ kvantitering. Reaksjonseffektiviteten vises i kolonnen "Amplification" som en score av 2 (2 = 100 % effektivitet).

Merk: Hvis du mistenker at det forekommer primer-dimere eller uspesifikke produkter, må du vurdere reaksjonene ved å tegne et derivatdiagram ved hjelp av "Melt"-alternativet i "Analysis"-vinduet. Kontroller at det bare finnes én topp, en indikasjon på ett produkt. Hvis mulig, kjøp en gel for å kontrollere at det bare forekommer ett amplifikasjonsprodukt. Hvis det

forekommer mer enn ett produkt, bør reaksjonen gjentas eller optimaliseres på nytt.

11.9 Analyse av HRM -data

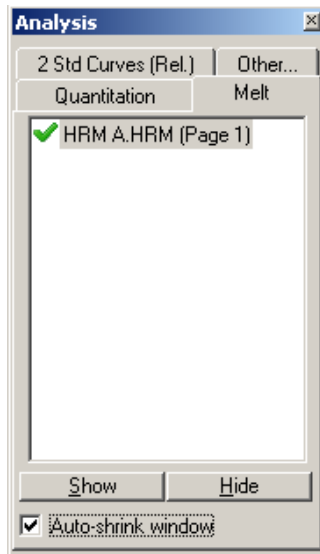
HRM-analyse muliggjør både visuell og automatisk bestemmelse av genotyper. Resultatene kan vises enten som et normalisert smeltdiagram eller som et differansediagram. Normaliserte kurver gir en grunnleggende fremstilling av de ulike genotypene basert på kurveforskyvning (for homozygoter) og endret kurveform (for heterozygoter).

Differansediagrammer er et hjelpemiddel ved visuell tolkning. De plotter differansen i fluorescens i en prøve mot en valgt kontroll ved hver temperaturovergang. Differansediagrammer er en alternativ metode for å vise forskjellene mellom overganger i smeltekurver.

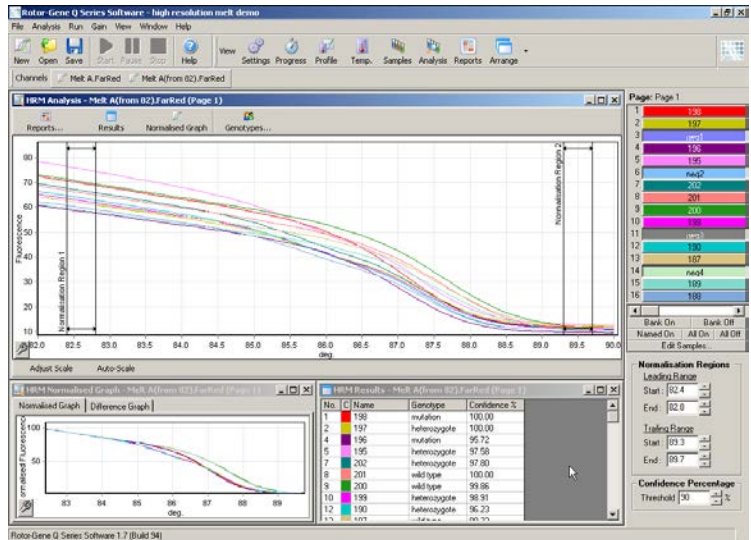
Merk : Førstederivert smeltekurveanalyse (som brukes i standardalternativet "Melt" i "Analysis"-vinduet) anses som uegnet til HRM-analyse. Dette skyldes at enhver derivering av dataene tilfører kunstig støy og gjør det vanskeligere å tolke dem.

Følgende trinn beskriver analysen av HRM-resultater med Rotor-Gene Q-programvare.

1. I vinduet "Analysis" velger du alternativet "HRM".

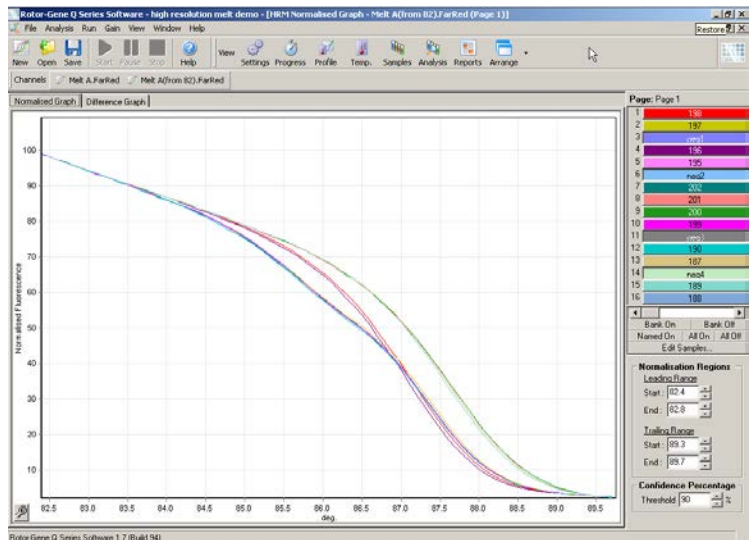


2. Det vises vinduer som inneholder rådataene, den normaliserte grafen og resultatene. I vinduet med rådata kan du justere normaliseringsområdene. Normalisering gjør at alle kurvene kan sammenlignes med samme start- og sluttnivå for fluorescenssignalet, noe som forenkler både tolkning og analyse. Det er to markører per område, som i utgangspunktet befinner seg ved kurvenes slutt. Datapunktene innenfor områdene brukes til å normalisere fluorescensen (kun yaksen) for starten ("Region 1") og slutten ("Region 2") av smeltdiagrammet. Det tas ikke hensyn til data utenfor de angitte områdene. Juster områdene slik at de omfatter representative grunddata for fasene før og etter smelting. Ved å vidde ut områdene (klikke og dra) tilpasser programvaren grunnlinjens stigningstall. For å sikre at kurvene normaliserer effektivt må du unngå å strekke normaliseringsområdene inn i smeltefasen.

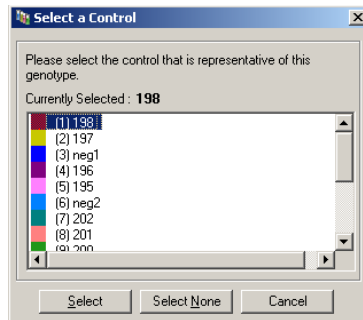
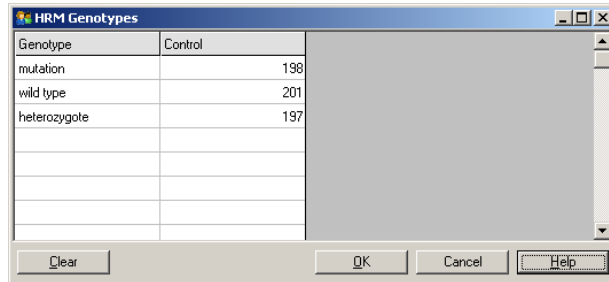


Merk : Vi anbefaler at du kun flytter markører hvis du ønsker å unngå områder av smeltekurven. Hvis du flytter markørene mot overgangen til smeltefasen, kan det påvirke subtraksjonsdiagrammer og konfidensprosenten.

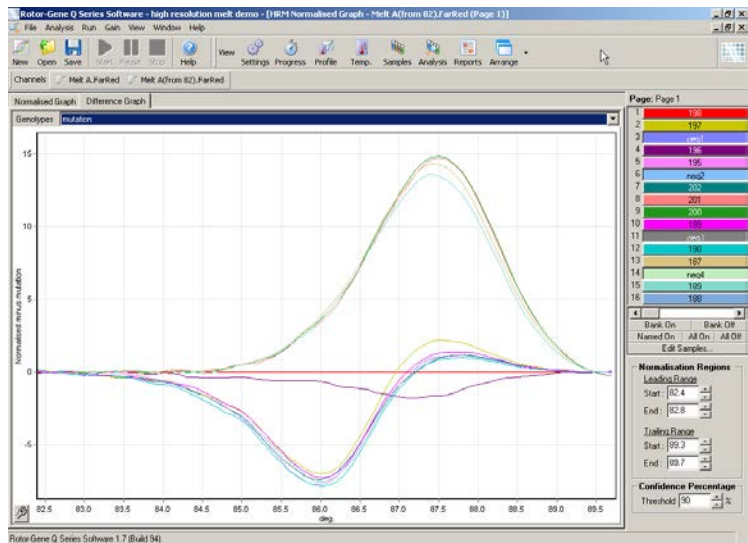
3. Vinduet "Normalised Graph" (Normalisert graf) viser de normaliserte smeltekurvene. Prøver kan også vises som et differansediagram mot en av kontrollene.



4. Klikk på knappen "Genotypes..." for å definere genotypene. Angi navnet på hver genotypekategori og velg en representativ prøve for hver fra prøvelisten.



5. Vis differansediagrammet ved å velge fanen "Difference Graph" (Differansegraf). Deretter velger du genotypen du ønsker å sammenligne alle de andre prøvene med, ved hjelp av nedtrekksmenyen øverst i vinduet. I eksemplet som vises, er alle prøver plottet subtrahert fra et gjennomsnittsdigram for alle prøver kalt "Mutation 1" (Mutasjon 1).



6. Genotyper hentes automatisk av programvaren i "Results"-vinduet. Det gis en konfidensverdi som fungerer som integritetskontroll av automatisk hentede resultater. Terskelverdien, som utløser automatisk henting, kan redigeres. Prøver som befinner seg under den angitte terskelen, vil bli merket som varianter for nærmere undersøkelse eller retesting.

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 %

Denne siden er tom med hensikt

12 Feilsøking

12.1 Loggarkiver

Programvaren beholder en uendret registrering av hver kjøring, samt diagnostisk informasjon, i sitt loggarkiv. Ved å bruke hjelpefunksjonen "Send Support Email" kan du sende en e-post sammen med all nødvendig diagnostisk informasjon til QIAGENS tekniske tjenester (se avsnitt 7.12.1).

For å spare diskplass lagres det kun loggarkiver for de 60 siste kjøringene. Eldre loggarkiver blir overskrevet etterhvert som det opprettes nye.

12.2 Feilsøking for HRM

Kommentarer og forslag

Kan ikke kjøre HRM

RotorGene Q MDx-modellen er ikke utstyrt for HRM

Kontakt din lokale QIAGEN-representant.

Får ingen HRM -data

Feil i oppsettet

Kontroller filterinnstillinger.

Kontroller om rotortypen er riktig.

Kontroller om det er brukt riktig reagenser.

Kontroller om reaksjonen ble riktig satt opp.

Kjør et eksperiment med positiv kontroll (dvs. en analyse som du vet gir resultater).

Kommentarer og forslag

Ujevne diagrammer

Dårlig eller ingen
amplifikasjon

Kontroller om det er brukt riktige protokoller og reagenser. Vi anbefaler QIAGEN-sett til HRM analyse.

Kontroller om reaksjonen ble riktig satt opp.

Kontroller syklusforholdene.

Kontroller templatets innledende kvalitet og kvantitet. Vi anbefaler QIAGEN-sett til prøveklargjøring.

Amplifikasjons - eller smeltdiagrammer er mettede

Økning innstilt for høyt Bruk funksjonen for optimalisering av automatisk økning (se side6-23).

Konfidensprosentene har endret seg

Normaliseringsområder er blitt flyttet ved å klikke og dra Flytt normaliseringsområder kun hvis det er nødvendig for å unngå deler av smeltekurven.

Det forekommer uteliggere i dataene

Inkonsekvent reaksjonsoppsett Kontroller om det er brukt riktige reagenser.
Kontroller at det er benyttet ensartede rør.

Inhibitorer i prøven Kontroller at det er brukt samme mastermix for alle prøver.

For lite eller degradert templat Kontroller templatets innledende kvalitet og kvantitet.

12.3 Generelle instrumentfeil

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
"Can't open the serial port <COMPORT>"	Kan ikke åpne serieporten <COMPORT>	<p>Denne feilen oppstår ved oppstart hvis programvaren ikke kan kommunisere med instrumentet via den konfigurerte COM-porten. Dette skyldes vanligvis defekte kabler, løse kabler, defekte serieporter, defekte USBporter, et problem med USBdriveren eller et problem med driveren for USB-til-seriell konvertering.</p> <p>Koble til kabelen på nytt eller bytt den. Installer de aktuelle driverne på nytt. Start programvaren i "Virtual Mode" og velg "Setup/Auto-Detect button" (Oppsett-/Oppdag automatisk-knapp) fra "File"-menyen for å tilbakestille den konfigurerte COM-porten.</p>

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
"Chamber lid open"	Åpent kammerlokk	Denne feilen oppstår når programvaren oppdager at lokket er åpent underveis i en kjøring.
"Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software."	Kan ikke fortsette kjøringen; kammerlokket ble åpnet under en kjøring. Tilbakestill maskinen og start programvaren på nytt.	Tilbakestill maskinen og start programvaren på nytt.
"Chamber lid open"	Åpent kammerlokk	Denne feilen oppstår når brukeren forsøker å starte en kjøring mens instrumentlokket er åpent.
"The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue."	Lokket på instrumentkammeret er åpent. Lukk lokket og klikk på "Continue".	Lukk lokket på instrumentkammeret og klikk på "Continue".
"Communication corrupted"	Ikke -konform kommunikasjon	Denne feilen oppstår når dataene som mottas fra instrumentet, ikke stemmer overens med det forventede mønsteret. En feltservicespesialist fra QIAGEN må foreta nærmere undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet. Ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
<p>"Communication out of sequence"</p> <p>"Instrument has received data from the machine that is out of sequence."</p>	<p>Kommunikasjon utenfor sekvens</p> <p>Instrumentet har mottatt data fra maskinen som er utenfor sekvens.</p>	<p>Denne feilen oppstår når dataene som mottas fra instrumentet, ikke har riktig rekkefølge.</p> <p>En feltservicespesialist fra QIAGEN må foreta nærmere undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet.</p> <p>Ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.</p>
<p>"Communication protocol error"</p> <p>"A communication protocol error occurred with this run."</p>	<p>Feil i kommunikasjons - protokoll)</p> <p>Det har oppstått en feil i kommunikasjonsprotokollen for denne kjøringen.</p>	<p>Denne feilen oppstår når den konfigurerte kommunikasjonsprotokollen i fastvaren, ikke er den samme som den forventede protokollen.</p> <p>En feltservicespesialist fra QIAGEN må foreta nærmere undersøkelser for å diagnostisere kommunikasjonsproblemet eller instrumentet.</p>

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
"Detector motor jam, stopped machine"	Motorstopp i detektor, stoppet maskin	Denne feilen kan oppstå når Rotor-Gene Q MDx startes opp umiddelbart etter levering i kalde klimaer. I slike tilfeller må du la instrumentet akklimatisere seg til romtemperatur i minst én time før du slår instrumentet på. Hvis feilen vedvarer, må du ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.
"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."	Alvorlig funksjonsfeil i maskinvaren Instrumentet har oppdaget en alvorlig funksjonsfeil i maskinvaren. Ikke forsøk å bruke maskinen før distributøren har utført service.	Denne feilen oppstår når programvaren har oppdaget en alvorlig funksjonsfeil i maskinvaren og aktivert en beskyttelsesprosedyre for å slå av maskinen. Slå umiddelbart av instrumentet og ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.
"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."	Maskinfeil Kjøringen ble stoppet fordi det oppsto maskinfeil som gjorde det umulig å fortsette. Ta kontakt med distributøren hvis det skjer på nytt, og legg ved en arkivfil.	Denne feilen oppstår når programvaren oppdager feil i maskinen som gjør det umulig å fortsette. Programvaren har stoppet kjøringen. Forsøk en annen kjøring. Hvis feilen vedvarer, må du ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester og legge ved en arkivfil.

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
<p>"Machine unplugged"</p> <p>"The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE >. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software."</p>	<p>Maskin frakoblet</p> <p>Instrumentet svarer ikke og fikk feil av typen <FEILMELDING>.</p> <p>Dette er en uopprettelig feil. Du må tilbakestille instrumentet og starte programvaren på nytt.</p>	<p>Denne feilen oppstår hvis instrumentet ikke kommuniserer med programvaren etter et definert tidsavbrudd. Dette skyldes ofte en instrumentfeil eller høy aktivitet fra PC-en, med påfølgende tap av en datapakke.</p> <p>Vanlige programvarerelaterte årsaker er prosessorintensive oppgaver, som innebygd virusbeskyttelse eller planlagte virussøk, trådløse kort eller infrarøde kort.</p> <p>Deaktiver eller avinstaller de relevante prosessorintensive programvarene/oppgavene.</p> <p>Tilbakestill instrumentet og start programvaren på nytt.</p> <p>Ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester hvis problemet vedvarer.</p>
<p>"Machine unplugged"</p> <p>"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."</p>	<p>Instrumentet er ikke koblet til datamaskinen via <PORTNAVN>.</p> <p>Koble seriekabelen til datamaskinens bakside på nytt og klikk på "Continue".</p>	<p>Denne feilen oppstår når serie eller USBkommunikasjonen til instrumentet blir brutt.</p> <p>Koble serie eller USBkabelen til datamaskinens bakside på nytt og klikk på "Continue" - knappen.</p>

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
"Object variable or with block variable not set"	Objektvariabel eller With - blokkvariabel ikke angitt	<p>Denne feilen oppstår ved oppstart av programvaren hvis malfilen for standardeksperimenter er blitt ødelagt. Dette kan skje hvis programvaren/datamaskinen slås av uten å bli avsluttet på riktig måte, for eksempel ved strømbrudd.</p> <p>Slett filen C:\Programfiler \Rotor-Gene Q Software \Templates \normal. ret og start programvaren på nytt.</p>
"Rotor speed failure" "Time out while setting the rotor speed."	Feil i rotorhastighet Tidsavbrudd ved angivelse av rotorhastighet.	<p>Denne feilen oppstår når programvaren har forsøkt å angi rotorhastigheten men ikke klart å angi målhastigheten før tidsavbrudd.</p> <p>En feltservicespesialist fra QIAGEN må foreta nærmere undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet.</p> <p>Ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.</p>

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
<p>”Serial port in use”</p> <p>”The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry.”</p>	<p>Serieport i bruk</p> <p>Serieporten er i bruk av en annen applikasjon. Lukk andre applikasjoner, som kommunikasjons- eller synkroniseringsprogramvare, og prøv på nytt.</p>	<p>Denne feilen oppstår når programvaren forsøker å koble seg til maskinen via den konfigurerte COM-porten og porten er i bruk av en annen programvare.</p> <p>Lukk andre applikasjoner, som kommunikasjons- eller synkroniseringsprogramvare, og prøv på nytt.</p>
<p>”Shutdown timeout”</p> <p>”The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software.”</p>	<p>Tidsavbrudd ved avslutning</p> <p>Instrumentet har brukt for lang tid på å avslutte. Tilbakestill maskinen og programvaren.</p>	<p>Denne feilen oppstår når programvaren har gitt en avslutningskommando for å slå av instrumentet, og maskinen fortsetter å sende tilbake data etter et forhåndsdefinert tidsrom.</p> <p>Tilbakestill maskinen og start programvaren på nytt.</p>

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
<p>"Temperature protection activated"</p> <p>"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."</p>	<p>Temperaturbeskyttelse aktivert</p> <p>Instrumentet har oppdaget at temperaturen i kammeret har nådd et farlig høyt nivå. Det har derfor aktivert beskyttelsesmodus. Slå av instrumentet og ta kontakt med distributøren hvis problemet vedvarer.</p>	<p>Denne feilen oppstår når programvaren har oppdaget at temperaturen i kammeret er høyere enn det som er trygt og dermed aktivert en beskyttelsesprosedyre.</p> <p>Slå umiddelbart av instrumentet og ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.</p>
<p>"Thermistor is open"</p> <p>"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."</p>	<p>Termistor er åpen</p> <p>Instrumentet har oppdaget at termistoren er åpen, og for å unngå skade på maskinen er den blitt slått av. Ta kontakt med distributøren hvis det skjer på nytt.</p>	<p>Denne feilen oppstår når programvaren har oppdaget at termistoren er åpen og derfor ikke kan lese av temperaturen. Programvaren har deretter aktivert en beskyttelsesprosedyre for å slå av maskinen.</p> <p>Slå umiddelbart av instrumentet og ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.</p>

Feilmelding	Oversettelse	Kommentarer og forslag
"Unrecoverable errors occurred"	Uopprettelige feil har oppstått	Denne feilen oppstår underveis i en kjøring når programvaren har mislyktes i alle sine forsøk på å gjenopprette.
"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."	Kjøringen ble stoppet fordi det oppsto maskinfeil som gjorde det umulig å fortsette. Ta kontakt med distributøren hvis det skjer på nytt, og legg ved en arkivfil.	En feltservicespesialist fra QIAGEN må foreta nærmere undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet. Ta kontakt med distributøren eller QIAGENS tekniske tjenester.

12.4 Rotor-Gene Q -programvare meldinger

Nedenfor følger en liste over anvisninger, advarsler og andremeldinger som kan vises i RotorGene-programvaren ved bruk av maskinvare og programvare. Hvis meldingen inneholder variabler, dvs. spesifikke feilbeskrivelser, er disse omsluttet av hakeparentes (f.eks.

< FEILBESKRIVELSE

Melding	Oversettelse
Generelle meldinger	
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."	Det finnes allerede en råkanal for denne siden. Hvis du vil gjenskape siden, må du først slette råkanalen via "Options"-knappen og prøve igjen.
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."	Det har oppstått et alvorlig problem og programvaren må avsluttes. Når du klikker på OK, vil arbeidet ditt bli lagret, og maskinen vil bli slått av, hvis mulig. Hvis problemet vedvarer, ta kontakt med distributøren.
3 "Cannot delete this page. There must always be at least one sample page."	Kan ikke slette denne siden. Det må alltid finnes minst én prøveside.
4 "Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry."	Kan ikke koble til instrumentet via serieport <COMPORT>. Kontroller at maskinen er riktig tilkoblet på baksiden og prøv igjen.
5 "Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry."	Kan ikke åpne serieporten <COMPORT> for å koble til instrumentet. Kontroller at ingen annen kommunikasjonsprogramvare er åpen, og prøv igjen.

Melding	Oversettelse
6 "Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again."	Kunne ikke lagre til kjøring fordi noen av dataene i skjemaet var ugyldige. Kontroller oppføringene og prøv igjen.
7 "Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors."	Kunne ikke lagre fil. Kontroller at det er nok plass på disken og at den ikke inneholder feil.
8 "E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer."	Kunne ikke starte epostprogram. Kontroller at det er riktig installert på datamaskinen.
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."	Det oppsto et problem under kjøringen: <FEILBESKRIVELSE>. Kjøringen vil fortsette, og en melding vil bli loggført i meldingsfanen i "Run Info".
10 "Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on."	Finner ikke instrumentet. Kontroller at du har koblet til instrumentet riktig og at det er påslått.
11 "Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted."	Loggføring er for tiden deaktivert på grunn av en tidligere feil. Arkiverte logger kan ikke vises før programvaren er startet på nytt.
12 "Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low."	Noen prøver kunne ikke normaliseres fordi fluorescensnivået var for lavt.
13 "Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported."	Kun kjøring utført med samme rotor som gjeldende kjøring kan importeres.

Melding	Oversettelse
14 "Please note that log files for the current run will not be available until it has completed."	Vær oppmerksom på at loggfiler for gjeldende kjøring ikke vil være tilgjengelige før kjøringen er fullført.
15 "Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0."	Angi et gyldig tall for antall repetisjoner. Det må være høyere enn 0.
16 "Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run."	Det oppsto et problem under oppdatering av loggdata. Loggføring er deaktivert, men blir aktivert på nytt i neste kjøring.
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."	Signering av kjørefiler sikrer kjørerultatenes integritet. Du finner mer informasjon om kjøresignaturer i vinduet "Run Info".
18 "Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples."	PrøveID er låst. Kan ikke lime inn over låste prøver.
19 "TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the RotorGene software."	TeeChart Office er ikke installert på denne datamaskinen. Installer RotorGene-programvaren på nytt.
20 "The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port."	COM-porten som er konfigurert for instrumentet, er ikke valgt. Du må velge en COM-port.
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 RotorGene software."	Den lastede kjørefilen inneholder en signatur som ikke samsvarer med filinnholdet. Det betyr at filen enten er korrumpert, eller at den er blitt tuklet med etter at RotorGene-programvaren laget den.

	Melding	Oversettelse
22	"The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed."	Den lastede kjørefilen har ingen signatur. Det kan ikke garanteres for innholdet i filen.
23	"The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long."	Maskinens serienummer er ikke gyldig. Serienumre må bestå av minst 6 sifre.
24	"The machine will now be 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."	Maskinen vil nå bli avkjølt til <TEMPERATUR> grader. Kammeret og overflatene vil fremdeles være svært varme når du åpner maskinen. Utvis behørig forsiktighet og bruk vernehansker hvis du skal berøre noen av overflatene eller rørene.
25	"The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching."	Områdeinnstillingene for datamaskinen er i konflikt. Påse at det er samsvar mellom valuta og desimalskilletegn.
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."	Serienummeret som ble angitt i velkomstskjermen <SERIENUMMER1>, samsvarer ikke med serienummeret som er lagret i den tilhørende maskinen <SERIENUMMER2>. Datamaskinens serienummer er nå blitt oppdatert slik at det samsvarer med maskinen som er koblet til.
27	"There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry."	Det oppsto et problem under kommunikasjonen med kommunikasjonskortet. Start datamaskinen på nytt og prøv igjen.

Melding	Oversettelse
28 "There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in."	Det oppsto et tidsavbrudd under kommunikasjonsforsøket med maskinen. Kontroller at tilkoblingen er riktig.
29 "This feature cannot be used in virtual mode."	Denne funksjonen kan ikke brukes i virtuell modus.
30 "This profile file was created in a more recent version of the Rotor Gene software. Certain aspects may not load correctly."	Denne profilfilen ble opprettet i en nyere versjon av RotorGene-programvaren. Visse egenskaper blir kanskje ikke lastet på riktig måte.
31 "This run file was created in a more recent version of the RotorGene software. Certain aspects may not load correctly."	Denne kjørefilen ble opprettet i en nyere versjon av RotorGene-programvaren. Visse egenskaper blir kanskje ikke lastet på riktig måte.
32 "This sample file was created in a more recent version of the Rotor Gene software. Certain aspects may not load correctly."	Denne prøvefilen ble opprettet i en nyere versjon av RotorGene-programvaren. Visse egenskaper blir kanskje ikke lastet på riktig måte.
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."	Denne programvaren vil utføre grunnleggende simulering av en maskin for opplærings- og demonstrasjonsformål. Du kan deaktivere denne innstillingen via "Setup"-skjermen, tilgjengelig fra "File"-menyen.
34 "This template was created in a more recent version of the Rotor Gene software. Certain aspects may not load correctly."	Denne malen ble opprettet i en nyere versjon av RotorGene-programvaren. Visse egenskaper i malen blir kanskje ikke lastet på riktig måte.

Melding	Oversettelse
35 "Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run."	Kan ikke laste denne prøvefilen pga. manglende samsvar i rørlayout. Last disse prøvene før du starter kjøringen.
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."	Kan ikke åpne kommunikasjonen med maskinen fordi en annen applikasjon allerede bruker <COMPORT>. Kontroller at det ikke kjører andre applikasjoner som bruker samme serieport, og prøv på nytt.
37 "Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded."	Det oppsto uopprettelige feil under forsøket på å laste filen. Filen ble ikke lastet.
38 "You cannot stop the program while the run is in progress."	Du kan ikke stoppe programmet mens en kjøring pågår.
39 "You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups."	Du har ikke nok rettigheter til å bruke programvaren. Kontakt administratoren for domenet for å sette opp grupper.
40 "You must have performed a quantitation analysis to export samples."	Du må ha utført en kvantiteringsanalyse for å eksportere prøver.
41 "You must select a COM port before continuing."	Du må velge en COM-port før du fortsetter.
42 "Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run."	Kjøringen kunne ikke lagres på standardplasseringen. Velg en alternativ plassering i neste vindu for å lagre kjøringen.
43 "Your settings have been saved. Click OK to close the software."	Innstillingene ble lagret. Klikk på OK for å lukke programvaren.

Melding	Oversettelse
44 "You must select a rotor before continuing."	Du må velge en rotor før du fortsetter.
45 "You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached."	Du kan ikke starte kjøringen før du merker av for at låseringen er festet.
Meldinger som gjelder automatisk økning	
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."	Manuell justering av økning bruker kanalene du har definert i profilen. Siden du ikke har definert noen innsamlingspunkter i profilen, kan du ikke utføre manuell justering av økning.
47 "The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature."	Temperaturen du oppga, ble ikke lagret fordi den var utenfor maskinens rekkevidde. Angi en gyldig temperatur.
Meldinger som gjelder redigering	
48 "Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas."	Angi en gyldig gruppekode. Gruppekoder kan bestå av maksimalt 5 tegn, og må ikke inneholde mellomrom eller komma.
49 "Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty."	Angi et gyldig gruppenavn. Gruppenavn kan ikke inneholde komma eller stå tomme.
Meldinger som gjelder kalibrering av optisk denaturering	

Melding	Oversettelse
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."	Kan ikke angis som optisk denatureringspunkt pga. kalibreringsfeil. Angi et gyldig antall sekunder for holding. Tallverdien må være positiv.
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."	Kunne ikke registrere et smelte toppunkt under kalibrering av optisk denaturering. Dette kan skyldes at feil rør ble valgt for kalibrering, eller at det ble brukt feil kjemi for prøven. Det ble i stedet kjørt en profil med tidsbestemt trinn.
Meldinger som gjelder OTV	
52 "You must enter a valid OTV serial number to perform the run."	Du må angi et gyldig OTV-serienummer for å utføre kjøringen.
53 "This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the RotorGene software to correct this error."	Denne filen for temperaturverifisering er blitt ødelagt. Avinstaller RotorGene-programvaren og installer den på nytt for å reparere feilen.
54 "This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed."	Denne kjørefilen er ikke riktig signert. Resultatene kan ikke vises
55 "You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly."	Du kan ikke starte kjøringen før du merker av for at det fluorescerende innlegget er riktig plassert.
56 "This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement."	Denne rotoren er utløpt. Kontakt distributøren for å få en ny.
Meldinger som gjelder sikkerhetsmenyen	

Melding	Oversettelse
57 "Could not open the Windows user/group manager."	Kunne ikke åpne Windows bruker/gruppe-behandler.
58 "Could not create groups."	Kunne ikke opprette grupper.
59 "Cannot modify access of inbuilt accounts."	Kan ikke endre tilgang til innebygde kontoer.
Analysemenyen	
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."	Du har kun valgt én kanal for analyse. For å velge flere kanaler drar du et rektangel rundt kanalene du ønsker å vise i analysedelen av vinduet.
61 "You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed."	Du har valgt flere kanaler for analyse. Denne analyseteknikken tillater kun analyse av enkeltkanaler.
Meldinger som gjelder konsentrasjonsmåling	
62 "Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position."	Konsentrasjonsmåling utfører automatisk optimalisering av økning på første rotorposisjon. Påse at du har den høyeste konsentrasjonsstandarden i første rotorposisjon.

Melding	Oversettelse
Meldinger som gjelder EndPoint - analyse	
63 "To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK."	For å bruke EndPointanalyse må du ha positive og negative kontroller i hver kanal. For å definere dem klikk på OK.
64 "You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing."	Du har ikke definert noen positive kontroller. Du må definere positive kontroller for hver kanal du analyserer.
65 "You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing."	Du har ikke definert noen negative kontroller. Du må definere negative kontroller for hver kanal du analyserer.
66 "You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group."	Du har ikke definert noen NTC-kontroller. Du må definere NTC-kontroller for hver gruppe.
Meldinger som gjelder HRM - analyse	
67 "Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined."	Ingen kontroll er definert for genotypen <NAVN PÅ GENOTYPE>.
68 "Duplicate genotype combinations are not allowed."	Dupliserte kombinasjoner av genotyper er ikke tillatt.
69 "High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information."	Smelting med høy oppløsning støttes ikke på dette instrumentet. Kontakt distributøren for mer informasjon.
Meldinger som gjelder smelteanalyse	

Melding	Oversettelse
70 "The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again."	Genotypene kan ikke defineres før alle bin-områdene er angitt. Definer alle bin-områdene og prøv på nytt.
71 "You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype."	Du må angi en forkortelse for genotypen <NAVN PÅ GENOTYPE>.
Meldinger som gjelder analyse med punktdiagram	
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."	Analyse med punktdiagram krever at det velges nøyaktig 2 kanaler. For å velge flere kanaler drar du et rektangel rundt kanalene du ønsker å vise i analysedelen av vinduet, eller du klikker mens du holder nede SHIFT-tasten på hver kanal.
Meldinger som gjelder kvantiteringsanalyse	
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..."	Funksjonen for å finne terskelen automatisk krever at du har definert minst 2 valgte standarder. Dette gjør du ved å høyreklikke på prøvelisten og velge "Edit Samples..."

13 Ordliste

Begrep	Beskrivelse
Innsamling	Innsamling viser til innhenting av fluorescensdata. Hver innsamling (sett med fluorecensdata) fra en kanal vises i programvaren som ikke-analyserte data i et vindu som kalles "Raw channel" (Råkanal). Disse dataene kan analyseres ved hjelp av alternativene på "Analysis"-menyen.
Bin-område	I en smelteanalyse fastsetter man binområder for å definere et område hvor det forventes å forekomme et smelte toppunkt. Genotyper kan defineres på grunnlag av forekomsten av toppunkter i visse binområder eller kombinasjoner av bin-områder.
CE-IVD	Samsvar med EUdirektiv 98/79/EF om medisinsk utstyr til in vitro-diagnostikk.
Kanal	En kanal består av en lysemitterende diode (LED) med et eksitasjonsfilter i kombinasjon med et emisjonsfilter. LEDen og eksitasjonsfilteret eksiterer prøver ved en gitt bølgelengde. Fluorescens som avgis av prøver, passerer gjennom emisjonsfilteret og blir deretter registrert av en fotomultiplikator.
Økning	RotorGene Q MDx bruker en fotomultiplikator til å samle fluorescensfotoner og omdanne disse til elektroniske signaler. Økning er en innstilling som bestemmer fotomultiplikatorens følsomhet. Hvis økningen er innstilt for høyt, blir signalet overmettet. Hvis økningen er innstilt for lavt, er det ikke mulig å skille signal fra bakgrunnsstøy.
Optimalisering av økning	Optimalisering av økning er en prosess som innebærer en dynamisk justering av økningsinnstillingen for at man skal kunne velge en passende innstilling som gir optimal deteksjon av signalene.
Lastebrett	Lastebrett er aluminiumsblokker i ulike størrelser som brukes til å holde rør eller Rotor-Disc-plater under reaksjonsoppsett. Rotor-Disc-lastebrett brukes også sammen med RotorDisc varmeforsegl for å varmeforsegle RotorDisc-plater.

Ordliste

Begrep	Beskrivelse
Låsering	Låseringer er metallringer som settes oppå rotoren for å hindre at rør og hetter løsner når RotorGene Q MDx er i bruk. Løse hetter og rør kan føre tilskader på instrumentet.
Rotor	Metallrotoren holder rørene eller RotorDisc-platene i Rotor Gene Q MDx. Den sørger for at prøver kan spinne i instrumentkammeret og sikrer at prøver blir riktig justert i forhold til det optiske systemet. Rotoren er sikret med en låsring.
Rotor-Disc	En RotorDisc er en rund plate med vertikalt plasserte reaksjonsbrønner. RotorDisc finnes i utgaver for 72 og 100 reaksjoner. En RotorDisc forsegles med RotorDisc varmeforseglingsfilm og en RotorDisc varmeforsegler.

Tillegg A

Tekniske spesifikasjoner

QIAGEN forbeholder seg retten til å endrespesifikasjoner når som helst.

Miljøforhold

Driftsforhold

Strøm 100–240 V AC, 50–60 Hz, 520 VA (topp)
Strømforbruk 60 VA (standby)
Spenningsavvik i hovedstrømnettet må ikke overstige 10 % av den nominelle spenningen som leveres.

Sikring Sikring av type F5A 250 V

Varmespredning/
varmebelastning Gjennomsnitt: 0,183 kW (632 BTU/time)
Maks.: 0,458 kW (1578 BTU/time)

Overspenningskategori II

Lufttemperatur 18 til 30 °C

Relativ fuktighet 10–75 % (ikke-kondenserende)

Høyde over havet Opptil 2000 m

Driftssted Kun til innendørs bruk

Forurensningsnivå 2

Miljøklasse 3K2 (IEC 60721-3-3)
3M2 (IEC 60721-3-3)

Transportforhold

Lufttemperatur	-25 °C til 60 °C i produsentens emballasje
Relativ fuktighet	Maks. 75 % (ikke-kondenserende)
Miljøklasse	2K2 (IEC 60721-3-2)

Oppbevaringsforhold

Lufttemperatur	15 °C til 30 °C i produsentens emballasje
Relativ fuktighet	Maks. 75 % (ikke-kondenserende)
Miljøklasse	1K2 (IEC 60721-3-1)

Mekaniske data og maskinvarefunksjoner

Mål	Bredde: 370 mm Høyde: 286 mm Dybde (uten kabler): 420 mm Dybde (åpen dør): 538 mm
Vekt	12,5 kg i standard utgave
Kapasitet	Opptil 100 prøver per kjøring ved bruk av en Rotor-Disc 100
Programvare	Rotor-Gene Q-programvare (versjon 2.3.4) eller høyere

Termiske spesifikasjoner

Beskrivelse	Spesifikasjon
Temperaturområde	35 °C til 99 °C (50 °C til 99 °C for syklusapplikasjoner)
Temperaturnøyaktighet	±0.5 °C (kalibrert med Rotor-Disc OTV-prosedyre)
Temperaturopløsning	±0,02 °C (minste programmerbare økning)
Temperaturesartethet	±0,02 °C

Optiske spesifikasjoner

Beskrivelse	Spesifikasjon
Eksitasjonskilder	Høyenergi lysemmitterende dioder
Detektor	Fotomultiplikator
Innsamlingstid	4 s

FCC-erklæring

United States Federal Communications Commission (Det amerikanske teletilsynet, USFCC) (i 47 CRF 15.05) har erklært at brukerne av dette produktet må informeres om følgende fakta og forhold.

"Denne enheten samsvarer med del 15 i FCC:

Drift er underlagt følgende to vilkår: (1) Denne enheten må ikke forårsake skadelig interferens og (2) denne enheten må godta all interferens den eventuelt mottar, også interferens som fører til uønsket driftsutførelse."

"Dette digitale apparatet i klasse B samsvarer med det kanadiske ICES0003."

Følgende erklæring gjelder produktene som omhandles i denne håndboken med mindre noe annet er angitt. Erklæringen for andre produkter er inkludert i deres medfølgende dokumentasjon.

Merk: Dette utstyret er testet og anses i samsvar med begrensningene for en digital enhet i klasse B i henhold til del 15 i FCC-reglementet, og oppfyller alle krav til digitale apparater i den kanadiske

standarden for utstyr som forårsaker interferens, ICES-003. Disse begrensningene er utformet for å sørge for en rimelig grad av beskyttelse mot skadelig interferens i installasjoner til boligformål. Dette utstyret skaper, bruker og kan utstråle radiofrekvensenergi, og hvis det ikke installeres og brukes i samsvar med instruksjonene, kan det forårsake skadelig interferens for radiokommunikasjon. Det er imidlertid ikke mulig å garantere at interferens ikke vil forekomme i en bestemt installasjon. Hvis dette utstyret mot formodning forårsaker skadelig interferens for radio- eller fjernsynsmottak, som kan stadfestes ved å slå utstyret av og på, oppfordres brukeren til å forsøke å utbedre interferensen gjennom ett eller flere av følgende tiltak:

- Drei eller flytt mottakerantennen
- Øk avstanden mellom utstyret og mottakeren
- Koble utstyret til et uttak i en annen krets enn den mottakeren er koblet til

Spør forhandleren eller en erfaren radio/tv-tekniker om hjelp.

Q IAGEN GmbH Germany er ikke ansvarlig for en eventuell radio- eller fjernsynsinterferens som skyldes uautoriserte endringer av dette utstyret eller utskiftning eller montering av andre tilkoblingskabler eller annet utstyr enn det som er spesifisert av Q IAGEN GmbH, Germany. Utbedring av interferens som skyldes slik uautorisert endring, utskiftning eller montering vil være brukerens ansvar.

Samsvarserklæring

Den juridiske produsentens navn og adresse

QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden

Tyskland

Du kan be om å få en oppdatert samsvarserklæring fra QIAGENS tekniske serviceavdeling.

Avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr (WEEE)

Dette avsnittet inneholder informasjon om hvordan brukere skal deponere avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr.

Symbolet som består av en søppeldunk med et kryss over (se nedenfor) betyr at dette produktet ikke må kastes sammen med annet avfall, men bringes til et godkjent behandlingsanlegg eller et særlig innsamlingssted for gjenvinning, i samsvar med lokale lover og forskrifter.

Å samle inn og gjenvinne elektronisk utstyr separat, bidrar til å bevare naturressurser og sikrer at produktet gjenvinnes på en måte som beskytter folkehelsen og miljøet.



Gjenvinning kan på forespørsel besørges av QIAGEN mot en tilleggs kostnad. I EU, i samsvar med de spesifikke gjenvinningskravene til avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr, og når et erstatningsprodukt leveres av QIAGEN, vil gratis gjenvinning av det WEEE-merkede elektroniske utstyret bli besørget.

For å gjenvinne elektronisk utstyr må du kontakte ditt lokale salgskontor for QIAGEN for å få det nødvendige returskjemaet. Når du har sendt inn skjemaet, vil QIAGEN ta kontakt med deg, enten for å be om tilleggsinformasjon for å planlegge henting av det elektroniske utstyret, eller for å gi deg et individuelt tilbud.

Denne siden er tom med hensikt

Tillegg B

Dette tillegget beskriver de matematiske metodene i mer detalj.

Kvantitering

Beregnete konsentrasjoner utledes av en enkel lineær regresjonsmodell, hvor de kjente verdiene er log konsentrasjoner (x) og de eksperimentelle verdiene er C_T -verdiene (y).

Standardenes log-konsentrasjoner og C_T -verdier brukes til å danne en modell med formen:

$$y = Mx + B$$

Konfidensintervaller for beregnede konsentrasjoner

Vi bruker konfidensintervallet $100(1 - \alpha)\%$ for et estimat av en ny observasjon x_0 fra standardkurven.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Dette er konfidensintervallet for konsentrasjonen til en enkelt ukjent.

La oss anta at vi har ytterligere k observasjoner ved $x = x_0$ og at vi betegner deres gjennomsnitt med \bar{Y}_0 . Dette gir

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

og lignende argumenter som ovenstående gir

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Denne formelen bestemmer hvordan konfidensintervaller for konsentrasjoner av replikate ukjente skal bestemmes.

Ved estimering av standarder er det mulig å oppnå et tettere konfidensintervall:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Implikasjonen av denne formelen er at det å legge til replikater til en standard individuell konsentrasjon, reduserer bredden på intervallet for alle estimater, siden n øker. Å legge til et stort antall replikater til en ukjent reduserer dens usikkerhet til det samme som for en enkeltstandard. De ekstra replikatene reduserer usikkerheten fordi den ukjente ikke inngår i den lineære modellen.

Konfidensintervaller for C_T -verdier

Vi antar at feil i replikaters C_T -verdier er lineære og normalt fordelt.

Derfor bruker vi konfidensintervallet One-Sample t . La μ være gjennomsnittsverdien for en replikats C_T -verdier

$(x_0 \dots x_{n-1})$. Da vil et $100(1 - \alpha)\%$ konfidensintervall for en C_T -verdi μ være:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Takk til Peter Cook fra den matematiske avdelingen ved University of NSW, Sydney, Australia, hvis hjelp var uvurderlig for å verifisere de matematiske metodene som ble brukt.

Tillegg C

Produkter, tilbehør og forbruksvarer for Rotor-Gene Q MDx

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex	Sanntids PCRsykler med 2 kanaler (grønn, gul), bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM	Sanntids PCRsykler og High Resolution Melt-analysator med 2 kanaler (grønn, gul) pluss HRMkanal, bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002012
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Sanntids PCRsykler med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, mørkerød), bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Sanntids PCRsykler og High Resolution Melt-analysator med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, mørkerød) pluss HRM kanal, bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Sanntids PCRsykler med 6 kanaler (blå, grønn, gul, oransje, rød, mørkerød), inkludert bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002042

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Tilbehør		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Settet inneholder: 2 Rotor-Disc 100-pakker, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor og Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	På foresp.
Rotor-Disc 100 (30)	30 individuelt emballerte plater for 3000 reaksjoner	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 individuelt emballerte plater for 30 000 reaksjoner	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	For å holde Rotor-Disc 100-plater i Rotor-Gene Q MDx; krever Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	For å låse en Rotor-Disc 100 i Rotor-Disc 100-rotoren	9018896
Rotor-Disc 100 Loading Block	Aluminiumsbrett for manuell og automatisert reaksjonsoppsett i Rotor-Disc 100-plater	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Hjelpemiddel for å merke brønner under manuelt reaksjonsoppsett i et Rotor-Disc lastebrett	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Varmeforseglingsinstrument til bruk med Rotor-Disc-plater; krever Rotor-Disc 72 eller 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 filmer for å forsegle Rotor-Disc 100- eller Rotor-Disc 72-plater	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 filmer for å forsegle Rotor-Disc 100- eller Rotor-Disc 72-plater	981604

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Settet inneholder 3 Rotor-Disc 72-pakker, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor Disc Heat Sealing Film, RotorDisc 72 Rotor og Locking Ring, RotorDisc 72 Loading Block, RotorDisc Pipetting Aid	På foresp.
Rotor-Disc 72 (24)	24 individuelt emballerte plater for 1728 reaksjoner	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 individuelt emballerte plater for 17 280 reaksjoner	981303
Rotor-Disc 72-rotor	For å holde Rotor-Disc 72-plater i Rotor-Gene Q MDx; krever RotorDisc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	For å låse en Rotor-Disc 72 i Rotor-Disc 72-rotoren	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Aluminiumsbrett til manuelt og automatisert reaksjonsoppsett i Rotor Disc 72-plater	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 strips med 4 rør og hetter til 1000 reaksjoner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 strips med 4 rør og hetter til 10 000 reaksjoner	981106
72-Well Rotor	For å holde rørstrips og hetter, 0.1 ml, krever Locking Ring 72Well Rotor	9018903
Locking Ring 72-Well Rotor	For å låse rørstrips og hetter, 0.1 ml, i en 72-brønners rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsbrett til manuelt reaksjonsoppsett med enkanals pipette i 72 x 0,1 ml rør	9018901

Tillegg C

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Aluminiumsbrett til reaksjonsoppsett med flerkanals pipetter i 72 x 0,1 ml rør	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tynnveggede rør til 1000 reaksjoner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tynnveggede rør til 10 000 reaksjoner	981008
36-Well Rotor	For å holde PCRrør, 0,2 ml; krever 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	For å låse PCRrør, 0,2 ml, i 36-brønners rotoren	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumsbrett til manuelt reaksjonsoppsett i en standard 8 x 12 matrise med 96 x 0,2 ml rør	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Sett for optisk temperaturverifisering av Rotor-Gene-systemer, inkluderer en Rotor-Disc forhåndslastet med termokromatiske flytende krystaller, fluorescerende innlegg, CD med kalibreringsfiler; krever RotorDisc 72 Rotor og Locking Ring eller RotorDisc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Frittstående holder i metall for å plassere rør og Rotor-Disc-plater i rotorer	9018908

For en oppdatert liste over QIAGEN-sett som er beregnet på bruk med Rotor-Gene Q MDx, se www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

Tillegg D

Ansvarserklæring

QIAGEN skal fritas fra alle forpliktelser under garantien hvis andre personer enn selskapets eget personell utfører reparasjoner eller endringer, bortsett fra i tilfeller der selskapet har gitt skriftlig samtykke til at det utføres slike reparasjoner eller endringer.

Alle materialer erstattet under denne garantien er kun dekket av garanti i løpet av den opprinnelige garantiperioden, og aldri utover den opprinnelige utløpsdatoen i den opprinnelige garantien, med mindre dette er godkjent skriftlig av en representant fra selskapet. Avlesningsenheter, grensesnittenheter og tilknyttet programvare er kun dekket av garanti i tidsrommet angitt av den originale produsenten av disse produktene. Påstander og garantier som fremmes av personer, herunder representanter fra QIAGEN, som er inkonsekvente eller i strid med betingelsene i denne garantien, skal ikke være bindende for selskapet med mindre de er produsert skriftlig og godkjent av en representant fra QIAGEN.

Denne siden er tom med hensikt

Indeks

—A—

Advarsler, 1-1
Allelisk diskriminering, 7-50
Analyse med punktdiagram, 7-53
AutoStat, 7-26
Avansert veiviser, 6-6

—B—

Beskjære sykluser, 7-3
Bruker
 flere kontoer, 7-97
 opprette ny konto Win7, 7-88, 7-94
 tilordne roller Win7, 7-90, 7-96
Brukerstøtte, 7-107
Bruksområde, 2-2

—C—

C_T-beregning, 7-20

—D—

Delta delta C_T relativ kvantitering, 7-39
Deponering av avfall, 1-7
Detekterte fluoroforer, 3-4
Drift
 driftsforhold, 1-5, 1
 maskinvare, 5-1
 programvare, 6-1
Dynamisk rørnormalisering, 7-27, 7-54

—E—

Edit profile-vindu, 6-4, 6-11
Edit samples-vindu
 rotorstil, 7-82

Edit Samples-vindu, 6-6, 6-31, 7-76
Effektivitet, 7-15, 7-32
Egnethet, 7-83
Eksponentiell amplifikasjon, 7-32
Ekspert
 data, 8-5
 grafer, 8-2
 opprinnelig format, 8-4
 til LinReg, 7-9
EndPoint-analyse, 7-55
kontroller, 7-59

—F—

Fastnøkkel-ikon, 8-6
Filmelding, 12-3
Feilsøking, 12-1
 HRM, 12-1
 Rotor-Gene Q MDx, 12-3
Fjerning av uteliggere, 7-29
Forsiktighetsregler, 1-1

—G—

Genotyper
 allelisk diskriminering, 7-52
 analyse med punktdiagram, 7-54
 endpoint-analyse, 7-57, 7-63
 smeltekurveanalyse, 7-46
Grupper, 7-84

—H—

Holde, 6-12
HRM
 analyse, 7-67, 11-1, 11-19
 avansert veiviser, 6-8
 feilsøking, 12-1
 hurtigveiviser, 6-3

- metyleringsanalyse, 11-5
- programvare, 11-9
- prøveklargjøring, 11-9
- retningslinjer, 11-7
- sanntids PCR, 11-17
- sett, 11-3
- SNP-genotyping, 11-3
- syklus, 6-17

Hurtigveiviser, 61

Hybridisering, 6-16

—I—

- Ignorer første, 7-29
- Innsamling, 6-14
- Innstillinger for økning, 7-105
- Installasjon, 4-1
 - krav til jording, 4-2
 - krav til plassering, 4-1
 - maskinvare, 4-7
 - PC-krav, 4-2
 - programvare, 4-9
 - strømbehov, 4-2

—J—

Justering av takeoff-punkt, 7-29

—K—

- Kalibratørreplikater, 7-49
- Kanaler, 3-4
- Kjøring
 - åpne, 7-7
 - innstillinger, 7-70
 - lagre, 7-7
 - ny, 7-6
 - pause, 7-69
 - signaturer, 7-100
 - starte, 7-69
 - stoppe, 7-69
- Komparativ kvantitering, 7-47
- Konfidensintervaller, 2
- Konsentrasjonsanalyse, 7-64
 - standarder, 7-65
- Konsentrasjonsmåling
 - av nukleinsyre, 6-3, 7-64

- Korrelasjonskoeffisient, 7-16
- Korrigerende av stigningstall for støy, 7-28, 7-54
- Kvantitering, 7-13, 1

—L—

Lås

- maler, 7-104
- prøver, 7-102

Låsering

- 36-brønners rotor, 5-1
- 72-brønners rotor, 5-2
- Rotor-Disc 100, 5-3
- Rotor-Disc 72, 5-2

Lastebrett, 5-4

LinReg

- eksportere til, 7-9

Loggarkiver, 12-1

—M—

Machine Options, 7-70

Maler

- allelisk diskriminering, 7-52, 8-1
- analyse med punkttdiagram, 7-55, 8-1
- endpoint-analyse, 7-64, 8-1
- kvantitering, 7-33, 8-1
- legge til i avansert veiviser, 6-8
- legge til i hurtigveiviser, 6-3
- smelteanalyse, 7-47, 8-1

Melt Curve Results-vindu, 7-46

Meny

- ”Display options”, 7-85
- ”Gain”, 7-105
- ”Help”, 7-106
- ”Run”, 7-69
- ”Security”, 7-86
- ”Window”, 7-106
- analyse, 7-11
- fil, 7-5

Meny:, 7-70

Metoden to-standardkurve, 7-34

Miljø, 1-5

—N—

Normalisering, 7-2
 dynamisk rør, 7-27, 7-54
 endpoint-analyse, 7-60

—O—

Oppbevaring, 2
 Optimalisering av økning, 6-23
 manuell, 6-28
 Optisk system, 3-2
 Optisk temperaturverifisering, 10-1
 OTV, 10-1
 Outlook, 7-110

—P—

Pakke ut, 4-6
 Parametrer for deteksjon, 3-4
 Parametrer for eksitasjon, 3-4
 Port, 4-111, 7-11
 Primer-dimere, 11-18
 Programvare
 feilmeldinger, 12-12
 oppdateringer, 4-22
 versjon, 4-12
 Prøvetyper, 7-78

—R—

Råkanaler, 7-1
 Reaksjonsoppsett, 5-4
 Report Browser-vindu, 7-9, 7-13, 7-46
 Revisjonsspor, 7-99
 Rotor
 36-brønners, 5-1
 72-brønners, 5-2
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-2
 spesifikasjoner, 5-4
 typer, 5-1
 velge, 6-4, 6-8
 Rotor-Disc
 oppsett, 5-9
 varmforsøgling, 5-9
 Rotor-Disc 100, 5-3

Rotor-Disc 72, 5-2
 Rotor-Disc OTV-sett, 10-2

—S—

Sample page suitability-vindu, 7-83
 Serienummer, 4-11
 Setup-vindu, 7-10
 Side, 7-3, 7-5, 7-79
 Sikkerhet, 7-86
 biologisk, 1-5
 deponering av avfall, 1-7
 elektrisk, 1-4
 giftig røyk, 1-7
 kjemikalier, 1-6
 konfigurasjon Win7, 7-88
 mekaniske farer, 1-7
 prøver, 1-5
 riktig bruk, 1-2
 rotor, 1-7
 varmfare, 1-8
 vedlikehold, 1-9
 Skalering, 8-1
 Skiftenøkkel-ikon, 8-6
 Smeltekurveanalyse, 7-42
 bin-områder, 7-45
 toppunkter, 7-45
 Smelting, 6-16
 Spesifikasjoner
 maskinvare, 2
 optiske, 3
 Standardkurve, 7-14
 beregning, 7-17
 eksport, 7-16
 formel, 7-16, 7-33
 import, 7-18
 metoden to-standardkurve, 7-34
 overlegg, 7-17
 Stigningstall, 7-32
 Sykluser, 6-13
 Sykluser med optisk denaturering, 6-17
 Symboler, 1-10

—T—

TeeChart Office, 8-4, 8-6
 Teknisk assistanse, 2-1

Temperaturgraf, 7-74
Termisk ytelse, 31
Terskel, 7-20
Transport, 2

—V—

Vedlikehold, 9-1

 a vansert veiviser, 6-8
Velger, 7-3
Verktøylinje, 7-1
Versjon, 2-2
Virtuell modus, 4-11, 7-11

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

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com

