

Februarie 2022

Manual de utilizare Rotor-Gene[®] Q MDx CE



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R1

Cuprins

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Introducere..... | 8 |
| 1.1 | Despre acest manual de utilizare | 8 |
| 1.2 | Informații generale..... | 9 |
| 1.2.1 | Asistență tehnică | 9 |
| 1.2.2 | Declarația de politică | 9 |
| 1.2.3 | Gestionarea versiunilor..... | 10 |
| 1.3 | Domeniul de utilizare a instrumentului Rotor-Gene Q MDx..... | 10 |
| 1.3.1 | Cerințe pentru Rotor-Gene Q MDx | 10 |
| 1.4 | Materiale necesare..... | 11 |
| 1.5 | Materiale necesare, dar nefurnizate | 11 |
| 2 | Informații de siguranță | 12 |
| 2.1 | Utilizarea adecvată..... | 13 |
| 2.2 | Siguranța electrică..... | 15 |
| 2.3 | Siguranța biologică..... | 16 |
| 2.4 | Siguranță chimică | 18 |
| 2.5 | Eliminarea deșeurilor..... | 19 |
| 2.6 | Pericole mecanice | 19 |
| 2.7 | Siguranța la întreținere | 21 |
| 2.8 | Simboluri de Rotor-Gene Q MDx..... | 22 |
| 3 | Descriere generală..... | 23 |
| 3.1 | Principiul Rotor-Gene Q MDx..... | 23 |
| 3.1.1 | Performanța termică | 23 |
| 3.1.2 | Sistemul optic | 24 |
| 3.1.3 | Canale disponibile | 25 |
| 3.2 | Caracteristici externe ale instrumentului Rotor-Gene Q MDx..... | 26 |
| 3.2.1 | Aerisiri în capac | 26 |
| 3.2.2 | Mânerul capacului..... | 26 |
| 3.2.3 | Camera rotorului | 26 |
| 3.2.4 | Luminile de stare ale instrumentului | 26 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.3 | Caracteristici interne ale instrumentului Rotor-Gene Q MDx | 27 |
| 3.3.1 | Butucul rotorului..... | 27 |
| 3.3.2 | Obiectiv optic | 27 |
| 4 | Proceduri de instalare | 28 |
| 4.1 | Livrarea și instalarea sistemului | 28 |
| 4.1.1 | Despachetarea Rotor-Gene Q MDx..... | 28 |
| 4.1.2 | Instalarea hardware-ului | 29 |
| 4.1.3 | Instalarea software-ului..... | 30 |
| 4.1.4 | Versiune software | 33 |
| 4.1.5 | Software suplimentar pe computerele conectate la instrumentele Rotor-Gene Q MDx..... | 33 |
| 4.2 | Cerințe privind amplasamentul | 40 |
| 4.3 | Conexiune de alimentare la curent alternativ | 41 |
| 4.3.1 | Cerințe referitoare la alimentare | 41 |
| 4.3.2 | Cerințe legate de împământare | 41 |
| 4.3.3 | Instalarea cablului de alimentare c.a. | 41 |
| 4.4 | Configurație pentru securitate Windows | 41 |
| 4.5 | Cerințe pentru stația de lucru | 43 |
| 4.6 | Despachetarea și instalarea instrumentului Rotor-Gene Q MDx..... | 44 |
| 4.6.1 | Upgrade de software | 45 |
| 4.7 | Accesorii..... | 45 |
| 4.8 | Reambalarea și expedierea instrumentului Rotor-Gene Q MDx..... | 45 |
| 4.9 | Introducere | 45 |
| 4.9.1 | PORNIREA instrumentului Rotor-Gene Q MDx și a stației de lucru | 45 |
| 5 | Proceduri de operare | 46 |
| 5.1 | Utilizarea software-ului Rotor-Gene Q MDx | 46 |
| 5.1.1 | Expert de pornire rapidă | 46 |
| 5.1.2 | Expertul avansat..... | 50 |
| 5.2 | Utilizarea hardware-ului Rotor-Gene Q MDx..... | 68 |
| 5.2.1 | Tipuri de rotoare | 68 |
| 5.2.2 | Configurarea reacției | 71 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 5.2.3 | Configurarea Rotor-Disc | 74 |
| 6 | Interfață cu utilizatorul pentru analiză | 78 |
| 6.1 | Spațiul de lucru..... | 78 |
| 6.2 | Bara de instrumente | 78 |
| 6.3 | Vizualizarea canalelor brute | 78 |
| 6.4 | Comutarea probelor | 79 |
| 6.5 | Meniul Fișier | 81 |
| 6.5.1 | Nou | 81 |
| 6.5.2 | Deschidere și salvare | 82 |
| 6.5.3 | Rapoarte..... | 83 |
| 6.5.4 | Configurare..... | 84 |
| 6.6 | Meniul Analiză | 84 |
| 6.6.1 | Analiză..... | 84 |
| 6.6.2 | Cuantificare | 86 |
| 6.6.3 | Două curbe standard | 97 |
| 6.6.4 | Cuantificarea relativă delta delta C _T | 101 |
| 6.6.5 | Analiza curbei de topire | 104 |
| 6.6.6 | Cuantificarea comparativă | 107 |
| 6.6.7 | Discriminarea alelică..... | 110 |
| 6.6.8 | Analiza diagramei de dispersie..... | 111 |
| 6.6.9 | Analiza EndPoint | 113 |
| 6.6.10 | Analiza concentrației..... | 119 |
| 6.6.11 | Analiza topirii la înaltă rezoluție | 122 |
| 6.7 | Meniul Testare..... | 123 |
| 6.7.1 | Pornire testare | 123 |
| 6.7.2 | Înterupere testare | 124 |
| 6.7.3 | Oprire testare..... | 124 |
| 6.8 | Meniul Vizualizare | 124 |
| 6.8.1 | Setări testare | 124 |
| 6.8.2 | Grafic temperatură..... | 128 |
| 6.8.3 | Progres profil | 129 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 6.8.4 | Editare probe | 129 |
| 6.8.5 | Opțiuni de afișare | 136 |
| 6.9 | Protecția la accesare pentru software-ul Rotor-Gene Q | 136 |
| 6.9.1 | Configurație pentru Windows 7 | 137 |
| 6.9.2 | Configurație pentru Windows 10 | 142 |
| 6.9.3 | Rularea mai multor utilizatori pe același computer | 145 |
| 6.9.4 | Lanțuri de audit | 146 |
| 6.9.5 | Semnături pentru testare | 147 |
| 6.9.6 | Blocarea probelor | 149 |
| 6.9.7 | Șabloane blocate | 151 |
| 6.10 | Meniul Amplificare | 151 |
| 6.11 | Meniul Fereastră | 152 |
| 6.12 | Funcția Ajutor | 152 |
| 6.12.1 | Trimiterea unui e-mail de asistență | 153 |
| 7 | Funcții suplimentare | 157 |
| 7.1 | Șabloane de analize | 157 |
| 7.2 | Deschiderea unei a doua testări | 157 |
| 7.3 | Opțiuni de scalare | 157 |
| 7.4 | Exportarea graficelor | 158 |
| 7.5 | Pictograma cheie/cheie fixă | 161 |
| 7.6 | Opțiuni pentru zonele selectate | 162 |
| 8 | Întreținerea | 163 |
| 8.1 | Curățarea suprafeței Rotor-Gene Q MDx | 163 |
| 8.2 | Decontaminarea suprafeței Rotor-Gene Q MDx | 164 |
| 8.3 | Repararea Rotor-Gene Q | 164 |
| 9 | Verificarea optică a temperaturii | 165 |
| 9.1 | Principiul OTV | 165 |
| 9.2 | Componentele Rotor-Disc OTV Kit | 166 |
| 9.3 | Efectuarea unei OTV | 166 |
| 10 | Analiza topirii la înaltă rezoluție | 169 |
| 10.1 | Instrumentarul | 170 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 10.2 | Substanțele chimice | 171 |
| 10.3 | Exemplu de genotipare SNP | 171 |
| 10.4 | Exemplu de analiză a metilării..... | 173 |
| 10.5 | Instrucțiuni pentru o analiză HRM reușită..... | 174 |
| 10.6 | Prepararea probelor | 176 |
| 10.7 | Configurarea software-ului | 176 |
| 10.8 | Analiza datelor real-time PCR | 182 |
| 10.9 | Analiza datelor HRM | 183 |
| 11 | Depanarea | 188 |
| 11.1 | Arhivele de jurnale..... | 189 |
| 11.2 | Erori hardware și software..... | 189 |
| 11.2.1 | Depanarea HRM..... | 189 |
| 11.3 | Erori și mesaje de avertizare | 190 |
| 11.3.1 | Erori generale la instrument..... | 190 |
| 11.3.2 | Mesaje pentru software-ul Rotor-Gene Q | 193 |
| 12 | Glosar | 197 |
| 13 | Specificații tehnice | 198 |
| 13.1 | Condiții de mediu – condiții de lucru | 198 |
| 13.2 | Condiții de transport | 198 |
| 13.3 | Condiții de depozitare..... | 198 |
| 13.4 | Date mecanice și caracteristici hardware | 198 |
| 13.5 | Specificații (hardware și software)..... | 199 |
| 13.5.1 | Specificații de temperatură | 199 |
| 13.5.2 | Specificații optice | 199 |
| 14 | Anexa A – aspecte juridice | 200 |
| 14.1 | Declarație FCC..... | 200 |
| 14.2 | Conformitatea cu IEC EN 61326 | 201 |
| 14.3 | Declarație de conformitate..... | 202 |
| 14.4 | Deșeuri de echipamente electrice și electronice (DEEE) | 203 |
| 14.5 | Clauza privind răspunderea..... | 204 |
| 14.6 | Acord de licență software | 205 |

| | | |
|----|---|-----|
| 15 | Anexa B – tehnici matematice..... | 208 |
| | 15.1 Cuantificarea | 208 |
| | 15.1.1 Intervale de încredere pentru concentrațiile calculate..... | 208 |
| | 15.1.2 Intervale de încredere pentru valorile CT..... | 209 |
| 16 | Informații pentru comandă | 210 |
| | 16.1 Produsele, accesoriile și consumabilele Rotor-Gene Q MDx | 210 |
| 17 | Istoricul modificărilor documentului | 213 |

1 Introducere

Vă mulțumim că ați ales Rotor-Gene Q MDx. Suntem încrezători că acesta va deveni parte integrantă a laboratorului dumneavoastră.

Înainte de utilizarea Rotor-Gene Q MDx, este esențial să citiți cu atenție acest manual de utilizare și să acordați atenție informațiilor de siguranță. Instrucțiunile și informațiile de siguranță din manualul de utilizare trebuie respectate, pentru a se asigura operarea în condiții de siguranță a instrumentului și pentru a menține instrumentul într-o stare sigură.

Rețineți că Rotor-Gene Q MDx este livrat în mai multe configurații. Pentru detalii, inclusiv informații pentru comandă, consultați Secțiunea 16.

1.1 Despre acest manual de utilizare

Acest manual de utilizare oferă informații cu privire la Rotor-Gene Q MDx în următoarele secțiuni:

- Introducere
- Informații de siguranță
- Descriere generală
- Proceduri de instalare
- Proceduri de operare
- Întreținerea
- Depanarea
- Specificații tehnice
- Anexe

Anexele conțin următoarele informații:

- Anexa A – aspecte juridice
- Anexa B – tehnici matematice

1.2 Informații generale

1.2.1 Asistență tehnică

În cadrul QIAGEN®, respectăm standarde înalte în ceea ce privește calitatea și disponibilitatea asistenței tehnice. Departamentele noastre de Servicii Tehnice sunt formate din cercetători cu experiență având cunoștințe practice și teoretice extensive în domeniul biologiei moleculare și al utilizării produselor QIAGEN. Dacă aveți întrebări sau întâmpinați dificultăți în ceea ce privește Rotor-Gene Q MDx sau produsele QIAGEN în general, nu ezitați să ne contactați.

Clienții QIAGEN sunt o sursă esențială de informații privind utilizările avansate sau specializate ale produselor noastre. Aceste informații sunt utile pentru alți cercetători, precum și pentru cercetătorii din cadrul QIAGEN. De aceea, vă rugăm să ne contactați dacă aveți orice sugestii privind funcționarea produselor sau noi tehnici și aplicații.

Contactați Serviciile tehnice QIAGEN pentru asistență tehnică.

Pentru informații actualizate cu privire la Rotor-Gene Q MDx, vizitați <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Site web: **support.qiagen.com**

La contactarea Serviciilor tehnice QIAGEN privitor la erori, vă rugăm să aveți la îndemână următoarele date:

- Numărul de serie, tipul și versiunea Rotor-Gene Q MDx
- Codul erorii (dacă este cazul)
- Momentul în care a apărut eroarea pentru prima dată
- Frecvența apariției erorii (adică eroare intermitentă sau persistentă)
- Copie a fișierelor jurnal

1.2.2 Declarația de politică

Politica firmei QIAGEN este îmbunătățirea produselor, pe măsură ce devin disponibile tehnici și componente noi. QIAGEN își rezervă dreptul de a modifica specificațiile în orice moment. În dorința de a elabora o documentație utilă și corespunzătoare, apreciem comentariile dumneavoastră cu privire la acest manual de utilizare. Contactați Serviciile tehnice QIAGEN.

1.2.3 Gestionarea versiunilor

Acest document este *Manualul de utilizare Rotor-Gene Q MDx*, revizuirea R1, pentru instrumentele Rotor-Gene Q MDx care utilizează software-ul Rotor-Gene Q versiunea 2.3.x (unde x este ≥ 0).

1.3 Domeniul de utilizare a instrumentului Rotor-Gene Q MDx

Instrumentul Rotor-Gene Q MDx este conceput pentru a realiza ciclarea termică în timp real, detecția și/sau cuantificarea cu ajutorul reacției de polimerizare în lanț (Polymerase Chain Reaction, PCR) în aplicații clinice.

Rotor-Gene Q MDx este destinat utilizării exclusiv în asociere cu kiturile QIAGEN indicate pentru utilizare cu instrumente Rotor-Gene Q pentru aplicațiile descrise în manualele kiturilor QIAGEN respective.

Dacă instrumentul Rotor-Gene Q MDx este utilizat cu kituri diferite de kiturile QIAGEN, utilizatorul are responsabilitatea de a valida performanța unei astfel de asocieri de produse pentru o anumită aplicație.

Instrumentul Rotor-Gene Q MDx este destinat diagnosticării in vitro.

Instrumentul Rotor-Gene Q MDx este destinat folosirii de către utilizatori profesioniști, precum tehnicieni și medici instruiți în tehnici de biologie moleculară și în operarea instrumentului Rotor-Gene Q MDx.

1.3.1 Cerințe pentru Rotor-Gene Q MDx

Acest tabel acoperă nivelul general de competențe și de cunoștințe necesar pentru transportul, instalarea, utilizarea, întreținerea și repararea Rotor-Gene Q MDx.

| Activitate | Personal | Instruire și experiență |
|---|--|---|
| Livrare | Nu există cerințe speciale | Nu există cerințe speciale |
| Instalare | Tehnicieni de laborator sau echivalent | Personal instruit și cu experiența corespunzătoare, familiarizat cu utilizarea computerelor și cu automatizarea, în general |
| Utilizare de rutină (rularea protocoalelor) | Tehnicieni de laborator sau echivalent | Utilizatori profesioniști, precum tehnicieni sau medici, instruiți în tehnici de biologie moleculară |
| Întreținere de rutină | Tehnicieni de laborator sau echivalent | Utilizatori profesioniști, precum tehnicieni sau medici, instruiți în tehnici de biologie moleculară |
| Service și întreținere anuală | Doar specialiștii QIAGEN de service pe teren | Personal instruit, certificat și autorizat cu regularitate de QIAGEN |

1.4 Materiale necesare

Rețineți: Utilizați exclusiv accesoriile furnizate de QIAGEN.

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

1.5 Materiale necesare, dar nefurnizate

- Ochelari de protecție
- Mănuși
- Halat de laborator


Pentru utilizarea Rotor-Gene Q MDx este necesar un kit PCR, care trebuie achiziționat separat.


Pentru a descoperi gama de kituri disponibile, consultați **QIAGEN.com**.

2 Informații de siguranță

Înainte de utilizarea Rotor-Gene Q MDx, este esențial să citiți cu atenție acest manual de utilizare și să acordați atenție informațiilor de siguranță. Instrucțiunile și informațiile de siguranță din manualul de utilizare trebuie respectate, pentru a se asigura operarea în condiții de siguranță a instrumentului și pentru a menține instrumentul într-o stare sigură.

În *Manualul de utilizare Rotor-Gene Q MDx* apar următoarele tipuri de informații de siguranță.


| | |
|---|--|
| AVERTIS- MENT  | Termenul AVERTISMENT este folosit pentru a vă informa cu privire la situațiile care ar putea avea ca rezultat vătămarea corporală , a dumneavoastră sau a altor persoane. Detaliile cu privire la aceste situații sunt oferite într-o casetă ca aceasta. |
|---|--|

| | |
|---|---|
| ATENȚIE  | Termenul ATENȚIE este folosit pentru a vă informa despre situații care ar putea duce la deteriorarea unui instrument sau a altui echipament. Detaliile cu privire la aceste situații sunt oferite într-o casetă ca aceasta. |
|---|---|


Recomandările oferite în acest manual sunt destinate completării, și nu înlocuirii, cerințelor normale de siguranță în vigoare în țara de utilizare.


Vă rugăm să rețineți că este posibil să aveți obligația de a consulta reglementările locale privind raportarea incidentelor grave survenite în legătură cu dispozitivul către producător și/sau reprezentanța autorizată a acestuia și autoritatea de reglementare în care își are sediul/domiciliul utilizatorul și/sau pacientul.


2.1 Utilizarea adecvată

| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Utilizarea inadecvată a produsului Rotor-Gene Q MDx poate provoca vătămări corporale sau deteriorarea instrumentului. Rotor-Gene Q MDx trebuie operat numai de personal calificat care a fost instruit în mod corespunzător. Repararea Rotor-Gene Q MDx trebuie efectuată numai de către un specialist QIAGEN de service pe teren. |
|---|---|


Efectuați întreținerea așa cum este descris în Secțiunea 8. QIAGEN percepe costuri pentru reparațiile necesare din cauza întreținerii incorecte.


| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Rotor-Gene Q MDx este prea greu pentru a fi ridicat de o singură persoană. Pentru a evita vătămarea corporală sau deteriorarea instrumentului, nu ridicați instrumentul de unul singur. Contactați Serviciile tehnice QIAGEN pentru relocarea instrumentului. |
|---|---|


| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Nu încercați să mutați instrumentul Rotor-Gene Q MDx în timpul funcționării. |
|---|---|


| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Deteriorarea instrumentului Evitați vărsarea apei sau a substanțelor chimice pe produsul Rotor-Gene Q MDx. Deteriorarea provocată de scurgeri de apă sau de substanțe chimice va anula garanția. |
|---|--|


Rețineți: În cazul unei urgențe, opriți Rotor-Gene Q MDx de la comutatorul de alimentare aflat în partea din spate a instrumentului și deconectați cablul de alimentare de la priza de putere.


| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Nu încercați să deschideți capacul în timpul unui experiment sau în timp ce instrumentul Rotor-Gene Q MDx efectuează operațiuni de centrifugare. În caz contrar, dacă împiedicați blocarea capacului și interveniți în interior, riscați să atingeți componente fierbinți, aflate sub tensiune sau care se mișcă la viteze mari, astfel că vă puteți răni și puteți deteriora instrumentul. |
|---|--|

| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Dacă trebuie să opriți rapid un experiment, decuplați alimentarea instrumentului, apoi deschideți capacul. Lăsați camera să se răcească înainte să interveniți în interior. În caz contrar, riscați să suferiți vătămări corporale din cauza atingerii unor componente fierbinți. |
|---|--|

| | |
|---|---|
| ATENȚIE  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Dacă echipamentul este utilizat într-o manieră nespecificată de producător, este posibil ca protecția oferită de echipament să fie afectată. |
|---|---|

| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Foile de hârtie aflate sub Rotor-Gene Q MDx afectează răcirea instrumentului. Se recomandă ca zona de sub instrument să fie liberă. |
|---|--|


| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Deteriorarea instrumentului Utilizați întotdeauna un inel de blocare pe rotor. Acesta împiedică ieșirea capacelor din tuburi în timpul unui experiment. În cazul ieșirii capacelor din tuburi în timpul unui experiment, acestea pot deteriora camera. |
|---|--|

| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Risc de pagube materiale Inspectați vizual și asigurați-vă că rotorul nu este deteriorat sau deformat înaintea fiecărei testări. |
|---|--|

Dacă atingeți Rotor-Gene Q MDx în timpul unui experiment, vă veți încărca cu electricitate statică, iar în cazurile severe, Rotor-Gene Q MDx se poate reseta. Cu toate acestea, software-ul va reporni instrumentul Rotor-Gene Q MDx și va continua experimentul.

2.2 Siguranța electrică

Înainte de lucrările de service, deconectați cablul de alimentare de la priza de putere.

| | |
|---|--|
| AVERTIS- MENT  | Pericol electric Orice întrerupere a conductorului de protecție (masă/conductor de legare la pământ) în interiorul sau în exteriorul instrumentului sau deconectarea terminalului conductorului de protecție poate face ca instrumentul să fie periculos. Întreruperea intenționată este interzisă. Tensiuni letale în interiorul instrumentului Atunci când instrumentul este conectat la cablul de alimentare, terminalele pot fi sub tensiune, iar deschiderea capacelor sau scoaterea unor piese poate expune piesele aflate sub tensiune. |
|---|--|


Pentru a garanta o funcționare satisfăcătoare și sigură a aparatului Rotor-Gene Q MDx, urmați recomandările de mai jos:

- Cablul de alimentare de la rețea trebuie conectat la o priză de putere prevăzută cu conductor de protecție (masă/legare la pământ).
- Nu ajustați și nu înlocuiți piesele interne ale instrumentului.
- Nu operați instrumentul cu capace sau piese scoase.
- Dacă în interiorul instrumentului a fost vărsat lichid, opriți instrumentul, deconectați-l de la priza de putere și contactați Serviciile tehnice QIAGEN.

Dacă instrumentul devine nesigur din punct de vedere electric, împiedicați alte persoane să îl utilizeze și contactați Serviciile Tehnice QIAGEN.

Instrumentul poate fi nesigur din punct de vedere electric atunci când:

- Instrumentul sau cablul de alimentare de la rețea pare a fi deteriorat.
- Instrumentul a fost depozitat în condiții nefavorabile o perioadă lungă de timp.
- Instrumentul a fost supus unor solicitări severe în timpul transportului.


| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Pericol electric Instrumentul are o etichetă privind conformitatea electrică, care indică tensiunea și frecvența sursei de alimentare, precum și valorile nominale ale siguranțelor. Echipamentul trebuie operat exclusiv în aceste condiții. |
|---|---|

2.3 Siguranța biologică

Eșantioanele și reactivii care conțin materii din surse biologice trebuie tratate ca potențial infecțioase. Utilizați proceduri de laborator sigure, așa cum sunt menționate în publicații precum *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

Probele

Probe care pot conține agenți infecțioși. Trebuie să fiți conștienți de pericolul la adresa sănătății prezentat de astfel de agenți și trebuie să folosiți, să depozitați și să eliminați astfel de probe în conformitate cu regulamentele de siguranță obligatorii.


| | |
|---|--|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Probe care conțin agenți infecțioși</p> <p>Unele probe folosite împreună cu acest instrument pot conține agenți infecțioși. Manipulați astfel de probe cu cea mai mare atenție și în conformitate cu reglementările de siguranță impuse.</p> <p>Purtați întotdeauna ochelari de protecție, 2 perechi de mănuși și halat de laborator.</p> <p>Organismul responsabil (de exemplu, managerul de laborator) trebuie să ia măsurile de precauție necesare pentru a se asigura că locul de muncă este sigur și că operatorii instrumentelor sunt instruiți corespunzător și nu sunt expuși la niveluri periculoase de agenți infecțioși, așa cum sunt aceștia definiți în fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) aplicabile sau documente OSHA,* ACGIH† sau COSHH‡.</p> <p>Aerisirea pentru vapori și evacuarea deșeurilor trebuie să fie conforme cu toate reglementările și legile naționale, statale și locale privind sănătatea și securitatea în muncă.</p> |
|---|--|

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Agenția pentru Sănătate și Securitate în Muncă) (Statele Unite ale Americii).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Conferința americană a igieniștilor industriali guvernamentali) (Statele Unite ale Americii).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Controlul substanțelor care pun în pericol sănătatea) (Regatul Unit).

2.4 Siguranță chimică

| | |
|---|---|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Substanțe chimice periculoase</p> <p>Unele substanțe chimice utilizate împreună cu instrumentul pot fi periculoase sau pot deveni periculoase după finalizarea executării protocolului. Purtați întotdeauna ochelari de protecție, mănuși și un halat de laborator. Organismul responsabil (de exemplu, managerul de laborator) trebuie să ia măsurile de precauție necesare pentru a se asigura că locul de muncă este sigur și că operatorii instrumentelor nu sunt expuși la niveluri periculoase de substanțe toxice (chimice sau biologice), așa cum sunt acestea definite în fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) aplicabile sau în documentele OSHA,* ACGIH† sau COSHH‡.</p> <p>Aerisirea pentru vapori și evacuarea deșeurilor trebuie să fie conforme cu toate reglementările și legile naționale, statale și locale privind sănătatea și securitatea în muncă.</p> |
|---|---|

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Agenția pentru Sănătate și Securitate în Muncă) (Statele Unite ale Americii).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Conferința americană a igieniștilor industriali guvernamentali) (Statele Unite ale Americii).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Controlul substanțelor care pun în pericol sănătatea) (Regatul Unit).

Vapori toxici

În cazul în care lucrați cu solvenți volatili sau cu substanțe toxice trebuie să asigurați un sistem eficient de ventilație în laborator pentru a elimina vaporii care pot fi produși.


2.5 Eliminarea deșeurilor


Aparatura de laborator uzată poate conține substanțe chimice periculoase. Astfel de deșuri trebuie colectate și eliminate în mod corespunzător, în conformitate cu regulamentele locale privind siguranța.


Pentru mai multe informații privind modul de eliminare a instrumentului Rotor-Gene Q MDx, consultați „Deșuri de echipamente electrice și electronice (DEEE)”, pagina 203.


2.6 Pericole mecanice


Capacul Rotor-Gene Q MDx trebuie să rămână închis în timpul utilizării instrumentului.


| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Componente aflate în mișcare Pentru a evita contactul cu componentele aflate în mișcare în timpul funcționării instrumentului Rotor-Gene Q MDx, acesta trebuie să fie operat cu capacul închis. |
|---|---|

| | |
|---|--|
| AVERTIS- MENT  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Deschideți și închideți cu atenție capacul Rotor-Gene Q MDx pentru a evita strivirea degetelor sau agățarea îmbrăcăminteii. |
|---|--|


| | |
|---|--|
| AVERTIS- MENT  | Deteriorarea instrumentului Asigurați-vă că rotorul și inelul de blocare sunt instalate corect. Dacă rotorul sau inelul de blocare prezintă semne de uzură mecanică sau coroziune, nu utilizați instrumentul Rotor-Gene Q MDx; contactați Serviciile tehnice QIAGEN. |
|---|--|


| | |
|---|--|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Deteriorarea instrumentului</p> <p>În climatele reci, dacă Rotor-Gene Q MDx este pornit imediat după livrare, componentele mecanice se pot bloca.</p> <p>Lăsați instrumentul să se aclimatizeze la temperatura camerei timp de cel puțin o oră înainte de pornire.</p> |
|---|--|

| | |
|---|--|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Deteriorarea instrumentului</p> <p>În cazul unei defecțiuni provocate de o pană de curent, scoateți cablul de alimentare și așteptați 10 minute, după care încercați să deschideți manual capacul.</p> |
|---|--|

| | |
|---|--|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Risc de supraîncălzire</p> <p>Pentru a asigura ventilarea adecvată, păstrați un spațiu minimum de 10 cm față de părțile laterale și de partea din spate a aparatului Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Fantele și deschiderile care asigură ventilarea Rotor-Gene Q MDx nu trebuie acoperite.</p> |
|---|--|


Pericol de încălzire


| | |
|---|--|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Suprafață fierbinte</p> <p>Camera Rotor-Gene Q MDx poate atinge temperaturi peste 120 °C. Evitați atingerea acesteia atunci când este fierbinte.</p> |
|---|--|


| | |
|---|---|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Suprafață fierbinte</p> <p>La întreruperea unei testări, Rotor-Gene Q MDx nu se va răci complet la temperatura camerei. Aveți grijă înainte să manipulați rotorul sau posibilele tuburi din instrument.</p> |
|---|---|


2.7 Siguranța la întreținere

Efectuați întreținerea așa cum este descris în Secțiunea 8. QIAGEN percepe costuri pentru reparațiile necesare din cauza întreținerii incorecte.

| | |
|--|--|
| AVERTIS- MENT/ ATENȚIE  | Risc de vătămare corporală și pagube materiale Efectuați doar lucrările de întreținere descrise în mod special în acest manual de utilizare. |
|--|--|











| | |
|--|---|
| AVERTIS- MENT  | Riscul de incendiu La curățarea instrumentului Rotor-Gene Q MDx cu dezinfectant pe bază de alcool, lăsați deschisă ușa Rotor-Gene Q MDx pentru a permite dispersarea vaporilor inflamabili. |
|--|---|

| | |
|--|--|
| AVERTIS- MENT/ ATENȚIE  | Risc de șoc electric Nu demontați instrumentul Rotor-Gene Q MDx. |
|--|--|

| | |
|---|--|
| ATENȚIE  | Deteriorarea carcasei instrumentului Nu curățați niciodată carcasa instrumentului cu alcool sau cu soluții pe bază de alcool. Alcoolul va deteriora carcasa. Utilizați exclusiv apă distilată pentru curățarea carcasei. |
|---|--|

2.8 Simboluri de Rotor-Gene Q MDx

În manualul de utilizare sau pe ambalaj și pe etichete pot apărea următoarele simboluri:

| Simbol | Loc | Descriere |
|---|---|--|
|  | Lângă camera cu probe, vizibil atunci când capacul este deschis | Pericol de încălzire – temperatura camerei poate atinge temperaturi de peste 120 °C |
|  | Partea din spate a instrumentului | Consultați instrucțiunile de utilizare |
|  | Plăcuță cu date de identificare, pe partea din spate a instrumentului | Marcaj CE de Conformitate Europeană |
|  | Plăcuță cu date de identificare, pe partea din spate a instrumentului | Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro |
|  | Plăcuță cu date de identificare, pe partea din spate a instrumentului | Marcaj de listare CSA pentru Canada și SUA |
|  | Plăcuță cu date de identificare pe panoul din dreapta | Producător legal. |
|  | Plăcuță cu date de identificare pe panoul din dreapta | DEEE privind eliminarea deșeurilor de echipamente electrice și electronice pentru Europa și restul lumii. |
|  | Plăcuță cu date de identificare pe panoul din dreapta | Marcaj FCC al Comisiei Federale Americane a Comunicațiilor |
|  | Plăcuță cu date de identificare pe panoul din dreapta | RCM (fostul C-Tick) pentru Australia (identificare furnizor N17965) |
|  | Plăcuță cu date de identificare pe panoul din dreapta | Marcaj RoHS pentru China (restricționarea utilizării anumitor substanțe periculoase în echipamente electrice și electronice) |

3 Descriere generală

Rotor-Gene Q MDx este un instrument inovator, care permite real-time PCR de mare precizie și care este extrem de potrivit pentru aplicații de diagnosticare in vitro, împreună cu kiturile QIAGEN cu marcaj IVD.

Software-ul performant și ușor de utilizat reprezintă o platformă simplă pentru începători, dar și o platformă experimentală deschisă pentru utilizatori avansați.

3.1 Principiul Rotor-Gene Q MDx

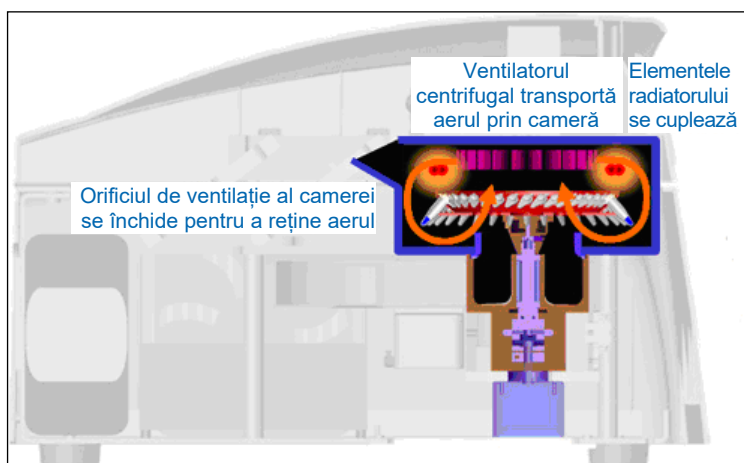
3.1.1 Performanța termică

Rotor-Gene Q MDx utilizează un design de încălzire și răcire sofisticat pentru a obține condiții optime pentru reacții. Formatul rotativ unic asigură uniformitate optică și termică optimă la nivel de probe, un aspect esențial pentru o analiză de precizie și fiabilă.

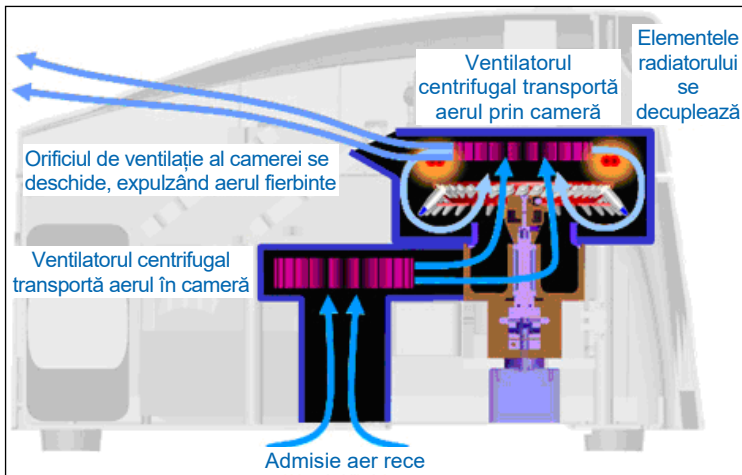
Probele sunt centrifugate continuu la 400 rot/min în timpul unei testări. Centrifugarea previne condensul și elimină bulele de aer, dar nu peletizează ADN-ul. În plus, probele nu trebuie centrifugate înaintea unei testări.

Probele sunt încălzite și răcite într-un cuptor cu circulație a aerului la flux redus. Încălzirea se realizează prin intermediul unui element nichel-crom montat în capac. Camera este răcită prin ventilarea aerului prin partea de sus a camerei, în timp ce aerul ambiental este suflat prin bază.

Încălzire



Răcire

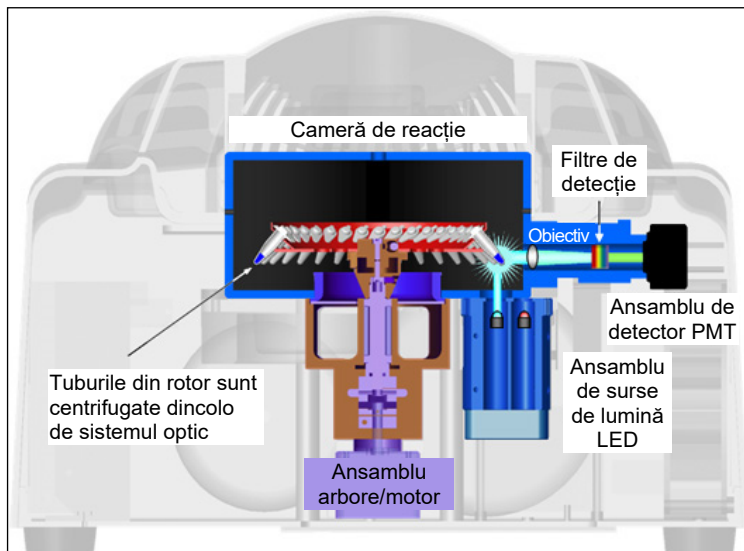


Ilustrarea sistemului de încălzire și de răcire.

3.1.2 Sistemul optic

Cu o selecție de până la 6 surse de excitație și 6 filtre de detecție, combinate cu un traseu optic scurt și fix, Rotor-Gene Q MDx poate fi utilizat pentru reacții multiplex, asigurând o variabilitate minimă a fluorescenței între probe și eliminând necesitatea calibrării sau a compensării.

Probele sunt excitate din partea de jos a camerei, prin intermediul unei diode emițătoare de lumină. Energia este transmisă prin pereții subțiri la baza tubului. Fluorescența emisă trece prin filtrele de emisie din partea laterală a camerei, apoi este colectată de un fotomultiplicator. Traseul optic fix asigură o excitație constantă pentru fiecare probă, ceea ce înseamnă că nu este necesară utilizarea unui colorant intern pasiv de referință, precum ROX™.



Ilustrarea sistemului optic.

3.1.3 Canale disponibile

| Canal | Excitație (nm) | Deteție (nm) | Exemple de fluorofori detectați |
|--|----------------|----------------------|--|
| 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 filtru trece sus | Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680 |
| Topire la înaltă rezoluție (High Resolution Melt, HRM) | 460 ± 20 | 510 ± 5 | SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen |

Rețineți: Kiturile QIAGEN indicate pentru utilizare cu instrumentele Rotor-Gene Q MDx sunt optimizate în funcție de anumite combinații de coloranți. Consultați manualele kiturilor respective pentru mai multe informații.

3.2 Caracteristici externe ale instrumentului Rotor-Gene Q MDx



- | | | | |
|---|-------------------|---|--------------------------------------|
| 1 | Aerisiri în capac | 3 | Camera rotorului |
| 2 | Mânerul capacului | 4 | Luminile de stare ale instrumentului |

3.2.1 Aerisiri în capac

Rotor-Gene Q dispune de orificii de ventilație în partea din spate a capacului instrumentului. Aceste orificii îi permit instrumentului să ventileze căldura provenită de la cameră în timpul funcționării. Blocarea orificiilor sau un spațiu liber insuficient în jurul acestora poate afecta negativ performanța instrumentului.

3.2.2 Mânerul capacului

Mânerul capacului este utilizat pentru a glisa capacul instrumentului înspre spate. Acest mâner nu este destinat să susțină greutatea instrumentului și nu trebuie utilizat pentru ridicarea instrumentului.

3.2.3 Camera rotorului

Camera rotorului este locul în care rotoarele sunt încărcate și trec prin etapele programate de încălzire și ciclare.

3.2.4 Luminile de stare ale instrumentului

Există două lumini de stare pe Rotor-Gene Q. Lumina în așteptare indică faptul că instrumentul nu este în uz. Lumina de funcționare clipește intermitent când Rotor-Gene Q este în uz.

3.3 Caracteristici interne ale instrumentului Rotor-Gene Q MDx



Vedere din interior a camerei Rotor-Gene Q

- 1 Butucul rotorului 2 Obiectiv optic

3.3.1 Butucul rotorului

Butucul rotorului fixează rotorul pe poziție în instrument.

3.3.2 Obiectiv optic

Obiectivul optic este locul în care lumina diodei de excitație este focalizată pe tuburi.

4 Proceduri de instalare

4.1 Livrarea și instalarea sistemului

O persoană familiarizată cu echipamentele de laborator și de calculator trebuie să fie prezentă în timpul instalării.

Sunt livrate următoarele articole:

- Instrument Rotor-Gene Q MDx
- *Manual de utilizare Rotor-Gene Q MDx*
- Stație de lucru
- Software-ul Rotor-Gene Q MDx (va fi instalat de departamentul QIAGEN de service pe teren în timpul configurării inițiale)

4.1.1 Despachetarea Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx este livrat cu toate componentele necesare pentru configurarea și funcționarea instrumentului. Cutia conține și o listă cu toate componentele furnizate.

Rețineți: Verificați integralitatea acestei liste pentru a vă asigura că toate componentele sunt prezente.

Rețineți: Înainte de instalare, verificați dacă instrumentul și accesoriile livrate prezintă daune de transport.

Cutia de accesorii se află deasupra ambalajului din spumă. Cutia de accesorii conține:

- Ghid de instalare (engleză; traduceri disponibile pe suporturi amovibile cu manuale)
- Suporturi amovibile (software)
- Suporturi amovibile (manuale)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (demonat pentru transport în condiții de siguranță)
- 36-Well Rotor (acest rotor este de culoare roșu)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Următoarele articole sunt ambalate de fiecare parte a ambalajului din spumă:

- Cablu USB și cablu serial RS-232
- Set cablu de alimentare internațional
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

După ce toate aceste componente au fost scoase din cutie, scoateți ambalajul din spumă de deasupra Rotor-Gene Q MDx. Scoateți cu grijă Rotor-Gene Q MDx din cutie și desfaceți capacul din plastic. Deschideți capacul glisându-l spre partea din spate pentru a accesa camera de reacție.


Următoarele articole sunt deja instalate în interiorul Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (acest rotor este de culoare albastru)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Un laptop poate fi inclus în ambalaj, în funcție de detaliile comenzii dvs.

4.1.2 Instalarea hardware-ului

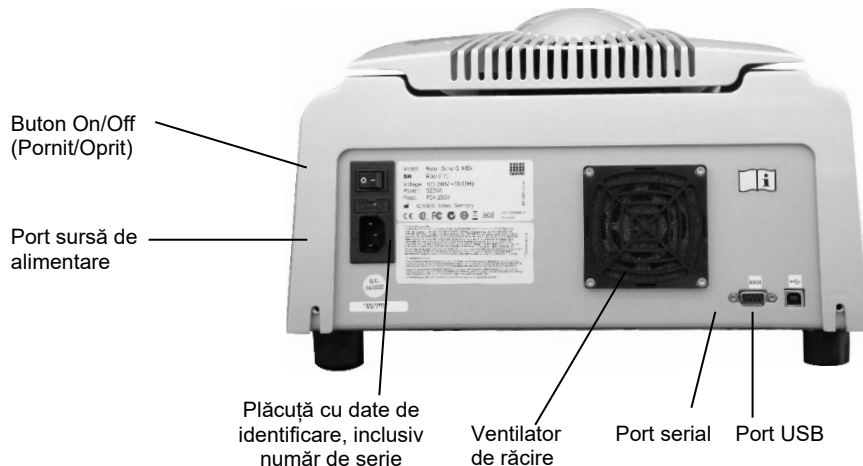
După ce Rotor-Gene Q MDx a fost despachetat, treceți la instalare conform descrierii de mai jos.

| | |
|---|---|
| ATENȚIE  | Deteriorarea instrumentului În climantele reci, dacă Rotor-Gene Q MDx este pornit imediat după livrare, componentele mecanice se pot bloca. Lăsați instrumentul să se aclimatizeze la temperatura camerei timp de cel puțin o oră înainte de pornire. |
|---|---|

Procedați după cum urmează:

1. Așezați Rotor-Gene Q MDx pe o suprafață plană.
2. Asigurați-vă că există suficient spațiu în spatele instrumentului pentru deschiderea completă a capacului.
3. Asigurați-vă că puteți accesa cu ușurință comutatorul de alimentare din partea din spate a instrumentului.
4. Nu obstrucționați partea din spate a instrumentului. Asigurați-vă că puteți detașa cu ușurință cablul de alimentare, dacă este necesar, pentru a deconecta alimentarea instrumentului.

5. Conectați cablul USB sau cablul serial RS-232 furnizat la un port USB sau la un port de comunicații din partea din spate a computerului.
6. Conectați cablul USB sau cablul serial RS-232 la partea din spate a Rotor-Gene Q MDx.
7. Apoi conectați Rotor-Gene Q MDx la sursa de alimentare. Conectați un capăt al cablului de alimentare c.a. la mufa situată în partea din spate a aparatului Rotor-Gene Q MDx, iar celălalt capăt la priza de putere c.a.

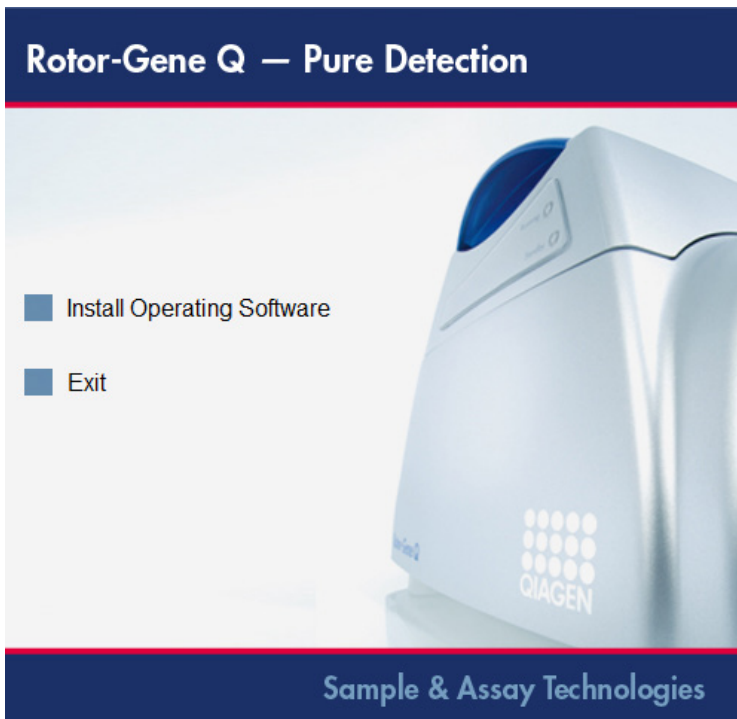


Rețineți: Conectați Rotor-Gene Q MDx la computer numai cu cablul USB și cu cablul serial livrate împreună cu instrumentul. Nu utilizați alte cabluri.

4.1.3 Instalarea software-ului

1. Pentru a instala software-ul Rotor-Gene Q, descărcați software-ul de pe **QIAGEN.com** și transferați-l pe computer pe un suport amovibil fără virusi sau introduceți în computer suportul amovibil (software) livrat împreună cu instrumentul.
2. Dacă instalarea software-ului începe automat, selectați **Install Operating Software** (Instalare software de operare) în fereastra care apare sau navigați la folderul software RGQ de pe suportul amovibil.

Rețineți: Consultați *Ghidul de instalare Rotor-Gene Q* furnizat împreună cu instrumentul pentru o instalare ușoară și pentru a vă ghida prin următorii pași de instalare a software-ului.



3. Odată ce software-ul a fost instalat, va fi creată automat o pictogramă pentru desktop.
4. Porniți Rotor-Gene Q MDx prin deplasarea în poziția „I” a comutatorului situat în partea din spate stânga. O lumină albastră „Standby” (În așteptare) din partea din față a Rotor-Gene Q MDx indică faptul că instrumentul este gata de utilizare.

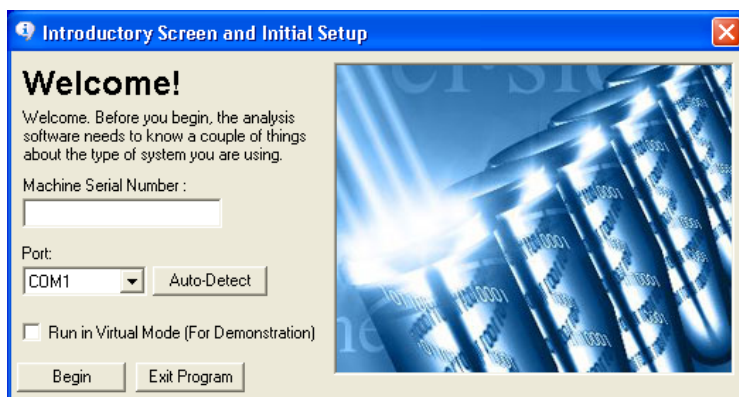
Rețineți: Când porniți instrumentul conectat la un computer pentru prima dată, Rotor-Gene Q MDx va fi recunoscut de sistemul de operare și va apărea o serie de mesaje. Consultați *Ghidul de instalare Rotor-Gene Q* furnizat împreună cu instrumentul (suportul amovibil și ediția tipărită) pentru instrucțiuni.



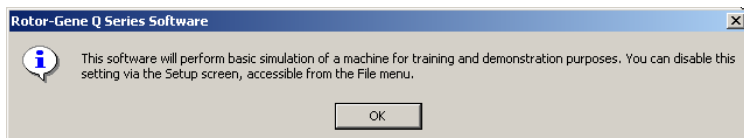
5. Faceți dublu clic pe pictograma pentru desktop **Rotor-Gene Q Series Software** (Software seria Rotor-Gene Q) pentru a iniția software-ul.



6. O fereastră **Welcome** (Bun venit) apare la prima pornire a software-ului, dar nu și pentru upgrade-urile de software ulterioare.



| | |
|---|--|
| Machine Serial Number: (Numărul de serie al aparatului): | Introduceți numărul de serie (7 cifre), care poate fi găsit pe partea din spate a Rotor-Gene Q MDx. |
| Port: | Selectați USB sau Serial Cable (Cablul serial). Selectați portul de comunicații corespunzător sau faceți clic pe butonul Auto-Detect (Detectare automată). |
| Auto-Detect (Detectare automată) | Când utilizați această opțiune, portul USB sau portul serial corespunzător va fi detectat automat și afișat în lista verticală Port . |
| Run in Virtual Mode (for demonstration): (Rulare în modul virtual (în scop demonstrativ):) | Bifarea acestei casete permite instalarea software-ului Rotor-Gene Q pe un computer care nu este conectat la un Rotor-Gene Q MDx. Software-ul este complet funcțional și poate simula rulări. Rețineți: Dacă această casetă este bifată și un aparat Rotor-Gene Q MDx este conectat la computer, următorul mesaj apare înainte de a începe rularea: You are about to run in Virtual mode (Sunteți pe cale să rulați în modul virtual). Pentru a efectua o rulare reală, configurația trebuie modificată în fereastra Setup (Configurare) (consultați Secțiunea 6.5.4). |
| Begin: (Începere:) | După ce au fost introduse toate informațiile, faceți clic pe Begin (Începere). Așteptați până când inițializarea este terminată, proces care poate dura câteva secunde. Dacă a fost selectat modul virtual, apare următorul mesaj: |

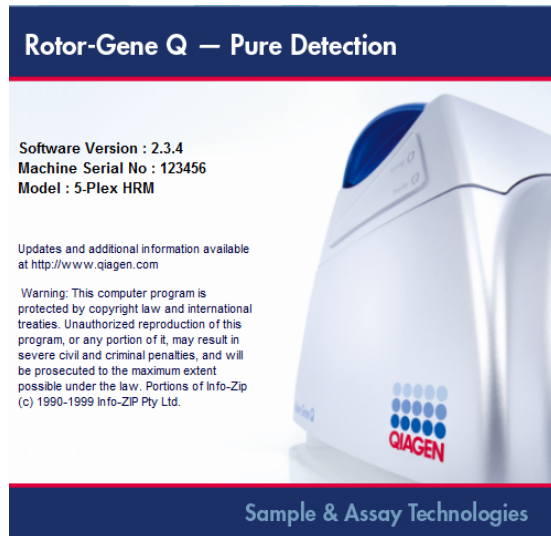


În cazul în care caseta **Run in Virtual Mode** (Rulare în modul virtual) este debifată, software-ul se inițializează și se deschide automat.

Exit Program: (Ieșire din program:) Dacă faceți clic pe acest buton veți ieși din program.

4.1.4 Versiune software

Pentru a afla numărul versiunii pe care o dețineți, faceți clic pe **Help** (Ajutor), apoi pe **About This Software...** (Despre acest software...).



Această fereastră afișează informații generale despre software, inclusiv versiunea software-ului, precum și numărul de serie și modelul instrumentului.

Software-ul poate fi copiat gratuit pentru utilizare în cadrul unei organizații care deține un aparat Rotor-Gene Q MDx. Software-ul nu poate fi copiat și distribuit altor persoane din afara organizației.

4.1.5 Software suplimentar pe computerele conectate la instrumentele Rotor-Gene Q MDx

Software-ul Rotor-Gene Q gestionează procesele urgente în timpul rulării PCR și al procesului de achiziție a datelor. Din acest motiv, este important să vă asigurați că niciun alt proces nu utilizează resurse semnificative ale sistemului, astfel existând posibilitatea de a încetini software-ul Rotor-Gene Q. Este deosebit de important să acordați atenție aspectelor enumerate mai jos.

Administratorilor de sistem li se recomandă să ia în considerare orice impact pe care îl poate avea o modificare efectuată la sistem asupra resurselor, înainte de implementarea acestei modificări.

Programul antivirus

QIAGEN este conștientă de amenințarea pe care o reprezintă virușii de computer asupra oricărui computer care schimbă date cu alte computere. Se preconizează ca software-ul Rotor-Gene AssayManager versiunea 1.0 sau 2.1 să fie instalat în principal în medii în care există politici locale pentru a reduce la minimum această amenințare. Cu toate acestea, QIAGEN recomandă utilizarea unui software antivirus în orice caz.

Selectarea și instalarea unui instrument adecvat de scanare pentru viruși sunt responsabilitatea clientului. Cu toate acestea, QIAGEN a validat software-ul Rotor-Gene Q cu laptopul QIAGEN în combinație cu următorul software antivirus care demonstrează compatibilitate:

- Microsoft Defender client versiunea 4.18.2005.5

Consultați pagina produsului la QIAGEN.com pentru cele mai recente versiuni de software antivirus care au fost validate în combinație cu software-ul Rotor-Gene Q și Rotor-Gene AssayManager versiunea 1.0 sau 2.1.

Dacă este selectat un software antivirus, asigurați-vă că acesta poate fi configurat astfel încât calea folderului bazei de date să poată fi exclusă din scanare. În caz contrar, există riscul erorilor de conectare la baza de date. Deoarece Rotor-Gene AssayManager versiunile 1.0 și 2.1 creează noi arhive de baze de date în mod dinamic, este necesar să se excludă calea folderului către fișiere și nu fișiere individuale. Nu recomandăm utilizarea de software antivirus în cazul în care pot fi excluse doar fișiere individuale, de exemplu, McAfee Antivirus Plus V16.0.5. În cazul în care computerul este utilizat într-un mediu fără acces la rețea, asigurați-vă, de asemenea, că software-ul antivirus acceptă actualizări offline.

Prin urmare, pentru a obține rezultate coerente după instalarea unui software antivirus, administratorii de sistem trebuie să se asigure de următoarele:

- După cum s-a explicat mai sus, calea folderului bazei de date pentru Rotor-Gene AssayManager 1.0 și 2.1 (**C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA**) trebuie exclusă din scanările fișierelor.
- Actualizările făcute la baza de date de viruși nu sunt efectuate în timpul utilizării software-ului Rotor-Gene AssayManager 1.0 sau 2.1.
- Asigurați-vă că scanările totale sau parțiale ale hard diskului sunt dezactivate în timpul achiziției de date real-time PCR. În caz contrar, există riscul unui impact negativ asupra performanței instrumentului.

Citiți manualul software-ului antivirus selectat pentru detalii privind configurația.

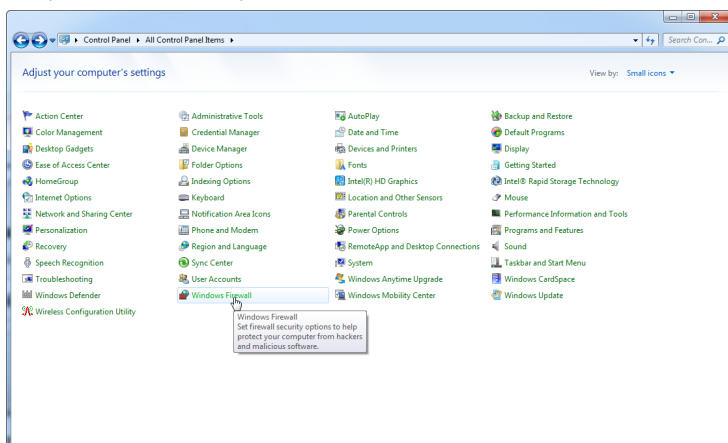
Firewall și rețele

Software-ul Rotor-Gen Q poate rula pe computere fără acces la rețea sau într-un mediu de rețea, dacă este utilizat un server de bază de date la distanță. Pentru operarea în rețea, firewallul de pe laptopul furnizat de QIAGEN este configurat astfel încât traficul de intrare să fie blocat pentru toate porturile, cu excepția celor necesare pentru a stabili o conexiune la rețea.

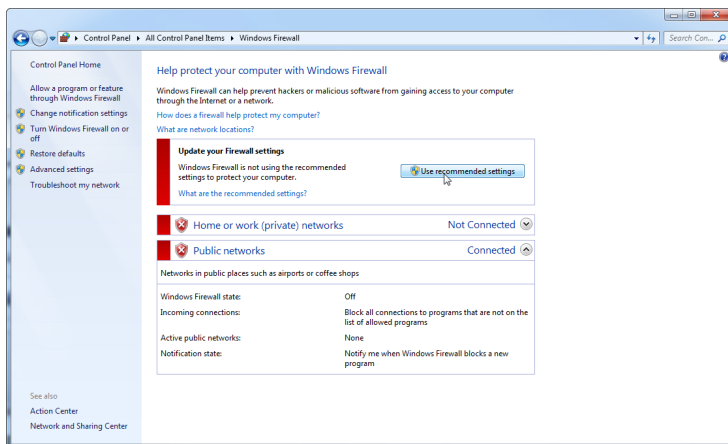
Rețineți că blocarea conexiunilor de intrare nu afectează răspunsurile la solicitările declanșate de utilizator. Conexiunile de ieșire sunt permise, deoarece acestea pot fi necesare pentru preluarea actualizărilor.

În cazul în care configurația dvs. este diferită, QIAGEN recomandă configurarea firewallului în același mod descris mai sus. În acest scop, un administrator de sistem trebuie să se autentifice și să parcurgă următorii pași:

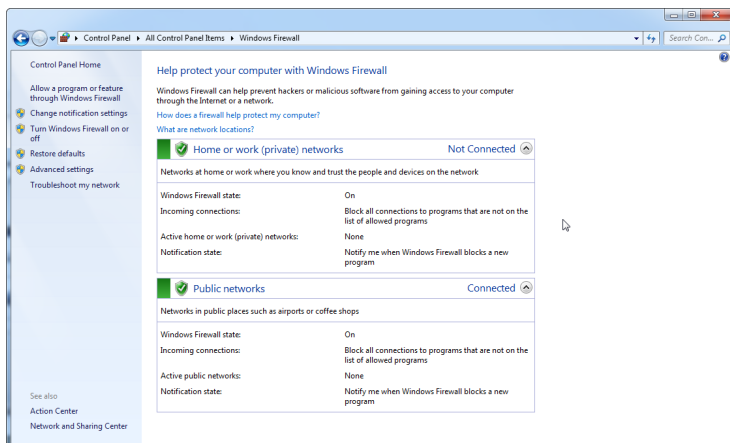
1. Să deschidă **Control Panel** (Panou de control) și să selecteze **Windows Firewall** (Firewall Windows).



2. Să selecteze **Use recommended settings** (Utilizare setări recomandate).

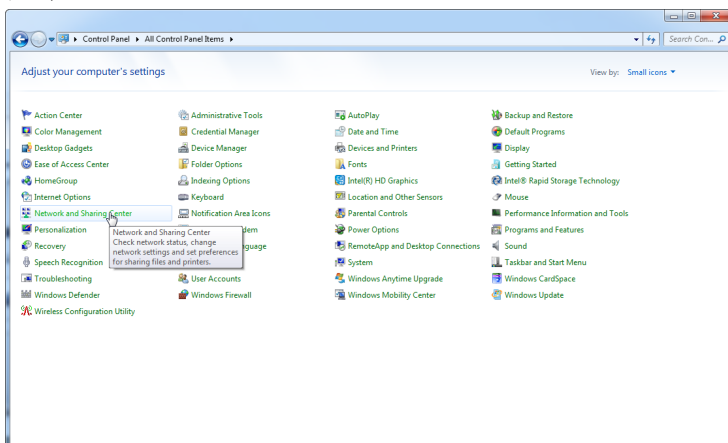


3. Să verifice dacă următoarele setări sunt active:

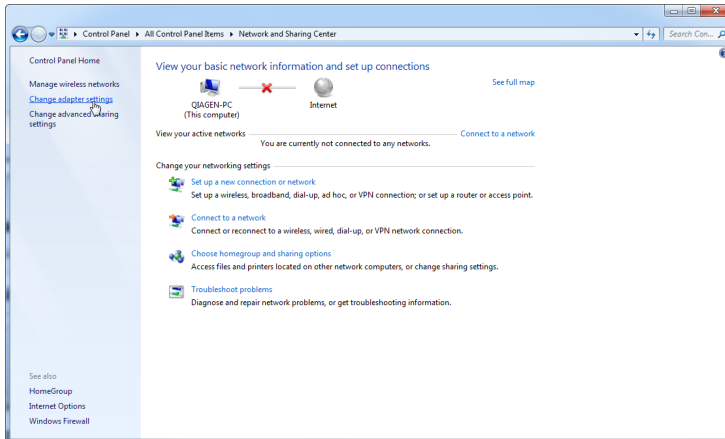


Din motive de securitate și fiabilitate, se va utiliza accesul la rețea prin cablu în loc de Wi-Fi. Laptopurile furnizate de QIAGEN au un adaptor Wi-Fi dezactivat. În cazul în care configurația dvs. este diferită, un administrator de sistem trebuie să dezactiveze manual adaptorul Wi-Fi, parcurgând următorii pași:

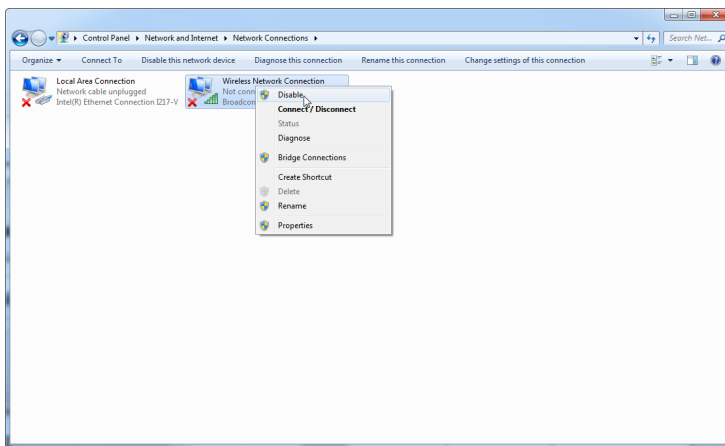
1. Să deschidă **Control Panel** (Panou de control) și să selecteze **Network and Sharing Center** (Centru rețea și partajare).



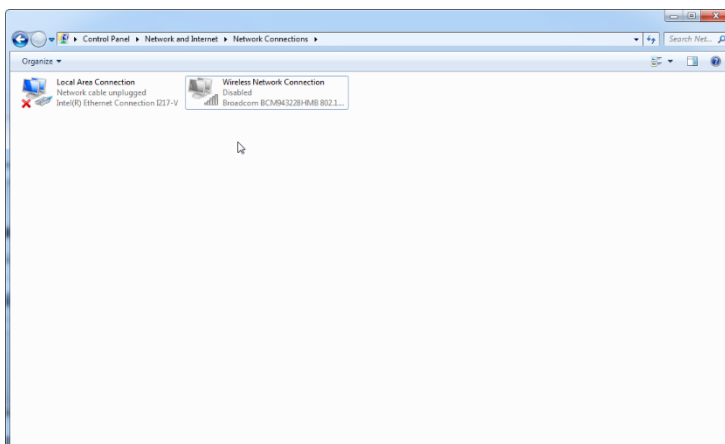
2. Să selecteze **Change adapter settings** (Modificare setări adaptor).



3. Să țină mouse-ul peste **Wireless Network Connection** (Conexiune de rețea fără fir), să apese butonul din dreapta al mouse-ului și să selecteze **Disable** (Dezactivare) din meniul contextual.



4. Să verifice dacă opțiunea Wireless Network Connection (Conexiune de rețea fără fir) este dezactivată.



Instrumente de sistem

Multe instrumente de sistem pot utiliza resurse semnificative ale sistemului, chiar și în lipsa unei interacțiuni din partea utilizatorului. Exemple tipice de astfel de instrumente sunt:

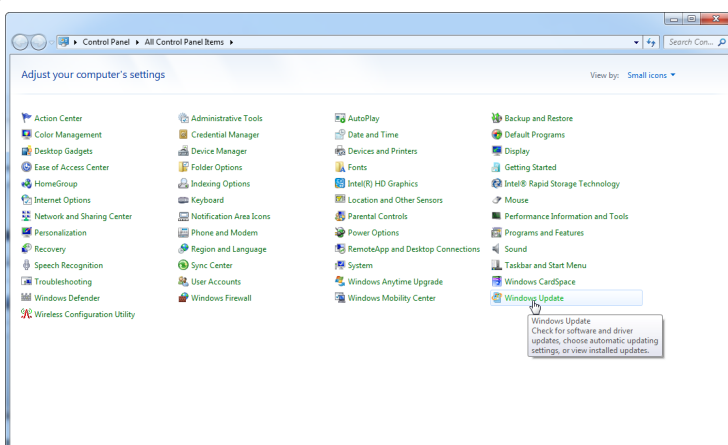
- Indexarea fișierelor, care este efectuată ca activitate în fundal de numeroase aplicații Office contemporane
- Defragmentarea discului, care utilizează adesea și o activitate în fundal
- Orice software care verifică existența actualizărilor pe internet
- Instrumente de monitorizare și de gestionare la distanță

Rețineți că, din cauza naturii dinamice a lumii IT, este posibil ca această listă să nu fie completă și pot fi lansate instrumente care nu sunt cunoscute la momentul redactării. Este important ca administratorii de sistem să aibă grijă ca un astfel de instrument să nu fie activ în timpul unei testări PCR.

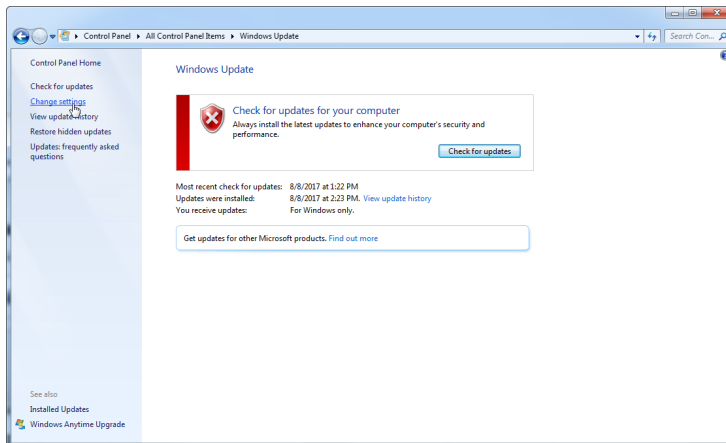
Actualizări ale sistemului de operare

Laptopurile furnizate de QIAGEN sunt configurate astfel încât actualizările automate ale sistemului de operare să fie dezactivate. În cazul în care configurația dvs. este diferită, un administrator de sistem trebuie să dezactiveze orice proces de actualizare automată a sistemului de operare, parcurgând următorii pași:

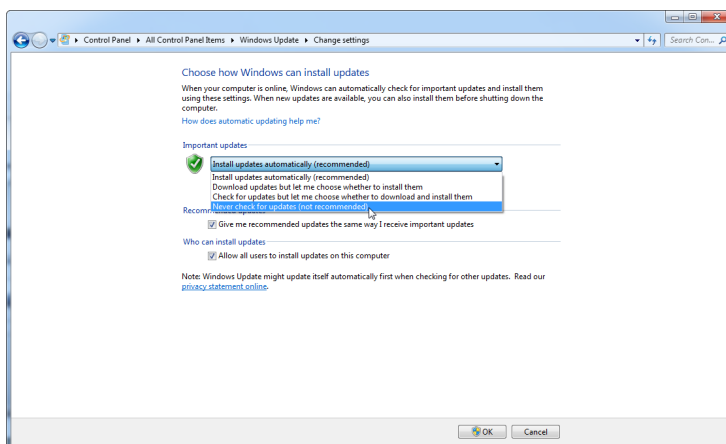
1. Să deschidă **Control Panel** (Panou de control) și să selecteze **Windows Update** (Actualizare Windows).



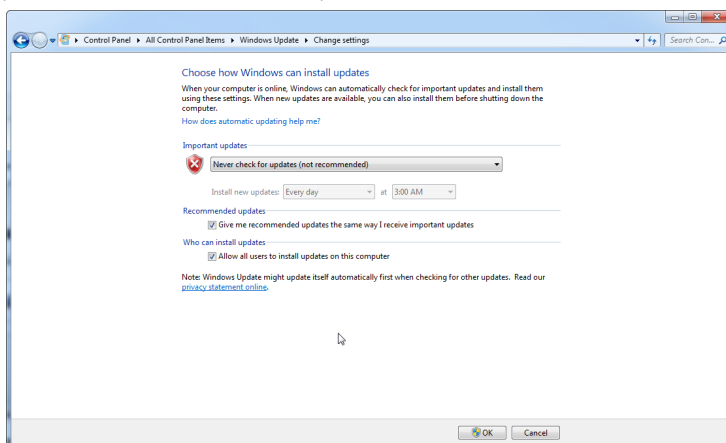
2. Să selecteze **Change settings** (Modificare setări).



3. Să selecteze **Never check for updates** (Nu căuta niciodată actualizări).



4. Să verifice dacă opțiunea **Important updates** (Actualizări importante), **Never check for updates** (Nu căuta niciodată actualizări), este activă.



În cazul în care sunt necesare actualizări din cauza vulnerabilităților de securitate descoperite, QIAGEN oferă mecanisme pentru instalarea unui set definit de corecții de securitate validate pentru Windows, online (dacă este disponibilă conexiunea la internet pe laptopul QIAGEN) sau ca pachet offline, pregătit pe un computer separat cu conexiune la internet.

Vizitați pagina produsului la **QIAGEN.com** pentru mai multe informații.


4.2 Cerințe privind amplasamentul


Instrumentele Rotor-Gene Q MDx trebuie amplasate ferite de lumina directă a soarelui, ferite de sursele de căldură și ferite de sursele de vibrații și de interferențe electrice. Consultați Anexa A pentru condițiile de operare (temperatură și umiditate). Locul de instalare trebuie să fie ferit de curenți excesivi de aer, de umezeală excesivă, de praf excesiv și nu trebuie să fie supus unor fluctuații mari de temperatură.

Consultați Anexa A pentru greutatea și dimensiunile instrumentelor Rotor-Gene Q MDx. Asigurați-vă că bancul de lucru este uscat, curat și are un spațiu suplimentar pentru accesorii. Pentru informații suplimentare despre specificațiile necesare ale bancului de lucru, contactați Serviciile Tehnice QIAGEN.

Rețineți: Este extrem de important ca instrumentul Rotor-Gene Q MDx să fie amplasat pe o suprafață stabilă, plană și fără vibrații. Consultați condițiile de lucru – consultați Anexa A.

Instrumentul Rotor-Gene Q MDx trebuie amplasat la aproximativ 1,5 m de o priză de putere c.a. împământată (legată la pământ) în mod corespunzător.

| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Atmosferă explozivă Instrumentul Rotor-Gene Q MDx nu este conceput pentru utilizare într-o atmosferă explozivă. |
|---|---|

| | |
|---|---|
| AVERTIS- MENT  | Risc de supraîncălzire Pentru a asigura ventilarea adecvată, păstrați un spațiu minimum de 10 cm față de partea din spate a instrumentului Rotor-Gene Q MDx. Fantele și deschiderile care asigură ventilarea instrumentului Rotor-Gene Q MDx nu trebuie acoperite. |
|---|---|

4.3 Conexiune de alimentare la curent alternativ

4.3.1 Cerințe referitoare la alimentare

Aparatul Rotor-Gene Q MDx funcționează la:

- 100-240 V c.a. la 50-60 Hz, 520 VA (vârf)

Asigurați-vă că tensiunea nominală a aparatului Rotor-Gene Q MDx este compatibilă cu tensiunea c.a. disponibilă la locul de instalare. Fluctuațiile tensiunii de alimentare de la rețea nu trebuie să depășească 10% din tensiunile nominale de alimentare.

4.3.2 Cerințe legate de împământare

Pentru protecția personalului de exploatare, QIAGEN recomandă ca instrumentul Rotor-Gene Q MDx să fie împământat (legat la pământ) în mod corect. Instrumentul este echipat cu un cablu de alimentare c.a. cu 3 conductori, care, atunci când este conectat la o priză de putere c.a. corespunzătoare, asigură împământarea (legătura la pământ) a instrumentului. Pentru păstrarea acestei caracteristici de protecție, nu operați instrumentul de la o priză de putere c.a., care nu are o conexiune de împământare (legare la pământ).

4.3.3 Instalarea cablului de alimentare c.a.

Conectați un capăt al cablului de alimentare c.a. la mufa situată în partea din spate a instrumentului Rotor-Gene Q MDx, iar celălalt capăt la priza de putere c.a.

4.4 Configurație pentru securitate Windows

Laptopurile furnizate de QIAGEN pentru utilizare cu instrumentul Rotor-Gene Q MDx pot avea preinstalat Microsoft Windows 7 sau Windows 10 și sunt configurate cu un cont de utilizator Windows standard (fără rol administrativ) și un cont de administrator. În utilizarea de rutină a sistemului, se va folosi contul standard, deoarece software-ul Rotor-Gene Q și Rotor-Gene AssayManager versiunea 1.0 sau 2.1 sunt concepute să ruleze fără drepturi de administrator. Contul de administrator – cel cu fundal desktop roșu – va fi utilizat numai pentru a instala Rotor-Gene Q sau software-ul Rotor-Gene AssayManager versiunea 1.0 sau 2.1 și un Software suplimentar pe computerele conectate la instrumentele Rotor-Gene Q MDx (consultați Secțiunea „Programul antivirus”). Utilizarea contului de administrator este indicată de un fundal desktop roșu. Asigurați-vă că vă conectați întotdeauna ca utilizator standard pentru utilizare de rutină.

Parola implicită a contului de administrator este Q1a#g3n!A6. Schimbați parola de administrator după prima conectare. Asigurați-vă că parola este sigură și că nu o pierdeți. Pentru contul de operator nu există nicio parolă.

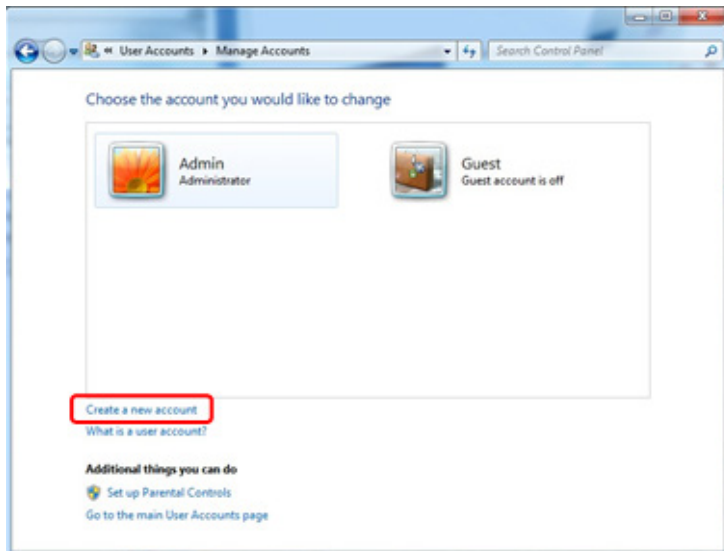
Dacă pierdeți parola administratorului laptopului, vă recomandăm să contactați Microsoft pentru asistență.

În cazul în care configurația dvs. este diferită și nu este inclus niciun cont fără rol administrativ, administratorii de sistem vor configura un cont de utilizator standard suplimentar pentru Windows pentru a preveni accesul la zone critice ale sistemului, cum ar fi directorul Program Files (Fișiere program), Windows (de exemplu, accesul la funcționalitatea de instalare sau deinstalare, inclusiv aplicații, componente ale sistemului de operare, setări de dată/oră, actualizări Windows, firewall, drepturi și roluri de utilizator, activare antivirus) sau setări relevante pentru performanță, cum ar fi economisirea energiei.

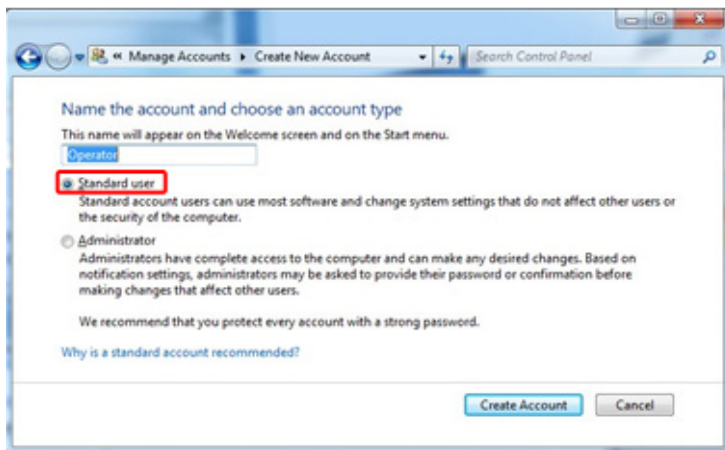
Pentru a crea un cont de utilizator standard în Windows 7, parcurgeți acești pași descriși în Secțiunea „Crearea unui nou cont de utilizator”:

Deschideți Windows Control Panel (Panou de control Windows) prin intermediul meniului **Start** și selectați **User Accounts** (Conturi de utilizator) > **Manage Accounts** (Gestionare conturi).

1. Selectați **Create a new account** (Creare cont nou).



2. Denumiți contul și selectați **Standard User** (Utilizator standard) ca tip de cont.



3. Faceți clic pe **Create Account** (Creare cont).

4.5 Cerințe pentru stația de lucru

Laptopul furnizat opțional cu Rotor Gene Q MDx îndeplinește cerințele software-ului Rotor Gene Q, detaliate în tabelul următor.

Cerințe de sistem pentru stația de lucru

| Descriere | Cerință minimă |
|------------------------------|---|
| Sistem de operare | Microsoft® Windows® 10 Professional Edition (64 biți); Microsoft Windows 7 Professional Edition (32 biți sau 64 biți)* (Service Pack 1) |
| Procesor | Intel® Core™ 2 Duo 1.66 GHz sau mai performant |
| Memorie principală | Minimum 1 GB RAM |
| Spațiu pe hard disk | Minimum 10 GB HDD |
| Placă grafică | Adaptor și ecran cu minimum 1200 x 800 pixeli |
| Porturi | Port serial RS-232 sau port USB |
| Dispozitiv de indicare | Este necesar un touchpad sau mouse sau echivalent |
| Bluetooth | Trebuie dezactivat |
| Vizualizator PDF sau similar | Trebuie instalat; nu face parte din pachetele de instalare software |
| Opțiuni de alimentare | Nu opriți niciodată hard diskurile, nu treceți în starea de hibernare sau de așteptare |

* Microsoft Windows 10 or Windows 7 Professional Edition este necesar pentru a rula software-ul Rotor-Gene Q cu caracteristici de securitate (consultați Secțiunea 6.9). Funcțiile de securitate nu sunt disponibile dacă se utilizează Windows 10 sau Windows 7 Home Edition.

† La utilizarea software-ului Rotor-Gene AssayManager® versiunea 1.0 sau 2.1, următoarele cerințe minime pentru computer sunt diferite: Procesor Intel Core i3-380M, memorie principală de 4 GB RAM, spațiu pe hard disk 250 GB, port USB obligatorii.

4.6 Despachetarea și instalarea instrumentului Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx este livrat cu toate componentele necesare pentru configurarea și funcționarea instrumentului. Cutia conține și o listă cu toate componentele furnizate.

Rețineți: Verificați integralitatea acestei liste pentru a vă asigura că toate componentele sunt prezente.

Rețineți: Înainte de instalare, verificați dacă instrumentul și accesoriile livrate prezintă daune de transport.

Cutia de accesorii se află deasupra ambalajului din spumă. Cutia de accesorii conține:

- Ghid de instalare (engleză; traduceri disponibile pe suporturi amovibile cu manuale)
- Suporturi amovibile (software)
- Suporturi amovibile (manuale)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (demonat pentru transport în condiții de siguranță)
- 36-Well Rotor (acest rotor este de culoare roșu)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Următoarele articole sunt ambalate de fiecare parte a ambalajului din spumă:

- Cablu USB și cablu serial RS-232
- Set cablu de alimentare internațional
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

După ce toate aceste componente au fost scoase din cutie, scoateți ambalajul din spumă de deasupra Rotor-Gene Q MDx. Scoateți cu grijă Rotor-Gene Q MDx din cutie și desfaceți capacul din plastic. Deschideți capacul glisându-l spre partea din spate pentru a accesa camera de reacție.

Următoarele articole sunt deja instalate în interiorul Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (acest rotor este de culoare albastru)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Un laptop poate fi inclus în ambalaj, în funcție de detaliile comenzii dvs.

4.6.1 Upgrade de software

Actualizările software sunt disponibile pe site-ul web QIAGEN, la <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>, care poate fi accesat și din meniul **Help** (Ajutor) din software. Trebuie să vă înregistrați online pentru a descărca software-ul.

4.7 Accesorii

Rotoarele Rotor-Disc și accesoriile pot fi comandate separat pentru utilizare cu Rotor-Gene Q MDx. Pentru mai multe detalii, consultați Secțiunea 16.

4.8 Reambalarea și expedierea instrumentului Rotor-Gene Q MDx

La reambalarea Rotor-Gene Q MDx pentru expediere, trebuie să fie folosite materialele de ambalare originale. Dacă materialele de ambalare originale nu sunt disponibile, contactați Serviciile tehnice QIAGEN. Asigurați-vă că instrumentul a fost pregătit corespunzător (consultați *Întreținerea*) înainte de ambalare și că acesta nu prezintă pericol biologic sau chimic.


4.9 Introducere


4.9.1 PORNIREA instrumentului Rotor-Gene Q MDx și a stației de lucru

Asigurați-vă că Rotor-Gene Q este conectat la notebook prin USB sau RS-232 și că atât notebookul, cât și Rotor-Gene Q sunt conectate și alimentate.

5 Proceduri de operare

Înainte de a continua, vă recomandăm să vă familiarizați cu caracteristicile instrumentului și să consultați în acest scop Secțiunea 3.

| | |
|---|---|
| ATENȚIE  | Deteriorarea instrumentului Utilizați numai celule de măsură și consumabile QIAGEN cu instrumentul Rotor-Gene Q MDx. Deteriorarea provocată de utilizarea altor tipuri de celule de măsură sau consumabile va anula garanția. |
|---|---|

| | |
|---|---|
| ATENȚIE  | Risc de pagube materiale Evitați mutarea bancului de lucru și provocarea vibrațiilor la instrumentul Rotor-Gene Q MDx în timpul funcționării pentru a preveni perturbarea măsurătorilor optice sensibile. |
|---|---|

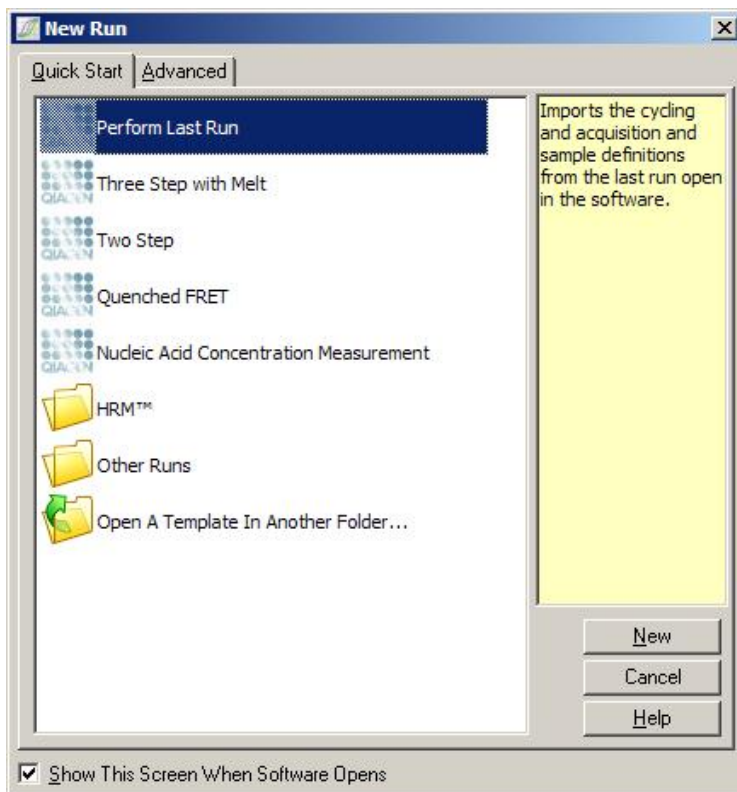
5.1 Utilizarea software-ului Rotor-Gene Q MDx

Noile testări pot fi configurate utilizând expertul Quick Start (Pornire rapidă) sau expertul Advanced (Avansat), care apar la pornirea software-ului. Expertul Quick Start (Pornire rapidă) este conceput pentru a îi permite utilizatorului să înceapă testarea cât mai repede posibil. Expertul Advanced (Avansat) permite mai multe opțiuni, cum ar fi configurația pentru optimizarea amplificării și setările de volum. Pentru confort, experții dispun de o serie de șabloane cu condiții de ciclare și canale de achiziție implicite. Pentru a modifica tipul de expert, selectați fila corespunzătoare din partea de sus a ferestrei **New Run** (Testare nouă).

5.1.1 Expert de pornire rapidă

Expertul Quick Start (Pornire rapidă) îi permite utilizatorului să înceapă testarea cât mai repede posibil. Utilizatorul poate selecta dintr-un set de șabloane utilizate în mod obișnuit și poate introduce minimul de parametri pentru a începe. Expertul Quick Start (Pornire rapidă) presupune că volumul de reacție este de 25 μl. Pentru alte volume de reacție, utilizați expertul Advanced (Avansat) (consultați Secțiunea 5.1.2).

Ca prim pas, selectați șablonul dorit pentru testare prin dublu clic pe șablon din lista din fereastra **New Run** (Testare nouă).



Perform Last Run
(Efectuați ultima testare):

Perform Last Run (Efectuați ultima testare) utilizează definițiile pentru ciclare, achiziție și probă din ultima testare deschisă în software.

Three Step with Melt
(Trei etape cu topire):

Acesta este un profil de ciclare în trei etape și o curbă de topire cu achiziție de date pe canalul verde.

Two Step (Două etape):

Acesta este un profil de ciclare în două etape cu date achiziționate pe canalele verde, galben, portocaliu și roșu.

Quenched FRET
(FRET temperat):

Acesta este un profil de ciclare în trei etape și o curbă de topire. Spre deosebire de Three Step with Melt (Trei etape cu topire), achiziția are loc la sfârșitul etapei de temperare.

Nucleic Acid Concentration Measurement (Măsurarea concentrației de acid nucleic):

Acesta este un șablon implicit pentru măsurarea concentrației de acid nucleic folosind coloranți intercalați.

HRM:

Acest folder conține profiluri de topire de înaltă rezoluție.

Other Runs (Alte testări):

Acest folder conține profiluri suplimentare.

Profilurile de ciclare și de achiziție pentru toate șabloanele pot fi modificate folosind expertul.

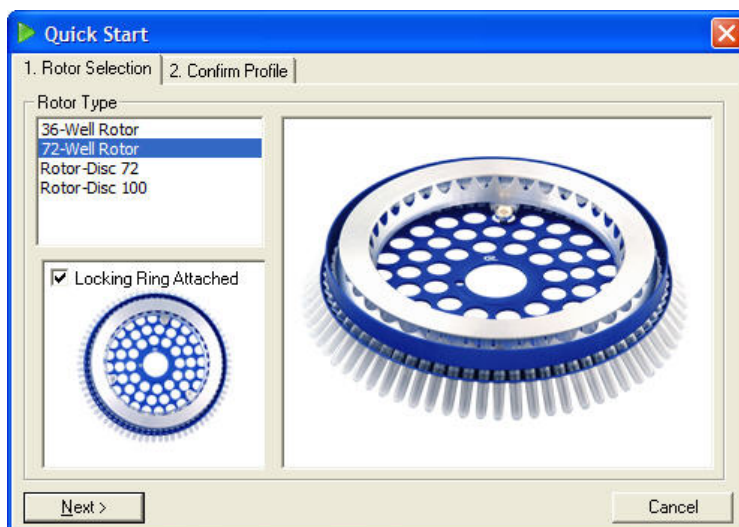
Rețineți: Șabloanele definite de utilizator pot fi adăugate la lista de șabloane din expertul Quick Start (Pornire rapidă) prin copierea sau salvarea fișierelor *.ret în **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. După copierea unui fișier pe această cale, șablonul va apărea în listă sub formă de pictogramă. Dacă doriți pictograme personalizate pentru șabloanele dvs., creați o imagine *.ico cu același nume de fișier ca și șablonul.

Subfolderele pot fi create în șabloane legate de grup. Acest lucru permite organizarea de șabloane, care ar putea fi convenabilă dacă, de exemplu, mai mulți utilizatori folosesc același instrument.

Selectarea rotorului

În fereastra următoare, selectați tipul de rotor din listă.

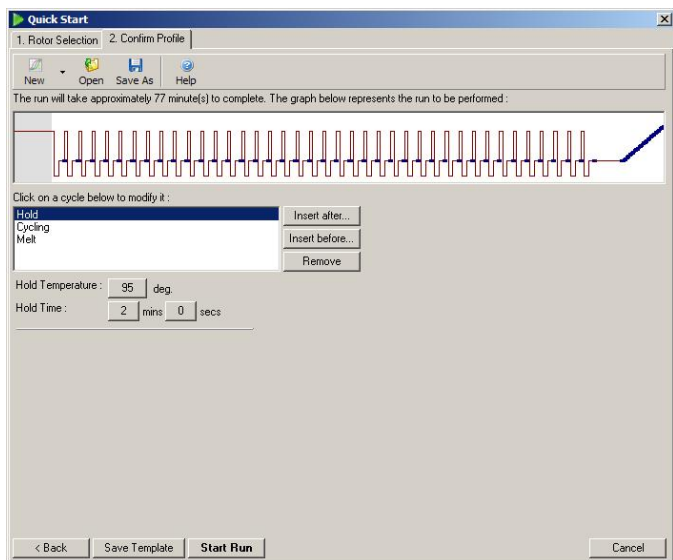
Bifați caseta de selectare **Locking Ring Attached** (Inel de blocare fixat), apoi faceți clic pe **Next** (Următorul).



Confirmarea profilului

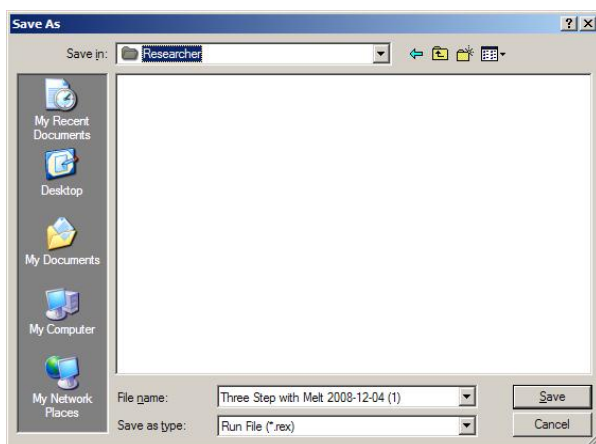
Sunt importate condițiile de ciclare și canalele de achiziție ale șablonului selectat. Acestea pot fi modificate utilizând fereastra **Edit Profile** (Editare profil) (consultați Secțiunea „Editarea profilului”).

Pentru a iniția o testare, faceți clic pe butonul **Start Run** (Pornire testare). De asemenea, este posibil să salvați șablonul înainte de a începe testarea, prin clic pe **Save Template** (Salvare șablon).



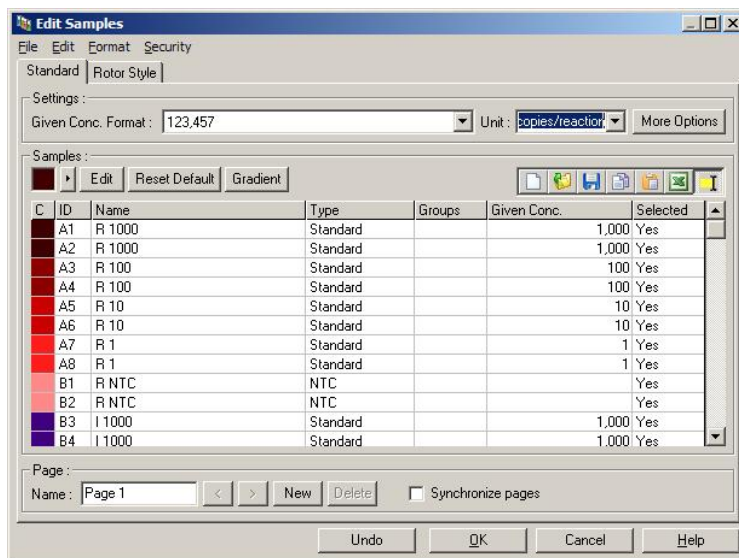
Salvarea testării

După ce faceți clic pe butonul **Start Run** (Pornire testare), apare fereastra **Save As** (Salvare ca). Testarea poate fi salvată în locația dorită de utilizator. Testarea primește un nume de fișier care constă din șablonul utilizat și data testării. Un număr de serie (1, 2 etc.) este, de asemenea, inclus în numele fișierului pentru a permite denumirea automată a numeroaselor testări care utilizează același șablon în aceeași zi.



Configurarea probei

După pornirea testării, fereastra **Edit Samples** (Editare probe) permite definirea și descrierea probelor.

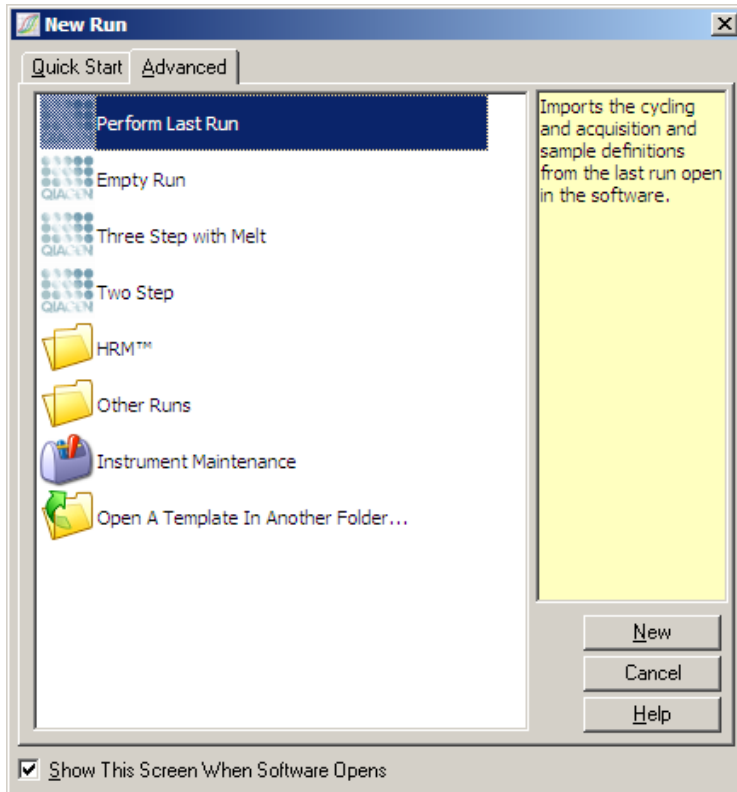


Fereastra **Edit Samples** (Editare probe) apare după ce a început testarea, astfel încât utilizatorul să poată folosi acest timp pentru a introduce numele probelor. Dacă numele probelor sunt introduse foarte rapid în timpul testării (de exemplu, utilizând un scanner de coduri de bare), această acțiune poate duce la modificarea ordinii literelor în numele eșantioanelor. Prin urmare, se recomandă să evitați utilizarea unui scanner de coduri de bare și, dacă este cazul, să introduceți numele probelor după finalizarea testării. Pentru informații despre configurarea definițiilor probelor în fereastra **Edit Samples** (Editare probe), consultați Secțiunea 6.8.4.

5.1.2 Expertul avansat

Expertul Advanced (Avansat) activează opțiuni care nu sunt disponibile în expertul Quick Start (Pornire rapidă), cum ar fi configurația pentru optimizarea amplificării.

Pentru a utiliza expertul Advanced (Avansat), selectați un șablon prin dublu clic pe numele șablonului din lista de sub fila **Advanced** (Avansat) din fereastra **New Run** (Testare nouă).



Opțiunile de șablon furnizate în această fereastră sunt similare cu cele furnizate atunci când utilizați expertul Quick Start (Pornire rapidă) (Secțiunea 5.1.1).

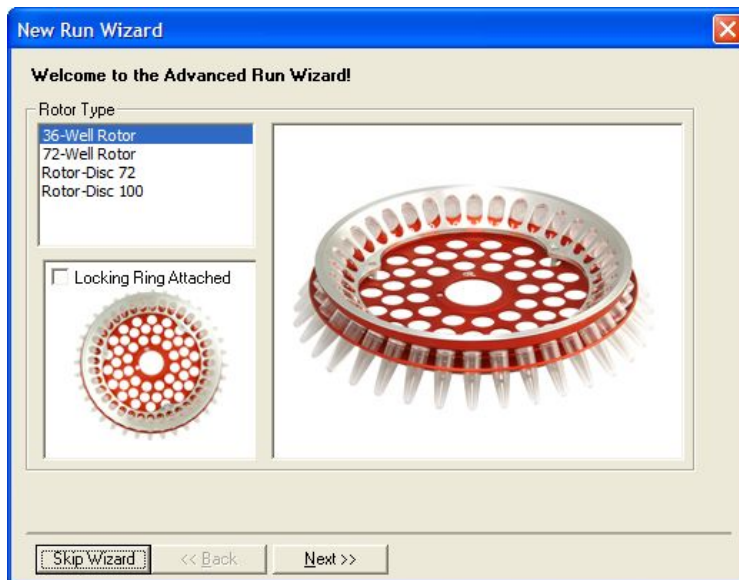
| | |
|--|--|
| Perform Last Run (Efectuați ultima testare): | Perform Last Run (Efectuați ultima testare) importă definițiile pentru ciclare, achiziție și probă din ultima testare deschisă în software. |
| Empty Run (Testare în gol): | Aceasta este o testare în gol, care îi permite utilizatorului să definească toți parametrii profilului. |
| Three Step with Melt (Trei etape cu topire): | Acesta este un profil de ciclare în două etape cu achiziție de date numai pe canalul verde, pentru a accelera testarea. |
| HRM: | Acest folder conține 2 profiluri de topire de înaltă rezoluție. |
| Other Runs (Alte testări): | Acest folder conține profiluri suplimentare. |
| Instrument Maintenance (Întreținere instrument): | Acesta conține șablonul utilizat în timpul verificării optice a temperaturii (Optical Temperature Verification, OTV). Pentru mai multe informații, consultați Secțiunea 9. Acest șablon este blocat pentru a vă asigura că profilul va funcționa întotdeauna corect. |

Rețineți: Șabloanele definite de utilizator pot fi adăugate la lista de șabloane prin copierea sau salvarea fișierelor *.ret în **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates**. După copierea unui fișier pe această cale, șablonul va apărea în listă sub formă de pictogramă.

Expertul pentru testare nouă – fereastra 1

În fereastra următoare, selectați tipul de rotor din listă.

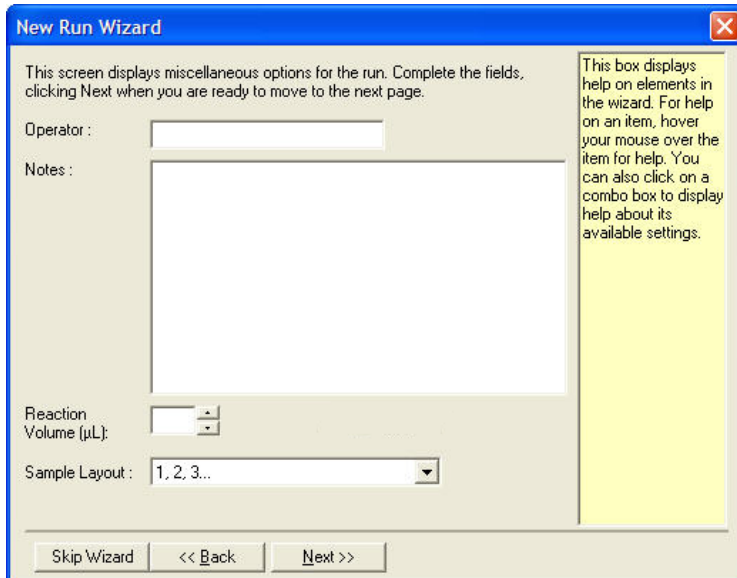
Bifați caseta de selectare **Locking Ring Attached** (Inel de blocare fixat) și faceți clic pe **Next** (Următorul) pentru a continua.



Expertul pentru testare nouă – fereastra 2

În fereastra următoare pot fi introduse numele de utilizator și note despre testare. Trebuie introdus și volumul de reacție.

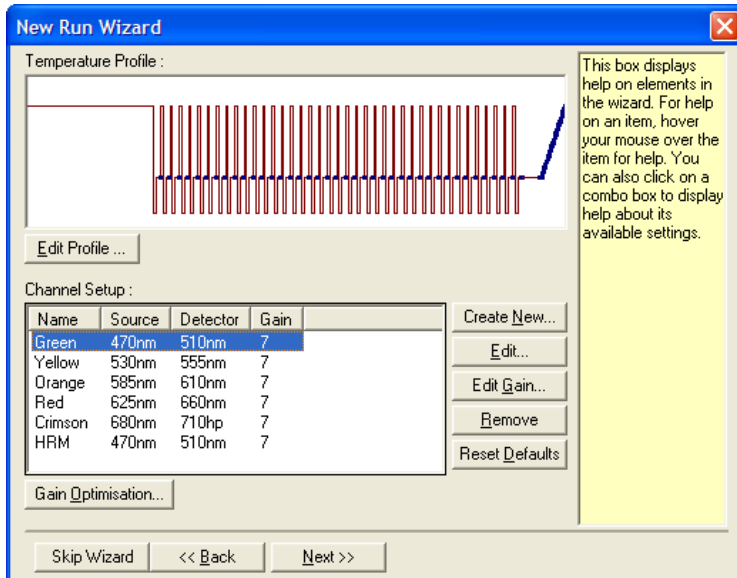
Dacă în fereastra 1 a fost selectat 72-Well Rotor, în meniul vertical sunt disponibile trei opțiuni **Sample Layout** (Dispunere probe). „1, 2, 3...” este opțiunea implicită. Cei mai mulți utilizatori selectează această opțiune. „1A, 1B, 1C...” trebuie selectată atunci când probele au fost încărcate în tuburi 0.1 ml Strip Tubes adiacente, utilizând o pipetă multicanal cu 8 canale. Dacă este cazul, poate fi selectată configurația „A1, A2, A3...”.



Expertul pentru testare nouă – fereastra 3

În această fereastră pot fi modificate opțiunile **Temperature Profile** (Profil de temperatură) și **Channel Setup** (Configurare canal). Dacă ați făcut clic pe butonul **Edit Profile...** (Editare profil...), apare fereastra **Edit Profile** (Editare profil), care permite modificarea condițiilor de ciclare și selectarea canalelor de achiziție (Secțiunea Editarea profilului).

După configurarea profilului, faceți clic pe butonul **Gain Optimisation...** (Optimizare amplificare...) pentru ca fereastra **Gain Optimisation** (Optimizare amplificare) să apară (consultați pagina 63).



Ediarea profilului

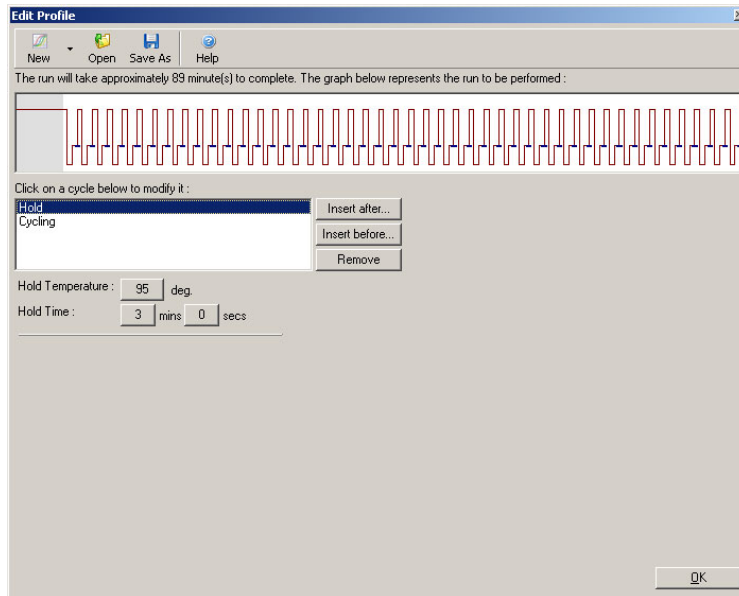
Fereastra **Edit Profile** (Editare profil) permite specificarea condițiilor de ciclare și a canalelor de achiziție. Profilul inițial afișat se bazează pe șablonul selectat la configurarea testării (consultați pagina 46). Profilul este afișat grafic. Lista segmentelor profilului apare sub afișajul grafic. Această listă poate include Hold (Reținere) (pagina 54), Cycling (Ciclare) (pagina 56), Melt (Topire) (pagina 56) sau HRM, dacă instrumentul are un canal HRM (pagina 59).

Fiecare etapă a profilului poate fi editată dacă faceți clic pe zona corespunzătoare a afișajului grafic sau pe numele din listă, apoi modificând setările care apar.

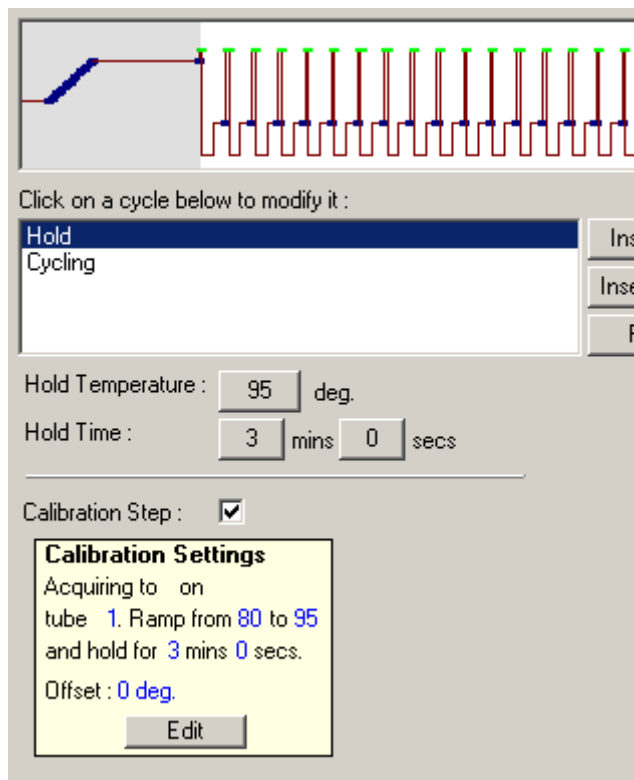
| | |
|---|--|
| Insert after...: (Introducere după...) | Aceasta permite adăugarea unui ciclu nou după ciclul selectat. |
| Insert before...: (Introducere înainte de...) | Aceasta permite adăugarea unui ciclu nou înainte de ciclul selectat. |
| Remove: (Eliminare:) | Aceasta elimină ciclul selectat din profil. |

Reținere

O comandă Hold (Reținere) îi indică aparatului Rotor-Gene Q MDx să rămână la temperatura specificată pentru o perioadă de timp setată. Pentru a modifica temperatura, faceți clic pe butonul **Hold Temperature** (Reținere temperatură) și tastați sau utilizați bara de glisare pentru a selecta temperatura dorită. Pentru a modifica durata de reținere, faceți clic pe butoanele **Hold Time** (Timp de reținere), **mins** (minute) și **secs** (secunde).



Dacă se efectuează ciclarea cu denaturare optică, se poate folosi comanda Hold (Reținere) ca etapă de calibrare. În acest caz, se efectuează o topire de calibrare înainte de reținere. În mod implicit, aceasta este configurată pentru prima reținere din testare, dar poate fi modificată, dacă este necesar.



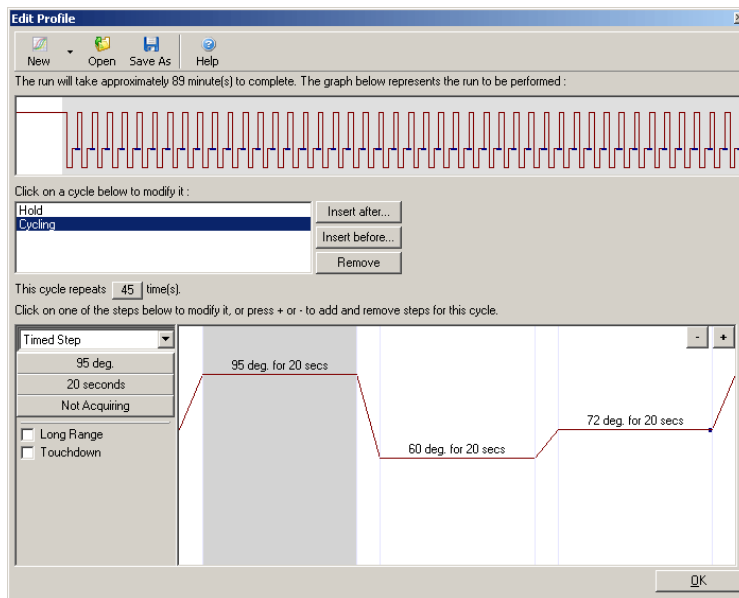
Pentru mai multe informații despre ciclarea cu denaturare optică, consultați pagina 59.

Ciclare

Comanda Cycling (Ciclare) repetă temperatura și intervalele de timp definite de utilizator de un număr specificat de ori. Numărul de repetări este setat utilizând butonul **This cycle repeats X time(s)** (Acest ciclu se repetă de X ori).

Un singur ciclu este afișat grafic (așa cum se arată în captura de ecran de mai jos). Fiecare etapă a ciclului poate fi modificată. Temperatura poate fi modificată trăgând în sus sau în jos linia temperaturii din grafic. Durata etapei poate fi modificată trăgând limita de temperatură la stânga sau la dreapta în grafic. Alternativ, faceți clic pe etapă și utilizați butoanele de temperatură și timp din stânga graficului.

Etapete pot fi adăugate sau eliminate din ciclu folosind butoanele „-” și „+” din dreapta sus a graficului.

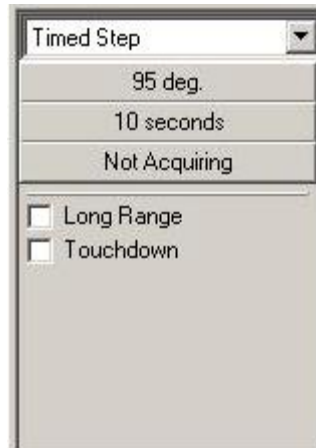


Long Range (Interval larg): Bifarea acestei casete crește timpul de reținere al etapei selectate cu câte 1 s cu fiecare ciclu nou.

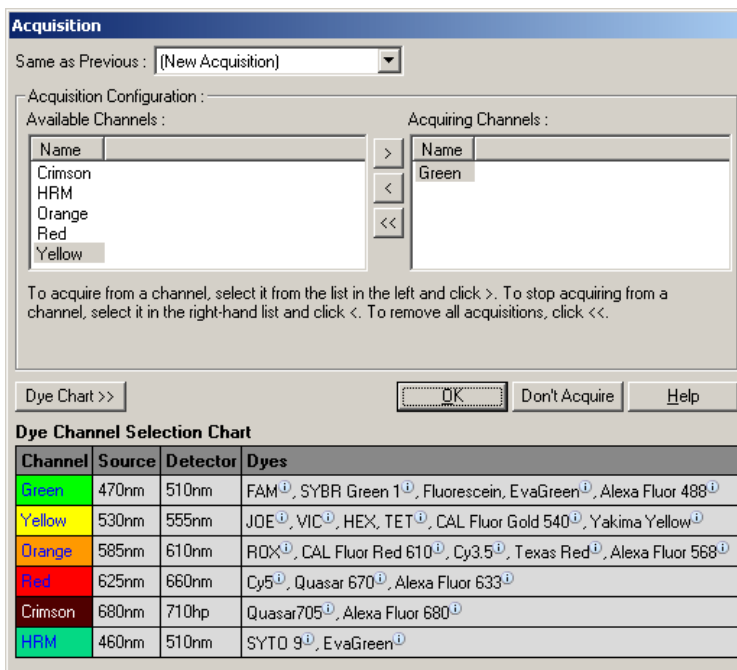
Touchdown: Bifarea acestei casete scade temperatura cu un număr specificat de grade pentru un număr specificat de cicluri inițiale. Aceasta apare apoi pe afișaj.

Achiziție

Datele pot fi achiziționate pe orice canal în orice etapă de ciclare. Pentru a seta un canal să achiziționeze date, faceți clic pe butonul **Not Acquiring** (Fără achiziție) (dacă un canal a fost deja setat să achiziționeze în această etapă, atunci aici sunt enumerate canalele cu achiziție).



După ce faceți clic pe butonul **Not Acquiring** (Fără achiziție), apare fereastra **Acquisition** (Achiziție).



Pentru a seta un canal să achiziționeze, selectați canalul și mutați-l din lista „Available Channels” (Canale disponibile) în lista „Acquiring Channels” (Canale cu achiziție), folosind butonul **>**. Pentru a elimina un canal selectat din lista „Acquiring Channels” (Canale cu achiziție), folosiți butonul **<**. Butonul **<<** elimină toate canalele din lista „Acquiring Channels” (Canale cu achiziție). Dacă faceți clic pe butonul **Don't Acquire** (Fără achiziție) sunt eliminate și toate achizițiile din etapă.

Dacă în profil este inclusă mai mult de o secvență de ciclare, datele achiziționate pot fi atașate la datele achiziționate din ciclarea anterioară. Utilizați meniul vertical **Same as Previous** (La fel ca cel anterior) pentru a selecta etapa de ciclare la care trebuie atașate datele.

Diagrama de selectare a canalului de colorant ajută utilizatorul să stabilească ce canal este potrivit pentru colorantul pe care intenționează să îl folosească. Coloranții indicați în tabel sunt cei care sunt utilizați în mod obișnuit și nu indică limitele instrumentului.

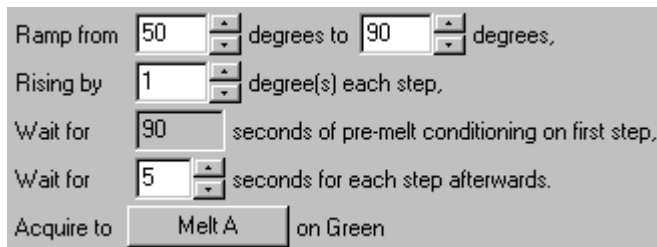
Opțiunile de achiziție descrise mai sus se aplică și în cazul etapelor „Melt” (Topire), cu excepția faptului că nu este posibil să atașați date de achiziție utilizând meniul **Same as Previous** (La fel ca cel anterior).

Topire și hibridizare

O topire este o rampă între 2 temperaturi, de la o temperatură mai joasă la una mai ridicată. Intervalul de temperatură permis este de 35-99 °C.

Pentru a configura o topire, specificați temperatura inițială, temperatura finală, treptele de temperatură, durata de timp pentru reținere la temperatura primei achiziții înainte de inițierea rampei, perioada în care trebuie reținută fiecare treaptă și canalele de achiziție.

Se va genera o rampă între cele 2 temperaturi. Dacă temperatura inițială este mai mare decât temperatura finală, numele etapei se va modifica în **Hybridisation** (Hibridizare). Opțiunea **Acquiring To** (Se achiziționează în), setată la Melt A (Topire A) în captura de ecran de mai jos, poate fi modificată dacă faceți clic pe buton. Va apărea fereastra **Acquisition** (Achiziție) și canalele pot fi selectate.



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

La rularea unei topiri standard, temperatura este crescută în trepte de câte 1 °C, cu un timp de așteptare de 5 secunde înainte de fiecare achiziție. Rotor-Gene Q MDx poate fi configurat pentru a efectua topiri în trepte de câte 0,02 °C. Timpul minim de reținere dintre treptele de temperatură variază în funcție de numărul de grade dintre etape.

Topire la înaltă rezoluție

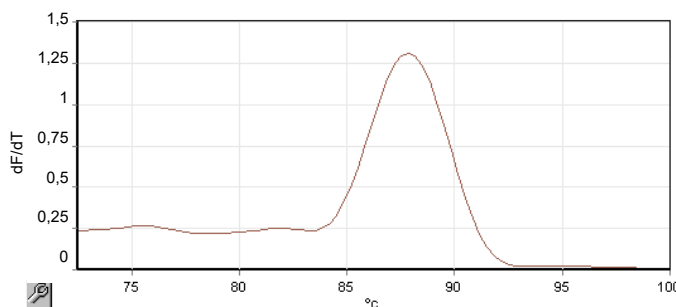
Analiza topirii de înaltă rezoluție (High Resolution Melt, HRM) caracterizează probele de ADN dublu catenare pe baza comportamentului lor de disociere (topire). Aceasta este similară cu analiza clasică a curbei de topire, dar oferă mult mai multe informații pentru o gamă mai largă de aplicații. Probele pot fi diferențiate în funcție de secvența, lungimea, conținutul de guanină-citozină (guanine-cytosine, GC) sau complementaritatea catenelor, până la modificări ale unei singure perechi de baze.

Analiza HRM poate fi efectuată numai pe instrumente care au hardware și software HRM instalat. Datele sunt achiziționate folosind surse și detectoare HRM specializate. Analiza HRM include, de asemenea, opțiunea de a efectua optimizarea amplificării chiar înainte de începerea topirii. După efectuarea HRM, datele pot fi analizate cu software-ul de analiză HRM (Secțiunea 10).

Ciclare cu denaturare optică

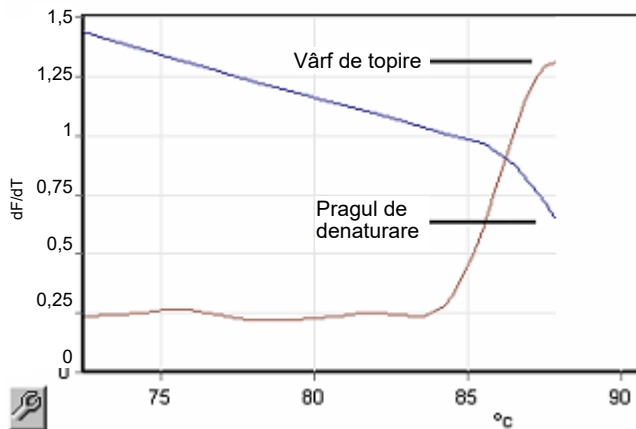
Optical Denature Cycling (Ciclare cu denaturare optică) este o tehnică interesantă, disponibilă pe Rotor-Gene Q MDx, care efectuează o analiză a topirii în timp real pentru a determina vârful de topire al unei probe de referință. Aceasta indică denaturarea produsului PCR cu o precizie mai mare decât setarea unei anumite temperaturi de denaturare pentru un timp de reținere. Pentru a efectua această tehnică, așezați pur și simplu un tub de referință de produs PCR în poziția 1 pentru tub a rotorului. Tubul de referință trebuie să conțină, de asemenea, o substanță chimică de detecție care să permită detectarea disocierii catenelor.

La încălzirea la temperatura de denaturare inițială, are loc o topire pe canalul verde de la 80 la 95 °C, în mod implicit. Parametrii acestei topiri inițiale pot fi ajustați de utilizator. Din aceste date este generată și analizată automat o curbă de topire.



Vârful de topire este raportat înapoi la datele brute pentru a obține un prag de denaturare. Apoi, la fiecare etapă de ciclare cu denaturare optică, instrumentul este încălzit cât se poate de repede, iar datele sunt achiziționate în mod continuu. Odată ce tubul de referință a atins nivelul de fluorescență al pragului de denaturare, instrumentul este imediat răcit și trece la următoarea etapă programată din ciclu. În timpul ciclării nu se calculează niciun vârf. În schimb, nivelul de fluorescență este raportat la vârful de topire și acesta desemnează pragul de denaturare.

În graficul următor, citirile brute pentru fluorescență și prima derivată au fost suprapuse. Aceasta arată corespondența dintre pragul de denaturare și vârful de topire obținut în timpul calibrării.



Pentru a efectua ciclarea cu denaturare optică, veți avea nevoie de:

- Un produs PCR preamplificat, care trebuie amplasat în poziția 1 a rotorului. Această probă ar trebui să conțină același produs PCR ca probele de interes și o substanță chimică de detecție pentru monitorizarea disocierii produsului PCR.
- Un profil de denaturare optică. Se poate crea un profil nou sau poate fi editat un profil existent (consultați detaliile de mai jos).

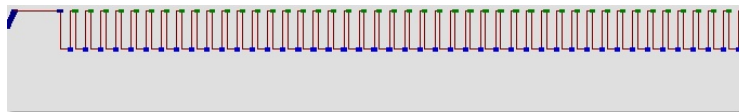
Un ciclu de denaturare optică pare aproape identic cu alte cicluri. Principalele diferențe sunt etapa de topire introdusă automat la începutul profilului și profilul ascuțit al etapei de denaturare în timpul ciclării. Ciclul de denaturare optică nu necesită timpi de reținere predefiniți, deoarece disocierea produsului este monitorizată la fiecare ciclu.

Pentru a efectua această tehnică, sunt necesare următoarele informații despre testare:


- Temperatura de denaturare inițială. Aceasta este aceeași temperatură ca și în etapa de denaturare într-un profil de ciclare standard.
- Poziția tubului pentru proba PCR care va genera o curbă de topire pe canalul verde.
- Trebuie definit un profil de ciclare cu denaturare optică.

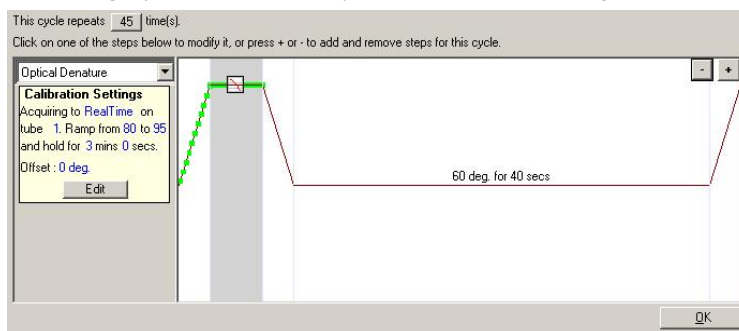
Creați un nou ciclu de denaturare optică după cum urmează.

1. Deschideți fereastra **Edit Profile** (Editare profil). Apoi faceți clic pe **New** (Nou). În fereastra care apare, faceți clic pe butonul **Insert after** (Introducere după) și selectați **New Cycling** (Ciclare nouă) din meniu. Selectați una dintre treptele de temperatură făcând clic pe grafic. În meniul vertical, comutați de la **Timed Step** (Etapă temporizată) la **Optical Denature** (Denaturare optică). Va apărea un profil implicit, care conține o etapă Denature (Denaturare) și o etapă Optical Denature Cycle (Ciclu de cu denaturare optică).

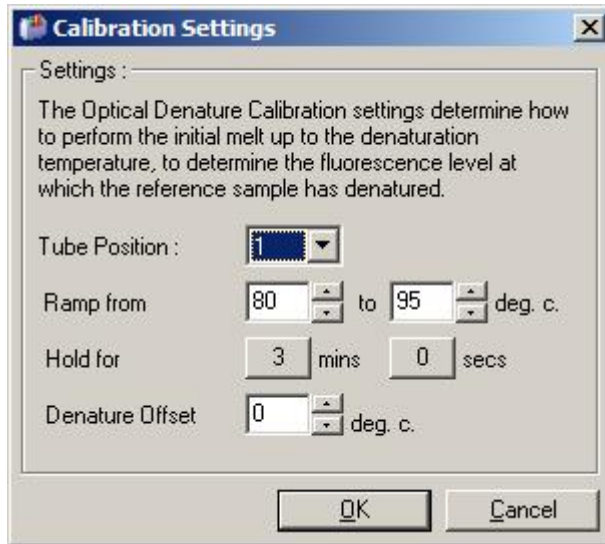


Regiunea în rampă de la începutul testării reprezintă procesul de calibrare. Punctele verzi reprezintă achizițiile efectuate în fiecare ciclu în timpul încălzirii. Punctele albastre reprezintă achiziția la sfârșitul etapei de temperare la 60 °C. Rețineți că, deși profilul arată fiecare etapă cu aceeași temperatură de denaturare, situația de fapt s-ar putea să fie diferită. Dacă proba are nevoie de puțin mai mult timp pentru a se topi spre sfârșitul testării, procesul de denaturare optică așteaptă topirea conform datelor despre fluorescență și nu în funcție de timp. Din acest motiv, trasarea temperaturii poate varia pentru fiecare ciclu.

2. Faceți clic pe prima jumătate a graficului cu simbolul pentru denaturare optică . Informațiile **Calibration Settings** (Setări de calibrare) apar în partea din stânga a ecranului.



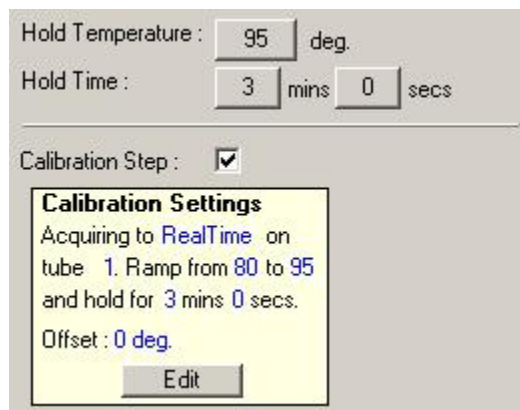
3. De obicei, informațiile „Calibration Settings” (Setări de calibrare) sunt corecte. Pentru a le modifica, dacă este necesar, faceți clic pe **Edit** (Editare). Apare fereastra **Calibration Settings** (Setări de calibrare).



4. Verificați următoarele aspecte:

- Tubul indicat în **Tube Position** (Poziția tubului) conține un produs PCR care va arăta un vârf de topire pe canalul verde.
- Temperatura finală a rampei nu va arde proba, dar va fi suficient de mare pentru a permite topirea acesteia.
- Timpul de reținere este suficient pentru a denatura proba.
- Decalajul denaturării este setat în mod corespunzător. Valoarea implicită de 0 °C este adecvată pentru cele mai multe topiri. Topirile cu tranziții foarte ascuțite pot necesita un decalaj al denaturării de la -0,5 la -2 °C, așa cum este stabilit de utilizator, pentru a se asigura că este detectată tranziția la topire.

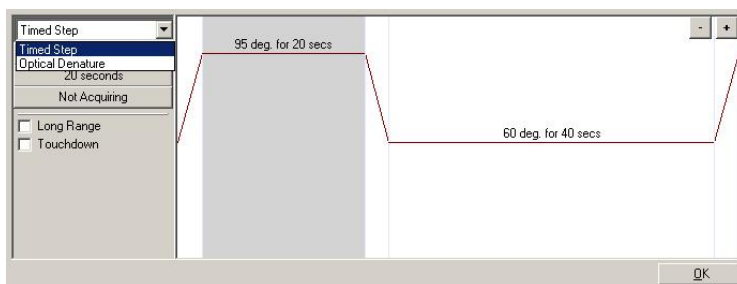
De asemenea, puteți defini o etapă de denaturare prin introducerea unei etape de reținere noi. Faceți clic pe **Insert before** (Introducere înainte de) și selectați **New Hold at Temperature** (Nouă menținere la temperatură) din meniu. Vor apărea setările de calibrare.




Setările de calibrare sunt sincronizate cu setările de denaturare, astfel încât o modificare a timpului de reținere în etapa de denaturare va actualiza automat timpul de reținere a calibrării. Acest lucru se datorează faptului că procesul de calibrare și denaturarea sunt echivalente în ciclarea cu denaturare optică.

Modificarea unei etape existente pentru a utiliza ciclarea cu denaturare optică

Pentru a modifica o etapă de denaturare existentă într-o secvență de ciclare, selectați ciclul din lista din fereastra **Edit Profile** (Editare profil). Apoi, selectați etapa de denaturare făcând clic pe aceasta pe afișaj.



Faceți clic pe meniul vertical și selectați **Optical Denature** (Denaturare optică). Temperatura și timpul de reținere sunt eliminate și se afișează pictograma **Optical Denature** (Denaturare optică) .

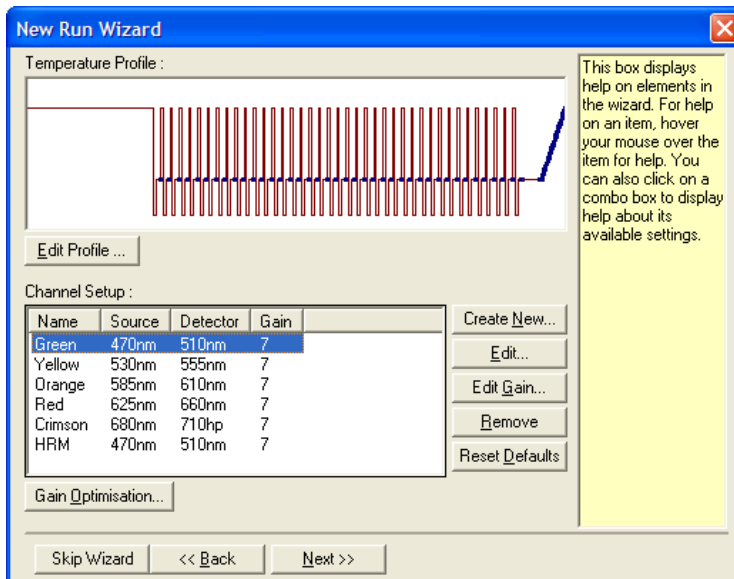
Optimizarea amplificării

La configurarea unei testări noi, se recomandă utilizarea funcției **Gain Optimisation** (Optimizare amplificare). Aceasta vă permite să optimizați amplificarea la o setare care va oferi intervalul dorit de fluorescență de pornire la o temperatură setată (de obicei, temperatura la care are loc achiziția de date) în fiecare dintre canalele achiziționate. Scopul optimizării amplificării este acela de a vă asigura că toate datele sunt colectate în intervalul dinamic al detectorului. Dacă amplificarea este prea slabă, semnalul se va pierde în zgomotul de fundal. Dacă este prea puternică, tot semnalul de pe scală se va pierde (saturat).

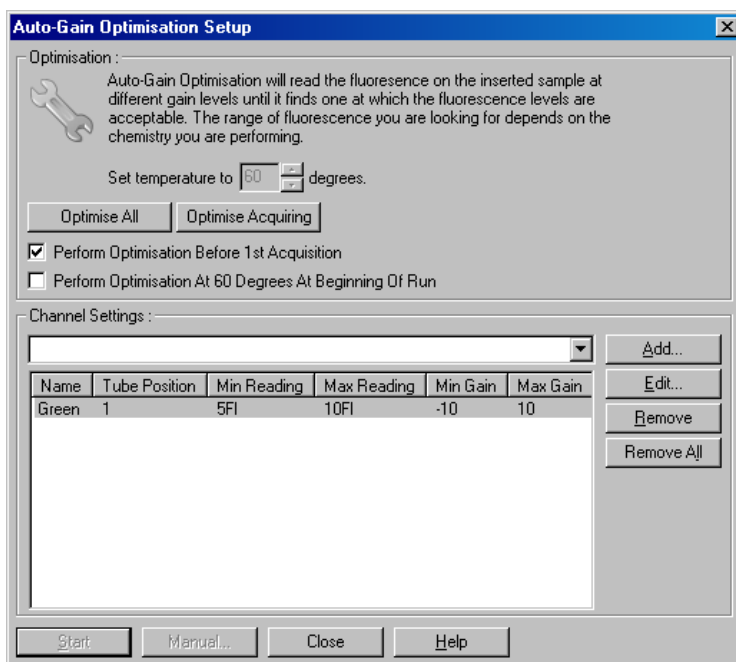
Intervalul de amplificare pentru fiecare canal este de la -10 la 10, unde -10 este cel mai puțin sensibil și 10 este cel mai sensibil.

Când executați reacții pentru prima dată, vă recomandăm să pregătiți o probă de testare care să conțină toate componentele reacției. Amplasați proba de testare în Rotor-Gene Q MDx și utilizați optimizarea amplificării pentru a determina cea mai bună setare a amplificării. Dacă amplificarea selectată după optimizarea amplificării are ca rezultat un semnal slab, atunci valoarea **Target Sample Range** (Interval de probe țintă) trebuie mărită. Dacă rezultă un semnal saturat, atunci valoarea **Target Sample Range** (Interval de probe țintă) trebuie micșorată.

Pentru a efectua optimizarea amplificării, faceți clic pe butonul **Gain Optimisation...** (Optimizare amplificare...) în New Run Wizard (Expertul pentru testare nouă) – fereastra 3 (consultați Expertul pentru testare nouă – fereastra 3.).



Apare fereastra **Auto-Gain Optimisation Setup** (Configurarea optimizării automate a amplificării). Această fereastră permite optimizarea prin ajustarea automată a setărilor de amplificare până când citirile pentru toate canalele selectate se încadrează într-un anumit prag sau sub acesta.



Set temperature to
(Setare temperatură la):

Înainte de citire, Rotor-Gene Q MDx va fi încălzit sau răcit pentru ca temperatura acestuia să coincidă cu temperatura specificată. În mod implicit, aceasta este setată ca temperatură de achiziție.

Optimise All/Optimise Acquiring (Optimizare totală/Optimizare achiziție):

Optimize All (Optimizare totală) va încerca să optimizeze toate canalele cunoscute de software. **Optimize Acquiring** (Optimizare achiziție) va optimiza numai canalele care sunt utilizate în profilul termic definit în testare (ciclare și topire).

Perform Optimisation Before First Acquisition (Efectuarea optimizării înainte de prima achiziție):

Bifați această casetă pentru a efectua optimizarea amplificării la primul ciclu în care are loc achiziția de date. Această acțiune este recomandată pentru optimizarea automată a amplificării.

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (Efectuarea optimizării la [x] grade la începutul testării):

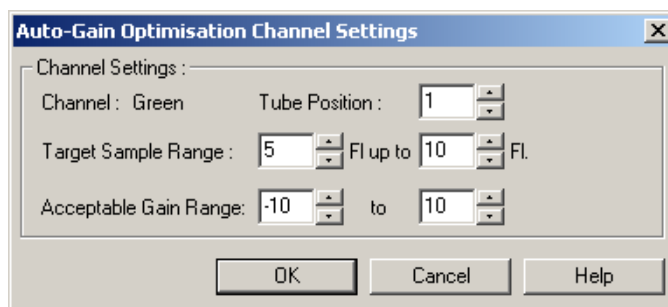
Bifați această casetă pentru a efectua optimizarea amplificării chiar înainte de pornirea testării. Rotor-Gene Q MDx este încălzit la temperatura specificată, se efectuează optimizarea amplificării, iar apoi ciclul începe de la prima etapă, de obicei, o etapă de denaturare. Această opțiune poate fi selectată dacă o optimizare a amplificării în timpul testării ar avea ca rezultat prea mult timp petrecut la etapa inițială. De obicei, se recomandă **Perform Optimisation Before 1st Acquisition** (Efectuarea optimizării înainte de prima achiziție), deoarece optimizarea amplificării este efectuată cât se poate de aproape de condițiile de testare.

Channel Settings
(Setări canal):

Acest meniu vertical permite adăugarea canalelor. Selectați canalul dorit și faceți clic pe **Add** (Adăugare).

Edit (Editare):

Această opțiune deschide o fereastră în care poate fi setat **Target Sample Range** (Interval de probe țintă). Elementul **Target Sample Range** (Interval de probe țintă) este intervalul de fluorescență inițială care ar trebui setat pentru proba din tubul specificat. Optimizarea automată a amplificării citește fiecare canal utilizând setările de amplificare din intervalul specificat de elementul **Acceptable Gain Range** (Interval de amplificare acceptabil). Acesta selectează prima setare de amplificare care are ca rezultat o citire de fluorescență în **Target Sample Range** (Interval de probe țintă). În exemplul prezentat, optimizarea automată a amplificării caută o setare de amplificare între -10 și 10, care generează o citire între 5 și 10 FI în tubul 1. În general, pentru coloranții intercalați este adecvat un **Target Sample Range** (Interval de probe țintă) de 1-3 FI, în timp ce un interval de 5-10 FI este mai potrivit pentru substanțele chimice ale sondelor.



Remove/Remove All
(Eliminare/Eliminare totală):

Remove (Eliminare) elimină canalul evidențiat. **Remove All** (Eliminare totală) elimină toate canalele.

Start (Pornire):

Start (Pornire) inițiază optimizarea amplificării. Se selectează o amplificare care are ca rezultat niveluri ale semnalului de fluorescență în intervalul specificat. Dacă fluorescența nu se încadrează în intervalul specificat, amplificarea este setată astfel încât să ofere cea mai apropiată potrivire posibilă.

Manual:

Acest element deschide fereastra **Manual Gain Adjustment** (Ajustare manuală a amplificării).

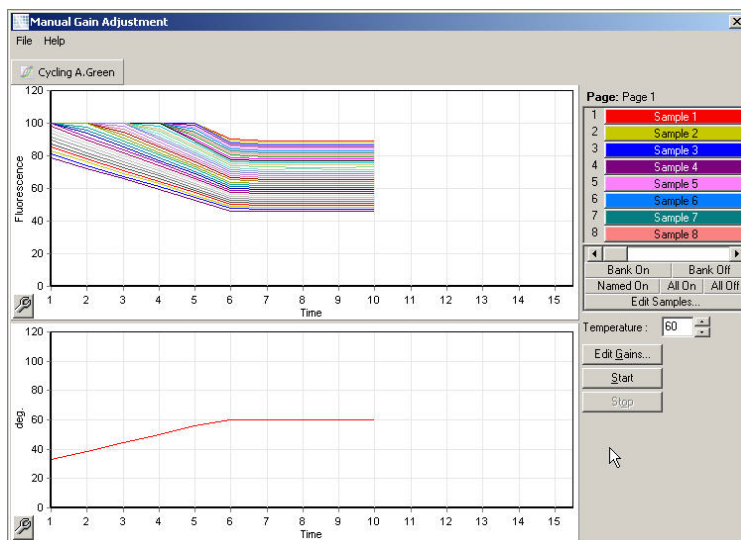
Changing Gain During a Run
(Modificarea amplificării în timpul unei testări):

Dacă amplificarea de la începutul testării a fost prea puternică sau prea slabă, aceasta poate fi modificată în decursul primelor zece cicluri. Acolo unde amplificarea a fost modificată apare o linie verticală. Ciclurile anterioare modificării sunt excluse din analiză.

Rețineți: Optimizarea amplificării poate selecta o setare care nu se încadrează în intervalul specificat. Acest aspect poate fi cauzat de modificările apărute în fluorescență după prima etapă de reținere. Totuși, rezultatul optimizării amplificării este o indicație optimă a nivelului de fluorescență la care va începe testarea.

Ajustarea manuală a amplificării

Pentru a efectua acțiunea „Manual Gain Adjustment” (Ajustare manuală a amplificării), faceți clic pe **Manual...** în fereastra **Auto-Gain Optimisation Setup** (Configurarea optimizării automate a amplificării). Apare fereastra **Manual Gain Adjustment** (Ajustare manuală a amplificării). Această fereastră afișează citirile de fluorescență la orice temperatură dată în timp real. Este utilizată atunci când fundalul unei probe este necunoscut și, prin urmare, amplificarea trebuie determinată pentru a se asigura că semnalul probei este suficient pentru detecție.



În mod implicit, toate probele sunt indicate pe afișaj. Probele pot fi eliminate sau adăugate pe afișaj prin utilizarea comutatorului din dreapta. Comutatorul este format din celule colorate, fiecare dintre acestea corespunzând unei probe de pe afișaj. Probele cu o celulă viu colorată sunt afișate, în timp ce probele cu o celulă estompată nu sunt afișate. Probele pot fi activate sau dezactivate făcând clic pe celulă sau trăgând cursorul mouse-ului peste mai multe celule simultan.

Vă recomandăm să efectuați ajustarea manuală a amplificării după cum urmează.

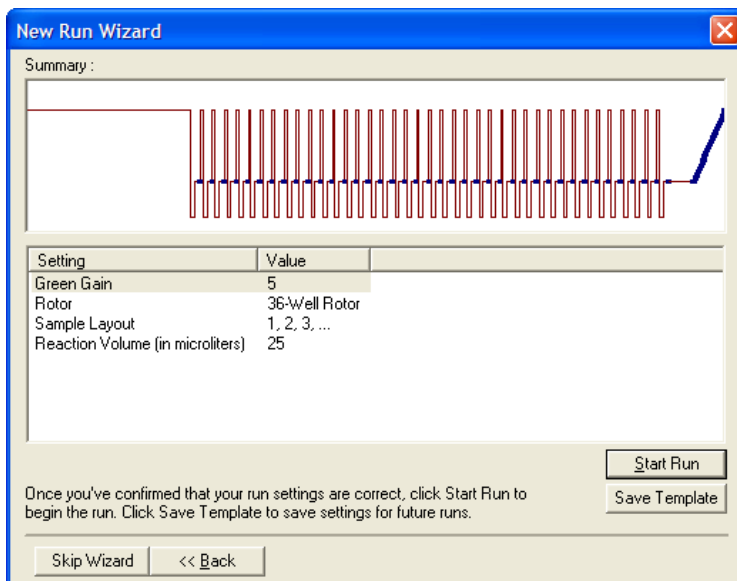
1. Ajustați temperatura din fereastra **Manual Gain Adjustment** (Ajustare manuală a amplificării) la temperatura de achiziție necesară pentru testare.

Rețineți: Temperatura nu va fi ajustată în timpul funcționării aparatului Rotor-Gene Q MDx. Reporniți Rotor-Gene Q MDx pentru a aplica modificările aduse temperaturii.

2. Faceți clic pe **Start** (Pornire). Începe testarea. Temperatura Rotor-Gene Q MDx este ajustată la temperatura specificată în fereastră. Graficele din fereastră încep să afișeze date.
3. Așteptați stabilizarea temperaturii.
4. Rețineți citirea fluorescenței cu punct final (FI).
5. Dacă citirea FI nu este la nivelul necesar, faceți clic pe **Edit Gains...** (Editare amplificări...) și editați după cum este necesar. Este posibil ca acest proces să nu fie instantaneu, deoarece Rotor-Gene Q MDx are nevoie de aproximativ 4 s pentru a obține fiecare punct din fiecare canal și, în acest timp, interfața cu utilizatorul este dezactivată.
6. Repetați procesul până când FI se află la nivelul dorit.
7. Faceți clic pe **Stop** (Oprire). Dacă testarea încă achiziționează date atunci când faceți clic pe butonul **Stop** (Oprire), Rotor-Gene Q MDx întâi finalizează achiziția, apoi se oprește. Acest proces poate dura până la 5 s pentru fiecare canal de achiziție.

Expertul pentru testare nouă – fereastra 4

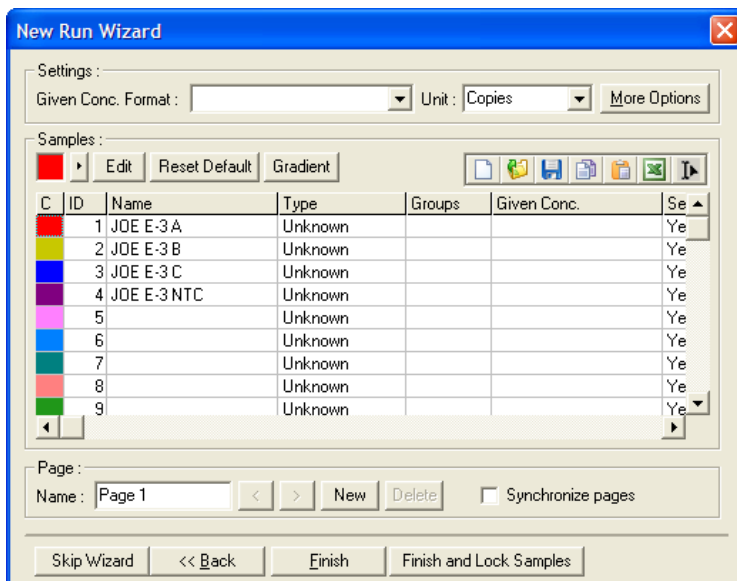
Această fereastră creează un rezumat al testării. Verificați parametrii și, dacă aceștia sunt corecți, faceți clic pe **Start Run** (Pornire testare). Vi se va solicita un nume de fișier. De asemenea, puteți salva setările de testare ca șablon pentru testări viitoare utilizând butonul **Save Template** (Salvare șablon).



Expertul pentru testare nouă – fereastra 5

Introduceți tipurile și descrierile probelor în această fereastră, în timp ce testarea este în curs. Funcționalitatea acestei ferestre este identică cu cea a ferestrei **Edit Samples** (Editare probe) (pagina 129). De asemenea, informațiile despre probe pot fi introduse după finalizarea testării.

Butonul **Finish and Lock Samples** (Finalizare și blocarea probelor) închide ecranul și previne modificarea numelor probelor. Pentru mai multe informații despre acest subiect și despre alte caracteristici de securitate, consultați „Protecția la accesare pentru software-ul Rotor-Gene Q” (pagina 136).



5.2 Utilizarea hardware-ului Rotor-Gene Q MDx

5.2.1 Tipuri de rotoare


Mai întâi, selectați tipul de tub și rotorul pe care doriți să le utilizați. Sunt disponibile 4 rotoare pentru includerea unor tipuri de tuburi diferite.

Rețineți: 36-Well Rotor și 72-Well Rotor sunt livrate împreună cu instrumentul. Rotoarele Rotor-Disc® sunt accesorii.

Important: Folosiți tuburi identice în cadrul unei testări. Nu amestecați diferite tipuri de tuburi sau tuburi de la diferiți producători, deoarece acest lucru va afecta uniformitatea optică. Vă recomandăm să folosiți tuburi de la QIAGEN, care sunt special concepute pentru a fi utilizate cu

Rotor-Gene Q MDx (consultați Informații pentru comandă). Tuburile de la producători alternativi pot prezenta autofluorescență, ceea ce ar putea afecta fiabilitatea rezultatelor. În plus, tuburile de la producători alternativi pot varia în lungime și grosime, ceea ce duce la descentrarea căii optice a aparatului Rotor-Gene Q MDx și reacția în tub. QIAGEN își rezervă dreptul de a refuza asistența tehnică pentru problemele generate de materialele plastice necertificate de QIAGEN pe instrumentul Rotor-Gene Q MDx.

Important: Orice utilizare a materialelor plastice necertificate de QIAGEN pe Rotor-Gene Q MDx poate anula garanția instrumentului dvs.

| | |
|---|---|
| ATENȚIE  | Deteriorarea instrumentului Inspectați vizual și asigurați-vă că rotorul nu este deteriorat sau deformat înaintea fiecărei testări. |
|---|---|

36-Well Rotor

36-Well Rotor este de culoare roșu. 36-Well Rotor și 36-Well Rotor Locking Ring permit utilizarea tuburilor de 0,2 ml. Tuburile nu trebuie să aibă capace transparente din punct de vedere optic, deoarece Rotor-Gene Q MDx citește fluorescența din partea de jos a tubului, mai degrabă decât din partea de sus. Pot fi utilizate și tuburi cu capace bombate.



72-Well Rotor

72-Well Rotor este de culoare albastru. 72-Well Rotor și 72-Well Rotor Locking Ring sunt utilizate cu Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, care pot fi utilizate pentru volume de numai 20 µl. Capacele asigură o etanșare sigură și fiabilă.



Rotor-Disc 72 Rotor

Rotor-Disc 72 Rotor este de culoare gri închis. Rotor-Disc 72 Rotor și Rotor-Disc 72 Locking Ring permit utilizarea Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 este un disc cu 72 de godeuri pentru utilizare intensă. Pentru etanșarea Rotor-Disc 72, se aplică o folie polimerică transparentă pe partea superioară și se etanșează termic. Folia se aplică rapid și previne contaminarea, oferind o etanșare puternică, durabilă și protejată împotriva intervențiilor. Pentru mai multe informații despre Rotor-Disc 72, consultați Secțiunea 5.2.3.



Rotor-Disc 100 Rotor

Rotor-Disc 100 Rotor este de culoare auriu. Rotor-Disc 100 Rotor și Rotor-Disc 100 Locking Ring permit utilizarea Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 este un disc cu 100 de godeuri pentru utilizare intensă. Rotor-Disc 100 este echivalentul rotativ al unei plăci cu 96 de godeuri, dar cu 4 godeuri de referință suplimentare. Acesta permite integrarea Rotor-Gene Q MDx cu fluxuri de lucru de laborator cu 96 de godeuri. Godeurile suplimentare pot fi utilizate în mod confortabil pentru mai multe probe, reacții de control suplimentare sau reacții de orientare, fără a ocupa niciuna dintre

pozițiile standard cu 96 de godeuri. Pentru o compatibilitate perfectă cu fluxul de lucru cu 96 de godeuri, godeurile Rotor-Disc 100 utilizează convențiile de etichetare a plăcilor cu 96 de godeuri, adică de la A1-A12 până la H1-H12. Cele 4 godeuri de referință suplimentare sunt etichetate cu R1-R4. Pentru mai multe informații despre Rotor-Disc 100, consultați Secțiunea 5.2.3.



Specificațiile rotorului

| Tip de rotor | Capacitate godeu (µl) | Nr. probe | Tip eprubetă | Volum de reacție recomandat (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 |

Rețineți: 36-Well Rotor și 72-Well Rotor pentru Rotor-Gene Q MDx nu trebuie utilizate pe instrumentele Rotor-Gene 3000 din cauza incompatibilităților de aliniere optică. Utilizați în continuare vechile rotoare cu 36 și 72 de poziții împreună cu instrumentele Rotor-Gene 3000.

5.2.2 Configurarea reacției

Important: Trebuie utilizate controale adecvate în cadrul fiecărei testări pentru a garanta rezultate fiabile.

Reacțiile pot fi pregătite folosind Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (pentru PCR Tubes, 0,2 ml), Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (pentru Strip Tubes and Caps, 0.1 ml configurate cu o pipetă monocanal), Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (pentru Strip Tubes and Caps, 0.1 ml configurate cu o pipetă multicanal), Rotor-Disc 72 Loading Block (pentru Rotor-Disc 72) sau Rotor-Disc 100 Loading Block (pentru Rotor-Disc 100). Toate blocurile sunt fabricate din aluminiu și pot fi răcite în prealabil.

Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (prezentat în imagine) are capacitatea de 18 Strip Tubes, precum și maximum opt tuburi de 0,5 ml, care pot fi utilizate pentru prepararea amestecului master mix, și până la 16 tuburi de 0,2 ml, care pot fi utilizate pentru configurarea curbelor standard. Procedura de mai jos

descrie configurarea reacției folosind 72-Well Rotor. Aceeași procedură poate fi utilizată pentru configurarea reacției folosind 36-Well Rotor și accesoriile corespunzătoare.

1. Așezați Strip Tubes în Loading Block și divizați în părți alicote componentele reacției.



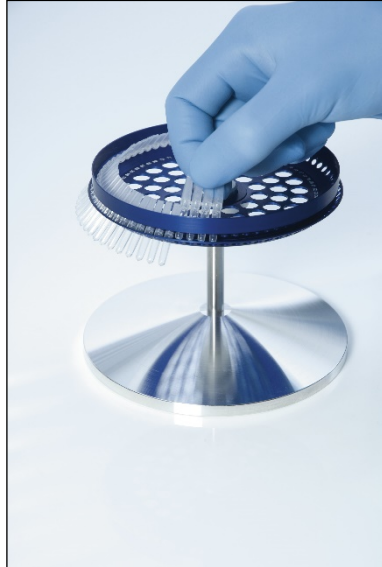
2. Așezați bine capacele pe Strip Tubes și inspectați vizual pentru a confirma o etanșare perfectă.



3. Introduceți Strip Tubes în 72-Well Rotor, asigurându-vă că fiecare tub se fixează corect pe poziție, cu orientarea corectă.

Probele nu se vor alinia optim peste sistemul de detecție dacă nu sunt amplasate corect în rotor. Astfel se poate ajunge la o reducere a semnalului de fluorescență achiziționat și a

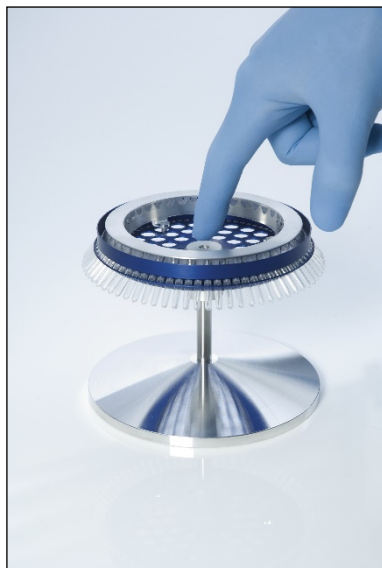
sensibilității de detecție. Împreună cu instrumentul este livrat un Rotor Holder care permite încărcarea ușoară a tuburilor.



Important: Pentru a obține uniformitatea maximă a temperaturii, fiecare poziție din rotor trebuie să conțină câte un tub. Ocuparea tuturor pozițiilor din rotor asigură un flux uniform de aer către fiecare tub. Păstrați la îndemână un set de tuburi cu capac goale, care pot fi folosite pentru a ocupa posibilele poziții nefolosite.

4. Introduceți 72-Well Rotor Locking Ring în 72-Well Rotor, prin apăsarea celor 3 știfturi de poziționare prin orificiile exterioare ale rotorului.

Locking Ring se asigură că toate capacele rămân pe tuburi în timpul unei testări.



5. Introduceți ansamblul în camera Rotor-Gene Q MDx, prin fixare pe poziție printr-un clic și folosind știftul de poziționare de pe butucul rotorului. Pentru scoaterea acestuia, pur și simplu apăsați butucul rotorului pentru eliberare și tragere în afară.



6. Închideți capacul și configurați profilul de testare cu ajutorul software-ului Rotor-Gene Q.

5.2.3 Configurarea Rotor-Disc

Rotor-Disc 72 sau Rotor-Disc 100 conțin 72, respectiv 100 de godeuri într-un disc monobloc, conceput pentru utilizare intensă. Rotor-Disc 72 și Rotor-Disc 100 nu utilizează capace. În schimb, folia de etanșare termică Rotor-Disc este aplicată în partea de sus și etanșată termic, folosind un Rotor-Disc Heat Sealer. Folia previne contaminarea, oferind o etanșare puternică, durabilă și protejată împotriva intervențiilor. Etanșarea termică a Rotor-Disc se efectuează conform descrierii de mai jos.

Important: Citiți fișa produsului livrată împreună cu Rotor-Disc Heat Sealer înainte de a începe această procedură.

1. Porniți Rotor-Disc Heat Sealer utilizând comutatorul amplasat în partea din spate stânga.
Se aprinde un indicator luminos „Power” (Alimentare) roșu. Rotor-Disc Heat Sealer are nevoie de aproximativ 10 min pentru a atinge temperatura de funcționare, atunci când se aprinde un indicator luminos „Ready” (Pregătit) de culoare verde.
2. Selectați un sigiliu permanent sau amovibil.
Rețineți: După ce Rotor-Disc Heat Sealer este pregătit, îl puteți lăsa să funcționeze constant în condiții de siguranță.
3. Introduceți Rotor-Disc în Rotor-Disc Loading Block folosind clapeta de pe poziția 1 de pe Rotor-Disc și orificiile de ghidare ale tubului de pe Rotor-Disc Loading Block.

- Configurați reacțiile în Rotor-Disc prin pipetare manuală sau folosind un sistem automat de manipulare a lichidelor.



- Îndepărtați porțiunea centrală dintr-o foaie de folie de etanșare termică Rotor-Disc prin plierea ușoară a foliei pe jumătate, apucarea cu degetele a porțiunii centrale și ruperea cu grijă a acesteia.
- Amplasați folia peste Rotor-Disc cu orientarea corectă, așa cum este indicat de eticheta „SIDE UP” (CU ACEASTĂ PARTE ÎN SUS). Asigurați-vă că eticheta „SIDE UP” (CU ACEASTĂ PARTE ÎN SUS) este poziționată în partea de jos a Rotor-Disc Loading Block. Orificiul central al foliei trebuie să alunece cu ușurință peste cilindrul Rotor-Disc Loading Block și pe partea de sus a Rotor-Disc.



7. Glisați ansamblul în Rotor-Disc Heat Sealer folosind șinele de ghidare de pe partea laterală a Rotor-Disc Loading Block. Asigurați-vă că Rotor-Disc Loading Block este împins complet.



8. Pentru a activa mecanismul de etanșare, apăsați mai întâi pe bara anodizată albastră din partea superioară a Heat Sealer, apoi împingeți înapoi dispozitivul de fixare de culoare neagră.



9. După ce mecanismul de etanșare a coborât, se aprinde un indicator luminos „Sealing” (Se etanșează) de culoare portocaliu. Dacă Rotor-Disc Loading Block nu este în poziția corectă se aude un bip de avertizare.
10. La finalizarea etanșării se aude un bip continuu și indicatorul luminos „Sealing” (Se etanșează) de culoare portocaliu clipește intermitent. Apăsați pe bara anodizată albastră și eliberați mecanismul de etanșare, aducându-l înapoi în poziția inițială.

Important: Nu continuați etanșarea mai mult decât este indicat de bip, altfel Rotor-Disc se poate deforma.

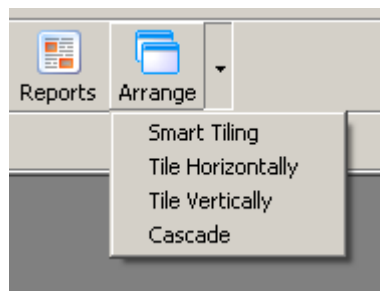
Rețineți: Pentru a vă avertiza în cazul în care se întâmplă să nu reușiți să eliberați mecanismul de blocare, indicatorul luminos „Sealing” (Se etanșează) de culoare portocaliu intermitent se va aprinde permanent, iar sunetul de bip continuu se va schimba într-un sunet intermitent.

11. Glisați Rotor-Disc Loading Block din Rotor-Disc Heat Sealer. Lăsați folia să se răcească aproximativ 10 s. Îndepărtați excesul de folie de etanșare împingând-o în jos pentru a se desprinde. Nu trageți excesul de folie în sus.
12. Scoateți Rotor-Disc din Rotor-Disc Loading Block.
13. Încărcați Rotor-Disc în rotor folosind clapeta de poziționare de pe poziția 1 ca ghid pentru orientarea corectă.

6 Interfață cu utilizatorul pentru analiză

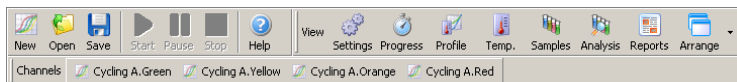
6.1 Spațiul de lucru

Spațiul de lucru este fundalul ferestrei principale. În această zonă, pot fi deschise reprezentări grafice ale datelor brute și rezultatele analizelor. Dacă sunt deschise mai multe ferestre simultan, acestea pot fi organizate făcând clic pe butonul **Arrange** (Aranjare) din bara de instrumente. Sunt disponibile mai multe opțiuni de aranjare a ferestrelor, care pot fi selectate făcând clic pe săgeata în jos de lângă butonul **Arrange** (Aranjare).



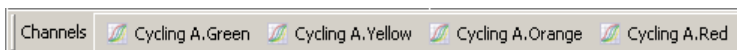
6.2 Bara de instrumente

Aceste butoane sunt comenzi rapide către operațiunile utilizate frecvent. Aceste operațiuni pot fi accesate și din meniurile verticale.



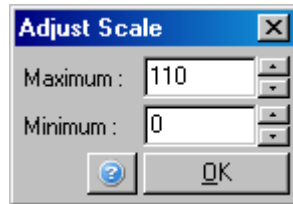
6.3 Vizualizarea canalelor brute

Faceți clic pe aceste butoane pentru a vizualiza datele brute (neanalizate) de la anumite canale din cadrul testării.



Când vizualizați aceste date, aveți la dispoziție o serie de opțiuni pentru a modifica prezentarea datelor. De asemenea, datele brute pot fi transformate pentru a facilita diferite tipuri de analize.

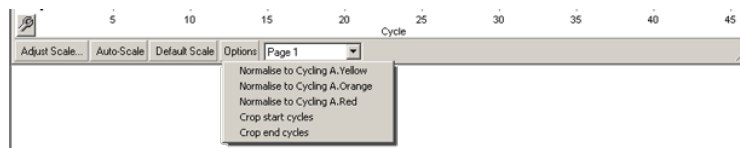
Adjust Scale (Ajustare scară): Pentru a selecta **Adjust Scale** (Ajustare scară), faceți clic cu butonul din dreapta al mouse-ului peste fereastra corespunzătoare. **Adjust Scale** (Ajustare scară) afișează o fereastră în care poate fi specificată o scară.



Autoscale (Scalare automată): **Autoscale** (Scalare automată) încearcă să adapteze scara la citirile maximumului și minimumului datelor.

Default Scale (Scară implicită): **Default Scale** (Scară implicită) resetează scara la afișarea de la 0 la 100 de unități de fluorescență.

Pictograma cheie/cheie fixă: Consultați Secțiunea 7.5 pentru mai multe informații.



Options (Opțiuni): Aceasta afișează meniul vertical afișat mai sus, care oferă opțiuni pentru transformarea datelor brute.

Normalise to... (Normalizare la...): Aceasta permite normalizarea datelor de amplificare la date de la un colorant de referință pasiv, cum ar fi ROX, achiziționate pe un alt canal.

Crop start cycles (Trunchiere cicluri de pornire): Acesta creează un nou set de date pentru canal, din care unele cicluri de pornire au fost eliminate. Acest lucru este util dacă se observă salturi mari în ciclurile inițiale, care pot apărea la utilizarea anumitor substanțe chimice.

Crop end cycles (Trunchiere cicluri de sfârșit): Acesta creează un nou set de date pentru canal, din care unele cicluri de sfârșit au fost eliminate.

Page 1 (Pagina 1): Acesta indică pagina care este selectată în prezent pentru a afișa reprezentările grafice ale datelor brute. Fereastra **Edit Sample** (Editare probă) permite crearea mai multor definiții de probe. De exemplu, datele pot fi vizualizate cu grosimi diferite ale liniilor, definiții diferite ale probelor și alte opțiuni de afișare. Acest lucru este deosebit de util în cazul în care cuantificarea relativă este efectuată pe un singur canal, deoarece utilizatorul poate comuta cu ușurință vizualizarea între gena de interes și probele de administrare, prin definirea a 2 pagini pentru probe.

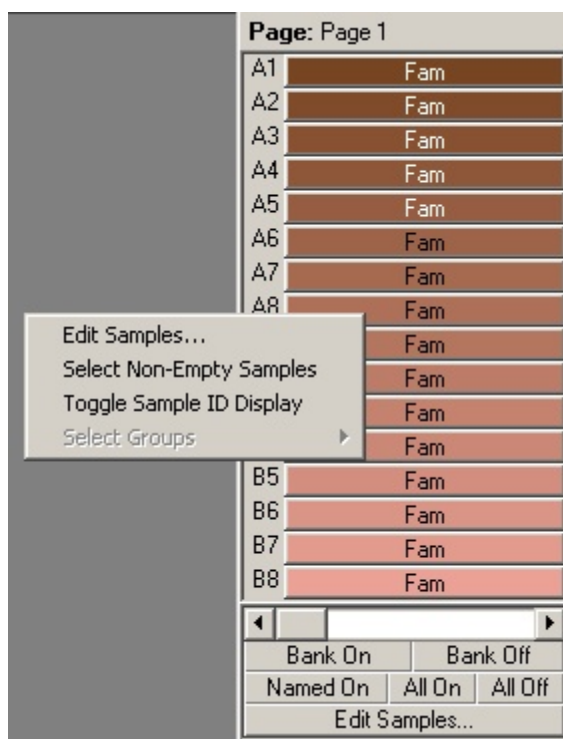
6.4 Comutarea probelor

În partea dreaptă a ferestrei principale se află un comutator, care include o legendă a probelor. Acesta este format din celule colorate, fiecare dintre acestea corespunzând unei probe de pe afișaj. Comutatorul este folosit pentru a controla probele care pot fi văzute pe afișaj. Probele cu o celulă viu colorată sunt afișate în timp ce probele cu o celulă estompată nu sunt afișate. Probele pot fi activate sau dezactivate făcând clic pe celulă sau trăgând cursorul mouse-ului peste mai multe celule simultan. Butoanele **Bank On** (Bancă activă) și **Bank Off** (Bancă inactivă) ascund sau, respectiv, afișează toate probele vizibile în prezent în listă. Bara de defilare poate fi folosită pentru a afișa următorul grup de probe.

Rețineți: Numărul de probe afișate este dinamic și depinde de spațiul disponibil în fereastră.

Dacă faceți clic pe **Named On** (Denumită la) se afișează numai acele probe care au primit un nume. Acesta este un mod rapid de a afișa numai probe relevante. Dacă faceți clic pe **All On** (Toate active) sau **All Off** (Toate inactive) se vor afișa toate probele din rotor sau, respectiv, nu se va afișa nicio probă din rotor. Dacă apăsați pe butonul **Edit Samples...** (Editare probe...) se va deschide și fereastra **Edit Samples** (Editare probe), unde pot fi editate numele, tipurile și concentrațiile standard ale probelor (consultați Secțiunea 6.8.4).

Comutatorul este afișat mai jos. Opțiunile suplimentare afișate apar după ce faceți clic pe butonul din dreapta al mouse-ului deasupra comutatorului.



Page (Pagină):

Această etichetă din partea de sus a comutatorului indică pagina afișată a probei. Paginile permit analize independente variate dintr-un set de date de canal. De exemplu, puteți rula două curbe standard pe canalul verde și puteți genera rapoarte independente. Mai multe informații despre configurarea paginilor pentru probe sunt disponibile în Secțiunea 6.8.4.

Toggle Sample ID Display
(Comutare afișaj ID probe):

Dacă se folosește un 72-Well Rotor, probele sunt afișate în formatul A1 la A8, B1 la B8 etc. Opțiunea **Toggle Sample ID Display** (Comutare afișaj ID probe) îi permite utilizatorului să treacă la o ordine numerică a probelor (de la 1 la 72).

Select Non-Empty Samples
(Selectare probe care nu sunt goale):

Această opțiune debifează posibilele probe care au un element **Type** (Tip) specificat ca **None** (Niciunul) în fereastra **Edit Samples** (Editare probe). În acest fel se asigură că se afișează numai probele relevante pentru analiză.

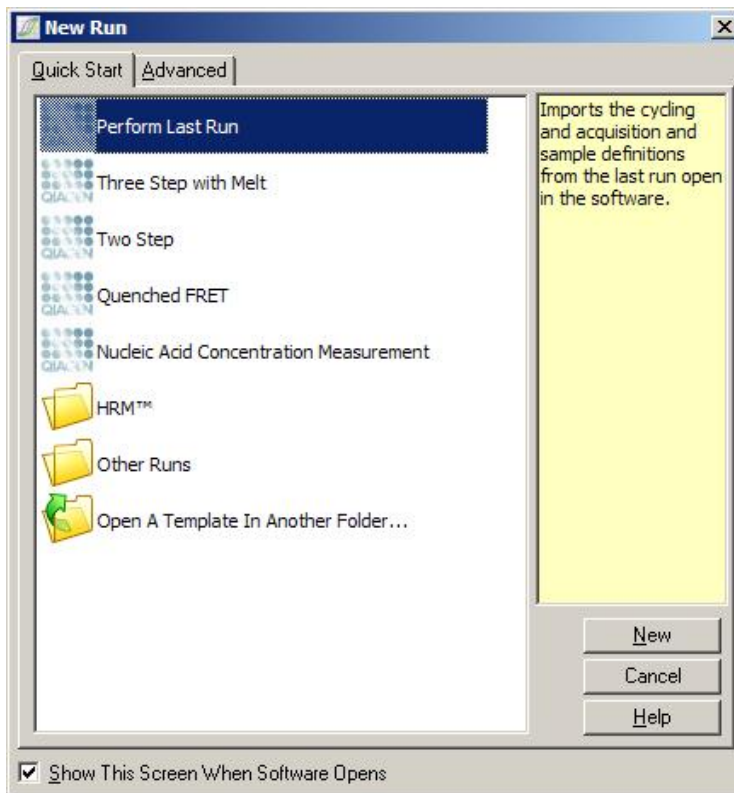
Select Groups
(Selectare grupuri):

Dacă ați definit grupuri, această funcție va comuta (porni/opri) afișarea probelor din grupuri. Grupurile sunt colecții arbitrare de probe care permit raportarea avansată a rezultatelor statistice. De exemplu, pot fi definite grupuri de probe de la pacienți tratați și netratați. Grupurile pot fi configurate în fereastra **Edit Samples** (Editare probe).

6.5 Meniul Fișier

6.5.1 Nou

După ce selectați **File** (Fișier) și apoi **New** (Nou), apare fereastra **New Run** (Testare nouă). Această fereastră pune la dispoziție șabloane utilizate de obicei, organizate sub filele **Quick Start** (Pornire rapidă) și **Advanced** (Avansat). După selectarea șablonului, expertul vă ghidează prin configurarea setării și permite modificarea setărilor și a profilurilor.



Pentru informații despre șabloanele furnizate, consultați Secțiunea 5.1.1 și Secțiunea 5.1.2.

Testare nouă

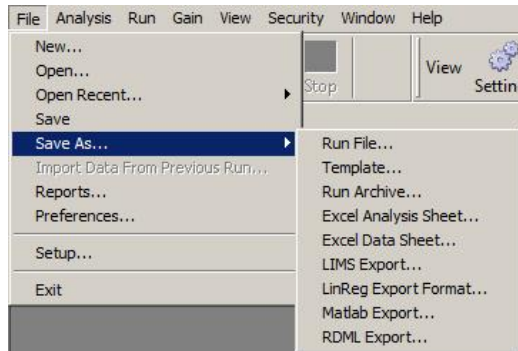
| | |
|---|---|
| New (Nou): | Acest element inițiază configurarea testării utilizând șablonul selectat. |
| Cancel (Anulare): | Acest element închide această fereastră. |
| Help (Ajutor): | Acest element deschide ajutorul online. |
| Show This Screen When Software Opens (Acest ecran se afișează la deschiderea software-ului): | Dacă această casetă este bifată, fereastra New Run (Testare nouă) se afișează la pornirea software-ului. |

6.5.2 Deschidere și salvare

Open... (Deschidere...): Acest element deschide un fișier de testare Rotor-Gene Q salvat în prealabil (*.rex) sau o arhivă de testare Rotor-Gene Q (fișier *.rea).

Open Recent... (Deschidere recente...): Acest element afișează ultimele 4 fișiere deschise sau salvate.

Save (Salvare): Acest element salvează posibilele modificări făcute într-un fișier de testare.



Save As... (Salvare ca): Utilizați această funcție pentru a salva fișierul sau datele de testare în diferite formate. Opțiunile sunt enumerate mai jos.

Run File... (Fișier de testare...): Acest element salvează o copie a fișierului. Utilizatorul poate modifica numele și locația de salvare. Acesta este formatul implicit.

Template... (Șablon...): Acest element salvează configurarea profilului și setările asociate, dar nu și datele de testare. Șablonul poate fi folosit pentru a iniția testări viitoare.

Run Archive... (Arhivă de testare...): Acest element salvează într-un format de fișier mai compact. Salvați fișierele în acest format înainte de a fi trimise prin e-mail. Această acțiune reduce timpul necesar pentru a trimite fișierul și se asigură că fișierele nu sunt deteriorate de clienții de e-mail.

LIMS Export (Export LIMS): Acest element salvează analiza în formate compatibile cu LIMS, în funcție de cerințele utilizatorului. Contactați Serviciile Tehnice QIAGEN pentru mai multe informații.

Excel Data Sheet... (Foaie de date Excel...): Acest element exportă toate canalele brute într-o foaie Excel®. Sunt exportate doar probele selectate.

Excel Analysis Sheet... (Foaie de analiză Excel...): Acest element exportă toate analizele din testarea curentă într-o singură foaie Excel.

LinReg Export Format... (Format export LinReg...): Acest element exportă toate datele brute ale canalului într-un format care poate fi citit de LinReg (un instrument de analiză a eficienței). Consultați „Exportul în LinReg” de mai jos pentru mai multe detalii.

Matlab Export... (Export în Matlab...): Acest element exportă datele într-un format care poate fi citit de pachetul științific Matlab (sau echivalentul său cu sursă deschisă, Octave). Acesta poate fi util pentru cercetarea metodelor.

RDML Export (Export RDML): Acest element asigură un export de fișiere conforme cu RDML v1.1. Fișierul de export RDML creat este un fișier în format XML comprimat în ZIP, cu o extensie de fișier *.rdml, fiind conform cu documentul schemă RDML (https://rdml.org/rdml_v_1_1.html) pus la dispoziție pe site-ul web: https://rdml.org/rdml_v_1_1.html.

Exportul în LinReg

LinReg este un instrument dezvoltat de C. Ramakers și colaboratorii.* Instrumentul LinReg este disponibil la: <https://medischebiologie.nl/files/>.

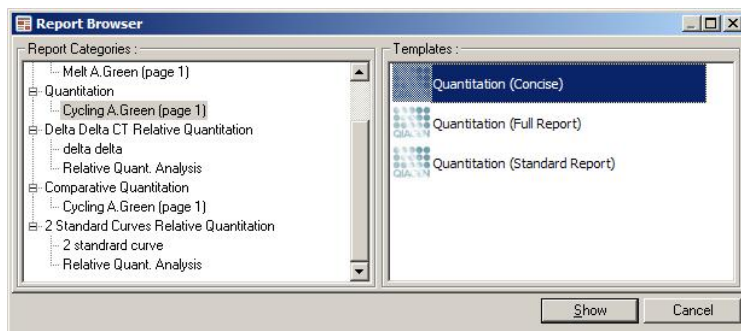
Software-ul Rotor-Gene Q îi permite utilizatorului să exporte date brute într-un format care poate fi apoi importat de instrumentul LinReg pentru analiză.

1. Deschideți fișierul de testare Rotor-Gene Q care conține datele brute.
2. Exportați datele în formatul de export LinReg, prin selectarea **Save As...** (Salvare ca...), apoi **LinReg Export Format...** (Format export LinReg).
3. Microsoft Excel afișează automat datele brute exportate.
4. Porniți instrumentul LinReg.

Instrumentul vă solicită să selectați intervalul de celule în care se află datele brute. Instrumentul poate analiza doar un canal brut pe rând, așadar trebuie selectată o regiune adecvată din foaia Excel.

6.5.3 Rapoarte

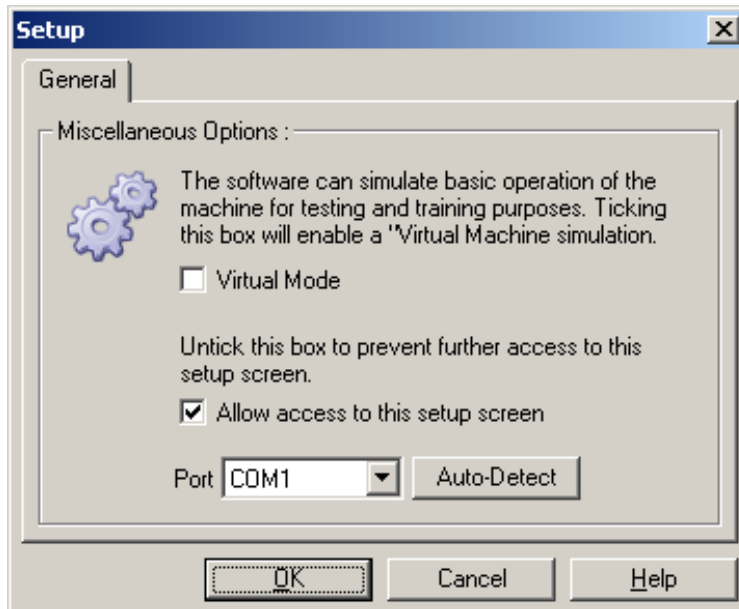
După selectarea **Reports** (Rapoarte) apare fereastra **Report Browser** (Browser pentru rapoarte). Dacă datele au fost analizate deja, raportul analizei respective poate fi afișat în fereastra **Report Browser** (Browser pentru rapoarte). Sunt oferite mai multe tipuri de rapoarte cu diferite niveluri de detaliere.



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

6.5.4 Configurare

Configurarea inițială a Rotor-Gene Q MDx trebuie finalizată în timpul instalării. Totuși, această opțiune vă permite să modificați configurația conexiunii Rotor-Gene Q MDx, dacă doriți să faceți acest lucru după instalare.



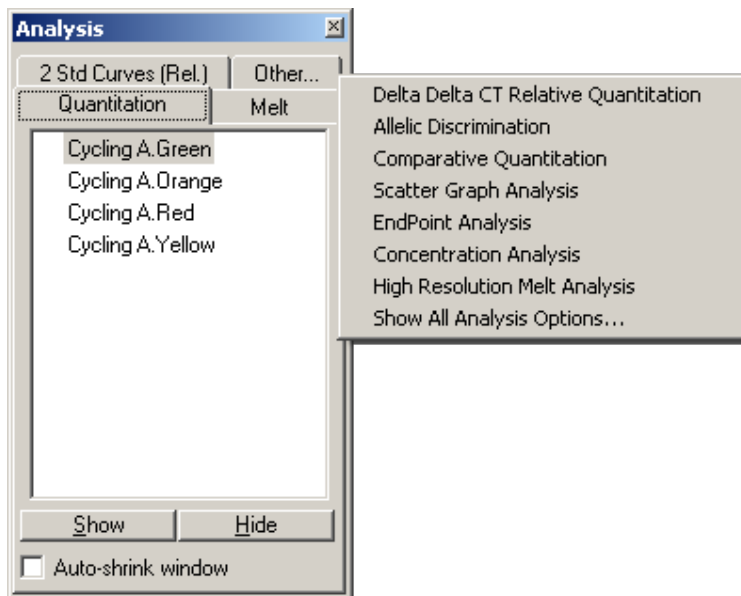
- Virtual Mode** (Modul virtual): Selectați această opțiune dacă software-ul va fi utilizat fără un Rotor-Gene Q MDx conectat. Software-ul păstrează toate funcțiile. Acest mod este util în scopuri demonstrative, pentru analiza datelor și configurarea șabloanelor.
- Allow access to this setup screen** (Se permite accesul la acest ecran de configurare): Dacă această opțiune nu este bifată în timpul instalării, această fereastră nu mai poate fi accesată. Această măsură de securitate împiedică utilizatorii să modifice setările. Pentru a restabili accesul, contactați distribuitorul local.
- Port:** Selectați portul de comunicații corect pentru a activa comunicațiile între computer și Rotor-Gene Q MDx.
- Auto-Detect** (Detectare automată): Dacă nu sunteți sigur ce port să selectați, faceți clic pe **Auto-Detect** (Detectare automată) pentru a căuta toate porturile disponibile.

6.6 Meniul Analiză

6.6.1 Analiză

După ce faceți clic pe **Analysis** (Analiză), apare fereastra **Analysis** (Analiză). Această fereastră permite crearea de analize noi și afișarea analizelor existente. Metoda de analiză este selectată cu ajutorul filelor. Se afișează o listă a canalelor care pot fi analizate folosind metoda selectată. Testele multiple rulate pe același canal pot fi analizate independent, cu condiția să fi fost configurate ca pagini separate în fereastra **Edit Samples** (Editare probe). Paginile care au fost deja analizate au o bifă verde în dreptul lor. Aceasta înseamnă că setările de prag și de

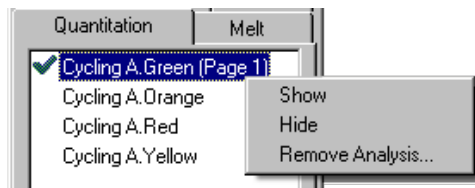
normalizare au fost salvate pentru această analiză. Pentru a vizualiza sau a analiza un canal, faceți dublu clic pe acesta. Apare fereastra de analiză specifică.



Auto-shrink window (Micșorare automată fereastră): Selectarea opțiunii **Auto-shrink window** (Micșorare automată fereastră) micșorează fereastra atunci când aceasta nu este în uz. Deplasarea cursorului peste fereastră mărește din nou fereastra.

Organizarea spațiului de lucru

De fiecare dată când se începe o nouă analiză, ferestrele acestora sunt aranjate astfel încât să se potrivească cu cele aflate deja pe ecran. Dacă sunt afișate multe ferestre, aceasta poate fi o activitate greoaie. Închideți ferestrele de care nu aveți nevoie, apoi faceți clic pe **Arrange** (Aranjare) în bara de instrumente. Ferestrele sunt aranjate automat, în conformitate cu metoda **Smart Tiling** (Alăturare inteligentă). Alternativ, selectați o altă metodă de aranjare făcând clic pe săgeata din dreptul butonului **Arrange** (Aranjare). Dacă faceți clic dreapta cu mouse-ul pe numele unei analize, vor apărea și opțiuni suplimentare.



Show (Afișare): Acest element afișează analiza selectată.

Hide (Ascundere): Acest element ascunde analiza selectată.

Remove Analysis... (Eliminare analiză...): Acest element elimină complet analiza selectată. Aceasta înseamnă că posibilele setări de normalizare sau recipiente de topire configurate în analiză se vor pierde.

6.6.2 Cuantificare

Selecțaiți fila **Quantitation** (Cuantificare) din fereastra **Analysis** (Analiză), apoi faceți dublu clic pe numele canalului sau selecțaiți canalul și apăsați butonul **Show** (Afișare) pentru a deschide canalul de interes. Apar trei ferestre: ecranul principal, curba standard și rezultatele.

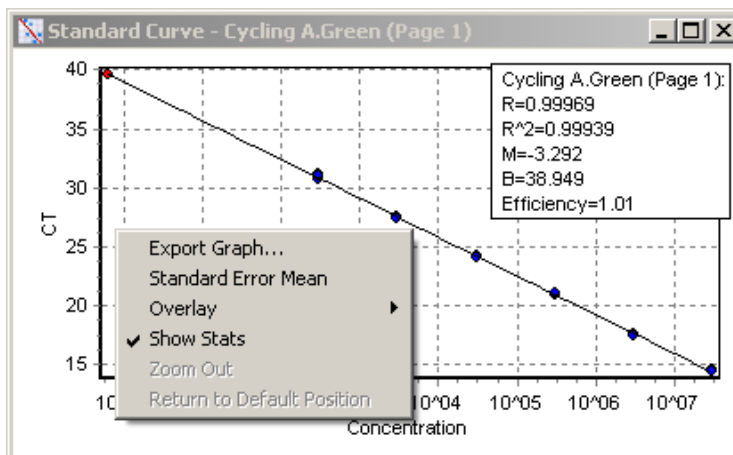
Rapoarte

Reports (Rapoarte): Elementul **Reports** (Rapoarte) deschide fereastra **Report Browser** (Browser pentru rapoarte) unde poate fi generat un raport al analizei curente. Există 3 opțiuni: raport standard, raport complet și raport concis. Faceți dublu clic pe opțiunea dorită pentru a deschide raportul în fereastra **Preview** (Previzualizare). După generarea raportului, butoanele din partea de sus a ferestrei **Preview** (Previzualizare) pot fi folosite pentru a imprima, salva sau trimite raportul prin e-mail sau pentru a-l exporta în Word



Curbă standard

Std. Curve (Curbă standard): Acest buton deschide fereastra **Standard Curve** (Curbă standard). În mod implicit, această fereastră este deschisă odată cu deschiderea unei analize. Dacă închideți fereastra, aceasta poate fi redeschisă folosind această comandă.

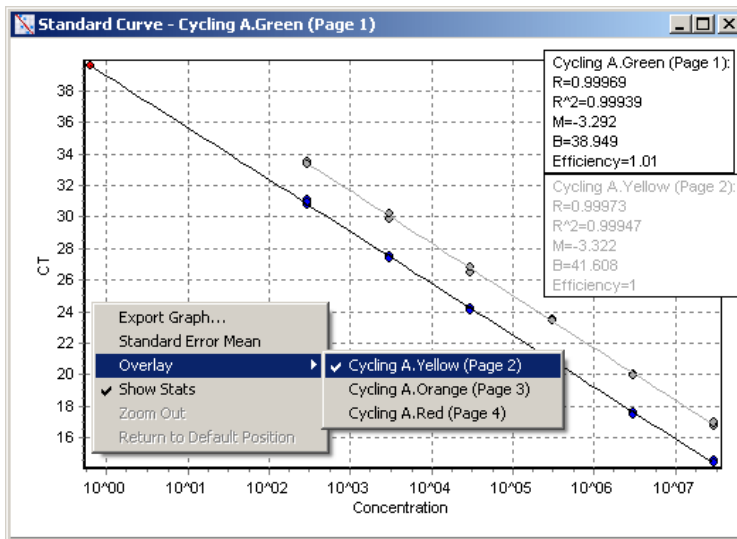


Valorile de pe curba standard sunt recalculat dinamic pe măsură ce nivelul pragului variază, făcând clic și trăgând linia de prag în fereastra principală.

Punctele albastre de pe curbă reprezintă probele care au fost definite ca standarde, iar punctele roșii reprezintă punctele de date necunoscute ale probelor.

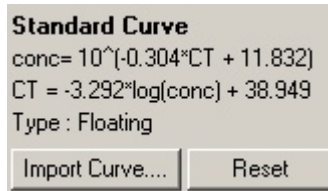
Rețineți: Dacă redefiniți standardele pentru a recalcula curba standard, dezactivarea vizibilității probei standard cu ajutorul comutatorului din dreapta ecranului o va elimina din calculul curbei standard. Eliminarea standardelor din grafic pentru a crește valoarea R² nu este validă științific. Un standard eșuat este o indicație că probele ar fi putut eșua, de asemenea, prin urmare, trebuie incluse în rezultate.

| | |
|--|--|
| Efficiency (Eficiență): | Aceasta este eficiența reacțiilor din testare. Despre această valoare puteți afla mai multe detalii la pagina 94. |
| Valoarea R ² (coeficientul de corelație): | Valoarea R ² sau valoarea R2 este procentul din date care este în concordanță cu ipoteza că standardele formează o curbă standard. Dacă valoarea R2 este scăzută, atunci standardele nu se potrivesc cu ușurință pe o linie care corespunde cel mai bine. Aceasta înseamnă că rezultatele (cu alte cuvinte, concentrațiile calculate) este posibil să nu fie fiabile. O valoare R2 bună este aproximativ 0,999. Rețineți: Este posibil să se obțină o valoare R ² ridicată cu o curbă standard slabă dacă a fost rulat un număr insuficient de standarde. Valoarea R ² se îmbunătățește pe măsură ce numărul standardelor scade. Pentru o indicare mai precisă a fiabilității rezultatelor, utilizați ca ghid intervalele de încredere pentru concentrațiile calculate. |
| Valoarea R (rădăcina pătrată a coeficientului de corelație): | Valoarea R este rădăcina pătrată a valorii R ² . În general, valoarea R ² este mai utilă pentru determinarea corelației. |
| M și B: | Panta (M) și intersecția (B) ale curbei standard sunt calculate automat folosind formula $y = Mx + B$ și sunt afișate în fereastra Standard Curve (Curbă standard). |
| Export Graph... (Export grafic...): | Făcând clic dreapta cu mouse-ul peste curba standard, se afișează opțiunea de export al graficului (consultați Secțiunea 7.4). |
| Overlay (Suprapunere): | Dacă au fost efectuate mai multe testări de cuantificare în cadrul aceleiași testări, puteți suprapune curbele standard în aceeași fereastră. Acest lucru este util pentru vizualizarea grafică a diferenței dintre diferitele praguri. Această caracteristică este afișată în captura de ecran de mai jos. |



Calculul curbei standard

„conc = ...*CT + ...” și „CT = ...” sunt 2 versiuni ale ecuației utilizate pentru corelarea valorilor cu concentrațiile CT. În publicații, formula „CT = ...” este cel mai frecvent utilizată. Curba standard poate fi „Floating” (Flotantă) sau „Fixed” (Fixă). Dacă este „Floating” (Flotantă), o ecuație optimă pentru curba standard este calculată de fiecare dată când pragul este mutat în fereastra principală. Dacă este „Fixed” (Fixă), ecuația nu se modifică deoarece a fost importată dintr-o altă testare.



Importul curbei

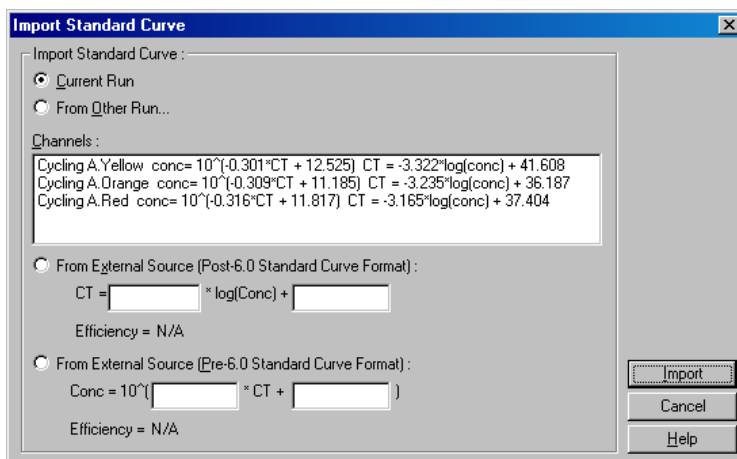
Importul unei curbe standard permite estimarea concentrațiilor atunci când o curbă standard nu este disponibilă într-o anumită testare și eficiența reacției nu a variat între 2 testări. Curbele pot fi importate dintr-un alt canal sau dintr-o altă testare, făcând clic pe **Import Curve** (Import curbă).

Puteți ajusta curba standard, dacă este necesar. Ajustarea curbei standard înseamnă că numai eficiența curbei standard sursă este importată în testarea curentă. Necesitatea ajustării curbei standard depinde de substanța chimică utilizată.

Pentru a ajusta curba standard, utilizați o referință în noua testare cu o concentrație cunoscută. Definiți o referință prin setarea tipului de eșantion la „Standard” și introducând o valoare a concentrației în fereastra **Edit Samples** (Editare probe). Pot fi introduse mai multe copii ale aceleiași referințe pentru a îmbunătăți acuratețea. Rețineți că nu este posibil să definiți mai mult de o concentrație sau standard de referință. De exemplu, este posibil să aveți 3 referințe duplicate de câte 1000 de copii, dar nu este posibil să aveți o referință de 1000 de copii și alta cu 100 de copii în cadrul aceleiași testări.

După ce curba standard a fost importată, tipul curbei standard se schimbă în „Fixed” (Fixă). Faceți clic pe **Reset** (Resettare) pentru a schimba tipul de curbă standard înapoi la „Floating” (Flotantă).

Mai jos este prezentată o captură de ecran a ferestrei **Import Standard Curve** (Import curbă standard).



Folosind această fereastră, o curbă standard poate fi importată de pe un alt canal analizat în testarea curentă sau dintr-o altă testare.

- Current Run** (Testare curentă): Când este selectată această opțiune, analizele de cuantificare de pe alte canale din această testare sunt enumerate împreună cu curbele standard corespunzătoare.
- From Other Run...** (Din altă testare...): Selectarea acestei opțiuni generează o fereastră de dialog, din care puteți selecta un fișier de testare pentru a-l deschide. Dacă a fost efectuată o analiză de cuantificare pentru testare, curbele standard sunt enumerate pentru fiecare canal analizat.
Rețineți: Setările pentru analiza de cuantificare trebuie să fi fost salvate în fișierul de testare.
- Channels** (Canale): Acest element enumeră canalele analizate și formulele curbelor standard aferente.
- From External Source** (Din sursă externă): În această zonă, valorile M și B pot fi introduse direct. Acest lucru este util în cazurile în care valorile provin dintr-o sursă externă, cum ar fi o foaie de calcul Excel.

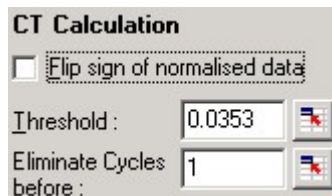
Calculul C_T

- Invert Raw Data** (Inversare date brute): Unele substanțe chimice produc un semnal fluorescent care scade exponențial în loc să crească. Aceste date pot fi analizate utilizând „Quantitation” (Cuantificare), dar caseta de selectare **Invert Raw Data** (Inversare date brute) trebuie bifată. Pentru toate celelalte analize de cuantificare, această opțiune trebuie să rămână nebifată.



- C_T Calculations** (Calcululele C_T): Valoarea C_T este numărul ciclului în punctul în care curba de amplificare traversează un prag de detecție. Prin setarea unei linii de prag și calculând intersecția cu fiecare dintre curbe, se stabilește valoarea C_T pentru fiecare probă.

- Threshold** (Prag): Pentru a seta pragul, faceți clic pe pictogramă (o grilă cu o săgeată roșie), apoi mențineți apăsat pe grafic și trageți linia la nivelul dorit. Alternativ, introduceți o valoare logaritmică. Alternativ, **Auto-Find Threshold** (Găsire automată prag) poate fi folosit pentru a determina automat pragul. Când setați un prag manual, acesta ar trebui să fie setat în faza exponențială a testării, semnificativ deasupra nivelului de fundal pentru a evita zgomotul și sub debutul platoului de semnal în ciclurile ulterioare.



- Eliminate Cycles before** (Se elimină ciclurile înainte de): Pentru setare, faceți clic pe pictogramă (o grilă cu o săgeată roșie), apoi mențineți apăsat pe grafic și trageți linia la dreapta. Această acțiune elimină pragul pentru numerele mici de cicluri.
Rețineți: Acest lucru este util atunci când există zgomot în timpul ciclurilor inițiale, de exemplu, din cauza efectelor de amestecare a probelor.

Auto-Find Threshold (Găsire automată prag):

Această funcție scanează regiunea selectată a graficului pentru a găsi o setare de prag care să ofere estimări optime ale concentrațiilor date. Regiunea selectată poate fi modificată prin introducerea unor limite superioare și inferioare noi în casetele text care apar.

Pentru cele mai multe analize, limitele superioare și inferioare implicite sunt potrivite. Intervalul de niveluri de prag este scanat pentru a obține cea mai bună potrivire a curbei standard pe baza probelor care au fost definite ca standarde (adică, acolo unde valoarea R este cea mai apropiată de 1,0).



Rezultate

Acest element deschide fereastra **Quantitation Results** (Rezultate cuantificare). În mod implicit, această fereastră este deschisă odată cu deschiderea unei analize. Dacă a fost închisă, aceasta poate fi redeschisă folosind această comandă.

| Analysis | No. | Color | Name | Type | C _T | C _T Comment | Given Conc. | Calc Conc. (c) | % Var | Rep. C _T | Rep. C _T Std | Rep. C _T (95% CI) | Rep. Calc. Conc. | Rep. Calc. Conc. (95% CI) |
|--------------------------|-----|--------|------|----------|----------------|------------------------|-------------|----------------|--------|---------------------|-------------------------|------------------------------|------------------|---------------------------|
| Cycling A.Green (Page 1) | 1 | Red | 10e8 | Standard | 3.73 | | 1.00E+09 | 7.15E+07 | 28.1% | 3.73 | 0.00 | [3.73, 3.74] | 7.17E+07 | [1.17E+07, 4.35E+08] |
| Cycling A.Green (Page 1) | 2 | Red | 10e8 | Standard | 3.74 | | 1.00E+08 | 7.17E+07 | 28.4% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 3 | Red | 10e8 | Standard | 3.74 | | 1.00E+08 | 7.16E+07 | 28.4% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 4 | Red | 10e7 | Standard | 6.11 | | 1.00E+07 | 1.44E+07 | 44.0% | 6.06 | 0.08 | [5.91, 6.21] | 1.49E+07 | [3.29E+06, 6.73E+07] |
| Cycling A.Green (Page 1) | 5 | Orange | 10e7 | Standard | 6.08 | | 1.00E+07 | 1.44E+07 | 46.6% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 6 | Orange | 10e7 | Standard | 5.99 | | 1.00E+07 | 1.56E+07 | 55.9% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 7 | Green | 10e6 | Standard | 10.43 | | 1.00E+06 | 7.72E+05 | 22.8% | 10.38 | 0.09 | [10.15, 10.60] | 8.00E+05 | [2.62E+04, 2.44E+06] |
| Cycling A.Green (Page 1) | 8 | Green | 10e6 | Standard | 10.27 | | 1.00E+06 | 8.59E+05 | 14.2% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 9 | Green | 10e6 | Standard | 10.43 | | 1.00E+06 | 7.71E+05 | 22.9% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 10 | Green | 10e5 | Standard | 13.49 | | 1.00E+05 | 9.68E+04 | 3.2% | 13.65 | 0.13 | [13.31, 13.98] | 8.74E+04 | [2.96E+04, 2.59E+05] |
| Cycling A.Green (Page 1) | 11 | Green | 10e5 | Standard | 13.75 | | 1.00E+05 | 8.13E+04 | 18.7% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 12 | Green | 10e5 | Standard | 13.69 | | 1.00E+05 | 8.46E+04 | 15.2% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 13 | Blue | 10e4 | Standard | 15.66 | | 1.00E+04 | 2.24E+04 | 123.7% | 15.46 | 0.26 | [14.84, 16.08] | 2.59E+04 | [7.82E+03, 8.36E+04] |
| Cycling A.Green (Page 1) | 14 | Blue | 10e4 | Standard | 15.54 | | 1.00E+04 | 2.42E+04 | 141.7% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 15 | Blue | 10e4 | Standard | 15.18 | | 1.00E+04 | 3.05E+04 | 208.8% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 16 | Blue | 10e3 | Standard | 21.36 | | 1.00E+03 | 4.71E+02 | 63.9% | 21.09 | 0.24 | [20.49, 21.69] | 5.65E+02 | [3.13E+01, 3.59E+03] |
| Cycling A.Green (Page 1) | 17 | Blue | 10e3 | Standard | 20.89 | | 1.00E+03 | 6.47E+02 | 36.3% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 18 | Blue | 10e3 | Standard | 21.02 | | 1.00E+03 | 5.94E+02 | 40.6% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 19 | Black | 10e2 | Standard | | NEG (Multi Ct) | | | | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 20 | Black | 10e2 | Standard | 23.98 | | 1.00E+02 | 7.99E+01 | 20.1% | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 21 | Black | 10e2 | Standard | | NEG (Multi Ct) | | | | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 22 | Blue | NTC | NTC | | NEG (NTC) | | | | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 23 | Blue | NTC | NTC | | NEG (NTC) | | | | | | | | |
| Cycling A.Green (Page 1) | 24 | Blue | NTC | NTC | | NEG (NTC) | | | | | | | | |

În fereastra **Quantitation Results** (Rezultate cuantificare), rezultatele obținute din testare sunt sintetizate într-un tabel. Dacă faceți clic dreapta pe mouse și selectați **Export to Excel** (Export în Excel), tabelul este exportat în Excel. Excel se deschide automat. Pentru a copia datele într-o foaie de calcul existentă, selectați în schimb opțiunea **Copy** (Copiere), deschideți foaia de calcul, apoi selectați **Paste** (Lipire).

Fereastra **Quantitation Results** (Rezultate cuantificare) include următoarele coloane.

- Analysis (Analiză): Setul de date curent (canal de achiziție și pagină pentru probă).
- No. (Nr.): Numărul probei.
- Color (Culoare): Culoarea definită a graficului pentru proba individuală.
- Type (Tip): Tipul definit de probă.
- C_T: Valoarea C_T determinată.

| | |
|--|--|
| C _T Comment (Comentariu C _T): | <p>O adnotare automată a determinării C_T, dacă valorile C_T sunt excluse. Sunt posibile următoarele marcaje:</p> <p>NEG (Multi Ct): Pragul traversează curba de fluorescență de cel puțin două ori (intersecție dublă). Nu poate fi determinată o valoare C_T clară.</p> <p>NEG (NTC): Creșterea globală a fluorescenței nu îndeplinește condițiile definite în funcția „NTC Threshold” (Prag NTC) din meniul Outlier Removal (Eliminare deviație extremă) (a se vedea mai jos). De exemplu, o curbă de fluorescență se intersectează cu pragul dat, dar creșterea globală minoră a pantei sugerează o substanță de control fără șablon și nu este dată o valoare C_T.</p> <p>NEG (R.Eff): Creșterea globală a fluorescenței nu îndeplinește condițiile definite în funcția „Reaction efficiency threshold” (Prag de eficiență a reacției) din meniul Outlier Removal (Eliminare deviație extremă) (a se vedea mai jos). Probele care nu au o anumită eficiență a reacției sunt excluse și nu este dată valoarea C_T. Acest marcaj este afișat numai dacă funcția corespunzătoare este activată.</p> |
| %Var | Variația procentuală dintre concentrația calculată și cea cunoscută. %Var=Abs(calculat/dat-1) |
| Rep. Ct: | Valoarea C _T medie a tuturor probelor cu același nume ca această probă. |
| Rep. Ct Std. Dev.: | Abaterea standard a valorii C _T pentru toate probele cu același nume ca această probă. |
| Rep. Ct. 95% C.I.: | Un interval C _T care, statistic, însumează 95 % din variația valorii C _T . Aceasta este o măsură statistică conservatoare, care poate fi utilizată ca măsură pentru calitate. Acest interval poate fi restrâns prin testarea mai multor duplicate sau prin existența unei variații mai mici la nivel de duplicate. |
| Rep. Calc. Conc.: | <p>Concentrația calculată pentru toate probele cu același nume.</p> <p>Rețineți: Aceasta nu este media aritmetică a concentrațiilor calculate. Este media geometrică, care este o medie mai adecvată din punct de vedere matematic, datorită naturii exponențiale a amplificării în timp real.</p> |
| Rep. Calc. Conc. 95% C.I.: | <p>O gamă de concentrații care însumează 95 % din variația din proba individuală, precum și modelul de regresie liniară pe care se bazează. O interpretare a acestei măsuri se referă la faptul că acesta este intervalul de concentrații la care ar putea fi preconizat 95 % din timp, dacă această testare ar fi efectuată în mod repetat cu aceeași variație. Aceasta este o estimare conservatoare, iar intervalul poate fi destul de larg, datorită variației inerente oricărei analize în timp real. Acest interval poate fi larg dacă standardele sunt testate cu concentrații diferite față de cele ale probelor necunoscute, dacă se utilizează un număr mic de duplicate sau dacă există o variație semnificativă.</p> <p>Important: Variațiile raportate de această măsură sunt inerente procesului exponențial de amplificare în timp real și nu sunt generate de Rotor-Gene Q MDx. Teste similare efectuate pe ciclatoare pe bază de blocuri ar genera o variație mai mare, din cauza uniformității mai scăzute a temperaturii sistemelor pe bază de blocuri. Dacă doriți să comparați ciclatoarele, vă recomandăm să comparați abaterea standard a valorii C_T.</p> |

Rețineți: Informații mai detaliate despre intervalele de încredere sunt disponibile în Anexa B.

Rețineți: Cu excepția Color (Culoare), Name (Nume), Ct și Ct Comment (Comentariu Ct), fiecare dintre coloane poate fi afișată sau ascunsă făcând clic dreapta pe fereastră, apoi bifând sau debifând numele coloanei.

| 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. | 300.000. | 312.045. | 4,0% |
| 16 | | 3x10 ⁵ | Rep. Calc. Conc. (95% CI) | 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% |

Pentru un confort sporit, funcția **AutoStat** calculează automat media, abaterea standard și valorile minimului și maximumului probelor de interes. Selectați rezultatele de interes trăgând cu butonul stâng al mouse-ului, iar valorile sunt afișate într-un tabel în dreapta ecranului.

În această captură de ecran sunt analizate concentrațiile mai multor probe.

| Ct | Given Conc (Cop) | Calc Conc (Copie) | % Var | f |
|-------|------------------|-------------------|-------|---|
| 14.42 | 30000000 | 28255064 | 5.8% | |
| 14.59 | 30000000 | 25142920 | 16.2% | |
| 14.40 | 30000000 | 28730050 | 4.2% | |
| 17.44 | 3000000 | 3422624 | 14.1% | |
| 17.58 | 3000000 | 3103391 | 3.4% | |
| 17.42 | 3000000 | 3467111 | 15.6% | |
| 20.99 | 300000 | 285353 | 4.9% | |
| 20.92 | 300000 | 298898 | 0.4% | |
| 21.04 | 300000 | 275802 | 8.1% | |
| 21.20 | 300000 | 30786 | 1.0% | |

Statistics

Maximum : 28730050
 Minimum : 25142920
 Count : 3

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

Copy

Important: Caracteristica **AutoStat** depinde de context. Aceasta înseamnă că, acolo unde este posibil, generează doar informații utile.

De exemplu:

- Nu este posibilă obținerea unui interval de încredere 95 % dintr-un set de concentrații calculate selectate, deoarece trebuie luat în considerare și modelul de regresie.

- Abateră standard „Orders of Magnitude” (Ordine de mărime) este raportată mai degrabă pentru concentrațiile calculate decât pentru o valoare absolută. Aceasta este o variație procentuală. De exemplu, o valoare de 1,07537 reprezintă o variație de 7,54 % $(278.974 - 322.611) = (300.000/1,07537 - 00.000 * 1,07537)$. Raportarea unei valori absolute nu are sens pentru o curbă standard. Valoarea ar putea fi raportată la concentrația cea mai mică pentru a crea o eroare percepută scăzută (± 3 copii) sau la concentrația mare ($\pm 3.000.000$ de copii). Din acest motiv, este raportată abateră standard „Orders of Magnitude” (Ordine de mărime).
- Pentru concentrațiile calculate, se folosește media geometrică în locul mediei aritmetice. Acest lucru explică natura exponențială a real-time PCR. De exemplu, în cazul diluțiilor duble cu 1, 2, 8 și 16 copii, media ar trebui să fie de 4 copii, deoarece este mijlocul seriei de diluții. Cu toate acestea, media aritmetică este 6,75. Media geometrică este $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ copii.

Normalizarea tubului dinamic

Opțiunea **Dynamic Tube** (Tub dinamic) este selectată implicit și este utilizată pentru a determina fondul mediu al fiecărei probe chiar înainte de începerea amplificării.

Normalizarea standard se desfășoară pur și simplu pe parcursul primelor 5 cicluri și le folosește ca indicator al nivelului de fond al fiecărei probe. Toate punctele de date pentru probă sunt apoi împărțite la această valoare pentru a normaliza datele. Această acțiune poate fi inexactă, deoarece pentru unele probe nivelul de fond din primele 5 cicluri poate să nu indice nivelul de fond chiar înainte de amplificare. În schimb, normalizarea tubului dinamic utilizează derivata a doua a fiecărei urme de probă pentru a determina un punct de pornire pentru fiecare probă. Nivelul de fond este apoi mediat de la ciclul 1 până la acest număr de ciclu de plecare pentru fiecare probă. Aceasta oferă cele mai precise rezultate ale cuantificării.

Rețineți că pentru unele seturi de date, fluorescența de fond nu este constantă în timpul ciclurilor, înainte de începerea amplificării. În aceste cazuri, poate fi necesar să debifați normalizarea tubului dinamic, făcând clic pe **Dynamic Tube** (Tub dinamic), deoarece ar putea avea ca rezultat o cuantificare mai puțin precisă.

Corecția pantei zgomotului

Fluorescența de fond (FI) a unei probe ar trebui, în mod ideal, să rămână constantă înainte de amplificare. Cu toate acestea, uneori, FI prezintă o creștere sau o scădere treptată pe parcursul mai multor cicluri, datorită substanței chimice utilizate. Acest aspect produce un nivel de zgomot asimetric. Corecția pantei zgomotului utilizează o linie care corespunde cel mai bine pentru a determina nivelul de zgomot, în loc de o medie, și se normalizează la linia respectivă.

Selectarea acestei opțiuni făcând clic pe butonul **Slope Correct** (Corecție pantă) poate îmbunătăți datele provenite de la duplicate, dacă liniile de bază ale probei sunt vizibil înclinate. Corecția pantei zgomotului îmbunătățește datele atunci când se observă că fondurile datelor brute se înclină în sus sau în jos înainte de punctul de plecare (C_T).

În cazul în care panta nu este constantă sau ciclurile inițiale ale liniei de bază prezintă o creștere sau o scădere semnificativă a semnalului în comparație cu restul curbei, corecția pantei zgomotului poate avea unele efecte nedorite, cum ar fi curbele de control negative care trec pragul din cauza aproximării liniei de bază ca linie care corespunde cel mai bine și, în consecință, normalizarea datelor brute. Drept urmare, această funcție nu îmbunătățește întotdeauna calitatea datelor și trebuie utilizată numai dacă acele curbe de date brute prezintă o pantă constantă.

Ajustarea punctului de plecare

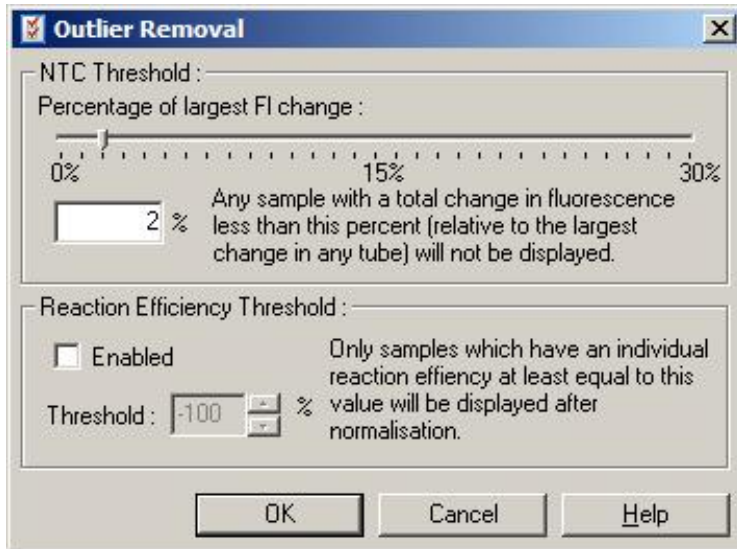
Algoritmul de ajustare a punctului de plecare poate fi utilizat pentru a defini o lungime minimă a liniei de bază utilizate pentru normalizare. Pentru a aplica ajustarea punctului de plecare, trebuie definiți doi parametri. Dacă un punct de plecare este calculat cu ajutorul **Dynamic Tube** (Tub dinamic) și acesta este mai mic decât primul parametru, atunci al doilea parametru este utilizat ca punct de plecare. Ajustarea punctului de plecare poate fi utilizată numai împreună cu normalizarea **Dynamic Tube** (Tub dinamic).

Se ignoră primele

Semnalul de fluorescență de la primele câteva cicluri dintr-o testare poate să nu fie reprezentativ pentru restul testării. Din acest motiv, se pot obține rezultate mai bune dacă primele cicluri sunt ignorate. Pot fi ignorate până la 10 cicluri. Cu toate acestea, dacă primele cicluri arată similar cu ciclurile ulterioare, se vor obține rezultate mai bune prin debifarea „**Ignore First**” (Se ignoră primele), deoarece algoritmul de normalizare va avea mai multe date cu care să lucreze.

Eliminare deviație extremă

Pentru a face diferența între modificările minore ale fluorescenței și reacțiile reale în cazul substanțelor de control fără șablon (no template control, NTC), sunt puși la dispoziție 2 indicatori: **NTC Threshold** (Prag NTC) și **Reaction Efficiency Threshold** (Prag de eficiență a reacției). **NTC Threshold** (Prag NTC) este recomandat pentru cele mai multe aplicații. Abordarea utilizată trebuie validată.



NTC Threshold (Prag NTC): Acesta permite excluderea din analiză a probelor sau a NTC-urilor care prezintă o ușoară deviere în sus. Toate probele cu o modificare sub „NTC Threshold” (Prag NTC) nu vor fi raportate, iar în coloana „CT Comment” (Comentariu CT) se va afișa un marcaj „NEG (NTC)”.
 Procentul se referă la cea mai mare modificare maximă găsită în orice tub. De exemplu, dacă o probă a început de la un fond de 2 FI și a crescut la 47 FI, atunci 45 FI reprezintă 100 %. Un „NTC Threshold” (Prag NTC) de 10 % ar considera orice probă mai mică de 4,5 FI ca fiind zgomot.

Reaction Efficiency Threshold (Prag de eficiență a reacției): „Reaction Efficiency Threshold” (Prag de eficiență a reacției) este o metodă alternativă de excludere a zgomotului din analiză. Acest algoritm de normalizare folosește tehnicile de estimare a eficienței reacției utilizate în cuantificarea comparativă (consultați Secțiunea 6.6.6). Toate probele care nu au o eficiență a reacției cel puțin la acest nivel sunt excluse, iar în coloana „CT Comment” (Comentariu CT) se va afișa un marcaj „NEG (R.Eff)”.
 Un nivel de 0 % indică faptul că nu a avut loc nicio reacție în timpul fazei exponențiale. 100 % indică faptul că a avut loc o reacție absolut eficientă în faza exponențială. Procentele negative indică faptul că semnalul fluorescent a scăzut în timpul fazei exponențiale.
 Cercetările actuale nu sunt concludente cu privire la nivelurile exacte de eficiență necesare pentru a diferenția reacțiile reale de contaminare și de alte efecte. Din acest motiv, vă recomandăm să utilizați această caracteristică cu precauție, presupunând că orice probă cu o reacție reală va avea o fază exponențială vizibilă cu o oarecare creștere a fluorescenței. Setarea acestei valori peste 0 % va exclude unele probe cu o creștere ineficientă, dar perceptibilă a fluorescenței, în timp ce setarea sub 0 % va afișa probe care au înregistrat scăderi în fluorescență în timpul fazei exponențiale, care ar trebui excluse în mod clar.

Rețineți: Dacă o valoare este exclusă din cauza activării oricăreia dintre aceste tehnici, în fereastra **Quantitation Results** (Rezultate cuantificare) nu se va afișa o valoare CT corespunzătoare. Simultan, în coloana „Ct Comment” (Comentariu Ct) se va afișa un marcaj care indică excluderea. Prin urmare, este important să vă asigurați de afișarea permanentă a coloanei „Ct Comment” (Comentariu Ct).

În imaginea de mai jos, probele 7, 8 și 9 au fost excluse din cauza „Reaction Efficiency Threshold” (Prag de eficiență a reacției).

| 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 |

Panta, amplificarea, eficiența reacției

Panta (M) a unei reacții (afișată în fereastra **Standard Curve** (Curbă standard)) poate fi utilizată pentru a determina amplificarea exponențială și eficiența unei reacții folosind următoarele calcule:

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

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

Valorile optime pentru M, amplificarea exponențială și eficiența reacției sunt -3,322, 2 și, respectiv, 1. Eficiența reacției este afișată în raport (în rapoarte complete și standard, consultați pagina 86) și în fereastra **Standard Curve** (Curbă standard).

Panta este calculată drept modificarea din C_T împărțită la modificarea din intrarea logaritmică (de exemplu, numărul copiei). O amplificare cu eficiență 100 % înseamnă o dublare a produsului de amplificare în fiecare ciclu, rezultând o valoare M de -3,322, un factor de amplificare de 2 și o eficiență a reacției de 1.

Fiind dată o valoare M de -3,322, calculele sunt următoarele:

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

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

Ca exemplu alternativ: o valoare M de 3,8 înseamnă că reacția are o amplificare exponențială de aproximativ 1,83 și o eficiență a reacției de 0,83 (sau 83 %).

Decalajul

Într-o formulă care descrie relația dintre 2 variabile, decalajul este exprimat prin litera B ($y = Mx + B$). Decalajul este uneori denumit și intersecție. B reprezintă valoarea C_T pentru o concentrație dată de 1 unitate. Prin înlocuirea cu 1 în formula concentrației, după cum se arată mai jos:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

$$\text{Rezultatul este } C_T = B$$

Intersecția se poate modifica de la o testare la alta și reprezintă o măsurătoare mai puțin stabilă decât gradientul. Din acest motiv, gradientul este analizat mai frecvent decât intersecția.

Fereastra principală

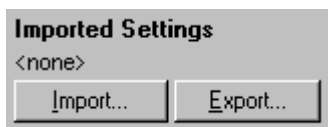
Fereastra principală afișează reprezentările grafice ale amplificării pe o scară logaritmică.

Făcând clic pe **Linear Scale** (Scară liniară) din partea de jos a ferestrei, scara se modifică din scara logaritmică în scara liniară și invers. Trecerea de la o scară la alta modifică doar afișarea graficelor, nu și calculele. Acest lucru poate fi verificat prin utilizarea instrumentului Pinpointer, făcând clic dreapta pe grafic și selectând **Show pinpointer** (Afișare Pinpointer). Folosind o scară logaritmică, valorile mai mici sunt mai vizibile pe grafic, în timp ce o scară liniară facilitează vizualizarea întregii reacții.

Rețineți: Reprezentările grafice de amplificare se actualizează în timp real, deoarece Rotor-Gene Q MDx achiziționează în mod activ date în timpul unei testări. Această monitorizare în timp real a datelor îi permite utilizatorului să vadă rezultate de îndată ce curbele prezintă o creștere exponențială. Se pot trage concluzii preliminare și se pot lua decizii pentru următoarea testare.

Șabloane pentru analiza cuantificării

Șabloanele pentru analiza cuantificării îi permit utilizatorului să exporte setările de normalizare și prag într-un singur fișier *.qut. Acest fișier poate fi importat și reaplicat în alte experimente. Consultați Secțiunea 7.1 pentru mai multe detalii.



6.6.3 Două curbe standard

Analiza relativă a expresiei genelor folosind o genă de normalizare poate fi efectuată utilizând metoda celor 2 curbe standard.

Metoda necesită câte o curbă standard pentru fiecare genă. Concentrația pentru fiecare genă este cuantificată conform curbei sale standard. Expresia genei de interes este apoi normalizată cu gena de normalizare (adesea o genă de administrare).

Este important ca standardele și probele duplicate să fie desemnate corect în timpul configurării probei (consultați Secțiunea „Configurarea probei”). În special, probele corelate trebuie să aibă același nume în fiecare analiză. Într-o reacție multiplex, în care pozițiile tubului pentru gena de interes și pentru gena de normalizare sunt aceleași, este suficient un set de definiții ale probelor. Dacă se efectuează o analiză relativă cu o genă de normalizare folosind un singur canal (adică, reacțiile sunt efectuate în tuburi separate folosind același fluorofor), atunci ar trebui create 2 pagini pentru probe. Prima trebuie să eticheteze pozițiile tubului cu numele probei pentru gena de interes, celelalte poziții rămânând nedenumite. A doua trebuie să eticheteze pozițiile utilizate pentru gena de normalizare. Software-ul va asocia apoi probele din cele 2 analize pe baza numelor acestora.

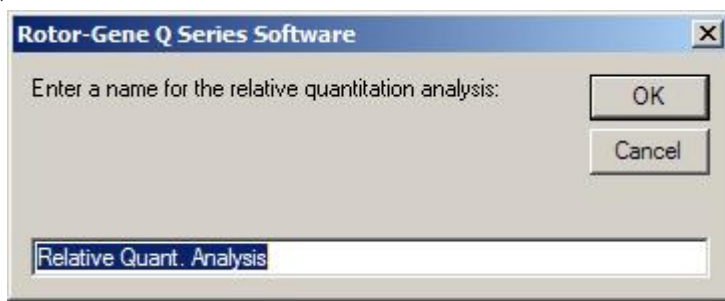
Analiza expresiei folosind metoda celor două curbe standard

Datele pot fi mai întâi analizate pentru fiecare genă utilizând analiza de cuantificare. În caz contrar, rezultatele pentru fiecare genă vor fi determinate automat folosind instrumentul **Autofind Threshold** (Găsire automată prag).

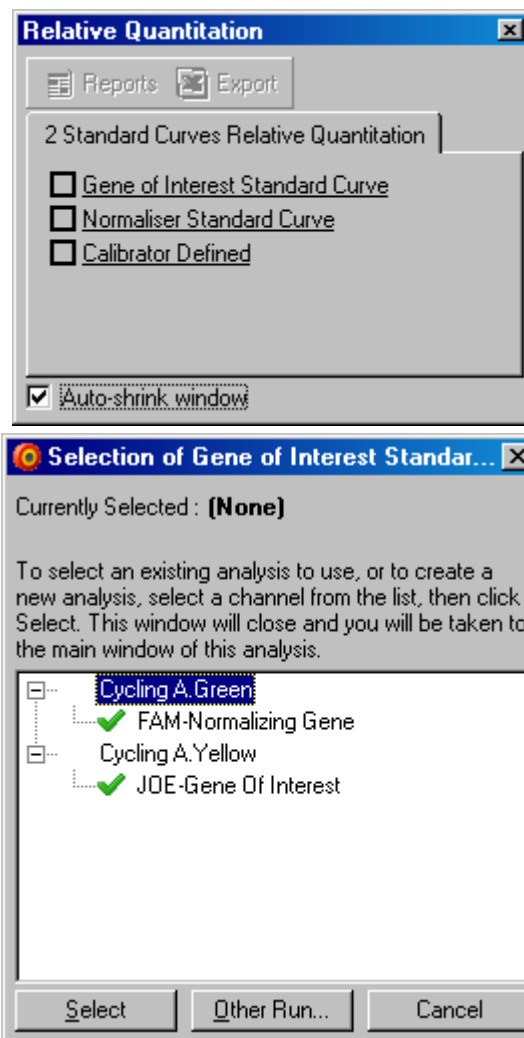
1. Din fereastra **Analysis** (Analiză), selectați fila **2 Std Curve (Rel.)** (2 curbe standard (relative)). Faceți clic pe **New Analysis...** (Analiză nouă...).



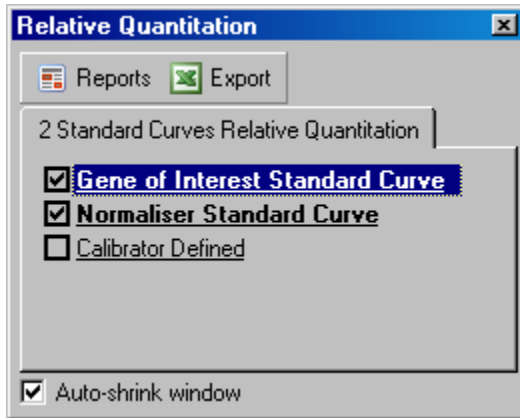
2. Introduceți un nume pentru analiză.



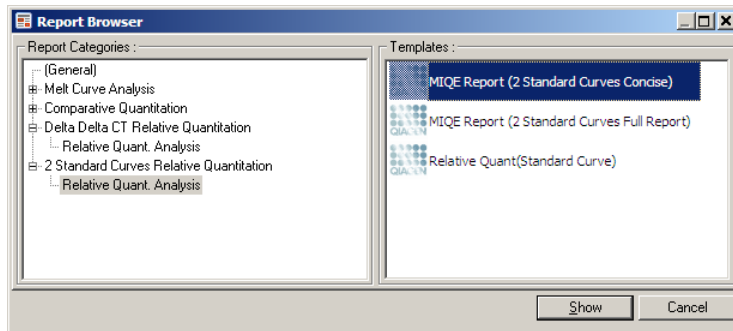
3. Desemnați paginile utilizate pentru analiza genei de normalizare și pentru analiza genei de interes. De exemplu, dacă faceți clic pe **Gene of Interest Standard Curve** (Curbă standard genă de interes), va apărea fereastra **Selection of Gene of Interest Standard...** (Selectarea standardului genei de interes...). Selectați pagina în care a fost cuantificată gena de interes. Repetați procedura pentru gena de normalizare. Opțional, poate fi definit un calibrator. Dacă această opțiune este selectată, calibratorului i se atribuie o valoare de 1 și toate celelalte concentrații ale probei sunt calculate raportat la această probă.



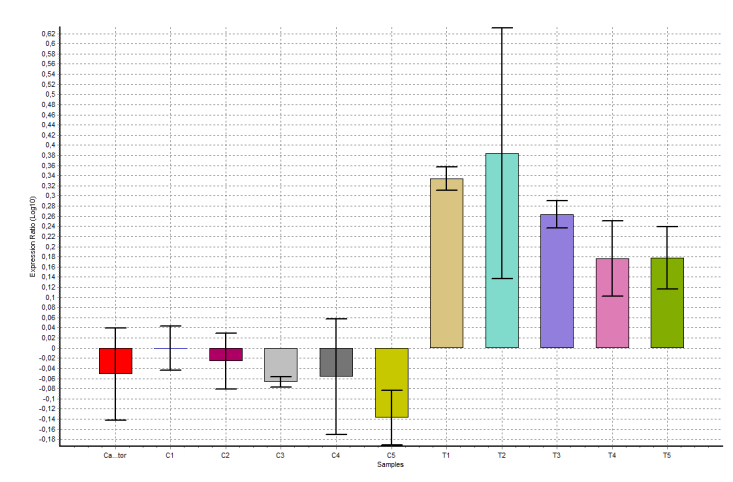
După finalizarea selecțiilor, opțiunile vor fi marcate cu o bifă, așa cum se arată mai jos.

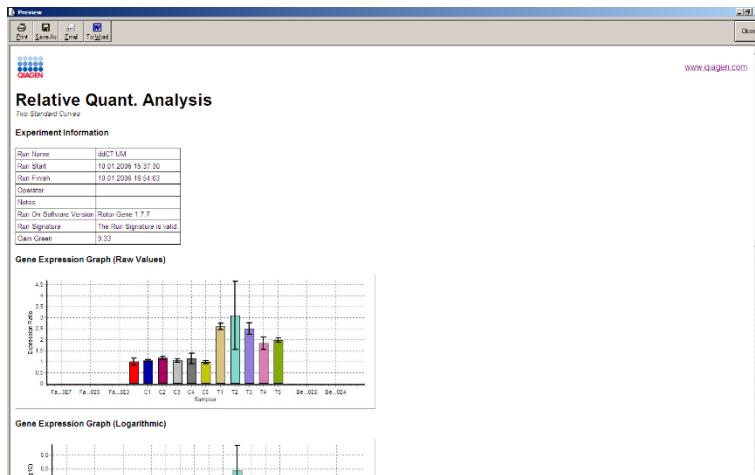


4. Faceți clic pe butonul **Reports** (Rapoarte) pentru a afișa **Report Browser** (Browser pentru rapoarte). Selectați analiza cu numele corect din listă. Faceți clic pe butonul **Show** (Afișare) pentru a afișa raportul de cuantificare relativă. Opțiunea **Export** exportă rezultatele într-o foaie de calcul Excel nouă. Dacă este inclus un calibrator, rezultatele sunt calculate în raport cu proba cu calibrator, căreia i se atribuie o valoare de 1.



5. Sunt afișate concentrațiile citite din curbele standard pentru gena de interes (GOI Conc.) și gena de normalizare (Norm. Conc.), precum și concentrația relativă (Relative Conc.). Rezultatele pot fi salvate ca fișier Word.





6. Valorile Rel Min și Rel Max sunt generate prin calcularea abaterii standard a coeficientului față de abaterile standard pentru gena de interes (gene of interest, GOI) și gena de normalizare folosind următoarea formulă:

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

unde:

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

6.6.4 Cuantificarea relativă delta delta C_T

Metoda delta delta CT permite analiza expresiei relative a genei. Aceasta este descrisă de Livak și Schmittgen (2001).*

Această metodă nu necesită includerea curbelor standard în fiecare testare. Fiecare probă este mai întâi normalizată pentru cantitatea din șablon adăugată, prin comparație cu gena de normalizare. Aceste valori normalizate sunt normalizate în continuare în raport cu un tratament al calibratorului. Calibratorul ar putea fi, de exemplu, de tip sălbatic, control netratat sau probe la momentul zero.

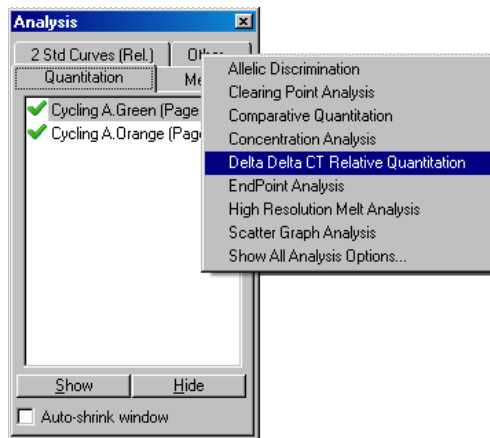
Este esențial ca eficiența de amplificare a genei de interes să fie identică cu cea a genei de normalizare și ca acestea să fie validate în conformitate cu instrucțiunile lui Livak și Schmittgen.

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

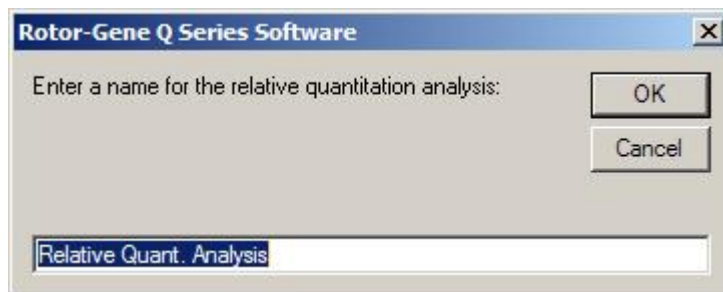
Este esențial ca numele probelor să fie definite corect în fereastra **Edit Samples** (Editare probe), cu aceleași probe etichetate identic în fiecare analiză de cuantificare compozită.

1. Analizați datele utilizând „Quantitation” (Cuantificare). Rularea unei curbe standard nu este necesară după efectuarea validării.

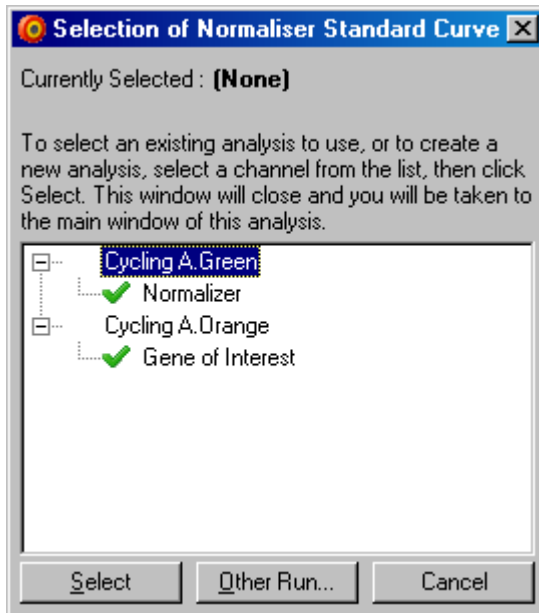
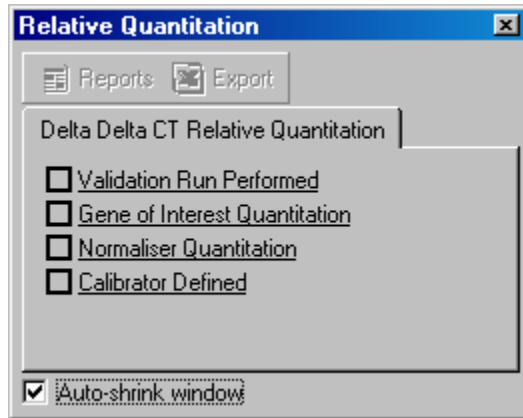
Din fila **Other** (Altele) din fereastra **Analysis** (Analiză), selectați **Delta Delta CT Relative Quantitation** (Cuantificare relativă delta delta CT). Selectați **New Analysis** (Analiză nouă).



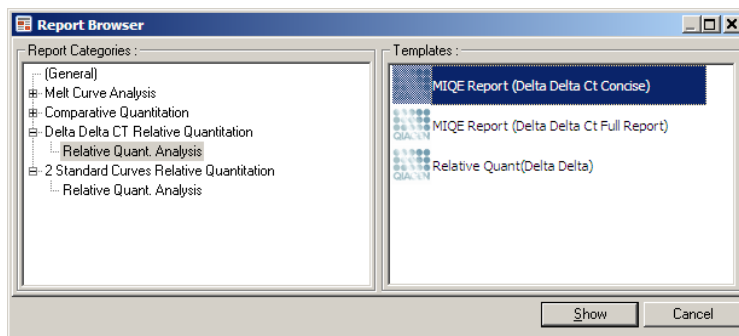
2. Introduceți un nume pentru analiză.



3. Opțiunea **Validation Run Performed** (Testare de validare efectuată) trebuie bifată pentru continuarea analizei. Definiți paginile în care au fost analizate gena de interes și gena de normalizare.



4. Faceți clic pe butonul **Reports** (Rapoarte) pentru a afișa **Report Browser** (Browser pentru rapoarte). Selectați analiza cu numele corect din listă. Faceți clic pe butonul **Show** (Afișare) pentru a afișa raportul de cuantificare relativă. Opțiunea **Export** exportă rezultatele într-o foaie de calcul Excel nouă. Dacă este inclus un calibrator, rezultatele sunt în raport cu proba cu calibrator, care are o valoare de 1.



Un exemplu de rezultatele generate din această analiză este prezentat mai jos. Sunt afișate valorile C_T pentru gena de interes (GOI C_T), valorile C_T pentru gena de normalizare (Norm. C_T), Delta C_T , Delta Delta C_T și concentrația relativă. Expresia este relativă față de proba cu calibrator, căreia i se atribuie o expresie relativă de 1.

Pentru informații suplimentare despre derivarea calculelor Rel Min și Rel Max, consultați Litvak și Schmittgen (2001).*

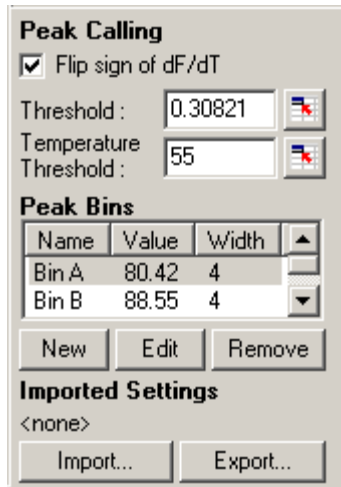
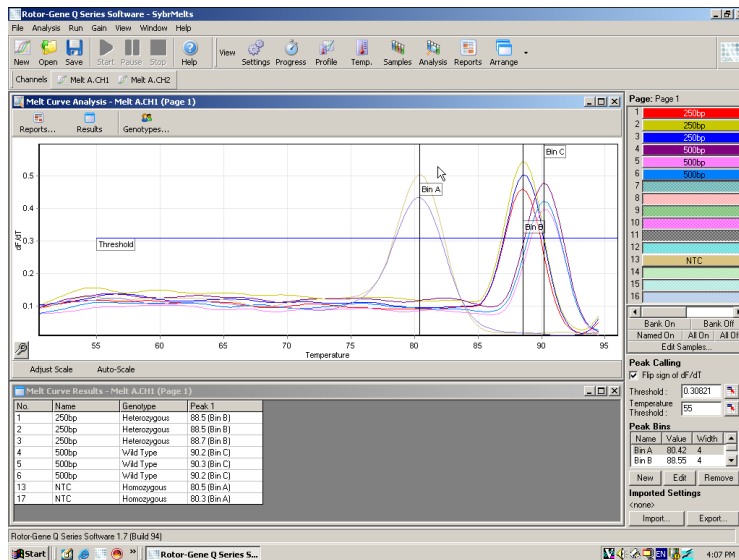
| C | Replicate Name | GOI C_T | Norm. C_T | Delta C_T | Delta Delta C_T | Relative Conc. | Rel Min | Rel Max | Calibrator |
|---|----------------|-----------|-------------|-------------|-------------------|----------------|-----------|-----------|------------|
| | Dilution 8 | | 28.37 | | | | | | |
| | Dilution 7 | 37.61 | 28.39 | 9.22 | 4.40 | 0.04728 | 0.04128 | 0.05414 | |
| | Dilution 6 | 35.72 | 28.28 | 7.44 | 2.62 | 0.16228 | 0.14904 | 0.17669 | |
| | Dilution 5 | 35.04 | 28.24 | 6.80 | 1.98 | 0.25292 | 0.11715 | 0.54605 | |
| | Dilution 4 | 32.94 | 28.12 | 4.82 | 0.00 | 1.00000 | 0.69432 | 1.44025 | Yes |
| | Dilution 3 | 31.66 | 28.23 | 3.43 | -1.38 | 2.60825 | 2.16257 | 3.14579 | |
| | Dilution 2 | 30.05 | 28.02 | 2.03 | -2.79 | 6.92153 | 6.49040 | 7.38130 | |
| | Dilution 1 | 28.61 | 27.92 | 0.69 | -4.12 | 17.41896 | 16.47839 | 18.41322 | |
| | QS 0.1 IU/μl | | 28.11 | | | | | | |
| | 0.316 IU/μl | 37.62 | 28.10 | 9.51 | 4.70 | 0.03857 | 0.03633 | 0.04094 | |
| | 1 IU/μl | 36.84 | 28.15 | 8.69 | 3.88 | 0.06805 | 0.04415 | 0.10489 | |
| | 3.16 IU/μl | 34.45 | 28.05 | 6.40 | 1.59 | 0.33305 | 0.28206 | 0.39325 | |
| | QS4 | 32.67 | 28.29 | 4.38 | -0.43 | 1.34925 | 1.09820 | 1.65770 | |
| | QS3 | 30.07 | 27.98 | 2.09 | -2.73 | 6.61982 | 6.18888 | 7.08076 | |
| | QS2 | 26.88 | 27.64 | -0.76 | -5.57 | 47.61474 | 45.02202 | 50.35677 | |
| | QS1 | 24.07 | 27.10 | -3.03 | -7.85 | 230.60440 | 208.45384 | 255.10870 | |

6.6.5 Analiza curbei de topire

Analiza curbei de topire analizează derivata datelor brute după netezire. Această analiză este utilizată în mod obișnuit pentru genotipare și discriminare alelică. Vârfurile de pe curbă sunt grupate în intervale, iar toate vârfurile sub prag sunt eliminate. Ulterior, intervalele pot fi mapate la genotipuri, folosind comanda „Genotypes” (Genotipuri).

După finalizarea unei testări, în cazul unor substanțe chimice poate fi adăugată o etapă de topire pentru a vizualiza cinetica de disociere a produșilor amplificați. Temperatura crește liniar, iar fluorescența fiecărei probe este înregistrată. Mai jos este prezentată o analiză tipică a curbei de topire.

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



Flip sign of dF/dT
(Inversare semn dF/dT):

Înainte de a defini vârfurile, asigurați-vă că semnul dF/dT este corect pentru setul de date, pentru generarea unor vârfuri pozitive.

Definirea vârfurilor:


În analiza curbei de topire, vârfurile pot fi definite și raportate folosind diferite metode. Una dintre acestea este să apelați automat toate vârfurile pentru fiecare probă în parte. Cealaltă este atribuirea vârfurilor la intervale, metodă utilă pentru genotipare.


Intervalele definesc zona în care este preconizată apariția vârfurilor. Software-ul de analiză a curbei de topire grupează vârfurile în grupuri de intervale, pe baza valorilor de vârf propriu-zise de pe curbă. Dacă este necesar, intervalele pot fi editate.

Orice vârf care se încadrează în intervalul definit va fi atribuit intervalului. Dacă există 2 intervale apropiate, atunci vârful va fi atribuit celui mai apropiat interval.

Rețineți: Intervalele nu trebuie poziționate vizual astfel încât să estimeze pozițiile vârfurilor. Setăți intervalele în zona de interes aproximativă, apoi utilizați valorile raportate propriu-zise în tabelul cu rezultate, pentru un rezultat cu o precizie mai mare.

Peak Bins (Intervale de vârfuri): Pentru definirea unui interval, faceți clic pe butonul **New Bin** (Interval nou), apoi mențineți apăsat pe grafic pentru a defini centrul intervalului. Pentru a adăuga un alt interval, repetați procesul. Utilizați butonul **Remove** (Eliminare) pentru ștergerea intervalelor.

Threshold (Prag): Pentru a seta pragul (axa y), faceți clic pe pictograma , apoi mențineți apăsat pe grafic și trageți linia de prag la nivelul dorit.

Temperature Threshold (Prag de temperatură): Pentru a seta un prag de temperatură (axa x), faceți clic pe pictograma , apoi mențineți apăsat pe grafic și trageți linia de prag la dreapta. Această acțiune elimină linia de prag pentru temperaturile mai scăzute.

Rețineți: Acest aspect este util atunci când există zgomot în semnal la temperaturi scăzute.

Rapoarte

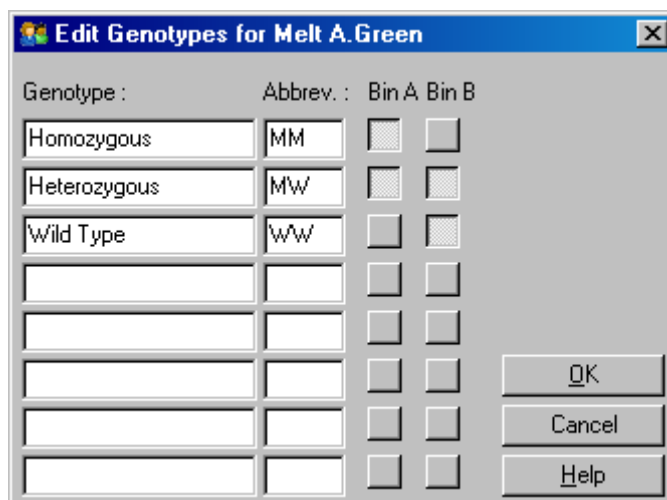
Acest element deschide **Report Browser** (Browser pentru rapoarte), unde puteți selecta un raport pentru previzualizare. Un raport poate fi generat pe baza canalului selectat în prezent sau poate fi generat un raport de genotipare multicanal.

Rezultate

Acest element afișează fereastra **Melt Curve Results** (Rezultate curbă de topire), care prezintă vârfurile probei.

Genotipuri

Faceți clic pe **Genotypes...** (Genotipuri...) și selectați genotipurile, așa cum este prezentat mai jos.

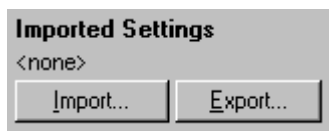


Această fereastră permite atribuirea genotipurilor la incidența vârfurilor din intervale. Configurația implicită a genotipului este afișată în captura de ecran, probele heterozigote având 2 vârfuri, probele homozigote un vârf în primul interval, iar probele de tip sălbatic un vârf în al doilea interval. Puteți introduce câte o abreviere în câmpul din dreapta numelui fiecărui genotip. Aceasta este utilizată la tipărirea rapoartelor de genotipare multicanal, astfel încât toate rezultatele obținute de la mai multe canale să poată fi citite cu ușurință.

Pentru analiza multiplex, genotipurile trebuie configurate în fiecare canal. Dacă, de exemplu, este efectuată o analiză FRET temperată cu două canale, în care sunt preconizate un genotip de tip sălbatic și heterozigot pe fiecare canal, parametrii intervalului trebuie configurați pentru fiecare canal. Rezultatele vor fi apoi prezentate într-un raport multiplex.

Șabloane pentru analiza topirii

Șabloanele pentru analiza topirii îi permit utilizatorului să exporte setările de normalizare, prag, genotip și interval într-un singur fișier *.met. Acest fișier poate fi importat și reaplicat în alte experimente. Consultați Secțiunea 7.1 pentru mai multe detalii.



6.6.6 Cuantificarea comparativă

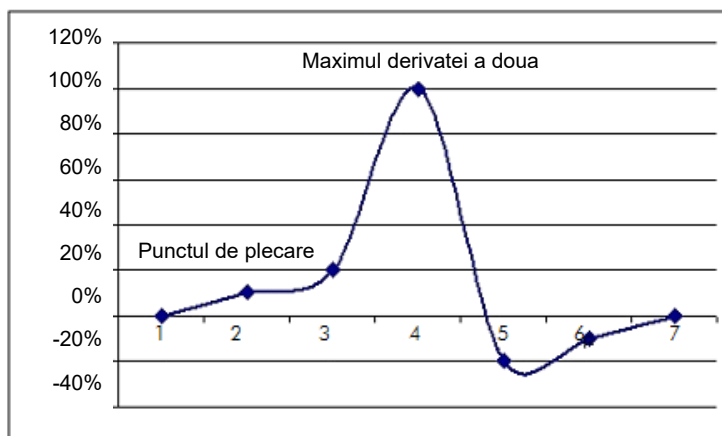
Cuantificarea comparativă compară expresia relativă a probelor cu o probă de control în cadrul unei testări, atunci când nu este disponibilă o curbă standard. Aceasta este utilizată frecvent în analiza de tip microarray. Warton și colaboratorii (2004)* prezintă un exemplu al acestei tehnici.

1. Pentru a efectua analiza, selectați **Other** (Altele), apoi **Comparative quantitation** (Cuantificare comparativă) în fereastra **Analysis** (Analiză). Faceți dublu clic pe canalul de analizat.
2. Selectați o probă de control folosind meniul vertical din dreapta ecranului, sub comutator.
3. Rezultatele sunt calculate automat și afișate în fereastra **Comparative Quantitation Results** (Rezultate cuantificare comparativă), sub grafic.

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

Primele coloane din fereastra **Comparative Quantitation Results** (Rezultate cuantificare comparativă) prezintă numărul și numele probei. Coloana **Takeoff** (Plecare) oferă punctul de plecare al probei. A doua derivată a reprezentării grafice a amplificării generează vârfuri corespunzătoare ratei maxime de creștere a fluorescenței în reacție. Punctul de decolare este definit ca ciclul la care derivata a doua se află la 20 % din nivelul maxim și indică sfârșitul zgomotului și trecerea la faza exponențială.

Acest grafic prezintă o a doua derivată a unei reprezentări grafice a amplificării, care arată pozițiile relative ale vârfului derivatei a doua și punctul de plecare.



Coloana „Amplification” (Amplificare) afișează eficiența probei. O reacție cu eficiență 100 % ar avea ca rezultat o valoare de amplificare de 2 pentru fiecare probă, ceea ce înseamnă că ampliconul s-a dublat la fiecare ciclu. În datele brute, semnalul trebuie să se dubleze în faza exponențială. De exemplu, dacă semnalul a fost de 50 de unități de fluorescență la ciclul 12 și apoi de 51 de unități de fluorescență la ciclul 13, ar trebui să crească la 53 de unități de fluorescență la ciclul 14. Toate valorile de amplificare pentru fiecare probă sunt mediate pentru a produce valoarea de amplificare care este afișată în partea dreaptă a ecranului, sub comutator. Cu cât variația dintre valorile estimate de amplificare ale fiecărei probe este mai mare, cu atât intervalul de încredere va fi mai mare (indicat de valoarea după semnul \pm). Intervalul de încredere, pentru un număr mare de probe (N), oferă o probabilitate de 68,3 % ca adevărata amplificare a probelor să se încadreze în acest interval (1 abatere standard). Prin dublarea intervalului \pm , se obține un interval de încredere de 95,4 % pentru un N mare.

Duplicatul calibratorului

Ca și în metoda $\Delta\Delta C_T$, este necesară o probă cu calibrator, iar măsurătorile sunt raportate la această probă cu calibrator. Duplicatele calibratorului pot fi analizate deoarece, dacă mai multe poziții ale probelor au același nume, se va folosi media punctelor de plecare ale acestor probe. Pentru a utiliza corect această caracteristică, asigurați-vă că duplicatele au nume identice.



Amplificarea medie este utilizată pentru a calcula expresia. De exemplu, o probă cu o valoare de amplificare scăzută va avea nevoie de mai mult timp pentru a ajunge la un anumit număr absolut de copii decât o probă cu o valoare de amplificare mai mare. Coloana „Rep. Conc.” din fereastra **Comparative Quantitation Results** (Rezultate cuantificare comparativă) oferă concentrația relativă. Concentrația relativă a fiecărei probe în comparație cu proba cu calibrator este calculată pe baza punctului de plecare și a eficienței reacției. Aceasta este exprimată printr-o notație științifică.

Rețineți: Valoarea afișată în **Average Amplification** (Amplificare medie) din dreapta \pm reprezintă abaterea standard a amplificării medii, după eliminarea valorilor de amplificare cu deviații extreme. Dacă această valoare este mare, atunci poate exista o eroare mare în valorile concentrației globale calculate.

Concentrațiile relative sunt calculate de software după cum urmează:

1. Punctul de plecare al fiecărei probe este calculat prin analizarea vârfurilor derivatei a doua.
2. Se calculează creșterea medie a datelor brute la 4 cicluri după plecare. Aceasta este valoarea de amplificare pentru probă.
3. Amplificările cu deviații extreme sunt eliminate pentru a lua în calcul zgomotul din fluorescența de fond.
4. Amplificările rămase sunt mediate. Aceasta este amplificarea medie.
5. Punctul mediu de plecare este calculat pentru fiecare duplicat de calibrator.
6. Concentrația relativă pentru o probă este calculată ca $\text{Amplificare}^{\text{(Plecare calibrator - Plecare probă)}}$.
7. Rezultatul este afișat sub formă de notație științifică în coloana „Rep. Conc.” din fereastra **Comparative Quantitation Results** (Rezultate cuantificare comparativă).

6.6.7 Discriminarea alelică

Discriminarea alelică utilizează date cinetice în timp real de la 2 sau mai multe canale pentru genotiparea probelor. Pentru a efectua această analiză, selectați **Other** (Altele), apoi **Allelic Discrimination** (Discriminare alelică) în fereastra **Analysis** (Analiză). La efectuarea discriminării alelice, nu este suficient să faceți dublu clic pe un canal de analizat, deoarece această analiză este efectuată folosind mai multe canale simultan. Pentru a efectua această analiză, fie țineți apăsat CTRL și faceți clic pentru a evidenția fiecare canal pe care doriți să îl analizați, fie trageți cursorul mouse-ului deasupra acestor canale. După ce canalele dorite au fost evidențiate, faceți clic pe **Show** (Afișare). Lista se va actualiza și va afișa toate canalele pe un singur rând, cu o bifă în dreptul lor. Acest lucru indică faptul că toate vor fi utilizate în cadrul unei singure analize. Pentru a elimina unul sau mai multe dintre aceste canale, faceți clic dreapta pe analiză și selectați **Remove Analysis...** (Eliminare analiză...). Aceste canale pot fi apoi incluse într-o altă analiză a discriminării alelice. Un canal poate fi utilizat doar în câte o analiză pe rând.

Reports (Rapoarte): Acest element deschide raportul „Allelic Discrimination Analysis” (Analiză discriminare alelică) pentru previzualizare.

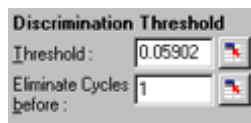
Results (Rezultate): Acest element afișează fereastra **Allelic Discrimination Results** (Rezultate discriminare alelică). Această fereastră este deschisă implicit când analiza este afișată pentru prima dată.

Opțiuni de normalizare: Este disponibilă o varietate de opțiuni pentru optimizarea normalizării datelor brute:

- **Dynamic Tube** (Tub dinamic) (normalizarea tubului dinamic)
- **Slope Correct** (Corecție pantă) (corecția pantei zgomotului)
- **Ignore First x cycles** (Se ignoră primele x cicluri) (corecție pentru zgomot în ciclurile inițiale)
- **Ajustarea punctului de plecare**

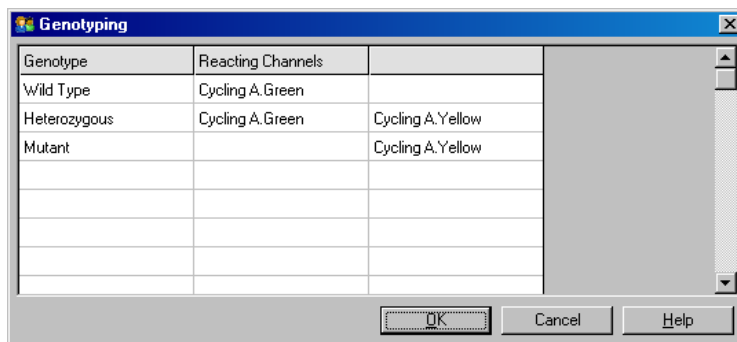
Pentru mai multe detalii, consultați pagina 93.

Discrimination Threshold (Prag de discriminare): Introduceți valori în aceste casete text pentru a poziționa pragul de discriminare. Toate curbele care trec acest prag sunt considerate a fi probe de genotipare. Faceți clic pe pictograma din dreapta fiecărei casete text, apoi trageți pragul pe grafic pentru a seta vizual aceste valori.

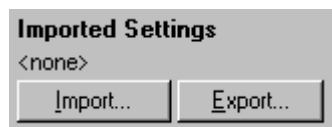


Genotypes (Genotipuri): Acest element deschide fereastra **Genotyping** (Genotipare), utilizată pentru definirea tipului de genotip detectat pe fiecare canal. Această fereastră permite atribuirea genotipurilor la canale pentru analiza discriminării alelice.

În exemplul de mai jos, o probă este heterozigotă dacă citirile de pe canalele Cycling A.Green (Ciclare A.Verde) și Cycling A. Yellow (Ciclare A.Galben) depășesc pragul.



Șabloane pentru analiza alelică: Șabloanele pentru analiza alelică permit exportul setărilor de normalizare, prag și genotip într-un singur fișier *.alt. Acest fișier poate fi importat și reaplicat în alte experimente. Consultați Secțiunea 7.1 pentru mai multe detalii.



6.6.8 Analiza diagramei de dispersie

Analiza diagramei de dispersie permite genotiparea pe baza expresiei relative a reprezentărilor grafice ale amplificării la nivelul a 2 canale. Spre deosebire de discriminarea alelică, genotipul este decis pe baza regiunilor definite din diagrama de dispersie, mai degrabă decât dintr-un singur prag. Pentru a efectua această analiză, selectați **Other** (Altele), apoi **Scatter Graph Analysis** (Analiză diagramă de dispersie) în fereastra **Analysis** (Analiză).

La efectuarea analizei diagramei de dispersie, nu este suficient să faceți dublu clic pe un canal de analizat, deoarece această analiză este efectuată folosind 2 canale simultan. Pentru a efectua această analiză, fie țineți apăsat SHIFT și faceți clic pentru a evidenția canalele de analizat, fie trageți cursorul mouse-ului deasupra canalelor. După ce canalele dorite au fost evidențiate, faceți clic pe **Show** (Afișare).

Lista se va actualiza și va afișa toate canalele pe un singur rând, cu o bifă în dreptul lor. Acest lucru indică faptul că toate vor fi utilizate în cadrul unei singure analize. Pentru a elimina unul sau mai multe dintre aceste canale, faceți clic dreapta pe analiză și selectați **Remove Analysis...** (Eliminare analiză...). Aceste canale pot fi apoi incluse într-o altă analiză a diagramei de dispersie. Un canal poate fi utilizat doar în câte o analiză pe rând.

Reports (Raportare): Acest element deschide raportul **Scatter Analysis** (Analiză dispersie) pentru vizualizare.

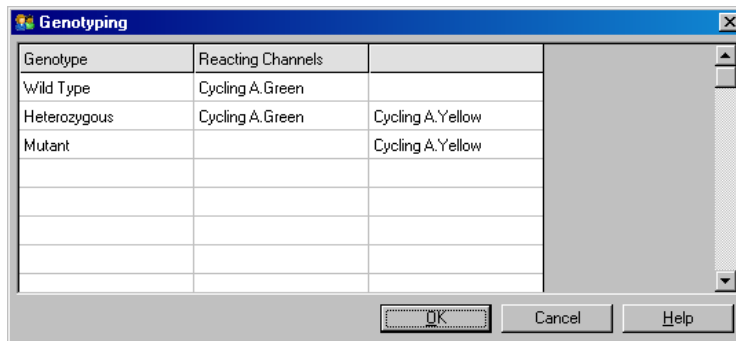
Results (Rezultate): Acest element afișează fereastra Scatter Analysis Results (Rezultate analiză dispersie). Această fereastră este deschisă implicit când analiza este afișată pentru prima dată.

Opțiuni de normalizare: Este disponibilă o varietate de opțiuni pentru optimizarea normalizării datelor brute:

- **Dynamic Tube** (Tub dinamic) (normalizarea tubului dinamic)
- **Slope Correct** (Corecție pantă) (corecția pantei zgomotului)
- **Ignore First x cycles** (Se ignoră primele x cicluri) (corecție pentru zgomot în ciclurile inițiale)
- **Ajustarea punctului de plecare**

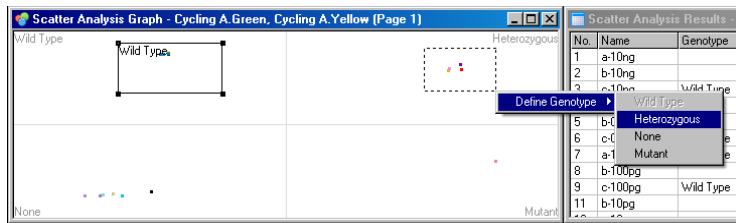
Pentru mai multe detalii, consultați pagina 93.

Genotypes (Genotipuri): Acest element deschide fereastra **Genotyping** (Genotipare) utilizată pentru definirea tipului de genotip detectat pe fiecare canal. În această fereastră, genotipurile pot fi atribuite pe baza canalelor pe care reacționează o probă. Canalele selectate vor fi folosite pentru a eticheta colțurile diagramei de dispersie și vor ghida utilizatorul către zona generală a diagramei de dispersie în care trebuie definite regiuni.



Scatter Graph (Diagramă de dispersie): Diagrama de dispersie afișează expresia relativă a celor 2 canale selectate. Afișajul este normalizat pentru a ține cont de creșterile multiplicare de diferite ori pe fiecare canal și transformat logaritmic pentru a accentua diferențele de expresie între probe.

Pentru a efectua genotiparea, utilizatorul definește regiuni făcând clic și glisând o selecție pe diagramă. Selecția poate fi apoi etichetată pe baza genotipurilor configurate în fereastra **Genotyping** (Genotipare).



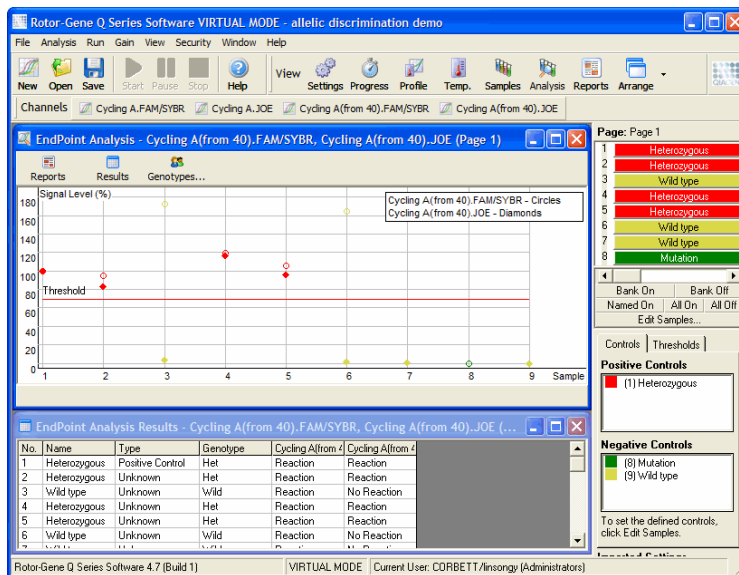
Scatter graph analysis templates (Șabloane pentru analiza diagramei de dispersie): Șabloanele pentru analiza diagramei de dispersie permit exportul setărilor de genotip și regiune într-un singur fișier *.sct. Acest fișier poate fi importat și reaplicat în alte experimente. Consultați Secțiunea 7.1 pentru mai multe detalii.



6.6.9 Analiza EndPoint

Analiza EndPoint permite diferențierea între probele amplificate și cele neamplificate la sfârșitul unei testări. Rezultatele sunt calitative (pozitive/negative), nu cantitative.

Analiza EndPoint este afișată în captura de ecran de mai jos.



Analiza EndPoint este similară cu discriminarea alelică, adică rezultatele sunt calitative, iar numele pot fi atribuite unor permutări diferite de reacții pe canale diferite. Cu toate acestea, în analiza EndPoint, este disponibilă doar o singură citire, spre deosebire de discriminarea alelică, care utilizează o citire ciclu cu ciclu pentru fiecare probă. Aceasta înseamnă că utilizatorul trebuie să identifice substanțele de control pozitive și negative pentru a facilita analiza. Pentru datele brute, nivelurile de semnal sunt normalizate în raport cu substanțele de control pozitive și negative cunoscute pentru fiecare canal. Utilizatorul selectează apoi un nivel de semnal procentual ca prag.

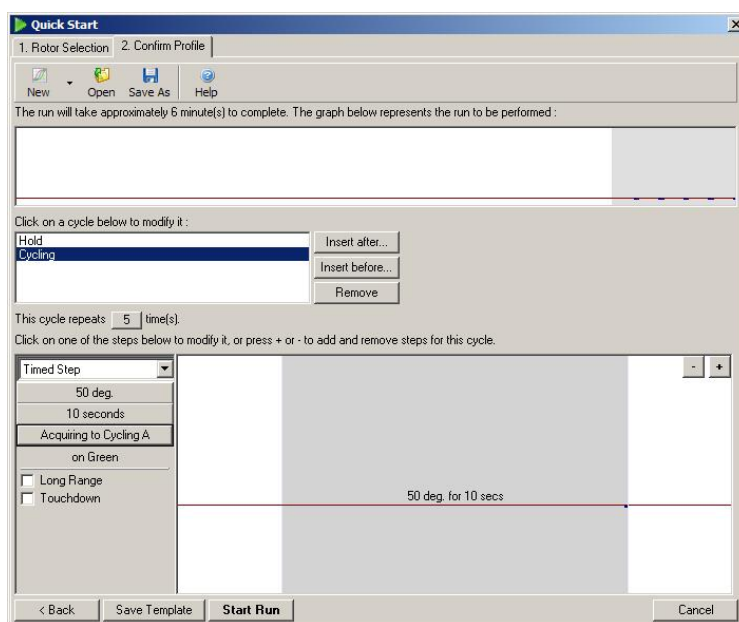
Termeni utilizați în analiza EndPoint

Unii termeni utilizați în analiza EndPoint sunt explicați mai jos.

| | |
|---|--|
| Positive control (Substanță de control pozitivă): | Aceasta este o probă despre care se cunoaște faptul că acceptă amplificarea. |
| Negative control (Substanță de control negativă): | Aceasta este o probă despre care se cunoaște faptul că nu acceptă amplificarea. Aceasta reprezintă semnalul tipic de fond. |
| Threshold (Prag): | Pragul este un nivel de semnal peste care se spune că o probă este pozitivă (amplificată). Această setare trebuie ajustată de utilizator pentru fiecare testare. |

| | |
|---------------------------------|--|
| Signal level (Nivel de semnal): | Un procent de semnal fluorescent, normalizat astfel încât cel mai puternic semnal al substanțelor de control pozitive să fie 100 % și cel mai slab semnal al substanțelor de control negative să fie 0 %. |
| Genotype (Genotip): | O interpretare a diferitelor permutări ale reacțiilor pe diferite canale. De exemplu, genotipul „heterozygous” (heterozigot) ar putea fi atribuit probelor care au reacționat atât pe canalul verde, cât și pe cel galben. Genotipul poate fi folosit și pentru a raporta rezultatele reacțiilor cu substanțe de control interne. De exemplu, rezultatele ar putea fi raportate ca „inhibited” (inhibate), „positive” (pozitive) sau „negative” (negative), în funcție dacă s-a observat sau nu o reacție pe anumite canale. |

Configurația profilului



Pentru a efectua analiza EndPoint, efectuați un profil cu o reținere la 50 °C timp de câteva minute, apoi o etapă de ciclare cu 1 treaptă (50 °C timp de 10 s), realizând achiziția pe canalul necesar. Setați numărul de repetări la 5, așa cum se arată mai sus. Aceste perioade de timp sunt doar orientative și pot varia în funcție de aplicația dvs. specifică. Cu cât profilul are mai multe repetări, cu atât sunt disponibile mai multe informații pentru efectuarea analizei. Analiza va media automat toate citirile pentru a obține câte o singură valoare pentru fiecare probă. Nu este necesar un număr specific de repetări. Dacă nu este necesar un nivel foarte ridicat de acuratețe, 5 repetări sunt de obicei suficiente.

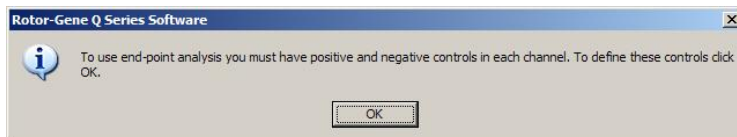
Analiză

Analiza EndPoint poate fi efectuată pe mai multe canale simultan. Pentru a crea o analiză nouă, faceți clic pe fila **EndPoint**, selectați canalele prin glisare pe deasupra cu cursorul mouse-ului, apoi faceți clic pe **Show** (Afișare).



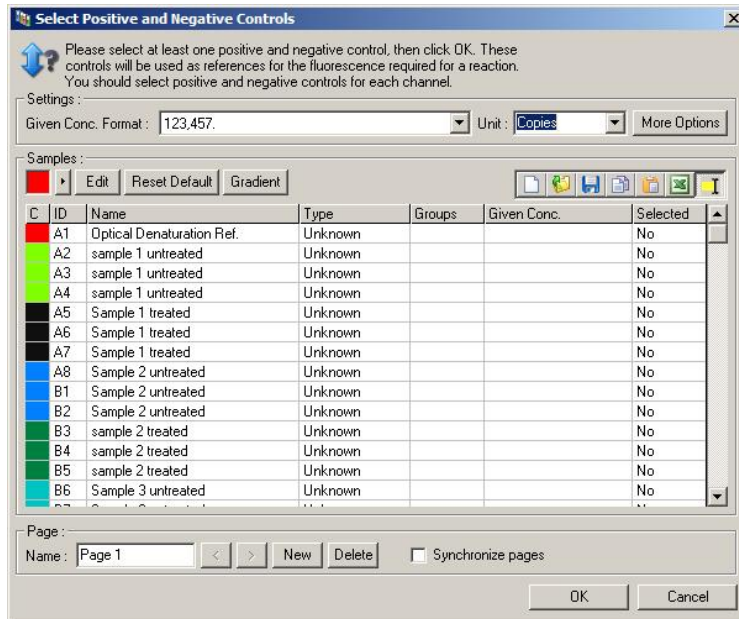
Definirea substanțelor de control

Când o analiză EndPoint este deschisă pentru prima dată, următorul mesaj va fi afișat dacă nu au fost definite substanțe de control pozitive și negative.



Faceți clic pe **OK**. Apare fereastra **Edit Samples** (Editare probe), care permite definirea substanțelor de control pozitive și negative. Pentru a defini o probă ca substanță de control pozitivă sau negativă, faceți clic pe celula cu tipul de probă, apoi selectați tipul de substanță de control relevant din meniul vertical.

Rețineți: Pentru a efectua analiza, substanțele de control trebuie să fie activate folosind comutatorul din partea dreaptă a ferestrei principale.



Acest ecran funcționează la fel ca fereastra **Edit Samples** (Editare probe) (Secțiunea „Configurarea probei”).

Normalizarea

Normalizarea datelor analizei EndPoint scalează toate nivelurile de semnal în intervalul 0-100 %. Trebuie selectată cel puțin o substanță de control pozitivă și una negativă sau mai multe, dacă se analizează mai multe canale și standardele nu sunt multiplexate. Trebuie testate mai multe substanțe de control pozitive și negative dacă există riscul ca o substanță de control pozitivă să nu accepte amplificarea.

1. Sunt analizate toate substanțele de control pozitive pentru fiecare canal, iar cea cu cea mai mare fluorescență este setată la 100 %. Aceasta înseamnă că, dacă sunt testate substanțe de control duplicat, o substanță de control pozitivă poate eșua fără a afecta testarea.
2. Sunt analizate toate substanțele de control negative, iar cea cu cel mai mic nivel de fluorescență este setată la 0 %.
3. Valorile brute de fluorescență ale probelor rămase sunt scalate în raport cu cea mai puternică substanță de control pozitivă și cea mai slabă substanță de control negativă.

De exemplu:

| Probă | Tip | Fluorescență |
|-------|-------------------------------|--------------|
| 1 | Substanță de control pozitivă | 53,6 |
| 2 | Substanță de control pozitivă | 53,0 |
| 3 | Substanță de control negativă | 4,5 |
| 4 | Substanță de control negativă | 4,3 |
| 5 | Probă | 48,1 |
| 6 | Probă | 6,4 |

Această testare a fost o reușită, deoarece cele 2 substanțe de control pozitive și cele 2 substanțe de control negative sunt apropiate și sunt în afara valorilor de fluorescență ale probelor.

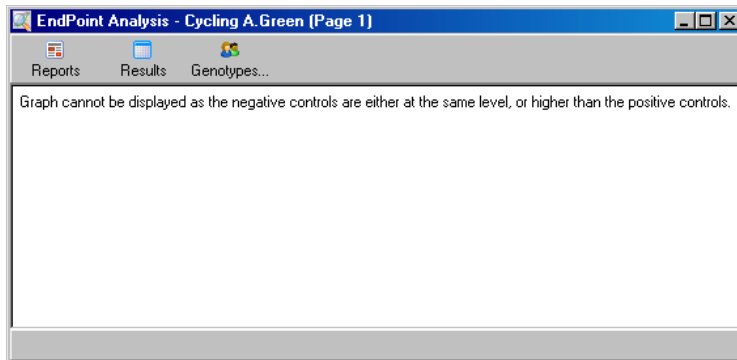
Valorile normalizate sunt:

| Probă | Tip | Expresie (%) |
|-------|-------------------------------|--------------|
| 1 | Substanță de control pozitivă | 100,0 |
| 2 | Substanță de control pozitivă | 97,3 |
| 3 | Substanță de control negativă | 0,4 |
| 4 | Substanță de control negativă | 0,0 |
| 5 | Probă | 84,2 |
| 6 | Probă | 4,0 |

Proba 1 a fost substanța de control pozitivă cu cea mai mare fluorescență, așa că a fost setată la 100 %. Cealaltă substanță de control pozitivă a fost ușor mai slabă. Proba 4, cea mai slabă substanță de control negativă, a fost setată la 0 %. Acum este clar că proba 5 probabil s-a amplificat, în timp ce proba 6 probabil nu s-a amplificat.

Rețineți: În funcție de substanțele de control pozitive și negative selectate, este posibil să se obțină niveluri ale expresiei mai mari de 100 % sau mai mici de 0 %. Un rezultat mai mare de 100 % poate fi interpretat ca însemnând că proba este exprimată mai puternic decât substanțele de control pozitive. Un rezultat mai mic de 0 % poate fi interpretat ca însemnând că este mai puțin probabil ca proba să accepte amplificarea decât ca substanțele de control negative să accepte amplificarea. Deoarece această analiză este calitativă, astfel de rezultate nu reprezintă o preocupare.

Dacă substanțele de control negative au ca rezultat o fluorescență mai mare decât substanțele de control pozitive, probele au fost configurate incorect și apare următorul mesaj.



Normalizarea pe mai multe canale

Este posibil să se analizeze datele semnalului pe mai multe canale, dar configurarea probei este mai complexă. Analiza EndPoint presupune că multiplexarea este efectuată și astfel fiecare tub poate avea doar o singură poziție dedicată. În prezent, nu este posibil să se analizeze o configurație în care o poziție a probei este o substanță de control pozitivă pentru un canal și o substanță de control negativă pentru altul.

Deși în fereastra **Edit Samples** (Editare probe) este dată o singură definiție a probei per poziție a tubului, normalizarea are loc independent pentru fiecare canal.

Dacă poziția unui tub este o substanță de control pozitivă pentru cel puțin un canal, aceasta trebuie specificat drept substanță de control pozitivă în coloana „Type” (Tip) a ferestrei **Edit Samples** (Editare probe). În caz contrar, tipul acesteia trebuie să fie **Sample** (Probă). Acest lucru este valabil și pentru substanțele de control negative.

De exemplu, dacă o probă este o substanță de control pozitivă pe canalul verde, dar nu pe canalul galben, proba trebuie totuși definită ca o substanță de control pozitivă. Deoarece este utilizată cea mai puternică substanță de control pozitivă pe fiecare canal, dacă există cel puțin o substanță de control pozitivă pe canalul galben care acceptă amplificarea, definiția probei ca substanță de control pentru canalul verde este ignorată.

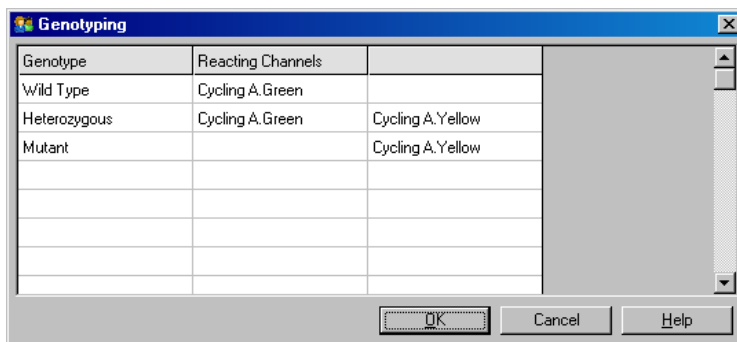
Prag

Pragul este utilizat pentru a determina expresia procentuală necesară pentru o reacție pe fiecare canal. După definirea substanțelor de control pozitive și negative, toate canalele vor fi normalizate la aceeași scară 0-100 %. Din acest motiv, este necesar un singur prag, chiar și atunci când se analizează mai multe canale.

Faceți clic și glisați linia de prag într-o zonă între 0 și 100. Pragul nu trebuie să fie prea apropiat de probele de o parte și de alta a liniei, deoarece acest lucru indică faptul că analiza nu a fost concludentă. Dacă diferența dintre o probă definită ca amplificată sau neamplificată este de doar câteva procente, aceasta înseamnă că, dacă reacția s-ar repeta, proba ar putea apărea de cealaltă parte a pragului.

Genotipuri

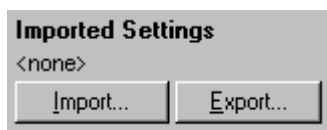
Această opțiune deschide fereastra **Genotyping** (Genotipare) utilizată pentru definirea tipului de genotip detectat pe fiecare canal.



Această fereastră permite atribuirea genotipurilor la canale. În exemplul de mai sus, o probă este heterozigotă dacă citirile de pe canalele Cycling A.Green (Ciclare A.Verde) și Cycling A. Yellow (Ciclare A.Galben) depășesc pragul.

Șabloane pentru analiza EndPoint

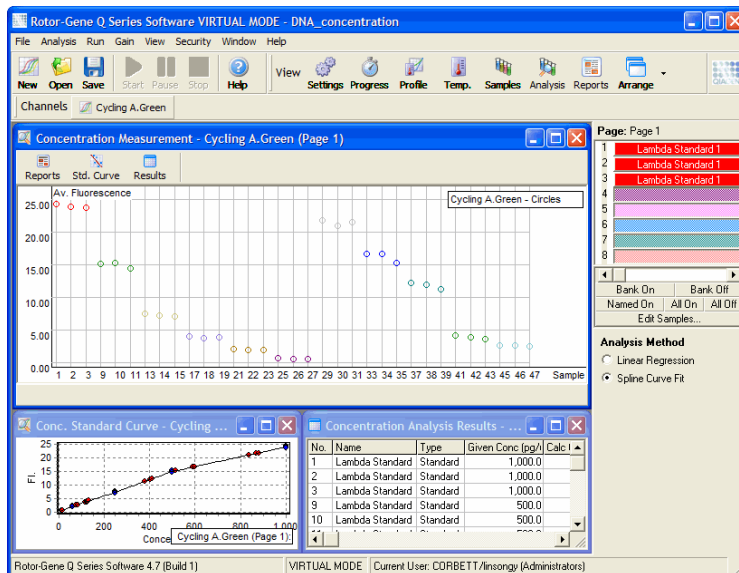
Șabloanele pentru analiza EndPoint îi permit utilizatorului să exporte setările de genotip și prag într-un singur fișier *.ent. Acest fișier poate fi importat și reaplicat în alte experimente. Consultați Secțiunea 8.1 pentru mai multe detalii.



6.6.10 Analiza concentrației

Analiza concentrației permite utilizarea Rotor-Gene Q MDx pentru a măsura concentrațiile de ADN sau pentru a obține citiri ale fluorometrului.

Captura de ecran de mai jos prezintă această analiză.



Pregătirea unei testări

Pentru a efectua analiza concentrației, pregătiți mai întâi standarde și probe fluorescente, în mod ideal, în triplicat.

Pregătirea standardelor

Se utilizează o curbă standard pentru a determina concentrația de ADN din fiecare probă măsurată.

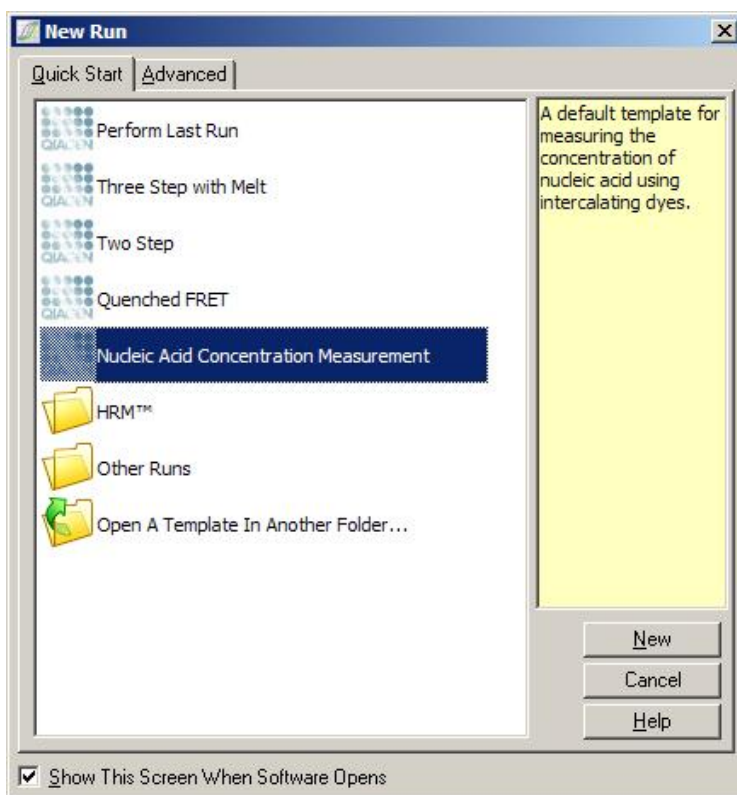
ADN-ul utilizat pentru curba standard trebuie să fie de un tip similar celui din probele măsurate. Concentrația a cel puțin unei probe de ADN trebuie determinată folosind spectrometria în domeniul ultraviolet, iar această probă trebuie folosită ca standard. Trebuie utilizate minim 3 standarde (cu duplicate). Este important că standardele ADN utilizate în detecția fluorescenței sunt liniare doar în intervalul 1-100 ng/μl. În acest interval, în cazul în care concentrația de ADN este înjumătățită, la fel se întâmplă și cu citirea fluorescenței. Intervalele de încredere pentru orice concentrație în afara acestui interval sunt foarte largi, datorită lipsei de liniaritate a substanței chimice.

Tipul de ADN măsurat

Au fost observate diferențe în măsurarea diferitelor forme de ADN (de exemplu, ADN-ul genomic în comparație cu ADN-ul plasmidic). Prin urmare, numai tipurile similare de ADN trebuie măsurate împreună, iar utilizarea ADN-ului plasmidic ca standard ar trebui evitată atunci când se măsoară ADN-ul genomic.

Configurarea testării

Pentru configurarea testării, selectați **Nucleic Acid Concentration Measurement** (Măsurarea concentrației de acid nucleic) din expertul Quick Start (Pornire rapidă).



Rețineți: Asigurați-vă că o substanță de control pozitivă, cum ar fi un standard de concentrație ridicată, este testată în poziția 1 a tubului. În lipsa unei substanțe de control pozitive, software-ul nu va putea optimiza setările de amplificare pentru sensibilitate maximă. Veți fi informat în acest sens înainte de fiecare testare.

Analiză

Analiza concentrației funcționează prin raportarea nivelului de fluorescență la o valoare a concentrației. Sunt disponibile două modele de analiză. Analiza optimă pe care o veți selecta depinde de substanța chimică și de aplicație.

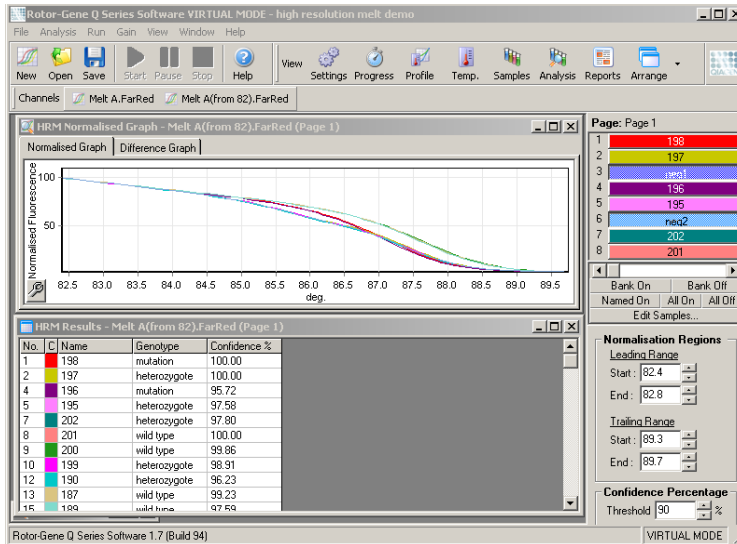
„Linear Regression” (Regresie liniară) analizează datele presupunând o relație liniară și estimând valori necunoscute pe baza unui model liniar generat. Aceasta determină eroarea de măsurare prin examinarea abaterii citirilor față de un model liniar. Dacă citirile concentrației sunt liniare, aceasta este cea mai potrivită analiză, deoarece pune la dispoziția utilizatorului analiza statistică a variației (analysis of variation, ANOVA).

„Spline Curve Fit” (Potrivire curbă de tip Spline) presupune doar că valorile concentrației cresc odată cu fluorescența. Deși această abordare face ca estimările datelor neliniare să fie mai exacte, nu poate asigura ANOVA, deoarece nu presupune un model liniar.

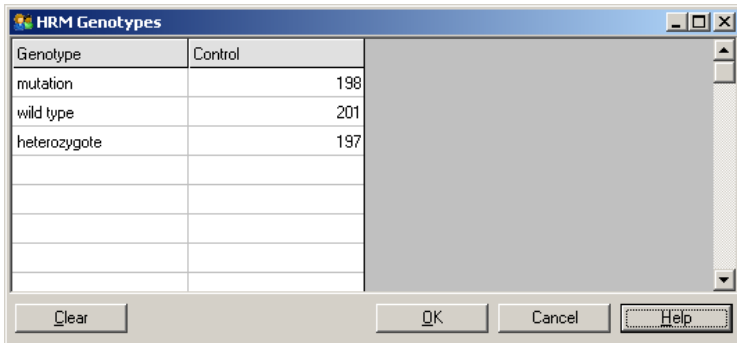
6.6.11 Analiza topirii la înaltă rezoluție

Analiza topirii la înaltă rezoluție (High Resolution Melt, HRM) caracterizează probele pe baza lungimii secvenței, a conținutului GC și a complementarității. Analiza HRM este utilizată în aplicațiile de genotipare, cum ar fi analiza mutațiilor genelor sau polimorfismele uninucleotidice (single nucleotide polymorphism, SNP) și în aplicațiile de epigenetică pentru analiza stării de metilare a ADN-ului. Analiza HRM oferă rezultate exacte și economii de preț în cazul sondelor și al etichetelor, în comparație cu alte metode.

Pentru a efectua analiza, selectați **Other** (Altele), apoi **High Resolution Melt Analysis** (Analiză topire la înaltă rezoluție) în fereastra **Analysis** (Analiză). Faceți dublu clic pe canalul de analizat. Curbele de topire de la canalul brut sunt normalizate prin medierea tuturor valorilor de fluorescență inițială și finală și apoi prin forțarea punctelor finale ale fiecărei probe, pentru ca acestea să fie egale cu media.



Apelarea automată a probelor se realizează făcând clic pe **Genotypes** (Genotipurii). Introduceți numele genotipului, urmat de numărul probei folosite ca substanță de control pozitivă, pentru a apela automat probe necunoscute.



Pentru mai multe detalii despre analiza HRM, consultați Secțiunea 10.

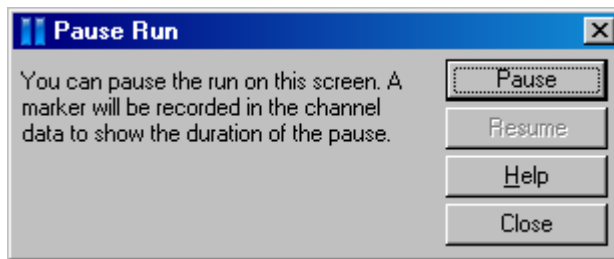
6.7 Meniul Testare


6.7.1 Pornire testare

Această opțiune inițiază profilul de temperatură definit cu setările curente de amplificare. Înainte de începerea testării apare fereastra **Profile Run Confirmation** (Confirmare testare profil). Pentru fiecare canal se afișează câte o reprezentare grafică a profilului de temperatură, împreună cu setările de amplificare.

6.7.2 Întrerupere testare

Această opțiune permite întreruperea și reluarea unei testări. Întreruperea și reluarea pot afecta grav rezultatele unei testări. Din acest motiv, un marker din date va indica faptul că testarea a fost întreruptă, precum și durata pauzei. De asemenea, apare un mesaj în fila Messages (Mesaje) din fereastra **Run Settings** (Setări testare) (consultați Secțiunea 6.8.1).



| | |
|--|---|
| <p>AVERTIS- MENT</p>  | <p>Suprafață fierbinte</p> <p>La întreruperea unei testări, Rotor-Gene Q MDx nu se va răci complet la temperatura camerei. Aveți grijă înainte să manipulați rotorul sau posibilele tuburi din instrument.</p> |
|--|---|

6.7.3 Oprire testare

Dacă această opțiune este selectată, va apărea un mesaj care va solicita confirmarea opririi testării.

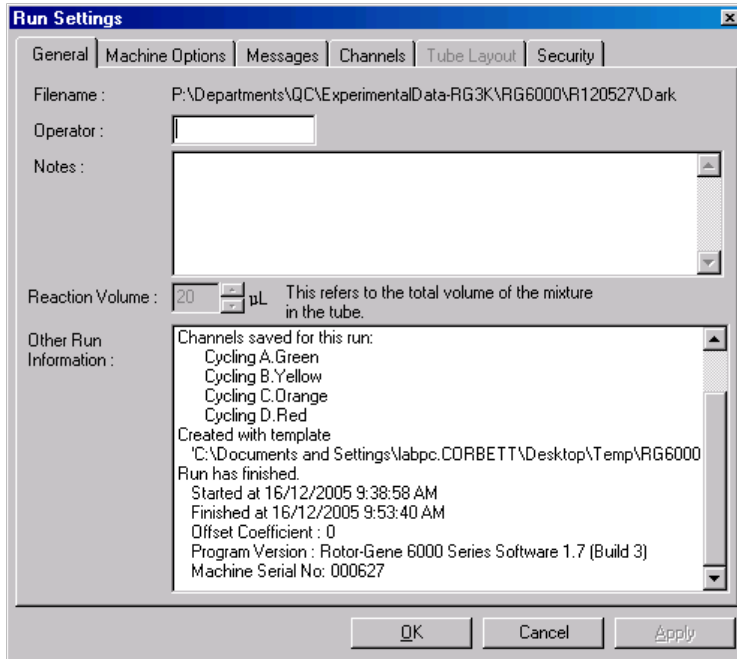
6.8 Meniul Vizualizare

6.8.1 Setări testare

Generalități

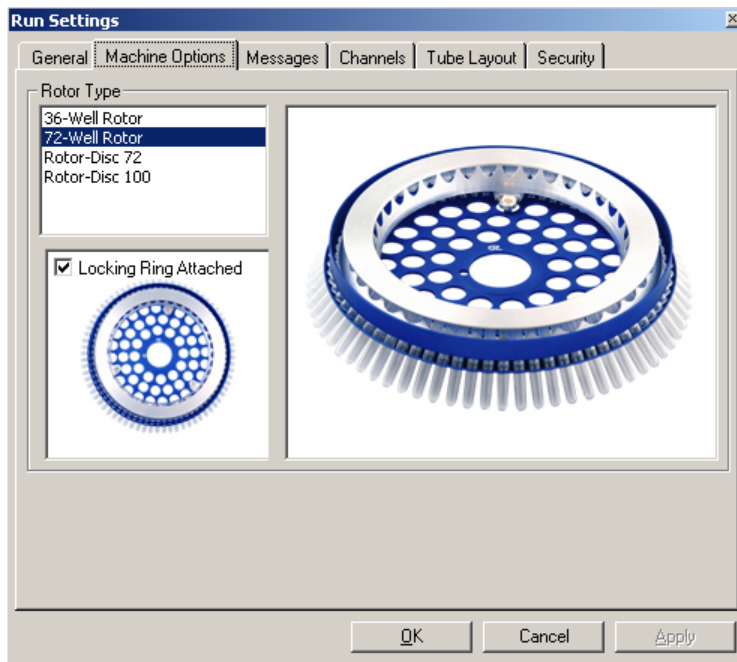
Această fereastră permite configurarea informațiilor despre testare, numele fișierului de testare, data analizei, operatorul și orice notă asociată.

Fereastra conține toate informațiile, cu excepția profilului, necesare pentru a configura o testare. După finalizarea unei testări, în această fereastră sunt afișate următoarele informații: ciclul utilizat, setările de amplificare, numărul de canale și ora de început și de sfârșit.



Opțiuni aparat

Această filă afișează setările pentru configurarea Rotor-Gene Q MDx.



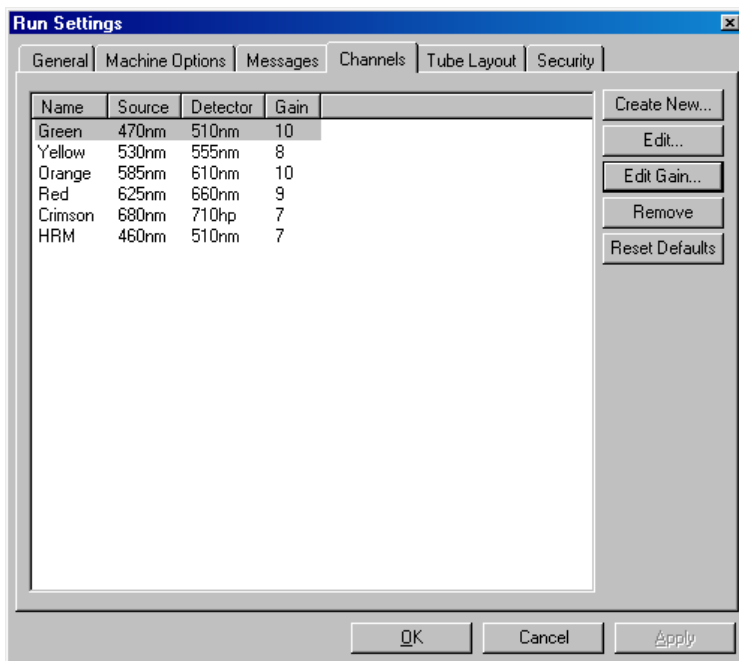
Rotorul trebuie setat la cel instalat în prezent în Rotor-Gene Q MDx. Dacă deschideți o testare existentă, această setare va reflecta rotorul care a fost instalat în ciclator la momentul respectiv.

Mesaje

Această filă afișează mesaje care indică dacă utilizatorul a făcut modificări, cum ar fi întreruperea ciclatorului sau omiterea ciclurilor în timpul unei testări. De asemenea, afișează avertismentele primite în timpul testării. Dacă rezultatele nu sunt cele preconizate, consultați această filă.

Canale

La configurarea unei testări noi, fila Channels (Canale) afișează configurația curentă a canalelor disponibile. Dacă vizualizați o testare existentă, informațiile afișate reprezintă configurația canalelor la momentul efectuării testării. Dacă o testare deteriorează setările pentru canal, canalele implicite pot fi restabilite dacă faceți clic pe **Reset Defaults** (Resetare la valorile implicite).



- Name (Nume):** Acesta este numele canalului.
- Source (Sursă):** Aceasta specifică lungimea de undă de excitație a LED-ului sursă.
- Detector:** Acesta specifică lungimea de undă de detecție și tipul de filtru (nm = trece bandă, hp = trece sus).
- Gain (Amplificare):** Aceasta specifică amplificarea pentru canalul respectiv.

| | |
|---------------------------------------|--|
| Create New... (Creare nou...): | Această caracteristică permite crearea de noi canale. Dacă faceți clic pe Create New... (Creare nou...) se deschide o fereastră care solicită un nume nou, o sursă nouă și un filtru de detecție nou. Filtrele pot fi selectate folosind meniul vertical din dreptul fiecărei ferestre. |
| Channels (Canale): | Canalul verde, galben, portocaliu și roșu sunt configurații standard pentru detecția multiplex pe 4 canale. |

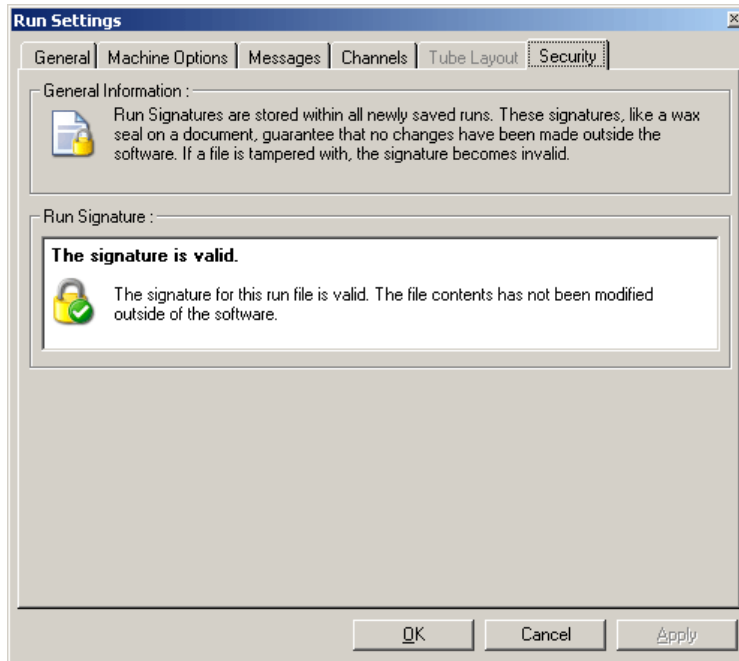
Disponere tuburi

Dacă utilizați un 72-Well Rotor, probele pot fi aranjate astfel încât să se potrivească aproape perfect cu etichetarea de pe un bloc 9 x 8. În mod implicit, fila Tube Layout (Disponere tuburi) permite etichetarea secvențială a probelor (adică, 1, 2, 3...). Aceasta înseamnă că probele sunt etichetate consecutiv, în ordinea în care sunt amplasate în Rotor-Gene Q MDx. Alternativ, probele pot fi etichetate cu 1A, 1B, 1C etc. Această opțiune poate fi utilă dacă probele au fost configurate cu o pipetă multicanal.

Securitate

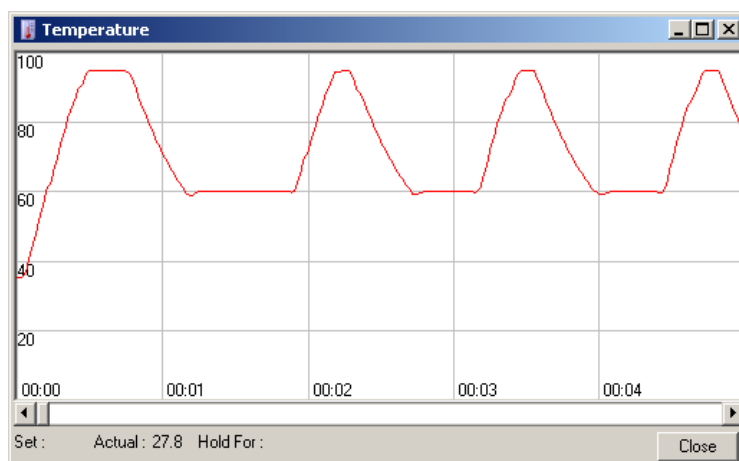
Fila Security (Securitate) afișează informații despre semnătura testării. Semnătura testării este o cheie ireversibilă care se regenerează de fiecare dată când fișierul este modificat. Dacă vreo secțiune a fișierului *.rex este modificată în afara software-ului, semnătura nu va mai coincide cu fișierul. Verificarea semnăturii permite confirmarea faptului că datele brute nu au fost modificate în afara aplicației, că profilul nu a fost manipulat și că graficul temperaturii este valid. Semnătura protejează, de asemenea, împotriva deteriorării, cum ar fi erorile la sistemul de fișiere.

Rețineți: Dacă fișierele *.rex sunt trimise prin e-mail, procesul de criptare poate invalida semnătura. Pentru a evita acest lucru, arhivați fișierul înainte de a-l trimite prin e-mail.



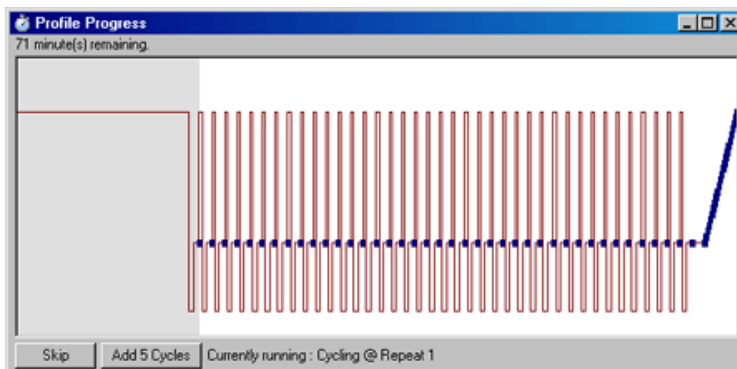
6.8.2 Grafic temperatură

Selecționați **Temperature Graph** (Grafic temperatură) din meniul **View** (Vizualizare) sau faceți clic pe butonul **Temp.** pentru deschiderea ferestrei **Temperature** (Temperatură). Graficul afișează evoluția temperaturilor setate în timpul ciclării. Nu reflectă o măsurare a temperaturii în timp real. Pe măsură ce testarea continuă, timpul **Set** (Setat), **Actual** (Real) și **Hold** (Reținere) sunt afișate în fiecare etapă a programului. Pentru un fișier de testare existent, fereastra **Temperature** (Temperatură) afișează istoricul de temperatură din timpul testării. Scara verticală reprezintă temperatura, iar scara orizontală reprezintă timpul. Utilizați bara de defilare pentru a defila înainte și înapoi prin fereastra **Temperature** (Temperatură).



6.8.3 Progres profil

Selecțaiți **Profile Progress** (Progres profil) din meniul **View** (Vizualizare) sau faceți clic pe butonul **Progress** (Progres) pentru deschiderea ferestrei **Profile Progress** (Progres profil). Această fereastră arată o reprezentare grafică a profilului termic asociat testării. Când efectuați o testare, porțiunea umbrită a ferestrei indică numărul de cicluri care au fost finalizate. De asemenea, există o estimare a numărului de minute până la finalizarea testării.



Skip (Omitere):

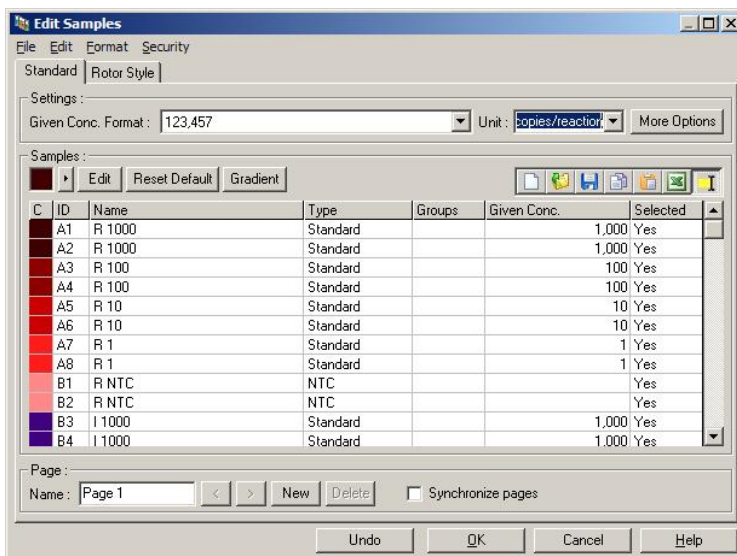
Skip (Omitere) permite omiterea oricăror etape ale profilului.

Add 5 Cycles

(Se adaugă 5 cicluri):

Add 5 Cycles (Se adaugă 5 cicluri) adaugă 5 repetări la etapa de ciclare curentă.

6.8.4 Editare probe



Faceți clic pe butonul **Samples** (Probe) pentru deschiderea ferestrei **Edit Samples** (Editare probe). De asemenea, fereastra **Edit Samples** (Editare probe) poate fi accesată și făcând clic dreapta deasupra listei de probe din dreapta ecranului. Această fereastră are o funcționalitate identică cu cea a ferestrei **Edit Samples** (Editare probe) din experți, cu excepția faptului că funcțiile barei de instrumente sunt disponibile și în meniurile File (Fișier) și Edit (Editare).

În partea de sus a ferestrei apar patru meniuri, **File** (Fișier), **Edit** (Editare), **Format** și **Security** (Securitate). Meniul File (Fișier) este folosit pentru a crea o fereastră **Edit Samples** (Editare probe) nouă (necompletată), pentru a deschide un șablon pentru probe existent sau pentru a salva numele probelor ca șablon pentru utilizare ulterioară. Extensia acestor fișiere șablon este *.smp. Meniul **Edit** (Editare) permite copierea și lipirea rândurilor. Meniul Security (Securitate) permite blocarea definițiilor probelor.

Rețineți: Dacă numele probelor sunt introduse foarte rapid în timpul testării (de exemplu, utilizând un scanner de coduri de bare), această acțiune poate duce la modificarea ordinii literelor în numele eșantioanelor. Prin urmare, se recomandă să evitați utilizarea unui scanner de coduri de bare și, dacă este cazul, să introduceți numele probelor după finalizarea testării.



Acest meniu vertical este folosit pentru a selecta un format potrivit pentru afișarea concentrației. Concentrațiile sunt formate automat, în funcție de locația selectată în prezent.



Acest meniu vertical setează unitățile de măsură pentru test.

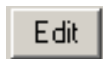


Buton

Importanță

Line style (Stil linie):

Stilul liniei poate fi modificat pentru a îmbunătăți lizibilitatea graficelor pe imprimantele alb-negru. Anumite linii pot fi evidențiate prin modificarea stilului aferent. Pentru a accesa această caracteristică, faceți clic pe butonul săgeată dreapta din dreptul butonului **Edit** (Editare).



Dacă apăsați pe „**Edit**” (Editare) se va deschide selectorul de culoare. La atribuirea unei culori tuburilor pot fi selectate mai multe rânduri.



Faceți clic pe „**Reset Default**” (Resetare la valoarea implicită) pentru a reseta toate celulele colorate selectate înapoi la valorile implicite de culoare.



„**Gradient**” permite selectarea unui gradient de la prima până la ultima culoare selectată. În timpul configurării unei probe pot fi definiți mai mulți gradienti.





Pictograma **New** (Nou) golește fereastra **Edit Samples** (Editare probe) pentru a pregăti introducerea datelor.



Pictograma **Open** (Deschidere) afișează o casetă de dialog în care poate fi selectat un fișier Rotor-Gene Q MDx pentru importare.

Rețineți: Numărul de probe din fereastra deschisă trebuie să coincidă cu cel din fișierul importat.



Pictograma **Save** (Salvare) afișează o casetă de dialog în care se pot introduce numele și folderul în care va fi salvată o copie a definițiilor probelor curente.



Pictograma **Copy** (Copiere) copiază celulele selectate.



Pictograma **Paste** (Lipire) lipește celulele care au fost selectate cu comanda de copiere în poziția selectată în prezent pe grilă.



Pictograma **Excel** afișează o casetă de dialog care solicită un nume de fișier și un folder în care să salvați informațiile despre probe. După ce apăsați pe **Save** (Salvare), fișierul Excel se deschide automat.



Pictograma **Append/Overwrite** (Ațașare/Suprascriere) modifică editarea celulelor din fereastra **Edit Samples** (Editare probe). Dacă se selectează **Overwrite** (Suprascriere), datele existente sunt suprascrise la editare. Dacă se selectează **Append** (Ațașare), datele noi sunt adăugate la finalul datelor existente la editare.

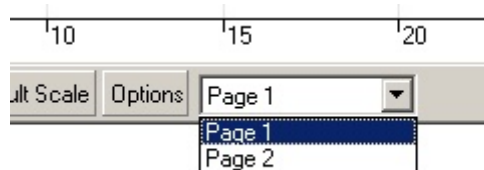
Sample Types (Tipuri de probe): Probele pot fi definite cu unul din mai multe tipuri, enumerate în tabelul următor.

| Tip probă | Descriere |
|--|---|
| None (Niciunul) | Nicio probă în poziția respectivă |
| NTC | Substanță de control fără șablon |
| Negative Control (Substanță de control negativă) | Substanță de control negativă |
| Positive Control (Substanță de control pozitivă) | Substanță de control pozitivă |
| Unknown (Necunoscut) | Probă necunoscută de analizat |
| Standard | Valorile standard sunt utilizate pentru a construi o curbă standard pentru calculul concentrațiilor probelor necunoscute |
| Calibrator (RQ) | Calibratorului i se atribuie o valoare de 1 și toate celelalte concentrații ale probei sunt calculate raportat la această probă |

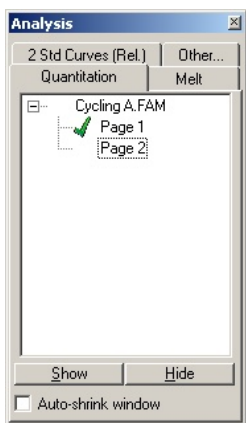
Page (Pagină):

Această funcție îi permite utilizatorului să folosească diferite definiții ale probelor și, de asemenea, experimente separate, în aceeași testare. Acest lucru este util pentru analiza diferitelor produse pe diferite canale. Utilizați butoanele săgeată pentru a comuta între paginile pentru probe. Utilizați butoanele **New** (Nou) și **Delete** (Ștergere) pentru crearea și ștergerea paginilor. Pot exista mai multe definiții pentru probe pentru același canal, pentru a testa mai multe curbe standard fără multiplexare. Pur și simplu definiți probele de interes și curbele standard aferente acestora pe pagini separate. Canalul unic poate fi apoi analizat cu fiecare set de definiții, în mod independent. Paginile pentru probe pot fi etichetate **Page 1** (Pagina 1), **Page 2** (Pagina 2) etc. sau pot primi orice nume (de exemplu, „Housekeeper” (Administrare)). Acest nume va apărea în rapoarte.

Când vizualizați datele brute, definițiile probelor utilizate pentru afișarea datelor pot fi selectate folosind meniul vertical din dreptul butonului **Options** (Opțiuni):



Pagina pentru probă care trebuie utilizată la efectuarea unei analize poate fi selectată în fereastra **Analysis** (Analiză) (consultați Secțiunea 6.6.1).



Given Conc.
(Concentrație dată):

Aceasta arată concentrația pentru fiecare dintre standarde. Unitățile pot fi definite ca număr zecimal sau logaritmic. Dacă standardele reprezintă o serie de diluții, este necesar să introduceți numai primele 2 standarde. Dacă apăsați pe ENTER, programul adaugă automat următoarea diluție logică din serie.

Line style (Stil linie):

Stilul liniei poate fi modificat pentru a îmbunătăți lizibilitatea graficelor pe imprimantele alb-negru. Anumite linii pot fi evidențiate prin modificarea stilului aferent. Pentru a accesa această caracteristică, faceți clic pe butonul săgeată dreapta din dreptul butonului **Edit** (Editare).



Bara de instrumente va afișa stilul implicit **Solid**. Acesta poate fi modificat în **Dashed** (Linie întreruptă), **Dotted** (Punctat), **Hairline** (Linie fină), **Thin** (Subțire) sau **Thick** (Gros). După ce ați terminat, faceți clic pe butonul săgeată stânga pentru a reveni la vizualizarea Edit (Editare), Reset Default (Resetare la valoarea implicită) și Gradient.



Multiple row entry
(Introducere pe mai multe rânduri):

Dacă aceleași informații trebuie introduse pe mai multe rânduri simultan, selectați toate rândurile, apoi începeți să tastați. Informațiile vor fi introduse în fiecare rând. Această operațiune funcționează și pentru selectarea tipurilor de probe, selectarea culorilor sau introducerea concentrațiilor.

Sample type hotkey
(Tastă rapidă tip de probă):

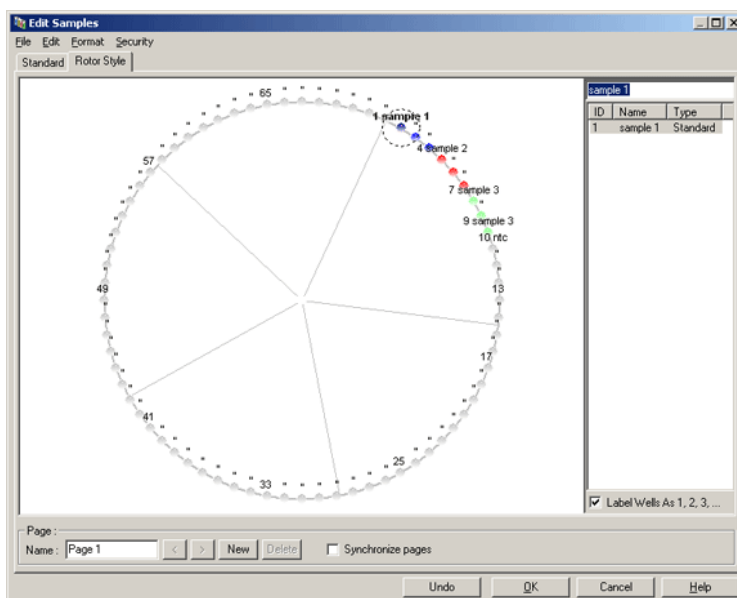
Pentru a selecta rapid un tip de probă, introduceți prima literă a numelui acesteia. De exemplu, pentru a seta 5 probe drept substanțe de control fără șablon, selectați-le în coloana Sample Type (Tip de probă), apoi apăsați N pentru NTC. Toate probele vor fi convertite în NTC.

Save it, reuse it
(Salvați și reutilizați):

O descriere completă a probei poate fi salvată ca fișier șablon (*.smp) și încărcată în testările ulterioare cu aceeași configurație a probei.

Stil rotor

Această filă din fereastra **Edit Samples** (Editare probe) oferă o modalitate alternativă de a introduce numele probelor. Selectați duplicate făcând clic și glisând cursorul mouse-ului peste imaginea rotorului. Lista din dreapta ferestrei se va actualiza. Numele probei poate fi introdus, iar această acțiune va seta același nume pentru selecția curentă. Software-ul recunoaște aceste godeuri ca duplicate.

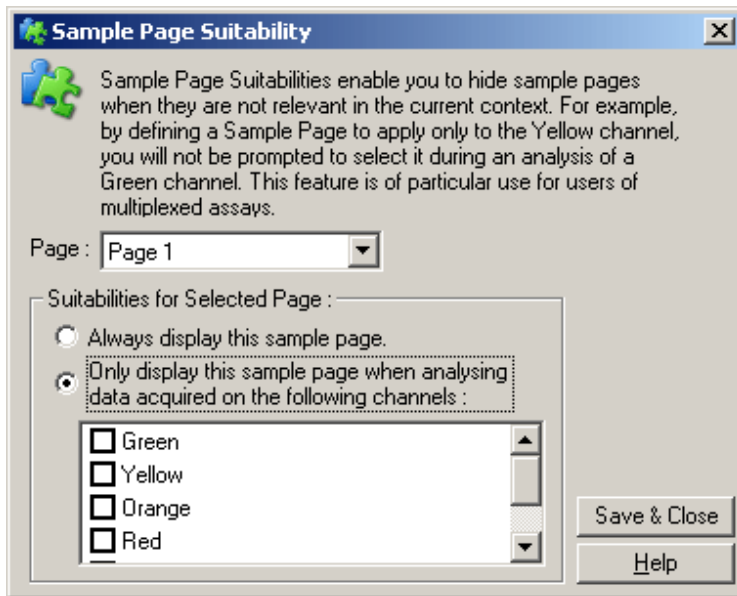


Fila **Rotor Style** (Stil rotor) oferă o versiune redusă a filei **Standard** și este concepută pentru utilizatorii care doresc să configureze rapid numele și culorile probelor. În această filă nu este posibilă definirea unor setări precum posibilitatea ca proba să reprezinte un standard sau concentrația cunoscută a fiecărui standard. Dacă acestea trebuie definite, se recomandă utilizarea filei **Standard**.

Gradul de adecvare al paginii pentru probă

Pentru a accesa fereastra **Sample Page Suitability** (Gradul de adecvare al paginii pentru probă), faceți clic pe **More Options** (Mai multe opțiuni) din fereastra **Edit Samples** (Editare probe), apoi pe **Define Suitabilities** (Definire grade de adecvare). Fereastra **Sample Page Suitability** (Gradul de adecvare al paginii pentru probă) le permite utilizatorilor să asocieze paginile pentru probe cu canalele. De exemplu, pagina pentru probă pentru gena de interes se poate aplica la canalul verde, iar pagina pentru probă pentru gena de administrare se poate aplica la canalul galben. În acest exemplu, configurarea gradului de adecvare al paginii pentru probă reduce numărul de opțiuni de analiză disponibile și le include doar pe cele relevante pentru testul respectiv.

Fereastra **Sample Page Suitability** (Gradul de adecvare al paginii pentru probă) este prezentată mai jos.

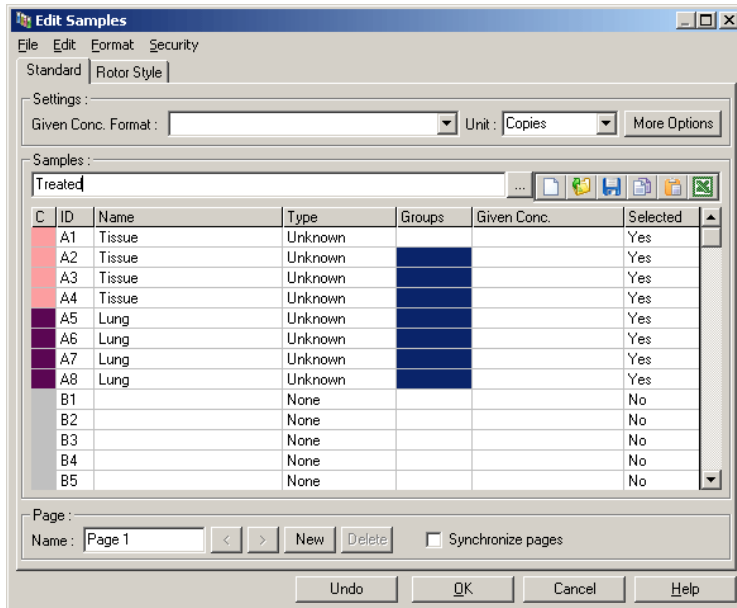


Rețineți: La configurarea unui test, creați toate paginile pentru probe și gradele de adecvare ale paginilor pentru probe, apoi salvați-le ca șablon. Această acțiune reduce efortul de configurare necesar pentru fiecare testare.

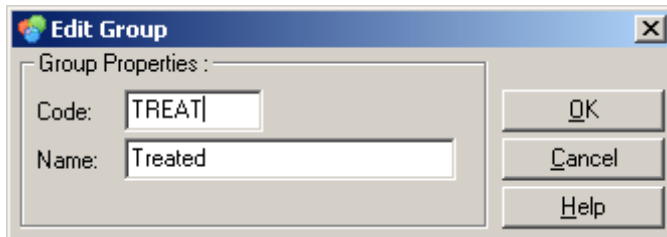
Grupuri

Grupurile de probe permit calcularea statisticilor pentru o colecție arbitrară de probe. Spre deosebire de duplicate, care trebuie să aibă nume identice, probele pot avea orice nume, pot fi poziționate oriunde în rotor și pot aparține mai multor grupuri.

1. Pentru a defini un grup, introduceți numele complet al grupului în dreptul unei probe, apoi apăsați ENTER.



2. Apare fereastra **Edit Group** (Editare grup).

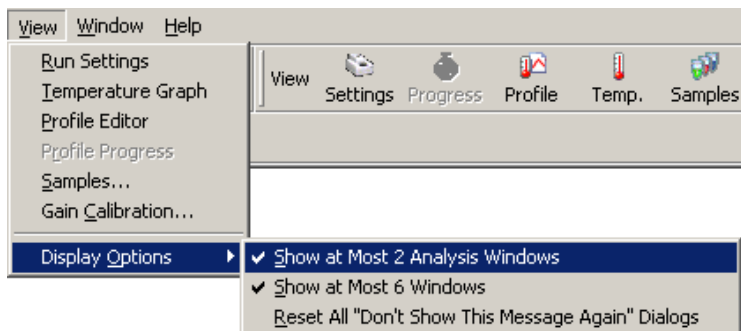


3. Definiți o abreviere adecvată, apoi faceți clic pe **OK**. Abrevierea poate fi folosită acum pentru a configura grupuri. Rezultatele agregate, cum ar fi valoarea medie și intervalele de încredere de 95 %, sunt calculate automat pentru grupuri în orice analiză.

| 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 Opțiuni de afișare

Meniul Display Options (Opțiuni de afișare) este afișat mai jos.



Show at Most 2 Analysis Windows
(Se afișează maximum 2 ferestre de analiză):

Dacă această opțiune este bifată, sunt afișate maximum 2 ferestre de analiză simultan. Dacă sunt deschise mai multe ferestre, lizibilitatea poate fi afectată. Bifarea acestei opțiuni închide prima fereastră de analiză și o înlocuiește cu ultima fereastră deschisă. Dacă opțiunea este debifată, pot fi afișate mai mult de 2 ferestre de analiză.

Show at Most 6 Windows
(Se afișează maximum 6 ferestre):

Pentru a îmbunătăți lizibilitatea, software-ul elimină ferestrele neutilizate atunci când sunt deschise ferestre noi. Această opțiune este activată în mod implicit, deoarece menține gol ecranul software-ului Rotor Gene Q. Dacă este necesar să vedeți mai mult de 6 ferestre simultan, debifați această opțiune.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs
(Se resetează toate casetele de dialog „Nu mai afișați acest mesaj”):

Dacă această opțiune este selectată, software-ul va afișa din nou toate casetele de dialog în care a fost bifată caseta de selectare **Do not display this message again** (Nu mai afișați acest mesaj). Acestea includ mesaje despre setări suspecte, care au fost setate anterior să nu se mai afișeze. Acest aspect poate fi util pentru un utilizator nou, care nu este familiarizat cu Rotor-Gene Q MDx sau cu software-ul Rotor-Gene Q.

6.9 Protecția la accesare pentru software-ul Rotor-Gene Q

Rețineți: Acest capitol descrie protecția la accesare pentru software-ul Rotor-Gene Q. Consultați *Manualul de utilizare Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application* sau *Manualul de utilizare Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application* pentru informații despre software-ul Rotor-Gene AssayManager relevant.

Software-ul Rotor-Gene Q include caracteristici care îi permit să funcționeze în siguranță. Când este configurat corect, software-ul Rotor-Gene Q poate asigura următoarele aspecte:

- Accesul la Rotor-Gene Q MDx sau la software-ul de analiză este limitat la grupuri de utilizatori
- Modificările aduse fișierelor de testare sunt înregistrate
- Sunt detectate modificări (semnături) neautorizate
- Șabloanele folosite pentru a efectua testări sunt înregistrate
- Numele probelor sunt protejate

Integrare cu Windows Security

Pentru a oferi un nivel ridicat de responsabilitate, software-ul Rotor-Gene Q nu gestionează securitatea la nivel intern. Conturile, grupurile și parolele sunt toate gestionate folosind modelul de securitate încorporat Windows (Windows Security). Integrarea permite aceeași parolă care oferă acces la fișierele și programele de rețea pentru a controla accesul la software-ul Rotor-Gene Q, ceea ce duce la un nivel de administrare mai redus. În organizațiile mai mari, de exemplu, administratorii de rețea pot elimina cu ușurință accesul foștilor utilizatori, datorită modelului de securitate centralizat.

Din acest motiv, configurarea în siguranță a software-ului Rotor-Gene Q implică în primul rând configurarea rolurilor Windows Security, conform celor mai bune practici.

Cerințe preliminare

Pentru a utiliza Security, trebuie să rulați Windows 10 sau Windows 7 Professional Edition. Caracteristicile de securitate nu pot fi utilizate cu Windows 10 sau Windows 7 Home Edition, deoarece edițiile Home nu au modelul de acces de finețe utilizat de software. Software-ul trebuie instalat cu opțiunea **Force authentication through Windows domain** (Forțare autentificare prin domeniul Windows).

Rețineți: Meniul Security (Securitate) nu va apărea dacă sunteți conectat la un domeniu Linux Samba. Trebuie să dispuneți fie de o conectare locală, fie de un server Windows pentru a utiliza caracteristicile de securitate.

6.9.1 Configurație pentru Windows 7

Această secțiune descrie modul de configurare a sistemului pentru rularea software-ului Rotor-Gene Q în condiții de siguranță.

Pentru a utiliza caracteristicile de securitate, software-ul trebuie instalat cu opțiunea **Force authentication through Windows domain** (Forțare autentificare prin domeniul Windows). Aceasta interoghează domeniul Windows pentru nivelul de acces și acreditări și este esențială pentru furnizarea de caracteristici de responsabilitate și securitate.

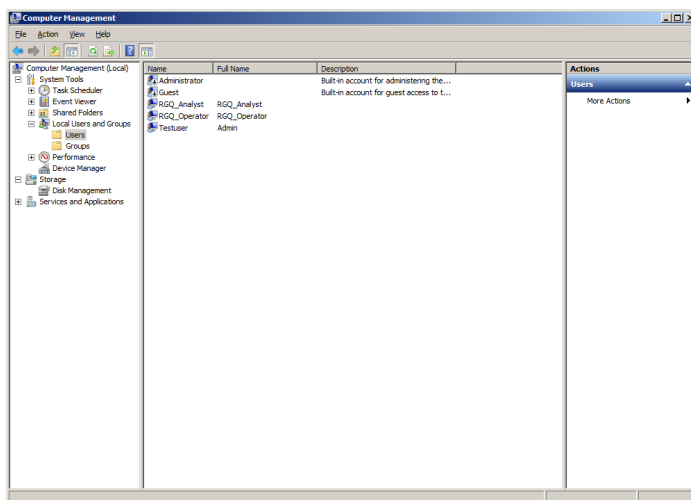
Rularea ca administrator

Mulți utilizatori își rulează computerele ca administrator, fără parolă. Deși acest lucru este confortabil, este imposibil să se determine cine folosește computerul. Astfel se elimină responsabilitatea și se împiedică activarea mai multor măsuri de securitate ale software-ului Rotor-Gene Q. La rularea ca administrator, toate caracteristicile software sunt activate. Prin urmare, rularea ca administrator se asigură că utilizatorii care nu au nevoie de caracteristici de securitate pot accesa toate caracteristicile software.

Crearea unui nou cont de utilizator

Creați conturi de utilizator pentru fiecare utilizator al software-ului. Pentru fiecare utilizator, repetați pașii de mai jos până când toate conturile au fost create.

1. Pentru a crea un utilizator nou, selectați **Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management** (Start/Panou de control/Instrumente de administrare/Gestionare computer), apoi navigați la **Local Users and Groups** (Utilizatori și grupuri locale) din partea stângă.
2. În fereastra care apare, selectați folderul **Users** (Utilizatori). Faceți clic dreapta pe fereastra din dreapta și selectați **New User** (Utilizator nou).



3. Introduceți un nume de utilizator și o parolă. În mod implicit, utilizatorul va fi creat cu privilegiile de acces normale. Aceasta înseamnă că poate rula software, dar nu poate instala programe noi și nu poate modifica setările sistemului.

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. Faceți clic pe **Create** (Creare). Acum vă puteți conecta ca acest utilizator.

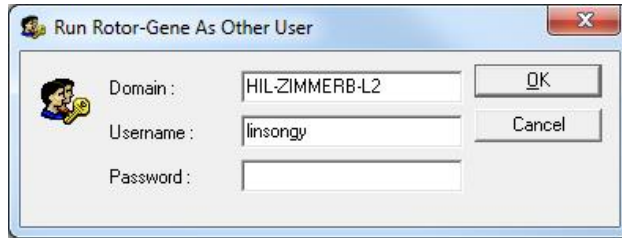
Atribuirea rolurilor fiecărui utilizator

Acum trebuie să atribuiți roluri fiecărui utilizator. Accesul este împărțit în următoarele zone:

- Rotor-Gene Q Operator (Operator Rotor-Gene Q) – poate efectua testări, dar nu poate genera rapoarte și nu poate efectua analize
- Rotor-Gene Q Analyst (Analist Rotor-Gene Q) – poate analiza datele de testare și poate genera rapoarte, dar nu poate efectua noi testări
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Operator și analist Rotor-Gene Q) – are capacitățile ambelor roluri
- Administrator – poate debloca nume de probe și poate efectua toate operațiunile analiștilor și operatorilor
- None (Niciunul) – accesul la software este refuzat

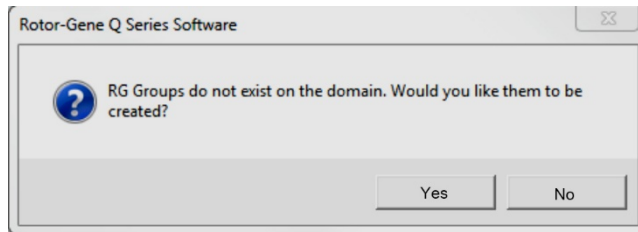
Pentru atribuirea rolurilor:

1. Conectați-vă la Windows ca administrator sau utilizați pictograma **Rotor-Gene Q Software Login** (Conectare software Rotor-Gene Q) pentru a deschide software-ul și a vă conecta.

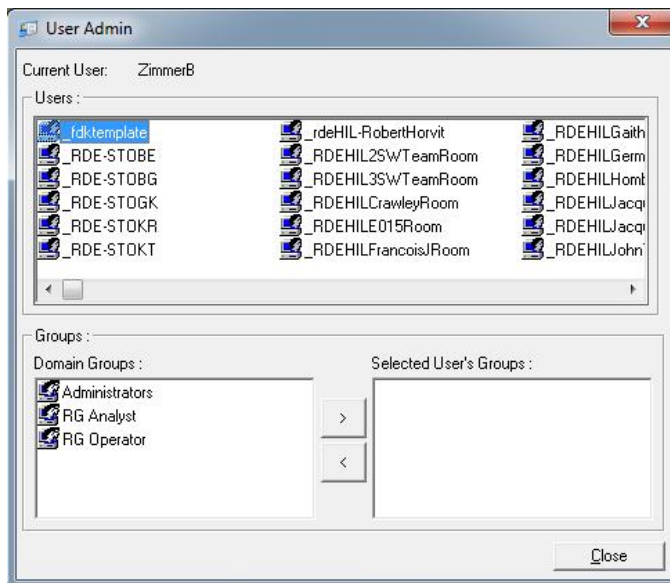


Rețineți: Pentru a crea grupurile RG cu software-ul Rotor-Gene Q este necesar să rulați software-ul cu drepturi de administrator. Puteți realiza acest lucru dacă faceți clic dreapta pe pictograma desktop și selectați **Run as administrator** (Rulare ca administrator) în meniul contextual.

- După ce software-ul s-a deschis, faceți clic pe meniul **Security** (Securitate). La prima accesare a meniului **Security** (Securitate), software-ul Rotor-Gene Q configurează un număr de grupuri de sisteme, care vor controla accesul la software.

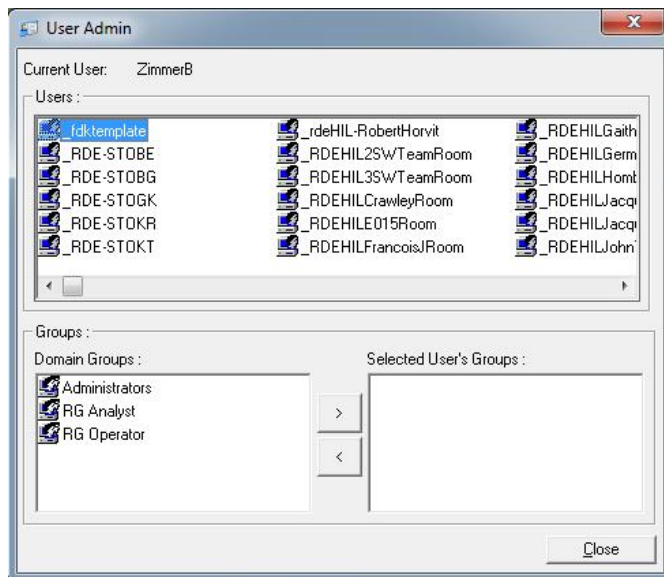


- Faceți clic pe **Yes** (Da). Apare fereastra **User Admin** (Administrator utilizatori). În panoul de sus sunt afișați toți utilizatorii computerului. Unele conturi sunt folosite de sistem și, prin urmare, vor fi neobișnuite. Panoul de jos afișează grupurile atribuite utilizatorului.

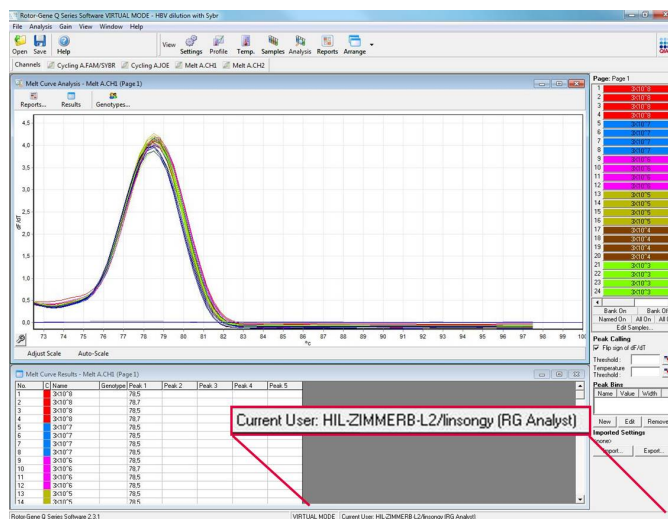


- Pentru a atribui un grup unui utilizator, selectați numele utilizatorului din listă. Panoul de jos se va actualiza. Dacă utilizatorul nu are grupuri, acesta nu poate lansa software-ul.

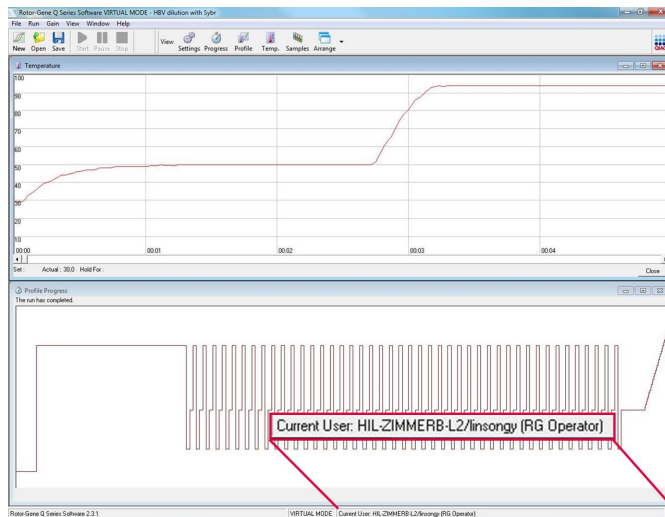
- În exemplul de mai jos, atribuim utilizatorul **linsongy** la grupul RG Analyst (Analist RG), prin selectarea grupului din partea stângă, apoi făcând clic pe butonul >. Grupurile pot fi eliminate prin selectarea acestora, apoi făcând clic pe butonul <.



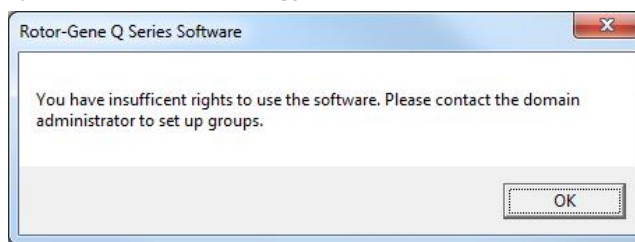
- Acum conectați-vă ca acest utilizator. În calitate de analist RG, meniul **Run** (Testare) și butonul **Profile** (Profil) sunt indisponibile. Cu toate acestea, fișierele existente pot fi deschise și analizate, așa cum se arată în captura de ecran de mai jos. Bara de stare indică faptul că utilizatorul **linsongy** este analist RG.



7. Dacă vă conectați din nou ca administrator, drepturile RG Operator (Operator RG) îi pot fi atribuite lui **linsongy**, iar drepturile RG Analyst (Analist RG) pot fi eliminate din nou. Apoi, software-ul trebuie lansat din nou. De data aceasta, meniul **Analysis** (Analiză) și butonul **Reports** (Rapoarte) lipsesc, iar meniul Run (Testare) este activat. Bara de stare indică faptul că utilizatorul **linsongy** aparține grupului RG Operator (Operator RG).



8. Dacă vă conectați ca administrator și eliminați toate grupurile pentru utilizatorul **linsongy**, următorul mesaj va apărea când **linsongy** deschide software-ul.



6.9.2 Configurație pentru Windows 10

Această secțiune descrie modul de configurare a sistemului pentru rularea software-ului Rotor-Gene Q în condiții de siguranță.

Pentru a utiliza caracteristicile de securitate, software-ul trebuie instalat cu opțiunea **Force authentication through Windows domain** (Forțare autentificare prin domeniul Windows). Aceasta interoghează domeniul Windows pentru nivelul de acces și acreditări și este esențială pentru furnizarea de caracteristici de responsabilitate și securitate.

Rularea ca administrator

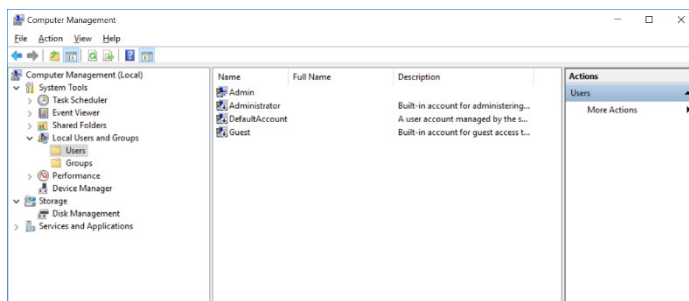
Mulți utilizatori își rulează computerele ca administrator, fără parolă. Deși acest lucru este confortabil, este imposibil să se determine cine folosește computerul. Astfel se elimină responsabilitatea și se împiedică activarea mai multor măsuri de securitate ale software-ului Rotor-Gene Q.

La rularea ca administrator, toate caracteristicile software sunt activate. Prin urmare, rularea ca administrator se asigură că utilizatorii care nu au nevoie de caracteristici de securitate pot accesa toate caracteristicile software.

Crearea unui nou cont de utilizator

Creați conturi de utilizator pentru fiecare utilizator al software-ului. Pentru fiecare utilizator, repetați pașii de mai jos până când toate conturile au fost create.

1. Pentru a crea un utilizator nou, selectați **Start**, accesați **Computer Management** (Gestionare computer), apăsați **Enter** și navigați la **Local Users and Groups** (Utilizatori și grupuri locale) din partea stângă.
2. În fereastra care apare, selectați folderul **Users** (Utilizatori). Faceți clic dreapta pe fereastra din dreapta și selectați **New User...** (Utilizator nou...).



3. Introduceți un nume de utilizator și o parolă. În mod implicit, utilizatorii vor fi creați cu privilegiile acces normale. Aceasta înseamnă că poate rula software, dar nu poate instala programe noi și nu poate modifica setările sistemului.

New User

User name: newuser

Full name: New User

Description:

Password: ●●●●●●

Confirm password: ●●●●●●

User must change password at next logon

User cannot change password

Password never expires

Account is disabled

Help Create Close

4. Faceți clic pe **Create** (Creare). Acum vă puteți conecta ca acest utilizator.

Atribuirea rolurilor fiecărui utilizator

Acum trebuie să atribuiți roluri fiecărui utilizator. Accesul este împărțit în următoarele zone:

- Rotor-Gene Q Operator (Operator Rotor-Gene Q) – poate efectua testări, dar nu poate genera rapoarte și nu poate efectua analize
- Rotor-Gene Q Analyst (Analist Rotor-Gene Q) – poate analiza datele de testare și poate genera rapoarte, dar nu poate efectua noi testări
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Operator și analist Rotor-Gene Q) – are capacitățile ambelor roluri
- Administrator – poate debloca nume de probe și poate efectua toate operațiunile analiștilor și operatorilor
- None (Niciunul) – accesul la software este refuzat

Rețineți: În Microsoft Windows 10 nu puteți crea grupuri de utilizatori cu software-ul Rotor-Gene Q. Grupurile trebuie create în domeniu de către un administrator de domeniu, la fel și atribuirea utilizatorilor unui anumit grup. Meniul Run (Testare) este activat. Bara de stare indică faptul că utilizatorul **linsongy** aparține grupului RG Operator (Operator RG).

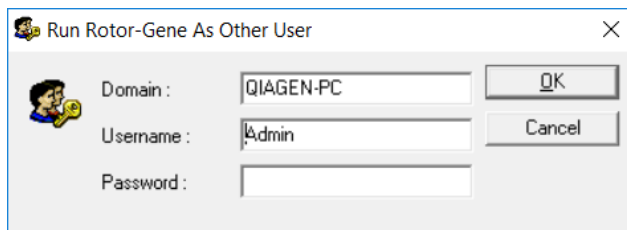
6.9.3 Rularea mai multor utilizatori pe același computer

Pentru utilizarea software-ului Rotor-Gene Q cu mai mulți utilizatori, creați un cont de utilizator care să nu aibă acces la software-ul Rotor-Gene Q. Conectați-vă la Windows folosind acest cont, astfel încât utilizatorii să nu poată accesa anonim Rotor-Gene Q MDx.

1. Folosind pictograma **Rotor-Gene Q Software Login** (Conectare software Rotor-Gene Q), utilizatorii își pot deschide conturile de utilizator în software-ul Rotor-Gene Q.



2. Introduceți numele de utilizator și parola (obligatorii) în caseta care apare.



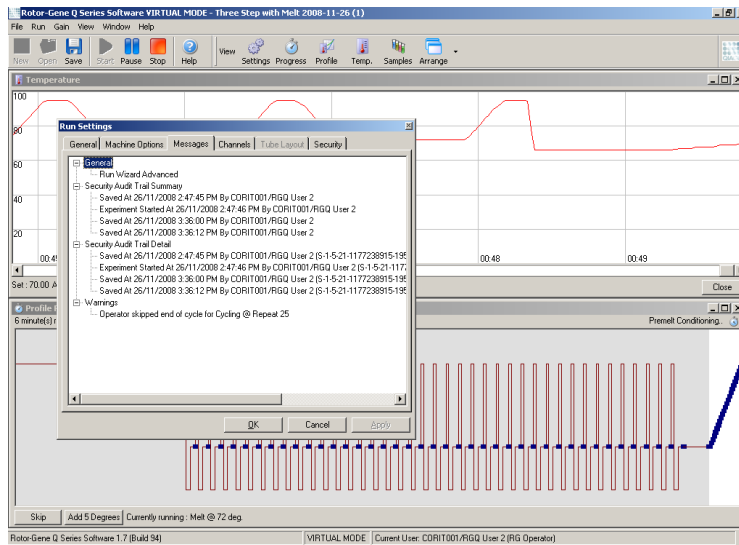
3. Domeniul este computerul pe care vă conectați sau numele rețelei locale, împreună cu numele gazdei. Consultați administratorul de rețea dacă nu sunteți sigur ce domeniu trebuie să introduceți în acest câmp.

Rețineți: După conectare, toate fișierele utilizatorului vor fi disponibile pentru utilizatorul respectiv. Fiecare utilizator poate salva fișiere în propria zonă. Acest aspect asigură un nivel ridicat de securitate.

Rețineți: Fiecare utilizator trebuie să se deconecteze după ce testarea sa a fost finalizată, pentru a împiedica alți utilizatori să efectueze o testare în numele său.

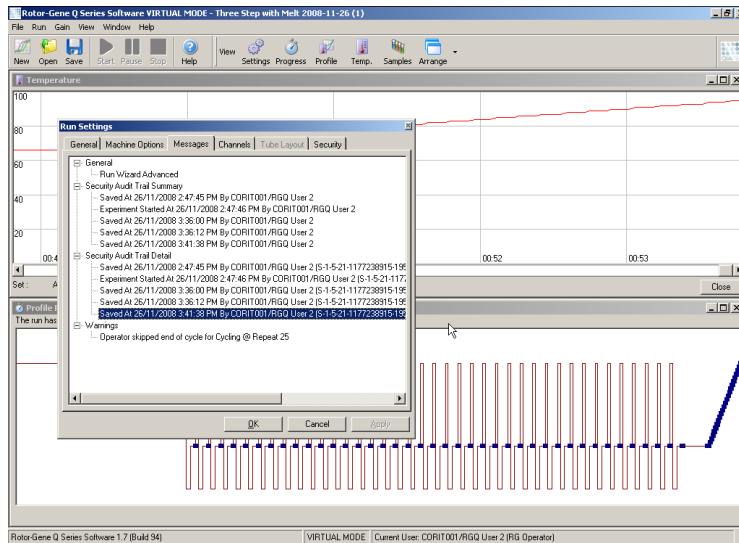
6.9.4 Lanțuri de audit

De fiecare dată când un fișier este salvat de un utilizator, detaliile acestuia sunt înregistrate în **Run Settings** (Setări testare), sub fila **Messages** (Mesaje), ca Security Audit Trail Summary (Sumar lanțuri de audit de securitate) și Security Audit Trail Detail (Detalii lanțuri de audit de securitate).



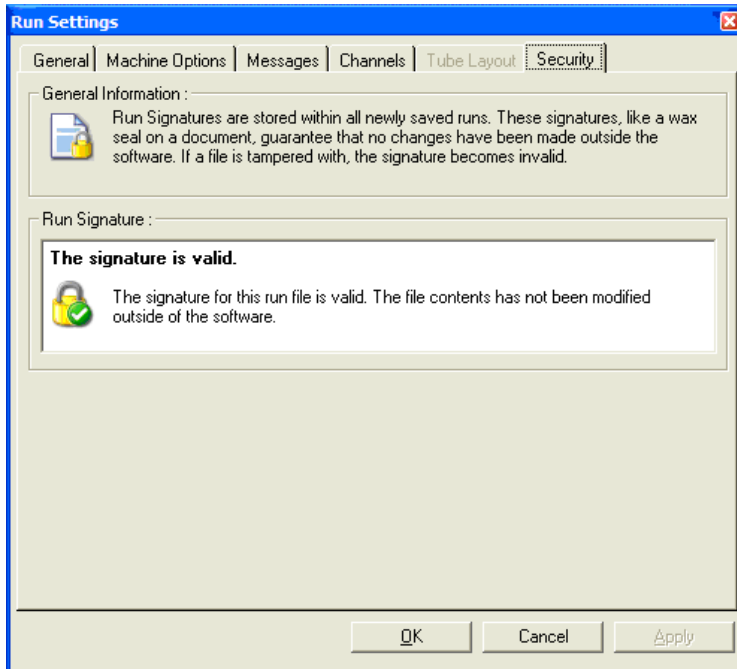
Acesta poate fi folosit pentru a monitoriza persoana care a modificat conținutul unui fișier. Security Audit Trail Detail (Detalii lanțuri de audit de securitate) conține mai multe detalii, cum ar fi numărul unic de identificare al utilizatorului. Acest număr de identificare este important pentru a evita ca un utilizator să creeze un cont cu același nume pe un alt computer și, prin urmare, să folosească identitatea unui alt utilizator. În acest caz, numele de utilizator vor fi aceleași, dar ID-urile conturilor vor fi diferite.

Numărul de identificare pentru contul CORIT001/RGQ User 2, S-1-5-21-1177238915-195, este prezentat în detalii.

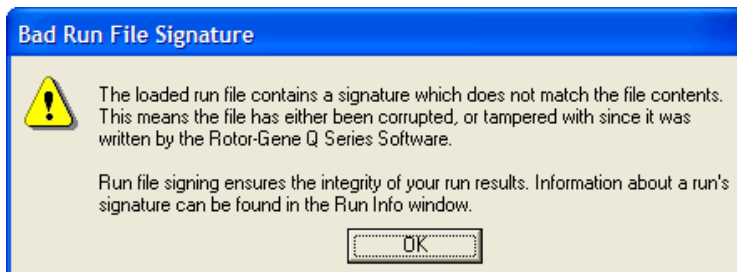


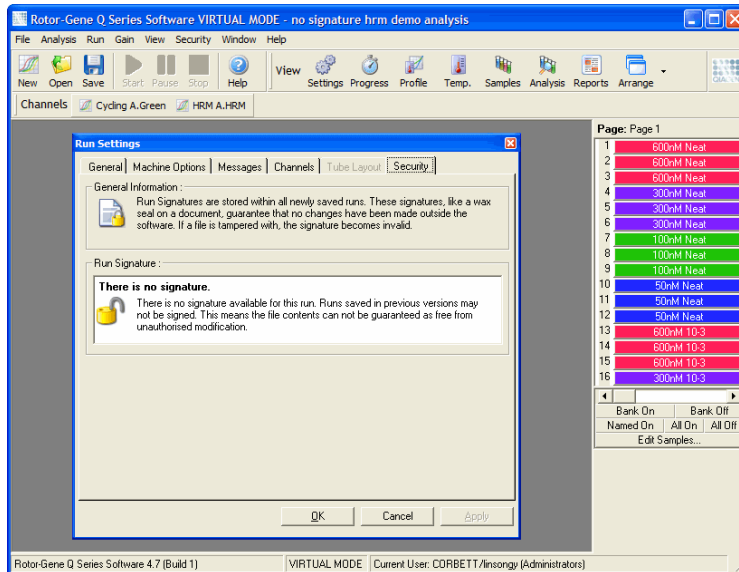
6.9.5 Semnături pentru testare

Lanțul de audit este stocat în fișierul de testare Rotor-Gene Q. Pentru a evita orice modificare nedorită a acestor fișiere, acestea trebuie să fie păstrate într-o locație sigură, accesibilă numai de conturile Windows desemnate. Cu toate acestea, dacă fișierele sunt stocate într-o zonă partajată, Run Signatures (Semnături pentru testare) oferă o securitate suplimentară. Captura de ecran prezintă fila **Security** (Securitate) din Run Settings (Setări testare) pentru un fișier cu o semnătură pentru testare.



Semnătura pentru testare este o expresie lungă, care este generată de fiecare dată când fișierul este salvat și asociat cu conținutul fișierului. De exemplu, semnătura pentru acest fișier este **517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081**. Dacă fișierul este deschis în Notepad și se face o modificare (de exemplu, data de testare este modificată cu 3 zile mai devreme), la redeschiderea fișierului apare următorul mesaj.





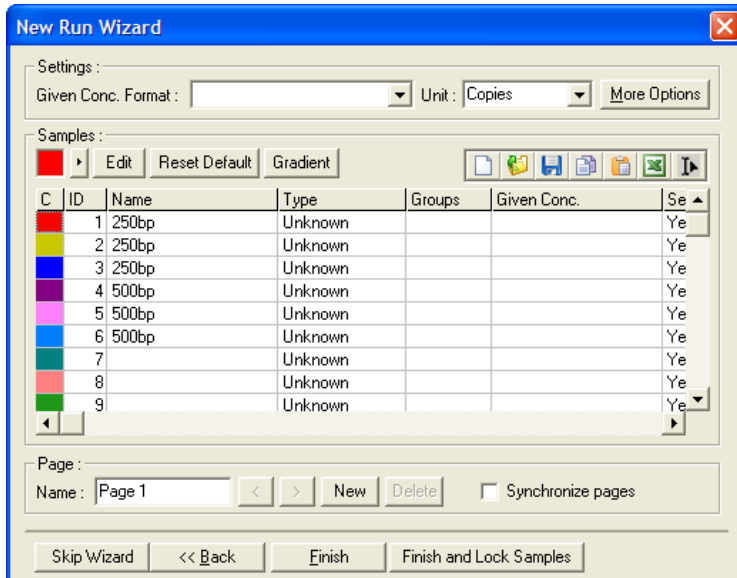
Rețineți: Dacă fișierele sunt trimise prin e-mail, procesul de criptare poate invalida semnătura. Pentru a evita acest lucru, arhivați fișierul înainte de a-l trimite prin e-mail.

6.9.6 Blocarea probelor

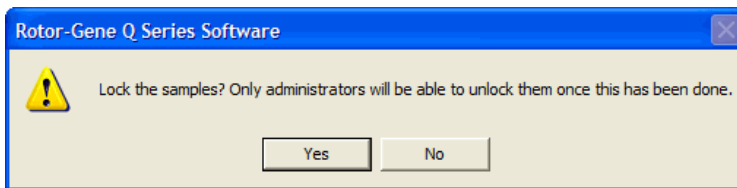
Este important să vă asigurați că numele probelor nu sunt modificate accidental sau intenționat, după ce un utilizator a început o testare. Din acest motiv, software-ul Rotor-Gene Q oferă posibilitatea de blocare a probelor. Numele probelor pot fi blocate de orice utilizator, dar pot fi deblocate numai de un administrator. Pentru utilizatorii care își rulează computerele în modul administrator, această opțiune are o valoare limitată. Pentru a utiliza această opțiune, computerul trebuie să fie configurat în condiții de siguranță, așa cum este descris în secțiunile anterioare.

Rețineți: Dacă doriți să blocați probe, nu rulați software-ul ca administrator. Creați un cont cu grupurile RG Operator (Operator RG) și RG Analyst (Analist RG) și păstrați secretă parola de administrator. Utilizatorii vor solicita apoi autorizare din partea administratorului pentru a debloca fișierele.

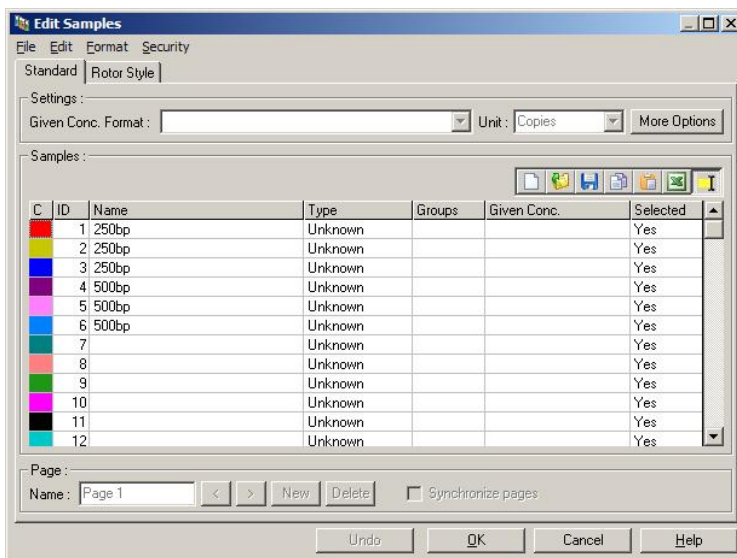
Probele pot fi blocate înainte de începerea unei testări, la utilizarea expertului Advanced (Avansat), făcând clic pe **Finish and Lock Samples** (Finalizare și blocarea probelor).



Va apărea următorul avertisment. Faceți clic pe **Yes (Da)** pentru a confirma.



După blocarea probelor, editarea probelor în fereastra **Edit Samples** (Editare probe) nu va fi posibilă.



Probele pot fi blocate și deblocate și în fereastra **Edit Samples** (Editare probe). Cu toate acestea, numai un administrator poate debloca probele, după ce acestea au fost blocate.



Orice modificare neautorizată adusă fișierului va invalida semnătura pentru testare.

6.9.7 Șabloane blocate

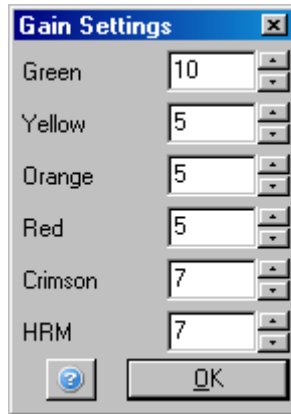
În prezent, utilizatorul nu poate crea fișiere șablon doar în citire folosind software-ul Rotor-Gene Q. Cu toate acestea, dacă se dorește, poate fi specificat ca o cerință ca toate testările să fie efectuate folosind un fișier șablon specific. Pentru a asigura accesul doar în citire la acest șablon, acesta trebuie să fie stocat pe o unitate de rețea, în care utilizatorii să nu poată modifica datele. Utilizatorii pot încă rula și modifica propriile profiluri, în timp ce șablonul de pe o unitate de rețea ca aceasta este protejat. Pentru a urmări ce șablon a fost folosit, software-ul Rotor-Gene Q stochează numele fișierului șablon care a fost rulat. Aceste informații pot fi accesate făcând clic pe butonul **Settings** (Setări), care ulterior activează afișarea ferestrei **Run Settings** (Setări testare). Informațiile despre șablon sunt stocate în **Other Run Information** (Alte informații despre testare).



6.10 Meniul Amplificare

Faceți clic pe meniul **Gain** (Amplificare) pentru a vizualiza **Gain Settings** (Setări de amplificare) pentru testarea curentă. Acest element setează amplificarea canalului specificat înaintea unei testări. Setările de amplificare se păstrează de la ultima testare. Acestea pot fi modificate dacă testarea nu a început încă sau în ciclurile inițiale. Utilizați săgețile sus/jos din dreptul fiecărui câmp text pentru a modifica câmpurile. Apoi faceți clic pe **OK**.

Amplificarea poate fi modificată în timpul ciclurilor inițiale. Pe canalul corespunzător va fi desenată o linie roșie, pentru a arăta locul în care s-a modificat amplificarea. Ciclurile anterioare modificării amplificării vor fi excluse din analiză.

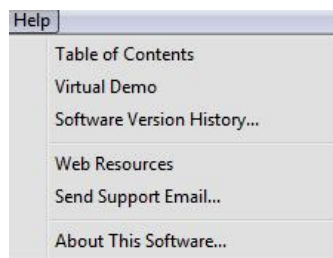


6.11 Meniul Fereastră

Acest meniu permite aranjarea pe verticală sau pe orizontală a ferestrelor sau dispunerea acestora în cascadă. Opțiuni suplimentare sunt accesibile dacă faceți clic pe săgeata din dreapta butonului **Arrange** (Aranjare).

6.12 Funcția Ajutor

Atunci când utilizați butonul **Help** (Ajutor) sau meniul Help (Ajutor) se va deschide următorul meniu vertical.



| | |
|--|--|
| Table of Contents (Cuprins): | Acest element accesează funcția Help (Ajutor). |
| Virtual Demo (Demo virtual): | Acest element asociază pagina web QIAGEN cu o demonstrație interactivă a software-ului. |
| Software Version History... (Istoric versiuni software...): | Acest element oferă o prezentare succintă a caracteristicilor noi adăugate de la versiunea software instalată anterior. |
| Web Resources (Resurse web): | Acest element deschide o pagină web QIAGEN într-o nouă fereastră a browserului, cu cele mai noi informații utile despre instrumentele Rotor-Gene Q MDx și reacții corespunzătoare. |
| About This Software... (Despre acest software...): | Acest element oferă informații despre aparatul conectat, numărul de serie al Rotor-Gene Q MDx și versiunea software. |

6.12.1 Trimiterea unui e-mail de asistență

Opțiunea **Send Support Email** (Trimitere e-mail de asistență) din meniul **Help** (Ajutor) vă permite să trimiteți un e-mail de asistență către QIAGEN, incluzând toate informațiile relevante dintr-o testare. Opțiunea **Save As** (Salvare ca) va salva toate informațiile într-un fișier pe care îl puteți copia pe un disc sau pe o rețea, dacă nu aveți acces la e-mail pe computerul pe care rulează Rotor-Gene Q MDx.

Dacă utilizați pentru prima dată funcția de e-mail de asistență de pe laptopul furnizat opțional împreună cu Rotor-Gene Q MDx (în funcție de țară), trebuie să configurați setările de e-mail.

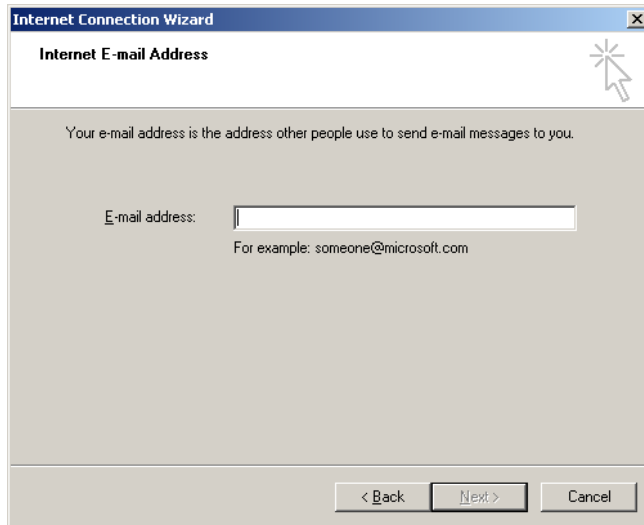
Rețineți: Puteți introduce datele managerului IT al companiei dvs.

Configurarea setărilor de e-mail

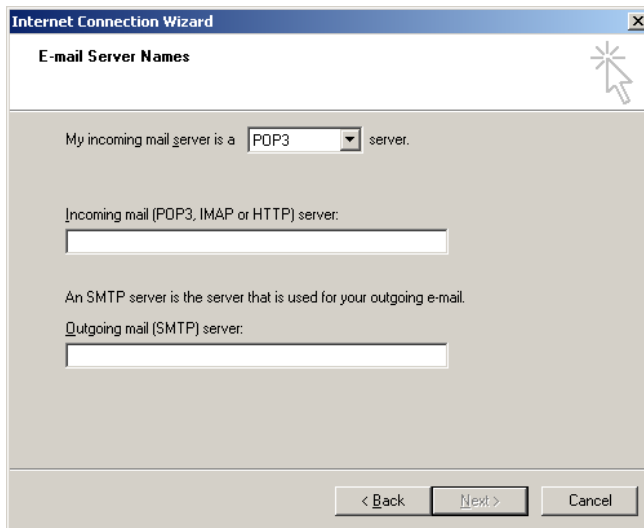
Faceți clic pe opțiunea **Send Support Email...** (Trimitere e-mail de asistență...). Se va deschide următoarea fereastră.



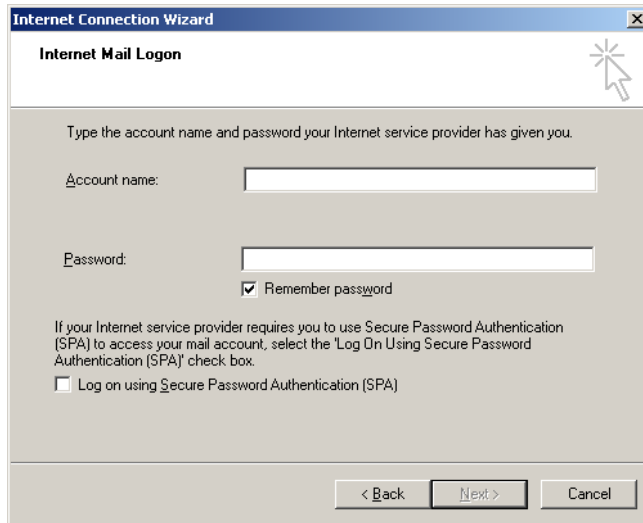
1. Introduceți numele dvs. și faceți clic pe **Next** (Următorul). Se va deschide fereastra **Internet E-mail Address** (Adresă de e-mail internet).



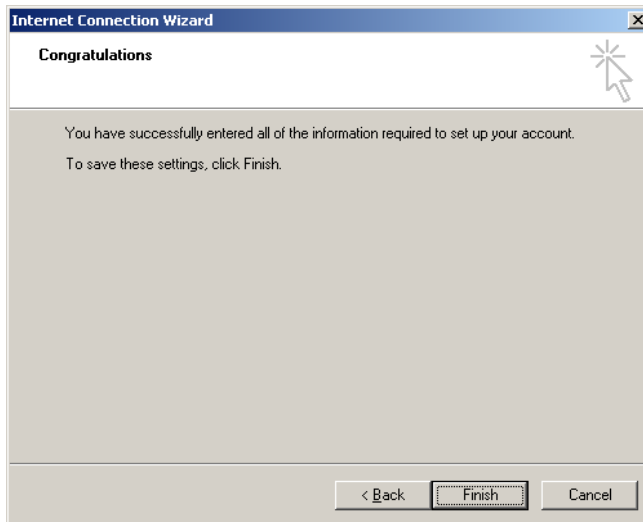
2. Introduceți adresa dvs. de e-mail și apăsați pe **Next** (Următorul). Se va deschide fereastra **E-mail Server Names** (Nume servere de e-mail).



3. Selectați tipul de server mail pentru mailurile primite și specificați numele serverelor pentru e-mailurile primite și cele trimise. Apoi apăsați pe **Next** (Următorul). Se va deschide fereastra **Internet Mail Logon** (Conectare la e-mail internet).



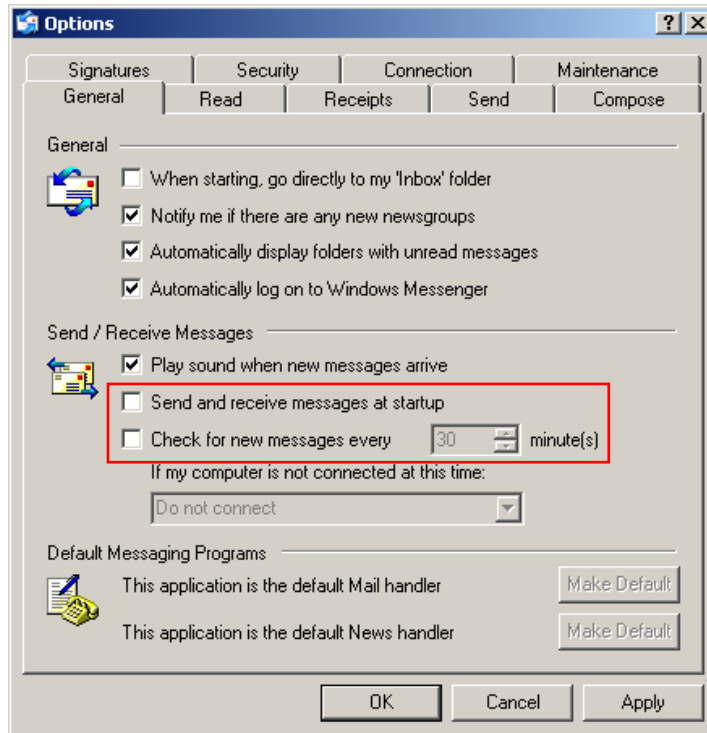
4. Introduceți numele și parola contului dvs. de e-mail, dacă serverul dvs. folosește autentificarea cu parolă securizată. Apoi faceți clic pe **Next** (Următorul). Se va deschide fereastra **Congratulations** (Felicitări).



5. Confirmați cu **Finish** (Finalizare) pentru a finaliza configurarea contului de e-mail.

Configurarea în Outlook

1. Deschideți **Outlook Express** din meniul **Start** > **All programs** (Toate programele) > **Outlook Express**.
2. Selectați **Tools** (Instrumente), apoi **Options** (Opțiuni). Apare fereastra de mai jos.



Important: Pentru a evita posibila recuperare a e-mailurilor în timpul testărilor PCR, dezactivați introducerea implicită de date din ecranul **Send/Receive Messages** (Trimitere/primire de mesaje).

3. Dezactivați **Send and receive messages at startup** (Trimitere și primire mesaje la pornire).
4. Dezactivați **Check for new messages every 30 minutes** (Se verifică dacă există mesaje noi la fiecare 30 de minute).
5. Confirmați modificările cu **OK**.

7 Funcții suplimentare

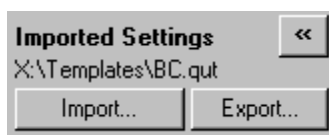
7.1 Șabloane de analize

Unele analize impun ca utilizatorul să definească praguri, setări de normalizare și setări de genotip. Adesea, aceste setări sunt refolosite frecvent în mai multe experimente.

Șabloanele de analize îi permit utilizatorului să salveze și să refolosească aceste setări. În acest fel se reduce efortul de a reintroduce setările, precum și riscul de apariție a erorilor.

Cuantificarea, topirea, discriminarea alelică, analiza diagramei de dispersie și analiza EndPoint acceptă șabloane de analize. Aceste analize îi permit utilizatorului să exporte un șablon care este unic pentru analiză (de exemplu, analiza de cuantificare permite exportul și importul de fișiere * .qut care conțin setări de cuantificare).

După ce un șablon de analiză a fost importat sau exportat, numele de fișier al șablonului este afișat pentru consultare ulterioară.

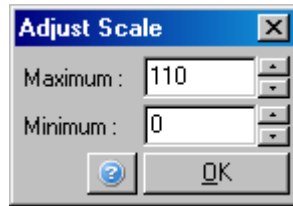


7.2 Deschiderea unei a doua testări

În timpul efectuării unei testări puteți deschide și analiza testări efectuate mai devreme. Mai multe funcții, cum ar fi butoanele **New** (Nou) sau **Start Run** (Pornire testare), nu sunt activate în a doua fereastră. O testare nouă poate fi pornită din prima fereastră numai după finalizarea primei testări.

7.3 Opțiuni de scalare

Pentru a accesa **Adjust Scale** (Ajustare scară), faceți clic pe **Adjust Scale...** (Ajustare scară...) din partea de jos a ferestrei principale sau faceți clic dreapta pe grafic și selectați **Adjust Scale...** (Ajustare scară...) în meniul care apare. În fereastra care apare poate fi introdusă manual o scară.



Pentru a accesa **Auto-Scale** (Scalare automată), faceți clic pe **Auto-Scale...** (Scalare automată...) din partea de jos a ferestrei principale sau faceți clic dreapta pe grafic și selectați **Auto-Scale...** (Scalare automată...) în meniul care apare. **Auto-Scale** (Scalare automată) încearcă să adapteze scara la citirile maximumului și minimumului din date.

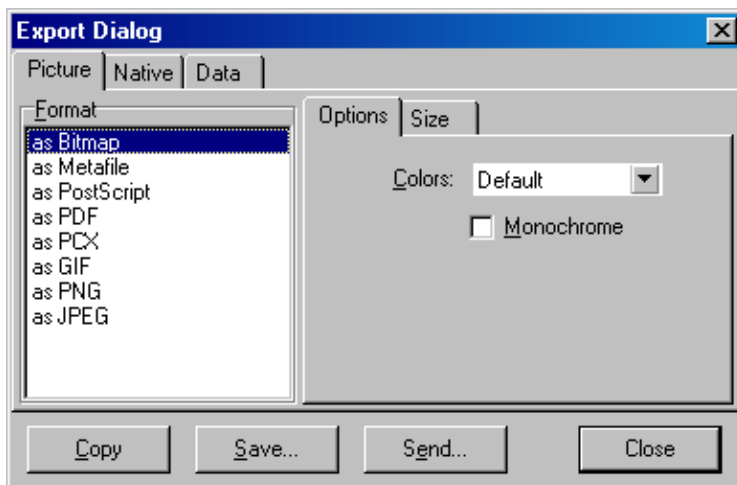
Pentru a accesa **Default Scale** (Scară implicită), faceți clic pe **Default Scale...** (Scară implicită...) din partea de jos a ferestrei principale sau faceți clic dreapta pe grafic și selectați **Default Scale...** (Scară implicită...) în meniul care apare. **Default Scale** (Scară implicită) resetează scara la afișarea de la 0 la 100 de unități de fluorescență.

7.4 Exportarea graficelor

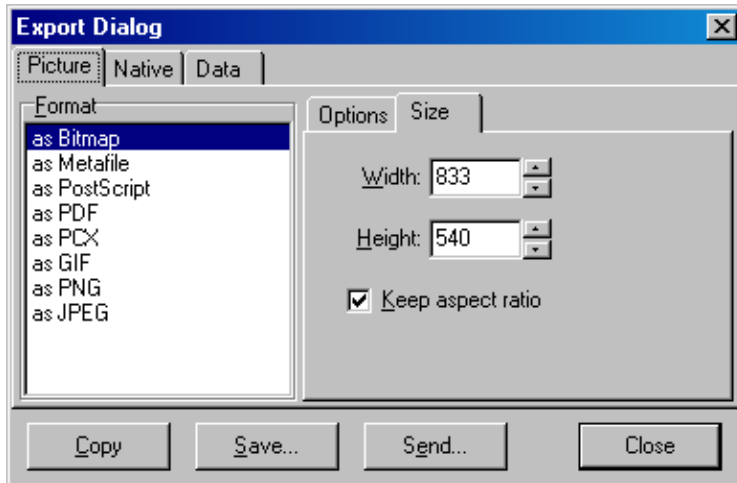
Exportarea imaginilor

Pașii următori descriu modul de salvare a unei imagini.

1. Faceți clic dreapta pe imagine și selectați **Export** din meniul care apare.
2. Apare fereastra **Export Dialog** (Casetă de dialog pentru export). Selectați formatul dorit din lista **Format**.



3. Selectați fila **Size** (Dimensiune) și specificați dimensiunea dorită.



4. Bifați caseta de selectare **Keep aspect ratio** (Se păstrează raportul de aspect) pentru a păstra imaginea cu proporțiile corecte atunci când îi ajustați dimensiunea.
5. Faceți clic pe **Save** (Salvare) și, în caseta de dialog care apare, selectați o denumire de fișier și locația fișierului.

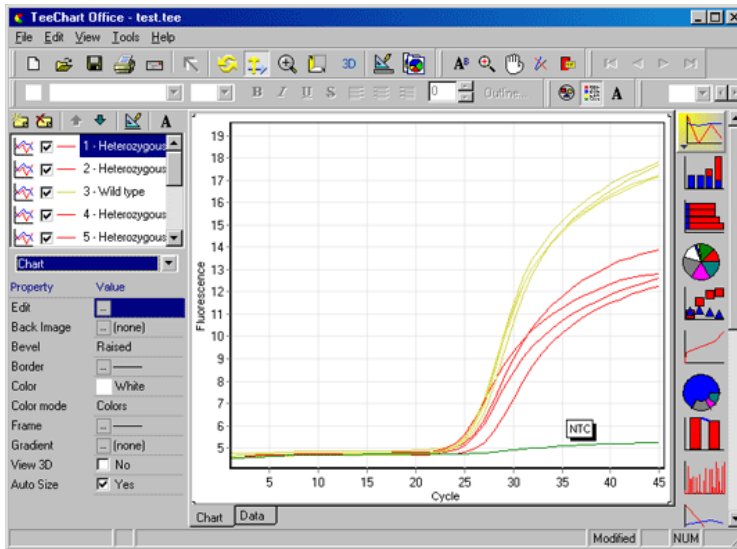
Dacă este necesară o imagine cu rezoluție mai mare, vă recomandăm fie să măriți dimensiunea imaginii până când aceasta corespunde cerințelor dvs., fie să salvați graficul ca metafișier (*.emf, *.wmf). Acesta este un format vectorial, care poate fi deschis în software precum Adobe® Illustrator®, permițându-i utilizatorului să creeze o imagine cu orice rezoluție.

Exportarea în format nativ

Graficele din software-ul Rotor-Gene Q folosesc componenta externă TeeChart® dezvoltată de software-ul Steema. Pentru salvarea unui grafic în format nativ, selectați fila **Native** (Nativ) în fereastra **Export Dialog** (Casetă de dialog pentru export) (consultați captura de ecran anterioară), apoi faceți clic pe **Save** (Salvare). Formatul nativ este formatul de fișier TeeChart standard. Acesta îi permite utilizatorului să folosească TeeChart Office din software-ul Steema. TeeChart Office este disponibil ca freeware și este instalat ca parte a pachetului software Rotor-Gene Q. Pentru accesarea software-ului, faceți clic pe pictograma **TeeChart** de pe desktop.

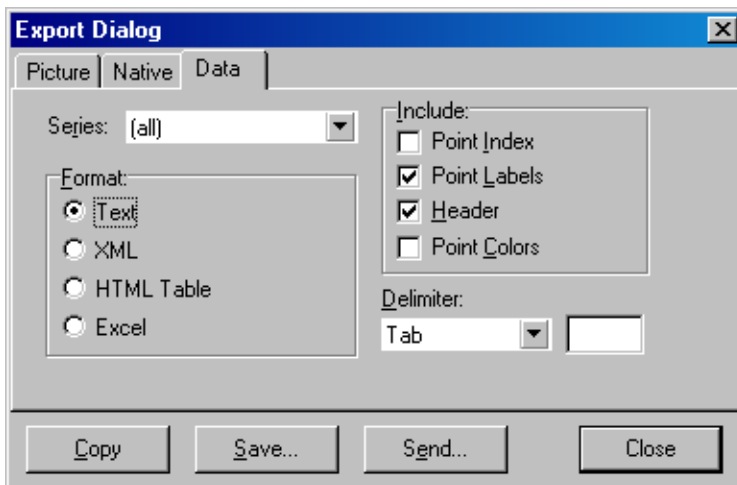


TeeChart Office permite manipularea graficelor exportate, inclusiv schimbarea culorilor curbilor, adăugarea de adnotări, schimbarea fonturilor și ajustarea punctelor de date.



Exportul datelor


Pentru a exporta date în formate diferite, selectați fila **Data** (Date) din fereastra **Export Dialog** (Casetă de dialog pentru export). Fișierul exportat conține punctele de date brute utilizate în grafic.

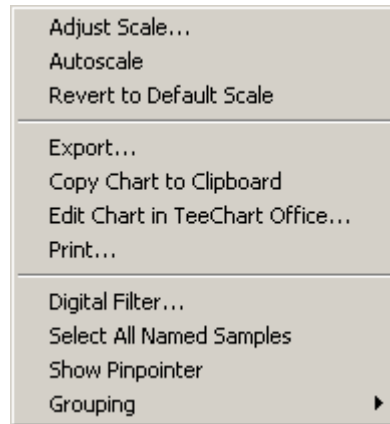


Exportarea datelor brute și a datelor analizei se poate face și prin selectarea **Save As** (Salvare ca) sub meniul **File** (Fișier) (consultați Secțiunea 6.5).

7.5 Pictograma cheie/cheie fixă



Pictograma cheie/cheie fixă  apare în partea din stânga jos a ferestrei principale. Dacă faceți clic pe pictograma cheie/cheie fixă sunt activate mai multe opțiuni. Aceste opțiuni pot fi accesate și dacă faceți clic dreapta pe grafic.



Adjust Scale (Ajustare scară),
Autoscale (Scalare automată),
Revert to Default Scale
(Revenire la scara implicită):

Consultați Secțiunea 7.3.

Export...:

Acest element salvează graficul într-o varietate de formate (consultați Secțiunea 6.4).

Copy Chart to Clipboard
(Copiere diagramă în clipboard):

Acest element copiază imaginea graficului în clipboard.

Edit Chart in TeeChart Office...
(Editare diagramă în TeeChart Office...):

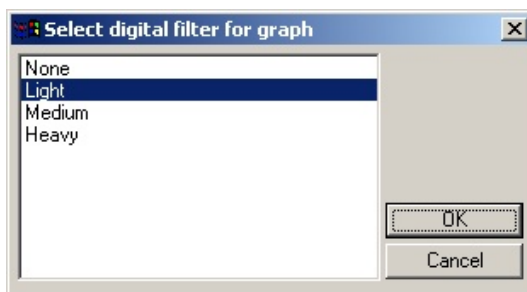
Acest element deschide graficul direct în TeeChart Office pentru editare (consultați Secțiunea 6.4).

Print (Imprimare):

Acest element imprimă graficul.

Digital Filter... (Filtru digital...):

Acest element modifică filtrul digital selectat în prezent pe grafic. Filtrul digital netezește datele folosind o fereastră glisantă de puncte.



Show Pinpointer
(Afișare Pinpointer):

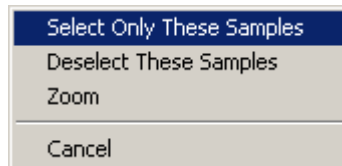
Acest element deschide o fereastră care afișează coordonatele exacte ale poziției cursorului mouse-ului.

Grouping (Grupare):

Acest element grupează virtual probele cu nume identice. Acesta poate fi util pentru testările complete efectuate pe rotor. Selectarea acestei opțiuni nu afectează valorile calculate.

7.6 Opțiuni pentru zonele selectate

O zonă a unui grafic poate fi selectată dacă apăsați continuu butonul din stânga al mouse-ului și glisați cursorul mouse-ului. Apar următoarele opțiuni.



Select Only These Samples
(Se selectează doar aceste probe):

Probele din afara zonei selectate sunt debifate.

Select Only These Samples
(Se selectează doar aceste probe):

Probele din afara zonei selectate sunt debifate.

Zoom:

Acest element mărește zona selectată a graficului. Pentru micșorare, faceți clic pe butonul **Default Scale** (Scară implicită).

8 Întreținerea

Menținerea performanței de lucru a Rotor-Gene Q MDx este ușoară. Performanța optică este menținută prin asigurarea faptului că obiectivele, situate atât la sursa de emisie, cât și la sursa de detecție, sunt curate. Acest lucru se realizează prin ștergerea delicată cu un aplicator cu vârf de vată, umezit cu etanol sau izopropanol*, a obiectivelor.

Rețineți: Curățați obiectivele cel puțin o dată pe lună, în funcție de utilizare. În același timp, ștergeți și camera rotorului.

Păstrați curată zona bancului de lucru, fără praf și fără coli de hârtie. Orificiul de admisie a aerului pentru aparatul Rotor-Gene Q MDx se află în partea de jos, iar materialele precum hârtia sau praful pot compromite performanța acestuia.



Pentru a evita acumularea de praf, țineți închis capacul Rotor-Gene Q MDx când instrumentul nu este utilizat.

Rețineți: Utilizați exclusiv componente furnizate de QIAGEN.

8.1 Curățarea suprafeței Rotor-Gene Q MDx

Suprafețele externe ale Rotor-Gene Q pot fi curățate utilizând substanțe chimice disponibile de obicei în laborator.

* Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvați. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de siguranță (safety data sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

8.2 Decontaminarea suprafeței Rotor-Gene Q MDx

În cazul în care camera rotorului se contaminează, aceasta poate fi curățată ștergând suprafețele cu o lavetă fără scame umezită (dar nu îmbibată) cu o soluție de înălbitor 0,1 % (v/v).* Ștergeți camera cu o lavetă fără scame umezită cu apă clasa PCR pentru a îndepărta urmele de înălbitor.

8.3 Repararea Rotor-Gene Q

Pentru reparații sau service dedicat Rotor-Gene Q, contactați Serviciile tehnice QIAGEN la <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

* Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvați. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de siguranță (safety data sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

9 Verificarea optică a temperaturii

Verificarea optică a temperaturii (Optical Temperature Verification, OTV) este o metodă care verifică temperatura din tub într-un Rotor-Gene Q MDx. Validarea temperaturii din tub poate fi o procedură importantă în laboratoarele certificate. Metoda OTV este pusă în aplicare folosind un Rotor-Disc OTV Kit (consultați Secțiunea 16). În continuare vă prezentăm doar o scurtă introducere în ceea ce înseamnă principiul OTV. Efectuarea procedurii OTV este explicată în software-ul Rotor-Gene Q MDx. Pentru o descriere mai detaliată a procedurii OTV, inclusiv un ghid de depanare, consultați *Manualul Rotor-Disc OTV*.

9.1 Principiul OTV

OTV folosește proprietățile optice aferente a 3 cristale lichide termocromatice (Thermochromatic Liquid Crystal, TLC)* ca referințe absolute de temperatură. Când sunt încălzite, TLC-urile trec de la opac la transparent la temperaturi foarte exacte (50, 75 și 90 °C). TLC-urile nu au fluorescență. Prin urmare, este necesar să acoperiți sursa de excitație cu o inserție fluorescentă, astfel încât punctele de tranziție TLC să poată fi detectate de sistemul optic Rotor-Gene Q MDx. TLC-urile care sunt sub temperatura lor de tranziție sunt opace și reflectă lumina. O parte din lumina reflectată este dispersată spre detector, crescând fluorescența. Când temperatura din tub atinge punctul de tranziție TLC, TLC devine transparent, iar lumina trece prin probă, mai degrabă decât să fie reflectată către detector, rezultând o scădere a fluorescenței. Modificarea fluorescenței este utilizată pentru a determina temperatura de tranziție exactă a fiecărui TLC. Temperatura de tranziție este comparată cu temperatura raportată de fișierul de calibrare din fabrică pentru OTV Rotor-Disc pentru a verifica dacă Rotor-Gene Q MDx se încadrează în specificațiile de temperatură.

* Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvați. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de siguranță (safety data sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

9.2 Componentele Rotor-Disc OTV Kit

Următoarele componente sunt necesare pentru a efectua o OTV:

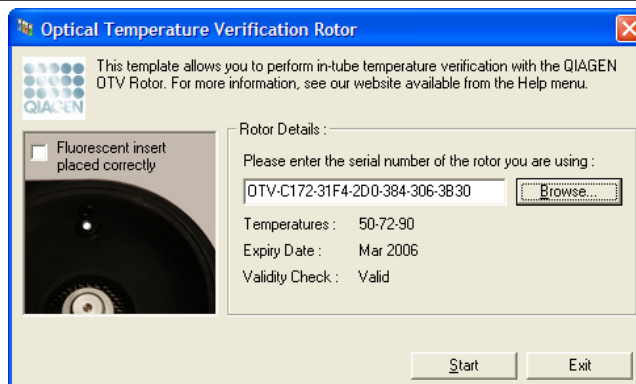
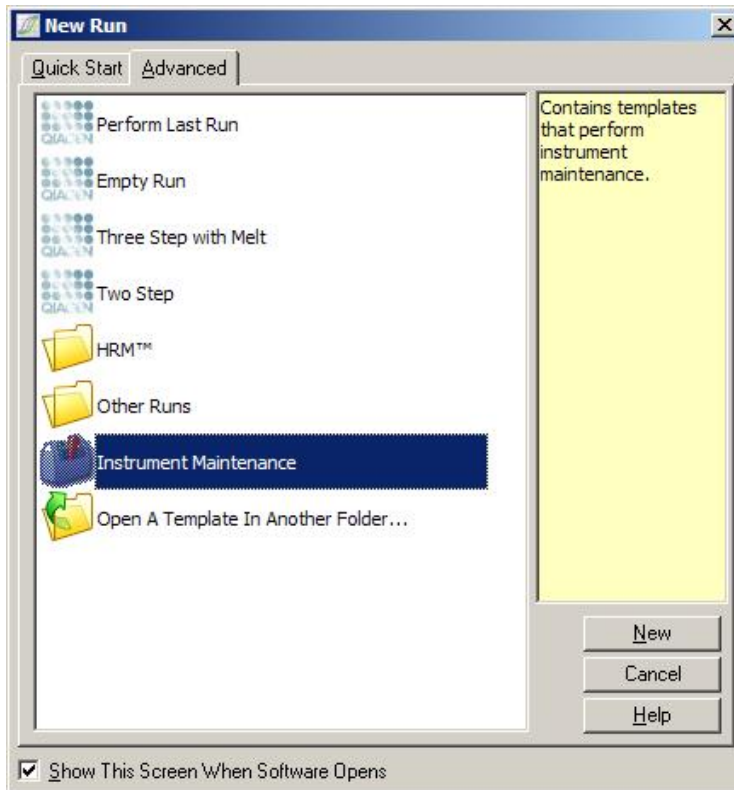
- Un Rotor-Disc OTV Kit, care include:
 - Sealed Rotor-Disc 72 OTV Rotor (conține TLC-uri)
 - Inserție placă de dispersie a fluorescenței (instrumentul Rotor-Gene 3000 sau instrumentele Rotor-Gene Q/6000)
 - Un suport amovibil care conține următoarele fișiere: Fișier cu numărul de serie și data expirării pentru OTV Rotor (*.txt); fișier cu șablonul de testare OTV (*.ret); fișă produs (*.pdf); fișier de calibrare din fabrică (*.rex)
 - Fișă produs
- Rotor-Gene Series Software versiunea 1.7 sau mai recentă, care conține expertul ușor de utilizat OTV Rotor
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

9.3 Efectuarea unei OTV

1. Amplasați inserția fluorescentă peste lentila de emisie din partea de jos a camerei Rotor-Gene Q MDx.
2. Amplasați OTV Rotor-Disc într-un Rotor-Disc 72 Rotor. Fixați folosind un Rotor-Disc 72 Locking Ring. Amplasați ansamblul în Rotor-Gene Q MDx și fixați pe poziție printr-un clic. Închideți capacul Rotor-Gene Q MDx.

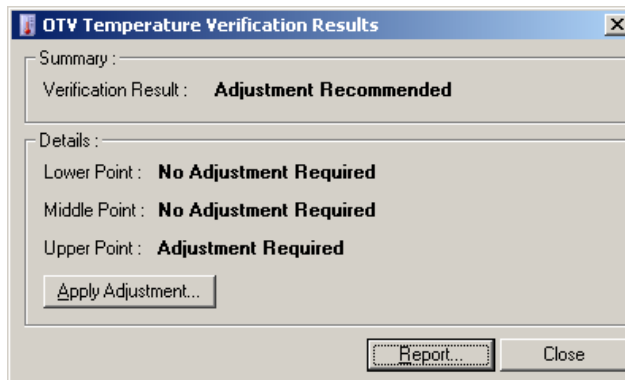


3. Accesați expertul Advanced (Avansat) prin selectarea filei **Advanced** (Avansat) din fereastra **New Run** (Testare nouă). În expertul Advanced (Avansat), faceți clic pe **Instrument maintenance** (Întreținere instrument), apoi pe **OTV**. Expertul solicită numărul de serie OTV, acesta se află pe inelul OTV. Apoi faceți clic pe **Start** (Pornire).



4. Software-ul solicită apoi o denumire de fișier pentru testare. Apoi începe testarea.

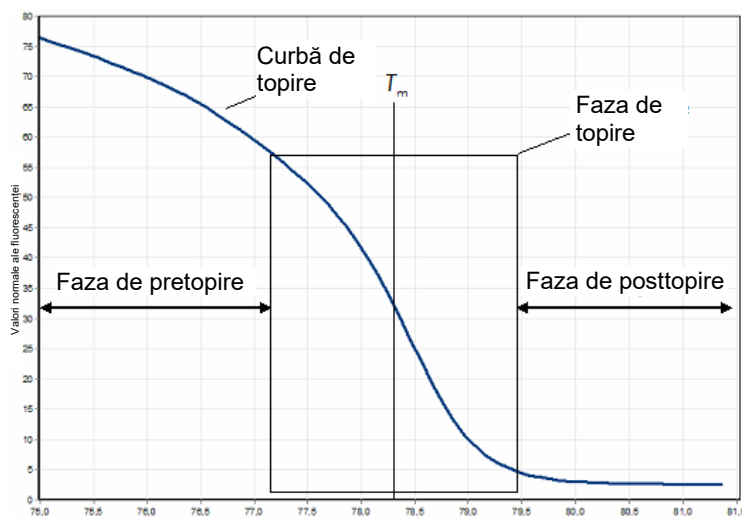
5. Testarea efectuează o serie de topiri care determină caracteristicile termice ale Rotor-Gene Q MDx.



6. La finalizarea testării, software-ul indică dacă Rotor-Gene Q MDx se încadrează în specificații.
7. Dacă este necesară o ajustare, utilizatorul trebuie să facă clic pe **Apply Adjustment** (Aplicare ajustare). Utilizatorului i se solicită să efectueze o testare de verificare. După finalizarea testării de verificare, nu ar trebui să mai fie necesară nicio ajustare. Dacă sunt necesare ajustări suplimentare, contactați distribuitorul local.
8. Dacă Rotor-Gene Q MDx se încadrează în specificații, puteți examina și imprima un raport al testării.

10 Analiza topirii la înaltă rezoluție

Analiza topirii la înaltă rezoluție (High Resolution Melt, HRM) este o tehnică inovatoare care se bazează pe analiza topirii ADN-ului. HRM caracterizează probele de ADN în funcție de comportamentul lor de disociere pe măsură ce trec de la ADN dublu catenar (double-stranded DNA, dsDNA) la ADN monocatenar (single-stranded DNA, ssDNA) odată cu creșterea temperaturii (consultați figura de mai jos). Un instrument HRM colectează semnale fluorescente cu o precizie optică și termică extrem de ridicată, creând multe posibilități de aplicare.



O reprezentare grafică HRM tipică. Curba de topire reprezintă grafic trecerea de la fluorescența mare a fazei inițiale de pretopire, prin scăderea fluorescenței în faza de topire, la nivelul bazal de fluorescență în faza de posttopire. Fluorescența scade pe măsură ce colorantul intercalat ADN este eliberat din dsDNA pe măsură ce acesta se topește în catene simple. Punctul de mijloc al fazei de topire, la care frecvența de modificare a fluorescenței este cea mai mare, definește temperatura de topire (melting temperature, T_m) a ADN-ului analizat.

Înainte de a efectua analiza HRM, secvența țintă trebuie amplificată la un număr mare de copii. Aceasta este de obicei efectuată prin PCR în prezența unui colorant fluorescent intercalat dsDNA. Colorantul nu interacționează cu ssDNA, dar se intercalează activ cu dsDNA și are o fluorescență puternică atunci când este intercalat. Modificarea fluorescenței poate fi utilizată pentru a măsura creșterea concentrației ADN-ului în timpul PCR și apoi pentru a măsura direct topirea ADN-ului indusă termic prin HRM. În timpul HRM, fluorescența este inițial ridicată, deoarece proba începe ca dsDNA. Fluorescența scade odată cu creșterea temperaturii și pe măsură ce ADN-ul se disociază în catene simple. Comportamentul de topire observat este caracteristic unei anumite probe de ADN.

Folosind HRM, Rotor-Gene Q MDx poate caracteriza probe pe baza lungimii secvenței, a conținutului GC și a complementarității secvenței de ADN. HRM poate fi utilizată în aplicații de genotipare, cum ar fi analiza inserțiilor/delețiilor sau a polimorfismelor mononucleotidice (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) sau pentru a detecta mutații genetice necunoscute.

Poate fi folosită și în aplicații de epigenetică pentru detectarea și analiza stării de metilare a ADN-ului. De asemenea, poate fi utilizată pentru a detecta cantitativ o proporție mică de ADN variantă într-un fundal al secvenței de tip sălbatic la sensibilități care se apropie de 5 %. Aceasta poate fi folosită, de exemplu, pentru a studia mutațiile dobândite somatic sau modificările stării de metilare a insulelor CpG.

HRM pe Rotor-Gene Q MDx facilitează mai multe aplicații, inclusiv:

- Identificarea genelor de predispoziție candidate
- Studii de asociere (comparând cazuri și substanțe de control, genotipul cu fenotipul)
- Determinarea prevalenței alelelor într-o populație sau subgrup
- Screeningul și validarea SNP
- Screeningul pentru pierderea caracterului heterozigot
- Amprentarea ADN
- Caracterizarea blocurilor haplotip
- Analiza metilării ADN-ului
- Maparea ADN-ului
- Identificarea speciei
- Descoperirea mutației
- Determinarea raportului de mutații dobândite somatice
- Tiparea HLA

HRM este mai ușoară și mai rentabilă decât testele de genotipare bazate pe sonde și, spre deosebire de metodele convenționale, este un sistem cu tuburi închise, care previne contaminarea cu produse PCR. Rezultatele sunt comparabile cu metodele convenționale, cum ar fi SSCP, DHPLC, RFLP și secvențierea ADN.

10.1 Instrumentarul

Rotor-Gene Q MDx oferă următoarele capabilități în timp real și termo-optice pentru cerințe exigente, necesare pentru HRM.

- Iluminat de mare intensitate
- Detecție optică cu sensibilitate ridicată
- Achiziție rapidă de date
- Temperatură controlată fin a probelor
- Variație termică și optică minime de la probă la probă

10.2 Substanțele chimice

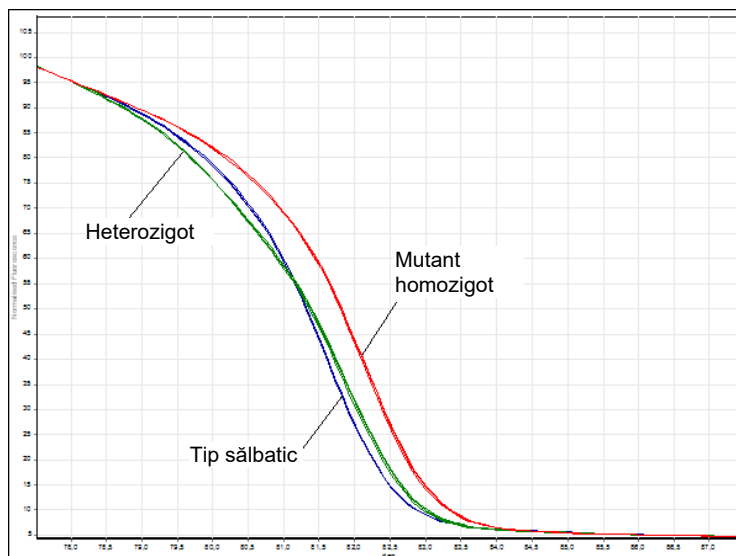
QIAGEN oferă Type-it® HRM PCR Kit pentru analiza SNP-urilor și a mutațiilor cu utilizarea HRM și EpiTect® HRM PCR Kit pentru analiza metilării. Ambele kituri conțin colorantul fluorescent intercalat de a treia generație, EvaGreen. Kiturile combină soluția tampon HRM optimizată și HotStarTaq® Plus DNA Polymerase pentru a evita apariția unor produși de amplificare nespecfici și pentru a oferi rezultate fiabile.

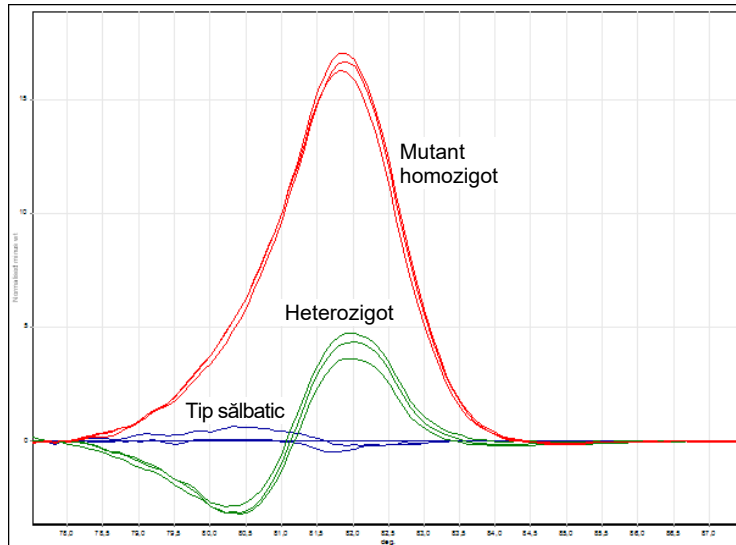
Rețineți: Toate kiturile și reactivii HRM QIAGEN sunt indicați pentru utilizare cu instrumentele Rotor-Gene Q numai pentru aplicațiile descrise în manualele respectivelor kituri QIAGEN.

10.3 Exemplu de genotipare SNP

În exemplul prezentat, Type-it HRM PCR Kit a fost utilizat în analiza HRM pentru a diferenția formele de tip sălbatic homozigot, mutant homozigot și formele heterozigote pentru SNP uman rs60031276. Pentru detalii tehnice, consultați *Manualul Type-it HRM PCR*.

A



B**C**

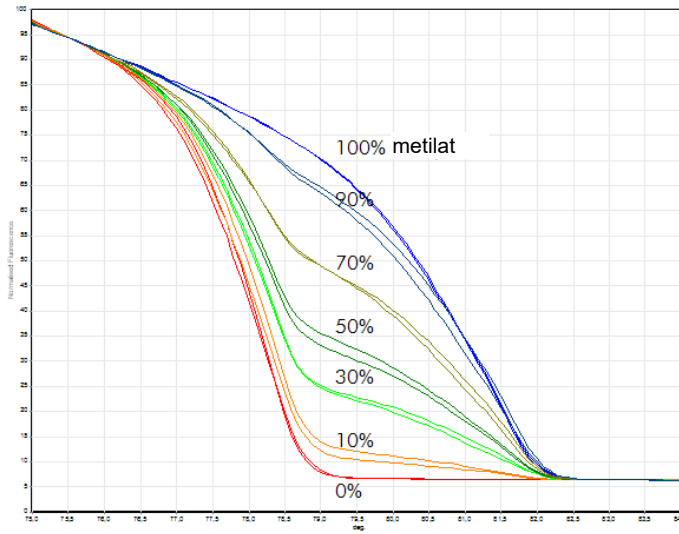
| HRM Results - HRM A.HRM (Page 1) | | | | |
|----------------------------------|---|-------------------------|-----------|--------------|
| No. | C | Name | Genotype | Confidence % |
| 22 | ■ | AA Human SNP rs60031276 | homo AA | 100,00 |
| 23 | ■ | unknown | homo AA | 99,49 |
| 24 | ■ | unknown | homo 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 |

Genotiparea SNP prin HRM. SNP uman rs60031276 (substituție din A în G) în gena PPP1R14B (proteină fosfatază 1, subunitatea de reglare (inhibitor) 14B) a fost analizat pe Rotor-Gene Q utilizând 10 ng de ADN genomic de diferite genotipuri și Type-it HRM Kit. Probele homozigote de tip sălbatic (AA), homozigote mutante (GG) și heterozigote (AG) sunt prezentate pe **A**, o curbă standard de topire normalizată și **B**, o reprezentare grafică a diferențelor, normalizată la probele de tip sălbatic. Genotipurile **C** pentru probele necunoscute au fost atribuite de software-ul Rotor-Gene Q.

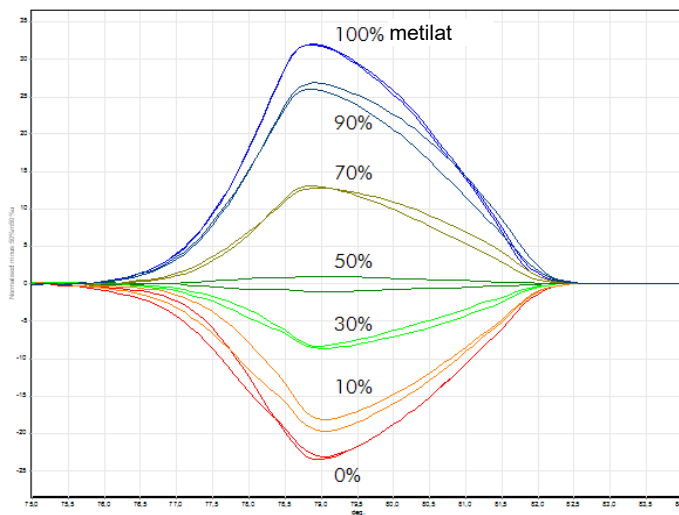
10.4 Exemplu de analiză a metilării

În exemplul prezentat, EpiTect HRM PCR Kit s-a folosit în analiza HRM pentru a diferenția rapoarte diferite de ADN metilat și nemetilat. Pentru detalii tehnice, consultați *Manualul EpiTect HRM PCR*.

A



B



Analiza cantitativă a metilării prin HRM. Au fost analizate și diferențiate rapoarte diferite de ADN-APC (polipoză adenomatoasă colonică) metilat și nemetilat prin analiza de metilare HRM pe Rotor-Gene Q utilizând EpiTect HRM Kit. Sunt afișate **A**, o curbă standard de topire normalizată și **B**, o reprezentare grafică a diferențelor, normalizată la proba metilată 50 %.

10.5 Instrucțiuni pentru o analiză HRM reușită

Succesul analizei HRM depinde în mare măsură de secvența respectivă cercetată. Anumite detalii ale secvenței, cum ar fi bucle de tip ac de păr sau alte structuri secundare, regiuni localizate cu conținut GC neobișnuit de ridicat sau de scăzut sau secvențe repetate pot afecta rezultatul. În plus, utilizarea kiturilor standardizate și a protocoalelor optimizate de la QIAGEN poate depăși multe dintre provocările potențiale enumerate. Mai jos vă prezentăm câteva instrucțiuni simple pentru a garanta succesul.

Analizați fragmente mici de ADN

Analizați fragmente de maximum 250 bp aproximativ. Produsele mai mari pot fi analizate cu succes, dar, de obicei, oferă o rezoluție mai mică. Acest lucru se datorează faptului că, de exemplu, o singură variație a bazei are un efect mai mare asupra comportamentului de topire al unui amplicon de 100 bp decât asupra unui amplicon de 500 bp.

Asigurați-vă că PCR conține doar un anumit produs

Probele contaminate cu artefacte post-PCR, cum ar fi dimerii-soluții de amorsare sau produse nespecifice, pot face rezultatele HRM dificil de interpretat. Kiturile de la QIAGEN pentru analiza HRM asigură specificitate maximă fără a fi nevoie de optimizare.

Utilizați un șablon de preamplificare suficient

Analiza datelor real-time PCR poate fi foarte utilă atunci când depanați problemele cu analizele HRM. Reprezentările grafice ale amplificării trebuie să aibă un C_T (ciclu de prag) mai mic sau egal cu 30 de cicluri. Produsele care se amplifică mai târziu (din cauza cantității reduse a șablonului de pornire sau a degradării șablonului) generează de obicei rezultate HRM variabile, din cauza artefactelor PCR.

Normalizați concentrația șablonului

Cantitatea de șablon adăugată la reacție ar trebui să fie constantă. Normalizați concentrațiile inițiale, astfel încât toate reprezentările grafice ale amplificării să se afle în intervalul de 3 valori C_T una față de cealaltă. Astfel vă asigurați că toate concentrațiile de intrare se încadrează într-un interval înzecit.

Verificați reprezentările grafice aberante ale amplificării

Înainte de a rula HRM, examinați cu atenție datele reprezentărilor grafice ale amplificării pentru o formă anormală a reprezentării grafice a amplificării. Reprezentările grafice cu o fază logaritmică-liniară care nu este abruptă, este zimțată sau care atinge un platou de semnal scăzut în comparație cu alte reacții, pot indica o amplificare slabă sau un semnal de fluorescență care este prea scăzut (de exemplu, acest lucru s-ar putea întâmpla în cazul în care concentrația soluției de amorsare a fost prea scăzută). Reacțiile slabe pot fi cauzate de inhibitori de reacție sau de configurarea incorectă a reacției. Datele HRM din astfel de probe pot fi neconcludente sau de rezoluție scăzută. Pentru a evita rezultate incerte, recomandăm kiturile QIAGEN pentru prepararea probelor și analiza HRM.

Păstrați similare concentrațiile probelor post-amplificare

Concentrația unui fragment de ADN afectează temperatura de topire a acestuia (T_m). Din acest motiv, concentrațiile de ADN ale probei trebuie menținute cât mai similare posibil. Când analizați produsele PCR, asigurați-vă că fiecare reacție s-a amplificat până la faza de platou. La platou, toate reacțiile se vor fi amplificate într-o măsură similară, indiferent de cantitatea lor inițială. Rețineți, totuși, că reacțiile slabe este posibil să nu atingă un platou cu aceeași cantitate amplificată din cauza, de exemplu, a configurării diferite a testelor (de exemplu, concentrația de soluție de amorsare a fost prea scăzută).

Asigurați uniformitatea de la probă la probă

Toate probele trebuie să aibă același volum și trebuie să conțină aceeași concentrație de colorant. Comportamentul de topire a ADN-ului este afectat de sărurile din amestecul de reacție, de aceea este importantă o uniformitate cât mai mare pentru soluția tampon, Mg și alte săruri în toate probele. În mod similar, utilizați numai tuburi de reacție identice de la același producător pentru a evita variațiile cauzate de grosimea plasticului și proprietățile de autofluorescență.

Colectați suficiente date pentru fazele de pretopire și posttopire

Achiziționați puncte de date HRM pe un interval de aproximativ 10 °C, centrat în jurul temperaturii T_m observate (consultați figura de la pagina 10). Acest lucru oferă suficiente puncte de date de referință pentru normalizarea eficientă a curbei și va avea ca rezultat duplicate mai reproductibile și o interpretare mai ușoară a datelor.

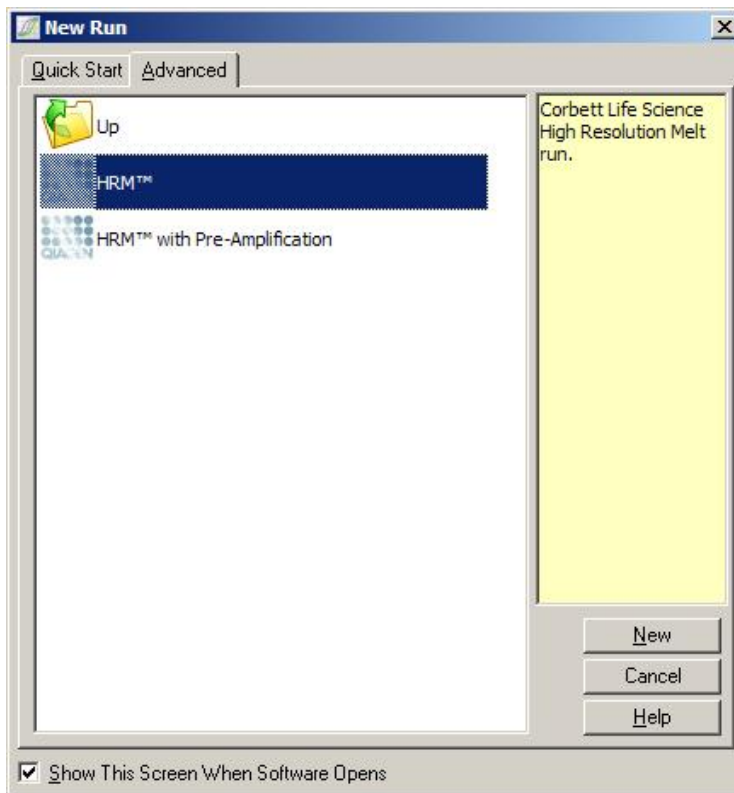
10.6 Prepararea probelor

Degradarea probei trebuie evitată în timpul purificării și depozitării. Evitați cantitățile excesive de inhibitori, cum ar fi transferul de etanol. Pentru a îmbunătăți rezultatele HRM, am recomandat menținerea la o valoare constantă a cantității de șablon utilizate între probe. Se recomandă analiza spectrofotometrică pentru determinarea concentrației și purității ADN-ului. Recomandăm kiturile QIAGEN pentru prepararea probelor.

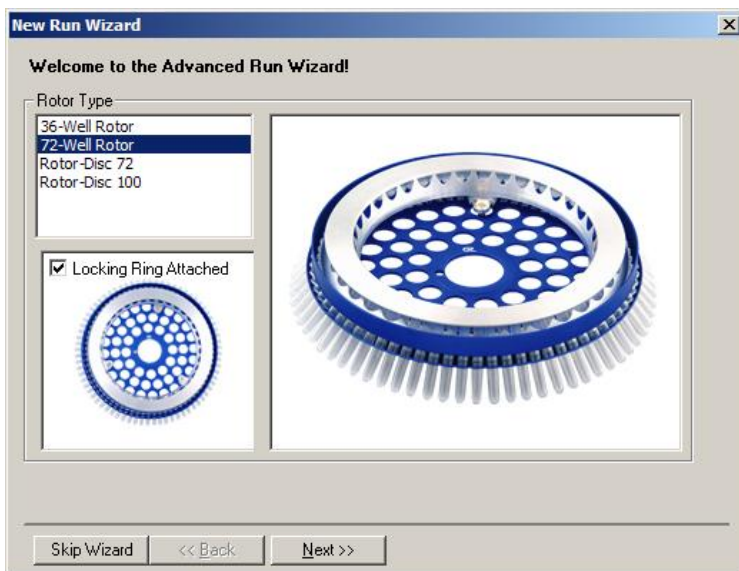
Rețineți: La 260 nm, o unitate de absorbanță este egală cu 50 pg/ml ADN. ADN-ul pur va oferi un raport de la 260 nm la 280 nm de 1,8.

10.7 Configurarea software-ului

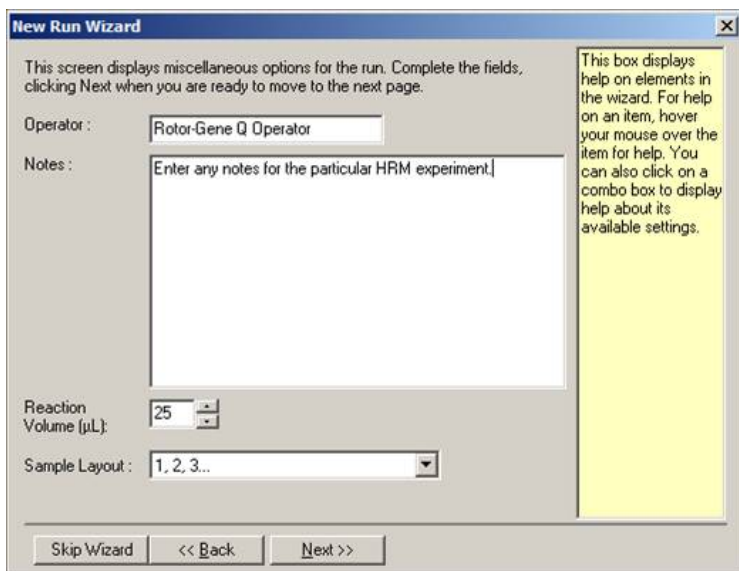
1. Deschideți un fișier de testare nou prin selectarea **New...** (Nou...) din meniul **File** (Fișier). În expertul Advanced (Avansat), selectați **HRM**.



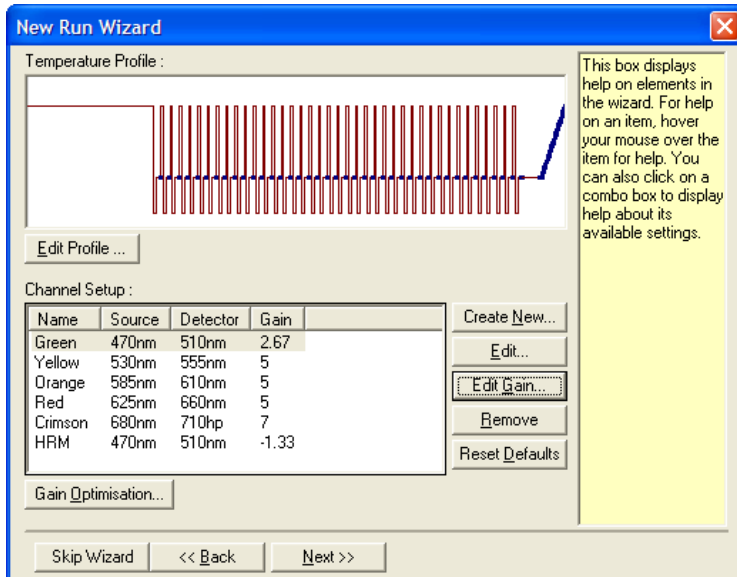
2. Selectați tipul de rotor (în acest exemplu se folosește 72-Well Rotor). Asigurați-vă că inelul de blocare este pe poziție și că ați bifat caseta de selectare **Locking Ring Attached** (Inel de blocare fixat) înainte de a trece la pasul următor.



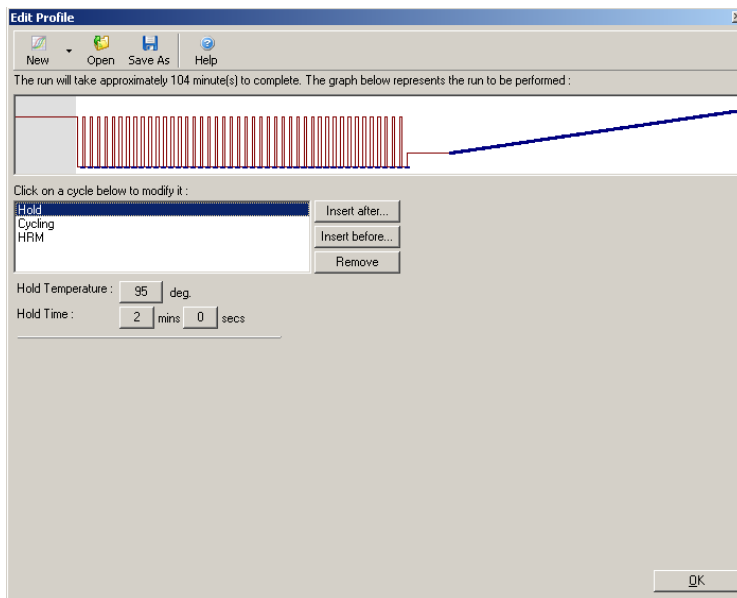
3. Setează detaliile testării. Introduceți numele operatorului (opțional) și adăugați orice notă despre experiment (opțional). Selectați volumul de reacție (obligatoriu) și dispunerea dorită a probelor.



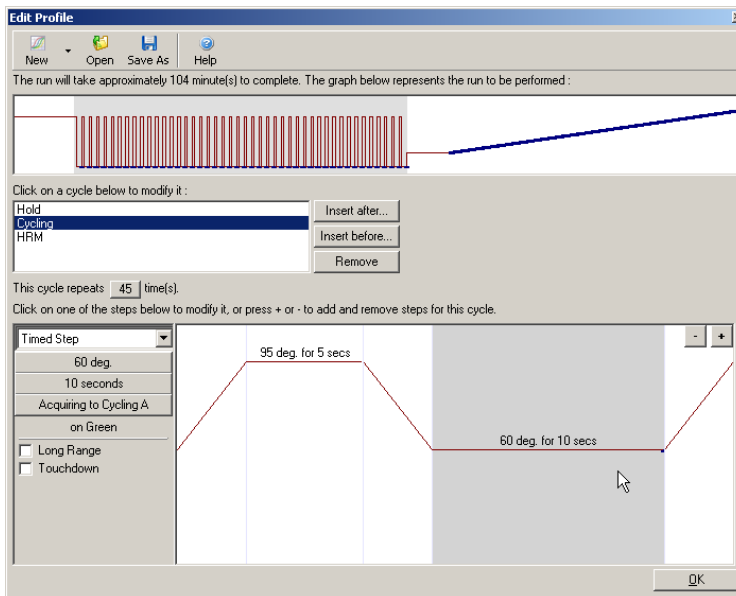
4. Faceți clic pe butonul **Edit Profile...** (Editare profil...) pentru a modifica timpii și temperaturile de reacție.



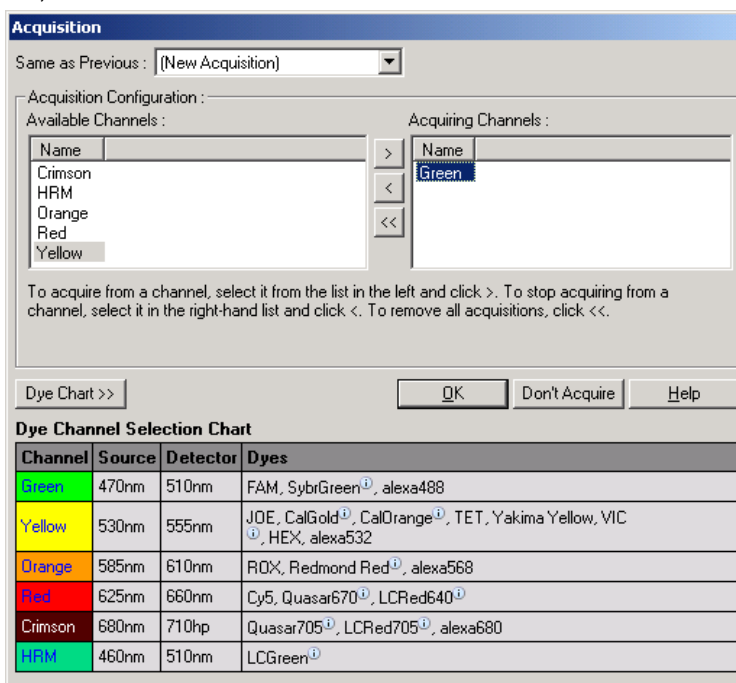
5. Setăți un timp de reținere inițial adecvat. Acest timp depinde de tipul de ADN polimerază utilizat. Type-it HRM PCR Kit și EpiTect HRM PCR Kit au nevoie de un timp de activare de 5 minute. Timpul de activare implicit este de 10 minute.



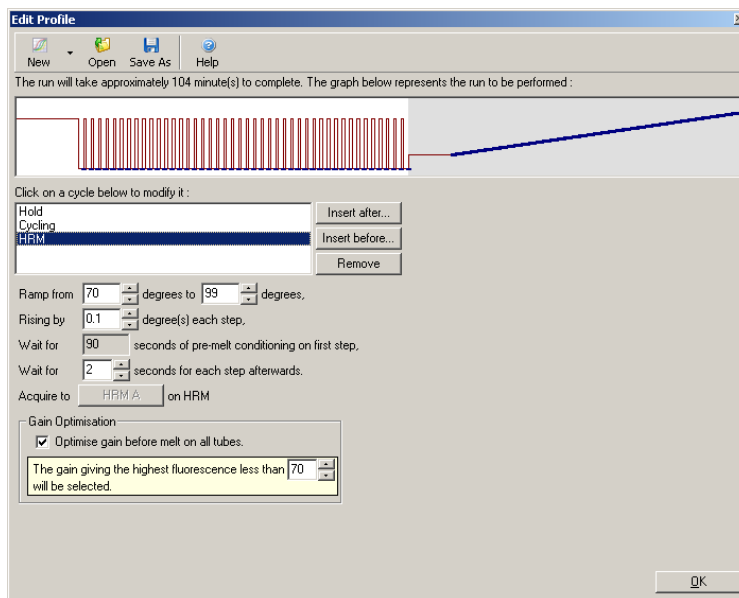
6. Modificați ciclarea pentru a se potrivi cu ampliconul.



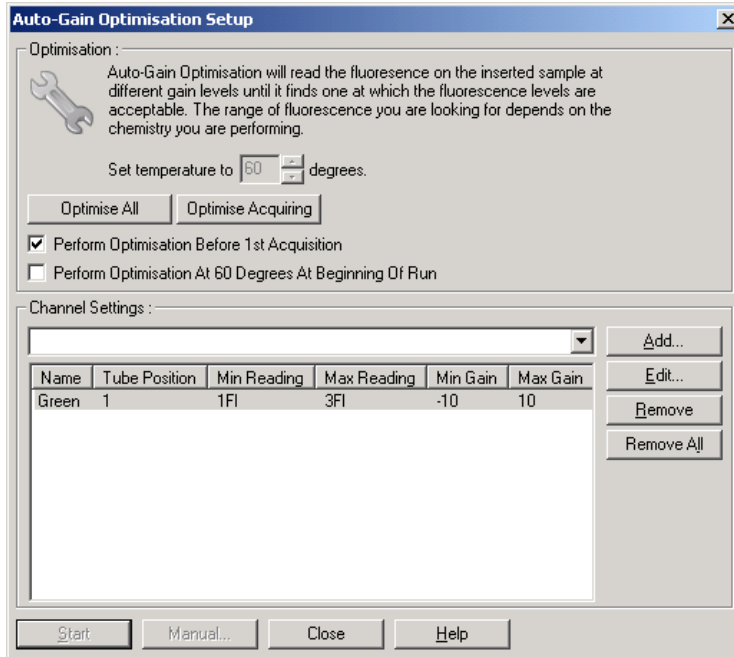
7. Asigurați-vă că datele despre fluorescență vor fi achiziționate. Achiziționați date pe canalul verde la sfârșitul etapei de temperatură.



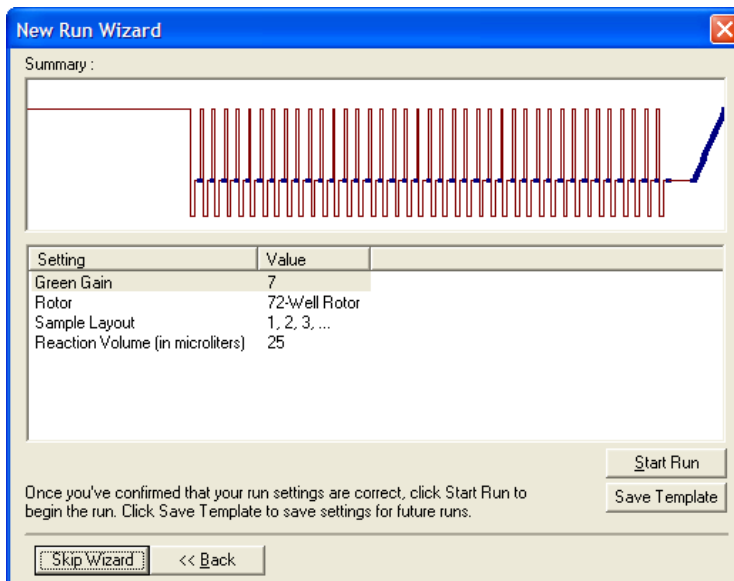
8. Setați condițiile de testare HRM. Modificați condițiile pentru a se potrivi cu ampliconul. Pentru primul set de experimente, setați un domeniu de topire larg. Utilizați valoarea T_m teoretică drept valoarea orientativă pentru un interval adecvat. După ce ați determinat punctul la care se va topi produsul, reduceți domeniul de topire la maximum 10 °C. Asigurați-vă că topirea începe cu 5 °C înainte de prima tranziție de topire. Rampa implicită este setată la 0,1 °C cu o reținere de câte 2 s la fiecare etapă. Tranziția minimă a rampei este de 0,05 °C cu câte o reținere secundară la fiecare etapă. Datele sunt achiziționate automat pe canalul HRM. Optimizarea automată a amplificării are loc în mod implicit. Software-ul va căuta setarea optimă a amplificării, astfel încât cea mai mare valoare de fluorescență raportată să nu fie mai mare de 70 de unități pe o scară de 100. Rețineți că aceasta poate fi mărită la maximum 100.



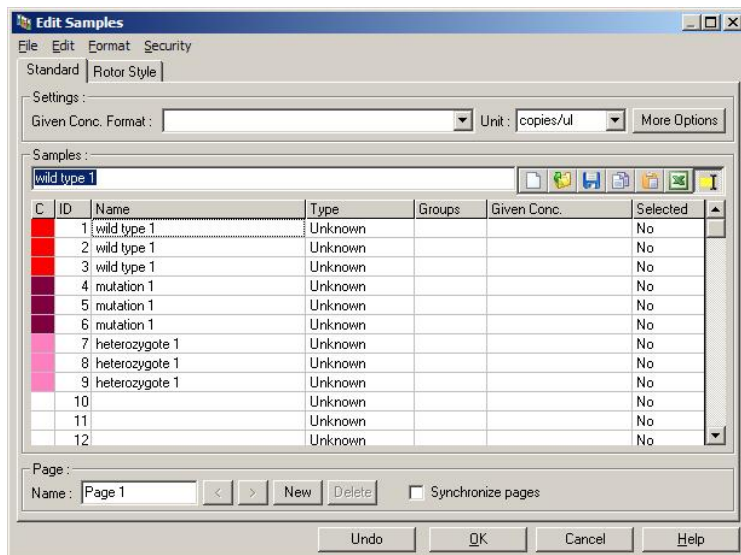
9. Opțional: Setați optimizarea automată a amplificării. Aceasta se aplică doar etapei de amplificare în timp real și este setată pentru canalul verde. Faceți clic pe butonul **Optimize Acquiring** (Optimizare achiziție) (pentru optimizarea exclusivă a canalelor utilizate de o testare). Optimizarea se realizează cel mai bine chiar înainte de prima etapă de achiziție, de aceea bifați caseta de selectare **Perform Optimization Before First Acquisition** (Efectuarea optimizării înainte de prima achiziție). Intervalul recomandat de fluorescență de fond pentru coloranții intercalați este între 1 și 3 unități de fluorescență. Pentru a modifica această setare, faceți clic pe numele canalului pentru a-l selecta în listă și apoi faceți clic pe butonul **Edit** (Editare).



10. Porniți testarea făcând clic pe **Start Run** (Pornire testare) și salvați fișierul de testare pe computer.



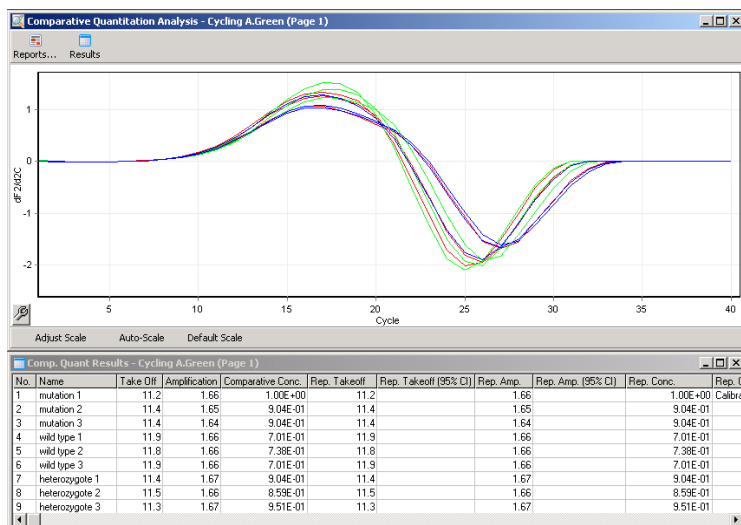
11. Editați numele probelor (opțional). Numele probelor pot fi editate în timpul unei testări sau după aceasta.



10.8 Analiza datelor real-time PCR

Analiza datelor real-time PCR înainte de analiza datelor HRM este avantajoasă. Datele real-time PCR pot evidenția teste cu performanțe slabe. Identificarea acestor deviații extreme și filtrarea lor din analiza HRM ulterioară va îmbunătăți considerabil eficacitatea generală a analizei HRM, deoarece analiza unui produs PCR de slabă calitate va duce la rezultate HRM slabe. Vă recomandăm să analizați datele cantitative real-time PCR după cum urmează.

1. Analizați datele în timp real utilizând opțiunea **Quantitation** (Cuantificare) din fereastra **Analysis** (Analiză). Dacă una dintre valorile C_T este mai mare sau egală cu 30, se consideră că reacțiile corespunzătoare s-au amplificat prea târziu. Aceste probe trebuie analizate cu precauție sau eliminate din analiză ca deviații extreme. Amplificarea cu întârziere este cauzată de obicei de o cantitate prea mică de șablon inițial și/sau de niveluri ridicate de degradare a probei.
2. Evaluați nivelul de fluorescență cu punct final. Dacă fluorescența cu punct final în oricare dintre reprezentările grafice ale amplificării este scăzută în comparație cu cele mai multe reprezentări grafice din setul de date, omiteți acele probe din analiză, chiar dacă valoarea lor C_T este mai mică de 30. Fluorescența cu punct final scăzută poate indica o cantitate incorectă de colorant, niveluri incorecte ale componentelor de reacție (cum ar fi soluțiile de amorsare) sau acțiunea inhibitorilor.
3. Utilizați opțiunea **Comparative Quantitation** (Cuantificare comparativă) din fereastra **Analysis** (Analiză) pentru a obține eficiența reacției pentru fiecare probă. Dacă eficiența nu este similară cu cea a altor reacții din experiment sau este mai mică de aproximativ 1,4, omiteți reacția ca deviație extremă.



Rezultatele cuantificării comparative. Eficiența reacției este afișată în coloana „Amplification” (Amplificare) ca scor de 2 (2 = eficiență 100 %).

Rețineți: Dacă bănuieți prezența dimerilor-soluții de amorsare sau a produșilor nespecifici, evaluați reacțiile prin desenarea unei reprezentări grafice a derivatelor, folosind opțiunea **Melt** (Topire) din fereastra **Analysis** (Analiză). Asigurați-vă că există un singur vârf, care indică un singur produs. Dacă este posibil, testați un gel pentru a verifica dacă există un singur produs de amplificare. Dacă există mai mult de un produs, reacția trebuie repetată sau reoptimizată.

10.9 Analiza datelor HRM

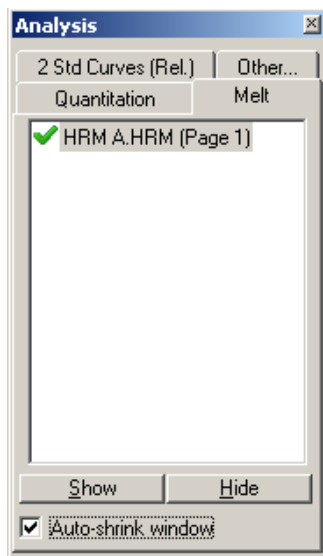
Analiza HRM permite atât apelarea vizuală, cât și cea automată a genotipurilor. Rezultatele pot fi vizualizate sub forma unei reprezentări grafice a topirii normalizate sau ca reprezentare grafică a diferențelor. Curbele normalizate oferă reprezentarea de bază a diferitelor genotipuri, în funcție de deplasarea curbei (pentru homozigote) și modificarea formei curbei (pentru heterozigote).

Reprezentările grafice ale diferențelor sunt utile pentru interpretarea vizuală. Acestea reprezintă grafic diferența de fluorescență a unei probe în raport cu o substanță de control selectată, la fiecare tranziție de temperatură. Reprezentările grafice ale diferențelor oferă o vizualizare alternativă a diferențelor între tranzițiile curbei de topire.

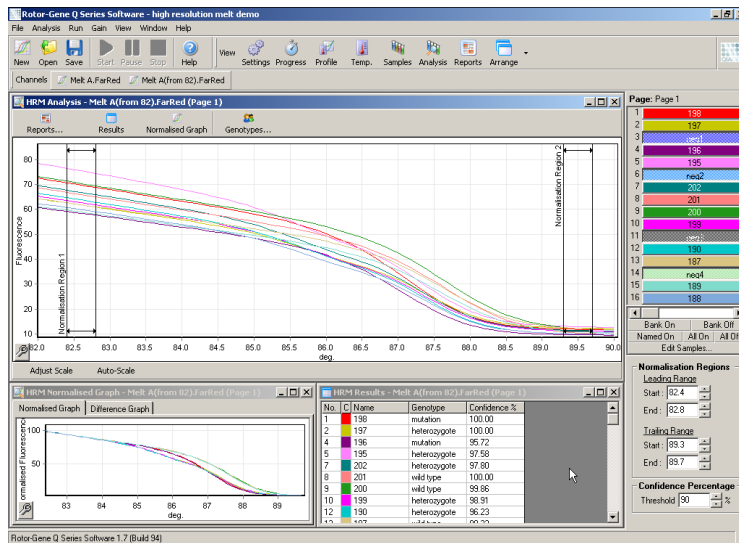
Rețineți: Analiza curbei de topire a primei derivate (așa cum este utilizată de opțiunea standard **Melt** (Topire) din fereastra **Analysis** (Analiză)) este considerată inadecvată pentru analiza HRM. Cauza este că orice derivare a datelor adaugă zgomot artificial și face interpretarea datelor mai dificilă.

Următorii pași descriu analiza rezultatelor HRM utilizând software-ul Rotor-Gene Q.

1. Selectați opțiunea **HRM** din fereastra **Analysis** (Analiză).

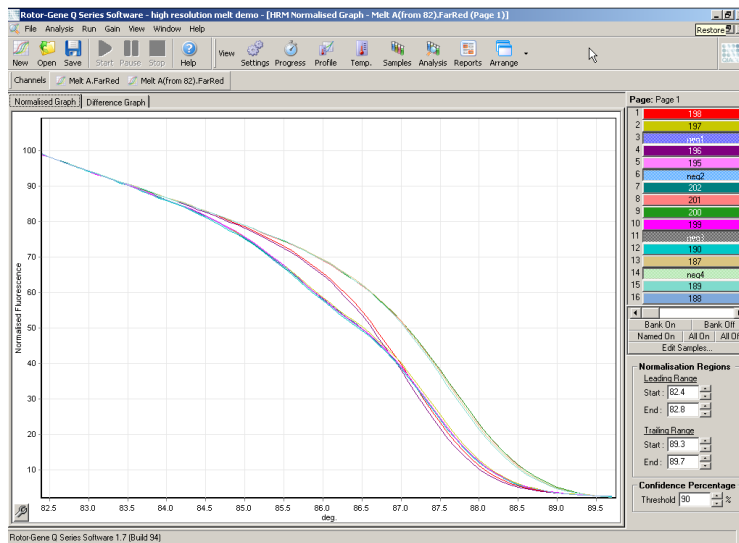


2. Apar ferestre care afișează datele brute, graficul normalizat și rezultatele. Fereastra de date brute permite ajustarea regiunilor de normalizare. Normalizarea permite ca toate curbele să fie comparate cu același nivel de semnal fluorescent de început și de sfârșit pentru a ajuta la interpretare și analiză. Sunt prevăzute câte două cursoare pentru fiecare regiune, cu valori implicite la capetele curbei. Punctele de date din regiuni sunt utilizate pentru a normaliza fluorescența (numai axa y) pentru începutul (Regiunea 1) și sfârșitul (Regiunea 2) reprezentării grafice a topirii. Datele din afara regiunilor setate sunt ignorate. Ajustați regiunile pentru a cuprinde date de referință reprezentative pentru fazele de pretopire și posttopire. Lărgirea regiunilor (prin clic și glisare) îi permite software-ului să se ajusteze pentru panta liniei de bază. Pentru a vă asigura că toate curbele se normalizează eficient, evitați lărgirea regiunilor de normalizare în faza de topire.

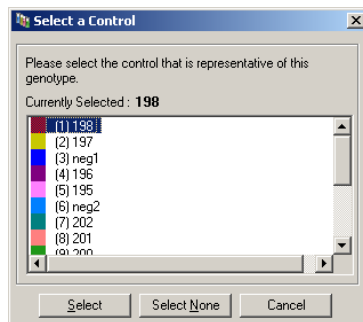
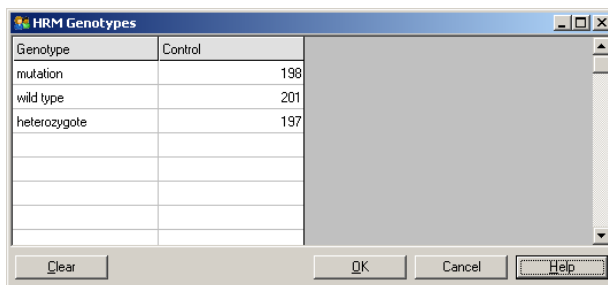


Rețineți: Vă recomandăm să mutați cursorul numai dacă doriți să evitați zonele curbei de topire. Deplasarea cursoroarelor către tranzițiile fazei de topire poate afecta reprezentările grafice ale scăderii și procentele de încredere.

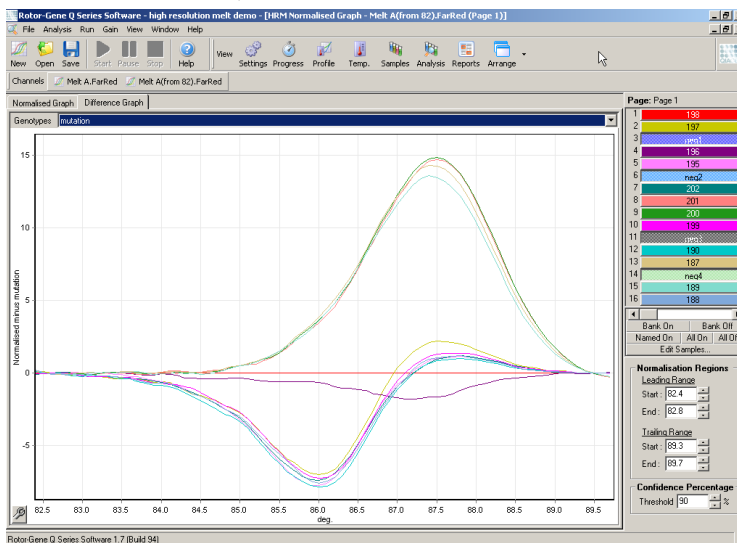
3. Fereastra **Normalised Graph** (Grafic normalizat) afișează curbele de topire normalizate. Și probele pot fi vizualizate ca reprezentare grafică a diferențelor, în raport cu una dintre substanțele de control.



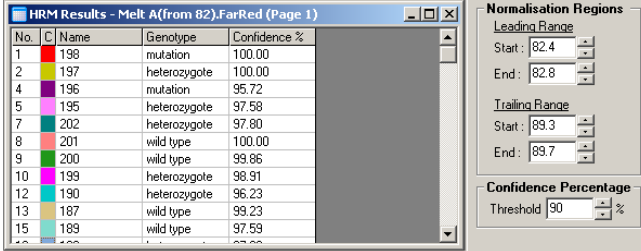
4. Faceți clic pe butonul **Genotypes...** (Genotipuri...) pentru definirea genotipurilor. Introduceți numele fiecărei categorii de genotip și selectați o probă reprezentativă pentru fiecare din lista de probe.



5. Puteți vizualiza reprezentarea grafică a diferențelor dacă selectați fila **Difference Graph** (Graficul diferențelor). Apoi selectați genotipul cu care doriți să comparați toate celelalte probe folosind meniul vertical din partea de sus a ferestrei. În exemplul prezentat, toate probele sunt reprezentate grafic ca fiind extrase dintr-o reprezentare grafică a mediilor pentru toate probele etichetate cu **Mutation 1** (Mutație 1).



6. Genotipurile vor fi apelate automat de software în fereastra **Results** (Rezultate). O valoare a încrederii este furnizată ca o verificare a integrității rezultatelor apelate automat. Valoarea pragului peste care se fac apelări automate poate fi editată. Probele care se încadrează sub pragul stabilit vor fi marcate ca o variație pentru o verificare mai atentă sau retestare.



The screenshot shows the 'HRM Results - Melt A(from 82).FarRed (Page 1)' window. 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 |

On the right side of the window, there are two control panels:

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

11 Depanarea

Această secțiune oferă informații despre ce trebuie făcut dacă apare o eroare în timpul utilizării Rotor-Gene Q MDx System.

Dacă aveți nevoie de asistență suplimentară, contactați Serviciile tehnice QIAGEN, folosind datele de contact de mai jos:

Site web: **support.qiagen.com**

La contactarea Serviciilor tehnice QIAGEN cu privire la o eroare în Rotor-Gene Q MDx, notați pașii care au condus la eroare și orice informații care apar în casetele de dialog. Aceste informații vor ajuta Serviciile tehnice QIAGEN să rezolve problema.

La contactarea Serviciilor tehnice QIAGEN privitor la erori, vă rugăm să aveți la îndemână următoarele date:

- Numărul de serie, tipul și versiunea Rotor-Gene Q MDx
- Versiunea software (dacă este cazul)
- Momentul în care a apărut eroarea pentru prima dată
- Frecvența apariției erorii (adică eroare intermitentă sau persistentă)
- Descriere detaliată a situației de eroare
- Fotografie a erorii, dacă este posibil
- Copie a fișierelor jurnal

Aceste informații vă vor ajuta pe dvs. și pe specialistul de service pe teren QIAGEN să vă ocupați cel mai eficient de problema dvs.

Rețineți: Informații despre cele mai recente versiuni de software și protocol pot fi găsite la **www.qiagen.com**. În unele cazuri, pot fi disponibile actualizări pentru soluționarea problemelor specifice.

11.1 Arhivele de jurnale

Software-ul păstrează o înregistrare nemodificată a fiecărei testări, împreună cu informații de diagnosticare, în depozitul său Log Archive (Arhivă de jurnale). Folosind opțiunea **Help** (Ajutor), **Send Support Email** (Trimitere e-mail de asistență), puteți trimite un e-mail împreună cu toate informațiile necesare pentru diagnosticare, la Serviciile tehnice QIAGEN (consultați Secțiunea 6.12.1).

Pentru a economisi spațiu pe disc, sunt stocate doar arhivele de jurnale ale celor mai recente 60 de testări. Arhivele de jurnale de testare mai vechi vor fi suprascrise pe măsură ce sunt create arhive de jurnale de testare noi.

11.2 Erori hardware și software

11.2.1 Depanarea HRM

Comentarii și sugestii

Imposibil de executat HRM

Modelul Rotor-Gene Q MDx nu este echipat pentru HRM Contactați reprezentanța QIAGEN locală.

Nu s-au obținut date HRM

Configurare incorectă

- Verificați setările filtrului.
- Verificați dacă tipul de rotor este corect.
- Verificați dacă au fost utilizați reactivii corecți.
- Verificați dacă reacția a fost configurată corect.
- Rulați un experiment cu substanță de control pozitivă (adică un test despre care se știe că generează rezultate).

Reprezentările grafice par zimțate

Amplificare slabă sau lipsă

- Verificați dacă au fost utilizate protocoalele și reactivii corecți. Vă recomandăm kiturile QIAGEN pentru analiza HRM.
- Verificați dacă reacția a fost configurată corect.
- Verificați condițiile de ciclare.
- Verificați calitatea inițială și cantitatea șablonului. Recomandăm kiturile QIAGEN pentru prepararea probelor.

Reprezentările grafice ale amplificării sau ale topirii sunt saturate

Amplificare setată la o valoare prea mare

- Utilizați **Auto-Gain Optimisation** (Optimizare automată amplificare) (consultați pagina 63).

Procentele de încredere s-au schimbat

Regiunile de normalizare au fost mutate prin clic și glisare

- Mutați regiunile de normalizare numai dacă este necesar pentru a evita fragmentarea curbei de topire.

În date sunt prezente deviații extreme

Configurarea reacției este inconsecventă

- Verificați dacă au fost utilizați reactivii corecți.
- Verificați dacă tuburile utilizate sunt uniforme.

Inhibitori prezenți în probă

- Verificați dacă a fost folosit același amestec master mix pentru toate probele.

Șablon prea puțin sau degradat

- Verificați calitatea inițială și cantitatea șablonului.

11.3 Erori și mesaje de avertizare

11.3.1 Erori generale la instrument

| Mesaj de eroare | Comentarii și sugestii |
|---|---|
| Can't open the serial port <COMPORT> (Imposibil de deschis portul serial <COMPORT>) | <p>Această eroare apare la pornirea software-ului dacă software-ul nu poate comunica cu instrumentul prin portul COM configurat. Acest lucru este cauzat de obicei de cabluri defecte, cabluri slăbite, porturi seriale defecte, porturi USB defecte, o problemă cu driverul USB sau o problemă cu driverul convertorului USB-la-serial.</p> <p>Reconectați sau înlocuiți cablul. Reinstalați driverele corespunzătoare. Porniți software-ul în Virtual Mode (Modul virtual) și selectați butonul Setup/Auto-Detect (Configurare/Detectare automată) din meniul File (Fișier) pentru a reseta portul COM configurat.</p> |
| Chamber lid open (Capacul camerei este deschis) Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Testarea nu poate continua; capacul camerei a fost deschis în timpul unei testări. Resetați aparatul și reporniți software-ul.) | <p>Această eroare apare atunci când software-ul a detectat capacul deschis în mijlocul unei testări.</p> <p>Resetați aparatul și reporniți software-ul.</p> |
| Chamber lid open (Capacul camerei este deschis) The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Capacul camerei instrumentului este deschis. Închideți capacul, apoi faceți clic pe Continuare.) | <p>Această eroare apare atunci când utilizatorul încearcă să pornească o testare cu capacul instrumentului deschis.</p> <p>Închideți capacul camerei instrumentului, apoi faceți clic pe Continue (Continuare).</p> |
| Communication corrupted (Comunicații deteriorate) | <p>Această eroare apare atunci când datele primite de la instrument nu sunt conforme cu tiparul preconizat.</p> <p>Sunt necesare investigații suplimentare efectuate de un specialist de service din teren QIAGEN care să diagnosticheze problema cu instrumentul.</p> <p>Contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.</p> |
| Communication out of sequence (Comunicații în afara secvenței) Instrument has received data from the machine that is out of sequence. (Instrumentul a primit date de la aparat care este în afara secvenței.) | <p>Această eroare apare atunci când datele primite de la instrument nu sunt în ordinea corectă.</p> <p>Sunt necesare investigații suplimentare efectuate de un specialist de service din teren QIAGEN care să diagnosticheze problema cu instrumentul.</p> <p>Contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.</p> |
| Communication protocol error (Eroare protocol de comunicații) A communication protocol error occurred with this run. (A apărut o eroare de protocol de comunicații la această testare.) | <p>Această eroare apare atunci când protocolul de comunicații configurat în firmware nu este același cu protocolul preconizat.</p> <p>Sunt necesare investigații suplimentare efectuate de un specialist QIAGEN de service pe teren, care să diagnosticheze problema cu protocolul de comunicații sau cu instrumentul.</p> |
| Detector motor jam, stopped machine (Blocaj motor detector, aparat oprit) | <p>Această eroare poate apărea atunci când Rotor-Gene Q MDx este pornit imediat după livrare în climat rece.</p> <p>În acest caz, lăsați instrumentul să se aclimatizeze la temperatura camerei timp de cel puțin o oră înainte de pornire.</p> <p>Dacă eroarea persistă, contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.</p> |

Mesaj de eroare

Comentarii și sugestii

Fatal hardware malfunction (Defecțiune fatală hardware)

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. (Instrumentul a detectat prezența unei defecțiuni fatale la hardware. Nu încercați să reutilizați aparatul până când acesta nu este reparat de distribuitorul local.)

Machine error (Eroare aparat)

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. (Această testare a fost oprită, deoarece au survenit erori la aparat după care acesta nu s-a mai putut recupera. Contactați distribuitorul dacă acestea survin din nou și atașați un fișier arhivă suport.)

Machine unplugged (Aparat deconectat)

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. (Instrumentul nu răspunde și a eșuat, afișând mesajul <MESAJ DE EROARE>. Aceasta este o eroare irecuperabilă, resetați instrumentul și reporniți software-ul.)

Machine unplugged (Aparat deconectat)

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. (Instrumentul nu este conectat la computer la <NUME PORT>. Reconectați cablul serial în partea din spate a computerului, apoi faceți clic pe Continuare.)

Object variable or with block variable not set (Variabila obiect sau variabila cu bloc nesetată)

Această eroare apare atunci când software-ul a detectat o defecțiune fatală a hardware-ului și a activat o procedură de protecție pentru a opri aparatul.

Opriți instrumentul imediat și contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.

Această eroare apare atunci când software-ul a detectat erori la aparat, după care acesta nu s-a mai putut recupera. Software-ul a oprit testarea.

Încercați o altă testare. Dacă problema persistă, contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN și atașați un fișier arhivă de asistență.

Această eroare apare dacă instrumentul nu comunică cu software-ul după un interval de expirare predefinit. Este adesea cauzată de o defecțiune a instrumentului sau de o activitate excesivă a computerului, ceea ce duce la pierderea unui pachet.

Cauzele obișnuite legate de software includ activități care solicită o parte mare a procesorului, cum ar fi protecția antivirus sau scanările antivirus programate, plăcile wireless sau plăcile în infraroșu.

Dezactivați sau dezinstalați software-ul/activitatea relevantă care solicită o parte mare a procesorului.

Resetați instrumentul și reporniți software-ul.

Dacă problema persistă, contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.

Această eroare apare atunci când se pierde comunicația serială sau USB cu instrumentul.

Reconectați cablul serial sau USB în partea din spate a computerului, apoi faceți clic pe butonul **Continue** (Continuare).

Această eroare apare la pornirea software-ului dacă fișierul șablon de experiment implicit s-a deteriorat. Acest lucru se poate întâmpla dacă software-ul/calculatorul este oprit fără o ieșire corectă, de exemplu, în timpul unei pene de curent.

Ștergeți fișierul **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret**, apoi reporniți software-ul.

Rotor speed failure (Eroare turație rotor)

Time out while setting the rotor speed. (Timpul de setare a turației rotorului a expirat.)

Această eroare apare atunci când software-ul a încercat să seteze turația rotorului și nu a reușit să seteze turația vizată într-o perioadă de expirare.

Sunt necesare investigații suplimentare efectuate de un specialist de service din teren QIAGEN care să diagnosticheze problema cu instrumentul.

Contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.

| Mesaj de eroare | Comentarii și sugestii |
|--|---|
| <p>Serial port in use (Port serial în uz)</p> <p>The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Portul serial este utilizat în prezent de altă aplicație. Închideți toate aplicațiile, precum comunicații și software de sincronizare, apoi încercați din nou.)</p> | <p>Această eroare apare atunci când software-ul încearcă să se conecteze la aparat la portul COM configurat, atunci când portul este utilizat de un alt software.</p> <p>Închideți orice aplicație, cum ar fi comunicațiile sau software de sincronizare, apoi încercați din nou.</p> |
| <p>Shutdown timeout (Expirare timp de oprire)</p> <p>The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (Instrumentul a depășit perioada preconizată pentru oprire. Resetați aparatul, apoi resetați software-ul.)</p> | <p>Această eroare apare atunci când software-ul a lansat o comandă de oprire pentru a opri instrumentul și aparatul continuă să trimită date înapoi după o perioadă de grație preconizată.</p> <p>Resetați aparatul și reporniți software-ul.</p> |
| <p>Temperature protection activated (Protecție la temperatură activată)</p> <p>The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists. (Instrumentul a detectat o creștere a temperaturii din cameră peste un nivel de siguranță. Prin urmare, a intrat într-un mod de autoprotecție. Opriți instrumentul și contactați distribuitorul local, dacă problema persistă.)</p> | <p>Această eroare apare atunci când software-ul a detectat că temperatura camerei a crescut peste un nivel de siguranță și, prin urmare, a activat o procedură de protecție.</p> <p>Opriți instrumentul imediat și contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.</p> |
| <p>Thermistor is open (Termistorul este deschis)</p> <p>The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off. Please contact your distributor if this occurs again. (Instrumentul a detectat că termistorul este deschis, de aceea, pentru a preveni deteriorarea aparatului, acesta a fost închis. Contactați distribuitorul local dacă această problemă apare din nou.)</p> | <p>Această eroare apare atunci când software-ul a detectat că termistorul este deschis și, prin urmare, nu poate citi temperatura; software-ul a activat apoi o procedură de protecție pentru a opri aparatul.</p> <p>Opriți instrumentul imediat și contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.</p> |
| <p>Unrecoverable errors occurred (Au apărut erori irecuperabile)</p> <p>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. (Această testare a fost oprită, deoarece au survenit erori la aparat după care acesta nu s-a mai putut recupera. Contactați distribuitorul dacă acestea survin din nou și atașați un fișier arhivă suport.)</p> | <p>Această eroare apare la mijlocul testării, după ce software-ul a făcut toate încercările posibile de recuperare și a eșuat.</p> <p>Sunt necesare investigații suplimentare efectuate de un specialist de service din teren QIAGEN care să diagnosticheze problema cu instrumentul.</p> <p>Contactați distribuitorul local sau Serviciile tehnice QIAGEN.</p> |

11.3.2 Mesaje pentru software-ul Rotor-Gene Q

În continuare vă prezentăm o listă de mesaje de utilizare, avertismente și alte mesaje care pot apărea în software-ul Rotor-Gene în timpul funcționării hardware-ului și a software-ului. Orice parte a mesajului care este variabilă, cum ar fi descrierile erorilor caracteristice, este menționată între paranteze (de exemplu, < ERROR DESCRIPTION > (< DESCRIERE EROARE >)).

Textul mesajului

Mesaje generale

- 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. (Există deja un canal brut pentru această pagină. Dacă doriți să creați din nou această pagină, mai întâi trebuie să ștergeți canalul brut prin intermediul butonului Opțiuni, apoi să încercați din nou.)
- 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. (A apărut o problemă gravă, care necesită oprirea software-ului. După ce faceți clic pe OK, activitatea dvs. curentă va fi salvată, iar aparatul va fi oprit, dacă este posibil. Dacă această problemă persistă, contactați distribuitorul local.)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Această pagină nu poate fi ștersă. Trebuie să existe întotdeauna cel puțin o pagină pentru probă.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Instrumentul nu poate fi conectat la portul serial <COMPORT>. Verificați dacă aparatul este conectat corect în partea din spate a computerului, apoi încercați din nou)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Imposibil de deschis portul serial <COMPORT> pentru conectare la instrument. Verificați să nu fie deschis niciun software de comunicații, apoi încercați din nou.)
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Testarea nu a putut fi salvată, deoarece unele date din formular sunt nevalide. Verificați datele introduse, apoi încercați din nou.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Fișierul nu a putut fi salvat. Confirmați că există spațiu suficient pe hard disk și că nu există erori.)
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Aplicația de e-mail nu a putut porni. Confirmați că aceasta a fost instalată corect pe computer.)
- 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. (A survenit o eroare în timpul testării: <DESCRIERE EROARE>. Testarea va continua și în fila Mesaje din Informații despre testare va fi înregistrat un mesaj.)
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Instrumentul nu a fost detectat. Asigurați-vă că ați conectat corect instrumentul și că acesta este pornit.)
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Înregistrarea în jurnal este dezactivată în prezent din cauza unei erori anterioare. Jurnalul arhivat nu pot fi vizualizate până la repornirea software-ului.)
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Nu au putut fi normalizate toate probele, deoarece nivelul fluorescent a fost prea scăzut.)
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Pot fi importate numai testările efectuate cu același rotor ca și testarea curentă.)
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Rețineți că fișierele jurnal pentru testarea curentă nu vor fi disponibile până la finalizarea acesteia.)
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Introduceți un număr valid de ori pentru repetare. Acesta trebuie să fie mai mare de 0.)
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (A apărut o problemă în timpul actualizării datelor din jurnal. Înregistrarea în jurnal a fost dezactivată, dar va fi reactivată la următoarea testare.)
- 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. (Semnarea fișierului de testare asigură integritatea rezultatelor testării. Puteți găsi informații despre semnătura unei testări în fereastra Informații despre testare.)
- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (ID-ul probei este blocat. Imposibil de lipit peste probe blocate.)

Textul mesajului

- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (TeeChart Office nu a fost instalat pe acest computer. Reinstalați software-ul Rotor-Gene.)
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (Portul COM configurat pentru instrument nu este selectat. Trebuie să selectați un port COM.)
- 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. (Fișierul de testare încărcat conține o semnătură care nu coincide cu conținutul fișierului. Aceasta înseamnă că fișierul a fost deteriorat sau s-a intervenit în fișier, deoarece a fost scris de software-ul Rotor-Gene.)
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Fișierul de testare încărcat nu are semnătură. Conținutul acestui fișier nu poate fi garantat.)
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Numărul de serie al aparatului nu este valid. Numerele de serie trebuie să aibă o lungime minimă de 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. (Aparatul va fi răcit acum la <TEMPERATURĂ> grade. Camera și suprafețele încă vor fi foarte fierbinți la deschiderea aparatului. Aveți grijă și purtați mănuși de protecție dacă atingeți suprafețele sau tuburile.)
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Conflict între setările regionale ale computerului dvs. Asigurați-vă că substituenții pentru monedă și zecimală numerică coincid.)
- 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. (Numărul de serie introdus în ecranul de bun venit <NUMĂR DE SERIE1> nu coincide cu numărul de serie stocat în aparatul conectat, <NUMĂR DE SERIE2>. Numărul de serie al computerului a fost actualizat pentru a coincide cu cel al aparatului conectat.)
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (A apărut o problemă la comunicarea cu placa de comunicații. Trebuie să reporniți computerul și să încercați din nou.)
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Timpul de încercare de comunicare cu instrumentul a expirat. Verificați dacă acesta este conectat corect.)
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Această caracteristică nu poate fi utilizată în modul virtual.)
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Acest fișier de profil a fost creat într-o versiune mai nouă a software-ului Rotor-Gene. Este posibil ca anumite aspecte să nu se încarce corect.)
- 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. (Acest fișier de testare a fost creat într-o versiune mai nouă a software-ului Rotor-Gene. Este posibil ca anumite aspecte ale testării să nu se încarce corect.)
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Acest fișier șablon a fost creat într-o versiune mai nouă a software-ului Rotor-Gene. Este posibil ca anumite aspecte să nu se încarce corect.)
- 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. (Acest software va executa simularea de bază a unui aparat, în scop de instruire și demonstrativ. Puteți dezactiva această setare din ecranul Configurare, accesibil din meniul Fișier.)
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Acest șablon a fost creat într-o versiune mai nouă a software-ului Rotor-Gene. Este posibil ca anumite aspecte ale șablonului să nu se încarce corect.)
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Acest fișier șablon nu a putut fi încărcat, deoarece configurațiile tuburilor nu coincid. Încărcați aceste probe înainte de pornirea testării.)
- 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. (Deschiderea comunicațiilor cu aparatul nu a reușit, deoarece o altă aplicație folosește deja <COMPORT>. Verificați să nu ruleze aplicații care folosesc același port serial, apoi încercați din nou.)
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Au apărut erori irecuperabile la încercarea de încărcare a fișierului. Fișierul nu a fost încărcat.)
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Nu puteți opri programul în timp ce testarea este în curs.)
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Nu aveți drepturi suficiente pentru a utiliza software-ul. Contactați administratorul domeniului pentru a configura grupuri.)
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Trebuie să fi efectuat o analiză de cuantificare pentru a exporta probe.)

Textul mesajului

- 41 You must select a COM port before continuing. (Trebuie să selectați un port COM pentru a continua.)
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Testarea dvs. nu a putut fi salvată în locația implicită. În fereastra următoare, selectați o locație alternativă de salvare a testării.)
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Setările dvs. au fost salvate. Faceți clic pe OK pentru a închide software-ul.)
- 44 You must select a rotor before continuing. (Trebuie să selectați un rotor pentru a continua.)
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Nu puteți începe testarea până când nu bifați caseta de selectare pentru a confirma că inelul de blocare a fost fixat.)

Mesaje pentru ajustarea amplificării automate

- 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. (Ajustarea manuală a amplificării utilizează canalele definite în profilul dvs. Deoarece nu ați definit puncte de achiziție în profil, nu puteți efectua ajustarea manuală a amplificării.)
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Temperatura introdusă nu a fost salvată, deoarece nu s-a încadrat în intervalul aparatului. Introduceți o temperatură validă.)

Mesaje privind editorul

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Introduceți un cod de grup valid. Codurile grupurilor trebuie să aibă maximum 5 caractere și nu trebuie să includă spații sau virgule.)
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Introduceți un nume valid al grupului. Numele grupurilor nu pot conține virgule și nu pot fi necompletate.)

Mesaje pentru calibrarea denaturării optice

- 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. (Imposibil de setat ca punct de denaturare optică, din cauza unei erori de calibrare. Introduceți un număr valid de secunde pentru reținere. Aceasta trebuie să fie o valoare pozitivă.)
- 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. (Nu a putut fi detectat un vârf de topire în timpul calibrării denaturării optice. Acest lucru se poate întâmpla din cauză că a fost selectat tubul incorect pentru calibrare sau a fost folosită o substanță chimică necorespunzătoare pentru această probă. În schimb, a fost testat un profil în etape temporizate.)

Mesaje OTV

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Trebuie să introduceți un număr de serie OTV valid pentru a efectua testarea.)
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Acest fișier de verificare a temperaturii a fost deteriorat. Dezinstalați și reinstalați software-ul Rotor-Gene pentru corectarea acestei erori.)
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed. (Acest fișier de testare nu este semnat corect. Rezultatele nu pot fi afișate.)
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Nu puteți începe până când nu bifați caseta de selectare pentru a confirma că inserția fluorescentă a fost amplasată corect.)
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Acest rotor a expirat. Contactați distribuitorul local pentru a obține unul de schimb.)

Mesaje pentru meniul Securitate

- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Utilizatorul/managerul grupurilor Windows nu a putut fi deschis.)
- 58 Could not create groups. (Nu s-au putut crea grupuri.)
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Accesul la conturi încorporate nu poate fi modificat.)

Meniul Analiză

- 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. (Nu ați selectat decât un canal pentru analiză. Pentru a selecta mai multe canale, glisați un dreptunghi în jurul canalelor care doriți să se afișeze în fereastra de selectare a analizei.)
- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Ați selectat mai multe canale pentru analiză. Această tehnică de analiză permite doar analiza unui canal pe rând.)

Textul mesajului

Mesaje pentru măsurarea concentrației

62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Măsurarea concentrației efectuează optimizarea automată a amplificării în prima poziție a rotorului. Asigurați-vă că în prima poziție a rotorului aveți standardul cu cea mai mare concentrație.)

Mesaje pentru analiza cu punct final

63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (Pentru a utiliza analiza cu punct final, pe fiecare canal trebuie să aveți substanțe de control pozitive și negative. Pentru definirea acestor substanțe de control, faceți clic pe OK.)

64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Nu ați definit nicio substanță de control pozitivă. Trebuie să definiți substanțe de control pozitive pentru fiecare canal analizat.)

65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Nu ați definit nicio substanță de control negativă. Trebuie să definiți substanțe de control negative pentru fiecare canal analizat.)

66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Nu ați definit nicio substanță de control NTC. Trebuie să definiți substanțe de control NTC pentru fiecare grup.)

Mesaje pentru analiza HRM

67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Genotipul <NUME GENOTIP> nu are definită nicio substanță de control.)

68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Combi-națiile de genotipuri duplicat nu sunt permise.)

69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Topirile la înaltă rezoluție nu sunt acceptate pe acest instrument. Contactați distribuitorul local pentru mai multe informații.)

Mesaje pentru analiza topirii

70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Genotipurile nu pot fi definite până când nu amplasați intervalele. Definiți toate intervalele, apoi încercați din nou.)

71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Trebuie să introduceți o abreviere pentru genotipul <NUME GENOTIP>.)

Mesaje pentru analiza diagramei de dispersie

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. (Analiza diagramei de dispersie necesită selectarea a exact 2 canale. Pentru a selecta mai multe canale, glisați un dreptunghi în jurul canalelor care doriți să se afișeze în fereastra de selectare a analizei sau faceți clic și mențineți tasta SHIFT pe fiecare canal.)

Mesaje pentru analiza cuantificării

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..." (Caracteristica de găsire automată a pragului impune definirea a minimum 2 standarde selectate. Pentru configurare, faceți clic dreapta pe lista de probe, apoi selectați „Editare probe...”)

12 Glosar

| Termen | Descriere |
|--------------------------|---|
| Achiziție | Achiziția înseamnă colectarea de date despre fluorescență. Fiecare achiziție (set de date fluorescente) provenită de la un canal este afișată în software ca date neanalizate într-o fereastră „Raw Channel” (Canal brut). Aceste date pot fi analizate folosind opțiunile din meniul „Analysis” (Analiză). |
| Intervale | Într-o analiză a topirii, intervalele sunt setate pentru a defini o regiune în care este de așteptat să apară un vârf de topire. Genotipurile pot fi definite pe baza prezenței vârfurilor în anumite intervale sau combinații de intervale. |
| CE-IVD | Conformitatea cu Directiva europeană 98/79/CE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro. |
| Canal | Un canal constă dintr-o diodă emițătoare de lumină (light emitting diode, LED) cu un filtru de excitație asociat cu un filtru de emisie. LED-ul și filtrul de excitație excită probe pe o lungime de undă dată. Fluorescența emisă de probe este trecută prin filtrul de emisie, înainte de a fi detectată de un fotomultiplicator. |
| Amplificare | Rotor-Gene Q MDx folosește un fotomultiplicator pentru a colecta fotoni de fluorescență și pentru a transforma acești fotoni în semnale electronice. Amplificarea este o setare care determină sensibilitatea fotomultiplicatorului. Dacă amplificarea este setată la o valoare prea mare, semnalul este suprasaturat. Dacă amplificarea este setată la o valoare prea mică, nu este posibil să se diferențieze semnalul de zgomotul de fond. |
| Optimizarea amplificării | Optimizarea amplificării este un proces care ajustează dinamic setarea amplificării, permițând selectarea unei setări adecvate, care are ca rezultat detectarea optimă a semnalului. |
| Bloc de încărcare | Blocurile de încărcare sunt blocuri din aluminiu disponibile în diferite formate, care sunt utilizate pentru a îngloba tuburi sau discuri Rotor-Disc în timpul configurării reacției. Blocurile de încărcare Rotor-Disc sunt, de asemenea, utilizate cu Rotor-Disc Heat Sealer pentru a etanșa discurile Rotor-Disc. |
| Inel de blocare | Inelele de blocare sunt inele metalice care se montează pe rotor pentru a preveni slăbirea tuburilor și a capacelor în timpul funcționării Rotor-Gene Q MDx. Capacele și tuburile slăbite pot provoca deteriorarea instrumentului. |
| Rotor | Rotorul metalic înglobează tuburi sau discuri Rotor-Disc în Rotor-Gene Q MDx. Acesta permite centrifugarea probelor în camera instrumentului și se asigură că probele sunt aliniate corect cu sistemul optic. Rotorul este asigurat cu un inel de blocare. |
| Rotor-Disc | Discurile Rotor-Disc sunt plăci circulare cu godeuri de reacție orientate pe verticală. Sunt disponibile formate de Rotor-Disc pentru 72 și 100 de reacții. Discurile Rotor-Disc sunt etanșate folosind folie de etanșare termică Rotor-Disc și Rotor-Disc Heat Sealer. |

13 Specificații tehnice

QIAGEN își rezervă dreptul de a modifica specificațiile în orice moment.

13.1 Condiții de mediu – condiții de lucru

| | |
|------------------------------------|--|
| Putere | 100-240 V c.a., 50/60 Hz, 520 VA (vârf) Consum de energie 60 VA (în așteptare) Fluctuațiile tensiunii de alimentare de la rețea nu trebuie să depășească 10 % din tensiunile nominale de alimentare. |
| Siguranță | Siguranță F5A 250 V |
| Disiparea căldurii/sarcină termică | Medie: 0,183 kW (632 BTU/oră) Vârf: 0,458 kW (1578 BTU/oră) |
| Categoria de supratensiune | II |
| Temperatura aerului | Între 18 și 30 °C |
| Umiditate relativă | 10–75% (fără condens) |
| Altitudine | Până la 2000 m |
| Locul de utilizare | Doar pentru utilizare în interior |
| Nivel de poluare | 2 |
| Clasa de mediu | 3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3) |

13.2 Condiții de transport

| | |
|---------------------|---|
| Temperatura aerului | Între -25 °C și 60 °C în ambalajul producătorului |
| Umiditate relativă | Max. 75 % (fără condens) |
| Clasa de mediu | 2K2 (IEC 60721-3-2) |

13.3 Condiții de depozitare

| | |
|---------------------|--|
| Temperatura aerului | Între 15 °C și 30 °C în ambalajul producătorului |
| Umiditate relativă | Max. 75 % (fără condens) |
| Clasa de mediu | 1K2 (IEC 60721-3-1) |

13.4 Date mecanice și caracteristici hardware

| | |
|------------|--|
| Dimensiuni | Lățime: 370 mm Înălțime: 286 mm Adâncime (fără cabluri): 420 mm Dimensiuni (ușă deschisă): 538 mm |
| Greutate | 12,5 kg configurație standard |
| Capacitate | Maximum 100 de probe per testare, folosind un Rotor-Disc 100 |
| Software | Software Rotor-Gene Q versiunea 2.3.x (unde x este ≥ 0) |

13.5 Specificații (hardware și software)

13.5.1 Specificații de temperatură

| Descriere | Specificație |
|----------------------------|--|
| Interval de temperatură | Între 35 °C și 99 °C (între 50 °C și 99 °C pentru aplicații de ciclare) |
| Precizia temperaturii | ±0,5 °C (calibrat folosind procedura Rotor-Disc OTV) |
| Rezoluția temperaturii | ±0,02 °C (cea mai mică treaptă programabilă) |
| Uniformitatea temperaturii | ±0,02 °C |

13.5.2 Specificații optice

| Descriere | Specificație |
|--------------------|--|
| Surse de excitație | Diode emițătoare de lumină cu energie mare |
| Detector | Fotomultiplicator |
| Timp de achiziție | 4 s |

14 Anexa A – aspecte juridice

14.1 Declarație FCC

Comisia Federală pentru Comunicații a Statelor” (USFCC – „United States Federal Communications Commission”) (în 47 CRF 15. 105) a declarat că utilizatorii acestui produs trebuie să fie informați cu privire la următoarele fapte și circumstanțe.

„Acest dispozitiv este conform cu partea 15 FCC: Utilizarea este condiționată de următoarele două aspecte: (1) Acest dispozitiv nu poate genera interferențe nocive, și (2) acest dispozitiv trebuie să accepte orice interferențe recepționate, inclusiv interferențele care pot provoca funcționarea nedorită.”

„Acest aparat digital de Clasă B este conform cu standardul canadian ICES-0003.”

Următoarea declarație se aplică în cazul produselor acoperite în acest manual, dacă nu se specifică altceva în prezentul document. Declarația aferentă altor produse va apărea în documentația însoțitoare.

Rețineți: Acest echipament a fost testat și s-a constatat că este conform cu limitele pentru un dispozitiv digital de Clasă B, în concordanță cu Partea 15 din Regulile FCC și îndeplinește toate cerințele standardului canadian ICES-003 pentru echipamente care cauzează interferențe pentru aparatură digitală. Aceste limite sunt concepute pentru a oferi o protecție rezonabilă împotriva interferențelor dăunătoare într-o instalație rezidențială. Acest echipament generează, utilizează și poate radia energie de radiofrecvență și, dacă nu este instalat și utilizat în conformitate cu instrucțiunile, poate genera interferențe dăunătoare pentru comunicațiile radio. Cu toate acestea, nu există nicio garanție că nu vor apărea interferențe într-o anumită instalație. Dacă acest echipament generează interferențe dăunătoare cu recepția radio sau TV, care pot fi stabilite prin oprirea și pornirea echipamentului, utilizatorul este încurajat să încerce să corecteze interferențele prin una sau mai multe dintre următoarele măsuri:

- Reorientarea sau relocarea antenei de recepție
- Mărirea distanței dintre echipament și receptor
- Conectarea echipamentului la o priză pe un circuit diferit de cel la care este conectat receptorul

Consultați distribuitorul sau un tehnician radio/TV cu experiență pentru ajutor.

14.2 Conformitatea cu IEC EN 61326

Rotor Gene-Q MDx respectă cerințele privind emisiile de interferențe și imunitate la interferențe descrise în IEC 61326-1 și IEC 61326-2-6.

QIAGEN GmbH Germania nu este responsabilă pentru interferențele radio TV cauzate de modificările neautorizate ale acestui echipament sau de înlocuirea sau atașarea unor cabluri de conexiune și echipamente diferite de cele specificate de QIAGEN GmbH, Germania. Corectarea interferențelor generate de o astfel de modificare, înlocuire sau conectare neautorizată va fi responsabilitatea utilizatorului.

14.3 Declarație de conformitate

Denumirea și adresa producătorului legal

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
Germania

O Declarație de conformitate actualizată poate fi solicitată de la Serviciile Tehnice QIAGEN.

14.4 Deșuri de echipamente electrice și electronice (DEEE)

Această secțiune oferă informații despre eliminarea deșeurilor de echipamente electrice și electronice de către utilizatori.

Simbolul de tomberon tăiat (a se vedea mai jos) indică faptul că acest produs nu trebuie eliminat împreună cu alte deșuri; acesta trebuie predat la o unitate de tratare aprobată sau la un punct de colectare desemnat pentru reciclare, în conformitate cu legile și regulamentele locale.

Colectarea și reciclarea separată a deșeurilor de echipamente electronice la momentul eliminării ajută la conservarea resurselor naturale și se asigură că produsul este reciclat într-un mod care protejează sănătatea umană și mediul înconjurător.



Reciclarea poate fi oferită de QIAGEN la cerere, contra cost. În Uniunea Europeană, în conformitate cu cerințele specifice de reciclare ale Directivei DEEE și, în situațiile în care este livrat un produs de schimb de QIAGEN, este oferită reciclarea gratuită a echipamentelor electronice cu marcajul DEEE.

Pentru reciclarea echipamentelor electronice, contactați biroul de vânzări local QIAGEN pentru formularul de retur necesar. După transmiterea formularului, veți fi contactat de QIAGEN, fie pentru a solicita informații suplimentare pentru a programa colectarea deșeurilor electronice, fie pentru a vă pune la dispoziție o ofertă individualizată.

14.5 Clauza privind răspunderea

QIAGEN va fi exonerată de toate obligațiile sale în temeiul acestei garanții, în eventualitatea efectuării unor reparații sau modificări de alte persoane în afară de personalul propriu, cu excepția cazurilor în care Societatea și-a dat consimțământul scris pentru efectuarea unor astfel de reparații sau modificări.

Toate materialele înlocuite în cadrul acestei garanții vor fi garantate numai pe durata perioadei de garanție inițiale și în nici un caz după data de expirare inițială a garanției inițiale, cu excepția cazului în care acest lucru este autorizat în scris de către un funcționar al Companiei. Dispozitivele de citire, dispozitivele de interfață și software-ul asociat vor fi garantate numai pentru perioada oferită de producătorul original al acestor produse. Declarațiile și garanțiile făcute de orice persoană, inclusiv de reprezentanți ai QIAGEN, care se află în incompatibilitate sau în conflict cu condițiile din această garanție, nu sunt executorii pentru Companie dacă nu sunt făcute în scris și aprobate de un funcționar QIAGEN.

14.6 Acord de licență software

1. În cele ce urmează, „Qiagen” se referă la Qiagen GmbH și companiile sale afiliate, iar „Software” înseamnă programele și datele furnizate pe acest suport fizic (de exemplu, CD-ROM) sau prin internet, cu aceste condiții. (Dacă nu sunteți sigur cu privire la vreun aspect al acestui acord sau aveți întrebări, acestea trebuie să fie trimise prin e-mail la support@qiagen.com.) Software-ul și orice documentație însoțitoare au fost dezvoltate în întregime pe cheltuială proprie. Acestea sunt livrate și licențiate ca „software pentru computer comercial”.

2. Licență

Licența dumneavoastră nu conferă niciun titlu sau drept de proprietate asupra Software-ului și nu reprezintă o vânzare a niciunui drept asupra Software-ului. Qiagen vă acordă o licență netransferabilă și neexclusivă, după cum urmează:

2.1 Utilizați orice număr de copii ale Software-ului în cadrul organizației dumneavoastră, cu condiția ca software-ul să fie accesibil pentru utilizare numai de către angajații organizației și ca organizația dumneavoastră să fie proprietarul curent al unui instrument Rotor-Gene Q. Punerea la dispoziție a acestui software pentru utilizare în afara organizației dumneavoastră constituie o încălcare a prezentului acord.

2.2 Puteți face copii ale Software-ului numai dacă este necesar în scopuri de backup sau atunci când copierea este o etapă esențială în utilizarea autorizată a Software-ului. Trebuie să reproduceți toate notificările privind drepturile de autor din Software-ul original pe toate copiile. În nicio circumstanță nu puteți copia Software-ul pe niciun buletin, site web sau sistem similar de distribuție public sau privat.

2.3 Nu aveți dreptul să puneți Software-ul la dispoziția niciunui terț sub formă de cadou, împrumut sau închiriere.

2.4 Nu aveți dreptul să încorporați Software-ul sau orice parte a Software-ului în programe sau sisteme informatice dezvoltate sau utilizate de dumneavoastră.

2.5 Nu aveți dreptul să utilizați sau să creați în alt mod fișiere de date sau alte fișiere procesate de Software (cu excepția situației în care acest lucru se întâmplă în timpul funcționării normale a Software-ului).

2.6 Nu aveți voie să dezasamblați, să rescrieți, să compilați invers, să deblocați sau să traduceți nicio parte a Software-ului sau să faceți vreo încercare de a descoperi codul sursă sau algoritmi de bază ai Software-ului. Nu aveți dreptul să modificați niciunul dintre fișierele de date sau alte fișiere care formează Software-ul (cu excepția situației în care acest lucru se întâmplă în timpul funcționării normale a Software-ului).

2.7 Dacă aceasta este o versiune demonstrativă sau de încercare a Software-ului, sunteți licențiat să îl utilizați numai în scopuri de evaluare și în limitele restricțiilor descrise (cum ar fi o limită de timp sau testări limitate sau alte limite). Software-ul poate încerca sau nu să impună restricțiile menționate, iar nereușita Software-ului de a aplica restricțiile respective nu constituie o licență pentru ca dumneavoastră să depășiți restricțiile menționate.

2.8 Sunteți de acord să obțineți orice cheie de înregistrare/licență necesară numai de la Qiagen sau de la un distribuitor autorizat și să păstrați cheia respectivă strict confidențială față de toți terții.

3. Denunțarea

3.1 Dacă nu respectați termenii și condițiile acestei licențe, atunci, fără a aduce atingere oricăror altor drepturi, Qiagen poate denunța această licență.

3.2 În termen de 7 zile de la denunțarea acestei licențe, veți trimite către Qiagen o adresă care să ateste distrugerea originalului și a oricăror copii ale Software-ului și distrugerea tuturor copiilor oricărei chei de înregistrare/licență. Puteți denunța această licență în orice moment, prin punerea la dispoziție a unei astfel de confirmări.

4. Garanție limitată/Răspundere

4.1 Qiagen vă garantează doar că:

a) Dacă Software-ul este furnizat pe CD-ROM, CD-ROM-ul nu prezintă defecte de materiale și de manoperă în condiții normale de utilizare pentru o perioadă de nouăzeci de zile de la data achiziției. (Vom înlocui gratuit orice CD-ROM defect.)

b) Dacă este utilizat corespunzător, Software-ul se va conforma în mod substanțial cu documentația furnizată împreună cu Software-ul sau cu alte specificații publicate de Qiagen pentru o perioadă de nouăzeci de zile de la data achiziției.

4.2 Întreaga răspundere a Qiagen și remediul dumneavoastră exclusiv vor fi, la alegerea Qiagen, fie compensarea în valoare de două sute cincizeci de dolari SUA (250 USD), fie înlocuirea Software-ului care nu îndeplinește condițiile garanției limitate.

4.3 CU EXCEPȚIA GARANȚILOR ACORDATE ÎN SECȚIUNEA 4.1 DE MAI SUS ȘI ÎN MĂSURA MAXIMĂ PERMISĂ DE LEGE, QIAGEN NU OFERĂ ALTE GARANȚII CU PRIVIRE LA SOFTWARE.

4.4 ÎN MĂSURA MAXIMĂ PERMISĂ DE LEGE ȘI ÎN NICIO CIRCUMSTANȚĂ ȘI ÎN TEMEIUL NICIUNEI TEORII JURIDICE, RĂSPUNDERE DELICTUALĂ, CONTRACTUALĂ SAU DE ALTĂ NATURĂ, QIAGEN NU VA FI RESPONSABILĂ ÎN FAȚA DE DVS. SAU A ORICĂREI ALTE PERSOANE PENTRU NICIO DAUNĂ INDIRECTĂ, SPECIALĂ, INCIDENTALĂ SAU DE CONSECINȚĂ, INCLUSIV, FĂRĂ LIMITARE, DAUNE PENTRU PIERDEREA FONDULUI COMERCIAL, ÎNCETAREA MUNCII, DEFECTAREA SAU FUNCȚIONAREA DEFECTUOASĂ A COMPUTERULUI SAU ORICE ALTE DAUNE SAU PIERDERI COMERCIALE, CHIAR DACĂ QIAGEN VA FI INFORMATĂ CU PRIVIRE LA POSIBILITATEA UNOR ASTFEL DE DAUNE. ÎN ORICE CAZ, ÎNTREAGA RĂSPUNDERE A QIAGEN ÎN TEMEIUL PREZENTULUI ACORD VA FI LIMITATĂ LA PREȚUL LICENȚEI PLĂTIT DE DVS. PENTRU SOFTWARE. ACEASTĂ LIMITARE A RĂSPUNDERII NU SE VA APLICA RĂSPUNDERII PENTRU DECES SAU VĂTĂMARE CORPORALĂ, ÎN MĂSURA ÎN CARE LEGISLAȚIA ÎN VIGOARE INTERZICE O ASTFEL DE LIMITARE

15 Anexa B – tehnici matematice

Această anexă descrie mai detaliat tehnicile matematice utilizate.

15.1 Cuantificarea

Concentrațiile calculate sunt obținute dintr-un model simplu de regresie liniară, cu valori cunoscute pentru concentrațiile log (x) și valori experimentale pentru valorile CT (y).

Concentrațiile log și valorile CT ale standardelor sunt utilizate pentru a construi un model de forma:

$$y = Mx + B$$

15.1.1 Intervale de încredere pentru concentrațiile calculate

Folosim următorul interval de încredere $100(1 - \alpha) \%$ pentru o estimare a unei noi observații x_0 din curba standard.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Acesta este intervalul de încredere pentru concentrația unei singure necunoscute.

Acum să presupunem că avem k observații suplimentare la $x = x_0$ și notăm media lor cu \bar{Y}_0 . Atunci,

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

iar argumente asemănătoare celor de mai sus dau

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Această formulă determină modul în care sunt determinate intervalele de încredere pentru concentrațiile de necunoscute duplicate.

Pentru estimarea standardelor, se poate obține un interval de încredere mai strâns:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Implicația acestei formule este că adăugarea de duplicate la o concentrație individuală standard reduce lărgimea intervalului pentru toate estimările, pe măsură ce n crește. Adăugarea unui număr mare de duplicate la o necunoscută reduce incertitudinea acesteia la cea a unui singur standard. Duplicatele suplimentare reduc incertitudinea din cauza necunoscutei care nu face parte din modelul liniar.

15.1.2 Intervale de încredere pentru valorile CT

Presupunem că eroarea în valorile CT duplicat este liniară și distribuită normal.

Prin urmare, folosim intervalul de încredere t pentru o probă. Fie μ valoarea medie pentru valorile CT ale unui duplicat $(x_0 \dots x_{n-1})$. Atunci, un interval de încredere $100(1 - \alpha) \%$ pentru o valoare CT μ este:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Dorim să îi mulțumim domnului Peter Cook din cadrul Departamentului de Matematică al Universității NSW, Sydney, Australia, al cărui ajutor a fost de neprețuit în verificarea abordărilor matematice utilizate.

16 Informații pentru comandă

16.1 Produsele, accesoriile și consumabilele Rotor-Gene Q MDx

| Produs | Cuprins | Nr. cat. |
|------------------------------|--|-----------------|
| Rotor-Gene Q MDx 5plex | Ciclator pentru real-time PCR cu 5 canale (verde, galben, portocaliu, roșu, roșu aprins), laptop, software, accesorii, garanție de 1 an pentru componente și manoperă | 9002022 |
| Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM | Ciclator pentru real-time PCR și analizor de topire la înaltă rezoluție cu 5 canale (verde, galben, portocaliu, roșu, roșu aprins) plus canal HRM, laptop, software, accesorii, garanție de 1 an pentru componente și manoperă | 9002032 |
| Rotor-Gene Q MDx 6plex | Ciclator pentru real-time PCR cu 6 canale (albastru, verde, galben, portocaliu, roșu, roșu aprins), inclusiv laptop, software, accesorii, garanție de 1 an pentru componente și manoperă | 9002042 |
| Accesorii | | |
| Rotor-Disc 100 Starter Kit | Kitul include: 2 Rotor-Disc 100 pachete, Rotor-Disc Heat Sealer, folie de etanșare termică Rotor-Disc, Rotor-Disc 100 Rotor și Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid | A se solicita |
| Rotor-Disc 100 (30) | 30 de discuri ambalate individual pentru 3000 de reacții | 981311 |
| Rotor-Disc 100 (300) | 10 x 30 de discuri ambalate individual pentru 30.000 de reacții | 981313 |
| Rotor-Disc 100 Rotor | Pentru înglobarea Rotor-Disc 100 discuri în Rotor-Gene Q MDx; necesită Rotor-Disc 100 Locking Ring | 9018895 |
| Rotor-Disc 100 Locking Ring | Pentru blocarea unui Rotor-Disc 100 în Rotor-Disc 100 Rotor | 9018896 |
| Rotor-Disc 100 Loading Block | Bloc din aluminiu pentru configurarea manuală și automată a reacției în Rotor-Disc 100 discuri | 9018909 |

| Produs | Cuprins | Nr. cat. |
|-------------------------------------|--|-----------------|
| Rotor-Disc Pipetting Aid | Ajutor pentru marcarea godeului în timpul configurării manuale a reacției pe un Rotor-Disc Loading Block | 9018897 |
| Rotor-Disc Heat Sealer | Instrument de etanșare termică pentru utilizare cu discuri Rotor-Disc; necesită Rotor-Disc 72 sau 100 Loading Block | 9018898 |
| Rotor-Disc Heat Sealing Film (60) | 60 de folii pentru etanșarea Rotor-Disc 100 sau Rotor-Disc 72 discuri | 981601 |
| Rotor-Disc Heat Sealing Film (600) | 10 x 60 de folii pentru etanșarea Rotor-Disc 100 sau Rotor-Disc 72 discuri | 981604 |
| Rotor-Disc 72 Starter Kit | Kitul include: 3 Rotor-Disc 72 pachete, Rotor-Disc Heat Sealer, folie de etanșare termică Rotor-Disc, Rotor-Disc 72 Rotor și Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid | A se solicita |
| Rotor-Disc 72 (24) | 24 de discuri ambalate individual pentru 1728 de reacții | 981301 |
| Rotor-Disc 72 (240) | 10 x 24 de discuri ambalate individual pentru 17.280 de reacții | 981303 |
| Rotor-Disc 72 Rotor | Pentru înglobarea Rotor-Disc 72 discuri în Rotor-Gene Q MDx; necesită Rotor-Disc 72 Locking Ring | 9018899 |
| Rotor-Disc 72 Locking Ring | Pentru blocarea unui Rotor-Disc 72 în Rotor-Disc 72 Rotor | 9018900 |
| Rotor-Disc 72 Loading Block | Bloc din aluminiu pentru configurarea manuală și automată a reacției în Rotor-Disc 72 discuri | 9018910 |
| Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) | 250 de benzi de câte 4 eprubete și capace pentru 1000 de reacții | 981103 |
| Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500) | 10 x 250 de benzi de câte 4 tuburi și capace pentru 10.000 de reacții | 981106 |
| 72-Well Rotor | Pentru înglobarea Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; necesită Locking Ring 72-Well Rotor | 9018903 |
| Locking Ring 72-Well Rotor | Pentru blocarea Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, în 72-Well Rotor | 9018904 |

| Produs | Cuprins | Nr. cat. |
|---|---|-----------------|
| Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes | Bloc din aluminiu pentru configurarea manuală a reacției, cu o pipetă cu un singur canal, în 72 x eprubete de 0,1 ml | 9018901 |
| Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel | Bloc din aluminiu pentru configurarea reacției, cu pipete multicanal în 72 x tuburi de 0,1 ml | 9018902 |
| PCR Tubes, 0.2 ml (1000) | 1000 de tuburi cu pereți subțiri, pentru 1000 de reacții | 981005 |
| PCR Tubes, 0.2 ml (10000) | 10 x 1000 de tuburi cu pereți subțiri, pentru 10.000 de reacții | 981008 |
| 36-Well Rotor | Pentru înglobarea PCR Tubes, 0.2 ml; necesită 36-Well Rotor Locking Ring | 9018907 |
| 36-Well Rotor Locking Ring | Pentru blocarea PCR Tubes, 0.2 ml, în 36-Well Rotor | 9018906 |
| Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes | Bloc din aluminiu pentru configurarea manuală de reacție pe o serie standard de 8 x 12, utilizând 96 x tuburi de 0,2 ml | 9018905 |
| Rotor-Disc OTV Kit | Kit pentru verificarea optică a temperaturii sistemelor Rotor-Gene, include un Rotor-Disc preîncărcat cu cristale lichide termocromatice, inserții fluorescente, necesită Rotor-Disc 72 Rotor și Locking Ring sau Rotor-Disc 72 Starter Kit | 981400 |
| Rotor Holder | Suport metalic de sine stătător pentru asamblarea tuburilor și a discurilor Rotor-Disc în rotoare | 9018908 |

Pentru clauzele actualizate de declinare a răspunderii specifice licențelor și produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

17 Istoricul modificărilor documentului

| Data | Modificări |
|--------------------|-----------------|
| R1, februarie 2022 | Ediție inițială |

Acord de licență limitată pentru Rotor-Gene Q MDx

Utilizarea acestui produs înseamnă acceptarea următorilor termeni de către orice cumpărător sau utilizator al produsului:

1. Produsul poate fi utilizat doar în conformitate cu protocoalele furnizate împreună cu produsul și aceste instrucțiuni de utilizare și doar împreună cu componentele incluse în kit. QIAGEN nu acordă nicio licență pentru niciuna dintre proprietățile sale intelectuale în vederea utilizării sau încorporării componentelor incluse în acest kit cu orice componentă care nu este inclusă în acest kit, dacă nu este precizat astfel în protocoalele furnizate împreună cu produsul, în aceste instrucțiuni de utilizare și în protocoalele suplimentare disponibile la adresa www.qiagen.com. Unele dintre aceste protocoale suplimentare au fost furnizate de utilizatorii QIAGEN pentru utilizatorii QIAGEN. Aceste protocoale nu au fost testate riguros sau optimizate de QIAGEN. QIAGEN nu le garantează și nici nu asigură faptul că acestea nu încalcă drepturile terților.
2. În afară de licențele acordate în mod explicit, QIAGEN nu garantează sub nicio formă că această trusă și/sau utilizarea (utilizările) acesteia nu încalcă drepturile terților.
3. Această trusă și componentele sale sunt licențiate pentru o singură utilizare și nu pot fi reutilizate, recondiționate sau revândute.
4. QIAGEN declină în mod specific orice licențe, explicite sau implicite, altele decât cele declarate în mod explicit.
5. Cumpărătorul și utilizatorul kitului acceptă să nu ia măsuri și să nu permită niciunei persoane să ia măsuri care ar putea conduce la sau facilita oricare dintre acțiunile interzise prezentate mai sus. QIAGEN poate pune în aplicare interdicțiile din acest Acord de licență limitată în orice instanță și va recupera toate costurile anchetelor și cheltuielile de judecată, inclusiv onorariile avocaților, în orice acțiune pentru aplicarea acestui Acord de licență limitată sau a oricăruia dintre drepturile sale de proprietate intelectuală legate de kit și/sau componentele acestuia.

Pentru termenii actualizați ai licenței, consultați www.qiagen.com

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, EpiTect®, HotStarTaq®, Rotor-Disc®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Type-it® (QIAGEN Group); Adobe®, Illustrator® (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor®, HEX™, JOE™, Marina Blue®, ROX™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Thermo Fisher Scientific sau sucursalele acesteia); CAL Fluor®, Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.); Core™, Intel® (Intel Corporation); Cy® (GE Healthcare); EvaGreen® (Biotium, Inc.); Excel®, Microsoft®, Windows® (Microsoft Corporation); LC Green® (Idaho Technology, Inc.); LightCycler® (Roche Group); Symantec® (Symantec Corporation); TeeChart® (Steema Software SL); Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege. Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.

TeeChartOffice: Copyright 2001-2013 David Berneda. Toate drepturile rezervate.

Pentru țările aplicabile:

Acest termociclor în timp real este licențiat în temeiul drepturilor de brevet din S.U.A. în curs de obținere pentru un aparat sau sistem care acoperă termocicloare automate cu detectoare de fluorescență și solicită prioritatea cu numărul de serie din S.U.A. 07/695,201 și revendicările corespunzătoare în orice brevet străin al acestuia deținut de Applied Biosystems LLC. În toate domeniile, inclusiv cercetare și dezvoltare, toate domeniile aplicate și diagnosticare in vitro pentru oameni și animale. Niciun drept nu este transmis în mod explicit, prin implicare sau excludere la orice brevete privind metodele în timp real, inclusiv, dar fără a se limita la teste de nuclează 5' sau la orice brevet care revendică un reactiv sau un kit. Pentru mai multe informații despre achiziționarea de drepturi suplimentare, contactați directorul de licențiere din cadrul Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, S.U.A.

Pentru țările aplicabile:

Achiziționarea acestui produs include o licență limitată, netransferabilă pentru unul sau mai multe dintre brevetele S.U.A. nr. 6.787.338; 7.238.321; 7.081.226; 6.174.670; 6.245.514; 6.569.627; 6.303.305; 6.503.720; 5.871.908; 6.691.041; 7.387.887; 7.273.749; 7.160.998; cererea de brevet S.U.A. nr. 2003-0224434 și 2006-0019253 și cererea de brevet PCT nr. WO 2007/035806, cu toate continuările și cererile divizionare și revendicările corespunzătoare în brevete și cereri de brevet din afara Statelor Unite, deținute de University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH și/sau Roche Diagnostics GmbH exclusiv pentru diagnosticare in vitro pentru oameni sau animale. Niciun drept nu este transmis, în mod explicit, prin implicare sau excludere, pentru vreun reactiv sau kit sau în baza oricăror altor brevete sau revendicări de brevet deținute de University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH sau de orice altă parte. Acest produs poate fi utilizat numai cu reactivi autorizați, cum ar fi kiturile și testele QIAGEN complet licențiate. Pentru informații despre achiziționarea de licențe pentru aplicații sau reactivi de diagnosticare in vitro, vă rugăm să contactați Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, S.U.A.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/contact | Asistență tehnică support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com