

September 2018

Navodila za uporabo Rotor-Gene[®] Q MDx

IVD

CE

MAT 1114365SL



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NEMČIJA

R3



Zgodovina revizij

Št. revizije	Opis spremembe
R3 09/2018	Navodila za operacijski sistem Microsoft Windows XP so bila zamenjana z navodili za operacijski sistem Windows 10. Dodane so bile konfiguracije za varnost operacijskega sistema Windows 7. Pregledana so bila navodila za protivirusne pregledovalnike, požarne zidove in omrežja.

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® (podjetje Thermo Fisher Scientific ali njegove podružnice); Bluetooth® (Bluetooth SIG, Inc.); CAL Fluor®, Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.); Core™, Intel® (Intel Corporation); Cy® (GE Healthcare); EvaGreen® (Biotium, Inc.); Excel®, Microsoft®, Windows® (Microsoft Corporation); LC Green® (Idaho Technology, Inc.); LightCycler® (Roche Group); Symantec® (Symantec Corporation); TeeChart® (Steema Software SL); Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). V tem dokumentu uporabljena registrirana imena, blagovne znamke itd. se ne smejo šteti kot nezaščitena z zakonom, čeprav niso izrecno označena kot takšna.

TeeChartOffice: Avtorske pravice 2001-2013 od Davida Bernede. Vse pravice pridržane.

Za zadevne države:

Ciklični termostat v realnem času je licenciran kot predmet tekočih patentnih pravic v ZDA za napravo ali sistem, ki pokrivajo samodejne ciklične termostate s detektorji fluorescenc in čaka prednostno obravnavo glede serijske številke ZDA 07/695,201 ter povezanih zahtev iz njegovih katerih koli drugih nasprotnih patentov v lasti podjetja Applied Biosystems LCC na vseh področjih, vključno z raziskavami in razvojem, vsemi veljavnimi področji in in-vitro-diaagnostiko pri ljudeh in živalih. Nikakršne pravice niso izražene izrecno, posredno ali prekluzivno glede kakršnih koli patentov za metode v realnem času, vključno z, a ne omejeno na, 5' teste nukleaze, oz. patentnih zahtevkov o reagentu ali kompletu. Za nadaljnje informacije glede nakupa dodatnih pravic se obrnite na direktorja za licenciranje v podjetju Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, Kalifornija, 94404, ZDA.

Za zadevne države:

Nakup tega izdelka vključuje omejeno, neprenosljivo licenco za eno ali več št. patentov ZDA 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; št. uporabe patenta ZDA 2003-0224434 in 2006-0019253 ter št. uporabe patenta PCT WO 2007/035806 in vsa nadaljevanja ter divizije in ustrezne zahteve glede patentov ter uporab patentov izven Združenih držav Amerike, v lasti University of Utah Research Foundation (Raziskovalni sklad Univerze v Utahu), Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH in/ali Roche Diagnostics GmbH samo za in-vitro diaagnostiko pri ljudeh in živalih. Nobena pravica ni izražena, eksplicitno ali implicitno oz. prekluzivno, za kakršen koli reagent ali komplet oz. pod kakršnim koli drugim patentom ali patentnim zahtevkom v lasti University of Utah Research Foundation (Raziskovalni sklad Univerze v Utahu), Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH ali katere koli tretje strani. Ta izdelek je dovoljeno uporabljati samo s pooblaščenimi reagenti, kot npr. kompleti in testi družbe QIAGEN s popolno licenco. Za informacije o nakupu licenc za aplikacije ali reagente za in-vitro diaagnostiko se prosimo obrnite na podjetje Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, ZDA.

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za izdelek so na voljo v priročniku ali navodilih za uporabo zadevnega kompleta znamke QIAGEN. Priročniki in navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani www.qiagen.com, lahko pa jih tudi naročite pri Oddelku za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

© 2005–2018 QIAGEN, vse pravice pridržane. HB-1760-003 1114365SL 09/2018

Vsebina

1	Varnostne informacije	1-1
1.1	Primerna uporaba	1-2
1.2	Električna varnost	1-4
1.3	Okolje	1-5
1.4	Biološka varnost	1-5
1.5	Kemikalije	1-6
1.6	Odstranjevanje odpadkov	1-7
1.7	Mehanske nevarnosti	1-7
1.8	Nevarnost vročine	1-8
1.9	Vzdrževanje	1-9
1.10	Simboli na instrumentu Rotor-Gene Q MDx	1-10
2	Uvod	2-1
2.1	Splošne informacije	2-1
2.1.1	Tehnična pomoč	2-1
2.1.2	Izjava o politiki	2-2
2.1.3	Upravljanje različice	2-2
2.2	Namen uporabe instrumenta Rotor-Gene Q MDx	2-2
3	Splošni opis	3-1
3.1	Termično delovanje	3-1
3.2	Optični sistem	3-2
4	Postopki namestitve	4-1
4.1	Zahteve na lokaciji	4-1
4.2	Priključitev izmenične napetosti	4-2
4.3	Zahteve glede osebnega računalnika	4-2

4.4	Konfiguracija za varnost operacijskega sistema Windows	74-4
4.5	Razpakiranje instrumenta Rotor-Gene Q MDx	4-6
4.6	Pribor	4-7
4.7	Namestitev strojne opreme	4-7
4.8	Namestitev programske opreme	4-9
4.9	Različica programske opreme	4-13
4.10	Dodatna programska oprema na računalnikih, povezanih z instrumenti Rotor-Gene Q MDx	4-13
4.10.1	Protivirusna programska oprema	4-14
4.10.2	Požarni zid in omrežja	4-15
4.10.3	Sistemska orodja	4-20
4.10.4	Posodobitve operacijskega sistema	4-20
4.11	Posodabljanje programske opreme	4-23
5	Postopki delovanja — strojna oprema	5-1
5.1	Vrste rotorja	5-1
5.2	Nastavitev reakcije	5-4
5.3	Nastavitev Rotor-Disc	5-9
6	Postopki delovanja — programska oprema	6-1
6.1	Čarovnik za hitri zagon	6-1
6.1.1	Izbira rotorja	6-4
6.1.2	Potrjevanje profila	6-4
6.1.3	Shranjevanje poteka	6-5
6.1.4	Nastavitev vzorca	6-6
6.2	Napredni čarovnik	6-6
6.2.1	Okno čarovnika novega zagona 1	6-8
6.2.2	Okno čarovnika novega zagona 2	6-9
6.2.3	Okno čarovnika novega zagona 3	6-10
6.2.4	Urejanje profila	6-11
6.2.5	Okno čarovnika novega zagona 4	6-31

6.2.6	Okno čarovnika novega zagona 5	6-32
7	Uporabniški vmesnik za analize	7-1
7.1	Delovni prostor	7-1
7.2	Orodna vrstica	7-1
7.3	Ogled neobdelanih kanalov	7-1
7.4	Preklop vzorcev	7-3
7.5	Meni File (Datoteka)	7-6
7.5.1	New (Novo)	7-6
7.5.2	Open (Odpri) in Save (Shrani)	7-7
7.5.3	Poročila	7-10
7.5.4	Nastavitev	7-11
7.6	Meni analize	7-12
7.6.1	Analiza	7-12
7.6.2	Kvantifikacija	7-14
7.6.3	Dve standardni krivulji	7-35
7.6.4	Relativna kvantifikacija delta delta C _T	7-40
7.6.5	Analiza talitvene krivulje	7-44
7.6.6	Primerjalna kvantifikacija	7-48
7.6.7	Alelna diskriminacija	7-51
7.6.8	Analiza grafa raztrosa	7-54
7.6.9	EndPoint analysis (Analiza končne točke)	7-57
7.6.10	Analiza koncentracije	7-65
7.6.11	Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo	7-68
7.7	Meni poteka	7-70
7.7.1	Zagon poteka	7-70
7.7.2	Premor poteka	7-70
7.7.3	Zaustavitev poteka	7-70
7.8	Meni pogleda	7-71
7.8.1	Nastavitve poteka	7-71
7.8.2	Temperaturni graf	7-75
7.8.3	Napredek profila	7-76
7.8.4	Urejanje vzorcev	7-77



7.8.5	Možnosti prikaza	7-87
7.9	Zaščita pred dostopom za programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q	7-88
7.9.1	Konfiguracija za operacijski sistem Windows 7	7-90
7.9.2	Konfiguracija za operacijski sistem Windows 10	7-96
7.9.3	Zagon več uporabnikov na istem računalniku	7-99
7.9.4	Revizijske sledi	7-100
7.9.5	Podpisi poteka	7-101
7.9.6	Zaklepanje vzorcev	7-103
7.9.7	Zaklenjene predloge	7-105
7.10	Meni pridobitve	7-106
7.11	Meni okna	7-107
7.12	Funkcija pomoči	7-107
7.12.1	Pošiljanje podpornega elektronskega sporočila	7-108
8	Dodatne funkcije	8-1
8.1	Predloge analize	8-1
8.2	Odpiranje drugega poteka	8-1
8.3	Možnosti skaliranja	8-2
8.4	Izvoz grafov	8-2
8.5	Ikona ključa/izvijača	8-6
8.6	Možnosti izbranega območja	8-8
9	Postopki vzdrževanja	9-1
10	Preverjanje optične temperature	10-1
10.1	Načelo OTV	10-1
10.2	Komponente kompleta Rotor-Disc OTV Kit	10-2
10.3	Zagon OTV	10-2
11	Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo	11-1

11.1	Instrumenti	11-3
11.2	Kemija	11-3
11.3	Primer genotipiziranja SNP	11-3
11.4	Primer analize metilacije	11-5
11.5	Smernice za uspešno analizo HRM	11-7
11.6	Priprava vzorca	11-9
11.7	Nastavitev programske opreme	11-9
11.8	Analiza podatkov PCR v realnem času	11-17
11.9	Analiza podatkov HRM	11-19
12	Odpravljanje težav	12-1
12.1	Arhivi dnevniških datotek	12-1
12.2	Odpravljanje težav HRM	12-1
12.3	Splošne napake instrumenta	12-2
12.4	Sporočila programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q12-13	
13	Glosar	13-1

1 Varnostne informacije


Pred uporabo instrumenta Rotor-Gene Q MDx je ključnega pomena, da natančno preberete ta navodila za uporabo in še posebno pozornost namenite varnostnim informacijam. Navodila in varnostne informacije v teh navodilih za uporabo je treba upoštevati, da zagotovite varno delovanje instrumenta in ohranite instrument v varnem stanju.


Naslednje vrste varnostnih informacij se pojavljajo skozi celotna navodila.


OPOZORILO 	Pojem OPOZORILO se uporablja za obveščanje o situacijah, ki bi lahko povzročile osebne poškodbe vas ali drugih oseb. Podrobnosti o teh okoliščinah so podane v okvirčku, ki je podoben temu.
POZOR 	Pojem POZOR se uporablja za obveščanje o situacijah, ki bi lahko povzročile poškodbe instrumenta ali druge opreme. Podrobnosti o teh okoliščinah so podane v okvirčku, ki je podoben temu.


Nasveti, ki so podani v teh navodilih so namenjeni za dopolnjevanje, ne preseganje, normalnih varnostnih zahtev, ki veljajo v državi uporabnika.

1.1 Primerna uporaba


OPOZORILO/ POZOR 	Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W1] Nepripravljena uporaba instrumenta Rotor-Gene Q MDx lahko povzroči osebne poškodbe ali škodo na instrumentu. Instrument Rotor-Gene Q MDx lahko uporablja samo kvalificirano osebje, ki je bilo primerno usposobljeno. Servisiranje instrumenta Rotor-Gene Q MDx lahko izvajajo samo servisni strokovnjaki na terenu družbe QIAGEN.
--	---

OPOZORILO/ POZOR 	Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W2] Instrument Rotor-Gene Q MDx je težak instrument. Za izogibanje osebnim poškodbam ali škodi na opremi bodite pri dviganju previdni.
--	--

OPOZORILO/ POZOR 	Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W3] Med delovanjem ne poizkušajte dvigati instrumenta Rotor-Gene Q MDx.
--	---

POZOR 	Škoda na instrumentu [C1] Izogibajte se razlivanju vode ali kemikalij po instrumentu Rotor-Gene Q MDx. Škoda zaradi razlivanja vode ali kemikalij bo razveljavila vašo garancijo.
---	---

Opomba: V nujnem primeru s stikalom za vklop na zadnji strani instrumenta izklopite instrument Rotor-Gene Q MDx in napajalni kabel izklopite iz napajalne vtičnice.


OPOZORILO/ POZOR 	Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W4] Med poizkusom ali med vrtenjem instrumenta Rotor-Gene Q MDx ne poizkušajte odpirati pokrova. V nasprotnem primeru lahko pri premostitvi zaklepa pokrova in seganju v instrument pride do stika z deli, ki so vroči, pod napetostjo ali se premikajo pri visoki hitrosti ter lahko poškodujete sebe in instrument.
--	--

<p>OPOZORILO/ POZOR</p> 	<p>Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W5] Če morate hitro zaustaviti poizkus, izklopite napajanje instrumenta in potem odprite pokrov. Pred seganjem vanjo počakajte, da se komora ohladi. V nasprotnem primeru obstaja tveganje, da se dotaknete vročih delov.</p>
<p>OPOZORILO/ POZOR</p> 	<p>Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W6] Če opremo uporabljate na način, ki ga ne navaja proizvajalec, bo zaščita, ki jo zagotavlja oprema, morda okrnjena.</p>
<p>OPOZORILO/ POZOR</p> 	<p>Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W7] Sproščeni papir pod instrumentom Rotor-Gene Q MDx moti hlajenje instrumenta. Priporočamo, da območje pod instrumentom ohranjate brez blokad.</p>
<p>POZOR</p> 	<p>Škoda na instrumentu [C2] Na rotorju vedno uporabljajte zaklepni obroč. S tem preprečite, da bi se pokrovčki med poizkusom sneli z epruvet. Če se pokrovčki med poizkusom snamejo, lahko pride do poškodb komore.</p>
<p>POZOR</p> 	<p>Škoda na instrumentu [C3] Pred vsakim zagonom vizualno preglejte in se prepričajte, da rotor ni poškodovan ali deformiran.</p>

Če se med poizkusom dotaknete instrumenta Rotor-Gene Q MDx, medtem ko ste v vas nahaja statična elektrika, lahko v resnih primerih pride do ponastavitve instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Vendar pa bo programska oprema ponovno zagnala instrument Rotor-Gene Q MDx in nadaljevala s poizkusom.

1.2 Električna varnost

Pred servisiranjem odklopite linijski napajalni kabel iz napajalne vtičnice.


<p>OPOZORILO</p> 	<p>Električna nevarnost [W8]</p> <p>Kakršna koli prekinitev zaščitnega prevodnika (ozemljitveni/talni vod) znotraj ali izven instrumenta oz. odklop priključka zaščitnega prevodnika bosta verjetno povzročila, da bo instrument postal nevaren. Namerna prekinitev je prepovedana.</p> <p>Smrtonosne napetosti znotraj instrumenta</p> <p>Ko je instrument priključen na linijsko napajanje, so priključki lahko pod napetostjo in odpiranje pokrovov ali odstranjevanje delov lahko privede do izpostavljenosti delov pod napetostjo.</p>
---	---

Za zagotavljanje zadovoljivega in varnega delovanja instrumenta Rotor-Gene Q MDx upoštevajte spodnji nasvet:

- Linijski napajalni kabel je treba priključiti v linijsko napajalno vtičnico, ki ima zaščitni prevodnik (ozemljitveni/talni).
- Ne prilagajajte ali zamenjajte notranjih delov instrumenta.
- Instrumenta ne uporabljajte, če so kateri koli pokrovi ali deli odstranjeni.
- Če se je v notranjosti instrumenta razlila tekočina, izklopite instrument, ga odklopite iz napajalne vtičnice in se obrnite na tehnične storitve družbe QIAGEN.


Če instrument postane električno nevaren, potem drugim osebam prepričajte, da bi ga uporabljale, in se obrnite na tehnične storitve družbe QIAGEN; instrument je lahko električno nevaren, če:


- je instrument ali linijski napajalni kabel poškodovan,
- je bil dlje časa shranjen v neprimernih pogojih,
- je bil med transportom podvržen močnim obremenitvam.

<p>OPOZORILO</p> 	<p>Električna nevarnost [W9] Instrument ima oznako o električni skladnosti, ki nakazuje napetost in frekvenco dovoda napetosti ter moči varovalk. Opremo je dovoljeno uporabljati samo v teh pogojih.</p>
---	---

1.3 Okolje

Delovni pogoji

<p>OPOZORILO</p> 	<p>Eksplozivno ozračje [W10] Instrument Rotor-Gene Q MDx ni zasnovan za uporabo v eksplozivnem ozračju.</p>
---	---


<p>POZOR</p> 	<p>Škoda na instrumentu [C4] Zaradi neposredne sončne svetlobe lahko nekateri deli instrumenta zbledijo in pride do poškodb plastični delov. Instrument Rotor-Gene Q MDx se ne sme nahajati na neposredni sončni svetlobi.</p>
---	--

1.4 Biološka varnost


Z vzorci in reagenti, ki vsebujejo materiale iz bioloških virov, je treba ravnati kot s potencialno kužnimi. Uporabite varne laboratorijske postopke, ki so navedeni v publikacijah kot npr. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (Biološka varnost v mikrobioloških in biomedicinskih laboratorijih), HHS (www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm).

Vzorci

Vzorci lahko vsebujejo kužne snovi. Zavedati se morate nevarnosti za zdravje, ki jih predstavljajo te snovi, in morate takšne vzorce uporabljati, shranjevati in odstranjevati v skladu z veljavnimi varnostnimi uredbami.

<p>OPOZORILO</p> 	<p>Vzorci, ki vsebujejo kužne snovi [W11]</p> <p>Nekateri vzorci, ki se uporabljajo s tem instrumentom, lahko vsebujejo kužne snovi. S temi vzorci ravnajte z najvišjo mero skrbnosti v skladu z veljavnimi varnostnimi uredbami.</p> <p>Vedno nosite zaščitna očala, 2 para rokavic in laboratorijsko haljo.</p> <p>Pristojna oseba (npr. upravljavec laboratorija) mora sprejeti potrebne varnostne ukrepe za zagotovitev, da je okoliško delovno mesto varno in da so uporabniki instrumentov ustrezno usposobljeni in niso izpostavljeni nevarni ravni kužnih snovi, kot je določeno v veljavnih varnostnih listih ali dokumentih OSHA,* ACGIH,[†] ali COSHH[‡].</p> <p>Zračenje dimov in odstranjevanje odpadkov morata biti v skladu z nacionalnimi, državnimi in lokalnimi zdravstvenimi ter varnostnimi predpisi in zakoni.</p>
---	---

1.5 Kemikalije

<p>OPOZORILO</p> 	<p>Nevarne kemikalije [W12]</p> <p>Nekatere kemikalije, ki se uporabljajo s tem instrumentom, so lahko nevarne oz. lahko postanejo nevarne po dokončanju protokola.</p> <p>Vedno nosite zaščitna očala, rokavice in laboratorijsko haljo.</p> <p>Pristojna oseba (npr. upravljavec laboratorija) mora sprejeti potrebne varnostne ukrepe za zagotovitev, da je okoliško delovno mesto varno in da uporabniki instrumentov niso izpostavljeni nevarni ravni strupenih snovi (kemičnih ali bioloških), kot je določeno v veljavnih varnostnih listih ali dokumentih OSHA,* ACGIH,[†] ali COSHH[‡].</p> <p>Zračenje dimov in odstranjevanje odpadkov morata biti v skladu z nacionalnimi, državnimi in lokalnimi zdravstvenimi ter varnostnimi predpisi in zakoni.</p>
---	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (United States of America) (Varnost in zdravje pri delu (ZDA)).

[†] ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (United States of America) (Ameriška konferenca vladnih industrijskih higienikov (ZDA)).

[‡] COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (United Kingdom) (Nadzor nad snovmi, nevarnimi za zdravje (Velika Britanija)).

Strupeni hlapi


Če delate s hlapljivimi topili ali strupenimi snovmi, morate zagotoviti učinkovit prezračevalni sistem laboratorija, da odstranite hlape, ki bi lahko nastali.


1.6 Odstranjevanje odpadkov


Uporabljen potrošni material ali plastični material lahko vsebujeta nevarne kemikalije ali kužne snovi. Takšne odpadke je treba zbirati in odstranjevati primerno v skladu z lokalnimi varnostnimi uredbami.


1.7 Mehanske nevarnosti


Pokrov instrumenta Rotor-Gene Q MDx mora med delovanjem instrumenta ostati zaprt.


OPOZORILO 	Premikajoči se deli [W13] Za izogibanje stiku s premikajočimi se deli med delovanjem instrumenta Rotor-Gene Q MDx je treba instrument uporabljati z zaprtim pokrovom.
---	--

OPOZORILO/ POZOR 	Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W14] Pokrov instrumenta Rotor-Gene Q MDx odpirajte in zapirajte previdno, da se izognete ujetju prstov ali oblačil.
---	--


POZOR 	Škoda na instrumentu [C5] Zagotovite, da sta rotor in zaklepni obroč pravilno nameščena. Če rotor ali zaklepni obroč kaže znake mehanskih poškodb ali korozije, potem instrumenta Rotor-Gene Q MDx ne uporabljajte; obrnite se na tehnične storitve družbe QIAGEN.
---	---


POZOR 	Škoda na instrumentu [C6] Če instrument Rotor-Gene Q MDx v hladnih ozračjih zaženete takoj po dostavi, bodo mehanski deli zablokirali. Instrumentu omogočite vsaj eno uro, da se prilagodi sobni temperaturi, preden ga vklopite.
---	---

OPOZORILO 	Premikajoči se deli [W15] V primeru okvare, ki jo povzroči prekinitev napajanja, odstranite napajalni kabel in počakajte 10 minut preden poizkusite ročno odpreti pokrov.
---	---

OPOZORILO 	Nevarnost pregrevanja [W16] Za zagotavljanje primerne prezračevanja, ohranjajte minimalno razdaljo 10 cm ob straneh in na zadnji strani instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Reže in odprtine, ki zagotavljajo prezračevanje instrumenta Rotor-Gene Q MDx, ne smejo biti zakrite.
---	--





1.8 Nevarnost vročine

OPOZORILO 	Vroča površina [W17] Komora instrumenta Rotor-Gene Q MDx lahko doseže temperature nad 120°C. Ne dotikajte se je, ko je vroča.
---	---

OPOZORILO 	Vroča površina [W18] Ob premoru delovanja se instrument Rotor-Gene Q MDx ne bo povsem ohladil na sobno temperaturo. Pri rokovanju z rotorjem ali drugimi epruветami v instrumentu bodite previdni.
---	--

1.9 Vzdrževanje

Izvedite vzdrževanje, ki je opisano v 9. poglavju. Družba QIAGEN zaračuna popravila, ki so potrebna zaradi nepravilnega vzdrževanja.

<p>OPOZORILO/ POZOR</p> 	<p>Tveganje osebnih poškodb in materialne škode [W19] Izvajajte samo vzdrževanje, ki je posebej opisano v teh navodilih.</p>
<p>OPOZORILO</p> 	<p>Nevarnost ognja [W20] Pri čiščenju instrumenta Rotor-Gene Q MDx z razkužilom na osnovi alkohola, pustite pokrov instrumenta Rotor-Gene Q MDx odprt, da omogočite izhod vnetljivih hlapov. Komoro instrumenta Rotor-Gene Q MDx čistite samo, ko se je komora ohladila.</p>
<p>OPOZORILO/ POZOR</p> 	<p>Nevarnost električnega udara [W21] Ne razstavljajte instrumenta Rotor-Gene Q MDx.</p>
<p>POZOR</p> 	<p>Škoda na ohišju instrumenta [C7] Ohišja instrumenta nikoli ne čistite z alkoholom ali raztopinami na osnovi alkohola. Alkohol bo poškodoval ohišje. Za čiščenje ohišja uporabljajte samo destilirano vodo.</p>

1.10 Simboli na instrumentu Rotor-Gene Q MDx

Simbol	Mesto	Opis
	V bližini vzorčne komore vidni, ko je pokrov odprt	Nevarnost vročine — temperatura komore lahko doseže temperature nad 120°C
	Zadnja stran instrumenta	Glejte navodila za uporabo
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Oznaka CE za skladnost z evropskimi standardi
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i>
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Oznaka CSA za Kanado in ZDA
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Zakonit proizvajalec
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Oznaka OEEO za Evropo
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Oznaka FCC za zvezno komisijo za komunikacije v Združenih državah Amerike
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Oznaka RCM za Avstralijo (identifikacija dobavitelja N17965)
	Tipska ploščica na zadnji strani instrumenta	Oznaka RoHS za Kitajsko (omejitev uporabe določenih nevarnih snovi v električni in elektronski opremi)

2 Uvod

Zahvaljujemo se vam za izbiro instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Prepričani smo, da bo ta instrument postal ključen del vašega laboratorija.

Pred uporabo instrumenta Rotor-Gene Q MDx je ključnega pomena, da natančno preberete ta navodila za uporabo in še posebno pozornost namenite varnostnim informacijam. Navodila in varnostne informacije v teh navodilih za uporabo je treba upoštevati, da zagotovite varno delovanje instrumenta in ohranite instrument v varnem stanju.

Zapomnite si, da je instrument Rotor-Gene Q MDx na voljo v več konfiguracijah. Za podrobnosti, vključno z informacijami za naročanje, prosimo glejte Dodatek C.

2.1 Splošne informacije

2.1.1 Tehnična pomoč

V družbi QIAGEN smo ponosni na kakovost in razpoložljivost naše tehnične podpore. Na naših oddelkih za tehnične storitve so zaposleni izkušeni znanstveniki z obsežnim praktičnim in teoretičnim znanjem iz molekularne biologije in uporabe izdelkov družbe QIAGEN. V primeru vprašanj ali težav glede instrumenta Rotor-Gene Q MDx ali izdelkov QIAGEN na splošno, se brez zadržkov obrnite na nas.

Stranke družbe QIAGEN predstavljajo velik vir informacij glede naprednih in specializiranih uporab naših izdelkov. Te informacije so v pomoč drugim znanstvenikom in raziskovalcem v družbi QIAGEN. Zato vas spodbujamo, da se obrnete na nas, če imate kakršne koli predloge glede delovanja izdelkov ali novih aplikacij ter tehnik.

Za tehnično pomoč in več informacij pokličite enega od oddelkov za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalne distributerje (glejte zadnjo stran).

Za najnovejše informacije o instrumentu Rotor-Gene Q MDx obiščite spletno stran www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

2.1.2 Izjava o politiki

Politika družbe QIAGEN je takšna, da izboljšujemo svoje izdelke, ko se pojavijo nove tehnike in komponente. Družba QIAGEN si pridržuje pravico, da lahko kadar koli spremeni specifikacije.

V postopku ustvarjanja uporabne in primerne dokumentacije bi bili veseli vaših komentarjev glede teh navodil za uporabo. Prosimo, da se obrnete na tehnične storitve družbe QIAGEN.

2.1.3 Upravljanje različice

Ta dokument so *navodila za uporabo RotorGene Q MDx (RotorGene Q MDx User Manual)*, različica 2.0, revizija R2 za instrumente RotorGene Q MDx, ki uporabljajo različico programske opreme RotorGene Q 2.3.4 ali novejšo.

2.2 Namen uporabe instrumenta Rotor-Gene Q MDx

Instrument RotorGene Q MDx je zasnovan za izvajanje termičnega kroženja, zaznavanja in/ali kvantifikacije z uporabo verižne reakcije s polimerazo (polymerase chain reaction, PCR) v kliničnih aplikacijah.

Instrument RotorGene Q MDx je namenjen za uporabo samo v kombinaciji s kompleti QIAGEN, ki so indicirani za uporabo z instrumenti RotorGene Q za aplikacije, opisane v priročnikih ustreznih kompletov QIAGEN.

Če se instrument RotorGene Q MDx uporablja s kompleti, ki niso kompleti QIAGEN, je uporabnik odgovoren za potrjevanje delovanja takšne kombinacije izdelka za določeno aplikacijo.

Instrument RotorGene Q MDx je namenjen za in vitro diagnostično uporabo.

Instrument RotorGene Q MDx je namenjen za uporabo s strani profesionalnih uporabnikov, npr. tehnikov in zdravnikov, ki so usposobljeni za molekularne biološke tehnike in uporabo instrumenta RotorGene Q MDx.

3 Splošni opis

Instrument Rotor-Gene Q MDx je inovativni instrument, ki omogoča visoko natančno PCR v realnem času, in je zelo primeren za in vitro diagnostične aplikacije v kombinaciji s kompleti QIAGEN, označeni z IVD.

Močna in uporabniku prijazna programska oprema zagotavlja enostavnost za začetnike in odprto eksperimentalno platformo za napredne uporabnike.



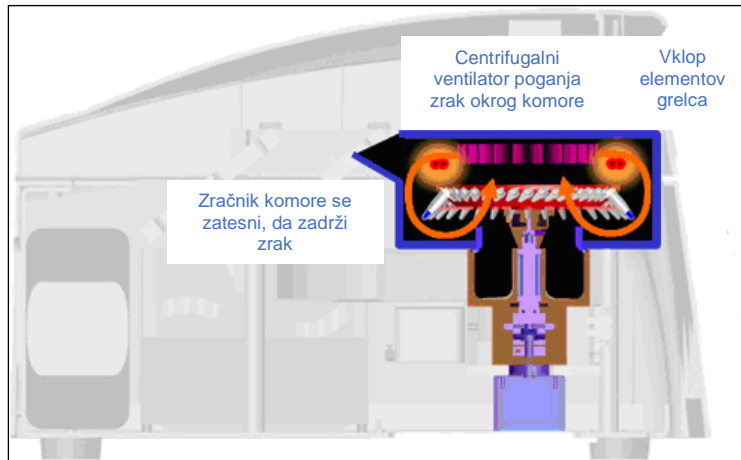
3.1 Termično delovanje

Instrument Rotor-Gene Q MDx uporablja prefinjeno zasnovano ogrevanja in hlajenja za doseganje optimalnih pogojev za reakcijo. Edinstven rotacijski format zagotavlja optimalno termično in optično enotnost med vzorci, kar je ključnega pomena za natančno in zanesljivo analizo.

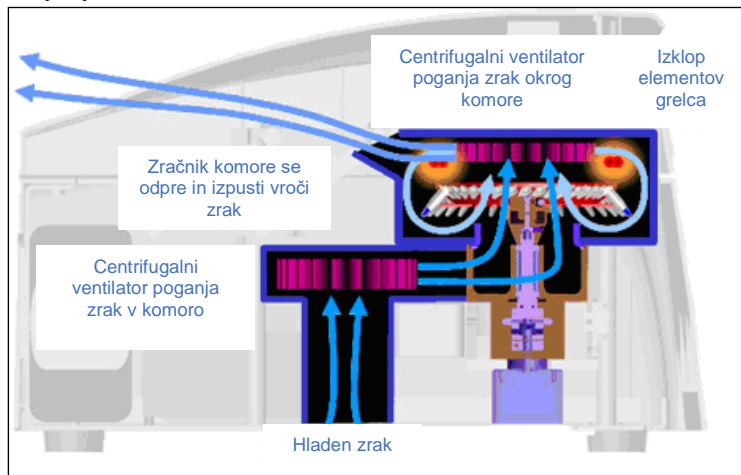
Vzorci se med delovanjem stalno vrtijo pri 400 vrt./min. Centrifugiranje preprečuje kondenzacijo in odstranjuje zračne mehurčke, vendar ne povzroča usedlin DNK. Poleg tega vzorcev pred postopkom ni treba zaustaviti.

Vzorci so ogreti in hlajeni v pečici z zrakom z nizko maso. Ogrevanje zagotavlja element iz niklja in kroma v pokrovu. Komora se hladi s prezračevanjem zraka skozi zgornji del komore, medtem ko je zrak okolice vpihovan navzgor skozi osnovo.

Ogrevanje



Hlajenje

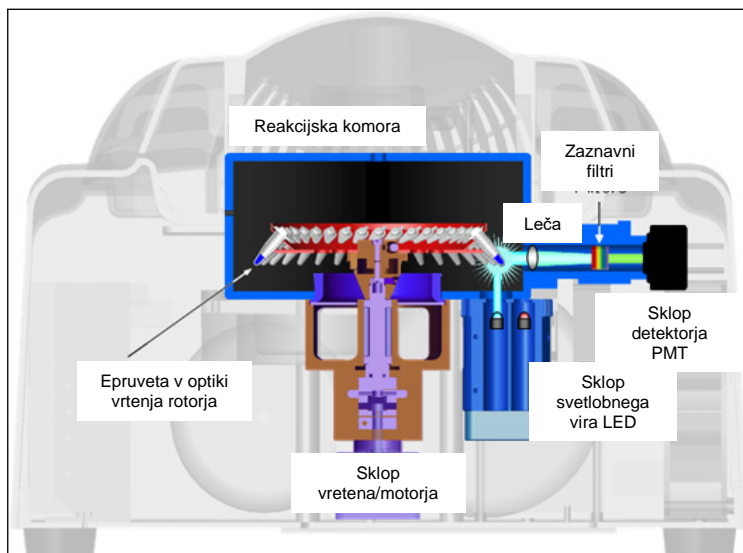


Ilustracija ogrevalnega in hladilnega sistema.

3.2 Optični sistem

Z izbiro 6 virov ekscitacije in 6 zaznavnih filtrov v kombinaciji s kratko, fiksno optično potjo lahko instrument Rotor-Gene Q MDx uporabljate za multiple reakcije, kar zagotavlja minimalno variabilnost med vzorci in izloča potrebo po umerjanju ali kompenzaciji.

Vzorci so prek svetleče diode ekscitirani od spodnjega dela komore. Energija je oddajana skozi tanke stene na osnovi epruveti. Oddana fluorescenca prehaja skozi filtre emisij ob strani komore in jo potem zbere fotorazmnoževalnik. Fiksna optična pot zagotavlja stalno ekscitacijo za vsak vzorec, kar pomeni, da ni potrebe po uporabi pasivnega notranjega referenčnega barvila, kot npr. ROX™.



Ilustracija optičnega sistema.

Razpoložljivi kanali

Kanal	Ekscitacija (nm)	Zaznavanje (nm)	Primeri zaznanih fluoroforov
Modro	365±20	460±20	Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390
Zeleno	470±10	510±5	FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488
Rumeno	530±5	557±5	JOE™, VIC®, HEX™, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow®
Oranžno	585±5	610±5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568
Rdeče	625±10	660±10	Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633
Vijolično	680±5	712, visok prehod	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo (High resolution melt, HRM)	460±20	510±5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Opomba: Kompleti QIAGEN, indicirani za uporabo z instrumenti Rotor-Gene Q MDx, so optimizirani glede na določene kombinacije barvila. Za več informacij si prosimo oglejte ustrezne priročnike kompletov.

4 Postopki namestitve



4.1 Zahteve na lokaciji

Instrumenti Rotor-Gene Q MDx se morajo nahajati izven neposredne sončne svetlobe, stran od virov toplote in stran od virov vibracij ter električnih motenj. Za pogoje delovanja glejte Dodatek A (temperatura in vlažnost). Mesto namestitve mora biti brez prekomernega prepriha, vlage, prahu, poleg tega pa ne sme prihajati do velikih nihanj temperature.

Za težo in mere instrumentov Rotor-Gene Q MDx glejte Dodatek A. Zagotovite, da je delovna miza suha, čista in ima dodaten prostor za pribor. Za nadaljnje informacije o potrebnih specifikacijah delovne mize se obrnite na tehnične storitve družbe QIAGEN.

Opomba: Zelo pomembno je, da instrument Rotor-Gene Q MDx postavite na stabilno površino, ki je izravnana in brez vibracij. Glejte pogoje delovanja — glejte Dodatek A.

Instrument Rotor-Gene Q MDx je treba namestiti znotraj območja približno 1,5 m od primerno ozemljene napajalne vtičnice z izmeničnim tokom.

<p>OPOZORILO</p> 	<p>Eksplozivno ozračje [W10]</p> <p>Instrument Rotor-Gene Q MDx ni zasnovan za uporabo v eksplozivnem ozračju.</p>
<p>OPOZORILO</p> 	<p>Nevarnost pregrevanja [W16]</p> <p>Za zagotavljanje primerne prezračevanja, ohranjajte minimalno razdaljo 10 cm na zadnji strani instrumenta Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Reže in odprtine, ki zagotavljajo prezračevanje instrumenta Rotor-Gene Q MDx, ne smejo biti zakrite.</p>

4.2 Priklučitev izmenične napetosti

Zahteve glede napajanja

Instrument Rotor-Gene Q MDx deluje pri:

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

Zagotovite, da so stopnje napetosti instrumenta Rotor-Gene Q MDx združljive z izmenično napetostjo, ki je na voljo na mestu namestitve. Nihanja napajalne napetosti električnega omrežja ne smejo presegati 10 % nominalnih napajalnih napetosti.

Zahteve glede ozemljitve

Za zaščito upravljalnega osebja družba QIAGEN priporoča, da instrument Rotor-Gene Q MDx pravilno ozemljite. Instrument je opremljen s napajalnim kablom za izmenično napetost s 3 prevodniki, ki v primeru, da je priključen na primerno napajalno vtičnico z izmeničnim tokom, ozemlji instrument. Za ohranjanje zaščite ne uporabljajte instrumenta s pomočjo vtičnice z izmeničnim tokom, ki nima ozemljitvenega priključka.

Namestitev napajalnega kabla za izmenično napetost

En konec napajalnega kabla za izmenično napetosti priključite v vtičnico, ki se nahaja na zadnjem delu instrumenta Rotor-Gene Q MDx, drug konec pa v napajalno vtičnico za izmenično napetost.

4.3 Zahteve glede osebnega računalnika

Prenosni računalnik, ki je lahko izbirno dostavljen z instrumentom Rotor-Gene Q MDx, izpolnjuje zahteve programske opreme Rotor-Gene Q, ki so podrobneje opisane v naslednje tabeli.

Zahteve glede sistema osebnega računalnika

Opis	Minimalna zahteva
Operacijski sistem	Microsoft® Windows® 10 Professional edition (64-bitni); Microsoft Windows 7 Professional edition (32-bitni ali 64-bitni)* (Service Pack 1)
Procesor†	Intel® Core™ 2 Duo 1.66 GHz ali boljši
Glavni pomnilnik†	Najmanj 1 GB RAM
Prostor na trdnem disku†	Najmanj 10 GB HDD
Grafika	Adapter in zaslon z vsaj 1200 x 800 slikovnimi pikami
Vhodi†	Serijski vhod RS-232 ali USB-vhod
DVD-ROM-pogon	1
Kazalna naprava	Potrebna je plošča na dotik ali miška oz. podobna naprava
Bluetooth®	Mora biti izklopljen
Pregledovalnik PDF ali podobno	Potrebno ga je namestiti, ni del paketov za namestitev programske opreme
Možnosti napajanja	Trdih diskov nikoli ne izklopite, preklopite v spanje ali stanje pripravljenosti

* Za uporabo programske opreme Rotor-Gene Q z varnostnimi funkcijami je potreben operacijski sistem Microsoft Windows 10 ali Windows 7 Professional edition (glejte poglavje 7.9). Varnostne funkcije niso na voljo, če uporabljate izdajo Home edition operacijskega sistema Windows 10 ali Windows 7.

† Ko uporabljate programsko opremo Rotor-Gene AssayManager®, različico 1.0 ali 2.1, so naslednje minimalne zahteve osebnega računalnika različne: Procesor Intel Core i3-380M, 4 GB RAM glavnega pomnilnika, 250 GB prostora na trdnem disku, potreben je USB-vhod.

4.4 Konfiguracija za varnost operacijskega sistema Windows 7

Prenosni računalniki, ki jih za uporabo vašega instrumenta Rotor-Gene Q MDx zagotavlja družba QIAGEN, imajo prehodno nameščen operacijski sistem Microsoft Windows 7 in so konfigurirani s standardnim (neskrbniškim) uporabniškim računom Windows in skrbniškim računom. Pri rutinski uporabi sistema je treba uporabljati standardni račun, saj sta programski opremi Rotor-Gene Q in Rotor-Gene AssayManager različice 1.0 ali 2.1 zasnovani za delovanje brez skrbniških pravic. Skrbniški račun je dovoljeno uporabljati samo za nameščanje programske opreme Rotor-Gene Q ali Rotor-Gene AssayManager različice 1.0 ali 2.1 in protivirusne programske opreme (glejte poglavje »Protivirusna programska oprema«). Uporaba skrbniškega računa je indicirana z rdečim ozadjem namizja. Prosimo zagotovite, da se za rutinsko uporabo vedno prijavite s standardnim uporabnikom.

Q1a#g3n!A6 je privzeto geslo za skrbniški račun. Prosimo, da po prvi prijavi spremenite skrbniško geslo. Prosimo zagotovite, da je geslo varno in ga ne morete izgubiti. Za račun uporabnika ni gesla.

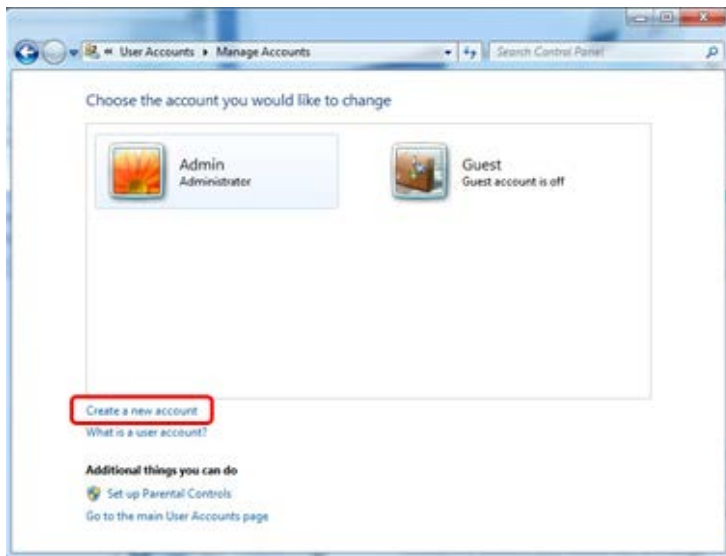
Če izgubite skrbniško geslo prenosnega računalnika, potem vam svetujemo, da se za podporo obrnete na družbo Microsoft.

Če je vaša konfiguracija drugačna in vsebuje neskrbniški račun, bodo skrbniki sistema nastavili dodatni standardni uporabniški račun Windows, da preprečijo dostop do kritičnih območij sistema, kot npr. programskih datotek, imenika Windows (npr. dostop do funkcije nameščanja in odstranjevanja, vključno z aplikacijami, komponente operacijskega sistema, nastavitve datuma/časa, posodobitve Windows, požarni zid, uporabniške pravice in vloge, aktivacija protivirusnega programa) ali nastavitve, ki so pomembne za delovanje, kot je varčevanje z energijo.

Za ustvarjanje standardnega uporabniškega računa v operacijskem sistemu Windows 7, prosimo upoštevajte korake, ki so opisani v poglavju »Ustvarjanje novega uporabniškega računa«:

Nadzorno ploščo operacijskega sistema Windows odprite prek menija »Start« in izberite možnost »User Accounts > Manage Accounts« (Uporabniški računi > Upravljaj račune).

1. Izberite možnost »Create a new account« (Ustvari nov račun).



2. Poimenujte račun in kot vrsto računa izberite možnost »Standard User« (Standardni uporabnik).



3. Kliknite možnost »Create Account« (Ustvari račun).

4.5 Razpakiranje instrumenta Rotor-Gene Q MDx

Instrument Rotor-Gene Q MDx je dostavljen z vsemi potrebnimi komponentami za nastavljanje in delovanje instrumenta. Škatla vsebuje tudi seznam vseh dostavljenih komponent.

Opomba: Preverite ta seznam glede popolnosti, da zagotovite prisotnost vseh komponent.

Opomba: Pred nameščanjem preverite, da so instrument in dostavljeni pribor brez poškodb, ki bi nastale med transportom.

Škatla s priborom se nahaja na vrhi penaste embalaže.

Škatla s priborom vsebuje:

- namestitveni vodnik (v angleščini; prevodi so na voljo na zgoščenki s priročniki),
- zgoščanka (programska oprema),
- zgoščanka (priročniki),
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes,
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes,

- Rotor Holder (odstranjeno za varen transport),
- 36-Well Rotor (ta rotor je rdeče barve),
- 36-Well Rotor Locking Ring

Naslednji elementi so zapakirani na vsaki strani penaste embalaže:

- USB-kabel in serijski kabel RS-232,
- mednarodni komplet napajalnega kabla,
- epruvete PCR Tubes, 0.2 ml (1000),
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000).

Ko ste iz škatle odstraniti vse te komponente, odstranite penasto embalažo z zgornje strani instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Instrument Rotor-Gene Q MDx previdno odstranite iz škatle in odvijte plastični ovoj. Odprite pokrov, tako da ga potisnete nazaj, da lahko dostopate do reakcijske komore.

Naslednji elementi so že nameščeni v notranjosti instrumenta Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (ta rotor je modre barve),
- 72-Well Rotor Locking Ring

V paketu se lahko nahaja tudi prenosni računalnik, odvisno od podrobnosti vašega naročila.

4.6 Pribor

Diske Rotor-Disc in pribor lahko za uporabo z instrumentom Rotor-Gene Q MDx naročite ločeno. Za več podrobnosti glejte Dodatek C.

4.7 Namestitev strojne opreme

Ko ste razpakirali instrument Rotor-Gene Q MDx, nadaljujte z namestitvijo kot je opisano spodaj.

POZOR



Škoda na instrumentu

[C6]

Če instrument Rotor-Gene Q MDx v hladnih ozračjih zaženete takoj po dostavi, bodo mehanski deli zablokirali. Instrumentu omogočite vsaj eno uro, da se prilagodi sobni temperaturi, preden ga vklopite.

Nadaljujte na naslednji način:

1. Instrument Rotor-Gene Q MDx postavite na ravno površino.
2. Zagotovite, da je za instrumentom dovolj prostora za popolno odpiranje pokrova.
3. Zagotovite, da je stikalo za vklop na zadnji strani instrumenta enostavno dosegljivo.
4. Ne ovirajte zadnjega dela instrumenta. Zagotovite, da je mogoče po potrebi napajalni kabel enostavno sneti, da odklopite napajanje instrumenta.
5. Dobavljen USB-kabel ali serijski kabel RS-232 priključite v USB-vhod ali komunikacijski vhod na zadnji strani računalnika.
6. USB-kabel ali serijski kabel RS-232 priključite na zadnjo stran instrumenta Rotor-Gene Q MDx.
7. Potem instrument Rotor-Gene Q MDx priključite na napajanje. En konec napajalnega kabla za izmenično napetosti priključite v vtičnico, ki se nahaja na zadnjem delu instrumenta Rotor-Gene Q MDx, drug konec pa v napajalno vtičnico za izmenično napetost.

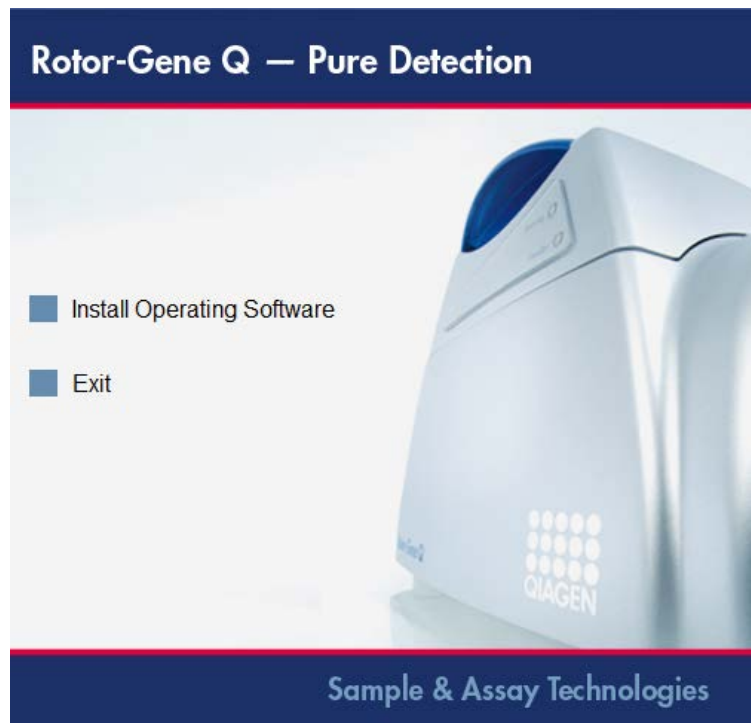


Opomba: Instrument Rotor-Gene Q MDx na računalnik priključite samo z USB-kablom in serijskim kablom, dostavljenim z instrumentom. Ne uporabljajte drugih kablov.

4.8 Namestitev programske opreme

1. Za nameščanje programske opreme Rotor-Gene Q zgoščenko (programska oprema), dostavljeno z instrumentom, vstavite v CD-pogon računalnika.
2. V oknu, ki se pojavi, izberite možnost »Install Operating Software« (Namesti delovno programsko opremo).

Opomba: Za enostavno namestitev in vodenje skozi naslednje korake namestitve programske opreme prosimo glejte *namestitveni vodnik Rotor-Gene Q (Rotor-Gene Q Installation Guide)*.



3. Ko je bila programska oprema nameščena, bo samodejno ustvarjena namizna ikona.
4. Vključite instrument Rotor-Gene Q MDx, tako da stikalo, ki se nahaja levo na zadnji strani, premaknete v položaj »I«. Modra lučka »Standby« (V pripravljenosti) na sprednji strani instrumenta Rotor-Gene Q MDx označuje, da je instrument pripravljen na uporabo.

Opomba: Ko prvič izvajate zagon ob povezavi z računalnikom, bo operacijski sistem prepoznal instrument Rotor-Gene Q MDx in pojavilo se bo več sporočil. Za vodenje prosimo glejte *namestitveni vodnik Rotor-Gene Q*, ki je dostavljen z instrumentom (zgoščanka in natisnjena izdaja).



5. Dvokliknite namizno ikono »Rotor-Gene Q Series Software« (Programska oprema Rotor-Gene serije Q), da zaženete programsko opremo.



6. Ob prvem zagonu programske opreme se pojavi okno »Welcome« (Dobrodošli), ki se v naknadnih nadgradnjah programske opreme ne pojavlja več.



- | | |
|---|--|
| Machine Serial Number (Serijska številka stroja): | Vnesite serijsko število (7 števk), ki jih lahko najdete na zadnji strani instrumenta Rotor-Gene Q MDx. |
| Port (Vhod): | Izberite USB-kabel ali serijski kabel. Izberite primeren komunikacijski vhod ali kliknite gumb »Auto-Detect« (Samodejno zaznavanje). |
| Auto-Detect (Samodejno zaznavanje) | Pri uporabi te možnosti bo ustrezni USB-vhod ali serijski vhod zaznan samodejno in prikazan v spustnem seznamu »Port« (Vhod). |

Run in Virtual Mode (Zaženi v virtualnem načinu) (za prikaz):

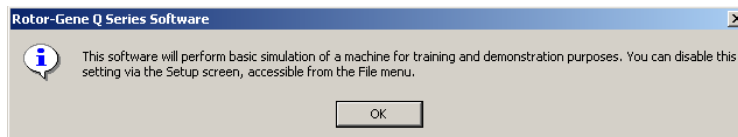
Izbira tega okvirčka omogoča namestitve programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q na računalnik, ki ni priključen na instrument Rotor-Gene Q MDx.

Programska oprema deluje v celoti in lahko simulira poteke.

Opomba: Če je ta okvirček izbran in je instrument Rotor-Gene Q MDx priključen na računalnik, se pred začetkom poteka pojavi naslednje sporočilo: »You are about to run in Virtual mode« (Izvedli boste potek v virtualnem načinu). Za izvedbo realnega poteka morate nastavitve spremeniti v oknu »Setup« (Nastavitve) (glejte poglavje 7.5.4).

Begin (Začni):

Ko ste vnesli vse informacije, kliknite možnost »Begin« (Začni). Počakajte do dokončanja zagona, ki lahko traja nekaj sekund. Če je bil izbran virtualni način, se pojavi naslednje sporočilo:



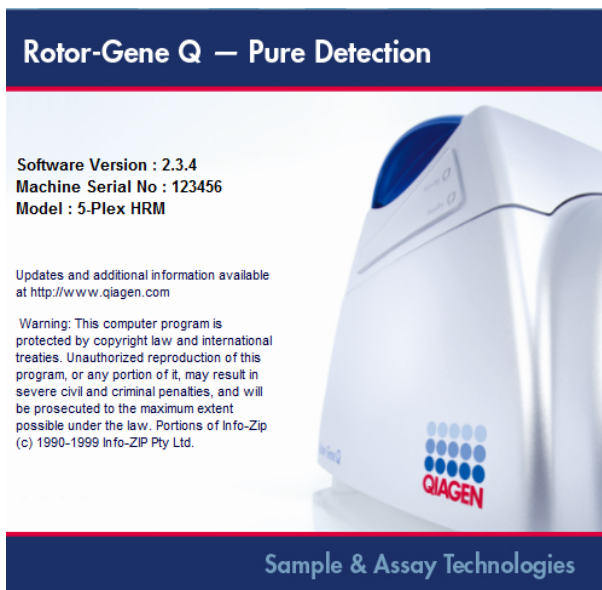
Če okvirček »Run in Virtual Mode« (Zaženi v virtualnem načinu) ni izbran, se programska oprema zažene in odpre samodejno.

Exit Program (Izhod iz programa):

S klikom tega gumba zapustite program.

4.9 Različica programske opreme

Da najdete številko vaše različice, kliknite možnost »Help« (Pomoč), potem pa možnost »About This Software...« (O tej programski opremi ...).



To okno prikazuje splošne informacije o programski opremi, vključno z različico programske opreme in serijsko številko ter modelom instrumenta.

Programsko opremo je mogoče prosto kopirati za uporabo znotraj organizacije, ki ima v lasti instrument Rotor-Gene Q MDx. Programske opreme ni dovoljeno kopirati ali predati drugim osebam izven organizacije.

4.10 Dodatna programska oprema na računalnikih, povezanih z instrumenti Rotor-Gene Q MDx

Programska oprema Rotor-Gene Q upravlja časovno kritične postopke med potekom PCR in postopkom zajema podatkov. Zaradi tega je pomembno zagotoviti, da noben

drug postopek ne uporablja pomembnih sistemskih virov, zaradi česa bi prišlo do upočasnitve programske opreme Rotor-Gene Q. Posebej pomembno je, da ste pozorni na točke, ki so navedene spodaj.

Pred uvedbo sprememb morajo skrbniki sistema upoštevati vpliv, ki ga ima lahko sprememba sistema na vire.

4.10.1 Protivirusna programska oprema

Družba QIAGEN se zaveda grožnje, ki jih računalniški virusi povzročajo vsem računalnikom, ki si izmenjujejo podatke z drugimi računalniki. Programska oprema Rotor-Gene AssayManager, različice 1.0 ali 2.1, mora biti primarno nameščena v okoljih, kjer so v veljavi lokalne politike za zmanjševanje tveganja. Vendar pa družba QIAGEN v vsakem primeru priporoča uporabo protivirusne programske opreme.

Za izbiro in namestitvev primerne orodja za pregledovanje virusov je odgovorna stranka. Vendar pa je družba QIAGEN preverila programsko opremo Rotor-Gene Q in programsko opremo Rotor-Gene AssayManager, različic 1.0 in 2.1, s prenosnim računalnikom QIAGEN v kombinaciji z naslednjima dvema protivirusnima programskima opremama, da bi preverila združljivost:

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

Za najnovejše različice protivirusne programske opreme, ki je bila potrjena v kombinaciji s programsko opremo Rotor-Gene Q in programsko opremo Rotor-Gene AssayManager, različic 1.0 ali 2.1, prosimo glejte stran izdelkov na strani QIAGEN.com.

¹ **Opomba:** Po namestitvi programske opreme »Microsoft Security Essentials« (Ključni varnostni elementi Windows) morate preveriti, ali so posodobitve operacijskega sistema Windows deaktivirane, saj lahko namestitev aktivira to nastavitvev (prosimo preberite poglavje »Posodobitve operacijskega sistema«).

Če ste izbrali programsko opremo, se prepričajte, da jo je mogoče konfigurirati na način, da lahko pot mape zbirke podatkov izločite iz pregledovanja. V nasprotnem primeru obstaja nevarnost napak pri povezavi z datoteko. Ker programska oprema Rotor-Gene AssayManager, različic 1.0 in 2.1, dinamično ustvarja nove arhive zbirke podatkov, je potrebno izločiti pot mape do datotek in ne posamezne datoteke. Ne priporočamo uporabo protivirusne programske opreme, če je mogoče izločiti samo posamezne datoteke, npr., McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Če se računalnik uporablja v okolju brez omrežnega dostopa, prosimo zagotovite tudi to, da protivirusna programska oprema podpira tudi posodobitve brez povezave.

Za pridobivanje stalnih rezultatov po namestitvi protivirusne programske opreme morajo skrbniki sistema zato zagotoviti naslednje:

- Kot je razloženo zgoraj, mora biti pot mape zbirke podatkov za programsko opremo Rotor-Gene AssayManager 1.0 in 2.1 (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) izločena iz pregledovanja datotek.
- Posodobitve zbirke podatkov virusov niso izvedene, če je programska oprema Rotor-Gene AssayManager 1.0 ali 2.1 v uporabi.
- Prosimo zagotovite, da so celotna ali delna pregledovanja trdega diska onemogočena med zajemom podatkov PCR v realnem času. V nasprotnem primeru obstaja nevarnost negativnega vpliva na delovanje instrumenta.

Za podrobnosti glede konfiguracije prosimo preberite priročnike vaše izbrane protivirusne programske opreme.

4.10.2 Požarni zid in omrežja

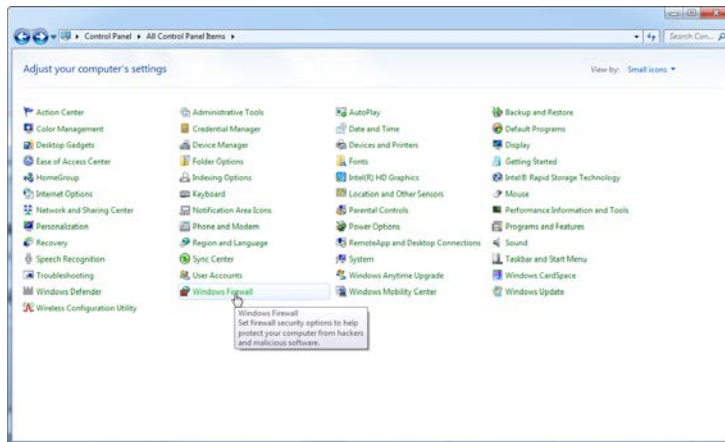
Programska oprema Rotor-Gene Q lahko deluje na računalnikih brez omrežnega dostopa ali v omrežnem okolju, če se uporablja oddaljeni strežnik zbirke podatkov. Za omrežne postopke je požarni zid na prenosnem računalniku, ki ga zagotavlja družba QIAGEN, konfiguriran

na način, da je dohodni promet blokiran za vse vhode razen za tiste, ki so potrebni za vzpostavitev omrežne povezave.

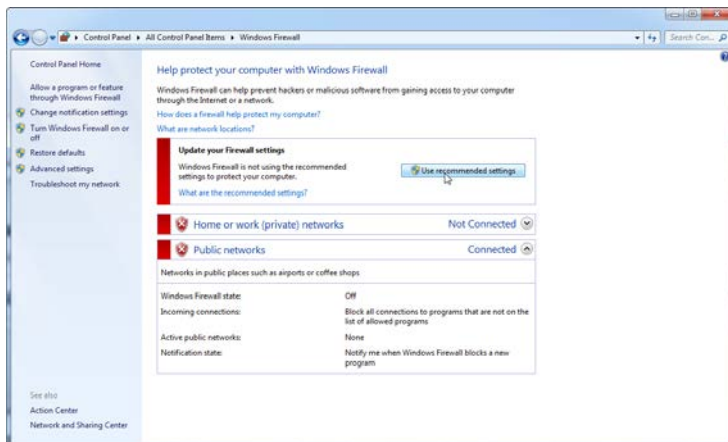
Zapomnite si, da blokiranje dohodnih povezav ne vpliva na odzive na zahteve, ki jih sproži uporabnik. Odhodne povezave so dovoljene, saj bodo morda potrebne za pridobivanje posodobitev.

Če je vaša konfiguracija drugačna, vam družba QIAGEN priporoča konfiguracijo požarnega zidu na enak način kot je opisano spodaj. V ta namen se skrbnik sistema mora prijaviti in izvesti naslednje korake:

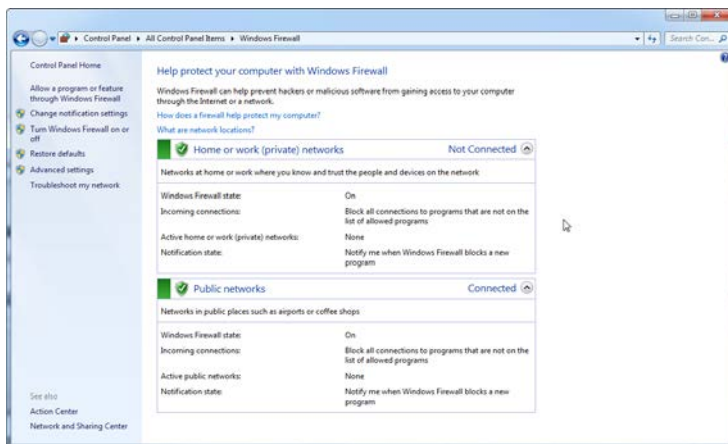
1. Odprite možnost »Control Panel« (Nadzorna plošča) in izberite možnost »Windows Firewall« (Požarni zid Windows).



- Izberite možnost »Use recommended settings« (Uporabi priporočene nastavitve).

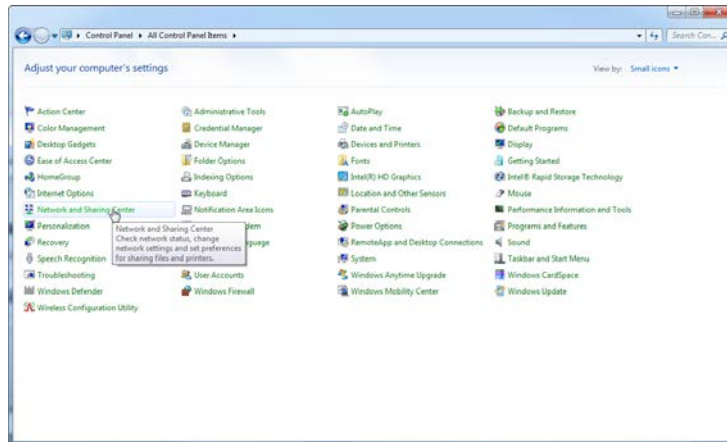


- Preverite, ali so naslednje nastavitve aktivne:

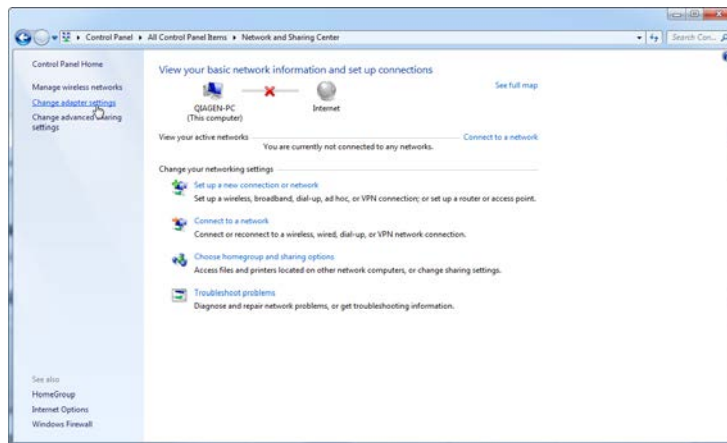


Iz varnostnih razlogov in zaradi zanesljivosti je treba namesto brezžičnega dostopa uporabljati omrežni dostop na podlagi kabla. Prenosni računalniki, ki jih zagotavlja družba QIAGEN, imajo onemogočeno brezžično kartico. Če je vaša konfiguracija drugačna, mora skrbnik sistema ročno onemogočiti brezžično kartico, in sicer z izvedbo naslednjega postopka:

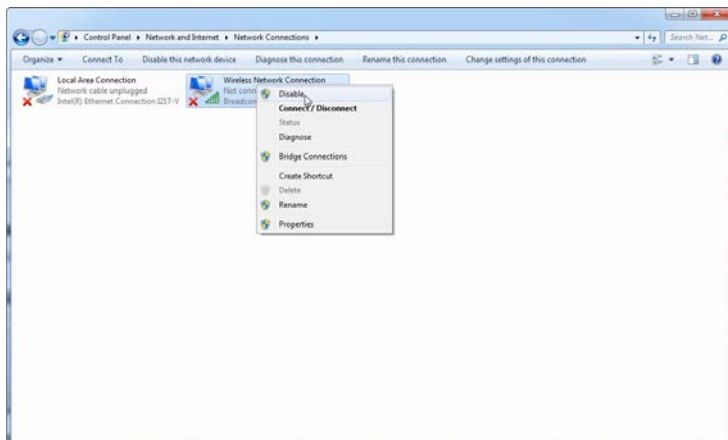
1. Odprite možnost »Control Panel« (Nadzorna plošča) in izberite možnost »Network and Sharing Center« (Središče za omrežje in skupno rabo).



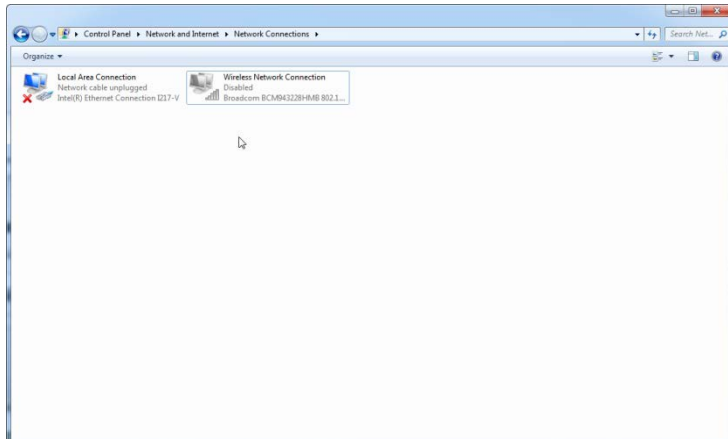
2. Izberite možnost »Change adapter settings« (Spreminjanje nastavitev kartice).



3. Premaknite se na možnost »Wireless Network Connection« (Brezžična omrežna povezava), pritisnite desno tipko miške in v kontekstnem meniju izberite možnost »Disable« (Onemogoči).



4. Preverite, ali je možnost Wireless Network Connection (Brezžična omrežna povezava) onemogočena.



4.10.3 **Sistemska orodja**

Številna sistemska orodja lahko uporabljajo pomembne vire sistema tudi brez interakcije uporabnika. Tipični primeri takšnih orodij so:

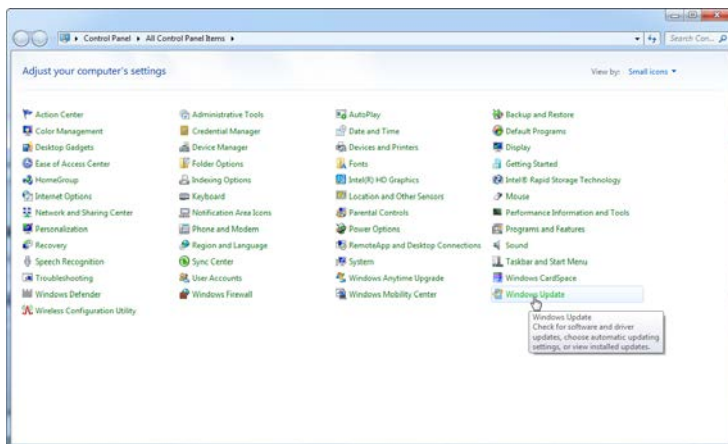
- indeksiranje datotek, ki se izvaja kot opravilo v ozadju prek številnih sodobnih pisarniških aplikacij,
- defragmentacija diska, ki pogosto uporablja opravilo v ozadju,
- kakršna koli programska oprema, ki na spletu preverja posodobitve,
- daljinska orodja za spremljanje in upravljanje.

Prosimo bodite pozorni, da zaradi dinamične narave sveta informacijske tehnologije ta seznam ni popoln in je lahko prišlo do izdaje orodij, ki v času pisanja še niso bila znana. Pomembno je, da skrbniki sistema poskrbijo, da takšna orodja niso aktivna med potekom PCR.

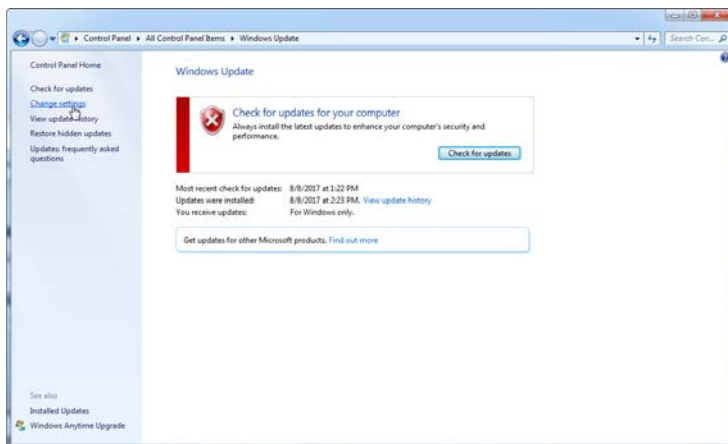
4.10.4 **Posodobitve operacijskega sistema**

Prenosni računalniki, ki jih zagotavlja družba QIAGEN, so konfigurirani na način, da so samodejne posodobitve operacijskega sistema onemogočene. Če je vaša konfiguracija drugačna, mora skrbnik sistema onemogočiti kakršne koli postopke samodejnega posodabljanja operacijskega sistema, in sicer z izvedbo naslednjega postopka:

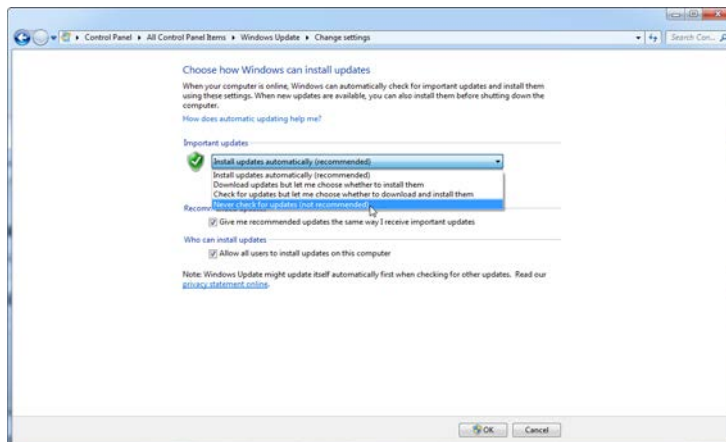
1. Odprite možnost »Control Panel« (Nadzorna plošča) in izberite možnost »Windows Update« (Posodobitev Windows).



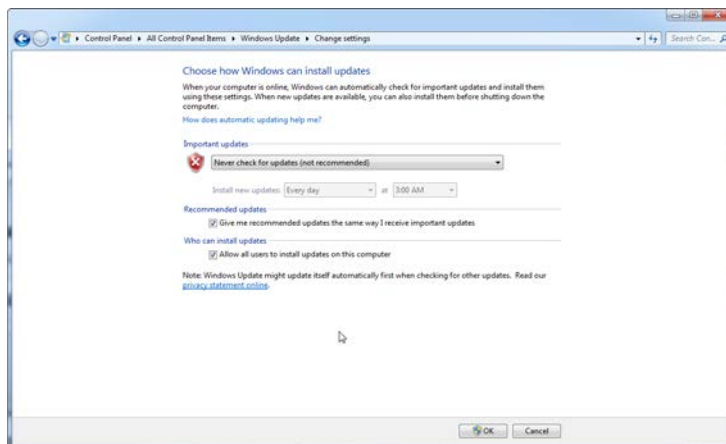
2. Izberite možnost »Change settings« (Spreminjanje nastavitve).



- Izberite možnost »Never check for updates« (Nikoli ne preverjaj posodobitev).



- Preverite, ali je možnost »Important updates« (Pomembne posodobitve), možnost »Never check for updates« (Nikoli ne preverjaj posodobitev) aktivna.



V primeru, da so posodobitve potrebne zaradi odkritih varnostnih ranljivosti, vam družba QIAGEN zagotavlja mehanizme za nameščanje določenega niza potrjenih varnostnih paketov Windows, bodisi prek spleta (če je na prenosnem računalniku družbe QIAGEN na voljo internetna povezava) bodisi s paketom brez povezave, ki je pripravljen na ločenem računalniku z internetno povezavo.

Za več informacij prosimo obiščite stran izdelkov na spletni strani QIAGEN.com.

4.11 **Posodabljanje programske opreme**

Posodobitve programske opreme so na voljo na spletni strani družbe QIAGEN na www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx, do katere lahko dostopate tudi prek menija »Help« (Pomoč) v programski opremi. Za prenos programske opreme je potrebna spletna registracija.

Ta stran je namenoma prazna

5 Postopki delovanja — strojna oprema

To poglavje opisuje delovanje instrumenta RotorGene Q MDx

5.1 Vrste rotorja

Prvič, izberite katero vrsto epruvete in rotorja boste uporabili. Za namestitev različnih vrst epruвет so na voljo 4 rotorji.

Opomba: Rotor 36-Well Rotor in rotor 72-Well Rotor sta dostavljena z instrumentom. Rotorji Rotor-Disc® so pribor.

POMEMBNO: V poteku uporabite identične epruvete. Ne pomešajte različnih vrst epruвет ali epruвет drugih proizvajalcev saj bo to vplivalo na optično enotnost. Priporočamo uporabo epruвет družbe QIAGEN, ki so posebej zasnovane za uporabo z instrumentom Rotor-Gene Q MDx (glejte Dodatek C). Epruvete drugih proizvajalcev lahko povzročijo samodejno fluorescenco, kar lahko vpliva na zanesljivost rezultatov. Poleg tega se lahko epruvete drugih proizvajalcev razlikujejo glede na dolžino in debelino, kar povzroči napačno poravnavo optične poti instrumenta Rotor-Gene Q MDx in reakcijo v epruветi. Družba QIAGEN si pridržuje pravico do zavrnitve tehnične podpore za težave, ki jih povzročijo plastični materiali na instrumentu Rotor-Gene Q MDx, ki jih ni odobrila družba QIAGEN.

POMEMBNO: Kakršna koli uporaba plastičnih materialov na instrumentu Rotor-Gene Q MDx, ki jih ni odobrila družba QIAGEN, bo preklcala garancijo vašega instrumenta.

POZOR



Škoda na instrumentu

[C3]

Pred vsakim zagonom vizualno preglejte in se prepričajte, da rotor ni poškodovan ali deformiran.

Rotor 36-Well Rotor

Rotor 36-Well Rotor je rdeče barve. Rotor 36-Well Rotor in zaklepni 36-Well Rotor Locking Ring omogočata uporabo

0,2 ml epruвет. Ni potrebno, da imajo epruvete optično prozorne pokrovčke, ker instrument Rotor-Gene Q MDx odčita fluorescenco s spodnjega dela epruvete, ne z zgornjega dela. Uporabljate lahko tudi epruvete s kupolastim pokrovčkom.



72-Well Rotor

Rotor 72-Well Rotor je modre barve. Z rotorji 72-Well Rotor in zaklepnim obročem 72-Well Rotor Locking Ring se uporabljajo Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, ki jih je mogoče uporabljati za količine do 20 µl. Pokrovčki zagotavljajo varno in zanesljivo tesnjenje.



Rotor-Disc 72 Rotor

Rotor-Disc 72 Rotor je temno sive barve. Rotor-Disc 72 Rotor in zaklepni obroč Rotor-Disc 72 Locking Ring omogočata uporabo Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 je disk z 72 vdolbinami za uporabo z visoko prepustnostjo. Za zatesnitev Rotor-Disc 72 se na zgornji del nanese prozoren polimer in se ga vročinsko zatesni. Film je mogoče zelo hitro nanesti in preprečuje onesnaženje saj zagotavlja močno in trajno tesnjenje, ki preprečuje poseganje. Za več informacij o Rotor-Disc 72 glejte poglavje 5.3.



Rotor-Disc 100 Rotor

Rotor-Disc 100 Rotor je zlate barve. Rotor-Disc 100 Rotor in zaklepni obroč Rotor-Disc 100 Locking Ring omogočata uporabo Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 je disk z 100 vdolbinami za uporabo z visoko prepustnostjo. Rotor-Disc 100 je rotacijsko enakovreden plošči z 96 vdolbinami, vendar ima dodatne 4 referenčne vdolbinami. Omogoča integracijo instrumenta Rotor-Gene Q MDx z laboratorijskimi poteki dela z 96 vdolbinami. Dodatne vdolbine lahko priročno uporabite za več vzorcev, dodatne kontrolne reakcije ali usmeritvene reakcije, brez zasedanja katerih koli standardnih položajev 96 vdolbin. Za brezhibno združljivost poteka dela z 96 vdolbinami Rotor-Disc s 100 vdolbinami uporablja oznake plošče z 96 vdolbinami, tj., A1–A12 do H1–H12. Dodatne 4 referenčne vdolbine so označene z R1–R4. Za več informacij o Rotor-Disc 100 glejte poglavje 5.3.



Specifikacije rotorja

Vrsta rotorja	Zmogljivost vdolbine	Št. vzorca	Vrsta epruvete	Priporočena reakcijska količina
36-Well Rotor	200 µl	36	PCR Tubes, 0.2 ml	20–50 µl
72-Well Rotor	100 µl	72	Strip Tubes and Caps, 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

Opomba: Rotor 36-Well Rotor in rotor 72-Well Rotor za instrument Rotor-Gene Q MDx se zaradi nezdržljivosti optične poravnave ne uporabljata na instrumentih Rotor-Gene 3000. Prosimo, da z instrumenti Rotor-Gene 3000 še naprej uporabljate stare rotorje s 36 in 72 položaji.

5.2 Nastavitev reakcije

POMEMBNO: Za zagotavljanje zanesljivih rezultatov morate v vsakem poteku uporabiti primerne nadzore.

Reakcije lahko pripravite z uporabo nalagalnega bloka Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (za epruvete PCR Tubes, 0.2 ml), nalagalnega bloka Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (za Strip Tubes and Caps, 0.1 ml nastavljene z enokanalno pipeto), nalagalnega bloka. Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-

channel (za Strip Tubes and Caps, 0.1 ml nastavljene z večkanalno pipeto), nalagalnega bloka Rotor-Disc 72 Loading Block (za Rotor-Disc 72) ali nalagalnega bloka Rotor-Disc 100 Loading Block (za Rotor-Disc 100). Vsi bloki so narejeni iz aluminija in jih je mogoče predhodno ohladiti.

Nalagalni blok Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (na sliki) drži 18 epruвет na traku in do osem 0,5 ml epruвет, ki jih je mogoče uporabljati za pripravo glavne mešanice, in do šestnajst 0,2 ml epruвет, ki jih je mogoče uporabljati za nastavljanje standardnih krivulj. Spodnji postopek opisuje nastavitev reakcije z uporabo rotorja 72-Well Rotor. Enak postopek lahko uporabljate za nastavitev reakcije z uporabo rotorja 36-Well Rotor in primernega pribora.

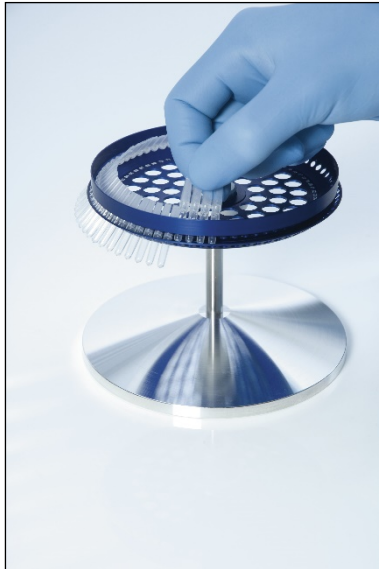
1. Epruветe na traku namestite v nalagalni blok in odvzemite vzorec reakcijskih komponent.



2. Pokrovčke varno namestite na epruvete na traku in izvedite vizualni pregled, da potrdite čvrsto tesnjenje.

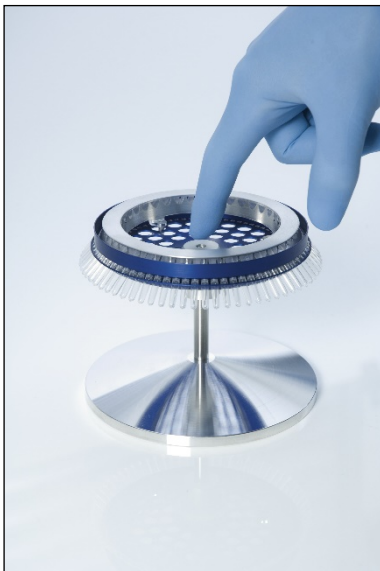


3. Epruvete na traku vstavite v rotor 72-Well Rotor, pri čemer zagotovite, da je vsaka epruveta primerno nameščena v pravilni smeri. Vzorci ne bodo optimalno poravnani po sistemu za zaznavanje, če niso pravilno vstavljeni v rotor. To bi lahko povzročilo znižanje zajetega signala fluorescence in občutljivosti zaznavanja. Držalo Rotor Holder, ki omogoča enostavno nalaganje epruвет, je priloženo instrumentu.



POMEMBNO: Za doseganje najvišje enotnosti temperature mora vsak položaj v rotorju vsebovati epruveto. Zapolnitev vseh položajev v rotorju zagotavlja enakomeren pretok zraka do vsake epruvete. V pripravljenosti imejte komplet praznih epruvet s pokrovčkom, s katerimi lahko zapolnite neuporabljene položaje.

4. Zaklepni obroč 72-Well Rotor Locking Ring vstavite v rotor 72-Well Rotor, in sicer tako, da 3 locirne zatiče potisnete skozi zunanje odprtine rotorja. Zaklepi obroč zagotavlja, da pokrovčki med potekom ostanejo na epruvetah.



5. Sklop vstavite v komoro instrumenta Rotor-Gene Q MDx, tako da zaskoči v položaj, z uporabo locirnega zatiča na pestu rotorja. Za odstranjevanje preprosto pritisnite na pesto rotorja, da ga sprostite, in ga izvlecite.



6. Zaprite pokrov in nastavite profil poteka z uporabo programske opreme Rotor-Gene Q.

5.3 Nastavitev Rotor-Disc

Rotor-Disc 72 ali Rotor-Disc 100 imata 72 ali 100 vdolbin v enodelnem disku, ki je zasnovan za visoko prepustnost. Rotor-Disc 72 in Rotor-Disc 100 ne uporabljata pokrovčkov. Namesto tega je film Rotor-Disc Heat Sealing Film nanesen na zgornji del in vročinsko zatesnjen z uporabo naprave Rotor-Disc Heat Sealer. Film preprečuje onesnaženje saj zagotavlja močno in trajno tesnjenje, ki preprečuje poseganje. Vročinsko tesnjenje diska Rotor-Disc se izvaja kot je opisano spodaj.

POMEMBNO: Prosimo, da pred začetkom tega postopka preberete list izdelka, ki je priložen napravi Rotor-Disc Heat Sealer.

1. Napravo Rotor-Disc Heat Sealer vklopite z uporabo stikala, ki se nahaja zadaj na levi strani.
Zasveti rdeča lučka »Napajanje«. Naprava Rotor-Disc Heat Sealer potrebuje približno 10 minut, da doseže delovno temperaturo, ko zasveti zelena lučka »Ready« (Pripravljeno).
2. Izberite trajno ali odstranljivo tesnilo.

Opomba: Ko je naprava Rotor-Disc Heat Sealer pripravljena, jo lahko varno pustite teči ves čas.

3. Rotor-Disc vstavite v nalagalni blok Rotor-Disc Loading Block s pomočjo zavihka položaja ena na disku Rotor-Disc in vodilnimi odprtinami epruвет na nalagalnem bloku Rotor-Disc Loading Block.
4. Reakcije v disku Rotor-Disc nastavite z ročnim pipetiranjem ali z uporabo samodejnega sistema za ravnanje s tekočinami.



5. Odstranite osrednji del z enega lista filma Rotor-Disc Heat Sealing Film, tako da rahlo zložite film na pol, stisnete osrednji del in ga previdno odtrgate.
6. Film v pravilni smeri namestite nad disk Rotor-Disc kot je prikazano z oznako »SIDE UP« (TA STRAN NAVZGOR). Zagotovite, da je oznaka »SIDE UP« (TA STRAN NAVZGOR) nameščena v spodnjem delu nalagalnega bloka Rotor-Disc Loading Block. Osrednja odprtina v filmu mora enostavno zdrsniti nad valj nalagalnega bloka Rotor-Disc Loading Block in na zgornji del diska Rotor-Disc.



7. Sklop z uporabo vodil ob strani nalagalnega bloka Rotor-Disc Loading Block potisnite v napravo Rotor-Disc Heat Sealer Zagotovite, da je nalagalni blok Rotor-Disc Loading Block povsem potisnjen navznoter.



8. Za aktivacijo tesnilnega mehanizma naprej pritisnite na modro anodizirano palico na vrhu naprave Rotor-Disc Heat Sealer, potem pa črno objemko potisnite nazaj.



9. Ko se je tesnilni mehanizem spustil, zasveti oranžna lučka »Sealing« (Tesnjenje). Če se nalagalni blok Rotor-Disc Loading Block ne nahaja v pravilnem položaju, se oglasi opozorilni pisk.
10. Ko je tesnjenje dokončano, se oglasi trajni pisk in oranžna lučka »Sealing« (Tesnjenje) začne utripati. Pritisnite na modro anodizirano palico, da dvignete in sprostite tesnilni mehanizem nazaj v njegov izvorni položaj.
POMEMBNO: Tesnjenja ne izvajajte dlje kot je indicirano s piskom, v nasprotnem primeru lahko pride do deformacije diska Rotor-Disc.
Opomba: Za opozorilo, da ste morda nenamerno pozabili sprostiti tesnilni mehanizem, bo utripajoča oranžna lučka »Sealing« (Tesnjenje) začela svetiti stalno in trajni pisk se bo spremenil v intervalni zvok.
11. Nalagalni blok Rotor-Disc Loading Block potisnite iz naprave Rotor-Disc Heat Sealer. Pustite, da se film hladi približno 10 sekund. Odstranite prekomeren tesnilni film, tako da ga potisnete navzdol in ga snamete. Prekomernega filma ne vlecite navzgor.
12. Rotor-Disc odstranite z nalagalnega bloka Rotor-Disc Loading Block.
13. Rotor-Disc namestite v rotor z uporabo locirnega zavihka prvega položaja kot vodilo za pravilno usmerjenost.

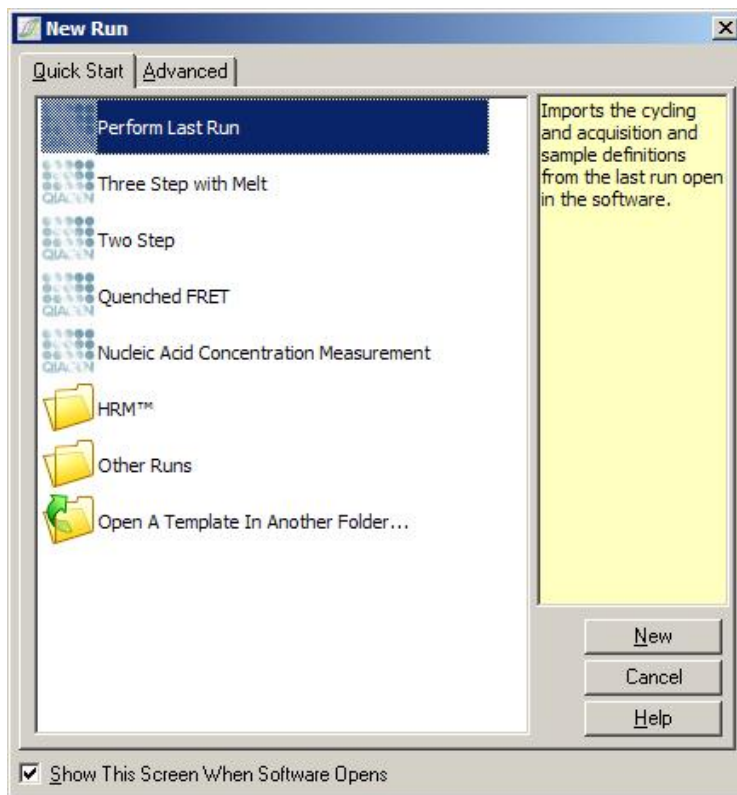
6 Postopki delovanja — programska oprema

Nove poteke lahko nastavite z uporabo čarovnika za hitri zagon ali naprednega čarovnika, ki se pojavi, ko se programska oprema zažene. Čarovnik za hitri zagon je zasnovan tako, da uporabniku omogoča čim hitrejši zagon poteka. Napredni čarovnik omogoča več možnosti, kot npr. konfiguracijo optimizacije pridobitve in nastavitvev količine. Za lažjo uporabo imata čarovnika številne predloge s privzetimi pogoji kroženja in kanali zajema. Za spremembo vrste čarovnika izberite primeren zavihek na vrhu okna »New Run« (Nov potek).

6.1 Čarovnik za hitri zagon

Čarovnik za hitri zagon uporabniku omogoča čim hitrejši zagon poteka. Uporabnik lahko izbira v nizu običajno uporabljenih predlog in vnese minimalne parametre za začetek. Čarovnik za hitri zagon domneva, da je reakcijska količina 25 µl. Za druge reakcijske količine uporabite napredni čarovnik (glejte poglavje 6.2).

Kot prvi korak izberite želeno predlogo za potek, tako da dvokliknete na predlogo na seznamu v oknu »New Run« (Nov zagon).



- | | |
|--|--|
| Perform Last Run (Izvedi zadnji potek): | Možnost »Perform Last Run« (Izvedi zadnji potek) uporablja kroženje, zajem in definicije vzorcev zadnjega poteka, ki je odprt v programski opremi. |
| Three Step with Melt (Trije koraki s taljenjem): | To je profil kroženja s tremi koraki in talitvena krivulja z zajemom podatkov na zelenem kanalu. |
| Two Step (Dva koraka): | To je profil kroženja z dvema korakoma z zajemom podatkov na zelenih, rumenih, oranžnih in rdečih kanalih. |

Quenched FRET (Pridušen FRET):	To je profil kroženja s tremi koraki in talitvena krivulja. Za razliko od možnosti Three Step with Melt (Trije koraki s taljenjem) se zajem izvede na koncu priležnega koraka.
Nucleic Acid Concentration Measurement (Meritev koncentracije nukleinske kisline):	To je privzeta predloga za merjenje koncentracije nukleinske kisline z uporabo dodanih barvil.
HRM:	Ta mapa vsebuje profile talitvene krivulje z visoko ločljivostjo.
Other Runs (Drugi poteki):	Ta mapa vsebuje dodatne profile.

Profile kroženja in zajema za vse predloge lahko spremenite z uporabo čarovnika.

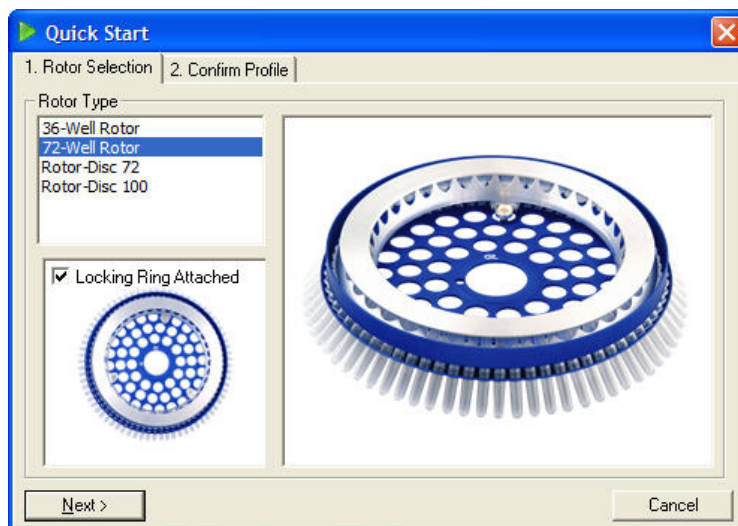
Opomba: Uporabniško določene predloge lahko dodate na seznam predlog v čarovniku za hitri zagon, tako da datoteke *.ret kopirate ali shranite v **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. Po kopiranju datoteke v to pot se bo predloga kot ikona pojavila na seznamu. Če želite za vaše predloge imeti ikone po meri, ustvarite sliko *.ico z istim imenom datoteke kot ga ima predloga.

Podmape je mogoče ustvariti za predloge, povezane s skupino. To vam omogoča organizacijo predlog, ki bi lahko bile priročne, če npr. več uporabnikov uporablja isti instrument.

6.1.1 Izbira rotorja

V naslednjem oknu s seznama izberite vrsto rotorja.

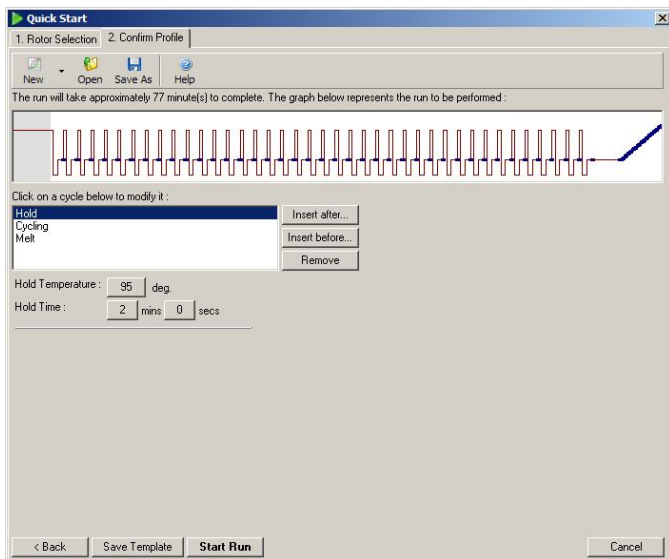
Označite potrditveno polje »Locking Ring Attached« (Zaklepni obroč nameščen) in potem kliknite možnost »Next« (Naprej).



6.1.2 Potrjevanje profila

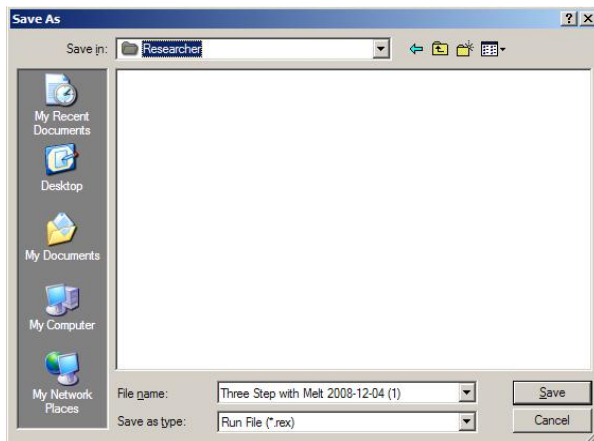
Uvoženi so pogoji kroženja in kanali zajema izbrane predloge. Te lahko spremenite z uporabo okna »Edit Profile« (Uredi profil) (glejte poglavje 6.2.4).

Za zagon poteka kliknite gumb »Start Run« (Zaženi potek). Možno je tudi shraniti predlogo pred zagonom poteka, tako da kliknete možnost »Save Template« (Shrani predlogo).



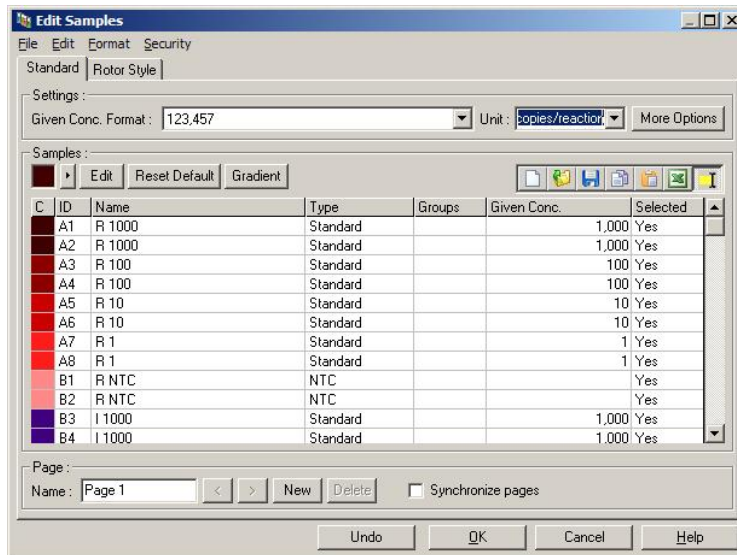
6.1.3 Shranjevanje poteka

Po kliku gumba »Start Run« (Zaženi potek) se pojavi okno »Save As« (Shrani kot). Potek je mogoče shraniti na mesto, ki ga določi uporabnik. Poteku je dodeljeno ime datoteke, ki je sestavljeno iz uporabljene predloge in datuma poteka. V ime datoteke je vključena tudi serijska številka (1, 2, itn.), da se omogoči samodejno poimenovanje številnih potekov, ki uporabljajo isto predlogo na isti dan.



6.1.4 Nastavitev vzorca

Po zagonu poteka okno »Edit Samples« (Uredi vzorce) omogoča določanje in opisovanje vzorcev.

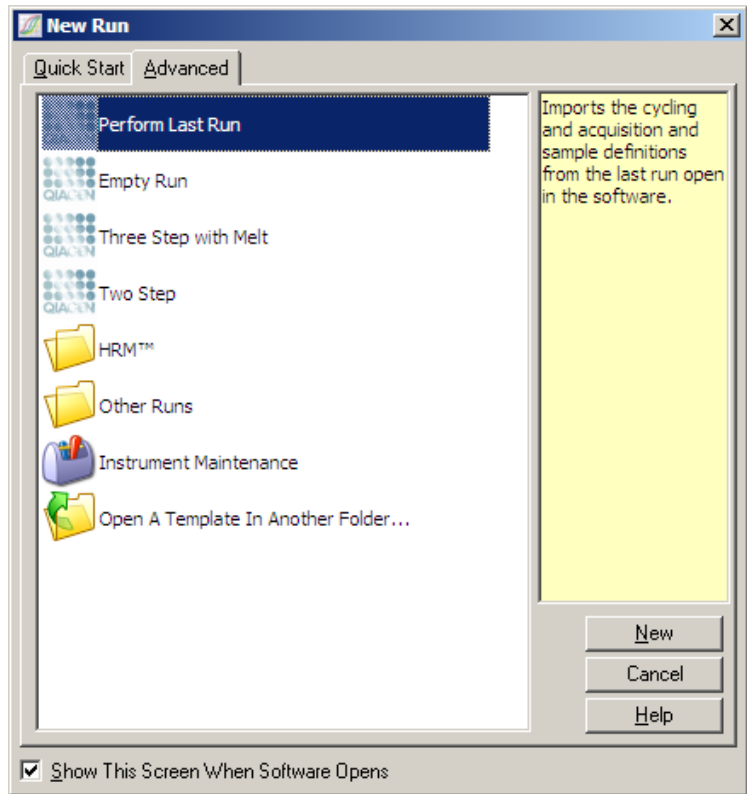


Okno »Edit Samples« (Uredi vzorce) se pojavi po zagonu poteka, tako da lahko uporabnik v tem času vnese imena vzorcev. Če imena vzorcev med potekom vnesete zelo hitro (npr. z uporabo čitalnika črtnih kod), lahko to privede do prenosa črk znotraj imen vzorcev. Zato priporočamo, da se izogibate uporabi čitalnika črtnih kod in, če je možno, imena vzorcev vnesete po dokončanju poteka. Za informacije o nastavljanju definicij vzorcev v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce) glejte poglavje 7.8.4.

6.2 Napredni čarovnik

Napredni čarovnik omogoča možnosti, ki niso na voljo v čarovniku za hitri zagon, npr. konfiguracija optimizacije posodobitve.

Za uporabo naprednega čarovnika izberite predlogo, tako da dvokliknete ime predloge na seznamu v zavihku »Advanced« (Napredno) v oknu »New Run« (Nov potek).



Možnosti predloge, ki se nahajajo v tem oknu, so podobne tistim, ki so na voljo, ko uporabljate čarovnik za hitri zagon (poglavje 6.1).

Perform Last Run Možnost »Perform Last Run« (Izvedi zadnji potek): (Izvedi zadnji potek): uvozi kroženje, zajem definicije vzorcev zadnjega poteka, ki je odprt v programski opremi.

Empty Run (Prazen potek): To je prazen potek ki uporabniku omogoča določanje vseh parametrov profila.

Three Step with Melt (Trije koraki s taljenjem): To je profil kroženja s tremi koraki in talitvena krivulja z zajemom podatkov na zelenem kanalu.

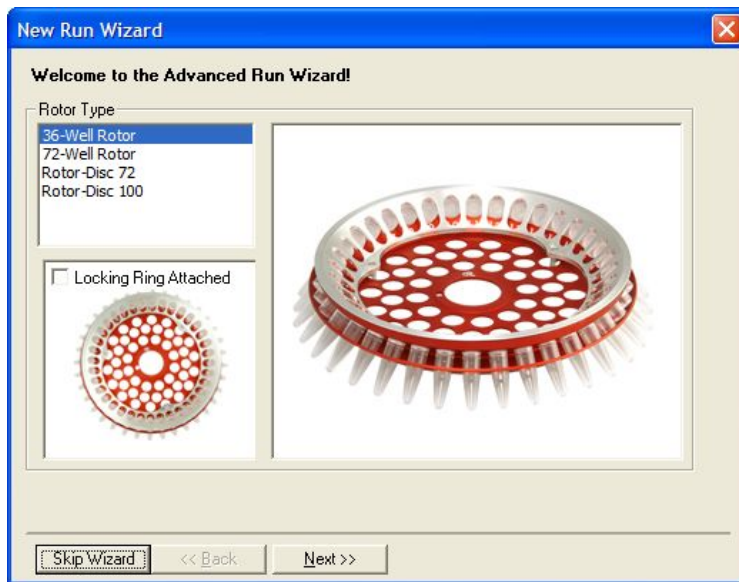
Two Step (Dva koraka):	To je profil kroženja z dvema korakoma z zajemom podatkov samo na zelenem kanalu, da se pospeši potek.
HRM:	Ta mapa vsebuje 2 profila talitvene krivulje z visoko ločljivostjo.
Other Runs (Drugi poteki):	Ta mapa vsebuje dodatne profile.
Instrument Maintenance (Vzdrževanje instrumenta):	Ta vsebuje predlogo, ki se uporablja med preverjanjem optične temperature (Optical Temperature Verification, OTV). Za več informacij glejte poglavje 10. Ta predloga je zaklenjena, s čimer se zagotovi, da profil vedno deluje pravilno.

Opomba: Uporabniško določene predloge lahko dodate na seznam predlog, tako da datoteke *.ret kopirate ali shranite v **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates**. Po kopiranju datoteke v to pot se bo predloga kot ikona pojavila na seznamu.

6.2.1 Okno čarovnika novega zagona 1

V naslednjem oknu s seznama izberite vrsto rotorja.

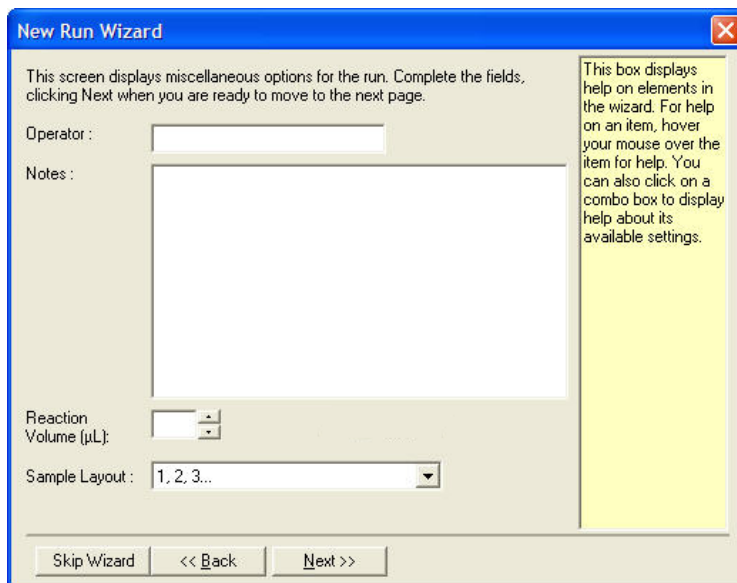
Označite potrditveno polje »Locking Ring Attached« (Zaklepni obroč nameščen) in za nadaljevanje kliknite možnost »Next« (Naprej).



6.2.2 Okno čarovnika novega zagona 2

V naslednjem oknu lahko vnesete ime uporabnika in opombe o poteku. Vnesite je treba tudi reakcijsko količino.

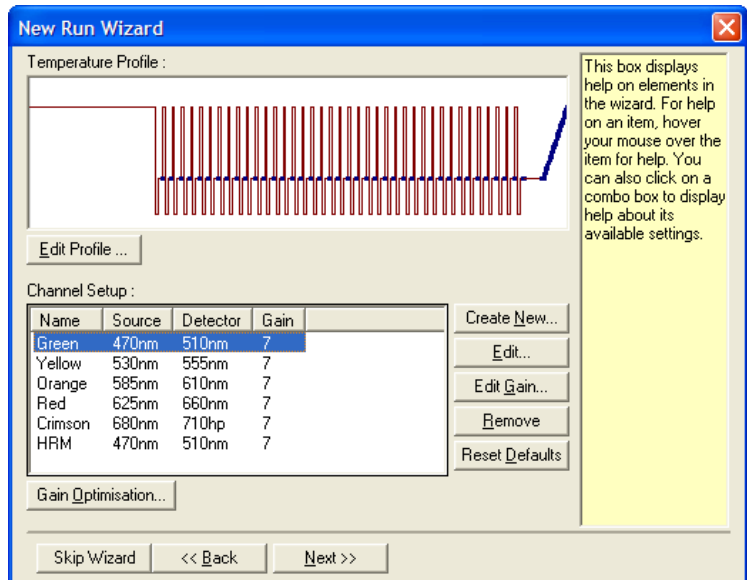
Če ste v oknu 1 izbrali rotor 72-Well Rotor, so v spustnem meniju na voljo tri možnosti »Sample Layout« (Postavitev vzorca). »1, 2, 3...« je privzeta možnost. To možnost izbere večina uporabnikov. »1A, 1B, 1C...« je treba izbrati, ko so bili vzorci naloženi v sosednje 0,1 ml epruvete na traku z uporabo večkanalne pipete z 8 kanali. Če je primerna, lahko izberete postavitev »A1, A2, A3...«.



6.2.3 Okno čarovnika novega zagona 3

V tem oknu lahko spremenite možnosti »Temperature Profile« (Profil temperature) in »Channel Setup« (Nastavitve kanala). Če kliknete gumb »Edit Profile...« (Uredi profil ...), se pojavi okno »Edit Profile« (Uredi profil), kar vam omogoča spreminjanje pogojev kroženja in izbiro kanalov zajema (poglavje 6.2.4).

Po nastavitvi profila kliknite gumb »Gain Optimisation...« (Optimizacija pridobitve), da prikažete okno »Gain Optimisation« (Optimizacija pridobitve) (glejte stran 6-23).



6.2.4

Urejanje profila

Okno »Edit Profile« (Uredi profil) omogoča določanje pogojev kroženja in kanalov zajema. Začetni profil, ki je prikazan, temelji na predlogi, ki je nastavljena za potek (glejte stran 6-1). Profil je prikazan grafično. Seznam segmentov profila se pojavi pod grafičnim prikazom. Seznam lahko vključuje možnosti Hold (Zadrži) (glejte 6-12), Cycling (Kroženje) (stran 6-13), Melt (Taljenje) (stran 6-16) ali HRM, če instrument ima kanal HRM (stran 6-17).

Vsako stopnjo profila lahko uredite s klikom primerne območja na grafičnem prikazu ali imena na seznamu in naknadno spremembo nastavitvev, ki se pojavijo.

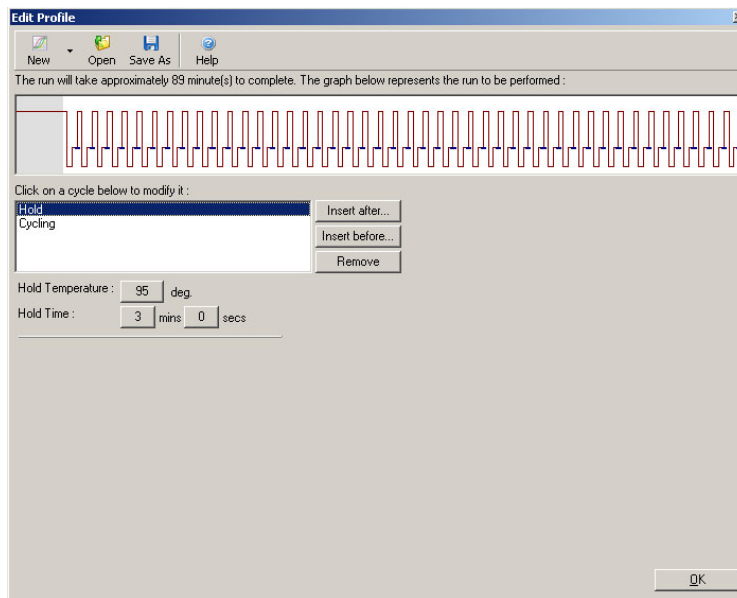
Insert after... (Vstavi za ...): To vam omogoča dodajanje novega cikla po izbranem ciklu.

Insert before... (Vstavi pred ...): To vam omogoča dodajanje novega cikla pred izbranim ciklom.

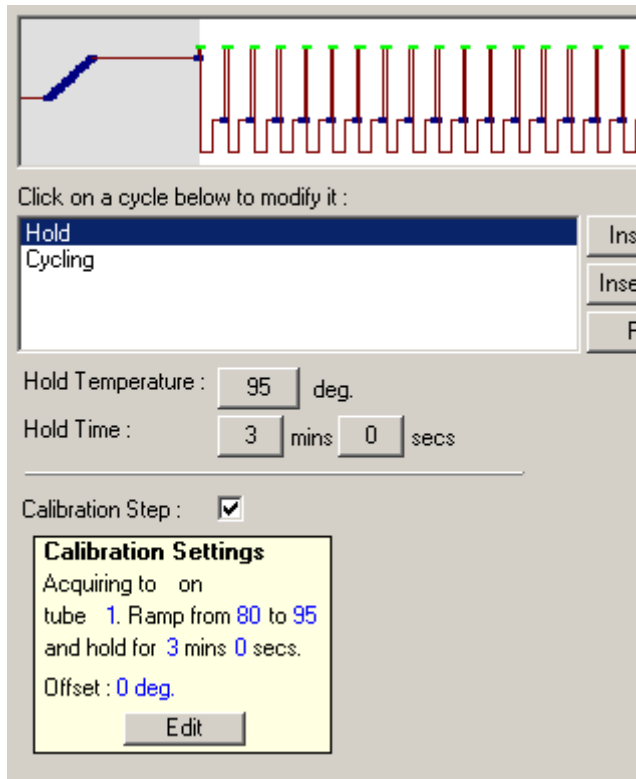
Remove (Odstrani): S tem izbrani cikel odstranite iz profila.

Zadrževanje

Možnost Hold (Zadrži) instrumentu Rotor-Gene Q MDx naroči naj ostane na navedeni temperaturi za nastavljeno časovno obdobje. Za spreminjanje temperature kliknite na gumb »Hold Temperature« (Zadrži temperaturo) in vtipkajte ali uporabite drsnik, da izberete želeno temperaturo. Za spreminjanje trajanja možnost Hold (Zadrži) kliknite gumbe »Hold Time« (Čas zadrževanja), »mins« (minute) in »secs« (sekunde).



Če izvajate možnost Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo), lahko za korak umerjanja uporabite možnost Hold (Zadrži). V tem primeru je talitveno umerjanje izvedeno pred možnostjo Hold (Zadrži). Po privzetih nastavitvah je to konfigurirano za prvo možnost Hold (Zadrži) v poteku, vendar lahko po potrebi to spremenite.



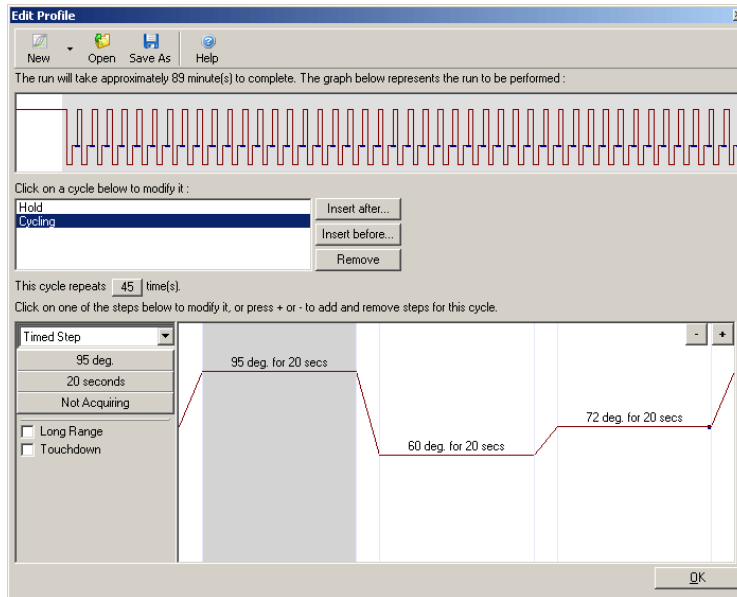
Za več informacij o možnosti Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo) glejte stran 6-17.

Kroženje

Kroženje ponavlja uporabniško določene korake temperature in časa tolikokrat kot je navedeno. Število ponavljanj je nastavljeno z uporabo gumba »This cycle repeats X time(s)« (Ta cikel se ponavlja X-krat (s)).

Posamezen cikel je prikazan grafično (kot je prikazano na posnetku zaslona spodaj). Vsak korak cikla je mogoče spremeniti. Temperaturo lahko spremenite z vlečenjem linije temperature v grafu gor ali dol. Trajanje koraka lahko spremenite z vlečenjem omejitve temperature v grafu levo ali desno. Namesto tega kliknite na korak in uporabite gumba za temperaturo in čas na levi strani grafa.

Korake lahko ciklu dodate ali odstranite z uporabo gumbov »-« in »+« v desnem zgornjem delu grafa.

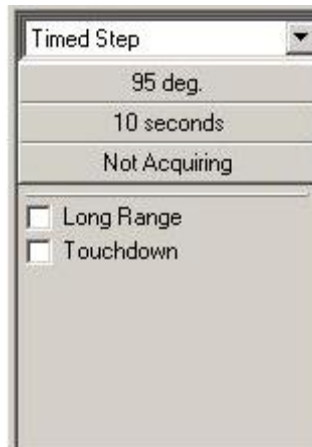


Long Range (Dolgi razpon): Z izbiro tega okvirčka se čas zadrževanja izbranega koraka poveča za eno sekundo z vsakim novim ciklom.

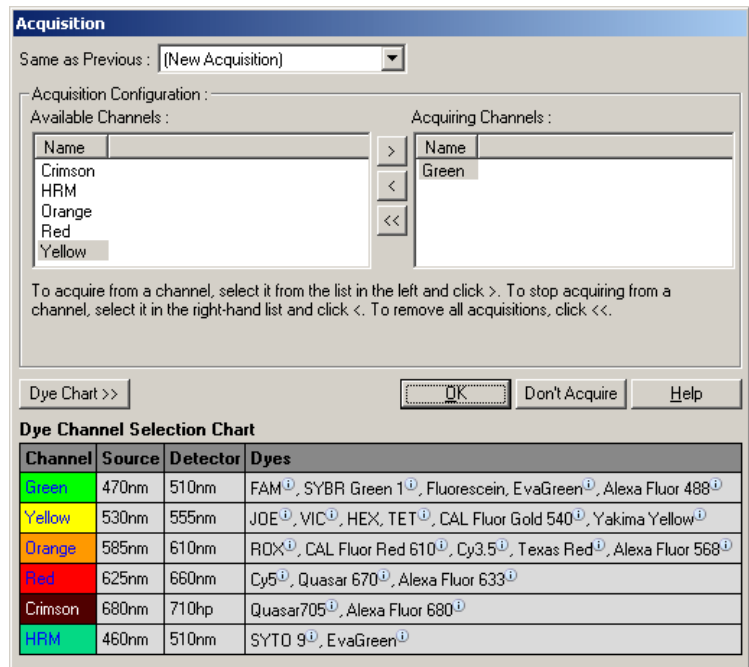
Touchdown (Spust): Z izbiro tega okvirčka se temperatura zmanjša za navedeno število stopinj za navedeno število začetnih ciklov. To je potem prikazano na zaslonu.

Zajem




Podatke je mogoče zajeti na katerem koli kanalu pri katerem koli koraku kroženja. Za nastavljanje kanala za zajem podatkov kliknite gumb »Not Acquiring« (Brez zajema) (če je bil kanal že nastavljen za zajem tega koraka, potem so kanali zajem navedeni tukaj).



Po kliku gumba »Not Acquiring« (Brez zajema) se pojavi okno »Acquisition« (Zajem).



Za nastavljanje kanala za zajem izberite kanal in ga premaknite iz seznama »Available Channels« (Razpoložljivi kanali) na seznam »Acquiring Channels« (Kanali za zajem)

z uporabo gumba . Za odstranjevanje izbranega kanala iz seznama »Acquiring Channels« (Signali za zajem) uporabite gumb . Gumb  odstrani vse kanale iz seznama »Acquiring Channels« (Kanali za zajem). S klikom gumba »Don't Acquire« (Ne zajemi) prav tako odstranite vse zajeme iz koraka.

Če je v profil vključeno več kot eno zaporedje kroženja, lahko zajete podatke pripnete podatkom iz prejšnjih kroženj. Uporabite spustni seznam »Same as Previous« (Enako kot prejšnje), da izberete korak kroženja, kateremu bi morali biti podatki pripeti.

Možnost Dye Channel Selection Chart (Diagram za izbiro kanala barvila) pomaga uporabniku pri odločitvi o tem, kateri kanal je primeren za barvilo, ki ga namerava uporabiti. Barvila, prikazana v tabeli, so tista, ki se uporabljajo običajno, in ne nakazujejo na omejitve instrumenta.

Možnosti zajema, opisane spodaj, se nanašajo tudi na korake »Melt« (Taljenje), vendar pa ni mogoče pripeti podatkov zajema z uporabo menija »Same as Previous« (Enako kot prejšnje).

Taljenje in hibridizacija

Taljenje je sprememba vrednosti med 2 temperaturama, od nižje do višje temperature. Dovoljen razpon temperature je 35–99 °C.

Za nastavljanje možnosti Melt (Taljenje) navedite začetno temperaturo, končno temperaturo, povišanja temperature, čas trajanja zadrževanja na prvi temperaturi zajema preden pride do začetka spremembe vrednosti, čas, za katerega mora biti vsako povišanje zadržano, in kanale zajema.

Med 2 temperaturama bo ustvarjena sprememba vrednosti. Če je začetna temperatura višja od končne temperature, se bo ime koraka spremenilo v možnost »Hybridisation« (Hibridizacija). Možnost »Acquiring To« (Zajem za), nastavljeno na možnost Melt A (Taljenje A) v posnetku zaslona spodaj, lahko spremenite s klikom gumba. Pojavilo se bo okno »Acquisition« (Zajem) in možna je izbira kanalov.

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		

Pri poteku standardnega taljenja se temperatura povečuje za 1 °C, pri čemer čas čakanja pred vsakim zajemom znaša 5 sekund. Instrument Rotor-Gene Q MDx lahko konfigurirate za izvedbo taljenj v korakih po 0,02 °C. Minimalni čas zadrževanja med koraki temperature se razlikuje glede na število stopinj med vsakim korakom.

Talitvena krivulja z visoko ločljivostjo

Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo (HRM) označuje dvoverižne vzorce DNA na podlagi njihovega ločitvenega (talilnega) vedenja. To je podobno klasični analizi talitvene krivulje, vendar zagotavlja veliko več informacij za širši razpon aplikacij. Vzorce lahko ločite glede na zaporedje, dolžino, vsebnost gvanina-citozina (guanine-cytosine, GC) ali komplementarnost verige, vse do sprememb posameznega osnovnega para.

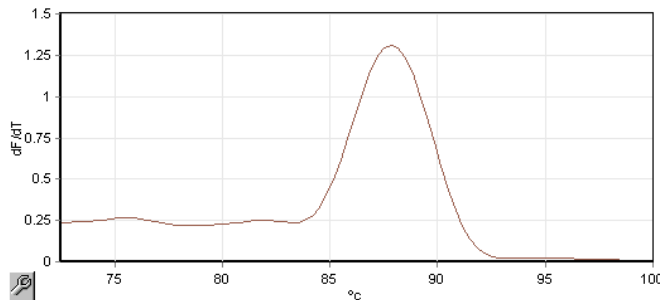
Analizo HRM je mogoče izvesti samo na instrumentih, ki imajo nameščeno strojno in programsko opremo. Podatki so zajeti z uporabo posebnih virov in detektorjev HRM. Analiza HRM vključuje tudi možnost za izvedbo postopka Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) tik pred začetkom možnosti Melt (Taljenje). Po izvedbi HRM lahko podatke analizirate s programsko opremo za analizo HRM (poglavje 11).

Kroženje z optično denaturacijo

Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo) je izjemna tehnika, ki je na voljo v instrumentu Rotor-Gene Q MDx, in izvaja analizo talitve v realnem času, da določi vrh taljenja referenčnega vzorca. S tem je denaturacija izdelka PCR prikazana z višjo natančnostjo kot z nastavitvijo določene temperature denaturacije za čas

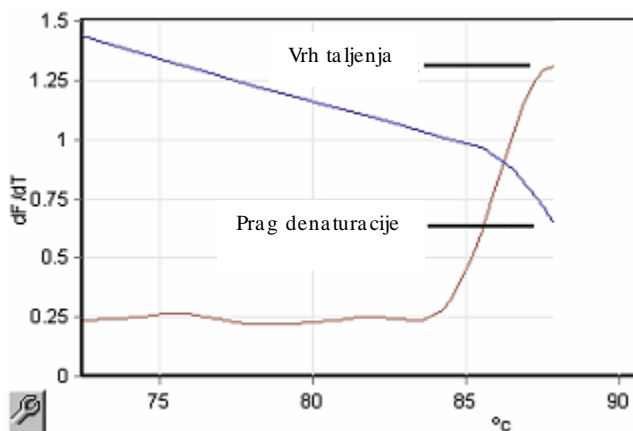
zadrževanja. Za izvajanje te tehnike preprosto vstavite referenčno epruveto izdelka PCR v položaj epruvete 1 rotorja. Referenčna epruveta mora vsebovati kemijo zaznavanja, ki omogoča zaznavanje ločevanja verige.

Pri ogrevanju na začetno temperaturo denaturacije, je taljenje po privzeti nastavitvi izvedeno na zelenem kanalu od 80 °C do 95 °C. Parametre tega začetnega taljenja lahko uporabnik prilagodi. Iz teh podatkov se ustvari in samodejno analizira talitvena krivulja.



Vrh taljenja je referenciran nazaj na neobdelane podatke, da se pridobi prag denaturacije. Potem je v vsakem koraku Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo) instrument čim hitreje ogret in podatki so zajeti stalno. Ko je referenčna epruveta dosegla raven fluorescence praga denaturacije, je instrument takoj ohlajen in nadaljuje na naslednji programiran korak v ciklu. Vrh med kroženjem ni izračunan. Namesto tega je raven fluorescence referencirana do vrha taljenja in to potem označuje prag denaturacije.

V naslednjem grafu lahko vidite prekrivanje neobdelanih fluorescenčnih odčitkov in prvega odvoda. To prikazuje skladnost med pragom denaturacije in vrhom taljenja, pridobljenim med umerjanjem.



Za izvedbo postopka Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo) potrebujete:

- Predhodno okrepljen izdelek PCR za nameščanje v položaj 1 rotorja. Ta vzorec mora vsebovati enak izdelek PCR kot vzorci zanimanja in ločitvena kemija za spremljanje ločevanja izdelka PCR.
- Profil optične denaturacije. Ustvarite lahko nov profil oz. uredite obstoječi profil (glejte podrobnosti spodaj).

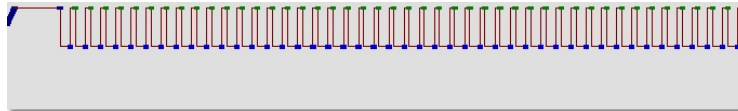
Postopek Optical Denature Cycle (Cikel z optično denaturacijo) je videti skoraj enak kot drugi cikli. Glavni razliki sta, da je korak taljenja samodejno vstavljen na začetku profila in oster profil koraka denaturacije med kroženjem. Postopek Optical Denature Cycle (Cikel z optično denaturacijo) ne potrebuje določenih časov zadrževanja saj je ločevanje izdelka spremljano v vsakem ciklu.

Za izvajanje te tehnike so potrebne naslednje informacije o poteku:


- Začetna temperatura denaturacije. To je enaka temperatura kot korak Denature (Denaturacija) v standardnem profilu kroženja.
- Položaj epruvete vzorca PCR, ki bo proizvedel talitveno krivuljo na zelenem kanalu.
- Določiti je treba profil Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo).

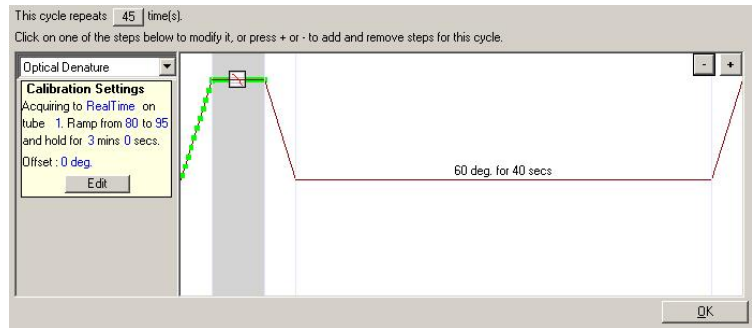
Nov profil Optical Denature Cycle (Cikel z optično denaturacijo) ustvarite na naslednji način.

1. Odprite okno »Edit Profile« (Uredi profil). Potem kliknite možnost »New« (Novo). V oknu, ki se pojavi, kliknite gumb »Insert after« (Vstavi po) in v meniju izberite možnost »New Cycling« (Novo kroženje). Izberite enega izmed korakov kroženja, tako da kliknete na graf. V spustnem meniju preklopite z možnosti »Timed Step« (Časovni korak) na možnost »Optical Denature« (Optična denaturacija). Pojavil se bo privzeti profil, ki vsebuje korak Denature (Denaturacija) in postopek Optical Denature Cycle (Cikel z optično denaturacijo).

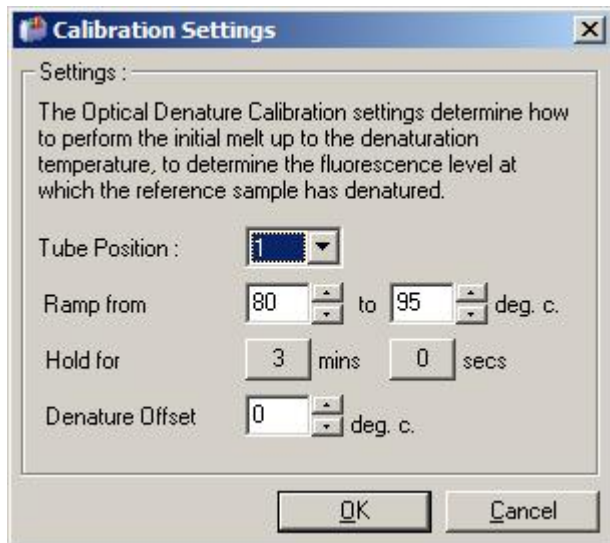


Območje spremembe vrednosti na začetku poteka predstavlja postopek umerjanja. Zelene pike predstavljajo zajeme, ki so izvedeni v vsakem ciklu med ogrevanjem. Modre pike predstavljajo zajem na koncu priležnega koraka pri 60 °C. Zapomnite si, da kljub temu, da profil prikazuje vsak korak z enako temperaturo denaturacije, temu morda ne bo tako. Če vzorec proti koncu poteka potrebuje nekaj več časa za taljenje, potem postopek optične denaturacije počaka na taljenje v skladu s fluorescenčnimi podatki in ne v skladu s časom. Zaradi tega se lahko sled temperature razlikuje od cikla do cikla.

2. Kliknite na prvo polovico grafa s simbolom Optical Denature (Optična denaturacija) . Informacija »Calibration Settings« (Nastavitve umerjanja) se pojavi na levi strani zaslona.



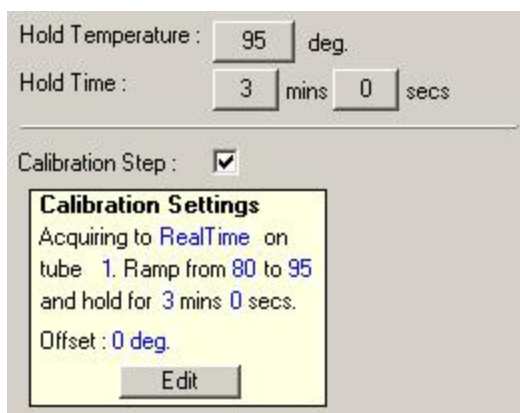
3. Informacija »Calibration Settings« (Nastavitve umerjanja) je običajno pravilna. Da jo po potrebi spremenite, kliknite možnost »Edit« (Uredi). Pojavi se okno »Calibration Settings« (Nastavitve umerjanja).



4. Zagotovite, da:
 - Epruveta, ki je indicirana v možnosti »Tube Position« (Položaj epruvete) vsebuje izdelek PCR, ki bo prikazal vrh taljenja na zelenem kanalu.
 - Končna spremenjena temperatura ne bo zažgala vzorca, vendar bo dovolj visoka, da bo omogočala njegovo taljenje.

- Čas zadrževanja je zadosten za denaturacijo vzorca.
- Zamik denaturacije je primerno nastavljen. Privzeta nastavitvev 0 °C je primerna za večino taljenj. Taljenja z zelo ostrimi prehodi bo morda zahtevalo zamik denaturacije od -0,5 °C do -2 °C, kot je določil uporabnik, da se zagotovi zaznavanje prehoda taljenja.

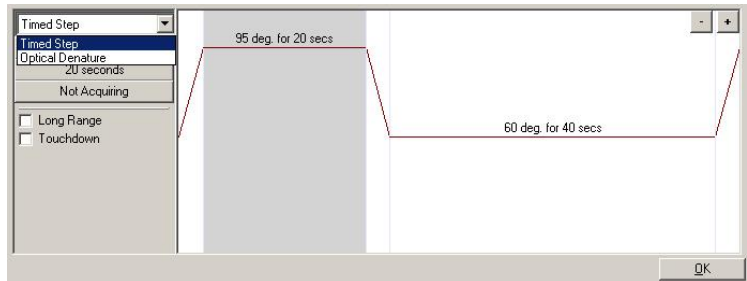
Z uvedbo novega koraka Hold (Zadrži), lahko določite tudi korak Denature (Denaturacija). Kliknite možnost »Insert before« (Vstavi pred) in v meniju izberite možnost »New Hold at Temperature« (Novo zadrževanje na temperaturi). Pojavile se bodo nastavitve umerjanja.




Nastavitve umerjanja so sinhronizirane z nastavitvami denaturacije, tako da bo sprememba časa zadrževanja v koraku Denature (Denaturacija) samodejno posodobila čas zadrževanja umerjanja. Vzrok tega je ta, da sta postopek umerjanja in denaturacija v postopku Optical Denature Cycling (Kroženje z optično denaturacijo) enakovredna.

Spreminjanje obstoječega koraka za uporabo kroženja z optično denaturacijo

Za spreminjanje obstoječega koraka Denature (Denaturacija), izberite cikel na seznamu v oknu »Edit Profile« (Uredi profil). Potem izberite korak Denature (Denaturacija), tako da na zaslonu kliknete nanj.



Kliknite spustni meni in izberite možnost »Optical Denature« (Optična denaturacija). Temperatura in čas zdrževanja sta odstranjena in ikona »Optical Denature« (Optična denaturacija)  je prikazana.

Optimizacija pridobitve

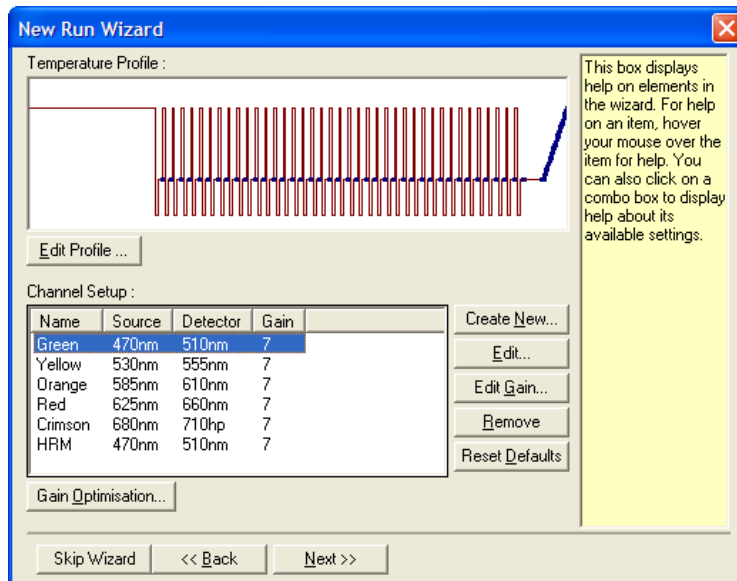
Pri nastavljanju novega poteka vam bo v pomoč funkcija »Gain Optimisation« (Optimizacija pridobitve). To vam omogoča optimizacijo pridobitve na nastavitvah, ki bo zagotovila želen razpon začetne fluorescence pri nastavljeni temperaturi (običajno temperatura pri kateri pride do zajema podatkov) v vsakem kanalu, v katerem poteka zajem. Cilj možnosti Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) je zagotoviti, da so vsi podatki zbrani znotraj dinamičnega razpona detektorja. Če je pridobitev prenizka, se bo signal izgubil v šumu v ozadju. Če pa je previsoka, bo ves signal izgubljen iz merila (nasičen).

Razpon pridobitve za vsak kanal je od –10 do 10, pri čemer –10 predstavlja najmanjšo 10 pa največjo občutljivost.

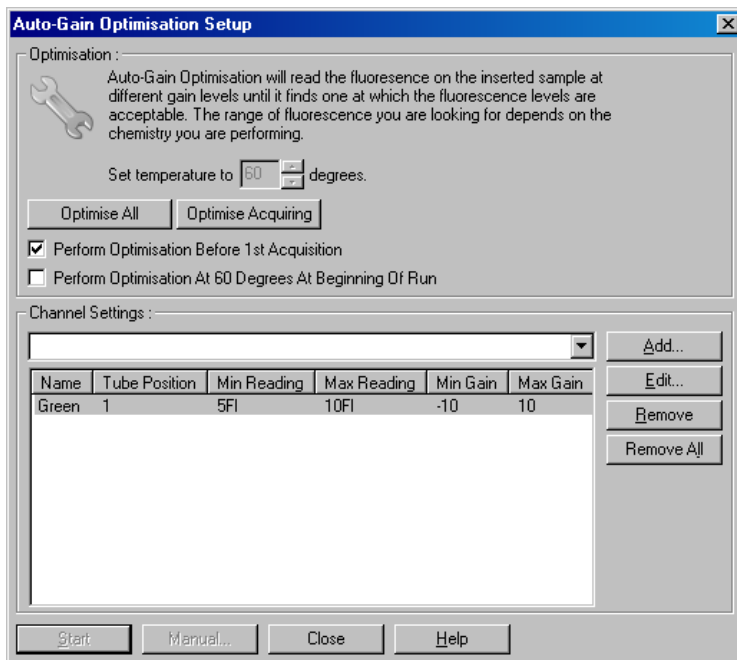
Ko prvič izvajate reakcije, priporočamo pripravo testnega vzorca, ki vsebuje vse reakcijske komponente. Testni vzorec vstavite v instrument Q MDx in uporabite možnost

Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve), da določite najboljšo nastavev pridobitve. Če pridobitev, ki je izbrana z možnostjo Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) povzroči slab signal, potem morate povečati možnost »Target Sample Range« (Razpon ciljnega vzorca). Če to povzroči signal, ki je nasičen, potem je treba zmanjšati možnost »Target Sample Range« (Razpon ciljnega vzorca).

Za izvedbo postopka Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) kliknite gumb »Gain Optimisation...« (Optimizacija pridobitve) v oknu 3 New Run Wizard (Čarovnik za nov potek) (glejte poglavje 6.2.3).



Pojavi se okno »Auto-Gain Optimisation Setup« (Nastavev optimizacije samodejne pridobitve). To okno omogoča optimizacijo s samodejnim prilagajanjem nastavev pridobitve dokler odčitki za vse izbrane kanale ne padejo znotraj ali pod določen prag.



Set temperature to (Nastavi temperaturo na): Pred odčitavanjem bo instrument Rotor-Gene Q MDx ogrevan ali hlajen, da se bo skladal z navedeno temperaturo. Po privzeti nastavitvi je to nastavljeno kot temperatura zajema.

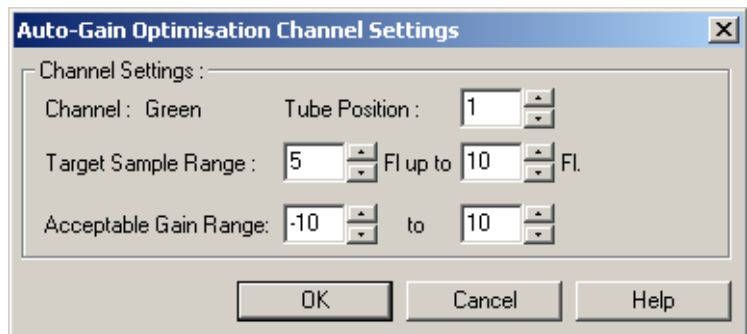
Optimise All/Optimise Acquiring (Optimiziraj vse/optimiziraj zajem): Možnost »Optimise All« bo poizkusila optimizirati vse kanale, ki jih pozna programska oprema. Možnost »Optimise Acquiring« (Optimiziraj zajem) bo optimizirala samo kanale, ki so uporabljeni v termičnem profilu, določenem v poteku (kroženje in taljenje).

Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Izvedi optimizacijo pred 1. zajemom): Označite ta okvirček, da izvedete možnost Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) v prvem ciklu, v katerem pride do zajema podatkov. To je priporočljivo za možnost Auto-Gain Optimisation (Optimizacija samodejne pridobitve).

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (Izvedite optimizacijo pri [x] stopinjah na začetku poteka): Označite to okno, da izvedete postopek Gain Optimisation (Optimizacija prilagoditve) tik pred začetkom poteka. Instrument Rotor-Gene Q MDx je ogrevan na navedeno temperaturo, postopek Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) je izveden in kroženje se začne na prvem koraku, običajno koraku Denature (Denaturacija). To možnost lahko izberete, če bi postopek Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) med potekom povzročil preveč porabljenega časa v začetnem koraku. Običajno je možnost »Perform Optimisation Before 1st Acquisition« (Izvedi optimizacijo pred 1. zajemom) bolj zaželeno, ker je postopek Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) izvedena čim bližje pogojem poteka.

Channel Settings (Nastavitve kanala): Ta spustni meni omogoča dodajanje kanalov. Izberite kanal zanimanja in kliknite možnost »Add« (Dodaj).

Edit... (Uredi ...): S tem odprete okno, v katerem lahko nastavite možnost »Target Sample Range« (Razpon ciljnega vzorca). Možnost »Target Sample Range« (Razpon ciljnega vzorca) je razpon začetne fluorescence, ki jo je treba nastaviti za vzorec v določeni epruveti. Možnost Auto-Gain Optimisation (Optimizacija samodejne pridobitve) odčita vsak kanal z uporabo nastavitvev pridobitve v razponu, določenem z možnostjo »Acceptable Gain Range« (Razpon sprejemljive pridobitve). S tem izberete nastavitvev prve pridobitve, ki povzroči odčitek fluorescence znotraj razpona »Target Sample Range« (Razpon ciljnega vzorca). V prikazanem primeru možnost Auto-Gain Optimisation (Optimizacija samodejne pridobitve) išče nastavitvev pridobitve med -10 in 10, ki omogoča odčitek med 5 in 10 FI v cevi 1. Na splošno je za dodana barvila primeren razpon »Target Sample Range« (Razpon ciljnega vzorca) 1–3 FI, medtem ko je za kemije v epruveti bolj primeren razpon 5–10 FI.



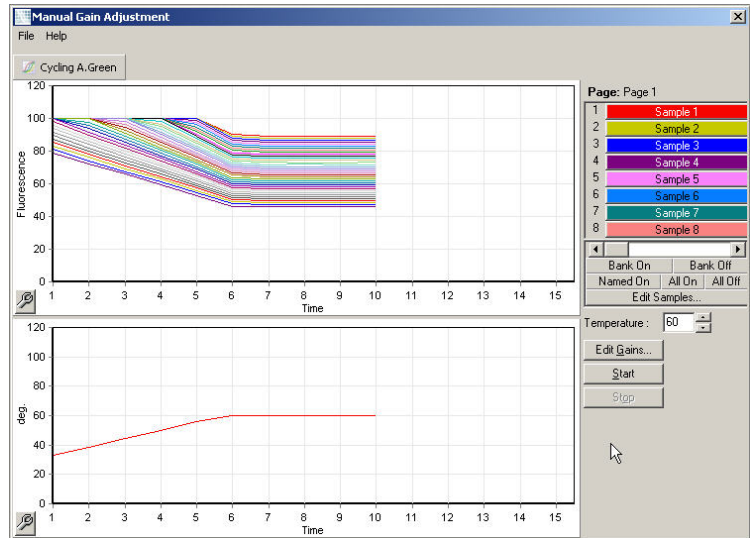
- Remove/
Remove All
(Odstrani/
odstrani vse): Možnost »Remove« (Odstrani) odstrani poudarjen kanal. Možnost »Remove All« (Odstrani vse) odstrani vse kanale.
- Start (Začni): Možnost »Start« (Začni) zažene postopek Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve). Izbrana je pridobitev, ki povzroči ravni fluorescenčnega signala znotraj navedenega razpona. Če se fluorescenca nahaja izven navedenega razpona, je razpon nastavljen za omogočanje najboljšega možnega približka.
- Manual (Ročno): S tem odprete okno »Manual Gain Adjustment« (Prilagoditev ročne pridobitve) (glejte stran 6-28).
- Changing Gain
During a Run
(Spreminjanje
pridobitve med
potekom): Če je bila pridobitev na začetku poteka previsoka ali prenizka, jo lahko spremenite znotraj prvih desetih ciklov. Kjer je prišlo do spremembe pridobitve, se pojavi navpična črta. Cikli pred spremembo so izključeni iz analize.

Opomba: Postopek Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) lahko izbere nastavitvev, ki se ne nahaja znotraj navedenega razpona. Vzrok tega so lahko spremembe v fluorescenci po prvem koraku Hold (Zadrži). Vendar rezultat postopka Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) zagotavlja dober pokazatelj ravni fluorescence, pri kateri bo potek zagnan.

Ročna prilagoditev pridobitve

Za izvedbo postopka »Manual Gain Adjustment« (Prilagoditev ročne pridobitve) kliknite možnost »Manual...« (Ročno ...) v oknu »Auto-Gain Optimisation Setup« (Nastavitve optimizacije samodejne pridobitve). Pojavi se okno »Manual Gain Adjustment« (Prilagoditev ročne pridobitve). To okno v realnem času prikazuje odčitke

fluorescence pri kateri koli temperaturi. Uporablja se, ko je ozadje vzorca neznano in je zato treba določiti pridobitev za zagotovitev, da je vzorčni signal zadosten za zaznavanje.



Po privzeti nastavitvi so vsi vzorci prikazani na zaslonu. Vzorce lahko odstranite iz zaslona ali jih vanj dodate, tako da uporabite preklopni gumb na desni strani. Preklopni gumb je sestavljen iz barvnih celic, pri čemer se vsaka celica sklada z vzorcem na zaslonu. Vzorci s svetlejšo celico so prikazani, medtem ko vzorci z zatemnjeno celico niso prikazani. Vzorce je mogoče vklopiti in izklopiti s klikom na celico ali vlečenjem kazalca miške čez več celic naenkrat.

Priporočamo, da postopek Manual Gain Adjustment (Prilagoditev ročne pridobitve) izvedete na naslednji način.

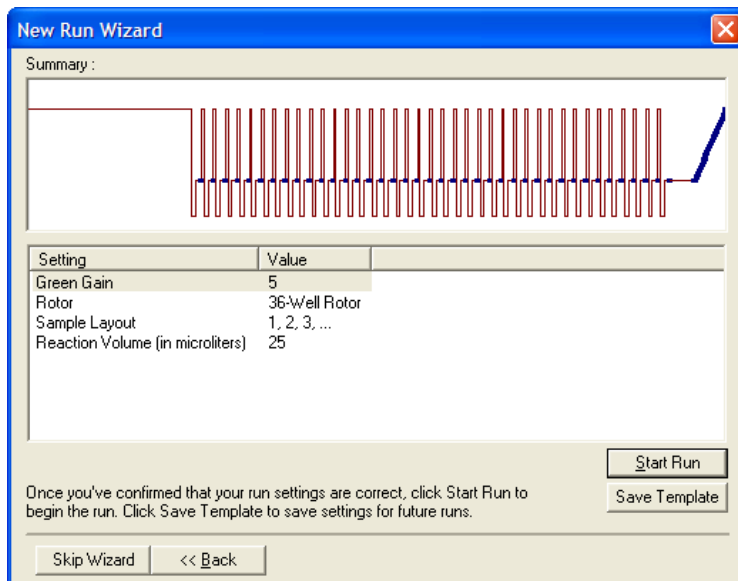
1. Temperaturo v oknu »Manual Gain Adjustment« (Prilagoditev ročne pridobitve) prilagodite na temperaturo zajema, ki je potrebna za potek.

Opomba: Temperatura ne bo prilagojena, dokler instrument Rotor-Gene Q MDx deluje. Ponovno zaženite instrument Rotor-Gene Q MDx, da uveljavite spremembe, ki so bile izvedene za temperaturo.

2. Kliknite možnost »Start« (Začni). Potek se zažene. Temperatura instrumenta Rotor-Gene Q MDx je prilagojena na temperaturo, ki je navedena v oknu. Grafi v oknu začnejo prikazovati podatke.
3. Počakajte, da se temperatura stabilizira.
4. Zapomnite si odčitek fluorescence končne točke (end point fluorescence, FI).
5. Če odčitek FI ni na potrebni ravni, kliknite možnost »Edit Gains...« (Uredi pridobitve ...) in ga uredite po potrebi. Ta postopek morda ne bo takojšen saj instrument Rotor-Gene Q MDx potrebuje približno 4 sekunde, da zajame vsako točko v vsakem kanalu, uporabniški vmesnik pa je v tem primeru deaktiviran.
6. Postopek ponavljajte, dokler se FI ne nahaja na želeni ravni.
7. Kliknite možnost »Stop« (Zaustavi). Če potek še vedno zajema podatke, ko kliknete gumb »Stop« (Zaustavi), potem instrument Rotor-Gene Q MDx najprej zaključi zajem in se nato zaustavi. Postopek lahko traja do 5 sekund za vsak kanal zajema.

6.2.5 Okno čarovnika novega zagona 4

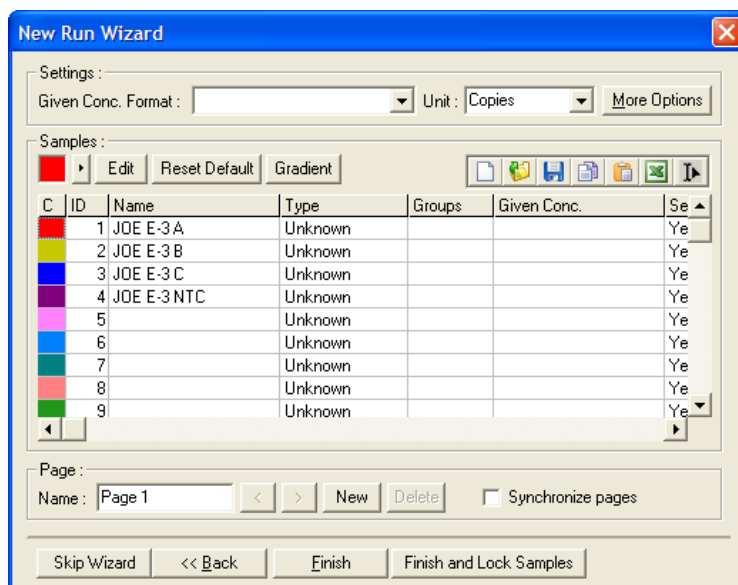
Okno povzame potek. Preverite parametre in če so pravilni kliknite možnost »Start Run« (Začni potek). Pozvani boste k določitvi imena datoteke. Nastavitve poteka lahko shranite tudi kot predlogo za prihodnje poteke, in sicer z uporabo gumba »Save Template« (Shrani predlogo).



6.2.6 Okno čarovnika novega zagona 5

V to okno med potekom vnesite vrste in opise vzorca. Delovanje tega okna je enako oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce) (stran 7-77). Informacije vzorca lahko vnesete tudi po dokončanju poteka.

Možnost »Finish and Lock Samples button« (Gumb za dokončanje in zaklepanje vzorcev) zapre zaslon in prepreči spreminjanje imen vzorcev. Za več informacij o tej in drugih varnostnih funkcijah glejte možnost »Access Protection for Rotor-Gene Q Software« (Zaščita dostopa za programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q) (stran 7-88).

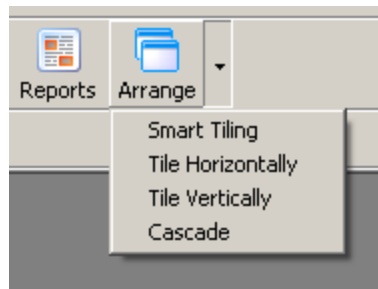


7 Uporabniški vmesnik za analize

To poglavje opisuje uporabniški vmesnik programske opreme Rotor-Gene Q.

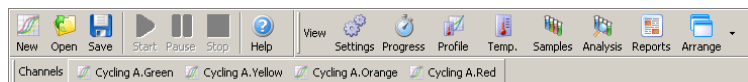
7.1 Delovni prostor

Delovni prostor je ozadje glavnega okna. V tem območju lahko odprete predele neobdelanih podatkov in rezultate analiz. Če je istočasno odprtih več oken, jih je mogoče organizirati s klikom gumba »Arrange« (Razporedi) na orodni vrstici. Na voljo je več možnosti za razporeditev okna, ki jih je mogoče izbrati s klikom na puščico navzdol poleg gumba »Arrange« (Razporedi).



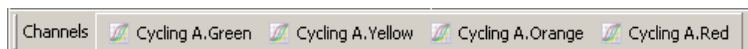
7.2 Orodna vrstica

Ti gumbi so bližnjice za pogosto uporabljene postopke. Do teh postopkov lahko dostopate tudi prek spustnih menijev.



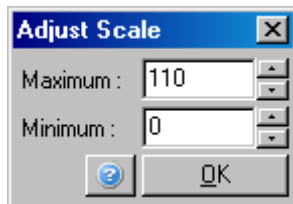
7.3 Ogled neobdelanih kanalov

Kliknite te gumbе, da si ogledate neobdelane (neanalizirane) podatke iz določenih kanalov v poteku.



Ko si ogledujete te podatke, vam je na voljo več možnosti za spreminjanje prikaza podatkov. Neobdelane podatke lahko tudi pretvorite za omogočanje različnih vrst analize.

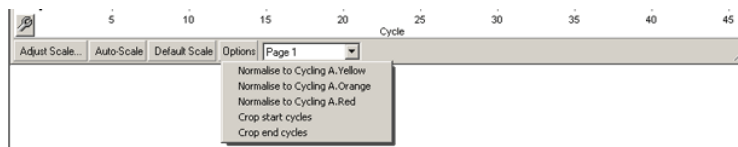
Adjust Scale (Prilagodi merilo): Za izbiro možnost »Adjust Scale« (Prilagodi merilo) z tipko miške desnokliknite nad primernim oknom. Možnost »Adjust Scale« (Prilagodi merilo) prikaže okno, v katerem lahko določite merilo.



Autoscale (Samodejno merilo): Možnost »Autoscale« (Samodejno merilo) poizkuša prilagoditi merilo največjim in najmanjšim odčitkom podatkov.

Default Scale (Privzeto merilo): Možnost »Default Scale« (Privzeto merilo) ponastavi merilo, da prikaže od 0 do 100 enot fluorescence.

Ikona ključa/izvijača: Za več informacij glejte poglavje 8.5.



Options (Možnosti): S tem prikazete spustni seznam, prikazan zgoraj, ki zagotavlja možnosti za spreminjanje neobdelanih podatkov.

Normalise to ... (Normaliziraj na): To omogoča normalizacijo podatkov (amplifikacije na podatke iz pasivnega referenčnega barvila, npr. ROX, pridobljene v drugem kanalu.

Crop start cycles (Obreži začetne cikle): S tem se ustvari niz novih podatkov kanala, v katerem so nekateri začetni cikli odstranjeni. To je uporabno, če pri začetnih ciklih opazite večje preskoke, ki se lahko zgodilo pri določenih kemijah.

Crop end cycles (Obreži končne cikle): S tem se ustvari niz novih podatkov kanala, v katerem so nekateri končni cikli odstranjeni.

Page 1 (1. stran): To nakazuje na stran, ki je trenutno izbrana za prikaz predelov neobdelanih podatkov. Okno »Edit Sample« (Uredi vzorec) omogoča ustvarjanje več definicij vzorca. Na primer, podatke si lahko ogledate z različno debelino linije, definicijami vzorca in drugimi možnostmi prikaza. To je še posebej uporabno, če je v posameznem kanalu izvedena relativna kvantifikacija, ker lahko uporabnik enostavno preklopi pogled med genom zanimanja in hišnimi vzorci, tako da določi 2 vzorčni strani.

7.4 Preklop vzorcev

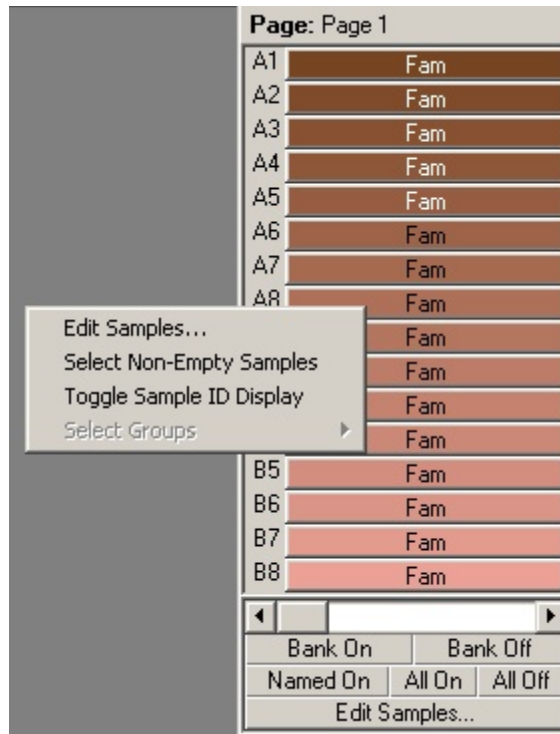
Na desni strani glavnega okna se nahaja gumb za preklop, ki vključuje tudi legendo vzorcev. Sestavljena je iz barvnih celic, pri čemer se vsaka celica sklada z vzorcem na zaslonu. Gumb za preklop se uporablja za nadzor, katere vzorce lahko vidite na zaslonu. Vzorci s svetlejšo celico so prikazani, medtem ko vzorci z zatemnjeno celico niso prikazani. Vzorce je mogoče vklopiti in izklopiti s klikom na celico ali vlečenjem kazalca miške čez več celic naenkrat. Gumba »Bank On« (Vklop prikrivanja) in »Bank Off« (Izklop

prikrivanja) skrijeta ali prikažeta vse vzorce, ki so trenutno vidni na seznamu. Drsnik lahko uporabite za prikaz naslednje skupine vzorcev.

Opomba: Število prikazanih vzorcev je dinamično in odvisno od prostora, ki je na voljo v oknu.

S klikom možnosti »Named On« (Vklop poimenovanih) prikažete samo tiste vzorce, ki imajo ime. To je hiter način za prikaz samo pomembnih vzorcev. S klikom možnosti »All On« (Vsi vklopljeni) ali »All Off« (Vsi izklopljeni) prikažete vse vzorce v rotorju oz. ne prikažete nobenega. S pritiskom gumba »Edit Samples...« (Uredi vzorce ...) odprete okno »Edit Samples« (Uredi vzorce), kjer lahko urejate imena, vrste in standardne koncentracije vzorcev (glejte poglavje 7.8.4).

Gumb za preklop je prikazan spodaj. Dodatne možnosti, ki so prikazane, se pojavijo, ko nad gumbom za preklop desnokliknete z miško.

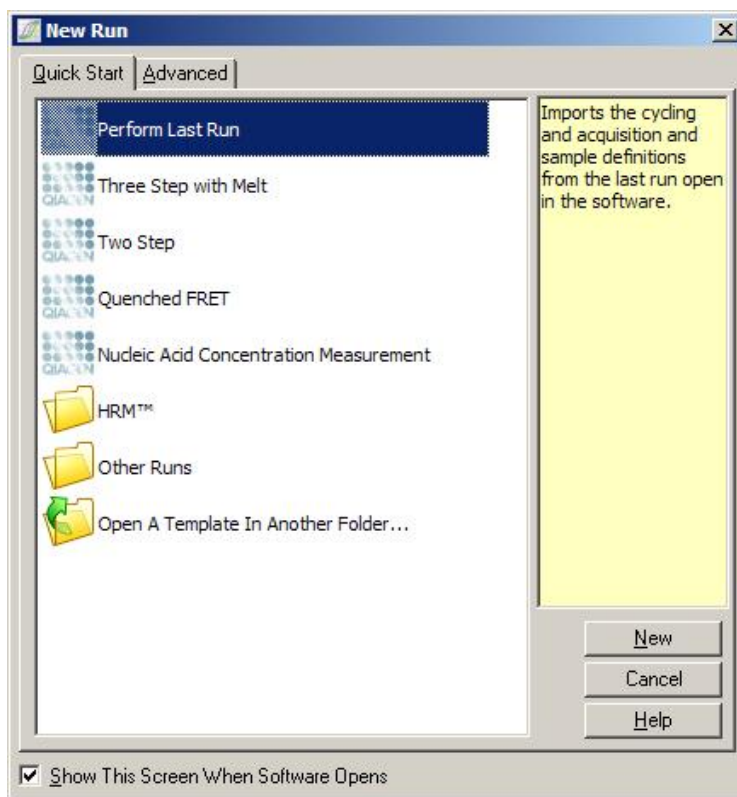


- Page (Stran):** Ta oznaka na vrhu gumba za preklop nakazuje na vzorčno stran, ki je prikazana. Strani omogočajo različne neodvisne analize iz enega niza podatkov kanala. Na primer, uporabljate lahko dve standardni krivulji v zelenem kanalu in ustvarite neodvisna poročila. Več informacij o nastavljanju vzorčnih strani je na voljo v poglavju 7.8.4.
- Toggle Sample ID Display (Preklopi prikaz ID vzorca):** Če uporabljate rotor z 72-Well Rotor, so vzorci prikazani v formatu A1 do A8, B1 do B8, itn. Možnost »Toggle Sample ID Display« (Preklopi prikaz ID vzorca) omogoča uporabniku preklop na številčni vrstni red vzorcev (1 do 72).
- Select Non-Empty Samples (Izberi vzorce, ki niso prazni):** Ta možnost prekliče izbiro vzorcev, ki imajo možnost »Type« (Vrsta) določeno kot »None« (Brez) v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce). S tem zagotovite, da so prikazani samo vzorci, ki so pomembni za analizo.
- Select Groups (Izberi skupine):** Če ste določili skupine, bo ta funkcija preklopila (vklopil/izklopila) prikaz vzorcev v skupinah. Skupine so splošne zbirke vzorcev, ki omogočajo napredno poročaje statističnih rezultatov. Na primer, določite lahko skupine vzorcev obravnavanih in neobravnavanih pacientov. Skupine lahko nastavite v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce).

7.5 Meni File (Datoteka)

7.5.1 New (Novo)

Po izbiri možnosti »File« (Datoteka) in izbiri možnosti »New« (Novo) se pojavi okno »New Run« (Potek). To okno zagotavlja običajno uporabljene predloge, ki so organizirane v zavihkih »Quick Start« (Hitri zagon) in »Advanced« (Napredno). Ko je predloga izbrana, vas čarovnik vodi skozi nastavitvev poteka in vam omogoča spreminjanje nastavitvev in profilov.



Za informacije o zagotovljenih predlogah glejte poglavje 6.1 in poglavje 6.2.

Nov potek

New... (Novo ...): S tem zaženete nastavitvev poteka z uporabo izbrane predloge.

Cancel (Prekliči): S tem zaprete okno.

Help (Pomoč): S tem odprete spletno pomoč.

Show This Screen When Software Opens (Prikaži ta zaslona, ko se odpre programska oprema): Če je ta okvirček izbran, se okno »New Run« (Nov potek) prikaže, ko se zažene programska oprema.

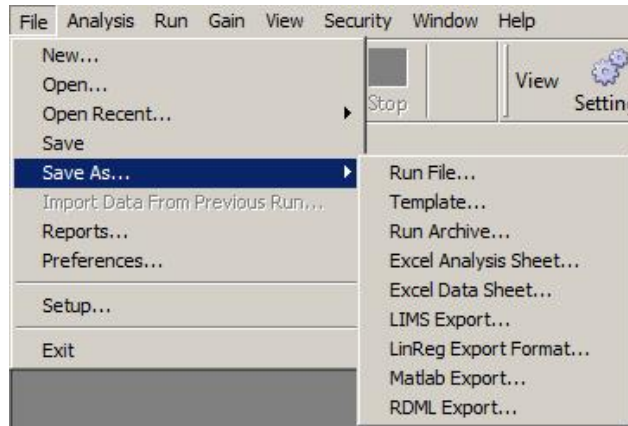
7.5.2

Open (Odpri) in Save (Shrani)

Open... (Odpri ...): S tem odprete predhodno shranjeno datoteko poteka Rotor-Gene Q (*.rex) ali arhiv poteka Rotor-Gene Q (datoteka *.rea).

Open Recent... (Odpri nedavno ...): S tem prikažete zadnje 4 datoteke, ki so bile odprte ali shranjene.

Save (Shrani): S tem shranite vse spremembe, ki so bile izvedene v datoteki poteka.



- | | |
|-----------------------------------|---|
| Save As...
(Shrani kot ...): | To funkcijo uporabite, da shranite datoteko poteka ali podatke v različnih formatih. Možnosti so naveden spodaj. |
| Run File...
(Datoteka poteka): | S tem shranite kopijo datoteke. Uporabnik lahko spremeni ime in mesto shranjevanja. To je privzeti format. |
| Template...
(Predloga): | S tem shranite nastavitve profila in povezane nastavitve, vendar ne podatkov poteka. Predlogo lahko uporabite za zagon prihodnjih potekov. |
| Run Archive...
(Arhiv poteka): | S tem izvedete shranjevanje v bolj kompaktnem formatu datoteke. Datoteke shranite v tem formatu preden jih pošljete po elektronski pošti. S tem skrajšate čas, ki je potreben za pošiljanje datoteke, in zagotovite, da odjemalci elektronske pošte ne bodo okvarili datotek. |

LIMS Export (Izvoz LIMS):	S tem shranite analizo v formate, ki so združljivi s sistemi za upravljanje laboratorijskih informacij (laboratory information management system, LIMS), v skladu z zahtevami uporabnika. Prosimo, da se za več informacij obrnete na tehnične storitve družbe QIAGEN.
Excel Data Sheet... (Podatkovni list Excel ...):	S tem vse neobdelane kanale izvozite v list Excel®. Izvoženi so samo izbrani vzorci.
Excel Analysis Sheet... (List Excel za analizo...):	S tem vse analize v trenutnem poteku izvozite v en list Excel.
LinReg Export Format... (Format izvoza LinReg):	S tem vse podatke neobdelanih kanalov izvozite v format, ki ga lahko bere LinReg (orodje za analizo učinkovitosti). Za več podrobnosti glejte »Izvoz v LinReg« spodaj.
Matlab Export... (Izvoz Matlab ...):	S tem podatke izvozite v format, ki ga lahko bere znanstveni paket Matlab (ali njegov odprtokodni ekvivalent, Octave). To je lahko koristno za raziskave metod.
RDML Export (Izvoz RDML):	S tem zagotovite izvozno datoteko, ki je skladna z RDML v1.1. Ustvarjena izvozna datoteka RDML je datoteka v formatu XML, stisnjena s programom ZIP, s pripono datoteke *.rdml in je skladna s shematskim dokumentom RDML (http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd), ki je na voljo na spletni strani http://www.rdml.org/files.php .

Izvoz v LinReg

LinReg je orodje, ki ga je skupaj s sodelavci razvil C. Ramakers.*

Orodje LinReg je na voljo na strani: <http://LinRegPCR.nl>.

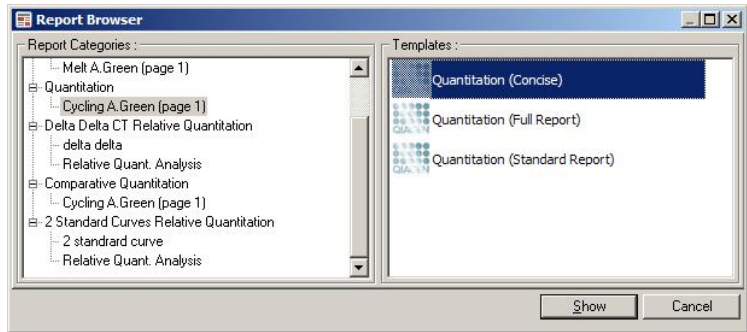
Programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q uporabniku omogoča izvoz neobdelanih podatkov v formatu, ki ga je mogoče za analizo uvoziti z orodjem LinReg.

1. Odprite datoteko poteka instrumenta Rotor-Gene Q, ki vsebuje neobdelane podatke.
2. Podatke izvozite v izvorni format LinReg, tako da izberete možnost »Save As...« (Shrani kot ...) in potem možnost »LinReg Export Format...« (Izvozni format LinReg ...).
3. Program Microsoft Excel samodejno prikaže izvožene neobdelane podatke.
4. Zaženite orodje LinReg.
Orodje vas pozove k izbiri razpona celice, kjer se nahajajo neobdelani podatki. Orodje lahko analizira samo en kanal neobdelanih podatkov naenkrat, zato je treba izbrati pravilno območje lista Excel.

7.5.3 Poročila

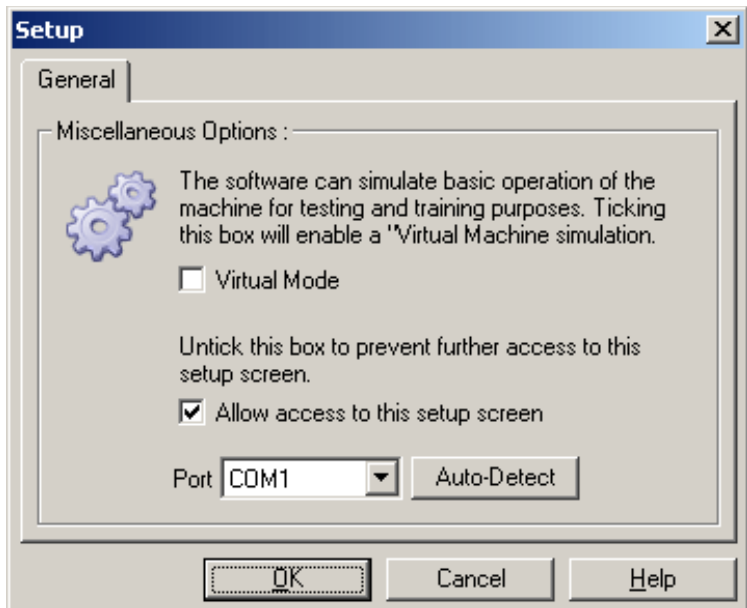
Po izbiri možnosti »Reports« (Poročila) se pojavi okno »Report Browser« (Brskalnik poročil). Če so bili podatki že analizirani, lahko poročilo analize prikažete v oknu »Report Browser« (Brskalnik poročil). Več vrst poročil je ponujenih z različnimi stopnjami podrobnosti.

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



7.5.4 Nastavitev

Začetno nastavitev instrumenta Rotor-Gene Q MDx je treba dokončati med namestitvijo. Vendar pa vam ta možnost omogoča spremembo nastavitev povezave instrumenta Rotor-Gene Q MDx po namestitvi, če jih želite izvesti.

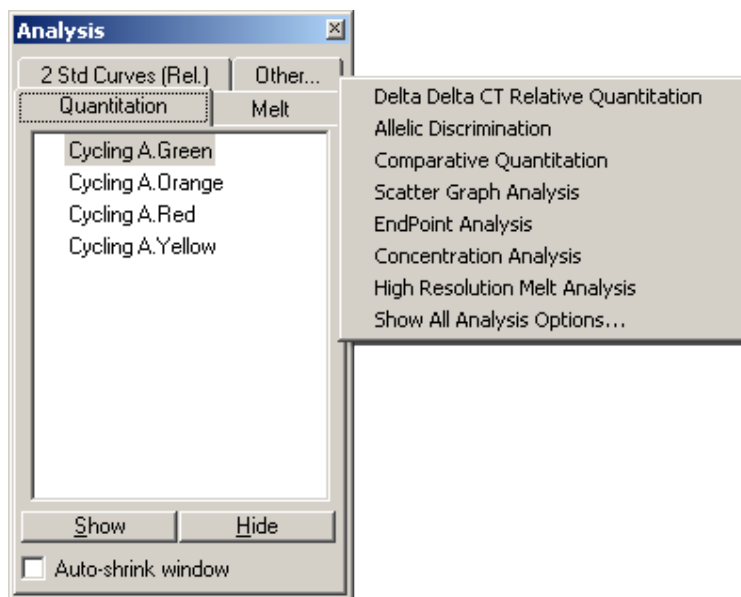


Virtual Mode (Virtualni način):	Izberite to možnost, če bo programska oprema uporabljena brez priključenega instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Programska oprema ohrani vse funkcije. Ta način je uporaben za namene prikaza, analize podatkov in nastavljanje predlog.
Allow access to this setup screen (Dovoli dostop do tega nastavitvenega zaslona):	Če te možnosti med nastavitvijo ne izberete, potem do tega okna več ni mogoče dostopati. Ta varnostni ukrep uporabnikom preprečuje spreminjanje nastavitvev. Za ponovno vzpostavitev dostopa se obrnite na vašega prodajalca.
Port (Vhod):	Izberite pravilen komunikacijski vhod, da omogočite komunikacije med računalnikom in instrumentom Rotor-Gene Q MDx.
Auto-Detect (Samodejno zaznavanje)	Če niste prepričani, kateri vhod morate izbrati, kliknite možnost »Auto-Detect« (Samodejno zaznavanje), da poiščete vse razpoložljive vhode.

7.6 Meni analize

7.6.1 Analiza

Po kliku možnosti »Analysis« (Analiza) se pojavi okno »Analysis« (Analiza). To okno omogoča ustvarjanje novih in prikaz obstoječih analiz. Metoda analize je izbrana z uporabo zavihkov. Seznam kanalov, ki jih je mogoče analizirati z uporabo izbrane metode, je prikazan. Potek z več testi v istem kanalu je mogoče analizirati neodvisno, če so bili testi nastavljeni na ločenih straneh v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce). Strani, ki so bile že analizirane, imajo poleg sebe zeleno kljukico. To pomeni, da so bile za to analizo shranjene nastavitve praga in normalizacije. Za ogled ali analizo kanalov jih dvokliknite. Pojavi se okno posebne analize.

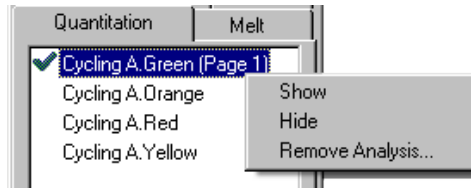


Auto-shrink window (Samodejno skrči okno):

Z izbiro možnosti »Auto-shrink window« (Samodejno skrči okno) skrčite okno, ko ni v uporabi. S premik kazalca nad okno znova povečate okno.

Organizacija delovnega prostora

Vsakič, ko zaženete novo analizo, so okna razporejena za skladnost s tistimi, ki so že na zaslonu. Če je prikazanih več oken, je lahko to moteče. Zaprite okna, ki jih ne potrebujete, potem pa kliknite možnost »Arrange« (Razporedi) na orodni vrstici. Okna so samodejno razporejena v skladu z metodo »Smart Tiling« (Pametni nagib). Namesto tega izberite drugo metodo razporeditve, tako da kliknete puščico poleg gumba »Arrange« (Razporedi). Dodatne možnosti si zagotovite tudi, če desnokliknete na ime analize.



- Show (Prikaži): S tem prikažete izbrano analizo.
- Hide (Skrij): S tem skrijete izbrano analizo.
- Remove Analysis... (Odstrani analizo ...): S tem povsem odstranite izbrano analizo. To pomeni, bodo izgubljene vse nastavitve normalizacije ali talitvene skupine, ki so nastavljene v analizi.

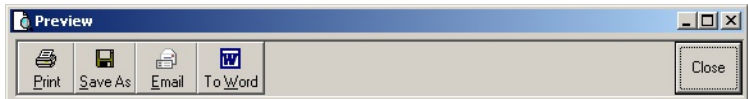
7.6.2 Kvantifikacija

Izberite možnost »Quantitation« (Kvantifikacija) v oknu »Analysis« (Analiza) in potem dvokliknite ime kanala ali izberite kanal ter pritisnite gumb »Show«, da odprete kanal zanimanja. Pojavijo se tri okna: glavni zaslon, standardna krivulja in rezultati.

Poročila

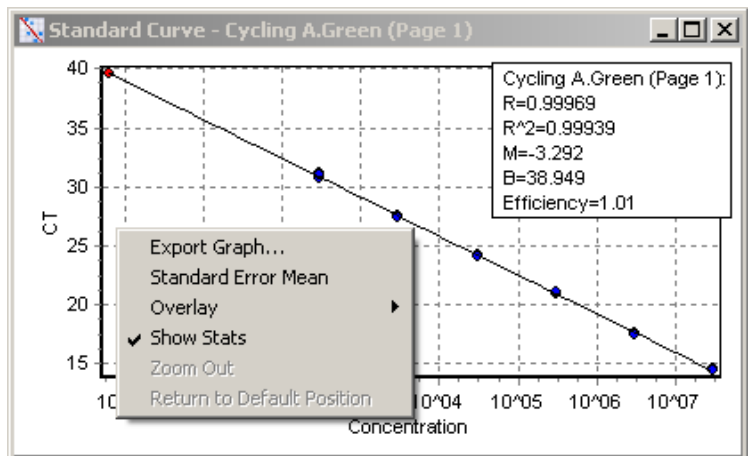
Reports (Poročila): Možnost »Reports« (Poročila) odpre okno »Report Browser« (Brskalnik poročil), kjer lahko ustvarite poročilo trenutne analize. Na voljo so 3 možnosti: standardno poročilo, polno poročilo in natančno poročilo. Dvokliknite na zeleno možnost, da odprete poročilo v oknu »Preview« (Predogled).

Ko je bilo poročilo ustvarjeno, lahko gumbe na vrhu okna »Preview« (Predogled) uporabite za tiskanje, shranjevanje ali pošiljanje poročila prek e-pošte oz. za izvoz v format Word.



Standardna krivulja

Std. Curve (Stand. krivulja): Ta gumb odpre okno »Standard Curve« (Standardna krivulja). Po privzeti nastavitvi se okno odpre, ko odprete analizo. Če zaprete okno, ga lahko ponovno odprete z uporabo tega ukaza.



Vrednosti na standardni krivulji so dinamično ponovno izračunane, ko nivo praga spreminjate s klikom in vlečenjem linije praga v glavnem oknu.

Modre pike na krivulji predstavljajo vzorce, ki so bili določeni kot standardi, rdeče pike pa predstavljajo točke neznanih vzorčnih podatkov.

Opomba: Če ponovno definirate standarde za ponovni izračun standardne krivulje, boste z izklopom vidljivosti standardnega vzorca s pomočjo gumba za preklon na desni strani zaslona le-tega odstranili iz izračuna standardne krivulje. Odstranjevanje standardov iz grafa za povečanje vrednosti R^2 ni znanstveno veljavno. Neuspešen standard nakazuje, da so bili morda tudi vzorci neuspešni in to je treba tudi vnesti v rezultate.

Efficiency
(Učinkovitost):

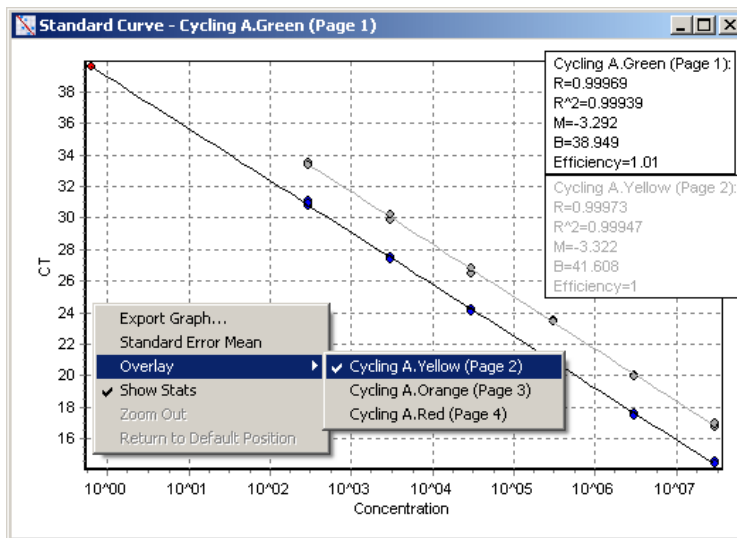
To je učinkovitost reakcije poteka. Ta vrednost je podrobneje opisana na strani 7-30.

R^2 value
(correlation coefficient)
(Vrednost R^2
(korelacijski koeficient)):

Vrednost R^2 ali vrednost R^2 je odstotek podatkov, ki je skladen s hipotezo, ki jo standardi tvorijo v standardni krivulji. Če je vrednost R^2 nizka, potem je prileganje standardov na linijo za najboljše prileganje oteženo. To pomeni, da rezultati (tj. izračunane koncentracije) morda ne bodo zanesljivi. Dobra vrednost R^2 znaša približno 0,999.

Opomba: Možno je doseči visoko vrednost R^2 s slabo standardno krivuljo, če je bilo zagnano nezadostno število standardov. Vrednost R^2 se izboljša z zmanjševanjem števila standardov. Za bolj natančno indikacijo zanesljivost rezultatov intervale zaupanja glede izračunanih koncentracij uporabite kot vodilo.

R value (square root of correlation coefficient) (Vrednost R (kvadratni koren korelacijskega koeficienta)):	Vrednost R je kvadratni koren vrednosti R^2 . Na splošno je vrednost R^2 bolj uporabna za določanje korelacije.
M and B (M in B):	Naklon (M) in odsek (B) standardne krivulje sta samodejno izračunana z uporabo formule $y = Mx + B$ in prikazana v oknu »Standard Curve« (Standardna krivulja).
Export Graph... (Izvozi graf):	Če desnokliknete nad standardno krivuljo, prikažete možnost za izvoz grafa (glejte poglavje 8.4).
Overlay (Prekrivanje):	Če ste v istem poteku izvedli več potekov kvantifikacije, je mogoče standardne krivulje prekriti v istem oknu. To je uporabno za grafični ogled razlike med različnimi pragi. Ta funkcija je prikazana na spodnjem posnetku zaslona.



Izračun standardne krivulje

» $\text{conc.} = \dots * C_T + \dots$ « in » $C_T = \dots$ « sta 2 različici enačbe, ki se uporablja za povezovanje vrednosti in koncentracij C_T . V publikacijah je običajno uporabljena formula » $C_T = \dots$ «. Za standardno krivuljo je lahko izbrana možnost »Floating« (Plavajoče) ali »Fixed« (Fiksno). Če je izbrana možnost »Floating« (Plavajoče), je optimalna enačba za standardno krivuljo izračunana vsakič, ko je prag premaknjen v glavno okno. Če je izbrana možnost »Fixed« (Fiksno), se enačba ne spremeni, ko je uvožena za drug potek.

Standard Curve

conc= 10[^](-0.304*C_T + 11.832)

C_T = -3.292*log(conc) + 38.949

Type : Floating

Import Curve... Reset

Uvozna krivulja

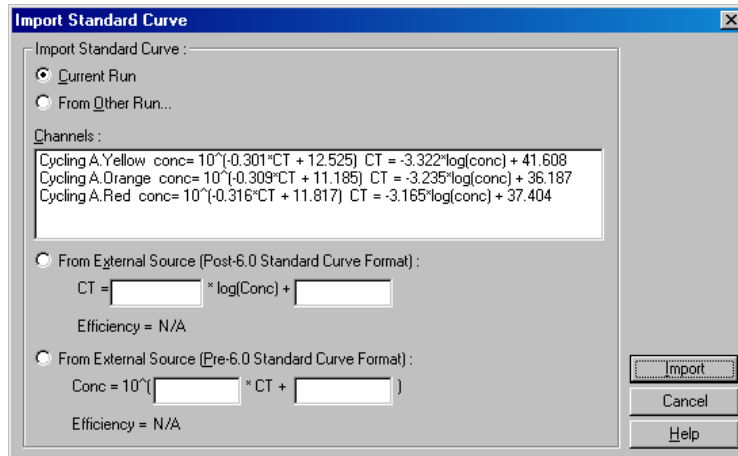
Uvoz standardne krivulje omogoča oceno koncentracij, ko standardna krivulja ni na voljo v določenem poteku in se učinkovitost reakcije ni spremenila med 2 potekoma. Krivulje lahko iz drugega kanala ali drugega poteka uvozite s klikom možnosti »Import Curve« (Uvozi krivuljo).

Po potrebi je mogoče prilagoditi standardno krivuljo. Prilagajanje standardne krivulje pomeni, da je samo učinkovitost izvorne standardne krivulje uvožena v trenutni potek. Ali je treba standardno krivuljo prilagoditi ali ne je odvisno od uporabljene kemije.

Za prilagajanje standardne krivulje uporabite referenco v novem poteku z znano koncentracijo. Referenco določite z nastavljanjem vrste vzorca na možnost »Standard« (Standardno) in vnosom vrednosti koncentracije v okno »Edit Samples« (Uredi vzorce). Za izboljšanje natančnosti lahko vnesete več kopij iste reference. Zapomnite si, da ni mogoče določiti več kot eno referenčno koncentracijo ali standard. Na primer, možno je imeti 3 replicirane reference po 1000 kopij, vendar ni možno imeti eno referenco po 1000 kopij in še eno s 100 kopijami v istem poteku.

Ko je bila standardna krivulja uvožena, se vrsta standardne krivulje spremeni v možnost »Fixed« (Fiksno). Kliknite možnost »Reset« (Ponastavi), da vrsto standardne krivulje spremenite nazaj na možnost »Floating« (Plavajoče).

Posnetek zaslona okna »Import Standard Curve« (Uvozi standardno krivuljo) je prikazan spodaj.



Z uporabo okna lahko standardno krivuljo uvozite iz drugega kanala, analiziranega v tem poteku, oz. iz drugega poteka.

Current Run (Trenutni potek): Ko je izbrana ta možnost, so analize kvantifikacije na drugih kanalih iz tega poteka navedene z ustreznimi standardnimi krivuljami.

From Other Run... (Iz drugega poteka ...): Z izbiro te možnost prikažete pogovorno okno, iz katerega lahko za odpiranje izberete datoteko poteka. Če je bila za potek izvedena analiza kvantifikacije, so standardne krivulje navedene za vsak analiziran kanal.

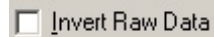
Opomba: Nastavitve analize kvantifikacije so morale biti shranjene v datoteki poteka.

Channels (Kanali): S tem navedete analizirane kanale in njihove formule standardne krivulje.

From External Source (Iz zunanega vira): V tem območju lahko neposredno vnesete vrednosti M in B. To je uporabno v primerih, ko so vrednosti namenjene za zunanji vir, npr. preglednico Excel.

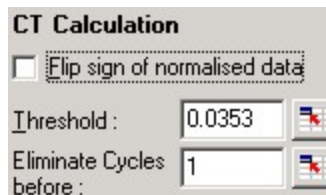
Izračun C_T

Invert raw data (Obrni neobdelane podatke): Nekateri kemije proizvajajo fluorescenčni signal, ki se eksponentno zmanjšuje, ne povečuje. Te podatke je mogoče analizirati z uporabo možnosti »Quantitation« (Kvantifikacija), vendar mora biti potrditveno polje »Invert Raw Data« (Obrni neobdelane podatke) označeno. Za vse druge analize kvantifikacije mora ostati ta možnost neoznačena.



C_T Calculation (Izračun C_T): Vrednost C_T je številka cikla na točki, kjer krivulja amplifikacije prečka prag zaznavanja. Z nastavljanjem linije praga in izračunom presečišča z vsako krivuljo določite vrednost C_T za vsak vzorec.

Threshold (Prag): Za nastavljanje praga kliknite na ikono (mreža z rdečo puščico), potem pa kliknite in zadržite na grafu ter povlecite linijo na želeno raven. Namesto tega vnesite vrednost logaritma. Namesto tega lahko možnost »Auto-Find Threshold« (Samodejno iskanje praga) uporabite za samodejno določanje praga. Pri ročnem nastavljanju praga, ga je treba nastaviti v eksponentni fazi poteka, precej nad ravno ozadja, da se izognete šumu, in pod nastopom ravni signala v poznejših ciklih.




Eliminate Cycles before (Izloči cikle pred): Za nastavljanje kliknite na ikono (mreža z rdečo puščico), potem pa kliknite in zadržite na grafu ter povlecite linijo v desno. S tem izločite prag za nizke številke cikla.

Opomba: To je uporabno, ko je prisoten šum med začetnimi cikli, na primer zaradi učinkov mešanja vzorca.

Auto-Find Threshold (Samodejno iskanje praga): Ta funkcija pregleduje območje grafa, da poišče nastavitve praga, ki zagotavlja optimalne ocene danih koncentracij. Izbrano območje lahko spremenite z vnosom nove zgornje in spodnje omejitve v besedila polja, ki se pojavijo.

Za večino analiz so primerne privzete zgornje in spodnje omejitve. Razpon nivojev praga je pregledan za pridobivanje najboljše skladnosti standardne krivulje na podlagi vzorcev, ki so bili določeni kot standardi (tj. kjer je vrednost R najbližje 1,0.).

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

Rezultati

S tem odprete okno »Quantitation Results« (Rezultati kvantifikacije). Po privzeti nastavitvi se okno odpre, ko odprete analizo. Če ste ga zaprli, ga lahko ponovno odprete z uporabo tega ukaza.

Analysis	No.	Color	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc.	Calc Conc (C) % Var	Rep. Ct	Rep. Ct Std	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc. Conc.	Rep. Calc. Conc. (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	10a0	Standard		3.72		1.00E+00	7.17E+07	20.1%				
Cycling A.Green (Page 1)	2	10a8	Standard		3.74		1.00E+08	7.17E+07	28.3%				
Cycling A.Green (Page 1)	3	10a8	Standard		3.74		1.00E+08	7.16E+07	28.4%				
Cycling A.Green (Page 1)	4	10a7	Standard		6.11		1.00E+07	1.48E+07	44.0%				
Cycling A.Green (Page 1)	5	10a7	Standard		6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%	6.06	0.06 (5.91, 6.21)	1.43E+07	(1.22E+06, 6.73E+07)
Cycling A.Green (Page 1)	6	10a7	Standard		5.99		1.00E+07	1.50E+07	55.5%				
Cycling A.Green (Page 1)	7	10a6	Standard		10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.30	0.09 (10.15, 10.60)	8.00E+05	(2.62E+05, 2.44E+06)
Cycling A.Green (Page 1)	8	10a6	Standard		10.23		1.00E+06	8.58E+05	14.2%				
Cycling A.Green (Page 1)	9	10a6	Standard		10.42		1.00E+06	7.71E+05	22.9%				
Cycling A.Green (Page 1)	10	10a5	Standard		13.49		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65	0.13 (13.31, 13.98)	8.74E+04	(2.86E+04, 2.59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	10a5	Standard		13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%				
Cycling A.Green (Page 1)	12	10a5	Standard		13.69		1.00E+05	9.40E+04	15.2%				
Cycling A.Green (Page 1)	13	10e4	Standard		15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25 (14.84, 16.00)	2.59E+04	(7.82E+03, 8.30E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	10e4	Standard		15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%				
Cycling A.Green (Page 1)	15	10e4	Standard		15.18		1.00E+04	3.08E+04	208.8%				
Cycling A.Green (Page 1)	16	10e3	Standard		21.36		1.00E+03	4.71E+02	52.9%	21.09	0.24 (20.49, 21.69)	5.65E+02	(9.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	10e3	Standard		20.89		1.00E+03	6.47E+02	35.3%				
Cycling A.Green (Page 1)	18	10e3	Standard		21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%				
Cycling A.Green (Page 1)	19	10e2	Standard	NEG (Multi Ct)			1.00E+02						
Cycling A.Green (Page 1)	20	10e2	Standard		23.90		1.00E+02	7.99E+01	20.1%				
Cycling A.Green (Page 1)	21	10e2	Standard	NEG (Multi 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)						

V oknu »Quantitation Results« (Rezultati kvantifikacije) so rezultati poteka povzeti v tabeli. Desnokliknite in izberite možnost »Export to Excel« (Izvozi v Excel), da tabelo izvozite v Excel. Excel se odpre samodejno. Za kopiranje podatkov v obstoječo preglednico namesto tega izberite možnost »Copy« (Kopiraj), odprite preglednico in potem izberite možnost »Paste« (Prilepi).

Okno »Quantitation Results« (Rezultati kvantifikacije) vsebuje naslednje stolpce.

- Analysis (Analiza) Trenutni niz podatkov (kanal zajema in vzorčna stran).
- No. (Št.) Številka vzorca.
- Color (Barva) Barva določenega posameznega grafa vzorca.
- Type (Vrsta) Vrsta določenega vzorca.
- Ct Določena vrednost C_T.

Ct Comment (Komentar Ct)	<p>Samodejna opomba določanja C_T, če so vrednosti C_T izključene. Možne so naslednje oznake:</p> <p>NEG (Multi Ct): Prag krivuljo fluorescence prečka vsaj dvakrat (dvojno presečišče). Jasne vrednosti C_T ni mogoče določiti.</p> <p>NEG (NTC): Splošno povečanje fluorescence ne izpolnjuje pogojev, ki so opredeljeni v funkciji »NTC threshold« (Prag NTC) menija »Outlier Removal« (Odstranjevanje odstopanja) (glejte spodaj). Na primer, krivulja fluorescence seka navedeni prag, vendar pa majhno povečanje splošnega naklona nakazuje na odsotnost kontrolnika predloge in da vrednost C_T ni podana.</p> <p>NEG (R.Eff): Splošno povečanje fluorescence ne izpolnjuje pogojev, ki so opredeljeni v funkciji »Reaction efficiencythreshold« (Prag učinkovitosti reakcije) menija »Outlier Removal« (Odstranjevanje odstopanja) (glejte spodaj). Vzorci, ki nimajo določene učinkovitosti reakcije, so izločeni in vrednost C_T ni podana. Oznaka je prikazano samo, če je ustrezna funkcija omogočena.</p>
%Var:	<p>Variacija v odstotkih med izračunano in znano koncentracijo.</p> $\%Var = \text{Abs}(\text{izračunano}/\text{podano} - 1)$
Rep. Ct:	<p>Povprečna vrednost C_T vseh vzorcev z enakim imenom kot vzorec.</p>
Rep. Ct Std. Dev. (Stand. odkl. rep. Ct):	<p>Standardni odklon vrednosti C_T vseh vzorcev z enakim imenom kot vzorec.</p>

Rep. Ct 95% C.I. Razpon C_T , ki statistično zajema 95 %
(Rep. Ct 95 % C.I.): variacij v vrednosti C_T . To konzervativna
statistična meritev, ki jo je mogoče
uporabljati kot kvalitativno meritev. Razpon
lahko zožite z uporabo več replikacij ali
z manj variacijami v replikacijah.

Rep. Calc. Conc (Rep. izr. konc.): Izračunana koncentracija za vse vzorce
z istim imenom.

Opomba: To ni enostavno povprečje
izračunanih koncentracij. To je
geometrična sredina, ki je zaradi
eksponentne narave amplifikacije
v realnem času matematično primernejše
povprečje.

Rep. Calc. Conc. Razpon koncentracij, ki zajema 95 %
95% C.I. variacij v posameznem vzorcu in model
(Rep. izr. konc. linearne regresije, na katerem temelji.
95 % C.I.): Interpretacija te meritve je takšna, da je to
razpon koncentracij, ki ga lahko
pričakujemo v 95 % primerov, če so poteki
večkrat izvedeni z isto količino variacij. To
je konzervativna ocena in razpon je lahko
zaradi variacij v kateri koli analizi
v realnem času precej velik. Ta razpon je
lahko velik, če so standardi uporabljeni
s koncentracijami, ki se razlikujejo od
neznanih vzorcev, če je uporabljeno
majhno število replikacij ali če je prisotna
bistvena variacija.

POMEMBNO: Variacije, ki jih pridobimo
s to meritvijo, so sestavni del
eksponentnega postopka amplifikacije
v realnem času in jih ne povzroča
instrument Rotor-Gene Q MDx. Podobni
testi na cikličnih napravah na podlagi bloka
bi ustvarili večjo variacijo zaradi manjše
enotnosti temperature sistemov na podlagi
bloka. Če želite primerjati ciklične naprave,
priporočamo primerjavo standardnega
odklona vrednosti C_T .

Opomba: Podrobnejše informacije o intervalih zaupanja so
na voljo v Dodatku B.

Opomba: Razen stolpcev Color (Barva), Name (Ime), Ct in
Ct Comment (Komentar Ct), je mogoče vse stolpce prikazati
ali skriti, tako da desnokliknete na okno in izberete oz.
prekličete izbiro imena stolpca.

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

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

Za povečano priročnost funkcija »AutoStat« samodejno izračuna povprečje, standardni odklop in najmanjše ter največje vrednosti vzorcev zanimanja. Rezultate zanimanja izberite z vlečenjem ob pritisnjeni levi tipki miške, vrednosti pa so prikazane v tabeli na desni strani zaslona.

Na tem posnetku zaslona so analizirane koncentracije številnih vzorcev.

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

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

Statistics

Maximum : 28730050
 Minimum : 25142920
 Count : 3

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

Copy

POMEMBNO: Funkcija »AutoStat« upošteva kontekst. To pomeni, da ustvarja samo uporabne informacije, kjer je to seveda možno.

Na primer:

- Iz niza izbranih izračunanih koncentracij ni mogoče pridobiti 95 % intervala zaupanja, ker je treba upoštevati tudi model regresije.
- Standardni odklon »Orders of Magnitude« (Zaporedja velikosti) je sporočen za izračunane koncentracije in ne absolutna vrednost. To je variacija v odstotkih. Na primer, vrednost 1,07537 predstavlja 7,54 % variacijo $(278.974 - 322.611) = (300.000/1,07537 - 300.000 * 1,07537)$. Poročanje absolutne vrednosti za standardno krivuljo ni smiselno. Vrednost bi lahko bila sporočena pri najnižji koncentraciji, da se ustvari dozdevna nizka napaka (± 3 kopije) ali pri visoki koncentraciji ($\pm 3.000,000$ kopij). Zaradi tega je sporočen standardni odklon »Orders of Magnitude« (Zaporedja velikosti).
- Za izračunane koncentracije je namesto aritmetične sredine uporabljena geometrična sredina. To zajema eksponentno naravo PCR v realnem času. Npr., v primeru dvojnega redčenja z 1, 2, 8 in 16 kopijami mora povprečje znašati 4 kopije, ker je to sredina niza redčenja. Vendar pa aritmetična sredina znaša 6,75. Geometrična sredina znaša $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ kopije.

Normalizacija dinamične epruvete

Možnost »Dynamic Tube« (Dinamična epruveta) je izbrana po privzeti nastavitvi in se uporablja za določanje povprečnega ozadja vsakega vzorca tik pred začetkom amplifikacije.

Standardna normalizacija enostavno upošteva prvih 5 ciklov in jih uporablja kot indikator ravni ozadja vsakega vzorca. Vse podatkovne točke vzorca so potem razdeljene s to vrednostjo, da se podatki normalizirajo. To je lahko nenatančno, saj za nekatere vzorce raven ozadja v prvih 5 ciklih morda ne bo indikativna za ravni ozadja tik pred amplifikacijo. V nasprotju s tem normalizacija dinamične

epruvete uporablja drugi odvod vsake sledi vzorca, da se določi začetna točka vsakega vzorca. Raven ozadja je potem povprečena od cikla 1 do te številke začetnega cikla za vsak vzorec. S tem pridobite najbolj natančne rezultate kvantifikacije.

Zapomnite si, da za nekatere nize podatkov fluorescenca ozadja ni skladna med cikli pred začetkom amplifikacije. V teh primerih bo morda potrebno preklicati izbiro normalizacije dinamične epruvete, tako da kliknete možnost »Dynamic Tube« (Dinamična epruveta), ker bi lahko povzročila manj natančno kvantifikacijo.

Popravek naklona šuma

Fluorescenca ozadja (background fluorescence, FI) vzorca mora v idealnem primeru pred amplifikacijo ostati stalna. Vendar FI včasih prikazuje postopno povečanje ali zmanjšanje skozi več ciklov zaradi uporabljene kemije. Zaradi tega nastane poševen naklon šuma. Popravek naklona šuma namesto povprečja uporablja linijo najboljše skladnosti, da določi raven šuma, in normalizira na tisto linijo. Z izbiro te možnosti s klikom gumba »Slope Correct« (Popravek naklona) lahko izboljšate podatke iz replikacij, če so izhodiščne ravni vzorca opazno nagnjene. Popravek naklona šuma izboljša podatke, ko opazite, da se ozadja neobdelanih podatkov nagibajo navzgor oz. navzdol pred začetkom točko (C_T).

Kjer naklon ni stalen oz. začetni cikli izhodiščne ravni kažejo znatno povečanje ali zmanjšanje signala v primerjavi s preostalim delom krivulje, lahko popravek naklona šuma privede do nekaterih neželenih učinkov, npr. da krivulje negativnega kontrolnika prečkajo prag zaradi približevanja izhodiščne ravni kot linija najboljše skladnosti in temu primerne normalizacije neobdelanih podatkov. Posledično ta funkcija ne izboljša kakovost podatkov v vseh primerih in jo je treba uporabljati samo, če krivulje neobdelanih podatkov prikazujejo stalen naklon.

Prilagoditev začetne točke

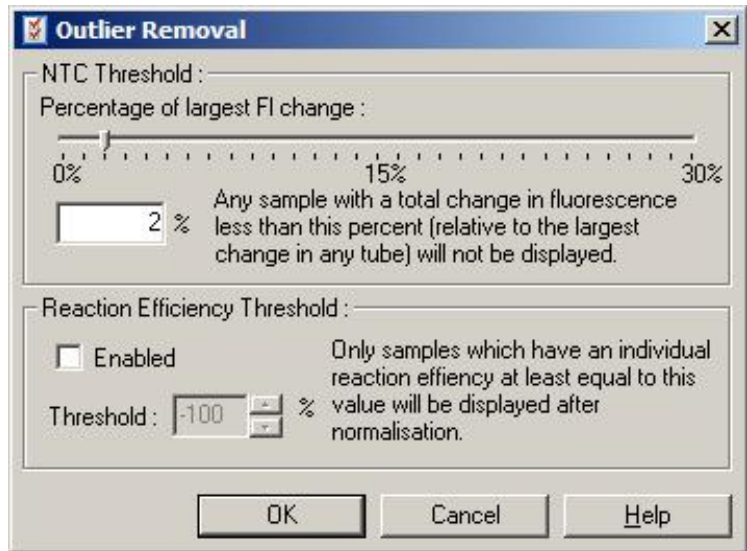
Algoritem prilagoditve začetne točke se lahko uporablja za določanje minimalne dolžine izhodiščne ravni, ki se uporablja za normalizacijo. Za uveljavitev prilagoditve začetne točke morate določiti dva parametra. Če je začetna točka izračunana z možnostjo »Dynamic Tube« (Dinamična epruveta), ki je nižja od prvega parametra, potem se drugi parameter uporablja kot začetna točka. Prilagoditev začetne točke se lahko uporablja samo v povezavi z normalizacijo »Dynamic Tube« (Dinamična epruveta).

Ignoriraj prvo

Fluorescenčni signal iz prvih nekaj ciklov v poteku morda ne bo veljaven za preostanek poteka. Iz tega razloga lahko boljše rezultate dosežete če prvih nekaj ciklov ignorirate. Ignorirate lahko do 10 ciklov. Vendar, če so prvi cikli videti podobni naslednjim ciklom, lahko boljše rezultate dosežete s preklicem izbire možnosti »Ignore First« (Ignoriraj prvo), ker bo imel algoritem normalizacije več podatkov za delov.

Odstranjevanje odstopanja

Za razlikovanje med manjšimi spremembami v fluorescenci in dejanskimi reakcijami brez kontrolnikov predloge (no template controls, NTCs), sta zagotovljena 2 ukrepa: »NTC Threshold« (Prag NTC) in »Reaction Efficiency Threshold« (Prag učinkovitosti reakcije). Možnost »NTC Threshold« (Prag NTC) je priporočen za večino aplikacij. Uporabljen pristop je treba potrditi.



NTC Threshold (Prag NTC): S tem so lahko vzorci ali NTC-ji, ki imajo rahel dvig navzgor, izločeni iz analize. Vsi vzorci s spremembo pod možnostjo »NTC Threshold« (Prag NTC) ne bodo sporočeni in oznaka »NEG (NTC)« bo prikazana v stolpcu »CT Comment« (Komentar CT).

Odstotek je relativen za največjo maksimalno spremembo, ki jo najdete v kateri koli epruveti. Na primer, če se je en vzorec začel v ozadju 2 FI in se poveča na 47 FI, potem 45 FI predstavlja 100 %. Možnost »NTC Threshold« (Prag NTC) 10 % bi vsak vzorec, manjši od 4,5 FI, smatrala kot šum.

Reaction Efficiency Threshold (Prag učinkovitosti reakcije): Možnost »Reaction Efficiency Threshold« (Prag učinkovitosti reakcije) je alternativna metoda za izločanje šuma iz analize. Ta algoritem normalizacije uporablja tehnike ocene učinkovitosti normalizacije, ki jo uporabljajo v primerjalni kvantifikaciji (glejte poglavje 7.6.6). Vsi vzorci, katerih

učinkovitost reakcije ni vsaj na tej ravni, so izločeni in oznaka »NEG (R.Eff)« se bo prikazala v stolpcu »CT Comment« (Komentar CT).

Raven 0 % nakazuje, da med eksponentno fazo ni prišlo do nobene reakcije. 100 % nakazuje, da je bila med eksponentno fazo izvedena celotna učinkovita reakcija. Negativni odstotki nakazujejo, da je med eksponentno fazo fluorescenčni signal upadel.

Trenutna raziskava ni prepričljiva glede natančnih ravni učinkovitosti, ki so potrebne za razločevanje pristnih reakcij iz kontaminacije in drugih učinkov. Iz tega razloga priporočamo konzervativno uporabo te funkcije, z domnevo, da bo imel kateri koli vzorec s pristno reakcijo določeno vidno eksponentno fazo s povečanjem fluorescence. Nastavljanje te vrednosti višje od 0 % bo izločilo nekatere vzorce z neučinkovitim, vendar zaznavnim povečanjem fluorescence, medtem ko bo nastavitev pod 0 % prikazala vzorce z zmanjšano fluorescenco med eksponentno fazo, kar bi jasno moralo biti izključeno.

Opomba: Če je vrednost izključena zaradi aktivacije katere koli od teh tehnik, ne bo prikazana ustrezna vrednost C_T v oknu »Quantitation Results« (Rezultati kvantifikacije). Istočasno bo v stolpcu »Ct Comment« (Komentar Ct) prikazana oznaka, ki nakazuje na izločitev. Zato je pomembno zagotoviti, da je stolpec »Ct Comment« (Komentar Ct) prikazan ves čas.

Na spodnji sliki so bili vzorci 7, 8 in 9 izključeni zaradi možnosti »Reaction Efficiency Threshold« (Prag učinkovitosti reakcije).

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

Naklon, amplifikacija učinkovitost reakcije

Naklon (M) reakcije (prikazan v oknu »Standard Curve« (Standardna krivulja)), se lahko uporablja za določanje eksponentne amplifikacije in učinkovitosti reakcije z uporabi naslednjih izračunov:

Eksponentna amplifikacija = $10^{(-1/M)}$

Učinkovitost reakcije = $[10^{(-1/M)}] - 1$

Optimalne vrednosti za M, eksponentno amplifikacijo in učinkovitost reakcije so –3.322, 2, in 1. Učinkovitost reakcije je prikazana v poročilu (v polnih in standardnih poročilih glejte stran 7-13) in oknu »Standard Curve« (Standardna krivulja).

Naklon je izračunan kot sprememba v C_T , razdeljena s spremembo v vnosu logaritma (npr. številka kopije). 100 % učinkovita amplifikacija pomeni podvajanje izdelka amplifikacije v vsakem ciklu kar povzroči vrednost $M - 3.322$, faktor amplifikacije 2 in učinkovitost reakcije 1.

Če vrednost M znaša –3,322, so izračuni naslednji:

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

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

Kot alternativni primer: vrednost M 3,8 pomeni, da ima reakcija eksponentno amplifikacijo približno 1,83 in učinkovitost reakcije 0,83 (ali 83 %).

Zamik

V formuli, ki opisuje razmerje med 2 spremenljivkama, je zamik izražen s črko ($y = Mx + B$). Zamik je včasih poimenovan tudi kot odsek. B predstavlja C_T za dano koncentracijo 1 enote. Z zamenjavo 1 v formulo koncentracije kot je prikazano spodaj:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

Rezultat je $C_T = B$

Odsek se lahko spreminja od poteka do poteka in je manj stabilna meritev kot gradient. Zaradi tega je gradient analiziran pogosteje kot odsek.

Glavno okno

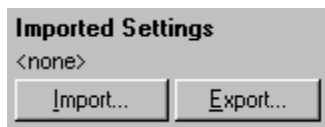
Glavno okno prikazuje predele amplifikacije na logaritemskem merilu.

S klikom na možnost »Linear Scale« (Linearno merilo) v spodnjem delu zaslona spremenite merilo iz logaritemskega merila v linearno merilo in obratno. Preklapljanje med tema meriloma spremeni skalo prikaz grafov, ne pa tudi izračunov. To lahko preverite z uporabo kazalca, tako da desnokliknete na graf in izberete možnost »Show pinpointer« (Prikaži kazalec). Z uporabo logaritemskega merila so manjše vrednosti bolj vidne na grafu, medtem ko linearno merilo omogoča pogled celotne reakcije.

Opomba: Predeli amplifikacije se posodablajo v realnem času, ko instrument Rotor-Gene Q MDx aktivno zajema podatke med potekom. Spremljanje podatkov v realnem času omogoča uporabniku ogled rezultatov takoj, ko krivulje prikažejo eksponentno rast. Izvedete lahko predhodne sklepe in sprejmete odločitve za naslednji potek.

Predloge analize kvantifikacije

Predloge analize kvantifikacije uporabniku omogočajo izvoz nastavitvev normalizacije in praga v eno datoteko *.qut. To datoteko je mogoče uvoziti in ponovno uporabiti v drugih poizkusih. Za več podrobnosti glejte poglavje 8.1.



7.6.3 Dve standardni krivulji

Analizo relativnega izražanja genov z uporabo normalizacijskega gena lahko izvedete z uporabo metode z 2 standardnima krivuljama.

Metoda potrebuje standardno krivuljo za vsak gen. Koncentracija za vsak gen je kvantificirana v skladu s svojo standardno krivuljo. Izražanje gena zanimanja je potem normalizirano z normalizacijskim genom (pogosto hišni gen).

Pomembno je, da so standardni in replicirani vzorci med nastavitvijo vzorca pravilno zasnovani (glejte poglavje 6.1.4). Dejansko morajo imeti ustrezni vzorci enako ime v vsaki analizi. V multiplih reakcijah, kjer so položaji epruvete gena zanimanja in normalizacijskega gena enaki, je en niz definicij vzorcev zadosten. Če izvajate relativno analizo z normalizacijskim genom z uporabo enega kanala (tj. reakcije so izvedene v ločenih epruvetah z uporabo enakega fluorofora), potem je treba ustvariti 2 vzorčni strani. Prva mora označevati položaje epruvet z imeni vzorcev za gen zanimanja, medtem ko drugi položaji ostanejo brez imena. Druga pa mora označevati položaje, ki se uporabljajo za normalizacijski gen. Programska oprema bo potem uskladila vzorce v 2 analizah na podlagi njihovih imen.

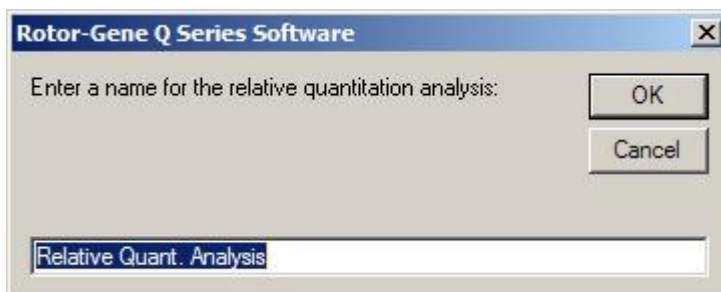
Analiza izražanja z uporabo metode dveh standardnih krivulj

Podatke je mogoče naprej za vsak gen analizirati z uporabo analize kvantifikacije. V nasprotnem primeru bodo rezultati za vsak gen samodejno določeni z uporabo orodja »Autofind Threshold« (Samodejno iskanje praga).

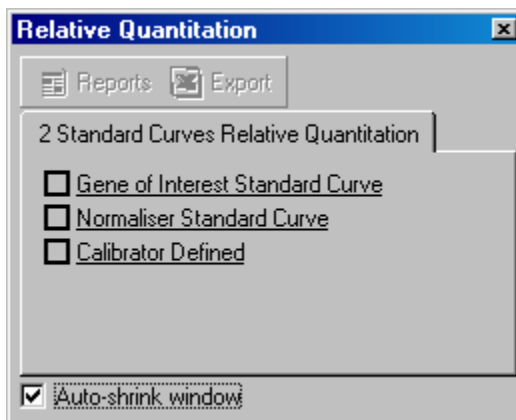
1. V oknu »Analysis« (Analiza) izberite zavihek »2 Std Curve (Rel.)« (2 stand. krivulji (rel.)). Kliknite možnost »New Analysis...« (Nova analiza ...).

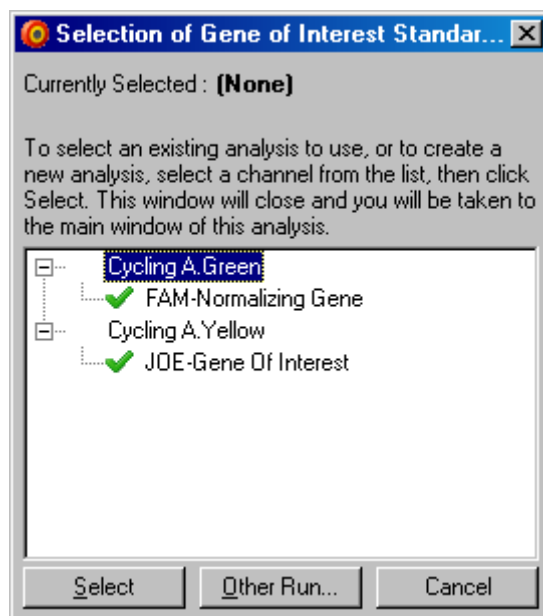


2. Vnesite ime analize.

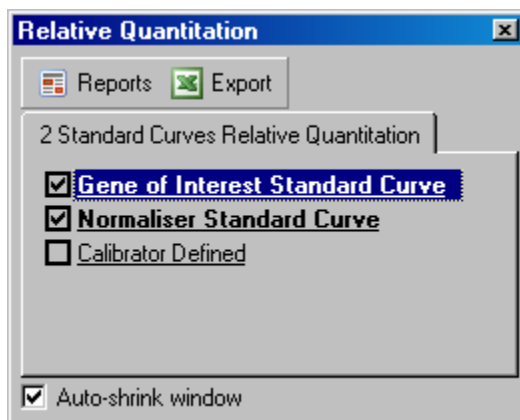


3. Določite strani, ki bodo uporabljene za analizo normalizacijskega gena in analizo gena zanimanja. Na primer, s klikom možnosti »Gene of Interest Standard Curve« (Standardna krivulja gena zanimanja) prikažete okno »Selection of Gene of Interest Standard...« (Izbira standardna gena zanimanja ...). Izberite stran, kjer je bila izvedena kvantifikacija gena zanimanja. Postopek ponovite za normalizacijski gen. Izbirno lahko določite kalibrator. Če je izbrana ta možnost, je kalibratorju dodeljena vrednosti 1 in vse ostale koncentracije vzorca so izračunane glede na ta vzorec.



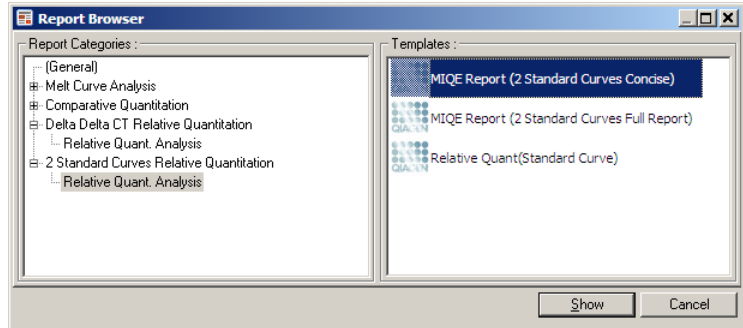


Po dokončanju izbir bodo možnosti označene s kljukico kot je prikazano spodaj.

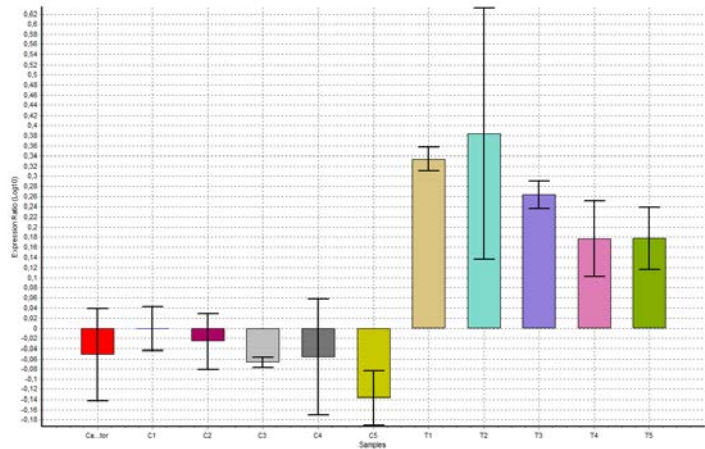


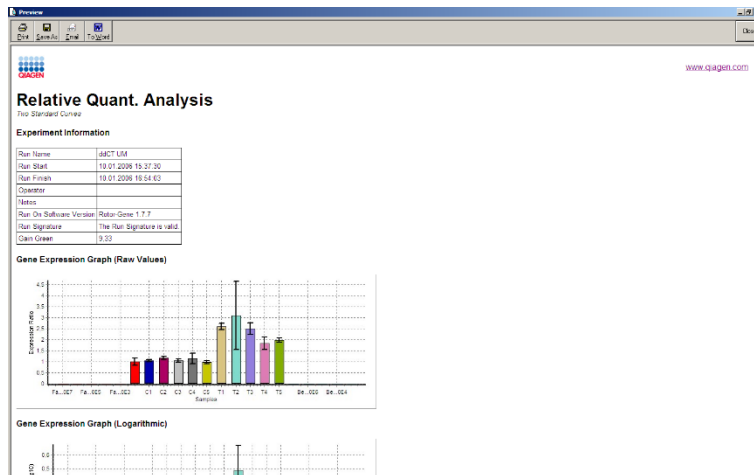
4. Kliknite gumb »Reports« (Poročila), da prikažete možnost »Report Browser« (Brskalnik poročil). S seznama izberite analizo s pravilnim imenom. Kliknite gumb »Show« (Prikaži), da prikažete poročilo relativne kvantifikacije. Možnost »Export« (Izvoz) izvozi rezultate v novo preglednico Excel. Če je vključen kalibrator, so

rezultati izračunani glede na vzorec kalibratorja, ki je dodeljen vrednosti 1.



5. Prikazane so koncentracije, kot so odčitane s standardnih krivulj za gen zanimanja (GOI Conc.) in normalizacijski gen (Norm. Conc.) ter relativna koncentracija (Relative Conc.). Rezultate lahko shranite kor datoteko Word.





6. Vrednosti Rel Min (Rel. najm.) in Rel Max (Rel. najv.) so ustvarjene z izračunom standardnega odklona kvocienta od standardnih odklonov gena zanimanja in normalizatorja z uporabo naslednje formule:

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

kjer:

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

7.6.4 Relativna kvantifikacija delta delta C_T

Metoda delta delta C_T omogoča analizo relativnega izražanja genov. Opisala sta jo Livak in Schmittgen (2001)*.

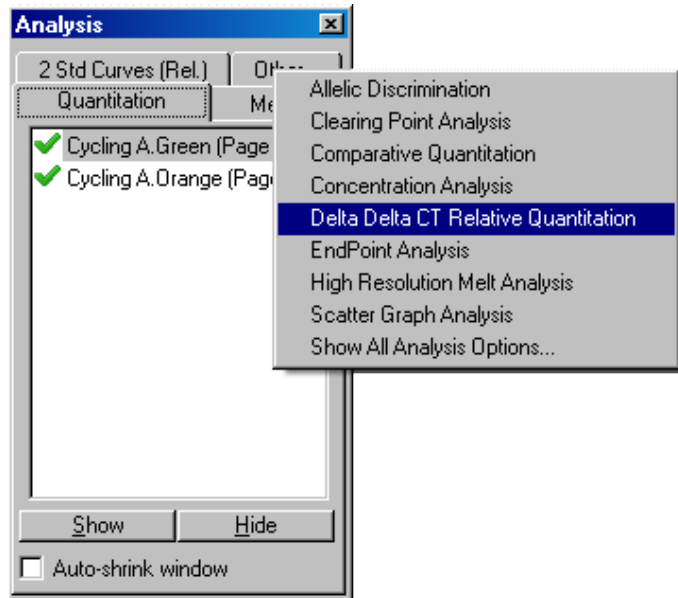
Ta metoda ne potrebuje vključitve standardnih krivulj v vsak potek. Vsak vzorec je najprej normaliziran za količino predloge, dodane v primerjavi z normalizacijskim genom. Te normalizacijske vrednosti so nadalje normalizirane glede na obdelavo s kalibratorjem. Kalibrator bi lahko bil npr. divja vrsta, neobdelani kontrolnik ali vzorci z ničelnim časom.

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

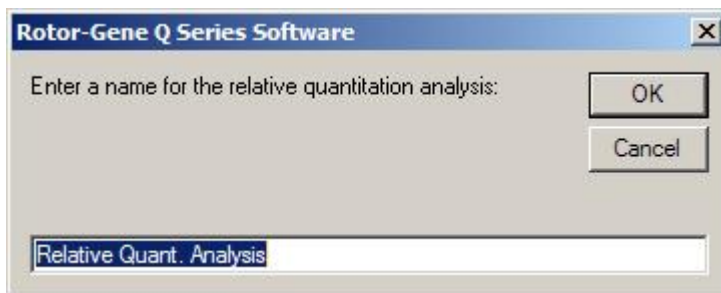
Ključnega pomena je, da so učinkovitosti amplifikacije gena zanimanja in normalizacijskega gena enake in da je to potrjeno v skladu s smernicami Livaka in Schmittgena.

Ključnega pomena je, da so imena vzorcev pravilno določena v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce), pri čemer morajo biti vsi vzorci označeno enako v vsaki analizi kompozitne kvantifikacije.

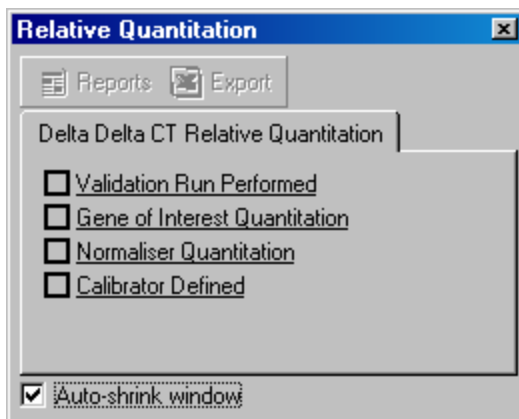
1. Podatke analizirajte z uporabo možnosti »Quantitation« (Kvantifikacija). Ni potrebno zagnati standardne krivulje, ko je bilo potrjevanje izvedeno.
2. V zavihku »Other« (Drugo) v oknu »Analysis« (Analiza) izberite možnost »Delta Delta C_T Relative Quantitation« (Relativna kvantifikacija delta delta C_T). Izberite možnost »New Analysis« (Nova analiza).

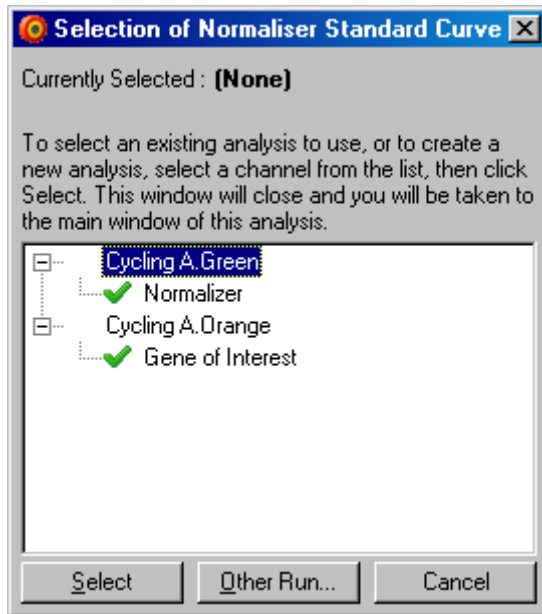


3. Vnesite ime analize.

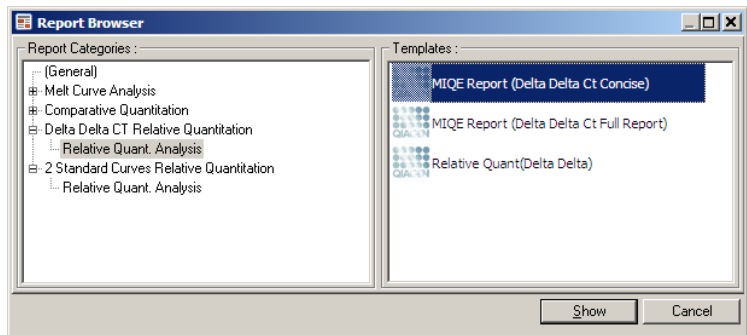


4. Možnost »Validation Run Performed« (Potek potrjevanja izveden) je treba za nadaljevanje analize potrditi. Določite strani, kjer sta bila gen zanimanja in normalizacijski gen analizirana.





5. Kliknite gumb »Reports« (Poročila), da prikažete možnost »Report Browser« (Brskalnik poročil). S seznama izberite analizo s pravilnim imenom. Kliknite gumb »Show« (Prikaži), da prikažete poročilo relativne kvantifikacije. Možnost »Export« (Izvoz) izvozi rezultate v novo preglednico Excel. Če je vključen kalibrator, so rezultati povezani z vzorcem kalibratorja z vrednostjo 1.



Primer rezultata iz te analize je prikazan spodaj. Vrednosti C_T za gen zanimanja (GOI C_T), vrednosti C_T za normalizacijski gen (Norm. C_T), Delta C_T , Delta Delta C_T in relativna koncentracija (relative concentration, Relative Conc.) so prikazane. Izražanje je relativno glede na vzorec kalibratorja, kateremu je dodeljeno relativno izražanje 1.

Za nadaljnje informacije o derivaciji izračunov Rel Min (Rel. najm.) in Rel Max (Rel. najv.) glejte Litvaka in Schmittgena (2001).*

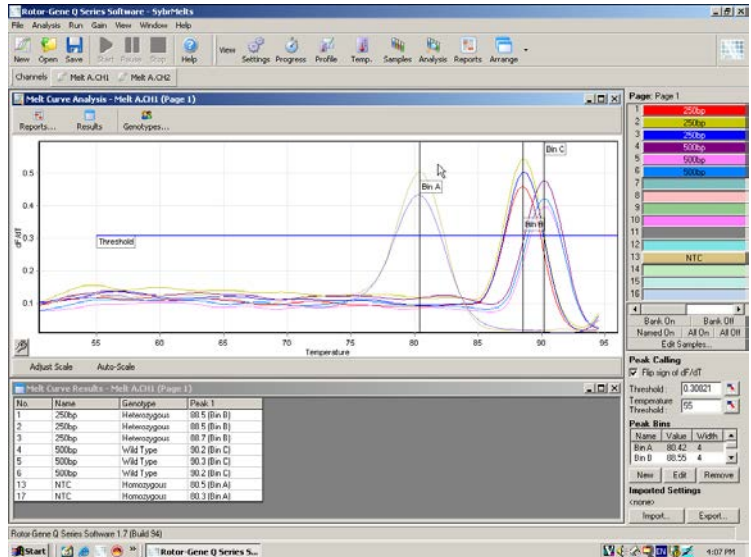
C	Replicate Name	GOI C_T	Norm. C_T	Delta C_T	Delta Delta C_T	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	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	
	Q5 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	
	Q54	32.67	28.29	4.38	-0.43	1.34925	1.09820	1.65770	
	Q53	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	Q52	26.88	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	Q51	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

7.6.5 Analiza talitvene krivulje

Analiza talitvene krivulje analizira odvode neobdelanih podatkov po glajenju. Ta analiza se običajno uporablja za genotipiziranje in alelno diskriminacijo. Vrhi v krivulji so združeni v skupine in vsi vrhovi pod pragom so zavrženi. Skupine je mogoče potem mapirati za genotipe z uporabo ukaza »Genotypes« (Genotipi).

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

Ko je potek dokončan, je za nekatere kemije mogoče dodati talitveni korak, in sicer za vizualizacijo ločevalne kinetike amplificiranih izdelkov. Temperatura se povečuje z linearno stopnjo in fluorescenca vsakega vzorca je posneta. Tipična analiza talitvene krivulje je prikazana spodaj.



Peak Calling

Flip sign of dF/dT

Threshold :

Temperature Threshold :

Peak Bins


Name	Value	Width
Bin A	80.42	4
Bin B	88.55	4


New Edit Remove

Imported Settings

<none>

Import... Export...

Flip sign of dF/dT (Obrni znak dF/dT):	Pred določanjem vrhov zagotovite, da je znak dF/dT pravilen za niz podatkov, da pridobite pozitivne vrhove.
Defining peaks (Določanje vrhov):	<p>V analizi talitvene krivulje je vrhove mogoče določiti in sporočiti z uporabo različnih metod. Ena od njih je samodejni priklic vseh vrhov za vsak vzorec. Druga je, da vrhove dodelite skupinah, kar je uporabno za genotipiziranje.</p> <p>Skupine določajo območje, kjer je pričakovan nastanek vrhov. Programska oprema za analizo talitvene krivulje združuje vrhove v skupine, in sicer na podlagi dejanskih vrednosti vrhov v krivulji. Skupine lahko po potrebi urejate.</p> <p>Vsak vrh, ki se nahaja znotraj določenega razpona skupine, bo dodeljen skupini. Če sta si 2 skupini blizu, potem bo vrh dodeljen najbližji skupini.</p> <p>Opomba: Skupin za ocenjevanje položajev vrhov ne smete nameščati vizualno. Skupine namestite v približno območje zanimanja, potem pa za bolj natančne analize uporabite dejansko sporočene vrednosti v tabeli rezultatov.</p>
Peak Bins (Skupine vrhov):	Za določanje skupine kliknite gumb »New Bin« (Nova skupina), potem pa kliknite in zadržite na grafu, da določite sredino skupine. Za dodajanje druge skupine postopek ponovite. Uporabite gumb »Remove«, da izbrišete skupine.
Threshold (Prag):	Za nastavljanje praga (os y) kliknite ikono  , potem pa kliknite in zadržite na grafu ter povlecite linijo praga na želeno raven.

Temperature Threshold (Prag temperature): Za nastavljanje praga temperature (os x) kliknite ikono , potem pa kliknite in zadržite na grafu ter povlecite linijo praga v desno. S tem izločite linijo praga za najnižje temperature.

Opomba: To je uporabno, ko se v signalu pri nizkih temperaturah nahaja šum.

Poročila

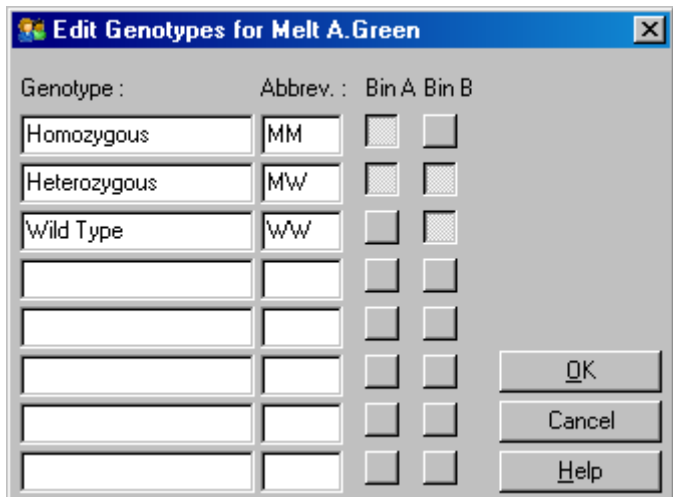
S tem odprete možnost »Report Browser« (Brskalnik poročil), kjer si lahko poročilo izberete za predogled. Poročilo je mogoče ustvariti na podlagi trenutno izbranega kanala oz. lahko ustvarite poročilo večkanalnega genotipiziranja.

Rezultati

S tem prikažete okno »Melt Curve Results« (Rezultati talitvene krivulje), ki prikazuje vrhove vzorca.

Genotipi

Kliknite možnost »Genotypes...« (Genotipi ...) in izberite genotipe kot je prikazano spodaj.

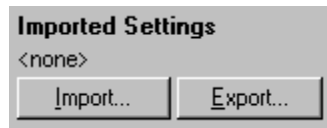


To okno omogoča dodeljevanje genotipov pojavu vrhov v skupinah. Privzeta konfiguracija genotipa je prikazana na posnetku zaslona, pri čemer imajo heterozigotni vzorci 2 vrha, homozigotni vzorci vrh v prvi skupini, vzorci divjega tipa pa vrh v drugi skupini. Kratico lahko vpišete v polje poleg imena vsakega genotipa. To se uporablja pri tiskanju poročil večkanalnega genotipiziranja, tako da je mogoče enostavno brati vse rezultate iz več kanalov.

Za multiplo analizo je treba genotipe nastaviti v vsakem kanalu. Če, npr. zažene analizo dvokanalnega pridušenega FRT, kjer v vsakem kanalu pričakujete divji tip in heterozigotni genotip, je treba parametre skupine nastaviti za vsak kanal. Rezultati bodo potem podani v multiplem poročilu.

Predloge analize talitve

Predloge analize talitve uporabniku omogočajo izvoz nastavitvev normalizacije, praga, genotipa in nastavitvev skupine v eno datoteko *.met. To datoteko je mogoče uvoziti in ponovno uporabiti v drugih poizkusih. Za več podrobnosti glejte poglavje 8.1.



7.6.6 Primerjalna kvantifikacija

Primerjalna kvantifikacija primerja relativni izraz vzorcev s kontrolnim vzorcem v poteku, ko standardna krivulja ni na voljo. To se pogosto uporablja v analizi mikropolj. Warton in sodelavci (2004)* zagotavljajo primer te tehnike.

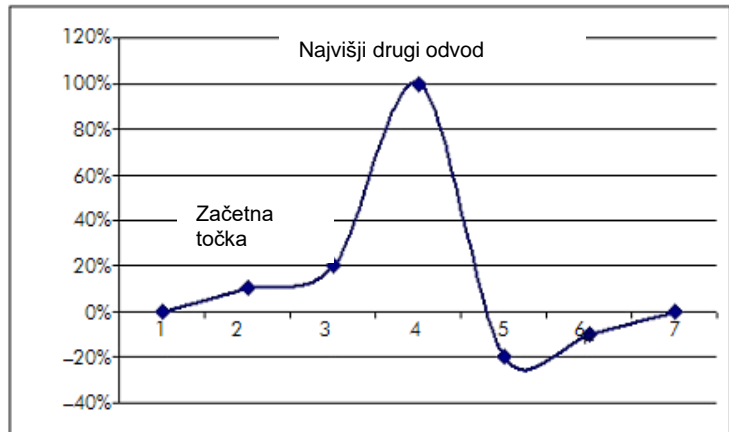
1. Za izvajanje analize izberite možnost »Other« (Drugo) in možnost »Comparative quantitation« (Primerjalna kvantifikacija) v oknu »Analysis« (Analiza). Za analizo dvokliknite na kanal.

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

2. Z uporabo spustnega menija na desni strani zaslona pod gumbom za preklon izberite kontrolni vzorec.
3. Rezultati so samodejno izračunani in prikazani v oknu »Comparative Quantitation Results« (Rezultati primerjalne kvantifikacije) pod grafom.

Prvi stolpci okna »Comparative Quantitation Results« (Rezultati primerjalne kvantifikacije) prikazujejo številko in ime vzorca. Stolpec »Takeoff« (Začetek) podaja začetno točko vzorca. Drugi odvod predela amplifikacije proizvaja vrhe, ki se skladajo z najvišjo stopnjo povečanja fluorescence v reakciji. Točka začetka je določena kot cikel, pri katerem je drugi odvod pri 20 % najvišje stopnje, in nakazuje na konec šuma in prehod v eksponentno fazo.

Ta graf prikazuje drugi odvod predela amplifikacije, ki prikazuje relativne položaje vrha drugega odvoda in začetno točko.

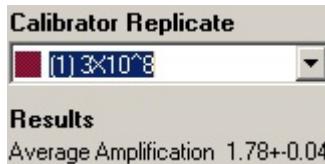


Stolpec »Amplification« (Amplifikacija) zagotavlja učinkovitost vzorca. 100 % učinkovita reakcija bi povzročila vrednost amplifikacije 2 za vsak vzorec, kar pomeni, da se je pomnožek podvojil v vsakem ciklu. V neobdelanih podatki se mora signal v eksponentni fazi podvajati. Na primer, če je vrednost pri ciklu 12 znašala 50 fluorescenčnih enot, potem pa 51 fluorescenčnih enot pri ciklu 13, bi se morala pri ciklu 14 povečati na 53 fluorescenčnih enot. Vse vrednosti

amplifikacije za vsak vzorec so povprečene za proizvodnjo vrednosti amplifikacije, ki je prikazana na desni strani zaslona pod gumbom za preklon. Večja je razlika med ocenjenimi vrednostmi vsakega vzorca večji bo interval zaupanja (indicirano z vrednostjo po znaku \pm). Interval zaupanja, za večje število vzorcev (N), omogoča 68,3 % verjetnost, da se resnična amplifikacija vzorcev nahaja znotraj tega razpona (1 standarden odklon). S podvajanjem intervala \pm dosežemo interval zaupanja 95,4 % za velik N.

Replikacija kalibratorja

Pri metodi delta delta C_T je potreben vzorec kalibratorja in meritve so relativne temu vzorcu kalibratorja. Replikacije kalibratorja lahko analizirate, saj bo v primeru istega imena več položajev vzorcev uporabljeno povprečje začetnih točk vzorcev. Za pravilno uporabo te funkcije zagotovite, da imajo replikacije enaka imena.



Za izračun izražanja je uporabljena povprečna amplifikacija. Na primer, vzorec z nižjo vrednostjo amplifikacije bo potreboval več časa za doseganje določene absolutne številke kopij kot vzorec z višjo vrednostjo amplifikacije. Stolpec »Rep. Conc.« (Konc. rep.) v oknu »Comparative Quantitation Results« (Rezultati primerjalne kvantifikacije) zagotavlja relativno koncentracijo. Relativna koncentracija vsakega vzorca v primerjavi z vzorcem kalibratorja je izračunana na podlagi začetne točke in učinkovitosti reakcije. To je izraženo v znanstveni opombi.

Opomba: Vrednost, ki je prikazana v možnosti »Average Amplification« (Povprečna amplifikacija) na desni strani znaka \pm , predstavlja standardni odklon povprečne amplifikacije po odstranitvi odstopanja vrednosti amplifikacije. Če je vrednost velika, potem bi lahko prišlo do

velike napake v skupno izračunanih vrednostih koncentracije.

Relativne koncentracije so s programsko opremo izračunane na naslednji način:

1. Začetna točka vsakega vzorca je izračunana z upoštevanjem vrhov drugega odvoda.
2. Izračunano je povprečno povišanje v ciklih neobdelanih podatkov 4 po začetku. To je vrednost amplifikacije za vzorec.
3. Amplifikacije odstopanj so odstranjene, da upoštevajo šum in fluorescenco v ozadju.
4. Preostale amplifikacije so povprečene. To je povprečna amplifikacija.
5. Povprečna začetna točka je izračunana za vsako replikacijo kalibratorja.
6. Relativna koncentracija za vzorec je izračunana kot $\text{amplifikacija}^{(\text{začetek kalibratorja} - \text{začetek vzorca})}$.
7. Rezultat je prikazan v znanstveni opombi v stolpcu »Rep. Conc.« (Konc. rep.) v oknu »Comparative Quantitation Results« (Rezultati primerjalne kvantifikacije).

7.6.7 Alelna diskriminacija

Alelna diskriminacija uporablja kinetične podatke v realnem času iz 2 ali več kanalov za genotipiziranje vzorcev. Za izvajanje te analize izberite možnost »Other« (Drugo) in možnost »Allelic Discrimination« (Alelna diskriminacija) v oknu »Analysis« (Analiza). Pri izvajanju alelne diskriminacije za analizo ni dovolj samo dvoklik na en kanal, saj je ta analiza izvedena z istočasno uporabo več kanalov. Za izvedbo te analize pritisnite in zadržite tipko CTRL ter kliknite, da poudarite vsak kanal, ki ga želite analizirati, ali kazalec miške povlecite nad te kanale. Ko so želeni kanali poudarjeni, kliknite možnost »Show« (Prikaži). Seznam se bo posodobil, da prikaže vse kanale v eni liniji, poleg katerih bo kljukica. To pomeni, da bodo vsi uporabljeni v eni analizi. Za odstranjevanje enega ali več teh kanalov desnokliknite na analizo in izberite možnost »Remove Analysis...«

(Odstrani analizo ...). Te kanale je potem mogoče vključiti v drugo analizo alelne diskriminacije. Kanale je mogoče uporabiti samo v eni analizi naenkrat.

Reports
(Poročila): S tem poročilo »Allelic Discrimination Analysis« (Analiza alelne diskriminacije) odprete za predogled.

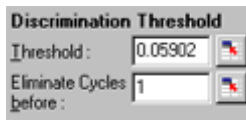
Results
(Rezultati): S tem prikažete okno »Allelic Discrimination Results« (Analiza alelne diskriminacije). To okno se ob prvem prikazu analize odpre po privzeti nastavitvi.

Normalization options
(Možnosti normalizacije): Za optimizacijo normalizacije neobdelanih podatkov so na voljo številne možnosti:

- Dynamic Tube (Dinamična epruveta) (normalizacija dinamične epruvete)
- Slope Correct (Popravek naklona) (popravek naklona šuma)
- Ignore First x cycles (Prezri prvih x ciklov) (popravek šuma v začetnih nizih)
- Takeoff point adjustment (Prilagoditev začetne točke)

Za več podrobnosti glejte stran 7-28.

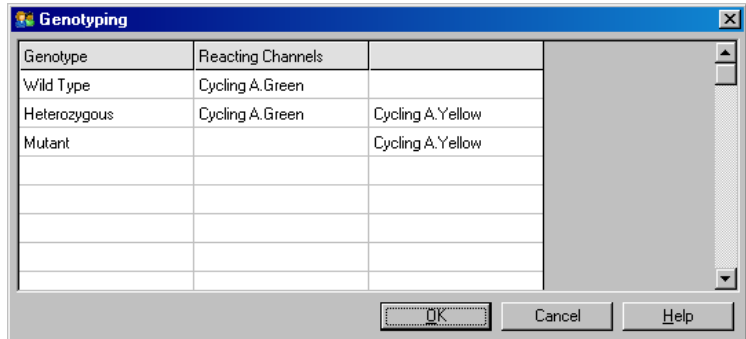
Discrimination Threshold
(Prag diskriminacije): Vnesite vrednosti v ta besedilna polja, da namestite prag diskriminacije. Vse krivulje, ki presegajo ta prag, so smatrane kot vzorci genotipiziranja. Kliknite ikono na desni strani vsakega besedilnega polja, potem pa povlecite prag na grafu, da vizualno nastavite te vrednosti.



Genotypes
(Genotipi):

S tem odprete okno »Genotyping« (Genotipiziranje), ki se uporablja za določanje kateri genotip je zaznan v vsakem kanalu. To okno omogoča dodelitev genotipov kanalom za analizo alelne diskriminacije.

Na spodnjem primeru je vzorec heterozigoten, če odčitki v kanalih Cycling A.Green (A. kroženja, zeleno) in Cycling A.Yellow (A. kroženja, rumeno) presegajo prag.



Allelic analysis templates
(Predloge alelne analize):

Predloge alelne diskriminacije omogočajo izvoz nastavitve normalizacije, praga in genotipa v eno datoteko *.alt. To datoteko je mogoče uvoziti in ponovno uporabiti v drugih poizkusih. Za več podrobnosti glejte poglavje 8.1.



7.6.8 Analiza grafa raztrosa

Analiza grafa raztrosa omogoča genotipiziranje na podlagi relativnega izražanja predelov amplifikacije v 2 kanalih. Za razliko od alelne diskriminacije je genotip določen na podlagi območij, ki so opredeljene iz grafa raztrosa in ne iz enega praga. Za izvajanje te analize izberite možnost »Other« (Drugo) in možnost »Scatter Graph Analysis« (Analiza grafa raztrosa) v oknu »Analysis« (Analiza).

Pri izvajanju analize grafa raztrosa za analizo ni dovolj samo dvoklik na en kanal, saj je ta analiza izvedena z istočasno uporabo 2 kanalov. Za izvedbo te analize pritisnite in zadržite tipko SHIFT ter kliknite, da poudarite kanala, ki ju želite analizirati, ali kazalec miške povlecite nad kanala. Ko so zeleni kanali poudarjeni, kliknite možnost »Show« (Prikaži).

Seznam se bo posodobil, da prikaže vse kanale v eni liniji, poleg katerih bo kljukica. To pomeni, da bodo vsi uporabljeni v eni analizi. Za odstranjevanje enega ali več teh kanalov desnokliknite na analizo in izberite možnost »Remove Analysis...« (Odstrani analizo ...). Te kanale je potem mogoče vključiti v drugo analizo grafa raztrosa. Kanale je mogoče uporabiti samo v eni analizi naenkrat.

Reports
(Poročila): S tem poročilo »Scatter Analysis« (Analiza raztrosa) odprete za predogled.

Results
(Rezultati): S tem prikažete okno »Scatter Analysis Results« (Rezultati analize raztrosa). Genotip za vsak vzorec je določen z območji, ki jih uporabnik določi na grafu raztrosa.

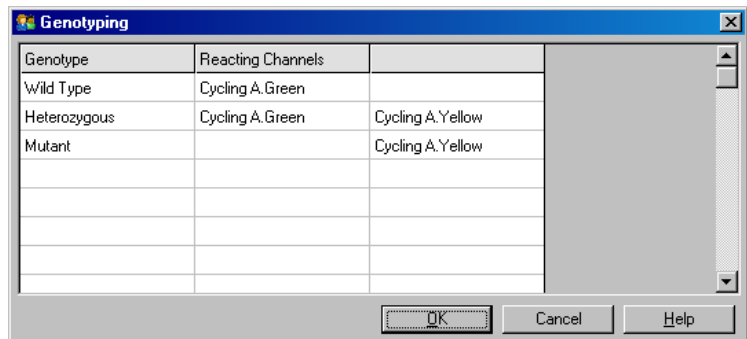
Normalization options (Možnosti normalizacije): Za optimizacijo načina normalizacije predelov neobdelanih podatkov so na voljo številne možnosti:

- Dynamic Tube (Dinamična epruveta) (normalizacija dinamične epruvete)
- Slope Correct (Popravek naklona) (popravek naklona šuma)
- Ignore First x cycles (Prezri prvih x ciklov) (popravek šuma v začetnih nizih)
- Takeoff point adjustment (Prilagoditev začetne točke)

Za več podrobnosti glejte stran 7-28.

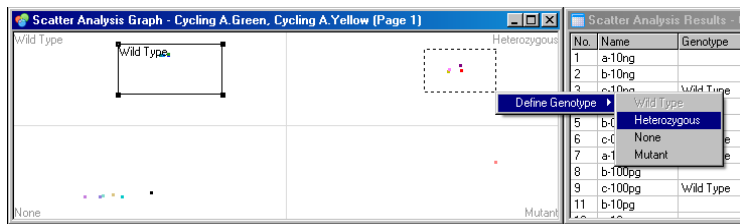
Genotypes... (Genotipi ...):

S tem odprete okno »Genotyping« (Genotipiziranje), ki se uporablja za določanje kateri genotip je zaznan v vsakem kanalu. V tem oknu lahko genotipe dodelite na podlagi kanalov, v katerih pride do reakcije vzorca. Izbrani kanali bodo uporabljeni za označevanje kotov grafa raztrosa in bodo uporabnika vodili do splošnega območja grafa raztrosa, v katerem je treba določiti dele.



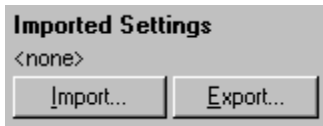
Scatter Graph (Graf raztrosa): Graf raztrosa prikazuje relativno izražanje 2 izbranih kanalov. Prikaz je normaliziran, da prikaže različna povečanja pregibanja v vsakem kanalu in spremenjene logaritme za poudarjanje razlik v izražanju med vzorci.

Za izvajanje genotipiziranja uporabnik določi območja, tako da izbiri klikne in povleče v graf. Izbira je lahko potem označena na podlagi genotipov, ki so konfigurirani v oknu »Genotyping« (Genotipiziranje).



Scatter graph analysis templates (Predloge analize grafa raztrosa):

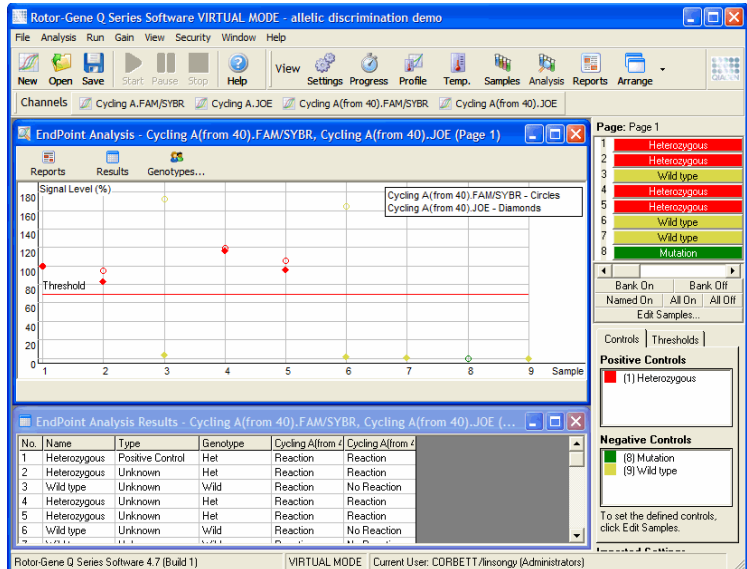
Predloge analize grafa raztrosa omogočajo izvoz nastavitvev genotipa in območij v eno datoteko *.sct. To datoteko je mogoče uvoziti in ponovno uporabiti v drugih poizkusih. Za več podrobnosti glejte poglavje 8.1.



7.6.9 EndPoint analysis (Analiza končne točke)

Možnost EndPoint analysis (Analiza končne točke) omogoča diskriminacijo med vzorci z amplifikacijo in brez nje na koncu poteka. Rezultati so kvalitativni (pozitivni/negativni), ne kvantitativni.

Možnost EndPoint analysis (Analiza končne točke) je prikazana na spodnjem posnetku zaslona.



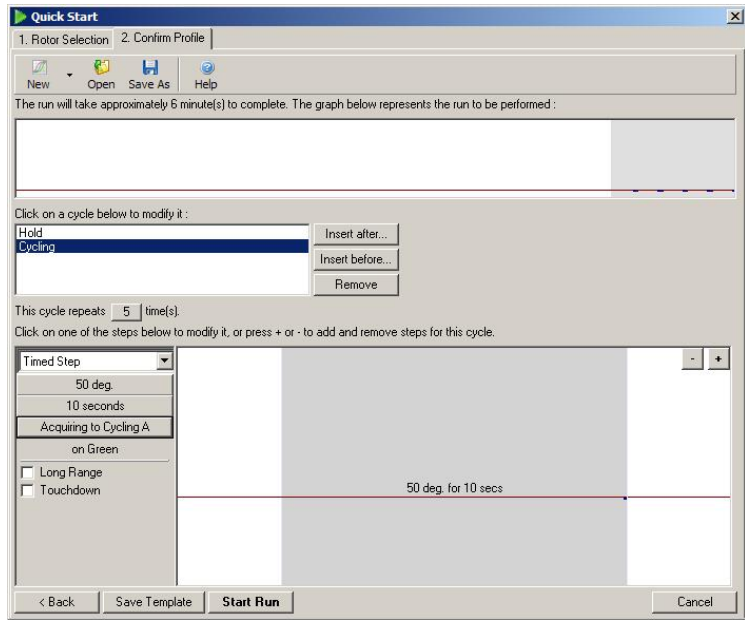
Možnost EndPoint analysis (Analiza končne točke) je podobna alelni diskriminaciji, v kateri so rezultati kvalitativni in v kateri je imena mogoče dodeliti z določenimi permutacijami reakcij v različnih kanalih. Vendar pa je v možnosti »EndPoint analysis« (Analiza končne točke) za razliko od alelne diskriminacije na voljo samo posamično branje, ki uporablja branje cikla po ciklu za vsak vzorec. To pomeni, da mora uporabnik identificirati pozitivne in negativne kontrolnike za omogočanje analize. Za neobdelane podatke so ravni signala normalizirane glede na znane pozitivne in negativne kontrolnike za vsak kanal. Uporabnik potem odstotkovno raven signala izbere kot prag.

Pojmi, ki so uporabljeni v možnosti EndPoint analysis (Analiza končne točke)

Nekateri pojmi, ki se uporabljajo v možnosti EndPoint analysis (Analiza končne točke), so razloženi spodaj.

Positive control (Pozitivni kontrolnik):	To je vzorec, pri katerem prihaja do amplifikacije.
Negative control (Negativni kontrolnik):	To je vzorec, pri katerem ne prihaja do amplifikacije. To predstavlja tipičen signal v ozadju.
Threshold (Prag):	Prag je raven signala nad katerim vzorec velja za pozitivnega (z amplifikacijo). To nastavitev mora uporabnik prilagoditi za vsak potek.
Signal level (Raven signala):	Odstotek fluorescenčnega signala, normaliziranega tako, da je najvišji signal pozitivnih krmilnikov 100 %. najnižji signal negativnih krmilnikov pa 0 %.
Genotype (Genotip):	Interpretacija različnih permutacij reakcij v različnih kanalih. Na primer, genotip »heterozigoten« je mogoče dodeliti vzorcem, ki v obeh kanalih reagirajo zeleno in rumeno. Genotip lahko uporabite tudi za poročanje rezultatov reakcij z notranjimi kontrolniki. Na primer, rezultate je mogoče poročati kot »inhibited« (preprečeno), »positive« (pozitivno) ali »negative« (negativno), odvisno od tega, ali je bila reakcija opažena v določenih kanalih ali ne.

Konfiguracija profila



Za izvajanje možnosti EndPoint analysis (Analiza končne točke) izvedite profil z večminutnim čakanjem pri 50 °C, potem pa korak kroženja z 1 korakom (50 °C v 10 sekundah), z zajemom na potrebnem kanalu. Število ponovitev nastavite na 5, kot je prikazano zgoraj. Ti časi so samo vodilo in se lahko za določeno uporabo razlikujejo. Več ponovitev se nahaja v profilu več informacij bo na voljo za izvedbo analize. Analiza bo samodejno izračunala povprečje vseh odčitkov, da doseže eno vrednost za vsak vzorec. Določeno število ponovitev ni potrebno. Če je potrebna zelo visoka raven natančnosti, je običajno 5 ponovitev dovolj.

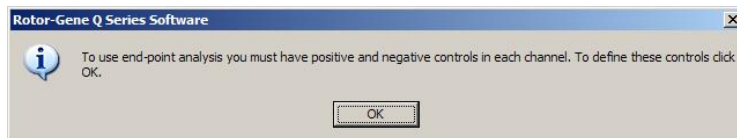
Analiza

Možnost EndPoint analysis (Analiza končne točke) je mogoče istočasno izvesti za več kanalov. Za ustvarjanje nove analize kliknite zavihek »EndPoint« (Končna točka), izberite kanale, tako da s kazalcem miške povlečete nad njimi, in kliknite možnost »Show« (Prikaži).



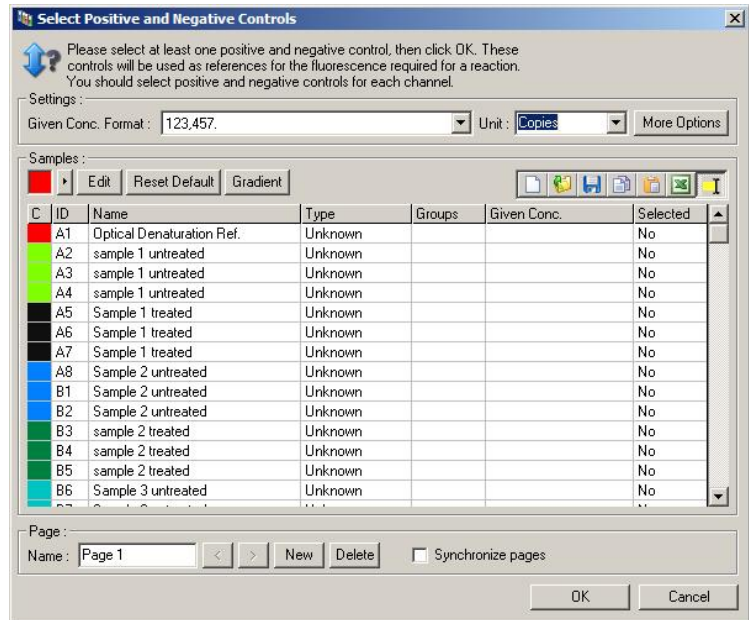
Določanje kontrolnikov

Ko je prvič odprta možnost EndPoint analysis (Analize končne točke), bo naslednje sporočilo prikazano, če niste določili pozitivnih in negativnih kontrolnikov.



Kliknite možnost »OK« (V redu). Pojavi se okno »Edit Samples« (Uredi vzorce), kar omogoča določanje pozitivnih in negativnih kontrolnikov. Za določanje vzorca kot pozitivni ali negativni kontrolnik kliknite celico istega tipa, potem pa v spustnem meniju izberite ustrezen tip kontrolnika.

Opomba: Kontrolnike je treba za izvedbo analize preklopiti v položaj »on« (vklj.), in sicer z uporabo gumba za preklop na desni strani glavnega okna.



Ta zaslon deluje na enak način kot okno »Edit Samples« (Uredi vzorce) (poglavje 6.1.4).

Normalizacija

Normalizacija podatkov EndPoint analysis (Analiza končne točke) skalira vse ravni signala znotraj razpona 0–100 %. Izbrati morate vsaj en pozitiven in en negativen kontrolnik oz. več, če analize več kanalov in standardov niso multiple. Če je prisotno tveganje, da pri pozitivnem kontrolniku ne bo prišlo do amplifikacije, je treba izbrati več kot en pozitivni in negativen kontrolnik.

1. Za vsak kanal so analizirani vsi pozitivni kontrolniki in tisti z najvišjo fluorescence je nastavljen na 100 %. To pomeni, da je v primeru poteka dvojnih kontrolnikov, lahko pozitivni nadzor brez vpliva na potek.
2. Vsi negativni kontrolniki so analizirani in tisti z najnižjo ravno fluorescence je nastavljen na 0%.
3. Neobdelane vrednosti fluorescence preostalih vzorcev so skalirane glede na najvišji pozitivni kontrolnik in najnižji negativni kontrolnik.

Na primer:

Vzorec	Vrsta	Fluorescenca
1	Positive control (Pozitivni kontrolnik)	56,3
2	Positive control (Pozitivni kontrolnik)	53,0
3	Negative control (Negativni kontrolnik)	4,5
4	Negative control (Negativni kontrolnik)	4,3
5	Sample (Vzorec)	48,1
6	Sample (Vzorec)	6,4

Ta potek je bil uspešen, saj sta 2 pozitivna in 2 negativna kontrolnika blizu skupaj ter se nahajata izven fluorescenčnih vrednosti vzorcev.

Normalizirane vrednosti so:

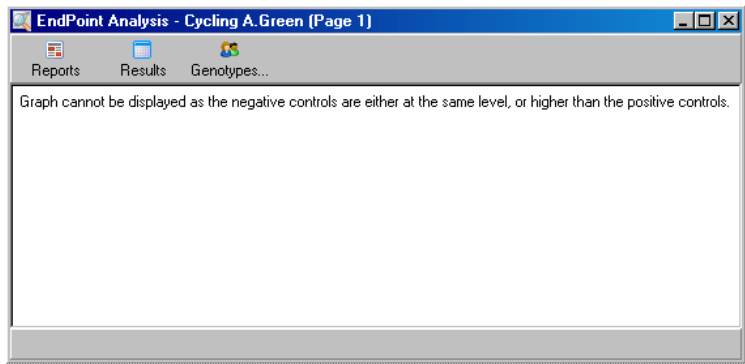
Vzorec	Vrsta	Izražanje (%)
1	Positive control (Pozitivni kontrolnik)	100,0
2	Positive control (Pozitivni kontrolnik)	93,7
3	Negative control (Negativni kontrolnik)	0,4
4	Negative control (Negativni kontrolnik)	0,0
5	Sample (Vzorec)	84,2
6	Sample (Vzorec)	4,0

Vzorec 1 je bil pozitiven kontrolnik za najvišjo fluorescenco, tako da je bil nastavljen na 100 %. Drugi pozitiven kontrolnik je bil rahlo nižji. Vzorec 4, najnižji negativen kontrolnik je bil nastavljen na 0 %. Sedaj je jasno, da je pri vzorcu 5

verjetno prišlo do amplifikacije, medtem ko pri vzorcu 6 verjetno ni prišlo do amplifikacije.

Opomba: Odvisno od izbranih pozitivnih in negativnih kontrolnikov je možno, da dosežete ravni izražanja, ki so večje od 100 % ali manjše od 0 %. Rezultat, ki je večji od 100 %, si lahko razlagate tako, da je vzorec močneje izražen kot pozitivni kontrolniki. Rezultat, ki je manjši od 0 %, si lahko razlaga tako, da je manj verjetno, da je pri vzorcu prišlo do amplifikacije, kot pa da je prišlo do amplifikacije negativnih kontrolnikov. Ker je ta analiza kvalitativna, ti rezultati ne povzročajo skrbi.

Če negativni kontrolniki povzročijo višjo fluorescenco kot pozitivni kontrolniki, so bili vzorci nepravilno nastavljeni in pojavi se naslednje sporočilo.



Normalizacija v več kanalih

Podatke signala je mogoče analizirati v več kanalih, vendar pa je nastavev vzorca bolj kompleksna. Možnost EndPoint analysis (Analiza končne točke) domneva, da je multiplost izvedena in da ima lahko vsaka epruveta samo en položaj epruvete. Trenutno ni mogoče analizirati nastavitve v kateri je položaj vzorca pozitiven kontrolnik za en kanal in negativen kontrolnik za drug kanal.

Čeprav je v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce) podana samo ena določitev vzorca na epruveto, se normalizacija izvede neodvisno za vsak kanal.

Če je položaj epruvete pozitivni kontrolnik za vsaj en kanal, ga je treba določiti kot pozitivni kontrolnik v stolpcu »Type« (Tip) okna »Edit Samples« (Uredi vzorce). V nasprotnem primeru bi moral njegov tip »Sample« (Vzorec). To velja tudi za negativne kontrolnike.

Na primer, če je vzorec pozitivni kontrolnik v zelenem kanalu, vendar ne v rumenem kanalu, bi moral biti vzorec vseeno določen kot pozitivni kontrolnik. Ker se v vsakem kanalu uporablja najvišji pozitivni kontrolnik, je v primeru, da se v rumenem kanalu nahaja vsak eden pozitivni kontrolnik, ki amplificira, vzorec kot kontrolnik za zeleni kanal prezrt.

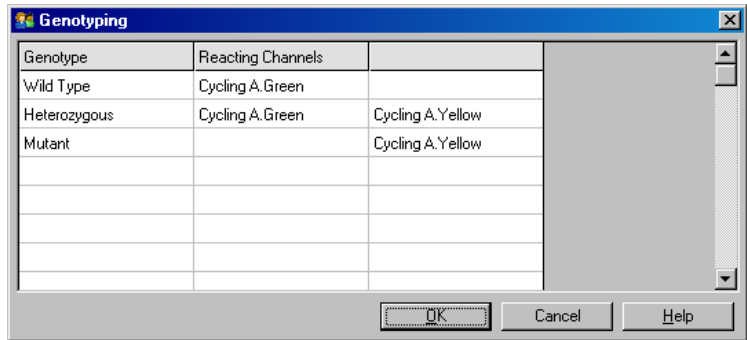
Prag

Prag se uporablja za določanje odstotkovnega izražanja, ki je potrebno za reakcijo v vsakem kanalu. Ko so bili pozitivni in negativni kontrolniki določeni, bodo vsi kanali normalizirani na enako merilo 0–100 %. Zaradi tega je potreben samo en prag, tudi pri analizi več kanalov.

Kliknite in povlecite linijo praga v območje med 0 in 100. Prag se ne sme nahajati preblizu vzorcem na kateri koli strani linije, ker to nakazuje na nejasnost poteka. Če je razlika med vzorcem, ki je določen kot amplificiran ali neamplificiran, le nekaj odstotkov, potem to pomeni, da bi se lahko ob ponovitvi reakcije vzorec pojavil tudi na drugi strani praga.

Genotipi

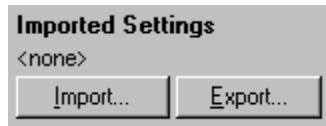
S to možnostjo odprete okno »Genotyping« (Genotipiziranje), ki se uporablja za določanje kateri genotip je zaznan v vsakem kanalu.



To okno omogoča dodeljevanje genotipov kanalom. Na zgornjem primeru je vzorec heterozigoten, če odčitki v kanalih Cycling A.Green (A. kroženja, zeleno) in Cycling A.Yellow (A. kroženja, rumeno) presegajo prag.

Predloge EndPoint analysis (Analiza končne točke)

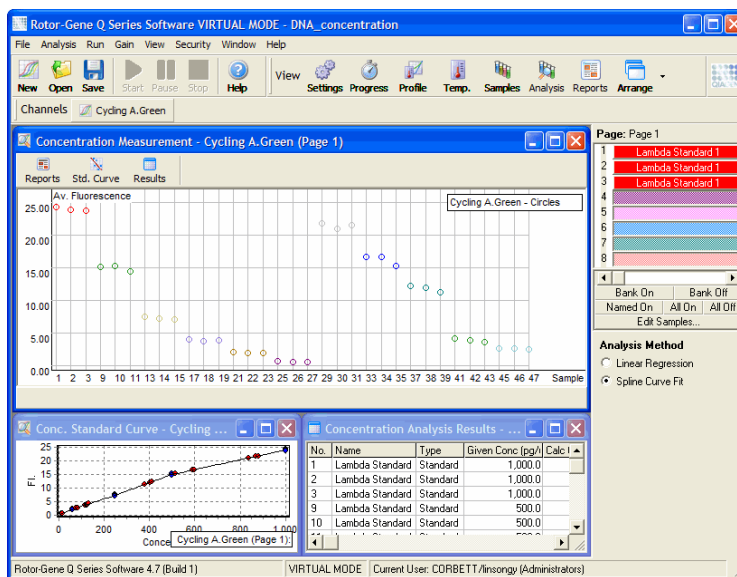
Predloge EndPoint analysis (Analiza končne točke) uporabniku omogočajo izvoz nastavitvev genotipa in praga v eno datoteko *.ent. To datoteko je mogoče uvoziti in ponovno uporabiti v drugih poizkusih. Za več podrobnosti glejte poglavje 8.1.



7.6.10 Analiza koncentracije

Analiza koncentracije omogoča uporabo instrumenta Rotor-Gene Q MDx za merjenje koncentracij DNA ali za pridobivanje odčitkov fluorometra.

Spodnji posnetek zaslona prikazuje to analizo.



Priprava poteka

Za izvedbo analize koncentracije najprej pripravite fluorescenčne standarde in vzorce, idealno potrojene.

Priprava standardov

Standardna krivulja se uporablja za določanje koncentracije DNA za vsak izmerjeni vzorec.

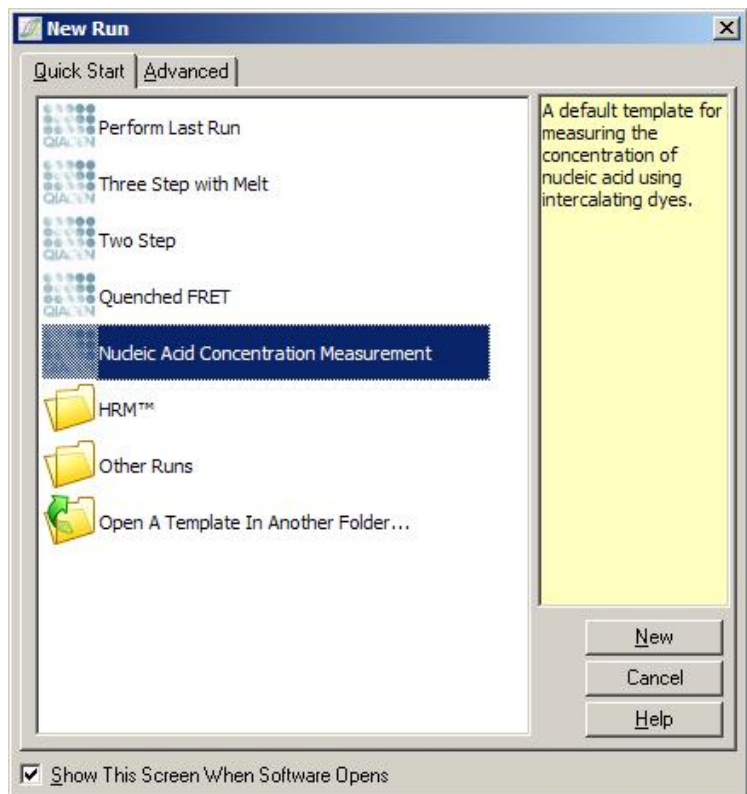
DNA, ki je uporabljena za standardno krivuljo, mora biti podobnega tipa kot DNA, ki se nahaja v merjenih vzorcih. Koncentracijo vsaj enega vzorca DNA je treba določiti z uporabo ultravijolične spektrofotometrije in ta vzorec je treba uporabiti kot standard. Uporabiti morate najmanj 3 standarde (z replikacijami). Pomembno je, da so DNA standardi, uporabljeni v zaznavanju fluorescence, samo linearni znotraj razpona 1–100 ng/μl. Znotraj tega razpona se v primeru razpolovitve koncentracije DNA enako zgodi tudi s fluorescentnim odčitkom. Intervali zaupanja za katero koli koncentracijo izven tega razpona, so zelo široki zaradi nelinearnosti kemije.

Tip merjenega DNA

Razlike so bile opažene v meritvi različnih oblik (npr. genomske DNA v primerjavi s plazmično DNA). Zato je treba skupaj meriti samo podobne vrste DNA in uporabi plazmične DNA kot standard se je treba pri merjenju genomske DNA izogibati.

Nastavitev poteka

Za nastavitev poteka izberite možnost »Nucleic Acid Concentration Measurement« (Merjenje koncentracije nukleinske kisline) iz čarovnika za hitri zagon.



Opomba: Zagotovite, da je pozitivni kontrolnik, npr. standard visoke koncentracije, zagnan v položaju epruvete 1. Brez pozitivnega kontrolnika programska

oprema ne bo mogla optimizirati nastavitve pridobitve za največjo občutljivost. K temu boste pozvani pred vsakim potekom.

Analiza

Analiza koncentracije deluje s povezovanjem ravni fluorescence z vrednostjo koncentracije. Na voljo sta dva modela analize. Optimalna izbira analize je odvisna od kemije in uporabe.

Možnost »Linear Regression« (Linearna regresija) analizira podatke, tako da domneva linearni odnos in oceni neznane vrednosti na osnovi ustvarjenega linearnega modela. Določa napako meritve, tako da pregleda odstopanje odčitkov od linearnega modela. Če so odčitki koncentracije linearni, potem je to najbolj primerna analiza, ker uporabniku zagotavlja statistično analizo variance (statistical analysis of variation, ANOVA).

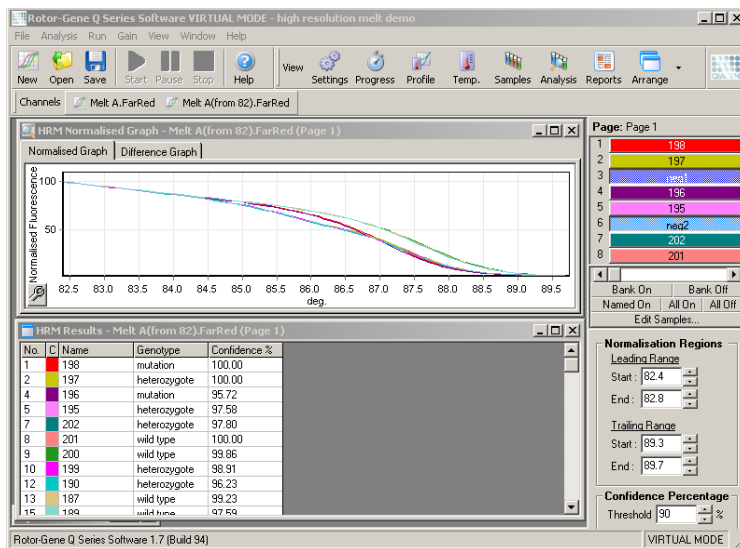
Možnost »Spline Curve Fit« (Prileganje polinomske krivulje) domneva samo, da se vrednosti koncentracije povečujejo s fluorescenco. Čeprav so zaradi tega pristopa ocene nelinearnih podatkov bolj natančne, pa ta pristop ne more zagotoviti ANOVA in ne upošteva linearnega modela.

7.6.11 Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo

Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo (HRM) označuje vzorce na podlagi dolžine zaporedja, vsebnosti gvanina-citozina in komplementarnosti. Analiza HRM se uporablja za genotipiziranje, npr. za analizo genskih mutacij ali polimorfizmov posameznih nukleotidov (single nucleotide polymorphism, SNP), in za epigenetske uporabe za analizo stanja metilacije DNA. Analiza HRM v primerjavi z drugimi metodami zagotavlja natančne rezultate in prihranke glede stroškov sond in oznak.

Za izvajanje te analize izberite možnost »Other« (Drugo) in možnost »High Resolution Melt Analysis« (Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo) v oknu »Analysis« (Analiza). Za analizo dvokliknite- na kanal. Talitvene krivulje iz neobdelanega kanala so normalizirane s povprečenjem

vseh začetnih in končnih vrednosti fluorescence in potem prisolnim zagotavljanjem, da so končne točke vsakega vzorca enake kot povprečje.



Samodejni priklic vzorcev dosežete s klikom možnosti »Genotypes« (Genotipi). Vnesite ime genotipa, kateremu sledi številka vzorca, ki se uporablja kot pozitivni kontrolnik za samodejni priklic neznanih vzorcev.

The screenshot shows the 'HRM Genotypes' dialog box. It contains a table with the following data:

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

At the bottom of the dialog box, there are buttons for 'Clear', 'OK', 'Cancel', and 'Help'.

Za več podrobnosti o analizi HRM glejte poglavje 11.

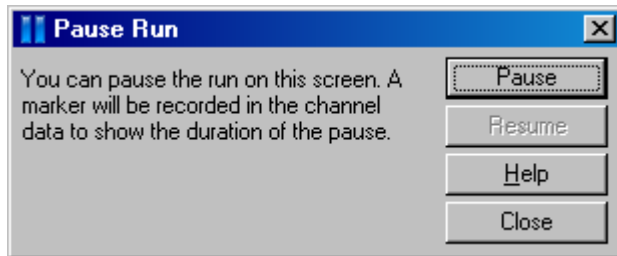
7.7 Meni poteka


7.7.1 Zagon poteka

Možnost zažene določen profil temperature s trenutnimi nastavitvami pridobitve. Pred začetkom poteka, se pojavi okno »Profile Run Confirmation« (Potrditev poteka profila). Grafična predstavitev profila temperature je prikazana poleg nastavitvev pridobitve za vsak kanal.

7.7.2 Premor poteka

Ta možnost omogoča premor in nadaljevanje poteka. Premor in nadaljevanje lahko resno vplivata na rezultat poteka. Iz tega razloga bo oznaka v podatkih nakazala na premor poteka in na trajanje premora. Poleg tega se sporočilo pojavi v zavihku sporočil okna »Run Settings« (Nastavitve poteka) (glejte poglavje 7.8.1).



OPOZORILO 	Vroča površina [W18] Ob premoru delovanja se instrument Rotor-Gene Q MDx ne bo povsem ohladil na sobno temperaturo. Pri rokovanju z rotorjem ali drugimi epruветami v instrumentu bodite previdni.
---	---

7.7.3 Zaustavitev poteka

Če je izbrana ta možnost, boste pozvani k potrditvi, da želite potek zaustaviti.

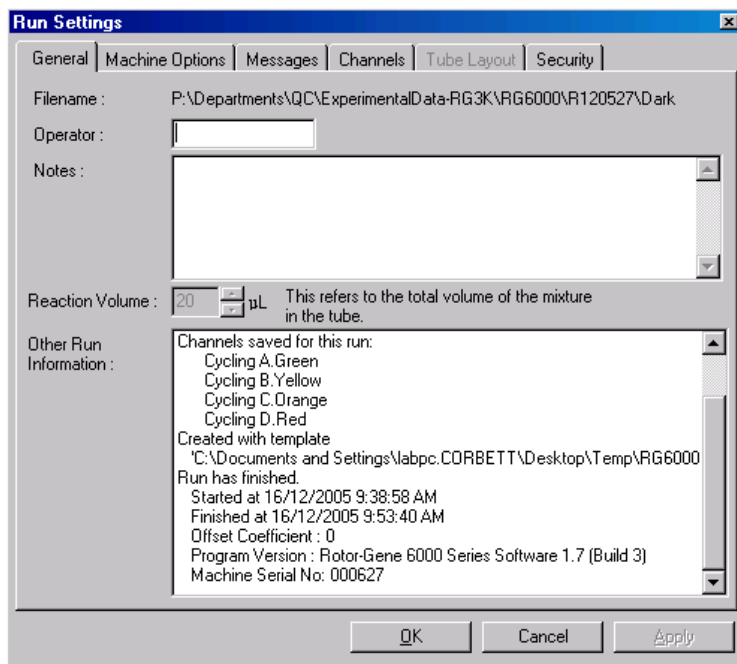
7.8 Meni pogleda

7.8.1 Nastavitve poteka

Splošno

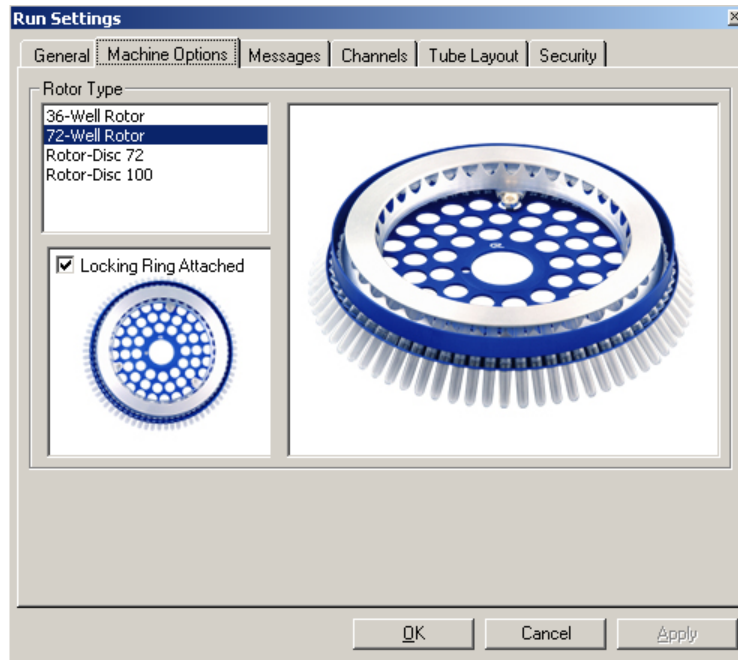
To okno omogoča nastavitve informacij poteka, imena datoteke poteka, datuma analize, uporabnika in vseh povezanih opomb.

Okno vsebuje vse informacije, razen za profil, ki so potrebne za potek. Ko je potek zaključen, so v tem oknu prikazane naslednje informacije: uporabljene ciklične naprave, nastavitve pridobitve, število kanalov in čas začetka ter zaključka.



Možnosti stroja

Ta zavihek prikazuje nastavitve za konfiguracijo instrumenta Rotor-Gene Q MDx.



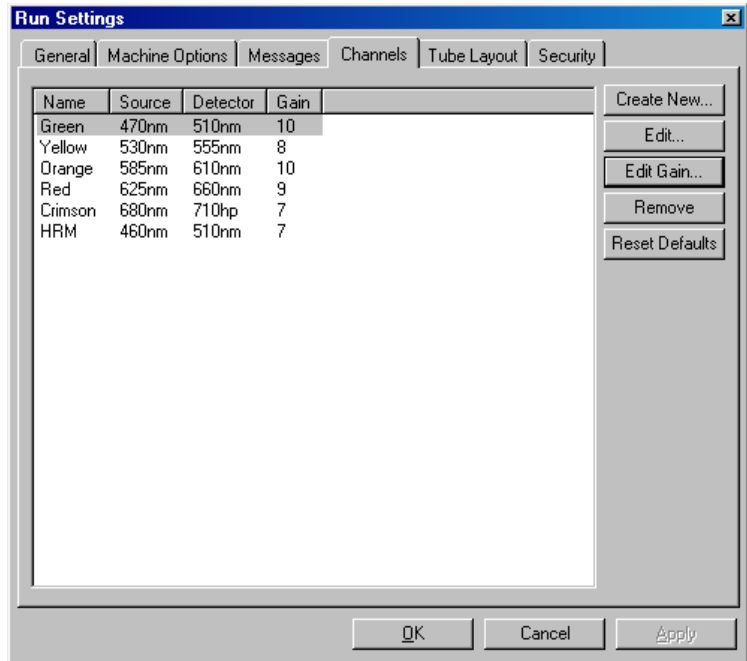
Rotor je treba nastaviti na tistega, ki je trenutno nameščen v instrumentu Rotor-Gene Q MDx. Če odpirate obstoječi potek bo nastavitve odražala rotor, ki je bil v tistem času nameščen v ciklično napravo.

Sporočila

Ta zavihek prikazuje sporočila, ki nakazujejo ali je uporabnik izvedel spremembe, kot npr. premor ciklične naprave ali preskok ciklov med potekom. Prikazuje tudi opozorila, ki so bila prejeta med potekom. Če rezultati niso pričakovani, je treba preveriti ta zavihek.

Kanali

Če konfigurirate nov potek, zavihek kanalov prikazuje trenutno konfiguracijo razpoložljivih kanalov. Če si ogledujete obstoječi potek, potem prikazane informacije predstavljajo konfiguracijo kanalov, ko je bil potek izveden. Če potek pokvari nastavitve kanalov, lahko privzete kanale obnovite s klikom možnosti »Reset Defaults« (Ponastavi na privzeto).



Name (Ime): To je ime kanala.

Source (Vir): To navaja valovno širino ekscitacije izvornega svetlobnega vira LED.

Detector (Detektor): To navaja valovno širino zaznavanja in vrsto filtra (nm=prehod traku, hp= visok prehod).

Gain (Pridobitev): To navaja pridobitev za določeni kanal.

Create New... (Ustvari novo ...): Ta funkcija omogoča ustvarjanje novih kanalov. S klikom možnosti »Create New...« (Ustvari novo ...) odprete okno, ki vas vpraša po novem imenu, viru in filtru zaznavanja. Filtre lahko izberete z uporabo spustnega menija poleg vsakega okna.

Channels
(Kanali): Zeleni, rumeni, oranžni in rdeči kanali so standardne konfiguracije za 4-kanalno multiplo zaznavanje.

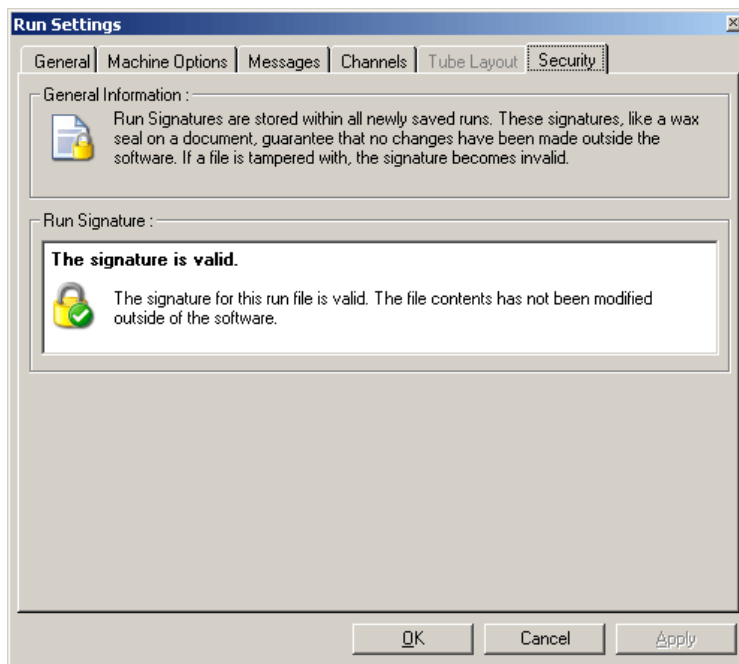
Postavitev epruвет

Če uporabljate rotor 72-Well Rotor, lahko vzorce razporedite tako, da se zelo skladajo z oznako na 9 x 8 bloku. Po privzeti nastavitvi zavihek postavitve epruвет omogoča zaporedno označevanje vzorcev (tj. 1, 2, 3...). To pomeni, da so vzorci zaporedoma označeni v vrstnem redu, v katerem so vstavljeni v instrument Rotor-Gene Q MDx. Namesto tega lahko vzorce označite z 1A, 1B, 1C, itn. Ta možnost je lahko uporabna, če so bili vzorci nastavljeni z večkanalno pipeto.

Varnost

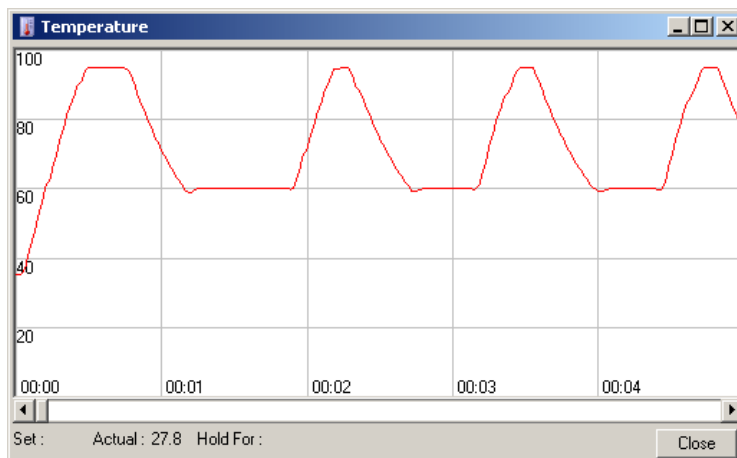
Zavihek varnosti prikazuje informacije o podpisu poteka. Podpis poteka je nespremenljiv ključ, ki se ponovno ustvari ob vsaki spremembi. Če kateri koli del datoteke ***.rex** spremenite izven programske opreme, se podpis in datoteka ne bosta več skladala. Preverjanje podpisa omogoča potrditev, da neobdelani podatki niso bili spremenjeni izven aplikacije, da profil ni bil spreminjan in da je temperaturni graf veljaven. Podpis poleg tega ščiti pred okvarami, npr. napakami datotečnega sistema.

Opomba: Če datoteke ***.rex** pošiljate po elektronski pošti, lahko postopek šifriranja razveljavi podpis. Da se temu izognete, pred pošiljanjem po elektronski pošti datoteko zapakirajte v obliko zip-datoteke.



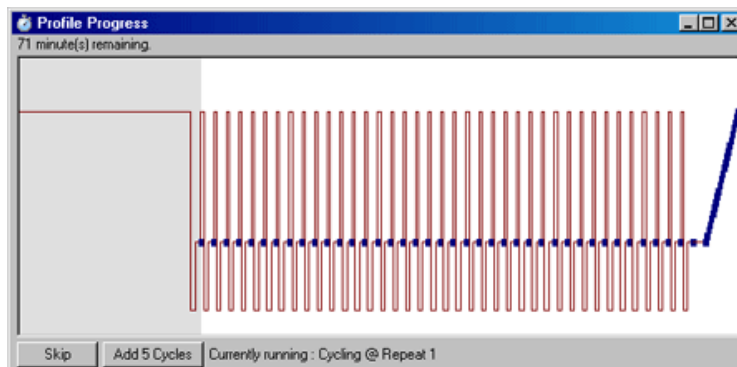
7.8.2 Temperaturni graf

Izberite možnost »Temperature Graph« (Temperaturni graf) v meniju »View« (Pogled) ali kliknite gumb »Temp.«, da prikazete okno »Temperature« (Temperatura). Graf prikazuje potekanje nastavljenih temperatur med kroženjem. To ne odraža meritev temperature v realnem času. Ob nadaljevanju poteka se za vsak korak programa prikažejo možnosti časa »Set« (Nastavljen), »Actual« (Dejanski) in »Hold« (Zadržanje). Za obstoječo datoteko poteka okno »Temperature« (Temperatura) med potekom prikazuje zgodovino temperatur. Navpično merilo predstavlja temperature, vodoravno merilo pa predstavlja čas. Uporabite drsnik, da se pomaknete nazaj ali naprej po okno »Temperature« (Temperatura).



7.8.3 Napredek profila

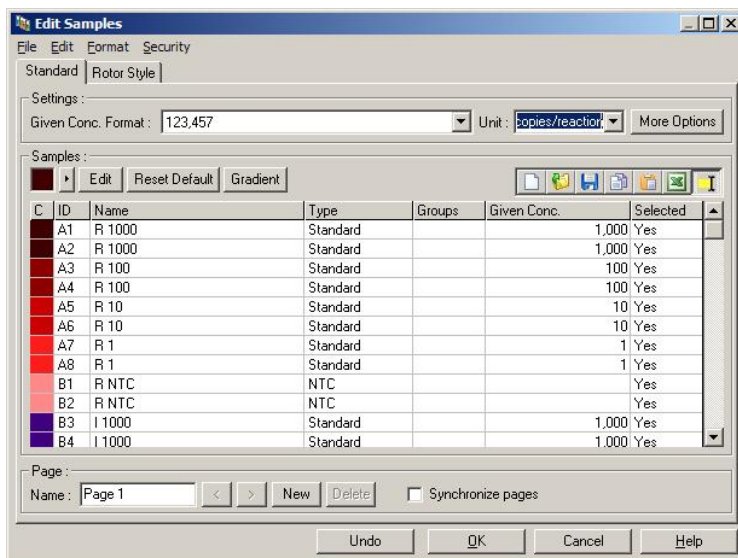
Izberite možnost »Profile Progress« (Napredek profila) v meniju »View« (Pogled) ali kliknite gumb »Progress«, (Napredek), da prikazete okno »Profile Progress« (Napredek profila). To okno prikazuje grafične predstavitve termičnega profila, ki je povezan s potekom. Pri izvedbi poteka osenčen del okna nakazuje na število ciklov, ki so bili dokončani. To je tudi ocena koliko minut bo potek potreboval za dokončanje.



Skip (Preskoči): Možnost »Skip« (Preskoči) omogoča preskok katerih koli korakov profila.

Add 5 Cycles (Dodaj 5 ciklov): Možnost »Add 5 Cycles« (Dodaj 5 ciklov) doda 5 ponovitev trenutnemu koraku kroženja.

7.8.4 Urejanje vzorcev



Kliknite gumb »Samples« (Vzorci), da prikažete okno »Edit Samples« (Uredi vzorce). Do okna »Edit Samples« (Uredi vzorce) lahko dostopate tudi z desnim klikom nad seznamom vzorcev na desni strani zaslona. To okno ima enako funkcijo kot okno »Edit Samples« (Uredi vzorce) v čarovnikih, vendar pa so funkcije orodne vrstice na voljo tudi v menijih File (Datoteka) in Edit (Uredi).

V zgornjem delu okna se pojavijo štirje meniji, File (Datoteka), Edit (Uredi), Format in Security (Varnost). Meni File (Datoteka) se uporablja za ustvarjanje novega (praznega) okna »Edit Samples« (Uredi vzorce), za odpiranje obstoječe predloge vzorca ali za shranjevanje imen vzorcev kot predlogo za prihodnjo uporabo. Pripona

teh datotek predlog je *.smp. Meni Edit (Uredi) omogoča kopiranje in lepljenje vrstic. Meni Security (Varnost) omogoča zaklepanje definicij vzorcev.

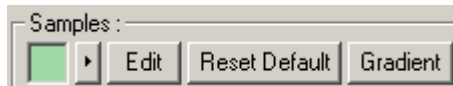
Opomba: Če imena vzorcev med potekom vnesete zelo hitro (npr. z uporabo čitalnika črtnih kod), lahko to privede do prenosa črk znotraj imen vzorcev. Zato priporočamo, da se izogibate uporabi čitalnika črtnih kod in, če je možno, imena vzorcev vnesete po dokončanju poteka.



Spustni seznam se uporablja za izbiro primerne formata za prikaz koncentracije. Koncentracije so samodejno oblikovane glede na trenutno izbrano lokacijo.



Ta spustni seznam nastavi merske enote za test.

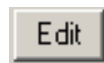


Gumb

Line style
(Slog linije):

Pomembnost

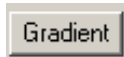
Slog linije lahko spremenite, da izboljšate čitljivost grafov na črno-belih tiskalnikih. Določene linije lahko poudarite s spreminjanjem njihovega sloga. Za dostop do te funkcije kliknite na gumb desne puščice poleg gumba Edit (Uredi).



S pritiskom gumba »Edit« (Uredi) odprete izbirnik barv. Ko epruветam dodeljujete barvo, lahko izberete več vrstic.



Kliknite možnost »Reset Default« (Nastavi na privzeto), da vse izbrane barvne celice ponastavite nazaj na njihove privzete barvne vrednosti.



Možnost »Gradient« omogoča izbiro gradienta od prve do zadnje izbrane barve. V nastavitvi vzorcev lahko določite več gradientov.



Gumb Pomembnost



Ikona »New« (Novo) v pripravi za vnos podatkov počisti okno »Edit Samples« (Uredi vzorce).



Ikona »Open« (Odpri) prikaže pogovorno okno, v katerem lahko datoteko instrumenta Rotor-Gene Q MDx izberete za uvoz.

Opomba: Število vzorcev v odprtem oknu in datoteka, ki jo uvažate, se morajo skladati.



Ikona »Save« (Shrani) prikaže pogovorno okno, v katero lahko vnesete ime in mapo, v katero se bo shranila kopija trenutnih definicij vzorcev.



Ikona »Copy« (Kopiraj) kopira izbrane celice.



Ikona »Paste« (Prilepi) prilepi celice, ki so bile izbrane z ukazom za kopiranje, na trenutno izbrani položaj v mreži.



Ikona »Excel« prikaže pogovorno okno, ki zaprosi za ime datoteke in mapo, v katero se bodo shranile informacije vzorcev. Po pritisku možnosti »Save« (Shrani), se datoteka Excel samodejno odpre.



Ikona »Append/Overwrite« (Pripni/prepiši) spremeni urejanje celic v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce). Če izberete prepisovanje, bodo pri urejanju obstoječi podatki prepisani. Če izberete pripenjanje, bodo med urejanjem novi podatki dodani na koncu obstoječih podatkov.

Gumb Pomembnost

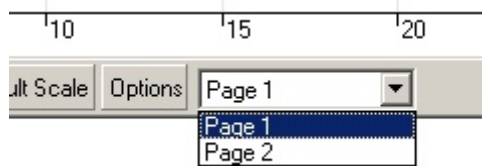
Sample Types (Vrste vzorcev): Za vzorce je mogoče dodeliti več vrst, ki so navedene v naslednji tabeli.

Vrsta vzorca	Opis
None (Brez)	Brez vzorca v tem položaju
NTC	Brez kontrolnika predloge
Negative Control (Negativni kontrolnik)	Negativni kontrolnik
Positive control (Pozitivni kontrolnik)	Pozitivni kontrolnik
Unknown (Neznano)	Neznani vzorec za analizo
Standard (Standardno)	Standardne vrednosti so uporabljene za ustvarjanje standardne krivulje za izračun neznanih koncentracij vzorcev
Calibrator (RQ) (Kalibrator (RQ))	Kalibratorju je dodeljena vrednosti 1 in vse ostale koncentracije vzorca so izračunane glede na ta vzorec

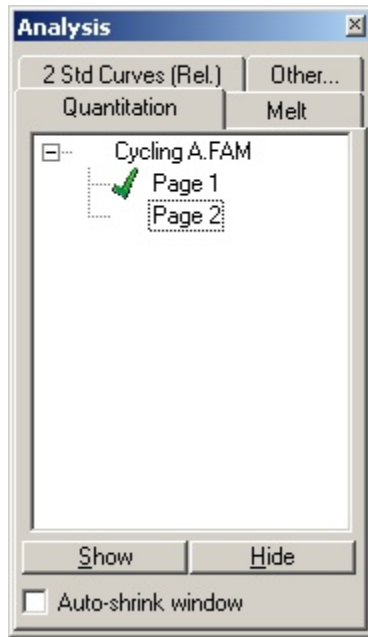
Page (Stran): Ta funkcija uporabniku omogoča uporabo različnih definicij vzorcev in ločene poizkuse v istem poteku. To je uporabno za analizo različnih izdelkov v različnih kanalih. Uporabite puščične gumbe, da se pomikate med stranmi vzorcev. Za ustvarjanje in brisanje strani uporabite gumba »New« (Novo) ter »Delete« (Izbriši). Možno je imeti več definicij vzorcev za enak kanal, da lahko zaženete več standardnih krivulj brez multiplosti. Enostavno določite vzorce zanimanja in njihove povezane standardne krivulje na

ločenih straneh. Posamezni kanal lahko potem neodvisno analizirate z vsakim nizom definicij. Strani vzorcev lahko označite z možnostjo »Page 1« (Stran 1), »Page 2« (Stran 2), itn. oz. jim lahko dodelite kakršno koli ime (npr. »Hišni«). To ime se bo pojavilo v poročilih.

Ko si ogledujete neobdelane podatke, lahko definicije vzorcev, ki se uporabljajo za prikaz podatkov, izberete z uporabo spustnega menija poleg gumba »Options« (Možnost):



Stran vzorcev, ki bo uporabljena med izvedbo analize, lahko izberete v oknu »Analysis« (Analiza) (glejte poglavje 7.6.1).

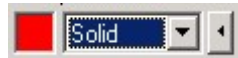


Given Conc. (Podana konc.): To prikazuje koncentracijo za vsak standard. Enote lahko določite kot decimalno ali logaritemsko številko. Če so standardi nizi redčenja, potem morate vnesti samo prva 2 standarda. S pritiskom tipke ENTER program samodejno doda naslednje logično redčenje v nizu.

Line style (Slog linije): Slog linije lahko spremenite, da izboljšate čitljivost grafov na črno-belih tiskalnikih. Določene linije lahko poudarite s spreminjanjem njihovega sloga. Za dostop do te funkcije kliknite na gumb desne puščice poleg gumba Edit (Uredi).



Orodna vrstica bo prikazala privzeti slog »Solid« (Neprekinjeno). To lahko spremenite na možnosti »Dashed« (Črtkano), »Dotted« (Pikčasto), »Hairline« (Prelomljeno), »Thin« (Tanko) ali »Thick« (Debelo). Ko zaključite, kliknite levi pušični gumb, da se vrnete v pogled Edit (Uredi), Reset Default (Ponastavi na privzeto) in Gradient.



Multiple row entry (Vnos več vrstic):

Če morate naenkrat vnesti enako informacijo v več vrstic, potem izberite vse vrstice in začnite vnašati. Informacija bo vnesena v vsako vrstico. Ta funkcija deluje tudi pri izbiranju vrst vzorcev, izbiranju barv ali vnosu koncentracij.

Bližnjična tipka Sample type (Vrsta vzorca):

Za hitro izbiro vrste vzorca vnesite prvo črko njegovega imena. Na primer, za nastavljanje 5 vzorcev kot kontrolnike brez predloge jih izberite v stolpcu vrste vzorcev, potem pa pritisnite N za NTC. Vsi vzorci bodo spremenjeni v NTC.

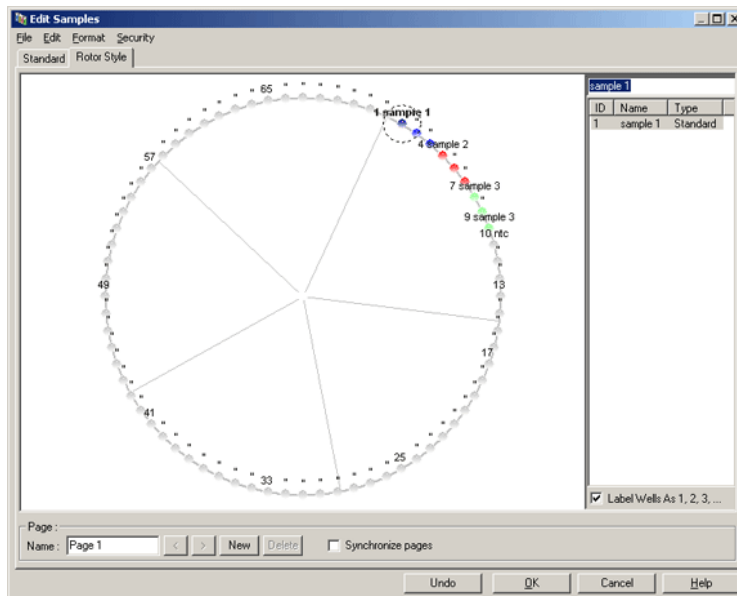
Save it, reuse it (Shrani, ponovno uporabi):

Celoten opis vzorca lahko shranite kot datoteko vzorca (*.smp) in naložite v prihodnje poteke z enako konfiguracijo vzorca.

Slog rotorja

Ta zavihek v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce) zagotavlja alternativni način vnosa imen vzorcev. Izberite replikacije, tako da kliknete in povlečete kazalec miške nad sliko rotorja. Seznam na desni strani okna se bo posodobil. Ime vzorca lahko vnesete in s tem boste nastavili enako ime za

trenutno izbiro. Programska oprema te vdolbine prepozna kot replikacije.



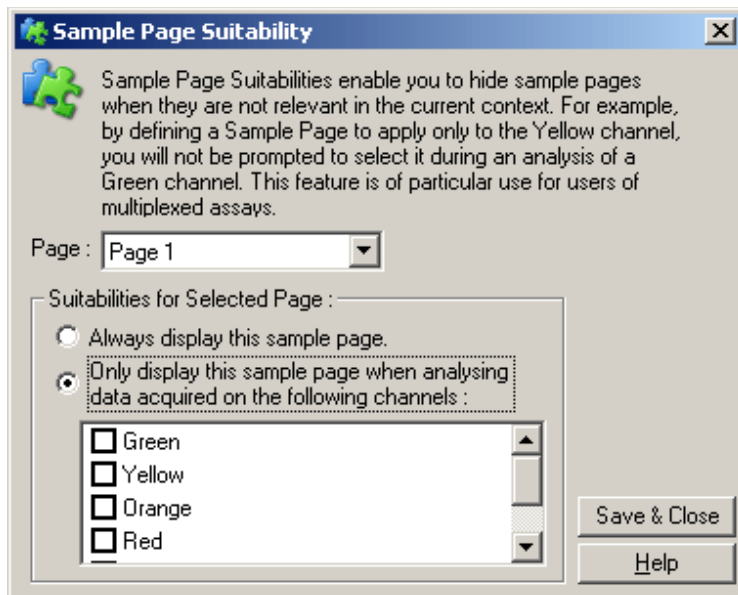
Zavihek »Rotor Style« (Slog rotorja) zagotavlja skrajšano različico zavihka »Standard« (Standardno) in je zasnovana za uporabnike, ki želijo hitro nastaviti imena in barve vzorcev. V tem zavihku ni mogoče določiti nekaterih nastavitvev, npr. ali vzorec predstavlja standardno ali znano koncentracijo vsakega standarda. Če potrebujete to določitev, morate uporabiti standardni zavihek.

Primernost strani vzorcev

Za dostop do okna »Sample Page Suitability« (Primernost strani vzorcev) kliknite možnost »More Options« (Več možnosti) v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce) in kliknite možnost »Define Suitabilities« (Določi primernosti). Okno »Sample Page Suitability« (Primernost strani vzorcev) uporabnikom omogoča usklajevanje strani vzorcev s kanali. Na primer, stran vzorcev za gen zanimanja se lahko nanaša na zeleni kanal, stran vzorca hišnega gena pa se lahko nanaša na rumeni kanal. V tem primeru nastavljanje primernosti strani vzorcev zmanjša razpoložljivo število

možnosti analize in vključuje samo tiste, ki so ustrezne za določen test.

Okno »Sample Page Suitability« (Primernost strani vzorcev) je prikazano spodaj.

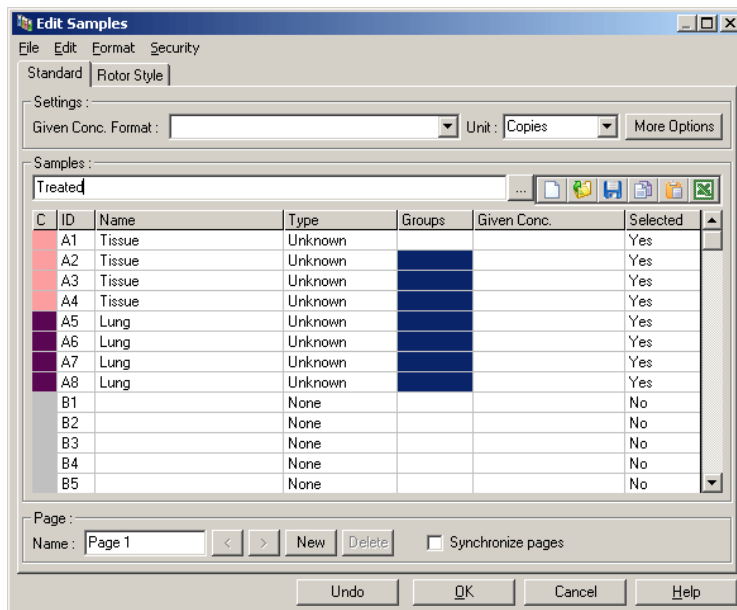


Opomba: Pri nastavljanju testa ustvarite vse strani vzorcev in primernosti strani vzorcev, potem pa jih shranite kot predlogo. S tem se zmanjša količina nastavljanja, ki je potrebna za vsak potek.

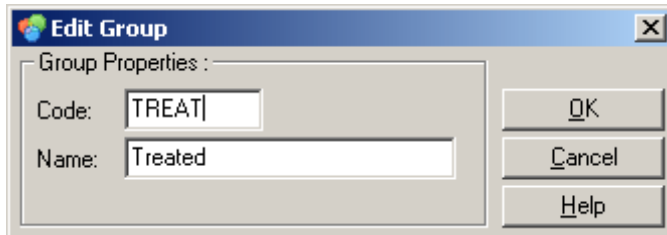
Skupine

Skupine vzorcev dovoljujejo izračun statistik za splošno zbirko vzorcev. Za razliko od replikacij, ki morajo imeti enaka imena, imajo lahko vzorci katero koli ime, lahko jih namestite kjer koli v rotorju in lahko pripadajo več skupinam.

1. Za določanje skupine poleg vzorca vnesite polno ime skupine in pritisnite tipko ENTER.



2. Pojavi se okno »Edit Group« (Uredi skupino).

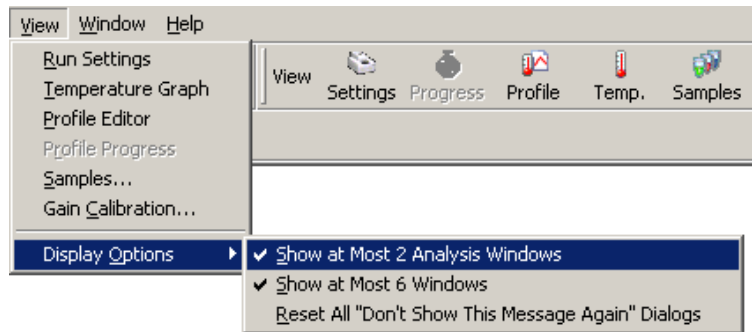


3. Določite primerno kratico, potem pa kliknite možnost »OK« (V redu). Kratico lahko sedaj uporabite za nastavljanje skupin. Povprečni rezultati, npr. povprečna vrednost in 95 % intervali zaupanja, so samodejno izračunani za skupine v kateri koli analizi.

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 Možnosti prikaza

Meni možnosti prikaza je prikazan spodaj.



Show at Most 2 Analysis Windows (Prikaži največ 2 okni analize): Če je ta možnost izbrana, sta naenkrat prikazani največ 2 okni analize. Če je odprtih več oken, lahko to vpliva na čitljivost. Z izbiro te možnosti zaprete prvo okno analize in zamenjate z nazadnje odprtim oknom. Če ta možnost ni izbrana, lahko prikažete več kot 2 okni analize.

Show at Most 6 Windows (Prikaži največ 6 oken): Za izboljšanje čitljivosti programska oprema odstrani neuporabljena okna, ko odprete nova okna. Ta možnost je omogočena po privzeti nastavitvi, saj ohranja zaslon programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q prazen. Če morate videti več kot 6 oken naenkrat, prekličite to izbiro.

Pogovorni okni »Reset All« (Ponastavi vse) in »Don't Show This Message Again« (Tega sporočila ne prikaži več): Če je izbrana ta možnost, bo programska oprema ponovno prikazala vsa pogovorna okna, kjer je bilo izbrano potrditveno polje »Do not display this message again« (Tega sporočila ne prikaži več). Ta vključujejo sporočila o sumljivih nastavitvah, ki so bila morda predhodno nastavljena, da se več ne prikazujejo. To je lahko uporabno za nove uporabnike, ki niso seznanjeni s programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q MDx ali Rotor-Gene Q.

7.9 Zaščita pred dostopom za programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q

Opomba: To poglavje opisuje zaščito pred dostopom programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q. Za informacije o ustrezni programski opremi instrumenta Rotor-Gene AssayManager glejte navodila za uporabo »Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application« ali navodila za uporabo »Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application«.

Programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q vključuje funkcije, ki omogočajo varno delovanje. Ko je pravilno konfigurirana, programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q zagotavlja naslednje:

- Dostop do programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q MDx ali programske opreme za analizo je omejen skupinam uporabnikov
- Spremembe za datoteke poteka so zabeležene
- Nepooblašcene spremembe so zaznane (podpisi)
- Predloge za izvajanje potekov so zabeležene
- Imena vzorcev so zaščitena

Integracija z zaščito operacijskega sistema Windows

Za zagotavljanje močne stopnje odgovornosti programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q ne izvaja notranjega upravljanja varnosti. Računi, skupine in gesla so upravljana z uporabo vgrajenega varnostnega modela operacijskega sistema Windows (Windows Security). Integracija omogoča isto geslo, ki zagotavlja dostop do omrežnih datotek in programov za nadzor dostopa do programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q, kar privede do manj skrbništva. V večjih organizacijah lahko npr. omrežni skrbniki enostavno dostopajo do preteklih uporabnikov zaradi centraliziranega varnostnega modela.

Iz tega razloga nastavljanje programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q primarno vključuje konfiguracijo varnostnih vlog operacijskega sistema Windows glede na najboljše prakse.

Predpogoji

Za uporabo varnosti morate imeti nameščen operacijski sistem Windows 10 ali izdajo Windows 7 Professional. Varnostnih funkcij ni mogoče uporabljati z operacijskim sistemom Windows 10 ali izdajo Windows 7 Home, saj izdaja Home nima finega modela dostopa, ki ga uporablja programska oprema. Programska oprema mora biti nameščena z možnostjo »Force authentication through Windows domain« (Prisilno potrjevanje prek domene Windows).

Opomba: Meni Security (Varnost) se ne bo pojavil, če ste prijavljeni v domeno Linux Samba. Za uporabo varnostnih funkcij morate posedovati lokalno prijavo oz. prijavo v strežnik Windows.

7.9.1 Konfiguracija za operacijski sistem Windows 7

To poglavje opisuje kako nastavite sistem, da bo varno uporabljal programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q.

Za uporabo varnostnih funkcij je treba programsko opremo namestiti z možnostjo »Force authentication through Windows domain« (Prisilno potrjevanje prek domene Windows). S tem domeno Windows zaprosite za vašo raven dostopa in prijavnne podatke ter je ključnega pomena za zagotavljanje odgovornosti in varnostnih funkcij.

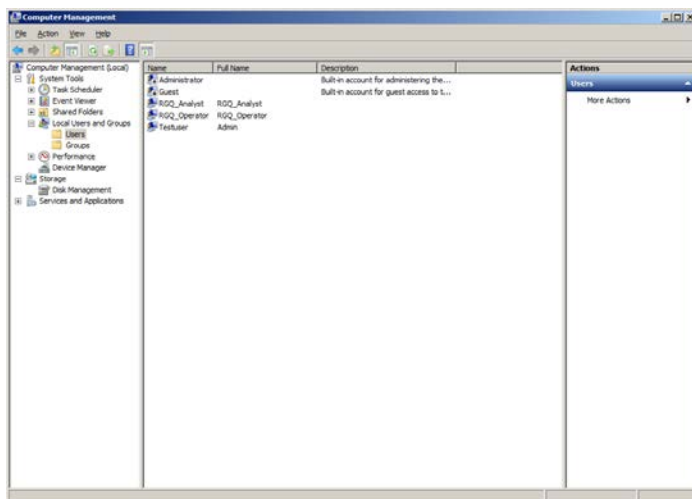
Delo v vlogi skrbnika

Številni uporabniki svoje računalnike uporabljajo kot skrbniki, brez gesel. Čeprav je to priročno, je zaradi tega nemogoče določiti kdo uporablja računalnik. S tem pride do izločitve odgovornosti in preprečitve aktivacije številnih varnostnih ukrepov programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q. Ko delate v vlogi skrbnika, so omogočene vse funkcije programske opreme. Zato delo v vlogi kot skrbnik zagotavlja, da lahko uporabniki, ki ne potrebujejo varnostnih funkcij, dostopajo do vseh funkcij programske opreme.

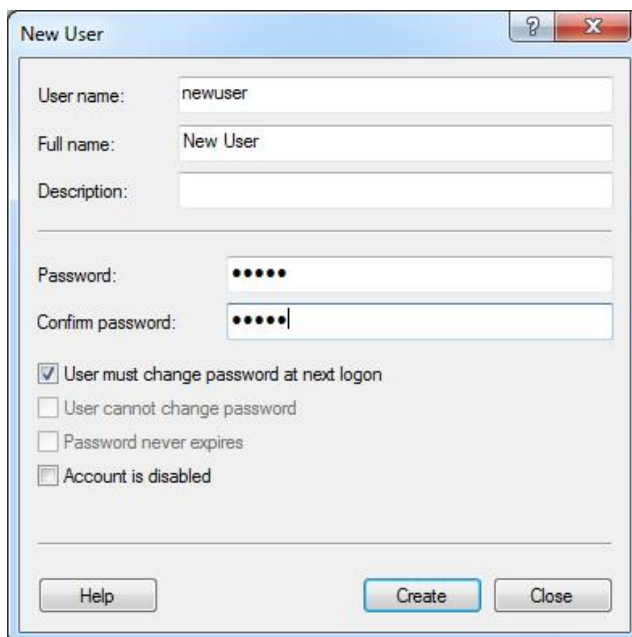
Ustvarjanje novega uporabniškega računa

Ustvarite uporabniški račun za vsakega uporabnika programske opreme. Za vsakega uporabnik ponovite spodnje korake, dokler ne ustvarite vseh računov.

1. Za ustvarjanje novega uporabnika izberite možnost »Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management« (Start/Nadzorna plošča/Skrbniška orodja/Upravljanje računalnika) in se pomaknite na možnost »Local Users and Groups« (Lokalni uporabniki in skupine) na levi strani.
2. V oknu, ki se pojavi, izberite mapo »Users« (Uporabniki). Desnokliknite na okno na desni strani in izberite možnost »New User« (Nov uporabnik).



3. Vnesite uporabniško ime in geslo. Po privzeti nastavitvi bo uporabnik ustvarjen z normalnimi pravicami dostopa. To pomeni, da lahko uporabnik uporablja programsko opremo, vendar ne more nameščati novih programov ali spreminjati nastavitve sistema.



The screenshot shows the 'New User' dialog box. The fields are filled with the following information:

- User name: newuser
- Full name: New User
- Description: (empty)
- Password: (masked with 6 dots)
- Confirm password: (masked with 6 dots)

The following options are checked:

- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons at the bottom: Help, Create, Close.

4. Kliknite možnost »Create« (Ustvari). Sedaj se lahko prijavite kot ta uporabnik.

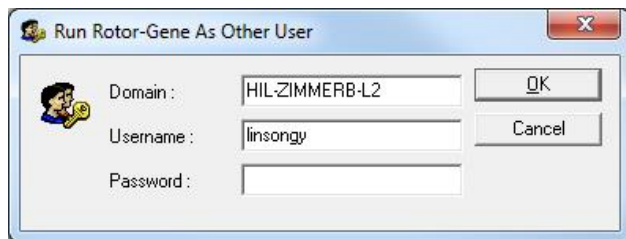
Dodeljevanje vlog vsakemu uporabniku

Sedaj morate vsakemu uporabniku dodeliti vloge. Dostop je razdeljen na naslednja območja:

- Rotor-Gene Q Operator (Uporabnik instrumenta Rotor-Gene Q) — lahko izvaja poteke, vendar ne mora ustvarjati poročil ali izvajati analiz
- Rotor-Gene Q Analyst (Analitik z instrumentom Rotor-Gene Q) — lahko analizira podatke poteka in ustvari poročila, vendar ne more izvajati novih potekov
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Uporabnik in analitik z instrumentom Rotor-Gene Q) — na voljo ima funkcije obeh vlog
- Administrator (Skrbnik) — lahko odklene imena vzorcev in izvede vse postopke analitika in uporabnika
- None (Brez) — dostop do programske opreme je zavrjen

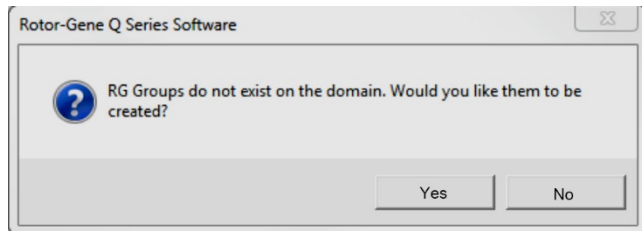
Za dodelitev vlog:

1. V operacijski sistem Windows se prijavite kot skrbnik ali uporabite ikono »Rotor-Gene Q Software Login« (Prijava v programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q).

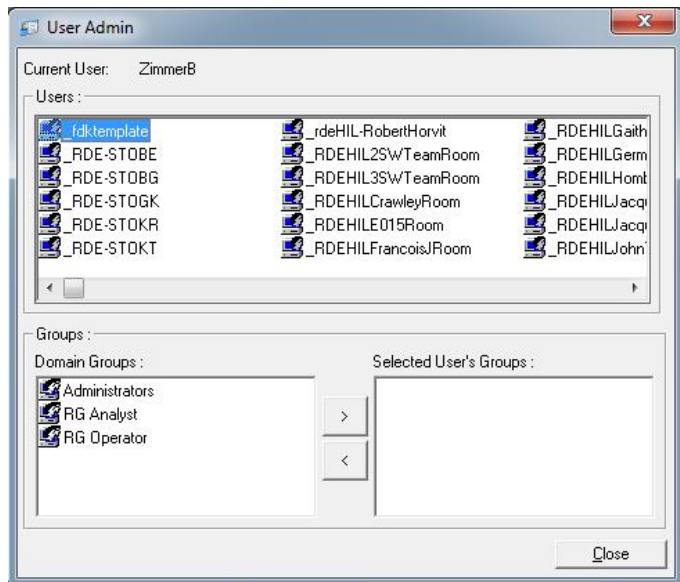


Opomba: Za ustvarjanje skupin RG s programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q je treba programsko opremo zagnati s skrbniškimi pravicami. To izvedete tako, da desnokliknete na namizno ikono in v kontekstnem meniju izberete možnost »Run as administrator« (Zaženi kot skrbnik).

2. Ko je programska oprema odprta, kliknite meni »Security« (Varnost). Prvič, ko dostopite do menija »Security« (Varnost), programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q konfigurira številne sistemske skupine, ki bodo nadzorovale dostop do programske opreme.



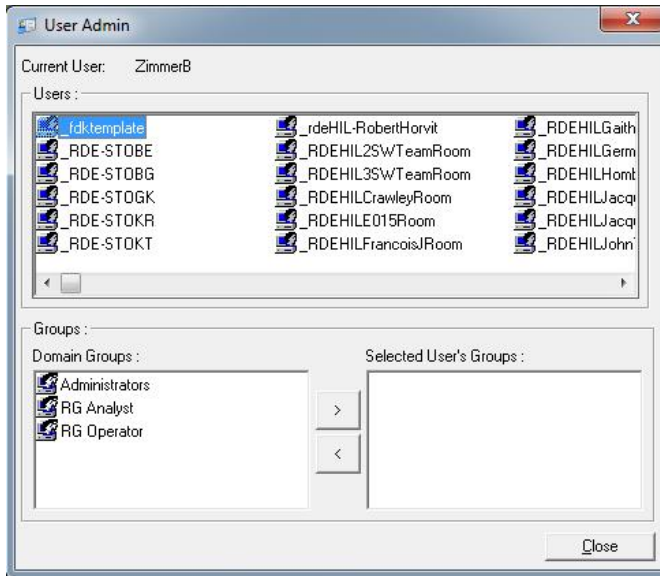
3. Kliknite možnost »Yes« (Da). Pojavi se okno »User Admin« (Uporabnik skrbnik). V zgornji plošči so prikazani vsi uporabniki računalnika. Nekatere račune uporablja sistem in bodo zato neznani. Spodnja stran prikazuje skupine, ki so dodeljene uporabniku.



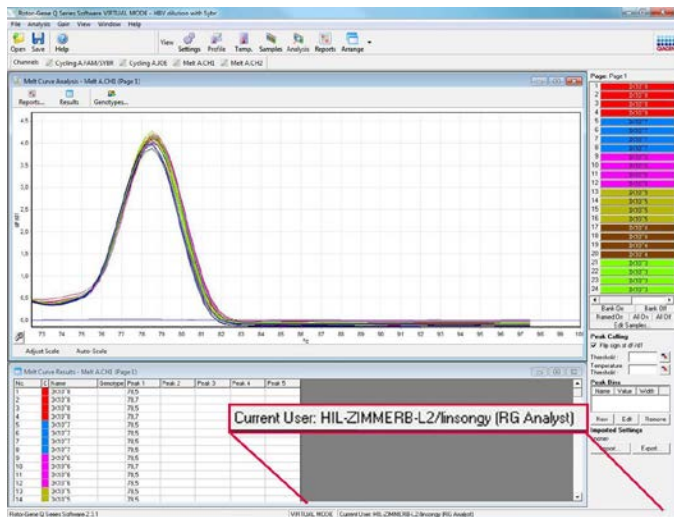
4. Za dodelitev skupine uporabniku s seznama izberite ime uporabnika. Spodnja plošča se bo posodobila.

Če uporabnik nima skupin, jih programska oprema ne more zagnati.

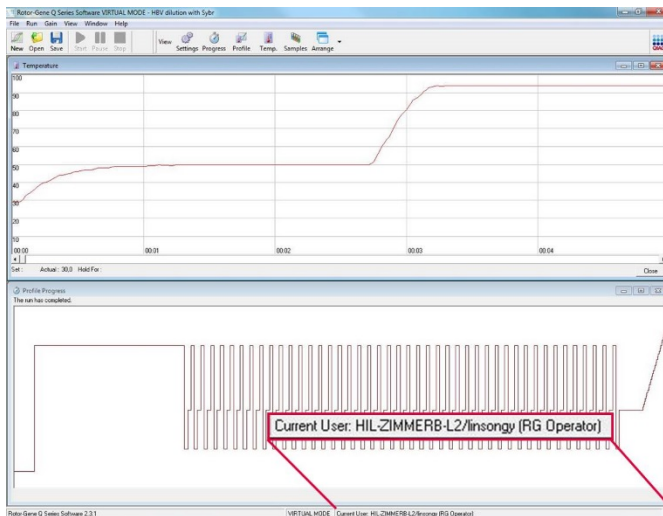
Na spodnjem primeru uporabnika »linsongy« dodelimo skupini RG Analyst (Analitik RG), tako da izberete skupino na levi strani, potem pa kliknete gumb »>«. Skupine lahko odstranite tako, da jih izberete in kliknete gumb »<«.



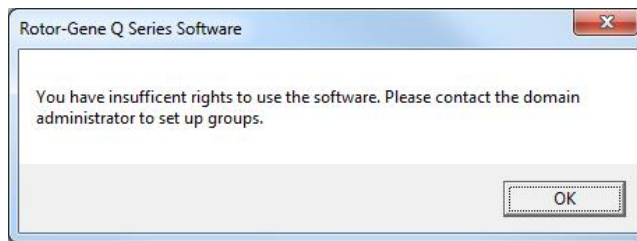
5. Sedaj se prijavite kot ta uporabnik. Za možnost RG Analyst (Analitik RG) meni Run (Potek) in gumb »Profile« (Profil) nista na voljo. Vendar pa lahko obstoječe datoteke odprete in analizirate kot je prikazano na spodnjem posnetku zaslona. Vrstica stanja nakazuje, da je uporabnik »linsongy« RG Analyst (Analitik RG).



6. S ponovno prijavo kot skrbnik lahko pravice RG Operator (Uporabnik RG) dodelite uporabniku »linsongy« in pravice RG Analyst (Analitik RG) lahko ponovno odstranite. Potem je treba programsko opremo ponovno zagnati. Tokrat manjkata meni Analysis (Analiza) in gumb »Reports« (Poročila), meni Run (Potek) pa je omogočen. Vrstica stanja nakazuje, da uporabnik »linsongy« spada v skupino RG Operator (Uporabnik RG).



7. Če se prijavite kot skrbnik in odstranite vse skupine iz uporabnika »insongy«, se bo takrat, ko uporabnik »insongy« odpre programsko opremo, pojavilo naslednje sporočilo.



7.9.2 Konfiguracija za operacijski sistem Windows 10

To poglavje opisuje kako nastavite sistem, da bo varno uporabljal programsko opremo instrumenta Rotor Gene Q. Za uporabo varnostnih funkcij je treba programsko opremo namestiti z možnostjo »Force authentication through Windows domain« (Prisilno potrjevanje prek domene Windows). S tem domeno Windows zaprosite za vašo raven dostopa in prijavnne podatke ter je ključnega pomena za zagotavljanje odgovornosti in varnostnih funkcij.

Delo v vlogi skrbnika

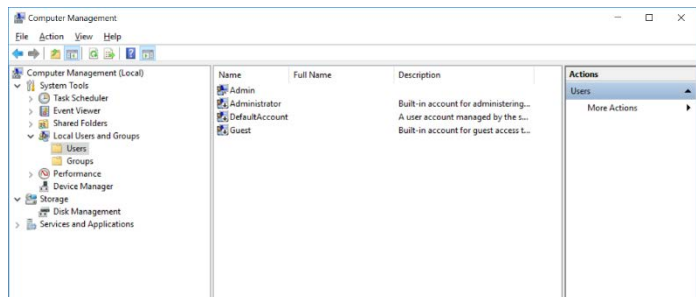
Številni uporabniki svoje računalnike uporabljajo kot skrbniki, brez gesel. Čeprav je to priročno, je zaradi tega nemogoče določiti kdo uporablja računalnik. S tem pride do izločitve odgovornosti in preprečitve aktivacije številnih varnostnih ukrepov programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q.

Ko delate v vlogi skrbnika, so omogočene vse funkcije programske opreme. Zato delo v vlogi kot skrbnik zagotavlja, da lahko uporabniki, ki ne potrebujejo varnostnih funkcij, dostopajo do vseh funkcij programske opreme.

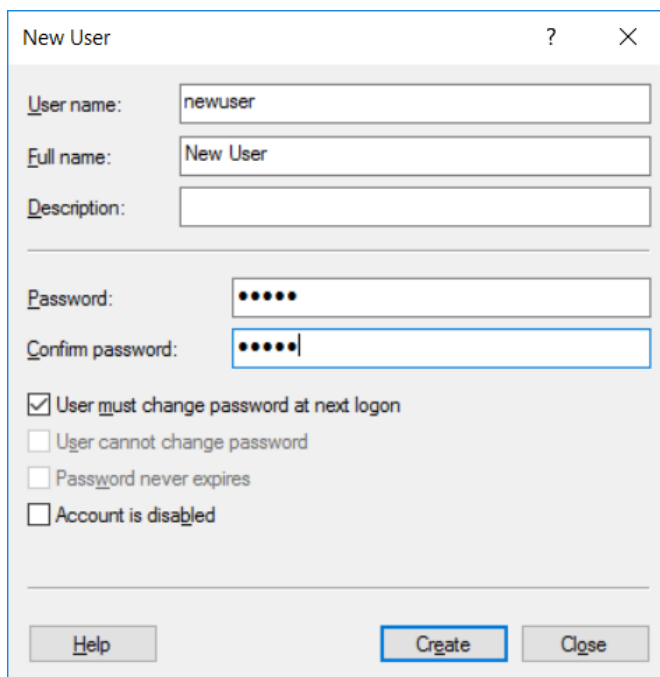
Ustvarjanje novega uporabniškega računa

Ustvarite uporabniški račun za vsakega uporabnika programske opreme. Za vsakega uporabnik ponovite spodnje korake, dokler ne ustvarite vseh računov.

1. Za ustvarjanje novega uporabnika izberite možnost »Start«, vnesite možnost »Computer Management« (Upravljanje računalnika), pritisnite tipko »Enter« in se pomaknite na možnost »Local Users and Groups« (Lokalni uporabniki in skupine) na levi strani.
2. V oknu, ki se pojavi, izberite mapo »Users« (Uporabniki). Desnokliknite na okno na desni strani in izberite možnost »New User...« (Nov uporabnik ...).



3. Vnesite uporabniško ime in geslo. Po privzeti nastavitvi bodo uporabniki ustvarjeni z normalnimi pravicami dostopa. To pomeni, da lahko uporabnik uporablja programsko opremo, vendar ne more nameščati novih programov ali spreminjati nastavitve sistema.



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 with a blue border), Close.

4. Kliknite možnost »Create« (Ustvari). Sedaj se lahko prijavite kot ta uporabnik.

Dodeljevanje vlog vsakemu uporabniku

Sedaj morate vsakemu uporabniku dodeliti vloge. Dostop je razdeljen na naslednja območja:

- Uporabnik instrumenta Rotor-Gene Q — lahko izvaja poteke, vendar ne mora ustvarjati poročil ali izvajati analiz
- Analitik z instrumentom Rotor-Gene Q — lahko analizira podatke poteka in ustvari poročila, vendar ne more izvajati novih potekov
- Uporabnik in analitik z instrumentom Rotor-Gene Q — na voljo ima funkcije obeh vlog

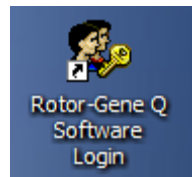
- Skrbnik — lahko odklene imena vzorcev in izvede vse postopke analitika in uporabnika
- Brez — dostop do programske opreme je zavržen

Opomba: V operacijskem sistemu Microsoft Windows 10 s programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q ni mogoče ustvariti skupine uporabnikov. Skupine mora v domeni ustvariti skrbnik domene, prav tako se tam izvede tudi dodelitev uporabnikov določeni skupini. Meni Run (Potek) je omogočen. Vrstica stanja nakazuje, da uporabnik »linsongy« spada v skupino RG Operator (Uporabnik RG).

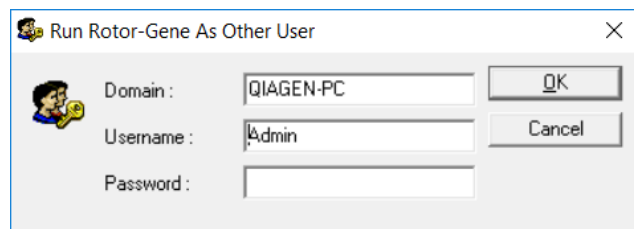
7.9.3 Zagon več uporabnikov na istem računalniku

Za uporabo programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q z več uporabniki ustvarite nov uporabniški račun, ki nima dostopa programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q. S tem računom se prijavite v operacijski sistem Windows, tako da uporabniki ne morejo anonimno dostopati do instrumenta Rotor-Gene Q MDx.

1. Z uporabo ikone »Rotor-Gene Q Software Login« (Prijava v programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q) lahko uporabniki odprejo svoj uporabniški račun v programski opremi instrumenta Rotor-Gene Q.



2. Uporabniško ime in geslo (obvezno) vnesite v polje, ki se pojavi.



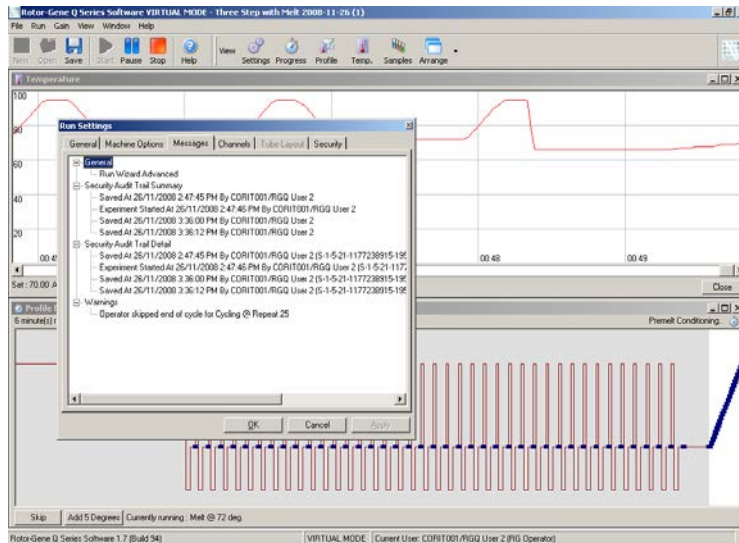
3. Domena je bodisi računalnik, v katerega se prijavljate, ali ime vašega lokalnega omrežja, skupaj z imenom gostitelja. Če niste prepričani katero domeno morate vnesti v to polje, se posvetujte z vašim skrbnikom omrežja.

Opomba: Po prijavi bodo vse uporabniške datoteke na voljo temu uporabniku. Vsak uporabnik lahko datoteke shrani v svoje lastno območje. S tem je zagotovljena visoka stopnja varnosti.

Opomba: Vsak uporabnik se mora po dokončanju poteka odjaviti, da drugim uporabnikom prepreči izvajanje poteka v njegovem imenu.

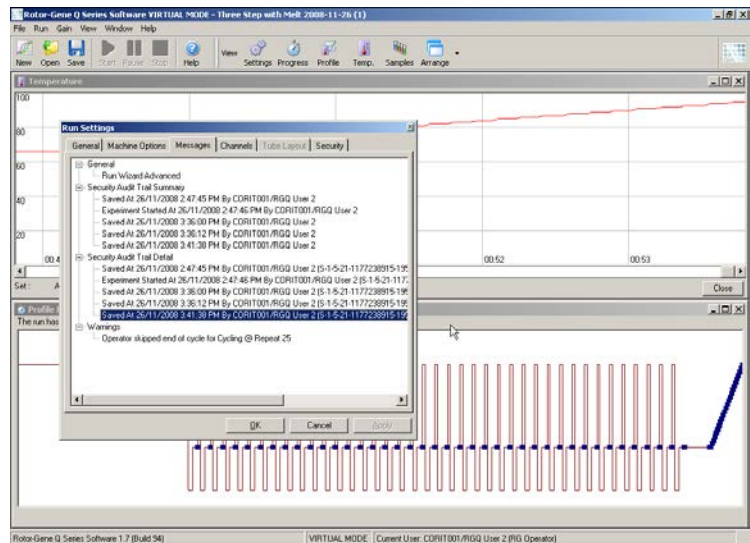
7.9.4 Revizijske sledi

Vsakič, ko uporabnik shrani datoteko, so njegovi podatki shranjeni v možnosti »Run Settings« (Nastavitve poteka) v zavihku »Messages« (Sporočila) kot možnost Security Audit Trail Summary (Povzetek varnostne revizijske sledi) in možnost Security Audit Trail Detail (Podrobnosti varnostne revizijske sledi).



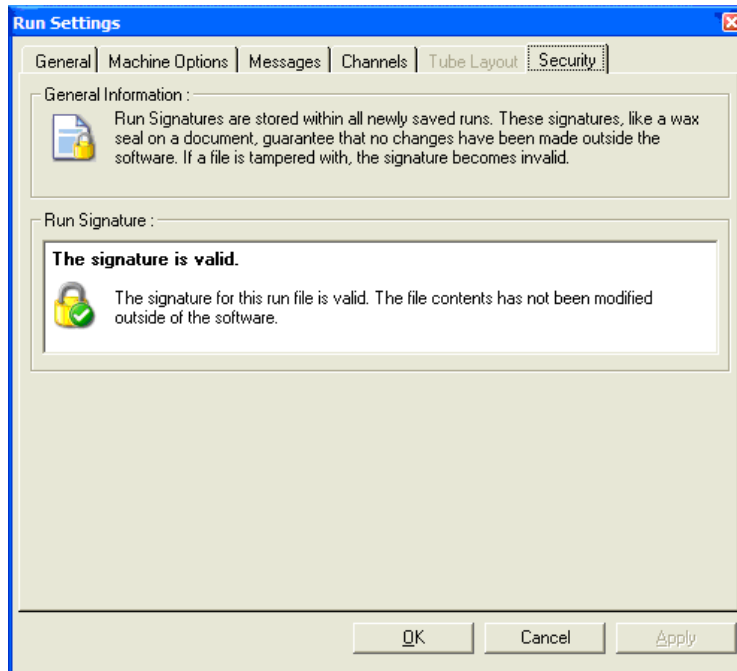
To lahko uporabljate za spremljanje kdo je spremenil vsebine datoteke. Možnost Security Audit Trail Detail (Podrobnosti varnostne revizijske sledi) vsebuje več podrobnosti, kot npr. edinstveni identifikator uporabnika. Identifikator je pomemben za izogibanje, da bi uporabnik na drugem računalniku ustvaril račun z enakim imenom in s tem prevzel identiteto druge osebe. V tem primeru bi bila uporabniška imena enaka, vendar pa bi bila ID-številka računa drugačna.

Identifikator za račun CORIT001/RGQ uporabnik 2, S-1-5-21-1177238915-195, je prikazana v podrobnostih.

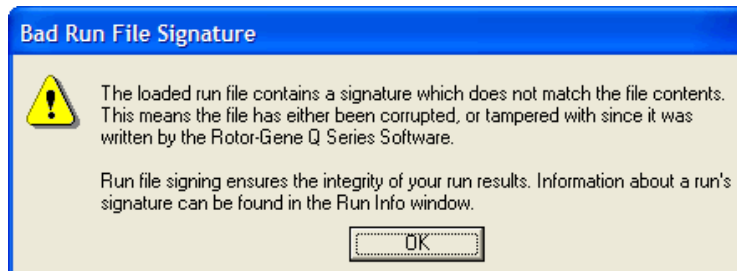


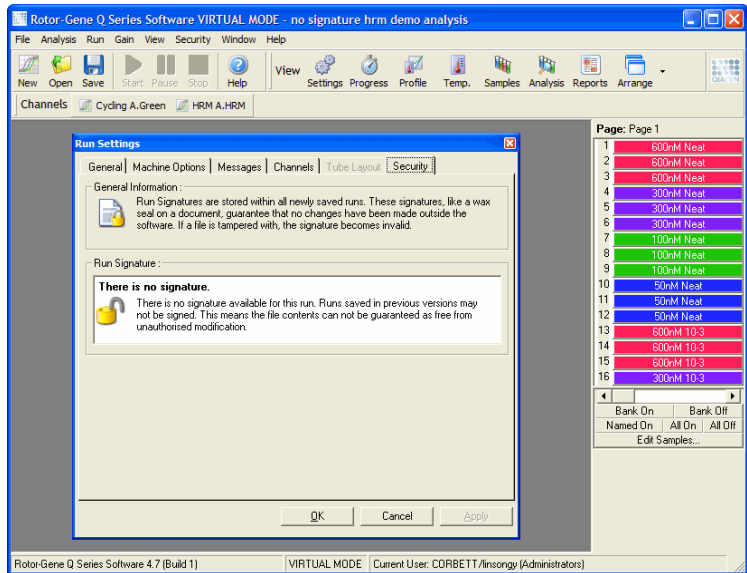
7.9.5 Podpisi poteka

Revizijska sled je shranjena v datoteki poteka instrumenta Rotor-Gene Q. Da se izognete neželjenim spremembam teh datotek, jih morate ohranjati na varni lokaciji, ki je dostopna samo določenim računom operacijskega sistema Windows. Vendar, če datoteke shranite v skupno območje, potem možnost Run Signatures (Podpisi poteka) zagotavlja dodatno varnost. Posnetek zaslona prikazuje zavihek »Security« (Varnost) v možnosti Run Settings (Nastavitve poteka) za datoteko z možnostjo Run Signature (Podpis poteka).



Možnost Run Signature (Podpis poteka) je dolga beseda, ki je ustvarjena vsakič, ko je datoteka shranjena in povezana z vsebinami datoteke. Na primer, podpis te datoteke je 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Če je datoteka odprta v beležnici in je narejena sprememba (npr. datum poteka je bil nastavljen 3 dni prej), se ob ponovnem odpiranju datoteke pojavi naslednje sporočilo.





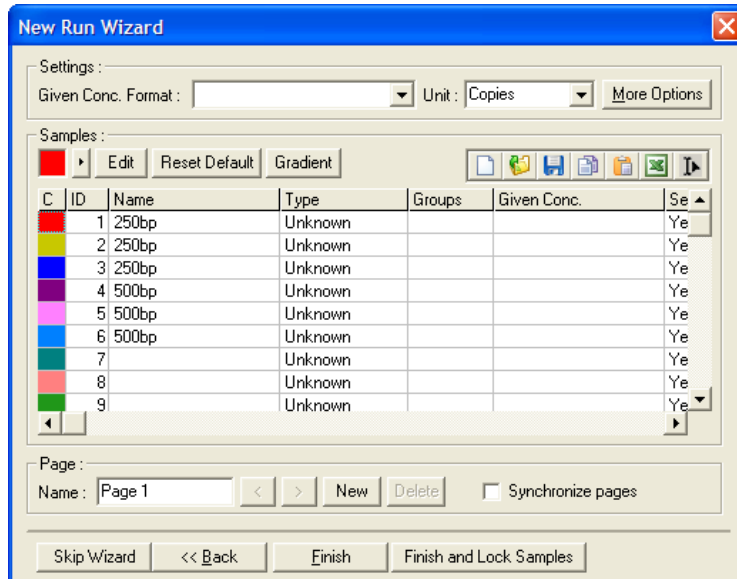
Opomba: Če datoteke pošiljate po elektronski pošti, lahko postopek šifriranja razveljavi podpis. Da se temu izognete, pred pošiljanjem po elektronski- pošti datoteko zapakirajte v obliko zip-datoteke.

7.9.6 Zaklepanje vzorcev

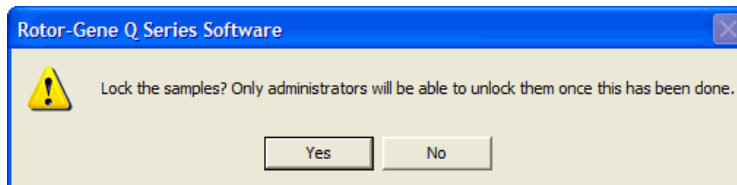
Pomembno je zagotoviti, da ne pride do nenamerne ali namerne spremembe imen vzorcev, ko je uporabnik že zagnal potek. Zaradi tega programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q zagotavlja zaklepanje vzorca. Imena vzorcev lahko zaklene kateri koli uporabnik, odklene pa jih lahko samo skrbnik. Za uporabnike, ki svoje računalnike uporabljajo v skrbniškem načinu, ima ta možnost omejeno vrednost. Za uporabo te možnosti je treba računalnik varno konfigurirati kot je opisano v prejšnjih poglavjih.

Opomba: Če želite vzorce zakleniti, potem programske opreme ne zaženite kot skrbnik. Ustvarite račun s skupinama RG Operator (Uporabnik RG) in RG Analyst (Analitik RG) ter ne razkrijte skrbniškega gesla. Uporabniki bodo potem za odklepanje datotek potrebovali potrditev s strani skrbnika.

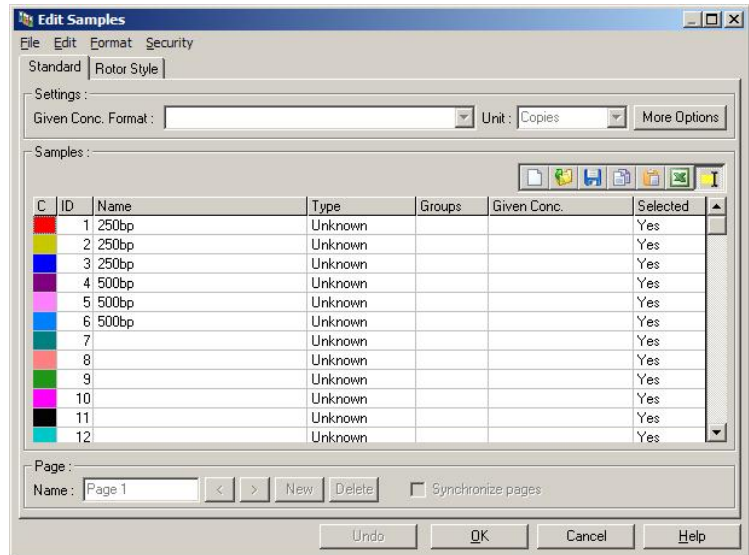
Vzorce lahko zaklenete pred zagonom poteka, ko uporabljate čarovnik Advanced (Napredno), tako da kliknete možnost »Finish and Lock Samples« (Zaključni in zaklenjeni vzorci).



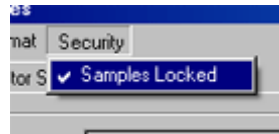
Pojavilo se bo naslednje opozorilo. Za potrditev kliknite možnost »Yes« (Da).



Ko bodo vzorci zaklenjeni, jih ne bo mogoče urejati v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce).



Vzorci lahko tudi zaklene in odklene v oknu »Edit Samples« (Uredi vzorce). Vendar, samo skrbnik lahko odklene vzorce, ki so bili zaklenjeni.

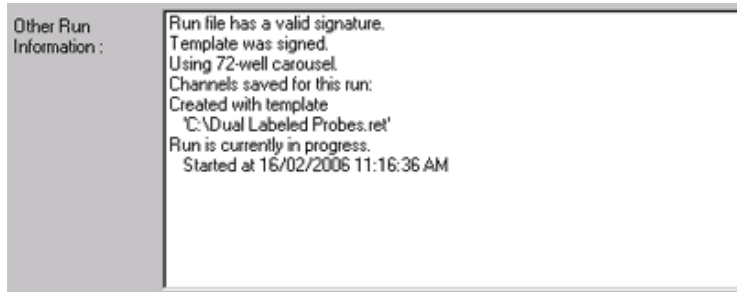


Katera koli nepooblaščen sprememba bo razveljavila možnost Run Signature (Podpis poteka).

7.9.7 Zaklenjene predloge

Uporabnik trenutno s programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q ne more ustvariti datotek predloge samo za branje. Vendar pa lahko po potrebi kot zahtevo določi, da so vsi poteki izvedeni s posebno datoteko predloge. Za zagotovitev dostopa do te predloge samo za branje jo je treba na omrežni pogon shraniti na mestu, kjer uporabniki ne morejo spreminjati podatkov. Uporabniki lahko še vedno zaganjajo in spreminjajo lastne profile, medtem ko je predloga na omrežnem pogonu, kot je ta, zaščitena. Za spremljanje, katera predloga je bila uporabljena,

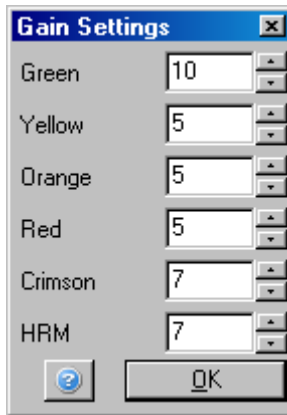
programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q shrani ime datoteke predloge, ki je bila zagnana. Do te informacije lahko dostopate s klikom gumba »Settings« (Nastavitve), ki potem omogoči prikaz okna »Run Settings« (Nastavitve poteka). Informacije predloge so shranjene v možnosti »Other Run Information« (Druge informacije poteka).



7.10 Meni pridobitve

Kliknite meni Gain (Pridobitev), da si ogledate možnost »Gain Settings« (Nastavitve pridobitve) za trenutni potek. S tem nastavite pridobitev določenega kanala pred potekom. Nastavitve možnosti Gain (Pridobitev) so ohranjene iz prejšnjega poteka. Te lahko spremenite, če potek še ni bil zagnan oz. v začetnih ciklih. Uporabite puščici gor/dol poleg vsakega besedilnega polja, da spremenite polja. Potem kliknite možnost »OK« (V redu).

Pridobitev lahko spremenite med začetnimi cikli. Rdeča linija bo narisana v primernem kanalu, ki bo prikazovala kje je bila pridobitev spremenjena. Cikli pred spremembo pridobitve bodo izločeni iz analize.



7.11 Meni okna

Ta meni omogoča navpično ali vodoravno nagibanje oken oz. razporeditev v kaskadi. Nadaljnje možnosti so dostopne s klikom puščice na desni strani gumba »Arrange« (Razporedi).

7.12 Funkcija pomoči

Pri uporabi gumba Help (Pomoč) ali menija Help (Pomoč) se bo odprl naslednji spustni meni.

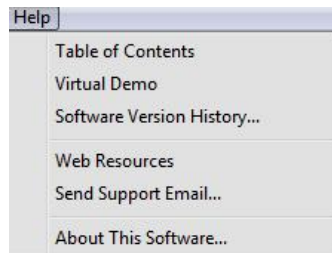


Table of Contents
(Kazalo vsebine)

S tem dostopate do funkcije Help (Pomoč).

Virtual Demo (Virtualna demonstracija)

S tem se povežete s spletno stranjo družbe QIAGEN, kjer se nahaja interaktivna demonstracija programske opreme.

Software Version History... (Zgodovina različic programske opreme ...)	S tem pridobite kratek pregled novih funkcij, ki so bile dodane od predhodno nameščene izdaje programske opreme.
Web Resources (Spletni viri)	S tem odprete spletno stran družbe QIAGEN v novem oknu brskalnika s koristnimi najnovejšimi informacijami glede instrumentov Rotor-Gene Q MDx in ustreznih reagentov.
About This Software... (O tej programski opremi ...)	To podaja informacije o povezanem stroju, serijsko število instrumenta Rotor-Gene Q MDx in različico programske opreme.

7.12.1 Pošiljanje podpornega elektronskega sporočila

Možnost Send Support Email (Pošlji podporno elektronsko sporočilo) v meniju Help (Pomoč) vam omogoča pošiljanje podpornih elektronskih sporočil družbi QIAGEN, vključno z vsemi ustreznimi informacijami iz poteka. Možnost »Save As« (Shrani kot) bo shranila vse informacije v datoteko, katero lahko kopirate na disk ali v omrežje, če na računalniku, na katerem je zagnan instrument Rotor-Gene Q MDx, nimate dostopa do elektronske pošte.

Če funkcijo podpornega elektronskega sporočila prvič uporabljate na prenosnem računalniku, ki je izbirno dostavljen z instrumentom Rotor-Gene Q MDx (odvisno od države), morate konfigurirati nastavitve elektronske pošte.

Opomba: Izvedete lahko vnose IT-upravitelja vašega podjetja.

Konfiguracija nastavitev elektronske pošte

Kliknite možnost »Send Support Email...« (Pošlji podporno elektronsko sporočilo ...). Odrplo se bo naslednje okno.

Internet Connection Wizard

Your Name

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.

Display name:

For example: John Smith

< Back Next > Cancel

1. Vnesite vaše ime in kliknite možnost »Next« (Naprej). Odrplo se bo okno »Internet E-mail Address« (Naslov spletne elektronske pošte).

Internet Connection Wizard

Internet E-mail Address

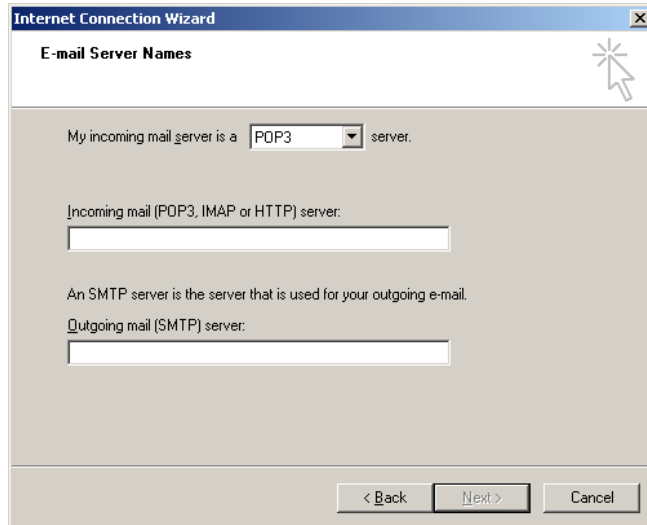
Your e-mail address is the address other people use to send e-mail messages to you.

E-mail address:

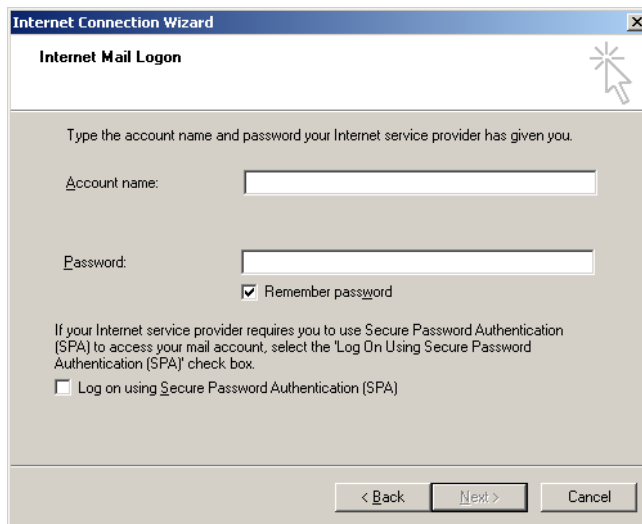
For example: someone@microsoft.com

< Back Next > Cancel

2. Vnesite vaš naslov elektronske pošte in pritisnite možnost »Next« (Naprej). Odprlo se bo okno »-Email Server Names« (Imena strežnikov elektronske pošte).

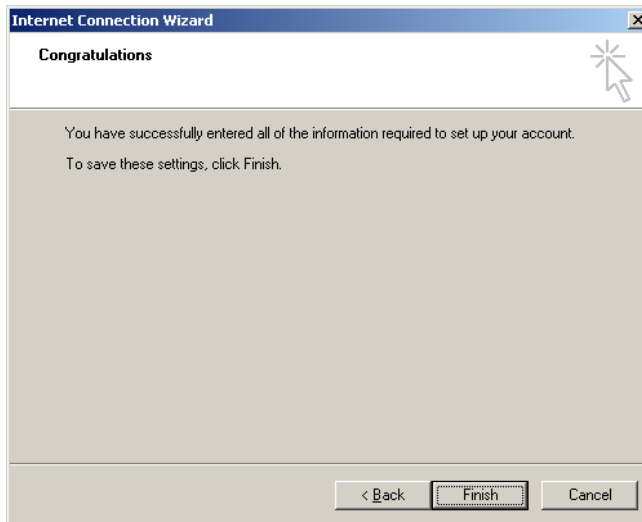


3. Izberite vrsto poštnega strežnika za prihajajoča elektronska sporočila in določite imena strežnikov za prihajajoča in odhodna elektronska -sporočila. Potem pritisnite možnost »Next« (Naprej). Odprlo se bo okno »Internet Mail Logon« (Privaja v spletno elektronsko pošto).



The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a sub-header "Internet Mail Logon". The main text reads: "Type the account name and password your Internet service provider has given you." Below this are two input fields: "Account name:" and "Password:". A checkbox labeled "Remember password" is checked. At the bottom, there is a checkbox for "Log on using Secure Password Authentication (SPA)" which is unchecked. Navigation buttons at the bottom are "< Back", "Next >" (highlighted), and "Cancel".

4. Če vaš strežnik uporablja potrjevanje z geslom, vnesite ime in geslo vašega računa elektronske pošte. Potem kliknite možnost »Next« (Naprej). Odrplo se bo okno »Congratulations« (Čestitke).

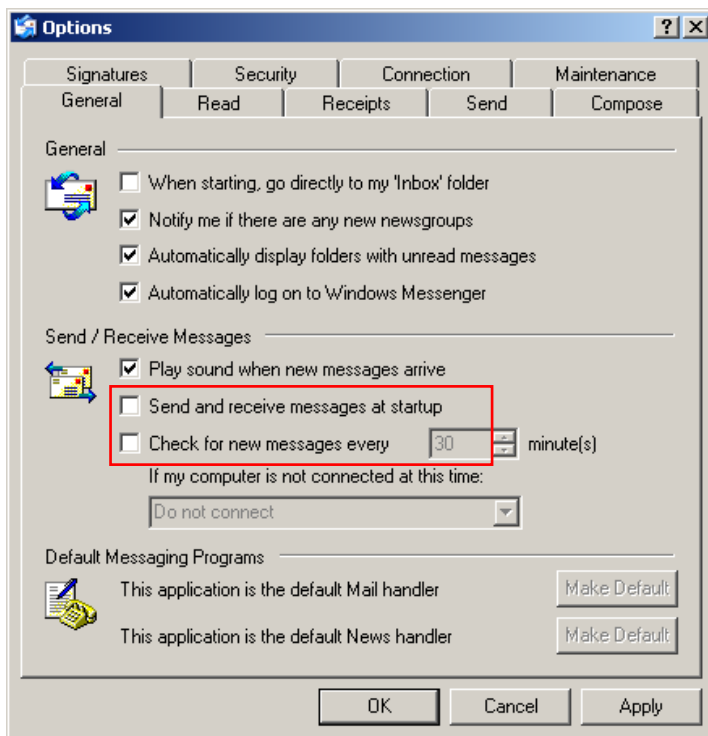


The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a sub-header "Congratulations". The main text reads: "You have successfully entered all of the information required to set up your account. To save these settings, click Finish." At the bottom, there are three buttons: "< Back", "Finish" (highlighted), and "Cancel".

5. Potrdite z možnostjo »Finish« (Zaključí), da dokončate račun elektronske pošte.

Nastavljanje v programu Outlook

1. V meniju Start odprite program »Outlook Express« (Start, All programs (Vsi programi), Outlook Express).
2. Izberite možnost Tools (Orodja), potem pa možnost Options (Možnosti). Pojavi se spodnje okno.



Pomembno: Da se izognete kakršnemu koli prejemanju elektronske pošte med poteki PCR, onemogočite privzete vnose v zaslon »Send/Receive Messages« (Prejmi/pošlji sporočila).

3. Onemogočite možnost »Send and receive messages at startup« (Pošlji in prejmi sporočila ob zagonu)
4. Onemogočite možnost »Check for new messages every 30 minutes« (Preveri glede novih sporočil vsakih 30 minut).
5. Spremembe potrdite z možnostjo »OK« (V redu).

8 Dodatne funkcije

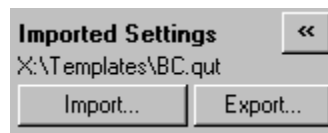
8.1 Predloge analize

Za nekatere analize mora uporabnik določiti prage, nastavitve normalizacije in nastavitve genotipa. Te nastavitve so pogosto ponovno uporabljene v več poizkusih.

Predloge analiz uporabniku omogočajo shranjevanje in ponovno uporabo teh nastavitvev. S tem se zmanjša trud pri ponovnem vstopu v nastavitve in znižuje tveganje napak.

Možnosti Quantitation (Kvantifikacija), Melt (Taljenje), Allelic discrimination (Alelna diskriminacija), Scatter graph analysis (Analiza grafa raztrosa) in EndPoint analysis (Analiza končne točke) podpiraj predloge analiz. Te analize uporabniku omogočajo izvoz predloge, ki je edinstvena za analizo (npr. analiza kvantifikacije omogoča izvoz in uvoz datotek *.qut, ki vsebujejo nastavitve kvantifikacije).

Ko je bila predloga analize uvožena ali izvožena, je ime datoteke predloge prikazano za prihodnjo referenco.



8.2 Odpiranje drugega poteka

Med izvedbo poteka je mogoče odpreti in analizirati poteke, ki so bili izvedeni prej. Številne funkcije, npr. gumba »New« (Novo) ali »Start Run« (Zaženi potek) niso aktivirane v drugem oknu. Nov potek lahko zaženete in prvega okna, ko je bil prvi potek dokončan.

8.3 Možnosti skaliranja

Za dostop do možnosti »Adjust Scale« (Prilagodi merilo), kliknite možnost »Adjust Scale...« (Prilagodi merilo ...) v spodnjem delu glavnega okna ali desnokliknite na graf ter izberite možnost »Adjust Scale...« (Prilagodi merilo ...) v meniju, ki se pojavi. Merilo lahko ročno vnesete v okno, ki se pojavi.



Za dostop do možnosti »Auto-Scale« (Samodejno merilo), kliknite možnost »Auto-Scale...« (Samodejno merilo ...) v spodnjem delu glavnega okna ali desnokliknite na graf ter izberite možnost »Auto-Scale...« (Samodejno merilo ...) v meniju, ki se pojavi. Možnost »Auto-Scale« (Samodejno merilo) poizkuša prilagoditi merilo največjim in najmanjšim odčitkom v podatkih.

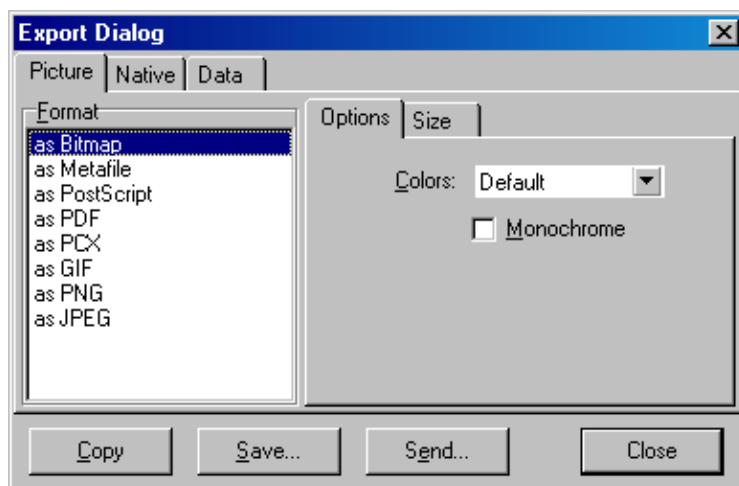
Za dostop do možnosti »Default Scale« (Privzeto merilo), kliknite možnost »Default Scale...« (Privzeto merilo ...) v spodnjem delu glavnega okna ali desnokliknite na graf ter izberite možnost »Default Scale...« (Privzeto merilo ...) v meniju, ki se pojavi. Možnost »Default Scale« (Privzeto merilo) ponastavi merilo, da prikaže od 0 do 100 enot fluorescence.

8.4 Izvoz grafov

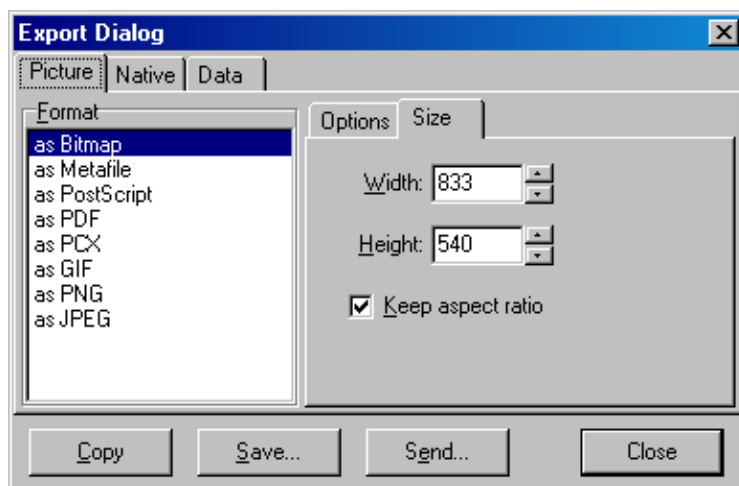
Izvoz slike

Naslednji koraki opisujejo kako je treba shraniti sliko.

1. Desnokliknite na sliko in v meniju, ki se pojavi, kliknite možnost »Export« (Izvozi).
2. Pojavi se okno »Export Dialog« (Pogovorno okno za izvoz). Na seznamu »Format« izberite zelen format.



3. Izberite zavihek »Size« (Velikost) in določite želeno velikost.



4. Izberite potrditveno polje »Keep aspect ratio« (Ohrani razmerje stranic), da ohranite sliko v pravilnem razmerju, ko prilagajate njeno velikost.
5. Kliknite možnost »Save« (Shrani) in v pogovornem oknu, ki se pojavi, izberite ime datoteke ter lokacijo za datoteko.

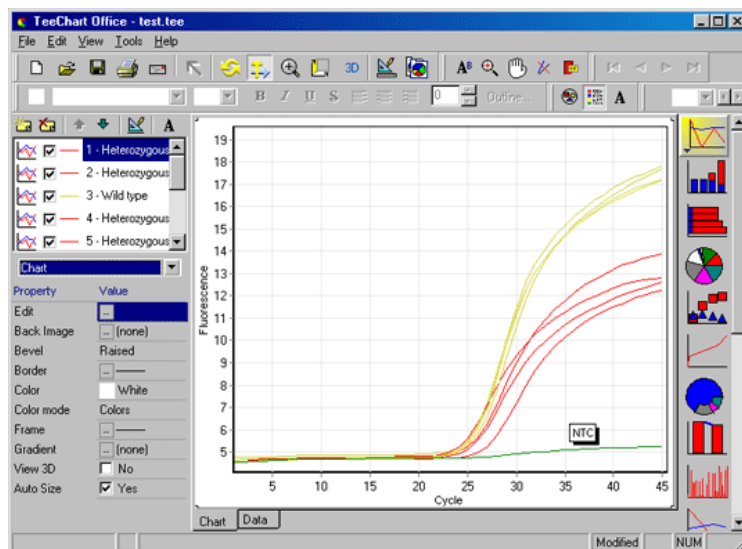
Če potrebujete sliko višje ločljivosti, priporočamo povečavo velikosti slike, dokler se ne sklada z vašimi zahtevami, ali shranjevanje grafa kot meta-datoteko (*.emf, *.wmf). To je format na osnovi vektorjev, ki ga je mogoče odpreti v programski opremi, kot npr. Adobe® Illustrator®, kar uporabniku omogoča ustvarjanje slike za katero koli ločljivost.

Izvoz izvirnega formata

Grafi v programski opremi instrumenta Rotor-Gene Q uporabljajo komponento tretjega ponudnika TeeChart®, ki jo razvija programska oprema Steema. Za shranjevanje grafa v izvirni obliki izberite zavihek »Native« (Izvirno) v oknu »Export Dialog« (Pogovorno okno za izvoz) (glejte prejšnji posnetek zaslona) in kliknite možnost »Save« (Shrani). Izvirni format je standarden format datoteke TeeChart. To uporabniku omogoča uporabo programa TeeChart Office iz programske opreme Steema. Program TeeChart Office je na voljo brezplačno in je nameščen kot del paketa programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q. Za dostop do programske opreme kliknite ikono TeeChart na namizju.

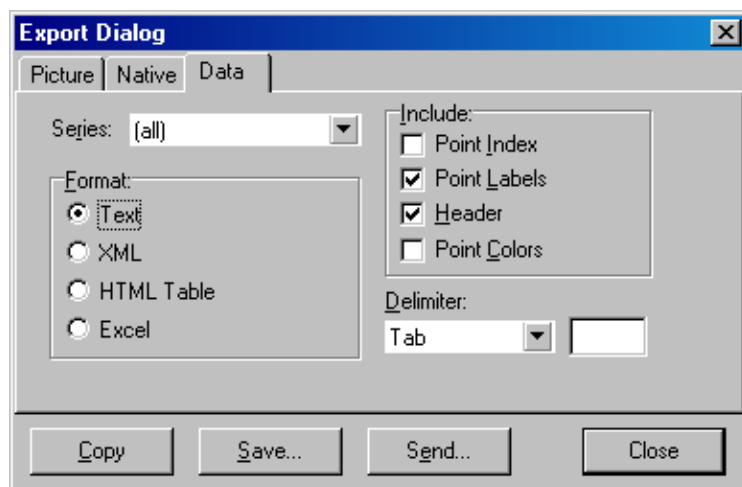


Program TeeChart Office vam omogoča spreminjanje izvoženih grafov, vključno s spreminjanjem barv krivulj, dodajanjem opomb, spreminjanje pisave in prilagajanjem točk podatkov.




Izvoz podatkov

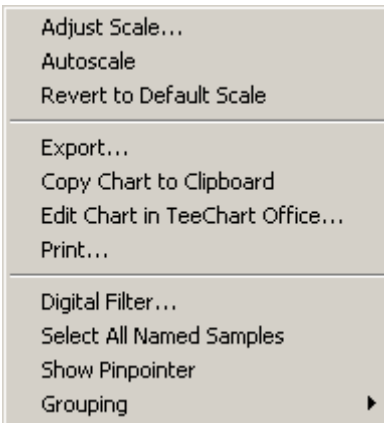
Za izvoz podatkov v različnih formatih izberite zavihek »Data« (Podatki) v oknu »Export Dialog« (Pogovorno okno za izvoz). Izvožena datoteka vsebuje točke neobdelanih podatkov, ki so uporabljene v grafu.



Izvoz neobdelanih podatkov in analize podatkov lahko izvedete tudi z izbiro možnosti »Save As« (Shrani kot) v meniju »File« (Datoteka) (glejte poglavje 7.5).

8.5 Ikona ključa/izvijača

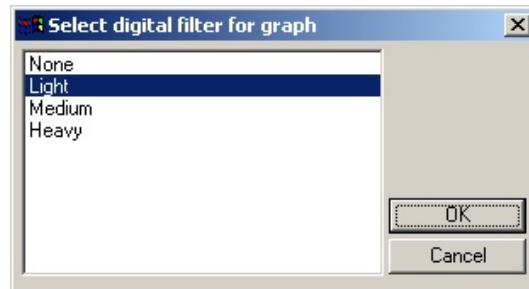
Ikona ključa/izvijača  se pojavi v spodnjem levem delu glavnega zaslona. S klikom ikone ključa/izvijača omogočite številne možnosti. Do teh možnosti lahko dostopate tudi z desnim klikom na graf.



Adjust Scale, Glejte poglavje 8.3.
Autoscale,
Revert to Default
Scale (Prilagodi
merilo,
Samodejno
merilo, Povrni na
privzeto merilo):

Export... S tem graf shranite v različnih formatih
(Izvoz ...): (glejte poglavje 8.4).

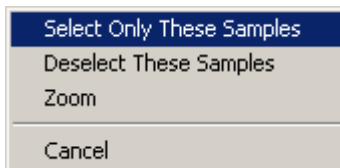
- Copy Chart to Clipboard**
(Kopiraj diagram v odložišče): S tem sliko grafa kopirate v odložišče.
- Edit Chart in TeeChart Office...**
(Uredi diagram v TeeChart Office ...): S tem graf za urejanje odprete neposredno v programu TeeChart Office (glejte poglavje 8.4).
- Print (Tiskanje):** S tem natisnete graf.
- Digital Filter...**
(Digitalni filter): S tem spremenite trenutno izbran digitalni filter na grafu. Digitalni filter zgleda podatke z uporabo drsnega okna s točkami.



- Show Pinpointer**
(Prikaži kazalec): S tem odprete okno, ki prikaže natančne koordinate položaja kazalca miške.
- Grouping**
(Združevanje): S tem vizualno združite vzorce, ki imajo enaka imena. To je uporaba v potekih s polnim rotorjem. Izbira te možnosti ne vpliva na izračunane vrednosti.

8.6 Možnosti izbranega območja

Območje grafa lahko izberete s klikom in zadržanjem leve tipke miške in vlečenjem kazalca miške. Pojavijo se naslednje možnosti.



Select Only These Samples (Izberi samo te vzorce): Za vzorce izven izbranega območja je izbira preklicana.

Deselect These Samples (Prekliči izbiro teh vzorcev): Za vse vzorce v izbranem območju je izbira preklicana.

Zoom (Povečaj): S tem povečate na izbrano območje v grafu. Za pomanjšanje kliknite gumb »Default Scale« (Privzeto merilo).

9 Postopki vzdrževanja

Vzdrževanje delovne zmogljivosti instrumenta Rotor-Gene Q MDx je enostavno. Optična zmogljivost se vzdržuje z zagotavljanjem, da so leče, ki se nahajajo na viru emisij in zaznavanja, čiste. To dosežete z nežnim brisanjem s pripravo z vatirano konico, navlaženo z etanolom ali izopropanolom*, čez leče.

Opomba: Odvisno od uporabe leče očistite vsaj enkrat mesečno. Istočasno obrišite komoro rotorja.

Delovno območje ohranjajte čisto in brez prahu ter listov papirja. Odprtina za zrak instrumenta Rotor-Gene Q MDx se nahaja na dnu in sproščeni material, kot npr. papir ali prah, lahko poslabša zmogljivost.



Da se izognete nabiranju prahu, ohranjajte pokrov instrumenta Rotor-Gene Q MDx zaprt, ko ga ne uporabljate.

Če pride do onesnaženja komore rotorja, jo lahko očistite tako, da obrišete površine s krpo, ki ne pušča dlačic, navlaženo (vendar ne do točke kapljanja) z 0,1% (v/v) raztopino belina.* Komoro obrišite s krpo, ki ne pušča dlačic, navlaženo z vodo stopnje PCR, da odstranite sledi belila.

* Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (safety data sheets, SDS), ki so na voljo pri dobavitelju izdelka.

Ta stran je namenoma prazna

10 Preverjanje optične temperature

Preverjanje optične temperature (Optical Temperature Verification, OTV) je metoda, ki preverja temperaturo v epruveti v instrumentu Rotor-Gene Q MDx. Potrjevanje temperature v epruveti je lahko pomemben postopek v certificiranih laboratorijih. OTV se izvaja s pomočjo kompleta Rotor-Disc OTV Kit (glejte Dodatek C).

V nadaljevanju je podan samo kratek uvod v načelo OTV. Delovanje postopka OTV je razloženo v programski opremi instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Za podrobnejši opis postopka OTV, vključno z vodnikom za odpravljanje težav glejte *priročnik Rotor-Disc OTV*.

10.1 Načelo OTV

OTV kot absolutne temperaturne reference uporablja optične lastnosti 3 termo-kromatskih tekočih kristalov (thermochromatic liquid crystals, TLC)*. Ob ogrevanju se TLC-ji spremenijo iz neprosojnega v prozorno stanje pri zelo natančnih temperaturah (50 °C, 75 °C in 90 °C). Pri TLC-jih samih ne prihaja do fluorescence. Zato je treba vir ekscitacije pokriti s fluorescenčnim vstavkom, tako da lahko optični sistem instrumenta Rotor-Gene Q MDx zazna točke prehoda TLC. TLC-ji, ki so pod njihovo temperaturo prehoda, so neprosojni in odsevajo svetlobo. Nekaj te odsevane svetlobe se razprši proti detektorju kar poveča fluorescenco. Ko temperatura v epruveti doseže točko prehoda TLC, postane TLC prozoren in svetloba poteka skozi vzorec in se ne odbije proti detektorju, kar povzroči zmanjšuje fluorescence. Sprememba v fluorescenci se uporablja za določanje natančne temperature prehoda vsakega TLC. Temperatura prehoda je primerjana s temperaturo, ki je navedena v datoteki tovarniškega umerjanja za Rotor-Disc OTV, da se preveri, ali se instrument Rotor-Gene Q MDx nahaja znotraj specifikacije temperature.

* Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (safety data sheets, SDS), ki so na voljo pri dobavitelju izdelka.

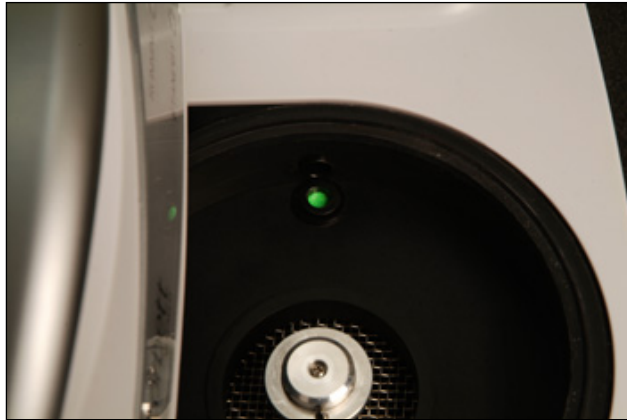
10.2 Komponente kompleta Rotor-Disc OTV Kit

Za zagon OTV so na voljo naslednje komponente:

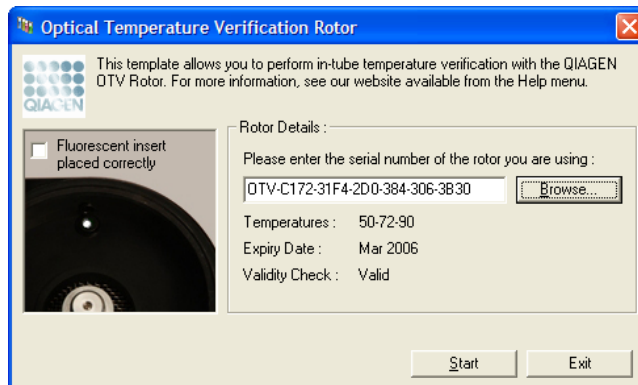
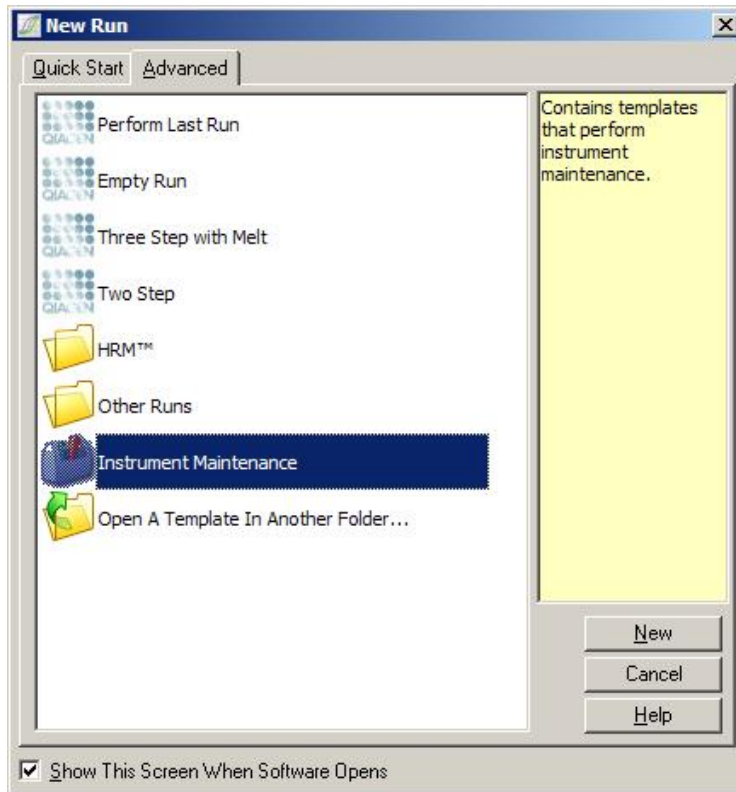
- Komplet Rotor-Disc OTV Kit, ki vključuje:
 - Rotor zatesnjenega rotorja Rotor-Disc 72 OTV (vsebuje TLC-je)
 - Vstavek fluorescenčne plošče za raztros (instrument Rotor-Gene 3000 ali instrumenti Rotor-Gene Q/6000)
 - Zgoščanka, ki vsebuje naslednje datoteke: Serijska številka rotorja OTV in datoteka datuma pretoka (*.txt); datoteka predloge testa OTV (*.ret); list izdelka (*.pdf); datoteka tovarniškega umerjanja (*.rex)
 - List izdelka
- Različica programske opreme 1.7 serije Rotor-Gene ali novejša, ki vsebuje enostaven čarovnik rotorja OTV
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

10.3 Zagon OTV

1. Fluorescenčni vstavek namestite nad lečo za emisije v spodnjem delu komore instrumenta Rotor-Gene Q MDx.
2. Rotor-Disc OTV vstavite v rotor za Rotor-Disc 72. Pritrdite ga z uporabo zaklepnega obroča Rotor-Disc 72 Locking Ring. Sklop vstavite v instrument Rotor-Gene Q MDx, tako da zaskoči na mesto. Zaprite pokrov instrumenta Rotor-Gene Q MDx.

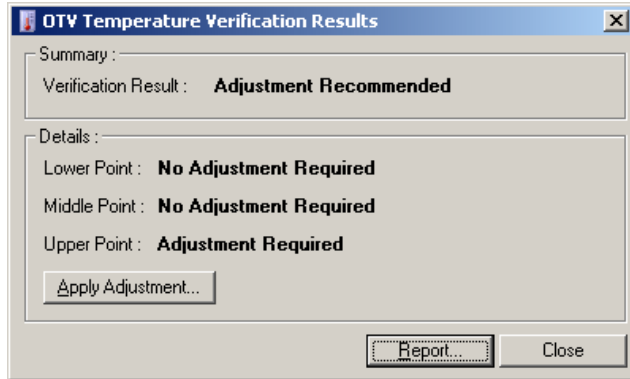


3. Do naprednega čarovnika dostopite z izbiro zavihka »Advanced« (Napredno) v oknu »New Run« (Nov potek). V naprednem čarovniku kliknite možnost »Instrument maintenance« (Vzdrževanje instrumenta) in potem možnost »OTV«. Čarovnik zaprosi za serijsko številko OTV. To številko lahko najdete na oznaki na Rotor-Disc OTV oz. jo lahko uvozite z zgoščenke, tako da kliknete možnost »Browse« (Brskaj) in izberete datoteko **.otv**, ki se nahaja na zgoščenci. Ko ste vnesli številko, kliknite možnost »Start« (Zaženi).



4. Programska oprema potem zaprosi za ime datoteke za potek. Potem se zažene potek.

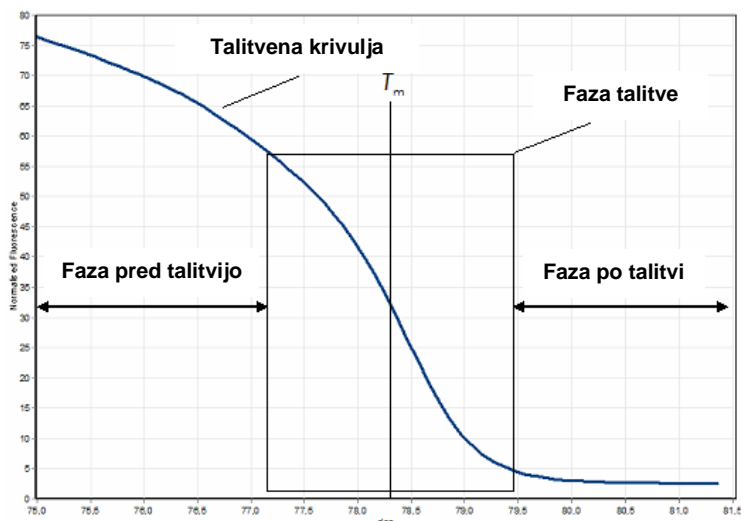
- Potek izvede niz taljenj, ki določajo termične lastnosti instrumenta Rotor-Gene Q MDx.



- Ko je potek zaključen, programska oprema nakazuje, ali se instrument Rotor-Gene Q MDx nahaja znotraj specifikacij.
- Če je potrebna prilagoditev, mora uporabnik klikniti možnost »Apply Adjustment« (Uveljavi prilagoditev). To uporabnika pozove k izvedbi poteka preverjanja. Ko je potek preverjanja dokončan, ne bi smele biti več potrebne prilagoditve. Če so potrebne dodatne prilagoditve, se obrnite na vašega prodajalca.
- Če se instrument RotorGene Q MDx nahaja znotraj specifikacij, si lahko poročilo poteka ogledate in natisnete.

11 Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo

Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo (HRM) je inovativna tehnika, ki temelji na analizi taljenja DNA. HRM vzorce DNA označuje v skladu z ločitvenim vedenjem, ko prehajajo od dvoverižne DNA (double-stranded DNA, dsDNA) do enoverižne DNA (single-stranded DNA, ssDNA) s povečujočo se temperaturo (glejte sliko spodaj). Instrument HRM zbira fluorescenčne signale z izjemno visoko optično in termično natančnostjo, kar ustvarja veliko možnosti za uporabo.



Tipični predel HRM. Predel talitvene krivulje prehaja od visoke fluorescence začetne faze pred talitvijo, prek zmanjšanja fluorescence v fazi taljenja, do osnovnih stopenj fluorescence v fazi po taljenju. Fluorescenca se zmanjša, ko je dodano barvilo DNA sproščeno iz dsDNA ob taljenju v posamezne verige. Sredinska točka faze taljenja, pri kateri je stopnja spremembe v fluorescenci največja, določa temperaturo taljenja (melting temperature, T_m) DNA v analizi.

Pred izvedbo analize HRM mora biti ciljno zaporedje amplificirano na višjo številko kopij. To se običajno izvaja prek PCR v prisotnosti fluorescenčnega dodanega barvila dsDNA. Barvilo ne deluje skupaj s ssDNA, vendar se

aktivno vključuje v dsDNA in pri dodajanju prihaja do svetle fluorescence. Sprememba v fluorescenci se lahko uporablja za merjenje povišanja koncentracije DNA med PCR in za neposredno merjenje termično povzročene taljenja DNA s strani HRM. Med HRM je fluorescenca na začetku visoka, ker se vzorec začne kot dsDNA. Fluorescenca se ob dvigu temperature zmanjša in DNA se loči v posamezne verige. Opazovano vedenje taljenja je značilno za določen vzorec DNA.

Z uporabo HRM lahko instrument Rotor-Gene Q MDx označi vzorce na podlagi dolžine zaporedja, vsebnosti GC in komplementarnosti zaporedja DNA. HRM lahko uporabljate za uporabe pri genotipiziranju, kot so analiza vstavkov/izbrisov ali polimorfizem posameznih nukleotidov (SNPs), ali za presejanje neznanih genetskih mutacij. Uporablja se lahko tudi v epigenetiki za zaznavanje in analizo stanja metilacije DNA. Uporablja se lahko tudi za kvantitativno zaznavanje majhnega deleža različice DNA v ozadju zaporedja divjega tipa pri občutljivostih, ki so v bližini 5 %. To se lahko npr. uporablja za študije somatsko zajetih mutacij ali sprememb v stanju metilacije otokov CpG.

HRM na instrumentu Rotor-Gene Q MDx omogoča več uporab, vključno s/z:

- Identifikacija genetske predispozicije kandidata
- Povezane študije (primerjava primerov in kontrolnikov, genotipov in fenotipov)
- Določanje alelne prevalence znotraj populacije ali podskupine
- Presejanje in potrjevanje SNP
- Presejanje za izgubo heterozigotnosti
- Iskanje prstnih odtisov DNA
- Označevanje blokov haplotipov
- Analiza metilacije DNA
- Mapiranje DNA
- Identifikacija vrste
- Odkrivanje mutacij
- Določanje razmerja somatsko zajetih mutacij
- Tipiziranje HLA

HRM je enostavnejši in stroškovno učinkovitejši od testov genotipiziranja na podlagi sond ter je za razliko od običajnih metod sistem z zaprtimi epruветami, kar preprečuje onesnaženje izdelkov PCR. Rezultati so primerljivi z običajnimi metodami, kot so SSCP, DHPLC, RFLP in sekvenciranje DNA.

11.1 Instrumenti

Instrument Rotor-Gene Q MDx zagotavlja naslednje zahtevne termično-optične zmožnosti in zmožnosti v realnem času, ki so potrebne za HRM.

- Visokointenzivna osvetlitev
- Visoko občutljivo optično zaznavanje
- Hiter zajem podatkov
- Fino nadzorovana vzorčna temperatura
- Minimalna termične in optične razlike od vzorca do vzorca

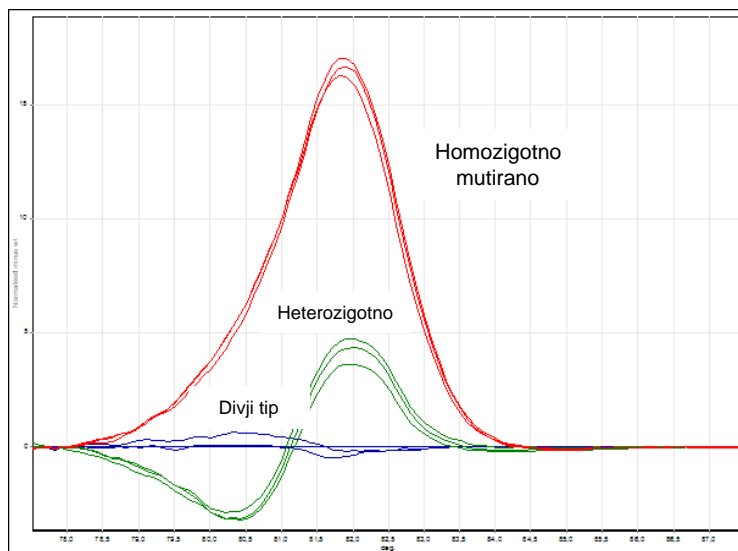
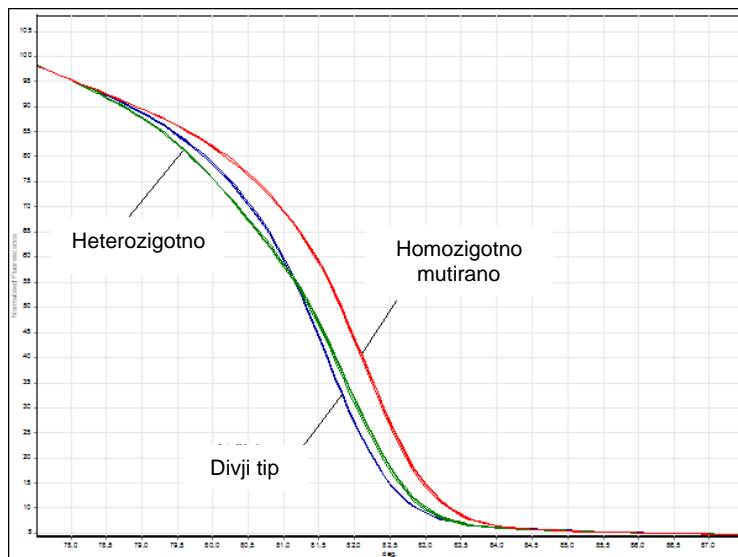
11.2 Kemija

Družba QIAGEN ponuja Type-it® HRM PCR Kit za analizo SNP in mutacij z uporabo HRM in komplet EpiTect® HRM PCR Kit za analizo metilacije. Oba kompleta vsebujeta dodano fluorescenčno barvilo EvaGreen tretje generacije. Kompleti kombinirajo optimiziran pufer HRM in polimerazo DNA HotStarTaq® Plus, da se izognete nespecifičnim izdelkom amplifikacije in zagotavljajo zanesljive rezultate.

Opomba: Vsi kompleti QIAGEN HRM in reagenti so indicirani za uporabo z instrumenti Rotor-Gene Q samo za uporabe, ki so opisane v ustreznih priročnikih kompleta QIAGEN.

11.3 Primer genotipiziranja SNP

V prikazanem primeru je bil komplet HRM PCR Type-it uporabljen v analizi HRM za diferenciacijo med homozigotnim divjim tipom, homozigotno mutacijo in heterozigotnimi oblikami človeške SNP rs60031276. Za tehnične podrobnosti si oglejte *priročnik HRM PCR Type-it*.

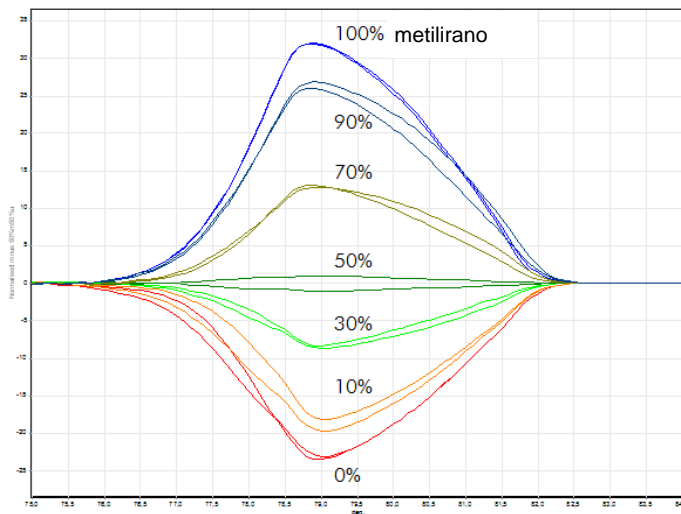
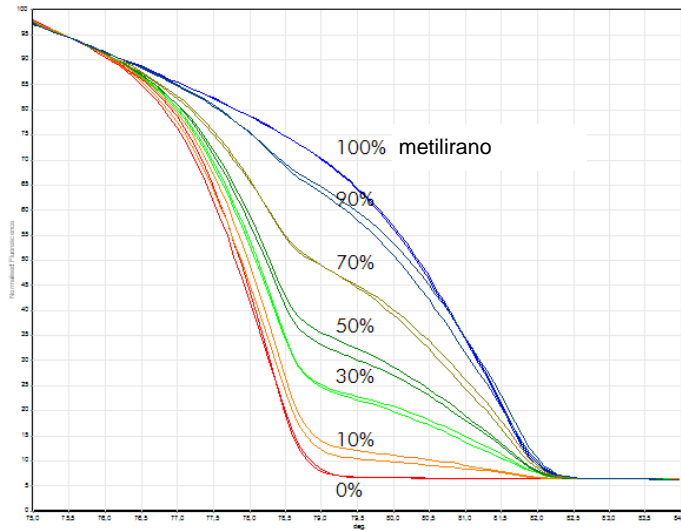


HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	■	AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	■	unknown	homo AA	99,49
24	■	unknown	homo AA	99,76
28	■	AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	■	unknown	hetero AG	99,49
30	■	unknown	hetero AG	98,47
34	■	GG Human SNP rs60031276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

Genotipiziranje SNP z HRM. Človeški SNP rs60031276 (zamenjava A do G) v genu PPP1R14B (proteinska fosfataza 1, regulacijska (inhibitor) podenota 14B) je bil analiziran na instrumentu Rotor-Gene Q z uporabo 10 ng genomske DNA različnih genotipov in kompleta Type-it HRM. Homozigotni divji tip (AA), homozigotni mutiran (GG) in heterozigoten (AG) vzorec so prikazani na standardni normalizirani talitveni krivulji in predelu razlike, normaliziranem vzorcem divjega tipa. Genotipi za neznane vzorce so bili dodeljeni s programsko opremo instrumenta Rotor-Gene Q.

11.4 Primer analize metilacije

Na prikazanem primeru je bil komplet EpiTect HRM PCR uporabljen v analizi HRM za razlikovanje različnih razmerij metilirane in nemetilirane DNA. Za tehnične podrobnosti si oglejte *priložnik EpiTect HRM PCR (EpiTect HRM PCR Handbook)*.



Kvantitativna analiza metilacije z HRM. Različna razmerja metilirane in nemetilirane DNA-APC (adenomatozna polipoza coli) so bila analizirana in razlikovana z analizo metilacije HRM na instrumentu Rotor-Gene Q z uporabo kompleta EpiTect HRM. Prikazani sta standardna normalizirana talitvena krivulja in predel razlike, normaliziran na 50 % metiliranega vzorca.

11.5 Smernice za uspešno analizo HRM

Uspeh analize HRM je v veliki meri odvisen od določenega zaporedja, ki ga preiskujete. Določeni motivi zaporedja, kot npr. lasnična zanka ali druge sekundarne strukture, lokalizirana območja nenavadno visoke ali nizke vsebnosti GC ali ponovljena zaporedja, lahko vplivajo na rezultat. Poleg tega lahko z uporabo standardiziranih kompletov in optimiziranih protokolov družbe QIAGEN premagate številne od navedenih potencialnih izzivov. Nekaj preprostih smernic za pomoč pri zagotavljanju uspešnosti je navedenih spodaj.

Analiziranje majhnih delcev DNA

Analizirajte delce, ki niso večji od pribl. 250 bp. Možno je analizirati tudi večje izdelke, vendar pa običajno povzročijo nižjo ločljivosti. To pa zato, ker npr. ima razlika ene osnove večji učinek na vedenje taljenja pomnožka 100 bp kot pa pomnožka 500 bp.

Zagotavljanje, da PCR vsebuje samo določen izdelek

Vzorci, ki so onesnaženi z artefakti po PCR, npr. dimeri začetnega oligonukleotida ali nespecifični izdelki, lahko povzročijo težko interpretacijo rezultatov HRM. Kompleti družbe QIAGEN za analizo HRM zagotavljajo največjo specifičnost brez potrebe po optimizaciji.

Uporaba zadostne predloge predamplifikacije

Analiza podatkov PCR v realnem času je lahko zelo uporabna pri odpravljanju težav pri analizah HRM. Predeli amplifikacije bi morali imeti C_T (cikel praga) manjši ali enak 30 ciklom. Izdelki, pri katerih pride do amplifikacije pozneje od navedenega (zaradi nizke začetne količine predloge ali degradacije predloge), običajno proizvedejo spremenljive rezultate HRM zaradi artefaktov PCR.

Normalizacija koncentracije predloge

Količina predloge, dodana reakciji, mora biti stalna. Normalizirajte začetne koncentracije, tako da se vsi predeli amplifikacije nahajajo znotraj 3 C_T drug do drugega. S tem zagotovite, da so vhodne koncentracije znotraj 10-kratnega razpona.

Preverjanje glede napačnih predelov amplifikacije

Pred zagonom HRM natančno preglejte podatke predela amplifikacije glede nenormalne oblike predela amplifikacije. Predeli z logaritemsko-linearno fazo, ki ni prestrma, je nazobčana ali dosega nizko raven signala v primerjavi z drugimi reakcijami, lahko nakazujejo na slabo amplifikacijo ali prenizek fluorescenčni signal (npr. to se lahko zgodi, če je bila koncentracija začetnega oligonukleotida prenizka). Slabe reakcije lahko povzročijo inhibitorji reakcij ali nepravilna nastavitvev reakcije. Podatki HRM iz takšnih vzorcev so lahko nejasni ali nizke ločljivosti. Za izogibanje nezanesljivim rezultatom priporočamo komplete QIAGEN za pripravo vzorca in analizo HRM.

Ohranjanje koncentracij vzorca poamplifikacije na enaki ravni

Koncentracija delca DNA vpliva na njegovo temperaturo taljenja (T_m). Iz tega razloga je treba koncentracije vzorca DNA ohranjati čim bolj podobne. Pri analizi izdelkov PCR zagotovite, da je pri vsaki reakciji prišlo do amplifikacije do konstantne faze. Na konstantni ravni bo pri vseh reakcijah prišlo do amplifikacije v podobnem obsegu, ne glede na njihovo začetno količino. Vendar si zapomnite, da slabe reakcije morda ne bodo dosegle konstantne ravni z enako količino amplifikacije, npr. zaradi nestalne nastavitve testa (npr. koncentracija začetnega oligonukleotida je bila prenizka).

Zagotavljanje enotnosti od vzorca do vzorca

Vsi vzorci morajo imeti enako količino in morajo vsebovati enako koncentracijo barvila. Na vedenje taljenja DNA vplivajo soli v mešanici reakcije, zato je pomembno, da so koncentracija pufru, Mg in druge soli čim boljše enotne v vseh vzorcih. Uporabljajte samo enake reakcijske epruvete istega proizvajalca, da se izognete razlikam zaradi debeline plastike in lastnosti samodejne fluorescence.

Omogočanje zadostnega zbiranja podatkov za fazo pred in po taljenju

Zajemite točke podatkov HRM v razponu približno 10 °C, osredotočenim okrog opazovanega T_m (glejte sliko na strani 11-1). S tem boste zagotovili zadostne izhodiščne točke podatkov za učinkovito normalizacijo krivulje in dosegli replikacije z večjo možnostjo reprodukcije ter enostavnejšo interpretacijo podatkov.

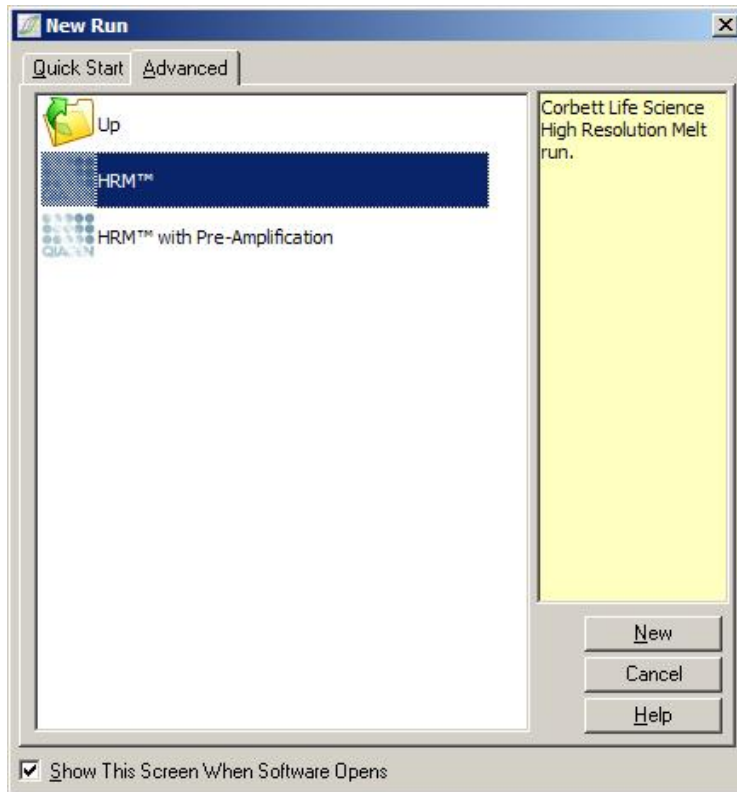
11.6 Priprava vzorca

Med čiščenjem in shranjevanjem se je treba izogniti degradaciji vzorca. Izogibajte se prekomernim količinam inhibitorjev, npr. prenosu etanola. Za izboljšanje rezultatov HRM priporočamo ohranjanje stalne količine uporabljene predloge med vzorci. Priporočamo spektrofotometrično analizo za določanje koncentracije in čistosti DNA. Za pripravo vzorca priporočamo komplete družbe QIAGEN.

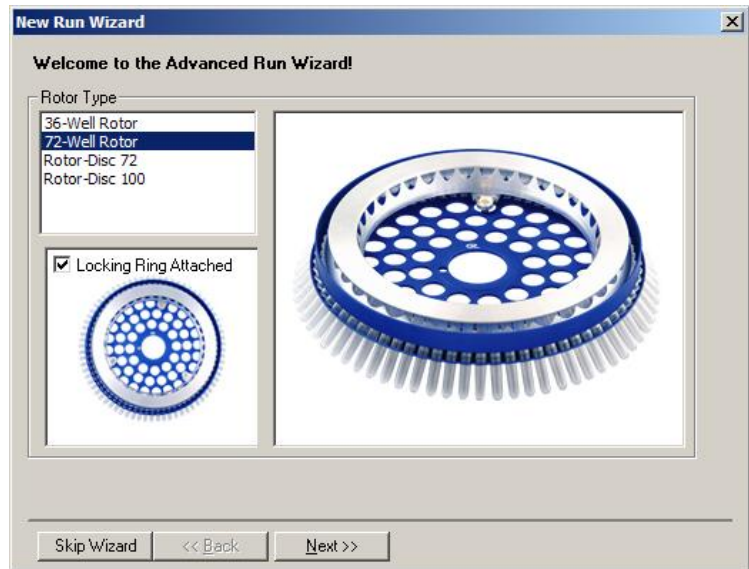
Opomba: Pri 260 nm je enota optične gostote enaka 50 µg/ml DNA. Čista DNA bo zagotovila od 260 nm do 280 nm razmerje 1.8.

11.7 Nastavitev programske opreme

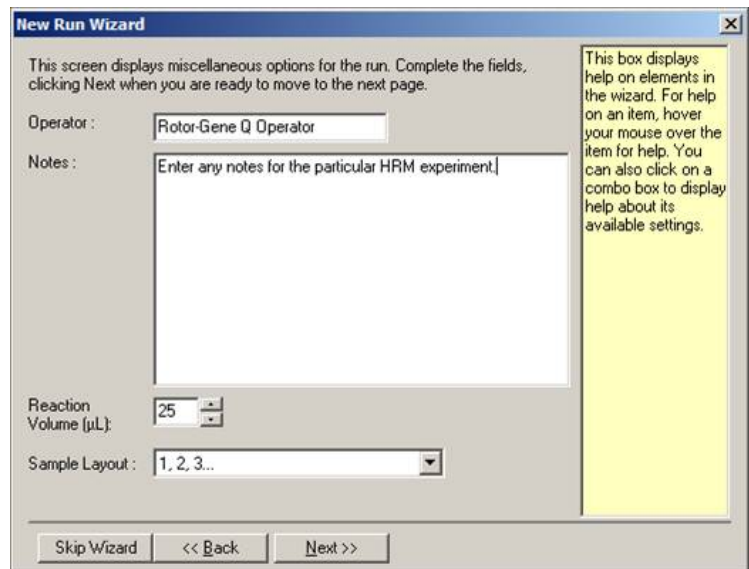
1. Odprite novo datoteko poteka, tako da v meniju File (Datoteka) izberete možnost »New...« (Novo ...). V naprednem čarovniku izberite možnost »HRM«.



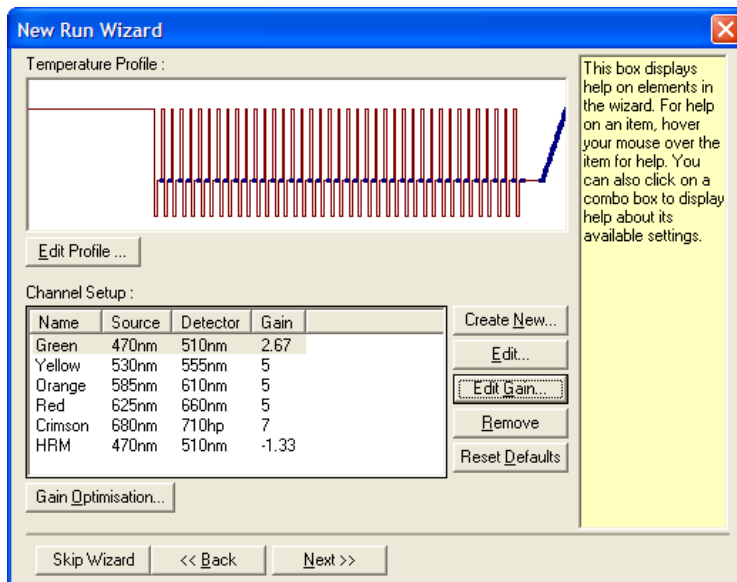
2. Nastavite vrsto rotorja (v tem primeru je uporabljen rotor 72-Well Rotor). Zagotovite, da je zaklepni obroč na mestu in da je potrditveno polje »Locking Ring Attached« (Zaklepni obroč nameščen) označeno, preden nadaljujete z naslednjim korakom.



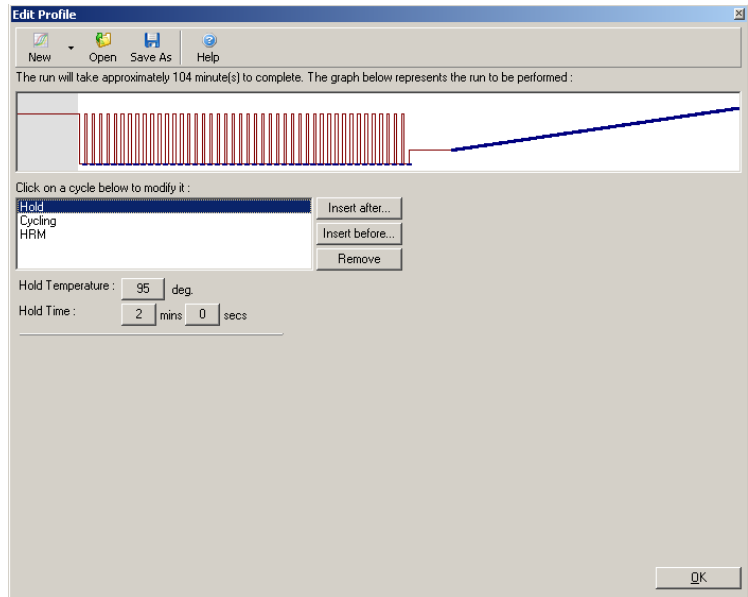
3. Nastavite podrobnosti poteka. Vnesite ime uporabnika (izbirno) in dodajte kakršne koli opombe o poizkusu (izbirno). Izberite količino reakcije (potrebno) in želeno postavitev vzorca.



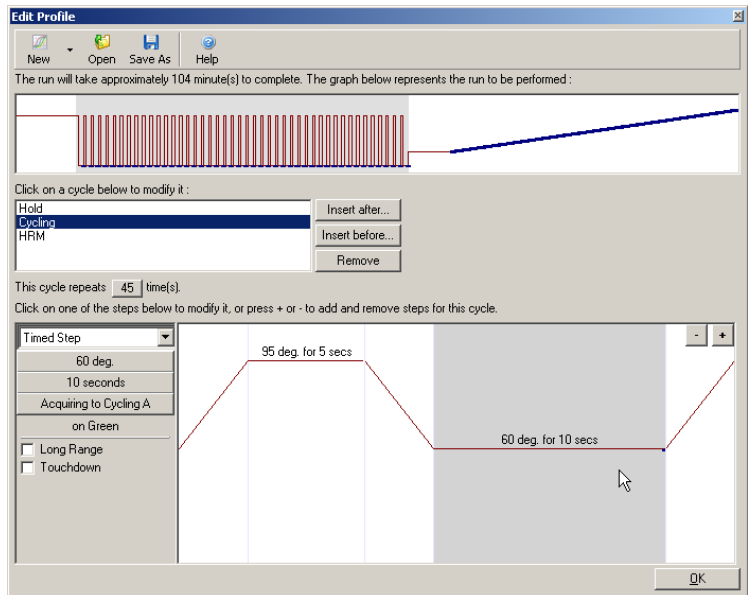
4. Kliknite gumb »Edit Profile...« (Uredi profil ...), da spremenite čase in temperature reakcije.



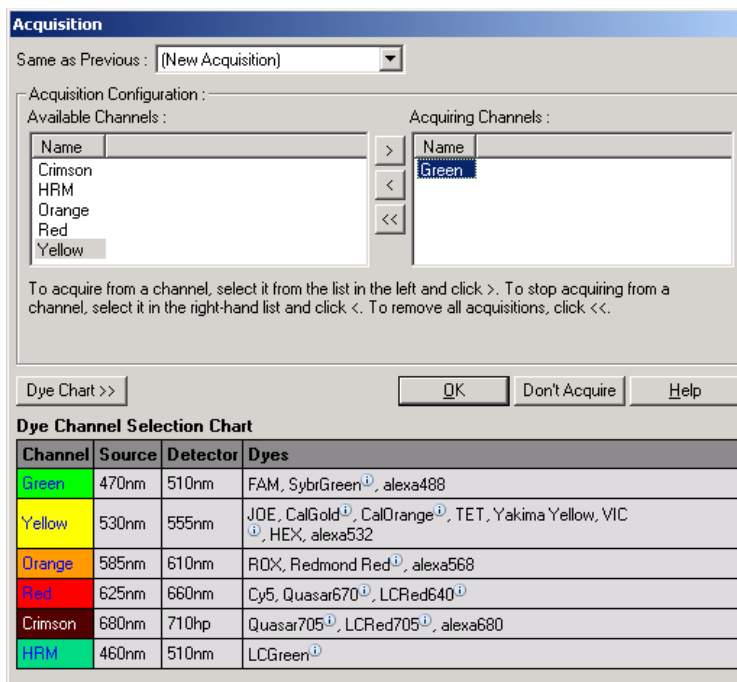
5. Nastavite primeren začetni čas zadrževanja. Čas je odvisen od vrste uporabljene polimeraze DNA. Komplet Type-it HRM PCR in EpiTect HRM PCR potrebujeta 5 minut časa aktivacije. Privzeti čas aktivacije znaša 10 minut.



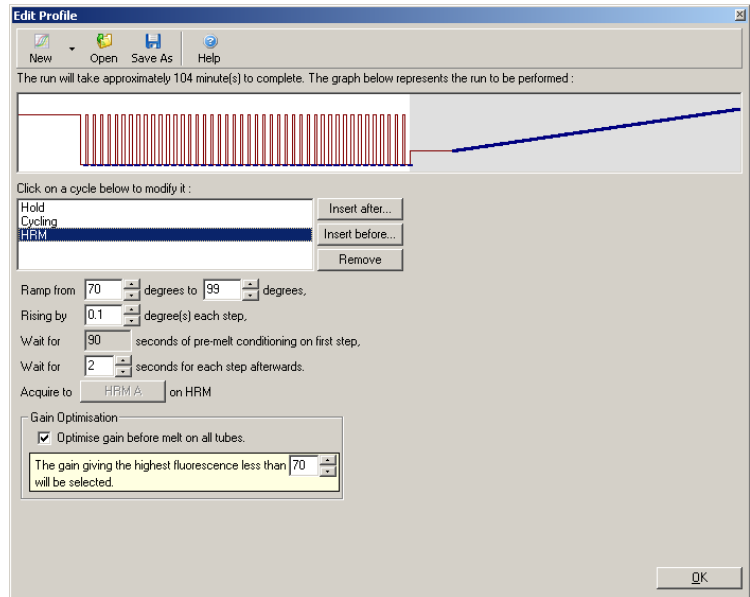
6. Spremenite kroženje, da ga uskladite s pomnožkom.



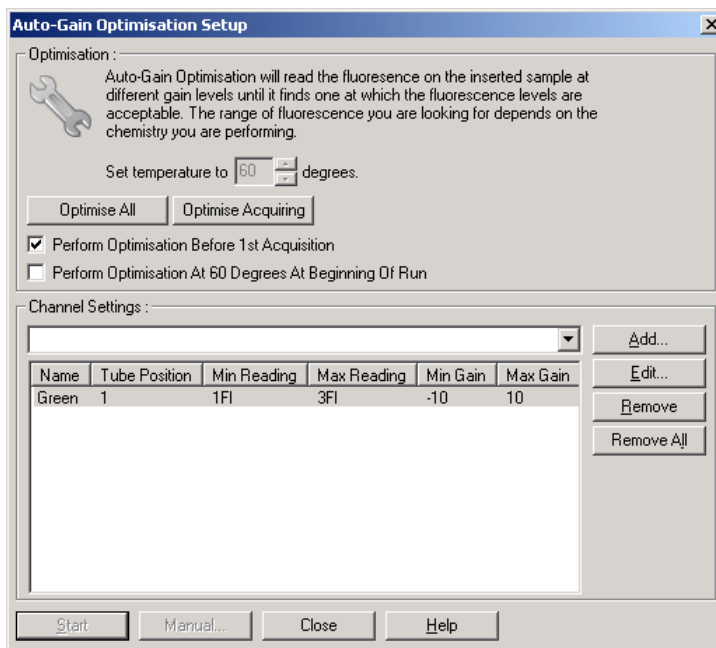
7. Zagotovite zajem podatkov fluorescence. Ob koncu priležnega koraka zajemite podatke za zeleni kanal.



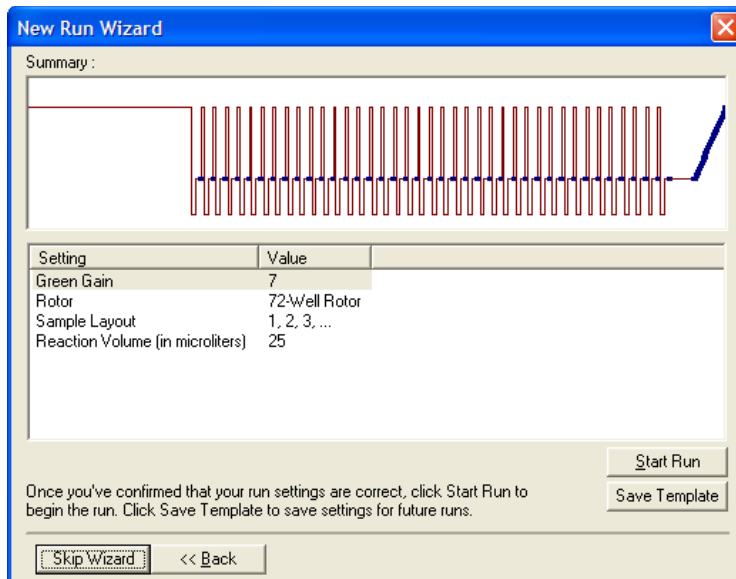
8. Nastavite pogoje poteka HRM. Spremenite pogoje, da jih uskladite s pomnožkom. Za prvi niz poizkusov omogočite široko področje taljenja. Kot vodilo za primeren razpon uporabite teoretični T_m . Ko ste določili kje bo prišlo do taljenja izdelka, zmanjšajte področje taljenja na vrednosti, ki ne presega 10°C . Zagotovite, da se taljenje začne 5°C pred prehodom prvega taljenja. Privzeta sprememba je nastavljena na $0,1^{\circ}\text{C}$ z zadrževanjem v trajanju 2 sekund za vsak korak. Najmanjši prehod spremembe je $0,05^{\circ}\text{C}$ s sekundnim zadrževanjem pri vsakem koraku. Podatki so samodejno zajeti za kanal HRM. Možnost Automatic Gain Optimisation (Optimizacija samodejne pridobitve) je izvedena po privzeti nastavitvi. Programska oprema bo poiskala optimalno nastavitvev pridobitve, tako da najvišja sporočena vrednost fluorescence ne presega 70 enot na merilu, ki znaša 100. Zapomnite si, da lahko to vrednost povišate na največ 100.



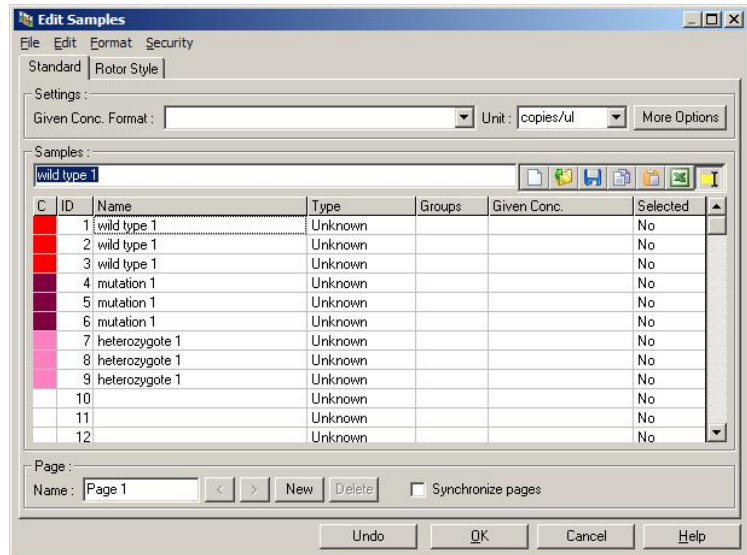
9. Izbirno: Nastavite možnost Auto-Gain Optimisation (Optimizacija samodejne pridobitve). To se nanaša samo na korak amplifikacije v realnem času in je nastavljeno na zeleni kanal. Kliknite gumb »Optimize Acquiring« (Optimiraj zajem) (za optimiranje samo tistih kanalov, ki jih potek uporablja). Optimiranje je najbolje izvesti tik pred prvim korakom zajema, zato označite potrditveno polje »Perform Optimization Before First Acquisition« (Izvedi optimizacijo pred prvim zajemom). Priporočen razpon fluorescence v ozadju za dodana barvila se nahaja med 1 in 3 enotami fluorescence. Za spremembo te nastavitve kliknite ime kanala, da ga izberete na seznamu in kliknite gumb »Edit« (Uredi).



10. Zaženite potek, tako da kliknete možnost »Start Run« (Zaženi potek) in datoteko poteka shranite na vaš računalnik.



11. Uredite imena vzorcev (izbirno). Imena vzorcev lahko uredite med ali po poteku.

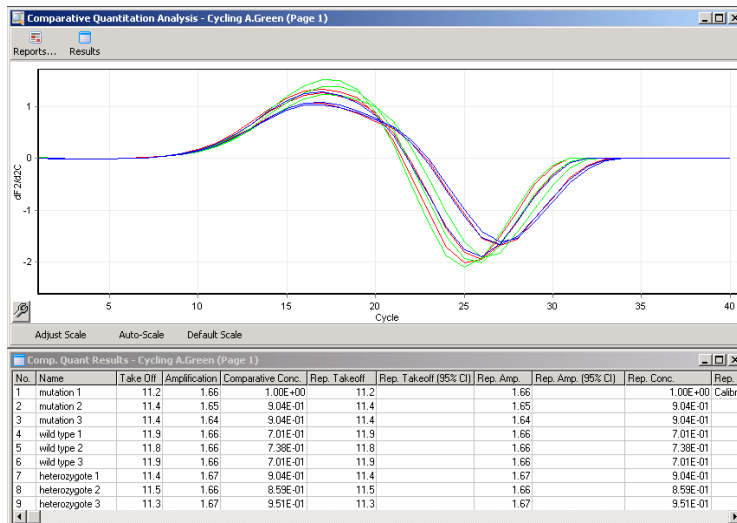


11.8 Analiza podatkov PCR v realnem času

Analiza podatkov PCR v realnem času pred analizo podatkov HRM predstavlja prednost. Podatki PCR v realnem času lahko poudarijo slabo delujoče teste. Prepoznavanje teh odstopanj in njihovo filtriranje iz naslednjih analiz HRM bo močno izboljšalo splošno učinkovitost analize HRM, saj bo analiza izdelka PCR slabe kakovosti povzročila slabe rezultate HRM. Priporočamo analizo kvantitativnih podatkov PCR v realnem času na naslednji način.

1. Podatke v realnem času analizirajte z uporabo možnosti »Quantitation« (Kvantifikacija) v oknu »Analysis« (Analiza). Če katere koli vrednosti C_T znašajo 30 ali več, potem morate smatrati, da je pri ustreznih reakcijah prepozno prišlo do amplifikacije. Te vzorce je treba analizirati z dvomom ali jih kot odstopanje odstraniti iz analize. Pozna amplifikacija je običajno posledica premajhne količine začetne predloge in/ali visokih stopenj degradacije vzorca.

- Ocenite raven fluorescence končne točke. Če je fluorescenca končne točke v katerem koli predelu amplifikacije nizka v primerjavi z večino predelov v nizu podatkov, potem te vzorce izпустite iz analize, četudi so njihove vrednosti C_T manjše od 30. Nizka fluorescenca končne točke lahko nakazuje na nepravilno količino barvila, nepravilne ravni komponent reakcije (npr. začetni oligonukleotidi) ali delovanje inhibitorjev.
- Uporabite možnost »Comparative Quantitation« (Primerjalna kvantifikacija) v oknu »Analysis« (Analiza), da pridobite učinkovitost reakcije vsakega vzorca. Če učinkovitost ni podobna drugim reakcijam v poizkusu oz. je manjša od približno 1.4, potem reakcijo izпустite kot odstopanje.



Rezultati primerjalne kvantifikacije. Učinkovitost reakcije je prikazana v stolpcu »Amplification« (Amplifikacija) kot rezultat iz 2 ($2 = 100\%$ učinkovitost).

Opomba: Če sumite na prisotnost dimerov začetnih oligonukleotidov ali nespecifičnih izdelkov, potem reakcije ocenite z risanjem odvodnega predela z uporabo možnosti »Melt« (Taljenje) v oknu »Analysis« (Analiza). Zagotovite, da je prisoten samo en vrh, kar nakazuje na en izdelek. Če je možno, naredite hitro analizo in preverite, ali je prisoten samo en izdelek amplifikacije. Če je prisoten več kot en izdelek, potem je treba reakcijo ponoviti ali ponovno optimirati.

11.9 Analiza podatkov HRM

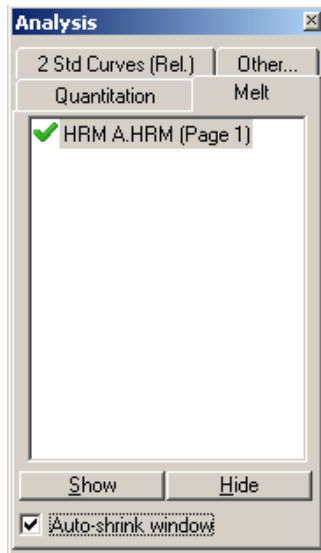
Analiza HRM omogoča tako vizualni kot zvočni priklic genotipov. Rezultate si lahko ogledate kot normaliziran predel taljenja ali predel razlike. Normalizirane krivulje zagotavljajo osnovno predstavitev različnih genotipov na podlagi premika krivulje (za homozigote) in spremembe oblike krivulje (za heterozigote).

Predeli razlike so pripomoček za vizualno interpretacijo. Prikazujejo razliko v fluorescenci vzorca za izbran kontrolnik pri vsakem prehodu temperature. Predeli razlike zagotavljajo alternativni pogled na razliko med prehodi talitvene krivulje.

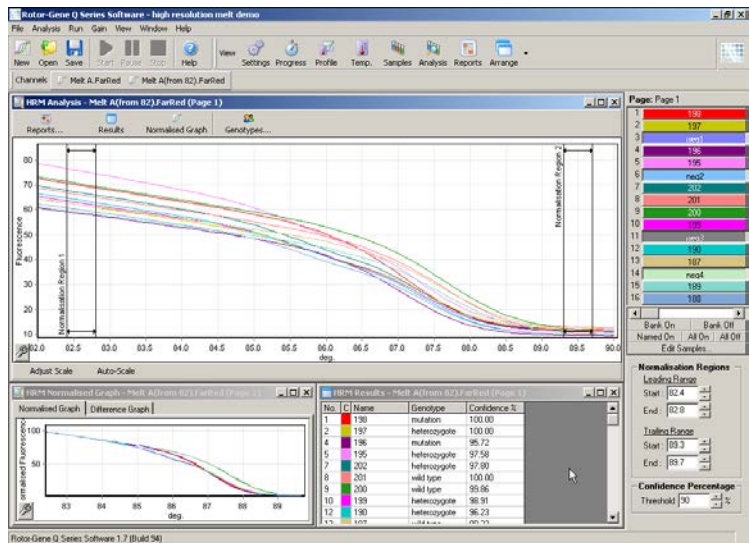
Opomba: Prva odvodna analiza talitvene krivulje (ko jo uporablja standardna možnost »Melt« (Taljenje) v oknu »Analysis« (Analiza)) je smatrana kot neprimerna za analizo HRM. To pa zato, ker kakršen koli odvod podatkov dodaja umeten šum in otežuje interpretacijo podatkov.

Naslednji koraki opisujejo analizo rezultatov HRM z uporabo programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q.

1. Izberite možnost »HRM« v oknu »Analysis« (Analiza).



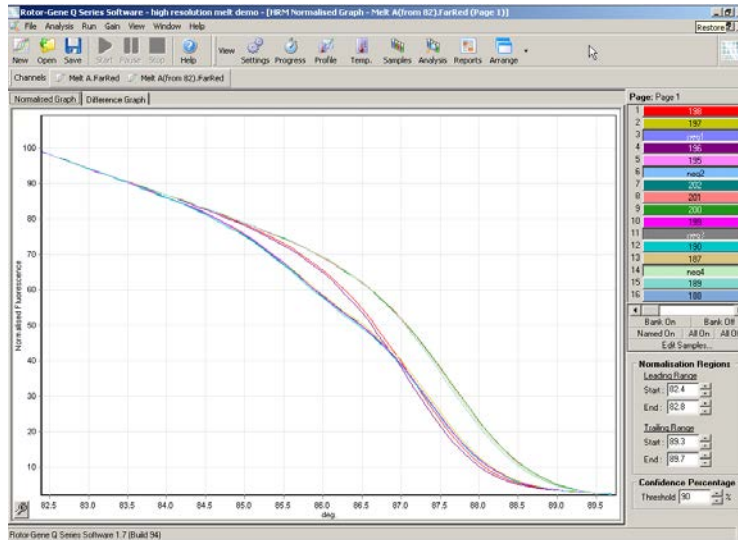
2. Pojavijo se okna, ki prikazujejo neobdelane podatke, normaliziran graf in rezultate. Okno z neobdelanimi podatki omogoča prilagajanje območij normalizacije. Normalizacija omogoča primerjavo vseh krivulj z enako stopnjo začetnega in končnega fluorescenčnega signala, da olajša interpretacijo in analizo. Na voljo sta dva kazalca na območje, ki sta privzeto nastavljena na konce krivulje. Točke podatkov znotraj območij se uporabljajo za normalizacijo fluorescence (samo os y) za začetek (območje 1) in konec (območje 2) predela taljenja. Podatke izven nastavljenih območij lahko prezrete. Prilagodite območja, tako da bodo vključevala predstavitevne izhodiščne podatke za faze pred in po taljenju. Razširitev območij (s klikom in vlečenjem) programski opremi omogoči prilagajanje naklona izhodiščne linije. Za zagotavljanje učinkovite normalizacije krivulj se izogibajte razširjanju območij normalizacije v fazo taljenja.



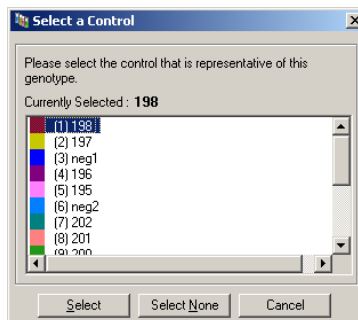
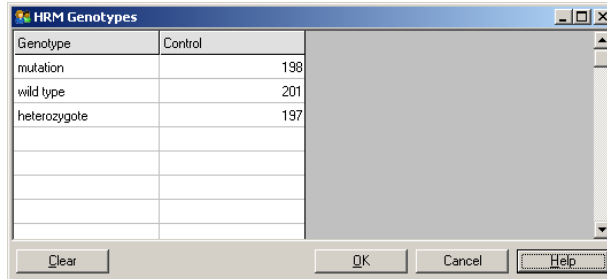
Opomba: Priporočamo, da kazalce premikate samo, če se želite izogniti območjem talitvene krivulje. Premikanje kazalcev proti prehodom faze taljenja lahko vpliva na predele odštevanja in odstotke zaupanja.

- Okno »Normalised Graph« (Normaliziran graf) prikazuje normalizirane talitvene krivulje. Vzorce si lahko ogledate tudi kot predel razlike v primerjavi z enim od kontrolnikov.

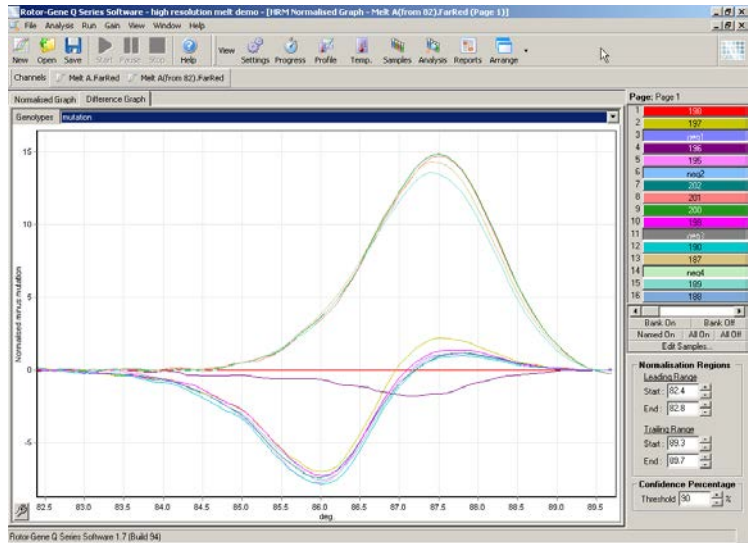
Analiza talitvene krivulje z visoko ločljivostjo



4. Kliknite gumb »Genotypes...« (Genotipi), da določite genotipe. Vnesite ime vsake kategorije genotipov in iz seznama za vsako od njih izberite predstavitveni vzorec.



5. Predel razlike si oglejte z izbiro zavihka »Difference Graph« (Graf razlike). Potem izberite genotip, ki ga želite primerjati z vsemi drugimi vzorci z uporabo spustnega menija na vrhu okna. Na prikazanem primeru so vsi vzorci predela odšteti od povprečnega predela vseh vzorcev, označenih z možnostjo »Mutation 1« (Mutacija 1).



6. Genotipe bo programska oprema samodejno priklicala v oknu »Results« (Rezultati). Vrednost zaupanja je zagotovljena kot preverjanje integritete samodejno priklicanih rezultatov. Vrednost praga, nad katero pride do samodejnih priklicev, lahko urejate. Vzorci, ki padejo pod nastavljen prag, bodo označeni kot sprememba za podrobnejšo preiskavo ali ponovno testiranje.

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

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

Ta stran je namenoma prazna

12 Odpravljanje težav

12.1 Arhivi dnevniških datotek

Programska oprema v svojem pomnilniku arhivov dnevniških datotek hrani nespremenjen zapis vsakega poteka, skupaj z diagnostičnimi informacijami. Z uporabo možnosti Help (Pomoč), Send Support Email (Pošlji podporno elektronsko sporočilo) lahko tehnični službi družbe QIAGEN pošljete elektronsko sporočilo skupaj z vsemi potrebnimi diagnostičnimi informacijami (glejte poglavje 7.12.1).

Za prihranek prostora na disku so shranjeni samo arhivi dnevniških datotek zadnjih 60 potekov. Arhivi dnevniških datotek starejših potekov bodo prepisani, ko se ustvarijo novi arhivi dnevniških datotek.

12.2 Odpravljanje težav HRM

Pripombe in predlogi

Ni mogoče zagnati HRM

Model instrumenta Rotor-Gene Q MDx ni opremljen za HRM	Obrnite se na vašega lokalnega predstavnika družbe QIAGEN.
--	--

Podatki HRM niso bili pridobljeni

Nepravilna nastavitvev	Preverite nastavitve filtra. Preverite, ali je vrsta rotorja pravilna. Preverite, ali so bili uporabljeni pravilni reagenti. Preverite, ali je bila reakcija pravilno nastavljena. Izvedite poizkus s pozitivnim kontrolnikom (tj. test, ki zagotavlja rezultate).
------------------------	--

Pripombe in predlogi

Predeli so videti nazobčani

Slaba ali manjkajoča amplifikacija	Preverite, ali so bili uporabljeni pravilni protokoli in reagenti. Za analizo HRM priporočamo komplete družbe QIAGEN. Preverite, ali je bila reakcija pravilno nastavljena. Preverite pogoje kroženja. Preverite začetno kakovost in količino predloge. Za pripravo vzorca priporočamo komplete družbe QIAGEN.
------------------------------------	---

Predeli amplifikacije ali taljenja so nasičeni

Pridobitev je nastavljena previsoko	Uporabite možnost Auto-Gain Optimisation (Optimizacija samodejne pridobitve) (glejte stran 6-23).
-------------------------------------	---

Odstotki zaupanja so se spremenili

Območja normalizacije so bila premaknjena s klikom in vlečenjem	Območja normalizacije premikajte samo, če je to potrebno, da se izognete talitveni krivulji.
---	--

V podatkih so prisotna odstopanja

Neskladna nastavitvev reakcije	Preverite, ali so bili uporabljeni pravilni reagenti. Preverite, ali so uporabljene epruvete enotne.
V vzorcu so prisotni zaviralci	Preverite, ali je bila za vse vzorce uporabljena enaka glavna mešanica.
Premajhna ali poslabšana predloga	Preverite začetno kakovost in količino predloge.

12.3 Splošne napake instrumenta

Sporočilo o napaki Pripombe in predlogi

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

Can't open the serial port <COMPORT> (Ni mogoče odpreti serijskega vhoda <COMPORT>)

Ta napaka se pojavi ob zagonu programske opreme, če programska oprema ne mora komunicirati z instrumentom prek konfiguriranega vhoda COM. Vzrok tega so običajno okvarjeni kabli, sproščeni kabli, okvarjeni serijski vhodi, okvarjeni USB-vhodi, težava z USB-gonilnikom ali težava z gonilnikom pretvornika USB do serijskega vhoda.

Ponovno priključite ali zamenjajte kabel. Ponovno namestite primerne gonilnike. Zaženite programsko opremo »Virtual Mode« (Virtualni način) in izberite gumb »Setup/Auto-Detect« (Nastavitev/samodejno zaznavanje) v meniju »File« (Datoteka), da ponastavite konfiguriran vhod COM.

Chamber lid open (Pokrov komore je odprt)

Ta napaka se pojavi, ko programska oprema zazna, da je pokrov sredi poteka odprt.

Ponastavite stroj in ponovno zaženite programsko opremo.

Could not continue run; the chamber lid was opened during a run (Ni bilo mogoče nadaljevati poteka; pokrov komore je bil med potekom odprt). Please reset the machine, and restart the software (Prosimo, ponastavite stroj in ponovno zaženite programsko opremo).

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

Chamber lid open (Pokrov komore je odprt)

The instrument chamber lid is open (Komora instrumenta je odprta). Please close the lid and then click Continue (Prosimo, zaprite pokrov in kliknite možnost Nadaljaj).

Ta napaka se pojavi, ki uporabnik poizkusi izvesti potek, ko je pokrov instrumenta odprt.

Zaprite pokrov komore instrumenta in kliknite možnost »Continue« (Nadaljaj).

Communication corrupted (Komunikacija okvarjena)

Ta napaka se pojavi, ko se podatki, prejeti od instrumenta, ne skladajo s pričakovanim vzorcem.

Servisni strokovnjak na terenu družbe QIAGEN mora izvesti dodatne preglede, da ugotovi težave z instrumentom.

Prosimo, da se obrnete na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.

Sporočilo o napaki	Pripombe in predlogi
<p>Communication out of sequence (Komunikacija izven zaporedja)</p> <p>Instrument has received data from the machine that is out of sequence (Instrument je prejel podatke iz stroja, ki je izven zaporedja).</p>	<p>Ta napaka se pojavi, ko podatki, prejeti od instrumenta, niso v pravilnem vrstnem redu.</p> <p>Servisni strokovnjak na terenu družbe QIAGEN mora izvesti dodatne preglede, da ugotovi težave z instrumentom.</p> <p>Prosimo, da se obrnete na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.</p>
<p>Communication protocol error (Napaka komunikacijskega protokola)</p> <p>A communication protocol error occurred with this run (V tem poteku je prišlo do napake komunikacijskega protokola).</p>	<p>Ta napaka se pojavi, ko komunikacijski protokol, konfiguriran v strojni programski opremi, ni enak kot pričakovan protokol.</p> <p>Servisni strokovnjak na terenu družbe QIAGEN mora izvesti dodatne preglede, da ugotovi težave s komunikacijskim protokolom ali instrumentom.</p>
<p>Detector motor jam, stopped machine (Blokiranje motorja detektorja, stroj zaustavljen)</p>	<p>Ta napaka se lahko pojavi, ko je instrument Rotor-Gene Q MDx zagnan takoj po dostavi v hladnih pogojih.</p> <p>V tem primeru instrumentu omogočite vsaj eno uro, da se prilagodi sobni temperaturi, preden ga vklopite.</p> <p>Če napake ne morete odpraviti, se prosimo obrnite na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.</p>

Sporočilo o napaki

Fatal hardware malfunction (Kritična okvara strojne opreme)

The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction (Instrument je zaznal, da je prišlo do kritične okvare strojne opreme). Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor (Ne poizkušajte ponovno uporabljati stroja, dokler vaš prodajalec ne servisira stroja).

Pripombe in predlogi

Ta napaka se pojavi, ko je strojna oprema zaznala kritično okvaro strojne opreme in aktivirala postopek varne zaščite za izklop stroja.

Takoj izklopite instrument in se obrnite na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

**Machine error
(Napaka stroja)**

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from (Potek je bil zaustavljen, saj je prišlo do napak stroja, zaradi katerih obnovitev ni bila mogoča). Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file (Prosimo, da se v primeru ponavljanja napake obrnete na vašega prodajalca in priložite podporno arhivsko datoteko).

Ta napaka se pojavi, ko je programska oprema zaznala napake na stroju, zaradi katerih obnovitev ni bila mogoča. Programska oprema je zaustavila potek.

Poizkusite z drugim potekom. Če težave ne morete odpraviti, se obrnite na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN ter priložite podporno arhivsko datoteko.

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

Machine unplugged (Stroj je odklopljen)

The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE > (Instrument se ne odziva in se je zaustavil s sporočilom <SPOROČILO O NAPAKI>). This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software (To je neobnovljiva okvara, prosimo ponastavite instrument in ponovno zaženite programsko opremo).

Machine unplugged (Stroj je odklopljen)

The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME> (Instrument ni priključen na vaš računalnik na <IME VHODA>). Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue (Ponovno priključite serijski kabel na zadnjo stran računalnika in kliknite Naprej).

Ta napaka se pojavi, če instrument ne komunicira s programsko opremo po določenem intervalu premora. Pogosto jo povzroči napaka instrumenta ali prekomerna dejavnost osebnega računalnika, kar povzroči izgubo paketa.

Običajni vzroki, povezani s programsko opremo, vključujejo intenzivna opravila procesorja, kot npr. protivirusna zaščita ali skeniranje, ki ga določa protivirusni program, brezžične kartice ali infrardeče kartice.

Onemogočite ali odstranite vso ustrezno programsko opremo/opravila procesorja, ki povzročajo intenzivno delo.

Ponastavite instrument in ponovno zaženite programsko opremo.

Če težave ne morete odpraviti, se prosimo obrnite na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.

Ta napaka se pojavi, ko pride do izgube serijske ali USB-komunikacije z instrumentom.

Ponovno priključite serijski ali USB-kabel na zadnjo stran računalnika in kliknite gumb »Continue« (Naprej).

Sporočilo o napaki	Pripombe in predlogi
<p>Object variable or with block variable not set (Spremenljivka objekta ali spremenljivka bloka ni nastavljena)</p>	<p>Ta napaka se pojavi ob zagonu programske opreme, če je bila datoteka privzete predloge poizkusa okvarjena. To se lahko zgodi, če programsko opremo/računalnik izklopite brez pravega izhoda, npr. med izpadom napajanja.</p> <p>Izbrišite datoteko C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret in potem ponovno zaženite programsko opremo.</p>
<p>Rotor speed failure (Okvara hitrosti rotorja)</p> <p>Time out while setting the rotor speed (Premor med nastavljanjem hitrosti rotorja).</p>	<p>Ta napaka se pojavi, ko je programska oprema poizkusila nastaviti hitrost rotorja in ni uspela nastaviti ciljne hitrosti znotraj obdobja premora.</p> <p>Servisni strokovnjak na terenu družbe QIAGEN mora izvesti dodatne preglede, da ugotovi težave z instrumentom.</p> <p>Prosimo, da se obrnete na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.</p>
<p>Serial port in use (Serijski vhod v uporabi)</p> <p>The serial port is currently being used by another application (Serijski vhod trenutno uporablja druga aplikacija). Close any applications such as communications or synchronization software and then retry (Zaprte vse aplikacije, kot je komunikacijska ali sinhronizacijska programska oprema, in poizkusite znova).</p>	<p>Ta napaka se pojavi, ko programska oprema poizkuša povezati stroj na konfiguriranem vhodu COM, ko vhod uporablja druga programska oprema.</p> <p>Zaprte vse aplikacije, kot je komunikacijska ali sinhronizacijska programska oprema, in poizkusite znova.</p>

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

Shutdown timeout (Premor izklopa)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown (Instrument je presegel pričakovan čas za izklop). Prosimo ponastavite stroj in ponastavite programsko opremo.

Ta napaka se pojavi, ko je programska oprema oddala ukaz za izklop, da izklopi instrument in stroj še naprej pošilja podatke po pričakovanem časovnem obdobju odloga.

Ponastavite stroj in ponovno zaženite programsko opremo.

Temperature protection activated (Temperaturna zaščita aktivirana)

The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level (Instrument je zaznal, da se je temperatura komore povišala nad varno raven). It has therefore entered a self-protection mode (Zato je prešel v način samozaščite). Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists (Če težave ne morete odpraviti, prosimo izklopite instrument in se obrnite na vašega prodajalca).

Ta napaka se pojavi, ko je programska oprema zaznala povišanje temperature v komori nad varno raven in je zaradi tega aktivirala postopek samozaščite.

Takoj izklopite instrument in se obrnite na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

**Thermistor is open
(Termistor je odprt)**

The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off (Instrument je zaznal, da je termistor odprt, in se je za preprečitev poškodb stroja izklopil). Please contact your distributor if this occurs again (Če se ta napaka pojavlja, se prosimo obrnite na vašega prodajalca).

Ta napaka se pojavi, ko je programska oprema zaznala, da je termistor odprt in zato ne more brati temperature; programska oprema potem aktivira postopek varne zaščite, da izklopi stroj.

Takoj izklopite instrument in se obrnite na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.

Sporočilo o napaki

Pripombe in predlogi

Unrecoverable errors occurred (Prišlo je do neobnovljivih napak)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from (Potek je bil zaustavljen, saj je prišlo do napak stroja, zaradi katerih obnovitev ni bila mogoča). Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file (Prosimo, da se v primeru ponavljanja napake obrnete na vašega prodajalca in priložite podporno arhivsko datoteko).

Ta napaka se pojavi na sredini poteka, ko je programska oprema izvedla vse možne poizkuse obnovitve in ni bila uspešna.

Servisni strokovnjak na terenu družbe QIAGEN mora izvesti dodatne preglede, da ugotovi težave z instrumentom.

Prosimo, da se obrnete na vašega prodajalca ali tehnične storitve družbe QIAGEN.

12.4 Sporočila programske opreme instrumenta Rotor-Gene Q

V nadaljevanju je naveden seznam sporočil med uporabo, opozoril in drugih sporočil, ki se lahko med delovanjem strojne in programske opreme pojavijo v programski opremi instrumenta Rotor-Gene. Kateri koli deli sporočila, ki so spremenljivi, tj. npr. opisi značilnih napak, so podani v oklepajih (npr. < ERROR DESCRIPTION > (OPIS NAPAKE)).

Besedilo sporočila

Splošna sporočila

- 1 A raw channel already exists for this page (Neobdelan kanal že obstaja na tej strani). If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again (Če želite ponovno ustvariti to stran, morate najprej neobdelan kanal izbrisati pred gumba Možnosti in potem poizkusiti znova).
- 2 A serious problem has occurred which requires shutting down the software (Nastala je resna težava, ki zahteva izklop programske opreme). After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible (Ko kliknete možnost V redu, bo vaše trenutno delo shranjeno in če je možno se bo stroj izklopil). If this problem persists, please contact your distributor (Če težave ne morete odpraviti, se prosimo obrnite na vašega prodajalca).
- 3 Cannot delete this page (Ni mogoče izbrisati te strani). There must always be at least one sample page (Prisotna mora biti vsaj ena stran vzorca).
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT> (Povezava z instrumentom na serijskem vhodu <COMPORT> ni mogoča). Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Preverite, ali je stroj pravilno priključen v zadnji del računalnik, in poizkusite znova).

Besedilo sporočila

- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument (Ni mogoče odpreti serijskega vhoda <COMPORT> za povezavo z instrumentom). Check you do not have any communications software open, then retry (Preverite, ali nimate odprte komunikacijske programske opreme, in poizkusite znova).
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid (Ni bilo mogoče shraniti poteka saj so nekateri podatki na obrazcu neveljavni). Please check your entries then try again (Prosimo, preverite vaše vnose in poizkusite znova).
- 7 Couldn't save file (Datoteke ni bilo mogoče shraniti). Confirm the disk has enough space and that it is free of errors (Prepričajte se, da je na disku dovolj prostora in da na njemu ni napak).
- 8 E-mail application could not be started (Aplikacije za elektronsko pošto ni bilo mogoče zagnati). Confirm that it has been correctly installed on your computer (Prepričajte se, da je bila pravilno nameščena na vaš računalnik).
- 9 Encountered an error during run (Med potekom je prišlo do napake): <ERROR DESCRIPTION> (<OPIS NAPAKE>). The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info (Potek se bo nadaljeval in sporočilo bo zabeleženo v zavihek sporočil možnosti Informacije o poteku).
- 10 Instrument was not detected (Instrument ni bil zaznan). Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on (Prosimo, zagotovite, da ste pravilno priključili instrument in da je instrument vklopljen).
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error (Beleženje je trenutno onemogočeno zaradi predhodne napake). Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted (Arhiviranih dnevniški datotek si ne morete ogledati dokler ne izvedete ponovnega zagona programske opreme).
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low (Na vseh vzorcih ni bilo mogoče izvesti normalizacije, saj je fluorescenčna raven prenizka).

Besedilo sporočila

- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported (Uvozite lahko samo poteke, ki so bili izvedeni z enakim rotorjem kot pri trenutnem poteku).
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed (Prosimo, zapomnite si, da dnevniške datoteke za trenutni potek ne bodo na voljo, dokler ta ne bo dokončan).
- 15 Please type valid number of times to repeat (Prosimo, vnesite veljavno število poizkusov za ponovitev). It should be more than 0 (Znašati mora več kot 0).
- 16 Problem encountered while updating log data (Pri posodabljanju dnevniških podatkov je prišlo do težave). Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run (Beleženje je bilo onemogočeno, vendar pa bo ponovno omogočeno ob naslednjem poteku).
- 17 Run file signing ensures the integrity of your run results (Podpisovanje datotek poteka zagotavlja integriteto rezultatov vašega poteka). Information about a run's signature can be found in the Run Info window (Informacije o podpisu poteka lahko najdete v oknu Informacije poteka).
- 18 Sample ID is locked (ID vzorca je zaklenjen). Cannot paste over locked samples (Ni mogoče lepiti čez zaklenjene vzorce).
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer (Program TeeChart Office ni bil nameščen na ta računalnik). Please re-install the Rotor-Gene software (Prosimo, ponovno namestite programsko opremo instrumenta Rotor-Gene).
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected (Vhod COM, konfiguriran za instrument, ni bil izbran). You must select a COM port (Izbrati morate vhod COM).

Besedilo sporočila

- 21 The loaded run file contains a signature which does not match the file contents (Naložena datoteka poteka vsebuje podpis, ki se ne sklada z vsebino datoteke). This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software (To pomeni, da je bila datoteka okvarjena ali spremenjena, odkar jo je zapisala programska oprema instrumenta Rotor-Gene).
- 22 The loaded run file has no signature (Naložena datoteka poteka nima podpisa). The contents of this file cannot be guaranteed (Vsebine te datoteke ni mogoče zagotoviti).
- 23 The Machine serial number is not valid (Serijska številka stroja ni veljavna). Serial numbers must be at least 6 digits long (Serijske številke morajo vsebovati 6 števk).
- 24 The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees (Stroj bo sedaj ohlajen na <TEMPERATURA> stopinj). The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine (Komora in površine bodo še vedno zelo vroče, ko boste odpirali stroj). Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes (Prosimo, bodite pozorni in nosite zaščitne rokavice, če se dotikate katerih koli površin ali epruvt).
- 25 The regional settings for your computer are conflicting (Območne nastavitve za vaš računalnik so si nasprotujoče). Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching (Zagotovite, da so valutne in številske decimalne oznake skladne).
- 26 The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2> (Serijska številka, ki je vnesena v začetni zaslon <SERIJSKA ŠTEVILKA1> se ne sklada s serijsko številko, shranjeno v priključenem stroju <SERIJSKA ŠTEVILKA2>). The computer's serial number has now been updated to match the connected machine (Serijska številka računalnika je bila sedaj posodobljena za skladnost s priključenim strojem).

Besedilo sporočila

- 27 There was a problem communicating with the communication board (Nastala je težava pri komuniciranju s komunikacijsko ploščo). You should reboot the computer and then retry (Morate ponovno zagnati računalnik in poizkusiti znova).
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument (Prišlo je do premora pri poizkusu komuniciranja z instrumentom). Check it is correctly plugged in (Preverite, ali je pravilno priključen).
- 29 This feature cannot be used in virtual mode (Te funkcije ni mogoče uporabljati v virtualnem načinu).
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ta datoteka profila je bila ustvarjena v novejši različici programske opreme instrumenta Rotor-Gene). Certain aspects may not load correctly (Določeni vidiki morda ne bodo pravilno naloženi).
- 31 This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ta datoteka poteka je bila ustvarjena v novejši različici programske opreme instrumenta Rotor-Gene). Certain aspects of the run may not load correctly (Določeni vidiki poteka morda ne bodo pravilno naloženi).
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ta datoteka vzorca je bila ustvarjena v novejši različici programske opreme instrumenta Rotor-Gene). Certain aspects may not load correctly (Določeni vidiki morda ne bodo pravilno naloženi).
- 33 This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes (Ta programska oprema bo izvedla osnovno simulacijo stroja za namene usposabljanja in demonstracije). You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu (To nastavitve lahko onemogočite prek zaslona Nastavitve, dostopnega v meniju Datoteka).

Besedilo sporočila

- 34 This template file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ta datoteka predloge je bila ustvarjena v novejši različici programske opreme instrumenta Rotor-Gene). Certain aspects of the template may not load correctly (Določeni vidiki predloge morda ne bodo pravilno naloženi).
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match (Ni mogoče naložiti te datoteke vzorca, saj se postavitve epruвет ne skladajo). Load these samples before starting the run (Te vzorce naložite pred začetkom poteka).
- 36 Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT> (Ni mogoče odpreti komunikacije s strojem, ker druga aplikacija že uporablja <COMPORT>). Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry (Preverite, da ne potekajo nobene aplikacije, ki bi uporabljale isti serijski vhod, potem pa poizkusite znova).
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file (Med poizkusom nalaganja datoteke je prišlo do neobnovljivih napak). The file was not loaded (Datoteka ni bila naložena).
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress (Med delovanjem poteka ni mogoče zaustaviti programa).
- 39 You have insufficient rights to use the software (Nimate dovolj pravic za uporabo programske opreme). Please contact the domain administrator to set up groups (Prosimo, obrnite se na skrbnika domene, da vam nastavi skupine).
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples (Za izvoz vzorcev morate izvesti analizo kvantifikacije).
- 41 You must select a COM port before continuing (Pred nadaljevanjem morate izbrati vhod COM).
- 42 Your run could not be saved to its default location (Vaš potek ne bo shranjen v svojo privzeto lokacijo). On the following window, select an alternative location to save your run (V naslednjem oknu izberite alternativno lokacijo za shranjevanje vašega poteka).

Besedilo sporočila

- 43 Your settings have been saved (Vaše nastavitve so bile shranjene). Click OK to close the software (Kliknite možnost V redu, da zaprete programsko opremo).
- 44 You must select a rotor before continuing (Pred nadaljevanjem morate izbrati rotor).
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached (Ne morete zagnati poteka, dokler ne označite potrditvenega polja, da potrdite namestitev zaklepnega obroča).

Sporočila prilagoditve samodejne pridobitve

- 46 Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile (Ročna prilagoditev pridobitve uporablja kanale, ki ste jih določili v vašem profilu). As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment (Ker v vašem profilu niste določili točk zajema, ne morete izvesti prilagoditve ročne pridobitve).
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine (Temperatura, ki ste jo vnesli, ni bila shranjena, ker se nahaja izven razpona stroja). Enter a valid temperature (Vnesite veljavno temperaturo).

Sporočila urejevalnika

- 48 Please enter a valid group code (Prosimo, vnesite veljavno kodo skupine). Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas (Kode skupin so lahko dolge največ 5 znakov in ne smejo vsebovati razmikov ali vejic).
- 49 Please enter a valid group name (Prosimo, vnesite veljavno ime skupine). Group names cannot contain commas or be empty (Imena skupin ne morejo vsebovati vejic ali praznih mest).

Besedilo sporočila

Sporočila umerjanja optične denaturacije

- 50 Unable to set as optical denature point due to calibration failure (Točke optične denaturacije ni mogoče nastaviti zaradi napake umerjanja). Please enter a valid number of seconds to hold (Prosimo, vnesite veljavno število sekund za zadržanje). It should be a positive value (To mora biti pozitivna vrednost).
- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration (Vrha taljenja ni bilo mogoče zaznati med umerjanjem optične denaturacije). This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample (Razlog tega bi lahko bila izbira nepravilne epruvete za umerjanje oz. uporaba neprimerne kemije za ta vzorec). A timed step profile was run instead (Namesto tega je bil izveden profil s časovno merjenim korakom).

Sporočila OTV

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run (Za izvedbo poteka morate vnesti veljavno serijsko številko OTV).
- 53 This temperature verification file has been corrupted (Ta datoteka preverjanja temperature je okvarjena). Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error (Prosimo, odstranite in ponovno namestite programsko opremo instrumenta Rotor-Gene, da popravite to napako).
- 54 This run file is not correctly signed (Datoteka poteka ni pravilno podpisana). Results cannot be displayed (Rezultatov ni mogoče prikazati).
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly (Ne morete začeti, dokler ne označite potrditvenega polja, da potrdite pravilno vstavitve fluorescenčnega vstavka).
- 56 This rotor has expired (Rotor je potekel). Please contact your distributor to obtain a replacement (Za pridobitev zamenjave se obrnite na vašega prodajalca).

Besedilo sporočila

Sporočila varnostnega menija

- 57 Could not open the Windows user/group manager (Ni bilo mogoče odpreti uporabnika/upravitelja skupine Windows).
- 58 Could not create groups (Ni bilo mogoče ustvariti skupin).
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts (Ni mogoče spremeniti dostopa vgrajenih računov).

Meni analize

- 60 You have only selected one channel for analysis (Izbrali ste samo en kanal za analizo). To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window (Za izbiro več kanalov pravokotnik povlecite okrog kanalov, ki jih želite prikazati v oknu za izbiro analize).
- 61 You have selected multiple channels for analysis (Izbrali ste več kanalov za analizo). This analysis technique only allows single channels to be analysed (Ta tehnika analize omogoča samo analizo posameznih kanalov).

Sporočila merjenja koncentracije

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position (Merjenje koncentracije izvede optimizacijo samodejne pridobitve na prvem položaju rotorja). Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position (Zagotovite, da imate vaš standard najvišje koncentracije na prvem položaju rotorja).

Besedilo sporočila

Sporočila analize končne točke

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel (Za uporabo analize končne točke morate imeti pozitivne in negativne kontrolnike v vsakem kanal). To define these controls click OK (Za določanje teh kontrolnikov kliknite možnost V redu).
- 64 You have not defined any positive controls (Niste določite nobenega pozitivnega kontrolnika). You must define positive controls for each channel you are analysing (Določiti morate pozitivne kontrolnike za vsak kanal, ki ga analizirate).
- 65 You have not defined any negative controls (Niste določite nobenega negativnega kontrolnika). You must define negative controls for each channel you are analysing (Določiti morate negativne kontrolnike za vsak kanal, ki ga analizirate).
- 66 You have not defined any NTC controls (Niste določite nobenega kontrolnika NTC). You must define NTC controls for each group (Določiti morate kontrolnike NTC za vsako skupino).

Sporočila analize HRM

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined (Genotip <IME GENOTIPA> nima določenega kontrolnika).
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed (Podvojene kombinacije genotipa niso dovoljene).
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument (Analize talitvene krivulje z visoko ločljivostjo niso podprte na tem instrumentu). Please contact your distributor for more information (Za več informacij se prosimo obrnite na vašega prodajalca).

Sporočila analize talitve

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed (Genotipov ni mogoče določiti, dokler ne zastavite skupin). Please define all bins and then try again (Prosimo, da določite skupine in poizkusite znova).

Besedilo sporočila

- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype (Vnesti morate kratico za genotip <IME GENOTIPA>).

Sporočila analize predela raztrosa

- 72 Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected (Analiza predela raztrosa potrebuje izbiro natančno 2 kanalov). 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. (Za izbiro več kanalov pravokotnik povlecite okrog kanalov, ki jih želite prikazati v oknu za izbiro analize, oz. med držanjem tipke SHIFT kliknite na vsak kanal).

Sporočila analize kvantifikacije

- 73 The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards (Funkcija samodejnega iskanja praga zahteva, da določite vsaj 2 izbrana standarda). To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..." (Za to nastavitev desnokliknite na seznam vzorcev in izberite možnost »Uredi vzorce ...«)

Ta stran je namenoma prazna

13 Glosar

Izraz	Opis
Zajem	Zajem je zbiranje fluorescenčnih podatkov. Vsak zajem (niz fluorescenčnih podatkov) iz kanala je v programski opremi prikazan kot neobdelani podatki v oknu »Raw channel« (Neobdelan kanal). Te podatke lahko analizirate z uporabo možnosti v meniju »Analysis« (Analiza).
Skupine	V analizi talitve so skupine nastavljene za določanje območja, kjer pričakujete vrh taljenja. Genotipe lahko določite na podlagi prisotnosti vrhov v določenih skupinah ali kombinacijah skupin.
CE-IVD	Skladnost z Evropsko direktivo 98/79/ES o in-vitro medicinskih napravah.
Kanal	Kanal je sestavljen iz svetleče diode (light emitting diode, LED) s filtrom ekscitacije, povezanim s filtrom emisij. LED in filter ekscitacije ekscitirata vzorce na dani valovni dolžini. Fluorescenca, ki jo oddajajo vzorci, poteka skozi filter emisij preden jo zazna fotorazmnoževalnik.
Pridobitev	Instrument Rotor-Gene Q MDx uporablja fotorazmnoževalnik, da zbira fotone fluorescence in jih pretvarja v elektronske signale. Pridobitev je nastavitev, ki določa občutljivost fotorazmnoževalnika. Če je pridobitev nastavljena previsoko, je signal preveč nasičen. Če je pridobitev nastavljena prenizko, potem ni možno razlikovati med signalom in šumom v ozadju.
Optimizacija pridobitve	Gain Optimisation (Optimizacija pridobitve) je postopek, ki dinamično prilagaja nastavitev pridobitve, kar omogoča izbiro primerne nastavitve, ki proizvede optimalno zaznavanje signala.
Nalagalni blok	Nalagalni bloki so aluminijasti bloki, na voljo v različnih oblikah, ki se uporabljajo za zadrževanje epruвет ali diskov Rotor-Disc med nastavitvijo reakcije. Nalagalni bloki Rotor-Disc Loading Block se uporabljajo tudi z napravo Rotor-Disc Heat Sealer, da vročinsko zatesnijo diske Rotor-Disc.

Izraz	Opis
Zaklepni obroč	Locking Rings (Zaklepni obroči) so kovinski obroči, ki jih namestite na rotor, da preprečite snetje epruвет in pokrovčkov med delovanje instrumenta Rotor-Gene Q MDx. Sproščeni pokrovčki in epruvete lahko povzročijo poškodbe instrumenta.
Rotor	Kovinski rotor drži epruvete ali diske Rotor-Disc v instrumentu Rotor-Gene Q MDx. Vzorcem omogoča vrtenje v komori instrumenta in zagotavlja, da so vzorci pravilno poravnani z optičnim sistemom. Rotor je zavarovan z zaklepnim obročem.
Rotor-Disc	Diski Rotor-Disc so okrogle plošče z navpično usmerjenimi reakcijskimi odprtini. Na voljo so formati diskov Rotor-Disc za 72 in 100 reakcij. Diski Rotor-Disc so zatesnjeni z uporabo filma Rotor-Disc Heat Sealing Film in napravo Rotor-Disc Heat Sealer.

Dodatek A

Tehnični podatki

Družba QIAGEN si pridržuje pravico, da lahko kadar koli spremeni specifikacije.

Pogoji okolja

Delovni pogoji

Napajanje	100–240 V AC, 50–60Hz, 520 VA (vrh) Poraba napajanja 60 VA (v pripravljenosti) Nihanja napajalne napetosti električnega omrežja ne smejo presegati 10 % nominalnih napajalnih napetosti.
Varovalka	Varovalka F5A 250 V
Izguba toplote/ termična obremenitev	Povprečno: 0,183 kW (632 BTU/uro) Vrh: 0,458 kW (1578 BTU/uro)
Kategorija prenapetosti	II
Temperatura zraka	Od 18 do 30°C
Relativna vlažnost	10–75 % (brez kondenzacije)
Višina	Do 2000 m
Mesto delovanja	Samo za uporabo v notranjih prostorih
Stopnja onesnaženja	2
Okoljski razred	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

Pogoji za transport

Temperatura zraka	Od -25°C do 60°C v embalaži proizvajalca
Relativna vlažnost	Najv. 75 % (brez kondenzacije)
Okoljski razred	2K2 (IEC 60721-3-2)

Pogoji skladiščenja

Temperatura zraka	Od 15°C do 30°C v embalaži proizvajalca
Relativna vlažnost	Najv. 75 % (brez kondenzacije)
Okoljski razred	1K2 (IEC 60721-3-1)

Mehanski podatki in lastnosti strojne opreme

Mere	Širina: 370 mm Višina: 286 mm Globina (brez kablov): 420 mm Globina (vrata odprta): 538 mm
Teža	12,5 kg, standardna konfiguracija
Zmogljivost	Do 100 vzorcev na potek z uporabo instrumenta diska Rotor-Disc 100
Programska oprema	Programska oprema instrumenta Rotor-Gene Q (različica 2.3.4) ali novejša

Termične specifikacije

Opis	Specifikacija
Razpon temperature	Od 35 °C do 99 °C (od 50 °C do 99 °C za aplikacije kroženja)
Natančnost temperature	±0,5 °C (umerjeno z uporabo postopka Rotor-Disc OTV)
Ločljivost temperature	±0,02 °C (najmanjši programirljivi dvig)
Enotnost temperature	±0,02 °C

Optične specifikacije

Opis	Specifikacija
Viri ekscitacije	Svetleče diode z visoko energijo
Detektor	Fotorazmnoževalnik
Čas zajema	4 s

Izjava FCC

»Zvezna komisija za komunikacije Združenih držav Amerike« (USFCC) (v 47 CRF 15. 105) je izjavila, da morajo biti uporabniki tega izdelka obveščeni o naslednjih dejstvih in okoliščinah.

»Naprava je skladna s 15. delom FCC:

Delovanje je predmet naslednjih dveh pogojev: (1) Ta naprava ne sme povzročati škodljivih motenj in (2) ta naprava mora sprejeti vse motnje, vključno s tistimi, ki lahko povzročijo neželjeno delovanje naprave.«

»Ta digitalna naprava razreda B se sklada s kanadskim standardom ICES-0003.«

Naslednja izjava se nanaša na izdelke, ki jih opisujejo ta navodila, razen če je v njih navedeno drugače. Izjavo za druge izdelke boste našli v spremni dokumentaciji.

Opomba: Naprava je bila preizkušena in ustreza omejitvam za digitalne naprave razreda B, ki so določene v 15. delu pravil komisije FCC, in se sklada z vsemi zahtevami kanadskega

standarda za opremo, ki povzroča motnje ICES-003 za digitalno napravo. Te omejitve so zasnovane za zagotavljanje razumne zaščite proti škodljivim motnjam med uporabo v stanovanjskih območjih. Naprava ustvarja, uporablja in lahko oddaja radiofrekvenčno energijo ter lahko povzroči škodljive motnje v radijskih komunikacijah, če ni nameščena in uporabljena v skladu s temi navodili. Vendar pa ni jamstva, da pri določeni namestitvi ne bo prišlo do motenj. Če naprava povzroča škodljive motnje pri radijskem ali televizijskem sprejemu, kar je mogoče ugotoviti z izklopom in vklopom opreme, uporabnika pozivamo, da poskuša motnje odpraviti z enim ali več naslednjimi ukrepi:

- obrnite ali prestavite sprejemno anteno,
- povečajte razdaljo med napravo in sprejemnikom,
- opremo priklopite v vtičnico, ki je v drugem tokokrogu kot sprejemnik.

Posvetujete se s prodajalcem ali izkušenim serviserjem radijev ali televizorjev.

Družba QIAGEN GmbH Germany ni odgovorna za kakršne koli motnje radijev ali televizorjev, ki nastanejo zaradi nepooblaščenih sprememb te opreme ali zamenjave oz. priključitve priključnih kablov in opreme, ki jo ne določa družba QIAGEN GmbH, Germany. Za popravke motenj, ki jih povzročajo takšne nepooblaščne spremembe, zamenjave ali priključitve, bo odgovoren uporabnik.

Izjava o skladnosti

Ime in naslov zakonitega proizvajalca

QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden

Nemčija

Posodobljeno Izjavo o skladnosti lahko zahtevate pri tehničnih storitvah družbe QIAGEN.

Odpadna električna in elektronska oprema (OEEO)

To poglavje zagotavlja informacije o odstranjevanju odpadne električne in elektronske opreme s strani uporabnikov.

Simbol prečrtanega smetnjaka na kolesih (glejte spodaj) označuje, da tega izdelka ni dovoljeno odstranjevati z drugimi odpadki; odnesti ga je treba v odobren obrat za obdelavo ali na ustrezno zbirno točko za recikliranje, v skladu z lokalnimi zakoni in uredbami.

Ločeno zbiranje in recikliranje odpadne elektronske opreme v času odstranjevanja pomaga pri ohranjanju naravnih virov in zagotavlja, da je izdelek recikliran na način, ki ščiti zdravje ljudi in okolje.



Na zahtevo in ob doplačilu lahko recikliranje zagotovi družba QIAGEN. V Evropski uniji je v skladu s specifičnimi zahtevami glede recikliranja OEEO in na lokacijah, kjer zamenjavo izdelka zagotavlja družba QIAGEN, zagotovljeno brezplačno recikliranje njihove elektronske opreme, označene z OEEO.

Za recikliranje elektronske opreme se za obrazec za vračilo obrnite na lokalno prodajno pisarno družbe QIAGEN. Ko oddate obrazec, vas bo kontaktirala družba QIAGEN in zahtevala dodatne informacije za določitev termina zbiranja odpadne elektronske opreme oz. vam poslala posamezni račun.

Ta stran je namenoma prazna

Dodatek B

Ta dodatek podrobneje opisuje uporabljene matematične tehnike.

Kvantifikacija

Izračunane koncentracije pridobite iz enostavnega linearnega modela regresije z znanimi vrednosti, logaritemskimi koncentracijami (x) in eksperimentalnimi vrednostmi C_T (y).

Logaritemske koncentracije in vrednosti C_T standardov so uporabljeni za ustvarjanje modela v obliki:

$$y = Mx + B$$

Intervali zaupanja za izračunane koncentracije

Za oceno novega opazovanja x_0 iz standardne krivulje uporabljamo naslednji interval zaupanja $100(1 - \alpha)\%$.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

To je interval zaupanja za koncentracijo posamezne neznanke.

Domnevajmo, da imamo k nadaljnjih opazovanj pri $x = x_0$ in njihovo povprečje označimo z \bar{Y}_0 . Potem,

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

in argumenti, podobni zgoraj, dajejo

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Ta formula določa kako so določeni intervale zaupanja za koncentracije neznank replikacij.

Za oceno standardov lahko dobite ožje intervale zaupanja:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Sklep te formule je, da dodajanje replikacij standardni posamezni koncentraciji zmanjša širino intervala za vse ocene, ko se n poveča. Dodajanje večjega števila replikacij neznanke zmanjša njeno negotovost na tisto pri posameznem standardu. Dodatne replikacije zmanjšajo negotovost zaradi tega, ker neznanke ne tvorijo del linearnega modela.

Intervali zaupanja za vrednosti C_T

Domnevamo, da je napaka v vrednostih C_T replikacije linearna in normalno porazdeljena.

Zato uporabimo interval zaupanja t z enim vzorcem. Naj bo μ povprečna vrednost za vrednosti C_T replikacije

$(x_0 \dots x_{n-1})$. Potem interval zaupanja $100(1 - \alpha)\%$ za vrednost C_T μ znaša:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Radi bi se zahvalili Petru Cooku iz Oddelka za matematiko na Univerzi NSW, Sydney, Avstralija, čigar pomoč je bila izjemno pomembna pri preverjanju uporabljenih matematičnih pristopov.

Dodatek C

Izdelki Rotor-Gene Q MDx , pribor in potrošni material

Izdelek	Vsebina	Kat. št.
Rotor-Gene Q MDx 2plex	Ciklična naprava PCR v realnem času z 2 kanaloma (zelen, rumen), prenosni računalnik, programska oprema, pribor, 1-letna garancija na dele in delo	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM	Ciklična naprava PCR v realnem času in analizator talitvene krivulje z visoko ločljivostjo z 2 kanaloma (zelen, rumen) plus kanal HRM, prenosni računalnik, programska oprema, pribor, 1-letna garancija na dele in delo	9002012
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Ciklična naprava PCR v realnem času s 5 kanali (zelen, rumen, oranžen, rdeč, vijoličen), prenosni računalnik, programska oprema, pribor, 1-letna garancija na dele in delo	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Ciklična naprava PCR v realnem času in analizator talitvene krivulje z visoko ločljivostjo z 5 kanali (zelen, rumen, oranžen, rdeč, vijoličen) plus kanal HRM, prenosni računalnik, programska oprema, pribor, 1-letna garancija na dele in delo	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Ciklična naprava PCR v realnem času s 6 kanali (moder, zelen, rumen, oranžen, rdeč, vijoličen), vključno s prenosnim računalnikom, programsko opremo, priborom, 1-letno garancijo na dele in delo	9002042

Izdelek	Vsebina	Kat. št.
Pribor		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Komplet vključuje: 2 diska Rotor-Disc 100 paketov, napravo Rotor-Disc Heat Sealer, film Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor in zaklepni obroč, nalagalni blok Rotor-Disc 100 Loading Block, pripomoček Rotor-Disc Pipetting Aid	Povpraševanje
Rotor-Disc 100 (30)	30 posamezno zavitih diskov za 3000 reakcij	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 posamezno zavitih diskov za 30.000 reakcij	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Za zadrževanje diskov Rotor-Disc 100 v instrumentu Rotor-Gene Q MDx je potreben zaklepni obroč Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Za zaklepanje diska Rotor-Disc 100 v Rotor-Disc 100 Rotor	9018896
Rotor-Disc 100 Loading Block	Aluminijasti blok za ročno in samodejno nastavitvev reakcije v diskih Rotor-Disc 100	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Pomoč za označevanje vdolbine med ročno nastavitvijo reakcije na nalagalnem bloku Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Instrument Rotor-Disc Heat Sealer za uporabo z diski Rotor-Disc; zahteva nalagalni blok Rotor-Disc 72 ali 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 filmov Rotor-Disc Heat Sealing Film 100 ali Rotor-Disc 72	981601

Izdelek	Vsebina	Kat. št.
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 filmov Rotor-Disc Heat Sealing Film 100 ali Rotor-Disc 72	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Komplet vključuje: 3 diska Rotor-Disc 72 paketov, napravo Rotor-Disc Heat Sealer, film Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor in zaklepni obroč, nalagalni blok Rotor-Disc 72 Loading Block, pripomoček Rotor-Disc Pipetting Aid	Povpraševanje
Rotor-Disc 72 (24)	24 posamezno zavutih diskov za 1728 reakcij	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 posamezno zavutih diskov za 17.280 reakcij	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Za zadrževanje diskov Rotor-Disc 72 v instrumentu Rotor-Gene Q MDx je potreben zaklepni obroč Rotor-Disc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Za zaklepanje diska Rotor-Disc 72 v Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Aluminijasti blok za ročno in samodejno nastavitvev reakcije v diskih Rotor-Disc 72	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 trakov s po 4 epruветami in pokrovčki za 1000 reakcij	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 trakov s po 4 epruветami in pokrovčki za 10.000 reakcij	981106
72-Well Rotor	Za zadrževanje Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; zahteva zaklepni obroč 72-Well Rotor Locking Ring	9018903

Dodatek C

Izdelek	Vsebina	Kat. št.
Locking Ring 72-Well Rotor	Za zaklepanje Strip Tubes and Caps, 0,1 ml; v rotorju 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminijasti blok za ročno nastavljanje reakcije z enokanalno pipeto v 72 x 0,1 ml epruvetah	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Aluminijasti blok za nastavljanje reakcije z večkanalnimi pipetami v 72 x 0,1 ml epruvetah	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 epruвет s tanko steno za 1000 reakcij	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 epruвет s tanko steno za 10.000 reakcij	981008
36-Well Rotor	Za zadrževanje epruвет PCR Tubes, 0.2 ml; zahteva zaklepni obroč 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	Za zaklepanje epruвет PCR Tubes, 0.2 ml; v rotorju 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminijasti blok za ročno nastavljanje reakcije v standardnem 8 x 12 testu z uporabo 96 x 0,2 ml epruвет	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Komplet za optično preverjanje temperature sistemov Rotor-Gene vključuje disk-Rotor-Disc, ki je predhodno opremljen s termo- kromatskimi tekočimi kristali, fluorescentnimi vstavki, zgoščenko z datotekami za umerjanje; zahteva Rotor- Disc 72 Rotor in zaklepni obroč ali začetni komplet Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Kovinsko, prostostoječe držalo za vstavljanje epruвет in diskov Rotor-Disc v rotorje	9018908

Za posodobljen seznam kompletov družbe QIAGEN, ki so indicirani za uporabo z instrumentom Rotor-Gene Q MDx prosimo glejte spletno stran www.qiagen.com/products/rotor-geneqmdx.aspx.

Dodatek D

Izjava o odgovornosti

Družba QIAGEN ne bo prevzela odgovornosti, ki jo zagotavlja z garancijo, če bodo osebe, ki niso njeno osebe, izvajale popravila ali spremembe na opremi, razen v primerih, ko je družba podala pisno soglasje za izvedbo takšnih popravil ali sprememb.

Vsi materiali, ki bodo zamenjani pod to garancijo, bodo imeli veljavno garancijo samo za trajanje izvirnega garancijskega obdobja, in v nobenem primeru dlje od izvirnega roka poteka izvirne garancije, razen če je to odobrila uradna oseba družbe. Naprave za odčitavanje, vmesniške naprave in povezana programska oprema bodo imele garancijo samo za obdobje, ki jo ponuja izvirni proizvajalec teh izdelkov. Predstavitve in garancije, ki jih zagotavlja katera koli oseba, vključno s predstavniki družbe QIAGEN, ki niso skladne ali so v nasprotju s pogoji v tej garanciji, za družbo ne bodo obvezujoče, razen če je to pisno potrdila in odobrila uradna oseba družbe QIAGEN.

Ta stran je namenoma prazna

Indeks

—A—

Alelna diskriminacija, 7-51
 Analiza grafa raztrosa, 7-54
 Analiza koncentracije, 7-65
 standardi, 7-66
 Analiza talitvene krivulje, 7-44
 skupine, 7-46
 vrhovi, 7-46
 Arhivi dnevniških datotek, 12-1
 AutoStat, 7-27

—C—

Čarovnik za hitri zagon, 6-1

—D—

Delovanje
 pogoji, 1-5, 1
 programska oprema, 6-1
 strojna oprema, 5-1
 Dimeri začetnih oligonukleotidov, 11-19
 Dolgi razpon, 6-14
 Dva koraka, 6-2, 6-8

—E—

EkspONENTNA amplifikacija, 7-33
 EndPoint analysis (Analiza končne
 točke), 7-57
 kontrolniki, 7-60

—F—

Fluorofori zaznani, 3-4

—G—

Genotipi
 alelna diskriminacija, 7-53
 analiza grafa raztrosa, 7-55

analiza talitvene krivulje, 7-47
 endPoint analysis (analiza končne
 točke), 7-58, 7-64
 Gumb za preklap, 7-3

—H—

Hibridizacija, 6-16
 HRM
 analiza, 7-68, 11-1, 11-19
 analiza metilacije, 11-5
 čarovnik za hitri zagon, 6-3
 cikel, 6-17
 Genotipiziranje SNP, 11-3
 kompleti, 11-3
 napredni čarovnik, 6-8
 odpravljanje težav, 12-1
 PCR v realnem času, 11-17
 priprava vzorca, 11-9
 programska oprema, 11-9
 smernice, 11-7

—I—

Ignoriraj prvo, 7-30, 7-55
 Ikona izvijača, 8-6
 Ikona ključa, 8-6
 Intervali zaupanja, 2
 Izračun CT, 7-21
 Izvedi zadnji potek, 6-2, 6-7
 Izvoz
 grafi, 8-2
 izvirni format, 8-4
 podatki, 8-5
 v LinReg, 7-10

—K—

Kanali, 3-4, 7-72
 Komentar Ct, 7-24
 Komplet Rotor-Disc OTV Kit, 10-2
 Korelacijski koeficient, 7-16
 Kroženje, 6-13

Kroženje z optično denaturacijo, 6-17
Kvantifikacija, 7-14, 1

—L—

LinReg
izvoz v, 7-10

—M—

Meni
analiza, 7-12
datoteka, 7-6
možnosti prikaza, 7-87
okno, 7-107
pogled, 7-71
pomoč, 7-107
potek, 7-70
pridobitev, 7-106
varnost, 7-88
Meritev koncentracije nukleinske kisline,
6-3, 7-65
Metoda za dvema standardnima
krivljama, 7-35
Možnosti stroja, 7-71

—N—

Naklon, 7-33
Nalagalni blok, 5-4
Namen uporabe, 2-2
Namestitvev, 4-1
 programska oprema, 4-9
 strojna oprema, 4-7
 zahteve glede napajanja, 4-2
 Zahteve glede osebnega
 računalnika, 4-2
 zahteve glede ozemljitve, 4-2
 zahteve na lokaciji, 4-1
Napredek profila, 7-76
Napredni čarovnik, 6-6
Nastavitve reakcije, 5-4
Nastavitve pridobitve, 7-106
Neobdelani kanali, 7-1
Normalizacija, 7-3
 dinamična epruveta, 7-28, 7-55
 endPoint analysis (analiza končne
 točke), 7-61

Normalizacija dinamične
epruvete, 7-28, 7-55

—O—

Obreži cikle, 7-3
Odpravljanje težav, 12-1
 HRM, 12-1
 Rotor-Gene Q MDx, 12-3
Odstranjevanje odpadkov, 1-7
Odstranjevanje odstopanja, 7-30
Okno brskalnika
 poročil, 7-10, 7-14, 7-47
Okno Edit profile (Uredi profil), 6-4, 6-11
Okno Edit samples (Uredi
 vzorce), 6-6, 6-32, 7-77
 slog rotorja, 7-83
Okno nastavitvev, 7-11
Okno primernost strani vzorcev, 7-84
Okno rezultatov kvantifikacije, 7-22
Okno rezultatov talitvene krivulje, 7-47
Okolje, 1-5
Opozorila, 1-1
Optični sistem, 3-2
Optimizacija pridobitve, 6-10, 6-23
 ročno, 6-28
Orodna vrstica, 7-1
OTV, 10-1

—P—

Parametri ekscitacije, 3-4
Parametri zaznavanja, 3-4
Podpora, 7-108
Popravek naklona šuma, 7-29, 7-55
Postavitve epruvet, 7-74
Potek
 nastavitve, 7-71
 nov, 7-7
 odpri, 7-7
 podpisi, 7-101
 premor, 7-70
 shrani, 7-7
 začni, 7-70
 zaustavitvev, 7-70
Prag, 7-21
Prazen potek, 6-7
Predloge
 alelna diskriminacija, 7-53, 8-1

analiza grafa raztrosa, 7-56, 8-1
 analiza končne točke, 8-1
 analiza talitve, 7-48, 8-1
 dodajanje v čarovnik za hitri
 zagon, 6-3
 dodajanje v napredni čarovnik, 6-8
 endPoint analysis (analiza končne
 točke), 7-65
 kvantifikacija, 7-35, 8-1
 Preverjanje optične temperature, 10-1
 Previdnostni ukrepi, 1-1
 Pridušen prenos energije resonance
 fluorescence (fluorescence
 resonance energy transfer,
 FRET), 6-3
 Prilagodi merilo, 7-2
 Prilagoditev začetne točke, 7-30
 Primerjalna kvantifikacija, 7-48
 Primernosti, 7-84
 Privzeto merilo, 7-2
 Program Outlook, 7-112
 Programska oprema
 posodobitve, 4-23
 različica, 4-13
 sporočila o napakah, 12-13

—R—

Različica, 2-2
 Razpakiranje, 4-6
 Relativna kvantifikacija
 delta delta CT, 7-40
 Replikacija kalibratorja, 7-50
 Revizijske sledi, 7-100
 Rotor
 36 vdolbin, 5-2
 72 vdolbin, 5-2
 izbira, 6-4, 6-8
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-3
 specifikacije, 5-4
 vrste, 5-1
 Rotor-Disc
 nastavitev, 5-9
 vročinsko tesnjenje, 5-9
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-3

—S—

Samodejno iskanje praga, 7-22
 Samodejno merilo, 7-2
 Serijska številka, 4-11
 Simboli, 1-10
 Skaliranje, 8-2
 Skladiščenje, 2
 Skupine, 7-85
 Specifikacije
 optične, 3
 strojna oprema, 2
 Sporočila, 7-72
 Sporočilo o napaki, 12-3
 Spust, 6-14
 Standardna krivulja, 7-15
 formula, 7-17, 7-34
 izračun, 7-18
 izvoz, 7-17
 metoda z dvema standardnima
 krivuljama, 7-35
 prekrivanje, 7-17
 uvoz, 7-19
 Stran, 7-3, 7-5, 7-80

—T—

Taljenje, 6-16
 TeeChart Office, 8-4, 8-7
 Tehnična pomoč, 2-1
 Temperaturni graf, 7-75
 Termično delovanje, 3-1
 Transport, 2
 Trije koraki s taljenjem, 6-2, 6-7

—U—

Učinkovitost, 7-16, 7-33
 Uporabnik
 dodeljevanje vlog v operacijskem
 sistemi Win7, 7-92, 7-98
 ustvarjanje računa operacijskega
 sistema Win7, 7-90, 7-97
 več računov, 7-99

—V—

Varnost, 7-74, 7-88
 biološka, 1-5

električna, 1-4
kemikalije, 1-6
konfiguracija operacijskega sistema
 Windows 7, 7-90
mehanske nevarnosti, 1-7
nevarnost vročine, 1-8
odstranjevanje odpadkov, 1-7
primerna uporaba, 1-2
rotor, 1-7
strupeni hlapi, 1-7
vzdrževanje, 1-9
vzorci, 1-5
Vhod, 4-11, 7-12
Virtualni način, 4-12, 7-12
Vrste vzorcev, 7-80
Vzdrževanje, 9-1

napredni čarovnik, 6-8

—Z—

Zadrževanje, 6-12
Zajem, 6-14
Zaklepanje
 predloge, 7-105
 vzorci, 7-103
Zaklepni obroč
 36-Well Rotor, 5-2
 72-Well Rotor, 5-2
 Rotor-Disc 100, 5-3
 Rotor-Disc 72, 5-3

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

Ordering www.qiagen.com/shop | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com

