

Februar 2022

Brugervejledning til Rotor-Gene[®] Q MDx CE



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R1

Indhold

1	Indledning	8
1.1	Om denne brugervejledning	8
1.2	Generelle oplysninger	9
1.2.1	Teknisk assistance	9
1.2.2	Virksomhedspolitik	9
1.2.3	Versionsstyring	10
1.3	Tilsluttet anvendelse af Rotor-Gene Q MDx	10
1.3.1	Krav til Rotor-Gene Q MDx	10
1.4	Nødvendige materialer	11
1.5	Nødvendige materialer, som ikke medfølger	11
2	Sikkerhedsinformation	12
2.1	Korrekt anvendelse	13
2.2	Elektrisk sikkerhed	15
2.3	Biologisk sikkerhed	16
2.4	Kemisk sikkerhed	17
2.5	Bortskaffelse af affald	18
2.6	Mekaniske farer	18
2.7	Sikkerhed i forbindelse med vedligeholdelse	20
2.8	Symboler på Rotor-Gene Q MDx	21
3	Generel beskrivelse	22
3.1	Sådan fungerer Rotor-Gene Q MDx	22
3.1.1	Termisk ydeevne	22
3.1.2	Optisk system	23
3.1.3	Tilgængelige kanaler	24
3.2	Ydre træk på Rotor-Gene Q MDx	25
3.2.1	Lufthuller på låget	25
3.2.2	Håndtag på låg	25
3.2.3	Rotorkammer	25
3.2.4	Instrumentstatuslamper	25

3.3	Indre træk på Rotor-Gene Q MDx.....	26
3.3.1	Rotornav.....	26
3.3.2	Optisk linse.....	26
	Optisk linse, hvor lyset fra excitationsdioderne fokuseres på rørene.	26
4	Installationsprocedurer	27
4.1	Systemlevering og installation	27
4.1.1	Udpakning af Rotor-Gene Q MDx	27
4.1.2	Hardwareinstallation.....	28
4.1.3	Softwareinstallation.....	29
4.1.4	Softwareversion.....	32
4.1.5	Anden software på computere, der er sluttet til et Rotor-Gene Q MDx-instrument	32
4.2	Krav til lokaliteten	39
4.3	Vekselstrømsforbindelse.....	40
4.3.1	Strømkrav	40
4.3.2	Krav til jordforbindelse	40
4.3.3	Installation af vekselstrømskabel	40
4.4	Konfiguration af sikkerhed i Windows	40
4.5	Krav til arbejdsstationen	42
4.6	Udpakning og installation af Rotor-Gene Q MDx	43
4.6.1	Softwareopgradering.....	44
4.7	Tilbehør.....	44
4.8	Ompakning og forsendelse af Rotor-Gene Q MDx.....	44
4.9	Kom godt i gang	44
4.9.1	Opstart af Rotor-Gene Q MDx og arbejdsstationen.....	44
5	Driftsprocedurer	45
5.1	Brug af Rotor-Gene Q MDx-softwaren	45
5.1.1	Guiden Quick Start (Lynstart).....	45
5.1.2	Guiden Advanced (Avanceret)	49
5.2	Brug af Rotor-Gene Q MDx-instrumentets hardware	68
5.2.1	Rotortyper.....	68

	5.2.2	Reaktionsopsætning	71
	5.2.3	Opsætning af Rotor-Disc.....	74
6		Analysebrugerflade	78
	6.1	Arbejdsområde	78
	6.2	Værktøjslinje	78
	6.3	Visning af kanaler med rådata.....	78
	6.4	Skift mellem prøver	79
	6.5	Menuen Fil	81
	6.5.1	Ny.....	81
	6.5.2	Åbn og gem	82
	6.5.3	Rapporter	84
	6.5.4	Opsætning	84
	6.6	Analysemenuen.....	85
	6.6.1	Analyse	85
	6.6.2	Kvantificering.....	86
	6.6.3	To standardkurver.....	98
	6.6.4	Relativ kvantificering ved hjælp af delta delta C _T -metoden	102
	6.6.5	Analyse af smeltekurve.....	105
	6.6.6	Komparativ kvantificering	108
	6.6.7	Alleldifferentiering	110
	6.6.8	Spredningsdiagramanalyse	112
	6.6.9	Endepunktsanalyse	114
	6.6.10	Koncentrationsanalyse	120
	6.6.11	Analyse med højopløselig smeltning	123
	6.7	Kørselsmenuen	124
	6.7.1	Start kørsel.....	124
	6.7.2	Sæt kørsel på pause	124
	6.7.3	Stop kørsel.....	125
	6.8	Menuen Vis	125
	6.8.1	Kørselsindstillinger	125
	6.8.2	Temperaturgraf	128

6.8.3	Løbende profilstatus	129
6.8.4	Rediger prøver	130
6.8.5	Visningsindstillinger	136
6.9	Adgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-software	137
6.9.1	Konfiguration i Windows 7.....	138
6.9.2	Konfiguration i Windows 10.....	144
6.9.3	Lade flere brugere køre softwaren på samme computer.....	146
6.9.4	Historikposter	147
6.9.5	Kørselssignaturer	149
6.9.6	Låsning af prøver.....	150
6.9.7	Låste skabeloner	152
6.10	Forstærkningsmenuen.....	152
6.11	Window-menu	153
6.12	Hjælpfunktionen	153
6.12.1	Send e-mail om support.....	154
7	Yderligere funktioner	158
7.1	Analyseskabeloner	158
7.2	Åbning af en anden kørsel	158
7.3	Valgmuligheder for skalering	158
7.4	Eksport af grafer.....	159
7.5	Skruenøgleikon	162
7.6	Indstillinger for valgt område	163
8	Vedligeholdelse	164
8.1	Rengøring af overfladen på Rotor-Gene Q MDx.....	164
8.2	Dekontaminering af overfladen på Rotor-Gene Q MDx	165
8.3	Reparation af Rotor-Gene Q	165
9	Verifikation af optisk temperatur.....	166
9.1	OTV-princip	166
9.2	Komponenter i Rotor-Disc OTV Kit.....	166
9.3	Kørsel af en OTV.....	167
10	Analyse med højopløselig smeltning	170

10.1	Instrumenter	171
10.2	Kemi	172
10.3	Eksempel på SNP-genotypebestemmelse	172
10.4	Eksempel på metyleringsanalyse	174
10.5	Retningslinjer for vellykket HRM-analyse	175
10.6	Klargøring af prøve	177
10.7	Softwareopsætning	177
10.8	Real-time PCR-dataanalyse	183
10.9	HRM-dataanalyse	184
11	Fejlfinding	189
11.1	Logarkiver	190
11.2	Hardware- og softwarefejl	190
11.2.1	Fejlfinding af HRM	190
11.3	Fejl- og advarselsmeddelelser	191
11.3.1	Generelle instrumentfejl	191
11.3.2	Meddelelser i Rotor-Gene Q-softwaren	194
12	Ordliste	198
13	Tekniske specifikationer	199
13.1	Miljøforhold – driftsbetingelser	199
13.2	Transportbetingelser	199
13.3	Opbevaringsbetingelser	199
13.4	Mekaniske data og hardware-egenskaber	199
13.5	Specifikationer (hardware og software)	200
13.5.1	Termiske specifikationer	200
13.5.2	Optiske specifikationer	200
14	Bilag A – Juridiske oplysninger	201
14.1	FCC-deklaration	201
14.2	Overholdelse af IEC EN 61326	202
14.3	Overensstemmelseserklæring	203
14.4	Affald af elektrisk og elektronisk udstyr (WEEE)	204
14.5	Ansvarsklausul	205

14.6	Softwarelicensaftale.....	206
15	Bilag B – Matematiske teknikker.....	209
15.1	Kvantificering.....	209
15.1.1	Konfidensintervaller for beregnede koncentrationer.....	209
15.1.2	Konfidensintervaller for CT-værdier.....	210
16	Bestillingsinformation.....	211
16.1	Rotor-Gene Q MDx-produkter, -tilbehør og -forbrugsvarer.....	211
17	Revisionshistorik for dokumentet.....	214

1 Indledning

Tak, fordi du har valgt Rotor-Gene Q MDx. Vi er overbevist om, at det vil blive en integreret del af dit laboratorium.

Før Rotor-Gene Q MDx tages i brug, er det vigtigt at læse brugervejledningen omhyggeligt igennem. Læg specielt mærke til sikkerhedsinformationerne. Instruktionerne og sikkerhedsinformationerne i brugervejledningen skal følges for at sikre, at driften af instrumentet er sikker, og at det holdes i sikker stand.

Bemærk, at Rotor-Gene Q MDx fås i flere forskellige konfigurationer. Du kan finde flere oplysninger, herunder bestillingsinformation, i afsnit 1.6.

1.1 Om denne brugervejledning

Denne brugervejledning giver informationer om Rotor-Gene Q MDx i følgende afsnit:

- Indledning
- Sikkerhedsinformation
- Generel beskrivelse
- Installationsprocedurer
- Driftsprocedurer
- Vedligeholdelse
- Fejlfinding
- Tekniske specifikationer
- Bilag

Bilagene indeholder følgende oplysninger:

- Bilag A – Juridiske oplysninger
- Bilag B – Matematiske teknikker

1.2 Generelle oplysninger

1.2.1 Teknisk assistance

QIAGEN® Teknisk Service leverer høj kvalitet og er altid til rådighed. De tekniske serviceafdelinger er bemandede med erfarne videnskabsmænd med omfattende praktisk og teoretisk erfaring indenfor molekylærbiologi og i brugen af QIAGEN-produkter. Kontakt os i tilfælde af spørgsmål eller vanskeligheder vedrørende Rotor-Gene Q MDx eller QIAGENS produkter generelt.

QIAGENS kunder er en vigtig kilde til information om avancerede eller specialiserede anvendelser af vore produkter. Denne information er en hjælp for andre videnskabsfolk, såvel som for forskere ved QIAGEN. Vi vil derfor opfordre dig til at kontakte os, hvis du har forslag omkring produktdeevne eller nye anvendelser og teknikker.

For at få teknisk assistance kontaktes QIAGEN Teknisk Service.

Du kan finde opdaterede oplysninger om Rotor-Gene Q MDx på <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Websted: support.qiagen.com

Hav følgende oplysninger klar, når QIAGEN Teknisk Service skal kontaktes i tilfælde af fejl:

- Serienummer, type og version for Rotor-Gene Q MDx
- Fejlkode (hvis den findes)
- Tidspunkt, hvor fejlen opstod første gang
- Fejlfrekvensen (dvs. om den kommer og går eller er vedvarende)
- Kopi af logfiler

1.2.2 Virksomhedspolitik

Det er QIAGENS politik at forbedre produkterne, så snart nye teknikker og komponenter bliver tilgængelige. QIAGEN forbeholder sig ret til at ændre specifikationerne til enhver tid. I vores bestræbelser på at fremstille en nyttig og relevant dokumentation vil vi sætte pris på dine kommentarer til denne brugervejledning. Kontakt QIAGEN Teknisk Service.

1.2.3 Versionsstyring

Dette dokument er *Brugervejledning til Rotor-Gene Q MDx*, revision R1, til Rotor-Gene Q MDx-instrumenter med Rotor-Gene Q-softwareversion 2.3.x (hvor x er ≥ 0).

1.3 Tilsigtet anvendelse af Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er konstrueret til at udføre termiske cyklusser, påvisning og/eller kvantificering i realtid ved hjælp af polymerasekædereaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) til klinisk anvendelse.

Rotor-Gene Q MDx er beregnet til anvendelse udelukkende i kombination med QIAGEN-kits, der er indiceret til brug med Rotor-Gene Q-instrumentet, til de formål, der er beskrevet i QIAGEN kit-håndbøgerne.

Hvis Rotor-Gene Q MDx-instrumentet anvendes med andre kit end QIAGEN-kit, er det brugerens ansvar at validere ydeevnen af en sådan produktkombination ved hver enkelt specifikke anvendelse.

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er beregnet til at blive brugt af professionelle brugere såsom teknikere og læger, der er oplært i molekylærbiologiske teknikker og betjening af Rotor-Gene Q MDx-instrumentet.

1.3.1 Krav til Rotor-Gene Q MDx

Nedenstående tabel viser det generelle kompetence- og ekspertiseniveau, der er nødvendigt ved transport, installation, anvendelse, vedligeholdelse og servicering af Rotor-Gene Q MDx.

Opgave	Personale	Uddannelse og ekspertise
Levering	Ingen specielle krav	Ingen specielle krav
Installation	Laboratorieteknikere eller lignende	Passende uddannet og erfarent personale, der er fortroligt med anvendelsen af computere og automatik generelt
Rutineanvendelse (kørsel af protokoller)	Laboratorieteknikere eller lignende	Professionelle brugere såsom teknikere eller læger, der er oplært i molekylærbiologiske teknikker
Rutinemæssig vedligeholdelse	Laboratorieteknikere eller lignende	Professionelle brugere såsom teknikere eller læger, der er oplært i molekylærbiologiske teknikker
Servicering og årlig vedligeholdelse	Kun QIAGEN Ekstern Service	Uddannes, certificeres og godkendes løbende af QIAGEN

1.4 Nødvendige materialer

Bemærk: Brug kun tilbehør leveret af QIAGEN.

- Rotor-Gene Q MDx 5Plex (kat.-nr. 9002020)
- Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM (kat.-nr. 9002030)
- Rotor-Gene Q MDx 6Plex (kat.-nr. 9002040)
- Bærbar computer (kat.-nr. 9026760)
- 72-Well Rotor (kat.-nr. 9018903)
- Locking Ring 72-Well Rotor (kat.-nr. 9018904)
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (kat.-nr. 9018901)
- Rotor Holder (kat.-nr. 9018908)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) (kat.-nr. 981103)
- Rotor-Gene Q SW (kat.-nr. 9023241)

1.5 Nødvendige materialer, som ikke medfølger


- Sikkerhedsbriller
- Handsker
- Laboratoriekittel


Til Rotor-Gene Q MDx skal der bruges et PCR-kit, som skal købes separat. Udvalget af kits, der fås til instrumentet, kan ses på [QIAGEN.com](https://www.qiagen.com).

2 Sikkerhedsinformation

Før Rotor-Gene Q MDx tages i brug, er det vigtigt at læse brugervejledningen omhyggeligt igennem. Læg specielt mærke til sikkerhedsinformationerne. Instruktionerne og sikkerhedsinformationerne i brugervejledningen skal følges for at sikre, at driften af instrumentet er sikker, og at det holdes i sikker stand.

Følgende typer sikkerhedsinformationer optræder gennem hele *Brugervejledningen til Rotor-Gene Q MDx*.


ADVARSEL 	Udtrykket ADVARSEL er anvendt til at gøre opmærksom på situationer, der kunne resultere i personskade på brugeren eller andre personer. Detaljer om disse omstændigheder er anført i et tekstfelt som dette.
--	--

FORSIGTIG 	Udtrykket FORSIGTIG er anvendt til at gøre opmærksom på situationer, der kunne resultere i beskadigelse af instrumentet eller andet udstyr. Detaljer om disse omstændigheder er anført i et tekstfelt som dette.
---	--


De råd, der gives i denne vejledning, er ment som et supplement til de normale sikkerhedskrav, der gælder i brugerens land, og må ikke betragtes som en erstatning for disse.


Bemærk: Alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal muligvis rapporteres til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant samt den ansvarlige myndighed i det land, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.


2.1 Korrekt anvendelse

ADVARSEL 	Risiko for personskade og materiel skade Forkert brug af Rotor-Gene Q MDx kan forårsage personskade eller beskadigelse af instrumentet. Rotor-Gene Q MDx må kun betjenes af kvalificeret personale, som er blevet passende oplært. Service på Rotor-Gene Q MDx-instrumentet må kun udføres af en servicespecialist fra QIAGEN.
--	--


Udfør vedligeholdelse som beskrevet i afsnit 8. QIAGEN debiterer kunden for reparationer, der er nødvendige som følge af forkert vedligeholdelse.


ADVARSEL 	Risiko for personskade og materiel skade Rotor-Gene Q MDx er for tungt til at kunne løftes af en person. For at undgå personskader eller skader på instrumentet bør man ikke løfte det alene. Kontakt QIAGEN Teknisk Service for at få flyttet instrumentet.
--	---


ADVARSEL 	Risiko for personskade og materiel skade Gør ikke forsøg på at flytte Rotor-Gene Q MDx under drift.
--	---


FORSIGTIG 	Beskadigelse af instrumentet Undgå at spilde vand eller kemikalier på Rotor-Gene Q MDx. Beskadigelse, der er forårsaget af vand- eller kemikaliespild, vil medføre, at garantien bortfalder.
---	--


Bemærk: I tilfælde af en nødsituation slukkes Rotor-Gene Q MDx på strømafbryderen på instrumentets bagside, og netledningen trækkes ud af stikkontakten.


FORSIGTIG 	Risiko for personskade og materiel skade Forsøg ikke at åbne låget under et eksperiment, eller mens Rotor-Gene Q MDx roterer. Hvis du i modsat fald får låst lågets lås op og får adgang til indvendige dele, risikerer du kontakt med dele, der er varme, strømførende eller bevæger sig ved høj hastighed, og du kan forvolde skader på dig selv og instrumentet.
---	---

FORSIGTIG 	Risiko for personskade og materiel skade Hvis du hurtigt skal stoppe et eksperiment, skal du slukke for strømmen til instrumentet og derefter åbne låget. Lad kammeret afkøle, før du berører det indvendigt. I modsat fald risikerer du skader fra berøring af varme dele.
---	---

FORSIGTIG 	Risiko for personskade og materiel skade Hvis udstyret anvendes på en måde, der ikke er specificeret af producenten, kan den beskyttelse, som udstyret giver, forringes.
---	--

FORSIGTIG 	Risiko for personskade og materiel skade Løst papir under Rotor-Gene Q MDx hæmmer afkøling af instrumentet. Det anbefales at holde området under instrumentet frit.
---	---


FORSIGTIG 	Beskadigelse af instrumentet Anvend altid en låsering på rotoren. Dette hindrer, at hæfterne falder af rørene under et eksperiment. Hvis hæfterne falder af under et eksperiment, kan de beskadige kammeret.
---	--

<p>FORSIGTIG</p> 	<p>Risiko for materiel skade</p> <p>Efterse rotoren og kontrollér, at den ikke er beskadiget eller deformeret, før hver kørsel.</p>
---	--

Hvis du berører Rotor-Gene Q MDx under et eksperiment, mens du er ladet med statisk elektricitet, kan Rotor-Gene Q MDx i alvorlige tilfælde nulstilles. Softwaren vil dog genstarte Rotor-Gene Q MDx og fortsætte eksperimentet.

2.2 Elektrisk sikkerhed

Tag stikket med netledningen ud af stikkontakten før servicearbejde.

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Elektrisk fare</p> <p>Enhver afbrydelse af den beskyttende leder (jordledning) i eller uden for instrumentet eller frakobling af den beskyttende lederterminal vil sandsynligvis gøre instrumentet farligt.</p> <p>En bevidst afbrydelse er forbudt.</p> <p>Livsfarlige spændinger inde i instrumentet</p> <p>Når instrumentet er forbundet til elnettet, kan terminalerne være strømførende, og det er sandsynligt, at åbning af låg eller fjernelse af dele vil fritlægge strømførende dele.</p>
---	---


Følg nedenstående anvisninger for at sikre tilfredsstillende og sikker drift af Rotor-Gene Q MDx:

- Netledningen skal være sluttet til en stikkontakt, der har en beskyttende leder (jord).
- Undlad at justere eller udskifte indvendige dele i instrumentet.
- Betjen ikke instrumentet, hvis låg eller dele er fjernet.
- Hvis der er spildt væske indvendigt i instrumentet, skal det slukkes, kobles fra stikkontakten, og QIAGEN Teknisk Service skal kontaktes.

Hvis instrumentet bliver elektrisk usikkert at arbejde med, skal du forhindre øvrigt personale i at betjene det og derefter kontakte QIAGEN Teknisk Service.

Instrumentet kan være elektrisk farligt at bruge, når:

- Det eller netledningen forekommer beskadiget.
- Det er blevet opbevaret under ugunstige betingelser i en længere periode.
- Det har været udsat for kraftig belastning under transport.


ADVARSEL 	Elektrisk fare Instrumentet er udstyret med en mærkat for elektriske krav, som angiver spænding og frekvens for strømforsyning og sikringsklassificering. Udstyret må kun betjenes under disse betingelser.
--	---

2.3 Biologisk sikkerhed

Prøver og reagenser, der indeholder materialer fra biologiske kilder, skal behandles som potentielt smittefarlige. Benyt sikre laboratorieprocedurer som beskrevet i publikationer såsom *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

Prøver

Prøver kan indeholde smittefarlige stoffer. Brugeren skal være opmærksom på den sundhedsfare, der er forbundet med sådanne stoffer, og skal anvende, opbevare og bortskaffe sådanne prøver iht. de påkrævede sikkerhedsregler.


<p>ADVARSEL</p> 	<p>Prøver, der indeholder smittefarlige stoffer</p> <p>Visse prøver, der anvendes med dette instrument, kan indeholde smittefarlige stoffer. Sådanne prøver skal behandles med den største forsigtighed og i overensstemmelse med de påkrævede sikkerhedsbestemmelser.</p> <p>Benyt altid sikkerhedsbriller, 2 par handsker og en laboratoriekittel.</p> <p>Den ansvarlige person (for eksempel laboratorielederen) skal træffe de nødvendige forholdsregler for at sikre, at den omgivende arbejdsplads er sikker, og at de, der betjener udstyret, er passende uddannet og ikke udsættes for sundhedsfarlige niveauer af smittefarlige stoffer som defineret i de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) eller OSHA*- ACGIH[†]- eller COSHH[‡]-dokumenter.</p> <p>Udluftning af gasser og bortskaffelse af affald skal ske ifølge alle gældende sundheds- og sikkerhedsbestemmelser og love.</p>
--	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Arbejdssikkerheds- og Sundhedsadministrationen, USA).

[†] ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Amerikansk Konference for Statslige Industrihygiejnere, USA).

[‡] COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Kontrol af sundhedsskadelige stoffer, Storbritannien).

2.4 Kemisk sikkerhed

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Sundhedsfarlige kemikalier</p> <p>Visse kemikalier, der anvendes med dette instrument, kan være sundhedsfarlige eller kan blive sundhedsfarlige efter udførelse af protokolkørslen. Brug altid sikkerhedsbriller, handsker og en laboratoriekittel. Den ansvarlige person (f.eks. laboratorielederen) skal træffe de nødvendige forholdsregler for at sikre, at den omgivende arbejdsplads er sikker, og at de, der betjener udstyret, ikke udsættes for sundhedsfarlige niveauer af giftige stoffer (kemiske eller biologiske) som defineret i de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) eller OSHA*- ACGIH[†]- eller COSHH[‡]-dokumenter.</p> <p>Udluftning af gasser og bortskaffelse af affald skal ske ifølge alle gældende sundheds- og sikkerhedsbestemmelser og love.</p>
--	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Arbejdssikkerheds- og Sundhedsadministrationen, USA).

[†] ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Amerikansk Konference for Statslige Industrihygiejnere, USA).

[‡] COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Kontrol af sundhedsskadelige stoffer, Storbritannien).

Toksiske dampe

Hvis der arbejdes med flygtige opløsningsmidler eller toksiske stoffer, skal laboratoriet være udstyret med et effektivt ventilationssystem til fjernelse af de dampe, der kan dannes.


2.5 Bortskaffelse af affald


Brugt laboratorieudstyr kan indeholde farlige kemikalier. Sådant affald skal opsamles og bortskaffes korrekt ifølge de lokale sikkerhedsbestemmelser.


Du kan se oplysninger om, hvordan Rotor-Gene Q MDx skal bortskaffes, i afsnittet "Affald af elektrisk og elektronisk udstyr (WEEE)", side 204.


2.6 Mekaniske farer


Låget på Rotor-Gene Q MDx skal forblive lukket under betjeningen af instrumentet.


ADVARSEL 	Bevægelige dele For at undgå kontakt med bevægelige dele under driften af Rotor-Gene Q MDx skal instrumentet betjenes med låget lukket.
--	---

ADVARSEL 	Risiko for personskade og materiel skade Åbn og luk låget til Rotor-Gene Q MDx forsigtigt for at undgå, at fingre eller tøj kommer i klemme.
--	--


ADVARSEL 	Beskadigelse af instrumentet Kontrollér, at rotor og låsering er installeret korrekt. Anvend ikke Rotor-Gene Q MDx, hvis rotoren eller låseringen viser tegn på mekanisk skade eller korrosion. Kontakt QIAGEN Teknisk Service.
--	---


ADVARSEL 	Beskadigelse af instrumentet Hvis Rotor-Gene Q MDx startes umiddelbart efter levering i kolde vejrforhold, kan mekaniske dele blokere. Lad instrumentet opnå stuetemperatur i mindst en time, før det tændes.
--	--

ADVARSEL 	Beskadigelse af instrumentet Fjern netledningen, og vent i 10 minutter, før du forsøger at åbne låget manuelt i tilfælde af driftsuheld forårsaget af strømsvigt.
--	---

ADVARSEL 	Risiko for overophedning For at sikre korrekt ventilation skal der være en frigang på mindst 10 cm på siderne og bagsiden af Rotor-Gene Q MDx. Spalter og åbninger, der sikrer ventilationen i Rotor-Gene Q MDx, må ikke tildækkes.
--	--


Varmefare


ADVARSEL 	Varm overflade Rotor-Gene Q MDx-kammeret kan nå op på temperaturer på over 120 °C. Undgå berøring, når den er varm.
--	---


ADVARSEL 	Varm overflade Når der er pause i en kørsel, afkøles Rotor-Gene Q MDx ikke helt til stuetemperatur. Udvis forsigtighed før håndtering af rotor eller rør i instrumentet.
--	--


2.7 Sikkerhed i forbindelse med vedligeholdelse

Udfør vedligeholdelse som beskrevet i afsnit 8. QIAGEN debiterer kunden for reparationer, der er nødvendige som følge af forkert vedligeholdelse.

ADVARSEL/ FORSIGTIG 	Risiko for personskade og materiel skade Der må kun udføres vedligeholdelse, som er specifikt beskrevet i denne brugervejledning.
---	---











ADVARSEL 	Risiko for brand Lad døren til Rotor-Gene Q MDx stå åben for at gøre det muligt for brændbare dampe at spredes ved rengøring af Rotor-Gene Q med alkoholbaserede desinficeringsmidler.
--	--

ADVARSEL/ FORSIGTIG 	Risiko for elektrisk stød Adskil ikke Rotor-Gene Q MDx-instrumentet.
---	--

FORSIGTIG 	Beskadigelse af instrumentkabinettet Rengør aldrig instrumentkabinettet med alkohol eller alkoholbaserede opløsninger. Alkohol vil beskadige kabinettet. Brug kun destilleret vand til rengøring af kabinettet.
---	---

2.8 Symboler på Rotor-Gene Q MDx

Følgende symboler optræder muligvis i brugsanvisningen eller på emballagen og etiketten:

Symbol	Placering	Beskrivelse
	Ved prøvekammeret, synligt når låget er åbent	Varmefare – kammerets temperatur kan nå op på over 120 °C
	Instrumentets bagside	Læs brugervejledningen
	Typeskilt bag på instrumentet	CE-mærke for europæisk standard
	Typeskilt bag på instrumentet	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Typeskilt bag på instrumentet	CSA-listemærke for Canada og USA
	Typeskilt på højre panel	Producent.
	Typeskilt på højre panel	WEEE for bortskaffelse af udtjent elektrisk og elektronisk udstyr for Europa og resten af verden.
	Typeskilt på højre panel	FCC-mærke for United States Federal Communications Commission (den amerikanske kommunikationsmyndighed)
	Typeskilt på højre panel	RCM (tidligere C-mærke) for Australien (leverandør-id N17965)
	Typeskilt på højre panel	RoHS-mærke for Kina (begrænsning af anvendelsen af visse farlige stoffer i elektrisk og elektronisk udstyr)

3 Generel beskrivelse

Rotor-Gene Q MDx er et innovativt instrument, der giver mulighed for real-time PCR med høj præcision, og som er særligt velegnet til in vitro-diagnostisk brug sammen med QIAGEN IVD-mærkede kits.

Den højtydende og brugervenlige software er både nem at bruge for begyndere og giver en åben forsøgsplatform for avancerede brugere.

3.1 Sådan fungerer Rotor-Gene Q MDx

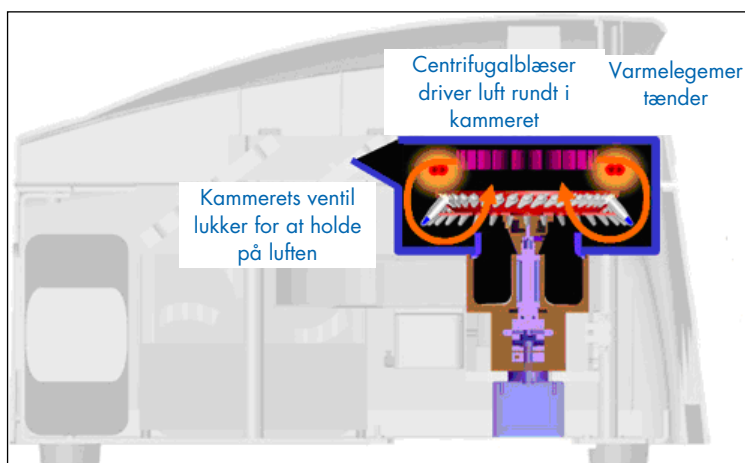
3.1.1 Termisk ydeevne

Rotor-Gene Q MDx anvender et avanceret varme- og kølesystem til at skabe de optimale reaktionsbetingelser. Den unikke rotorkonstruktion sikrer optimal termisk og optisk ensartethed mellem prøverne, hvilket er kritisk for præcis og pålidelig analyse.

Prøverne centrifugeres kontinuerligt ved 400 o/min. under en kørsel. Centrifugeringen forhindrer kondensering og fjerner luftbobler, men pelleterer ikke DNA. Prøverne behøver desuden ikke at blive centrifugeret før en kørsel.

Prøverne opvarmes og afkøles i en ovn med lav luftmasse. Opvarmning sker med et nikkelkromelement i låget. Kammeret afkøles ved at lukke luften ud gennem toppen af kammeret, mens omgivende luft blæses op gennem bunden.

Opvarmning



Afkøling

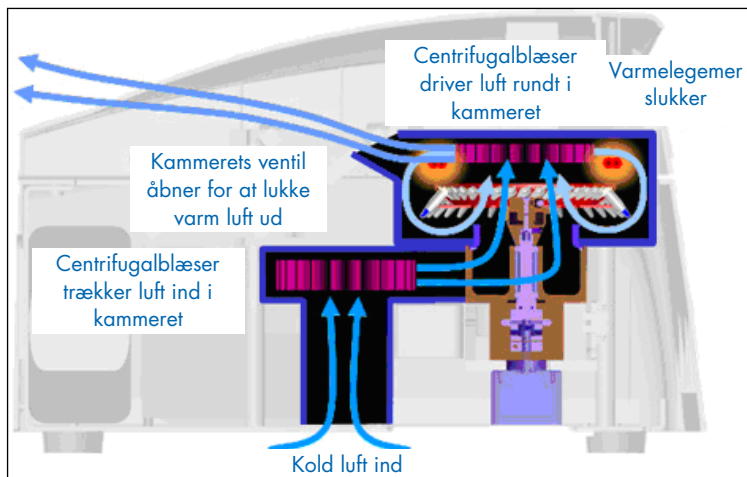


Illustration af opvarmnings- og kølesystemet.

3.1.2 Optisk system

Med valget mellem op til seks excitationsskilder og seks påvisningsfiltre kombineret med en kort, fast optisk bane kan Rotor-Gene Q MDx anvendes til multiplex-reaktioner og sikrer minimal fluorescensvariabilitet mellem prøverne og gør kalibrering eller kompensation unødvendig.

Prøverne exciteres fra bunden af kammeret af en lysdiode (LED). Der overføres energi gennem de tynde vægge ved rørets bund. Den udsendte fluorescens passerer gennem emissionsfiltrene i siden af kammeret og opsamles derefter af en fotomultiplikator. Den faste optiske bane sikrer en ensartet excitation af hver prøve, hvilket betyder, at det ikke er nødvendigt at bruge en passiv intern referencefarve såsom ROX™.

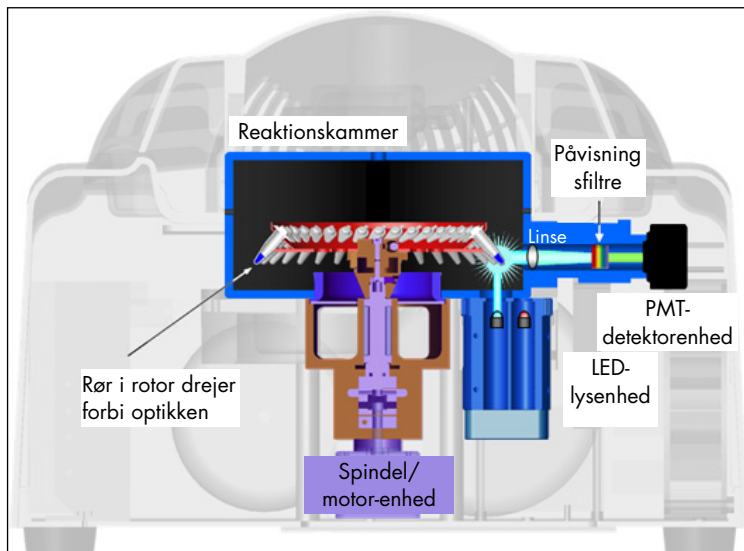


Illustration af det optiske system.

3.1.3 Tilgængelige kanaler

Kanal	Excitation (nm)	Påvisning (nm)	Eksempler på påviste fluoroforer
Blue	365 ± 20	460 ± 20	Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390
Green	470 ± 10	510 ± 5	FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488
Yellow	530 ± 5	557 ± 5	JOE™, VIC®, HEX™, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow®
Orange	585 ± 5	610 ± 5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568
Red	625 ± 10	660 ± 10	Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633
Crimson	680 ± 5	712 høj passage	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
High Resolution Melt (HRM)	460 ± 20	510 ± 5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Bemærk: QIAGEN-kits indiceret til brug med Rotor-Gene Q MDx-instrumenter er optimeret i forhold til visse farvekombinationer. Du kan få flere oplysninger i de tilhørende kithåndbøger.

3.2 Ydre træk på Rotor-Gene Q MDx



- | | |
|-----------------------|--------------------------|
| 1 Lufthuller på låget | 3 Rotorkammer |
| 2 Håndtag på låg | 4 Instrumentstatuslamper |

3.2.1 Lufthuller på låget

Rotor-Gene Q har lufthuller bag på instrumentets låg, som instrumentet bruger til at afgive varm luft fra kammeret under drift. Blokering eller utilstrækkeligt frirum rundt om lufthullerne kan påvirke instrumentets funktion.

3.2.2 Håndtag på låg

Håndtaget på låget bruges til at skyde låget på instrumentet tilbage. Håndtaget er ikke beregnet til at bære hele instrumentets vægt og bør ikke bruges til at løfte instrumentet i.

3.2.3 Rotorkammer

Rotorkammeret har rotorerne monteret og gennemgår de programmerede opvarmnings- og cyklustrin.

3.2.4 Instrumentstatuslamper

Der sidder to statuslamper på Rotor-Gene Q. Standbylampen viser, at instrumentet ikke er i brug. Driftslampen blinker, når Rotor-Gene Q er i brug.

3.3 Indre træk på Rotor-Gene Q MDx



Kammeret på Rotor-Gene Q set indefra

1 Rotornav

2 Optisk linse

3.3.1 Rotornav

Rotornavet holder rotoren på plads i instrument.

3.3.2 Optisk linse

Optisk linse, hvor lyset fra excitationdioderne fokuseres på rørene.

4 Installationsprocedurer

4.1 Systemlevering og installation

En person, der er fortrolig med laboratoriet og computerudstyret, skal være til stede under installationen.

Følgende emner leveres:

- Rotor-Gene Q MDx-instrument
- *Brugervejledning til Rotor-Gene Q MDx*
- Arbejdsstation
- Rotor-Gene Q MDx-software (bliver installeret af QIAGEN Ekstern Service under den indledende opsætning)

4.1.1 Udpakning af Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx leveres med alle de nødvendige komponenter til opsætning og brug af instrumentet. Kassen indeholder også en liste over alle de medfølgende komponenter.

Bemærk: Kontrollér denne liste for at sikre, at alle komponenter er leveret.

Bemærk: Kontrollér, at instrumentet og det medfølgende tilbehør er fri for transportskader før installation.

Tilbehørskassen ligger oven på skumemballagen. Tilbehørskassen indeholder:

- Installationsvejledning (på engelsk; versioner på andre sprog findes på lagringsmediet med manualer)
- Lagringsmedie (software)
- Lagringsmedie (manualer)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (afmonteret for sikker transport)
- 36-Well Rotor (denne rotor er rød)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Følgende komponenter er pakket på hver side af skumemballagen:

- USB-kabel og serielt RS-232-kabel
- Internationalt strømkabelsæt
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Når alle disse komponenter er taget ud af kassen, fjernes skumemballagen oven på Rotor-Gene Q MDx. Tag forsigtigt Rotor-Gene Q MDx op af kassen, og fjern den beskyttende plastemballage. Åbn låget ved at skyde det bagud, så der er adgang til reaktionskammeret.


Følgende dele er allerede installeret i Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (denne rotor er blå)
- 72-Well Rotor Locking Ring

En bærbar computer kan være inkluderet i pakken, afhængigt af ordrespecifikationerne.

4.1.2 Hardwareinstallation

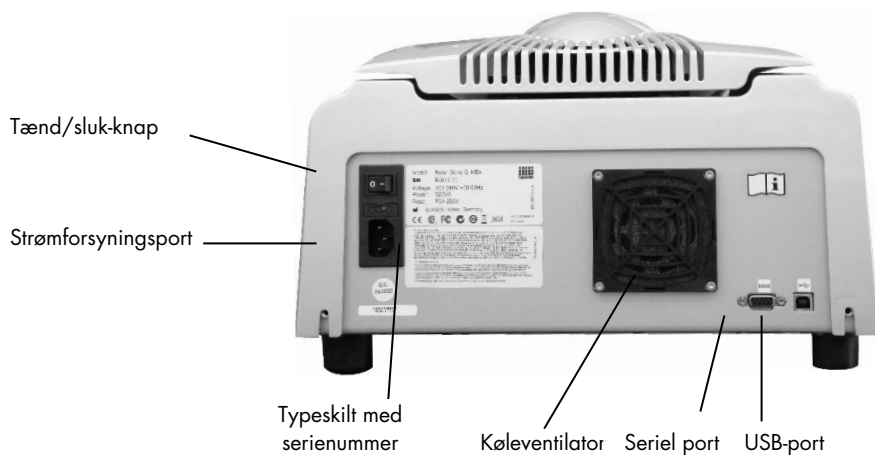
Når Rotor-Gene Q MDx er blevet pakket ud, installeres instrumentet som beskrevet nedenfor.

FORSIGTIG 	Beskadigelse af instrumentet Hvis Rotor-Gene Q MDx startes umiddelbart efter levering under kolde vejrforhold, kan mekaniske dele blokere. Lad instrumentet opnå stuetemperatur i mindst en time, før det tændes.
---	---

Følg denne fremgangsmåde:

1. Sæt Rotor-Gene Q MDx på en plan overflade.
2. Sørg for, at der er tilstrækkelig plads bag instrumentet til, at låget kan åbne helt.
3. Sørg for, at afbryderen bag på instrumentet nemt kan nås.
4. Hold altid instrumentets bagside fri. Sørg for, at strømkablet nemt kan tages ud, hvis det er nødvendigt at afbryde strømforsyningen til instrumentet.
5. Forbind det medfølgende USB-kabel eller serielle RS-232-kabel til en USB- eller kommunikationsport bag på computeren.
6. Tilslut USB-kablet eller det serielle RS-232-kabel bag på Rotor-Gene Q MDx.

7. Slut derefter Rotor-Gene Q MDx til strømforsyningen. Sæt den ene ende af vekselstrømskablet i den stikkontakt, der sidder på bagsiden af Rotor-Gene Q MDx, og den anden ende i vekselstrømsudtaget.

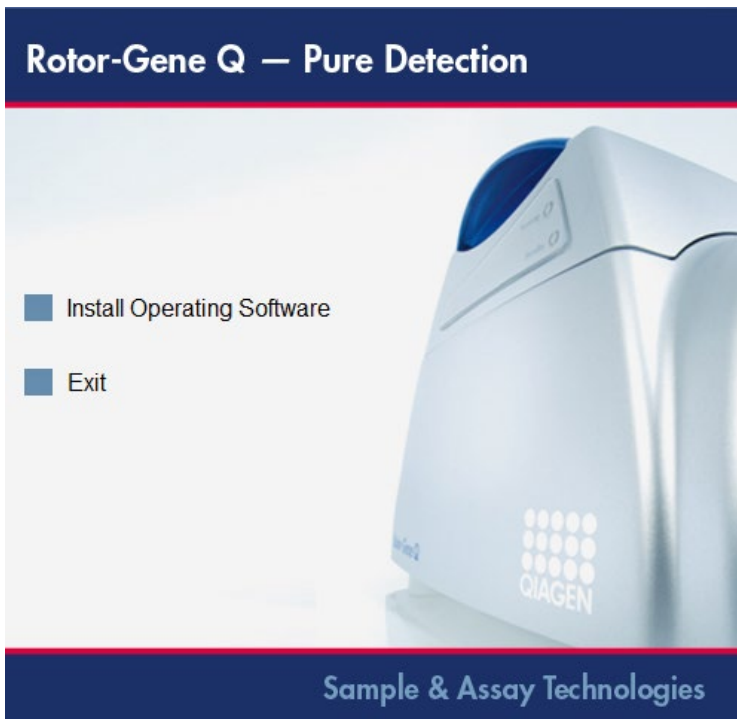


Bemærk: Slut kun Rotor-Gene Q MDx til computeren med det USB-kabel og serielle kabel, der medfølger til instrumentet. Anvend ikke andre kabler.

4.1.3 Softwareinstallation

1. Softwaren til Rotor-Gene Q installeres ved at downloade softwaren fra QIAGEN.com og overføre den til computeren på et virusfrit lagringsmedie eller indsætte det lagringsmedie (softwaren), der medfølger til instrumentet, i computeren.
2. Hvis installationen af softwaren starter automatisk, skal du vælge Install Operating Software (Installer driftssoftware) i det vindue, der vises, eller navigere til mappen med RGQ-software på lagringsmediet.

Bemærk: Se den medfølgende *Installationsguide til Rotor-Gene Q*, der giver anvisninger i nem installation og guider dig gennem de næste trin i softwareinstallationen.



3. Når softwaren er installeret, oprettes der automatisk et skrivebordsikon.
4. Tænd for Rotor-Gene Q MDx ved at flytte kontakten, der sidder i venstre side bagpå, til position "I". En blå "Standby"-lampe på forsiden af Rotor-Gene Q MDx viser, at instrumentet er klar til brug.

Bemærk: Første gang, Rotor-Gene Q MDx starter op med forbindelse til en computer, bliver instrumentet genkendt af operativsystemet, og der vises en række meddelelser. Se den medfølgende *Installationsvejledning til Rotor-Gene Q* (på lagringsmediet og i trykt udgave) for at få yderligere vejledning.



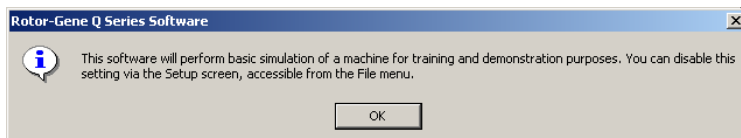
5. Dobbeltklik på skrivebordsikonet for Rotor-Gene Q Series Software (Rotor-Gene Q-seriesoftware) for at starte softwaren.



6. Vinduet Welcome (Velkommen) vises første gang, softwaren startes, men ikke ved efterfølgende opgraderinger af softwaren.



- Machine Serial Number (Maskinens serienummer): Indtast serienummeret (7 cifre), der findes på bagsiden af Rotor-Gene Q MDx.
- Port: Vælg USB-kabel eller serielt kabel. Vælg den ønskede kommunikationsport, eller klik på knappen Auto-Detect (Registrér automatisk).
- Auto-Detect (Registrér automatisk) Ved valg af denne mulighed bliver den tilsvarende USB-port eller serielle port registreret automatisk og vist i rullelisten **Port**.
- Run in Virtual Mode (for demonstration) (Kør i virtuel tilstand (til demonstration)): Hvis dette afkrydsningsfelt markeres, tillades installation af Rotor-Gene Q-softwaren på en computer, der ikke er sluttet til en Rotor-Gene Q MDx. Softwaren er fuldt funktionsdygtig og kan simulere kørsler.
Bemærk: Hvis dette afkrydsningsfelt markeres, og en Rotor-Gene Q MDx er sluttet til computeren, vises følgende meddelelse, før kørslen startes: You are about to run in Virtual mode (Du skal til at køre i virtuel tilstand). Hvis du vil foretage en faktisk kørsel, skal opsætningen ændres i vinduet **Setup** (Opsætning) (se afsnit 6.5.4).
- Begin (Begynd): Når alle oplysninger er angivet, skal du klikke på **Begin** (Begynd). Vent, til initialiseringen er færdig – den kan tage et par sekunder. Hvis der er valgt virtuel tilstand, vises følgende meddelelse:

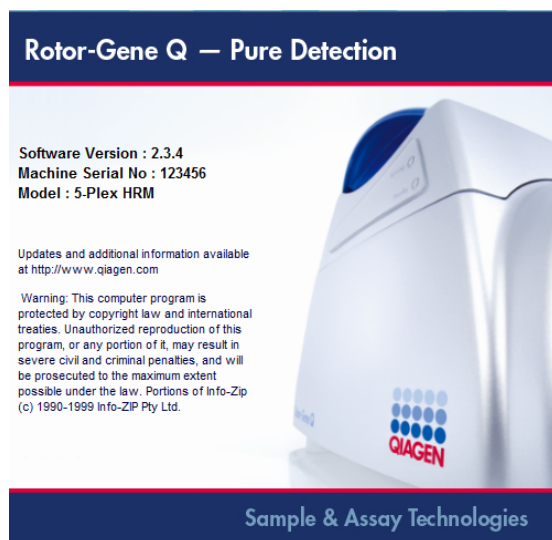


Hvis afkrydsningsfeltet Run in Virtual Mode (Kør i virtuel tilstand) ikke er markeret, vil softwaren initialisere og åbne automatisk.

- Exit Program (Forlad program): Ved klik på denne knap forlades programmet.

4.1.4 Softwareversion

For at finde ud af, hvilket versionsnummer du har, skal du klikke på Hjælp (Hjælp) og derefter på About This Software... (Om denne software...).



Dette vindue viser generelle oplysninger om softwaren, herunder hvilken version, softwaren har, og instrumentets serienummer og model.

Softwaren kan frit kopieres til brug internt i en organisation, der ejer en Rotor-Gene Q MDx. Softwaren må ikke kopieres og distribueres til andre uden for organisationen.

4.1.5 Anden software på computere, der er sluttet til et Rotor-Gene Q MDx-instrument

Rotor-Gene Q-softwaren håndterer tidskritiske processer under PCR-kørslen og datahentningen. Derfor er det vigtigt at sikre, at ingen andre processer anvender vigtige systemressourcer og derved får Rotor-Gene Q-softwaren til at køre langsommere. Det er især vigtigt at være opmærksom på de punkter, der er angivet nedenfor.

Systemadministratorer anbefales at overveje, hvilke indvirkninger en ændring af systemet kan have på ressourcerne, inden den implementeres.

Antivirussoftware

QIAGEN er opmærksom på den trussel, som computervira udgør for alle computere, som udveksler data med andre computere. Rotor-Gene AssayManager-softwareversion 1.0 eller 2.1 bør primært installeres i miljøer, der er underlagt lokale politikker for begrænsning af denne trussel. QIAGEN anbefaler imidlertid, at der under alle omstændigheder anvendes antivirussoftware.

Valget og installationen af et hensigtsmæssigt scanningsværktøj er kundens ansvar. QIAGEN har dog valideret Rotor-Gene Q-softwaren på den bærbare QIAGEN-computer sammen med følgende antivirussoftware for at påvise kompatibilitet:

- Microsoft Defender, klientversion 4.18.2005.5

På produktsiden på QIAGEN.com kan du finde oplysninger om de nyeste versioner af antivirussoftware, som er valideret sammen med Rotor-Gene Q-softwaren og Rotor-Gene AssayManager version 1.0 eller 2.1.

Hvis der er valgt antivirussoftware, skal du sikre, at den kan konfigureres sådan, at stien til databasemappen kan udelades af scanningen. I modsat fald er der risiko for fejl i databaseforbindelsen. Eftersom Rotor-Gene AssayManager version 1.0 og 2.1 opretter nye databasearkiver dynamisk, er det påkrævet at udelade mappestien til filerne og ikke enkelte filer. Vi anbefaler ikke at bruge antivirussoftware, hvor det kun er muligt at udelade enkelte filer, f.eks. McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Hvis computeren bruges i et miljø uden netværksadgang, skal du også kontrollere, at antivirussoftwaren understøtter offlineopdateringer.

For at opnå ensartede resultater efter installation af antivirussoftware skal systemadministratorer derfor sørge for følgende:

- Som forklaret ovenfor skal stien til databasemappen i Rotor-Gene AssayManager 1.0 og 2.1 (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) udelades fra filscanninger.
- Virusdatabasen opdateres ikke, når Rotor-Gene AssayManager 1.0 eller 2.1 er i brug.
- Sørg for, at fuld eller delvis scanning af harddisken er deaktiveret under real-time PCR-datahentning. I modsat fald er der risiko for at forringe instrumentets ydeevne.

Læs manualen til den valgte antivirussoftware for at få oplysninger om konfiguration.

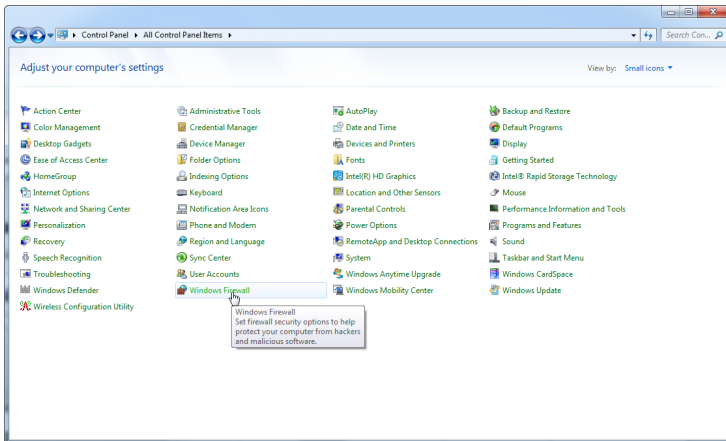
Firewall og netværk

Rotor-Gene Q-softwaren kan køre enten på computere uden netværksadgang eller i et netværksmiljø, hvis der anvendes en fjerndatabaseserver. Ved brug på netværk konfigureres firewallen på den bærbare computer, som er leveret af QIAGEN, på en måde, så indgående trafik blokeres for alle porte undtagen dem, der kræves for at oprette en netværksforbindelse.

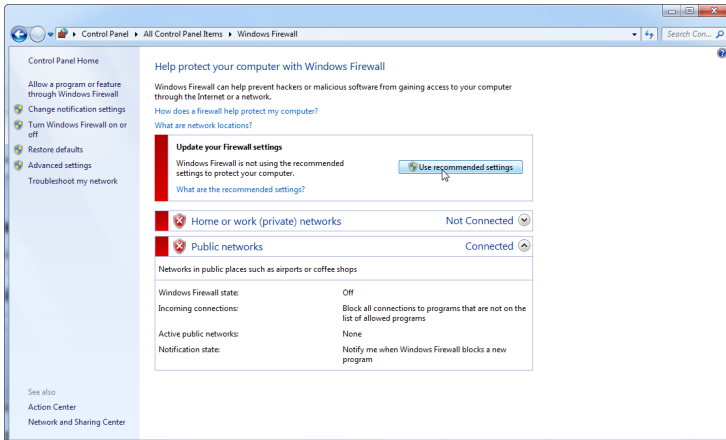
Bemærk, at blokering af indkommende forbindelser ikke påvirker svar på forespørgsler, som brugeren har oprettet. Udgående forbindelser er tilladt, fordi de kan være nødvendige for at hente opdateringer.

Hvis du har en anden konfiguration, anbefaler QIAGEN, at du konfigurerer firewallen som beskrevet ovenfor. I den forbindelse skal en systemadministrator logge ind og udføre følgende trin:

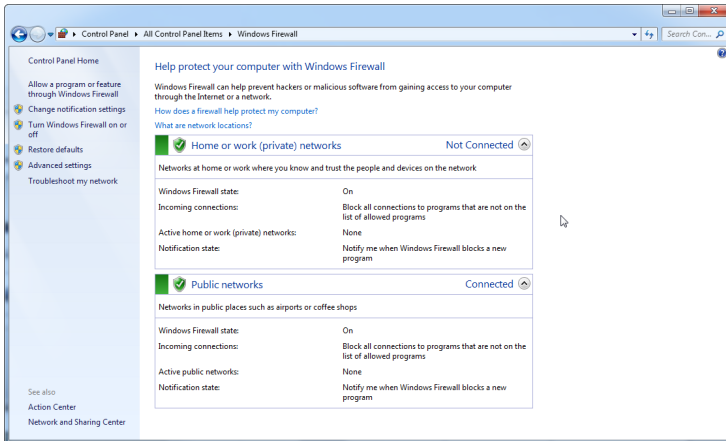
1. Åbn Control Panel (Kontrolpanel), og vælg Windows Firewall (Windows-firewall).



2. Vælg Use recommended settings (Brug anbefalede indstillinger).

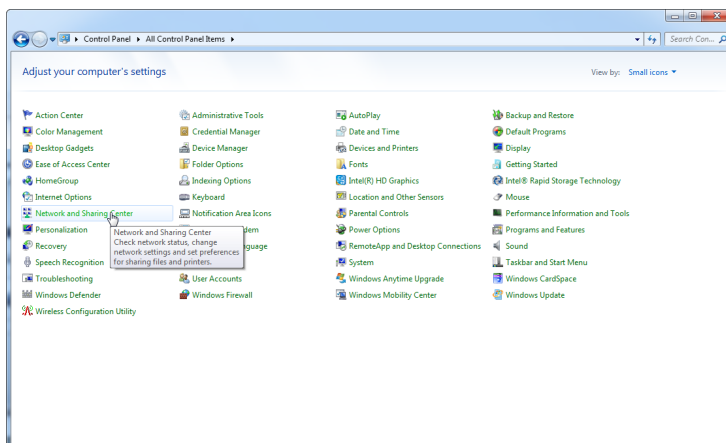


3. Kontrollér, at følgende indstillinger er aktiveret:

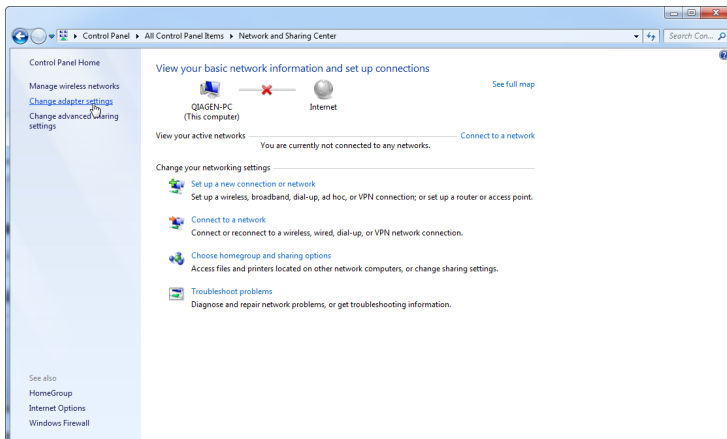


Af hensyn til sikkerheden og pålideligheden skal der anvendes kabeltilsluttet netværksadgang i stedet for Wi-Fi. På de bærbare computere, som leveres af QIAGEN, er Wi-Fi-netværkskortet deaktiveret. Hvis du har en anden konfiguration, skal systemadministratoren deaktivere Wi-Fi-netværkskortet manuelt, hvilket gøres på følgende måde:

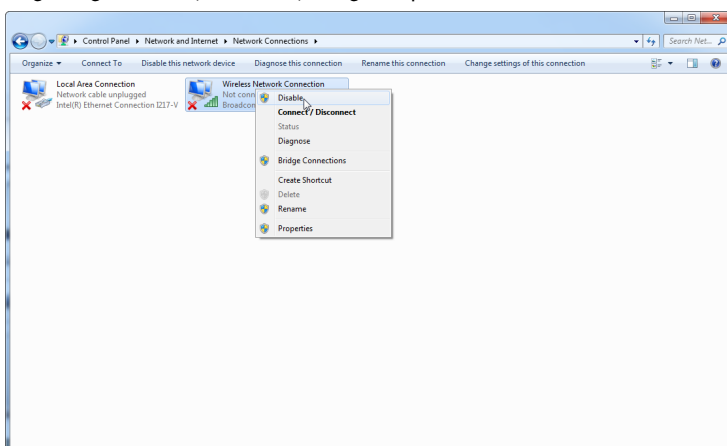
1. Åbn Control Panel (Kontrolpanel), og vælg Network and Sharing Center (Netværks- og delingscenter).



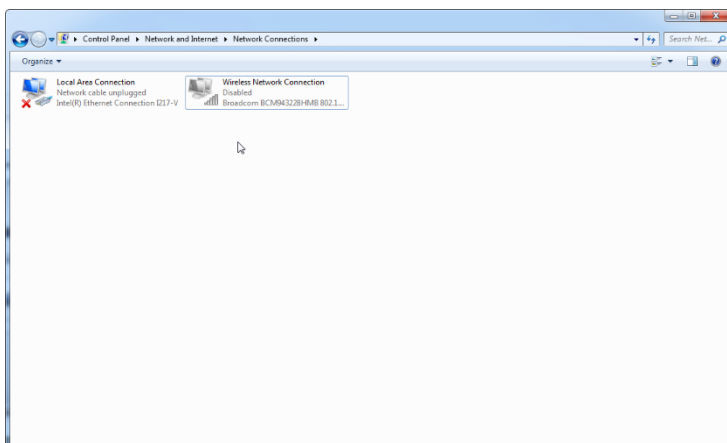
2. Vælg Change adapter settings (Rediger indstillinger for netværkskort).



3. Før markøren hen over Wireless Network Connection (Trådløs netværksforbindelse), tryk på højre museknap, og vælg Disable (Deaktiver) fra genvejsmenuen.



4. Kontrollér, at den trådløse netværksforbindelse er deaktiveret.



Systemværktøjer

Mange systemværktøjer kan anvende betydelige systemressourcer, også selv om brugeren ikke foretager sig noget. Af typiske eksempler på sådanne værktøjer kan nævnes:

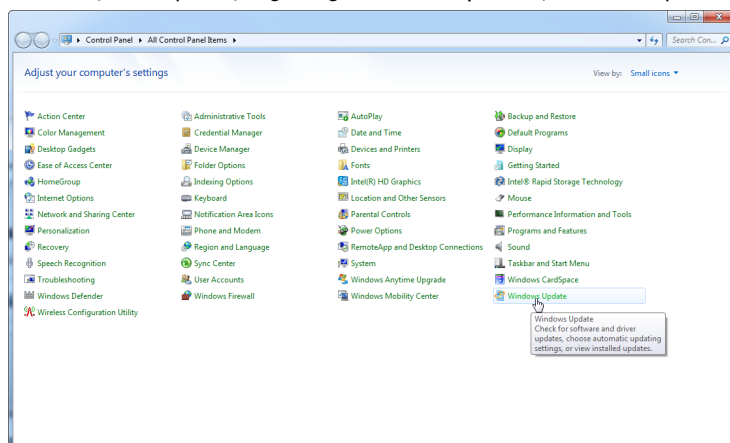
- Filindeksning, som udføres i baggrunden af mange moderne kontorprogrammer
- Diskdefragmentering, der også ofte udføres i baggrunden
- Software, som søger efter opdateringer på internettet
- Værktøjer til fjernovervågning og -styring

Vær opmærksom på, at på grund af den hurtige udvikling i it-verdenen er denne liste ikke nødvendigvis er komplet, og der kan være kommet nye værktøjer på markedet, som ikke kendes i skrivende stund. Det er vigtigt, at systemadministratoren sørger for, at et sådant værktøj ikke er aktivt under en PCR-kørsel.

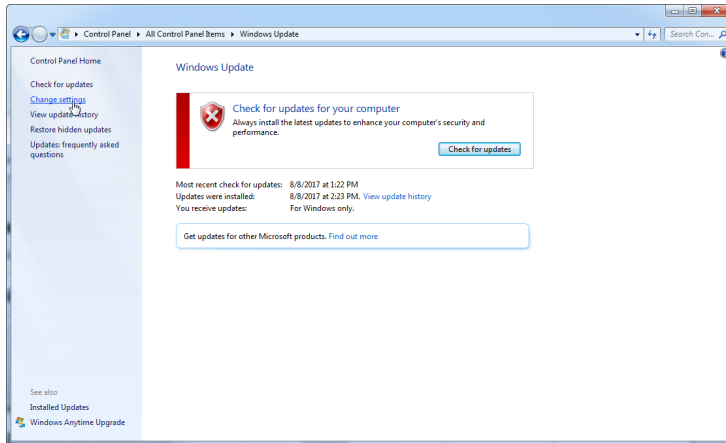
Operativsystemopdateringer

De bærbare computere, som leveres af QIAGEN, er konfigureret på en måde, at automatiske opdateringer til operativsystemet er deaktiveret. Hvis du har en anden konfiguration, skal en systemadministrator deaktivere alle automatiske opdateringer til operativsystemet på følgende måde:

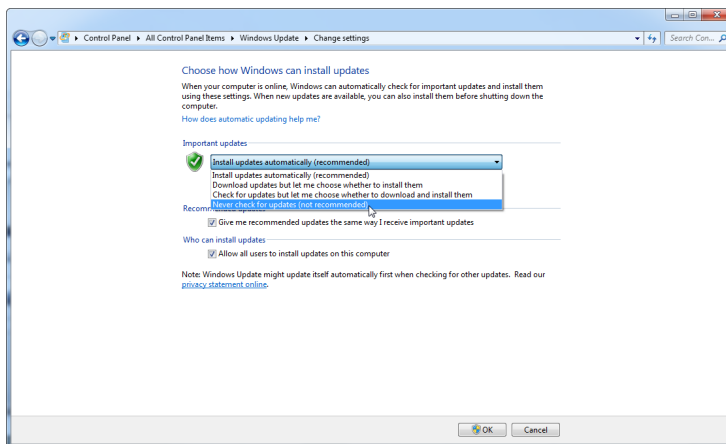
1. Åbn Control Panel (Kontrolpanel), og vælg Windows Update (Windows-opdatering).



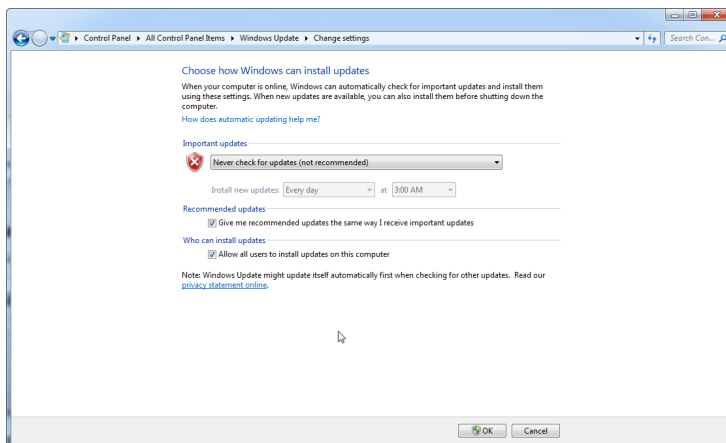
2. Vælg Change settings (Rediger indstillinger).



3. Vælg Never check for updates (Søg aldrig efter opdateringer).



4. Kontrollér under Important updates (Vigtige opdateringer), at indstillingen Never check for updates (Søg aldrig efter opdateringer) er aktiv.



I tilfælde, hvor opdateringer er påkrævet på grund af sikkerhedsrisici, som ikke er håndteret, leverer QIAGEN mekanismer til installation af et defineret sæt validerede Windows-sikkerhedsprogramrettelser enten online (hvis der er en internetforbindelse på den bærbare QIAGEN-computer) eller som offlinepakke klagjort på en separat computer med internetforbindelse.

Se produktsiden på QIAGEN.com for at få flere oplysninger.


4.2 Krav til lokaliteten


Rotor-Gene Q MDx-instrumentet må ikke placeres i direkte sollys, og skal anbringes på afstand af varmekilder og på afstand af vibrationskilder og kilder til elektrisk interferens. Se bilag A vedr. driftsbetingelser (temperatur og fugtighed). Installationsstedet skal være frit for kraftig træk, stærk fugt, meget støv og må ikke være udsat for store temperatursvingninger.

Se bilag A vedr. vægt og dimensioner for Rotor-Gene Q MDx-instrumenter. Kontrollér, at arbejdsbordet er tørt og rent, og at der er ekstra plads til tilbehør. Yderligere oplysninger om nødvendige specifikationer for arbejdsbordet kan fås ved henvendelse til QIAGEN Teknisk Service.

Bemærk: Det er ekstremt vigtigt, at Rotor-Gene Q MDx-instrumentet placeres på en stabil overflade, der er plan og vibrationsfri. Se bilag A vedrørende driftsbetingelser.

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet skal placeres inden for cirka 1,5 m fra et korrekt jordet vekselstrømsudtag.

ADVARSEL 	Eksplodiv atmosfære Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er ikke beregnet til brug i en eksplosiv atmosfære.
--	---

ADVARSEL 	Risiko for overophedning For at sikre korrekt ventilation, skal der opretholdes en minimum frigang på 10 cm på siderne og bagsiden af Rotor-Gene Q MDx-instrumentet. Spalter og åbninger, der sikrer ventilationen i Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, må ikke tildækkes.
--	---

4.3 Vekselstrømsforbindelse

4.3.1 Strømkrav

Rotor-Gene Q MDx kører ved:

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

Kontroller, at spændingsdata for Rotor-Gene Q MDx er forenelige med vekselstrømsspændingen på installationsstedet. Spændingsudsving i forsyningsnettet må ikke overstige 10 % af de nominelle forsyningspændinger.

4.3.2 Krav til jordforbindelse

For at beskytte personalet, der betjener instrumentet, anbefaler QIAGEN, at Rotor-Gene Q MDx jordes korrekt. Instrumentet er udstyret med et 3-leder-vekselstrømskabel, der jordforbinder apparatet, når det er forbundet med et passende vekselstrømsudtag. For at bevare denne beskyttelse skal man ikke betjene apparatet via et vekselstrømsudtag uden jordforbindelse.

4.3.3 Installation af vekselstrømskabel

Sæt den ene ende af vekselstrømskablet i den stikkontakt, der er placeret på bagsiden af Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, og den anden ende i vekselstrømsudtaget.

4.4 Konfiguration af sikkerhed i Windows

De bærbare computere, som QIAGEN leverer til brug sammen med dit Rotor-Gene Q MDx-instrument, kan have Microsoft Windows 7 eller 10 forudinstalleret og er konfigureret med en Windows-standardbrugerkonto (ikke administrativ) og med en administratorkonto. Ved rutinemæssig anvendelse af systemet skal standardkontoen bruges, da Rotor-Gene Q-softwaren og Rotor-Gene AssayManager version 1.0 eller 2.1 er designet til at køre uden administratorrettigheder. Administratorkontoen – den med den røde skrivebordsbaggrund – skal kun bruges til at installere Rotor-Gene Q-softwaren eller Rotor-Gene AssayManager version 1.0 eller 2.1 og en anden software på computere, der er sluttet til et Rotor-Gene Q MDx-instrument (se afsnit "Antivirussoftware"). Under brug af administratorkontoen er skrivebordets baggrund rød. Sørg for altid at logge ind som standardbruger ved rutinemæssig anvendelse.

Q1a#g3n!A6 er standardadgangskoden for administratorkontoen. Skift administratoradgangskoden efter første login. Sørg for at beskytte adgangskoden, og at den ikke mistes. Der er ingen adgangskode til operatørkontoen.

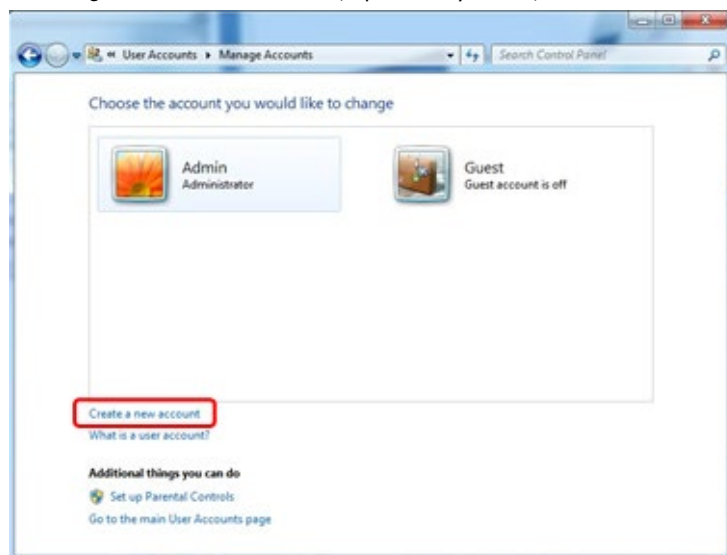
Hvis administratoradgangskoden til den bærbare computer mistes, råder vi dig til at kontakte Microsoft for at få support.

Hvis din konfiguration er anderledes, og der ikke er en ikke-administrativ konto til rådighed, skal systemadministratoren oprette en ekstra Windows-standardbrugerkonto for at forhindre adgang til kritiske systemkomponenter, f.eks. "Program Files" (Programfiler), "Windows"-mappen (f.eks. adgang til funktioner til installation eller afinstallation, herunder programmer, operativsystemkomponenter, indstillinger for dato/klokkeslæt, Windows-opdateringer, firewall, brugerrettigheder og -roller samt aktivering af antivirussoftware) eller ydeevnerelaterede indstillinger som strømbesparelse.

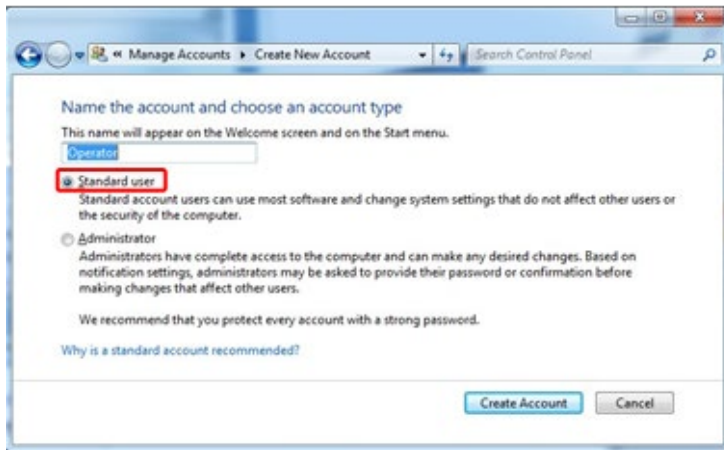
En standardbrugerkonto i Windows 7 oprettes ved at følge den fremgangsmåde, der er beskrevet i afsnit "Oprettelse af en ny brugerprofil":

Åbn kontrolpanelet i Windows via menuen Start, og vælg User Accounts (Brugerkonti) > Manage Accounts (Administrer konti).

1. Vælg Create a new account (Opret en ny konto).



2. Navngiv kontoen, og vælg Standard User (Standardbruger) som kontotype.



3. Klik på Create Account (Opret konto).

4.5 Krav til arbejdsstationen

Den bærbare computer, der er leveret som ekstraudstyr sammen med Rotor-Gene Q MDx, opfylder kravene til Rotor-Gene Q-softwaren, der er angivet i følgende tabel.

Systemkrav til arbejdsstationen

Beskrivelse	Minimumskrav
Operativsystem	Microsoft® Windows® 10 Professional Edition (64 bit), Microsoft Windows 7 Professional Edition (32 bit eller 64 bit)* (Service Pack 1)
Processor	Intel® Core™ 2 Duo 1,66 GHz eller bedre
Hovedhukommelse	Mindst 1 GB RAM
Harddiskplads	Mindst 10 GB HDD
Grafik	Grafikkort og skærm med mindst 1200 x 800 pixels
Porte	Seriel RS-232-port eller USB-port
Pegeredskab	Touchpad, mus eller tilsvarende er påkrævet
Bluetooth	Skal være slået fra
PDF-viser el. lign.	Skal være installeret; ikke en del af softwareinstallationspakkerne
Valgmuligheder for strøm	Sluk aldrig for harddiske, og gå ikke i dvale eller standby

* Det kræver Microsoft Windows 10 eller Windows 7 Professional Edition at køre Rotor-Gene Q-softwaren med sikkerhedsfunktioner (se afsnit 6.9). Sikkerhedsfunktionerne er ikke tilgængelige, hvis der anvendes Home Edition af Windows 10 eller Windows 7.

† Ved brug af Rotor-Gene AssayManager®-softwaren med version 1.0 eller 2.1 er følgende minimumskrav til computeren anderledes: Intel Core i3-380M-processor, 4 GB RAM hovedhukommelse, 250 GB harddiskplads, USB port påkrævet.

4.6 Udpakning og installation af Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx leveres med alle de nødvendige komponenter til opsætning og brug af instrumentet. Kassen indeholder også en liste over alle de medfølgende komponenter.

Bemærk: Kontrollér denne liste for at sikre, at alle komponenter er leveret.

Bemærk: Kontrollér, at instrumentet og det medfølgende tilbehør er fri for transportskader før installation.

Tilbehørskassen ligger oven på skumemballagen. Tilbehørskassen indeholder:

- Installationsvejledning (på engelsk; versioner på andre sprog findes på lagringsmediet med manualer)
- Lagringsmedie (software)
- Lagringsmedie (manualer)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (afmonteret for sikker transport)
- 36-Well Rotor (denne rotor er rød)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Følgende komponenter er pakket på hver side af skumemballagen:

- USB-kabel og serielt RS-232-kabel
- Internationalt strømkabelsæt
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Når alle disse komponenter er taget ud af kassen, fjernes skumemballagen oven på Rotor-Gene Q MDx. Tag forsigtigt Rotor-Gene Q MDx op af kassen, og fjern den beskyttende plastemballage. Åbn låget ved at skyde det bagud, så der er adgang til reaktionskammeret.

Følgende dele er allerede installeret i Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (denne rotor er blå)
- 72-Well Rotor Locking Ring

En bærbar computer kan være inkluderet i pakken, afhængigt af ordrespecifikationerne.

4.6.1 Softwareopgradering

Softwareopdateringer kan downloades fra QIAGENs websted på <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>, som også kan tilgås fra menuen Help (Hjælp) i softwaren. Det er nødvendigt at registrere sig online for at downloade softwaren.

4.7 Tilbehør

Rotor-Discs og tilbehør kan bestilles separat til brug med Rotor-Gene Q MDx. Se yderligere oplysninger i afsnit 16.

4.8 Ompakning og forsendelse af Rotor-Gene Q MDx

Ved ompakning af Rotor-Gene Q MDx til forsendelse skal den originale emballage anvendes. Kontakt QIAGEN Teknisk Service, hvis den originale emballage ikke er tilgængelig. Sørg for, at instrumentet er korrekt klargjort (se afsnit Vedligeholdelse) før pakning, og at det ikke udgør nogen biologiske eller kemiske farer.


4.9 Kom godt i gang


4.9.1 Opstart af Rotor-Gene Q MDx og arbejdsstationen

Kontrollér, at Rotor-Gene Q er sluttet til notebook-pc'en via USB- eller RS-232-kablet, og at både notebook-pc'en og Rotor-Gene Q er forbundet til et strømudtag og har strøm.

5 Driftsprocedurer

Før du fortsætter, anbefaler vi, at du gør dig fortrolig med instrumentets forskellige dele og funktioner, som er beskrevet i afsnit 3.

FORSIGTIG 	Beskadigelse af instrumentet Brug kun QIAGEN flowceller og forbrugsvarer til Rotor-Gene Q MDx. Beskadigelse som følge af brug af andre typer flowceller eller forbrugsvarer vil medføre, at garantien bortfalder.
---	---

FORSIGTIG 	Risiko for materiel skade Undgå at flytte arbejdsbordet og udsætte Rotor-Gene Q MDx for vibrationer under drift for at undgå at forstyrre de følsomme optiske målinger.
---	---

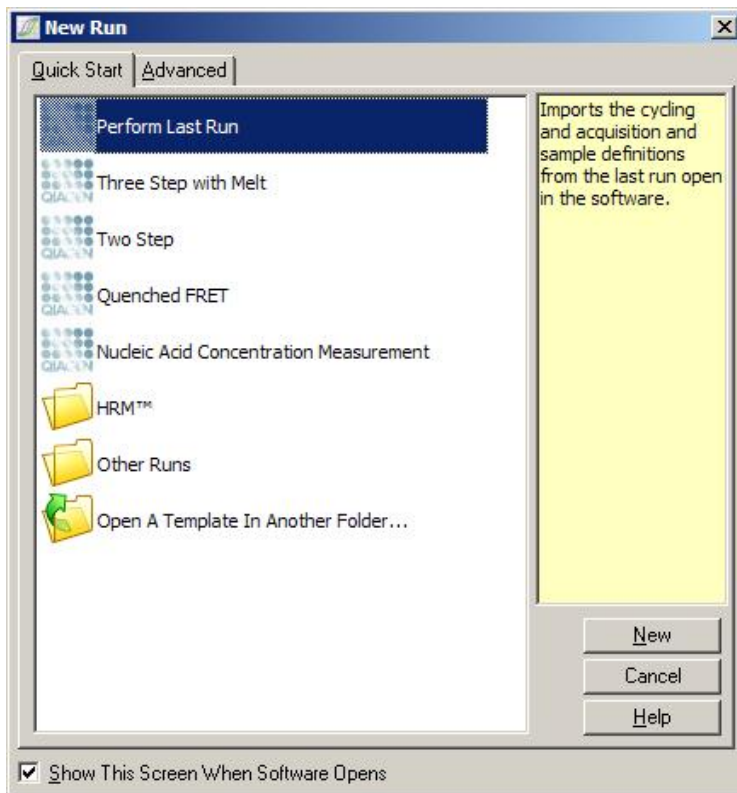
5.1 Brug af Rotor-Gene Q MDx-softwaren

Der kan oprettes nye kørsler ved hjælp af guiden Quick Start (Lynstart) eller Advanced (Avanceret), som vises, når softwaren startes op. Guiden Quick Start (Lynstart) er designet til at give brugeren mulighed for at starte kørslen så hurtigt som muligt. Guiden Advanced (Avanceret) giver flere muligheder såsom konfiguration af Gain Optimization (Optimering af forstærkning) og volumenindstillinger. For at gøre det nemt for brugeren har guiderne en række skabeloner med standardcyklusbetingelser og hentningskanaler. Guidetyper kan ændres ved at vælge den relevante fane øverst i vinduet New Run (Ny kørsel).

5.1.1 Guiden Quick Start (Lynstart)

Guiden Quick Start (Lynstart) giver brugeren mulighed for at starte kørslen så hurtigt som muligt. Brugeren kan vælge en skabelon fra et sæt ofte anvendte skabeloner og angive et minimum af parametre for at komme i gang. Guiden Quick Start (Lynstart) antager, at reaktionsvolumen er 25 µl. Ved andre volumener skal guiden Advanced anvendes (se afsnit 5.1.2).

Som første trin vælges den ønskede skabelon for kørslen ved at dobbeltklikke på skabelonen på listen i vinduet New Run (Ny kørsel).



Perform Last Run (Kør seneste kørsel):	Perform Last Run (Kør seneste kørsel) bruger cyklus-, indsamlings- og prøvedefinitionerne fra den sidste kørsel, der er åben i softwaren.
Three Step with Melt (Tre trin med smeltning):	Dette er en cyklusprofil i tre trin og en smeltekurve med datahentning på den grønne kanal.
Two Step (To trin):	Dette er en cyklusprofil i to trin med datahentning på den grønne, gule, orange og røde kanal.
Quenched FRET (Slukket FRET):	Dette er en cyklusprofil i tre trin og en smeltekurve. I modsætning til Three Step with Melt (Tre trin med smeltning) sker hentningen i slutningen af hærningstrinnet.
Nucleic Acid Concentration Measurement (Måling af nukleinsyrekoncentration):	Dette er en standardskabelon for måling af nukleinsyrekoncentrationen ved hjælp af interkalierende farvestoffer.
HRM:	Denne mappe indeholder profiler med High Resolution Melt (Højopløselig smeltning).
Other Runs (Andre kørsler):	Denne mappe indeholder yderligere profiler.

Cyklus- og hentningsprofilerne for alle skabeloner kan ændres ved hjælp af guiden.

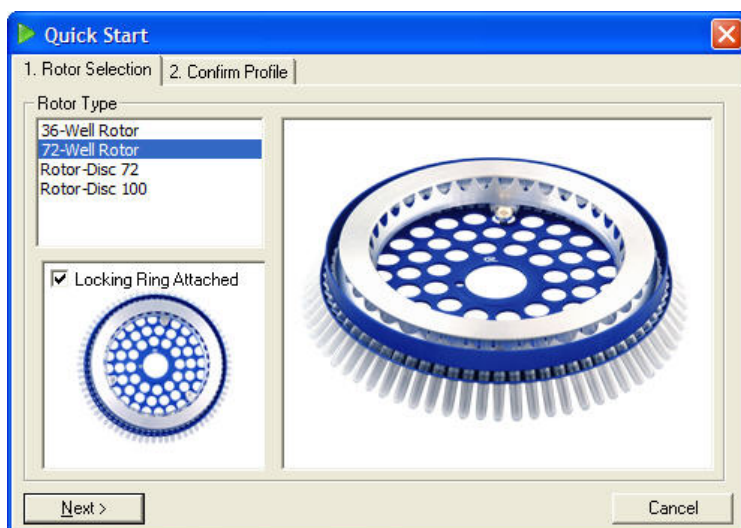
Bemærk: Der kan føjes brugerdefinerede skabeloner til listen over skabeloner i guiden Quick Start ved at kopiere eller gemme *.ret-filer under C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates. Når en fil er kopieret til denne sti, vises skabelonen som et ikon på listen. Hvis du vil give dine skabeloner brugertilpassede ikoner, kan du oprette et *.ico-billede med det samme filnavn som skabelonen.

Der kan oprettes undermapper for grupperelaterede skabeloner. Det gør det muligt at organisere skabeloner, hvilket f.eks. kan være praktisk, hvis flere brugere anvender samme instrument.

Valg af rotor

Vælg i det følgende vindue en rotortype på listen.

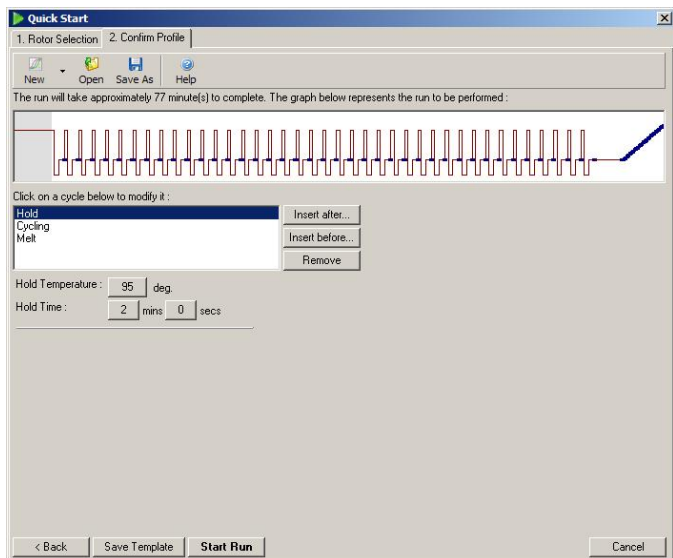
Markér afkrydsningsfeltet Locking Ring Attached (Låsering påsat), og klik på Next (Næste).



Bekræft profil

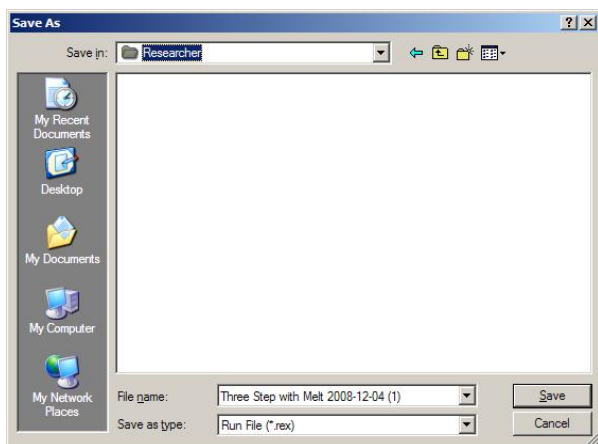
Den valgte skabelons cyklusbetingelser og hentningskanaler importeres. Disse kan ændres i vinduet Edit Profile (Rediger profil) (se afsnit "Rediger profil").

En kørsel startes ved at klikke på knappen Start Run (Start kørsel). Det er også muligt at gemme skabelonen, før kørslen startes, ved at klikke på Save Template (Gem skabelon).



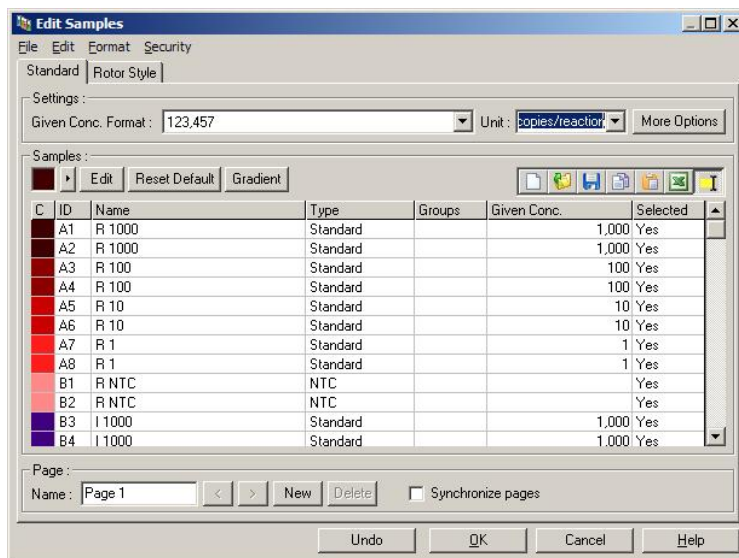
Lagring af kørsel

Efter klik på knappen Start Run (Start kørsel) vises vinduet Save As (Gem som). Kørslen kan gemmes på brugerens ønskede placering. Kørslen får tildelt et filnavn, der består af den anvendte skabelon og datoen for kørslen. Filnavnet indeholder også et serienummer (1, 2 osv.) for at gøre det muligt automatisk at navngive flere kørsler, der bruger samme skabelon på den samme dag.



Opsætning af prøver

Når kørslen er startet, kan prøver defineres og beskrives i vinduet Edit Samples (Rediger prøver).

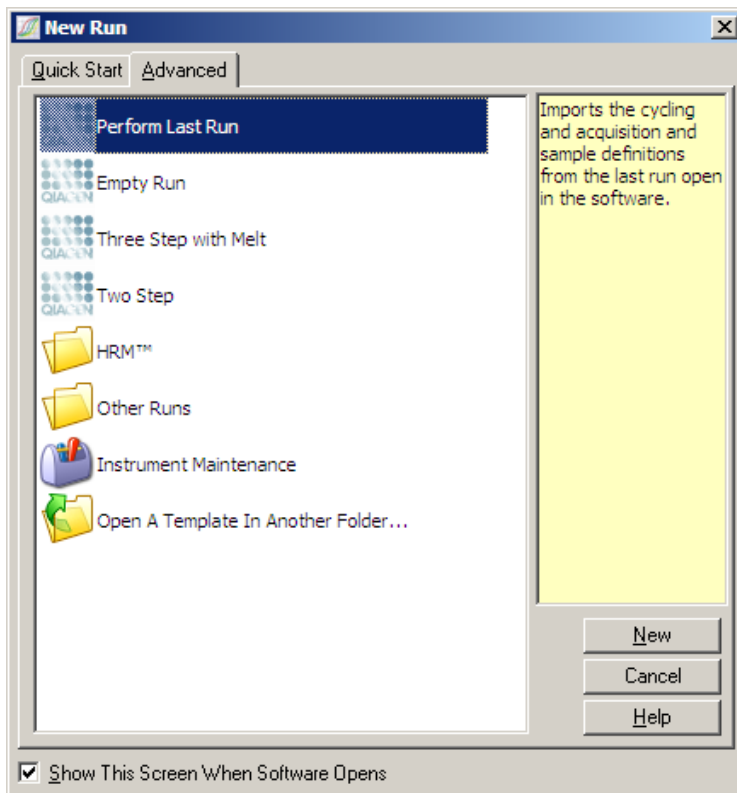


Vinduet Edit Samples (Rediger prøver) åbnes, når kørslen er startet, så brugeren kan bruge denne tid til at angive prøvenavnene. Hvis prøvenavnene angives meget hurtigt under kørslen (f.eks. med en strekkodescanner), kan det resultere i, at rækkefølgen af prøvenavnene bogstaver ændres. Det anbefales derfor at undgå at bruge en strekkodescanner og eventuelt angive prøvenavnene, når kørslen er færdig. Du kan få oplysninger om opsætning af prøvedefinitioner i vinduet Edit Samples (Rediger prøver), se afsnit 6.8.4.

5.1.2 Guiden Advanced (Avanceret)

Guiden Advanced (Avanceret) giver flere muligheder end guiden Quick Start (Lynstart), f.eks. konfiguration af optimering af forstærkning.

Guiden Advanced (Avanceret) startes ved at vælge en skabelon ved at dobbeltklikke på skabelonens navn i listen under fanen Advanced (Avanceret) i vinduet New Run (Ny kørsel).



Valgmulighederne for skabeloner i dette vindue svarer til dem, der vises ved brug af guiden Quick Start (Lynstart) (afsnit 5.1.1).

Perform Last Run (Kør seneste kørsel):	Perform Last Run (Kør seneste kørsel) importerer cyklus-, hentnings- og prøvedefinitionerne fra den sidst udførte kørsel, der er åben i softwaren.
Empty Run (Tom kørsel):	Dette er en tom kørsel, der giver brugeren mulighed for at definere alle profilens parametre.
Three Step with Melt (Tre trin med smeltning):	Dette er en cyklusprofil i to trin med datahentning kun på den grønne kanal for at gøre kørslen hurtigere.
HRM:	Denne mappe indeholder to profiler med High Resolution Melt (Højopløselig smeltning).
Other Runs (Andre kørsler):	Denne mappe indeholder yderligere profiler.
Instrument Maintenance (Vedligeholdelse af instrumentet):	Denne mulighed indeholder den skabelon, der anvendes under Optical Temperature Verification (OTV) (Verifikation af optisk temperatur). Du kan finde flere oplysninger i afsnit 9. Denne skabelon er låst for at sikre, at profilen altid fungerer korrekt.

Bemærk: Der kan føjes brugerdefinerede skabeloner til listen over skabeloner ved at kopiere eller gemme *.ret-filer under C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\. Når en fil er kopieret til denne sti, vises skabelonen som et ikon på listen.

Guiden New Run (Ny kørsel), vindue 1

Vælg i det følgende vindue en rotortype på listen.

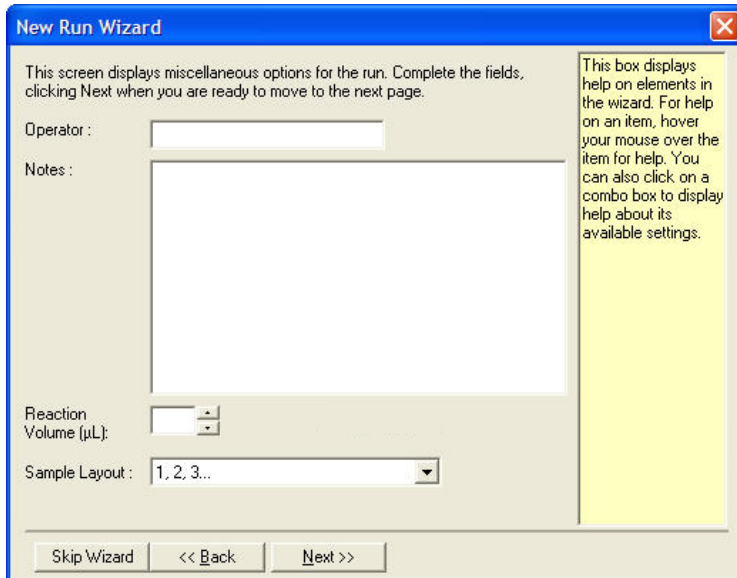
Markér afkrydsningsfeltet **Locking Ring Attached** (Låsering påsat), og klik på **Next** (Næste) for at fortsætte.



Guiden New Run (Ny kørsel), vindue 2

I det næste vindue kan brugerens navn og bemærkninger om kørslen indtastes. Reaktionsvolumen skal også angives.

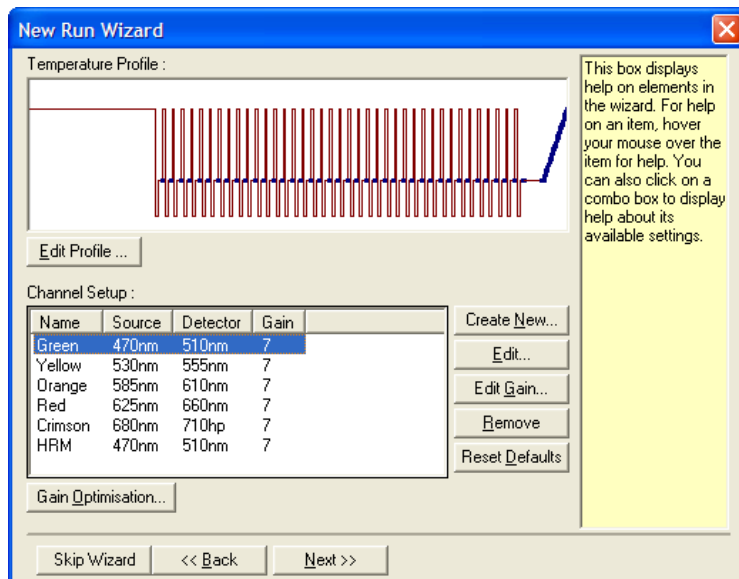
Hvis der er valgt 72-Well Rotor i vindue 1, vil der være tre forskellige indstillinger for Sample Layout (Prøvelayout) i rullelisten. "1, 2, 3..." er standardindstillingen. De fleste brugere vælger denne indstilling. "1A, 1B, 1C..." bør vælges, når prøverne påfyldes i tilstødende 0.1 ml Strip Tubes ved hjælp af en flerkanalspipette med otte kanaler. Indstillingen "A1, A2, A3..." kan vælges, hvis det er relevant.



Guiden New Run (Ny kørsel), vindue 3

I dette vindue kan Temperature Profile (Temperaturprofil) og Channel Setup (Kanalopsætning) ændres. Ved tryk på knappen Edit Profile... (Rediger profil...) vises vinduet Edit Profile (Rediger profil), hvor det er muligt at ændre cyklusbetingelser og vælge hentningskanaler (se afsnit Rediger profil).

Når profilen er konfigureret, klikkes på knappen Gain Optimisation... (Optimering af forstærkning...) for at åbne vinduet Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) (se side 63).



Rediger profil

Vinduet Edit Profile (Rediger profil) giver mulighed for at angive cyklusbetingelser og hentningskanaler. Hvilken startprofil, der vises, afhænger af den skabelon, der blev valgt ved opsætning af kørslen (se side 45). Profilen vises grafisk. Under den grafiske visning ses listen over profilens segmenter. Listen kan indeholde Hold (side 53), Cycling (side 55), Melt (Smelting) (side 55) eller HRM (HRM), hvis instrumentet har en HRM-kanal (side 58).

Hvert af profilens trin kan redigeres ved at klikke på det pågældende område af den grafiske visning eller på navnet på listen og ændre de indstillinger, der herefter vises.

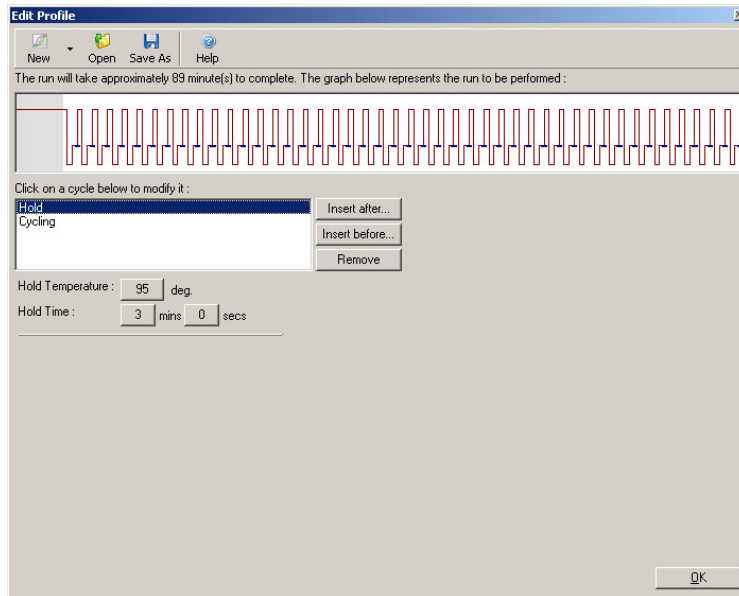
Insert after... (Indsæt efter...): Med denne funktion kan der tilføjes en ny cyklus efter den valgte cyklus.

Insert before... (Indsæt før...): Med denne funktion kan der tilføjes en ny cyklus før den valgte cyklus.

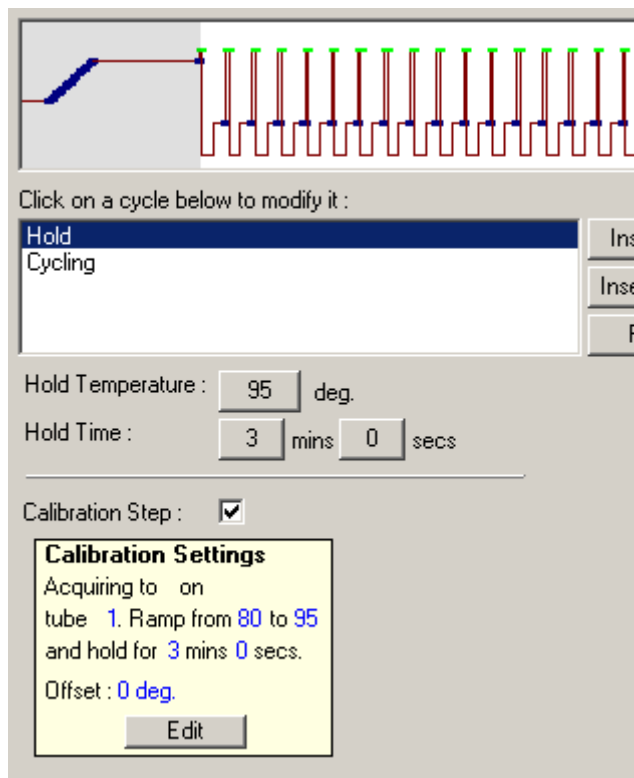
Remove (Fjern): Med denne funktion kan den valgte cyklus fjernes fra profilen.

Hold

Hold giver Rotor-Gene Q MDx besked på at blive på den indstillede temperatur i et angivet tidsrum. Temperaturen kan ændres ved at klikke på knappen Hold Temperature (Holdetemperatur) og angive den ønskede temperatur ved at indtaste den eller vælge den ved hjælp af skyderen. Varigheden af Hold kan ændres ved at klikke på knapperne Hold Time (Holdetid), mins (minutter) og secs (sekunder).



Hvis der køres Optical Denature Cycling (Optisk denatureringscyklus), kan Hold anvendes som et kalibreringstrin. I dette tilfælde udføres der en kalibreringssmeltning før Hold. Denne er som standard konfigureret for det første Hold i kørslen, men kan ændres om nødvendigt.



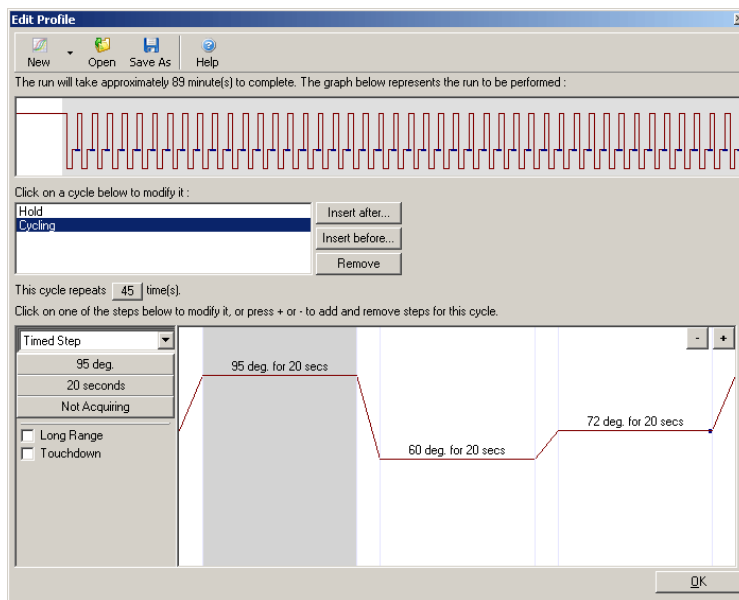
Se side 58 for yderligere oplysninger om Optical Denature Cycling (Optisk denatureringscyklus).

Cycling

Cycling gentager de brugerdefinerede temperatur- og tidstrin et indstillet antal gange. Antallet af gentagelser indstilles ved hjælp af knappen This cycle repeats X time(s). (Denne cyklus gentages X gang(e)).

En enkelt cyklus vises grafisk (som vist på følgende skærbillede). Hvert af cyklussens trin kan ændres. Temperaturen kan ændres ved at trække temperaturlinjen på grafen op eller ned. Trinnets varighed kan ændres ved at trække temperaturgrænsen på grafen mod venstre eller højre. Alternativt kan brugeren klikke på trinnet og bruge temperatur- og tidsknapperne til venstre for grafen.

Der kan tilføjes eller fjernes trin fra cyklussen ved hjælp af knapperne "-" og "+" i øverste højre hjørne af grafen.



Long Range (Langt område): Hvis dette afkrydsningsfelt markeres, øges holdetiden for det valgte trin med 1 sek. for hver ny cyklus.

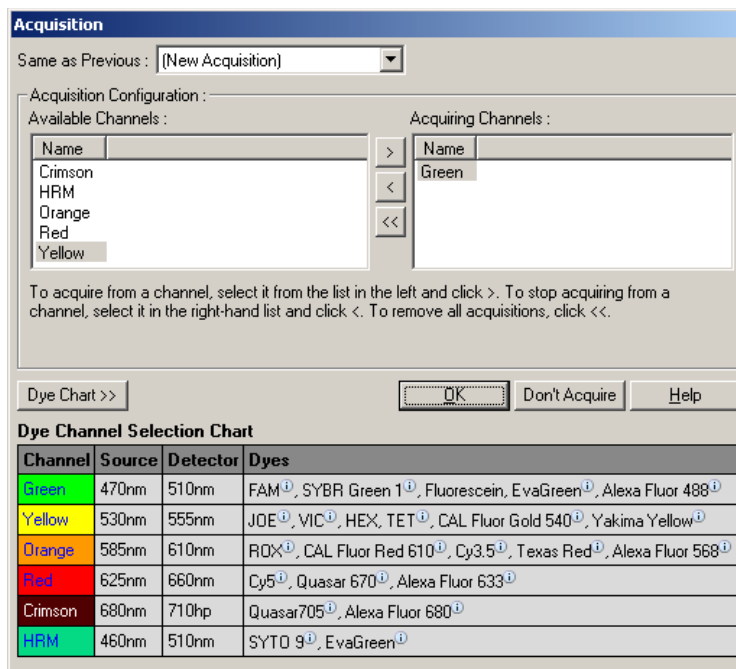
Touchdown (Angivet sænkning): Hvis dette afkrydsningsfelt markeres, reduceres temperaturen med et angivet antal grader for et angivet antal indledende cykler. Dette vises derefter i displayet.

Datahentning

Data kan hentes på enhver kanal på ethvert cyklustrin. En kanal indstilles til at hente data ved at klikke på knappen Not Acquiring (Henter ikke) (hvis en kanal allerede er indstillet til at hente på dette trin, vil hentningskanalerne være angivet her).



Efter klik på knappen Not Acquiring (Henter ikke) vises vinduet Acquisition (Hentning).



En kanal indstilles til at hente ved at vælge kanalen og flytte den fra listen "Available Channels" (Tilgængelige kanaler) til listen "Acquiring Channels" (Hentningskanaler) ved hjælp af knappen >. En valgt kanal kan fjernes fra listen "Acquiring Channels" (Hentningskanaler) ved hjælp af knappen <. Knappen << fjerner alle kanalerne fra listen "Acquiring Channels" (Hentningskanaler). Ved klik på knappen Don't Acquire (Hent ikke) fjernes alle hentninger også fra dette trin.

Hvis profilen indeholder mere end én cyklussekvens, kan de hentede data knyttes sammen med de data, der er hentet i den tidligere cyklusløb. Brug rullelisten Same as Previous (Samme som forrige) til at vælge det cyklustrin, som dataene skal knyttes til.

Oversigten Dye Channel Selection Chart (Oversigt for valg af farve/kanal) hjælper brugeren med at vælge, hvilken kanal der er passer til den farve, han eller hun vil bruge. Farverne, der er vist på tabellen, er dem, der oftest bruges, og angiver ikke instrumentets begrænsninger.

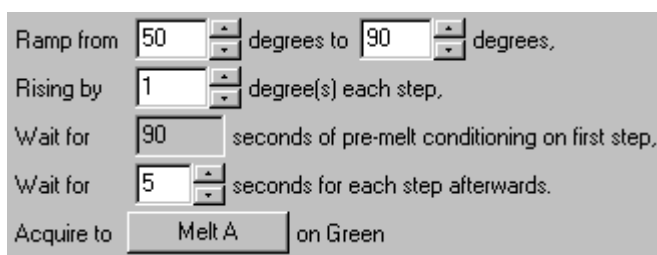
De indstillinger for hentning, der er beskrevet ovenfor, gælder også for trin med "Melt" (Smeltning), bortset fra at det ikke er muligt at tilknytte hentningsdata ved hjælp af menuen Same as Previous (Samme som forrige).

Smeltning og hybridisering

Melt (Smeltning) er en rampe mellem to temperaturer fra en lavere til en højere temperatur. Det tilladte temperaturområde er 35-99 °C.

En Melt (Smeltning) oprettes ved at angive starttemperaturen, sluttemperaturen, temperaturtrinnene, varigheden af holdetiden ved den første hentningstemperatur, før rampen igangsættes, holdetiden for hvert trin samt hentningskanalerne.

Der oprettes herefter en rampe mellem de to temperaturer. Hvis starttemperaturen er højere end sluttemperaturen, ændres trinnets navn til Hybridisation (Hybridisering). Indstillingen Acquiring To (Henter til), der er sat til "Melt A" på nedenstående skærbillede, kan ændres ved at klikke på knappen. Vinduet Acquisition (Hentning) åbnes, og kanalerne kan vælges.



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

Ved kørsel af en standardsmeltning øges temperaturen i trin på 1 °C med en ventetid på 5 sekunder før hver hentning. Rotor-Gene Q MDx kan konfigureres til at foretage smeltninger i trin på 0,02 °C. Minimumsholdetiden mellem temperaturtrinnene varierer afhængigt af antallet af grader mellem hvert trin.

Højopløselig smeltning

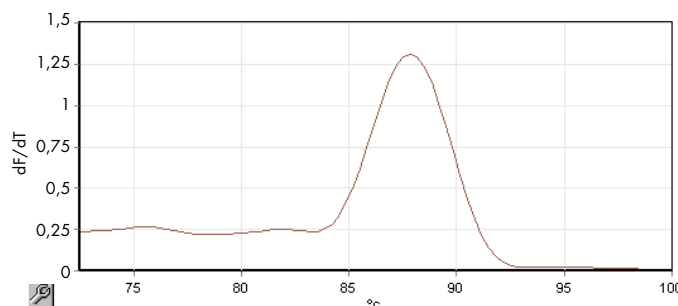
En analyse med High Resolution Melt (HRM) (Højopløselig smeltning) angiver dobbeltstrengede DNA-prøver baseret på deres dissociations- (smelte-) adfærd. Den svarer til en klassisk smeltekurveanalyse, men giver langt flere oplysninger til en bredere vifte af anvendelser. Prøverne kan skelnes på baggrund af sekvens, længde, GC-indhold eller strengkomplementaritet helt ned til ændringer i det enkelte basepar.

HRM-analyse er kun mulig på instrumenter, der har HRM-hardware og -software installeret. Data hentes ved hjælp af specielle HRM-kilder og -detektorer. HRM-analyse giver også mulighed for at foretage Gain Optimisation (Optimering af forstærkning), lige inden smeltningen starter. Efter kørsel af en HRM kan dataene analyseres med HRM-analysesoftware (se afsnit 10).

Optisk denatureringscyklus

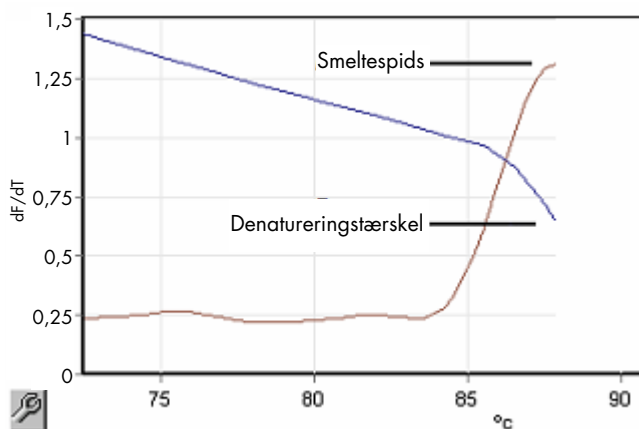
Optical Denature Cycling (Optisk denatureringscyklus) er en excitationsteknik på Rotor-Gene Q MDx, som foretager smelteanalyse i realtid til bestemmelse af smeltespidsen for en referenceprøve. Dette angiver PCR-produkt-denaturering med højere præcision end at indstille en bestemt denatureringstemperatur i en vis holdetid. Denne teknik anvendes nemt ved at placere et referencerør med PCR-produkt i røposition 1 på rotoren. Referencerøret skal også indeholde et kemisk detektionsmiddel, som gør det muligt at detektere dissociation af strenge.

Ved opvarmning til den indledende denatureringstemperatur, foretages der som standard en smeltning på den grønne kanal fra 80 til 95 °C. Parametrene for denne indledende smeltning kan justeres af brugeren. Ud fra disse data genereres der en smeltekurve, som automatisk analyseres.



Smeltespidsen henvises tilbage til rådataene for at opnå en denatureringstærskel. Derefter opvarmes instrumentet hurtigst muligt i hvert trin af Optical Denature Cycling (Optisk denatureringscyklus), og der hentes kontinuerligt data. Når referencerøret har nået denatureringstærsklens fluorescensniveau, køler instrumentet omgående ned og fortsætter til næste programtrin i cyklusen. En smeltespids beregnes ikke under cyklusløbet. I stedet henvises fluorescensniveauet til smeltespidsen, og dette betegner denatureringstærsklen.

I nedenstående graf er de ubehandlede fluorescens aflæsninger og det første derivat blevet overlejret. Den viser sammenfaldet mellem denatureringstærsklen og smeltespidsen, der er indhentet under kalibreringen.



For at anvende Optical Denature Cycling (Optisk denatureringscyklus) skal du bruge:

- Et forforstærket PCR-produkt til at placere i position 1 på rotoren. Denne prøve skal indeholde det samme PCR-produkt som interesseprøverne og et kemisk detektionsmiddel til overvågning af PCR-produktets dissociation.
- En optisk denatureringsprofil. Der kan oprettes en ny profil, eller en eksisterende profil kan redigeres (se nærmere nedenfor).

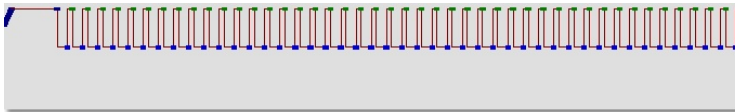
En optisk denatureringscyklus er næsten identisk med andre cyklusser. De væsentligste forskelle er det smeltetrin, der automatisk indsættes i begyndelsen af profilen, og denatureringstrinnet skarpe profil under cyklusløb. En optisk denatureringscyklus kræver ikke definerede holdetider, da dissociationen af produktet overvåges i hver cyklus.

For at anvende denne teknik kræves følgende informationer om kørslen:


- Den indledende denatureringstemperatur. Det er den samme temperatur som denatureringstrinnet i en standard cyklusprofil.
- Rørpositionen for den PCR-prøve, der vil generere en smeltekurve på den grønne kanal.
- Der skal defineres en Optical Denature Cycling-profil.

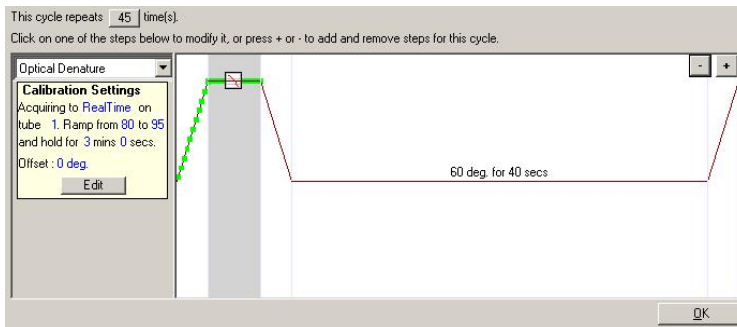
Opret en ny optisk denatureringscyklus på følgende måde.

1. Åbn vinduet Edit Profile (Rediger profil). Klik derefter på New (Ny). I det vindue, der åbnes, skal du klikke på knappen Insert after (Indsæt efter) og vælge New Cycling (Ny cyklus) i menuen. Vælg et af temperaturtrinnene ved at klikke på grafen. I rullelisten ændres Timed Step (Tidsbestemt trin) til Optical Denature (Optisk denaturering). En standardprofil, som indeholder et denatureringstrin og et Optical Denature-trin (Optisk denatureringstrin), vises nu.

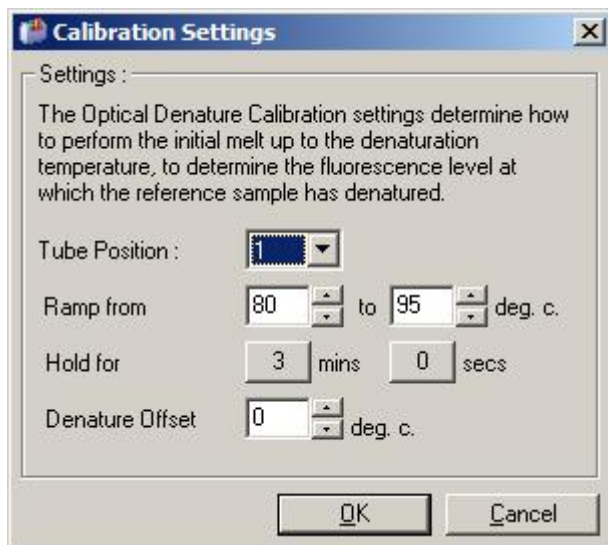


Rampeområdet i begyndelsen af kørslen repræsenterer kalibreringsprocessen. De grønne prikker viser de hentninger, der er foretaget i hver cyklus under opvarmningen. De blå prikker repræsenterer hentningen i slutningen af afhærdningstrinnet ved 60 °C. Bemærk, at selv om profilen viser hvert trin med den samme denatureringstemperatur, vil det muligvis ikke være tilfældet. Hvis prøven tager lidt længere tid om at smelte mod enden af kørslen, venter den optiske denatureringsproces på smeltningen ud fra fluorescensdataene og ikke ud fra tid. Derfor kan temperatursporingen variere for hver cyklus.

2. Klik på første halvdel af grafen med Optical Denature-symbolet . Oplysninger om Calibration Settings (Kalibreringsindstillinger) vises til venstre på skærmen.



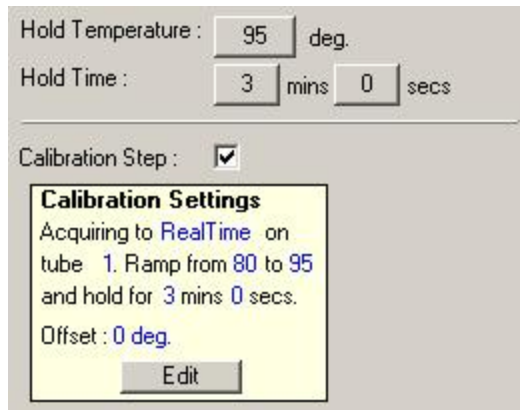
3. Oplysningerne i "Calibration Settings" (Kalibreringsindstillinger) er som regel korrekt. De kan om nødvendigt ændres ved at klikke på Edit (Rediger). Vinduet Calibration Settings (Kalibreringsindstillinger) åbnes.



4. Kontrollér, at:

- Det angivne rør i Tube Position (Rørposition) indeholder et PCR-produkt, der vil vise en smeltespids på den grønne kanal.
- Den endelige rampetemperatur ikke vil brænde prøven, men at den vil være høj nok til at, at prøven smelter.
- Holdetiden er tilstrækkelig til at denaturere prøven.
- Denatureringsforskydningen er indstillet rigtigt. Standardindstillingen på 0 °C er passende til de fleste smeltninger. Smeltninger med meget bratte overgange kan kræve en denatureringsforskydning på -0,5 °C til -2 °C, som angivet af brugeren, for at sikre, at smelteovergangen detekteres.

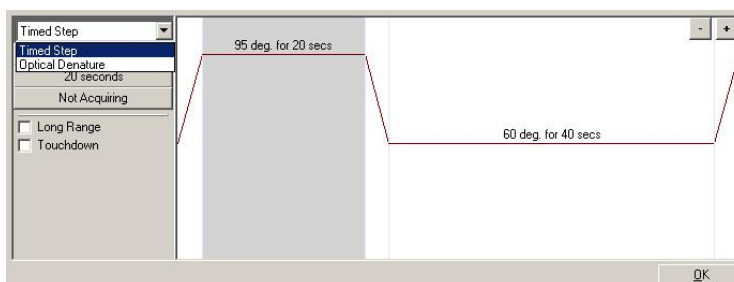
Man kan også definere et denatureringstrin ved at indsætte et nyt holdetrin. Klik på **Insert before** (Indsæt før), og vælg **New Hold at Temperature** (Ny holdetemperatur) i menuen. Kalibreringsindstillingerne vises nu.




Kalibreringsindstillingerne synkroniseres med denatureringsindstillingerne, så en ændring i holdetiden i denatureringstrinnet vil automatisk opdatere kalibreringens holdetid. Dette skyldes, at kalibreringsprocessen og denatureringen er ækvivalente ved **Optical Denature Cycling** (Optisk denatureringscyklus).

Ændring af et eksisterende trin for at anvende **Optical Denature Cycling** (Optisk denatureringscyklus)

Et eksisterende denatureringstrin i en cyklussekvens kan ændres ved at vælge cyklusserne på listen i vinduet **Edit Profile** (Rediger profil). Vælg derefter denatureringstrinnet ved at klikke på det i visningen.



Klik på rullemenuen og vælg **Optical Denature** (Optisk denaturering). Temperatur og holdetid fjernes, og ikonet for **Optical Denature** (Optisk denaturering)  vises.

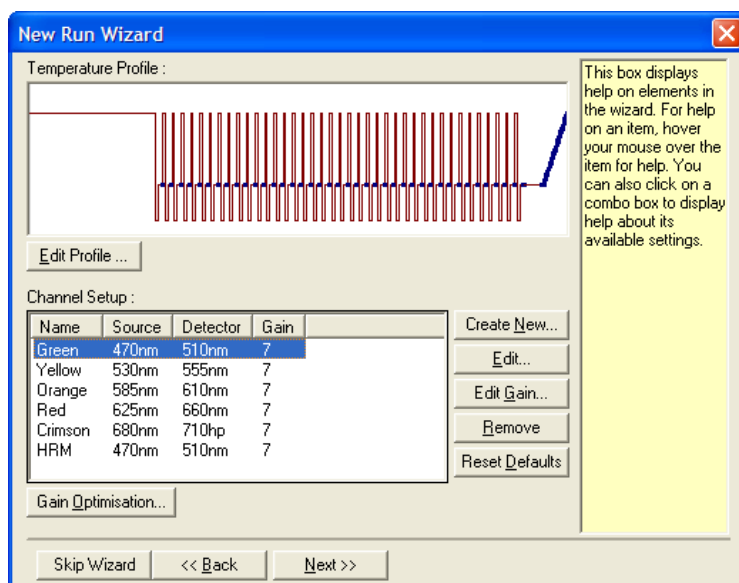
Optimering af forstærkning

Ved opsætning af en ny kørsel kan det være praktisk at benytte funktionen Gain Optimisation (Optimering af forstærkning). Den gør det muligt at optimere forstærkningen til en indstilling, der vil give det ønskede område for start af fluorescens ved en indstillet temperatur (normalt den temperatur, som datahentningen sker ved) i hver af de kanaler, der hentes. Formålet med Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) er at sikre, at alle data indsamles inden for detektorens dynamiske område. Hvis forstærkningen er for lav, vil signalet gå tabt i baggrundsstøj. Hvis den er for høj, vil hele signalet gå tabt uden for skalaen (mættet).

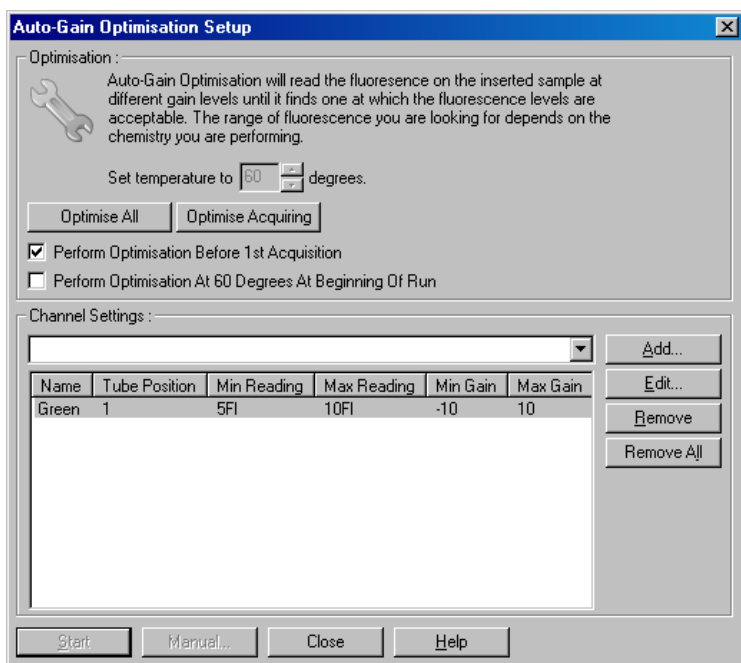
Forstærkningsområdet for hver kanal er -10 til 10, hvor -10 er det mindst følsomme, og 10 er det mest følsomme.

Ved kørsel af reaktioner for første gang anbefaler vi at klargøre en testprøve, der indeholder alle reaktionskomponenterne. Placer testprøven i Rotor-Gene Q MDx, og find den bedste forstærkningsindstilling ved hjælp af Gain Optimisation (Optimering af forstærkning). Hvis den forstærkning, der vælges af Gain Optimisation (Optimering af forstærkning), resulterer i et dårligt signal, skal Target Sample Range (Prøvemåloområde) øges. Hvis den resulterer i et signal, der er mættet, skal Target Sample Range (Prøvemåloområde) sænkes.

Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) startes ved at klikke på knappen Gain Optimisation... (Optimering af forstærkning...) i guiden New Run (Ny kørsel), vindue 3 (se Guiden New Run (Ny kørsel), vindue 3).



Vinduet Auto-Gain Optimisation Setup (Konfiguration af automatisk optimering af forstærkning) åbnes. I dette vindue er det muligt at foretage optimering ved automatisk at justere forstærkningsindstillingerne, indtil aflæsningerne for alle de valgte kanaler ligger inden for eller under en vis tærskelværdi.



Set temperature to
(Indstil temperatur til):

Før aflæsning vil Rotor-Gene Q MDx blive opvarmet eller afkølet, så instrumentet passer til den angivne temperatur. Dette indstilles som standard som hentningstemperatur.

Optimise All/Optimise Acquiring
(Optimer alle/Optimer hentning):

Optimise All (Optimer alle) vil forsøge at optimere alle kanaler, der kendes af softwaren. Optimise Acquiring (Optimer hentning) vil kun optimere de kanaler, der bruges i den termiske profil, som er defineret i kørslen (Cycling og Melt).

Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Udfør optimering før første hentning):

Markér dette afkrydsningsfelt for at foretage Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) i den første cyklus, hvor der sker datahentning. Dette anbefales for Auto-Gain Optimisation (Automatisk optimering af forstærkning).

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (Udfør optimering ved [x] grader i starten af kørslen):

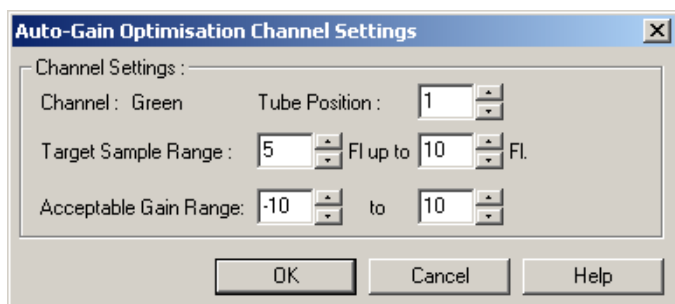
Markér dette afkrydsningsfelt for at foretage Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) lige før, kørslen startes. Rotor-Gene Q MDx opvarmes til den angivne temperatur, der foretages Gain Optimisation (Optimering af forstærkning), og derefter begynder cyklusløbet for det første trin, som regel et denatureringstrin. Denne indstilling kan vælges, hvis Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) under kørslen ville medføre, at det indledende trin tog for lang tid. Som regel foretrækkes Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Udfør optimering før første hentning), fordi Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) foretages så tæt som muligt på kørselsbetingelserne.

Channel Settings
(Kanalindstillinger):

I denne rulleliste kan der tilføjes kanaler. Vælg den ønskede kanal, og klik på Add (Tilføj).

Edit (Rediger):

Denne funktion åbner et vindue, hvor Target Sample Range (Målprøveområde) kan indstilles. I Target Sample Range (Målprøveområde) er der område med indledende fluorescens, der bør indstilles for prøven i det angivne rør. Auto-Gain Optimisation (Automatisk optimering af forstærkning) aflæser hver kanal ved hjælp af forstærkningsindstillingerne i det område, der er angivet i Acceptable Gain Range (Acceptabelt forstærkningsområde). Funktionen vælger den første forstærkningsindstilling, der medfører en fluorescensaflysning inden for Target Sample Range (Målprøveområde). I det viste eksempel søger Auto-Gain Optimisation (Automatisk optimering af forstærkning) efter en forstærkningsindstilling mellem -10 og 10, som giver en aflæsning mellem 5 og 10 FI i rør 1. Generelt er et Target Sample Range (Målprøveområde) på 1-3 FI passende for interkalierende farvestoffer, mens et område på 5-10 FI er mere passende for probekemikalier.



Remove/Remove All (Fjern/fjern alle):

Remove (Fjern) fjerner den markerede kanal. Remove All (Fjern alle) fjerner alle kanaler.

Start:

Start starter Gain Optimisation (Optimering af forstærkning). Der vælges en forstærkning, som medfører fluorescenssignalniveauer inden for det angivne område. Hvis fluorescensen ligger uden for det angivne område, indstilles forstærkningen til at give det nærmest mulige match.

Manual (Manuel):

Denne mulighed åbner vinduet Manual Gain Adjustment (Manuel justering af forstærkning).

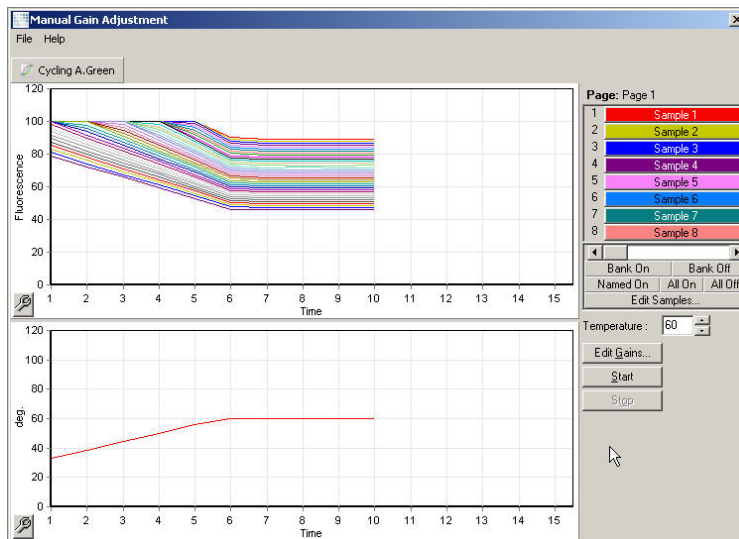
Changing Gain During a Run (Ændring af forstærkning under en kørsel):

Hvis forstærkningen i begyndelsen af kørslen var for høj eller for lav, kan den ændres inden for de første ti cyklusser. Der vises en lodret linje der, hvor forstærkningen er blevet ændret. Cyklusserne før ændringen medtages ikke i analysen.

Bemærk: Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) kan vælge en indstilling, der ikke ligger inden for det angivne område. Dette kan skyldes ændringer i fluorescens efter det første Hold-trin. Men resultatet af Gain Optimisation (Optimering af forstærkning) giver en god indikation af det fluorescensniveau, som kørslen startes på.

Manuel justering af forstærkning

Manual Gain Adjustment (Manuel justering af forstærkning) startes ved at klikke på Manual... (Manuel...) i vinduet Auto-Gain Optimisation Setup (Konfiguration af automatisk optimering af forstærkning). Vinduet Manual Gain Adjustment (Manuel justering af forstærkning) åbnes. Dette vindue viser fluorescensaflysningerne ved en given temperatur i realtid. Det anvendes, når en prøves baggrund ikke kendes, og forstærkningen derfor må bestemmes for at sikre, at prøvesignalet er tilstrækkeligt til detektion.



Som standard vises alle prøver i visningen. Prøver kan fjernes fra eller tilføjes til visningen ved hjælp af skifteren til højre. Skifteren består af farvede celler, der hver især svarer til en prøve på displayet. Prøver med en kraftig cellefarve vises, mens prøver med en dæmpet cellefarve ikke vises. Prøverne kan slås til og fra ved at klikke på cellen eller ved at trække musemarkøren hen over flere celler på én gang.

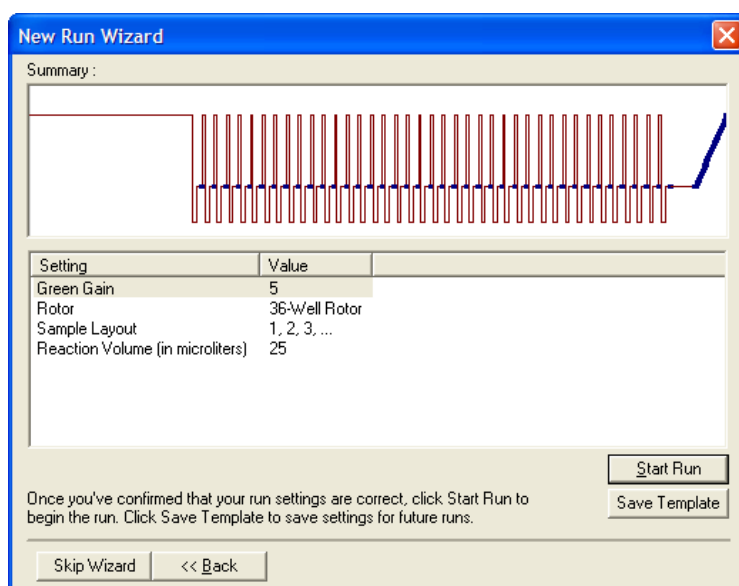
Vi anbefaler at foretage Manual Gain Adjustment (Manuel justering af forstærkning) på følgende måde.

1. Juster temperaturen i vinduet Manual Gain Adjustment (Manuel justering af forstærkning) til den hentningstemperatur, der kræves til kørslen.
Bemærk: Temperaturen vil ikke blive justeret, mens Rotor-Gene Q MDx er i drift. Genstart Rotor-Gene Q MDx for at anvende ændringer, der er foretaget i temperaturen.
2. Klik på Start. Kørslen begynder. Rotor-Gene Q MDx-instrumentets temperatur justeres til den temperatur, der er angivet i vinduet. Graferne i vinduet begynder at vise data.
3. Vent, til temperaturen har stabiliseret sig.
4. Hold øje med aflæsningen af endepunktsfluorescens (FI).
5. Hvis FI-aflæsningen ikke ligger på det påkrævede niveau, skal du klikke på Edit Gains... (Rediger forstærkningsværdier...) og foretage de nødvendige ændringer. Denne proces vil måske ikke ske med det samme, da Rotor-Gene Q MDx tager ca. 4 sekunder om at hente hvert punkt i hver kanal, og brugergrensefladen er deaktiveret i dette tidsrum.
6. Gentag processen, indtil FI ligger på det ønskede niveau.

7. Klik på Stop. Hvis kørslen stadig henter data, når der klikkes på knappen Stop, færdiggør Rotor-Gene Q MDx først hentningen og stopper derefter. Denne proces kan tage op til 5 sekunder for hver hentningskanal.

Guiden New Run (Ny kørsel), vindue 4

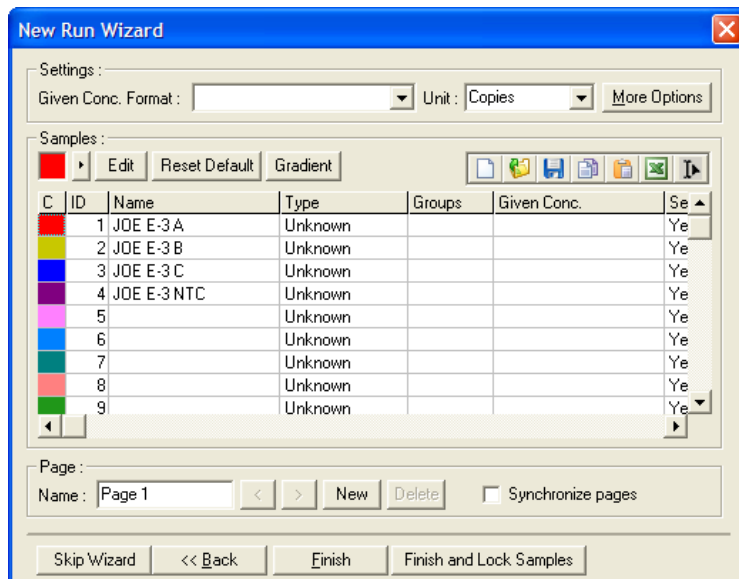
Dette vindue opsummerer kørslen. Kontrollér parametrene, og klik på Start Run (Start kørsel), hvis de er korrekte. Du vil blive bedt om et filnavn. Du kan også gemme kørselsindstillingerne som en skabelon for fremtidig kørsler med knappen Save Template (Gem skabelon).



Guiden New Run (Ny kørsel), vindue 5

Indtast prøvetyper og -beskrivelser i dette vindue, mens kørslen er i gang. Dette vindues funktionalitet svarer til vinduet Edit Samples (Rediger prøver) (se side 130). Prøveoplysninger kan også indtastes, når kørslen er færdig.

Knappen Finish and Lock Samples (Afslut og lås prøver) lukker skærmen ned og forhindrer, at prøvenavnene ændres. Se "Adgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-software" (side 137) for yderligere oplysninger om denne og andre sikkerhedsfunktioner.



5.2 Brug af Rotor-Gene Q MDx-instrumentets hardware

5.2.1 Rotortyper

Vælg først, hvilken rørtype og rotor, der skal bruges. Der findes fire forskellige rotorer, som passer til forskellige rørtyper.

Bemærk: 36-Well Rotor og 72-Well Rotor medfølger til instrumentet. Rotor-Disc®-rotorerne er tilbehør.

Vigtigt: Brug identiske rør i en kørsel. Bland ikke forskellige typer rør eller rør fra forskellige producenter, da det vil påvirke den optiske ensartethed. Vi anbefaler at bruge rør fra QIAGEN, som er beregnet specielt til brug sammen med Rotor-Gene Q MDx (se Bestillingsinformation). Rør fra andre producenter kan udsende autofluorescens, hvilket kan påvirke resultaternes pålidelighed. Desuden kan rør fra andre producenter variere i længde og tykkelse, hvilket medfører forkert justering af Rotor-Gene Q MDx-instrumentets optiske bane og reaktionen i røret. QIAGEN forbeholder sig ret til at nægte teknisk support pga. problemer på Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, der er forårsaget af plastmaterialer, som ikke er godkendt af QIAGEN.

Vigtigt: Enhver anvendelse af plastmaterialer, som ikke er godkendt af QIAGEN, på Rotor-Gene Q MDx kan medføre, at garantien på instrumentet bortfalder.

FORSIGTIG**Beskadigelse af instrumentet**

Efterse rotoren og kontrollér, at den ikke er beskadiget eller deformeret, før hver kørsel.

36-Well Rotor

36-Well Rotor er rød. 36-Well Rotor og 36-Well Rotor Locking Ring giver mulighed for at bruge 0,2 ml rør. Rørene behøver ikke at have optisk klare hætter, da Rotor-Gene Q MDx aflæser fluorescens fra bunden af røret frem for toppen. Rør med hvælvet hætte kan også bruges.

**72-Well Rotor**

72-Well Rotor er blå. 72-Well Rotor og 72-Well Rotor Locking Ring anvendes sammen med Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, der kan bruges til en volumen på helt ned til 20 µl. Hæfterne giver en sikker og pålidelig tætning.



Rotor-Disc 72 Rotor

Rotor-Disc 72 Rotor er mørkegrå. Rotor-Disc 72 Rotor og Rotor-Disc 72 Locking Ring gør det muligt at bruge Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 er en disc med 72 brønde til store prøvemængder. Rotor-Disc 72 forsegles ved at lægge en klar polymerfilm hen over dem, som varmesegles. Filmen er hurtig at sætte på og forhindrer kontaminering ved at skabe en stærk, holdbar og manipulationssikker forsegling. Yderligere oplysninger om Rotor-Disc 72 findes i afsnit 5.2.3.



Rotor-Disc 100 Rotor

Rotor-Disc 100 Rotor er guldfarvet. Rotor-Disc 100 Rotor og Rotor-Disc 100 Locking Ring gør det muligt at bruge Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 er en disc med 100 brønde til store prøvemængder. Rotor-Disc 100 svarer til en 96-brønds plade, men har yderligere fire referencebrønde. Den gør det muligt at anvende Rotor-Gene Q MDx i laboratoriets arbejdsgange med 96 brønde. De ekstra brønde kan nemt bruges til flere prøver, ekstra kontrolreaktioner eller orienteringsreaktioner uden at optage nogen af de almindelige 96-brønds positioner. For at sikre kompatibilitet med arbejdsgange med 96 brønde anvender Rotor-Disc 100-brønde samme mærkningskonventioner som 96-brønds plader, dvs. A1–A12 frem til H1–H12. De ekstra 4 referencebrønde er mærket R1–R4. Yderligere oplysninger om Rotor-Disc 100 findes i afsnit 5.2.3.



Rotorspecifikationer

Rotortype	Brøndkapacitet (µl)	Prøvenr.	Rørtype	Anbefalet reaktionsvolumen (µl)
36-Well Rotor	200	36	PCR Tubes, 0.2 ml	20-50
72-Well Rotor	100	72	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml	20-50
Rotor-Disc 72 Rotor	100	72	Rotor-Disc, 72	20-25
Rotor-Disc 100 Rotor	30	100	Rotor Disc, 100	15-20

Bemærk: 36-Well Rotor og 72-Well Rotor til Rotor-Gene Q MDx må ikke anvendes på Rotor-Gene 3000-instrumenter på grund af manglende kompatibilitet af den optiske justering. Fortsæt med at bruge de ældre 36-positions og 72-positions rotorere sammen med Rotor-Gene 3000 instrumenter.

5.2.2 Reaktionsopsætning

Vigtigt: Der bør anvendes tilstrækkelige kontroller i hver kørsel for at sikre pålidelige resultater.

Reaktioner kan klargøres ved hjælp af Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (til PCR Tubes, 0.2 ml), Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (til opsætning med Strip Tubes and Caps, 0.1 ml med en enkeltkanalspipette), Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (til opsætning med Strip Tubes and Caps, 0.1 ml med en flerkanalspipette), Rotor-Disc 72 Loading Block (til Rotor-Disc 72) eller Rotor-Disc 100 Loading Block (til Rotor-Disc 100). Alle blokke er fremstillet i aluminium og kan forkøles.

Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (vist på billedet) rummer 18 strip-rør samt op til otte 0,5 ml rør, der kan bruges til at klargøre master-blanding, og op til 16 0,2 ml rør, der kan bruges til at opstille standardkurver. Nedenstående procedure beskriver reaktionsopsætningen med 72-Well Rotor. Den samme procedure kan bruges til reaktionsopstilling med 36-Well Rotor og passende tilbehør.

1. Anbring striprørene i isætningsblokken og overfør reaktionskomponenterne.

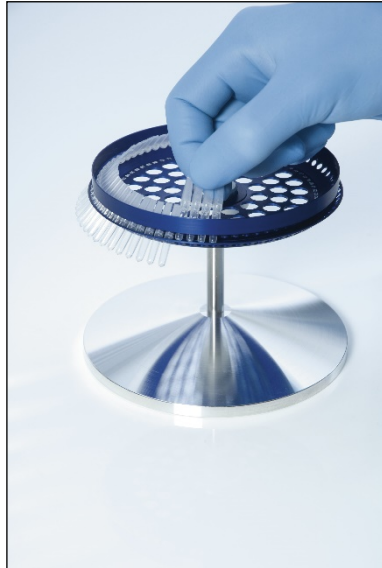


2. Anbring hæfterne sikkert på striprørene og efterse dem for at sikre, at de slutter tæt.



3. Isæt strip-rørene i 72-Well Rotor, og kontrollér, at hvert rør sidder korrekt på plads og vender i den rigtige retning.

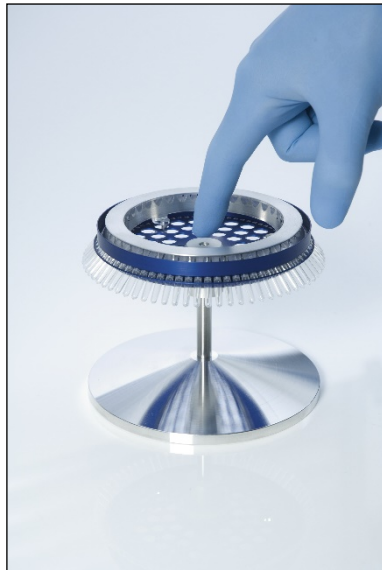
Prøverne vil ikke blive placeret optimalt over detektionssystemet, hvis de ikke er korrekt placeret i rotoren. Dette kan resultere i en forringelse af det opnåede fluorescenssignal og detektionssensitiviteten. En Rotor Holder, der gør det nemt at isætte rør, følger med instrumentet.



Vigtigt: For at opnå maksimal temperatursæthed skal hver position i rotoren indeholde et rør. Ved at udfylde alle positioner i rotoren kan der sikres en jævn luftstrøm til alle rør. Hav et sæt tomme rør med hætter klar, der kan anvendes til at udfylde eventuelle tomme positioner.

4. Isæt 72-Well Rotor Locking Ring på 72-Well Rotor ved at skubbe de tre styrestifter gennem rotorens udvendige huller.

Låseringen sikrer, at hæfterne bliver siddende på rørene under en kørsel.



5. Indsæt enheden i Rotor-Gene Q MDx-instrumentets kammer ved at klikke den på plads ved hjælp af styrestiften på rotorens nav. Den kan nemt tages ud ved at trykke ned på rotornavet, så den frigøres, og trække den ud.



6. Luk låget, og konfigurer kørselsprofilen i Rotor-Gene Q-softwaren.

5.2.3 Opsætning af Rotor-Disc

Rotor-Disc 72 eller Rotor-Disc 100 indeholder henholdsvis 72 eller 100 brønde i samme disc og er beregnet til store prøvemængder. Til Rotor-Disc 72 og Rotor-Disc 100 benyttes der ikke hætter. I stedet lægges Rotor-Disc varmemeforsglingsfilm over dem og varmemeforsgles med en Rotor-Disc Heat Sealer. Filmen forhindrer kontaminering ved at skabe en stærk, holdbar og manipulationssikker forsegling. Varmeforsegling af Rotor-Disc udføres som beskrevet nedenfor.

Vigtigt: Læs det produktblad, der følger med Rotor-Disc Heat Sealer, før denne procedure påbegyndes.

1. Tænd for Rotor-Disc Heat Sealer på kontakten, der sidder på bagsiden i venstre side.
En rød "Power"-lampe (Tændt) tænder. Rotor-Disc Heat Sealer tager cirka 10 minutter om at nå driftstemperatur, hvorefter en grøn "Ready"-lampe (Klar) tænder.
2. Vælg permanent eller aftagelig forsegling.
Bemærk: Når Rotor-Disc Heat Sealer er klar, er det sikkert at lade den stå tændt konstant.
3. Isæt Rotor-Disc i Rotor-Disc Loading Block ved hjælp af styrenoten i position 1 på Rotor-Disc og styrehullerne på Rotor-Disc Loading Block.

4. Klargør reaktionerne i Rotor-Disc ved hjælp af manuel pipettering eller ved at bruge et automatiseret væskehåndteringssystem.



5. Fjern midterdelen af et ark Rotor-Disc-varmeforseglingsfilm ved forsigtigt at folde filmen midt over, klemme fast om midterdelen og forsigtigt rive den ud.
6. Anbring filmen oven på Rotor-Disc i den rigtige retning som vist på mærkaten "SIDE UP" (denne side opad). Kontrollér, at "SIDE UP"-mærkaten er placeret nederst på Rotor-Disc Loading Block. Midterhullet i filmen skal glide let hen over cylinderen på Rotor-Disc Loading Block og over på toppen af Rotor-Disc.



7. Skub enheden ind i Rotor-Disc Heat Sealer ved hjælp af styreskinnerne på siden af Rotor-Disc Loading Block. Sørg for, at Rotor-Disc Loading Block er skubbet helt ind.



8. Forseglingsmekanismen aktiveres ved først at trykke ned på den blå anodiserede del oven på varmforseglere og derefter trykke den sorte lås tilbage.



9. Når forseglingsmekanismen er kørt ned, tændes en orange "Sealing"-lampe (Forsegler). Hvis Rotor-Disc Loading Block ikke er i den rigtige position, høres der et advarselsbip.
10. Når forseglingen er færdig, høres et kontinuerligt lydsignal, og den orange "Sealing"-lampe (forsegler) begynder at blinke. Tryk ned på den blå anodiserede del for at frigøre forseglingsmekanismen, så den kører op til den oprindelige position.
Vigtigt: Fortsæt ikke forseglingen længere end til det kontinuerlige lydsignal, da Rotor-Disc ellers kan blive deformeret.

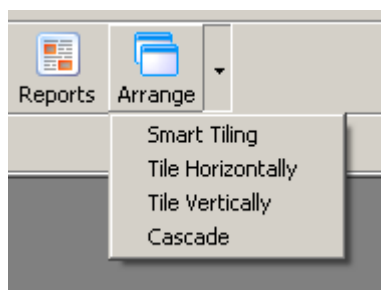
Bemærk: For at advare dig, hvis du ved et uheld glemmer at frigøre låsemekanismen, lyser den blinkende orange "Sealing"-lampe konstant, og det kontinuerlige lydsignal ændres til en afbrudt lyd.

11. Skyd Rotor-Disc Loading Block ud af Rotor-Disc Heat Sealer. Lad filmen køle af i cirka 10 sek. Fjern derefter overskydende forseglingsfilm ved at skubbe den nedad, så den går løs. Træk ikke opad i den overskydende film.
12. Fjern Rotor-Disc fra Rotor-Disc Loading Block.
13. Isæt Rotor-Disc i rotoren ved at bruge styrenoten i position 1 som hjælp til at placere den korrekt.

6 Analysebrugerflade

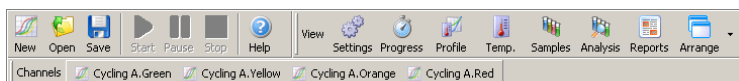
6.1 Arbejdsområde

Arbejdsområdet er baggrunden i hovedvinduet. I dette område kan rådatadiagrammer og analyseresultater åbnes. Hvis flere vinduer er åbnet samtidig, kan de organiseres ved at klikke på knappen Arrange (Arranger) i værktøjslinjen. Der er flere forskellige muligheder for at arrangere vinduer, som kan vælges ved at klikke på pil ned ved siden af knappen Arrange.



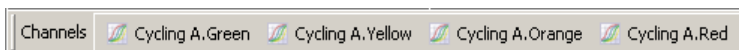
6.2 Værktøjslinje

Disse knapper er genveje til ofte anvendte funktioner. Disse funktioner kan også tilgås fra rullemenuerne.



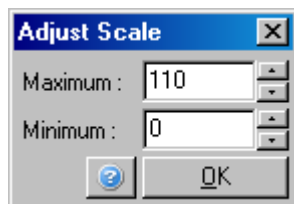
6.3 Visning af kanaler med rådata

Klik på disse knapper for at få vist de rå (ikke-analyserede) data fra bestemte kanaler i kørslen.



Ved visning af disse data findes der en række muligheder for at ændre datavisningen. Rådataene kan også ændres med henblik på forskellige typer analyser.

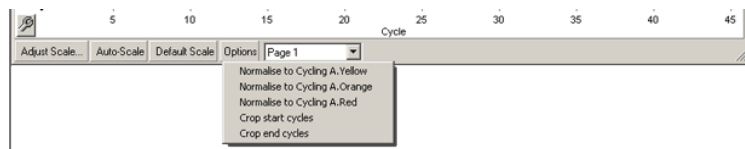
Adjust Scale (Juster skala): Adjust Scale (Juster skala) vælges ved at højreklikke med musen over det relevante vindue. Adjust Scale (Juster skala) åbner et vindue, hvor det er muligt at angive en skala.



Autoscale (Autoskaler): Autoscale (Autoskaler) forsøger at tilpasse skalaen til maksimum- og minimumsværdierne af de aflæste data.

Default Scale (Standardskala): Default Scale (Standardskala) nulstiller skalaen, så den viser fra 0 til 100 fluorescensenheder.

Skruenøgleikon: Se afsnit 7.5 for mere information.



Options (Muligheder): Denne viser rullemenuen, der er vist ovenfor, og som indeholder de forskellige muligheder for at ændre rådata.

Normalise to... (Normaliser til...): Denne giver mulighed for at normalisere amplifikationsdata til data fra en passiv referencefarve, f.eks. ROX, der er hentet i en anden kanal.

Crop start cycles (Beskær startcyklusser): Denne funktion opretter et nyt kanaldatasæt, hvor visse startcyklusser er fjernet. Det er praktisk, hvis der observeres store spring i de indledende cyklusser, som kan forekomme, når der bruges visse kemikalier.

Crop end cycles (Beskær slutcyklusser): Denne funktion opretter et nyt kanaldatasæt, hvor visse slutcyklusser er fjernet.

Page 1 (Side 1): Denne mulighed angiver den side, der aktuelt er valgt til at vise rådatadiagrammer. I vinduet Edit Sample (Rediger prøve) er det muligt at oprette flere prøvedefinitioner. Data kan f.eks. vises med varierende linjetykkelse, prøvedefinitioner og andre visningsmuligheder. Det er især praktisk, hvis der foretages relativ kvantificering i en enkelt kanal, fordi brugeren nemt kan skifte mellem interessegenet og husholdningsprøverne ved at definere to prøvesider.

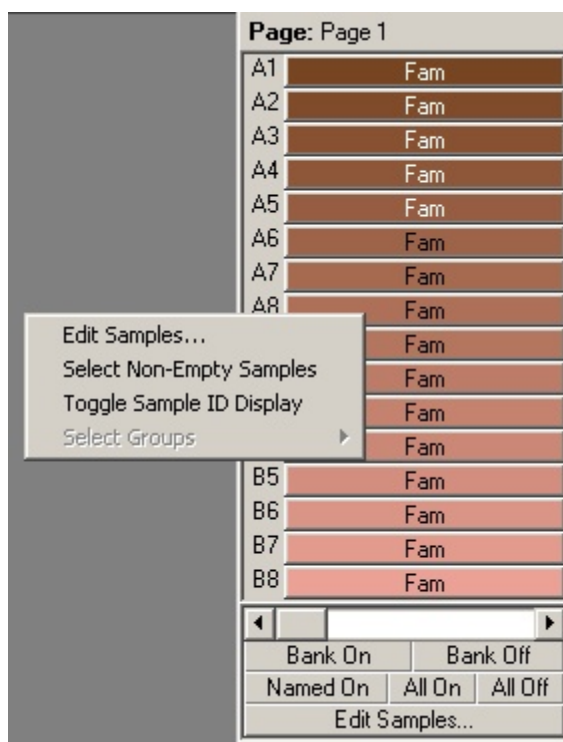
6.4 Skift mellem prøver

I højre side af hovedvinduet findes der en omskifter, som indeholder en prøveoversigt. Den består af farvede celler, der hver især svarer til en prøve på den grafiske visning. Omskifteren bruges til at styre, hvilke prøver der vises på den grafiske visning. Prøver med en kraftig cellefarve vises, mens prøver med en dæmpet cellefarve ikke vises. Prøverne kan slås til og fra ved at klikke på cellen eller ved at trække musemarkøren hen over flere celler på én gang. Knapperne Bank On (Gruppe til) og Bank Off (Gruppe fra) henholdsvis skjuler eller viser alle prøver, der aktuelt er synlige på listen. Rullebjælken kan bruges til at få vist de næste grupper af prøver.

Bemærk: Antallet af viste prøver er dynamisk og afhænger af den plads, der er tilgængelig i vinduet.

Ved klik på Named On (Navngivet til) vises kun de prøver, der har fået tildelt et navn. Dette er en hurtig måde kun at få vist relevante prøver på. Ved klik på All On (Alle til) eller All Off (Alle fra) vises henholdsvis alle eller ingen af prøverne i rotoren. Ved tryk på knappen Edit Samples... (Rediger prøver...) åbnes vinduet Edit Samples (Rediger prøver), hvor prøvenavne, typer og standardkoncentrationer kan redigeres (se afsnit 6.8.4).

Skifteren er vist nedenfor. De ekstra muligheder, der vises, kommer frem ved klik på højre museknap over omskifteren.



Page (Side):

Denne mærkat i toppen af omskifteren angiver den viste prøveside. Sider giver mulighed for forskellige uafhængige analyser for samme kanaldatasæt. Det er f.eks. muligt at køre to standardkurver i den grønne kanal og generere uafhængige rapporter. Yderligere information om opsætning af prøvesider findes i afsnit 6.8.4.

Toggle Sample ID Display
(Skift visning af prøve-id):

Hvis der anvendes en 72-Well Rotor, vises prøverne i formatet A1 til A8, B1 til B8 osv. Med Toggle Sample ID Display (Skift visning af prøve-id) kan brugeren skifte til en numerisk prøverækkefølge (1 til 72).

Select Non-Empty Samples
(Vælg ikke-tomme prøver):

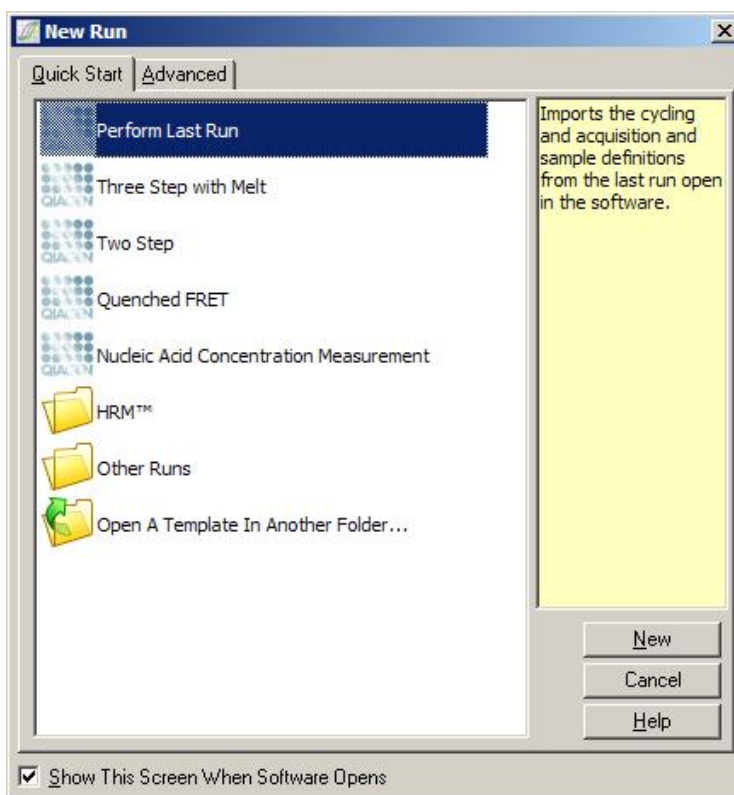
Denne mulighed fravælger alle prøver, der har en Type angivet som None (Ingen) i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Dette sikrer, at der kun vises prøver, som er relevante for analysen.

Select Groups (Vælg grupper): Hvis du har defineret grupper, vil denne funktion skifte (slå til/fra) visningen af prøverne i grupperne. Grupper er vilkårlige samlinger af prøver, der giver mulighed for avanceret rapportering af statistiske resultater. Der kan f.eks. defineres grupper af behandlede og ubehandlede patientprøver. Grupper kan konfigureres i vinduet Edit Samples (Rediger prøver).

6.5 Menuen Fil

6.5.1 Ny

Efter at have valgt File (Fil) og derefter New (Ny) åbnes vinduet New Run (Ny kørsel). Dette vindue giver adgang til almindeligt anvendte skabeloner organiseret under fanerne Quick Start (Lynstart) og Advanced (Avanceret). Når der er valgt en skabelon, leder hjælpeguiden dig gennem opsætningen af kørslen og giver mulighed for ændring af indstillinger og profiler.



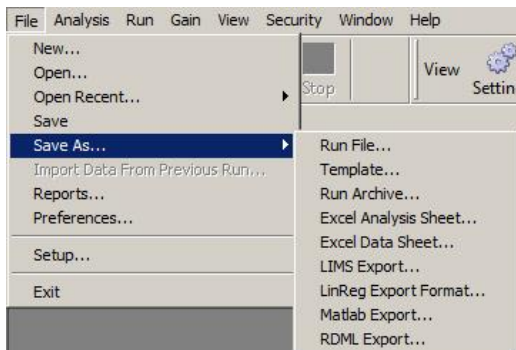
Du kan få flere oplysninger om de tilgængelige skabeloner i afsnit 5.1.1 og 5.1.2.

Ny kørsel

New (Ny):	Denne funktion starter opsætningen af kørslen ved hjælp af den valgte skabelon.
Cancel (Annuller):	Dette lukker vinduet.
Help (Hjælp):	Dette åbner onlinehjælpen.
Show This Screen When Software Opens (Vis denne skærm, når softwaren åbner):	Ved afkrydsning af dette felt vises vinduet New Run (Ny kørsel), hver gang softwaren startes.

6.5.2 Åbn og gem

Open... (Åbn):	Denne funktion åbner en tidligere gemt Rotor-Gene Q-kørselsfil (*.rex) eller et Rotor-Gene Q-kørselsarkiv (*.rea-fil).
Open Recent... (Åbn seneste):	Denne funktion viser de seneste fire filer, der er blevet åbnet eller gemt.
Save (Gem):	Denne funktion gemmer eventuelle ændringer, der er foretaget i en kørselsfil.



Save As... (Gem som):	Brug denne funktion til at gemme kørselsfilen eller dataene i forskellige formater. Mulighederne er angivet nedenfor.
Run File... (Kør fil...):	Denne funktion gemmer en kopi af filen. Brugeren kan ændre navnet og den placering, som filen gemmes på. Dette er standardformatet.
Template... (Skabelon):	Denne funktion gemmer opsætningen af profilen og de tilhørende indstillinger, men ikke kørselsdataene. Skabelonen kan bruges til at starte fremtidige kørsler.
Run Archive... (Kør arkiv...):	Denne funktion gemmer filen i et mere kompakt format. Gem filer i dette format, før de sendes med e-mail. Dette reducerer den tid, det tager at sende filen, og sikrer, at filerne ikke ødelægges af e-mail-klienter.
LIMS Export (LIMS-eksport):	Denne funktion gemmer analysen i LIMS-kompatible formater i henhold til brugerens krav. Kontakt venligst QIAGEN Teknisk Service for at få yderligere oplysninger.
Excel Data Sheet... (Excel-regneark):	Denne funktion eksporterer alle kanaler med rådata til et Excel®-regneark. Kun de valgte prøver eksporteres.
Excel Analysis Sheet... (Excel-regneark):	Denne funktion eksporterer hele analysen i den aktuelle kørsel til et enkelt Excel-regneark.

LinReg Export Format... (LinReg-eksportformat):	Denne funktion eksporterer alle rådata fra kanaler til et format, der kan læses af LinReg (et effektivitetsanalyseværktøj). Se "Eksport til LinReg" nedenfor for yderligere oplysninger.
Matlab Export... (Matlab-eksport):	Denne funktion eksporterer dataene til et format, der kan læses af den videnskabelige pakke, Matlab (eller open-source-versionen, Octave). Dette kan være praktisk til metodeundersøgelser.
RDML Export (RDML-eksport):	Denne funktion danner en eksportfil, som er kompatibel med RDML v1.1. Den oprettede RDML-eksportfil er en ZIP-komprimeret fil i XML-format med filtypenavnet *.rdml, som er kompatibel med RDML-skemadokumentet (https://rdml.org/rdml_v_1_1.html), der findes på webstedet: https://rdml.org/rdml_v_1_1.html .

Eksport til LinReg

LinReg er et værktøj, der er udviklet af C. Ramakers og kolleger.* LinReg-værktøjet fås på: <https://medishebiologie.nl/files/>.

Rotor-Gene Q-softwaren giver brugeren mulighed for at eksportere rådata i et format, der derefter kan importeres af LinReg-værktøjet til analyse.

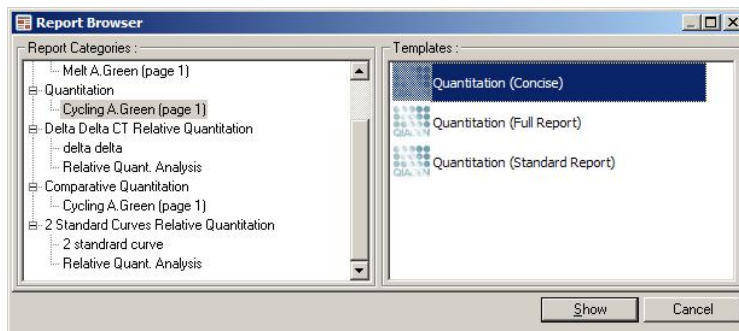
1. Åbn Rotor-Gene Q-kørselsfilen, der indeholder rådataene.
2. Eksporter dataene i LinReg-eksportformat ved at vælge Save As... (Gem som...) og derefter LinReg Export Format... (LinReg-eksportformat).
3. Microsoft Excel viser automatisk de eksporterede rådata.
4. Start LinReg-værktøjet.

Værktøjet beder dig vælge det celleområde, hvor rådataene ligger. Værktøjet kan kun analysere én kanal med rådata ad gangen, så der bør vælges en passende del af Excel-arket.

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

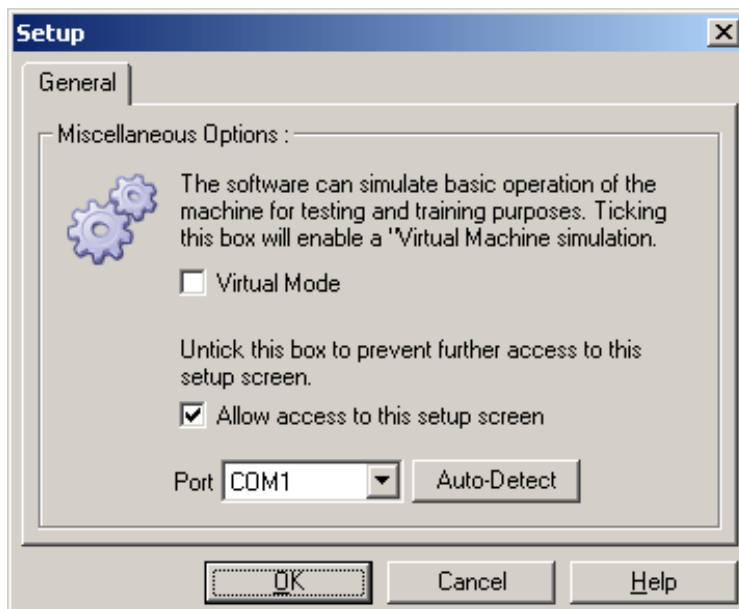
6.5.3 Rapporter

Efter at have valgt Reports... (Rapporter...) åbnes vinduet Report Browser (Rapportbrowser). Hvis dataene allerede er blevet analyseret, kan rapporten fra denne analyse vises fra vinduet Report Browser (Rapportbrowser). Der kan vælges flere rapporttyper med varierende detaljegråd.



6.5.4 Opsætning

Den indledende opsætning af Rotor-Gene Q MDx bør være afsluttet under installationen. Denne funktion giver dog mulighed for at ændre opsætningen af Rotor-Gene Q MDx-tilslutningen, hvis du ønsker det efter installationen.

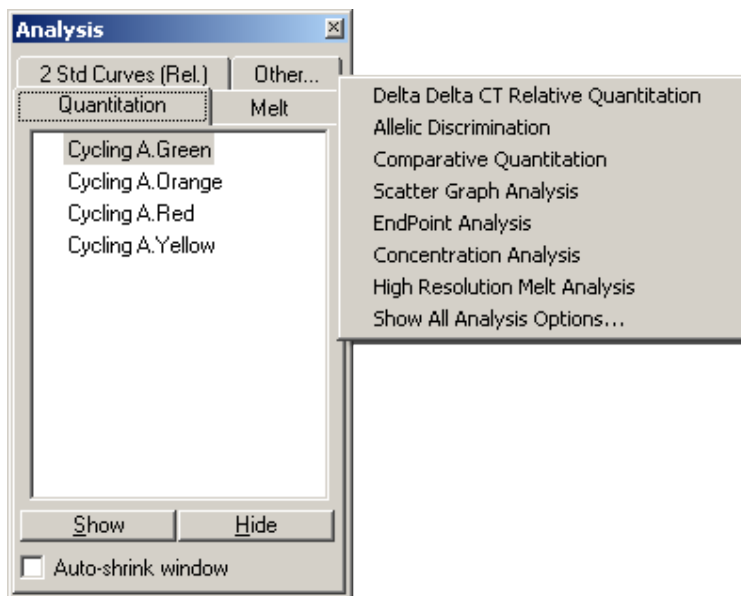


Virtual Mode (Virtual tilstand):	Vælg denne mulighed, hvis softwaren skal bruges uden en tilsluttet Rotor-Gene Q MDx. Softwaren bevarer alle funktioner. Denne tilstand er praktisk til demonstrationsformål, dataanalyse og opsætning af skabeloner.
Allow access to this setup screen (Tillad adgang til denne opsætningskærm):	Hvis denne indstilling ikke markeres under opsætningen, er der ikke længere adgang til dette vindue. Denne sikkerhedsforanstaltning forhindrer brugere i at ændre indstillingerne. Kontakt din distributør for at genetablere adgangen.
Port (Port):	Vælg den korrekte kommunikationsport til kommunikationen mellem computeren og Rotor-Gene Q MDx.
Auto-Detect (Registrér automatisk):	Hvis du ikke er sikker på, hvilken port du skal vælge, kan du klikke på Auto-Detect (Registrér automatisk) for at søge efter alle tilgængelige porte.

6.6 Analysemenuen

6.6.1 Analyse

Efter at have klikket på Analysis (Analyse), åbnes vinduet Analysis (Analyse). Dette vindue giver mulighed for at oprette nye analyser og få vist eksisterende analyser. Analysemetoden vælges ved hjælp af fanerne. Der vises en liste over de kanaler, som kan analyseres med den valgte metode. Flere analyser, der er kørt i den samme kanal, kan analyseres uafhængigt, forudsat at de er blevet sat op som separate sider i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Der vises et grønt flueben ud for de sider, som allerede er blevet analyseret. Det betyder, at indstillinger for tærskel og normalisering er gemt for denne analyse. Dobbeltklik på en kanal for at få den vist eller analysere den. Det særlige analysevindue åbnes.

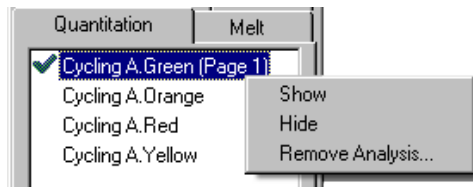


Auto-shrink window (Minimer vindue automatisk):

Ved valg af Auto-shrink window (Minimer vindue automatisk) minimeres vinduet, når det ikke er i brug. Vinduet forstørres igen, når markøren bevæges hen over det.

Organisering af arbejdsområdet

Hver gang en ny analyse startes, arrangeres dens vinduer, så de passer til dem, der allerede er på skærmen. Hvis der vises mange vinduer, kan det være besværligt. Luk de vinduer, du ikke har brug for, og tryk på Arrange (Arranger) på værktøjslinjen. Vinduerne arrangeres automatisk efter metoden Smart Tiling (Intelligent vinduesarrangering). Der kan også vælges en anden arrangeringsmetode ved at klikke på pilen ud for knappen Arrange (Arranger). Ved at højreklikke med musen på navnet på en analyse vises der også yderligere muligheder.



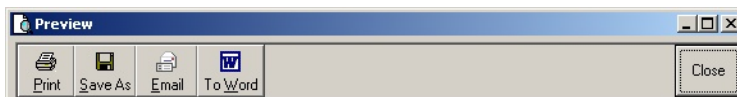
Show (Vis):	Dette viser den valgte analyse.
Hide (Skjul):	Dette skjuler den valgte analyse.
Remove Analysis... (Fjern analyse...):	Denne funktion fjerner den valgte analyse helt. Det betyder, at eventuelle normaliseringsindstillinger eller smeltebins, der er sat op i analysen, vil gå tabt.

6.6.2 Kvantificering

Vælg fanen Quantitation (Kvantificering) i vinduet Analysis (Analyse), og dobbeltklik derefter på kanalens navn eller vælg kanalen, og tryk på knappen Show (Vis) for at åbne den ønskede kanal. Tre vinduer åbnes nu: hovedskærmen, standardkurven og resultaterne.

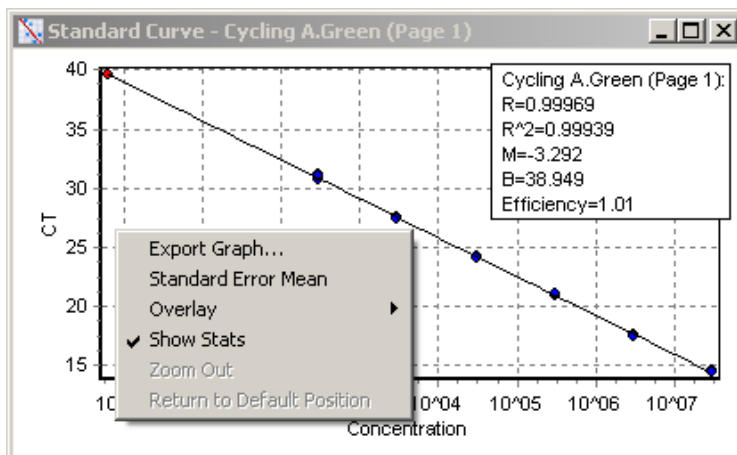
Rapporter

Reports (Rapporter):	Reports (Rapporter) åbner vinduet Report Browser (Rapportbrowser), hvor der kan generes en rapport for den aktuelle analyse. Der er tre muligheder: standardrapport, fuld rapport og summarisk rapport. Dobbeltklik på den ønskede mulighed for at åbne rapporten i vinduet Preview (Forhåndsvisning). Når rapporten er blevet genereret, kan knapperne foroven i vinduet Preview (Forhåndsvisning) bruges til at udskrive, gemme eller e-maile rapporten eller eksportere den til Word
----------------------	--



Standardkurve

Std. Curve (Standardkurve): Denne knap åbner vinduet Standard Curve (Standardkurve). Som standard åbnes dette vindue, når en analyse åbnes. Hvis du lukker vinduet, kan det åbnes igen med denne kommando.



Værdierne på standardkurven genberegnes dynamisk, når tærskelniveauet varieres ved at klikke på tærskellinjen og trække i den i hovedvinduet.

Blå prikker på kurven repræsenterer de prøver, der er blevet defineret som standarder, og røde prikker repræsenterer de ukendte prøvedatapunkter.

Bemærk: Hvis standarderne skal omdefineres for at genberegne standardkurven, kan standardprøven fjernes fra beregningen af standardkurven ved at ændre dens synlighed til "Off" (Fra) med omskifteren til højre på skærmen. At fjerne standarder fra grafen for at øge R²-værdien er ikke videnskabeligt gyldigt. En fejlet standard er en indikation af, at prøverne også kan have fejlet og derfor bør medtages i resultaterne.

Efficiency (Effektivitet): Dette er kørsels reaktionseffektivitet. Denne værdi beskrives nærmere på side 95.

R²-værdi (korrelationskoefficient): R²-værdien eller R²-værdien er den procentdel af dataene, der stemmer overens med den hypotese, at standarderne danner en standardkurve. Hvis R²-værdien er lav, passer standarderne ikke nemt på den bedst tilpassede linje. Det betyder, at resultaterne (dvs. de beregnede koncentrationer) muligvis ikke er pålidelige. En god R²-værdi er cirka 0,999.

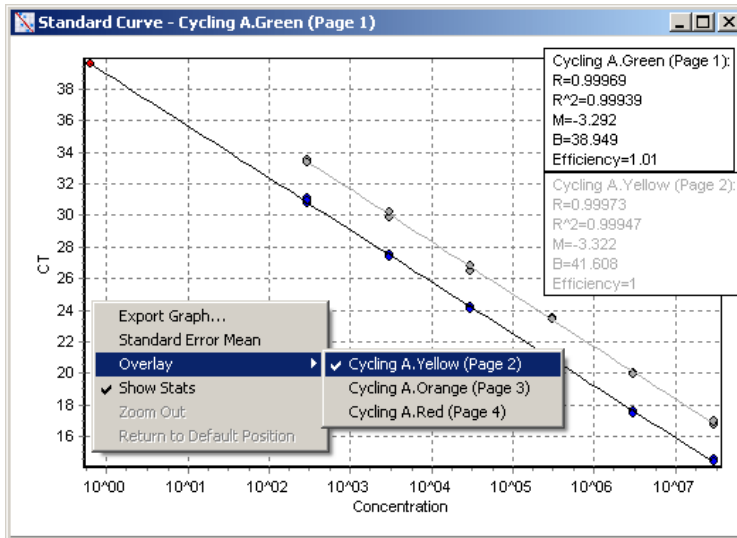
Bemærk: Det er muligt at opnå en høj R²-værdi med en dårlig standardkurve, hvis der er kørt et utilstrækkeligt antal standarder. R²-værdien forbedres, når antallet af standarder mindskes. En mere nøjagtig indikation af resultaternes pålidelighed fås ved at anvende konfidensintervallerne på de beregnede koncentrationer som en rettesnor.

R-værdi (kvadratroden af korrelationskoefficienten): R-værdien er kvadratroden af R²-værdien. Generelt er R²-værdien bedre egnet til bestemmelse af korrelation.

"M" og "B": Standardkurvens hældning (M) og skæring (B) beregnes automatisk ved hjælp af formlen $y = Mx + B$ og vises i vinduet Standard Curve (Standardkurve).

Export Graph... (Eksportér graf...): Ved højreklik med musen over standardkurven vises muligheden for at eksportere grafen (se afsnit 7.4).

Overlay (Overlejring): Når der er foretaget flere kvantitative analyser i samme kørsel, er det muligt at overlejre standardkurverne i det samme vindue. Dette giver mulighed for at få en grafisk visning af differensen mellem forskellige tærskler. Denne funktion er vist på skærbilledet nedenfor.



Beregning af standardkurven

"conc = ...*CT + ..." og "CT = ..." er to versioner af den ligning, der anvendes til at relatere CT-værdier og koncentrationer. I publikationer anvendes som regel formlen "CT = ...". Standardkurven kan være enten "Floating" (Flydende) eller "Fixed" (Fast). Hvis den er "Floating" (Flydende), beregnes en optimal ligning for standardkurven, hver gang tærsklen flyttes i hovedvinduet. Hvis den er "Fixed" (Fast), ændres ligningen ikke, fordi den er importeret fra en anden kørsel.

```

Standard Curve
conc= 10^(-0.304*CT + 11.832)
CT = -3.292*log(conc) + 38.949
Type : Floating
  
```

Import Curve... Reset

Importeret af kurve

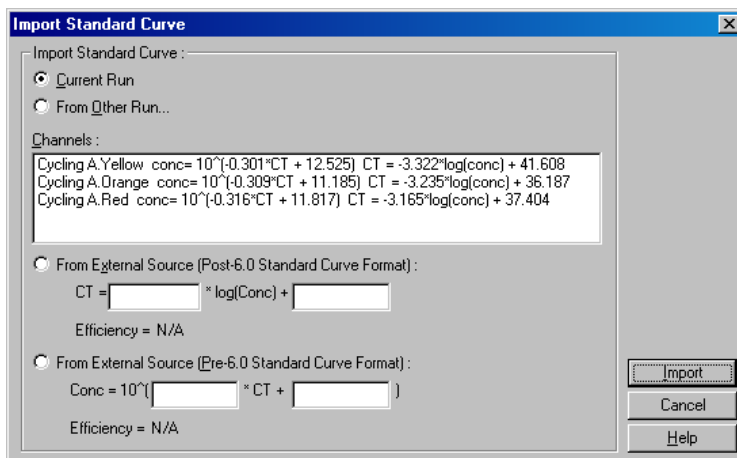
Ved at importere en standardkurve er det muligt at estimere koncentrationer, når der ikke er en tilgængelig standardkurve i en bestemt kørsel, og reaktionseffektiviteten ikke har varieret mellem to kørsler. Kurver kan importeres fra en anden kanal eller fra en anden kørsel ved at klikke på Import Curve (Importér kurve).

Standardkurven kan justeres om nødvendigt. Justering af standardkurven betyder, at kun effektiviteten af kildestandardkurven importeres til den aktuelle kørsel. Hvorvidt standardkurven skal justeres afhænger af det kemikalie, der anvendes.

Ved justering af standardkurven skal der benyttes en reference i den nye kørsel med en kendt koncentration. Definér en reference ved at indstille prøvetypen til "Standard" (Standard) og indtaste en koncentration sværdi i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Der kan indtastes flere kopier af den samme reference for at forbedre nøjagtigheden. Bemærk, at det ikke er muligt at definere mere end én referencekoncentration eller standard. Det er f.eks. muligt at have 3 replikatreferencer med 1000 kopier, men det er ikke muligt at have én reference med 1000 kopier og en anden med 100 kopier i samme kørsel.

Når standardkurven er blevet importeret, ændres standardkurvetypen til "Fixed" (Fast). Klik på Reset (Nulstil) for at ændre standardkurvetypen tilbage til "Floating" (Flydende).

Et skærmbillede af vinduet Import Standard Curve (Importér standardkurve) er vist nedenfor.



I dette vindue kan en standardkurve importeres fra en anden kanal, der analyseres i den aktuelle kørsel, eller fra en anden kørsel.

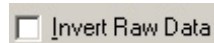
- | | |
|---|--|
| Current Run (Aktuel kørsel): | Ved valg af denne mulighed vises en liste med kvantitative analyser på andre kanaler fra denne kørsel med de tilsvarende standardkurver. |
| From Other Run...
(Fra anden kørsel...): | Ved valg af denne mulighed åbnes en dialogboks, hvor der kan vælges en kørselsfil, som skal åbnes. Hvis der er foretaget en kvantitativ analyse for kørslen, vises der en liste med standardkurver for hver analyseret kanal.

Bemærk: Indstillingerne for den kvantitative analyse skal være gemt i kørselsfilen. |
| Channels (Kanaler): | Her vises en liste over de analyserede kanaler og deres standardkurveformler. |
| From External Source (Fra ekstern kilde): | I dette område kan M- og B-værdier indtastes direkte. Det er praktisk i tilfælde, hvor værdierne stammer fra en ekstern kilde, f.eks. et Excel-regneark. |

C_T-beregning

Invert Raw Data
(Inverter rådata):

Visse kemikalier danner et fluorescerende signal, der falder eksponentielt i stedet for at stige. Det er muligt at analysere disse data ved hjælp af "Quantitation" (Kvantificering), men afkrydsningsfeltet Invert Raw Data (Inverter rådata) skal være markeret. For alle andre kvantitative analyser skal dette felt ikke være markeret.

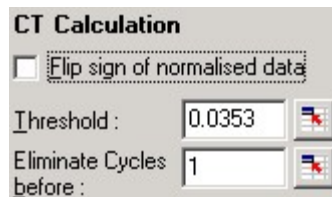


C_T Calculations (C_T-beregninger):

C_T-værdien er cyklusnummeret på det punkt, hvor amplifikationskurven skærer en detektionstærskel. Ved at sætte en tærskellinje og beregne det punkt, hvor den skærer hver af kurverne, findes C_T-værdien for hver prøve.

Threshold (Tærskelværdi):

Tærskelværdien indstilles ved at klikke på ikonet (et diagram med en rød pil) og derefter klikke på grafen, holde knappen nede og trække linjen til det ønskede niveau. Alternativt kan der indtastes en logværdi. Det er også muligt at anvende Auto-Find Threshold (Find automatisk tærskelværdi) til automatisk at bestemme tærskelværdien. Når en tærskel indstilles manuelt, skal den indstilles i kørselens eksponentielle fase, betydeligt over baggrundsniveauet for at undgå støj og under starten på signalplateauet i senere cyklusser.



Eliminate Cycles before
(Fjern cyklusser før):

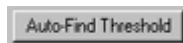
Denne indstilles ved at klikke på ikonet (et diagram med en rød pil) og derefter klikke på grafen, holde knappen nede og trække linjen mod højre. Dermed fjernes tærsklen for lave cyklusnumre.

Bemærk: Dette er praktisk, når der er støj i de indledende cyklusser, f.eks. på grund af virkninger af prøveblandingen.

Auto-Find Threshold
(Find automatisk tærskelværdi):

Denne funktion scanner det valgte område af grafen for at finde en tærskelindstilling, der giver optimale estimater for givne koncentrationer. Det valgte område kan ændres ved at indtaste nye øvre og nedre grænser i de tekstbokse, der vises.

For de fleste analyser er den øvre og nedre standardgrænse egnede. Tærskelniveauernes område scannes for at opnå den bedste tilpasning af standardkurven baseret på de prøver, der er defineret som standarder (dvs. hvor R-værdien ligger tættest på 1,0).



Resultater

Dette åbner vinduet Quantitation Results (Kvantificeringsresultater). Som standard åbnes dette vindue, når en analyse åbnes. Hvis det er blevet lukket, kan det åbnes igen med denne kommando.

Analysis	No.	Color	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc.	Calc. Conc. (C _T)	% Var	Rep. D.	Rep. Ct	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc. Conc.	Rep. Calc. Conc. (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	10a8	Standard		3.73		1.00E+08	7.15E+07	28.1%	3.73	0.00	[3.73, 3.74]	7.17E+07	[7.17E+07, 4.29E+08]
Cycling A.Green (Page 1)	2	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		5.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.06	0.06	[5.91, 6.21]	1.49E+07	[1.29E+06, 6.73E+07]
Cycling A.Green (Page 1)	5	10a7	Standard		6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	10a7	Standard		5.99		1.00E+07	1.56E+07	55.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	10a6	Standard		10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.38	0.09	[10.15, 10.60]	8.00E+05	[2.62E+05, 2.44E+06]
Cycling A.Green (Page 1)	8	10a6	Standard		10.27		1.00E+06	8.56E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	10a6	Standard		10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	10a5	Standard		13.49		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65	0.13	[13.31, 13.98]	8.74E+04	[2.96E+04, 2.58E+05]
Cycling A.Green (Page 1)	11	10a5	Standard		13.75		1.00E+05	8.12E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	10a5	Standard		13.85		1.00E+05	8.48E+04	15.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	10a4	Standard		15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25	[14.84, 16.08]	2.56E+04	[7.82E+03, 8.38E+04]
Cycling A.Green (Page 1)	14	10a4	Standard		15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	10a4	Standard		15.18		1.00E+04	3.02E+04	208.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	10a3	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	10a3	Standard		20.89		1.00E+03	6.47E+02	36.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	10a3	Standard		21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	10a2	Standard		23.98	NEG (Multi Ct)	1.00E+02	1.00E+02						
Cycling A.Green (Page 1)	20	10a2	Standard		23.98	NEG (Multi Ct)	1.00E+02	7.99E+01	20.1%					
Cycling A.Green (Page 1)	21	10a2	Standard			NEG (Multi Ct)	1.00E+02							
Cycling A.Green (Page 1)	22	NTC	NTC			NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	23	NTC	NTC			NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	24	NTC	NTC			NEG (NTC)								

I vinduet Quantitation Results (Kvantificeringsresultater) er resultaterne fra kørslen opsummeret i en tabel. Tabellen kan eksporteres til Excel ved at klikke på højre museknap og vælge Export to Excel (Eksportér til Excel). Excel åbner automatisk. Dataene kan også kopieres ind i et eksisterende regneark ved at vælge funktionen Copy (Kopier), åbne regnearket og derefter vælge Paste (Indsæt).

Vinduet Quantitation Results (Kvantificeringsresultater) indeholder følgende kolonner.

Analysis (Analyse):	Det aktuelle datasæt (hentningskanal og prøveside).
No. (Nr.):	Prøvenummeret.
Color (Farve):	Den definerede farve for den enkelte prøvegraf.
Type:	Den definerede prøvetype.
C _T :	Den fastslåede C _T -værdi.
C _T Comment (C _T -kommentar):	<p>En automatisk kommentar til C_T-bestemmelsen, hvis C_T-værdier ikke er medtaget. Følgende flag er mulige:</p> <p>NEG (Multi Ct): Tærsklen skærer fluorescenskurven mindst to gange (dobbeltskæring). En utvetydig C_T-værdi kan ikke fastslås.</p> <p>NEG (NTC): Den samlede fluorescensstigning opfylder ikke de betingelser, der er defineret i funktionen "NTC threshold" (NTC-tærskelværdi) under menuen Outlier Removal (Fjernelse af afvigelse) (se nedenfor). For eksempel skærer en fluorescenskurve den givne tærskel, men den lille samlede hældningsforøgelse tyder på en kontrol uden skabelon, og der angives ingen C_T-værdi.</p> <p>NEG (R.Eff): Den samlede fluorescensstigning opfylder ikke de betingelser, der er defineret i funktionen "Reaction efficiency threshold" (Tærskelværdi for reaktionseffektivitet) under menuen Outlier Removal (Fjernelse af afvigelse) (se nedenfor). Prøver, som ikke har en vis reaktionseffekt, medtages ikke, og C_T-værdien angives ikke. Dette flag vises kun, hvis den tilsvarende funktion er aktiveret.</p>
%Var	Den procentvise variation mellem den beregnede og den kendte koncentration. %Var=Abs(Beregnet/Givet-1)

Rep. Ct:	Den gennemsnitlige CT-værdi for alle prøver med samme navn som denne prøve.
Rep. Ct Std. Dev.:	Standardafvigelsen for CT-værdien for alle prøver med samme navn som denne prøve.
Rep. Ct. 95% C.I.:	Et C_T -område, der statistisk set udgør 95 % af variationen i C_T -værdien. Dette er et konservativt statistisk mål, der kan anvendes som kvalitetsmål. Området kan indsnævres ved at køre flere replikater eller ved at have mindre variation i replikaterne.
Rep. Calc. Conc.:	Den beregnede koncentration for alle prøver med samme navn. Bemærk: Dette er ikke det simple gennemsnit af de beregnede koncentrationer. Det er den geometriske middelværdi, hvilket matematisk set er et mere passende gennemsnit på grund af den eksponentielle karakter af amplifikationen i realtid.
Rep. Calc. Conc. 95% C.I.:	Et område af koncentrationer, der udgør 95 % af variationen i den enkelte prøve samt den lineære regressionsmodel, den er baseret på. En fortolkning af dette mål er, at det er det område af koncentrationer, der kan forventes 95 % af tiden, hvis denne kørsel blev foretaget gentagne gange med den samme mængde variation. Det er et konservativt estimat, og området kan være ret stort på grund af den variation, der altid er forbundet med enhver realtidsanalyse. Dette område kan være stort, hvis der køres standarder med koncentrationer, der adskiller sig fra de ukendte prøver, hvis der bruges et lille antal replikater, eller hvis der er betydelig variation. Vigtigt: De variationer, der rapporteres for dette mål, er en indbygget variabilitet i den eksponentielle proces for realtidsamplifikation og skyldes ikke Rotor-Gene Q MDx. Lignende tests udført på blokbaserede cyklusapparater ville give større variation på grund af den mindre temperatursartethed i blokbaserede systemer. Ønskes det at sammenligne cyklusapparater, anbefaler vi at sammenligne standardafvigelsen for CT-værdien.

Bemærk: Du kan finde nærmere oplysninger om konfidensintervaller i bilag B.

Bemærk: Med undtagelse af Color (Farve), Name (Navn), Ct (Ct) og Ct Comment (Ct-kommentar) kan hver af kolonnerne vises eller skjules ved at højreklikke på vinduet og derefter vælge eller fravælge kolonnens navn.

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%

Som en praktisk hjælp beregner funktionen AutoStat (Automatisk statistik) automatisk gennemsnittet, standardafvigelsen og minimum- og maksimumværdier for interesseprøver. Vælg de ønskede resultater ved at trække med venstre museknap. Herefter vises værdierne i en tabel til højre på skærmen.

På dette skærmbillede er koncentrationerne for flere prøver analyseret.

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	f
14.42	30000000	2825064	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	30786	1.0%	

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

Vigtigt: Funktionen AutoStat (Automatisk statistik) er kontekstafhængig. Det betyder, at den så vidt muligt kun genererer oplysninger, der er brugbare.

For eksempel:

- Det er ikke muligt at opnå et konfidensinterval på 95 % fra et sæt valgte beregnede koncentrationer, fordi der også skal tages hensyn til regressionsmodellen.

- Standardafvigelsen "Orders of Magnitude" (Størrelsesordener) rapporteres for beregnede koncentrationer frem for en absolut værdi. Dette er en procentmæssig variation. For eksempel udgør en værdi på 1,07537 en variation på 7,54 % $(278.974 - 322.611) = (300.000/1,07537 - 00.000 * 1,07537)$. Rapportering af en absolut værdi giver ingen mening for en standardkurve. Værdien kunne rapporteres ved den laveste koncentration, der kan skabe en opfattet lav fejl (± 3 kopier), eller ved den høje koncentration ($\pm 3.000.000$ kopier). Derfor rapporteres standardafvigelsen "Orders of Magnitude" (Størrelsesordener).
- For beregnede koncentrationer benyttes den geometriske middelværdi i stedet for den aritmetiske middelværdi. Dette tager højde for den eksponentielle karakter af real-time PCR. For eksempel skulle gennemsnittet i et tilfælde med tofoldsfortyndinger med 1, 2, 8 og 16 kopier være 4 kopier, fordi dette er midten af fortyndingsserierne. Men den aritmetiske middelværdi er 6,75. Den geometriske middelværdi er $(1 * 2 * 8 * 16)^{1/4} = 4$ kopier.

Dynamisk rørnormalisering

Funktionen Dynamic Tube (Dynamisk rør) vælges som standard og bruges til at bestemme den gennemsnitlige baggrund for hver prøve, lige før amplifikationen starter.

Standardnormalisering tager de første fem cyklusser og bruger dem som indikator for hver prøves baggrundsniveau. Alle datapunkter for prøven divideres derefter med denne værdi for at normalisere dataene. Denne kan være unøjagtig, fordi baggrundsniveauet for visse prøver i løbet af de første fem cyklusser måske ikke er retvisende for baggrundsniveauet lige før amplifikationen. Dynamisk rørnormalisering bruger derimod det andet derivat for hvert prøvespor til at fastsætte et udgangspunkt for hver prøve. Baggrundsniveauets gennemsnit beregnes derefter fra cyklus 1 op til dette udgangspunkts cyklusnummer for hver prøve. Dette giver de mest præcise kvantificeringsresultater.

Bemærk, at for visse datasæt er baggrundsfluorescensen ikke ensartet under cyklusserne, før amplifikationen starter. I disse tilfælde kan det være nødvendigt at fravælge dynamisk rørnormalisering ved at klikke på Dynamic Tube (Dynamisk rør), fordi det kan resultere i mindre præcis kvantificering.

Støjhædningskorrigerig

Baggrundsfluorescensen (FI) for en prøve bør ideelt set forblive konstant før amplifikation. Men nogle gange stiger eller falder FI gradvist over flere cyklusser på grund af det anvendte kemikalie. Dette skaber et skævt støjniveau. Støjhædningskorrigerig anvender den bedst tilpassede linje til at fastsætte støjniveauet frem for et gennemsnit og normaliserer efter denne linje. Når denne mulighed vælges ved at klikke på knappen Slope Correct (Hædningskorrigerig), forbedres data fra replikater, hvis prøvernes baseline hælder mærkbart. Støjhædningskorrigerig forbedrer data, når der observeres rådatabaggrunde, som hælder opad eller nedad før udgangspunktet (C_T).

Hvis hældningen ikke er stabil, eller de første cyklusser af baseline har en betydelig stigning eller fald i signalet i forhold til resten af kurven, kan støjhædningskorrigerende medføre en række uønskede virkninger, f.eks. negative kontrolkurver, der krydser tærsklen på grund af tilnærmelse af baseline som den bedst tilpassede linje og tilsvarende normalisering af rådata. Funktionen forbedrer derfor ikke altid datakvaliteten og bør kun anvendes, hvis rådatakurverne har en stabil hældning.

Justering af udgangspunkt

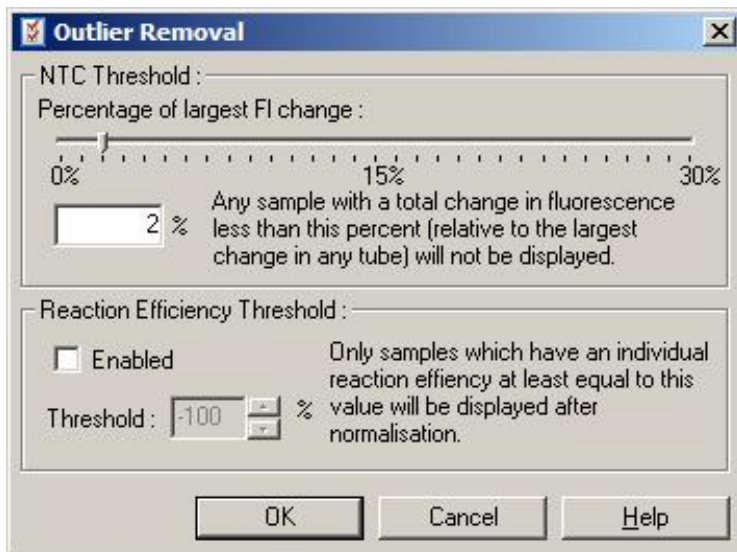
Algoritmen til justering af udgangspunkt kan bruges til at definere en minimumslængde for den baseline, der bruges til normalisering. For at kunne foretage justering af udgangspunkt skal der defineres to parametre. Hvis der beregnes et udgangspunkt ved hjælp af Dynamic Tube (Dynamisk rør), som er lavere end den første parameter, anvendes den anden parameter som udgangspunkt. Justeringen af udgangspunktet kan kun bruges sammen med normalisering med Dynamic Tube (Dynamisk rør).

Ignorer første

Fluorescenssignalet fra de første par cyklusser i en kørsel er ikke nødvendigvis repræsentative for resten af kørslen. Derfor kan der opnås bedre resultater, hvis de første cyklusser ignoreres. Der kan ignoreres op til 10 cyklusser. Men hvis de første cyklusser ligner de efterfølgende cyklusser, vil der kunne opnås bedre resultater ved at fravælge Ignore First (Ignorer første), fordi normaliseringsalgoritmen vil have flere data at arbejde med.

Fjernelse af afvigelse

Der findes to forskellige funktioner til at skelne mellem mindre ændringer i fluorescens og faktiske reaktioner i kontroller uden skabelon (NTC'er): NTC Threshold (NTC-tærskelværdi) og Reaction Efficiency Threshold (Tærskelværdi for reaktionseffektivitet). NTC Threshold (NTC-tærskelværdi) anbefales til de fleste anvendelsesformål. Den anvendte metode bør valideres.



NTC Threshold (NTC-tærskelværdi):

Denne funktion gør det muligt at udelukke prøver eller NTC'er, der har en let forskydning opad, fra analysen. Alle prøver med en ændring under "NTC Threshold" (NTC-tærskelværdi) vil ikke blive rapporteret, og der vil blive vist et flag med "NEG (NTC)" i kolonnen "CT Comment" (CT-kommentar).

Denne procentdel er relativ til den største maksimale ændring, der findes i et rør. Hvis en prøve f.eks. begyndte ved en baggrund på 2 FI og steg til 47 FI, så udgør 45 FI 100 %. En "NTC Threshold" (NTC-tærskelværdi) på 10 % ville anse enhver prøve på under 4,5 FI for at være støj.

Reaction Efficiency Threshold (Tærskelværdi for reaktionseffektivitet):

"Reaction Efficiency Threshold" (Tærskelværdi for reaktionseffektivitet) er en alternativ metode til at udelukke støj fra en analyse. Denne normaliseringsalgoritme bruger de samme teknikker til estimering af reaktionseffektivitet som dem, der anvendes ved komparativ kvantificering (se afsnit 6.6.6). Alle prøver, som ikke har en reaktionseffektivitet på mindst dette niveau, medtages ikke, og der vises et flag med "NEG (R.Eff)" i kolonnen "CT Comment" (CT-kommentar).

Et niveau på 0 % indikerer, at der ikke er fundet nogen reaktion sted i den eksponentielle fase. 100 % indikerer, at en fuldstændigt effektiv reaktion er fundet i den eksponentielle fase. Negative procenttal indikerer, at fluorescenssignalet er faldt i den eksponentielle fase.

Den nuværende forskning giver ikke noget entydigt svar med hensyn til de præcise effektivitetsniveauer, der er nødvendige for at skelne faktiske reaktioner fra kontamination og andre virkninger. Derfor anbefaler vi at anvende denne funktion konservativt ud fra den antagelse, at enhver prøve med en faktisk reaktion vil have en vis synlig eksponentiel fase med en vis stigning i fluorescens. En indstilling af denne værdi til højere end 0 % vil udelukke nogle prøver med en ineffektiv, men mærkbar stigning i fluorescens, mens en indstilling på under 0 % vil vise prøver med et faldt i fluorescens i den eksponentielle fase, som klart bør udelukkes.

Bemærk: Hvis en værdi udelukkes, fordi en af disse teknikker aktiveres, vil en tilsvarende CT-værdi i vinduet Quantitation Results (Kvantificeringsresultater) ikke blive vist. Samtidig vises et flag, der angiver udelukkelsen, i kolonnen "Ct Comment" (Ct-kommentar). Det er derfor vigtigt at sørge for, at kolonnen "Ct Comment" (Ct-kommentar) hele tiden vises.

På billedet nedenfor er prøve 7, 8 og 9 blevet udelukket på grund af "Reaction Efficiency Threshold" (Tærskelværdi for reaktionseffektivitet).

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

Hældning, amplifikation og reaktionseffektivitet

En reaktions hældning (M) (vist i vinduet Standard Curve (Standardkurve)) kan benyttes til at bestemme den eksponentielle amplifikation og effektivitet for en reaktion ved hjælp af følgende beregninger:

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

$$\text{Reaktionseffektivitet} = [10^{(-1/M)}] - 1$$

De optimale værdier for M, eksponentiel amplifikation, og reaktionseffektivitet er henholdsvis -3,322, 2 og 1. Reaktionseffektiviteten vises i rapporten (i fulde rapporter og standardrapporter, se side 84) og i vinduet Standard Curve (Standardkurve).

Hældningen beregnes som ændringen i C_T divideret med ændringen i loginput (f.eks. kopinumner). En 100 % effektiv amplifikation betyder en fordobling af amplifikationsprodukt i hver cyklus, som giver en M-værdi på -3,322, en amplifikationsfaktor på 2 og en reaktionseffektivitet på 1.

Med en M-værdi på -3,322 ser beregningen ud som følger:

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

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

Et alternativt eksempel: En M-værdi på 3,8 betyder, at reaktionen har en eksponentiel amplifikation på cirka 1,83 og en reaktionseffektivitet på 0,83 (eller 83 %).

Forskydning

I en formel, der beskriver forholdet mellem to variabler, udtrykkes forskydningen med bogstavet B ($y = Mx + B$). Forskydningen kaldes også nogle gange for skæringspunktet. B repræsenterer C_T for en given koncentration på 1 enhed. Ved at erstatte 1 i koncentrationsformlen som vist nedenfor:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

bliver resultatet $C_T = B$

Skæringspunktet kan ændre sig fra kørsel til kørsel og er et mindre stabilt mål end gradienten. Derfor er det oftere gradienten end skæringspunktet, der analyseres.

Hovedvindue

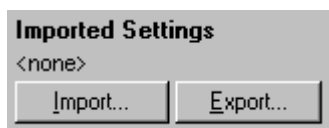
Hovedvinduet viser amplifikationsdiagrammerne på en logskala.

Ved klik på Linear Scale (Lineær skala) i bunden af vinduet ændres skalaen fra logskalaen til den lineære skala og omvendt. Skiftet mellem disse to skalaer ændrer kun visningen af graferne, ikke beregningerne. Dette kan verificeres ved hjælp af markørværktøjet ved at højreklikke på grafen og vælge Show pinpointer (Vis markør). En logskala gør mindre værdier mere synlige på grafen, mens en lineær skala giver et overblik over hele reaktionen.

Bemærk: Amplifikationsdiagrammer opdateres i realtid, da Rotor-Gene Q MDx aktivt henter data under en kørsel. Denne overvågning af data i realtid gør det muligt for brugeren at se resultater, så snart kurverne viser eksponentiel vækst. På den måde kan der drages foreløbige konklusioner og træffes beslutninger for den næste kørsel.

Skabeloner for kvantitativ analyse

Skabeloner for kvantitativ analyse giver brugeren mulighed for at eksportere normaliserings- og tærskelindstillinger til en enkelt *.qut-fil. Denne fil kan importeres og genanvendes i andre eksperimenter. Se afsnit 7.1 for yderligere oplysninger.



6.6.3 To standardkurver

Metoden med to standardkurver giver mulighed for at foretage relativ analyse af genekspression ved hjælp af et normaliserende gen.

Metoden kræver en standardkurve for hvert gen. Koncentrationen for hvert gen kvantificeres efter dets standardkurve. Ekspressionen af interessegenet normaliseres derefter med det normaliserende gen (ofte et husholdningsgen).

Det er vigtigt, at standarderne og replikaprøverne er angivet korrekt under prøveopsætningen (se afsnit "Opsætning af prøver"). Især skal tilsvarende prøver have samme navn i hver analyse. I en multiplex-reaktion, hvor rørpositionerne for interessegenet og det normaliserende gen er de samme, er ét sæt prøvedefinitioner tilstrækkeligt. Hvis der udføres relativ analyse med et normaliserende gen ved hjælp af en enkelt kanal (dvs. reaktionerne køres i separate rør med samme fluorofor), skal der oprettes to prøvesider. Den første skal mærke rørpositionerne med prøvenavne for interessegenet, mens de øvrige positioner skal være uden navne. Den anden skal mærke de positioner, der anvendes til det normaliserende gen. Softwaren vil derefter matche prøverne på tværs af de to analyser baseret på deres navne.

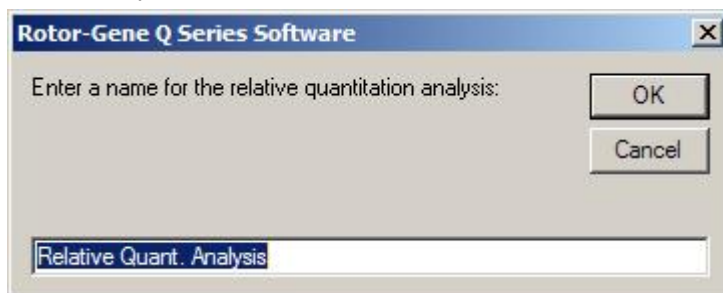
Analyse af genekspression ved hjælp af metoden med to standardkurver

Data kan først analyseres for hvert gen ved hjælp af kvantitativ analyse. Ellers bestemmes resultaterne for hver gen automatisk ved hjælp af værktøjet **Autofind Threshold** (Find automatisk tærskelværdi).

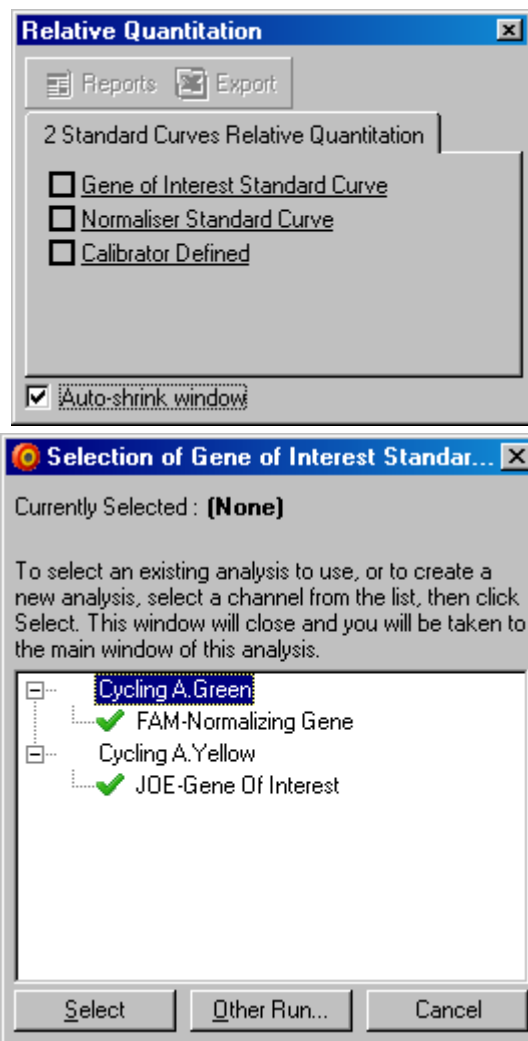
1. I vinduet Analysis (Analyse) vælges fanen 2 Std Curve (Rel.) (2 standardkurver (rel.)). Klik på New Analysis... (Ny analyse...).



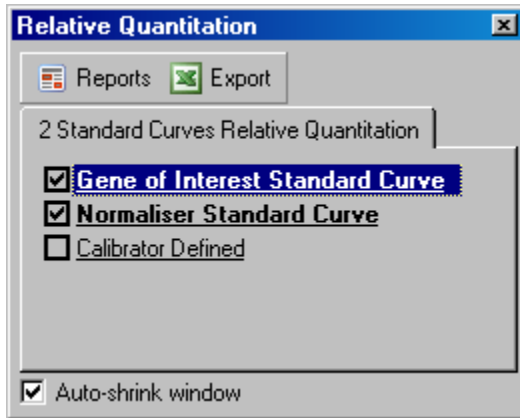
2. Indtast et navn for analysen.



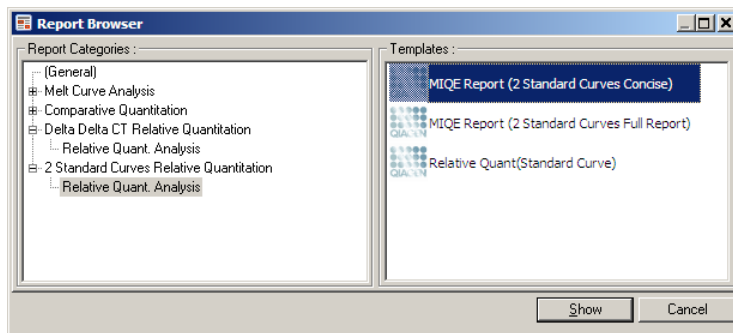
3. Angiv de sider, der bruges til analyse med det normaliserende gen og analyse med interessegenet. Hvis brugeren f.eks. klikker på Gene of Interest Standard Curve (Standardkurve for interessegenet), åbnes vinduet Selection of Gene of Interest Standard... (Valg af standard for interessegenet). Vælg den side, hvor interessegenet blev kvantificeret. Gentag proceduren for det normaliserende gen. Der kan eventuelt defineres en kalibrator. Hvis denne mulighed vælges, tildeles kalibratoren en værdi på 1, og alle andre prøvekonzentrationer beregnes i forhold til denne prøve.



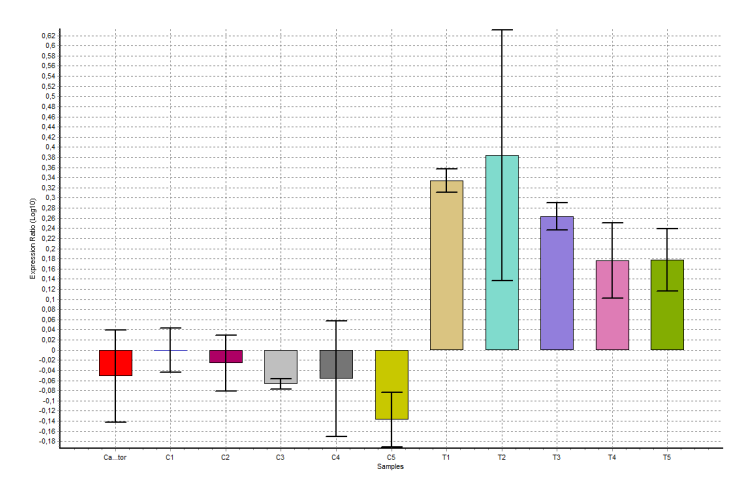
Når valgene er foretaget, markeres valgmulighederne med et grønt hak som vist nedenfor.

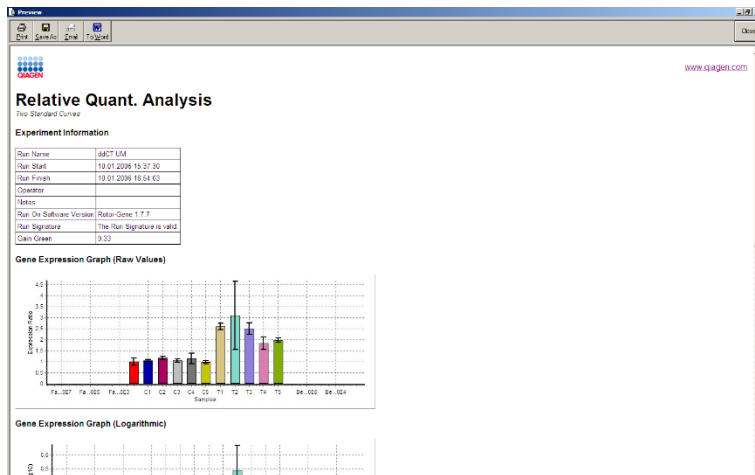


4. Klik på knappen Reports (Rapporter) for at få vist Report Browser (Rapportbrowser). Vælg analysen med det rigtige navn på listen. Klik på knappen Show (Vis) for at få vist rapporten for den relative kvantificering. Muligheden Export (Eksportér) eksporterer resultaterne til et nyt Excel-regneark. Hvis der er medtaget en kalibrator, beregnes resultaterne i forhold til kalibratorprøven, som tildeles en værdi på 1.



5. Koncentrationerne, der er aflæst i standardkurverne for interessegenet (GOI Conc.) og for det normaliserende gen (Norm. Conc.) samt den relative koncentration (Relative Conc.) vises. Resultaterne kan gemmes som Word-fil.





6. Værdierne Rel Min (Rel min.) og Rel Max (Rel maks.) genereres ved at beregne standardafvigelsen for kvotienten ud fra standardafvigelsen for GOI (Interessegen) og Normalizer (Normalisator) ved hjælp af følgende formel:

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

hvor:

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

6.6.4 Relativ kvantificering ved hjælp af delta delta C_T-metoden

Delta delta C_T-metoden giver mulighed for at foretage relativ analyse af genekspression. Den beskrives af Livak og Schmittgen (2001).*

Denne metode kræver ikke, at der medtages standardkurver i hver kørsel. Hver prøve normaliseres først for mængden af skabelon, der er tilføjet, ved at sammenligne med det normaliserende gen. Disse normaliserede værdier normaliseres yderligere i forhold til en kalibratorbehandling. Kalibratoren kunne for eksempel være vildtype, ubehandlet kontrol eller tidsnulstillede prøver.

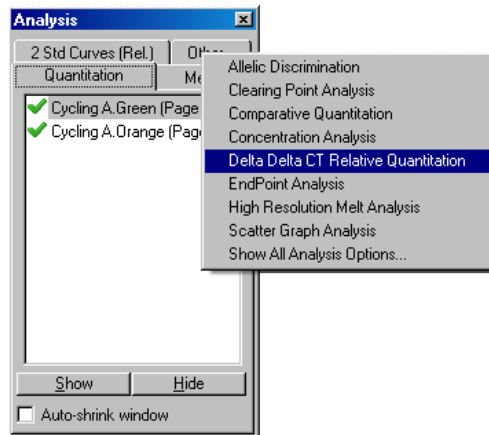
Det er vigtigt, at amplifikationseffektiviteten for interessegenet og det normaliserende gen er identisk, og at dette valideres i henhold til retningslinjerne fra Livak og Schmittgen.

Det er vigtigt, at prøvenavnene defineres korrekt i vinduet Edit Samples (Rediger prøver), og at de samme prøver er mærket identisk i hver sammensat kvantitativ analyse.

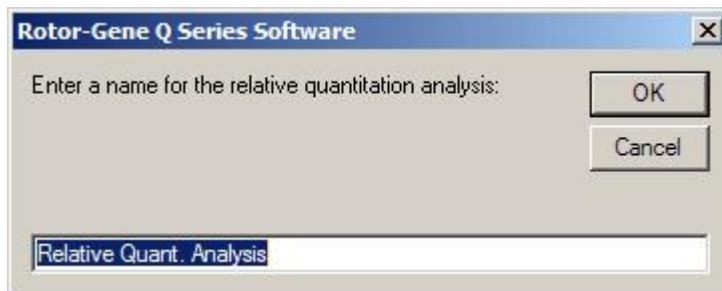
* Livak, K.J. og Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method. Methods 25, 402.

1. Analysér dataene ved hjælp af "Quantitation" (Kvantificering). Det er ikke nødvendigt at køre en standardkurve, efter valideringen er udført.

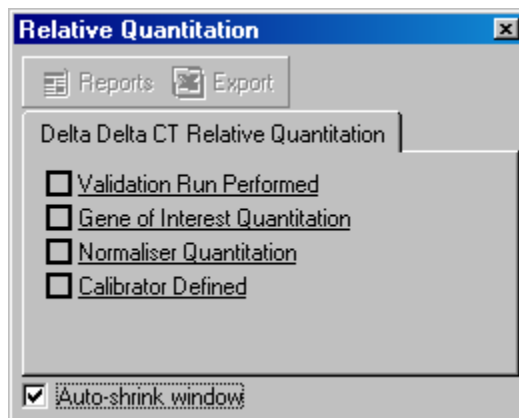
Under fanen Other (Andet) i vinduet Analysis (Analyse) vælges Delta Delta CT Relative Quantitation (Relativ kvantificering med delta delta CT). Vælg New Analysis (Ny analyse).

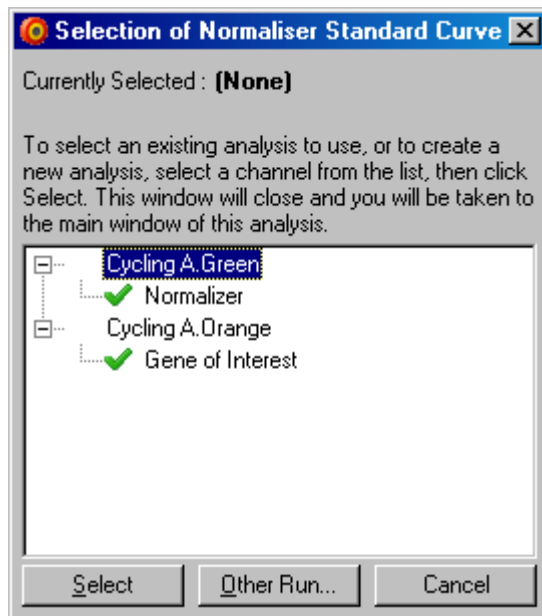


2. Indtast et navn for analysen.

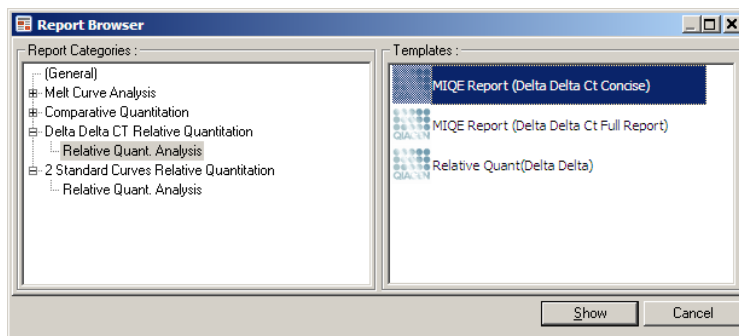


3. Validation Run Performed (Valideringskørsel udført) skal være markeret for at fortsætte med analysen. Definér de sider, hvor interessegenet og det normaliserende gen er blevet analyseret.





4. Klik på knappen Reports (Rapporter) for at få vist Report Browser (Rapportbrowser). Vælg analysen med det rigtige navn på listen. Klik på knappen Show (Vis) for at få vist rapporten for den relative kvantificering. Muligheden Export (Eksportér) eksporterer resultaterne til et nyt Excel-regneark. Hvis der er medtaget en kalibrator, beregnes resultaterne i forhold til kalibratorprøven, som har en værdi på 1.



Et eksempel på resultaterne af denne analyse er vist nedenfor. C_T -værdierne for interessegenet (GOI C_T), C_T -værdierne for det normaliserende gen (Norm. C_T), Delta C_T , Delta Delta C_T og den relative koncentration (Relative Conc.) vises. Ekspressionen er angivet i forhold til kalibratorprøven, som tildeles en relativ ekspresion på 1.

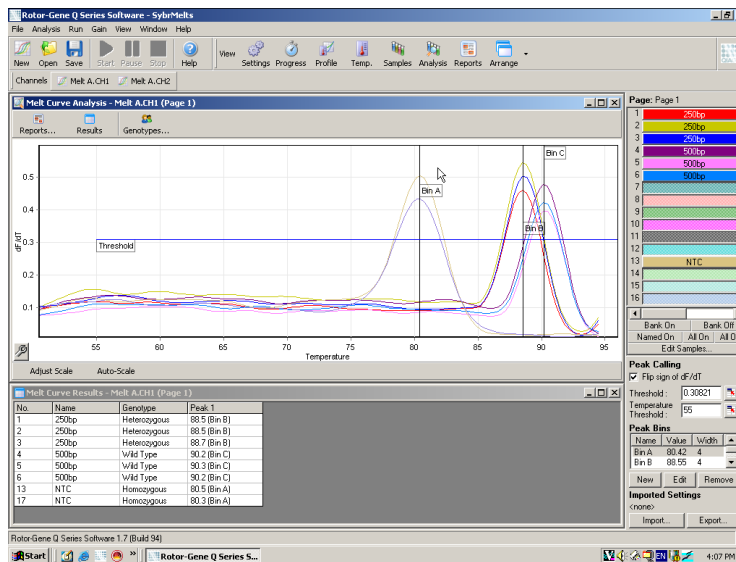
Se yderligere oplysninger om udledning af beregninger af Rel Min (Rel min.) og Rel Max (Rel maks.) i publikationen fra Livak og Schmittgen (2001).*

C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 9		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	-4.12	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0.1 IU/ μ l		28.11						
	0.316 IU/ μ l	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03857	0.03633	0.04094	
	1 IU/ μ l	36.84	28.15	8.69	3.88	0.06805	0.04415	0.10489	
	3.16 IU/ μ l	34.45	28.05	6.40	1.59	0.33305	0.28206	0.39325	
	QS4	32.67	28.29	4.38	-0.43	1.34925	1.09820	1.65770	
	QS3	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	QS2	26.88	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	QS1	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

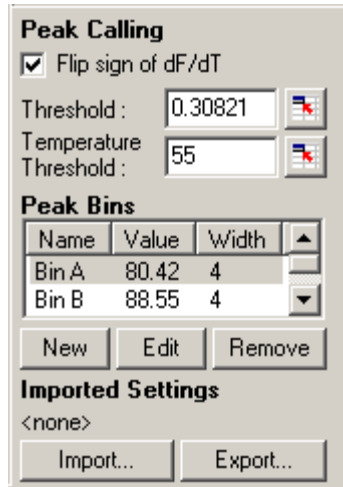
6.6.5 Analyse af smeltekurve

Smeltekurveanalyse analyserer derivatet af rådataene efter udjævning. Denne analyse benyttes normalt til genotypebestemmelse og alleldifferentiering. Spidserne på kurven grupperes i bins, og alle spidser under tærskelværdien kasseres. Bins kan derefter mappes til genotyper med kommandoen "Genotypes" (Genotyper).

Når en kørsel er færdig, kan der for visse kemikalier tilføjes et smeltetrin for at visualisere dissociationskinetikken for de forstærkede produkter. Temperaturen øges lineært, og den enkelte prøves fluorescens registreres. En typisk smeltekurveanalyse er vist nedenfor.



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



Flip sign of dF/dT
(Vend tegn for dF/dT):

Før spidserne defineres skal det sikres, at dF/dT-tegnet er korrekt for datasættet, så det giver positive spidser.

Defining peaks
(Definition af spidser):

Ved smeltekurveanalyse er det muligt at definere og rapportere spidser ved hjælp af forskellige metoder. Én er at bestemme alle spidser automatisk for hver prøve. En anden er at tildele spidser til bins, hvilket er praktisk ved genotypebestemmelse.

Bins definerer det område, hvor der forventes at forekomme spidser.

Smeltekurveanalysesoftwaren samler spidser i bingrupper baseret på de faktiske spidsværdier i kurven. Bins kan redigeres om nødvendigt.


Enhver spids, der ligger inden for en bins definerede område, vil blive tildelt til denne bin. Hvis to bins ligger tæt på hinanden, vil spidsen blive tildelt til den bin, der er nærmest.

Bemærk: Bins behøver ikke være placeret visuelt for at bedømme spidspositioner. Placer bins i det omtrentlige interesseområde, og benyt derefter de faktisk rapporterede værdier i resultat Tabellen for at få et mere nøjagtigt resultat.


Peak Bins (Spidsbins):

En bin defineres ved at trykke på knappen New Bin (Ny bin) og derefter klikke på grafen og holde knappen nede for at definere denne bins centrum. Der kan tilføjes flere bins ved at gentage fremgangsmåden. Bins slettes ved at trykke på knappen Remove (Fjern).

Threshold (Tærskelværdi):

Tærskelværdien (y-aksen) indstilles ved at klikke på ikonet  og derefter klikke på grafen, holde knappen nede og trække tærskellinjen til det ønskede niveau.

Temperature Threshold
(Temperatürtærskel):

Der kan indstilles en temperatürtærskel (x-akse) ved at klikke på ikonet  og derefter klikke på grafen, holde knappen nede og trække tærskellinjen mod højre. Dette fjerner tærskellinjen for de lavere temperaturer.

Bemærk: Dette kan være praktisk, når der er støj i signalet ved lave temperaturer.

Rapporter

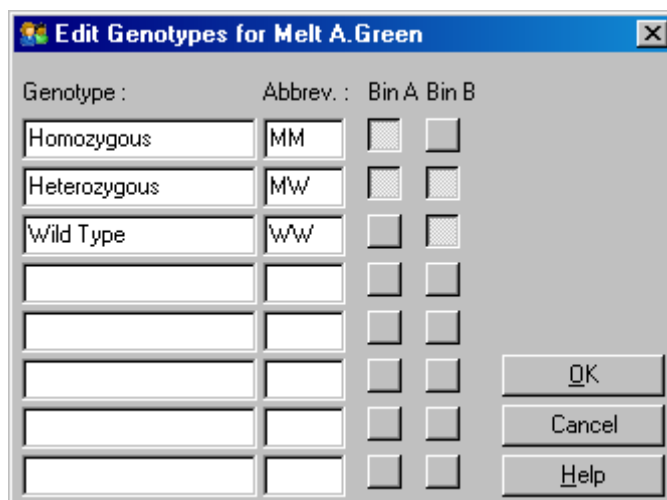
Denne knap åbner vinduet Report Browser (Rapportbrowser), hvor der kan vælges en rapport til gennemsyn. Der kan genereres en rapport på grundlag af den aktuelt valgte kanal, eller der kan genereres en genotypebestemmelsesrapport for flere kanaler.

Resultater

Denne knap åbner vinduet Melt Curve Results (Smeltekurveresultater), der viser prøvespidser.

Genotyper

Klik på Genotypes... (Genotyper...) og vælg genotyperne, som vist nedenfor.

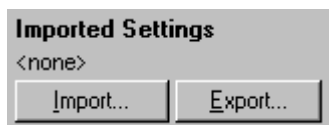


I dette vindue kan der tildeles genotyper til forekomsten af spidser i bins. Standardkonfigurationen af genotyper er vist på skærbilledet med prøver af typen "Heterozygous" (Heterozygotisk) med to spidser, prøver af typen "Homozygous" (Homozygotisk) med en spids i den første bin og prøver af typen "Wild Type" (Vildtype) med en spids i den anden bin. Der kan indtastes en forkortelse i feltet ud for hver genotypes navn. Denne benyttes ved udskrivning af genotypebestemmelsesrapporter for flere kanaler, så alle resultater fra flere kanaler nemt kan aflæses.

For multiplex-analyse skal genotyperne konfigureres i hver kanal. Hvis der f.eks. køres en slukket FRET-analyse med to kanaler, hvor der forventes en vildtype og en heterozygotisk genotype i hver kanal, skal binparametrene konfigureres hver kanal. Resultaterne vil derefter blive genereret i en multiplex-rapport.

Smelteanalysekabeloner

Smelteanalysekabeloner giver brugeren mulighed for at eksportere normaliserings-, tærskel-, genotype- og binindstillinger til en enkelt *.met-fil. Denne fil kan importeres og genanvendes i andre eksperimenter. Se afsnit 7.1 for yderligere oplysninger.



6.6.6 Komparativ kvantificering

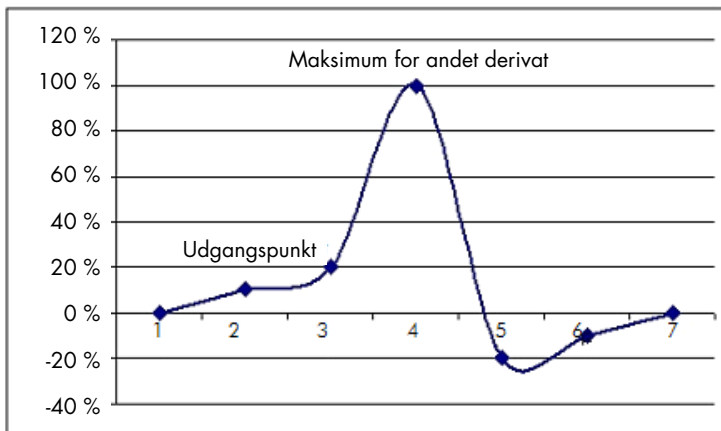
Ved komparativ kvantificering sammenlignes den relative ekspresion af prøver med en kontrolprøve i en kørsel, hvor der ikke er en tilgængelig standardkurve. Dette anvendes ofte ved microarray-analyse. Warton og kolleger (2004)* giver et eksempel på denne teknik.

1. Analysen udføres ved at vælge Other (Andet) og derefter Comparative quantitation (Komparativ kvantificering) i vinduet Analysis (Analyse). Dobbeltklik på kanalen, der skal analyseres.
2. Vælg en kontrolprøve i rullemenuen i højre side af skærmen under omskifteren.
3. Resultaterne beregnes automatisk og vises i vinduet Comparative Quantitation Results (Resultater af komparativ kvantificering) under grafen.

Den første kolonne i vinduet Comparative Quantitation Results (Resultater af komparativ kvantificering) viser prøvenummer og -navn. Kolonnen Takeoff (Udgangspunkt) viser prøvens udgangspunkt. Amplifikationsdiagrammets andet derivat danner spidser svarende til den maksimale stigningsprocent for fluorescens i reaktionen. Udgangspunktet defineres som den cyklus, hvor det andet derivat er på 20 % af maksimumniveauet, og angiver afslutningen på støjen og overgangen til den eksponentielle fase.

Denne graf viser et amplifikationsdiagrams andet derivat med angivelse af de relative positioner for det andet derivats spidser og udgangspunktet.

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



Kolonnen "Amplification" (Amplifikation) viser prøvens effektivitet. En 100 % effektiv reaktion ville resultere i en amplifikationsværdi på 2 for hver prøve, hvilket betyder, at amplitonen er fordoblet i hver cyklus. I rådataene bør signalet blive fordoblet i den eksponentielle fase. Hvis signalet f.eks. var 50 fluorescenseenheder ved cyklus 12 og derefter 51 fluorescenseenheder ved cyklus 13, bør det stige til 53 fluorescenseenheder ved cyklus 14. Gennemsnittet af alle amplifikationsværdier for hver prøve beregnes for at finde den amplifikationsværdi, der vises til højre på skærmen under omskifteren. Jo større variationen er mellem de anslåede amplifikationsværdier for hver prøve, desto større vil konfidensintervallet blive (vist som værdien efter \pm -tegnet). Konfidensintervallet for et stort prøveantal (N) giver en sandsynlighed på 68,3 % for, at prøvernes faktiske amplifikation ligger inden for området (1 standardafvigelse). Ved at fordoble \pm -intervallet fås et konfidensinterval på 95,4 % for et stort N.

Kalibratorreplikater

Ligesom i delta delta C_T -metoden kræves der en kalibratorprøve, og målingerne beregnes i forhold til denne kalibratorprøve. Der kan analyseres replikater af kalibratoren, idet hvis flere prøvepositioner har samme navn, vil gennemsnittet af udgangspunkterne for disse prøver blive anvendt. For at bruge denne funktion korrekt skal du sikre dig, at replikaterne har identiske navne.



Den gennemsnitlige amplifikation anvendes til at beregne ekspressionen. Eksempelvis vil en prøve med en lav amplifikationsværdi tage længere tid om at nå et bestemt absolut kopiantal end en prøve med en højere amplifikationsværdi. Kolonnen "Rep. Conc." (Replikatkonzentration) i vinduet Comparative Quantitation Results (Komparative kvantificeringsresultater) giver den relative koncentration. Den relative koncentration af hver prøve sammenlignet med kalibratorprøven beregnes baseret på udgangspunktet og reaktionseffektiviteten. Dette udtrykkes i videnskabelig notation.

Bemærk: Den værdi, der vises i Average Amplification (Gennemsnitlig amplifikation) til højre for \pm , repræsenterer standardafvigelsen af den gennemsnitlige amplifikation efter fjernelse af afvigende amplifikationsværdier. Hvis denne værdi er stor, kan der være en stor fejl i de samlede beregnede koncentrationstværdier.

Relative koncentrationer beregnes af softwaren som følger:

1. Udgangspunktet for hver prøve beregnes ved at se på det andet derivats spidser.
2. Den gennemsnitlige stigning i rådata 4 cyklusser efter udgangspunktet beregnes. Dette er prøvens amplifikationsværdi.
3. Afvigende amplifikationer fjernes for at tage højde for støj i baggrundsfluorescens.
4. Der beregnes et gennemsnit af de resterende amplifikationer. Dette er den gennemsnitlige amplifikation.
5. Det gennemsnitlige udgangspunkt beregnes for hvert kalibratorrepliket.
6. Den relative koncentration for en prøve beregnes som $\text{Amplifikation}^{(\text{Kalibratorudgangspunkt} - \text{Prøveudgangspunkt})}$.
7. Resultatet vises i videnskabelig notation i kolonnen "Rep. Conc." (Replikatkoncentration) i vinduet Comparative Quantitation Results (Komparative kvantificeringsresultater).

6.6.7 Alleldifferentiering

Alleldifferentiering anvender kinetikdata i realtid fra to eller flere kanaler til at foretage genotypebestemmelse af prøver. For at udføre denne analyse skal du vælge Other (Anden) og derefter Allelic Discrimination (Alleldifferentiering) i vinduet Analysis (Analyse). Når du udfører alleldifferentiering, er det ikke nok at dobbeltklikke på én kanal for at analysere, fordi denne analyse udføres ved hjælp af to kanaler samtidigt. For at udføre denne analyse skal du enten holde Ctrl nede og klikke for at fremhæve hver kanal, du vil analysere, eller trække musemarkøren hen over disse kanaler. Når de ønskede kanaler er blevet fremhævet, skal du klikke på Show (Vis). Listen opdateres, så alle kanalerne vises på én linje med et flueben ved siden af hver. Dette indikerer, at de alle vil blive brugt i én analyse. For at fjerne en eller flere af disse kanaler skal du højreklikke på analysen og vælge Remove Analysis... (Fjern analyse...). Disse kanaler kan derefter inkluderes i en anden alleldifferentieringsanalyse. En kanal kan kun bruges i én analyse ad gangen.

Reports (Rapporter): Denne funktion åbner rapporten "Allelic Discrimination Analysis" (Alleldifferentieringsanalyse) til forhåndsvisning.

Results (Resultater): Denne funktion viser vinduet Allelic Discrimination Results (Alleldifferentieringsresultater). Dette vindue åbnes som standard, når analysen vises første gang.

Valgmuligheder for normalisering:

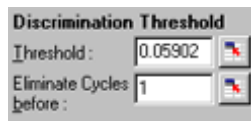
En række valgmuligheder er tilgængelige til at optimere normalisering af rådata:

- Dynamic Tube (Dynamisk rør) (dynamisk rørnormalisering)
- Slope Correct (Hældningskorrigering) (støjhældningskorrigering)
- Ignore First x cycles (Ignorer første x cyklusser) (korrigering for støj i indledende cyklusser)
- Justering af udgangspunkt

For yderligere oplysninger, se side 94.

Discrimination Threshold (Differentieringstærskel):

Indtast værdier i disse tekstbokse for at placere differentieringstærsklen. Alle kurver, der passerer denne tærskel, anses for at være genotypebestemmelsesprøver. Klik på ikonet til højre for hver tekstboks, og træk derefter tærsklen på grafen for at indstille disse værdier visuelt.



Genotypes (Genotyper):

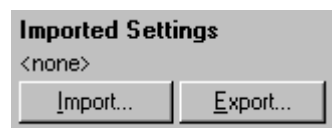
Denne funktion åbner vinduet Genotyping (Genotypebestemmelse), som anvendes til at definere, hvilken genotype der detekteres i hver kanal. Dette vindue gør det muligt at tildele genotyper til kanaler med henblik på analyse af alleldifferentiering.

I eksemplet nedenfor er en prøve heterozygot, hvis målingerne i kanalerne Cycling A.Green og Cycling A.Yellow krydser tærsklen.



Allelanalysekabeloner:

Allelanalysekabeloner muliggør eksport af normaliserings-, tærskel- og genotypeindstillinger til en enkelt *.alt-fil. Denne fil kan importeres og genanvendes i andre eksperimenter. Se afsnit 7.1 for yderligere oplysninger.



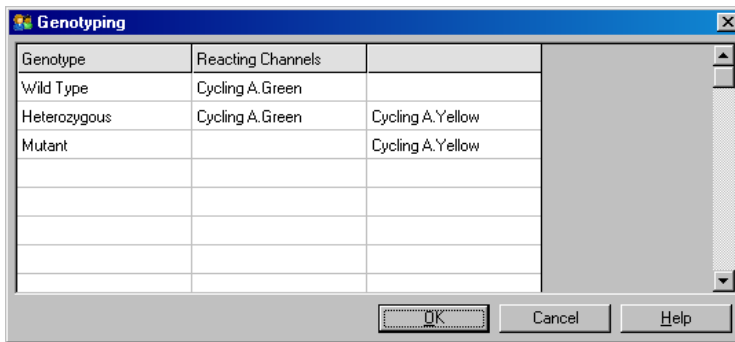
6.6.8 Spredningsdiagramanalyse

Spredningsdiagramanalyse muliggør genotypebestemmelse baseret på den relative ekspresion af amplifikationsdiagrammer på to kanaler. I modsætning til alleldifferentiering bestemmes genotype baseret på regioner, der er defineret ud fra spredningsdiagrammet snarere end fra en enkelt tærskel. Analysen udføres ved at vælge Other (Anden) og derefter Scatter Graph Analysis (Spredningsdiagramanalyse) i vinduet Analysis (Analyse).

Når du udfører spredningsdiagramanalyse, er det ikke nok at dobbeltklikke på én kanal for at analysere, fordi denne analyse udføres ved hjælp af to kanaler samtidigt. For at udføre denne analyse skal du enten holde Shift nede og klikke for at fremhæve de kanaler, der skal analyseres, eller trække musemarkøren hen over kanalerne. Når de ønskede kanaler er blevet fremhævet, skal du klikke på Show (Vis).

Listen opdateres, så alle kanalerne vises på én linje med et flueben ved siden af hver. Dette indikerer, at de alle vil blive brugt i én analyse. For at fjerne en eller flere af disse kanaler skal du højreklikke på analysen og vælge Remove Analysis... (Fjern analyse...). Disse kanaler kan derefter inkluderes i en anden spredningsdiagramanalyse. En kanal kan kun bruges i én analyse ad gangen.

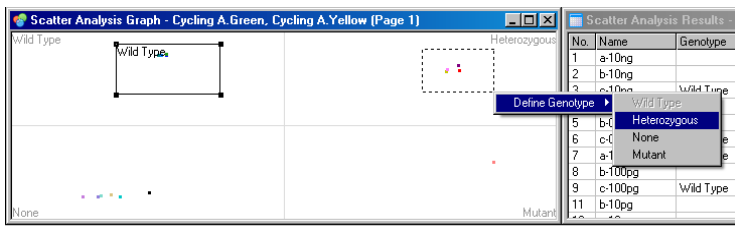
Reports (Rapporter):	Denne funktion åbner rapporten Scatter Analysis (Spredningsanalyse) til forhåndsvisning.
Results (Resultater):	Denne funktion viser vinduet Scatter Analysis Results (Spredningsanalyseresultater). Dette vindue åbnes som standard, når analysen vises første gang.
Valgmuligheder for normalisering:	<p>En række valgmuligheder er tilgængelige til at optimere normalisering af rådata:</p> <ul style="list-style-type: none">• Dynamic Tube (Dynamisk rør) (dynamisk rørnormalisering)• Slope Correct (Hældningskorrigering) (støjhældningskorrigering)• Ignore First x cycles (Ignorer første x cyklusser) (korrigering for støj i indledende cyklusser)• Justering af udgangspunkt <p>For yderligere oplysninger, se side 94.</p>
Genotypes (Genotyper):	Denne funktion åbner vinduet "Genotyping" (Genotypebestemmelse), som anvendes til at definere, hvilken genotype der detekteres i hver kanal. I dette vindue kan der tildeles genotyper baseret på de kanaler, hvori en prøve reagerer. De valgte kanaler vil blive brugt til at afmærke hjørnerne af spredningsdiagrammet og vil guide brugeren til det generelle område af spredningsdiagrammet, hvor regionerne bør være defineret.



Spredningsdiagram:

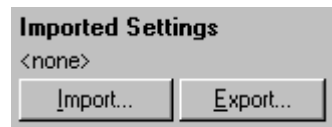
Spredningsdiagrammet viser den relative ekspression for de to valgte kanaler. Displayet er normaliseret for at tage højde for forskellige multiplikationsstigninger i hver kanal og logtransformeret for at fremhæve forskellene i ekspression mellem prøver.

For at udføre genotypebestemmelse definerer brugeren regioner ved at klikke på og trække en markering på grafen. Udvælgelsen kan derefter mærkes baseret på de genotyper, der er konfigureret i vinduet "Genotyping" (Genotypebestemmelse).



Skabeloner til spredningsdiagramanalyse:

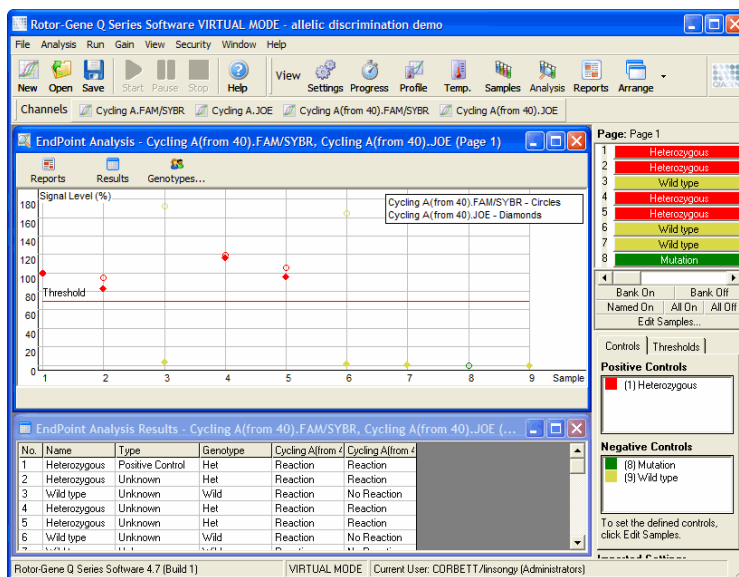
Skabeloner til spredningsdiagramanalyse gør det muligt at eksportere genotype- og regionsindstillinger til en enkelt *.sct-fil. Denne fil kan importeres og genanvendes i andre eksperimenter. Se afsnit 7.1 for yderligere oplysninger.



6.6.9 Endepunktsanalyse

Endepunktsanalyse gør det muligt at differentiere mellem amplificerede og ikke-amplificerede prøver ved slutningen af en kørsel. Resultaterne er kvalitative (positive/negative), ikke kvantitative.

Endepunktsanalyse er vist på skærbilledet nedenfor.



Endepunktsanalyse ligner alleldifferentiering, idet resultaterne er kvalitative, og da der kan tildeles navne til bestemte permutationer af reaktioner på forskellige kanaler. Med endepunktsanalyse er der dog kun en enkelt måling til rådighed, i modsætning til alleldifferentiering, som anvender en cyklus for cyklus-måling for hver prøve. Det betyder, at brugeren skal identificere positive og negative kontroller for at lette udførelsen af analysen. For de rå data er signalniveauer normaliseret i forhold til de kendte positive og negative kontroller for hver kanal. Brugeren vælger derefter et procentsignalniveau som tærskel.

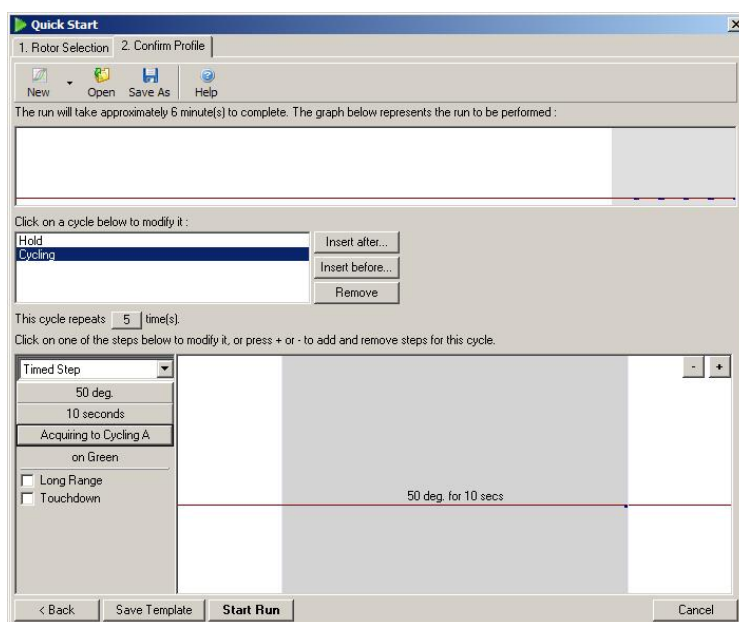
Udtryk, der anvendes i endepunktsanalyse

Nogle af de udtryk, der anvendes i endepunktsanalyse, er forklaret nedenfor.

- Positiv kontrol: Dette er en prøve, som vides at amplificere.
- Negativ kontrol: Dette er en prøve, som vides ikke at amplificere. Dette repræsenterer det typiske baggrundssignal.
- Tærskelværdi: Tærsklen er et signalniveau, over hvilket en prøve siges at være positiv (amplificeret). Denne indstilling skal justeres af brugeren for hver enkelt kørsel.

Signalniveau:	En procentdel af fluorescerende signal, normaliseret, således at det højeste signal fra de positive kontroller er 100 %, og det laveste signal fra de negative kontroller er 0 %.
Genotype:	En fortolkning af forskellige permutationer af reaktioner på forskellige kanaler. For eksempel kunne genotypen "heterozygot" tildeles prøver, der reagerede i begge kanaler, grøn og gul. Genotypen kan også bruges til at rapportere resultaterne af reaktioner med interne kontroller. For eksempel kan resultater rapporteres som "hæmmede", "positive" eller "negative", afhængigt af om der blev set en reaktion i bestemte kanaler eller ej.

Profilkonfiguration



For at udføre endepunktsanalyse skal du køre en profil med et stop ved 50 °C i flere minutter, derefter et cyklustrin med 1 trin (50 °C i 10 s), der indhentes på den nødvendige kanal. Indstil antallet af gentagelser til 5 som vist ovenfor. Disse tider er kun vejledende og kan variere for din specifikke anvendelse. Jo flere gentagelser i profilen, jo flere oplysninger bliver der tilgængelige til at udføre analysen. Analysen vil automatisk tage gennemsnittet alle aflæsningerne for at opnå en enkelt værdi for hver prøve. Der kræves ikke noget specifikt antal gentagelser. Medmindre der kræves et meget højt niveau af nøjagtighed, er fem gentagelser normalt tilstrækkeligt.

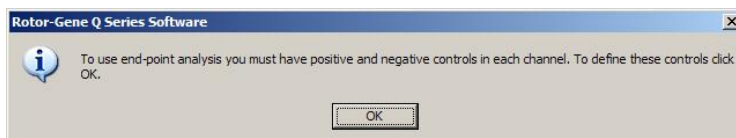
Analyse

Endepunktsanalyse kan udføres på en række kanaler samtidigt. For at oprette en ny analyse skal du klikke på fanen EndPoint (Endepunkt), vælge kanalerne ved at trække musemarkøren hen over dem og derefter klikke på Show (Vis).



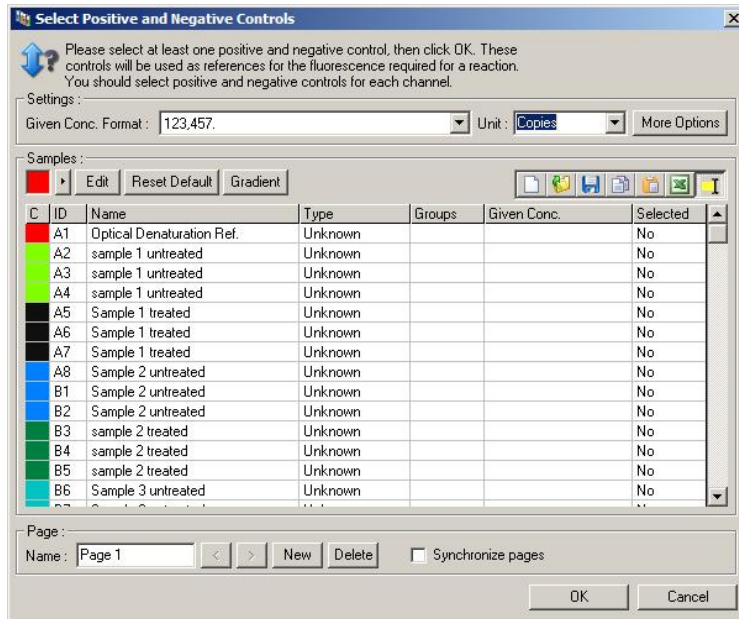
Definere kontroller

Når en endepunktsanalyse åbnes for første gang, og der ikke er defineret positive og negative kontroller, vil følgende meddelelse blive vist.



Klik på OK. Vinduet Edit Samples (Rediger prøver) vises, så positive og negative kontroller kan defineres. For at definere en prøve som en positiv eller negativ kontrol skal du klikke på prøvetypecellen og derefter vælge den relevante kontroltype fra rullemenuen.

Bemærk: Kontrollerne skal slås "til" ved at bruge omskifteren i højre side af hovedvinduet, for at analysen kan udføres.



Dette skærbillede fungerer på samme måde som vinduet Edit Samples (Rediger prøver) (afsnit "Opsætning af prøver").

Normalisering

Normalisering af endepunktsanalyserdata skalerer alle signalniveauer til intervallet 0-100 %. Der skal vælges mindst én positiv og én negativ kontrol, eller flere, hvis man analyserer flere kanaler, og standarderne ikke multiplekser. Hvis der er risiko for, at en positiv kontrol muligvis ikke forstærkes, bør der køres mere end én positiv og én negativ kontrol.

1. For hver kanal analyseres alle positive kontroller, og den med den højeste fluorescens sættes til 100 %. Det betyder, at hvis der køres dupliserede kontroller, kan en positiv kontrol mislykkes uden at påvirke kørslen.
2. Alle de negative kontroller analyseres, og den med det laveste fluorescensniveau sættes til 0 %.
3. De rå fluorescensværdier for de resterende prøver skales i forhold til den højeste positive kontrol og den laveste negative kontrol.

For eksempel:

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

Denne kørsel var vellykket, da de 2 positive og 2 negative kontroller er tæt på hinanden og er uden for fluorescensværdierne for prøverne.

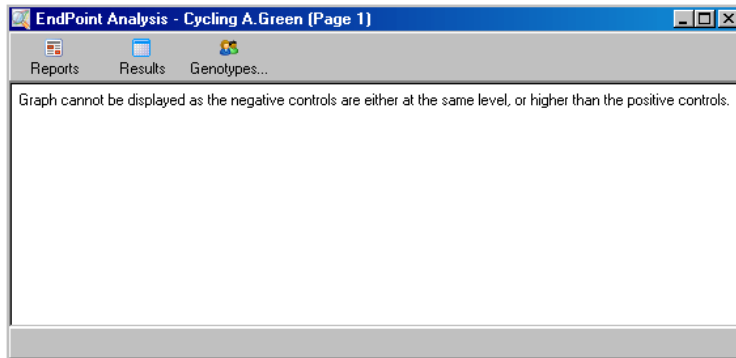
De normaliserede værdier er:

Prøve	Type	Ekspression (%)
1	Positiv kontrol	100,0
2	Positiv kontrol	97,3
3	Negativ kontrol	0,4
4	Negativ kontrol	0,0
5	Prøve	84,2
6	Prøve	4,0

Prøve 1 var den positive kontrol, som havde den højeste fluorescens, så den blev sat til 100 %. De øvrige positive kontroller var en smule lavere. Prøve 4, den laveste negative kontrol, blev sat til 0 %. Det er nu klart, at prøve 5 sandsynligvis blev amplificeret, hvorimod prøve 6 sandsynligvis ikke blev amplificeret.

Bemærk: Afhængigt af de valgte positive og negative kontroller er det muligt at opnå ekspressionsniveauer på mere end 100 % eller mindre end 0 %. Et resultat på mere end 100 % kan fortolkes til at betyde, at prøven er eksprimeret i højere grad end de positive kontroller. Et resultat på mindre end 0 % kan fortolkes til at betyde, at det er mindre sandsynligt, at prøven blev amplificeret, end at de negative kontroller blev amplificeret. Da denne analyse er kvalitativ, er sådanne resultater ikke et problem.

Hvis de negative kontroller resulterer i højere fluorescens end de positive kontroller, er prøverne sat forkert op, og følgende meddelelse vises.



Normalisering i flere kanaler

Det er muligt at analysere signaldata fra flere kanaler, men prøveopsætningen er mere kompleks. Endepunktsanalyse antager, at der udføres multipleksing, og derfor kan hvert rør kun have en enkelt rørposition. Det er i øjeblikket ikke muligt at analysere en opsætning, hvor en prøveposition er en positiv kontrol for én kanal og en negativ kontrol for en anden.

Selvom der kun gives én prøvedefinition pr. rørposition i vinduet Edit Samples (Rediger prøver), sker normalisering uafhængigt for hver kanal.

Hvis en rørposition er en positiv kontrol for mindst én kanal, skal den angives som en positiv kontrol i kolonnen "Type" i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Ellers skal dens type være Sample (Prøve). Dette gælder også for negative kontroller.

Hvis en prøve eksempelvis er en positiv kontrol i den grønne kanal, men ikke i den gule kanal, skal prøven stadig defineres som en positiv kontrol. Da den højeste positive kontrol i hver kanal bruges, ignoreres definitionen af prøven som en kontrol for den grønne kanal, hvis der er mindst én positiv kontrol i den gule kanal, der amplificeres.

Tærskelværdi

Tærsklen bruges til at bestemme den procentvise ekspresion, der kræves for en reaktion i hver kanal. Når de positive og negative kontroller er blevet defineret, vil alle kanaler blive normaliseret til den samme 0-100 %-skala. Af denne grund er der kun behov for én tærskel, selv når der analyseres flere kanaler.

Klik og træk tærskellinjen til et område mellem 0 og 100. Tærsklen bør ikke være for tæt på prøver på begge sider af linjen, fordi dette indikerer, at kørslen ikke var entydig. Hvis forskellen mellem en prøve, der defineres som amplificeret eller ikke amplificeret, blot er nogle få procent, betyder det, at hvis reaktionen blev gentaget, kunne prøven dukke op på den anden side af tærsklen.

Genotyper

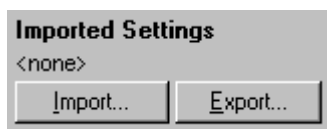
Denne valgmulighed åbner vinduet Genotyping (Genotypebestemmelse), som anvendes til at definere, hvilken genotype der detekteres i hver kanal.



Dette vindue gør det muligt at tildele genotyper til kanaler. I eksemplet ovenfor er en prøve heterozygot, hvis målingerne i kanalerne Cycling A.Green og Cycling A.Yellow krydser tærsklen.

Skabeloner til endepunktsanalyse

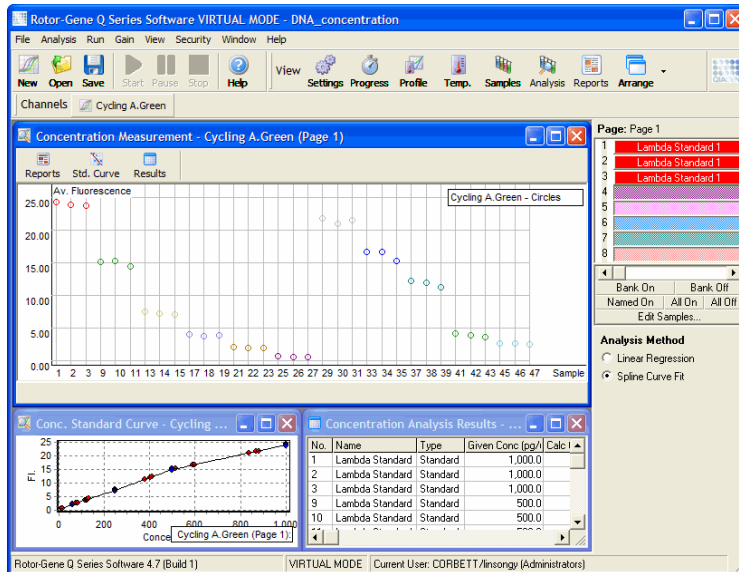
Skabeloner for endepunktsanalyser giver brugeren mulighed for at eksportere genotype- og tærskelindstillinger til en enkelt *.ent-fil. Denne fil kan importeres og genanvendes i andre eksperimenter. Se afsnit 8.1 for yderligere oplysninger.



6.6.10 Koncentrationsanalyse

Koncentrationsanalyse gør det muligt at bruge Rotor-Gene Q MDx til at måle DNA-koncentrationer eller til at opnå fluorometrimålinger.

Skærbilledet nedenfor viser denne analyse.



Klargøring af en kørsel

For at udføre koncentrationsanalyse skal du først klargøre fluorescerende standarder og prøver, ideelt set i tre eksemplarer.

Klargøring af standarder

Der anvendes en standardkurve til at bestemme koncentrationen af DNA fra hver målt prøve.

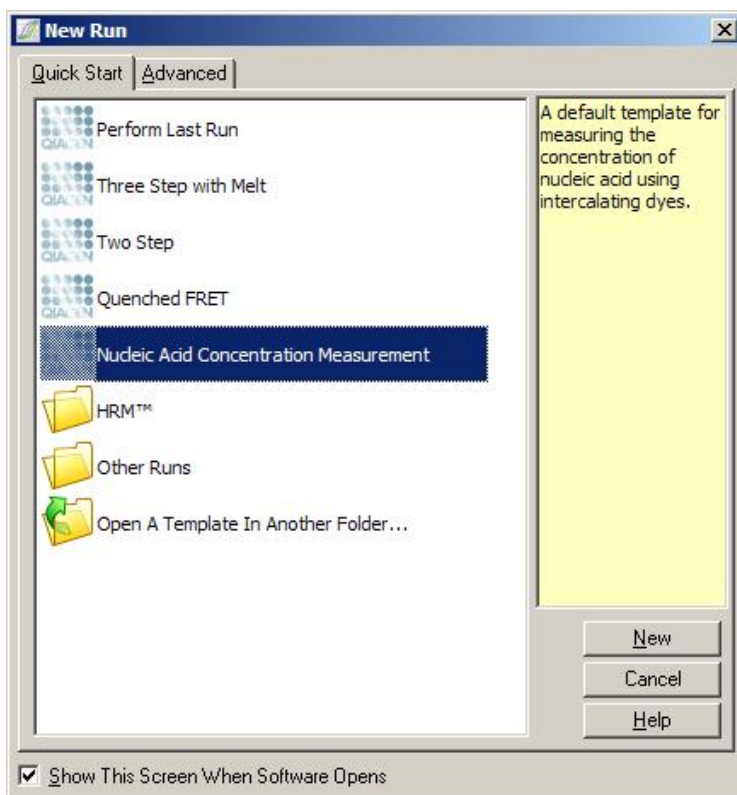
Det DNA, der bruges til standardkurven, skal være en tilsvarende type DNA som i de prøver, der måles. Koncentrationen af mindst én DNA-prøve skal bestemmes ved hjælp af ultraviolet spektrofotometri, og denne prøve skal bruges som standard. Der skal anvendes mindst tre standarder (med replikater). Det er vigtigt, at DNA-standarder, der bruges til fluorescensdetektion, kun er lineære inden for området 1-100 ng/µl. Hvis koncentrationen af DNA er halveret inden for dette interval, er fluorescensaflysningen det også. Konfidensintervallerne for enhver koncentration uden for dette interval er meget brede på grund af kemiens non-linearitet.

Type af målt DNA

Der er observeret forskelle i måling af forskellige former for DNA (f.eks. genomisk DNA sammenlignet med plasmid-DNA). Derfor bør kun ensartede DNA-typer måles sammen, og brugen af plasmid-DNA som standard bør undgås ved måling af genomisk DNA.

Kørselsopsætning

For at sætte en kørsel op skal du vælge Nucleic Acid Concentration Measurement (Måling af nukleinsyrekoncentration) i guiden Quick Start (Lynstart).



Bemærk: Sørg for, at en positiv kontrol, såsom en høj koncentrationsstandard, køres i rørposition 1. Uden en positiv kontrol vil softwaren ikke være i stand til at optimere forstærkningsindstillinger for at opnå maksimal sensitivitet. Du bliver bedt om dette før hver kørsel.

Analyse

Koncentrationsanalyse fungerer ved at relatere fluorescensniveauet til en koncentrationsværdi. Der er to tilgængelige analysemodeller. Den optimale analyse at vælge afhænger af kemien og anvendelsen.

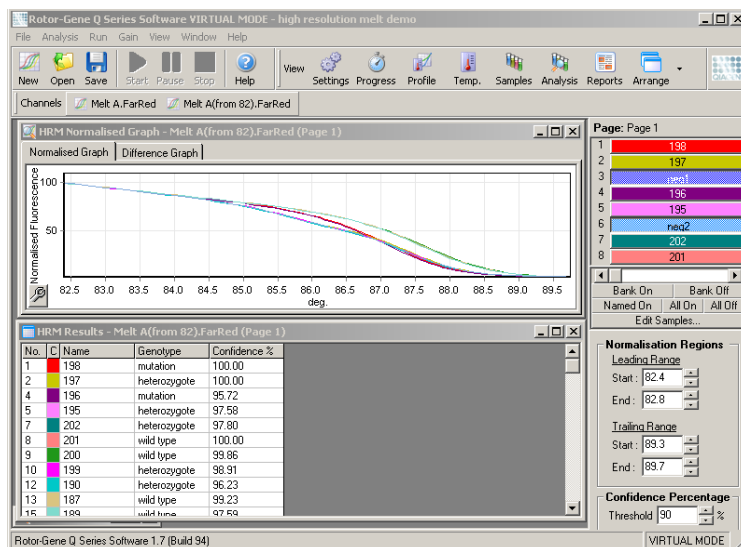
“Linear Regression” (Lineær regression) analyserer data ved at antage en lineær sammenhæng og estimere ukendte værdier på basis af en genereret lineær model. Den bestemmer målefejl ved at undersøge afvigelsen af målingerne fra en lineær model. Hvis koncentrationsmålingerne er lineære, er dette den bedst egnede analyse, fordi den giver brugeren statistisk analyse af variation (statistical analysis of variation, ANOVA).

"Spline Curve Fit" (Kurvetilpasning med splines) antager kun, at koncentrationsværdier stiger med fluorescens. Selvom denne tilgang gør estimater af ikke-lineære data mere nøjagtige, kan den ikke give ANOVA, da den ikke antager en lineær model.

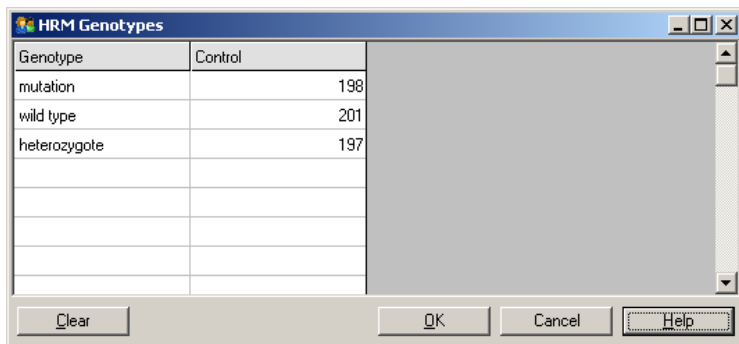
6.6.11 Analyse med højopløselig smeltning

Analyse med højopløselig smeltning (high resolution melt, HRM) karakteriserer prøver baseret på sekvenslængde, GC-indhold og komplementaritet. HRM-analyse bruges til genotypebestemmelser, såsom analyse af genmutationer eller enkeltnukleotidpolymorfismer (single nucleotide polymorphisms, SNP'er), og i epigenetiske applikationer til analyse af DNA-methyleringsstatus. HRM-analyse giver nøjagtige resultater og besparelser på probe- og etiketomkostninger sammenlignet med andre metoder.

Analysen udføres ved at vælge Other (Anden) og derefter High Resolution Melt Analysis (Analyse med højopløselig smeltning) i vinduet Analysis (Analyse). Dobbeltklik på kanalen, der skal analyseres. Smeltekurverne fra kanalen med rådata normaliseres ved at tage et gennemsnit af alle start- og slutfluorescensværdier og derefter tvinge slutpunkterne for hver prøve til at være de samme som gennemsnittet.



Automatisk bestemmelse af prøver opnås ved at klikke på Genotypes (Genotyper). Indtast navnet på genotypen efterfulgt af prøvenummeret, der bruges som en positiv kontrol til automatisk bestemmelse af ukendte prøver.



Se yderligere oplysninger om HRM-analyse i afsnit 10.

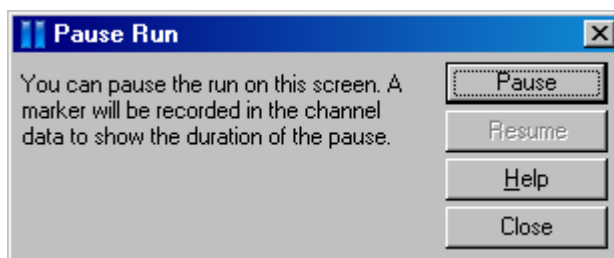
6.7 Kørselsmenuen

6.7.1 Start kørsel

Denne valgmulighed starter den definerede temperaturprofil med de aktuelle forstærkningsindstillinger. Før kørslen starter, vises vinduet the Profile Run Confirmation (Bekræftelse af profilkørsel). En grafisk repræsentation af temperaturprofilen vises sammen med forstærkningsindstillingerne for hver kanal.

6.7.2 Sæt kørsel på pause

Denne valgmulighed gør det muligt at sætte en kørsel på pause og at genoptage den. Pausesætning og genoptagelse kan i meget høj grad påvirke resultaterne af en kørsel. Af denne grund vil en markør i dataene angive, at kørslen blev sat på pause, og hvor lang pausen var. Der genereres også en meddelelse på meddelelsesfanen i vinduet Run Settings (Kørselsindstillinger) (se afsnit 6.8.1).



ADVARSEL



Varm overflade

Når der er pause i en kørsel, afkøles Rotor-Gene Q MDx ikke helt til stuetemperatur. Udvis forsigtighed før håndtering af rotor eller rør i instrumentet.

6.7.3 Stop kørsel

Hvis denne valgmulighed er valgt, vises en prompt, der beder om bekræftelse af, at kørslen skal stoppes.

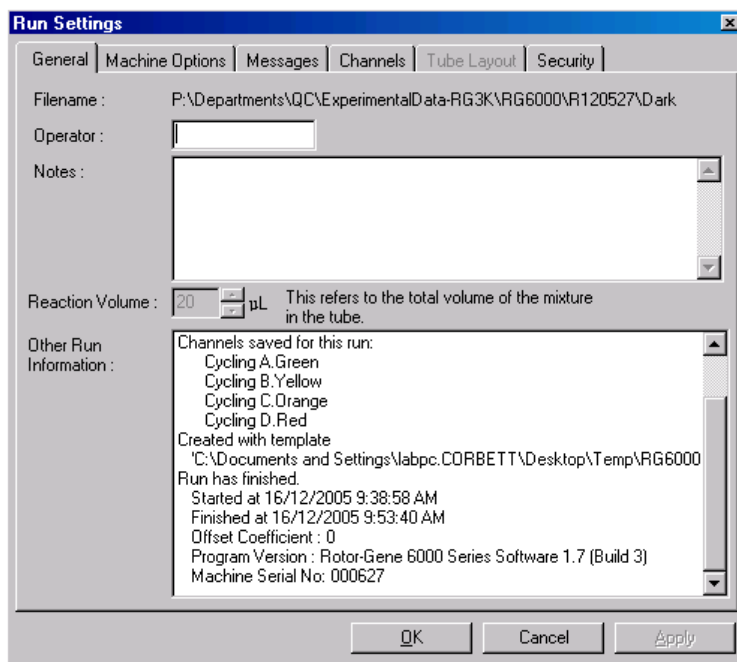
6.8 Menuen Vis

6.8.1 Kørselsindstillinger

Generelt

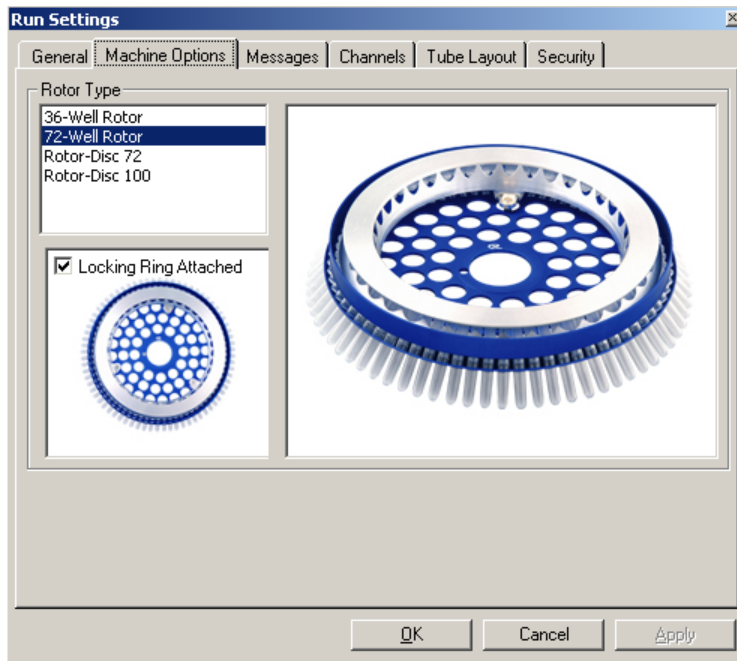
Dette vindue tillader opsætning af kørselsoplysninger, kørselsfilnavn, analysedato, bruger og eventuelle tilknyttede bemærkninger.

Vinduet indeholder alle oplysninger, bortset fra profilen, der kræves for at konfigurere en kørsel. Når en kørsel er afsluttet, vises følgende oplysninger i dette vindue: anvendt cykler, forstærkningsindstillinger, antal kanaler og tidspunkt for start og slut.



Maskinindstillinger

Denne fane viser konfigurationsindstillingerne for Rotor-Gene Q MDx.



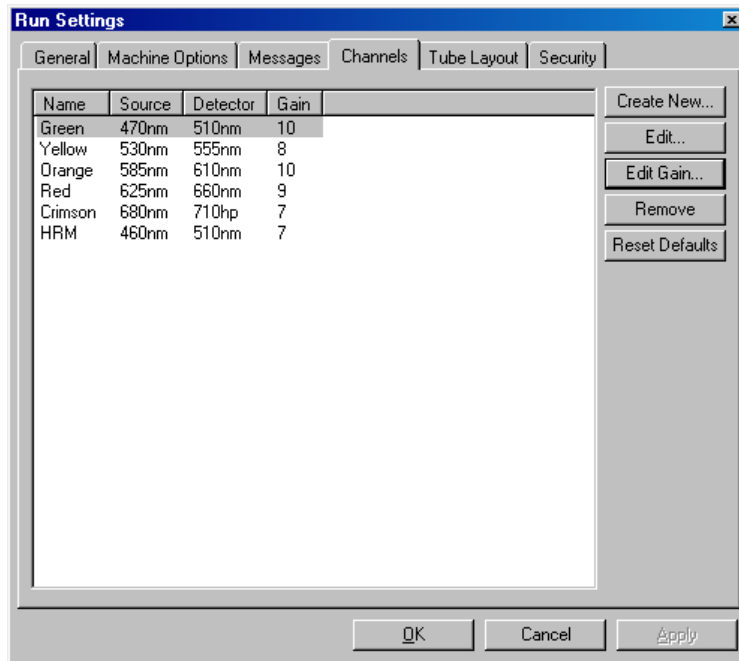
Rotoren skal indstilles til den, der aktuelt er installeret i Rotor-Gene Q MDx. Hvis du åbner en eksisterende kørsel, vil denne indstilling afspejle den rotor, der var installeret i cycleren på daværende tidspunkt.

Meddelelser

Denne fane viser meddelelser, der angiver, om brugeren har foretaget ændringer, såsom at sætte cycleren på pause eller springe cyklusser over under en kørsel. Den viser også modtagne advarsler under kørslen. Denne fane skal kontrolleres, hvis resultaterne ikke er som forventet.

Kanaler

Hvis du konfigurerer en ny kørsel, viser fanen kanaler den aktuelle konfiguration af de tilgængelige kanaler. Hvis du ser en eksisterende kørsel, repræsenterer de viste oplysninger kanalernes konfiguration, da kørslen blev udført. Hvis en kørsel ødelægger kanalindstillingerne, kan standardkanalerne gendannes ved at klikke på Reset Defaults (Nulstil standardindstillinger).



- Name (Navn): Dette er kanalens navn.
- Source (Kilde): Dette specificerer excitationbølglængden af kilde-LED'en.
- Detector (Detektor): Dette specificerer detektionsbølglængden og filtertypen (nm=båndpas, hp=højpas).
- Gain (Forstærkning): Dette specificerer forstærkningen for den pågældende kanal.
- Create New... (Opret ny...): Denne funktion giver mulighed for at oprette nye kanaler. Når der klikkes på Create New... (Opret ny...) åbner et vindue, hvor du bliver bedt om at angive et nyt navn, en kilde og et påvisningsfilter. Filtrene kan vælges ved hjælp af rullemenuen ved siden af hvert vindue.
- Channels (Kanaler): Den grønne, gule, orange og røde kanal er standardkonfigurationer til 4-kanals multipleksdetektion.

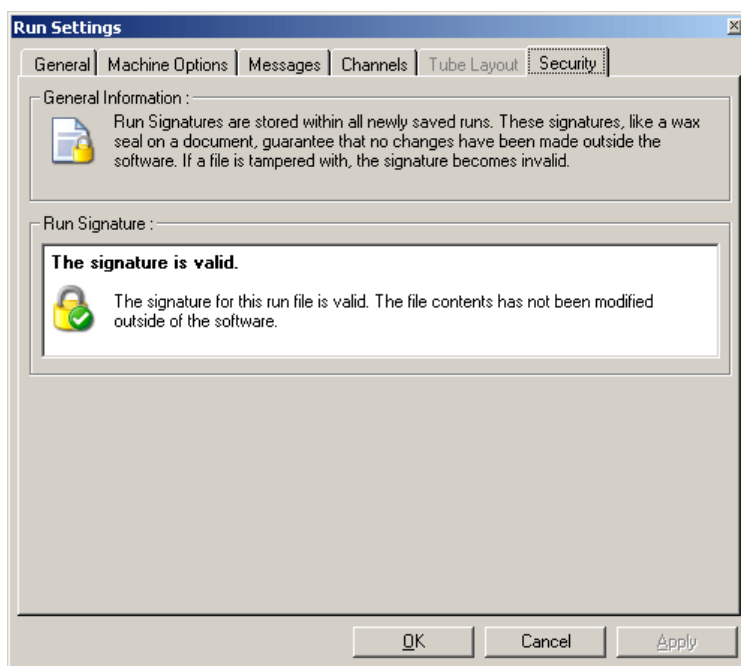
Rørlayout

Hvis du bruger en 72-Well Rotor, kan prøver arrangeres, så de matcher mærkningen på en 9 x 8- blok. Som standard tillader rørlayoutfanen, at prøver kan mærkes sekventielt (dvs. 1, 2, 3...). Dette betyder, at prøverne mærkes fortløbende i den rækkefølge, de placeres i Rotor-Gene Q MDx. Alternativt kan prøver mærkes 1A, 1B, 1C osv. Denne mulighed kan være nyttig, hvis prøverne blev sat op med en flerkanalspipette.

Sikkerhed

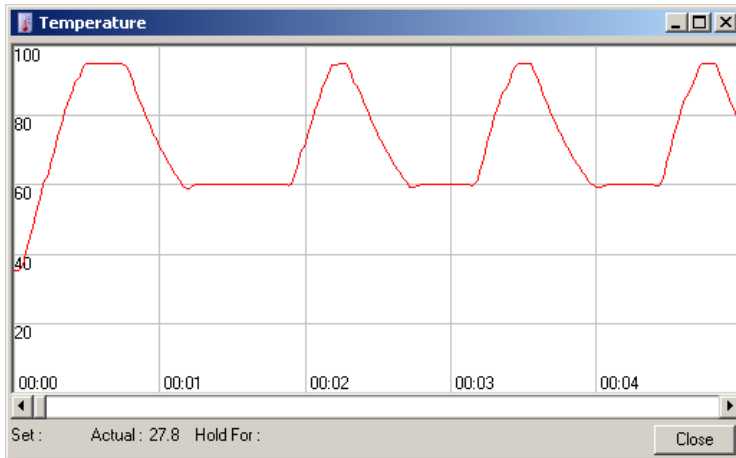
Sikkerhedsfanen viser oplysninger om kørselssignaturen. Kørselssignaturen er en irreversibel nøgle, der genereres på ny, hver gang filen ændres. Hvis nogen del af *.rex-filen ændres uden for softwaren, vil signaturen og filen ikke længere passe sammen. Ved at kontrollere signaturen bekræftes det, at rådataene ikke blev ændret uden for applikationen, at profilen ikke er blevet manipuleret, og at temperaturgrafen er gyldig. Signaturen beskytter også mod ødelæggelse såsom filsystemfejl.

Bemærk: Hvis *.rex-filer sendes via e-mail, kan krypteringsprocessen gøre signaturen ugyldig. For at undgå dette skal files zippes, inden den sendes med e-mail.



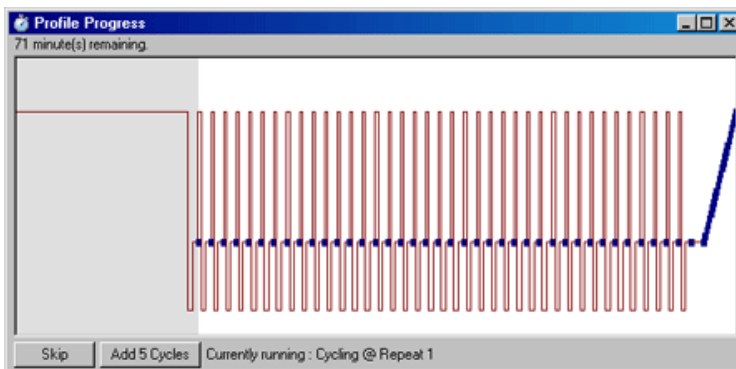
6.8.2 Temperaturgraf

Vælg Temperature Graph (Temperaturgraf) i menuen View (Vis), eller klik på knappen Temp. for at hente vinduet Temperature (Temperatur) frem. Grafen viser forløbet af de indstillede temperaturer under cyklusser. Den afspejler ikke en temperaturmåling i realtid. Mens kørslen skrider frem, vises tiden for Set (Indstillet), Actual (Faktisk) og Hold for hvert trin i programmet. For en eksisterende kørselsfil viser vinduet Temperature (Temperatur) temperaturhistorikken under kørslen. Den lodrette skala repræsenterer temperatur, og den vandrette skala repræsenterer tid. Brug rullepanelet til at rulle frem og tilbage i vinduet Temperature (Temperatur).



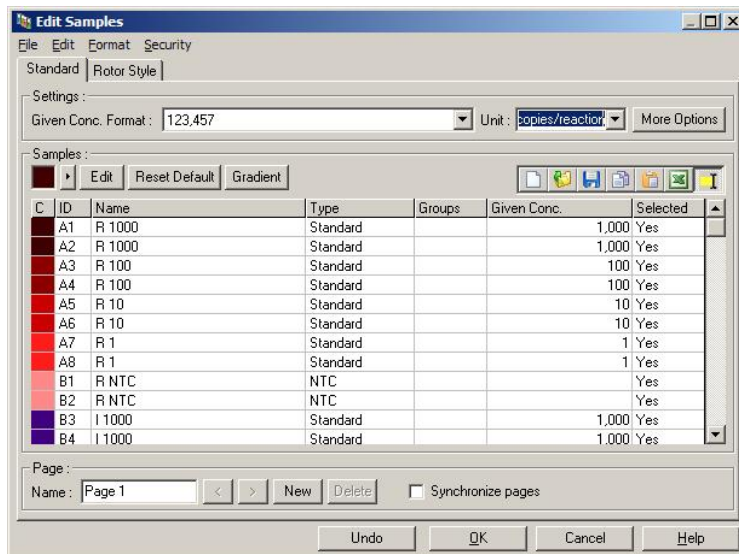
6.8.3 Løbende profilstatus

Vælg Profile Progress (Løbende profilstatus) i menuen View (Vis), eller klik på knappen Progress (Løbende status) for at hente vinduet Profile Progress (Løbende profilstatus) frem. Dette vindue viser en grafisk repræsentation af den termiske profil, der er forbundet med kørslen. Når du udfører en kørsel, angiver den skraverede del af vinduet antallet af cyklusser, der er blevet gennemført. Der er også et estimat på, hvor mange minutter kørslen vil tage at afslutte.



- Skip (Spring over): Med Skip (Spring over) kan man springe trin i profilen over.
- Add 5 Cycles (Tilføj 5 cyklusser): Add 5 Cycles (Tilføj 5 cyklusser) tilføjer fem gentagelser af det aktuelle cyklustrin.

6.8.4 Rediger prøver



Klik på knappen Samples (Prøver) for at hente vinduet Edit Samples (Rediger prøver) frem. Du kan også få adgang til vinduet Edit Samples (Rediger prøver) ved at højreklikke på prøvelisten til højre på skærmen. Dette vindue har samme funktionalitet som vinduet Edit Samples (Rediger prøver) i guiderne, bortset fra at værktøjslinjefunktionerne også er tilgængelige i menuerne File (Fil) og Edit (Rediger).

Der vises fire menuer øverst i vinduet, File (Fil), Edit (Rediger), Format og Security (Sikkerhed). Menuen File (Fil) bruges til at oprette et nyt (tomt) Edit Samples (Rediger prøver)-vindue for at åbne en eksisterende prøveskabelon eller for at gemme prøvenavne som en skabelon til fremtidig brug. Filtypen for disse skabelonfiler er *.smp. Via menuen Edit (Rediger) kan rækker kopieres og indsættes. Menuen Security (Sikkerhed) gør det muligt at låse prøvedefinitionerne.

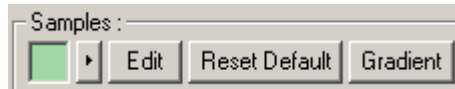
Bemærk: Hvis prøvenavnene angives meget hurtigt under kørslen (f.eks. med en strekkodescanner), kan det resultere i, at rækkefølgen af prøvenavnenes bogstaver ændres. Det anbefales derfor at undgå at bruge en strekkodescanner og eventuelt angive prøvenavnene, når kørslen er færdig.



Denne rullemenu bruges til at vælge et passende format til koncentrationsvisningen. Koncentrationer formateres automatisk i henhold til den aktuelt valgte placering.



I denne rullemenu indstilles måleenhederne for analysen.



Knap

Vigtighed

Linjetype:

Linjens typografi kan ændres for at forbedre læsbarheden af grafer på sort/hvid-printere. Nogle linjer kan fremhæves ved at ændre deres typografi. For at få adgang til denne funktion skal du klikke på højre pileknap ved siden af knappen Edit (Rediger).



Når der trykkes på "Edit" (Rediger), åbner farvevælgeren. Når der tildeles en farve til rør, kan der vælges flere rækker samtidig.



Klik på "Reset Default" (Nulstil standard) for at nulstille alle valgte farveceller til deres standardfarveværdier.



I "Gradient" kan der vælges en gradient fra den første til den sidste valgte farve. Der kan defineres flere gradienter i en prøveopsætning.



Ikonet New (Nyt) rydder vinduet Edit Samples (Rediger prøver), så det er klar til dataindtastning.



Ikonet Open (Åbn) åbner en dialogboks, hvori der kan vælges en Rotor-Gene Q MDx-fil til import.

Bemærk: Antallet af prøver i det åbne vindue og filen, der importeres, skal stemme overens.



Ikonet Save (Gem) åbner en dialogboks til indtastning af navnet og mappen, hvori en kopi af de aktuelle prøvedefinitioner vil blive gemt.



Ikonet Copy (Kopier) kopierer de valgte celler.



Ikonet Paste (Indsæt) indsætter celler, der er blevet valgt med kopieringskommandoen, på den aktuelt valgte position i diagrammet.



Excel-ikonet åbner en dialogboks, hvor der bedes om et filnavn og en mappe, hvori prøveoplysningerne skal gemmes. Når du har trykket på Save (Gem), åbnes Excel-filen automatisk.



Ikonet Append/Overwrite (Tilføj/Overskriv) ændrer redigeringen af celler i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Hvis overskriv er valgt, overskrives eksisterende data ved redigering. Hvis tilføj er valgt, tilføjes nye data i slutningen af eksisterende data ved redigering.

Prøvetyper:

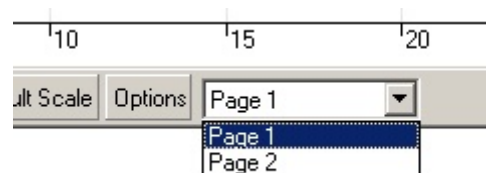
Prøver kan defineres som en af flere typer, der er anført i følgende tabel.

Prøvetype	Beskrivelse
None (Ingen)	Ingen prøve i den pågældende position
NTC	Kontrol uden skabelon
Negative Control (Negativ kontrol)	Negativ kontrol
Positive Control (Positiv kontrol)	Positiv kontrol
Unknown (Ukendt)	Ukendt prøve, der skal analyseres
Standard	Standardværdierne bruges til at konstruere en standardkurve til at beregne ukendte prøvekonzentrationer
Calibrator (RQ) (Kalibrator (RQ))	En kalibrator tildeles en værdi på 1, og alle andre prøvekonzentrationer beregnes i forhold til denne prøve

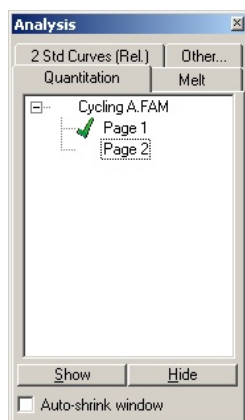
Page (Side):

Denne funktion giver brugeren mulighed for at have forskellige prøvedefinitioner og også separate eksperimenter i samme kørsel. Dette er nyttigt til analyse af forskellige produkter i forskellige kanaler. Brug pileknapperne til at navigere mellem siderne med prøver. Brug knapperne New (Ny) og Delete (Slet) til at oprette og slette sider. Det er muligt at have flere prøvedefinitioner for den samme kanal for at køre flere standardkurver uden multipleksing. Du skal blot definere interesseprøverne og deres relaterede standardkurver på separate sider. Den enkelte kanal kan derefter analyseres uafhængigt med hvert sæt definitioner. Siderne med prøver navngives Page 1 (Side 1), Page 2 (Side 2) osv., eller de kan tildeles et hvilket som helst navn (såsom "Husholdning"). Dette navn vises i rapporterne.

Når du ser rådataene, kan de prøvedefinitioner, der bruges til at vise dataene, vælges ved hjælp af rullemenuen ved siden af knappen Options (Indstillinger):



Den prøveside, der skal bruges, når der udføres en analyse, kan vælges i vinduet Analysis (Analyse) (se afsnit 6.6.1).



Given Conc.
(Given koncentration):

Dette viser koncentrationen for hver af standarderne. Enhederne kan defineres som et decimaltal eller et logtal. Hvis standarderne er en fortyndingsserie, er det kun nødvendigt at indtaste de første to standarder. Ved at trykke på ENTER tilføjer programmet automatisk den næste logiske fortynding i serien.

Linjetype:

Linjens typografi kan ændres for at forbedre læsbarheden af grafer på sort/hvid-printere. Nogle linjer kan fremhæves ved at ændre deres typografi. For at få adgang til denne funktion skal du klikke på højre pileknop ved siden af knappen **Edit** (Rediger).



Værktøjslinjen viser standardtypografien **Solid** (Kontinuerlig). Dette kan ændres til **Dashed** (Stiplet), **Dotted** (Prikket), **Hairline** (Meget tynd), **Thin** (Tynd) eller **Thick** (Tyk). Når du er færdig, skal du klikke på venstre pileknop for at vende tilbage til visningen Edit (Rediger), Reset Default (Nulstil standard) og Gradient.



Indtastning i flere rækker:

Hvis de samme oplysninger skal indtastes i flere rækker på én gang, skal du markere alle rækkerne og derefter begynde at skrive. Oplysningerne indsættes så i hver enkelt række. Dette virker også ved valg af prøvetyper, farver eller indtastning af koncentrationer.

Genvejstast til prøvetype:

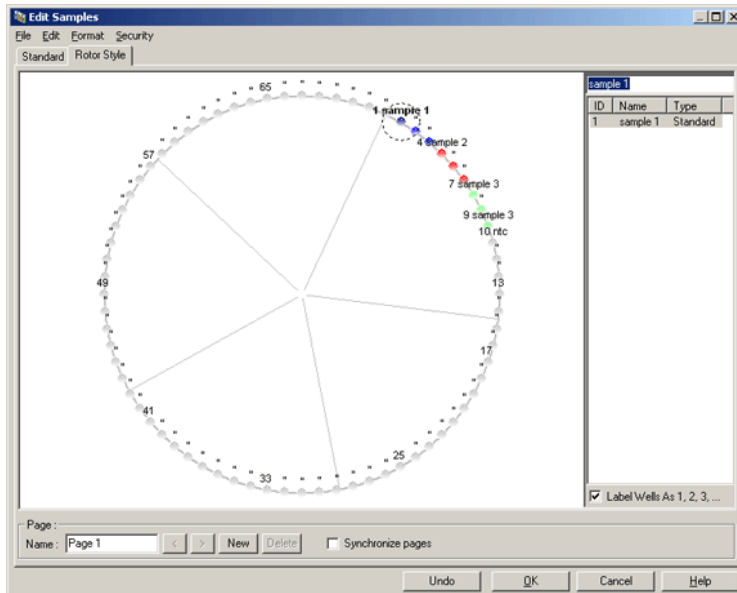
Indtast det første bogstav i navnet for hurtigt at vælge en prøvetype. For at indstille fem prøver til at være kontroller uden skabelon skal du vælge dem i prøvetypekolonnen og derefter trykke på N for NTC. Alle prøver konverteres til NTC.

Gem den, og genbrug den:

Der kan gemmes en komplet prøvebeskrivelse kan gemmes som en prøvefil (*.smp) og indlæses i fremtidige kørsler med den samme prøvekonfiguration.

Rotorstil

Denne fane i vinduet Edit Samples (Rediger prøver) frembyder en alternativ metode til indtastning af prøvenavne. Vælg replikater ved at klikke med musen og trække musemarkøren hen over rotorbilledet. Listen til højre i vinduet opdateres. Prøvenavnet kan indtastes, og dette vil angive det samme navn for det markerede valg. Softwaren kan registrere, at disse brønde er replikater.

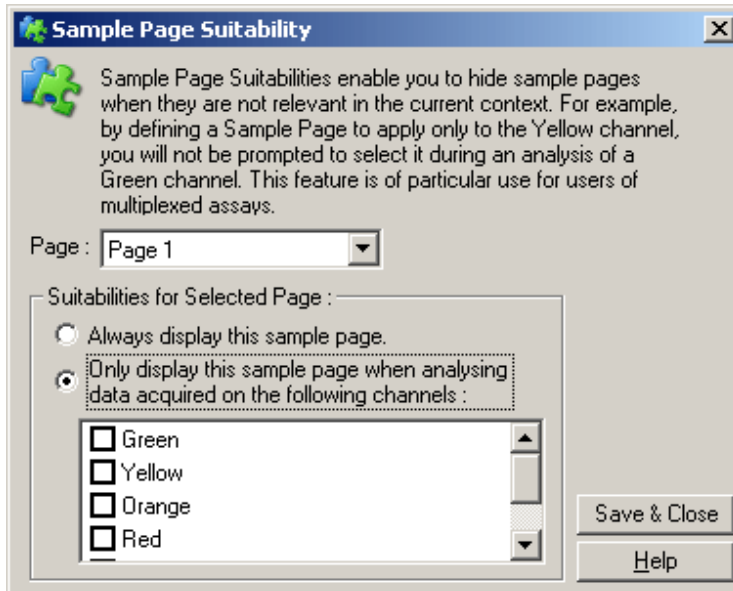


Fanen Rotor Style (Rotorstil) giver en reduceret version af fanen Standard og er designet til brugere, der ønsker at konfigurere prøvenavne og farver hurtigt. Der er nogle indstillinger, såsom om prøven repræsenterer en standard eller den kendte koncentration af hver standard, som ikke kan defineres på denne fane. Hvis disse skal defineres, skal det gøres på fanen Standard.

Egnethed af prøveside

For at få adgang til vinduet Sample Page Suitability (Egnethed af prøveside) skal du klikke på More Options (Flere indstillinger) i vinduet Edit Samples (Rediger prøver) og derefter klikke på Define Suitabilities (Definer egnetheder). Vinduet Sample Page Suitability (Egnethed af prøveside) giver brugerne mulighed for at matche prøvesider med kanaler. Eksempelvis kan prøvesiden for interessegenet gælde for den grønne kanal, og prøvesiden for husholdningsgenet kan gælde for den gule kanal. I dette eksempel reducerer opsætning af prøvesideegnethed antallet af tilgængelige analysemuligheder til kun at inkludere dem, der er relevante for den bestemte analyse.

Vinduet Sample Page Suitability (Egnethed af prøveside) er vist nedenfor.

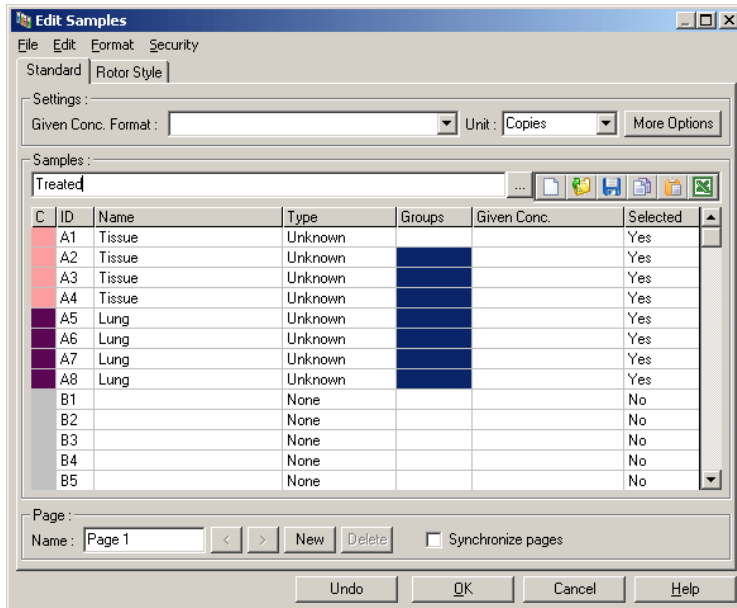


Bemærk: Når du opsætter en analyse, skal du oprette alle prøvesiderne og prøvesidens egnethed og derefter gemme dem som en skabelon. Dette reducerer mængden af opsætning, der kræves for hver kørsel.

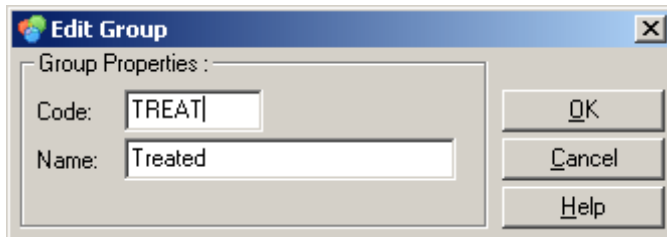
Grupper

Prøvegrupper gør det muligt at udregne statistik for en vilkårlig samling af prøver. I modsætning til replikater, som skal have identiske navne, kan prøver have et hvilket som helst navn, kan placeres hvor som helst i rotoren og kan tilhøre flere grupper.

1. For at definere en gruppe skal du skrive det fulde navn på gruppen ud for et eksempel og derefter trykke på ENTER.



2. Vinduet Edit Group (Rediger grupper) vises.

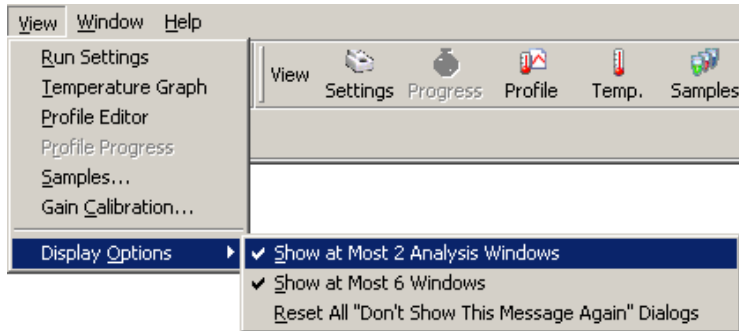


3. Definer en passende forkortelse, og klik derefter på OK. Forkortelsen kan nu anvendes ved opsætning af grupper. Samlede resultater, såsom gennemsnitsværdi og 95 % konfidensintervaller, beregnes automatisk for grupper i enhver analyse.

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]	

6.8.5 Visningsindstillinger

Menuen Display Options (Visningsindstillinger) er vist nedenfor.



Show at Most 2 Analysis Windows (Vis højst to analysevinduer):

Hvis denne mulighed er markeret, vises der maksimalt to analysevinduer samtidig. Hvis der åbnes flere vinduer, kan det påvirke læsbarheden. Hvis du markerer denne indstilling, lukkes det første analysevindue og erstattes med det sidst åbnede vindue. Hvis indstillingen ikke er markeret, kan der vises flere end to analysevinduer.

Show at Most 6 Windows (Vis højst seks analysevinduer):

For at forbedre læsbarheden fjerner softwaren ubrugte vinduer, når nye vinduer åbnes. Denne indstilling er aktiveret som standard, da den holder Rotor-Gene Q-software-skærmen ryddet. Hvis det er nødvendigt at få vist flere end seks vinduer samtidig, skal du fjerne markeringen af denne indstilling.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs (Nulstil alle dialogbokse med "Vis ikke denne meddelelse igen"):

Hvis dette er valgt, vil softwaren igen vise alle dialogbokse, hvor afkrydsningsfeltet Do not display this message again (Vis ikke denne meddelelse igen) var markeret. Disse omfatter meddelelser om mistænkelige indstillinger, der tidligere kan være indstillet til ikke at blive vist igen. Dette kan være nyttigt for en ny bruger, der ikke er bekendt med Rotor-Gene Q MDx- eller Rotor-Gene Q-softwaren.

6.9 Adgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-software

Bemærk: I dette kapitel beskrives adgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-software. Se *Brugervejledning til Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application* eller *Brugervejledning til Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application* for at få oplysninger om den relevante Rotor-Gene AssayManager-software.

Rotor-Gene Q-softwaren indeholder funktioner, der gør den i stand til at fungere sikkert. Når den er konfigureret korrekt, kan Rotor-Gene Q-softwaren sikre følgende:

- Adgang til Rotor-Gene Q MDx eller analyse-softwaren begrænses til brugergrupper
- Ændringer af kørselsfiler logges
- Uautoriserede ændringer opdages (signaturer)
- Skabeloner, der bruges til at udføre kørsler, logges
- Prøvenavne beskyttes

Integration med Windows Security

For at give et stærkt niveau af ansvarlighed administrerer Rotor-Gene Q-softwaren ikke sikkerhed internt. Konti, grupper og adgangskoder administreres alle ved hjælp af den indbyggede Windows-sikkerhedsmodel (Windows Security). Integration tillader brug af den samme adgangskode, som giver adgang til netværksfiler og programmer, til at kontrollere Rotor-Gene Q-softwareadgang, hvilket fører til mindre administration. I større organisationer kan netværksadministratorer for eksempel nemt fjerne adgangen til/for tidligere brugere på grund af den centraliserede sikkerhedsmodel.

Af denne grund involverer sikker opsætning af Rotor-Gene Q-softwaren primært konfiguration af Windows-sikkerhedsrollerne i henhold til bedste praksis.

Forudsætninger

For at bruge Security skal du køre Windows 10 eller Windows 7 Professional edition. Sikkerhedsfunktionerne kan ikke bruges med Windows 10 eller Windows 7 Home-udgaven, da Home-udgaverne ikke har den finmaskede adgangsmode, som softwaren bruger. Softwaren skal installeres med indstillingen Force authentication through Windows domain (Tving godkendelse gennem Windows-domænet).

Bemærk: Menuen Security (Sikkerhed) vises ikke, hvis du er logget på et Linux Samba-domæne. Du skal enten have et lokalt logon eller en Windows-server for at bruge sikkerhedsfunktionerne.

6.9.1 Konfiguration i Windows 7

Dette afsnit beskriver, hvordan systemet konfigureres til at køre Rotor-Gene Q-software sikkert.

For at bruge sikkerhedsfunktionerne skal softwaren installeres med indstillingen Force authentication through Windows domain (Tving godkendelse gennem Windows-domænet). Dette forespørger Windows-domænet om dit adgangsniveau og legitimationsoplysninger og er afgørende for at levere ansvars- og sikkerhedsfunktioner.

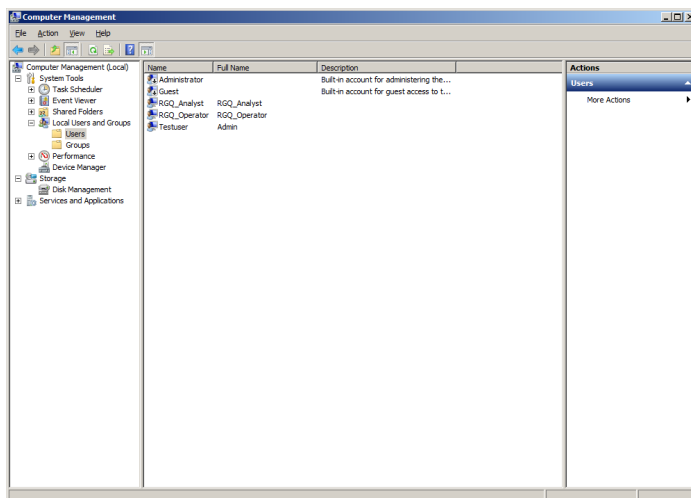
Køre som administrator

Mange brugere kører deres computere som administratorer uden brug af adgangskode. Selvom dette er praktisk, gør det det umuligt at afgøre, hvem der bruger computeren. Dette eliminerer ansvarlighed og forhindrer mange Rotor-Gene Q-software-sikkerhedsforanstaltninger i at blive aktiveret. Når du kører som administrator, er alle softwarefunktionerne aktiveret. Derfor sikrer kørsel som administrator, at brugere, der ikke har brug for sikkerhedsfunktioner, kan få adgang til alle softwarefunktionerne.

Oprettelse af en ny brugerprofil

Opret brugerkonti for hver bruger af softwaren. For hver bruger skal du gentage trinnene nedenfor, indtil alle konti er oprettet.

1. For at oprette en ny bruger skal du vælge Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management (Start/Kontrolpanel/Administrative værktøjer/Computerstyring) og navigere til Local Users and Groups (Lokale brugere og grupper) i venstre side.
2. I det vindue, der vises, skal du vælge mappen Users (Brugere). Højreklik i det højre vindue og vælg New User (Ny bruger).



3. Indtast et brugernavn og en adgangskode. Som standard oprettes brugeren med normale adgangsrettigheder. Det betyder, at de kan køre softwaren, men ikke installere nye programmer eller ændre systemindstillinger.

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

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

Buttons: Help, Create, Close

4. Klik på Create (Opret). Du kan derefter logge på som denne bruger.

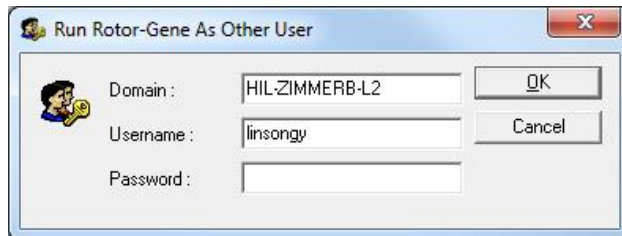
Tildeling af roller til hver bruger

Du skal nu tildele roller til hver bruger. Adgang er opdelt i de følgende områder:

- Rotor-Gene Q Operator (bruger) – kan udføre kørsler, men kan ikke generere rapporter eller udføre analyser
- Rotor-Gene Q Analyst (analytiker) – kan analysere kørselsdata og generere rapporter, men kan ikke udføre nye kørsler
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (bruger og analytiker) – har rettighederne for begge roller
- Administrator – kan låse op for prøvenavne og udføre alle de samme handlinger som analytikere og brugere
- None (ingen) – adgang til softwaren nægtes

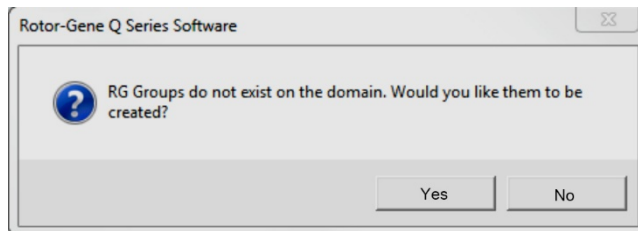
Sådan tildeles roller:

1. Log ind på Windows som administrator, eller brug ikonet Rotor-Gene Q Software Login (Rotor-Gene Q-softwarelogin) til at åbne softwaren og logge på.

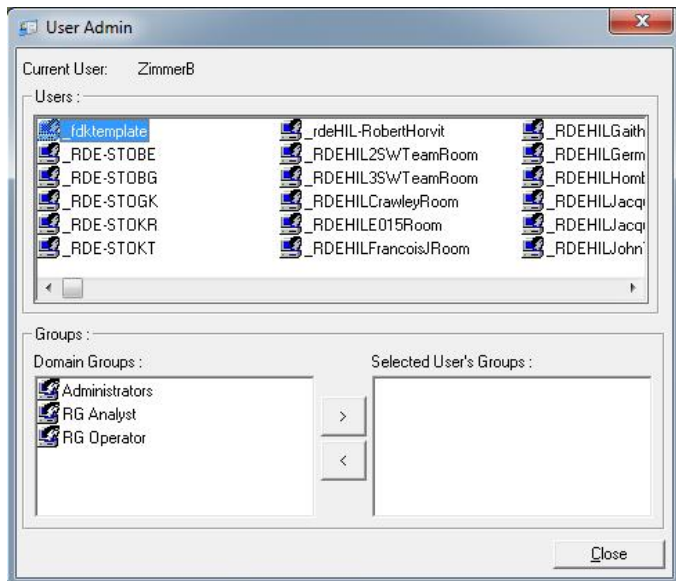


Bemærk: For at oprette RG-grupperne med Rotor-Gene Q-softwaren er det nødvendigt at køre softwaren med administratorrettigheder. Dette gøres ved at højreklikke på skrivebordsikonet og vælge Run as administrator (Kør som administrator) i genvejsmenuen.

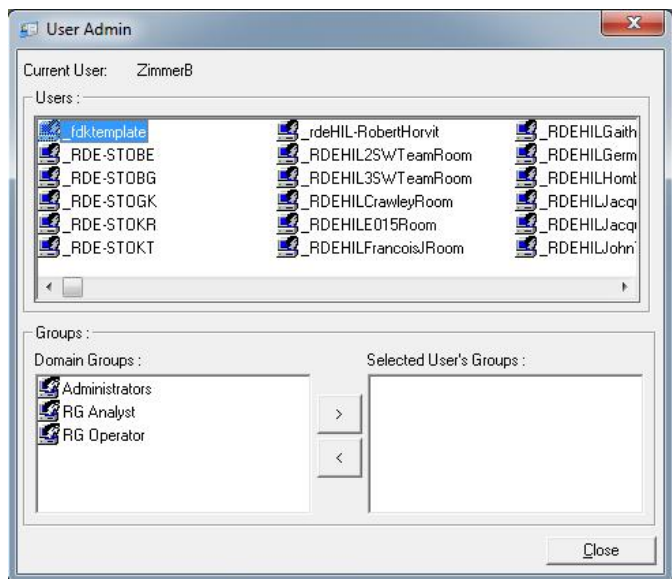
2. Når softwaren er åbnet, skal du klikke på menuen Security (Sikkerhed). Første gang man får adgang til menuen Security (Sikkerhed), konfigurerer Rotor-Gene Q-softwaren en række systemgrupper, der kontrollerer adgangen til softwaren.



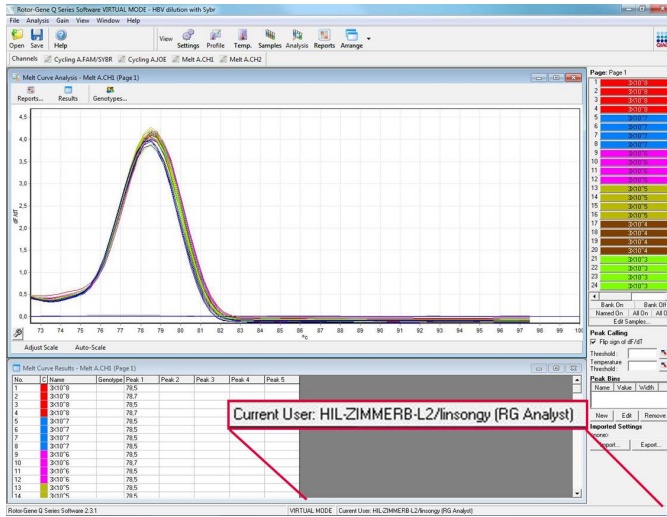
3. Klik på Yes (Ja). Vinduet User Admin (Brugeradministrator) vises. I det øverste panel vises alle brugere af computeren. Nogle konti bruges af selve systemet og vil derfor være ukendte for dig. Den nederste rude viser de grupper, der er tildelt brugeren.



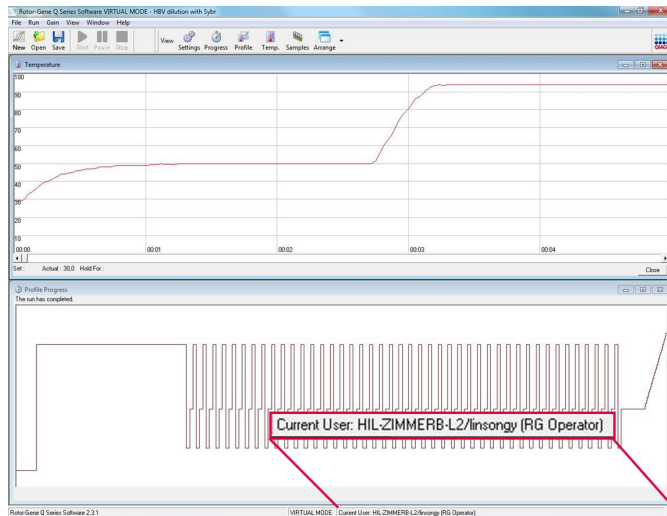
4. For at tildele en gruppe til en bruger skal du vælge brugerens navn på listen. Det nederste panel opdateres. Hvis brugeren ikke har nogen grupper, kan de ikke starte softwaren.
5. I eksemplet nedenfor tildeler vi brugeren linsongy til RG Analyst-gruppen ved at vælge gruppen i venstre side og derefter klikke på knappen >. Grupper kan fjernes ved at vælge dem og derefter klikke på knappen <.



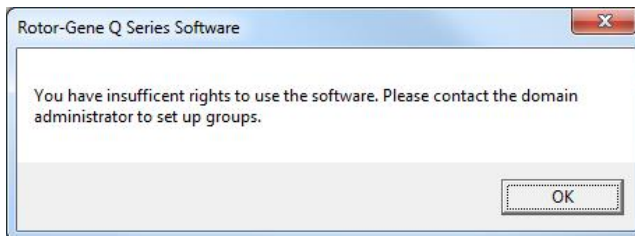
6. Log derefter på som denne bruger. Som RG Analyst er menuen Run (Kørsel) og knappen Profile (Profil) ikke tilgængelige. Eksisterende filer kan dog åbnes og analyseres, som vist på skærmbilledet nedenfor. Statuslinjen indikerer, at brugeren linsongy er en RG Analyst.



7. Ved at logge ind som administrator igen, kan der tildeles RG Operator-rettigheder til linsongy, og RG Analyst-rettighederne kan fjernes igen. Derefter skal softwaren startes igen. Denne gang mangler menuen Analysis (Analyse) og knappen Reports (Rapporter), og menuen Run (Kørsel) er deaktiveret. Statuslinjen indikerer, at brugeren linsongy tilhører RG Operator-gruppen.



8. Hvis du logger på som administrator og fjerner alle grupper fra brugeren linsongy, vil følgende meddelelse fremkomme, når linsongy åbner softwaren.



6.9.2 Konfiguration i Windows 10

Dette afsnit beskriver, hvordan systemet konfigureres til at køre Rotor-Gene Q-software sikkert.

For at bruge sikkerhedsfunktionerne skal softwaren installeres med indstillingen Force authentication through Windows domain (Tving godkendelse gennem Windows-domænet). Dette forespørger Windows-domænet om dit adgangsniveau og legitimationsoplysninger og er afgørende for at levere ansvars- og sikkerhedsfunktioner.

Køre som administrator

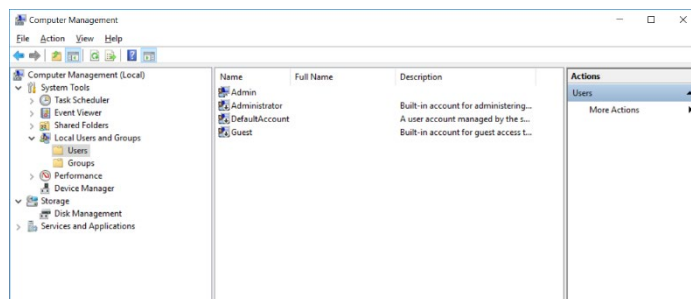
Mange brugere kører deres computere som administratorer uden brug af adgangskode. Selvom dette er praktisk, gør det det umuligt at afgøre, hvem der bruger computeren. Dette eliminerer ansvarlighed og forhindrer mange Rotor-Gene Q-softwaresikkerhedsforanstaltninger i at blive aktiveret.

Når du kører som administrator, er alle softwarefunktionerne aktiveret. Derfor sikrer kørsel som administrator, at brugere, der ikke har brug for sikkerhedsfunktioner, kan få adgang til alle softwarefunktionerne.

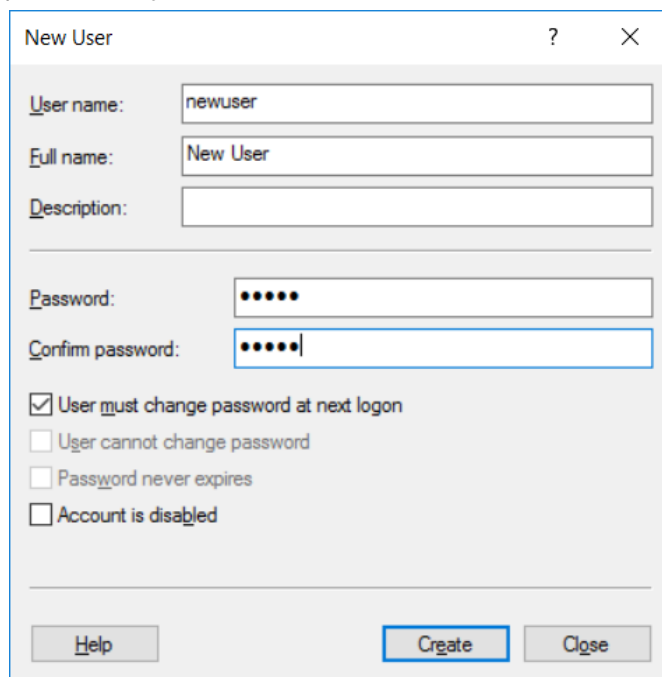
Oprettelse af en ny brugerprofil

Opret brugerkonti for hver bruger af softwaren. For hver bruger skal du gentage trinnene nedenfor, indtil alle konti er oprettet.

1. For at oprette en ny bruger skal du vælge Start, indtaste Computer Management (Computerstyring), trykke på Enter og navigere til Local Users and Groups (Lokale brugere og grupper) i venstre side.
2. I det vindue, der vises, skal du vælge mappen Users (Brugere). Højreklik i det højre vindue og vælg New User... (Ny bruger...).



3. Indtast et brugernavn og en adgangskode. Som standard oprettes brugere med normale adgangsrettigheder. Det betyder, at de kan køre softwaren, men ikke installere nye programmer eller ændre systemindstillinger.



4. Klik på Create (Opret). Du kan derefter logge på som denne bruger.

Tildeling af roller til hver bruger

Du skal nu tildele roller til hver bruger. Adgang er opdelt i de følgende områder:

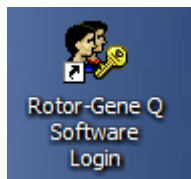
- Rotor-Gene Q Operator (bruger) – kan udføre kørsler, men kan ikke generere rapporter eller udføre analyser
- Rotor-Gene Q Analyst (analytiker) – kan analysere kørselsdata og generere rapporter, men kan ikke udføre nye kørsler
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (bruger og analytiker) – har rettighederne for begge roller
- Administrator – kan låse op for prøvenavne og udføre alle de samme handlinger som analytikere og brugere
- None (ingen) – adgang til softwaren nægtes

Bemærk: I Microsoft Windows 10 er det ikke muligt at oprette brugergrupper med Rotor-Gene Q-softwaren. Grupper skal oprettes i domænet af en domæneadministrator, det gælder også tildeling af brugere til en specifik gruppe. Kørselsmenuen aktiveres. Statuslinjen indikerer, at brugeren linsongy tilhører RG Operator-gruppen.

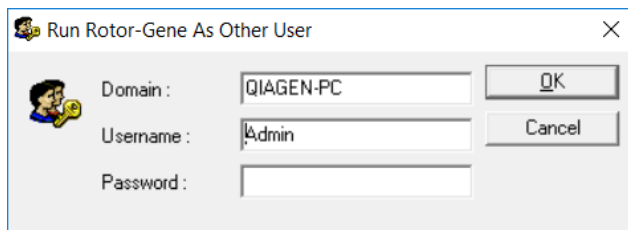
6.9.3 Lade flere brugere køre softwaren på samme computer

For at bruge Rotor-Gene Q-softwaren med flere brugere skal du oprette en brugerkonto, der ikke har adgang til Rotor-Gene Q-softwaren. Log ind på Windows med denne konto, så brugere ikke anonymt kan få adgang til Rotor-Gene Q MDx.

1. Brugere kan åbne deres konto i Rotor-Gene Q-software via ikonet Rotor-Gene Q Software Login (Rotor-Gene Q-softwarelogin).



2. Indtast brugernavn og adgangskode (obligatorisk) i den boks, der vises.



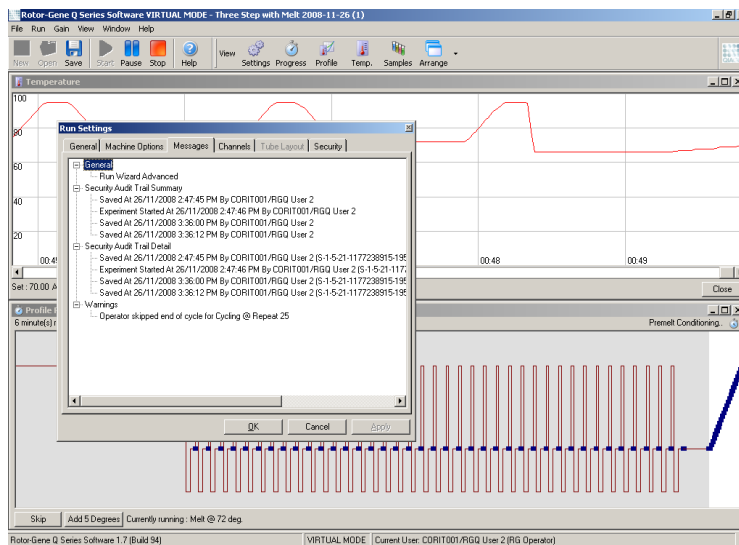
3. Domænet er enten den computer, du logger på, eller navnet på dit lokale netværk sammen med værtsnavnet. Kontakt din netværksadministrator, hvis du er i tvivl om, hvilket domæne du skal indtaste i dette felt.

Bemærk: Efter at have logget på vil alle brugerfiler være tilgængelige for den pågældende bruger. Hver bruger kan gemme filer i sit eget område. Dette sikrer et højt sikkerhedsniveau.

Bemærk: Hver bruger skal logge ud, efter deres kørsel er afsluttet, for at forhindre andre brugere i at udføre en kørsel i deres navn.

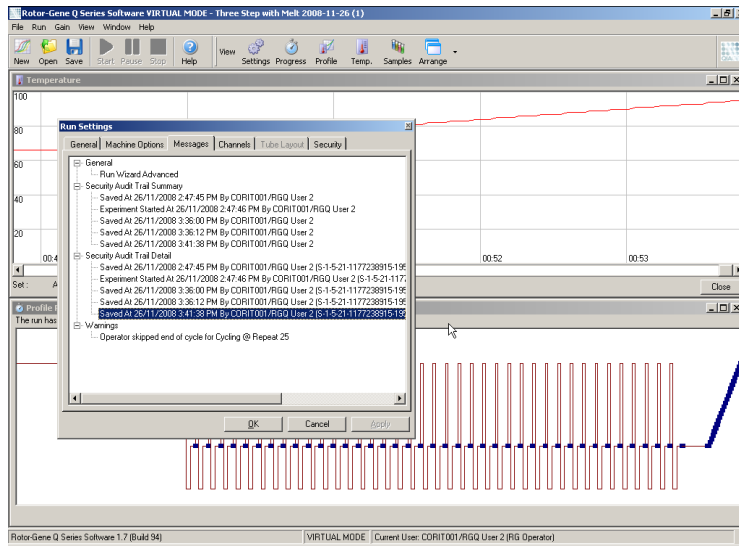
6.9.4 Historikposter

Hver gang en fil gemmes af en bruger, registreres brugerens oplysninger i Run Settings (Kørselsindstillinger) på fanen Messages (Meddelelser) som Security Audit Trail Summary (Oversigt over sikkerhedshistorikposter) og Security Audit Trail Detail (Oplysninger om sikkerhedshistorikposter).



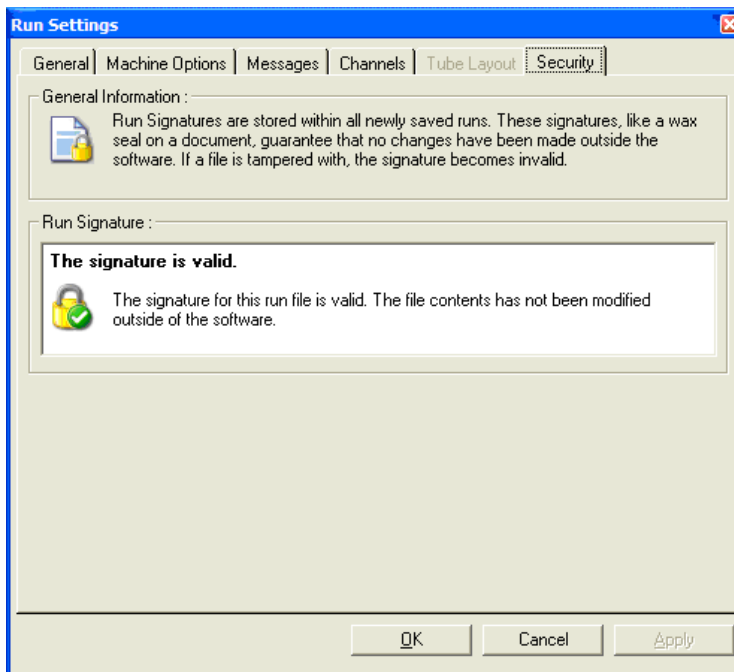
Dette kan bruges til at overvåge, hvem der har ændret indholdet af en fil. Security Audit Trail Detail (Oplysninger om sikkerhedshistorikposter) indeholder mere detaljerede oplysninger, såsom brugerens id. Denne identifikator er vigtig for at undgå, at en bruger opretter en konto med samme navn på en anden computer og derved efterligner en anden bruger. I dette tilfælde vil brugernavnene være de samme, men konto-id'erne vil være forskellige.

Identifikationen for kontoen CORIT001/RGQ Bruger 2, S-1-5-21-1177238915-195, er vist i kontooplysningerne.

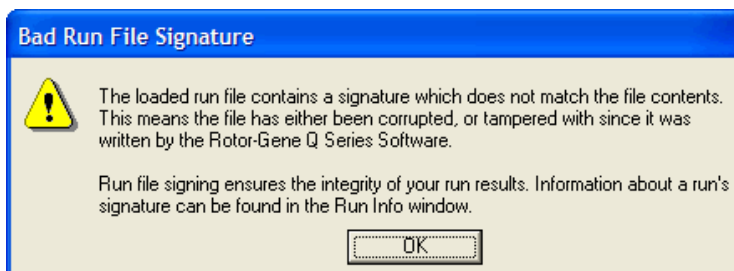


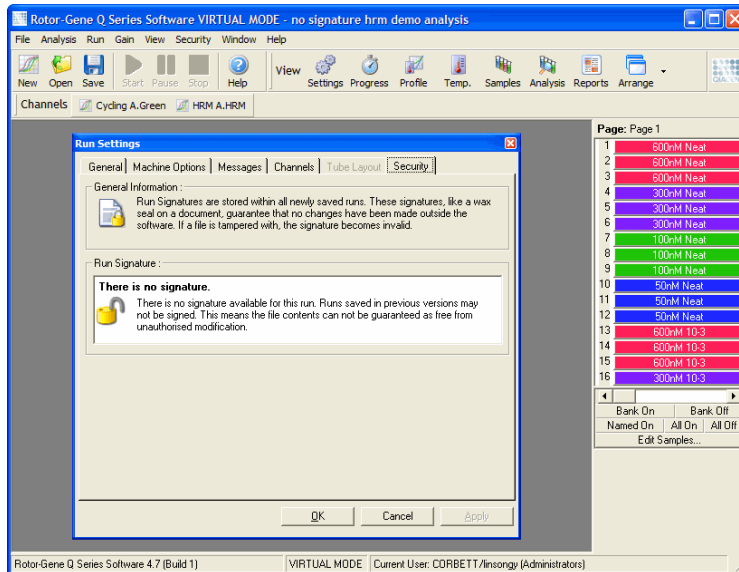
6.9.5 Kørselssignaturer

Historikposten gemmes i Rotor-Gene Q-kørselsfilen. For at undgå enhver uønsket ændring af disse filer bør de opbevares på et sikkert sted, som kun er tilgængeligt for udpegede Windows-konti. Men hvis der gemmes filer i et delt område, giver kørselssignaturer ekstra sikkerhed. Skærmbilledet viser fanen Security (Sikkerhed) i kørselsindstillingerne for en fil med en kørselssignatur.



Kørselssignaturen er et langt ord, der genereres, hver gang filen gemmes, og som linkes til filens indhold. Eksempelvis er signaturen for denne fil 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Hvis filen åbnes i Notepad, og der foretages en redigering (kørselsdatoen ændres eksempelvis til 3 dage tidligere), vises følgende meddelelse, når filen genåbnes.





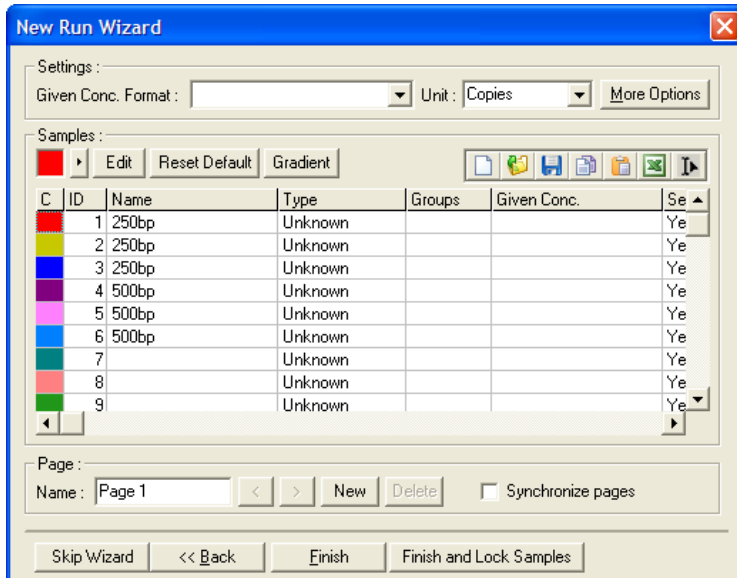
Bemærk: Hvis filer sendes via e-mail, kan krypteringsprocessen gøre signaturen ugyldig. For at undgå dette skal files zippes, inden den sendes med e-mail.

6.9.6 Låsning af prøver

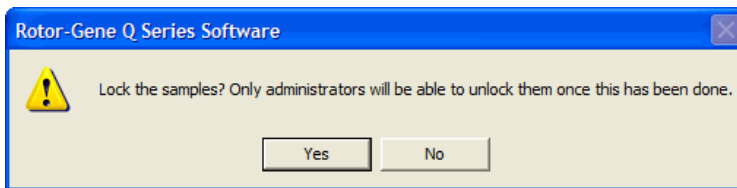
Når en bruger har startet en kørsel, er det vigtigt at sikre, at prøvenavne ikke ændres ved et uheld eller med vilje. Af denne grund omfatter Rotor-Gene Q-softwaren prøvelåsning. Prøvenavne kan låses af enhver bruger, men kan kun låses op af en administrator. For brugere, der kører deres computere i administratortilstand, har denne mulighed begrænset værdi. For at bruge denne mulighed skal computeren konfigureres sikkert som beskrevet i de foregående afsnit.

Bemærk: Hvis du ønsker at låse prøver, skal du ikke køre softwaren som administrator. Opret en konto i RG Operator- og RG Analyst-grupperne, og hold administratortilgangskoden hemmelig. Brugere skal derefter have autorisation fra administratoren for at låse filer op.

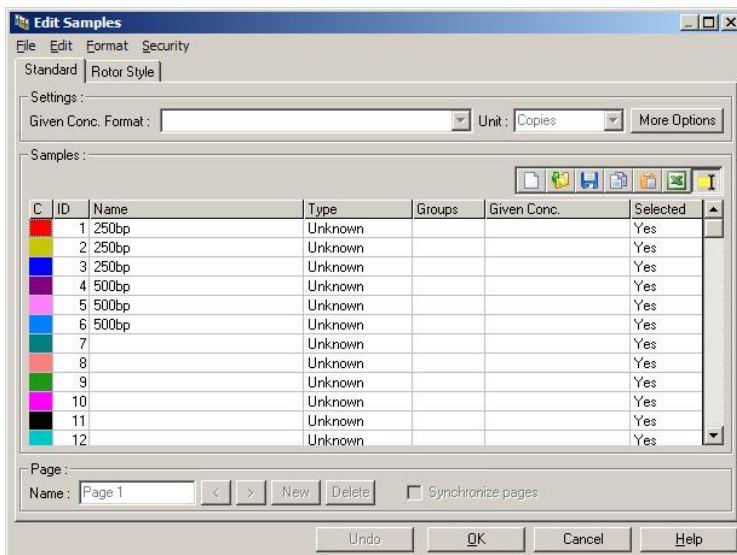
Prøverne kan låses, før du starter en kørsel, når du bruger guiden Advanced (Avanceret), ved at klikke på Finish and Lock Samples (Afslut og lås prøver).



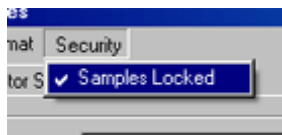
Den følgende advarsel vises. Klik på Yes (Ja) for at bekræfte.



Når prøverne er låst, vil det ikke være muligt at redigere prøverne i vinduet Edit Samples (Rediger prøver).



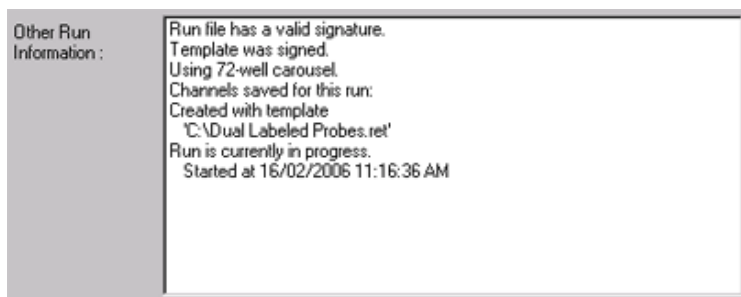
Prøverne kan også låses og oplåses i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Det er dog kun en administrator, der kan låse prøver op, når de først er blevet låst.



Enhver uautoriseret ændring af filen vil ugyldiggøre kørselssignaturen.

6.9.7 Låste skabeloner

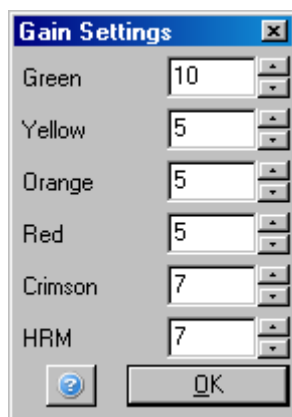
Det er i øjeblikket ikke muligt for brugeren at oprette skrivebeskyttede skabelonfiler ved hjælp af Rotor-Gene Q-softwaren. Hvis det ønskes, kan det dog specificeres som et krav, at alle kørsler udføres ved hjælp af en bestemt skabelonfil. For at sikre skrivebeskyttet adgang til denne skabelon bør den gemmes på et netværksdrev, hvor brugerne ikke kan redigere data. Brugere kan stadig køre og ændre deres egne profiler, mens skabelonen på et sådant netværksdrev er beskyttet. For at spore, hvilken skabelon der er blevet brugt, gemmer Rotor-Gene Q-softwaren navnet på den skabelonfil, der blev kørt. Disse oplysninger kan tilgås ved at klikke på knappen Settings (Indstillinger), som derefter gør det muligt at få vist vinduet Run Settings (Kørselsindstillinger). Skabelonoplysningerne gemmes i Other Run Information (Andre kørselsoplysninger).



6.10 Forstærkningsmenuen

Klik på menuen Gain (Forstærkning) for at få vist Gain Settings (Forstærkningsindstillinger) for den aktuelle kørsel. Dette indstiller forstærkningen af den specificerede kanal før en kørsel. Forstærkningsindstillinger fra seneste kørsel bevares. Disse kan ændres, hvis kørslen endnu ikke er startet, eller i de indledende cyklusser. Brug op/ned-pilene ud for hvert tekstfelt til at redigere felterne. Klik derefter på OK.

Forstærkningen kan ændres i de indledende kørsler. Der tegnes en rød streg i den relevante kanal for at vise, hvor forstærkningen blev ændret. Cyklusserne før forstærkningsændringen medtages ikke i analysen.



6.11 Window-menu

Denne menu gør det muligt at vise vinduerne side om side lodret eller vandret eller arrangeret i en kaskade. Yderligere muligheder er tilgængelige ved at klikke på pilen til højre for knappen Arrange (Arranger).

6.12 Hjælpfunktionen

Når knappen Help (Hjælp) eller menuen Help (Hjælp) anvendes, åbnes følgende rullemenu.

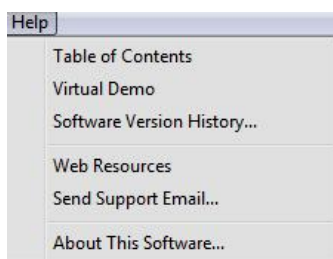


Table of Contents
(Indholdsfortegnelse):

Dette giver adgang til funktionen Help (Hjælp).

Virtual Demo (Virtual demo):

Dette linker til en QIAGEN-webside med en interaktiv demonstration af softwaren.

Software Version History...
(Softwareversionshistorik...):

Dette giver et kort overblik over nye funktioner, der er tilføjet siden den tidligere installerede softwareudgivelse.

Web Resources
(Internetressourcer):

Dette åbner en QIAGEN-webside i et nyt browservindue med værdifulde opdaterede oplysninger om Rotor-Gene Q MDx-instrumenter og tilhørende reagenser.

About This Software...
(Om denne software):

Dette giver oplysninger om den tilsluttede maskine, serienummeret på Rotor-Gene Q MDx og softwareversionen.

6.12.1 Send e-mail om support

Valgmuligheden Send Support Email (Send e-mail om support) i menuen Help (Hjælp) giver dig mulighed for at sende en e-mail om support til QIAGEN, hvori du inkluderer alle relevante oplysninger fra en kørsel. Valgmuligheden Save As (Gem som) gemmer alle oplysninger som en fil, som du kan kopiere til en disk eller på et netværk, hvis du ikke har adgang til e-mail på den computer, der kører Rotor-Gene Q MDx.

Hvis du bruger support-e-mail-funktionen på den bærbare computer, der valgfrit leveres med Rotor-Gene Q MDx (afhænger af land) for første gang, skal du konfigurere dine e-mail-indstillinger.

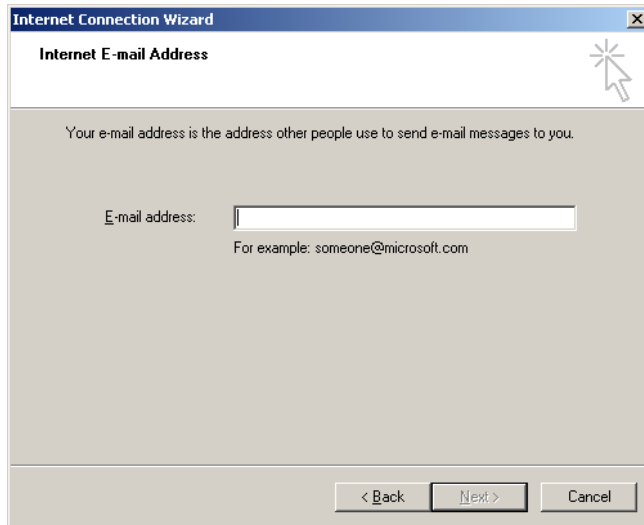
Bemærk: Du kan foretage indtastningerne med oplysninger fra din virksomheds it-chef.

Konfigurer e-mailindstillinger

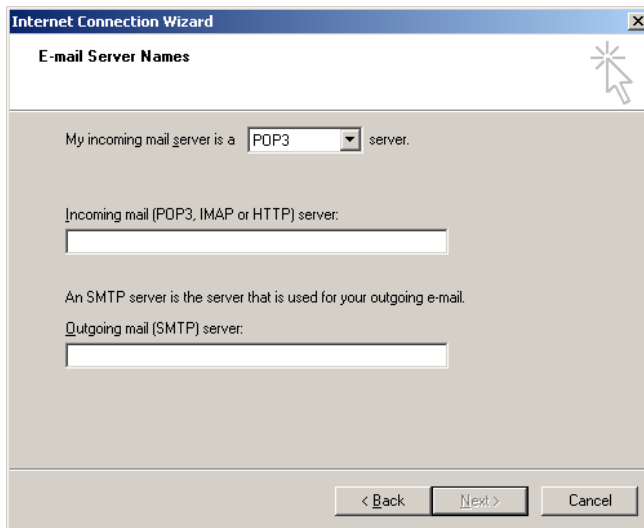
Klik på valgmuligheden Send Support Email... (Send e-mail om support). Det følgende vindue åbner.



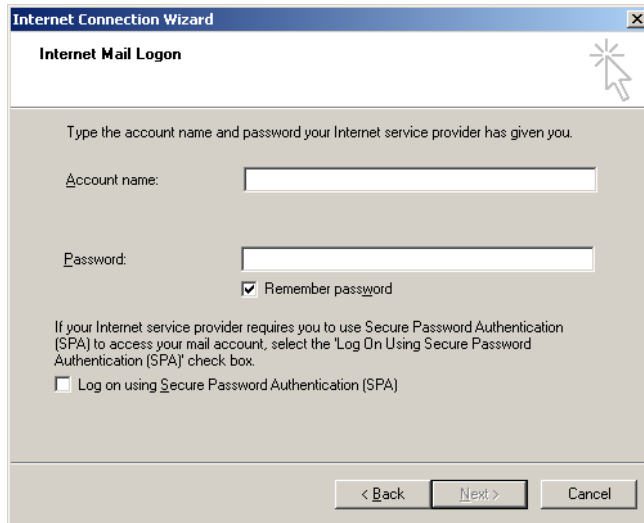
1. Indtast dit navn, og klik på Next (Næste). Vinduet Internet E-mail Address (Internet-e-mail-adresse) åbner.



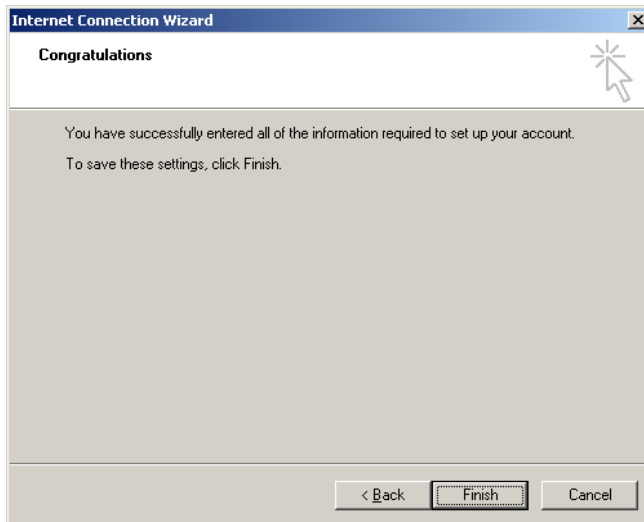
2. Indtast din e-mailadresse, og tryk på Next (Næste). Vinduet E-mail Server Names (Navne på e-mailservere) åbner.



3. Vælg typen af mailserver for indgående mails, og angiv servernavnene for indgående og udgående e-mails. Tryk derefter på Next (Næste). Vinduet Internet Mail Logon (Logon til internet-e-mail) åbner.



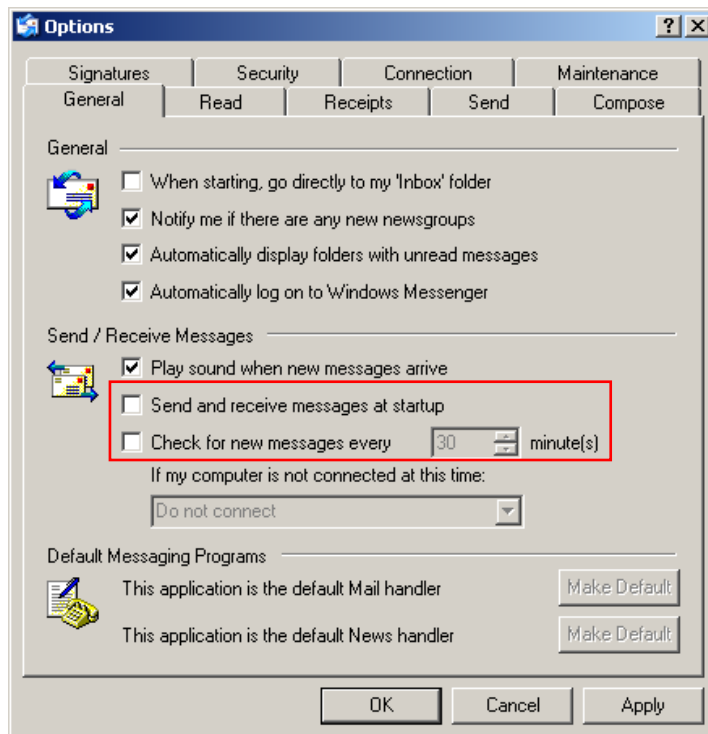
4. Indtast dit e-mail-kontonavn og din adgangskode, hvis din server bruger sikker adgangskodegodkendelse. Klik derefter på Next (Næste). Vinduet Congratulations (Konfigurationer) åbner.



5. Bekræft med Finish (Afslut) for at fuldføre opsætningen af e-mailkontoen.

Opsætning i Outlook

1. Åbn Outlook Express i menuen Start (Start > All programs (Alle programmer) > Outlook Express).
2. Vælg Tools (Værktøjer) og derefter Options (Indstillinger). Vinduet nedenfor vises.



Vigtigt: For at undgå, at der hentes e-mails under PCR-kørsel, skal du deaktivere standardindtastningerne på skærbilledet Send/Receive Messages (Send/modtag meddelelser).

3. Deaktiver Send and receive messages at startup (Send og modtag meddelelser ved opstart).
4. Deaktiver Check for new messages every 30 minutes (Kontrollér, om der er nye meddelelser, hvert 30. minut).
5. Bekræft ændringerne med OK.

7 Yderligere funktioner

7.1 Analysekabeloner

Nogle analyser kræver, at brugeren definerer tærskler, normaliseringsindstillinger og genotypeindstillinger. Ofte genbruges disse indstillinger hyppigt i mange forskellige eksperimenter.

Analysekabeloner gør det muligt for brugeren at gemme og genbruge disse indstillinger. Dette reducerer besværet med at skulle genindtaste indstillinger og reducerer risikoen for fejl.

Kvantificeringsanalyse, smelteanalyse, alleldifferentieringsanalyse, spredningsdiagramanalyse og endepunktsanalyse understøtter analysekabeloner. Disse analyser giver brugeren mulighed for at eksportere en skabelon, der er unik for analysen (eksempelvis tillader kvantitativ analyse eksport og import af *.qut-filer, der indeholder kvantificeringsindstillinger).

Efter at en analysekabelon er blevet importeret eller eksporteret, vises skabelonens filnavn til fremtidig reference.

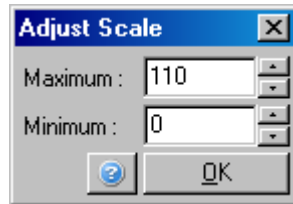


7.2 Åbning af en anden kørsel

Mens du udfører en kørsel, er det muligt at åbne og analysere kørsler, der er udført tidligere. Adskillige funktioner, såsom knappen New (Ny) eller Start Run (Start kørsel), aktiveres ikke i det nye (andet) vindue. Der kan startes en ny kørsel fra det første vindue, når den første kørsel er afsluttet.

7.3 Valgmuligheder for skalering

For at få adgang til Adjust Scale (Juster skala) skal du klikke på Adjust Scale... (Juster skala...) i bunden af hovedvinduet eller højreklikke på grafen og vælge Adjust Scale... (Juster skala...) i den menu, der vises. Der kan indtastes en skala manuelt i det vindue, der kommer frem.



For at få adgang til Auto-Scale (Autoskaler) skal du klikke på Auto-Scale... (Autoskaler...) i bunden af hovedvinduet eller højreklikke på grafen og vælge Auto-Scale... (Autoskaler...) i den menu, der vises. Auto-Scale (Autoskaler) forsøger at tilpasse skalaen til maksimum- og minimumsværdierne af de aflæste data.

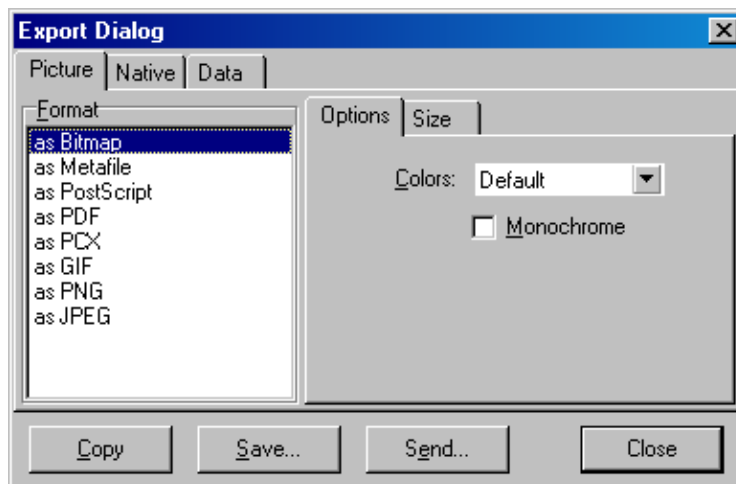
For at få adgang til Default Scale (Standardskala) skal du klikke på Default Scale... (Standardskala...) i bunden af hovedvinduet eller højreklikke på grafen og vælge Default Scale... (Standardskala...) i den menu, der vises. Default Scale (Standardskala) nulstiller skalaen, så den viser fra 0 til 100 fluorescenseenheder.

7.4 Eksport af grafer

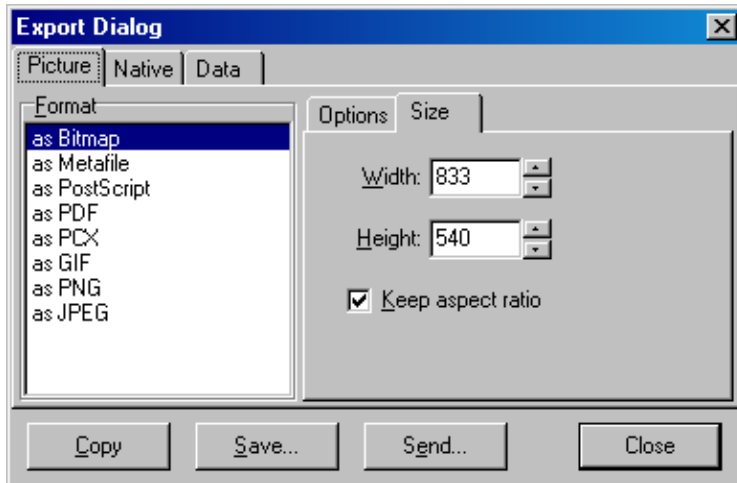
Billedeksport

De følgende trin beskriver, hvordan et billede gemmes.

1. Højreklik på billedet og vælg Export (Eksportér) i den menu, der vises.
2. Vinduet Export Dialog (Dialogboks for eksport) vises. Vælg det ønskede format på listen Format.



3. Vælg fanen Size (Størrelse), og angiv den ønskede størrelse.



4. Markér afkrydsningsfeltet Keep aspect ratio (Behold billedformat) for at bevare billedet i det korrekte forhold, når du justerer dets størrelse.

5. Klik på Save (Gem), og vælg et filnavn og en placering for filen i dialogboksen, der vises.

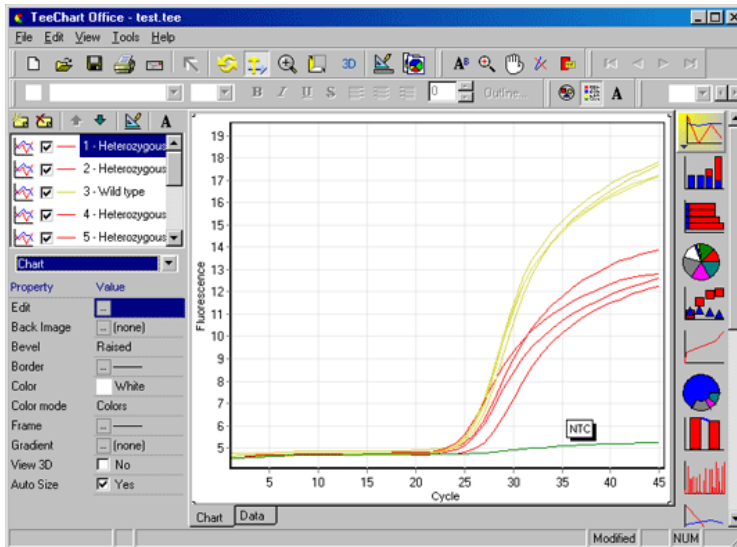
Hvis et billede med højere opløsning er påkrævet, anbefaler vi enten at øge størrelsen på billedet, indtil det opfylder dine krav, eller at gemme grafen som en metafile (*.emf, *.wmf). Dette er et vektorbaseret format, der kan åbnes i software såsom Adobe® Illustrator®, hvilket giver brugeren mulighed for at skabe et billede med enhver opløsning.

Eksport af proprietære filformater

Grafer i Rotor-Gene Q-softwaren anvender tredjepartskomponenten TeeChart®, som er udviklet af Steema-software. For at gemme en graf i proprietært format skal du vælge fanen Native (Proprietært) i vinduet Export Dialog (Dialogboks for eksport) (se tidligere skærbillede) og derefter klikke på Save (Gem). Det proprietære format er TeeChart-standardfilformat. Dette giver brugeren mulighed for at bruge TeeChart Office fra Steema-software. TeeChart Office er tilgængelig som freeware og installeres som en del af Rotor-Gene Q-softwarepakken. For at få adgang til softwaren skal du klikke på TeeChart-ikonet på skrivebordet.

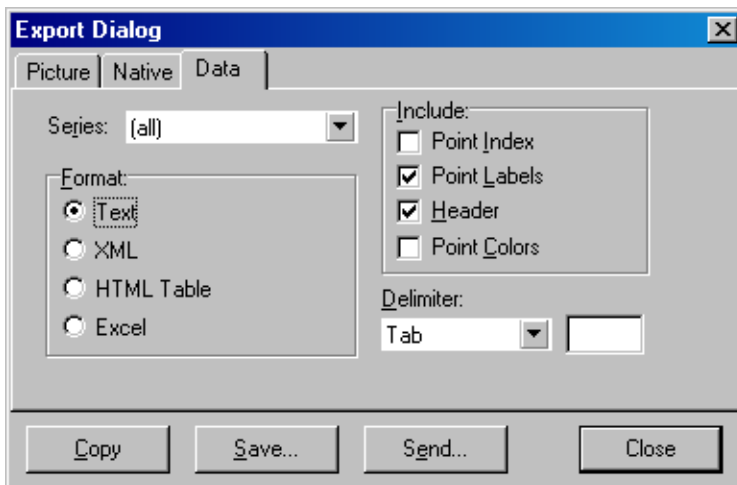


TeeChart Office muliggør manipulation af eksporterede grafer, herunder ændring af farver på kurver, tilføjelse af annoteringer, ændring af skrifttyper og justering af datapunkter.



Dataeksport


For at eksportere data i forskellige formater skal du vælge fanen Data i vinduet Export Dialog (Dialogboks for eksport). Den eksporterede fil indeholder de rådatapunkter, der bruges i grafen.

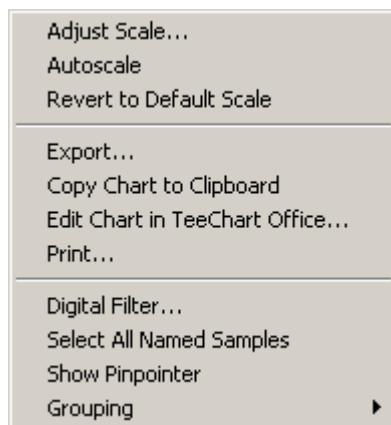


Eksport af rådata og analysedata kan også udføres ved at vælge Save As (Gem som) i menuen File (Fil) (se afsnittet 6.5).

7.5 Skruenøgleikon



Skruenøgleikonet  vises nederst til venstre i hovedvinduet. Ved at klikke på skruenøgleikonet aktiveres flere valgmuligheder. Disse valgmuligheder kan også tilgås ved at højreklikke på grafen.



Adjust Scale (Juster skala), Autoscale (Autoskaler), Revert to Default Scale (Vend tilbage til standardskala): Se afsnit 7.3.

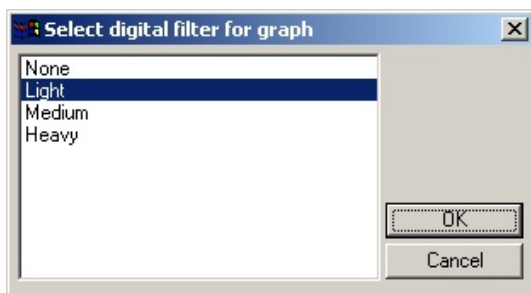
Export... (Eksportér...): Dette gemmer grafen i en række forskellige formater (se afsnit 6.4).

Copy Chart to Clipboard (Kopier diagram til udklipsholderen): Dette kopierer grafbilledet til udklipsholderen.

Edit Chart in TeeChart Office... (Rediger diagram i TeeChart Office...): Dette åbner grafen direkte i TeeChart Office til redigering (se afsnit 6.4).

Print (Udskriv): Dette udskriver grafen.

Digital Filter... (Digitalt filter): Dette ændrer det aktuelt valgte digitale filter på grafen. Det digitale filter udglatter data ved hjælp af et glidende vindue af punkter.

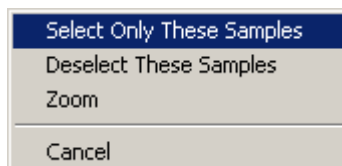


Show Pinpointer (Vis markør): Dette åbner et vindue, der viser de nøjagtige koordinater for musemarkørens position.

Grouping (Gruppering): Dette grupperer visuelt prøver, der har identiske navne. Dette kan være nyttigt ved fuld rotorkørsel. Valg af denne indstilling påvirker ikke beregnede værdier.

7.6 Indstillinger for valgt område

Der kan vælges et område af en graf ved at klikke med og holde venstre museknap nede og trække med musemarkøren. Følgende indstillinger vises.



Select Only These Samples
(Vælg kun disse prøver):

Prøver uden for det valgte område fravælges.

Select Only These Samples
(Vælg kun disse prøver):

Prøver uden for det valgte område fravælges.

Zoom:

Dette zoomer ind på det valgte område af grafen. Klik på knappen Default Scale (Standardskala) for at zoome ud.

8 Vedligeholdelse

Det er nemt at opretholde Rotor-Gene Q MDx's arbejdsydelse. Optisk ydeevne opretholdes ved at sikre, at linserne, der sidder ved både emissions- og detektionskilden, er rene. Dette gøres ved forsigtigt af aftørre med en applikator med bomuldsspids, der er fugtet med ethanol eller isopropanol*, over linserne.

Bemærk: Rengør linserne mindst en gang om måneden, afhængigt af brug. Aftør samtidig rotorkammeret.

Hold området på arbejdsbordet rent og fri for støv og papirark. Luftindtaget på Rotor-Gene Q MDx sidder i bunden, og løst materiale som papir eller støv kan kompromittere ydeevnen.



For at undgå ophobning af støv skal låget på Rotor-Gene Q MDx holdes lukket, når instrumentet ikke er i brug.

Bemærk: Brug kun dele leveret af QIAGEN.

8.1 Rengøring af overfladen på Rotor-Gene Q MDx

De udvendige overflader på Rotor-Gene Q kan rengøres med almindeligt tilgængelige laboratoriekemikalier

* Der skal altid anvendes laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemiske stoffer. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

8.2 Dekontaminering af overfladen på Rotor-Gene Q MDx

Hvis rotorkammeret bliver kontamineret, kan det rengøres ved at tørre overfladerne af med en fnugfri klud, der er fugtet (men ikke gennemvædet) med en 0,1-% (v/v) blegemiddelopløsning.* Tør kammeret af med en fnugfri klud fugtet med PCR-vand for at fjerne spor af blegemiddel.

8.3 Reparation af Rotor-Gene Q

Vedrørende reparation eller service af Rotor-Gene Q kontaktes QIAGEN Teknisk Service. på <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

* Der skal altid anvendes laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemiske stoffer. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

9 Verifikation af optisk temperatur

Verifikation af optisk temperatur (Optical Temperature Verification, OTV) er en metode, der verificerer temperaturen i røret i en Rotor-Gene Q MDx. Validering af temperatur i røret kan være en vigtig procedure i certificerede laboratorier. OTV udføres med et Rotor-Disc OTV Kit (se afsnit 16). I det følgende gives kun en kort introduktion til OTV-princippet. Udførelse af OTV-proceduren er forklaret i Rotor-Gene Q MDx-softwaren. For en mere detaljeret beskrivelse af OTV-proceduren, inklusive en fejlfindingsvejledning, henvises til *Rotor-Disc OTV-håndbogen*.

9.1 OTV-princip

OTV bruger de optiske egenskaber af tre termokromatiske flydende krystaller (Thermochromatic Liquid Crystals, TLC)* som absolutte temperaturreferencer. Når de opvarmes, skifter TLC'er fra uigennemsigtige til gennemsigtige ved meget præcise temperaturer (50, 75 og 90 °C). TLC'er fluorescerer ikke selv. Derfor er det nødvendigt at dække excitationsskilden med en fluorescerende indsats, så TLC-overgangspunkterne kan detekteres af det optiske Rotor-Gene Q MDx-system. TLC'er, der er under deres overgangstemperatur, er uigennemsigtige og reflekterer lys. Noget af det reflekterede lys spreder sig mod detektoren, hvilket øger fluorescensen. Når temperaturen i røret når TLC-overgangspunktet, bliver TLC transparent, og lys passerer gennem prøven frem for at blive reflekteret mod detektoren, hvilket resulterer i et fald i fluorescens. Ændringen i fluorescens bruges til at bestemme den præcise overgangstemperatur for hver TLC. Overgangstemperaturen sammenlignes med den temperatur, der rapporteres af standardkalibreringsfilen for OTV Rotor-Disc, for at kontrollere, om Rotor-Gene Q MDx er inden for temperaturspecifikationen.

9.2 Komponenter i Rotor-Disc OTV Kit

Følgende komponenter er nødvendige for at køre en OTV:

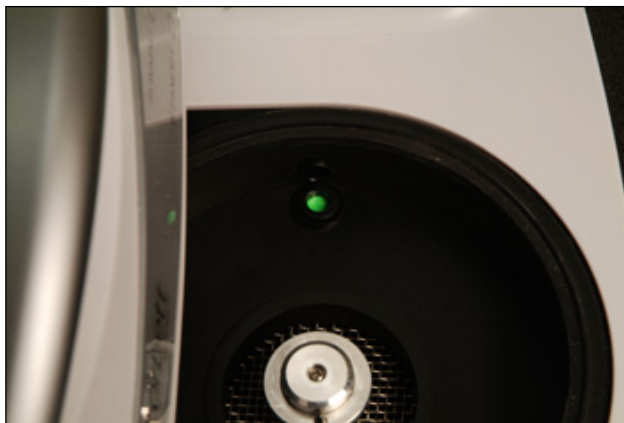
- Et Rotor-Disc OTV Kit, som omfatter:
 - Forseglet Rotor-Disc 72 OTV Rotor (indeholder TLC'er)
 - Fluorescerende spredepladeindsats (Rotor-Gene 3000-instrument eller Rotor-Gene Q/6000-instrumenter)

* Der skal altid anvendes laboratoriekit, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemiske stoffer. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

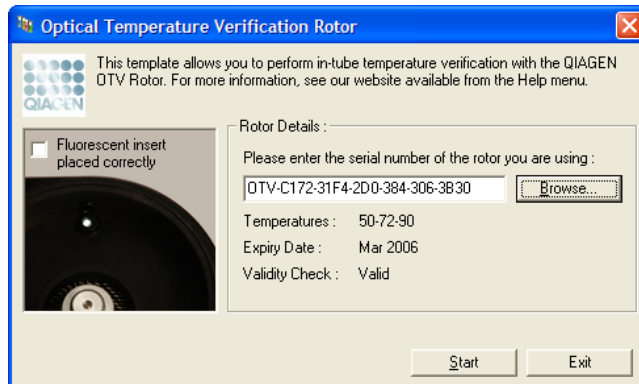
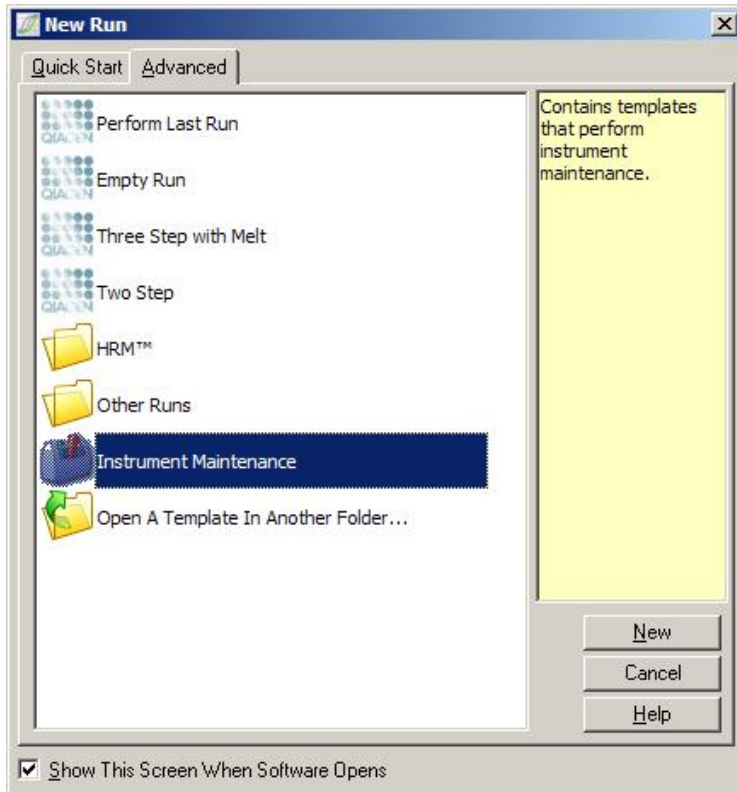
- Et flytbart medie, der indeholder følgende filer: Fil med serienummer og udløbsdato for OTV Rotor (*.txt); fil med OTV-testskabelon (*.ret); produktblad (*.pdf); fil med standardkalibrering (*.rex)
- Produktblad
- Rotor-Gene-seriesoftwaren version 1.7 eller nyere, som indeholder den brugervenlige guide til OTV Rotor
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

9.3 Kørsel af en OTV

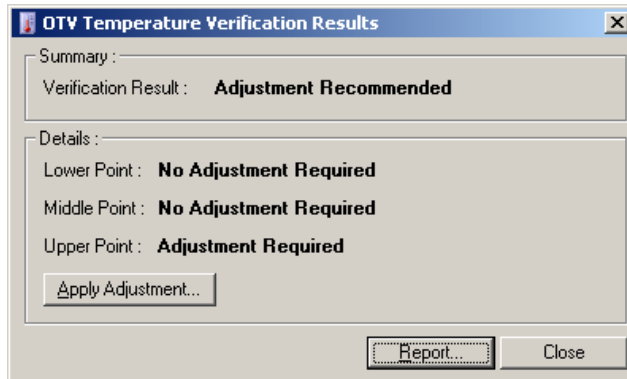
1. Sæt den fluorescerende indsats over emissionslinsen i bunden af Rotor-Gene Q MDx-kammeret.
2. Sæt OTV Rotor-Disc i en Rotor-Disc 72 Rotor. Fastgør den med en Rotor-Disc 72 Locking Ring. Sæt samlingen i Rotor-Gene Q MDx, og skub den på plads. Luk låget på Rotor-Gene Q MDx.



3. Åbn guiden Advanced (Avanceret) ved at vælge fanen Advanced (Avanceret) i vinduet New Run (Ny kørsel). I guiden Advanced (Avanceret) skal du klikke på Instrument maintenance (Vedligeholdelse af instrumentet) og derefter på OTV. Guiden beder om OTV-serienummeret, som findes på OTV-ringen. Klik derefter på Start.



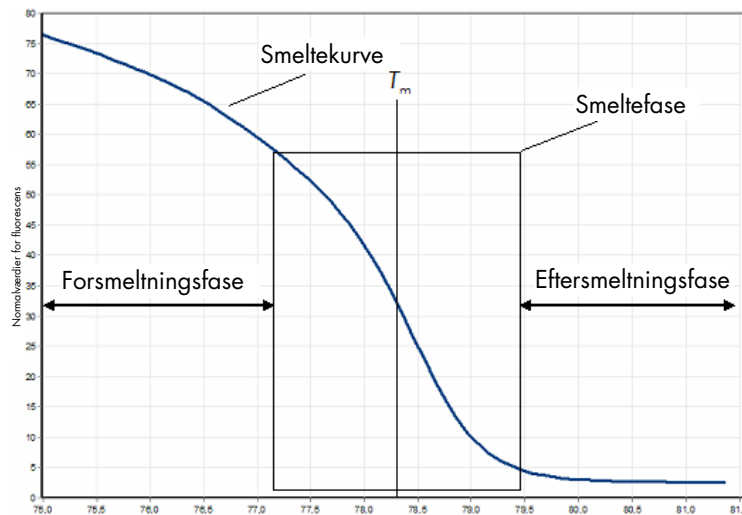
4. Softwaren beder derefter om et filnavn til kørslen. Derefter begynder kørslen.
5. Kørslen udfører en række smeltninger, der bestemmer de termiske egenskaber for Rotor-Gene Q MDx.



6. Når kørslen er færdig, indikerer softwaren, om Rotor-Gene Q MDx er inden for specifikationerne.
7. Hvis justering er påkrævet, skal brugeren klikke på Apply Adjustment (Foretag justering). Derefter bliver brugeren bedt om at udføre en verifikationskørsel. Når verifikationskørslen er fuldført, bør der ikke kræves nogen justering. Hvis yderligere justering er påkrævet, skal du kontakte forhandleren.
8. Når Rotor-Gene Q MDx er inden for specifikationerne, kan en rapport om kørslen gennemgås og udskrives.

10 Analyse med højopløselig smeltning

Analyse med højopløselig smeltning (High Resolution Melt, HRM) er en innovativ teknik, der er baseret på analyse af DNA-smeltning. HRM karakteriserer DNA-prøver i henhold til deres dissociationsadfærd, når de går fra dobbeltstrengt DNA (dsDNA) til enkeltstrengt DNA (ssDNA) med stigende temperatur (se figur nedenfor). Et HRM-instrument opsamler fluorescerende signaler med ekstrem høj optisk og termisk præcision, hvilket giver mange anvendelsesmuligheder.



Et typisk HRM-diagram. Smeltekurven plottes overgangen fra den høje fluorescens af den indledende forsmeltningsfase gennem faldet i fluorescens i smeltfasen til det basale niveau af fluorescens ved eftersmeltningsfasen. Fluorescens falder, når DNA-interkalierende farvestof frigives fra dsDNA, da det smelter til enkeltstreng. Midtpunktet af smeltfasen, hvor ændringshastigheden i fluorescens er størst, definerer smelte temperaturen (T_m) af DNA'et under analyse.

Før der udføres HRM-analyse, skal målsekvensen amplificeres til et højt kopiantal. Dette udføres normalt ved PCR i nærværelse af et dsDNA-interkalierende fluorescerende farvestof. Farvestoffet interagerer ikke med ssDNA, men interkalerer aktivt med dsDNA og fluorescerer kraftigt, når det interkaleres. Ændring i fluorescens kan bruges til at måle stigningen i DNA-koncentration under PCR og derefter til direkte at måle termisk induceret DNA-smeltning ved HRM. Under HRM er fluorescensen i starten høj, fordi prøven starter som dsDNA. Fluorescensen falder, når temperaturen hæves, og DNA dissocieres til enkeltstreng. Den observerede smeltheadfærd er karakteristisk for en bestemt DNA-prøve.

Ved hjælp af HRM kan Rotor-Gene Q MDx karakterisere prøver baseret på sekvenslængde, GC-indhold og DNA-sekvenskomplementaritet. HRM kan bruges til genotypebestemmelser, såsom analyse af insertioner/deletioner eller enkeltnukleotidpolymorfismer (SNP'er), eller til at screene for ukendte genetiske mutationer. Det kan også bruges i epigenetiske anvendelser til påvisning og

analyse af DNA-methyleringsstatus. Det kan også bruges til kvantitativt at detektere en lille andel af variant-DNA i en baggrund af vildtypesekvens ved sensitiviteter, der nærmer sig 5 %. Dette kan for eksempel bruges til at studere somatisk erhvervede mutationer eller ændringer i methyleringstilstanden af CpG-øer.

HRM på Rotor-Gene Q MDx letter flere forskellige anvendelser, heriblandt:

- Identifikation af kandidatgener for disponering
- Associationsstudier (sammenligning af tilfælde og kontroller, genotype til fænotype)
- Bestemmelse af allelprævalens inden for en population eller undergruppe
- SNP-screening og -validering
- Screening for tab af heterozygositet
- DNA-identifikation
- Karakterisering af haplotypeblokke
- DNA-methyleringsanalyse
- DNA-kortlægning
- Artsidentifikation
- Opdagelse af mutation
- Bestemmelse af andelen af somatiske erhvervede mutationer
- HLA-typebestemmelse

HRM er nemmere og mere omkostningseffektivt end probebaserede genotypebestemmelsesanalyser, og i modsætning til konventionelle metoder er det et lukket rørsystem, der forhindrer kontaminering med PCR-produkter. Resultaterne er sammenlignelige med konventionelle metoder såsom SSCP-, DHPLC-, RFLP- og DNA-sekventering.

10.1 Instrumenter

Rotor-Gene Q MDx tilvejebringer de følgende krævende real-time- og termoptiske egenskaber, der kræves til HRM.

- Belysning med høj lysstyrke
- Meget sensitiv optisk påvisning
- Hurtig datahentning
- Finkontrolleret prøvetemperatur
- Minimal termisk og optisk variation fra prøve til prøve

10.2 Kemi

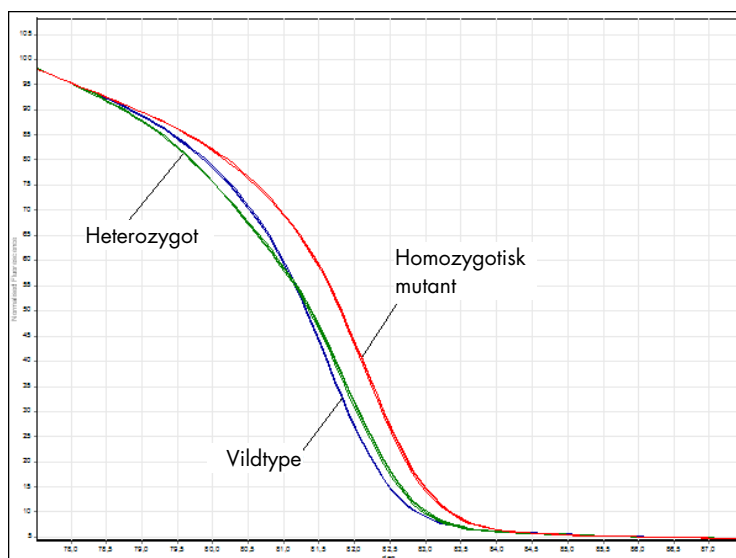
QIAGEN tilbyder Type-it® HRM PCR Kit til analyse af SNP'er og mutationer ved hjælp af HRM og EpiTect® HRM PCR Kit til methyleringsanalyse. Begge kits indeholder tredje-generation af det interkalierende fluorescerende farvestof EvaGreen. Disse kits kombinerer optimeret HRM-buffer og HotStarTaq® Plus DNA Polymerase for at undgå uspecifikke amplifikationsprodukter og for at give pålidelige resultater.

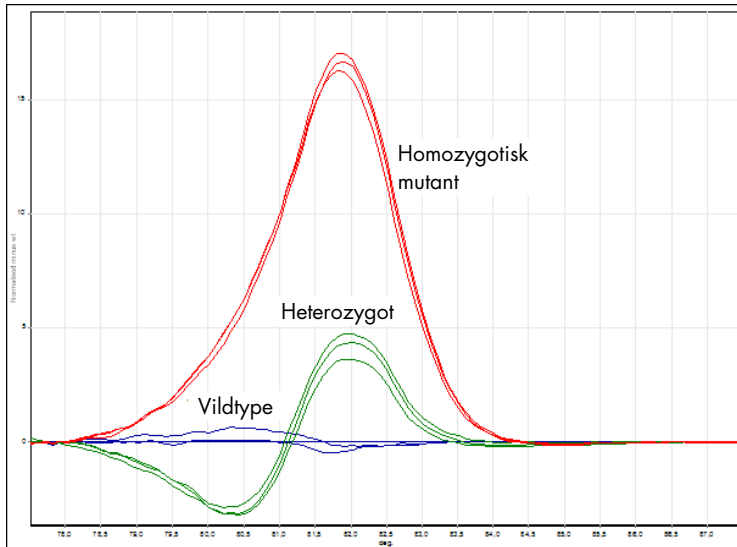
Bemærk: Alle QIAGEN HRM-kits og -reagenser er kun indiceret til brug med Rotor-Gene Q-instrumenter til de anvendelser, der er beskrevet i de respektive QIAGEN Kit-håndbøger.

10.3 Eksempel på SNP-genotypebestemmelse

I det viste eksempel blev Type-it HRM PCR-kittet brugt i HRM-analyse til at skelne mellem homozygotisk vildtype, homozygotisk mutant og heterozygotisk form af den humane SNP rs60031276. Du kan se specifikke tekniske oplysninger i *Håndbog til Type-it HRM PCR*.

A



B**C**

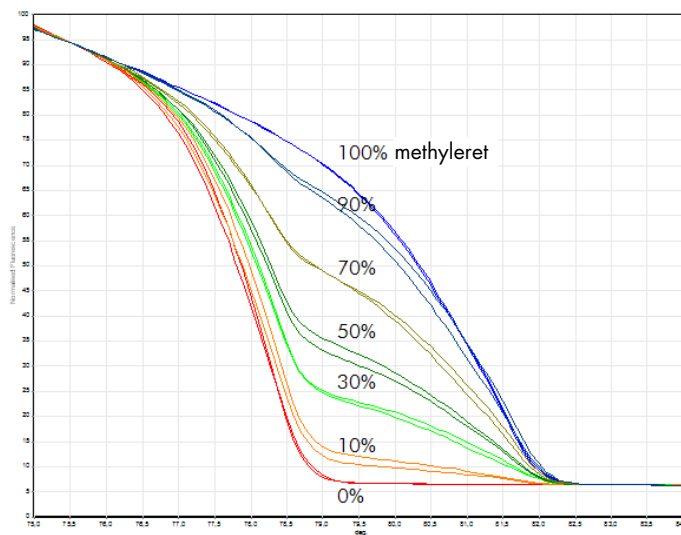
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22		AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23		unknown	homo AA	99,49
24		unknown	homo AA	99,76
28		AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29		unknown	hetero AG	99,49
30		unknown	hetero AG	98,47
34		GG Human SNP rs60031276	homo GG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

SNP-genotypebestemmelse med HRM. Human SNP rs60031276 (A til G-substitution) i PPP1R14B-genet (proteinfosfatase 1, regulerende (hæmmer) underenhed 14B) blev analyseret på Rotor-Gene Q under anvendelse af 10 ng genomisk DNA af forskellige genotyper og Type-it HRM-kittet. Prøver af homozygotisk vildtype (AA), homozygotisk mutante (GG) og heterozygotiske (AG) prøver er vist på **A** en normaliseret standardmeltekurve og **B** et forskelsdiagram, der er normaliseret til vildtypeprøver. **C** Genotyper for de ukendte prøver blev tildelt af Rotor-Gene Q-softwaren.

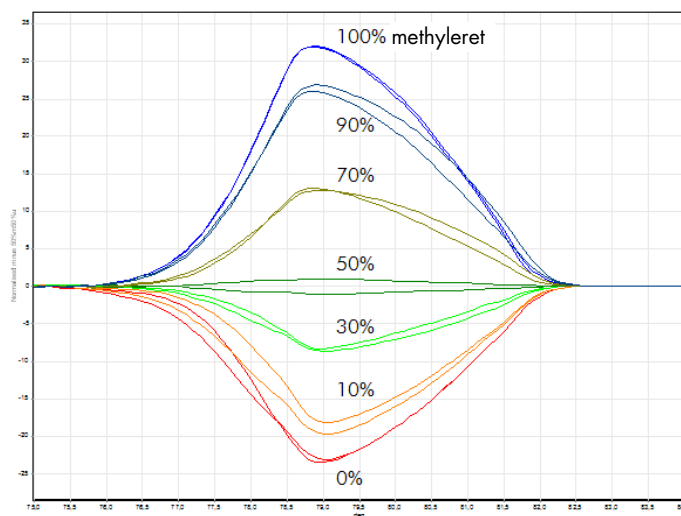
10.4 Eksempel på metyleringsanalyse

I det viste eksempel blev EpiTect HRM PCR-kittet brugt i HRM-analyse til at skelne mellem forskellige forhold mellem methyleret og umethyleret DNA. Du kan se specifikke tekniske oplysninger i *Håndbog til EpiTect HRM PCR*.

A



B



Kvantitativ metyleringsanalyse med HRM. Forskellige forhold mellem methyleret og umethyleret DNA-APC (adenomatosis polyposis coli) blev analyseret og skelnet fra hinanden ved HRM-metyleringsanalyse på Rotor-Gene Q ved hjælp af EpiTect HRM-kittet. **A** en normaliseret standardmeltekurve og **B** et forskelsdiagram, der er normaliseret til 50% methyleret prøve er vist.

10.5 Retningslinjer for vellykket HRM-analyse

Om HRM-analysen bliver vellykket afhænger i høj grad af den specifikke sekvens, der undersøges. Visse sekvensmotiver, såsom hårnålesøjfer eller andre sekundære strukturer, lokaliserede områder med usædvanligt højt eller lavt GC-indhold eller gentagne sekvenser kan alle påvirke resultatet. Derudover kan brug af standardiserede kits og optimerede protokoller fra QIAGEN afhjælpe mange af de angivne potentielle problemer. Nedenfor er beskrevet nogle enkle retningslinjer til at sikre vellykket resultat.

Analysér små DNA-fragmenter

Undlad at analysere fragmenter på mere end cirka 250 bp. Større produkter kan analyseres med vellykket resultat, men giver normalt lavere opløsning. Dette skyldes for eksempelvis, at en enkelt basevariation har en større effekt på smelteadfærden af et 100-bp amplikon end på et 500-bp amplikon.

Sørg for, at PCR udelukkende indeholder specifikt produkt

Prøver, der er kontamineret med post-PCR-artefakter såsom primer-dimere eller uspecifikke produkter kan gøre HRM-resultater svære at fortolke. Kits fra QIAGEN til HRM-analyse sikrer maksimal specificitet uden behov for optimering.

Brug skabelon med tilstrækkelig præamplifikation

Analyse real-time PCR-data kan være meget nyttig ved fejlfinding af HRM-analyser. Amplifikationsdiagrammer skal have en C_T (tærskelcyklus) på mindre end eller lig med 30 cyklusser. Produkter, der amplificerer senere end dette (på grund af lav startskabelonmængde eller skabelonnedbrydning), producerer typisk variable HRM-resultater på grund af PCR-artefakter.

Normaliser skabelonkoncentrationen

Mængden af skabelon, der tilsættes i reaktionen, skal være ensartet. Normaliser startkoncentrationerne, så alle amplifikationsdiagrammer er inden for 3 C_T -værdier fra hinanden. Dette sikrer, at inputkoncentrationerne er inden for et 10-foldigt interval.

Tjek for afvigende amplifikationsdiagrammer

Inden du kører HRM, skal du undersøge amplifikationsdiagramdata omhyggeligt for eventuel unormal form på amplifikationsdiagram. Diagrammer med en log-lineær fase, der ikke er stejl, er takket, eller som når et plateau med lavt signal sammenlignet med andre reaktioner, kan indikere dårlig amplifikation eller et fluorescenssignal, der er for lavt (dette kunne eksempelvis forekomme, hvis primerkoncentrationen var for lav). Dårlige reaktioner kan være forårsaget af reaktionshæmmere eller forkert reaktionsopsætning. HRM-data fra sådanne prøver kan være inkonklusive eller af lav opløsning. For at undgå upålidelige resultater anbefaler vi QIAGEN-kits til prøveforberedelse og HRM-analyse.

Brug ensartede prøvekoncentrationer efter amplifikation

Koncentrationen af et DNA-fragment påvirker dets smeltetemperatur (T_m). Af denne grund skal DNA-koncentrationer i prøverne holdes så ens som muligt. Når du analyserer PCR-produkter, skal du sikre dig, at hver reaktion er amplificeret til plateaufasen. På plateauet vil alle reaktioner være amplificeret i samme omfang uanset deres startmængde. Bemærk dog, at dårlige reaktioner muligvis ikke når plateau med den samme amplificerede mængde på grund af eksempelvis inkonsekvent analyseopsætning (eksempelvis var primerkoncentrationen for lav).

Sørg for ensartethed fra prøve til prøve

Alle prøver skal have samme volumen og bør indeholde samme koncentration af farvestof. DNA-smelteadfærd påvirkes af salte i reaktionsblandingen, så det er vigtigt, at koncentrationen af buffer, Mg og andre salte er så ensartet som muligt i alle prøver. Tilsvarende skal du kun bruge identiske reaktionsrør fra samme producent for at undgå variationer på grund af plasttykkelse og autofluorescensegenskaber.

Tillad tilstrækkelig dataindsamling til forsmeltnings- og eftersmeltningsfaserne

Indfang HRM-datapunkter over et område på ca. 10 °C, centreret omkring det observerede T_m (se figuren på side 10). Dette giver tilstrækkelige baseline-datapunkter til effektiv kurvenormalisering og vil resultere i mere reproducerbare replikater og lettere datafortolkning.

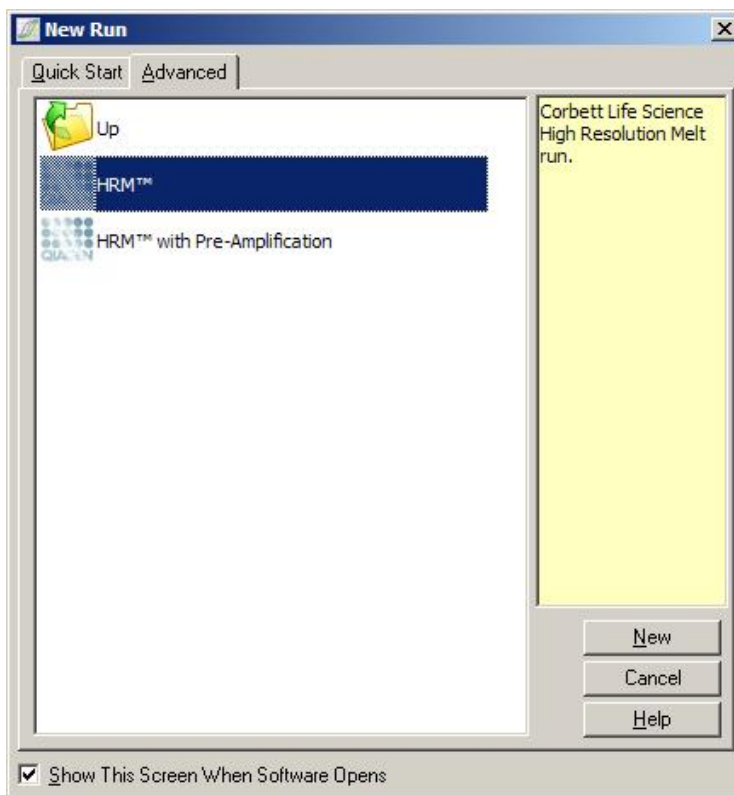
10.6 Klargøring af prøve

Prøvededbrydning bør undgås under oprensning og opbevaring. Undgå for store mængder af hæmmere, såsom fra ethanoloverførsel. For at forbedre HRM-resultaterne anbefaler vi at holde mængden af den anvendte skabelon ensartet mellem prøverne. Spektrofotometrisk analyse til bestemmelse af DNA-koncentration og -renhed anbefales. Vi anbefaler QIAGEN-kits til klargøring af prøve.

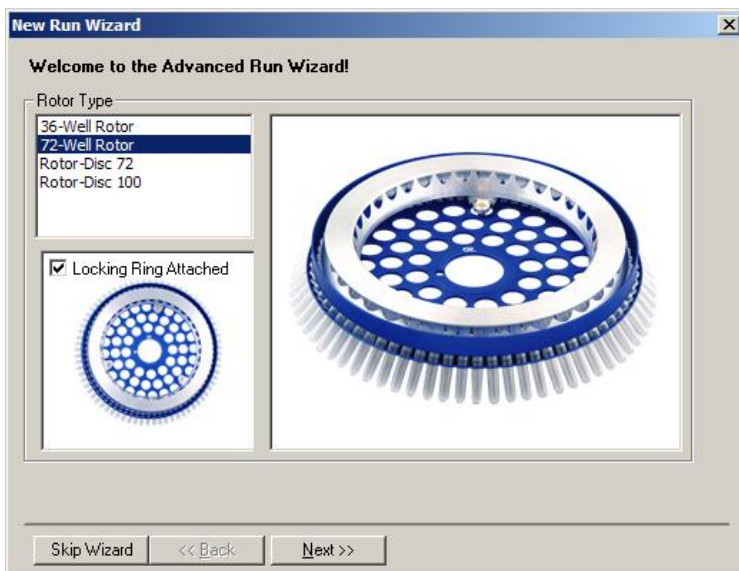
Bemærk: Ved 260 nm er en absorbansenhed lig med 50 µg/ml DNA. Rent DNA vil give et 260 nm til 280 nm-forhold på 1,8.

10.7 Softwareopsætning

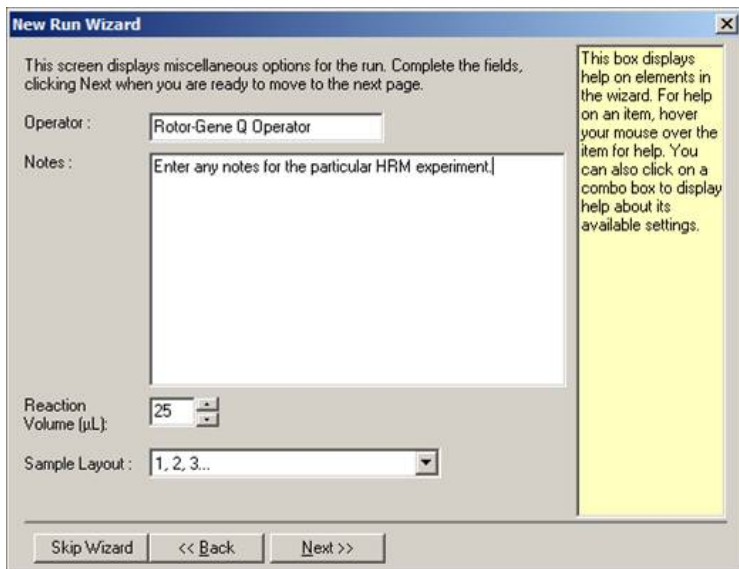
1. Åbn en ny fil til kørsel ved at vælge New... (Ny...) i menuen File (Fil). I guiden Advanced (Avanceret) vælges HRM.



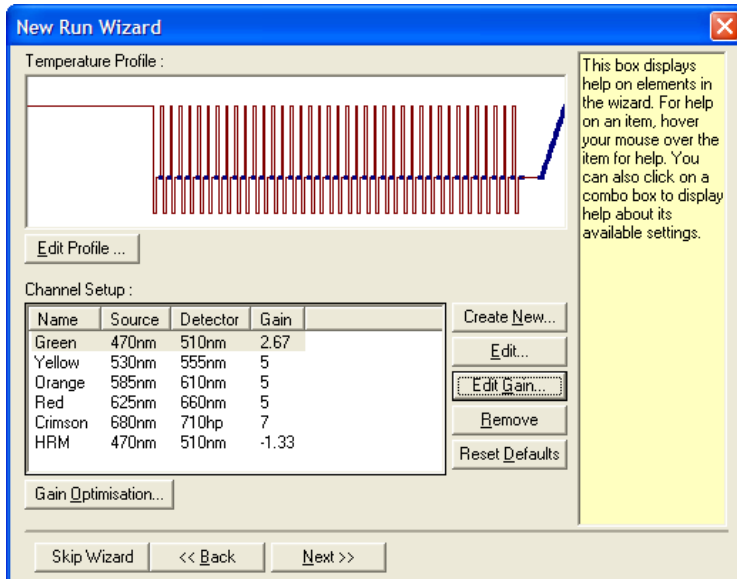
2. Angiv rotortype (i dette eksempel anvendes 72-Well Rotor). Kontrollér, at låseringen er på plads, og at afkrydsningsfeltet Locking Ring Attached (Låsering påsat) er markeret, før du fortsætter til næste trin.



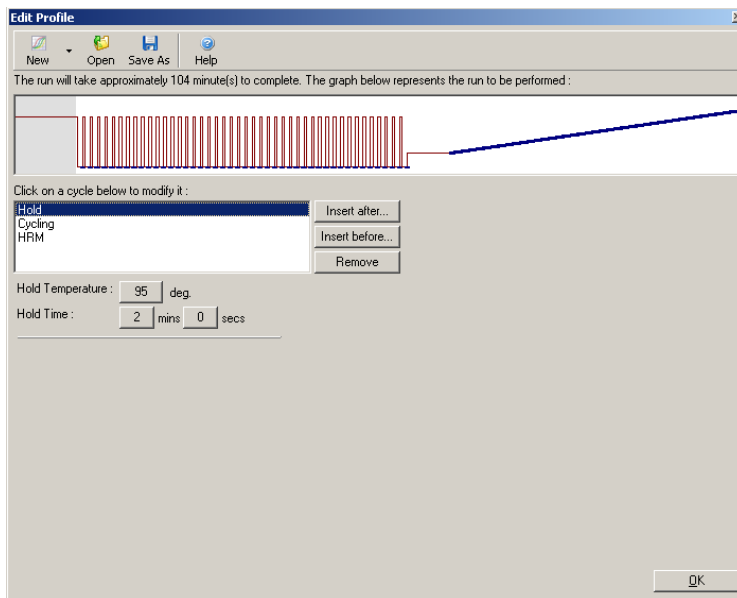
3. Indstil kørselsoplysningerne. Indtast brugernavnet (valgfrit), og tilføj eventuelle bemærkninger om eksperimentet (valgfrit). Vælg reaktionsvolumen (påkrævet) og det ønskede prøvelayout.



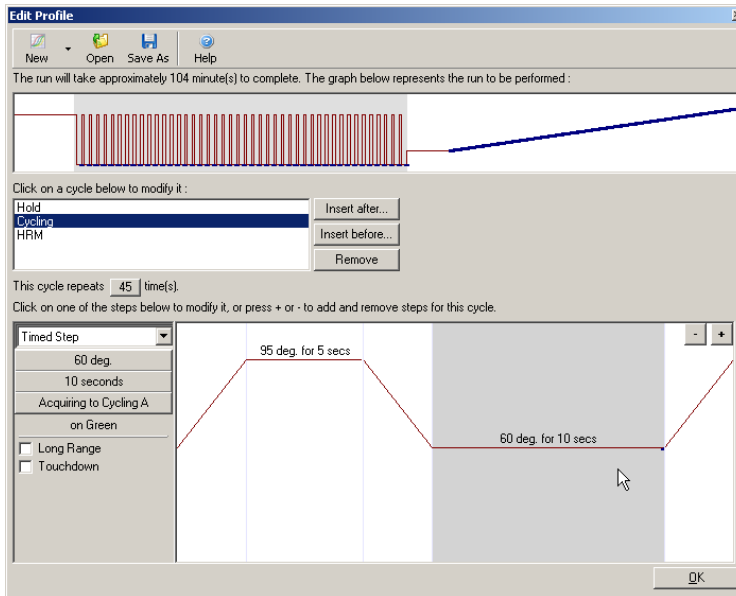
4. Klik på knappen Edit Profile... (Rediger profil...) for at redigere tiderne og temperaturerne i reaktionen.



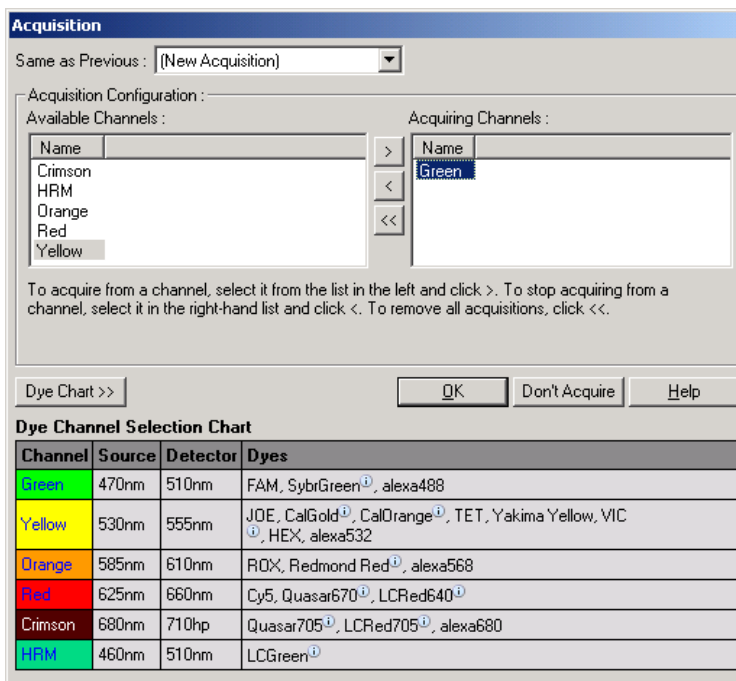
5. Indstil en passende indledende holdetid. Denne tid afhænger af den anvendte type DNA-polymerase. Type-it HRM PCR Kit og EpiTect HRM PCR Kit kræver en reaktionstid på 5 min. Standardaktiveringstiden er 10 min.



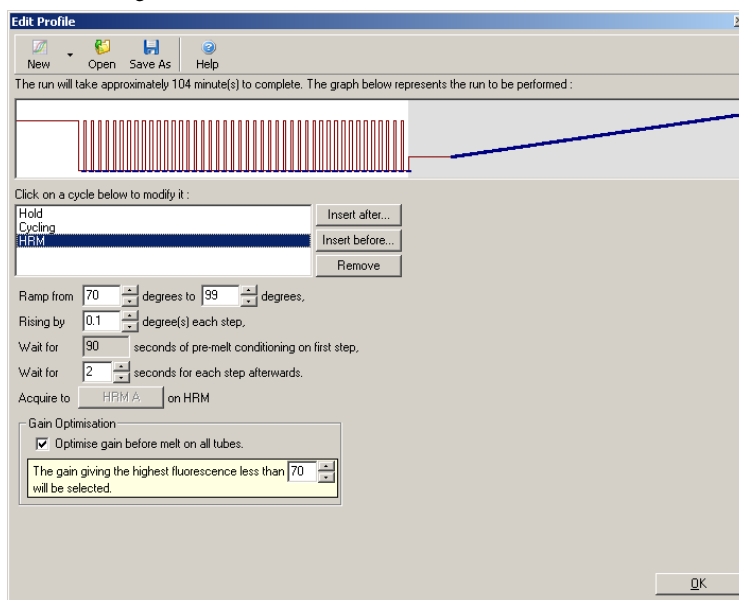
6. Rediger cyklussen, så den passer til amplikonet.



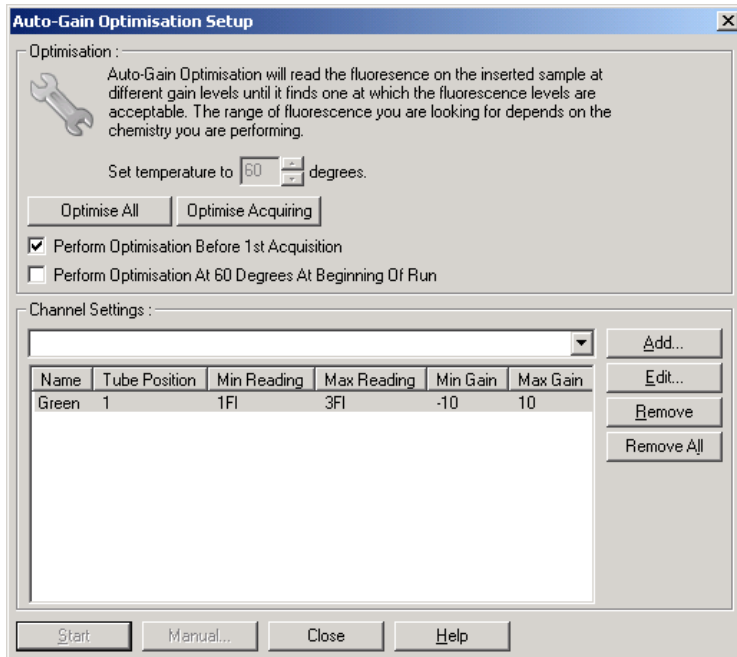
7. Kontrollér, at der vil blive hentet fluorescensdata. Hent data til den grønne kanal i slutningen af afhærdningstrinnet.



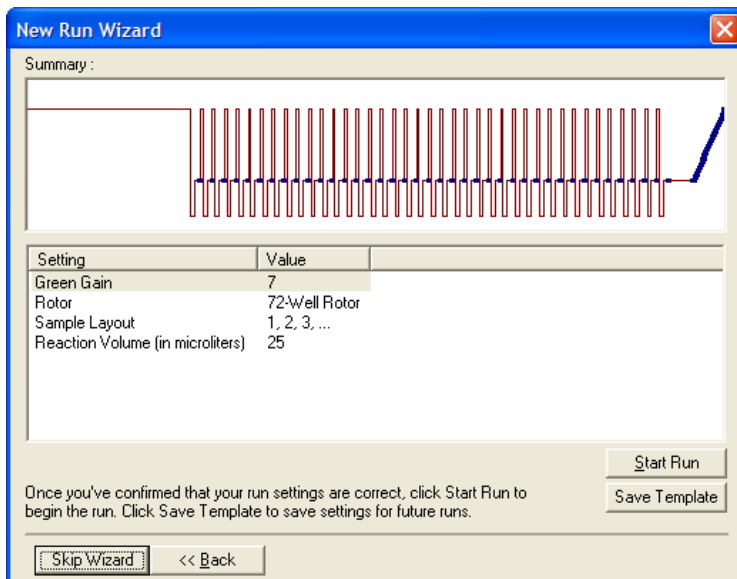
8. Indstil HRM-kørselsbetingelserne. Rediger betingelserne, så de passer til amplikonet. For det første sæt af eksperimenter skal du tillade et bredt smeltemråde. Brug det teoretiske T_m som guide til et passende område. Når du har bestemt, hvor produktet vil smelte, skal du reducere smeltemrådet til højst 10 °C. Sørg for, at starten af smeltningen sker ved 5 °C før den første smelteovergang. Standardrampen er indstillet til 0,1 °C med et hold på 2 s ved hvert trin. Den mindste rampeovergang er 0,05 °C med endnu hold ved hvert trin. Data hentes automatisk til HRM-kanalen. Automatic Gain Optimisation (Automatisk optimering af forstærkning) udføres som standard. Softwaren vil søge efter den optimale forstærkningsindstilling, så den højeste rapporterede fluorescensværdi ikke er større end 70 enheder på en skala af 100. Bemærk, at dette maksimalt kan øges til 100.



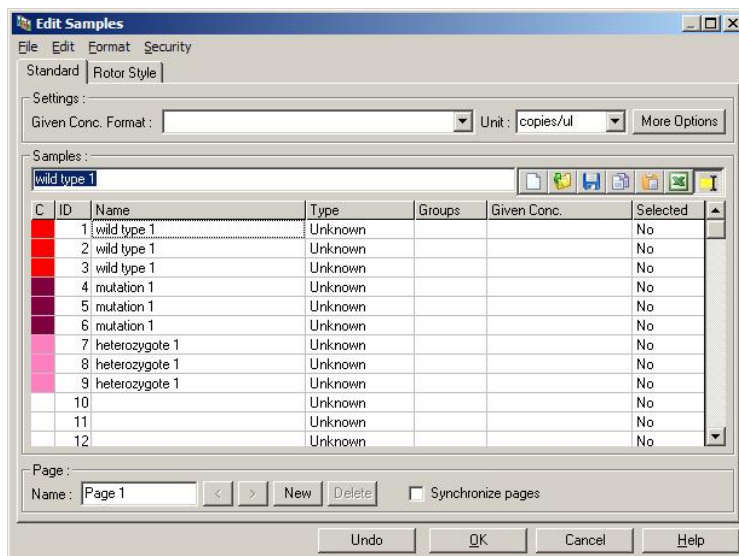
9. Ekstraudstyr: Indstil Auto-Gain Optimisation (Automatisk optimering af forstærkning). Dette gælder kun for realtidsamplifikationstrinnet og er indstillet for den grønne kanal. Klik på knappen Optimize Acquiring (Optimer hentning) (for kun at optimere de kanaler, der anvendes af en kørsel). Optimering udføres bedst lige før det første hentningstrin, så du bør markere afkrydsningsfeltet Perform Optimization Before First Acquisition (Udfør optimering før første hentning). Det anbefalede baggrundsfluorescensinterval for interkalerende farvestoffer er mellem 1 og 3 fluorescenseenheder. For at ændre denne indstilling skal du klikke på kanalnavnet for at vælge det på listen og derefter klikke på knappen Edit (Rediger).



10. Start kørslen ved at klikke på Start Run (Start kørsel), og gem kørselsfilen på computeren.



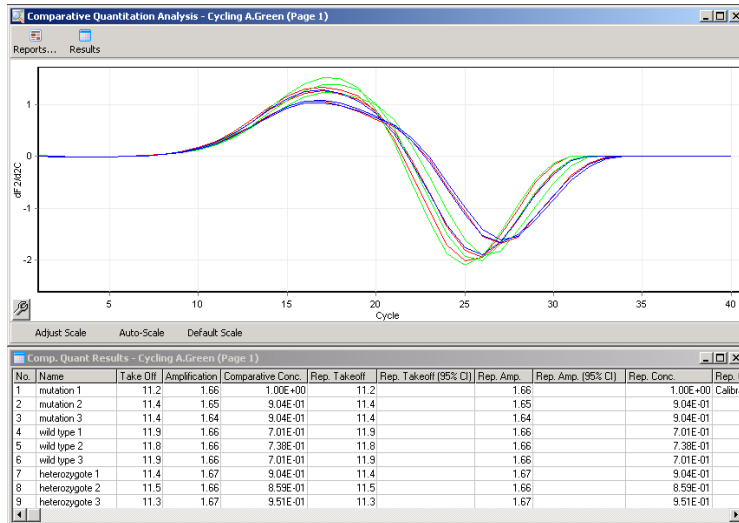
11. Rediger prøvenavnene (valgfrit). Prøvenavne kan redigeres under eller efter en kørsel.



10.8 Real-time PCR-dataanalyse

Det er en fordel at analysere real-time PCR-dataene inden HRM-dataanalyse. Real-time PCR-data kan afsløre dårligt udførte analyser. At identificere disse afvigelser og filtrere dem fra efterfølgende HRM-analyse vil i høj grad forbedre den overordnede effektivitet af HRM-analysen, da analyse af PCR-produkter af dårlig kvalitet vil resultere i dårlige HRM-resultater. Vi anbefaler at analysere kvantitative real-time PCR-data som følger.

1. Analysér real-time-dataene ved hjælp af valgmuligheden Quantitation (Kvantificering) i vinduet Analysis (Analyse). Hvis nogen C_T -værdier er 30 eller højere, anses de tilsvarende reaktioner for at være amplificeret for sent. Disse prøver skal analyseres med mistanke eller fjernes fra analysen som en afvigelse. Sen amplifikation skyldes normalt for lidt startskabelonmængde og/eller høj grad af prøvedebrydning.
2. Vurder endepunktets fluorescensniveau. Hvis endepunktsfluorescensen i nogen af amplifikationsdiagrammerne er lav sammenlignet med størstedelen af diagrammerne i datasættet, skal disse prøver udelades fra analysen, selvom deres C_T -værdi er mindre end 30. Lavt endepunktsfluorescens kan være tegn på forkert farvestofmængde, forkerte niveauer af reaktionskomponenter (såsom primere) eller virkningen af hæmmere.
3. Brug valgmuligheden Comparative Quantitation (Komparativ kvantificering) i vinduet Analysis (Analyse) for at indhente data om reaktionseffektivitet for hver prøve. Hvis effektiviteten ikke svarer til andre reaktioner i eksperimentet, eller er mindre end cirka 1,4, udelades reaktionen som en afvigelse.



Resultater af komparativ kvantificering. Reaktionseffektiviteten er vist i kolonnen "Amplification" (Amplifikation) som en score ud af to (2 = 100 % effektivitet).

Bemærk: Hvis du har mistanke om tilstedeværelse af primer-dimerer eller uspecifikke produkter, skal du vurdere reaktionerne ved at tegne et derivatdiagram med hjælp af valgmuligheden Melt (Smelt) i vinduet Analysis (Analyse). Kontrollér, at der er en enkelt spids, hvilket indikerer et enkelt produkt. Kør om muligt en gel for at kontrollere, at der er et enkelt amplifikationsprodukt. Hvis der er mere end ét produkt, skal reaktionen gentages eller reoptimeres.

10.9 HRM-dataanalyse

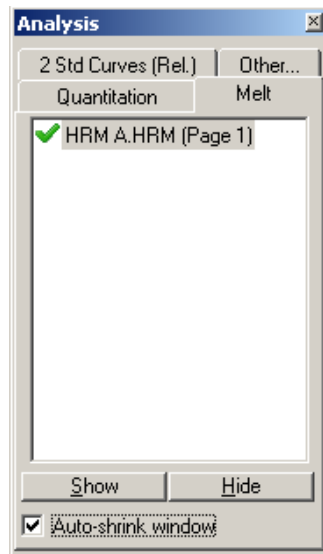
HRM-analyse muliggør både visuel og automatisk bestemmelse af genotyper. Resultaterne kan vises som enten et normaliseret smeltdiagram eller et forskelsdiagram. Normaliserede kurver giver den grundlæggende repræsentation af de forskellige genotyper baseret på kurveskift (for homozygoter) og kurveformændring (for heterozygoter).

Forskelsdiagrammer er en hjælp til visuel tolkning. De plotter forskellen i fluorescens af en prøve til en udvalgt kontrol ved hver temperaturovergang. Forskelsdiagrammer giver et alternativt billede af forskellene mellem smeltekurveovergange.

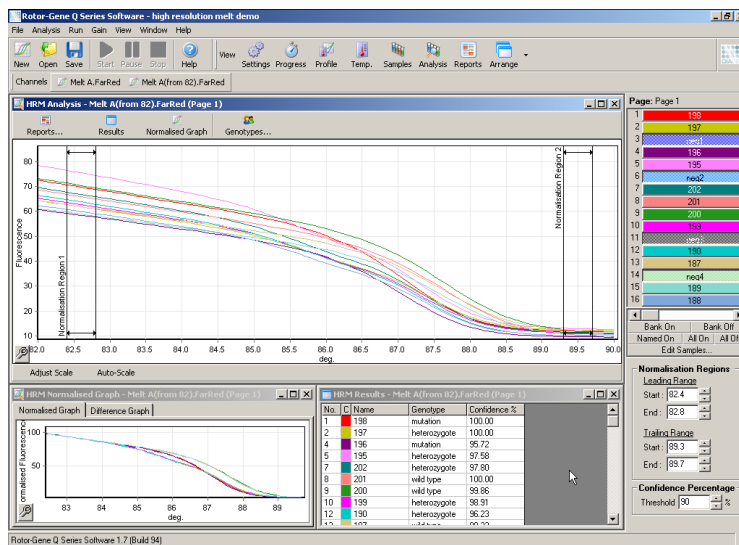
Bemærk: Første derivats smeltekurveanalyse (som den anvendes standardindstillingen for Melt (Smelt) i vinduet Analysis (Analyse)) anses for upassende til HRM-analyse. Dette skyldes, at ethvert derivat af dataene tilføjer kunstig støj og gør datafortolkning vanskeligere.

De følgende trin beskriver analysen af HRM-resultater ved hjælp af Rotor-Gene Q-software.

1. Vælg valgmuligheden HRM i vinduet Analysis (Analyse).

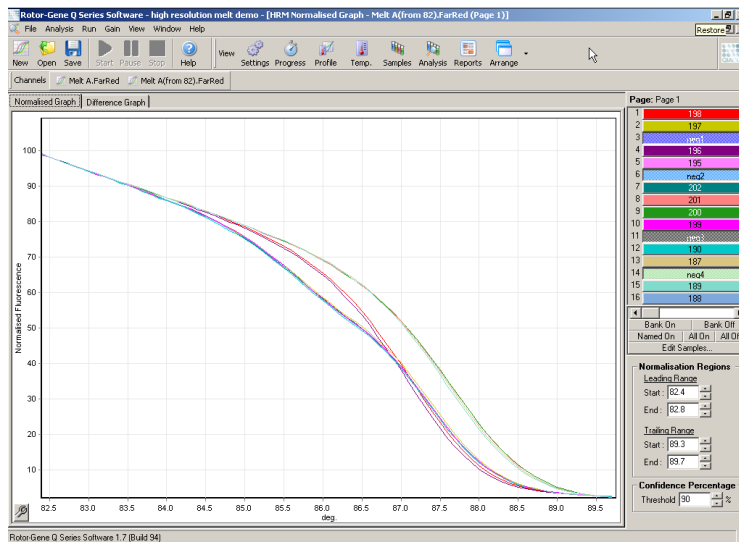


2. Der vises vinduer med rådataene, den normaliserede graf og resultaterne. Vinduet med rådata tillader justering af normaliseringsregionerne. Normalisering gør det muligt at sammenligne alle kurver med det samme start- og slutfluorescerende signalniveau som hjælpemiddel ved fortolkning og analyse. Der er som standard angivet to markører pr. region til enderne af kurven. Datapunkterne inden for regionerne bruges til at normalisere fluorescens (kun y-aksen) for starten (Region 1) og slutningen (Region 2) af smeltdiagrammet. Data uden for de indstillede regioner ignoreres. Juster regionerne til at omfatte repræsentative basisdata for forsmeltning- og eftersmeltningfaserne. Udvidelse af områderne (ved at klikke og trække) gør det muligt for softwaren at tilpasse efter hældningen af baseline. For at sikre, at kurver normaliseres effektivt, skal du undgå at udvide normaliseringsregionerne ind i smeltefasen.

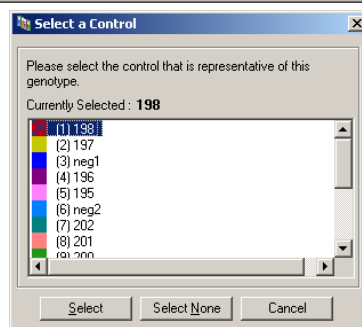
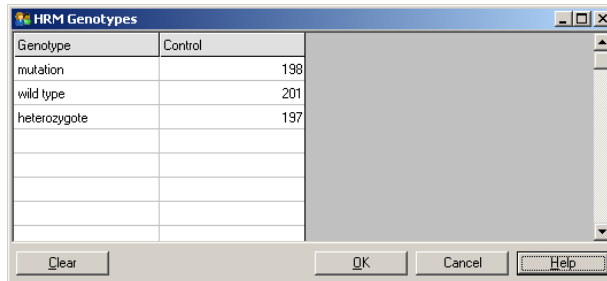


Bemærk: Vi anbefaler, at markørerne kun flyttes, hvis du ønsker at undgå områder af smeltekurven. Bevægelse af markørerne mod smeltfaseovergangene kan påvirke subtraktionsdiagrammer og konfidensprocenter.

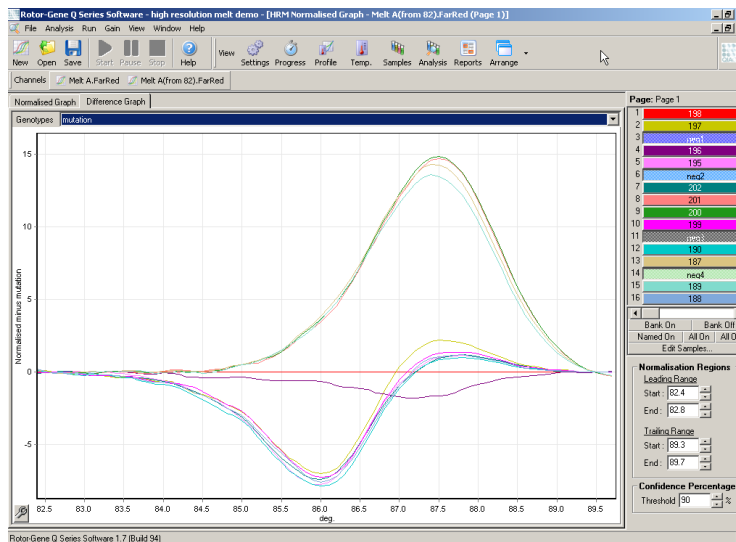
3. Vinduet Normalised Graph (Normaliseret diagram) viser de normaliserede smeltekurver. Prøver kan også vises som et forskelsdiagram i forhold til en af kontrollerne.



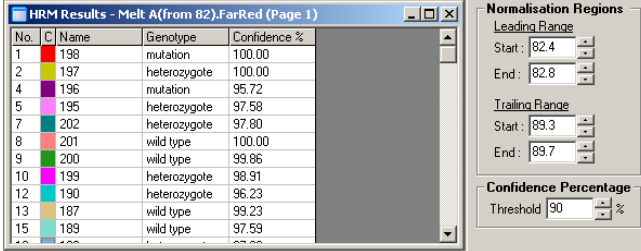
4. Klik på knappen Genotypes... (Genotyper...) for at definere genotyperne. Indtast hvert genotyperkategori navn, og vælg en repræsentativ prøve for hver fra prøvelisten.



5. Få vist forskelsdiagrammet ved at vælge fanen Difference Graph (Forskelsdiagram). Vælg derefter den genotype, du ønsker at sammenligne alle andre prøver med, ved at bruge rullemenuen øverst i vinduet. I det viste eksempel er alle prøver plottet ind fratrukket et gennemsnitsplot af alle mærkede prøver Mutation 1.



6. Genotyper bestemmes automatisk af softwaren i vinduet Results (Resultater). En konfidensværdi er angivet som et integritetstjek af automatisk bestemte resultater. Den tærskelværdi, over hvilken automatisk bestemmelse udføres, kan redigeres. Prøver, der falder under den indstillede tærskel, vil blive markeret som en variation, der kræver nærmere undersøgelse eller testning på ny.



The screenshot shows a software window titled "HRM Results - Melt A(from 82).FarRed (Page 1)". It contains a table with the following data:

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

To the right of the table is a control panel with the following sections:

- Normalisation Regions**
 - Leading Range**
 - Start: 82.4
 - End: 82.8
 - Trailing Range**
 - Start: 83.3
 - End: 83.7
- Confidence Percentage**
 - Threshold: 90 %

11 Fejlfinding

Dette afsnit giver information om hvad der skal gøres, hvis en fejl opstår under anvendelsen af Rotor-Gene Q MDx systemet.

Kontakt QIAGEN Teknisk Service via nedenstående kontaktoplysninger, hvis der er behov for yderligere hjælp:

Websted: support.qiagen.com

Bemærk trinnene, der fører op til fejlen og alle oplysninger, der vises i alle dialogbokse, når du kontakter QIAGEN Teknisk Service om en fejl i Rotor-Gene Q MDx. Disse oplysninger vil hjælpe QIAGEN Teknisk Service med at løse problemet.

Hav følgende oplysninger klar, når QIAGEN Teknisk Service skal kontaktes i tilfælde af fejl:

- Serienummer, type og version for Rotor-Gene Q MDx
- Softwareversion (hvis det er relevant)
- Tidspunkt, hvor fejlen opstod første gang
- Fejlfrekvensen (dvs. om den kommer og går eller er vedvarende)
- Detaljeret beskrivelse af fejlsituationen
- Foto af fejlen, hvis det er muligt
- Kopi af logfiler

Disse oplysninger hjælper dig og specialisten hos QIAGEN Teknisk Service med at håndtere dit problem mest effektivt.

Bemærk: Oplysninger om de nyeste software- og protokolversioner kan findes på www.qiagen.com. I nogle tilfælde kan der være opdateringer tilgængelige til løsning af specifikke problemer.

11.1 Logarkiver

Softwaren opbevarer en uændret registrering af hver kørsel sammen med diagnostiske oplysninger i dets logarkiv. Med valgmuligheden **Help (Hjælp)**, **Send Support Email (Send e-mail om support)** kan du sende en e-mail sammen med alle de nødvendige diagnostiske oplysninger til QIAGEN Teknisk Service (se afsnit 6.12.1).

For at spare diskplads gemmes kun logarkiver af de 60 seneste kørsler. Ældre kørselslogarkiver vil blive overskrevet, efterhånden som nye kørselslogarkiver oprettes.

11.2 Hardware- og softwarefejl

11.2.1 Fejlfinding af HRM

Kommentarer og forslag

Der kan ikke køres HRM

Rotor-Gene Q MDx-modellen er ikke udstyret med HRM Kontakt den lokale QIAGEN-salgrepræsentant.

Der indhentes ingen HRM-data

Forkert opsætning
Kontrollér filterindstillingerne.
Kontrollér, om rotortypen er korrekt.
Kontrollér, om de rigtige reagenser anvendes.
Kontrollér, om reaktionen er konfigureret korrekt.
Kør et eksperiment med en positiv kontrol (dvs. en analyse, der vides at give resultater).

Diagrammerne er takkede

Dårlig eller ingen amplifikation
Kontrollér, om de rigtige protokoller og reagenser anvendes. Vi anbefaler QIAGEN-kits til HRM-analyse.
Kontrollér, om reaktionen er konfigureret korrekt.
Kontrollér cyklusbetingelserne.
Kontrollér skabelonens startkvalitet og -kvantitet. Vi anbefaler QIAGEN-kits til klargøring af prøve.

Amplifikations- eller smeltdiagrammer er mættede

Forstærkning er indstillet for højt Brug **Auto-Gain Optimisation** (Automatisk optimering af forstærkning) (se side 63).

Konfidensprocenterne har ændret sig

Nogle normaliseringsregioner er blevet flyttet ved klik og træk Flyt kun normaliseringsregioner, hvis det er nødvendigt for at undgå dele af smeltekurven.

Der er afvigelse i dataene

Inkonsekvent reaktionsopsætning
Kontrollér, om de rigtige reagenser anvendes.
Kontrollér, at rørene er ens.
Der er hæmmere til stede i prøven
Kontrollér, at der blev anvendt den samme master-blanding for alle prøver.
For lidt eller for nedbrudt skabelon
Kontrollér skabelonens startkvalitet og -kvantitet.

11.3 Fejl- og advarselsmeddelelser

11.3.1 Generelle instrumentfejl

Fejlmeddelelser	Kommentarer og forslag
Can't open the serial port <COMPORT> (Kan ikke åbne den serielle port <COMPORT>)	<p>Denne fejl opstår ved softwarestart, hvis softwaren ikke kan kommunikere med instrumentet via den konfigurerede COM-port. Dette er almindeligvis forårsaget af defekte kabler, løse kabler, defekte serielle porte, defekte USB-porte, et USB-driverproblem eller et USB-til-seriel-konverteringsdriverproblem.</p> <p>Tilslut igen eller udskift kablet. Geninstaller de relevante drivere. Start softwaren i Virtual Mode (Virtuel tilstand), og vælg knappen Setup/Auto-Detect (Opsæt/Registrér automatisk) i menuen File (Fil) for at nulstille den konfigurerede COM-port.</p>
Chamber lid open (Kammeret låg er åbent) Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software (Kunne ikke fortsætte kørslen, da kammerlåget blev åbnet under en kørsel. Nulstil maskinen, og genstart softwaren).	<p>Denne fejl opstår, når softwaren har registreret, at låget er åbent midt under en kørsel.</p> <p>Nulstil maskinen, og genstart softwaren.</p>
Chamber lid open (Kammeret låg er åbent) The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue (Instrumentkammerlåget er åbent. Luk låget, og klik derefter på Continue (Fortsæt)).	<p>Denne fejl opstår, når brugeren forsøger at starte en kørsel, mens instrumentlåget er åbent.</p> <p>Luk låget til instrumentkammeret, og klik derefter på Continue (Fortsæt).</p>
Communication corrupted (Kommunikation ødelagt)	<p>Denne fejl opstår, når data modtaget fra instrumentet ikke opfylder det forventede mønster.</p> <p>Der kræves yderligere undersøgelser af en QIAGEN-servicespecialist for at diagnosticere problemet med instrumentet.</p> <p>Kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.</p>
Communication out of sequence (Kommunikation er i forkert rækkefølge) Instrument has received data from the machine that is out of sequence (Instrumentet har modtaget data fra maskinen, som er i forkert rækkefølge).	<p>Denne fejl opstår, når data modtaget fra instrumentet ikke er i den rigtige rækkefølge.</p> <p>Der kræves yderligere undersøgelser af en QIAGEN-servicespecialist for at diagnosticere problemet med instrumentet.</p> <p>Kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.</p>
Communication protocol error (Fejl i kommunikationsprotokol) A communication protocol error occurred with this run (Der opstod en kommunikationsprotokolfejl med denne kørsel).	<p>Denne fejl opstår, når kommunikationsprotokollen, der er konfigureret i firmvaren, ikke er den samme som den forventede protokol.</p> <p>Der kræves yderligere undersøgelser af en QIAGEN-servicespecialist for at diagnosticere problemet med kommunikationsprotokollen eller instrumentet.</p>
Detector motor jam, stopped machine (Detektormotorstop, stoppet maskine)	<p>Denne fejl kan opstå, hvis Rotor-Gene Q MDx startes umiddelbart efter levering under kolde vejrforhold.</p> <p>Lad i så fald instrumentet opnå stuetemperatur i mindst en time, før det tændes.</p> <p>Hvis fejlen fortsætter, skal du kontakte forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.</p>

Fejlmeddelelser

Kommentarer og forslag

Fatal hardware malfunction (Fatal hardwarefejl)

The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction. Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor (Instrumentet registrerede, at der var en fatal hardwarefejl. Forsøg ikke at bruge maskinen igen, før maskinen er blevet serviceeftersat af din forhandler).

Denne fejl opstår, når softwaren har registreret en fatal hardwarefejl og har aktiveret en sikker beskyttelsesprocedure for at slukke for maskinen.

Sluk straks for instrumentet, og kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.

Machine error (Maskinefejl)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file (Denne kørsel blev stoppet, da der opstod maskinefejl, som ikke systemet ikke kunne genoprette efter. Kontakt forhandleren, hvis dette sker igen, og vedhæft en supportarkivfil).

Denne fejl opstår, når softwaren har registreret fejl på maskinen, som den ikke kunne genoprette efter. Softwaren har stoppet kørslen.

Prøve at køre en ny kørsel. Hvis problemet fortsætter, skal du kontakte forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service og vedhæfte en supportarkivfil.

Machine unplugged

(Maskinen er frakoblet)

The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE >. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software (Instrumentet reagerer ikke og gik i fejltilstand med meddelelsen <FEJLMEDELSE>. Dette er en uoprettelig fejl. Nulstil instrumentet, og genstart softwaren).

Denne fejl opstår, hvis instrumentet ikke kommunikerer med softwaren efter et defineret timeout-interval. Det skyldes ofte en instrumentfejl eller for høj aktivitet fra pc'en, som medfører, at en pakke går tabt.

Typiske softwarerelaterede årsager omfatter processorkrævende opgaver, såsom antivirusbeskyttelse eller planlagte antivirusscanninger, kort til trådløs eller infrarød forbindelse.

Deaktiver eller afinstaller den relevante processorintensive software/opgave.

Nulstil instrumentet, og genstart softwaren.

Kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service, hvis problemet fortsætter.

Machine unplugged

(Maskinen er frakoblet)

The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME>. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue (Instrumentet er ikke tilsluttet din computer på <PORTNAVN>. Tilslut det serielle kabel til bagsiden af computeren igen, og klik derefter på Continue (Fortsæt)).

Denne fejl opstår, når den serielle kommunikation eller USB-kommunikationen til instrumentet går tabt.

Tilslut seriekablet eller USB-kablet til bagsiden af computeren igen, og klik derefter på knappen Continue (Fortsæt).

Object variable or with block

variable not set (Objektvariabel eller med blokvariabel ikke indstillet)

Denne fejl opstår ved softwarestart, hvis standardeksperimentetskabelonfilen er beskadiget. Dette kan ske, hvis softwaren/computeren lukkes ned uden at være afsluttet korrekt, for eksempel under en strømafbrydelse.

Slet filen C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret, og genstart derefter softwaren.

Rotor speed failure

(Rotorhastighedsfejl)

Time out while setting the rotor speed (Timeout, mens rotorhastigheden indstilles).

Denne fejl opstår, når softwaren har forsøgt at indstille rotorhastigheden og ikke har kunnet indstille målhastigheden inden for en time-out-periode.

Der kræves yderligere undersøgelser af en QIAGEN-servicespecialist for at diagnosticere problemet med instrumentet.

Kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.

Fejlmeddelelser

Kommentarer og forslag

Serial port in use (Seriel port i brug)

The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry (Den serielle port bruges i øjeblikket af et andet program. Luk alle programmer såsom kommunikations- eller synkroniseringssoftware, og prøv derefter igen).

Denne fejl opstår, når softwaren forsøger at oprette forbindelse til maskinen på den konfigurerede COM-port, mens porten bruges af en anden software.

Luk alle programmer såsom kommunikations- eller synkroniseringssoftware, og prøv derefter igen.

Shutdown timeout

(Nedlukningstid fik timeout)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software (Instrumentet har overskredet den forventede tid til nedlukning. Nulstil maskinen, og nulstil softwaren).

Denne fejl opstår, når softwaren har udstedt en nedlukningskommando om at lukke instrumentet ned, og maskinen bliver ved med at sende data tilbage efter et forventet afventningstidsrum.

Nulstil maskinen, og genstart softwaren.

Temperature protection activated (Temperaturbeskyttelse aktiveret)

The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists (Instrumentet registrerede, at kammertemperaturen steg over et sikkert niveau. Det er derfor gået ind i en selvbeskyttelsestilstand. Sluk for instrumentet, og kontakt forhandleren, hvis problemet fortsætter).

Denne fejl opstår, når softwaren har registreret, at kammertemperaturen er steget til over et sikkert niveau, og dermed har aktiveret en sikker beskyttelsesprocedure.

Sluk straks for instrumentet, og kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.

Thermistor is open (Termistoren er åben)

The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off. Please contact your distributor if this occurs again (Instrumentet registrerede, at termistoren er åben, og derfor er den blevet slukket for at forhindre skade på maskinen. Kontakt forhandleren, hvis dette sker igen).

Denne fejl opstår, når softwaren har registreret, at termistoren er åben og derfor ikke kan aflæse temperaturen. Softwaren har derefter aktiveret en sikker beskyttelsesprocedure for at slukke for maskinen.

Sluk straks for instrumentet, og kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.

Unrecoverable errors occurred (Der opstod en uoprettelig fejl)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file (Denne kørsel blev stoppet, da der opstod maskinfejl, som ikke systemet ikke kunne genoprette efter. Kontakt forhandleren, hvis dette sker igen, og vedhæft en supportarkivfil).

Denne fejl opstår midt i kørslen, efter at softwaren har gjort alle mulige forsøg på at gendanne uden held.

Der kræves yderligere undersøgelser af en QIAGEN-servicespecialist for at diagnosticere problemet med instrumentet.

Kontakt forhandleren eller QIAGEN Teknisk Service.

11.3.2 Meddelelser i Rotor-Gene Q-softwaren

Det følgende er en liste over driftsmeddelelser, advarsler og andre meddelelser, der kan vises i Rotor-Gene-softwaren under hardware- og softwaredrift. Enhver del af meddelelsen, der er variabel, dvs. såsom karakteristiske fejlbeskrivelser, er angivet i parentes (f.eks. < ERROR DESCRIPTION> (BESKRIVELSE AF FEJL)).

Meddelelsetekst

Generelle meddelelser

- 1 A raw channel already exists for this page. If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again (Der findes allerede en rå kanal for denne side. Hvis du vil genskabe denne side, skal du først slette den rå kanal via knappen Options (Indstillinger) og derefter prøve igen).
- 2 A serious problem has occurred which requires shutting down the software. After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible. If this problem persists, please contact your distributor (Der er opstået et alvorligt problem, som kræver, at softwaren lukkes ned. Når du har klikket på OK, vil dit ingangsværende arbejde blive gemt, og maskinen vil blive slukket, hvis det er muligt. Hvis dette problem fortsætter, skal du kontakte forhandleren).
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page (Kan ikke slette denne side. Der skal altid være mindst én prøveside).
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Kan ikke oprette forbindelse til instrumentet på den serielle port <COMPORT>. Kontrollér, at maskinen er tilsluttet korrekt bag på computeren, og prøv derefter igen)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry (Kan ikke åbne den serielle port <COMPORT> for at forbinde til instrumentet. Kontrollér, at du ikke har nogen kommunikationssoftware åben, og prøv derefter igen).
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again (Kunne ikke gemme som kørselsfil, fordi nogle data i formularen var ugyldige. Tjek venligst dine indtastninger, og prøv igen).
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors (Filen kunne ikke gemmes. Kontrollér, at disken har nok plads, og at den er fri for fejl).
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer (E-mailapplikationen kunne ikke startes. Kontrollér, at den er installeret korrekt på computeren).
- 9 Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION>. The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info (Der opstod en fejl under kørslen: <BESKRIVELSE AF FEJL>. Kørslen fortsætter, og en meddelelse vil blive logget på meddelelsesfanen i Run Info (Kørselsinfo)).
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on (Instrumentet blev ikke fundet. Sørg for, at du har tilsluttet instrumentet korrekt, og at instrumentet er tændt).
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted (Logning er i øjeblikket deaktiveret på grund af en tidligere fejl. Arkiverede logfiler kan ikke ses, før softwaren er blevet genstartet).
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low (Ikke alle prøver kunne normaliseres, da fluorescensniveauet var for lavt).
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported (Kun kørsler udført med samme rotor som den aktuelle kørsel må importeres).
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed (Bemærk, at logfiler for den aktuelle kørsel ikke vil være tilgængelige, før den er fuldført).
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0 (Indtast et gyldigt antal gange, der skal gentages. Det skal være flere end 0).
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run (Der opstod et problem under opdatering af logdata. Logning er blevet deaktiveret, men vil blive genaktiveret ved næste kørsel).

Meddelelsetekst

- 17 Run file signing ensures the integrity of your run results. Information about a run's signature can be found in the Run Info window (Signering af kørselsfiler sikrer integriteten af dine kørselsresultater. Oplysninger om en kørsels signatur kan findes i vinduet Run Info (Kørselsinfo)).
- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples (Prøve-id er låst. Kan ikke indsætte over låste prøver).
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software (TeeChart Office er ikke blevet installeret på denne computer. Geninstaller Rotor-Gene-softwaren).
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port (Den COM-port, der er konfigureret til instrumentet, er ikke valgt. Du skal vælge en COM-port).
- 21 The loaded run file contains a signature which does not match the file contents. This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software (Den indlæste kørselsfil indeholder en signatur, som ikke matcher filindholdet. Dette betyder, at filen enten er blevet beskadiget eller manipuleret, siden den blev skrevet af Rotor-Gene-softwaren).
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed (Den indlæste kørselsfil har ingen signatur. Indholdet af denne fil kan ikke garanteres).
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long (Maskinens serienummer er ikke gyldigt. Serienumre skal være på mindst 6 cifre).
- 24 The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees. The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine. Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes (Maskinen vil nu blive afkølet til <TEMPERATUR> grader. Kammeret og overfladerne vil stadig være meget varme, når maskinen åbnes. Vær forsigtig, og brug beskyttelsehandsker, hvis du rører ved nogen af overfladerne eller rørene).
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching (De regionale indstillinger for din computer er modstridende. Sørg for, at din valuta og de numeriske decimalpladsholdere stemmer overens).
- 26 The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2>. The computer's serial number has now been updated to match the connected machine (Serienummeret, der er indtastet på startskærmen, <SERIENUMMER1>, stemmer ikke overens med serienummeret, der er gemt på den tilsluttede maskine <SERIENUMMER2>. Computerens serienummer er nu blevet opdateret, så det matcher den tilsluttede maskines).
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry (Der opstod et problem med at kommunikere med kommunikationstavlen. Du skal genstarte computeren og derefter prøve igen).
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in (Der opstod en timeout under forsøget på at kommunikere med instrumentet. Kontrollér, at det er tilsluttet korrekt).
- 29 This feature cannot be used in virtual mode (Denne funktion kan ikke bruges i virtuel tilstand).
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly (Denne profilfil blev oprettet i en nyere version af Rotor-Gene-softwaren. Visse aspekter indlæses muligvis ikke korrekt).
- 31 This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the run may not load correctly (Denne kørselsfil blev oprettet i en nyere version af Rotor-Gene-softwaren. Visse aspekter af kørslen indlæses muligvis ikke korrekt).
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly (Denne prøvefil blev oprettet i en nyere version af Rotor-Gene-softwaren. Visse aspekter indlæses muligvis ikke korrekt).
- 33 This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes. You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu (Denne software vil udføre grundlæggende simulering af en maskine til trænings- og demonstrationsformål. Du kan deaktivere denne indstilling via skærbilledet Setup (Opsætning), som er tilgængeligt i menuen File (Fil)).
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly (Denne skabelon blev oprettet i en nyere version af Rotor-Gene-softwaren. Visse aspekter af skabelonen indlæses muligvis ikke korrekt).
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run (Kan ikke indlæse denne prøvefil, da rørlayouterne ikke stemmer overens. Indlæs disse prøver, før du starter kørslen).

Meddelelsetekst

- 36 Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT>. Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry (Kan ikke åbne kommunikation med maskinen, fordi et andet program allerede bruger <COMPORT>. Kontrollér, at du ikke har nogen programmer kørende, der bruger den samme serielle port, og prøv derefter igen).
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded (Der opstod uoprettelige fejl under forsøget på at indlæse filen. Filen blev ikke indlæst).
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress (Du kan ikke stoppe programmet, mens kørslen er i gang).
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups (Du har utilstrækkelige rettigheder til at bruge softwaren. Kontakt domæneadministratoren for at oprette grupper).
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples (Du skal have udført en kvantificeringsanalyse for at eksportere prøver).
- 41 You must select a COM port before continuing (Du skal vælge en COM-port, før du fortsætter).
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run (Din kørsel kunne ikke gemmes på standardplaceringen. I det følgende vindue skal du vælge en alternativ placering for at gemme din kørsel).
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software (Dine indstillinger blev gemt. Klik på OK for at lukke softwaren).
- 44 You must select a rotor before continuing (Du skal vælge en rotor, før du fortsætter).
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached (Du kan ikke starte kørslen, før du markerer afkrydsningsfeltet for at bekræfte, at låseringen er sat på).

Meddelelser om justering af automatisk forstærkning

- 46 Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile. As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment (Manuel justering af forstærkning bruger de kanaler, du har defineret i din profil. Da du ikke har defineret nogen indsamlingspunkter i din profil, kan du ikke udføre manuel justering af forstærkning).
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature (Den temperatur, du indtastede, blev ikke gemt, fordi den var uden for maskinens område. Indtast en gyldig temperatur).

Editor-meddelelser

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas (Indtast en gyldig gruppekod. Gruppokoder må maksimalt være på 5 tegn og ikke indeholde mellemrum eller kommaer).
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty (Indtast et gyldigt gruppenavn. Gruppenavne må ikke indeholde kommaer eller være tomme).

Meddelelser om kalibrering af optisk denaturering

- 50 Unable to set as optical denature point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value (Kan ikke indstilles som optisk denatureringspunkt på grund af kalibreringsfejl. Indtast et gyldigt antal sekunder, der skal holdes. Det skal være en positiv værdi).
- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration. This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample. A timed step profile was run instead (En smeltespids kunne ikke detekteres under kalibrering af optisk denaturering. Dette kan skyldes, at det forkerte rør blev valgt til kalibrering, eller at en upassende kemi blev brugt til denne prøve. En tidsindstillet trinprofil blev kørt i stedet).

OTV-meddelelser

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run (Du skal indtaste et gyldigt OTV-serienummer for at udføre kørslen).
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error (Denne temperaturbekræftelsesfil er blevet beskadiget. Afinstaller og geninstaller Rotor-Gene-softwaren for at korrigere denne fejl).
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed (Denne kørselsfil er ikke korrekt signeret. Resultaterne kan ikke vises).
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly (Du kan ikke starte, før du markerer afkrydsningsfeltet for at bekræfte, at den fluorescerende indsats er placeret korrekt).

Meddelelsetekst

- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement (Denne rotor er udløbet. Kontakt forhandleren for at bestille en ny).

Meddelelser i menuen Security (Sikkerhed)

- 57 Could not open the Windows user/group manager (Kunne ikke åbne Windows-bruger/gruppetstyring).
58 Could not create groups (Kunne ikke oprette grupper).
59 Cannot modify access of inbuilt accounts (Kan ikke ændre adgangen til indbyggede konti).

Analysemenuen

- 60 You have only selected one channel for analysis. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window (Du har kun valgt én kanal til analyse. For at vælge flere kanaler skal du trække et rektangel rundt om de kanaler, du vil have vist i analysevinduet).
61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed (Du har valgt flere kanaler til analyse. Denne analyseteknik tillader kun at analysere enkelte kanaler).

Meddelelser om koncentrationsmålinger

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position (Koncentrationsmåling udfører automatisk forstærkningsoptimering på den første rotorposition. Sørg for at have den højeste koncentrationsstandard i den første rotorposition).

Meddelelser om endepunktsanalyser

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK (For at bruge endepunktsanalyse skal du have positive og negative kontroller i hver kanal. Klik på OK for at definere disse kontroller).
64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing (Du har ikke defineret nogen positive kontroller. Du skal definere positive kontroller for hver kanal, du analyserer).
65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing (Du har ikke defineret nogen negative kontroller. Du skal definere negative kontroller for hver kanal, du analyserer).
66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group (Du har ikke defineret nogen NTC-kontroller. Du skal definere NTC-kontroller for hver gruppe).

Meddelelser om HRM-analyser

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined (Der er ikke defineret en kontrol for genotypen <GENOTYPENAVN>).
68 Duplicate genotype combinations are not allowed (Dupliserede genotyper kombinationer er ikke tilladt).
69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information (Højopløselige smeltninger understøttes ikke på dette instrument. Kontakt forhandleren for at få flere oplysninger).

Meddelelser om smelteanalyser

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again (Genotyperne kan ikke defineres, før bins er blevet placeret. Definér alle bins, og prøv derefter igen).
71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype (Du skal indtaste en forkortelse for genotypen <GENOTYPENAVN>).

Meddelelser om spredningsdiagrammer

- 72 Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window, or click while holding the SHIFT key on each channel (Spredningsdiagramanalyse kræver, at der vælges præcis to kanaler. For at vælge flere kanaler skal du trække et rektangel rundt om de kanaler, du vil have vist i analysevinduet, eller klikke, mens du holder Shift-tasten nede, på hver kanal).

Meddelelser om kvantitativ analyse

- 73 The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards. To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..." (Funktionen til at finde tærsklen automatisk kræver, at du har defineret mindst to udvalgte standarder. For at konfigurere dette skal du højreklikke på prøvelisten og vælge "Edit Samples..." (Rediger prøver...))

12 Ordliste

Term	Beskrivelse
Datahentning	Hentning er indsamlingen af fluorescensdata. Hver hentning (sæt af fluorescensdata) fra en kanal vises i softwaren som uanalyserede data i et vindue kaldet "Raw channel" (Rå kanal). Disse data kan analyseres ved hjælp af valgmulighederne i menuen "Analysis" (Analyse).
Bins	I en smelteanalyse indstilles der bins til at definere et område, hvor en smeltespids forventes at forekomme. Genotyper kan defineres baseret på tilstedeværelsen af spidser i visse bins eller kombinationer af bins.
CE-IVD	Overholdelse af det europæiske direktiv 98/79/EC til medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
Kanal	En kanal består af en lysemitterende diode (LED) med et magnetiseringsfilter parret med et emissionsfilter. LED'en og magnetiseringsfilteret magnetiserer prøver ved en given bølgelængde. Fluorescens, der udsendes af prøver, passerer gennem emissionsfilteret, før den detekteres af en fotomultiplikator.
Forstærkning	Rotor-Gene Q MDx anvender en fotomultiplikator til at indsamle fluorescensfotoner og konvertere dem til elektroniske signaler. Tilvæksten er en indstilling, der bestemmer fotomultiplikatorens følsomhed. Hvis tilvæksten er for høj, er signalet overmættet. Hvis tilvæksten er for lav, er det ikke muligt at skelne signalet fra baggrundsstøjen.
Gain Optimisation (Optimering af forstærkning)	Optimering af forstærkning er en proces, der justerer forstærkningsindstillingen dynamisk og tillader valg af en passende indstilling, hvilket resulterer i optimal signaldetektion.
Isætningsblok	Isætningsblokke er aluminiumsblokke, der fås i forskellige formater, som bruges til at holde rør eller Rotor-Discs under reaktionsopsætning. Rotor-Disc Loading Blocks anvendes også med Rotor-Disc Heat Sealer til varmforsøgning af Rotor-Discs.
Låsering	Låseringer er metalringe, der passer på rotoren for at forhindre rør og hætter i at rive sig løs under betjeningen af Rotor-Gene Q MDx. Løse hætter og rør kan beskadige instrumentet.
Rotor	Metalrotoren holder rørene eller Rotor-Discs i Rotor-Gene Q MDx. Den gør det muligt for prøverne at rotere i instrumentkammeret og sikrer, at prøverne er korrekt opstillet i det optiske system. Rotoren er sikret med en låsring.
Rotor-Disc	Rotor-Discs er runde plader i lodret vendte reaktionsbrønde. Der leveres Rotor-Discs-formater til 72 og 100 reaktioner. Rotor-Discs er forseglet med Rotor-Disc Heat Sealing Film og Rotor-Disc Heat Sealer.

13 Tekniske specifikationer

QIAGEN forbeholder sig ret til at ændre specifikationerne til enhver tid.

13.1 Miljøforhold – driftsbetingelser

Strøm	100-240 V AC, 50-60 Hz, 520 VA (spidsbelastning) Strømforbrug 60 VA (standby) Spændingsudsving i forsyningsnettet må ikke overstige 10 % af de nominelle forsyningspændinger.
Sikring	F5A 250 V sikring
Varmedafladning/termisk belastning	Gennemsnit: 0,183 kW (632 BTU/time) Spidsbelastning: 0,458 kW (1578 BTU/time)
Overspændingskategori	II
Lufttemperatur	18 til 30°C
Relativ luftfugtighed	10-75 % (ikke-kondenserende)
Højde	Op til 2000 m
Driftssted	Kun til indendørs brug
Forureningsniveau	2
Miljøklasse	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

13.2 Transportbetingelser

Lufttemperatur	-25°C til 60°C i producentens emballage
Relativ luftfugtighed	Maks. 75 % (ikke-kondenserende)
Miljøklasse	2K2 (IEC 60721-3-2)

13.3 Opbevaringsbetingelser

Lufttemperatur	15°C til 30°C i producentens emballage
Relativ luftfugtighed	Maks. 75 % (ikke-kondenserende)
Miljøklasse	1K2 (IEC 60721-3-1)

13.4 Mekaniske data og hardware-egenskaber

Mål	Bredde: 370 mm Højde: 286 mm Dybde (uden kabler): 420 mm Dybde (med åben låge): 538 mm
Vægt	12,5 kg standardkonfiguration
Kapacitet	Op til 100 prøver pr. kørsel med en Rotor-Disc 100
Software	Rotor-Gene Q softwareversion 2.3.x (hvor x er ≥ 0)

13.5 Specifikationer (hardware og software)

13.5.1 Termiske specifikationer

Beskrivelse	Specifikationer
Temperaturområde	35 °C til 99 °C (50 °C til 99 °C for cyklusanvendelser)
Temperaturnøjagtighed	±0,5 °C (kalibreret med Rotor-Disc OTV-proceduren)
Temperaturinterval	±0,02 °C (mindste programmérbare stigning)
Temperatursartethed	±0,02 °C

13.5.2 Optiske specifikationer

Beskrivelse	Specifikationer
Excitationskilder	Kraftigt lysemitterende dioder
Detektor	Fotomultiplikator
Hentningstid	4 sek.

14 Bilag A – Juridiske oplysninger

14.1 FCC-deklaration

I henhold til "United States Federal Communications Commission" (USFCC, den amerikanske kommunikationsmyndighed) (i 47 CRF 15. 105) skal brugere af dette produkt informeres om følgende fakta og forhold.

"Denne anordning er i overensstemmelse med afsnit 15 i FCC: Brugen er underlagt følgende to betingelser: (1) Denne anordning må ikke forårsage skadelig interferens, og (2) denne anordning skal kunne tåle enhver modtagen interferens, inklusive interferens, der kan forårsage uønskede funktioner."

"Dette Klasse B digitale udstyr er i overensstemmelse med den canadiske bestemmelse ICES-0003."

Følgende erklæring gælder for produkter, der er omfattet af denne manual, medmindre andet er angivet heri. Erklæringen for andre produkter findes i den tilhørende dokumentation.

Bemærk: Dette udstyr er testet og overholder de grænser for digitale klasse B-anordninger, der er angivet under kapitel 15 i FCC-reglerne og opfylder alle kravene i den canadiske bestemmelse ICES-003 om interferensforårsagende udstyr for digitale apparater. Disse grænser er udviklet for at give en rimelig beskyttelse mod skadelig interferens i en beboelsesinstallation. Udstyret genererer, anvender og kan udstråle skadelig radiofrekvensenergi, som kan påvirke radiokommunikation, hvis det ikke installeres og betjenes i overensstemmelse med instruktionerne. Der er dog ingen garanti for, at der ikke vil forekomme interferens i en bestemt installation. Hvis dette udstyr viser sig at forårsage skadelig interferens ved modtagelsen af radio- eller tv-signaler, hvilket kan undersøges ved at tænde og slukke for udstyret, opfordres brugeren til at forsøge at afhjælpe interferensen på én eller flere af følgende måder:

- Drej antennen, eller placer den et andet sted
- Øg afstanden mellem udstyret og modtageren
- Slut udstyret til et andet stik end det, som modtageren er tilsluttet

Kontakt forhandleren eller en erfaren radio/tv-tekniker for at få hjælp.

14.2 Overholdelse af IEC EN 61326

Rotor-Gene-Q MDx overholder de krav til interferensemissioner og interferensimmunitet, der er beskrevet i IEC 61326-1 og IEC 61326-2-6.

QIAGEN GmbH Tyskland er ikke ansvarlig for nogen radio/TV-interferens forårsaget af uautoriserede ændringer af dette udstyr eller erstatning eller tilslutning af andre forbindelseskabler og udstyr end det, der er specificeret af QIAGEN GmbH, Tyskland. Afhjælpningen af interferens, der skyldes en sådan uautoriseret ændring, udskiftning eller tilslutning, er brugerens ansvar.

14.3 Overensstemmelseserklæring

Producentens navn og adresse

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
Tyskland

Der kan anmodes om en opdateret overensstemmelseserklæring fra QIAGEN Teknisk service.

14.4 Affald af elektrisk og elektronisk udstyr (WEEE)

Dette afsnit indeholder oplysninger om brugernes bortskaffelse af affald fra elektrisk og elektronisk udstyr.

Symbolet med den overkrydsede affaldsspand på hjul (se nedenfor) angiver, at dette produkt ikke må bortskaffes med andet affald. Det skal bringes til et godkendt behandlingsanlæg eller til et udpeget opsamlingssted til genbrug ifølge lokal lovgivning og bestemmelser.

Separat opsamling og genbrug af udtjent elektronisk udstyr på bortskaffelsestidspunktet hjælper med at bevare naturlige ressourcer og sikre, at produktet genbruges på en måde, der beskytter den menneskelige sundhed og miljøet.



Genbrug kan tilbydes af QIAGEN ved anmodning og mod yderligere omkostninger. I den Europæiske Union iht. de specifikke WEEE-genbrugskrav og, hvor et erstatningsprodukt leveres af QIAGEN, tilvejebringes gratis genbrug af dets WEEE-mærkede elektroniske udstyr.

Vedrørende genvinding af elektronisk udstyr kontaktes den lokale QIAGEN-salgsafdeling vedr. den krævede returformular. Når formularen er sendt, vil brugeren blive kontaktet af QIAGEN enten for at anmode om opfølgning information om planlægning af afhentning af det elektroniske affald eller for at tildele en individuel kvote.

14.5 Ansvarsklausul

QIAGEN vil blive frigjort fra alle forpligtelser under garantien i tilfælde af, at reparationer og modifikationer udføres af andre personer end deres eget personale, bortset fra tilfælde, hvor firmaet har givet skriftligt samtykke til udførelse af sådanne reparationer eller modifikationer.

Alle materialer, der udskiftes under denne garanti, vil kun være dækket af garantien i den oprindelige garantiperiode og i ingen tilfælde ud over den oprindelige udløbsdato for den oprindelige garanti, medmindre det er godkendt skriftligt af en funktionær fra firmaet. Udlæsningsanordninger, interfaceanordninger og tilhørende software vil kun være dækket af garantien i den periode, der gives af den oprindelige producent af disse produkter. Repræsentationer og garantier, der gives af personer, herunder medarbejdere hos QIAGEN, der ikke er i overensstemmelse med eller er i konflikt med betingelserne i denne garanti, vil ikke være bindende for firmaet, medmindre de er nedfældet på skrift og godkendt af en funktionær fra QIAGEN.

14.6 Softwarelicensaftale

1. I det følgende refererer "Qiagen" til Qiagen GmbH og dets tilknyttede virksomheder, og "Software" betyder de programmer og data, der leveres på dette fysiske medie (f.eks. cd-rom) eller via internettet, med disse betingelser. (Hvis du er usikker på nogen aspekter af denne aftale eller har spørgsmål, skal de sendes til via e-mail til support@qiagen.com.) Softwaren og eventuel medfølgende dokumentation er udviklet udelukkende for egen regning. De leveres og licenseres som "kommerciel computersoftware".

2. Licens

Din licens giver ingen rettighed til eller ejerskab af softwaren og er ikke et salg af nogen rettigheder til softwaren. Qiagen giver dig en ikke-overdragelig ikke-eksklusiv licens som følger:

2.1 Du bruger et vilkårligt antal kopier af softwaren inden for din organisation, forudsat at softwaren kun er tilgængelig til brug for medarbejdere i organisationen, og at din organisation for nuværende ejer et Rotor-Gene Q-instrument. At gøre denne software tilgængelig til brug uden for din organisation udgør en overtrædelse af denne aftale.

2.2 Du må kun lave kopier af softwaren, hvis det er nødvendigt til sikkerhedskopiering, eller når kopiering er et væsentligt trin i den autoriserede brug af softwaren. Du skal gengive alle copyright-meddelelser i den originale software på alle kopier. Du må under ingen omstændigheder kopiere softwaren til nogen opslagstavle, noget internetwebsted eller lignende offentligt eller privat distributionssystem.

2.3 Du må ikke gøre softwaren tilgængelig for nogen tredjepart som gave eller til låns eller leje.

2.4 Du må ikke inkorporere softwaren eller nogen del af softwaren i programmer eller computersystemer, der er udviklet eller anvendes af dig.

2.5 Du må ikke bruge eller på anden måde konstruere datafiler eller andre filer, der behandles af softwaren (medmindre det sker under softwarens normale drift).

2.6 Du må ikke adskille, foretage reverse engineering, reverse-kompilering, oplåse eller oversætte nogen del af softwaren eller gøre forsøg på at opdage kildekoden eller de underliggende algoritmer til softwaren. Du må ikke ændre nogen af datafilerne eller andre filer, der udgør softwaren (medmindre det sker under softwarens normale drift).

2.7 Hvis dette er en demo- eller prøveversion af softwaren, har du kun licens til at bruge den til evalueringsformål og inden for de beskrevne begrænsninger (såsom en tidsbegrænsning eller begrænsede kørsler eller andre begrænsninger). Softwaren forsøger muligvis at håndhæve nævnte begrænsninger, og softwarens manglende håndhævelse af nævnte begrænsninger udgør ikke en licens eller ret for dig til at gå ud over nævnte begrænsninger.

2.8 Du accepterer kun at indhente enhver nødvendig registrerings-/licensnøgle fra Qiagen eller en autoriseret distributør og at holde denne nøgle strengt fortrolig over for alle tredjeparter.

3. Opsigelse

3.1 Hvis du ikke overholder vilkårene og betingelserne i denne licens, kan Qiagen, uden at overtræde andre rettigheder, opsige denne licens.

3.2 Inden for 7 dage efter opsigelse af denne licens skal du tilvejebragt et brev til Qiagen, hvori du attesterer, at originalen og eventuelle kopier af softwaren er blevet destrueret, og at alle kopier af enhver registrerings-/licensnøgle også er blevet destrueret. Du kan når som helst opsige denne licens ved at tilvejebringe sådan bekræftelse.

4. Begrænset garanti/ansvar

4.1 Qiagen garanterer dig kun, at:

a) Hvis softwaren leveres på cd-rom, er cd-rom'en fri for defekter i materialer og udførelse ved normal brug i en periode på halvfems dage fra købsdatoen. (Vi erstatter enhver defekt cd-rom uden beregning).

b) Hvis softwaren bruges korrekt, vil den i det væsentlige være i overensstemmelse med den dokumentation, der følger med softwaren, eller andre specifikationer, der er offentliggjort af Qiagen, i en periode på halvfems dage fra købsdatoen.

4.2 QIAGENs eneste forpligtelse og dit eneste retsmiddel består i, at Qiagen efter eget skøn vælger at kompensere med et beløb på tohundredoghalvtreds amerikanske dollars (USD 250) eller at udskifte den software, der ikke opfylder den begrænsede garanti.

4.3 MED UNDTAGELSE AF GARANTIERNE I AFSNIT 4.1 OVENFOR OG I DEN MAKSIMALE UDSTRÆKNING, LOVEN TILLADER DET, GIVER QIAGEN INGEN ANDRE GARANTIER MED HENSYN TIL SOFTWAREN.

4.4 I DEN MAKSIMALE UDSTRÆKNING, LOVEN TILLADER DET, OG UNDER INGEN OMSTÆNDIGHEDER ELLER UNDER NOGEN RETSPRAKSIS, VIL QIAGEN VÆRE ANSVARLIG OVER FOR DIG ELLER NOGEN ANDEN PERSON FOR NOGEN INDIREKTE, SÆRLIGE, TILFÆLDIGE ELLER FØLGEMÆSSIGE SKADER AF NOGEN ART INKLUSIVE, UDEN BEGRÆNSNING, SKADER FOR TAB AF GOODWILL, ARBEJDSSTOP, COMPUTERFEJL ELLER FEJLFUNKTION ELLER ENHVER OG ALLE ANDRE KOMMERCIELLE SKADER ELLER TAB, SELV OM EN SÅDAN PART SKAL VÆRE BLEVET INFORMERET OM RISIKOEN FOR SÅDANNE SKADER. I ALLE TILFÆLDE VIL QIAGENS ENESTE FORPLIGTELSE I HENHOLD TIL DENNE AFTALE VÆRE BEGRÆNSET TIL DET LICENSGEBYR, DU BETALER FOR SOFTWAREN. DENNE ANSVARSBEGRÆNSNING VIL IKKE GÆLDE FOR ANSVAR FOR DØD ELLER PERSONSKADER, DER SKYLDES EN SÅDAN PARTS FORSØMMELIGHED, I DET OMFANG, AT GÆLDENDE LOV FORBYDER EN SÅDAN BEGRÆNSNING.

15 Bilag B – Matematiske teknikker

I dette bilag beskrives de anvendte matematiske teknikker mere udførligt.

15.1 Kvantificering

Beregnete koncentrationer er opnået ud fra en simpel lineær regressionsmodel, hvor de kendte værdier var log-koncentrationerne (x) og de eksperimentelle værdier var CT-værdierne (y).

Standardernes log-koncentrationer og CT-værdier bruges til at konstruere en model i formen:

$$y = Mx + B$$

15.1.1 Konfidensintervaller for beregnede koncentrationer

Vi bruger følgende konfidensinterval $100(1 - \alpha) \%$ til at opnå et estimat af en ny observation x_0 ud fra standardkurven.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Dette er konfidensintervallet for koncentrationen af en enkelt ukendt.

Antag nu, at vi har k yderligere observationer ved $x = x_0$, og vi betegner deres gennemsnit med \bar{Y}_0 .
Then,

$$\bar{Y}_0 \sim N(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k})$$

og argumenter i lighed med ovenstående

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Denne formel bestemmer, hvordan konfidensintervaller for koncentrationer af replikatubekendte bestemmes.

Ved estimering af standarder kan et smallere konfidensinterval opnås:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Implikationen af denne formel er, at tilføjelse af replikater til en individuel standardkoncentration reducerer bredden af intervallet for alle estimater, efterhånden som n øges. Tilføjelse af et stort antal replikater til en ubekendt reducerer dens usikkerhed til en enkelt standard. De ekstra replikater reducerer usikkerheden på grund af, at den ubekendte ikke indgår i lineære model.

15.1.2 Konfidensintervaller for CT-værdier

Vi antager, at fejl i replikerede CT-værdier er lineær og normalfordelt.

Vi bruger derfor t-konfidensintervallet for en enkelt prøve. Lad μ være middelværdien for et replikats CT-værdier $(x_0 \dots x_{n-1})$. Så er $100(1 - \alpha)\%$ -konfidensintervallet for en CT-værdi μ :

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Vi vil gerne takke Peter Cook fra Mathematics Department ved University of NSW, Sydney, Australien, hvis hjælp var uvurderlig ved verificering af de anvendte matematiske tilgange.

16 Bestillingsinformation

16.1 Rotor-Gene Q MDx-produkter, -tilbehør og -forbrugsvarer

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Real-time PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Real-time PCR-cycler og High-Resolution Melt Analyzer med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, lilla) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: Inkluderer 1 års garanti på reservedele og arbejds løn	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Real-time PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002042
Tilbehør		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Kittet består af: 2 Rotor-Disc 100-pakker, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor og Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Spørg
Rotor-Disc 100 (30)	30 discs pakket enkeltvis til 3000 reaktioner	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 discs pakket enkeltvis til 30.000 reaktioner	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Til at holde Rotor-Disc 100 discs i Rotor-Gene Q MDx kræves Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Til at låse en Rotor-Disc 100 i Rotor-Disc 100 Rotor	9018896

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
Rotor-Disc 100 Loading Block	Aluminiumsblok til manuel og automatiseret reaktionsopsætning i Rotor-Disc 100-discs	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Hjælp til at markere brønd under manuel reaktionsopsætning på en Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Varmeforseglingsinstrument til brug med Rotor-Discs; kræver Rotor-Disc 72 eller 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 film til forsegling af Rotor-Disc 100- eller Rotor-Disc 72-discs	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 film til forsegling af Rotor-Disc 100- eller Rotor-Disc 72-discs	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Kittet består af: 3 Rotor-Disc 72-pakker, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor og Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Spørg
Rotor-Disc 72 (24)	24 discs pakket enkeltvis til 1728 reaktioner	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 discs pakket enkeltvis til 17.280 reaktioner	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Til at holde Rotor-Disc 72 discs i Rotor-Gene Q MDx kræves Rotor-Disc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Til at låse en Rotor-Disc 72 i Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Aluminiumsblok til manuel og automatiseret reaktionsopsætning i Rotor-Disc 72-discs	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 bånd a 4 rør og hætter til 1.000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 bånd a 4 rør og hætter til 10.000 reaktioner	981106

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
72-Well Rotor	Til at holde Strip Tubes and Caps, 0.1 ml kræves Locking Ring 72-Well Rotor	9018903
Locking Ring 72-Well Rotor	Til at låse Strip Tubes and Caps, 0.1 ml i 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktioner med enkeltkanalspipette i 72 x 0,1-ml rør	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Aluminiumsblok til reaktionsopsætning med flerkanalspipetter i 72 x 0,1-ml rør	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tyndvæggede rør til 10.000 reaktioner	981008
36-Well Rotor	Til at holde PCR Tubes, 0.2 ml kræves 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	Til at låse PCR Tubes, 0.2 ml i 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion i en 8 x 12-standardrække med 96 x 0,2 ml rør	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Kit til verifikation af optisk temperatur på Rotor-Gene-systemer, inkluderer en Rotor-Disc fyldt med termokromatiske flydende krystaller, fluorescerende indsatser, kræver Rotor-Disc 72 Rotor og Locking Ring eller Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Fritstående metalholder til samling af rør og Rotor-Discs til rotor	9018908

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugervejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. Håndbøger og brugsvejledninger til QIAGEN-kits kan fås via www.qiagen.com eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

17 Revisionshistorik for dokumentet

Dato	Ændringer
R1, februar 2022	Første udgivelse

Begrænset licensaftale for Rotor-Gene Q MDx

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne brugsanvisning og kun med de komponenter, der er i kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne brugsanvisning og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og retsmkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, EpiTect®, HotStarTaq®, Rotor-Disc®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Type-i® (QIAGEN Group); Adobe®, Illustrator® (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor®, HEX™, JOE™, Marina Blue®, ROX™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaber); 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 SU); Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan. Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

TeeChartOffice: Copyright 2001-2013 af David Berneda. Alle rettigheder forbeholdes.

For relevante lande:

Denne termiske cykler i realtid er licenseret under afventende amerikanske patentrettigheder for et apparat eller system, der dækker automatiserede termiske cyclere med fluorescensdetektorer og søger prioritet til US Serienummer 07/695.201 og tilsvarende krav i ethvert udenlandsk modsvarende patent dertil, der ejes af Applied Biosystems LLC, på alle områder, inklusive forskning og udvikling, alle anvendte områder og in vitro-diagnostik hos mennesker og dyr. Der gives ingen rettigheder, udtrykkeligt, underforstået eller ifølge berettiget antagelse, for nogen patenter på realtidsmetoder, inklusive men ikke begrænset til 5' nuklease-analyser eller til patenter, der gør krav på et reagens eller kit. For yderligere oplysninger om køb af yderligere rettigheder kontaktes den licensansvarlige hos Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, Californien, 94404, USA.

For relevante lande:

Købet af dette produkt inkluderer en begrænset, ikke-oveddragelig licens til et eller flere af følgende amerikanske patentnumre 6,787,338; 7,238,321; 7,081,226; 6,174,670; 6,245,514; 6,569,627; 6,303,305; 6,503,720; 5,871,908; 6,691,041; 7,387,887; 7,273,749; 7,160,998; amerikansk patentansøgning nr. 2003-0224434 og 2006-0019253 og PCT-patentansøgning nr. WO 2007/035806, og alle fortsættelser og inddelinger og tilsvarende krav i patenter og patentansøgninger uden for USA, ejet af University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH og/eller Roche Diagnostics GmbH udelukkende til in vitro-diagnostik brug hos mennesker eller dyr. Der gives ingen rettigheder, udtrykkeligt, underforstået eller ifølge berettiget antagelse, for noget reagens eller kit eller under andre patenter eller patentkrav, der ejes af University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH eller af en anden part. Dette produkt må kun betjenes med godkendte reagenser såsom fuldt licenserede QIAGENkits og -analyser. For oplysninger om køb af licenser til in vitro-diagnostiske anvendelser eller reagenser kontaktes Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, USA.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com