

Februar 2022

Brukerhåndbok for Rotor-Gene[®] Q MDx CE



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R1

Innhold

1	Innledning	8
1.1	Om denne brukerhåndboken	8
1.2	Generell informasjon	9
1.2.1	Teknisk hjelp	9
1.2.2	Policyerklæring	9
1.2.3	Versjonshåndtering	10
1.3	Tiltentkt bruk av Rotor-Gene Q MDx	10
1.3.1	Krav for Rotor-Gene Q MDx	10
1.4	Nødvendige materialer	11
1.5	Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med	11
2	Sikkerhetsinformasjon	12
2.1	Riktig bruk	13
2.2	Elektrisk sikkerhet	15
2.3	Biologisk sikkerhet	16
2.4	Kjemisk sikkerhet	17
2.5	Avfallshåndtering	18
2.6	Mekaniske farer	18
2.7	Vedlikeholdssikkerhet	20
2.8	Symboler på Rotor-Gene Q MDx	21
3	Generell beskrivelse	22
3.1	Rotor-Gene Q MDx-prinsippet	22
3.1.1	Termisk ytelse	22
3.1.2	Optisk system	23
3.1.3	Tilgjengelige kanaler	24
3.2	Eksterne funksjoner på Rotor-Gene Q MDx	25
3.2.1	Lufteventiler på lokket	25
3.2.2	Lokkhåndtak	25
3.2.3	Rotorkammer	25
3.2.4	Instrumentets statuslamper	25

3.3	Interne funksjoner på Rotor-Gene Q MDx	26
3.3.1	Rotornav	26
3.3.2	Optisk linse	26
	Optisk linse der eksitasjonsdiodelyset er fokusert på rørene	26
4	Installasjonsprosedyrer	27
4.1	Levering og installasjon av systemet	27
4.1.1	Utpakking av Rotor-Gene Q MDx	27
4.1.2	Installasjon av maskinvare	28
4.1.3	Installasjon av programvare	29
4.1.4	Programvareversjon	32
4.1.5	Annen programvare på datamaskiner som er koblet til Rotor-Gene Q MDx-instrumenter	32
4.2	Krav til plassering	40
4.3	Tilkobling til strømmettet	41
4.3.1	Strømkrav	41
4.3.2	Jordingskrav	41
4.3.3	Montering av strømledning	41
4.4	Konfigurasjon for Windows-sikkerhet	41
4.5	Krav til arbeidsstasjonen	43
4.6	Utpakking og installasjon av Rotor-Gene Q MDx	44
4.6.1	Programvareoppgradering	45
4.7	Tilbehør	45
4.8	Innpakking og sending av Rotor-Gene Q MDx	45
4.9	Komme i gang	45
4.9.1	Slå på Rotor-Gene Q MDx og arbeidsstasjonen	45
5	Driftsprosedyrer	46
5.1	Bruk av Rotor-Gene Q MDx-programvaren	46
5.1.1	Hurtigstartveiviser	46
5.1.2	Avansert veiviser	50
5.2	Bruk av Rotor-Gene Q MDx-maskinvaren	68
5.2.1	Rotortyper	68

5.2.2	Reaksjonsoppsett	71
5.2.3	Oppsett av Rotor-Disc.....	74
6	Brukergrensesnitt for analyse	78
6.1	Arbeidsområde	78
6.2	Verktøylinje.....	78
6.3	Vise råkanaler.....	78
6.4	Velge mellom prøver.....	79
6.5	Filmenyen	81
6.5.1	Ny.....	81
6.5.2	Åpne og lagre	82
6.5.3	Rapporter	83
6.5.4	Oppsett.....	84
6.6	Analysemenyen.....	84
6.6.1	Analyse	84
6.6.2	Kvantifisering	86
6.6.3	To standardkurver.....	97
6.6.4	Delta delta C _T relativ kvantifisering	101
6.6.5	Smeltekurveanalyse.....	104
6.6.6	Komparativ kvantifisering	107
6.6.7	Alleldiskriminering	109
6.6.8	Analyse med spredningsgraf.....	110
6.6.9	EndPoint-analyse	112
6.6.10	Konsentrasjonsanalyse	119
6.6.11	High Resolution Melt-analyse	122
6.7	Kjøringsmenyen.....	123
6.7.1	Start kjøring	123
6.7.2	Sett kjøring på pause	123
6.7.3	Stopp kjøring	124
6.8	Visningsmenyen	124
6.8.1	Innstillinger for kjøring.....	124
6.8.2	Temperaturgraf	127

6.8.3	Profilfremdrift	128
6.8.4	Rediger prøver	129
6.8.5	Visningsalternativer	134
6.9	Tilgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-programvaren	135
6.9.1	Konfigurasjon for Windows 7	136
6.9.2	Konfigurasjon for Windows 10	141
6.9.3	Kjøre flere brukere på samme datamaskin	144
6.9.4	Revisjonssporing	145
6.9.5	KjøringsSignaturer	147
6.9.6	Låsing av prøver	148
6.9.7	Låste maler	150
6.10	Forsterkningsmenyen	150
6.11	Vindumenyen	151
6.12	Hjelpfunksjon	151
6.12.1	Send e-post til brukerstøtte	152
7	Tilleggsfunksjoner	156
7.1	Analysemaler	156
7.2	Åpne en sekundær kjøring	156
7.3	Skaleringsalternativer	156
7.4	Eksportere grafer	157
7.5	Skiftetøkkelikon	160
7.6	Alternativer for valgt område	161
8	Vedlikehold	162
8.1	Rengjøring av overflaten på Rotor-Gene Q MDx	162
8.2	Dekontaminering av overflaten på Rotor-Gene Q MDx	163
8.3	Reparasjon av Rotor-Gene Q	163
9	Optisk temperaturverifisering	164
9.1	OTV-prinsippet	164
9.2	Komponenter i Rotor-Disc OTV Kit	165
9.3	Utføre en OTV	165
10	High Resolution Melt-analyse	168

10.1	Instrumentering	169
10.2	Kjemi	170
10.3	Eksempel på SNP-genotyping	170
10.4	Eksempel på metyleringsanalyse	172
10.5	Retningslinjer for vellykket HRM-analyse	173
10.6	Prøveklargjøring	175
10.7	Programvareoppsett	175
10.8	Analyse av real-time PCR-data	181
10.9	Analyse av HRM-data	182
11	Feilsøking	186
11.1	Loggarkiver	187
11.2	Maskin- og programvarefeil	187
11.2.1	HRM-feilsøking	187
11.3	Feil- og advarselsmeldinger	188
11.3.1	Generelle instrumentfeil	188
11.3.2	Meldinger i Rotor-Gene Q-programvaren	191
12	Ordliste	195
13	Tekniske spesifikasjoner	196
13.1	Miljøforhold – driftsforhold	196
13.2	Transportforhold	196
13.3	Oppbevaringsforhold	196
13.4	Mekaniske data og maskinvarefunksjoner	196
13.5	Spesifikasjoner (maskinvare og programvare)	197
13.5.1	Termiske spesifikasjoner	197
13.5.2	Optiske spesifikasjoner	197
14	Vedlegg A – Juridisk	198
14.1	FCC-erklæring	198
14.2	Samsvar med IEC EN 61326	199
14.3	Samsvarserklæring	200
14.4	Avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr (WEEE)	201
14.5	Ansvarserklæring	202

14.6	Programvarelisensavtale	203
15	Vedlegg B – Matematiske teknikker	206
15.1	Kvantifisering	206
15.1.1	Konfidensintervaller for beregnede konsentrasjoner	206
15.1.2	Konfidensintervaller for CT-verdier	207
16	Bestillingsinformasjon	208
16.1	Produkter, tilbehør og forbruksartikler for Rotor-Gene Q MDx	208
17	Endringshistorikk for dokument.....	211

1 Innledning

Takk for at du valgte Rotor-Gene Q MDx. Vi er sikre på at instrumentet vil bli en viktig del av laboratoriet.

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

Vær oppmerksom på at Rotor-Gene Q MDx finnes i flere konfigurasjoner. Du finner detaljert informasjon og bestillingsinformasjon i avsnitt 1.6.

1.1 Om denne brukerhåndboken

Denne brukerhåndboken gir informasjon om Rotor-Gene Q MDx i de følgende delene:

- Innledning
- Sikkerhetsinformasjon
- Generell beskrivelse
- Installasjonsprosedyrer
- Driftsprosedyrer
- Vedlikehold
- Feilsøking
- Tekniske spesifikasjoner
- Vedlegg

Vedleggene inneholder følgende informasjon:

- Vedlegg A – Juridisk
- Vedlegg B – Matematiske teknikker

1.2 Generell informasjon

1.2.1 Teknisk hjelp

Hos QIAGEN® er vi stolte av kvaliteten på og tilgjengeligheten av vår tekniske hjelp. Våre tekniske serviceavdelinger er bemannet av erfarne forskere med omfattende praktisk og teoretisk ekspertise i molekylærbiologi og bruken av QIAGEN-produkter. Hvis du har spørsmål eller får problemer med Rotor-Gene Q MDx eller QIAGEN-produkter generelt, er det bare å kontakte oss.

QIAGEN-kunder er en viktig informasjonskilde til avansert eller spesialisert bruk av produktene våre. Denne informasjonen er nyttig både for andre fagfolk og for forskerne i QIAGEN. Vi oppfordrer deg derfor til å ta kontakt med oss hvis du har forslag som gjelder produktets ytelse eller nye applikasjoner og teknikker.

Hvis du har behov for teknisk hjelp, kan du kontakte QIAGENS tekniske serviceavdeling.

For å få oppdatert informasjon om Rotor-Gene Q MDx kan du gå inn på <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Nettsted: support.qiagen.com

Ha følgende informasjon klar når du ringer til QIAGENS tekniske serviceavdeling om feil:

- Rotor-Gene Q MDx-instrumentets serienummer, type og versjon
- Feilkode (hvis aktuelt)
- Tidspunkt da feilen oppsto første gang
- Hvor ofte feilen oppstår (dvs. gjentakende eller vedvarende feil)
- Kopi av loggfiler

1.2.2 Policyerklæring

Det er QIAGENS policy å forbedre produkter etter hvert som nye teknikker og komponenter blir tilgjengelige. QIAGEN forbeholder seg retten til å endre spesifikasjoner når som helst. For at vår dokumentasjon skal være så nyttig og relevant som mulig, vil vi gjerne ha dine kommentarer om denne brukerhåndboken. Kontakt QIAGENS tekniske serviceavdeling.

1.2.3 Versjonshåndtering

Dette dokumentet er *brugerhåndboken for Rotor-Gene Q MDx*, revisjon R1, for Rotor-Gene Q MDx-instrumenter som bruker Rotor-Gene Q-programvareversjon 2.3.x (der x er ≥ 0).

1.3 Tiltent bruk av Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er utviklet for å utføre sanntids termosykling, deteksjon og/eller kvantifisering ved hjelp av polymerasekjedereaksjon (PCR) innenfor kliniske bruksområder.

Rotor-Gene Q MDx er beregnet for bruk kun i kombinasjon med QIAGEN-sett som er indisert for bruk med Rotor-Gene Q-instrumenter innenfor bruksområder som er beskrevet i håndbøkene for de respektive QIAGEN-settene.

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

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er beregnet på in vitro-diagnostisk bruk.

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er beregnet på profesjonelle brukere, f.eks. teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker og i bruk av Rotor-Gene Q MDx-instrumentet.

1.3.1 Krav for Rotor-Gene Q MDx

Tabellen nedenfor beskriver det generelle nivået av kompetanse og ekspertise som kreves i forbindelse med transport, installasjon, bruk, vedlikehold og servicearbeid på Rotor-Gene Q MDx.

Oppgave	Personell	Opplæring og erfaring
Levering	Ingen spesielle krav	Ingen spesielle krav
Installasjon	Laboratorieteknikere eller tilsvarende	Personell som har relevant opplæring og erfaring og er kjent med bruken av datamaskiner og automatisering generelt
Rutinemessig bruk (kjøring av protokoller)	Laboratorieteknikere eller tilsvarende	Profesjonelle brukere, f.eks. teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker
Rutinemessig vedlikehold	Laboratorieteknikere eller tilsvarende	Profesjonelle brukere, f.eks. teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker
Utføring av service og årlig vedlikehold	Kun QIAGEN-feltservicespesialister	Som har fått regelmessig opplæring og er sertifisert og autorisert av QIAGEN

1.4 Nødvendige materialer

Merk: Bruk kun tilbehør fra QIAGEN.

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

1.5 Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med


- Vernebriller
- Hansker
- Laboratoriefrakk


For å bruke Rotor-Gene Q MDx er det nødvendig med et PCR-sett, som må kjøpes separat. Du finner et utvalg av tilgjengelige sett på [QIAGEN.com](https://www.qiagen.com).

2 Sikkerhetsinformasjon

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

Følgende typer sikkerhetsinformasjon brukes gjennom hele *Brukerhåndbok for Rotor-Gene Q MDx*.


ADVARSEL 	Ordet ADVARSEL brukes for å informere deg om situasjoner som kan føre til skade på deg selv eller andre personer. Du finner mer informasjon om disse forholdene i en rute som denne.
--	--

FORSIKTIG 	Ordet FORSIKTIG brukes til å informere deg om situasjoner som kan føre til skade på instrumentet eller annet utstyr. Du finner mer informasjon om disse forholdene i en rute som denne.
--	---


Veiledningen som gis i denne bruksanvisningen, er ment å supplere, ikke erstatte, de vanlige sikkerhetskravene som gjelder i brukerens land.


Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser i forbindelse med bruken av utstyret muligens må rapporteres til produsenten og/eller deres autoriserte representant og den ansvarlige myndigheten i det landet hvor brukeren og/eller pasienten befinner seg.


2.1 Riktig bruk

ADVARSEL 	Fare for personskade og materielle skader Feil bruk av Rotor-Gene Q MDx kan forårsake personskade eller skade på instrumentet. Rotor-Gene Q MDx må kun betjenes av kvalifisert personell som har fått tilstrekkelig opplæring. Service på Rotor-Gene Q MDx må kun utføres av QIAGEN-feltservicespesialister.
--	--


Utfør vedlikehold som beskrevet i avsnitt 8. QIAGEN tar betalt for reparasjoner som kreves på grunn av feil vedlikehold.


ADVARSEL 	Fare for personskade og materielle skader Rotor-Gene Q MDx er for tung til å løftes av én person. Unngå personskade eller skade på instrumentet, og løft instrumentet sammen med noen, ikke alene. Kontakt QIAGENS tekniske serviceavdeling hvis du må flytte instrumentet.
--	--


ADVARSEL 	Fare for personskade og materielle skader Ikke forsøk å flytte Rotor-Gene Q MDx under drift.
--	--


FORSIKTIG 	Skade på instrumentet Unngå å søle vann eller kjemikalier på Rotor-Gene Q MDx. Skade forårsaket av vann eller kjemikaliesøl vil ugyldiggjøre garantien.
---	---


Merk: I en nødssituasjon må du slå av Rotor-Gene Q MDx med strømbryteren på baksiden av instrumentet og koble strømledningen fra strømuttaket.


FORSIKTIG 	Fare for personskade og materielle skader Ikke forsøk å åpne lokket under et eksperiment eller mens Rotor-Gene Q MDx spinner. Hvis du åpner låsen på lokket og stikker inn hånden, risikerer du å komme i kontakt med deler som er varme, elektrisk ladde eller som beveger seg i høy hastighet, og det kan forekomme personskade eller skade på instrumentet.
---	--

FORSIKTIG 	Fare for personskade og materielle skader Hvis du må stoppe et eksperiment raskt, slår du av strømmen til instrumentet og åpner lokket etterpå. La kammeret kjøle seg ned før du stikker inn hånden. Ellers er det fare for personskade ved å berøre deler som er varme.
---	--

FORSIKTIG 	Fare for personskade og materielle skader Hvis utstyret brukes på en måte som ikke er spesifisert av produsenten, kan utstyrets beskyttelse svekkes.
---	--

FORSIKTIG 	Fare for personskade og materielle skader Løst papir under Rotor-Gene Q MDx forstyrrer instrumentkjølingen. Det anbefales at området under instrumentet holdes fritt for rot.
---	---


FORSIKTIG 	Skade på instrumentet Bruk alltid en låsering på rotoren. Denne forhindrer at hetter løsner fra rør under et eksperiment. Hvis hetter løsner under et eksperiment, kan de skade kammeret.
---	---

<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Risiko for materiell skade</p> <p>Inspiser rotoren visuelt for å kontrollere at den ikke er skadet eller deformert, før hver kjøring.</p>
---	---

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

2.2 Elektrisk sikkerhet

Koble strømledningen fra strømuttaket før det utføres service.

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Elektrisk fare</p> <p>Et avbrudd i den beskyttende lederen (jordledningen) inne i eller utenpå instrumentet, eller frakobling av den beskyttende lederklemmen, vil sannsynligvis gjøre instrumentet farlig.</p> <p>Tilsiktede avbrudd er ikke tillatt.</p> <p>Dødelig spenning på innsiden av instrumentet</p> <p>Når instrumentet kobles til nettstrøm, kan klemmer være strømførende, og åpning av deksler eller fjerning av deler vil trolig eksponere strømførende deler.</p>
---	--


For å sikre tilfredsstillende og sikker bruk av Rotor-Gene Q MDx må du følge rådene nedenfor:

- Strømledningen må kobles til et strømuttak som har en beskyttende leder (jord).
- Ikke juster eller skift ut innvendige deler i instrumentet.
- Instrumentet må ikke brukes hvis deksler eller deler er fjernet.
- Hvis det er kommet væske inn i instrumentet, må du slå av instrumentet, ta ut strømledningen fra stikkkontakten og ta kontakt med QIAGENs tekniske serviceavdeling.

Hvis det er elektrisk utrygt å bruke instrumentet, må du forhindre at annet personale bruker instrumentet, og ta kontakt med QIAGENs tekniske serviceavdeling.

Det kan være elektrisk utrygt å bruke instrumentet når:

- det eller strømledningen ser ut til å være skadet
- det har blitt oppbevart under upassende forhold over lengre tid
- det har blitt utsatt for høy belastning under transport


ADVARSEL 	Elektrisk fare Instrumentet har en elektrisk samsvarsetikett som angir spenningen og frekvensen på strømforsyningen så vel som nominell sikringsstrøm. Utstyret må bare betjenes under disse betingelsene.
--	--

2.3 Biologisk sikkerhet

Prøver og reagenser som inneholder materialer fra biologiske kilder, skal behandles som potensielt smittefarlige. Følg sikker laboratoriepraksis som beskrevet i publikasjoner som *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

Prøver

Prøver kan inneholde smittefarlige stoffer. Du skal være klar over helsefaren som utgjøres av slike stoffer, og skal bruke, oppbevare og kassere slike prøver i henhold til de påkrevde sikkerhetsforskriftene.


<p>ADVARSEL</p> 	<p>Prøver som inneholder smittefarlige stoffer</p> <p>Noen prøver som brukes med dette instrumentet, kan inneholde smittefarlige stoffer. Håndter slike prøver med størst mulig forsiktighet og i henhold til de påkrevde sikkerhetsforskriftene.</p> <p>Bruk alltid vernebriller, 2 par hansker og en laboratoriefrakk.</p> <p>Ansvarshavende (f.eks. laboratoriesjefen) må ta de nødvendige forholdsreglene for å sikre at arbeidsområdet er trygt, og at brukerne av instrumentene har fått tilstrekkelig opplæring og ikke utsettes for farlige nivåer av smittefarlige stoffer, som definert i de gjeldende sikkerhetsdatabladene (Safety Data Sheets, SDS) eller OSHA[*], ACGIH[†]- eller COSHH[‡]-dokumentene.</p> <p>Utlufting av damp og håndtering av avfall må være i samsvar med alle nasjonale, regionale og lokale lover og bestemmelser knyttet til helse og sikkerhet.</p>
--	--

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

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

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (britisk lov om helsefarlige stoffer).

2.4 Kjemisk sikkerhet

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Farlige kjemikalier</p> <p>Noen kjemikalier som brukes med dette instrumentet, kan være farlige eller bli farlige etter fullføring av protokollkjøringen. Vernebriller, vernehansker og laboratoriefrakk må alltid benyttes. Ansvarshavende (f.eks. laboratoriesjefen) må ta de nødvendige forholdsreglene for å sikre at arbeidsområdet er trygt, og at brukerne av instrumentene ikke utsettes for farlige nivåer av giftige stoffer (kjemiske eller biologiske), som definert i de gjeldende sikkerhetsdatabladene (Safety Data Sheets, SDS) eller OSHA[*], ACGIH[†]- eller COSHH[‡]-dokumentene.</p> <p>Utlufting av damp og håndtering av avfall må være i samsvar med alle nasjonale, regionale og lokale lover og bestemmelser knyttet til helse og sikkerhet.</p>
--	--

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

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

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (britisk lov om helsefarlige stoffer).

Giftige avgasser

Hvis du jobber med flyktige løsemidler eller giftige stoffer, må du sørge for et effektivt laboratorieventilasjonssystem for å fjerne damper som kan oppstå.


2.5 Avfallshåndtering


Brukt laboratoriestyr kan inneholde farlige kjemikalier. Slikt avfall må samles inn og kasseres på riktig måte i henhold til lokale sikkerhetsbestemmelser.


Du finner mer informasjon om hvordan du kasserer Rotor-Gene Q MDx, i avsnitt Avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr (WEEE), side 201.


2.6 Mekaniske farer


Lokket på Rotor-Gene Q MDx må alltid være lukket mens instrumentet er i drift.


ADVARSEL 	Bevegelige deler For å unngå kontakt med bevegelige deler under bruk av Rotor-Gene Q MDx må lokket på instrumentet alltid være lukket.
--	--

ADVARSEL 	Fare for personskade og materielle skader Åpne og lukk lokket på Rotor-Gene Q MDx forsiktig for å unngå at fingre eller klær kommer i klem.
--	---


ADVARSEL 	Skade på instrumentet Påse at rotoren og låseringen er installert riktig. Hvis rotoren eller låseringen viser tegn på mekanisk skade eller korrosjon, må du ikke bruke Rotor-Gene Q MDx. Ta kontakt med QIAGENs tekniske serviceavdeling.
--	---


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

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Skade på instrumentet</p> <p>Ved driftsstans som følge av strømbrydd må du ta ut strømledningen og vente i 10 minutter før du forsøker å åpne lokket manuelt.</p>
--	---

<p>ADVARSEL</p> 	<p>Fare for overoppheting</p> <p>For å sikre riktig ventilasjon må det være en klaring på minst 10 cm på hver side av og bak Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Spalter og åpninger som sørger for ventilasjonen av Rotor-Gene Q MDx, må ikke dekkes til.</p>
--	--


Varmefare


<p>ADVARSEL</p> 	<p>Varm overflate</p> <p>Rotor-Gene Q MDx-kammeret kan nå temperaturer på over 120 °C. Ikke ta på overflaten når den er varm.</p>
--	--


<p>ADVARSEL</p> 	<p>Varm overflate</p> <p>Når en kjøring settes på pause, blir ikke Rotor-Gene Q MDx avkjølt helt ned til romtemperatur. Utvis forsiktighet før du håndterer rotoren eller eventuelle rør i instrumentet.</p>
--	---


2.7 Vedlikeholdssikkerhet

Utfør vedlikehold som beskrevet i avsnitt 8. QIAGEN tar betalt for reparasjoner som kreves på grunn av feil vedlikehold.

ADVARSEL/ FORSIKTIG 	Fare for personskade og materielle skader Utfør kun vedlikehold som spesifikt er beskrevet i denne brukerhåndboken.
---	---











ADVARSEL 	Brannfare Ved rengjøring av Rotor-Gene Q MDx med alkoholbasert desinfeksjonsmiddel må du la Rotor-Gene Q MDx-døren stå åpen for å luften ut brannfarlige gasser.
--	--

ADVARSEL/ FORSIKTIG 	Risiko for elektrisk støt Du må ikke demontere Rotor-Gene Q MDx-instrumentet.
---	---

FORSIKTIG 	Skade på instrumenthuset Du må aldri rengjøre instrumenthuset med alkohol eller alkoholbaserte løsninger. Alkohol vil føre til skade på huset. Bruk kun destillert vann til rengjøring av huset.
---	--

2.8 Symboler på Rotor-Gene Q MDx

Følgende symboler kan finnes i brukerhåndboken eller på emballasjen og etiketter:

Symbol	Plassering	Beskrivelse
	I nærheten av prøvekammeret, synlig når lokket er åpent	Varmefare – temperaturen til kammeret kan komme opp i over 120 °C
	Baksiden av instrumentet	Se bruksanvisningen
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	CE-merket for samsvar med EU-direktiver
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Typeskilt på baksiden av instrumentet	CSA-merke for Canada og USA
	Typeskilt på høyre sidepanel	Registrert produsent.
	Typeskilt på høyre sidepanel	WEEE om håndtering av elektrisk og elektronisk avfall for Europa og resten av verden.
	Typeskilt på høyre sidepanel	FCC-merke for den amerikanske Federal Communications Commission
	Typeskilt på høyre sidepanel	RCM (tidligere C-Tick) for Australia (leverandør-ID N17965)
	Typeskilt på høyre sidepanel	RoHS-merke for Kina (begrensning av bruk av visse farlige stoffer i elektrisk og elektronisk utstyr)

3 Generell beskrivelse

Rotor-Gene Q MDx er et innovativt instrument som muliggjør real-time PCR med høy presisjon, og som er spesielt godt egnet for in vitro-diagnostiske bruksområder i kombinasjon med QIAGEN IVD-merkede sett.

Den kraftige og brukervennlige programvaren er enkel å bruke for nybegynnere, samtidig som den har en åpen, eksperimentell plattform for avanserte brukere.

3.1 Rotor-Gene Q MDx-prinsippet

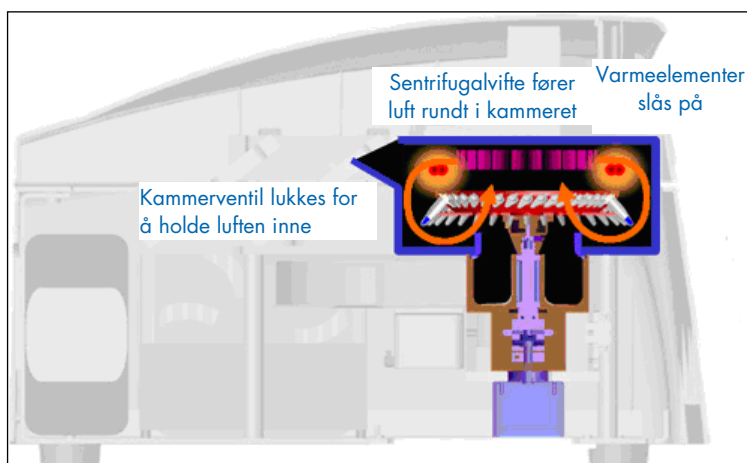
3.1.1 Termisk ytelse

Rotor-Gene Q MDx bruker en avansert varme- og kjølemetode for å oppnå optimale reaksjonsforhold. Det unike rotasjonsformatet sikrer optimal termisk og optisk ensartethet mellom prøvene, som er avgjørende for presise og pålitelige analyser.

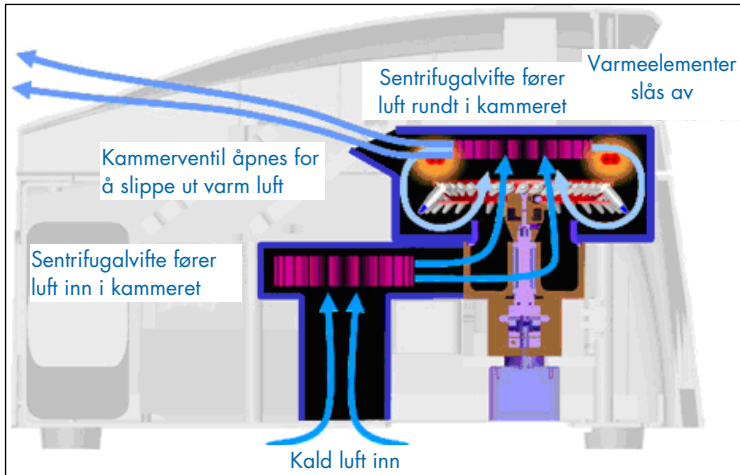
Prøver spinner kontinuerlig ved 400 o/min under en kjøring. Sentrifugering hindrer kondens og fjerner luftbobler, men gir ingen DNA-pellet. Prøvene trenger heller ikke å spinnes ned før en kjøring.

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

Oppvarming



Avkjøling

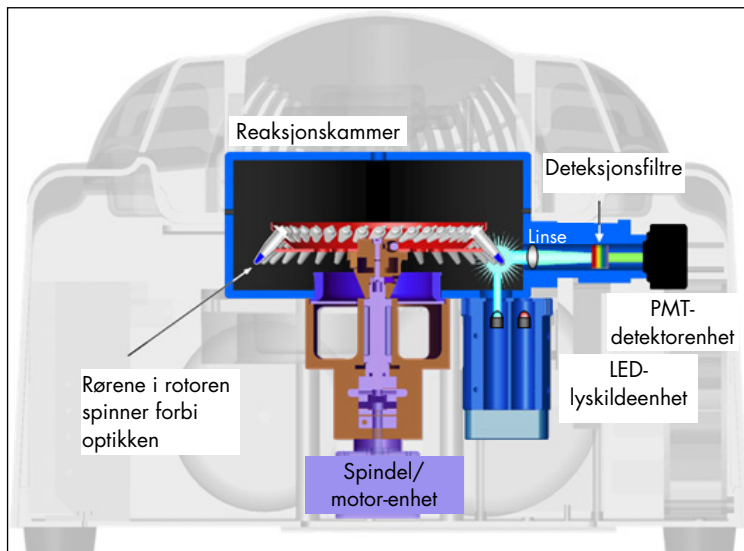


Illustrasjon av systemet for oppvarming og avkjøling.

3.1.2 Optisk system

Med opptil 6 eksitasjonskilder og 6 deteksjonsfiltre kombinert med en kort, fast optisk bane kan Rotor-Gene Q MDx brukes til multipleksreaksjoner, noe som sikrer minst mulig fluorescensvariabilitet mellom prøver og fjerner behovet for kalibrering eller kompensasjon.

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



Illustrasjon av det optiske systemet.

3.1.3 Tilgjengelige kanaler

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

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

3.2 Eksterne funksjoner på Rotor-Gene Q MDx



- | | | | |
|---|------------------------|---|----------------------------|
| 1 | Luftventiler på lokket | 3 | Rotorkammer |
| 2 | Lokkhåndtak | 4 | Instrumentets statuslamper |

3.2.1 Luftventiler på lokket

Rotor-Gene Q har luftventiler bak på instrumentlokket. Disse ventilene gjør det mulig for instrumentet å slippe ut varme fra kammeret under drift. Tildekking eller utilstrekkelig klaring rundt ventilene kan påvirke instrumentets ytelse.

3.2.2 Lokkhåndtak

Lokkhåndtaket brukes til å skyve instrumentlokket bakover. Dette håndtaket tåler ikke vekten av instrumentet og skal ikke brukes til å løfte instrumentet.

3.2.3 Rotorkammer

Rotorkammeret er der rotorene lastes inn og gjennomgår de programmerte varme- og syklingsstrinnene.

3.2.4 Instrumentets statuslamper

Det er to statuslamper på Rotor-Gene Q. Standby-lampen indikerer at instrumentet ikke er i bruk. Driftslampen blinker når Rotor-Gene Q er i bruk.

3.3 Interne funksjoner på Rotor-Gene Q MDx



Rotor-Gene Q-kammeret sett fra innsiden

1 Rotornav

2 Optisk linse

3.3.1 Rotornav

Rotornavet holder rotoren på plass i instrumentet.

3.3.2 Optisk linse

Optisk linse der eksitasjonsdiodelyset er fokusert på rørene.

4 Installasjonsprosedyrer

4.1 Levering og installasjon av systemet

En person som er kjent med laboratorie- og datautstyret, skal være til stede under installasjonen.

Følgende elementer leveres:

- Rotor-Gene Q MDx-instrument
- *Brukerhåndbok for Rotor-Gene Q MDx*
- Arbeidsstasjon
- Rotor-Gene Q MDx-programvare (vil bli installert av en QIAGEN-feltservicespesialist under innledende oppsett)

4.1.1 Utpakking av Rotor-Gene Q MDx

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

Merk: Sjekk denne listen for å kontrollere at alle komponentene er med.

Merk: Sjekk at instrumentet og medfølgende tilbehør ikke er blitt skadet under transport, før installasjon.

Tilbehørsesken befinner seg over skumemballasjen. Tilbehørsesken inneholder:

- Installasjonsveiledning (på engelsk, oversettelser er tilgjengelige på det flyttbare mediet som inneholder håndbøker)
- Flyttbart medium (programvare)
- Flyttbart medium (håndbøker)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (demontert for sikker transport)
- 36-Well Rotor (denne rotoren er rød)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Følgende komponenter er pakket på hver side av skumemballasjen:

- USB-kabel og seriell RS-232-kabel
- Internasjonalt strømkabelsett
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Når du har tatt alle disse komponentene ut av esken, fjerner du skumemballasjen over Rotor-Gene Q MDx. Ta Rotor-Gene Q MDx forsiktig ut av esken, og pakk ut plastdekslet. Åpne lokket ved å skyve det bakover for å få tilgang til reaksjonskammeret.


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

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

En bærbar datamaskin kan være inkludert i esken, avhengig av bestillingen.

4.1.2 Installasjon av maskinvare

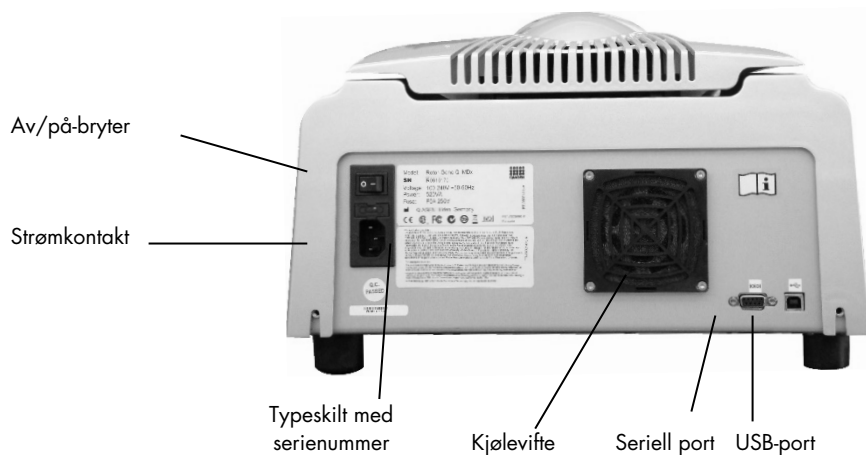
Når du har pakket ut Rotor-Gene Q MDx, fortsetter du med installasjonen som beskrevet nedenfor.

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

Gå frem på følgende måte:

1. Plasser Rotor-Gene Q MDx på et flatt underlag.
2. Kontroller at det er nok plass bak instrumentet til at du kan åpne lokket helt.
3. Kontroller at strømbryteren på baksiden av instrumentet er lett tilgjengelig.
4. Ikke dekk til baksiden av instrumentet. Kontroller at det er lett å ta ut strømledningen hvis det blir behov for å koble fra strømmen til instrumentet.
5. Koble den medfølgende USB-kabelen eller den serielle RS-232-kabelen til en USB- eller kommunikasjonsport på baksiden av datamaskinen.
6. Koble til USB-kabelen eller den serielle RS-232-kabelen på baksiden av Rotor-Gene Q MDx.

7. Deretter kobler du Rotor-Gene Q MDx til strømforsyningen. Koble den ene enden av strømledningen til kontakten på baksiden av Rotor-Gene Q MDx og den andre enden til strømuttaket.



Merk: Du må kun koble Rotor-Gene Q MDx til datamaskinen med USB-kabelen og den serielle kabelen som leveres med instrumentet. Ikke bruk andre kabler.

4.1.3 Installasjon av programvare

1. For å installere Rotor-Gene Q-programvaren må du laste ned programvaren fra QIAGEN.com og overføre den til datamaskinen på et virusfritt flyttbart medium, eller sette det flyttbare mediet (programvare) som leveres med instrumentet, inn i datamaskinen.
2. Hvis den automatiske funksjonen for programvareinstallasjon starter, velger du Install Operating Software (Installer driftsprogramvare) i vinduet som vises. Du kan også navigere til RGQ-programvaremappen på det flyttbare mediet.

Merk: Se *Installasjonsveiledning for Rotor-Gene Q* som fulgte med instrumentet, for å få hjelp til installasjonen og veiledning gjennom de neste trinnene i programvareinstallasjonen.

Rotor-Gene Q — Pure Detection

■ Install Operating Software

■ Exit

Sample & Assay Technologies

3. Når programvaren er installert, opprettes det automatisk et ikon på skrivebordet.
4. Slå på Rotor-Gene Q MDx ved å flytte bryteren bak på venstre side til posisjonen «I». En blå Standby-lampe foran på Rotor-Gene Q MDx indikerer at instrumentet er klart for bruk.

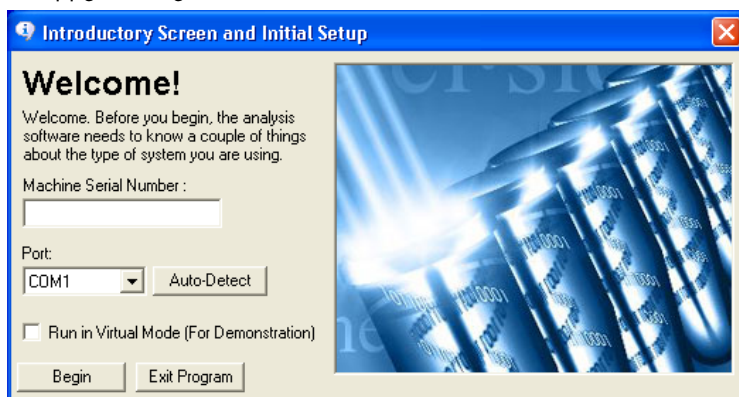
Merk: Når instrumentet er koblet til en datamaskin og startes opp for første gang, gjenkjennes Rotor-Gene Q MDx av operativsystemet, og det vises en rekke meldinger. Se *Installasjonsveiledning for Rotor-Gene Q* som fulgte med instrumentet (på flyttbart medium eller papirversjon), for å få mer informasjon.



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



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



Machine Serial Number Skriv inn serienummeret (7 sifre), som du finner på baksiden av (Maskinens serienummer): Rotor-Gene Q MDx.

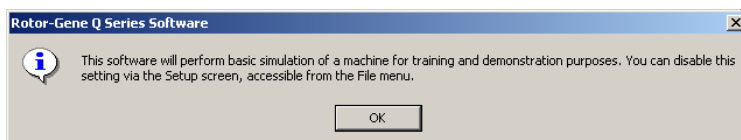
Port: Velg enten USB eller seriell kabel. Velg riktig kommunikasjonsport, eller klikk på knappen Auto-Detect (Automatisk gjenkjenning).

Auto-Detect gjenkjenning (Automatisk) Når du bruker dette alternativet, blir USB-porten eller den serielle porten gjenkjent automatisk og vises i rullegardinlisten Port.

Run in Virtual Mode (for demonstration) (Kjør i virtuell modus (for demonstrasjon)): Hvis du merker av i denne boksen, kan Rotor-Gene Q-programvaren installeres på en datamaskin som ikke er koblet til et Rotor-Gene Q MDx-instrument. Programvaren er fullt funksjonell og kan simulere kjøring.

Merk: Hvis denne boksen er merket av og et Rotor-Gene Q MDx-instrument er koblet til datamaskinen, vises følgende melding før kjøringen starter: You are about to run in Virtual mode (Du er i ferd med å kjøre i virtuell modus). For å utføre en faktisk kjøring må oppsettet endres i vinduet Setup (Oppsett) (se avsnitt 6.5.4).

Begin (Begynn): Når all informasjon er lagt inn, klikker du på Begin (Begynn). Vent til initialiseringen er ferdig. Dette kan ta et par sekunder. Hvis virtuell modus ble valgt, vises følgende melding:

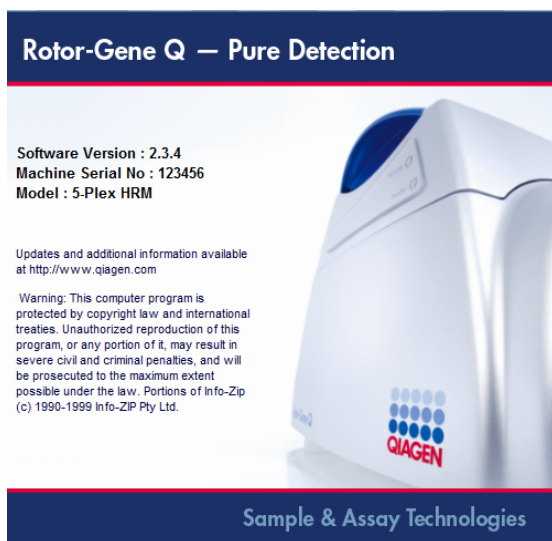


Hvis boksen Run in Virtual Mode (Kjør i virtuell modus) ikke er merket av, blir programvaren initialisert og åpnet automatisk.

Exit Program (Avslutt program): Når du klikker på denne knappen, avsluttes programmet.

4.1.4 Programvareversjon

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



Dette vinduet viser generell informasjon om programvaren, inkludert programvarens versjon og instrumentets serienummer og modell.

Programvaren kan fritt kopieres for bruk internt i en organisasjon som eier et Rotor-Gene Q MDx-instrument. Programvaren kan ikke kopieres og distribueres til andre utenfor organisasjonen.

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

Rotor-Gene Q-programvaren styrer tidskritiske prosesser under PCR-kjøringen og datainnsamlingen. Derfor er det viktig å sikre at ingen andre prosesser bruker betydelige systemressurser og dermed bremser Rotor-Gene Q-programvaren. Det er særlig viktig å være oppmerksom på punktene angitt nedenfor.

Systemadministratorer rådes til å vurdere eventuell innvirkning som en endring av systemet kan ha på ressursene før implementering.

Antivirusprogramvare

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

Valget og installasjonen av et egnet verktøy for virusssøk er kundens ansvar. QIAGEN har imidlertid validert Rotor-Gene Q-programvaren med QIAGEN bærbar datamaskin i kombinasjon med følgende antivirusprogramvarer for å vise kompatibilitet:

- Microsoft Defender klientversjon 4.18.2005.5

Se produktsiden på QIAGEN.com for de siste versjonene av antivirusprogramvare som er validert i kombinasjon med Rotor-Gene Q-programvaren og Rotor-Gene AssayManager versjon 1.0 eller 2.1.

Hvis en antivirusprogramvare er valgt, må du påse at den er konfigurert slik at databasens mappebane kan utelukkes fra søket. Hvis ikke er det en risiko for tilkoblingsfeil til databasen. Ettersom Rotor-Gene AssayManager versjon 1.0 og 2.1 oppretter nye databasearkiver dynamisk, er man nødt til å utelukke mappebanen til filene og ikke enkeltfiler. Vi anbefaler ikke bruk av antivirusprogramvare der kun enkeltfiler kan utelukkes, f.eks. McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Hvis datamaskinen brukes i et miljø uten nettverkstilgang, må du også påse at antivirusprogramvaren støtter oppdateringer i frakoblet modus.

For å få konsistente resultater etter installasjon av en antivirusprogramvare må systemadministratorer sikre følgende:

- Som forklart ovenfor må databasens mappebane til Rotor-Gene AssayManager 1.0 og 2.1 (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) utelukkes fra filseek.
- Oppdateringer av virusdatabasen utføres ikke når Rotor-Gene AssayManager 1.0 eller 2.1 er i bruk.
- Kontroller at fullstendige eller delvise søk på harddisken er deaktivert under real-time PCR-datainnsamling. Hvis ikke kan det ha en negativ innvirkning på instrumentets ytelse.

Les håndboken for den valgte antivirusprogramvaren for mer informasjon om konfigurasjon.

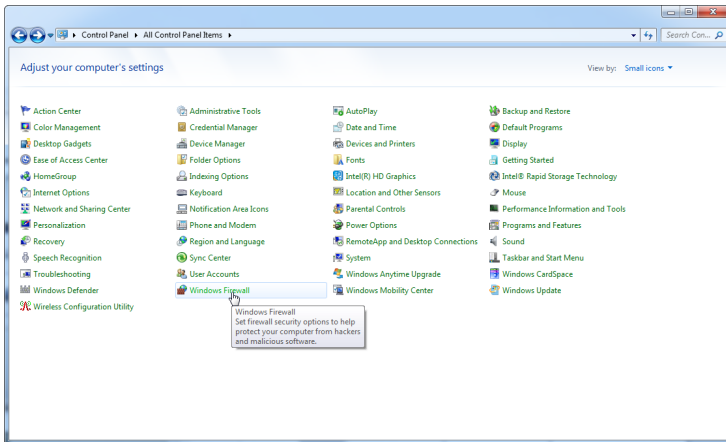
Brannmur og nettverk

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

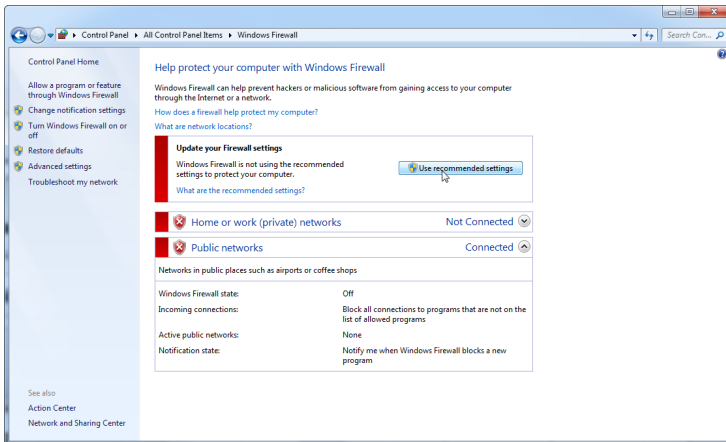
Vær oppmerksom på at blokkering av innkommende tilkoblinger ikke påvirker svar på forespørsler utløst av brukeren. Utgående tilkoblinger er tillatt fordi de kan være påkrevd for å hente oppdateringer.

Hvis din konfigurasjon er annerledes, anbefaler QIAGEN at brannmuren konfigureres på samme måte som beskrevet ovenfor. For å gjøre det må en systemadministrator logge seg på og utføre følgende trinn:

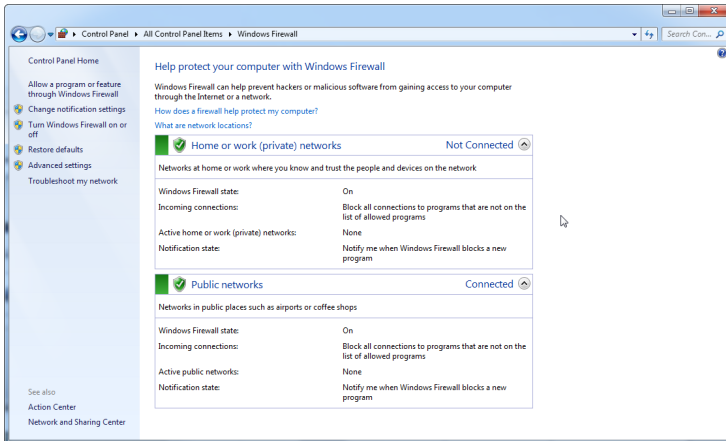
1. Åpne Control Panel (Kontrollpanel) og velg Windows Firewall (Windows-brannmur).



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

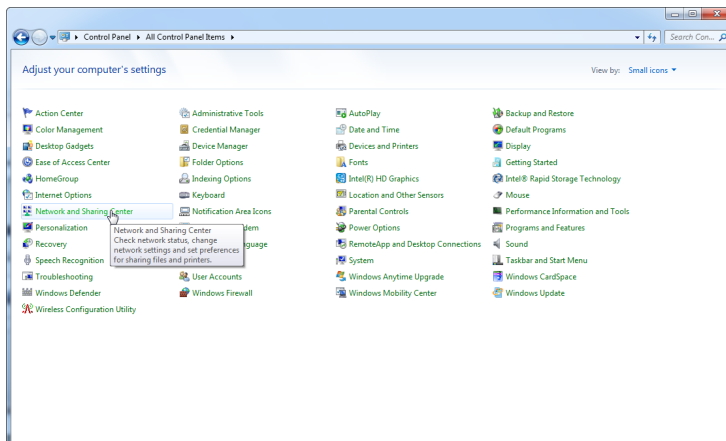


3. Kontroller at følgende innstillinger er aktive:

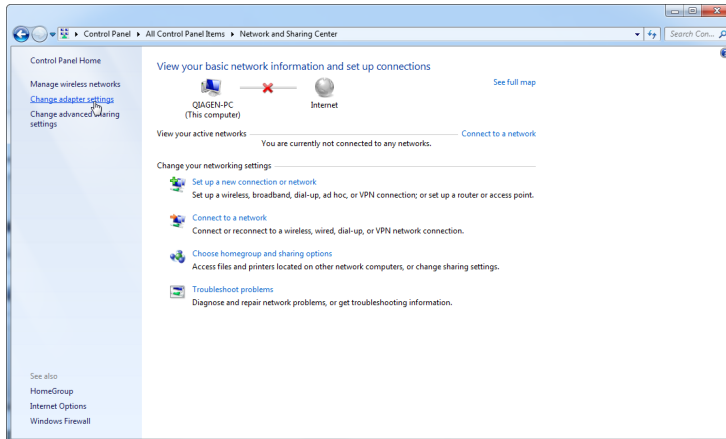


Av sikkerhets- og pålitelighetshensyn skal kabelbasert nettverkstilgang brukes i stedet for Wi-Fi. Bærbare datamaskiner fra QIAGEN har en deaktivert Wi-Fi-adapter. Hvis din konfigurasjon er annerledes, må en systemadministrator deaktivere Wi-Fi-adapteren manuelt ved å følge disse trinnene:

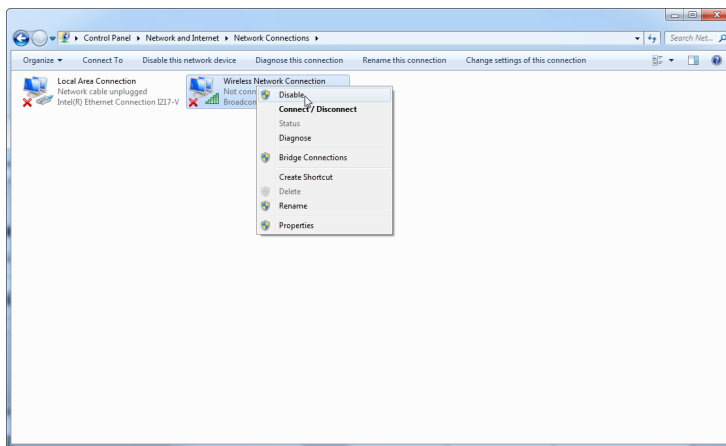
1. Åpne Control Panel (Kontrollpanel) og velg Network and Sharing Center (Nettverks- og delingssenter).



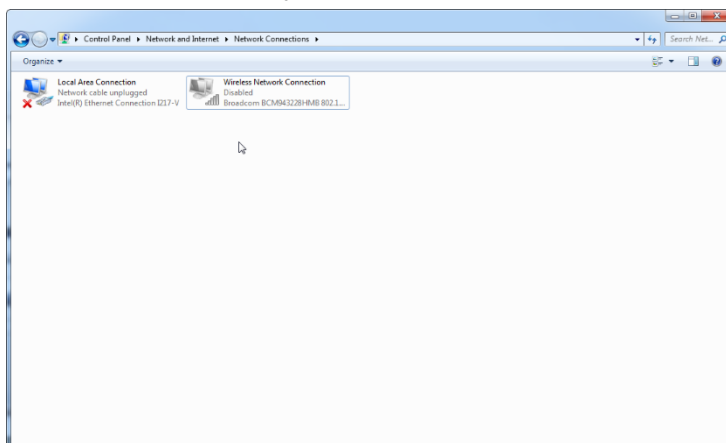
2. Velg Change adapter settings (Endre adapterinnstillinger).



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



4. Kontroller at trådløs nettverkstilkobling er deaktivert.



Systemverktøy

Mange systemverktøy kan bruke betydelige systemressurser også uten eventuelle tiltak fra bruker. Typiske eksempler på slike verktøy er:

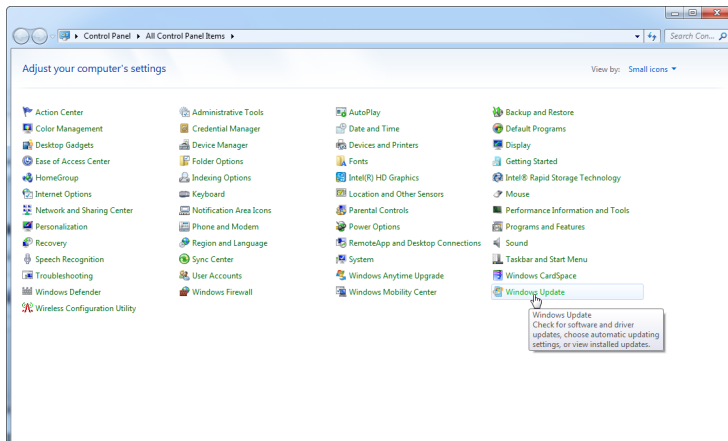
- Filindeksering som utføres som en bakgrunnsoppgave av mange samtidige kontorapplikasjoner
- Diskdefragmentasjon, noe som ofte gjør bruk av en bakgrunnsoppgave
- All programvare som søker etter oppdateringer på Internett
- Eksternt overvåkings- og administrasjonsverktøy

Vær oppmerksom på at IT-sektorens raske utvikling gjør at denne listen ikke nødvendigvis er fullstendig, og verktøy kan være lansert som ikke var kjent da dette ble skrevet. Det er viktig at systemadministratorer passer på at slike verktøy ikke er aktive under en PCR-kjøring.

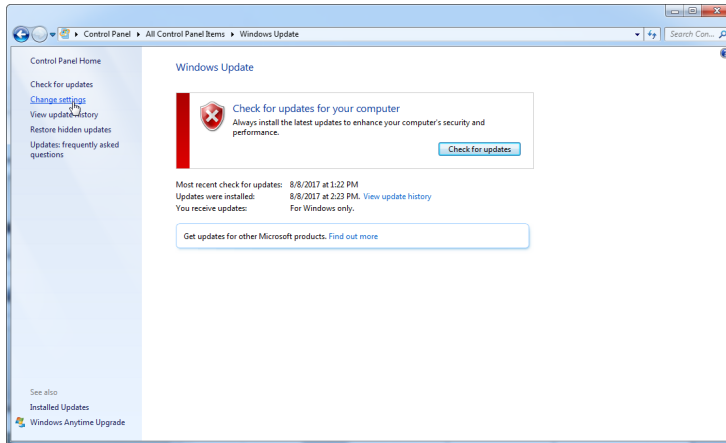
Operativsystemoppdateringer

Bærbare datamaskiner fra QIAGEN er konfigurert slik at automatiske oppdateringer av operativsystemet er deaktivert. Hvis din konfigurasjon er annerledes, må en systemadministrator deaktivere en eventuell automatisk oppdateringsprosess av operativsystemet ved å følge disse trinnene:

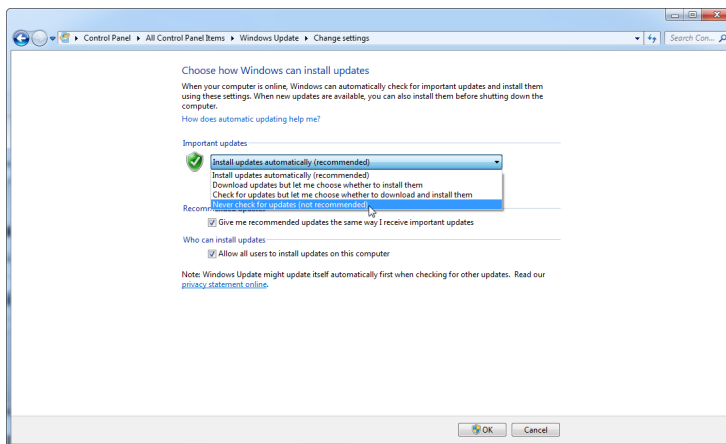
1. Åpne Control Panel (Kontrollpanel) og velg Windows Update (Windows-oppdatering).



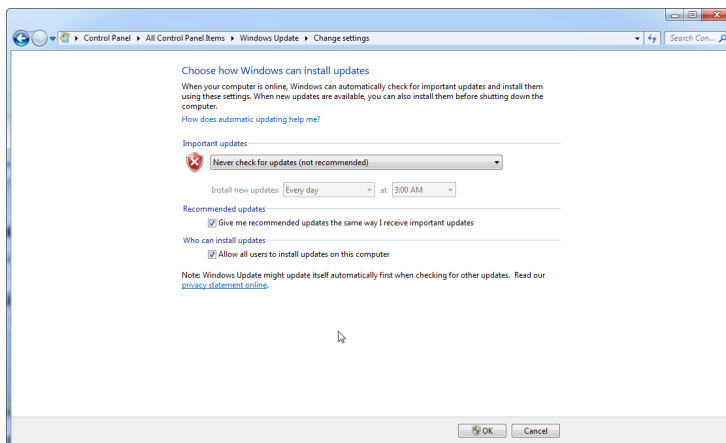
2. Velg Change settings (Endre innstillinger).



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



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



Hvis det er nødvendig med oppdateringer på grunn av uløste sikkerhetsårbarheter, tilbyr QIAGEN mekanismer for å installere et definert sett med validerte Windows-sikkerhetsoppdateringer enten i tilkoblet modus (hvis en Internett-tilkobling er tilgjengelig på den bærbare QIAGEN-datamaskinen), eller i frakoblet modus som en pakke klagjort på en egen datamaskin med Internett-tilkobling.

Se produksiden på QIAGEN.com for mer informasjon.


4.2 Krav til plassering


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

Se Vedlegg A for informasjon om Rotor-Gene Q MDx-instrumenters vekt og dimensjoner. Sørg for at arbeidsbenken er tørr, ren og har ekstra plass til tilbehør. Du får mer informasjon om nødvendige spesifikasjoner for arbeidsbenken ved å kontakte QIAGENS tekniske serviceavdeling.

Merk: Det er ekstremt viktig at Rotor-Gene Q MDx-instrumentet plasseres på et stabilt underlag som er flatt og vibrasjonsfritt. Se informasjon om driftsforhold i Vedlegg A.

Rotor-Gene Q MDx-instrumentet må plasseres maks. 1,5 m fra et forskriftsmessig jordnet strømuttak.

ADVARSEL 	Eksplisiv atmosfære Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er ikke beregnet for bruk i en eksplisiv atmosfære.
--	---

ADVARSEL 	Fare for overoppheting For å sikre riktig ventilasjon må det være en klaring på minst 10 cm på baksiden av Rotor-Gene Q MDx-instrumentet. Spalter og åpninger som sørger for ventilasjonen av Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, må ikke dekkes til.
--	---

4.3 Tilkobling til strømnettet

4.3.1 Strømkrav

Rotor-Gene Q MDx opererer ved:

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

Kontroller at merkespenningen til Rotor-Gene Q MDx samsvarer med vekselstrømspenningen på installasjonsstedet. Nettspenningsvariasjoner må ikke overskride 10 % av merkespenningen.

4.3.2 Jordingskrav

For å beskytte brukerne anbefaler QIAGEN at Rotor-Gene Q MDx blir forskriftsmessig jordnet. Instrumentet er utstyrt med en 3-ledet strømledning som jorder instrumentet når det er koblet til et egnet vekselstrømuttak. Hvis du vil bevare denne beskyttelsen, skal ikke instrumentet kobles til et vekselstrømuttak uten jording.

4.3.3 Montering av strømledning

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

4.4 Konfigurasjon for Windows-sikkerhet

Bærbare datamaskiner fra QIAGEN for bruk med Rotor-Gene Q MDx-instrumentet kan ha Microsoft Windows 7 eller Windows 10 forhåndsinstallert, og er konfigurert med en standard (ikke-administrativ) Windows-brukerkonto og en administratorkonto. Ved rutinemessig bruk av systemet skal standardkontoen brukes, ettersom Rotor-Gene Q-programvaren og Rotor-Gene AssayManager versjon 1.0 eller 2.1 er beregnet på å kjøre uten administratorrettigheter. Administratorkontoen – den med rød skrivebordsbakgrunn – skal kun brukes til å installere Rotor-Gene Q-programvaren eller Rotor-Gene AssayManager-programvareversjon 1.0 eller 2.1 og en annen programvare på datamaskiner som er koblet til Rotor-Gene Q MDx-instrumenter (se avsnitt Antivirusprogramvare). Bruk av administratorkontoen er angitt med en rød skrivebordsbakgrunn. Kontroller at du alltid kan logge på som standardbruker for rutinemessig bruk.

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

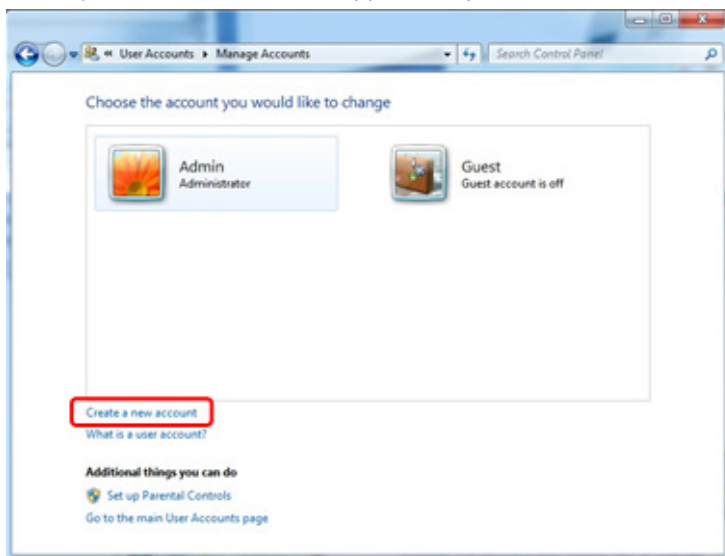
Hvis administratorpassordet til den bærbare datamaskinen er tapt, anbefaler vi deg å kontakte Microsoft for å få hjelp.

Hvis din konfigurasjon er annerledes og ikke har en ikke-administrativ konto, må systemadministrator sette opp en ny standard Windows-brukerkonto for å hindre tilgang til kritiske systemområder, f.eks. programfiler, Windows-mappe (f.eks. tilgang til installasjons- eller avinstallasjonsfunksjoner, herunder applikasjoner, operativsystemkomponenter, innstillinger for dato/klokkeslett, Windows-oppdateringer, brannmur, brukerrettigheter og roller samt aktivering av antivirus) eller ytelsesrelevante innstillinger som f.eks. strømsparing.

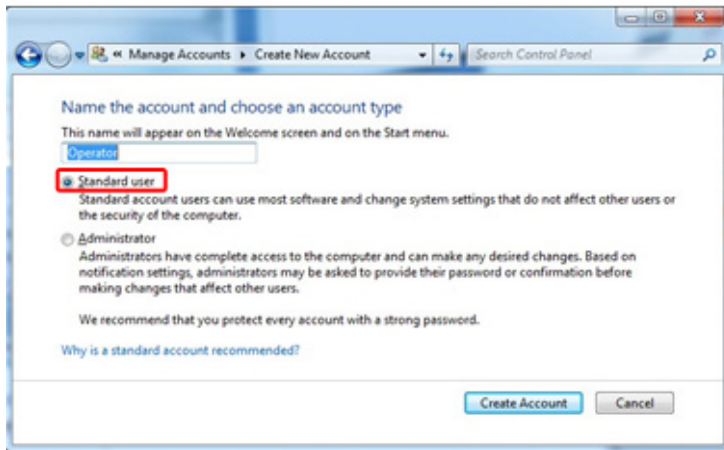
For å opprette en standard brukerkonto i Windows 7 må du følge trinnene beskrevet i avsnitt Opprette en ny brukerkonto:

Åpne kontrollpanelet i Windows via Start-menyen og velg User Accounts (Brukerkontoer) > Manage Accounts (Administrer kontoer).

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



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



3. Klikk på Create Account (Opprett konto).

4.5 Krav til arbeidsstasjonen

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

Systemkrav til arbeidsstasjonen

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

* Microsoft Windows 10 eller Windows 7 Professional Edition er påkrevd for å kjøre Rotor-Gene Q-programvaren med sikkerhetsfunksjoner (se avsnitt 6.9). Sikkerhetsfunksjoner er ikke tilgjengelige hvis man bruker Home Edition av Windows 10 eller Windows 7.

† Ved bruk av Rotor-Gene AssayManager®-programvareversjon 1.0 eller 2.1 vil følgende minimumskrav til datamaskinen være annerledes: Intel Core i3-380M-prosessor, 4 GB RAM hovedminne, 250 GB harddiskplass, USB-port påkrevd.

4.6 Utpakking og installasjon av Rotor-Gene Q MDx

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

Merk: Sjekk denne listen for å kontrollere at alle komponentene er med.

Merk: Sjekk at instrumentet og medfølgende tilbehør ikke er blitt skadet under transport, før installasjon.

Tilbehørsesken befinner seg over skumemballasjen. Tilbehørsesken inneholder:

- Installasjonsveiledning (på engelsk, oversettelser er tilgjengelige på det flyttbare mediet som inneholder håndbøker)
- Flyttbart medium (programvare)
- Flyttbart medium (håndbøker)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (demontert for sikker transport)
- 36-Well Rotor (denne rotoren er rød)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Følgende komponenter er pakket på hver side av skumemballasjen:

- USB-kabel og seriell RS-232-kabel
- Internasjonalt strømkabelsett
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Når du har tatt alle disse komponentene ut av esken, fjerner du skumemballasjen over Rotor-Gene Q MDx. Ta Rotor-Gene Q MDx forsiktig ut av esken, og pakk ut plastdekselet. Åpne lokket ved å skyve det bakover for å få tilgang til reaksjonskammeret.

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

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

En bærbar datamaskin kan være inkludert i esken, avhengig av bestillingen.

4.6.1 Programvareoppgradering

Programvareoppdateringer er tilgjengelige på QIAGENs nettside på <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>, som også kan åpnes fra menyen Help (Hjelp) i programvaren. For å laste ned programvaren må du registrere deg på nettsiden.

4.7 Tilbehør

Rotor-Discs og tilbehør kan bestilles separat for bruk med Rotor-Gene Q MDx. For mer informasjon, se avsnitt 16.

4.8 Innpakking og sending av Rotor-Gene Q MDx

Når du pakker inn Rotor-Gene Q MDx for sending, må du bruke originalemballasjen. Kontakt QIAGENs tekniske serviceavdeling hvis originalemballasjen ikke kan brukes. Påse at instrumentet er riktig klargjort (se Vedlikehold) før pakking, og sørg for at det ikke utgjør noen biologisk eller kjemisk fare.


4.9 Komme i gang


4.9.1 Slå på Rotor-Gene Q MDx og arbeidsstasjonen

Påse at Rotor-Gene Q er koblet til den bærbare datamaskinen via USB eller RS-232, og at både den bærbare datamaskinen og Rotor-Gene Q er koblet til et strømuttak.

5 Driftsprosedyrer

Før du starter, anbefaler vi at du gjør deg kjent med instrumentets funksjoner ved å lese avsnitt 3.

FORSIKTIG 	Skade på instrumentet Bruk kun QIAGEN flytceller og forbruksartikler sammen med Rotor-Gene Q MDx. Skade forårsaket av bruk av andre typer flytceller eller forbruksartikler vil ugyldiggjøre garantien.
---	---

FORSIKTIG 	Risiko for materiell skade Unngå å flytte arbeidsbenken og forårsake vibrasjoner i Rotor-Gene Q MDx under drift, slik at du ikke forstyrrer sensitive optiske målinger.
---	---

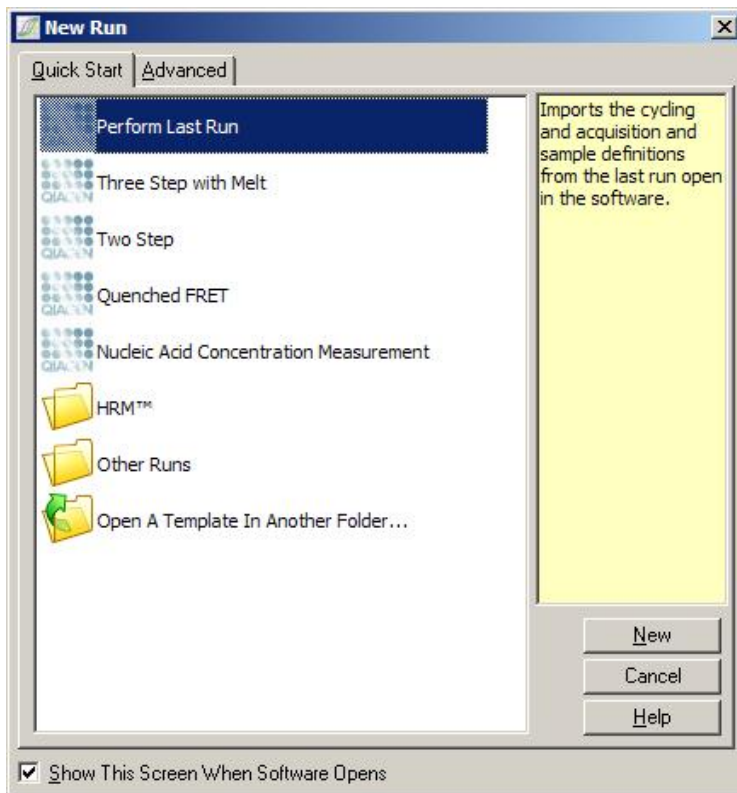
5.1 Bruk av Rotor-Gene Q MDx-programvaren

Nye kjøringar kan settes opp ved hjelp av veiviseren Quick Start (Hurtigstart) eller veiviseren Advanced (Avansert), som vises når programvaren starter. Veiviseren Quick Start (Hurtigstart) gjør det mulig for brukeren å starte kjøringen så raskt som mulig. Veiviseren Advanced (Avansert) har flere alternativer, f.eks. konfigurering av innstillinger for forsterkningsoptimalisering og volum. For å gjøre det enkelt inneholder veiviserne en rekke maler med standard syklingsforhold og innsamlingskanaler. For å endre veiviseren må du velge den relevante fanen øverst i vinduet New Run (Ny kjøring).

5.1.1 Hurtigstartveiviser

Veiviseren Quick Start (Hurtigstart) gjør det mulig for brukeren å starte kjøringen så raskt som mulig. Brukeren kan velge fra et sett med ofte brukte maler og angi et minimum av parametere for å komme i gang. Veiviseren Quick Start (Hurtigstart) forutsetter at reaksjonsvolumet er 25 µl. For andre reaksjonsvolumer må du bruke veiviseren Advanced (Avansert) (se avsnitt 5.1.2).

Som et første trinn må du velge ønsket mal for kjøringen ved å dobbeltklikke på malen i listen i vinduet New Run (Ny kjøring).



Perform Last Run (Utfør siste kjøring):

Perform Last Run (Utfør siste kjøring) bruker definisjonene for sykling, innsamling og prøver fra den siste kjøringen som var åpen i programvaren.

Three Step with Melt (Tre trinn med smelting):

Dette er en tretrinns syklingsprofil og en smeltekurve med datainnsamling i grønn kanal.

Two Step (To trinn):

Dette er en totrinns syklingsprofil med datainnsamling i grønn, gul, oransje og rød kanal.

Quenched FRET (Slukket FRET):

Dette er en tretrinns syklingsprofil og en smeltekurve. I motsetning til Three Step with Melt (Tre trinn med smelting) skjer innsamlingen i slutten av hybridiserings trinnet.

Nucleic Acid Concentration Measurement (Måling av nukleinsyre konsentrasjon):

Dette er en standardmal for måling av nukleinsyre konsentrasjon ved bruk av interkalerende fargestoffer.

HRM:

Denne mappen inneholder smelteprofiler med høy oppløsning (High Resolution Melt-profiler).

Other Runs (Andre kjøring):

Denne mappen inneholder flere profiler.

Syklings- og innsamlingsprofilene for alle maler kan endres ved bruk av veiviseren.

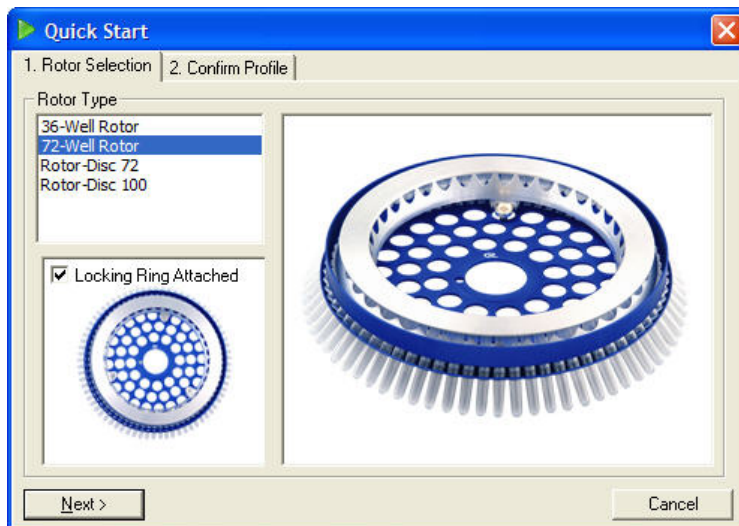
Merk: Brukerdefinerte maler kan legges til i mallisten i veiviseren Quick Start (Hurtigstart) ved å kopiere eller lagre *.ret-filer til C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates. Når du har kopiert en fil til denne banen, vil malen vises som et ikon i listen. Hvis du vil lage egendefinerte ikoner for malene dine, kan du opprette et *.ico-bilde med samme filnavn som malen.

Du kan opprette undermapper for å gruppere maler. Dette gjør det mulig å organisere malene, noe som kan være nyttig hvis for eksempel flere personer bruker samme instrument.

Valg av rotor

I neste vindu velger du rotortypen fra listen.

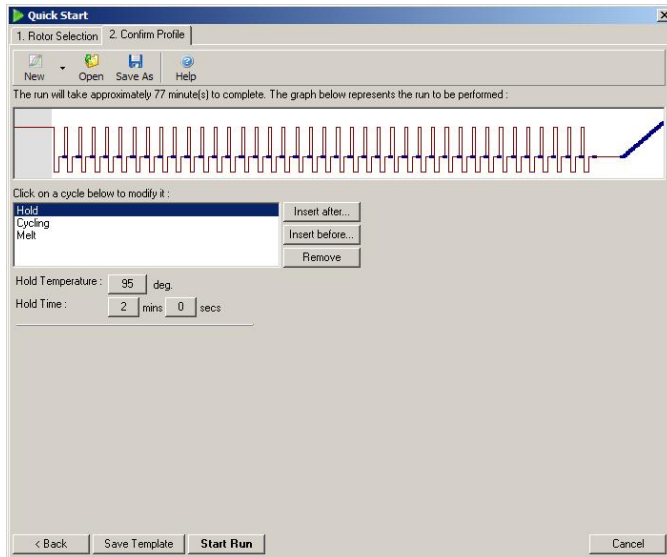
Merk av i boksen Locking Ring Attached (Låsering festet), og klikk på Next (Neste).



Bekreft profil

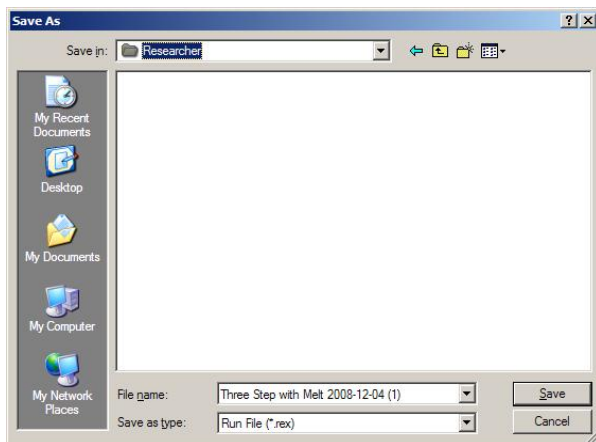
Syklingsforholdene og innsamlingskanalene for den valgte malen importeres. Disse kan endres i vinduet Edit Profile (Rediger profil) (se avsnitt Redigere profil).

For å starte en kjøring må du klikke på knappen Start Run (Start kjøring). Det er også mulig å lagre malen før du starter kjøringen, ved å klikke på Save Template (Lagre mal).



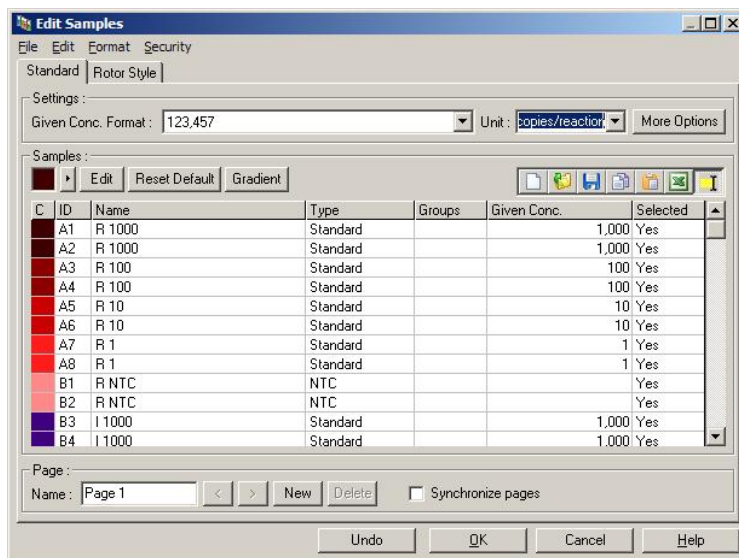
Lagre kjøring

Når du har klikket på knappen Start Run (Start kjøring), vises vinduet Save As (Lagre som). Kjøringen kan lagres der brukeren ønsker det. Kjøringen gis et filnavn som består av den brukte malen og datoen for kjøringen. Et serienummer (1, 2, osv.) blir også inkludert i filnavnet for å tillate automatisk navngivning av flere kjøring som bruker samme mal på samme dag.



Oppsett av prøver

Når kjøringen har startet, kan du definere og beskrive prøver i vinduet Edit Samples (Rediger prøver).

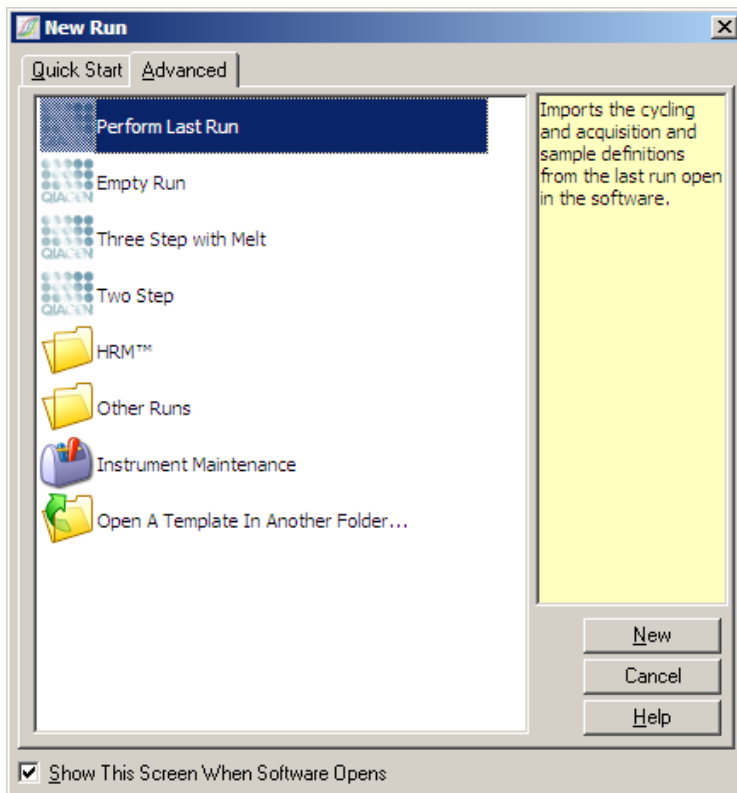


Vinduet Edit Samples (Rediger prøver) vises etter at kjøringen har startet, slik at brukeren kan bruke denne tiden til å legge inn prøvenavn. Hvis prøvenavnene legges inn veldig raskt under kjøringen (f.eks. ved bruk av en strekkodeleser), kan det føre til omstokking av bokstaver i prøvenavnene. Derfor anbefales det ikke å bruke en strekkodeleser, og ved behov heller legge inn prøvenavnene etter at kjøringen er ferdig. For informasjon om hvordan du setter opp prøvedefinisjoner i vinduet Edit Samples (Rediger prøver), se avsnitt 6.8.4.

5.1.2 Avansert veiviser

Veiviseren Advanced (Avansert) har alternativer som ikke er tilgjengelige i veiviseren Quick Start (Hurtigstart), f.eks. konfigurasjon av forsterkningsoptimalisering.

For å bruke veiviseren Advanced (Avansert) må du velge en mal ved å dobbeltklikke på malnavnet i listen under fanen Advanced (Avansert) i vinduet New Run (Ny kjøring).



Malalternativene i dette vinduet ligner på dem som finnes i veiviseren Quick Start (Hurtigstart) (avsnitt 5.1.1).

Perform Last Run (Utfør siste kjøring):	Perform Last Run (Utfør siste kjøring) importerer definisjonene for sykling, innsamling og prøver fra den siste kjøringen som var åpen i programvaren.
Empty Run (Tom kjøring):	Dette er en tom kjøring som kan brukes til å definere alle parametere for profilen.
Three Step with Melt (Tre trinn med smelting):	Dette er en totrinns syklingsprofil med datainnsamling kun i grønn kanal for at kjøringen skal gå raskere.
HRM:	Denne mappen inneholder 2 smelteprofiler med høy oppløsning (High Resolution Melt-profiler).
Other Runs (Andre kjøring):	Denne mappen inneholder flere profiler.
Instrument Maintenance (Vedlikehold av instrument):	Denne inneholder malen som brukes under optisk temperaturverifisering (OTV). For mer informasjon, se avsnitt 9. Denne malen er låst for å sikre at profilen alltid fungerer riktig.

Merk: Brukerdefinerte maler kan legges til i mallisten ved å kopiere eller lagre *.ret-filer til C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\. Når du har kopiert en fil til denne banen, vil malen vises som et ikon i listen.

Veiviser for ny kjøring, vindu 1

I neste vindu velger du rotortypen fra listen.

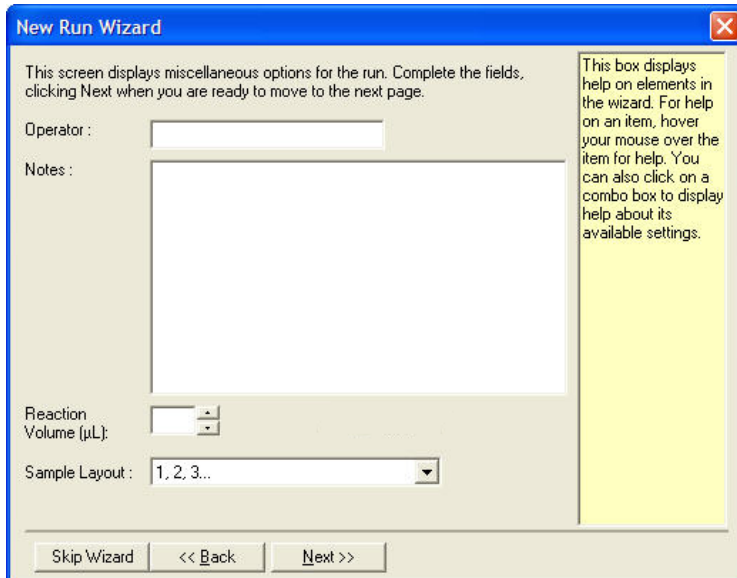
Merk av i boksen Locking Ring Attached (Låsering festet), og klikk på Next (Neste) for å fortsette.



Veiviser for ny kjøring, vindu 2

I neste vindu kan du legge inn brukerens navn og notater om kjøringen. Reaksjonsvolumet må også angis.

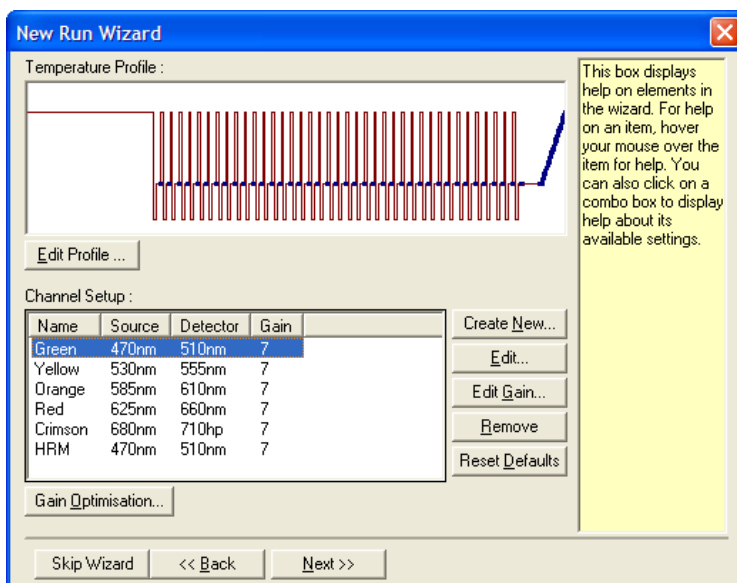
Hvis du valgte 72-Well Rotor i vindu 1, vil tre alternativer for Sample Layout (Prøveoppsett) være tilgjengelige i rullegardinmenyen. 1, 2, 3... er standardinnstillingen. De fleste velger dette alternativet. 1A, 1B, 1C... bør velges når prøvene lastes inn i tilstøtende 0.1 ml Strip Tubes ved hjelp av en flerkanalspipette med 8 kanaler. Oppsettet A1, A2, A3... brukes når det er hensiktsmessig.



Veiviser for ny kjøring, vindu 3

I dette vinduet kan du endre Temperature Profile (Temperaturprofil) og Channel Setup (Kanaloppsett). Hvis du klikker på knappen Edit Profile... (Rediger profil...), vises vinduet Edit Profile (Rediger profil) der du kan endre syklingsforhold og velge innsamlingskanaler (avsnitt Redigere profil).

Når du har satt opp profilen, klikker du på knappen Gain Optimisation... (Forsterkningsoptimalisering...) for å åpne vinduet Gain Optimisation (Forsterkningsoptimalisering) (se side 62).



Redigere profil

I vinduet Edit Profile (Rediger profil) kan du spesifisere syklingsforholdene og innsamlingskanalene. Den første profilen som vises, er basert på malen du valgte da du satte opp kjøringen (se side 46). Profilen vises grafisk. Listen med segmentene i profilen vises under grafen. Denne listen kan inkludere Hold (side 54), Cycling (Sykling) (side 55), Melt (Smelting) (side 55) eller HRM hvis instrumentet har en HRM-kanal (side 58).

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

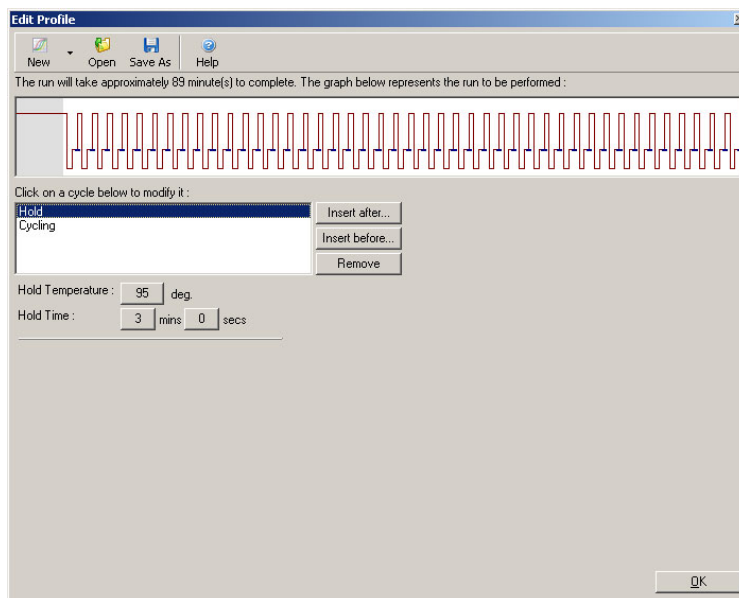
Insert after... (Sett inn etter...): Med dette alternativet kan du legge til en ny syklus etter den valgte syklusen.

Insert before... (Sett inn før...): Med dette alternativet kan du legge til en ny syklus før den valgte syklusen.

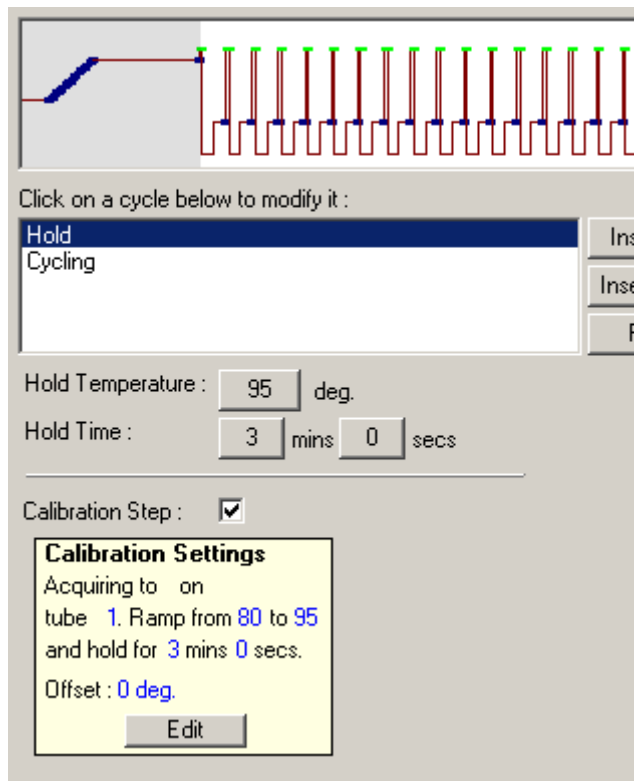
Remove (Fjern): Fjerner den valgte syklusen fra profilen.

Holding

Holding instruerer Rotor-Gene Q MDx om å holde seg på den fastsatte temperaturen i en innstilt tid. For å endre temperaturen må du klikke på knappen Hold Temperature (Holdetemperatur) og skrive inn eller bruke glidebryteren for å velge ønsket temperatur. For å endre holdevarigheten må du klikke på knappene Hold Time (Holdetid), mins (minutter) og secs (sekunder).



Hvis du utfører Optical Denature Cycling (Sykling med optisk denaturering), kan holding brukes som et kalibreringstrinn. I så fall vil det bli utført en kalibreringssmelting før holding. Som standard er denne konfigurert for første holding i kjøringen, men dette kan endres ved behov.



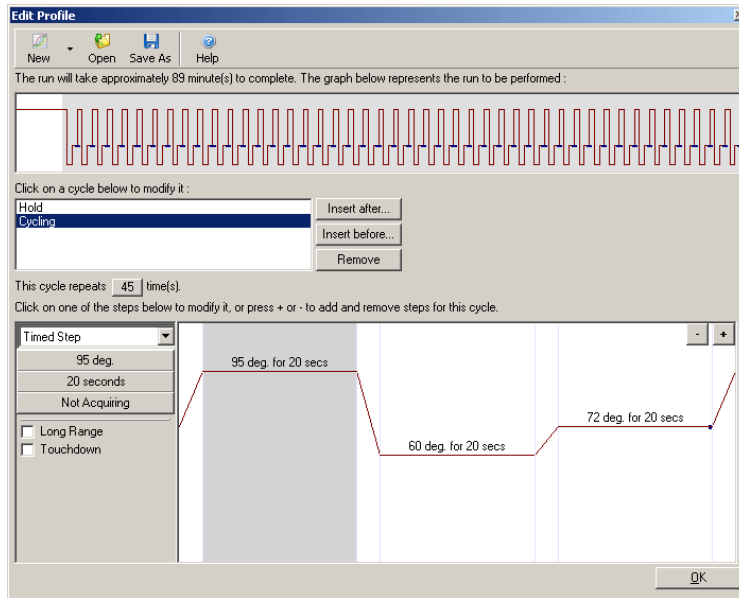
For mer informasjon om Optical Denature Cycling (Sykling med optisk denaturering), se side 58.

Sykling

Cycling (Sykling) gjentar de brukerdefinerte temperatur- og tidstrinnene et spesifisert antall ganger. Antall gjentakelser angis med knappen This cycle repeats X time(s). (Denne syklusen gjentas X gang(er)).

En enkelt syklus vises grafisk (jf. skjermbildet nedenfor). Hvert trinn i syklusen kan endres. Temperaturen kan endres ved å dra temperaturlinjen i grafen opp eller ned. Trinnets varighet kan endres ved å dra temperaturgrensen i grafen mot venstre eller høyre. Alternativt kan du klikke på trinnet og bruke temperatur- og tidsknappene til venstre for grafen.

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



Long Range (Langt område): Når du merker av i denne boksen, økes holdetiden for det valgte trinnet med 1 sekund for hver nye syklus.

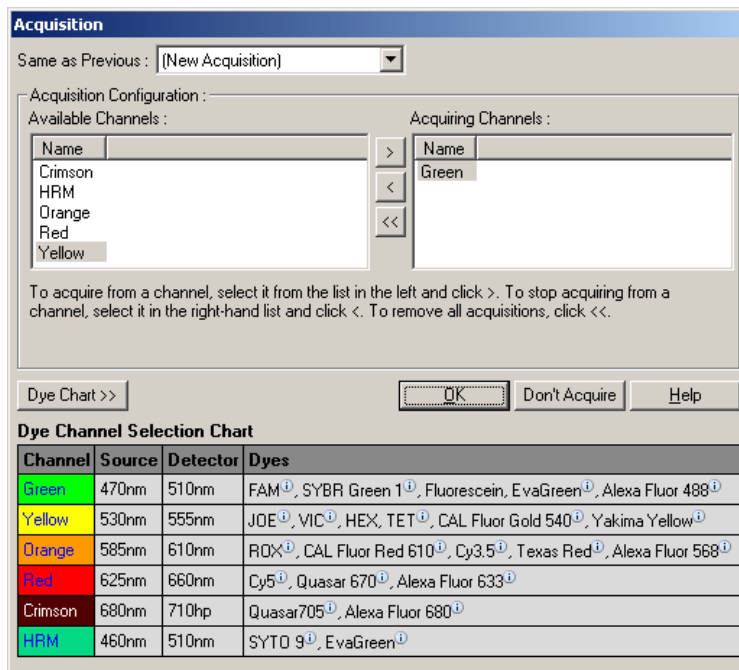
Touchdown (Landing): Når du merker av i denne boksen, reduseres temperaturen med et spesifisert antall grader for et spesifisert antall innledende sykluser. Dette gjenspeiles deretter på skjermen.

Innsamling

Data kan samles inn i alle kanaler i alle syklingstrinn. For å angi at en kanal skal samle inn data, må du klikke på knappen Not Acquiring (Ingen innsamling) (hvis du allerede har angitt at en kanal skal samle inn data i dette trinnet, vises de innsamlende kanalene her).



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



For å angi at en kanal skal samle inn, må du velge kanalen og flytte den fra listen Available Channels (Tilgjengelige kanaler) til listen Acquiring Channels (Innsamlende kanaler) ved hjelp av >-knappen. For å fjerne en valgt kanal fra listen Acquiring Channels (Innsamlende kanaler) bruker du <-knappen. <<-knappen fjerner alle kanalene fra listen Acquiring Channels (Innsamlende kanaler). Hvis du klikker på knappen Don't Acquire (Ikke samle inn), fjerner du alle innsamlinger fra dette trinnet.

Hvis profilen inneholder mer enn én syklingssekvens, kan de innsamlede dataene legges til dataene som er samlet inn fra en tidligere sykling. Bruk rullegardinmenyen Same as Previous (Samme som forrige) for å velge hvilket syklingstrinn dataene skal legges til.

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

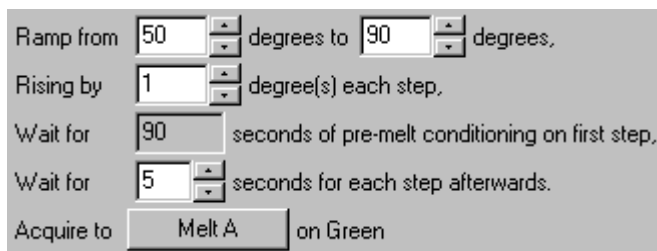
Innsamlingsalternativene beskrevet ovenfor gjelder også for trinnene i Melt (Smelting), bortsett fra at det ikke er mulig å legge til innsamlingsdata ved hjelp av menyen Same as Previous (Samme som forrige).

Smelting og hybridisering

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

For å sette opp en smelting må du angi starttemperatur, sluttemperatur, de trinnvise temperaturøkningene, hvor lenge den første innsamlingstemperaturen skal holdes før stigningen innledes, hvor lenge hver trinnvis økning skal holdes, og innsamlingskanalene.

Det genereres en stigning mellom de 2 temperaturene. Hvis starttemperaturen er høyere enn sluttemperaturen, endres navnet på trinnet til Hybridisation (Hybridisering). Alternativet Acquiring To (Samler inn til), som er satt til Melt A i skjermbildet nedenfor, kan endres ved å klikke på knappen. Vinduet Acquisition (Innsamling) vises, og du kan velge kanalene.



Ramp from 50 degrees to 90 degrees,
Rising by 1 degree(s) each step,
Wait for 90 seconds of pre-melt conditioning on first step,
Wait for 5 seconds for each step afterwards.
Acquire to Melt A on Green

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

High Resolution Melt

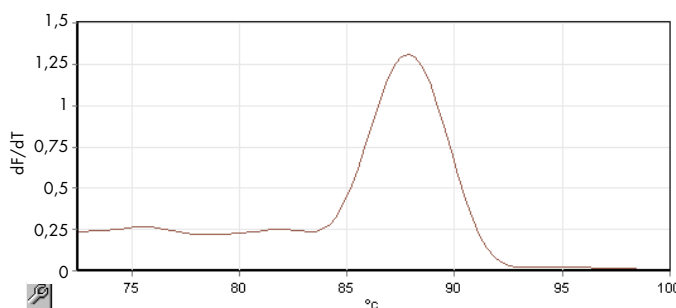
Analysen High Resolution Melt (HRM) karakteriserer dobbeltrådede DNA-prøver basert på hvordan de separeres (smelter). Den ligner på den klassiske smeltekurveanalysen, men gir langt mer informasjon for flere bruksområder. Prøver kan skilles fra hverandre etter sekvens, lengde, GC-innhold eller trådenes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

HRM-analyse kan kun utføres på instrumenter der HRM-maskinvare og -programvare er installert. Data samles inn ved bruk av spesialiserte HRM-kilder og -detektorer. HRM-analyse gjør det også mulig å utføre forsterkningsoptimalisering rett før smeltingen begynner. Etter en HRM kan dataene analyseres med programvare for HRM-analyse (avsnitt 10).

Sykling med optisk denaturering

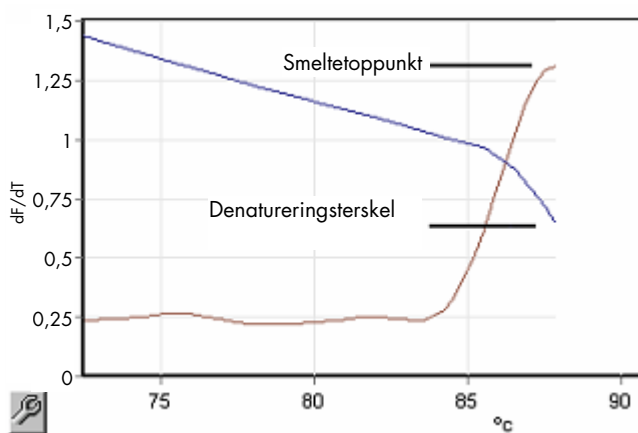
Sykling med optisk denaturering (Optical Denature Cycling) er en spennende teknikk, tilgjengelig på Rotor-Gene Q MDx, som utfører sanntids smelteanalyse for å bestemme smeltetoppunktet for en referanseprøve. Dette gir denaturering av PCR-produkt med høyere presisjon enn når det angis en bestemt denatureringstemperatur for en holdetid. For å utføre denne teknikken plasserer du ganske enkelt et referanserør med PCR-produkt i rørposisjon 1 på rotoren. Referanserøret må også inneholde deteksjonskjemi som muliggjør deteksjon av trådseparasjon.

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



Smeltetoppunktet sammenstilles med rådataene for å utlede en denatureringsterskel. I hvert påfølgende trinn av sykling med optisk denaturering varmes instrumentet opp så raskt som mulig, og data samles inn kontinuerlig. Når referanserøret har nådd fluorescensnivået for denatureringsterskelen, kjøles instrumentet umiddelbart ned og fortsetter med neste programmerte trinn i syklusen. Det beregnes ikke et toppunkt under sykling. I stedet blir fluorescensnivået sammenstilt med smeltetoppunktet, og dette gir denatureringsterskelen.

I følgende graf er de avleste fluorescens-rådataene og den førstederiverte lagt over hverandre. Dette viser sammenhengen mellom denatureringsterskelen og smeltetoppunktet som ble funnet under kalibreringen.



For å utføre sykling med optisk denaturering trenger du:

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

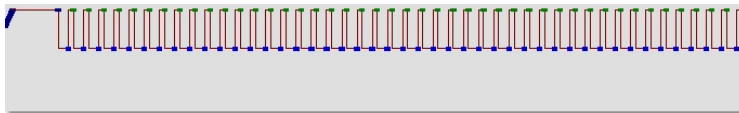
En syklus med optisk denaturering kan synes å være nesten identisk med andre sykluser. De viktigste forskjellene er smeltetrinnet som settes inn automatisk i begynnelsen av profilen, og den skarpe profilen til denatureringstrinnet under sykling. Syklusen med optisk denaturering krever ikke definerte holdetider, ettersom separasjonen av produktet overvåkes i hver syklus.

For å utføre denne teknikken kreves følgende informasjon om kjøringen:


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

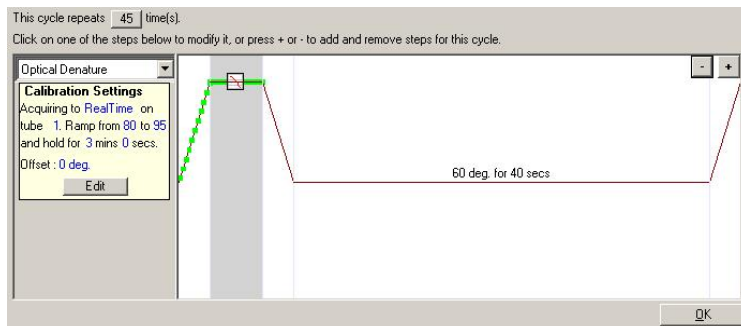
Opprett en ny syklus med optisk denaturering på følgende måte.

1. Åpne vinduet Edit Profile (Rediger profil). Klikk deretter på New (Ny). I vinduet som vises, klikker du på knappen Insert after (Sett inn etter) og velger New Cycling (Ny sykling) fra menyen. Velg ett av temperaturtrinnene ved å klikke på grafen. I rullegardinmenyen endrer du fra Timed Step (Tidsbestemt trinn) til Optical Denature (Optisk denaturering). En standardprofil som inneholder et trinn for denaturering og et trinn for syklus med optisk denaturering, vises.

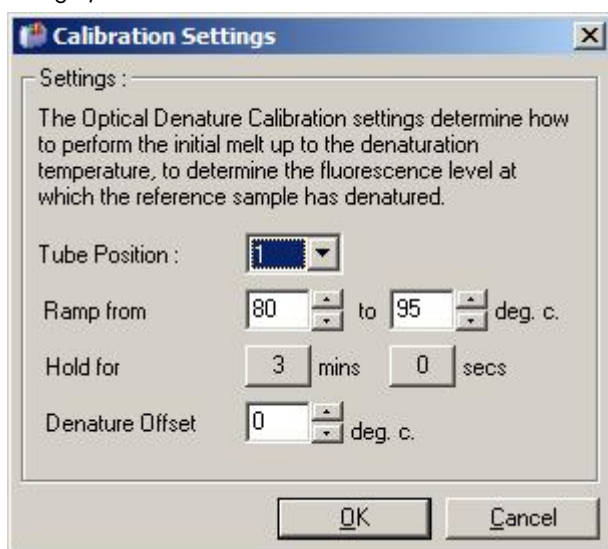


Stigningsområdet i begynnelsen av kjøringen representerer kalibreringsprosessen. De grønne prikkene representerer innsamlingene som tas i hver syklus under oppvarming. De blå prikkene representerer innsamlingen på slutten av hybridiseringstrinnet ved 60 °C. Vær oppmerksom på at selv om profilen viser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

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

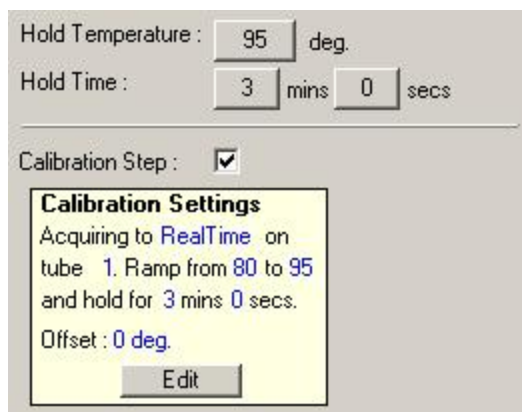


3. Informasjonen under Calibration Settings (Kalibreringsinnstillinger) er vanligvis riktig. De kan om nødvendig endres ved å klikke på Edit (Rediger). Vinduet Calibration Settings (Kalibreringsinnstillinger) vises.



4. Kontroller at:
- Røret som er angitt i Tube Position (Rørposisjon), inneholder et PCR-produkt som vil vise et smeltetoppunkt i den grønne kanalen.
 - Den endelige stigningstemperaturen må ikke føre til at prøven blir brent, men være høy nok til at den smelter.
 - Holdetiden må være tilstrekkelig til å denaturere prøven.
 - Denatureringsforskyvningen må være riktig innstilt. Standardverdien 0°C er egnet for de fleste smeltinger. Smeltinger med svært skarpe overganger kan kreve en denatureringsforskyvning på -0,5 °C til -2 °C, som fastsatt av brukeren, for å sikre at smelteovergangen blir detektert.

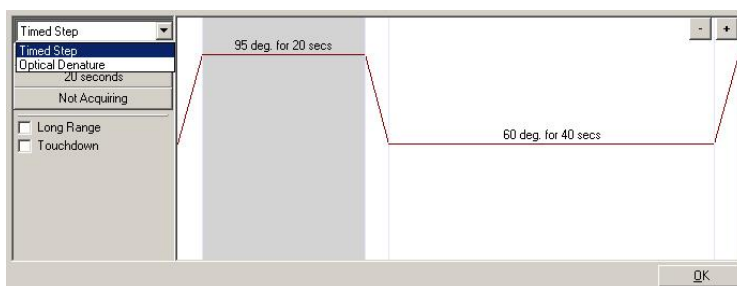
Du kan også definere et denatureringstrinn ved å legge til et nytt holdetrinn. Klikk på **Insert before** (Sett inn før) og velg **New Hold at Temperature** (Ny holding ved temperatur) fra menyen. Kalibreringsinnstillingene vises.




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

Endre et eksisterende trinn til å bruke sykling med optisk denaturering

For å endre et eksisterende denatureringstrinn i en syklingssekvens må du velge syklusen i listen i vinduet **Edit Profile** (Rediger profil). Deretter velger du denatureringstrinnet ved å klikke på det i visningen.



Klikk på rullegardinmenyen og velg **Optical Denature** (Optisk denaturering). Temperaturen og holdetiden fjernes, og ikonet **Optical Denature** (Optisk denaturering)  vises.

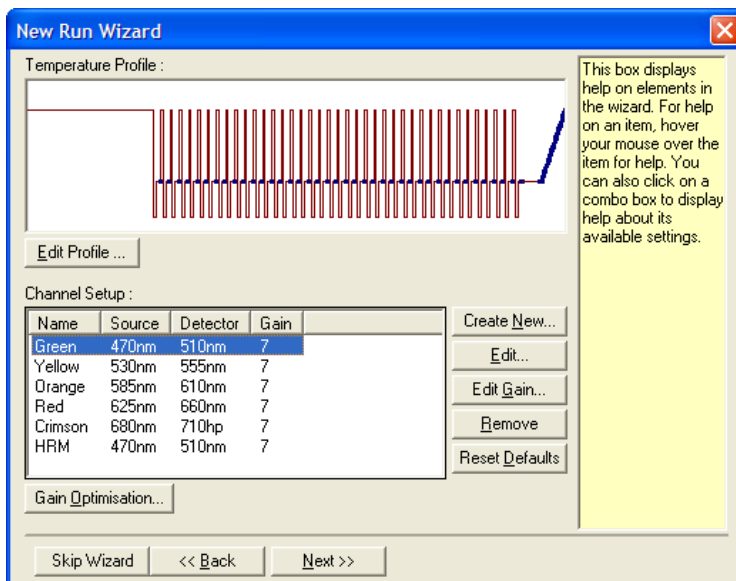
Forsterkningsoptimalisering

Når du setter opp en ny kjøring, kan det være nyttig å bruke funksjonen **Gain Optimisation** (Forsterkningsoptimalisering). Dette gjør det mulig å optimalisere forsterkningen til en innstilling som vil gi ønsket område for start av fluorescens ved en innstilt temperatur (vanligvis temperaturen der datainnsamling skjer) i hver av de innsamlende kanalene. Målet med forsterkningsoptimalisering er å sikre at alle dataene samles inn innenfor detektorens dynamiske område. Hvis forsterkningen er for lav, forsvinner signalet i bakgrunnsstøyen. Hvis den er for høy, forsvinner signalet helt utenfor skalaen (metning).

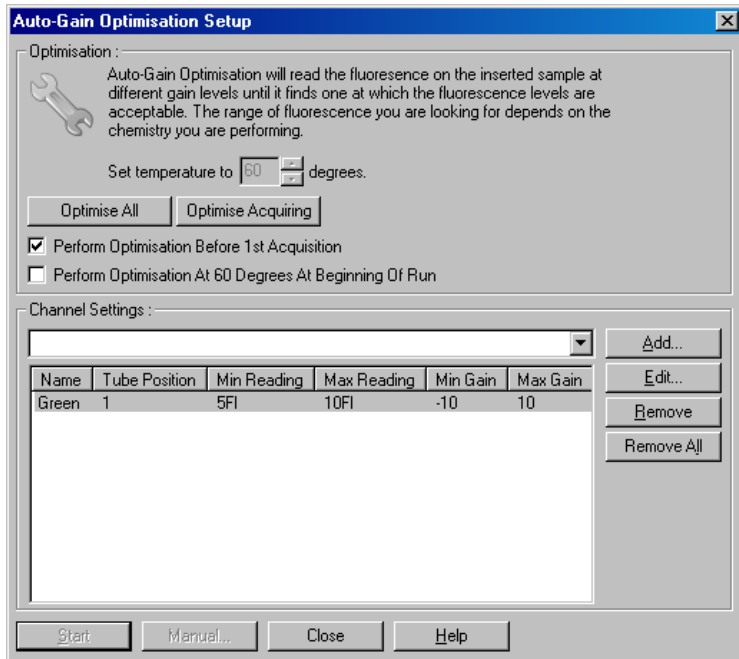
Forsterkningsområdet for hver kanal er -10 til 10, der -10 er minst sensitiv og 10 er mest sensitiv.

Når du kjører reaksjoner for første gang, anbefaler vi at du klargjør en testprøve som inneholder alle reaksjonskomponentene. Sett testprøven i Rotor-Gene Q MDx, og bruk forsterkningsoptimalisering til å bestemme den beste forsterkningsinnstillingen. Hvis forsterkningen som velges av Gain Optimisation (Forsterkningsoptimalisering), fører til et dårlig signal, må du øke Target Sample Range (Målområde for prøve). Hvis den fører til et signal som er mettet, må du redusere Target Sample Range (Målområde for prøve).

For å utføre forsterkningsoptimalisering må du klikke på knappen Gain Optimisation... (Forsterkningsoptimalisering...) i vindu 3 i New Run Wizard (Veiviser for ny kjøring) (se New Run Wizard (Veiviser for ny kjøring), vindu 3).



Vinduet Auto-Gain Optimisation Setup (Oppsett av automatisk forsterkningsoptimalisering) vises. Dette vinduet muliggjør optimalisering ved automatisk å justere forsterkningsinnstillingene inntil avlesningene for alle valgte kanaler faller innenfor eller under en bestemt terskel.



Set temperature to (Still inn temperatur på):

Før avlesning vil Rotor-Gene Q MDx bli oppvarmet eller avkjølt til angitt temperatur. Dette er som standard satt til innsamlingstemperaturen.

Optimise All/Optimise Acquiring (Optimaler alle / optimaliser innsamlende):

Optimise All (Optimaliser alle) vil forsøke å optimalisere alle kanalene som er kjent for programvaren. Optimise Acquiring (Optimaliser innsamlende) vil kun optimalisere kanalene som brukes i den termiske profilen som er definert i kjøringen (sykling og smelting).

Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Utfør optimalisering før første innsamling):

Merk av i denne boksen for å utføre forsterkningsoptimalisering i den første syklusen der det forekommer datainnsamling. Dette anbefales for Auto-Gain Optimisation (Automatisk forsterkningsoptimalisering).

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (Utfør optimalisering ved [x] grader i begynnelsen av kjøring):

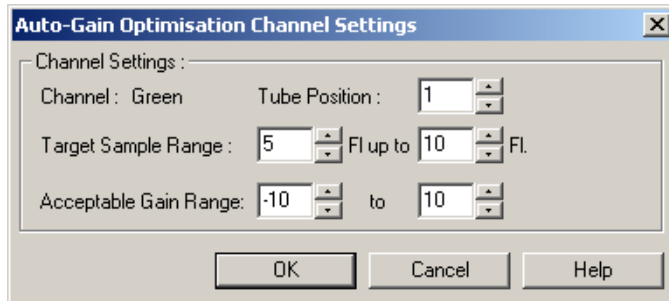
Merk av i denne boksen for å utføre forsterkningsoptimalisering rett før kjøringen starter. Rotor-Gene Q MDx varmes opp til angitt temperatur, forsterkningsoptimalisering utføres, og deretter begynner sykling med det første trinnet, vanligvis et denatureringstrinn. Dette alternativet kan velges hvis en forsterkningsoptimalisering under kjøring gjør at det brukes for mye tid på det innledende trinnet. Vanligvis er Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Utfør optimalisering før første innsamling) å foretrekke, ettersom forsterkningsoptimalisering da utføres så nært opptil kjøreforholdene som mulig.

Channel Settings (Kanalinnstillinger):

Denne rullegardinmenyen gjør det mulig å legge til kanaler. Velg ønsket kanal og klikk på Add (Legg til).

Edit (Rediger):

Åpner et vindu der du kan angi Target Sample Range (Målområde for prøve). Target Sample Range (Målområde for prøve) er området for innledende fluorescens som må stilles inn for prøven i det spesifiserte røret. Auto-Gain Optimisation (Automatisk forsterkningsoptimalisering) leser av hver kanal ved hjelp av forsterkningsinnstillinger i området som er spesifisert av Acceptable Gain Range (Akseptabelt forsterkningsområde). Den velger den første forsterkningsinnstillingen som gir en fluorescensavlesning innenfor Target Sample Range (Målområde for prøve). I det viste eksempelet søker Auto-Gain Optimisation (Automatisk forsterkningsoptimalisering) etter en forsterkningsinnstilling mellom -10 og 10 som gir en avlesning mellom 5 og 10 FI i rør 1. Generelt sett er et Target Sample Range (Målområde for prøve) på 1–3 FI egnet til interkalerende fargestoffer, mens en område på 5–10 FI er mer egnet for probekjemi.



Remove/Remove All (Fjern / fjern alle): Remove (Fjern) fjerner kanalen som er uthevet. Remove All (Fjern alle) fjerner alle kanalene.

Start: Start starter forsterkningsoptimalisering. Det velges en forsterkning som resulterer i fluorescenssignalnivåer innenfor det spesifiserte området. Hvis fluorescens faller utenfor det spesifiserte området, stilles forsterkningen inn slik at den samsvarer mest mulig.

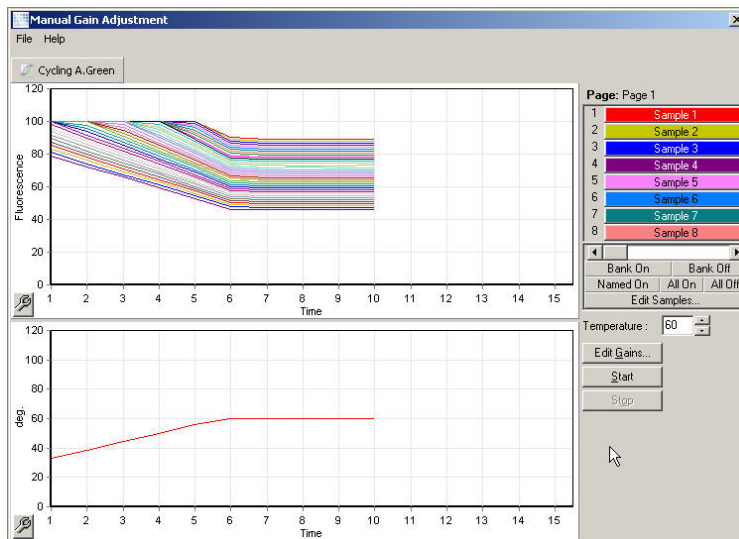
Manual (Manuell): Åpner vinduet Manual Gain Adjustment (Manuell justering av forsterkning).

Changing Gain During a Run (Endre forsterkning under en kjøring): Hvis forsterkningen i begynnelsen av kjøringen var for høy eller lav, kan den endres i løpet av de ti første syklusene. En loddrett strek vises der forsterkningen er blitt endret. Syklusene før endringen utelukkes fra analysen.

Merk: Forsterkningsoptimalisering kan velge en innstilling som ikke faller innenfor det spesifiserte området. Dette kan skyldes endringer i fluorescens etter det første holdetrinnet. Resultatet av forsterkningsoptimaliseringen gir likevel en god indikasjon på fluorescensnivået som kjøringen vil starte på.

Manuell justering av forsterkning

For å utføre Manual Gain Adjustment (Manuell justering av forsterkning) må du klikke på Manual... (Manuell...) i vinduet Auto-Gain Optimisation Setup (Oppsett av automatisk forsterkningsoptimalisering). Vinduet Manual Gain Adjustment (Manuell justering av forsterkning) vises. Dette vinduet viser fluorescensavlesningene for en hvilken som helst gitt temperatur i sanntid. Det brukes når bakgrunnen for en prøve er ukjent, og forsterkning derfor må bestemmes for å sikre at prøvesignalet er tilstrekkelig til deteksjon.



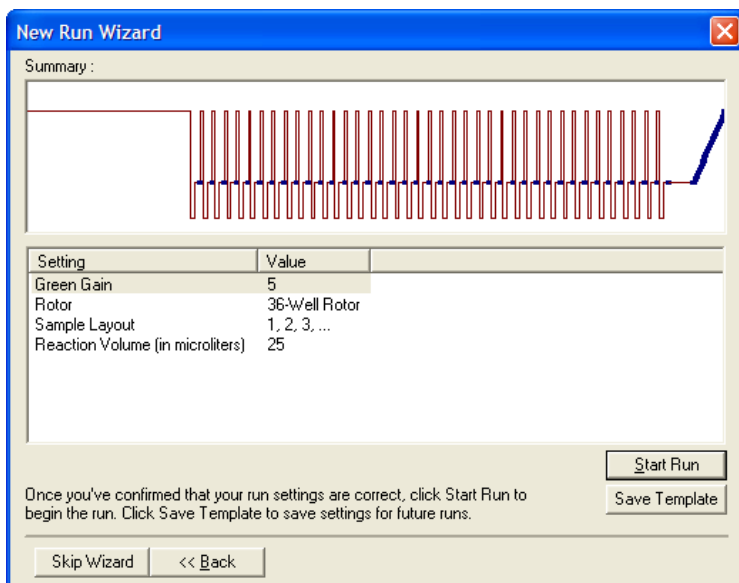
Som standard vises alle prøver i displayet. Prøver kan fjernes fra eller legges til i displayet ved hjelp av velgeren til høyre. Velgeren består av fargede celler, som hver svarer til en prøve i displayet. Prøver med en klart farget celle vises, mens prøver med en nedtonet celle ikke vises. Prøver kan slå av eller på ved å klikke på cellen eller ved å dra musepekeren over flere celler samtidig.

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

1. Juster temperaturen i vinduet Manual Gain Adjustment (Manuell justering av forsterkning) til innsamlingstemperaturen som kreves for kjøringen.
Merk: Temperaturen vil ikke bli justert mens Rotor-Gene Q MDx er i drift. Start Rotor-Gene Q MDx på nytt for å bruke endringer i temperaturen.
2. Klikk på Start. Kjøringen starter. Rotor-Gene Q MDx-temperaturen justeres til temperaturen som er spesifisert i vinduet. Grafene i vinduet begynner å vise data.
3. Vent til temperaturen er stabilisert.
4. Noter avlesningen for fluorescens ved endepunktet (FI).
5. Hvis FI-avlesningen ikke er på det nødvendige nivået, klikker du på Edit Gains... (Rediger forsterkninger...) og redigerer etter behov. Denne prosessen er kanskje ikke umiddelbar, ettersom Rotor-Gene Q MDx bruker ca. 4 sekunder på å samle inn hvert punkt i hver kanal, og i dette tidsrommet er brukergrensesnittet deaktivert.
6. Gjenta prosessen til FI er på ønsket nivå.
7. Klikk på Stop (Stopp). Hvis kjøringen fortsatt samler inn data når du klikker på knappen Stop (Stopp), vil Rotor-Gene Q MDx avslutte innsamlingen først, og deretter stoppe. Denne prosessen kan ta opptil 5 sekunder for hver innsamlende kanal.

Veiviser for ny kjøring, vindu 4

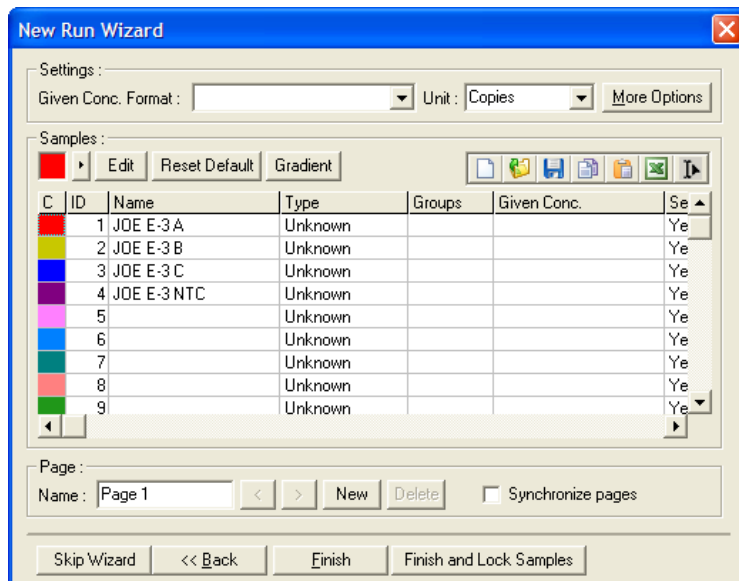
Dette vinduet oppsummerer kjøringen. Kontroller parametrene, og hvis de stemmer, klikker du på Start Run (Start kjøring). Du vil bli bedt om å oppgi filnavn. Du kan også lagre kjøringensinnstillingene som en mal for fremtidige kjøring ved hjelp av knappen Save Template (Lagre mal).



Veiviser for ny kjøring, vindu 5

I dette vinduet kan du legge inn prøvetyper og beskrivelser mens kjøringen pågår. Funksjonaliteten i dette vinduet er identisk med vinduet Edit Samples (Rediger prøver) (side 129). Prøveinformasjon kan også legges inn etter at kjøringen er ferdig.

Knappen Finish and Lock Samples (Avslutt og lås prøver) lukker skjermbildet og hindrer at prøvenavn kan endres. For mer informasjon om denne og andre sikkerhetsfunksjoner, se «Tilgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-programvaren» (side 135).



5.2 Bruk av Rotor-Gene Q MDx-maskinvaren

5.2.1 Rotortyper

Først må du velge hvilken rørtype og rotor som skal brukes. Det er 4 tilgjengelige rotorer som passer til forskjellige rørtyper.

Merk: 36-Well Rotor og 72-Well Rotor leveres med instrumentet. Rotor-Disc®-rotorene er tilbehør.

Viktig: Bruk identiske rør i en kjøring. Ikke bland forskjellige rørtyper eller rør fra forskjellige produsenter, ettersom dette vil påvirke den optiske ensartetheten. Vi anbefaler at du bruker rør fra QIAGEN som er spesielt beregnet for bruk med Rotor-Gene Q MDx (se Bestillingsinformasjon). Med rør fra andre produsenter kan det oppstå autofluorescens, noe som kan påvirke resultatens pålitelighet. I tillegg kan rør fra andre produsenter variere i lengde og tykkelse, noe som kan føre til feiljustering av den optiske banen til Rotor-Gene Q MDx og reaksjonen i røret. QIAGEN forbeholder seg retten til å avstå fra å yte teknisk støtte ved problemer som oppstår fordi Rotor-Gene Q MDx-instrumentet er brukt sammen med plastmaterialer som ikke er sertifisert av QIAGEN.

Viktig: Hvis Rotor-Gene Q MDx brukes sammen med plastmaterialer som ikke er sertifisert av QIAGEN, kan instrumentets garanti bli ugyldig.

FORSIKTIG**Skade på instrumentet**

Inspiser rotoren visuelt for å kontrollere at den ikke er skadet eller deformert, før hver kjøring.

36-Well Rotor

36-Well Rotor er rød. 36-Well Rotor og 36-Well Rotor Locking Ring gjør det mulig å bruke 0,2 ml rør. Rørene må ikke ha optisk klare hetter, ettersom Rotor-Gene Q MDx avleser fluorescens fra bunnen av røret og ikke fra toppen. Rør med avrundet hette kan også brukes.

**72-Well Rotor**

72-Well Rotor er blå. 72-Well Rotor og 72-Well Rotor Locking Ring brukes sammen med Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, som kan brukes til volumer helt ned til 20 µl. Hettene sikrer en trygg og pålitelig forsegling.



Rotor-Disc 72 Rotor

Rotor-Disc 72 Rotor er mørkegrå. Rotor-Disc 72 Rotor og Rotor-Disc 72 Locking Ring gjør det mulig å bruke Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 er en plate med 72 brønner for høy arbeidskapasitet. Rotor-Disc 72 forsegles ved å legge over en transparent polymerfilm og varmeforsegle. Filmen er rask å bruke og gir en sterk, holdbar og manipulasjonssikker forsegling som hindrer kontaminering. For mer informasjon om Rotor-Disc 72, se avsnitt 5.2.3.



Rotor-Disc 100 Rotor

Rotor-Disc 100 Rotor er gullfarget. Rotor-Disc 100 Rotor og Rotor-Disc 100 Locking Ring gjør det mulig å bruke Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 er en plate med 100 brønner for høy arbeidskapasitet. Rotor-Disc 100 er det roterende motstykket til en 96-brønners plate, med 4 ekstra referansebrønner. Den gjør det mulig å integrere Rotor-Gene Q MDx i 96-brønners laboriearbeidsflyter. De ekstra brønnene kan være praktiske til flere prøver, ytterligere kontrollreaksjoner eller retningsbestemte reaksjoner, uten at man må bruke noen av de 96 standardbrønnene. For sømløs kompatibilitet med 96-brønners arbeidsflyter følger Rotor-Disc 100-brønner samme merking som en 96-brønners plate, dvs. A1–A12 til og med H1–H12. De 4 ekstra referansebrønnene er merket R1–R4. For mer informasjon om Rotor-Disc 100, se avsnitt 5.2.3.



Rotorspesifikasjoner

Rotortype	Brønnkapasitet (µl)	Prøveant.	Rørtype	Anbefalt reaksjonsvolum (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

Merk: 36-Well Rotor og 72-Well Rotor for Rotor-Gene Q MDx må ikke brukes på Rotor-Gene 3000-instrumenter på grunn av manglende kompatibilitet knyttet til optisk justering. Du må fortsatt bruke de eldre rotorene med 36 og 72 posisjoner sammen med Rotor-Gene 3000-instrumenter.

5.2.2 Reaksjonsoppsett

Viktig: Det må brukes egnede kontroller i hver kjøring for å sikre pålitelige resultater.

Reaksjoner kan klargjøres ved bruk av Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (for PCR Tubes, 0.2 ml), Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (for Strip Tubes and Caps, 0.1 ml satt opp med énkanalspipette), Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (for Strip Tubes and Caps, 0.1 ml satt opp med flerkanalspipette), Rotor-Disc 72 Loading Block (for Rotor-Disc 72) eller Rotor-Disc 100 Loading Block (for Rotor-Disc 100). Alle blokker er laget av aluminium og kan forhåndskjøles.

Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (avbildet) rommer 18 remserør samt opptil åtte 0,5 ml rør som kan brukes til å klargjøre masterblanding, og opptil seksten 0,2 ml rør som kan brukes til å sette opp standardkurver. Prosedyren nedenfor beskriver reaksjonsoppsett med 72-Well Rotor. Den samme prosedyren kan brukes til reaksjonsoppsett med 36-Well Rotor og egnet tilbehør.

1. Plasser remserørene i lasteblokken, og alikvoter reaksjonskomponentene.

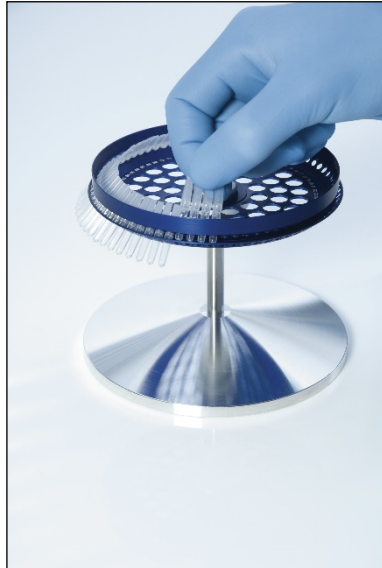


2. Fest hettene godt på remserørene, og inspiser visuelt for å bekrefte at forseglingen er tett.



3. Sett remserørene inn i 72-Well Rotor, og kontroller at hvert rør er satt riktig på plass i riktig retning.

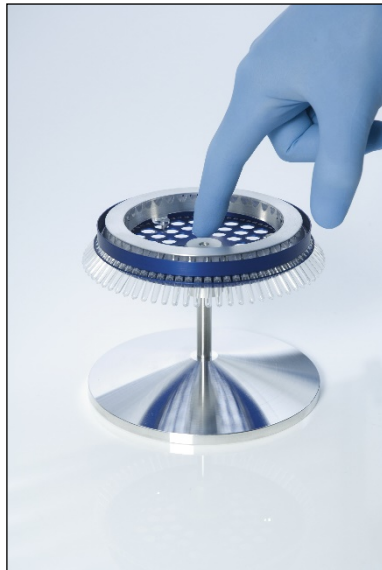
Prøver vil ikke bli plassert optimalt over deteksjonssystemet hvis de ikke er riktig plassert i rotoren. Dette kan føre til en reduksjon i innsamlet fluorescenssignal og deteksjonssensitivitet. En Rotor Holder som gjør det enkelt å sette inn rør, følger med instrumentet.



Viktig: For å oppnå mest mulig jevn temperatur må hver posisjon på rotoren inneholde et rør. Ved å fylle alle posisjoner på rotoren sikres en jevn luftstrøm til hvert rør. Ha et sett med tomme rør med hetter tilgjengelig for å fylle eventuelle ledige posisjoner.

4. Sett 72-Well Rotor Locking Ring på 72-Well Rotor ved å skyve de 3 styrepinnene gjennom hullene på rotoren.

Låseringen sikrer at hettene blir sittende på rørene under kjøringen.



5. Sett enheten inn i Rotor-Gene Q MDx-kammeret ved å klikke den på plass ved hjelp av styrepinnen på rotornavet. Når du skal ta den ut, trykker du bare ned rotornavet for å frigjøre den, og trekker den ut.



6. Lukk lokket, og sett opp kjøringsprofilen ved hjelp av Rotor-Gene Q-programvaren.

5.2.3 Oppsett av Rotor-Disc

Rotor-Disc 72 eller Rotor-Disc 100 har henholdsvis 72 og 100 brønner i én enkelt plate som er beregnet for høy arbeidskapasitet. Rotor-Disc 72 og Rotor-Disc 100 bruker ikke hetter. I stedet legger du over en Rotor-Disc Heat Sealing Film og varmeforsegler med en Rotor-Disc Heat Sealer. Filmen gir en sterk, holdbar og manipulasjonssikker forsegling som hindrer kontaminering. Varmeforsegling av Rotor-Disc utføres som beskrevet nedenfor.

Viktig: Les produktarket som følger med Rotor-Disc Heat Sealer, før du begynner på denne prosedyren.

1. Slå på Rotor-Disc Heat Sealer ved hjelp av bryteren som sitter bak til venstre.
En rød Power (På)-lampe begynner å lyse. Rotor-Disc Heat Sealer bruker ca. 10 minutter på å nå driftstemperatur, og da begynner en grønn Ready (Klar)-lampe å lyse.
2. Velg permanent eller avtakbar forsegling.
Merk: Når Rotor-Disc Heat Sealer er klar, er det trygt å la den være påslått kontinuerlig.
3. Sett Rotor-Disc inn i Rotor-Disc Loading Block ved å bruke posisjon én-tappen på Rotor-Disc og styrehullene på Rotor-Disc Loading Block.

4. Klargjør reaksjoner i Rotor-Disc ved hjelp av manuell pipettering eller ved å bruke et automatisert væskehåndteringssystem.



5. Fjern den midtre delen av ett ark med Rotor-Disc Heat Sealing Film ved å folde filmen forsiktig i to, klemme fast på midten og rive den forsiktig ut.
6. Legg filmen over Rotor-Disc med riktig side opp, som vist med merket «SIDE UP» (Denne siden opp). Kontroller at merket «SIDE UP» (Denne siden opp) er plassert i bunnen av Rotor-Disc Loading Block.

Hullet midt i filmen skal enkelt kunne føres over sylinderen på Rotor-Disc Loading Block og legges oppå Rotor-Disc.



7. Skyv enheten inn i Rotor-Disc Heat Sealer ved hjelp av styreskinnene på siden av Rotor-Disc Loading Block. Kontroller at Rotor-Disc Loading Block er skjøvet helt inn.



8. For å aktivere forseglingsmekanismen må du første trykke ned det blå metalldekselet øverst på varmeforsegleren og deretter skyve den svarte låsehaken bakover.



9. Når forseglingsmekanismen er senket, begynner en oransje Sealing (Forsegler)-lampe å lyse. Hvis Rotor-Disc Loading Block ikke er i riktig posisjon, blir du advart med en pipelyd.
10. Når forseglingen er ferdig, hører du et kontinuerlig lydsignal, og den oransje Sealing (Forsegler)-lampen begynner å blinke. Trykk ned det blå metalldekselet for å frigjøre forseglingsmekanismen og sette den tilbake i utgangsposisjon.
Viktig: Ikke la forseglingen vare lenger enn det lydsignalet angir, ellers kan Rotor-Disc bli deformert.

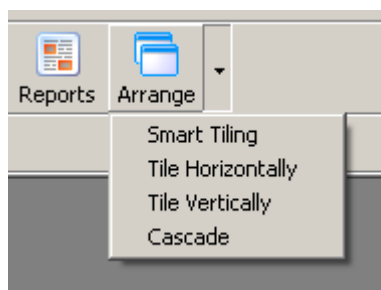
Merk: Hvis du glemmer å frigjøre låsemekanismen, blir du advart ved at den blinkende Sealing (Forsegler)-lampen begynner å lyse permanent, og lydsignalet endres fra et kontinuerlig lydsignal til en pipelyd.

11. Skyv Rotor-Disc Loading Block ut av Rotor-Disc Heat Sealer. La filmen avkjøles i ca. 10 sekunder. Fjern overflødig forseglingsfilm ved å skyve den nedover til den løsner. Ikke dra overflødig film oppover.
12. Fjern Rotor-Disc fra Rotor-Disc Loading Block.
13. Last Rotor-Disc inn i rotoren, og bruk posisjon én-tappen som veiledning for å plassere den riktig.

6 Brukergrensesnitt for analyse

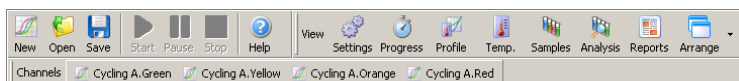
6.1 Arbeidsområde

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



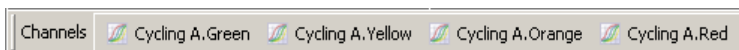
6.2 Verktøylinje

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



6.3 Vise råkanaler

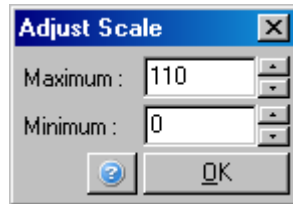
Klikk på disse knappene for å vise rådataene (ikke-analyserte data) fra bestemte kanaler i kjøringen.



Når du viser disse dataene, har du flere alternativer for å endre datavisningen. Rådataene kan også transformeres for å tilrettelegge for forskjellige analysetyper.

Adjust Scale (Juster skala):

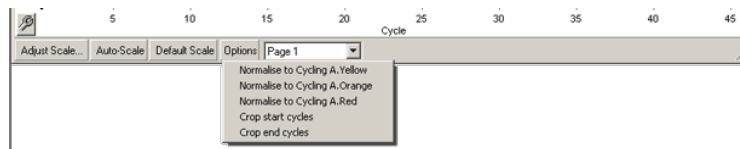
For å velge Adjust Scale (Juster skala) må du klikke med høyre museknapp over det aktuelle vinduet. Adjust Scale (Juster skala) åpner et vindu der du kan spesifisere en skala.



Autoscale (Automatisk skalering): Autoscale (Automatisk skalering) forsøker å tilpasse skalaen til dataenes maksimums- og minimumsavlesninger.

Default Scale (Standard skala): Default Scale (Standard skala) tilbakestiller skalaen slik at den viser fra 0 til 100 fluorescensenheter.

Skifteneikkelikon: Se avsnitt 7.5 for mer informasjon.



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

Normalise to... (Normaliser til...): Gjør det mulig å normalisere amplifikasjonsdata til data fra et passivt referansefargestoff, f.eks. ROX, som er samlet inn i en annen kanal.

Crop start cycles (Avkort startsykluser): Oppretter et nytt kanaldatasett der noen startsykluser er blitt fjernet. Dette er nyttig hvis det observeres store hopp i de innledende syklusene, noe som kan skje ved bruk av visse kjemier.

Crop end cycles (Avkort sluttsykluser): Oppretter et nytt kanaldatasett der noen sluttsykluser er blitt fjernet.

Page 1 (Side 1): Angir siden som er valgt for å vise diagrammene med rådata. I vinduet Edit Sample (Rediger prøve) kan du opprette flere prøvedefinisjoner. Data kan for eksempel vises med varierende strektykkelse, prøvedefinisjoner og andre visningsalternativer. Dette er spesielt nyttig hvis relativ kvantifisering utføres i én kanal, ettersom brukeren da lett kan bytte visning mellom interessegenet og husholdningsprøver ved å definere 2 prøvesider.

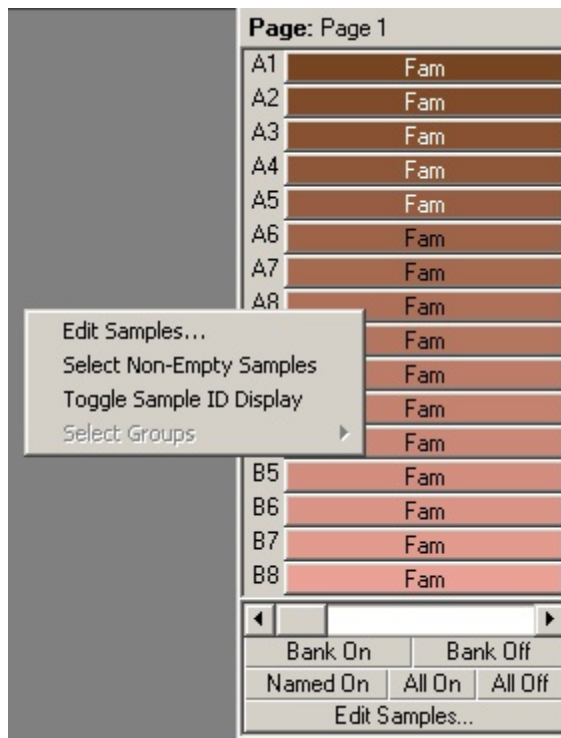
6.4 Velge mellom prøver

Høyre side av hovedvinduet har en velger, som inneholder en prøveoversikt. Den består av fargede celler, som hver svarer til en prøve i displayet. Velgeren brukes til å bestemme hvilke prøver som kan ses i displayet. Prøver med en klart farget celle vises, mens prøver med en nedtonet celle ikke vises. Prøver kan slås av eller på ved å klikke på cellen eller ved å dra musepekeren over flere celler samtidig. Knappene Bank On (Skjul på) og Bank Off (Skjul av) brukes til henholdsvis å skjule eller vise alle prøvene som for øyeblikket vises i listen. Rullefeltet kan brukes til å vise neste gruppe med prøver.

Merk: Antallet prøver som vises, er dynamisk og avhenger av hvor mye plass som er tilgjengelig i vinduet.

Når du klikker på Named On (Navngitt på), vises kun de prøvene som har fått tildelt et navn. Dette er en rask metode for å vise kun relevante prøver. Når du klikker på All On (Alle på) eller All Off (Alle av), vises henholdsvis alle eller ingen av prøvene i rotoren. Når du trykker på knappen Edit Samples... (Rediger prøver...), åpnes vinduet Edit Samples (Rediger prøver) der du kan redigere prøvenavn, typer og standardkonsentrasjoner (se avsnitt 6.8.4).

Velgeren vises nedenfor. De andre alternativene på bildet vises når du høyreklikker med musen over velgeren.



Page (Side):

Denne etiketten øverst i velgeren angir hvilken prøveside som vises. Sidefunksjonen gjør det mulig å opprette forskjellige uavhengige analyser fra ett kanaldatasett. Du kan for eksempel kjøre to standardkurver i den grønne kanalen og generere uavhengige rapporter. Du finner mer informasjon om hvordan du setter opp prøvesider, i avsnitt 6.8.4.

Toggle Sample ID Display (Bytt visning av prøve-ID):

Hvis det brukes en 72-Well Rotor, vises prøver i formatet A1 til A8, B1 til B8 osv. Med alternativet Toggle Sample ID Display (Bytt visning av prøve-ID) kan brukeren bytte til en numerisk prøverekkefølge (1 til 72).

Select Non-Empty Samples (Velg prøver som ikke er tomme):

Dette alternativet opphever valget av alle prøver der Type er spesifisert som None (Ingen) i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Dette sikrer at det kun vises prøver som er relevante for analysen.

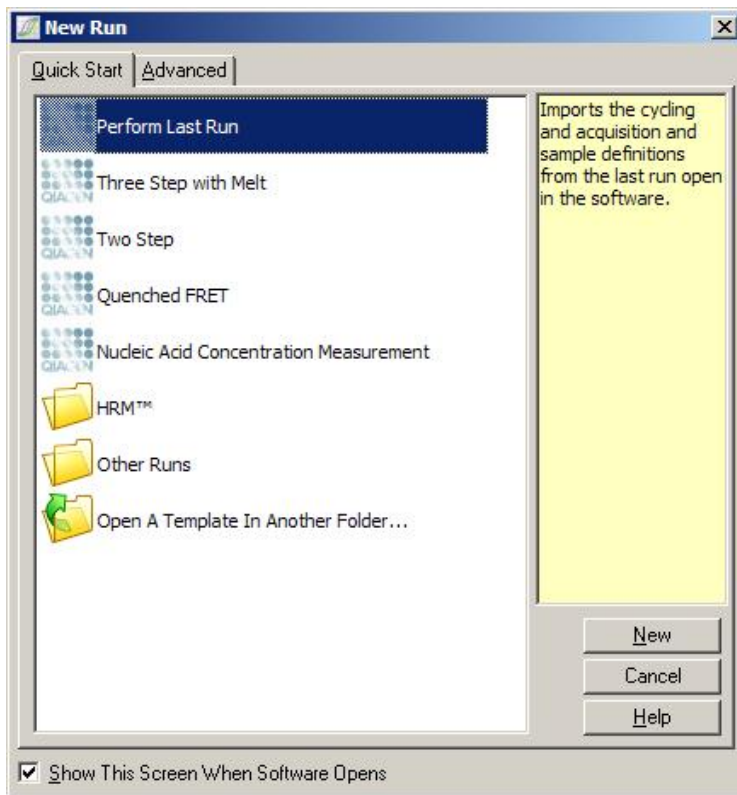
Select Groups (Velg grupper):

Hvis du har definert grupper, kan du bruke denne funksjonen til å bytte (slå på/av) visning av prøvene i gruppen. Grupper er vilkårlige samlinger av prøver som muliggjør avansert rapportering av statistiske resultater. Du kan for eksempel definere grupper med prøver fra behandlede og ubehandlede pasienter. Grupper kan opprettes i vinduet Edit Samples (Rediger prøver).

6.5 Filmenyen

6.5.1 Ny

Når du har valgt File (Fil) og deretter New (Ny), vises vinduet New Run (Ny kjøring). Dette vinduet inneholder ofte brukte maler organisert under fanene Quick Start (Hurtigstart) og Advanced (Avansert). Når du har valgt mal, tar veiviseren deg gjennom oppsettet av kjøringen der du kan endre innstillinger og profiler.



For mer informasjon om malene, se avsnitt 5.1.1 og avsnitt 5.1.2.

Ny kjøring

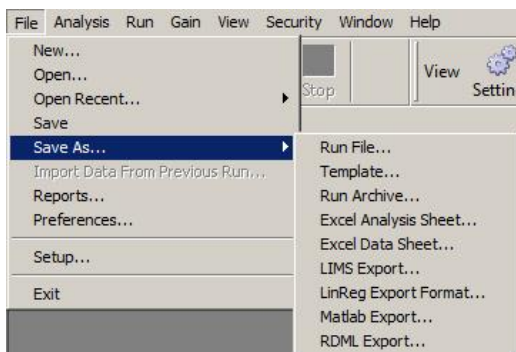
New (Ny):	Starter oppsettet av kjøringen med den valgte malen.
Cancel (Avbryt):	Lukker dette vinduet.
Help (Hjelp):	Åpner den elektroniske hjelpen.
Show This Screen When Software Opens (Vis dette skjermbildet når programvaren åpnes):	Hvis du merker av i denne boksen, vises vinduet New Run (Ny kjøring) når programvaren starter.

6.5.2 Åpne og lagre

Open... (Åpne...): Åpner en tidligere lagret Rotor-Gene Q-kjøringsfil (*.rex) eller et Rotor-Gene Q-kjøringsarkiv (*.rea-fil).

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

Save (Lagre): Lagrer eventuelle endringer som er blitt gjort i en kjøningsfil.



Save As... (Lagre som...): Bruk denne funksjonen for å lagre kjøningsfilen eller -dataene i forskjellige formater. Alternativene er oppført nedenfor.

Run File... (Kjøningsfil...): Lagrer en kopi av filen. Brukeren kan endre navnet og lagringsplassen. Dette er standardformatet.

Template... (Mal...): Lagrer profiloppsettet og tilhørende innstillinger, men ikke kjøningsdataene. Malen kan brukes til å starte fremtidige kjøninger.

Run Archive... (Kjøringsarkiv...): Lagrer filen i et mer kompakt filformat. Lagre filer i dette formatet før de sendes med e-post. Dette reduserer sendetiden og sikrer at filer ikke skades av e-postklienter.

LIMS Export (LIMS-eksport): Lagrer analysen i LIMS-kompatible formater i henhold til brukerens behov. Du får mer informasjon ved å kontakte QIAGENs tekniske serviceavdeling.

Excel Data Sheet... (Excel-dataark...): Eksporterer alle råkanalene til et Excel®-ark. Kun valgte prøver eksporteres.

Excel Analysis Sheet... (Excel-analyseark...): Eksporterer alle analysene i gjeldende kjøring til et enkelt Excel-ark.

LinReg Export Format... (LinReg-eksportformat...): Eksporterer alle råkanaldataene i et format som kan leses av LinReg (et verktøy for effektivitetsanalyse). Se Eksportere til LinReg nedenfor for mer informasjon.

Matlab Export... (Matlab-eksport...): Eksporterer dataene i et format som kan leses av den vitenskapelige programvarepakken Matlab (eller Octave, en tilsvarende pakke med åpen kildekode). Dette kan være nyttig for metodeforskning.

RDML Export (RDML-eksport): Lager en fileksport som er kompatibel med RDML v1.1. RDML-eksportfilen som opprettes, er en XML-fil i komprimert ZIP-format med filendelsen *.rdml, som er kompatibel med RDML-skjemadokumentet (https://rdml.org/rdml_v_1_1.html) som finnes på nettstedet: https://rdml.org/rdml_v_1_1.html.

Eksportere til LinReg

LinReg er et verktøy som er utviklet av C. Ramakers og kollegaer. * LinReg-verktøyet er tilgjengelig på: <https://medischebiologie.nl/files/>.

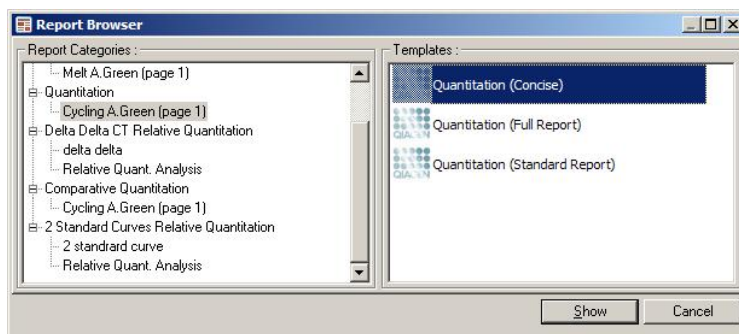
Med Rotor-Gene Q-programvaren kan brukeren eksportere rådata i et format som siden kan importeres av LinReg-verktøyet for analyse.

1. Åpne Rotor-Gene Q-kjøringsfilen som inneholder rådataene.
2. Eksporter dataene i LinReg-eksportformat ved å velge Save As... (Lagre som...) og deretter LinReg Export Format... (LinReg-eksportformat...).
3. Microsoft Excel viser automatisk de eksporterte rådataene.
4. Start LinReg-verktøyet.

Verktøyet ber deg om å velge celleområdet som inneholder rådataene. Verktøyet kan kun analysere én rådatakanal om gangen, så du må velge et hensiktsmessig område i Excel-arket.

6.5.3 Rapporter

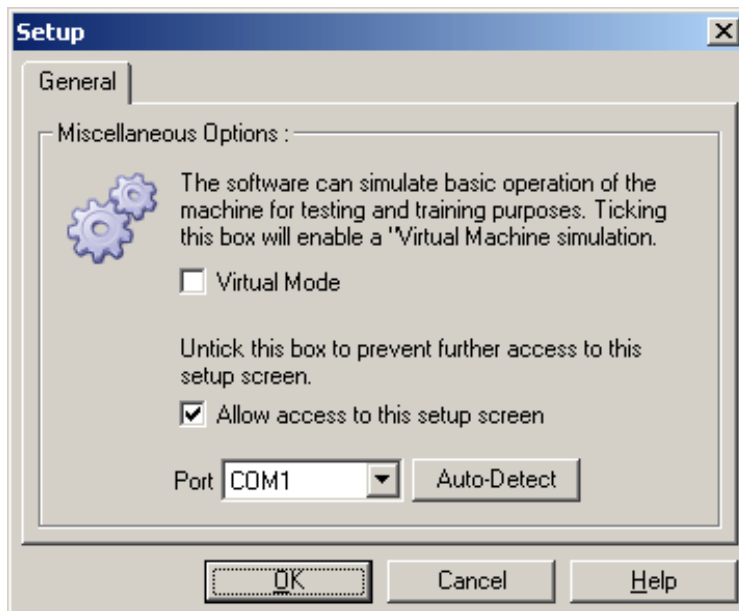
Etter at du har valgt Reports (Rapporter), vises vinduet Report Browser (Rapportleser). Hvis dataene allerede er blitt analysert, kan rapporten for denne analysen vises fra vinduet Report Browser (Rapportleser). Det finnes flere typer rapporter med ulik detaljgrad.



* 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 Oppsett

Det innledende oppsettet av Rotor-Gene Q MDx skal fullføres under installasjonen. Med dette alternativet kan du imidlertid endre tilkoblingsoppsettet for Rotor-Gene Q MDx hvis du trenger å gjøre det etter installasjonen.



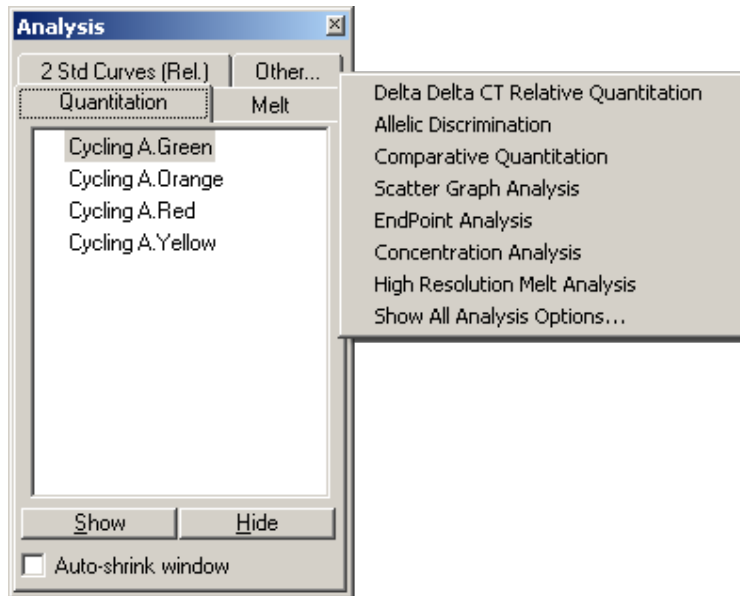
Virtual Mode (Virtuell modus):	Velg dette alternativet hvis programvaren skal brukes uten å være tilkoblet et Rotor-Gene Q MDx-instrument. Programvaren beholder alle funksjonene. Denne modusen er nyttig for demonstrasjonsformål, dataanalyse og oppsett av maler.
Allow access to this setup screen (Tillat tilgang til dette oppsettskjernbildet):	Hvis du ikke merker av for dette alternativet under oppsett, mister du tilgangen til dette vinduet. Dette sikkerhetstiltaket forhindrer at brukere endrer innstillinger. For å gjenopprette tilgangen må du ta kontakt med distributøren.
Port:	Velg riktig kommunikasjonsport for å opprette kommunikasjon mellom datamaskinen og Rotor-Gene Q MDx.
Auto-Detect (Automatisk gjenkjenning):	Hvis du er usikker på hvilken port du skal velge, klikker du på Auto-Detect (Automatisk gjenkjenning) for å søke etter alle tilgjengelige porter.

6.6 Analysemenyen

6.6.1 Analyse

Etter at du har klikket på Analysis (Analyse), vises vinduet Analysis (Analyse). I dette vinduet kan du opprette nye analyser og vise eksisterende analyser. Analysemetoden velges ved hjelp av fanene. En liste over kanalene som kan analyseres med den valgte metoden, vises. Flere analyser som kjøres i samme kanal, kan analyseres uavhengig av hverandre, forutsatt at de er satt opp som separate sider i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Sider som allerede er blitt analysert, har en grønn

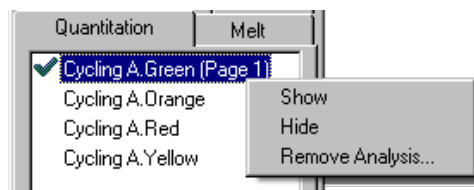
hake ved siden av seg. Dette betyr at innstillinger for terskel og normalisering er blitt lagret for denne analysen. For å vise eller analysere en kanal må du dobbeltklikke på den. Vinduet for den spesifikke analysen vises.



Auto-shrink window (Minimer vindu automatisk): Når du velger Auto-shrink window (Minimer vindu automatisk), minimeres vinduet når det ikke er i bruk. Når du flytter markøren over vinduet, forstørres det igjen.

Organisere arbeidsområdet

Hver gang en ny analyse startes, ordnes vinduene slik at de passer inn med dem som allerede finnes på skjermen. Hvis det vises mange vinduer, kan det bli trangt. Lukk vinduene du ikke trenger, og klikk på Arrange (Ordne) på verktøylinjen. Vinduene organiseres automatisk etter metoden Smart Tiling (Smart vindustilpasning). Alternativt kan du velge en annen metode ved å klikke på pilen ved siden av knappen Arrange (Ordne). Hvis du høyreklikker med musen på et analysenavn, får du også flere alternativer.



Show (Vis): Viser den valgte analysen.

Hide (Skjul): Skjuler den valgte analysen.

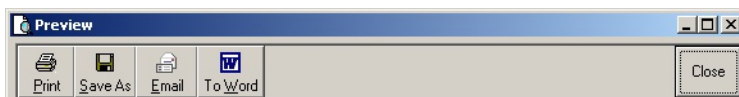
Remove Analysis... (Fjern analyse...): Fjerner den valgte analysen helt. Dette innebærer at alle normaliseringsinnstillinger eller bin-områder for smelting som er satt opp i analysen, fjernes.

6.6.2 Kvantifisering

Velg fanen Quantitation (Kvantifisering) i vinduet Analysis (Analyse) og dobbeltklikk på kanalnavnet, eller velg kanalen og trykk på knappen Show (Vis) for å åpne ønsket kanal. Tre vinduer vises: hovedskjermbildet, standardkurven og resultatene.

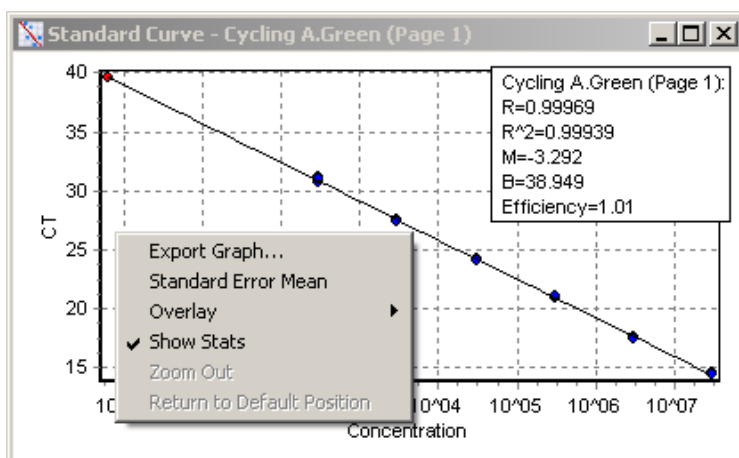
Rapporter

Reports (Rapporter): Reports (Rapporter) åpner vinduet Report Browser (Rapportleser) der du kan generere en rapport for den aktuelle analysen. Det er 3 alternativer: standardrapport, fullstendig rapport og kortfattet rapport. Dobbeltklikk på ønsket alternativ for å åpne rapporten i vinduet Preview (Forhåndsvisning). Etter at rapporten er blitt generert, kan du bruke knappene øverst i vinduet Preview (Forhåndsvisning) til å skrive ut, lagre eller sende rapporten med e-post, eller eksportere den til Word



Standardkurve

Std. Curve (Standardkurve): Denne knappen åpner vinduet Standard Curve (Standardkurve). Dette vinduet åpnes som standard når du åpner en analyse. Hvis du lukker vinduet, kan du åpne det igjen med denne knappen.

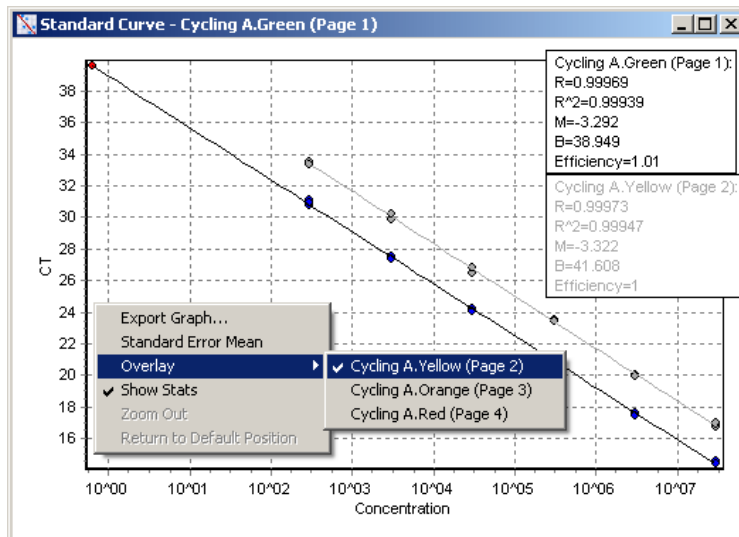


Verdiene i standardkurven omberegnes dynamisk i takt med at terskelnivået endres når du klikker og drar terskellinjen i hovedvinduet.

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

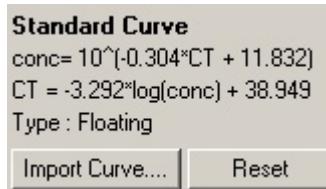
Merk: Hvis du omdefinere standarder for å omberegne standardkurven, kan du slå av standardkurvens synlighet med velgeren til høyre i skjermbildet for å fjerne den fra beregningen av standardkurven. Å fjerne standarder fra grafen for å øke R²-verdien, er ikke vitenskapelig gyldig. En underkjent standard er en indikasjon på at prøvene også kan være underkjent, og bør derfor inkluderes i resultatene.

Efficiency (Effektivitet):	<p>Dette er kjøringens reaksjonseffektivitet. Denne verdien beskrives mer i detalj på side 94.</p>
R ² -verdi (korrelasjonskoeffisient):	<p>R²-verdien, eller R2-verdien, er den prosentandelen av dataene som er konsistente med hypotesen om at standardene danner en standardkurve. Hvis R2-verdien er lav, er det vanskelig å plassere standardene på en best tilpasset linje. Det betyr at resultatene (dvs. de beregnede konsentrasjonene) kanskje ikke er pålitelige. En god R2-verdi ligger på rundt 0,999.</p> <p>Merk: Det er mulig å oppnå en høy R²-verdi med en dårlig standardkurve hvis det er kjørt et utilstrekkelig antall standarder. R²-verdien blir bedre etter hvert som antallet standarder synker. For en mer nøyaktig indikasjon på resultatenes pålitelighet kan du bruke konfidensintervallene for de beregnede konsentrasjonene som en veiledning.</p>
R-verdi (kvadratroten av korrelasjonskoeffisient):	<p>R-verdien er kvadratroten av R²-verdien. Generelt sett er R²-verdien mer nyttig når det gjelder å bestemme korrelasjon.</p>
M og B:	<p>Stigningstallet (M) og skjæringspunktet (B) for standardkurven beregnes automatisk ved hjelp av formelen $y = Mx + B$, og vises i vinduet Standard Curve (Standardkurve).</p>
Export Graph... (Eksporter graf...):	<p>Hvis du klikker med høyre museknapp over standardkurven, vises alternativet for å eksportere grafen (se avsnitt 7.4).</p>
Overlay (Overlegg):	<p>Når flere kvantifiseringskjøringer er utført i samme kjøring, er det mulig å legge standardkurvene over hverandre i samme vindu. Dette er nyttig for å kunne vise forskjellen mellom ulike terskler grafisk. Denne funksjonen vises i skjermbildet nedenfor.</p>



Beregning av standardkurve

« $\text{conc} = \dots * \text{CT} + \dots$ » og « $\text{CT} = \dots$ » er 2 versjoner av ligningen som brukes for å relatere CT-verdier og konsentrasjoner. I publikasjoner bruker man som oftest formelen « $\text{CT} = \dots$ ». Standardkurven kan være enten Floating (Flytende) eller Fixed (Fast). Hvis den er Floating (Flytende), beregnes en optimal ligning for standardkurven hver gang terskelen flyttes i hovedvinduet. Hvis den er Fixed (Fast), endres ikke ligningen ettersom den er blitt importert fra en annen kjøring.



Importer kurve

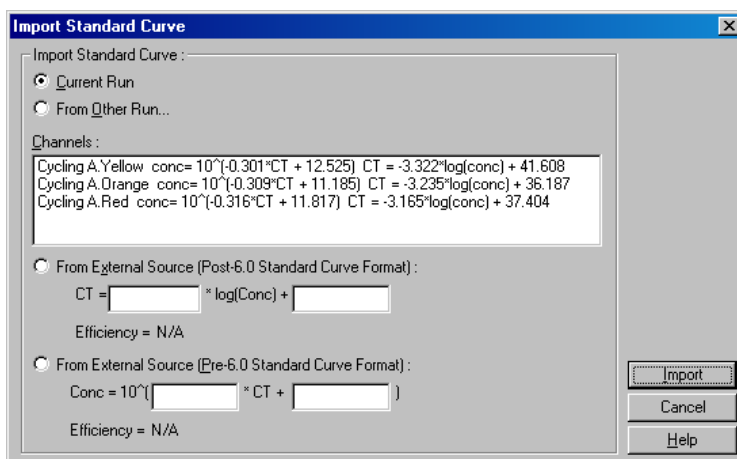
Ved å importere en standardkurve er det mulig å estimere konsentrasjoner når en standardkurve ikke er tilgjengelig i en bestemt kjøring og reaksjonseffektiviteten ikke har variert mellom 2 kjøringer. Kurver kan importeres fra en annen kanal eller fra en annen kjøring ved å klikke på Import Curve (Importer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

Det er mulig å justere standardkurven ved behov. Justering av standardkurven betyr at kun effektiviteten til kildestandardkurven importeres til den aktuelle kjøringen. Om standardkurven bør justeres eller ikke, avhenger av kjemien som brukes.

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

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

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



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

Current Run (Gjeldende kjøring):	Når dette alternativet er valgt, vises kvantifiseringsanalyser på andre kanaler fra denne kjøringen sammen med de tilhørende standardkurvene.
From Other Run... (Fra annen kjøring...):	Når du velger dette alternativet, vises det en dialogboks der du kan velge en kjøningsfil for å åpne den. Hvis det er utført kvantifiseringsanalyse for kjøringen, vises standardkurver for hver kanal som er analysert. Merk: Innstillingene for kvantifiseringsanalyse må være lagret i kjøningsfilen.
Channels (Kanaler):	Viser en liste med de analyserte kanalene og standardkurve-formlene deres.
From External Source (Fra ekstern kilde):	I dette området kan M- og B-verdier legges inn direkte. Dette kan være nyttig når verdiene kommer fra en ekstern kilde, f.eks. et Excel-regneark.

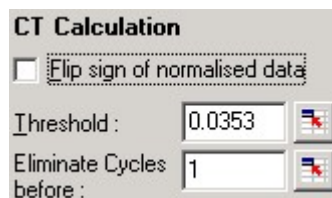
C_T-beregning

Invert Raw Data (Inverter rådata):	Noen kjemier produserer et fluoresceringssignal som faller eksponentielt i stedet for å stige. Det er mulig å analysere disse dataene ved hjelp av Quantitation (Kvantifisering), men da må avmerkingsboksen Invert Raw Data (Inverter rådata) være merket av. For alle andre kvantifiseringsanalyser bør ikke dette alternativet være merket av.
------------------------------------	---



C _T Calculations (C _T -beregninger):	C _T -verdien er syklusnummeret på det punktet der amplifikasjonskurven krysser en deteksjonsterskel. Ved å angi en terskellinje og beregne skjæringspunktet for hver kurve fastsettes C _T -verdien for hver prøve.
--	--

Threshold (Terskel):	For å angi terskelen må du klikke på ikonet (et rutenett med en rød pil) og deretter klikke og holde på grafen og dra linjen til ønsket nivå. Du kan også legge inn en log-verdi. Alternativt kan du bruke Auto-Find Threshold (Finn terskel automatisk) for å bestemme terskelen automatisk. Når du angir en terskel manuelt, bør den angis i den eksponentielle fasen av kjøringen, betydelig over bakgrunnsnivået for å unngå støy, og under starten på signalplatået i senere sykluser.
----------------------	---



Eliminate Cycles before (Fjern sykluser før):	Angis ved å klikke på ikonet (et rutenett med en rød pil) og deretter klikke og holde på grafen og dra linjen til høyre. Dette fjerner terskelen for lave syklusnumre.
---	--

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

Auto-Find Threshold (Finn terskel automatisk):

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

For de fleste analyser er øvre og nedre standardgrenser egnet for bruk. Området med terskelnivåer skannes for å finne standardkurvens beste tilpasning basert på de prøvene som er definert som standarder (dvs. der R-verdien er nærmest 1,0).



Resultater

Åpner vinduet Quantitation Results (Kvantifiseringsresultater). Dette vinduet åpnes som standard når du åpner en analyse. Hvis du lukker vinduet, kan du åpne det igjen med denne kommandoen.

Analysis	No.	Color	Name	Type	C _T	C _T Comment	Given Conc.	Calc. Conc. (C _T)	% 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	10a9	Standard	3.73		1.00E+08	7.17E+07	28.1%	3.73		0.00 (3.73, 3.74)	7.17E+07	(1.17E+07, 4.29E+08)
Cycling A.Green (Page 1)	2	Red	10a9	Standard	3.74		1.00E+08	7.17E+07	28.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	3	Red	10a9	Standard	3.74		1.00E+08	7.16E+07	28.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	Red	10a7	Standard	6.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.06		0.06 (5.91, 6.21)	1.49E+07	(3.29E+06, 6.73E+07)
Cycling A.Green (Page 1)	5	Red	10a7	Standard	6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	Red	10a7	Standard	5.99		1.00E+07	1.56E+07	56.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	Green	10a6	Standard	10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.38		0.09 (10.15, 10.60)	8.00E+05	(2.62E+05, 2.44E+06)
Cycling A.Green (Page 1)	8	Green	10a6	Standard	10.27		1.00E+06	8.98E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	Green	10a6	Standard	10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	Green	10a5	Standard	13.49		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65		0.13 (13.31, 13.98)	8.74E+04	(2.96E+04, 2.59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	Green	10a5	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	Green	10a5	Standard	13.89		1.00E+05	8.48E+04	19.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	Blue	10a4	Standard	15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46		0.25 (14.84, 16.08)	2.59E+04	(7.82E+03, 8.39E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	Blue	10a4	Standard	15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	Blue	10a4	Standard	15.16		1.00E+04	3.09E+04	209.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	Blue	10a3	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	52.9%	21.09		0.24 (20.49, 21.69)	5.65E+02	(9.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	Blue	10a3	Standard	20.89		1.00E+03	6.47E+02	36.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	Blue	10a3	Standard	21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	Black	10a2	Standard		NEG (Multi C)	1.00E+02							
Cycling A.Green (Page 1)	20	Black	10a2	Standard	23.98		1.00E+02	7.99E+01	20.1%					
Cycling A.Green (Page 1)	21	Black	10a2	Standard		NEG (Multi C)	1.00E+02							
Cycling A.Green (Page 1)	22	NTC	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	23	NTC	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	24	NTC	NTC	NEG (NTC)										

I vinduet Quantitation Results (Kvantifiseringsresultater) er resultatene fra kjøringen oppsummert i en tabell. Hvis du høyreklikker med musen og velger Export to Excel (Eksporter til Excel), eksporteres tabellen til Excel. Excel åpnes automatisk. Hvis du vil kopiere dataene inn i et eksisterende regneark, velger du i stedet alternativet Copy (Kopier), åpner regnearket og velger deretter Paste (Lim inn).

Vinduet Quantitation Results (Kvantifiseringsresultater) inneholder følgende kolonner:

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

C _T Comment (C _T -kommentar):	<p>En automatisk merknad til C_T-fastsettelsen, hvis C_T-verdier er utelukket. Følgende flagg kan forekomme:</p> <p>NEG (Multi Ct): Terskelen krysser fluorescenskurven minst to ganger (dobbel skjæring). Det er ikke mulig å fastsette en entydig C_T-verdi.</p> <p>NEG (NTC): Den samlede fluorescensøkningen oppfyller ikke vilkårene definert i funksjonen NTC threshold (NTC-terskel) i menyen Outlier Removal (Fjerning av utenforliggende) (se nedenfor). En fluorescenskurve kan for eksempel krysse den gitte terskelen, men den lille samlede økningen i stigningstall tyder på en ikke-templat kontroll, og det gis ingen C_T-verdi.</p> <p>NEG (R.Eff): Den samlede fluorescensøkningen oppfyller ikke vilkårene definert i funksjonen Reaction efficiency threshold (Terskel for reaksjonseffektivitet) i menyen Outlier Removal (Fjerning av utenforliggende) (se nedenfor). Prøver som ikke har en viss reaksjonseffektivitet, utelukkes, og det gis ingen C_T-verdi. Dette flagget vises kun hvis den tilhørende funksjonen er aktivert.</p>
%Var	Den prosentvise variasjonen mellom den beregnede og den kjente konsentrasjonen. %Var=Abs(beregnet/gitt-1)
Rep. Ct:	Gjennomsnittlig CT for alle prøver med samme navn som denne prøven.
Rep. Ct Std. Dev.:	Standardavviket for CT-verdien for alle prøver med samme navn som denne prøven.
Rep. Ct. 95% C.I.:	Et C _T -område som statistisk sett står for 95 % av variasjonen i C _T -verdien. Dette er et konservativt statistisk mål, som kan brukes som et kvalitetsmål. Området kan avgrenses ytterligere ved å kjøre flere replikater, eller ved å ha mindre variasjon i replikatene.
Rep. Calc. Conc.:	<p>Den beregnede konsentrasjonen for alle prøver med samme navn.</p> <p>Merk: Dette er ikke et enkelt gjennomsnitt av de beregnede konsentrasjonene. Det er det geometriske gjennomsnittet, som matematisk sett er et mer hensiktsmessig gjennomsnitt på grunn av den eksponentielle karakteren til amplifikasjon i sanntid.</p>
Rep. Calc. Conc. 95% C.I.:	<p>Et område med konsentrasjoner som står for 95 % av variasjonen i de individuelle prøvene, så vel som den lineære regresjonsmodellen det bygger på. En tolkning av dette målet er at det er dette området med konsentrasjoner som kan forventes i 95 % av gangene hvis denne kjøringen blir utført gjentatte ganger med samme grad av variasjon. Dette er et konservativt estimat, og området kan være nokså stort på grunn av variasjonen som er iboende i enhver sannhetsanalyse. Området kan være stort hvis standarder kjøres med andre konsentrasjoner enn de ukjente prøvene, hvis det brukes et lavt antall replikater, eller hvis det er betydelig variasjon.</p> <p>Viktig: Variasjonen som rapporteres med dette målet, er iboende i den eksponentielle prosessen med amplifikasjon i sanntid og skyldes ikke Rotor-Gene Q MDx. Lignende tester utført på blokkbaserte syklere vil gi større variasjon, fordi blokkbaserte systemer har lavere temperatursartethet. Hvis du ønsker å sammenligne syklere, anbefaler vi at du sammenligner standardavviket for CT-verdien.</p>

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

Merk: Med unntak av Color (Farge), Name (Navn), Ct og Ct Comment (Ct-kommentar) kan alle kolonnene vises eller skjules ved å høyreklikke i vinduet og enten velge eller velge bort kolonnenavnet.

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%

For å gjøre det mer praktisk beregner AutoStat-funksjonen automatisk gjennomsnittet, standardavviket og minimums- og maksimumsverdiene for utvalgte prøver. Velg resultatene av interesse ved å dra med venstre museknapp. Verdiene vises i en tabell på høyre side i skjermbildet.

I dette skjermbildet er konsentrasjonen til flere prøver analysert.

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	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	20786	1.0%	

Statistics

Maximum : 28730050
 Minimum : 25142920
 Count : 3

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

Copy

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

For eksempel:

- Det er ikke mulig å oppnå et konfidensintervall på 95 % fra et sett med utvalgte beregnede konsentrasjoner, fordi det også må tas hensyn til regresjonsmodellen.

- Standardavviket Orders of Magnitude (Størrelsesordener) rapporteres for beregnede konsentrasjoner fremfor en absolutt verdi. Dette er en prosentvis variasjon. For eksempel representerer en verdi på 1,07537 en 7,54 % variasjon $(278\ 974 - 322\ 611) = (300\ 000/1,07537 - 00\ 000 * 1,07537)$. Å rapportere en absolutt verdi gir ingen mening for en standardkurve. Verdien kunne bli rapportert ved den laveste konsentrasjonen for å opprette en oppfattet lav feil (± 3 kopier), eller ved den høye konsentrasjonen ($\pm 3\ 000\ 000$ kopier). Av den grunn er det standardavviket Orders of Magnitude (Størrelsesordener) som rapporteres.
- For beregnede konsentrasjoner blir det geometriske gjennomsnittet brukt i stedet for det aritmetiske gjennomsnittet. Dette tar hensyn til den eksponentielle karakteren til real-time PCR. Ved doble fortynninger med 1, 2, 8 og 16 kopier ville for eksempel gjennomsnittet ha vært 4 kopier, fordi dette er midten av fortynningsserien. Det aritmetiske gjennomsnittet er imidlertid 6,75. Det geometriske gjennomsnittet er $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ kopier.

Dynamisk rørnormalisering

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

Standard normalisering tar kun de 5 første syklusene og bruker disse som en indikator for bakgrunnsnivået for hver prøve. Alle datapunktene for prøven divideres deretter med denne verdien for å normalisere dataene. Metoden kan være unøyaktig fordi bakgrunnsnivået for visse prøver i de 5 første syklusene ikke nødvendigvis er en indikasjon på bakgrunnsnivået like før amplifikasjon. Dynamisk rørnormalisering bruker derimot den andrederiverte av hvert prøvespor for å bestemme et startpunkt for hver prøve. Bakgrunnsnivået blir deretter gjennomsnittsberegnet fra syklus 1 og opp til dette startsyklusnummeret for hver prøve. Dette gir de mest nøyaktige kvantifiseringsresultatene.

Vær oppmerksom på at for visse datasett er ikke bakgrunnsfluorescensen konsistent i syklusene før amplifikasjon starter. I disse tilfellene kan det være nødvendig å oppheve valget av dynamisk rørnormalisering ved å klikke på Dynamic Tube (Dynamisk rør), fordi det kan føre til mindre nøyaktig kvantifisering.

Korreksjon av stigningstall for støy

Bakgrunnsfluorescensen (Fl) til en prøve skal ideelt sett være konstant før amplifikasjon. Noen ganger kan imidlertid Fl vise en gradvis økning eller reduksjon over flere sykluser på grunn av kjemien som brukes. Dette fører til et skjevt støyinnivå. Korreksjon av stigningstall for støy bruker en best tilpasset linje, ikke et gjennomsnitt, for å bestemme støyinnivået, og normaliserer til denne linjen. Hvis du velger dette alternativet ved å klikke på knappen Slope Correct (Korriger stigningstall), kan du forbedre data fra replikater hvis prøvenes baseline har en merkbar helning. Korreksjon av stigningstall for støy forbedrer dataene når det observeres rådatabakgrunner som heller oppover eller nedover før startpunktet (C_T).

Når stigningstallet ikke er stabilt eller de innledende syklusene for baseline viser en signifikant økning eller reduksjon i signalet sammenlignet med resten av kurven, kan korreksjon av stigningstall for støy føre til uønskede effekter, f.eks. at negativ kontroll-kurve krysser terskelen fordi baseline tilnærmes som en best tilpasset linje og normaliserer rådataene i samsvar med dette. Konsekvensen er at denne funksjonen ikke alltid forbedrer kvaliteten på dataene, og at den kun bør brukes når rådatakurvene har en jevn helning.

Justering av startpunkt

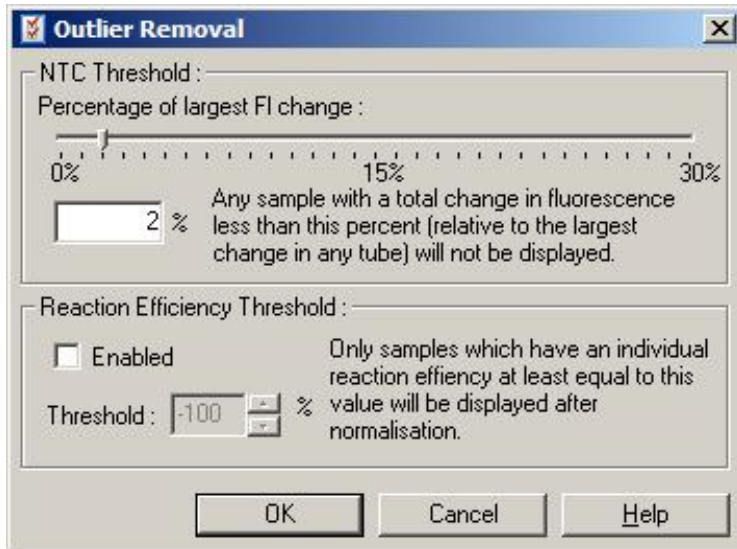
Algoritmen for justering av startpunkt kan brukes til å definere en minimumslengde på baseline som brukes til normalisering. For å bruke justering av startpunkt må du definere to parametere. Hvis Dynamic Tube (Dynamisk rør) beregner et startpunkt som er lavere enn den første parameteren, blir den andre parameteren brukt som startpunkt. Justering av startpunkt kan kun brukes sammen med normalisering med Dynamic Tube (Dynamisk rør).

Ignorer første

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

Fjerning av utenforliggende

For å skille mellom mindre endringer i fluorescens og genuine reaksjoner i ikke-templat-kontroller (NTC) finnes det 2 mål: NTC Threshold (NTC-terskel) og Reaction Efficiency Threshold (Terskel for reaksjonseffektivitet). NTC Threshold (NTC-terskel) anbefales for de fleste bruksområder. Metoden som brukes, må valideres.



NTC Threshold (NTC-terskel): Med denne funksjonen blir prøver eller NTC-er med en svak oppadgående forskyvning utelukket fra analyse. Alle prøver med en endring under NTC Threshold (NTC-terskel) vil ikke bli rapportert, og flagget NEG (NTC) vises i kolonnen CT Comment (CT-kommentar).

Prosentandelen er relativ til den største maksimumsendringen som finnes i et rør. Hvis for eksempel én prøve startet med en bakgrunn på 2 FI og økte til 47 FI, vil 45 FI representere 100 %. En NTC Threshold (NTC-terskel) på 10 % vil betrakte alle prøver under 4,5 FI som støy.

Reaction Efficiency Threshold (Terskel for reaksjonseffektivitet): Reaction Efficiency Threshold (Terskel for reaksjonseffektivitet) er en annen metode for å utelukke støy fra analyser. Denne normaliseringsalgoritmen bruker estimeringsteknikkene for reaksjonseffektivitet som brukes ved komparativ kvantifisering (se avsnitt 6.6.6). Alle prøver som ikke har en reaksjonseffektivitet på minst dette nivået, utelukkes, og flagget NEG (R.Eff) vises i kolonnen CT Comment (CT-kommentar).

Et nivå på 0 % indikerer at ingen reaksjon fant sted under den eksponentielle fasen. 100 % indikerer at en fullstendig effektiv reaksjon fant sted under den eksponentielle fasen. Negative prosentverdier indikerer at fluorescenssignalet falt under den eksponentielle fasen.

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

Merk: Hvis en verdi utelukkes som følge av at en av disse teknikkene blir aktivert, vil det ikke bli vist en tilsvarende CT-verdi i vinduet Quantitation Results (Kvantifiseringsresultater). Samtidig vil det bli vist et flagg som indikerer utelukkelsen i kolonnen Ct Comment (Ct-kommentar). Det er derfor viktig å passe på at kolonnen Ct Comment (Ct-kommentar) alltid vises.

I bildet nedenfor er prøve 7, 8 og 9 utelukket på grunn av Reaction Efficiency Threshold (Terskel for reaksjonseffektivitet).

No.	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc (copies/reaction)
7	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
8	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
9	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
10	10e5	Standard	15,04		1,00E+05
11	10e5	Standard	15,03		1,00E+05
12	10e5	Standard	15,05		1,00E+05

Stigningstall, amplifikasjon, reaksjonseffektivitet

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

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

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

Optimale verdier for M , eksponentiell amplifikasjon og reaksjonseffektivitet er henholdsvis $-3,322$, 2 og 1 . Reaksjonseffektiviteten vises i rapporten (i fullstendige rapporter og standardrapporter, se side 83) og i vinduet Standard Curve (Standardkurve).

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

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

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

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

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

Forskyvning

I en formel som beskriver forholdet mellom 2 variabler, er forskyvningen uttrykt med bokstaven B ($y = Mx + B$). Forskyvning blir også noen ganger kalt skjæringspunktet. B representerer C_T for en gitt konsentrasjon på 1 enhet. Ved å erstatte 1 i konsentrasjonsformelen som vist nedenfor:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

blir resultatet $C_T = B$

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

Hovedvindu

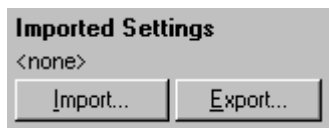
Hovedvinduet viser amplifikasjonsdiagrammene på en logaritmisk skala.

Hvis du klikker på Linear Scale (Lineær skala) nederst i vinduet, endres skalaen fra log-skala til lineær skala, og omvendt. Når du bytter mellom disse skalaene, endres kun visningen av grafene, ikke beregningene. Dette kan verifiseres med pekeverktøyet ved å høyreklikke på grafen og velge Show pinpointer (Vis pekeverktøy). Med en log-skala blir små verdier mer synlige i grafen, mens en lineær skala gjør det lettere å se reaksjonen i sin helhet.

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

Maler for kvantifiseringsanalyse

Maler for kvantifiseringsanalyse gjør at brukeren kan eksportere normaliserings- og terskelinnstillinger til en enkelt *.qut-fil. Denne filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 7.1 for mer informasjon.



6.6.3 To standardkurver

Analyse av relativt gnuttrykk ved hjelp av et normaliseringsgen kan utføres med metoden 2 standardkurver.

Metoden krever en standardkurve for hvert gen. Konsentrasjonen for hvert gen kvantifiseres i henhold til genets standardkurve. Uttrykket til interessegenet blir deretter normalisert med normaliseringsgenet (ofte et husholdningsgen).

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

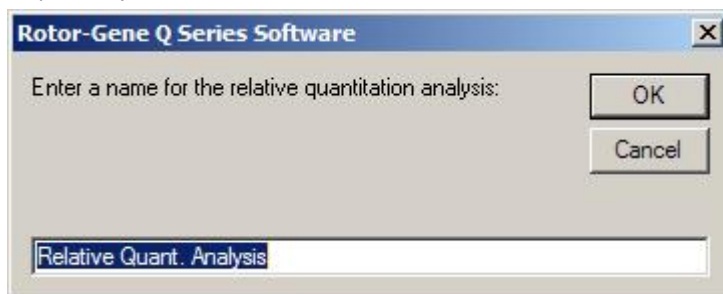
Analyse av uttrykk med metoden to standardkurver

Data kan først analyseres for hvert gen ved hjelp av kvantifiseringsanalyse. Ellers vil resultatene for hvert gen automatisk bli bestemt med verktøyet Autofind Threshold (Finn terskel automatisk).

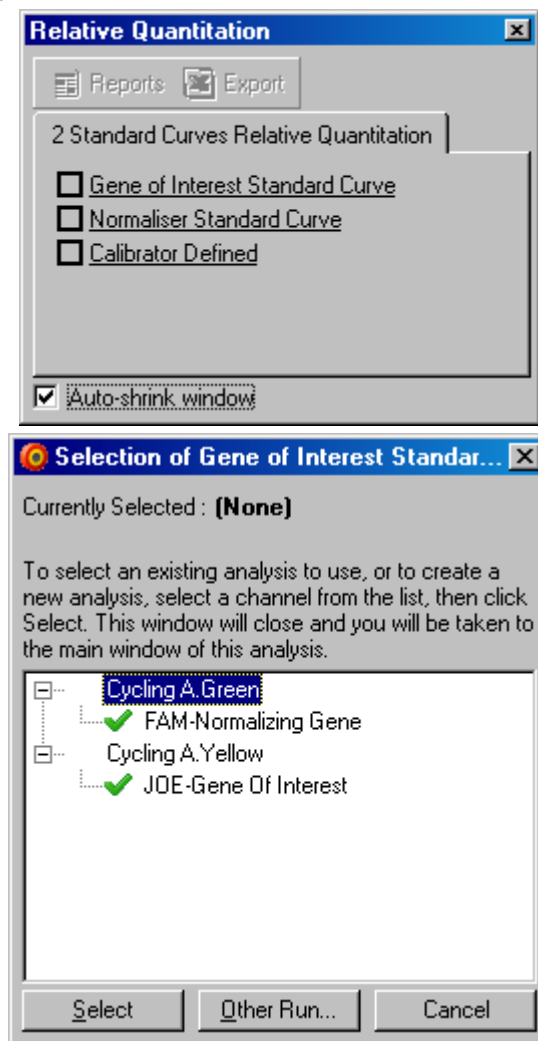
1. Fra vinduet Analysis (Analyse) velger du fanen 2 Std Curves (Rel.) (2 standardkurver (rel.)). Klikk på New Analysis... (Ny analyse...).



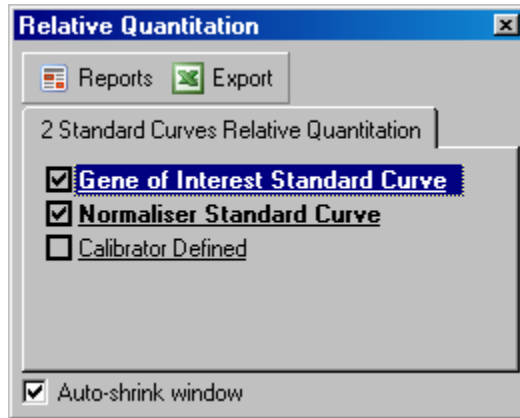
2. Angi et navn på analysen.



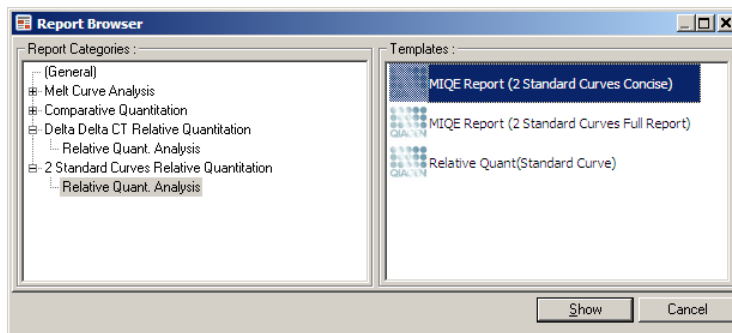
3. Angi sidene som skal brukes til analyse av normaliseringsgenet og analyse av interessegenet. Hvis du for eksempel klikker på Gene of Interest Standard Curve (Standardkurve for interessegen), åpnes vinduet Selection of Gene of Interest Standard... (Valg av standard for interessegen...). Velg siden der interessegenet ble kvantifisert. Gjenta prosedyren for normaliseringsgenet. Det er også mulig å definere en kalibrator. Hvis du velger dette alternativet, blir kalibratoren tildelt verdien 1, og alle andre prøvekonsentrasjoner blir beregnet i forhold til denne prøven.



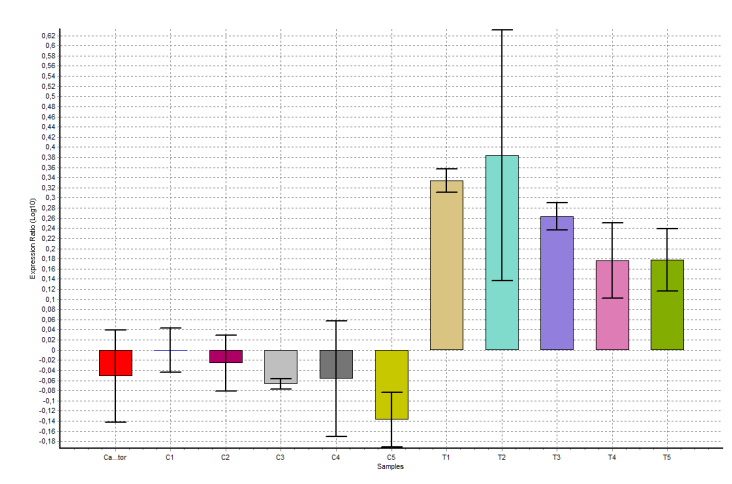
Når du er ferdig med å velge, vises det en hake ved siden av alternativene du har valgt.

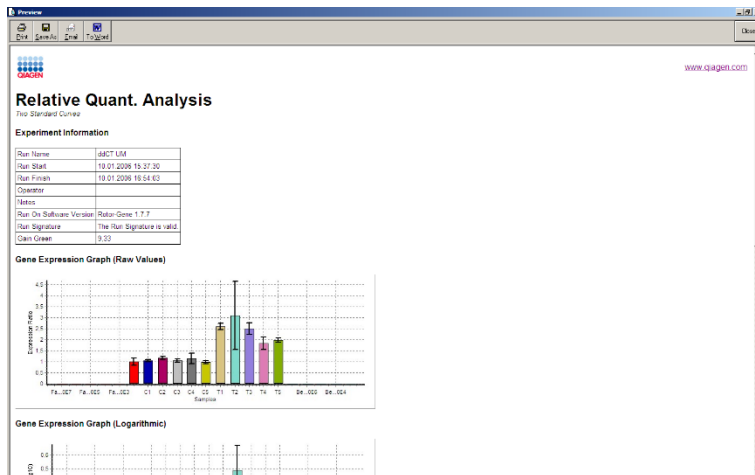


4. Klikk på knappen Reports (Rapporter) for å vise Report Browser (Rapportleser). Velg analysen med riktig navn fra listen. Klikk på knappen Show (Vis) for å vise rapporten om relativ kvantifisering. Med alternativet Export (Eksport) kan du eksportere resultatene til et nytt Excel-regneark. Hvis du har inkludert en kalibrator, blir resultatene beregnet i forhold til kalibratorprøven, som er tildelt verdien 1.



5. Konsentrasjonene som er avlest fra standardkurvene for interessegenet (GOI Conc.) og normaliseringsgenet (Norm. Conc.) samt den relative konsentrasjonen (Relative Conc.), vises. Resultatene kan lagres som en Word-fil.





6. Verdene Rel Min og Rel Max genereres ved å beregne standardavviket for kvotienten ut fra standardavvikene for interessegenet og normaliseringsgenet med følgende formel:

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

der:

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

6.6.4 Delta delta C_T relativ kvantifisering

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

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

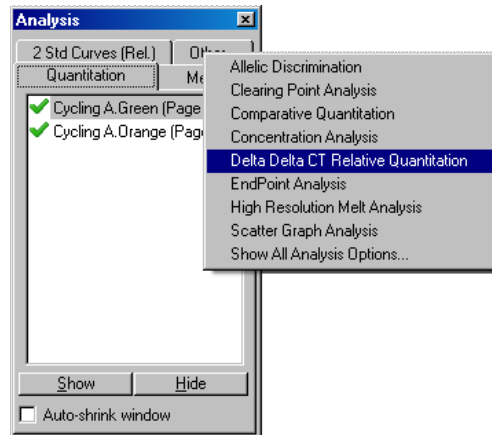
Det er avgjørende at amplifikasjonseffektiviteten for interessegenet og normaliseringsgenet er identisk, og at dette valideres i henhold til retningslinjene fra Livak og Schmittgen.

Det er avgjørende at prøvenavnene er definert riktig i vinduet Edit Samples (Rediger prøver), slik at de samme prøvene har identisk merking i hver sammensatte kvantifiseringsanalyse.

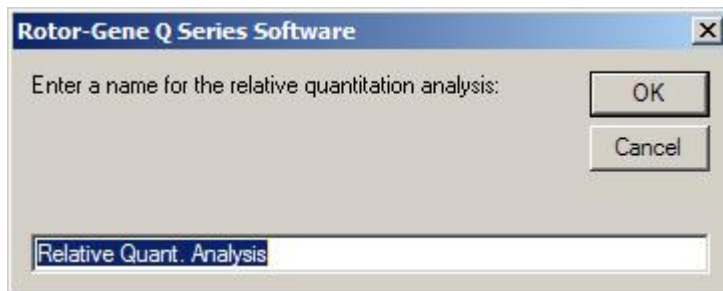
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Δ}[-delta delta C(T)] method. Methods 25, 402.

1. Analyser dataene via fanen Quantitation (Kvantifisering). Det er ikke nødvendig å kjøre en standardkurve etter at validering er utført.

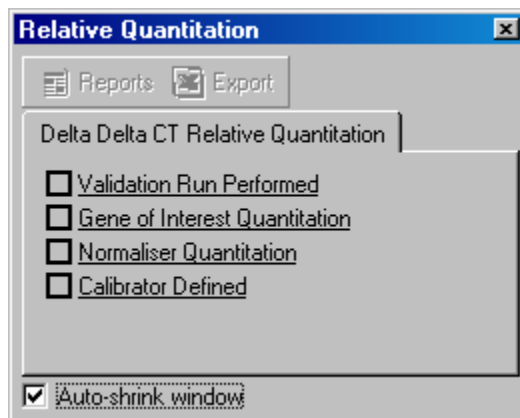
Fra fanen Other (Annen) i vinduet Analysis (Analyse) velger du Delta Delta CT Relative Quantitation (Delta delta CT relativ kvantifisering). Velg New Analysis (Ny analyse).

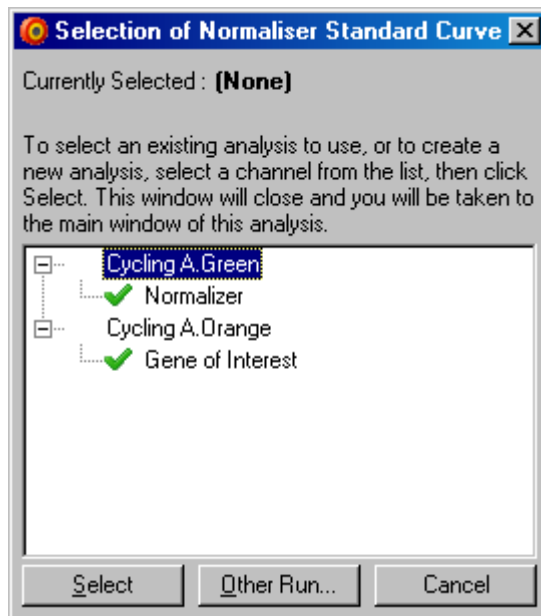


2. Angi et navn på analysen.

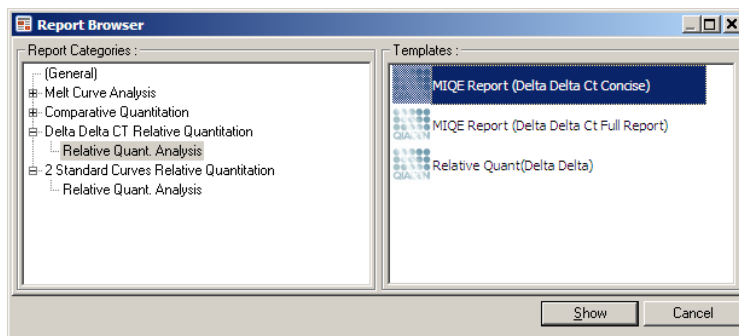


3. Du må merke av for Validation Run Performed (Valideringskjøring utført) for å forsette analysen. Definer sidene der interessegenet og normaliseringsgenet er blitt analysert.





- Klikk på knappen Reports (Rapporter) for å vise Report Browser (Rapportleser). Velg analysen med riktig navn fra listen. Klikk på knappen Show (Vis) for å vise rapporten om relativ kvantifisering. Med alternativet Export (Eksport) kan du eksportere resultatene til et nytt Excel-regneark. Hvis du har inkludert en kalibrator, blir resultatene beregnet i forhold til kalibratorprøven, som har verdien 1.



Et eksempel på resultater fra denne analysen vises nedenfor. C_T -verdiene for interessenegenet (GOI C_T), C_T -verdiene for normaliseringsgenet (Norm. C_T), Delta C_T , Delta Delta C_T og relativ konsentrasjon (Relative Conc.), vises. Uttrykket er relativt til kalibratorprøven, som er tildelt det relative uttrykket 1.

For mer informasjon om deriveringen av Rel Min- og Rel Max-beregningene, se Litvak og Schmittgen (2001).*

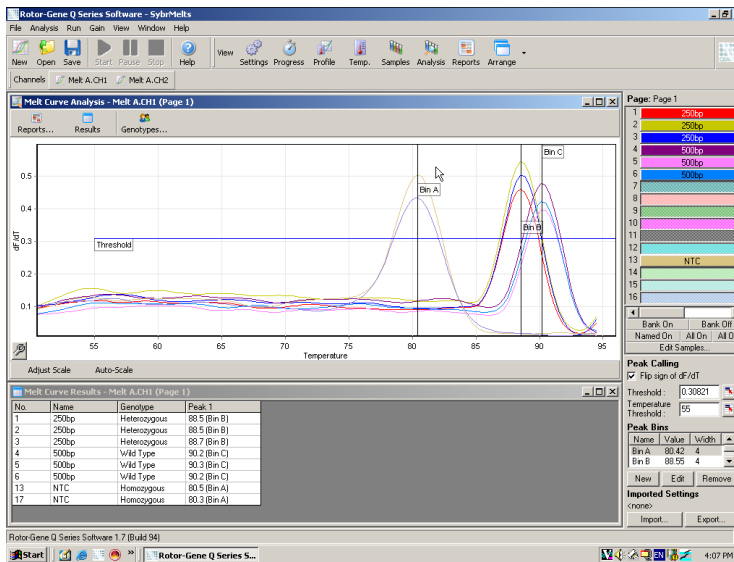
* Litvak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta[\Delta C(T)]}$ method. *Methods* 25, 402.

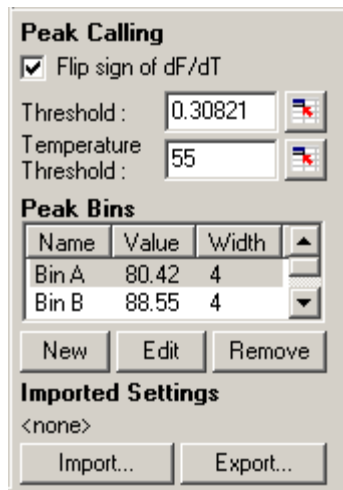
C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	-4.12	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0.1 IU/µl		28.11						
	0.316 IU/µl	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03957	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 Smeltekurveanalyse

Smeltekurveanalysen analyserer derivatet av rådataene etter utjevning. Denne analysen brukes ofte til genotyping og alleldiskriminering. Toppunkter i kurven grupperes i bin-områder, og alle toppunkter under terskelen forkastes. Bin-områder kan deretter tilordnes til genotyper med kommandoen Genotypes (Genotyper).

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





Flip sign of dF/dT (Bytt tegn på dF/dT):

Før du definerer toppunkter, må du kontrollere at dF/dT-tegnet er riktig, slik at datasettet gir positive toppunkter.

Definisjon av toppunkter:

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

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


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

Merk: Bin-områdene bør ikke posisjoneres visuelt for å estimere toppunktens plassering. Angi bin-områdene i et omtrentlig interesseområde, og bruk deretter de faktiske rapporterte verdiene i resultattabellen for et mer nøyaktig resultat.


Peak Bins (Bin-områder for toppunkter):

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

Threshold (Terskel):

For å angi terskelen (y-akse) må du klikke på ikonet  og deretter klikke og holde på grafen og dra terskellinjen til ønsket nivå.

Temperature Threshold (Temperaturterskel):

For å angi temperaturterskelen (x-akse) må du klikke på ikonet  og deretter klikke og holde på grafen og dra terskellinjen til høyre. Dette eliminerer terskellinjen for de lavere temperaturene.

Merk: Dette er nyttig når det er støy i signalet ved lave temperaturer.

Rapporter

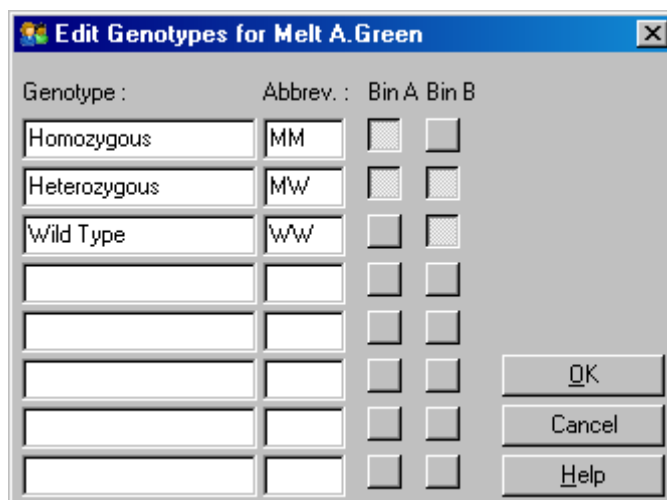
Åpner Report Browser (Rapportleser) der du kan velge en rapport for forhåndsvisning. Du kan generere en rapport basert på kanalen som er valgt for øyeblikket, eller du kan generere en flerkanals genotypingrapport.

Resultater

Viser vinduet Melt Curve Results (Smeltekurveresultater) som viser toppunktene for prøvene.

Genotyper

Klikk på Genotypes... (Genotyper...) og velg genotypene, som vist nedenfor.

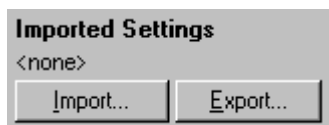


I dette vinduet kan genotyper tilordnes til forekomsten av toppunkter i bin-områder. Skjermbildet viser standard genotyperkonfigurasjon, der heterozygote prøver har 2 toppunkter, homozygote prøver har et toppunkt i det første bin-området, og villtype-prøver har et toppunkt i det andre bin-området. Du kan legge inn en forkortelse i feltet ved siden av navnet på hver genotype. Forkortelsen brukes ved utskrift av flerkanals genotypingrapporter, slik at det er enkelt å lese resultatene fra ulike kanaler.

Ved multipleksanalyser må genotyper settes opp i hver kanal. Hvis det for eksempel kjøres en tokenals slukket FRET-analyse, der en villtype og en heterozygot genotype forventes i hver kanal, må bin-parametrene defineres for hver kanal. Resultatene vil deretter bli gitt i en multipleksrapport.

Maler for smelteanalyse

Maler for smelteanalyse gjør at brukeren kan eksportere innstillinger for normalisering, terskel, genotype og bin-område til en enkelt *.met-fil. Denne filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 7.1 for mer informasjon.



6.6.6 Komparativ kvantifisering

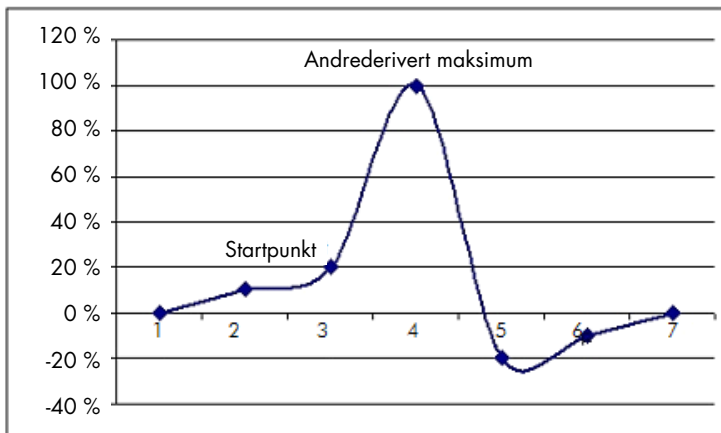
Komparativ kvantifisering sammenligner det relative uttrykket i prøver med en kontrollprøve i kjøringer der en standardkurve ikke er tilgjengelig. Dette brukes ofte ved mikroarray-analyse. Warton og kollegaer (2004) * gir et eksempel på denne teknikken.

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

De første kolonnene i vinduet Comparative Quantitation Results (Resultater for komparativ kvantifisering) viser prøvenummer og prøvenavn. Kolonnen Takeoff (Startpunkt) viser prøvens startpunkt. Den andrederiverte av amplifikasjonsdiagrammet produserer toppunkter som svarer til maksimumshastigheten for fluorescensøkningen i reaksjonen. Startpunktet er definert som syklusen der den andrederiverte befinner seg på 20 % av maksimumsnivået, og indikerer slutten på støyen og overgangen til den eksponentielle fasen.

Denne grafen viser en andrederivert av et amplifikasjonsdiagram og viser de relative posisjonene til den andrederivertes toppunkt og startpunktet.

* 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.



Kolonnen Amplification (Amplifikasjon) viser prøvens effektivitet. En 100 % effektiv reaksjon vil gi en amplifikasjonsverdi på 2 for hver prøve, noe som betyr at amplitonen har doblet seg i hver syklus. I rådataene skal signalet doble seg i den eksponentielle fasen. Hvis signalet for eksempel var 50 fluorescenseenheter ved syklus 12 og deretter 51 fluorescenseenheter ved syklus 13, skal det øke til 53 fluorescenseenheter ved syklus 14. Det beregnes et gjennomsnitt av alle amplifikasjonsverdiene for hver enkelt prøve, og dette gir amplifikasjonsverdien som vises til høyre i skjermbildet under velgeren. Jo større variasjonen mellom de estimerte amplifikasjonsverdiene for hver enkelt prøve er, jo større blir konfidensintervallet (angitt med verdien etter ±-tegnet). Konfidensintervallet for et stort prøveantall (N) gir en sannsynlighet på 68,3 % for at prøvenes sanne amplifikasjon ligger innenfor dette området (1 standardavvik). Ved å doble ±-intervallet oppnås et konfidensintervall på 95,4 % for et stort N.

Kalibratorreplikater

Som med delta delta C_T -metoden kreves det en kalibratorprøve, og målinger beregnes i forhold til denne kalibratorprøven. Replikater av kalibratoren kan analyseres, ettersom gjennomsnittet av startpunktene for disse prøvene vil bli brukt hvis flere prøveposisjoner har samme navn. For å bruke denne funksjonen på riktig måte må du sørge for at replikater har identiske navn.



Gjennomsnittlig amplifikasjon brukes til å beregne uttrykk. En prøve med lav amplifikasjonsverdi vil for eksempel bruke lengre tid på å nå et bestemt absolutt kopiantall enn en prøve med høyere amplifikasjonsverdi. Kolonnen Rep. Conc. i vinduet Comparative Quantitation Results (Resultater for komparativ kvantifisering) viser den relative konsentrasjonen. Den relative konsentrasjonen for hver prøve sammenlignet med kalibratorprøven beregnes med utgangspunkt i startpunktet og reaksjonseffektiviteten. Dette uttrykkes i vitenskapelig notasjon.

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

Relative konsentrasjoner beregnes av programvaren på følgende måte:

1. Startpunktet for hver prøve beregnes ved å se på toppunktene for andrederiverte.
2. Den gjennomsnittlige økningen i rådata 4 sykluser etter startpunktet beregnes. Dette er prøvens amplifikasjonsverdi.
3. Utenforliggende amplifikasjoner fjernes for å ta høyde for støy i bakgrunnsfluorescens.
4. Det beregnes et gjennomsnitt av de resterende amplifikasjonene. Dette er den gjennomsnittlige amplifikasjonen.
5. Det gjennomsnittlige startpunktet beregnes for hvert kalibratorrepliket.
6. Den relative konsentrasjonen til en prøve beregnes som $\text{Amplifikasjon}^{(\text{Kalibrator-startpunkt} - \text{Prøve-startpunkt})}$.
7. Resultatet vises i vitenskapelig notasjon i kolonnen Rep. Conc. i vinduet Comparative Quantitation Results (Resultater for komparativ kvantifisering).

6.6.7 Alleldiskriminering

Alleldiskriminering bruker samtidige kinetikdata fra 2 eller flere kanaler for å bestemme genotype for prøver. For å utføre denne analysen velger du Other (Annen) og deretter Allelic Discrimination (Alleldiskriminering) i vinduet Analysis (Analyse). Når du utfører alleldiskriminering, er det ikke tilstrekkelig å dobbeltklikke på en kanal for å analysere den, fordi denne analysen utføres ved bruk av flere kanaler samtidig. For å utføre denne analysen må du enten holde nede CTRL-tasten og merke hver kanal du ønsker å analysere, eller dra musepekeren over disse kanalene. Når du har merket de aktuelle kanalene, klikker du på Show (Vis). Listen oppdateres og viser alle kanalene på én linje, med en hake ved siden av. Dette betyr at alle vil bli brukt i én analyse. For å fjerne én eller flere av disse kanalene må du høyreklikke på analysen og velge Remove Analysis... (Fjern analyse...). Disse kanalene kan da bli inkludert i en annen analyse med alleldiskriminering. En kanal kan kun brukes i én analyse om gangen.

Reports (Rapporter):	Åpner rapporten Allelic Discrimination Analysis (Analyse med alleldiskriminering) for forhåndsvisning.
Results (Resultater):	Viser vinduet Allelic Discrimination Results (Resultater for alleldiskriminering). Dette vinduet åpnes som standard når analysen vises første gang.

Normalization options
(Alternativer for normalisering):

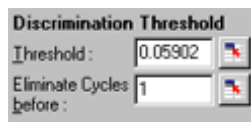
Det finnes flere forskjellige alternativer for å optimalisere normalisering av rådata:

- Dynamic Tube (Dynamisk rør) (dynamisk rørnormalisering)
- Slope Correct (Korriger stigningstall) (korreksjon av stigningstall for støy)
- Ignore First x cycles (Ignorer første x sykluser) (korreksjon for støy i innledende sykluser)
- Justering av startpunkt

For mer informasjon, se side 93.

Discrimination Threshold
(Diskriminerings terskel):

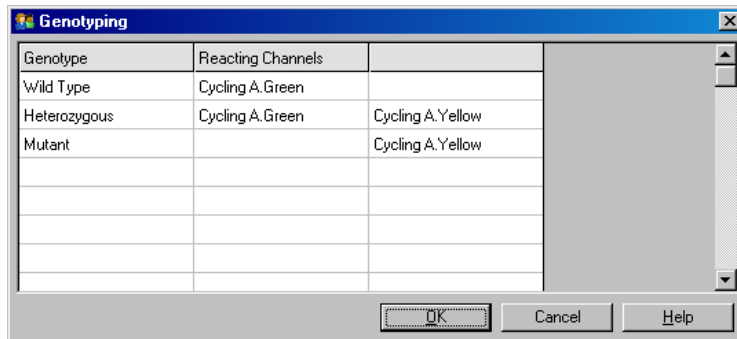
Angi verdier i disse tekstboksene for å posisjonere diskriminerings terskelen. Alle kurver som passerer denne terskelen, anses som genotyping-prøver. Klikk på ikonet til høyre for hver tekstboks, og dra deretter terskelen i grafen for å angi verdiene visuelt.



Genotypes (Genotyper):

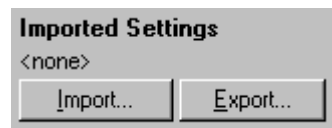
Åpner vinduet Genotyping som brukes til å definere hvilken genotype som skal påvises i hver kanal. I dette vinduet kan genotyper tilordnes til kanaler for analyse med alleldiskriminering.

I eksempelet nedenfor er en prøve heterozygot hvis avlesninger i kanalene Cycling A.Green og Cycling A.Yellow krysser terskelen.



Maler for allelanalyse:

Maler for allelanalyse gjør det mulig å eksportere innstillinger for normalisering, terskel og genotype til en enkelt *.alt-fil. Denne filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 7.1 for mer informasjon.



6.6.8 Analyse med spredningsgraf

Analyse med spredningsgraf muliggjør genotyping basert på det relative uttrykket i amplifikasjonsdiagrammer over 2 kanaler. I motsetning til alleldiskriminering blir genotypen bestemt på grunnlag av definerte områder i spredningsgrafene, og ikke på grunnlag av en enkelt terskel.

For å utføre denne analysen velger du Other (Annen) og deretter Scatter Graph Analysis (Analyse med spredningsgraf) i vinduet Analysis (Analyse).

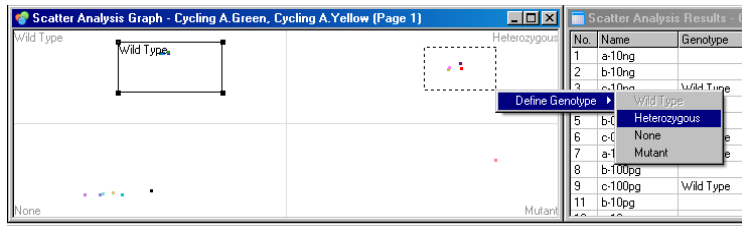
Når du utfører en analyse med spredningsgraf, er det ikke tilstrekkelig å dobbeltklikke på en kanal for analysere den, fordi denne analysen utføres ved bruk av 2 kanaler samtidig. For å utføre denne analysen må du enten holde nede SHIFT-tasten og klikke på kanalene som skal analyseres, for å merke dem, eller dra musepekeren over kanalene. Når du har merket de aktuelle kanalene, klikker du på Show (Vis).

Listen oppdateres og viser alle kanalene på én linje, med en hake ved siden av. Dette betyr at alle vil bli brukt i én analyse. For å fjerne én eller flere av disse kanalene må du høyreklikke på analysen og velge Remove Analysis... (Fjern analyse...). Disse kanalene kan da bli inkludert i en annen analyse med spredningsgraf. En kanal kan kun brukes i én analyse om gangen.

- Reports (Rapporter): Åpner rapporten Scatter Analysis (Spredningsanalyse) for forhåndsvisning.
- Results (Resultater): Viser vinduet Scatter Analysis Results (Resultater for spredningsanalyse). Dette vinduet åpnes som standard når analysen vises første gang.
- Normalization options (Alternativer for normalisering): Det finnes flere forskjellige alternativer for å optimalisere normalisering av rådata:
- Dynamic Tube (Dynamisk rør) (dynamisk røرنormalisering)
 - Slope Correct (Korriger stigningstall) (korreksjon av stigningstall for støy)
 - Ignore First x cycles (Ignorer første x sykluser) (korreksjon for støy i innledende sykluser)
 - Justering av startpunkt
- For mer informasjon, se side 93.
- Genotypes (Genotyper): Åpner vinduet Genotyping som brukes til å definere hvilken genotype som skal påvises i hver kanal. I dette vinduet kan genotyper tilordnes på grunnlag av hvilke kanaler en prøve reagerer i. De valgte kanalene brukes til å merke hjørnene i spredningsgrafen og veileder brukeren til det generelle området i spredningsgrafen der områder skal defineres.

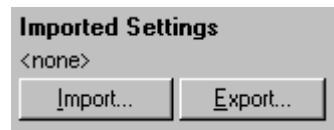


Scatter Graph (Spredningsgraf): Spredningsgrafen viser det relative uttrykket for de 2 valgte kanalene. Visningen normaliseres for å ta hensyn til ulike fold-økninger i hver kanal og log-transformeres for å fremheve forskjellene i uttrykk mellom prøver. For å utføre genotyping må brukeren definere områdene ved å klikke og dra et utvalg i grafen. Utvalget kan deretter navngis basert på genotypene som er konfigurert i vinduet Genotyping.



Maler for analyse med spredningsgraf:

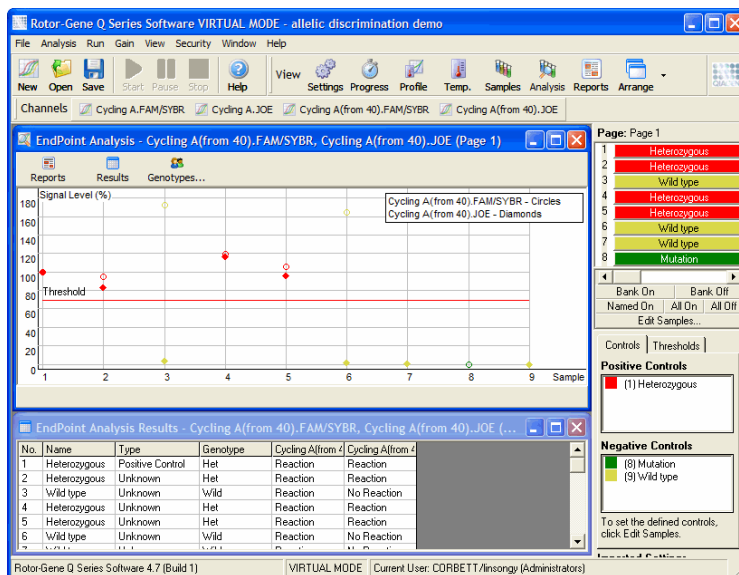
Maler for analyse med spredningsgraf gjør det mulig å eksportere innstillinger for genotype og område til en enkelt *.sct-fil. Denne filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 7.1 for mer informasjon.



6.6.9 EndPoint-analyse

EndPoint-analyse gjør det mulig å skille mellom amplifiserte og ikke-amplifiserte prøver i slutten av en kjøring. Resultatene er kvalitative (positive/negative), ikke kvantitative.

EndPoint-analyse vises i skjermbildet nedenfor.



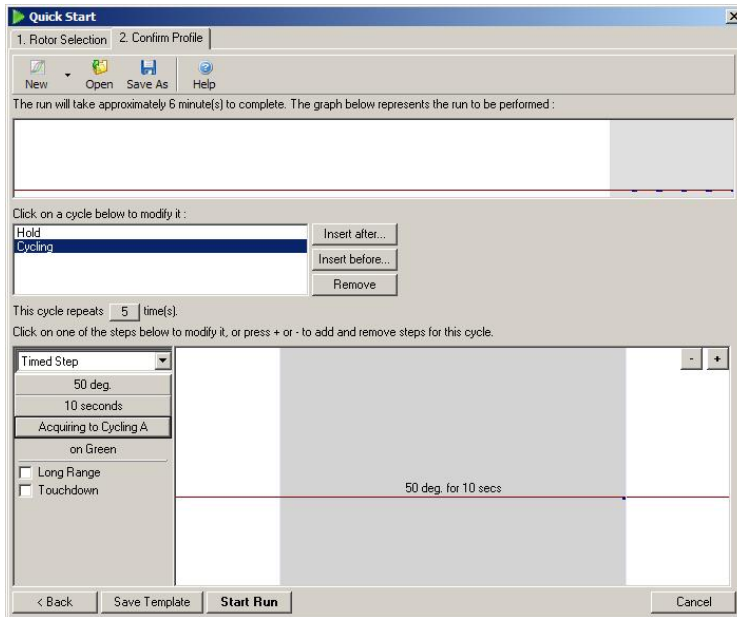
EndPoint-analyse kan minne om alleldiskriminering, ettersom resultatene er kvalitative og navn kan tilordnes til visse permutasjoner av reaksjoner over ulike kanaler. I en EndPoint-analyse er imidlertid bare én måling tilgjengelig, i motsetning til alleldiskriminering som bruker en syklus-til-syklus-avlesning for hver prøve. Det betyr at brukeren må identifisere positive og negative kontroller for å kunne utføre analysen. For rådataene blir signalnivåene normalisert i forhold til de kjente positive og negative kontrollene for hver kanal. Brukeren velger deretter et prosentvis signalnivå som terskel.

Begreper som brukes i EndPoint-analyse

Noen av begrepene som brukes i EndPoint-analyse er forklart nedenfor.

Positive Control (Positiv kontroll):	En prøve som er kjent for å amplifisere.
Negative control (Negativ kontroll):	En prøve som er kjent for ikke å amplifisere. Representerer det typiske bakgrunnssignalet.
Threshold (Terskel):	Terskelen er et signalnivå som en prøve må overskride for å anses som positiv (amplifisert). Denne innstillingen må justeres av brukeren for hver kjøring.
Signal level (Signalnivå):	En prosentandel av fluorescerenssignal, normalisert slik at det høyeste signalet til de positive kontrollene er 100 % og det laveste signalet til de negative kontrollene er 0 %.
Genotype:	En tolkning av ulike permutasjoner av reaksjoner i ulike kanaler. Genotypen heterozygous (heterozygot) kan for eksempel tilordnes prøver som reagerte i både grønn og gul kanal. Genotypen kan også brukes til å rapportere resultatene av reaksjoner med interne kontroller. Resultater kan for eksempel rapporteres som inhibited (inhibert), positive (positiv) eller negative (negativ), avhengig av om en reaksjon ble observert i visse kanaler eller ikke.

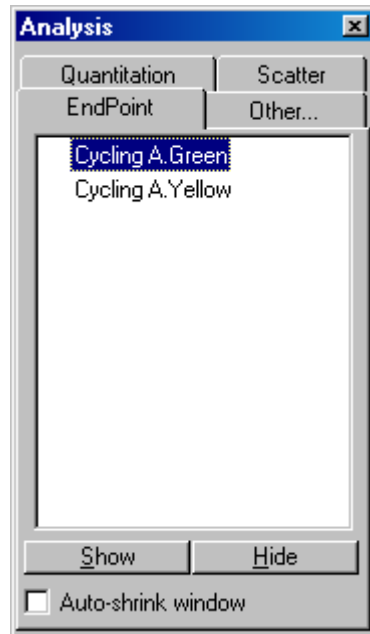
Konfigurasjon av profil



For å utføre en EndPoint-analyse må du kjøre en profil med en holding ved 50 °C i flere minutter, deretter et syklingstrinn med 1 trinn (50 °C i 10 sekunder), som samler inn i den påkrevde kanalen. Sett antall gjentakelser til 5, som vist ovenfor. Disse tidene er kun veiledende og kan være annerledes for ditt bestemte bruksområde. Jo flere gjentakelser i profilen, jo mer informasjon blir tilgjengelig for å utføre analysen. Analysen beregner automatisk et gjennomsnitt av alle avlesningene, og gir en enkelt verdi for hver prøve. Det er ingen krav til et bestemt antall gjentakelser. Med mindre det er behov for svært høy grad av nøyaktighet, er 5 gjentakelser som regel nok.

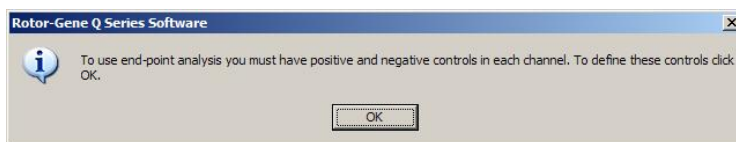
Analyse

EndPoint-analyse kan utføres på flere kanaler samtidig. For å opprette en ny analyse må du klikke på fanen EndPoint, velge kanalene ved å dra musepekeren over dem, og deretter klikke på Show (Vis).



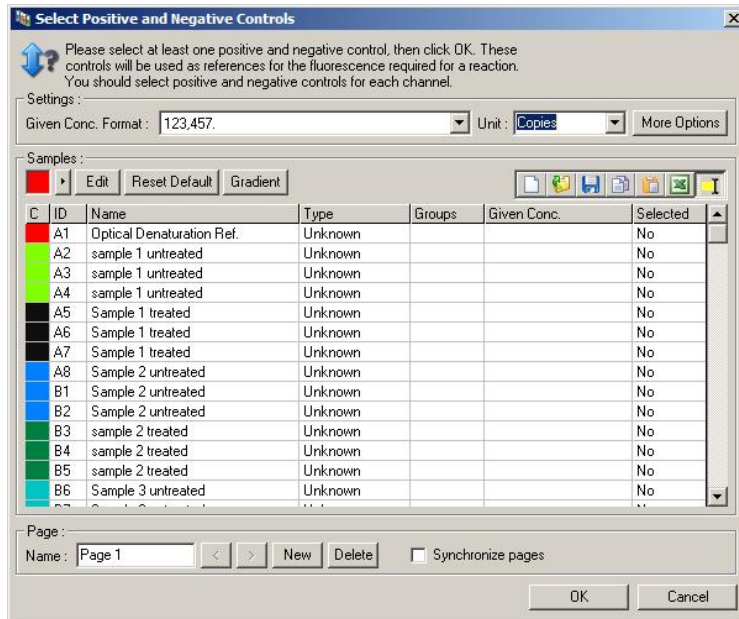
Definere kontroller

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



Klikk på OK. Vinduet Edit Samples (Rediger prøver) vises, der du kan definere positive og negative kontroller. For å definere en prøve som en positiv eller negativ kontroll, må du klikke på cellen med prøvetypen og velge den relevante kontrolltypen fra rullegardinmenyen.

Merk: For at analysen skal bli utført, må kontrollene settes til on (på) med velgeren til høyre i hovedvinduet.



Dette skjermbildet fungerer på samme måte som vinduet Edit Samples (Rediger prøver) (avsnitt Oppsett av prøver).

Normalisering

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

1. Alle de positive kontrollene for hver kanal blir analysert, og kontrollen med høyest fluorescens settes til 100 %. Det betyr at hvis det kjøres duplikate kontroller, kan en positiv kontroll bli underkjent uten at det påvirker kjøringen.
2. Alle de negative kontrollene blir analysert, og kontrollen med lavest fluorescens settes til 0 %.
3. Råfluorescensverdiene til de resterende prøvene skaleres i forhold til den høyeste positive kontrollen og den laveste negative kontrollen.

For eksempel:

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

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

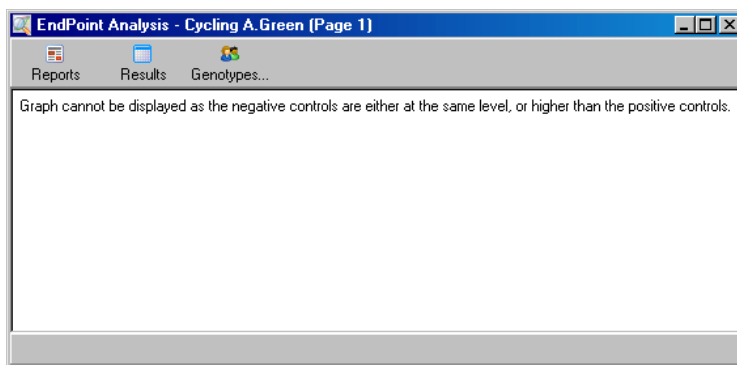
De normaliserte verdiene er som følger:

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

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

Merk: Avhengig av de positive og negative kontrollene som er valgt, vil det være mulig å oppnå uttrykksnivåer på over 100 % eller under 0 %. Et resultat på over 100 % kan tolkes som at prøven er høyere uttrykt enn de positive kontrollene. Et resultat på under 0 % kan tolkes som at det er mindre sannsynlig at prøven ble amplifisert enn at de negative kontrollene ble amplifisert. Ettersom analysen er kvalitativ, er det ikke nødvendig å ta hensyn til resultater av denne typen.

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



Normalisering i flere kanaler

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

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

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

Hvis en prøve for eksempel er en positiv kontroll i den grønne kanalen, men ikke i den gule kanalen, skal prøven likevel defineres som en positiv kontroll. Ettersom det er den høyeste positive kontrollen i hver kanal som brukes, ignoreres definisjonen av prøven som kontroll for den grønne kanalen hvis det er minst én positiv kontroll i den gule kanalen som amplifiseres.

Terskel

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

Klikk og dra terskellinjen til et område mellom 0 og 100. Terskelen må ikke være for nær prøver på noen side av linjen, fordi det indikerer at kjøringen ikke var entydig. Hvis forskjellen mellom en prøve som defineres som amplifisert eller ikke amplifisert, kun er noen få prosent, betyr det at hvis reaksjonen gjentas, kan prøven dukke opp på den andre siden av terskelen.

Genotyper

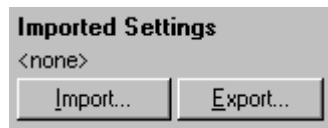
Dette alternativet åpner vinduet Genotyping som brukes til å definere hvilken genotype som påvises i hver kanal.



I dette vinduet kan du tilordne genotyper til kanaler. I eksempelet ovenfor er en prøve heterozygot hvis avlesninger i kanalene Cycling A.Green og Cycling A.Yellow krysser terskelen.

Maler for EndPoint-analyse

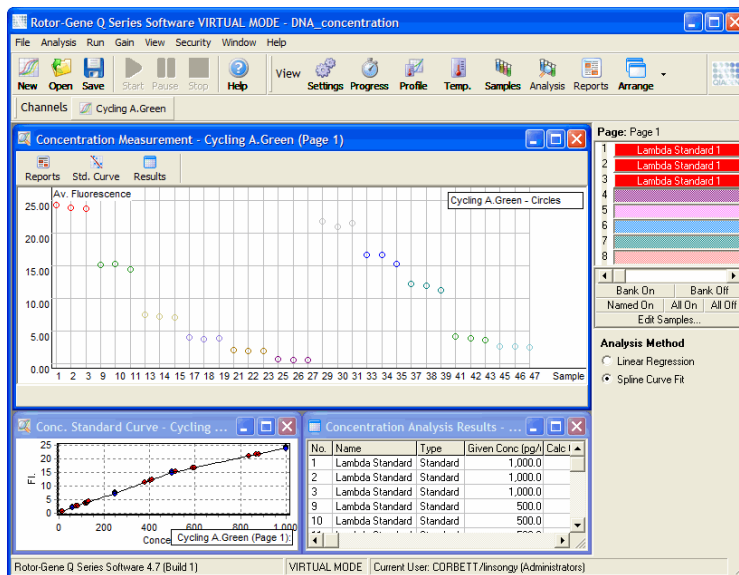
Maler for EndPoint-analyse gjør at brukeren kan eksportere innstillinger for genotype og terskel til en enkelt *.ent-fil. Denne filen kan importeres og brukes på nytt i andre eksperimenter. Se avsnitt 8.1 for mer informasjon.



6.6.10 Konsentrasjonsanalyse

Konsentrasjonsanalyse gjør at du kan bruke Rotor-Gene Q MDx til å måle DNA-konsentrasjoner eller innhente fluorometeravlesninger.

Skjermbildet nedenfor viser denne analysen.



Klargjøre en kjøring

Når du skal utføre en konsentrasjonsanalyse, må du først klargjøre fluorescens-standarder og prøver, helst i triplikat.

Klargjøre standarder

Det brukes en standardkurve til å bestemme konsentrasjonen av DNA i hver prøve som måles.

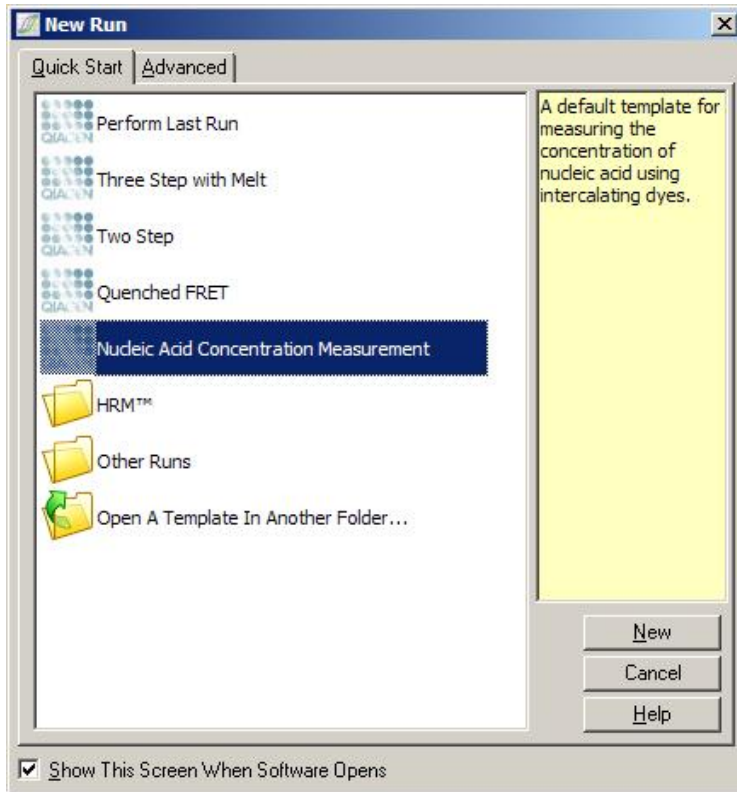
DNA-et som brukes til standardkurven, må være av en lignende type DNA som i prøvene som måles. Konsentrasjonen av minst én DNA-prøve skal bestemmes ved hjelp av ultrafiolett spektrofotometri, og denne prøven skal brukes som standard. Det skal brukes minst 3 standarder (med replikater). Det er viktig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

Type DNA som måles

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

Oppsett av kjøring

For å sette opp kjøringen velger du Nucleic Acid Concentration Measurement (Måling av nukleinsyrekonsentrasjon) fra veiviseren Quick Start (Hurtigstart).



Merk: Påse at en positiv kontroll, f.eks. en høy konsentrasjonsstandard, kjøres i røpøposisjon 1. Uten en positiv kontroll vil ikke programvaren være i stand til å optimalisere forsterkningsinnstillinger for maksimal sensitivitet. Du vil bli bedt om å gjøre dette før hver kjøring.

Analyse

Konsentrasjonsanalyse fungerer ved å relatere fluorescensnivået til en konsentrasjonsverdi. Det finnes to analysemodeller. Hvilken analyse som er optimal, avhenger av kjemien og bruksområdet.

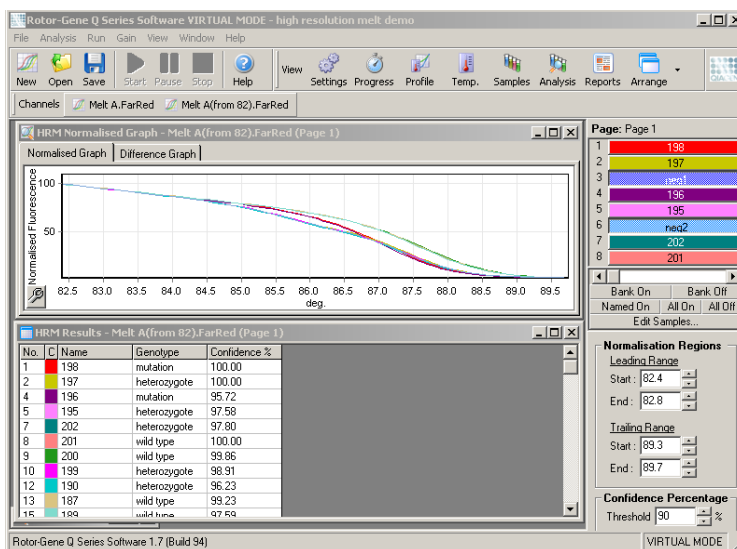
Linear Regression (Lineær regresjon) analyserer data ved å forutsette et lineært forhold og estimere ukjente verdier på grunnlag av en generert lineær modell. Metoden bestemmer målingsfeil ved å undersøke avlesningenes avvik fra en lineær modell. Hvis konsentrasjonsavlesningene er lineære, er denne analysen best egnet, ettersom den gir brukeren en statistisk variansanalyse (ANOVA).

Spline Curve Fit (Tilpasset splinekurve) forutsetter kun at konsentrasjonsverdier øker med fluorescens. Selv om metoden foretar estimater av ikke-lineære data mer nøyaktig, kan den ikke gi en ANOVA, ettersom den ikke forutsetter en lineær modell.

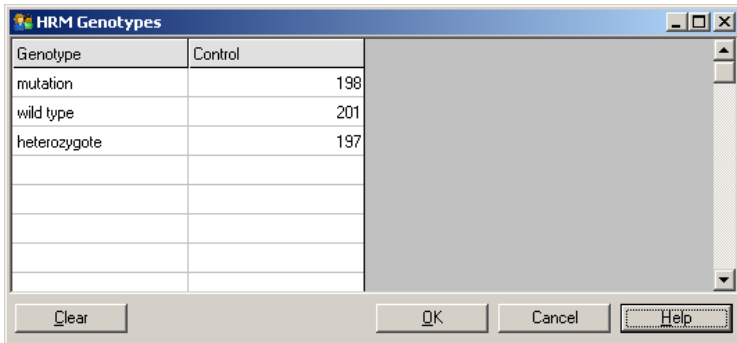
6.6.11 High Resolution Melt-analyse

Analyse med høyoppløselig smelting (High Resolution Melt, HRM) karakteriserer prøver basert på sekvenslengde, GC-innhold og komplementaritet. HRM-analyse brukes i genotyping-applikasjoner, f.eks. analyse av genmutasjoner eller enkeltnukleotidpolymorfier (SNP-er), og i epigenetiske applikasjoner for å analysere DNA-metyleringsstatus. Med HRM-analyse får man nøyaktige resultater og kan spare kostnader til prøber og merking sammenlignet med andre metoder.

For å utføre analysen velger du Other (Annen) og deretter High Resolution Melt Analysis (Analyse med høyoppløselig smelting) i vinduet Analysis (Analyse). Dobbelklikk på kanalen for å analysere den. Smeltekurvene fra råkanalen normaliseres ved å beregne et gjennomsnitt av alle start- og sluttverdier for fluorescens, og deretter tvinge endepunktene for hver prøve til å være det samme som gjennomsnittet.



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



For mer informasjon om HRM-analyse, se avsnitt 10.

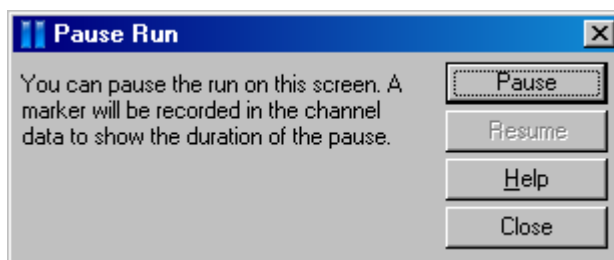
6.7 Kjøringsmenyen

6.7.1 Start kjøring

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

6.7.2 Sett kjøring på pause

Dette alternativet gjør det mulig å sette en kjøring på pause og gjenoppta den. Å sette en kjøring på pause og gjenoppta den kan påvirke resultatene dramatisk. En markør i dataene vil derfor markere at kjøringen ble satt på pause, og pausens varighet. Det vises også en melding i meldingsfanen i vinduet Run Settings (Innstillinger for kjøring) (se avsnitt 6.8.1).



ADVARSEL



Varm overflate

Når en kjøring settes på pause, blir ikke Rotor-Gene Q MDx avkjølt helt ned til romtemperatur. Utvis forsiktighet før du håndterer rotoren eller eventuelle rør i instrumentet.

6.7.3 Stopp kjøring

Hvis dette alternativet er valgt, vises det en melding der du blir bedt om å bekrefte at kjøringen skal stoppes.

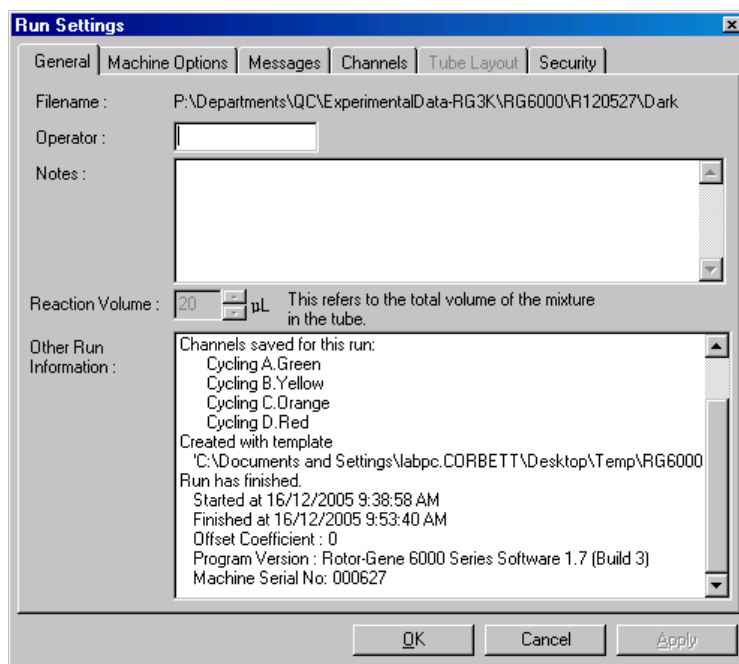
6.8 Visningsmenyen

6.8.1 Innstillinger for kjøring

Generelt

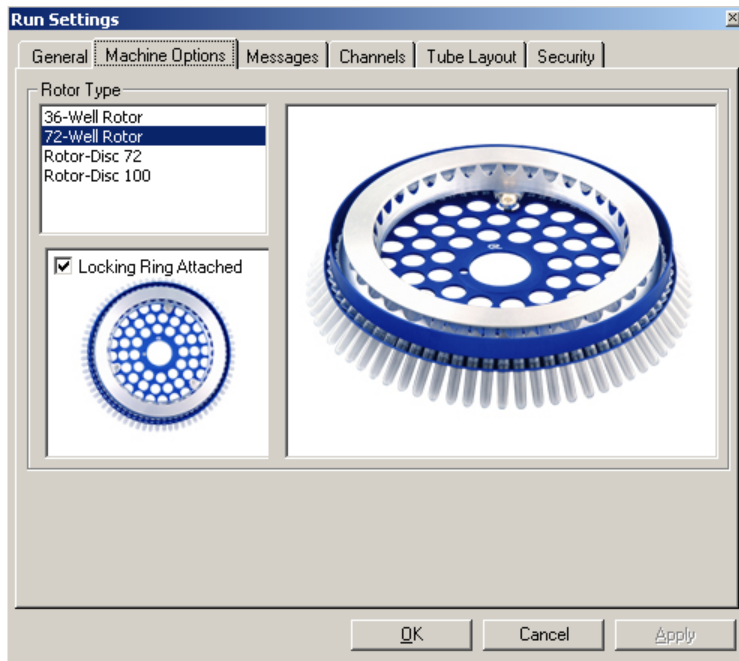
I dette vinduet kan du legge inn informasjon om kjøringen, filnavnet for kjøringen, analysedato, operatør og eventuelle notater.

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



Maskinalternativer

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



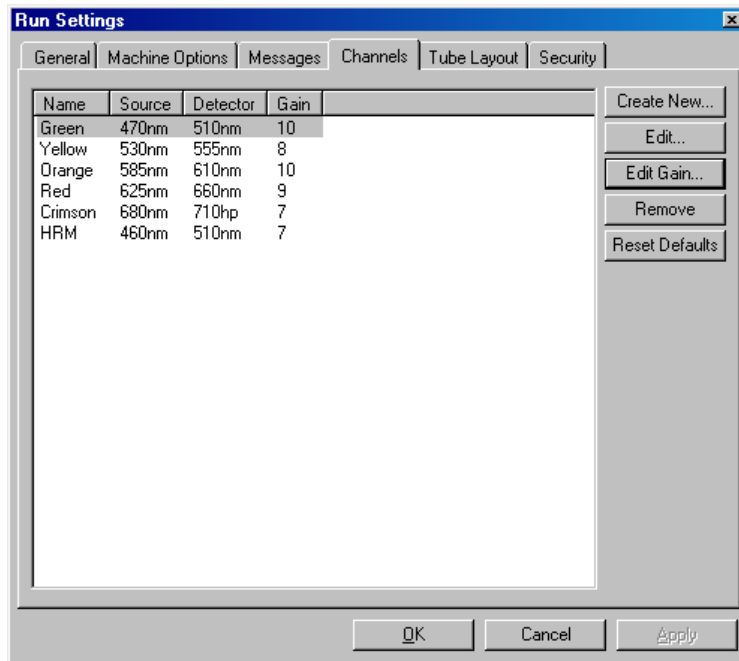
Rotoren må settes til rotoren som for øyeblikket er installert i Rotor-Gene Q MDx. Hvis du åpner en eksisterende kjøring, vil denne innstillingen vise rotoren som var installert i syklere på det tidspunktet.

Meldinger

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

Kanaler

Hvis du konfigurerer en ny kjøring, viser denne fanen gjeldende konfigurasjon av tilgjengelige kanaler. Hvis du viser en eksisterende kjøring, inneholder den informasjon om konfigurasjonen av kanalene da kjøringen ble utført. Hvis en kjøring fører til at kanalinnstillingene ødelegges, kan du gjenopprette standardkanalene ved å klikke på Reset Defaults (Tilbakestill standarder).



- Name (Navn): Dette er navnet på kanalen.
- Source (Kilde): Angir eksitasjonsbølgelengden til kilde-LED-en.
- Detector (Detektor): Angir deteksjonsbølgelengden og filtertypen (nm=båndpass, hp=høypass).
- Gain (Forsterkning): Angir forsterkningen for den aktuelle kanalen.
- Create New... (Opprett ny...): Denne funksjonen brukes til å opprette nye kanaler. Hvis du klikker på Create New... (Opprett ny...), åpnes det et vindu der du blir bedt om å angi et nytt navn, kilde og deteksjonsfilter. Filtrene kan velges med rullegardinmenyen ved siden av hvert vindu.
- Channels (Kanaler): Grønn, gul, oransje og rød kanal er standardkonfigurasjoner for 4-kanals multipleksdeteksjon.

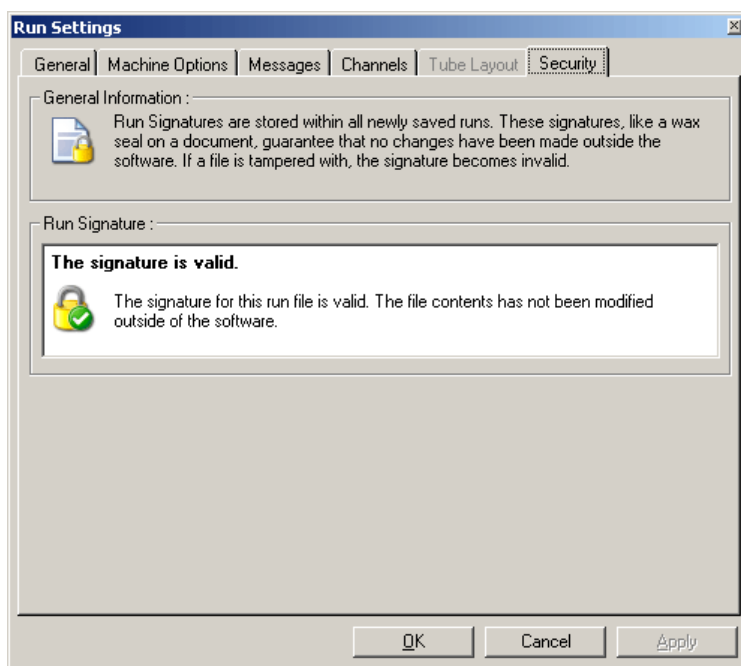
Røroppsett

Hvis du bruker en 72-Well Rotor, kan prøvene ordnes slik at de samsvarer mest mulig med merkingen på en 9 x 8-blokk. Som standard tillater fanen for røroppsett at prøver merkes sekvensielt (dvs. 1, 2, 3...). Det betyr at prøver merkes fortløpende i den rekkefølgen de plasseres i Rotor-Gene Q MDx. Alternativt kan prøvene merkes 1A, 1B, 1C osv. Dette alternativet er nyttig hvis prøvene er satt opp med en flerkanalspipette.

Sikkerhet

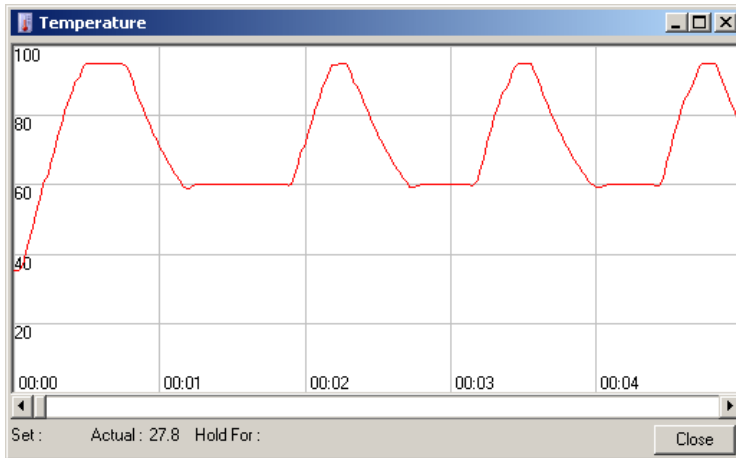
Fanen for sikkerhet viser informasjon om kjøringens signatur. Kjøringens signatur er en irreversibel nøkkel som genereres hver gang filen endres. Hvis det foretas endringer i *.rex-filen utenfor programvaren, vil ikke signaturen og filen samsvare lenger. Ved å kontrollere signaturen kan man få bekreftet at rådataene ikke er blitt endret utenfor applikasjonen, at profilen ikke er blitt manipulert, og at temperaturgrafen er gyldig. Signaturen beskytter også mot ødelagte data, f.eks. filsystemfeil.

Merk: Hvis *.rex-filer sendes med e-post, kan det hende at krypteringsprosessen gjør signaturen ugyldig. For å unngå dette må du zippe filen før sending.



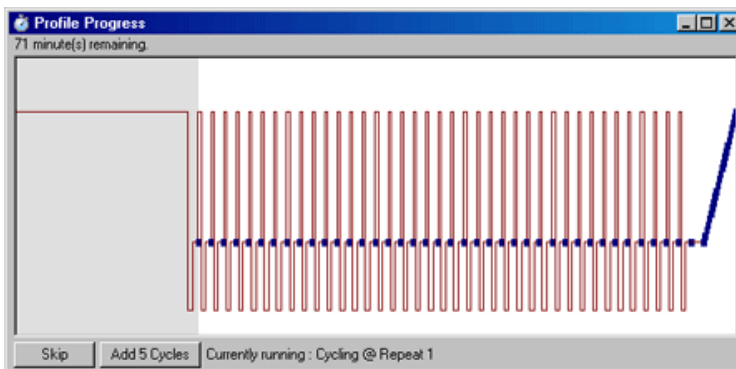
6.8.2 Temperaturgraf

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



6.8.3 Profilfremdrift

Velg Profile Progress (Profilfremdrift) fra menyen View (Visning), eller klikk på knappen Progress (Fremdrift) for å åpne vinduet Profile Progress (Profilfremdrift). Dette vinduet viser en grafisk fremstilling av den termiske profilen som er knyttet til kjøringen. Når en kjøring utføres, viser den skyggelagte delen av vinduet hvor mange sykluser som er fullført. Det gis også et estimat av hvor mange minutter som gjenstår av kjøringen.



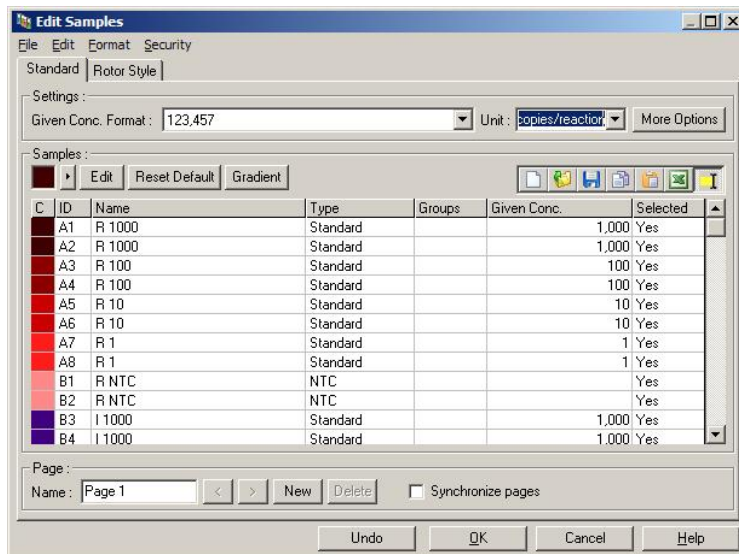
Skip (Hopp over):

Skip (Hopp over) gjør det mulig å hoppe over et hvilket som helst trinn i profilen.

Add 5 Cycles (Legg til 5 sykluser):

Add 5 Cycles (Legg til 5 sykluser) legger til 5 gjentakelser i gjeldende syklingstrinn.

6.8.4 Rediger prøver



Klikk på knappen Samples (Prøver) for å åpne vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Vinduet Edit Samples (Rediger prøver) kan også åpnes ved å høyreklikke på prøvelisten til høyre i skjermbildet. Dette vinduet fungerer på samme måte som vinduet Edit Samples (Rediger prøver) i veiviserne, bortsett fra at funksjonene i verktøylinjen også er tilgjengelige i menyene File (Fil) og Edit (Rediger).

Fire menyer vises øverst i vinduet: File (Fil), Edit (Rediger), Format og Security (Sikkerhet). Menyene File (Fil) brukes til å opprette et nytt (tomt) vindu for Edit Samples (Rediger prøver), åpne en eksisterende prøvemal eller lagre prøvenavn som en mal for fremtidig bruk. Filendelsen for disse malfilene er *.smp. Menyene Edit (Rediger) brukes til å kopiere og lime inn rader. Menyene Security (Sikkerhet) gjør det mulig å låse prøvedefinisjonene.

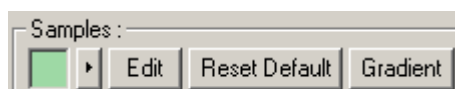
Merk: Hvis prøvenavnene legges inn veldig raskt under kjøringen (f.eks. ved bruk av en strekkodeleser), kan det føre til omstokking av bokstaver i prøvenavnene. Derfor anbefales det ikke å bruke en strekkodeleser, og ved behov heller legge inn prøvenavnene etter at kjøringen er ferdig.



Denne rullegardinmenyen brukes til å velge et egnet format for konsentrasjonsvisningen. Konsentrasjoner formateres automatisk i henhold til den valgte plasseringen.



Denne rullegardinmenyen angir måleenhetene for analysen.



Knapp**Betydning**

Line style (Linjestil):

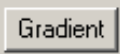
Linjestilen kan endres for å gjøre det lettere å lese grafene på svart-hvitt-utskrifter. Visse linjer kan utheves ved å endre stilen. For å få tilgang til denne funksjonen må du klikke på pil høyre-knappen ved siden av knappen Edit (Rediger).



Når du trykker på Edit, åpnes fargevelgeren. Du kan velge flere rader når du tilordner en farge til rø.



Klikk på Reset Default (Tilbakestill til standard) for å tilbakestille alle valgte fargeceller til standard fargeverdi.



Med Gradient kan du velge en gradient fra den første til den siste valgte fargen. Du kan definere flere gradienter i et prøveoppsett.



Ikonet New (Ny) tømmer vinduet Edit Samples (Rediger prøver) i påvente av nye data.



Ikonet Open (Åpne) åpner en dialogboks der du kan velge en Rotor-Gene Q MDx-fil som skal importeres.

Merk: Antall prøver i det åpne vinduet og i filen som importeres, må stemme overens.



Ikonet Save (Lagre) åpner en dialogboks der du kan angi navn og mappe for lagring av en kopi av de gjeldende prøvedefinisjonene.



Ikonet Copy (Kopier) kopierer de valgte cellene.



Ikonet Paste (Lim inn) limer inn celler som er valgt med kopieringskommandoen, i den valgte posisjonen i rutenettet.



Ikonet Excel åpner en dialogboks der du blir bedt om et filnavn og en mappe der prøveinformasjonen skal lagres. Når du trykker på Save (Lagre), åpnes Excel-filen automatisk.



Ikonet Append/Overwrite (Tilføy/overskriv) endrer redigeringen av celler i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Hvis du velger Overwrite (Overskriv), blir eksisterende data overskrevet når du redigerer. Hvis du velger Append (Tilføy), blir nye data lagt til etter de eksisterende dataene når du redigerer.

Sample Types (Prøvetyper):

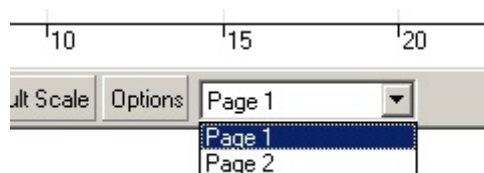
Prøver kan defineres som én av flere typer, som beskrevet i følgende tabell.

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

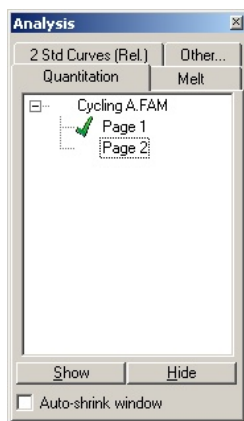
Page (Side):

Med denne funksjonen kan brukeren ha forskjellige prøvedefinisjoner, og separate eksperimenter, i samme kjøring. Dette er nyttig for å kunne analysere ulike produkter i ulike kanaler. Bruk pilknappene for å bytte mellom prøvesidene. Bruk knappene New (Ny) og Delete (Slett) for å opprette og slette sider. Det er mulig å ha flere prøvedefinisjoner for samme kanal, slik at du kan kjøre flere standardkurver uten multipleksing. Du må da definere de aktuelle prøvene og de tilhørende standardkurvene på separate sider. Den enkelte kanal kan deretter analyseres med hvert sett med definisjoner. Prøvesider kan merkes med Page 1 (Side 1), Page 2 (Side 2) osv., eller de kan gis et annet navn (f.eks. Housekeeper (Husholdning)). Dette navnet vil vises i rapporter.

Ved visning av rådataene kan prøvedefinisjonene som brukes til å vise dataene, velges fra rullegardinmenyen ved siden av knappen Options (Alternativer):



Prøvesiden som skal brukes ved gjennomføring av en analyse, kan velges i vinduet Analysis (Analyse) (se avsnitt 6.6.1).



Given Conc. (Gitt konsentrasjon):

Viser konsentrasjonen for hver av standardene. Enhetene kan defineres som et desimaltall eller log-tall. Hvis standardene utgjør en fortyngningsserie, er det tilstrekkelig å skrive inn de 2 første standardene. Når du trykker på ENTER, legger programmet automatisk til den neste logiske fortyngningen i serien.

Line style (Linjestil):

Linjestilen kan endres for å gjøre det lettere å lese grafene på svart-hvitt-utskrift. Visse linjer kan utheves ved å endre stilen. For å få tilgang til denne funksjonen må du klikke på pil høyre-knappen ved siden av knappen Edit (Rediger).



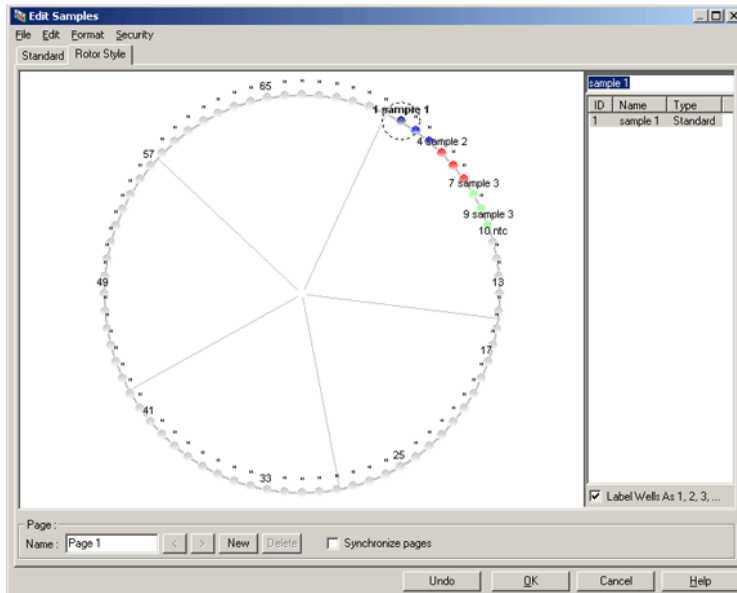
Verktøylinjen viser standardstilen Solid (Heltrukket). Denne kan endres til Dashed (Stiplet), Dotted (Prikket), Hairline (Hårstrekk), Thin (Tynn) eller Thick (Tykk). Når du er ferdig, klikker du på pil venstre-knappen for å gå tilbake til visningen Edit (Rediger), Reset Default (Tilbakestill til standard) og Gradient.



- Inndata i flere rader: Hvis du må legge inn samme informasjon i flere rader samtidig, velger du alle radene før du begynner å skrive. Informasjonen vil da bli lagt inn i alle radene. Dette fungerer også når du velger prøvetyper og farger, og når du legger inn konsentrasjoner.
- Hurtigtast for prøvetype: For å velge en prøvetype raskt skriver du første bokstav i navnet. Hvis du for eksempel vil angi 5 prøver som skal være ikke-templatkontroller, velger du dem i kolonnen for prøvetype og trykker på N for NTC. Alle prøvene vil da bli konvertert til NTC.
- Lagre og bruk på nytt: En fullstendig prøvebeskrivelse kan lagres som en prøvefil (*.smp) og lastes inn i fremtidige kjøring som har samme prøvekonfigurasjon.

Rotorstil

Denne fanen i vinduet Edit Samples (Rediger prøver) gir en alternativ måte å legge inn prøvenavn på. Velg replikater ved å klikke og dra musepekeren over rotorbildet. Listen til høyre i vinduet oppdateres. Prøvenavnet kan skrives inn, og dette vil gi samme navn til det aktuelle utvalget. Programvaren gjenkjenner disse brønnene som replikater.

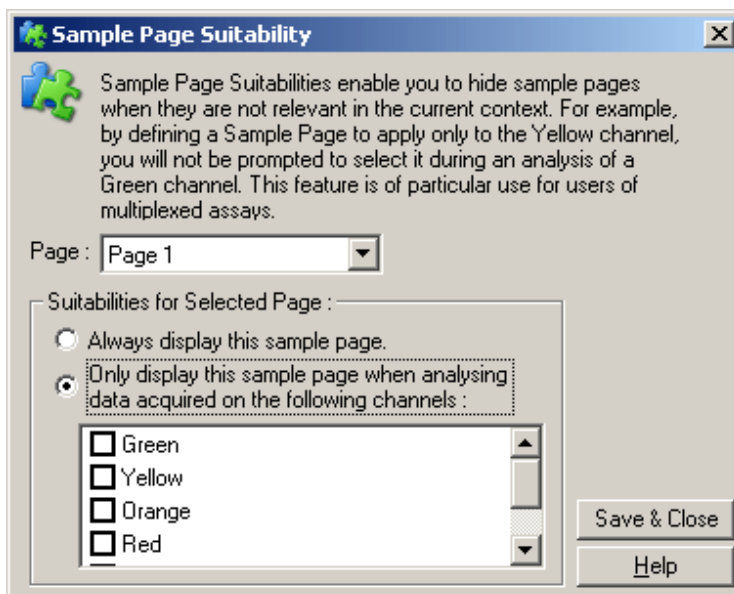


Fanen Rotor Style (Rotorstil) er en kortfattet versjon av fanen Standard og er beregnet på brukere som vil sette opp prøvenavn og farger raskt. Noen innstillinger kan ikke defineres i denne fanen, f.eks. om prøven representerer en standard, eller den kjente konsentrasjonen for hver standard. Hvis du trenger å definere disse innstillingene, må du bruke fanen Standard.

Prøvesiders egnethet

For å åpne vinduet Sample Page Suitability (Prøvesiders egnethet) må du klikke på More Options (Flere alternativer) i vinduet Edit Samples (Rediger prøve), og deretter klikke på Define Suitabilities (Definer egnethet). Vinduet Sample Page Suitability (Prøvesiders egnethet) gjør det mulig for brukeren å matche prøvesider til kanaler. For eksempel kan prøvesiden for interessegenet gjelde for den grønne kanalen, og prøvesiden for husholdningsgenet kan gjelde for den gule kanalen. I dette eksemplet vil oppsett av prøvesiders egnethet redusere antall tilgjengelige analysealternativer til kun de som er relevante for den bestemte analysen.

Vinduet Sample Page Suitability (Prøvesiders egnethet) vises nedenfor.

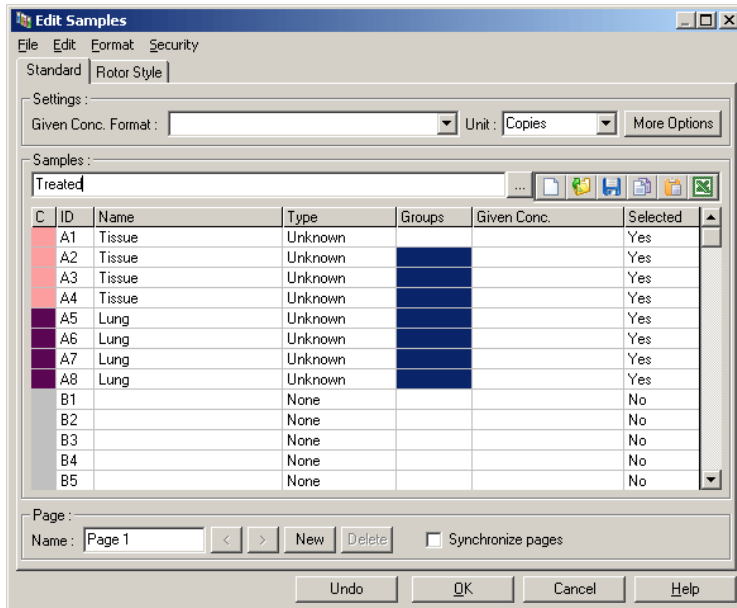


Merk: Når du setter opp en analyse, oppretter du alle prøvesidene og deres egnethet, og lagrer dem deretter som en mal. Dette vil redusere mengden oppsett som kreves for hver kjøring.

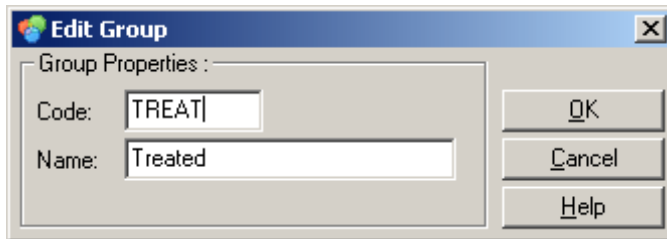
Grupper

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

1. For å definere en gruppe må du skrive det fullstendige navnet på gruppen ved siden av en prøve, og deretter trykke på ENTER.



2. Vinduet Edit Group (Rediger gruppe) vises.

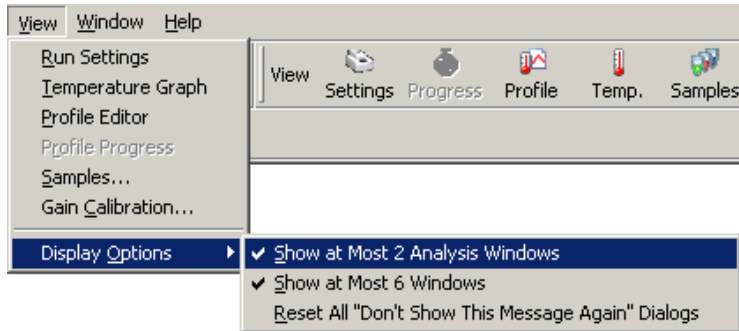


3. Lag en egnet forkortelse, og klikk på OK. Forkortelsen kan nå brukes til å sette opp grupper. Aggregerte resultater, f.eks. gjennomsnittsverdi og 95 % konfidensintervall, beregnes automatisk for grupper i alle analyser.

No.	Name	Type	Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Stc	Rep. Ct (95% CI)	Rep.
A1	Tissue	Unknown	18.82				18.75	0.17	[18.48 , 19.02]	
A2	Tissue	Unknown	18.75							
A3	Tissue	Unknown	18.92							
A4	Tissue	Unknown	18.52							
A5	Lung	Unknown	18.73				18.70	0.09	[18.55 , 18.85]	
A6	Lung	Unknown	18.62							
A7	Lung	Unknown	18.81							
A8	Lung	Unknown	18.63							
A1-A8	Treated	Group					18.72	0.13	[18.62 , 18.83]	

6.8.5 Visningsalternativer

Menyen Display Options (Visningsalternativer) vises nedenfor.



Show at Most 2 Analysis Windows (Vis maks. 2 analysevinduer):

Hvis du merker av for dette alternativet, vises maksimalt 2 analysevinduer samtidig. Hvis du åpner flere vinduer, kan lesbarheten bli påvirket. Hvis du har merket av for dette alternativet, lukkes det første analysevinduet og erstattes med det siste vinduet som ble åpnet. Hvis alternativet ikke er merket av, kan du vise mer enn 2 analysevinduer samtidig.

Show at Most 6 Windows (Vis maks. 6 vinduer):

For å forbedre lesbarheten fjerner programvaren ubrukte vinduer når nye vinduer åpnes. Dette alternativet er aktivert som standard og gir god oversikt over skjermbildet i Rotor-Gene Q-programvaren. Hvis det er nødvendig å vise mer enn 6 vinduer samtidig, fjerner du merket fra dette alternativet.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs (Tilbakestill alle dialogbokser av typen Ikke vis denne meldingen igjen):

Hvis dette alternativet er valgt, vil programvaren vise alle dialogbokser der avmerkingsboksen Do not display this message again (Ikke vis denne meldingen igjen) ble merket av, på nytt. Dette omfatter meldinger om mistenkelige innstillinger som tidligere er blitt merket for ikke å vises på nytt. Dette kan være praktisk for en ny bruker som ikke er kjent med Rotor-Gene Q MDx eller Rotor-Gene Q-programvaren.

6.9 Tilgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-programvaren

Merk: Dette kapittelet beskriver tilgangsbeskyttelse for Rotor-Gene Q-programvaren. Se *brukerhåndboken for Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application* eller *brukerhåndboken for Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application* for informasjon om den relevante Rotor-Gene AssayManager-programvaren.

Rotor-Gene Q-programvaren inneholder funksjoner som bidrar til sikker drift. Når Rotor-Gene Q-programvaren er riktig konfigurert, bidrar den til å sikre følgende:

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

Integrasjon med Windows Security

For å sikre et sterkt ansvarsnivå håndterer ikke Rotor-Gene Q-programvaren sikkerhet internt. Både kontoer, grupper og passord blir håndtert med den innebygde sikkerhetsmodellen i Windows (Windows Security). Integrasjon innebærer at det samme passordet som gir tilgang til nettverksfiler og programmer, kan brukes til å styre tilgangen til Rotor-Gene Q-programvaren, slik at det blir mindre å administrere. I større organisasjoner for eksempel, kan nettverksadministratorer enkelt fjerne tilgang for tidligere brukere som følge av den sentraliserte sikkerhetsmodellen.

Av den grunn innebærer et sikkert oppsett av Rotor-Gene Q-programvaren først og fremst å konfigurere sikkerhetsrollene i Windows i henhold til beste praksis.

Forutsetninger

For å bruke sikkerhetsfunksjonene må du kjøre Windows 10 eller Windows 7 Professional Edition. Sikkerhetsfunksjonene kan ikke brukes med Windows 10 eller Windows 7 Home Edition, ettersom Home-utgavene ikke har den avanserte tilgangsmodellen som programvaren bruker. Programvaren må installeres med alternativet Force authentication through Windows domain (Tving autentisering via Windows-domene).

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

6.9.1 Konfigurasjon for Windows 7

Dette avsnittet beskriver hvordan du setter opp systemet for å kjøre Rotor-Gene Q-programvaren på en sikker måte.

For å bruke sikkerhetsfunksjonene må programvaren installeres med alternativet Force authentication through Windows domain (Tving autentisering via Windows-domene). Da vil Windows-domenet bli spurt om ditt tilgangsnivå og din påloggingsinformasjon, noe som er avgjørende for å håndtere ansvars- og sikkerhetsfunksjoner.

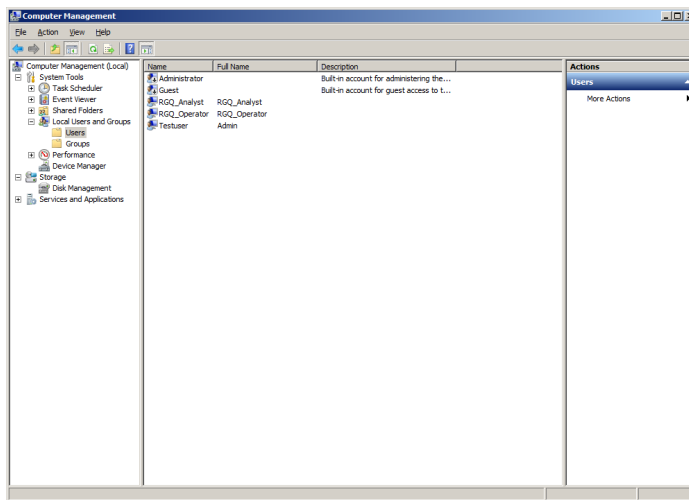
Bruke datamaskinen som administrator

Mange bruker datamaskinen sin som administrator, uten passord. Selv om dette er praktisk, blir det umulig å vite hvem som bruker datamaskinen. Det gjør bruken lite etterrettelig og forhindrer at mange av sikkerhetsfunksjonene i Rotor-Gene Q-programvaren aktiveres. Når du bruker datamaskinen som administrator, er alle programvarefunksjoner aktivert. Administratorrollen sikrer derfor at brukere som ikke trenger sikkerhetsfunksjoner, får tilgang til alle programvarefunksjonene.

Opprette en ny brukerkonto

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

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



3. Legg inn et brukernavn og passord. Brukeren opprettes som standard med normale tilgangsrettigheter. Det betyr at de kan kjøre programvaren, men ikke installere nye programmer eller endre systeminnstillinger.

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 5 dots)
- Confirm password: (masked with 5 dots)
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons: Help, Create, Close

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

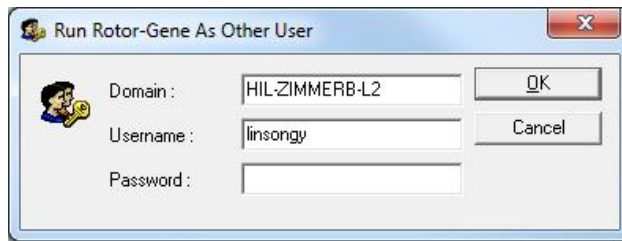
Tildel roller til hver bruker

Du må nå tildele roller til hver bruker. Tilgang er delt inn i følgende områder:

- Rotor-Gene Q Operator (Operatør) – kan utføre kjøring, men ikke generere rapporter eller utføre analyser
- Rotor-Gene Q Analyst (Analytiker) – kan analysere kjøringdata og generere rapporter, men kan ikke utføre nye kjøring
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Operatør og analytiker) – kan utføre handlingene til begge rollene
- Administrator – kan låse opp prøvenavn og utføre alle handlinger på analytiker- og operatørnivå
- None (Ingen) – har ikke tilgang til programvaren

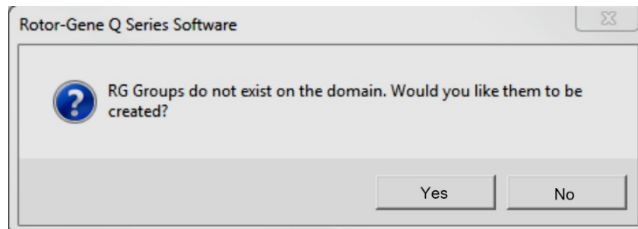
Slik tildeler du roller:

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

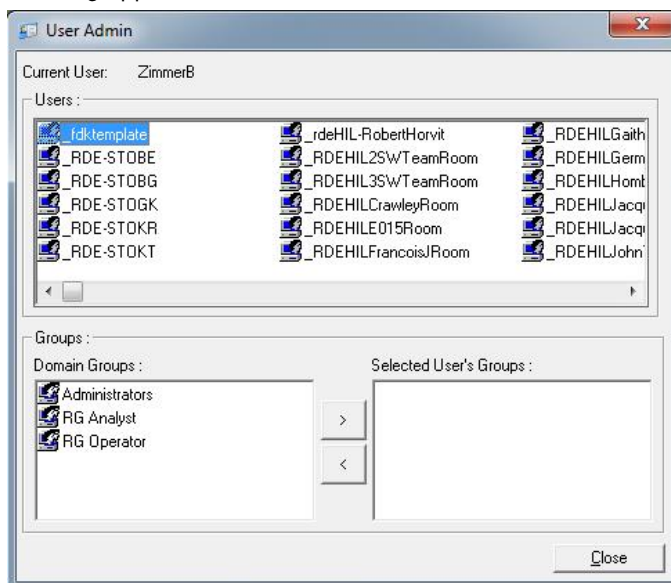


Merk: For å opprette RG Groups (RG-grupper) med Rotor-Gene Q-programvaren må du kjøre programvaren med administratorrettigheter. Dette gjør du ved å høyreklikke på skrivebordsikonet og velge Run as administrator (Kjør som administrator) i hurtigmenyen.

2. Når programvaren er åpnet, klikker du på menyen Security (Sikkerhet). Første gang du åpner menyen Security (Sikkerhet), konfigurerer Rotor-Gene Q-programvaren flere systemgrupper som skal styre tilgangen til programvaren.

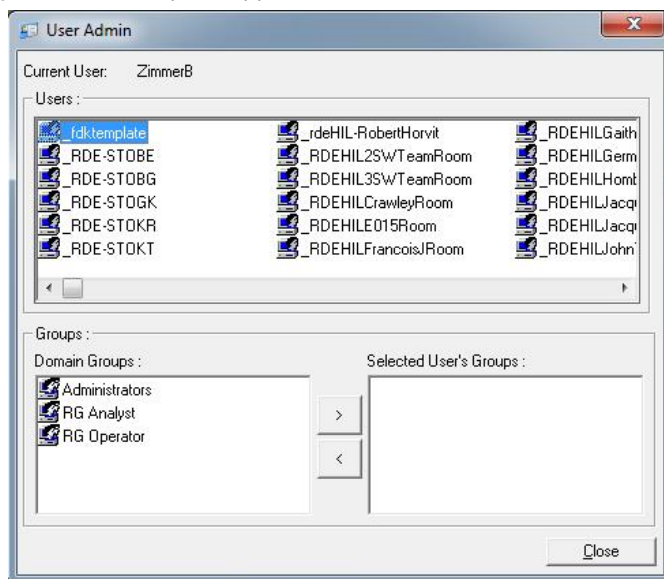


3. Klikk på Yes (Ja). Vinduet User Admin (Brukeradministrasjon) vises. I den øverste delen vises alle brukerne av datamaskinen. Noen kontoer brukes av systemet og vil derfor være ukjente. Den nederste delen viser gruppene som er tildelt brukeren.

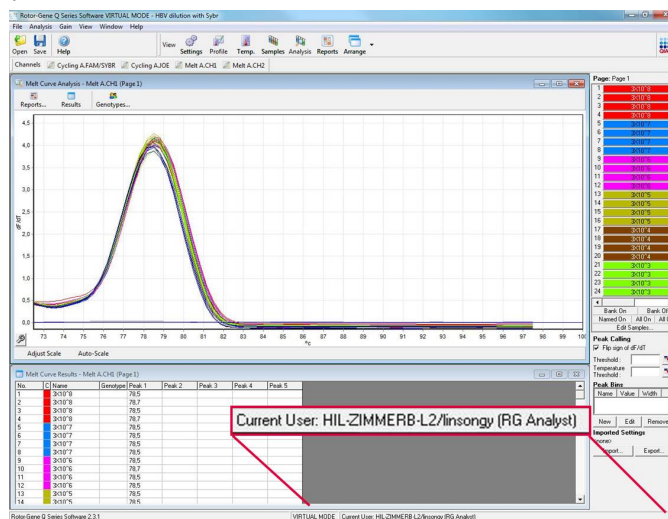


4. For å tildele en gruppe til en bruker velger du brukerens navn fra listen. Den nederste ruten oppdateres. Hvis brukeren ikke har noen grupper, kan ikke vedkommende starte programvaren.

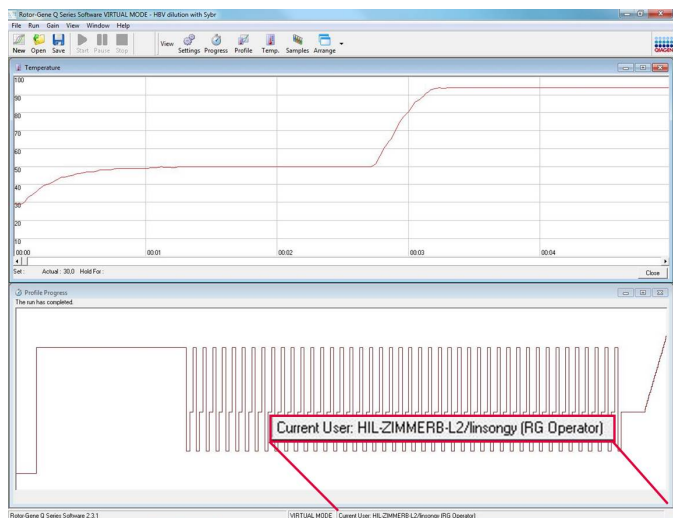
5. I eksempelet nedenfor tildeler vi brukeren linsongy til gruppen RG Analyst (Analytiker) ved å velge gruppen på venstre side og deretter klikke på knappen >. Grupper kan fjernes ved å velge dem og deretter klikke på knappen <.



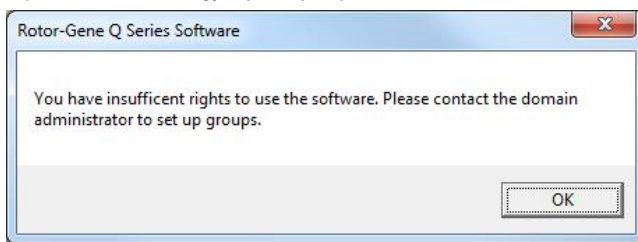
6. Nå kan du logge deg på som denne brukeren. Som RG Analyst (Analytiker) har du ikke tilgang til menyen Run (Kjøring) og knappen Profile (Profil). Eksisterende filer kan imidlertid åpnes og analyseres, som vist i skjermbildet nedenfor. Statuslinjen angir at brukeren linsongy er en RG Analyst (Analytiker).



7. Hvis du logger på som administrator igjen, kan du tildele rettigheter som RG Operator (Operatør) til linsongy, og fjerne rettighetene som RG Analyst (Analytiker). Deretter må programvaren startes på nytt. Denne gangen er det menyen Analysis (Analyse) og knappen Reports (Rapporter) som mangler, mens menyen Run (Kjøring) er aktivert. Statuslinjen angir at brukeren linsongy hører til gruppen RG Operator (Operatør).



8. Hvis du logger deg på som administrator og fjerner alle gruppene fra brukeren linsongy, vil følgende melding vises når linsongy åpner programvaren.



6.9.2 Konfigurasjon for Windows 10

Dette avsnittet beskriver hvordan du setter opp systemet for å kjøre Rotor-Gene Q-programvaren på en sikker måte.

For å bruke sikkerhetsfunksjonene må programvaren installeres med alternativet Force authentication through Windows domain (Tving autentisering via Windows-domene). Da vil Windows-domenet bli spurt om ditt tilgangsnivå og din påloggingsinformasjon, noe som er avgjørende for å håndtere ansvars- og sikkerhetsfunksjoner.

Bruke datamaskinen som administrator

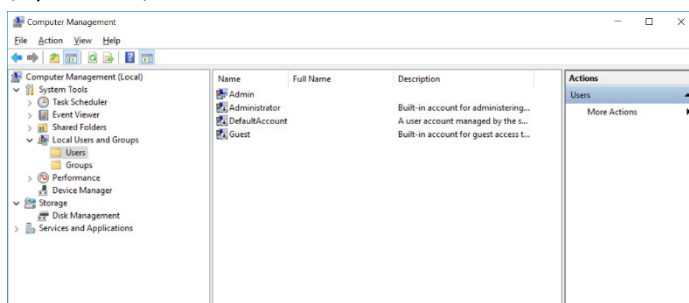
Mange bruker datamaskinen sin som administrator, uten passord. Selv om dette er praktisk, blir det umulig å vite hvem som bruker datamaskinen. Det gjør bruken lite etterrettelig og forhindrer at mange av sikkerhetsfunksjonene i Rotor-Gene Q-programvaren aktiveres.

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

Opprette en ny brukerkonto

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

1. For å opprette en ny bruker velger du Start, skriver inn Computer Management (Datamaskinbehandling), trykker på Enter og går til Local Users and Groups (Lokale brukere og grupper) på venstre side.
2. I vinduet som vises, velger du mappen Users (Brukere). Høyreklikk i høyre del av vinduet og velg New User... (Ny bruker...).



3. Legg inn et brukernavn og passord. Brukere opprettes som standard med normale tilgangsrettigheter. Det betyr at de kan kjøre programvaren, men ikke installere nye programmer eller endre systeminnstillinger.

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

Tildele roller til hver bruker

Du må nå tildele roller til hver bruker. Tilgang er delt inn i følgende områder:

- Rotor-Gene Q Operator (Operatør) – kan utføre kjøring, men ikke generere rapporter eller utføre analyser
- Rotor-Gene Q Analyst (Analytiker) – kan analysere kjøringsdata og generere rapporter, men kan ikke utføre nye kjøring
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Operatør og analytiker) – kan utføre handlingene til begge rollene
- Administrator – kan låse opp prøvenavn og utføre alle handlinger på analytiker- og operatørnivå
- None (Ingen) – har ikke tilgang til programvaren

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

6.9.3 Kjøre flere brukere på samme datamaskin

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

1. Ved hjelp av ikonet Rotor-Gene Q Software Login (Pålogging til Rotor-Gene Q-programvaren) kan brukere åpne brukerkontoen sin i Rotor-Gene Q-programvaren.



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

A Windows-style dialog box titled "Run Rotor-Gene As Other User". It contains three input fields: "Domain:" with the value "QIAGEN-PC", "Username:" with the value "Admin", and "Password:" which is empty. There are "OK" and "Cancel" buttons on the right side.

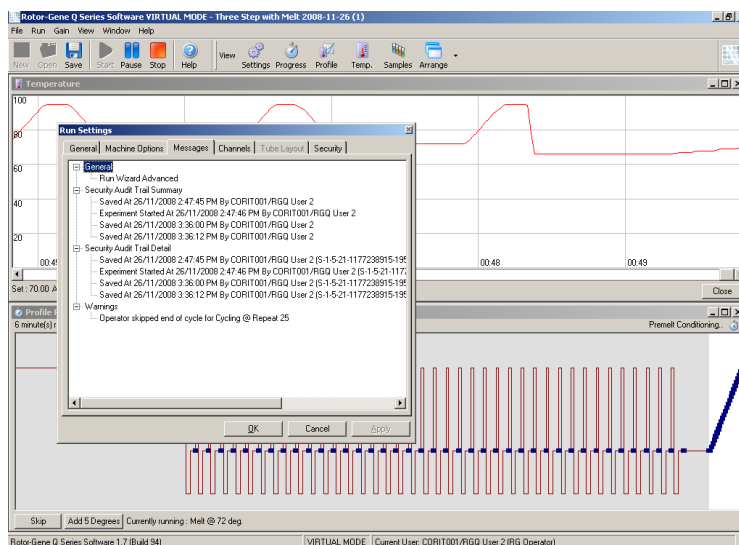
3. Domenet er enten datamaskinen du logger deg på, eller navnet på det lokale nettverket sammen med vertsnavnet. Kontakt din lokale nettverksadministrator hvis du er usikker på hvilket domene du skal angi.

Merk: Etter pålogging vil alle brukerfilene være tilgjengelige for denne brukeren. Hver bruker kan lagre filer på sitt eget område. Dette gir en høy grad av sikkerhet.

Merk: Alle brukere må logge ut når kjøringen er fullført, for å forhindre at andre brukere utfører en kjøring i deres navn.

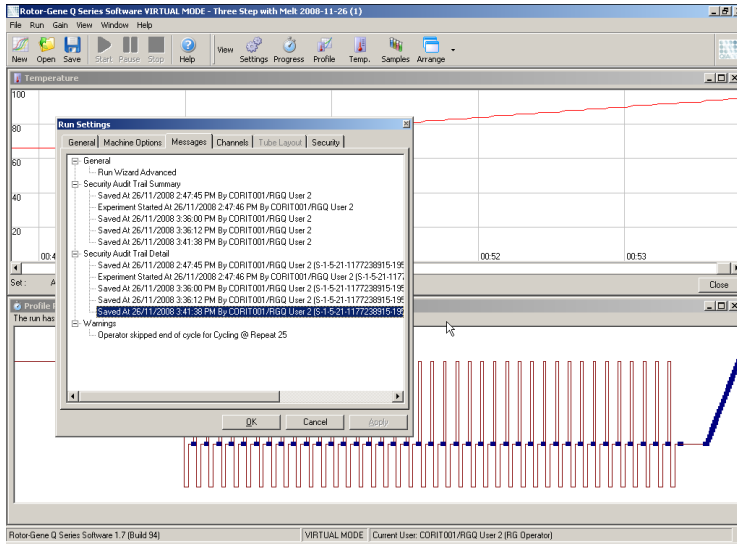
6.9.4 Revisjonssporing

Hver gang en bruker lagrer en fil, blir opplysninger om brukeren registrert i Run Settings (Kjøringsinnstillinger) under fanen Messages (Meldinger) som Security Audit Trail Summary (Sammendrag av sikkerhetsrelatert revisjonssporing) og Security Audit Trail Detail (Detaljer om sikkerhetsrelatert revisjonssporing).



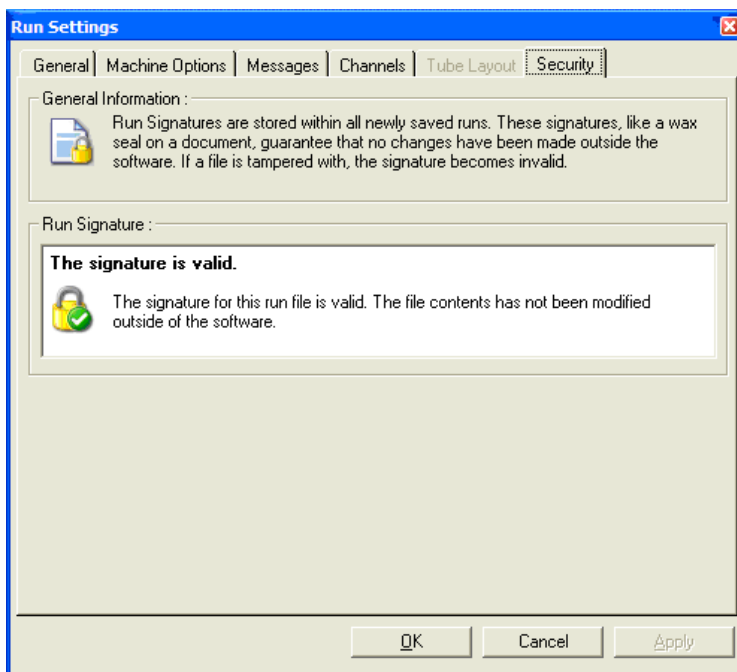
Dette gjør det mulig å overvåke hvem som har endret innholdet i en fil. Security Audit Trail Detail (Detaljer om sikkerhetsrelatert revisjonssporing) inneholder flere detaljer, f.eks. brukerens unike identifikator. Denne identifikatoren er viktig for å unngå at en bruker oppretter en konto med samme navn på en annen datamaskin, og på den måten utgir seg for å være en annen bruker. I et slikt tilfelle vil brukernavnene være like, mens konto-ID-ene vil være forskjellige.

Identifikatoren for kontoen CORIT001/RGQ User 2, S-1-5-21-1177238915-195 vises i detaljene.

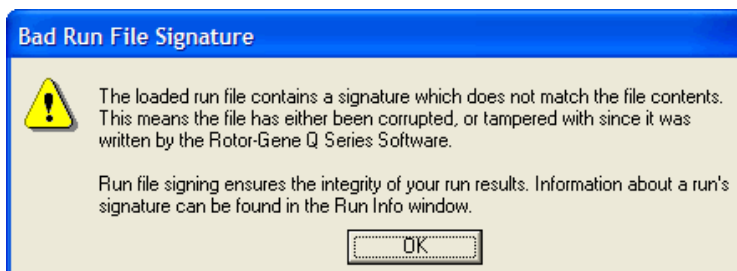


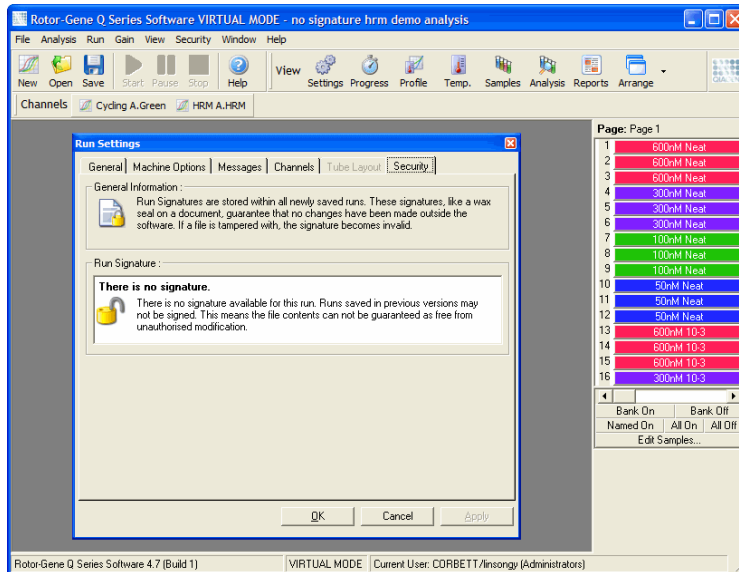
6.9.5 Kjørings-signaturer

Revisjonssporing lagres i Rotor-Gene Q-kjøringsfilen. For å unngå uønskede endringer i disse filene, må de lagres på et trygt sted som kun er tilgjengelig for utvalgte Windows-kontoer. Hvis filene likevel lagres på et delt område, kan Run Signatur (Kjørings-signatur) gi ekstra sikkerhet. Skjermbildet viser fanen Security (Sikkerhet) i Run Settings (Kjøringsinnstillinger) for en fil med en kjøringssignatur.



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





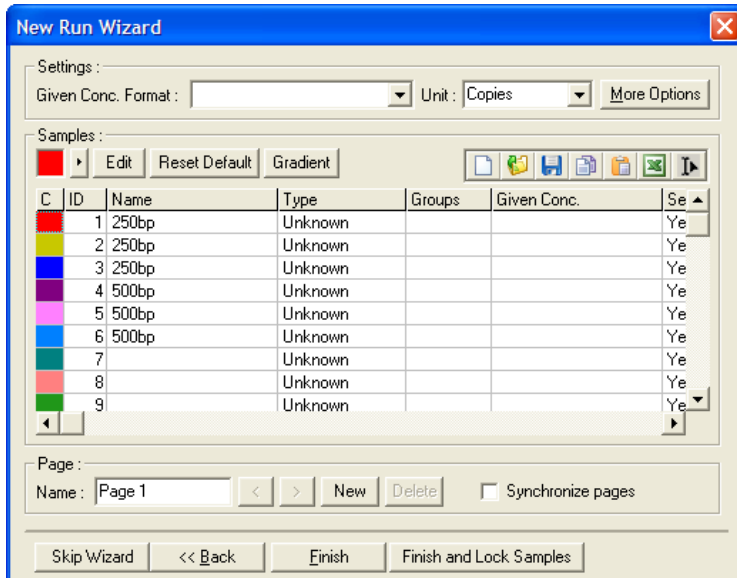
Merk: Hvis filer sendes med e-post, kan det hende at krypteringsprosessen gjør signaturen ugyldig. For å unngå dette må du zippe filen før sending.

6.9.6 Låsing av prøver

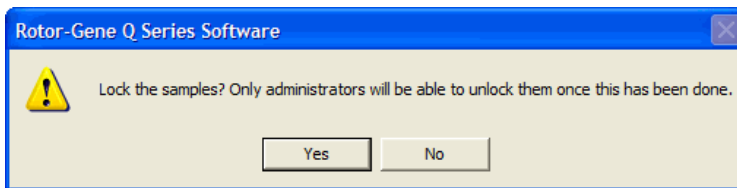
Det er viktig å sikre at det ikke skjer utilsiktede eller tilsiktede endringer i prøvenavn etter at brukeren har startet en kjøring. Derfor har Rotor-Gene Q-programvaren en funksjon for låsing av prøver. Alle brukere kan låse prøvenavn, men det er bare en administrator som kan låse dem opp. For brukere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

Merk: Hvis du vil låse prøver, må du ikke kjøre programvaren som administrator. Opprett en konto med gruppene RG Operator (Operatør) og RG Analyst (Analytiker), og hold administratorpassordet hemmelig. Brukere må dermed ha godkjenning fra administrator for å kunne låse opp filer.

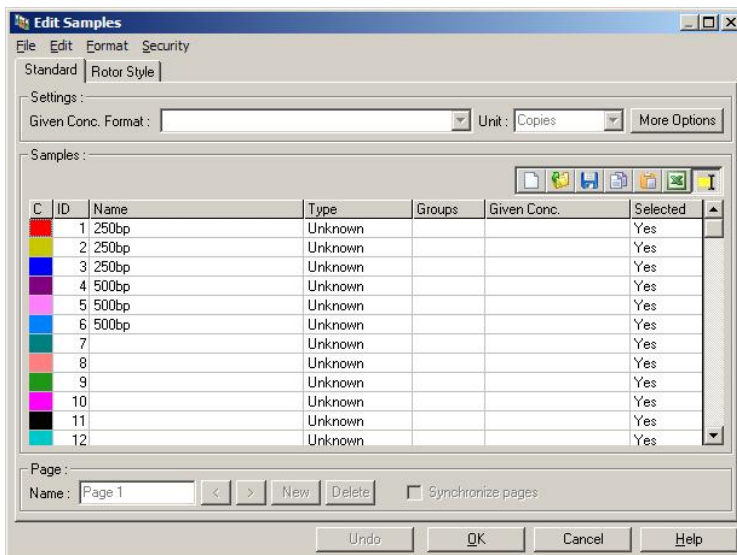
Prøver kan låses før kjøringen starter, ved hjelp av veiviseren Advanced (Avansert) ved å klikke på Finish and Lock Samples (Fullfør og lås prøver).



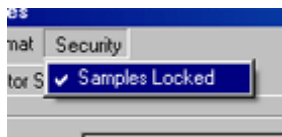
Følgende advarsel vises. Klikk på Yes (Ja) for å bekrefte.



Når prøvene er låst, vil det ikke lenger være mulig å redigere prøver i vinduet Edit Samples (Rediger prøver).



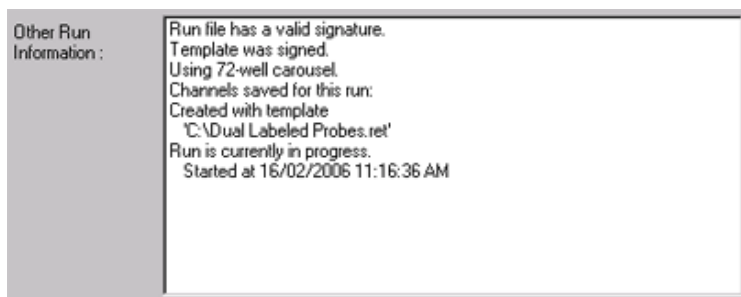
Prøver kan også låses og låses opp i vinduet Edit Samples (Rediger prøver). Det er imidlertid bare administratorer som kan låse opp prøver etter at de er blitt låst.



Alle uautoriserte endringer i filen vil føre til at kjøringssignaturen blir ugyldig.

6.9.7 Låste maler

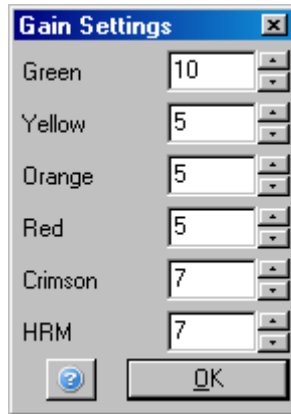
Det er for øyeblikket ikke mulig for en bruker å opprette skrivebeskyttede malfiler med Rotor-Gene Q-programvaren. Hvis det er ønskelig, er det imidlertid mulig å stille som krav at alle kjøring skal utføres med en spesifikk malfil. For å sikre at malen er skrivebeskyttet, må den lagres på en nettverksstasjon der brukere ikke kan endre data. Brukere kan fremdeles kjøre og endre sine egne profiler, men malen på nettverksstasjonen er beskyttet. For å spore hvilken mal som er blitt brukt, lagrer Rotor-Gene Q-programvaren navnet på malfilen som ble kjørt. Denne informasjonen finner du ved å klikke på knappen Settings (Innstillinger) og deretter åpne vinduet Run Settings (Kjøringsinnstillinger). Malinformasjonen er lagret i Other Run Information (Annen kjøringinformasjon).



6.10 Forsterkningsmenyen

Klikk på menyen Gain (Forsterkning) for å vise Gain Settings (Forsterkningsinnstillinger) for gjeldende kjøring. Dette angir forsterkningen for den spesifiserte kanalen før en kjøring. Forsterkningsinnstillinger er de samme som ved forrige kjøring. Disse kan endres hvis kjøringen ikke har startet ennå eller befinner seg i de innledende syklusene. Bruk pil opp/ned ved siden av hvert tekstfelt for å endre dem. Klikk deretter på OK.

Forsterkningen kan endres under de innledende syklusene. Det tegnes en rød linje i den aktuelle kanalen som viser hvor forsterkningen ble endret. Sykluser før forsterkningsendringen vil bli utelukket fra analysen.



6.11 Vindumenyen

Med denne menyen kan vinduene plasseres side ved side vertikalt eller horisontalt, eller overlappet. Du får tilgang til flere alternativer ved å klikke på pilen til høyre for knappen Arrange (Ordne).

6.12 Hjelpfunksjon

Når du bruker knappen Help (Hjelp) eller menyen Help (Hjelp), åpnes følgende rullegardinmeny.

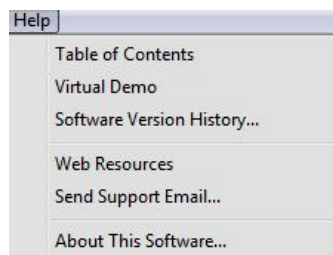


Table of Contents
(Innholdsfortegnelse):

Gir tilgang til hjelpfunksjonen.

Virtual Demo (Virtuell demo):

Kobler til en side på QIAGENS nettsted som inneholder en interaktiv demonstrasjon av programvaren.

Software Version History...
(Historikk for programvareversjon...):

Gir en korrfattet oversikt over nye funksjoner som er lagt til siden forrige installerte programvareversjon.

Web Resources (Nettressurser):

Åpner en side på QIAGENS nettsted i et nytt vindu i nettleseren med oppdatert informasjon om Rotor-Gene Q MDx-instrumenter og tilhørende reagenser.

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

Gir informasjon om den tilkoblede maskinen, serienummeret til Rotor-Gene Q MDx og programvareversjonen.

6.12.1 Send e-post til brukerstøtte

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

Hvis det er første gang du bruker e-postfunksjonen for brukerstøtte på den bærbare datamaskinen som noen ganger leveres med Rotor-Gene Q MDx (avhengig av land), må du konfigurere e-postinnstillingene dine.

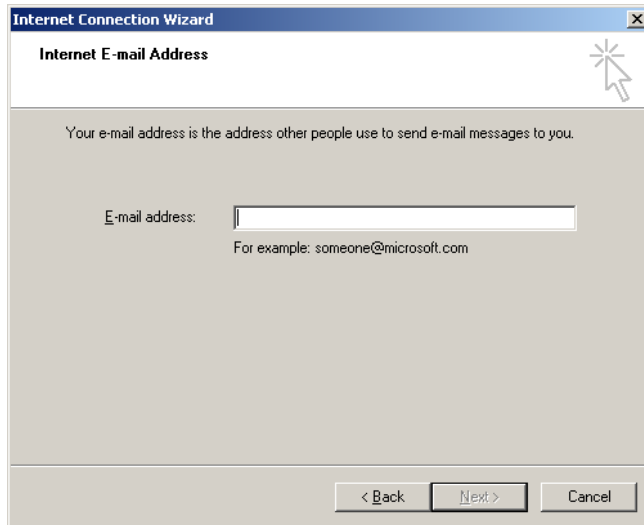
Merk: Du kan legge inn oppføringene for selskapets IT-sjef.

Konfigurere e-postinnstillinger

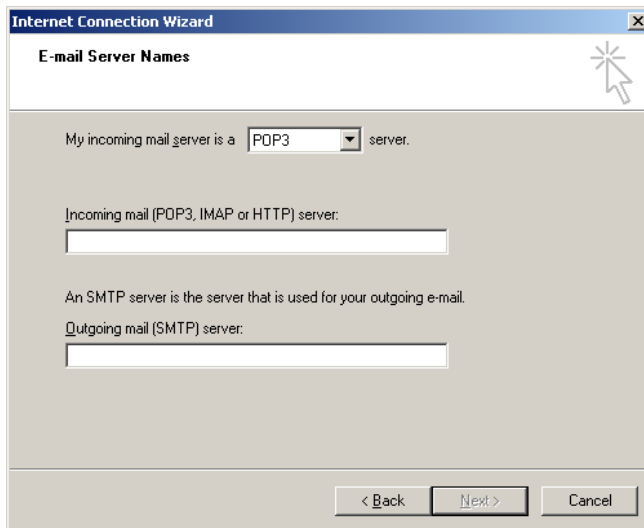
Klikk på alternativet Send Support Email... (Send e-post til brukerstøtte...). Følgende vindu åpnes.



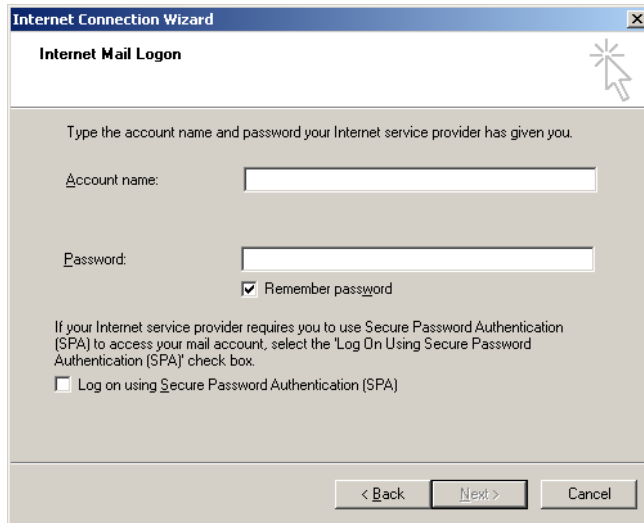
1. Skriv inn navnet ditt, og klikk på Next (Neste). Vinduet Internet E-mail Address (E-postadresse på Internett) åpnes.



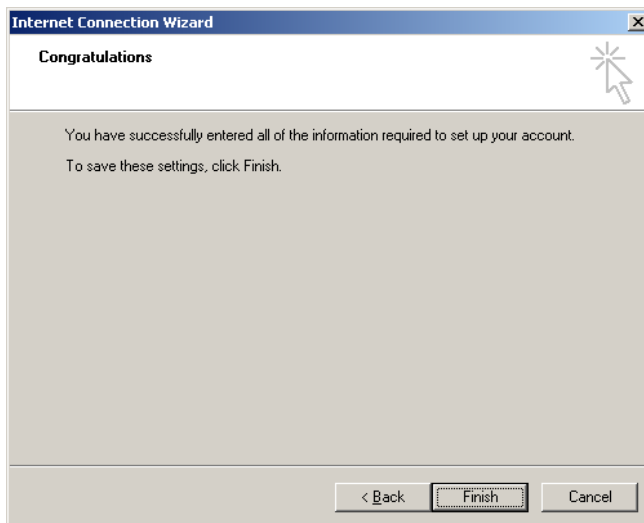
2. Skriv inn e-postadressen din, og klikk på Next (Neste). Vinduet E-mail Server Names (Navn på e-postservere) åpnes.



3. Velg typen e-postserver for inngående e-post, og angi servernavnene for inngående og utgående e-post. Klikk deretter på Next (Neste). Vinduet Internet Mail Logon (Internet Mail-pålogging) åpnes.



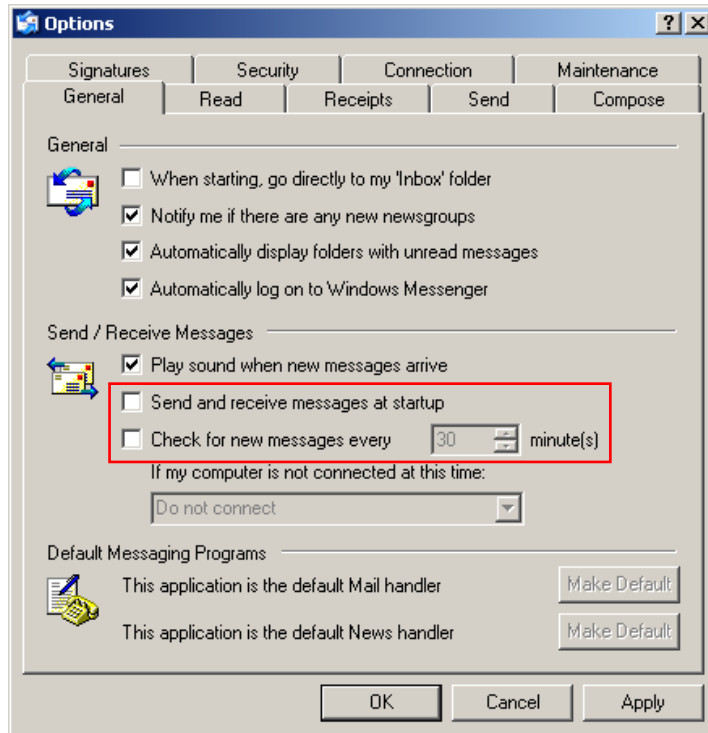
4. Skriv inn kontonavnet og passordet for e-postkontoen hvis serveren din bruker sikker passordgodkjenning. Klikk deretter på Next (Neste). Vinduet Congratulations (Gratulerer) åpnes.



5. Bekreft med Finish (Fullfør) for å fullføre oppsettet av e-postkontoen.

Oppsett i Outlook

1. Åpne Outlook Express fra menyen Start (Start > All programs (Alle programmer) > Outlook Express).
2. Velg Tools (Verktøy) og deretter Options (Alternativer). Vinduet nedenfor vises.



Viktig: For å unngå at det lastes ned e-post under PCR-kjøringer, må du deaktivere standardinnstillingene i skjermbildet Send/Receive Messages (Send/motta meldinger).

3. Deaktiver Send and receive messages at startup (Send og motta meldinger ved oppstart).
4. Deaktiver Check for new messages every 30 minutes (Se etter nye meldinger hvert 30. minutt).
5. Bekreft endringene med OK.

7 Tilleggsfunksjoner

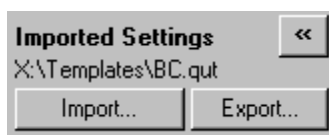
7.1 Analysemal

Noen analyser krever at brukeren definerer terskler, normaliseringsinnstillinger og genotypeinnstillinger. Ofte blir disse innstillingene brukt på nytt i mange eksperimenter.

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

Kvantifisering, smelting, alleldiskriminering, analyse med spredningsgraf og EndPoint-analyse støtter analysemal. Disse analysene gjør det mulig for brukeren å eksportere en mal som er unik for analysen (en kvantifiseringsanalyse tillater for eksempel eksport og import av *.qut-filer som inneholder kvantifiseringsinnstillinger).

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

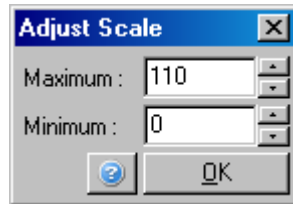


7.2 Åpne en sekundær kjøring

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

7.3 Skaleringsalternativer

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



For å få tilgang til Auto-Scale (Automatisk skalering) må du klikke på Auto-Scale... (Automatisk skalering...) nederst i hovedvinduet, eller høyreklikke på grafen og velge Auto-Scale... (Automatisk skalering...) i menyen som vises. Auto-Scale (Automatisk skalering) forsøker å tilpasse skalaen til dataenes maksimums- og minimumsavlesninger.

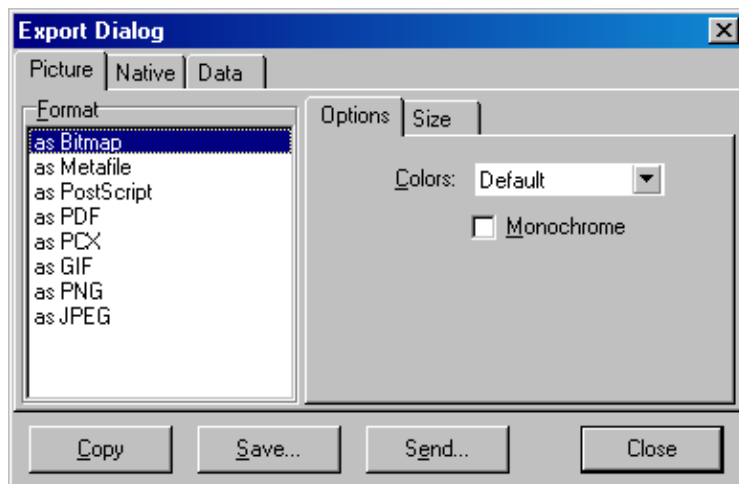
For å få tilgang til Default Scale (Standard skala) må du klikke på Default Scale... (Standard skala...) nederst i hovedvinduet, eller høyreklikke på grafen og velge Default Scale... (Standard skala...) i menyen som vises. Default Scale (Standard skala) tilbakestiller skalaen slik at den viser fra 0 til 100 fluorescensenheter.

7.4 Eksportere grafer

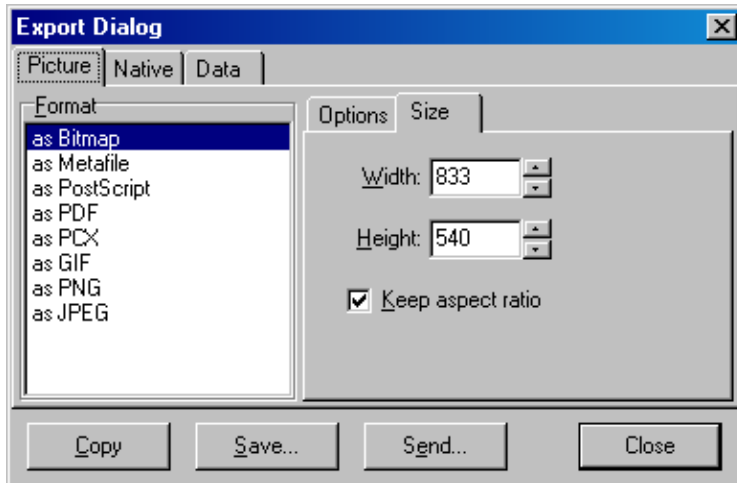
Bildeeksport

De følgende trinnene beskriver hvordan du lagrer et bilde.

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



3. Velg fanen Size (Størrelse), og spesifiser ønsket størrelse.



4. Merk av i avmerkingsboksen Keep aspect ratio (Behold størrelsesforhold) for at bildet skal beholde de riktige proporsjonene når du justerer størrelsen.

5. Klikk på Save (Lagre), og velg filnavn og plassering for filen i dialogboksen som vises.

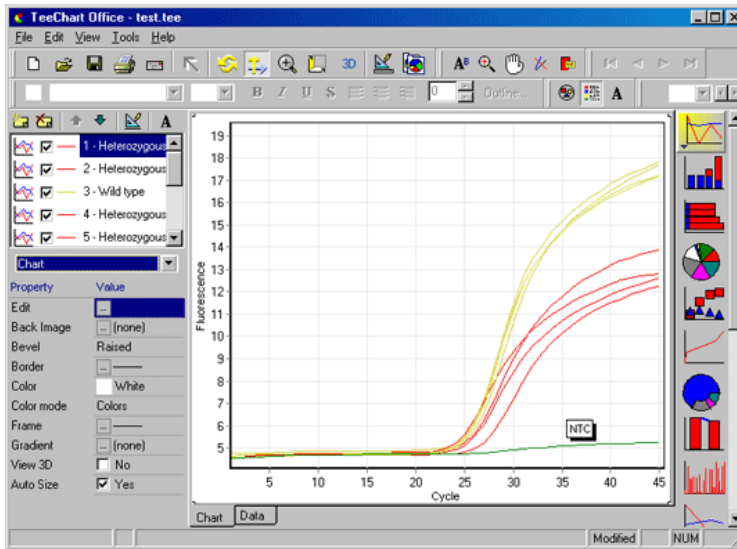
Hvis du må ha et bilde med høyere oppløsning, anbefaler vi at du enten øker størrelsen på bildet til det oppfyller kravene, eller at du lagrer grafen som en metafile (*.emf, *.wmf). Dette er et vektorbasert format som kan åpnes med programvare av typen Adobe® Illustrator®, der brukeren kan opprette et bilde med en hvilken som helst oppløsning.

Eksport i opprinnelig format

Grafer i Rotor-Gene Q-programvaren bruker tredjepartskomponenten TeeChart®, som er utviklet av Steema Software. For lagre en graf i opprinnelig format må du velge fanen Native (Opprinnelig) i vinduet Export Dialog (Dialogboks for eksport) (se forrige skjermbilde), og klikke på Save (Lagre). Det opprinnelige formatet er standard TeeChart-filformat. Dette gjør det mulig å bruke TeeChart Office fra Steema Software. TeeChart Office er tilgjengelig som gratisprogram og installeres som en del av Rotor-Gene Q-programvarepakken. For å få tilgang til programvaren må du klikke på ikonet TeeChart på skrivebordet.

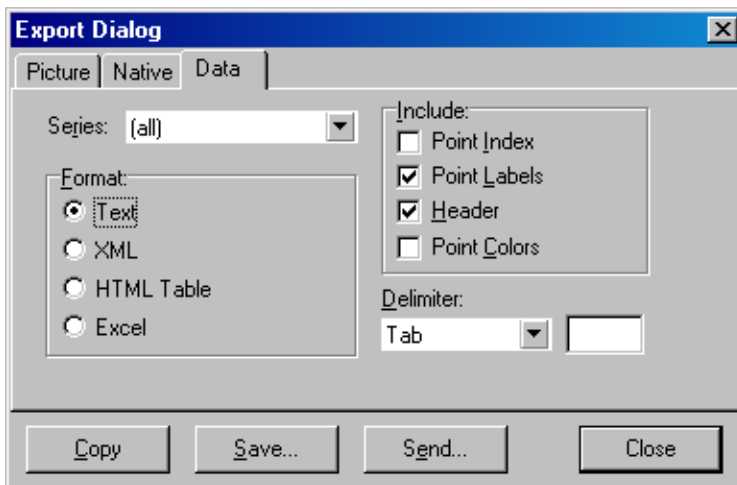


I TeeChart Office kan du bearbeide eksporterte grafer, herunder endre farger på kurver, legge til kommentarer, endre skrifttyper og justere datapunkter.




Dataeksport

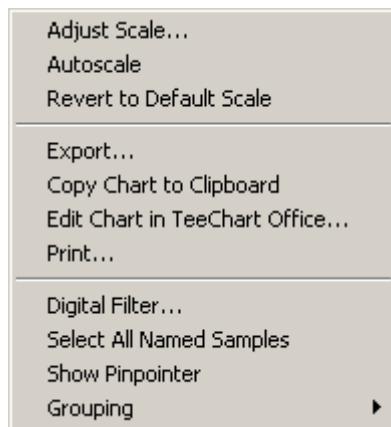
For å eksportere data i ulike formater velger du fanen Data i vinduet Export Dialog (Dialogboks for eksport). Den eksporterte filen inneholder rådatapunktene som ble brukt i grafen.



Du kan også eksportere rådata og analysedata ved å velge Save As (Lagre som) i menyen File (Fil) (se avsnitt 6.5).

7.5 Skiftenøkkelikon

Skiftenøkkelikonet  vises nederst til venstre i hovedvinduet. Hvis du klikker på skiftenøkkelikonet, får du tilgang til flere alternativer. Du kan også få tilgang til disse alternativene ved å høyreklikke på grafen.



Adjust Scale (Juster skala), Se avsnitt 7.3.
Autoscale (Automatisk skalering),
Revert to Default Scale
(Gjenopprett standard skala):

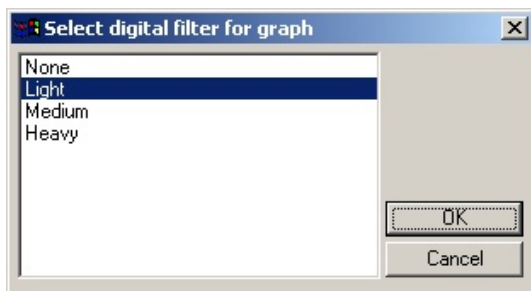
Export... (Eksport...): Lagrer grafen i ulike formater (se avsnitt 6.4).

Copy Chart to Clipboard (Kopier diagram til utklippstavle): Kopierer bildet av grafen til utklippstavlen.

Edit Chart in TeeChart Office... (Rediger diagram i TeeChart Office...): Åpner grafen for redigering direkte i TeeChart Office (se avsnitt 6.4).

Print (Skriv ut): Skriver ut grafen.

Digital Filter... (Digitalt filter...): Endrer det valgte digitale filteret på grafen. Det digitale filteret jevner ut data ved hjelp av et skyvevindu med punkter.

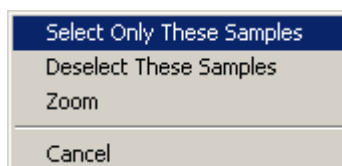


Show Pinpointer (Vis pekeverktøy): Åpner et vindu som viser de nøyaktige koordinatene til musepekerens posisjon.

Grouping (Gruppering): Grupperer visuelt prøver som har identiske navn. Dette kan være nyttig ved fulle rotorkjøring. Bruk av dette alternativet påvirker ikke beregnede verdier.

7.6 Alternativer for valgt område

Det er mulig å velge et område av en graf ved å klikke og holde nede venstre museknapp og dra musepekeren. Følgende alternativer vises.



Select Only These Samples (Velg kun disse prøvene): Prøver som er utenfor det valgte området, velges bort.

Select Only These Samples (Velg kun disse prøvene): Prøver som er utenfor det valgte området, velges bort.

Zoom: Zoomer inn på det valgte området i grafen. Klikk på knappen Default Scale (Standard skala) for å zoome ut.

8 Vedlikehold

Det er enkelt å holde Rotor-Gene Q MDx i god fungerende stand. Den optiske ytelsen opprettholdes ved å sikre at linsene er rene, både ved emisjons- og deteksjonskilden. Dette gjør du ved å tørke forsiktig av linsene med en bomullspinne fuktet med etanol eller isopropanol*.

Merk: Rengjør linsene minst én gang i måneden, avhengig av bruk. Tørk samtidig av rotorkammeret.

Hold arbeidsbenken ren og fri for støv og papirark. Luftinntaket befinner seg nederst på Rotor-Gene Q MDx, og løse materialer som f.eks. papir eller støv, kan redusere ytelsen.



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

Merk: Bruk kun deler som leveres av QIAGEN.

8.1 Rengjøring av overflaten på Rotor-Gene Q MDx

De utvendige overflatene på Rotor-Gene Q kan rengjøres med vanlige laboratoriekjemikalier.

* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. For mer informasjon, se de relevante sikkerhetsdatabladene (Safety Data Sheet, SDS) som kan fås hos leverandøren av produktet.

8.2 Dekontaminering av overflaten på Rotor-Gene Q MDx

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

8.3 Reparasjon av Rotor-Gene Q

For reparasjon av eller service på Rotor-Gene Q må du kontakte QIAGENs tekniske serviceavdeling på <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. For mer informasjon, se de relevante sikkerhetsdatabladene (Safety Data Sheet, SDS) som kan fås hos leverandøren av produktet.

9 Optisk temperaturverifisering

Optisk temperaturverifisering (Optical Temperature Verification, OTV) er en metode som verifiserer rørtemperaturen i en Rotor-Gene Q MDx. Validering av rørtemperatur kan være en viktig prosedyre i sertifiserte laboratorier. OTV utføres ved hjelp av et Rotor-Disc OTV Kit (se avsnitt 1.6). Nedenfor følger en kort innføring i OTV-prinsippet. Fremgangsmåten for å utføre OTV-prosedyren er forklart i Rotor-Gene Q MDx-programvaren. For en mer detaljert beskrivelse av OTV-prosedyren, herunder en feilsøkingssguide, kan du se *håndboken for Rotor-Disc OTV*.

9.1 OTV-prinsippet

OTV bruker de optiske egenskapene til 3 termokromatiske flytende krystaller (TLC)* som absolutte temperaturreferanser. Ved oppvarming endres TLC-ene fra opak til transparent ved helt nøyaktige temperaturer (50, 75 og 90 °C). TLC-ene i seg selv fluorescerer ikke. Det er derfor nødvendig å dekke eksitasjonskilden med et fluorescerende innlegg slik at TLC-overgangspunktene kan oppdages av det optiske systemet i Rotor-Gene Q MDx. TLC-er som ligger under overgangstemperaturen, er opake og reflekterer lys. Noe av det reflekterte lyset spres mot detektoren, noe som gir en økning i fluorescens. Når rørtemperaturen når TLC-overgangspunktet, blir TLC-en transparent, og lyset passerer gjennom prøven i stedet for å bli reflektert mot detektoren, noe som gir en reduksjon i fluorescens. Endringen i fluorescens brukes til å bestemme den nøyaktige overgangstemperaturen for hver TLC. Overgangstemperaturen sammenlignes med temperaturen som er angitt i fabrikkens kalibreringsfil for OTV Rotor-Disc, for å verifisere at Rotor-Gene Q MDx befinner seg innenfor temperaturspesifikasjonen.

* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. For mer informasjon, se de relevante sikkerhetsdatabladene (Safety Data Sheet, SDS) som kan fås hos leverandøren av produktet.

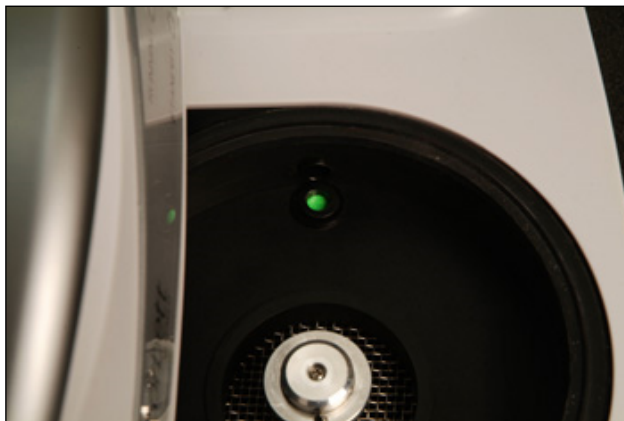
9.2 Komponenter i Rotor-Disc OTV Kit

Du trenger følgende komponenter for å utføre en OTV:

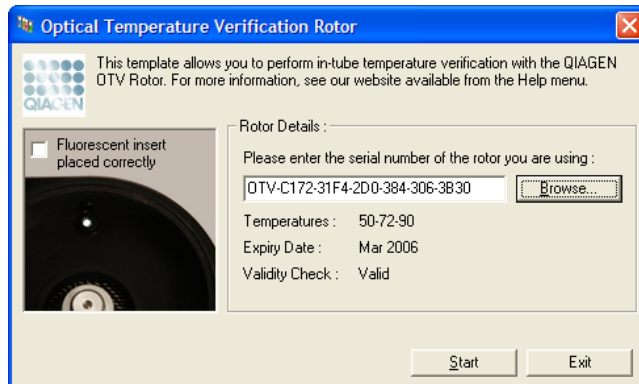
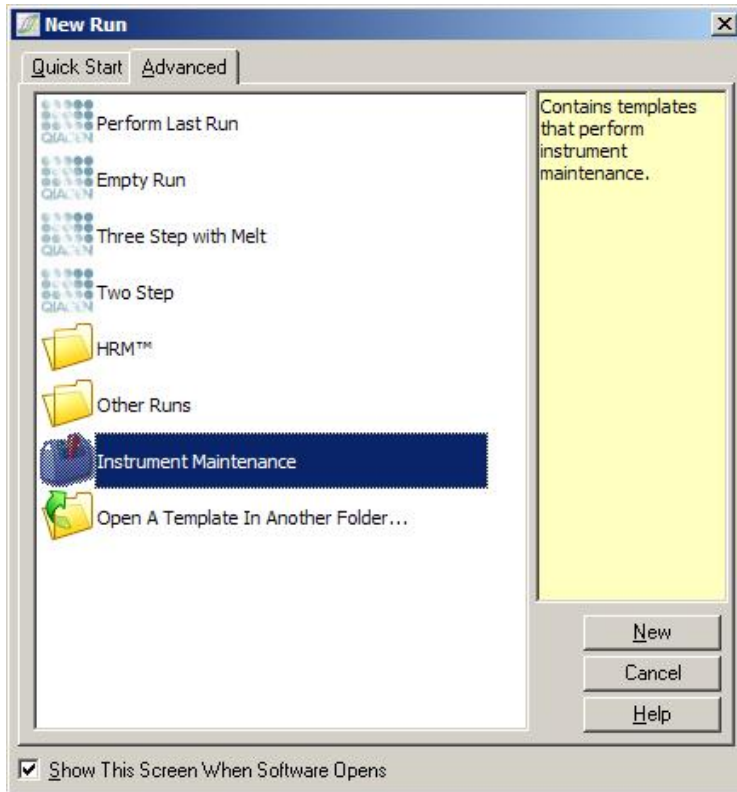
- Et Rotor-Disc OTV Kit, som inneholder:
 - Forseglet Rotor-Disc 72 OTV Rotor (inneholder TLC-er)
 - Fluorescerende spredningsplate (Rotor-Gene 3000-instrument eller Rotor-Gene Q/6000-instrumenter)
 - Et flyttbart medium som inneholder følgende filer: Fil med serienummer og utløpsdato for OTV Rotor (*.txt); malfil for OTV-test (*.ret); produktark (*.pdf); kalibreringsfil fra fabrikk (*.rex)
 - Produktark
- Rotor-Gene Series Software Version 1.7 eller nyere, som inneholder den brukervennlige OTV Rotor-veiviseren
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

9.3 Utføre en OTV

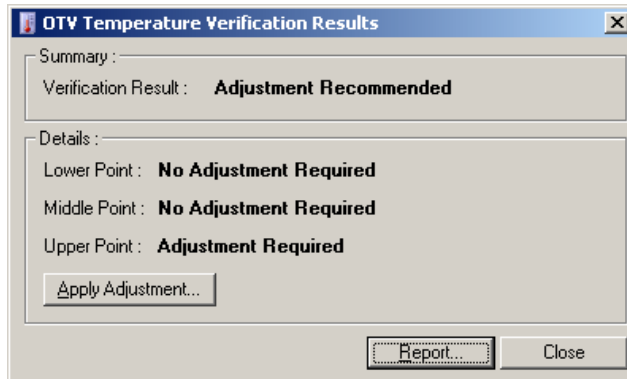
1. Plasser det fluorescerende innlegget over emisjonslinsen nederst i Rotor-Gene Q MDx-kammeret.
2. Plasser OTV Rotor-Disc i en Rotor-Disc 72 Rotor. Fest med en Rotor-Disc 72 Locking Ring. Sett enheten inn i Rotor-Gene Q MDx, og klikk på plass. Lukk lokket på Rotor-Gene Q MDx.



3. Åpne veiviseren Advanced (Avansert) ved å velge fanen Advanced (Avansert) i vinduet New Run (Ny kjøring). I veiviseren Advanced (Avansert) klikker du på Instrument maintenance (Vedlikehold av instrument) og deretter på OTV. Veiviseren ber om OTV-serienummeret, som du finner på OTV-ringene. Klikk deretter på Start.



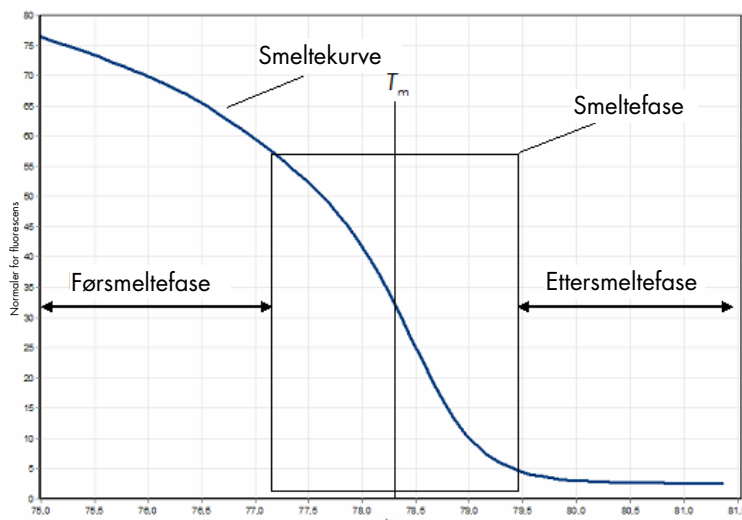
4. Programvaren ber om et filnavn for kjøringen. Deretter starter kjøringen.
5. Kjøringen utfører en serie smeltinger for å bestemme de termiske egenskapene til Rotor-Gene Q MDx.



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

10 High Resolution Melt-analyse

Analyse med høyoppløselig smelting (High Resolution Melt, HRM) er en innovativ teknikk basert på analyse av DNA-smelting. HRM karakteriserer DNA-prøver i henhold til hvordan de separeres under overgangen fra dobbeltrådet DNA (dsDNA) til enkeltrådet DNA (ssDNA) ved økende temperatur (se figur nedenfor). Et HRM-instrument samler inn fluorescenssignaler med ekstremt høy optisk og termisk presisjon, som har mange bruksområder.



Et typisk HRM-diagram. Smeltekurven plottet overgangen fra høy fluorescens i den innledende førsmeltefasen via reduksjonen i fluorescens i smeltefasen til det basale fluorescensnivået i ettersmeltefasen. Fluorescensen reduseres ettersom DNA-interkalerende fargestoff frigjøres fra dsDNA når det separeres (smelter) til enkeltråder. Midtpunktet i smeltefasen, der graden av endring i fluorescens er størst, definerer smeltemperaturen (T_m) til DNA-et som analyseres.

Før det utføres en HRM-analyse, må målsekvensen amplifiseres til et høyt kopiantall. Dette gjøres som regel med PCR i nærvær av dsDNA-interkalerende fluorescerende fargestoff. Fargestoffet interagerer ikke med ssDNA, men interkalerer aktivt med dsDNA og fluorescerer sterkt når det interkaleres. Endring i fluorescens kan brukes til å måle økningen i DNA-konsentrasjon under PCR, og deretter til direkte å måle termisk-indusert DNA-smelting med HRM. Under HRM er fluorescens innledningsvis høy, ettersom prøven starter som dsDNA. Fluorescensen synker etter hvert som temperaturen øker og DNA separeres til enkeltråder. Den observerte smelteatferden er karakteristisk for en bestemt DNA-prøve.

Med HRM kan Rotor-Gene Q MDx karakterisere prøver basert på sekvenslengde, GC-innhold og komplementaritet i DNA-sekvens. HRM kan brukes ved genotyping, f.eks. til analyse av insersjoner/delesjoner eller enkelt nukleotidpolymorfier (SNP-er), eller til å screene for ukjente genmutasjoner. Den kan også brukes til epigenetikk for å detektere og analysere DNA-metyleringsstatus.

Den kan også brukes til kvantitativ deteksjon av en liten andel av variant-DNA på en bakgrunn med villtype-sekvens med en sensitivitet i nærheten av 5 %. Dette kan for eksempel brukes til å undersøke somatisk ervervede mutasjoner eller endringer i CpG-øyers metyleringstilstand.

HRM på Rotor-Gene Q MDx har mange bruksområder, deriblant:

- Identifikasjon av aktuelle disposisjonsgener
- Assosiasjonsstudier (sammenligning av tilfeller og kontroller, genotype mot fenotype)
- Bestemmelse av allelforekomst i en populasjon eller undergruppe
- SNP-screening og validering
- Screening for tap av heterozygositet
- DNA-fingeravtrykk
- Karakterisering av haplotypeblokker
- DNA-metyleringsanalyse
- DNA-kartlegging
- Artsidentifikasjon
- Mutasjonsfunn
- Bestemmelse av forholdet for somatisk ervervede mutasjoner
- HLA-typing

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

10.1 Instrumentering

Rotor-Gene Q MDx gir følgende krevende sanntids og termo-optiske muligheter som kreves av HRM.

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

10.2 Kjemi

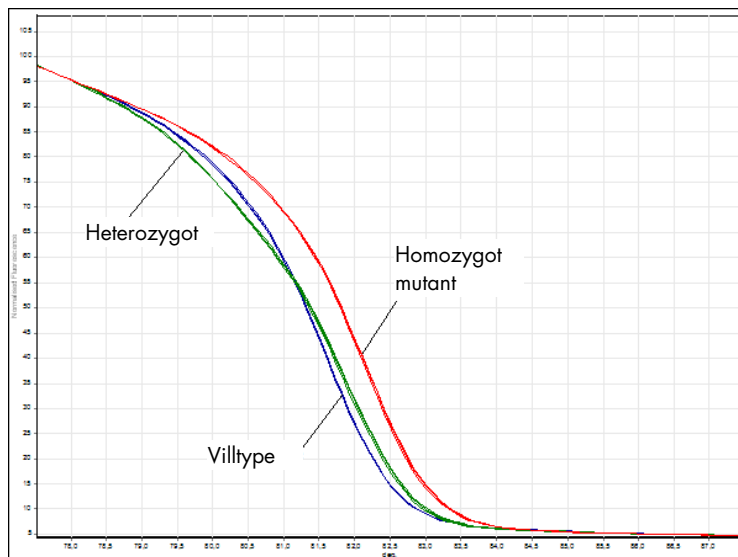
QIAGEN tilbyr Type-it® HRM PCR Kit til analyse av SNP-er og mutasjoner med HRM, og EpiTect® HRM PCR Kit til metyleringsanalyse. Begge settene inneholder EvaGreen, et tredjegerasjons interkalerende, fluorescerende fargestoff. Settene kombinerer optimalisert HRM-buffer og HotStarTaq® Plus DNA Polymerase for å unngå uspesifiserte amplifikasjonsprodukter og gi pålitelige resultater.

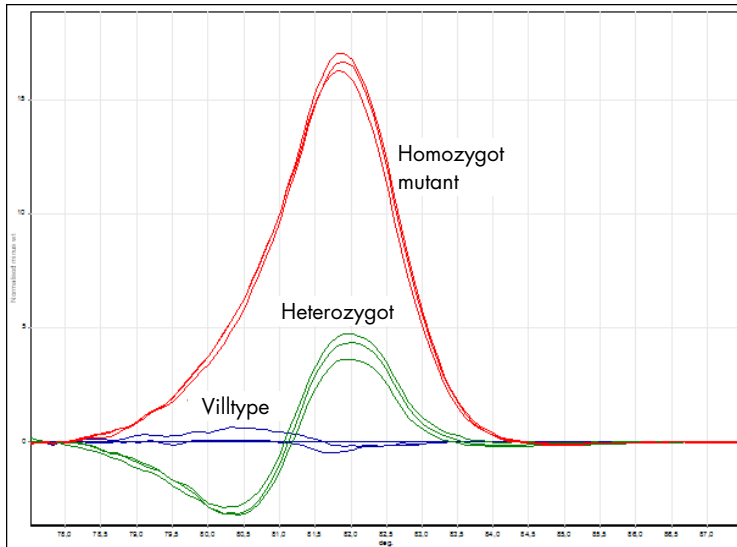
Merk: Alle QIAGEN HRM-sett og reagenser er kun beregnet for bruk med Rotor-Gene Q-instrumenter innenfor de bruksområdene som er beskrevet i de respektive håndbøkene for QIAGEN-settene.

10.3 Eksempel på SNP-genotyping

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

A



B**C**

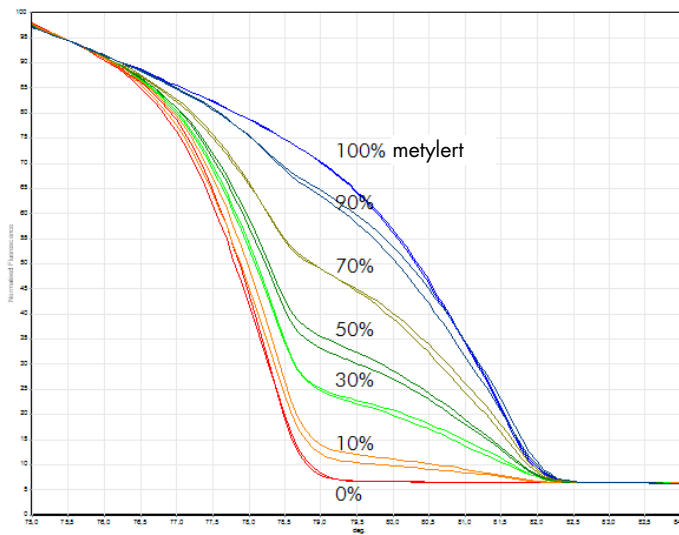
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	■	AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	■	unknown	homo AA	99,49
24	■	unknown	homo AA	99,76
28	■	AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	■	unknown	hetero AG	99,49
30	■	unknown	hetero AG	98,47
34	■	GG Human SNP rs60031276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

SNP-genotyping med HRM. Human SNP rs60031276 (A til G substitusjon) i PPP1R14B-genet (proteinfosfatase 1, regulatorgen (inhibitor) underenhet 14B) ble analysert på Rotor-Gene Q med 10 ng genomisk DNA av ulike genotyper og Type-it HRM Kit. Prøver av typen homozygot villtype (AA), homozygot mutant (GG) og heterozygot (AG) vises i **A**, en standard normalisert smeltekurve, og **B**, et differensdiagram normalisert til villtypeprøver. **C** Genotyper for de ukjente prøvene ble tilordnet av Rotor-Gene Q-programvaren.

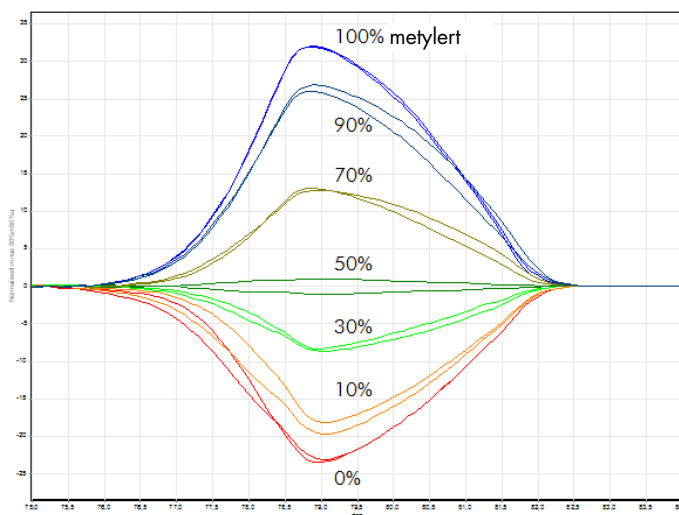
10.4 Eksempel på metyleringsanalyse

I eksempelet nedenfor ble EpiTect HRM PCR Kit brukt i HRM-analyse for å skille mellom ulike forhold av metylert og ikke-metylert DNA. For tekniske detaljer, se *håndboken for EpiTect HRM PCR*.

A



B



Kvantitativ metyleringsanalyse med HRM. Ulike forhold av metylert og ikke-metylert DNA-APC (adenomatosis polyposis coli) ble analysert og differensiert med HRM-metyleringsanalyse på Rotor-Gene Q ved hjelp av EpiTect HRM Kit. **A**, en standard normalisert smeltekurve, og **B**, et differansediagram normalisert til 50% metylert prøve, vises.

10.5 Retningslinjer for vellykket HRM-analyse

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

Analysere små DNA-fragmenter

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

Sørge for at PCR kun inneholder spesifikt produkt

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

Bruke tilstrekkelig preamplifikasjonstemplat

Analyse av real-time PCR-data kan være svært nyttig ved feilsøking av HRM-analyser. Amplifikasjonsdiagrammer må ha en C_T (terskelsyklus) på mindre enn eller lik 30 sykluser. Produkter som amplifiserer senere enn dette (på grunn av lite templat i starten eller templatdegradering), gir som regel variable HRM-resultater som følge av PCR-artefakter.

Normalisere templatkonsentrasjon

Mengden templat som tilsettes reaksjonen, må være konsistent. Normaliser startkonsentrasjonene slik at alle amplifikasjonsdiagrammer ligger innenfor 3 C_T -verdier fra hverandre. Dette sikrer at inngangskonsentrasjonene er innenfor et 10-doblet område.

Se etter avvikende amplifikasjonsdiagrammer

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

Sørge for lignende prøvekonsentrasjoner etter amplifikasjon

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

Sørge for ensartethet mellom prøver

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

Sørge for tilstrekkelig datainnsamling i fasene før og etter smelting

Registrer HRM-datapunkter i et område på ca. 10 °C, sentrert rundt den observerte T_m (se figur på side 10). Dette gir nok baseline-datapunkter for effektiv kurvenormalisering og vil føre til mer reproducerbare replikater og enklere tolkning av dataene.

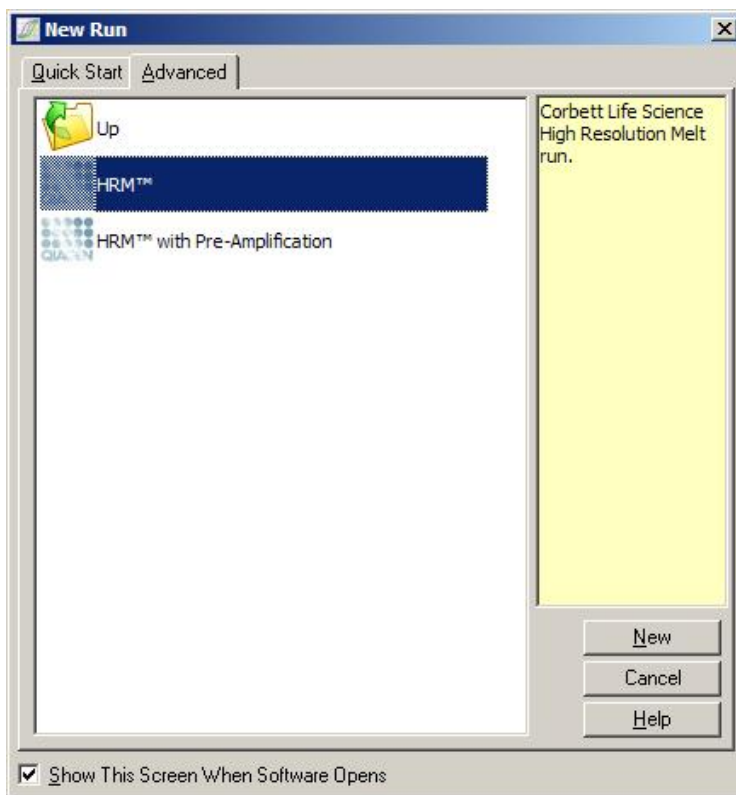
10.6 Prøveklargjøring

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

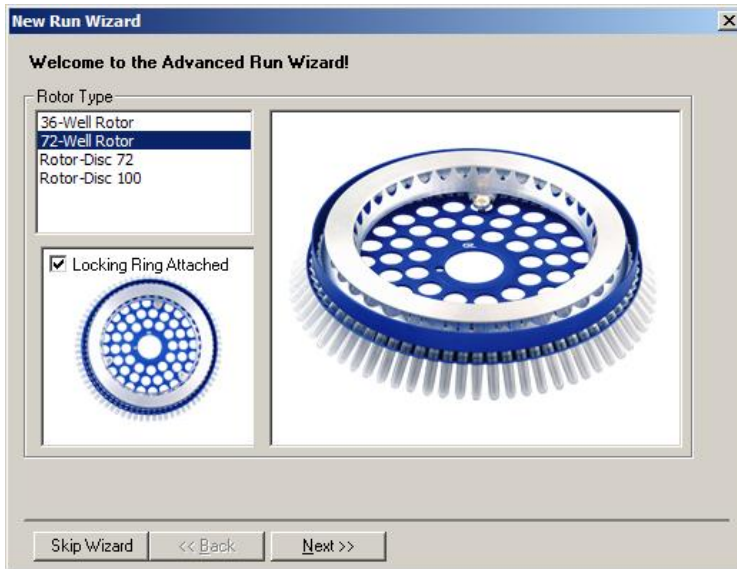
Merk: Ved 260 nm er én absorbansenhet lik 50 µg/ml DNA. Rent DNA vil gi et 260 nm til 280 nm-forhold på 1,8.

10.7 Programvareoppsett

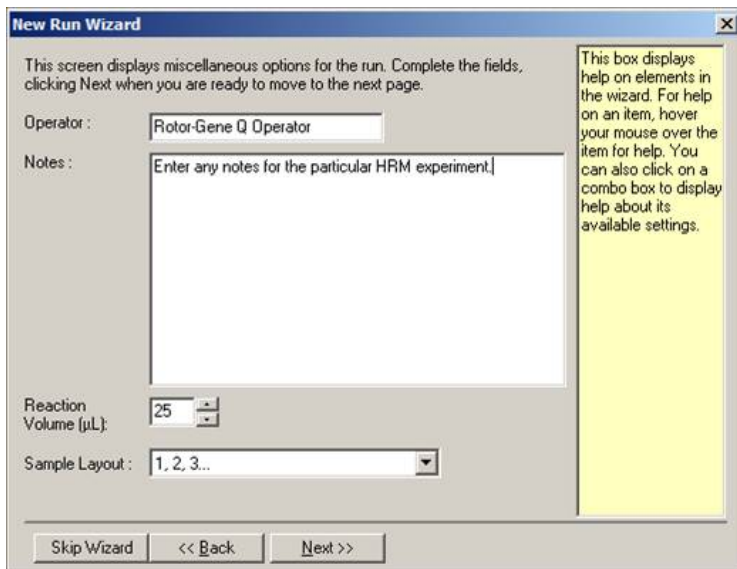
1. Åpne en ny kjøningsfil ved å velge New... (Ny...) fra menyen File (Fil). I veiviseren Advanced (Avansert) velger du HRM.



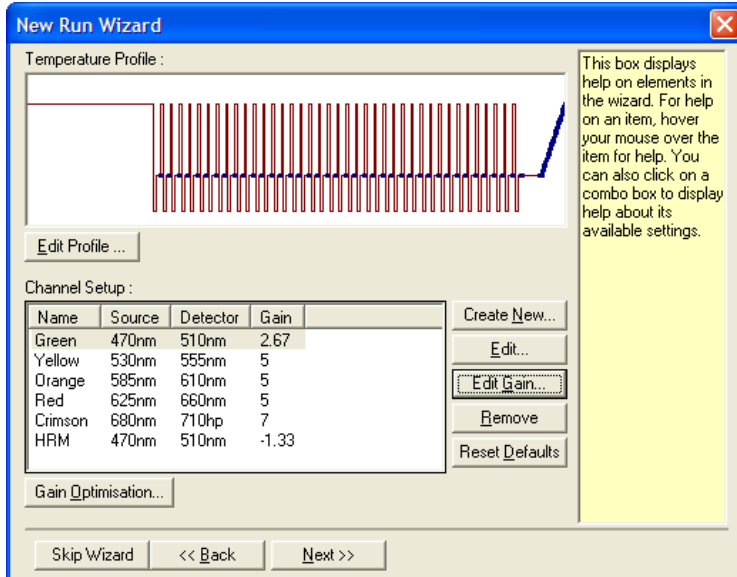
2. Angi rotortypen (i dette eksempelet er det brukt en 72-Well Rotor). Kontroller at låseringen er på plass, og at det er merket av for Locking Ring Attached (Låsering festet), før du går videre til neste trinn.



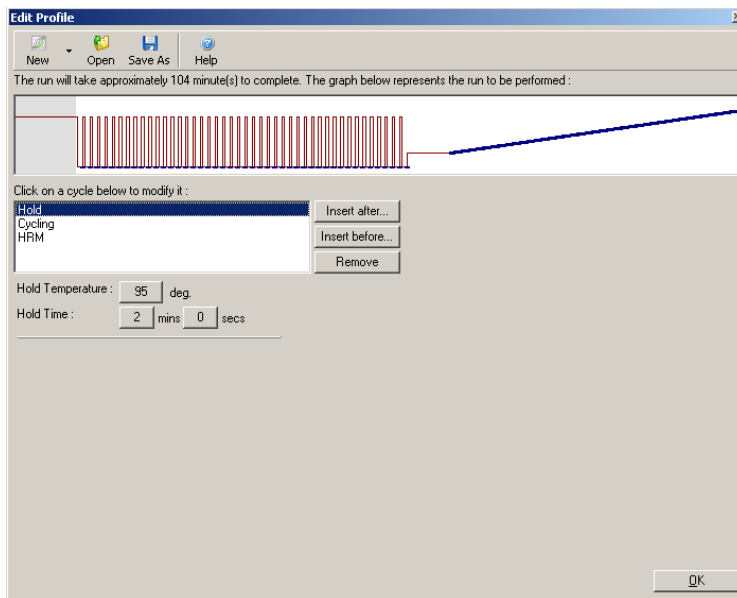
3. Angi kjøringsdetaljene. Angi operatørens navn (valgfritt), og legg til eventuelle notater om eksperimentet (valgfritt). Velg reaksjonsvolumet (obligatorisk) og ønsket prøveoppsett.



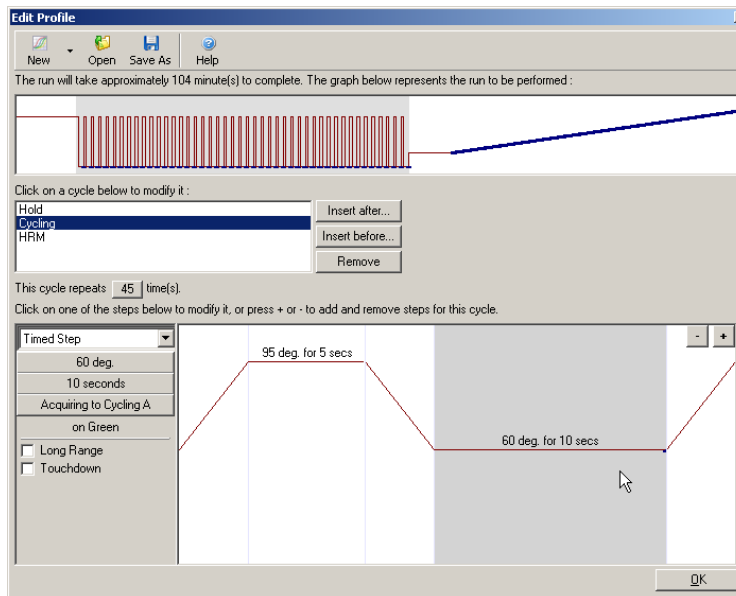
4. Klikk på knappen Edit Profile... (Rediger profil...) for å endre tider og temperaturer for reaksjonen.



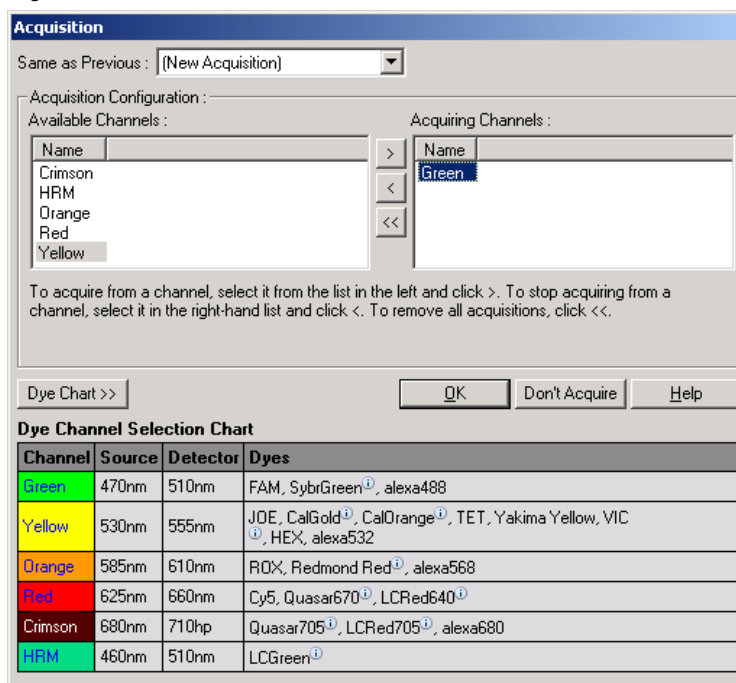
5. Angi en passende innledende holdetid. Denne tiden avhenger av typen DNA-polymerase som brukes. Type-it HRM PCR Kit og EpiTect HRM PCR Kit må ha en aktiveringstid på 5 minutter. Standard aktiveringstid er 10 minutter.



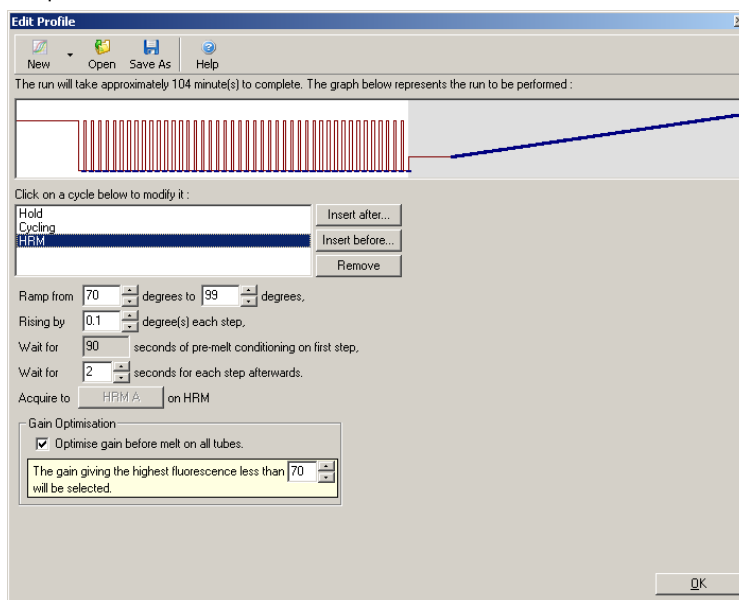
6. Endre syklingen slik at den passer til amplitikonet.



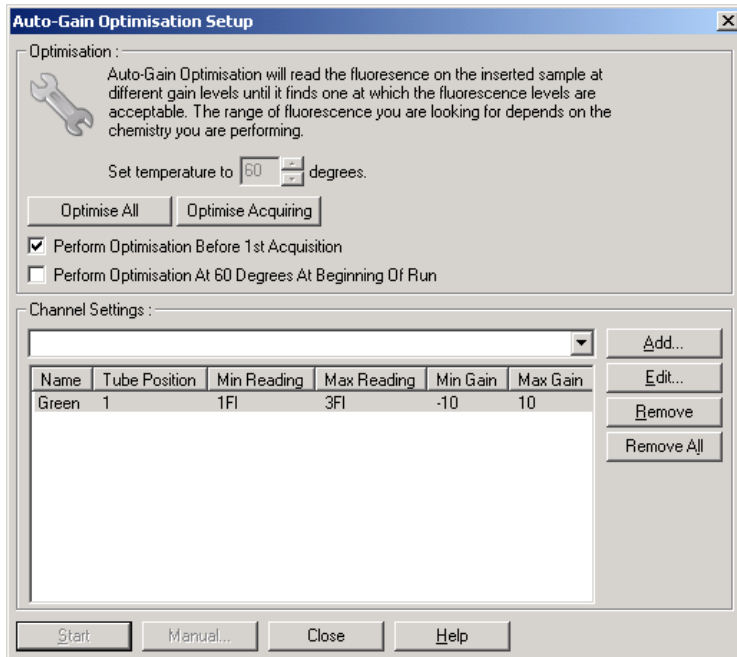
7. Påse at det vil bli samlet inn fluorescensdata. Samle inn data til den grønne kanalen i slutten av hybridiseringstrinnet.



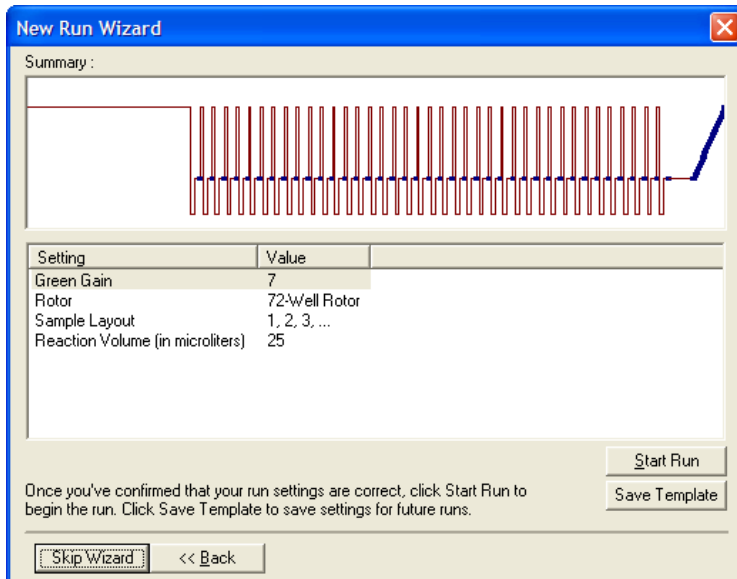
8. Angi betingelsene for HRM-kjøringen. Endre betingelsene slik at de passer til amplikonet. Tillat et bredt smelteområde til det første settet med eksperimenter. Bruk den teoretiske T_m som en veiledning for et passende område. Når du har bestemt hvor produktet vil smelte, reduserer du smelteområdet til maks. 10 °C. Sørg for at starten av smeltingen skjer 5 °C før den første smelteovergangen. Standard stigning er satt til 0,1 °C med en holdetid på 2 sekunder på hvert trinn. Minste stigningsovergang er 0,05 °C med en holdetid på ett sekund på hvert trinn. Data samles automatisk inn til HRM-kanalen. Automatisk forsterkningsoptimalisering utføres som standard. Programvaren søker etter den optimale forsterkningsinnstillingen, slik at den høyeste fluorescensverdien som rapporteres, ikke er høyere enn 70 enheter på en skala på 100. Vær oppmerksom på at dette kan økes til maksimalt 100.



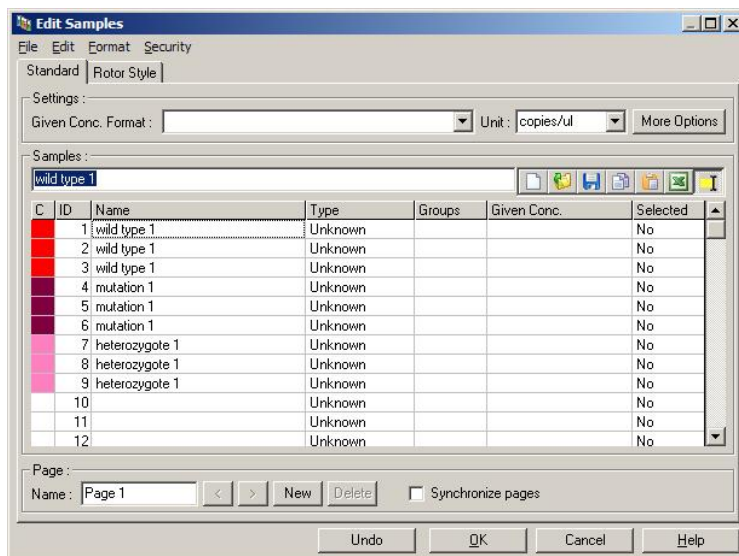
9. Valgfritt: Angi Auto-Gain Optimisation (Automatisk forsterkningsoptimalisering). Dette gjelder kun sanntids amplifikasjonstrinnet og angis for den grønne kanalen. Klikk på knappen Optimize Acquiring (Optimaliser innsamlende) (for å optimalisere kun de kanalene som brukes av en kjøring). Det er best å utføre optimalisering like før første innsamlingstrinn, derfor bør du merke av i avmerkingsboksen Perform Optimization Before First Acquisition (Utfør optimalisering før første innsamling). Anbefalt område for bakgrunnsfluorescens for interkalerende fargestoffer er mellom 1 og 3 fluorescensenheter. For å endre denne innstillingen må du klikke på kanalnavnet for å velge den i listen, og deretter klikke på knappen Edit (Rediger).



10. Start kjøringen ved å klikke på Start Run (Start kjøring), og lagre kjøningsfilen på datamaskinen.



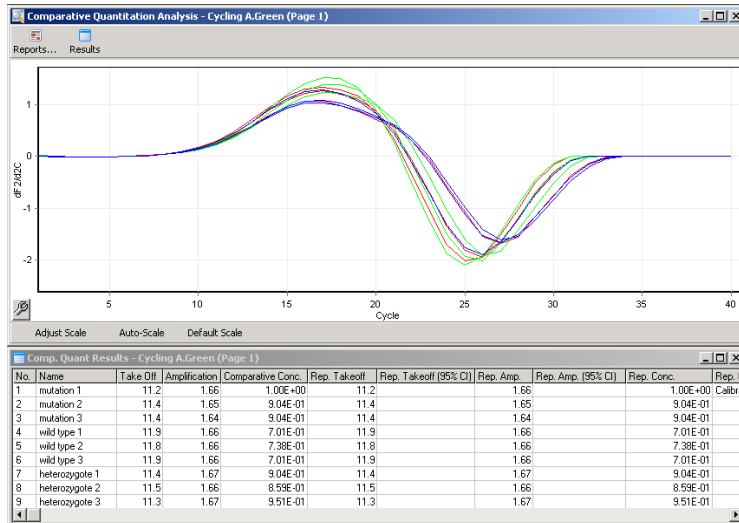
11. Rediger prøvenavnene (valgfritt). Prøvenavn kan redigeres under eller etter en kjøring.



10.8 Analyse av real-time PCR-data

Det er en fordel å analysere real-time PCR-data før analyse av HRM-data. Real-time PCR-data kan fremheve analyser med dårlig ytelse. Hvis disse utenforliggende verdiene identifiseres og filtreres ut av den etterfølgende HRM-analysen, vil den samlede effektiviteten til HRM-analysen forbedres betraktelig, ettersom analyse av et PCR-produkt av dårlig kvalitet vil resultere i dårlige HRM-resultater. Vi anbefaler at du analyserer kvantitative real-time PCR-data på følgende måte.

1. Analyser real-time data ved hjelp av alternativet Quantitation (Kvantifisering) i vinduet Analysis (Analyse). Hvis noen av C_T -verdiene er 30 eller høyere, anses de korresponderende reaksjonene for å ha amplifisert for sent. Disse prøvene må analyseres med skepsis eller fjernes fra analysen som utenforliggende. Sen amplifikasjon skyldes vanligvis for lite templat i starten og/eller et høyt nivå av prøvedegradasjon.
2. Vurder fluorescensnivået ved endepunktet. Hvis endepunkt-fluorescensen i et amplifikasjonsdiagram er lav sammenlignet med de fleste andre diagrammer i datasettet, må disse prøvene utelukkes fra analysen, selv om C_T -verdien er under 30. Lav endepunkt-fluorescens kan tyde på feil mengde fargestoff, feil nivå av reaksjonskomponenter (f.eks. primere) eller virkning av hemmere.
3. Bruk alternativet Comparative Quantitation (Komparativ kvantifisering) i vinduet Analysis (Analyse) for å finne reaksjonseffektiviteten for hver prøve. Hvis effektiviteten ikke ligner på andre reaksjoner i eksperimentet, eller hvis den er mindre enn ca. 1,4, må reaksjonen utelukkes som utenforliggende.



Resultater av komparativ kvantifisering. Reaksjonseffektiviteten vises i kolonnen Amplification (Amplifikasjon) som en score ut av 2 (2 = 100 % effektivitet).

Merk: Hvis du mistenker at det forekommer primer-dimere eller uspesifikke produkter, må du vurdere reaksjonene ved å tegne et derivatdiagram ved hjelp av alternativet Melt (Smelting) i vinduet Analysis (Analyse). Kontroller at det bare finnes ett toppunkt, noe som indikerer et enkelt produkt. Kjør om mulig en gel for å kontrollere at det bare forekommer ett amplifikasjonsprodukt. Hvis det er mer enn ett produkt, må reaksjonen gjentas eller optimaliseres på nytt.

10.9 Analyse av HRM-data

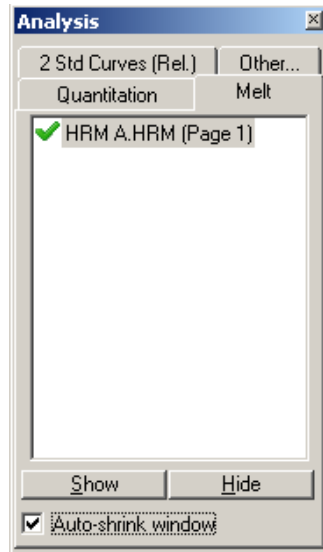
HRM-analyse muliggjør både visuell og automatisk angivelse av genotyper. Resultater kan vises enten som et normalisert smeltdiagram eller som et differansediagram. Normaliserte kurver gir en grunnleggende fremstilling av de ulike genotypene basert på kurveforskyvning (for homozygoter) og endring av kurveform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

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

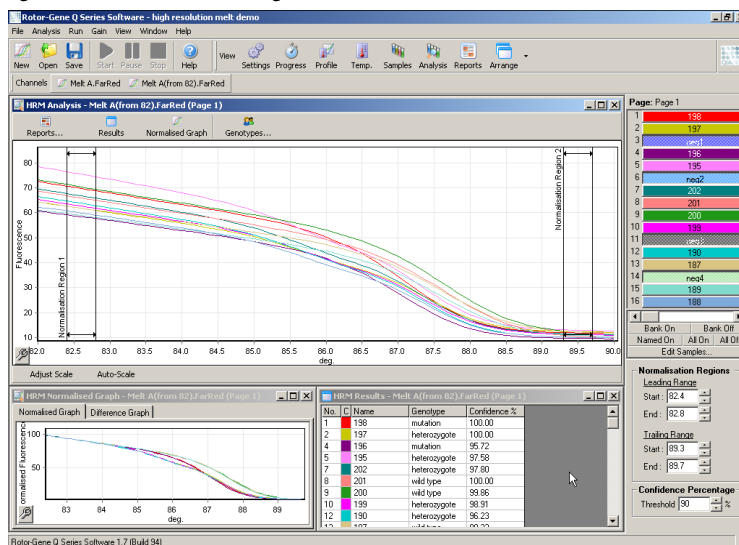
Merk: Førstederivert smeltekurveanalyse (som brukes av standardalternativet Melt (Smelting) i vinduet Analysis (Analyse)) anses som uegnet til HRM-analyse. Dette skyldes at enhver derivering av dataene tilfører kunstig støy og gjør det vanskeligere å tolke dem.

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

1. Velg alternativet HRM i vinduet Analysis (Analyse).

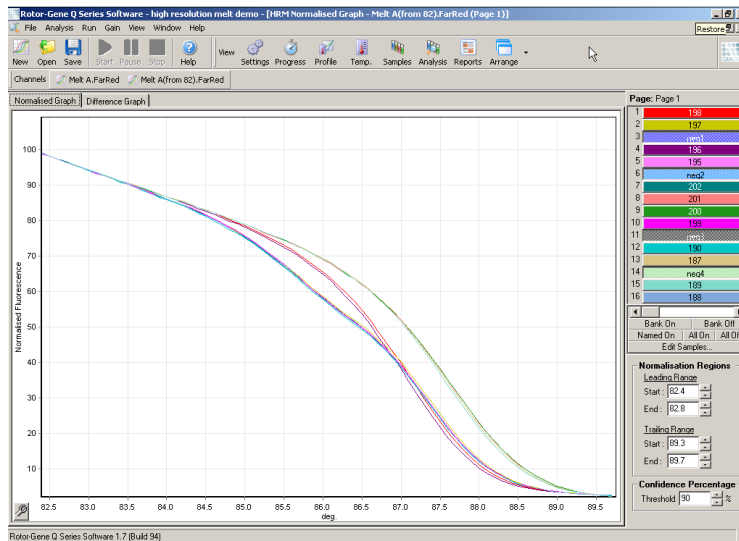


2. Det vises vinduer som inneholder rådataene, den normaliserte grafen og resultatene. I vinduet med rådata kan du justere normaliseringsområdene. Normalisering gjør det mulig å sammenligne alle kurvene med samme start- og sluttnivå for fluorescenssignalet, noe som forenkler både tolkning og analyse. Det er to markører per område, som er stilt inn som standard ved endene av kurven. Datapunktene innenfor områdene brukes til å normalisere fluorescens (kun y-aksen) for starten (Region 1) og slutten (Region 2) av smeltdiagrammet. Data utenfor de angitte områdene blir ignorert. Juster områdene slik at de omfatter representative baseline-data for fasene før og etter smelting. Utvidelse av områdene (ved å klikke og dra) gjør det mulig for programvaren å justere for baselinens stigningstall. For å sikre at kurver normaliserer effektivt, må du unngå å utvide normaliseringsområdene inn i smeltefasen.

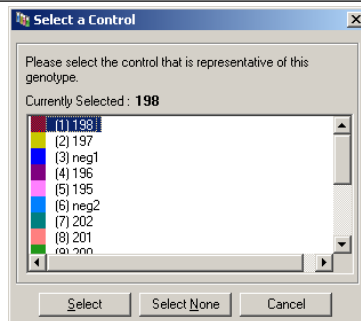
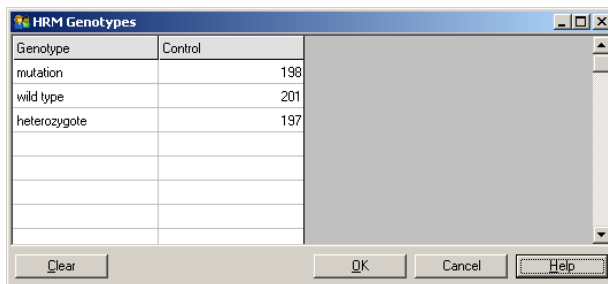


Merk: Vi anbefaler at du kun flytter markører hvis du ønsker å unngå områder av smeltekurven. Flytting av markørene mot overgangen til smeltefasen kan påvirke subtraksjonsdiagrammer og konfidensprenter.

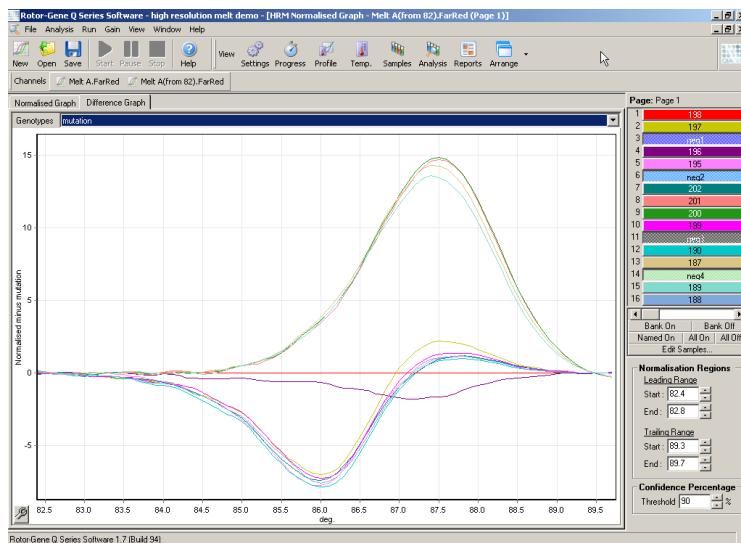
3. Vinduet Normalised Graph (Normalisert graf) viser de normaliserte smeltekurvene. Prøver kan også vises som et differansediagram mot en av kontrollene.



4. Klikk på knappen Genotypes... (Genotyper...) for å definere genotypene. Angi navnet på hver genotyekategori, og velg en representativ prøve for hver kategori fra prøvelisten.



5. Vis differansediagrammet ved å velge fanen Difference Graph (Differansegraf). Velg deretter genotypen du ønsker å sammenligne alle de andre prøvene med, ved hjelp av rullegardinmenyen øverst i vinduet. I eksempelet som vises, er alle prøver plottet subtrahert fra et gjennomsnittsdiagram av alle prøver som er merket med Mutation 1 (Mutasjon 1).



6. Genotyper hentes automatisk av programvaren i vinduet Results (Resultater). Det gis en konfidensverdi som fungerer som integritetskontroll av automatisk hentede resultater. Terskelverdien som utløser automatisk henting, kan redigeres. Prøver som befinner seg under den angitte terskelen, vil bli merket som en variasjon for nærmere undersøkelse eller ny testing.

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

Normalisation Regions

Leading Range
 Start: 82.4
 End: 82.8

Trailing Range
 Start: 89.3
 End: 89.7

Confidence Percentage
 Threshold 90 %

11 Feilsøking

Denne delen inneholder informasjon om hva du skal gjøre hvis det oppstår en feil når du bruker Rotor-Gene Q MDx System.

Ved behov for ytterligere bistand kontakter du QIAGENs tekniske serviceavdeling ved bruk av kontaktinformasjonen nedenfor:

Nettsted: support.qiagen.com

Når du kontakter QIAGENs tekniske serviceavdeling om en feil på Rotor-Gene Q MDx, må du notere trinnene som førte til feilen, og eventuell informasjon som vises i dialogbokser. Denne informasjonen vil hjelpe QIAGENs tekniske serviceavdeling med å løse problemet.

Ha følgende informasjon klar når du ringer til QIAGENs tekniske serviceavdeling om feil:

- Rotor-Gene Q MDx-instrumentets serienummer, type og versjon
- Programvareversjon (hvis det er relevant)
- Tidspunkt da feilen oppsto første gang
- Hvor ofte feilen oppstår (dvs. gjentakende eller vedvarende feil)
- Detaljert beskrivelse av feilsituasjonen
- Bilde av feilen, hvis mulig
- Kopi av loggfiler

Denne informasjonen vil hjelpe deg og QIAGENs tekniske servicespesialist å løse problemet mest mulig effektivt.

Merk: Du finner informasjon om nyeste programvare og protokollversjoner på www.qiagen.com. I noen tilfeller kan oppdateringer være tilgjengelige for å ta tak i spesifikke problemer.

11.1 Loggarkiver

Programvaren loggfører en uendret oppføring av hver kjøring, sammen med diagnostisk informasjon, i loggarkivet. Ved å bruke Help (Hjelp) og Send Support Email (Send e-post til brukerstøtte) kan du sende en e-post sammen med all nødvendig diagnostisk informasjon til QIAGENs tekniske serviceavdeling (se avsnitt 6.12.1).

For å spare diskplass er det kun loggarkiver for de 60 siste kjøringene som blir lagret. Eldre loggarkiver blir overskrevet etter hvert som det opprettes nye loggarkiver.

11.2 Maskin- og programvarefeil

11.2.1 HRM-feilsøking

Kommentarer og forslag

Kan ikke kjøre HRM

Rotor-Gene Q MDx-modellen er ikke utstyrt med HRM Kontakt din lokale QIAGEN-representant.

Får ingen HRM-data

Feil oppsett

- Kontroller filterinnstillinger.
- Kontroller om rotortypen er riktig.
- Kontroller om det er brukt riktige reagenser.
- Kontroller om reaksjonen ble satt opp riktig.
- Kjør et eksperiment med positiv kontroll (dvs. en analyse som du vet gir resultater).

Diagrammer ser hakkete ut

Dårlig eller ingen amplifikasjon

- Kontroller om de riktige protokollene og reagensene er brukt. Vi anbefaler QIAGEN-sett til HRM-analyse.
- Kontroller om reaksjonen ble satt opp riktig.
- Kontroller syklingsbetingelsene.
- Kontroller templatets startkvalitet og -mengde. Vi anbefaler QIAGEN-sett til prøveklargjøring.

Amplifikasjons- eller smeltdiagrammer er mettet

Forsterkning satt for høyt Bruk Auto-Gain Optimisation (Automatisk forsterkningsoptimalisering) (se side 62).

Konfidensprosjenter har endret seg

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

Utenforliggende er med i dataene

Inkonsistent reaksjonsoppsett

- Kontroller om det er brukt riktige reagenser.
- Kontroller at det er brukt ensartede rør.

Hemmere til stede i prøven

- Kontroller at det er brukt samme masterblanding for alle prøver.

For lite eller degradert templat

- Kontroller templatets startkvalitet og -mengde.

11.3 Feil- og advarselmeldinger

11.3.1 Generelle instrumentfeil

Feilmelding	Kommentarer og forslag
Can't open the serial port <COMPORT> (Kan ikke åpne den serielle porten <COMPORT>)	<p>Denne feilen forekommer ved oppstart hvis programvaren ikke kan kommunisere med instrumentet via den konfigurerte COM-porten. Dette skyldes vanligvis defekte kabler, løse kabler, defekte serielle porter, defekte USB-porter, et problem med USB-driveren eller et problem med driveren for USB til seriell-konvertering.</p> <p>Koble til på nytt eller bytt kabelen. Installer de aktuelle driverne på nytt. Start programvaren i Virtual Mode (Virtuell modus) og velg knappen Setup/Auto-Detect (Oppsett/automatisk gjenkjenning) fra menyen File (Fil) for å tilbakestille den konfigurerte COM-porten.</p>
Chamber lid open (Kammerlokk åpent) Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Kan ikke fortsette kjøringen; kammerlokket ble åpnet under en kjøring. Tilbakestill maskinen, og start programvaren på nytt.)	<p>Denne feilen forekommer når programvaren oppdager at lokket er åpent under en kjøring.</p> <p>Tilbakestill maskinen, og start programvaren på nytt.</p>
Chamber lid open (Kammerlokk åpent) The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Lokket på instrumentkammeret er åpent. Lukk lokket, og klikk på Continue (Fortsett)).	<p>Denne feilen forekommer når brukeren forsøker å starte en kjøring mens instrumentlokket er åpent.</p> <p>Lukk lokket på instrumentkammeret, og klikk deretter på Continue (Fortsett).</p>
Communication corrupted (Kommunikasjon skadet)	<p>Denne feilen forekommer når dataene som mottas fra instrumentet, ikke overholder forventet mønster.</p> <p>En QIAGEN-feltservicespesialist er nødt til å foreta videre undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet.</p> <p>Kontakt distributøren eller QIAGENS tekniske serviceavdeling.</p>
Communication out of sequence (Kommunikasjon utenfor sekvens) Instrument has received data from the machine that is out of sequence. (Instrumentet har mottatt data fra maskinen som er utenfor sekvens.)	<p>Denne feilen forekommer når dataene som mottas fra instrumentet, ikke er i riktig rekkefølge.</p> <p>En QIAGEN-feltservicespesialist er nødt til å foreta videre undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet.</p> <p>Kontakt distributøren eller QIAGENS tekniske serviceavdeling.</p>
Communication protocol error (Feil i kommunikasjonsprotokoll) A communication protocol error occurred with this run. (Det har oppstått en feil i kommunikasjonsprotokollen for denne kjøringen.)	<p>Denne feilen forekommer når kommunikasjonsprotokollen som er konfigurert i fastvaren, ikke er den samme som den forventede protokollen.</p> <p>En QIAGEN-feltservicespesialist er nødt til å foreta videre undersøkelser for å diagnostisere problemet med kommunikasjonsprotokollen eller instrumentet.</p>
Detector motor jam, stopped machine (Motorstopp i detektor, stoppet maskin)	<p>Denne feilen kan forekomme når Rotor-Gene Q MDx startes opp umiddelbart etter levering i kalde klimaer.</p> <p>La i så fall instrumentet få akklimatisere seg til romtemperatur i minst én time før du slår på instrumentet.</p> <p>Hvis feilen vedvarer, må du kontakte distributøren eller QIAGENS tekniske serviceavdeling.</p>

Feilmelding	Kommentarer og forslag
<p>Fatal hardware malfunction (Uopprettelig funksjonsfeil i maskinvaren)</p> <p>The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction. Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor. (Instrumentet har oppdaget en uopprettelig funksjonsfeil i maskinvaren. Ikke forsøk å bruke maskinen før distributøren har utført service.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren har oppdaget en uopprettelig funksjonsfeil i maskinvaren og aktivert en beskyttelsesprosedyre for å slå av maskinen.</p> <p>Slå av maskinen umiddelbart, og kontakt distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling.</p>
<p>Machine error (Maskinfeil)</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. (Denne kjøringen ble stoppet fordi det oppsto maskinfeil som gjorde det umulig å fortsette. Kontakt distributøren hvis det skjer på nytt, og legg ved en arkivfil.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren oppdager feil i maskinen som gjør det umulig å fortsette. Programvaren har stoppet kjøringen.</p> <p>Forsøk en annen kjøring. Hvis feilen vedvarer, må du kontakte distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling og legge ved en arkivfil.</p>
<p>Machine unplugged (Maskin frakoblet)</p> <p>The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE >. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software. (Instrumentet svarer ikke og ga feilmeldingen <FEILMELDING>. Dette er en uopprettelig feil. Tilbakestill instrumentet, og start programvaren på nytt.)</p>	<p>Denne feilen forekommer hvis instrumentet ikke kommuniserer med programvaren etter et definert tidsintervall. Det skyldes ofte en instrumentfeil eller høy aktivitet fra PC-en, med påfølgende tap av en datapakke.</p> <p>Vanlige programvarerelaterte årsaker er prosessorintensive oppgaver, f.eks. innebygd virusbeskyttelse eller planlagte virussøk, trådløse kort eller infrarøde kort.</p> <p>Deaktiver eller avinstaller de relevante prosessorintensive programvarene/oppgavene.</p> <p>Tilbakestill instrumentet, og start programvaren på nytt.</p> <p>Kontakt distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling hvis problemet vedvarer.</p>
<p>Machine unplugged (Maskin frakoblet)</p> <p>The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME>. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue. (Instrumentet er ikke koblet til datamaskinen via <PORTNAVN>. Koble til den serielle kabelen bak på datamaskinen igjen, og klikk på Continue (Fortsett).)</p>	<p>Denne feilen forekommer når den serielle kommunikasjonen eller USB-kommunikasjonen til instrumentet blir brutt.</p> <p>Koble til den serielle kabelen eller USB-kabelen bak på datamaskinen igjen, og klikk på knappen Continue (Fortsett).</p>
<p>Object variable or with block variable not set (Objektvariabel eller With-blokkvariabel ikke angitt)</p>	<p>Denne feilen forekommer ved oppstart av programvaren hvis malfilen for standardeksperimenter er skadet. Dette kan skje hvis programvaren/datamaskinen slås av uten å bli avsluttet på riktig måte, f.eks. ved strømbrudd.</p> <p>Slett filen C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret, og start programvaren på nytt.</p>
<p>Rotor speed failure (Feil i rotorhastighet)</p> <p>Time out while setting the rotor speed. (Tidsavbrudd ved innstilling av rotorhastighet.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren har forsøkt å stille inn rotorhastigheten, men ikke klart å stille inn målhastigheten før et tidsavbrudd.</p> <p>En QIAGEN-feltservicespesialist er nødt til å foreta videre undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet.</p> <p>Kontakt distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling.</p>

Feilmelding	Kommentarer og forslag
<p>Serial port in use (Seriell port i bruk)</p> <p>The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Den serielle porten brukes av en annen applikasjon. Lukk eventuelle applikasjoner, f.eks. kommunikasjons- eller synkroniseringsprogramvare, og prøv på nytt.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren forsøker å koble seg til maskinen via den konfigurerte COM-porten og porten brukes av en annen programvare.</p> <p>Lukk eventuelle applikasjoner, f.eks. kommunikasjons- eller synkroniseringsprogramvare, og prøv på nytt.</p>
<p>Shutdown timeout (Tidsavbrudd ved avstenging)</p> <p>The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (Instrumentet har brukt for lang tid på å slå seg av. Tilbakestill maskinen og programvaren.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren har gitt en avstengingskommando for å slå av instrumentet og maskinen fortsetter å sende tilbake data etter et forhåndsdefinert tidsrom.</p> <p>Tilbakestill maskinen, og start programvaren på nytt.</p>
<p>Temperature protection activated (Temperaturbeskyttelse aktivert)</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. (Instrumentet oppdaget at temperaturen i kammeret var høyere enn det som er trygt. Det har derfor aktivert beskyttelsesmodus. Slå av instrumentet, og kontakt distributøren hvis problemet vedvarer.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren har oppdaget at temperaturen i kammeret er høyere enn det som er trygt, og dermed har aktivert en beskyttelsesprosedyre.</p> <p>Slå av maskinen umiddelbart, og kontakt distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling.</p>
<p>Thermistor is open (Termistor er åpen)</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. (Instrumentet oppdaget at termistoren er åpen, og for å unngå skade på maskinen ble den slått av. Kontakt distributøren hvis dette skjer på nytt.)</p>	<p>Denne feilen forekommer når programvaren har oppdaget at termistoren er åpen og derfor ikke kan lese av temperaturen. Programvaren har deretter aktivert en beskyttelsesprosedyre for å slå av maskinen.</p> <p>Slå av maskinen umiddelbart, og kontakt distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling.</p>
<p>Unrecoverable errors occurred (Uopprettelige feil har oppstått)</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. (Denne kjøringen ble stoppet fordi det oppsto maskinfeil som gjorde det umulig å fortsette. Kontakt distributøren hvis det skjer på nytt, og legg ved en arkivfil.)</p>	<p>Denne feilen forekommer under en kjøring når programvaren har forsøkt alt for å gjenopprette feilen uten å lykkes.</p> <p>En QIAGEN-feltservicespesialist er nødt til å foreta videre undersøkelser for å diagnostisere problemet med instrumentet.</p> <p>Kontakt distributøren eller QIAGENs tekniske serviceavdeling.</p>

11.3.2 Meldinger i Rotor-Gene Q-programvaren

Nedenfor følger en liste over anvisninger, advarsler og andre meldinger som kan vises i Rotor-Gene-programvaren ved bruk av maskinvare og programvare. Hvis meldingen inneholder variabler, dvs. spesifikke feilbeskrivelser, står disse i hakeparentes (f.eks. < FEILBESKRIVELSE >).

Meldingstekst

Generelle meldinger

- 1 A raw channel already exists for this page. If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again. (Det finnes allerede en råkanal for denne siden. Hvis du vil opprette denne siden på nytt, må du først slette råkanalen via knappen Options (Alternativer) og deretter prøve på nytt.)
- 2 A serious problem has occurred which requires shutting down the software. After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible. If this problem persists, please contact your distributor. (Det har oppstått et alvorlig problem, og programvaren må avsluttes. Når du klikker på OK, vil arbeidet ditt bli lagret, og maskinen vil bli slått av, hvis mulig. Hvis problemet vedvarer, kontakt distributøren.)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Kan ikke slette denne siden. Det må alltid finnes minst én prøveside.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry. (Kan ikke koble til instrumentet via den serielle porten <COMPORT>. Kontroller at maskinen er koblet til riktig på baksiden, og prøv på nytt.)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Kan ikke åpne den serielle porten <COMPORT> for å koble til instrumentet. Kontroller at ingen annen kommunikasjonsprogramvare er åpen, og prøv på nytt.)
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Kunne ikke lagre til kjøring fordi noen av dataene i skjemaet var ugyldige. Kontroller oppføringene, og prøv på nytt.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Kunne ikke lagre fil. Kontroller at det er nok plass på disken, og at den ikke inneholder feil.)
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Kunne ikke starte e-postprogram. Kontroller at det er riktig installert på datamaskinen.)
- 9 Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION>. The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info. (Det oppsto et problem under kjøringen: <FEILBESKRIVELSE>. Kjøringen vil fortsette, og en melding vil bli loggført i meldingsfanen i Run Info (Kjøringsinfo).)
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Finner ikke instrumentet. Kontroller at du har koblet til instrumentet riktig, og at det er slått på.)
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Loggføring er for tiden deaktivert på grunn av en tidligere feil. Arkiverte logger kan ikke vises før programvaren er startet på nytt.)
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Det var ikke alle prøver som kunne normaliseres, fordi fluorescensnivået var for lavt.)
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Kun kjøring utført med samme rotor som gjeldende kjøring, kan importeres.)
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Vær oppmerksom på at loggfiler for gjeldende kjøring ikke vil være tilgjengelige før kjøringen er fullført.)
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Angi et gyldig tall for antall repetisjoner. Det må være høyere enn 0.)
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Det oppsto et problem under oppdatering av loggdata. Loggføring er deaktivert, men vil bli aktivert på nytt i neste kjøring.)
- 17 Run file signing ensures the integrity of your run results. Information about a run's signature can be found in the Run Info window. (Signering av kjøringfiler sikrer kjøringresultatenes integritet. Du finner informasjon om kjøringssignaturer i vinduet Run Info (Kjøringsinfo).)

Meldingstekst

- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (Prøve-ID er låst. Kan ikke lime inn over låste prøver.)
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (TeeChart Office er ikke installert på denne datamaskinen. Installer Rotor-Gene-programvaren på nytt.)
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (COM-porten som er konfigurert for instrumentet, er ikke valgt. Du må velge en COM-port.)
- 21 The loaded run file contains a signature which does not match the file contents. This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software. (Den innlastede kjøringfilen inneholder en signatur som ikke samsvarer med filinnholdet. Det betyr at filen enten er skadet eller at den er blitt manipulert etter at den ble skrevet av Rotor-Gene-programvaren.)
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Den innlastede kjøringfilen har ingen signatur. Det kan ikke garanteres for innholdet i filen.)
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Maskinens serienummer er ikke gyldig. Serienumre må bestå av minst 6 sifre.)
- 24 The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees. The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine. Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes. (Maskinen vil nå bli avkjølt til <TEMPERATUR> grader. Kammeret og overflatene vil fortsatt være svært varme når du åpner maskinen. Vær forsiktig og bruk vernehansker hvis du skal berøre noen av overflatene eller rørene.)
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (De regionale innstillingene for datamaskinen er i konflikt. Kontroller at det er samsvar mellom valuta og desimalskilletegn.)
- 26 The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2>. The computer's serial number has now been updated to match the connected machine. (Serienummeret som ble angitt i velkomstskjermbildet <SERIENUMMER1> samsvarer ikke med serienummeret <SERIENUMMER2> som er lagret på den tilkoblede maskinen. Datamaskinens serienummer er nå blitt oppdatert slik at det samsvarer med maskinen som er koblet til.)
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Det oppsto et problem under kommunikasjon med kommunikasjonkortet. Start datamaskinen på nytt, og prøv igjen.)
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Det oppsto et tidsavbrudd under kommunikasjonsforsøket med maskinen. Kontroller at tilkoblingen er riktig.)
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Denne funksjonen kan ikke brukes i virtuell modus.)
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Denne profilfilen ble opprettet i en nyere versjon av Rotor-Gene-programvaren. Enkelte aspekter blir kanskje ikke lastet inn riktig.)
- 31 This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the run may not load correctly. (Denne kjøringfilen ble opprettet i en nyere versjon av Rotor-Gene-programvaren. Enkelte aspekter ved kjøringen blir kanskje ikke lastet inn riktig.)
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Denne prøvefilen ble opprettet i en nyere versjon av Rotor-Gene-programvaren. Enkelte aspekter blir kanskje ikke lastet inn riktig.)
- 33 This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes. You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu. (Denne programvaren vil utføre grunnleggende simulering av en maskin for opplærings- og demonstrasjonsformål. Du kan deaktivere denne innstillingen via skjermbildet Setup (Oppsett), som kan åpnes fra menyen File (Fil).)
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Denne malen ble opprettet i en nyere versjon av Rotor-Gene-programvaren. Enkelte aspekter ved malen blir kanskje ikke lastet inn riktig.)
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Kan ikke laste inn denne prøvefilen på grunn av manglende samsvar i røroppsett. Last inn disse prøvene før du starter kjøringen.)
- 36 Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT>. Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry. (Kan ikke åpne kommunikasjonen med maskinen fordi en annen applikasjon allerede bruker <COMPORT>. Kontroller at det ikke er andre applikasjoner som bruker den samme serielle porten, og prøv på nytt.)

Meldingstekst

- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Det oppsto uopprettelige feil under forsøket på å laste inn filen. Filen ble ikke lastet inn.)
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Du kan ikke stoppe programmet mens kjøringen pågår.)
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Du har ikke tilstrekkelige rettigheter til å bruke programvaren. Kontakt domeneadministratoren for å sette opp grupper.)
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Du må ha utført en kvantifiseringsanalyse for å kunne eksportere prøver.)
- 41 You must select a COM port before continuing. (Du må velge en COM-port før du fortsetter.)
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Kjøringen kunne ikke lagres på standardplasseringen. Velg en alternativ plassering i neste vindu for å lagre kjøringen.)
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Innstillingene ble lagret. Klikk på OK for å lukke programvaren.)
- 44 You must select a rotor before continuing. (Du må velge en rotor før du fortsetter.)
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Du kan ikke starte kjøringen før du har merket av for at låseringen er festet.)
- Meldinger knyttet til justering av automatisk forsterkning**
- 46 Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile. As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment. (Manuell justering av forsterkning bruker kanalene du har definert i profilen. Siden du ikke har definert noen innsamlingspunkter i profilen, kan du ikke utføre manuell justering av forsterkning.)
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Den angitte temperaturen ble ikke lagret fordi den var utenfor maskinens område. Angi en gyldig temperatur.)
- Meldinger knyttet til redigering**
- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Angi en gyldig gruppekode. Gruppekode kan bestå av maksimalt 5 tegn, og må ikke inneholde mellomrom eller komma.)
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Angi et gyldig gruppenavn. Gruppenavn kan ikke inneholde komma eller stå tomt.)
- Meldinger knyttet til kalibrering av optisk denaturering**
- 50 Unable to set as optical denature point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value. (Kan ikke angis som optisk denatureringspunkt på grunn av kalibreringsfeil. Angi et gyldig antall sekunder for holding. Tallverdien må være positiv.)
- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration. This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample. A timed step profile was run instead. (Kunne ikke registrere et smeltetoppunkt under kalibrering av optisk denaturering. Dette kan skyldes at det ble valgt feil rør for kalibrering, eller at det ble brukt feil kjemi for denne prøven. Det ble kjørt en tidsbestemt trinnprofil i stedet.)
- OTV-meldinger**
- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Du må angi et gyldig OTV-serienummer for å kunne utføre kjøringen.)
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Denne filen for temperaturverifisering er skadet. Avinstaller Rotor-Gene-programvaren, og installer den på nytt for å reparere feilen.)
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed. (Denne kjørsingsfilen er ikke riktig signert. Resultatene kan ikke vises.)
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Du kan ikke starte kjøringen før du har merket av for at det fluorescerende innlegget er riktig plassert.)
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Denne rotoren har utløpt. Kontakt distributøren for å skaffe en ny.)

Meldingstekst

Meldinger knyttet til sikkerhetsmenyen

- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Kunne ikke åpne Windows bruker/gruppe-behandler.)
- 58 Could not create groups. (Kunne ikke opprette grupper.)
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Kan ikke endre tilgang til innebygde kontoer.)

Analysemenyen

- 60 You have only selected one channel for analysis. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window. (Du har kun valgt én kanal for analyse. For å velge flere kanaler må du dra et rektangel rundt kanalene du ønsker å vise i analysedelen av vinduet.)
- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Du har valgt flere kanaler for analyse. Denne analyseteknikken tillater kun analyse av enkeltkanaler.)

Meldinger knyttet til konsentrasjonsmåling

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Konsentrasjonsmåling utfører automatisk forsterkningsoptimalisering på første rotorposisjon. Sørg for at du har den høyeste konsentrasjonsstandarden i første rotorposisjon.)

Meldinger knyttet til EndPoint-analyse

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (For å bruke EndPoint-analyse må du ha positive og negative kontroller i hver kanal. For å definere disse kontrollene må du klikke på OK.)
- 64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Du har ikke definert noen positive kontroller. Du må definere positive kontroller for hver kanal du analyserer.)
- 65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Du har ikke definert noen negative kontroller. Du må definere negative kontroller for hver kanal du analyserer.)
- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Du har ikke definert noen NTC-kontroller. Du må definere NTC-kontroller for hver gruppe.)

Meldinger knyttet til HRM-analyse

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Det er ikke definert en kontroll for genotypen <NAVN PÅ GENOTYPE>.)
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Duplikate genotypeskombinasjoner er ikke tillatt.)
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Høyopløselig smelting støttes ikke på dette instrumentet. Kontakt distributøren for mer informasjon.)

Meldinger knyttet til smelteanalyse

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Genotypene kan ikke defineres før alle bin-områdene er angitt. Definer alle bin-områdene, og prøv på nytt.)
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Du må angi en forkortelse for genotypen <NAVN PÅ GENOTYPE>.)

Meldinger knyttet til analyse med spredningsdiagram

- 72 Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window, or click while holding the SHIFT key on each channel. (Analyse med spredningsdiagram krever at det velges nøyaktig 2 kanaler. For å velge flere kanaler må du dra et rektangel rundt kanalene du ønsker å vise i analysedelen av vinduet, eller du må klikke på hver kanal mens du holder SHIFT-tasten nede.)

Meldinger knyttet til kvantifiseringsanalyse

- 73 The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards. To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..." (Funksjonen for å finne terskelen automatisk krever at du har definert minst 2 valgte standarder. Dette gjør du ved å høyreklikke på prøvelisten og velge Edit Samples... (Rediger prøver...))

12 Ordliste

Betegnelse	Beskrivelse
Innsamling	Innsamling viser til innhenting av fluorescensdata. Hver innsamling (sett med fluorescensdata) fra en kanal vises i programvaren som ikke-analyserte data i et vindu kalt Raw channel (Råkanal). Disse dataene kan analyseres ved hjelp av alternativene i menyen Analysis (Analyse).
Bin-område	I en smelteanalyse angir man bin-områder for å definere et område der et smeltetoppunkt forventer å forekomme. Genotyper kan defineres på grunnlag av forekomsten av toppunkter i visse bin-områder eller kombinasjoner av bin-områder.
CE-IVD	Samsvar med EU-direktiv 98/79/EF om <i>in vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr.
Kanal	En kanal består av en lysemitterende diode (LED) med et eksitasjonsfilter kombinert med et utslippsfilter. Lysdioden og eksitasjonsfilteret eksiterer prøver ved en gitt bølgelengde. Fluorescens som slippes ut av prøver, passerer utslippsfilteret før det blir registrert av en fotomultiplikator.
Forsterkning	Rotor-Gene Q MDx bruker en fotomultiplikator til å samle fluorescensfotoner og konvertere dem til elektroniske signaler. Forsterkning er en innstilling som bestemmer sensitiviteten til fotomultiplikatoren. Hvis forsterkningen er for høy, får signalet for høy metning. Hvis forsterkningen er for lav, kan man ikke skille signalet fra bakgrunnsstøyen.
Forsterkningsoptimalisering	Forsterkningsoptimalisering er en prosess som innebærer en dynamisk justering av forsterkningsinnstillingen for at man skal kunne velge en passende innstilling som gir optimal deteksjon av signalene.
Lasteblokk	Lasteblokker er aluminiumsblokker i ulike størrelser som brukes til å holde rør eller Rotor-Discs under reaksjonsoppsett. Rotor-Disc Loading Blocks brukes også sammen med Rotor-Disc Heat Sealer for å varmforslegle Rotor-Discs.
Låsering	Låseringer er metallringer som settes opp på rotoren for å hindre at rør og hetter løsner når Rotor-Gene Q MDx er i bruk. Løse hetter og rør kan føre til skader på instrumentet.
Rotor	Metallrotoren holder rør eller Rotor-Discs i Rotor-Gene Q MDx. Den sørger for at prøver kan spinne i instrumentkammeret, og sikrer at prøver blir riktig justert i forhold til det optiske systemet. Rotoren er sikret med en låsring.
Rotor-Disc	En Rotor-Disc er en rund plate med vertikalt plasserte reaksjonsbrønner. Rotor-Disc finnes i utgaver for 72 og 100 reaksjoner. Rotor-Discs forsegles med Rotor-Disc Heat Sealing Film og Rotor-Disc Heat Sealer.

13 Tekniske spesifikasjoner

QIAGEN forbeholder seg retten til å endre spesifikasjoner når som helst.

13.1 Miljøforhold – driftsforhold

Strøm	100–240 V AC, 50–60 Hz, 520 VA (topp) Strømforbruk 60 VA (standby) Nettspenningsvariasjoner må ikke overskride 10 % av merkespenningen.
Sikring	Sikring av typen F5A 250 V
Varmespredning/varmebelastning	Gjennomsnitt: 0,183 kW (632 BTU/time) Maks.: 0,458 kW (1578 BTU/time)
Overspenningskategori	II
Lufttemperatur	18 til 30 °C
Relativ luftfuktighet	10–75 % (ikke-kondenserende)
Høyde over havet	Opptil 2000 m
Brukssted	Kun til innendørs bruk
Forurensningsgrad	2
Miljøklasse	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

13.2 Transportforhold

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

13.3 Oppbevaringsforhold

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

13.4 Mekaniske data og maskinvarefunksjoner

Mål	Bredde: 370 mm Høyde: 286 mm Dybde (uten kabler): 420 mm Dybde (åpen dør): 538 mm
Vekt	12,5 kg, standard konfigurasjon
Kapasitet	Opptil 100 prøver per kjøring ved bruk av en Rotor-Disc 100
Programvare	Rotor-Gene Q-programvareversjon 2.3.x (der x er ≥ 0)

13.5 Spesifikasjoner (maskinvare og programvare)

13.5.1 Termiske spesifikasjoner

Beskrivelse	Spesifikasjon
Temperaturområde	35 °C til 99 °C (50 °C til 99 °C for syklingsapplikasjoner)
Temperaturnøyaktighet	±0,5 °C (kalibrert med Rotor-Disc OTV-prosedyre)
Temperaturopløsning	±0,02 °C (minste programmerbare økning)
Temperaturesartethet	±0,02 °C

13.5.2 Optiske spesifikasjoner

Beskrivelse	Spesifikasjon
Eksitasjonskilder	Lysemitterende dioder (LED) med høy energi
Detektor	Fotomultiplikator
Innsamlingstid	4 s

14 Vedlegg A – Juridisk

14.1 FCC-erklæring

United States Federal Communications Commission (USFCC) (i 47 CRF 15. 105) erklærte at brukerne av dette produktet må informeres om følgende fakta og omstendigheter.

«Denne enheten samsvarer med del 15 i FCC: Driften forutsetter at følgende to betingelser oppfylles: (1) Denne enheten må ikke forårsake skadelig interferens, og (2) denne enheten må godta all mottatt interferens, deriblant interferens som kan forårsake uønsket drift.»

«Dette digitale apparatet av klasse B samsvarer med kanadiske ICES-0003.»

Følgende erklæring gjelder for produktene som dekkes i denne håndboken, med mindre annet er angitt. Erklæringen for andre produkter vises i dokumentasjonen som følger med produktene.

Merk: Dette utstyret er testet og funnet å være i samsvar med grensene for en digital enhet i klasse B i henhold til del 15 i FCC-reglene, og oppfyller alle kravene til digitale apparater i den kanadiske standarden for utstyr som forårsaker interferens, ICES-003. Disse grensene er beregnet på å gi rimelig beskyttelse mot skadelig interferens i en boliginstallasjon. Dette utstyret genererer, bruker og kan utstråle radiofrekvent energi og kan, hvis det ikke installeres og brukes i samsvar med instruksjonene, forårsake skadelig interferens på radiokommunikasjon. Det er imidlertid ingen garanti for at interferensen ikke vil oppstå i en bestemt installasjon. Hvis dette utstyret forårsaker skadelig interferens på radio- eller TV-mottak, noe som kan fastslås ved å slå utstyret av og på, bør brukeren forsøke å korrigere interferensen ved å iverksette ett eller flere av følgende tiltak:

- Flytt eller snu mottakerantennen
- Øk avstanden mellom utstyret og mottakeren
- Koble utstyret til en kontakt på en annen krets enn den mottakeren er koblet til

Rådfør deg med forhandleren eller en erfaren radio- eller TV-tekniker hvis du trenger hjelp.

14.2 Samsvar med IEC EN 61326

Rotor Gene-Q MDx oppfyller kravene til emisjon av interferens og immunitet mot interferens beskrevet i IEC 61326-1 og IEC 61326-2-6.

QIAGEN GmbH Germany er ikke ansvarlig for radio/TV-interferens forårsaket av uautoriserte endringer av dette utstyret eller erstatning eller tilkobling av andre kabler og annet utstyr enn de som er spesifisert av QIAGEN GmbH Germany. Det er brukerens ansvar å korrigere interferens forårsaket av slike uautoriserte modifikasjoner, erstatninger eller tilkoblinger.

14.3 Samsvarserklæring

Den juridiske produsentens navn og adresse

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
Tyskland

En oppdatert samsvarserklæring er tilgjengelig hos QIAGENS tekniske serviceavdeling.

14.4 Avfall fra elektrisk og elektronisk utstyr (WEEE)

Denne delen inneholder informasjon om hvordan brukere skal kassere elektrisk og elektronisk utstyr.

Det utkryssede søppeldunksymbolet (se nedenfor) indikerer at dette produktet ikke må kastes sammen med annet avfall; det må leveres til et godkjent behandlingsanlegg eller til et bestemt innsamlingssted for resirkulering i henhold til lokale lover og forskrifter.

Separat innsamling og resirkulering av avfall fra elektronisk utstyr bidrar til å bevare naturressurser, og sikrer at produktet resirkuleres på en måte som beskytter menneskers helse og miljøet.



Gjenvinning kan på forespørsel håndteres av QIAGEN mot en tilleggs kostnad. I EU, i samsvar med de spesifikke WEEE-resirkuleringskravene og når et erstatningsprodukt leveres av QIAGEN, tilbys gratis resirkulering av QIAGENs WEEE-merkede elektroniske utstyr.

For å gjenvinne elektronisk utstyr må du kontakte ditt lokale QIAGEN-salgskontor for å få det nødvendige returskjemaet. Når skjemaet er innsendt, vil QIAGEN ta kontakt med deg, enten for å be om utfyllende informasjon for å arrangere innsamling av det elektroniske avfallet, eller for å gi deg et individuell pristilbud.

14.5 Ansvarserklæring

QIAGEN skal fritas fra alle forpliktelser under denne garantien hvis reparasjoner eller endringer utføres av andre personer enn QIAGEN-personale, bortsett fra i tilfeller der selskapet har gitt skriftlig samtykke til å utføre slike reparasjoner eller endringer.

Alle materialer som skiftes ut under denne garantien vil kun være underlagt garantien i den opprinnelige garantiperioden, og ikke i noe tilfelle utover utløpet av den opprinnelige utløpsdatoen for den opprinnelige garantien, med mindre dette tillates skriftlig av en overordnet i selskapet. Avlesningsenheter, grensesnittenheter og relatert programvare er kun underlagt garantien i perioden som er angitt av den opprinnelige produsenten av disse produktene. Opplysninger og garantier som gis av en person, herunder representanter fra QIAGEN, som er inkonsekvente eller i strid med vilkårene i denne garantien, skal ikke være bindende for selskapet med mindre de er fremlagt skriftlig og godkjent av en overordnet i QIAGEN.

14.6 Programvarelisensavtale

1. I det følgende refererer «Qiagen» til Qiagen GmbH og tilknyttede selskaper, og «Programvare» betyr programmene og dataene som leveres på dette fysiske mediet (dvs. CD-ROM) eller via Internett med disse vilkårene. (Hvis du er usikker på noe i denne avtalen eller har spørsmål til den, kan du sende dem med e-post til support@qiagen.com.) Programvaren og all medfølgende dokumentasjon er i sin helhet blitt utviklet med privat finansiering. De er levert og lisensiert som «kommersiell datamaskinprogramvare».

2. Lisens

Din lisens gir deg ingen eiendomsrett til eller eierskap i Programvaren og utgjør ikke et salg av noen rettigheter til Programvaren. Qiagen gir deg en ikke-overførbar, ikke-eksklusiv lisens på følgende vilkår:

2.1 Du kan bruke et ubegrenset antall kopier av Programvaren internt i organisasjonen, forutsatt at programvaren er tilgjengelig for bruk utelukkende av ansatte i organisasjonen, og at organisasjonen er nåværende eier av et Rotor-Gene Q-instrument. Tilgjengeliggjøring av denne programvaren for bruk utenfor organisasjonen utgjør et brudd på denne avtalen.

2.2 Du kan kun lage kopier av Programvaren i den utstrekning det er nødvendig for sikkerhetskopieringsformål eller når kopiering er avgjørende for den autoriserte bruken av Programvaren. Du må gjengi alle merknader om opphavsrett i den originale Programvaren på alle kopier. Du kan under ingen omstendigheter kopiere Programvaren til oppslagstavler, nettsteder eller et lignende offentlig eller privat distribusjonssystem.

2.3 Du kan ikke gjøre Programvaren tilgjengelig for noen tredjepart i form av gave eller utlån eller utleie.

2.4 Du kan ikke innlemme Programvaren eller noen del av Programvaren i programmer eller datasystemer som er utviklet eller som brukes av deg.

2.5 Du kan ikke bruke eller på annet vis konstruere datafiler eller andre filer som er prosessert av Programvaren (bortsett fra det som kreves ved normal bruk av Programvaren).

2.6 Du kan ikke demontere, foreta omvendt utvikling av, foreta omvendt kompilering av, låse opp eller oversette noen del av Programvaren eller gjøre noe forsøk på å avdekke kildekode eller underliggende algoritmer i Programvaren. Du kan ikke endre noen av datafilene eller andre filer som inngår i Programvaren (bortsett fra det som kreves ved normal bruk av Programvaren).

2.7 Hvis dette er en demo- eller prøveutgave av Programvaren, er du kun lisensiert til å bruke den til evalueringsformål og innenfor de begrensningene som er beskrevet (f.eks. tidsbegrensning eller begrensede kjøringar eller andre begrensninger). Programvaren vil kanskje ikke forsøke å håndheve de nevnte begrensningene, og dersom Programvaren ikke håndhever de nevnte begrensningene, gis du ikke lisens til å gå ut over de nevnte begrensningene.

2.8 Du samtykker i å anskaffe deg enhver nødvendig registrerings-/lisensnøkkel kun fra Qiagen eller en autorisert distributør, og i å holde nevnte nøkkel strengt konfidensielt overfor alle tredjeparter.

3. Opphør

3.1 Hvis du bryter vilkårene og forpliktelsene i denne lisensen, kan Qiagen uten forbehold om eventuelle andre rettigheter bringe denne lisensen til opphør.

3.2 Du skal innen 7 dager etter opphør av denne lisensen oversende et brev til Qiagen som bekrefter at den originale Programvaren og eventuelle kopier av Programvaren er destruert, og at alle kopier av en eventuell registrerings-/lisensnøkkel er destruert. Du kan når som helst bringe denne lisensen til opphør ved å oversende en slik bekreftelse.

4. Begrenset garanti/ansvar

4.1 Qiagen garanterer utelukkende:

a) Hvis programvaren leveres på CD-ROM, at CD-ROM-en er uten material- og produksjonsfeil under normal bruk i en periode på nitti dager fra kjøpsdatoen. (Vi vil erstatte enhver defekt CD-ROM kostnadsfritt.)

b) Hvis Programvaren brukes riktig, at Programvaren fungerer i all hovedsak i samsvar med dokumentasjonen som leveres med Programvaren, eller annen spesifisering publisert av Qiagen i en periode på nitti dager fra kjøpsdatoen.

4.2 Qiagens fulle ansvar og din eneste kompensasjon skal være, etter QIAGENS valg, enten en kompensasjon til en verdi av to hundre og femti amerikanske dollar (USD 250) eller erstatning av Programvaren som ikke oppfyller QIAGENS begrensede garanti.

4.3 MED UNNTAK AV GARANTIENE GITT I PUNKT 4.1 OVENFOR OG INNENFOR DET MAKSIMALE AV HVA LOVEN TILLATER, GIR QIAGEN INGEN ANDRE GARANTIER MED HENSYN TIL PROGRAMVAREN.

4.4 INNENFOR DET MAKSIMALE AV HVA LOVEN TILLATER, OG UNDER INGEN OMSTENDIGHETER OG UNDER INGEN JURIDISK TEORI, TORT, KONTRAKT ELLER PÅ ANNET VIS SKAL QIAGEN VÆRE ANSVARLIG OVERFOR DEG ELLER ENHVER ANNEN PERSON FOR EVENTUELLE INDIREKTE, SPESIELLE, TILFELDIGE SKADER ELLER FØLGESKADER AV NOEN ART, HERUNDER, UTEN BEGRENSNING, SKADER FRA TAP AV GOODWILL, DRIFTSSTANS, SVIKT ELLER FEILFUNKSJON AV DATAMASKIN, ELLER FOR ENHVER OG ALLE ANDRE FORRETNINGSRELATERTE SKADER ELLER TAP, SELV OM QIAGEN SKAL HA BLITT INFORMERT OM MULIGHETEN FOR SLIKE SKADER. I ALLE TILFELLER VIL QIAGENS FULLE ERSTATNINGSANSVAR I HENHOLD TIL DENNE AVTALEN VÆRE BEGRENSET TIL LISENSGEBYRET DU HAR BETALT FOR PROGRAMVAREN. DENNE ANSVARSBEGRENSNINGEN GJELDER IKKE ERSTATNINGSANSVAR FOR DØDSFALL ELLER PERSONLSKADE I DEN GRAD GJELDENDE LOV FORBYR EN SLIK BEGRENSNING.

15 Vedlegg B – Matematiske teknikker

Dette vedlegget beskriver de matematiske teknikkene mer i detalj.

15.1 Kvantifisering

Beregnete konsentrasjoner baseres på en enkel lineær regresjonsmodell, der de kjente verdiene er log-konsentrasjoner (x) og de eksperimentelle verdiene er CT-verdiene (y).

Standardenes log-konsentrasjoner og CT-verdier brukes til å konstruere en modell i formen:

$$y = Mx + B$$

15.1.1 Konfidensintervaller for beregnede konsentrasjoner

Vi bruker konfidensintervallet $100(1 - \alpha)\%$ for et estimat av en ny observasjon x_0 fra standardkurven.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Dette er konfidensintervallet for konsentrasjonen til en enkelt ukjent.

La oss anta at vi har ytterligere k observasjoner ved $x = x_0$, og at vi betegner deres gjennomsnitt med \bar{Y}_0 . Da vil

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

og argumenter som svarer til det ovenstående gi

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Denne formelen bestemmer hvordan konfidensintervaller for konsentrasjoner av replikate ukjente bestemmes.

Ved estimering av standarder er det mulig å oppnå et tettere konfidensintervall:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Konsekvensen av denne formelen er at tilføyelse av replikater til en individuell standardkonsentrasjon reduserer bredden på intervallet for alle estimater, ettersom n øker. Tilføyelse av et stort antall replikater til en ukjent reduserer dens usikkerhet til den samme som for en enkelt standard. De ekstra replikatene reduserer usikkerheten fordi den ukjente ikke inngår i den lineære modellen.

15.1.2 Konfidensintervaller for CT-verdier

Vi antar at feil i replikate CT-verdier er lineære og normalt fordelt.

Derfor bruker vi One-Sample t-konfidensintervallet. Hvis μ er gjennomsnittsverdien for et replikats CT-verdier $(x_0 \dots x_{n-1})$. Da vil et $100(1 - \alpha) \%$ konfidensintervall for en CT-verdi μ være:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Vi vil gjerne takke Peter Cook fra den matematiske avdelingen ved University of NSW, Sydney, Australia, som har vært til uvurderlig hjelp for å verifisere de matematiske metodene som er brukt.

16 Bestillingsinformasjon

16.1 Produkter, tilbehør og forbruksartikler for Rotor-Gene Q MDx

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Real-time PCR-sykler med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, mørkerød), bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Real-time PCR-sykler og High Resolution Melt-analysator med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, mørkerød) pluss HRM-kanal, bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Real-time PCR-sykler med 6 kanaler (blå, grønn, gul, oransje, rød, mørkerød), inkludert bærbar datamaskin, programvare, tilbehør, 1 års garanti på deler og arbeid	9002042
Tilbehør		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Settet inneholder: 2 Rotor-Disc 100-pakker, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor og Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	På forespørsel
Rotor-Disc 100 (30)	30 individuelt emballerte plater for 3000 reaksjoner	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 individuelt emballerte plater for 30 000 reaksjoner	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Til holding av Rotor-Disc 100-plater i Rotor-Gene Q MDx; krever Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Til låsing av en Rotor-Disc 100 i Rotor-Disc 100 Rotor	9018896

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor-Disc 100 Loading Block	Aluminiumsblokk for manuelt og automatisert reaksjonsoppsett i Rotor-Disc 100-plater	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Hjelpemiddel for å merke brønner under manuelt reaksjonsoppsett på en Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Varmeforseglingsinstrument til bruk med Rotor-Discs; krever Rotor-Disc 72 eller 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 filmer til forsegling av Rotor-Disc 100- eller Rotor-Disc 72-plater	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 filmer til forsegling av Rotor-Disc 100- eller Rotor-Disc 72-plater	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Settet inneholder: 3 Rotor-Disc 72-pakker, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor og Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	På forespørsel
Rotor-Disc 72 (24)	24 individuelt emballerte plater for 1728 reaksjoner	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 individuelt emballerte plater for 17 280 reaksjoner	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Til holding av Rotor-Disc 72-plater i Rotor-Gene Q MDx; krever Rotor-Disc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Til låsing av en Rotor-Disc 72 i Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Aluminiumsblokk for manuelt og automatisert reaksjonsoppsett i Rotor-Disc 72-plater	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 remser med 4 rør og hetter til 1000 reaksjoner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 remser med 4 rør og hetter til 10 000 reaksjoner	981106

Produkt	Innhold	Kat.nr.
72-Well Rotor	Til holding av Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; krever Locking Ring 72-Well Rotor	9018903
Locking Ring 72-Well Rotor	Til låsing av Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, i 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsblokk for manuelt reaksjonsoppsett med ékanalspipette i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Aluminiumsblokk for reaksjonsoppsett med flerkanalspipetter i 72 x 0,1 ml rør	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tynnveggede rør for 1000 reaksjoner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tynnveggede rør for 10 000 reaksjoner	981008
36-Well Rotor	Til holding av PCR Tubes, 0.2 ml; krever 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	Til låsing av PCR Tubes, 0.2 ml, i 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumsblokk for manuelt reaksjonsoppsett i standard 8 x 12-gruppe ved bruk av 96 x 0,2 ml rør	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Sett for optisk temperaturverifisering av Rotor-Gene-systemer, inkluderer en Rotor-Disc som er forhåndslestet med termokromatiske flytende krystaller, fluorescerende innlegg, krever Rotor-Disc 72 Rotor og Locking Ring eller Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Frittstående holder i metall for montering av rør og Rotor-Discs i rotorer	9018908

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås på forespørsel fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

17 Endringshistorikk for dokument

Dato	Endringer
R1, februar 2022	Første versjon

Begrenset lisensavtale for Rotor-Gene Q MDx

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne bruksanvisningen, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens når det gjelder noen av QIAGENS åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet sammen med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne bruksanvisningen og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre protokollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette settet og/eller bruk av det ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette settet og komponentene i det er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller underforstått, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuell intellektuell eiendomsrett forbundet med settet og/eller komponentene.

For oppdaterte lisensvilkår, se www.qiagen.com

Varemerker: 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 eller datterselskaper); 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.). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan. Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.

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

I gjeldende land:

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

I gjeldende land:

Kjøpet av dette produktet inkluderer en begrenset, ikke-overførbar lisens til ett eller flere av amerikanske patentnumre 6,787,338; 7,238,321; 7,081,226; 6,174,670; 6,245,514; 6,569,627; 6,303,305; 6,503,720; 5,871,908; 6,691,041; 7,387,887; 7,273,749; 7,160,998; amerikanske patentsøknadnumre 2003-0224434 og 2006-0019253 og PCT-patentsøknadnummer WO 2007/035806 og alle utvidelser og inndelinger, og tilhørende krav i patenter og patentsøknader utenfor USA, eid av University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH og/eller Roche Diagnostics GmbH kun for in vitro-diagnostikk hos mennesker og dyr. Ingen rettighet overdras uttrykkelig, underforstått eller ved berettiget antakelse, til noe reagens eller sett, eller i henhold til noe annet patent eller patentkrav som eies av University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH, eller av noen annen part. Dette produktet kan kun brukes med godkjente reagenser slik som fullt lisensierte QIAGEN-sett og analyser. For informasjon om kjøp av lisenser for applikasjoner eller reagenser til in-vitro diagnostikk, kontakt Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, USA.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, all rights reserved.

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettsted www.qiagen.com